

读书报告

报告人：胡俊仪

时间：2018.11.25

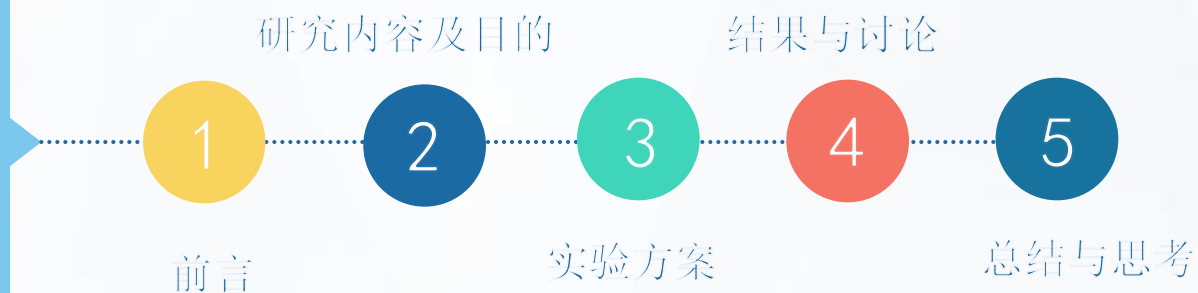
RESEARCH ARTICLE

Orexin A affects HepG2 human hepatocellular carcinoma cells glucose metabolism via HIF-1 α -dependent and -independent mechanism

Xing Wan¹*, Yuanyuan Liu²*, Yuyan Zhao^{2*}, Xiaoqi Sun², Dongxiao Fan³, Lei Guo^{3*}

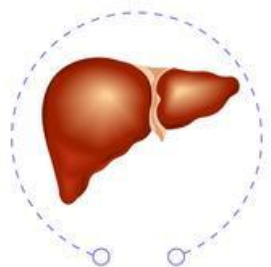
1 Department of Medical Oncology, First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang, Liaoning, P.R. China, 2 Department of Endocrinology, First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang, Liaoning, P.R. China, 3 Department of Orthopedic Surgery, First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang, Liaoning, P.R. China

目录

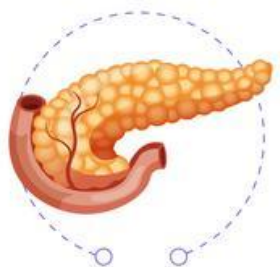




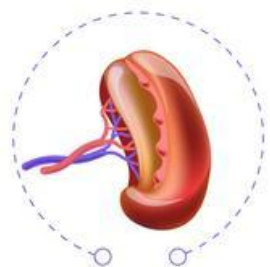
BRAIN



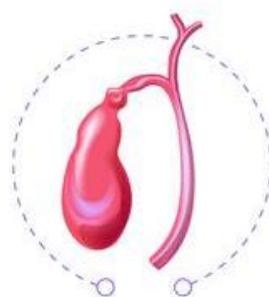
LIVER



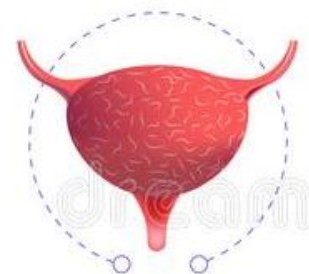
PANCREAS



SPLEEN



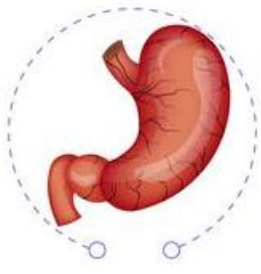
GALLBLADDER



BLADDER



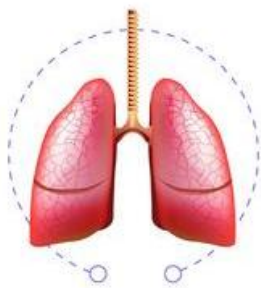
UTERUS



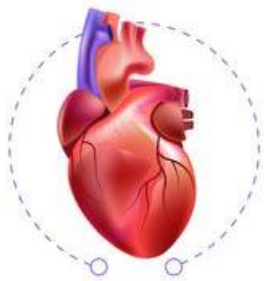
STOMACH



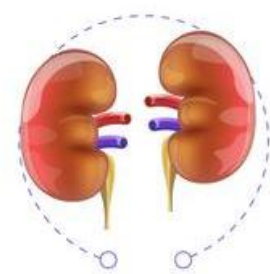
INTESTINES



LUNGS



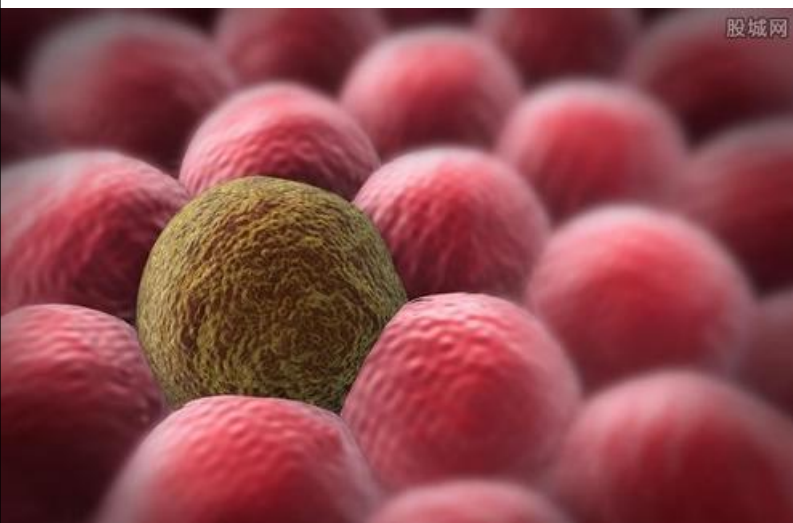
HEART



KIDNEYS

食欲素A是下丘脑神经肽。除下丘脑外，食欲素及其受体还广泛表达于肾上腺、脂肪组织、消化道、性腺等外周组织。在调节进食、觉醒、奖赏机制、生殖、能量稳态等生理过程中发挥重要作用。

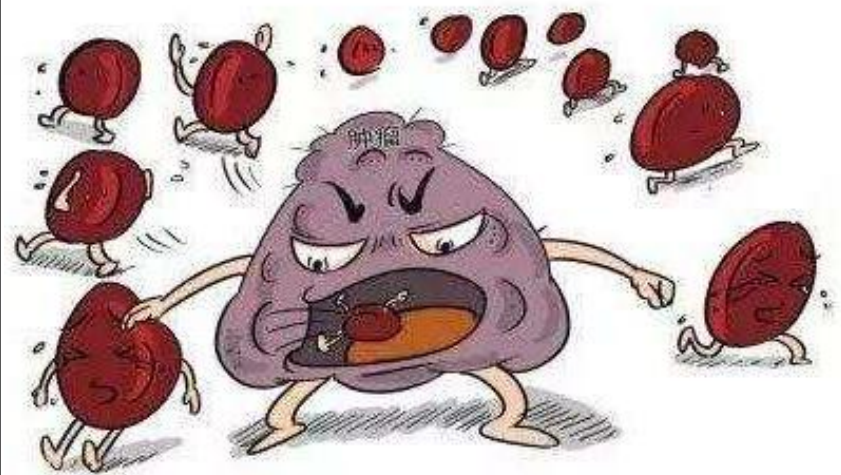
最近的研究发现，orexin过表达可以有效地保护小鼠免受高脂肪饮食诱导的胰岛素抵抗，而orexin的缺失则导致肝脏胰岛素信号紊乱，说明orexin在糖代谢中发挥重要作用。



尽管食欲素在调节能量和葡萄糖代谢方面具有重要意义，但食欲素对癌细胞代谢的影响却知之甚少。

肿瘤细胞的代谢过程与正常细胞的代谢过程是不同的。恶性肿瘤细胞葡萄糖摄取显著增加，以满足其高能量需求。

此外，与正常细胞不同的是，正常细胞更倾向于通过线粒体氧化磷酸化代谢葡萄糖以产生ATP，大多数癌细胞甚至在有足够氧气的情况下，也不通过有氧呼吸（耗氧）高效产能，而是通过无氧呼吸（不耗氧）低效产能。



缺氧诱导因子-1 (HIF-1)是细胞适应缺氧的主要转录因子，参与肿瘤特异性糖代谢的中枢调控。HIF-1是由HIF-1 α 和HIF-1 β 组成的异质二聚体。

在正常氧浓度条件下，细胞内的HIF-1 α 不稳定，会很快被泛素蛋白酶降解。在低氧情况下，HIF-1 α 稳定性增加，转移到细胞核，与HIF-1 β 亚单位结合成二聚体HIF-1，HIF-1再与目的基因缺氧反应元件(HRE)结合从而激活转录过程。HIF-1通过促进GLUT1和糖酵解酶的表达，增加葡萄糖摄取和糖酵解。此外，HIF-1有助于将丙酮酸通量分流到糖酵解过程中，而不是三羧酸循环和氧化磷酸化。

有研究报道,食欲素可以诱导HIF-1 α 在常氧条件下表达。然而,很少有人研究食欲素调节HIF-1 α 在肝癌细胞中的能力。

最近，在一些肿瘤细胞系中检测到了orexin受体的表达，这表明该肽在肿瘤中具有潜在的作用。然而，orexin A及其受体在肝癌细胞中的潜在作用尚不清楚。



“

研究目的：本研究试图发现食欲素A的对人类肝癌细胞HepG2葡萄糖代谢的作用，以及在常氧环境下食欲素A对HepG2的HIF-1 α 表达的影响。

”

—目的与意义

实验方案

OxA对HepG2葡萄糖代谢的影响

OxA对OXR表达的影响

→ 免疫荧光, WB

OxA对HIF-1 α 表达的影响

→ 免疫荧光, WB, q-PCR

OxA通过PI3K/Akt/mTOR信号通路对HIF-1 α 的影响

→ WB

HIF-1 α 对HepG2细胞GLUT1表达, 葡萄糖摄取的影响

→ WB, 2-Deoxy-D[3 H]glucose

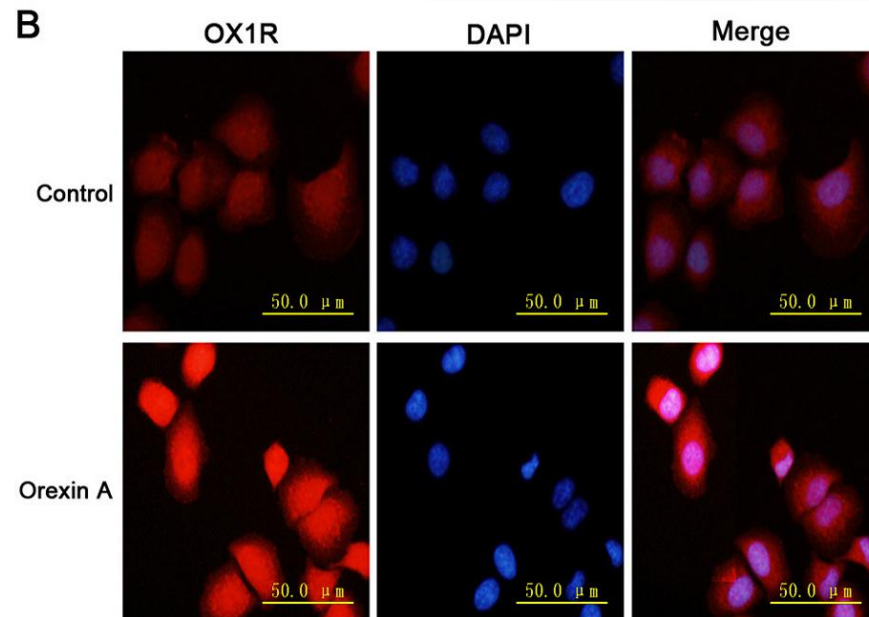
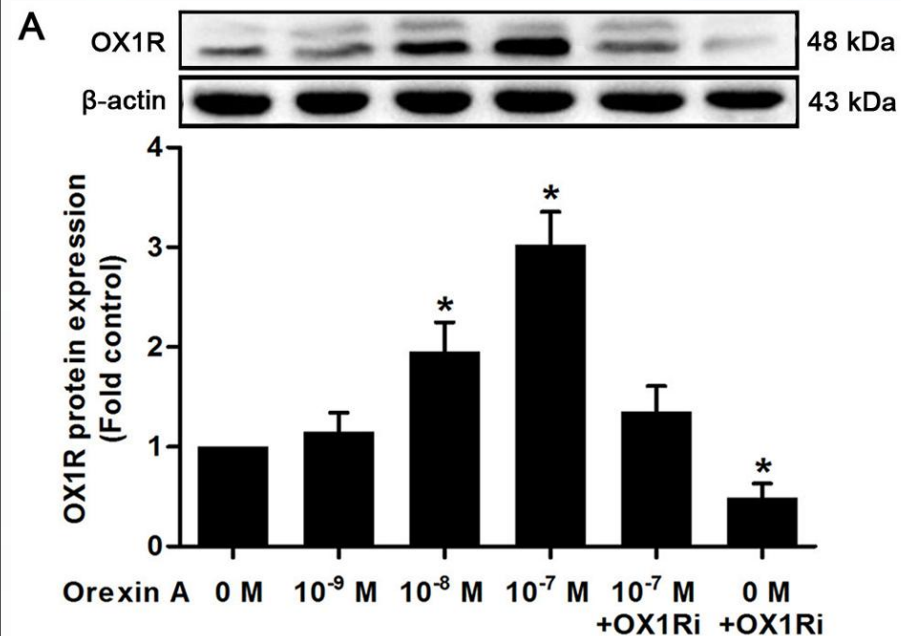
HIF-1 α 对HepG2细胞ATP含量的影响

→ ATP Assay kit

OxA促进HepG2细胞葡萄糖进入TCA循环

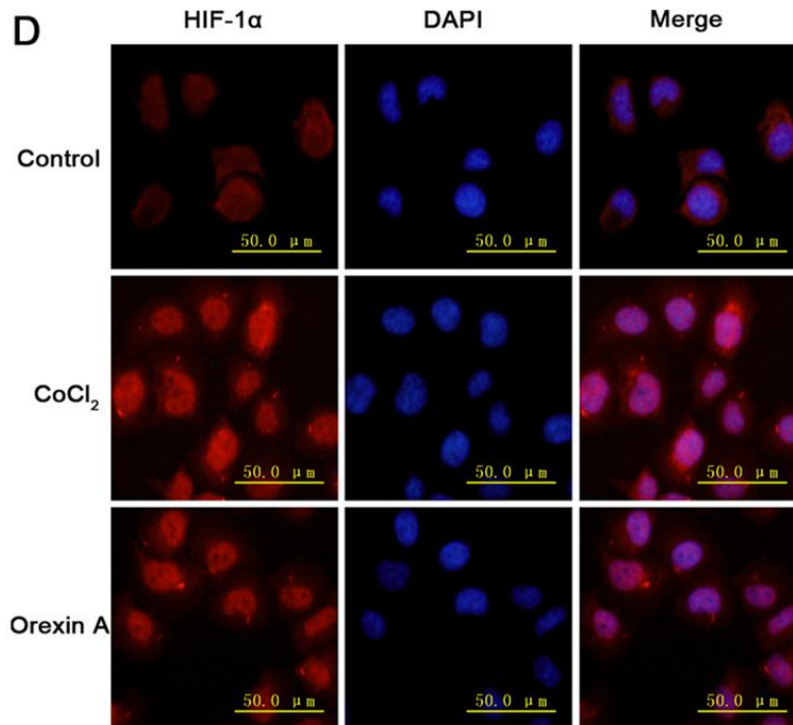
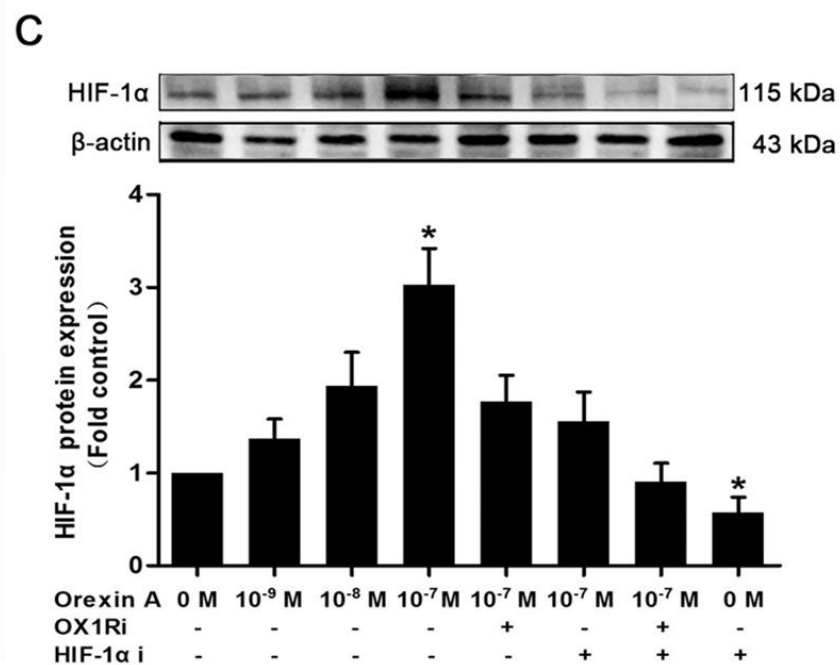
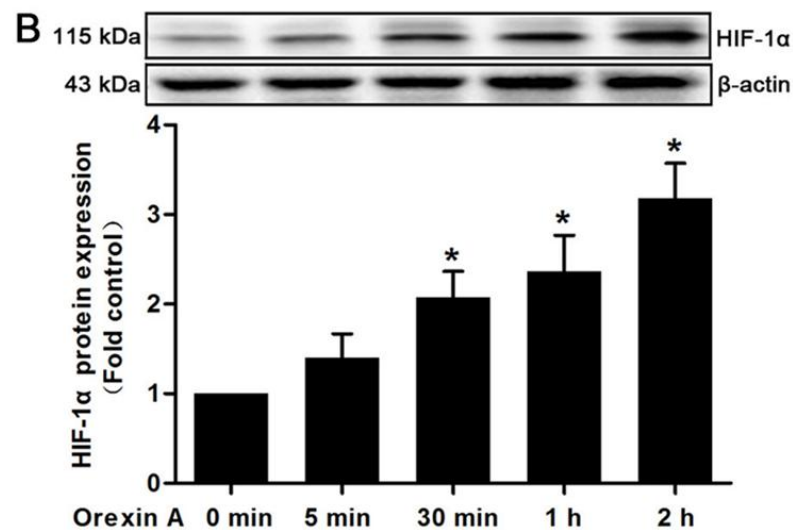
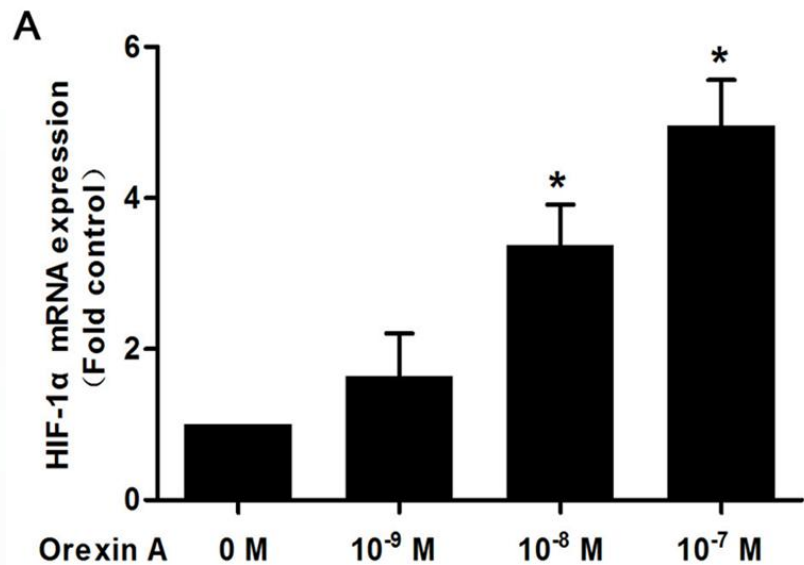
→ q-PCR, Lactic kit, PDH kit

1. O_xA对OXR表达的影响

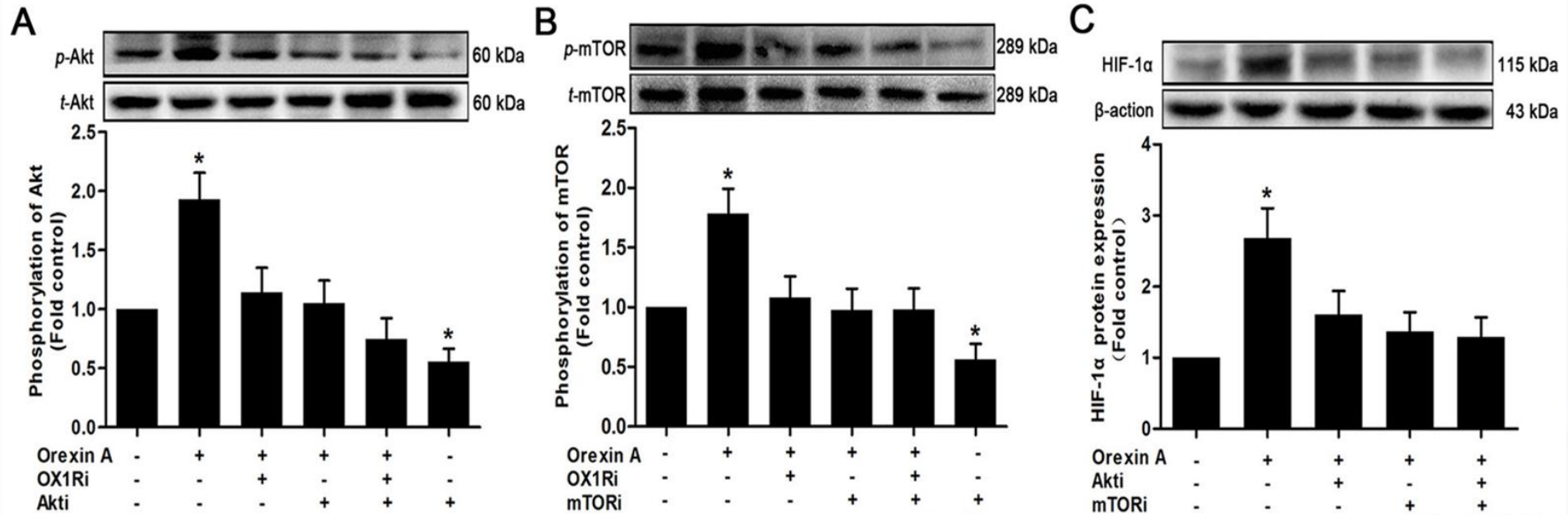


OX1R在HepG2细胞中表达，且主要位于细胞核内。对外源性食欲素刺激高度敏感。

2. OxA对HIF-1 α 表达的影响

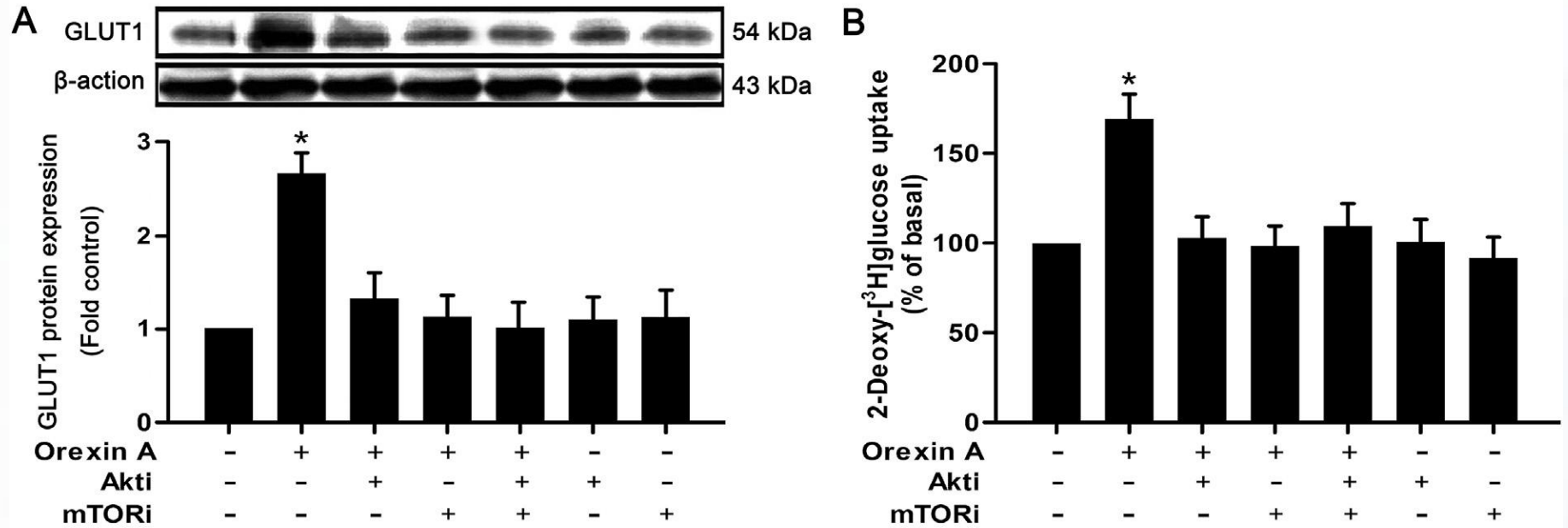


3. OxA通过PI3K/Akt/mTOR信号通路对HIF-1 α 的影响



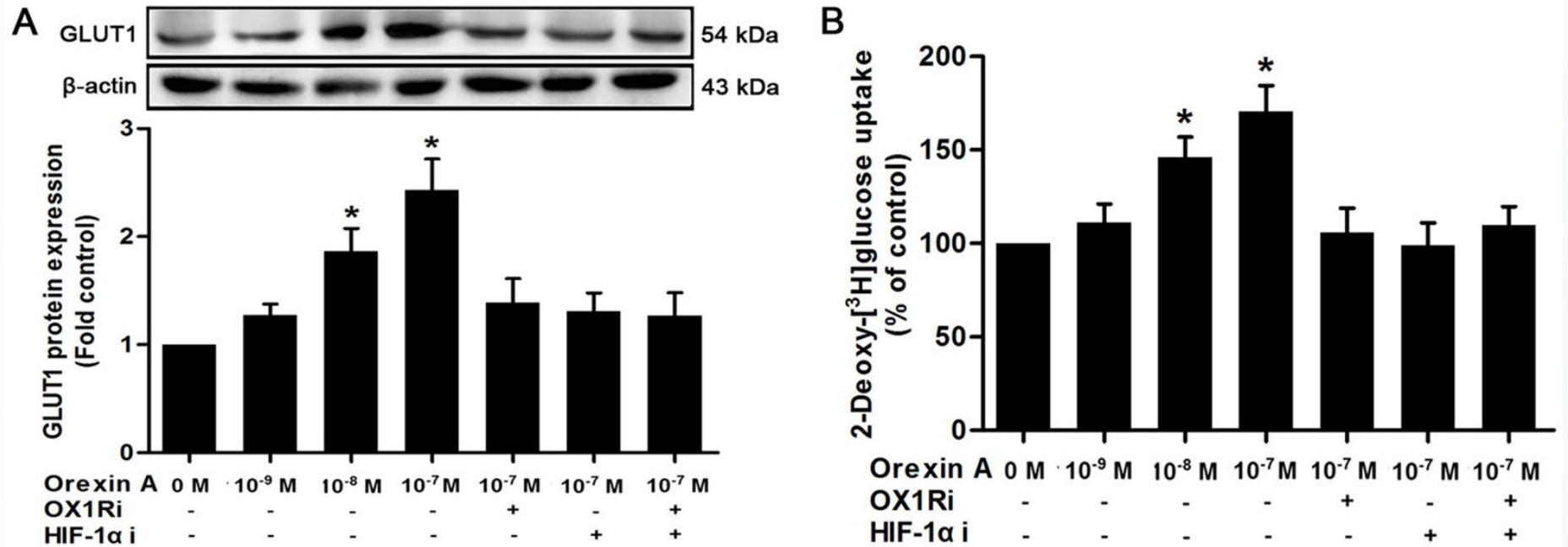
Orexin A与OX1R结合，可以提高Akt和mTOR的磷酸化水平。Orexin A通过mTOR / PI3K / Akt途径上调HepG2细胞HIF-1 α 的表达。

4. OxA刺激HepG2细胞GLUT1的表达和葡萄糖的摄取



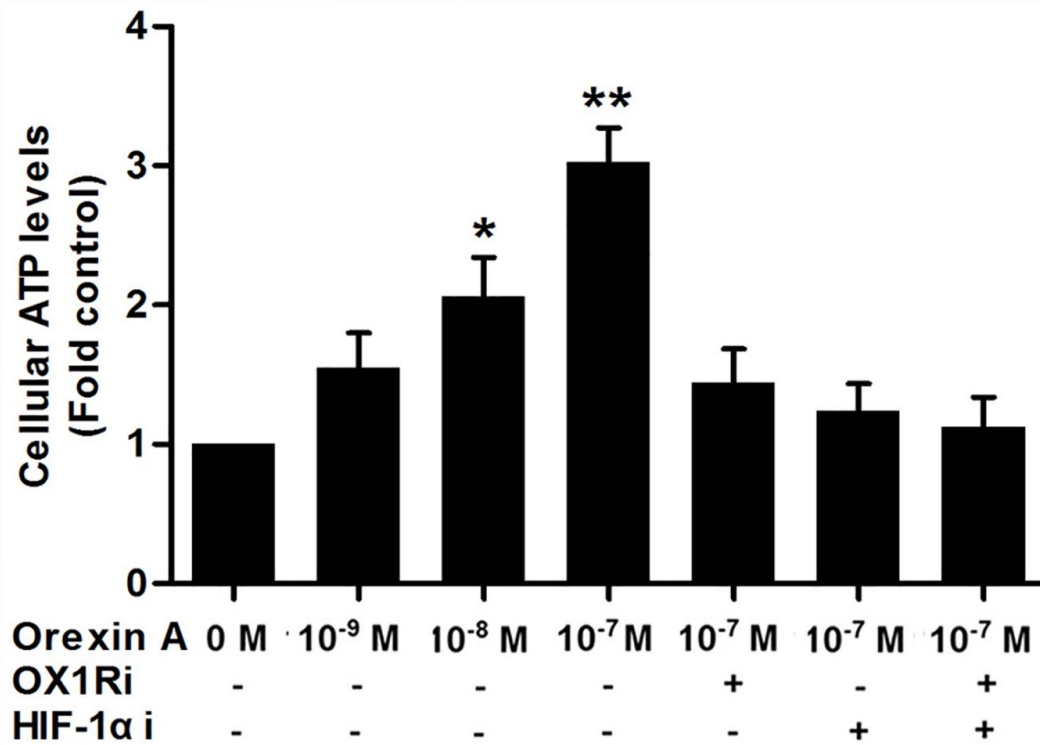
OxA与OX1R结合，通过mTOR / PI3K / Akt途径刺激GLUT1的表达与葡萄糖的摄取。

4. OxA刺激HepG2细胞GLUT1的表达和葡萄糖的摄取

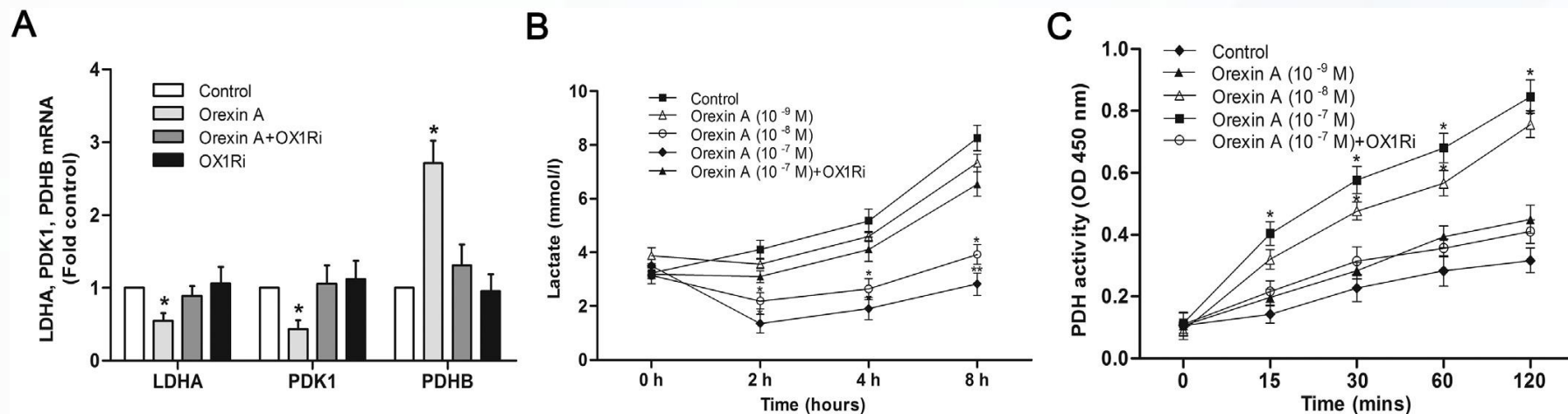


OxA与OX1R结合，通过HIF-1 α 刺激GLUT1的表达与葡萄糖的摄取。

5. OxA对HepG2细胞ATP水平的影响



6. Orexin A促进HepG2细胞的葡萄糖TCA循环

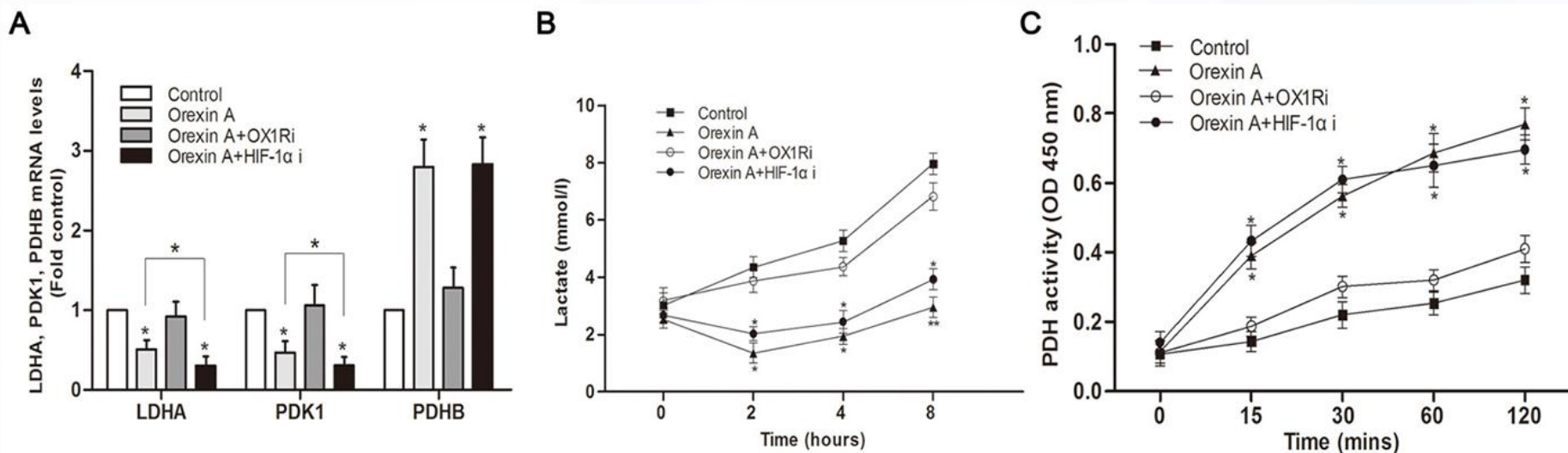


LDHA:乳酸脱氢酶是一种糖酵解酶,在厌氧条件下能催化丙酮酸生成乳酸。

PDHB:丙酮酸脱氢酶,催化丙酮酸为乙酰CoA的不可逆反应的复合酶。

OxA促进HepG2细胞葡萄糖通过三羧酸循环氧化分解。

6. Orexin A促进HepG2细胞的葡萄糖TCA循环



OxA 促进葡萄糖进入线粒体氧化代谢不受HIF-1 α 影响。

讨论

1.作者检测了OXR在HepG2细胞中的分布，只检测到OX1R，没有检测到OX2R。

2.GLUT1是癌细胞中葡萄糖转运和代谢的主要贡献者。在本研究中，食欲素A显著刺激HepG2细胞中GLUT1的表达和葡萄糖的摄取。食欲素a介导的细胞能量代谢上调似乎与食欲素参与促进能量消耗和肥胖缓解相一致。

3.HIF-1促进LDHA和PDK1的表达的作用可以推断OXA上调解HIF-1 α 导致LDHA表达的增加,促进丙酮酸进行无氧酵解。但本研究结果并非如此，作者推测HIF-1 α 在刺激LDHA基因表达上确实有作用，但在OxA处理HepG2细胞中，可能会有一些其他的机制覆盖了HIF-1 α 的作用。

总结

该研究表明,OxA能不依赖氧含量促进HIF-1 α 的mRNA和蛋白表达,能使HIF-1 α 在常氧条件下在细胞核中蓄积。而OxA上调HIF-1 α 的表达是通过mTOR / PI3K / Akt通路。

HIF-1 α 参与OxA上调GLUT1表达、增加葡萄糖摄取和ATP生成。

但是, OxA促进葡萄糖进入线粒体氧化代谢不受HIF-1 α 调控。

这些发现为肝细胞中食欲素A对葡萄糖代谢的调控提供了新的见解。

恳请各位老师批评指正

THANK YOU FOR YOUR WATCHING

