



## 叉头框蛋白 O1 在肝脏脂质沉积中的作用及调控机制\*

贾蒙<sup>1,2,3)</sup> 李方晖<sup>1)\*\*</sup> 闫士展<sup>2)</sup> 李爱菊<sup>3)</sup> 王一乐<sup>3)</sup> 倪品诗<sup>1)</sup> 何茹菡<sup>1)</sup> 李银潞<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup> 南京师范大学体育科学学院, 南京 210033; (<sup>2)</sup> 江苏省体育科学研究所, 南京 210046; (<sup>3)</sup> 南阳师范学院体育学院, 南阳 473061)

**摘要** 肝脏脂质沉积是代谢相关脂肪性肝病 (metabolic associated fatty liver disease, MAFLD) 的核心病理特征, 叉头框蛋白 O1 (forkhead box O1, FOXO1) 的功能状态直接影响肝脏脂质代谢稳态。FOXO1 在肝脏脂质沉积中具有情境依赖的双向调控作用, 但其效应切换分子基础尚未厘清。本文系统梳理 FOXO1 的生物学功能、表达调控及在肝脏脂质代谢中的作用, 重点解析其与胰岛素信号通路的交互关系。FOXO1 的表达受 RNA 修饰及非编码 RNA 介导的表观遗传调控, 转录活性则由磷酸化、乙酰化等翻译后修饰及核-质穿梭协同决定, 并在不同营养状态、胰岛素抵抗程度及病程阶段中呈现差异化调控特征。机制上, FOXO1 一方面通过激活甘油三酯合成基因并抑制脂肪酸氧化基因, 加剧肝脏脂质沉积; 另一方面, 又通过促进甘油三酯水解和极低密度脂蛋白分泌, 在特定条件下降低肝内脂质负荷。同时, FOXO1 抑制障碍不仅增加肝脏葡萄糖输出, 还持续驱动肝脏生成胰岛素依赖性脂质。本综述为理解 MAFLD 发病机制提供关键视角, 并提示 FOXO1 作为潜在治疗靶点的价值, 为开发肝特异性、分期依赖的精准干预策略奠定理论基础。

**关键词** 叉头框蛋白 O1, 肝脏脂质沉积, 作用及调控

中图分类号 G804.2, R49

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0518

CSTR: 32369.14.pibb.20250518

肝脏脂肪变性作为代谢相关脂肪性肝病 (metabolic associated fatty liver disease, MAFLD) 的关键病理特征之一, 常被视为代谢综合征在肝脏的主要表现。现有研究表明, 脂肪酸在肝脏中过度累积是肝脂肪变性的核心诱因, 且主要储存形式为甘油三酯 (triglycerides, TG)<sup>[1]</sup>。从机制上看, 肝脏 TG 的净沉积取决于脂肪酸来源与去路之间的平衡, 主要涉及循环脂肪酸摄取、从头脂肪生成 (*de novo* lipogenesis, DNL)、脂肪酸氧化 (fatty acid oxidation, FAO) 以及极低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL) 输出等过程。因此, 阐明肝脏脂质沉积 (以 TG 为主) 的分子调控机制, 有助于为 MAFLD 的干预提供潜在靶点。

叉头框蛋白 O1 (forkhead box O1, FOXO1) 是 FOXO 家族的重要成员, 在哺乳动物糖脂代谢中发挥关键作用<sup>[2]</sup>。在肝脏中, FOXO1 受胰岛素 (insulin, Ins) 与胰岛素样生长因子-1 (insulin like growth factor-1, IGF-1) 信号通路调控, 在胰岛素

信号减弱时 FOXO1 活性增强, 可促进糖异生与糖原分解相关基因的转录, 从而提高肝糖输出<sup>[3-4]</sup>。过去对 FOXO1 的研究多聚焦于其在肝脏糖代谢中的作用<sup>[5-6]</sup>, 近年来研究进一步提示, FOXO1 同样参与肝脏脂质代谢调控<sup>[7]</sup>。值得注意的是, FOXO1 对肝脂质稳态的影响可能具有状态依赖性: 在肥胖、MAFLD 和 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 等病理条件下, FOXO1 表达/活性增强常与肝脏脂质负荷上升、脂质沉积加重相关; 而在一些研究中, FOXO1 活化可促进能量动员相关程序 (如促进脂质动员、氧化或输出), 从而表现为肝脏 TG 负荷下降的趋势<sup>[8]</sup>。因此,

\* 国家自然科学基金 (32371180), 河南省教育厅资助性计划 (2026-ZZJH-294), 河南省体育局规划项目 (202515), 河南省科技厅软科学研究项目 (242400411205) 和南阳师范学院博士研究专项 (252015B) 资助。

\*\* 通讯联系人。

Tel: 18262609418, E-mail: 12356@nynu.edu.cn

收稿日期: 2025-11-23, 接受日期: 2026-03-10

FOXO1可能通过不同通路、在不同代谢状态下对肝脏脂质沉积产生双向调控效应。基于此,本文以FOXO1与肝脏脂质沉积为切入点,系统回顾FOXO1的表达与活性调控,重点总结其对肝脏脂质代谢关键环节的作用及其状态依赖性差异,以期代谢性脂肪性肝病的潜在治疗策略提供参考。

## 1 FOXO1的生物学特征

*Fox* 基因隶属转录因子 (transcription factor, TF) 超家族。其中, *FOXO* 亚家族在秀丽隐杆线虫中由 *daf-16* 编码 (*DAF-16* 为其 *FOXO* 同源蛋白), 在果蝇中由 *dFOXO* 编码 (*dFOXO* 为其 *FOXO* 同源蛋白), 而哺乳动物基因组中则包含 *FOXO1*、*FOXO3*、*FOXO4* 和 *FOXO6* 四个 *FOXO* 基因<sup>[9]</sup>。研究表明, *FOX* 家族成员所编码的蛋白质在N端均含有高度保守的DNA结合结构域 (DNA-binding domain, DBD), 该结构域可识别并结合靶基因启动子/增强子区域中的特异性序列元件, 从而调控靶基因转录<sup>[10]</sup>。此外, FOXO蛋白还包含多个保守的丝氨酸/苏氨酸磷酸化位点, 可被蛋白激酶B

(protein kinase B, Akt) 等丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶磷酸化; 在人FOXO1蛋白中经典位点为 Thr<sup>24</sup>/Ser<sup>256</sup>/Ser<sup>319</sup>, 在啮齿类同源蛋白中对应位点通常为 Thr<sup>24</sup>/Ser<sup>253</sup>/Ser<sup>316</sup><sup>[11]</sup>。

20世纪90年代, 人类肿瘤相关染色体易位研究中首次鉴定出 *FOXO1* 基因, 其定位于人13号染色体, *FOXO1* 基因编码的FOXO1蛋白由多个功能区域构成, 包括高度保守的DBD、核定位序列 (nuclear localisation sequence, NLS)、核输出序列 (nuclear export sequence, NES) 以及反式激活域 (transactivation domain, TD) 等<sup>[12]</sup>。与DBD相比, NLS、NES和TD在不同物种/家族成员间的保守性相对较低, 其差异可能影响FOXO1的亚细胞定位与转录调控功能, 并与疾病发生相关。值得注意的是, 在FOXO1蛋白中存在与胰岛素信号通路密切相关的3个Akt磷酸化位点 (Thr<sup>24</sup>、Ser<sup>256</sup>、Ser<sup>319</sup>)<sup>[13]</sup>。Akt对Ser<sup>256</sup>的磷酸化可降低FOXO1与靶DNA的结合能力, 并进一步促进Thr<sup>24</sup>和Ser<sup>319</sup>位点的磷酸化 (Ser<sup>256</sup>位点的磷酸化通常被认为是后续位点磷酸化的重要前提), 继而抑制FOXO1介导的转录活性 (图1)。

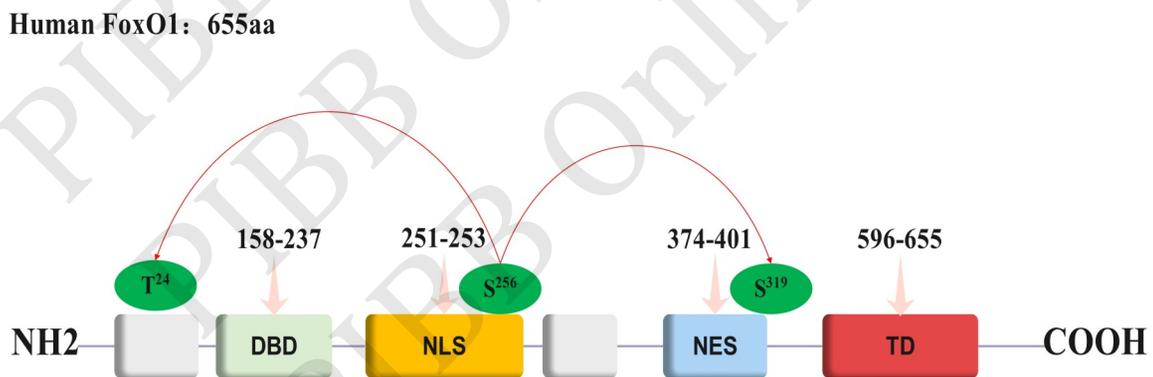


Fig. 1 Schematic diagram of the structure and AKT regulatory sites of FOXO1

图1 FOXO1的结构和AKT调节位点示意图

FOXO1具有多个功能域, 在代谢稳态调节中发挥核心作用。DBD: DNA结合结构域 (DNA-binding domain); NLS: 核定位序列 (nuclear localization sequence); NES: 核输出序列 (nuclear export sequence); TD: 转录激活结构域 (transactivation domain); T: 苏氨酸 (threonine); S: 丝氨酸 (Serine)。

## 2 FOXO1的表达与活性调控

### 2.1 FOXO1的表达调控

#### 2.1.1 转录因子与相互作用蛋白调控

在肝脏中, *FOXO1* 的启动子可被多类转录因

子直接激活, 其启动子可整合代谢、激素、应激及细胞命运相关信号, 形成多输入的激活网络。在代谢转录调控轴上, 过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 辅激活因子1 $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$ , PGC-1 $\alpha$ ) 作为FOXO1的

关键转录共激活因子, 可与肝细胞核因子 4 $\alpha$  (hepatocyte nuclear factor 4 $\alpha$ , HNF4 $\alpha$ ) 组装形成复合物, 该复合物直接占据 *FOXO1* 基因启动子区域并显著增强其转录活性<sup>[14]</sup>。在激素信号方面, 胰高血糖素等可通过环磷酸腺苷/蛋白激酶A (cyclic AMP/protein kinase A, cAMP/PKA) 通路激活环磷酸腺苷反应元件结合蛋白 (cAMP response element-binding protein, CREB), 活化后的 CREB 结合 *FOXO1* 启动子并上调其表达<sup>[15]</sup>。与上述通路相协同, 共激活因子 p300 能结合 *FOXO1* 近端启动子区域的串联 cAMP 反应元件, 协同放大 cAMP 相关信号对 *FOXO1* 转录的驱动作用<sup>[16]</sup>。在应激条件下, FoxO 家族成员之间存在前馈式正向调控, 例如 FoxO3a 可直接结合 *FOXO1* 启动子并促进其转录, 从而形成家族内部的协同放大回路, 增强应激响应的持续性与稳健性<sup>[17]</sup>。除代谢与应激轴外, 肿瘤抑制因子 p53 在 *FOXO1* 启动子上的占据增加, 同样促进 *FOXO1* 转录, 提示 *FOXO1* 表达还可受到细胞命运/损伤应答通路的直接调控<sup>[18]</sup>。与此同时, *FOXO1* 启动子亦受多种直接抑制机制约束, 这些抑制输入与激活信号共同塑造 *FOXO1* 转录输出的动态平衡与情境依赖性。多聚 (ADP-核糖) 聚合酶 1 (poly (ADP-ribose) polymerase 1, PARP1) 可序列特异性结合 *FOXO1* 启动子上的两个关键基序, 并以非聚合酶活性依赖的方式抑制其转录, 构成一种相对独特的启动子抑制模式<sup>[19]</sup>。在特定病理背景下, 原癌蛋白 c-Myc 亦可作为抑制性转录调控因子下调 *FOXO1* 的转录水平, 从而重塑肝脏代谢与生长相关基因网络的平衡状态<sup>[20]</sup>。

### 2.1.2 RNA 修饰

RNA 甲基化是影响基因表达的重要表观遗传调控方式。研究表明, N<sup>6</sup>-甲基腺苷 (N<sup>6</sup>-methyladenosine, m<sup>6</sup>A) 是 mRNA 中最普遍的内部修饰之一, 其添加主要由 m<sup>6</sup>A 甲基转移酶复合物催化完成, 其中核心催化亚基为 (methyltransferase like 3, METTL3)<sup>[21]</sup>。在生理条件下, m<sup>6</sup>A 通过甲基转移酶和去甲基酶之间的相互作用保持动态平衡。已有研究提示, *FOXO1* mRNA 编码区存在特定腺苷位点, 其 m<sup>6</sup>A 修饰可受 METTL3 与脂肪量和肥胖相关蛋白 (fat mass and obesity-associated protein, FTO) 的动态调控, 从而影响 *FOXO1* 蛋白的翻译效率<sup>[22]</sup>。FTO 蛋白属于 Fe<sup>2+</sup> 和  $\alpha$  酮戊二酸依赖型双加氧酶, 能够去除 mRNA 上的 m<sup>6</sup>A 及 N<sup>6</sup>, 2'-O-二甲基腺苷 (N<sup>6</sup>, 2'

-O-dimethyladenosine, m<sup>6</sup>A<sub>m</sub>) 修饰, 进而影响 mRNA 的加工与转录后命运 (如剪接、输出与翻译) 等关键过程。研究表明, FTO 可介导 *FOXO1* mRNA 的 m<sup>6</sup>A 去甲基化, 从而上调 *FOXO1* 表达, 增强肝脏糖异生并促进肝脏胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR)<sup>[22]</sup>。因此, 靶向抑制 FTO、从而降低 *FOXO1* 表达, 可能为代谢稳态失衡提供潜在干预策略。值得注意的是, 恩他卡朋 (Entacapone) 被报道具有 FTO 抑制活性, 其体内给药可改善小鼠体重与葡萄糖耐量并增强脂肪产热, 这一效应与其抑制 FTO 介导的 *FOXO1* mRNA m<sup>6</sup>A 去甲基化有关<sup>[23]</sup>。

### 2.1.3 微RNA (miRNA)

微RNA (microRNA, miRNA) 属于内源性非编码 RNA, 通常不超过 22 个核苷酸, 具有基因调控功能。人类基因组可编码大约 2 000 种 miRNA, 它们可以靶向 30%~60% 的基因<sup>[24]</sup>。在高脂饮食 (high fat diet, HFD) 喂养模型以及 db/db 遗传性糖尿病小鼠模型中, 肝脏 miR-21 水平降低, 同时 *FOXO1* 蛋白水平升高; 而腺病毒介导的 miR-21 过表达下调肝脏 *FOXO1* 表达水平, 提示 miR-21 可能参与对 *FOXO1* 的转录后调控<sup>[25]</sup>。另有研究报道, db/db 小鼠肝脏 miR-542-5p 表达降低; 相反, 过表达 miR-542-5p 可降低 *FOXO1* 的表达水平, 并在一定程度上改善高血糖与高脂血症表型<sup>[26]</sup>。除此之外, miR-27a/b<sup>[27]</sup>、miR-9<sup>[28]</sup>、miR-139-5p<sup>[18]</sup>、miR-192-5p<sup>[29]</sup> 都可以靶向 *FOXO1*。综上, *FOXO1* 是多种 miRNA 的潜在直接靶标, miRNA 网络可能构成其重要的上游转录后调控层级。

### 2.1.4 长链非编码RNA (lncRNA)

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 通常被定义为长度超过 200 nt 的非编码 RNA, 其常见长度范围约为 200 nt~10 kb, 也是目前已知数量最为丰富的非编码 RNA 类别<sup>[30]</sup>。在肝脏相关研究中, MEG3 与 H19 是关注度较高的两种 lncRNA。Zhu 等<sup>[31]</sup> 报道, 高脂环境及棕榈酸 (一种游离脂肪酸, 可诱导 IR) 可上调肝细胞 MEG3 表达, MEG3 通过升高 *FOXO1* 的 mRNA 及蛋白质水平, 激活下游糖异生基因葡萄糖-6-磷酸酶催化亚基 (glucose-6-phosphatase catalytic subunit, G6PC) 和磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (phosphoenolpyruvate carboxykinase 1, PEPCK), 促进肝脏糖异生并抑制胰岛素诱导的糖原合成。进一步机制研究显示, MEG3 通过充当 miR-214 的内

源竞争 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA), 解除 miR-214 对激活转录因子 4 (activating transcription factor 4, ATF4) 的抑制, 进而促进 FOXO1 表达并增强其糖异生转录程序 (上调 G6PC 与 PEPCK), 从而加重肝细胞 IR [32]。由此可知, MEG3 上调与 FOXO1 信号增强呈正相关, 可能构成其重要的上游转录后调控层级。关于 H19, Goyal 等 [33] 发现, 与对照组相比, db/db 小鼠肝脏多种 lncRNA 下调, 其中 H19 下降最为显著, 同时, H19 下调与胰岛素信号受损及 FOXO1 核定位增加相关; 进一步地, 在 HepG2 细胞中抑制 H19 可增加 FOXO1 核定位并上调糖异生相关基因表达, 呈现糖异生增强与胰岛素信号减弱的特征。机制研究提示, 在 H19 缺失/下调的条件下, p53 在 FOXO1 启动子区域的占据增加, 从而促进 FOXO1 的转录激活 [34]。

## 2.2 FOXO1 的活性调控

FOXO1 是耦联机体能量状态与代谢基因表达的关键转录因子, 其转录活性主要受亚细胞定位 (核内/核外) 与翻译后修饰 (post-translational modification, PTM) 两条控制轴共同决定。不同信号通路引发的磷酸化、乙酰化等 PTM 通过调控 FOXO1 的蛋白质相互作用、核质穿梭、DNA 结合能力及稳定性, 最终决定其转录程序 (图 2)。

首先是响应于营养丰富环境下的信号转导 (图 2 上半部分), 其中研究最多的是 Ins、IGF-1 所介导的 FOXO1 磷酸化。该信号通路转导时, 胰岛素受体 (insulin receptor, INSR) 磷酸化并激活酪氨酸蛋白激酶, 将信号转导至磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) /AKT, 继而磷酸化 FOXO1 (Thr<sup>24</sup>/Ser<sup>256</sup>/Ser<sup>319</sup>) [11]。其中, AKT 对 Ser<sup>256</sup> 的磷酸化降低了 FOXO1 与 DNA 的亲合力, 并触发了其他两个位点 Thr<sup>24</sup> 和 Ser<sup>319</sup> 的磷酸化 [35]。磷酸化后的 FOXO1 更易与 14-3-3 蛋白结合, 进而削弱其与靶 DNA 的相互作用, 并促进 FOXO1 从细胞核输出至细胞质, 从机制上实现对 FOXO1 依赖性转录的抑制 [36]。同时, 核外滞留状态的 FOXO1 往往更易进入泛素化-蛋白酶降解途径, 从而在蛋白质水平上进一步巩固其失活状态。此外, 在氧化应激等条件下, CREB 结合蛋白/E1A 结合蛋白 p300 (CREB-binding protein/E1A binding protein p300, CBP/p300) 可介导 FOXO1 多个赖氨酸位点乙酰化 (Lys<sup>219</sup>/Lys<sup>242</sup>/Lys<sup>245</sup>/Lys<sup>251</sup>/Lys<sup>262</sup>/Lys<sup>271</sup>/Lys<sup>279</sup>), 该修饰通常会改变 FOXO1 的 DNA 结合界

面与构象, 降低其对靶序列的结合能力, 这将进一步降低 FOXO1 的转录活性 [37]。

相反, 在低能量或应激状态下 (图 2 下半部分), 细胞能量压力 (AMP/ATP 比值升高) 可激活 AMP 激活的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK)。Saline 等 [38] 的研究显示, Ser<sup>22</sup> 是 FOXO1 N 端的一个额外 AMPK 磷酸化位点, Ser<sup>22</sup> 的磷酸化以分级方式损害 AKT 对 Thr<sup>24</sup> 磷酸化, 直接或间接阻止其与 14-3-3 蛋白结合; 另外 AMPK 对 Ser<sup>383</sup> 和 Thr<sup>649</sup> 的磷酸化互补性增加 FOXO1 活性。除 AMPK 外, c-Jun 氨基端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) [39]、哺乳动物不育 20 样激酶-1 (mammalian sterile 20-like kinase-1, MST1) 同样可以磷酸化 FOXO1 [40], JNK 通过 Thr<sup>183</sup>/Tyr<sup>185</sup> 的磷酸化被激活, 激活的 JNK 在 Ser<sup>256</sup> 位点进一步磷酸化 FOXO1; MST1 则磷酸化 Ser<sup>212</sup>, 两者的磷酸化都促进 FOXO1 移位至细胞核。与此同时, 沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, SIRT1) 作为 NAD<sup>+</sup> 依赖性去乙酰化酶可去除 FOXO1 的乙酰化修饰, 进而重塑 FOXO1 的 DNA 结合能力与转录输出, 但是 SIRT1 的去乙酰化并不稳定, 很容易被泛素化而降解 [41]。因此, FOXO1 更应被视为一个由多通路 PTMs 共同编码的状态变量, 胰岛素信号占优时以核外滞留与转录抑制为主, 而能量受限/应激信号占优时更倾向于核内保留与转录激活 (图 2)。

## 3 不同能量状态下 FOXO1 对肝脏糖脂代谢的影响

从能量代谢调控角度看, 胰岛素是一种能量感知激素, 其作用是增加能量储存、减少能量动员, 并高度依赖机体对胰岛素的敏感性。胰岛素信号通路通过 INSR、胰岛素受体底物 (insulin receptor substrate, IRS)、PI3K、AKT 等关键蛋白质转导调控细胞内糖、脂和蛋白质代谢 [42]。如图 3 所示, AKT/FOXO1 是该通路的重要枢纽: 一方面连接糖代谢 (糖原合成与糖异生抑制), 另一方面连接脂代谢 (哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 介导的脂肪生成)。

正常情况下, 肝脏通过调节进食/空腹状态下的糖原生成、糖原分解、糖酵解、糖异生过程维持全身能量稳态。餐后血糖升高刺激胰岛  $\beta$  细胞分泌胰岛素, 胰岛素与肝细胞膜上的 INSR 结合后, 使

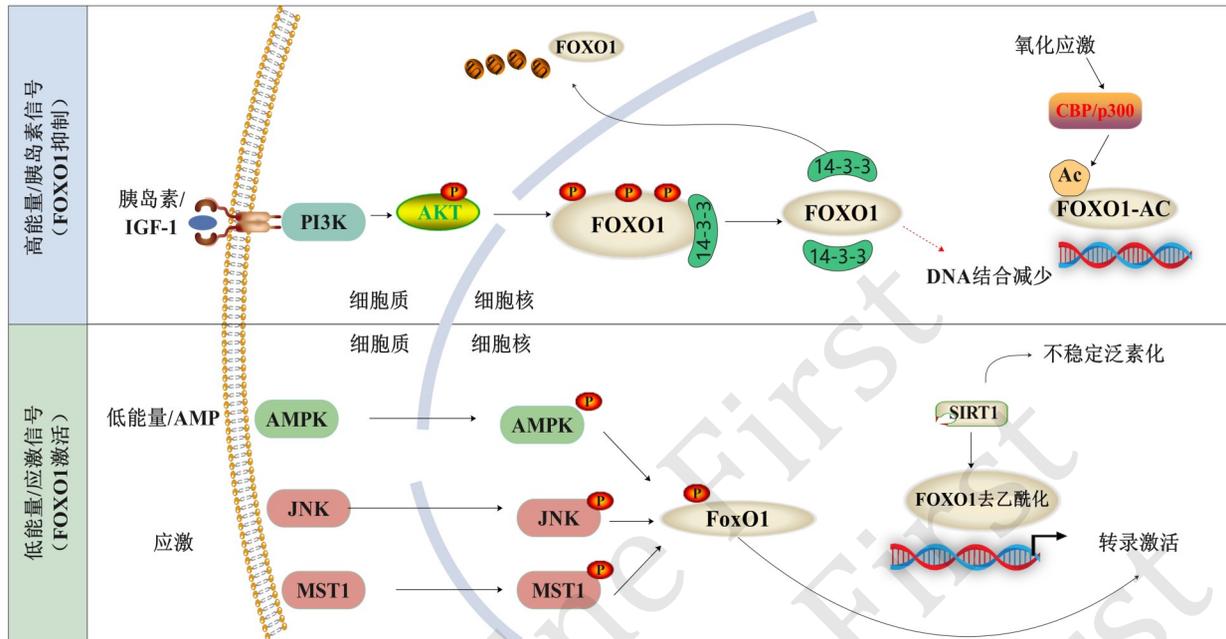


Fig. 2 Regulation of FOXO1 activity

图2 FOXO1的活性调控

FOXO1活性受磷酸化、乙酰化及核/质定位协同调控。胰岛素/IGF-1经PI3K-AKT促FOXO1磷酸化并与14-3-3结合,驱动其由核转位至胞质而抑制转录;低能量/应激激活AMPK与JNK/MST1,并在SIRT1介导去乙酰化/去磷酸化后增强核保留,提升DNA结合与靶基因(抗氧化、自噬等)转录活性。AKT/PKB: 蛋白激酶B (protein kinase B); AMPK: AMP激活的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase); CBP/p300: CREB结合蛋白/E1A结合蛋白p300 (CREB-binding protein/E1A binding protein p300); MST1: 哺乳动物不育系20样激酶1 (mammalian sterile 20-like kinase-1); NF- $\kappa$ B: 核因子 $\kappa$ B (nuclear factor kappa B); PP2A: 蛋白磷酸酶 2A (protein phosphatase 2A); PRMT1: 蛋白精氨酸甲基转移酶1 (protein arginine methyltransferase 1); SIRT1: 沉默信息调节因子1 (silent mating type information regulator 1); SGK: 血清和糖皮质激素调节激酶 (serum and glucocorticoid kinase)。

IRS1/2磷酸化并募集PI3K,进一步激活AKT2,这将带来3类关键效应(图3左侧主轴): a. 抑制FOXO1的转录活性,从而下调糖异生关键基因PEPCK、G6PC的转录,减少肝葡萄糖生成; b. 磷酸化抑制糖原合酶激酶3 (glycogen synthase kinase 3, GSK3),解除其对糖原合酶 (glycogen synthase, GS)的抑制,从而促进肝糖原合成; c. 增强mTORC1信号,促进脂肪生成相关通路活跃(mTORC1 $\rightarrow$ 胆固醇调节元件结合蛋白1c (sterol-regulatory element binding protein 1c, SREBP-1c)、乙酰辅酶A羧化酶 (acetyl-CoA carboxylase, ACC)),从而提高脂肪酸/TG合成能力<sup>[43-45]</sup>。在空腹状态下(能量亏损),胰岛素水平较低,AKT活性下调,同样会导致三类关键效应(图3右侧主轴): a. FOXO1转录活性恢复并促进糖异生相关基因表达(如PEPCK、G6PC),使肝葡萄糖生成增强,同时,FOXO1活跃还会抑制葡萄糖利用相关

程序(图中提示葡萄糖激酶 (glucokinase, GCK)下降,从而降低糖酵解入口与脂肪生成底物供给); b. 由于AKT2对GSK3的抑制解除,GSK3更易促使GS处于抑制状态,肝糖原合成能力下降; c. AKT2激活mTORC1的能力减弱,mTORC1-SREBP1c/ACC脂肪生成轴受抑,脂肪生成相关基因表达下降;与此同时,FOXO1可促进脂解/脂质输出相关基因表达(图中脂肪甘油三酯脂肪酶 (adipose triglyceride lipase, ATGL) / APOC3)<sup>[43-45]</sup>。

肥胖是机体能量过剩的外部表现,IR可以看作是细胞能量过剩的结果。现有证据表明,当肝脏胰岛信号转导受损时,Akt介导的FOXO1抑制受损(Akt依赖性的FOXO1磷酸化减少),导致FOXO1更易保持活性,肝脏糖异生基因持续偏高,肝葡萄糖产生增加;但与此同时,Akt-mTORC1介导的脂肪生成通路可能仍保持相对开放,使

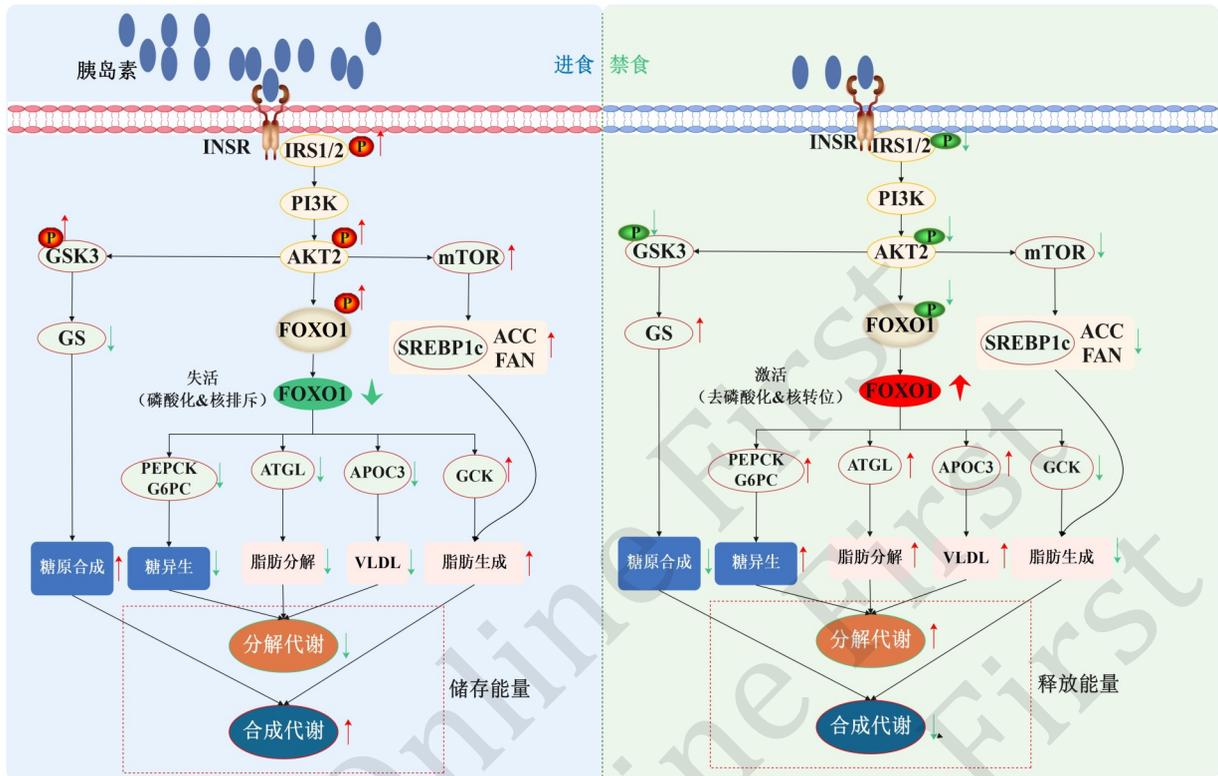


Fig. 3 FOXO1-mediated regulation of hepatic glucose and lipid metabolism under different energy states

图3 不同能量状态下期间FOXO1对肝脏糖脂代谢的调节

禁食时INSR-IRS1/2活性降低, PI3K-AKT-mTOR减弱, FOXO1去磷酸化入核, 上调PEPCK/G6PC等促糖异生, 并增强ATGL介导脂解及脂肪酸氧化、VLDL相关基因表达; 进食时信号增强, AKT磷酸化FOXO1并促其核外转位, 抑制糖异生与脂解, 同时激活SREBP1c-ACC/FASN促脂合成、糖原合成, 实现由供能向储能切换。↑: 上调; ↓: 下调; ↑: 活性增加; ↓: 活性降低; ACC: 乙酰辅酶A羧化酶 (acetyl-CoA carboxylase); AKT: 蛋白激酶B (protein kinase B); ATGL: 脂肪甘油三酯脂肪酶 (adipose triglyceride lipase); FASN: 脂肪酸合酶 (fatty acid synthase); FOXO1: 叉头框蛋白O1 (forkhead box O1); G6PASE: 葡萄糖-6-磷酸酶 (glucose-6-phosphatase); GCK: 葡萄糖糖激酶 (glucokinase); GS: 糖原合酶 (glycogen synthase); GSK3: 糖原合酶激酶3 (glycogen synthase kinase 3); INSR: 胰岛素受体 (insulin receptor); IRS: 胰岛素受体底物 (insulin receptor substrate); PEPCK: 磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (phosphoenolpyruvate carboxykinase); VLDL: 极低密度脂蛋白 (very-low-density lipoprotein)。

SREBP1c/ACC等脂肪生成程序继续运行, 肝脂质合成持续增强<sup>[43]</sup>。这正是通路选择性肝脏IR假说的核心, FOXO1位于肝脏糖脂代谢调控分岔的节点, 其被Akt磷酸化抑制的特异性受损, 使机体出现“糖异生无法抑制, 但脂肪生成仍在”的代谢悖论。在HFD或ob/ob小鼠肝脏中FOXO1蛋白表达上调并与胰岛素抵抗加重相关, 脂肪酸(棕榈酸、油酸、亚油酸)处理的肝细胞也出现FOXO1表达及核内积累增加、转录活性上调的现象<sup>[32]</sup>。最近的研究发现, HFD引起肝脏Akt活性明显过度, 而不是减弱, 这提示IR并非全通路一致钝化, 而可能存在分支层面的改变<sup>[46]</sup>。进一步地, 腺病毒特异性敲低FOXO1可显著降低原代肝细胞内源性

FOXO1蛋白表达, 并影响胰岛素诱导的Akt激活; 而FOXO1过表达甚至可在缺乏胰岛素受体的肝细胞中诱导Akt磷酸化, 提示FOXO1除转录因子角色外, 还可能作为共调节因子参与Akt磷酸化调控<sup>[47]</sup>。因此, FOXO1调控失调被认为是肝脏选择性IR的重要机制之一, 最终导致无论进食与否, 脂肪生成分支更易持续开放, 肝脂质合成长期增加。

#### 4 FOXO1对肝脏脂质沉积与清除的双向调控机制

肝脏中TG含量取决于脂肪酸的来源与去路。当肝脏脂肪酸来源(外源性摄取和DNL内源性生

成) 大于脂肪酸去路 (FAO 和生成 VLDL) 时则发生肝脏脂质沉积。当前的研究显示, FOXO1 对肝脏脂质沉积发挥双重调节作用: 一方面, FOXO1 通过增加脂质生成基因和抑制 *FAO* 基因来增加肝脏脂质沉积; 另一方面, FOXO1 通过增加肝脏脂肪分解和输出基因、抑制脂质生成基因来减轻肝脏脂质沉积。FOXO1 在肝脏脂质沉积中表现出双重作用, 因此推测 FOXO1 可能在正常和病理状态下 (例如 IR) 对肝脏脂质沉积产生不同的影响。

#### 4.1 增加肝脏脂质沉积

##### 4.1.1 增加肝脏DNL

稳定同位素示踪剂研究表明, NAFLD 患者的一个重要特征是无禁食如何肝脏 DNL 均异常升高<sup>[48]</sup>。

肝脏 DNL 主要受 SREBP-1c 和碳水化合物响应元件结合蛋白 (carbohydrate-responsive element-binding protein, ChREBP) 等 TF 调控, 负责将乙酰 CoA (来源于碳水化合物或 FA 的  $\beta$  氧化) 合成为肝脏内源性脂肪酸, 随后可被酯化为 TG。

FOXO1 异常活化可促进肝脏沉积。研究表明, 肝脏表达组成型核定位 FOXO1 可使小鼠在空腹和进食状态下肝脏 TG 含量增加 2~3 倍, SREBP-1c 及其靶基因脂肪酸合酶 (fatty acid synthase, FAS) 和乙酰辅酶 A 羧化酶  $\alpha$  (acetyl-CoA Carboxylase  $\alpha$ , Acca) 增加 2 倍<sup>[47]</sup>。然而 AS1842856 (FOXO1 的选择性拮抗剂) 可减少肝脏 TG 合成基因和游离脂肪酸摄取基因表达水平, 从而缓解肝脏脂质沉积<sup>[49]</sup>。需要注意的是, Nagashima 等<sup>[50]</sup> 发现, 在 db/db 糖尿病小鼠肝脏及肝细胞系中, AS1842856 选择性抑制 FOXO1 而不改变 FOXO1 的磷酸化。然而, Wang 等<sup>[51]</sup> 发现, 在 *Akt2* 敲除的 IR 小鼠模型中, 心肌中 Akt 通路缺陷导致 FOXO1 磷酸化水平异常升高 (非生理性活化), AS1842856 的作用是逆转这种异常磷酸化。这种差异提示, AS1842856 的作用机制具有模型和组织依赖性, 并非绝对的变化或不改变磷酸化, 而是适应不同生理状态的调控模式。

另一方面, FOXO1 可协同 CREB/PGC-1 $\alpha$  诱导 G6PC 与 PCK1 促进糖异生, 当 PI3K/AKT 信号受损时 FOXO1 抑制解除, 过度糖异生引发高糖及代偿性高胰岛素, 从而分别激活 ChREBP 与 SREBP-1c 并放大 DNL<sup>[50, 52]</sup>。因此, FOXO1 既可与脂质合成转录程序增强相联系, 又可通过糖异生塑造促 DNL 的内分泌环境, 共同推动肝 TG 累积并加重脂

肪变性。

##### 4.1.2 促进脂肪酸吸收

在肥胖相关的 MAFLD 患者中, 肝脏中有近 60% 的脂肪酸来自脂肪组织 (脂解增强, 脂肪酸释放增加)<sup>[53]</sup>。这些游离脂肪酸进入血液循环后, 可通过肝细胞膜上的多种脂肪酸转运/结合蛋白被肝脏摄取并用于 TG 合成。因此相关转运系统的表达与定位变化会直接影响肝细胞内 TG 的累积。CD36 属于清道夫受体家族, 主要促进长链脂肪酸的运输, 其表达受过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ )、孕烷 X 受体 (pregnane X receptor, PXR) 和肝 X 受体 (liver X receptor, LXR) 的调节, 还受 FOXO1 的转录调节<sup>[54-55]</sup>。肝脏免疫组化分析显示, 脂肪变性和非酒精性脂肪性肝炎患者 CD36 位于肝细胞膜上, 而正常肝脏中 CD36 仅局限于肝细胞质, 因此 CD36 从细胞质向细胞膜的转运可能是 MAFLD 进展中的触发事件<sup>[56]</sup>。已有研究提示, FOXO1 可上调肝细胞 CD36 表达, 在 HFD 诱导的肥胖小鼠模型中, 肝脏 CD36 的 mRNA 与蛋白质水平均可升高, 与脂肪酸摄取增强及肝内脂质沉积相一致<sup>[57]</sup>。此外, 激活的 FOXO1 还通过增加脂肪酸转运蛋白 (fatty acid transport protein, FATP) 和脂肪酸结合蛋白 (fatty acid binding protein, FABP) 的表达促进脂肪酸进入肝细胞并增强胞内转运与利用, 从而进一步推动肝脏脂质沉积<sup>[49]</sup>。总体而言, FOXO1 通过上调 CD36、FATP 和 FABP 等关键分子, 提高肝脏脂肪酸摄取与转运能力, 为 MAFLD 相关 TG 积累提供了重要的底物输入通路。

##### 4.1.3 减少FAO基因表达

肝脏脂肪酸  $\beta$  氧化是清除脂肪酸的重要途径, 其中 PPAR $\alpha$  是调控 FAO 基因表达的核心转录因子, 而 FOXO1 可在胰岛素信号受损的背景下参与该通路的失衡调节。免疫共沉淀实验显示, 肝脏中 FOXO1 与 PPAR $\alpha$  蛋白可发生相互作用, 且 PPAR $\alpha$  与 FOXO1 的结合可干扰 PPAR $\alpha$  对靶基因启动子的结合能力, 从而削弱其介导的 FAO 转录程序<sup>[58]</sup>。Matsumoto 等<sup>[47]</sup> 发现, 在 FOXO1ADA 小鼠肝脏中, PPAR $\alpha$  及其靶基因乙酰辅酶 a 氧化酶 1 (acyl-CoA oxidase 1, ACOX1) 的表达减少约 60%, 提示 FOXO1 异常活化与 PPAR $\alpha$ -FAO 轴的抑制相关。值得注意的是, 肝脏 Akt 信号通路在生理条件下的重要作用之一是抑制 FOXO1 活性, 在 FOXO1 缺失的情况下, 胰岛素/Akt 通路对肝脏代谢基因表达与

葡萄糖代谢的调控效应会明显减弱,提示其关键代谢效应在很大程度上依赖FOXO1这一下游节点<sup>[59]</sup>。因此,在胰岛素信号受损(如胰岛素抵抗)时,FOXO1抑制解除并持续活化,可能通过与PPAR $\alpha$ 相互作用及/或下调PPAR $\alpha$ 表达与转录活性,降低FAO相关基因表达。

#### 4.1.4 自噬通路的异常激活

自噬是一种保守的分解代谢过程,细胞在饥饿或多种应激条件下通过自噬降解并回收胞内成分,从而维持能量平衡与稳态。研究表明,FOXO1一方面作为转录因子直接激活自噬相关基因,如自噬相关基因(*autophagy-related gene*, ATG)的转录,为自噬体组装提供关键组分;另一方面通过上调SESN3以抑制mTOR信号通路,从而共同驱动自噬启动与自噬体生成<sup>[60]</sup>。在树鼯鼠模型中,HFD可显著上调肝脏S100钙结合蛋白A11(S100 calcium-binding protein A11, S100A11)表达,S100A11通过与HDAC6相互作用,竞争性阻断组蛋白去乙酰化酶6(histone deacetylase 6, HDAC6)与FOXO1结合,进而导致FOXO1乙酰化水平升高,诱导自噬及脂肪生成相关通路激活,最终促进脂质沉积并加速肝脂肪变发生<sup>[61]</sup>。进一步地,在NAFLD模型中,肝脏FOXO1表达显著升高,其下游自噬相关基因微管相关蛋白1轻链3 $\beta$ (microtubule-associated protein 1 light chain 3 beta, MAP1LC3B)与 $\gamma$ 氨基丁酸A型受体相关蛋白样1(GABA type A receptor associated protein like 1, GABARAPL1)同步高表达,提示自噬通路处于异常激活状态,并伴随IR与肝脂肪变性加重<sup>[62]</sup>。值得注意的是,FOXO1对自噬的调控具有情境依赖性。在MAFLD模型中,神经调节蛋白1可通过激活ERK/SIRT1通路,促进FOXO1磷酸化及核转位,从而提升自噬水平并改善肝脏脂肪变性<sup>[63]</sup>。综上,FOXO1可通过整合转录层面的程序化调控与蛋白质PTM介导的快速应激响应调节自噬活性。在代谢应激背景下,FOXO1相关自噬异常激活可能与脂肪生成通路增强协同,进而促进肝脏脂质沉积与脂肪变性进展。

## 4.2 减轻肝脏脂质沉积

### 4.2.1 增加肝脏TG的脂解

肝脏TG的动员主要依赖脂解途径,其中ATGL催化TG第一个酯键断裂,是启动TG降解的关键限速酶;比较基因鉴定-58(*comparative gene identification-58*, CGI-58)作为其共激活因子,可

将ATGL募集至脂滴表面并增强酶活<sup>[64-66]</sup>。FOXO1在感受到能量不足时可被AMPK激活,从而刺激ATGL在肝脏中表达。在CA-FOXO1转基因小鼠的肝脏中,ATGL mRNA和蛋白质水平增加;而在特异性FOXO1敲除小鼠的肝脏中,ATGL表达降低,这表明FOXO1可以调控ATGL的表达<sup>[67]</sup>。使用网络工具ECR浏览器(<https://ecrbrowser.dcode.org>),同样也发现CGI-58启动子区域具有潜在的FOXO1结合位点,这表明FOXO1可能介导肝脏中CGI-58的表达<sup>[68]</sup>。另一项研究发现,FOXO1可直接靶向ATGL的启动子,促进脂肪组织中ATGL的表达<sup>[8]</sup>。在细胞培养实验中,棕榈酸酯以浓度依赖性(0、50、100或200  $\mu\text{mol/L}$ )方式降低HepG2肝细胞中FOXO1、ATGL和CGI-58的表达,但增加了PPAR $\gamma$ 的表达,导致TG积累;然而,FOXO1过表达则显著增加了棕榈酸酯刺激的HepG2肝细胞ATGL和CGI-58的表达,降低了PPAR $\gamma$ 的表达<sup>[68]</sup>。MAFLD模型小鼠中,SIRT1和FOXO1的表达水平降低,烟酰胺(SIRT1的抑制剂)诱导FOXO1的下调,而SRT1720(SIRT1的激动剂)则逆转FOXO1的下调,并降低了原代肝细胞的TG含量<sup>[69]</sup>。从以上结果可以看出,FOXO1可促进ATGL表达,增强TG的分解和脂肪酸的代谢,从而有助于减轻肝脏脂质沉积。

### 4.2.2 增加VLDL的输出

肝脏通过分泌VLDL将TG输出至循环,理论上可降低肝内脂质负荷,但若输出增加而外周水解/清除能力不足,往往表现为高TG血症,从而增加动脉粥样硬化及冠心病风险。因此,临床上不宜将单纯增强VLDL分泌作为改善肝脂肪沉积的主要策略。血浆TG主要以富TG脂蛋白颗粒形式存在(如VLDL-TG、乳糜微粒),其代谢依赖脂蛋白脂肪酶及肝脂肪酶等介导的水解与清除,载脂蛋白C-III(*apolipoprotein C-III*, apoC-III)可抑制脂蛋白脂肪酶/肝脂肪酶活性并延缓富TG脂蛋白清除<sup>[70]</sup>。生理情况下,FOXO1促进肝脏apoC-III表达,而胰岛素通过抑制FOXO1限制apoC-III过度生成;在IR背景下,FOXO1表达及转录活性增强,导致apoC-III过多,进而造成高TG血症及餐后脂质清除受损<sup>[71]</sup>。贝特类药物(*fibrates*)作为临床降TG药物,可激活PPAR $\alpha$ 并抑制apoC-III产生,从而促进VLDL-TG分解、降低血浆TG,相关研究亦提示,PPAR $\alpha$ 活化可拮抗FOXO1的异常转录输出<sup>[72]</sup>。此外,免疫共沉淀结果显示,FOXO1

与PPAR $\alpha$ 存在蛋白质相互作用, PPAR $\alpha$ 结合FOXO1可干扰其与靶启动子DNA结合, 从而抑制FOXO1介导的基因表达<sup>[73]</sup>。总体而言, FOXO1的过度激活可增加肝脏TG的输出, 但这可能导致高TG血症的发生。

#### 4.2.3 抑制脂质生成基因转录

除参与脂蛋白代谢调控外, FOXO1还可通过染色质层面的转录调节影响肝脏脂质生成程序。有研究提示, FOXO1可作为与染色质结合的转录共调节因子, 改变靶基因转录可及性并影响相关转录网络<sup>[74]</sup>。基于转录因子结合位点数据库的预测分析显示 (<http://jaspar.genereg.net>), ChREBP启动子区域存在潜在FOXO1结合位点, 在实验观察中, FOXO1活性变化与ChREBP蛋白水平及其转录活性改变相关, 进而影响脂肪酸合成基因的诱导强度<sup>[75]</sup>。因此, FOXO1在特定情境下可能对ChREBP及其下游脂质生成基因形成抑制性调控, 从而限制肝脏脂质生成转录程序的过度上调。

### 5 aPKC - FOXO1信号失衡与肝脏脂质沉积

肝脏脂质沉积涉及神经酰胺 (ceramide, Cer)、二酰基甘油 (diacylglycerol, DAG) 诱导的非典型PKC (atypical protein kinase C, aPKC) 活化, 其选择性损害PI3K/Akt依赖的FOXO1磷酸化。要理解这一选择性缺陷的关键在于40 kDa WD重复螺旋桨/FYVE蛋白 (40 kDa WD-repeat propeller/FYVE protein 脂蛋白脂肪酶WD40/ProF) 支架蛋白: WD40/ProF由7个WD重复序列与一个FYVE结构域构成, 在多种细胞与组织中表达, 是Akt高效磷酸化FOXO1所必需的分子平台<sup>[76-77]</sup>。

多项研究表明, 肝脏aPKC过度激活会增强其与WD40/ProF的结合, 在支架位点对Akt形成竞争, 进而削弱Akt对FOXO1的磷酸化能力<sup>[78]</sup>。在HFD诱导的小鼠模型中, aPKC过度激活降低了WD40/ProF相关的Akt活性, 导致FOXO1磷酸化下降, 并伴随PEPCK、G6PC表达上调, 提示糖异生抑制失败<sup>[79]</sup>。相反, 当抑制肝脏aPKC时, 其与WD40/ProF的相关性下降、WD40/ProF相关Akt活性恢复, FOXO1磷酸化随之恢复, 并可逆转肝糖异生与脂肪生成酶的过度表达<sup>[71]</sup>; 同时SREBP-1c、FAS、ACC表达显著下降, 肝脂肪变性与高TG血症亦得到改善<sup>[80]</sup>。这进一步支持一个观点, WD40/ProF虽促进Akt-FOXO1信号传递, 但在aPKC被过度激活时更易被aPKC占据, 从而造成

FOXO1磷酸化的选择性受损。因此, 肝脏aPKC的过度激活是FOXO1磷酸化选择性受损的原因之一。

在上游驱动因素方面, Cer与DAG等脂质代谢产物可直接激活肝脏aPKC<sup>[81]</sup>。然而在T2DM患者肝细胞中, aPKC活性与脂肪生成酶表达的升高需要长期高胰岛素水平维持, 其机制至少部分依赖高胰岛素血症介导的IRS2-PI3K激活与PIP3产生<sup>[82]</sup>。因此可以推测, 高胰岛素血症可能与DAG/Cer累积协同促发aPKC持续过度激活, 并通过WD40/ProF竞争进一步削弱Akt对FOXO1的抑制。与此同时, mTORC1可与过度活跃的aPKC协同增强SREBP-1c活性, 推动胰岛素依赖性脂质异常合成; 高胰岛素又进一步激活肝脏Akt与aPKC, 持续放大脂质生成并为DAG/Cer再合成提供底物<sup>[83]</sup>, 从而形成“脂质生成—aPKC激活—FOXO1抑制受损”的正反馈恶性循环。

综上, aPKC过度激活为选择性IR提供了机制解释: 尽管Akt-FOXO1轴受损导致糖异生调控失灵, 但Akt介导的mTORC1脂肪生成分支仍保持开放甚至被强化, 最终呈现高糖输出与高脂合成并存的代谢悖论 (图4)。

### 6 小结

MAFLD的核心病理基础是肝内脂肪酸流入超过清除, 导致以TG为主的脂质过度沉积; 其形成取决于脂肪酸摄取、DNL、FAO与VLDL输出等环节的失衡。FOXO1作为肝脏糖脂代谢网络的关键转录调控因子, 在代谢应激与IR背景下常出现表达升高及抑制性磷酸化不足, 核定位与转录活性增强, 进而重塑代谢基因谱。FOXO1的调控机制具有多层次特点: 在转录后/分子层面, FOXO1的表达水平受到RNA化学修饰以及非编码RNA调控网络 (miRNA、lncRNA等) 的精细调节; 在蛋白质层面, FOXO1的亚细胞定位、稳定性及转录活性则主要由磷酸化、乙酰化、甲基化和泛素化等PTMs协同控制。FOXO1对肝脏脂质沉积呈情境依赖的双向调控。在部分代谢紊乱状态下, FOXO1可增强脂质摄取与合成程序 (如促进SREBP1c相关脂生成、上调CD36), 并抑制脂肪酸氧化通路 (如抑制PPAR $\alpha$  - ACOX1轴), 表现为DNL增加、FAO下降, 从而加重肝内脂质沉积; 而在特定阶段或信号组合下, FOXO1也可启动能量动员与脂质外排 (如增强ATGL/HSL介导脂解、促进VLDL装配/输出, 或干预脂质转录共激活复合体), 进而

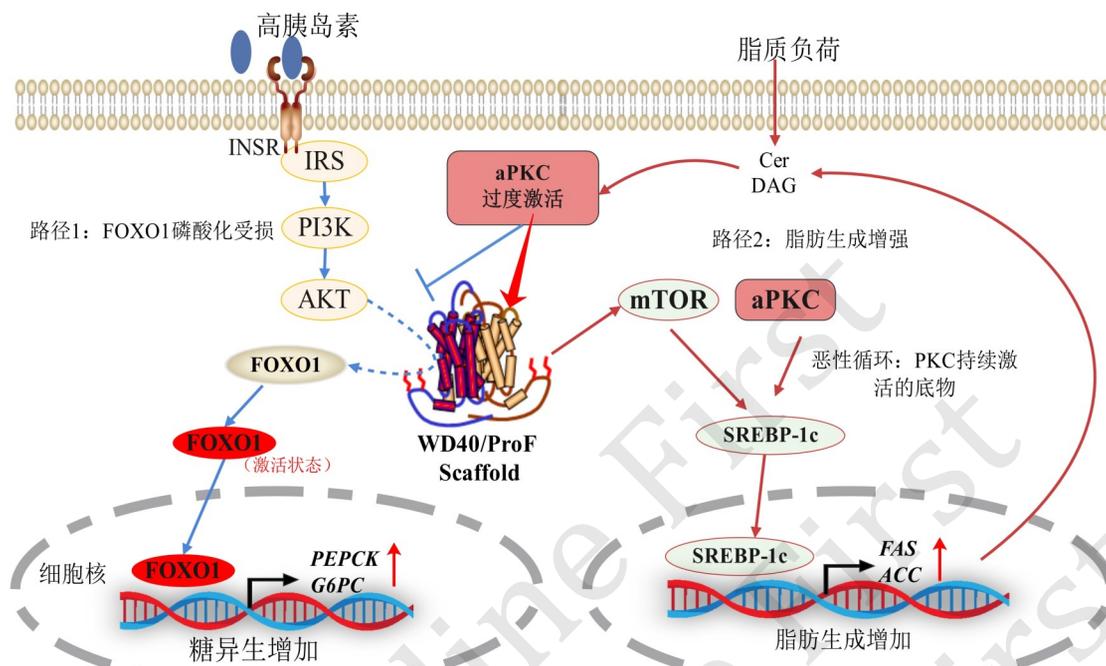


Fig. 4 Crosstalk of FOXO1-mediated insulin regulation in hepatic glucose and lipid metabolism

图4 FOXO1介导胰岛素调控肝脏糖脂代谢的交叉

高胰岛素下本应经INSR-IRS-PI3K-AKT促FOXO1磷酸化并核外排，抑制PEPCK/G6PC等糖异生基因。然在脂质负荷下DAG/Cer激活肝aPKC，并经WD40/ProF支架抑制AKT对FOXO1的磷酸化，致FOXO1持续入核，糖异生升高；同时aPKC-mTOR-SREBP-1c轴增强ACC/FAS介导脂合成，形成底物-aPKC正反馈，促脂质积累与代谢紊乱。↑：活性增加；ACC：乙酰辅酶A羧化酶（acetyl-CoA carboxylase）；aPKC非典型PKC（atypical protein kinase C）；AKT：蛋白激酶B（protein kinase B）；Cer：神经酰胺（ceramide）；DAG：二酰基甘油（diacylglycerol）；FAS：脂肪酰合酶（fatty acid synthase）；FOXO1：叉头框蛋白O1（forkhead box O1）；G6PC：葡萄糖-6-磷酸酶（glucose-6-phosphatase）；INSR：胰岛素受体（insulin receptor）；IRS：胰岛素受体底物（insulin receptor substrate）；mTOR：雷帕霉素机制靶点（mechanistic target of rapamycin）；PEPCK：磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶（phosphoenolpyruvate carboxykinase）；SREBP1C：固醇调节元件结合蛋白1c（sterol regulatory element-binding protein 1c）；WD40/ProF：40 kDa WD（色氨酸-xx-天冬氨酸重复螺旋桨/FYVE蛋白40 kDa WD（tryp-x-x-asp）-repeat propeller/FYVE protein）。

降低肝内脂质负荷。机制整合上，FOXO1位于肝脏糖脂代谢枢纽：选择性IR中AKT对FOXO1的抑制性磷酸化发生选择性缺陷，使其更易维持核定位并增强糖异生；同时aPKC异常激活可连接AKT-FOXO1轴与脂质代谢紊乱，促使促脂生成信号相对保留/增强，最终导致“糖输出升高+脂质生成/沉积增加”的双重失衡。

FOXO1作为MAFLD防治的核心治疗靶点，现有多种潜在干预策略：如抑制剂AS1842856可下调肝脏TG合成及脂肪酸摄取相关基因；表观遗传调控剂Entacapone通过抑制FOXO1 mRNA的m6A去甲基化下调其表达，改善代谢表型；非编码RNA靶向策略（miR-21、miR-542-5p过表达载体

等，临床前）可特异性靶向FOXO1。未来需构建时空双维度精准干预体系：空间上，借助GalNAc修饰脂质体等实现肝特异性靶向，规避对脂肪组织FOXO1脂解功能的干扰；时间上，紧密结合MAFLD病理进程实施按需调控，通过特异性抑制剂靶向抑制FOXO1介导的促脂合成效应。

#### 参考文献

- [1] Kuchay M S, Choudhary N S, Ramos-Molina B. Pathophysiological underpinnings of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2025, **328**(5):C1637-C1666
- [2] Sha X, Zou X, Liu S, *et al.* Forkhead box O1 in metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: molecular mechanisms

- and drug research. *Front Nutr*, 2024, **11**: 1426780
- [3] Wang H, Bai R, Wang Y, *et al.* The multifaceted function of FoxO1 in pancreatic  $\beta$ -cell dysfunction and insulin resistance: therapeutic potential for type 2 diabetes. *Life Sci*, 2025, **364**: 123384
- [4] Li S, Huang K, Xu C, *et al.* DYRK1B phosphorylates FOXO1 to promote hepatic gluconeogenesis. *Nucleic Acids Res*, 2025, **53**(8): gkaf319
- [5] Yan H, Yang W, Zhou F, *et al.* Estrogen improves insulin sensitivity and suppresses gluconeogenesis *via* the transcription factor Foxo1. *Diabetes*, 2019, **68**(2): 291-304
- [6] Liao W, Yang W, Shen Z, *et al.* Heme oxygenase-1 regulates ferrous iron and Foxo1 in control of hepatic gluconeogenesis. *Diabetes*, 2021, **70**(3): 696-709
- [7] Shou D W, Quan Y, Cheng J M, *et al.* Inhibition of FoxO1 ameliorates hepatic steatosis and hepatitis in nonalcoholic steatohepatitis mice through regulation of gut microbiota. *J Dig Dis*, 2024, **25**(7): 453-462
- [8] Cheng J, Yang S, Shou D, *et al.* FOXO1 induced fatty acid oxidation in hepatic cells by targeting ALDH1L2. *J Gastroenterol Hepatol*, 2024, **39**(10): 2197-2207
- [9] Rodriguez-Colman M J, Dansen T B, Burgering B M T. FOXO transcription factors as mediators of stress adaptation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024, **25**(1): 46-64
- [10] Dai S, Qu L, Li J, *et al.* Toward a mechanistic understanding of DNA binding by forkhead transcription factors and its perturbation by pathogenic mutations. *Nucleic Acids Res*, 2021, **49**(18): 10235-10249
- [11] Zhao X, Gan L, Pan H, *et al.* Multiple elements regulate nuclear/cytoplasmic shuttling of FOXO1: characterization of phosphorylation- and 14-3-3-dependent and-independent mechanisms. *Biochem J*, 2004, **378**(Pt 3): 839-849
- [12] Anderson M J, Viars C S, Czekay S, *et al.* Cloning and characterization of three human forkhead genes that comprise an *FKHR*-like gene subfamily. *Genomics*, 1998, **47**(2): 187-199
- [13] Benayoun B A, Caburet S, Veitia R A. Forkhead transcription factors: key players in health and disease. *Trends Genet*, 2011, **27**(6): 224-232
- [14] Lee J, Salazar Hernández MA, Auen T, *et al.* PGC-1 $\alpha$  functions as a co-suppressor of XBP1s to regulate glucose metabolism. *Mol Metab*, 2018, **7**: 119-131
- [15] Camargo Neto J B, Morgan H J N, Moro M L, *et al.* Control of hepatic gluconeogenesis in mice fed a high protein diet: a transcriptional shift from CREB to FoxO1. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2025, **329**(6): E810-E824
- [16] Wondisford A R, Xiong L, Chang E, *et al.* Control of Foxo1 gene expression by co-activator P300. *J Biol Chem*, 2014, **289**(7): 4326-4333
- [17] Zhong C, Pu L Y, Fang M M, *et al.* Retinoic acid receptor  $\alpha$  promotes autophagy to alleviate liver ischemia and reperfusion injury. *World J Gastroenterol*, 2015, **21**(43): 12381-12391
- [18] Yan C, Li J, Feng S, *et al.* Long noncoding RNA Gomafu upregulates Foxo1 expression to promote hepatic insulin resistance by sponging miR-139-5p. *Cell Death Dis*, 2018, **9**(3): 289
- [19] Tian Y N, Chen H D, Tian C Q, *et al.* Polymerase independent repression of FoxO1 transcription by sequence-specific PARP1 binding to FoxO1 promoter. *Cell Death Dis*, 2020, **11**(1): 71
- [20] Zhou Y, Zhang S, Qiu G, *et al.* TSC/mTORC1 mediates mTORC2/AKT1 signaling in c-MYC-induced murine hepatocarcinogenesis *via* centromere protein M. *J Clin Invest*, 2024, **134**(22): e174415
- [21] Song B, Zeng Y, Cao Y, *et al.* Emerging role of METTL3 in inflammatory diseases: mechanisms and therapeutic applications. *Front Immunol*, 2023, **14**: 1221609
- [22] Meyer K D, Saletore Y, Zumbo P, *et al.* Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons. *Cell*, 2012, **149**(7): 1635-1646
- [23] Ma D, Liu X, Zhang X, *et al.* Discovery of the 2, 3-dihydrobenzopyrane-4-one as a potent FTO inhibitor against obesity-related metabolic diseases. *J Med Chem*, 2025, **68**(7): 7421-7440
- [24] Avendaño-Portugal C, Montaña-Samaniego M, Guttman-Bazbaz R, *et al.* Therapeutic applications of poly-miRNAs and miRNA sponges. *Int J Mol Sci*, 2025, **26**(10): 4535
- [25] Luo A, Yan H, Liang J, *et al.* microRNA-21 regulates hepatic glucose metabolism by targeting FOXO1. *Gene*, 2017, **627**: 194-201
- [26] Tian F, Ying H M, Wang Y Y, *et al.* miR-542-5p inhibits hyperglycemia and hyperlipidemia by targeting FOXO1 in the liver. *Yonsei Med J*, 2020, **61**(9): 780-788
- [27] Wang S, Ai H, Liu L, *et al.* Micro-RNA-27a/b negatively regulates hepatic gluconeogenesis by targeting FOXO1. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2019, **317**(5): E911-E924
- [28] Yan C, Chen J, Li M, *et al.* A decrease in hepatic microRNA-9 expression impairs gluconeogenesis by targeting FOXO1 in obese mice. *Diabetologia*, 2016, **59**(7): 1524-1532
- [29] Cai H, Jiang Z, Yang X, *et al.* Circular RNA HIPK3 contributes to hyperglycemia and insulin homeostasis by sponging miR-192-5p and upregulating transcription factor forkhead box O1. *Endocr J*, 2020, **67**(4): 397-408
- [30] Ferrer-Bonsoms J A, Morales X, Afshar P T, *et al.* On the identifiability of the isoform deconvolution problem: application to select the proper fragment length in an RNA-seq library. *Bioinformatics*, 2022, **38**(6): 1491-1496
- [31] Zhu X, Wu Y B, Zhou J, *et al.* Upregulation of lncRNA MEG3 promotes hepatic insulin resistance *via* increasing FoxO1 expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, **469**(2): 319-325
- [32] Zhu X, Li H, Wu Y, *et al.* lncRNA MEG3 promotes hepatic insulin resistance by serving as a competing endogenous RNA of miR-214 to regulate ATF4 expression. *Int J Mol Med*, 2019, **43**(1): 345-357
- [33] Goyal N, Sivasdas A, Shamsudheen K V, *et al.* RNA sequencing of db/db mice liver identifies lncRNA H19 as a key regulator of gluconeogenesis and hepatic glucose output. *Sci Rep*, 2017, **7**(1): 8312

- [34] Goldstein I, Yizhak K, Madar S, *et al.* p53 promotes the expression of gluconeogenesis-related genes and enhances hepatic glucose production. *Cancer Metab*, 2013, **1**(1): 9
- [35] Zhang X, Gan L, Pan H, *et al.* Phosphorylation of serine 256 suppresses transactivation by FKHR (FOXO1) by multiple mechanisms. Direct and indirect effects on nuclear/cytoplasmic shuttling and DNA binding. *J Biol Chem*, 2002, **277**(47): 45276-45284
- [36] Ji L, Wang Q, Liu M, *et al.* The 14-3-3 protein YWHAB inhibits glucagon-induced hepatic gluconeogenesis through interacting with the glucagon receptor and FOXO1. *FEBS Lett*, 2021, **595**(9): 1275-1288
- [37] Wang C, Ma X. The role of acetylation and deacetylation in cancer metabolism. *Clin Transl Med*, 2025, **15**(1): e70145
- [38] Saline M, Badertscher L, Wolter M, *et al.* AMPK and AKT protein kinases hierarchically phosphorylate the N-terminus of the FOXO1 transcription factor, modulating interactions with 14-3-3 proteins. *J Biol Chem*, 2019, **294**(35): 13106-13116
- [39] Pramanik K C, Fofaria N M, Gupta P, *et al.* CBP-mediated FOXO1 acetylation inhibits pancreatic tumor growth by targeting SirT. *Mol Cancer Ther*, 2014, **13**(3): 687-698
- [40] Maejima Y, Nah J, Aryan Z, *et al.* Mst1-mediated phosphorylation of FoxO1 and C/EBP- $\beta$  stimulates cell-protective mechanisms in cardiomyocytes. *Nat Commun*, 2024, **15**(1): 6279
- [41] Tsuchiya K, Ogawa Y. Forkhead box class O family member proteins: the biology and pathophysiological roles in diabetes. *J Diabetes Investig*, 2017, **8**(6): 726-734
- [42] Bo T, Gao L, Yao Z, *et al.* Hepatic selective insulin resistance at the intersection of insulin signaling and metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease. *Cell Metab*, 2024, **36**(5): 947-968
- [43] Bergman R N, Piccinini F, Kabir M, *et al.* Novel aspects of the role of the liver in carbohydrate metabolism. *Metabolism*, 2019, **99**: 119-125
- [44] Kitamoto T, Watanabe H, Miyachi Y, *et al.* Concerted actions of FoxO1 and PPAR $\alpha$  in hepatic gene expression and metabolic adaptation. *Diabetes*, 2025, **74**(10): 1748-1760
- [45] Oster M, Galhuber M, Krstic J, *et al.* Hepatic p53 is regulated by transcription factor FOXO1 and acutely controls glycogen homeostasis. *J Biol Chem*, 2022, **298**(9): 102287
- [46] Valanejad L, Timchenko N. Akt-FoxO1 axis controls liver regeneration. *Hepatology*, 2016, **63**(5): 1424-1426
- [47] Matsumoto M, Han S, Kitamura T, *et al.* Dual role of transcription factor FoxO1 in controlling hepatic insulin sensitivity and lipid metabolism. *J Clin Invest*, 2006, **116**(9): 2464-2472
- [48] Lambert J E, Ramos-Roman M A, Browning J D, *et al.* Increased *de novo* lipogenesis is a distinct characteristic of individuals with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 2014, **146**(3): 726-735
- [49] Liu Y Z, Peng W, Chen J K, *et al.* FoxO1 is a critical regulator of hepatocyte lipid deposition in chronic stress mice. *PeerJ*, 2019, **7**: e7668
- [50] Nagashima T, Shigematsu N, Maruki R, *et al.* Discovery of novel forkhead box O1 inhibitors for treating type 2 diabetes: improvement of fasting glycemia in diabetic db/db mice. *Mol Pharmacol*, 2010, **78**(5): 961-970
- [51] Wang Q, Ren J. mTOR-Independent autophagy inducer trehalose rescues against insulin resistance-induced myocardial contractile anomalies: role of p38 MAPK and Foxo1. *Pharmacol Res*, 2016, **111**: 357-373
- [52] Bai X P, Li T T, Guo L L, *et al.* The influence of hyperglycemia on liver triglyceride deposition in partially pancreatectomized rats. *Horm Metab Res*, 2024, **56**(2): 159-166
- [53] Donnelly K L, Smith C I, Schwarzenberg S J, *et al.* Sources of fatty acids stored in liver and secreted *via* lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*, 2005, **115**(5): 1343-1351
- [54] Zhu H, Zhao T, Zhao S, *et al.* O-GlcNAcylation promotes the progression of nonalcoholic fatty liver disease by upregulating the expression and function of CD36. *Metabolism*, 2024, **156**: 155914
- [55] Wu Y, Duan Z, Qu L, *et al.* Ginsenoside Rk1 ameliorates non-alcoholic fatty liver disease by targeting CD36 to modulate the AMPK signaling pathway. *Food Res Int*, 2025, **211**: 116426
- [56] Miquilena-Colina M E, Lima-Cabello E, Sánchez-Campos S, *et al.* Hepatic fatty acid translocase CD36 upregulation is associated with insulin resistance, hyperinsulinaemia and increased steatosis in non-alcoholic steatohepatitis and chronic hepatitis C. *Gut*, 2011, **60**(10): 1394-1402
- [57] Wilson C G, Tran J L, Erion D M, *et al.* Hepatocyte-specific disruption of CD36 attenuates fatty liver and improves insulin sensitivity in HFD-fed mice. *Endocrinology*, 2016, **157**(2): 570-585
- [58] De Sousa-Coelho A L, Gacias M, O'Neill B T, *et al.* FOXO1 represses PPAR $\alpha$ -Mediated induction of FGF21 gene expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, **644**: 122-129
- [59] Lu M, Wan M, Leavens K F, *et al.* Insulin regulates liver metabolism *in vivo* in the absence of hepatic Akt and Foxo1. *Nat Med*, 2012, **18**(3): 388-395
- [60] Zhang J, Ng S, Wang J, *et al.* Histone deacetylase inhibitors induce autophagy through FOXO1-dependent pathways. *Autophagy*, 2015, **11**(4): 629-642
- [61] Zhang L, Zhang Z, Li C, *et al.* S100A11 promotes liver steatosis *via* FOXO1-mediated autophagy and lipogenesis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2021, **11**(3): 697-724
- [62] Ramadan N M, Elmasry K, Elsayed H R H, *et al.* The hepatoprotective effects of n3-polyunsaturated fatty acids against non-alcoholic fatty liver disease in diabetic rats through the FOXO1/PPAR $\alpha$ /GABARAPL1 signalling pathway. *Life Sci*, 2022, **311**(PtA): 121145
- [63] Xu C, Wang S, Meng D, *et al.* Neuregulin1 ameliorates metabolic dysfunction-associated fatty liver disease *via* the ERK/SIRT1 signaling pathways. *BMC Gastroenterol*, 2025, **25**(1): 47
- [64] Kohlmayr J M, Grabner G F, Nusser A, *et al.* Mutational scanning pinpoints distinct binding sites of key ATGL regulators in lipolysis. *Nat Commun*, 2024, **15**(1): 2516

- [65] Fang Z, Shen G, Wang Y, *et al.* Elevated Kallistatin promotes the occurrence and progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Sig Transduct Target Ther*, 2024, **9**(1): 66
- [66] Li Z, Zeng S, Du Q, *et al.* The repression of the lipolytic inhibitor G0s2 enhancers affects lipid metabolism. *Gene*, 2025, **938**: 149162
- [67] Schweiger M, Paar M, Eder C, *et al.* G0/G1 switch gene-2 regulates human adipocyte lipolysis by affecting activity and localization of adipose triglyceride lipase. *J Lipid Res*, 2012, **53** (11): 2307-2317
- [68] Cornaciu I, Boeszoermyeni A, Lindermuth H, *et al.* The minimal domain of adipose triglyceride lipase (ATGL) ranges until leucine 254 and can be activated and inhibited by CGI-58 and G0S2, respectively. *PLoS One*, 2011, **6**(10): e26349
- [69] Wang Y, Zhang Y, Qian H, *et al.* The g0/g1 switch gene 2 is an important regulator of hepatic triglyceride metabolism. *PLoS One*, 2013, **8**(8): e72315
- [70] Rehues P, Girona J, Guardiola M, *et al.* ApoC-III proteoforms are associated with better lipid, inflammatory, and glucose profiles independent of total apoC-III. *Cardiovasc Diabetol*, 2024, **23** (1): 433
- [71] Nordestgaard A T, Tybjaerg-Hansen A, Mansbach H, *et al.* Target populations for novel triglyceride-lowering therapies. *J Am Coll Cardiol*, 2025, **85**(19): 1876-1897
- [72] Das Pradhan A, Glynn R J, Fruchart J C, *et al.* Triglyceride lowering with pemafibrate to reduce cardiovascular risk. *N Engl J Med*, 2022, **387**(21): 1923-1934
- [73] Liu Y, Wang S, Younas A, *et al.* The effects and mechanisms of Xiaoyao San on nonalcoholic fatty liver disease rat based on transcriptomics and proteomics analysis. *Sci Rep*, 2025, **15**(1): 10478
- [74] Doan A E, Mueller K P, Chen A Y, *et al.* FOXO1 is a master regulator of memory programming in CAR T cells. *Nature*, 2024, **629**(8010): 211-218
- [75] Noblet B, Benhamed F, O-Sullivan I, *et al.* Dual regulation of TxNIP by ChREBP and FoxO1 in liver. *iScience*, 2021, **24**(3): 102218
- [76] Sajan M P, Acevedo-Duncan M E, Standaert M L, *et al.* Akt-dependent phosphorylation of hepatic FoxO1 is compartmentalized on a WD40/ProF scaffold and is selectively inhibited by aPKC in early phases of diet-induced obesity. *Diabetes*, 2014, **63**(8): 2690-2701
- [77] Zhao N, Tan H, Wang L, *et al.* Palmitate induces fat accumulation via repressing FoxO1-mediated ATGL-dependent lipolysis in HepG2 hepatocytes. *PLoS One*, 2021, **16**(1): e0243938
- [78] Chakrabarti P, Kandror K V. FoxO1 controls insulin-dependent adipose triglyceride lipase (ATGL) expression and lipolysis in adipocytes. *J Biol Chem*, 2009, **284**(20): 13296-13300
- [79] Sajan M P, Lee M C, Fougelle F, *et al.* Coordinated regulation of hepatic FoxO1, PGC-1 $\alpha$  and SREBP-1c facilitates insulin action and resistance. *Cell Signal*, 2018, **43**: 62-70
- [80] Sajan M P, Standaert M L, Rivas J, *et al.* Role of atypical protein kinase C in activation of sterol regulatory element binding protein-1c and nuclear factor kappa B (NFkappaB) in liver of rodents used as a model of diabetes, and relationships to hyperlipidaemia and insulin resistance. *Diabetologia*, 2009, **52**(6): 1197-1207
- [81] Engin A. Nonalcoholic fatty liver disease and staging of hepatic fibrosis. *Adv Exp Med Biol*, 2024, **1460**: 539-574
- [82] Sajan M P, Farese R V. Insulin signalling in hepatocytes of humans with type 2 diabetes: excessive production and activity of protein kinase C- $\iota$  (PKC- $\iota$ ) and dependent processes and reversal by PKC- $\iota$  inhibitors. *Diabetologia*, 2012, **55**(5): 1446-1457
- [83] Elkanawati R Y, Sumiwi S A, Levita J. Impact of lipids on insulin resistance: insights from human and animal studies. *Drug Des Devel Ther*, 2024, **18**: 3337-3360

## The Role and Regulatory Mechanisms of FOXO1 in Hepatic Lipid Deposition\*

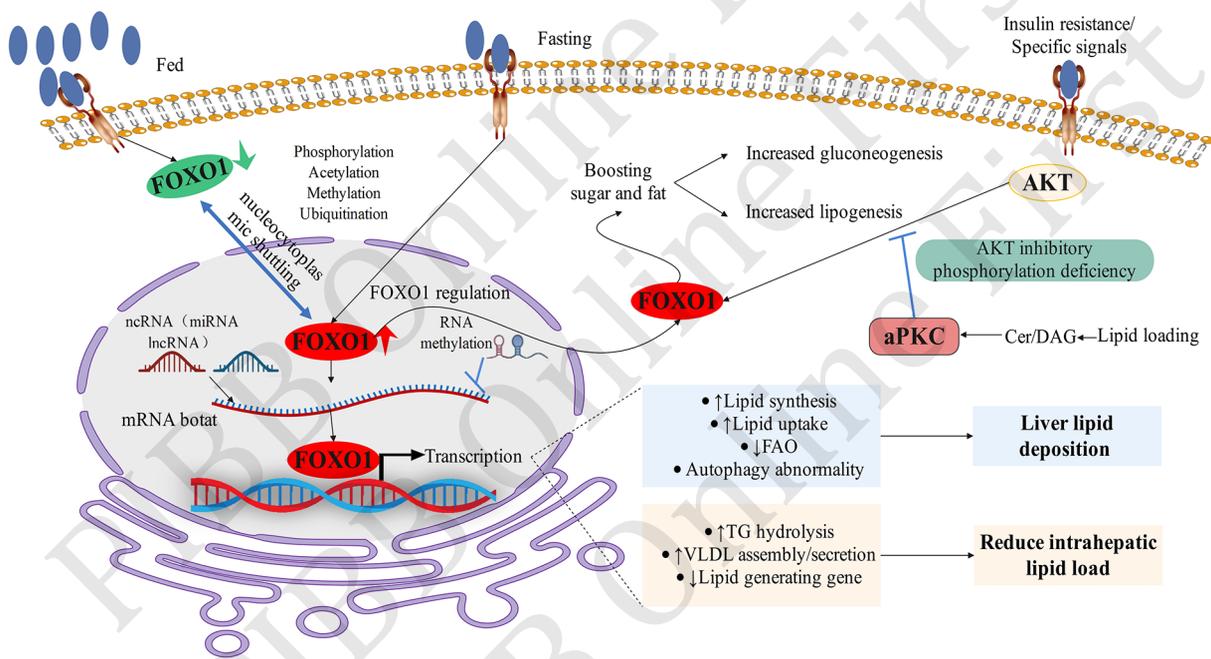
JIA Meng<sup>1,2,3</sup>, LI Fang-Hui<sup>1)\*\*</sup>, YAN Shi-Zhan<sup>2</sup>, LI Ai-Ju<sup>3</sup>, WANG Yi-Le<sup>3</sup>, NI Pin-Shi<sup>1</sup>,  
HE Jia-Han<sup>1</sup>, LI Yin-Lu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>School of Physical Education and Sports Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210033, China;

<sup>2</sup>Jiangsu Institute of Sports Science, Nanjing 210046, China;

<sup>3</sup>School of Physical Education, Nanyang Normal University, Nanyang 473061, China)

### Graphical abstract



**Abstract** Metabolic associated fatty liver disease (MAFLD) is fundamentally driven by an imbalance in hepatic fatty-acid flux: the influx of fatty acids exceeds the liver's capacity for disposal, resulting in excessive hepatic lipid accumulation, predominantly in the form of triglycerides (TGs). The occurrence and progression of MAFLD depend on disordered regulation across multiple metabolic steps, including fatty-acid uptake, *de novo* lipogenesis (DNL), fatty-acid oxidation (FAO), and very-low-density lipoprotein (VLDL) export. Forkhead box protein O1 (FOXO1) is a key transcriptional regulator within the hepatic network coordinating glucose and lipid metabolism. Under metabolic stress and insulin resistance (IR), FOXO1 expression is frequently increased, whereas its inhibitory phosphorylation is reduced. These changes enhance FOXO1 nuclear localization and transcriptional activity, thereby reprogramming the expression of genes related to metabolism in the liver. Because hepatic lipid deposition is the central pathological feature of MAFLD, the functional status of FOXO1 directly influences hepatic lipid homeostasis. Growing evidence suggests that FOXO1 can exert bidirectional, environment-dependent effects on hepatic lipid accumulation; however, the molecular basis for this functional switch remains incompletely understood. This review systematically summarizes the biological functions and regulatory

mechanisms of FOXO1 and its roles in hepatic lipid metabolism, with a particular focus on its crosstalk with insulin signaling. FOXO1 expression is shaped by RNA modifications and epigenetic regulation mediated by non-coding RNAs. Its transcriptional output is precisely governed by post-translational modifications—such as phosphorylation and acetylation—as well as by coordinated nucleocytoplasmic shuttling. Notably, these regulatory patterns vary markedly across nutritional states, degrees of insulin resistance, and stages of disease. In the fed state, insulin/IGF-1 signaling activates the PI3K - AKT pathway, promoting the inhibitory phosphorylation of FOXO1 and facilitating additional modifications, including acetylation, methylation, and ubiquitination. Together, these events drive FOXO1 export from the nucleus and dampen its transcriptional activity, suppressing gluconeogenesis and constraining lipogenic programs. Conversely, during fasting or when insulin signaling is weakened, FOXO1 inhibition is relieved. FOXO1 accumulates in the nucleus, binds to DNA, and regulates the transcription of downstream target genes. Mechanistically, FOXO1 can aggravate hepatic lipid accumulation by activating genes involved in TG synthesis while repressing FAO-related pathways, thereby favoring storage over oxidation. However, under specific conditions, FOXO1 may also alleviate the hepatic lipid burden by promoting TG hydrolysis and enhancing VLDL secretion, thereby reducing the net hepatic lipid load. In addition, lipotoxic signals mediated by ceramides and diacylglycerols (Cer/DAG) activate atypical protein kinase C (aPKC), further exacerbating the disruption of the AKT - FOXO1 axis. This vicious cycle ultimately produces a metabolic paradox in which increased hepatic glucose output coexists with persistent, insulin-independent lipogenesis, accelerating MAFLD progression. Importantly, FOXO1 regulation is not uniform: during early metabolic overload, insulin-mediated suppression may remain effective, whereas in advanced insulin resistance, the loss of AKT control permits sustained FOXO1 activity. Such stage-dependent dynamics may help explain why FOXO1 can either promote steatosis or, in certain contexts, support programs that facilitate lipid turnover. Accordingly, interventions should be liver-specific and tuned to the disease stage, aiming to curb maladaptive FOXO1 signaling while preserving its capacity to promote triglyceride hydrolysis and VLDL secretion when advantageous. Overall, this review offers an important perspective on MAFLD pathogenesis, emphasizing FOXO1 as a potential therapeutic target and providing a theoretical basis for developing liver-specific, disease-course-dependent precision interventions.

**Key words** FOXO1, hepatic steatosis, function and regulation

**DOI:** 10.3724/j.pibb.2025.0518

**CSTR:** 32369.14.pibb.20250518

---

\* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (32371180), the Research Project Funded by the Department of Education of Henan Province (2026-ZZJH-294), the Planning Project of Henan Provincial Sports Bureau (202515), Soft Science Research Project of the Science and Technology Department of Henan Province (242400411205), and the Doctoral Research Special Project of Nanyang Normal University (252015B).

\*\* Corresponding author.

Tel: 86-18262609418, E-mail: 12356@nynu.edu.cn

Received: November 23, 2025 Accepted: March 10, 2026