



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2021.05.022

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2021.05.022

· 继续教育园地 ·

二甲双胍治疗非酒精性脂肪性肝病的研究进展

王玉莹 刘蕴玲

[摘要] 目前 2 型糖尿病 (T2DM) 合并非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 的患病率增加,二甲双胍为一线控制血糖药物,可通过改善线粒体途径、改善内质网应激、激活自噬通路、调节脂肪因子和细胞因子、改善肠道菌群、减少肿瘤坏死因子表达等途径改善肝脏脂肪变性。二甲双胍影响 NAFLD 的可能机制将为治疗 T2DM 合并 NAFLD 提供依据。本文现对二甲双胍治疗 NAFLD 的研究进展作一综述。

[关键词] 二甲双胍; 非酒精性脂肪性肝病

[中图分类号] R575.5

[文献标识码] A

随着肥胖和糖尿病的流行,全球非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 的发病率和患病率均增加^[1-3]。目前我国成人 2 型糖尿病 (T2DM) 的患病率达 11.6%,T2DM 患者的 NAFLD 患病率高达 28%~70%^[4],但最佳治疗方案目前仍不明确。2018 年更新版“非酒精性脂肪性肝病防治指南”中提出控制血糖药物二甲双胍可作为治疗 NAFLD 的药物之一^[4],但是二甲双胍用于治疗 NAFLD 的有效性需要进一步临床研究证实。本文现对二甲双胍治疗 NAFLD 的研究进展作一综述。

一、二甲双胍治疗 NAFLD 的研究现状

目前多项研究表明,二甲双胍可改善肝脏脂肪变性程度。Garinis 等^[5]对不合并糖尿病的 NAFLD 患者给予小剂量二甲双胍联合饮食控制治疗 6 个月,发现其可改善肝脏脂肪变性程度,且与单纯饮食控制组比较,能更有效地改善患者的胰岛素敏感性、降低空腹血糖、升高血清脂联素水平,而单纯饮食组

无明显变化。Handzik 等^[6]给予 21 例 NAFLD 患者二甲双胍联合饮食控制治疗后发现,二甲双胍组患者的体重、BMI、腰围、臀围、 γ -谷氨酰转肽酶水平均显著下降,胰岛素抵抗程度有所改善,但转氨酶及脂质水平未见明显变化,经瞬时弹性成像系统 (FibroScan) 测量的受控衰减参数显著下降,经 5 个月治疗的肝脏硬度较基线水平也下降。Feng 等^[7]给予 T2DM 合并 NAFLD 患者二甲双胍治疗 24 周,发现其转氨酶水平显著下降,肝脏内脂肪含量的变化与 ALT、甘油三酯 (TG)、体重下降呈正相关。基于上述结果认为,二甲双胍可作为治疗 T2DM 合并 NAFLD 的候选药物。

二甲双胍可通过减少糖异生、刺激骨骼肌葡萄糖摄取、增加脂肪组织的脂肪酸氧化和改善外周胰岛素敏感性从而降低血糖水平。二甲双胍也可作用于肝细胞,并通过腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 依赖和 AMPK 不依赖途径抑制肝葡萄糖产生。AMPK 是细胞内能量代谢的重要调控因子,可通过感受 ATP/AMP 的变化调节细胞内糖及脂肪的代谢^[8]。

在分子水平上认为二甲双胍可通过激活肝激酶 B1 (LKB1) 上调 AMPK,AMPK 活化后使乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) 和 3-羟基-3-甲基-戊二酰辅酶 A 还原酶失活,下调其靶基因肝脏脂肪酰合成酶 (FAS) 在肝细胞内的表达,激活丙二酰辅酶 α 羧化

作者单位:250117 济南,山东第一医科大学 山东省医学科学院 (王玉莹);山东第一医科大学第一附属医院 山东省千佛山医院老年医学科 (刘蕴玲)

通讯作者:刘蕴玲,E-mail:liuyunling1965@163.com

- [12] Debeurme F, Lacout C, Moratal C, et al. JAK2 inhibition has different therapeutic effects according to myeloproliferative neoplasm development in mice [J]. J Cell Mol Med. 2015, 19(11):2564-2574.
- [13] Zhang M, Xu CR, Shamiyeh E, et al. A randomized, placebo-controlled study of the pharmacokinetics, pharmacodynamics, and tolerability of the oral JAK2 inhibitor fedratinib (SAR302503) in healthy volunteers [J]. J Clin Pharmacol, 2014, 54(4):415-421.
- [14] Zhang M, Xu C, Ma L, et al. Effect of food on the bioavailability and tolerability of the JAK2-selective inhibitor fedratinib (SAR302503): Results from two phase I studies in healthy volunteers [J]. Clin Pharmacol Drug Dev, 2015, 4(4):315-321.
- [15] Ogasawara K, Zhou S, Krishna G, et al. Population pharmacokinetics of fedratinib in patients with myelofibrosis, polycythemia vera, and essential thrombocythemia [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2019, 84(4):891-898.
- [16] Pardanani A, Harrison C, Cortes JE, et al. Safety and Efficacy of Fedratinib in Patients With Primary or Secondary Myelofibrosis: A Randomized Clinical Trial [J]. JAMA Oncol, 2015, 1(5):643-651.

- [17] Harrison CN, Schaap N, Vannucchi AM, et al. Janus kinase-2 inhibitor fedratinib in patients with myelofibrosis previously treated with ruxolitinib (JAKART-2): a single-arm, open-label, non-randomised, phase 2, multicentre study [J]. Lancet Haematol, 2017, 4(7):e317-e324.
- [18] Jamieson C, Hasserjian R, Gotlib J, et al. Effect of treatment with a JAK2-selective inhibitor, fedratinib, on bone marrow fibrosis in patients with myelofibrosis [J]. J Transl Med, 2015, 13:294.
- [19] Pardanani A, Gotlib JR, Jamieson C, et al. Safety and efficacy of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in myelofibrosis [J]. J Clin Oncol, 2011, 29(7):789-796.
- [20] Hazell AS, Afadlal S, Cheresch DA, et al. Treatment of rats with the JAK-2 inhibitor fedratinib does not lead to experimental Wernicke's encephalopathy [J]. Neurosci Lett, 2017, 642:163-167.

(收稿日期:2019-11-12)

(本文编辑:张一冰)

酶,从而抑制肝脏的成脂过程,并促进脂肪酸 β 氧化,减少肝内脂肪酸和胆固醇的合成。另外,AMPK 也可抑制肝脏中促进脂肪酸合成的重要调节因子脂质调节元件结合蛋白(SREBP)-1c,从而改善 NAFLD^[8]。

二、二甲双胍治疗 NAFLD 的可能机制

1. 线粒体途径

线粒体是活性氧(ROS)的主要来源,呼吸链相关的复合物I是线粒体产生 ROS 的关键,ROS 增多可破坏氧化与抗氧化之间的平衡,导致严重的氧化应激,损害肝细胞,引发炎症并促进胰岛素抵抗^[9]。胰岛素抵抗是脂肪酸进入肝脏的主要原因之一,脂肪酸以 TG 的形式在肝脏中积累,可诱发炎症和氧化应激^[8]。Cahova 等^[10]研究表明,高脂饮食喂养的大鼠表现出氧化应激标记物增强,同时肝脏谷胱甘肽还原酶(GSH)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性显著降低,过氧化氢酶活性升高,应用二甲双胍治疗可减少线粒体 ROS 产生,使氧化代谢标志物恢复正常,长期使用二甲双胍不仅可以直接缓解高脂饮食诱导的肝脏组织的慢性氧化应激,还可以有效保护肝脏免受急性氧化损伤。

2. 改善内质网应激

肝脏内游离脂肪酸的沉积可诱导内质网应激,从而激活非折叠蛋白反应,使内质网应激相关分子葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78),SREBP-1c 和 TG 合成基因表达增加^[11]。Kim 等^[12]发现,在 HepG2 细胞中,二甲双胍通过激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(caspase3)显著抑制棕榈酸诱导的细胞死亡和凋亡,还能阻断内质网应激蛋白的诱导,调节胰岛素受体底物 1 丝氨酸磷酸化,增加胰岛素敏感性。

CCAAT/增强子结合蛋白 β (C/EBP β) 转录因子在内质网应激下发生聚集,降低 AMP/ATP 比例和 AMPK 活性,诱导细胞凋亡^[13]。C/EBP β 在脂肪生成和肝糖异生中起关键作用,在敲除 C/EBP β 基因的 *Lepr^{db/db}* 小鼠肝脏中,过氧化物酶体增殖剂激活受体(PPAR) γ 2 和硬脂酰辅酶 A 去饱和酶(SCD)-1 下调,PPAR α 上调,且独立于 SREBP-1c,PPAR α 活性增加使脂肪酸氧化增加,减少脂肪生成,改善脂肪变性,且脂肪酸可上调 C/EBP β 表达,二甲双胍可明显下调肝细胞 C/EBP β 表达^[14]。

氨基末端激酶(JNK)是胰岛素抵抗的重要介质,炎症、游离脂肪酸和氧化应激可使机体内 JNK 活性升高,且 JNK 在 NAFLD 的发展过程中起重要作用。氧化应激诱导的细胞凋亡依赖于 JNK 促凋亡活性,使用 JNK 抑制剂可防止甲萘醌诱导的 caspase 的激活和原代肝细胞凋亡。另外,JNK 磷酸化和激活凋亡调控相关基因 bcl-2 家族,可触发线粒体凋亡。研究发现,经二甲双胍处理的大鼠 JNK 蛋白表达下降,降低了 JNK 的磷酸化及其促凋亡活性,使肝细胞免受氧化应激诱导的凋亡,并且其保护作用部分依赖于血红素加氧酶 1(HO-1)和抗凋亡的 bcl-2 家族的诱导,与胰岛素信号传导无关^[15]。

3. 激活自噬通路

细胞内胰岛素抵抗、脂质代谢异常及氧化应激等情况均可诱发自噬,自噬在避免细胞凋亡方面起重要作用,自噬功能障碍可导致疾病从单纯性脂肪肝向非酒精性脂肪性肝炎(NASH)进展。研究发现,NASH 小鼠模型和细胞模型的自噬功能受损,

真核细胞胞质内调控蛋白 P62(SQSTM1)表达增加,微管相关蛋白 1-轻链 3(LC3) II 表达减少,这两种蛋白通常被认为是反映自噬水平的标志性蛋白,且信号转导激活转录因子-3(STAT3) mRNA 和蛋白表达明显增加,二甲双胍可抑制 STAT3 mRNA 和蛋白表达,炎症因子表达下降,激活自噬^[16]。

AMPK 和哺乳动物类雷帕霉素靶蛋白(mTOR)是自噬的重要调节因子。AMPK 是 mTOR 上游的一个靶点,并对 mTOR 进行负性调节,激活 mTOR 通路可促进脂肪生成,且部分通过 SREBP 进行调节。mTOR 抑制剂雷帕霉素可降低肝脏 SREBP-1 水平。此外,二甲双胍通过增加 AMPK 活性,抑制 mTOR 通路,降低肝脏 mTOR 含量并抑制 mTOR 复合物 1(mTORC1),显著降低 SCD-1 的含量^[17]。

4. 调节脂肪因子和细胞因子

脂联素是脂肪组织特有的脂肪因子,脂联素受体 2 主要表达于肝脏,可通过促进 AMPK 通路及 PPAR α 通路、抑制 Toll 样受体 4(TLR4)信号通路调控线粒体活性,降低胰岛素抵抗,减轻肝脏炎症和纤维化^[18]。研究发现,高脂饮食诱导的 NAFLD 大鼠肝组织 AMPK α 、脂联素、肝脏沉默信息调节因子 1(SIRT1) mRNA 表达水平低于对照组,经二甲双胍治疗后血清脂联素水平明显升高,可能是通过 Adip-SIRT1-AMPK 信号通路改善脂质沉积^[19]。

瘦素可增加肝细胞的胰岛素抵抗和脂肪酸的产生,从而促进肝脏氧化应激、炎症及纤维化通路,且瘦素水平与肝脂肪变性严重程度相关。肝脏有大量的瘦素受体,该受体包括长型 OB-Rb,短型 OB-Ra、OB-Rc 和 OB-Rd。sOB-R 是一种新的瘦素标志物,过度表达 sOB-R 的小鼠可表现出食物摄入量减少、基础代谢率增加、脂质氧化增加^[20]。Tang 等^[20]发现二甲双胍可上调小鼠和 T2DM 患者瘦素受体(OB-Ra、OB-Rb、OB-Rc、OB-Rd)在肝脏中的表达,通过增加 sOB-R 水平,肝脏 TG 含量、SREBP-1c、FAS 和 ACC-1 表达下降,且具有剂量依赖性效应,这一作用可能有助于减少肝脏脂肪变性。

胰岛素样生长因子结合蛋白(IGFBP)家族可与 IGF-1 和 IGF-2 结合,并调节 IGF 对代谢和生长的作用。在 IGFBPs 中,IGFBP-2 在肝脏、脂肪细胞中高度表达,且与肥胖、胰岛素抵抗等代谢功能障碍相关。肥胖、糖尿病患者 IGFBP-2 基因表达较低,且 IGFBP-2 可调节 IGF-1 的生物活性^[21]。Kang 等^[22]研究发现,在高脂饮食组、ob/ob 组和 db/db 组小鼠肝脏中,IGFBP-2 表达水平较野生型小鼠明显降低,经二甲双胍治疗的糖尿病小鼠 IGFBP-2 水平升高,血清 IGF-1 水平降低,并且二甲双胍通过 AMPK-SIRT1-PPAR α 信号通路调控 IGFBP-2 基因转录。

成纤维细胞生长因子-21(FGF-21)是一种主要来源于肝脏的代谢调节因子,FGF-21 可促进脂肪细胞对葡萄糖的吸收,改善胰岛素抵抗,降低血糖和血脂水平^[23]。Singhal 等^[24]发现高脂高糖饮食喂养的 FGF-21 缺陷小鼠在 16 周时出现严重脂肪变性,在 52 周时肝纤维化明显加重,且 78% 的小鼠发生肝细胞癌。Kim 等^[23]发现在肥胖小鼠模型中,二甲双胍可增加 FGF-21 在肝脏和白色脂肪细胞中的表达,降低血脂和血糖水平,证明二甲双胍通过诱导肥胖小鼠和 HepG2 细胞中 FGF-21 的产生来抑制高脂饮食诱导的肥胖和相关的炎症反应。

5. 改善肠道菌群

肠道内菌群失调和屏障功能的改变是 NAFLD 发展的关键, NAFLD 的发展与粪便微生物群组成的显著变化及内毒素水平的升高有关。在动物 NAFLD 发病及进展过程中, 二甲双胍可逆转近端小肠紧密连接蛋白(肠道屏障的重要部分)的下降, 加强肠道屏障功能。啮齿类动物摄入富含果糖的食物或高脂肪食物会导致内毒素水平显著增加, 其升高可改变肝组织中 TLR4 mRNA 的表达, 并在几天内诱导肝脏内的信号发生级联反应, 口服二甲双胍可减少内毒素进入门静脉系统, 从而保护肝脏免受 TLR4 依赖的信号级联反应^[25]。

6. 减少肿瘤坏死因子(TNF)表达

TNF- α 是一种促炎因子, 在培养的人肝细胞中, TNF- α 和具有细胞渗透性的神经酰胺(其传导信号来自 1 型 TNF 受体)均促进 SREBP-1 的成熟及聚集。在 ob/ob 鼠脂肪肝中, SREBP-1 转录激活 FAS 基因, 导致 FAS 的表达和脂肪酸合成均有增加^[26]。Lin 等^[26]的研究结果显示, 二甲双胍可以降低肝脏 TNF- α 表达, 抑制 ob/ob 鼠肝脏提取物中 SREBP-1DNA 结合活性, 下调 ob/ob 鼠肝细胞中 FAS 蛋白的表达, 抑制肝细胞内脂肪酸的合成, 表明二甲双胍可能逆转脂肪肝沉积。

7. 其他途径

TLR 在许多炎症和代谢信号通路中发挥作用。TLR4 参与 NAFLD 和代谢综合征的发展, 其可与游离脂肪酸、低密度脂蛋白相互作用, 影响脂质代谢, 导致胰岛素抵抗。另外, NAFLD 和肥胖患者循环中内毒素和 FFA 水平升高, 肝细胞(主要是 Kupffer 细胞)和血细胞(主要是单核细胞)TLR4 表达增强^[27]。Zwolak 等^[27]研究发现, 二甲双胍可显著降低 NAFLD 患者单核细胞 TLR4 水平, 且与剂量有关, 但是肥胖占很大作用, 肥胖引起血液单核细胞活化增加的其中一个作用机制是细胞外信号调节激酶(ERK)1/2 通路, 而二甲双胍可抑制 ERK1/2 通路的激活。

三、小结

综上, 动物实验和临床观察研究结果均发现, 二甲双胍可通过多种作用途径改善 NAFLD, 有望成为治疗糖尿病合并 NAFLD 的新药物, 但其改善 NAFLD 的具体作用机制还有待进一步研究探讨。

参 考 文 献

- [1] Tsai E, Lee TP. Diagnosis and Evaluation of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis, Including Noninvasive Biomarkers and Transient Elastography[J]. Clin Liver Dis, 2018, 22(1): 73-92.
- [2] 高丽君, 朱大龙, 周卫红, 等. 非酒精性脂肪性肝病患者血清尿酸水平与代谢综合征的相关性分析[J]. 临床内科杂志, 2020, 37(8): 579-582.
- [3] 张贺, 杨立英, 黄雯莉, 等. 长链非编码 RNA 与非酒精性脂肪性肝病[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2020, 40(4): 241-243, 248.
- [4] 中华医学会肝病学分会脂肪肝病和酒精性肝病学组, 中国医师协会脂肪肝病专家委员会. 非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018 年更新版)[J]. 实用肝脏病杂志, 2018, 21(2): 177-186.
- [5] Garinis GA, Fruci B, Mazza A, et al. Metformin versus dietary treatment in nonalcoholic hepatic steatosis: a randomized study[J]. Int J Obes (Lond), 2010, 34(8): 1255-1264.
- [6] Handzlik G, Holecki M, Kozaczka J, et al. Evaluation of metformin therapy using controlled attenuation parameter and transient elastography in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. Pharmacol Rep, 2019, 71(2): 183-188.
- [7] Feng W, Gao C, Bi Y, et al. Randomized trial comparing the effects of gliclazide, liraglutide, and metformin on diabetes with non-alcoholic fatty liver disease[J]. J Diabetes, 2017, 9(8): 800-809.
- [8] Jalali M, Rahimlou M, Mahmoodi M, et al. The effects of metformin administration on liver enzymes and body composition in non-diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease and/or non-alcoholic steatohepatitis: An up-to date systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Pharmacol Res, 2020, 159: 104799.
- [9] Satapati S, Kucejova B, Duarte JA, et al. Mitochondrial metabolism mediates oxidative stress and inflammation in fatty liver[J]. J Clin Invest, 2015, 125(12): 4447-4462.
- [10] Cahova M, Palenickova E, Dankova H, et al. Metformin prevents ischemia reperfusion-induced oxidative stress in the fatty liver by attenuation of reactive oxygen species formation[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2015, 309(2): G100-G111.
- [11] Liu J, Jin X, Yu CH, et al. Endoplasmic reticulum stress involved in the course of lipogenesis in fatty acids-induced hepatic steatosis[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2010, 25(3): 613-618.
- [12] Kim DS, Jeong SK, Kim HR, et al. Metformin regulates palmitate-induced apoptosis and ER stress response in HepG2 liver cells[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2010, 32(2): 251-257.
- [13] Matsuda T, Takahashi H, Mieda Y, et al. Regulation of Pancreatic β Cell Mass by Cross-Interaction between CCAAT Enhancer Binding Protein β Induced by Endoplasmic Reticulum Stress and AMP-Activated Protein Kinase Activity[J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0130757.
- [14] Schroeder-Glockler JM, Rahman SM, Janssen RC, et al. CCAAT/enhancer-binding protein beta deletion reduces adiposity, hepatic steatosis, and diabetes in Lepr(db/db) mice[J]. J Biol Chem, 2007, 282(21): 15717-15729.
- [15] Conde de la Rosa L, Vrenken TE, Buist-Homan M, et al. Metformin protects primary rat hepatocytes against oxidative stress-induced apoptosis[J]. Pharmacol Res Perspect, 2015, 3(2): e00125.
- [16] Li YL, Li XQ, Wang YD, et al. Metformin alleviates inflammatory response in non-alcoholic steatohepatitis by restraining signal transducer and activator of transcription 3-mediated autophagy inhibition in vitro and in vivo[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 513(1): 64-72.
- [17] Linden MA, Lopez KT, Fletcher JA, et al. Combining metformin therapy with caloric restriction for the management of type 2 diabetes and nonalcoholic fatty liver disease in obese rats[J]. Appl Physiol Nutr Metab, 2015, 40(10): 1038-1047.
- [18] Finelli C, Tarantino G. What is the role of adiponectin in obesity related non-alcoholic fatty liver disease? [J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(6): 802-812.
- [19] 申甜, 雷涛, 徐碧林, 等. 二甲双胍对 NAFLD 大鼠肝脏脂联素/SIRT1 mRNA 表达的影响[J]. 实用药物与临床, 2016, 19(12): 1465-1468.
- [20] Tang X, Li J, Xiang W, et al. Metformin increases hepatic leptin receptor and decreases steatosis in mice[J]. J Endocrinol, 2016, 230(2): 227-237.
- [21] Zhang X, Gu HF, Frystyk J, et al. Analyses of IGF2R DNA methylation and mRNA expression in visceral and subcutaneous adipose tissues of obese subjects[J]. Growth Horm IGF Res, 2019, 45: 31-36.
- [22] Kang HS, Cho HC, Lee JH, et al. Metformin stimulates IGF2R gene expression through PPARalpha in diabetic states[J]. Sci Rep, 2016, 6: 23665.
- [23] Kim EK, Lee SH, Jhun JY, et al. Metformin Prevents Fatty Liver and Improves Balance of White/Brown Adipose in an Obesity Mouse Model by Inducing FGF21[J]. Mediators Inflamm, 2016, 2016: 5813030.
- [24] Singhal G, Kumar G, Chan S, et al. Deficiency of fibroblast growth factor 21 (FGF21) promotes hepatocellular carcinoma (HCC) in mice on a long term obesogenic diet[J]. Mol Metab, 2018, 13: 56-66.
- [25] Brandt A, Hernández-Arriaga A, Kehm R, et al. Metformin attenuates the onset of non-alcoholic fatty liver disease and affects intestinal microbiota and barrier in small intestine[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 6668.
- [26] Lin HZ, Yang SQ, Chuckaree C, et al. Metformin reverses fatty liver disease in obese, leptin-deficient mice[J]. Nat Med, 2000, 6(9): 998-1003.
- [27] Zwolak A, Ślabczyńska O, Semeniuk J, et al. Metformin Changes the Relationship between Blood Monocyte Toll-Like Receptor 4 Levels and Nonalcoholic Fatty Liver Disease-Ex Vivo Studies[J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0150233.

(收稿日期: 2020-09-11)

(本文编辑: 张一冰)