

综 述

同型半胱氨酸、叶酸及维生素 B₁₂ 与非酒精性
脂肪性肝病的研究进展*

张玉滢 马璐瑶 柳思琪 金珍婧**

吉林大学白求恩第二医院, 长春 130022

[摘要] 非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD), 是全球最常见的肝病, 与胰岛素抵抗、肥胖和代谢综合征密切相关。随着年龄的增加, 高血压、高血脂、糖代谢异常等代谢疾病的发病率逐渐升高, 而 NAFLD 通常因无症状而易被忽视, 因此, 寻找早期有效的诊断指标对遏制疾病的发展十分必要。同型半胱氨酸是许多慢性疾病发生的危险因素, 如心血管疾病、糖尿病、NAFLD 等, 叶酸、维生素 B₁₂ 又与同型半胱氨酸的代谢密切相关, 本文就三者与 NAFLD 的关系作一综述, 为 NAFLD 的临床诊疗提供新思路。

[关键词] 非酒精性脂肪性肝病; 同型半胱氨酸; 叶酸; 维生素 B₁₂

doi: 10.3969/j.issn.1674-7593.2024.03.017

Studies on the Relationship between Nonalcoholic Fatty Liver Disease
and Homocysteine, Folic Acid and Vitamin B₁₂

Zhang Yuying, Ma Luyao, Liu Siqi, Jin Zhenjing**

The Second Norman Bethune Hospital of Jilin University, Changchun 130022

** Corresponding author: Jin Zhenjing, email: jinzj@jlu.edu.cn

[Abstract] Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), a prevalent liver disorder globally, is strongly associated with insulin resistance, obesity, and metabolic syndrome. As individuals grow older, the likelihood of developing metabolic disorders such as hypertension, hyperlipidemia, and abnormal glucose metabolism increases gradually. NAFLD, which often lacks noticeable symptoms, tends to be overlooked. Therefore, it is important to identify early and effective diagnostic indicators in order to control the progression of the disease. Homocysteine is a known risk factor for several chronic illnesses, including cardiovascular disease, diabetes, and NAFLD. Folic acid and vitamin B₁₂ play a significant role in the metabolism of homocysteine. This paper examines the correlation between the three factors and NAFLD, and presents novel concepts for potential clinical diagnostic and treatment approaches in the future.

[Key words] Non-alcoholic fatty liver disease; Homocysteine; Folic acid; Vitamin B₁₂

非酒精性脂肪性肝病 (Nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是一种与胰岛素抵抗、肥胖和代谢综合征密切相关的代谢性疾病, 是目前最常见的肝病, 影响了全球约 25% 的人群, 预计未来将成为肝硬化患者进行肝移植的主要原因^[1]。随着年龄的增长, NAFLD 的发病率也逐渐上升。NAFLD 包括单纯性脂肪肝 (Simple fatty liver, SFL)、非酒精性脂肪性肝炎 (Nonalcoholic steatohepatitis,

NASH) 及其相关肝硬化 (Liver cirrhosis, LC), 严重者甚至可以进展为肝细胞癌 (Hepatocellular carcinoma, HCC)。肝脂肪变性是 NAFLD 发病机制中的主要步骤。因此, 控制肝脏脂肪积累对于预防或逆转 NAFLD 的进展至关重要。NAFLD 通常由于无症状而易被忽视, 因此, 能够准确预测 NAFLD 发生和发展的生物标志物对患者的健康是十分必要的。既往多项研究证明, 同型半胱氨酸

* 吉林省自然科学基金 (YDZJ202301ZYTS043; 20220203130SF; YDZJ202201ZYTS288)

** 通讯作者: 金珍婧, 电子邮箱 jinzj@jlu.edu.cn

(Homocysteine, Hcy) 是多种慢性疾病发生的危险因素, 肝脏是代谢 Hcy 的重要器官^[2]。叶酸 (Folic acid, FA) 和维生素 B₁₂ (Vitamin B₁₂, Vit B₁₂) 在 Hcy 的代谢过程中起重要作用。FA 在二氢叶酸还原酶的作用下还原为四氢叶酸, 进一步生成 5, 10-亚甲基四氢叶酸, 在亚甲基四氢叶酸还原酶 (Methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR) 的催化下生成 5-甲基四氢叶酸, Vit B₁₂ 作为载体与 5-甲基四氢叶酸在甲硫氨酸合酶的催化下为 Hcy 提供甲基, 重新合成甲硫氨酸, 见图 1。Hcy、FA 及 Vit B₁₂ 与 NAFLD 存在相关性, 有可能作为早期诊断 NAFLD 的新型的血清标志物。本文就 Hcy、FA 及 Vit B₁₂ 与 NAFLD 关系的研究进展展开综述。

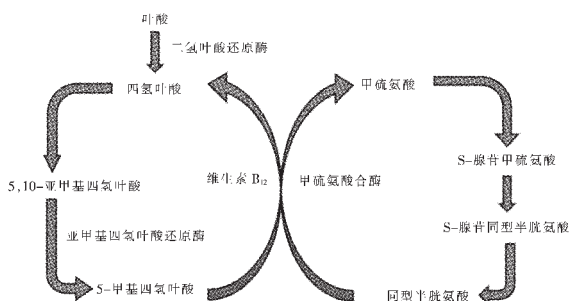


图 1 同型半胱氨酸、叶酸、维生素 B₁₂ 之间的关系

Fig. 1 The relationship between Hcy, FA and Vit B₁₂

1 Hcy 与 NAFLD

Hcy 是由甲硫氨酸 (Methionine, Met), 又称蛋氨酸, 脱甲基后生成。Hcy 主要通过两条途径代谢: ①Hcy 甲基化重新合成 Met; ②Hcy 通过转硫途径生成半胱氨酸 (Cysteine, Cys)。病理情况下或 Hcy 代谢途径中任一环节受阻, 血浆 Hcy 浓度升高, 出现高 Hcy 血症 (Hyperhomocysteinemia, HHcy)。Met 是人体必需氨基酸之一, 不能在体内合成, 必须从食物中获得。高 Met 饮食喂养会增加血浆 Hcy 水平, 并且一定程度的 HHcy 可以促进小鼠 NAFLD 的发展^[3]。但另一项研究表明, 膳食中缺乏 Met 和 Met 补充过量都可以使肝脏内 Hcy 水平升高, 这与 Ahey 和 Cbs 基因表达减少相关, 它们是 Hcy 代谢途径中的关键基因^[4]。Ahey 基因编码腺苷同型半胱氨酸酶 (Adenosylhomocysteinase, Ahey), 可催化 S-腺苷同型半胱氨酸 (S-adenosyl homocysteine, SAH) 可逆地水解为 Hcy 和腺苷, Cbs 基因编码胱硫醚-β-合成酶, 促进 Hcy 进入转硫途径, 生成 Cys, 从而降低 Hcy 的水平, 故 Ahey 和 Cbs 基因表达的下调与 SAH 和 Hcy 的升高密切相关, 同时 Hcy 可能激活脂肪生成的转录因子, 主要是固醇调节原件结合蛋白 1 (Sterol regulatory element-binding

protein 1, SREBP1), 脂质代谢基因和蛋白质表达紊乱伴随着肝脏脂质积累, 最终引发 NAFLD。NAFLD 患者的 Hcy 水平较高^[5]。一项纳入 7 203 例样本的横断面研究显示, Hcy 水平升高与中国成人 NAFLD 的患病率呈正相关, 且与男性、正常体质量和吸烟受试者相比, 在女性、肥胖和不吸烟的成年人中观察到的相关性更强^[6]。

Hcy 与 NAFLD 之间的机制目前尚未明确, 可能与 MTHFR 的某些基因突变有关^[7]。MTHFR 中 C677T 和 A1298C 的多态性使 Hcy 代谢紊乱, 导致其体内浓度增加。序数回归分析表明, 由这两种多态性引起的 FA 和 Met 代谢的变化与对欧洲人脂肪肝病无显著影响^[8]。而在中国人群中, MTHFR 的 C677T 基因型和 NAFLD 在升高 Hcy 水平方面具有协同作用, 但与 NAFLD 风险增加无直接相关性^[9]。一项对照研究表明, MTHFR 的 C677T 和 A1298C 多态性不是 NAFLD 发展的遗传危险因素, 虽然 NAFLD 受试者中存在较高水平的 Hcy, 但这与肝病严重程度无关^[10]。这些研究表明, 基因的多态性在不同人种中的表现不同。

有学者针对 Hcy 对 NAFLD 病程的影响展开了研究, 结果显示, 诊断为 NAFLD 的患者中, Hcy 水平与 NAFLD 患者晚期纤维化风险独立相关^[11]。Hcy 升高会诱导和加剧 NASH 的病程, 与肝脏的炎症和纤维化呈正相关^[12]。在此项研究中还发现 NASH 中多种肝蛋白的 Hcy 化和泛素化增加, 其中包括一种关键的自噬体/溶酶体融合蛋白, 突触融合蛋白 17 (Syntaxin 17, Stx17), 被 Hcy 化和泛素化后, 这些蛋白的降解会导致自噬受阻, 在 Hcy 升高的 NASH 患者的自噬、炎症和纤维化中都起着关键作用。

2 FA 与 NAFLD

FA 水平与罹患 NAFLD 的风险呈负相关^[13]。一项纳入 8 397 例病例的调查显示, 只有红细胞 FA 与 NAFLD 风险增加独立相关^[14]。肝脏的炎症是影响脂肪性肝病进展的重要因素。FA 可以通过降低反应活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 和 Hcy 的水平来减少肝癌 HepG2 细胞的炎症, 从而抑制核因子激活的 B 细胞的 κ-轻链 (Nuclear factor-κB, NF-κB) 通路增强, 起到抗炎作用^[14]。高脂肪饮食小鼠补充 FA 后 NF-κB 活化和炎症因子的表达显著降低, 肝脏脂肪积累和炎症灶的聚集都有所减轻^[15]。

从基因角度研究, NAFLD 大鼠 FA 的抗脂肪变性、胰岛素增敏、降糖和促脂作用可能与肝脏微 RNA miR-21、miR-34a 和 miR-122 的表观遗传调控及其靶基因 (HBPI、SIRT1 和 SREBP-1c) 的表达有关^[16]。补充 FA 可改善喂食高果糖大鼠的

肝脂肪变性, 其机制可能是提高了肝激酶 B1 (Liver kinase B1, LKB1) 和磷酸化 AMP 活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 的水平, 抑制了肝脏中乙酰辅酶 A 羧化酶 (Acetyl coenzyme A carboxylase, ACC) 的磷酸化, 增加了肝脏中的 S-腺苷甲硫氨酸 (S-adenosylmethionine, SAM), 从而抑制肝脏脂肪生成, 改善了肝脂肪变性^[17]。FA 可以通过沉默信息调节因子 1 (Silence information regulation factor 1, SIRT1) 依赖机制上调过氧化物酶体增殖物激活的受体 α (Peroxisome proliferator-activated receptor alpha, PPAR α) 水平, 改善肝脏脂代谢, 恢复肝脏单碳代谢和肠道微生物群多样性, 从而减弱 NASH^[18]。自噬功能障碍也是导致 NAFLD 发生的重要机制。给予 NAFLD 大鼠不同剂量的 FA, 可以抑制促炎细胞因子肿瘤坏死因子- α (Tumornecrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-8 (Interleukin 8, IL-8) 和自噬标志物 LC3B 蛋白的表达, 并增加 IL-22 水平, 且与 FA 的剂量显著相关, 这说明 FA 有调节促炎细胞因子和自噬产生的能力^[19]。膳食 FA 或 Vit B₁₂ 也可促进 Hcy 酶促转化为 Met, 降低 HHcy 和肝脏 Hcy 化蛋白的水平, 恢复 Stx17 表达和自噬, 刺激脂肪酸的 β 氧化, 改善 NASH^[12]。将新生鸡的原代肝细胞作为早期脂肪肝体外的自然模型探讨 FA 是否可以预防脂肪肝, 结果发现, FA 可以抑制新生脂肪酸的合成, 协调促进甘油三酯水解, 减少其沉积^[20]。该研究还发现脂肪生成抑制可能是减弱了胰岛素/胰岛素样生长因子 (Insulin-like growth factors, IGF) 信号介导的磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B-固醇调节原件结合蛋白 (Phosphatidylinositol 3 kinase-Protein kinase B-Sterol regulates element-binding proteins, PI3K-AKT-SREBP) 细胞信号转导途径, 所以 IGF2 抑制剂和 PI3K 抑制剂能减少甘油三酯的沉积, 在未来可能可以用于预防 NAFLD。

3 Vit B₁₂ 与 NAFLD

Vit B₁₂ 作为辅酶参与叶酸循环, 也可以作为线粒体酶甲基丙二酰辅酶 A 变位酶的辅因子, 调节长链脂肪酰辅酶 A 转移至线粒体的速率, 并影响脂质代谢。NAFLD 受试者和健康对照组的 Vit B₁₂ 和 FA 水平差异无统计学意义, 但补充 Vit B₁₂ 可以降低 NAFLD 患者 Hcy 水平^[21]。Vit B₁₂ 有望成为 NAFLD 的治疗靶点。但一项 Meta 分析显示, 与非 NAFLD 患者相比, NAFLD 患者 Vit B₁₂ 的水平没有变化^[22]。血清 Vit B₁₂ 水平与 NAFLD 呈非线性关系^[23]。但也有研究表明, 与缺少健康饮食的人相比, 饮食营养丰富的人, 尤其是食物中含有充足的维生素, 患 NAFLD 的风险较低^[24]。低水平的 Vit

B₁₂ 与 NASH 的组织学严重程度显著相关^[25]。与之相反, 有些研究认为, 血清 Vit B₁₂ 水平与肝纤维化呈正相关, 甚至在单纯性脂肪变性和肝纤维化的更晚期阶段, 血清 Vit B₁₂ 水平更高^[26]。关于 Vit B₁₂ 与 NAFLD 的关系、机制尚未明确, 还需要更进一步地深入研究。

4 小结与展望

综上所述, Hcy、FA、Vit B₁₂ 与 NAFLD 有着密切的关系, HHcy 血症、低 FA、低 Vit B₁₂ 可能促进 NAFLD 的发生。外源性补充 FA、Vit B₁₂ 可以抑制炎症途径, 降低 Hcy 水平, 可能有助于改善 NAFLD 的进展, 可能是一个新的治疗方向。目前在临床, 仍没有可靠的血液生物标志物代替影像学检查诊断脂肪肝, 所以对于 Hcy、FA 和 Vit B₁₂ 在血清中表达水平能否用于 NAFLD 的诊断仍存在争议, NAFLD 的发生是多种因素介导的复杂过程, 具体作用机制以及应如何治疗和预防, 仍需大量的流行病学研究及临床试验予以进一步辨证。

参考文献

- [1] Khan RS, Bril F, Cusi K, et al. Modulation of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatology*, 2019, 70 (2): 711-724.
- [2] 中国营养学会骨健康与营养专业委员会, 中华医学会肠外肠内营养学分会, 中国老年医学学会北方慢性肝病防治分会. 高同型半胱氨酸血症诊疗专家共识 [J]. *肿瘤代谢与营养电子杂志*, 2020, 7 (3): 283-288. Society BHaNBocN, Nutrition CSOPaE, Society NCD-PaTBoCG. Expert consensus on hyperhomocysteinemia [J]. *Electron J Metab Nutr Cancer*, 2020, 7 (3): 283-288.
- [3] Ai Y, Sun Z, Peng C, et al. Homocysteine induces hepatic steatosis involving ER stress response in high methionine diet-fed mice [J]. *Nutrients*, 2017, 9 (4): 346.
- [4] Aissa AF, Tryndyak V, de Conti A, et al. Effect of methionine-deficient and methionine-supplemented diets on the hepatic one-carbon and lipid metabolism in mice [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2014, 58 (7): 1502-1512.
- [5] Hu Y, Liu J, Dong X, et al. Clinical study of serum homocysteine and non-alcoholic fatty liver disease in euglycemic patients [J]. *Med Sci Monit*, 2016, 22: 4146-4151.
- [6] Dai H, Wang W, Tang X, et al. Association between homocysteine and non-alcoholic fatty liver disease in Chinese adults: a cross-sectional study [J]. *Nutr J*, 2016, 15 (1): 102.
- [7] de Carvalho SC, Muniz MT, Siqueira MD, et al. Plasma higher levels of homocysteine in non-alcohol-

- ic fatty liver disease (NAFLD) [J]. *Nutr J*, 2013, 12: 37.
- [8] De Vincentis A, Mancina RM, Pihlajamäki J, et al. Genetic variants in the MTHFR are not associated with fatty liver disease [J]. *Liver Int*, 2020 Aug; 40 (8): 1934–1940.
- [9] Wang X, Zhou Y, Zhang M, et al. The methylenetetrahydrofolate reductase genotype 677CT and non-alcoholic fatty liver disease have a synergistic effect on the increasing homocysteine levels in subjects from Chongqing, China [J]. *Genes Dis*, 2019, 6 (1): 88–95.
- [10] Franco Brochado MJ, Domenici FA, Candolo Martirelli Ade L, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and serum homocysteine levels in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Ann Nutr Metab*, 2013, 63 (3): 193–199.
- [11] Li L, Huang Q, Yang L, et al. The association between non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and advanced fibrosis with serological vitamin B₁₂ markers: results from the NHANES 1999–2004 [J]. *Nutrients*, 2022, 14 (6): 1224.
- [12] Tripathi M, Singh BK, Zhou J, et al. Vitamin B₁₂ and folate decrease inflammation and fibrosis in NASH by preventing syntaxin 17 homocysteinylation [J]. *J Hepatol*, 2022, 77 (5): 1246–1255.
- [13] Yuan S, Chen J, Dan L, et al. Homocysteine, folate, and nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review with meta-analysis and Mendelian randomization investigation [J]. *Am J Clin Nutr*, 2022, 116 (6): 1595–1609.
- [14] Bagherieh M, Kheirollahi A, Zamani-Garmsiri F, et al. Folic acid ameliorates palmitate-induced inflammation through decreasing homocysteine and inhibiting NF- κ B pathway in HepG2 cells [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2023, 129 (4): 893–900.
- [15] Sid V, Shang Y, Siow YL, et al. Folic acid supplementation attenuates chronic hepatic inflammation in high-fat diet fed mice [J]. *Lipids*, 2018, 53 (7): 709–716.
- [16] Salman M, Kamel MA, El-Nabi S, et al. The regulation of HBP1, SIRT1, and SREBP-1c genes and the related microRNAs in non-alcoholic fatty liver rats: the association with the folic acid anti-steatosis [J]. *PLoS One*, 2022, 17 (4): e0265455.
- [17] Kim H, Min H. Folic acid supplementation prevents high fructose-induced non-alcoholic fatty liver disease by activating the AMPK and LKB1 signaling pathways [J]. *Nutr Res Pract*, 2020, 14 (4): 309–321.
- [18] Xin FZ, Zhao ZH, Zhang RN, et al. Folic acid attenuates high-fat diet-induced steatohepatitis via deacetylase SIRT1-dependent restoration of PPAR α [J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26 (18): 2203–2220.
- [19] Youssry S, Kamel MA. Effect of folate supplementation on immunological and autophagy markers in experimental nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Eur Cytokine Netw*, 2019, 30 (4): 135–143.
- [20] Liu Y, Shen J, Yang X, et al. Folic acid reduced triglycerides deposition in primary chicken hepatocytes [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66 (50): 13162–13172.
- [21] Talari HR, Molaqanbari MR, Mokfi M, et al. The effects of vitamin B₁₂ supplementation on metabolic profile of patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial [J]. *Sci Rep*, 2022, 12 (1): 14047.
- [22] Costa DS, Guahnon MP, Seganfredo FB, et al. Vitamin B₁₂ and homocysteine levels in patients with NAFLD: a systematic review and meta-analysis [J]. *Arq Gastroenterol*, 2021, 58 (2): 234–239.
- [23] Peng H, Wang M, Pan L, et al. Associations of serum multivitamin levels with the risk of non-alcoholic fatty liver disease: a population-based cross-sectional study in U. S. adults [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 962705.
- [24] Vahid F, Hekmatdoost A, Mirmajidi S, et al. Association between index of nutritional quality and nonalcoholic fatty liver disease: the role of vitamin D and B group [J]. *Am J Med Sci*, 2019, 358 (3): 212–218.
- [25] Mahamid M, Mahroum N, Bragazzi NL, et al. Folate and B₁₂ levels correlate with histological severity in NASH patients [J]. *Nutrients*, 2018, 10 (4): 440.
- [26] Bertol FS, Araujo B, Jorge BB, et al. Role of micronutrients in staging of nonalcoholic fatty liver disease: a retrospective cross-sectional study [J]. *World J Gastrointest Surg*, 2020, 12 (6): 269–276.