

· 论 著 ·

小鼠非酒精性脂肪肝纤维化对骨微结构的影响及姜黄素治疗作用

王铜浩^{1*} 唐飞² 田永刚¹ 陈志清¹ 郑金鑫¹

1.天津市人工细胞工程技术研究中心;天津市重症疾病体外生命支持重点实验室;天津市肝胆疾病研究所;天津市第三中心医院骨科,天津 300170

2.天津市第三中心医院消化科/肝内科,天津 300170

中图分类号: R282.71 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2021) 04-0481-06

摘要: **目的** 探讨非酒精性脂肪肝(NAFLD)小鼠模型肝纤维化对骨微结构影响及姜黄素的治疗作用。**方法** 6 周龄雌性野生型 C57BL/6 小鼠 30 只,随机分为野生小鼠对照组(WT 组, $n=10$),高脂饮食组(HFD 组, $n=10$)和姜黄素治疗组(HFD+Cur 组 $n=10$)。对照组给予普通饲料饲养,高脂饮食组给予高脂饮食饲养,姜黄素治疗组除了给予高脂饮食外,在 24 周时给予姜黄素治疗。各组小鼠于 32 周末处死,检测小鼠血清生化指标,以及小鼠血清中 TNF- α 、IL-6、IGF-1 和 IGFBP-1 的水平,肝组织 HE 染色后进行光镜病理学检测,micro-CT 分析骨微结构及骨密度。**结果** 与 WT 组相比,HFD 组血清中 AST、IL-6、TNF- α 明显升高($P<0.05$),而体重、TC、ALT、IGF-1、IGFBP-1 变化更加明显($P<0.01$);小鼠肝组织纤维化增生明显,同时胫骨近端参数 BV/TV、Tb.Th、Tb.N、Tb.Sp、Conn.D/mm³、C.Th、vBMD、tBMD 及骨干形态与 WT 组相比差异具有统计学意义($P<0.05$ 、 $P<0.01$);通过姜黄素治疗后除 IGF-1 水平明显升高($P<0.05$),小鼠体重以及血清中其余各指标水平明显下降($P<0.05$),更接近于 WT 组($P>0.05$);肝脏病理学未见明显坏死灶及纤维化,小鼠骨微结构参数及骨干形态较 HFD 组明显好转($P<0.05$ 、 $P<0.01$),部分参数接近 WT 组($P>0.05$)。**结论** 小鼠非酒精性脂肪肝纤维化期可出现明显骨量丢失,血清中 TNF- α 、IL-6、IGF-1 和 IGFBP-1 变化在其发病机制中起到重要的作用,其中 IGF-1 和 IGFBP-1 作用尤为重要,而姜黄素通过调节这些细胞因子可减轻脂质聚集,增加骨小梁、骨皮质及骨密度。

关键词: 非酒精性脂肪肝;肝纤维化;姜黄素;骨微结构;骨密度

Effects of nonalcoholic fatty liver fibrosis on bone microstructure in mice and the therapeutic effect of curcumin

WANG Tonghao^{1*}, TANG Fei², TIAN Yonggang¹, CHEN Zhiqing¹, ZHENG Jinxin¹

1. Department of Orthopedics, Artificial Cell Engineering Technology Research Center; Tianjin Key Laboratory of Extracorporeal Life Support for Critical Diseases; Tianjin Institute of Hepatobiliary Disease; The Third Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300170, China

2. Department of Gastroenterology of The Third Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300170, China

* Corresponding author; WANG Tonghao, Email: wangtonghao920125@126.com

Abstract: **Objective** The present study aims to investigate the potential effects of liver fibrosis on bone microstructure in mice with nonalcoholic fatty liver (NAFLD) disease and the therapeutic effect of curcumin. **Methods** Six-week-old wild-type C57BL/6 female mice were randomly assigned to three groups: wild-type C57BL/6 mice control group (WT group, $n=10$), wild-type C57BL/6 mice with a HFD (HFD group, $n=10$) and HFD with curcumin (HFD+Cur group, $n=10$). The control group was fed with normal diet, the high-fat diet group was fed with high-fat diet, and the curcumin treatment group was treated with curcumin at 24 weeks. Mice in each group were sacrificed at 32 weeks and serum biomarkers and the cytokines TNF- α , IL-6, IGF-1, and IGFBP-1 were determined, hematoxylin and eosin staining of liver sections revealed hepatic steatosis, and micro-CT scans were made of the proximal tibia. **Results** Compared with the WT group, the AST, IL-6 and TNF- α levels were significantly higher in the HFD group ($P<0.05$), while the differences of weight, TC, ALT, IGF-1, IGFBP-1 were even greater ($P<0.01$). Meanwhile,

* 通信作者: 王铜浩, Email: wangtonghao920125@126.com

the mouse in the HFD group liver tissue showed obvious fibrosis and the bone microstructure parameters of BV/TV, Tb.Th, Tb.N, Tb.Sp, Conn.D.mm⁻³, C.Th, vBMD, tBMD displayed a significantly differences compared with WT group ($P<0.05$ or $P<0.01$). After treatment with curcumin, except the IGF-1 level was significantly increased ($P<0.05$), the body weight of the mice and the serum levels of other indicators were significantly decreased ($P<0.05$), which was more similar to that of the WT group ($P>0.05$). Meanwhile, no obvious liver fibrosis were observed in liver pathology, and there were significant increases in trabecular bone mass of the metaphysis as well as clearly improved BMD ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion** Significant bone loss can be observed in mice with nonalcoholic fatty liver fibrosis, and the changes of the TNF- α , IL-6, IGF-1, and IGFBP-1 levels may play critical roles in pathogenesis, among which IGF-1 and IGFBP-1 play a particularly important role. Curcumin, by regulating these cytokines, can reduce lipid accumulation and increase bone trabeculae, bone cortex and bone mineral density.

Key words: NAFLD; liver fibrosis; curcumin; bone microstructure; BMD

非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是最常见的慢性代谢性肝病之一,是一种广泛的肝脏损害的病理状态,范围从单纯性脂肪变性到非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、肝纤维化。在最近的流行病学研究中发现 NAFLD 与骨质疏松症显著相关^[1]。一些研究支持低骨密度(BMD)与 NAFLD 关系密切^[2-3],而 Kaya 等^[4]发现 NAFLD 对骨密度有促进作用,并且这种促进作用与血清细胞因子水平无关。因此 NAFLD 和骨密度之间关系仍然存在争议。此外,虽然脂肪肝与骨质疏松的研究已经不少,但 NAFLD 纤维化与骨质疏松相关性研究很少,并且目前临床上还没有找到一种药物能够有效的改善 NAFLD 纤维化及其并发症。本研究应用高脂饮食(HFD)诱导非酒精性脂肪肝(NAFLD)纤维化模型小鼠,并给予姜黄素治疗,通过 micro-CT 分析胫骨近端,探讨 NAFLD 纤维化对骨微结构及骨密度的影响及姜黄素的治疗作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物

6 周龄雌性野生型 C57BL/6 小鼠 30 只,体重(20 $\pm$ 2)g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证号[SCXK(京)2016-0006]。实验动物常规饲养于天津第三中心医院肝胆研究所清洁级动物房,12 h 光照和黑夜循环,温度 21~22℃,相对湿度 50%~60%,动物自由采食和饮水。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组与处理:小鼠适应 1 周后,随机平均分为 3 组:对照组(WT 组);高脂饮食组(HFD 组)和姜黄素治疗组(HFD+Cur 组)。正常对照组给予普通饲料饲喂,高脂饮食组给予高脂饮食饲养(60%的能量来自脂肪)建立 NAFLD 小鼠模型,姜黄素治疗组除了给予高脂饮食外,在 24 周时同时给予姜黄素治疗(以重量的 3%加入高脂饮食,纯度>

96%,购于 Sigma 公司),有研究表明这一浓度的姜黄素可以逆转与 NAFLD 相关的代谢紊乱^[5]。饲养方式均为自由饮食,饮水。

1.2.2 取材及标本制备:第 32 周末,结束实验,喂养期间 HFD 组有 1 只小鼠死亡,剩余大鼠称重并记录,禁食 12 h 后均用戊巴比妥钠(50 mg/kg,腹腔注射)麻醉,断头处死,所有小鼠收集血样,静置 15~20 min,离心分离血清(4 000 r/min, 10 min)。将血清在-20℃保存,同时分离两侧胫骨,剥离附着的肌肉组织后,在 4℃磷酸盐缓冲的福尔马林(PBF, pH 7.4)中保存 24 h,然后每个样本与 70%乙醇脱水 48 h,纵向放置在充满 70%乙醇的试管中,直到使用。

1.2.3 血清生化检测:应用日立全自动生化分析仪(日本)检测血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、三酰甘油(TG)和胆固醇(TC)水平,应用 Quick EIA™ 小鼠 TNF- α ELISA 试剂盒和 Quick EIA™ 小鼠 IL-6 ELISA 试剂盒(Dakewe biotech Company Limited)检测各小鼠血清中的细胞因子 TNF- α 和 IL-6 表达水平,分别使用放射免疫分析试剂盒(ALPCO, Windham, NH)和 ELISA 试剂盒(Insight Genomics, Falls Church, VA)测定血清胰岛素样生长因子-1(IGF-1)和胰岛素样生长因子结合蛋白-1(IGFBP-1)的水平。

1.2.4 肝组织病理学检测:切除小鼠肝脏同一部位,置于 4%多聚甲醛(PFA)中固定 24 h,然后脱水 12 h,蜡包埋、切片,用二甲苯透明,梯度乙醇脱水,HE 染色后进行光镜病理学检测。

1.2.5 Micro-CT 扫描:将样本放入含有 70%乙醇的圆柱形塑料管中,密封塑料管,放入 micro-CT (Skyscan 1076 micro-CT system; skyscan, Aartselaar, Belgium)中进行胫骨近端扫描,扫描过程 360°旋转,电压 50 kV,电流 200 μ A,曝光时间 2 000 ms/帧,分辨率 9.0 μ m $\times$ 9.0 μ m $\times$ 9.0 μ m,将样本周

围的增量角设置为 0.5° , 自胫骨干骺端 1.5 mm 处向下扫描 300 个片段, 该区骨小梁数日较为丰富, 将获得的扫描图像导入医学影像三维重建软件 Mimics 17.0 软件 (Materialise Company, Leuven, Belgium)。对骨密度 (BMD)、骨小梁间距 (trabecular separation, Tb.Sp)、骨体积比 (bone volume/total volume, BV/TV)、骨小梁厚度 (trabecular thickness, Tb.Th)、骨小梁数日 (trabecular number, Tb.N)、连接密度 (connectivity density, Conn.D)、皮质厚度 (cortical thickness, C.Th) 进行形态学测量和分析。其中测定的骨密度包括骨小梁容积密度 (trabecular volumetric BMD, vBMD), 代表骨小梁器官水平上的骨密度, 和组织骨密度 (tissue BMD, tBMD), 代表骨小梁组织水平上的骨密度

1.3 统计学处理

所有统计比较均使用 SPSS 20.0 统计软件进行 (IBM Corp., Armonk, NY, USA)。所有数值均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两样本均数比较用 t 检验, 多样本均数比较采用 ANOVA 进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体重变化及血清中 ALT、AST、TC 和 TG 的水平

与 WT 组相比, HFD 组血清中 AST 明显升高 ($P < 0.05$), 而体重、TC、ALT 升高更加明显 ($P < 0.01$); 与 HFD 组相比, 姜黄素治疗后小鼠体重以及血清中 AST、TC、ALT 水平明显下降 ($P < 0.05$), 更接近于 WT 组 ($P > 0.05$); 但 3 组小鼠血清中 TG 的水平变化不明显, 差异无统计学意义。见表 1。

表 1 小鼠体重及血清 ALT、AST、TG 和 TC 水平

Table 1 Body weight and serum levels of ALT, AST, TG and TC in mice

组别	体重/(g)	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	AST/(U/L)	ALT/(U/L)
WT	38.36±4.08	3.55±0.75	1.29±0.21	35.29±6.78	58.31±10.72
HFD	51.27±5.21**	7.35±0.91**	1.41±0.24	48.78±12.08*	79.89±20.18**
HFD +Cur	40.77±4.85 [△] #	4.12±0.79 [△] #	1.38±0.26	39.89±6.97 [△] #	65.77±19.76 [△] #

注: 与 WT 组小鼠比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, # $P > 0.05$; 与 HFD 组小鼠比较, [△] $P < 0.05$ 。

2.2 血清炎症细胞因子, IGF-1 及 IGFBP-1 水平

与 WT 组相比, HFD 组小鼠血清中炎症细胞因子 IL-6 和 TNF- α 水平明显升高 ($P < 0.05$), 而 IGF-1 和 IGFBP-1 水平变化更加明显 ($P < 0.01$); 经姜黄素治疗后, IL-6、TNF- α 、IGFBP-1 水平明显下降 ($P < 0.05$), IGF-1 水平明显升高 ($P < 0.05$), 各指标均接近 WT 组 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 各组小鼠血清中 IL-6、TNF- α 、IGF-1、IGFBP-1 水平

Table 2 Serum levels of IL-6, TNF- α , IGF-1 and IGFBP-1 in each group

组别	IL-6 /(ng/L)	TNF- α /(ng/L)	IGF-1 /(ng/mL)	IGFBP-1 /(ng/mL)
WT	135±21	357±27	265±20.5	34.8±8.9
HFD	161±31*	429±35*	197±14.2**	49.5±9.3**
HFD +Cur	143±28 [△] #	358±26 [△] #	256±13.7 [§] #	30.2±7.2 [§] #

注: 与 WT 组小鼠比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, # $P > 0.05$; 与 HFD 组小鼠比

较, [△] $P < 0.05$, [§] $P < 0.01$ 。

2.3 各组小鼠胫骨近端骨微结构及骨密度参数

HFD 组小鼠胫骨近端参数 BV/TV、Tb.Th、Tb.N、Tb.Sp、Conn.D、C.Th、vBMD、tBMD 及骨干形态与 WT 组相比差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 见表 3, 图 1 E, 姜黄素治疗后各小鼠骨微结构及骨密度参数及骨干形态较 HFD 组明显好转 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, 图 1 F), 部分参数接近 WT 组 ($P > 0.05$)。

2.4 肝脏的组织病理学改变及胫骨近端骨形态变化

WT 组小鼠肝组织细胞大小、结构、形态正常, 肝小叶规则 (图 1 A)。HFD 组小鼠肝细胞肿胀明显, 体积明显增大, 出现明显脂肪变性, 细胞质内可见大小不等的脂肪空泡, 并伴有炎症细胞的浸润和

表 3 各组小鼠骨微结构及骨密度参数变化

Table 3 Changes of bone microstructure and bone density parameters in each group of mice

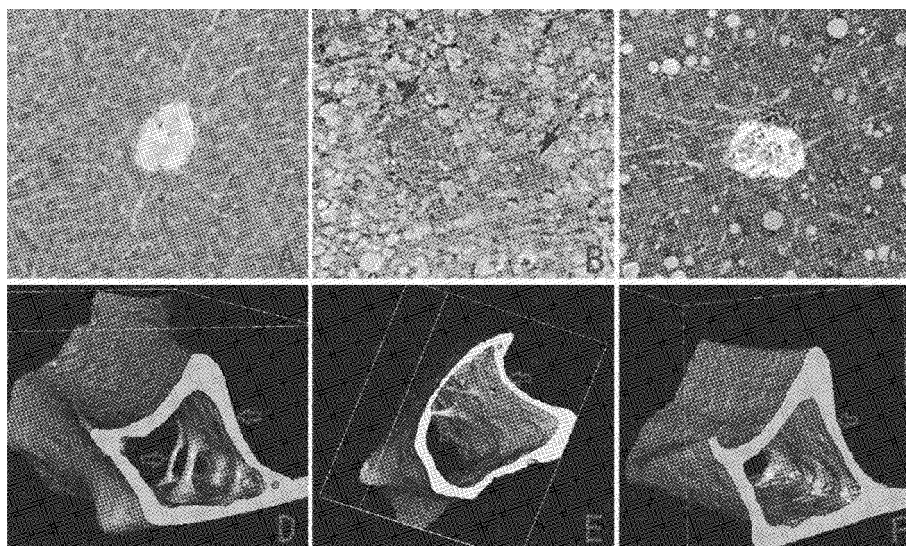
组别	BV/TV/(%)	Tb.Th/mm	Tb.N/mm ⁻¹	Tb.Sp/mm	Conn.D/mm ⁻³	C.Th/mm	vBMD/(mg/mm ³)	tBMD/(mg/mm ³)
WT	1.29±0.07	0.38±0.04	3.31±0.24	0.51±0.05	54.7±9.7	0.36±0.04	257±27	1029±111
HFD	0.61±0.03**	0.22±0.03*	1.96±0.19**	0.74±0.06**	33.9±8.6**	0.19±0.03**	177±23**	765±98**
HFD +Cur	1.07±0.06 [△] #	0.31±0.03 [△] #	2.78±0.28 [§]	0.49±0.04 [§] #	47.1±9.2 [△]	0.31±0.04 [§] #	218±20 [§]	878±102 [§]

注: 与 WT 组小鼠比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, # $P > 0.05$; 与 HFD 组小鼠比较, [△] $P < 0.05$, [§] $P < 0.01$ 。

灶状肝细胞坏死,以及汇管区组织纤维化增生(图 1 B)。HFD+Cur 组小鼠肝细胞体积明显小于 HFD 组,脂肪变性及炎症程度明显轻于 HFD 组,未见明显坏死灶及纤维化(图 1 C)

应用 Micro-CT 扫描各组小鼠胫骨近端,经过三维重建后可清晰的显示骨形态变化,通过进行图像

之间的比较分析,我们可以更加直观、形象地发现 HFD 组小鼠(图 1 E)与 WT 组小鼠(图 1 D)相比胫骨近端骨小梁数目减少、骨小梁间隙增宽、皮质厚度变薄,而经过姜黄素治疗后各指标出现明显好转(图 1 F)。



注:A,D:WT 组;B,E:HFD;C,F:HFD+cur。黑色箭头所示炎细胞浸润;红色箭头显示骨小梁,骨皮质变化。

图 1 各组小鼠肝脏组织病理学变化及胫骨近端骨微结构变化(200×)

Fig.1 Histopathological changes of liver and bone microstructure changes of proximal tibia of mice in each group(200×)

3 讨论

近些年来,人们对 NAFLD 与骨质疏松的联系进行了临床以及流行病学研究,然而,迄今为止所得到的一些证据存在相互间矛盾^[6]。而 NAFLD 纤维化与骨密度的关系及发病机制更鲜有研究。在 C57BL/6 小鼠中,通过 60 % 的脂肪能量诱导 NAFLD 发生的代谢改变与人类代谢综合征相似,包括血脂异常、炎症和肥胖^[7]。Li 等^[8]发现小鼠 NAFLD 模型在 24 周时肝脏出现纤维化,32 周时纤维化更加明显。故本研究在 24 周时给予姜黄素治疗,32 周末行肝脏病理及骨组织 Micro-CT 检测,探讨 HFD 诱导的 NAFLD 纤维化小鼠模型的骨微结构,骨密度变化及发病机制,同时研究了姜黄素的治疗效果。

由于复杂多因素机制,肝纤维化与低骨量相关病理生理学尚不清楚。我们发现 HFD 组小鼠在 32 周时体重、AST、TC、ALT 明显升高,病理出现明显纤维化,炎症因子 IL-6、TNF- α 明显升高,同时伴有骨微结构及骨密度变化,出现明显骨质疏松。细胞炎症因子作为肝纤维化,肝硬化的介质,在 NAFLD 疾

病发展过程中起到至关重要的作用^[9]。而 IL-6 与 TNF- α 作为最重要的炎症因子在 NAFLD 肝纤维化患者中明显升高,并且与肝纤维化程度正相关^[10]。同时慢性炎症也是骨质疏松症的危险因素之一,因为炎症细胞因子的激活可导致骨质流失^[11]。IL-6 是骨吸收明显的促进剂,促进破骨细胞前体的分化,增加破骨细胞活性,促进骨吸收^[12],而血清 TNF- α 水平升高则直接刺激破骨细胞的成熟与活化,并刺激成熟的破骨细胞分泌 IL-6^[13],二者共同促进破骨细胞形成,使骨吸收增加,导致骨质疏松发生。因此,将 NAFLD 纤维化与骨质疏松症联系起来的一个重要原因是慢性炎症的出现。

相对于炎症因子的变化,我们发现 IGF-1、IGFBP-1 变化更加明显。与 WT 组相比,HFD 组 IGF-1 出现明显下降,IGFBP-1 出现明显升高。有研究发现与健康对照组相比,NAFLD 患者的 IGF-1 水平较低,并且 IGF-1 水平与 NAFLD 的组织学严重程度呈负相关^[14],而 IGF-1 是骨细胞功能最重要的调节因子之一,因为它对骨骼具有合成代谢作用^[15]。在 6 个月和 19 个月大的小鼠中,肝脏来源的 IGF-1 被证明是正常皮质骨量所必需的,IGF-1 的缺乏导

致了骨皮质孔隙率的增加^[16]。另外研究表明,血清 IGFBP-1 和 IGF-I 水平与 NAFLD 患者的晚期纤维化之间存在相关性^[17]。IGFBP-1 主要在肝脏中产生,是 6 种可特异性结合 IGF-1 并调节其功能和生物利用度的可溶性结合蛋白之一,循环中的 IGFBP-1 具有跨越毛细血管屏障的能力,对细胞水平产生直接影响^[18],这意味着血清 IGFBP-1 高水平能够反映骨组织中高水平的 IGFBP-1^[19]。据报道,IGFBP-1 越高的女性肌肉质量越低^[20]。最近的一项前瞻性研究(10 年随访)发现老年女性血清 IGFBP-1 和骨质疏松性骨折之间的呈正相关,并且 IGFBP-1 对骨组织的作用独立于 IGF-1^[21]。这表明 IGFBP-1 可能在骨代谢有重要作用,并可能保持成年小鼠的骨小梁。因此,我们推测 IGF-I 和 IGFBP-1 对 NAFLD 纤维化期骨组织和 BMD 的变化起到更加重要的作用。

姜黄素是从姜黄根部提炼的最主要的色素成分,是一种历史悠久并用于治疗多种疾病的草本药物^[22]。在 HFD 诱导的非酒精性脂肪肝小鼠中,姜黄素能够改善胰岛素抵抗和肝脂肪变性^[23],并且姜黄素可显著降低 HFD 小鼠的脂质过氧化和活性氧对细胞的损伤,有望成为预防 NAFLD 的有效手段^[24]。在我们研究中同样也发现了姜黄素降低 HFD 组小鼠血清中 ALT、TG 和 TC 水平,减少脂肪聚集。此外,补充姜黄素也有助于预防和治疗骨质疏松^[25]。然而,迄今为止,还没有关于姜黄素对 NAFLD 骨微结构或 BMD 影响的临床或动物研究。

姜黄素是一种高度多效性的分子,能够与炎症相关的许多分子靶点相互作用。在 APP/PS1 转基因小鼠中,姜黄素通过降低小鼠体内炎症因子 TNF- α 、IL-6 的水平,从而改善骨微结构,增加骨密度^[26]。在 HFD 诱导的非酒精性脂肪肝小鼠中,姜黄素可抑制炎症细胞因子 TNF- α 、IL-6 的表达,从而减轻肝脏炎症^[27],而这些细胞因子与骨质疏松症密切相关,因此姜黄素可通过降低炎症因子改善骨质量。同时研究发现姜黄素对 IGF-1 信号通路具有调节作用^[28]。在糖尿病大鼠中,姜黄素通过上调 IGF-1 基因降低血糖,改善糖尿病诱导的氧化应激^[29]。而对于 IGFBP,只有 Chang 等^[30]研究发现姜黄素通过诱导口腔癌细胞中 IGFBP-5 启动子活性来上调 IGFBP-5。除此之外,没有发现其他关于姜黄素与 IGFBP 关系的研究。本研究首次阐明了姜黄素对 IGFBP-1 的调节作用。因此,我们认为姜黄素在 NAFLD 纤维化期可能通过调节血清中 TNF- α 、IL-6、IGF-1 和 IGFBP-1 水平,从而改善骨微结构,增加了

皮质厚度及骨密度。

上述研究提示小鼠非酒精性脂肪肝纤维化期可出现明显骨质疏松,血清中 TNF- α 、IL-6、IGF-1 和 IGFBP-1 变化在发病机制中起到重要的作用,其中 IGF-1 和 IGFBP-1 作用尤为重要,而姜黄素调节这些细胞因子可减轻脂质聚集,增加骨小梁,骨皮质及骨密度。由此可见,姜黄素可能是 NAFLD 纤维化期骨质疏松潜在的治疗手段。然而 NAFLD 病理机制复杂,仍有许多问题需要阐明,更好地理解骨代谢和肝脏之间的联系,可能会为治疗 NAFLD 和骨质疏松这两种非常普遍的疾病开辟一个新的领域。

【 参 考 文 献 】

- [1] Poggiogalle E, Donini LM, Lenzi A, et al. Nonalcoholic fatty liver disease connections with fat-free tissues: A focus on bone and skeletal muscle[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(10): 1747-175.
- [2] Chen HJ, Yang HY, Hsueh KC, et al. Increased risk of osteoporosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a population-based retrospective cohort study[J]. *Medicine*, 2018, 97(42): e12835.
- [3] Mantovani A, Sani E, Fassio A, et al. Association between non-alcoholic fatty liver disease and bone turnover biomarkers in post-menopausal women with type 2 diabetes[J]. *Diabetes Metab*, 2019, 45(4): 347-355.
- [4] Kaya M, Işık D, Beştaş R, et al. Increased bone mineral density in patients with nonalcoholic steatohepatitis[J]. *World J Hepatol*, 2013, 5(11): 627-634.
- [5] Weisberg SP, Leibel R, Tortoriello DV. Dietary curcumin significantly improves obesity-associated inflammation and diabetes in mouse models of diabetes[J]. *Endocrinology*, 2008, 149(7): 3549-3558.
- [6] Upala S, Jaruvongvanich V, Wijarnpreecha K, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and osteoporosis: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Bone Miner Metab*, 2017, 35(6): 685-693.
- [7] Gautam J, Choudhary D, Khedgikar V, et al. Micro-architectural changes in cancellous bone differ in female and male C57BL/6 mice with high-fat diet-induced low bone mineral density[J]. *Br J Nutr*, 2014, 111(10): 1811-1821.
- [8] Li X, Wang Z, Klaunig JE. Modulation of xenobiotic nuclear receptors in high-fat diet induced non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Toxicology*, 2018, 410: 199-213.
- [9] Metrakos P, Nilsson T. Non-alcoholic fatty liver disease-a chronic disease of the 21st century[J]. *J Biomed Res*, 2018, 32(5): 327-335.
- [10] Kar S, Paglialunga S, Jaycox SH, et al. Assay validation and clinical performance of chronic inflammatory and chemokine biomarkers of NASH fibrosis[J]. *PLoS One*, 2019, 14(7): e0217263.

- [11] Smith BJ, Lerner MR, Bu SY, et al. Systemic bone loss and induction of coronary vessel disease in a rat model of chronic inflammation[J]. Bone, 2006, 38: 378-386.
- [12] Yan L, Hu R, Tu S, et al. Meta-analysis of association between IL-6-634C/G polymorphism and osteoporosis[J]. Genet Mol Res, 2015, 14 (4): 19225-19232.
- [13] De Vries TJ, El Bakkali I, Kamradt T, et al. What are the peripheral blood determinants for increased osteoclast formation in the various inflammatory diseases associated with bone loss? [J]. Front Immunol, 2019, 10: 505.
- [14] Sumida Y, Yonei Y, Tanaka S, et al. Lower levels of insulin-like growth factor-I standard deviation score are associated with histological severity of non-alcoholic fatty liver disease [J]. Hepatol Res, 2015, 45(7): 771-781.
- [15] Mohan S. Insulin-like growth factor binding proteins in bone cell regulation[J]. Growth Regul, 1993, 3(1): 67-70.
- [16] Svensson J, Windahl SH, Saxon L, et al. Liver-derived IGF-I regulates cortical bone mass but is dispensable for the osteogenic response to mechanical loading in female mice[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2016, 311(1): E138- E 144.
- [17] Hagström H, Stål P, Hultcrantz R, et al. IGFBP-1 and IGF-I as markers for advanced fibrosis in NAFLD-a pilot study[J]. Scand J Gastroenterol, 2017, 52(12): 1427-1434.
- [18] Kelley KM, Oh Y, Gargosky SE, et al. Insulin-like growth factor-binding proteins (IGFBPs) and their regulatory dynamics [J]. Int J Biochem Cell Biol, 1996, 28: 619-637.
- [19] Lundin H, Sääf M, Strender LE, et al. High serum insulin-like growth factor-binding protein 1 (IGFBP-1) is associated with high fracture risk independent of insulin-like growth factor 1 (IGF-I) [J]. Calcif Tissue Int, 2016, 99(4): 333-339.
- [20] Stilling F, Wallenius S, Michaëlsson K, et al. High insulin-like growth factor-binding protein-1 (IGFBP-1) is associated with low relative muscle mass in older women[J]. Metabolism, 2017, 73: 36-42.
- [21] Salminen H, Sääf M, Ringertz H, et al. The role of IGF-I and IGFBP-1 status and secondary hyperparathyroidism in relation to osteoporosis in elderly Swedish women[J]. Osteoporos Int, 2008, 19(2): 201-209.
- [22] Sigrid A, Rajasekaran K. Therapeutic potential of curcumin in gastrointestinal diseases [J]. World J Gastrointest Pathophysiol, 2011, 2(1): 1-14.
- [23] Lee ES, Kwon MH, Kim HM, et al. Curcumin analog CUR5-8 ameliorates nonalcoholic fatty liver disease in mice with high-fat diet-induced obesity[J]. Metabolism, 2020, 103: 154015.
- [24] Yang JW, Yeo HK, Yun JH, et al. Theracurmin (highly bioavailable curcumin) prevents high fat diet-induced hepatic steatosis development in mice [J]. Toxicol Res, 2019, 35(4): 403-410.
- [25] Riva A, Togni S, Giacomelli L, et al. Effects of a curcumin-based supplementation in asymptomatic subjects with low bone density: a preliminary 24-week supplement study [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(7): 1684-1689.
- [26] 杨茂伟, 王铜浩, 颜培培, 等. 姜黄素对 APP/PS1 转基因鼠骨微结构及骨密度的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2010, 16(9): 647-651.
- [27] Rushworth SA, Ogborne RM, Charalambos CA, et al. Role of protein kinase C Delta in curcumin-induced antioxidant response element-mediated gene expression in human monocytes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 341(4): 1007-1016.
- [28] Hosseini SA, Zand H, Cheraghpour M. The influence of curcumin on the downregulation of MYC, insulin and IGF-1 receptors: a possible mechanism underlying the anti-growth and anti-migration in chemoresistant colorectal cancer cells [J]. Medicina (Kaunas), 2019, 55(4): 90.
- [29] El-Bahr SM. Curcumin regulates gene expression of insulin like growth factor, b-cell CLL/lymphoma 2 and antioxidant enzymes in streptozotocin induced diabetic rats [J]. BMC Complement Altern Med, 2013, 13: 368.
- [30] Chang KW, Hung PS, Lin IY, et al. Curcumin upregulates insulin-Like growth factor binding protein-5 (IGFBP-5) and C/EBPalpha during oral cancer suppression [J]. Int J Cancer, 2010, 127(1): 9-20.

(收稿日期: 2020-06-14; 修回日期: 2020-07-29)