

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2026.08.004

· 基础研究 ·

低氧诱导乌头酸酶2入核促进肝细胞癌PLC/PRF/5细胞的增殖和迁移

李芸莹¹, 李静¹, 万源媛¹, 何佳明¹, 陈按¹, 马静¹, 王慧敏¹, 陈地龙^{1,2} (1. 重庆医科大学干细胞与组织工程重庆市重点实验室 基础医学院组织学与胚胎学教研室, 重庆 400016; 2. 重庆市药品监督管理局 重庆市食品药品检验检测研究院 国家药品监督管理局麻醉精神药品质量监测重点实验室, 重庆 401121)

[摘要] **目的:** 探究乌头酸酶2(ACO2)发生核转位的条件和作用机制并探讨ACO2核转位对肝细胞癌PLC/PRF/5增殖、迁移和侵袭的影响。**方法:** 借助Human Protein Atlas (HPA)数据库分析ACO2在人肝癌组织中的表达与亚细胞定位; 利用NLStradamus网站预测ACO2的潜在核定位信号(NLS), 并通过基因截短技术构建NLS缺失的ACO2基因(ACO2 Δ NLS); 将野生型(ACO2WT)及突变型(ACO2 Δ NLS)质粒转染至人肝癌PLC/PRF/5细胞, 分别在常氧及低氧(1% O₂)条件下培养; 采用免疫荧光染色技术, 分析低氧条件影响ACO2入核的机制; 通过EdU染色、划痕实验及Transwell实验评估PLC/PRF/5细胞的增殖、迁移与侵袭能力; 借助WB检测胞核和胞质中ACO2的表达水平以及迁移、侵袭相关蛋白MMP2与MMP9表达水平的变化。**结果:** HPA数据库分析显示, ACO2在肝癌细胞的细胞核和细胞质中均呈高表达; 免疫荧光染色和WB结果显示, 低氧能够以NLS依赖的方式显著诱导ACO2发生核转位(均 $P < 0.01$); 功能学实验显示, 低氧诱导的ACO2核转位能进一步显著促进PLC/PRF/5细胞的增殖、迁移(均 $P < 0.05$)和侵袭(均 $P < 0.05$)能力。WB实验表明, ACO2核转位可上调迁移、侵袭相关蛋白MMP2与MMP9的表达水平(均 $P < 0.05$)。**结论:** 低氧能以NLS依赖的方式诱导ACO2发生核转位, 从而增强PLC/PRF/5细胞的增殖、迁移和侵袭能力。

[关键词] 乌头酸酶2; 肝细胞癌; PLC/PRF/5; 低氧; 增殖; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R735.7; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2026)08-0840-08

Hypoxia-induced nuclear translocation of ACO2 promotes the proliferation and migration of hepatocellular carcinoma PLC/PRF/5 cells

Li Yunying¹, Li Jing¹, Wan Yuanyuan¹, He Jiaming¹, Chen An¹, Ma Jing¹, Wang Huimin¹, Chen Dilong^{1,2} (1. Department of Histology and Embryology, School of Basic Medical Sciences, Chongqing Key Laboratory of Stem Cells and Tissue Engineering, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 2. Key Laboratory of Quality Monitoring for Narcotic and Psychotropic Drugs of the National Medical Products Administration, Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing Municipal Drug Administration, Chongqing 401121, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the conditions and mechanisms by which hypoxia induced the nuclear translocation of aconitase 2 (ACO2) and to explore the effects of ACO2 nuclear translocation on the proliferation, migration, and invasion of hepatocellular carcinoma PLC/PRF/5 cells. **Methods:** The expression and subcellular localization of ACO2 in human liver cancer tissues were analyzed using the Human Protein Atlas (HPA) database. The potential nuclear localization signal (NLS) of ACO2 was predicted by the NLStradamus website, and an NLS-deficient mutant gene (ACO2 Δ NLS) was constructed using genetic engineering techniques. Wild-type (ACO2WT) and mutant (ACO2 Δ NLS) plasmids were transfected into human hepatocellular carcinoma PLC/PRF/5 cells, and cells in each transfection group were then cultured under either normoxic or hypoxic (1% O₂) conditions. The mechanisms underlying hypoxia-induced nuclear translocation of ACO2 were examined by immunofluorescence staining. The proliferation, migration, and invasion abilities of PLC/PRF/5 cells were assessed using EdU staining, wound healing assay, and Transwell invasion assay. The expression levels of ACO2 in nuclear and cytoplasmic fractions, as well as the levels of migration- and invasion-related proteins MMP2 and MMP9, were detected by WB. **Results:** HPA database analysis revealed high expression of ACO2 in both the nucleus and cytoplasm of liver cancer cells. Immunofluorescence staining and WB assay results demonstrated that hypoxia significantly induced the

[基金项目] 重庆市教育委员会科学技术研究项目(KJZD-M202202701); 重庆市教委“天然药物抗肿瘤”创新研究(CXQT20030); 三峡库区本土药材筛选与开发(cstc2022ycjh-bgzxm0226); 重庆市科技局项目, 三峡库区道地药材开发利用重庆市重点实验室开放课题重点项目(KFKT2022002)

[作者简介] 李芸莹(1999—), 女, 硕士生

[通信作者] 陈地龙(扫码获取作者通信方式)



nuclear translocation of ACO2 in an NLS-dependent manner (all $P < 0.01$). Functional experiments showed that hypoxia-induced nuclear translocation of ACO2 further significantly enhanced the proliferation, migration (all $P < 0.05$), and invasion (all $P < 0.05$) abilities of PLC/PRF/5 cells. WB analysis indicated that ACO2 nuclear translocation up-regulated the expression levels of migration- and invasion-related proteins MMP2 and MMP9 (all $P < 0.05$). **Conclusion:** Hypoxia could induce the nuclear translocation of ACO2 in an NLS-dependent manner, thereby promoting the proliferation, migration, and invasion abilities of PLC/PRF/5 cells.

[Key words] aconitase 2 (ACO2); hepatocellular carcinoma (HCC); PLC/PRF/5; hypoxia; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2026, 33(8): 840-847. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2026.08.004]

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是全球主要的恶性肿瘤之一,发病率与死亡率均居高位,且患者预后极差^[1-3]。现有早期诊断标志物敏感性和特异性有限,现有疗法效果有限且常伴随耐药与不良反应^[4-6],因此,探寻新的治疗靶点迫在眉睫。三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA)是细胞代谢和能量产生的中心枢纽,其关键酶的功能失调与肿瘤进展密切相关^[7-8]。近年来,研究发现包括柠檬酸合酶(citrate synthase, CS)、乌头酸酶2(aconitase 2, ACO2)和异柠檬酸脱氢酶3(isocitrate dehydrogenase 3, IDH3)等在内的TCA相关酶可定位至细胞核,并催化形成不完整的核TCA(nuclear TCA, nTCA)以调控染色质动态和基因转录^[9-10]。这一发现重塑了对细胞代谢分区化的认知并迅速获得多方验证^[11-12]。这些研究共同揭示了“应激诱导—核转位—局部代谢—表观调控”这一核心范式^[13]。然而,作为该范式中一个尚未被充分阐释的关键环节,ACO2在肝细胞癌中的核转位机制与功能尚未被系统阐明。泛癌分析显示ACO2低表达与HCC等肿瘤的不良预后相关^[14],且其作为TCA中的关键酶^[15-16]在理论上具备参与核内代谢调控的潜力,但其在肝癌低氧微环境中是否及如何发生核转位,此过程又如何影响肝癌细胞的恶性行为,其背后的分子机制亟待阐明。因此,本文旨在探究低氧诱导ACO2发生核转位的具体分子机制,并阐明其对HCC细胞增殖、迁移和侵袭的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

HCC细胞PLC/PRF/5由重庆医科大学干细胞与组织工程实验室惠赠,所有实验均使用经STR鉴定且支原体阴性的细胞。人正常肝组织和HCC组织的免疫组化图像提取自Human Protein Atlas(HPA)数据库(<https://www.proteinatlas.org/>)。表达带3×FLAG标签的人野生型ACO2蛋白的质粒(pCMV-ACO2-3×FLAG-Neo,货号P43542)购自武汉淼灵生物科技有限公司。磷酸盐缓冲液(PBS, BL302A)、ECL化学发光底物(超敏型, BL520A)和4%多聚甲醛固定液(BL539A)购自武汉白鲨生物科技有限公司,通用型抗体稀释液(WB500D)、无蛋白快速封闭液

(P30500)、蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合液(P002)购自苏州新赛美生物科技有限公司,胎牛血清(S1356)、胰酶(LT1721)、青霉素-链霉素溶液(XA4122)购自美国BIOAGRIO公司,DMEM培养基(C11995500BT)购自Gibco公司,BCA蛋白浓度测定试剂盒(P0012S)、RIPA裂解液(P0013)、免疫染色强力通透液(P0097)、QuickBlock™免疫染色封闭液(P0260)、DAPI染色液(C1005)、EdU-488细胞增殖检测试剂盒(C0071S)和Lipo8000™转染试剂(C0533)购自碧云天生物技术有限公司,牛血清白蛋白V(BSA, 4240GR025)购自广州赛国生物科技有限公司, PAGE 凝胶试剂盒(PG112、PG113、PG111及PG110升级版)、双色预染蛋白Marker(WJ102)购自雅酶生物, ACO2(A4524)、GAPDH(AC002)一抗购自武汉ABclonal(爱博泰克)生物科技有限公司, Histone H3(BF9211)购自江苏亲科生物研究中心有限公司, MMP2抗体(T57164)购自上海Abmart公司, MMP9抗体(ET1704-69)购自杭州华安生物(HuaBio)科技有限公司, FLAG抗体(AF2852)购自碧云天生物技术有限公司,辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG二抗(7074S)及山羊抗小鼠IgG二抗(7076S)购自美国Cell Signaling Technology公司, M450酶标仪、蛋白免疫印迹电泳系统、电转印仪、凝胶成像系统购自Bio-Rad公司,倒置荧光显微镜购自德国Leica公司。

1.2 PLC/PRF/5细胞的培养

PLC/PRF/5细胞使用含10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素的完全DMEM培养基在37℃、5%CO₂条件下培养,当细胞汇合度超过70%时,使用胰蛋白酶进行消化传代。为建立低氧模型,将处于对数生长期的细胞接种于培养板中,在常规条件下培养至约50%汇合度后,转移至设定为1% O₂、5% CO₂(平衡气体为N₂)的三气培养箱中,持续处理。

1.3 质粒构建

通过NLStradamus在线工具(<http://www.moseslab.csb.utoronto.ca/NLStradamus/>)预测,研究发现ACO2第458至463位氨基酸之间存在一个潜在的核定位信号(nuclear localization signal, NLS)。为验证其功能,本研究以pCMV-ACO2-3×FLAG-Neo为

模板,采用基于反向PCR的基因截短技术进行构建。所用引物如下:NLS的上游引物序列为5'-CAG TGGGACAGGGAGAAGAACAC-3',下游引物序列为3'-GTGTTCTTCTCCCTGTCCCACTG-5'。PCR产物经Dpn I酶消化去除模板质粒后,使用T4 DNA连接酶进行环化自连。连接产物转化至DH5 α 感受态细胞,经抗性筛选获得阳性克隆。提取质粒后进行Sanger测序,验证第458~463位氨基酸编码序列确已缺失且无其他突变,最终构建成功的NLS缺失突变体质粒命名为pCMV-ACO2- Δ NLS-3 $\times$ FLAG。

1.4 细胞转染及分组

收集对数生长期PLC/PRF/5细胞,加入完全培养基调节细胞浓度至 3×10^4 个/mL接种于24孔板中(每孔500 μ L),培养24 h。随后,遵循Lipo8000™转染试剂的说明书步骤,分别将pCMV-ACO2-3 $\times$ FLAG(ACO2WT)及pCMV-ACO2- Δ NLS-3 $\times$ FLAG(ACO2 Δ NLS)质粒转染入PLC/PRF/5细胞中,培养12 h后更换新鲜培养基。实验共设4组:全长ACO2对照组(ACO2WT + Control)、全长ACO2低氧组(ACO2WT + 1%O₂)、截短ACO2对照组(ACO2 Δ NLS + Control)和截短ACO2低氧组(ACO2 Δ NLS + 1%O₂)。

1.5 免疫荧光染色检测低氧和NLS缺失对ACO2亚细胞定位的影响

为探究低氧处理对内源性ACO2定位的影响并验证其预测NLS的功能,本研究分别进行了两组免疫荧光实验。对于低氧效应实验,收集1.2节中得到的PLC/PRF/5细胞,各以 1.5×10^4 个/孔的密度接种于24孔板中。对于NLS功能验证实验,将1.4节中处理后的分组细胞以相同密度接种并培养24 h以使外源蛋白充分表达。随后,弃去培养基,用预冷的PBS轻柔漂洗细胞3次。每孔加入4%多聚甲醛500 μ L,室温固定15 min。PBS清洗3次后,加入QuickBlock™免疫染色封闭液,室温封闭1 h。弃去封闭液,低氧效应实验组和NLS功能验证实验组分别加入ACO2一抗(1:100)、Flag抗体(1:100)200 μ L/孔,4 $^{\circ}$ C反应过夜,清洗后加入荧光标记二抗(1:200)37 $^{\circ}$ C避光反应2 h。清洗后,避光加入DAPI复染细胞核5 min,清洗后避光滴加抗荧光淬灭剂。使用倒置荧光显微镜观察并拍照,采用ImageJ软件进行分析,结果以平均荧光强度(mean fluorescence intensity, MFI)表示。

1.6 EdU实验检测ACO2入核对PLC/PRF/5细胞增殖的影响

为检测ACO2核定位对PLC/PRF/5细胞增殖的影响,研究对1.4节中设定的四组细胞进行EdU掺入实验。遵循BeyoClick™ EdU-488细胞增殖检测试剂

盒的说明,对各组细胞进行染色。在倒置荧光显微镜下观察结果并拍照记录。

1.7 划痕愈合实验检测ACO2入核对PLC/PRF/5细胞迁移能力的影响

将各组细胞以每孔2 mL培养基含有 5×10^5 个细胞的密度均匀接种于6孔板中。待细胞长满后,用灭菌的200 μ L移液器吸头在细胞单层的中央区域划出笔直的划痕,用PBS清洗掉划下的细胞,加入DMEM完全培养基,随即在显微镜下进行观察、拍照。按照分组在相应的环境中培养24 h,在显微镜下进行观察,每组随机选取3个视野拍照后于ImageJ软件分析,计算各组的划痕愈合率。划痕愈合率=(0 h划痕宽度-24 h划痕宽度)/0 h划痕宽度 $\times$ 100%。

1.8 Transwell实验检测ACO2入核对PLC/PRF/5细胞侵袭能力的影响

将Matrigel基质胶用预冷的无血清DMEM培养基按1:8的比例在冰上充分稀释混匀,取100 μ L稀释胶均匀铺于Transwell小室膜上,置于37 $^{\circ}$ C培养箱静置1 h使其凝固。凝固后,吸去多余液体,在每个小室上室加入100 μ L无血清的DMEM培养基水化1 h,水化结束后小心吸除培养基。取按1.4节方法转染并处理后的各组PLC/PRF/5细胞(对数生长期),用无血清培养基重悬,调整细胞密度。将 5×10^4 个细胞接种于已包被Matrigel的小室上室中,在下室加入500 μ L含20%胎牛血清的完全培养基作为趋化因子。随后,将Transwell培养板置于各实验组(常氧或1% O₂低氧)对应的培养环境中培养24 h。培养结束后,用棉签擦掉小室上室内表面,以移除未侵袭的细胞。将小室置于4%多聚甲醛中室温固定30 min,随后用PBS浸洗,使用0.1%结晶紫染色15 min。染色后,用流水轻柔冲洗小室至背景清澈,将小室倒扣于洁净滤纸上室温风干。最后,在显微镜下观察,随机选取3个视野拍照。

1.9 WB法检测ACO2入核对PLC/PRF/5细胞迁移、侵袭相关蛋白表达的影响

将1.4节所述的各组细胞在其对应的培养条件(常氧或1% O₂低氧)下继续培养24 h后,收集细胞。按照试剂盒的说明提取胞核蛋白与胞质蛋白,使用含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液提取总蛋白,并用酶标仪在450 nm波长处检测各孔的光密度(D)值以计算蛋白浓度。蛋白质变性后,经SDS-PAGE分离并转移至PVDF膜上,用无蛋白快速封闭液室温封闭15 min, TBST液洗涤1次,加入Flag、Histone H3、MMP2、MMP9和GAPDH一抗4 $^{\circ}$ C下处理18 h,用TBST洗涤4次,加入二抗(1:8 000)室温下处理1 h,再用TBST洗涤4次后于ECL试剂盒显影

成像,胞核蛋白以Histone H3为内参,胞质蛋白(及适用的总蛋白)以GAPDH为内参,用ImageJ软件分析蛋白相对表达量。

1.10 统计学处理

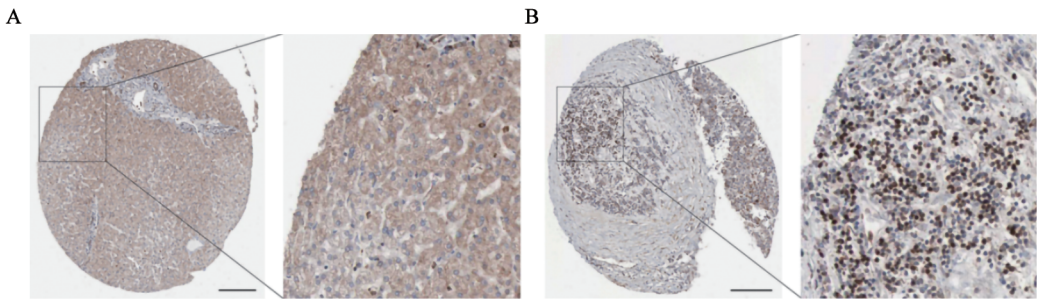
以上所有实验均独立重复3次。采用GraphPad Prism 9统计学软件进行分析,符合正态分布的计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用*t*检验,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表

示差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 ACO2在肝癌细胞核和细胞质中均呈高表达

通过查找HPA数据库发现,与人正常肝脏组织相比,人肝癌组织中ACO2的表达显著增高,且其在肝癌细胞核和细胞质内的表达均有增加(图1)。

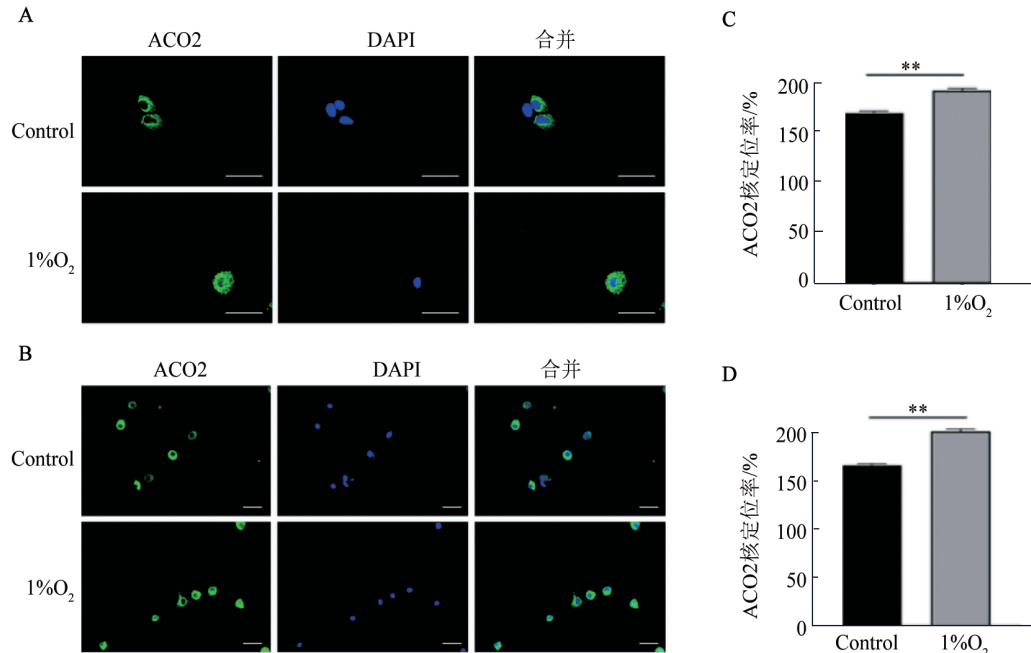


HPA数据库验证ACO2在人正常肝组织和肝癌组织中的表达情况(标尺:200 μm)。免疫组织化学染色,棕褐色代表ACO2的阳性表达,蓝紫色代表细胞核。可见ACO2在肝癌细胞的胞核和胞质中均呈阳性表达。

图1 HPA数据库验证ACO2在肝癌中的表达

2.2 低氧诱导PLC/PRF/5细胞内ACO2核定位增加
免疫荧光法检测结果(图2)显示,Control组(常氧条件下的PLC/PRF/5细胞)胞质中呈现较强的荧光

强度,而细胞核中荧光强度较弱;与Control组相比,1%O₂组(低氧条件)细胞核中平均ACO2荧光强度明显增强($P < 0.01$)。



A、B:免疫荧光实验(A:×400,B:×200,标尺:20 μm);C:图A两组细胞的细胞核内平均ACO2荧光强度;D:图B两组细胞的细胞核内平均ACO2荧光强度。* $P < 0.01$ 。

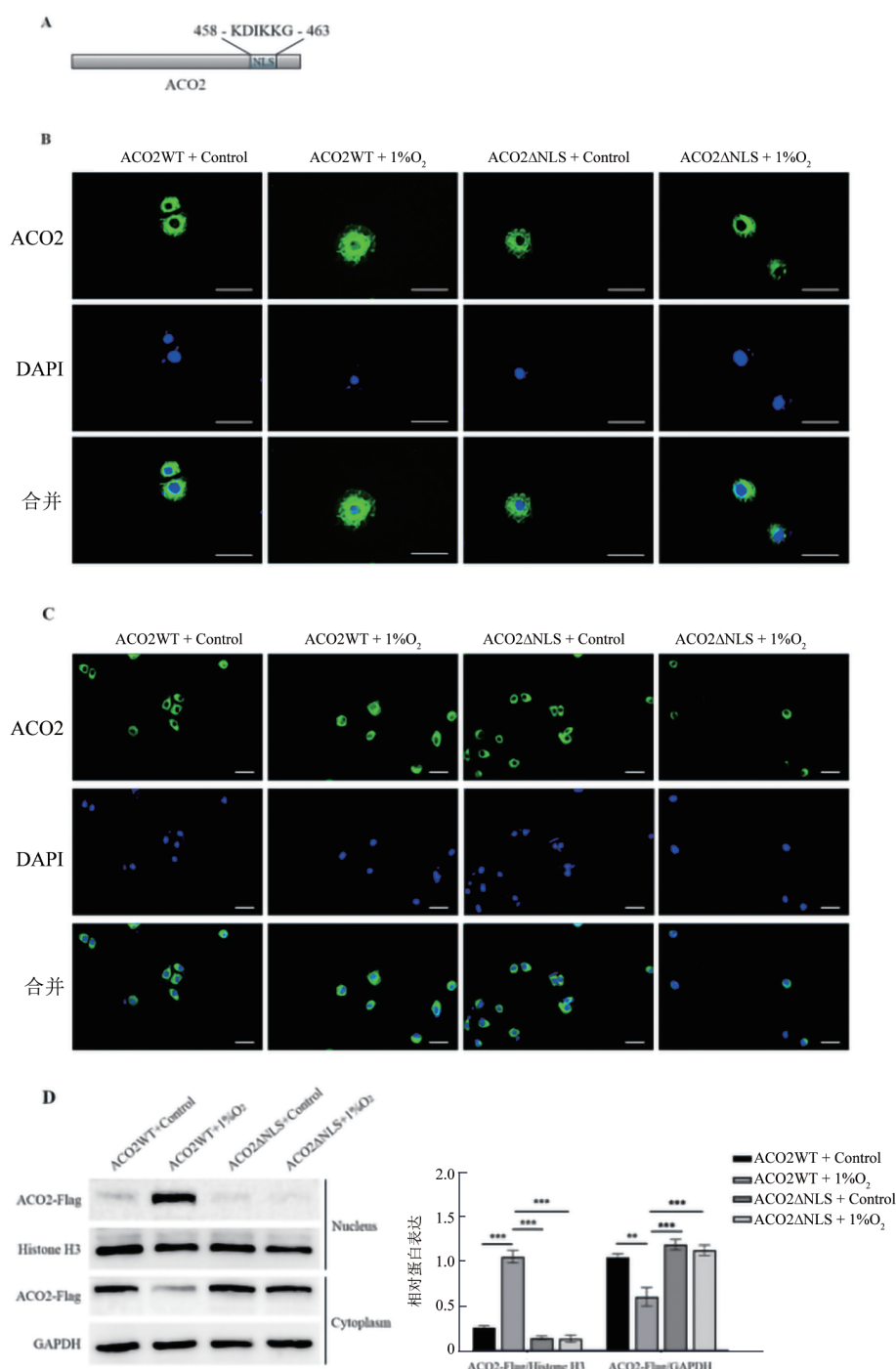
图2 免疫荧光法检测低氧条件对PLC/PRF/5细胞中ACO2核定位的影响

2.3 低氧条件下ACO2发生核转位依赖NLS信号
通过NLStradamus在线网站预测了ACO2的

NLS序列为氨基酸458~463位(KDIKKG,图3A)。免疫荧光法检测结果(图3B、C)显示,仅ACO2WT+

1%O₂ 组 PLC/PRF/5 细胞核内出现 Flag 荧光；ACO2WT + Control 组、ACO2ΔNLS + 1%O₂ 组和 ACO2ΔNLS + Control 组 PLC/PRF/5 细胞核内几乎无 Flag 荧光表达。与免疫荧光结果相似, WB 法检测结

果(图 3D)显示, ACO2WT + 1%O₂ 组 PLC/PRF/5 细胞核内 ACO2 表达量较高, ACO2WT + Control 组、ACO2ΔNLS + 1%O₂ 组和 ACO2ΔNLS + Control 组 PLC/PRF/5 细胞核内几乎无 ACO2 表达。



A: NLStradamus 网站预测的 ACO2 潜在核定位信号; B、C: 免疫荧光实验(标尺: 20 μm)检测 NLS 对 ACO2 核转位的影响; D: WB 法检测细胞核和胞质中 ACO2 的表达($\bar{x} \pm s, n = 3$)。** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图3 NLS对ACO2核转位的影响

2.4 ACO2 核转位促进 PLC/PRF/5 细胞的增殖

EdU 实验结果(图 4)显示, 经 EdU 染色后, 与 ACO2ΔNLS + Control 组相比, ACO2ΔNLS + 1%O₂ 组绿色荧光增强, 表明低氧能够促进肝癌细胞 PLC/PRF/5

的增殖; 与 ACO2ΔNLS + 1%O₂ 组相比, ACO2WT + 1%O₂ 组绿色荧光明显增加, 表明 ACO2 的核转位可以在低氧条件下进一步促进肝癌细胞 PLC/PRF/5 的增殖。

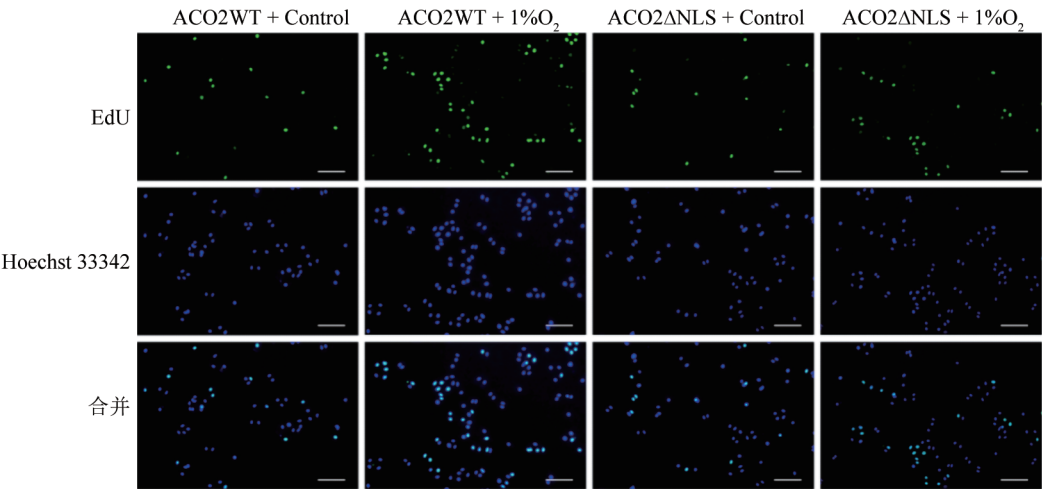


图4 EdU实验检测核ACO2对PLC/PRF/5细胞增殖的影响(标尺:50 μm)

2.5 ACO2核转位促进PLC/PRF/5细胞的迁移

划痕愈合实验结果(图5)显示,与ACO2ΔNLS + Control组相比,ACO2ΔNLS + 1%O₂组细胞迁移率显著增加($P < 0.01$);与ACO2ΔNLS + 1%O₂组相比,ACO2WT + 1%O₂组细胞迁移率增加($P < 0.05$)。

2.6 ACO2核转位促进PLC/PRF/5细胞的侵袭

Transwell实验结果(图6)显示,与ACO2ΔNLS + Control组相比,ACO2ΔNLS + 1%O₂组侵袭细胞数显著增加($P < 0.05$);与ACO2ΔNLS + 1%O₂组相比,ACO2WT + 1%O₂组侵袭细胞数显著增加($P < 0.05$)。

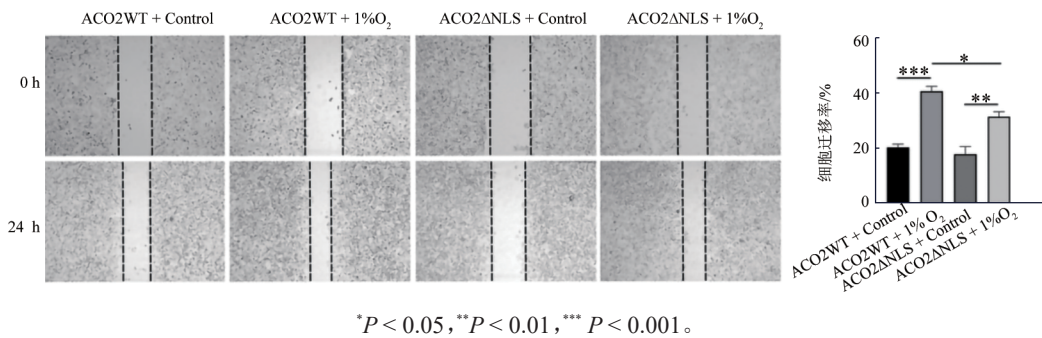


图5 划痕愈合实验检测核ACO2对PLC/PRF/5细胞迁移的影响($\times 100$; $\bar{x} \pm s, n = 3$)

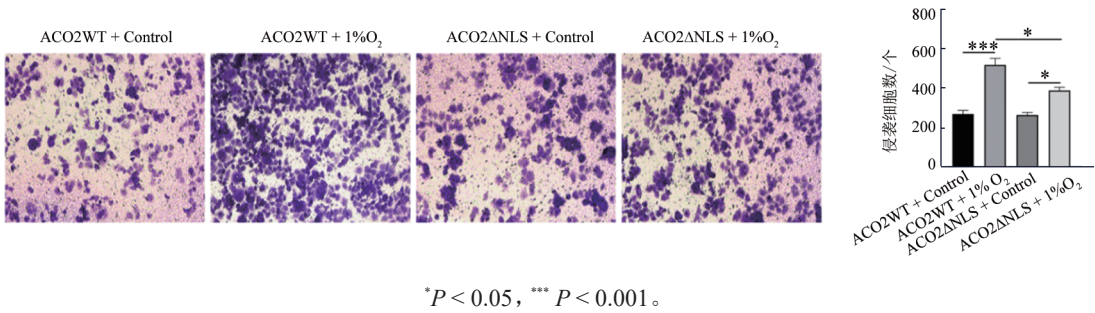


图6 Transwell实验检测核ACO2对PLC/PRF/5细胞侵袭的影响($\times 200$; $\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.7 ACO2核转位促进PLC/PRF/5细胞中迁移、侵袭相关蛋白的表达

WB结果(图7)显示,与ACO2ΔNLS + Control组相比,ACO2ΔNLS + 1%O₂组PLC/PRF/5细胞中

MMP2蛋白的表达量显著增加($P < 0.05$);与ACO2ΔNLS + 1%O₂组相比,ACO2WT + 1%O₂组PLC/PRF/5细胞中MMP2与MMP9蛋白的表达量均明显增加(均 $P < 0.05$)。

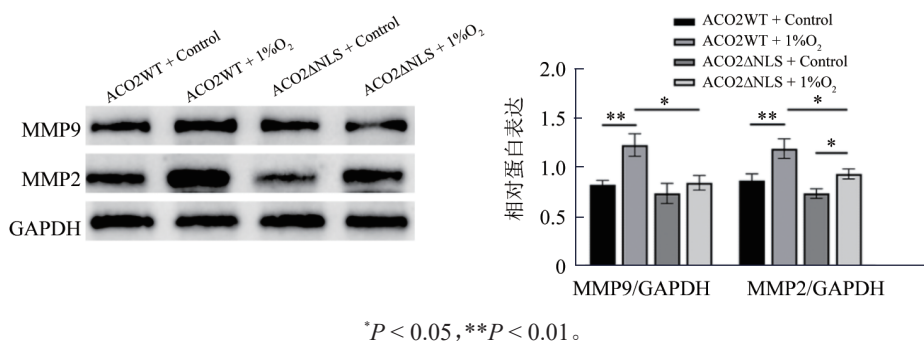


图7 WB法检测核ACO2对PLC/PRF/5细胞中迁移、侵袭相关蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3 讨论

HCC的发病率和病死率逐年上升^[17],其高转移、高耐药及预后差的特点增加了治疗难度^[18],尽管索拉非尼等分子靶向药物为晚期患者提供了一定的生存获益,但会使患者产生耐药和不良反应^[19]。因此,探索新的治疗靶点具有重要的临床意义。

ACO2失调为HCC的诊断与治疗提供了新的研究方向。HPA数据库分析结果显示,ACO2在肝癌细胞质和细胞核内均呈高表达,提示其可能在核内亦具有功能活性。已有研究^[20-21]表明,肿瘤细胞在低氧状态下通常会发生信号通路的特异性激活,以此促进肿瘤的发生发展。本研究通过免疫荧光染色实验亦发现,低氧(1%O₂)组细胞核中荧光亮度显著增强,这表明低氧能够明显促进ACO2进入PLC/PRF/5细胞核。

为进一步探究低氧诱导的ACO2发生核转位的作用机制,本研究基于乙酰辅酶A合成酶2(acetyl-CoA synthetase 2, ACS2)发生核转位依赖NLS信号^[13],通过NLStradamus在线网站预测ACO2的第458~463位氨基酸存在潜在NLS序列,并通过基因截短技术构建了用Flag标记的ACO2ΔNLS。免疫荧光与WB的实验结果一致表明,在低氧条件下,仅ACO2WT组可发生显著核转位,而ACO2ΔNLS组的核内分布受阻,证实该NLS对于低氧诱导的ACO2核转位至关重要。

在功能研究方面,EdU实验表明低氧可增强PLC/PRF/5细胞增殖,而ACO2核转位进一步显著促进该过程,提示ACO2可能通过核内机制参与细胞周期调控。本研究还通过划痕实验和Transwell侵袭实验发现,ACO2核转位能显著增强PLC/PRF/5细胞的迁移和侵袭能力。WB结果显示,在ACO2WT + 1%O₂组中,迁移、侵袭相关蛋白MMP2与MMP9的表达水平显著上调,进一步验证了上述表型。

综上所述,低氧诱导的ACO2发生核转位依赖其NLS,且该过程可显著增强肝癌细胞PLC/PRF/5增

殖、迁移及侵袭能力。这些发现提示,核内ACO2可能成为一个有前景的HCC治疗新靶点,进一步探究ACO2在核内的功能机制,或将为肝癌靶向治疗提供新的实验基础与策略支持。

[参考文献]

- [1] Kim D W, Talati C, Kim R. Hepatocellular carcinoma (HCC): beyond sorafenib-chemotherapy[J]. J Gastrointest Oncol, 2017, 8 (2): 256-265. DOI:10.21037/jgo.2016.09.07.
- [2] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-263. DOI:10.3322/caac.21834.
- [3] Giannini E G, Farinati F, Ciccarese F, et al. Prognosis of untreated hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2015, 61(1): 184-190. DOI:10.1002/hep.27443.
- [4] Wang W Y, Wei C. Advances in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. Genes Dis, 2020, 7(3): 308-319. DOI: 10.1016/j.gendis.2020.01.014.
- [5] Galle P R, Forner A, Llovet J M, et al. EASL clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma[J]. J Hepatol, 2018, 69(1): 182-236. DOI:10.1016/j.jhep.2018.03.019.
- [6] Cucchetti A, Vitale A, Del Gaudio M, et al. Harm and benefits of primary liver resection and salvage transplantation for hepatocellular carcinoma[J]. Am J Transplant, 2010, 10(3): 619-627. DOI:10.1111/j.1600-6143.2009.02984.x.
- [7] Schmidt C, Sciacovelli M, Frezza C. Fumarate hydratase in cancer: a multifaceted tumour suppressor[J]. Semin Cell Dev Biol, 2020, 98: 15-25. DOI:10.1016/j.semedb.2019.05.002.
- [8] Dalla Pozza E, Dando I, Pacchiana R, et al. Regulation of succinate dehydrogenase and role of succinate in cancer[J]. Semin Cell Dev Biol, 2020, 98: 4-14. DOI:10.1016/j.semedb.2019.04.013.
- [9] Liu X J, Si W Z, He L, et al. The existence of a nonclassical TCA cycle in the nucleus that wires the metabolic-epigenetic circuitry[J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 375. DOI: 10.1038/s41392-021-00774-2.
- [10] Ghisletti S, Russo M. TCA-cycle metabolites in the nucleus: drivers of chromatin and epigenetic control[J]. BMC Biol, 2025, 23(1): 316. DOI: 10.1186/s12915-025-02423-4.
- [11] Wang Y G, Guo Y R, Liu K, et al. KAT2A coupled with the α -KGDH complex acts as a histone H3 succinyltransferase[J].

- Nature, 2017, 552: 273-277. DOI:10.1038/nature25003.
- [12] Nagaraj R, Sharpley M S, Chi F T, et al. Nuclear localization of mitochondrial TCA cycle enzymes as a critical step in mammalian zygotic genome activation[J]. Cell, 2017, 168(1/2): 210-223. e11. DOI:10.1016/j.cell.2016.12.026.
- [13] Li X J, Yu W, Qian X, et al. Nucleus-translocated ACS2 promotes gene transcription for lysosomal biogenesis and autophagy[J]. Mol Cell, 2017, 66(5): 684-697.e9. DOI: 10.1016/j.molcel.2017.04.026.
- [14] Wang Z, Zheng W Q, Chen Z, et al. Pan-cancer analysis shows that ACO2 is a potential prognostic and immunotherapeutic biomarker for multiple cancer types including hepatocellular carcinoma[J]. Front Oncol, 2022, 12: 1055376. DOI:10.3389/fonc.2022.1055376.
- [15] Liao C C, Lin Y L, Kuo C F. Effect of high-fat diet on hepatic proteomics of hamsters[J]. J Agric Food Chem, 2015, 63(6): 1869-1881. DOI:10.1021/jf506118j.
- [16] Chen Y, Cai G H, Xia B, et al. Mitochondrial aconitase controls adipogenesis through mediation of cellular ATP production[J]. FASEB J, 2020, 34(5): 6688-6702. DOI:10.1096/fj.201903224RR.
- [17] Singal A G, Kanwal F, Llovet J M. Global trends in hepatocellular carcinoma epidemiology: implications for screening, prevention and therapy[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2023, 20(12): 864-884. DOI: 10.1038/s41571-023-00825-3.
- [18] Sun J H, Luo Q, Liu L L, et al. Liver cancer stem cell markers: progression and therapeutic implications[J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(13): 3547-3557. DOI:10.3748/wjg.v22.i13.3547.
- [19] Deng S S, Solinas A, Calvisi D F. Cabozantinib for HCC treatment, from clinical back to experimental models[J]. Front Oncol, 2021, 11: 756672. DOI:10.3389/fonc.2021.756672.
- [20] Bhardwaj A, Panepinto M C, Ueberheide B, et al. A mechanism for hypoxia-induced inflammatory cell death in cancer[J]. Nature, 2025, 637: 470-477. DOI:10.1038/s41586-024-08136-y.
- [21] Cheu J W, Chiu D K, Kwan K K, et al. Hypoxia-inducible factor orchestrates adenosine metabolism to promote liver cancer development[J]. Sci Adv, 2023, 9(18): eade5111. DOI: 10.1126/sciadv.ade5111.
- [收稿日期] 2026-02-25 [修回日期] 2026-07-01
[本文编辑] 黄静怡