

N-MID、Ghrelin、miR-133a 在创伤性骨折中的表达及与延迟愈合的相关性研究

吴昊, 罗良雨, 邓新恒, 毕楷

(南阳市中医院独山院区 上肢创伤科, 河南 南阳 473000)

摘要: **目的** 探究在创伤性骨折中血清骨钙素 N 端中分子片段 (N-MID)、饥饿素 (Ghrelin)、微小 RNA-133a (miR-133a) 的表达以及与延迟愈合的相关性。**方法** 选取 2022 年 6 月至 2023 年 6 月南阳市中医院独山院区收治的 60 例患有创伤性骨折延迟愈合的患者作为研究组, 另选取 60 例正常愈合的患者作为对照组。比较两组患者血清 N-MID、Ghrelin 以及 miR-133a 水平, 分析三者与延迟愈合的相关性。**结果** 研究组 N-MID、Ghrelin 水平低于对照组, 且 miR-133a 水平高于对照组 ($P<0.05$); III 期、IV 期患者 N-MID、Ghrelin 水平低于 II 期患者, 且 miR-133a 高于 II 期患者 ($P<0.05$); IV 期患者 N-MID、Ghrelin 水平低于 III 期患者, 且 miR-133a 高于 III 期患者 ($P<0.05$); 创伤性骨折延迟愈合患者 N-MID、Ghrelin 水平呈正相关 ($r=9.409, P=0.003$); N-MID、miR-133a 水平呈负相关 ($r=-6.442, P=0.013$); Ghrelin、miR-133a 水平呈负相关 ($r=-5.677, P=0.019$), N-MID、Ghrelin 与创伤性骨折延迟愈合呈正相关, miR-133a 与创伤性骨折延迟愈合呈负相关。**结论** N-MID、Ghrelin、miR-133a 水平都与创伤性骨折的愈合程度有关, 创伤性骨折患者中 miR-133a 过度表达抑制 N-MID、Ghrelin 水平, 从而影响骨折的正常愈合, 检测血清 N-MID 能评价创伤性骨折的恢复情况, Ghrelin 可作为预测创伤性骨折延迟愈合的潜在标志物。

关键词: 血清骨钙素 N 端中分子片段; 饥饿素; 微小 RNA-133a; 创伤性骨折

中图分类号: R683

Expression of N-MID, Ghrelin, and miR-133a in traumatic fractures and their correlation with delayed healing

WU Hao, LUO Liangyu, DENG Xinheng, BI Kai

(Department of Upper Limb Trauma, Dushan Campus of Nanyang Traditional Chinese Medicine Hospital, Nanyang, Henan 473000, China)

Abstract: **[Objective]** To investigate the expression of N-MID, Ghrelin, and miR-133a in traumatic fractures and their correlation with delayed healing. **[Methods]** Sixty patients with delayed healing of traumatic fractures admitted to Dushan Campus of Nanyang Traditional Chinese Medicine Hospital from June 2022 to June 2023 were selected as the study subjects, and another 60 patients with normal healing were selected as the control group. The levels of N-MID, Ghrelin, and miR-133a in the serum of two groups of patients were compared, and their correlation with delayed healing was analyzed. **[Results]** The levels of N-MID and Ghrelin in the study group were lower than those in the control group, and the levels of miR-133a were higher than those in the control group ($P<0.05$). The levels of N-MID and Ghrelin in stage III and IV patients were lower than those in stage II patients, and miR-133a was higher than that in stage II patients ($P<0.05$). The levels of N-MID and Ghrelin in stage IV patients were lower than those in stage III patients, and miR-133a was higher than that in stage III patients ($P<0.05$). The levels of N-MID and Ghrelin in patients with traumatic fractures were positively correlated ($r=9.409, P=0.003$). The levels of N-MID and miR-133a were negatively correlated ($r=-6.442, P=0.013$). The levels of Ghrelin and miR-133a were negatively correlated ($r=-5.677, P=0.019$). N-MID and Ghrelin are positively correlated with delayed healing of traumatic fractures, while miR-133a is negatively correlated with delayed healing of traumatic fractures. **[Conclusion]** The levels of N-MID, Ghrelin, and miR-133a are all related to the degree of healing of traumatic fractures. Overexpression of miR-133a inhibits the levels of N-MID and Ghrelin in patients with

traumatic fractures, thereby affecting the normal healing of fractures. Detecting serum N-MID can evaluate the recovery of traumatic fractures, and Ghrelin can serve as a potential marker for predicting delayed healing of traumatic fractures.

Keywords: N-terminal intermediate molecular fragments of serum osteocalcin; Ghrelin; micro RNA-133a; traumatic fracture

创伤性骨折患者人数随现代工业化发展和高能量暴力（比如工地外伤，交通事故等）增多呈上升趋势，胫骨平台骨折关节面容易劈裂压缩塌陷，近年来车祸伤最多，高处坠落和压砸伤次之，骨折延迟愈合及骨不连为骨科治疗中的难题，发病率为 5%~10%^[1-2]。给患者造成严重经济负担，创伤性骨折患者愈合受多种因素影响，它要求体内多种生长因子综合作用。骨折延迟愈合的早期判断对于改善患者的预后具有重要的意义，研究发现，微小 RNA (miR) -133a 可以通过调节 BMP2 蛋白抑制血管平滑肌细胞向骨样细胞的分化^[3]。骨钙素 (OC) 是成骨细胞分泌的一种非胶原性物质，由 1 号染色体 (1q25-q31) 编码，受 1,25-二羟胆钙化醇调节。血清中的 OC 分为完全羧化和不完全羧化 OC，OC 分子 C 端不稳定容易裂解，而 N 端中部片段相对稳定，血清半衰期较长且较易检测，被誉为骨钙素 N 端分子片段 (N-MID)，为临床上最常用的骨代谢指标之一^[4-5]。饥饿素 (Ghrelin) 又称生长激素释放促分泌素受体配体，在中枢神经系统中广泛表达，可促进摄食、调节能量平衡及炎症反应。研究表明，Ghrelin 可调节骨代谢，在体外刺激成骨细胞增殖，并抑制细胞凋亡，促进骨生长^[6]。但是目前关于三者与创伤性骨折患者延迟愈合的相关性尚未有学者指出，基于此，本文研究 N-MID、Ghrelin、miR-133a 在创伤性骨折中的表达及与延迟愈合的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2022 年 6 月至 2023 年 6 月南阳市中医院独山院区收治的 60 例患有创伤性骨折延迟愈合的患者作为研究对象，其中男 38 例，女 22 例，年龄 21~78 岁，平均 (49.50 ± 24.22) 岁，病程 9~18 个月，平均 (13.50 ± 3.82) 个月；另选取 60 例正常愈合的患者作为对照组，其中男 35 例，女 25 例，年龄 21~65 岁，平均 (43.00 ± 18.70) 岁，病程 9~16 个月，平均 (12.50 ± 2.97) 个月。两组患者一般资料比较，差异无统计学意义 ($P>0.05$)，

具有可比性。

纳入标准：符合骨折愈合延迟的诊断标准^[7]；X 线检查显示骨痂极少生长或完全不生长；首次骨折患者；均经医院医学伦理会审核通过并签署同意书。排除标准：合并重要器官功能异常者；近 3 个月内服用激素；合并其身体部位严重创伤者；患有精神病且不配合治疗者。

1.2 方法

miR-133a 水平检测：应用 RNA 提取试剂盒从备用的骨头中提取总 RNA。提取总 RNA 用 20 μ L 逆转录试剂逆转录成互补 DNA，在 51℃ 条件下以 2 min 反应进行处理，在 60℃ 下预变性处理 10 min，96℃ 变性 10 s，60℃ 退火 30 s，总共处理 40 个循环，应用甘油醛-3-磷酸脱氢酶用于内参计算 miR-133a 相对表达水平，检测委托上海生工生物工程公司进行。

N-MID 采用德国罗氏公司 Elec-sys 型全自动电化学发光免疫分析仪及配套试剂盒检测；Ghrelin 采用酶联免疫吸附试验测定；miR-133a 水平采用 qPCR 检测。

1.3 观察指标

1.3.1 分析两组患者 N-MID、Ghrelin、miR-133a 水平 由专业的检验人员对上述指标进行标准化检测，检测时严格按照仪器、试剂盒说明书进行，避免误差的出现。

1.3.2 不同分期严重程度 N-MID、Ghrelin、miR-133a 水平比较 对两组患者的创伤性骨折 II 期、III 期、IV 期患者的 N-MID、Ghrelin、miR-133a 水平进行比较，并对其进行分析。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计学软件对数据进行处理。计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间两两比较行 t 检验，多组比较采用方差分析；计数资料以百分率 (%) 表示，组间比较行 χ^2 检验；以受试者工作特征 (ROC) 曲线为依据，分别评估 N-MID、Ghrelin、miR-133a 在创伤性骨折延迟愈合中的作用，并找出各测定指标的最优截取值；联合诊断的一致性采取 Kappa 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者 N-MID、Ghrelin、miR-133a 水平比较

如表 1 所示，研究组 N-MID、Ghrelin 水平低于对照组，且 miR-133a 水平高于对照组，差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

表 1 两组患者 N-MID、Ghrelin、miR-133a 水平比较
($n=60, \bar{x} \pm s$)

组别	N-MID/(ng/mL)	Ghrelin/(pg/mL)	miR-133a
对照组	45.26±9.40	516.35±90.10	0.80±0.10
研究组	26.40±6.20	430.51±80.23	1.25±0.25
<i>t</i>	9.625	7.748	10.268
<i>P</i>	0.016	0.028	0.001

2.2 创伤性骨折不同分期严重程度 N-MID、Ghrelin、miR-133a 水平比较

如表 2 所示，Ⅲ期、Ⅳ期患者 N-MID、Ghrelin 水平低于Ⅱ期患者，且 miR-133a 高于Ⅱ期患者，

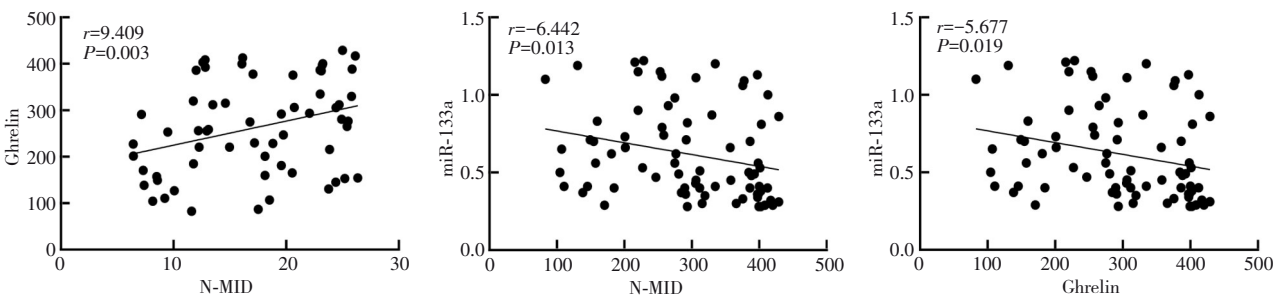


图 1 N-MID、Ghrelin、miR-133a 水平三者相关性

2.4 N-MID、Ghrelin、miR-133a 与创伤性骨折延迟愈合的相关性分析

如表 3 所示，N-MID、Ghrelin 与创伤性骨折延迟愈合呈正相关，miR-133a 与创伤性骨折延迟愈合呈负相关。

表 3 N-MID、Ghrelin、miR-133a 与延迟愈合的相关性分析

指标	<i>r</i>	<i>P</i>
N-MID	0.806	0.029
Ghrelin	0.562	0.017
miR-133a	-0.618	0.034

3 讨论

近年来创伤性骨折的患者有增多的趋势，在临床上多以手术为主。但是骨折后血液运行不佳，术后预后往往延迟，而且恢复要求功能恢复和骨

差异有统计学意义 ($P<0.05$)；Ⅳ期患者 N-MID、Ghrelin 水平低于Ⅲ期患者，且 miR-133a 高于Ⅲ期患者，差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

表 2 创伤性骨折不同分期严重程度 N-MID、Ghrelin、miR-133a 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

分期	<i>n</i>	N-MID/(ng/mL)	Ghrelin/(pg/mL)	miR-133a
Ⅱ期	16	38.52±7.76	503.20±90.06	1.06±0.36
Ⅲ期	25	26.51±6.30	368.68±88.20	1.68±0.45
Ⅳ期	19	19.62±5.50	198.65±75.60	2.59±1.03
<i>F</i>		9.620	8.829	12.305
<i>P</i>		0.035	0.028	0.019

2.3 N-MID、Ghrelin、miR-133a 水平三者相关性

如图 1 所示，创伤性骨折延迟愈合患者 N-MID、Ghrelin 水平呈正相关 ($r=9.409, P=0.003$)；N-MID、miR-133a 水平呈负相关 ($r=-6.442, P=0.013$)；Ghrelin、miR-133a 水平呈负相关 ($r=-5.677, P=0.019$)。

质愈合，其间影响因素多，耗费时间长，极大地影响了患者及其家属的生活和工作，也增加了晚期的治疗负担^[8]。骨折延迟愈合即骨折未达正常愈合时间内的愈合标准，而年龄，患者本身营养状态是骨折发生的危险因素之一，延迟愈合除了会对患者家属造成很大经济负担之外，还会使得二次手术风险加大且预后不佳^[9]。骨折愈合系由多种细胞因子共同参与的复杂而精密的创伤修复，虽然骨折延迟愈合发生的分子机制尚不清楚，但是从分子水平对骨折愈合进行深入研究，可以为骨折延迟愈合提供更完善的诊断和治疗手段^[10]。

成熟成骨细胞所分泌的骨基质蛋白——骨钙素，是一种高度特异性的骨形成标志物，其中三分之一为全段骨钙素，三分之一为 N-MID，由于其高灵敏度和稳定性，更能反映骨形成的情况。临床调查显示，N-MID 在创伤性骨折患者中得到

了一定程度的降低^[11-12]。本文研究结果显示, 研究组患者的 N-MID 水平低于对照组, 当患者进行生理性或病理性骨吸收增强时, 患者血液中 N-MID 处于较低的水平。表明 N-MID 水平的变化反映了骨吸收与骨形成的过程, 说明 N-MID 与骨折的愈合程度有关。Ghrelin 为内源性配体促生长激素分泌素受体, Ghrelin 可以通过促进生长激素的分泌和释放或者信号通路对细胞产生影响, 从而促进成骨细胞的增殖和分化。Ghrelin 具有促进骨骼肌细胞胰岛素抗性和细胞质游离钙离子水平的作用, 同时增强了葡萄糖转运子 4 在细胞内的生理功能^[13-14]。有学者在研究中指出, Ghrelin 在创伤性骨折中降低, 且研究组低于对照组, 说明 Ghrelin 水平对于早期诊断创伤性骨折患者骨延迟愈合具有一定价值。miR 可以通过碱基互补完全配对原则和非完全配对原则结合特定靶基因来降解靶标基因, 也可以抑制靶标基因翻译和调节转录过程来抑制蛋白质合成^[15-16]。miR-133 可能通过靶向基因与肌肉和癌症的发生发展有关, 另外 miR-133 也可能通过各种方式与骨代谢有关, 研究显示 miR-133 能够直接靶向地抑制 RUNX2 介导骨生成, 而其中 miR-133a 对骨形态的发生和骨折愈合有重要影响^[17]。临床调查显示, miR-133a 在创伤性骨折中过度表达^[18], 本文研究结果显示, 与对照组患者相比, 研究者患者的 miR-133a 水平升高, 说明 miR-133a 水平能抑制成骨细胞合成及骨分化, 从而使骨折愈合延迟, 而年龄及吸烟可能为 miR-133a 过度表达的影响因素, miR-133a 升高是骨折延迟愈合的危险因素之一。

在临床上许多研究报道了血清 N-MID、Ghrelin、miR-133a 与创伤性骨折不同分期严重程度有一定的相关性。有学者在研究中发现, 血清 N-MID、Ghrelin、miR-133a 能随着创伤性骨折不同分期的严重程度增加或减少^[19-20]。本文研究结果显示, 创伤性骨折患者随着病情分级的加重, 血清 N-MID、Ghrelin 呈现逐渐减少的趋势, miR-133a 水平呈现不断上升的趋势, 说明 miR-133a 水平能抑制血清 N-MID、Ghrelin 水平, 从而影响骨折的正常愈合, 而血清 N-MID、Ghrelin 减少说明 miR-133a 水平能负面调控参与骨折愈合延迟的过程, 通过对三种水平进行同时作用能为骨折愈合延迟的评估提供重要价值。

综上所述, 血清 N-MID、Ghrelin 水平在创伤

性骨折中都呈现低表达, miR-133a 水平在创伤性骨折中呈现高表达, 说明三者与创伤性骨折密切相关, 并且三者随着创伤性骨折中的病程分级中, 血清 N-MID、Ghrelin 水平亦呈现出不断下降趋势, miR-133a 水平呈现不断上升趋势, 此结果说明血清 N-MID、Ghrelin 水平与创伤性骨折呈现出正相关, miR-133a 与骨折延迟愈合呈现负相关存在。本次研究之中发现血清 N-MID、Ghrelin、miR-133a 水平与创伤性骨折延迟愈合密切相关, 且三者与创伤性骨折延迟愈合呈现出相关性的存在, 其中 r 分别为 0.806、0.562、-0.618, P 值分别为 0.029、0.017、0.034, 说明血清 N-MID、Ghrelin 与创伤性骨折延迟愈合呈现正相关存在, miR-133a 与创伤性骨折延迟愈合呈负相关存在。

参考文献

- [1] 黄剑吟, 杨焱平, 黄冠东, 等. 骨折后血清骨钙素 N 端中分子片段与糖代谢指标的相关性分析[J]. 实用临床医药杂志, 2022, 26(1): 80-84.
- [2] 高成云, 尚旭亚, 张志凌, 等. 血清 IGF-1、TNF- α 及 miR-29b 联合检测对老年创伤性骨折患者延迟愈合的预测价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(5): 746-750.
- [3] BHURE U, AGTEN C, LEHNICK D, et al. Value of SPECT/CT in the assessment of necrotic bone fragments in patients with delayed bone healing or non-union after traumatic fractures[J]. Br J Radiol, 2020, 93(1114): 20200300.
- [4] KEMPENAERS K, CLAES T, VAN BEEK N, et al. IC-Type Electric stimulation for delayed bone healing: monocentric evaluation over eight years of experience[J]. Acta Orthop Belg, 2022, 88(3): 525-532.
- [5] 陈伟, 李鹏, 万永建, 等. 创伤性骨折延迟愈合患者血清骨转化标志物的表达水平及意义[J]. 东南大学学报(医学版), 2021, 40(2): 225-229.
- [6] 王灏, 妙定坤, 田锋. 创伤性骨折患者术后骨折愈合、骨代谢与表皮生长因子、管细胞黏附因子-1 水平的关系[J]. 实用临床医药杂志, 2022, 26(17): 63-66.
- [7] 中华医学会骨科学分会创伤骨科学组, 中华医学会骨科学分会外固定与肢体重建学组, 中华医学会创伤学分会, 等. 中国创伤骨科围手术期血液管理临床指南(2023)[J]. 中华创伤骨科杂志, 2023, 25(3): 185-192.
- [8] CLEMENT ND, GASTON MS, SIMPSON AH. Fractures in elderly mice demonstrate delayed ossification of the soft callus: a cellular and radiographic study[J]. Eur J Orthop Surg Traumatol, 2023, 33(4): 977-985.
- [9] 廖强华, 许兴, 林楠, 等. 创伤性骨折血清 ALP、OPG 表达与 Th1/Th2 平衡的相关性分析[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(15): 2905-2909.
- [10] 白登彦, 张文贤. 高压氧联合神经生长因子局部注射对骨质疏松

- 松性骨折延迟愈合患者血清黏附因子及微循环指标表达的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(9): 1206-1211.
- [11] BASILE G, AVATO FM, PASSERI A, et al. Atrophic pseudarthrosis of humeral diaphyseal fractures: medico-legal implications and methodological analysis of the evaluation[J]. Acta Biomed, 2022, 93(3): e2022176.
- [12] HOSNY H, SALAMA W, MARZOUK A, et al. Repair of Traumatic Avulsed Achilles Tendon using Double Cerclage Trans-calcaneal Stainless Steel Sutures: prospective Study and Review of Literature[J]. Injury, 2020, 51(8): 1887-1892.
- [13] 党浩. 老年骨折延迟愈合患者血清 IGF-1、sICAM-1、sVCAM-1、 β -CTX 水平的表达及临床意义[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(2): 405-407.
- [14] 廖宏伟, 李学栋, 马金锋. 血清 CTRP3 及 PGC-1 α 表达与创伤性骨折愈合的相关性分析[J]. 中国骨伤, 2022, 35(11): 1059-1064.
- [15] ALJAWADI A, NAYLOR T, ISLAM A, et al. Radiological analysis of gentamicin eluting synthetic bone graft substitute used in the management of patients with traumatic bone voids[J]. Cureus, 2022, 14(1): e20969.
- [16] SU YS, REN D, CHEN YF, et al. Effect of endplate reduction on endplate healing morphology and intervertebral disc degeneration in patients with thoracolumbar vertebral fracture[J]. Eur Spine J, 2023, 32(1): 55-67.
- [17] MA ZY, GUO SY, GAO F, et al. Comparison of effectiveness between plate and screw internal fixation in treatment of posterior malleolus fractures through posterolateral approach[J]. Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi, 2021, 35(4): 431-438.
- [18] SHAN T, NING RD, ZHOU YJ, et al. Curative effect comparison for fixation of fibula or not for the treatment of middle and lower 1/3 fractures of tibia and fibula with intramedullary nail[J]. Zhongguo Gu Shang, 2020, 33(1): 20-26.
- [19] 黄重, 刘亦恒, 贾瑞鹏, 等. 术前血清 N 末端脑钠肽前体水平与老年创伤性骨折患者预后的相关性分析[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2021, 13(11): 111-115.
- [20] 祁亚宁, 王利新, 刘辉, 等. 血清 TM、P-selectin、HDL-C 以及凝血功能指标与创伤性骨折患者术后深静脉血栓形成的关系研究[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(16): 3131-3135.
- (方丽蓉 编辑)