

· 论著 ·

双膦酸盐联合降糖药对 2 型糖尿病合并骨质疏松症大鼠 BMP-2、TGF- β 1、IGF-1 的影响孙杨¹ 周多奇² 高玮^{3*} 杨素琴⁴

1.首都经济贸易大学体育部,北京 丰台 100070

2.安庆师范大学生命科学学院,安徽 安庆 246133

3.首都经济贸易大学校医院,北京 丰台 100070

4.北京市丰台区新村社区卫生服务中心全科,北京 丰台 100070

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2020) 10-1410-06

摘要: **目的** 观察研究双膦酸盐联合降糖药对 2 型糖尿病合并骨质疏松症大鼠 BMP-2、TGF- β 1 和 IGF-1 表达的影响,以探讨其防治 DOP 的作用机制。**方法** 60 只雌性 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、双膦酸盐组、降糖药组、联合组,构建 2 型糖尿病合并骨质疏松症大鼠动物模型并予不同药物干预。分别检测糖代谢、骨密度和骨生物力学指标;RT-PCR 和免疫组化分别检测骨组织 BMP-2、TGF- β 1、IGF-1 mRNA 和蛋白表达。**结果** 双膦酸盐组、降糖药组、联合组血清 FPG、2hBPG、HbA1c 较模型组均显著降低 ($P<0.05$);双膦酸盐组、降糖药组、联合组血清 FINS 较模型组显著升高 ($P<0.05$)。双膦酸盐组、降糖药组、联合组骨组织 BMC 和骨生物力学指标较模型组均显著升高 ($P<0.05$)。双膦酸盐组、降糖药组、联合组骨组织 BMP-2、TGF- β 1、IGF-1 mRNA 和蛋白表达较模型组均显著升高 ($P<0.05$)。**结论** 双膦酸盐联合降糖药可能通过调控 2 型糖尿病合并骨质疏松大鼠 BMP-2、TGF- β 1、IGF-1 表达,以改善糖代谢,增加骨密度和提高骨生物力学性能,发挥防治 DOP 作用。

关键词: 2 型糖尿病合并骨质疏松症;阿仑膦酸钠;二甲双胍;胰岛素样生长因子-1;转化生长因子- β 1;骨形态发生蛋白-2

Effects of bisphosphonate combined with hypoglycemic agents on BMP-2, TGF- β 1 and IGF-1 in type 2 diabetic mellitus with osteoporosis ratsSUN Yang¹, ZHOU Duoqi², GAO Wei^{3*}, YANG Suqin⁴

1. Department of Sports, Capital University of Economics and Business, Beijing 100070, China

2. School of Life Sciences, Anqing Normal University, Anqing 246133, China;

3. Department of School Clinic, Capital University of Economics and Business, Beijing 100070, China

4. Department of General Medicine, Beijing Fengtai District, Community Health Service Center, Beijing 100070, China

* Corresponding author; GAO Wei, Email: c18238268078@163.com

Abstract: Objective To observe the effect of bisphosphonate combined with hypoglycemic agents on the expression of BMP-2, TGF- β 1 and IGF-1 in type 2 diabetic with osteoporosis rats, and to explore its mechanism of prevention and treatment of DOP. **Methods** 60 female SD rats were randomly divided into control group, model group, bisphosphonate group, hypoglycemic agent group, combined group, An animal model of type 2 diabetes mellitus complicated with osteoporosis was established and given different drug interventions. Glucose metabolism, bone mineral density and bone biomechanics were detected respectively, RT-PCR and immunohistochemistry were used to detect the expression of IGF-1, IRS-1 and IRS-2 mRNA and protein in bone tissue. **Results** The serum levels of FPG, 2hBPG and HbA1c in the bisphosphonate group, hypoglycemic group and combination group were significantly lower than the model group ($P<0.05$), The serum levels of FINS in the bisphosphonate group, hypoglycemic group, and combination group were significantly higher than the model group ($P<0.05$). The BMC and bone biomechanical index in the bisphosphonate group, hypoglycemic group, combined group were significantly higher than the model group ($P<0.05$). The mRNA and protein expression profiles of the bisphosphonate group, hypoglycemic group and combination group were significantly higher

* 通信作者: 高玮, Email: c18238268078@163.com

than the model group ($P < 0.05$). **Conclusion** Bisphosphonate combined with hypoglycemic agents may regulate the expression of BMP-2, TGF- β 1 and IGF-1 in type 2 diabetes mellitus with osteoporosis rats, improve glucose metabolism, increase bone density and improve bone biomechanical properties, and play a role in prevention and treatment of DOP effect.

Key words: type 2 diabetes with osteoporosis; alendronate; metformin; insulin-like growth factor-1; transforming growth factor- β ; bone morphogenetic protein-2

糖尿病合并骨质疏松症 (diabetes osteoporosis, DOP) 是指因各种原因引起胰岛素分泌绝对或相对不足导致慢性长期高血糖导致全身性骨组织显微结构受损、骨量减少、骨强度下降、骨脆性增加的一种代谢性疾病^[1]。骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是糖尿病的主要并发症之一^[2]。随着我国人口老龄化现象加剧,其发病率呈逐渐增长流行趋势,严重影响着人们的身体健康和生活质量。DOP 作为糖尿病的常见复合性疾病,其发病率高、致残率高的临床特点使其成为当今医学界研究的热点^[3]。因此,如何预防和延缓糖尿病患者发生骨质疏松尤为重要。本研究通过观察双膦酸盐联合降糖药物对 2 型糖尿病合并骨质疏松症大鼠 BMP-2, TGF- β 1, IGF-1 表达的影响,探讨其防治 DOP 的作用机理,从而为防治 DOP 提供新思路新方法。

1 材料和方法

1.1 实验材料

阿仑膦酸钠 (福善美, 70 mg, 默沙东制药有限公司), 盐酸二甲双胍片 (格华止, 0.5 g, 中美上海施贵宝制药有限公司), 血糖仪购于美国强生公司, 2000 型糖化血红蛋白检测仪购于德国拜耳公司, 双能 X 线骨密度仪器购于美国 NORLAND 公司, MTS-858 型电子万能生物力学材料试验机购于美国 MA 公司, 胰岛素 (INS) 试剂盒购于南京建成生物科技有限公司。兔抗鼠骨形态发生蛋白-2 (BMP-2)、转化生长因子- β 1 (TGF- β 1)、胰岛素样生长因子-1 (IGF-1) 多克隆抗体及生物素山羊抗兔 IgG 购于北京中杉金桥生物技术有限公司, RT-PCR 逆转录试剂盒购于美国 Promega 公司。

1.2 方法

1.2.1 实验动物及分组: 80 只 SPF 级健康 SD 大鼠, 雌性, 2.5 月鼠龄, 体重为 (190~225) g, 由首都医科大学动物实验中心提供, 饲养条件: 室内通风换气, 室温 (23.0 $\pm$ 2.5) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 55%~70%, 自由进食和饮水, 日光交替照射, 适应性饲养 1 周。按随机数字法分为: 对照组、模型组、阿仑膦酸钠组、二甲双胍组、联合组。对照组普通饲料常规饲养, 其余 4

组先给予高脂饲料喂养 6 周后改为普通饲料, 并均行 2 型糖尿病性骨质疏松症造模。

1.2.2 2 型糖尿病性骨质疏松症模型: 参考张燕等^[4]采用 STZ 造模联合双侧卵巢切除术构建 2 型糖尿病大鼠骨质疏松模型实验方法, 造模成功评价标准: 随机血糖 ≥ 300 mg/dL (16.7 mmol/L) 或空腹血糖 ≥ 10 mmol/L; 骨密度 (BMC) 峰值减少 ≥ 2.5 SD (标准差)。80 只 SD 大鼠造模成功 60 只, 造模成功率 75%。

1.2.3 药物处理与干预: 参考人与动物体表面积等效剂量比值, 和《药理实验方法学》(第 4 版)^[5], 换算成大鼠给药剂量。对照组和模型组予 0.9% NaCl 灌胃, 阿仑膦酸钠组: 阿仑膦酸钠灌胃, 二甲双胍组: 盐酸二甲双胍, 灌胃, 联合组: 阿仑膦酸钠联合盐酸二甲双胍, 灌胃, 连续给药 6 周。

1.2.4 标本取材: 实验结束时, 尾静脉采血, 检测血糖指标; 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉后, 采用急性大失血法处死大鼠, 收集血标本, 离心, 收集血清, 于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。逐层剥离大鼠右股骨, 以 0.9% NaCl 湿纱布和锡箔纸包裹, 液氮冻透, -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用; 另取部分股骨 4% 多聚甲醛固定 24 h, 15% 乙二胺四乙酸 (EDTA) 脱钙 14 d, 制备石蜡切片, 保存备用。

1.2.5 糖代谢参数: 采用全自动生化分析仪检测空腹血糖 (FPG)、餐后 2 h 血糖 (2hBPG)、糖化血红蛋白 (HbA1c), 采用放射免疫法检测空腹胰岛素 (FINS), 严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.2.6 检测骨组织骨密度和骨生物力学指标: 取出右侧股骨, 采用 LUNAR 双能 X 线吸收扫描仪检测, 应用软件分析计算骨密度值。采用 MTS-858 型电子万能生物力学材料试验机进行三点弯曲力学试验, 记录载荷-变形曲线, 计算最大载荷、最大应力和刚度。

1.2.7 RT-qPCR 检测骨组织 BMP-2、TGF- β 1、IGF-1 mRNA 表达: 取骨组织 50 mg 加入 1 mL Trizol 于液氮下充分研磨, 加入氯仿 0.2 mL, 参照 Trizol RNA 提取试剂说明书提取总 RNA, 检测 RNA 浓度及纯度, 加入反转录引物, 反转录合成 cDNA。加入相应 PCR 反应扩增体系 (25 μL), PCR 热循环仪扩增, 扩

增条件:96 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 30 s,50 ℃ 退火 30 s,70 ℃ 延伸 30 s,45 次循环扩增。SDS 聚丙

烯酰胺凝胶电泳,图像分析软件分析条带密度,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因的相对表达量。引物设计见表 1。

表 1 RT-PCR 扩增引物序列

Table 1 RT-PCR amplification primer sequence

基因	引物长度(bp)	引物序列(5'-3')
BMP-2	165 bp	上游引物:5'-GAAAACAGCAGCAGTGACC-3' 下游引物:5'-GGTGGCGTTCATGTAGGAGT-3'
TGF- β 1	242 bp	上游引物:5'-TGGGCACTGCTAGAGCCTAT-3' 下游引物:5'-GCGGAGATCCATACAAAGGA-3'
IGF-1	153 bp	上游引物:5'-CCGCTCAAGCCTACAAAGTC-3' 下游引物:5'-GGGAGGCTCCTCTACATTC-3'
β -actin	303 bp	上游引物:5'-ACGGTCAGGTCATCACTATC-3' 下游引物:5'-TAGAGCCACCAATCCACAC-3'

1.2.8 免疫组化检测骨组织 BMP-2、TGF- β 1、IGF-1 蛋白表达:严格按照试剂盒说明书操作,分别加入一抗 BMP-2(1:200)、TGF- β 1(1:200)和 IGF-1(1:200),二抗生物素化山羊抗兔 IgG(1:200),光学显微镜观察并采集图片,胞浆被染成棕黄色或棕色为阳性。Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件分析,染色结果采用平均光密度值(OD)表示。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 20.0 软件进行分析,实验数据采用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,统计学分析采用单因素方差分析,组间比较采用 SNK 法, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 糖代谢指标

模型组血清 FPG、2hBPG、HbA1c、FINS 较对照组均显著升高($P<0.05$),双膦酸盐组、降糖药组、联合组血清 FPG、2hBPG、HbA1c、FINS 较模型组均显著降低($P<0.05$),以联合组最低。模型组血清 FINS 较对照组显著降低($P<0.05$),双膦酸盐组、降糖药组、联合组血清 FINS 较模型组显著升高($P<0.05$),以联合组最高。见表 2。

表 2 各组大鼠糖代谢指标比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of glucose metabolism indicators in each group rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	FPG/(mmol/L)	2hBPG/(mmol/L)	HbA1c/(%)	FINS/(mIU/L)
对照组	12	5.32 $\pm$ 0.74	9.33 $\pm$ 0.63	6.41 $\pm$ 0.84	24.85 $\pm$ 1.63
模型组	12	17.35 $\pm$ 0.56*	25.23 $\pm$ 2.52*	12.15 $\pm$ 1.22*	10.04 $\pm$ 1.14*
双膦酸盐组	12	10.23 $\pm$ 1.07 Δ	18.25 $\pm$ 1.68 Δ	7.24 $\pm$ 0.61 Δ	17.13 $\pm$ 1.47 Δ
降糖药组	12	9.24 $\pm$ 0.78 Δ	16.06 $\pm$ 1.42 Δ	6.89 $\pm$ 0.70 Δ	19.62 $\pm$ 1.52 Δ
联合组	12	9.01 $\pm$ 1.08 Δ	12.91 $\pm$ 1.26 Δ	6.22 $\pm$ 0.51 Δ	22.55 $\pm$ 1.45 Δ

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较, $\Delta P<0.05$ 。

2.2 骨组织骨密度和骨生物力学指标

模型组股骨骨密度、最大载荷、最大应力和刚度较对照组均显著降低($P<0.05$),双膦酸盐组、降糖

药组、联合组股骨骨密度、最大载荷、最大应力和刚度较模型组均显著升高($P<0.05$),以联合组最高。见表 3。

表 3 各组大鼠骨组织骨密度和骨生物力学指标比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of bone mineral density and bone biomechanical indexes of bone tissue in each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	骨密度/(g/cm ²)	最大载荷/(N)	最大应力/(MPa)	刚度/(N/mm)
对照组	12	0.205 $\pm$ 0.012	128.946 $\pm$ 20.435	38.346 $\pm$ 10.357	240.563 $\pm$ 30.446
模型组	12	0.148 $\pm$ 0.005*	78.202 $\pm$ 12.127*	19.723 $\pm$ 3.134*	155.517 $\pm$ 20.624*
双膦酸盐组	12	0.183 $\pm$ 0.010 Δ	115.309 $\pm$ 16.825 Δ	35.248 $\pm$ 9.655 Δ	210.381 $\pm$ 26.296 Δ
降糖药组	12	0.179 $\pm$ 0.008 Δ	107.515 $\pm$ 16.360 Δ	33.520 $\pm$ 9.261 Δ	202.782 $\pm$ 25.545 Δ
联合组	12	0.196 $\pm$ 0.010 Δ	121.246 $\pm$ 20.507 Δ	37.626 $\pm$ 10.240 Δ	236.245 $\pm$ 28.813 Δ

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较, $\Delta P<0.05$ 。

2.3 骨组织 BMP-2、TGF- β 1、IGF-1 mRNA 表达

模型组骨组织 BMP-2、TGF- β 1、IGF-1 mRNA 表达较对照组均显著降低 ($P<0.05$), 双膦酸盐组、降

糖药组、联合组骨组织 BMP-2、TGF- β 1、IGF-1 mRNA 表达较模型组均显著升高 ($P<0.05$), 以联合组最高。见表 4。

表 4 各组大鼠骨组织 BMP-2、TGF- β 1、IGF-1 mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of BMP-2, TGF- β 1 and IGF-1 mRNA expression in bone tissue of rats in each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	BMP-2	TGF- β 1	IGF-1
对照组	12	1.000	1.000	1.000
模型组	12	0.484 $\pm$ 0.058 [*]	0.607 $\pm$ 0.048 [*]	0.559 $\pm$ 0.055 [*]
双膦酸盐组	12	0.775 $\pm$ 0.048 Δ	0.854 $\pm$ 0.055 Δ	0.829 $\pm$ 0.073 Δ
降糖药组	12	0.754 $\pm$ 0.052 Δ	0.816 $\pm$ 0.060 Δ	0.803 $\pm$ 0.065 Δ
联合组	12	0.912 $\pm$ 0.045 Δ	0.894 $\pm$ 0.058 Δ	0.926 $\pm$ 0.075 Δ

注:与对照组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较, $\Delta P<0.05$ 。

2.4 骨组织 BMP-2、TGF- β 1、IGF-1 蛋白表达

模型组骨组织 BMP-2、TGF- β 1、IGF-1 蛋白表达较对照组均显著降低 ($P<0.05$), 双膦酸盐组、降糖

药组、联合组骨组织 BMP-2、TGF- β 1、IGF-1 蛋白表达较模型组均显著升高 ($P<0.05$), 以联合组最高。见图 1、图 2、图 3 和表 5。

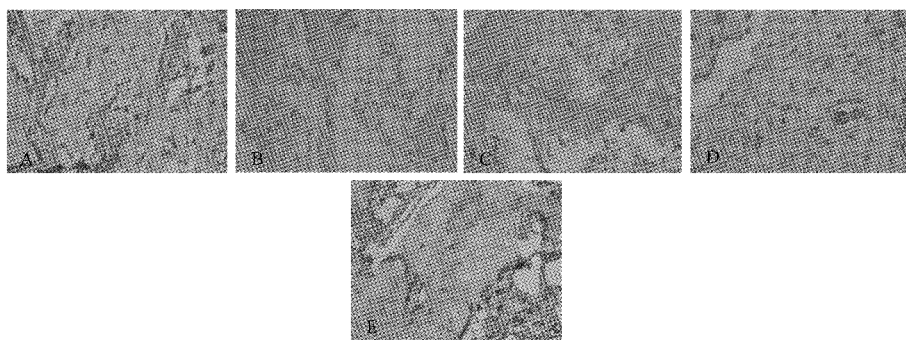


图 1 各组大鼠骨组织 BMP-2 表达 (400 $\times$)

注:A 对照组;B 模型组;C 双膦酸盐组;D 降糖药组;E 联合组;注:A 对照组;B 模型组;C 双膦酸盐组;D 降糖药组;E 联合组

Fig.1 BMP-2 expression in bone tissue of rats in each group (400 $\times$)

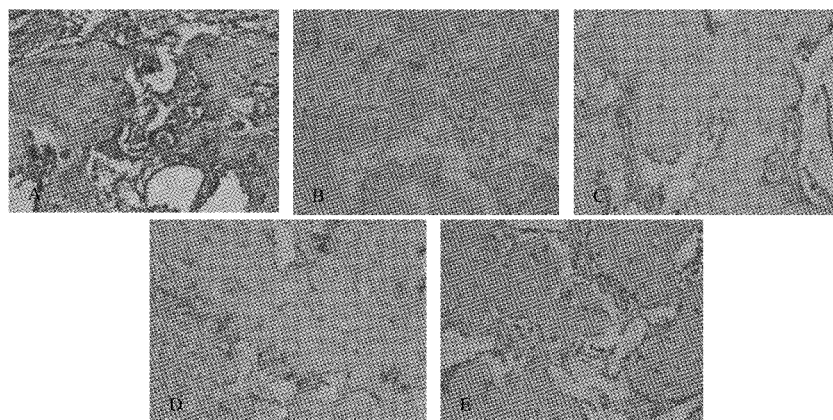


图 2 各组大鼠骨组织 TGF- β 1 表达 (400 $\times$)

注:A 对照组;B 模型组;C 双膦酸盐组;D 降糖药组;E 联合组

Fig.2 TGF- β 1 expression in bone tissue of each group (400 $\times$)

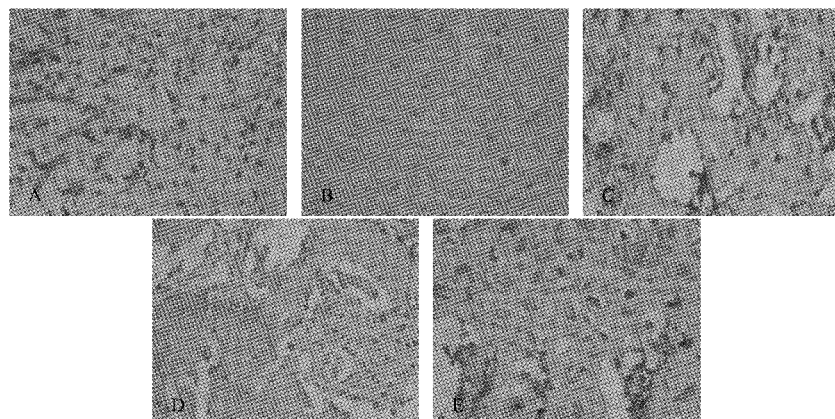


图 3 各组大鼠骨组织 IGF-1 表达(400×)

Fig.3 IGF-1 expression in bone tissue of rats in each group (400×)

表 5 各组大鼠骨组织 BMP-2、TGF-β1、IGF-1 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)Table 5 Comparison of BMP-2, TGF-β1, IGF-1 protein expression in bone tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BMP-2	TGF-β1	IGF-1
对照组	12	0.285±0.015	0.420±0.022	0.234±0.016
模型组	12	0.164±0.011*	0.225±0.013*	0.165±0.012*
双膦酸盐组	12	0.233±0.012^	0.342±0.018^	0.220±0.013^
降糖药组	12	0.228±0.013^	0.327±0.016^	0.223±0.012^
联合组	12	0.260±0.012^	0.378±0.015^	0.236±0.015^

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,^ $P<0.05$ 。

3 讨论

目前 DOP 的发病机制尚未完全阐明,除了性别、年龄、遗传、DM 病程、体质等基本因素以外,还包括 INS 不足和(或)敏感性下降、高血糖、血清甲状旁腺素、骨钙素、高脂血症和性激素等因素^[6]。近年研究发现 BMP-2、TGF-β1、IGF-I 在 DOP 发病机制中起重要作用^[7]。BMP-2 被认为是最强的骨诱导分化因子,能够诱导未分化的间充质细胞分化为成熟软骨细胞和成骨细胞,促进成骨细胞分化和成骨因子的表达^[8-9]。TGF-β1 属于 TGF-β 超家族成员之一,不仅可促进骨和软骨的形成,而且还可以控制间充质细胞、成骨细胞和成软骨细胞分化,对于骨的修复与保护发挥重要作用^[10]。IGF 是一种结构类似胰岛素的多肽,与糖代谢和骨代谢密切相关^[11]。IGF-I 不仅可以刺激骨细胞分化、增殖与代谢,而且也参与抑制胶原酶合成,减少胶原降解,促进骨基质合成与矿化^[12]。

目前临床对于防治 DOP 包括治疗糖尿病原发病和改善骨质疏松症状,针对糖尿病主要以控制血糖,减少及延缓并发症为主;针对骨质疏松主要以抑制骨吸收、降低骨转换和促进骨形成两大类药物干预^[13]。本研究通过观察双膦酸盐联合降糖药物对

2 型糖尿病合并骨质疏松症大鼠 BMP-2、TGF-β1、IGF-1 表达的影响,结果表明双膦酸盐组、降糖药组、联合组糖代谢指标较模型组均显著改善($P<0.05$),双膦酸盐组、降糖药组、联合组骨组织骨密度和骨生物力学指标较模型组均显著升高($P<0.05$),双膦酸盐组、降糖药组、联合组骨组织 BMP-2、TGF-β1 和 IGF-1 mRNA 和蛋白表达较模型组均显著升高($P<0.05$)。分析其作用机制可能为阿仑膦酸钠联合二甲双胍通过调控 2 型糖尿病合并骨质疏松大鼠相关细胞因子 BMP-2、TGF-β1、IGF-1 表达,以改善糖代谢,增加骨密度,提高骨生物力学性能。同样,黄樱等^[14]研究表明二甲双胍增加了阿仑膦酸钠治疗绝经后骨质疏松症合并 2 型糖尿病的临床疗效,提高骨密度、改善骨代谢指标和降低 VAS 评分。孙国庆等^[15]研究显示 DOP 患者使用阿仑膦酸钠联合二甲双胍治疗,可有效改善其骨代谢及骨密度水平。黄锰等^[16]研究表明二甲双胍联合阿仑膦酸钠治疗 DOP 患者,可降低患者糖代谢 FPG、HbA1c 水平,改善骨代谢指标 ALP、BGP、TRAP-5b、s-CTX 水平,提高骨密度。阿仑膦酸钠可有效抑制人体内破骨细胞与成骨细胞的活性,抑制骨吸收和降低骨转换,同时具有抑制糖吸收,促进糖分解作用。二甲双胍控制血糖的同时,提高成骨细胞活性,

改善其骨密度及成骨过程,两者联合应用于 DOP,可同时改善其血糖及骨代谢水平,发挥有效防治 DOP 作用。

综上所述,本研究初步认为阿仑膦酸钠联合二甲双胍可能通过调控激活 2 型糖尿病合并骨质疏松大鼠相关细胞因子 BMP-2、TGF- β 1 和 IGF-1 的表达,改善糖代谢,增加骨密度,提高骨生物力学性能,从而发挥 DOP 的防治作用。本研究结果为我们后续研究留下了广阔的研究空间,但具体详细作用机制还有待我们进一步深入研究,相信随着对此展开深入研究,将会为推动防治 DOP 研究进展提供新思路和新方法。

【参 考 文 献】

- [1] Parizad N, Baghi V, Karimi EB, et al. The prevalence of osteoporosis among Iranian postmenopausal women with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis[J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2019, 13(4):2607-2612.
- [2] Kurra S, Fink DA, Siris ES. Osteoporosis-associated fracture and diabetes[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2014, 43(1):233-243.
- [3] 杨一峰,李艳波. 2 型糖尿病并发骨质疏松症的相关因素[J]. *医学综述*, 2018, 24(8):1586-1595.
- [4] 张燕,杨秋萍,赵燕,等. 2 型糖尿病大鼠骨质疏松模型的建立[J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(40):6041-6047.
- [5] 魏伟,吴希美,李元建. 药理实验方法学(第 4 版)[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:1439-1442.
- [6] 熊雪松,余显霞. 2 型糖尿病与骨质疏松症相关性研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23(1):130-135.
- [7] Buarque de Gusmão CV, Batista NA, Vidotto Lemes VT, et al. Effect of low-intensity pulsed ultrasound stimulation, extracorporeal shockwaves and radial pressure waves on Akt, BMP-2, ERK-2, FAK and TGF- β 1 during bone healing in rat tibial defects[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2019, 45(8):2140-2161.
- [8] Kim S, Lee S, Kim K. Bone Tissue engineering strategies in co-delivery of bone morphogenetic protein-2 and biochemical signaling factors[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1078:233-244.
- [9] Liporace FA, Breitbart EA, Yoon RS, et al. The effect of locally delivered recombinant human bone morphogenetic protein-2 with hydroxyapatite/tri-calcium phosphate on the biomechanical properties of bone in diabetes-related osteoporosis[J]. *J Orthop Traumatol*, 2015, 16(2):151-159.
- [10] Asparuhova MB, Caballé-Serrano J, Buser D, et al. Bone-conditioned medium contributes to initiation and progression of osteogenesis by exhibiting synergistic TGF- β 1/BMP-2 activity[J]. *Int J Oral Sci*, 2018, 10(2):20.
- [11] Ardawi MS, Akhbar DH, Alshaikh A, et al. Increased serum sclerostin and decreased serum IGF-1 are associated with vertebral fractures among postmenopausal women with type-2 diabetes[J]. *Bone*, 2013, 56(2):355-62.
- [12] Gao ST, Lv ZT, Zhou CK, et al. Association between IGF-1 polymorphisms and risk of osteoporosis in Chinese population: a meta-analysis[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2018, 19(1):141.
- [13] Eiken P, Vestergaard P. Treatment of osteoporosis after alendronate or risedronate[J]. *Osteoporos Int*, 2016, 27(1):1-12.
- [14] 黄樱,袁琳,赵东波,等. 二甲双胍联合阿仑膦酸钠治疗骨质疏松症合并 2 型糖尿病的临床疗效[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2018, 24(10):1328-1331.
- [15] 孙国庆. 阿仑膦酸钠联合二甲双胍应用于 2 型糖尿病合并骨质疏松患者的效果及对骨代谢的影响[J]. *海峡药学*, 2019, 31(6):85-87.
- [16] 黄钰,盛志峰,冯瑞,等. 阿仑膦酸钠联合降糖药物对糖尿病合并骨质疏松患者的治疗效果及对相关代谢指标的影响[J]. *中国临床医生杂志*, 2018, 46(4):424-426.

(收稿日期: 2019-11-13;修回日期: 2019-12-30)