

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.24.005

IGF-1 联合 BMP-2 对糖尿病合并骨质疏松股骨骨折大鼠中的骨折愈合影响分析*

常 乐 赵轶男 宋 瑶 康飞科 孙 振[△]

(空军军医大学西京医院骨科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探讨胰岛素生长因子-1(insulin-like growth factor, IGF-1)联合骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)-2 对糖尿病合并骨质疏松股骨骨折大鼠中的骨折愈合影响。**方法:**8 周龄雌性 SD 大鼠 60 只, 饲养一周后根据随机数字表法进行分组, 每组 12 只, 之后进行造模, 造模成功 50 只, 成功率为 83.33%。将其分为 5 组, 包括正常组(n=10), 糖尿病+卵巢切除+骨折组(n=9), 糖尿病+卵巢切除+骨折+IGF-1 组(骨折处注射 IGF 30 $\mu\text{g/kg}$, n=11), 糖尿病+卵巢切除+骨折+BMP-2 组(骨折处注射 100 μL BMP-2 基因慢病毒 1×10^8 , n=10), 糖尿病+卵巢切除+骨折+IGF-1+BMP-2 组(参照上述, n=10), 其余进行等剂量溶剂注射, 均连续注射两天。分组处理 6 周后, 观察 5 组大鼠的一般情况。对比 5 组大鼠的血清钙、骨钙素、碱性磷酸酶水平, 对比 5 组的最大应力、最大载荷及刚度, 检测 5 组大鼠组织中的 IGF-1、BMP-2 及 TGF- β 1 mRNA 表达水平。**结果:**A 组大鼠无明显异常反应, 大鼠体重逐渐增加, 大小便、饮食均正常, 毛色光亮; B、C、D、E 组大鼠精神萎靡、反应迟缓、毛色光亮性较差、体重无明显减轻或增加、大鼠的饮水量、饮食增加, 多尿症状较为明显。5 组大鼠的血清钙、骨钙素、碱性磷酸酶水平: B 组 < C 组 < D 组 < E 组 < A 组 ($P < 0.05$)。5 组大鼠的骨密度、最大应力、最大载荷及刚度水平: B 组 < C 组 < D 组 < E 组 < A 组 ($P < 0.05$)。5 组大鼠的 IGF-1 mRNA、BMP-2 mRNA 及 TGF- β 1 mRNA 表达水平: B 组 < C 组 < D 组 < E 组 < A 组 ($P < 0.05$)。**结论:**IGF-1 联合 BMP-2 可促进糖尿病合并骨质疏松股骨骨折大鼠中的骨折愈合。

关键词:IGF-1; BMP-2; 糖尿病; 骨质疏松; 股骨骨折; 骨折愈合

中图分类号: R-33; R683 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2022)24-4627-05

Effect of IGF-1 Combined with BMP-2 on Fracture Healing in Diabetic Rats with Osteoporotic Femoral Fractures*

CHANG Le, ZHAO Yi-nan, SONG Yao, KANG Fei-ke, SUN Zhen[△]

(Department of Orthopedics, Xijing Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of IGF-1 combined with BMP-2 on fracture healing in diabetic rats with osteoporotic femoral fractures. **Methods:** Sixty 8-week-old female SD rats were divided into groups according to the random number table method after one week of feeding, with 12 rats in each group. After that, membrane was constructed, and 50 rats were successfully constructed, with the success rate of 83.33%, which were divided into 5 groups, including normal group (n=10), diabetes + ovariectomy + fracture group (n=9), diabetes + ovariectomy + fracture + IGF-1 group (IGF 30 $\mu\text{g/kg}$ was injected at the fracture site, n=11). Diabetes + ovariectomy + fracture + BMP-2 group (100 μL BMP-2 gene lentivirus 1×10^8 was injected into the fracture site, n=10), diabetes + ovariectomy + fracture + IGF-1 + BMP-2 group (refer to the above, n=10), and the rest were injected with equal doses of solvent, all of which were injected for two consecutive days. After 6 weeks of group treatment, the levels of serum calcium, osteocalcin and alkaline phosphatase in the 5 groups were detected and compared. The maximum stress, maximum load and stiffness of the 5 groups were compared. The expression levels of IGF-1, BMP-2 and TGF- β 1 mRNA in the 5 groups were detected. **Results:** The rats in group A had no obvious abnormal reaction, the weight of the rats gradually increased, the urine and feces, diet were normal, and the fur color was bright. The rats in groups B, C, D and E had listlessness, delayed reaction, poor color brightness, no significant weight loss or increase, increased water intake and diet, and more obvious polyuria. The levels of serum calcium, osteocalcin and alkaline phosphatase in the 5 groups were as follows: group B < group C < group D < group E < group A ($P < 0.05$). The BMD, maximum stress, maximum load and stiffness of rats in the five groups were as follows: group B < group C < group D < group E < group A ($P < 0.05$). The expression levels of IGF-1 mRNA, BMP-2 mRNA and TGF- β 1 mRNA in the 5 groups were as follows: group B < group C < group D < group E < group A ($P < 0.05$).

* 基金项目: 国家自然科学基金青年项目(82002348)

作者简介: 常乐(1986-), 男, 博士, 主治医师, 研究方向: 椎间盘退变相关基础研究, 电话: 18309261651,

E-mail: clsnjd864125@163.com

[△] 通讯作者: 孙振(1987-), 男, 博士, 副主任医师, 研究方向: 椎间盘退变机制研究, 电话: 18192608055,

E-mail: clsnjd864125@163.com

(收稿日期: 2022-08-10 接受日期: 2022-08-30)

05). **Conclusion:** IGF-1 combined with BMP-2 can promote fracture healing in diabetic rats with osteoporotic femoral fractures.

Key words: IGF-1; BMP - 2; Diabetes; Osteoporosis; Fracture of femur; Fracture healing

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R683 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2022)24-4627-05

前言

糖尿病是一种常见的代谢性疾病,近年来,随着我国人民生活水平的提高,糖尿病发病率不断提高^[1]。糖尿病患者的外周胰岛素抵抗会导致血糖水平升高,因此患者多伴有胰岛素分泌障碍及高胰岛素血症^[2]。若患者的疾病病程较长,同时血糖控制不充分,均会引起糖尿病并发症,常见并发症包括视网膜病变、糖尿病肾病、心血管病变及神经病变,此外高血糖也会影响患者的骨代谢,增加患者的骨折风险,导致患者出现骨折不愈合或骨折延迟愈合的情况^[3],因此临床上糖尿病患者多伴有骨质疏松、骨质减少等骨骼疾病。随着我国人口老龄化的不断加剧,糖尿病合并骨质疏松的发病率不断增加,多发生于绝经后女性中,其会导致患者的骨结构异常,增加了其骨折的发生风险^[4];同时糖尿病患者的骨密度并未降低,其增加了皮质骨空隙度,使得患者的骨强度降低、骨量减少,骨组织纤维结构改变,骨脆性增加,增加了骨折风险^[5];此外糖尿病患者的肥胖、年龄、病情持续时间、并发症等也会增加患者出现骨折的风险^[6-8]。而骨质疏松引起的骨折会导致患者出现残疾、疼痛等症状,严重影响患者的生活质量^[9]。因此临床上需降低降低骨质疏松骨折的发生率,需分析糖尿病合并骨质疏松骨折的发生机制,以便更好的减少其发病率^[10]。有研究发现^[11,12],血清 IGF-1 与骨代谢有一定的相关性;细胞中 BMP 信号通路由 I 型及 II 型的 BMP 受体及其下游 Smad1,5,8 等因子调节,其对长骨、软骨形成有重要作用,而 BMP-2 在其中发挥了重要作用^[13]。因此本文分析了 IGF-1、BMP-2 对糖尿病合并骨质疏松骨折大鼠的骨折愈合影响,以为临床应用提供相应的理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

于陕西麦科奥特科技有限公司【许可证号:SYXK(陕)2021-006】购买 60 只 8 周龄雌性 SD 大鼠,SPF 级,体重在 210~240 g,将大鼠在自然光照下分笼饲养,维持动物房温度再 21~23℃,维持湿度再 30~40%,动物自由饮水、摄食。大鼠的高脂纯化饲料购自北京华阜生物科技股份有限公司,普通饲料购自北京维通利华公司,每日给大鼠更换高温消毒过的垫料,保持干燥、无菌状态。

1.2 方法

将 60 只大鼠饲养一周后根据随机数字表法进行分组,每组 12 只,之后进行造模,造模成功 50 只,成功率为 83.33%。包括正常组(n=10),糖尿病+卵巢切除+骨折组(n=9),糖尿病+卵巢切除+骨折+IGF-1 组(n=11),糖尿病+卵巢切除+骨折+BMP-2 组(n=10)、糖尿病+卵巢切除+骨折+IGF-1+BMP-2 组(n=10)。造模方法:正常组(A 组)10 只大鼠未进行造模;糖尿病+卵巢切除+骨折组(B 组):大鼠使用高脂饲料喂养 3 周,之后在大鼠空腹状态下在其尾静脉取血,检测胰岛素

敏感指数,确定产生胰岛素抵抗后进行禁食,12 h 后腹腔注射 35 mg/kg 链脲佐菌素,在注射后第 3 d、第 7 d 检测血糖,若两次血糖水平均高于 16.7 mmol/L 时,则表明糖尿病造模成功,之后行双侧卵巢切除术,过 6 周行右侧股骨干行骨折手术,使用手法触诊判断大鼠股骨是否骨折;糖尿病+卵巢切除+骨折+IGF-1 组(C 组),糖尿病+卵巢切除+骨折造模方法同 B 组,造模成功后根据五点法在骨折处注射 IGF 30 μg/kg;糖尿病+卵巢切除+骨折+BMP-2 组(D 组),糖尿病+卵巢切除+骨折造模方法同 B 组,造模成功后根据在骨折处注射 IGF 30 μg/kg,连续注射两天;同时在骨折处注射溶解在 PBS 缓冲溶液的 BMP-2 基因慢病毒 1×10⁸(体积为 100 μL),连续注射两天。分组处理 6 周后检查相关指标。

1.3 观察指标

1.3.1 检测 5 组大鼠的血清钙、骨钙素、碱性磷酸酶水平 待 5 组实验结束后,大鼠尾静脉取血,之后检查其血糖指标,再通过 10%水合氯醛进行腹腔注射麻醉后将大鼠实施安乐死,收集血液标本,离心后收集血清,逐层剥离大鼠的右股骨,用 NaCl 0.9%锡箔纸、湿纱布进行包裹,用液氮冷冻冻透后,在 -20℃下进行保存,此外取 4%多聚甲醛进行固定,时间为 24 h,用 15%的乙二胺四乙酸进行脱钙,时间为 14 d,制作为石蜡切片。使用日本日立公司生产的全自动生化分析仪检测大鼠的血清钙、骨钙素、碱性磷酸酶水平,配套仪器购自南京凯基生物科技有限公司。

1.3.2 大鼠骨密度、最大应力、最大载荷及刚度测量 取出右侧的股骨,用双能的 X 线吸收扫描仪进行检测,用分析软件计算骨密度,使用 MTS-858 电子万能生物力学材料试验机进行三点弯曲力学试验,计算最大应力、最大载荷及刚度。

1.3.3 使用 RT-qPCR 检测 IGF-1、BMP-2 及 TGF-β1 mRNA 表达水平 取 50 mg 骨组织,加入 1 mL Trizol,在液氮下进行充分研磨,之后加入 0.2 mL 氯仿,根据说明书提取总 RNA,检测 RNA 纯度及浓度,之后加入反转录引物,经过反转录合成 cDNA,再加入 25 μL PCR 反应扩增体系,经过 PCR 热循环仪进行扩增。扩增引物:BMP-2 上游引物:5-GAAAACAGCAGCAGT GACC-3',下游引物:5'-GGTGGCGTTCATGTAGGAT-3'; IGF-1:上游引物:5-CCGCTGAAGCCTACAAAGTC-3',下游引物:5-GGGAGGCTCCTCCTACATTC-3'; TGF-β1:上游引物:5-TGGGCACTGCTAGAGCCTAT-3',下游引物:5-GCGGAGATCCATACAAAGGA-3。

1.4 统计学方法

采用 SPSS23.0 软件进行数据分析,计量资料 $\bar{x} \pm s$ 表示,t 检验、单因素方差分析分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 5 组大鼠的血清钙、骨钙素、碱性磷酸酶水平

5 组大鼠的血清钙、骨钙素、碱性磷酸酶水平:B 组 < C 组

<D 组 <E 组 <A 组, 组间差异均具有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 5 组大鼠的血清钙、骨钙素、碱性磷酸酶水平

Table1 The levels of serum calcium, osteocalcin and alkaline phosphatase were compared among the five groups

Groups	n	Serum calcium(mmol/L)	Osteocalcin(μ g/L)	Alkaline phosphatase(IU/L)
Group A	10	2.52 $\pm$ 0.41	2.35 $\pm$ 0.32	385.42 $\pm$ 55.46
Group B	9	1.38 $\pm$ 0.20	1.40 $\pm$ 0.29	205.62 $\pm$ 24.75
Group C	11	1.79 $\pm$ 0.23	1.72 $\pm$ 0.30	258.74 $\pm$ 29.85
Group D	10	1.82 $\pm$ 0.30	1.75 $\pm$ 0.33	261.52 $\pm$ 30.52
Group E	10	2.25 $\pm$ 0.31	2.05 $\pm$ 0.35	352.75 $\pm$ 41.25
F	-	20.953	12.297	36.691
P	-	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 5 组大鼠的骨密度、最大应力、最大载荷及刚度水平 <C 组 <D 组 <E 组 <A 组, 组间差异均具有统计学意义($P<0.05$)。
5 组大鼠的骨密度、最大应力、最大载荷及刚度水平: B 组

表 2 5 组大鼠的骨密度、最大应力、最大载荷及刚度水平

Table 2 The bone mineral density, maximum stress, maximum load and stiffness levels of the five groups

Groups	n	Bone mineral density (/cm ²)	Maximum stress(MPa)	Maximum load(N)	Stiffness(N/mm)
Group A	10	0.24 $\pm$ 0.03	38.42 $\pm$ 8.53	128.75 $\pm$ 15.62	240.52 $\pm$ 25.75
Group B	9	0.14 $\pm$ 0.02	19.25 $\pm$ 6.12	75.42 $\pm$ 12.15	155.41 $\pm$ 18.39
Group C	11	0.17 $\pm$ 0.03	28.75 $\pm$ 7.14	89.62 $\pm$ 13.25	189.35 $\pm$ 21.52
Group D	10	0.16 $\pm$ 0.02	27.99 $\pm$ 6.89	90.42 $\pm$ 14.36	192.41 $\pm$ 22.43
Group E	10	0.21 $\pm$ 0.04	34.12 $\pm$ 7.25	108.22 $\pm$ 15.63	224.45 $\pm$ 25.46
F	-	18.635	9.400	20.090	20.003
P	-	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 5 组大鼠组织中的 IGF-1、BMP-2 及 TGF- β 1 mRNA 表达水平: B 组 <C 组 <D 组 <E 组 <A 组, 组间差异均具有统计学意义($P<0.05$)。

5 组大鼠的 IGF-1mRNA、BMP-2mRNA 及 TGF- β 1mRNA

表 3 5 组大鼠组织中的 IGF-1、BMP-2 及 TGF- β 1 mRNA 表达水平Table 3 The expression levels of IGF-1, BMP-2 and TGF- β 1 mRNA in the tissues of five groups of rats

Groups	n	IGF-1mRNA	BMP-2mRNA	TGF- β 1mRNA
Group A	10	0.25 $\pm$ 0.02	0.29 $\pm$ 0.03	0.42 $\pm$ 0.06
Group B	9	0.14 $\pm$ 0.03	0.15 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.03
Group C	11	0.18 $\pm$ 0.03	0.18 $\pm$ 0.03	0.29 $\pm$ 0.04
Group D	10	0.17 $\pm$ 0.04	0.19 $\pm$ 0.04	0.30 $\pm$ 0.04
Group E	10	0.21 $\pm$ 0.04	0.23 $\pm$ 0.04	0.35 $\pm$ 0.05
F	-	15.641	26.166	25.852
P	-	<0.001	<0.001	<0.001

3 讨论

近年来,随着人民生活饮食结构的不断变化,糖尿病发生率不断增加,随着医疗条件的变化,糖尿病患者的生存寿命不断增加,其并发症也随着增加^[14,15]。糖尿病合并骨质疏松是糖尿

病的常见慢性并发症,其发生率高达 24%~52%,此类患者容易出现骨折,多出现在椎体、腕部、髋关节,致残率较高^[16,17]。患者一旦出现骨质疏松,疾病不可逆转,因此了解其发病机制,对疾病急性提前预防及治疗非常重要,骨折愈合是复杂的变化过程,其涉及细胞增殖、分化、细胞外基质合成等活动^[18,19]。而骨延

迟愈合、骨不愈合及骨质疏松均是临床上困扰骨折后恢复的一个难题,GF-1 是类似于胰岛素原的蛋白多肽,其可以诱导有丝分裂,与成骨细胞膜相应受体具有较高的亲和力,可以促进细胞的有丝分裂,对成骨细胞分化产生影响,从而促进骨重建^[20-22];此外,其也是骨折愈合中的一个重要的调节因子,在骨内含量最高,在骨吸收时会介导骨形成与骨吸收间的偶联作用,促进骨形成,从而调节骨愈合^[23]。BMP-2 是一种蛋白多糖,是由两个相同局部作用的可溶性单体形成的一种二聚体^[24],是 TGF- β 超家族成员,其具有诱导骨细胞向骨细胞分化、增殖,具有促进骨愈合的作用^[25],因此本文分析了 IGF-1 联合 BMP-2 对糖尿病合并骨质疏松股骨骨折大鼠中的骨折愈合的影响,以为临床上糖尿病合并骨质疏松股骨骨折患者选择更有效的治疗方法提供依据。

2 型糖尿病具有遗传易感性,具有多重潜在因素会引起 2 型糖尿病,高脂饮食喂养会增加大鼠肝脏中的白介素 -6 及肿瘤坏死因子,高脂饮食喂养 3 周后,会诱导大鼠出现胰岛素抵抗,再给予低剂量链脲佐菌素,对胰岛 β 细胞进行破坏,出现轻度的胰岛素分泌障碍,从而建立成 2 型糖尿病模型。骨质疏松模型可通过双侧的卵巢切除模型、脑源性模型、失用性模型、基因重组模型、维甲酸模型、药物去势模型等,本研究使用了双侧卵巢切除术建立可骨质疏松模型,具有造模周期短、造模成功率高、适用范围广等优点。本文结果表明,A 组大鼠无明显异常反应,大鼠体重逐渐增加,大小便、饮食均正常,毛色光亮;B、C、D、E 组大鼠精神萎靡、反应迟缓、毛色光亮性较差、体重无明显减轻或增加、大鼠的饮水量、饮食增加,多尿症状较为明显,表明建模成功。另外,本研究造模后大鼠体重无明显减轻或增加、大鼠的饮水量、饮食增加,多尿症状较为明显,表明造模成功,与 Xyt A A 等研究结果相似^[26]。大鼠是骨折的广泛应用模型,本研究使用闭合性骨折造模,术后骨折造模成功。

骨钙素是成骨细胞分泌的非胶原基质蛋白,其可以反映骨形成、骨细胞活性,是骨细胞成熟的一个特异性标志物^[27]。有研究发现^[28],血清中的骨钙素水平与骨中的骨钙素浓度密切相关,因此使用酶联免疫吸附法检测大鼠血清中的骨钙素可以反映骨折的愈合情况;碱性磷酸酶与骨矿化密切相关;TGF- β 1 是 TGF- β 的家族成员之一,具有促进软骨、骨形成的作用,此外其还可控制成骨细胞、间充质细胞、成软骨细胞分化,促进骨修复、骨保护^[29,30]。本研究中,5 组大鼠的血清钙、骨钙素、碱性磷酸酶、骨密度、最大应力、最大载荷、刚度、IGF-1、BMP-2 mRNA 及 TGF- β 1 mRNA 表达平:B 组 < C 组 < D 组 < E 组 < A 组,表明随着造模成功,糖尿病合并骨质疏松股骨骨折大鼠的骨密度、最大应力、最大载荷、刚度水平明显较正常组大鼠低,而经过给予 IGF-1、BMP-2、IGF-1 联合 BMP-2 联合治疗后,大鼠的骨密度、最大应力、最大载荷、刚度水平明显提高,且联合组的提高水平明显较单独应用 IGF-1、BMP-2 高;同时 IGF-1、BMP-2、IGF-1 联合 BMP-2 组的 IGF-1 和 BMP-2 mRNA 水平明显较糖尿病合并骨质疏松股骨骨折模型组高,表明给予 IGF-1 和 BMP-2 治疗后,提高了大鼠的 IGF-1、BMP-2 水平;同时 5 组大鼠的血清钙、骨钙素、碱性磷酸酶、TGF- β 1 mRNA 对比有明显差异,与上述研究^[29,30]结果类似。

血清钙与骨质疏松密切相关,本研究选择测定时间点为骨折术后 6 周,此时为骨折愈合后期阶段,本研究发现经 IGF-1、BMP-2、IGF-1 联合 BMP-2 治疗后大鼠血清中的钙、骨钙素、碱性磷酸酶及组织中 TGF- β 1 mRNA 明显升高,较糖尿病合并骨质疏松股骨骨折模型组高,表明 IGF-1 联合 BMP-2 提高了骨钙素浓度,促进了大鼠的股形成,其对骨折愈合有积极作用,可能是由于 IGF-1 可促进成骨细胞增殖、分化,成骨细胞在骨重建、骨形成的一个重要功能细胞,而糖尿病患者机体中缺乏 IGF-1,降低了骨形成的可能性及愈合速度;此外 BMP-2 是 BMP 家族中唯一可以独立诱导骨形成的因子,当给予 BMP-2 后,其可增加成骨细胞的自分泌及旁分泌,促进细胞外基质钙化,继而促进骨组织生长发育,因此通过补充 IGF-1、BMP-2 可以加速糖尿病合并骨质疏松股骨骨折大鼠的愈合。

总之,IGF-1 联合 BMP-2 可促进糖尿病合并骨质疏松股骨骨折大鼠中的骨折愈合,为临床糖尿病合并骨质疏松股骨骨折患者的加速愈合提供新的治疗靶点及思路。

参考文献 (References)

- [1] Joslin EP. THE PREVENTION OF DIABETES MELLITUS [J]. JAMA, 2021, 325(2): 190-190
- [2] Ambachew Y, Kahsay S, Tesfay R, et al. Prevalence of diabetes mellitus among patients visiting medical outpatient department of Ayder referral hospital, Mekelle, Ethiopia: A three years pooled data [J]. Int. J. Pharma Sci. Res, 2021, 6(2): 5
- [3] Wang C, Zhang T, Wang P, et al. Bone metabolic biomarker-based diagnosis of type 2 diabetes osteoporosis by support vector machine [J]. Ann. Transl. Med, 2021, 9(4): 316
- [4] AQH, A JY, Zhang G, et al. Sanhuang Jiangtang tablet protects type 2 diabetes osteoporosis via AKT-GSK3 β -NFATc1 signaling pathway by integrating bioinformatics analysis and experimental validation[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 273(7): 113946
- [5] Chia-Mei LJ, Malini C, Darbinian JA, et al. Ethnicity, Ethnic Language, and Fracture Risk Conditions in Women Initiating Osteoporosis Therapy[J]. J. Endocr. Soc., 2021, 3(S1): A245
- [6] Chinipardaz Z, Liu M, Graves D, et al. Diabetes Impairs Fracture Healing Through Disruption Of Cilia Formation In Osteoblasts [J]. Bone, 2021, 153(A): 116176
- [7] Anastasilakis A D, Tsourdi E, Tabacco G, et al. The Impact of Antiosteoporotic Drugs on Glucose Metabolism and Fracture Risk in Diabetes: Good or Bad News?[J]. J. Clin. Med, 2021, 10(5): 996
- [8] Mekha M, Shivangi D, Harit B, et al. P142Fracture risk in diabetes: to FRAX or not to FRAX?[J]. Rheumatology, 2022, 61(S1): keac133.141
- [9] Ganesan C, Thomas I, Romero R, et al. Osteoporosis, Fractures, and Bone Mineral Density Screening in Veterans With Kidney Stone Disease[J]. J. Bone Miner. Res, 2021, 36(5): 1142-1144
- [10] Sheu A, Bliuc D, Tran T, et al. Fractures in type 2 diabetes confer excess mortality: The Dubbo osteoporosis epidemiology study [J]. Bone, 2022, 159(7): 116373
- [11] Julie-Catherine C, Lodie G, Leslie W D, et al. Prevalence of Vertebral Fractures in Adults With Type 1 Diabetes: DenSiFy Study (Diabetes Spine Fractures) [J]. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2022, 107(5): e1860-e1870
- [12] Farooqui K J, Mithal A, Kerwen A K, et al. Type 2 diabetes and bone

- fragility- An under-recognized association [J]. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 2021, 15(3): 927-935
- [13] Bhatti F, Dadwal UC, Valuch C R, et al. The Effects of High Fat Diet, Bone Healing, and BMP-2 Treatment on Endothelial Cell Growth and Function[J]. *Bone*, 2021, 146(5): 115883
- [14] Lli U, Zhang J, Zhang N, et al. POSC18 The Real-World Clinical Effectiveness of GLP-1 Receptor Agonist Liraglutide Among Patients with Type 2 Diabetes in China: Based on Existing Healthcare Data[J]. *Value in Health*, 2022, 25(1): S35-S36
- [15] Yang X, Liu Q, Fan Y, et al. Cardiovascular Risk Factor Status in Hospitalized Patients With Type 2 Diabetes in China [J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2021, 12(5): 664183
- [16] Deeba F, Younis S, Qureshi N, et al. Effect of Diabetes Mellitus and Anti-Diabetic Drugs on Bone Health-A Review [J]. *Journal of Bioresource Management*, 2021, 8(2): 131-148
- [17] Kumari C, Yagoub G, Ashfaq M, et al. Consequences of Diabetes Mellitus in Bone Health: Traditional Review[J]. *Cureus*, 2021, 13(3): 13820
- [18] Zhang J, Zong L, Bai D. Boeravinone B promotes fracture healing in ovariectomy-induced osteoporotic rats via the regulation of NF- κ B p65/I κ B- α /SIRT-1 signaling pathway [J]. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2021, 18(5): 955-960
- [19] Mi B, Xiong Y, Zhang C, et al. SARS-CoV-2-induced Overexpression of miR-4485 Suppresses Osteogenic Differentiation and Impairs Fracture Healing [J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2021, 17(5): 1277-1288
- [20] Park D, Kitaura Y, Dean T, et al. Therapeutic Potentials of Dimeric Cys25PTH (1-34) Peptide for Osteoporosis and Fracture Healing of the Bones- Buy One, Get One Free [J]. *Journal of the Endocrine Society*, 2021, 5(S1): A240-A240
- [21] Inoue S, Takito J, Nakamura M. Site-Specific Fracture Healing: Comparison between Diaphysis and Metaphysis in the Mouse Long Bone [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(17): 9299
- [22] Pan FF, Shao J, Shi C J, et al. Apigenin promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and accelerates bone fracture healing via activating Wnt/ β -catenin signaling [J]. *AJP Endocrinology and Metabolism*, 2021, 320(4): 1141-1143
- [23] Chalikias S, Papaioannou N, Koundis G, et al. Evaluation of Femoral Bone Fracture Healing in Rats by the Modal Damping Factor and Its Correlation With Peripheral Quantitative Computed Tomography[J]. *Cureus*, 2021, 13(2): 1045-1048
- [24] Ding L, Yin Y, Hou Y, et al. microRNA-214-3p Suppresses Ankylosing Spondylitis Fibroblast Osteogenesis via BMP-TGF β Axis and BMP2[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2021, 11(3): 445-447
- [25] Schoonraad SA, Trombold ML, Bryant SJ. The Effects of Stably Tethered BMP2 on MC3T3-E1 Preosteoblasts Encapsulated in a PEG Hydrogel[J]. *Biomacromolecules*, 2021, 22(3): 1065-1079
- [26] Xyt A, Zqd A, Dfs A, et al. An UHPLC-MS/MS method for simultaneous determination of ten sex steroid hormones in ovariectomy-induced osteoporosis rat and its application in discovery of sex steroid hormones regulatory components of Xian-Ling-Gu-Bao capsule[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2021, 195(20): 113888
- [27] Lu B, Zhang T, Yang F. "Bone" in the Brain? Osteocalcin-Expressing Neurons in Adult Hippocampus Promote Neurogenesis and Suppress Anxiety[J]. *Biological Psychiatry*, 2021, 89(6): 539-540
- [28] Ando E, Higashi S, Mizokami A, et al. Osteocalcin promotes proliferation, differentiation, and survival of PC12 cells [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2021, 557(6): 174-179
- [29] Stephen-Victor E, Cui Y, Wang Z, et al. Essential functions of regulatory T cell TGF- β 1 revealed by differential gene-targeting approaches[J]. *Immunity*, 2021, 54(3): 397-398
- [30] Passanha F R, Thomas G, Lapointe V. Cadherin-11 Influences Differentiation in Human Mesenchymal Stem Cells by Regulating the Extracellular Matrix Via the TGF β 1 Pathway[J]. *Stem Cells*, 2022, 40(7): 669-677