

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2411076

论著 · 实验研究

FGF19 通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路减轻血管内皮细胞炎症损伤的机制研究

张艳君 孝飞飞 李晓花 唐慎华 桑义 刘超越 李建厂

(滨州医学院附属医院儿科, 山东滨州 256603)

[摘要] **目的** 探讨成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF) 19 在高糖 (high glucose, HG) 导致的血管内皮细胞炎症损伤中的作用及其机制。**方法** 将人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) 随机分为对照组、HG 组、FGF19 组、HG+FGF19 组 ($n=3$)。运用 CCK8 法检测不同浓度葡萄糖和/或 FGF19 对 HUVEC 细胞活力的影响, 流式细胞术检测 FGF19 对 HUVEC 细胞凋亡的影响, ELISA 法测定白细胞介素-6 (interleukin 6, IL-6)、诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、总超氧化物歧化酶 (total superoxide dismutase, T-SOD)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平, 实时荧光定量 PCR 及 Western blot 法检测血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、红系衍生的核因子 2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2 related factor 2, Nrf2)、血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) mRNA 及蛋白表达水平; 另取细胞分为对照组、siRNA-Nrf2 (siNrf2) 组、HG 组、HG+FGF19 组、HG+FGF19+阴性对照组、HG+FGF19+siNrf2 组 ($n=3$), 观察沉默 Nrf2 基因后 FGF19 对 HG 诱导的 HUVEC 氧化应激损伤的影响。**结果** 与对照组比较, HG 组细胞凋亡率和 IL-6、iNOS、MDA 含量以及 VEGF mRNA 及蛋白表达升高 ($P<0.05$), T-SOD 活力以及 Nrf2、HO-1 mRNA 及蛋白表达降低 ($P<0.05$); 与 HG 组比较, HG+FGF19 组细胞凋亡率和 IL-6、iNOS、MDA 含量以及 VEGF mRNA 及蛋白表达降低 ($P<0.05$), T-SOD 活力以及 Nrf2、HO-1 mRNA 及蛋白表达水平升高 ($P<0.05$)。与 HG+FGF19+阴性对照组相比, HG+FGF19+siNrf2 组 T-SOD 活力下降, MDA 含量升高 ($P<0.05$)。**结论** FGF19 可减轻 HG 导致的血管内皮细胞炎症损伤, 其机制可能与 Nrf2/HO-1 信号通路有关。

[中国当代儿科杂志, 2025, 27 (5): 601-608]

[关键词] 1 型糖尿病; 炎症; 氧化应激; 血管内皮功能障碍; 成纤维细胞生长因子 19; 人脐静脉内皮细胞

FGF19 alleviates inflammatory injury in vascular endothelial cells by activating the Nrf2/HO-1 signaling pathway

ZHANG Yan-Jun, XIAO Fei-Fei, LI Xiao-Hua, TANG Shen-Hua, SANG Yi, LIU Chao-Yue, LI Jian-Chang. Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Binzhou, Shandong 256603, China (Li J-C, Email: lijianchang1111@163.com)

Abstract: Objective To investigate the role and mechanism of fibroblast growth factor (FGF) 19 in inflammation-induced injury of vascular endothelial cells caused by high glucose (HG). **Methods** Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) were randomly divided into four groups: control, HG, FGF19, and HG+FGF19 ($n=3$ each). The effect of different concentrations of glucose and/or FGF19 on HUVEC viability was assessed using the CCK8 assay. Flow cytometry was utilized to examine the impact of FGF19 on HUVEC apoptosis. Levels of interleukin-6 (IL-6), inducible nitric oxide synthase (iNOS), total superoxide dismutase (T-SOD), and malondialdehyde (MDA) were measured by ELISA. Real-time quantitative PCR and Western blotting were used to determine the mRNA and protein expression levels of vascular endothelial growth factor (VEGF), nuclear factor erythroid 2 related factor 2 (Nrf2), and heme

[收稿日期] 2024-11-14; [接受日期] 2025-04-01

[基金项目] 山东省医药卫生科技发展计划项目 (2017WS038)。

[作者简介] 张艳君, 女, 硕士, 副主任医师。

[通信作者] 李建厂, 男, 主任医师。Email: lijianchang1111@163.com。

oxygenase-1 (HO-1). Cells were further divided into control, siRNA-Nrf2 (siNrf2), HG, HG+FGF19, HG+FGF19+ negative control, and HG+FGF19+siNrf2 groups ($n=3$ each) to observe the effect of FGF19 on oxidative stress injury in HUVECs induced by high glucose after silencing the *Nrf2* gene. **Results** Compared to the control group, the HG group exhibited increased apoptosis rate, increased IL-6, iNOS and MDA levels, and increased VEGF mRNA and protein expression, along with decreased T-SOD activity and decreased mRNA and protein expression of Nrf2 and HO-1 ($P<0.05$). Compared to the HG group, the HG+FGF19 group showed reduced apoptosis rate, decreased IL-6, iNOS and MDA levels, and decreased VEGF mRNA and protein expression, with increased T-SOD activity and increased Nrf2 and HO-1 mRNA and protein expression ($P<0.05$). Compared to the HG+FGF19+negative control group, the HG+FGF19+siNrf2 group had decreased T-SOD activity and increased MDA levels ($P<0.05$). **Conclusions** FGF19 can alleviate inflammation-induced injury in vascular endothelial cells caused by HG, potentially through the Nrf2/HO-1 signaling pathway. [Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2025, 27(5): 601-608]

Key words: Type 1 diabetes mellitus; Inflammation; Oxidative stress; Vascular endothelial dysfunction; Fibroblast growth factor19; Human umbilical vein endothelial cell

1 型糖尿病是严重危害儿童和青少年健康的慢性疾病之一，患者需终生依赖胰岛素控制血糖，给社会和家庭带来沉重负担。1 型糖尿病往往以糖尿病性酮症酸中毒起病，糖尿病性酮症酸中毒可导致较高的急性肾损伤发生率^[1]。长期高糖 (high glucose, HG) 导致的慢性血管炎症是发生糖尿病血管病变的始发因素。糖尿病并发症一般分为微血管并发症和大血管并发症，有学者建议将糖尿病并发症分为血管并发症、器官实质并发症和混合并发症 (兼具血管和实质病变特征)^[2]。糖尿病血管并发症的病理特征主要表现为内皮功能障碍和动脉粥样硬化^[3]。内皮细胞位于血液和组织之间，其所处微环境葡萄糖浓度随进食状态动态变化，内皮细胞通过摄取血液中的葡萄糖，经代谢转化或直接转运至血管壁及实质组织细胞。研究表明，葡萄糖诱导的内皮功能障碍在不同血管类型和不同血管床中存在差异；内皮葡萄糖代谢对细胞表型和功能至关重要；内皮细胞葡萄糖反应在动脉粥样硬化、癌症、阿尔茨海默病的微血管和大血管疾病中具有重要作用^[4-5]。因此逆转糖尿病血管内皮功能障碍成为预防血管并发症的关键。

氧化应激和炎症损伤在糖尿病微血管和大血管并发症的发生发展中起重要作用，其中，白细胞介素 (interleukin, IL) -6、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、总超氧化物歧化酶 (total superoxide dismutase, T-SOD)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 的异常表达参与了以上作用的发生^[6-7]。研究表明，红系衍生的核因子 2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2 related factor 2, Nrf2) /血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 通路是调节氧化应激、炎症、细胞凋亡的重要途径^[8]。例如远端缺

血调节具有保护脑组织的功能，其通过 Nrf2/HO-1 通路在脑组织缺血/再灌注损伤过程中发挥降低炎症因子 IL-6、氧化应激指标 MDA 表达水平的作用^[9]。Nrf2/HO-1 通路在糖尿病血管内皮损伤中的作用尚不明确。

成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF) 19 是一种新的内分泌调节因子，通过与成纤维细胞生长因子受体 4 和 β -Klotho (一种跨膜蛋白) 结合，激活下游信号通路，发挥调节葡萄糖和脂质代谢的作用^[10]。研究发现，FGF19 通过刺激 Nrf2 表达、腺苷酸活化蛋白激酶信号通路减少活性氧的产生，从而诱导抗氧化反应^[11]。FGF19 还可通过抑制糖原合成酶激酶-3 β 活性和促进 Nrf2 抗氧化反应元件信号激活，减轻缺氧和复氧诱导的心肌细胞凋亡和氧化应激^[12]。但 FGF19 对糖尿病血管内皮损伤的影响及其机制尚无相关研究。本研究拟探讨 FGF19 在高糖导致的血管内皮细胞损伤中的作用及机制，为改善糖尿病血管并发症提供新的理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

GAPDH、Nrf2 抗体 (武汉博士德生物公司)、VEGF 抗体 (武汉爱博泰克生物科技有限公司)、HO-1 兔抗人单克隆抗体 (美国 Abcam 公司)、RevertAid First Strand cDNA 合成试剂盒 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司)、原代人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) (上海中乔新舟生物科技有限公司)、riboFECT™ CP 转染试剂盒 (广州锐博生物技术有限公司)、人 FGF19 ELISA 试剂盒 (上海普欣生物技术有限公司)、人 IL-6、iNOS、VEGF、T-SOD

ELISA试剂盒、CCK8试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技有限公司)、Annexin V-FITC/PI凋亡试剂盒(武汉普诺赛生命科技有限公司)、MDA试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.2 细胞培养

将HUVEC置于含5.5 mmol/L葡萄糖、5%胎牛血清、细胞生长因子、青霉素-链霉素的内皮细胞培养基中,于37℃、5% CO₂培养箱中培养,每2~3 d传代一次,细胞生长状态良好,取对数生长期细胞进行实验。

1.3 CCK8法检测细胞活力

(1) 观察不同浓度葡萄糖对HUVEC细胞活力的影响。设定葡萄糖浓度梯度为5.5、11、22、33、44 mmol/L。将细胞接种于96孔板中,每孔100 μL (5 × 10³个细胞);仅加培养基的孔作为空白对照孔。培养48 h后,每孔加入10 μL CCK8溶液,继续培养2 h。用酶标仪测定在450 nm处的光密度(optical density, OD)值。按说明书计算细胞活力,细胞活力 = [OD (加药) - OD (空白)] / [OD (未加药) - OD (空白)] × 100%。

(2) 观察不同浓度FGF19对HUVEC细胞活力的影响。设定FGF19浓度梯度为0、12.5、25、50、100、200 ng/mL。将细胞接种于96孔板中,每孔100 μL (3 × 10³个细胞);仅加培养基的孔作为空白对照孔。培养48 h后,每孔加入10 μL CCK8溶液,继续培养2 h。用酶标仪检测在450 nm处的OD值,计算细胞活力。

(3) 观察不同浓度FGF19对HG培养条件下HUVEC细胞活力影响。运用上述实验筛选出的葡萄糖浓度培养HUVEC。设定FGF19浓度梯度为0、12.5、25、50、100、200 ng/mL,仅加培养基的孔作为空白对照孔。按上述实验步骤检测并计算细胞活力。

1.4 流式细胞术检测细胞凋亡

实验分为对照组、HG组、FGF19组、HG+FGF19组 (n=3)。将HUVEC细胞悬液1 mL (1.5 × 10⁵个细胞)接种在24孔板中。HG组、HG+FGF19组葡萄糖浓度为33 mmol/L, FGF19组、HG+FGF19组FGF19浓度为50 ng/mL,对照组加入相同体积的PBS。培养48 h后收集细胞,每组细胞中加入300 μL 1 × Annexin V binding buffer工作液重悬细胞。分别加入5 μL Annexin V-FITC和5 μL碘化丙啶,室温避光孵育20 min,使用流式细胞仪检测。实验独立重复3次。

1.5 ELISA法检测IL-6、iNOS、T-SOD、MDA水平

按1.4分组处理细胞,收集各组细胞上清液,按照ELISA试剂盒说明书操作步骤检测IL-6、iNOS、T-SOD、MDA水平。实验独立重复3次。

1.6 实时荧光定量PCR检测VEGF、Nrf2、HO-1 mRNA表达水平

按1.4分组处理细胞,收集各组细胞,提取总RNA并反转录为cDNA。以cDNA为模板进行实时荧光定量PCR,反应体系、反应条件参考2 × 通用型SYBR Green快速qPCR预混液说明书。采用2^{-ΔΔCt}法对实时荧光定量PCR数值进行分析。实验独立重复3次。引物序列如下(5'→3'): VEGF上游引物CTTGCCCTTGCTGCTCTACCT,下游引物GACATCCATGAACTTCACCACCTT; Nrf2上游引物CAACTACTCCCAGGTTGCC,下游引物AGTGACTGAAACGTAGCCGAA; HO-1上游引物TCTTGCTGGCTTCCTTACC,下游引物GGATGTGCTTTTCGTTGGGG; GAPDH上游引物AGAAGGCTGGGGCTCATTG,下游引物AGGGGCCATCCACAGTCTTC。

1.7 Western blot检测VEGF、Nrf2、HO-1蛋白表达水平

按1.4分组处理细胞,收集各组细胞,加入150 μL RIPA细胞裂解液,于冰上充分裂解,收集细胞上清液。取少量用BCA法测蛋白浓度,余加5 × SDS-PAGE上样缓冲液煮沸4 min, -80℃保存。取等量蛋白行电泳后将蛋白转移至PVDF膜上,用含5%脱脂奶粉的TBST封闭液封闭2 h,漂洗后加GAPDH、Nrf2、HO-1及VEGF一抗(稀释度均为1:1000),4℃孵育过夜;漂洗后加二抗(稀释度为1:2400),室温孵育1 h,漂洗后用化学发光法显色。采用Gel-Pro analyzer软件分析结果,以GAPDH为内参,目的蛋白/GAPDH灰度值比值表示目的蛋白的相对表达水平。实验独立重复3次。

1.8 验证细胞敲低效率

将细胞分为空白对照组、阴性对照组、干扰组。将HUVEC细胞悬液2 mL (2 × 10⁵个细胞)接种在6孔板中,细胞融合度达50%时,按riboFECTTM CP转染试剂盒说明书转染细胞。向1 × riboFECTTM CP buffer中加入siRNA储存液,再加入riboFECTTM CP reagent,轻轻混匀,室温孵育10 min,制成转染复合物。向转染复合物中加入适量无青霉素-链霉素的完全培养基,干扰组加入含

siRNA-Nrf2 的转染试剂，阴性对照组加入含阴性对照 siRNA 的转染试剂，空白对照组不加任何转染试剂。培养 48 h 后检测 Nrf2 mRNA 及蛋白表达水平，验证敲低效率。实验独立重复 3 次。

1.9 沉默 Nrf2 基因后检测各组 HUVEC T-SOD、MDA 水平

实验分为对照组、siRNA-Nrf2 (siNrf2) 组、HG 组、HG+FGF19 组、HG+FGF19+阴性对照组、HG+FGF19+siNrf2 组 ($n=3$)。分组处理细胞后，采用 ELISA 法检测各组细胞上清液中 T-SOD、MDA 表达水平。实验独立重复 3 次。

1.10 统计学方法

采用 SPSS 25.0 统计软件对数据进行统计学分析。正态分布计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，方差齐时，组间两两比较采用 LSD 检验；方差不齐时，组间两两比较采用盖姆斯-豪厄尔检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度葡萄糖和/或 FGF19 对 HUVEC 细胞活力的影响

经不同浓度葡萄糖 (5.5、11、22、33、44 mmol/L) 处理 48 h 后，HUVEC 细胞活力分别为 $100.0\% \pm 3.1\%$ 、 $110.1\% \pm 1.9\%$ 、 $101.2\% \pm 2.1\%$ 、

$94.0\% \pm 1.1\%$ 、 $78.4\% \pm 4.3\%$ ；葡萄糖浓度为 33、44 mmol/L 时，HUVEC 细胞活力较 5.5 mmol/L 组明显下降 ($P < 0.05$)。后续实验选择葡萄糖浓度为 33 mmol/L。

FGF19 浓度为 0、12.5、25、50、100、200 ng/mL，HUVEC 细胞活力分别为 $97.6\% \pm 3.8\%$ 、 $107.7\% \pm 3.6\%$ 、 $105.8\% \pm 2.0\%$ 、 $104.6\% \pm 2.4\%$ 、 $112.9\% \pm 1.0\%$ 、 $105.2\% \pm 3.4\%$ ，各浓度组 HUVEC 细胞活力均高于 0 ng/mL 组，差异具有统计学意义 ($F=8.68$, $P=0.001$)。选择 FGF19 的工作浓度范围为 12.5~200 ng/mL。

葡萄糖浓度为 33 mmol/L，FGF19 浓度为 0、12.5、25、50、100、200 ng/mL 时，HUVEC 细胞活力分别为 $89.5\% \pm 2.1\%$ 、 $92.2\% \pm 5.8\%$ 、 $94.6\% \pm 6.6\%$ 、 $102.7\% \pm 3.0\%$ 、 $105.6\% \pm 6.9\%$ 、 $98.8\% \pm 2.3\%$ ，FGF19 浓度 ≥ 50 ng/mL 时，HUVEC 细胞活力提高，后续实验采用 FGF19 浓度为 50 ng/mL ($F=4.90$, $P=0.01$)。

2.2 FGF19 对 HG 培养条件下 HUVEC 细胞凋亡的影响

流式细胞术检测结果显示，对照组、HG 组、FGF19 组、HG+FGF19 组细胞凋亡率分别为 $20.3\% \pm 2.7\%$ 、 $26.0\% \pm 2.5\%$ 、 $16.5\% \pm 2.6\%$ 、 $19.8\% \pm 0.9\%$ ，与对照组相比，HG 组细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.01$)；与 HG 组相比，HG+FGF19 组细胞凋亡率显著下降 ($P < 0.01$)。见图 1。

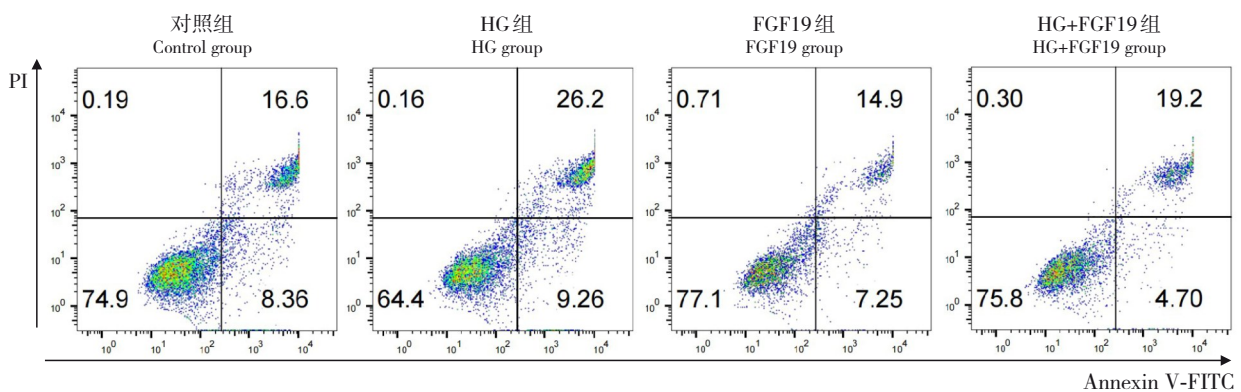


图 1 FGF19 对 HG 导致细胞凋亡的影响 第一象限为晚期凋亡细胞，第四象限为早期凋亡细胞，以早期凋亡和晚期凋亡细胞之和计算细胞凋亡率。与 HG 组相比，HG+FGF19 组细胞凋亡率显著下降。

2.3 FGF19 对 HUVEC 细胞炎症及氧化应激指标的影响

与对照组相比, HG 组 IL-6、iNOS、MDA 水平

升高, 细胞 T-SOD 活力降低 ($P<0.05$); 与 HG 组相比, HG+FGF19 组 IL-6、iNOS、MDA 水平降低, 细胞 T-SOD 活力升高 ($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组细胞 IL-6、iNOS、MDA、T-SOD 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	IL-6 (pg/mL)	iNOS (pg/mL)	MDA (nmol/mL)	T-SOD (U/mL)
对照组	19.1 ± 1.8	191.2 ± 79.3	45.5 ± 2.4	47.9 ± 1.7
HG 组	31.4 ± 2.0 ^a	744.6 ± 196.2 ^a	74.7 ± 4.3 ^a	42.6 ± 4.7 ^a
FGF19 组	19.9 ± 3.1	114.7 ± 61.4	41.6 ± 0.7	48.9 ± 1.9
HG+FGF19 组	26.2 ± 3.3 ^{a,b,c}	429.7 ± 71.7 ^{a,b,c}	48.8 ± 3.3 ^{b,c}	48.7 ± 1.2 ^b
F 值	14.26	17.95	74.82	4.62
P 值	0.001	0.001	<0.001	0.023

注: a 示与对照组相比, $P<0.05$; b 示与 HG 组相比, $P<0.05$; c 示与 FGF19 组相比, $P<0.05$ 。[HG] 高糖; [FGF19] 成纤维细胞生长因子 19; [IL-6] 白细胞介素-6; [iNOS] 诱导型一氧化氮合酶; [MDA] 丙二醛; [T-SOD] 总超氧化物歧化酶。

2.4 FGF19 对 HUVEC VEGF、Nrf2、HO-1 mRNA 及蛋白质表达的影响

与对照组相比, HG 组 VEGF mRNA 及蛋白质表达水平升高, Nrf2、HO-1 mRNA 及蛋白质表达水平降低 ($P<0.05$); 与 HG 组相比, HG+FGF19 组 VEGF mRNA 及蛋白质表达水平降低, Nrf2、HO-1 mRNA 及蛋白质表达水平升高 ($P<0.05$)。见表 2、图 2。

2.5 沉默 Nrf2 基因对 HUVEC Nrf2 mRNA 及蛋白表达水平的影响

实时荧光定量 PCR 及 Western blot 结果显示, 与阴性对照组 (分别为 0.94 ± 0.09 、 1.02 ± 0.14) 相比, siNrf2 组 (分别为 0.66 ± 0.14 、 0.66 ± 0.07) Nrf2 mRNA 及蛋白表达水平降低, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。见图 3。

2.6 沉默 Nrf2 基因对 HUVEC T-SOD、MDA 水平的影响

与对照组、siNrf2 组、HG+FGF19 组、HG+

FGF19+阴性对照组相比, HG 组 T-SOD 活力下降, MDA 水平升高 ($P<0.05$); 与 HG+FGF19+阴性对照组相比, HG+FGF19+siNrf2 组 T-SOD 活力下降, MDA 水平升高 ($P<0.05$)。见表 3。

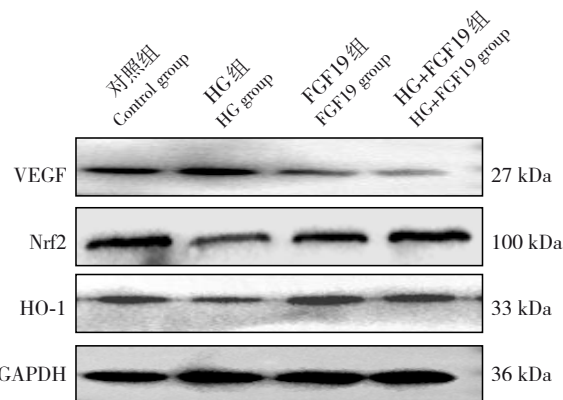


图 2 各组 HUVEC VEGF、Nrf2、HO-1 蛋白表达条带图

表 2 各组 HUVEC VEGF、Nrf2、HO-1 的 mRNA 和蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	VEGF		Nrf2		HO-1	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
对照组	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
HG 组	1.98 ± 0.43 ^a	1.64 ± 0.37 ^a	0.50 ± 0.12 ^a	0.28 ± 0.19 ^a	0.40 ± 0.25 ^a	0.44 ± 0.32 ^a
FGF19 组	0.52 ± 0.19	0.95 ± 0.32	0.91 ± 0.08	0.66 ± 0.19	0.92 ± 0.19	1.02 ± 0.49
HG+FGF19 组	1.06 ± 0.32 ^b	0.69 ± 0.37 ^b	0.77 ± 0.06 ^b	0.70 ± 0.22 ^b	0.82 ± 0.21 ^b	1.55 ± 0.06 ^b
F 值	13.63	5.06	30.35	8.62	6.01	7.06
P 值	0.002	0.03	<0.001	0.007	0.019	0.012

注: a 示与对照组相比, $P<0.05$; b 示与 HG 组相比, $P<0.05$ 。[HG] 高糖; [FGF19] 成纤维细胞生长因子 19; [VEGF] 血管内皮生长因子; [Nrf2] 红系衍生的核因子 2 相关因子 2; [HO-1] 血红素加氧酶 1。

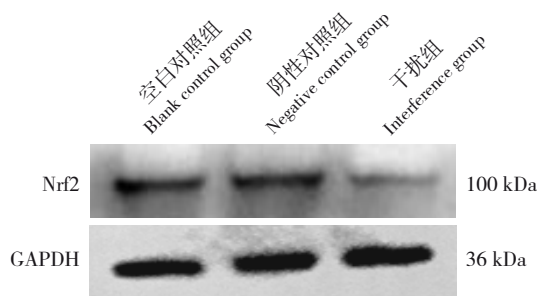


图 3 各组 Nrf2 蛋白表达条带图

表 3 各组 HUVEC T-SOD、MDA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	T-SOD (U/mL)	MDA (nmol/mL)
对照组	83.2 ± 4.2	48.4 ± 3.1
siNrf2 组	74.8 ± 4.9 ^a	52.8 ± 2.8
HG 组	55.1 ± 0.7 ^{ab}	78.2 ± 6.4 ^{ab}
HG+FGF19 组	81.4 ± 2.5 ^{bc}	44.9 ± 2.1 ^c
HG+FGF19+阴性对照组	83.6 ± 2.7 ^{bc}	52.2 ± 3.6 ^c
HG+FGF19+siNrf2 组	53.6 ± 1.4 ^{abcd,e}	70.3 ± 9.5 ^{abcd,e}
<i>F</i> 值	62.07	19.36
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001

注：a 示与对照组相比， $P < 0.05$ ；b 示与 siNrf2 组相比， $P < 0.05$ ；c 示与 HG 组相比， $P < 0.05$ ；d 示与 HG+FGF19 组相比， $P < 0.05$ ；e 示与 HG+FGF19+阴性对照组相比， $P < 0.05$ 。[T-SOD] 总超氧化物歧化酶；[MDA] 丙二醛；[HG] 高糖；[FGF19] 成纤维细胞生长因子 19；[Nrf2] 红系衍生的核因子 2 相关因子 2。

3 讨论

FGF 是一大类蛋白质，对机体发育、器官发生和代谢具有多效性作用。FGF19 及其啮齿类动物直系同源物 FGF15 及 FGF21、FGF23 均属于内分泌 FGF 亚家族^[13-14]。FGF19 主要在小肠和结肠上皮细胞中表达，具有胰岛素样效应^[15-16]，并有增加胰岛素敏感性的作用^[17]。FGF19 的降糖作用为非胰岛素依赖^[18]。FGF19 可诱导抗氧化反应以及减轻缺氧、复氧诱导的心肌细胞凋亡和氧化应激^[19-20]。FGF19 参与心肌细胞肥厚的发展和心肌脂肪酸代谢的调节^[21]。

健康的内皮细胞通过控制通透性、炎症、血管张力和损伤修复来维持血管稳态^[22]。然而，当内皮细胞暴露于 HG 或低糖环境时，将导致功能失调^[23]。葡萄糖诱导的内皮功能障碍与糖酵解途径下游的葡萄糖代谢增强有关。高血糖时大量的甲基乙二醛会产生晚期糖基化终末产物，其通过修饰细胞内蛋白分子对血管内皮细胞造成损伤^[24]。目前对于高血糖导致的血管内皮损伤还没有有效

的治疗办法。本研究发现，FGF19 可增加血管内皮细胞活力，改善 HG 导致的细胞活力降低，并降低 HG 导致的内皮细胞凋亡率。

糖尿病血管并发症往往始于内皮细胞的损伤，进而导致炎症因子及氧化应激指标的高表达。本研究发现，HG 可导致 IL-6、iNOS 水平以及 VEGF mRNA 和蛋白表达升高，FGF19 可使 HG 条件下 HUVEC IL-6、iNOS 水平以及 VEGF mRNA 和蛋白表达水平降低。氧化应激损伤是糖尿病血管并发症发生的重要因素，T-SOD 是一类专门清除超氧阴离子自由基 (O_2^-) 的金属蛋白酶的总称，是机体抗氧化系统的重要组成部分，在对抗和清除活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 中发挥了重要作用。本研究发现，HG 组 HUVEC 的 T-SOD 活力下降，HG+FGF19 组 T-SOD 活力明显提高。Li 等^[25]研究发现，重组 FGF21 在治疗糖尿病角膜上皮损伤中可抑制 ROS 产生，增加抗炎分子 IL-10 和 SOD-1 水平，这表明 FGF21 通过增加抗氧化能力，减少炎症介质和基质金属蛋白酶的释放，在糖尿病角膜上皮愈合中发挥保护作用。MDA 是脂质过氧化的终分解产物之一，能够引起细胞毒害作用，常被用作检测生物体中氧化应激水平的生物标志物，HG 可促使内皮细胞 MDA 表达水平升高。有研究表明，FGF19 能有效降低脓毒症患者血清 MDA 水平，减轻了氧化应激反应^[26]。本研究结果显示，FGF19 能有效降低 HG 条件下 HUVEC MDA 水平，发挥抗氧化应激损伤的作用。

Nrf2/HO-1 是调控氧化应激反应的重要通路，具有抗氧化、抗炎、减少细胞凋亡和抑制血管钙化等作用，能够抑制 ROS 产生，减少 SOD 消耗，抑制氧化损伤，延缓心血管疾病的发生发展^[27-29]。本研究发现，HG 水平可降低 HUVEC Nrf2、HO-1 mRNA 及蛋白表达水平，而加入 FGF19 可提高 Nrf2、HO-1 mRNA 及蛋白表达水平。为了进一步明确 FGF19 是否通过 Nrf2 基因介导的通路发挥作用，运用 siRNA 干扰技术敲低 Nrf2 基因，结果显示，敲低 Nrf2 基因后 FGF19 提高 HUVEC T-SOD 活力的作用受抑制，MDA 表达量增加。

综上所述，FGF19 是一种新型的内分泌激素，具有保护血管内皮损伤的作用，其作用体现在提高细胞活力、减轻凋亡、抗炎及抗氧化应激损伤等方面，可能通过与 Nrf2/HO-1 通路的参与有关。本研究不足之处在于仅采用 HUVEC 为研究对象，不能完全模拟人体所有内皮细胞，尚需从动物体

内实验及人体组织样本验证 FGF19 的作用, 提供更加有力的证据。总之, 越来越多的研究表明, FGF19 具有改善葡萄糖和脂肪代谢, 以及增加胰岛素敏感性的作用, 对糖尿病及肥胖症具有治疗意义。FGF19 类似物阿达非明已应用于脂肪性肝炎和糖尿病患者, 具有良好的治疗作用^[30]。尽管如此, FGF19 具有促进有丝分裂活性, 长期给予 FGF19 可通过激活 FGFR4 促使肿瘤的发生^[31], 这就需要我们深入研究并开发更多 FGF19 类似物, 筛选出疗效好、不良反应少的药物, 造福于临床患者。

作者贡献声明: 张艳君负责研究设计; 张艳君、孝飞飞、李晓花、桑义、刘超越负责实验; 张艳君负责数据分析; 张艳君、李建厂负责撰写论文; 李建厂、张艳君、唐慎华负责论文修改。

利益冲突声明: 所有作者声明无利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] 袁雪雯, 王旭, 唐宁, 等. 1 型糖尿病伴糖尿病酮症酸中毒患儿发生急性肾损伤的临床研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2022, 24(8): 858-862. PMID: 36036122. PMCID: PMC9425873. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2203123.
- [2] Yu MG, Gordin D, Fu J, et al. Protective factors and the pathogenesis of complications in diabetes[J]. *Endocr Rev*, 2024, 45(2): 227-252. PMID: 37638875. PMCID: PMC10911956. DOI: 10.1210/edrv/bnad030.
- [3] Zhou X, Yu L, Zhao Y, et al. Panvascular medicine: an emerging discipline focusing on atherosclerotic diseases[J]. *Eur Heart J*, 2022, 43(43): 4528-4531. PMID: 35947920. DOI: 10.1093/eurheartj/ehac448.
- [4] Eelen G, de Zeeuw P, Simons M, et al. Endothelial cell metabolism in normal and diseased vasculature[J]. *Circ Res*, 2015, 116(7): 1231-1244. PMID: 25814684. PMCID: PMC4380230. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.302855.
- [5] Goveia J, Stapor P, Carmeliet P. Principles of targeting endothelial cell metabolism to treat angiogenesis and endothelial cell dysfunction in disease[J]. *EMBO Mol Med*, 2014, 6(9): 1105-1120. PMID: 25063693. PMCID: PMC4197858. DOI: 10.15252/emmm.201404156.
- [6] Antar SA, Abdo W, Taha RS, et al. Telmisartan attenuates diabetic nephropathy by mitigating oxidative stress and inflammation, and upregulating Nrf2/HO-1 signaling in diabetic rats[J]. *Life Sci*, 2022, 291: 120260. PMID: 34968466. DOI: 10.1016/j.lfs.2021.120260.
- [7] 于馨雅, 申元英, 郭乐. Nrf2/HO-1 通路在氧化应激和炎症反应中的作用[J]. 医学研究杂志, 2023, 52(7): 19-22. DOI: 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.07.005.
- [8] Loboda A, Damulewicz M, Pyza E, et al. Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(17): 3221-3247. PMID: 27100828. PMCID: PMC4967105. DOI: 10.1007/s00018-016-2223-0.
- [9] Sun YY, Zhu HJ, Zhao RY, et al. Remote ischemic conditioning attenuates oxidative stress and inflammation via the Nrf2/HO-1 pathway in MCAO mice[J]. *Redox Biol*, 2023, 66: 102852. PMID: 37598463. PMCID: PMC10462885. DOI: 10.1016/j.redox.2023.102852.
- [10] Ryan KK, Kohli R, Gutierrez-Aguilar R, et al. Fibroblast growth factor-19 action in the brain reduces food intake and body weight and improves glucose tolerance in male rats[J]. *Endocrinology*, 2013, 154(1): 9-15. PMID: 23183168. PMCID: PMC3529386. DOI: 10.1210/en.2012-1891.
- [11] Li X, Wu D, Tian Y. Fibroblast growth factor 19 protects the heart from oxidative stress-induced diabetic cardiomyopathy via activation of AMPK/Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 502(1): 62-68. PMID: 29778534. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.05.121.
- [12] Fang Y, Zhao Y, He S, et al. Overexpression of FGF19 alleviates hypoxia/reoxygenation-induced injury of cardiomyocytes by regulating GSK-3 β /Nrf2/ARE signaling[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(4): 2355-2362. PMID: 29964017. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.06.161.
- [13] Gadaleta RM, Moschetta A. Metabolic messengers: fibroblast growth factor 15/19[J]. *Nat Metab*, 2019, 1(6): 588-594. PMID: 32694803. DOI: 10.1038/s42255-019-0074-3.
- [14] Somm E, Jornayvaz FR. Fibroblast growth factor 15/19: from basic functions to therapeutic perspectives[J]. *Endocr Rev*, 2018, 39(6): 960-989. PMID: 30124818. DOI: 10.1210/er.2018-00134.
- [15] Wang D, Zhu W, Li J, et al. Serum concentrations of fibroblast growth factors 19 and 21 in women with gestational diabetes mellitus: association with insulin resistance, adiponectin, and polycystic ovary syndrome history[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e81190. PMID: 24260557. PMCID: PMC3834317. DOI: 10.1371/journal.pone.0081190.
- [16] Fon Tacer K, Bookout AL, Ding X, et al. Research resource: comprehensive expression atlas of the fibroblast growth factor system in adult mouse[J]. *Mol Endocrinol*, 2010, 24(10): 2050-2064. PMID: 20667984. PMCID: PMC2954642. DOI: 10.1210/me.2010-0142.
- [17] Hu J, Tang Y, Liu H, et al. Decreased serum fibroblast growth factor 19 level is a risk factor for type 1 diabetes[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(5): 376. PMID: 33842597. PMCID: PMC8033349. DOI: 10.21037/atm-20-5203.
- [18] Perry RJ, Lee S, Ma L, et al. FGF1 and FGF19 reverse diabetes by suppression of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6980. PMID: 25916467. PMCID: PMC4413509. DOI: 10.1038/ncomms7980.
- [19] Stejskal D, Karpisek M, Hanulová Z, et al. Fibroblast growth factor-19: development, analytical characterization and clinical evaluation of a new ELISA test[J]. *Scand J Clin Lab Invest*,

- 2008, 68(6): 501-507. PMID: 18609104.
DOI: 10.1080/00365510701854967.
- [20] Lai Y, Wang H, Xia X, et al. Serum fibroblast growth factor 19 is decreased in patients with overt hypothyroidism and subclinical hypothyroidism[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(39): e5001. PMID: 27684859. PMCID: PMC5265952. DOI: 10.1097/MD.0000000000005001.
- [21] Morón-Ros S, Blasco-Roset A, Navarro-Gascon A, et al. A new FGF15/19-mediated gut-to-heart axis controls cardiac hypertrophy[J]. *J Pathol*, 2023, 261(3): 335-348. PMID: 37650293. DOI: 10.1002/path.6193.
- [22] Michiels C. Endothelial cell functions[J]. *J Cell Physiol*, 2003, 196(3): 430-443. PMID: 12891700. DOI: 10.1002/jcp.10333.
- [23] Wang J, Alexanian A, Ying R, et al. Acute exposure to low glucose rapidly induces endothelial dysfunction and mitochondrial oxidative stress: role for AMP kinase[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(3): 712-720. PMID: 22207730. PMCID: PMC3319449. DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.227389.
- [24] Giardino I, Edelstein D, Brownlee M. Nonenzymatic glycosylation *in vitro* and in bovine endothelial cells alters basic fibroblast growth factor activity. A model for intracellular glycosylation in diabetes[J]. *J Clin Invest*, 1994, 94(1): 110-117. PMID: 8040253. PMCID: PMC296288. DOI: 10.1172/JCI117296.
- [25] Li L, Wang H, Pang S, et al. rhFGF-21 accelerates corneal epithelial wound healing through the attenuation of oxidative stress and inflammatory mediators in diabetic mice[J]. *J Biol Chem*, 2023, 299(9): 105127. PMID: 37544647. PMCID: PMC10481360. DOI: 10.1016/j.jbc.2023.105127.
- [26] Liu T, Tang X, Cui Y, et al. Fibroblast growth factor 19 improves LPS-induced lipid disorder and organ injury by regulating metabolomic characteristics in mice[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 9673512. PMID: 35847588. PMCID: PMC9279090. DOI: 10.1155/2022/9673512.
- [27] Zhang Q, Liu J, Duan H, et al. Activation of Nrf2/HO-1 signaling: an important molecular mechanism of herbal medicine in the treatment of atherosclerosis via the protection of vascular endothelial cells from oxidative stress[J]. *J Adv Res*, 2021, 34: 43-63. PMID: 35024180. PMCID: PMC8655139. DOI: 10.1016/j.jare.2021.06.023.
- [28] Mansouri A, Reiner Ž, Ruscica M, et al. Antioxidant effects of statins by modulating Nrf2 and Nrf2/HO-1 signaling in different diseases[J]. *J Clin Med*, 2022, 11(5): 1313. PMID: 35268403. PMCID: PMC8911353. DOI: 10.3390/jcm11051313.
- [29] Zhang Q, Wang L, Wang S, et al. Signaling pathways and targeted therapy for myocardial infarction[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 78. PMID: 35273164. PMCID: PMC8913803. DOI: 10.1038/s41392-022-00925-z.
- [30] Carvalho MB, Jorge GMCP, Zanardo LW, et al. The role of FGF19 in metabolic regulation: insights from preclinical models to clinical trials[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2024, 327(3): E279-E289. PMID: 39017679. DOI: 10.1152/ajpendo.00156.2024.
- [31] Li X, Lu W, Kharitonov A, et al. Targeting the FGF19 - FGFR4 pathway for cholestatic, metabolic, and cancerous diseases[J]. *J Intern Med*, 2024, 295(3): 292-312. PMID: 38212977. DOI: 10.1111/joim.13767.

(本文编辑: 杨丹)

(版权所有©2025 中国当代儿科杂志)