

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20250208.003
网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20250208.1356.006>

急性低氧调控肝细胞线粒体碳代谢通路关键基因的筛选与机制研究

李俊秀¹, 台艳奇¹, 邓钊红¹, 徐金芳², 胥瑾¹✉

(青海大学医学院 1. 基础医学部, 青海 西宁 810016; 2. 中医系, 青海 西宁 810016)

[摘要] **目的:**本研究旨在结合生物信息学探究急性低氧暴露下肝细胞线粒体碳代谢通路中的关键基因及其调控机制。**方法:**将人肝细胞系 HL7702 分别培养在常氧(95% 的空气和 5% CO₂)和低氧(1% O₂、94% N₂和 5% CO₂)培养箱中,分别培养 24 h 后提取 RNA 制作表达谱基因芯片,通过微阵列实验得到的差异基因与线粒体数据库进行整合分析,分别对差异基因和差异基因与线粒体功能相关的交集基因进行 GO 与 KEGG 富集分析挖掘关键通路,并对差异基因与线粒体功能相关的交集基因构建蛋白质相互作用网络进一步筛选关键基因。用小鼠肝细胞系 AML12 进行低氧造模并验证筛选出的关键基因以及参与线粒体关键通路中的基因。**结果:**与常氧组相比,低氧组共鉴定出 47 958 个非显著差异基因和 1 437 个差异基因,其中 864 个基因表达上调,573 个表达基因下调;对差异基因进行 KEGG 富集分析结果显著富集在代谢通路、氨基酸合成、碳代谢、辅酶生物合成等通路中;对差异基因与线粒体功能相关的交集基因进行 KEGG 富集分析发现,主要富集在碳代谢等通路中;PPI 中鉴定出两个关键基因 *FH* 和 *HSPD1*,并发现急性低氧下 *FH* 和 *HSPD1* 的 mRNA 和蛋白表达量显著上调;KEGG 富集中共同富集到碳代谢通路中,发现急性低氧胁迫影响线粒体碳代谢通路中 *GCSH*、*AGXT*、*FH*、*GPT2*、*IDH2*、*HIBCH* 基因的表达。**结论:**急性低氧胁迫通过上调 *FH* 和 *HSPD1* 调节肝脏组织线粒体的功能,并通过影响 *GCSH*、*AGXT*、*FH*、*GPT2*、*IDH2*、*HIBCH* 基因的表达影响肝脏组织中线粒体碳代谢通路应对急性低氧暴露,为进一步理解急性低氧下肝细胞的相关疾病提供了新的视角。

[关键词] 急性低氧;线粒体;碳代谢;生物信息学

[中图分类号] R575 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2026)03-0179-09

Screening and mechanistic study of key genes regulating the mitochondrial carbon metabolism pathway in hepatocytes under acute hypoxia

LI Junxiu¹, TAI Yanqi¹, DENG Zhaohong¹, XU Jinfang², XU Jin¹✉

(1. Department of Basic Medical Sciences; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, School of Medicine, Qinghai University, Xining 810016, China)

[Foundation Project]: This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (82360333); Science and Technology Plan Project of Qinghai Province (2023-ZJ-792)

[Author]: LI Junxiu, E-mail: ljx92121@163.com.

[Correspondence to]: XU Jin, Ph.D., Associate Professor, E-mail: xujin-314@163.com.

Received: 2024-11-23

Revised: 2025-01-25

JHMu, 2026;32(3):179-187

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective:** To explore key genes and the regulatory mechanisms in the mitochondrial carbon metabolism pathway of hepatocytes under acute hypoxic exposure, using bioinformatics approaches. **Methods:** The human liver cell line HL7702 was cultured under normoxic conditions (95% air and 5% CO₂) and hypoxic conditions (1% O₂, 94% N₂, and 5% CO₂) in separate incubators. After 24 hours of cultivation, RNA was extracted to prepare expression profile gene chips. The differential genes obtained from microarray experiments were integrated with a mitochondrial database for analysis. GO and KEGG enrichment analyses were conducted on the differential genes and the intersection genes related to mitochondrial function to excavate key pathways.

[基金项目] 国家自然科学基金(82360333);青海省科技计划项目(2023-ZJ-792)

[作者简介] 李俊秀, E-mail: ljx92121@163.com。

[通讯作者] 胥瑾, 博士, 副教授, E-mail: xujin-314@163.com。

[收稿日期] 2024-11-23 **[修回日期]** 2025-01-25 **网络出版时间:** 2025-02-08 14:12:41

A protein-protein interaction network was constructed for the differential genes and intersection genes related to mitochondrial function to further screen for key genes. The mouse liver cell line AML12 was used to model hypoxia and validate the selected key genes and those involved in key mitochondrial pathways. **Results:** Compared to the normoxic group, the hypoxic group identified a total of 47 958 non-significant differential genes and 1 437 differential genes, among which 864 genes were upregulated and 573 genes were downregulated. KEGG enrichment analysis of the differential genes significantly enriched in metabolic pathways, amino acid synthesis, carbon metabolism, and coenzyme biosynthesis pathways. KEGG enrichment analysis of the intersection genes related to mitochondrial function found that they were mainly enriched in pathways such as carbon metabolism. In the protein-protein interaction (PPI) network, two key genes, *FH* and *HSPD1*, were identified, and it was found that the mRNA and protein expression levels of *FH* and *HSPD1* were significantly upregulated under acute hypoxia. KEGG enrichment analysis, which was common to both differential genes and intersection genes related to mitochondrial function, revealed that acute hypoxia affects the expression of genes in the mitochondrial carbon metabolism pathway, including *GCSH*, *AGXT*, *FH*, *GPT2*, *IDH2*, and *HIBCH*. **Conclusion:** Acute hypoxia stress regulates mitochondrial function in liver tissue by upregulating *FH* and *HSPD1* and affects the expression of *GCSH*, *AGXT*, *FH*, *GPT2*, *IDH2*, and *HIBCH* genes in the mitochondrial carbon metabolism pathway to cope with acute hypoxic exposure. These findings provide new insights for further understanding of liver cell-related diseases under acute hypoxia conditions.

[Key words] Acute hypoxia; Mitochondria; Carbon metabolism; Bioinformatics

急性低氧是指组织或细胞在短时间内暴露于低氧环境中,这种状态会导致氧气供应不足,进而影响细胞的能量代谢和功能。肝脏作为人体中最重要的代谢器官之一,同时也是许多生理过程的关键枢纽,参与调节血糖、脂肪、蛋白质以及各种生物化合物的代谢^[1,2],在低氧环境下功能的改变对于机体维持稳态至关重要。肝脏是由肝细胞、Kupffer、肝窦内皮细胞等组成^[1],其中肝细胞占肝脏总重量的80%左右,是肝脏中主要的细胞类型^[3]。线粒体作为参与细胞代谢的关键细胞器,同时也是缺氧损伤的主要靶标^[4-6],主要通过三羧酸循环和氧化磷酸化产生ATP^[7],为细胞提供能量。低氧条件下,细胞能量代谢的调节对于维持细胞稳态至关重要,其功能变化直接影响细胞的适应能力。据报道,线粒体功能障碍与肝脏疾病的发病机制有关^[8,9],缺氧通过上调HIF-1 α 保护肝细胞线粒体免受损伤^[10]。尽管已有研究表明碳代谢通路在低氧应答中发挥关键作用^[11],但低氧对肝细胞线粒体碳代谢通路的具体调控机制尚不完全清楚。

因此,本研究选取肝细胞作为研究对象,运用微阵列实验得到差异基因,并与线粒体功能相关基因进行关联,旨在筛选和鉴定急性低氧条件下调控肝细胞线粒体碳代谢通路的关键基因,探讨急性低氧调控肝细胞线粒体碳代谢通路中的关键基因揭示其分子机制,为理解相关疾病的发病机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞系及试剂

HL7702细胞系购自中科院上海细胞研究所,由本实验室保存;AML12细胞系、AML12细胞专用

培养基购自武汉普诺赛公司。RIPA裂解液、Trizol、青霉素链霉素溶液购自上海碧云天公司;胎牛血清购自美国Gibco公司;AML12细胞专业培养基购自武汉普诺赛公司,RPMI1640培养基购自美国Invitrogen公司;人基因表达谱芯片、GeneChip 3'iVT Express Kit购自美国Affymetrix公司。SuperScript III RT逆转录kit购自成都EXONGEN公司,蛋白分子量marker购自北京中生奥邦生物公司, β -actin Antibody、HSPD1 Antibody、FH Antibody购自江苏Affinity公司。

1.2 生物信息学

1.2.1 差异表达基因分析 正常肝细胞系HL7702急性低氧模型构建成功后,提取总RNA进行质量检测后制作基因表达谱芯片,通过微阵列实验得到差异基因。根据 $\log_2FC \geq |1.0|$ 和校正 P 值 < 0.05 作为差异基因的筛选条件,分析差异基因的表达。采用clusterProfiler(3.4.4)进行基因本体论(Gene Ontology, GO)包括细胞组分(cellular components, CC)、生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)及京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析。

1.2.2 线粒体功能相关基因数据 从在线数据库MitoCarta3.0获取人类线粒体功能相关基因(<http://www.broadinstitute.org/mitocarta>)筛选后得到507个与肝脏相关的线粒体功能相关基因。将差异基因与507个肝脏相关的线粒体功能基因进行关联,得到差异基因与线粒体功能相关的交集基因。采用clusterProfiler(3.4.4)进行GO与KEGG富集分析。

1.2.3 关键基因的筛选 通过在线工具 STRING (<http://cn.string-db.org>),对差异基因与线粒体功能相关的交集基因进行评估,用 Cytoscape 软件^[12]构建蛋白质-蛋白质相互关系(protein-protein interaction,PPI)图,运用 CytoNCA 插件用 Betweenness (BC)算法计算得到关键基因。

1.3 细胞实验方法

1.3.1 细胞培养 正常人肝脏细胞系 HL7702,采用含有 10% 胎牛血清、100 μg/mL 链霉素和 100 U/mL 青霉素的 1640 细胞培养基;AML12 细胞,采用 AML12 细胞专用培养基,确保细胞在适宜的营养和抗菌环境中生长。在 37℃、饱和湿度的条件下,将每株细胞系分为两组,一组在常氧培养箱中培养(常氧组,95% 的空气和 5% CO₂),一组在低氧培养箱中(低氧组,1% O₂、94% N₂和 5% CO₂)培养,两种条件下的每株细胞均培养 24 h。

1.3.2 总 RNA 提取 收集细胞至 1.5 mL EP 管中,加入适量的 Trizol 裂解细胞,用 1 mL Trizol 将研磨样本转移到取到 1.5 mL EP 管中;向 1.5 mL EP 管中加入 200 μL 氯仿振荡混匀后,静置 5 min;4℃ 12 000 r/min 离心 10 min,小心吸取上清于新的 1.5 mL EP 管中;向分离出的上清中加入等体积异丙醇,充分混匀;4℃ 12 000 r/min 离心 10 min,小心弃上清;用 75% 乙醇洗涤沉淀一次,室温晾干;20 μL DEPC 水溶解 RNA 沉淀;琼脂糖凝胶电泳检测。使用 Thermo NanoDrop 2000 检测 RNA 纯度和 Agilent 2100 生物分析仪对 RNA 进行完整性和质量检测。

1.3.3 RT-qPCR 使用逆转录试剂盒 ExonScript RT SuperMix with dsDNase 将 RNA 逆转录为 cDNA。以 β -actin 作为内参,通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因 mRNA 相对表达量。RT-qPCR 反应体系为 20 μL,cDNA 1 μL,2×qPCR mix 10 μL,前后引物为 0.4 μL,ddH₂O 补充至 20 μL。反应条件为 95℃ 10 s,58℃ 20 s,72℃ 20 s,40 个循环。引物序列见表 1。

1.3.4 Western blot 实验 将小鼠肝细胞 AML12 样本收集到离心管中,提取细胞总蛋白。BCA 蛋白定量法测定蛋白浓度后上样,10%SDS-PAGE 电泳后转膜,TBST 清洗 4 次,每次 10 min,5% 的脱脂牛奶封闭 1 h,TBST 清洗 4 次,每次 10 min,加入对应稀释好的一抗(HSPD1 Antibody,1:1 000、FH Antibody,1:1 000)4℃过夜,TBST 清洗 4 次,每次 10 min,二抗(1:10 000)室温孵育 1 h,ECL 化学发光液显色,化学发光成像系统成像,ImageJ 软件分析蛋白表达量。

表 1 RT-qPCR 引物信息
Tab 1 Primers sequences for RT-qPCR

基因名称	引物序列(5'~3')	碱基数
β -actin	F: CTCCTGAGCGCAAGTACTCT	20
	R: TACTCCTGCTTGCTGATCCAC	21
HSPD1	F: CACAGTCCTTCGCCAGATGAG	21
	R: CTACACCTTGAAGCATTAAGGCT	23
GCSH	F: ATGTCGCTGCAAGTGTCGAG	20
	R: ACCGTTCCAATACCTTCCTCT	21
AGXT	F: AAGCCCCTGTCAGTTCCTAC	20
	R: TCCTCCATGATCTGAAGCATCT	22
FH	F: GAATGGCAAGCCAAAATTCCTT	22
	R: CGTTCTGTAGCACCTCCAATCTT	23
GPT2	F: AACCATTCACTGAGGTAATCCGA	23
	R: GGGCTGTTTAGTAGGTTTGGGTA	23
IDH2	F: GGAGAAGCCGGTAGTGGAGAT	21
	R: GGTCTGGTCACGGTTTGGA	20
HIBCH	F: GTGGAGGCGTCATAACGCTC	20
	R: AGGAATGTGTACAGGGTCTTGT	21

1.4 统计学处理

用 Graphpad Prism 10.1.2 软件通过两样本独立 t 检验对数据进行分析, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

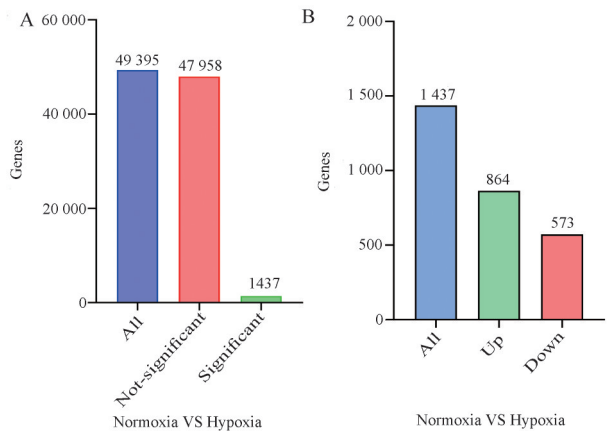
2 结果

2.1 低氧组与常氧组细胞的差异基因分析

与常氧组相比,低氧组共鉴定出 49 395 个基因,以 $\log_2FC\geq|1.0|$ 和校正 P 值 <0.05 为筛选条件得到 47 958 个非显著差异基因和 1 437 个差异基因(图 1A),其中 864 个基因表达上调,573 个表达基因下调(图 1B)。

2.2 差异基因的 GO 与 KEGG 富集分析

为了探究差异基因在急性低氧胁迫下的生物



A: 总基因数量;B: 差异基因数量

图 1 基因数量

Fig 1 Genes count

学功能以及相关通路的分子机制。对差异基因进行GO和KEGG富集分析($P < 0.05$)。根据基因数量进行排序前10个GO Term绘制注释图(图2),发现差异基因显著富集在细胞对于缺氧的响应,糖酵解过程、凋亡过程中线粒体的变化等与线粒体功能相关的生物过程中,在细胞质基质、细胞核、细胞质等细胞组分,主要参与蛋白质结合、金属离子结合、相同蛋白结合、ATP结合等分子功能。

KEGG的结果(图3A)表明($P < 0.05$),差异基因显著富集在代谢通路、氨基酸合成、碳代谢、辅酶生物合成等与线粒体功能相关的通路中。KEGG富集二级分类图(图3B)显示差异基因主要富集在代谢通路(148个)、氨基酸合成(21个)、碳代谢通路(21个)、HIF-1 α 信号通路(22个)、NOD样受体信号通路(24个);与细胞中铁死亡、细胞衰老、吞噬凋亡细胞和细胞周期方面相关;与疾病中的癌症(90个)相关,提示差异基因主要与细胞的代谢和线粒体功能相关。

2.3 差异基因与线粒体功能相关的交集基因的GO与KEGG富集分析

将差异基因与线粒体功能相关基因进行关联,得到51个交集基因(图4),对差异基因与线粒体功能相关的交集基因进行GO和KEGG富集分析。GO富集结果表明($P < 0.05$),交集基因显著富集在L-丙氨酸分解过程、涉及蛋白质定位到线粒体的蛋白质加工、细胞对氧化应激的响应,以及线粒体基因组的维持等,主要参与线粒体基质、线粒体内膜细胞组成,与蛋白质的结合、ATP的结合、肽酶活

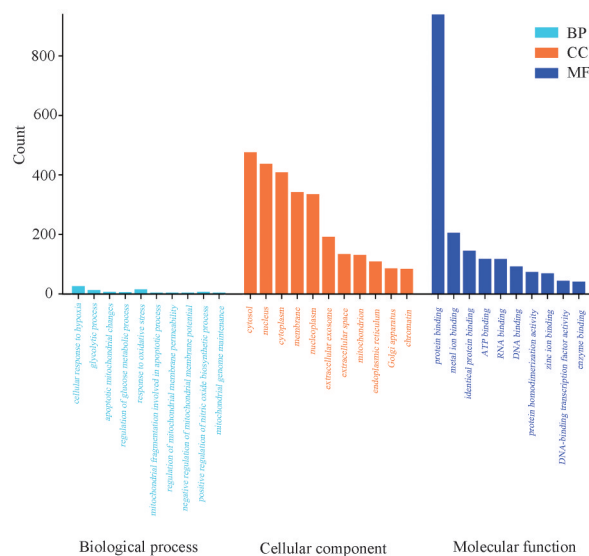


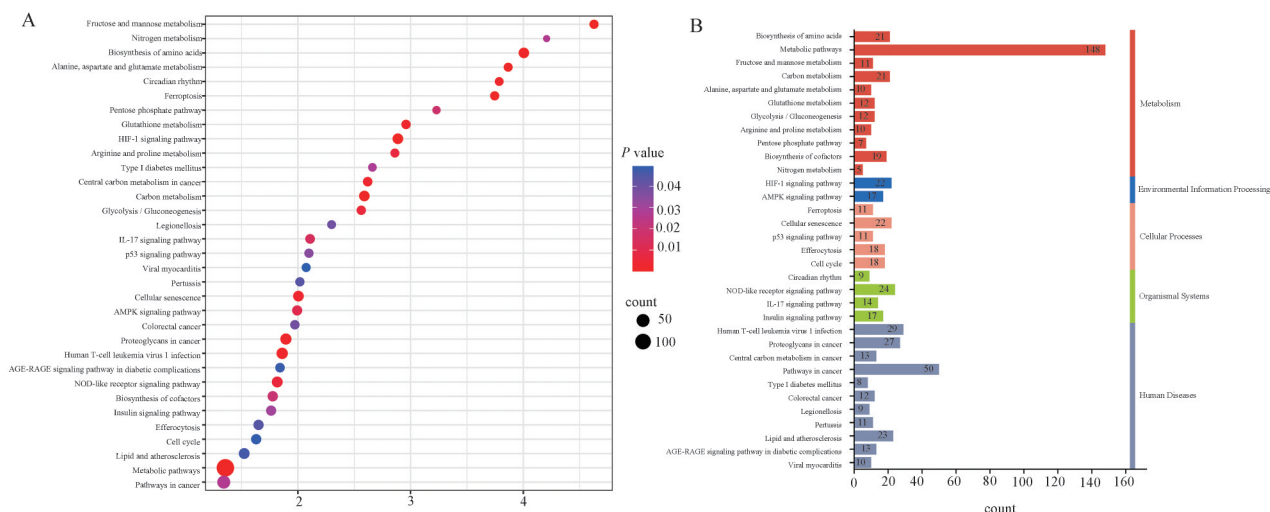
图2 差异基因的GO注释图

Fig 2 GO annotation chart of differential genes

性、蛋白质折叠伴侣的结合等分子功能相关。KEGG通路富集结果表明差异基因与线粒体功能相关的交集基因主要富集在碳代谢等与线粒体功能相关的通路中($P < 0.05$),见图5、6。

2.4 差异基因与线粒体功能相关交集基因PPI网络构建及基因验证

为了确定差异基因与线粒体功能相关的交集基因中的关键基因,本研究采用SRTING数据库以及Cytoscape软件绘制差异基因与线粒体功能相关基因交集基因的蛋白互作网络(PPI),剔除无相互



A: 差异基因的KEGG气泡图; B: 差异基因的KEGG二级分类

图3 差异基因的KEGG富集分析

Fig 3 KEGG enrichment analysis of differential genes

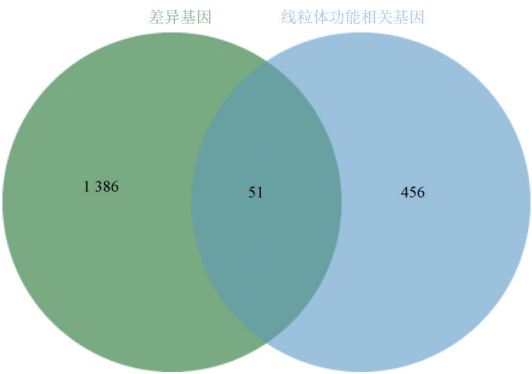


图 4 差异基因与线粒体功能相关的交集基因的韦恩图
Fig 4 Venn diagram of intersection genes between differential genes and genes related to mitochondrial function

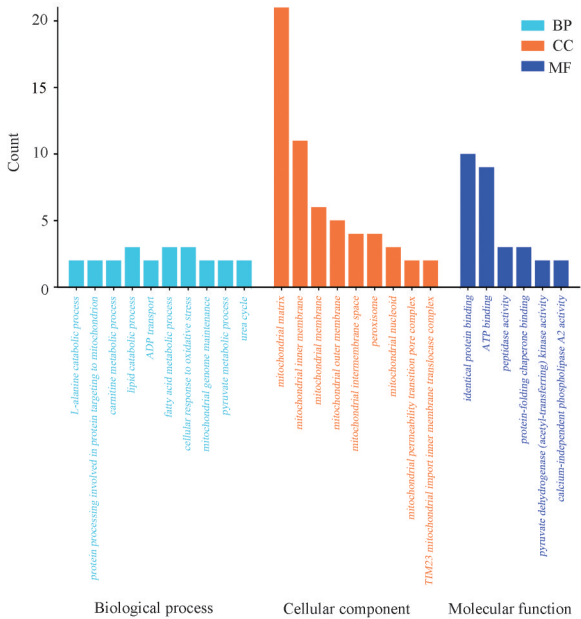


图 5 差异基因与线粒体功能相关的交集基因的GO注释图
Fig 5 GO annotation chart of intersecting genes between differential genes and genes related to mitochondrial function

作用的蛋白质后,得到PPI图(图7),该图由39个基因与162条边组成,根据Betweenness(BC)排序筛选出两个关键基因FH和HSPD1,提示FH和HSPD1对肝细胞线粒体功能具有重要调控作用。与常氧组相比,低氧组中FH和HSPD1的mRNA和蛋白表达量均上调($P<0.05$)(图8A、B)。

2.5 碳代谢通路的KEGG富集分析及基因验证

由于差异基因与差异基因与线粒体功能相关的交集基因的KEGG富集分析结果均表明与碳代谢相关,因此本研究对碳代谢通路中所涉及的基因

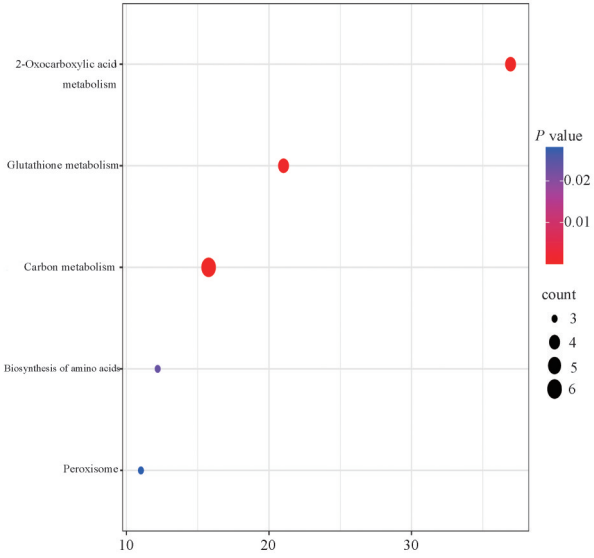


图 6 差异基因与线粒体功能相关的交集基因的KEGG富集分析气泡图
Fig 6 KEGG enrichment analysis bubble chart of intersecting genes between differential genes and genes related to mitochondrial function

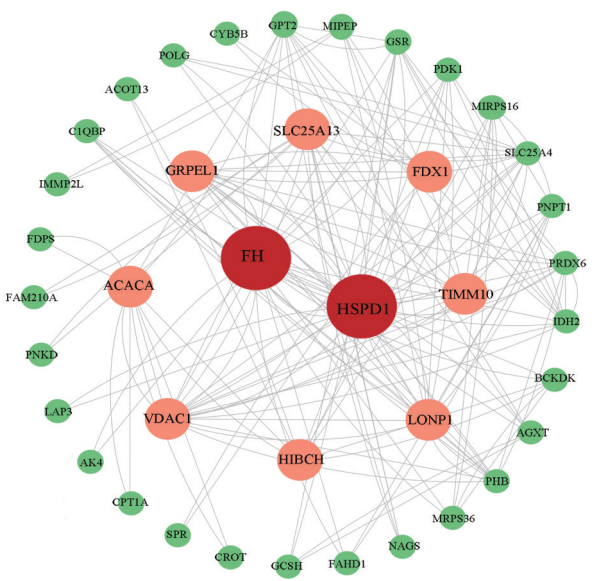


图 7 差异基因与线粒体功能相关基因交集基因的PPI图
Fig 7 PPI network of intersecting genes between differential genes and genes related to mitochondrial function

进行进一步分析,由图9可知,甘氨酸切割系统H蛋白(GCSH)、丙氨酸-乙醛酸转氨酶(AGXT)、FH、谷氨酸-丙酮酸转氨酶2(GPT2)、异柠檬酸脱氢酶2(IDH2)、3-羟基异丁酰辅酶A水解酶(HIBCH)6个基因参与碳代谢通路。RT-qPCR结果显示(图10A),所参与的基因在常氧组与低氧组表达均有显

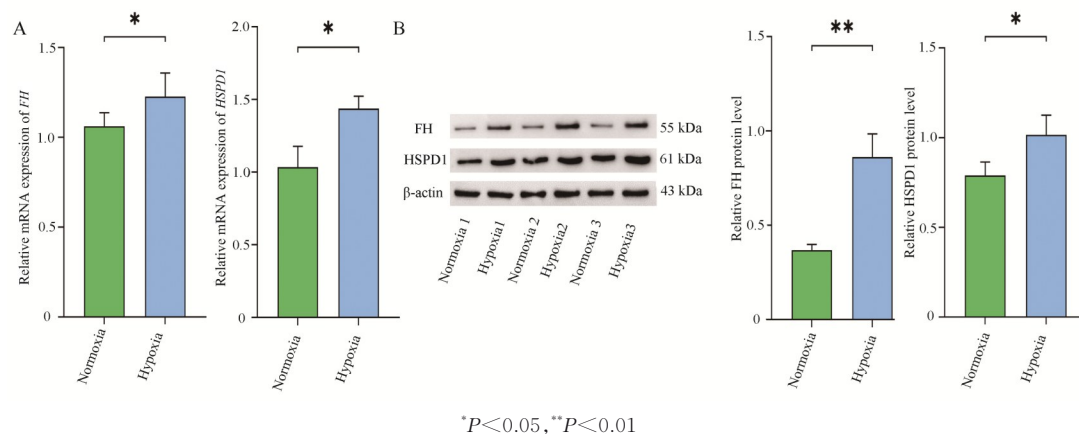


图 8 *FH*和*HSPD1*基因的 mRNA 表达量(A)和蛋白表达量(B)

Fig 8 The mRNA expressions(A) and protein expressions(B) of *FH* and *HSPD1* genes

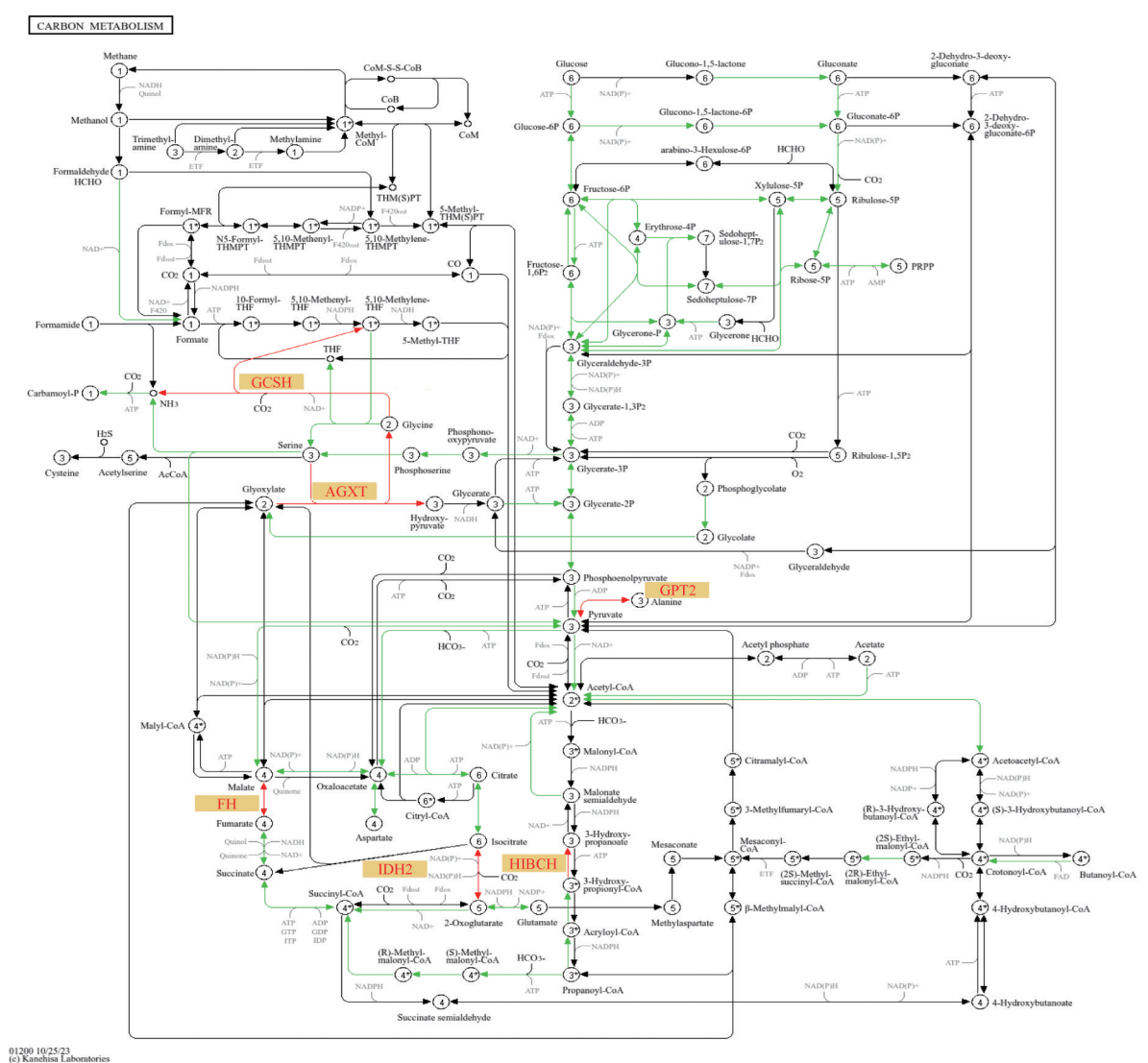


图 9 碳代谢通路的KEGG富集分析

Fig 9 KEGG enrichment analysis of carbon metabolism pathway

著差异,与测序结果一致(图10B),表明实验结果可靠($P<0.05$)。表明 *GCSH*, *AGXT*, *FH*, *GPT2*,

IDH2, *HIBCH*参与调控急性低氧下肝细胞线粒体的碳代谢通路,进而影响肝细胞的功能。

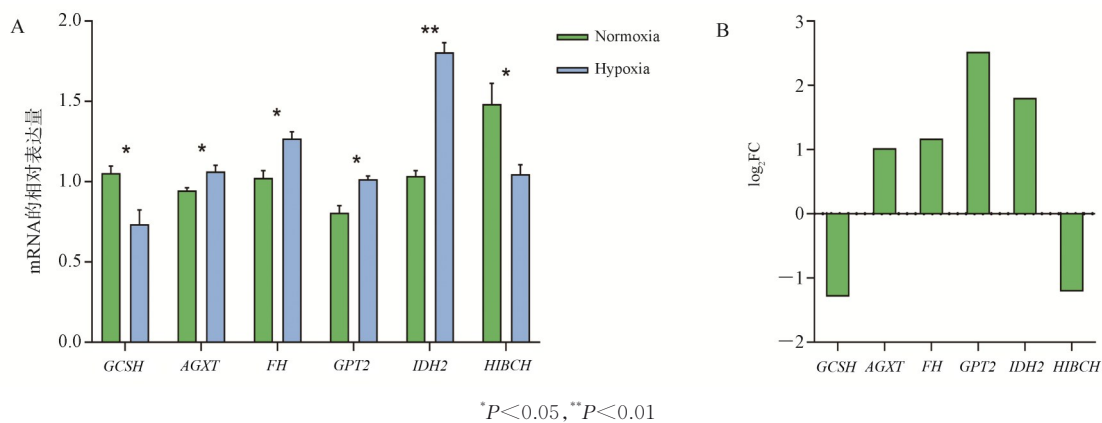


图 10 *GCSH*、*AGXT*、*FH*、*GPT2*、*IDH2*、*HIBCH* 基因的 mRNA 表达量(A)和测序结果(B)

Fig 10 The mRNA expressions(A) and sequencing results(B) of *GCSH*, *AGXT*, *FH*, *GPT2*, *IDH2*, and *HIBCH*

3 讨论

在短时间内暴露于高海拔地区,会由于空气稀薄导致低压、低氧情况的发生,低压、低氧环境会影响空气运输至线粒体从而导致氧气和能量产生和运输障碍^[13],细胞对缺氧的反应包括不同生物过程的多个基因的激活^[14]。有研究表明,HIF-2 α 可以诱导肝脏巨噬细胞中IL-6的产生从而减少急性肝损伤^[15]。然而,急性低氧对于肝细胞线粒体功能的调控作用尚不清楚。因此本研究通过构建急性低氧肝细胞模型,利用微阵列实验和生物信息学技术探究急性低氧胁迫对肝细胞线粒体功能的调控机制。

本研究共鉴定出1 437个受急性低氧影响的差异基因。这些差异基因主要富集在细胞对于缺氧的响应,糖酵解过程、凋亡过程中线粒体的变化、线粒体膜通透性的调节等与线粒体功能相关的生物过程中。KEGG 通路分析结果表明,差异基因显著富集在代谢通路、氨基酸合成、碳代谢、辅酶生物合成等与线粒体功能相关的通路中。提示急性低氧胁迫可能通过改变肝细胞中线粒体功能相关的通路适应环境。据报道,缺氧条件可以促进线粒体转移、迁移并侵袭肝细胞癌中的细胞^[16]。因此本实验接下来探究差异基因与线粒体功能相关基因的差异表达。本研究通过将差异基因与人类肝脏线粒体功能相关基因进行关联,其中39个基因与肝脏线粒体功能密切相关。差异基因与线粒体功能相关交集基因的GO功能分析主要涉及L-丙氨酸分解过程、蛋白质定位到线粒体的蛋白质加工、细胞对氧化应激的响应以及线粒体基因组的维持等功能,KEGG 富集分析结果表明急性低氧通过碳代谢通路调控肝细胞的功能。因此,急性低氧可能通过影响肝细胞线粒体功能适应环境,但仍需进一步探究。

PPI网络分析进一步筛选出了*FH*和*HSPD1*两个与线粒体功能相关的关键基因。*FH*是一种在细胞能量代谢中扮演重要角色的酶,位于线粒体基质中,参与三羧酸循环^[17]。*FH*的活性不仅与线粒体功能密切相关,而且与缺氧条件下细胞的适应有直接联系。具体来说,*FH*的活性与线粒体功能障碍、缺氧诱导因子的激活、细胞凋亡和坏死等过程密切相关^[18]。*FH*的功能缺失会导致HIF的稳定性增加,进行激活HIF信号通路,从而诱导假性缺氧并可能促进肿瘤的发生和发展^[19,20]。与*FH*一样,*HSPD1*也是调控线粒体功能的关键基因。*HSPD1*也称为HSP60,是线粒体热休克蛋白家族中的一员,作为线粒体中的伴侣蛋白,参与蛋白质折叠和对细胞应激反应的调节,还参与了亚硝酸钠诱导的DNA损伤反应^[21]。*HSPD1*的功能异常,如突变会导致线粒体功能障碍,并可能诱导线粒体自噬^[22],在非酒精性脂肪性肝炎中,*HSPD1*的表达水平显著增加^[23],这可能与疾病状态下线粒体应激反应的增强有关。此外,*HSPD1*的低表达通过破坏线粒体酶的稳定性对卵巢癌细胞的增殖和迁移产生影响^[24]。本实验结果表明急性低氧下,肝细胞中*FH*和*HSPD1*的mRNA和蛋白表达量均上调。因此,肝细胞通过上调*FH*和*HSPD1*的表达维持线粒体稳态来应对急性低氧暴露。

由于差异基因和差异基因与线粒体功能相关的基因的KEGG富集分析结果均富集到碳代谢途径中,因此接下来对线粒体碳代谢通路进行探究。碳代谢是生物体活动中最基本的代谢过程,不仅维持细胞的生长与发育^[25],还在线粒体能量代谢、氧化还原平衡等方面发挥着重要作用^[26]。线粒体作为细胞的“能量工厂”,其功能状态直接影响着细胞的正常功能。中心碳代谢途径,包括氨基酸代谢、

三羧酸循环和糖酵解等,是细胞能量代谢的核心,任何途径的异常都可能导致线粒体功能障碍,进而影响细胞的生存和功能^[27]。在急性低氧环境下,细胞必须迅速适应环境变化以维持代谢活动。研究表明,这种适应可能涉及到肝细胞线粒体中碳代谢通路的调节。已有报道指出甘氨酸切割系统H蛋白(GCSH)参与甘氨酸裂解酶系统,在一碳代谢中发挥着重要作用^[28],AGXT通过影响氨基酸代谢调节碳代谢过程^[29]。GPT2是糖酵解和谷氨酰胺分解之间的重要枢纽^[30],IDH2是线粒体中催化异柠檬酸酯的不可逆氧化脱羧反应的酶,产生 α -酮戊二酸和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸进而影响碳代谢过程^[31],HIBCH的过表达会加速异亮氨酸的降解,从而增强碳骨架对三羧酸循环的作用^[32]。基于上述研究,本研究选取并用RT-qPCR检测GCSH、AGXT、FH、GPT2、IDH2、HIBCH基因的mRNA水平,其趋势表达与测序结果一致,表明了本实验结果的可靠性。以上结果表明肝脏组织通过影响线粒体碳代谢通路中GCSH、AGXT、FH、GPT2、IDH2、HIBCH基因的表达从而适应低氧胁迫。

综上所述,本实验通过建立急性低氧细胞模型,探究急性低氧对于肝细胞的作用机制。KEGG富集分析发现急性低氧下差异基因主要显著富集在与线粒体功能相关的通路中。进一步将差异基因与线粒体功能相关基因进行关联,KEGG通路富集结果表明差异基因与线粒体功能相关的交集基因主要富集在碳代谢通路中,通过上调FH和HSPD1的表达调控线粒体的功能,进一步分析得到肝细胞通过调控GCSH、AGXT、FH、GPT2、IDH2、HIBCH基因的表达影响肝脏线粒体中碳代谢通路来适应急性低氧暴露,为进一步理解急性低氧条件下的相关疾病提供了新的视角。

作者贡献度说明:

李俊秀:实验设计、细胞培养以及文章撰写;台艳奇:细胞培养以及基础实验;邓钊红、徐金芳:文献查阅以及数据分析;胥瑾:指导研究、资金支持以及文章审阅。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

- Trefts E, Gannon M, Wasserman DH. The liver [J]. *Curr Biol*, 2017, 27(21):1147-1151.
- O'Brien KA, McNally BD, Sowton AP, et al. Enhanced hepatic respiratory capacity and altered lipid metabolism support metabolic homeostasis during short-term hypoxic stress [J]. *BMC Biol*, 2021, 19(1):265.
- Zhou Z, Xu MJ, Gao B. Hepatocytes: A key cell type for innate immunity [J]. *Cell Mol Immunol*, 2016, 13(3):301-315.
- Zhang T, Liu Q, Gao W, et al. The multifaceted regulation of mitophagy by endogenous metabolites [J]. *Autophagy*, 2022, 18(6):1216-1239.
- Xu W, Janocha AJ, Erzurum SC. Metabolism in pulmonary hypertension [J]. *Annu Rev Physiol*, 2021, 83:551-576.
- Ham PB 3rd, Raju R. Mitochondrial function in hypoxic ischemic injury and influence of aging [J]. *Prog Neurobiol*, 2017, 157:92-116.
- Chen L, Zhou M, Li H, et al. Mitochondrial heterogeneity in diseases [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1):311.
- Ma X, McKee T, Zhang J, et al. Role and mechanisms of mitophagy in liver diseases [J]. *Cells*, 2020, 9(4):837.
- Aryapour E, Kietzmann T. Mitochondria, mitophagy, and the role of deubiquitinases as novel therapeutic targets in liver pathology [J]. *J Cell Biochem*, 2022, 123(10):1634-1646.
- Zhuonan Z, Sen G, Zhipeng J, et al. Hypoxia preconditioning induced HIF-1 α promotes glucose metabolism and protects mitochondria in liver I/R injury [J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2015, 39(5):610-619.
- 陈晓晨, 胡英, 许玉珍, 等. 高原低氧环境抑制小鼠脾脏组织碳代谢的分子机制 [J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2024, 45(5):806-817.
- Chen XC, Hu Y, Xu YZ, et al. Molecular mechanism of carbon metabolism inhibition in spleen tissues of mice under high altitude hypoxia environment [J]. *J Sun Yat-sen Univ (Med Sci)*, 2024, 45(5):806-817.
- Otasek D, Morris JH, Bouças J, et al. Cytoscape automation: Empowering workflow-based network analysis [J]. *Genome Biol*, 2019, 20(1):185.
- Luks AM, Swenson ER, Bärtsch P. Acute high-altitude sickness [J]. *Eur Respir Rev*, 2017, 26(143):160096.
- Nakayama K, Kataoka N. Regulation of gene expression under hypoxic conditions [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13):3278.
- Gao R Y, Wang M, Liu Q, et al. Hypoxia-inducible factor-2 α reprograms liver macrophages to protect against acute liver injury through the production of Interleukin-6 [J]. *Hepatology*, 2020, 71(6):2105-2117.
- Jing M, Xiong X, Mao X, et al. HMGB1 promotes mitochondrial transfer between hepatocellular carcinoma cells through RHOT1 and RAC1 under hypoxia [J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(2):155.

- 17 Dik E, Naamati A, Asraf H, et al. Human fumarate hydratase is dual localized by an alternative transcription initiation mechanism[J]. *Traffic*, 2016, 17(7):720-732.
- 18 Laustsen C, Nielsen PM, Qi H, et al. Hyperpolarized [1, 4-(13) C] fumarate imaging detects microvascular complications and hypoxia mediated cell death in diabetic nephropathy[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):9650.
- 19 Wang Y, Liu B, Li F, et al. The connection between tricarboxylic acid cycle enzyme mutations and pseudohypoxic signaling in pheochromocytoma and paraganglioma [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14:1274239.
- 20 Luo H, Wang Q, Yang F, et al. Signaling metabolite succinylacetone activates HIF-1 α and promotes angiogenesis in GSTZ1-deficient hepatocellular carcinoma [J]. *JCI Insight*, 2023, 8(23):e164968.
- 21 Zheng X, Chang S, Liu Y, et al. Human mitochondrial protein HSPD1 binds to and regulates the repair of deoxyinosine in DNA [J]. *J Proteome Res*, 2023, 22(4):1339-1346.
- 22 Enomoto H, Mittal N, Inomata T, et al. Dilated cardiomyopathy-linked heat shock protein family D member 1 mutations cause up-regulation of reactive oxygen species and autophagy through mitochondrial dysfunction [J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(4):1118-1131.
- 23 Albadawy R, Agwa SHA, Khairy E, et al. Clinical significance of HSPD1/MMP14/ITGB1/miR-6881-5P/Lnc-SPARCL1-1: 2 RNA panel in NAFLD/NASH diagnosis: Egyptian pilot study[J]. *Biomedicines*, 2021, 9(9):1248.
- 24 Duan Y, Yu J, Chen M, et al. Knockdown of heat shock protein family D member 1 (HSPD1) promotes proliferation and migration of ovarian cancer cells *via* disrupting the stability of mitochondrial 3-oxoacyl-ACP synthase (OXSM)[J]. *J Ovarian Res*, 2023, 16(1):91.
- 25 Wu Z, Liang X, Li M, et al. Advances in the optimization of central carbon metabolism in metabolic engineering[J]. *Microb Cell Fact*, 2023, 22(1):76.
- 26 Xia H, Huang Z, Xu Y, et al. Reprogramming of central carbon metabolism in hepatocellular carcinoma [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 153:113485.
- 27 Anandhan A, Jacome MS, Lei S, et al. Metabolic dysfunction in Parkinson's disease: Bioenergetics, redox homeostasis and central carbon metabolism [J]. *Brain Res Bull*, 2017, 133:12-30.
- 28 Arribas-Carreira L, Dallabona C, Swanson MA, et al. Pathogenic variants in GCSH encoding the moonlighting H-protein cause combined nonketotic hyperglycinemia and lipoate deficiency [J]. *Hum Mol Genet*, 2023, 32(6):917-933.
- 29 Liu Y, Zhao Y, Shukha Y, et al. Dysregulated oxalate metabolism is a driver and therapeutic target in atherosclerosis[J]. *Cell Rep*, 2021, 36(4):109420.
- 30 Mitra D, Vega-Rubin-De-Celis S, Royla N, et al. Abrogating GPT2 in triple-negative breast cancer inhibits tumor growth and promotes autophagy [J]. *Int J Cancer*, 2021, 148(8):1993-2009.
- 31 Ivanov S, Nano O, Hana C, et al. Molecular targeting of the isocitrate dehydrogenase pathway and the implications for cancer therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(13):7337.
- 32 Pan Y, Yang J, Gong Y, et al. 3-Hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase involved in isoleucine catabolism regulates triacylglycerol accumulation in *Phaeodactylum tricornutum* [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2017, 372(1728):20160409.

[本文编辑] 朱金月