

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.30.007

非酒精性脂肪性肝病大鼠肠粘膜紧密连接蛋白 ZO-1 及肌球蛋白轻链激酶的变化*

吴云¹ 李春苗² 刘喃喃¹ 王立国¹ 庄丽维^{1Δ}

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院 黑龙江 哈尔滨 150001; 2 天津市海河医院 天津 300350)

摘要 目的: 研究不同阶段非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)大鼠肠粘膜紧密连接蛋白 ZO-1 及肌球蛋白轻链激酶(MLCK)的变化。**方法:** 将 60 只雄性清洁级 SD 大鼠随机分为两组: 正常饮食组(NDG)和高脂饮食组(FDG)。于 4 周、8 周、12 周时观察各组大鼠肝脏病理学改变; 应用 ELISA 方法测定各阶段大鼠血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、甘油三酯(TG)、胆固醇(CHOL)的变化; 应用鲎实验测定各阶段大鼠门静脉血中内毒素(ET)水平; 应用免疫组化方法检测肠道粘膜肌球蛋白轻链激酶(MLCK)及紧密连接蛋白(ZO-1)的表达及分布情况。**结果:** 随着高脂饮食时间增长, 高脂饮食组大鼠肝脏脂肪变性程度逐渐加重; 血清 ALT、AST、TG、CHOL 水平逐渐升高(4 周时, $P>0.05$, 8 周和 12 周时 $P<0.05$); 大鼠血浆内毒素的水平逐渐上升(0.11 ± 0.01 比 0.11 ± 0.01 , $P>0.05$; 0.36 ± 0.01 比 0.11 ± 0.01 , $P<0.05$; 0.44 ± 0.15 比 0.18 ± 0.03 , $P<0.05$); 高脂饮食组较正常饮食组大鼠紧密连接蛋白 ZO-1 表达逐渐下降 (3.6 ± 0.7 比 3.9 ± 0.32 , $P>0.05$; 2.8 ± 0.63 比 3.8 ± 0.42 , $P<0.05$; 1.8 ± 0.79 比 3.7 ± 0.48 , $P<0.05$), MLCK 表达逐渐增多(0.5 ± 0.53 比 0.3 ± 0.48 , $P>0.05$; 1.3 ± 0.48 比 0.4 ± 0.52 , $P<0.05$; 1.9 ± 0.74 比 0.5 ± 0.53 , $P<0.05$)。 **结论:** 肠粘膜紧密连接蛋白 ZO-1 及 MLCK 可通过影响肠粘膜屏障功能, 改变肠粘膜的通透性, 促进非酒精性脂肪肝病发生发展。

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 肠粘膜屏障; 肌球蛋白轻链激酶; 紧密连接蛋白 ZO-1

中图分类号: Q95-3; R575.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2017)30-5832-05

Changes of Intestinal Mucosal Tight Junction Protein ZO-1 and MLCK in Different Stages of Nonalcoholic Fatty Liver Disease Rats*

WU Yun¹, LI Chun-miao², LIU Nan-nan¹, WANG Li-guo¹, ZHUANG Li-wei^{1Δ}

(1 The Fourth Affiliated Hospital Harbin University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China;

2 Tianjin Haihe Hospital, Tianjin, 300350, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression and distribution of the intestinal mucosal tight junction protein zonula occluden-1 (ZO-1) and myosin light chain kinase (MLCK) in rats from the different stages of nonalcoholic fatty liver disease(NAFLD). **Methods:** Sixty Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into two groups: normal diet group (NDG) and high fat diet group (FDG). The pathologic changes of hepatic tissue were assessed by Hematoxylin-Eosin (HE) staining at 4 weeks, 8 weeks, 12 weeks. The expression levels of alanine aminotransferase(ALT), aspartate transaminase(AST), triglyceride(TG), cholesterol(CHOL) of two groups in serum were evaluated by enzyme linked immune sorbent assay(ELISA). The expression levels of the plasma Endotoxin(ET) in rats from different stages of NAFLD were quantified by limulus test. The expression and distribution of ZO-1 and MLCK were determined by immunohistochemistry. **Results:** As time went on, the degree of hepatic steatosis gradually increased in rats feed with high fat diet. The levels of ALT, AST, TG, CHOL in serum and ET in plasma were gradually elevated in high fat diet group (0.11 ± 0.01 vs 0.11 ± 0.01 , $P>0.05$; 0.36 ± 0.01 vs 0.11 ± 0.01 , $P<0.05$; 0.44 ± 0.15 vs 0.18 ± 0.03 , $P<0.01$). The result of immunohistochemistry showed that the expression of tight junction ZO-1 in high fat diet group gradually decreased (3.6 ± 0.7 vs 3.9 ± 0.32 , $P>0.05$; 2.8 ± 0.63 vs 3.8 ± 0.42 , $P<0.05$; 1.8 ± 0.79 vs 3.7 ± 0.48 , $P<0.01$), while the expression of MLCK gradually increased (0.5 ± 0.53 vs 0.3 ± 0.48 , $P>0.05$; 1.3 ± 0.48 vs 0.4 ± 0.52 , $P<0.05$; 1.9 ± 0.74 vs 0.5 ± 0.53 , $P<0.01$). **Conclusion:** Intestinal mucosal tight junction protein ZO-1 and MLCK play a role in intestinal barrier dysfunction, which may result in the increase of intestinal mucosal permeability and the development and progression of NAFLD.

Key words: Nonalcoholic fatty liver disease; Intestinal mucosal barrier; Myosin light chain kinase; Tight junction protein zonula occluden-1

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3; R575.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)30-5832-05

* 基金项目: 黑龙江省自然科学基金面上项目(D201139)

作者简介: 吴云(1986-), 医师, 硕士研究生, 主要研究方向: 非酒精性脂肪性肝病肠粘膜屏障, E-mail: wuyun20050510@sina.com

Δ 通讯作者: 庄丽维(1963-), 教授, 主任医师, 研究生导师, 主要研究方向: 肝硬化、脂肪肝、酒精性肝病的诊断与治疗,

消化道早癌的基础研究与临床研究, E-mail: zhuangliwei@126.com

(收稿日期: 2017-06-02 接受日期: 2017-06-30)

前言

非酒精性脂肪肝病 (non alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是一种代谢性应激性疾病, 具体的发病机制尚未明确^[1,2]。一直以来广受学者认可的学说主要有 "两次打击学说" 及 "肝-肠轴学说"^[3,4]。最新的国外实践指南^[5]将 NAFLD 分为两类: 非酒精性脂肪肝 (non alcoholic fatty liver, NAFL) 和非酒精性脂肪性肝炎 (non alcohol steatohepatitis, NASH)。有研究提出: NAFLD 可进一步发展为肝硬化甚至肝癌^[6,7]。

近年来, 关于非酒精性脂肪性肝病与肠粘膜屏障的研究逐渐受到越来越多的关注^[8-10]。正常的肠粘膜屏障可分为: 肠粘膜机械屏障、肠粘膜化学屏障、肠粘膜生物屏障、肠粘膜免疫屏障。肠道屏障功能及器质上的完整性对维持机体尤为重要。肠粘膜紧密连接蛋白 ZO-1 及 MLCK 为细胞间紧密连接的重要组成部分, ZO-1 属于紧密连接结构中的细胞质蛋白, 主要定位于细胞间紧密连接的细胞膜表面, 具有信号转导功能, 调节细胞间的封闭性; MLCK 是一类钙/钙调蛋白依赖性酶, 该激酶可通过磷酸化肌球蛋白轻链, 促进肌球蛋白与肌动蛋白微丝相互作用, 从而产生细胞骨架的收缩活动, 影响细胞间紧密连接作用。关于非酒精性脂肪肝病发展进程中肠道粘膜损伤的具体发病机制尚未完全清晰。本文通过研究不同阶段 NAFLD 大鼠与肠粘膜紧密连接蛋白闭锁小带蛋白-1 (zonula occluden-1, ZO-1) 及肌球蛋白轻链激酶 (myosin light chain kinase, MLCK) 的变化, 以及探知两者是否存在密切关联, 进而为临床预防及控制 NAFLD 发生发展提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

雄性清洁级 SD 大鼠 60 只, 鼠龄为一月, 体重约 200 g, 购自山东省青岛市福德养殖公司。胆固醇、猪胆盐 (上海蓝季科技发展有限公司), 蛋黄粉 (哈尔滨市南岗区宝来科研试剂经销部)。牛血清白蛋白 (上海蓝季科技发展有限公司, 批号 120605), SV0002-兔 IgG 两步法免疫组化检测试剂盒 (武汉博士德生物有限公司, 产品编号 SV0002), Rabbit Anti-MLCK (北京博奥森生物技术有限公司, 产品编号: bs-4705R), Rabbit Anti-ZO-1 (武汉博士德生物有限公司, 产品编号 BA2825), DAB (辣根过氧化物酶) 显色试剂盒 (武汉博士德生物有限公司, 产品批号: AR1025)。显色基质鲎试剂 (厦门市鲎试剂试验厂有限公司, 批号: CE80845)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及建模 SD 大鼠适应性喂养一周随机分为两组: 正常饮食组 (Normal diet group, NDG) 和高脂饮食组 (Fat diet group, FDG), 各 30 只。正常饮食组给予普通大鼠饲料, 高脂饮食组给予一定配比的高脂饲料 (普通饲料 80.5%, 胆固醇 2%, 蛋黄粉 10%, 猪胆盐 0.5%, 猪油 7%)^[11]。

1.2.2 标本收集与保存 在 4 周、8 周、12 周时随机选取正常饮食组及高脂饮食组各 10 只大鼠。取门静脉血离心后取血浆通过鲎实验方法测定门静脉中内毒素水平。取大鼠下腔静脉血离心后留取血清测定血清中谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总胆固醇、甘油三酯水平。取肝脏 (大小约为 1.0 cm*0.5 cm) 及小肠组

织 (空回肠动脉各 1 份, 长约 1 cm) 保存于 4% 的多聚甲醛中, 包埋后保存待下一步进行 HE 染色及免疫组化。

1.2.3 肝脏病理组织学检测 将收集好的肝脏组织标本取出, 通过 HE 染色法 (苏木精-伊红染色法), 观察肝脏脂肪变性程度及有无炎性细胞浸润。

1.2.4 免疫组化: 小肠粘膜 ZO-1、MLCK 表达情况 应用免疫组化方法检测大鼠小肠粘膜紧密连接蛋白 ZO-1、MLCK 表达情况, 通过高倍显微镜判断细胞的阳性染色情况。阳性判断标准为: 细胞内呈棕色反应颗粒。按照阳性细胞所占百分比计数: - (无显色细胞, 用 "0" 表示)、± (显色细胞在 0-25%, 用 "1" 表示)、+ (显色细胞在 25%-50%, 用 "2" 表示)、++ (显色细胞在 50%-75%, 用 "3" 表示)、+++ (显色细胞大于 75%, 用 "3" 表示)^[12]。

1.3 统计学分析

对数据进行处理和分析, 计量资料应用 t 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义; 免疫组化结果为半定量数据, 因此组间差异可采用秩和检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠一般状况

正常饮食组大鼠皮毛有光泽, 无脱毛、出血等现象, 无腹泻及血便, 食欲好, 动作灵活, 行走姿势正常。高脂饮食组大鼠随着高脂饮食时间延长, 大鼠出现活动度减低, 懒动, 进食量较前略有减少, 有出现脱毛现象, 少数出现大便不成形, 尿频等现象。对比两组大鼠体重增长情况 FDG 体重均较 NDG 高, 前四周时大鼠体重均增长较快, 8 周时两组体重增长基本持平, 12 周时大鼠体重增长速度明显减慢, 对比两组体重水平, 高脂饮食组体重仍高于 NDG。

2.2 大鼠肝脏病理学变化

2.2.1 肝脏大体病理学变化 正常组 SD 大鼠肝脏呈暗红色, 细腻, 边缘柔软, 各肝叶体积正常。高脂饮食组大鼠随着时间增长, 肉眼观肝脏颜色变浅, 体积增大, 边缘变钝, 12 周时大鼠肝脏体积较同期正常组增大, 肝被膜紧张, 边缘圆钝, 表面呈粗颗粒状, 切面油腻感 (见图 1)。

2.2.2 肝脏 HE 染色病理学变化 正常饮食组大鼠肝脏病理学表现为: 肝小叶结构完整, 肝板排列整齐, 肝细胞大小正常, 无脂肪变性及炎性细胞浸润。4 周时高脂饮食组大鼠肝小叶结构正常, 肝细胞有少量的脂肪沉积; 8 周时高脂饮食组大鼠肝细胞脂肪变性程度加重, 变性的肝细胞浆内出现大小不一的空泡, 部分融合为一大空泡, 形似脂肪细胞, 肝小叶汇管间有少量炎性浸润; 12 周时高脂饮食组大鼠呈弥漫性肝细胞脂肪变性, 以大泡性为主, 少数标本出现点状坏死, 大部分出现汇管区炎性细胞 (见图 2)。

2.3 血液中 AST、ALT、CHOL、TG、ET 水平变化

分别对比 4 周、8 周、12 周大鼠血清 CHOL、TG, 发现随着高脂饮食的时间的延长, 血清 CHOL、TG 水平逐渐升高 ($P < 0.05$) (见表 1)。对比各阶段大鼠血清中 ALT、AST, 在 4 周时两组指标无明显差异 ($P > 0.05$), 在 8 周和 12 周时高脂饮食组明显高于同时期正常饮食组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。对比两组血浆中 ET 的含量, 发现 4 周时两组 ET 含量无明显差异, 差

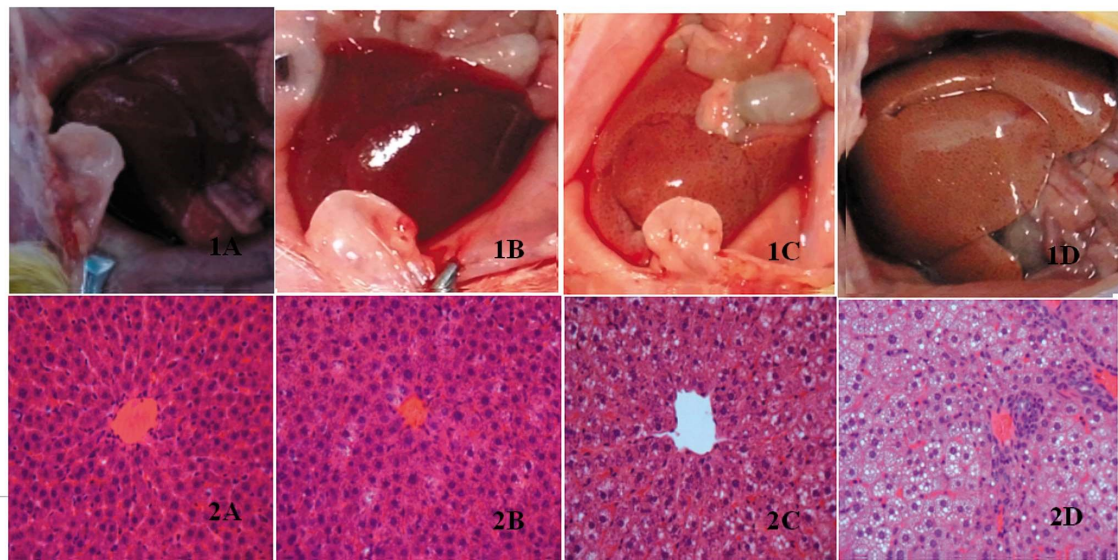


图 1 大鼠肝脏大体病理学表现:图 1A 为正常饮食组,1B、1C、1D 分别为 4 周、8 周、12 周高脂饮食组大鼠。图 2 大鼠肝脏病理学表现:图 2A 为正常饮食组,2B、2C、2D 分别为 4 周、8 周、12 周高脂饮食组大鼠肝脏病理学表现 10× 40

Fig.1 Observation of the whole liver in rats: Fig. 1A is the normal diet group, Fig. 1B, Fig.1C, Fig. 1D were respectively gross morphology changes of liver in high fat diet group at 4 weeks, 8 weeks, 12weeks. Fig.2 Pathological changes of liver in rats: Fig.2A is the normal diet group, Fig.B, Fig.2C, Fig.D were respectively pathological changes of liver in high fat diet group at 4 weeks, 8 weeks, 12 weeks.

异不具有统计学意义;对比 8 周、12 周时 ET 含量,高脂饮食 表 1。
组高于对照组,且差异具有统计学意义($P<0.05$)。具体数据见

表 1 ALT、AST、CHOL、TG、ET 的水平变化($\bar{x}\pm s$)
Table 1 Changes of ALT, AST, CHOL, TG, ET levels

		AST(U/L)	ALT (U/L)	CHOL(mmol/L)	TG (mmol/L)	ET(EU/mL)
4W	NDG	127.35± 0.87	37.65± 1.28	0.79± 0.11	0.36± 0.03	0.11± 0.01
	FDG	128± 1.02	38.47± 1.74	1.82± 0.22	0.54± 0.03	0.11± 0.01
	P	0.15	0.25	<0.01	<0.01	0.89
8W	NDG	127.58± 1.03	37.81± 1.07	0.84± 0.07	0.36± 0.02	0.11± 0.01
	FDG	134.27± 1.43	54.47± 3.54	1.81± 0.06	0.56± 0.04	0.36± 0.01
	P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
12W	NDG	127.88± 1.09	37.97± 0.79	0.84± 0.07	0.38± 0.02	0.18± 0.03
	FDG	188.67± 10.74	58.97± 1.06	2.09± 0.14	0.67± 0.03	0.44± 0.15
	P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

2.4 小肠粘膜 ZO-1、MLCK 免疫组化检测结果

应用免疫组化方法分别检测各组小肠粘膜 ZO-1、MLCK 表达情况。ZO-1 在小肠上皮细胞反应呈棕色颗粒状,在正常饮食组中可见阳性表达率高,细胞内的棕色颗粒最多,且随着饮食时间的增长 ZO-1 在小肠粘膜的表达量变化不大。而高脂饮食组随着时间的增长 ZO-1 阳性染色量减少,即 ZO-1 表达量减低。高脂饮食组大鼠 4 周时小肠上皮细胞 ZO-1 阳性染色率与正常组相比有所减少,但差异不具有统计学意义($P>0.05$);8 周和 12 周时,对比同阶段两组表达值 $P<0.05$,差异具有统计学意义(表 2,图 3)。

正常饮食组大鼠小肠粘膜组织中 MLCK 表达极少或者不

表达,而高脂饮食组随着时间的增长 MLCK 阳性染色量增加,即 MLCK 表达量增多。MLCK 是一类钙调蛋白依赖酶,通常在肠粘膜细胞胞浆内表达,通过免疫组化方法可检测到细胞质内浅棕色的染色颗粒。分别对比正常饮食组与高脂饮食组 4 周、8 周、12 周,4 周时 MLCK 的表达量两组间无明显差异,不具有统计学意义($P>0.05$);8 周和 12 周时 MLCK 的表达量组间有差异的,且差异具有统计学意义($P<0.05$)(见表 2 及图 4,图 4 中黑色箭头所示浅棕色物质为免疫组化后 MLCK 阳性染色物质)。

3 讨论

表 2 正常饮食组与高脂饮食组大鼠小肠粘膜 ZO-1、MLCK 表达对比($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Compare the expression of ZO-1 and MLCK at small intestine of rats between normal diet group and high-fat diet group

	ZO-1			MLCK		
	NDG	FDG	P	NDG	FDG	P
4w	3.90± 0.32	3.60± 0.70	0.24	0.30± 0.48	0.50± 0.53	0.39
8w	3.80± 0.42	2.80± 0.63	<0.01	0.40± 0.52	1.30± 0.48	<0.01
12w	3.70± 0.48	1.80± 0.79	<0.01	0.50± 0.53	1.90± 0.74	<0.01

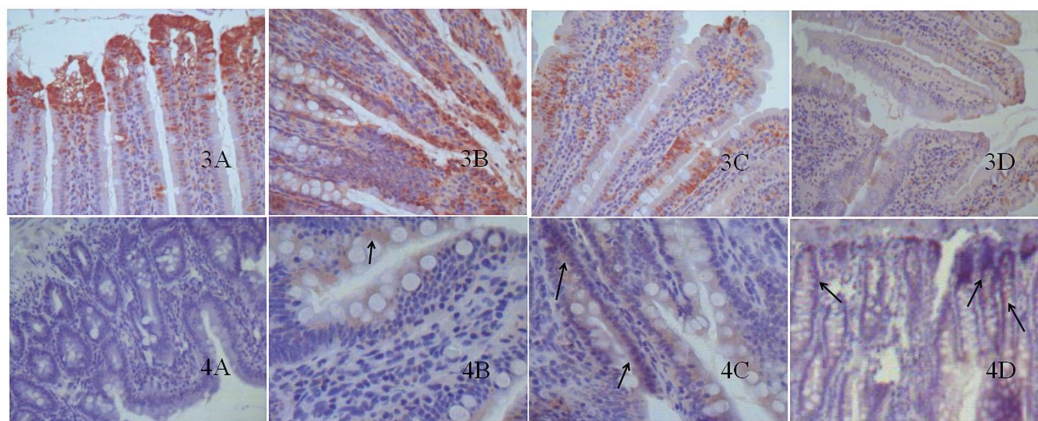


图 3 大鼠小肠粘膜 ZO-1 免疫组化的表达情况:图 3A 为正常饮食组,3B、3C、3D 分别为 4 周、8 周、12 周高脂饮食组。图 4 大鼠小肠粘膜 MLCK 免疫组化结果:图 4A 为正常大鼠,图 4B、图 4C、图 4D 分别表示高脂饮食组 4 周、8 周、12 周。
10× 40

Fig.3 The immunohistochemical expression of ZO-1 in small intestine mucosa of rats: Fig. 3A is normal diet group, Fig.3B, Fig.3C, Fig.3D are respectively high fat diet rats at 4 weeks, 8 weeks and 12 weeks. Fig.4 The immunohistochemical result of MLCK in small intestine mucosa of rats:

Fig.4A is normal diet group, Fig.4B, Fig. 4C, Fig.4D are respectively high fat diet rats at 4 weeks, 8 weeks and 12 weeks.

随着人们生活水平的提高,NAFLD 的发病率逐年上升,非酒精性脂肪性肝病已成为常见疾病之一^[13,14],有关 NAFLD 的研究受到越来越多关注。研究证明,NAFLD 发生发展与肥胖、糖尿病、高脂血症疾病有关^[15]。迄今为止,明确的发病机制尚未系统阐述,目前较为人们所接受的是“两次打击学说”:肝脏的脂肪变性及脂质的过氧化反应产生过量的活性氧及代谢产物影响了肝细胞的代谢^[16]。研究认为,机体对自身代谢产生的活性氧及代谢产物有一定范围的去毒能力及防御范围,当显著超过这个范围时,机体内抗氧化物与氧化物之间的动态平衡失调,出现脂肪沉积于肝细胞内,继续发展可出现炎症细胞的浸润、细胞坏死及纤维化。因此,肝细胞内脂质特别是甘油三酯沉积成为了 NAFLD 重要的发病原因之一。导致肝细胞脂质沉积的因素有许多,其中最基础是脂质的摄入异常和线粒体功能障碍。

本研究通过给予大鼠高脂饮食成功建立从单纯性脂肪肝到脂肪性肝炎的非酒精性脂肪肝病模型^[17,18]。研究发现,4 周时大鼠肝细胞与正常组肝细胞相比仅有少量肝细胞中有脂质沉积,检测血清中总胆固醇和甘油三酯均有升高,而谷草转氨酶、谷丙转氨酶以及血液中的内毒素并没有明显改变。该现象提示在非酒精性脂肪肝处于单纯性脂肪肝阶段时,肝脏功能并未损伤,提示临床可通过改善饮食,控制脂肪的摄入,减脂活动等肝脏可恢复至正常。随着高脂饮食时间延长,肝细胞脂质沉积增多,肝细胞发生脂肪变性,后期肝细胞的汇管区可见炎细胞浸

润,此阶段血液学检测也同时发现不仅总胆固醇、甘油三酯有显著性改变,谷丙转氨酶、谷草转氨酶、内毒素高脂组均较正常组高,该现象提示肝脏已进入非酒精性脂肪肝炎阶段,该阶段不仅存在肝脏功能损伤,肠道粘膜屏障功能也受到损伤,导致内毒素入血增多,内毒素的增多对于肝脏也是一个极大的负担,肝脏需处理过量的脂质过氧化反应产生氧化应激产物以及由肝肠循环所致的不断增多的内毒素,当超过肝脏细胞的处理能力时,肝细胞将发生变性、坏死等反应。

肠粘膜屏障由肠上皮细胞(intestinal epithelial cell, IEC)、细胞间的紧密连接(tight junction, TJ)、微绒毛以及粘膜表面的粘液层等构成,肠道粘膜上皮的完整性的维持对于机体是尤为重要的,当完整性被破坏时,肠道通透性增加,细菌及内毒素极易穿透粘膜层进入机体影响各脏器正常代谢。肠道上皮细胞间的封闭性主要是通过组成紧密连接的各种蛋白分子与肌动蛋白骨架连接而形成。肠道上皮细胞间的紧密连接由多种结构蛋白也称为跨膜蛋白(Claudin 蛋白、Occludin 蛋白、粘附分子(junctional adhesion molecule, JAM)、细胞质蛋白(ZO-1、ZO-2、ZO-3 等)组成。在以上蛋白分子的参与下机体选择性调节离子、氨基酸、蛋白质等从肠腔向肠粘膜以及血液中转运。肠粘膜紧密连接蛋白 ZO-1 是维持肠屏障功能正常的重要组成部分,因各种因素导致 ZO-1 表达下调时,肠粘膜屏障功能受损,如急性胰腺炎时肠粘膜 ZO-1 表达较对照组明显下降,提示急性胰腺炎时肠粘膜屏障损伤肠腔内毒素及细菌入血与 ZO-1 的下调相关

^[9]。MLCK 为肌动蛋白骨架重要组成之一,与紧密连接蛋白共同调节肠道屏障功能。研究发现急性重症胰腺炎发生时,小肠粘膜 MLCK 蛋白表达上调,肠上皮细胞间紧密连接的完整性受损,提示急性胰腺炎肠黏膜屏障功能障碍与 MLCK 的表达上调关系密切^[20]。本实验通过建立各阶段 NAFLD 模型大鼠时发现正常大鼠肠粘膜 ZO-1 表达较多,MLCK 表达极少。在 NAFLD 初期单纯性脂肪肝阶段时 ZO-1 及 MLCK 的表达与正常组肠粘膜的表达差异并不显著。在逐渐发展为非酒精性脂肪肝过程中(8 周和 12 周时)大鼠肠粘膜 ZO-1 逐渐减少,而 MLCK 逐渐增多,内毒素入血明显增多,肝脏功能(AST 和 ALT)发生明显改变,表明 ZO-1 对于肠粘膜屏障属于正性调节分子,MLCK 属于负性调节分子。这就提示,通过补充 ZO-1 分子或者刺激产生 ZO-1 分子,以及给予 MLCK 抑制剂抑制 MLCK 的产生,改善肠粘膜屏障受损情况,进而改善肝脏损伤。

综上所述,在非酒精性脂肪性肝病发展过程中,肝脏的脂肪沉积及脂质的过氧化反应一方面使肝细胞发生脂肪变性及坏死,另一方面改变了肠道粘膜屏障通透性,引起了肠粘膜紧密连接 ZO-1、MLCK 表达发生改变。通过肠道粘膜屏障功能的改变,肠道通透性增加,内毒素入血致使肝脏细胞损伤进一步加重。这说明紧密连接蛋白 ZO-1、MLCK 在 NAFLD 的发生发展中具有重要作用。对 ZO-1 及 MLCK 表达进行干预可减少内毒素入血,减轻肝脏负担,延缓 NAFLD 进一步发展为肝炎、肝硬化的趋势,对于预防和治疗 NAFLD 具有重要意义。

参考文献(References)

- [1] Vizuite J, Camero A, Malakouti M, et al. Perspectives on Nonalcoholic Fatty Liver Disease: An Overview of Present and Future Therapies[J]. J Clin Transl Hepatol, 2017, 5(1): 67-75
- [2] Wasco Wruck, Nina Graffmann, Marie-Ann Kawala, et al. Current Status and Future Directions on Research Related to Nonalcoholic Fatty Liver Disease[J]. Stem Cells, 2017, 35(1): 89-96
- [3] Christopher P Day, Oliver FW. James. Steatohepatitis: a tale of two "hits"?[J]. Gastroenterology, 1998, 114(4): 842-845
- [4] Giulia Paoletta, Claudia Mandato, Luca Pierri, et al. Gut-liver axis and probiotics: Their role in non-alcoholic fatty liver disease [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(42): 15518-15531
- [5] Naga Chalasani, Zobair Younossi, Joel E Lavine, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology[J]. Gastroenterology, 2012, 142(7): 1592-1609
- [6] Luis Calzadilla Bertot, Leon Anton Adams. The Natural Course of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(5): 774
- [7] Bashar Mohamad, Vaishal Shah, Mykola Onyshchenko, et al. Characterization of hepatocellular carcinoma (HCC) in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) patients without cirrhosis[J]. Hepatol Int, 2016, 10(4): 632-639
- [8] Zhou D, Pan Q, Shen F, et al. Total fecal microbiota transplantation alleviates high-fat diet-induced steatohepatitis in mice via beneficial regulation of gut microbiota[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 1529
- [9] 陈美慧,袁瑜,李兰,等. 脂肪肝与小肠黏膜病变的相关性 [J]. 世界华人消化杂志, 2016, 10: 1581-1586
- [10] 魏新朋,韩际奥,高晓,等. 肝硬化患者病情与小肠细菌过度生长变化关系探讨[J]. 实用肝脏病杂志, 2016, 3: 310-313
- [11] Wei Xin-peng, Han Ji-ao, Gao Xiao, et al. Small intestinal bacterial overgrowth in patients with liver cirrhosis [J]. Journal of Clinical Hepatology, 2016, 3: 310-313
- [12] 楼琦,石巧娟,郭红刚,等. 非酒精性脂肪肝大鼠脂质代谢及病理变化的动态观察[J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(3): 5-11
- [13] Lou Qi, Shi Qiao-juan, Guo Hong-gang, et al. The Dynamic Observation of Lipid Metabolism and Pathological Changes in Non-alcoholic Fatty Liver Rats. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2012, 22(3): 5-11
- [14] Song-shi Ni, Li-qin Xu, Jian-fei Huang, et al. Increased ZO-1 expression predicts valuable prognosis in non-small cell lung cancer [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2013, 6(12): 2887-2895
- [15] Fabio Salvatore Macaluso, Marcello Maida, Salvatore Petta, et al. Genetic background in nonalcoholic fatty liver disease: A comprehensive review[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(39): 11088-11111
- [16] Tong-hong Niu, Man Jiang, Yong-ning Xin, et al. Lack of association between apolipoprotein C3 gene polymorphisms and risk of nonalcoholic fatty liver disease in a Chinese Han population [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(13): 3655-3662
- [17] Jorge Henao-Mejia, Eran Elinav, Chengcheng Jin, et al. Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity[J]. Nature, 2012, 482: 179-185
- [18] Basaranoglu M, Basaranoglu G, Sentürk H. From fatty liver to fibrosis: A tale of "second hit"[J]. World Journal of Gastroenterology, 2013, 19(8): 1158-1165
- [19] Hughes AN, Oxford JT. A lipid-rich gestational diet predisposes offspring to nonalcoholic fatty liver disease: a potential sequence of events[J]. Hepat Med, 2014, 6: 15-23
- [20] Sasidharan SR, Joseph JA, Anandakumar S, et al. Ameliorative Potential of Tamarindus indica on High Fat Diet Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Rats[J]. Scientific World Journal, 2014, 2014: 50719
- [21] 张雷,张乐,陈健,等. 紧密连接蛋白-1 咬合蛋白及白细胞介素-18 在急性重症胰腺炎肠黏膜中的表达 [J]. 中国急救医学, 2014, 12: 1098-1101
- [22] Zhang Lei, Zhang Le, Chen Jian, et al. ZO-1, Occludin, IL-18 expression in intestinal mucosa of patients with severe acute pancreatitis [J]. Chinese Journal of Critical Care Medicine, 2014, 12: 1098-1101
- [23] 石慧荣,唐国都,覃蒙斌,等. 肌球蛋白轻链激酶在急性坏死性胰腺炎大鼠小肠黏膜的表达及其作用 [J]. 中华胰腺病杂志, 2015, 2: 106-110
- [24] Shi Hui-rong, Tang Guo-du, Qin Meng-bin, et al. Expression and role of MLCK in small intestine mucosa in rats with acute necrotizing pancreatitis[J]. Chinese Journal of Pancreatolgy, 2015, 2: 106-110