

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.00657

非酒精性脂肪肝治疗的分子靶点

黄玥晔, 曲 伸*

同济大学附属上海市第十人民医院内分泌代谢科, 上海 200072

[摘要] 非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病率日益增高,迄今为止尚没有确切有效的治疗措施。目前的研究主要针对 NAFLD 及其代谢障碍的分子机制,包括核转录因子孕烷 X 受体(pregnane X receptor, PXR)、叉头蛋白 O1(forkhead box protein O1, FOXO1)、类法尼醇 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)、过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptors, PPARs)、甲状腺激素受体(thyroid hormone receptor, THR)、腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)、p53、核因子 E2 相关因子 2(nuclear erythroid 2-related factor 2, Nrf2)、线粒体、大麻素受体和胆汁酸受体等。本文主要就这些分子机制作一综述,探讨这些靶点的潜在治疗价值。

[关键词] 非酒精性脂肪肝; 转录因子; 线粒体; 分子机制

[中图分类号] R 575.5; R 589.2

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2014)06-0657-05

Molecular target for treatment of non-alcoholic fatty liver disease

HUANG Yue-ye, QU Shen*

Department of Endocrinology and Metabolism, the 10th People's Hospital of Shanghai, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200072, China

[Abstract] Non-alcoholic fatty liver disease(NAFLD) is on a rise and until now there has been no effective treatment. Recent researches have mainly focused on molecular mechanisms of NAFLD and metabolic disorders, involving studies on pregnane X receptor (PXR), forkhead box protein O1 (FOXO1), farnesoid X receptor (FXR), peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs), thyroid hormone receptor (THR), AMP-activated protein kinase (AMPK), p53, nuclear erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), mitochondria, cannabinoid receptors, and bile-acid receptor. This review focused on these molecular mechanisms and discussed the potential values of the above targets for treatment of NAFLD.

[Key words] non-alcoholic fatty liver; transcription factors; mitochondria; molecular mechanisms

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(6):657-661]

非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除外酒精和其他明确的肝损因素所致,以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征的临床病理综合征,发病率为 20%~30%^[1],并且与肥胖、糖尿病、心血管事件等密切相关^[2]。通过饮食调节及减重等方式可改善 NAFLD,但是难以维持,胰岛素抵抗理论在临床上已被广为接受,胰岛素增敏剂虽然有一定治疗效果,但会引起体质量增加等不良反应,治疗靶点也过于局限。因此,研究者正积极寻找新的分子靶点来寻求 NAFLD 治疗的突破。本文介绍了 11 个热点分子机制,主要包括孕烷 X 受体

(pregnane X receptor, PXR)、叉头蛋白 O1(forkhead box protein O1, FOXO1)、类法尼醇 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)、过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptors, PPARs)、甲状腺激素受体(thyroid hormone receptor, THR)、腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)、p53、核因子 E2 相关因子 2(nuclear erythroid 2-related factor 2, Nrf2)、线粒体、大麻素受体和胆汁酸受体,这些分子在脂质代谢的发生发展中起到了重要的作用。

[收稿日期] 2013-09-19

[接受日期] 2013-10-17

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81070238),中华医学会临床医学科研专项资金(12020550355)。Supported by National Natural Science Foundation of China(81070238) and Clinical Research and Special Funds of Chinese Medical Association(12020550355)。

[作者简介] 黄玥晔, 硕士生。E-mail: huangyueye19890603@163.com

* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-66301004, E-mail: qushencn@hotmail.com

1 核转录因子、PPARs、TR

1.1 核转录因子 PXR、FOXO1 和 FXR 是核受体家族的成员,主要作用是调节机体内环境稳态,调控多种基因表达。PXR、FOXO1 和 FXR 与肝脂肪变性及糖脂代谢异常密切相关^[3-5],在糖脂代谢中起着重要的调控作用。

PXR 最初被认为是一种调节药物代谢的核受体,随着研究的增多,最初的定义也在不断更新。PXR 基因过表达小鼠比野生型及 PXR 基因敲除小鼠的肝脏三酰甘油蓄积明显增多^[3],机制主要表现在 3 个方面:(1)PXR 增强脂肪的合成;(2)PXR 增强脂肪合成酶和 ATP 柠檬酸裂解酶转录;(3)PXR 使肝细胞摄取更多游离脂肪酸^[6-7]。FOXO1 是叉头家族成员,可刺激糖异生,动物实验和临床观察都发现 FOXO1 具有调节糖代谢和脂代谢的双重作用,在 NAFLD 患者中,FOXO1 的过度表达与肝坏死性炎症和胰岛素抵抗的严重程度相关^[5]。而 PXR 可作为 FOXO1 的辅助抑制物,抑制糖异生^[8]。

FXR 可以调控肝脏脂代谢,对抗炎症和肝纤维化的进展。目前,FXR 激动剂正应用于治疗代谢综合征的研究^[9]。近年来,在肝内及肝外,FXR 已成为调节血脂、血糖和炎症的关键。FXR 分为 FXR α 和 FXR β ,FXR α 主要存在于肝脏、肠、肾、肾上腺,而在脂肪组织中的水平比较低。而 FXR β 主要存在于动物体内,人体中不表达^[10]。研究发现 FXR 基因敲除的小鼠给予高脂饮食后可出现高脂血症、肝脂肪变性与坏死性炎症、肝纤维化,证明 FXR 与肝脏生理之间有密切联系^[11]。当小鼠敲除低密度脂蛋白受体(low-density lipoprotein receptor, *LDLr*) 基因和 FXR 基因,就会受到肥胖的打击,单纯敲除 *LDLr* 基因的小鼠,高脂饮食只会诱导无炎症性的肝脂肪变性,而 *LDLr* 基因和 FXR 基因均敲除的小鼠表现为坏死性炎症伴肝脂肪变性,提示 FXR 可能防止单纯性脂肪肝向 NAFLD 的进展^[11]。FXR 可促进线粒体脂肪酸 β -氧化,抑制脂肪合成基因的转录^[12]。FXR 还可增加载脂蛋白 C-II 和 *LDLr* 基因表达,使载脂蛋白 A-I 基因的表达受抑制,起到拮抗肝脏纤维化进程的作用^[11]。

1.2 PPARs PPARs 家族成员分别由不同的基因编码,并各有特点,是脂质代谢的主要调控因子^[13]。

PPAR α 主要在肝脏、肾脏及肌肉组织中表达,PPAR γ 在脂肪组织中表达。PPARs 与 DNA 结合,具有独特的功能。PPAR α 和 PPAR γ 分别是贝特类与噻唑烷二酮类药物的靶点^[14]。PPAR α 能直接调节蛋白质生成所需的脂肪酸摄取、氧化所需的酶。缺乏 PPAR α 的小鼠出现高三酰甘油血症的表现^[15]。PPAR γ 是脂肪生成、储存中最重要的转录调节因子。PPAR α 和 PPAR γ 在脂质代谢中具有相反的作用。PPAR α 能促进脂肪利用,PPAR γ 则促进脂质的储存。体内一些脂肪酸和前列腺素类可作为 PPAR γ 拮抗剂,目前胰岛素增敏剂(罗格列酮和吡格列酮等噻唑烷二酮类药物)是主要的 PPAR γ 拮抗剂。

PPARs 是肝脏调节脂质代谢的关键,这些受体可能影响不同人群的 NAFLD 易感性。同时,PPARs 又是很多治疗 NAFLD 药物的靶点。

1.3 TR 甲状腺激素可改善肥胖和降低低密度脂蛋白水平。随着甲状腺素这些药物的发展,针对不同组织所存在的不同 TR 进行个体化治疗成为了趋势^[16]。目前已知 2 种 TR:TR α 和 TR β ,主要位于心脏和肝脏。以 TR 为靶点的药物在动物和小型临床试验均表现出较好的降脂性能^[17-18]。代表药物 MB07811 作用于不同的动物模型(包括脂肪肝 ob/ob 小鼠、Zucker 糖尿病大鼠和高脂喂养小鼠)进行评估,发现血浆里的总胆固醇及三酰甘油水平均有所下降,而对游离脂肪酸、心脏质量、促甲状腺激素无明显影响^[18],这表明 MB07811 具有肝脏选择性作用。GC-1 是另一种选择性 TR β 1 受体激动剂,不仅能改善脂肪肝,还能标记肝损伤和脂质氧化的过程;不仅能阻止脂肪浸润,还可以改善 NAFLD 的进展。此外,这类药物还可以从两方面减轻氧化应激:一方面,增加能量循环,提高氧化磷酸化,减少活性氧的形成^[19],而活性氧过多可导致氧化应激,促进 NAFLD 的进程^[20];另一方面,为还原型谷胱甘肽和其他还原性物质的再生提供必要烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adeninedinucleotide phosphate, NADPH),从而有利于活性氧的清除^[19]。

综上所述,这些药物在治疗 NAFLD 和相关的代谢紊乱方面效果肯定,但需进一步的人体临床研究。

2 AMPK、P53、Nrf2

2.1 AMPK 研究发现二甲双胍、体育锻炼、限制热量、瘦素、脂联素介导的噻唑烷二酮类药物的疗效依赖于 AMPK,促使我们重新考虑酶的活性在糖脂代谢中的多重作用。AMPK 除了维持葡萄糖稳态,还可调节肝脏脂质代谢,AMPK 激动剂正在开发用于 2 型糖尿病的治疗,对血脂也有一定治疗作用^[21]。而研究表明 5-氨基咪唑-4-甲酰胺核糖核苷酸、 α -硫辛酸对 AMPK 的活化可减少啮齿动物的肝脏脂肪含量^[22]。

2.2 p53 研究发现,p53 和其转录产物与脂肪肝的发病机制有关。抑制 p53 可减少 NAFLD 小鼠肝脏脂肪变性。Derdak 等^[23] 研究发现 p53 抑制剂 PFT(Pifithrin- α , p-Nitro)可抵抗高脂饮食导致的体质量增加、谷氨酸转氨酶升高、脂肪变性、氧化应激和细胞凋亡。在 PFT 处理的小鼠肝脏,丙二酰辅酶 A 脱羧酶的表达有所增加,其作用是降解丙二酰辅酶 A,该酶为脂肪酸的合成原料。因此, PFT 可降低脂肪酸的合成。PFT 还可作用于高脂饮食小鼠,有利于脂肪酸的 β -氧化,进而降低肝三酰甘油累积。

2.3 Nrf2 Nrf2 是一种介导氧化应激的转录因子,是治疗肝脏疾病的新靶点^[24]。脂质过氧化反应会损害核苷酸和蛋白质的合成,从而诱导细胞凋亡、炎症和肝纤维化。Nrf2 的激活能有效地防止野生型小鼠肝脏脂质的积累^[24-25],机制主要有两个途径:第一,Nrf2 的激活导致的脂肪酸合成酶表达减少;第二,Nrf2 的激活可预防某些炎症效应^[24]。Nrf2 预防炎症的机制为在正常条件下,脂多糖可诱导肿瘤坏死因子 α 的表达,引起炎症^[26]。而 Nrf2 活化增加血红素氧合酶和醌氧化还原酶抗体基因表达,血红素氧合酶可以防止肿瘤坏死因子 α 的功能,从而抑制炎症反应^[24]。

此外,Nrf2 可激活超氧化物歧化酶和过氧化氢酶,它们的活性下降可导致 NAFLD 等疾病。Nrf2 激动剂 Protandim 可分别提高两者活性至 30% 和 54%,可拮抗 NAFLD 等疾病的进展^[27]。Nrf2 活化还可降低血浆中纤维化的信号因子转化生长因子 β 水平,因此有助于减轻肝纤维化的进展^[24]。此外,萝卜硫素激活 Nrf2,继而抑制人肝星状细胞中转化生长因子 β 信号表达来拮抗肝纤维化^[28],再一次表明

了活化的 Nrf2 有抗纤维化作用,可能减轻 NAFLD。

由此可见,Nrf2 在 NAFLD 的发生发展中起到了重要的调控作用,针对这一靶点进行药物研究可能成为药物治疗 NAFLD 的新突破。

3 线粒体、大麻素受体、胆汁酸受体

3.1 线粒体 线粒体功能在代谢性疾病的治疗中越来越受到关注,受损线粒体存在脂质平衡缺陷、生物能量障碍和生产过剩的活性氧(ROS)^[29],导致脂质积累和氧化应激。功能失调性和(或)耦合线粒体 ATP 耗竭导致肝细胞死亡,或通过改变膜通透性使细胞凋亡。目前新的针对肝脏线粒体功能障碍的选择性分子和纳米载体技术具有治疗前景。

3.2 大麻素受体 大麻素受体是治疗肥胖的新靶点。最近研制出新型减重药物的作用靶点即大麻素受体,既可以减轻体质量,又可以治疗非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)^[30]。实验和临床资料表明,激活大麻素受体 1 可促进胰岛素抵抗和肝脂肪生成^[30],而胰岛素抵抗和肝脂肪生成是 NAFLD 的发病机制中的两个关键步骤。此外,大麻素受体 1 加速了肝纤维化的进展^[31]。这些研究结果为研究大麻素受体 1 拮抗剂在治疗 NAFLD 和 NASH 中的使用提供了一个强有力的证据。

3.3 胆汁酸受体 胆汁酸在调节肝脏糖脂代谢中具有重要作用,具有 FXR、G 蛋白偶联的胆汁酸受体 5(TGR5)依赖性^[32]。胆汁酸受体调节肝脏单核细胞的活性并增加 NAFLD 易感性。McMahan 等^[32] 研究指出 db/db 小鼠应用 INT-767 (FXR/TGR5 双重拮抗剂)治疗 6 周后,NASH 的组织学特征、肝内单核细胞的数目及比例均有所改善。因此,FXR/TGR5 双重拮抗剂可能成为治疗 NAFLD 的新药。

4 小结

综上所述,虽然我们对 NAFLD 的分子发病机制尚未完全明确,但很多转录因子和细胞因子已被证实参与 NAFLD 的病理生理变化,并且成为 NAFLD 治疗的潜在靶点,为研究治疗 NAFLD 提供了良好的分子基础。因此,除了目前常规药物治疗方法外,未来 NAFLD 的治疗方案可能是抑制炎症、平衡甲状腺轴、促进脂肪的代谢、改善线粒体功能、

抑制大麻素受体1等。

5 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Mili S, Stimac D. Nonalcoholic fatty liver disease/steatohepatitis: epidemiology, pathogenesis, clinical presentation and treatment[J]. *Dig Dis*, 2012, 30: 158-162.
- [2] Williams C D, Stengel J, Asike M I, Torres D M, Shaw J, Contreras M, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study[J]. *Gastroenterology*, 2011, 140: 124-131.
- [3] Zhou J, Febbraio M, Wada T, Zhai Y, Kuruba R, He J, et al. Hepatic fatty acid transporter Cd36 is a common target of LXR, PXR, and PPARgamma in promoting steatosis[J]. *Gastroenterology*, 2008, 134: 556-567.
- [4] Xu J, Li Y, Chen W D, Xu Y, Yin L, Ge X, et al. Hepatic carboxylesterase 1 is essential for both normal and farnesoid X receptor-controlled lipid homeostasis[J]. *Hepatology*, 2013 Aug 28. [Epub ahead of print]
- [5] Valent Valenti L, Rametta R, Dongiovanni P, Maggioni M, Fracanzani A L, Zappa M, et al. Increased expression and activity of the transcription factor FOXO1 in nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Diabetes*, 2008, 57: 1355-1362.
- [6] Hariparsad N, Chu X, Yabut J, Labhart P, Hartley D P, Dai X, et al. Identification of pregnane-X receptor target genes and coactivator and corepressor binding to promoter elements in human hepatocytes[J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37: 1160-1173.
- [7] Moreau A, T rueel C, Beylot M, Albalea V, Tamasi V, Umbdenstock T, et al. A novel pregnane X receptor and S14-mediated lipogenic pathway in human hepatocyte [J]. *Hepatology*, 2009, 49: 2068-2079.
- [8] Kodama S, Koike C, Negishi M, Yamamoto Y. Nuclear receptors CAR and PXR cross talk with FOXO1 to regulate genes that encode drug-metabolizing and gluconeogenic enzymes[J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24: 7931-7940.
- [9] Thomas C, Pellicciari R, Pruzanski M, Auwerx J, Schoonjans K. Targeting bile-acid signalling for metabolic diseases[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7: 678-693.
- [10] Musso G, Gambino R, Cassader M. Emerging molecular targets for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Annu Rev Med*, 2010, 61: 375-392.
- [11] Kong B, Luyendyk J P, Tawfik O, Guo G L. Farnesoid X receptor deficiency induces nonalcoholic steatohepatitis in low-density lipoprotein receptor-knockout mice fed a high-fat diet[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2009, 328: 116-122.
- [12] Zhang Y, Castellani L W, Sinal C J, Gonzalez F J, Edwards P A. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1alpha (PGC-1alpha) regulates triglyceride metabolism by activation of the nuclear receptor FXR[J]. *Genes Dev*, 2004, 18: 157-169.
- [13] Dongiovanni P, Valenti L. Peroxisome proliferator-activated receptor genetic polymorphisms and nonalcoholic Fatty liver disease: any role in disease susceptibility? [J]. *PPAR Res*, 2013, 2013: 452061.
- [14] Schulman I G. Nuclear receptors as drug targets for metabolic disease [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2010, 62: 1307-1315.
- [15] Lee S S, Chan W Y, Lo C K, Wan D C, Tsang D S, Cheung W T. Requirement of PPARalpha in maintaining phospholipid and triacylglycerol homeostasis during energy deprivation[J]. *J Lipid Res*, 2004, 45: 2025-2037.
- [16] Suckling K. Selective thromimetics for atherosclerosis and dyslipidaemia: another old target making progress [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2008, 17: 615-618.
- [17] Berkenstam A, Kristensen J, Mellstr m K, Carlsson B, Malm J, Rehnmark S, et al. The thyroid hormone mimetic compound KB2115 lowers plasma LDL cholesterol and stimulates bile acid synthesis without cardiac effects in humans[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 663-667.
- [18] Cable E E, Finn P D, Stebbins J W, Hou J, Ito B R, van Poelje P D, et al. Reduction of hepatic steatosis in rats and mice after treatment with a liver-targeted thyroid hormone receptor agonist [J]. *Hepatology*, 2009, 49: 407-417.
- [19] Grant N. The role of triiodothyronine-induced substrate cycles in the hepatic response to overnutrition: thyroid hormone as an antioxidant[J]. *Med Hypotheses*, 2007, 68: 641-649.
- [20] Serviddio G, Bellanti F, Sastre J, Vendemiale G, Al-

- tomare E. Targeting mitochondria: a new promising approach for the treatment of liver diseases[J]. *Curr Med Chem*, 2010, 17: 2325-2337.
- [21] Viollet B, Lantier L, Devin-Leclerc J, Hebrard S, Amouyal C, Mounier R, et al. Targeting the AMPK pathway for the treatment of Type 2 diabetes[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2009, 14: 3380-3400.
- [22] Park K G, Min A K, Koh E H, Kim H S, Kim M O, Park H S, et al. Alpha-lipoic acid decreases hepatic lipogenesis through adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK)-dependent and AMPK-independent pathways[J]. *Hepatology*, 2008, 48: 1477-1486.
- [23] Derdak Z, Villegas K A, Harb R, Wu A M, Sousa A, Wands J R. Inhibition of p53 attenuates steatosis and liver injury in a mouse model of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *J Hepatol*, 2013, 58: 785-791.
- [24] Bataille A M, Manautou J E. Nrf2: a potential target for new therapeutics in liver disease[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2012, 92: 340-348.
- [25] Shin S, Wakabayashi J, Yates M S, Wakabayashi N, Dolan P M, Aja S, et al. Role of Nrf2 in prevention of high-fat diet-induced obesity by synthetic triterpenoid CD-DO-imidazole[J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 620: 138-144.
- [26] Seldon M P, Silva G, Pejanovic N, Larsen R, Gregoire I P, Filipe J, et al. Heme oxygenase-1 inhibits the expression of adhesion molecules associated with endothelial cell activation via inhibition of NF-kappaB RelA phosphorylation at serine 276 [J]. *J Immunol*, 2007, 179: 7840-7851.
- [27] Nelson S K, Bose S K, Grunwald G K, Myhill P, McCord J M. The induction of human superoxide dismutase and catalase *in vivo*: a fundamentally new approach to antioxidant therapy[J]. *Free Radic Biol Med*, 2006, 40: 341-347.
- [28] Oh C J, Kim J Y, Min A K, Park K G, Harris R A, Kim H J, et al. Sulforaphane attenuates hepatic fibrosis via NF-E2-related factor 2-mediated inhibition of transforming growth factor- β /Smad signaling[J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 52: 671-682.
- [29] Mollica M P, Lionetti L, Moreno M, Lombardi A, De Lange P, Antonelli A, et al. 3, 5-diiodo-L-thyronine, by modulating mitochondrial functions, reverses hepatic fat accumulation in rats fed a high-fat diet[J]. *J Hepatol*, 2009, 51: 363-370.
- [30] Mallat A, Lotersztajn S. Cannabinoid receptors as novel therapeutic targets for the management of non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Diabetes Metab*, 2008, 34: 680-684.
- [31] Teixeira-Clerc F, Julien B, Grenard P, Tran Van Nhieu J, Deveaux V, Li L, et al. CB1 cannabinoid receptor antagonism: a new strategy for the treatment of liver fibrosis [J]. *Nat Med*, 2006, 12: 671-676.
- [32] McMahan R H, Wang X X, Cheng L L, Krisko T, Smith M, El Kasmi K, et al. Bile acid receptor activation modulates hepatic monocyte activity and improves nonalcoholic fatty liver disease [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288: 11761-11770.