

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20250327.002

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20250327.1138.004>

缺氧相关基因 *FHDC1* 对肝癌细胞增殖、侵袭转移及糖酵解能力的影响

夏会东¹, 梁念孩¹, 杨伟², 摆茹¹✉

(1. 宁夏医科大学基础医学院, 宁夏 银川 750004; 2. 宁夏中西医结合医院, 宁夏 银川 750021)

[摘要] **目的:** 分析缺氧相关基因 FH2 domain containing 1 (*FHDC1*) 对肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 细胞增殖、迁移、侵袭及糖酵解能力的影响。 **方法:** Western blot 检测缺氧诱导因子 1 α (*HIF-1 α*) 敲除的人肝癌细胞 HepG2 中 *HIF-1 α* 与 *FHDC1* 的蛋白表达水平。采用慢病毒感染的方法分别构建稳定过表达和敲除 *FHDC1* 的肝癌细胞株 HepG2 和 Hep3B, 在常氧和缺氧条件下分别利用 CCK-8、平板克隆形成实验、Transwell 迁移与侵袭实验检测 *FHDC1* 对 HepG2 和 Hep3B 细胞增殖、迁移与侵袭能力的影响。Western blot 检测常氧与缺氧条件下 *FHDC1* 对 HepG2 和 Hep3B 细胞糖酵解关键蛋白: 葡萄糖转运体 1 (glucose transporter 1, GLUT1)、丙酮酸激酶 M2 (pyruvate kinase M2, PKM2) 和乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDHA) 表达的影响。 **结果:** 常氧及缺氧条件下, *FHDC1* 在 *HIF-1 α* 敲除的 HepG2 细胞中表达均下调。常氧及缺氧条件下, 与相应对照组比较, *FHDC1* 过表达均可增强肝癌细胞 HepG2 和 Hep3B 的增殖、迁移与侵袭能力; 而敲除 *FHDC1* 后, 2 种肝癌细胞的增殖、迁移与侵袭能力均降低 ($P < 0.05$)。常氧及缺氧条件下, *FHDC1* 过表达的 HepG2 和 Hep3B 细胞中 GLUT1、PKM2 和 LDHA 的表达均上升; 而在 2 种肝癌细胞中敲除 *FHDC1* 后, GLUT1、PKM2 和 LDHA 的表达均降低 ($P < 0.05$)。 **结论:** 在肝癌细胞中 *HIF-1 α* 可调控 *FHDC1* 的表达, *FHDC1* 能够增强肝癌细胞的增殖、迁移与侵袭能力, 并促进肝癌细胞糖酵解相关蛋白的表达。

[关键词] 肝细胞癌; *FHDC1*; 缺氧; 迁移; 侵袭; 糖酵解

[中图分类号] R735.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2026)15-1147-08

The effect of hypoxia-related gene *FHDC1* on progression, migration, invasion and glycolysis of hepatocellular carcinoma cells

XIA Huidong¹, LIANG Nianhai¹, YANG Wei², BAI Ru¹✉

(1. Basic Medical College, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 2. Ningxia Hospital of Integrated of Traditional Medicine and Western Medicine, Yinchuan 750021, China)

[Foundation Project]: This study was supported by the Natural Science Foundation of Ningxia (2023AAC03721)

[Author]: XIA Huidong, E-mail: xiahuidong2022sa@163.com.

[Correspondence to]: BAI Ru, Ph.D., Professor, E-mail: bairu@nxmu.edu.cn.

Received: 2024-12-11

Revised: 2025-03-12

JHMu, 2026;32(15);1147-1154

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

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of hypoxia-related gene FH2 domain containing 1 (*FHDC1*) on progression, migration, invasion and glycolysis of hepatocellular carcinoma (HCC) cells. **Methods:** Western blot was used to detect the protein expression of *HIF-1 α* and *FHDC1* in HepG2 cells after hypoxia-inducible factor 1- α (*HIF-1 α*) knocked out. Hepatoma cell lines HepG2 and Hep3B with stable overexpression and knockout of *FHDC1* were constructed by lentiviral transfection, respectively. CCK-8, plate colony formation assay, Transwell migration and invasion assay were used to detect the effects of *FHDC1* on the proliferation, migration, and invasion of HepG2 and Hep3B cells under normoxia and hypoxia. Western blot was used to investigate the effects of *FHDC1* under normoxic and hypoxic conditions on the expression of key glycolytic proteins in HepG2 and Hep3B cells: glucose transporter 1 (GLUT1), pyruvate kinase M2 (PKM2), and lactate dehydrogenase (LDHA). **Results:** The expression of *FHDC1* was downregulated in HepG2 cells with *HIF-1 α* -knockout under normoxia and hypoxia. Whether nor-

[基金项目] 宁夏自然科学基金(2023AAC03721)

[作者简介] 夏会东, E-mail: xiahuidong2022sa@163.com。

[通讯作者] 摆茹, 博士, 教授, E-mail: bairu@nxmu.edu.cn。

[收稿日期] 2024-12-11

[修回日期] 2025-03-12

网络出版时间: 2025-03-27 14:06:19

moxia or hypoxia, compared to the corresponding control groups, overexpression of *FHDC1* could enhance the proliferation, migration, and invasion of HepG2 and Hep3B cells. Conversely, the proliferation, migration, and invasion of HepG2 and Hep3B cells were decreased after knockout of *FHDC1*. Under normoxia and hypoxia, the expressions of GLUT1, PKM2, and LDHA was increased in *FHDC1*-overexpressed HepG2 and Hep3B cells; While after knockout of *FHDC1*, the expressions of GLUT1, PKM2, and LDHA was decreased in HepG2 and Hep3B cells ($P < 0.05$). **Conclusion:** HIF-1 α regulates *FHDC1* expression in HCC cells. *FHDC1*, in turn, enhances the proliferation, migration, and invasion of HCC cells, and promotes the expression of glycolysis-related proteins.

[Key words] Hepatocellular carcinoma; *FHDC1*; Hypoxia; Migration; Invasion; Glycolysis

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是消化系统常见的恶性肿瘤之一。2024年的一项全球癌症统计数据显示:该年我国肝癌新发病例36.7万例,肝癌死亡病例31.6万例,在癌症导致的死亡人群中,肝癌占比仅次于肺癌^[1]。由于肝细胞癌内存在缺氧现象,促进缺氧诱导因子1 α (hypoxia-inducible factor 1 α , HIF-1 α)降解的酶的活性被抑制,使得HIF-1 α 得以稳定存在并活化。HIF-1 α 活化后能调控一些缺氧相关基因的表达,从而促进细胞增殖与转移等过程^[2]。有学者发现低氧时HIF-1 α 通过调控甲基转移酶16(methyltransferase-like protein 16, METTL16)的表达,最终促进肝细胞癌的转移^[3]。HIF-1 α 可直接结合到第237号跨膜蛋白(transmembrane protein 237, TMEM237)这一肝细胞癌的新型缺氧应答基因的启动子上,活化其表达从而促进肝细胞癌的增殖、迁移和侵袭^[4]。然而,其他参与调控肝细胞癌发生、发展的缺氧相关基因仍需深入研究。

FH2 domain containing 1(*FHDC1*)是细胞骨骼重塑蛋白Formin家族中特有的微管结合成员,内源性*FHDC1*结合于纤毛基部的细胞质微管,在正常纤毛组装过程中发挥协调细胞骨架动力学的作用,因而在细胞运动、物质运输等方面发挥重要作用^[5]。有文献报道*FHDC1*与胰腺癌患者临床预后密切相关^[6]。本课题组前期研究发现*FHDC1*在肝细胞癌中高表达,且与肝细胞癌不良预后及免疫微环境相关,具有成为肝细胞癌预后分子标志物的潜力^[7]。本研究通过构建稳定过表达及敲除*FHDC1*的肝癌细胞株,分别在常氧及缺氧条件下检测*FHDC1*对肝癌细胞的增殖、迁移、侵袭能力以及细胞糖酵解关键蛋白表达的影响,以期了解*FHDC1*在肝细胞癌缺氧微环境中的作用,为揭示*FHDC1*在肝细胞癌中的作用与潜在的分子机制提供实验和理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

HepG2和Hep3B肝癌细胞购自中国医学科学院肿瘤医院研究所,HIF-1 α 敲除细胞与其相应作为对照的

HepG2细胞(LacZ)为课题组前期构建,六水合氯化钴购自德国默克公司。青链霉素混合液、BCA蛋白浓度测定试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司,胎牛血清购自苏州依科赛生物科技股份有限公司,DMEM高糖培养基购自武汉普诺赛生命科技有限公司。兔抗*FHDC1*抗体购自英国biorbyt公司,兔抗HIF-1 α 抗体购自美国Affinity Biosciences公司,兔抗PKM2、GLUT1、LDHA抗体购自武汉三鹰,兔抗 β -actin抗体、山羊抗兔IgG购自北京博奥森公司。嘌呤霉素购自大连美仑生物技术有限公司。CCK-8溶液购自美国APEX-BIO公司,4%多聚甲醛固定液购自北京兰杰柯生物公司,Matrigel基质胶购自美国康宁。

1.2 细胞培养

HepG2细胞培养于含10%胎牛血清、1%青链霉素的DMEM高糖完全培养基;Hep3B细胞培养于含15%胎牛血清、1%青链霉素的DMEM高糖完全培养基,置于37℃、5%CO₂培养箱进行培养。细胞汇合度达到80%左右即可传代。配制缺氧诱导培养基时,取11.9 mg氯化钴充分溶解于100 mL完全培养基中,配制成500 μ mol/L的母液。细胞缺氧模拟处理时,用5倍稀释并过滤的完全培养基(氯化钴浓度:100 μ mol/L)培养细胞,细胞置入37℃、5%CO₂培养箱孵育24 h即可用于后续实验。

1.3 Western blot

HIF-1 α 敲除(HIF-1 α -KO)组与相应对照HepG2细胞(LacZ)组,*FHDC1*过表达(*FHDC1*-OE)组与相应对照(Vector)组,*FHDC1*敲除(*FHDC1*-KO-2)组与相应对照(LacZ)组的HepG2和(或)Hep3B细胞以 9×10^4 个每孔接种于6孔板,培养24 h后分为常氧组和缺氧组,对应更换完全培养基,继续培养24 h,且状态良好时提取蛋白进行BCA定量,对应加入Loading Buffer,100℃煮10 min备用。依次配制分离胶、浓缩胶,配制电泳液。电泳槽中加入电泳液后按顺序上样,设置电压为80 V全程电泳。电泳快结束时配制转膜液,待电泳结束后开始转膜,400 mA恒流转膜30 min。转膜结束时,使用无蛋白快速封闭液封闭25 min,TBST洗膜

3次,每次10 min。对应加入 *FHDC1* (1:200)、*HIF-1 α* (1:2000)、 β -actin (1:10000)、PKM2 (1:2000)、GLUT1 (1:5000) 和 LDHA (1:5000) 一抗,冰箱4℃孵育12~16 h。次日摇床室温孵育30 min, TBST洗膜3次,每次10 min,弃去TBST。加入山羊抗兔二抗 (1:5000),摇床室温孵育2 h。TBST洗膜3次,每次10 min, ECL法曝光。条带使用ImageJ软件进行灰度分析。

1.4 构建稳定过表达及敲除 *FHDC1* 的肝癌细胞株

FHDC1 过表达及敲除质粒 sgRNA 引物由上海生工生物有限公司构建合成。*FHDC1* sgRNA-2 F: 5'-CACC GGGT CACGCCAGAACTCCGTG-3'; *FHDC1* sgRNA-2 R: 5'-AAACCACGGAGTTCTGGCGTGACCC-3'。通过在线设计网站 (<http://chopchop.cbu.uib.no>) 选取最佳引物序列,并与 *FHDC1* 基因对应 CDs 序列核对,在载体酶切位点序列后设计 sgRNA。借助基因编辑工具载体 lentiCRISPRv2 (52961) 构建 *FHDC1* 基因敲除、过表达质粒。将 *FHDC1* 过表达质粒及其对照空载体质粒, *FHDC1* 基因敲除质粒及 LacZ 空载体质粒转染到感受态细胞 DH5 α 后提取并进行测序验证。利用 HEK 293T 细胞扩增并提取质粒,随后包装慢病毒并分别转染 HepG2 和 Hep3B 细胞,2 μ g/mL 嘌呤霉素进行筛选, Western blot 检测 *FHDC1* 的表达。

1.5 细胞活力检测

取生长状态良好的 Vector 组、*FHDC1*-OE 组、LacZ 组、*FHDC1*-KO-2 组的 HepG2 和 Hep3B 细胞以 4×10^3 个每孔接种于 96 孔板,于 37℃、5% CO₂ 恒温培养箱中培养贴壁后,再将各组细胞分为常氧与缺氧组,加入相应的培养基培养 24 或 48 h。每孔加入 10 μ L CCK-8 试剂,于细胞培养箱内孵育 2 h 后,在酶标仪 450 nm 处检测吸光度。计算细胞活力,细胞活力 (%) = [(试验孔 - 空白孔) ÷ (对照孔 - 空白孔)] × 100%。

1.6 平板克隆形成实验

按 6×10^2 个每孔将细胞均匀接种到 6 孔板,每 3 天更换 1 次完全培养基。待孔内长出肉眼可见的单细胞克隆时,使用浓度为 4% 的多聚甲醛室温固定细胞 20 min,弃去固定液,用 1% 结晶紫溶液染色 20 min,清水洗去结晶紫染液,室温干燥。计数每孔克隆数,克隆形成率 (%) = 克隆形成数 ÷ 接种细胞数 × 100%。

1.7 Transwell 迁移与侵袭实验

Transwell 迁移实验:在 24 孔板底部加入 600 μ L 的 DME 高糖完全培养基,将小室放入孔板,避免

产生气泡。Transwell 小室中加入 200 μ L 制备好的细胞悬液,细胞数量为 2×10^4 个每孔。于 37℃ 恒温培养箱中培养 24 h 后取出小室,弃去培养基, PBS 润洗 2 次,使用纱布擦去小室中未迁移的细胞,加入浓度为 4% 的多聚甲醛 800 μ L,固定细胞 20 min。弃去多聚甲醛固定液, PBS 润洗 2 次,加入 0.1% 的结晶紫染色 25 min,弃去结晶紫, PBS 润洗 2 次。室温干燥后,显微镜下拍照并计数。

Transwell 侵袭实验:在小室底部加入基质胶,向顶室中加入 100 μ L 细胞悬液,细胞数约为 1×10^5 个,将 DME 高糖完全培养基加入基底腔室。37℃ 恒温培养箱孵育 48 h 后,用棉签擦拭 Transwell 小室的无创细胞,固定、染色、计数同 Transwell 迁移实验。

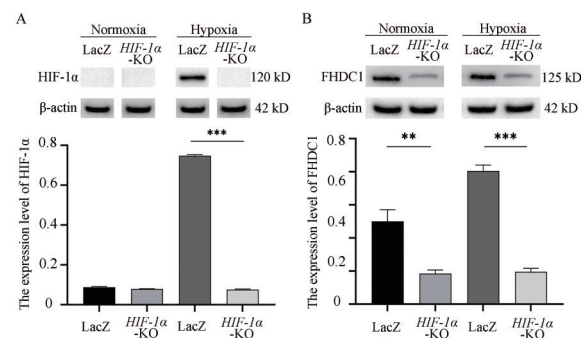
1.8 统计学处理

采用 SPSS 23.0 统计软件分析数据,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两两比较时采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 *FHDC1* 在 *HIF-1 α* 敲除的肝癌细胞中表达下调

为明确 *HIF-1 α* 在肝癌细胞中对 *FHDC1* 表达的调控,在 HepG2 细胞中敲除 *HIF-1 α* 后检测 *FHDC1* 表达水平的变化。首先通过 Western blot 实验检测 *HIF-1 α* 的敲除效果,在常氧和缺氧条件下,与对照组 (LacZ) 比较, HepG2 细胞中 *HIF-1 α* 几乎不表达 ($P < 0.001$),表明 *HIF-1 α* 在 HepG2 细胞中敲除成功 (图 1A)。在 *HIF-1 α* 敲除的 HepG2 细胞中,进一步检测 *FHDC1* 的蛋白表达情况。结果显示,无论在常氧还是缺氧条件下,与对照组 (LacZ) 比较,在 HepG2 细胞中敲除 *HIF-1 α* 后, *FHDC1* 的蛋白表达水平均明显降低 ($P < 0.01$) (图 1B)。这提示在肝癌细胞中 *HIF-1 α* 可调控 *FHDC1* 的表达。



A 和 B: Western blot 法分别检测 *HIF-1 α* 敲除的 HepG2 细胞在常氧及缺氧时 *HIF-1 α* 和 *FHDC1* 蛋白条带图和对应的统计分析; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

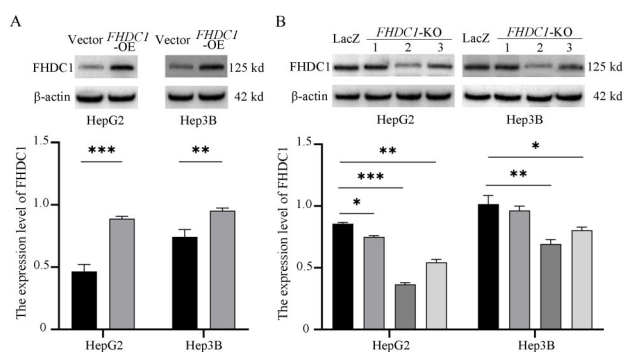
图1 *FHDC1* 在 *HIF-1 α* 敲除的 HepG2 细胞中的表达
Fig 1 The expression of *FHDC1* in HepG2 cells with *HIF-1 α* knockout

2.2 成功构建稳定过表达和敲除 *FHDC1* 的肝癌细胞株

分别构建过表达和敲除 *FHDC1* 的慢病毒表达载体,并转染 HepG2 和 Hep3B 细胞,筛选稳定过表达和敲除 *FHDC1* 的肝癌细胞株。随后,在蛋白水平分别对 2 种细胞进行验证。HepG2 和 Hep3B 细胞中过表达 *FHDC1* 后,与相应空载体对照组 (Vector) 比较, *FHDC1* 的蛋白水平明显升高 ($P < 0.01$) (图 2A)。而在 3 个不同位点分别敲除 *FHDC1* 后, HepG2 和 Hep3B 细胞中 *FHDC1* 的蛋白水平相比于敲除对照组 (LacZ) 均有不同程度的降低 ($P < 0.05$),其中 *FHDC1*-KO-2 组在 2 种细胞中敲除效果均较明显 ($P < 0.01$) (图 2B)。因此,后续相关实验均使用该 *FHDC1*-KO-2 组的肝癌细胞进行。

2.3 *FHDC1* 促进肝癌细胞的增殖

在过表达和敲除 *FHDC1* 的 HepG2 和 Hep3B 细胞中,利用 CCK-8 和平板集落形成实验分别检测不同氧气条件下肝癌细胞的增殖水平。CCK-8 结

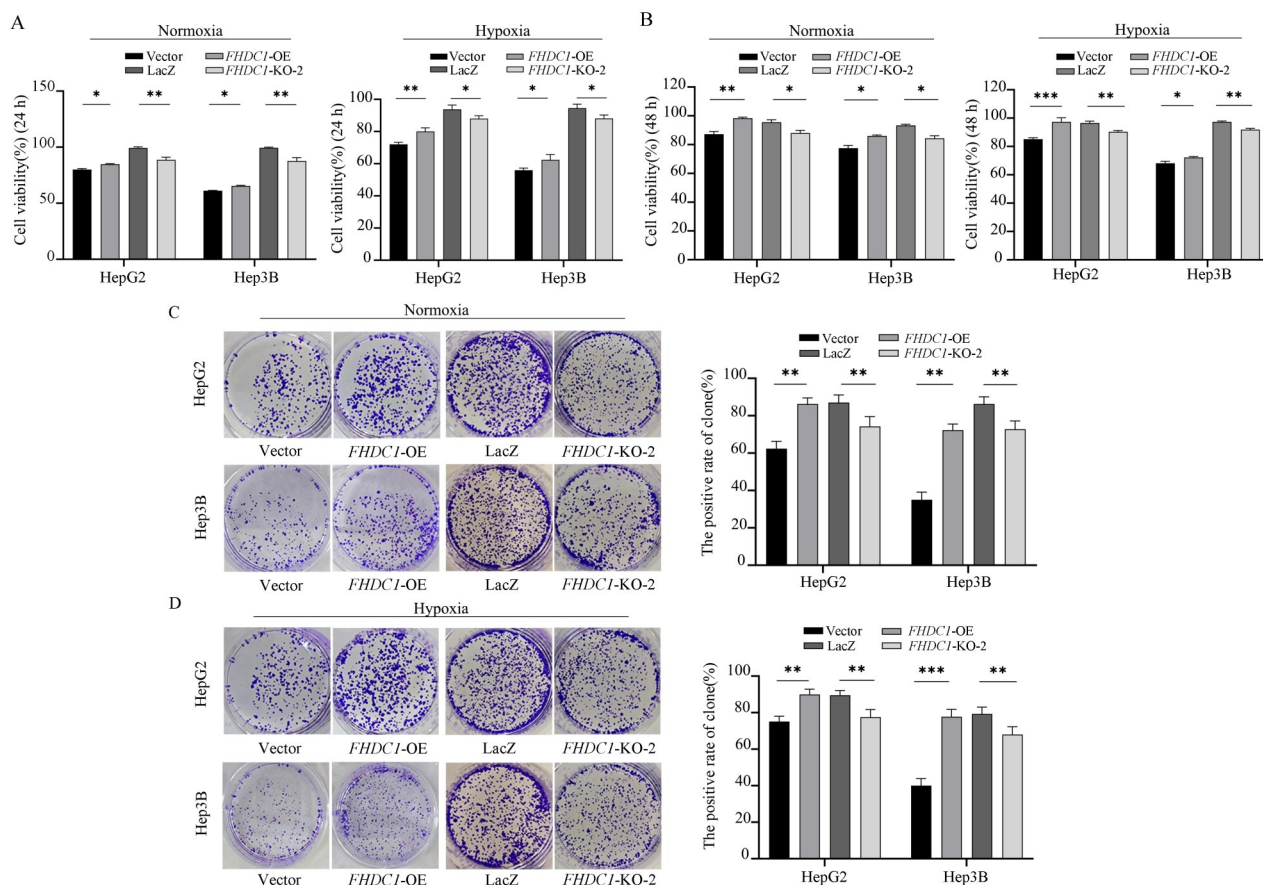


A 和 B: 在 HepG2 和 Hep3B 细胞中分别过表达或敲除 *FHDC1* 后, Western blot 检测 *FHDC1* 表达情况; $P < 0.05$, $**P < 0.01$, $***P < 0.001$

图 2 构建稳定过表达和敲除 *FHDC1* 的肝癌细胞株

Fig 2 The construction of HCC cell lines with stable over-expression and knockdown of *FHDC1*

果显示,在常氧和缺氧条件下,过表达 *FHDC1* 的 2 种肝癌细胞的细胞活力在 24 (图 3A) 及 48 h (图 3B) 时,相比于对照组均有不同程度的增加 ($P < 0.05$); 而敲除 *FHDC1* 的 2 种肝癌细胞与相应对照组比较,



A 和 B: 常氧及缺氧条件下, CCK-8 实验分别检测过表达及敲除 *FHDC1* 的 HepG2 和 Hep3B 细胞在 24 h 和 48 h 时的细胞活力。C 和 D: 常氧及缺氧条件下, 平板克隆形成实验检测过表达及敲除 *FHDC1* 的 2 种肝癌细胞的平板克隆结果及统计图; $P < 0.05$, $**P < 0.01$, $***P < 0.001$

图 3 *FHDC1* 在常氧和缺氧条件下对肝癌细胞增殖的影响

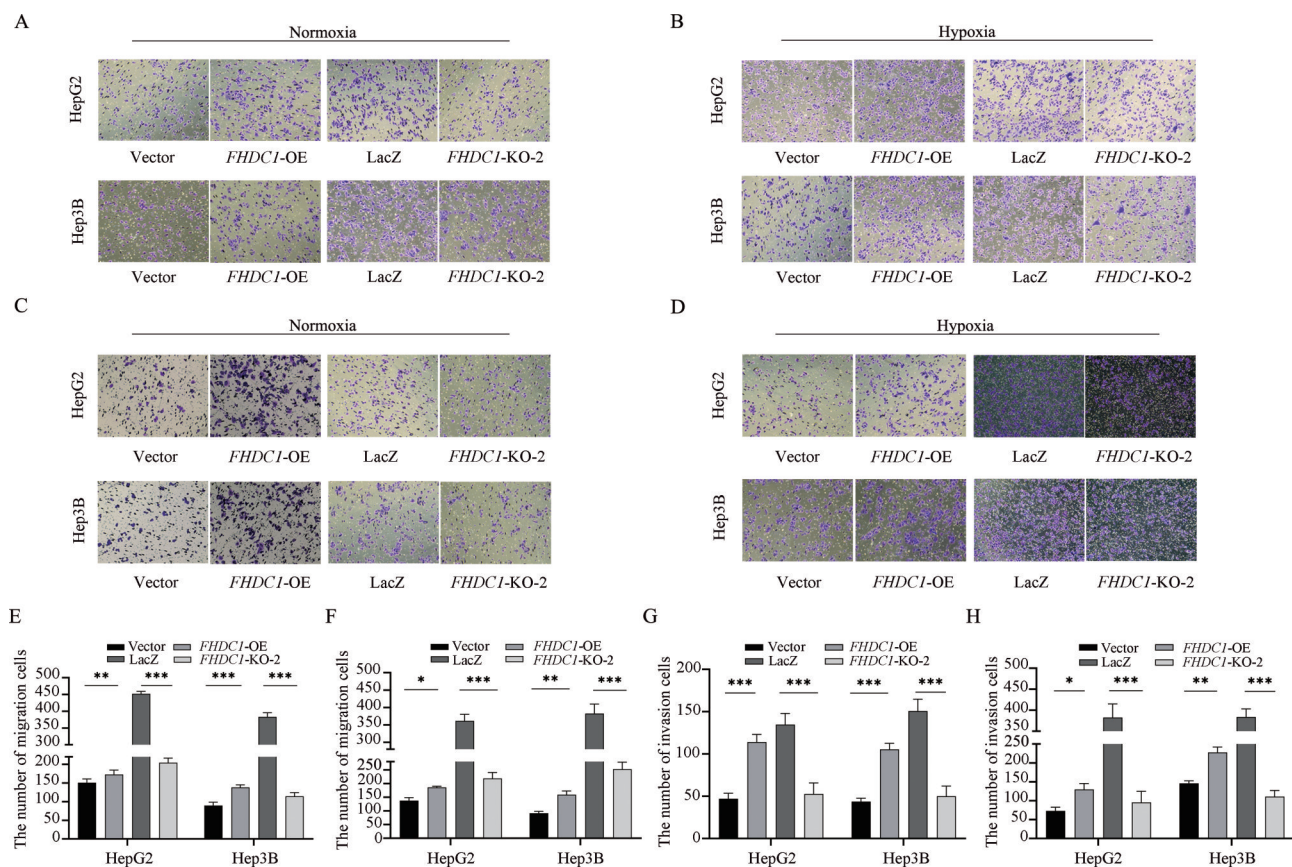
Fig 3 The effects of *FHDC1* on proliferation of HCC cells under normoxia and hypoxia

细胞活力在 2 个时间点均有不同程度的降低 ($P < 0.05$)。平板克隆实验结果显示 (图 3C、D), 在常氧和缺氧条件下, 过表达 *FHDC1* 可增强 2 种肝癌细胞的克隆形成能力 ($P < 0.01$), 而敲除 *FHDC1* 则抑制 2 种肝癌细胞的克隆形成能力 ($P < 0.01$)。

2.4 *FHDC1* 促进肝癌细胞迁移和侵袭

进一步检测 *FHDC1* 对肝癌细胞迁移侵袭能力的影响。Transwell 迁移实验结果显示 (图 4A、B、E、F), 无论在常氧还是缺氧条件下, 过表达 *FHDC1*

后的 HepG2 和 Hep3B 细胞的迁移能力相较于 Vector 组均增强 ($P < 0.05$); 而敲除 *FHDC1* 后的 2 种肝癌细胞, 其迁移能力相较于对应的 LacZ 组有不同程度的下降 ($P < 0.001$)。在常氧及缺氧条件下, Transwell 侵袭实验结果显示 (图 4C、D、G、H), 过表达 *FHDC1* 后的 HepG2 和 Hep3B 细胞的侵袭能力均有所增加 ($P < 0.05$); 而敲除 *FHDC1* 后, 2 种肝癌细胞的侵袭能力均明显降低 ($P < 0.001$)。



A 和 B: 常氧及缺氧条件下, Transwell 迁移实验检测 *FHDC1* 过表达及敲除后的 HepG2 和 Hep3B 肝癌细胞的迁移能力图; E 和 F: A、B 分别对应的统计结果图; C 和 D: 常氧及缺氧条件下, Transwell 侵袭实验检测 *FHDC1* 过表达及敲除后 2 种肝癌细胞的侵袭能力图; G 和 H: C、D 分别对应的统计结果图; 放大倍数 (A~D): $\times 40$; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

图 4 *FHDC1* 在常氧和缺氧条件下对肝癌细胞迁移及侵袭能力的影响

Fig 4 The effect of *FHDC1* on migration and invasion of HCC cells under normoxia and hypoxia

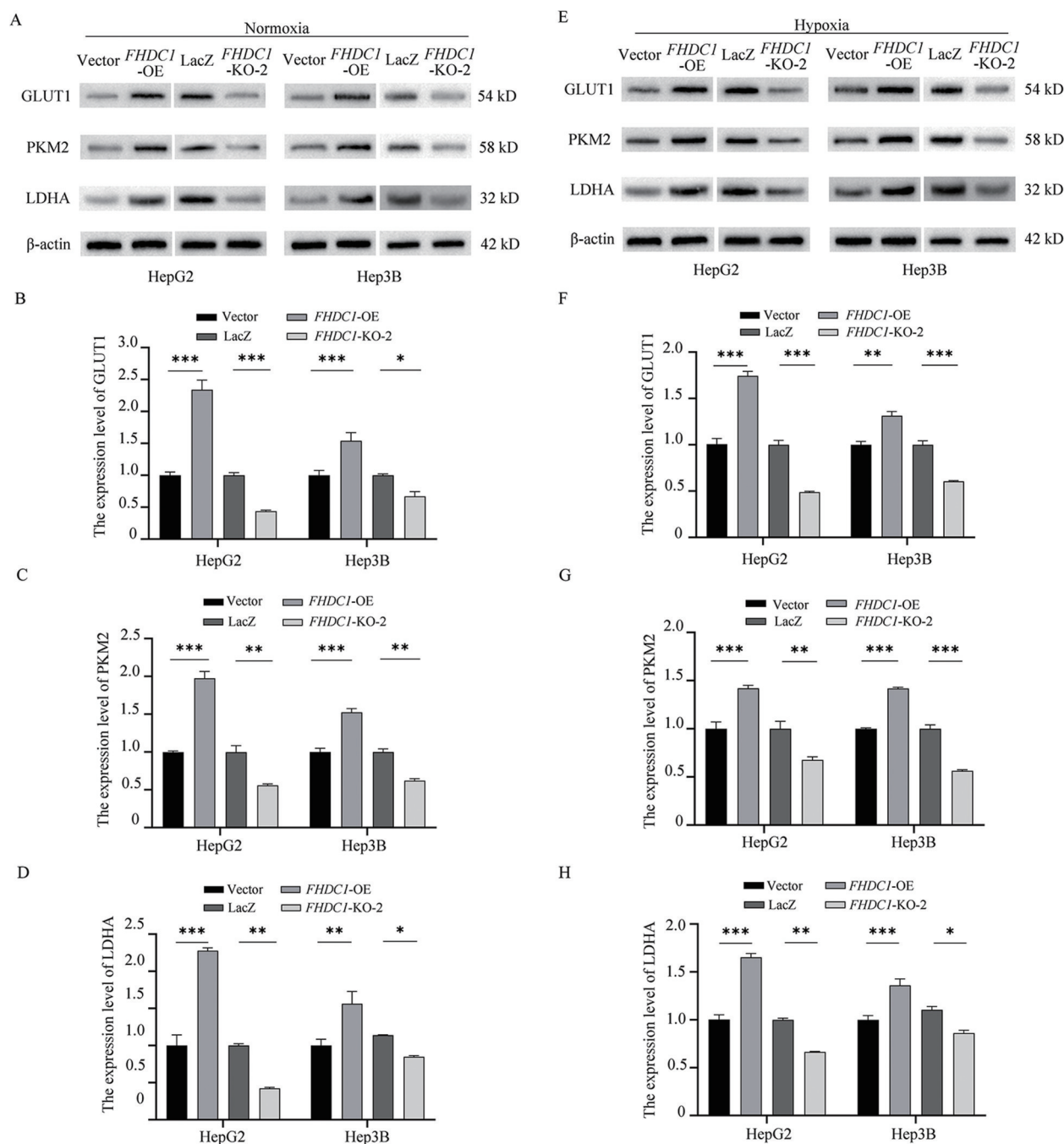
2.5 *FHDC1* 促进肝癌细胞糖酵解相关蛋白的表达

肝癌组织通常出现糖消耗增加以及代谢方式向糖酵解倾斜的代谢变化^[8]。GLUT1 作为葡萄糖转运蛋白, 可以将葡萄糖转运至细胞内, 为糖酵解提供初始底物。PKM2 则可以催化磷酸烯醇式丙酮酸生成丙酮酸和 ATP, 并调控代谢速率以适应细胞需求。LDHA 在缺氧条件下能将丙酮酸还原为乳

酸, 在清除糖酵解终产物的同时再生 NAD^+ , 确保糖酵解的持续进行。在常氧及缺氧条件下检测过表达及敲除 *FHDC1* 的 HepG2 和 Hep3B 细胞中糖酵解相关蛋白 GLUT1、PKM2、LDHA 的表达情况。结果显示, 在常氧条件下 (图 5A~D), 相比于空载体对照组, *FHDC1* 过表达的 2 种肝癌细胞中 GLUT1、PKM2 和 LDHA 的表达均增加 ($P < 0.01$), 而敲除

FHDC1 的 2 种肝癌细胞中, 3 种蛋白的表达均下降 ($P<0.05$)。缺氧时 (图 5E~H), *FHDC1* 过表达及

敲除的 HepG2 和 Hep3B 细胞中 GLUT1、PKM2、LDHA 蛋白的表达趋势与常氧时相同 ($P<0.05$)。



A~D: 在常氧条件下, Western blot 分别检测 *FHDC1* 过表达及敲除后 HepG2 和 Hep3B 细胞中 GLUT1、PKM2 和 LDHA 的蛋白条带及相应的统计分析; E~H: 在缺氧条件下, Western blot 分别检测 *FHDC1* 过表达及敲除后 HepG2 和 Hep3B 细胞中 GLUT1、PKM2 和 LDHA 的蛋白条带及相应的统计分析; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

图 5 *FHDC1* 对肝细胞癌细胞糖酵解相关蛋白 GLUT1、PKM2 和 LDHA 表达的影响

Fig 5 The expression of GLUT1, PKM2, and LDHA in HCC cells with *FHDC1* overexpression or knockout

3 讨论

缺氧是肝细胞癌的一个明显特征, 而 HIF-1 α 已被公认为是包括肝癌在内的多种肿瘤缺氧调控网络中的核心分子^[9]。本研究发现在肝癌细胞 HepG2 中敲除 *HIF-1 α* 后, *FHDC1* 蛋白在常氧及缺氧时的

表达均明显下降。这提示 *FHDC1* 在肝癌细胞中的表达可能受到 HIF-1 α 的正向调控。在肝癌细胞中, 泛素连接酶 E2K (ubiquitin-ligase enzyme E2K, *UBE2K*) 是一个潜在的缺氧相关基因, 其表达水平在缺氧状态下受到 HIF-1 α 的正向调控。当 *UBE2K*

过表达时会促进肝癌细胞的增殖和迁移,而敲低该基因则会抑制 HIF-1 α 诱导的肝癌细胞的生长和迁移^[10]。有研究报道,缺氧条件下 HIF-1 α 在肝癌细胞中可直接结合肝配蛋白 A3(eph⁺ A3, EFNA3) 基因的启动子区并增强 EFNA3 的表达水平,而 EFNA3 在肝癌细胞中具有促进肝细胞癌细胞的自我更新、增殖和迁移的能力^[11]。这表明 HIF-1 α 与缺氧相关基因之间的调控机制较为复杂,存在着直接调控和间接调控等多种方式。后续实验将进一步探究 HIF-1 α 在肝细胞癌中与 *FHDC1* 之间的调控机制。深入研究 HIF-1 α 调控的缺氧相关基因,将为探究肝细胞癌的发病机制提供新的视角和线索。

FHDC1 是一种肌动蛋白成核因子,从功能上来看与细胞分裂、细胞迁移、细胞形态维持等过程密切相关^[12]。为了探究其是否能促进肝细胞癌细胞的恶性增殖与迁移侵袭,本研究建立了 *FHDC1* 稳定过表达和敲除的肝癌 HepG2 和 Hep3B 细胞。在常氧及缺氧条件下,通过 CCK-8、平板克隆、Transwell 实验对 *FHDC1* 稳定过表达和敲除的肝癌 HepG2 和 Hep3B 细胞进行检测,结果发现,在常氧和缺氧条件下,*FHDC1* 都能促进肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭。这提示 *FHDC1* 在肝癌中发挥着类似癌基因的功能。一项利用微囊藻毒素诱导人正常肝上皮细胞 LO2 发生恶性转化的研究发现,该细胞中的关键基因 *FHDC1* 广泛参与了细胞癌变的形成、增殖、迁移、侵袭和代谢过程^[13],另一项有关卵巢巢癌的研究指出,长链非编码 RNA LINC00665 可以通过靶向 miR-181a-5p 促进 *FHDC1* 上调从而增加卵巢癌细胞增殖和迁移能力^[14]。

糖代谢重编程发生在多种肿瘤组织中,以满足肿瘤细胞的恶性增殖、侵袭、上皮间质转化等过程的高能量需求,而 HIF-1 α 对多种肿瘤糖酵解相关蛋白的调控仍是当前的研究热点^[15]。有报道发现,在肝细胞癌缺氧类器官模型中,HIF-1 α 能够通过上调己糖激酶 2(hexokinase 2, *HK2*)、丙酮酸激酶(pyruvate kinase M, *PKM*)、血小板型磷酸果糖激酶(phosphofructokinase-Platelet, *PFKP*) 等多个糖酵解关键基因的表达从而促进肝癌细胞的糖酵解过程^[16]。缺氧条件下,HIF-1 α 还能通过结合尿斑蛋白 1A(uroplakin 1A, *UPK1A*) 基因的启动子区域直接活化其表达从而促进肝细胞癌细胞的增殖,*UPK1A* 亦可通过活化 GLUT1、*HK2*、*PKM2*、*LDHA* 等糖酵解相关蛋白的表达而促进肝癌细胞的糖酵解^[17]。本研究发现,无论常氧还是缺氧条件下,过表达 *FHDC1* 能够促进 HepG2 和 Hep3B 肝癌细胞糖酵解相

关蛋白 GLUT1、*PKM2*、*LDHA* 的表达,而敲除 *FHDC1* 后,2 种肿瘤细胞中糖酵解相关蛋白 GLUT1、*PKM2*、*LDHA* 的表达则被抑制。这表明 *FHDC1* 可以促进肝癌细胞的糖酵解,但该过程是否受到 HIF-1 α 的直接调控还有待后续实验进一步证实。

综上所述,本研究发现肝癌细胞缺氧状态下,*FHDC1* 的表达可能受到 HIF-1 α 的正向调控;缺氧时 *FHDC1* 能够增强肝癌细胞的增殖、迁移与侵袭能力,并促进肝癌细胞糖酵解相关蛋白的表达。但本研究目前仅限于细胞水平,后续将进一步在动物实验中探究 HIF-1 α 调控 *FHDC1* 在肝细胞癌中的作用与分子机制,以期揭示缺氧相关基因 *FHDC1* 在肝细胞癌中的功能提供更全面的实验依据。

作者贡献度说明:

夏会东:撰写与修改论文、整理数据并参与部分实验;梁念孩:实验与数据收集;杨伟:实验研究的监管与指导;摆茹:指导实验研究以及论文的撰写、修改。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

- 1 Global cancer burden growing, amidst mounting need for services[J]. Saudi Med J, 2024, 45(3): 326-327.
- 2 Infantino V, Santarsiero A, Convertini P, et al. Cancer cell metabolism in hypoxia: Role of HIF-1 as key regulator and therapeutic target[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(11): 5703.
- 3 Wang Y, Yang Y, Yang Y, et al. Hypoxia induces hepatocellular carcinoma metastasis via the HIF-1 α /MET-TL16/lnc-CSMD1-7/RBFOX2 axis[J]. iScience, 2023, 26(12): 108495.
- 4 Chen T, Wang L, Chen C, et al. HIF-1 α -activated TMEM237 promotes hepatocellular carcinoma progression via the NPHP1/Pyk2/ERK pathway[J]. Cell Mol Life Sci, 2023, 80(5): 120.
- 5 Tong CS, Su M, Sun H, et al. Collective dynamics of actin and microtubule and its crosstalk mediated by FHDC1[J]. Front Cell Dev Biol, 2024, 11: 1261117.
- 6 Chen X, Yang J, Lu Z, et al. A 70-RNA model based on SVR and RFE for predicting the pancreatic cancer clinical prognosis[J]. Methods, 2022, 204: 278-285.
- 7 梁念孩,张丹,杜丽君,等. 缺氧相关基因 *FHDC1* 在肝癌中的表达及意义[J]. 现代肿瘤医学, 2024, 32(19): 3705-3712.
- Liang NH, Zhang D, Du LJ, et al. Hypoxia-related gene *FHDC1* expression and significance in hepatocellular carcinoma [J]. Mod Oncol, 2024, 32(19): 3705-3712.

- 8 Du D, Liu C, Qin M, et al. Metabolic dysregulation and emerging therapeutical targets for hepatocellular carcinoma[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(2): 558-580.
- 9 Rani S, Roy S, Singh M, et al. Regulation of transactivation at C-TAD domain of HIF-1 α by factor-inhibiting HIF-1 α (FIH-1): A potential target for therapeutic intervention in cancer [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 2407223.
- 10 Ouyang G, Fu W, Guo J, et al. Hypoxia-induced UBE2K promotes the malignant progression of HCC[J]. *Pathol Res Pract*, 2023, 245: 154422.
- 11 Husain A, Chiu YT, Sze KM, et al. Ephrin-A3/EphA2 axis regulates cellular metabolic plasticity to enhance cancer stemness in hypoxic hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2022, 77(2): 383-396.
- 12 Tong CS, Su M, Sun H, et al. Collective dynamics of actin and microtubule and its crosstalk mediated by FHDC1[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2024, 11: 1261117.
- 13 Chen HQ, Zhao J, Li Y, et al. Gene expression network regulated by DNA methylation and microRNA during microcystin-leucine arginine induced malignant transformation in human hepatocyte L02 cells [J]. *Toxicol Lett*, 2018, 289: 42-53.
- 14 Wang S, Wang Y, Lu J, et al. LncRNA LINC00665 promotes ovarian cancer cell proliferation and inhibits apoptosis *via* targeting miR-181a-5p/FHDC [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2022, 194(9): 3819-3832.
- 15 Hay N. Reprogramming glucose metabolism in cancer: Can it be exploited for cancer therapy? [J]. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(10): 635-649.
- 16 Khedr MA, Mohamed Z, El-Derby AM, et al. Development of hepatocellular carcinoma organoid model recapitulating HIF-1A metabolic signature [J]. *Clin Exp Med*, 2024, 25(1): 9.
- 17 Song Y, Wang H, Zou XJ, et al. Reciprocal regulation of HIF-1 α and Uroplakin 1A promotes glycolysis and proliferation in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer*, 2020, 11(22): 6737-6747.

[本文编辑] 朱金月