



• 实验动物模型 •

## 骨质疏松合并肝硬化的动物模型构建及其共病机制初探\*

裴童<sup>1,2</sup>, 王雪梅<sup>1</sup>, 张馨心<sup>3</sup>, 贾博涵<sup>1</sup>, 张德茂<sup>4</sup>, 苗文龙<sup>1</sup>, 苏冠月<sup>1Δ</sup>

1. 郑州大学第一附属医院 感染性疾病科(郑州 450052); 2. 河南省直第三人民医院 司法鉴定中心(郑州 450000); 3. 郑州大学第一附属医院 放射科(郑州 450052); 4. 四川大学华西基础医学与法医学院 生物医学工程教研室(成都 610041)

**【摘要】目的** 建立骨质疏松合并肝硬化的动物模型,分析肝硬化对小鼠骨质流失的影响及其机制初探。**方法** 实验动物为25只6周龄体质量约20~22 g的C57BL/6雌性小鼠。采用卵巢切除术联合四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl<sub>4</sub>)构建小鼠肝硬化-骨质疏松共病模型,将小鼠随机分为对照组、肝硬化组、骨质疏松组、肝硬化联合骨质疏松组,每组5只。通过HE染色、天狼猩红染色、血清肝功能指标检测等观察小鼠肝脏的病理学改变;通过micro-CT、HE染色等观察小鼠骨质量及骨形态学改变;通过ELISA、Western blot和免疫组化检测小鼠血清和肝脏组织中胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)的表达。为探究IGF-1在肝硬化与骨质疏松共病中的可能作用,本研究另外设置IGF-1干预组,通过micro-CT和HE染色观察小鼠骨质量及骨形态学改变。**结果** 与对照组和骨质疏松组相比,肝硬化组和肝硬化联合骨质疏松组小鼠肝组织中有明显的炎症细胞浸润以及胶原纤维沉积,此外,丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate transaminase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)的血清学水平也显著增加( $P<0.05$ )。Micro-CT和HE染色结果显示,相比于骨质疏松组,肝硬化联合骨质疏松组小鼠股骨远端的骨质量和骨小梁数目减少,且差异有统计学意义( $P<0.05$ )。ELISA、Western blot和免疫组化结果发现肝硬化联合骨质疏松组小鼠肝脏和血清中IGF-1的表达均明显降低( $P<0.05$ )。而给予IGF-1治疗后,肝硬化联合骨质疏松小鼠的骨量出现回升( $P<0.05$ )。**结论** 去卵巢手术联合CCl<sub>4</sub>诱导能够成功构建骨质疏松合并肝硬化的小鼠模型,IGF-1可能是介导肝硬化-骨质疏松共病的潜在分子机制和治疗靶点。

**【关键词】** 骨质疏松 肝硬化 胰岛素样生长因子1 动物模型

## Animal Modeling of Osteoporosis Combined With Liver Cirrhosis and Preliminary Investigation of the Comorbidity Mechanisms

PEI Tong<sup>1,2</sup>, WANG Xuemei<sup>1</sup>, ZHANG Xinxin<sup>3</sup>, JIA Bohan<sup>1</sup>, ZHANG Demao<sup>4</sup>, MIAO Wenlong<sup>1</sup>, SU Guanyue<sup>1Δ</sup>. 1. Department of Infectious Diseases, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 2. Judicial Expertise Center, Henan No. 3 Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450000, China; 3. Department of Radiology, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 4. Faculty of Biomedical Engineering, West China School of Basic Medical Sciences and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Δ Corresponding author, E-mail: [sguanyue1124@163.com](mailto:sguanyue1124@163.com)

**【Abstract】Objective** To establish an animal model of osteoporosis combined with liver cirrhosis and conduct preliminary investigation into the effect of liver cirrhosis on bone loss in mice and the underlying mechanisms. **Methods** The experimental animals were 25 6-week-old female C57BL/6 mice with a body weight of approximately 20-22 g. A comorbidity model of liver cirrhosis and osteoporosis was established in the mice by ovariectomy combined with carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) induction. The mice were randomly assigned to 4 groups ( $n = 5$  in each group), including a control group, a liver cirrhosis group, an osteoporosis group, and a cirrhosis and osteoporosis comorbidity group. Pathological changes in the liver were observed via HE staining, Sirius Red staining, and serum liver function indicators. Bone mass and morphological changes were assessed using micro-CT and HE staining. ELISA, Western blot, and immunohistochemistry were performed to assess the expression of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in serum and liver tissues. An additional IGF-1 intervention group was established to investigate the potential role of IGF-1 in the comorbidity of liver cirrhosis and osteoporosis, and changes in bone mass and morphology were analyzed via micro-CT and HE staining. **Results** Compared with the control and osteoporosis groups, the liver cirrhosis and cirrhosis-osteoporosis comorbidity groups exhibited significant inflammatory cell infiltration and collagen fiber deposition in liver

\* 国家自然科学基金(No. 82001062)、国家资助博士后研究人员计划(No. GZC20232418)、中国博士后科学基金(No. 2022M722249)和河南省医学科技攻关计划项目(No. LHGJ20240263)资助

Δ 通信作者, E-mail: [sguanyue1124@163.com](mailto:sguanyue1124@163.com)

出版日期: 2025-03-20

tissues, along with markedly increased serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and total bilirubin (TBIL) ( $P < 0.05$ ). According to the Micro-CT and HE staining results, the cirrhosis-osteoporosis comorbidity group showed reduced bone mass and decreased trabecular numbers in the distal femur compared to those in the osteoporosis group, with the differences being statistically significant ( $P < 0.05$ ). ELISA, Western blot, and immunohistochemistry demonstrated significantly reduced expression of IGF-1 in the liver and serum of the cirrhosis-osteoporosis comorbidity group ( $P < 0.05$ ). Notably, exogenous IGF-1 treatment restored bone mass in mice with liver cirrhosis combined with osteoporosis ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Through ovariectomy combined with  $\text{CCl}_4$  induction, a mouse model of liver cirrhosis combined with osteoporosis was successfully established. IGF-1 may serve as a potential molecular mechanism and therapeutic target mediating the liver cirrhosis-osteoporosis comorbidity.

**[Key words]** Osteoporosis Liver cirrhosis Insulin-like growth factor 1 Animal model

骨质疏松症是一种以骨量减少、骨微结构破坏、骨脆性和骨折易感性增加为主要特征的全身性代谢性骨骼系统疾病<sup>[1]</sup>。近年来,随着老龄化的增加和慢性代谢性疾病的高发,继发性骨质疏松症的患病率越来越高,尤其好发于肝硬化和胆汁淤积性肝损伤患者<sup>[2-3]</sup>。众多研究表明肝损伤与骨矿物质代谢的改变密切相关,高达75%的慢性肝病患者存在骨代谢异常<sup>[4-5]</sup>。有临床研究显示,肝硬化患者骨质疏松的患病率为20.3%<sup>[6]</sup>。虽然流行病学证据已经证实肝硬化是导致骨质丢失和骨质疏松的关键风险因素,但其共病机制尚未明确,缺乏能够同时模拟两种疾病进程的动物模型,这极大限制了机制研究的深入。

肝硬化是一种由于肝细胞永久性损伤和瘢痕(纤维化)组织形成引起的终末期疾病。持续暴露于炎症、脂肪沉积等损伤环境不仅能破坏肝脏的再生功能并诱发肝脏的慢性损伤,还可能通过“肝-骨”轴调控骨代谢稳态<sup>[7-8]</sup>。作为人体重要的代谢中心,肝脏能够通过分泌多种信号分子和代谢物与其他器官如骨、肠等相互作用维持机体内、外环境的稳态。有研究显示,主要由肝脏细胞合成和分泌的胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)在骨骼发育和骨重塑过程中发挥至关重要的作用<sup>[9]</sup>。IGF-1缺乏或过量都会引起骨重塑过程中骨稳态的失衡,从而导致骨质量的变化<sup>[10]</sup>。但是,IGF-1在肝硬化与骨质疏松共病中的作用仍需进一步阐明。

为深入探究肝硬化和骨质疏松的共病机制,本研究联合去卵巢手术和四氯化碳(carbon tetrachloride,  $\text{CCl}_4$ )诱导剂,构建了一个新的骨质疏松合并肝硬化小鼠模型,以期深入探究肝硬化合并骨质疏松的实验研究提供指导,进一步明确IGF-1在肝-骨轴中的可能作用。

## 1 材料与方 法

### 1.1 主要试剂和仪器

$\text{CCl}_4$ 溶液购自天津市天力化学试剂有限公司;小鼠IGF-1重组蛋白购自索莱宝生物科技有限公司(货号:P00048);小鼠IGF-1 ELISA试剂盒(江莱生物,货号:

JL12620-96T); IGF-1抗体(proteintech, 货号: 28530-1-AP); RIPA裂解液(北京碧云天公司, 货号: P0013B); 小动物micro-CT活体影像系统(NMC-200, 中国平生医疗科技有限公司); 激光共聚焦显微镜(LSM980, 德国ZEISS); 多功能酶标仪(SpectraMax i3x, 奥地利Molecular Devices公司); 化学发光成像系统(Odyssey<sup>®</sup> XF 2802, 美国LICOR公司); 全自动生化分析仪(Chemray 800, 深圳雷杜生命科技)。

### 1.2 实验动物

6周龄体重约20~22 g的C57BL/6雌性小鼠25只, 购自北京华卓康生物科技股份有限公司并饲养于郑州大学实验动物中心, 饲养温度18~26 °C, 湿度40%~70%, 明暗周期相对稳定, 经过1周左右的适应性饲养后进行后续实验。本研究根据实验动物伦理委员会要求, 遵循实验动物3R原则, 在保证动物够用的前提下, 尽量减少实验动物的数量, 故每组采用5只小鼠。实验过程中的所有动物模型数据均被纳入研究分析, 未采用选择性排除策略。本研究获郑州大学生命科学伦理审查委员会审批。

### 1.3 实验分组及模型构建

C57BL/6小鼠通过计算机生成随机序列分配到对照(Ctrl)组、肝硬化( $\text{CCl}_4$ )组、骨质疏松(OVX)组、肝硬化联合骨质疏松(简称肝硬化骨质疏松,  $\text{CCl}_4$ +OVX)组, 每组5只, 确保各组间年龄、体质量等基线特征差异无统计学意义。肝硬化组: 按体质量2.5 mL/kg给小鼠腹腔注射25% $\text{CCl}_4$ 溶液(溶于橄榄油), 每周2次, 持续11周; 骨质疏松组: 对7周龄小鼠行双侧去卵巢手术, 术后继续普通喂养12周。肝硬化骨质疏松组: 对7周龄小鼠行双侧去卵巢手术, 术后1周开始按体质量2.5 mL/kg给小鼠腹腔注射25% $\text{CCl}_4$ 溶液(溶于橄榄油), 每周2次, 持续11周; 将未经任何处理的小鼠作为对照组。此外, 为探究IGF-1在肝硬化与骨质疏松共病中的可能作用, 本研究另外设置IGF-1干预组( $n=5$ ): 去卵巢术后8周开始, 对去卵巢联合 $\text{CCl}_4$ 注射小鼠额外通过皮下注射给予IGF-1重组蛋白(1 mg/kg)进行治疗, 每日一次, 持续4周。分别在造模0周、2周、

4周、6周、8周、10周和12周时记录小鼠体质量的变化。造模结束后,所有小鼠以异氟烷诱导麻醉,于麻醉状态下实施眼球摘除术采集血液,采血完成后采用颈椎脱位法处死小鼠,收集血液、肝组织以及后肢长骨组织用于后续组织学切片、生化指标、蛋白表达、micro-CT等相关指标的检测,检测人员不知晓分组信息。

#### 1.4 组织学切片染色检测肝脏和骨的病理形态学变化

取肝组织或骨组织石蜡切片经烤片、脱蜡、水化后,进行HE或天狼猩红(Sirius red)染色,随后进行常规脱水、透明及封片。全自动多功能切片扫描仪对病理切片进行扫描获取图像,观察肝组织炎症浸润、纤维组织增生情况,观察骨组织形态学结构改变。采用Image J软件对图片进行标准化处理,计算矿化骨组织面积占总骨组织面积的比例。

#### 1.5 Micro-CT检测小鼠骨形态

造模完成后,取小鼠后肢长骨,置于体积分数为4%多聚甲醛中固定48~72 h,使用micro-CT活体影像系统(NMC-200)对小鼠股骨远端进行micro-CT扫描。采集到的图像使用CTAn(v.1.23)和CTvox(v.5.0)软件进行分析和重建,观察小鼠骨密度(bone mineral density, BMD)、骨体积分数(bone volume fraction, BV/TV)、骨小梁数目(trabecular number, Tb.N)和骨小梁厚度(trabecular thickness, Tb.Th)的变化情况。

#### 1.6 ELISA检测小鼠血清中IGF-1表达

通过摘眼球取血法收集各组小鼠血液,室温静置1 h后,3000 r/min离心10 min,上清液4℃冰箱保存。对上清液进行2倍稀释,按试剂盒操作说明,用ELISA法检测血清中IGF-1浓度。

#### 1.7 血清生化检测肝功能指标

通过摘眼球取血法收集各组小鼠血液,室温静置1 h后,3000 r/min离心10 min,取上清液加入全自动生化分析仪,通过酶动力学法检测血清中谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)以及总胆红素(total bilirubin, TBIL)等指标并评估肝功能状态。

#### 1.8 Western blot检测肝脏组织中IGF-1表达

称取约30 mg肝组织于研磨管中,加入RIPA裂解液(含蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂和PMSF)后进行研磨,12000 r/min离心收集组织总蛋白。经跑胶、转膜、封闭、抗体孵育、ECL化学发光成像后,采用Image J软件分析条带灰度值,结果以目的蛋白与内参蛋白GAPDH灰度值的比值表示目的蛋白的相对表达量。

#### 1.9 免疫组化染色检测肝脏组织中IGF-1表达

取肝组织石蜡切片经烤片、脱蜡、水化后,采用3%

过氧化氢溶液消除内源性过氧化物酶,后置于0.01 mol/L枸橼酸缓冲液(pH6.0)中进行抗原修复。5%山羊血清封闭30 min后滴加IGF-1一抗工作液(1:200稀释)并置于4℃冰箱中孵育过夜。PBS清洗后,滴加二抗生物素标记二抗,室温孵育30 min后使用DAB进行显色,最后采用苏木素复染,经常规脱水、透明、干燥后封片。全自动多功能切片扫描仪对病理切片进行扫描获取图像。采用半定量评分系统进行免疫组化定量分析,将阳性细胞百分比得分(0分:无染色;1分:<25%;2分:25%~50%;3分:>50%)和染色强度得分(0分:无;1分:弱;2分:中度;3分:强)相乘计算总分(0~9分)。

#### 1.10 统计学方法

本研究采用GraphPad Prism 9统计软件进行数据分析。计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,实验数据均来自至少3次重复。针对骨质量变化的两个独立组别进行比较,采用非配对 $t$ 检验;针对血清肝功能、骨质量变化、蛋白表达等多个独立组别进行比较,采用单因素方差分析, Tukey's HSD法用于事后两两比较;针对时间-体质量变化的多因素实验组进行比较,采用多因素方差分析, Tukey's HSD法用于事后多重比较。所有统计检验均采用双侧检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 小鼠体质量变化

观察各组小鼠的体质量变化(图1),结果显示,与对照组相比,肝硬化组小鼠体质量无明显变化( $P > 0.05$ )。骨质疏松组小鼠体质量在大多数时间均高于对照组( $P < 0.05$ ),而肝硬化骨质疏松组小鼠的体质量在术后2周和6周时却低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。此

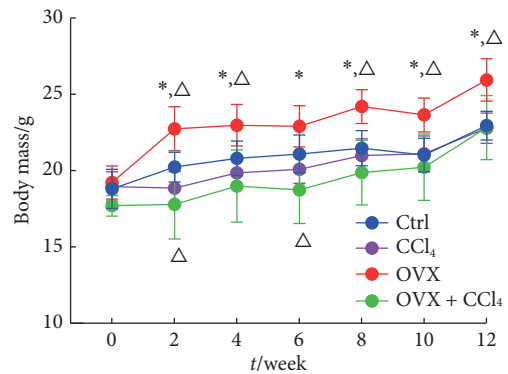


图1 各组小鼠体质量变化

Fig 1 The dynamic changes of the body mass of the mice in each group

Ctrl: control group; CCl<sub>4</sub>: CCl<sub>4</sub>-induced liver cirrhosis group; OVX: ovariectomized group; OVX + CCl<sub>4</sub>: ovariectomy combined with CCl<sub>4</sub>-induced liver cirrhosis group.  $n = 5$ . \*  $P < 0.05$ , vs. OVX + CCl<sub>4</sub>;  $\Delta$   $P < 0.05$ , vs. Ctrl.

外,本研究观察到,与骨质疏松组相比,肝硬化骨质疏松组小鼠的体质量降低( $P < 0.05$ )。

## 2.2 肝组织病理学改变及血清肝功能水平

本研究采用HE染色和天狼猩红染色观察各组小鼠肝组织的病理学改变。HE染色结果显示,对照组和骨质疏松组小鼠肝细胞排列整齐,肝索呈放射状,肝小叶和汇管区形态结构正常,无明显炎症改变。肝硬化组和肝硬化骨质疏松组小鼠肝细胞明显肿大,排列紊乱,出现明显

的炎症细胞浸润,且伴随着胶原纤维化增生的病理学改变(图2A)。天狼猩红染色结果进一步证实,肝硬化组和肝硬化骨质疏松组小鼠肝组织中有显著胶原纤维样增生的病理学变化(图2B)。此外,小鼠血清中肝功能相关指标检测结果显示,与对照组相比,骨质疏松组小鼠血清中肝功能相关的ALT、AST、TBIL水平无明显改变,而肝硬化和肝硬化骨质疏松组小鼠的血清中ALT、AST和TBIL水平均增加( $P < 0.05$ )(图2C)。

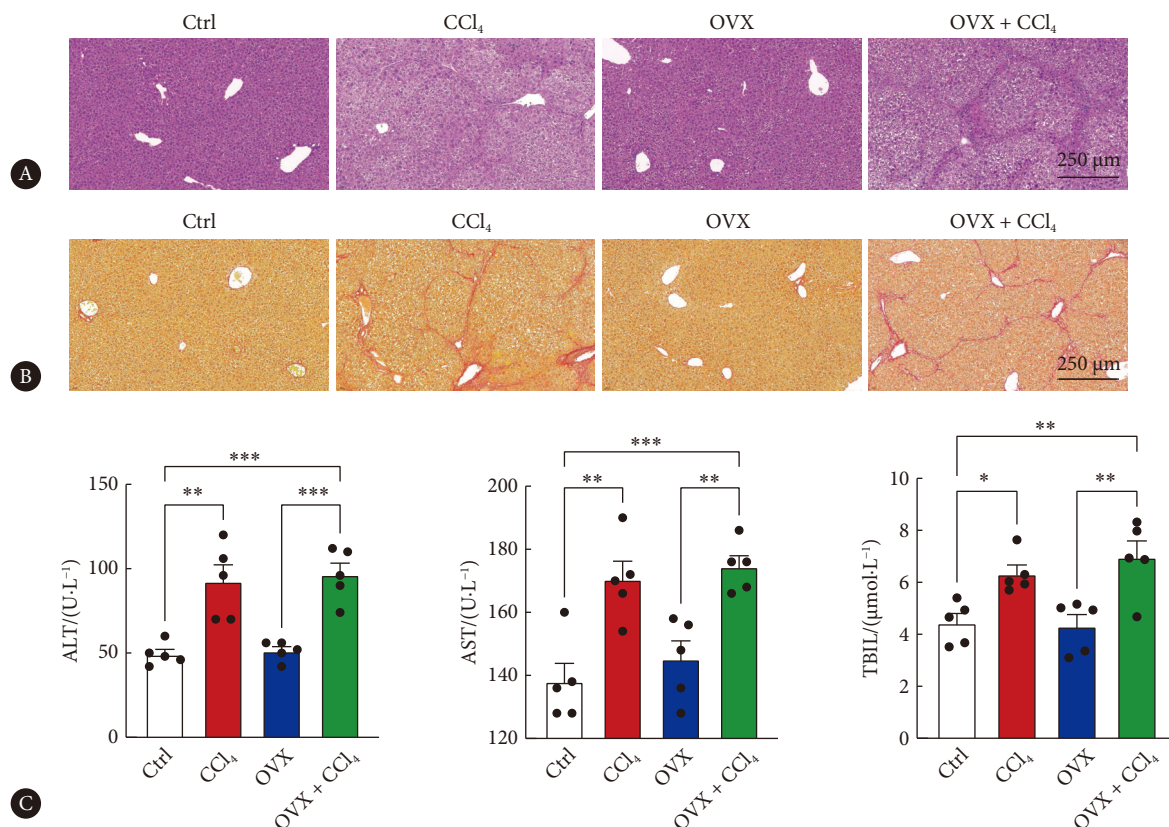


图2 小鼠肝组织病理变化及血清肝功能水平

Fig 2 The pathological changes of liver tissues and serum liver function levels in mice

ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate transaminase; TBIL: total bilirubin. A, HE staining results; B, Sirius Red staining results; C, ALT, AST, and TBIL levels in the serum of the mice ( $n = 5$ ). \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .

## 2.3 骨质量及骨形态学变化

采用micro-CT观察各组小鼠的骨质量变化,结果发现,与对照组相比,肝硬化组小鼠的骨密度及骨体积分数无明显变化,但骨小梁数目降低( $P < 0.05$ )。而与骨质疏松组相比,肝硬化骨质疏松组小鼠骨密度和骨小梁数目均降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(图3A、3B)。HE染色结果也显示,与骨质疏松组相比,肝硬化骨质疏松组小鼠矿化骨的比例降低( $P < 0.05$ )(图3C)。以上结果提示,肝硬化能够加剧骨质疏松小鼠的骨质量丢失。

## 2.4 小鼠肝脏和血清中IGF-1的表达

收集各组小鼠肝组织蛋白进行IGF-1表达检测,Western blot结果显示,与对照组相比,骨质疏松组小鼠

肝组织中IGF-1表达无明显变化,而肝硬化及肝硬化骨质疏松组小鼠肝脏组织中IGF-1表达均降低( $P < 0.05$ )(图4A)。ELISA实验结果证实,持续注射CCl<sub>4</sub>能降低对照组和骨质疏松组小鼠血清中IGF-1表达( $P < 0.05$ )(图4B)。免疫组化结果进一步显示,与骨质疏松组相比,肝硬化骨质疏松组小鼠骨组织中IGF-1表达降低(图4C)。以上结果提示,IGF-1可能是肝硬化与骨质疏松共病的潜在调控分子。

## 2.5 IGF-1减缓小鼠肝硬化状态下的骨质量丢失

为研究IGF-1在肝硬化与骨质疏松共病中的作用,本研究对肝硬化联合骨质疏松小鼠给予额外IGF-1重组蛋白进行治疗并观察小鼠骨质量的变化。Micro-CT结果显示,相比于肝硬化骨质疏松组小鼠,IGF-1干预组小鼠的

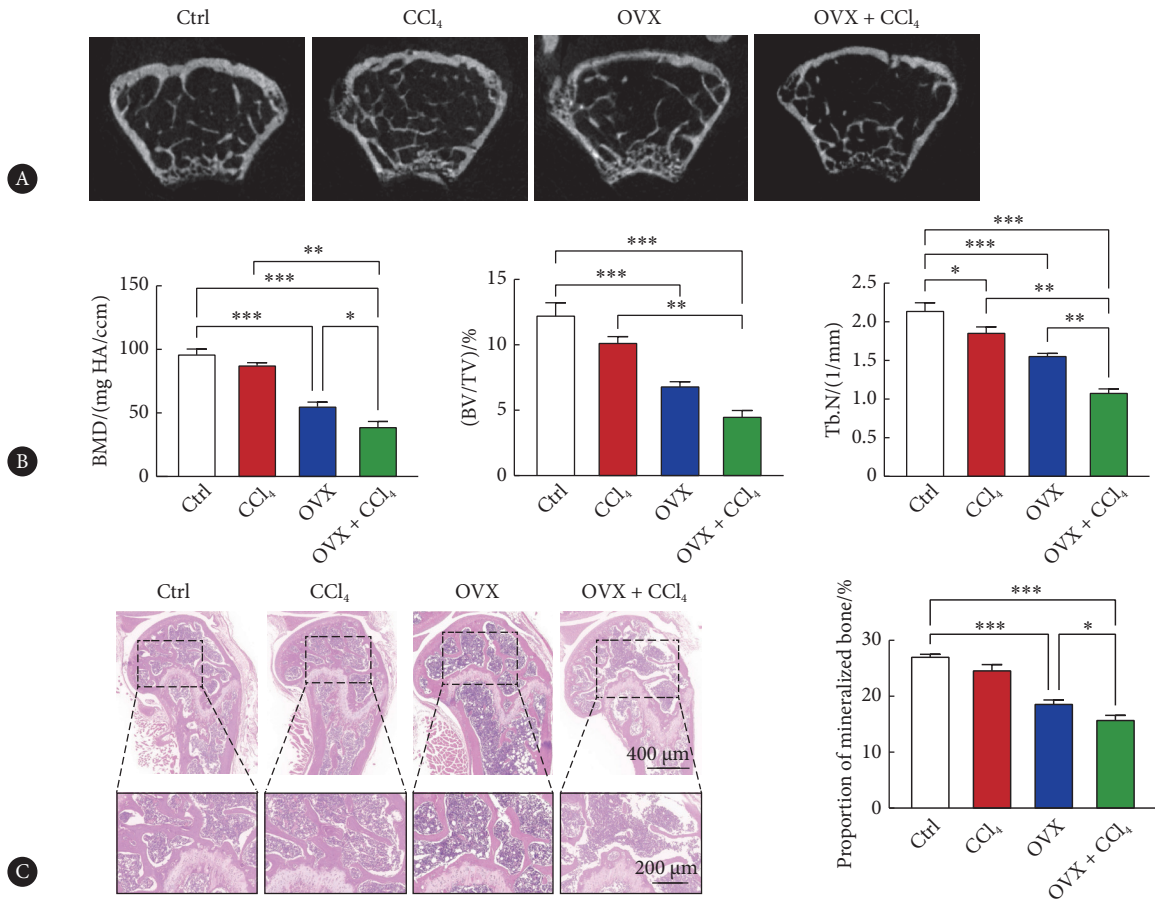


图 3 小鼠骨质量变化与组织学染色

Fig 3 Changes of the bone mass and the histological staining in mice

BMD: bone mineral density; BV/TV: bone volume fraction; Tb.N: trabecular number. A, 3D reconstruction of the bone; B, quantitative statistical chart of BMD, BV/TV, and Tb.N in the mice (n = 5); C, HE staining results of the distal femur (n = 5). \* P < 0.05, \*\* P < 0.01, \*\*\* P < 0.001.

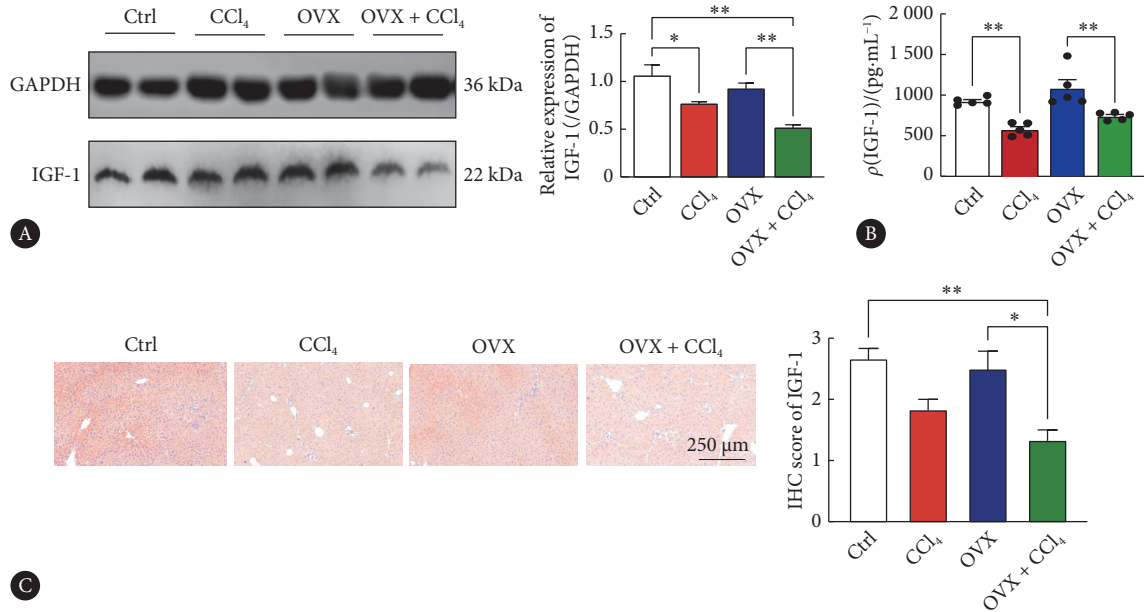


图 4 各组小鼠肝组织和血清中IGF-1表达

Fig 4 The expression of IGF-1 in liver tissues and serum

IGF-1: insulin-like growth factor-1. A, The expression and quantitative statistics of IGF-1 in liver tissue were examined by Western blot (n = 5); B, the expression of IGF-1 in serum was analyzed by ELISA (n = 5); C, the expression of IGF-1 in liver tissues were evaluated by immunohistochemistry (n = 5). \* P < 0.05, \*\* P < 0.01.

骨密度、骨体积分数、骨小梁厚度及骨小梁数目均增加, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ) (图5A、5B)。HE染色结果

也证实, IGF-1能显著恢复肝硬化骨质疏松小鼠的矿化骨质量(图5C)。

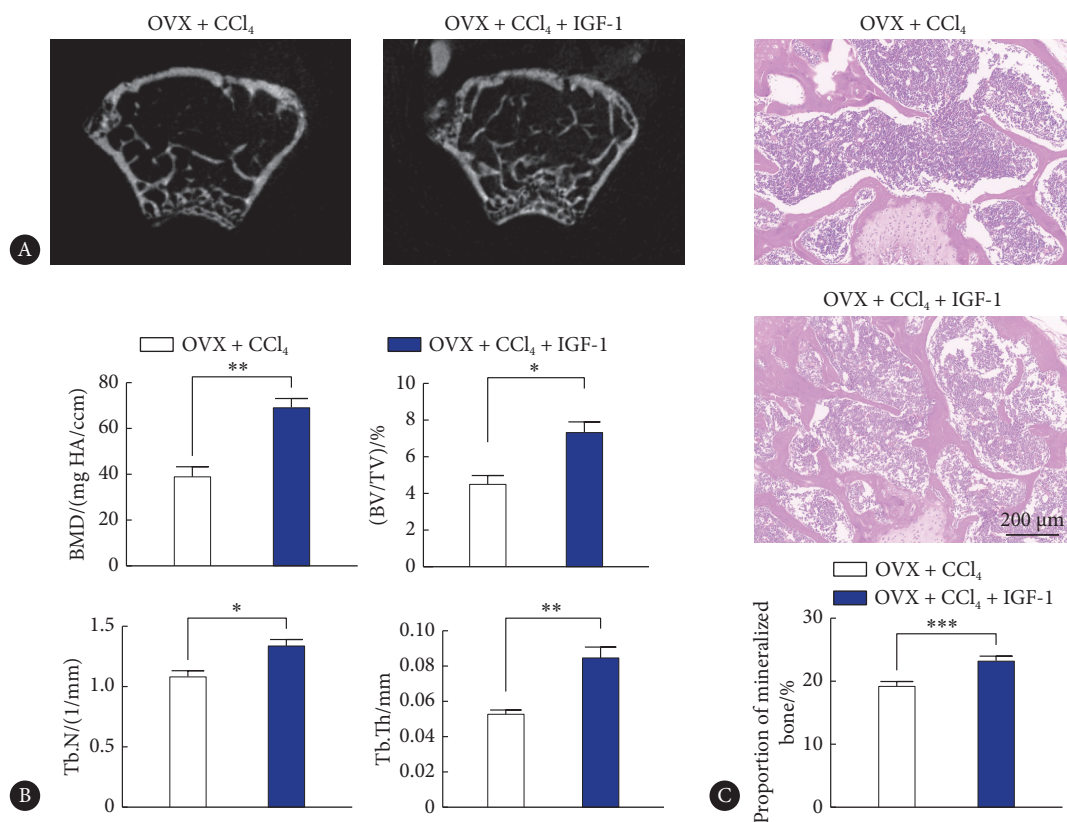


图5 外源IGF-1对小鼠骨质量的影响

Fig 5 Effects of exogenous IGF-1 on the bone mass *in vivo*

Tb.Th: trabecular thickness; the other abbreviation are explained in the note to Fig 3. A, 3D reconstruction of the bone; B, quantitative statistical chart of BMD, BV/TV, Tb.N, and Tb.Th in the mice ( $n = 5$ ); C, HE staining results of the distal femur ( $n = 5$ ). \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .

### 3 讨论

肝硬化作为一种慢性炎症性疾病, 是肝纤维化的最终结局, 也是消化系统疾病中最常见的非肿瘤性死亡原因<sup>[11]</sup>。近年来, 越来越多的研究表明肝脏和骨之间具有十分密切的联系<sup>[12-13]</sup>。临床证据显示, 肝硬化患者发生骨质疏松性骨折风险比非肝硬化患者高2倍<sup>[14]</sup>。但目前有关肝硬化和骨质疏松相关性的研究多来自临床报道, 基于动物模型的共病机制还鲜有研究。既往动物模型多单独构建肝硬化或骨质疏松, 缺乏模拟两种疾病同时发生的共病模型。考虑到单一的疾病模型无法揭示二者的病理交互作用及调控机制, 本研究构建了一种新的动物模型, 即在双侧去卵巢手术的基础上, 联合腹腔注射CCl<sub>4</sub>诱导剂构建肝硬化-骨质疏松共病小鼠模型。CCl<sub>4</sub>因其强烈的肝毒性和特定的生化特性常被广泛应用于肝纤维化和肝硬化诱导, 而本研究结果也证实连续腹腔注射25% CCl<sub>4</sub> 11周能够显著增加肝组织中的炎症细胞浸润以及胶原纤维的沉积, 升高血清中肝功能相关指标ALT、AST和

TBIL水平。相比于单纯的骨质疏松组, 肝硬化骨质疏松组小鼠的骨质量丢失进一步加剧。这些结果证实本研究成功构建了肝硬化-骨质疏松共病小鼠模型。

骨质疏松是肝硬化最严重的肝外并发症之一, 因此, 肝硬化可能是加剧骨质量丢失的严重危险因素<sup>[15]</sup>。本研究通过对肝硬化组与肝硬化骨质疏松组进行比较发现, 两组小鼠的肝组织形态和肝功能指标均呈现明显的肝硬化特征, 但肝硬化骨质疏松组小鼠骨质量丢失的程度更为显著, 说明去卵巢手术联合CCl<sub>4</sub>诱导能够建立病理表型更稳定、更显著的肝硬化-骨质疏松共病模型。

基于本研究中的肝硬化骨质疏松小鼠模型, 发现肝硬化能够进一步加剧去卵巢骨质疏松小鼠骨质量的丢失。但是, 肝硬化导致骨质量丢失的机制十分复杂, 受到多种因素的调控。由于肝和骨之间存在解剖结构上的物理距离, 肝脏可能通过分泌信号分子(如蛋白质、酶和细胞因子等)与骨骼进行交流, 这些信号分子能够通过血液循环到达骨组织进而影响骨骼功能<sup>[16]</sup>。IGF-1是一种主要由肝脏细胞合成和分泌的蛋白质多肽, 本研究发现, 肝

硬化骨质疏松组小鼠的肝脏和血清中IGF-1表达水平均明显降低,这可能与肝硬化过程中生长激素受体减少和肝脏合成功能进行性减退有关<sup>[2]</sup>。近年来,IGF-1已被证实能在骨重塑过程中发挥重要作用,能够显著促进成骨细胞的增殖和分化<sup>[17]</sup>,提示肝硬化引发的IGF-1分泌减少可能是导致小鼠骨质量丢失加剧的重要原因。本研究进一步通过对肝硬化骨质疏松小鼠给予外源性IGF-1重组蛋白进行干预,结果发现小鼠股骨远端的骨质量明显恢复,揭示了肝脏来源的IGF-1在骨形成中的潜在作用。

综上所述,本研究通过双侧去卵巢手术联合腹腔注射CCl<sub>4</sub>成功构建肝硬化-骨质疏松共病小鼠模型,且初步探索了IGF-1在肝硬化-骨质疏松共病中的潜在作用。这不仅为深入探究肝硬化合并骨质疏松的实验研究提供了具有稳定病理表型的动物模型,更有望为以后的肝-骨轴机制的深入研究提供重要参考。但本研究仍存在诸多不足需要深入探索。首先,本研究发现肝硬化能加剧骨质疏松小鼠的骨质量丢失,但动物样本量的限制可能会对结果产生一定影响,未来我们将通过扩大样本量对该结果进行进一步验证;其次,本研究初步证实了肝脏来源的IGF-1对于骨质量丢失的影响,但其具体的调控机制仍需要进一步探索;此外,肝-骨轴中存在许多内分泌因子,其他内分泌因子是否参与其中,并扮演何种角色,能否为未来肝硬化和骨质疏松的治疗提供新的治疗方案仍有待进一步探索。

\* \* \*

**作者贡献声明** 裴童负责数据审编、验证和初稿写作,王雪梅负责数据审编和验证,张馨心负责正式分析和软件,贾博涵和苗文龙负责验证,张德茂负责论文构思和经费获取,苏冠月负责论文构思、经费获取和监督指导。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的本刊进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

**Author Contribution** PEI Tong is responsible for data curation, validation, and writing--original draft. WANG Xuemei is responsible for data curation and validation. ZHANG Xinxin is responsible for formal analysis and software. JIA Bohan and MIAO Wenlong are responsible for validation. ZHANG Demao is responsible for conceptualization and funding acquisition. SU Guanyue is responsible for conceptualization, funding acquisition, and supervision. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**Declaration of Conflicting Interests** All authors declare no competing interests.

## 参 考 文 献

- [1] 范钦臣,郝彦明,何大伟,等.老年性骨质疏松症与细胞自噬关联性的研究进展.东南大学学报(医学版),2024,43(1):141-146. doi: 10.3969/j.issn.1671-6264.2024.01.023.
- FAN Q C, HAO Y M, HE D W, *et al.* Research progress on the

- relationship between autophagy and senile osteoporosis. *Journal of Southeast University (Medical Science Edition)*, 2024, 43(1): 141-146. doi: 10.3969/j.issn.1671-6264.2024.01.023.
- [2] GAO H, PENG X, LI N, *et al.* Emerging role of liver-bone axis in osteoporosis. *J Orthop Translat*, 2024, 48: 217-231. doi: 10.1016/j.jot.2024.07.008.
- [3] 杨丽,杨长青.肝硬化与继发性骨质疏松症.中华肝脏病杂志,2021,29(3):204-208. doi: 10.3760/cma.j.cn501113-20210208-00078.
- YANG L, YANG C Q. Liver cirrhosis and secondary osteoporosis. *Chin J Hepatol*, 2021, 29(3): 204-208. doi: 10.3760/cma.j.cn501113-20210208-00078.
- [4] 何思萍,梁瑜祺.2型糖尿病患者骨密度与代谢相关脂肪肝病相关性的研究.中国糖尿病杂志,2024,32(6):437-442. doi: 10.3969/j.issn.1006-6187.2024.06.008.
- HE S P, LIANG Y Z. Correlation research on metabolic associated fatty liver disease with bone mineral density in patients with type 2 diabetes mellitus. *Chinese Journal of Diabetes*, 2024, 32(6): 437-442. doi: 10.3969/j.issn.1006-6187.2024.06.008.
- [5] JADZIC J, DJONIC D. Bone loss in chronic liver diseases: Could healthy liver be a requirement for good bone health? *World J Gastroenterol*, 2023, 29(5): 825-833. doi: 10.3748/wjg.v29.i5.825.
- [6] ZHENG J, MIAO H, ZHENG S, *et al.* Risk factors for osteoporosis in liver cirrhosis patients measured by transient elastography. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(20): e10645. doi: 10.1097/MD.00000000000010645.
- [7] KISSELEVA T, BRENNER D. Molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis and its regression. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(3): 151-166. doi: 10.1038/s41575-020-00372-7.
- [8] GINES P, KRAG A, ABRALDES J, *et al.* Liver cirrhosis. *Lancet*, 2021, 398(10308): 1359-1376. doi: 10.1016/S0140-6736(21)01374-X.
- [9] 马惠倪,夏晶晶.老年骨质疏松性骨折患者定量CT法骨密度测量值及血清BALP、IGF1、25(OH)D3水平检测意义.中国CT和MRI杂志,2023,21(11):164-166. doi: 10.3969/j.issn.1672-5131.2023.11.050.
- MA H N, XIA J J. Significance of quantitative CT method bone mineral density measurements and detection of serum BALP, IGF1 and 25(OH)D3 levels in elderly patients with osteoporotic fractures. *Chinese Journal of CT and MRI*, 2023, 21(11): 164-166. doi: 10.3969/j.issn.1672-5131.2023.11.050.
- [10] WANG J, ZHU Q, CAO D, *et al.* Bone marrow-derived IGF-1 orchestrates maintenance and regeneration of the adult skeleton. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2023, 120(1): e2203779120. doi: 10.1073/pnas.2203779120.
- [11] TAPPER E, PARIKH N. Diagnosis and management of cirrhosis and its complications: a review. *JAMA*, 2023, 329(18): 1589-1602. doi: 10.1001/jama.2023.5997.
- [12] 史凡祺,甄瑞鑫,郑鑫,等.肝细胞生长因子基因转染对骨质疏松骨愈合的影响及其作用机制.川北医学院学报,2022,37(8):978-982. doi: 10.3969/j.issn.1005-3697.2022.08.004.
- SHI F Q, ZHEN R X, ZHENG X, *et al.* Effect of hepatocyte growth factor gene transfection on osteoporotic bone healing and its mechanism. *Journal of North Sichuan Medical College*, 2022, 37(8): 978-982. doi: 10.3969/j.issn.1005-3697.2022.08.004.
- [13] LIN L, GUO Z, HE E, *et al.* SIRT2 regulates extracellular vesicle-mediated liver-bone communication. *Nat Metab*, 2023, 5(5): 821-841. doi: 10.1038/s42255-023-00803-0.
- [14] SHIRINEZHAD A, ESHLAGHI F, SALABAT D, *et al.* Prevalent osteoporosis and fracture risk in patients with hepatic cirrhosis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Gastroenterol*, 2025, 25(1): 115. doi: 10.1186/s12876-025-03720-6.
- [15] DANFORD C, TRIVEDI H, BONDER A. Bone health in patients with liver diseases. *J Clin Densitom*, 2020, 23(2): 212-222. doi: 10.1016/j.jocd.2019.01.004.
- [16] ADAMI G. Regulation of bone mass in inflammatory diseases. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2022, 36(2): 101611. doi: 10.1016/j.beem.2021.101611.
- [17] XUN Y, JIANG Y, KHALID A, *et al.* KBTBD2 controls bone development by regulating IGF-1 signaling during osteoblast differentiation. *Cell Death Differ*, 2024. doi: 10.1038/s41418-024-01416-0.

(2025-01-13收稿,2025-03-08修回)

编辑 余琳



**开放获取** 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用4.0国际许可协议(CC BY-NC 4.0),详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

**OPEN ACCESS** This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

© 2025 《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of *Journal of Sichuan University (Medical Sciences)*