DOI:10.15972/j.cnki.43-1509/r.2017.05.027

·小专论·

自噬与脂质代谢的研究新进展

宁 洁[1,2,3],刘 娇[1],廖端芳[2*]

(1.深圳市龙华区中心医院,广东 深圳 518110;2.湖南省中医药大学干细胞中药调控与应用研究室;3.湖南省第二人民医院)

摘 要: 自噬是细胞内分解、清除聚合大分子及老损细胞器的一系列重要的代谢过程。肝脏和脂肪组织是脂质代谢的主要部位。“噬脂”是除了胞浆脂肪酶途径外,脂肪分解的另一重要途径。脂质急需期、短期内脂质增加,肝脏自噬水平增强,长期高脂饮食和肥胖者,肝脏自噬水平减弱。同时,自噬干预脂肪细胞分化方向。调控自噬可作为治疗非酒精性脂肪性肝病、肥胖等慢性代谢性疾病的一个新靶点。

关键词: 自噬; 脂质代谢; 药物

中图分类号:R589.2 **文献标识码:**A

自噬是细胞在自噬相关基因(autophagy related gene,Atg)的调控下降解胞内大分子物质及老化或损坏的细胞器,如高尔基体、线粒体、内质网、过氧化物酶体等的一系列重要的代谢过程。自噬是唯一能够转运大分子到溶酶体的途径,该途径参与细胞自主清除胞内物质,降解产物氨基酸、脂肪酸被运送到细胞浆去,供细胞重新利用,生成 ATP 提供能量,残渣被排出细胞外,最终实现细胞的物质代谢、能量代谢、细胞更新。但如果该功能受损,细胞只能通过其他途径导致细胞死亡,然后被巨噬细胞吞噬。

细胞内脂质成分以甘油三酯(triglyceride,TG)和胆固醇酯(cholesteryl ester,CE)为主,以脂滴(lipid drop,LD)的形式存在,LD 并非脂肪细胞特有,还可存在于肝细胞和肌肉细胞等组织细胞中。LD 在脂类代谢、存储、膜转运、蛋白降解中起着重要的作用。除胞浆脂肪酶途径外,LD 发生自噬是调节细胞内脂质平衡的另一个重要途径。脂质进入自噬体后被运送到溶酶体,降解为脂肪酸,称为脂肪耗失,又称“噬脂”,是自噬调节脂质代谢的主要途径[1]。自噬主要作用于机体肝脏和脂肪组织,对于调节机体脂质代谢的平衡至关重要。

细胞内脂质自噬水平随营养状况不同而有所改变。脂质急需期、短期内脂质增加如高脂饮食初期,自噬水平增强,从而使过多脂质分解,为 β-氧化或其他途径提供脂肪酸,大部分细胞激活巨自噬以防止胞内脂质蓄积;而长期高脂饮食和肥胖者,肝脏自噬水平减弱。脂肪酸可促进 LD 生长并修复损坏的 LD,这是脂质分解释放的游离脂肪酸产生的反馈抑制所致,但是长期高脂饮食和肥胖者的体内这种反馈抑制却起相反的作用[2]。

1 自噬在肝脏脂质代谢中的作用

1.1 自噬与肝脏脂质代谢紊乱的相互影响 既往研究表明,在高脂饮食、慢性肥胖和胰岛素抵抗的小鼠模型中,持续性脂质上升,胞内 LD 长期蓄积导致肝细胞自噬水平降低,自噬体与溶酶体融合效率降低,抑制 TG 的 β 氧化,TG 与 CE 一起形成的 LD 数目和体积增加,导致非酒精性脂肪性肝病(Nonalcoholic Fatty Liver Disease,NAFLD)等疾病。体外实验发现肝细胞自噬功能被抑制时不影响脂质的生成和分泌,但可导致脂质 β 氧化速率降低,从而导致胞浆 LD 蓄积。

极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein,VLDL)是肝输出的主要脂质,运输内源性 TG 及部分 CE。载脂蛋白 B100(apolipoprotein B100,apoB100)是 VLDL 的载脂蛋白,主要由肝细胞合成,是 VLDL 组装及分泌所必需的,因此肝脏输出 VLDL-TG 的量由脂蛋白颗粒中 TG 的量及 apoB100 的量决定。而肝内 apoB100 总量并非由 apoB100 合成水平调控,而由 apoB100 降解水平决定,Apo B100 的降解主要是内质网相关性降解,但自噬同样可以分解 apoB100。NAFLD 肝组织脂质贮存增加,且存

收稿日期:2016-11-29;**修回日期:**2017-07-30

* **通讯作者**,E-mail:dfliao@hotmail.com.

在输出 VLDL 颗粒障碍导致 TG 肝内蓄积,诱导自噬可减少脂质蓄积。

1.2 肝细胞的自噬调节机制 以往研究表明,自噬的调节途径有 3 种,其中Ⅰ型 PI3K/Akt/mTOR 信号途径和Ⅲ型 PI3K/Beclin1 通路被认为是自噬的经典信号通路。第 3 种调节途径是由自噬基因 Atg3 和 Atg7 调节的 LC3-Ⅰ与膜脂质磷脂酰乙醇胺结合形成 LC3-Ⅱ的过程。最近研究表明,在 NAFLD 的肝细胞中还存在调控自噬的其他信号调节通路。①ATGL-SIRT1 途径:既往认为肝脏 LD 由脂肪酶催化分解,如甘油三酯脂肪酶(adipose triglyceride lipase, ATGL),或者通过“噬脂”途径分解,Aishwarya Sathyanarayan 等发现此两种途径均需要 ATGL 参与,ATGL 活化去乙酰化酶 1(sirtuin1, SIRT1),SIRT1 可去乙酰化多个自噬重要蛋白如 ATG5、ATG7、ATG8 等,同时还可调控 PGC-1α、PPARα 从转录水平调控自噬[3]。②TAK1、JNK 信号通路:TAK1、c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)通路均隶属于 MAPK 通路。Tu[4]观察到对 JNK2 进行干扰后,自噬活性降低,JNK2 基因可能参与自噬的非经典途径的调节。Sayaka Inokuchi-Shimizu 等[5]发现 TAK1 激活下游 IKK-NF-κB、JNK,启动自噬,改善 NAFLD。③AMPK/ULK1 信号途径:Jiang 等[6]用 H_2O_2 和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)处理脂肪酸培养的小鼠和人 HepG2 细胞,发现 H_2O_2 和 TNF-α 能够激活自噬,细胞中磷酸化 ULK1(一种与酵母 Atg1 蛋白同源的哺乳动物自噬调控蛋白)、磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶(Adenosine Monophosphate Activated Protein Kinase, pAMPK)显著升高,证明 AMPK 参与由氧化氢和肿瘤坏死因子-α 激活 ULK1 的过程,引发 HepG2 细胞自噬启动。④PKCα 途径:Cai 等[7]用软脂酸钠(palmitic acid sodium, PA)培养肝细胞发现 PA 可激活自噬。PKCα 是蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)家族中的一员,通过检测肝细胞中的 PKCα 后发现存在磷酸化的 PKCα,证明其被激活,因此认为 PA 可能是通过激活 PKCα 途径[7]。⑤p53-PUMA-Bax 信号通路:此通路是介导细胞凋亡发生的经典信号通路。自噬也被认为是一种促细胞凋亡机制,引起Ⅱ型程序性细胞死亡[8]。⑥SREBP-2/PNPLA8 轴:Kim 等[9]发现洛伐他汀联合伊泽替米贝通过 SREBP-2/PNPLA8 轴调控自噬改善 NAFLD。⑦MAPK1/3 信号通路:Yuzhong Xiao 等[10]激活 MAPK1/3 可改善瘦素受体缺乏小鼠(db/db 小鼠)肝脂肪变性,同时发现 MAPK1/3 可激活自噬,而采用氯喹或者 ATG7 敲除处理 db/db 小鼠后,可阻断 MAPK1/3 对肝脂肪变性的改善作用。此外,成纤维细胞生长因子 21(fibroblast growth factor-21, Fgf21)、磷酸化热休克蛋白 27、转录因子 E3、GTP 酶发动蛋白-2(dynamin-2, DNM2)心磷脂酰基转移酶 1(lysocardiolipin acyltransferase 1, ALCAT1)等[11]多个因子均可参与调控自噬改善 NAFLD。而 Lin YC 等[11]研究表明免疫相关 GTP 酶家族 M(immunity-related GTPase family M, IRGM)基因变异可改变人体“噬脂”能力从而使人体易感 NAFLD。

2 自噬在脂肪细胞中的作用

2.1 自噬调控成脂细胞分化 脂肪细胞主要有两类,白色脂肪细胞和棕色脂肪细胞。白色脂肪组织是可导致肥胖的脂肪储存组织,而富含线粒体的棕色脂肪组织分解葡萄糖和脂类产生热量而非 ATP。自噬调控前脂肪细胞的分化,抑制自噬可阻止白色脂肪组织的分化。Hahm 等[12]观察到在小鼠 3T3-L1 前脂肪细胞和鼠胚胎成纤维细胞(Mouse Embryonic Fibroblasts, MEFs)的分化过程中,细胞内均发现 LC3-Ⅱ的表达、AMPK 的活性及酸性囊泡的形成,而抑制细胞自噬水平,则前脂肪细胞内 LD 的聚集受阻,使得前脂肪细胞分化为成熟脂肪细胞的过程受到抑制。特异性敲除自噬基因 Atg7、沉默自噬基因 Atg5 或使用自噬抑制剂(如氯喹、α-硫辛酸、3-MA)的小鼠白色脂肪组织均表现出明显棕色脂肪组织的典型特征[2,12]。这些结果表明自噬是正常白色脂肪细胞生成所必需的。

2.2 自噬调控脂肪细胞分化的机制研究 自噬调控脂肪细胞分化的机制目前尚不明确,自噬缺陷能改变前脂肪细胞分化方向,可检测到脂肪细胞分化标记物和脂肪形成相关转录因子水平发生变化 Atg5 基因敲除的 MEFs 细胞内的 TG 含量及与成脂分化有关的一系列蛋白的基因表达量均低于野生型 MEFs[13-14]。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ(PPAR-γ)是调控脂肪细胞分化的主要转录因子,采用自噬抑制剂氯喹和 RNA 干扰 Atg5 后,发现 3T3-L1 前脂肪细胞 PPAR-γ2 蛋白水平减少,阻止成脂的分化,而解偶联蛋白 1 和 PPAR-γ1 这些棕色脂肪细胞的标志物升高。Zhao 等[14]发现在 $Atg7^{-/-}$

小鼠白色脂肪组织中，过氧化物酶体增殖物激活受体γ辅激活因子1α(peroxlsome proliferator-activated receptor-γ coactivator-1α，PGC-1α)的表达增加。Kim KH 等发现自噬缺陷促进 Fgf21 的表达，PGC-1α、Fgf21 均能使白色脂肪组织具有棕色脂肪组织的特征[13]。此外，促炎症消退介质 maresin-1 可抑制 3T3-L1 前脂肪细胞肿瘤坏死因子 TNF-α 引起的脂质分解和自噬[15]。内吞蛋白 1(Bax-Interacting factory 1，Bif1)也是维持脂质代谢平衡的一个重要影响因子，而高脂饮食诱导的肥胖或下调 Bif1 表达，可抑制脂肪组织自噬[16]。

3　自噬与肝脏及脂肪组织脂质代谢紊乱相关疾病

NAFLD 以肝脏 TG 积聚和脂类代谢紊乱为特征。持续的饥饿或长期营养过剩可导致肝脏发生自噬以调控 LD 的生长，若在此条件下无法上调自噬水平，将会导致良性脂质积累，表现为 NAFLD，并不断加剧进展至非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis，NASH)和肝硬化的过程。目前认为 NAFLD 是在整个机体代谢紊乱状态下的肝脏病变，常见的代谢综合征危险因素如肥胖、胰岛素抵抗、血脂异常和高血压等对其进展有影响。考虑 NAFLD 与胰岛素抵抗相关，研究表明运动锻炼、GLP-1 类似物、胃空肠 Roux-en-Y 吻合术均能改善 NAFLD，此外大量的中药成分，如芸香苷、蜂胶多糖、木通皂苷 D、白藜芦醇、虾青素、佛手柑多酚、咖啡因、咖啡、表没食子儿茶素没食子酸酯、枸杞多糖等均可通过自噬改善 NAFLD。此外，活性维生素 D3、亚硝酸钠、脂联素类似物、伊泽替米贝、钙离子通道阻滞剂均可改善 NAFLD。

肥胖是一种脂质代谢异常、体内脂质尤其是 TG 蓄积过多使人体超重的病理状态。白色脂肪组织的过度沉积与肥胖症、2 型糖尿病、高血脂、心血管疾病以及乳腺癌等疾病的发生密切相关。早期研究认为成人体内脂肪细胞数量是恒定的，肥胖个体病理主要表现为脂肪细胞体积增大。近年来研究表明成人体内脂肪细胞每年存在约 10%的更新，这提示成人脂肪组织中也存在前体细胞向成熟脂肪细胞的分化。肥胖人群脂肪组织的自噬活性是增强的。肥胖小鼠脂肪组织自噬小体蓄积，但自噬清除能力下降[17]。3T3-L1 细胞线粒体解偶联诱导的脂肪酶如 HSL/ATGL 分解脂肪，自噬为其调控机制之一[18]。

4　小结与展望

肝脏与脂肪组织脂质代谢受自噬调控的方向截然相反，同一种药物是否对肝脏及脂肪组织自噬的干预方向相反，需要进一步验证。如 Slutsky N 等[19]发现肥胖患者脂肪组织自噬活性增加，内分泌功能紊乱，这可能与脂联素分泌减少有关。而 Guo R 等[20]发现脂联素缺乏可改善高脂饮食引起的自噬障碍及肝脏损伤。自噬主要对脂肪细胞分化方向产生影响，目前药物研究较少。药物干预脂质代谢研究多集中在药物干预自噬对血脂、肝脏脂质代谢或 NAFLD 的影响，研究药物临床应用少，其人群有效性及安全性研究数据缺乏。需注意的是，目前细胞自噬对代谢的研究只在动物模型中进行，自噬作用的调控作用也只在一定生理范围内进行分析。目前脂肪组织与肝组织对于脂肪代谢紊乱治疗自噬调控的方向不一致，因此这为治疗药物的选择带来难度，且未来自噬调控治疗方案的选择需考虑组织特异性。

参考文献：

[1] Cingolani F，Czaja MJ.Regulation and functions of autophagic lipolysis[J].Trends Endocrinol Metab，2016，27(10)：696-705.

[2] Singh R，Kaushik S，Wang Y，et al.Autophagy regulates lipid metabolism[J].Nature，2009，458(7242)：1131-1135.

[3] Sathyanarayan A，Mashek MT，Mashek DG.ATGL promotes autophagy/lipophagy via sirt1 to control hepatic lipid droplet catabolism[J].Cell Rep，2017，19(1)：1-9.

[4] Tu QQ，Zheng RY，Li J，et al.Palmitic acid induces autophagy in hepatocytes via JNK2 activation[J].Acta Pharmacol Sin，2014，35(4)：504-512.

[5] Inokuchi-Shimizu S，Park EJ，Roh YS，et al.TAK1-mediated autophagy and fatty acid oxidation prevent hepatosteatosis and tumorigenesis[J].J Clin Invest，2014，124(8)：3566-3578.

[6] Jiang P，Huang Z，Zhao H，et al.Hydrogen peroxide impairs autophagic flux in a cell model of nonalcoholic fatty liver disease[J].Biochem Biophys Res Commun，2013，433(4)：408-414.

[7] Cai N，Zhao X，Jing Y，et al.Autophagy protects against palmitate-induced apoptosis in hepatocytes[J].Cell

Biosci, 2014, 4: 28.
[8] Liu K, Lou J, Wen T, et al. Depending on the stage of hepatosteatosis, p53 causes apoptosis primarily through either DRAM-induced autophagy or BAX[J]. Liver Int, 2013, 33(10): 1566-1574.
[9] Kim KY, Jang HJ, Yang YR, et al. SREBP-2/PNPLA8 axis improves non-alcoholic fatty liver disease through activation of autophagy[J]. Sci Rep, 2016, 6: 35732.
[10] Xiao Y, Liu H, Yu J, et al. MAPK1/3 regulate hepatic lipid metabolism via ATG7-dependent autophagy[J]. Autophagy, 2016, 12(3): 592-593.
[11] Lin YC, Chang PF, Lin HF, et al. Variants in the autophagy-related gene IRGM confer susceptibility to non-alcoholic fatty liver disease by modulating lipophagy[J]. J Hepatol, 2016, 65(6): 1209-1216.
[12] Hahm JR, Noh HS, Ha JH, et al. Alpha-lipoic acid attenuates adipocyte differentiation and lipid accumulation in 3T3-L1 cells via AMPK-dependent autophagy[J]. Life Sci, 2014, 100(2): 125-132.
[13] Kim KH, Jeong YT, Oh H, et al. Autophagy deficiency leads to protection from obesity and insulin resistance by inducing Fgf21 as a mitokine[J]. Nat Med, 2013, 19(1): 83-92.
[14] Zhao L, Ha JH, Okla M, et al. Activation of autophagy and AMPK by gamma-tocotrienol suppresses the adipogenesis in human adipose derived stem cells[J]. Mol Nutr Food Res, 2014, 58(3): 569-579.
[15] Laiglesia LM, Lorente-Cebrian S, Lopez-Yoldi M, et al. Maresin 1 inhibits TNF-alpha-induced lipolysis and autophagy in 3T3-L1 adipocytes[J]. J Cell Physiol, 2017, 10.1002/jcp.26096.
[16] Liu Y, Takahashi Y, Desai N, et al. Bif-1 deficiency impairs lipid homeostasis and causes obesity accompanied by insulin resistance[J]. Sci Rep, 2016, 6: 20453
[17] Mizunoe Y, Sudo Y, Okita N, et al. Involvement of lysosomal dysfunction in autophagosome accumulation and early pathologies in adipose tissue of obese mice[J]. Autophagy, 2017, 13(4): 642-653.
[18] Demine S, Tejerina S, Bihin B, et al. Mild mitochondrial uncoupling induces HSL/ATGL-independent lipolysis relying on a form of autophagy in 3T3-L1 adipocytes[J]. J Cell Physiol, 2017, 10.1002/jcp.25994.
[19] Slutsky N, Vatarescu M, Haim Y, et al. Decreased adiponectin links elevated adipose tissue autophagy with adipocyte endocrine dysfunction in obesity[J]. Int J Obes (Lond), 2016, 40(6): 912-920.
[20] Guo R, Nair S, Zhang Y, et al. Adiponectin deficiency rescues high-fat diet-induced hepatic injury, apoptosis and autophagy loss despite persistent steatosis[J]. Int J Obes (Lond), 2017, 41(9): 1403-1412.

(本文编辑:蒋湘莲)

更正启示

《中南医学科学杂志》2016 年 9 月第 5 期第 519 页刊登的论文《斑点追踪成像技术对原发性高血压伴舒张性心力衰竭患者左心室整体收缩功能的临床评价》一文中:1."邹译娴[2]"更改为"邹译娴[2*]";2."*通讯作者,E-mail:yzouyang@126.com."更改为"*通讯作者,E-mail:107742967@qq.com"。