

多不饱和脂肪酸与肝脏脂质代谢的调控

于红燕, 李 燕*

(中国医学科学院/中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050)

摘要: 多不饱和脂肪酸(PUFA)通过调控转录因子的活性及含量调节多种基因的转录。PUFA能够激活过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α),上调参与肝脏脂肪酸氧化的基因转录,抑制固醇调节元件结合蛋白-1c(SREBP-1c),下调参与肝脏脂肪合成的基因表达。PPAR α 与SREBP-1c在非酒精性脂肪肝(NAFLD)的发病过程中发挥重要作用。本文就PUFA对PPAR α 、SREBP-1c及其他参与脂质代谢的核转录因子如肝脏X受体、肝脏核因子-4等的调控加以综述,为NAFLD的治疗提供新思路。

关键词: 脂肪酸类,多不饱和;脂肪肝,非酒精性;过氧化物酶体增殖物激活受体 α ;固醇调节元件结合蛋白-1c

中图分类号: R575.5 文献标识码: A 文章编号: 1674-0440(2008)02-0120-04

Polyunsaturated fatty acid and regulation of lipid metabolism

YU Hong-yan, LI Yan

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Dietary polyunsaturated fatty acid (PUFA) regulates gene expression by controlling the activity or abundance of transcription factors. PUFA upregulates the expression of genes dedicated to hepatic fatty acid oxidation by activating peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α), inhibits hepatic fatty acid synthesis by suppressing sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c). Both PPAR α and SREBP-1c play important roles in the pathogenic process of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). In this review, we focus on PUFA regulating transcription factors involving PPAR α , SREBP-1c as well as others such as liver X receptor, hepatic nuclear factor-4 etc, provide new targets for treatment of NAFLD.

Key words: fatty acids, polyunsaturated; fatty liver disease, nonalcoholic; peroxisome proliferator-activated receptor α ; sterol regulatory element-binding protein-1c

非酒精性脂肪肝(NAFLD)是无过量饮酒史(男性 <140 g乙醇/周,女性 <70 g乙醇/周)、肝组织学病变与酒精性肝病相似的临床综合征,包括单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎和脂肪性肝硬化。目前,NAFLD的发病率不断攀高且起病渐趋低龄化,已成为多数国家慢性肝病的主要病因。更为严

峻的是,NAFLD能够并发肝硬化及肝细胞性肝癌,而且与2型糖尿病及心脑血管疾病等密切相关,对人类健康和社会发展构成严重威胁。

NAFLD发病机制目前尚未完全明了,最常见的学说是1998年Day和James提出的“双击假说”(“Two-Hit” Hypothesis),该学说认为胰岛素抵抗(IR)触发的脂质代谢紊乱是NAFLD重要发病机制,固醇调节元件结合蛋白-1c(SREBP-1c)、过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)等核受体转录因子参与脂质代谢的调控过程,在NAFLD的发病机制中发挥重要作用^[1]。

收稿日期:2007-08-27

作者简介:于红燕,女,在读硕士研究生,研究方向:非酒精性脂肪肝,Tel:010-63165185,E-mail:qdyuhongyan@163.com

*通讯作者:李 燕,女,研究员,博士生导师,研究方向:抗肝炎药研发,Tel:010-63165172,E-mail:yanli@imm.ac.cn

多不饱和脂肪酸(PUFA)是指碳原子数超过16且含2个以上不饱和双键的脂肪酸,按其双键的位置又可分为n-3及n-6两族。哺乳动物自身无法合成这两大类脂肪酸,必须从食物中摄取,称其为必须脂肪酸。PUFA特别是n-3系列PUFA能够通过多种机制调节参与脂质代谢的转录因子(如SREBP-1c, PPAR α 等)的表达,在NAFLD的发病机制中发挥重要的负调控作用^[2,3]。

1 PPAR α 与PUFA

PPAR属于核受体(NR)超家族成员,为配体激活转录因子,早于20世纪90年代就被发现,迄今为止至少发现3种亚型,即PPAR α (NR1C1)、PPAR β/δ (NR1C2)、PPAR γ (NR1C3)。各亚型组织分布不同,其中,PPAR α 主要分布于富含线粒体的组织(脂肪酸 β 氧化的主要场所)如肝脏、肾脏当中,PPAR β/δ 几乎在所有组织中均有低水平表达,PPAR γ 则主要表达于脂肪组织。到目前为止,对PPAR α 的认识最为清楚。

PPAR α 所调控的靶基因上游启动子区(有时为靶基因的内含子区)通常含有被一个核苷酸间隔的AGGTCA重复的核心序列,称为过氧化酶体增殖物调控元件(PPRE)。PPAR α 与配体结合后,与另一核受体视黄醛X受体(RXR)形成二聚体,然后与靶基因启动子区的PPRE结合,启动下游靶基因的转录,从而参与调控脂质代谢过程。启动子区存在PPRE的基因通常意味着该PPRE能够介导PPAR α 对基因的转录激活作用,表明该基因为PPAR α 的靶基因。PPAR α 可调控参与脂质代谢多种基因的表达,包括脂肪酸的摄取(脂肪酸转运蛋白)、转运(脂肪酸结合蛋白)、氧化(过氧化酶体酰基CoA氧化酶、肉碱酯酰转移酶等),以及酮体生成(3-羟-3-甲基戊二酰CoA合成酶),脂肪酸去饱和(Δ 5、 Δ 6、 Δ 9去饱和酶)及脂蛋白代谢(载脂蛋白AI、CIII)等^[4]。

正常非脂肪组织脂肪含量的稳定依赖于PPAR α 对脂肪酸分解的调节。PPAR α 基因敲除小鼠出现明显的脂质代谢紊乱,表现为线粒体、过氧化酶体以及微粒体脂肪酸氧化酶的表达异常,不能利用脂肪酸作为能量来源,肝组织出现明显的脂肪堆积,形成NAFLD^[5]。目前,普遍的观点认为,PPAR α 活化对NAFLD的控制是有益的。Seo等^[6]发现,给予肥胖大鼠PPAR α 激动剂能够明显减少肥胖大鼠肝脏脂质堆积,这一作用与PPAR α 激动剂能够诱导

脂肪酸代谢相关酶(脂肪酸转运蛋白、脂肪酸结合蛋白、棕榈酰肉碱转移酶II、酰基辅酶A脱氢酶、酰基辅酶A氧化酶)的基因表达有关。

由于PPAR α 在脂质代谢中的重要作用,很多研究者致力于研究与PPAR α 结合并调控其转录活性的配体,用以指导PPAR α 配体在临床上的应用。PPAR α 的内外源性配体被称为过氧化酶体增殖物,种类繁多,结构各异。在外源性配体中,氯贝特类(fibrates)药物已经被证实为有效的降血脂药。内源性配体主要是饥饿时释入血内的大量游离脂肪酸,体内、外实验均发现,长链酯酰CoA及长链PUFA能与PPAR α 呈高亲和力结合,并改变PPAR α 的构象^[7]。饮食中添加PUFA能够通过激活PPAR α 改善大鼠肝脏甘油三酯的堆积^[8]。PUFA依其类型不同对机体脂质代谢发挥不同的调控作用,饱和脂肪酸饮食只能加重脂肪肝,而不论高脂饮食还是低脂饮食中的PUFA均能改善脂肪在肝脏的堆积^[5,9]。Martin等^[5]最近研究了低脂饮食条件下不同脂肪酸组成对野生型及PPAR $\alpha^{-/-}$ 基因突变型小鼠肝脏脂肪含量、肝脏基因表达及脂肪酸组成的影响。研究发现,PPAR α 是PUFA的感受器,但不是唯一的感受器。硬酯酰CoA去饱和酶-1(SCD1,一种主要的 Δ 9去饱和酶,为细胞内单不饱和脂肪酸合成的限速酶)参与了胆固醇酯及脂肪酸的合成,该研究中PUFA饮食在两种基因型中均下调SCD1的表达,推测此为PUFA改善脂肪在肝脏堆积的机制之一。PPAR $\alpha^{-/-}$ 小鼠 Δ 5、 Δ 6去饱和酶的表达及活性均降低,烯酰CoA异构酶的表达也减少,这与该基因型小鼠PUFA前体增加、PUFA减少相一致,表明PUFA通过PPAR α 调控脂肪酸的延长及去饱和。

2 SREBP-1c与PUFA

SREBP属于螺旋-环-螺旋亮氨酸锌指转录因子家族,其合成产物为结合在内质网(ER)的无活性前体,必须经过蛋白酶解后才能从ER膜上释放出来,这一转运过程受到ER内胆固醇浓度的调节。新合成的SREBP嵌入ER膜后,与SREBP裂解活化蛋白(SCAP)紧密结合,形成SREBP/SCAP复合物。当ER内胆固醇浓度较高时,ER膜蛋白胰岛素诱导基因(*Insig*)与SCAP结合形成*Insig*/SCAP/SREBP复合物,造成SREBP在ER的滞留。当ER中胆固醇缺乏时,SCAP与*Insig*的亲和力减弱,ER膜上的SCAP/SREBP复合物得以与COP II蛋白作用移至过

渡 ER 并最终出芽转运至高尔基体。在高尔基体中, SREBP 经丝氨酸蛋白酶 S1P 及锌蛋白酶 S2P 两次蛋白酶解后从膜上释放, 成为成熟的活性形式, 最后移至核内(即 nSREBP) 与特异靶基因启动子区的 SRE 结合, 参与众多靶基因的转录活化过程。在细胞核内, nSREBP 经泛素化及磷酸化被蛋白酶体降解。上述两种途径, 即蛋白裂解和蛋白酶体降解过程均参与了对 SREBP 转录后的调控, 从而控制其在细胞核内的含量, 进而调控脂质代谢, 是 SREBP 调控基因转录的主要机制^[10]。

SREBP-1c 是 SREBP 核受体家族三个成员 (SREBP-1a, SREBP-1c, SREBP-2) 之一, PUFA 对 3 种亚型均有调控, SREBP-1c 是其调控的主要靶点。SREBP-1c 靶基因众多, 主要参与调控多种脂肪合成相关酶基因的转录激活过程, 如甘油三酯和磷脂合成(乙酰 CoA 合成酶、脂肪酸合成酶)、PUFA 生成 ($\Delta 5$ 、 $\Delta 6$ 去饱和酶) 及 NADPH 合成(苹果酸脱氢酶、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶) 等^[11]。正常非脂肪组织中脂肪含量的稳定依赖于 SREBP 对脂肪合成的调节, SREBP 高表达可导致脂肪合成相关酶基因的高表达, 造成脂肪在非脂肪组织堆积。胰岛素是 SREBP-1c 转录的调控因子, *ob/ob* 小鼠由于瘦素缺乏导致胰岛素抵抗及高胰岛素血症, 能够自发 NAFLD。高胰岛素能有效激活 SREBP-1c 的表达, 促进肝脏参与脂质合成基因的表达, 造成肝脏脂质堆积^[11]。Ascencio 等^[12] 发现, 给予大鼠大豆蛋白能明显降低大鼠 SREBP-1c mRNA 的水平, 下调脂肪酸合成关键酶脂肪酸合成酶及苹果酸脱氢酶的表达, 最终改善肝脏脂质堆积。

Sekiya 等^[13] 给予 *ob/ob* 小鼠 PUFA 饮食发现, PUFA 除了能够激活 PPAR α , 还能通过抑制 SREBP-1 成熟蛋白水平及其调控的脂质合成基因改善小鼠的脂肪肝及胰岛素抵抗状态。PUFA 能够在三个阶段分别降低 SREBP-1 蛋白前体、成熟蛋白水平及 SREBP-1 mRNA 的含量。首先, PUFA 能够迅速 (<3 h) 降低 nSREBP-1 成熟蛋白及调控脂质合成靶基因的水平, 而 SREBP 前体水平未见减少, 表明 PUFA 抑制了 SREBP 的蛋白裂解过程, 磷脂信号转导通路可能参与了这一调控过程; 随后, 大鼠再次食用富含 PUFA 的饮食 (27 h), nSREBP-1 成熟蛋白及其 mRNA 水平明显降低, 分别仅为正常饮食大鼠的 16% 和 27%, SREBP-1 mRNA 水平减少并非源于基因转录的抑制, 而是 mRNA 降解增加引起。最后

(>48 h), 由于 mRNA 的减少, SREBP-1 前体显著降低^[13]。胰岛素能够诱导 nSREBP-1 的合成, 这一过程与 Akt 及 Erk 的磷酸化有关, Botolin 等^[14] 用 n-3PUFA 处理大鼠原代肝细胞发现, n-3PUFA 能够短暂抑制胰岛素诱导的 Akt 磷酸化, 诱导 Erk 磷酸化通过 26 S 蛋白酶体降解途径, 及 Erk 依赖途径抑制大鼠原代肝细胞核内 SREBP-1 的水平。在 Martin 等的研究中发现另一有趣现象, PUFA 对 SREBP 调控的靶基因的下调作用只出现在野生型小鼠当中, 而 PPAR $\alpha^{-/-}$ 小鼠则未见改变, 具体机制尚不清楚。

3 PUFA 与其他转录因子

除调控 PPAR α 和 SREBP-1c 外, PUFA 还能调控其他 NR 家族成员如肝脏 X 受体 (LXR) α 、肝脏核因子 (HNF) -4 α 等, 这些核受体均在脂质代谢的调控中发挥重要作用。

LXR 主要负责胆固醇的移除及脂质合成基因的表达, 通过直接(与视黄醇 X 受体结合作用于脂肪合成基因的启动子) 和间接作用(增加 SREBP-1c 的表达进而促进脂肪合成基因的表达) 调控脂质合成。PUFA 能竞争性拮抗人胚肾细胞 (Hek293 细胞) 中 LXR α , 进一步抑制 SREBP-1c 的表达^[15], 此为 PUFA 抑制脂肪生成的机制之一。然而近期发现, 在大鼠肝脏、原代肝细胞、FTO-2B 肝癌细胞中, 生理浓度下的 PUFA 不能拮抗 LXR α 的活性或其调控的转录子, 而相同浓度的 PUFA 能够作用于 SREBP-1c 和 PPAR α ^[16]。因此认为, PUFA 只能抑制某些组织中的 LXR α 和 PUFA, 对脂肪酸合成、胆固醇的排出及糖代谢的影响不能完全用抑制 LXR α 来解释。

HNF-4 α 能够调控众多参与代谢的基因转录, 如脂蛋白与脂质代谢(载脂蛋白 A I, A II, B, C II, C III 和微粒体甘油三酯转移蛋白)、碳水化合物代谢(葡萄糖-6-磷酸酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶等)。脂肪酸及酯酰 CoA 可作为 HNF-4 α 的配体与不同的配体结合区相结合。HNF-4 α 具有酯酰硫酯酶活性, 能将与之结合的酯酰 CoA 水解为脂肪酸, 水解产物从 HNF-4 α 的酯酰 CoA 配体结合区转移至脂肪酸配体结合区, 当酯酰 CoA 与 HNF-4 α 的亲合力较高时, HNF-4 α 的酯酰硫酯酶的活性受到抑制^[17]。不饱和酯酰 CoA 能够抑制 HNF-4 α 所调控的基因转录, 达到调控脂质代谢的目的。脂肪酸、酯酰 CoA 及 HNF-4 α 所具有的酯酰硫酯酶活性是如何调控

HNF-4 α 及其调控网络仍需进一步研究。

最近, Capanni 等^[2] 在 42 名 NAFLD 患者服用 n-3PUFA 胶囊 1 年的临床试验中发现, 患者肝脏生物化学指标、影像学、血流动力学指标较 14 名拒绝该治疗的对照组均有明显改善, 第一次证明了 PUFA 能够用于临床改善 NAFLD 患者的脂肪肝状态。尽管已有临床试验表明, 服用 PUFA 能够改善 NAFLD 患者肝脏脂肪堆积, 应用 PUFA 治疗 NAFLD 仍需要进行大规模随机、双盲、安慰剂对照试验。饮食中应用 PUFA 治疗 NAFLD 还需考虑到药物-食物相互作用, 研究发现, 高 n-3 系列 PUFA 对 Cyp3a11 (一种主要的外源物代谢相关基因) 有诱导作用, 而 YAO 等^[18] 的研究则表明 PUFA 是 CYP3A 活性的抑制剂。上述诱导作用可能继发于酶活性的降低, 从而维持 CYP3A 在肝脏的组成及活性。

综上所述, PUFA 能通过调控多种转录因子继而调控脂质代谢相关酶的基因表达。深入研究 PUFA 调控脂质代谢的机制将为药理学家及临床医师研究 NAFLD 的治疗方案提供新的靶点。

参 考 文 献

- [1] Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis [J]. *Hepatology*, 2006, 43 (2 Suppl 1): S99 - S112.
- [2] Capanni M, Calella F, Biagini MR, et al. Prolonged n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation ameliorates hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a pilot study [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2006, 23 (8): 1143 - 1151.
- [3] Levy JR, Clore JN, Stevens W. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids decrease hepatic triglycerides in Fischer 344 rats [J]. *Hepatology*, 2004, 39 (3): 608 - 616.
- [4] Mandart S, Müller M, Kersten S. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha target genes [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2004, 61 (4): 393 - 416.
- [5] Martin PG, Guillou H, Lasserre F, et al. Novel aspects of PPARalpha-mediated regulation of lipid and xenobiotic metabolism revealed through a nutrigenomic study [J]. *Hepatology*, 2007, 45 (3): 767 - 777.
- [6] Seo YS, Kim JH, Jo NY, et al. PPAR agonists treatment is effective in a nonalcoholic fatty liver disease animal model by modulating fatty-acid metabolic enzymes [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2008, 23 (1): 102 - 109.
- [7] Hostetler HA, Petrescu AD, Kier AB, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha interacts with high affinity and is conformationally responsive to endogenous ligands [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280 (19): 18667 - 18682.
- [8] Svegliati-Baroni G, Candelaresi C, Saccomanno S. A model of insulin resistance and nonalcoholic steatohepatitis in rats: role of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and n-3 polyunsaturated fatty acid treatment on liver injury [J]. *Am J Pathol*, 2006, 169 (3): 846 - 60.
- [9] Patsouris D, Reddy JK, Müller M, et al. Peroxisome proliferator activated receptor alpha mediates the effects of high-fat diet on hepatic gene expression [J]. *Endocrinology*, 2006, 147 (3): 1508 - 1516.
- [10] McPherson R, Gauthier A. Molecular regulation of SREBP function: the Insig-SCAP connection and isoform-specific modulation of lipid synthesis [J]. *Biochem Cell Biol*, 2004, 82 (1): 201 - 211.
- [11] Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver [J]. *J Clin Invest*, 2002, 109 (9): 1125 - 1131.
- [12] Ascencio C, Torres N, Isoard-Acosta F, et al. Soy protein affects serum insulin and hepatic SREBP-1 mRNA and reduces fatty liver in rats [J]. *J Nutr*, 2004, 134 (3): 522 - 529.
- [13] 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.
- [14] Botolin D, Wang Y, Christian B, et al. Docosahexaenoic acid (22: 6, n-3) regulates rat hepatocyte SREBP-1 nuclear abundance by Erk- and 26S proteasome-dependent pathways [J]. *J Lipid Res*, 2006, 47 (1): 181 - 192.
- [15] Pawar A, Xu J, Jerks E, et al. Fatty acid regulation of liver X receptors (LXR) and peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) in HEK293 cells [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277 (42): 39243 - 39250.
- [16] Pawar A, Botolin D, Mangelsdorf DJ, et al. The role of liver X receptor-alpha in the fatty acid regulation of hepatic gene expression [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278 (42): 40736 - 40743.
- [17] Hertz R, Kalderon B, Byk T, et al. Thioesterase activity and acyl-CoA/fatty acid cross-talk of hepatocyte nuclear factor-4 α [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280 (26): 24451 - 24461.
- [18] Yao HT, Chang YW, Lan SJ, et al. The inhibitory effect of polyunsaturated fatty acids on human CYP enzymes [J]. *Life Sci*, 2006, 79 (26): 2432 - 2440.