

## 高脂饮食诱导脂肪肝小鼠骨微结构改变的研究

浦祥玲<sup>1,2</sup>, 崔冉<sup>3</sup>, 盛辉<sup>1,3\*</sup>, 曲伸<sup>3</sup>

<sup>1</sup>南京医科大学第四临床医学院, 江苏 南京 210029; <sup>2</sup>昆山市第二人民医院内分泌科, 江苏 苏州 215300; <sup>3</sup>上海市第十人民医院内分泌代谢科, 上海 200072

**[摘要]** **目的:** 观察高脂饮食诱导的脂肪肝小鼠骨组织微结构的改变及可能机制。**方法:** 20只4周龄C57雄性小鼠随机分成2组, 标准饮食组(control,  $n=9$ )喂食标准饮食, 高脂饮食组(HFD,  $n=11$ )喂食高脂食物诱导小鼠脂肪肝模型。12周实验结束后采集小鼠的血液、肝脏、股骨、胫骨样本。检测血浆丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)浓度; 肝脏组织经HE和油红O染色, 测定肝脏的甘油三酯(TG)及总胆固醇(TC)含量; 采用micro-CT高分辨率扫描模式对两组骨样本数据进行比较, 数据包括: 骨总体积(TV)、骨量(BV)、骨体积分数(BV/TV)、连接密度(Conn.D)、结构模型指数(SMI)、骨小梁数目(Tb.N)、骨小梁厚度(Tb.Th)、骨小梁间距(Tb.Sp)、表观密度(Ap.Dens)、实质密度(Mat.Dens)及各向异性程度(DA), 部分股骨HE染色测量骨髓脂肪含量。**结果:** 高脂饮食组小鼠均成功建立脂肪肝模型; 与标准饮食组比较, 高脂饮食组小鼠的股骨具有低TV [ $(2.128 \pm 0.591) \text{ mm}^3$  vs.  $(3.570 \pm 0.330) \text{ mm}^3$ ,  $P < 0.001$ ]、Tb.N [ $(1.769 \pm 0.218)/\text{mm}$  vs.  $(2.284 \pm 0.726)/\text{mm}$ ,  $P=0.030$ ]、SMI [ $2.950 \pm 0.242$  vs.  $3.820 \pm 0.729$ ,  $P=0.004$ ]以及较高的Tb.Sp [ $(0.595 \pm 0.083) \text{ mm}$  vs.  $(0.472 \pm 0.116) \text{ mm}$ ,  $P=0.013$ ]; 高脂饮食组胫骨TV [ $(1.127 \pm 0.338) \text{ mm}^3$  vs.  $(1.741 \pm 0.683) \text{ mm}^3$ ,  $P=0.017$ ]和SMI [ $2.431 \pm 0.501$  vs.  $3.188 \pm 0.465$ ,  $P=0.003$ ]也低于标准饮食组。骨髓组织形态分析后发现高脂饮食组小鼠骨髓中每 $\text{mm}^2$ 脂肪滴的数目(AD)显著高于标准饮食组 ( $5.5 \pm 2.2$  vs.  $2.6 \pm 0.5$ ,  $P=0.042$ ), AD的多少与TV显著相关(股骨:  $r=-0.756$ ,  $P=0.030$ ; 胫骨:  $r=-0.771$ ,  $P=0.025$ )。 **结论:** 脂肪肝对小鼠的骨微结构有着不良影响, 而骨髓的脂化可能是导致这一病理现象的潜在原因。

**[关键词]** 脂肪肝; 骨微结构; micro-CT; 骨矿密度; 骨髓脂化

**[中图分类号]** R575.5

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2018)04-458-06

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20180407

### Impaired bone microstructures in high fat diet induced fatty liver mice

Pu Xiangling<sup>1,2</sup>, Cui Ran<sup>3</sup>, Sheng Hui<sup>1,3\*</sup>, Qu Shen<sup>3</sup>

<sup>1</sup>The Fourth School of Clinical Medicine, NMU, Nanjing 210029; <sup>2</sup>Department of Endocrinology, the Second People's Hospital of Kunshan, Suzhou 215300; <sup>3</sup>Department of Endocrinology & Metabolism, Tenth People's Hospital of Shanghai, Shanghai 200072, China

**[Abstract]** **Objective:** To evaluate the effect of fatty liver induced by high fat diet in C57 mice on bone microstructures and the possible mechanism. **Methods:** A total of 20 C57 male mice (4 weeks old) were enrolled and divided into two groups, fed for 12 weeks either with standard chow (control;  $n=9$ ) or with high-fat diet to induce fatty liver (HFD;  $n=11$ ). Blood, femur, tibia and liver samples were collected after sacrifice. Plasma alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) concentration were examined. The liver was stained with H&E and Oil red-O to determine if the mice were suffering from fatty liver and to measure the amount of triglyceride (TG) and total cholesterol (TC). The bone samples were scanned using a micro-CT system in a high-resolution scanning mode. Total volume (TV), bone volume (BV), total bone volume fraction (BV/TV), connectivity density (Conn.D), structural model index (SMI), trabecular number (Tb.N), trabecular thickness (Tb.Th), trabecular spacing (Tb.Sp), apparent density (Ap.Dens), material density (Mat.Dens) and degree of anisotropy (DA) were compared between control and HFD groups. The number of marrow fat drops was measured by some of the femur with HE staining. **Results:** In the HFD group, all mice were proved with fatty liver by liver H&E and oil red O staining. Compared to the control group, the HFD group had lower levels of TV [ $(2.128 \pm 0.591) \text{ mm}^3$  vs.  $(3.570 \pm 0.330) \text{ mm}^3$ ,  $P < 0.001$ ], Tb.N [ $(1.769 \pm 0.218)/\text{mm}$  vs.  $(2.284 \pm 0.726)/\text{mm}$ ,  $P=0.030$ ], SMI [ $2.950 \pm 0.242$  vs.  $3.820 \pm 0.729$ ,  $P=$

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81500650); 上海市科研项目(13ZR1432100)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: shenghui@tongji.edu.cn

0.004) and higher levels of Tb.Sp [ (0.595 ± 0.083) mm vs. (0.472 ± 0.116) mm,  $P=0.013$  ] in femur. The HFD group also had lower levels of TV [ (1.127 ± 0.338) mm<sup>3</sup> vs. (1.741 ± 0.683) mm<sup>3</sup>,  $P=0.017$  ] and SMI (2.431 ± 0.501 vs. 3.188 ± 0.465,  $P=0.003$ ) in tibia. Bone marrow histomorphological analysis showed that the number of adipose drop (AD) per mm<sup>2</sup> bone marrow was significantly higher in the HFD group compared with control mice (5.5 ± 2.2 vs. 2.6 ± 0.5,  $P=0.042$ ). AD was positively with TV (Femur:  $r=-0.756$ ,  $P=0.030$ ; Tibia:  $r=-0.771$ ,  $P=0.025$ ). **Conclusion:** Our results suggest an adverse effect of fatty liver on bone microstructure in C57 mice. Bone marrow adiposity may be a factor underlying this physiopathologic process.

[Key words] fatty liver; bone microstructure; micro-CT; bone mineral density; bone marrow adiposity

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(04): 458-463]

非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)与骨密度(bone mineral density, BMD)的关系尚不明确。之前有些学者研究发现患有NAFLD的成人<sup>[1-2]</sup>或青少年<sup>[3]</sup>相对于正常人群有着较低的BMD,然而也有另外一些学者发现没有确凿证据显示BMD的含量在NAFLD患者与正常人之间有差异<sup>[4]</sup>。迄今为止还没有针对性研究NAFLD对骨骼影响的实验结果。骨骼的强壮程度不仅取决于骨量,更取决于骨质。骨折是由于骨骼变得脆弱所导致。骨强度代表了骨的韧性及载荷能力,其结构基础是骨微结构的材料及其内部的构成关系。骨组织从微结构发生改变到骨密度下降是长期的过程。微型电脑X线断层扫描(micro-CT)技术能够清晰地呈现骨微结构<sup>[7]</sup>。本实验通过喂食C57小鼠高脂饮食,建立小鼠脂肪肝模型,运用micro-CT观测骨微结构,评估脂肪肝对骨微结构的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

C57雄性小鼠由上海同济大学实验动物中心提供,饮食由上海SLAC实验动物有限公司提供。HE染色剂(BBC化学公司,美国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 动物模型建立

所有动物实验均符合美国国立卫生研究院颁布的实验动物实用指导(NIH 85-23 1996修订版)的伦理审查,将实验动物的痛苦减低到最低。20只4周龄小鼠随机分为标准饮食组(control,  $n=9$ )和高脂饮食组(HFD,  $n=11$ )。饲养于同济大学实验动物中心清洁实验室(室温22℃,湿度50%,12h昼夜节律照明),自由获取食物和水,小鼠和食物定期称重。高脂饮食(D12451)包括24%蛋白质,42%葡萄糖和24%脂肪。喂养12周处死立即心脏采血,测定血浆丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶

(AST)浓度,收集大鼠肝脏、股骨和胫骨标本,储存在-80℃冰箱备用。

#### 1.2.2 Micro-CT测量骨微结构

75%酒精溶液固定收集好的股骨、胫骨。运用micro-CT( $\mu$ CT-80, Scanco Medical, 瑞士)扫描,扫描分辨率10  $\mu$ m,像素1 024×1 024。三维图像重建辅助软件进行骨体积和骨结构分析。骨微结构的参数:骨总体积(TV)、骨量(BV)、骨体积分数(BV/TV)、连接密度(Conn. D)、结构模型指数(SMI)、骨小梁数目(Tb.N)、骨小梁厚度(Tb.Th)、骨小梁间距(Tb.Sp)、表观密度(Ap.Dens)、实质密度(Mat.Dens)及各向异性程度(DA)。

#### 1.2.3 肝脏病理学分析

HE染色法:收集每只实验小鼠肝脏,放置于10%的中性福尔马林溶液中固定。5~7  $\mu$ m切片后经HE染色,无水乙醇彻底脱水透明,中性树脂封固切片,光学显微镜观察。

油红O染色法:新鲜收集的肝脏标本液氮中冷冻。冰冻切片8  $\mu$ m,10%福尔马林溶液固定30 min,新鲜制备的油红O染色30 min。异丙醇(60%)漂洗除去多余染料,苏木精复染1 min,封片。光学显微镜观察肝脏结构并拍照。

#### 1.2.4 测定肝脏的甘油三酯及胆固醇含量

肝脏脂质的提取采用Folch法。将100 mg新鲜的肝脏组织均匀剪碎,加入20倍氯仿和甲醇2:1混合溶液。4℃静置1夜,12 000 r/min离心20 min。收集上层组织并风干后溶解在1%的有机异丙醇溶液中。甘油三酯(TG)及总胆固醇(TC)测定分别使用美国Genzyme公司和日本Wako公司试剂盒。

#### 1.2.5 骨髓脂肪滴定量测定

彻底清除股骨上附着的肌肉和肌腱,10%福尔马林溶液固定24 h后储存在70%酒精中。4% EDTA脱去骨质,然后脱水、清洗和浸润,石蜡包埋,横断面切片厚5  $\mu$ m,部分HE染色测量骨髓脂肪量<sup>[8]</sup>。距髁

板2 mm确立2~3 cm<sup>2</sup>感兴趣区,计数骨髓脂肪滴数。

### 1.3 统计学方法

计量资料数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,行Kolmogorov Smirnov 和 Levene 检验呈正态分布,方差齐,行*t*检验;否则行秩和检验。对骨体积与脂肪肝的关系进行多元回归分析,并用简单线性相关分析骨微结构参数与脂肪细胞数的关系; $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组小鼠体重变化

开始实验时两组小鼠的平均体重之间差异无统计学意义[(18.08 ± 0.72)g vs. (18.70 ± 0.63)g,  $P=0.054$ ];喂食12周以后高脂饮食组小鼠的平均体重显著高于标准饮食组,两组比较差异有统计学意义[(24.31 ± 2.04)g vs. (20.68 ± 2.25)g,  $P=0.001$ ,图1]。

### 2.2 肝脏病理学染色和脂质含量、肝功能测定

经HE染色和油红O染色后发现,高脂饮食组小鼠的肝脏含有大量脂肪空泡并且脂肪肝呈进展状态,其数量及大小显著高于标准饮食组小鼠,提示高脂饮食组小鼠肝脏的脂肪含量较高(图2)。

标准饮食组血浆ALT[(25.12 ± 2.19)U/L vs. (51.28 ± 13.87)U/L,  $P < 0.001$ ]、AST[(28.75 ± 4.10)U/L vs. (47.18 ± 4.53)U/L,  $P < 0.001$ ],肝脏组织TG[(12.60 ± 5.28)mg/g vs. (21.30 ± 5.16)mg/g,  $P=0.002$ ]及TC[(16.35 ± 5.94)mg/g vs. (42.56 ± 5.34)mg/g,  $P < 0.001$ ]均显著低于高脂饮食组(图3),这些结果表明高脂饮食导致脂肪在肝脏堆积和肝细胞炎症反应,但两组小鼠均未见肝纤维化。

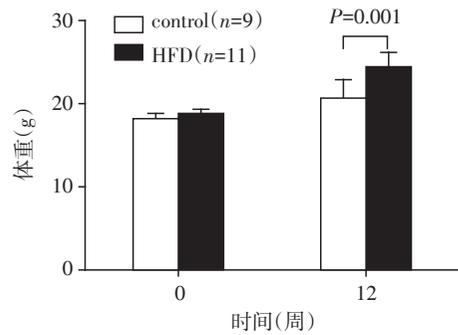


图1 两组小鼠在实验0周和12周体重比较

Figure 1 Weight of the mice in two groups at week 0 and week 12

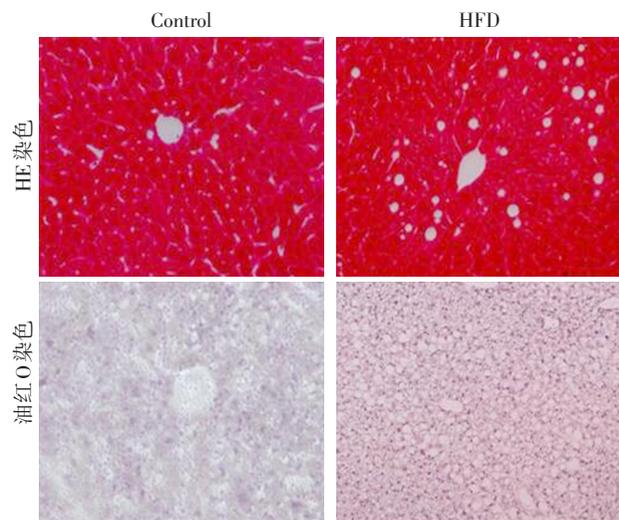


图2 12周两组肝脏的HE染色和油红O染色的图像(×100)

Figure 2 Images of HE staining and oil red O staining of the liver in the two groups at week 12(×100)

### 2.3 两组骨微结构的改变

表1显示两组骨微结构测量结果,股骨的数据

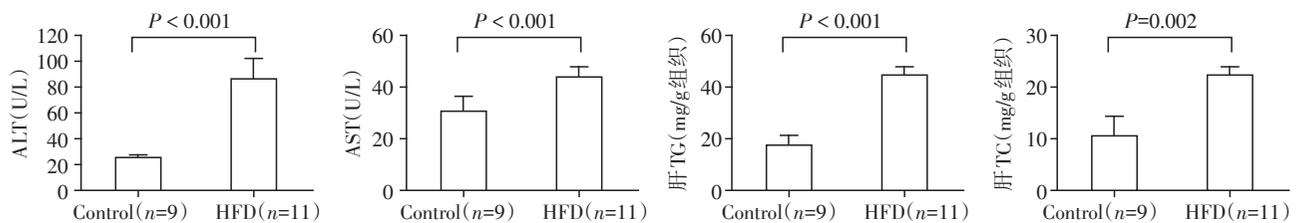


图3 12周血ALT、AST和肝脏TG、TC

Figure 3 ALT,AST,TG and TC in the liver at week 12

表明高脂饮食组小鼠的TV、Tb.N、SMI均低于标准饮食组,而Tb.Sp则较高;胫骨数据表明高脂饮食小鼠有着较低的TV和SMI;而Tb.Th、Tb.Sp、Ap.Dens、Mat.Dens两组间比较差异无统计学意义。

Micro-CT扫描重建的2D和3D图像显示,与标准饮食组相比,高脂饮食小鼠骨结构小梁排列紊

乱,数目减少,结构松散、稀疏、断裂(图4)。

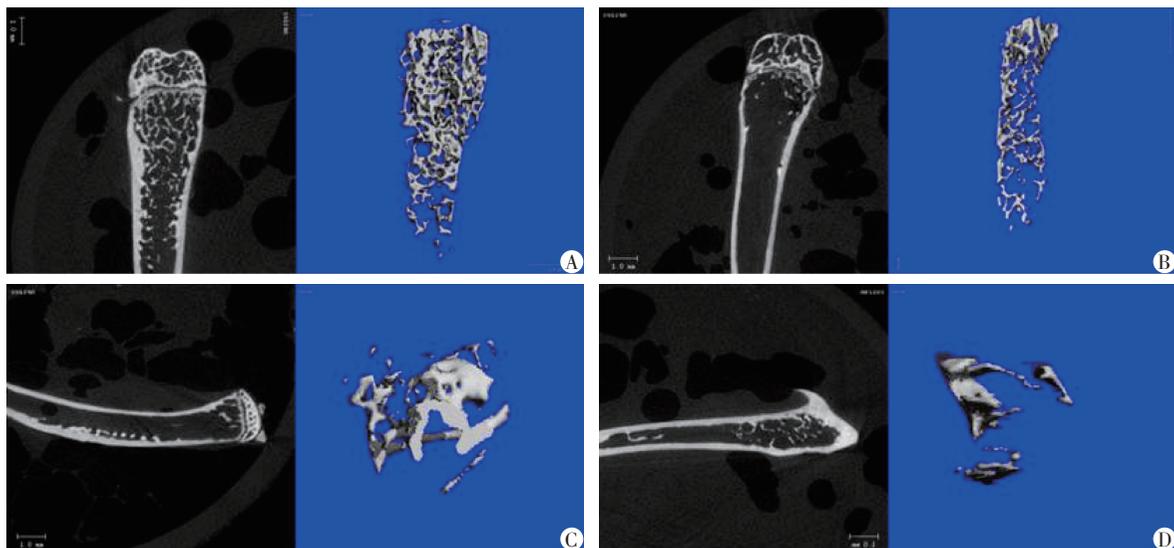
### 2.4 骨总体积和脂肪肝模型的相关性

以所有的参数体重(模型1)、ALT(模型2)和肝脏TG(模型3)建立3个模型,以多元回归分析骨总体积和脂肪肝的相关性(表2)。在所有的模型中,脂肪肝是影响骨组织结构的重要因素,这种相关性

表1 两组股骨和胫骨显微CT骨结构参数

Table 1 Micro-CT characters in femur and tibia in the control and HFD groups ( $\bar{x} \pm s$ )

骨微结构参数	股骨			胫骨		
	标准饮食组	高脂饮食组	P值	标准饮食组	高脂饮食组	P值
TV(mm <sup>3</sup> )	3.570 ± 0.329	2.128 ± 0.590	<0.001	1.740 ± 0.683	1.127 ± 0.338	0.017
BV(mm <sup>3</sup> )	0.100 ± 0.049	0.084 ± 0.039	0.621	0.080 ± 0.094	0.058 ± 0.019	0.849
BV/TV	0.028 ± 0.016	0.041 ± 0.021	0.342	0.039 ± 0.028	0.053 ± 0.016	0.179
Conn.D(1/mm <sup>3</sup> )	2.455 ± 3.724	5.358 ± 4.358	0.305	5.383 ± 7.587	5.376 ± 3.289	0.998
SMI	3.820 ± 0.728	2.950 ± 0.242	0.004	3.188 ± 0.465	2.431 ± 0.501	0.003
Tb. N(1/mm)	2.284 ± 0.726	1.769 ± 0.218	0.030	1.809 ± 0.674	2.397 ± 1.632	0.326
Tb. Th(mm)	0.054 ± 0.006	0.060 ± 0.008	0.090	0.051 ± 0.007	0.058 ± 0.008	0.073
Tb. Sp(mm)	0.472 ± 0.116	0.595 ± 0.083	0.013	0.619 ± 0.180	0.536 ± 0.193	0.339
Ap. Dens(mg HA/cc)	86.686 ± 62.813	74.691 ± 28.095	0.576	73.077 ± 34.633	61.546 ± 26.735	0.411
Mat.Dens(mg HA/cc)	912.209 ± 74.772	935.947 ± 58.845	0.437	920.457 ± 78.332	952.606 ± 62.173	0.319
DA	1.507 ± 0.195	1.587 ± 0.258	0.458	2.313 ± 0.366	2.541 ± 1.345	0.425



A: 标准饮食组股骨的图片; B: 高脂饮食组股骨的图片; C: 标准饮食组胫骨的图片; D: 高脂饮食组胫骨的图片。

图4 标准饮食组和高脂饮食组2D(黑底)、3D(蓝底)的骨微结构CT图像

Figure 4 Representative two-dimensional (black ground) and three-dimensional (blue ground) micro-CT images of the bone structure in the control and HFD groups

表2 多元回归分析骨总体积与脂肪肝之间的关系

Table 2 Relation between bone total volume and fatty liver by multiple regression analysis

模型	股骨			胫骨		
	R <sup>2</sup>	β	P值	R <sup>2</sup>	β	P值
模型1	0.709	-0.895	<0.001	0.277	-0.538	0.063
模型2	0.755	-0.649	<0.001	0.291	-0.677	0.129
模型3	0.833	-1.504	<0.001	0.459	0.344	0.044

模型1: 调整体重、脂肪肝; 模型2: 调整体重、脂肪肝和ALT; 模型3: 调整体重、脂肪肝、ALT和TG。

主要表现在股骨而非胫骨。

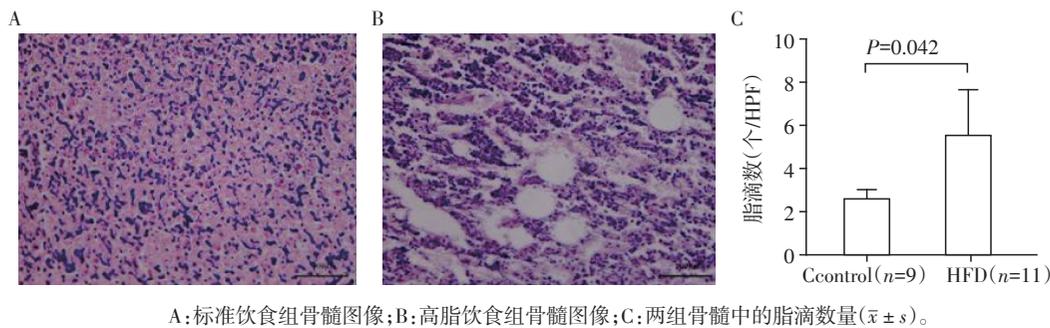
### 2.5 骨髓的组织形态学分析

为探讨其可能机制, 对各组股骨切片进行骨髓

组织学分析。高脂饮食组相比标准饮食组小鼠有着更严重的骨髓脂肪沉积(图5A、B)。HE染色显示, 高脂饮食组每mm<sup>2</sup>的骨髓脂肪滴数显著大于标准饮食组(5.5 ± 2.2 vs. 2.6 ± 0.5, P=0.042, 图5C)。

### 2.6 骨微结构参数与实验小鼠骨髓脂肪滴数的相关性研究

为了研究骨髓脂肪化是否是解释脂肪肝对骨微结构影响的潜在机制, 进一步分析骨微结构参数与脂肪细胞数之间的相关性。分析股骨发现高脂饮食组小鼠的TV含量显著低于标准饮食组, 与脂肪细胞数目显著负相关(r=-0.756, P=0.030); Tb. N与脂肪细胞数目负相关趋势(r=-0.686, P=



A:标准饮食组骨髓图像;B:高脂饮食组骨髓图像;C:两组骨髓中的脂滴数量( $\bar{x} \pm s$ )。

图5 两组骨髓脂肪变化(HE, ×400)

Figure 5 Bone marrow adiposity in two groups (HE, ×400)

0.060),但Tb.Sp含量与脂肪细胞数目却呈正相关趋势( $r=0.679, P=0.064$ )。与股骨一致,胫骨的TV与脂肪细胞数目同样呈负相关( $r=-0.771, P=0.025$ ),Tb.N与脂肪细胞数目呈负相关趋势( $r=-0.685, P=0.061$ ,表3)。

表3 骨微结构参数和实验小鼠骨髓脂肪细胞数量相关性  
Table 3 Correlation between bone microstructure parameters and adipocyte number in the bone marrow in HFD mice

骨微结构参数	股骨		胫骨	
	r值	P值	r值	P值
TV	-0.756	0.030	-0.771	0.025
BV	-0.642	0.086	-0.473	0.237
BV/TV	-0.484	0.224	-0.006	0.989
Conn.D	-0.614	0.106	-0.273	0.513
SMI	-0.077	0.855	-0.649	0.082
Tb. N	-0.686	0.060	-0.685	0.061
Tb. Th	0.210	0.617	0.302	0.467
Tb. Sp	0.679	0.064	-0.395	0.333
Ap. Dens	-0.509	0.197	-0.022	0.959
Mat. Dens	0.191	0.650	0.434	0.283
DA	-0.134	0.752	0.563	0.146

### 3 讨论

小鼠<sup>[5]</sup>和斑马鱼<sup>[6]</sup>是研究脂肪肝最适宜的动物模型,由于斑马鱼骨骼体积较小,我们选择小鼠作为实验活体。本研究发现高脂饮食诱导的脂肪肝损害了骨组织微结构,表现为骨总量和骨小梁数减少,骨小梁间距增大。既往多项研究表明脂肪肝的患者骨量或骨质有下降<sup>[1-3]</sup>;在绝经后妇女的样本中,脂肪肝患者的腰椎骨密度水平较低<sup>[1]</sup>;在另一项研究中,与非酒精性脂肪肝相比,肥胖儿童的骨骼健康状况较差<sup>[3]</sup>。这些研究结果与本研究结果相符。虽然既往的研究表明BV/TV和Tb.Th、Conn.D

之间有正相关,本研究没有发现Tb.Th和Conn.D在两组间的显著差异,这可能是由于样本量较少。SMI是评价小梁骨为杆状或板状的一项指标,松质骨中理想化的杆状骨小梁SMI是3,而理想化的板状骨小梁SMI是0。对于既有板状骨小梁又有杆状骨小梁的标本而言,其SMI为0~3,骨小梁板状结构较杆状结构能够承受更多的应力,骨小梁由板状结构向杆状结构转化,骨小梁的力学性能逐渐下降,SMI评分越高表明骨微结构改变越明显,骨强度减弱<sup>[9]</sup>。与既往研究不一致,本研究标准饮食组的SMI水平高于高脂饮食组,与理想骨小梁形态完全相反,我们对此没有明确的解释。股骨组织形态学分析发现,相对于标准饮食组,高脂饮食组骨髓中的脂肪滴数目明显增加,因此,推测在高脂饮食小鼠中骨髓脂肪过多是使其骨组织受损的原因之一<sup>[10]</sup>。肝脏中积累的脂质越多,骨髓的脂肪就会越多。在骨髓中,成骨细胞和脂肪细胞来自一个共同的多潜能的间充质干细胞。随着骨髓中脂肪细胞的增多,骨髓间充质干细胞向成骨细胞的分化受到抑制。此外,脂肪细胞分泌的一些细胞因子如TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、脂联素和瘦素能通过RANKL/RANK/OPG通路下调成骨细胞<sup>[11]</sup>。脂肪肝与多种炎症反应有关,其中可能包括骨桥蛋白水平的增加和骨钙素、护骨素水平的降低<sup>[12]</sup>。骨桥蛋白是一种非胶原质骨基质蛋白,在NAFLD中表达过度,对骨骼系统产生直接影响<sup>[13]</sup>。脂肪肝多与胰岛素抵抗并存,胰岛素在骨吸收中起重要作用,在成骨细胞中缺乏胰岛素受体的老鼠体内的循环羧化骨钙素降低导致成骨细胞数量的减少而骨量下降<sup>[14]</sup>。成骨细胞发生胰岛素抵抗时,骨钙素分泌减少,骨骼形成减少。一项肥胖小鼠骨微结构研究中,脂肪细胞核因子对OPG/RANKL/RANK/系统作用,RANKL/OPG比率增多,破骨细胞前体RANK表达增加,破骨细胞生成增多<sup>[15]</sup>。

总之,高脂饮食诱导的小鼠对周围骨微结构确有损伤,骨髓脂化可能是其病理生理机制之一。本研究中有一些局限。首先,虽然骨髓脂肪过多可能是骨组织受损的一个重要因素,但还可能有一些其他相关的一些未知机制。骨形成蛋白2(bmp2)和成骨特异性转录因子2(runx2)是骨、软骨发育和成骨细胞分化的重要因子,应该进行进一步的实验,以评估表型特异基因标记的表达,探讨这种损害是影响骨形成还是骨吸收。其次,高脂肪饮食本身可能会影响骨骼质量,特别是在腰椎<sup>[16]</sup>。然而,Lu等<sup>[17]</sup>发现胫骨骨密度,包括小梁和皮质骨密度在HFD和标准饮食组之间没有变化,但骨密度与体脂负相关。因此,我们建立了高脂饮食诱导的脂肪肝动物模型,研究NAFLD对外周骨骼的影响,而对于轴骨的影响尚需今后进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] Moon SS, Lee YS, Kim SW. Association of nonalcoholic fatty liver disease with low bone mass in postmenopausal women[J]. *Endocrine*, 2012, 42(2): 423-429
- [2] Pirgon O, Bilgin H, Tolu I, et al. Correlation of insulin sensitivity with bone mineral status in obese adolescents with nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2011, 75(2): 189-195
- [3] Pardee PE, Dunn W, Schwimmer JB. Non-alcoholic fatty liver disease is associated with low bone mineral density in obese children[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2012, 35(2): 248-254
- [4] Purnak T, Beyazit Y, Ozaslan E, et al. The evaluation of bone mineral density in patients with nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Wien Klin Wochenschr*, 2012, 124(15/16): 526-531
- [5] Buettner R, Schölmerich J, Bollheimer LC. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2007, 15(4): 798-808
- [6] Schlegel A. Studying non-alcoholic fatty liver disease with zebrafish: a confluence of optics, genetics, and physiology [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69(23): 3953-3961
- [7] Bondioli L, Bayle P, Dean C, et al. Technical note: morphometric maps of long bone shafts and dental roots for imaging topographic thickness variation [J]. *Am J Phys Anthropol*, 2010, 142(2): 328-334
- [8] Chiba K, Burghardt AJ, Osaki M, et al. Heterogeneity of bone microstructure in the femoral head in patients with osteoporosis: An ex vivo HR-pQCT study [J]. *Bone*, 2013, 56(1): 139-146
- [9] Cheuk KY, Zhu TY, Yu F, et al. Abnormal bone mechanical and structural properties in adolescent idiopathic scoliosis: a study with finite element analysis and structural model index [J]. *Calcif Tissue Int*, 2015, 97(4): 343-352
- [10] Bredella MA, Gill CM, Gerweck AV, et al. Ectopic and serum lipid levels are positively associated with bone marrow fat in obesity [J]. *Radiology*, 2013, 269(2): 533-540
- [11] Cao JJ. Effects of obesity on bone metabolism [J]. *J Orthop Surg Res*, 2011, 6(6): 30
- [12] Yilmaz Y. Review article: non-alcoholic fatty liver disease and osteoporosis - clinical and molecular crosstalk [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2012, 36(4): 345-352
- [13] Fujisawa R, Tamura M. Acidic bone matrix proteins and their roles in calcification [J]. *Front Biosci*, 2012, 17(1): 1891-1903
- [14] Fulzele K, Riddle RC, DiGirolamo DJ, et al. Insulin receptor signaling in osteoblasts regulates postnatal bone acquisition and body composition [J]. *Cell*, 2010, 142(2): 309-319
- [15] Xu F, Du Y, Hang SL, et al. Adipocytes regulate the bone marrow microenvironment in a mouse model of obesity [J]. *Mol Med Rep*, 2013, 8(3): 823-828
- [16] Zeng FF, Wu BH, Fan F, et al. Dietary patterns and the risk of hip fractures in elderly Chinese: a matched case-control study [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98(6): 2347-2355
- [17] Lu XM, Zhao H, Wang EH. A high-fat diet induces obesity and impairs bone acquisition in young male mice [J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7(4): 1203-1208

[收稿日期] 2017-11-22