

· 综述 ·

TRAF3 与非酒精性脂肪性肝病的相关性

胡丹丹 沈琼 吴英 高贝贝 曹梦蝶 从相国 俞岭 陈蕾

苏州市立医院本部内分泌科 215002

通信作者:陈蕾, Email: szlei2004@163.com

【摘要】 肿瘤坏死因子相关受体因子 (TRAF) 家族包括 7 个成员 (TRAF1 ~ TRAF7), 在多种病理生理过程中发挥信号调节作用。其中, TRAF3 是第一个确定与 CD40 胞质域相互作用的蛋白。近期研究表明, TRAF3 作为一种新型代谢调控因子, 参与肝脏脂代谢的调节, 可促进肝脏脂质的聚集、引起肝细胞炎症反应的发生、促进肝细胞胰岛素抵抗。TRAF3 可能成为治疗非酒精性脂肪性肝病的新靶点。

【关键词】 肿瘤坏死因子相关受体因子 3; 非酒精性脂肪性肝病; 脂代谢

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20190717-07034

Association between TRAF3 and nonalcoholic fatty liver disease Hu Dandan, Shen Qiong, Wu Ying, Gao Beibei, Cao Mengdie, Cong Xiangguo, Yu Ling, Chen Lei. Department of Endocrinology, Suzhou Municipal Hospital, Suzhou 215002, China

Corresponding author: Chen Lei, Email: szlei2004@163.com

【Abstract】 Tumor necrosis factor receptor (TNFR)-associated factor (TRAF) family consists of seven members (TRAF1-TRAF7) that can function as signaling adaptors in various pathophysiologic processes. Among TRAF members, TRAF3 was first identified as a protein interacting with CD40 cytoplasmic domain. Recent studies have shown that TRAF3, a new metabolic regulator, participated in the regulation of liver lipid metabolism, including promoting the accumulation of liver lipid, causing the occurrence of inflammatory response of hepatocytes, and promoting insulin resistance of hepatocytes. TRAF3 will become a new target for the treatment of NAFLD.

【Key words】 Tumor necrosis factor receptor 3; Nonalcoholic fatty liver disease; Lipid metabolism

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20190717-07034

肿瘤坏死因子相关受体因子 (TRAF) 家族蛋白在哺乳动物中的进化非常保守, 该蛋白家族包括 7 个成员, 在多种病理生理过程中发挥信号调节作用^[1-2]。其中, TRAF3 是 1 个含有锌指结构和 TRAF 域的蛋白, 能够与 CD40 结合, 从而发挥重要的生理作用。该因子在多种组织广泛表达, 如心、肝、脾脏、淋巴结等^[3-4]。非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 是以脂肪在肝细胞内弥漫性沉积为主要病变的一种临床病理综合征, 与肥胖、胰岛素抵抗、高血压、血脂异常密切相关, 包括单纯性脂肪肝、脂肪性肝炎、肝纤维化、肝硬化, 甚至演变成肝癌的一系列疾病谱^[5-6]。NAFLD 现在被认为是一种多系统疾病, 不仅增加肝脏相关疾病的发病率和死亡率, 而且增加心血管疾病、慢性肾病、肝外肿瘤的发病率和死亡率^[7-8]。相关专家预计 NAFLD 将可能成为全球肝移植的主要

指征^[9]。此外, 人群研究也发现, 与正常人相比, NAFLD 患者肝组织中 TRAF3 mRNA 和蛋白表达水平明显高于正常人群, 提示 TRAF3 在 NAFLD 脂代谢的调节中具有重要作用^[10]。本文将对 TRAF3 的结构、分布、功能及其与 NAFLD 的相关性予以综述。

1 NAFLD 的流行病学及发病机制

在发达国家, NAFLD 已超过病毒性肝炎和酒精性肝病成为最常见的肝脏病变, 成人患病率高达 30%, 在肥胖患者中的患病率高达 80%^[11-12]。我国成人 NAFLD 的患病率日益增加, 与肥胖、2 型糖尿病和代谢综合征的发病率增加相平行^[13]。

NAFLD 的特征性病变是大量肝细胞发生大泡性脂肪变性, NAFLD 的发展是一个复杂、多因素参与的过程, 其发病机制与胰岛素抵抗、脂肪因子异常、氧化应激、凋亡易感性增加以及对细胞损伤的反

应异常等有关^[14]。“二次打击学说”是目前较为公认的发病机制。近几年越来越多的研究关注基因多态性与 NAFLD 的相关性。研究显示, Patatin 样磷脂酶域 3 (PNPLA3) 基因 rs738409 多态性与 NAFLD 遗传易感性相关^[15-16]。PNPLA3 rs738409 基因多态性与肝脏脂肪含量增加及肝脏炎症反应相关^[17]。

2 TRAF3 的分子结构和生理作用

TRAF3 可以促进胰岛素抵抗、糖异生、炎症反应以及脂质的聚集,其主要是通过介导肝内 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 和核因子- κ B 通路,参与葡萄糖及脂质的代谢调节^[18]。核因子- κ B 是能够调节 DNA 转录的蛋白复合物,在几乎所有的动物细胞中都有表达,核因子- κ B 信号通路又分为经典核因子- κ B 通路和非经典核因子- κ B 信号通路。通常情况下,存在于细胞质中的无活性的 Rel 二聚体,能够与核因子- κ B 抑制蛋白 (I κ Bs) 相互作用,抑制核因子- κ B 信号通路。当细胞受到如应激、细胞因子、自由基或细菌、病毒等外界刺激时,通过一系列激酶磷酸化 I κ B,促进其蛋白酶体降解,从而使核因子- κ B 能够顺利入核,调控基因表达^[19]。研究表明,TRAF3 能够与核因子- κ B 诱导激酶 (NIK) 相互作用,触发 NIK 的蛋白酶体降解途径。当 TRAF3 基因敲除后能够促进 NIK 在细胞中累积,而 NIK 能够与 I κ B 激酶 α (IKK α) 发生相互作用,直接磷酸化 IKK α ,使之发生二聚化,从而激活非经典核因子- κ B 信号通路,反之,当 TRAF3 过表达时,能够抑制非经典核因子- κ B 信号通路^[20]。

3 TRAF3 在 NAFLD 中的作用

动物研究发现,与对照组相比,肝脏过表达 TRAF3 可引起肝脏的脂质聚集、与胆固醇合成相关的基因表达明显增加,而与胆固醇分解相关的基因表达下降,并激活核因子- κ B 和 JNK 信号通路,从而促进炎症反应的发生及细胞因子产生^[21]。另外,肝脏特异性敲除 TRAF3 基因 (TRAF3-LKO) 小鼠的空腹血糖、空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数均明显低于正常小鼠,胰岛素抵抗明显改善,肝脏脂肪变性得到缓解。

3.1 促进肝脏脂质的聚集 在 NAFLD 患者中,脂代谢紊乱最常见,脂质摄入增加、高脂血症及脂肪组织动员增加,使肝脏摄取脂肪酸增加,线粒体氧化超载。TRAF3 通过促进肝脏脂质聚集发挥重要作用。研究发现,经过 24 周高脂饮食喂养的 TRAF3-LKO 小鼠肝脏的大小、重量、肝脏重量与体重之比明显低

于对照组。另外,油红 O 染色显示,TRAF3-LKO 小鼠肝脂质的聚集、甘油三酯、总胆固醇、脂肪酸含量均较对照组明显降低。与胆固醇合成有关的基因表达明显下降,如 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶、固醇调节元件结合蛋白-1c,与脂肪酸摄取有关的基因 CD36、脂肪酸转运蛋白 1 和脂肪酸结合蛋白 1 以及与脂肪酸合成有关的基因表达受抑制,如脂肪酸合成酶、硬脂酰辅酶 A 去饱和酶-1、乙酰辅酶 A 羧化酶 A、过氧化物酶体增殖物活化受体 (PPAR) γ 。但是,与胆固醇分解有关的基因表达均明显增加,如胆固醇 7 α 羟化酶、ATP 结合转运蛋白 G1;同时与脂肪酸 β 氧化有关的基因表达也增加:如丙酮酸脱氢酶激酶 4、PPAR α 和肉碱棕榈酰转移酶-1 α 。而在肝脏过表达 TRAF3 的小鼠中,结果与之相反,肝脏脂质聚集明显增加,并且与胆固醇合成、脂肪酸摄取、脂肪酸合成有关的基因表达明显增加,并且抑制了胆固醇输出和脂肪酸分解,以上结果表明,TRAF3 在促进 NAFLD 形成中发挥了极其重要的作用^[10]。另有研究通过敲除骨髓细胞 TRAF3 基因,同样发现肝脏的重量及甘油三酯的含量均较正常小鼠含量低,而肝脏中脂质的聚集较正常对照组明显减少,进一步证实 TRAF3 在脂代谢中起重要作用^[22]。

3.2 TRAF3 可促进肝脏炎症反应的发生 NAFLD 与慢性炎症反应密切相关。最新研究证实,NAFLD 与肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素 (IL)-6、IL-1 β 等促炎症因子的释放和上调有关^[23]。JNK 是丝裂原活化蛋白激酶家族的重要成员之一,由于它可以调控细胞内、外不同的应激反应,因此也被称为应激激活蛋白激酶^[24]。核因子- κ B 信号通路和 JNK 信号通路均与脂肪酸代谢密切相关,可促进脂肪肝的形成^[25]。对高脂喂养 TRAF3-LKO 小鼠的研究发现,血清促炎因子如 IL-1 β 、IL-4、IL-6、肿瘤坏死因子- α 、IL-2 和趋化因子如单核细胞趋化蛋白-1 浓度明显低于对照组,而肝脏 TRAF3 过表达小鼠血清中的炎症因子表达却增加,抗炎因子 IL-10 的表达明显下降。此外,TRAF3 可持续影响肝组织中炎症因子的表达。体内外研究均证实,高脂饮食状态下,TRAF3 可活化核因子- κ B 信号通路。另有研究证实,在缺血-再灌注损伤后的正常肝组织中,免疫荧光染色显示 LY6G⁺ 中性粒细胞和 CD68⁺ 巨噬细胞均被显著激活,而 TRAF3-LKO 小鼠的炎症细胞向肝叶的迁移和聚集受抑制,肝小叶中炎症细胞浸润降低,而在肝脏过表达 TRAF3 小鼠的肝小叶中却发现大量的炎症细胞

聚集。当肝脏过表达TRAF3时,核因子- κ B和JNK信号通路均被激活,引起炎症反应的发生及细胞因子产生,促进肝脏脂质的沉积,导致脂肪肝的形成,当敲除肝脏TRAF3基因时,结果却与之相反^[21]。

3.3 促进胰岛素抵抗的发生 在“二次打击”或“多重打击”学说中,导致NAFLD产生的初次打击为胰岛素抵抗。胰岛素抵抗程度越严重,肝脏损伤程度也越重,所以胰岛素增敏剂可能成为NAFLD的治疗药物^[26]。胰岛素信号通路包括胰岛素受体底物(IRS)蛋白和蛋白激酶B(Akt),胰岛素信号通路受阻,会引起胰岛素敏感性下降和糖耐量异常,促进肝脏脂质的合成及脂肪变,进而促进慢性肝脏炎症反应的发生及胰岛素抵抗^[27-28]。为了明确胰岛素信号通路是否受损,研究者检测了TRAF3-LKO小鼠肝组织中IRS1、Akt和糖原合成酶激酶3 β 的磷酸化表达水平,结果发现,TRAF3-LKO鼠的IRS1(Ser307)磷酸化水平较低,而IRS1(tyr608)、Akt和糖原合成酶激酶3 β 的磷酸化水平增加明显,表明胰岛素信号通路被激活。另外,TRAF3-LKO小鼠的FOXO1磷酸化增加,磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶和葡萄糖6磷酸酶表达均降低。进一步研究发现,肝脏过表达TRAF3可通过依赖转化生长因子 β 活化激酶1(TAK1)使其泛素化,进而引起胰岛素通路IRS-Akt激活受阻、胰岛素抵抗,从而促进NAFLD的发生。当特异性敲除肝脏TRAF3基因时,TAK1表达降低,IRS-Akt通路活化,胰岛素抵抗较前好转,以上研究可证明TRAF3通过依赖TAK1途径引起胰岛素抵抗^[10]。其他研究也同样证明,小鼠肝细胞过表达TRAF3时,糖耐量异常、胰岛素抵抗加重,发生肝脏脂肪变。当肝脏特异性敲除TRAF3基因时,可明显改善胰岛素抵抗,缓解肝脏脂肪变性^[18]。上述研究均表明,TRAF3能够特异性抑制高脂饮食诱导的肥胖、胰岛素抵抗和葡萄糖代谢紊乱。

据全球流行病学研究报道,NAFLD现在已成为世界上最常见的肝病,影响了全球近四分之一的人口^[29]。NAFLD是系统性胰岛素抵抗的一种表现,随着时间的推移,单纯性脂肪性肝病可进展为脂肪性肝炎,进而诱发肝硬化及原发性肝癌。肝细胞癌的年发生率为0.44/1 000人,随着人们生活的改善,NAFLD的高患病率和快速增长趋势,NAFLD相关的肝细胞癌病例数也将持续增长。研究证实,NAFLD可不经肝硬化直接导致肝细胞癌的发生,复发率高,预后差,NAFLD逐渐成为现阶段肝细胞癌主要

的致病因素之一^[30-31]。所以对NAFLD的早期治疗具有重要的临床意义。目前对于NAFLD没有特效药,主要的治疗措施包括饮食和运动等生活方式干预,但是超过50%的患者无法通过坚持生活方式的改变达到治疗的目的^[32]。TRAF3是一种新型代谢调控因子,肝脏特异性敲除TRAF3基因后可缓解胰岛素抵抗、糖耐量异常、肝脏脂肪变,通过减少TRAF3的表达或阻断TRAF3-TAK1信号通路,可能成为治疗NAFLD的新靶点。

参 考 文 献

- [1] Brown J, Wang H, Hajishengallis GN, et al. TLR-signaling networks: an integration of adaptor molecules, kinases, and cross-talk [J]. J Dent Res, 2011, 90 (4): 417-427. DOI: 10.1177/0022034510381264.
- [2] Estruch M, Banceles C, Beloki L, et al. CD14 and TLR4 mediate cytokine release promoted by electronegative LDL in monocytes [J]. Atherosclerosis, 2013, 229 (2): 356-362. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.05.011.
- [3] Häcker H, Tseng PH, Karin M. Expanding TRAF function: TRAF3 as a tri-faced immune regulator [J]. Nat Rev Immunol, 2011, 11 (7): 457-468. DOI: 10.1038/nri2998.
- [4] Li P, Liu H, Zhang Y, et al. Endotoxin tolerance inhibits degradation of tumor necrosis factor receptor-associated factor 3 by suppressing pellino 1 expression and the K48 ubiquitin ligase activity of cellular inhibitor of apoptosis protein 2 [J]. J Infect Dis, 2016, 214 (6): 906-915. DOI: 10.1093/infdis/jiw279.
- [5] Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes [J]. Hepatology, 2016, 64 (1): 73-84. DOI: 10.1002/hep.28431.
- [6] Zhang X. NAFLD related-HCC: the relationship with metabolic disorders [J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1061: 55-62. DOI: 10.1007/978-981-10-8684-7_5.
- [7] Söderberg C, Stål P, Askling J, et al. Decreased survival of subjects with elevated liver function tests during a 28-year follow-up [J]. Hepatology, 2010, 51 (2): 595-602. DOI: 10.1002/hep.23314.
- [8] Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease [J]. J Hepatol, 2015, 62 (1 Suppl): S47-S64. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.12.012.
- [9] Review Team, LaBrecque DR, Abbas Z, et al. World Gastroenterology Organisation global guidelines: nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis [J]. J Clin Gastroenterol, 2014, 48 (6): 467-473. DOI: 10.1097/MCG.000000000000116.
- [10] Wang PX, Zhang XJ, Luo P, et al. Hepatocyte TRAF3 promotes liver steatosis and systemic insulin resistance through targeting-TAK1-dependent signalling [J]. Nat Commun, 2016, 7: 10592. DOI: 10.1038/ncomms10592.
- [11] Yu J, Shen J, Sun TT, et al. Obesity, insulin resistance, NASH

- and hepatocellular carcinoma[J]. *Semin Cancer Biol*, 2013, 23(6 Pt B):483-491. DOI: 10.1016/j.semcancer.2013.07.003.
- [12] Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review [J]. *JAMA*, 2015, 313(22):2263-2273. DOI: 10.1001/jama.2015.5370.
- [13] NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants [J]. *Lancet*, 2016, 387(10026):1377-1396. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30054-X.
- [14] Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) [J]. *Metabolism*, 2016, 65(8):1038-1048. DOI: 10.1016/j.metabol.2015.12.012.
- [15] Lin YC, Chang PF, Chang MH, et al. Genetic variants in GCKR and PNPLA3 confer susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease in obese individuals [J]. *Am J Clin Nutr*, 2014, 99(4):869-874. DOI: 10.3945/ajcn.113.079749.
- [16] 徐静. PNPLA3 基因多态性与非酒精性脂肪性肝病遗传易感性的相关性研究 [D]. 2012, 青岛大学.
- [17] Romeo S, Sentinelli F, Dash S, et al. Morbid obesity exposes the association between PNPLA3 I148M (rs738409) and indices of hepatic injury in individuals of European descent [J]. *Int J Obes (Lond)*, 2010, 34(1):190-194. DOI: 10.1038/ijo.2009.216.
- [18] Chen Z, Canet MJ, Sheng L, et al. Hepatocyte TRAF3 promotes insulin resistance and type 2 diabetes in mice with obesity [J]. *Mol Metab*, 2015, 4(12):951-960. DOI: 10.1016/j.molmet.2015.09.013.
- [19] Karin M, Ben-Neriah Y. Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF- κ B activity [J]. *Annu Rev Immunol*, 2000, 18:621-663. DOI: 10.1146/annurev.immunol.18.1.621.
- [20] Liao G, Zhang M, Harhaj EW, et al. Regulation of the NF- κ B-inducing kinase by tumor necrosis factor receptor-associated factor3-induced degradation [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(25):26243-26250. DOI: 10.1074/jbc.M403286200.
- [21] Hu J, Zhu XH, Zhang XJ, et al. Targeting TRAF3 signaling protects against hepatic ischemia/reperfusion injury [J]. *J Hepatol*, 2016, 64(1):146-159. DOI: 10.1016/j.jhep.2015.08.021.
- [22] Chen Z, Shen H, Sun C, et al. Myeloid cell TRAF3 promotes metabolic inflammation, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2015, 308(6):E460-E469. DOI: 10.1152/ajpendo.00470.2014.
- [23] Hajighasem A, Farzanegi P, Mazaheri Z. Effects of combined therapy with resveratrol, continuous and interval exercises on apoptosis, oxidative stress, and inflammatory biomarkers in the liver of old rats with non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2019, 125(2):142-149. DOI: 10.1080/13813455.2018.1441872.
- [24] Bode AM, Dong Z. The functional contrariety of JNK [J]. *Mol Carcinog*, 2007, 46(8):591-598. DOI: 10.1002/mc.20348.
- [25] Tilg H, Moschen AR. Insulin resistance, inflammation, and non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2008, 19(10):371-379. DOI: 10.1016/j.tem.2008.08.005.
- [26] Ratzliff V, Caldwell S, Neuschwander-Tetri BA. Therapeutic trials in nonalcoholic steatohepatitis: insulin sensitizers and related methodological issues [J]. *Hepatology*, 2010, 52(6):2206-2215. DOI: 10.1002/hep.24042.
- [27] Quiroga AD, Li L, Trötschmüller M, et al. Deficiency of carboxylesterase 1/esterase-x results in obesity, hepatic steatosis, and hyperlipidemia [J]. *Hepatology*, 2012, 56(6):2188-2198. DOI: 10.1002/hep.25961.
- [28] Farese RV Jr, Zechner R, Newgard CB, et al. The problem of establishing relationships between hepatic steatosis and hepatic insulin resistance [J]. *Cell Metab*, 2012, 15(5):570-573. DOI: 10.1016/j.cmet.2012.03.004.
- [29] Lonardo A, Byrne CD, Caldwell SH, et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease: meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes [J]. *Hepatology*, 2016, 64(4):1388-1389. DOI: 10.1002/hep.28584.
- [30] Mohamad B, Shah V, Onyshchenko M, et al. Characterization of hepatocellular carcinoma (HCC) in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) patients without cirrhosis [J]. *Hepatol Int*, 2016, 10(4):632-639. DOI: 10.1007/s12072-015-9679-0.
- [31] Younossi ZM, Otgonsuren M, Henry L, et al. Association of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) with hepatocellular carcinoma (HCC) in the United States from 2004 to 2009 [J]. *Hepatology*, 2015, 62(6):1723-1730. DOI: 10.1002/hep.28123.
- [32] van der Windt DJ, Sud V, Zhang H, et al. The effects of physical exercise on fatty liver disease [J]. *Gene Expr*, 2018, 18(2):89-101. DOI: 10.3727/105221617X15124844266408.

(收稿日期:2019-07-17)

(本文编辑:刘欣)

勘误

本刊 2020 年第 1 期 67 页文章《1 例假性甲状旁腺功能减退症与 GNAS 基因突变》内第一段中“假性甲状旁腺功能亢进症 (PHP)……”应为“假性甲状旁腺功能减退症 (PHP)……”。

特此勘误!

本刊编辑部