

n-3 多不饱和脂肪酸、内质网应激与非酒精性脂肪肝病的研究进展

袁发许, 赵秀举, 刘志国*

(武汉轻工大学生物与制药工程学院, 武汉 430023)

摘要: 非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)已逐渐成为一个全球性健康问题, 但其发病的具体机制不甚明朗。内质网是细胞内蛋白质加工、脂质合成和钙储存的主要场所, 内质网结构和功能的失常所致的内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)对脂代谢和细胞功能具有重要调控作用, 可能是NAFLD的发生和发展的重要机制。近来大量研究显示, 脂类中特定的脂质负荷(饱和脂肪酸、胆固醇)可能是诱导ERS导致NAFLD重要原因, 而另一方面, *n*-3多不饱和脂肪酸(*n*-3 polyunsaturated fatty acids, *n*-3 PUFA)的摄入量却与NAFLD患病率呈负相关。本文就脂肪酸与内质网应激及其与NAFLD的联系作一综述, 进一步探讨*n*-3多不饱和脂肪酸防治NAFLD的机制。

关键词: *n*-3多不饱和脂肪酸; 脂代谢; 内质网应激; 非酒精性脂肪肝病

Research progress of *n*-3 polyunsaturated fatty acids and the endoplasmic reticulum stress in non-alcoholic fatty liver disease

YUAN Fa-Hu, ZHAO Xiu-Ju, LIU Zhi-Guo*

(School of Biology and Pharmaceutical Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

ABSTRACT: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a worldwide public health problem. The underlying causes of NAFLD are unclear. Endoplasmic reticulum is the main site of protein processing, lipid synthesis and storage of calcium. Disruption of Endoplasmic reticulum homeostasis, which often induces endoplasmic reticulum stress (ERS), plays an important regulatory role in lipid metabolism and cell function. Recent evidence implicated the ERS in both the development of steatosis and progression to nonalcoholic steatohepatitis. In the current review, we discussed the involvement of different fatty acids in the pathogenesis of NAFLD with particular emphasis on the role of ERS, explored the mechanism of *n*-3 polyunsaturated fatty acids in the prevention and treatment of NAFLD.

KEY WORDS: *n*-3 polyunsaturated fatty acids; lipid metabolism; endoplasmic reticulum stress (ERS); non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)

基金项目: 国家自然科学基金项目(31271855)、湖北省教育厅重点计划项目(D20121808)、湖北省自然科学基金(2012FFB04802)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31271855), Hubei Ministry of Education key project (D20121808) and Natural Science Foundation of Hubei Province of China (2012FFB04802)

*通讯作者: 刘志国, 教授, 主要从事营养生物学与食品安全研究。E-mail: zhiguo_l@126.com

*Corresponding author: LIU Zhi-Guo, Professor, School of Biology and Pharmaceutical Engineering, Wuhan Polytechnic University, No. 68, Xuefu South Road, Changqing Garden, Wuhan 430023, China. E-mail: zhiguo_l@126.com

非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种与肥胖相关,患者无过量饮酒史,以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变(脂肪肝)为特征临床病理综合征^[1]。部分患者可能进一步发展为脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH),甚至肝硬化和肝细胞癌。NAFLD 因其高患病率、低龄化的发病趋势越来越受到重视^[2,3]。由于 NAFLD 发病的隐匿性,NAFLD 发病的具体机制不甚明确,目前普遍接受 Day 和 James 提出的“二次打击”学说^[4],认为肝细胞脂肪积聚和脂肪变性构成“初次打击”进一步在细胞内脂质过氧化和氧化应激、炎性细胞因子等因素作用下形成“二次打击”,诱导了肝脏炎症反应、肝细胞变性坏死和肝纤维化/肝硬化的发生。近年来研究表明,脂质等多种因素导致的内质网应激在“二次打击”中发挥着重要作用^[5,6]。内质网作为蛋白质加工、脂质合成和钙储存的主要场所,在细胞代谢调控、信号转导等方面具有重要作用,内质网结构和功能的失常所导致的内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)已经被证明与多种代谢性疾病相关。从临床、动物和细胞实验研究中发现,ERS 与 NAFLD 患者肝脏脂肪酸代谢异常密切相关,可能是 NAFLD 疾病发生发展的重要机制。

1 脂肪酸代谢与 NAFLD

脂质是膳食中重要的营养成分,膳食脂质由约 90% 的三脂酰甘油(TAG)和少量胆固醇等其他脂质组成^[7]。小肠消化、吸收的脂质与载脂蛋白结合成乳糜微粒,通过血液循环进入肝脏,在脂蛋白脂酶(lipo-protein lipase, LPL)催化下水解为甘油和游离脂肪酸(free fatty acid, FFA),产生的 FFA 在细胞线粒体中进行 β -氧化分解,甘油可转化为磷酸二羟丙酮进入糖酵解途径。糖代谢或脂代谢产生的乙酰-CoA 在细胞内可重新合成脂肪酸。因此,肝内脂肪酸主要有三个来源:1)从膳食中摄取;2)肝细胞内源性脂质合成;3)由脂肪组织分解释放进入肝脏^[8],Donnelly 等^[9]发现,NAFLD 患者肝脏中约 60% 的 TAG 来源于后者。

正常生理情况下,肝细胞通过调节脂肪酸摄入、合成、分泌及氧化分解维持细胞脂肪酸代谢平衡。当机体通过膳食摄入脂质,血液中脂类浓度升高,脂肪细胞可以储存脂类。营养过剩时,脂肪细胞中储存的

TAG 加速水解为脂肪酸和甘油,同时,超负荷的脂肪细胞对脂类和葡萄糖的吸收减少,使过剩的营养物质进入肝脏。然而大量的脂质如果不能及时分泌或排出体外,可加剧肝细胞脂质聚积,并发展成为肝脂肪变性和脂肪肝(脂质超过正常肝湿重的 5%即为脂肪肝)^[10]。此外,肝脏是脂肪酸 β -氧化的主要场所,FFA 浓度升高时可导致线粒体活性氧(reactive oxygen species, ROS)增加^[11],ROS 与膜磷脂的多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFA)反应形成脂质过氧化物,加剧线粒体损伤,随着线粒体氧化能力的破坏,胞质内脂肪酸积聚,激活过氧化物酶体 β 氧化和微粒体 ω 氧化,产生更多 ROS,造成级联损伤,最终造成线粒体 β -氧化障碍,使单纯性脂肪肝加速向脂肪性肝炎(NASH, nonalcoholic steatohepatitis)和肝硬化发展。

2 脂肪酸代谢与内质网二者紧密相关

内质网是细胞内最大的细胞器,是蛋白质加工修饰的主要场所,内质网有大量的酶参与 TAG 和复杂脂类合成,内质网膜结构的松散性也为新合成的脂质和蛋白质的插入与转运提供了有利环境,因而也成为脂质代谢的主要场所^[12]。细胞内各种膜系统需要各种不同的脂质,这些脂质的合成都需要内质网的调节,而且脂肪酸的脱饱和、脂肪链的延长反应都在内质网中进行^[13],因此,内质网对维持细胞内脂肪酸和脂质代谢的动态平衡起重要作用。

内质网中的脂质有两种形式:极性的磷脂和中性的脂质(如 TAG、胆固醇酯),磷脂是组装膜和转运功能性囊泡的主要成分,TAG 和胆固醇酯则靠疏水作用力聚积成脂滴以储存细胞内过量的脂质^[14]。控制脂肪酸组成和不同磷脂的分布对膜的功能极为重要,另一方面,胞内更多的脂滴存储需增加内质网磷脂酰胆碱合成(内质网扩容),增加了内质网膜脂结构平衡的风险^[15]。内质网脂质合成和分布同时也与其转运紧密相关,在肝细胞中,脂蛋白的分泌不仅是将脂质转运到周围组织中,更重要的是把细胞内过量的脂肪酸和胆固醇清除。这种通过极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)清除脂质的机制需要以增加内质网中蛋白质和脂肪酸合成为代价。由此可见,内质网的结构和功能又与脂肪酸代谢紧密相关。

3 不同结构脂肪酸与 ERS

如上所述,内质网作为细胞内蛋白质装配修饰的场所,当蛋白质的折叠修饰需求超出了内质网的正常容量时,会导致未折叠蛋白质或错误折叠蛋白质在内质网腔蓄积,从而造成内质网功能的内稳态失衡,形成 ERS^[6]。由于未折叠蛋白质会导致细胞功能损伤,内质网通过激活未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)改变蛋白质转录和翻译过程,减少蛋白的合成,同时上调内质网中分子伴侣和折叠蛋白的表达,增强内质网的蛋白折叠功能,以恢复内质网内稳态。可见 UPR 是种相对保守的应答,对机体具有保护作用,然而,如果 UPR 无法缓解或逆转持续的应激压力则会导致细胞凋亡。

脂肪酸的生物学功能不仅限于作为结构分子,还包括参与特定的信号通路,控制局部及全身性代谢反应。许多研究发现,饱和脂肪酸(saturated fatty acids, SFA)比 PUFA 对肝细胞的损害更大^[16-18]。Wang 等^[19]报道,高 SFA 饮食喂养实验动物造成了明显的肝损伤,对内毒素敏感性增加,肝细胞增殖能力减小。与此相反,高 PUFA 的饮食尽管出现了与高 SFA 饲喂相近的肝脏甘油三酯的蓄积,但却没有引起肝功能损伤。在细胞层面,游离脂肪酸水平的升高,特别是 SFA 浓度的升高,能在包括肝细胞在内的多种细胞中产生 ERS,并激活 UPR,而对应的 PUFA 却没有引起 ERS^[20],在我们及其他一些学者的研究^[21]中还发现,添加 *n*-3 PUFA 后,可抑制由 SFA 引起的 ERS 相关信号通路的过度激活,减少细胞凋亡。因而,不同脂肪酸对内质网功能,特别是对 ERS 的影响成为了研究 *n*-3 PUFA 干预治疗 NAFLD 机制的重点。

3.1 SFA 诱导 ERS

SFA 在代谢失调中的作用被广泛认可,SFA 能通过选择性的、结构性的作用影响内质网。相比不饱和脂肪酸,SFA 更不易转换成甘油三酯,因此更多的转运至内质网,影响后者形态和功能。Turner^[22]在体外实验发现,软脂酰-CoA 能够抑制内质网膜的组装,并加速内质网的裂解。Borradaile 等^[23]用同位素标记的软脂酸孵育仓鼠卵巢细胞和 H9c2 心肌细胞,发现软脂酸直接掺入到微粒体膜磷脂,从而影响内质网膜的结构导致内质网功能的变化。SFA 掺入进内质网,

也可能导致内质网钙稳态的破坏从而影响内质网伴侣蛋白活性,使内质网蛋白折叠能力下降,激活 UPR,引起 ERS^[24]。

3.2 *n*-3 PUFA 缓解 ERS

自然界中多不饱和脂肪酸主要分为 *n*-3 和 *n*-6 两类。亚油酸和亚麻酸分别是合成 *n*-6 PUFA(如 ARA)和 *n*-3 PUFA(如 EPA, DHA)的前体物质,因为动物细胞不能在 C-9 以后的位置形成双键,所以 PUFA 需从日常膳食中摄取相应的前体物质合成。流行病学研究发现,在过去的几十年里,人们 *n*-3 PUFA 摄入量不断减少,随之而来的是肥胖患病率的上升。NAFLD 患者,特别是那些从组织病理学上确诊的 NASH 患者,不仅摄入的 *n*-3 PUFA 较少,肝细胞中 *n*-3 PUFA 含量也更低^[25-27]。干预和治疗实验结果显示,膳食补充 *n*-3 PUFA 能够较好地缓解或是逆转 NAFLD^[28-30]。*n*-3 PUFA 对 NAFLD 的干预机制在动物模型中得以进一步研究,以鱼油(富含 *n*-3 PUFA)或纯化的 DHA 或 EPA 饲喂啮齿类 NAFLD 模型动物,发现其肝脂肪变性地得以缓解^[30]。*n*-3 PUFA 能够通过调节参与脂质代谢的转录因子,干预持续性 ERS,从而在 NAFLD 的发病机制中发挥重要的负调控作用。

过氧化物酶体增植物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)属于核受体超家族,为配体激活转录因子,氧化的 *n*-3 PUFA 与转录因子家族 PPAR 有高度亲和力,可激活 PPAR α 与其下游脂质氧化相关基因,加速肝细胞内蓄积的脂肪酸的氧化代谢。与此同时,*n*-3 PUFA 还可调节肝内脂质从头合成(de novo lipogenesis, DNL)的相关基因固醇调节元件结合蛋白 1c(sterol regulatory element-binding protein 1c, SREBP1c)表达降低。Sekiya 等^[31]给予 ob/ob 小鼠 *n*-3 PUFA 饮食发现,*n*-3 PUFA 能抑制 SREBP1 mRNA 的表达,并减少 SREBP1 裂解活化,降低脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)、硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1(stearoyl-CoA desaturase 1, SCD1)表达,改善小鼠的脂肪肝及胰岛素抵抗状态。此外,高 *n*-3 PUFA 的膳食结构还使肝脏组织 TNF- α 和 NF- κ B 介导的细胞因子及酶的表达减少^[32, 33]。总之,*n*-3 PUFA 能增加脂质氧化,减少脂质的合成和吸收,减轻肝细胞脂质负荷,缓解 ERS,减轻炎症反应,从而干预治疗 NAFLD。

4 结 语

NAFLD 的产生和发展是多种因素共同促成的,如高脂高能的膳食结构,肠道微生物稳态的破坏,环境因素等等,虽然目前还没有针对治疗该疾病的有效药物,但随着人们对 NAFLD 日益关注,越来越多的研究将深入揭示 NAFLD 发病机制,尤其是ERS在NAFLD 发展中的重要作用,以及不同膳食脂肪酸在NAFLD中的作用差异,并显示n-3 PUFA在预防和治疗NAFLD中可能具有重要作用,为深入开发相关产品提供科学依据。

参考文献

- [1] 中华医学会肝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(2010年修订版) [J]. 中华肝脏病杂志, 2010, 18(3): 161-163.
The Chinese National Workshop on Fatty Liver and Alcoholic Liver disease for the Chinese Liver Disease Association. Guidelines for management of nonalcoholic fatty liver disease: an updated and revised edition [J]. Chin J Hepatol, 2010, 18(3): 161-163.
- [2] Wieckowska A, McCullough AJ, Feldstein AE. Noninvasive diagnosis and monitoring of nonalcoholic steatohepatitis: present and future [J]. Hepatology, 2007, 46: 582-589.
- [3] Papandreou D, Rousso I, Mavromichalis I. Update on non-alcoholic fatty liver disease in children [J]. Clin Nutr, 2007, 26: 409-410.
- [4] Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? [J]. Gastroenterology, 1998, 114(4): 842-845.
- [5] Malhi H, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress in liver disease [J]. J Hepatol, 2011, 54(4): 798-801.
- [6] Gentile CL, Frye M, Pagliassotti MJ. Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response in nonalcoholic fatty liver disease [J]. Antioxid Redox Signal, 2011, 15(2): 515-521.
- [7] 罗绪刚, 吕林, 李爱科, 译. 分子营养学[M]. 北京: 科学出版社, 2010: 135-137.
Luo XG, Lyu L, Li AK, Translation. Molecular Nutrition [M]. Beijing: Science Press, 2010: 135-137.
- [8] Postic C, Girard J. The role of the lipogenic pathway in the development of hepatic steatosis [J]. Diabetes Metab, 2008, 34: 643-644.
- [9] Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, et al. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease [J]. J Clin Invest, 2005, 115:1343-1351.
- [10] 周玉娟, 刘福林, 张永健, 等. 脂肪肝的发病机制和治疗研究进展[J]. 临床荟萃, 2005, 20(6): 350-352.
Zhou YJ, Liu FL, Zhang YJ, et al. The research of Fatty liver pathogenesis and treatment [J]. Clin Focus, 2005, 20(6): 350-352.
- [11] Lomonaco R, Sunny NE, Bril F, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: current issues and novel treatment approaches [J]. Drugs, 2013, 73(1): 1-14.
- [12] Horton JD. Sterol regulatory element-binding proteins: transcriptional activators of lipid synthesis [J]. Biochem Soc Trans, 2002, 30: 1094-1095.
- [13] Seo HY, Kim YD, Lee KM, et al. Endoplasmic reticulum stress-induced activation of activating transcription factor 6 decreases insulin gene expression via up-regulation of orphan nuclear receptor small heterodimer partner [J]. Endocrinology, 2008, 149(8): 3832-3833.
- [14] Fu S, Yang L, Li P, et al. Aberrant lipid metabolism disrupts calcium homeostasis causing liver endoplasmic reticulum stress in obesity [J]. Nature, 2011, 473(7348): 530-531.
- [15] Caviglia JM, Gayet C, Ota T, et al. Different fatty acids inhibit apoB100 secretion by different pathways: unique roles for ER stress, ceramide, and autophagy [J]. J Lipid Res, 2011, 52(9): 1636-1637.
- [16] Wei Y, Wang D, Topczewski F, Pagliassotti MJ. Saturated fatty acids induce endoplasmic reticulum stress and apoptosis independently of ceramide in liver cells [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006, 291: e275-e281.
- [17] Scheuner D, Song B, McEwen E, et al. Translational control is required for the unfolded protein response and in vivo glucose homeostasis [J]. Mol Cell, 2001, 7: 1165-1176.
- [18] Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, et al. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action and type 2 diabetes [J]. Science, 2004, 306: 457-461.
- [19] Wang D, Wei Y, Schmoll D, et al. Endoplasmic reticulum stress increases glucose-6-phosphatase and glucose cycling in liver cells [J]. Endocrinology, 2006, 147: 350-358.
- [20] Nivala AM, Reese L, Frye M, et al. Fatty acid-mediated endoplasmic reticulum stress in vivo: Differential response to the infusion of Soybean and Lard Oil in rats [J]. Metabolism, 2013, 62(5): 753-760.
- [21] Zhang Y, Yang X, Shi H, et al. Effect of α -linolenic acid on endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis of palmitic acid lipotoxicity in primary rat hepatocytes [J]. Lipids Health Dis, 2011, 25(10): 122.
- [22] Turner MD. Fatty acyl CoA-mediated inhibition of endoplasmic reticulum assembly [J]. Biochim Biophys Acta, 2004, 1693(1): 1-4.

- [23] Borradaile NM, Han X, Harp JD, *et al.* Disruption of endoplasmic reticulum structure and integrity in lipotoxic cell death [J]. *J Lipid Res*, 2006, 47(12): 2726–2737.
- [24] Gwiazda KS, Yang TL, Lin Y, Johnson JD. Effects of palmitate on ER and cytosolic Ca²⁺ homeostasis in beta-cells [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2009, 296: e690–e701.
- [25] Shapiro H, Tehilla M, Attal-Singer J, *et al.* The therapeutic potential of long-chain omega-3 fatty acids in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Clin Nutr*, 2011, 30: 6–19.
- [26] Oya J, Nakagami T, Sasaki S, *et al.* Intake of n-3 polyunsaturated fatty acids and non-alcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study in Japanese men and women [J]. *Eur J Clin Nutr*, 2010, 64: 1179–1185.
- [27] Allard JP, Aghdassi E, Mohammed S, *et al.* Nutritional assessment and hepatic fatty acid composition in nonalcoholic fatty liver disease (naflD): A cross-sectional study [J]. *J Hepatol*, 2008, 48: 300–307.
- [28] Vega GL, Chandalia M, Szczepaniak LS, *et al.* Effects of n-3 fatty acids on hepatic triglyceride content in humans [J]. *J Investig Med*, 2008, 56: 780–785.
- [29] Spadaro L, Magliocco O, Spampinato D, *et al.* Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids in subjects with nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Dig Liver Dis*, 2008, 40(3): 194–199.
- [30] Zhu FS, Liu S, Chen XM, *et al.* Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids from seal oils on nonalcoholic fatty liver disease associated with hyperlipidemia [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14: 6395–6400.
- [31] Sekiya M, Yahagi N, Matsuzaka T, *et al.* Polyunsaturated fatty acids ameliorate hepatic steatosis in obese mice by SREBP-1 suppression [J]. *Hepatology*, 2003, 38(6): 1529–1539.
- [32] Marsman HA, Heger M, Kloek JJ, *et al.* Reversal of hepatic steatosis by omega-3 fatty acids measured non-invasively by (1)h-magnetic resonance spectroscopy in a rat model [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 26: 356–363.
- [33] Oh DY, Talukdar S, Bae EJ, *et al.* Gpr120 is an omega-3 fatty acid receptor mediating potent anti-inflammatory and insulin sensitizing effects [J]. *Cell*, 2010, 142: 687–698.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



袁发许, 硕士研究生, 主要研究方向为营养生物学与食品安全。
E-mail: bio8809@126.com



刘志国, 博士, 教授, 主要研究方向为营养生物学与食品安全。
E-mail: zhiguo_l@126.com