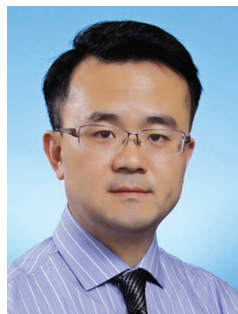


特约综述



本实验室以研究糖尿病和脂肪肝等疾病的病理生理学机制为中心, 通过筛查与细胞信号转导和代谢调控密切相关的蛋白因子, 利用分子生物学和细胞生物学等手段, 结合基因敲除或者饮食诱导的代谢疾病老鼠模型, 研究相关蛋白因子生物学功能。重点研究基因转录调控以及翻译后修饰在调控脂质代谢、糖代谢和能量代谢过程中的作用, 从而阐明与肥胖相关的代谢性疾病的发病机制。

http://www.nutrition.ac.cn/PI_liy.asp

FGF21的代谢调控及临床应用

龚琦 张菲菲 韩亚美 李于*

(中国科学院上海生命科学研究院营养科学研究所, 营养与代谢重点实验室, 上海 200031)

摘要 成纤维细胞生长因子21(fibroblast growth factor 21, FGF21)是一种新型的参与代谢调控的关键分子, 对降低体重和增加机体胰岛素敏感性具有十分显著的作用。大量的临床前和临床研究结果显示, FGF21是治疗肥胖和2型糖尿病潜在的药物靶点, 该文从肝脏、脂肪和神经系统等组织入手, 对FGF21调控代谢的分子作用机制及临床研究进展作一综述。

关键词 FGF21; 代谢调控; 临床研究

Metabolic Actions of FGF21 and Its Clinical Outcomes

Gong Qi, Zhang Feifei, Han Yamei, Li Yu*

(Key Laboratory of Nutrition and Metabolism, Institute for Nutritional Sciences, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract The hepatokine fibroblast growth factor 21 (FGF21) is known as a key metabolic regulator, and causes weight loss and increases insulin sensitivity. Preclinical and clinical studies have demonstrated that FGF21 serves as a potential therapeutical target for the treatment of obesity and type 2 diabetes. We discuss here tissue-specific actions and molecular mechanisms of FGF21 with a focus on the liver, adipose tissue and nervous system, as well as explore outcomes of the clinical trials of FGF21.

Keywords FGF21; metabolic actions; clinical trials

国家自然科学基金(批准号: 81270930、31471129)和中国科学院“百人计划”(批准号: 2013OHTP04)资助的课题

*通讯作者。Tel: 021-54920753, E-mail: liyu@sibs.ac.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81270930, 31471129) and the Hundred Talents Program of the Chinese Academy of Sciences (Grant No.2013OHTP04)

*Corresponding author. Tel: +86-21-54920753, E-mail: liyu@sibs.ac.cn

网络出版时间: 2015-03-26 15:33

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150326.1533.001.html>

1 FGF21的发现

FGF21属于FGF家族(fibroblast growth factors, FGFs)成员之一, 自从1976年发现了第一个FGF(FGF1或aFGF)以来, 人体内共发现该家族22个成员^[1]。FGFs的生物学功能十分多样化, 到目前为止研究发现, FGFs参与调节包括细胞分化、增殖和代谢等一系列生理活动^[1-6]。FGF21基因最早由Nishimura等^[7]克隆出来。直到2005年, FGF21作为一个新的代谢调节因子的报道才首次揭示了它的生物活性^[8], 后续研究发现, FGF21作为一种主要由肝脏分泌的因子参与了重要的代谢调控信号途径。

1.1 FGF21的生物学功能

Kharitononkov等^[8]首先阐明了FGF21对机体的代谢调控功能, 他们发现, FGF21能够调控葡萄糖转运子1(glucose transporter 1, GLUT1)的表达, 并促进葡萄糖在3T3-L1细胞和人原代脂肪细胞中的摄取。后续的实验结果显示, 在通过基因控制或食物诱导产生的肥胖小鼠中, FGF21处理能够显著降低小鼠体重和血糖的水平, 同时还会减少肝脏和血清中的甘油三酯含量; 然而, 小鼠摄食量并无明显改变^[8-10]。研究表明, FGF21对小鼠胰岛素敏感性也具有重要的影响。当对饮食诱导的肥胖小鼠和ob/ob小鼠FGF21给药后, FGF21能够逆转其肝脏脂肪变性, 增强肝脏胰岛素敏感性(包括减少肝脏葡萄糖的产生和增加肝糖原的含量), 从而改善全身葡萄糖不耐受性及胰岛素抵抗^[10-12]。因此, FGF21对糖脂代谢的调节至少部分是通过肝脏的代谢来影响的, 然而, 其具体的机制还未阐明。另外, 研究表明, FGF21在糖尿病猴子中具有相同的代谢效果, 同时还具有减少低密度脂蛋白胆固醇以及增加高密度脂蛋白胆固醇浓度的作用^[13]。综上所述, FGF21对肥胖的啮齿类、非人类灵长类动物都有十分显著的有益的代谢调节作用。

1.2 FGF21发挥生物学作用的受体

FGF21通过激活FGF受体(fibroblast growth factor receptors, FGFRs)来实现信号转导^[8], 然而, 与传统的FGFs不同的是, FGF21并不直接结合FGFRs, 而是通过辅助受体 β Klotho与FGFRs结合来共同行使其生物学功能, 该结论通过以下几点来证实: (1)在FGF21不起作用的细胞中, β Klotho能够恢复FGF21的活性^[14-16]; (2)诱导 β Klotho的表达能够增加细胞对FGF21的敏感性^[17]; (3)小干扰RNA(siRNA)

介导的 β Klotho水平的降低会导致FGF21的活性降低。因此, FGF21的受体从结构上讲应该由两个成分组成: FGFR和 β Klotho^[15]。单独的 β Klotho和FGFR都不能激活FGF21信号, 而两者的共同参与才能使FGF21发挥作用。

研究发现, FGF21的N-末端和C-末端与其本身的生物活性密切相关, 其C-末端与 β Klotho的跨膜蛋白相结合后, N-末端再与FGF受体结合, 形成稳定的FGF21/ β Klotho/FGFR复合体后, 激活下游相关的信号分子, 进而发挥其生物效应^[18-19]。近期的研究还证实, FGFR1c为FGF21的重要受体, 其他介导FGF21信号的受体还包括FGFR2和FGFR4等^[14, 18]。 β Klotho在几种代谢活跃的组织中含量丰富, 包括肝脏、白色脂肪组织(white adipose tissue, WAT)和棕色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)、中枢神经系统(central nervous system, CNS)等^[20]。由于FGFRs在各个组织中广泛表达, 因此, β Klotho的选择性表达决定了FGF21生物学功能的组织特异性^[21]。

2 FGF21对机体各组织的调控作用

2.1 FGF21对肝脏的作用

研究显示, FGF21在包括肝脏、脂肪组织和中枢神经系统等多个组织中都有表达^[20], 在正常生理状态下, 血液循环中的FGF21都源于肝脏的分泌^[22]。在肝脏中, 长时间禁食可诱导FGF21的表达, 而功能获得的实验结果显示, FGF21本身还可以引起禁食反应的多种效应: FGF21能够刺激肝脏脂肪酸的氧化和酮体生成、抑制脂肪生成等^[9, 23-25]。另外, 功能缺失的实验结果显示, 与野生型小鼠相比, FGF21敲除小鼠在给与生酮饮食后体重显著增加, 并形成肝脏脂肪变性, 酮体合成功能受损^[26]。

2.1.1 FGF21在肝脏中的转录机制 核受体、营养刺激和荷尔蒙所组成的复杂网络参与了不同组织内FGF21的基因调控, 从而影响其在饥饿刺激反应和全身能量平衡调节中的作用。早期, Badman等^[23]和Inagaki等^[24]发现, 核受体过氧化物酶体增殖激活物受体 α (peroxisome proliferator-activated receptor α , PPAR α)能够诱导FGF21的表达, 因此认为, PPAR α 在肝脏中的多种效应是由FGF21介导的。通过长时间禁食和生酮饮食喂养的小鼠以及PPAR α 激动剂处理的肝原代细胞的研究发现, PPAR α 能够通过结合FGF21启动子上的PPRE(peroxisome proliferator

response element)转录应答元件来诱导FGF21的转录。但是,在PPAR α 基因敲除的小鼠肝脏中,饥饿处理仍然能够诱导FGF21的mRNA水平增加5倍,这表明,FGF21的转录还受到其他细胞因子的调节。我们的研究结果证实,FGF21是维甲酸受体 β (retinoic acid receptor β , RAR β)的直接靶点,过表达RAR β 可以增加肝脏中FGF21的生成和分泌,从而对机体的代谢起到调节作用^[27]。此外,依赖NAD⁺的去乙酰化酶SIRT1(sirtuin 1)可以通过诱导肝脏FGF21的表达,缓解由禁食诱导的小鼠肝脏脂肪沉积^[28-29]。近期的研究还显示,在肝脏原代细胞中,功能获得和功能缺失的方法揭示了肝脏FGF21的转录还受到cAMP反应元件结合蛋白H(cAMP responsive element binding protein H, CREBH)^[30]、过氧化物酶体增殖活化受体 γ 共激活因子1 α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α , PGC1 α)^[31]和视黄酸受体相关的孤儿受体 α (RAR-related orphan receptor α , ROR α)^[32]的调节。由高碳水化合物饮食激活的碳水化合物反应元件结合蛋白(carbohydrate responsive element binding protein, ChREBP)也能够诱导肝脏FGF21基因的表达水平增加^[33]。另外,FGF21还受到非折叠蛋白反应的IRE1 α -XBP1(inositol requiring enzyme 1 α -X-box binding protein 1)途径调节^[34]。由此可见,FGF21在肝脏应答营养刺激和调控能量代谢方面具有非常广泛的作用。

2.1.2 FGF21对肝脏糖脂代谢的调控机制 如前所述,FGF21对肝脏的代谢有十分显著的效应,包括改善饮食诱导的肥胖小鼠肝脏胰岛素抵抗和脂肪变性,调节肝脏糖原合成和酮体生成^[9,23-25]。小鼠注射FGF21处理后能够引起肝脏ERK1/2的磷酸化并立即调控肝脏早期基因的表达,另外,FGF21能够通过诱导PGC1 α 和它下游基因的表达来增强肝脏脂肪酸的氧化^[25]。相反的是,当对离体的小鼠肝脏或大鼠肝原代细胞直接给予FGF21处理却没有相应的效应,这提示FGF21对肝脏的作用可能是由肝脏的其他信号通路,或者由其他组织比如脂肪组织间接介导的^[35]。Li和Xu的实验室发现,脂肪因子脂联素(adiponectin, APN)介导了FGF21调控全身代谢的功能^[35]。他们发现,在饮食诱导的脂联素基因敲除的肥胖小鼠中,FGF21对小鼠血浆甘油三酯、肝脏脂肪变性、肝损伤的改善作用消失了;但是,FGF21仍能显著降低APN敲除小鼠的血糖水平,这表明脂联

素虽然介导了FGF21的降脂作用,但是FGF21的降糖作用的具体机制还不明了^[35]。另外,FGF21和组织特异性的辅助受体 β Klotho在肝脏中都高表达,这些结果提示,FGF21能够通过 β Klotho/FGFR直接调控肝脏代谢。因此,肝脏特异性 β Klotho基因敲除或者基因沉默的小鼠,将有助于进一步阐明FGF21是否直接对肝脏起作用及其对调控全身糖脂代谢平衡的相对贡献。到目前为止,虽然关于FGF21的上游调节作用已经有相对较多的研究,但是在肝脏中FGF21所介导的下游调控还未被阐明,是目前研究的一个热点。

2.2 FGF21对脂肪组织的作用

FGF21对代谢的调控首先通过体内和体外的实验所发现^[8,10],FGF21转基因过表达或者外源FGF21处理均能显著降低小鼠血糖和血脂;而在成熟的3T3-L1和人原代脂肪细胞中,FGF21可以增加葡萄糖的摄取。后续的实验表明,FGF21通过调控相关基因表达来参与调节白色脂肪中的葡萄糖摄取、脂肪生成和分解以及脂质代谢的过程^[8,9,36]。其中,包括FGF21可以诱导白色脂肪组织中的解耦联蛋白1(uncoupling protein 1, UCP1)的表达^[37],该蛋白为棕色脂肪组织的典型蛋白,参与了棕色脂肪中的解耦联呼吸和生热作用(Thermogenesis)。这种现象称之为白色脂肪组织的“棕色化(Browning)”,它通常发生在皮下的白色脂肪组织,该组织受到交感神经的支配,FGF21可能通过这种机制调节生热作用^[37]。此外,脂肪组织FGF21通过自分泌或旁分泌的方式,激活脂肪细胞中脂联素的表达与分泌^[35,38],从而调控包括脂肪组织在内的机体糖脂代谢平衡,进一步改善机体的胰岛素敏感性水平。体内和体外的实验结果还表明,与白色脂肪组织一样,FGF21还可以刺激棕色脂肪中的与葡萄糖摄取和生热作用相关的基因的表达,从而调控能量代谢^[10,37,39-40]。

2.2.1 FGF21在脂肪组织中的转录调控机制 在白色脂肪组织中,过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)诱导FGF21的表达^[41],相反,FGF21又能与PPAR γ 激动剂罗格列酮协同作用促进脂肪细胞的分化和葡萄糖的摄取^[17,41-43]。与肝脏中FGF21受饥饿诱导的调节方式不同的是,FGF21在WAT中由喂食状态所诱导,通过前馈调节(feed forward loop regulation)的方式进一步激活PPAR γ 的活性^[44]。FGF21敲除小鼠显示出PPAR γ 信号通路受损,包括

体脂和PPAR γ 依赖的基因表达降低。此外, PPAR γ 激动剂罗格列酮对机体胰岛素增敏的有益作用和增加体重以及产生水肿等副反应在*FGF21*敲除小鼠中不会发生。这些结果均提示, FGF21是PPAR γ 在白色脂肪组织中的生理和药物学作用的重要媒介^[44]。此外, 在棕色脂肪中, FGF21受到冷刺激的诱导, 通过激活转录因子2(activated transcription factor 2, ATF2)介导的 β 3-肾上腺素受体的活性来调控机体的生热作用^[37,39,45]。FGF21也能通过增加转录因子cAMP反应元件结合蛋白(cAMP response element-binding protein, CREB)的磷酸化, 从而直接调控*UCPI*基因的转录^[46]。除此之外, FGF21还能够增加转运蛋白3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)的磷酸化, 从而调节线粒体的呼吸^[46]。在冷刺激实验中, *FGF21*敲除小鼠的体温更低, 同时血清循环的肌酐激酶的水平升高, 并伴随颤抖次数的增多^[37]。总的来说, FGF21能够通过促进BAT生热过程, 调控能量代谢。

2.2.2 FGF21对脂肪组织的糖脂代谢和能量代谢的调节机制 功能缺失的体内实验已经证实了FGF21在脂肪组织中的重要作用。将FGF21的特异性受体 β Klotho在脂肪组织中敲除后, 与高脂饮食喂养的对照组小鼠相比, 敲除小鼠FGF21在脂肪组织中对胰岛素敏感性和葡萄糖摄取的急性效应消失^[40]。相同地, 在脂肪组织选择性缺失FGFR1c小鼠中, FGF21对饮食诱导的肥胖小鼠的体重、血浆葡萄糖、胰岛素、甘油三酯、脂联素的影响也不复存在了^[47]。因此, β Klotho和FGFR介导了FGF21在脂肪组织调控糖脂代谢的作用。

白色脂肪组织棕色化和生热作用是小鼠体内FGF21对能量代谢和体重调节的重要机制。我们的研究表明, 肝脏和脂肪组织之间的信号传递和对话(cross-talk)机制介导了FGF21对机体能量代谢的调控。我们发现, 由肝细胞产生的FGF21内分泌信号途径能够通过调节白色脂肪的*Browning*基因表达, 增加小鼠基础能量消耗(energy expenditure), 从而增强机体能量代谢, 降低体重^[28]。此外, Spiegelman实验室发现, FGF21在体内和体外的生热效应, 与PGC1 α 这个调节生热作用和能量代谢的关键分子密切相关^[37]。他们发现, FGF21通过增加PGC1 α 的蛋白水平而非基因转录水平, 调控白色脂肪组织棕色化, 从而促进机体生热作用^[37]。

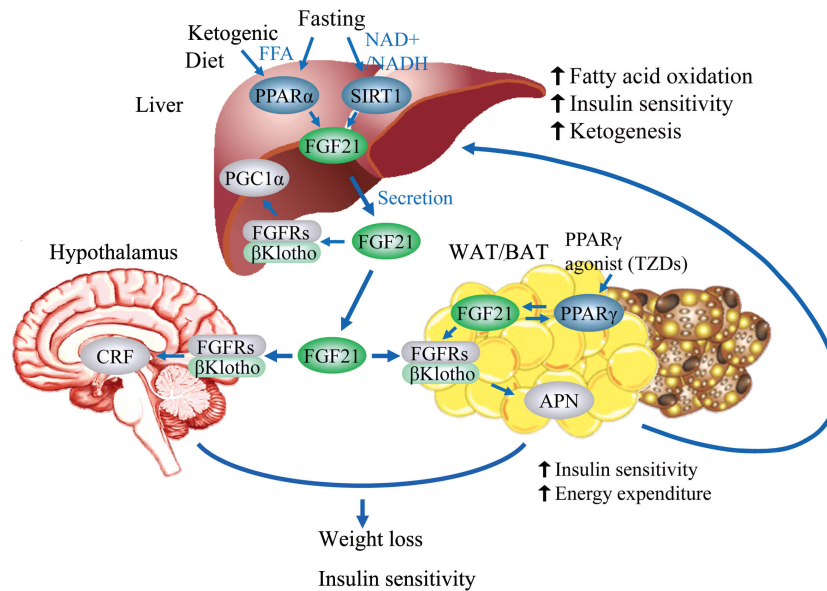
2.3 FGF21在脑中的作用

虽然FGF21在大脑中并没有表达^[20], 但是它可通过简单扩散的方式通过血脑屏障, 从而进入到人的脑脊液^[48]以及空腹小鼠的下丘脑中^[49], 进一步激活ERK1/2的磷酸化^[50]。脑室内注射FGF21后, 肥胖大鼠的能量消耗增加并且其胰岛素敏感性得到改善^[51], 进而引发FGF21介导的大脑和外周组织的信号相互作用^[52], 这意味着FGF21可以直接作用于大脑。

2.3.1 FGF21在脑中的调控机制 在下丘脑中, FGF21影响了两种重要的神经肽的表达: 脑内促肾上腺皮质激素释放因子(corticotropin-releasing factor, CRF)和精氨酸加压素(arginine vasopressin, AVP)^[49,53-55]。FGF21给药能够诱导下丘脑中CRF的表达^[49,53,55], CRF反过来可增加垂体的促肾上腺皮质激素的分泌, 从而刺激肾上腺皮质激素的分泌。此外, CRF引起的交感神经兴奋可以传递到BAT上^[56], 值得注意的是, CRF受体抑制剂能够完全阻断FGF21诱导的交感神经兴奋^[53]。因此, 对CRF的诱导作用可以认为是FGF21促进糖皮质激素、生热作用、体重减少的机制之一。另一方面, 除了诱导CRF以外, 在瘦的小鼠中, 长时间FGF21处理还会抑制AVP在视交叉神经上核(suprachiasmatic nucleus, SCN)中的表达^[54]。相反地, 饥饿、神经系统特异性 β Klotho敲除的小鼠下丘脑中, *AVP* mRNA的水平会上调。研究发现, 在雌性小鼠中, AVP水平的降低会导致脑垂体分泌的促黄体激素的减少, 排卵减少, 从而使小鼠的繁殖能力受到抑制。

然而, FGF21在下丘脑中诱导CRF的具体作用部位还未知, 近期有报道显示, β Klotho在下丘脑旁视核(paraventricular nucleus, PVN)的CRF神经元上也有表达, 该区域中FGF21通过激活转录因子CREB的作用来诱导*CRF*基因的表达^[49], 这与FGF21诱导BAT中*UCPI*基因表达的方式一致^[46]。因此, FGF21在PVN中也可能是通过直接或者间接的方式诱导CRF的作用。

2.3.2 FGF21对大脑和外周组织的信号传递和对话 虽然四种FGFRs在神经系统内广泛存在, β Klotho在神经系统中的表达却十分有限^[20]。在下丘脑中, 除了SCN和PVN外^[49,55], β Klotho在脑极后区、后脑的孤束核和外周的结状神经节上也有表达^[55]。这些区域共同构成了迷走神经背侧复合体, 是自主神经系统中的主要的综合区域。



FGF21能够显著降低肥胖的啮齿类和灵长类动物的体重,改善胰岛素敏感性。长时间饥饿和生酮饮食喂养诱导肝脏合成FGF21,然后FGF21通过内分泌作用进入血液循环到达机体各组织;在肝脏中,FGF21促进脂肪脂肪酸氧化和酮体合成,降低脂质合成,从而增加胰岛素敏感性;在脂肪组织中,FGF21被PPAR γ /维甲酸X受体(retinoid X receptor, RXR)异源二聚体诱导,通过促进脂联素(APN)的生成和分泌,调节全身糖脂代谢。FGF21也能作为旁分泌激素在脂肪组织中促进PPAR γ 活性,增强脂肪组织胰岛素敏感性;另外,FGF21在大脑中通过刺激神经系统释放促肾上腺皮质激素释放因子(CRF),激活交感神经活动(SNA),进而调控机体全身代谢。FGF21调控代谢的作用需要通过组织特异性的辅助受体 β Klotho和FGF受体(如FGFR1、FGFR2和FGFR4等)其中的一个相互作用来完成。

FGF21 has been profound beneficial effects on weight loss and insulin sensitivity in obese rodents and primates. Prolonged fasting or feeding of a ketogenic diet leads to hepatic production and secretion of FGF21. In the liver, FGF21 increases fatty acid oxidation and ketogenesis and decreases hepatic lipid biosynthesis, resulting in improved insulin sensitivity. FGF21 induces production and secretion of adiponectin through PPAR γ in adipose tissue, which in turn potentiates insulin-sensitizing effects of the PPAR γ and stimulates browning by inducing PGC1 α . FGF21 stimulates sympathetic nerve activity (SNA) via corticotropin-releasing factor (CRF), leading to improved whole body metabolism. These effects of FGF21 require signaling through the liver- and adipose-enriched coreceptor β Klotho and one of the FGF receptors (FGFRs, such as FGFR1, FGFR2 and FGFR4).

图1 FGF21的代谢调控作用示意图

Fig.1 Summary of FGF21 metabolic actions

最新的实验结果显示,大脑介导了全身血液循环系统中FGF21的部分作用。在鼠中FGF21的多种慢性作用需要中枢系统中 β Klotho蛋白的参与,包括FGF21对酮体生成、昼夜节律以及雌鼠的生育等方面功能的影响^[54-55]。进一步的研究结果还证实,FGF21刺激神经系统释放的CRF能够激活交感神经系统,从而引起白色脂肪组织的棕色化、棕色脂肪中的脂肪酸氧化、生热作用以及伴随肝脏生酮作用的脂质分解^[53],这些结果可以说明为什么 β Klotho在鼠神经系统中缺失后FGF21的部分效应也随之消失^[53,55]。有趣的是,FGF21转基因小鼠的降血糖作用在 β Klotho脑特异性敲除小鼠中是完好的^[55],但是在 β Klotho全身性敲除小鼠中却被完全阻止了^[40,57],这表明其他代谢组织可能介导了FGF21的降糖作用。

2.4 FGF21在其他组织中的作用

FGF21还在内分泌的胰腺 α 和 β 细胞中表达,FGF21的表达受到化学药物引起的胰腺损伤诱导^[58]。

然而,FGF21在胰腺组织中的生理功能还不得而知。在离体的胰岛细胞中,FGF21能够增加胰岛素的量和葡萄糖刺激的胰岛素的分泌,抑制胰高血糖素的分泌^[8,59],对胰腺炎的小鼠还具有保护作用^[58]。另外,在骨骼肌中,线粒体功能紊乱通过激活ATF4诱导FGF21的表达^[60-61]。

综上所述,FGF21在机体代谢网络中发挥了重要的作用,图1简略概述了FGF21在各个组织中的代谢调控以及它们之间的相互作用。

3 FGF21的临床应用

3.1 FGF21在人体中的表现

与鼠实验一样,PPAR α 激动剂(如贝特类药物)能够增加人体内FGF21的循环水平^[62-64];而在禁食7天的类风湿性关节炎患者或者极低卡路里饮食3周的肥胖患者体内,FGF21的浓度显著提高^[62,64]。这些结果提示,在不同物种中FGF21具有类似的调

控作用,但是与小鼠相比,PPAR α 激动剂和禁食对人体FGF21的表达水平的影响是相对微弱的。值得注意的是,短时间禁食或神经性厌食症并不会增加人体内FGF21的循环水平,而生酮饮食也不会引起人体内FGF21的水平增高^[62-63,65],这种差异可能是由小鼠实验中的生酮饮食内的蛋白质含量更低所引起的^[66]。因此,FGF21在啮齿类动物和人体内的调节作用也存在着不同。

同样值得注意的是,虽然有些研究团队在人白色脂肪组织中检测到*FGF21* mRNA^[43,67],而Dushay等^[65]却认为,人体白色脂肪组织中没有FGF21的表达。有趣的是,临床上还发现过度肥胖患者或伴随二型糖尿病、胰岛素抵抗或非酒精性脂肪肝患者体内FGF21的循环水平显著升高^[65,67-74],这种升高被认为主要来源于肝脏,有可能是因为肝脏内的高脂肪高碳水化合物诱导所导致的FGF21增多。同样地,在肥胖的啮齿类动物血浆中FGF21浓度升高,这种现象与高胰岛素血症和高瘦素血症的情况相似,因此,FGF21抵抗(FGF21 resistance)这一概念被人们提出来了^[11,75-76]。但是,在ob/ob和饮食诱导的肥胖小鼠血液的FGF21水平升高的情况下,FGF21给药仍能有效达到药效学的效应,并伴随胰岛素敏感性的显著提高。因此,FGF21抵抗这种假设存在争议^[75,77]。

3.2 FGF21的临床实验

FGF21在动物模型中显著的治疗效果使其迅速引起了人们的兴趣,然而,由于其生物物理特性的不足,天然的FGF21蛋白难以发展成可用于临床的分子药物^[78]。其主要原因包括:首先,FGF21蛋白保存在溶液中很容易被降解;其次,FGF21在构象上非常不稳定;此外,FGF21的大规模表达和纯化的过程也会存在困难。基于上述原因,美国礼来公司(Eli Lilly and Company)的Kharitonov开发出了可避免FGF21作为生物药物所带来缺陷的药物LY2405319(LY),该工程化的药物是FGF21变构体,既保留了FGF21对多种代谢性疾病的治疗效果,又避免了野生型FGF21的不足^[79]。

对肥胖的2型糖尿病患者每日注射LY,其临床测试结果显示,LY给药后能够显著改善四种脂质谱(总胆固醇、LDL-C、HDL-C和甘油三酯)的水平,并降低患者体重至正常水平,该结果与FGF21或LY在肥胖恒河猴(Rhesus monkey)中给药的结果一致^[13]。

此外,LY给药后空腹甘油三酯水平下降得十分迅速,并伴随着血浆ApoCIII(apolipoprotein C III)和ApoB(apolipoprotein B)的降低^[80]。

与啮齿类动物结果一致,LY给药28天后受试者体重也显著下降,同时血浆 β 羟基丁酸水平增加,提示LY可能调控了人体的脂肪酸氧化水平^[9,26,81-82]。此外,LY治疗后人体空腹胰岛素水平显著下降,血浆脂联素水平显著升高^[80],而高分子量脂联素与2型糖尿病治疗的效率相关。然而,LY对受试者的持续降糖能力不如FGF21对糖尿病啮齿类动物和猴子那么显著,这可能是由样本量太少产生的个体差异所导致的^[8,13,83]。因此,增加给药病人的数量、选择长期给药方案、或针对其他疾病人群,如空腹血糖受损或不同严重程度的2型糖尿病患者进行治疗,将有助于更好地揭示外源性FGF21对人体肥胖和血糖调节的潜在作用^[80]。

4 总结与展望

本文主要阐述了FGF21在肝脏、脂肪和大脑等组织中的代谢功能和调控机制。FGF21在动物体内药效的一致性和可重复性,使其成为治疗肥胖和糖尿病的候选药物,现已经进入临床的前期研究阶段。更大样本量的临床试验有助于进一步验证和阐明FGF21激动剂在代谢病领域中的潜在治疗作用。虽然,野生型FGF21可能存在对骨质和生育方面的副作用,但是,人群研究表明在健康女性的血液中,FGF21的含量与骨密度成正相关性,表明FGF21对小鼠中骨质疏松的促进作用与其对人体骨质作用结果可能不一致。而FGF21通过中枢系统对生育抑制的影响,可以通过基因改造合成不能进入血脑屏障的FGF21异构体来解决^[84]。

到目前为止,FGF21作为一种重要的代谢调节因子其机制还未被完全阐明,FGF21的生物学作用靶器官及其分子作用机制的研究还很不完全。比如,FGF21作为一个分泌型的激素,参与了全身代谢调控,而对于各个组织中FGF21介导的代谢功能方面的相对贡献还了解甚少;另外,噻唑烷二酮类药物影响FGF21和它的受体 β Klotho的表达^[17,41-42],同时伴随着FGF21的敏感性增加^[17],提示这一类的抗糖尿病药物可能部分通过影响FGF21信号通路来起作用。因此,FGF21信号通路及其对各组织的调控机制和生物学功能的深入研究,对于治疗糖尿病和肥胖等

人类相关的代谢性疾病具有重要意义。

参考文献 (References)

- 1 Itoh N. Hormone-like (endocrine) Fgfs: Their evolutionary history and roles in development, metabolism, and disease. *Cell Tissue Res* 2010; 342(1): 1-11.
- 2 Kelleher FC, O'Sullivan H, Smyth E, McDermott R, Viterbo A. Fibroblast growth factor receptors, developmental corruption and malignant disease. *Carcinogenesis* 2013; 34(10): 2198-205.
- 3 Evans SJ, Choudary PV, Neal CR, Li JZ, Vawter MP, Tomita H, *et al.* Dysregulation of the fibroblast growth factor system in major depression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(43): 15506-11.
- 4 Hutley L, Shurety W, Newell F, McGeary R, Pelton N, Grant J, *et al.* Fibroblast growth factor 1: A key regulator of human adipogenesis. *Diabetes* 2004; 53(12): 3097-106.
- 5 Yamagata H, Chen Y, Akatsu H, Kamino K, Ito J, Yokoyama S, *et al.* Promoter polymorphism in fibroblast growth factor 1 gene increases risk of definite Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 321(2): 320-3.
- 6 van der Walt JM, Noureddine MA, Kittappa R, Hauser MA, Scott WK, McKay R, *et al.* Fibroblast growth factor 20 polymorphisms and haplotypes strongly influence risk of Parkinson disease. *Am J Hum Genet* 2004; 74(6): 1121-7.
- 7 Nishimura T, Nakatake Y, Konishi M, Itoh N. Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1492(1): 203-6.
- 8 Kharitononkov A, Shiyanova TL, Koester A, Ford AM, Micanovic R, Galbreath EJ, *et al.* FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J Clin Invest* 2005; 115(6): 1627-35.
- 9 Coskun T, Bina HA, Schneider MA, Dunbar JD, Hu CC, Chen Y, *et al.* Fibroblast growth factor 21 corrects obesity in mice. *Endocrinology* 2008; 149(12): 6018-27.
- 10 Xu J, Lloyd DJ, Hale C, Stanislaus S, Chen M, Sivits G, *et al.* Fibroblast growth factor 21 reverses hepatic steatosis, increases energy expenditure, and improves insulin sensitivity in diet-induced obese mice. *Diabetes* 2009; 58(1): 250-9.
- 11 Berglund ED, Li CY, Bina HA, Lynes SE, Michael MD, Shanafelt AB, *et al.* Fibroblast growth factor 21 controls glycemia via regulation of hepatic glucose flux and insulin sensitivity. *Endocrinology* 2009; 150(9): 4084-93.
- 12 Xu J, Stanislaus S, Chinooswong N, Lau YY, Hager T, Patel J, *et al.* Acute glucose-lowering and insulin-sensitizing action of FGF21 in insulin-resistant mouse models—association with liver and adipose tissue effects. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 297(5): E1105-14.
- 13 Kharitononkov A, Wroblewski VJ, Koester A, Chen YF, Clutinger CK, Tigno XT, *et al.* The metabolic state of diabetic monkeys is regulated by fibroblast growth factor-21. *Endocrinology* 2007; 148(2): 774-81.
- 14 Ogawa Y, Kurosu H, Yamamoto M, Nandi A, Rosenblatt KP, Goetz R, *et al.* BetaKlotho is required for metabolic activity of fibroblast growth factor 21. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(18): 7432-7.
- 15 Kharitononkov A, Dunbar JD, Bina HA, Bright S, Moyers JS, Zhang C, *et al.* FGF-21/FGF-21 receptor interaction and activation is determined by betaKlotho. *J Cell Physiol* 2008; 215(1): 1-7.
- 16 Suzuki M, Uehara Y, Motomura-Matsuzaka K, Oki J, Koyama Y, Kimura M, *et al.* betaKlotho is required for fibroblast growth factor (FGF) 21 signaling through FGF receptor (FGFR) 1c and FGFR3c. *Mol Endocrinol* 2008; 22(4): 1006-14.
- 17 Moyers JS, Shiyanova TL, Mehrbod F, Dunbar JD, Noblitt TW, Otto KA, *et al.* Molecular determinants of FGF-21 activity-synergy and cross-talk with PPARgamma signaling. *J Cell Physiol* 2007; 210(1): 1-6.
- 18 Yie J, Hecht R, Patel J, Stevens J, Wang W, Hawkins N, *et al.* FGF21 N- and C-termini play different roles in receptor interaction and activation. *FEBS Lett* 2009; 583(1): 19-24.
- 19 Micanovic R, Raches DW, Dunbar JD, Driver DA, Bina HA, Dickinson CD, *et al.* Different roles of N- and C- termini in the functional activity of FGF21. *J Cell Physiol* 2009; 219(2): 227-34.
- 20 Fon Tacer K, Bookout AL, Ding X, Kurosu H, John GB, Wang L, *et al.* Research resource: Comprehensive expression atlas of the fibroblast growth factor system in adult mouse. *Mol Endocrinol* 2010; 24(10): 2050-64.
- 21 Adams AC, Coskun T, Rovira AR, Schneider MA, Raches DW, Micanovic R, *et al.* Fundamentals of FGF19 & FGF21 action *in vitro* and *in vivo*. *PLoS One* 2012; 7(5): 31.
- 22 Markan KR, Naber MC, Ameka MK, Anderegg MD, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA, *et al.* Circulating FGF21 is liver derived and enhances glucose uptake during refeeding and overfeeding. *Diabetes* 2014; 63(12): 4057-63.
- 23 Badman MK, Pissios P, Kennedy AR, Koukos G, Flier JS, Maratos-Flier E. Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPARalpha and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states. *Cell Metab* 2007; 5(6): 426-37.
- 24 Inagaki T, Dutchak P, Zhao G, Ding X, Gautron L, Parameswara V, *et al.* Endocrine regulation of the fasting response by PPARalpha-mediated induction of fibroblast growth factor 21. *Cell Metab* 2007; 5(6): 415-25.
- 25 Potthoff MJ, Inagaki T, Satapati S, Ding X, He T, Goetz R, *et al.* FGF21 induces PGC-1alpha and regulates carbohydrate and fatty acid metabolism during the adaptive starvation response. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(26): 10853-8.
- 26 Badman MK, Koester A, Flier JS, Kharitononkov A, Maratos-Flier E. Fibroblast growth factor 21-deficient mice demonstrate impaired adaptation to ketosis. *Endocrinology* 2009; 150(11): 4931-40.
- 27 Li Y, Wong K, Walsh K, Gao B, Zang M. Retinoic acid receptor β stimulates hepatic induction of fibroblast growth factor 21 to promote fatty acid oxidation and control whole-body energy homeostasis in mice. *J Biol Chem* 2013; 288(15): 10490-504.
- 28 Li Y, Wong K, Giles A, Jiang J, Lee JW, Adams AC, *et al.* Hepatic SIRT1 attenuates hepatic steatosis and controls energy balance in mice by inducing fibroblast growth factor 21. *Gastroenterology* 2014; 146(2): 539-49.e7.
- 29 Purushotham A, Schug TT, Xu Q, Surapureddi S, Guo X, Li X. Hepatocyte-specific deletion of SIRT1 alters fatty acid metabolism and results in hepatic steatosis and inflammation. *Cell Metab* 2009; 9(4): 327-38.
- 30 Kim H, Mendez R, Zheng Z, Chang L, Cai J, Zhang R, *et al.* Liver-

- enriched transcription factor CREBH interacts with peroxisome proliferator-activated receptor alpha to regulate metabolic hormone FGF21. *Endocrinology* 2014; 155(3): 769-82.
- 31 Estall JL, Ruas JL, Choi CS, Laznik D, Badman M, Maratos-Flier E, *et al.* PGC-1alpha negatively regulates hepatic FGF21 expression by modulating the heme/Rev-Erb(alpha) axis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(52): 22510-5.
- 32 Wang Y, Solt LA, Burriss TP. Regulation of FGF21 expression and secretion by retinoic acid receptor-related orphan receptor alpha. *J Biol Chem* 2010; 285(21): 15668-73.
- 33 Iizuka K, Takeda J, Horikawa Y. Glucose induces FGF21 mRNA expression through ChREBP activation in rat hepatocytes. *FEBS Lett* 2009; 583(17): 2882-6.
- 34 Shao M, Shan B, Liu Y, Deng Y, Yan C, Wu Y, *et al.* Hepatic IRE1alpha regulates fasting-induced metabolic adaptive programs through the XBP1s-PPARalpha axis signalling. *Nat Commun* 2014; 5:3528.
- 35 Lin Z, Tian H, Lam KS, Lin S, Hoo RC, Konishi M, *et al.* Adiponectin mediates the metabolic effects of FGF21 on glucose homeostasis and insulin sensitivity in mice. *Cell Metab* 2013; 17(5): 779-89.
- 36 Kurosu H, Choi M, Ogawa Y, Dickson AS, Goetz R, Eliseenkova AV, *et al.* Tissue-specific expression of betaKlotho and fibroblast growth factor (FGF) receptor isoforms determines metabolic activity of FGF19 and FGF21. *J Biol Chem* 2007; 282(37): 26687-95.
- 37 Fisher FM, Kleiner S, Douris N, Fox EC, Mepani RJ, Verdeguer F, *et al.* FGF21 regulates PGC-1alpha and browning of white adipose tissues in adaptive thermogenesis. *Genes Dev* 2012; 26(3): 271-81.
- 38 Holland WL, Adams AC, Brozinick JT, Bui HH, Miyauchi Y, Kusminski CM, *et al.* An FGF21-adiponectin-ceramide axis controls energy expenditure and insulin action in mice. *Cell Metab* 2013; 17(5): 790-7.
- 39 Hondares E, Iglesias R, Giral A, Gonzalez FJ, Giral M, Mampel T, *et al.* Thermogenic activation induces FGF21 expression and release in brown adipose tissue. *J Biol Chem* 2011; 286(15): 12983-90.
- 40 Ding X, Boney-Montoya J, Owen BM, Bookout AL, Coate KC, Mangelsdorf DJ, *et al.* betaKlotho is required for fibroblast growth factor 21 effects on growth and metabolism. *Cell Metab* 2012; 16(3): 387-93.
- 41 Muise ES, Azzolina B, Kuo DW, El-Sherbeini M, Tan Y, Yuan X, *et al.* Adipose fibroblast growth factor 21 is up-regulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma and altered metabolic states. *Mol Pharmacol* 2008; 74(2): 403-12.
- 42 Wang H, Qiang L, Farmer SR. Identification of a domain within peroxisome proliferator-activated receptor gamma regulating expression of a group of genes containing fibroblast growth factor 21 that are selectively repressed by SIRT1 in adipocytes. *Mol Cell Biol* 2008; 28(1): 188-200.
- 43 Zhang X, Yeung DC, Karpisek M, Stejskal D, Zhou ZG, Liu F, *et al.* Serum FGF21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans. *Diabetes* 2008; 57(5): 1246-53.
- 44 Dutchak PA, Katafuchi T, Bookout AL, Choi JH, Yu RT, Mangelsdorf DJ, *et al.* Fibroblast growth factor-21 regulates PPARgamma activity and the antidiabetic actions of thiazolidinediones. *Cell* 2012; 148(3): 556-67.
- 45 Chartoumpakis DV, Habeos IG, Ziros PG, Psyrogiannis AI, Kyriazopoulou VE, Papavassiliou AG. Brown adipose tissue responds to cold and adrenergic stimulation by induction of FGF21. *Mol Med* 2011; 17(7/8): 736-40.
- 46 Wu AL, Kolumam G, Stawicki S, Chen Y, Li J, Zavala-Solorio J, *et al.* Amelioration of type 2 diabetes by antibody-mediated activation of fibroblast growth factor receptor 1. *Sci Transl Med* 2011; 3(113): 113ra26.
- 47 Adams AC, Yang C, Coskun T, Cheng CC, Gimeno RE, Luo Y, *et al.* The breadth of FGF21's metabolic actions are governed by FGFR1 in adipose tissue. *Mol Metab* 2012; 2(1): 31-7.
- 48 Tan BK, Hallschmid M, Adya R, Kern W, Lehnert H, Randevara HS. Fibroblast growth factor 21 (FGF21) in human cerebrospinal fluid: relationship with plasma FGF21 and body adiposity. *Diabetes* 2011; 60(11): 2758-62.
- 49 Liang Q, Zhong L, Zhang J, Wang Y, Bornstein SR, Triggler CR, *et al.* FGF21 maintains glucose homeostasis by mediating the cross talk between liver and brain during prolonged fasting. *Diabetes* 2014; 63(12): 4064-75.
- 50 Yang C, Jin C, Li X, Wang F, McKeehan WL, Luo Y. Differential specificity of endocrine FGF19 and FGF21 to FGFR1 and FGFR4 in complex with KLB. *PLoS One* 2012; 7(3): e33870.
- 51 Sarruf DA, Thaler JP, Morton GJ, German J, Fischer JD, Ogimoto K, *et al.* Fibroblast growth factor 21 action in the brain increases energy expenditure and insulin sensitivity in obese rats. *Diabetes* 2010; 59(7): 1817-24.
- 52 Hsueh H, Pan W, Kastin AJ. The fasting polypeptide FGF21 can enter brain from blood. *Peptides* 2007; 28(12): 2382-6.
- 53 Owen BM, Ding X, Morgan DA, Coate KC, Bookout AL, Rahmouni K, *et al.* FGF21 acts centrally to induce sympathetic nerve activity, energy expenditure, and weight loss. *Cell Metab* 2014; 20(4): 670-7.
- 54 Owen BM, Bookout AL, Ding X, Lin VY, Atkin SD, Gautron L, *et al.* FGF21 contributes to neuroendocrine control of female reproduction. *Nat Med* 2013; 19(9): 1153-6.
- 55 Bookout AL, de Groot MH, Owen BM, Lee S, Gautron L, Lawrence HL, *et al.* FGF21 regulates metabolism and circadian behavior by acting on the nervous system. *Nat Med* 2013; 19(9): 1147-52.
- 56 Arase K, York DA, Shimizu H, Shargill N, Bray GA. Effects of corticotropin-releasing factor on food intake and brown adipose tissue thermogenesis in rats. *Am J Physiol* 1988; 255(3 Pt 1): e255-9.
- 57 Adams AC, Cheng CC, Coskun T, Kharitonov A. FGF21 requires betaklotho to act *in vivo*. *PLoS One* 2012; 7(11): e49977.
- 58 Johnson CL, Weston JY, Chadi SA, Fazio EN, Huff MW, Kharitonov A, *et al.* Fibroblast growth factor 21 reduces the severity of cerulein-induced pancreatitis in mice. *Gastroenterology* 2009; 137(5): 1795-804.
- 59 Wente W, Efanov AM, Brenner M, Kharitonov A, Koster A, Sandusky GE, *et al.* Fibroblast growth factor-21 improves pancreatic beta-cell function and survival by activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and Akt signaling pathways. *Diabetes* 2006; 55(9): 2470-8.
- 60 Tynismaa H, Carroll CJ, Raimundo N, Ahola-Erkila S, Wenz T,

- Ruhanen H, *et al.* Mitochondrial myopathy induces a starvation-like response. *Hum Mol Genet* 2010; 19(20): 3948-58.
- 61 Kim KH, Jeong YT, Oh H, Kim SH, Cho JM, Kim YN, *et al.* Autophagy deficiency leads to protection from obesity and insulin resistance by inducing Fgf21 as a mitokine. *Nat Med* 2013; 19(1): 83-92.
- 62 Galman C, Lundasen T, Kharitonov A, Bina HA, Eriksson M, Hafstrom I, *et al.* The circulating metabolic regulator FGF21 is induced by prolonged fasting and PPARalpha activation in man. *Cell Metab* 2008; 8(2): 169-74.
- 63 Christodoulides C, Dyson P, Sprecher D, Tsintzas K, Karpe F. Circulating fibroblast growth factor 21 is induced by peroxisome proliferator-activated receptor agonists but not ketosis in man. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(9): 3594-601.
- 64 Mraz M, Lacinova Z, Kavalkova P, Haluzikova D, Trachta P, Drapalova J, *et al.* Serum concentrations of fibroblast growth factor 19 in patients with obesity and type 2 diabetes mellitus: the influence of acute hyperinsulinemia, very-low calorie diet and PPAR-alpha agonist treatment. *Physiol Res* 2011; 60(4): 627-36.
- 65 Dushay J, Chui PC, Gopalakrishnan GS, Varela-Rey M, Crawley M, Fisher FM, *et al.* Increased fibroblast growth factor 21 in obesity and nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2010; 139(2): 456-63.
- 66 Laeger T, Henagan TM, Albarado DC, Redman LM, Bray GA, Noland RC, *et al.* FGF21 is an endocrine signal of protein restriction. *J Clin Invest* 2014; 124(9): 3913-22.
- 67 Mraz M, Bartlova M, Lacinova Z, Michalsky D, Kasalicky M, Haluzikova D, *et al.* Serum concentrations and tissue expression of a novel endocrine regulator fibroblast growth factor-21 in patients with type 2 diabetes and obesity. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009; 71(3): 369-75.
- 68 Chen WW, Li L, Yang GY, Li K, Qi XY, Zhu W, *et al.* Circulating FGF-21 levels in normal subjects and in newly diagnose patients with type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2008; 116(1): 65-8.
- 69 Chavez AO, Molina-Carrion M, Abdul-Ghani MA, Folli F, Defronzo RA, Tripathy D. Circulating fibroblast growth factor-21 is elevated in impaired glucose tolerance and type 2 diabetes and correlates with muscle and hepatic insulin resistance. *Diabetes Care* 2009; 32(8): 1542-6.
- 70 Cuevas-Ramos D, Almeda-Valdes P, Gomez-Perez FJ, Meza-Arana CE, Cruz-Bautista I, Arellano-Campos O, *et al.* Daily physical activity, fasting glucose, uric acid, and body mass index are independent factors associated with serum fibroblast growth factor 21 levels. *Eur J Endocrinol* 2010; 163(3): 469-77.
- 71 Li H, Fang Q, Gao F, Fan J, Zhou J, Wang X, *et al.* Fibroblast growth factor 21 levels are increased in nonalcoholic fatty liver disease patients and are correlated with hepatic triglyceride. *J Hepatol* 2010; 53(5): 934-40.
- 72 Li X, Fan X, Ren F, Zhang Y, Shen C, Ren G, *et al.* Serum FGF21 levels are increased in newly diagnosed type 2 diabetes with nonalcoholic fatty liver disease and associated with hsCRP levels independently. *Diabetes Res Clin Pract* 2011; 93(1): 10-6.
- 73 Matuszek B, Lenart-Lipinska M, Duma D, Solski J, Nowakowski A. Evaluation of concentrations of FGF-21— a new adipocytokine in type 2 diabetes. *Endokrynol Pol* 2010; 61(1): 50-4.
- 74 Yilmaz Y, Eren F, Yonal O, Kurt R, Aktas B, Celikel CA, *et al.* Increased serum FGF21 levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Clin Invest* 2010; 40(10): 887-92.
- 75 Fisher FM, Chui PC, Antonellis PJ, Bina HA, Kharitonov A, Flier JS, *et al.* Obesity is a fibroblast growth factor 21 (FGF21)-resistant state. *Diabetes* 2010; 59(11): 2781-9.
- 76 Lundasen T, Hunt MC, Nilsson LM, Sanyal S, Angelin B, Alexson SE, *et al.* PPARalpha is a key regulator of hepatic FGF21. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 360(2): 437-40.
- 77 Hale C, Chen MM, Stanislaus S, Chinookoswong N, Hager T, Wang M, *et al.* Lack of overt FGF21 resistance in two mouse models of obesity and insulin resistance. *Endocrinology* 2012; 153(1): 69-80.
- 78 Maruthur NM. The growing prevalence of type 2 diabetes: Increased incidence or improved survival? *Curr Diab Rep* 2013; 13(6): 786-94.
- 79 Kharitonov A, Beals JM, Micanovic R, Striffler BA, Rathnachalam R, Wroblewski VJ, *et al.* Rational design of a fibroblast growth factor 21-based clinical candidate, LY2405319. *PLoS One* 2013; 8(3): e58575.
- 80 Gaich G, Chien JY, Fu H, Glass LC, Deeg MA, Holland WL, *et al.* The effects of LY2405319, an FGF21 analog, in obese human subjects with type 2 diabetes. *Cell Metab* 2013; 18(3): 333-40.
- 81 Fisher FM, Estall JL, Adams AC, Antonellis PJ, Bina HA, Flier JS, *et al.* Integrated regulation of hepatic metabolism by fibroblast growth factor 21 (FGF21) *in vivo*. *Endocrinology* 2011; 152(8): 2996-3004.
- 82 Mai K, Bobbert T, Groth C, Assmann A, Meinus S, Kraatz J, *et al.* Physiological modulation of circulating FGF21: Relevance of free fatty acids and insulin. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 299(1): E126-30.
- 83 Adams AC, Halstead CA, Hansen BC, Irizarry AR, Martin JA, Myers SR, *et al.* LY2405319, an engineered FGF21 variant, improves the metabolic status of diabetic monkeys. *PLoS One* 2013; 8(6): e65763.
- 84 Kharitonov A, Adams AC. Inventing new medicines: The FGF21 story. *Mol Metab* 2014; 3(3): 221-9.