

非酒精性脂肪性肝病的代谢发病机制

吴涛, 季光

■背景资料

肝脏是机体代谢的枢纽, 承担了大部分的合成、分解、转化和排泄等代谢过程, 其中某些酶系和功能是肝脏所特有的。从代谢的角度对肝脏和肝脏疾病进行系统研究十分重要。

吴涛, 上海中医药大学中医方证和系统生物学研究中心 上海市 201203
季光, 上海中医药大学脾胃病研究所 上海中医药大学附属龙华医院消化内科 上海市 200032
国家自然科学基金资助项目, No. 30873260
上海市教委重点学科基金资助项目, No. J50305
上海市优秀学科带头人计划基金资助项目, No. 09XD1403800
上海高校优秀青年教师科研专项基金资助项目, No. 08063
作者贡献分布: 本文综述由吴涛完成; 季光审校。
通讯作者: 季光, 教授, 主任医师, 200032, 上海市宛平南路725号, 上海中医药大学脾胃病研究所, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科。jiliver@vip.sina.com
电话: 021-64286261 传真: 021-64286261
收稿日期: 2009-07-31 修回日期: 2009-09-13
接受日期: 2009-09-21 在线出版日期: 2009-10-08

Pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease: a perspective from metabolism

Tao Wu, Guang Ji

Tao Wu, Center of Chinese Medicine Therapy and Systems Biology, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Guang Ji, Department of Gastroenterology, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30873260; the Shanghai Leading Academic Discipline Project, No. J50305; the Program of Shanghai Subject Chief Scientist, No. 09XD1403800; and the Scientific Research Special Foundation for Outstanding Young Teachers in Higher Education Institutions in Shanghai, No. 08063

Correspondence to: Professor Guang Ji, Institute of Spleen and Stomach Diseases, Department of Gastroenterology, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 725 Wanping South Road, Shanghai 200032, China. jiliver@vip.sina.com

Received: 2009-07-31 Revised: 2009-09-13

Accepted: 2009-09-21 Published online: 2009-10-08

Abstract

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is one of the most common chronic liver diseases. As NAFLD is frequently associated with many insulin resistance-related diseases such as obesity, hyperglycemia, hyperlipidemia, hyperinsulinism and hypertensive disease, it is greatly threatening human health. In this article, we will review the association of NAFLD with glucose and lipid metabolism from a perspective

of metabolic network. Furthermore, we suggest that metabonomics could be used to clarify the pathogenesis of NAFLD to provide a basis for diagnosis and treatment of the disease.

Key Words: Non-alcoholic fatty liver disease; Metabolism; Pathogenesis

Wu T, Ji G. Pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease: a perspective from metabolism. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(28): 2908-2914

摘要

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是常见的慢性肝脏疾病, 往往与肥胖、高血糖症、高脂血症、高胰岛素血症、高血压病等胰岛素抵抗相关性疾病并存, 严重威胁着人类的健康。本文主要从代谢网络调控角度探讨NAFLD与机体糖、脂代谢间的相关性, 并提出运用现代代谢组学的方法研究两者之间的可能内在关系, 旨在为临床诊断和治疗提供依据。

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 代谢; 发病机制

吴涛, 季光. 非酒精性脂肪性肝病的代谢发病机制. *世界华人消化杂志* 2009; 17(28): 2908-2914

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/2908.asp>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是遗传-环境-代谢应激相关性疾病, 包括单纯性脂肪肝以及由其演变的脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)和肝硬化。NAFLD往往与肥胖、高血糖症、高脂血症、高胰岛素血症、高血压病等胰岛素抵抗相关性疾病并存, 严重威胁着人类的健康^[1-2]。Day et al^[3]在1998年提出了“二次打击”学说, 初次打击主要是胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)^[4-5]。在此阶段, 由于机体组织适应性反应机制的抗氧化、抗细胞凋亡、瘦素的抗脂肪毒性等防御功能可与之相抗衡, 故大多数单纯性脂肪肝的结构和功能改变是可逆的^[6]。二次打击主要是反

■同行评议者

王炳元, 教授, 中国医科大学附属第一医院消化内科

应性氧化代谢产物增多,导致脂质过氧化伴细胞因子、线粒体解偶联蛋白及Fas配体被诱导活化,使脂肪变性的肝细胞发生变性、坏死,甚至发生坏死性肝纤维化^[7]。在脂肪的演变中,发生肿瘤坏死因子-瘦素-胰岛素反馈轴改变,IR进一步削弱了抗葡萄糖变性和抗脂肪变性的能力,适应性反应出现缺陷,细胞防御机制减弱。另外,缺氧、内毒素、药物等作为附加因素实行多重打击。虽然对该疾病的发病机制和治疗研究有所进展,但目前NAFLD的发病机制仍然未能完全阐明^[8]。肝脏是糖、脂代谢的主要场所,本文主要从代谢网络调控角度探讨NAFLD与机体糖、脂代谢间的相关性,解析NAFLD的代谢发病机制,并提出运用现代代谢组学的方法研究两者之间的可能内在关系,旨在为临床诊断和治疗提供依据。

1 NAFLD与糖代谢异常

当肝脏受损肝功能异常时,可干扰葡萄糖的生成(糖原分解、糖原异生)或利用糖原合成、甘油三酯(triglyceride, TG)合成的机制,引起低血糖或葡萄糖耐量降低而血糖升高。一般肝细胞损害超过80%时,几乎均伴有糖代谢异常,其中70%表现为低血糖^[9]。

肝脏脂肪代谢与许多调节能量代谢维持组织完整性的代谢产物、激素、细胞因子和神经介质的作用相关。脂肪肝不仅仅是代谢障碍的受害者,他也能触发信号使得肝内脂肪代谢正常化,这样就不可避免也改变了在其他组织中调节脂肪代谢的细胞因子、激素和神经介质的活性。这些因素相互作用,引起神经体液和免疫系统的功能障碍,导致IR、代谢综合征的发生。IR是发生发展的基础,随着肝脏疾病的慢性进展,肝细胞反复受损伤,肝纤维化程度加重,同时糖代谢异常及IR的发生率逐渐增高,常伴有高血糖和高胰岛素血症^[10]。这种现象与肝脏对血糖摄取、糖原合成及分解功能障碍及高血糖刺激胰岛素分泌,肝脏摄取、降解胰岛素的作用减弱等因素有关。不同糖代谢状态人群均存在IR,且通过高胰岛素正常葡萄糖钳夹实验等方法发现,NAFLD患者几乎都存在IR。Knobler *et al*^[11]研究发现,NAFLD与IR综合征(insulin resistance syndrome, IRS)共同表现为糖耐量异常,高胰岛素血症,总胆固醇增高,高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)下降,高血压,肥胖。Chitturi *et al*^[12]研究表明,IR对于NASH肝组织学改变至关重要。NAFLD、2型

糖尿病、肥胖之间共同之处是肝脏胰岛素敏感性减低,伴随有胰岛素对糖脂代谢的调节效应减低,提示NAFLD已存在肝IR,并不是伴发于IRS。

然而NAFLD的发生与糖代谢调节受损的发生是否同步?从NAFLD形成的可能机制看,IR患者之代谢紊乱先于糖代谢。首先,脂肪分解、葡萄糖的处置、脂肪 β 氧化通路对IR的敏感性不同,常常是依次降低。IR时首先是胰岛素的抑制脂肪效应受损,产生大量的游离脂肪酸(free fatty acids, FFA),并被肝脏摄取,同时存在从先利用糖氧化向先利用脂质氧化转变,由于脂质 β 氧化通路对胰岛素的敏感性最小,IR时肝细胞的FFA的 β 氧化相对正常或升高,从而产生大量的肝脂质过氧化物,并伴随有线粒体损伤。其次,NAFLD形成过程中有瘦素抵抗的参与。胰岛素受体底物-2(insulin receptor substrate, IRS-2)基因缺乏引起肝脏IR,导致高胰岛素形成,脂肪组织的糖和脂质摄取增高,脂肪细胞增生肥大,后者最终导致下丘脑的瘦素抵抗,可见脂肪细胞改变先于瘦素抵抗,瘦素可增高外周组织的糖摄取及更新。瘦素抵抗时,上调固醇调节元件结合蛋白(sterol regulatory element-binding proteins, SREBP-c)基因的表达,引起脂肪肝^[13]。

再次,许多研究探讨了NAFLD与糖代谢异常的关系。Jimba *et al*^[14]发现在1950例体检者中有599例NAFLD患者(29%),其中27%正常血糖,43%空腹血糖升高,62%诊断为糖尿病。Haukeland *et al*^[15]研究发现糖耐量异常可能提示NAFLD患者进展为脂肪性肝炎和纤维化。也有学者认为,NAFLD可能是糖尿病前的一个阶段^[16]。Xu *et al*^[17]研究显示NAFLD患者糖代谢异常的发生率高达53.4%,且随着糖代谢异常的发生肝功能损伤更加明显,高敏C反应蛋白(high-sensitivity C-reactive protein, hsCRP)水平升高。hsCRP是一种敏感、非特异性的炎症标志物,近年来已被公认为是糖代谢异常的独立危险因素^[18-19]。Temelkova-Kurktschiev *et al*^[20]和Festa *et al*^[21]研究结果已经证实,CRP与血糖相关的原因与高血糖及胰岛素水平异常等状态导致血管内皮细胞损伤,引起炎症反应有关,通过检测血清hsCRP可以判断NAFLD患者肝脏炎症与合并糖代谢异常的情况。陈阳^[13]探讨了不同糖代谢状态与NAFLD相关性,结果显示:随着糖耐量受损的加重,NAFLD患病增加,且在空腹血糖受损(impaired fasting blood glucose, IFG)、2型糖尿病状态处存在高峰点,表明IFG、2型糖尿病时IR及胰岛 β 细胞功能受损程度相关。Tripathy *et al*^[22]研究了IFG与正常葡萄糖

■ 研发前沿

NAFLD与糖、脂质代谢紊乱有关,他们互为因果、互相影响。目前NAFLD和IR间谁是因谁是果未能明确,NAFLD、IR和糖脂代谢间的相互关系亟待进一步研究。

■相关报道

Cusi *et al* 研究发现甘油二酯酰基转移酶1(DGAT1)和DGAT2, 作为合成TG的最后一步的酶类, 在肝脏TG的代谢中起着重要的作用。细胞和鼠类NAFLD模型中DGAT酶类表达的变化, 提示这些酶在肝脏脂肪变性中起着重要的作用, 可作为NAFLD新的治疗靶点。

耐量两组NAFLD患者, 发现前者年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、总胆固醇、TG显著增高, HDL-c降低。表明在不同糖耐量状态IR及 β 细胞功能受损程度不同, NAFLD始终与IR伴随并平行发展, 最终导致糖尿病。李锋 *et al*^[23]为探讨NAFLD对代谢异常及多元代谢紊乱发病的影响, 选取随访4-7年的NAFLD及其对照人群作为研究对象, 证实NAFLD促进高血压、高脂血症、IFG、糖尿病以及多元代谢紊乱的发生, 而且这种作用不依赖肥胖。阎彩凤 *et al*^[24]评价不同程度肝脏脂质浸润对糖脂代谢的影响, 结果发现随着NAFLD并发NASH和(或)合并糖代谢异常可以进一步加重机体代谢紊乱, NAFLD患者尽管具有与正常对照组相似的BMI, 但腰围和IR指数仍明显增加。Su *et al*^[25]研究了23例脂肪肝患者的糖代谢情况, 结果发现ALT/AST异常组(13例) γ -GT、空腹胰岛素、空腹瘦素、自我平衡模型分析法(homeostasis model assessment, HOMA)-IR、HOMA-IR β 细胞功能明显较ALT/AST正常组高; C肽水平较之低。OGTT实验显示, 在0、30、60、90 min血糖水平无明显差异, 但是2 h血糖两组均有升高, 且ALT/AST异常组高于ALT/AST正常组。提示脂肪肝是发生2型糖尿病的危险信号, 尤其在转氨酶升高时。丁钢 *et al*^[26]用丹参素和熊去氧胆酸培养脂肪肝模型鼠肝细胞, 细胞经1 wk培养后, 再调整培养液中糖至13.9 mmol/L和胰岛素至250 mU/L 2 h和24 h测定糖含量, 24 h测定胰岛素含量。结果表明脂肪肝模型鼠肝细胞经丹参素培养后, 对胰岛素的摄取、结合能力提高, 糖代谢能力增强。虽然目前关于糖耐量异常与NAFLD的研究较多, 但两者的风险关系以及孰前孰后, 至今未完全明了。

2 NAFLD与脂质代谢异常

血脂主要包括胆固醇(游离胆固醇、胆固醇酯)、TG、磷脂、HDL和低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)的载脂蛋白。血脂只有与蛋白质结合合成脂蛋白, 才能呈溶解状态并在血浆中转运。HDL是唯一通过胆固醇的逆向转运来产生抗动脉硬化作用的脂蛋白, 可以有效地防护心脑血管硬化及血栓形成^[27]。HDL的载脂蛋白是在肝脏合成, 在肝内具有激活卵磷脂-胆固醇酰基转移酶(lecithin cholesterol acyltransferase, LCAT), 参与胆固醇逆向运转及HDL受体识别等作用。肝脏是体内脂肪代谢的重要场所, 如果肝内脂质长期堆积, 引起肝细胞变性, 可能

导致肝功能异常或脂肪性肝纤维化、肝硬化^[28]。

许多研究结果显示NAFLD患者存在明显的脂代谢紊乱和IR^[29-32]。Lee *et al*^[33]发现NAFLD患者存在相对增高的内脏脂肪。肝脏脂质代谢是一个复杂的过程与体内多种物质转化有关, 因而脂肪肝与多种疾病存在着内在联系。肝细胞中TG、极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)合成和排出不平衡是形成脂肪肝的主要原因。当进入肝脏的脂肪量超过肝脏的脂质和氧化能力, 或肝脏合成LDL障碍, 肝脏合成的内源性TG就不能以脂蛋白的形式进出肝脏, 则在肝细胞内外堆积形成脂肪肝。而脂肪肝病变又影响脂代谢, 加重高血脂而形成恶性循环^[34]。以TG为主的脂肪在肝内沉积是发展为NAFLD的绝对必要条件, 远距离产生的内分泌激素以及局部产生的激素和细胞因子共同调控着肝脏的脂肪代谢。但也有人认为, 当肝功能损伤或不全时, 脂质合成和代谢的酶系损伤或功能不全, 血清TG及胆固醇均会降低^[35]。

几乎所有的NAFLD患者都存在周围组织和肝脏的IR, 而且不一定伴有糖耐量异常或肥胖, 但IR的严重程度与NAFLD的病程进展及预后相关^[36]。目前研究认为, IR是由于脂肪在胰岛素敏感组织如骨骼肌^[37]和肝脏等部位的蓄积, 使该组织对胰岛素的敏感性下降所致。IR主要通过两个途径导致脂肪在肝细胞内储积: 脂质过多症和高胰岛素血症。IR导致血清中FFA增多, 而肝细胞对脂肪酸的高摄入导致线粒体氧化超载, 加重肝细胞内脂肪酸的储存; 增多的FFA又可通过抑制胰岛素的信号传导并减少胰岛素的清除, 加重IR。高胰岛素血症是糖降解增加, 从而增加脂肪酸的合成, 减少ApoB的合成, 使TG储积增加。当脂肪细胞内脂肪过度堆积时, 可使脂肪细胞的代谢效应和内分泌功能下降, 正常的脂肪合成及氧化途径减弱, 结果脂肪通过FFA形式由脂肪细胞向肝细胞等非脂细胞流动, 从而导致脂肪异位沉积^[31]。

NAFLD时与IR伴随的主要的代谢异常是周围组织脂解作用的增加, 肝糖原排出增加, 导致糖原增生和脂质过氧化增加^[38-39]。脂蛋白脂肪酶(lipoprotein lipase, LPL)与肝酯酶(hepatic lipase, HL)是血循环中与内源性TG代谢有关的两种关键酶。LPL为TG水解酶, 由肝外细胞合成, 分泌后附着于周围组织毛细血管表面, 尤其是脂肪组织; 主要分解TG, 并在脂蛋白之间转移胆固醇、磷脂及载脂蛋白。HL由肝实质细胞合成仅存在于肝

内皮细胞表面;HL具有两种生物功能,血液中HL能水解TG,是TG分解的限速酶;肝细胞膜上HL与细胞膜上的硫酸乙酰肝素多糖结合,在脂蛋白与肝细胞膜间起“桥梁”作用,有利于肝细胞摄取血中脂质。此二酶活性降低,可以引起高脂血症,与脂肪肝形成密切相关^[40]。近期研究发现,甘油二酯酰基转移酶1(diacylglycerol acyltransferase, DGAT1)和DGAT2,作为合成TG的最后一步的酶类,已经被证实肝脏TG的代谢中起着重要的作用^[41]。细胞和鼠类NAFLD模型中DGAT酶类表达的变化,提示这些酶在肝脏脂肪变性中起着重要的作用,可作为NAFLD新的治疗靶点。

LXR- α (liver X receptor α)是一种与脂类代谢有关的核受体,调控着胆固醇和脂肪酸的代谢^[42],摄入过多的胆固醇与NAFLD发病相关。Higuchi *et al*^[43]研究表明LXR通过调节SREBP-1c的表达调控着NAFLD患者的脂质代谢。Nakamura *et al*^[44]检测了NAFLD患者肝组织中胆固醇代谢相关基因的表达,结果发现在NAFLD中存在胆固醇代谢失调,且胆固醇的过多产生会导致LDL的升高、LXR- α 及SREBP-1c的活化,脂肪酸合成的增加。许多动物实验证明摄入磷脂类物质能刺激胆汁酸和胆固醇的分泌,并能影响血清和脂蛋白的水平,但这一有效性仍然需要大量对照临床实验去证明^[45]。

不少研究认为,FFA过多是NAFLD重要的发病机制之一。这是因为FFA是具有很强细胞毒性的分子,增多的FFA除了介导IR参与第1次打击外,还作为去垢剂损害细胞质、线粒体和溶酶体膜等,且能加强TNF- α 等细胞因子的毒性,加剧生物膜的损伤,导致肝细胞线粒体肿胀和通透性增加,肝细胞变性、坏死和炎细胞浸润。虽然增多的FFA仅占肝脏脂质的极小部分,但有实验证明,极低浓度的FFA即有可能损伤细胞膜^[46-47]。Kohjima *et al*检测NAFLD患者活检肝组织中脂肪酸代谢相关基因的表达发现,脂肪酸的合成和吸收进一步加重了脂肪酸在肝内的聚集,其机制可能与脂肪酸氧化途径的上调,脂肪分解的抑制相关^[48-49]。研究表明NAFLD中肝脏的多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)n6:n3的比例明显的升高;内源性大麻素结合肝脏的中枢性大麻受体(CB1),引起了SREBP-1c的过表达^[50-51]。应用CB1受体拮抗剂可以改善肥胖小鼠的脂肪变性和血浆ALT水平^[52]。人类NAFLD内源性大麻素激活的研究尚缺乏。Tanaka *et al*^[53]研究显示,NASH患者服用二十碳

五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)(n3 PUFA的主要成分)12 mo,所有的患者在血浆ALT和FFA水平上均有明显改善,少数在组织学上有所改善,但EPA在治疗NASH中起抗脂质作用仍然需要进一步证实。如何减少脂肪酸及TG在肝脏中的沉积,使脂肪肝得以逆转或使其发展得以控制,阻止其向NAFLD的终末阶段进展是临床上研究的热点。

目前对脂肪肝治疗的方法包括如何减少IR,减少反应性氧化体系的生成增多,减少肝脂质过氧化等因素,减少糖和脂质代谢异常的发生,就有可能阻碍脂肪肝的形成。

3 NAFLD与氨基酸代谢异常

Kalhan *et al*^[54]提出脂肪肝影响着甲硫氨酸的代谢。其作为一种必需氨基酸,由激素、胰岛素和胰高血糖素和氧化还原状态所调节,所以甲硫氨酸的代谢容易受环境、营养因素和病理状态的影响。卢艳华 *et al*^[55]通过随机对照临床研究证实,以复方氨基酸胶囊为主,配合调脂药对脂肪肝患者具有减轻临床症状、改善肝功能等疗效。说明在一定程度上,NAFLD存在氨基酸代谢的异常,但具体的机制需要在以后的研究工作中进一步发现和证实。

4 NAFLD与铁代谢异常

有研究认为NAFLD常伴有铁代谢紊乱。Facchini *et al*^[56]研究显示了铁和超高胰岛素血症在NAFLD发病机制中的作用。此外,研究发现铁蛋白的增加和转铁蛋白的饱和在脂肪肝患者中常见,但仅反应了正常饮食的NAFLD患者的铁超负荷^[57]。Baptista-Gonzalez *et al*^[58]提出铁代谢紊乱与NAFLD的发病机制相关。Mitsuyoshi *et al*^[59]通过对74个NAFLD患者活检组织中脂肪酸代谢和铁代谢相关基因的定量检测表达结果显示,随着NAFLD的发展,脂肪变性相关的代谢减弱,与铁相关的代谢进一步恶化。

但也有学者认为铁的蓄积并未与死亡率与肝硬化的发展相关,且大部分NAFLD患者未见明显的铁蓄积,此外铁并未与临床和病理结局相关^[60]。Moon *et al*^[61]认为肝脏铁沉积并不与肝脏炎症和纤维化的程度相关,肝脏铁并不是NAFLD肝损伤的独立预测因素。目前关于铁超负荷与NAFLD的关系不是很清楚^[62]。

此外,Aigner *et al*^[63]研究表明大部分NAFLD患者出现铜缺乏,铜的状态与铁平衡相关

■创新盘点

肝脏是糖、脂代谢的主要场所,本文主要从代谢网络调控角度探讨NAFLD与机体糖、脂代谢间的相关性,解析NAFLD的代谢发病机制,并提出运用现代代谢组学的方法研究两者之间的可能内在关系,旨在为临床诊断和治疗提供依据。

■应用要点

采用代谢组学的研究方法,在NAFLD乃至肝脏疾病领域必有广阔的应用前景,从而寻找出新的各阶段肝脏疾病的早期特征性标志,为其诊断、治疗及预后评价提供新的客观依据。

联,提示铜生物利用度降低,通过降低铁蛋白(ferroprotein-1, FP-1)表达和亚铁氧化酶血浆铜蓝蛋白活性引起了肝脏铁分数增加,因而阻断了铜缺乏患者的肝脏铁的输出。

5 代谢组学在探讨NAFLD发病机制中的应用

NAFLD与糖、脂质代谢紊乱有关,他们互为因果、互相影响。但目前NAFLD和IR间谁是因谁是果未能明确,NAFLD、IR和脂质代谢间的相互关系还需进一步研究。肝脏是机体代谢的枢纽,承担了大部分的合成、分解、转化和排泄等代谢过程,其中某些酶系和功能是肝脏所特有的。Mitsuyoshi *et al*^[59]提出对NAFLD的治疗必须在代谢变化的基础上进行考虑。因此从代谢的角度对肝脏和肝脏疾病进行系统研究非常重要。

1999年Nicholson博士首次提出代谢组学概念^[64-65]。代谢组学最早应用于发现疾病的分子诊断标志物,最成功的例子是VLDL、LDL、HDL和胆碱浓度变化区分冠心病患者与正常人^[66]。代谢组学目前在NAFLD中的应用研究不多。Dumas *et al*^[67]采用NMR对易患脂肪肝的129S6小鼠进行血清和尿液代谢表型分析,显示高脂饮食的129S6小鼠NAFLD的形成与体内胆碱代谢紊乱是相伴随的;129S6小鼠体内微生物群使得胆碱向甲胺转变,并且降低了胆碱的生物利用度,进而引起NAFLD。van Ginneken *et al*^[68]应用代谢组学方法研究了24 h禁食后引起的肝脏脂肪变性大鼠模型。高效薄层色谱法(high performance thin layer chromatography, HPTLC)发现模型组血浆游离胆固醇(free cholesterol, FC)较正常组增长至192%,TG至456%,胆固醇脂类(cholesterol esters, CE)至268%;LC-MS方法研究肝组织匀浆中的磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)较正常组降低至90%,CE增长至157%和TG增长至331%。说明哺乳动物中肝脏脂质是一个动态系统,容易被如饥饿等环境因素所调节。Debois *et al*^[69]采用飞行时间-次级离子质谱分析法(time-of-flight-secondary ion mass spectrometry, TOF-SIMS),分析了少数NAFLD患者肝组织中的脂质的变化情况,结果发现TG、甘油二酯、一酰甘油、脂肪酸和豆蔻酸大量积聚, Vit-E丢失和选择性的空泡性胆固醇出现在脂肪肝的脂肪变性区域。Yang *et al*^[70]用HPLC技术结合PCA软件对肝炎、肝硬化和肝癌患者尿液的代谢指纹图谱进行分析,能够有效地将肝炎、肝硬化患者从肝癌患者中区分开,降低临床诊断中假阳性比率,在肝癌诊断方面显示出

比传统的肿瘤标志物(甲胎蛋白)更好的相关性。国内已有学者通过建立GC/MS检测肝病血清代谢谱的方法,在肝衰竭动物血清中检测到25种内源性代谢物;建立了UPLC/MS检测肝病血清和尿液代谢组学的方法。在实验动物研究方面,已开展NAFLD代谢组学的探索,NAFLD大鼠血浆中类脂(主要是VLDL、LDL)、乳酸等主要代谢物峰较正常组含量明显降低;模型大鼠尿液中马尿酸、 α -酮戊二酸、柠檬酸等较正常组含量明显降低,而肌酸酐、丙酮等含量明显增高。这种变化可以被荷叶碱所调节。

6 结论

我们可以借助代谢组学的方法对NAFLD进行研究,应用现代分析仪器(核磁共振,色谱质谱联用等),定性定量研究生物体(包括人类和动物)体液中(包括血清、尿液、组织液、细胞培养液等)的内源性代谢产物,结合模式识别等信息学技术,分析生物体在不同状态下(如生理与病理状态、给药前后等)的代谢指纹图谱的差异,获得相应的生物标志物,从而揭示生物体在特定时间、环境下的整体功能状态。诸如,可以采用以下方法,临床试验(收集伴有肥胖或非肥胖NAFLD患者的血样和尿样),动物实验(造模不同程度的NAFLD大鼠或小鼠模型),细胞实验(脂肪肝模型鼠肝细胞,收集不同时间段的细胞培养上清液),进行某种药物干预的临床或者动物实验等等。但由于代谢组学正处于初步发展阶段,数据分析手段、各种分析技术仍需进一步完善,但相信随着技术的进一步革新,其在NAFLD乃至肝脏疾病领域必有广阔的应用前景,从而寻找出新的各阶段肝脏疾病的早期特征性标志,为其诊断、治疗及预后评价提供新的客观依据。

7 参考文献

- 1 Gupte P, Amarapurkar D, Agal S, Baijal R, Kulshrestha P, Pramanik S, Patel N, Madan A, Amarapurkar A, Hafeezunnisa. Non-alcoholic steatohepatitis in type 2 diabetes mellitus. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 854-858
- 2 Del Gaudio A, Boschi L, Del Gaudio GA, Mastrangelo L, Munari D. Liver damage in obese patients. *Obes Surg* 2002; 12: 802-804
- 3 Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845
- 4 Yu AS, Keefe EB. Nonalcoholic fatty liver disease. *Rev Gastroenterol Disord* 2002; 2: 11-19
- 5 van Hoek B. Non-alcoholic fatty liver disease: a brief review. *Scand J Gastroenterol Suppl* 2004; (241): 56-59
- 6 曾民德. 脂肪肝发病机制“二次打击”的假设. 肝脏

- 2001; 6: 145
- 7 阎彩凤, 向红丁, 平凡, 陈伟. 不同类型非酒精性脂肪肝与糖脂代谢的相关分析. 中国慢性病预防与控制 2006; 14: 345-348
- 8 Cheung O, Sanyal AJ. Recent advances in nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 230-237
- 9 张佳佳, 张全荣, 龚作炯. 重型肝炎患者血糖水平对病情及预后影响的分析. 中西医结合肝病杂志 2007; 17: 206-207
- 10 Petrides AS, Schulze-Berge D, Vogt C, Matthews DE, Strohmeyer G. Glucose resistance contributes to diabetes mellitus in cirrhosis. *Hepatology* 1993; 18: 284-291
- 11 Knobler H, Schattner A, Zhornicki T, Malnick SD, Keter D, Sokolovskaya N, Lurie Y, Bass DD. Fatty liver--an additional and treatable feature of the insulin resistance syndrome. *QJM* 1999; 92: 73-79
- 12 Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, Karim R, Lin R, Samarasinghe D, Liddle C, Weltman M, George J. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology* 2002; 35: 373-379
- 13 陈阳. 不同糖代谢状态与非酒精性脂肪肝相关性探讨. 中华现代内科学杂志 2005; 2: 488-491
- 14 Jimba S, Nakagami T, Takahashi M, Wakamatsu T, Hirota Y, Iwamoto Y, Wasada T. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with impaired glucose metabolism in Japanese adults. *Diabet Med* 2005; 22: 1141-1145
- 15 Haukeland JW, Konopski Z, Linnestad P, Azimy S, Marit Løberg E, Haaland T, Birkeland K, Bjørø K. Abnormal glucose tolerance is a predictor of steatohepatitis and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 1469-1477
- 16 Sheth SG, Gordon FD, Chopra S. Nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Intern Med* 1997; 126: 137-145
- 17 Xu Y, Whitmer K. C-reactive protein and cardiovascular disease in people with diabetes: high-sensitivity CRP testing can help assess risk for future cardiovascular disease events in this population. *Am J Nurs* 2006; 106: 66-72
- 18 Leinonen E, Hurt-Camejo E, Wiklund O, Hultén LM, Hiukka A, Taskinen MR. Insulin resistance and adiposity correlate with acute-phase reaction and soluble cell adhesion molecules in type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2003; 166: 387-394
- 19 Pietri P, Vyssoulis G, Vlachopoulos C, Zervoudaki A, Gialernios T, Aznaouridis K, Stefanadis C. Relationship between low-grade inflammation and arterial stiffness in patients with essential hypertension. *J Hypertens* 2006; 24: 2231-2238
- 20 Temelkova-Kurktschiev T, Siegert G, Bergmann S, Henkel E, Koehler C, Jaross W, Hanefeld M. Subclinical inflammation is strongly related to insulin resistance but not to impaired insulin secretion in a high risk population for diabetes. *Metabolism* 2002; 51: 743-749
- 21 Festa A, D'Agostino R Jr, Tracy RP, Haffner SM. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes* 2002; 51: 1131-1137
- 22 Tripathy D, Carlsson M, Almgren P, Isomaa B, Taskinen MR, Tuomi T, Groop LC. Insulin secretion and insulin sensitivity in relation to glucose tolerance: lessons from the Botnia Study. *Diabetes* 2000; 49: 975-980
- 23 李锋, 范建高, 蔡晓波. 非酒精性脂肪性肝病致代谢异常. 肝脏 2006; 11: 38-41
- 24 阎彩凤, 向红丁, 平凡, 陈伟. 不同类型非酒精性脂肪肝与糖脂代谢的相关分析. 中国慢性病预防与控制 2006; 14: 345-348
- 25 Su CC, Wang K, Hsia TL, Chen CS, Tung TH. Association of nonalcoholic fatty liver disease with abnormal aminotransferase and postprandial hyperglycemia. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 551-554
- 26 丁钢, 王宝仁, 陈乐明. 丹参素、熊去氧胆酸对大鼠脂肪肝细胞糖代谢的影响. 世界华人消化杂志 2005; 13: 1907-1909
- 27 孟群, 沈颖. 高密度脂蛋白的研究进展. 国外医学·生理、病理科学与临床分册 2001; 21: 411-413
- 28 王萍玉, 谢书阳, 杜秀娟. 脂肪肝与血脂、血糖、肝功能等因素的Logistic分析. 现代预防医学 2007; 6: 1024-1026
- 29 邹玲梅. 脂肪肝患者胰岛素抵抗的临床观察. 淮海医药 2004; 22: 375-376
- 30 刘迎并, 闫自强. 脂代谢异常与脂肪肝相关性分析. 实用医技杂志 2004; 11: 496-497
- 31 蔡葵, 何玉怡. 非酒精性脂肪肝与脂代谢紊乱及胰岛素抵抗的关系. 实用医技杂志 2006; 13: 2636-2637
- 32 Choi SS, Diehl AM. Hepatic triglyceride synthesis and nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Lipidol* 2008; 19: 295-300
- 33 Lee JH, Rhee PL, Lee JK, Lee KT, Kim JJ, Koh KC, Paik SW, Rhee JC, Choi KW. Role of hyperinsulinemia and glucose intolerance in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver in patients with normal body weight. *Korean J Intern Med* 1998; 13: 12-14
- 34 徐卫, 石娜, 金蝶. 血脂水平与脂肪肝关系的调查. 现代预防医学 2004; 31: 424
- 35 朱小平. 肝硬化病人血糖和血脂的变化及其临床意义. 中国实验诊断学 2002; 6: 94-95
- 36 王广华, 刑象斌. 非酒精性脂肪肝发病机制研究进展. 中国康复理论与实践 2004; 10: 243-244
- 37 Virkamäki A, Korshenninnikova E, Seppälä-Lindroos A, Vehkavaara S, Goto T, Halavaara J, Häkkinen AM, Yki-Järvinen H. Intramyocellular lipid is associated with resistance to in vivo insulin actions on glucose uptake, antilipolysis, and early insulin signaling pathways in human skeletal muscle. *Diabetes* 2001; 50: 2337-2343
- 38 Haque M, Sanyal AJ. The metabolic abnormalities associated with non-alcoholic fatty liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16: 709-731
- 39 Byrne CD, Olufadi R, Bruce KD, Cagampang FR, Ahmed MH. Metabolic disturbances in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Sci (Lond)* 2009; 116: 539-564
- 40 张晓刚, 陈运贞. 肝脂酶与脂蛋白代谢. 国外医学·临床生物化学与检验学分册 2002; 23: 52-54
- 41 Cusi K. Nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes mellitus. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2009; 16: 141-149
- 42 王素玲, 王切, 姜玲玲. LXR调节肝胆固醇排出代谢的机制. 河北医科大学学报 2007; 28: 221-223
- 43 Higuchi N, Kato M, Shundo Y, Tajiri H, Tanaka M, Yamashita N, Kohjima M, Kotoh K, Nakamura M, Takayanagi R, Enjoji M. Liver X receptor in cooperation with SREBP-1c is a major lipid synthesis regulator in nonalcoholic fatty liver

■同行评价

本文内容丰富, 参考文献引用恰当, 具有较好的可读性。

- disease. *Hepatol Res* 2008; 38: 1122-1129
- 44 Nakamuta M, Fujino T, Yada R, Yada M, Yasutake K, Yoshimoto T, Harada N, Higuchi N, Kato M, Kohjima M, Taketomi A, Maehara Y, Nakashima M, Kotoh K, Enjoji M. Impact of cholesterol metabolism and the LXRalpha-SREBP-1c pathway on nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med* 2009; 23: 603-608
- 45 Cohn JS, Wat E, Kamili A, Tandy S. Dietary phospholipids, hepatic lipid metabolism and cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol* 2008; 19: 257-262
- 46 徐正婕, 范建高, 王国良. 游离脂肪酸在脂肪性肝炎发病中的作用. *中华肝脏病杂志* 2000; 8: 127-128
- 47 Crouse SF, O'Brien BC, Rohack JJ, Lowe RC, Green JS, Tolson H, Reed JL. Changes in serum lipids and apolipoproteins after exercise in men with high cholesterol: influence of intensity. *J Appl Physiol* 1995; 79: 279-286
- 48 Kohjima M, Enjoji M, Higuchi N, Kato M, Kotoh K, Yoshimoto T, Fujino T, Yada M, Yada R, Harada N, Takayanagi R, Nakamuta M. Re-evaluation of fatty acid metabolism-related gene expression in nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med* 2007; 20: 351-358
- 49 Nakamuta M, Kohjima M, Higuchi N, Kato M, Kotoh K, Yoshimoto T, Yada M, Yada R, Takemoto R, Fukuizumi K, Harada N, Taketomi A, Maehara Y, Nakashima M, Enjoji M. The significance of differences in fatty acid metabolism between obese and non-obese patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med* 2008; 22: 663-667
- 50 Osei-Hyiaman D, DePetrillo M, Pacher P, Liu J, Radaeva S, Bátkai S, Harvey-White J, Mackie K, Offertáler L, Wang L, Kunos G. Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *J Clin Invest* 2005; 115: 1298-1305
- 51 Sanyal AJ. Mechanisms of Disease: pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005; 2: 46-53
- 52 Serrano A, Del Arco I, Javier Pavón F, Macías M, Perez-Valero V, Rodríguez de Fonseca F. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716A (Rimonabant) enhances the metabolic benefits of long-term treatment with oleoylethanolamide in Zucker rats. *Neuropharmacology* 2008; 54: 226-234
- 53 Tanaka N, Sano K, Horiuchi A, Tanaka E, Kiyosawa K, Aoyama T. Highly purified eicosapentaenoic acid treatment improves nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 413-418
- 54 Kalhan SC. Metabolism of methionine in vivo: impact of pregnancy, protein restriction, and fatty liver disease. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program* 2009; 63: 121-131; discussion 131-133, 259-268
- 55 卢艳华, 徐智春, 白凤新. 复方氨基酸胶囊联合调脂药治疗脂肪肝临床观察. *中华临床医药* 2003; 4: 25-26
- 56 Facchini FS, Hua NW, Stoohs RA. Effect of iron depletion in carbohydrate-intolerant patients with clinical evidence of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 931-939
- 57 Chitturi S, George J. Interaction of iron, insulin resistance, and nonalcoholic steatohepatitis. *Curr Gastroenterol Rep* 2003; 5: 18-25
- 58 Baptista-Gonzalez H, Chavez-Tapia NC, Zamora-Valdés D, Uribe M, Mendez-Sanchez N. Importance of iron and iron metabolism in nonalcoholic fatty liver disease. *Mini Rev Med Chem* 2008; 8: 171-174
- 59 Mitsuyoshi H, Yasui K, Harano Y, Endo M, Tsuji K, Minami M, Itoh Y, Okanoue T, Yoshikawa T. Analysis of hepatic genes involved in the metabolism of fatty acids and iron in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 2009; 39: 366-373
- 60 Younossi ZM, Gramlich T, Bacon BR, Matteoni CA, Boparai N, O'Neill R, McCullough AJ. Hepatic iron and nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 1999; 30: 847-850
- 61 Moon JH, Park SH, Oh KC, Jung JO, Shin WG, Kim JP, Kim KO, Park CH, Hahn T, Yoo KS, Kim JH, Kim DJ, Lee MS, Park CK, Jun SY. [Association of hepatic iron deposition and serum iron indices with hepatic inflammation and fibrosis stage in nonalcoholic fatty liver disease] *Korean J Gastroenterol* 2006; 47: 432-439
- 62 Cojocariu C, Trifan A, Stanciu C. [Involvement and role of iron in nonalcoholic steatohepatitis] *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2008; 112: 308-312
- 63 Aigner E, Theurl I, Haufe H, Seifert M, Hohla F, Scharinger L, Stickel F, Mourlane F, Weiss G, Datz C. Copper availability contributes to iron perturbations in human nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2008; 135: 680-688
- 64 Nicholson JK, Lindon JC, Holmes E. 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. *Xenobiotica* 1999; 29: 1181-1189
- 65 Goodacre R. Making sense of the metabolome using evolutionary computation: seeing the wood with the trees. *J Exp Bot* 2005; 56: 245-254
- 66 Brindle JT, Antti H, Holmes E, Tranter G, Nicholson JK, Bethell HW, Clarke S, Schofield PM, McKilligin E, Mosedale DE, Grainger DJ. Rapid and noninvasive diagnosis of the presence and severity of coronary heart disease using ¹H-NMR-based metabonomics. *Nat Med* 2002; 8: 1439-1444
- 67 Dumas ME, Barton RH, Toye A, Cloarec O, Blancher C, Rothwell A, Fearnside J, Tatoud R, Blanc V, Lindon JC, Mitchell SC, Holmes E, McCarthy MI, Scott J, Gauguier D, Nicholson JK. Metabolic profiling reveals a contribution of gut microbiota to fatty liver phenotype in insulin-resistant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 12511-12516
- 68 van Ginneken V, Verhey E, Poelmann R, Ramakers R, van Dijk KW, Ham L, Voshol P, Havekes L, Van Eck M, van der Greef J. Metabolomics (liver and blood profiling) in a mouse model in response to fasting: a study of hepatic steatosis. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1771: 1263-1270
- 69 Debois D, Bralet MP, Le Naour F, Brunelle A, Laprévote O. In situ lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver by cluster TOF-SIMS imaging. *Anal Chem* 2009; 81: 2823-2831
- 70 Yang J, Xu G, Zheng Y, Kong H, Pang T, Lv S, Yang Q. Diagnosis of liver cancer using HPLC-based metabonomics avoiding false-positive result from hepatitis and hepatocirrhosis diseases. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2004; 813: 59-65