

安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

## 《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目:  $\alpha$ -酮戊二酸经 PI3K/AKT 改善砷诱导的子代肝脂质沉积  
作者: 暴双蕊, 吴红艳, 孙影, 詹童, 杨倩, 梁心茹, 万志雁, 陈文一, 张程  
网络首发日期: 2025-12-26  
引用格式: 暴双蕊, 吴红艳, 孙影, 詹童, 杨倩, 梁心茹, 万志雁, 陈文一, 张程.  $\alpha$ -酮戊二酸经 PI3K/AKT 改善砷诱导的子代肝脂质沉积[J/OL]. 安徽医科大学学报. <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20251225.1558.004>



**网络首发:** 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认:** 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

## $\alpha$ -酮戊二酸经 PI3K/AKT 改善砷诱导的子代肝脂质沉积

暴双蕊<sup>1,2,3</sup>, 吴红艳<sup>1,2,3</sup>, 孙影<sup>1,2,3</sup>, 詹童<sup>1,2,3</sup>, 杨倩<sup>1,2,3</sup>, 梁心茹<sup>1,2,3</sup>, 万志雁<sup>1,2,3</sup>,  
陈文一<sup>2,3</sup>, 张程<sup>1,2,3</sup>

(<sup>1</sup>安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理学系, <sup>2</sup>环境毒理学安徽普通高校省级重点实验室  
室, <sup>3</sup>出生人口健康教育部重点实验室, 合肥 230032)

**摘要** 目的 探讨  $\alpha$ -酮戊二酸 ( $\alpha$ -KG) 对孕期砷暴露导致子代肝脏脂质沉积中的保护作用及机制。方法 SPF 级 8 周龄癌症研究所 (ICR) 小鼠, 雌雄 2:1 交配后得到孕鼠共 32 只, 将孕鼠随机分为 4 组: 对照组、砷组、 $\alpha$ -KG 组、砷+ $\alpha$ -KG 组。在妊娠第 0~16 天 (GD0~GD16), 砷组和砷+ $\alpha$ -KG 组每天饮水暴露亚砷酸钠 ( $\text{NaAsO}_2$ ) 15 mg/L,  $\alpha$ -KG 组和砷+ $\alpha$ -KG 组使用  $\alpha$ -KG (2 g/kg) 每天进行灌胃。在 GD16 收集胎鼠肝脏, 并测量胎鼠体质量与顶臀长; 转录组分析对照组和砷组基因表达差异; 液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS) 检测胎鼠肝脏总三酰甘油 (TGs) 水平及其亚型; 油红 O 染色观察肝脏组织病理变化; 实时定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 检测胎鼠磷酸肌醇 3-激酶 (PI3K)、蛋白激酶 B (AKT)、脂质代谢相关基因的表达水平。结果 转录组学分析显示, 孕期砷暴露后导致胎肝 2 144 个基因下调和 1 675 个基因上调; 与对照组相比, 砷组胎鼠体质量和顶臀长降低 ( $P_{\text{TUKey}} < 0.05$ ), 肝脏 TGs 水平升高 ( $P_{\text{TUKey}} < 0.05$ ); 油红 O 染色结果显示, 脂滴明显增加 ( $P_{\text{TUKey}} < 0.01$ ); RT-qPCR 检测结果显示脂质合成相关基因表达显著上调 ( $P_{\text{TUKey}} < 0.05$ ),  $\beta$ -氧化以及脂质降解相关基因表达下降 ( $P_{\text{TUKey}} < 0.05$ ), PI3K、AKT 转录水平降低 ( $P_{\text{TUKey}} < 0.05$ )。与砷组相比, 砷+ $\alpha$ -KG 组胎鼠体质量和顶臀长增加 ( $P_{\text{TUKey}} < 0.05$ ); 肝脏 TGs 水平降低 ( $P_{\text{TUKey}} < 0.05$ ); 油红 O 染色结果显示, 脂滴显著减少 ( $P_{\text{TUKey}} < 0.01$ ); 脂质合成相关基因表达下调 ( $P_{\text{TUKey}} < 0.05$ ),  $\beta$ -氧化以及脂质降解相关基因表达上调 ( $P_{\text{TUKey}} < 0.05$ ), PI3K、AKT 转录水平上升 ( $P_{\text{TUKey}} < 0.05$ )。结论  $\alpha$ -KG 可有效缓解孕期砷暴露导致的子代肝脏脂质沉积, 其作用机制可能是通过激活 PI3K/AKT, 恢复脂质代谢稳态实现的。

**关键词**  $\alpha$ -酮戊二酸; 砷; 脂质代谢; PI3K/AKT; 肝脏脂质沉积; 孕期暴露; 子代

基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 82173565); 安徽省高校中青年教师培养行动项目 (编号: DTR2023012); 出生人口健康教育部重点实验室“本科生开放课题”项目 (编号: JKBK20249)

作者简介: 暴双蕊, 女, 硕士研究生;

张程, 男, 副教授, 硕士生导师, 通信作者, Email: zhangchengdev@126.com

中图分类号 R114

文献标志码 A

### **$\alpha$ -ketoglutarate ameliorated arsenic-induced hepatic lipid deposition in offspring via PI3K/AKT signaling pathway**

Bao Shuangrui<sup>1,2,3</sup>, Wu Hongyan<sup>1,2,3</sup>, Sun Ying<sup>1,2,3</sup>, Zhan Tong<sup>1,2,3</sup>, Yang Qian<sup>1,2,3</sup>, Liang Xinru<sup>1,2,3</sup>, Wan Zhiyan<sup>1,2,3</sup>, Chen Wenyi<sup>2,3</sup>, Zhang Cheng<sup>1,2,3</sup>

(<sup>1</sup>Department of Toxicology, Anhui Medical University, <sup>2</sup>Key Laboratory of Environmental Toxicology of Anhui Higher Education Institutes, <sup>3</sup>Key Laboratory of Population Health Across Life Cycle, MOE, Hefei 230032)

**Abstract Objective** To investigate the protective effect of  $\alpha$ -ketoglutarate ( $\alpha$ -KG) on hepatic lipid deposition in offspring caused by arsenic exposure during pregnancy. **Methods** 8-week-old institute of cancer research (ICR) mice were mated in a ratio of 2:1 between females and males, and the detection of vaginal plugs confirmed pregnant. A total of 32 pregnant mice were randomly divided into four groups: control group, arsenic group,  $\alpha$ -KG group, arsenic+ $\alpha$ -KG group. On gestational day 0~16 (GD0~GD16), the arsenic and arsenic+ $\alpha$ -KG groups were exposed to sodium arsenite ( $\text{NaAsO}_2$ , 15 mg/L) in drinking water everyday, and the  $\alpha$ -KG and arsenic+ $\alpha$ -KG groups were gavaged with  $\alpha$ -KG (2 g/kg) everyday. On GD16, pregnant mice were euthanized to collect fetal liver, and fetal body weight and crown-rump length were measured. Gene expression differences between the control group and the arsenic group were analyzed by transcriptome. The total triglycerides (TGs) and subtypes in fetal liver were detected by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Oil red O staining was used to observe the histopathological changes in the liver. RT-qPCR was used to detect the expression level of genes related to lipid synthesis, transport, and degradation, and phosphatidylinositol 3'-kinase/ protein kinase B (PI3K/ AKT) in the liver of fetus. **Results** Transcriptomics analysis showed that 2 144 genes were downregulated and 1 675 genes were upregulated in the arsenic exposed fetal liver; body weight and crown-rump length were reduced ( $P_{\text{TUKey}} < 0.05$ ); the level of hepatic TGs was elevated in arsenic group ( $P_{\text{TUKey}} < 0.05$ ); oil-red O staining showed a significant increase in lipid droplets in arsenic group ( $P_{\text{TUKey}} < 0.01$ ); the expression of lipid synthesis-related genes were significantly upregulated ( $P_{\text{TUKey}} < 0.05$ ); the expression of  $\beta$ -oxidation-related genes and lipid degradation-related genes were downregulated ( $P_{\text{TUKey}} < 0.05$ ); the expression of PI3K, AKT decreased ( $P_{\text{TUKey}} < 0.05$ ). Compared with the arsenic

group, the body weight and crown-rump length of fetus increased in the arsenic+ $\alpha$ -KG group ( $P_{\text{TuKey}} < 0.05$ ); the level of hepatic TGs decreased in the arsenic+ $\alpha$ -KG group ( $P_{\text{TuKey}} < 0.05$ ); oil red O staining showed lipid droplets significantly decreased ( $P_{\text{TuKey}} < 0.01$ ); the expression of lipid synthesis-related genes were downregulated ( $P_{\text{TuKey}} < 0.05$ ), the expression of  $\beta$ -oxidation-related genes and lipid degradation-related genes were upregulated ( $P_{\text{TuKey}} < 0.05$ ); the expression levels of PI3K and AKT increased ( $P_{\text{TuKey}} < 0.05$ ). **Conclusion**  $\alpha$ -KG alleviated hepatic lipid deposition in offspring exposed to arsenic during pregnancy through activating PI3K/AKT signaling pathway.

**Key words**  $\alpha$ -ketoglutarate; arsenic; lipid metabolism; PI3K/AKT; liver lipid deposition; gestational exposure; offspring

**Fund programs** National Natural Science Foundation of China (No. 82173565), Project for Cultivation of Young and Middle-aged Teachers in Universities of Anhui Province (No. DTR2023012), Open Project (for Undergraduates) of Key Laboratory of Population Health Across Life Cycle (AHMU), MOE (No. JKBK20249).

**Corresponding author** Zhang Cheng, Email: zhangchengdev@126.com

非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是指除酒精和其他明确的损肝因素所致的以肝细胞内脂肪过度沉积为主要特征的临床病理综合征。研究表明<sup>[1]</sup>, 生活习惯、环境污染物、遗传和表观遗传等均可能是 NAFLD 的发病因素。砷是一种已知的环境污染物, 在自然界中广泛存在, 主要通过饮食和饮水进入人体<sup>[2]</sup>。目前, 地下水砷污染已成为全球性公共卫生问题<sup>[3]</sup>。研究证实环境砷暴露导致脂质代谢紊乱<sup>[4]</sup>。然而, 孕期砷暴露导致子代肝脏脂质代谢异常的机制尚未完全阐明。 $\alpha$ -酮戊二酸 ( $\alpha$ -ketoglutarate,  $\alpha$ -KG) 是三羧酸循环的重要中间代谢产物<sup>[5]</sup>, 是谷氨酸、亮氨酸等多种氨基酸的合成前体, 在多种代谢过程中发挥着重要作用。有研究<sup>[6]</sup>表明,  $\alpha$ -KG 能预防高脂饮食引起的肝脏脂质代谢紊乱的发生。为此, 本文拟探究  $\alpha$ -KG 对孕期母体砷暴露导致子代肝脏脂质代谢紊乱的保护作用及其机制, 为生命早期砷暴露所导致的 NAFLD 的防治提供新的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂

亚砷酸钠 (货号: S7400) 和  $\alpha$ -KG (货号: 75890) 购自上海西格玛奥德里奇贸易有限

公司；TRIzol 试剂（货号：15596026）购自上海赛默飞世尔科技公司；油红 O 染液（货号：D027-1-3）购自南京建成生物工程研究所；色谱级甲醇（货号：34860-1L-R）、色谱级乙腈（货号：34851-1L）和色谱级异丙醇（货号：34863-2.5L）购自德国默克公司。

## 1.2 主要仪器

三重四级杆串联质谱系统（美国 AB Scientific Export 公司，型号：Triple Quad™ 4500）；高效液相色谱仪（美国安捷伦 Agilent 公司，型号：Agilent 1200）；高速冷冻离心机（德国艾本德股份公司，型号：5427R）；生物样本均质仪（杭州奥盛仪器有限公司，型号：Bioprep-24R）；超纯水仪（美国颇尔公司，型号：Cascada TMI）；多功能荧光显微镜（日本奥林巴斯公司，型号：BX53+DP80+Cellsens）；荧光定量 PCR 仪（瑞士罗氏 Roche 公司，型号：LightCycler®480）。

## 1.3 动物分组及处理

健康 SPF 级 8 周龄癌症所研究（institute for cancer research, ICR）小鼠购自北京维通利华公司。雌鼠体质量 28~30 g 共 32 只，雄鼠体质量 36~38 g 共 16 只。环境湿度（50±5）%，温度 20~25 °C，每日 12 h 光照/黑暗循环，自由进食和饮水。适应性喂养 1 周后，雌雄按照 2：1 比例进行合笼，次日早晨 7 点检查阴栓，阴栓阳性者记为 GD0。将 ICR 孕鼠随机分为 4 组：对照组、砷组、 $\alpha$ -KG 组、砷+ $\alpha$ -KG 组，每组 8 只。在 GD0~GD16，砷组和砷+ $\alpha$ -KG 组每天饮水暴露 NaAsO<sub>2</sub>（15 mg/L）， $\alpha$ -KG 组和砷+ $\alpha$ -KG 组每天使用  $\alpha$ -KG（2 g/kg）进行灌胃。在 GD16 天时，检测胎鼠体质量和顶臀长，并收集胎鼠肝脏。

## 1.4 转录组学分析

对照组和砷组每组 4 个肝脏组织样品交由上海天昊生物科技有限公司提取总 RNA 并进行转录组学分析。利用 Agilent 2100 生物分析仪检测 RNA 质量，取适量总 RNA，根据 poly（A）结构分选、片段化 mRNA，结合引物和逆转录酶合成第一链 cDNA，以第一链为模板合成第二链。随后双链 cDNA 进行末端修复和 3'末端加“A”反应，连接测序接头，PCR 扩增 DNA 文库，使用 Qubit 和 Agilent 2100 Bioanalyzer 分别检测文库浓度与文库片段长度，上机测序获得 FASTQ 数据。以 Log Fold Change  $\geq 1.5$ ， $P < 0.05$  为标准进行差异基因筛选，并进行 KEGG 功能富集分析。

## 1.5 总三酰甘油水平及其亚型的检测

每个样品称取 20 mg 胎肝组织，加入 100  $\mu$ L 生理盐水进行匀浆，取 50  $\mu$ L 匀浆液加入 250  $\mu$ L 有机溶剂（丁醇：甲醇=1：1，含有 10 mmol/L 甲酸铵），涡旋 3 min 后超声 1 h，室温下 14 000 r/min 离心 10 min，重复 2 次后吸取 100  $\mu$ L 上清液于进样瓶中，采用 LC-MS/MS 分析总三酰甘油及其亚型的水平。

1.6 油红 O 染色

将胎肝组织置于 OCT 包埋剂中进行包埋，使用冰冻切片机切成 10  $\mu$ m 组织切片，黏附于载玻片上，配制油红 O 工作液进行染色，染色结束后进行封片，在光学显微镜下观察组织病理结果。

1.7 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR)

称取 20 mg 胎肝组织，加入 1 mL TRIzol 试剂进行匀浆，随后加入 100  $\mu$ L 1-溴-3-氯丙烷进行萃取，4  $^{\circ}$ C 条件下 12 000 r/min 离心 15 min，取上清液加入 4 倍体积异丙醇析出 RNA，使用预冷的 75%乙醇进行洗涤。将 RNA 浓度定量在 500 ng/ $\mu$ L，逆转录成 cDNA 后进行扩增反应。本实验中所用引物均由生工生物工程（上海）股份有限公司合成，实验合成引物序列如表 1 所示。

表 1 PCR 引物序列  
Tab.1 Sequences of primers for PCR

| Gene          | Sequence (5'-3')        | Sequence (3'-5')       |
|---------------|-------------------------|------------------------|
| <i>18S</i>    | GTAACCCGTTGAACCCCAT     | CCATCCAATCGGTAGTAGCG   |
| <i>Acaca</i>  | TTCAGTGTGGCTTCTCCAGC    | GACCACCGACGGATAGATCG   |
| <i>Acacb</i>  | CCGCTCACCAACAGTAAGGT    | ATGAGCTTGGCAGGGAGTTC   |
| <i>Acl</i>    | CCTTCCCCGGTGAAAGAGTG    | GGGCTCAGGCTTTCTGTAGAC  |
| <i>Scd1</i>   | CGGTCATCCCATCGCCTGCTCT  | GTAGGCGAGTGGCGGAAGTGC  |
| <i>Fasn</i>   | CGCTCGGCTCGATGGCTCAG    | CCAGCACACGGCATGCTCA    |
| <i>Srebfl</i> | CAGACTCACTGCTGCTGACA    | GATGGTCCCTCCACTCACCA   |
| <i>Ppara</i>  | AGTGCAGCCTCAGCCAAGTTGAA | AGGCAGGCCACAGAGCGCTAAG |
| <i>Cpt1a</i>  | TTCCAGACGTCTCTGCCGCG    | GGGCCAGTGCTGTCATGCGT   |
| <i>Hsl</i>    | GGAGCTCCAGTCGGAAGAGG    | GTCTTCTGCGAGTGTCACCA   |
| <i>Atgl</i>   | ACAGGGCTACAGAGATGGACT   | AGGCTGCAATTGATCCTCCTC  |

|             |                       |                        |
|-------------|-----------------------|------------------------|
| <i>Mtp</i>  | AAGAGGAGGAGCCTGTAGGG  | AGGCCTGTGGGTAGAAATGC   |
| <i>Pi3k</i> | ACACCACGGTTTGGACTATGG | GGCTACAGTAGTGGGCTTGG   |
| <i>Akt</i>  | ATGAACGACGTAGCCATTGTG | TTGTAGCCAATAAAGGTGCCAT |

1.8 统计学处理

本研究所有数据结果均采用均数±标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示。采用 SPSS 23.0 软件进行数据分析。多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行数据分析, 采用 Tukey 检验进一步两两比较。 $P_{Tukey} < 0.05$  表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 孕期砷暴露引起胎肝转录组变化

图 1A 结果显示, 与对照组相比, 砷暴露组胎鼠肝脏基因组表达显著改变; 火山图结果显示, 孕期砷暴露后有 2 144 个基因下调, 1 675 个基因上调 (图 1B)。KEGG 功能富集分析结果显示, 差异基因在不饱和脂肪酸的生物合成、脂肪酸代谢、PI3K/AKT 信号通路中显著富集 (图 1C)。

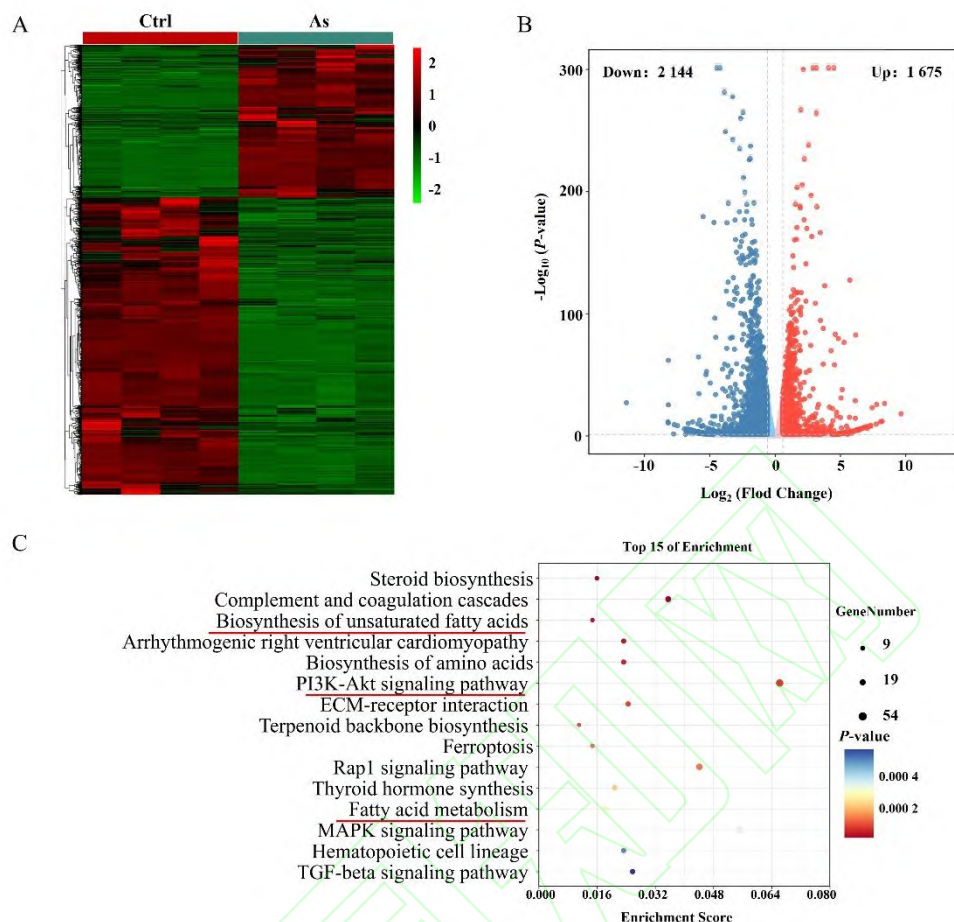


图 1 胎肝转录组学

Fig.1 Transcriptomics analysis of fetal livers

A: Heatmap of gene expression in fetal liver transcriptomes of the control and arsenic group; B: Volcano plot of gene expression in fetal liver of the control group and arsenic group; C: KEGG pathway analysis of gene expression in fetal liver of the control group and arsenic group.

## 2.2 $\alpha$ -KG 改善孕期砷暴露诱导的胎鼠肝脏脂质沉积

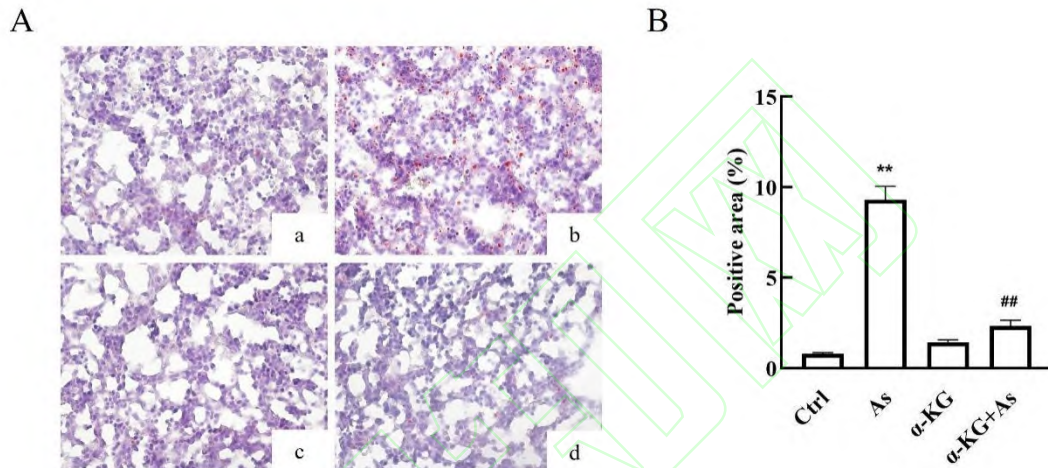
与对照组相比，砷组胎鼠体质量显著下降 ( $P_{TuKey} < 0.05$ )， $\alpha$ -KG 补充后体质量显著上升 ( $P_{TuKey} < 0.05$ ) (表 2)。与对照组相比，砷暴露组胎鼠顶臀长显著下降 ( $P_{TuKey} < 0.01$ )， $\alpha$ -KG 补充后顶臀长显著上升 ( $P_{TuKey} < 0.01$ ) (表 2)。油红 O 染色结果显示，与对照组相比，砷组肝脏脂滴明显增加，砷+ $\alpha$ -KG 组脂滴明显减少 (图 2A)；定量分析结果显示，与对照组相比，砷组阳性面积显著增加 ( $P_{TuKey} < 0.01$ )，砷+ $\alpha$ -KG 组阳性区域面积明显减少 ( $P_{TuKey} < 0.01$ ) (图 2B)。

表 2 胎鼠的生长发育指标 ( $n=8$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

**Tab.2 Growth and development indexes of fetus** ( $n=8$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

| Variable               | Ctrl             | As                 | $\alpha$ -KG     | As+ $\alpha$ -KG               | F value | P value |
|------------------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------------------|---------|---------|
| Body weight (g)        | 0.76 $\pm$ 0.01  | 0.70 $\pm$ 0.02*   | 0.75 $\pm$ 0.04  | 0.74 $\pm$ 0.01 <sup>#</sup>   | 7.205   | 0.002   |
| Crown-rump length (mm) | 19.12 $\pm$ 0.68 | 17.77 $\pm$ 0.51** | 19.03 $\pm$ 0.39 | 18.86 $\pm$ 0.49 <sup>##</sup> | 8.510   | 0.001   |

\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs Ctrl group; <sup>#</sup> $P<0.05$ , <sup>##</sup> $P<0.01$  vs As group.

**图 2  $\alpha$ -KG 改善孕期砷暴露诱导的胎鼠肝脏脂质沉积****Fig.2  $\alpha$ -KG alleviated gestational arsenic exposure-evoked hepatic lipid deposition in fetus**

A: Oil red O staining of the liver tissues in fetus  $\times 400$ ; B: Quantitative analysis of Oil red O staining; a: Ctrl group; b: As group; c:  $\alpha$ -KG group; d: AS+ $\alpha$ -KG group; \*\*  $P_{\text{TuKey}}<0.01$  vs Ctrl group; <sup>##</sup> $P_{\text{TuKey}}<0.01$  vs As group.

### 2.3 $\alpha$ -KG 减轻孕期砷暴露导致的胎鼠三酰甘油水平增加

采用 LC-MS/MS 技术检测胎肝三酰甘油水平，图 3A 热图代表了不同组之间三酰甘油 42 种脂质亚型水平，包括饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸。图 3B 代表了总三酰甘油水平。结果显示，与对照组相比，砷暴露组胎肝内三酰甘油水平显著升高 ( $P_{\text{TuKey}}<0.05$ )， $\alpha$ -KG 补充后显著降低了肝脏内甘油三酯水平 ( $P_{\text{TuKey}}<0.05$ )。

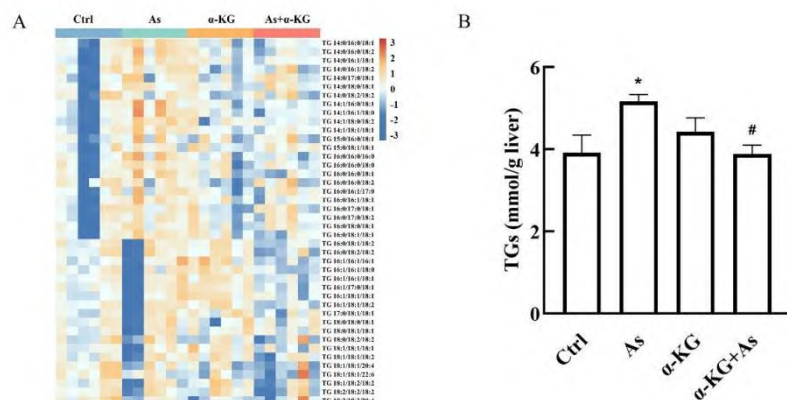


图 3 胎肝内三酰甘油水平变化

Fig.3 The level of total triglyceride in fetal livers

A: The heatmap of triglyceride; B: The level of total triglyceride; \*  $P_{\text{TuKey}} < 0.05$  vs Ctrl group; #  $P_{\text{TuKey}} < 0.05$  vs As group.

## 2.4 α-KG 减轻孕期砷暴露导致的胎鼠肝脏脂质代谢紊乱

图 4A 结果显示肝脏脂质代谢相关基因表达的热图，包括肝脏脂质合成相关基因，如乙酰辅酶 A 羧化酶 α (*Acaca*)、乙酰辅酶 A 羧基酶 β (*Acacb*)、ATP 枸橼酸裂解酶 (*Acl*)、硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1 (*Scd1*)、脂肪酸合酶 (*Fasn*) 和固醇调节元件结合转录因子 1 (*Srebf1*)，β-氧化相关基因，如过氧化物酶体增殖物激活受体 α (*Ppara*) 和肉碱棕榈酰基转移酶 1a (*Cpt1a*)，肝脏脂质降解相关基因，如激素敏感脂肪酶 (*Hsl*) 和脂肪三酰甘油脂肪酶 (*Atgl*)，以及脂质转运相关基因，微粒体三酰甘油转移蛋白 (*Mttp*)。图 4B 基因表达定量结果显示，与对照组相比，脂质合成相关基因 *Acl*、*Fasn*、*Srebf1* 表达显著上调，β-氧化相关基因 *Ppara*，以及脂质降解相关基因 *Hsl* 和 *Atgl* 表达下降，α-KG 补充后逆转了 *Acl*、*Fasn*、*Ppara*、*Hsl*、*Atgl* 基因表达。

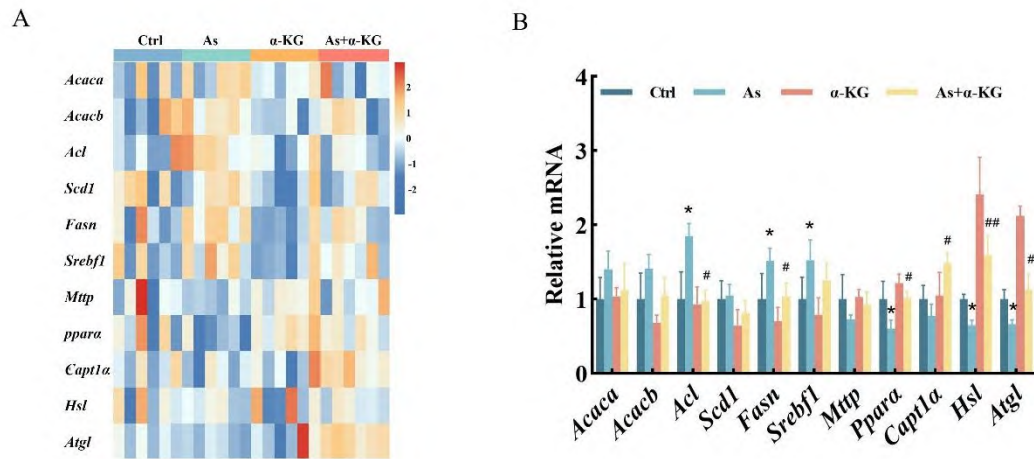


图 4 胎肝脂质代谢相关基因表达水平

Fig.4 The expression level of lipid metabolism-related genes in fetal livers

A: The heatmap of lipid metabolism-specific genes in fetal liver; B: The mRNA expression level of metabolism-specific genes in fetal liver; \*  $P_{TuKey} < 0.05$  vs control group; #  $P_{TuKey} < 0.05$ , ##  $P_{TuKey} < 0.01$  vs arsenic group.

## 2.5 $\alpha$ -KG 缓解孕期母体砷暴露对胎肝 PI3K/AKT 信号通路的抑制作用

RT-qPCR 结果显示, 与对照组相比, 砷暴露后 PI3k 和 AKT mRNA 表达水平均下降 ( $P_{TuKey} < 0.05$ ), 相较于砷暴露组, 砷+ $\alpha$ -KG 组 PI3K 和 AKT mRNA 表达水平显著上调 ( $P_{TuKey} < 0.05$ ), 提示  $\alpha$ -KG 补充减轻孕期母体砷暴露对胎鼠肝脏内 PI3K/AKT 信号通路的抑制。

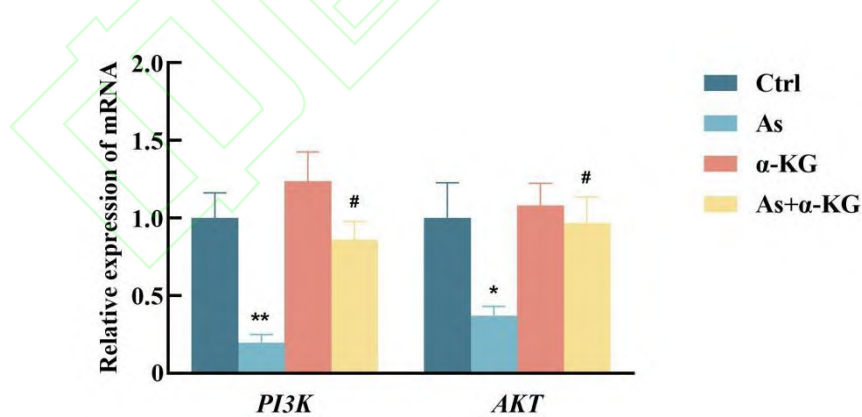


图 5 胎鼠肝脏 PI3K/AKT 信号表达水平

Fig.5 The expression level of PI3K/AKT signaling in fetal livers

\*  $P_{TuKey} < 0.05$ , \*\*  $P_{TuKey} < 0.01$  vs Ctrl group; #  $P_{TuKey} < 0.05$  vs As group.

## 3 讨论

砷是广泛存在的环境污染物和致癌物质,已有多个国家均报道了地下水砷污染,远超世界卫生组织(WHO)规定的饮水中砷浓度的安全阈值<sup>[7]</sup>。本研究观察到,孕期砷暴露后降低胎鼠体质量和顶臀长,与既往报道的母体砷暴露导致胎盘发育不良和胎鼠生长受限一致<sup>[8-9]</sup>。砷还可能通过氧化应激和炎症诱导肝脏脂质沉积<sup>[10]</sup>,增加子代代谢性疾病的风险。本研究发现,孕期砷暴露导致胎鼠肝脏脂肪酸代谢基因异常表达,组织病理学和 LC-MS/MS 显示,脂滴及三酰甘油水平显著升高,提示孕期砷暴露后导致子代肝脏发生脂质沉积,与前期研究结果一致<sup>[11]</sup>,证实了孕期砷暴露对子代肝脏脂代谢的负面影响。

$\alpha$ -KG 作为三羧酸循环的关键中间体,参与能量代谢、氧化应激调控和表观遗传修饰<sup>[12]</sup>。研究<sup>[13]</sup>表明,SLC7A11 通过降低自由基水平促进  $\alpha$ -KG/脯氨基羟化酶(PHD)活性,可减轻 NAFLD 的发展。另一研究<sup>[14]</sup>表明, $\alpha$ -KG 补充减少小鼠体质量增加,降低血清胆固醇水平,改善了脂质沉积。本研究发现,孕期补充  $\alpha$ -KG 显著降低子代肝脏三酰甘油水平和脂滴的积累,提示  $\alpha$ -KG 对孕期母体砷暴露导致子代肝脏脂质沉积的保护作用。机制上, $\alpha$ -KG 补充逆转了砷诱导的脂代谢基因紊乱(如上调 *Acl*、*Fasn*、*Srebf1*,下调 *Hsl*、*Atgl*),恢复了脂质代谢稳态。

PI3K/AKT 信号通路在信号转导和细胞增殖、凋亡、代谢和血管生成等生物过程的调节中起重要作用<sup>[15]</sup>。本研究转录组分析显示,孕期砷暴露后子代肝脏中 PI3K/AKT 通路显著富集,且 *PI3K* 和 *AKT* mRNA 表达水平显著下降,而  $\alpha$ -KG 补充后逆转这一趋势。这与既往研究一致,如龙胆苦苷通过靶向脂肪质素受体 3(PAQR3)激活 PI3K/AKT 信号通路<sup>[16]</sup>,核孔蛋白 85(NUP85)通过调节 PI3K/AKT 信号通路,减轻脂质沉积<sup>[17]</sup>。此外,姜黄素和白藜芦醇通过 PI3K/AKT/mTOR 和缺氧诱导因子 1/血管内皮生长因子(HIF-1/VEGF)级联反应减轻代谢性相关脂肪肝疾病的肝脏脂肪变性<sup>[18]</sup>。这表明  $\alpha$ -KG 可通过 PI3K/AKT 信号通路调控下游脂代谢靶点,从而改善砷诱导的肝脏脂质沉积。

本研究仍存在一定的局限性。首先,尽管本研究证实了  $\alpha$ -KG 补充对母体砷暴露所致子代肝脏脂质沉积的保护作用,但未能完全排除内源性  $\alpha$ -KG 代谢途径的潜在影响。其次,虽然本研究结果表明 PI3K/AKT 信号通路在砷诱导的肝脏脂质沉积中发挥关键作用,但这一结论仍需通过更直接的基因敲除实验来进一步验证。此外,本研究主要聚焦于  $\alpha$ -KG 的保护效应及其分子机制,尚未全面探讨其他可能的调控途径。未来研究可考虑通过代谢组学分析全面评估  $\alpha$ -KG 补充对子代肝脏整体代谢网络的影响,在不同发育阶段追踪  $\alpha$ -KG 干预的长期效应。这些深入研究将有助于更全面地理解  $\alpha$ -KG 在砷致发育毒性中的保护机制。

综上所述,孕期补充  $\alpha$ -KG 可显著缓解砷暴露导致的子代肝脏脂质沉积,这一保护作用

主要通过调控 PI3K/AKT 通路、恢复肝脏脂代谢稳态来实现。 $\alpha$ -KG 通过激活 PI3K/AKT 信号通路，逆转砷暴露导致的脂代谢相关基因表达紊乱，包括下调脂质合成关键基因的表达，同时上调脂解相关基因的表达水平。从组织病理学角度来看， $\alpha$ -KG 干预可明显减少肝细胞内脂滴的积聚，降低肝脏三酰甘油含量。这些发现不仅阐明了  $\alpha$ -KG 通过 PI3K/AKT 通路改善脂代谢紊乱的分子机制，更重要的是为环境污染物导致的子代代谢性疾病的早期预防和干预提供了新的策略。

## 参考文献

- [1] Dolce A, Della Torre S. Sex, nutrition, and NAFLD: Relevance of environmental pollution[J]. *Nutrients*, 2023, 15(10): 2335. doi: 10.3390/nu15102335.
- [2] Rahaman M S, Rahman M M, Mise N, et al. Environmental arsenic exposure and its contribution to human diseases, toxicity mechanism and management[J]. *Environ Pollut*, 2021, 289: 117940. doi: 10.1016/j.envpol.2021.117940.
- [3] Chen Q Y, Costa M. Arsenic: a global environmental challenge[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2021, 61: 47-63. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-030220-013418.
- [4] Song Y P, Lv J W, Zhao Y, et al. DNA hydroxymethylation reprogramming of  $\beta$ -oxidation genes mediates early-life arsenic-evoked hepatic lipid accumulation in adult mice[J]. *J Hazard Mater*, 2022, 430: 128511. doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.128511.
- [5] Asadi Shahmirzadi A, Edgar D, Liao C Y, et al. Alpha-ketoglutarate, an endogenous metabolite, extends lifespan and compresses morbidity in aging mice[J]. *Cell Metab*, 2020, 32(3): 447-56.e6. doi: 10.1016/j.cmet.2020.08.004.
- [6] Ciuffoli V, Feng X, Jiang K, et al. Psat1-generated  $\alpha$ -ketoglutarate and glutamine promote muscle stem cell activation and regeneration[J]. *Genes Dev*, 2024, 38(3-4): 151-67. doi: 10.1101/gad.351428.123.
- [7] Podgorski J, Berg M. Global threat of arsenic in groundwater[J]. *Science*, 2020, 368(6493): 845-50. doi: 10.1126/science.aba1510.
- [8] Song Y P, Lv J W, Zhang Z C, et al. Effects of gestational arsenic exposures on placental and fetal development in mice: the role of *Cyr61* m6A[J]. *Environ Health Perspect*, 2023, 131(9): 97004. doi: 10.1289/EHP12207.
- [9] Zhang Y, Song Y P, Wu H Y, et al. Prenatal arsenic exposure disrupts placental angiogenesis by altering *Pdgfr* promoter epigenetic modification[J]. *J Hazard Mater*, 2025, 494: 138736. doi: 10.1016/j.jhazmat.2025.138736.
- [10] Wu L, Zhang S, Zhang Q, et al. The molecular mechanism of hepatic lipid metabolism disorder caused by  $\text{NaAsO}_2$  through regulating the ERK/PPAR signaling pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 6405911. doi: 10.1155/2022/6405911.
- [11] Qian Q H, Song Y P, Zhang Y, et al. Gestational  $\alpha$ -ketoglutarate supplementation ameliorates arsenic-induced hepatic lipid deposition *via* epigenetic reprogramming of  $\beta$ -oxidation process in female offspring[J]. *Environ Int*, 2024, 185: 108488. doi: 10.1016/j.envint.2024.108488.
- [12] Gyanwali B, Lim Z X, Soh J, et al. Alpha-Ketoglutarate dietary supplementation to improve health in humans[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2022, 33(2): 136-46. doi: 10.1016/j.tem.2021.11.003.

- [13] Lv T, Fan X, He C, et al. SLC7A11-ROS/  $\alpha$  KG-AMPK axis regulates liver inflammation through mitophagy and impairs liver fibrosis and NASH progression[J]. Redox Biol, 2024, 72: 103159. doi: 10.1016/j.redox.2024.103159.
- [14] Bayliak M M, Vatachuk M V, Gospodaryov D V, et al. High fat high fructose diet induces mild oxidative stress and reorganizes intermediary metabolism in male mouse liver: Alpha-ketoglutarate effects[J]. Biochim Biophys Acta Gen Subj, 2022, 1866(12): 130226. doi: 10.1016/j.bbagen.2022.130226.
- [15] Wang J, Hu K, Cai X, et al. Targeting PI3K/AKT signaling for treatment of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Acta Pharm Sin B, 2022, 12(1): 18-32. doi: 10.1016/j.apsb.2021.07.023.
- [16] Xiao H, Sun X, Lin Z, et al. Gentiopicroside targets PAQR3 to activate the PI3K/AKT signaling pathway and ameliorate disordered glucose and lipid metabolism[J]. Acta Pharm Sin B, 2022, 12(6): 2887-904. doi: 10.1016/j.apsb.2021.12.023.
- [17] Wu Y C, Yan Q, Yue S Q, et al. NUP85 alleviates lipid metabolism and inflammation by regulating PI3K/AKT signaling pathway in nonalcoholic fatty liver disease[J]. Int J Biol Sci, 2024, 20(6): 2219-35. doi: 10.7150/ijbs.92337.
- [18] He Y, Wang H, Lin S, et al. Advanced effect of curcumin and resveratrol on mitigating hepatic steatosis in metabolic associated fatty liver disease *via* the PI3K/AKT/mTOR and HIF-1/VEGF cascade[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 165: 115279. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115279.