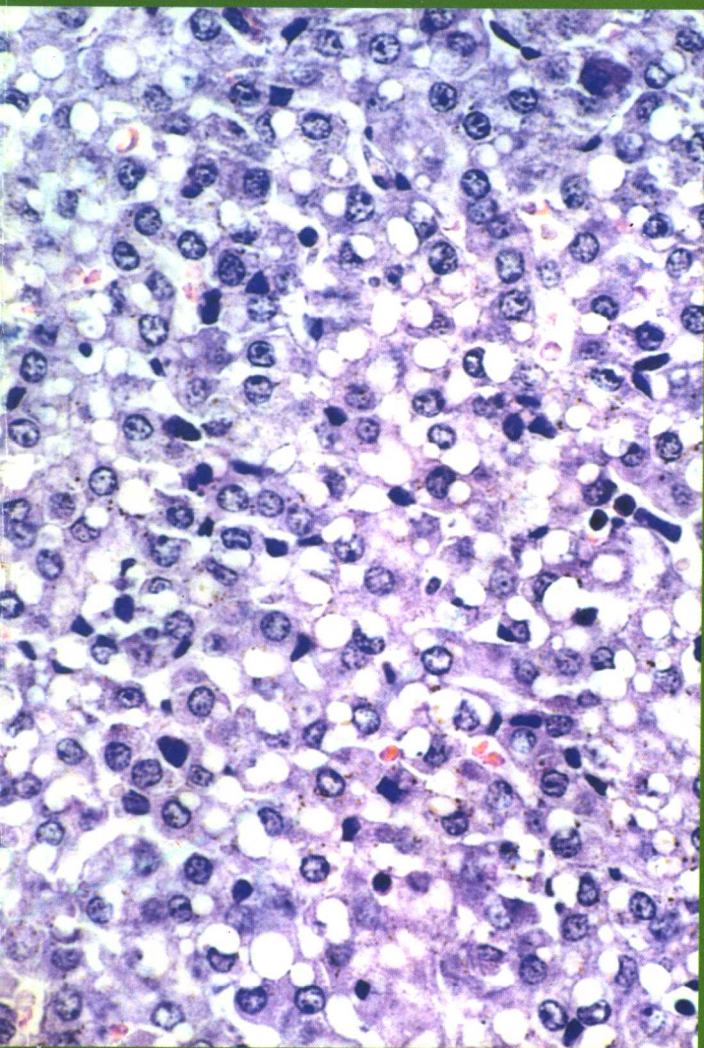


第2届全国脂肪性肝病专题研讨会

——暨第5届NASH诊治新进展学习班

2005.6.3 ~ 6.7 上海



主办单位:

中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组

协办单位:

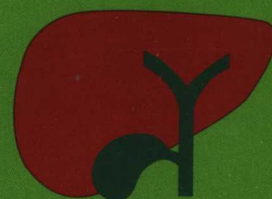
上海第二医科大学附属仁济医院

上海交通大学附属第一人民医院

《肝脏》杂志社

南京军区上海临床肝病研究中心

上海御宝医药科技发展有限公司



SFLDS

中华肝脏病学会脂肪肝和酒精性肝病学组

第2届全国脂肪性肝病专题研讨会学术委员会成员

主 席

曾民德 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组组长, 上海肝病学会主任委员, 上海第二医科大学附属仁济医院/上海市消化疾病研究所消化内科教授 200001)

庄 辉 (中国工程院院士, 中华肝脏病学会主任委员, 上海肝病学会副主任委员, 北京大学医学部微生物系教授 100083)

共同主席

厉有名 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组副组长, 浙江大学医学院附属第一医院消化内科教授 310003)

陈成伟 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组委员, 上海肝病学会副主任委员, 南京军区上海临床肝病研究中心教授 200235)

执行主席

范建高 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组副组长, 上海交通大学附属第一人民医院消化内科教授 200080)

执行秘书

陆伦根 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组秘书, 上海第二医科大学附属仁济医院上海市消化疾病研究所消化内科教授 200001)

傅青春 (上海肝病学会秘书, 南京军区上海临床肝病研究中心教授 200235)

委 员 (按姓氏笔划排序)

牛俊奇 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组委员, 吉林大学附属第一医院感染科教授 130000)

王炳元 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组委员, 中国医科大学附属第一医院消化内科教授 110000)

王泰玲 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组委员, 北京中日友好医院病理科教授 100029)

刘玉兰 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组委员, 北京大学人民医院消化内科教授 100044)

沈 薇 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组委员, 重庆医科大学附属第二医院消化内科教授 400010)

- 杨冬华 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组委员, 暨南大学附属华侨医院消化内科教授 510000)
- 罗金燕 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组委员, 西安交通大学附属第二医院消化内科教授 710004)
- 尚 佳 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组委员, 河南省人民医院消化内科主任医师 450000)
- 宣世英 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组委员, 青岛大学附属市立医院肝病科教授 266011)
- 程明亮 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组委员, 贵阳医学院附属医院感染科教授 550004)
- 袁平戈 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组秘书, 中华肝脏病杂志主任医师 400010)
- 贾继东 (中华肝病学会副主任委员, 脂肪肝和酒精性肝病学组委员, 首都医科大学附属友谊医院肝病中心教授 100050)
- 戴 宁 (中华肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组委员, 大连医科大学附属第一医院消化科副教授 116001)

秘书处

王鲁, 茅益民, 王晓今, 邵燕, 范竹萍, 徐正婕

会务组

曹爱平, 曹新华, 卫枫, 田丽艳, 丁晓东, 蔡晓波, 李锋, 魏国华, 钱燕

欢迎参加

全国脂肪性肝病专题研讨会暨 NASH 学习班

——大会秘书处、会务组

时间: 2005 年 6 月 3 日——6 月 7 日

地点: 上海市天目西路 111 号新梅华东大酒店

会议日程

6月4日 星期六

开幕式 08:30—08:50

主持: 范建高

开幕词: 曾民德教授, 庄辉院士

专题讲座 08:50—12:10

主持: 厉有名, 罗金燕

08:50—09:20 脂肪肝的流行病学研究进展

庄辉

09:20—09:50 脂肪性肝病的氧应激及其治疗对策

曾民德

09:50—10:20 非酒精性脂肪性肝病的病理表现

王泰玲

10:20—10:30 讨论与休息

主持: 贾继东, 程明亮

10:30—11:00 脂肪肝的动物模型

厉有名

11:00—11:30 药物性脂肪肝

陈成伟

11:30—12:00 肠源性内毒素血症与非酒精性脂肪性肝病

刘近春

12:00—12:10 讨论

午餐

诊治共识 13:30—15:40

主持: 庄辉、曾民德、王泰玲

13:30—14:20 酒精性肝病的诊断与治疗指南

厉有名

14:20—15:10 非酒精性脂肪性肝病诊治指南

范建高

15:10—15:40 讨论

专题讲座 15:40—17:30

主持: 陈成伟, 宣世英

15:40—16:10 饮酒与人体健康之间的剂量依赖关系

程明亮

16:10—16:40 酒精性肝病的临床表现

罗金燕

16:40—17:10 NASH所致肝纤维化的发生机理和诊治进展

贾继东

17:10—17:30 讨论与休息

晚餐

6月5日星期日

专题讲座 08:00—11:00

主持: 牛俊奇、尚佳

08:00—08:30 脂肪性肝病的遗传易感性

沈薇

08:30—09:00 脂肪性肝炎与细胞凋亡与再生

王炳元

09:00—09:30 脂肪性肝病与肝癌

杨冬华

09:30—09:50 讨论与休息

主持: 沈薇、杨冬华

09:50—10:20 脂肪肝与肝移植

刘玉兰

10:20—10:50 病毒性肝炎与脂肪性肝病

牛俊奇

10:50—11:00 讨论

论文交流 11: 00—12: 00

主持: 刘玉兰, 戴宁

1. 多烯磷脂酰胆碱在脂肪性肝病中的应用 (12min)
2. 重庆市不同职业人群中脂肪肝现状调查与分析 (8min)
3. 肥胖和胆结石合并 NAFLD 的分子生物学研究 (8min)
4. 非酒精性脂肪性肝炎 52 例临床与病理分析 (8min)
5. 瘦素和瘦素受体基因多态性与脂肪性肝病的相关性研究 (8min)
6. 脂肪肝及其相关因素影响慢性丙肝联合抗病毒治疗效果 (8min)

李继瑾
程朝英
范竹萍
郑瑞丹
陈韶华
于建武

午餐

论文交流 13: 30—14: 20

主持: 傅青春、袁平戈

1. 实验性酒精性肝病大鼠肝组织 PPAR γ 表达的变化 (8min)
2. NASH 大鼠胰岛素抵抗和生长激素水平变化 (8min)
3. 高血糖对四氯化碳中毒大鼠肝纤维化进展的影响 (8min)
4. 复方中药防治酒精性肝损伤的体外研究 (8min)
5. 大鼠 NASH: 肝细胞损伤与 ICAM-1 基因表达有关 (8min)
6. 肝细胞色素 P4501A1、3A1 在大鼠 NAFL 形成中的作用 (8min)

赵彩彦
徐磊
田丽艳
戴宁
张洁
胡轲

讨论与休息

专题讲座 14: 20—16: 30

主持: 曾民德, 王炳元

- 14: 20—14: 50 肥胖与脂肪肝
14: 50—15: 20 脂肪肝与代谢综合征
15: 20—15: 50 非酒精性脂肪性肝病的临床特征与自然史
15: 50—16: 20 脂肪肝的影像学诊断
16: 20—16: 30 会议总结

邹大进
范建高
陆伦根
陈克敏

继续教育项目

----学习班专用

6月6日(星期一)

- 08: 00—09: 00 非酒精性脂肪性肝炎: 临床病理综合征
09: 10—10: 10 高脂血症、脂肪肝与动脉粥样硬化
10: 20—11: 20 肝病科研论文的书写及投稿需知
13: 30—14: 20 非酒精性脂肪肝的中医分型及处理
14: 30—15: 20 酒精性肝病的中医分型及处理
15: 30—16: 20 脂肪性肝病的疗效评估
16: 30—17: 00 脂肪性肝病中西医结合治疗展望

曾民德
范建高
袁平戈
胡义扬
季光
陆伦根
范建高

6月7日(星期二)

- 08: 00—09: 00 糖尿病诊治进展
09: 10—10: 10 不明原因性肝炎
10: 20—11: 30 脂毒性相关疾病
13: 30—14: 50 非酒精性脂肪性肝病的饮食及行为治疗
15: 00—16: 20 非酒精性脂肪性肝病的运动治疗
16: 30—17: 00 考试及答疑

彭永德
范建高
陆元善
徐正婕
陈文华
田丽艳

本次会议得到以下单位的支持和赞助，特此致谢！

主要赞助

赛诺菲—安万特中国公司

赞助单位（排名不分先后）

重庆药友制药有限责任公司

深圳康哲药业股份有限公司

江苏正大天晴药业股份有限公司

葛兰素史克（中国）投资有限公司

西安杨森制药有限公司

四川美大康药业有限公司

沈阳医联药业有限公司

河南新谊药业股份有限公司

上海合睦佳医药科技有限公司

成都国嘉生物制药股份有限公司

上海和黄药业有限公司

德国马博士利加隆项目部

目 录

专题报告

1. 脂肪肝的流行病学研究进展-----张华捷 庄辉 刘学恩(01)
2. 脂肪性肝病的氧应激及其治疗对策-----曾民德(03)
3. 脂肪肝的动物模型-----厉有名(07)
4. 肠源性内毒素血症与非酒精性脂肪性肝病-----韩德五 刘近春(10)
5. 脂肪性肝炎与细胞凋亡和再生-----王炳元 佟 静(12)
6. 脂肪性肝病的遗传易感性-----沈 薇(15)
7. 非酒精性脂肪性肝病的病理改变-----王泰玲(16)
8. NASH所致肝纤维化的发生机理和诊断和治疗进展-----贾继东(18)
9. 饮酒与人体健康之间的剂量依赖关系-----程明亮(20)
10. 酒精性肝病的临床表现-----罗金燕(21)
11. 药物性脂肪肝-----陈成伟(24)
12. 病毒性肝炎与脂肪性肝病-----丁艳华 牛俊奇(26)
13. 脂肪性肝病与肝癌-----杨冬华(29)
14. 肥胖与脂肪肝-----邹大进(30)
15. 代谢综合征与脂肪肝-----范建高(32)
16. 非酒精性脂肪性肝病的临床特征和自然史-----陆伦根(35)
17. 脂肪肝的影像学诊断-----陈克敏(36)
18. 脂肪肝与肝移植-----刘玉兰(37)

继续教育

1. 肥胖与肝脏-----曾民德(39)
2. 非酒精性脂肪性肝炎及其相关脂肪肝疾病概述-----蔡晓波 范建高(40)
3. 非酒精性脂肪性肝病与代谢综合征-----田丽艳 范建高(44)
4. 非酒精性脂肪性肝病的最新进展-----钱 燕 范建高(49)
5. 医学论文的书写-----袁平戈(54)

论文摘要

1. *重庆市不同职业人群中脂肪肝现况调查与分析-----程朝英(59)
2. *肥胖和胆结石合并 NAFLD 的分子生物学研究-----范竹萍(59)
3. 上海市成人代谢综合征与脂肪肝关系的横断面研究-----朱 军(59)

4. 饮酒、肥胖与脂肪肝关系的流行病学调查-----朱 军(60)
5. 1995~02年宝钢职工脂肪肝和多元代谢紊乱患病率的变化趋势-----李 锋(60)
6. 镇江市酒酒精性脂肪肝的流行病学调查-----邹圣强(60)
7. 城乡居民脂肪性肝病初步调查-----陈燕熙(60)
8. 铁路企业职工脂肪肝流行病学调查-----夏培君(61)
9. 脂肪肝危险因素的病例对照研究-----王中丽(61)
10. *非酒精性脂肪性肝炎 52 例临床与病理分析-----郑瑞丹(61)
11. *瘦素和瘦素受体基因多态性与脂肪性肝病的相关性研究-----陈韶华(61)
12. 瘦素受体基因 Lys109Arg 多态性与脂肪性肝病的关系-----陈韶华(62)
13. 非酒精性脂肪性肝炎患者血清肝纤维化指标的变化-----洪小飞(62)
14. 血清抵抗素与非酒精性脂肪性肝病关系的临床研究-----姜玲玲(62)
15. 脂肪肝 100 例临床分析-----宋敏利(62)
16. *脂肪肝及其相关因素影响慢性丙型肝炎联合抗病毒治疗效果-----于建武(63)
17. 脂肪性肝病与丙肝病毒感染相关性的问题-----于建国(63)
18. 不同 ABO 血型肝病患者的免疫功能及与预后的关系探讨-----程书权(63)
19. 拉米呋定与复方丹参联合治疗早期肝硬化的临床疗效观察-----刘慧君(63)
20. 还原型谷胱甘肽治疗酒精性脂肪肝、肝硬化 57 例-----程慧桢(64)
21. 凯西莱治疗酒精性肝病及脂肪肝疗效观察-----孙屹峰(64)
22. 清醇绿宝治疗脂肪肝临床研究-----徐向田(64)
23. 脂肝煎治疗脂肪肝 38 例临床观察-----张希忠(64)
24. 中药联合水林佳治疗脂肪肝 32 例-----陈 丽(64)
25. 过表达 CYP2E1 对 C3A 细胞增殖的影响-----刘天会(64)
26. *实验性酒精性肝病大鼠肝组织 PPAR γ 表达的变化-----赵彩彦(65)
27. 大鼠非酒精性脂肪性肝炎模型的研究-----倪鸿昌(65)
28. 大鼠非酒精性脂肪性肝炎形成过程中肠道通透性的变化-----金 希(65)
29. *非酒精性脂肪性肝炎大鼠胰岛素抵抗和生长激素水平变化-----徐 磊(65)
30. *NASH 大鼠: 肝细胞损伤与 ICAM-1 基因表达有关-----张 洁(66)
31. 高脂饮食 48 周大鼠肝脏组织学动态观察-----田丽艳(66)
32. 胰岛素抵抗在高脂饮食大鼠非酒精性脂肪性肝病发病中的作用-----田丽艳(66)
33. 高脂饮食脂肪肝大鼠肝脏 PPAR- γ 和 UCP2 表达增强-----丁晓东(66)
34. U230A 芯片动态观察非酒精性脂肪性肝病大鼠肝脏基因表达-----方继伟(67)
35. RT-PCR 动态观察 NAFLD 大鼠肝脏成脂相关基因表达-----方继伟(67)
36. 微血栓形成相关因子在脂肪性肝炎肝纤维化发病中的作用-----郑晓英(67)

37. 非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝脏内毒素受体表达上调-----徐正婕(67)
38. 脂质对巨噬细胞内毒素敏感性的影响-----徐正婕(68)
39. *高血糖对四氯化碳中毒大鼠肝纤维化进展的影响-----田丽艳(68)
40. 高血糖促进四氯化碳大鼠肝纤维化进展的机制探讨-----蔡晓波(68)
41. 高血糖在非肥胖糖尿病小鼠肝脏损伤中的作用-----田丽艳(69)
42. 高血糖与高脂饮食饲养的 NOD 小鼠肝脏脂肪变的关系-----田丽艳(69)
43. 缺血预处理不能提高脂肪肝大鼠对缺血再灌注损伤的耐受性-----李芳芳(69)
44. *复方中药防治酒精性肝损伤的体外研究-----戴 宁(69)
45. 安珐特对大鼠非酒精性脂肪性肝病血清瘦素水平的影响-----虞朝辉(70)
46. 吡咯列酮改善大鼠非酒精性脂肪性肝病瘦素和胰岛素抵抗-----徐 磊(70)
47. 茶多酚抗大鼠酒精性肝损伤的细胞因子基因表达谱研究-----张幸国(70)
48. 硫普罗宁对酒精性脂肪性肝病治疗的实验性研究-----阎 明(70)
49. 二甲双胍对 NAFLD 大鼠肝脏成脂基因表达谱的影响-----方继伟(71)
50. 抗血栓类药物对非酒精性脂肪性肝炎肝纤维化的防治作用-----郑晓英(71)
51. 己酮可可碱对 NASH 大鼠肝脏基因表达谱的影响-----钱 燕(71)
52. 己酮可可碱对 NASH 大鼠肝脏核因子- κ B 信号通路的影响-----钱 燕(71)
53. 血清 HBV-M 中抗-HBs、抗-HBc 同时阳性的临床意义初步探讨-----张 红(72)
54. 当飞利肝宁胶囊治疗伴有高血脂肝功能异常脂肪肝的临床观察-----张 雳(72)
55. NAFLD 大鼠部分肝切除术后肝再生的变-----代雪枫(72)
56. 解偶联蛋白-2 在大鼠非酒精性脂肪肝中的表达-----顾小红(72)
57. *肝细胞色素 P4501A1、3A1 在大鼠 NAFL 形成中的作用-----胡 轲(73)
58. Bcl-2、Bax 在大鼠非酒精性脂肪肝肝脏中的表达及意义-----樊丽琳(73)
59. 非酒精性脂肪肝与 MAPK 信号转导通路-----杨林辉(73)
60. 非酒精性脂肪肝大鼠肝细胞色素氧化酶 I 基因及表达变化的意义-----史洪涛(74)
61. L-FABP 在大鼠非酒精性脂肪肝中的表达及相关性-----冯爱娟(74)
62. 吉非罗齐对高脂饮食喂养的 Wistar 大鼠肝细胞脂肪变性的影响-----王 军(74)

诊断标准

1. 非酒精性脂肪性肝病诊断标准----- (75)
2. 酒精性肝病诊断标准----- (76)

· 专题报告 ·

脂肪肝的流行病学研究进展

北京大学医学部微生物学系 张华捷 庄辉 刘学恩

脂肪肝是一种常见的临床现象,但不是一种独立的疾病。正常人的肝脏中,脂质含量占肝湿重的 2%~4%,其中磷脂占 50%以上,甘油三酯(TG)占 20%,游离脂肪酸(FFA)占 20%,胆固醇约占 7%,其余为胆固醇酯。当肝细胞内脂质蓄积超过肝湿重的 5%,或组织学上每单位面积有 1/3 以上肝细胞脂肪变时,称为脂肪肝(FL)^[1]。根据肝细胞内脂肪含量,可将脂肪肝分为轻、中、重三型:轻型含脂肪 5%~10%,中型为 10%~25%,重型为 25%~50%或>30%。根据脂肪肝病理学变化的轻重,又可分为单纯性脂肪肝、脂肪肝浸润、脂肪坏死和脂肪性肝炎。单纯性脂肪肝一般临床表现较轻,可无明显症状,而引起症状的多为脂肪性肝炎。根据是否有过量酒精摄入,可将脂肪性肝炎分为酒精性脂肪性肝炎(ASH)和非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。随着人民生活水平的不断提高,肥胖、高脂血症、糖尿病等日益增多,脂肪肝的问题也显得愈加突出。本文对脂肪肝的流行病学研究进展作一简要综述。

一、酒精性脂肪肝

由于长期大量饮酒造成肝脏损害引起的一系列病变称为酒精性肝病(ALD),包括:酒精性脂肪肝(AFL)、酒精性肝炎和酒精性肝硬化。目前,酒精性肝病在我国有增加趋势,已成为仅次于病毒性肝炎的第二大肝病病因。酒精性脂肪肝是酒精性肝病中最常见,也是最早和最为轻微的反应。大量的研究表明,过量酒精摄入是脂肪肝的重要危险因素^[2]。张道明等^[3]对 122 例酒精性肝病患者的肝活检病理学检查结果分析显示,单纯酒精性脂肪肝者(未合并酒精性肝炎和肝硬化)11 例,占 9.0%,与日本报道的 3.6%~10.8%接近。周云飞等^[4]采用分层随机抽样方法对浙江省云和县 4 500 名不同人群进行 B 超检测表明,酒精性肝病流行率为 28.0%。其中男性 30.1%,明显高于女性(21.6%)。虽然有很多研究报道^[5],女性比男性对酒精性肝病更易感,但是由于男性一般饮酒量要明显多于女性,因此,男性酒精性肝病发病较女性严重。

二、非酒精性脂肪肝

1. 分布特点

非酒精性脂肪肝(NAFL)在全球分布广泛,有一定的地区分布差异。Byron 等^[6]报告,以医院肝病科肝活检病例为基础的回顾性调查表明,非酒精性脂肪肝占 11%^[6]。日本报道为 1.2%。Wanless 等^[7]对 351 名无饮酒史的病例解

剖发现,非酒精性脂肪肝占 6.3%。Daniel 等^[8]对 81 名肝功能各项指标均正常者进行肝活检,发现非酒精性脂肪肝占 26%。刘朝晖等^[9]应用 B 超检测 1 832 名 20~63 岁武警某部人群,脂肪肝检出率为 12.5%。李葳等^[10]用 B 超检查健康体检人群发现,脂肪肝检出率为 18.3%。提示脂肪肝的患病率并非很低。美国报告,一般人群的非酒精性脂肪肝患病率为 5%,但在肥胖和 2 型糖尿病患者中则高达 25%~75%^[11]。非酒精性脂肪肝好发于 40~60 岁人群,也可见于肥胖的青少年^[12-14]。近年来,由于人们生活水平提高,饮食结构不合理以及预防保健措施不当,脂肪肝的发病不仅未下降,反而呈上升趋势,且发病年龄越来越小。日本 Tominaga 等^[15]用 B 超对 810 名 4~12 岁儿童检查发现,脂肪肝检出率为 2.6%,其中男孩为 3.4%,高于女孩 1.8%,年龄最小者仅 6 岁,脂肪肝已不再只属于成人的疾病。曾认为妇女脂肪肝的发病率要高于男性^[16],多发生在肥胖或糖尿病妇女中,但近年来研究发现,脂肪肝发病率无明显性别差异^[17]。我国郭德增等和范建高等^[18]的调查显示,男性发病率高于女性。

2. 病因学研究

非酒精性脂肪肝的发生与多种因素有关,包括以下几方面:

(1) **肥胖和高脂血症:**肥胖和高脂血症是目前较为明确的脂肪肝危险因素。Adler 等^[19]对一组肥胖病人的队列研究中最早发现脂肪性肝炎,即后来称为非酒精性脂肪性肝炎(NASH)。肥胖者常伴有高脂血症,两者均与脂肪肝的发生有密切关系,其可能机制是:肥胖患者脂肪组织增多,易受激素敏感性脂肪酶的活化,使外周脂肪分解增多,流向肝脏的脂肪酸增多,且肥胖患者多长期摄入高脂饮食,使外源性脂肪吸收增加,而产生高脂血症,造成肝脏摄取脂肪酸及其酯化作用增强,而载脂蛋白 B(ApoB)及磷脂合成相对减少,甘油三酯(TG)合成超过其运转,从而在肝内沉积合成 TG 增多。大量研究表明,肥胖与 NASH 的发生有明显的相关关系^[20, 21]。脂肪肝的发生与肥胖的程度也有一定程度的关联,如 Wanless 等^[7]尸检发现,在低于理想体重 110%的病例中,非酒精性脂肪性肝炎的检出率为 2.7%,而高于理想体重 140%的病例中,检出率达到 18.5%。刘朝晖等^[9]的研究发现,当体重指数(BMI)超过 24 时,脂肪肝发生率达 20.9%;BMI 超过 26 时,增至 42.9%;而

当 BMI 超过 28 时,脂肪肝的发生率达到 90%~100%。此外,脂肪肝的发生还与体脂的分布有关。Sonnichsen 等^[22]报告,腰臀比 (waist-to-hip ratio, WHR) 与脂肪肝的发生密切相关,腰臀比比体重指数更能反映体内高密度脂蛋白 (HDL) 和极低密度脂蛋白 (VLDL) 水平,提示体脂的分布比体脂总量可能对脂肪肝的发生具有更重要意义。

(2) **2 型糖尿病和胰岛素抵抗**:也是脂肪肝发生的重要危险因素,其促进脂肪肝的作用与肥胖无关。有研究表明,糖尿病人的脂肪肝患病率高于正常人,达到 20%~75%^[11-13]。Wanless 等^[7]报告,2 型糖尿病患者患非酒精性脂肪性肝炎的危险性比一般人高 2.6 倍。Tankurt 等^[23]研究表明,非酒精性脂肪性肝炎患者餐后 2 小时血糖和血清胰岛素水平显著高于正常人。林珮仪等^[24]报告,2 型糖尿病患者合并脂肪肝者比未合并脂肪肝者的甘油三酯、低密度脂蛋白、空腹胰岛素及胰岛素抵抗系数均有明显升高,提示 2 型糖尿病合并脂肪肝者体内可能存在明显的脂肪代谢紊乱和胰岛素抵抗。Marchesini 等^[25]发现,非酒精性脂肪性肝病 (包括 NASH),与胰岛素抵抗和高胰岛素血症有较强的关联。胰岛素抵抗促进脂肪肝发生,可能是由于胰岛素抑制血浆游离脂肪酸 (FFA) 浓度的下降,使血浆游离脂肪酸水平上升,进入肝脏的游离脂肪酸增多,不仅刺激肝脏释放极低密度脂蛋白 (VLDL),还降低了骨骼肌、心肌对胰岛素的敏感性,同时胰岛素抵抗又引起脂蛋白酯酶 (LPL) 活性下降,甘油三酯分解减慢,使极低密度脂蛋白和乳糜微粒 (CM) 水平升高,进一步引起血浆高密度脂蛋白 (HDL) 水平下降。此外,胰岛素抵抗还可使低密度脂蛋白 (LDL) 经受体通路代谢受阻,其血浆水平升高,最终导致肝脏脂代谢紊乱和脂肪肝形成。

(3) **药物及毒物**:至少有 200 种以上的药物能引起不同程度的肝损害,包括脂肪肝。药物性脂肪肝的发生率仅次于药物性皮肤黏膜损害和药热,在所有药物不良反应病例中占第三位^[2]。可导致脂肪肝的常见药物有:四环素、糖皮质激素、胺碘酮、氮甲蝶呤、叠氮胸苷、地丹诺辛、他莫昔芬等。此外,四氯化碳、黄磷、异丙醇、环己胺、砷、铅、汞等也可引起脂肪肝。

(4) **Reye 综合征 (RS)**:本病由 Reye 等于 1963 年首先报道,由此得名。该病主要见于小儿,常发生于水痘或上呼吸道感染后,其特征为严重脑病伴显著脑水肿及弥漫性内脏 (尤其是肝脏) 脂肪浸润,病死率较高。Sullivan 等^[26]于 1991~1994 年对美国 Reye 综合征的发病情况调查表明,小于 18 岁人群的 Reye 综合征发病率约为 0.2/百万~1.1 例/百万,较美国疾病控制预防中心 (CDC) 于 1980 年报道 (9.0 例/百万) 明显为低。法国报道,15 岁以下人群 Reye 综合征发病率为 0.79 例/百万^[27]。多数病例为用阿司匹林

治疗水痘等感染后继发,因此,在用非甾体抗炎药物治疗水痘等病毒感染时,应加注意。

(5) **妊娠急性脂肪肝**:是一种在妊娠最后 3 个月出现、病因不明、以严重肝功能障碍为主的急性多系统损害疾病,由 Sheehan 在 1940 年首次提出,在人群中极为罕见,主要发生于年青初产妇和双胎妊娠妇女,发病率估计为 7.5/十万~14.9/十万左右^[28]。本病临床常表现为急性暴发型,可导致孕妇及胎儿死亡,死因多为急性肾衰竭、胰腺炎并发休克、弥漫性血管内凝血 (DIC) 并发大出血等,预后不良,应尽早终止妊娠,并积极支持治疗。

(6) **其他**:脂肪肝还可伴发于许多疾病,如肝移植、Weber-Christian 病、炎症性小肠憩室、HIV 感染、Kwashiorkor 病、 β 脂蛋白缺乏症等,但较少见。

三、 预防措施

由于脂肪肝的流行因素是多方面的,因此,对于本病的预防也应从多方面入手。

1. 合理饮食

目前引起脂肪肝的最重要因素是营养过剩导致的肥胖,因此,控制膳食的营养构成是预防脂肪肝的关键。范建高等^[1]的研究表明,每日三餐高质量饮食及喜食高脂类食物,与脂肪肝的发生密切相关,而主食碳水化合物与脂肪肝的发生无关。Misako 等^[29]对肥胖的脂肪肝病人给予适度限食措施后,发现病人的肝功能等指标有一定改善。因此,应加强健康教育,特别是在人们生活水平大大改善的今天,要人们注意膳食结构,以植物性食物为主,动物性食物为辅,不要过多食入高能量食物,适当减少脂类的摄入。

2. 控制饮酒

过量饮酒会给身体带来一系列不良影响,包括酒精性脂肪肝、酒精性肝炎甚至肝硬化。因此,应禁止酗酒。有关饮酒的安全阈值目前尚无定论,英国皇家内科学院推荐,男性饮酒量<210g/周,女性<140g/周^[2]。但由于不同种类的酒含酒精量不同,人们对酒精敏感性的个体差异较大,因此,饮多少酒为适度要因人而异,因酒而异。

3. 加强体育锻炼

在肥胖的形成中,活动过少比摄入过多更为重要,肥胖本身也是脂肪肝的重要危险因素,而加强体育锻炼有助于消耗体内的过多脂肪,特别是内脏脂肪,对预防脂肪肝的发生有一定意义。有研究显示,从事久坐职业或很少运动者的脂肪肝发病率高于经常运动者。因此,应进行中等强度的体育锻炼,特别是对于一些年龄较大的人群。

4. 加快生活节奏和保持一定工作量

范建高等^[1]发现,一定的劳动强度和工作压力对脂肪肝有保护作用,而白天精神萎靡、睡眠过多,是脂肪肝的危险因素。古语云:“生于忧患,死于安乐”。应适当增加工作压

力, 加快生活节奏, 这有助于消耗多余的热量, 防止脂肪在体内聚积。

5. 定期体检, 增强自我保健意识

由于目前我国大多数居民自我保健意识比较淡薄, 一般无病不去医院, 这不利于多种疾病的早期发现。脂肪肝是一

个慢性过程, 如能及早发现、及时控制和治疗, 是完全可能逆转和纠正的。因此, 要定期体检, 争取尽早发现体内可能存在的病变, 特别是对于有肥胖、高脂血症、糖尿病及家族史等危险因素的人群。

脂肪性肝病的氧应激及其治疗对策

上海第二医科大学附属仁济医院 曾民德

一、肝脏的氧应激

(一) 氧应激的基本概念

1. 氧应激的定义 细胞呼吸利用氧产生能量形成 ATP 时, 氧衍生的自由基或反应性氧化物 (ROS) 及其代谢物的产生超过对其防御或去毒的能力, 这种细胞氧化还原失调的状态称为氧应激。氧应激发生的主要影响因素为代谢底物及其代谢速率、氧化酶及 ROS 的产生、氧化的信号、抗氧化物网络的变化。

2. 氧应激的作用 细胞的氧化还原状态对维持细胞的完整性及其代谢功能起重要影响。氧应激在细胞水平诱导的生物反应取决于细胞类型、ROS 增高的程度及 ROS 作用的持续时间。ROS 在生理水平起调节信号途径和基因表达的作用。轻度氧应激具有重要的生理保意义, 它可诱导 60 多种基因表达, 其中包括与胰岛素信号途径相关的磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3-K) 依赖性途径的基因, 这些表达可增加抗氧化能力。但 ROS 在病理水平可促使生物分子发生化学变异、细胞因子的转录和活化、膜受体更新及膜蛋白表达与分布改变等, 介导化学性和免疫性肝损伤。

(二) ROS 的产生及其损害作用

1. ROS 的产生 生理情况下 ROS 主要由线粒体电子传递反应产生, 少量可在内质网、过氧化酶体、核和浆膜产生。线粒体内膜含呼吸链复合物 (MRC) 和 ATP 合成酶, 在 MRC 的任何一个位点如果电子流受到阻碍, 则先前呼吸中间物可传递电子到分子氧, 诱致 ROS 产生并减少 ATP 生成。ROS 包括所有部分还原的氧分子物质 (表 1), 其分子外层表面带有 1 个或数个不成对电子。ROS 可呈自由基或非自由基型, 高反应性氧自由基分子能与其相邻的非自由基稳定分子捕获 1 个电子以稳定其自身的原子结构, 相邻分子因此可成为自由基分子。氧化酶可催化分子氧形成 ROS, 肝内氧化酶系统包括细胞色素 P-4502E1 (CYP 2E1)、NADPH 氧化酶、黄嘌呤氧化酶 (XO)、髓过氧化酶化物酶 (MPO) 及 NO 合成酶 (NOS), 它们位于肝细胞、库普弗细胞、内皮细胞及肝星状细胞 (HSC)。肝细胞内 ROS 主要来自线粒体和 Cyp2E1。线粒体是 ROS 产生的最大来源, 约 2%~5% 的氧可在线粒体转化为 ROS。Cyp2E1 产生 $O_2^{\cdot-}$ 能力很强, 且

可由 NADPH 氧化酶及 Cyp4A 变异途径释放 ROS。肝内有 3 个 NOS 亚型, 即胆管周围神经元型 nNOS; 内皮细胞型 eNOS; 肝细胞、胆管细胞、库普弗细胞及 HSC 的诱导型 iNOS。前两型为钙依赖型, 合成 NO 量少及维持时间短; iNOS 为非钙依赖型。经内毒素、细胞因子、ROS 的诱导能持续大量释放 NO 及其他反应性氮化物 (RNS)。

表 1 ROS 和自由基

$O_2^{\cdot-}$	超氧阴离子基
H_2O_2	过氧化氢
OH $\cdot$	羟基
IO_2	单分子氧
RO $\cdot$	烷基
ROO $\cdot$	烷过氧化基
ROOH	有机氢过氧化物
HOCl $\cdot$	次氯酸
$Fe^{2+}O$	亚铁离子
NO $\cdot$	一氧化氮基
NO $_2$ $\cdot$	二氧化氮基
ONOO $\cdot$	过氧化亚硝酸盐
L $\cdot$	脂肪酸基
LO $\cdot$	脂肪酸烷基
LOO $\cdot$	脂肪酸过氧化基
LOOH	脂肪酸过氧化物

2. ROS 作用的靶分子 ROS 可通过传递 1 个或 2 个电子对细胞成分和生物物质起氧化损害作用 (表 2)。其作用具有相对非特异性; 作用时间短, ROS 半寿期很短; 作用范围有限, ROS 弥散能力很低等特点。NO 有保护和损害双重作用, 低水平 NO 可活化鸟苷酸环化酶产生 cGMP 起保护作用; 高水平 NO 则增强凋亡和脂质过氧化起损害作用。线粒体损害是毒性剂引起细胞损伤的早期共有表现, ROS 可直接损害线粒体膜 DNA (mtDNA)、MRc 多肽及线粒体双磷脂酰甘油 (cardiolipin), 进一步激起 ROS 生成增多及抗氧化物缺失。

3. 脂质过氧化 ROS 与细胞内的多不饱和脂肪酸反应引起脂质过氧化, 形成丙二醛 (MDA)、壬烯 (HNE) 等脂质过氧化物 (LPO), 它们的半寿期较 ROS 长, 且能弥散到细胞内、外其他靶位, 扩大氧应激的损害。CYP2E1 依赖性氧途径在介导脂质过氧化的肝损害中占重要地位, CYP2E1 活性主要在肝小叶静脉周围区域表达, 对代谢改变较敏感, 胰岛素抵抗 (IR) 时常诱致 CYP2E1 活性表达增加。脂质过氧化不但加剧线粒体各种成分的损害, 且 MDA 和 HNE 等可诱致细胞死亡、炎症和纤维化。

表2. 细胞自由基作用的靶分子

靶子	后果
“小分子”物质	
非饱和及含硫醇	蛋白质变性和交联、酶抑制、细胞和细胞器通透性改变
氨基酸	细胞周期改变、变异
核酸碱基	细胞表面受体改变
碳水化合物	胆固醇和脂肪酸氧化, 脂质交联, 细胞和细胞器通透性改变
非饱和和脂质	烟酰胺, 含黄素辅因子利用性和活性↓抗坏血酸和吡啉氧化↓
辅因子	利用性和活性↓包括 5-羟色胺和正肾上腺素
神经递质	利用性↓包括 α 生育酚和 β 胡萝卜素
抗氧化物	
“大分子”物质	
蛋白质	肽键断裂、变性
DNA	链断裂、碱基变异
透明质酸	细胞外基质改变

4. 细胞信号级联反应 ROS 为细胞信号传递分子及传导刺激因子。效应细胞对 ROS 反应可使其自身的信号分子产生化学变异, 引发一系列 ROS 敏感性细胞信号级联反应:

①离子泵失活致细胞内 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 增多; ②应激相关蛋白激酶, 如 C-Jun N 端激酶 (JNK)、细胞外信号调节激酶 1, 2 及 P38; ③转录因子, 如激活蛋白-1 (AP-1)、缺氧诱导因子-1 (HIF-1)、核因子 KB (NFκB); ④凋亡信号调节物, 如 caspases、Bad、Bcl-2; ⑤内毒素脂多糖 (LPS) 及结合信号分子, 如 LPS 结合蛋白 (LBP)、CD14、tol1 样受体-4 (TLR-4); ⑥炎症性细胞因子, 如肿瘤坏死因子-α (TNFα)、白介素-1β (IL-1β); ⑦酪氨酸磷酸化相关酶, 如蛋白酪氨酸磷酸化酶 (PTP) 等。目前认为 TNF-α-NFUB 信号途径起重要作用。TNFα 及其受体-1 (TNF-R1) 在沟通炎症细胞和肝细胞的联系, 表现其促炎症和细胞毒起关键作用。NFKB 是肝损伤时细胞存活与死亡之间平衡的主要调节物, 其主要作用为阻止 TNFα 诱致的细胞死亡, 这与 NFKB 抑制 TNFα 诱致 ROS 贮积有关。但 NFKB 可被 TNFα、IL-1β、LPS、蛋白激酶 C (PKC)、PI3-K 等激活, 诱致炎症细胞因子、细胞间细胞粘附因子-1 (ICAM-1)、血管细胞粘附分子-1 (VCAM-1)、iNOS、环氧合酶-2 (COX-2) 及凋亡蛋白抑制物 (IAP) 家族成员等基因的表达。

(三) 抗氧化剂系统

1. 抗氧化剂系统的分类 体内 4 大类 (表 3) 抗氧化剂分别是通过降解、消除或结合的抗氧化途径控制 ROS 的产生及其活性, 调节各种生物分子的氧化还原起细胞保护作用。它们各自具有高度选择性和化学计量反应的特点, 相互可起协同作用, 但彼此不能替代。

2. 肝脏抗氧化剂系统及其功能 肝脏所含的 3 个抗氧化物酶 (SOD、触酶、GSHPX) 及 2 个细胞小分子物质 (GSH、β 胡萝卜素) 常一起被称为预防性抗氧化物, 因为它们可阻止 ROS 始发生。肝脏所含的 Vitc 和 VitE 等则称为链裂解抗氧化剂, 它们可转化 ROS 为较稳定成分, 阻断其链氧化反应。GSH 是细胞内、外亲水性主要抗氧化物, 肝细胞

含有 10% 的总体 GSH 库, 由于线粒体不含触酶, GSH 系统是保护线粒抗氧应激的主要机制。SOD 的酶性清除自由基发生在细胞内, 特别在 GSH 消耗情况下, 清除酶对代谢 ROS 尤其重要地位。

表3. 抗氧化剂系统

抗氧化物	
还原型谷胱甘肽 (GSH)	
半胱氨酸	
Vitc	
VitE	
β-胡萝卜素	
辅酶	
尿酸	
胆红素	
清除酶类	
超氧化物歧化酶 (SOD)	
Cu/Zn-SOD	
Mn-SOD	
细胞外 SOD (Ec-SOD)	
触酶	
GSH 过氧化酶 (GSHPX)	
氧化型 GSH (GSSG) 还原酶	
硫氧还蛋白 (thioredoxin, TRX)	
结合蛋白	
白蛋白	
铜蓝蛋白	
转铁蛋白	
金属硫蛋白 (metallothionein)	

二、氧应激在脂肪性肝病发病机理的作用

Day 等提出酒精性肝病 (ALD) 和非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 存在二次打击统一发病机制, 以氧应激为轴心的二次打击介导脂肪性肝病 (FLD) 发生坏死、炎症和纤维化。近来对 NAFLD 的观察表明, 氧应激在 FLD 早期已表现其致病作用 (表 4)。

表4. 非酒精性脂肪性肝病患者肝脏与血浆氧应激相关参数的改变

参数	脂肪肝	脂肪性肝炎
肝脏		
超氧化物歧化酶活性	↓	↓
触酶活性	—	↓↓
GSH 含量	↓	↓
Cyp2E1 含量	↑	↑↑
丙二醛含量	↑	↑
蛋白质氧化指数	↑↑	↑
血浆		
抗氧化物能力	↓↓	↓↓
丙二醛	—	↑
壬烯	—	↑

(一) 脂肪肝的发生

1. 原发病的氧应激 NAFLD 的最常见原发病超重/肥胖和 II 型糖尿病普遍存在氧应激增强, 尤为 Cyp2E1 依赖性氧应激伴线粒体损害。胰岛 β 细胞是体内最具代谢活性的细胞, 但其抗氧化酶含量相对较低。过量葡萄糖和脂质进入 β 细胞可增加 ROS 产生, 诱致线粒体 DNA 氧化损害。8-羟-2 脱氧鸟苷 (8-OHdG) 是用于反映各种组织氧应激相关 DNA 损伤的标志物, II 型糖尿病患者 8-OHdG 在胰岛、血细胞及尿中均见其水平增高。胰岛素敏感性对全身氧化还原改变很敏感, 氧应激可增加内皮细胞通透性, 减少胰岛素受体活化,

降低血浆胰岛素廓清,引起外周胰岛素利用障碍,促使 IR 发生。

2. 氧应激与 TNF α -IKK β 循环 抑制物 Kappa 激酶 β (IKK β) 激活是引起 IR 的重要机制。慢性 IKK β 激活主要来自 2 种类型的刺激,即氧应激及细胞因子,后者由脂变肝细胞、脂肪细胞及库普弗细胞分泌的 TNF α 起重要作用。氧应激在 TNF α -IKK β 循环的自身增强演变中扮演重要角色。游离脂肪酸 (FFA) 衍生代谢物如脂肪乙酰 CoA、神经胺、二乙酰甘油等均可活化 PCK0,上调 IKK β 促进 IR 发生。基因多态性改变相关的微粒体甘油三酯转移蛋白 (MTTP) 及 apoB 缺乏均可诱致对 LPS 及毒性物质敏感性改变,诱致脂肪肝发生。

3. 氧应激与脂质代谢紊乱 肝脏的脂肪是能量储库及能量快速动员的来源,在能量过剩背景下葡萄糖可在线粒体转化为 FFA。肝细胞摄取、合成和贮积 FFA 增加时,可出现 2 个代偿机制,即线粒体外膜调节长链脂肪酸 (LCFA) 进入线粒体增加及线粒体 FFA 氧化增加,此 2 机制均可促使 ROS 产生增加。最近认为,氧应激诱致的肝 n. 3 长链不饱和脂肪酸 (LCPUFA) 减少可能是脂肪肝形成的主要成因。LCPUFA 不仅与内源性糖脂代谢失调有关,也与饮食失衡有关。LCPUFA 对自由基反应很敏感,可使脂肪酸 (FA) 脱饱和进一步出现缺陷。氧应激及 n. 3 LCPUFA 缺失可诱致许多与脂肪肝发生相关的转录因子或介质分子的改变,其中包括:①过氧化酶体增殖物活化受体 α (PPAR α) 活性减低,可促使 FA 氧化障碍、apoB-100 降解增加、解偶联蛋白 (UCP-2) 表达增加致 ATP 水平下降;②肝脏表达固醇调节元件结合蛋白-1C (SREBP-1C)、碳水化合物反应元件结合蛋白 (chREBP) 及 PPAR γ 增高,此 3 个转录因子可增加肝脏脂质生成,并抑制 IRS-1 介导的胰岛素信号途径;③腺苷单磷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 激活,AMPK 是细胞能量水平的感觉器,细胞 AMP 水平增加时 AMPK 被激活标志着能量储备减少,AMPK 活化可刺激 β 氧化和抑制脂质生成,影响肝 FA 组成改变和甘油三酯 (TG) 的贮积。

(二) 脂肪肝进展为脂肪性肝炎及肝纤维化

1. 线粒体内、外的 FFA 氧化 脂肪肝使肝细胞对内外源性毒害敏感性增加,在遗传和环境因素的影响下,氧应激使始终处于应激压力下的脂肪肝发生坏死、炎症和纤维化。NASH 肝内的多种代谢途径交互作用导致 ROS 生成,包括细胞色素 P-450 系统, NADPH 氧化酶、线粒体和过氧化酶体功能异常、环氧化酶、脂氧化酶途径及铁负荷状态。线粒体 MRC 功能不全可直接引起 ROS 产生增加。由于线粒体氧化障碍使胞质 FA 贮积,过氧化酶体 β 氧化和微粒体 ω 氧化途径相应被激活,致 ROS 产生格外增多。FFA 及其代谢物作为 PPAR α 配体可诱致 PPAR α 活性下降而上调 Cyp4A 活性。

Cyp2E1 不被 PPAR α 调节,正常情况下胰岛素可下调 CYP 2E1 活性,但 IR 时丧失此机制致 Cyp2E1 活性增高。微粒体 ω 氧化产物二羧酸可通过解偶联氧化-磷酸化作用损害线粒体功能。ROS、FFA、二羧酸、LPS 及 TNF α 均可上调 UCP-2 表达,促使线粒体 ATP 缺失和膜通透性转变,使肝对坏死和凋亡敏感性增加。

2. 脂质过氧化和 NASH ROS 介导的脂质过氧化不但与 NASH 的所有典型组织学改变的发生有关,而且 NASH 可激发系统性脂质过氧化及其代谢产物增高,参与诱致代谢综合征 (MS) 的发生。持久大量 ROS 产生可使肝细胞内大分子物质聚集和离子张力改变,细胞肿胀伴酶活性改变致发生气球样变。转谷氨酰胺酶活性增高使细胞角蛋白聚合及泛素标志蛋白贮聚则使肝细胞形成 Mallory 小体。细胞内膜和浆膜脂质过氧化可直接引起细胞坏死/凋亡和巨线粒体出现。肝细胞表达 Fas 配体由于其启动子含 NFkB 结合位点, Fas 配体与表达 Fas 的肝细胞相互作用可招致细胞死亡。MDA 和 HNE 与肝蛋白质共价结合形成的加合物可诱发损伤性免疫反应。LPO 增多及抗氧化物缺失可刺激库普弗细胞和肝窦其他常驻细胞表达和释放促炎症细胞因子、趋化因子、粘附分子及致纤维化的介质分子。氧应激/脂质过氧化可加重 IR 促使 MS 发生, CYP2E1 可介导 IR 与脂质过氧化增加两者之间的关系, CYP2E1 可代谢许多底物增加对氧应激的敏感性,使 NASH 表现肝内外脂质过氧化水平增高。血糖增高可诱致低密度脂蛋白 (LDL) 的糖化,而 CYP2E1 可催化 LDL 的氧化。最近报导, NASH 患者血清脂质过氧化产物氧化型 LDL (OX-LDL) 和硫代巴比妥酸反应性底物明显增高,表明 NASH 存在系统性对氧应激敏感,易受氧化和炎症应激物侵害。近来认为, CYP 2E1 和脂质过氧化可通诱致卵形细胞增生、P53 基因变异、上调促凋亡/抗凋亡因子、干扰细胞因子和生长因子、FA 代谢改变及其对前列腺素 E2 及 COX2 的代谢影响,参与诱发肝细胞癌。

3. 细胞因子和激素失衡 脂肪组织和脂变肝细胞可分泌许多脂肪细胞因子参与介导氧应激,实施二次打击。其中包括 TNF α 、抵抗素、瘦素和脂联素,在动物模型中抵抗素可抑制胰岛素作用,但人类 IR 或 II 型糖尿病均未见其表达增加。TNF α 作用靶点是线粒体,其对 ATP 的耗竭和肝毒性的多元化作用是 FLD 重要发病机理, Day 等认为二次打击主要来源是 FFA 和 TNF α 。近来的研究表明,脂肪肝和 NASH 患者血清 TNF α 和可溶性 TNF α 受体 2 (STNFR-2) 水平均见增高,但两者水平参差不齐, TNF α 和 STNFR-2 与炎症程度也无明显相关性。因此,普遍重视 TNF α 与脂联素失衡的影响。脂联素为 30Kda 的脂肪细胞补体相关蛋白,肝脏和肌肉存在脂联素受体,刺激肝脏脂联素受体可激活 AMPK 和 PPAR α , 起抗肝脂肪贮积作用。脂联素还具有抑制 NFkB

活化及抑制吞噬细胞功能的抗炎作用。脂联素和 $\text{TNF-}\alpha$ 对 IR 和炎症的影响作用正好相反。NASH 患者脂联素产生减少, IR 和 $\text{TNF-}\alpha$ 可抑制脂联素表达; 而低脂联素血症则进一步加剧 IR, 并诱致 $\text{TNF-}\alpha$ 表达增加, 肝对 ROS 和细胞因损害敏感性增加、肝内坏死和炎症加重。瘦素是 16Kda 肽类激素, 肝细胞表达大量瘦素受体, HSC 可参与瘦素生成。瘦素可激活 AMPK, 减少脂肪生成酶的表达及其活性, 限制脂肪在非脂肪组织中贮积。瘦素和胰岛素有重叠信号途径, 胰岛素可刺激瘦素分泌, 瘦素可抑制胰岛素分泌。NASH 患者存在的 IR 及 FFA、LPS、 $\text{TNF-}\alpha$ 、IL-1 等水平增加可诱致高瘦素血症, 但瘦素受体缺陷使之出现瘦素抵抗。高瘦素血症及瘦素信号障碍可干扰 IRS/PI3-K 信号途径, 增加磷脂丙酮酸羟激酶表达促进糖异生及肝糖输出促进 IR。瘦素可诱导 CYP 2E1 和 CYP 4A 表达增加脂质过氧化损害。瘦素抵抗和脂联素缺乏丧失了抗脂肪毒性保护能力, LCFA 或非酯化性 FFA 可由脂肪组织移位至非脂肪组织部位, 发生异位脂肪沉积, 并通过 FFA 衍生物神经胺、iNOS、LPO 增多伴抗凋亡因子 Bcl-2 表达减少, 表现脂肪毒性损害, 诱致 MS 的发生。

4. 纤维化形成 FLD 纤维化显形表达与 HSC 活化、细胞外基质 (ECM) 基因表达及血管新生有关。IR、 $\text{TGF-}\beta 1$ 活化、ROS、脂质过氧化产物、细胞因子、HSC 的 PPAR α 退化或失活、肝细胞损害释放的产物、铁负荷及 GSH 缺失等, 均可直接或间接的促纤维化形成。NASH 患者 HSC 及肝窦内皮细胞 $\text{TGF-}\beta 1$ 受体 endoglin 表达增高。HSC 和库普弗细胞摄取凋亡小体可释放 $\text{TGF-}\beta 1$, 并增加 ECM 的分泌。脂质过氧化产物可增加巨噬细胞产生 $\text{TGF-}\beta 1$, 并使活化的 HSC 产生 ECM 增多。瘦素可通过增加 HSC、库普弗细胞及肝窦内皮细胞释放 $\text{TGF-}\beta 1$ 增多及直接刺激 HSC 产生 ECM 增多, 促进纤维化的形成。脂联素缺乏则可诱致内皮细胞炎症反应及平滑肌细胞增殖。NASH 患者结缔组织生长因子表达明显增高, 葡萄糖和胰岛素均可增加其合成。NASH 血管紧张水平增高, 活化的 HSC 表达 AT-II 受体, AT-II 除可增加 $\text{TGF-}\beta 1$ 产生外, 还可增加 IR 和组织铁沉积。NO 介导途径除通过氧应激相关肝损害诱致纤维化外, 还可能通过引起肝微循环障碍诱致血管新生反应及肝再生反应。

三、氧应激损害的治疗对策

(一) 基本对策

1. 清除氧应激诱发因素 病因治疗及减少继发性应激或内在应激, 如缺血-再灌注、夜间缺氧 (阻塞性睡眠呼吸暂停综合征)、营养毒性、酒精、药物、毒性胆汁酸、肠源性内毒素血症等。

2. 改善细胞氧化还原状态 阻止或减少自由基生成, 补充抗氧化剂。

3. 减少继发性细胞损害 阻断肝脂肪贮积和异位脂肪沉积、抗坏死/凋亡、抗炎症活性及抗肝纤维化形成。

(二) 干预手段

1. 饮食干预 动物实验及 NASH 患者的观察表明, PUFA 和富含天然抗氧化剂的饮食, 可改善 IR、减少 SREBP-1 表达及减少 cyp2E1 活性。

2. 药物干预 抗氧化剂、NOS 选择性抑制剂、秋水仙碱、别嘌呤醇、钙通道阻断剂、血管紧张素抑制剂、抗醛固酮药物、AMPK 激动剂 (如二甲双胍及噻唑烷二酮类)、肠道净化剂、MPT 抑制剂/抗凋亡剂、抗炎症/细胞因子、 $\text{TGF-}\beta$ 抑制剂、促肝细胞再生剂等, 均在动物实验或临床用于抗氧应激损害治疗。

3. 基因干预 包括氧化还原基因 (redox gene)、细胞因子/死亡受体、死亡信号、TOLL 样受体/NF κ B 通路、肝再生及存活基因表达等治疗途径。体内外试验表明, 腺病毒介导的 iNOS 基因转变可抑制肝细胞凋亡; NO 供体 V-PYRRO/NO 和 NOC18 可阻断 $\text{TNF-}\alpha$ 诱致的肝细胞凋亡及毒性损害; 腺病毒传递 SOD 基因、逆转录病毒载体及谷胱甘肽-S-转移酶 (GST) 和触酶的诱导可减轻氧应激相关肝损害; 小干预性 RNA (small interfering RNA, siRNA) 的有效传递可作用 Fas 和 caspase 8 使免受肝损伤; 肝细胞生长因子 (HGF) 基因治疗可起抗凋亡和促肝再生作用。

(三) 抗氧化剂的临床作用

1. 抗氧化剂的作用 抗氧化剂具有减少 ROS 产生、抑制脂质过氧化、增加细胞脱毒能力、稳定生物膜的作用。目前临床应用的 GSH、磷脂酰胆碱、熊去氧胆酸、S-腺苷甲硫氨酸、甜菜碱、N-乙酰半胱氨酸、牛黄酸、甘草酸、水飞蓟、硫普罗宁、美他多辛、肉毒碱、NO 供体、二氯乙酸二异丙胺、乙酮可可碱、Vitc、VitE、锌及硒有机化合物等, 依其不同的化学结构或多或少具有抗氧化剂的基本作用。近来对一些经典的抗氧化剂研究表明, 它们并不是自身直接消除氧化物, 而是通过活化与抗氧化反应成分相关的基因, 刺激内源性抗氧化物的产生起作用。基于体外及动物实验的观察, 抗氧化剂可能影响肝脏多种结构和功能基因的表达, 其中涉及 MPT 及 $\text{TNF-}\alpha$ -NF κ B 改变相关基因、细胞信号转导相关基因、离子通道/运输蛋白基因、炎症免疫反应相关基因、HSC 活化及其反应性基因、细胞外基质和粘附分子基因、糖脂代谢和生物转化相关基因等。抗氧化剂的多功能内涵无疑的将推动其临床研究, 进而以确认其临床应用价值。

2. 药物动力学特点 抗氧化剂与其靶氧化物反应的脱毒能力, 与反应速率常数及其可达到的浓度有关。此两因素的倍增产生抗氧化剂的预期效果。ROS 可发生在细胞内和细胞外部, 而抗氧化物及其酶类主要在细胞内作用, 因此,

循环状态、细胞微环境改变、抗氧化剂的脂溶性或水溶性性状均含影响对 ROS 的清除。SOD 和触酶等清除酶由于其分子量大不能进入细胞内靶点,特别是其半衰期太短不能达有效浓度,故难奏效。

3. 氧应激标志物的检测 血浆或红细胞氧应激标志物的检测,有助力监视肝损害的进展及评估其治疗反应,其中包括 GSH、GSH/GSSG 比值、GST、GSH-PX、亚硝基硫醇(S-NO)、VitA、 β 胡萝卜素、SOD、触酶、TRX、硒、锌、MDA 及 LPO 等。血浆与肝的 GSH 浓度之间呈正性平行关系, GSH 的水平减少伴 GSSG 水平增加被认为是反映细胞氧应激的指标,而 GST 的水平改变则是监察治疗反应的较好指标,由乙醇诱致氧应激的体内观察表明,氧应激的出现呈剂量依赖性

和时间依赖性特点,伴有抗氧化状态的相应改变,并存在着组织反应的差异。GSH/GSSG 比值改变在早期即出现, SOD 活性减少则呈剂量依赖性表现,而触酶活性可无改变;随着摄酒时间的延长, GSH 水平在肝脏和其他器官均见降低,触酶活性可下降,但 SOD 活性却见增高,肾脏的表现则相反,即 SOD 减少而触酶增高。

4. 药物的安全性 线粒体电子转运复合物异常时,有些抗氧化剂可因诱致电子流增加,促使 ROS 产生而诱发肝损伤。近来发现有些 SOD 模拟物可促进 Cyp2E1 过度表达,也有潜在肝毒性的作用。此外, VitC 可还原 Fe^{3+} 为 Fe^{2+} , 后者本身也可催化 ROS 形成,损伤线粒体。

脂肪肝的动物模型

浙江大学医学院附属第一医院 厉有名

脂肪肝日益受到人们关注,它可以逐步导致各期肝病,从单纯的脂肪变性到脂肪性肝炎至进展期肝纤维化,直至肝硬化。就象人类一样,实验动物脂肪肝也与肥胖、糖尿病、脂质代谢障碍血症及酒精摄入等密切相关。在此介绍脂肪肝的动物模型,并用这些动物模型来研究脂肪肝的发病机理。模型动物大多采用大鼠或小鼠,由于基本缺陷或对进食后饱胀感的耐受,喂食高能量的饮食或给予含酒精的食物导致其肝脏脂肪变性。

一、饮食导致的脂肪肝

1 高脂饮食

给动物喂饲高脂饮食,几乎所有的物种都可以导致肥胖,这在猪、狗、猫、啮齿类动物学身上都有证明。是国内最常用的非酒精性脂肪肝(NASH)模型,常用的模型动物有大鼠、家兔及豚鼠等。利用高脂饮食诱发肥胖的发病机理,根据对高脂饮食敏感性不同的小鼠,来筛选基因的不同性。

在大鼠中已观察到高脂饮食导致不同的体重增长率。研究表明,存在一个高脂食谱的阈值,低于此,动物不会发胖,转折点是脂肪在食物中含有 20% 的能量。相对而言,高脂饮食的时间很有价值。给予高脂饮食 18 周后转而给予低脂饮食可造成体重逆转,相反,高脂饮食超过 30 周就难以逆转了。所以喂饲时间的长短在体重能否逆转上起着重要作用。研究发现,同样饲于高脂食物,不同动物表现出不同的特征,OM 大鼠会发胖,而 SSB/BI 大鼠则不发胖。有时特征包括对脂肪酸的反应不同,向 S5B 大鼠十二指肠注入油酸可导致其进食完全停止;而对 OM 大鼠的抑制都是逐步的。给 Spague-Dawley 大鼠喂饲食含脂肪能量占 71% 的食物可以制造出非酒精性脂肪肝的大部分形态特征。包

括脂肪肝、炎症、异常线粒体、胰岛素抵抗的生化证据,细胞因子、P4502E-1 增高,氧化应激,胶原含量增高。

2 高蔗糖-果糖饮食

利用雄性 wister Sprague-Dawley 大鼠观察对蔗糖/果糖造成脂肪肝的反应,前者更为敏感。例如,饲以含 10% 蔗糖的水,雄性 wrster 大鼠 D 在 48 小时内即可观察到脂肪合成,雄以比雌性大鼠更为敏感。

3 鱼油在雌性大鼠中的作用。

喂饲雌性大鼠鱼油占 35% 卡路里的食物及右旋葡萄糖灌胃发展或脂肪肝坏死、炎症,与人类 NASH 相似,病理发现合并有 NF-Kb 结合活性增高, TNF-2、Cox-2 水平提高及脂质过氧化。雄性大鼠喂食类似饮食未发现病理等改变。TNF-2 和 Cox-2 水平的升高令人感兴趣,因为这两种介质都在酒精得的肝损伤中起作用。其病理表现类似于人类的 NASH。

4 酒精

摄入酒精可导致大鼠、小鼠肝脏脂肪变性。国内外有许多造膜方法,主要有 Liber-Decarli 液体食料、酒精灌胃模型和 Tsukamoto-French 大鼠模型等。Liber-Decarli 液体食料有商品话出售,它由 Liber 和 Decarli 配制,是含酒精和全营养素的液体食料,既能保证实验大鼠摄取足量酒精,又能防止长期酒精摄入引起的营养不良。1984 年 Tsukamoto-French 等给 SD 大鼠手术植入胃管,持续注入含酒精的液体食料以维持大鼠的血酒精浓度,造成的脂肪肝动物模型符合进行性酒精性损伤的演变规律。另有不少酒精灌胃模型,我们用红星牌二锅头给大鼠灌胃——

5 蛋氨酸及胆碱缺乏的饮食

现已知动物喂饲胆碱缺乏的饮食可以导致脂肪变性。

胆碱及其衍生物在保持细胞膜结构的完整性、甲基代谢、胆碱能神经传递、跨膜信号、脂肪、胆固醇转运及代谢中起重要的作用。

胆碱也是合成磷脂酰胆碱(PC)的基本原料。PC是肝脏和胆道中重要的磷脂。由于每日PC的分泌量等于肝脏PC的总量,所以,每日合成PC的量是非常高的。在野生动物中,脂肪变性很可能是由于VLDL相低密度脂蛋白的分泌缺陷引起。与动物喂饲胆碱缺乏饮食后仅仅造成脂肪变性不同,喂MCD(缺乏蛋氨酸和胆碱的饮食)后可形成纤维化的脂肪性肝炎。

NASH和酒精性脂肪性肝炎的发病机制也可能有类似之处。细胞色素P4502E1(CYP α E₁)——一种ROS的可能来源之一。在喂食大鼠缺乏蛋氨酸及胆碱的高脂饮食时明显升高。MCD饮食喂养诱导的CYP2E1酶催化激活,并与肝脏脂肪过氧化逐步积累有关,但CYP2E1^{-/-}小鼠被喂食MCD饮食后也能造成脂肪性肝炎,提高其它因素也在脂肪过氧化生成中起重要作用。例如CYP4A10和CYP4A14在CYP2E1缺乏动物身上上调,它能造成脂肪过氧化,然而,肝脏甘油三酯的软化(更新)包括PPAR α 依赖通道的药理学活化。尽管明显诱导了CYP4A10及CYP4A14,它仍可以保护MCD喂养小鼠的脂肪性肝炎,为进一步评估PPAR α 在MCD饮食感性中的作用,PPAR^{-/-}小鼠喂食MCD饮食后发生严重的脂肪性肝炎,而对照饮食喂养小鼠仅显示轻度小叶炎症的脂肪变性,重要的是尽管脂肪水氧化反应和脂肪性肝炎发生在PPAR α ^{-/-}小鼠喂食MCD,皆不能诱导CYP2E1及CYP4A。所以PPAR α 激活可能增强脂肪转换,去除脂质过氧化产物,于是保护了脂肪性肝炎的发生。

喂食MCD饮食小鼠中研究脂肪酸构成和肝脏基因表达发现,编码酶脂酰基辅酶A类饱和酶(Scd-1)的MRNA明显降低,SCD-1催化棕榈酸(16:0)转化与棕榈油酸(16:1)和硬脂酸(18:0)→转化为油酸(18:1)。棕榈酸及硬脂酸用来衡量MCD小鼠肝脏的重要指标,估计饱和脂肪酸是用来合成神经酰胺转磷酸胆碱酶的底物,后者能导致脂肪毒性。

另一条生物合成磷脂酰胆碱(PtdCho)的通道(被认为是PtdCho较少来源),是通过磷脂酰-乙醇胺-N-甲基转移酶(PEMT),PEMT通路产生不同的物种不同的Ptd,Cho轮廓。CPP-胆碱通路形成种类主要包括饱和脂肪酸,而PEMT通路合成的PtdCho包括更多的长链多不饱和脂肪酸,当给Pemt^{-/-}小鼠喂食胆碱缺乏而蛋氨酸含量不足的饮食,更多的肝细胞膜表面PtdCho合成减少,导致严重的肝功能损伤甚至死亡。在比较喂食不同胆碱含量饮食,雌、雄性鼠的研究中发现,Pemt^{-/-}小鼠形成脂肪变性和需要饮食中更多的胆碱来维持正常用于PtdCho浓度,这令人感到奇

怪,因为PEMT通路被认为是PtdCho的少量来源,雌性小鼠比雄性鼠更能耐受胆碱缺乏。

蛋氨酸化代谢的第一步是它转变成5-腺苷-谷氨酸(甲硫腺)(AdoMet),此反应被蛋氨酸-腺苷转移酶催化,由于AdoMet是基本甲基供体,是多胺合成中丙胺的来源,MAT gene对器官的存活尤其重要,在哺乳动物中,MAT1A和MAT2A编码两个同源,催化亚基a1和a2的基因,MAT1A仅在肝脏表达,而MAT2A则广泛分布。

MAT1A基因变异导致高蛋氨酸血症,此情况支持肝脏是蛋氨酸代谢的基本组织。当MAT1A缺陷基因小鼠给予正常饮食,肝脏组织学表现正常,给予胆碱缺乏的饮食,基因敲除小鼠可发展成严重、大空泡脂肪变性和局部单个核细胞浸润,而在正常小鼠仅为轻度的小空泡脂肪变性。MAT1A基因敲除小鼠肝AdoMet和谷胱甘肽水平特别低,基因敲除小鼠的基因表达轮廓(图谱)显示,参与碳水化合物及脂肪代谢的基因表达异常,此与其肝脏中甘油三酯含量高达正常的5倍有关。基因敲除小鼠中也观察到脂质过氧化水平与细胞色素,P4502E1及Ucp2相关。

除了作为许多生物反应中的甲基提供者,AdoMet在保持肝细胞不同状态中起重要作用,在脂肪性肝炎的小鼠中几个特殊的蛋白,主要4个蛋白(PHB₁、COX1及2、ATP酶B亚基)在线粒体的功能上起作用。上述一些蛋白如COX参与给氧分子转运电子,可能解释MAT1A小鼠肝脏氧化应激增加。PHB1表达可以导致COX功能丧失。在ob/ob小鼠肝脏中也明显下降,在MAT1A^{-/-}小鼠中的结果提示线粒体蛋白减少,PHB₁和COX在脂肪性肝炎发展前存在良好,可能有一种机制,即AdoMet缺陷可能导致线粒体功能降低,使肝脏发展为氧化应激(状态)。

6 与瘦素缺乏有关的脂肪肝模型

1994年发现的瘦素使我们更了解了能量代谢和进食行为。瘦素是ob基因的产物,是一种脂肪细胞的激素,与其在下丘脑神经元的信号受体结合,激发了一系列链式反应,抑制食欲,提高能量消耗。瘦素缺乏的小鼠过度进食和肥胖提示瘦素防止肥胖的生理功能。最近有证据表明瘦素的首要功能不仅仅是防止肥胖,还能允许过度营养、体内脂肪沉积,导致不含脂肪的组织代谢性损伤。瘦素通过这些受体,限制系统的卡路里储存在脂肪细胞中,减少非脂肪细胞内脂肪变性导致的损伤,瘦素除了调节进食和脂肪多少,在生殖、免疫、骨代谢中也起作用。

ob/ob小鼠由于ob基因先天性丧失功能,它的瘦素基因有缺陷,可表现为类似于人类在NAFLD病人中的种种缺陷,脂肪变性和脂肪性肝炎、肥胖、糖尿病、脂代谢障碍血症。转基因小鼠给予高脂饮食20周以观察瘦素在生理过程中的具体作用,结果,上述转基因小鼠快速肥胖,说