·综 述·

非酒精性脂肪肝病中上皮-间充质转化过程的研究现状

白 鑫[1,2]，刘珉宇[1,2]*
（1. 中国医药工业研究总院创新药物与制药工艺国家重点实验室，上海 200437；
2. 上海市生物物质成药性评价技术服务平台，上海 200437）

摘要：非酒精性脂肪肝病（non-alcoholic fatty liver disease，NAFLD）是全球范围内日益严重的健康问题，上皮 - 间充质转化（epithelial-mesenchymal transition，EMT）在 NAFLD 的纤维化进程中扮演着核心角色。该文将对近年 NAFLD 中 EMT 相关作用机制，包括转化生长因子 β、微 RNA 和细胞外囊泡在调节肝脏细胞间的相互作用及纤维化进程中的重要作用作一综述，为开发 NAFLD 新的治疗策略以及寻找新生物标志物提供方向，尤其是针对 EMT 过程及其相关分子和信号通路的靶向干预，可能为减缓或逆转纤维化提供有效手段。

关键字：非酒精性脂肪肝病；上皮 - 间充质转化；转化生长因子 β；肝纤维化
中图分类号：R575.5 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188（2024）09-0980-006
引用：白鑫, 刘珉宇. 非酒精性脂肪肝病中上皮-间充质转化过程的研究现状[J]. 世界临床药物, 2024, 45（9）: 980-985. DOI：10.13683/j.wph.2024.09.014

Research status of epithelial-mesenchymal transition in non-alcoholic fatty liver disease

BAI Xin[1,2], LIU Minyu[1,2]*
（*1. State Key Lab. of New Drug and Pharmaceutical Process, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200437, China;*
2. Shanghai Professional and Technical Service Center for Biological Material Drug-Ability Evaluation, Shanghai 200437, China）

Abstract: Non-alcoholic fatty liver disease（NAFLD）is a growing health problem worldwide, and epithelial-mesenchymal transition（EMT）plays a central role in the fibrotic progression of NAFLD. This paper reviewed the mechanism of EMT-related action in NAFLD in recent years, including transforming growth factor-β, micro RNA and extracellular vesicles, which play an important role in regulating the interaction between liver cells and fibrosis process. It provides a direction for researchers for the development of new therapeutic strategies and the research for new biomarkers for NAFLD, especially targeted interventions targeting the EMT process and its related molecules and signaling pathways, which may provide effective means to slow down or reverse fibrosis.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease; epithelial-mesenchymal transition; transforming growth factor-β; liver fibrosis

非酒精性脂肪肝病（non-alcoholic fatty liver disease，NAFLD）目前居于全球慢性肝病前列[1]。NAFLD 具有复杂性和多面性，纤维化阶段尤为明显[2]。在 NAFLD 纤维化的进展中，上皮 - 间充质转化（epithelial-mesenchymal transition，EMT）是关键过程[3]。EMT 在组织再生、伤口愈合和器官纤维化等多种病理生理过程中具有广泛影响[4]，且日益成为研究焦点[5]。深入理解 EMT 机制对于探索其在 NAFLD 纤维化中的影响至关重要。研究显示，

收稿日期：2024-02-19
作者简介：白鑫，研究方向：代谢性疾病。
通信作者：刘珉宇，研究员，研究方向：代谢性疾病、自身免疫性疾病。

异常的成纤维细胞生长因子受体信号转导与非酒精性脂肪性肝炎（non-alcoholic steatohepatitis，NASH）恶化有显著关联，且成纤维细胞生长因子受体的信号传导增强与细胞增殖和 EMT 事件相关联，通常被认为与恶性肿瘤转化有关[6]。同时，NAFLD 的筛查和诊断方法也在不断进展。寻找可广泛应用、可靠的非侵入性生物标志物是 NAFLD 研究的重点和迫切需求[1]。尽管近年来对 NAFLD 的研究取得一定进展，但对潜在的疗法方面，尤其是阻止或逆转纤维化的进展，仍需进一步探索。而 EMT 及其调节机制是改善和治疗 NAFLD 纤维化的重要靶点[4]，深入分析 EMT 在生物体内的相互作用将为与纤维化紧密相关的 NAFLD 提供新的治疗策略。

1 EMT 通路的激活

EMT 涉及细胞形态变化、迁移能力增加以及细胞间相互作用的改变。通过转化生长因子（transforming growth factor，TGF）-β、微 RNA（micro RNA，miR）和细胞外囊泡等关键分子和信号通路调节 EMT，从而促进肝纤维化进展。

在 NAFLD 中，TGF-β 刺激上皮细胞转变为纤维母细胞样间充质细胞，从而促进纤维化，这一过程是纤维化进展的核心[7]。在 EMT 过程中，通常由紧密连接且极化的上皮细胞失去其上皮特征并获得间充质特性，使其能迁移和侵袭组织[8]。这种转变是在 TGF-β 与细胞表面的受体结合时启动并激活与 Sma 和 Mad 相关的蛋白质（Sma and Mad related protein，SMAD）信号级联，特别是通过 SMAD2 和 SMAD3 蛋白转移到核中并调控促进 EMT 基因的转录[9]。在肝纤维化的发生发展过程中，TGF-β 刺激肝细胞和胆管细胞以及其他肝脏驻留细胞（如肝星状细胞）发生 EMT。产生的间充质细胞，以 α- 平滑肌肌动蛋白、波形蛋白和纤维连接蛋白等标记物的表达为特征，促进纤维化基质的形成[10]。在 TGF-β 的激活下，肝星状细胞成为高度增殖的肌成纤维细胞，分泌过量细胞外基质（extracellular matrix，ECM）成分，包括胶原蛋白。ECM 的累积会扭曲肝脏结构并损害其功能[11]。此外，TGF-β 信号通路会抑制上皮细胞分子 *E*- 钙黏蛋白表达，进一步促进 EMT 过程。*E*- 钙黏蛋白下调通常伴随 *N*- 钙黏蛋白上调，这是 EMT 的标志[12]。TGF-β 在 NAFLD 相关纤维化中的作用不仅限于 EMT，还包括激活炎症途径、诱导氧化应激和细胞凋亡。使其成为治疗 NAFLD 和 NASH 的关键靶点[13]。然而，由于 TGF-β 具有多效性及破坏免疫调节等风险，故针对 TGF-β 的治疗目的是具有挑战性的。

在 NAFLD 的背景下，EMT 的激活标志着疾病从单纯脂肪沉积向更严重的纤维化和肝损伤进展。在 NAFLD 的进展过程中，多种细胞类型，包括肝星状细胞、上皮细胞和内皮细胞，经历 EMT 或类 EMT 过程，这些细胞的功能和表型改变对促进肝组织的病理重塑至关重要。通过深入理解这一转换过程及其在 NAFLD 中的具体表现，不仅能描绘出疾病发展更详细的图景，还能识别出新的干预点和治疗目标。因此，将 EMT 通路的基础研究成果与 NAFLD 中 EMT 现象的具体案例联系起来，对于开发新的治疗方法和改善患者预后具有重要意义。

2 NAFLD 中的 EMT

通过分析肝脏中细胞动态和信号通路变化，了解 EMT 过程不仅影响肝细胞自身功能和形态，还促进炎症和纤维化 ECM 重塑，最终导致肝功能下降和结构破坏。

2.1 炎症和细胞因子

在 NAFLD 中升高的炎症细胞因子，如肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α 和白介素（interleukin，IL）-6，在促进 EMT 过程中发挥关键作用。这些细胞因子不仅促进纤维生成途径，还增强肝细胞中如 α- 平滑肌肌动蛋白和波形蛋白等 EMT 标记物的表达[14]。TNF-α 和 IL-6 通过激活特定的信号通路如核因子（nuclear factor，NF）κB 和 Janus 激酶 / 信号转导及转录激活蛋白（Janus

kinase/signal transducer and activator of transcription，JAK/STAT），调节肝脏中的纤维化和 EMT 过程。TNF-α 能激活 NF-κB 信号通路，增加炎症细胞的募集和激活，从而促进肝脏中纤维母细胞的增殖和活化[15]。此外，IL-6 通过激活 JAK/STAT 信号通路，增强肝星状细胞的活化，导致纤维化加剧[16]；同时还与肝脏中其他信号分子和细胞类型相互作用，如 TGF-β 和肝星状细胞，进一步加剧肝脏纤维化和损伤。在 NAFLD 进展过程中，TNF-α 和 IL-6 的升高不仅增强肝脏的炎症反应，还促进肝细胞的凋亡和纤维化。这些过程的相互作用构成肝脏纤维化的复杂网络，使得靶向治疗策略的开发变得更为复杂[17]。

2.2 氧化应激和细胞损伤

炎症状态的持续存在不仅促进细胞间的交流变化，还激活氧化应激路径，从而加剧细胞损伤和纤维化进展。因此，从炎症和细胞因子的角度过渡到氧化应激和细胞损伤，我们看到了一个相互连接的网络，其中生物化学反应的累积效应进一步加深 NAFLD 的严重程度。氧化应激产生的活性氧（reactive oxygen species，ROS）可损害肝细胞，从而激活 EMT 并导致纤维化的进一步发展[18]。ROS 还会进一步刺激氧化应激，不仅直接损害细胞 DNA、蛋白质和脂质，还可激活各种细胞内信号通路，通过激活促分裂原活化的蛋白激酶（mitogenactivated protein kinase，MAPK）信号通路，进一步激活转录因子，如激活蛋白 1，可调控与纤维化相关的基因表达[19]。此外，ROS 还能激活 NF-κB 信号通路，促进炎症细胞因子产生，进一步促进肝细胞的 EMT 和纤维化[20]。ROS 诱导的 NF-κB 激活也与细胞的凋亡和自噬有关，其对肝损伤和纤维化有重要影响。氧化应激不仅限于直接损伤细胞，还涉及多种细胞信号和炎症反应激活，从而在 NAFLD 的发生发展中发挥关键作用[21]。

2.3 基质硬度和细胞相互作用

在 NAFLD 中，肝脏中过量 ECM 的沉积导致细胞基质硬度增加，促进 EMT 的发生[22]。在纤维化的肝脏中激活肝星状细胞与上皮细胞相互作用，促进其向间充质表型转变。RhoA/ROCK 信号通路在调节细胞骨架和细胞黏附方面起重要作用，其通过促进肌动蛋白聚合和肌纤维形成，增强细胞对基质硬度的响应[23]。同时，Yes 相关蛋白（Yes-associated protein，YAP）/ 转录共激活因子 PDZ 结合基序（transcriptional co-activator with a PDZ-binding domain，TAZ）信号通路作为细胞外信号的转导器，将细胞外环境变化转化为细胞内信号，调控与 EMT 和纤维化相关的基因表达[24]。

此外，细胞基质硬度的增加还会影响细胞间相互作用和信号传递，这在纤维化过程中尤为重要。肝星状细胞在硬化的基质上被激活后，会通过分泌多种细胞因子和趋化因子促进上皮细胞的 EMT[25]。这种细胞间的相互作用不仅限于肝星状细胞和上皮细胞，还包括其他肝脏细胞类型，如肝细胞和巨噬细胞亦在纤维化过程中也扮演重要角色。

2.4 MiR 和表观遗传修饰

MiR 通过靶向关键的 EMT 相关基因来调节 EMT。特定的 miR，如 miR-29 可直接靶向与 ECM 合成相关的多种基因，如胶原蛋白和纤连蛋白，从而调节 ECM 的合成和肝脏纤维化[26]。MiR-21 则通过靶向人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源等抑制性信号分子，促进肝细胞的增殖和存活，间接促进纤维化过程[27]。在表观遗传层面，DNA 甲基化和组蛋白修饰影响 EMT 相关基因的表达。DNA 甲基化可沉默 EMT 促进因子的基因，如 TGF-β，而组蛋白的乙酰化和甲基化修饰则可调节基因的转录激活或抑制[28]。在纤维化肝脏中，表观遗传修饰可改变关键基因的表达模式，从而影响 EMT 的发生和纤维化的进展。通过靶向特定基因和影响基因表达的调控，分子机制共同推动肝脏纤维化的发展，以便为开发新的靶向治疗策略提供基础，同时可能有助于 NAFLD 和其相关疾病的治疗。

2.5 脂毒性和代谢因素

自由脂肪酸及其代谢产物积累引起的脂肪毒性导致各种细胞应激，包括氧化应激和内质网应激，最终导致肝脏疾病进展[29]。JNK 信号通路被认为是脂肪酸诱导细胞应激的主要途径之一，能促进炎症细胞因子的产生和细胞凋亡[30]。通路的激活导致肝细胞损伤和功能失调，进而促进纤维化和 EMT 的发展。脂肪酸的积累导致内质网应激激活，进而可能通过未折叠蛋白反应（unfolded protein response，UPR）路径诱导细胞凋亡和 EMT。UPR 路径的激活导致细胞内钙离子的释放，进而影响细胞内信号传导，导致细胞代谢和凋亡，进一步加剧肝脏疾病的进展[31]。

2.6 细胞外囊泡和细胞间通讯

细胞外囊泡包括外泌体，携带着促进 NAFLD 中 EMT 的信号，进而改变信号接收靶细胞状态。细胞外囊泡通过将 miR 从一种细胞转移到另一种细胞，促进细胞间的通讯，可靶向影响纤维化和 EMT 相关基因的表达[32]。例如，外泌体中的 miR-122、miR-29 等被证明能直接影响肝星状细胞的活化和肝脏中的纤维化过程[33]。通过调控肝星状细胞的表型转变，miR 可调节肝脏纤维化的进程。外泌体还携带影响细胞信号通路的蛋白质，其可直接影响靶细胞的生理功能，促进肝细胞的 EMT[34]，进一步推动 NAFLD 的纤维化过程。通过干扰细胞外囊泡的生物生成或分泌过程，阻断细胞外囊泡与靶细胞的相互作用，可减少囊泡在肝脏纤维化中的作用。同时，考虑到细胞外囊泡在免疫调节中的作用，可开发针对细胞外囊泡的免疫疗法以调节肝脏的免疫反应。外泌体作为一种有前景的药物传递系统，可携带特定的 RNA 分子或小分子药物，直接靶向肝脏细胞，减少全身性不良反应。

3 讨论

在本文中，笔者详细探讨 NAFLD 中 EMT 的作用，尤其是在疾病进展到肝纤维化阶段中的关键性角色，揭示 EMT 过程不仅与细胞形态和功能的改变相关，还直接影响疾病的进展，尤其是在肝脏纤维化的发展中。对于 NAFLD 的研究，深入探索 EMT 的作用机制可揭示肝纤维化的分子机制，对于理解 NAFLD 的进程和开发针对性治疗方法至关重要。纤维化是 NAFLD 向严重病变进展的一个关键阶段，其对患者健康构成严重威胁，还会引发肝功能衰竭和肝癌（liver cancer）的风险[35]。EMT 涉及细胞因子、miR 以及细胞外囊泡等多种因素的相互作用，有助于研究者发展新的治疗策略。

针对 TGF-β 信号通路，可通过使用特定的抑制剂来延缓肝纤维化。TGF-β 抑制剂可阻断其对肝细胞和肝星状细胞的刺激作用，从而减少 EMT 的发生和肝脏纤维化的形成。类似地，靶向 miR 也展现出治疗潜力，miR-29 的上调被发现可抑制肝脏中胶原蛋白的合成，从而减少纤维化。

此外，靶向 EMT 过程中的细胞外囊泡也是一个有前景的治疗策略。其展现了对抗 NAFLD 及纤维化进展的巨大潜力。通过靶向和调控细胞外囊泡，干预 EMT 过程及其对 NAFLD 进展的影响。研究表明，特定的囊泡载体分子和信号可作为干预靶点，通过调节囊泡的生成、释放以及摄取，有可能影响 EMT 过程和纤维化的发展。此外，利用工程化的细胞外囊泡作为药物递送系统，将具有靶向作用的治疗分子直接递送到病变肝细胞或肝星状细胞，提供高度特异性和效率的治疗方法。该策略利用细胞外囊泡的天然特性，如低免疫原性、良好的生物相容性和能穿越生物障碍的能力。尽管靶向 EMT 过程中的细胞外囊泡在理论上具有巨大的治疗潜力，但目前仍面临许多挑战，包括囊泡的分离和纯化技术、特异性靶向和疗效的评估。未来的研究还需进一步探索和优化基于细胞外囊泡的治疗策略，为 NAFLD 及其并发症的治疗开辟新的途径。

4 结语

EMT 的相关研究亦为发现 NAFLD 的新生物

标志物奠定了基础，EMT 在 NAFLD 的进展中是不可或缺的一环，其涉及多种细胞类型的变化，可能会在血液或肝组织中留下可检测的分子痕迹。通过识别能开发出新的诊断工具，这将能更早地发现 NAFLD，并能监测其进展和同时对应治疗。还可能揭示新的治疗靶点，为开发更有效的 NAFLD 治疗方法提供线索。综上，研究 EMT 过程在 NAFLD 中的作用机制，不仅能更好地理解疾病机制，还可能对 NAFLD 的早期诊断、风险评估及未来治疗策略的发展产生重要影响。

参考文献：

[1] Sanna C, Rosso C, Marietti M, *et al*. Non-alcoholic fatty liver disease and extra-hepatic cancers[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(5): 717.

[2] Musso G, Gambino R, Cassader M, *et al*. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity[J]. Ann Med, 2011, 43(8): 617-649.

[3] Marconi GD, Fonticoli L, Rajan TS, *et al*. Epithelial-mesenchymal transition (EMT): the type-2 EMT in wound healing, tissue regeneration and organ fibrosis[J]. Cells, 2021, 10(7): 1587.

[4] Das V, Bhattacharya S, Chikkaputtaiah C, *et al*. The basics of epithelial-mesenchymal transition (EMT): a study from a structure, dynamics, and functional perspective[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(9): 14535-14555.

[5] Rout-Pitt N, Farrow N, Parsons D, *et al*. Epithelial mesenchymal transition (EMT): a universal process in lung diseases with implications for cystic fibrosis pathophysiology[J]. Respir Res, 2018, 19(1): 136.

[6] Yu Y, Shi X, Zheng Q, *et al*. Aberrant FGFR4 signaling worsens nonalcoholic steatohepatitis in FGF21KO mice[J]. Int J Bio Sci, 2021, 17(10): 2576-2589.

[7] Budi EH, Schaub JR, Decaris M, *et al*. TGF-β as a driver of fibrosis: physiological roles and therapeutic opportunities[J]. J Pathol, 2021, 254(4): 358-373.

[8] Liu Y, Liu H, Meyer C, *et al*. Transforming growth factor-β (TGF-β)-mediated connective tissue growth factor (CTGF) expression in hepatic stellate cells requires Stat3 signaling activation[J]. J Biol Chem, 2013, 288(42): 30708-30719.

[9] Sohal SS, Walters EH. Role of epithelial mesenchymal transition (EMT) in chronic obstructive pulmonary disease (COPD)[J]. Respir Res, 2013, 14(1): 120.

[10] Dewidar B, Meyer C, Dooley S, *et al*. TGF-β in hepatic stellate cell activation and liver fibrogenesis — updated 2019[J]. Cells, 2019, 8(11): 1419.

[11] Zhao YL, Zhu RT, Sun YL. Epithelial-mesenchymal transition in liver fibrosis[J]. Biomed Rep, 2016, 4(3): 269-274.

[12] Shash LS, Ibrahim RA, Elgohary SA, *et al*. *E*-cadherin and *N*-cadherin immunohistochemical expression in proliferating urothelial lesions: potential novel cancer predictive EMT profiles[J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2021, 29(9): 657-666.

[13] Rombouts K, Marra F. Molecular mechanisms of hepatic fibrosis in non-alcoholic steatohepatitis[J]. Dig Dis, 2010, 28(1): 229-235.

[14] Hammerich L, Tacke F. Hepatic inflammatory responses in liver fibrosis[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2023, 20(10): 633-646.

[15] Yang YM, Seki E. TNFα in liver fibrosis[J]. Curr Pathobiol Rep, 2015, 3(4): 253-261.

[16] Liu Y, Lin J. Blocking the IL-6-STAT3 signaling pathway: potential liver cancer therapy[J]. Future Oncol, 2011, 7(2): 161-164.

[17] Bessone F, Razori MV, Roma MG, *et al*. Molecular pathways of nonalcoholic fatty liver disease development and progression[J]. Cell Mol Life Sci, 2019, 76(1): 99-128.

[18] Sharma S, Le Guillou D, Chen JY, *et al*. Cellular stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2023, 20(10): 662-678.

[19] Son Y, Kim S, Chung HT, *et al*. Reactive oxygen species in the activation of MAP kinases[J]. Methods Enzymol, 2013, 528: 27-48.

[20] Zhu Y, Ruan S, Shen H, *et al*. Oridonin regulates the polarized state of Kupffer cells to alleviate nonalcoholic fatty liver disease through ROS-NF-κB[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 101(Pt B): 108290.

[21] Oliveura CP, da Costa Gayotto LC, Tatai C, *et al*. Oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease, in rats fed with a choline-deficient diet[J]. J Cell Mol Med,

2002, 6(3): 399-406.

[22] Santos A, Lagares D. Matrix stiffness: the conductor of organ fibrosis[J]. Curr Rheumatol Rep, 2018, 20(1): 2.

[23] Yang S, Kim HM. The RhoA-ROCK-PTEN pathway as a molecular switch for anchorage dependent cell behavior[J]. Biomaterials, 2012, 33(10): 2902-2915.

[24] Dupont S. Role of YAP/TAZ in cell-matrix adhesion-mediated signalling and mechanotransduction[J]. Exp Cell Res, 2016, 343(1): 42-53.

[25] Puche JE, Saiman Y, Friedman SL. Hepatic stellate cells and liver fibrosis[J]. Compr Physiol, 2013, 3(4): 1473-1492.

[26] Roderburg C, Urban GW, Bettermann K, *et al*. Micro-RNA profiling reveals a role for miR-29 in human and murine liver fibrosis[J]. Hepatology, 2011, 53(1): 209-218.

[27] Zhang J, Jiao J, Cermelli S, *et al*. MiR-21 inhibition reduces liver fibrosis and prevents tumor development by inducing apoptosis of $CD24^+$ progenitor cells[J]. Cancer Res, 2015, 75(9): 1859-1867.

[28] Lin Y, Dong C, ZHOU BP. Epigenetic regulation of EMT: the snail story[J]. Curr Pharm Des, 2014, 20(11): 1698-1705.

[29] Wasilewska N, Lebensztejn DM. Non-alcoholic fatty liver disease and lipotoxicity[J]. Clin Exp Hepatol, 2021, 7(1): 1-6.

[30] Kodama Y, Brenner DA. c-Jun *N*-terminal kinase signaling in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease: multiple roles in multiple steps[J]. Hepatology, 2009, 49(1): 6-8.

[31] Henkel A, Green RM. The unfolded protein response in fatty liver disease[J]. Semin Liver Dis, 2013, 33(4): 321-329.

[32] Hirsova P, Ibrahim SH, Verma VK, *et al*. Extracellular vesicles in liver pathobiology: small particles with big impact[J]. Hepatology, 2016, 64(6): 2219-2233.

[33] Kostallari E, Valainathan S, Biquard L, *et al*. Role of extracellular vesicles in liver diseases and their therapeutic potential[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2021, 175: 113816.

[34] Ban LA, Shackel NA, Mclennan SV, *et al*. Extracellular vesicles: a new frontier in biomarker discovery for non-alcoholic fatty liver disease[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(3): 376.

[35] Singh S, Allen AM, Wang Z, *et al*. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver *vs* nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2015, 13(4): 643-654.

（编辑：沈佳婕）