



安徽医科大学学报
Acta Universitatis Medicinalis Anhui
ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目: FGF21 过表达上调SIRT1/GPX4 并抑制铁死亡缓解CCl₄小鼠急性肝损伤
作者: 凌旭涛, 黄倩倩, 张伦, 谢芳, 柏楠, 王赢霞, 花浩然, 王浩泽, 戴文静,
李可欣, 王建青
收稿日期: 2026-05-18
网络首发日期: 2026-05-19
引用格式: 凌旭涛, 黄倩倩, 张伦, 谢芳, 柏楠, 王赢霞, 花浩然, 王浩泽, 戴文静,
李可欣, 王建青. FGF21 过表达上调SIRT1/GPX4 并抑制铁死亡缓解CCl₄小鼠
急性肝损伤[J/OL]. 安徽医科大学学报.
<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20260519.1418.002>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

FGF21 过表达上调 SIRT1/GPX4 并抑制铁死亡缓解 CCl₄ 小鼠急性肝损伤

凌旭涛^{1,2}, 黄倩倩^{3,4}, 张 伦^{3,4}, 谢 芳^{1,2}, 柏 楠^{1,2}, 王赢霞^{1,2}, 花浩然^{1,2},

王浩泽^{1,2}, 戴文静^{2,5}, 李可欣^{1,2}, 王建青^{1,2,5}

(¹安徽医科大学药学科学学院, 合肥 230032; ²安徽省第二人民医院, 合肥 230041; ³安徽医科大学第一附属医院, 合肥 230022; ⁴安徽省公共卫生临床中心, 合肥 230012; ⁵安徽中医药大学药学院, 合肥 230013)

摘要 目的 观察肝脏靶向成纤维细胞生长因子 21 (*FGF21*) 过表达对 CCl₄ 诱导急性肝损伤 (ALI) 的保护效应及其与沉默信息调节因子 1/谷胱甘肽过氧化物酶 4 (SIRT1/GPX4) 表达和铁死亡相关指标的关联。**方法** 选取 8 周龄雌性 ICR 小鼠随机分为 Control 组、CCl₄ 组、腺相关病毒 (AAV)-*FGF21* 组及 AAV-*FGF21*+CCl₄ 组, 通过尾静脉注射带有绿色荧光蛋白 (GFP) 标记的 AAV8-*FGF21* 病毒构建肝脏靶向 *FGF21* 过表达模型, 腹腔注射 CCl₄ (0.3 mL/kg) 诱导 ALI, 在 12 h 后进行取材。记录小鼠的体质量和肝质量, 计算小鼠体质量和肝质量比值 (肝体比); 通过生化仪检测小鼠血清中谷丙转氨酶 (ALT) 和谷草转氨酶 (AST) 水平; 免疫荧光检测 *FGF21* 在肝脏组织中的表达; HE 染色观察小鼠肝脏的病理变化; RT-qPCR 检测铁死亡和铁代谢相关基因 (*ACSL4*、*PTGS2*、*HJV*、*FPN*、*GPX4*)、*FGF21* 和 *SIRT1* 的表达; Western blot 检测 *FGF21*、SIRT1 和 GPX4 的蛋白表达水平; 试剂盒检测肝匀浆组织中铁含量、丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽 (GSH) 水平以及超氧化物歧化酶 (SOD) 活性。**结果** 与 Control 组相比, CCl₄ 组 *FGF21* 的 mRNA 和蛋白表达升高 ($P<0.01$), 小鼠血清 ALT、AST 均升高 ($P<0.01$), 小鼠肝体比均升高 ($P<0.01$); HE 染色结果显示肝细胞膜破裂; *ACSL4*、*PTGS2* 的 mRNA 水平、铁含量和 MDA 水平均增加 ($P<0.01$), *SIRT1*、*GPX4*、*HJV*、*FPN* mRNA 水平、GSH 水平和 SOD 活性均下降 ($P<0.05$), SIRT1 和 GPX4 的蛋白水平均降低 ($P<0.05$)。与 CCl₄ 组相比, AAV-*FGF21*+CCl₄ 组血清中 ALT、AST 均降低 ($P<0.01$), 小鼠肝体比下降 ($P<0.01$); HE 染色结果显示肝损伤程度减轻; *ACSL4*、*PTGS2* mRNA 水平、铁含量和 MDA 水平均下降 ($P<0.01$), *SIRT1*、*GPX4*、*HJV*、*FPN* mRNA 水平、GSH 水平和 SOD 活性均上升 ($P<0.05$); SIRT1 和 GPX4 蛋白水平均上升 ($P<0.05$)。

2026-05-18 接收

基金项目：国家自然科学基金项目 (编号：82073566)

作者简介：凌旭涛, 男, 硕士研究生;

王建青, 女, 教授, 主任药师, 博士生导师, 通信作者, E-mail:

jianqingwang81@126.com

结论 *FGF21* 过表达与 SIRT1/GPX4 表达上调及铁死亡特征抑制有关, 从而改善 CCl₄ 诱导的急性肝损伤。

关键词 急性肝损伤; 四氯化碳; 铁死亡; 成纤维细胞生长因子 21; 氧化应激;

SIRT1/GPX4 通路

中图分类号 R-332 文献标志码 A

***FGF21* overexpression upregulates SIRT1/GPX4 to inhibit ferroptosis and relieve CCl₄ mouse acute liver injury**

Ling Xutao^{1,2}, Huang Qianqian^{3,4}, Zhang Lun^{3,4}, Xie Fang^{1,2}, Bai Nan^{1,2}, Wang Yingxia^{1,2}, Hua Haoran^{1,2}, Wang Haoze^{1,2}, Dai Wenjing^{2,5}, Li Kexin^{1,2}, Wang Jianqing^{1,2,5}

(¹*School of Pharmaceutical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032*; ²*Anhui No.2 Provincial People's Hospital, Hefei 230041*; ³*The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022*; ⁴*Anhui Public Health Clinical Center, Hefei 230012*; ⁵*School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230013*)

Abstract Objective To investigate the protective effect of liver-targeted fibroblast growth factor 21 (*FGF21*) overexpression against CCl₄-induced acute liver injury (ALI) and its association with silent information regulator 1/glutathione peroxidase 4 (SIRT1/GPX4) expression and ferroptosis-related markers. **Methods** Female ICR mice (8 weeks old) were randomly divided into Control, CCl₄, adeno-associated virus (AAV)-*FGF21*, and AAV-*FGF21* + CCl₄ groups. Liver-targeted *FGF21* overexpression was achieved via tail vein injection of AAV8-*FGF21* virus with green fluorescent protein (GFP) labeling. ALI was induced by intraperitoneal injection of CCl₄ (0.3 mL/kg), with sample collection at 12 hours. Body weight and liver weight were recorded to calculate the liver weight/body weight. Alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) levels were measured using a biochemical analyzer. *FGF21* expression in liver tissues was detected by immunofluorescence. Hepatic histopathology was evaluated by HE staining. RT-qPCR was performed to assess mRNA expression of ferroptosis and iron metabolism-related genes (*ACSL4*, *PTGS2*, *HJV*, *FPN*, *GPX4*), *FGF21*, and *SIRT1*. Protein expression of *FGF21*, SIRT1, and GPX4 were determined by Western blot. Iron content, malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), and superoxide dismutase (SOD) activity in liver homogenate were quantified using assay kits. **Results** Compared with the Control group, the *FGF21* mRNA and protein expression elevated in CCl₄ group;

serum ALT/AST levels and liver weight/body weight increased. The HE staining results showed that the liver cell membranes were ruptured. The mRNA levels of ACSL4 and PTGS2, the iron content and MDA levels all increased ($P<0.01$). The mRNA levels of SIRT1, GPX4, HJV, and FPN, the GSH level and SOD activity all decreased ($P<0.05$), and the protein levels of SIRT1 and GPX4 both decreased ($P<0.05$). Compared with the CCl₄ group, the serum levels of ALT and AST in the AAV-FGF21 + CCl₄ group were decreased ($P<0.01$), and the liver/body ratio of mice decreased ($P<0.01$). The results of HE staining showed that the degree of liver injury was alleviated. The mRNA levels of ACSL4 and PTGS2, iron content and MDA level all decreased ($P<0.01$), while the mRNA levels of SIRT1, GPX4, HJV, FPN, GSH level and SOD activity all increased ($P<0.05$). The protein levels of SIRT1 and GPX4 both increased ($P<0.05$). **Conclusion** FGF21 overexpression is associated with enhanced SIRT1/GPX4 expression and suppression of ferroptosis features, thereby contributing to the alleviation of CCl₄-induced acute liver injury.

Key words acute liver injury; carbon tetrachloride; ferroptosis; fibroblast growth factor21; oxidative stress; SIRT1/GPX4 pathway

Fund program National Natural Science Foundation of China (No. 82073566)

Corresponding author Wang Jianqing, E-mail: jianqingwang81@126.com

急性肝损伤 (acute liver injury, ALI) 是指肝脏在短时间内因多种外源性或内源性有害因素作用, 导致肝细胞广泛坏死、肝功能急剧恶化的临床综合征, 尤其是化学毒素、药物、酒精和病毒^[1]。四氯化碳 (carbon tetrachloride, CCl₄) 是一种典型的肝毒物, 广泛应用于诱导 ALI 的模型研究^[2]。

成纤维细胞生长因子 21 (fibroblast growth factor 21, FGF21) 是一种肝源性分泌蛋白^[3], 在急性损伤或应激刺激下, 迅速上调^[4]。在对乙酰氨基酚诱导的小鼠肝损伤模型中, 肝脏和血清中的 FGF21 水平急剧增加^[5]。与野生型小鼠相比, FGF21 敲除小鼠血清转氨酶水平显著升高, 肝坏死增加^[6]。铁死亡是一种铁依赖性的、以脂质过氧化物累积为特征的调节性细胞死亡形式, 近年研究^[7]表明其参与 CCl₄ 诱导的肝损伤进程。沉默信息调节因子 (sirtuin 1, SIRT1) 可激活谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4)^[8], 抑制磷脂过氧化, 从而阻断铁死亡^[9]。本研究旨在观察肝脏靶向 FGF21 过表达对 CCl₄ 诱导急性肝损伤的保护效应, 并探讨其与 SIRT1/GPX4 表达变化及铁死亡相关指标的关系。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

选用 24 只普通级别雌性ICR小鼠，8 周龄，体质量为 28~32 g，购自北京维通利华研究动物技术有限公司，动物生产许可证编号【SCXK（京）2019-0010】，实验动物使用许可证编号【SYXK（皖）2020-001】。小鼠饲养在适宜的环境中，温度保持在

（25±1）℃，湿度保持在（55±5）%，适应性喂养 7 d后进行实验操作。本研究方案经广州中医药大学实验动物伦理委员会审查批准（批准号：20260429010）。

1.1.2 主要试剂

FGF21 过表达病毒购自山东维真生物科技有限公司；CCl₄（货号：C10629429）购自天津欧博凯化工有限公司；玉米油（货号：8001-30-7）购自上海阿拉丁生化有限公司；天冬氨酸氨基转移酶（aspartate aminotransferase, AST）、丙氨酸氨基转移酶（alanine aminotransferase, ALT）（货号：L5008-1、L20110-1）检测试剂盒购自浙江伊利康生物技术有限公司；丙二醛（malondialdehyde, MDA）试剂盒，超氧化物歧化酶（superoxide dismutase, SOD），谷胱甘肽（glutathione, GSH）和组织铁（货号：AKFA013M、AKAO001M-50S、AKPR008M、AKEN046M）测定试剂盒购自北京盒子生工科技有限公司；实时定量PCR引物购自北京擎科生物科技有限公司；实时定量PCR扩增试剂盒（货号：Q711-02）购自南京诺唯赞生物科技有限公司；FGF21 抗体、SIRT1 抗体（批号：ab171941、ab189494）和GPX4 抗体（货号：ab1250661）购于英国abcam公司；GAPDH抗体和β-TUBULIN抗体（货号：M20006S、M20005）购自艾比玛特医药科技（上海）有限公司；罗丹明缀合的山羊抗兔IgG和苏木精-伊红染液（货号：BL055A、BL700A）购自合肥白鲨生物科技有限公司。

1.1.3 主要仪器

超纯水仪（美国颇尔公司，型号：Cascada III.I20）；D3024 台式高速离心机（美国赛洛捷克公司，型号：5810R）；多功能荧光显微镜（日本奥林巴斯公司，型号：IX73+DP80+Cellsens）；荧光定量PCR仪（美国赛默飞公司，型号：ABI7500）；生物样本均质仪（杭州奥盛仪器有限公司，型号：Bioprep-24R）；激光共聚焦显微镜（德国卡尔蔡司股份公司，型号：LSM 900）；全自动生化分析仪（长春迪瑞医疗科技股份有限公司，型号：CS-T300）；显影仪（上海天能科技有限公司，型号：5200-muLti）；酶标仪（美国伯腾仪器公司，型号：Synergy 2）。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立

24 只ICR小鼠（8 周龄，雌性）被随机分为Control组、CCl₄组、AAV-FGF21组、AAV-FGF21+CCl₄组，每组 6 只。通过尾静脉注射携带GFP标记的AAV8-FGF21腺相关病毒实现肝脏靶向FGF21过表达，对照组注射相应的对照病毒，注射剂量为 3×10^{11} VG。在病毒注射 21 d后，CCl₄组和AAV-FGF21+CCl₄组腹腔注射 0.3 mL/kg CCl₄溶液诱导ALI模型，Control组和AAV-FGF21组腹腔注射同等剂量玉米油，12 h后进行取材。记录小鼠体质量和肝质量，并计算肝体比，肝体比按以下公式计算：肝体比=肝质量/体质量×100%。

1.2.2 免疫荧光

在封闭前用枸橼酸盐修复液对组织切片进行抗原修复。切片用磷酸盐缓冲液（phosphate buffered saline, PBS）洗涤，然后与罗丹明缀合的山羊抗兔IgG在 37 °C下孵育 50 min。用PBS洗涤后，滴加适量DAPI溶液于室温孵育 10 min。切片用PBS冲洗并用抗荧光淬灭剂封片，最后使用荧光显微镜观察和拍照，通过ImageJ软件对阳性信号进行量化。

1.2.3 血清生化检测

使用生化分析仪检测血清中ALT、AST含量。

1.2.4 组织铁、GSH、MDA含量和SOD活性的检测

称取 100 mg肝脏组织加入 1 mL试剂冰浴匀浆，收集匀浆液严格按照试剂盒说明书步骤操作，对肝脏中组织铁、MDA和GSH含量、SOD活性进行检测。

1.2.5 组织病理学检测

取小鼠新鲜肝大叶置于 4%多聚甲醛溶液中，室温放置摇床固定 24 h。进行脱水、包埋、切片、固定和苏木精-伊红（HE）染色后显微镜下观察并拍照。

1.2.6 Western blot蛋白表达检测

精确称取 30 mg肝脏组织，加入 1 mL裂解液匀浆，4 °C条件下 12 000 r/min离心 10 min获取总蛋白，采用酶标仪对蛋白浓度定量。用SDS-PAGE分离等量的总蛋白，用特异性抗体GPX4、SIRT1、GAPDH、 β -TUBULIN（1 : 1 000）4 °C孵育一夜后进行Western blot分析，检测目的蛋白的表达，使用ImageJ软件分析计算灰度值积分。

1.2.7 RT-qPCR检测相关基因

采用TRIzol法提取肝脏RNA，使用酶标仪将所提取的RNA样品浓度定量到 1 000 ng/ μ L，逆转录为cDNA后进行扩增操作。选取 18S核糖体RNA（18S ribosomal RNA, 18S）为内参基因计算相应基因的相对表达水平。相关引物信息见表 1。

表 1 基因的引物序列

Tab.1 The primer sequences of the genes

| Gene | Primer sequence (5'-3') |
|--------------|---|
| <i>18S</i> | F:GTAACCCGTTGAACCCCATT |
| <i>FGF21</i> | F: TTCAAATCCTGGGTGTCAAA R: CAGCAGCAGTTCTCTGAAGC |
| <i>ACSL4</i> | F:CTTCCTCTTAAGGCCGGGAC R:TGCCATAGCGTTTTTCTTAGATTT |
| <i>PTGS2</i> | F: GGGCTCAGCCAGGCAGCAAAT R: GCACTGTGTTTGGGGTGGGCT |
| <i>GPX4</i> | F: GCAACCAGTTTGGGAGGCAGGA R: CCTCCATGGGACCATAGCGCTTC |
| <i>FPN</i> | F: ATGGCTACCGCTGGTGTGGC R: CACCTTGCCATCGTTGCGGC |
| <i>HJV</i> | F: ATGGGCCAGTCCCCTAGTC R: GACGAGACATACTCGGCATTG |
| <i>SIRT1</i> | F: GCAACAGCATCTTGCCTGAT R: GTGCTACTGGTCTCACTT |

1.3 统计学处理

采用GraphPad Prism 8.0 进行数据分析和绘图，所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示；两组间比较采用独立样本 *t* 检验，采用单因素方差分析进行多组间均数的比较，随后进行Tukey事后多重比较检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 FGF21 在 CCl₄ 诱导的 ALI 肝脏中表达增加

在 ALI 模型中，与对照组相比，肝脏中 FGF21mRNA 和蛋白表达水平在模型组中均升高 ($t=8.286, 6.216$, 均 $P < 0.01$) (图 1A、1B)。免疫荧光测定显示，相较于对照组，模型组红色荧光增强 ($t=14.60, P < 0.01$) (图 1C)。说明肝脏中 FGF21 的表达明显升高。

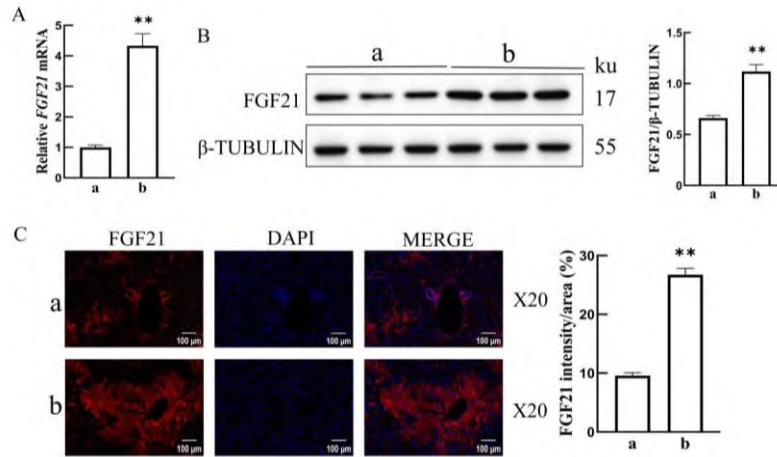


图 1 FGF21 在 ALI 中的表达水平 ($n=6$)

Fig.1 Expression level of FGF21 in Acute Liver Injury ($n=6$)

A, B: mRNA and protein expression of FGF21 in liver tissues were detected by RT-qPCR and Western blot; C: FGF21 expression in liver tissues were detected by Immunofluorescence; a: Control group; b: CCl_4 group; $**P<0.01$ vs Control group.

2.2 FGF21 过表达小鼠的构建

为检测重组腺相关病毒的肝脏富集情况，观察冰冻切片组织中的荧光表达，结果显示病毒注射成功，重组腺相关病毒在肝脏富集（图 2A）。Western blot 和 RT-qPCR 检测结果显示，AAV-FGF21 组的 FGF21 蛋白和 mRNA 表达量较对照组均增加 ($t=4.284$ 、 6.604 ，均 $P<0.01$)（图 2B、2C）。免疫荧光检测结果显示，AAV-FGF21 组与对照组相比 FGF21 蛋白表达水平明显升高 ($t=25.36$ ， $P<0.01$)（图 2D）。以上结果表明 FGF21 在小鼠肝脏中成功过表达。

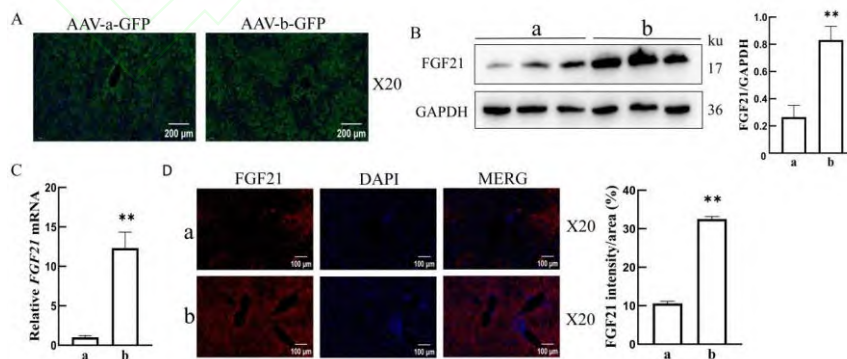


图 2 过表达 FGF21 的腺相关病毒的鉴定 ($n=6$)

Fig.2 Validation of AAV-mediated FGF21 overexpression ($n=6$)

A: The expression of GFP in liver tissues was detected; B, C: Protein and mRNA expression of

FGF21 in liver tissues were detected by Western blot and RT-qPCR; D: FGF21 expression in liver tissues was detected by immunofluorescence; a: Control group; b: AAV-FGF21 group; ** $P < 0.01$ vs Control group.

2.3 FGF21 减轻 CCl₄ 诱导的 ALI

生化分析结果显示，与对照组相比，CCl₄ 组血清 AST，ALT 水平 ($t=11.05$, $P < 0.01$, $t=26.05$, $P < 0.01$) 升高 (图 3B、3C)。与 CCl₄ 组相比，CCl₄+AAV-FGF21 组小鼠血清 AST，ALT 均下降 ($t=9.256$ 、 23.580 ，均 $P < 0.01$) (图 3B-C)。CCl₄ 组中的小鼠肝体比高于 Control 组 ($q=8.182$, $P < 0.01$)，而过表达 FGF21 显著降低 CCl₄ 小鼠肝体比 ($q=5.719$, $P < 0.01$) (图 3A)。此外，肝脏组织形态学检查和 HE 染色结果显示 (图 3D、3E) 与对照组相比，CCl₄ 组颜色发生改变、肝脏出现核溶解、坏死、大量炎症细胞浸润，而过表达 FGF21 后改善了 CCl₄ 所引起的病理变化。

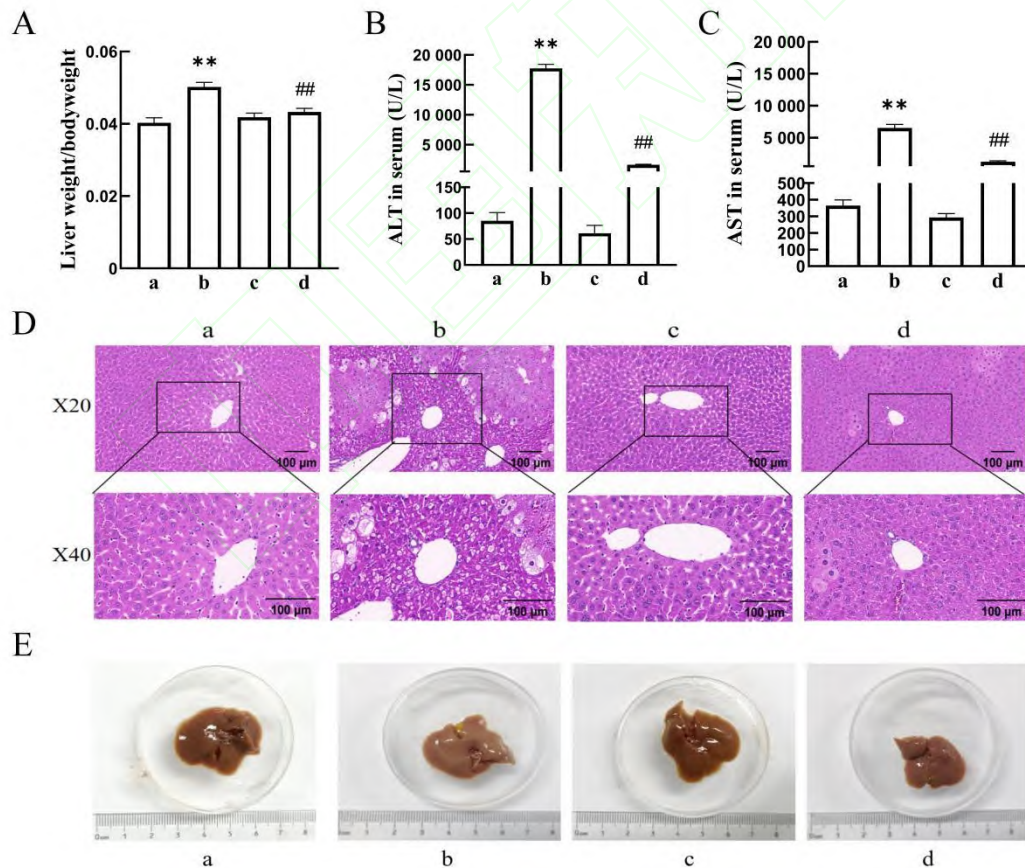


图 3 肝脏中过表达 FGF21 对 ALI 相关指标的影响

Fig.3 The effects of hepatic FGF21 overexpression on ALI associated parameters

A: Liver weight/body weight across experimental groups; B, C: Serum ALT and AST levels in each group; D: Histopathological changes in liver tissues of each group were observed by H&E staining; E: Photographs of livers from mice in each group; a: Control group; b: CCl₄ group; c: AAV-FGF21 group; d: AAV-FGF21+CCl₄ group; ***P*<0.01 vs Control group; ##*P*<0.01 vs CCl₄ group.

2.4 FGF21 减弱了 CCl₄ 诱导的小鼠铁死亡

与 Control 组相比, CCl₄ 刺激后, 小鼠肝脏组织中铁死亡和铁代谢相关基因 *ACSL4* 和 *PTGS2* mRNA 水平升高, *FPN* 和 *HJV* 的 mRNA 水平降低 ($q=5.640$ 、 8.864 , 均 $P<0.01$; $q=6.676$ 、 16.95 , 均 $P<0.05$) (图 4A-4D)。与 CCl₄ 组相比, CCl₄+AAV-FGF21 组铁死亡和铁代谢相关基因 *ACSL4*、*PTGS2*、*FPN* 和 *HJV* 的 mRNA 水平 ($q=6.893$ 、 6.576 、 9.949 、 6.594 , 均 $P<0.05$) 均恢复正常 (图 4A-4D)。进一步检测铁死亡的主要指标铁含量, 如图 E 所示, 与 Control 组相比, CCl₄ 组的铁含量 ($q=16.46$, $P<0.01$) 明显升高, 而 *FGF21* 过表达后逆转 CCl₄ 组铁含量的升高 ($q=12.75$, $P<0.01$) (图 4E)。GSH、MDA 和 SOD 积累是铁死亡的典型特征, 检测结果显示, *FGF21* 过表达增加了 CCl₄ 诱导的小鼠的 GSH 水平和 SOD 活性 ($q=5.328$, $P<0.01$; $q=17.32$, $P<0.01$), 同时降低了 MDA 水平 ($q=6.123$, $P<0.01$) (图 4F-4H)。表明 CCl₄ 诱导了肝脏铁死亡, 而 *FGF21* 过表达能够抑制这一过程。

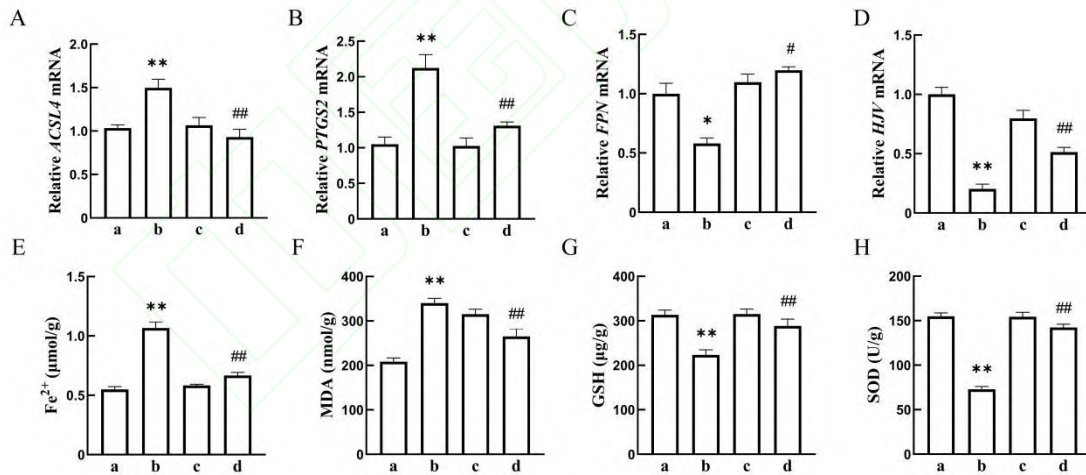


图 4 FGF21 过表达对四氯化碳诱导小鼠肝脏铁死亡的影响 ($n=6$)

Fig.4 The effects of FGF21 overexpression on carbon tetrachloride induced hepatic ferroptosis in mice ($n=6$)

A-D: *ACSL4*、*PTGS2*、*HJV* and *FPN* mRNA expression in liver tissues were detected by RT-qPCR; E-H: Iron content, MDA, GSH levels, and SOD activity in mouse liver tissues; a: Control group; b: CCl₄ group; c: AAV-FGF21 group; d: AAV-FGF21+CCl₄ group; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs Control group; # $P<0.05$, ## $P<0.01$ vs CCl₄ group.

2.5 FGF21 过表达上调 SIRT1 和 GPX4 表达

与对照组相比, CCl₄ 组的 SIRT1 和 GPX4 的 mRNA 和蛋白水平($q=8.504、9.202、6.175、7.313$, 均 $P<0.05$) 均降低(图 5A-5C); 与 CCl₄ 组相比, AAV-FGF21+CCl₄ 组的 SIRT1 和 GPX4 蛋白和 mRNA 水平($q=4.503、5.178、6.578、7.089$, 均 $P<0.05$) 均升高(图 5A-5C)。

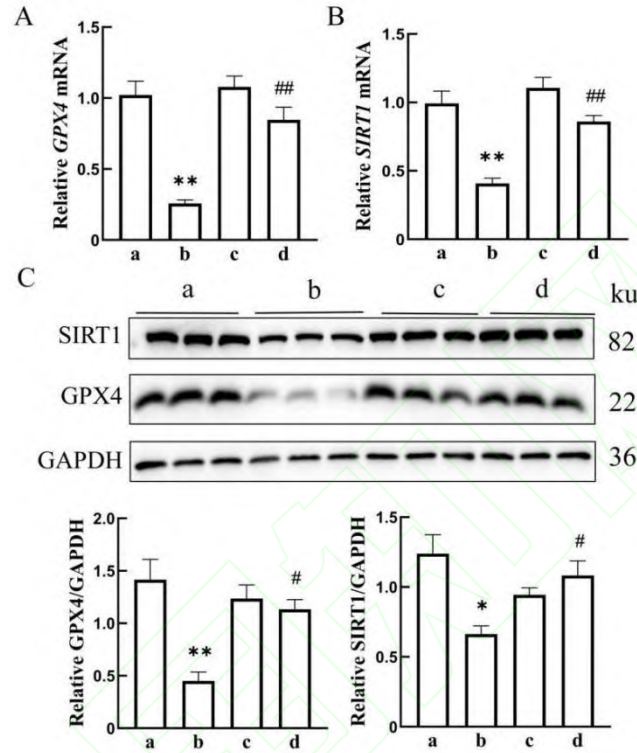


图 5 过表达 FGF21 对 SIRT1/GPX4 的影响 ($n=6$)

Fig.5 The effects of overexpression of FGF21 on SIRT1/GPX4 ($n=6$)

A, B: *SIRT1* and *GPX4* mRNA expression in liver tissues were detected by RT-qPCR; C: Western blot was used to detect the protein expression of SIRT1 and GPX4 in liver tissues; a: Control group; b: CCl₄ group; c: AAV-FGF21 group; d: AAV-FGF21 CCl₄ group; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs Control group; # $P<0.05$, ## $P<0.01$ vs CCl₄ group.

3 讨论

本研究实验结果显示, 在 CCl₄ 诱导的小鼠 ALI 模型中, 肝脏靶向过表达 *FGF21* 显著降低血清 ALT 和 AST 水平, 并改善肝脏病理损伤。该保护效应伴随铁死亡相关标志物的逆转, 包括 *ACSL4* 和 *PTGS2* 的 mRNA 表达下调、肝组织铁蓄积及 MDA 水平减少、GSH 含量和 SOD 活性升高。同时, SIRT1 和 GPX4 的 mRNA 及蛋白表达水平均明显上调。这些变化表明, *FGF21* 过表达与 SIRT1/GPX4 表达上调以及铁死亡特征抑制之间存在关联。

既往研究^[10-11]已证实 FGF21 在对乙酰氨基酚、酒精性肝损伤等多种模型中具有保护作用。本研究在 CCl₄ 的肝损伤实验中也观察到类似保护效应。近年来, 铁死亡被证实是化学性肝损伤的核心环节之一^[12], 而抑制铁死亡可保护小鼠的 ALI^[13]。本研究不仅观察到 CCl₄ 诱导后典型的铁死亡特征, 同时发现 *FGF21* 过表达可逆转这些变化。文献报道显示, SIRT1/GPX4 通路在肾脏^[14]、心脏^[15]等器官的纤维化及缺血再灌注损伤中与铁死亡抑制相关。本研究结果显示, *FGF21* 过表达伴随 SIRT1/GPX4 表达上调及铁死亡抑制。这些发现提示 FGF21 的保护作用可能与 SIRT1/GPX4 表达调控及铁死亡抑制相关, 为进一步阐明其潜在机制提供了实验依据。

本研究尚存在一定局限性。首先, 出于在机制探索初期控制变量的考虑, 仅使用了雌性小鼠。然而, 性别是影响肝脏代谢、氧化应激及药物反应的关键生物学变量^[16]。因此, 未来研究必须在雌雄两性小鼠中验证 FGF21-SIRT1/GPX4 轴的保护作用是否普遍存在, 这对任何潜在治疗的临床转化都至关重要。其次, 尽管本研究数据提示 SIRT1/GPX4 表达上调可能参与 FGF21 的保护过程, 但确切的因果关系及详细机制尚需进一步检验。后续研究需要通过回复实验来确证这一机制。最后, FGF21 作为上游信号分子, 其通过何种跨膜受体及胞内信号传导来最终上调 SIRT1 的表达, 目前仍不清楚^[17]。深入阐明这一上游具体机制, 将是连接 FGF21 与其下游通路的关键。

综上所述, 本研究观察到 *FGF21* 过表达与 SIRT1/GPX4 表达上调及铁死亡特征抑制相关联, 从而改善 CCl₄ 诱导的急性肝损伤。该关联提示 SIRT1/GPX4 在 FGF21 对 ALI 的保护作用中发挥重要作用, 但其确切因果关系及上游调控机制仍有待进一步验证。

参考文献

- [1] Fan H, Tu T, Zhang X, et al. Sinomenine attenuates alcohol-induced acute liver injury via inhibiting oxidative stress, inflammation and apoptosis in mice[J]. Food Chem Toxicol, 2022, 159: 112759. doi:10.1016/j.fct.2021.112759.
- [2] Zhang Y, Fan Y, Hu H, et al. ZHX2 emerges as a negative regulator of mitochondrial oxidative phosphorylation during acute liver injury[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 7527. doi:10.1038/s41467-023-43439-0.
- [3] Itoh N, Nakayama Y, Konishi M. Roles of FGFs as paracrine or endocrine signals in liver development, health, and disease[J]. Front Cell Dev Biol, 2016, 4: 30. doi:10.3389/fcell.2016.00030.
- [4] Li X, Liu P, Wang Z, et al. The value of promoter methylation of fibroblast factor 21 (FGF21) in predicting the course of chronic hepatitis B and the occurrence of oxidative stress[J]. Virol J, 2024, 21(1): 332. doi:10.1186/s12985-024-02605-6.
- [5] Yang X, Jin Z, Lin D, et al. FGF21 alleviates acute liver injury by inducing the SIRT1-autophagy signalling pathway[J]. J Cell Mol Med, 2022, 26(3): 868-79. doi:10.1111/jcmm.17144.

- [6] Shenoy V K, Beaver K M, Fisher F M, et al. Elevated serum fibroblast growth factor 21 in humans with acute pancreatitis[J]. PLoS One, 2016, 11(11): e0164351. doi:10.1371/journal.pone.0164351.
- [7] Lin F, Chen W, Zhou J, et al. Mesenchymal stem cells protect against ferroptosis *via* exosome-mediated stabilization of SLC7A11 in acute liver injury[J]. Cell Death Dis, 2022, 13(3): 271. doi:10.1038/s41419-022-04708-w.
- [8] Herskovits A Z, Guarente L. SIRT1 in neurodevelopment and brain senescence[J]. Neuron, 2014, 81(3): 471-83. doi:10.1016/j.neuron.2014.01.028.
- [9] Jiang X, Stockwell B R, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2021, 22(4): 266-82. doi:10.1038/s41580-020-00324-8.
- [10] Xu G, Qiu F, Zhang W, et al. Fibroblast growth factor 21 alleviates acetaminophen induced acute liver injury by activating Sirt1 mediated autophagy[J]. Cell Signal, 2024, 123: 111379. doi:10.1016/j.cellsig.2024.111379.
- [11] Huai Q, Zhu C, Zhang X, et al. Mesenchymal stem/stromal cells armored by FGF21 ameliorate alcohol-induced liver injury through modulating polarization of macrophages[J]. Hepatol Commun, 2024, 8(4): e0410. doi:10.1097/HC9.0000000000000410.
- [12] Iorga A, Dara L. Cell death in drug-induced liver injury[J]. Adv Pharmacol, 2019, 85: 31-74. doi:10.1016/bs.apha.2019.01.006.
- [13] 蒋慰赢, 秦明强, 张程, 等. ferrostatin-1 保护对乙酰氨基酚诱导的小鼠急性肝损伤[J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(10): 1584-9. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.10.015.
- [13] Jiang W Y, Qin M Q, Zhang C, et al. Protective effect of ferrostatin-1 on acetaminophen-induced acute liver injury in mice[J]. Acta Univ Med Anhui, 2021, 56(10): 1584-9. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.10.015.
- [14] Cao Y, Zhao H, Lin S, et al. Danshen injection ameliorates unilateral ureteral obstruction-induced renal fibrosis by inhibiting ferroptosis *via* activating SIRT1/GPX4 pathway[J]. Front Pharmacol, 2025, 15: 1503628. doi:10.3389/fphar.2024.1503628.
- [15] Liang Y, Zhao L, Zhang X, et al. *Lactobacillus* ameliorates myocardial ischemia reperfusion injury by attenuating apoptosis, inflammation, oxidative stress, and ferroptosis[J]. BMC Med, 2025, 23(1): 377. doi:10.1186/s12916-025-04203-x.
- [16] Mauvais-Jarvis F, Bairey Merz N, Barnes P J, et al. Sex and gender: modifiers of health, disease, and medicine[J]. Lancet, 2020, 396(10250): 565-82. doi:10.1016/S0140-6736(20)31561-0.
- [17] Geng L, Lam K S L, Xu A. The therapeutic potential of FGF21 in metabolic diseases: from bench to clinic[J]. Nat Rev Endocrinol, 2020, 16(11): 654-67. doi:10.1038/s41574-020-0386-0.