

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20191127

小檗碱对非酒精性脂肪性肝病患者血清骨钙素的影响

杨心瑜¹, 常薪霞¹, 卞 华¹, 夏明锋¹, 蔡青青^{2*}, 颜红梅^{1*}

1. 复旦大学附属中山医院内分泌科, 上海 200032

2. 复旦大学附属中山医院药剂科, 上海 200032

[摘要] **目的:**探讨小檗碱对伴糖代谢紊乱的非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)患者的血清未羧化骨钙素(ucOC)水平的影响。**方法:**对伴有糖耐量受损或2型糖尿病的114例NAFLD患者,进行生活方式干预,其中57例(小檗碱组)加小檗碱治疗(0.5g/次,每日3次),共干预16周,其余57例仅进行生活方式干预,作为对照组。评价干预前后患者ucOC水平变化及血糖、血脂和肝脏脂肪含量(HFC)等指标,分析ucOC变化的影响因素。**结果:**与对照组相比,小檗碱组患者血清ucOC水平升高更明显($P<0.001$)。校正年龄、性别和体质指数(BMI)后,小檗碱组血清ucOC的改善情况[4.60(3.50, 5.70)]仍明显优于对照组[0.96(-0.14, 2.05), $P<0.001$],平均差异为3.64(95%CI 1.74~5.55)。亚组分析显示,在非肥胖老年男性患者中,小檗碱升高ucOC的作用更加明显。偏相关分析显示,在校正年龄、性别后,治疗前后血清ucOC水平差值与BMI、体质量、腰围、HFC、糖化血红蛋白(HbA1c)、总胆固醇(TC)的差值负相关($P<0.05$)。**结论:**小檗碱能改善伴糖代谢紊乱的非酒精性脂肪性肝病患者代谢异常,可能与其升高血清ucOC水平有关。

[关键词] 小檗碱;骨钙素;非酒精性脂肪性肝病;代谢紊乱

[中图分类号] R 322.4⁺7 **[文献标志码]** A

Effect of berberine on serum osteocalcin in patients with non-alcoholic fatty liver disease

YANG Xin-yu¹, CHANG Xin-xia¹, BIAN Hua¹, XIA Ming-feng¹, CAI Qing-qing^{2*}, YAN Hong-mei^{1*}

1. Department of Endocrinology and Metabolism, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

2. Department of Pharmacy, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of berberine on the serum uncarboxylated osteocalcin (ucOC) in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) patients with impaired glucose metabolism. **Methods:** A total of 114 NAFLD patients with impaired glucose tolerance or type 2 diabetes mellitus were treated with lifestyle intervention. Among whom, 57 patients received berberine treatment with 0.5 g every time and 3 times a day. The intervention continued for 16 weeks. The osteocalcin level, serum glucose level, lipid concentration, and hepatic fat content (HFC) were measured before and after the intervention, and the relating factors of osteocalcin level were analyzed. **Results:** Serum osteocalcin level was significantly elevated in the berberine group compared with the control group ($P<0.001$). After adjusting age, gender, and body mass index (BMI), the improvement of serum osteocalcin level in the berberine group (4.60 [3.50, 5.70]) was still significantly higher than that in the control group (0.96[-0.14, 2.05], $P<0.001$), with mean difference of 3.64 (95%CI 1.74-5.55). Subgroup analysis showed that the effect of osteocalcin improvement of berberine was more significant in non-obese old male patients. Partial correlation analysis showed that the difference of serum osteocalcin level was negatively correlated with BMI, body weight, waist circumference, HFC, glycosylated hemoglobin 1c (HbA1c), and total cholesterol (TC) before and after treatment after age and gender adjustment ($P<0.05$). **Conclusions:** The effect of berberine on improving metabolic disorders in patients with NAFLD accompanied by impaired glycometabolism is related to the increase of serum uncarboxylated osteocalcin level.

[Key Words] berberine; osteocalcin; non-alcoholic fatty liver disease; metabolic disorder

[收稿日期] 2019-07-06

[接受日期] 2019-10-28

[基金项目] 上海市卫生和计划生育委员会面上项目(201740092),上海市综合医院中西医结合专项一般项目[ZY(2018-2020)-FWTX-3019]. Supported by the General Program of Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning (201740092) and General Project of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine in Shanghai General Hospital (ZY [2018-2020]-FWTX-3019).

[作者简介] 杨心瑜, 硕士生. E-mail: yangxy1105@163.com

* 通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-64041990, E-mail: cai.qingqing@zs-hospital.sh.cn; E-mail: yan.hongmei@zs-hospital.sh.cn

非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)是慢性肝病的常见原因,是指除过量饮酒、病毒感染及其他特定损肝因素外所致的肝脏脂肪堆积超过5%~10%的疾病^[1]。随着膳食和生活方式的改变,NAFLD患病率在全球范围内不断增加。其中,15%~30%的中国人患有NAFLD^[2]。此外,NAFLD与代谢综合征、2型糖尿病、血脂异常、心血管疾病患者死亡率的升高及其他肝外并发症(包括骨质疏松症)的发生密切相关^[3-4]。

骨钙素是一种成骨细胞来源的多肽激素,是骨细胞外基质的组成成分。羧化的骨钙素(cOC)与羟基磷灰石具有较强吸附力,沉积在骨基质中,未羧化骨钙素(ucOC)通过骨吸收进入血液循环。近年来,基于动物及细胞水平的研究^[5]指出,ucOC可作为调节能量代谢的重要介质。然而,既往研究^[6]发现,ucOC也可作为骨形成/骨转化的标志物,在一定程度上反映骨代谢的情况。

小檗碱(BBR)是一种异喹啉生物碱,具有多种药理作用。BBR可显著改善糖代谢紊乱NAFLD患者的肝脂肪变性和相关糖脂代谢紊乱^[7]。另有研究^[8]表明,小檗碱可能具有治疗糖尿病性骨质疏松症的潜力。BBR可有效改善各细胞系中的骨钙素水平^[9-10],并改善骨质疏松大鼠模型中的症状^[11]。然而,其对人体骨钙素的作用尚不清楚。因此,本研究探讨了BBR对糖代谢紊乱的NAFLD患者ucOC水平的影响,并探讨其相关影响因素。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究为一项前瞻性队列研究(临床试验注册号:NCT00633282)。受试者来自之前的平行对照开放临床试验^[7],纳入2008年3月至2011年8月主动来院就诊的伴有糖耐量受损或1年内新诊断2型糖尿病的114例NAFLD患者,年龄18~65岁。排除饮酒量女性 ≥ 10 g/d、男性大于或等于20 g/d,乙肝/丙肝病毒阳性或有其他肝脏疾病的患者。将其随机分配到对照组与BBR组,各57例,进行为期16周的干预。对照组为单纯生活方式干预(LSI),即限热卡饮食(减少500 kcal/d,1 kcal=4.184 kJ)配合运动(每日慢跑或快走30 min);BBR组为LSI加每日餐前30 min口服BBR(0.5 g/次,每日3次)治疗。本研究通过复旦大学

附属中山医院伦理委员会审核批准(2010-172),并取得患者知情同意。

1.2 血糖、血脂及肝脏脂肪含量(HFC)测定 禁食至少10 h后获得患者血液样品。采用口服葡萄糖耐量试验(OGTT)测量定血糖水平,采用放射免疫测定法测定胰岛素水平。使用现代7600自动生物分析仪(日立)测量总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-c)。使用Friedewald方程计算低密度脂蛋白胆固醇(LDL-c)水平。通过电化学发光免疫测定法(罗氏)测量血清ucOC N-MID片段。采用1.5T磁共振扫描仪(西门子)通过¹H-MRS成像技术测量HFC。评价干预前后的血清ucOC、血糖、血脂、及HFC等指标,分析影响ucOC变化的因素。

1.3 统计学处理 采用SPSS 23.0统计软件进行分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布的计数资料以中位数(四分位数间距)表示。校正前组间比较采用两独立样本 t 检验或Wilcoxon秩和检验,校正变量后组间比较采用一般线性模型的协方差分析。血清ucOC与其他参数间的关系采用Spearman相关分析检验。检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 两组试验对象的基本特征比较 结果(表1)表明:两组体质量、血清ucOC基线水平差异无统计学意义。入组时,两组患者平均年龄约50岁,平均体质指数(BMI) > 27 kg/m²,平均腰围 > 93 cm。BBR组糖化血红蛋白(HbA1c)、TC和LDL-c略高于对照组($P < 0.05$)。

2.2 两组治疗后血清ucOC水平比较 ucOC N-MID片段测定内和测定间变异系数分别为1.2%~4.0%和1.7%~6.5%。对照组50例患者和BBR组48例患者完成随访,生活方式与药物干预依从性超过86%。结果(表2)表明:干预后,BBR组血清ucOC水平改善较对照组更明显($P < 0.001$)。校正相关变量(年龄、性别、BMI)后,BBR组血清ucOC改善情况仍明显优于对照组($P < 0.001$),平均差异为3.64(95%CI 1.74~5.55)。结果(图1)显示:对于年龄 ≥ 50 岁、男性、BMI < 28 kg/m²、TC < 5.11 mmol/L、TG ≥ 2.06 mmol/L的患者,BBR升高ucOC的作用更加明显。

表 1 两组试验对象的基线特征比较

项 目	对照组 (n = 57)	BBR 组 (n = 57)	P 值
性别(男/女)	28/29	34/23	0.263
年龄/岁	51.61 ± 10.21	50.31 ± 9.79	0.489
体质量 m/kg	75.88 ± 11.46	79.15 ± 16.38	0.221
BMI/(kg · m ⁻²)	27.42 ± 2.85	28.29 ± 4.20	0.200
腰围 l/cm	93.44 ± 8.06	96.19 ± 11.16	0.136
腰臀比	0.94 ± 0.06	0.96 ± 0.07	0.086
HFC/%	32.56 ± 13.93	33.45 ± 16.29	0.784
ucOC ρ _B /(ng · mL ⁻¹)	16.13 ± 4.49	15.34 ± 5.47	0.403
餐后血糖 c _B /(mmol · L ⁻¹)			
0 min	6.12 ± 0.98	6.35 ± 0.91	0.198
120 min	9.97 ± 3.25	11.04 ± 3.05	0.072
HbA1c /%	6.15 ± 0.70	6.48 ± 0.73 ^a	0.017
TC c _B /(mmol · L ⁻¹)	4.93 ± 0.72	5.29 ± 0.91	0.020
TG c _B /(mmol · L ⁻¹)	1.91(1.43, 2.41)	1.92(1.52, 2.43)	0.491
HDL-c c _B /(mmol · L ⁻¹)	1.19 ± 0.24	1.17 ± 0.26	0.724
LDL-c c _B /(mmol · L ⁻¹)	2.90 ± 0.68	3.23 ± 0.96	0.027

BMI: 体质指数; HFC: 肝脏脂肪含量; ucOC: 未羧化骨钙素; HbA1c: 糖化血红蛋白; TC: 总胆固醇; TG: 三酰甘油; HDL-c: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-c: 低密度脂蛋白胆固醇

表 2 血清 ucOC 水平的治疗前后差值

ucOC	对照组 (n = 50)	BBR 组 (n = 48)	BBR 组 - 对照组 (95% CI)	P 值
校正前	0.85 (-0.21, 1.90)	4.54 (3.46, 5.61)	3.69 (1.84, 5.54)	<0.001
校正后	0.96 (-0.14, 2.05)	4.60 (3.50, 5.70)	3.64 (1.74, 5.55)	<0.001

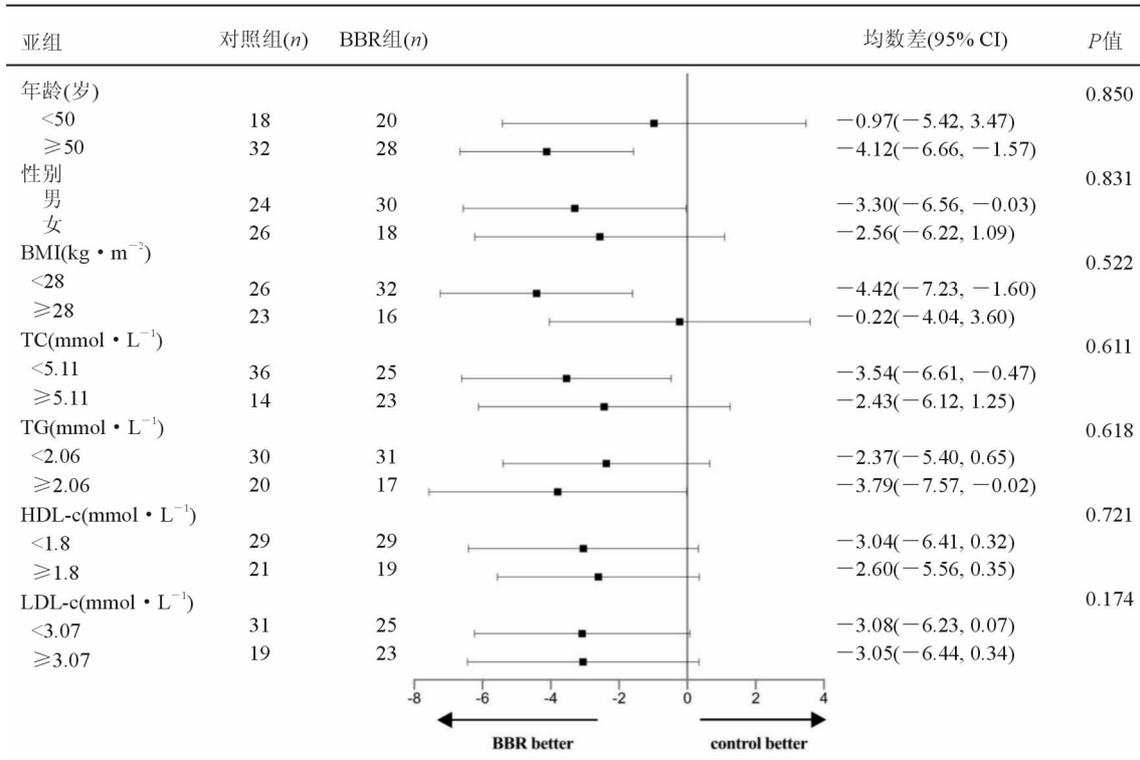


图 1 未羧化骨钙素水平的影响因素分析
截断值选取两组均数的中间值

2.3 血清 ucOC 与其他代谢指标的相关性分析 Spearman 相关分析(表 3)显示:ucOC 与 BMI、体质量、腰围、HFC、HbA1c、TG 和 TC 负相关($P < 0.05$)。偏相关分析(表 3)显示:校正年龄、性别后,干预前后血清 ucOC 水平的差值与 BMI、体质量、腰围、HFC、HbA1c 和 TC 的差值负相关($P < 0.05$)。

表 3 BBR 组治疗前后血清 ucOC 差值与其他指标差值的 Spearman 相关分析

参数	r 值	P 值	r 值 ^a	P 值 ^a
腰臀比	-0.188	0.072	-0.166	0.117
BMI	-0.321	0.002	-0.295	0.004
体质量	-0.309	0.002	-0.276	0.008
腰围	-0.274	0.008	-0.294	0.005
HFC	-0.337	0.004	-0.324	0.006
血糖				
0 min	-0.091	0.381	-0.027	0.799
120 min	-0.167	0.107	-0.156	0.135
HbA1c	-0.310	0.011	-0.325	0.008
TC	-0.283	0.005	-0.249	0.016
TG	-0.224	0.030	-0.174	0.096
HDL-c	-0.001	0.991	-0.083	0.431
LDL-c	-0.102	0.325	-0.081	0.439

^a 校正年龄和性别。BMI: 体质指数; HFC: 肝脏脂肪含量; ucOC: 未羧化骨钙素; HbA1c: 糖化血红蛋白; TC: 总胆固醇; TG: 三酰甘油; HDL-c: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-c: 低密度脂蛋白胆固醇

3 讨论

NAFLD 是一个系统性疾病,可引起包括糖尿病、心血管疾病及骨质疏松等一系列肝外并发症。既往研究^[12]表明,BBR 在降低肝脏脂肪含量的同时,可以改善血糖、血脂、血压、体质量等。一些动物研究^[7, 13-14]也显示,BBR 可有效改善 NAFLD,但其作用机制及其对人体骨代谢的益处尚不清楚。

近年来,骨钙素被发现是一种强标志物,与代谢指标负相关。流行病学研究^[15]表明,血清 ucOC 水平升高与糖耐量受损、胰岛素抵抗、肥胖和代谢综合征的发生有关。在中国,NAFLD 患者 ucOC 的水平较健康人更低。韩国一项研究^[16]也表明,校正 BMI 和 HOMA-IR 后,男性 NAFLD 患者的右髌骨矿物质密度与血清 ucOC 水平低于无 NAFLD 人群,而 BBR 可增加各细胞系中骨钙素的水平^[9-10],提示骨钙素可能参与 BBR 改善脂肪肝的作用。

本研究发现,BBR 能使糖代谢紊乱的 NAFLD

患者的血清 ucOC 水平升高。且其升高与 BMI、体质量、腰围、HFC、HbA1c 和 TC 的降低相关,表明 BBR 改善代谢的作用与其升高 ucOC 水平有关。本研究首次从临床角度对此加以证明。

本研究亚组分析显示,BBR 升高血清 ucOC 的作用在非肥胖的老年男性 NAFLD 患者中更明显。此外,由于 ucOC 是反映成骨细胞活性及骨形成/骨转化的生物标志物,提示 BBR 除了改善糖脂代谢以外,还可能改善骨代谢。改善 ucOC 水平的疗法可能对 NAFLD 治疗具有独特优势,值得开展相关临床试验进一步探讨 BBR 对 NAFLD 患者骨质疏松的作用。因此,BBR 可能是一个具有多治疗靶点的药物。尤其适用于治疗由代谢性疾病(如 NAFLD 和糖尿病)引起的骨代谢异常。

本研究的局限性:(1)不是安慰剂随机对照试验;(2)未涉及 BBR 改善血清 ucOC 的机制;(3)ucOC 在电化学发光体系中不稳定而未测定,仅 ucOC 不能准确反映骨形成,因此本研究仅分析了骨代谢,未分析骨形成。下一步研究将着眼于探讨 BBR 改善血清 ucOC 水平的潜在机制,并对其影响骨代谢的作用进行研究。

综上所述,本研究表明,BBR 可改善伴有糖代谢紊乱的非酒精性脂肪性肝病患者的 ucOC 及代谢指标的水平,且 BBR 改善代谢异常的作用与其升高血清 ucOC 水平有关。本研究有助于临床对 BBR 改善 ucOC 的作用进行更深入的了解,同时提示 BBR 可能成为治疗 NAFLD 和骨质疏松症的潜在药物。

参考文献

- [1] NEUSCHWANDER-TETRI B A, CALDWELL S H. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference[J]. *Hepatology*, 2003,37(5):1202-1219.
- [2] LOOMBA R, SANYAL A J. The global NAFLD epidemic [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2013,10(11):686-690.
- [3] BUCKLEY A J, THOMAS E L, LESSAN N, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: Relationship with cardiovascular risk markers and clinical endpoints[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2018,144:144-152.
- [4] FILIP R, RADZKI R P, BIENKO M. Novel insights into the relationship between nonalcoholic fatty liver disease and osteoporosis[J]. *Clin Interv Aging*, 2018,13:1879-1891.
- [5] SALEEM U, MOSLEY T J, KULLO I J. Serum osteocalcin is associated with measures of insulin resistance, adipokine levels, and the presence of metabolic syndrome [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010,30(7):1474-1478.

- [6] 宋斌斌, 吴炯, 张春燕, 等. 上海地区人群血清骨转换标志物参考区间的建立[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(10): 1161-1165.
- [7] YAN H M, XIA M F, WANG Y, et al. Efficacy of berberine in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e134172.
- [8] RAHIGUDE A B, KAULASKAR S V, BHUTADA P S. Possible therapeutic potential of berberine in diabetic osteopathy[J]. *Med Hypotheses*, 2012, 79(4): 440-444.
- [9] LEE H W, SUH J H, KIM H N, et al. Berberine promotes osteoblast differentiation by Runx2 activation with p38 MAPK[J]. *J Bone Miner Res*, 2008, 23(8): 1227-1237.
- [10] ZHANG R, YANG J, WU J, et al. Berberine promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells with therapeutic potential in periodontal regeneration[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 851: 144-150.
- [11] ADIL M, MANSOORI M N, SINGH D, et al. Pioglitazone-induced bone loss in diabetic rats and its amelioration by berberine: A portrait of molecular crosstalk [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 94: 1010-1019.
- [12] ZHAO L, CANG Z, SUN H, et al. Berberine improves glucogenesis and lipid metabolism in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *BMC Endocr Disord*, 2017, 17(1): 13.
- [13] FENG W W, KUANG S Y, TU C, et al. Natural products berberine and curcumin exhibited better ameliorative effects on rats with non-alcohol fatty liver disease than lovastatin [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 99: 325-333.
- [14] 吴跃跃, 黄新梅, 陈灶萍, 等. 小檗碱通过 Toll 样受体减轻高脂诱导的大鼠肾损害[J]. 中国临床医学, 2018, 25(6): 900-904.
- [15] HWANG Y C, JEONG I K, AHN K J, et al. Circulating osteocalcin level is associated with improved glucose tolerance, insulin secretion and sensitivity independent of the plasma adiponectin level[J]. *Osteoporos Int*, 2012, 23(4): 1337-1342.
- [16] YANG H J, SHIM S G, MA B O, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with bone mineral density and serum osteocalcin levels in Korean men [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2016, 28(3): 338-344.

[本文编辑] 姬静芳