

分类号：
学 号：20222014019

密 级：
单位代码：10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



KLF7 上调 HSPA1A 促进非酒精性脂肪性肝病 发生发展的作用及机制研究

学 位 申 请 人	陈雨婷
指 导 教 师	张 婷 副教授 张 君 教授
申请学位门类级别	医学硕士
学科、专业名称	基础医学、免疫学
研究方向	肥胖及相关代谢性疾病
所在学院	医学院

中国·新疆·石河子
2025 年 5 月

分类号：
学 号：20222014019

密 级：
单位代码：10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



KLF7 上调 HSPA1A 促进非酒精性脂肪性肝病 发生发展的作用及机制研究

学 位 申 请 人	陈雨婷
指 导 教 师	张 婷 副教授 张 君 教授
申请学位门类级别	医学硕士
学 科 、 专 业 名 称	基础医学、免疫学
研 究 方 向	肥胖及相关代谢性疾病
所 在 学 院	医学院

中国·新疆·石河子
2025 年 5 月

KLF7 promotes NAFLD progression via up-regulating HSPA1A

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Medicine

By

Chen Yuting

(Immunology)

Dissertation Supervisor: Prof. Zhang Ting. Zhang Jun

May, 2025

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所呈交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名： 陈雨婷 时间： 2025年5月26日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名： 陈雨婷 时间： 2025年5月26日

导师签名： 张婷 张君 时间： 2025年5月26日

摘要

目的:

本研究在动物模型和脂代谢紊乱的细胞模型中,明确 Krüppel 样因子 7 (Krüppel-like Factor 7, KLF7) 在非酒精性脂肪性肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 发生发展过程中的作用,并阐明 KLF7 是否通过靶向上调热休克蛋白家族 A 成员 1A (Heat Shock Protein Family A Member 1A, HSPA1A) 促进 NAFLD 的发生发展,为 NAFLD 诊断和治疗提供新的分子靶标。

方法:

1. 体内动物实验:

(1) 构建 NAFLD 小鼠模型: 雄性 C57BL/6 小鼠分别进行普通饮食 (Normal Diet, ND, n = 6) 和高脂饮食喂养 (High Fat Diet, HFD, n = 6), 持续至第 15 周; 检测小鼠血清及肝脏中的甘油三酯 (Triglyceride, TG) 和胆固醇 (Total Cholesterol, TC) 含量; H&E 染色和油红 O 染色评估小鼠肝脏脂质沉积情况; qRT-PCR 和蛋白免疫印迹法 (Western blot, WB) 检测 NAFLD 小鼠肝脏内 KLF7 的表达情况。

(2) 构建肝脏特异性过表达 KLF7 及敲减 KLF7 的小鼠模型: 雄性 C57BL/6 小鼠高脂喂养两周后, 尾静脉注射腺相关病毒 (Adeno-Associated Virus, AAV), 分为 HFD-KLF7 组 (n = 6)、HFD-CTL 组 (n = 6)、HFD-shKLF7 组 (n = 6) 及 HFD-shCTL 组 (n = 6), 继续高脂喂养至第 15 周; qRT-PCR 和 WB 验证 KLF7 在小鼠肝内特异性过表达或敲减情况以及脂代谢相关基因的表达水平; 试剂盒检测肝内 TG、TC 含量、血清 TG、TC、FFA 含量及血清 ALT、AST 活性; 葡萄糖耐量试验 (Glucose Tolerance Trial, GTT) 和胰岛素耐量试验 (Insulin Tolerance Test, ITT) 评估小鼠糖稳态调控能力; H&E 染色、油红 O 染色、F4/80 免疫组化、Masson 染色和天狼星红染色评估小鼠肝脏脂质沉积、炎症和纤维化情况。

2. 体外细胞实验:

(1) 在 Hepa1-6 和 HepG2 细胞中过表达或敲低 KLF7, 油红 O 染色和试剂盒检测 TG 含量分析细胞脂质沉积情况; qRT-PCR 和 WB 分析相关基因的表达情况。

(2) NCBI 数据库和 JARSPAR 数据库预测 KLF7 与 HSPA1A 的结合位点, 分别在 HEK-293T 和 HepG2 细胞中通过双荧光素酶报告基因实验和染色质免疫沉淀实验进行验证。

(3) Hepa1-6 细胞共转染 KLF7 过表达质粒和 HSPA1A 干扰片段并用 FFA 处理, HepG2 细胞共转染 KLF7 干扰片段和 HSPA1A 过表达质粒并用 FFA 处理, 油红 O 染色和试剂盒检测细胞内 TG 含量分析细胞脂质沉积情况, qRT-PCR 和 WB 检测目的基因的表达情况。

3. 统计学方法:

采用 SPSS 26.0 软件对数据进行分析。数据服从正态分布时用 t 检验，非正态分布数据使用秩和检验，三组及以上比较使用单因素 ANOVA 检验分析。 $P < 0.05$ 具有统计学意义。

结果：

1. 与 ND 组相比，HFD 组小鼠体重、肝重、血清及肝脏中 TG 和 TC 含量、脂滴数量增加，葡萄糖耐量受损。相较于对照组，NAFLD 小鼠肝内 KLF7 的 mRNA 和蛋白水平均显著增加。与对照组相比，FFA 处理的细胞内 KLF7 的 mRNA 和蛋白水平均显著增加。以上差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2. 过表达或敲低 KLF7 不影响基础状态下的细胞内脂质积累；在游离脂肪酸刺激条件下，KLF7 过表达增加细胞内 TG 含量，下调 KLF7 降低 TG 含量；KLF7 正向调控脂合成相关基因的表达促进脂质积累。以上差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3. 与 HFD-CTL 相比，HFD-KLF7 组小鼠肝重体重比、肝脏 TG、血清 TG、FFA、ALT、AST 水平增加、肝脏脂合成相关基因的 mRNA 表达增加，肝组织脂肪变性和炎症浸润加剧，葡萄糖耐量和胰岛素敏感性受损。以上差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

4. 与 HFD-shCTL 相比，HFD-shKLF7 组小鼠肝重体重比、肝脏 TG、血清 TG、FFA、ALT、AST 水平降低，肝脏脂合成相关基因的 mRNA 表达降低，肝组织脂肪变性和炎症浸润减轻，葡萄糖耐量和胰岛素敏感性得到改善。以上差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

5. KLF7 可靶向调控 *HSPA1A*，促进 FFA 处理的肝细胞内脂质积累。以上差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

结论：

高脂状态下 KLF7 表达增加，可通过上调 *HSPA1A* 的表达促进 NAFLD 的发生。

关键词：KLF7；*HSPA1A*；NAFLD；脂质合成

论文类型：A（基础研究）

Abstract

Objective:

Based on the animal model and the cellular model of lipid metabolism disorders to simulate the high-fat environment, this study aimed to elucidate the role of Krüppel-like Factor 7 (KLF7) in the development and progression of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and clarify whether KLF7 promoted NAFLD by targeting and upregulating Heat Shock Protein Family A Member 1A (HSPA1A), thereby providing a new molecular target for the diagnosis and treatment of NAFLD.

Methods:

1. Animal experiment *in vivo*:

(1) Male C57BL/6 mice were randomly assigned to either normal chow (ND, n = 6) or high-fat diet (HFD, n = 6) groups for a 15-week feeding regimen. Serum and hepatic triglyceride (TG) and total cholesterol (TC) levels were measured using assay kits. Hepatic lipid deposition was assessed using H&E and Oil Red O staining. Hepatic KLF7 expression in NAFLD mice was quantified by qRT-PCR and Western blot (WB).

(2) Male C57BL/6 mice were fed a high-fat diet for two weeks and then injected with adeno-associated virus (AAV) via tail vein. The mice were divided into four groups: the HFD-KLF7 group (n = 6), the HFD-CTL group (n = 6), the HFD-shKLF7 group (n = 6), and the HFD-shCTL group (n = 6). All groups continued on the high-fat diet until the 15th week. Real-time quantitative PCR and Western blot were used to validate liver-specific KLF7 overexpression or knockdown and assess lipid metabolism-related gene expression levels. Hepatic TG and TC levels, as well as serum TG, TC, and free fatty acid (FFA) levels, along with serum ALT and AST activities, were measured using assay kits. Glucose metabolism was evaluated by Glucose tolerance test (GTT) and insulin tolerance test (ITT). Hepatic lipid deposition, inflammation, and fibrosis were assessed using H&E staining, Oil Red O staining, F4/80 immunohistochemistry, Masson staining, and Sirius Red staining.

2. Cell experiment *in vitro*:

(1) The mouse hepatocyte line Hepa1-6 and the human hepatocyte line HepG2 were transfected with KLF7 overexpression plasmid or KLF7 siRNA. Lipid droplet deposition were observed using Oil Red O staining, and intracellular TG contents were measured. The expression levels of target genes were quantitatively determined through qRT-PCR and WB.

(2) The binding sites of KLF7 and *HSPA1A* were predicted by NCBI database and JASPAR database. The binding of KLF7 to the promoter of *HSPA1A* was validated through dual-luciferase assays and ChIP

analysis in HEK-293T cells and HepG2 cells, respectively.

(3) The mouse hepatocyte cell line Hepal-6 was co-transfected with KLF7 overexpression plasmid and HSPA1A siRNA and then treated with free fatty acid, while the human hepatocyte cell line HepG2 was co-transfected with KLF7 siRNA and HSPA1A overexpression plasmid and also treated with free fatty acid. Similarly, the size and quantity of lipid droplets in the cells were observed by Oil Red O staining, the intracellular TG contents were measured, and the mRNA and protein levels of the target genes were analyzed by qRT-PCR and WB.

3. Statistical methods:

Statistical analysis was conducted with SPSS 26.0. For comparisons between two groups, data following a normal distribution were analyzed using *t*-tests. Non-parametric rank-sum tests were employed for non-normally distributed data. For comparisons among three or more groups, one-way analysis of variance (ANOVA) was applied. The $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results:

1. Compared to the ND group, the HFD group exhibited increased body weight, liver weight, serum and hepatic TG and TC levels, and lipid droplet accumulation, along with impaired glucose tolerance. KLF7 was significantly upregulated in the livers of NAFLD mice at both mRNA and protein levels versus controls. The mRNA and protein levels of KLF7 increased in cells treated with free fatty acids. These differences were statistically significant ($P < 0.05$).

2. Under basal conditions, overexpression or knockdown of KLF7 had no significant effect on intracellular lipid accumulation. However, overexpression of KLF7 increased intracellular TG content, while knockdown of KLF7 reduced it. Further analysis revealed that KLF7 influences lipid accumulation by promoting the expression of lipid synthesis-related genes. These differences were statistically significant ($P < 0.05$).

3. Compared to the HFD-CTL group, the HFD-KLF7 group exhibited an increased liver-to-body weight ratio, elevated hepatic TG, serum TG, FFA, ALT, and AST levels, as well as upregulated mRNA expression of hepatic lipid synthesis-related genes. Additionally, hepatic steatosis and inflammatory infiltration were aggravated, and glucose tolerance and insulin sensitivity were impaired. These differences were statistically significant ($P < 0.05$).

4. Compared to the HFD-shCTL group, the HFD-shKLF7 group showed a reduced liver-to-body weight ratio, decreased hepatic TG, serum TG, FFA, ALT, and AST levels, as well as downregulated mRNA expression of hepatic lipid synthesis-related genes. Furthermore, hepatic steatosis and inflammatory infiltration were alleviated. Both glucose tolerance and insulin sensitivity showed significant improvement. These differences were statistically significant ($P < 0.05$).

5. KLF7 promoted lipid accumulation in FFA-treated hepatocytes by upregulating the expression of

HSPA1A. These differences were statistically significant ($P < 0.05$).

Conclusion:

Under high-fat conditions, the upregulation of KLF7 expression facilitates the progression of NAFLD through the transcriptional activation of HSPA1A.

Key words: KLF7; HSPA1A; NAFLD; lipogenesis

Paper Type: A (Basic Research)

目录

摘要	I
Abstract	III
目录	VI
中英文缩略词对照表	IX
1 前言	1
2 实验材料	4
2.1 实验动物及饲料	4
2.2 实验动物腺相关病毒	4
2.3 细胞系	4
2.4 质粒及干扰片段	4
2.5 实验试剂耗材	5
2.6 实验仪器	7
2.7 引物序列表	8
3 实验方法	11
3.1 细胞培养	11
3.1.1 完全培养基配制	11
3.1.2 细胞复苏	11
3.1.3 细胞传代	11
3.1.4 细胞冻存	12
3.1.5 细胞转染	12
3.1.6 相关试剂配制	12
3.2 细胞油红 O 染色	13
3.3 细胞 TG、TC 检测	13
3.4 细胞样本与组织样本 RNA 提取	13
3.4.1 细胞样本	13
3.4.2 组织样本	14
3.5 RNA 反转录	14
3.6 实时荧光定量 PCR	14
3.7 细胞及组织样本蛋白提取	15
3.7.1 细胞样本	15

3.7.2 肝脏组织样本	15
3.7.3 其他组织样本	15
3.8 蛋白免疫印迹实验 (Western Blot, WB)	16
3.9 质粒提取	17
3.10 双荧光素酶报告基因实验	17
3.11 染色质免疫沉淀实验 (CHIP)	18
3.12 普通 PCR 和琼脂糖凝胶电泳	19
3.12.1 普通 PCR	19
3.12.2 琼脂糖凝胶电泳	19
3.13 动物模型构建	19
3.14 小鼠肝脏组织油红 O 染色	20
3.15 小鼠肝脏组织 H&E 染色	20
3.16 小鼠肝脏组织免疫组化	20
3.17 小鼠肝脏组织 Masson 染色	21
3.18 小鼠肝脏组织天狼星红染色	21
3.19 小鼠糖稳态检测	22
3.19.1 葡萄糖耐量实验 (Glucose Tolerance Trial, GTT)	22
3.19.2 胰岛素耐量实验 (Insulin Tolerance Test, ITT)	22
3.20 小鼠血清及肝脏 TG、TC 检测	22
3.20.1 小鼠血清 TG、TC 检测	22
3.20.2 小鼠肝脏 TG、TC 检测	23
3.21 小鼠血清 ALT、AST 检测	23
3.22 小鼠血清 FFA 检测	23
3.23 统计方法	23
4 结果	24
4.1 KLF7 在 NAFLD 小鼠肝脏组织和脂代谢紊乱的肝细胞中表达上调	24
4.1.1 KLF7 在 NAFLD 小鼠肝脏组织中表达上调	24
4.1.2 KLF7 在脂代谢紊乱的肝细胞中表达上调	26
4.2 KLF7 通过促进脂质合成相关基因的表达加剧肝细胞脂质积累	27
4.2.1 KLF7 促进游离脂肪酸诱导的肝细胞内脂质积累	27
4.2.2 上调 KLF7 促进 Hepa1-6 和 HepG2 细胞内脂质合成	30
4.2.3 下调 KLF7 抑制 Hepa1-6 和 HepG2 细胞内脂质合成	31
4.3 肝脏特异性过表达 KLF7 加剧高脂饮食诱导的小鼠肝脏脂肪变性	32
4.3.1 成功构建肝脏特异性过表达 KLF7 的小鼠模型	32

4.3.2	过表达 KLF7 加剧小鼠肝脏脂肪变性，导致糖代谢紊乱	33
4.3.3	过表达 KLF7 促进 NAFLD 进展	35
4.4	肝脏特异性敲减 KLF7 改善高脂饮食诱导的小鼠肝脏脂肪变性	36
4.4.1	成功构建肝脏特异性敲减 KLF7 的小鼠模型	36
4.4.2	敲减 KLF7 改善小鼠肝脏脂肪变性和糖代谢紊乱	37
4.4.3	敲减 KLF7 延缓 NAFLD 进展	39
4.5	KLF7 靶向调控 HSPA1A，促进其表达	40
4.5.1	KLF7 靶向结合 <i>HSPA1A</i>	40
4.5.2	KLF7 促进 HSPA1A 的表达	41
4.6	HSPA1A 促进肝细胞脂质积累	43
4.6.1	上调 HSPA1A 促进肝细胞内脂质合成	43
4.6.2	下调 HSPA1A 抑制肝细胞内脂质合成	44
4.7	KLF7 通过上调 HSPA1A 来促进 FFA 处理的肝细胞内脂质积累	46
5	讨论	49
6	结论	52
7	综述	53
	参考文献	59
	致谢	68
	作者简介	69

中英文缩略词对照表

英文缩写	英文全称	中文全称
AAV	Adeno-Associated Virus	腺相关病毒
ACC	Acetyl-CoA Carboxylase	乙酰辅酶 A 羧化酶
ALT	Alanine Aminotransferase	丙氨酸氨基转移酶
AST	Aspartate Aminotransferase	天冬氨酸氨基转移酶
BSA	Bovine Serum Albumin	牛血清白蛋白
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium	改良杜氏伊格尔培养基
DMSO	Dimethyl Sulfoxide	二甲基亚砷
DEPC	Diethyl Pyrocarbonate	焦碳酸二乙酯
FASN	Fatty Acid Synthase	脂肪酸合酶
FBS	Fetal Bovine Serum	胎牛血清
FFA	Free Fatty Acids	游离脂肪酸
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate Dehydrogenase	甘油醛-3-磷酸脱氢酶
GTT	Glucose Tolerance Trial	葡萄糖耐量试验
HFD	High Fat Diet	高脂饮食
HSPA1A	Heat Shock Protein Family A Member 1A	热休克蛋白家族 A 成员 1A
ITT	Insulin Tolerance Test	胰岛素耐量试验
IHC	Immunohistochemistry	免疫组织化学染色法
KLF7	Krüppel-like Factor 7	Krüppel 样因子 7
MASLD	Metabolic Dysfunction-associated Steatotic Liver disease	代谢功能障碍相关脂肪变 性肝病
NAFLD	Non-alcoholic Fatty Liver Disease	非酒精性脂肪性肝病
ND	Normal Diet	普通饮食
OA	Oil Acid	油酸
PA	Palmitic Acid	棕榈酸
PBS	Phosphate Buffered Saline	磷酸盐缓冲液
qRT-PCR	Real-time Quantitative Polymerase Chain Reaction	实时定量聚合酶链反应
RNA	Ribonucleic Acid	核糖核苷酸
TC	Total Cholesterol	胆固醇
TG	Triglyceride	甘油三酯
WB	Western Blot	蛋白质印迹法

1 前言

非酒精性脂肪性肝病（Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD），是目前世界上最常见的慢性肝病之一^[1]。当前国际医学界推荐采用“代谢功能障碍相关脂肪变性肝病（Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease, MASLD）”这一新命名，强调其与代谢之间的关联，但鉴于符合 NAFLD 标准的患者与被识别为 MASLD 标准的患者之间仍存在 1% 的非重叠，部分专家仍沿用 NAFLD 一词^[2, 3]。NAFLD 的特征是甘油三酯（Triglyceride, TG）以脂滴的形式在肝细胞内过度沉积，脂肪变性进展可诱发非酒精性脂肪性肝炎（Non-alcoholic steatohepatitis, NASH），在此阶段肝细胞损伤，出现肿胀和炎症，可进一步导致肝纤维化并最终发展为肝硬化甚至肝细胞癌^[4-7]。随着肥胖和 2 型糖尿病患病率的持续攀升，NAFLD 的流行趋势也呈现显著增长态势，目前，全球有 38% 的成年人，7~14% 的儿童和青少年患有 NAFLD^[8, 9]。预计到 2040 年，成年人 NAFLD 患病率将增加到 55% 以上^[10]。鉴于其发病率的飙升，迫切需要加快对 NAFLD 的研究和药物开发工作，以确定安全有效的治疗方法。

NAFLD 状态下，血液中游离脂肪酸（Free fatty acids, FFA）含量增多，肝细胞会摄取过量的脂肪酸，促进甘油三酯合成，增加脂滴储存^[11, 12]。NAFLD 往往伴随着外周胰岛素抵抗（Insulin resistance, IR）情况的出现，导致脂肪组织中胰岛素抗脂解作用受损，游离脂肪酸含量增加，脂毒性随之增强，造成肝脏、心脏和骨骼肌等器官的损伤，由此进一步加重 IR，形成恶性循环^[13, 14]。此外，饮食中的脂肪摄取、脂肪从头合成（De novo lipogenesis, DNL）以及外周组织对脂肪酸的利用减少等都可导致 FFA 含量的增加^[15]。非酒精性脂肪性肝病中 IR 驱动 DNL，乙酰辅酶 A 是 DNL 过程中的原料^[16-18]。在生理过程中，乙酰辅酶 A 在乙酰辅酶 A 羧化酶（Acetyl-CoA carboxylase, ACC）催化下生成丙二酰辅酶 A，后者经脂肪酸合酶（Fatty acid synthase, FASN）的作用合成棕榈酸（Palmitic acid, PA），PA 经历去饱和、碳链延伸和酯化等生化修饰后，最终以 TG 的形式储存在肝细胞中或组装为极低密度脂蛋白颗粒分泌进入血液循环^[19, 20]。研究显示在患有 NAFLD 的肥胖患者中，肝脏大约 26% 的 TG 来自 DNL^[21]。关于 NAFLD 具体的分子机制仍未被完全揭示，目前 FDA 批准用于治疗 NAFLD 的特效药物只有 resmetirom^[22]。然而，将 resmetirom 与某些药物（如氯吡格雷或环孢素等）同时使用，可能会发生复杂的相互作用，此外，resmetirom 对 <18 岁的青少年是否安全有效目前尚不清楚^[23]。因此，进一步了解 NAFLD 发生发展的机制对探索新的治疗靶点和干预措施是十分必要的。

KLF7 是转录因子 Krüppel 样家族 (Krüppel-like factors, KLFs) 的成员, 其羧基端具有 3 个 C2H2 锌指结构域^[24]。KLFs 可通过调控下游靶基因的转录参与调节各种器官的代谢过程和能量稳态, 如肝脏、脂肪组织、心脏和骨骼肌等^[25, 26]。研究表明, KLF5 和 KLF9 促进肝脏脂质积累, 而 KLF10、KLF11 和 KLF15 抑制肝脏脂肪变性^[27-31]。Qiu 等人的研究发现: 小鼠脂肪组织中 KLF7 通过促进炎症因子 IL-6, TNF- α 和 MCP-1 的释放诱导炎症反应和糖代谢紊乱^[32]。此外, 也有研究表明 KLF7 的表达与鸡腹部脂肪组织的含量成正相关^[33]。课题组前期研究发现: 使用 FFA 处理小鼠肝癌细胞系 Hepa1-6 和人肝癌细胞系 HepG2 可上调 KLF7 的表达。以上研究结果提示: KLF7 与机体脂代谢之间具有紧密联系, 但目前研究 KLF7 在肝细胞中对于脂质代谢的调控及相关机制还未见报道。

热休克蛋白家族 A 成员 1A (Heat shock protein family A member 1A, HSPA1A) 是热休克蛋白 70 家族成员, 参与氧化应激、炎症和信号转导等过程^[34-36]。已有文献表明: HepG2 细胞过表达 HSPA1A 促进了脂质合成相关基因 FASN 和 ACC 的表达导致细胞内脂质含量增加, 相反, 敲低 HSPA1A 可减少细胞内的脂质积累^[37]。此外, 在大鼠空肠中上调热休克蛋白 70 家族成员葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78) 促进 IR, 增加 NASH 发生的风险^[38]。课题组前期在 Hepa1-6 细胞中上调 KLF7 后进行 RNA-seq, 实验数据显示: 上调 KLF7 显著增加了 HSPA1A 的 mRNA 表达。生物信息学分析表明: KLF7 在 *HSPA1A* 的启动子区存在潜在的结合位点。

综上所述, 本研究提出如下假设 (图 1-1): 高脂状态下, 高水平的 KLF7 通过转录激活 *HSPA1A*, 促进下游脂代谢相关基因的表达, 导致脂质积累增加, 诱发 NAFLD。为了验证以上假设, 本研究拟开展如下实验: (1) 在 NAFLD 小鼠模型及体外培养的 Hepa1-6 细胞和 HepG2 细胞中, 明确 KLF7 与 NAFLD 的相关性; (2) 构建小鼠肝脏 KLF7 特异性过表达/敲减模型, 明确 KLF7 对 NAFLD 发生发展的影响; (3) 体外培养 HEK-293T 细胞和 HepG2 细胞, 通过双荧光素酶报告基因实验和染色质免疫沉淀实验, 明确 KLF7 对 *HSPA1A* 的靶向调控作用; (4) 体外培养 Hepa1-6 细胞和 HepG2 细胞, 探索 KLF7 是否通过促进 *HSPA1A* 的表达促进细胞脂质积累。以上研究将为揭示 NAFLD 发生的具体分子机制提供理论依据, 为 NAFLD 的诊断及治疗提供可能的全新靶点。

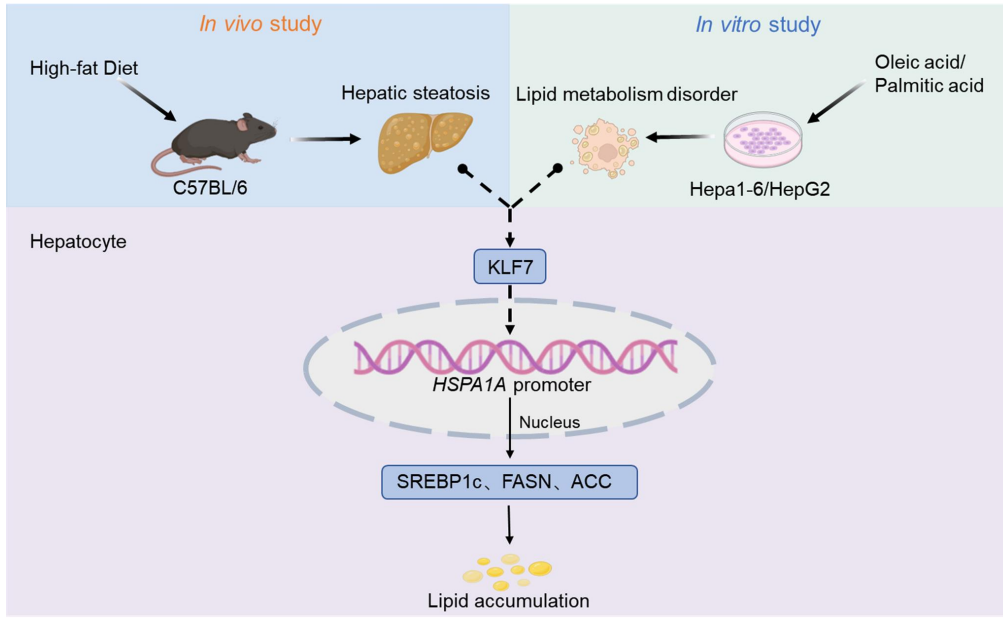


图 1-1 实验假设示意图