

低氧诱导因子-1 α 促进骨折早期愈合的机制

杨虎¹, 郑宇², 王通¹, 丁福超¹

(1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西省中医医院, 陕西 西安 710003)

摘要 骨折愈合是一个复杂、连续且缓慢的过程,受多种因素影响,通常分为炎症、修复和重塑 3 个阶段。骨折早期,骨折部位处于缺氧状态,低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)表达增加,在骨折愈合过程中起重要作用。本文概述了骨折愈合过程和 HIF-1 α 的基本情况,并从 HIF-1 α 与骨折愈合早期的能量代谢、HIF-1 α 与骨折部位血管生成、HIF-1 α 对骨系细胞的调控作用 3 个方面探讨了 HIF-1 α 促进骨折早期愈合的机制,以期骨折愈合的研究提供新的思路和方法。

关键词 骨折愈合;低氧诱导因子-1 α ;能量代谢;新生血管化,生理性;骨髓;间质干细胞;骨细胞;成骨细胞;破骨细胞

骨折愈合是一个复杂的过程,涉及多种细胞之间的信号转导和生物效应^[1]。从损伤机制来看,直接或间接暴力会不可避免地导致骨折局部组织损伤、血管破裂和血肿形成。出血、炎症渗出、组织灌注不足等使骨折断端呈现缺氧状态,这种缺氧状态可持续 1 ~ 2 周,甚至更长时间,直到血肿被吸收、炎症反应得到控制、局部建立新的微循环系统^[2]。因此,骨折早期在骨折局部缺氧状态下建立有效的血液循环、控制炎症对骨折的愈合至关重要。近年来,低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)在骨折愈合过程中的作用备受关注。HIF-1 α 在缺氧状态下的表达水平会显著升高,促进骨折部位血管生成和成骨,加速骨折愈合。然而,HIF-1 α 促进骨折早期愈合的具体机制尚未完全明确。本文旨在从 HIF-1 α 角度深入探讨骨折早期愈合的分子机制,揭示 HIF-1 α 在骨折愈合过程中的作用,为骨折愈合的研究提供新的思路和方法。

1 骨折愈合过程概述

骨折愈合是一个复杂而连续的过程,按照细胞学和组织学的形态变化,一般分为 3 个阶段,即炎症、修复和重塑。骨折引起周围血管等软组织损伤,血浆和白细胞渗出,可诱发血肿形成、急性炎症反应和骨折愈合的启动^[3]。骨折后 24 h 内首先到达骨折部位的炎症细胞是中性粒细胞,短期内分泌肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素

(interleukin, IL)-1 β 、IL-6 和 C-C 基序趋化因子 2 等趋化因子,并募集巨噬细胞^[4]。血小板和巨噬细胞分泌的炎症介质和生长因子引导募集的间充质干细胞和骨祖细胞增殖、分化和细胞外基质的产生,并从重塑的细胞外基质中释放额外的生长因子,如转化生长因子 β 、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血小板衍生生长因子和成纤维细胞生长因子-2^[5-6]。骨折初期的血肿和急性炎症反应在骨折后 1 周开始被缓慢吸收,而后出现新生的肉芽组织和血管。血管生成可以重建正常微环境、清除骨碎片,并为骨折区提供细胞和营养。内皮细胞(endothelial cells, ECs)从原有的骨膜血管向骨折端迁移,进入血肿处形成新的血管。因此,骨折初期骨折端的血肿和急性炎症反应对骨折愈合至关重要。

在骨折修复阶段,新生血管生长,胶原基质和愈伤组织形成。骨痂形成为 2 种过程,即膜内成骨和软骨内成骨。膜内成骨发生在骨膜上,骨髓间充质干细胞(bone marrow stem cells, BMSCs)分化为成骨细胞,形成坚硬的愈伤组织。软骨内成骨发生在内皮和骨髓,形成软的和硬的愈伤组织。BMSCs 分化为软骨细胞,并分泌软骨基质形成软骨模板,软骨细胞随后发生增生性分化,并矿化周围基质形成软骨愈伤组织^[7]。

在骨重塑过程中,破骨细胞和成骨细胞被激活,破骨细胞吸收原始骨痂、成骨细胞形成板层骨,最终原始骨痂被板层骨替代,内部骨痂重建骨髓腔结构,骨折部位形成坚强的骨连接。根据 Wolf 定律,应力轴线上的成骨细胞更加活跃,使新骨生成增多并形成坚强的板层骨;在应力轴线以外,破骨细胞更加活跃,

吸收和清除多余的骨痂。骨骼通过重塑恢复原有结构、形状和力学性能^[8]。

2 HIF-1 α 概述

骨折早期以炎症和缺氧为特征,其中炎症是骨折愈合过程的关键阶段,而 HIF-1 α 在体内炎症消退过程中具有重要调节作用。HIF-1 是由 HIF-1 α 和 HIF-1 β 结合形成的异源二聚体,是调节细胞对缺氧反应的转录因子。在常氧条件下,HIF-1 α 在细胞质中被脯氨酸羟化酶 (prolyl hydroxylase, PHD) 羟基化和 von Hippel-Lindau (VHL) 肿瘤抑制蛋白泛素化,最终被 26S 蛋白酶体降解;在缺氧条件下,HIF-1 α 的 PHD 羟基化受到抑制,被诱导进入细胞核与 HIF-1 β 结合,促进 VEGF 等缺氧相关基因转录和翻译的启动^[9]。通过缺氧反应元件对 HIF-1 α 进行严格调控,可促进多种靶基因的协调表达,包括血管生成、糖酵解、氧化代谢、细胞增殖、组织重塑和红细胞生成等。

正常骨膜表面和骨髓腔的氧饱和度均较低。对髌骨骨髓样本血气分析发现,骨髓氧饱和度约为 87.5%^[10]。发生骨折时,局部氧饱和度可降至 1% 以下,而骨折后的组织肿胀和出血会进一步加剧组织缺氧,部分组织氧饱和度甚至为 0。骨折部位处于极度缺氧状态,恰好为 HIF-1 α 的稳定表达提供了条件。徐林等^[11]研究发现,骨折愈合早期大鼠血清 HIF-1 α 水平明显升高,1~2 周后达高峰,3 周后开始下降;骨折合并脑外伤时 HIF-1 α 高表达更加明显,而且高表达状态持续时间更长。综上所述,HIF-1 α 是骨折愈合早期的启动因子,对骨折的愈合具有至关重要的作用。

3 HIF-1 α 与骨折愈合早期的能量代谢

充足的氧是骨骼发育和维持组织稳态的关键。在缺氧的骨微环境中,调节细胞适应缺氧状态的机制至关重要。HIF-1 α 是低氧反应的主要协调者,当氧水平低于临界水平时,HIF-1 α 不被羟基化和降解,而是在细胞中积累,并与 HIF-1 β 结合,诱导缺氧触发的转录程序。哺乳动物在氧气充足时通过线粒体氧化磷酸化来提供能量,在氧气水平较低时通过细胞质中的糖酵解来满足能量需求。缺氧环境可诱发 HIF-1 α 高表达,HIF 蛋白可上调关键的糖酵解酶,将能量代谢从氧化磷酸化转变为糖酵解,这种转变导致 HIF-1 α 介导的糖酵解酶在缺氧环境下上调,如葡萄糖转运蛋白 (glucose transporter, GLUT) 1、丙酮酸脱氢酶激

酶 (pyruvate dehydrogenase kinase, PDK) 1、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 和单羧酸转运蛋白 4,促进丙酮酸转化为乳酸。GLUT1 可增强葡萄糖摄取,从而补偿糖酵解的能量不足^[12]。缺氧状态下能量代谢的转变可以减少活性氧的产生,增强线粒体对缺氧损伤的耐受性,这种代谢途径允许细胞在缺氧条件下维持腺苷三磷酸 (adenosine triphosphate, ATP) 合成。由此可见,缺氧通过诱导 HIF-1 α 的适应性高表达,在能量代谢中发挥调节作用^[13]。

HIF-1 α 通过影响骨细胞、肿瘤细胞、炎症细胞和免疫细胞的糖酵解途径,调节细胞增殖、分化、迁移、趋化、吞噬和凋亡等生物学过程,其主要原因是能量代谢基因在缺氧环境下上调。HIF-1 α 可通过上调 PDK1,促进骨髓微环境中的糖酵解,进而诱导成骨细胞分化,刺激骨形成^[14]。VHL 肿瘤抑制基因缺陷的成骨细胞,其糖酵解增强可导致骨量增加,表明 HIF-1 α 通过调节能量代谢影响骨稳态^[15]。此外,HIF-1 α 在 BMSCs 分化早期上调,促进糖酵解,为 BMSCs 增殖提供能量;在 BMSCs 分化后期显著下调,增强成骨和成软骨诱导的 BMSCs 的氧化磷酸化^[16-17]。在骨折早期,局部血管损伤和软组织肿胀,导致损伤组织中严重缺氧,保证损伤组织的营养充足对骨折愈合至关重要。通过 HIF-1 α 的稳定表达,转变能量代谢途径,上调关键糖酵解酶,可为骨折组织提供必需的能量,从而促进骨形成,加速骨折愈合。

4 HIF-1 α 与骨折部位血管生成

骨折会破坏骨膜、骨组织内部、骨髓和周围组织中的血管系统,而血管系统对骨骼再生至关重要。在缺乏充足的血管网络时,骨折愈合时间将延长或出现骨折不愈合,因此骨折早期局部血管生成是骨折愈合的关键^[18]。VEGF 是 HIF-1 α 的下游靶基因,具有促进 ECs 增殖、迁移,调节成骨生长因子,诱导成骨的双重功能,是血管生成和成骨的重要细胞因子^[19]。在缺氧条件下,激活 HIF-1 α 信号通路,增加 VEGF 在成骨细胞中的表达,可诱导血管生成和成骨^[20]。这表明,ECs 中 HIF-1 α 介导的 VEGF 表达能够促进血管生成和成骨,加速骨折愈合。Tang 等^[21]的研究发现,桃红四物汤能显著增强主动脉 ECs 活力和迁移、促进血管创面愈合与血管生成、增加 HIF-1 α 和 VEGF 表达、降低 VHL 肿瘤抑制基因表达;采用 HIF-1 α 抑制剂治疗后,桃红四物汤的作用被逆转;据此作者认为,

桃红四物汤可通过调节 HIF-1 α /VEGF 信号通路促进血管生成。综上所述, HIF-1 α /VEGF 信号通路在骨折愈合过程中的血管生成和成骨方面起着重要作用。

血管由多种类型的细胞组成, 其中 ECs 在血管生成过程中起着中心调节作用。H 型 ECs 是血管内皮细胞(vascular endothelial cells, VECs)的一种亚型, 主要分布于骨干骺端, 其周围的骨祖细胞可分化为成骨细胞和骨细胞。研究表明, H 型 ECs 通过 HIF-1 α /VEGF 信号通路介导局部血管生长, 并通过 Notch 信号通路诱导血管周围成骨细胞生成^[22]。这提示缺氧信号激活 HIF-1 α 表达, 可增加 H 型血管生成, 促进软骨内血管生成和成骨。骨抑素(osteostatin, OST)主要表达于骨髓, 在缺氧条件下通过 HIF-1 α /VEGF 信号通路诱导 BMSCs 成骨分化, 促进 H 型 ECs 增殖、迁移和血管生成^[23]。这些结果表明, HIF-1 α /VEGF 信号通路通过调节骨骼系统中的 H 型 ECs 和成骨细胞的活性来促进血管生成和成骨。

骨折引起血管损伤, 可导致营养物质和血液供应减少, 甚至中断。由于血管损伤, 骨折部位缺氧, 从而激活 HIF-1 α 信号通路, 上调 HIF-1 α 表达。缺氧条件下, HIF-1 α 在 VECs 内聚集, 与 VEGF 基因启动子结合, 诱导 VEGF 表达。血管生成是骨折修复的关键过程, 而 VEGF 是血管生成的关键调控因子。因此, 我们认为 HIF-1 α /VEGF 信号通路可以调控骨折后的血管生成和骨形成, 在骨折愈合过程中起到关键作用。

5 HIF-1 α 对骨系细胞的调控作用

5.1 骨细胞

骨细胞是骨组织内数量最多的细胞, 占骨组织细胞总数的 90% 以上。与成骨细胞和破骨细胞相比, 骨细胞长期以来被认为是静默的旁观者。包裹在矿化骨基质中的骨细胞实际上是多功能细胞, 在骨和矿物质稳态中起着诸多关键的调节作用。除了作为内分泌细胞和调节磷酸盐稳态, 这些细胞还可通过调节破骨细胞和成骨细胞的活性来控制骨重塑; 此外, 它们也是机械感觉细胞, 可协调骨骼对机械负荷的适应性反应; 同时, 它们也是骨钙储存库的管理者。所以骨细胞和骨细胞网络是骨骼活动的中心调节器, 在机械传感、骨骼重塑、矿物质稳态中发挥着关键作用^[24]。

骨折部位的血管破裂导致局部组织缺氧, 上调涉及细胞迁移的基因, 如骨桥蛋白(osteopontin, OPN)等。Raheja 等^[25]研究发现, 在缺氧的骨细胞培养基

中, BMSCs 迁移显著增强, OPN 表达增加, 并且重组 OPN 以剂量依赖的方式显著增加 BMSCs 迁移。由此可知, 骨折部位缺氧刺激骨细胞释放趋化因子(如 OPN), 诱导 BMSCs 迁移, 以帮助骨折修复。Zahm 等^[26]发现, 在骨和软骨细胞中, 通过上调 HIF 家族中传感蛋白的活性来适应低氧饱和度, 稳定和诱导 HIF-1 α 靶点基因表达, 可促进骨细胞矿化和抑制碱性磷酸酶的活性。一般来说, 机械负荷在骨骼中诱导了重要的合成代谢效应, 是骨形成的强力刺激因素。HIF-1 α 是损伤机械负荷加载后编织骨形成的促成骨因子, 也是非损伤机械负荷加载后板层骨形成的抗成骨因子。Sun 等^[27]的研究发现, 脂肪量和肥胖可以促进机械应力条件下 HIF-1 α 的表达和 BMSCs 成骨分化, 加速骨折愈合。综上所述, 在缺氧条件下, HIF-1 α 通过促进骨细胞矿化、诱导 BMSCs 向骨折部位迁移等方式促进骨折愈合, 并在机械应力下促进 BMSCs 成骨分化。

5.2 BMSCs

间充质干细胞是一种多向分化的干细胞, 广泛存在于骨髓、骨膜、骨骼肌、脂肪、外周血、脐带血、肝脏和胰腺中, 可分化为骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞、神经元、ECs 等。BMSCs 是间充质干细胞的一个亚群, 对调节骨骼稳态具有重要作用^[28]。在骨折愈合过程中, 内源性和外源性 BMSCs 的募集都与骨折部位的情况有关; 循环的 BMSCs 可以接收来自受伤组织的信号并迁移到受损部位, 促进骨痂形成和恢复骨的生物力学性能^[29]。缺氧可减少基质金属蛋白酶分泌, 增加基质细胞衍生因子 1 受体表达, 促进 BMSCs 向骨折处迁移^[30]。研究发现, 骨折经过短波治疗后, BMSCs 向骨折部位的迁移明显增加, 而这种迁移在缺氧条件下进一步增强, 并通过骨痂中 HIF-1 α 的表达来促进 BMSCs 的进一步募集^[31]。Wu 等^[23]在体外细胞实验中发现, 在缺氧环境下, OST 通过上调 HIF-1 α 表达, 促进血管生成素 1 和 VEGF 分泌来提高 BMSCs 的血管生成和成骨分化能力, 进而促进骨痂形成, 加快骨折愈合。

BMSCs 成骨分化是骨折愈合的重要环节。在骨折愈合早期, 可通过调节多种信号通路阻止 BMSCs 凋亡, 并促进其向成骨细胞转化。在 HIF-1 α /磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/Akt 信号通路中, 通过 Akt 激活的 B 细胞淋巴瘤-2(B-cell

lymphoma-2, Bcl-2) 和 B 细胞淋巴瘤-特大型 (B-cell lymphoma-extra large, Bcl-XL) 的抗凋亡机制和阻止 Bcl-2 相关蛋白 X (Bcl-2-associated X protein, Bax)、Bcl-2 相关细胞死亡激动剂 (Bcl-2-associated agonist of cell death, Bad) 基因激活来发挥抗凋亡作用, 减少 BMSCs 凋亡^[32]。在缺氧条件下, BMSCs 的分化受到抑制, 保持干细胞的多向分化并不断自我更新, 从而维持细胞周期稳定。缺氧通过 HIF-1 α 和多种生长因子激活 PI3K/Akt 信号通路, 促进有机阳离子/肉碱转运体 4a、同源核蛋白 NANOG 和 SYR 核转录因子 2 的合成, 维持细胞多样性^[33]。新发骨折早期停止细胞分化, 增加 BMSCs 数量, 有利于其后期向成骨细胞分化, 促进骨折愈合。缺氧可促进 HIF-1 α 表达, 上调 BMSCs 表达, 增强其增殖能力, 促进 BMSCs 成骨分化、抑制其成脂和成软骨分化, 进而促进骨折愈合^[34]。由此可知, 骨折愈合早期的缺氧状态, 可上调 HIF-1 α 表达, 减少 BMSCs 凋亡, 增加其数量, 并促进其成骨分化, 促进骨痂形成, 加快骨折愈合。

5.3 成骨细胞

成骨细胞是骨形成的主要细胞, 是骨重塑和骨愈合的重要细胞。骨形成涉及一系列复杂的成骨细胞自主和非自主事件。骨祖细胞的增殖、分化及矿化细胞外基质的形成在骨折愈合过程中起着重要作用。在缺氧环境下, 碱性磷酸酶、Runt 相关转录因子 2 (Runt-related transcription factor 2, Runx2) 等成骨细胞表面标志物的表达明显上调。BMSCs 向成骨细胞分化的早期阶段需要 Runx2 介导, 而 Osterix 是 Runx2 的下游基因, 可进一步诱导成骨细胞分化。促进 HIF-1 α 表达能够诱导成骨细胞增殖、分化, 进而加速骨折愈合^[35]。HIF-1 α 在成骨细胞中过表达, 可明显增加小鼠牵张成骨的血管生成和骨形成, 而缺乏 HIF-1 α 基因的小鼠则表现出血管生成和骨愈合受阻^[36]。

在缺氧应激条件下, 体内可产生大量活性氧, 引起线粒体功能障碍, 造成细胞不可逆损伤, 加速细胞凋亡, 而低氧可诱导 HIF-1 α 高表达, 从而逆转这一过程。Wang 等^[37]研究发现, HIF-1 α 通过上调 Bcl-2 和 Bcl-XL 表达、降低 Bax、Bad 和胱天蛋白酶-9 的活性, 稳定细胞内活性氧水平, 从而减少成骨细胞凋亡, 促进骨形成和骨折愈合。研究发现, HIF-1 α 可通过激活 Notch 信号通路, 增强抗凋亡因子 Bcl-2 的活性, 减少促凋亡因子胱天蛋白酶-3 (Caspase-3) 表达, 显著提高

成骨细胞的增殖及分化能力^[38]。Ma 等^[39]的研究显示, 骨康胶囊通过激活 Wnt/ β -Catenin 和骨形态发生蛋白/Smad 信号通路, 促进成骨细胞分泌骨保护素 (osteoprotegerin, OPG), 抑制核因子 κ B 受体激活蛋白配体 (receptor activator of NF- κ B ligand, RANKL) 与核因子 κ B 受体激活蛋白 (receptor activator of NF- κ B, RANK) 结合, 从而促进成骨细胞分化和骨折愈合。成骨细胞是骨折愈合的关键细胞, 骨折愈合早期的缺氧状态导致细胞凋亡加速, 而 HIF-1 α 高表达可逆转这一过程, 增强成骨细胞活性及分化, 促进骨折愈合。

5.4 破骨细胞

骨折后的骨骼通过动态重建恢复其结构和功能, 参与骨骼重建的主要细胞是吸收受损骨骼的破骨细胞和生成新骨骼的成骨细胞。破骨细胞是由单核/巨噬细胞系衍生而来的多核细胞, 它发育并粘附在骨基质上, 然后分泌酸和溶解酶, 在特化的细胞外腔室降解^[40]。RANKL 与其受体 RANK 的结合可以激活多种细胞因子, 调节破骨细胞相关基因的表达来刺激破骨细胞分化^[41]。HIF-1 α 参与破骨细胞的分化和成熟破骨细胞的骨吸收, 特别是在缺氧微环境中, 参与大量病理性骨吸收。HIF-1 α 刺激可调节分化和再吸收过程的细胞因子表达, 增加糖酵解和线粒体代谢率, 以产生足够的 ATP 来支持缺氧状态的骨吸收, 而破骨细胞介导的骨吸收是骨重建的初始阶段, 因此可认为 HIF-1 α 在骨折愈合过程中的骨吸收方面发挥着重要作用^[42]。Tian 等^[43]研究发现, 在下颌骨截骨术后, HIF-1 α 诱导破骨细胞募集, 促进骨折过程中破骨细胞形成, 并通过心肌营养因子-1 影响骨愈合过程中的成骨。

研究表明, HIF-1 α 通过激活 c-Jun 氨基端激酶/Caspase-3 信号通路促进骨细胞凋亡, 并刺激周围存活的骨细胞合成 RANKL、VEGF 等细胞因子, 而 RANKL 可触发 Notch1 信号通路, 促进破骨细胞形成, 募集破骨细胞清除死亡细胞。HIF-1 α 可上调 OPG 和 IL-33 表达, 通过 RANKL/Notch1 信号通路下调破骨细胞形成相关基因, 抑制破骨细胞介导的病理性骨吸收^[44]。Chen 等^[45]通过敲除骨细胞中的 VHL 肿瘤抑制基因, 促进 HIF-1 α 稳定表达, 发现 HIF-1 α 可促进 BMSCs 成骨分化, 抑制 BMSCs 向破骨细胞分化。综上所述, HIF-1 α 在调节破骨细胞中起双重作用, 这可能与成骨细胞的成熟度有关。成熟的成骨细胞通过

分泌 OPG, 减少破骨细胞在骨缺损部位的破坏作用; 未成熟的成骨细胞通过表达 RANKL 和少量 OPG 来促进骨吸收^[41]。

6 小 结

随着治疗方式的快速发展和新材料的应用, 骨折的治愈率明显提高, 骨折愈合时间明显缩短, 但仍有部分患者会发生骨折延迟愈合或不愈合。因此, 研究骨折愈合的机制, 提高骨折愈合率是亟待解决的难题。

血管通过介导成骨细胞、骨细胞、破骨细胞和血管细胞之间的相互作用, 将氧和营养物质输送到骨组织中, 在骨的形成和重塑中发挥着重要作用。因此, 在骨形成过程中, 血管生成和成骨过程在空间和时间上是耦合的。在骨折修复早期, 骨折部位处于缺氧状态, 而缺氧可促进 HIF-1 α 及其下游基因表达, 促进血管生成和成骨。骨折局部缺氧环境及其诱导的 HIF-1 α 通过多种信号通路影响骨折愈合过程。

HIF-1 α 促进骨折早期愈合的机制虽然已在体外试验或动物实验中取得了一些研究进展, 但还需要大量的临床证据来验证。通过综合研究, 阐明以 HIF-1 α 为核心的蛋白网络在缺氧环境下的变化, 最终通过分子生物学等技术证实其分子机制, 可能为临床治疗骨不连开辟新的方向。

参考文献

- [1] MICK P, FISCHER C. Delayed fracture healing[J]. *Semin Musculoskelet Radiol*, 2022, 26(3): 329–337.
- [2] ZHANG L, JIN L, GUO J, et al. Chronic intermittent hypobaric hypoxia enhances bone fracture healing[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11: 582670.
- [3] BAHNEY C S, ZONDERVAN R L, ALLISON P, et al. Cellular biology of fracture healing[J]. *J Orthop Res*, 2019, 37(1): 35–50.
- [4] LIEW P X, KUBES P. The Neutrophil's role during health and disease[J]. *Physiol Rev*, 2019, 99(2): 1223–1248.
- [5] PAPACHRISTOU D J, GEORGOPOULOS S, GIANNOUDIS P V, et al. Insights into the cellular and molecular mechanisms that govern the fracture-healing process: a narrative review[J]. *J Clin Med*, 2021, 10(16): 3354.
- [6] SAUL D, KHOSLA S. Fracture healing in the setting of endocrine diseases, aging, and cellular senescence[J]. *Endocr Rev*, 2022, 43(6): 984–1002.
- [7] MARUYAMA M, RHEE C, UTSUNOMIYA T, et al. Modulation of the inflammatory response and bone healing[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11: 386.
- [8] WEIVODA M M, BRADLEY E W. Macrophages and bone remodeling[J]. *J Bone Miner Res*, 2023, 38(3): 359–369.
- [9] LOOTS G G, ROBLING A G, CHANG J C, et al. Vhl deficiency in osteocytes produces high bone mass and hematopoietic defects[J]. *Bone*, 2018, 116: 307–314.
- [10] HARRISON J S, RAMESHWAR P, CHANG V, et al. Oxygen saturation in the bone marrow of healthy volunteers[J]. *Blood*, 2002, 99(1): 394.
- [11] 徐林, 柏小金, 骆旭东, 等. 大鼠股骨骨折合并脑外伤时 HIF-1 α 及 Cbfa1 的血清表达及意义[J]. *临床和实验医学杂志*, 2014(9): 689–692.
- [12] CHEN X, LUO C, BAI Y, et al. Analysis of hypoxia inducible factor-1 α expression and its effects on glycolysis of esophageal carcinoma[J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2022, 32(7): 47–66.
- [13] KIERANS S J, TAYLOR C T. Regulation of glycolysis by the hypoxia-inducible factor (HIF): implications for cellular physiology[J]. *J Physiol*, 2021, 599(1): 23–37.
- [14] AMIR M S, CHIBA N, SEONG C H, et al. HIF-1 α plays an essential role in BMP9-mediated osteoblast differentiation through the induction of a glycolytic enzyme, PDK1[J]. *J Cell Physiol*, 2022, 237(4): 2183–2197.
- [15] DIRCKX N, TOWER R J, MERCKEN E M, et al. Vhl deletion in osteoblasts boosts cellular glycolysis and improves global glucose metabolism[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(3): 1087–1105.
- [16] SHUM L C, WHITE N S, MILLS B N, et al. Energy metabolism in mesenchymal stem cells during osteogenic differentiation[J]. *Stem Cells Dev*, 2016, 25(2): 114–122.
- [17] KE W, MA L, WANG B, et al. N-cadherin mimetic hydrogel enhances MSC chondrogenesis through cell metabolism[J]. *Acta Biomater*, 2022, 150: 83–95.
- [18] KAN T, HE Z, DU J, et al. Irisin promotes fracture healing by improving osteogenesis and angiogenesis[J]. *J Orthop Translat*, 2022, 37: 37–45.
- [19] GROSSO A, BURGER M G, LUNGER A, et al. It takes two to tango: coupling of angiogenesis and osteogenesis for bone regeneration[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2017, 5: 68.
- [20] HU K, OLSEN B R. Osteoblast-derived VEGF regulates osteoblast differentiation and bone formation during bone repair[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(2): 509–526.
- [21] TANG Z, LI W, XIE H, et al. Taohong Siwu-containing serum enhances angiogenesis in rat aortic endothelial cells by regulating the VHL/HIF-1 α /VEGF signaling pathway[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021 [2024-04-04].

- 01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8629617>.
- [22] KUSUMBE A P, RAMASAMY S K, ADAMS R H. Coupling of angiogenesis and osteogenesis by a specific vessel subtype in bone[J]. *Nature*, 2014, 507(7492): 323–328.
- [23] WU D, LIU L, FU S, et al. Osteostatin improves the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and enhances angiogenesis through HIF-1 α under hypoxia conditions in vitro[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 606: 100–107.
- [24] DELGADO-CALLE J, BELLIDO T. The osteocyte as a signaling cell[J]. *Physiol Rev*, 2022, 102(1): 379–410.
- [25] RAHEJA L F, GENETOS D C, YELLOWLEY C E. Hypoxic osteocytes recruit human MSCs through an OPN/CD44-mediated pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 366(4): 1061–1066.
- [26] ZAHM A M, BUCARO M A, SRINIVAS V, et al. Oxygen tension regulates preosteocyte maturation and mineralization[J]. *Bone*, 2008, 43(1): 25–31.
- [27] SUN R, ZHANG C, LIU Y, et al. Demethylase FTO promotes mechanical stress induced osteogenic differentiation of BMSCs with up-regulation of HIF-1 α [J]. *Mol Biol Rep*, 2022, 49(4): 2777–2784.
- [28] CHEN W, ZHUO Y, DUAN D, et al. Effects of hypoxia on differentiation of mesenchymal stem cells[J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2020, 15(4): 332–339.
- [29] LIU W, LI L, RONG Y, et al. Hypoxic mesenchymal stem cell-derived exosomes promote bone fracture healing by the transfer of miR-126[J]. *Acta Biomater*, 2020, 103: 196–212.
- [30] XUE Y, LI Z, WANG Y, et al. Role of the HIF-1 α /SDF-1/CXCR4 signaling axis in accelerated fracture healing after craniocerebral injury[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(4): 2767–2774.
- [31] YE D, CHEN C, WANG Q, et al. Short-wave enhances mesenchymal stem cell recruitment in fracture healing by increasing HIF-1 in callus[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 382.
- [32] LV B, HUA T, LI F, et al. Hypoxia-inducible factor 1 α protects mesenchymal stem cells against oxygen-glucose deprivation-induced injury via autophagy induction and PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(5): 2492–2499.
- [33] ZHANG Y, LV J, GUO H, et al. Hypoxia-induced proliferation in mesenchymal stem cells and angiotensin II-mediated PI3K/AKT pathway[J]. *Cell Biochem Funct*, 2015, 33(2): 51–58.
- [34] FENG Y, HAN Z, JIANG W, et al. Promotion of osteogenesis in BMSC under hypoxia by ATF4 via the PERK-eIF2 α signaling pathway[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2022, 58(10): 886–897.
- [35] ZHANG L, JIAO G, REN S, et al. Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells enhance fracture healing through the promotion of osteogenesis and angiogenesis in a rat model of nonunion[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 38.
- [36] ZHANG Y, HAO Z, WANG P, et al. Exosomes from human umbilical cord mesenchymal stem cells enhance fracture healing through HIF-1 α -mediated promotion of angiogenesis in a rat model of stabilized fracture[J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(2): e12570.
- [37] WANG X, WEI L, LI Q, et al. HIF-1 α protects osteoblasts from ROS-induced apoptosis[J]. *Free Radic Res*, 2022, 56(2): 143–153.
- [38] XU Y, SHU B, TIAN Y, et al. Notch activation promotes osteoblast mineralization by inhibition of apoptosis[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(10): 6921–6928.
- [39] MA X, YANG J, LIU T, et al. Gukang capsule promotes fracture healing by activating BMP/SMAD and Wnt/ β -Catenin signaling pathways[J/OL]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020[2024-04-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7545469>.
- [40] KIM J M, LIN C, STAVRE Z, et al. Osteoblast-osteoclast communication and bone homeostasis[J]. *Cells*, 2020, 9(9): 2073.
- [41] UDAGAWA N, KOIDE M, NAKAMURA M, et al. Osteoclast differentiation by RANKL and OPG signaling pathways[J]. *J Bone Miner Metab*, 2021, 39(1): 19–26.
- [42] KNOWLES H J. Hypoxic regulation of osteoclast differentiation and bone resorption activity[J]. *Hypoxia (Auckl)*, 2015, 3: 73–82.
- [43] TIAN Y, SHAO Q, TANG Y, et al. HIF-1 α regulates osteoclast activation and mediates osteogenesis during mandibular bone repair via CT-1[J]. *Oral Dis*, 2022, 28(2): 428–441.
- [44] KANG H, YANG K, XIAO L, et al. Osteoblast hypoxia-inducible factor-1 α pathway activation restrains osteoclastogenesis via the interleukin-33-MicroRNA-34a-Notch1 pathway[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1312.
- [45] CHEN K, ZHAO J, QIU M, et al. Osteocytic HIF-1 α Pathway manipulates bone micro-structure and remodeling via regulating osteocyte terminal differentiation[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 721561.

(收稿日期: 2024-05-07 本文编辑: 李晓乐)