



评述

脂肪肝中的线粒体氧化应激分子机制及营养素干预策略

王颖¹, 王一方¹, 罗朝桂¹, 刘健康^{1,2}, 龙建纲¹, 彭韵桦^{1*}

1. 西安交通大学生命科学与技术学院, 线粒体生物医学研究所, 生物医学信息工程教育部重点实验室, 西安 710049

2. 康复大学健康与生命科学学院, 青岛 266071

* 联系人, E-mail: y.peng@mail.xjtu.edu.cn

收稿日期: 2023-11-20; 接受日期: 2024-02-26; 网络版发表日期: 2024-08-01

摘要 线粒体是真核细胞中发生生物氧化和能量转换以及产生活性氧的主要细胞器, 线粒体的稳态平衡保证肝脏等各个器官代谢功能. 线粒体氧化应激可以通过损伤线粒体DNA、蛋白质、脂类等生物大分子引发线粒体稳态失衡和线粒体功能障碍并通过影响能量代谢相关信号通路导致脂肪肝病理发生. 深入研究线粒体氧化应激参与脂肪肝病理发生的机制有助于发现脂肪肝防治的靶点. 本文综述关于线粒体氧化应激的产生及其在脂肪肝病理发生中的作用机制及靶向线粒体的营养素干预策略.

关键词 脂肪肝, 线粒体, 活性氧, 氧化应激

肝脏是机体新陈代谢的重要器官, 负责调节包括维持能量的稳定、产生各种生物分子如胆汁和维生素、清除内源性和外源性有害代谢产物等多种生物过程, 这些过程需要肝脏线粒体供能. 线粒体稳态在调节细胞能量代谢和信号通路中起着决定性作用, 线粒体稳态失衡是脂肪性肝病和肥胖等代谢型疾病的关键病理原因^[1,2]. 因此, 线粒体功能的破坏往往会导致肝脏疾病的发生和加重^[2,3]. 肝病是世界范围内的常见病, 脂肪肝是肝病发展的起始阶段. 脂肪性肝病, 也称为肝脂肪变性, 是指由肝细胞中脂质的异常积聚引发的肝脏疾病^[4,5]. 线粒体代谢的变化与脂质积累有密切的关系, 研究者发现线粒体生物发生的减少以及线粒体动力学和自噬的破坏可能有助于衰老大鼠肝脏的脂质

积累^[6]. 根据病因, 脂肪性肝病有酒精性脂肪性肝病和非酒精性脂肪性肝病两类, 以单纯肝脏脂肪变性(甘油三酯在肝细胞中积累)为特征^[7].

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是一类包括超氧阴离子、羟基自由基和过氧化氢在内的物质. 线粒体膜是细胞中ROS的主要来源. 活性氮(reactive nitrogen species, RNS)是指含氮的ROS, 由于ROS与RNS密切相关, 因此将ROS与RNS统称为ROS. ROS作为线粒体电子传递链的副产物, 可以破坏重要的生物大分子, 如DNA、脂质、蛋白质^[8]. 氧化应激(oxidative stress, OS)是由于ROS的过度积累破坏抗氧化系统而引起的氧化还原失衡状态, 从而导致程序性细胞死亡和脂肪肝等多种疾病^[8,9]. 线粒体可通过多种内源性途

引用格式: 王颖, 王一方, 罗朝桂, 等. 脂肪肝中的线粒体氧化应激分子机制及营养素干预策略. 中国科学: 生命科学, 2025, 55: 67–81
Wang Y, Wang Y F, Luo C G, et al. Mitochondrial oxidative stress in fatty liver: molecular mechanisms and intervention strategies by nutrients (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2025, 55: 67–81, doi: [10.1360/SSV-2023-0170](https://doi.org/10.1360/SSV-2023-0170)

径减轻自身的氧化应激状态维持稳态, 保证线粒体功能的正常发挥, 比如, 抗氧化防御系统和线粒体质量控制^[10,11]. 而在外源途径中, 线粒体营养素能直接靶向作用于线粒体改善线粒体功能^[12].

1 线粒体中氧化应激的发生

线粒体被认为是大多数细胞中产生ROS的主要细胞器^[7]. ROS是线粒体呼吸链电子传递过程中的副产物^[7,8,13]. 呼吸链, 也称电子传递链(electric transport chain, ETC)是由参与氧化磷酸化的一系列复合物形成的系统. 转移到ETC的电子部分直接与氧气反应生成 $O_2^{\cdot-}$, e^- 与 O_2 的偶联可以被各种氧化酶催化, 包括NADPH氧化酶(NADPH oxidase, NOXs), $O_2^{\cdot-}$ 在锰超氧化物歧化酶(manganese superoxide dismutase, MnSOD)的作用下产生 H_2O_2 和 O_2 ^[14]. 体内NO由NO合成酶(NO synthetase, NOS)催化^[8,15]. 病理条件下, 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)含量降低, 无法清除 $O_2^{\cdot-}$, $O_2^{\cdot-}$ 可与NO反应生成毒性更强的ONOO $^-$. H_2O_2 主要由SOD催化 $O_2^{\cdot-}$ 的二化反应形成, $O_2^{\cdot-}$ 可与某些还原的过渡金属反应, 使 $O_2^{\cdot-}$ 还原为 H_2O_2 , 一些氧化酶, 如NADPH氧化酶4(NADPH oxidase 4, NOX4)和双NADPH氧化酶(dual oxidase, DUOX1/2), 具有歧化酶活性, 可以直接将 O_2 转化为 H_2O_2 , 而不是 $O_2^{\cdot-}$. 在以谷胱甘肽(glutathione, GSH)为电子供体的线粒体谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)和过氧化氢酶(catalase, CAT), 以及以还原硫氧还蛋白(thioredoxin, TrxR)为电子供体的过氧化硫氧还蛋白(peroxythioredoxin, PRDX)1-5的作用下, H_2O_2 可被还原为水和 O_2 . H_2O_2 也能与铁反应生成高活性的羟基自由基. 当脂质受到OH $\cdot$ 攻击时, 会抽离一个氢原子, 形成以碳为中心的脂质自由基L $\cdot$. L $\cdot$ 能与 O_2 快速反应生成脂质过氧基LOO $\cdot$, 而CAT可以分解LOOH^[14,16~19]. H_2O_2 在髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)的作用下也可形成次氯酸自由基^[19]. 其他地方形成的一氧化氮可以通过自由扩散穿过线粒体膜与超氧化物反应, 在线粒体内形成过氧亚硝酸盐ONOO $^-$. 过氧亚硝酸盐可破坏蛋白质结构, 过氧还原素和含硒谷胱甘肽过氧化物酶可催化亚硝酸盐的解毒(图1)^[20~22].

复合体I和III被认为是呼吸链中活性氧的主要来源. 对于复合体I, 超氧化物的产生被认为来自还原的

黄素单核苷酸^[23]或N-1a和N-1b铁-硫簇^[24]. 氧化应激发生与细胞因子的产生之间存在联系. 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)刺激可引发反向电子传递(reversed electron transfer, RET), 在此过程中, 电子通过ETC反向流动对抗氧化磷酸化, RET促进复合体I的线粒体ROS产生^[25,26]. 对于复合体III, 超氧化物被认为是在泛醇氧化位点产生的^[27,28]. 除ETC是ROS的主要来源外, α -酮戊二酸脱氢酶、丙酮酸脱氢酶、甘油磷酸脱氢酶和单胺氧化酶也可以产生ROS^[29~31]. 另外一些线粒体定位蛋白也有助于线粒体ROS的产生, 包括p66shc、单胺氧化酶(monoamine oxidase, MAO)和NOX4. p66shc部分定位于线粒体膜间隙^[32], 通过氧化细胞色素c, 增加电子传递链中的电子泄露, 导致过氧化氢产生^[33]. MAOs定位于线粒体外膜, 其辅助因子FAD能够催化单胺的氧化降解使之产生过氧化氢和醛(图1)^[34,35].

在正常生理条件下, 机体内的ROS含量保持在一定水平, 在机体稳态情况下, 可作为细胞内信号分子, 调节机体的正常生理功能, 当组织被破坏时, 线粒体中的ROS增加, 线粒体氧化应激发生, 从而破坏线粒体, 导致线粒体功能障碍^[7,8,13], 但氧化应激的发生是否是线粒体其他功能发生障碍的始动因素存在争议, 氧化应激能导致线粒体功能障碍, 线粒体功能障碍时也能增加ROS产生, 引起氧化应激^[36].

2 脂肪性肝病中的线粒体氧化应激

脂肪性肝病根据病因大致分为两类: 酒精性脂肪性肝病(alcoholic fatty liver disease, AFLD)和非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD). 肝脏功能的正常维持建立在线粒体的稳态基础上, 线粒体氧化应激往往能加剧肝病的恶化, 探讨线粒体氧化应激在脂肪肝的发生与进展中的分子机制有助于为肝病的防治提供新的见解.

2.1 酒精性脂肪肝

肝细胞线粒体在维持肝细胞功能正常方面有十分重要的意义. 在AFLD发展的早期, 线粒体的结构和功能常常发生改变, 多伴随着线粒体氧化应激的发生. 在乙醇干预的细胞中观察到, 乙醇会破坏氧化磷酸化系统中除复合体II外所有呼吸复合体的活性, 增加线

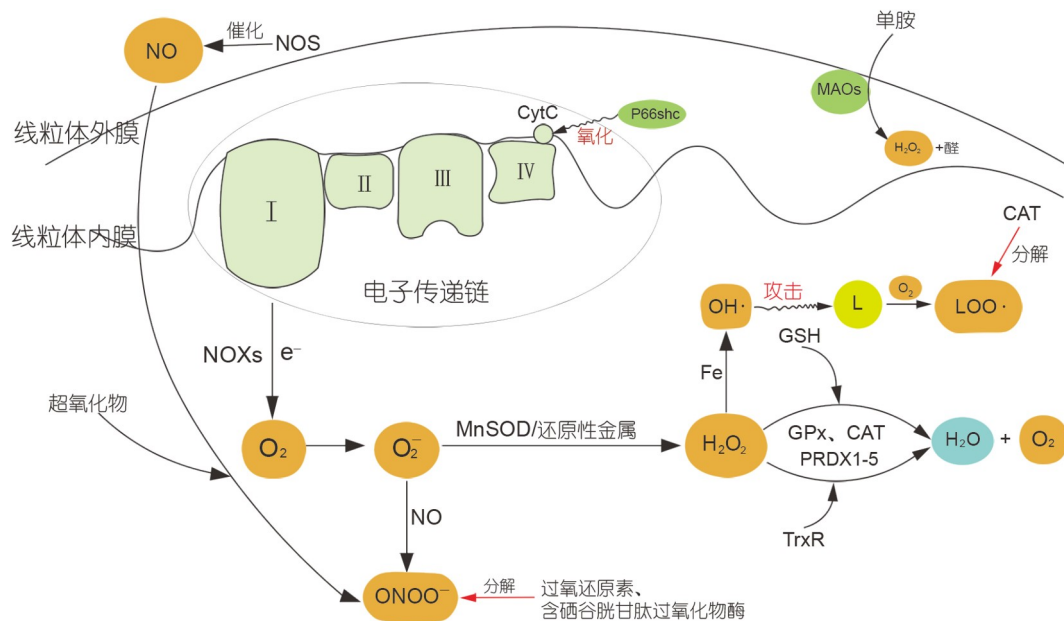


图 1 线粒体中ROS的产生。线粒体中有多种产生ROS的途径, 包括由于ETC中电子的泄露, 直接生成或在MnSOD以及还原性金属作用下生成 H_2O_2 和羟基自由基, 自由基攻击脂质形成脂质自由基后与氧气反应生成脂质过氧基以及NO超氧化或与 O_2^- 生成过氧亚硝酸盐。生成的ROS也能被内源性抗氧化防御系统清除

Figure 1 ROS production in mitochondria. There are many ways to generate ROS in mitochondria, including direct generation or generation of H_2O_2 and hydroxyl radical under the action of MnSOD and reducing metals due to the leakage of electrons in ETC. Free radicals attack lipids, form lipid free radicals and react with oxygen to generate lipid peroxy radicals and NO superoxide or generate peroxynitrite with O_2^- . The generated ROS can also be cleared by endogenous antioxidant defense system

粒体中ROS和RNS的生成, 损伤线粒体DNA, 并通过翻译后修饰改变呼吸链复合体的活性, 减少ATP的合成^[15,37]。过量的ROS诱导脂质过氧化形成脂质过氧化产物, 对mtDNA以及线粒体ETC造成损害, 激活线粒体渗透转运, 引发线粒体肿胀破裂, 导致肝细胞死亡。在肝细胞系和野生型小鼠的肝脏中观察到微粒体和线粒体细胞色素P4502E1(CYP4502E1)均发生酒精依赖性增加, 这是酒精暴露的线粒体中的另一种氧化剂来源^[38]。正常情况下, 肝细胞中可诱导产生的NOS (iNOS) 数量较少, 但酒精能诱导iNOS, NO以及RNS的增加^[39]。NO除增加RNS的产生以外, 还可以与细胞色素c氧化酶上的亚铁血红素位点结合, 增加电子传递链中的电子泄露, 促进ROS与RNS合成导致线粒体氧化应激并加重线粒体损伤。

线粒体尤其受酒精代谢物乙醛的影响。在肝脏中酒精在酒精脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH)以及乙醛脱氢酶(acetaldehyde dehydrogenase, ALDH)作用下最终转化为对细胞无毒无害的物质。长期酗酒会抑制ADH与ALDH这些在酒精代谢过程中发挥作用的酶

的酶活, 从而导致乙醛的积累, 引发线粒体功能受损。此外, 饮酒使 NAD^+ 与mGSH, NADH/NAD^+ 比值增加, 抑制脂肪 β 氧化, 导致脂肪变性, 使铁还原为亚铁, 增加ROS生成^[40,41], 氧化应激状态下线粒体功能障碍, 进一步增加ROS的产生, 加重线粒体氧化应激。

2.2 非酒精性脂肪性肝病

NAFLD的诱因十分复杂, 关于其发展和进展的具体机制不清, 有两种假说被提出来描述NAFLD的发病机制。第一种是“两次打击”假说, 脂肪变性情况下, 来自其他因素包括氧化应激、促炎细胞因子的第二次打击, 是非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)发展必需的^[42], 然而, 含patatin样磷脂酶蛋白3(patatin-like phospholipase 3, PNPLA3)基因多态性在NASH的发展中也起着关键作用, 因此, 目前“多重打击”假说更受认可。“多重打击”认为氧化应激是NAFLD发展的主要因素, ROS可以攻击多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)并引发脂质过氧化, 脂质过氧化产物如4-羟基-2-壬烯醛或丙二醛半衰

期比ROS长,它们还可以扩散到其他位点,扩大氧化应激影响,ROS、脂质过氧化产物和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)共同参与第二次打击,从而诱导单纯性脂肪变性进展为NASH^[43,44]。线粒体作为细胞中产生ROS的主部位,其氧化应激可能在NAFLD的发展中占据重要地位^[44]。NAFLD的发生与肥胖密切相关,在课题组之前的研究中发现,高脂饮食诱导的肥胖小鼠发生肝脏线粒体损伤,氧化应激增强,同时脂质过氧化水平增加。这表明,保护肝脏免受氧化损伤是干预肥胖引发NAFLD的关键步骤^[45]。

脂质代谢的失衡是诱导NAFLD发病的直接因素,因此,对于游离脂肪酸(free fatty acids, FFAs)的来源和命运的探究,对于理解NAFLD潜在的致病机制至关重要。胰岛素能够调节肝脏糖脂代谢,胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)经常出现在饮食诱导的NAFLD动物模型中,主要表现为IR使得脂肪细胞不受抑制的脂肪分解,破坏胰岛素介导的脂解抑制,FFAs增加^[7,46]。线粒体作为FAAs β 氧化的主要部位,长链的FAAs需要在肉碱棕榈酰转移酶1(carnitine palmitoyl transferase 1, CPT-1)的帮助下进一步转移到线粒体,短链与中链则不需要。CPT-1是 β -氧化的关键酶,一些转录因子如过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferator-activated receptor α , PPAR α)及其共激活因子过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子1 α (peroxisome proliferator activated receptor γ Co activation factor 1 α , PGC1 α)可增强CPT1等与脂肪酸氧化(fatty acid oxidation, FAO)相关基因的表达。此外,脂肪肝中PGC-1 α 的活性受损,脂肪酸氧化相关基因的表达水平下降促进脂肪酸的过量积累^[47]。肝细胞中过量脂肪酸积累能够诱导线粒体氧化应激,增加ROS产生。

在NAFLD的形成过程中,一致性发现ETC的活性降低以及肝细胞内的FAAs能够增强线粒体FAO。线粒体FAO和ETC之间的这种不平衡会引发ETC的电子泄漏,从而使得ROS过量,最终导致线粒体氧化应激的发生^[7,48]。

线粒体氧化应激在脂肪性肝病的发生发展中都起重要作用,过量的ROS不仅诱导脂质过氧化导致炎症,还能够抑制肝细胞分泌极低密度脂蛋白(very low-density lipoprotein, VLDL),诱导肝脏脂肪积累^[49]。氧化应激能诱导脂质过氧化和促炎细胞因子的合成,导致炎症发生^[44]。炎症以及氧化应激产物ROS、脂质过氧化

物等的积累进一步损伤线粒体,ROS生成增加,加重线粒体氧化应激^[43,49,50]。建立动物模型,借助代谢组学和转录组学联合分析挖掘出关键的氧化应激代谢物和基因,有助于进一步解发病的机制,为发现脂肪肝甚至其他疾病的治疗靶点提供更多可能。

3 氧化应激中信号传导的改变

在脂肪肝发展中,氧化应激状态下能引起多种信号通路以及转录因子的激活,主要激活腺苷酸活化蛋白激酶(Adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK)以及丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路,这是因为AMPK以及MAPK调控肝脏代谢途径中的关键因子以及通过转录因子调节抗氧化应激以及代谢相关基因表达(图2)^[8]。

3.1 AMPK通路

AMPK能活化多个代谢途径中的关键因子,AMPK的 γ 亚基能对AMP/ATP比值的变化作出响应^[51],H₂O₂可以氧化AMPK的 α -亚基和 β -亚基,并通过s-谷胱甘肽化直接激活AMPK^[52]。AMPK一旦被激活,就会抑制ATP消耗过程并激活分解代谢过程。肝脏中活化的AMPK通过磷酸化乙酰辅酶A羧化酶(acetyl CoA carboxylase, ACC)增加脂肪酸氧化^[53]。此外,活化的AMPK会抑制一系列参与脂质代谢的核受体和酶的活性,包括PPAR α , PPAR γ 和甾醇调节元件结合蛋白(Sterol regulatory element binding proteins, SREBPs),并抑制脂肪生成^[8,51,54]。AMPK通过调节哺乳动物雷帕霉素靶点(mammalian target of rapamycin, mTOR)通路影响蛋白质的合成。氧化应激状态下,线粒体呼吸链复合体受损,ATP合成减少,刺激AMPK活化,活化的AMPK分子抑制mTOR的活性导致细胞生长和蛋白质合成减少^[51]。AMPK还可以通过激活线粒体生物发生中的重要因子PGC-1 α 的方式,或者,AMPK通过激活转录因子EB(transcription factor EB, TFEB),TFEB直接结合并激活编码PGC-1 α 基因的启动子,来促进线粒体生物发生^[10]及抑制mTOR复合物和直接激活unc-51样激酶1(unc-51-like kinase 1, ULK1)增加线粒体自噬来控制线粒体质量^[51]。因此,活化的AMPK对线粒体功能稳态也起重要作用。

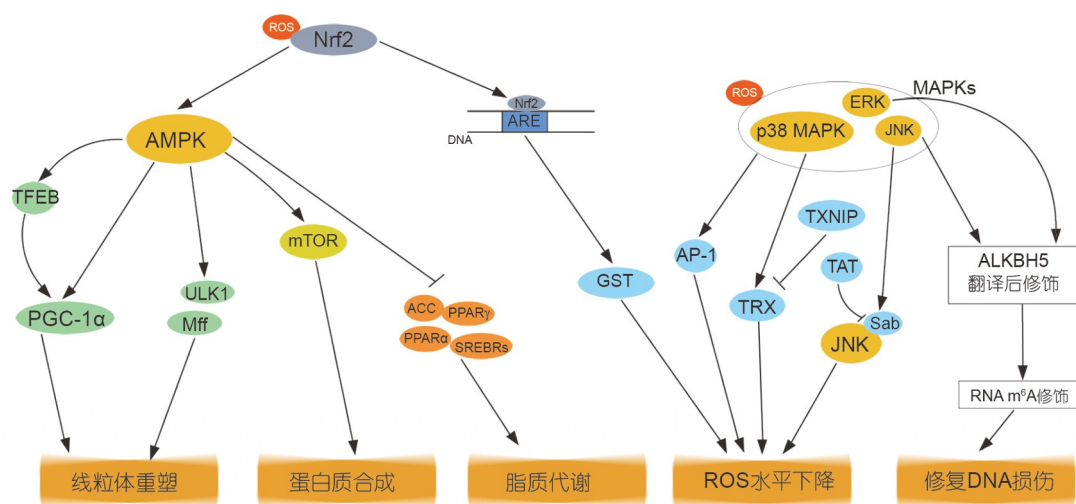


图 2 肝细胞线粒体氧化应激中的主要信号通路. ROS作为信号分子, 在肝细胞中主要通过AMPK和MAPK两个途径通过激活转录因子比如AP-1以及上调代谢和抗氧化蛋白和酶的表达. ROS也能通过激活二相酶Nrf2活化AMPK通路, 同时, Nrf2与DNA上的ARE元件结合促进抗氧化基因的转录, 增加抗氧化防御. ROS通过这些作用来增强线粒体重塑, 促进蛋白质合成和脂质代谢, 降低ROS水平以及修复DNA损伤

Figure 2 The main signaling pathways during mitochondrial oxidative stress in hepatocyte. ROS, as a signaling molecule, mainly activates transcription factors such as AP-1 and upregulates the expression of metabolic and antioxidant proteins and enzymes in hepatocyte through AMPK and MAPK pathways. ROS can also activate the AMPK pathway by activating the II phase enzyme Nrf2. At the same time, Nrf2 binds to the ARE element on DNA to promote the transcription of antioxidant genes and increase antioxidant defense. ROS enhances mitochondrial remodeling, promotes protein synthesis and lipid metabolism, reduces ROS levels, and repairs DNA damage through these effects

线粒体产生 H_2O_2 通过刺激转录因子核因子-E2相关因子2(nuclearfactor erythroidderived 2-like 2, Nrf2)激活AMPK调节抗氧化酶的表达. Nrf2-Keap1信号通路是抗氧化应激反应的重要调节通路^[55]. 在正常情况下, Nrf2会被Keap1复合体泛素化修饰并在细胞质中降解, Keap1失活或Keap1表达减少可以通过上调Nrf2蛋白表达水平反式激活其下游基因. Nrf2维持细胞氧化还原状态的重要机制是通过调节谷胱甘肽(glutathione, GSH)的合成^[56]. Nrf2转录激活可以介导谷胱甘肽s-转移酶(glutathione s-transferase, GSTs)高表达, GSTs是一种催化还原型谷胱甘肽与亲电化合物结合的酶^[57,58]. Nrf2通过与位于许多细胞保护基因启动子区域的抗氧化反应元件(Antioxidant reflective element, ARE)结合诱导抗氧化和细胞保护基因的表达. 因此, 氧化应激状态下AMPK的活化能够通过减少脂质生成、促进脂肪酸氧化、维持线粒体稳态以及上调抗氧化基因表达减轻氧化应激状态, 从而改善脂肪肝^[53].

3.2 MAPK通路

MAPK主要由四个亚家族, 分别是: 细胞外信号调

节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK), p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK), c-Jun氨基末端激酶(c-jun n-terminal kinase, JNK), 细胞外信号调节激酶5(extracellular regulated protein kinases, ERK5). ERK, JNK和p38亚家族的激活与细胞氧化还原平衡的改变密切相关.

ERK通路是MAPK家族其中最常见的与细胞增殖调控相关的细胞通路. 线粒体富含的GCN5L1蛋白可以调节线粒体蛋白乙酰化、线粒体含量和线粒体逆行信号. 研究发现, GCN5L1通过线粒体ROS介导的ERK激活调节典型糖异生转录因子FoxO1的翻译后控制, 调节糖异生并控制代谢通路^[59].

激活蛋白-1(activator protein-1, AP-1)是一种氧化还原敏感转录因子, H_2O_2 主要是通过JNK和p38 MAPK级联反应介导对AP-1的诱导^[57]. 研究发现, JNK/AP-1信号在肝细胞凋亡和坏死中发挥关键作用^[60]. 在肝脏细胞中, JNK信号的作用随着激活的持续时间和程度而变化. 正常肝脏中, JNK短暂激活, 易位至线粒体, 活性受线粒体Sab/ROS信号循环的影响, 活化的JNK(P-JNK)转位到线粒体, 并与线粒体外膜上的靶蛋白

Sab(Sh3bp5)结合, Tat-Sab抑制肽竞争性地抑制JNK与Sab的结合, 从而抑制线粒体呼吸作用, 导致线粒体内ROS水平的上升^[61]. JNK的持续激活可以通过抑制PPAR α 调控基因的表达以及脂肪酸 β 氧化, 来促进IR的发生^[62,63]. 抑制激活的JNK与线粒体间作用, ROS水平降低, 小鼠模型肝损伤减轻^[61].

ROS也可以激活ERK/JNK信号通路促进ALKBH5翻译后修饰从而上调RNA m6A修饰水平, 以此响应ROS诱导的DNA损伤及细胞凋亡^[64]. ERK5也可以被ROS激活, 但对它的研究较少. 硫氧还蛋白相互作用蛋白(thioredoxin-interacting protein, TXNIP)是体内广泛表达的内源性硫氧还素(thioredoxin, TRX)阻遏蛋白, TXNIP通过与TRX结合抑制TRX的抗氧化功能, 促进活性氧ROS积累. 研究发现, TXNIP对TRX/ROS的作用可以被p38 MAPK信号通路抑制剂SB03580阻断, 这表明TXNIP是通过p38 MAPK通路调节细胞内ROS水平^[58]. MAPK通路能被氧化应激信号及促炎细胞因子激活, 主要通过调节肝细胞的凋亡坏死以及线粒体ROS生成影响脂肪肝的发生发展^[8,61].

3.3 氧化应激中的转录因子的激活

氧化应激引起的信号通路响应是影响脂肪肝发展的重要因素. ROS可激活多种转录因子, 如AP-1, Nrf2, PPAR α , 核因子- κ B(nuclear factor- κ -gene binding, NF- κ B)等, 加剧脂肪肝的发展.

氧化应激中AP-1与Nrf2的激活已在前文中进行表述. AP-1与Nrf2都是氧化敏感转录因子. H₂O₂可以介导Nrf2的活化, 调节抗氧化酶表达, 增加抗氧化剂生成, 下调ROS水平, 减轻线粒体氧化应激. AP1激活后调节其他蛋白激酶和磷酸酶的表达. JNK/AP-1信号在肝细胞凋亡和坏死中发挥关键作用. H₂O₂通过AMPK通路下调PPAR α 的表达, 从而抑制CPT-1和ACOX的表达, 抑制脂肪酸氧化, 促进肝病的发生发展^[65]. NF- κ B与ROS的关系较为复杂: 轻度氧化应激可导致适度的NF- κ B活化, 但广泛氧化应激则对NF- κ B具有抑制作用. NF- κ B可以通过诱导铁蛋白重链和SOD2基因来保护细胞免受氧化应激^[57]. 氧化应激诱导NF- κ B的激活是联系炎症和氧化应激的关键, 其促进TNF- α 和几种促炎细胞因子如白细胞介素(interleukin, IL)IL-6或IL-8的合成, 诱导单纯性脂肪变性进展为NASH^[44,66].

4 线粒体氧化应激的体内防御机制

4.1 抗氧化防御系统

为平衡体内的ROS含量, 保护生物体不受ROS的侵害, 体内存在DNA修复酶以及精细的抗氧化系统. 所有的抗氧化剂以及抗氧化代谢通路形成一个完整的抗氧化防御网络系统, 保证机体的氧化还原平衡^[11]. 抗氧化剂可以根据来源分为内源性和外源性的, 也可以根据反应类型分为酶促的和非酶促的. 酶抗氧化剂包括SOD, GPx和CAT, TrxR, GSH, 辅酶Q等, 非酶抗氧化剂包括硒、维生素E、类胡萝卜素、维生素C、多酚等^[11,67]. 许多抗氧化酶是应激诱导型活性酶, 如SOD, GPx, 和其他一些硒蛋白如TrxR等, 它们的表达量和活性取决于应激强度^[67]. 关于抗氧化剂发挥作用的机制已在前文中总结过. 酶抗氧化剂的“主角”是GSH, 其是由细胞生成的一种内源性抗氧化剂. 已有实验证实, GSH可以防止ROS和亲电化学物质对DNA的破坏^[57]. 在NAFLD中观察到抗氧化剂水平的降低, 包括SOD, CAT, GSH, GSH含量的降低会降低这些抗氧化酶的活性, 并加剧NAFLD患者肝脏中的OS, OS的加剧使的肝病进一步发展^[49]. 利用修饰有线粒体靶向基团的细胞器靶向探针会帮助研究者们更精确的了解ROS的产生位点以及抗氧化剂的作用机制. 补充抗氧化剂能改善脂肪肝的发展, 其中, 高剂量的维生素E已经被证明对于NASH患者有治疗效果^[7].

4.2 线粒体质量控制

线粒体不表现为大量孤立的细胞器, 而是一个不断重塑的连接和合作网络. 由于高水平的ROS可以扰乱线粒体蛋白质折叠、破坏线粒体蛋白质结构, 并引起线粒体DNA突变. 线粒体对高水平ROS十分敏感, 为维持体内线粒体的动态平衡以及满足细胞的能量需求, 进化出多种质量控制途径, 包括线粒体生物发生、线粒体动力学和线粒体自噬, 另外线粒体未折叠蛋白反应、蛋白酶、线粒体外膜的降解和线粒体源性囊泡脱落也能调控线粒体稳态^[68-71]. 研究发现 NAFLD中线粒体生物发生、自噬、线粒体自噬、分裂和融合标志物显著减少这表明肝脏线粒体周转受损与患者NAFLD的发展密切相关^[72].

(1) 线粒体生物发生. 线粒体生物发生在能量剥夺或线粒体损伤后帮助线粒体恢复能量稳态. 线粒体生

物发生与线粒体自噬相对,是指线粒体经一段时间运转后功能出现不同程度下降,由于缺乏线粒体的从头合成途径,两个甚至多个线粒体通过融合来共享线粒体DNA,ETC等内部零件来维持线粒体的正常运转^[10].线粒体还可以通过分裂与自噬来促进生物发生.线粒体的生物发生受到PGC-1 α 和核呼吸因子1(nuclear respiratory factor 1, Nrf1)调节,它们分别控制mtDNA和核DNA基因的表达对刺激线粒体生物发生,沉默信息调节因子-1(silent information regulator-1, SIRT1)能够激活PGC-1 α 介导的编码蛋白质的核基因和线粒体基因的转录^[73].在脂肪肝中观察到PGC-1 α 的活性受损,线粒体生物发生减少^[47].线粒体生物发生可能抑制脂肪肝的发生发展进程.

(2) 线粒体动力学. 线粒体融合与分裂统称为线粒体动力学^[74].动力相关蛋白1(dynammin-related protein 1, Drp1)、线粒体分裂蛋白1(fission 1, FIS1)和线粒体分裂因子(mitochondrial fission factor, Mff)在线粒体分裂过程中起重要作用.线粒体融合过程分为MOM的融合与MIM的融合,MOM融合由线粒体融合蛋白1和线粒体融合蛋白2(Mitofusin 1 and -2, Mfn1 and -2)共同调控,MIM的融合则由视神经萎缩蛋白1(Optic nerve atrophy protein 1, OPA1)介导^[8,74].裂变使功能失调的线粒体分离开来,有助于之后通过自噬途径被处理,剩余线粒体继续融合,融合后允许mtDNA、蛋白质、脂质和其他代谢物的交换,还能够通过稀释来降低氧化剂浓度的作用,有助于线粒体生物发生更好的进行^[10,71,74].氧化应激状态下,线粒体融合或裂解相关蛋白功能或活性改变,对线粒体融合和裂解的过程产生直接影响.

(3) 线粒体自噬. 目前研究发现的线粒体自噬机制通常可以分为两类:泛素(ubiquitin, Ub)依赖通路和非泛素依赖的受体介导通路^[70].

Parkin蛋白与PINK1 PTEN诱导激酶1(PTEN induced putative kinase 1, PINK1)在线粒体上通过Ub链修饰线粒体来放大初始信号,招募自噬启动因子自噬受体募集到线粒体外膜,进而促进线粒体附近的自噬启动,这是Ub依赖的PINK1-Parkin途径^[70,75].

Parkin组装的Ub链也能够含有多功能激酶TANK结合激酶1(TANK-binding kinase 1, TBK1)的复合物中招募自噬受体,这也直接或间接地介导所有已知的自噬受体的磷酸化^[76].有研究发现一种自我强化的正反

馈机制,该机制协调TBK1依赖的自噬适配器磷酸化与线粒体上泛素链的组装,以促进有效的自噬^[77].非磷酸化状态的TBK1能够将长链脂肪酸辅酶A连接酶1(long-chain acyl-CoA synthetase 1, ACSL1)定位于线粒体,ACSL1促进线粒体产生可引导脂肪酸 β -氧化的酰基辅酶A,可以作为脂肪肝防治中的一个药物靶点^[78].

一些泛素依赖的途径可以不依赖于Parkin. PINK1泛素磷酸化直接招募自噬受体,进而促进自噬的生物发生,但这种途径产生的信号是微弱的,引起的自噬作用也小.

非泛素化依赖的受体介导途径中在MOM上有许多含有可作为自噬的受体的蛋白质,它们可以不经泛素化修饰,直接结合微管相关蛋白1A/1B-轻链3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, MAP1LC3),简称为LC3,比如BNIP3, NIX和FUNDC等蛋白能与LC3直接相互作用,启动线粒体自噬^[70].饮食诱导的NAFLD能够上调核受体亚家族4 A组成员1(nuclear receptor subfamily 4 group A member 1, NR4A1),导致p53的激活,p53抑制线粒体自噬,线粒体自噬恢复,NAFLD得到改善^[79].增强线粒体自噬,可保护肝细胞免受线粒体凋亡,改善NAFLD^[80].

(4) 其他质量控制途径. 线粒体含有大的多亚基蛋白复合物,一部分由核DNA编码,一部分由mtDNA编码.在核和细胞器基因组之间表达的不精确性能够导致蛋白质复合物中亚基不正确的化学计量,从而引发蛋白毒性应激.平衡亚基化学计量是通过协调细胞核中的RNA转录与线粒体基质中的蛋白质翻译以及通过降解外来的蛋白质亚基来实现的^[8,71].线粒体未折叠蛋白反应(mitochondrial unfolded protein reaction, mtUPR)与蛋白酶能够维持蛋白质平衡.

mtUPR激活与一定程度的线粒体功能障碍存在内在联系,如果线粒体损伤是轻微的,mtUPR可以抵消这种损伤,这种适应性应激对系统是有益的.但如果线粒体损伤过重,mtUPR可能不足以抵消所造成的损害,因此适应性反应将转变为有害反应. mtUPR还与代谢之间存在联系^[71].线粒体未折叠蛋白反应还能激活转录:应激相关激活转录因子-1(stress related activated transcription factor-1, ATFS-1). ATFS-1被运输至细胞核诱导多种线粒体基因的转录,包括伴侣蛋白Hsp6.随着线粒体从蛋白质毒性应激中恢复,ATFS-1下调^[68].

超过20种蛋白酶存在于线粒体内,参与多种功能,

包括新导入蛋白质的加工和线粒体动力学。基质和膜间隙中的蛋白酶确保氧化磷酸化复合物中线粒体和核编码亚基的适当比例,清除错误折叠、未展开和受损的蛋白质,并有助于正常的蛋白质更新。基质中的蛋白酶Lon和ClpX/P、锚定在线粒体内膜面向膜间隙的Yme1、锚定在线粒体内膜面向基质的AFG3L2/SPG7都是蛋白质质量控制蛋白水解的中心^[10,68]。肝脏中线粒体蛋白质的更新速度比心脏快,这说明线粒体中蛋白更新的速率可能存在器官特异性,以满足不同组织的需求。

线粒体源性囊泡(Mitochondrial-derived vesicles, MDVs)脱落是线粒体质量控制的一种新途径。在稳定状态下,线粒体的单层或双层膜囊泡可产生大量的MDVs,内容物在溶酶体中降解。有研究阐明MDVs生成的机制:首先线粒体膜以依赖于微管相关运动蛋白1/2(microtubule-associated motor proteins, MIRO1/2)的方式沿微管突起,然后线粒体动力蛋白(mitochondrial dynamics proteins, MID)49/MID51/MFF招募DRP1, DRP1分裂线粒体突起部分形成MDVs^[69]。

5 线粒体营养素在脂肪肝防治中的应用

线粒体营养素一类能够增强线粒体抗氧化防御、改善线粒体功能、经外部处理后靶向线粒体发挥作用的一类营养物质^[12,81]。常见的线粒体营养素有 α -硫辛酸(α -Lipoic acid, ALA)、乙酰基-L-肉碱(Acetyl-L-carnitine hydrochlorid, ALCAR)以及辅酶Q10。线粒体营养素主要有以下三种作用:(i)防止氧化剂的产生以及清除已产生的自由基,如LA;(ii)诱导二相酶的活性,增强线粒体抗氧化防御,如硫黄嘌呤;(iii)促进线粒体的重塑,能够增强线粒体降解、生物发生、分裂和融合等过程,如LA, ALCAR和羟基酪醇;(iv)保护线粒体酶和激活线粒体酶活性,如B族维生素和辅酶Q^[12,81,82]。线粒体营养素有望通过改善肝脏线粒体功能来起到预防脂肪肝以及干预脂肪肝的病理进展的作用(图3)。

5.1 ALA

ALA被认为是一种硫醇化合物。ALA以及其还原形式二氢硫辛酸(dihydrolipoic acid, DHLA)都具有有强大的抗氧化作用,ALA主要存在于蔬菜和内脏等膳食成分当中,在哺乳动物细胞中的线粒体脂肪酸合成

酶也可以合成ALA。一方面,ALA/DHLA由于自身强大的抗氧化作用,能够清除ROS,刺激其他氧化剂再生,如,维生素C、维生素E,ALA/DHLA还促进还原型谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽(GSH/GSSG)比例升高。另一方面,ALA/DHLA也可以诱导Nrf2入核,进而调控抗氧化基因的表达。ALA/DHLA还具有金属螯合剂的特性,能螯合 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 等多种二价瞬态金属离子,从而减少ROS。这些证据表明ALA能通过直接和间接作用清除ROS从而减轻线粒体氧化应激水平。此外,高脂饮食喂养的动物模型显示,ALA诱导解偶联蛋白2增加,从而抑制ATP与脂质的合成,这揭示ALA在脂肪肝中发挥作用的可能机制^[81,83]。

5.2 ALCAR

ALCAR是一种季胺,在体内主要是由肝脏中的乙酰肉碱转移酶合成,体外主要依赖饮食摄取,主要是红肉,如牛肉和羊肉。ALCAR是负责运送长链脂肪酸进入线粒体的载体,肉碱水平的降低会导致线粒体膜完整性的降低。在由肝毒素四氯化碳处理的大鼠模型中发现,ALCAR通过多种途径预防线粒体氧化应激的发生:(i)阻止CCl₄诱导的iNOS表达的上调,减少NO的合成;(ii)防止CAT, SOD和GPx酶活性的降低;(iii)维持GSH水平;(iv)保持非酶抗氧化剂的正常水平;(v)改善脂质过氧化水平^[81,84]。也有研究表明ALCAR能够影响PGC-1 α /PGC β 通路,增强线粒体生物发生^[85]。

5.3 羟基酪醇及其衍生物

羟基酪醇(Hydroxytyrosol, HT)是一种酚类化合物,体外主要从橄榄油中获得,体内由多巴胺代谢产生^[82]。在经强效氧化剂叔丁基过氧化氢(tert-butyl hydroperoxide, t-BOOH)处理的人HepG2细胞中,HT能通过激活Nrf2易位以及磷脂酰肌醇3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, PKB or AKT)和ERK途径增加三种谷胱甘肽相关酶即GPx, GR, GST的表达和活性^[86],这些酶能够促进ROS水平的降低,改善线粒体氧化应激。也有研究显示,在大鼠NAFLD模型中,HT能激活AMPK通路,磷酸化ACC使其失活,恢复CPT1水平,上调PPAR α , PPAR γ 的表达,此外,HT还恢复PPAR α 下游调节基因成纤维细胞生长因子21(fibroblast growth factor 21, FGF21)在肝脏中的表达,在肝脏中,FGF21是激活脂质氧化与甘油三酯的

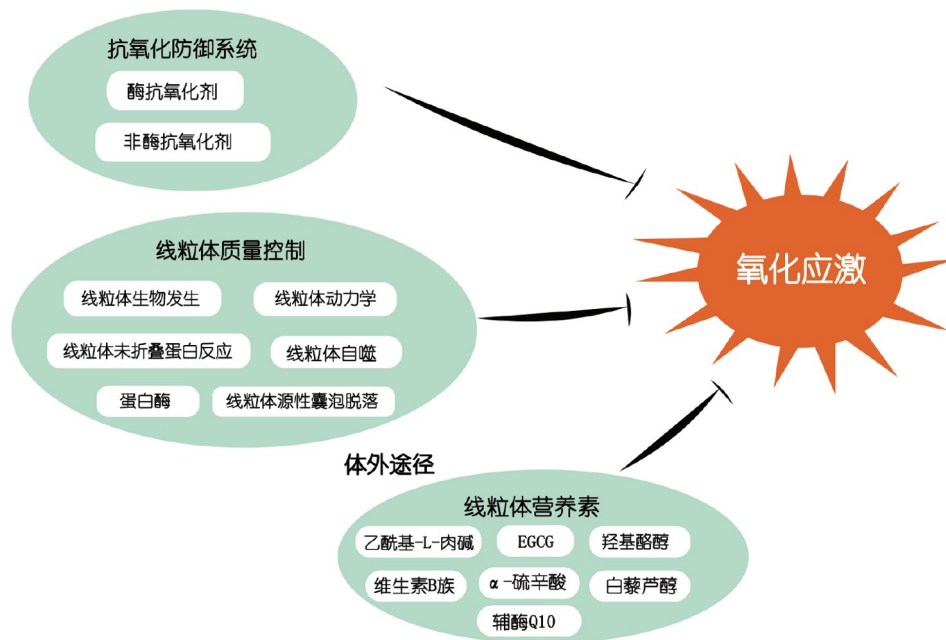


图 3 线粒体氧化应激的干预. 针对线粒体氧化应激, 体内有多种防御机制包括抗氧化防御系统和线粒体质量控制. 体外途径可以通过补充线粒体营养素来抑制线粒体氧化应激, 起到预防和治疗脂肪肝的作用

Figure 3 Intervention for mitochondrial oxidative stress. In response to mitochondrial oxidative stress, there are multiple defense mechanisms in the body, including antioxidant defense systems and mitochondrial quality control. Extracorporeal pathways can inhibit mitochondrial oxidative stress by supplementing mitochondrial nutrients, playing a role in preventing and treating fatty liver

清除所必需的一种细胞因子/激素, 这些发现说明HT有增加脂肪酸氧化, 预防肝脂肪变性的潜能^[87]. HT还能通过刺激PGC-1 α 增强线粒体生物发生维持线粒体稳态^[81].

5.4 表没食子儿茶素没食子酸酯

绿茶中有丰富的儿茶酸, 儿茶酸中的主要成分表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)也是线粒体营养素的一种, EGCG是绿茶中含量最高的黄酮类化合物. 儿茶酸能抑制肝脏重量和甘油三酯含量的增加, 对3T3-L1脂肪细胞的研究中发现, EGCG能促进脂质氧化, 且能增加线粒体质量以及线粒体复合物 I, II, III, mtDNA和PGC-1 α 的表达^[81]. 在一项动物研究中, 与高脂饮食(high-fat diet, HFD)对照相比, EGCG处理显著提高GSH/GSSG比率, 由于Nrf2信号通路在调节GSH水平方面发挥着关键作用, 因此EGCG发挥改善线粒体氧化应激状态的作用可能与激活Nrf2途径有关^[86].

EGCG已被证明能在在体内抑制哺乳动物肝脏中脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)的活性, 显著降

低肝脏内脂肪含量, 也能通过降低解偶联蛋白水平UCP2水平, 促进氧化磷酸化来增加肝脏中ATP含量, 还能升高肝脏中GSH水平来减轻线粒体氧化应激, 维护肝脏功能^[88]. 胰岛素抵抗是NAFLD的主要发病机制, 而EGCG能够靶向并激活AMPK通路抑制肝脏脂肪合成以及减轻胰岛素抵抗的胰岛素受体底物-1(insulin receptor substrate-1, IRS-1), 从而改善NAFLD^[89].

5.5 白藜芦醇

白藜芦醇(resveratrol, Res)是一种酚类化合物, 有抗氧化作用, 能够促进线粒体自噬, 改善线粒体氧化应激, 提高线粒体健康水平导致线粒体功能增强, 还能刺激ACC的磷酸化且增加CPT1a水平, 改善由肥胖饮食引起的肝脏脂肪变性^[87].

Res可能通过SIRT1介导的脱乙酰作用和增强小鼠肝脏的转录活性来刺激肝脏线粒体PGC-1 α 活性促进线粒体生物发生. Res对氧化磷酸化具有调控作用, Res能影响线粒体复合物I的活性, 在肝细胞中, 低剂量Res刺激复合物I, 高剂量Res抑制复合物I活性. 一项体外研究中显示, Res能够显著增加复合物I至IV的

活性。此外, Res也能调节ATP和复合物V的合成, 较低剂量的Res使得复合物V活性增强。Res还有维持线粒体DNA复制的作用^[90]。因此, Res在脂肪肝防治领域是一种十分有前景的药物。

5.6 分子氢

分子氢作为一种新的线粒体营养素, 在动物模型富氢水(hydrogen-rich water, HRW)能主要通过增强FGF21表达, 促进脂肪酸消耗, 同时改善HFD受损的线粒体功能并诱导肝脏中的相酶, 有效降低肝脏氧化应激水平缓解脂肪肝^[91~93]。临床试验中, HRW给药能够减少非酒精性脂肪性肝病患者肝脏脂肪积聚^[94,95]。珊瑚氢化钙(Coral calcium hydride, CCH)是新型的以珊瑚钙为原料的固体分子氢载体, 体内和体外都能持久地产生氢气。CCH治疗显著减少HFD诱导的肥胖大鼠的体重增加, 改善葡萄糖和脂质代谢, 减轻肝脂肪变性, 而对食物和水的摄入没有影响。此外, CCH有效改善HFD诱导的肝线粒体功能障碍, 降低氧化应激, 并激活II期酶。本文的研究结果表明, CCH是一种有效的富氢剂, 可以通过激活II期酶和改善线粒体功能来预防HFD诱导的NAFLD^[96]。证明分子氢在作为改善脂质代谢和脂肪肝的治疗干预措施的潜力。

5.7 其他线粒体营养素

B族维生素是线粒体酶辅因子的辅因子或前体, 对线粒体和酶有十分重要的作用。辅酶Q(细胞色素c-氧化还原酶)是一种亲脂性辅因子家族, 人体内最丰富的形式是辅酶Q10。辅酶Q10被认为是一种膳食补充剂, 是线粒体呼吸链中重要的辅因子, 在还原状态下, 它也是一种抗氧化剂, 能够起到清除自由基的作用。辅酶Q10以氧化(泛醌)或还原(泛醌醇)两种形式存在。泛醌能保护生物膜免受氧化, 抑制脂质过氧化。与泛醌不同, 泛醌醇需要激活其还原酶活性才能作为抗氧化剂, 提高生物利用度, 具有更大的治疗潜力。此外, 辅酶Q10衍生物泛醌和泛醌基癸基三苯基磷(ubiquinonyl-decyl-triphenylphosphonium, MitoQ)能够直接穿透线粒体膜, 其中MitoQ是一种公认有效的基于辅酶Q10的膳食补充剂, 具有广泛的用途^[91]。

安石榴苷(Punicalagin, PU)能够通过提高Nrf2蛋白水平, 促进Nrf2核转位, 从而诱导抗氧化酶消除ROS过量产生, 改善肝脏氧化应激, 促进线粒体生物发生改善

小鼠模型中高脂血症诱导的肝脏脂质代谢异常^[92]。苹果渣多糖(Apple pomace polysaccharides, APP)的给药显著改善HFD诱导的小鼠模型中的肝损伤, 可能是其通过清除和破坏脂质过氧自由基和ROS造成的^[93]。补充抗氧化剂以抑制自由基诱导的损伤已成为降低肝病风险的一种有吸引力的治疗策略。

5.8 线粒体营养素的联用

在临床实验中, 一般只使用一种线粒体营养素, 对线粒体营养素组合效果临床研究不多, 但本课题组研究发现有些线粒体营养素的组合使用效果更好, 且能避免传统药物治疗时一些副作用的发生, 比如硫辛酸(lipoic acid, LA), ALCAR以及B族维生素生物素以及烟酸的营养素组合在GK大鼠模型中, 与抗糖尿病药物吡格列酮有相当的治疗效果, 且避免吡格列酮增加体重的副作用, 其中LA与生物素在生物素依赖性羧化酶的调节上互相拮抗, 这种酶在线粒体功能中起重要作用, 生物素与LA联合治疗可以使这些羧化酶活性正常化, 进而维持体内平衡和避免副作用。之后研究这四种营养素组合对GK大鼠肝脏线粒体功能、氧化应激和细胞凋亡的影响。在GK大鼠中, 用四种营养素治疗3个月显著改善大鼠肝脏线粒体复合物的异常、增加抗氧化酶以及抗氧化能力, 减少细胞凋亡标志物p21, p53的表达, 并且在大多数这些指标上, 营养素组合的效果优于吡格列酮, 这可能表明该种组合会在改善脂肪肝疾病方面发挥作用^[12,97]。Pagano等人^[91]提出ALA、辅酶Q10以及ALCAR针对疾病中轻度线粒体效应的组合使用方案: ALA可以直接清除超氧化物并改善线粒体功能, 辅酶Q10是一种重要的内源性脂溶性抗氧化剂, ALCAR降低OS。它们的组合在临床试验中被证明是安全的, 并且已经研究它们减缓不同生物体衰老的能力, 改善衰老相关疾病, 但其有效性很可能取决于剂量和给药时间。充分研究了解线粒体营养素分子机制, 科学地将不同线粒体营养素组合起来, 互相协同补充, 减轻线粒体氧化应激, 改善线粒体功能, 线粒体营养素会在预防以及治疗脂肪肝领域发挥更大的作用^[12,91]。

6 总结与展望

线粒体作为肝细胞中重要的细胞器, 其功能是否

正常在脂肪肝的发展中起着重要作用. 一方面, 线粒体氧化应激中产生的过量ROS可以破坏许多重要的生物大分子, 比如DNA, 脂质及蛋白质. 另一方面, ROS还可以作为信号分子改变肝细胞中重要的信号通路, 主要是AMPK和MAPK通路, ROS还可以激活AP-1, Nrf2, PPAR α , NF- κ B转录因子来调控抗氧化以及代谢相关基因的表达. 过量ROS还能促进促炎细胞因子产生, 引起炎症. 这些都会影响线粒体氧化应激状态以及脂肪肝的进展. 氧化应激是一个恶性循环的过程, ROS产生引起的线粒体功能失衡会促进更多ROS的产生. 氧化应激在脂肪肝中的作用机制仍旧需要更多的

研究, 代谢组学、转录组学 and 新的细胞器靶向探针的应用在其中会发挥很大作用, 对于动物模型的利用将有助于向临床的转换.

脂肪肝防治中也有关于线粒体氧化应激的防御机制. 肝细胞中本身具有的防御机制包括抗氧化防御系统以及线粒体质量控制, 泛素-蛋白酶体系统在线粒体质量控制中起重要作用. 通过对于其中分子机制的深入研究, 靶向防御机制中的关键分子, 能够改善线粒体的氧化应激状态, 从而预防脂肪肝的发生和进展. 另外, 对线粒体营养素的研究有望发现靶向线粒体氧化应激的干预策略, 为预防和治疗脂肪肝带来新的见解.

参考文献

- 1 Amorim J A, Coppotelli G, Rolo A P, et al. Mitochondrial and metabolic dysfunction in ageing and age-related diseases. *Nat Rev Endocrinol*, 2022, 18: 243–258
- 2 Sunny N E, Bril F, Cusi K. Mitochondrial adaptation in nonalcoholic fatty liver disease: novel mechanisms and treatment strategies. *Trends Endocrinol Metab*, 2017, 28: 250–260
- 3 Auger C, Alhasawi A, Contavadoo M, et al. Dysfunctional mitochondrial bioenergetics and the pathogenesis of hepatic disorders. *Front Cell Dev Biol*, 2015, 3: 40
- 4 Schuster S, Cabrera D, Arrese M, et al. Triggering and resolution of inflammation in NASH. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15: 349–364
- 5 Schwabe R F, Tabas I, Pajvani U B. Mechanisms of fibrosis development in nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterol*, 2020, 158: 1913–1928
- 6 Zhao L, Zou X, Feng Z, et al. Evidence for association of mitochondrial metabolism alteration with lipid accumulation in aging rats. *Exp Gerontol*, 2014, 56: 3–12
- 7 Chen Z, Tian R, She Z, et al. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Free Radical Biol Med*, 2020, 152: 116–141
- 8 Mansouri A, Gattolliat C H, Asselah T. Mitochondrial dysfunction and signaling in chronic liver diseases. *Gastroenterol*, 2018, 155: 629–647
- 9 Tell G, Vascotto C, Tiribelli C. Alterations in the redox state and liver damage: hints from the EASL Basic School of Hepatology. *J Hepatol*, 2013, 58: 365–374
- 10 Pickles S, Vigié P, Youle R J. Mitophagy and quality control mechanisms in mitochondrial maintenance. *Curr Biol*, 2018, 28: R170–R185
- 11 Surai , Kochish , Fisinin , et al. Antioxidant defence systems and oxidative stress in *Poultry Biology*: an update. *Antioxidants*, 2019, 8: 235
- 12 Shen W, Hao J, Tian C, et al. A combination of nutriment improves mitochondrial biogenesis and function in skeletal muscle of type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *PLoS ONE*, 2008, 3: e2328
- 13 Peoples J N, Saraf A, Ghazal N, et al. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart disease. *Exp Mol Med*, 2019, 51: 1–13
- 14 Zhang L, Wang X, Cueto R, et al. Biochemical basis and metabolic interplay of redox regulation. *Redox Biol*, 2019, 26: 101284
- 15 Mantena S K, King A L, Andringa K K, et al. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in the pathogenesis of alcohol- and obesity-induced fatty liver diseases. *Free Radical Biol Med*, 2008, 44: 1259–1272
- 16 Kotiadis V N, Duchon M R, Osellame L D. Mitochondrial quality control and communications with the nucleus are important in maintaining mitochondrial function and cell health. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2014, 1840: 1254–1265
- 17 Cox A G, Winterbourn C C, Hampton M B. Mitochondrial peroxiredoxin involvement in antioxidant defence and redox signalling. *Biochem J*, 2009, 425: 313–325
- 18 Larosche I, Choumar A, Fromenty B, et al. Prolonged ethanol administration depletes mitochondrial DNA in MnSOD-overexpressing transgenic mice, but not in their wild type littermates. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009, 234: 326–338
- 19 Nahon P, Sutton A, Rufat P, et al. A variant in myeloperoxidase promoter hastens the emergence of hepatocellular carcinoma in patients with

- HCV-related cirrhosis. *J Hepatol*, 2012, 56: 426–432
- 20 Choumar A, Tarhuni A, Lettéron P, et al. Lipopolysaccharide-induced mitochondrial DNA depletion. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 15: 2837–2854
- 21 Radi R, Cassina A, Hodara R, et al. Peroxynitrite reactions and formation in mitochondria. *Free Radical Biol Med*, 2002, 33: 1451–1464
- 22 Larosche I, Lettéron P, Berson A, et al. Hepatic mitochondrial DNA depletion after an alcohol binge in mice: probable role of peroxynitrite and modulation by manganese superoxide dismutase. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, 332: 886–897
- 23 Pryde K R, Hirst J. Superoxide is produced by the reduced flavin in mitochondrial complex I. *J Biol Chem*, 2011, 286: 18056–18065
- 24 Kushnareva Y, Murphy A N, Andreyev A. Complex I-mediated reactive oxygen species generation: modulation by cytochrome c and NAD(P)⁺ oxidation-reduction state. *Biochem J*, 2002, 368: 545–553
- 25 Jung J, Zeng H, Horng T. Metabolism as a guiding force for immunity. *Nat Cell Biol*, 2019, 21: 85–93
- 26 Roca F J, Ramakrishnan L. TNF dually mediates resistance and susceptibility to mycobacteria via mitochondrial reactive oxygen species. *Cell*, 2013, 153: 521–534
- 27 Bleier L, Dröse S. Superoxide generation by complex III: from mechanistic rationales to functional consequences. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1827: 1320–1331
- 28 Turrens J F, Alexandre A, Lehninger A L. Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria. *Arch Biochem Biophys*, 1985, 237: 408–414
- 29 van der Vliet A, Janssen-Heininger Y M W, Anathy V. Oxidative stress in chronic lung disease: from mitochondrial dysfunction to dysregulated redox signaling. *Mol Aspects Med*, 2018, 63: 59–69
- 30 Figueira T R, Barros M H, Camargo A A, et al. Mitochondria as a source of reactive oxygen and nitrogen species: from molecular mechanisms to human health. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 18: 2029–2074
- 31 Starkov A A, Fiskum G, Chinopoulos C, et al. Mitochondrial α -ketoglutarate dehydrogenase complex generates reactive oxygen species. *J Neurosci*, 2004, 24: 7779–7788
- 32 Orsini F, Migliaccio E, Moroni M, et al. The Life span determinant p66Shc localizes to mitochondria where it associates with mitochondrial heat shock protein 70 and regulates trans-membrane potential. *J Biol Chem*, 2004, 279: 25689–25695
- 33 Giorgio M, Migliaccio E, Orsini F, et al. Electron transfer between cytochrome c and p66Shc generates reactive oxygen species that trigger mitochondrial apoptosis. *Cell*, 2005, 122: 221–233
- 34 Kuroda J, Ago T, Matsushima S, et al. NADPH oxidase 4 (Nox4) is a major source of oxidative stress in the failing heart. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 15565–15570
- 35 Shanmugasundaram K, Nayak B K, Friedrichs W E, et al. NOX4 functions as a mitochondrial energetic sensor coupling cancer metabolic reprogramming to drug resistance. *Nat Commun*, 2017, 8: 997
- 36 de Mello A H, Costa A B, Engel J D G, et al. Mitochondrial dysfunction in obesity. *Life Sci*, 2018, 192: 26–32
- 37 Farfán Labonne B E, Gutiérrez M, Gómez-Quiroz L E, et al. Acetaldehyde-induced mitochondrial dysfunction sensitizes hepatocytes to oxidative damage. *Cell Biol Toxicol*, 2009, 25: 599–609
- 38 Robin M A, Sauvage I, Grandperret T, et al. Ethanol increases mitochondrial cytochrome P450 2E1 in mouse liver and rat hepatocytes. *FEBS Lett*, 2005, 579: 6895–6902
- 39 Forsyth C B, Tang Y, Shaikh M, et al. Role of snail activation in alcohol-induced iNOS-mediated disruption of intestinal epithelial cell permeability. *Alcoholism Clin Exp Res*, 2011, 35: 1635–1643
- 40 Pessayre D, Berson A, Fromenty B, et al. Mitochondria in steatohepatitis. *Semin Liver Dis*, 2001, 21: 057–070
- 41 Pessayre D, Mansouri A, Fromenty B. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. V. Mitochondrial dysfunction in steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 282: G193–G199
- 42 Friedman S L, Neuschwander-Tetri B A, Rinella M, et al. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nat Med*, 2018, 24: 908–922
- 43 Rolo A P, Teodoro J S, Palmeira C M. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Free Radical Biol Med*, 2012, 52: 59–69
- 44 Takaki A, Kawai D, Yamamoto K. Multiple hits, including oxidative stress, as pathogenesis and treatment target in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Int J Mol Sci*, 2013, 14: 20704–20728

- 45 Yu H T, Fu X Y, Liang B, et al. Oxidative damage of mitochondrial respiratory chain in different organs of a rat model of diet-induced obesity. [Eur J Nutr](#), 2018, 57: 1957–1967
- 46 Samuel V T, Shulman G I. Nonalcoholic fatty liver disease as a nexus of metabolic and hepatic diseases. [Cell Metab](#), 2018, 27: 22–41
- 47 Aharoni-Simon M, Hann-Obercyger M, Pen S, et al. Fatty liver is associated with impaired activity of PPAR γ -coactivator 1 α (PGC1 α) and mitochondrial biogenesis in mice. [Lab Invest](#), 2011, 91: 1018–1028
- 48 Lu Q, Tian X, Wu H, et al. Metabolic changes of hepatocytes in NAFLD. [Front Physiol](#), 2021, 12: 710420
- 49 Farzanegi P, Dana A, Ebrahimpoor Z, et al. Mechanisms of beneficial effects of exercise training on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): roles of oxidative stress and inflammation. [Eur J Sport Sci](#), 2019, 19: 994–1003
- 50 Musso G, Cassader M, Paschetta E, et al. Bioactive lipid species and metabolic pathways in progression and resolution of nonalcoholic steatohepatitis. [Gastroenterol](#), 2018, 155: 282–302.e8
- 51 Herzig S, Shaw R J. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis. [Nat Rev Mol Cell Biol](#), 2018, 19: 121–135
- 52 Zmijewski J W, Banerjee S, Bae H, et al. Exposure to hydrogen peroxide induces oxidation and activation of AMP-activated protein kinase. [J Biol Chem](#), 2010, 285: 33154–33164
- 53 Smith B K, Marcinko K, Desjardins E M, et al. Treatment of nonalcoholic fatty liver disease: role of AMPK. [Am J Physiol Endocrinol Metab](#), 2016, 311: E730–E740
- 54 Day E A, Ford R J, Steinberg G R. AMPK as a therapeutic target for treating metabolic diseases. [Trends Endocrinol Metab](#), 2017, 28: 545–560
- 55 Jayasuriya R, Dhamodharan U, Ali D, et al. Targeting Nrf2/Keap1 signaling pathway by bioactive natural agents: possible therapeutic strategy to combat liver disease. [Phytomedicine](#), 2021, 92: 153755
- 56 Reddy N M, Kleeberger S R, Yamamoto M, et al. Genetic dissection of the Nrf2-dependent redox signaling-regulated transcriptional programs of cell proliferation and cytoprotection. [Physiol Genomics](#), 2007, 32: 74–81
- 57 Reuter S, Gupta S C, Chaturvedi M M, et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? [Free Radical Biol Med](#), 2010, 49: 1603–1616
- 58 Su C, Shi A, Cao G, et al. Fenofibrate suppressed proliferation and migration of human neuroblastoma cells via oxidative stress dependent of TXNIP upregulation. [Biochem Biophys Res Commun](#), 2015, 460: 983–988
- 59 Wang L, Scott I, Zhu L, et al. GCN5L1 modulates cross-talk between mitochondria and cell signaling to regulate FoxO1 stability and gluconeogenesis. [Nat Commun](#), 2017, 8: 523
- 60 Czaja M J. III. JNK/AP-1 regulation of hepatocyte death. [Am J Physiol Gastrointestinal Liver Physiol](#), 2003, 284: G875–G879
- 61 Win S, Than T A, Zhang J, et al. New insights into the role and mechanism of c-Jun-N-terminal kinase signaling in the pathobiology of liver diseases. [Hepatology](#), 2018, 67: 2013–2024
- 62 Win S, Than T A, and Kaplowitz N. Hepatic mitochondrial Sab (SH3BP5) plays a pivotal role in sustained JNK activation and steatohepatitis in diet-induced NASH. [Hepatology](#), 2016, 64: 128a-a
- 63 Vernia S, Cavanagh-Kyros J, Garcia-Haro L, et al. The PPAR α -FGF21 hormone axis contributes to metabolic regulation by the hepatic JNK signaling pathway. [Cell Metab](#), 2014, 20: 512–525
- 64 Yu F, Wei J, Cui X, et al. Post-translational modification of RNA m⁶A demethylase ALKBH5 regulates ROS-induced DNA damage response. [Nucleic Acids Res](#), 2021, 49: 5779–5797
- 65 Li J L, Wang Q Y, Luan H Y, et al. Effects of L-carnitine against oxidative stress in human hepatocytes: involvement of peroxisome proliferator-activated receptor α . [J Biomed Sci](#), 2012, 19: 32
- 66 Hui J M, Hodge A, Farrell G C, et al. Beyond insulin resistance in NASH: TNF- α or adiponectin?. [Hepatology](#), 2004, 40: 46–54
- 67 Surai P F, Kochish I I. Food for thought: nano-selenium in poultry nutrition and health. [Anim Health Res Rev](#), 2020, 21: 103–107
- 68 Youle R J. Mitochondria—striking a balance between host and endosymbiont. [Science](#), 2019, 365: eaaw9855
- 69 Konig T, Nolte H, Aaltonen M J, et al. MIROs and DRP1 drive mitochondrial-derived vesicle biogenesis and promote quality control. [Nat Cell Biol](#), 2021, 23: 1271–1286
- 70 Lu Y, Li Z, Zhang S, et al. Cellular mitophagy: mechanism, roles in diseases and small molecule pharmacological regulation. [Theranostics](#), 2023, 13: 736–766
- 71 Mottis A, Jovaisaite V, Auwerx J. The mitochondrial unfolded protein response in mammalian physiology. [Mamm Genome](#), 2014, 25: 424–433
- 72 Moore M P, Cunningham R P, Meers G M, et al. Compromised hepatic mitochondrial fatty acid oxidation and reduced markers of mitochondrial

- turnover in human NAFLD. *Hepatology*, 2022, 76: 1452–1465
- 73 Popov L D. Mitochondrial biogenesis: an update. *J Cell Mol Med*, 2020, 24: 4892–4899
- 74 Pernas L, Scorrano L. Mito-morphosis: mitochondrial fusion, fission, and cristae remodeling as key mediators of cellular function. *Annu Rev Physiol*, 2016, 78: 505–531
- 75 Lamb C A, Yoshimori T, Tooze S A. The autophagosome: origins unknown, biogenesis complex. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14: 759–774
- 76 Heo J M, Ordureau A, Swarup S, et al. RAB7A phosphorylation by TBK1 promotes mitophagy via the PINK-PARKIN pathway. *Sci Adv*, 2018, 4: eaav0443
- 77 Heo J M, Ordureau A, Paulo J A, et al. The PINK1-PARKIN mitochondrial ubiquitylation pathway drives a program of OPTN/NDP52 recruitment and TBK1 activation to promote mitophagy. *Mol Cell*, 2015, 60: 7–20
- 78 Huh J Y, Reilly S M, Abu-Odeh M, et al. TANK-binding kinase 1 regulates the localization of acyl-CoA synthetase ACSL1 to control hepatic fatty acid oxidation. *Cell Metab*, 2020, 32: 1012–1027.e7
- 79 Zhou H, Du W, Li Y, et al. Effects of melatonin on fatty liver disease: the role of NR4A1/DNA-PKcs/p53 pathway, mitochondrial fission, and mitophagy. *J Pineal Res*, 2018, 64: e12450
- 80 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. *Redox Biol*, 2018, 18: 229–243
- 81 Liu J, Shen W, Zhao B, et al. Targeting mitochondrial biogenesis for preventing and treating insulin resistance in diabetes and obesity: hope from natural mitochondrial nutrients. *Adv Drug Deliver Rev*, 2009, 61: 1343–1352
- 82 Peng Y, Gao P, Shi L, et al. Central and peripheral metabolic defects contribute to the pathogenesis of Alzheimer's disease: targeting mitochondria for diagnosis and prevention. *Antioxid Redox Signal*, 2020, 32: 1188–1236
- 83 Gomes M B, Negrato C A. Alpha-lipoic acid as a pleiotropic compound with potential therapeutic use in diabetes and other chronic diseases. *Diabetol Metab Syndr*, 2014, 6: 80
- 84 Annadurai T, Vigneshwari S, Thirukumaran R, et al. Acetyl-L-carnitine prevents carbon tetrachloride-induced oxidative stress in various tissues of Wistar rats. *J Physiol Biochem*, 2011, 67: 519–530
- 85 Pesce V, Nicassio L, Fracasso F, et al. Acetyl-L-carnitine activates the peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivators PGC-1 α /PGC-1 β -dependent signaling cascade of mitochondrial biogenesis and decreases the oxidized peroxiredoxins content in old rat liver. *Rejuvenation Res*, 2012, 15: 136–139
- 86 Martín M A, Ramos S, Granado-Serrano A B, et al. Hydroxytyrosol induces antioxidant/detoxificant enzymes and Nrf2 translocation via extracellular regulated kinases and phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B pathways in HepG2 cells. *Mol Nutr Food Res*, 2010, 54: 956–966
- 87 Pirozzi C, Lama A, Simeoli R, et al. Hydroxytyrosol prevents metabolic impairment reducing hepatic inflammation and restoring duodenal integrity in a rat model of NAFLD. *J Nutr Biochem*, 2016, 30: 108–115
- 88 Fiorini R N, Donovan J L, Rodwell D, et al. Short-term administration of (-)-epigallocatechin gallate reduces hepatic steatosis and protects against warm hepatic ischemia/reperfusion injury in steatotic mice. *Liver Transpl*, 2005, 11: 298–308
- 89 James A, Wang K, Wang Y. Therapeutic activity of green tea epigallocatechin-3-gallate on metabolic diseases and non-alcoholic fatty liver diseases: the current updates. *Nutrients*, 2023, 15: 3022
- 90 Chodari L, DilSIZ Aytemir M, Vahedi P, et al. Targeting mitochondrial biogenesis with polyphenol compounds. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 4946711
- 91 Pagano G, Pallardó F V, Lyakhovich A, et al. Aging-related disorders and mitochondrial dysfunction: a critical review for prospect mitoprotective strategies based on mitochondrial nutrient mixtures. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 7060
- 92 Cao K, Wang K, Yang M, et al. Punicalagin improves hepatic lipid metabolism via modulation of oxidative stress and mitochondrial biogenesis in hyperlipidemic mice. *Food Funct*, 2020, 11: 9624–9633
- 93 Chen L, Liu L, Li C, et al. A mix of apple pomace polysaccharide improves mitochondrial function and reduces oxidative stress in the liver of high-fat diet-induced obese mice. *Mol Nutr Food Res*, 2017, 61: 1600433
- 94 Liang B, Shi L, Du D, et al. Hydrogen-rich water ameliorates metabolic disorder via modifying gut microbiota in impaired fasting glucose patients: a randomized controlled study. *Antioxidants*, 2023, 12: 1245
- 95 Zhao L, Wang Y, Zhang G, et al. L-arabinose elicits gut-derived hydrogen production and ameliorates metabolic syndrome in C57BL/6J mice on

high-fat-diet. *Nutrients*, 2019, 11: 3054

- 96 Hou C, Wang Y, Zhu E, et al. Coral calcium hydride prevents hepatic steatosis in high fat diet-induced obese rats: a potent mitochondrial nutrient and phase II enzyme inducer. *Biochem Pharmacol*, 2016, 103: 85–97
- 97 Sun L, Shen W, Liu Z, et al. Endurance exercise causes mitochondrial and oxidative stress in rat liver: effects of a combination of mitochondrial targeting nutrients. *Life Sci*, 2010, 86: 39–44

Mitochondrial oxidative stress in fatty liver: molecular mechanisms and intervention strategies by nutrients

WANG Ying¹, WANG YiFang¹, LUO ChaoGui¹, LIU JianKang^{1,2}, LONG JianGang¹ & PENG YunHua^{1*}

¹ Key Laboratory of Biomedical Information Engineering of Ministry of Education, Institute of Mitochondrial Biology and Medicine, School of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China;

² School of Health and Life Sciences, Rehabilitation University, Qingdao 266071, China

* Corresponding author, E-mail: y.peng@mail.xjtu.edu.cn

Mitochondria are the main organelle in eukaryotic cells that produce biological oxidation, energy conversion and reactive oxygen species. The stable balance of mitochondria ensures the metabolic function of various organs, including the liver. Mitochondrial oxidative stress can damage Mitochondrial DNA, proteins, lipids and other biological macromolecules to cause mitochondrial homeostasis and mitochondrial dysfunction, and lead to the pathological development of fatty liver by affecting energy metabolism related signal pathways. Further research on the mechanism of mitochondrial oxidative stress in the pathological development of fatty liver can help identify targets for the treatment and prevention of fatty liver. This article reviews the generation of mitochondrial oxidative stress and its mechanism of action in the pathological progression of fatty liver, as well as nutrient intervention strategies targeting mitochondria.

fatty liver, mitochondria, reactive oxygen species, oxidative stress

doi: [10.1360/SSV-2023-0170](https://doi.org/10.1360/SSV-2023-0170)