

基础研究

· 综述 ·

运动防治非酒精性脂肪性肝病的机制

张洁 邸阜生

【摘要】 非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 目前已经成为全球流行的慢性肝脏疾病。运动能够改善 NAFLD。研究证实,运动能够减轻肝脏脂肪沉积及炎性反应,但其具体机制尚不明确,有待进一步研究。

【关键词】 运动;非酒精性脂肪性肝病; AMPK; 自噬

基金项目:天津市卫生局科技基金重点资助项目(2010KR02)

Mechanism of exercise on non-alcoholic fatty liver disease Zhang Jie, Di Fusheng. Department of Endocrinology, The Third Central Hospital, Tianjin Key Laboratory of Artificial Cells (TKL), Tianjin 300170, China

Corresponding author: Di Fusheng, Email: difusheng@vip.163.com

【Abstract】 Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common liver disease around the world. Physical activity enables to improve NAFLD. According to researches, exercise can reduce the liver fat deposition and inflammation. However, the mechanisms responsible for these effects are incompletely understood and need further study.

【Key words】 Exercise; Non-alcoholic fatty liver disease; AMPK; Autophagy

Fund program: Tianjin Health Bureau Technology Fund (2010KR02)

目前研究证明,非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 不仅可发展为肝硬化及肝癌,并且与机体胰岛素抵抗、2 型糖尿病等代谢性疾病的发生密切相关。众所周知,运动是机体保持自身健康的重要方法和手段之一,运动疗法作为 NAFLD 最基本的治疗方法之一已逐步应用于临床。但运动治疗 NAFLD 的机制尚不明确。本文将对国内外相关领域的研究现状加以综述,为阐明运动在改善 NAFLD 过程中的作用提供理论依据。

1 NAFLD 的发病机制 ——“二次打击学说”

NAFLD 是由肝细胞内脂肪异常沉积,并在此基础上引发的炎性反应造成的肝脏疾病。其发生、发展与营养过剩、能量代谢失调导致的机体肥胖、胰岛素抵抗、内质网应激等密不可分,被认为是代谢综合征在肝脏的表现^[1]。NAFLD 的发病机制目前尚无定论,“二次打击”学说作为 NAFLD 的经典发病机制被广泛接受。该学说认为“第一次打击”是肝细胞

内甘油三酯合成与转运紊乱致肝脏中脂质沉积,“第二次打击”是在第一次打击的基础上触发的一系列的细胞毒素事件,导致肝脏实质细胞内的氧化应激、炎性反应^[2]。

2 有氧运动与 NAFLD

2.1 有氧运动与“第一次打击” 肝脏脂质沉积是 NAFLD 发病的始动因素,当进入肝脏的脂肪酸和肝脏自身从头合成的脂肪酸超过肝脏的氧化能力,或因肝脏合成极低密度脂蛋白 (VLDL) 障碍,肝脏内的甘油三酯不能以 VLDL 的形式从肝脏输出时,均可导致脂质在肝细胞内蓄积,形成脂肪肝。有氧运动能够有效的作用于上述多个环节,减少肝内脂质的沉积。

2.1.1 有氧运动改善外源性脂肪酸在肝内沉积 目前研究认为,胰岛素抵抗是 NAFLD 发生的始动因素。在生理情况下,一些脂解激素如儿茶酚胺等通过调节激素敏感性脂肪酶的活性,促进白色脂肪分解成游离脂肪酸 (FFA),而胰岛素能够抑制脂解^[3]。当发生胰岛素抵抗时,脂肪分解增加导致体内 FFA 明显增多^[4]。血浆中过多的 FFA 可以通过多种途径增加肝细胞内脂质沉积。研究证实,有氧运动能

够增加外周组织特别是脂肪组织的胰岛素敏感性、调控脂肪因子的分泌,减少了血浆中及运输至肝脏内的 FFA 的含量,从而减少肝内脂肪沉积^[5]。

骨骼肌作为一种新兴的内分泌器官,能够分泌多种肌肉因子。运动可促进肌肉因子的表达,这些肌肉因子不仅作用于骨骼肌本身,还可通过血液循环到达外周组织,调节全身代谢过程^[6]。Irisin 是一种具有减肥作用的肌肉因子,研究发现,有氧运动可以诱导小鼠骨骼肌产生过氧化物酶体增殖物活化受体 γ 协同刺激因子-1 α (PGC-1 α),并利用基因芯片技术检测出 5 种依赖 PGC-1 α 的分泌蛋白上调,其中与耐力运动最为相关的一种蛋白为 III 型纤连蛋白组件包含蛋白 5 (FNDC5),在体内 FNDC5 被剪切转变为一种新形式——irisin^[7]。用腺病毒转染 FNDC5 到小鼠体内,10 d 后小鼠血清 irisin 含量较对照组明显增加,同时皮下脂肪组织表现出明显的棕色化趋势,增加了脂肪组织内脂肪酸的有氧氧化,从而减少了白色脂肪的含量,减轻了胰岛素抵抗及脂肪组织内 FFA 的产生。

2.1.2 有氧运动减少肝内脂肪酸从头合成,增加脂肪酸 β 氧化 AMP 活化蛋白激酶 (AMPK) 被称为真核细胞的“能量感受器”。当机体受到各种代谢应激如低氧、缺血和运动时会导致 ATP 产生下降,AMP/ATP 比值增加,从而导致 AMPK 苏氨酸 172 磷酸化的增加,AMPK 被迅速激活,通过 AMPK/乙酰 CoA 羧化酶/丙二酸单酰辅酶 A 途径,解除了丙二酸单酰辅酶 A 对肉碱转移酶-1 的抑制,增加了 FFA 的 β 氧化,从而改善肝脏脂代谢紊乱。此外,脂肪酸合酶是合成长链脂肪酸最为重要的酶,其表达受固醇调节元件结合蛋白-1 (SREBP-1) 调节,同时 SREBP-1 也是调节乙酰 CoA 羧化酶的关键转录因子。在肝脏中,有氧运动或者用二甲双胍处理及持续活化状态的 AMPK 过表达均能够减少 SREBP-1 的基因及蛋白表达^[8-9]。最新的研究也证实,AMPK 能够直接磷酸化 SREBP-1 的 ser372 位点,抑制 SREBP-1 的蛋白水解及入核,并抑制其靶基因的表达,从而缓解小鼠肝细胞中脂肪合成及脂质的积累^[10]。Cintra 等^[11] 研究表明,8 周的高脂饮食能够增加肝脏内 SREBP-1 的表达,而有氧运动能够抑制 SREBP-1 的表达,提示有氧运动能够通过减低 SREBP-1 来减少肝内脂肪的从头合成,从而改善肝内脂质沉积。Cho 等^[12] 研究证实,长期有氧运动在增加肝脏 AMPK 磷酸化的同时也减低了 SREBP-1 的表达。在骨骼肌中运动通过 AMPK/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR)/核糖体蛋白 S6 激酶 β -1 途径减低

SREBP-1 的表达,这提示在肝脏中,运动可能也是通过激活 AMPK 通路调控 SREBP-1 的表达^[13]。其具体机制有待进一步探讨。

线粒体是肝细胞最重要的细胞器之一,是脂肪酸进行 β 氧化、三羧酸循环以及 ATP 及活性氧簇合成的重要场所。研究证实,线粒体功能障碍是 NAFLD 发生的原因之一。线粒体生物合成的过程受到众多因素的调控,其中 PGC-1 α 被认为在线粒体的生物合成中起着关键的调节作用^[14]。研究证实,运动能够增加肝脏 PGC-1 α 及其下游线粒体生物合成及功能相关的基因表达,增加了线粒体生物合成及线粒体功能,这也可能是运动防治 NAFLD 的机制之一^[15]。

2.2 有氧运动与“第二次打击” 在第一次打击中肝细胞中过多的 FFA 聚集增加了线粒体内氧化的反应率,并且使细胞色素 P450 2E1 的表达升高,后者具有很强的氧化活性,其氧化产物是活性氧簇的主要组成成分^[16]。活性氧簇及其他氧化产物的异常增多、炎性反应及肝细胞坏死等构成了 NAFLD 发病的第二次打击^[17]。有氧运动能够对抗肝细胞的氧化应激及炎性反应,从而避免肝脏遭受第二次打击。

氧化应激在非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的发生、发展中起了关键作用,并与 NASH 的严重程度存在密切联系。因此,抑制氧化应激可阻止 NASH 进程,对于 NAFLD 的预防和治疗具有重要意义。当肝脏发生氧化应激时,一方面,体内高活性分子如活性氧簇和活性氮自由基产生过多,活性氧簇/活性氮自由基的累积加速 NAFLD 的发生、发展^[18]。另一方面抗氧化酶类如内源性过氧化氢酶及谷胱氨肽过氧化物酶生成减少,从而使肝脏内抗氧化能力减低,进一步加速了 NAFLD^[19]。众多研究均证明,运动能够起到抗氧化的作用。Salminen 和 Vihko^[20] 研究证实,长期有氧运动能够通过增加小鼠肝脏内超氧化物歧化酶及谷胱氨肽过氧化物酶水平,对抗高脂引起的氧化应激反应。炎性反应是从单纯性脂肪肝转变为脂肪性肝炎的关键步骤。研究证实,高脂饮食能够增加炎性介质如肿瘤坏死因子- α 及白细胞介素-6 等的产生,从而促进肝脏的炎性反应^[21-22]。人体研究证实,运动能够减低体内炎性介质的产生并且改善炎性反应^[23-24]。动物实验也显示,运动能够减低肥胖小鼠肝脏及脂肪组织中肿瘤坏死因子- α mRNA 的表达^[25]。Kawanishi 等^[26] 研究提示,长期运动能够减低脂肪性肝炎模型小鼠肝脏内趋化因子及黏附因子的表达,从而减轻肝内的脂肪沉积及巨噬细胞浸润。

2.3 有氧运动激活肝细胞自噬 自噬是真核细胞特有的一种生命现象,其作用是维持细胞的自我稳态和促进细胞生存^[27]。在饥饿、氧化应激、病原体感染等环境因素改变的情况下,组织细胞自噬被激活,从而调控细胞内衰老及异常蛋白、清除受损细胞器、维持细胞的正常功能^[28]。肝脏是体内最为重要的代谢器官,并在机体内起着储存肝糖元、合成分泌性蛋白质、抗氧化等角色。肝细胞内存在众多与自噬溶酶体相关的种类丰富的蛋白质,因此自噬与肝细胞关系极为紧密。大量研究均证实,自噬功能减低促进了NAFLD的发生与发展,而运动可以显著提高肝细胞自噬活性,从而达到治疗脂肪肝的目的。自噬的发生受到不同的自噬相关蛋白的调控。目前研究最广泛的两条自噬通路包括:mTOR通路及磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)通路^[29]。mTOR是控制细胞自噬的关键蛋白,能感受细胞的多种变化信号,增强或降低自噬的水平。胰岛素、生长因子等与酪氨酸激酶受体结合后,激活PI3K,PI3K被激活后通过质膜上产生的第二信使磷脂酰肌醇三磷酸活化蛋白激酶B,并通过磷酸化作用激活mTOR信号通路,当mTOR活性被抑制时,自噬体形成。另外,运动可以通过增加AMPK活性,从而通过磷酸化作用激活自噬相关蛋白1以激活自噬,而mTOR也可以通过抑制自噬相关蛋白1的磷酸化抑制自噬^[30]。AMPK又能通过结节性硬化蛋白1/2依赖或非依赖的方式抑制mTOR。因此,当机体受到运动刺激时,AMPK既能直接激活自噬又能通过抑制mTOR而上调细胞的自噬水平,因此AMPK/mTOR信号通路在运动调节的自噬过程中起着非常重要的作用。

PI3K通路是不依赖于AMPK及mTOR的另一条自噬通路,一些经典的自噬抑制剂如3-MA、wortmannin等都是通过抑制此通路的活性而抑制自噬的。自噬正调控子beclin1和抑癌基因UVRAG以及自噬负调控子抗凋亡因子bcl-2与Class III PI3K,共同组成Class III PI3K复合体,调控自噬^[31]。研究人员采用转基因方法在Bcl2分子上敲除了3个保守的磷酸化位点(Thr69、Ser70、Ser84),构建了BCL2 AAA小鼠,这种小鼠表现为基础自噬水平正常,但运动诱导的自噬活性受损,提示运动激活肝细胞自噬是通过调节凋亡抑制蛋白Bcl2这3个磷酸化位点磷酸化引起的。运动可以通过增强Bcl2磷酸化,引起Bcl2-beclin1复合体解离,促进beclin1与Class III PI3K结合激活自噬^[32]。这提示运动对自噬的激活可能是通过这一通路完成的。目前国内、外对于运动激活肝细胞自噬的相关机制鲜见报道,对此机制

的深入研究将有助于为NAFLD的治疗提供依据。

综上所述,运动参与了NAFLD形成与发展,长期有氧运动能够减轻肝脏脂质沉积及肝细胞内的氧化应激及炎症反应,对抗NAFLD形成的“二次打击”,达到安全有效的防治NAFLD及代谢相关疾病的目的。目前运动治疗NAFLD领域的研究还处于初步阶段,许多问题亟待解决,阐明其中的作用机制可能为NAFLD的治疗提供新的方向。

参 考 文 献

- [1] Musso G, Gambino R, Cassader M. Recent insights into hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) [J]. *Prog Lipid Res*, 2009, 48(1): 1-26. DOI: 10.1016/j.plipres.2008.08.001.
- [2] Alkhouri N, Carter-Kent C, Feldstein AE. Apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease: diagnostic and therapeutic implications [J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2011, 5(2): 201-212. DOI: 10.1586/egh.11.6. DOI: 10.1586/egh.11.6.
- [3] Arner P. Human fat cell lipolysis: biochemistry, regulation and clinical role [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2005, 19(4): 471-482. DOI: 10.1016/j.beem.2005.07.004.
- [4] Delarue J, Magnan C. Free fatty acids and insulin resistance [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2007, 10(2): 142-148. DOI: 10.1097/MCO.0b013e328042ba90.
- [5] Koo SH. Nonalcoholic fatty liver disease: molecular mechanisms for the hepatic steatosis [J]. *Clin Mol Hepatol*, 2013, 19(3): 210-215. DOI: 10.3350/cmh.2013.19.3.210.
- [6] Pedersen BK. Muscle as a secretory organ [J]. *Compr Physiol*, 2013, 3(3): 1337-1362. DOI: 10.1002/cphy.120033.
- [7] Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis [J]. *Nature*, 2012, 481(7382): 463-468. DOI: 10.1038/nature10777.
- [8] Foretz M, Ancellin N, Andreelli F, et al. Short-term overexpression of a constitutively active form of AMP-activated protein kinase in the liver leads to mild hypoglycemia and fatty liver [J]. *Diabetes*, 2005, 54(5): 1331-1339.
- [9] Zhou G, Myers R, Li Y, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action [J]. *J Clin Invest*, 2001, 108(8): 1167-1174. DOI: 10.1172/JCI13505.
- [10] Li Y, Xu S, Mihaylova MM, et al. AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin-resistant mice [J]. *Cell Metab*, 2011, 13(4): 376-388. DOI: 10.1016/j.cmet.2011.03.009.
- [11] Cintra DE, Ropelle ER, Vitto MF, et al. Reversion of hepatic steatosis by exercise training in obese mice: the role of sterol regulatory element-binding protein-1c [J]. *Life Sci*, 2012, 91: 395-401. DOI: 10.1016/j.lfs.2012.08.002.
- [12] Cho J, Lee I, Kim D, et al. Effect of aerobic exercise training on non-alcoholic fatty liver disease induced by a high fat diet in C57BL/6 mice [J]. *J Exerc Nutrition Biochem*, 2014, 18(4):

- 339-346. DOI: 10.5717/jenb.2014.18.4.339.
- [13] Liu X, Yuan H, Niu Y, et al. The role of AMPK/mTOR/S6K1 signaling axis in mediating the physiological process of exercise-induced insulin sensitization in skeletal muscle of C57BL/6 mice [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1822(11):1716-1726. DOI: 10.1016/j.bbdis.2012.07.008.
- [14] Wu Z, Puigserver P, Andersson U, et al. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1 [J]. *Cell*, 1999, 98(1):115-124. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80611-X.
- [15] Hood DA. Mechanisms of exercise-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle [J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2009, 34(3):465-472. DOI: 10.1139/H09-045.
- [16] Aubert J, Begriche K, Knockaert L, et al. Increased expression of cytochrome P450 2E1 in nonalcoholic fatty liver disease: mechanisms and pathophysiological role [J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2011, 35(10):630-637. DOI: 10.1016/j.clinre.2011.04.015.
- [17] Basaranoglu M, Basaranoglu G, Sentürk H. From fatty liver to fibrosis: a tale of "second hit" [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(8):1158-1165. DOI: 10.3748/wjg.v19.i8.1158.
- [18] Fan Q, Chen M, Fang X, et al. Aging might augment reactive oxygen species (ROS) formation and affect reactive nitrogen species (RNS) level after myocardial ischemia/reperfusion in both humans and rats [J]. *Age (Dordr)*, 2013, 35(4):1017-1026. DOI: 10.1007/s11357-012-9421-y.
- [19] Prakash PA, Yogeswaran U, Chen SM. A review on direct electrochemistry of catalase for electrochemical sensors [J]. *Sensors (Basel)*, 2009, 9(3):1821-1844. DOI: 10.3390/s90301821.
- [20] Salminen A, Vihko V. Lipid peroxidation in exercise myopathy [J]. *Exp Mol Pathol*, 1983, 38(3):380-388.
- [21] Xiao J, Ching YP, Liong EC, et al. Garlic-derived S-allylmercaptocysteine is a hepato-protective agent in non-alcoholic fatty liver disease *in vivo* animal model [J]. *Eur J Nutr*, 2013, 52(1):179-191. DOI: 10.1007/s00394-012-0301-0.
- [22] Xiao J, Ho CT, Liong EC, et al. Epigallocatechin gallate attenuates fibrosis, oxidative stress, and inflammation in non-alcoholic fatty liver disease rat model through TGF/SMAD, PI3K/Akt/FoxO1, and NF-kappa B pathways [J]. *Eur J Nutr*, 2014, 53(1):187-199. DOI: 10.1007/s00394-013-0516-8.
- [23] Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, et al. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(9):607-615. DOI: 10.1038/nri3041.
- [24] Lamprecht M, Obermayer G, Steinbauer K, et al. Supplementation with a juice powder concentrate and exercise decrease oxidation and inflammation, and improve the microcirculation in obese women: randomised controlled trial data [J]. *Br J Nutr*, 2013, 110(9):1685-1695. DOI: 10.1017/S0007114513001001.
- [25] Kawanishi N, Yano H, Yokogawa Y, et al. Exercise training inhibits inflammation in adipose tissue via both suppression of macrophage infiltration and acceleration of phenotypic switching from M1 to M2 macrophages in high-fat-diet-induced obese mice [J]. *Exerc Immunol Rev*, 2010, 16:105-118.
- [26] Kawanishi N, Yano H, Mizokami T, et al. Exercise training attenuates hepatic inflammation, fibrosis and macrophage infiltration during diet induced-obesity in mice [J]. *Brain Behav Immun*, 2012, 26(6):931-941. DOI: 10.1016/j.bbi.2012.04.006.
- [27] Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease [J]. *Cell*, 2008, 132(1):27-42. DOI: 10.1016/j.cell.2007.12.018.
- [28] He C, Klionsky DJ. Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy [J]. *Annu Rev Genet*, 2009, 43:67-93. DOI: 10.1146/annurev-genet-102808-114910.
- [29] Burman C, Ktistakis NT. Regulation of autophagy by phosphatidylinositol 3-phosphate [J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(7):1302-1312. DOI: 10.1016/j.febslet.2010.01.011.
- [30] Egan D, Kim J, Shaw RJ, et al. The autophagy initiating kinase ULK1 is regulated via opposing phosphorylation by AMPK and mTOR [J]. *Autophagy*, 2011, 7(6):643-644.
- [31] Kim J, Guan KL. AMPK connects energy stress to PIK3C3/VPS34 regulation [J]. *Autophagy*, 2013, 9(7):1110-1111. DOI: 10.4161/auto.24877.
- [32] He C, Bassik MC, Moresi V, et al. Exercise-induced BCL2-regulated autophagy is required for muscle glucose homeostasis [J]. *Nature*, 2012, 481(7382):511-515. DOI: 10.1038/nature10758.

(收稿日期:2015-12-02)

• 消息 •

2017 年第 1 期部分文题介绍

1. 人体肥胖指数在 2 型糖尿病患者中评价肥胖的应用价值
2. 遵义人群载脂蛋白 A5 c.553G/T 基因多态性与混合性高脂血症
3. IL6 联合 s-IL6R 对人甲状腺细胞增殖及相关基因表达的影响
4. 自噬与糖尿病心脏病变
5. 自噬在非酒精性脂肪性肝病不同时期的变化及作用
6. 自噬与肝脏中脂代谢相关研究的进展
7. 自噬在自身免疫性甲状腺疾病中的研究进展
8. 抗肿瘤药物对甲状腺功能的影响
9. 亚临床甲状腺功能减退对糖尿病血管并发症的影响
10. 巨分子促甲状腺激素的筛查策略
11. miRNA 与肥胖