

线粒体在非酒精性脂肪肝的作用

何晓瑜, 成军 (首都医科大学北京地坛医院 传染病学研究所, 北京 100015)

非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是指无过量饮酒史和其他明确的肝损伤因素外所致的以弥漫性肝大泡性脂肪变、伴或不伴炎症为主要特征的临床病理综合征, 包括单纯性脂肪肝、脂肪性肝炎、肝纤维化以及肝硬化^[1]。一般认为单纯非酒精性脂肪肝为良性可逆性病变, 但出现非酒精性脂肪性肝炎后发生肝纤维化、肝硬化的概率明显增高, 甚至可引起肝癌。在西方国家, NAFLD是最常见的肝脏疾病之一, 占肝病的17%~33%^[2,3]。近年来, 随着人们生活水平的提高, NAFLD有逐渐增多的趋势。

目前的研究认为, 遗传因素、环境因素、脂质代谢异常、氧应激、脂质过氧化损伤以及免疫反应损害等可能参与NAFLD的发病, 对脂肪肝发病机制广泛接受的理论是1998年Day等提出的“二次打击”学说^[4-6], 该学说能较合理地解释NAFLD的形成机制。在该学说中, 首次打击是胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 影响脂质代谢, 导致脂肪在肝细胞中沉积, 尤其是脂肪酸和甘油三酯, 最终引起单纯性肝脂肪变性; 第二次打击主要是氧化应激和异常的炎症细胞因子如肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 生成, 引起脂肪变性的肝细胞发生炎症、坏死甚至纤维化。大量研究表明肝细胞线粒体可能在非酒精性脂肪肝病发病机制中发挥重要作用。游离脂肪酸 (FFA) 可损害细胞质、线粒体和溶酶体膜等引起生物膜损伤。TNF- α 作为一种肝毒性细胞因子, 在NAFLD发生时表达增加, 是导致脂肪性肝炎发生的首要因子。新近研究表明, FFA可以刺激人肝母细胞瘤细胞株 (HepG2细胞) 以及肝细

胞诱导TNF- α 分泌增加, 这样便形成一个加重肝损伤的循环^[7,8], 促进肝纤维化的发展。本文从3个方面对线粒体在NAFLD中的作用进行综述。

1 反应性氧化物 (ROS)

肝实质细胞中有3个部位可产生ROS, 即线粒体、微粒体和过氧化物酶体。线粒体是肝脏 β 氧化的主要部位, 其电子传递系统占细胞氧耗的90%以上, 是氧应激和ROS产生的最主要来源, 也是ROS打击的首要靶点^[9]。NAFLD时氧化应激主要来自增多的氧化反应, 包括过氧化反应和线粒体脂肪酸的氧化、细胞色素P450 2E1 (cytochrome P450 2E1, CYP2E1) 和细胞色素P450 4A (cytochrome P450 4A, CYP4A) 对长链及超长链脂肪酸的 ω -氧化, 若耗尽了有效的抗氧化物质, 就会导致ROS的蓄积, 继而产生氧化应激, 最终加速NAFLD进展。

由于线粒体接近细胞内膜 (产生ROS的部位), 并且缺乏保护性组蛋白, 这种情况会造成线粒体DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 的损伤。尽管线粒体积极修复ROS导致线粒体损伤, 但是mtDNA对ROS导致的损伤依然非常敏感, 最终使mtDNA编码的多肽合成减少, 同时也减少呼吸链传递电子, 导致其复制和修复过程发生错误, 引起点突变^[10]。另外, 由于mtDNA缺失及修复障碍, 导致线粒体膜通透性转换孔 (mitochondrial permeability transition pore, MPTP) 开放、呼吸链电子传递受阻、NF- κ B核内移位等改变, 促进继发性氧应激, 使ROS生成增多及抗氧化物缺失。在应激的驱动下, ROS进一步通过脂质过氧化介导生化性和结构性破坏, 氧化细胞及细胞器的生物膜, 从磷脂膜的多不饱和脂肪酸提

取 H^+ 进行链反应形成脂质过氧化物, 脂质过氧化产物和4-羟基乙酸能使巨噬细胞内转移生长因子 β_1 (transforming growth factor β_1 , TGF- β_1)表达下调, 加剧氧化损伤, 促进肝纤维化和肝硬化的发展并可导致细胞死亡。

有研究发现, 肝脂肪变性诱导的脂质过氧化和ROS还可消耗谷胱甘肽及维生素E等抗氧化剂。这些重要保护性物质的消耗妨碍了ROS灭活, 并增加其在线粒体中的效应, 因此ROS是肝细胞线粒体损伤和脂肪肝形成的关键因素之一。

2 能量代谢

线粒体是细胞氧化的重要部位, 是产生ATP的主要场所, 细胞生命活动所需的能量约有95%来自线粒体。氧化磷酸化是人体内非常重要的代谢反应, 其最终的结果是三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)合酶将二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)磷酸化为ATP为细胞与机体直接供能。线粒体膜电位是由线粒体内膜内外存在的质子梯度产生, 线粒体膜电位的存在为线粒体完成氧化磷酸化的功能提供了环境, 一方面膜外的高质子浓度使得电子能够沿呼吸链传递, 另一方面膜外高浓度的质子顺浓度差向内膜内扩散时所释放的电势能为ATP形成提供能量, 因而肝线粒体膜电位是反映肝能量合成的指标之一。而膜电位的维持有赖于线粒体膜的完整性与流动性, 当线粒体膜流动性下降, 膜通透性增加, 线粒体膜电位下降, 线粒体呼吸链活性下降, 产生ATP减少, 导致肝脏能量内环境稳态的破坏, 肝细胞供能减少。

细胞色素氧化酶(cytochrome oxidase, COX)是线粒体内呼吸链电子传递的终末复合物, 可以把氧化还原反应中的能量通过氧化磷酸化(OXPHOS)转变为含高能磷酸链的ATP, 在能量生成中起主要作用, 因此被称为需氧生命的能量发生器。内毒素可导致氧自由基产生增多, COX活性会逐渐下降, 进一步加剧影响整条呼吸链功能, 使ATP合成进一步减少, 造成不可逆的损伤。

而NASH患者线粒体超微结构异常、线粒体呼吸链活性下降和氧化磷酸化缺陷, 导致电子在呼

吸链流动被阻断而传递到分子氧, 产生超氧化离子和过氧化氢, 从而使肝细胞能量代谢障碍。

3 CYP2E1

CYP2E1是由CYP基因超家族编码形成的一群酶蛋白, 主要存在于肝细胞微粒体中, 是微粒体氧化体系的关键酶, 他与CO结合后, 在波长450 nm处有最大吸收峰, 故有此名称。CYP2E1的表达受瘦素诱导而被胰岛素负调控, 是药物代谢与失活以及身体其他外来物质代谢的重要酶。人CYP2E1分子质量为56.9 kDa, 主要分布在成人肝脏, 并且富集于肝小叶中心区域, 参与脂肪酸在微粒体的 ω -氧化, 能降低分子氧含量, 产生过氧化物如 H_2O_2 、 OH^- 等ROS类, 此作用若不被有效的抗氧化剂阻断, 就可产生氧化应激^[11]。这些CYP同其他CYP一样也能泄漏ROS, 因此被称为电子泄露酶^[12]。

CYP2E1与NAFLD发病密切相关。NASH患者普遍存在CYP2E1过表达, 这可能与胰岛素抵抗使肝细胞膜对胰岛素敏感性降低有关^[13]。近年研究发现脂肪肝引起CYP2E1表达增加而产生脂质过氧化, 很可能是由于肝脏中蓄积的脂肪酸导致了高酮体血症而引起的。肝脏脂肪酸增加导致了酮体的增加, 酮体又诱导CYP2E1的表达, 升高的CYP2E1能产生ROS导致脂质过氧化, 这一过程可导致细胞膜受损、细胞损伤^[14], 甚至是癌症^[15]。CYP2E1的水平与脂肪变的程度相关^[16]。肥胖患者CYP2E1的活性和蛋白含量增多^[17]表明CYP2E1与病态肥胖引起的肝脏病理形成有关, 或者说是由CYP2E1引起的。

4 细胞凋亡

凋亡受到线粒体DNA和核DNA相互作用的双重调控, 无论哪一方面出现损伤, 细胞都可能发生凋亡。线粒体内外膜上存在跨膜孔道——线粒体膜通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, MPTP), 其本质是位于线粒体内外膜之间且跨过线粒体内膜的非选择性蛋白复合孔道。生理条件下, MPTP呈短暂的开放状态, 可调节线粒体与胞浆之间的物质流动; 病理状态下, MPTP呈持续开放状态可引起线粒体膜

通透性转换的发生,使线粒体内外膜间隙中的细胞色素C(cytochrome C, CytC)和凋亡诱导因子(apoptosis-inducing factor, AIF)等蛋白分子释放到胞浆,使半胱天冬蛋白酶3(caspase-3)活化,引起级联反应,诱导细胞凋亡的发生^[18]。另有研究证实,肝细胞凋亡和caspase系统的激活可能导致了肝脏损伤和NAFLD进展。

近年来, MPTP与NAFLD细胞凋亡的关系受到越来越多的关注。脂质长期积累产生的细胞毒性会直接导致肝细胞的坏死与凋亡。研究表明,在NAFLD发病阶段肝细胞的促凋亡因子表达增高,以p53为主,同时拮抗蛋白Bcl-2表达下降。ROS可能通过NF- κ B的核转录增加多种细胞凋亡因子的合成。MPTP持续的开放状态还可以引起线粒体ROS泄露、线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)毁减、氧化磷酸化解偶联,线粒体不能通过氧化磷酸化合成ATP等,这些都可进一步加重线粒体损伤并引起细胞凋亡和坏死。

综上所述,线粒体是凋亡的决定性环节,也是细胞内氧化应激的源头,本文从肝脏线粒体功能角度通过线粒体的能量代谢、氧化应激、细胞凋亡等方面深入分析了肝细胞凋亡及相关调节因素在NAFLD发病机制中的作用,有利于进一步开发研制直接作用于线粒体的药物^[19],从而减轻肝脏脂肪堆积、防止炎症与肝细胞纤维化进展,为阻断NAFLD进展提供有力的理论依据。

参考文献

- [1] 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南[J]. 中华肝脏病杂志,2006,14:161-163.
- [2] Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity[J]. Hepatology,2004,40:1387-1395.
- [3] Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis[J]. Hepatology,2006,43:S99-S112.
- [4] Day CP. Steatohepatitis: a tale of two 'hits' [J]? Gastroenterology, 1998,114:842-845.
- [5] van Hoek B. Non-alcoholic fatty liver disease: a brief

- review[J]. Scand J Gastroenterol, Suppl 2004,241:56-59.
- [6] Lee O, Bruce WR, Dong Q, et al. Fructose and carbonyl metabolites as endogenous toxins[J]. Chem Biol Interact,2009,178:332-339.
- [7] Rafiq N, Younossi ZM. Interaction of metabolic syndrome, nonalcoholic fatty liver disease and chronic hepatitis C[J]. Expert Rev Gastroenterology Hepatol,2008,2:207-215.
- [8] Gronbaek H, Thomsen KL, Rungby J, et al. Role of nonalcoholic fatty liver disease in the development of insulin resistance and diabetes[J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol,2008,2:705-711.
- [9] Shigenaga MK, Hagen TM, Ames BN. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging[J]. Proc Natl Acad Sci USA,1994,91:10771-10778.
- [10] Pinz KG, Shibutani S, Bogenhagen DF. Action of mitochondrial DNA polymerase gamma at sites of base loss or oxidative damage[J]. J Biol Chem,1995,270:9202-9206.
- [11] Robertson G, Leclercq I, Farrell GC. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. II. Cytochrome P-450 enzymes and oxidative stress[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol,2001,281:G1135-G1139.
- [12] Koruk M, Taysi S, Savas MC, et al. Serum levels of acute phase protein patients with nonalcoholic steatohepatitis[J]. Turk J Gastroenterol,2003,14:12-17.
- [13] Woodcroft KJ, Hafner MS, Novak RF. Insulin signaling in the transcriptional and posttranscriptional regulation of CYP2E1 expression[J]. Hepatology,2002,35:263-273.
- [14] Estebauer H. Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products[J]. Am J Clin Nutr,1996,57:779s-785s.
- [15] Frank JG. Role of cytochromes P450 in chemical toxicity and oxidative stress: studies with CYP2E1[J]. Mutat Res,2005,69:101-110.
- [16] Emery MG, Fisher JM, Chien JY, et al. CYP2E1 activity before and after weight loss in morbidly obese subjects with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology,2003,38:428-435.
- [17] Lemasters JJ, Nieminen AL, Qian T, et al. The mitochondrial permeability transition in cell death: a common mechanism in necrosis, apoptosis and autophagy[J]. Biochim Biophys Acta,1998,1366:177-196.
- [18] OH KW, Qian T, Brenner DA, et al. Salicylate enhances necrosis and apoptosis mediated by the mitochondrial permeability transition[J]. Toxicol Sci,2003,73:44-52.
- [19] Serviddio G, Bellanti F, Sastre J, et al. Targeting mitochondria: a new promising approach for the treatment of liver diseases[J]. Curr Med Chem,2010,17:2325-2337.

收稿日期: 2010-09-08