doi 10.18699/bgrs2026-342

Генная сеть регуляции апоптоза гепатоцитов при гепатоцеллюлярной карциноме: реконструкция и анализ на основе данных scRNA-seq и базы знаний ANDSystem

Адамовская А.В.[1, 2]*, Яцык И.В.[1, 2], Клещев М.А.[1, 2], Деменков П.С.[1, 2], Иванисенко Т.В.[1, 2], Иванисенко В.А.[1, 2]
[1] *Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*
[2] *Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*
* *adamovskayaav@bionet.nsc.ru*

Ключевые слова: гепатоцеллюлярная карцинома; апоптоз; генные сети; ANDSystem; транскриптомика одиночных клеток

Мотивация и цель: Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) – наиболее распространенное первичное злокачественное новообразование печени, характеризующееся быстрым прогрессированием, высокой летальностью и устойчивостью к терапии. Значительный вклад в развитие и прогрессирование ГЦК вносит нарушение апоптоза – программируемой клеточной гибели. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что нарушение баланса про- и антиапоптотических белков в гепатоцитах является одним из факторов развития ГЦК и формирования лекарственной резистентности опухоли. Это обусловливает необходимость изучения механизмов нарушения путей апоптоза гепатоцитов при развитии ГЦК и поиска ключевых регуляторных звеньев апоптоза, экспрессия которых различается в здоровых и опухолевых гепатоцитах. Цель работы: реконструкция и анализ генной сети регуляции апоптоза гепатоцитов человека при ГЦК на основе данных scRNA-seq и базы знаний ANDSystem.
Методы и алгоритмы: В работе были использованы данные секвенирования транскриптома одиночных клеток ГЦК и парных гистологически нормальных тканей печени, полученные из базы данных GEO (GSE149614). Реконструкция и анализ генной сети регуляции апоптоза гепатоцитов при ГЦК были выполнены с использованием программно-информационной системы ANDSystem. Функциональную аннотацию генов сети проводили с помощью веб-инструмента DAVID. Эволюционные возраста генов определяли по базе GenOrigin.
Результаты: Сравнительный анализ экспрессии генов показал ослабление транскрипции генов, вовлеченных в регуляцию воспалительных процессов и апоптоза, в опухолевых гепатоцитах по сравнению с гепатоцитами нормальной ткани печени. Была реконструирована генная сеть, включающая 116 дифференциально экспрессирующихся генов, аннотированных в Gene Ontology как гены, вовлеченные в процесс апоптоза (apoptotic process GO:0006915), 116 соответствующих белков, а также 16 дополнительных белков, не имеющих GO-аннотации, но дифференциально экспрессируемых при гепатоцеллюлярной карциноме и вовлеченных во взаимодействия с генами и белками, участвующими в процессе апоптоза. Компьютерный анализ генной сети выявил ряд ключевых белков – продуктов генов *NFKB1*, *MMP9*, *BCL2*, *A4*, *CDN1A*, *CDK1*, *ERBB2*, *G3P*, *MCL1*, *FOXO1*, демонстрирующих как высокое число связей с другими объектами сети, так и дифференциальную экспрессию при гепатоцеллюлярной карциноме. Кроме того, в реконструированную генную сеть апоптоза при ГЦК вошли гены *CDKN1A*, *ERBB2*, *IL8* и *EGR1*, не аннотированные в Gene Ontology как участники апоптоза, однако их белковые продукты имеют статистически значимое превышение числа регуляторных взаимодействий с генами апоптоза. Филостратиграфический анализ показал, что большинство генов сети регуляции апоптоза при ГЦК имеют древний эволюционный возраст (>600 млн лет). Это указывает, что в нарушения апоптоза при ГЦК вовлечены гены, которые возникли до эволюционного формирования таксона многоклеточных организмов (Metazoa).
Выводы: Анализ данных scRNA-seq нормальных и злокачественно трансформированных гепатоцитов показал изменения в экспрессии генов, вовлеченных в контроль апоптоза гепатоцитов при ГЦК, при этом экспрессия генов BCL2 и MCL1 – ключевых ингибиторов апоптоза, была снижена в злокачественно трансформированных клетках печени. Полученные результаты свидетельствуют о том, что гиперэкспрессии генов BCL2 и MCL1 не является доминирующим механизмом подавления апоптоза в исследованной когорте пациентов с ГЦК. Напротив, снижение их экспрессии в злокачественных гепатоцитах указывает на возможное вовлечение альтернативных путей уклонения от клеточной гибели при данном типе рака. К дисрегуляции апоптоза в опухолевых клетках могут приводить нарушения в экспрессии генов *NFKB1*, *MMP9*, *BCL2*, *A4*, *CDN1A*, *CDK1*, *ERBB2*, *G3P*, *MCL1*, *FOXO1*. Среди ДЭГ были выявлены гены *CDKN1A*, *ERBB2*, *IL8*, *EGR1*, которые хотя и не были аннотированы в Gene Ontology как участники апоптоза, но число регуляторных взаимодействий их белковых продуктов с генами, вовлеченными в апоптоз, статистически значимо превышало ожидаемое по случайным причинам согласно оценке на основе гипергеометрического распределения. Это позволяет считать, что белки, кодируемые этими генами, играют специфическую роль в регуляции апоптоза гепатоцитов при ГЦК и являются перспективными кандидатами для дальнейшего изучения.
Финансирование: Исследование поддержано бюджетным проектом FWNR-2022-0020.

Gene network regulating hepatocyte apoptosis in hepatocellular carcinoma: reconstruction and analysis based on scRNA-seq data and the ANDSystem knowledge base

Adamovskaya A.V.[1, 2]*, Yatsyk I.V.[1, 2], Kleshchev M.A.[1, 2], Demenkov P.S.[1, 2], Ivanisenko T.V.[1, 2], Ivanisenko V.A.[1, 2]
[1] *Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia*
[2] *Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*
* *adamovskayaav@bionet.nsc.ru*

Key words: hepatocellular carcinoma; apoptosis; gene networks; ANDSystem; single cell transcriptomics

Motivation and Aim: Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common malignant liver tumor, characterized by rapid progression, high mortality, and resistance to therapy. Impaired apoptosis, a programmed cell death, significantly contributes to the development and progression of HCC. Available data indicate that an imbalance of pro- and anti-apoptotic proteins in hepatocytes is a factor in the development of HCC and the formation of tumor drug resistance (Ladd et al., 2024; Wu et al., 2024). This necessitates studying the mechanisms of disruption of apoptotic pathways in hepatocyte during the development of HCC and identifying key regulatory protein of apoptosis whose expression differs between healthy and tumor hepatocytes. The aim of the study was to reconstruct and analyze the gene network regulating apoptosis in human hepatocytes in HCC using scRNA-seq data and the ANDSystem knowledgebase.
Methods and Algorithms: This study utilized transcriptome sequencing data from single HCC cells and paired histologically normal liver tissues obtained from the GEO database (GSE149614). Reconstruction and analysis of the gene network regulating hepatocyte apoptosis in HCC were performed using the cognitive system ANDSystem. Functional annotation of the network genes was performed using the DAVID web tool. The evolutionary ages of the genes were determined using the GenOrigin database.
Results: Comparative gene expression analysis revealed decreased transcription of genes involved in the regulation of inflammatory processes and apoptosis in tumor hepatocytes compared to hepatocytes from normal liver tissue. A gene network was reconstructed, including 116 differentially expressed genes annotated in Gene Ontology as genes involved in the apoptotic process (apoptotic process GO:0006915), 116 corresponding proteins, and 16 additional proteins lacking GO annotation but differentially expressed in hepatocellular carcinoma and involved in interactions with genes and proteins involved in the apoptotic process. Computer analysis of the gene network revealed a number of key proteins – the products of the NFKB1, MMP9, BCL2, A4, CDN1A, CDK1, ERBB2, G3P, MCL1, and FOXO1 genes – demonstrating both a high number of connections with other network entities and differential expression in hepatocellular carcinoma. Furthermore, the reconstructed gene network of apoptosis in HCC included the CDKN1A, ERBB2, IL8, and EGR1 genes, which are not annotated in Gene Ontology as participants in apoptosis, although their protein products have a statistically significant excess of regulatory interactions with apoptosis genes. This allows us to consider the proteins encoded by these genes as specific regulators of hepatocyte apoptosis in HCC. Phylostatigraphic analysis revealed that most genes in the apoptosis regulatory network in HCC have an ancient evolutionary age (>600 million years). This indicates that genes that arose before the evolutionary formation of the taxon of multicellular organisms (Metazoa) are involved in apoptosis disorders in HCC.
Conclusion: Analysis of scRNA-seq data from normal and malignantly transformed hepatocytes revealed changes in the expression of genes involved in the control of hepatocyte apoptosis in HCC. Expression of the BCL2 and MCL1 genes, key inhibitors of apoptosis, was reduced in malignantly transformed liver cells. These results indicate that overexpression of BCL2 and MCL1 is not the dominant mechanism of apoptosis suppression in the studied cohort of HCC patients. Conversely, decreased expression of these genes in malignant hepatocytes suggests the possible involvement of alternative cell death evasion pathways in this type of cancer. Dysregulation of apoptosis in tumor cells may be caused by alterations in the expression of NFKB1, MMP9, BCL2, A4, CDN1A, CDK1, ERBB2, G3P, MCL1, and FOXO1 genes. Among the DEGs, the CDKN1A, ERBB2, IL8, and EGR1 genes were identified. Although not annotated in Gene Ontology as involved in apoptosis, the number of regulatory interactions of their products with genes involved in apoptosis was statistically significantly higher than expected by chance, as estimated using the hypergeometric distribution. This suggests that the proteins encoded by these genes play a specific role in regulating hepatocyte apoptosis in HCC and are promising candidates for further study.
Funding: The study is supported by budget project FWNR-2022-0020.