·重大新药创制专项巡礼·

非酒精性脂肪肝病中线粒体功能紊乱及其治疗策略

雷　蕾,彭宗根
(中国医学科学院北京协和医学院医药生物技术研究所,北京 100050)

[摘要]　非酒精性脂肪肝病(NAFLD)是一种与代谢紊乱密切相关的肝脏疾病,最主要的特征之一是肝脏线粒体功能紊乱,可导致单纯的肝脂肪变性或发展为脂肪性肝炎,甚至出现肝纤维化,最终可能导致肝硬化和肝癌发生。但目前临床上尚无针对 NAFLD 病因的特效治疗药物。近年来的研究发现线粒体功能紊乱与其超微结构损伤、线粒体 DNA 缺失、活性氧过度产生、异常的脂肪酸氧化、线粒体自噬、凋亡以及信号转导等相关。本文综述了线粒体功能紊乱在 NAFLD 进展中的表现、作用及其发生机制,并基于对线粒体功能紊乱的理解进一步探讨 NAFLD 的治疗策略,为研发防治 NAFLD 的创新药物提供新思路。

[关键词]　非酒精性脂肪肝;线粒体;功能紊乱;治疗药物
[中图分类号] R966　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1003－3734(2021)24－2268－08

Mitochondrial dysfunction in non-alcoholic fatty liver disease and its therapeutic strategies

LEI Lei, PENG Zong-gen
(*Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing* 100050, *China*)

[**Abstract**]　Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a liver disease closely related to metabolic syndrome. Hepatic mitochondrial dysfunction, as one of the most important features of NAFLD, leads to simple liver steatosis or progresses to steatohepatitis, and even liver fibrosis, which may eventually induce cirrhosis and hepatocellular carcinoma. However, there is no specific drug for the treatment of NAFLD in clinic. Recent studies found that mitochondrial dysfunction is related to ultrastructural damage, mitochondrial DNA depletion, excessive production of reactive oxygen species, and abnormities of fatty acid oxidation, mitochondrial autophagy, apoptosis, signal transduction. This article reviewed the performance, role, and mechanism of mitochondrial dysfunction in the progression of NAFLD and discussed the therapeutic strategies of NAFLD based on the understanding of mitochondrial dysfunction in NAFLD, providing new ideas for the development of innovative drugs for the prevention and treatment of NAFLD.

[**Key words**]　non-alcoholic fatty liver; mitochondria; dysfunction; therapeutic drug

非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease,NAFLD),又称代谢相关的脂肪肝病,是与肥胖、胰岛素抵抗(insulin resistance,IR)、2 型糖尿病、高血压、高脂血症等代谢综合征密切相关的肝脏疾病[1]。NAFLD 的全球患病率约为 25.2%,其中中东和南美的患病率较高,分别达 31.8% 和 30.4%,非洲的患病率较低,但也接近 13.5%[2]。全球糖尿病和肥胖症的流行是导致 NAFLD 高患病率的重要原因之一,而随着糖尿病和肥胖症发病率的持续增长,未来对于 NAFLD 的负担将会大幅增加[2]。根据病理表现

[基金项目]　国家重大新药创制科技重大专项资助项目(2018ZX09711001-003-010);中国医学科学院医学与健康科技创新工程课题资助项目(2017-I2M-3-012)
[作者简介]　雷蕾,女,博士研究生,主要从事抗肝炎药物分子药理学研究。E-mail: leilei010017@163.com。
[通讯作者]　彭宗根,男,研究员,博士生导师,主要从事抗肝炎药物分子药理学研究。联系电话:(010)63166129,E-mail: pumcpzg@126.com。

或疾病进程的不同,NAFLD 可分为单纯的脂肪变性和非酒精性脂肪肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH),而作为疾病高级阶段的 NASH 可导致肝纤维化、肝硬化甚至肝癌的发生[3]。因此,控制 NAFLD 尤其是 NASH 的发生和发展具有重要的临床意义。目前不同作用机制的 NASH 治疗药物处于临床前研发或进入临床试验阶段,包括作用于代谢靶点的法尼醇 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)激动剂奥贝胆酸、炎症靶点的趋化因子 C-C-基元受体 2/5(CCR2/5)双重抑制剂 cenicriviroc 以及纤维化靶点的赖氨酰氧化酶样蛋白-2(LOXL2)拮抗剂等[4]。但迄今为止,仍没有有效的治疗药物被美国 FDA 批准用于临床,因此寻找新型有效的 NAFLD/NASH 治疗靶点及其药物仍具有重要意义。

线粒体是细胞内具有多种重要生物学功能的细胞器。“内源共生”学说认为,线粒体是由古菌融合进细胞后发生内共生演变而来的,因此线粒体保持着一定的细菌特性,例如 *N*-甲酰化蛋白、双链环状线粒体 DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)和双层线粒体内外膜等[5]。线粒体功能多样化且相互联系,主要调节氧化磷酸化、氧化应激和脂质代谢,在肝脏中也维持着脂肪氧化和活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生之间的平衡,能够产生 ATP 和许多生物合成的中间体,同时也有助于细胞应激反应,例如自噬和细胞凋亡。此外,线粒体还能够与其他细胞器如内质网建立紧密联系,从而发挥重要的生理功能。然而在 NAFLD 患者肝脏中往往发生线粒体功能紊乱。近年来的研究发现改善紊乱的线粒体功能可以有效减少肝脏脂肪变性、炎症和纤维化,并可能成为一种新型的防治 NAFLD 发生发展的有效手段。因此,本文旨在阐述线粒体功能紊乱在 NAFLD 进展中的表现、作用及发生机制,并基于对线粒体功能紊乱的理解进一步探讨 NAFLD 的治疗策略,以期为研发防治 NAFLD 的创新药物提供新思路。

1 线粒体功能紊乱发生在 NAFLD 中的表征

线粒体结构和功能的改变在促进 NAFLD 的进展中至关重要。线粒体结构上的改变包括形态学改变、超微结构损伤和 mtDNA 缺失。结构改变进一步导致功能改变,首先表现在呼吸链(mitochondrial respiratory chain, MRC)复合物的活性和线粒体 β 氧化功能改变等。但目前对于线粒体结构改变是 NAFLD 的病因,还是一种代偿性的反应仍有争议。

1.1 NAFLD 中线粒体结构改变

1.1.1 线粒体形态学改变和超微结构损伤 维持线粒体正常形态不仅对线粒体功能至关重要,而且与能量代谢、氧化磷酸化也有着重要联系。NAFLD 早期阶段,由于肝脏中 IR 和游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)积累,使线粒体处于一种灵活调节的状态中,导致线粒体活性增加和生物合成的增多。但是发展到 NASH 阶段时,这种调节作用消失[6]。在患有脂肪 β 氧化缺陷和脂肪样变的小鼠模型和 NASH 患者中可观察到线粒体基质中结晶内含物的形成(代表线粒体中电子传输链的损伤或氧化损伤)、线粒体膜通透性改变、内膜丢失(嵴丢失)、典型致密线粒体颗粒丢失以及线粒体肿胀和损伤(见图 1)。

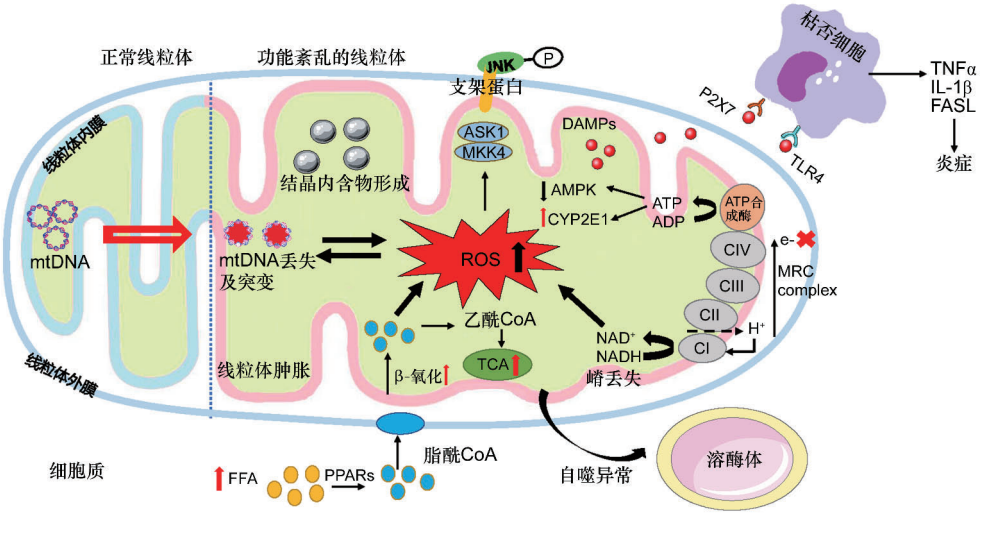


图 1 NAFLD 中线粒体功能紊乱的表现及相关机制

NAFLD 中线粒体功能形态学改变包括肿胀、嵴丢失、膜通透性增加、mtDNA 突变和基质中结晶内含物的形成。这些变化可能的作用机制主要有 3 个方面:① ROS 的过度产生。mtDNA 突变导致线粒体呼吸链功能紊乱,进而导致线粒体 ROS 的产生增加,过量的 ROS 导致 mtDNA 碱基氧化,促进细胞凋亡,以进一步阻止电子流向呼吸链,使更多的 mtDNA 突变积累。② 细胞中 FFAs 过多负荷导致线粒体适应能力的改变,导致脂肪酸氧化作用增强和电子传递链的上调,进一步引起 ROS 过度生成,从而超出正常的抗氧化机制,导致氧化应激。③ 线粒体自噬的紊乱或线粒体自噬的缺陷。

1.1.2 mtDNA 缺失和损伤 mtDNA 类似于一种细菌 DNA,约占整个细胞 DNA 的 1%,但其基因产物对正常的细胞功能是必需的。mtDNA 基因组序列共含 16 569 个碱基对,其中包括 435 个 CpG 位点和 4 727 个非 CpG 位点,2 个位点的甲基化频率不同。mtDNA 编码 22 个 tRNA、2 个线粒体内翻译所需的 rRNA(12S 和 16S)、ATP 合酶和 13 个 MRC 复合物相关的多肽[5,7]。mtDNA 复制和转录由核呼吸因子(nuclear respiratory factor 1, NRF1)调节,过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1α(peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1α,PGC-1α)调节 mtDNA 编码的 MRC 复合物形成。

mtDNA 空间上靠近 ROS 产生位点,同时缺乏组蛋白或 DNA 修复系统,因此对氧化损伤较为敏感。线粒体基因组特别容易发生氧化损伤,可能导致 DNA 碱基的氧化和丢失、双链断裂和 mtDNA 缺失。NAFLD 中出现明显的 mtDNA 缺失和肝脏中氧化 DNA 标志物 8-羟基-2'-脱氧鸟苷水平升高,可进一步影响线粒体氧化磷酸化和电子转运能力。若 mtDNA 严重缺失,可使其编码的多肽合成减少、脂肪酸氧化受损。

1.2 线粒体功能紊乱促进 NAFLD 炎症和纤维化的发生

氧化应激是肝细胞损伤的主要机制,可导致 NAFLD 的肝纤维化和炎症发展[5,8]。随着疾病的恶化,线粒体功能障碍逐渐增加,诱导氧化应激、ATP 能量缺失和线粒体完整性丢失,这些均可引起肝细胞死亡。当肝细胞损伤或死亡后,会导致细胞内一系列损伤相关分子模式(damage associated molecular patterns, DAMPs)的释放,并能被先天免疫系统的模式识别受体识别,参与免疫调节。DAMPs 主要包括不同构象的核酸(单链/双链 RNA 或 DNA)、核蛋白(如高迁移率族蛋白 1)、胞质蛋白(如细胞角蛋白 18)、ATP 或线粒体化合物(如 mtDNA,*N*-甲酰肽)[9]。在受损肝细胞中,线粒体释放的 DAMPs 能进一步被枯否细胞的膜受体 Toll 样受体 4(toll-like receptor 4, TLR4)和 P2X 嘌呤受体 7(P2X purinoceptor 7, P2X7)识别,从而激活枯否细胞进一步释放肿瘤坏死因子-α、白细胞介素-1β、凋亡因子 FAS 配体(FAS ligand, FASL)等细胞因子,引起炎症反应[10]。同时枯否细胞的激活,能够促进纤维化的进程。近年来有研究发现在肝细胞程序性死亡过程中,释放到细胞质中的 mtDNA 和氧化的 mtDNA 能够进一步引起核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(nucleotide binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3)炎性小体的激活[11]。在蛋氨酸-胆碱缺乏(methionine-choline deficient, MCD)饮食的 NASH 模型中,Toll 样受体 9(toll-like receptor 9, TLR9)对肝脂肪变性和炎症的发展具有重要作用。研究证实 NASH 的小鼠和患者血浆中含有较多的 mtDNA 和完整的线粒体,能够激活 TLR9,使炎症反应增加。

2 NAFLD 线粒体功能紊乱的发生机制

2.1 ROS 过度产生

2.1.1 MRC 复合物活性改变引起 ROS 过度产生 随着线粒体内膜丢失、肿胀和损伤等动力学改变,MRC 复合物活性的降低和 ATP 合成减少[5]。在肥胖小鼠模型中,MRC 复合物活性降低和 ATP 合成减少能进一步促进 FFA 合成,三酰甘油(triglyceride, TG)、线粒体 ROS 产生和氧化应激升高。线粒体的电子传递链(或呼吸链)是 ROS 的主要来源。电子从 MRC 复合物中漏出,结合氧气形成氧自由基和 ROS。ROS 的主要成分是 H_2O_2,在低氧状态下能够影响细胞的分化和代谢性适应能力,同时激活免疫。在低氧状态下,线粒体 ROS 稳定了细胞质中的低氧诱导因子,从而触发了细胞的适应性反应[12]。ROS 过度产生是氧化应激、脂质氧化和 mtDNA 损伤的原因。

2.1.2 mtDNA 缺失或损伤引起 ROS 过度产生 在肝脂肪变性时,mtDNA 编码多肽表达减少并导致线粒体呼吸链复合物 Ⅰ,Ⅲ,Ⅳ和 ATP 合成酶的活性降低。氧化应激诱导 mtDNA 损伤是所有处于代谢应激状态下组织和细胞中普遍存在的机制。mtDNA 突变的积累可能导致线粒体呼吸链功能紊乱,进而

导致线粒体 ROS 的产生增加，过量的 ROS 导致 mtDNA 碱基氧化，促进细胞凋亡，以进一步阻止电子流向呼吸链，使更多的 mtDNA 突变积累（见图 1）。这引发了氧化损伤的恶性循环，线粒体功能紊乱会产生大量的 ROS，进一步导致线粒体以及其他细胞成分结构和功能的氧化损伤。

NASH 患者肝脏组织中存在高水平的线粒体 ROS 和 ROS 介导的 mtDNA 损伤，同时也可发现线粒体蛋白质合成受损[5]。近期有研究报道，在硫代乙酰胺诱导的肝损伤 BALB/c 小鼠模型中，mtDNA 能够直接激活肝星状细胞，促进纤维化的发生，这也提示 mtDNA 可以作为检测 NASH 患者的一个临床标志物[13]。

2.1.3 FFA 超负荷引起 ROS 过度产生　细胞中 FFA 过多负荷也会导致线粒体适应能力的改变，导致脂肪酸氧化作用增强和电子传递的上调，进一步引起 ROS 过度生成，导致氧化应激（见图 1）。ROS 的过度产生可能会破坏线粒体的蛋白质、脂质和 DNA，这个过程可能在 NASH 的起始中发挥重要作用。在 NASH 的晚期，线粒体超微结构受损影响功能，ATP 合成减少，并加剧 ROS 过度产生[14]。值得注意的是，线粒体并不是脂肪酸氧化的唯一来源，微粒体和过氧化物酶体同样也可以代谢脂肪酸，这使得 NASH 患者中产生更多的 ROS。

2.2　线粒体自噬异常

自噬是真核细胞通过溶酶体使错误折叠或聚集的蛋白质和受损的细胞器（如线粒体）进行再循环而产生氨基酸、葡萄糖和脂肪酸的一种机制。线粒体自噬是一种选择性清除受损线粒体的特异性自噬现象，属于重要的线粒体质量控制机制，能够调节细胞线粒体数量，维持正常功能。主要的信号通路分为 Parkin 依赖性和 Parkin 非依赖性信号通路。最近报道证实线粒体自噬对清除 NAFLD 患者中受损的线粒体至关重要。正常情况下，此现象被认为是在长期 NAFLD 发展中的一种保护机制。

研究表明，饮食诱导的 NAFLD 小鼠可减少甲状腺激素诱导的线粒体自噬，进一步导致氧化应激和线粒体功能紊乱，同时也提示不完全的线粒体自噬作用对 NAFLD 引起的线粒体稳态动态异常和肝损伤至关重要。在高脂饮食（high-fat diet，HFD）诱导的小鼠模型体内和体外用油酸或棕榈酸处理的细胞中，均证实了线粒体自噬缺陷的存在，这与 NAFLD 相关的一系列表型包括脂肪堆积增加、氧化应激升高和炎症反应密切相关。同时在 MCD 诱导 6 周的小鼠 NASH 模型中，明显观察到线粒体变大和线粒体自噬中间体的积累[15]。调控肝细胞线粒体自噬的多种途径可以共同维持线粒体的质量和完整性，这对于 NAFLD 的发展具有直接作用。

2.2.1 脂酰辅酶 a 溶血心磷脂酰基转移酶 1（ALCAT1）　ALCAT1 在 HFD 诱导 18 周的 NAFLD 小鼠模型中表达上调。在分离的肝细胞中，ALCAT1 负调节线粒体自噬过程，其缺失可修复线粒体自噬、改善线粒体结构和 mtDNA 保真度，同时阻止 NAFLD 的进展[16]。

2.2.2 巨噬细胞刺激 1（Mst1）　Mst1 是一种新的细胞生存调节子，敲除后可减轻 HFD 诱导的肝损伤并维持肝细胞的生存能力，这可能是由于激活了 PINK1/Parkin 信号通路介导的线粒体自噬[17]。但在 HFD 诱导 6 周的小鼠模型中，Parkin 的敲除能够明显的减轻肥胖、肝脂肪变性和 IR。这种不同现象的原因可能是 Parkin 除了参与线粒体自噬，还在脂质吸收过程中发挥重要作用。

2.2.3 B 淋巴细胞瘤-2 基因/腺病毒 E1B 相互作用蛋白 3（Bnip3）　线粒体自噬与肝脂肪变性之间关系研究最早起源于线粒体自噬受体 Bnip3。该蛋白的丢失能够引发小鼠肝脂肪变性并促进其向脂肪性肝炎的转变。此外，Bnip3 敲除鼠肝脏表现出线粒体完整性的降低和脂质合成的增加，这是由于 AMPK 活性的降低和脂质合成相关基因表达的升高。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（nicotinamide adenine dinucleotide，NAD）依赖性去乙酰酶沉默调节因子 3（sirtuin 3，SIRT3）主要在线粒体中表达，可以通过激活细胞外信号调节激酶环磷酸腺苷-反应元件结合蛋白信号通路来促进 Bnip3 介导的线粒体自噬[18]。

2.3　线粒体脂肪酸氧化异常

过氧化物酶体增殖物激活受体（peroxisome proliferator-activated receptor，PPAR）是一种配体激活的转录因子，它调节细胞内代谢过程，使肝脏代谢向脂质氧化转移[19]。PPAR 具有 3 种不同的亚型，执行不同的功能。PPARα 能够减少 TG 和 FFA 积累，具有抗炎作用。PPARδ 可以减少脂肪酸摄入并调节能量代谢。此外，PPARδ 还可以通过调节脂肪组织中的脂质代谢来提高胰岛素的敏感性。PPARγ 可改善脂肪变性、炎症和肝细胞气球样变以及肝纤维化。脂肪酸的氧化由 PPARα 调节，当葡萄糖浓度

较低时可提供能量产生 ATP,这个过程主要发生在线粒体中[20]。肝细胞中 FFA 进入线粒体依赖于线粒体外膜上的肉毒碱棕榈酰转移酶 1(carnitine palmitoyltransferase 1, CPT1),随后进行 β 氧化。PPARα 的激活可诱导一系列与脂肪酸氧化途径(fatty acid oxidation, FAO)相关的基因转录,从而降低肝脏脂质水平。

在自发性肥胖模型小鼠(ob/ob 瘦素缺陷型小鼠)中特异性敲除 PPARα 可导致肝脏脂肪变性。在肝脏脂肪变性患者中 PPARα 表达并无差异,但在 NASH 患者中 PPARα 明显下调,并随着 NAFLD 活性评分和纤维化阶段的增加而降低。PPARα 下调导致脂质过氧化物的累积,同时还能进一步增强 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-Terminal Kinase,JNK)和核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)的 DNA 结合能力,导致肝脏炎症反应加剧。超微结构损伤引起 MRC 复合物活性降低和 ATP 合成减少,导致线粒体功能受损,进一步补偿性的上调细胞色素 P450 2E1 酶(cytochrome P-450 2E1,CYP2E1)促进了 FAO 和氧化应激反应。在 NASH 患者肝脏中 CYP2E1 活性明显增加并定位于脂肪变性区域。

2.4 线粒体凋亡异常

相比单纯脂肪变性患者,NASH 患者中凋亡的肝细胞明显增加、出现 Mallory-Denk 小体、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 2/3/7(caspase 2/3/7)以及 FAS 受体表达的激活,这与疾病的进程密切相关。线粒体功能障碍导致细胞质中释放出几种促凋亡蛋白,例如细胞色素 c,然后与凋亡蛋白激活因子-1(apoptotic-protein activation factor-1, Apaf-1)形成激活复合物 caspase 9,此复合物称为凋亡复合。该复合物激活下游效应子 caspase 3,6 和 7,发生凋亡。NASH 气球样变的肝细胞中,Caspase 9 复合体表达降低。

2.5 信号转导通路异常

2.5.1 AMPK 激酶信号通路 丝氨酸/苏氨酸激酶 AMP 激活的蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)复合体能够敏感地感知细胞中低水平 ATP。AMPK 作为一种能量的控制开关,在 ATP 含量较低的情况下,AMPK 能够生成磷酸化特定的酶和生长控制节点因子,增加 ATP 的产生并减少 ATP 的消耗。AMPK 主要功能是调节线粒体稳态,例如脂质、葡萄糖代谢和线粒体自噬等,在代谢性疾病中发挥重要功能[21]。

在 NAFLD 中,肝脏中 ATP 含量降低的同时,AMPK 的活性也降低(见图 1)。在肝脏中 AMPK 激活突变的小鼠,在高果糖饮食喂食后,发现脂肪生成率较低,对 NAFLD 和 IR 的保护作用也较低。在许多炎症、肥胖和糖尿病等疾病中,AMPK 活性均降低[22]。脂多糖和肿瘤坏死因子 α 等重要炎症因子参与调节 AMPK 的活性。通过抑制肝脏中脂质的从头合成、增加肝脏中脂肪酸的氧化或提高脂肪组织线粒体功能或完整性激活 AMPK 能够减弱 NAFLD 的进程。

2.5.2 JNK-MAPK 激酶信号通路 在正常肝脏中 JNK 微弱或短暂激活。在 NAFLD 中,大量激活的磷酸化 JNK 转移至线粒体并与线粒体内膜和线粒体外膜支架蛋白结合来抑制 MRC 复合物,增加 ROS 的产生。ROS 进一步激活凋亡信号调节激酶 1(apoptosis signal-regulating kinase 1,ASK1)和丝裂原活化蛋白激酶激酶 4(mitogen-activated protein kinase kinase 4,MKK4),维持 JNK 的激活(见图 1)。抑制磷酸化的 JNK 与线粒体的相互作用,减少线粒体 ROS 的产生能够减轻小鼠肝损伤。

NAFLD 中,ROS 过度产生导致 JNK 持续激活并向线粒体易位,进一步诱导肝损伤。HFD 小鼠模型中干扰 JNK 的易位能阻止其持续活化,抑制 IR 和阻止脂肪肝炎的发生。肝 JNK 可以通过降低 PPARα 靶基因的表达、增加生酮作用和成纤维细胞生长因子 21 的表达、促进 IR 的发展来进一步减少脂肪酸 β-氧化[5]。

2.5.3 胞外信号调节激酶 线粒体 ROS 介导的细胞外信号调节激酶活性,通过线粒体自噬和合成来控制线粒体质量,并调节线粒体代谢途径和糖异生。信号调节激酶通过影响 GCN5 样蛋白 1 来调节叉头转录因子 1(forkhead box transcription factor O1, FOXO1)转录后水平。FOXO1 能够调节肝的糖异生,线粒体蛋白质乙酰化和长时间禁食后的线粒体含量[5]。

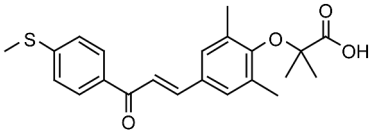
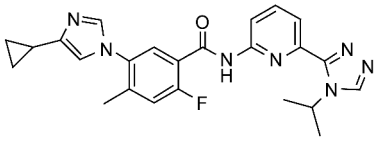
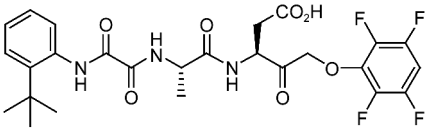
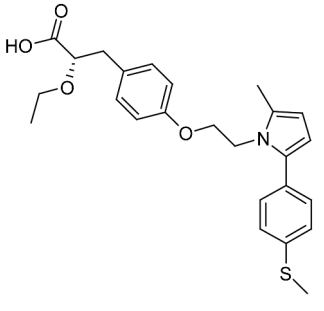
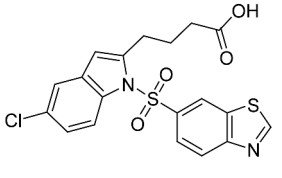
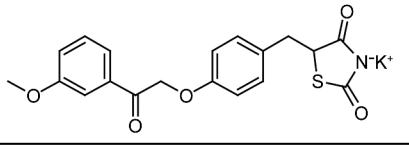
2.5.4 肝三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA) 在人和小鼠的 NAFLD 模型中,TCA 活性增加[23],并通过谷氨酸增加了 α-酮戊二酸的循环通量和补给。HFD 小鼠肝脏中 TCA 循环通量的增加与肝脂肪变性相关。

3 治疗策略

靶向线粒体可以稳定其功能,不仅有助于调节氧化应激、脂肪酸氧化、线粒体自噬等,还可以改善炎症并阻止纤维化的进程。临床数据也表明,靶向

线粒体具有一定的疗效,具有良好的 NAFLD 治疗前景(见表 1)。目前直接靶向线粒体的治疗药物较少,但许多药物可通过间接改善线粒体紊乱来治疗 NAFLD。

表 1 目前在Ⅱ期或Ⅲ期临床试验中与线粒体相关的 NAFLD/NASH 治疗药物

药物	分类	作用机制	分子结构	患者	完成时间	临床试验编号
elafibranor	PPARα/δ 激动剂	线粒体脂肪酸氧化增加,增强氧化磷酸化,减弱枯否细胞激活		纤维化 1 ~ 3 级的 NASH	2021 年 12 月	NCT02704403
selonsertib	ASK1 抑制剂	抑制异常的线粒体凋亡		纤维化≥1 级的 NASH	2023 年 2 月	NCT03053050
emricasan	Caspase 抑制剂	抑制异常的线粒体凋亡,从而减轻炎症和纤维化		肝静脉压力梯度≥12 mmHg 的肝硬化患者	2019 年 4 月	NCT02960204
saroglitazar	PPARα/γ 激动剂	线粒体脂肪酸氧化增加,增强氧化磷酸化(OXPHOS),改善脂肪组织的胰岛素敏感性,减少脂肪酸从脂肪组织到肝脏的流量		第 16 周血清谷丙转氨酶(ALT)水平变化	2019 年 6 月	NCT03061721
IVA337	泛 PPAR 激动剂	线粒体脂肪酸氧化增加,增强 OXPHOS,降低肝脏枯否细胞的激活,增强脂肪组织的胰岛素敏感性,减少脂肪酸从脂肪组织到肝脏的流量		纤维化评分≥2 的 NASH	2020 年 1 月	NCT03008070
MSDC-0602K	PPARγ 靶向线粒体调节剂	线粒体脂肪酸氧化增加,增强 OXPHOS		纤维化 1 ~ 3 级的 NASH	2019 年 6 月	NCT02784444

3.1 靶向线粒体治疗策略

3.1.1 噻唑烷二酮类药物 噻唑烷二酮类药物吡格列酮是胰岛素增敏剂,属于 PPARγ 激动剂,通过提高脂肪组织胰岛素的敏感性,进而减少血浆中 FFA 的含量。在一项体外研究中发现,噻唑烷二酮类药物在肝脏和骨骼肌的组织匀浆中,能够抑制线粒体呼吸链复合物 I 的活性及 ROS 的产生。同时,在临床试验中,噻唑烷二酮类药物已经被证实可抑制人类心肌细胞中线粒体丙酮酸转运载体,这表明噻唑烷二酮类药物可直接靶向线粒体丙酮酸复合物Ⅰ/Ⅱ。但一些不良反应的出现,比如体重增加、液体潴留、骨质减少和骨折风险增加(尤其是在老年妇女中)限制了该药物的临床使用[24]。总之,吡格列酮在脂肪组织和骨骼肌中能够影响线粒体的生物合成,表明该药物可能对肝脏线粒体有作用,从而作为一个潜在的治疗策略。

3.1.2 米托醌/米托维生素 E 米托醌和米托维生素 E 都含有共价连接的亲脂性三苯基膦阳离子部分,能够在线粒体内运输和浓缩抗氧化分子,属于靶向线粒体的抗氧化剂。研究表明米托醌可有效减少高脂饮食喂养 8 周的大鼠中的心磷脂含量,进而保护线粒体功能,改善代谢综合征[25]。米托醌发挥保护作用可能是通过抑制细胞色素 c 的释放和 caspase 3 的激活而介导的。但目前针对该药物的临床试验研究较少。

3.1.3 辅酶 Q10(coenzyme Q10,CoQ10) 已经证实 NAFLD 患者表现出线粒体功能障碍,同时伴有抗氧化剂浓度降低。CoQ10 在线粒体中发挥重要作用,并且作为有效的内源性合成抗氧化剂,推测 CoQ10 可能会延缓 NAFLD 进展。

最近的 CoQ10 和 NAFLD 研究主要集中在 2 个方面:CoQ10 代谢与 NAFLD 病理进程之间的关系以及膳食补充 CoQ10 对 NAFLD 发展的影响[26]。CoQ10 可以作为 AMPK 激活剂,调节肝脂质代谢(抑制脂肪生成和激活脂肪酸氧化),从而抑制肝脂质的异常蓄积并阻止 NAFLD 进程[27]。CoQ10 还可以通过 NF-κB 依赖的基因表达来调节炎症反应,因为 CoQ10 的缺乏可能导致促炎因子的增加。临床数据表明,在 41 例 NAFLD 患者饮食中连续补充 CoQ10(100 mg·d^{-1})12 周,能够降低肝脏相关酶的水平,例如谷草转氨酶(aspartate aminotransferase,AST)和 γ-谷氨酰转肽酶,并增加脂联素水平。在另一项临床试验的 44 例 NAFLD 患者中,连续 4 周补充 CoQ10(100 mg·d^{-1}),能够明显降低患者体重、血清 AST。但还需更多的临床数据证实这一结论。

3.2 间接改善线粒体功能

3.2.1 Elafibrinor Elafibrinor 是 PPARα/δ 激动剂,能增加线粒体脂肪酸氧化和氧化磷酸化,降低肝脏中枯否细胞的激活,目前该药物正在进行Ⅲ期临床试验(NCT02704403)[4]。PPARα/γ 激动剂 saroglitazar 能改善脂肪组织的胰岛素敏感性,减少脂肪酸从脂肪组织到肝脏的流量,目前已完成Ⅱ期临床试验(NCT03061721)。近期,saroglitazar 被印度药品管理总局(DCGI)批准用于治疗非肝硬化性 NASH,成为全球 NASH 领域第一个治疗药物。

3.2.2 二甲双胍 二甲双胍在临床上用于治疗 2 型糖尿病,可减少肝脏葡萄糖产生并提高肝胰岛素敏感性。二甲双胍作用机制并不是很清楚,一方面可能是通过抑制 MRC 复合物Ⅰ的活性从而降低 ATP 水平,进一步激活 AMPK 通路。另一方面,可能通过延迟胃肠道葡萄糖的吸收,抑制胰高血糖素信号和糖异生相关酶以及胰高血糖素样肽 1(glucagon-like peptide,GLP-1)的分泌等[28]。

一项大鼠实验表明,二甲双胍抑制线粒体甘油磷酸脱氢酶,这种抑制作用导致甘油和乳酸对肝糖异生作用减弱。与此实验结果相一致的是,二甲双胍降低了 HFD 小鼠的 TCA 循环通量和耗氧量,这导致肝细胞内炎症生物标志物的减少,这表明二甲双胍对 NASH 具有潜在的治疗作用。

3.2.3 GLP-1 激动剂 GLP-1 是胰高血糖素蛋白水解过程中产生的一种肠道激素,刺激胰岛素分泌,抑制胰高血糖素分泌。GLP-1 激动剂利拉鲁肽能够较好地控制血糖、提高胰岛素的敏感性,同时明显减轻体重[28]。同时,另一个 GLP-1 激动剂索马鲁肽正在临床试验研究中(NCT02970942)。临床试验证明利拉鲁肽能够显著降低空腹和高胰岛素状态下血浆 FFAs。这表明该药物减少了到达肝脏的 FFAs,从而减轻肝脏线粒体的负担,进而减缓 NASH 患者的纤维化进展。

3.2.4 植物来源的抗氧化剂 植物来源的抗氧化剂白藜芦醇、姜黄素、香豆素、水飞蓟宾、花青素和异硫氰酸烯丙酯等都可以通过增强线粒体功能来治疗 NAFLD。白藜芦醇是一种从红葡萄和浆果中提取的多酚,具有保护线粒体的作用。但它仅能通过蛋白激酶 B(protein kinase B,又称 AKT)和 NF-κB 途径抑制肝纤维化,并不影响肝脏脂肪积累[29]。但是这些植物来源的抗氧化剂应用的最大限制是不易通过线粒体内膜而发挥作用。此外,植物黄酮醇药物槲皮素可通过增强 PINK1/Parkin 依赖的线粒体自噬进而缓解 HFD 诱导的肝损伤[30]。

3.2.5 其他潜在治疗药物 动物研究表明,在肝脏中敲除磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(调节 TCA 循环的关键酶),能够预防 HFD 诱发的肝炎。此外,使用肝脏特异性线粒体解偶联剂进行治疗,可明显改善肝脏中的重要代谢参数(空腹血浆葡萄糖和胰岛素水平、肝葡萄糖生成)和肝脏组织学表型(出现较少脂肪变性、炎症和纤维化)[28]。

4 结语

线粒体的功能紊乱发生于 NAFLD 早期阶段,是 NAFLD 的主要特征之一,可促进炎症和纤维化的发生和发展。线粒体功能紊乱的发生与其超微结构的损伤、mtDNA 缺失、ROS 的过度产生、线粒体自噬异

常、脂肪酸的氧化异常、线粒体凋亡及相关信号转导通路的改变密切相关，而基于对线粒体紊乱发生机制的理解有助于开发新的 NAFLD 治疗策略[31]。通过改善氧化应激、线粒体自噬缺陷、线粒体脂肪酸氧化、线粒体凋亡以及个体化线粒体治疗直接靶向线粒体，或通过降糖、减少肝脏内 FFA 负荷等其他手段间接改善线粒体紊乱对 NAFLD 的治疗具有潜在的应用前景。

[参 考 文 献]

[1] YOUNOSSI ZM. Non-alcoholic fatty liver disease-A global public health perspective[J]. *J Hepatol*, 2019, 70(3): 531 – 544.

[2] YOUNOSSI ZM, MARCHESINI G, PINTO-CORTEZ H, *et al*. Epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: implications for liver transplantation[J]. *Transplantation*, 2019, 103(1): 22 – 27.

[3] BYRNE CD, TARGHER G. What's new in NAFLD pathogenesis, biomarkers and treatment? [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(2): 70 – 71.

[4] KONERMAN MA, JONES JC, HARRISON SA. Pharmacotherapy for NASH: Current and emerging[J]. *J Hepatol*, 2018, 68(2): 362 – 375.

[5] MANSOURI A, GATTOLLIAT CH, ASSELAH T. Mitochondrial dysfunction and signaling in chronic liver diseases[J]. *Gastroenterology*, 2018, 155(3): 629 – 647.

[6] LONGO M, MERONI M, PAOLINI E, *et al*. Mitochondrial dynamics and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): new perspectives for a fairy-tale ending? [J]. *Metabolism*, 2021, 117: 154708.

[7] PLOUMI C, DASKALAKI I, TAVERNARAKIS N. Mitochondrial biogenesis and clearance: a balancing act[J]. *Febs J*, 2017, 284(2): 183 – 195.

[8] BESSONE F, RAZORI MV, ROMA MG. Molecular pathways of nonalcoholic fatty liver disease development and progression[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(1): 99 – 128.

[9] MIHM S. Danger-associated molecular patterns (DAMPs): molecular triggers for sterile inflammation in the liver[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(10): 3104.

[10] KRENKEL O, TACKE F. Liver macrophages in tissue homeostasis and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(5): 306 – 321.

[11] SCHUSTER S, CABRERA D, ARRESE M, *et al*. Triggering and resolution of inflammation in NASH[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15(6): 349 – 364.

[12] AJITH TA. Role of mitochondria and mitochondria-targeted agents in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2018, 45(5): 413 – 421.

[13] AN P, WEI LL, ZHAO S, *et al*. Hepatocyte mitochondria-derived danger signals directly activate hepatic stellate cells and drive progression of liver fibrosis[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2362.

[14] ARAB JP, ARRESE M, TRAUNER M. Recent insights into the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Annu Rev Pathol*, 2018, 13: 321 – 350.

[15] YAMADA T, MURATA D, ADACHI Y, *et al*. Mitochondrial stasis reveals p62-mediated ubiquitination in parkin-independent mitophagy and mitigates nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Cell Metab*, 2018, 28(4): 588 – 604.

[16] WANG L, LIU X, NIE J, *et al*. ALCAT1 controls mitochondrial etiology of fatty liver diseases, linking defective mitophagy to steatosis[J]. *Hepatology*, 2015, 61(2): 486 – 496.

[17] ZHOU T, CHANG L, LUO Y, *et al*. Mst1 inhibition attenuates non-alcoholic fatty liver disease via reversing Parkin-related mitophagy[J]. *Redox Biol*, 2019, 21: 101120.

[18] LI R, XIN T, LI D, *et al*. Therapeutic effect of Sirtuin 3 on ameliorating nonalcoholic fatty liver disease: The role of the ERK-CREB pathway and Bnip3-mediated mitophagy[J]. *Redox Biol*, 2018, 18: 229 – 243.

[19] ROTMAN Y, SANYAL AJ. Current and upcoming pharmacotherapy for non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Gut*, 2017, 66(1): 180 – 190.

[20] IPSEN DH, LYKKESFELDT J, TVEDEN-NYBORG P. Molecular mechanisms of hepatic lipid accumulation in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(18): 3313 – 3327.

[21] HERZIG S, SHAW RJ. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(2): 121 – 135.

[22] DAY EA, FORD RJ, STEINBERG GR. AMPK as a therapeutic target for treating metabolic diseases[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2017, 28(8): 545 – 560.

[23] NAGAO H, NISHIZAWA H, BAMBA T, *et al*. Increased dynamics of tricarboxylic acid cycle and glutamate synthesis in obese adipose tissue: *in vivo* metabolic turnover analysis[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(11): 4469 – 4483.

[24] FRIEDMAN SL, NEUSCHWANDER-TETRI BA, RINELLA M, *et al*. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies[J]. *Nat Med*, 2018, 24(7): 908 – 922.

[25] FOURET G, TOLIKA E, LECOMTE J, *et al*. The mitochondrial-targeted antioxidant, MitoQ, increases liver mitochondrial cardiolipin content in obesogenic diet-fed rats[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1847(10): 1025 – 1035.

[26] GUTIERREZ-MARISCAL FM, ARENAS-DE LARRIVA AP, LIMIA-PEREZ L, *et al*. Coenzyme Q10 supplementation for the reduction of oxidative stress: clinical implications in the treatment of chronic diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21): 7870.

[27] CHEN K, CHEN X, XUE H, *et al*. Coenzyme Q10 attenuates high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease through activation of the AMPK pathway[J]. *Food Funct*, 2019, 10(2): 814 – 823.

[28] SUNNY NE, BRIL F, CUSI K. Mitochondrial adaptation in nonalcoholic fatty liver disease: novel mechanisms and treatment strategies[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2017, 28(4): 250 – 260.

[29] FERRAMOSCA A, DI GIACOMO M, ZARA V. Antioxidant dietary approach in treatment of fatty liver: New insights and updates[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(23): 4146 – 4157.

[30] YI YS. Regulatory roles of flavonoids on inflammasome activation during inflammatory responses[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2018, 62(13): e1800147.

[31] 谢鹏超，邱利焱. 纳米载体在非酒精性脂肪肝药物治疗中的研究进展[J]. 中国现代应用药学，2021，38(13)：1610 – 1617.

编辑：蒋欣欣/接受日期：2021 – 10 – 08