

DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20200729

· 论 著 ·

不同剂量二甲双胍对1型糖尿病患者骨代谢生化指标的影响

马玉萍, 吕海宏*, 徐霞, 刘纯华, 谈娇娇, 王晨怡, 李倩

兰州大学第一医院内分泌科, 兰州 730000

[摘要] **目的** 观察使用不同剂量二甲双胍联合胰岛素与单纯使用胰岛素治疗对1型糖尿病患者骨代谢相关生化指标的影响, 探讨二甲双胍对骨代谢的作用。**方法** 本研究为回顾性研究, 将128例成年1型糖尿病患者按照治疗方法分为观察组(67例)与对照组(61例), 其中观察组使用二甲双胍联合胰岛素控制血糖, 对照组单纯使用胰岛素控制血糖。收集两组患者治疗前及连续治疗72周后血糖、糖化血红蛋白、25-羟维生素D [25(OH)D]、骨特异性碱性磷酸酶(BALP)、氨基端中分子片段骨钙蛋白(N-MID OC)、血清钙、血清磷、尿钙/肌酐比值、腰椎骨密度等资料, 分析使用二甲双胍联合胰岛素控制血糖对患者骨代谢的影响。将观察组患者依据使用二甲双胍的剂量分为低剂量(0.5 g/d)组(20例)、中剂量(1.0 g/d)组(23例)和高剂量(1.5 g/d)组(24例), 分析不同剂量二甲双胍对患者骨代谢指标的影响。**结果** 治疗前, 观察组与对照组血糖、糖化血红蛋白及骨代谢相关指标差异均无统计学意义($P > 0.05$)。治疗72周后, 两组血糖和糖化血红蛋白均较治疗前下降($P < 0.05$), 但两组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。观察组患者治疗后BALP、N-MID OC及腰椎骨密度均较治疗前升高且高于对照组治疗后($P < 0.05$), 25(OH)D、血清钙、血清磷、尿钙/肌酐比值与治疗前及对照组治疗后相比差异无统计学意义($P > 0.05$); 对照组患者腰椎骨密度及骨代谢相关指标与治疗前比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。在观察组患者中, 治疗后二甲双胍高剂量组BALP、N-MID OC均高于中剂量组及低剂量组($P < 0.01$)。多元线性回归分析显示, 二甲双胍剂量与BALP($\beta = 0.266, P = 0.035$)、N-MID OC($\beta = 0.355, P = 0.008$)具有正相关关系, 与尿钙/肌酐比值($\beta = -0.296, P = 0.026$)具有负相关关系。**结论** 使用二甲双胍联合胰岛素控制血糖对1型糖尿病患者骨组织有一定的保护作用, 可能有助于预防糖尿病性骨质疏松症。

[关键词] 1型糖尿病; 二甲双胍; 骨代谢生化标志物; 骨密度

[中图分类号] R 587.1; R 681.4

[文献标志码] A

[文章编号] 2097-1338(2022)02-0130-07

Effects of different doses of metformin on biochemical parameters of bone metabolism in patients with type 1 diabetes mellitus

MA Yu-ping, LÜ Hai-hong*, XU Xia, LIU Chun-hua, TAN Jiao-jiao, WANG Chen-yi, LI Qian

Department of Endocrinology, The First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu, China

[Abstract] **Objective** To observe the effects of different doses of metformin combined with insulin and insulin alone on bone metabolism-related biochemical parameters in patients with type 1 diabetes mellitus, and to explore the effect of metformin on bone metabolism. **Methods** In this retrospective study, 128 adult patients with type 1 diabetes mellitus were assigned to observation group or control group according to the treatment methods. Among them, 67 patients in the observation group were treated with metformin combined with insulin to control blood glucose, while 61 patients in the control group were treated with insulin alone. Blood glucose, glycosylated hemoglobin, 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D), bone specific alkaline phosphatase (BALP), N-terminal mid-fragment of osteocalcin (N-MID OC), serum calcium, serum phosphorus, urinary calcium to creatinine ratio and lumbar vertebra bone mineral density (BMD) were collected before and after treatment for 72 weeks in the 2 groups to analyze the effect of metformin combined with insulin on bone metabolism. According to the dose of metformin, the patients in the observation group were divided into low-dose (0.5 g/d) group ($n = 20$), medium-dose (1.0 g/d) group ($n = 23$) and high-dose (1.5 g/d) group ($n = 24$). The effects of different doses of metformin on bone metabolism parameters of patients were analyzed. **Results** Before treatment, there were no significant differences in blood glucose, glycosylated hemoglobin or bone metabolism-related parameters between the observation group and the control group (all $P > 0.05$). After 72 weeks of treatment, blood glucose and glycosylated hemoglobin in the 2 groups were significantly lower than those before treatment (all $P < 0.05$), but there was no significant difference between the 2 groups (both $P > 0.05$). After treatment, BALP, N-MID OC and lumbar vertebra BMD in the observation group were higher than

[收稿日期] 2020-05-15 **[接受日期]** 2021-02-03

[作者简介] 马玉萍, 硕士生. E-mail: yuping@126.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 0931-8356242, E-mail: haihonglv@126.com

those before treatment and those after treatment in the control group (all $P < 0.05$), while 25(OH)D, serum calcium, serum phosphorus and urinary calcium to creatinine ratio had no significant differences compared with those before treatment or those in the control group (all $P > 0.05$). In the control group, there were no significant differences in lumbar vertebra BMD or bone metabolism-related parameters before and after treatment (all $P > 0.05$). In the observation group, BALP and N-MID OC in the high-dose group were significantly higher than those in the medium-dose group and low-dose group after treatment (all $P < 0.01$). Multiple linear regression analysis showed that metformin dose was positively correlated with BALP ($\beta = 0.266$, $P = 0.035$) and N-MID OC ($\beta = 0.355$, $P = 0.008$), and negatively correlated with urinary calcium to creatinine ratio ($\beta = -0.296$, $P = 0.026$). **Conclusion** Metformin used for controlling glucose in patients with type 1 diabetes mellitus has a protective effect on bone tissue, and may inhibit the occurrence of osteoporosis.

[**Key words**] type 1 diabetes mellitus; metformin; biochemical markers of bone metabolism; bone mineral density

[Acad J Naval Med Univ, 2022, 43(2): 130-136]

1型糖尿病是由于环境、遗传、自身免疫等因素导致胰岛 β 细胞破坏,致使胰岛素绝对缺乏而引起的一种疾病,该类患者主要通过注射胰岛素来控制血糖^[1]。研究显示,1型糖尿病患者可发生骨代谢指标及骨密度变化,甚至存在骨几何微结构改变,因此其骨抗弯曲及扭转载荷能力下降,发生骨质疏松及骨折的概率较正常人大大增高^[2]。有研究认为1型糖尿病患者体内胰岛素缺乏,使胰岛素与促进骨形成的因子甲状旁腺激素及胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)的协同作用下降,影响成骨前体细胞和骨细胞的增殖、分化及基质合成^[3]。胰岛素缺乏还影响维生素D的代谢,导致骨量降低^[4]。此外,高血糖导致的氧化应激可直接影响成骨细胞和破骨细胞,打破骨重建平衡;高血糖环境也可能引起血管病变、减少骨骼血液供应而引起骨代谢异常^[5]。

二甲双胍是治疗2型糖尿病的常用药物,有研究发现其用于1型糖尿病患者中可以改善胰岛素的敏感性,同时减少胰岛素使用剂量,因此可与胰岛素联合使用治疗1型糖尿病^[6]。二甲双胍除具有控制血糖、抑制血糖大幅波动的作用^[7]外,对骨代谢亦有一定的作用。Kanazawa等^[8]认为二甲双胍对骨代谢的影响主要通过促进骨形成及抑制骨吸收发挥作用,其可通过激活腺苷一磷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)信号途径激活骨转录因子Runx2,促进成骨细胞增殖和分化;Takeno等^[9]发现二甲双胍可降低同型半胱氨酸水平,抑制其诱导的骨细胞凋亡,发挥骨保护作用;Liu等^[10]发现二甲双胍通过上调骨保护素的表达抑制核因子 κ B受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor κ B ligand, RANKL)信号通路,继而

抑制破骨细胞分化;亦有研究认为二甲双胍可逆转高血糖及晚期糖基化终末产物对骨的直接损害作用,保护骨组织^[11-13]。目前关于二甲双胍在2型糖尿病患者骨质疏松中的作用研究较多,而其对1型糖尿病患者骨代谢及骨密度影响的报道较少。本研究观察使用不同剂量二甲双胍联合胰岛素与单纯使用胰岛素治疗对1型糖尿病患者骨代谢相关生化指标和骨密度的影响,探讨二甲双胍对1型糖尿病患者骨代谢的作用。

1 资料和方法

1.1 研究对象 本研究为回顾性研究,选取2014年1月至2019年5月兰州大学第一医院收治的1型糖尿病患者作为研究对象。纳入标准:(1)符合WHO制定的1型糖尿病诊断标准^[14];(2)年龄 ≥ 18 岁;(3)意识清醒,能正常活动,理解能力正常;(4)近3个月未使用过二甲双胍或其他口服降糖药;(5)临床资料完整。排除标准:(1)诊断为2型糖尿病或其他特殊类型糖尿病;(2)患有严重肝、肾功能不全;(3)患有影响骨代谢的疾病(如多发性骨髓瘤、甲状腺疾病、甲状旁腺疾病、自身免疫性疾病等)或近期骨折;(4)近6个月有影响骨代谢指标的特殊用药史(如糖皮质激素、抗肿瘤药物、环孢素A、钙剂、双膦酸盐等)。共128例患者符合纳入和排除标准,其中67例采用胰岛素联合二甲双胍治疗,设为观察组;61例采用单纯胰岛素治疗,设为对照组。为了分析不同剂量二甲双胍对患者骨代谢相关指标的影响,观察组患者依据使用二甲双胍的剂量分为低剂量(0.5 g/d)组(20例)、中剂量(1.0 g/d)组(23例)和高剂量(1.5 g/d)组(24例)。本研究经兰州大学第一医院伦理委员会审批,通过电话随访方

式告知所有患者及其家属使用其临床检查及治疗数据用于非利益学术出版,获得知情同意。

1.2 治疗方法 通过回顾性查阅住院及门诊资料获得患者治疗方法。对照组患者均采用单纯胰岛素皮下注射降糖治疗,起始剂量为0.5~1.0 IU/kg,根据血糖变化调整胰岛素用量。观察组患者除按对照组方案使用胰岛素外还加用二甲双胍治疗,二甲双胍剂量为0.5~1.5 g/d,二甲双胍使用时间至少72周,使用过程中连续停用时间不超过1周,合计停用时间不超过1个月。

1.3 观察指标 收集两组患者的人口学资料,以及治疗前及连续治疗72周后的空腹血糖、餐后2 h血糖、糖化血红蛋白、25-羟维生素D [25-hydroxyvitamin D, 25(OH)D]、骨特异性碱性磷酸酶(bone specific alkaline phosphatase, BALP)、氨基端中分子片段骨钙蛋白(N-terminal mid-fragment of osteocalcin, N-MID OC)、血清钙、血清磷、尿钙/肌酐比值及腰椎骨密度等资料。25(OH)D、BALP、N-MID OC、血清钙、血清磷及尿钙/肌酐比值使用美国Beckman Coulter公司AU5800临床化学分析仪测定,腰椎骨密度使用美国GE公司Lunar iDXA 双能X线骨密度仪测定。

1.4 统计学处理 采用SPSS 26.0软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析并采用最小显著性差异法进行多重比较,组内治疗前后比较采用配对 t 检验。计数资料以例数和百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用多元线性回归分析评估年龄、BMI、糖化血红蛋白、二甲双胍等对骨代谢相关指标的影响。检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 观察组与对照组患者治疗前后血糖及骨代谢相关指标的比较 由表1可见,观察组与对照组患者年龄、性别、病程、身高、体重、BMI、肾小球滤过率、游离三碘甲腺原氨酸、游离甲状腺素、促甲状腺激素等基线资料相似,具有可比性。由表2可见,观察组与对照组患者治疗前血糖、骨代谢生化指标及腰椎骨密度差异均无统计学意义(P 均 >0.05);两组患者治疗72周后空腹血糖、餐后2 h血糖、糖化血红蛋白均较治疗前下降(P 均 <0.05),但两组之间相比差异无统计学意义(P 均 >0.05);观察组患者治疗72周后

BALP、N-MID OC、腰椎骨密度均较治疗前升高且高于对照组治疗后(P 均 <0.05),25(OH)D、血清钙、血清磷、尿钙/肌酐比值与治疗前及对照组治疗后相比差异均无统计学意义(P 均 >0.05);对照组患者腰椎骨密度及骨代谢相关指标与治疗前比较差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。观察组患者中,有12例已诊断为骨质疏松症,治疗后腰椎骨密度Z值与治疗前相比差异无统计学意义(-2.32 ± 0.27 vs -2.48 ± 0.21 , $P=0.31$)。

表1 两组1型糖尿病患者的基线资料比较

Tab 1 Comparison of baseline data of patients with type 1 diabetes mellitus between 2 groups

Index	Observation group	Control group
	N=67	N=61
Age/year, $\bar{x} \pm s$	48.90 \pm 13.76	48.87 \pm 13.46
Male, n (%)	35 (52.2)	26 (42.6)
Course of disease/year, $\bar{x} \pm s$	6.30 \pm 3.10	7.20 \pm 2.80
Body height/cm, $\bar{x} \pm s$	165.54 \pm 7.94	166.52 \pm 7.78
Body weight/kg, $\bar{x} \pm s$	57.61 \pm 10.06	58.48 \pm 8.83
BMI/($\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$), $\bar{x} \pm s$	20.83 \pm 1.80	20.97 \pm 1.87
GFR/($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$), $\bar{x} \pm s$	121.18 \pm 30.99	116.09 \pm 30.27
FT ₃ /($\text{pmol} \cdot \text{L}^{-1}$), $\bar{x} \pm s$	3.24 \pm 1.29	3.40 \pm 1.20
FT ₄ /($\text{pmol} \cdot \text{L}^{-1}$), $\bar{x} \pm s$	27.93 \pm 10.68	28.06 \pm 10.55
TSH/($\text{mIU} \cdot \text{L}^{-1}$), $\bar{x} \pm s$	3.50 \pm 1.76	3.88 \pm 1.81

Observation group: The patients received insulin combined with metformin therapy; Control group: The patients received insulin alone therapy. BMI: Body mass index; GFR: Glomerular filtration rate; FT₃: Free triiodothyronine; FT₄: Free thyroxine; TSH: Thyroid-stimulating hormone.

2.2 不同剂量二甲双胍对患者骨代谢相关指标的影响 由表3可见,在观察组患者中,治疗72周后二甲双胍高剂量(1.5 g/d)组BALP、N-MID OC均高于中剂量(1.0 g/d)组及低剂量(0.5 g/d)组,差异均有统计学意义(P 均 <0.01);在二甲双胍不同剂量组之间,25(OH)D、血清钙、血清磷、尿钙/肌酐比值、腰椎骨密度差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。

2.3 骨代谢相关指标影响因素的多元线性回归分析 以年龄、BMI、餐后2 h血糖、糖化血红蛋白、肾小球滤过率、促甲状腺激素、二甲双胍作为自变量,25(OH)D、BALP、N-MID OC、血清钙、血清磷、尿钙/肌酐比值、腰椎骨密度作为因变量进行多元线性回归分析,结果(表4)显示,餐后2 h血糖($\beta=0.364$, $P=0.003$)、二甲双胍剂量($\beta=0.266$, $P=0.035$)与BALP具有正相关关系,二甲

双胍剂量与N-MID OC ($\beta=0.355, P=0.008$) 具有正相关关系, 二甲双胍剂量与尿钙/肌酐比值 ($\beta=$ $-0.296, P=0.026$) 具有负相关关系, 年龄与腰椎骨密度 ($\beta=-0.820, P<0.001$) 具有负相关关系。

表2 观察组与对照组1型糖尿病患者治疗前后血糖及骨代谢相关指标比较

Tab 2 Comparison of blood glucose and bone metabolism-related parameters of patients with type 1 diabetes mellitus between observation group and control group

Index	Before treatment		After treatment for 72 weeks	
	Observation group $n=67$	Control group $n=61$	Observation group $n=67$	Control group $n=61$
	$\bar{x} \pm s$			
FPG/(mmol·L ⁻¹)	11.98±3.08	10.95±3.03	8.92±2.33*	9.56±2.38*
2hPG/(mmol·L ⁻¹)	16.54±4.99	15.03±4.12	10.97±2.35*	11.40±2.28*
HbA1c/%	11.26±3.29	10.68±3.15	8.58±2.37*	9.05±2.26*
25(OH)D/(nmol·L ⁻¹)	42.69±16.41	38.68±17.12	44.32±16.95	40.80±17.47
BALP/(μg·L ⁻¹)	23.46±7.55	23.20±7.80	27.42±8.43*	21.99±7.43 ^{△△}
N-MID OC/(ng·mL ⁻¹)	14.62±6.11	15.69±6.87	19.50±7.25*	15.32±6.57 ^{△△}
Serum calcium/(mmol·L ⁻¹)	2.40±0.38	2.29±0.41	2.38±0.36	2.30±0.40
Serum phosphorus/(mmol·L ⁻¹)	1.44±0.34	1.55±0.32	1.42±0.31	1.49±0.33
Urinary Ca/Cr ^a	0.14±0.07	0.14±0.07	0.12±0.06	0.14±0.07
Lumbar vertebra BMD Z value	-1.54±0.78	-1.45±0.90	-1.23±0.89*	-1.59±0.82 [△]

Observation group: The patients received insulin combined with metformin therapy; Control group: The patients received insulin alone therapy. ^a: The ratio was calculated in ng/mL. * $P<0.05$ vs the same group before treatment; [△] $P<0.05$, ^{△△} $P<0.01$ vs observation group after treatment. FPG: Fasting blood glucose; 2hPG: 2 h postprandial blood glucose; HbA1c: Glycosylated hemoglobin; 25(OH)D: 25-hydroxyvitamin D; BALP: Bone specific alkaline phosphatase; N-MID OC: N-terminal mid-fragment of osteocalcin; Ca/Cr: Calcium to creatinine ratio; BMD: Bone mineral density.

表3 不同剂量二甲双胍对1型糖尿病患者骨代谢相关指标的影响

Tab 3 Effects of different doses of metformin on bone metabolism-related parameters of patients with type 1 diabetes mellitus

Index	Low-dose (0.5 g·d ⁻¹)	Medium-dose (1.0 g·d ⁻¹)	High-dose (1.5 g·d ⁻¹)	P value
	group $n=20$	group $n=23$	group $n=24$	
25(OH)D/(nmol·L ⁻¹)	41.71±18.78	46.38±16.80	44.53±15.91	0.672
BALP/(μg·L ⁻¹)	25.85±7.08	23.86±9.58	32.13±6.07** ^{△△}	0.001
N-MID OC/(ng·mL ⁻¹)	17.74±7.52	16.62±7.11	23.74±5.10** ^{△△}	0.001
Serum calcium/(mmol·L ⁻¹)	2.42±0.33	2.37±0.44	2.37±0.29	0.887
Serum phosphorus/(mmol·L ⁻¹)	1.38±0.33	1.41±0.34	1.45±0.25	0.789
Urinary Ca/Cr ^a	0.14±0.06	0.12±0.07	0.11±0.06	0.219
Lumbar vertebra BMD Z value	-1.17±0.99	-1.04±0.93	-1.45±0.76	0.292

^a: The ratio was calculated in ng/mL. ** $P<0.01$ vs low-dose group; ^{△△} $P<0.01$ vs medium-dose group. 25(OH)D: 25-hydroxyvitamin D; BALP: Bone specific alkaline phosphatase; N-MID OC: N-terminal mid-fragment of osteocalcin; Ca/Cr: Calcium to creatinine ratio; BMD: Bone mineral density.

表4 骨代谢相关指标影响因素的多元线性回归分析

Tab 4 Multiple linear regression analysis of influencing factors of bone metabolism-related parameters

Factor	25(OH)D		BALP		N-MID OC		Serum calcium		Serum phosphorus		Urinary Ca/Cr		Lumbar vertebra BMD	
	β	P value	β	P value	β	P value	β	P value	β	P value	β	P value	β	P value
Age	-0.068	0.613	0.040	0.745	-0.171	0.178	0.030	0.821	0.036	0.788	0.226	0.081	-0.820	<0.001
BMI	-0.112	0.410	-0.109	0.377	-0.051	0.690	-0.060	0.658	0.019	0.889	0.101	0.436	0.097	0.226
2hPG	-0.099	0.454	0.364	0.003	0.119	0.340	-0.114	0.393	0.122	0.365	0.096	0.449	-0.028	0.721
HbA1c	0.013	0.981	-0.014	0.905	-0.028	0.819	0.226	0.084	-0.165	0.208	0.114	0.355	0.080	0.292
GFR	0.132	0.317	0.101	0.398	0.097	0.435	-0.015	0.909	0.018	0.892	-0.095	0.449	-0.017	0.827
TSH	-0.146	0.270	-0.047	0.693	-0.015	0.901	0.033	0.802	-0.024	0.857	-0.091	0.468	-0.070	0.365
Metformin	0.095	0.488	0.266	0.035	0.355	0.008	0.005	0.973	0.040	0.772	-0.296	0.026	-0.117	0.149

BMI: Body mass index; 2hPG: 2 h postprandial blood glucose; HbA1c: Glycosylated hemoglobin; GFR: Glomerular filtration rate; TSH: Thyroid-stimulating hormone; 25(OH)D: 25-hydroxyvitamin D; BALP: Bone specific alkaline phosphatase; N-MID OC: N-terminal mid-fragment of osteocalcin; Ca/Cr: Calcium to creatinine ratio; BMD: Bone mineral density; β : Standardized regression coefficient.

3 讨论

近年来,糖尿病性骨质疏松症患病率逐年升高^[15]。研究表明,糖代谢受损及胰岛素缺乏对骨代谢有诸多不利影响,会导致糖尿病患者骨代谢生化指标及骨密度降低^[16]。体外高糖环境下培养成骨细胞实验显示,高糖可增加成骨细胞碱性磷酸酶活性和表达,降低骨钙蛋白、基质金属蛋白酶13、血管内皮生长因子和GAPDH表达;高血糖和高渗状态可增加过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 2表达,影响成骨细胞增殖与分化^[17]。高血糖还会增高人体内炎症细胞因子(如TNF- α 、IL-6、IL-8等)水平,同时上调RANKL表达,它们分别介导成骨细胞凋亡和破骨细胞生成^[18-19],而炎症因子在1型糖尿病早期升高较明显,因此上述炎症因子可能在抑制骨量积累中发挥作用^[20]。高血糖环境可产生大量晚期糖基化终末产物,干扰骨代谢,导致骨吸收增加,对骨骼产生负面影响^[21];高尿糖亦可引起渗透性利尿,使钙、磷等由尿中大量排出,导致钙磷代谢失调,从而引起继发性甲状旁腺功能亢进症,最终导致破骨细胞活性增强^[22]。胰岛素缺乏影响骨代谢及骨密度的变化,胰岛素与成骨细胞表面胰岛素受体结合后可促进骨细胞增殖,胰岛素缺乏时骨细胞增殖受到影响;胰岛素还可抑制腺苷酸环化酶活性,减少环磷酸腺苷合成,而环磷酸腺苷可通过抑制成骨标志物(如碱性磷酸酶、骨钙蛋白和I型胶原蛋白)而刺激骨吸收,减少骨钙盐沉积。1型糖尿病患者体内胰岛素缺乏,对腺苷酸环化酶的抑制作用减弱,导致环磷酸腺苷水平升高,骨吸收作用增强^[23]。总的来说,高糖环境下骨破坏大于骨形成,导致骨重建失衡,引起骨质疏松。

二甲双胍与胰岛素联合治疗可使1型糖尿病患者在控制血糖及减少胰岛素使用剂量方面明显获益。二甲双胍可抑制肝脏葡萄糖输出,刺激肌肉对葡萄糖的吸收,增加外周组织对胰岛素的敏感性,改善胰岛素抵抗,进而有效降低血糖^[24]。二甲双胍对成骨细胞与破骨细胞的代谢有一定的影响,其主要通过促进骨形成及抑制骨吸收发挥作用。Kanazawa等^[8]通过动物实验研究显示,二甲双胍可显著增加骨钙蛋白和I型胶原表达,提高碱性磷酸酶活性,并且可诱导内皮型一氧化氮合酶

(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)和骨形成蛋白2(bone morphogenetic protein 2, BMP-2)表达,促进骨细胞矿化;而AMPK抑制剂阿糖腺苷(adenine 9- β -D-arabinofuranoside, Ara-A)则可以使上述2种物质表达量明显降低。上述结果说明二甲双胍可激活AMPK信号通路,增加eNOS与BMP-2的表达,促进成骨细胞生成。另外,高血糖环境易产生大量晚期糖基化终末产物,后者抑制间充质干细胞增殖,诱导细胞凋亡,阻止同源细胞向脂肪组织、软骨和骨分化^[25];Schurman等^[11]通过实验证明,二甲双胍可拮抗晚期糖基化终末产物,通过下调晚期糖基化终末产物受体逆转其造成的骨损害作用。此外,Liu等^[10]研究表明,二甲双胍可降低RANKL的表达,减少破骨细胞数量,增加骨保护素阳性细胞数量,使RANKL/骨保护素比值降低,从而抑制破骨细胞分化,对骨代谢起正性调节作用。Ma等^[26]通过体外实验发现,二甲双胍通过抑制糖原合成酶激酶3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β)活性,影响GSK3 β /Wnt信号通路,显著促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化。近年研究表明,二甲双胍可减轻脂多糖诱导的成骨细胞损伤,抑制Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)/髓样分化因子88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)/NF- κ B信号途径,且这种抑制作用与二甲双胍剂量呈正相关,而TLR4与成骨细胞增殖、分化呈负相关,因此二甲双胍通过上述途径保护骨形成^[27]。Mu等^[28]通过动物实验发现,二甲双胍在高糖条件下通过增加沉默信息调节蛋白6(silent information regulator-6, SIRT6)的表达抑制NF- κ B磷酸化,进而下调八聚体结合转录因子4(octamer-binding transcription factor 4, OCT4)的表达,促进小鼠成骨细胞增殖和分化。总的来说,关于二甲双胍在高糖环境下影响骨代谢的分子调控机制的研究较多,但是由于1型糖尿病患者较少,使用二甲双胍治疗者更少,因此二甲双胍影响1型糖尿病患者骨代谢的临床报道很少。

本研究结果显示,观察组在使用二甲双胍联合胰岛素治疗72周后,骨形成标志物BALP、N-MID OC水平及腰椎骨密度均高于单纯使用胰岛素治疗的对照组,并且观察组和对照组患者治疗后的空腹血糖、餐后2h血糖及糖化血红蛋白差异无

统计学意义, 因此排除了血糖对骨代谢的影响。将观察组患者根据二甲双胍剂量分为低剂量 (0.5 g/d) 组、中剂量 (1.0 g/d) 组、高剂量 (1.5 g/d) 组比较发现, 当二甲双胍剂量维持在高剂量时, BALP、N-MID OC 水平高于中剂量组和低剂量组。多元线性回归分析发现, 二甲双胍剂量与骨形成标志物 BALP ($\beta=0.266$, $P=0.035$)、N-MID OC ($\beta=0.355$, $P=0.008$) 具有正相关关系, 与骨吸收指标尿钙/肌酐比值 ($\beta=-0.296$, $P=0.026$) 具有负相关关系, 提示二甲双胍具有一定的促进骨形成及抑制骨吸收的作用。本研究结果还显示, 观察组使用二甲双胍治疗 72 周后腰椎骨密度水平有了一定的提高, 但是与二甲双胍剂量无关; 并且观察组整体骨密度 Z 值虽有所提升, 但其中已诊断为骨质疏松症的患者 (共 12 例) 骨密度并未显著提升 (治疗前腰椎骨密度 Z 值为 -2.48 ± 0.21 , 治疗后为 -2.32 ± 0.27 , $P=0.31$)。因此, 二甲双胍的作用可能主要在于加强骨形成及预防骨质疏松的发生。通过多元线性回归分析还发现, 腰椎骨密度与年龄 ($\beta=-0.820$, $P<0.001$) 具有负相关关系, 验证了骨密度随着年龄增长逐渐下降; BALP 与餐后 2 h 血糖呈正相关关系 ($\beta=0.364$, $P=0.003$), 提示高血糖环境可增加碱性磷酸酶的表达, 这与先前研究结果^[17]一致。此外, 本研究结果显示观察组与对照组 25 (OH) D、血清钙、血清磷水平差异无统计学意义, 推测可能因为钙磷调节主要与降钙素、甲状旁腺激素、维生素 D 有关, 二甲双胍并未直接参与其调节。

目前关于 2 型糖尿病性骨质疏松症患者使用二甲双胍后对骨代谢的影响方面的研究较多, 从流行病学调查到基础研究均证实二甲双胍能够促进骨形成, 防止骨折发生^[29]; 但是也有不同的研究结果, 有研究发现二甲双胍对成骨细胞和破骨细胞没有作用^[30]。由于临床上使用二甲双胍治疗的 1 型糖尿病患者相对较少, 因此二甲双胍影响 1 型糖尿病患者骨代谢的研究也很少。本研究通过回顾性临床观察研究探讨了二甲双胍对 1 型糖尿病患者骨代谢的影响, 由于样本量较小, 缺乏长期随访, 并且在随访时少部分患者对既往是否漏服二甲双胍可能有信息偏倚, 因此研究结果具有一定的局限性。

总之, 本研究结果显示二甲双胍可明显提高 1 型糖尿病患者骨形成标志物 BALP、N-MID OC

水平, 增加腰椎骨密度, 提示二甲双胍可通过增加骨形成减少 1 型糖尿病性骨质疏松症的发生。二甲双胍联合胰岛素治疗 1 型糖尿病除对血糖控制获益外, 也对患者骨代谢有一定的作用, 可能有助于预防糖尿病性骨质疏松症。

[参考文献]

- [1] LI X, CHENG J, ZHOU Z G. Revisiting multiple models of progression of β -cell loss of function in type 1 diabetes: significance for prevention and cure[J]. *J Diabetes*, 2016, 8: 460-469.
- [2] SILVA M J, BRODT M D, LYNCH M A, MCKENZIE J A, TANOUYE K M, NYMAN J S, et al. Type 1 diabetes in young rats leads to progressive trabecular bone loss, cessation of cortical bone growth, and diminished whole bone strength and fatigue life[J]. *J Bone Miner Res*, 2009, 24: 1618-1627.
- [3] LÉGER J, MARINOVIC D, ALBERTI C, DORGERET S, CHEVENNE D, MARCHAL C L, et al. Lower bone mineral content in children with type 1 diabetes mellitus is linked to female sex, low insulin-like growth factor type I levels, and high insulin requirement[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91: 3947-3953.
- [4] THRAILKILL K M, LUMPKIN C K Jr, BUNN R C, KEMP S F, FOWLKES J L. Is insulin an anabolic agent in bone? Dissecting the diabetic bone for clues[J/OL]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2005, 289: E735-E745. DOI: 10.1152/ajpendo.00159.2005.
- [5] VOGT M T, CAULEY J A, KULLER L H, NEVITT M C. Bone mineral density and blood flow to the lower extremities: the study of osteoporotic fractures[J]. *J Bone Miner Res*, 1997, 12: 283-289.
- [6] JACOBSEN I B, HENRIKSEN J E, BECK-NIELSEN H. The effect of metformin in overweight patients with type 1 diabetes and poor metabolic control[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2009, 105: 145-149.
- [7] LIBMAN I M, MILLER K M, DIMEGLIO L A, BETHIN K E, KATZ M L, SHAH A, et al. Effect of metformin added to insulin on glycemic control among overweight/obese adolescents with type 1 diabetes: a randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2015, 314: 2241-2250.
- [8] KANAZAWA I, YAMAGUCHI T, YANO S, YAMAUCHI M, YAMAMOTO M, SUGIMOTO T. Adiponectin and AMP kinase activator stimulate proliferation, differentiation, and mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells[J/OL]. *BMC Cell Biol*, 2007, 8: 51. DOI: 10.1186/1471-2121-8-51.
- [9] TAKENO A, KANAZAWA I, TANAKA K I, NOTSU M, YOKOMOTO M, YAMAGUCHI T, et al. Activation of AMP-activated protein kinase protects against

- homocysteine-induced apoptosis of osteocytic MLO-Y4 cells by regulating the expressions of NADPH oxidase 1 (Nox1) and Nox2[J]. *Bone*, 2015, 77: 135-141.
- [10] LIU L S, ZHANG C, HU Y J, PENG B. Protective effect of metformin on periapical lesions in rats by decreasing the ratio of receptor activator of nuclear factor κ B ligand/osteoprotegerin[J]. *J Endod*, 2012, 38: 943-947.
- [11] SCHURMAN L, MCCARTHY A D, SEDLINSKY C, GANGOITI M V, ARNOL V, BRUZZONE L, et al. Metformin reverts deleterious effects of advanced glycation end-products (AGEs) on osteoblastic cells[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2008, 116: 333-340.
- [12] LI X Y, GUO Y Q, YAN W B, SNYDER M P, LI X. Metformin improves diabetic bone health by re-balancing catabolism and nitrogen disposal[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10: e0146152. DOI: 10.1371/journal.pone.0146152.
- [13] GUO Y Q, XIE C Z, LI X Y, YANG J, YU T, ZHANG R H, et al. Succinate and its G-protein-coupled receptor stimulates osteoclastogenesis[J/OL]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15621. DOI: 10.1038/ncomms15621.
- [14] American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus[J]. *Diabetes Care*, 2013, 36(Suppl 1): S67-S74.
- [15] PAN H, WU N P, YANG T, HE W. Association between bone mineral density and type 1 diabetes mellitus: a meta-analysis of cross-sectional studies[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2014, 30: 531-542.
- [16] CHIANG J L, KIRKMAN M S, LAFFEL L M B, PETERS A L; Type 1 Diabetes Sourcebook Authors. Type 1 diabetes through the life span: a position statement of the American Diabetes Association[J]. *Diabetes Care*, 2014, 37: 2034-2054.
- [17] BOTOLIN S, MCCABE L R. Chronic hyperglycemia modulates osteoblast gene expression through osmotic and non-osmotic pathways[J]. *J Cell Biochem*, 2006, 99: 411-424.
- [18] LECHLEITNER M, KOCH T, HEROLD M, DZIEN A, HOPPICHLER F. Tumour necrosis factor-alpha plasma level in patients with type 1 diabetes mellitus and its association with glycaemic control and cardiovascular risk factors[J]. *J Intern Med*, 2000, 248: 67-76.
- [19] NOJIRI H, SAITA Y, MORIKAWA D, KOBAYASHI K, TSUDA C, MIYAZAKI T, et al. Cytoplasmic superoxide causes bone fragility owing to low-turnover osteoporosis and impaired collagen cross-linking[J]. *J Bone Miner Res*, 2011, 26: 2682-2694.
- [20] MOTYL K J, BOTOLIN S, IRWIN R, APPLIEDORN D M, KADAKIA T, AMALFITANO A, et al. Bone inflammation and altered gene expression with type 1 diabetes early onset[J]. *J Cell Physiol*, 2009, 218: 575-583.
- [21] SAITO M, MARUMO K. Collagen cross-links as a determinant of bone quality: a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus[J]. *Osteoporos Int*, 2010, 21: 195-214.
- [22] MCCABE L R. Understanding the pathology and mechanisms of type 1 diabetic bone loss[J]. *J Cell Biochem*, 2007, 102: 1343-1357.
- [23] SIDDAPPA R, MULDER W, STEEGHS I, VAN DE KLUNDERT C, FERNANDES H, LIU J, et al. cAMP/PKA signaling inhibits osteogenic differentiation and bone formation in rodent models[J]. *Tissue Eng Part A*, 2009, 15: 2135-2143.
- [24] TANKOVA T. Current indications for metformin therapy [J]. *Rom J Intern Med*, 2003, 41: 215-225.
- [25] KUME S, KATO S, YAMAGISHI S I, INAGAKI Y, UEDA S, ARIMA N, et al. Advanced glycation end-products attenuate human mesenchymal stem cells and prevent cognate differentiation into adipose tissue, cartilage, and bone[J]. *J Bone Miner Res*, 2005, 20: 1647-1658.
- [26] MA J, ZHANG Z L, HU X T, WANG X T, CHEN A M. Metformin promotes differentiation of human bone marrow derived mesenchymal stem cells into osteoblast via GSK3 β inhibition[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22: 7962-7968.
- [27] ZHENG L F, SHEN X M, YE J J, XIE Y, YAN S J. Metformin alleviates hyperglycemia-induced apoptosis and differentiation suppression in osteoblasts through inhibiting the TLR4 signaling pathway[J]. *Life Sci*, 2019, 216: 29-38.
- [28] MU W, WANG Z R, MA C Y, JIANG Y Y, ZHANG N N, HU K Q, et al. Metformin promotes the proliferation and differentiation of murine preosteoblast by regulating the expression of sirt6 and oct4[J]. *Pharmacol Res*, 2018, 129: 462-474.
- [29] WANG L X, WANG G Y, SU N, MA J, LI Y K. Effects of different doses of metformin on bone mineral density and bone metabolism in elderly male patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *World J Clin Cases*, 2020, 8: 4010-4016.
- [30] WU W, YE Z Y, ZHOU Y, TAN W S. AICAR, a small chemical molecule, primes osteogenic differentiation of adult mesenchymal stem cells[J]. *Int J Artif Organs*, 2011, 34: 1128-1136.