

综述

秀丽隐杆线虫对不同氧浓度的应答及其调控机制研究进展

贺婷¹, 康娜¹, 娄萍萍¹, 涂海军^{1,2,*}

¹湖南大学生物学院神经科学研究所, 长沙 410082; ²湖南大学深圳研究院, 深圳 518000

摘要: 不同地理位置的人类生活环境中氧气水平不同, 与人体的正常生理功能密切相关。体内氧气的减少会引发多种疾病, 如大脑缺血、缺氧导致的脑卒中。近年来利用秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*, 简称线虫)作为模式生物研究机体对不同氧浓度应答和调控机制取得了长足进展。研究表明, 线虫会逃避氧浓度过高或过低的环境, 并对周围氧气浓度的变化有适应性, 而且其在不同程度低氧环境中存在不同的应答与调控机制。本文综述了近年来线虫对不同氧气浓度的反应和调控机制研究进展。

关键词: 秀丽隐杆线虫; 氧气浓度; 低氧/无氧; 敏感与耐受; 缺血性脑卒中

中图分类号: Q95-337; Q955

Progress in the mechanisms of response to different oxygen concentrations in *Caenorhabditis elegans*

HE Ping¹, KANG Na¹, LOU Ping-Ping¹, TU Hai-Jun^{1,2,*}

¹Institute of Neuroscience, College of Biology, Hunan University, Changsha 410082, China; ²Shenzhen Research Institute, Hunan University, Shenzhen 518000, China

Abstract: Oxygen levels are unequal in different living geographical locations of human and related to normal physiology of health. The reduction of oxygen level in the body can lead to a variety of diseases, such as stroke caused by cerebral ischemia and hypoxia. In the recent years, many studies have elucidated the molecular and cellular mechanisms of organism response to different oxygen concentrations by using the nematode *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) as model organism. *C. elegans* can escape hypoxia or hyperoxia and adapt to the ambient oxygen environments, and there are different response and regulation mechanisms in different degrees of hypoxia environment. In this paper, recent advances in the reaction of nematodes to different oxygen concentrations and the underlying mechanism were reviewed.

Key words: *Caenorhabditis elegans*; oxygen concentrations; hypoxia/anoxia; sensitivity and tolerance; cerebral ischemia

氧气是维持人类以及其他多细胞、好氧生物正常生理活动所必需的, 而气压和氧浓度会随着海拔的升高而降低, 如海拔为 4 km 的青藏高原, 氧浓度仅为海平面的 60%。生活在埃塞俄比亚、安第斯山脉以及青藏高原等高原地区的人类能适应高原低

氧的环境, 而这些不同地区的人群对高原低氧有独特的适应性反应, 如与生活在海平面人群相比, 安第斯高地的人群具有较高的血红蛋白浓度和较低的血红蛋白氧饱和度^[1], 而青藏高原地区人群表现出正常的血红蛋白浓度和较低的血红蛋白氧饱和度,

Received 2019-04-07 Accepted 2019-05-13

Research from the corresponding author's laboratory was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (No. 31540020, 31671048), the Free Exploration Foundation of Shenzhen Science and Technology Innovation Committee (No. JCYJ20160530192506314) and the Natural Science Foundation of Hunan Province, China (No. 2017JJ2041).

*Corresponding author. Tel: +86-731-84111402; E-mail: haijuntu@hnu.edu.cn

埃塞俄比亚高地人表现出正常的血红蛋白浓度和血红蛋白氧饱和度,但其肺动脉压较其他地区人群高^[2,3]。了解人类对低氧浓度环境的适应机制,对高原地区围产期并发症、慢性高原病等疾病的研究和治疗至关重要^[1,4,5]。同时细胞内氧气的缺少或者供给不足可能会引起多种疾病,如脑卒中和心肌梗死等^[6,7]。虽然目前已经研发了一千多种药物和干预手段治疗脑卒中,约有160种药物到了临床试验阶段,但这些药物的治疗效果不佳,如化合物阿替普酶(rt-PA),虽然在大鼠血栓栓塞性卒中模型上3 h内给药能有效发挥作用,但在临床上中风3 h内给药具有很大的挑战性,而3 h后给药则没有明显的治疗效果,反而可能会增加脑出血的发生率^[8]。另一方面,冬眠动物能抵抗脑部血流量减少造成的脑损伤,能从长期的低氧中完全恢复^[9],表明人们对低氧耐受和抵抗的调控机制了解不够,很难研发出有效的脑卒中治疗药物。从分子和细胞层面去发现新的治疗靶点,是研发治疗脑卒中的药物或方法的重要途径。除此之外,肿瘤细胞有低氧适应性,低氧能调节肿瘤细胞的存活、增殖和转移,处在低氧区域的肿瘤细胞通常对化学和放射治疗更具抗性^[10],研发出抑制低氧抵抗的药物,也是治疗肿瘤所亟待解决的问题。因此,了解细胞、组织和整个生物体如何对不同氧浓度作出反应及其调控机制,研究人类在低氧中的适应和生存机制,这些对低氧或缺氧相关疾病的防治具有重要的研究价值和科学意义。

模式生物研究是探索低氧耐受和敏感调控机制的重要手段。淡水龟可以经受数周的低氧,且再复氧时不会受到氧化损伤,Bundgaard等研究显示,淡水龟通过减少琥珀酸的积累保护心脏免受低氧和复氧产生的活性氧损伤^[11]。斑马鱼是一种淡水鱼,自然状态下水中氧气浓度会产生波动,研究显示低氧会影响斑马鱼线粒体的呼吸作用以及肌肉和脑组织中的氧化还原状态,并且低氧时的蛋白质修饰与线粒体代谢相关^[12,13]。成年黑腹果蝇对低氧或无氧处理有耐受性,研究表明在低氧状态下果蝇能够维持低代谢状态,体内ATP水平低,能够耐受细胞外离子水平的极端变化^[14]。另一种模式生物秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*,下文简称线虫)是近半个多世纪来发展迅速的模式生物,也是第一种完成全基因组测序的模式生物,线虫的自然生长环境是氧气浓度不断波动的土壤,它具有易于实验室培

养和适合进行基因编辑等优势,已成为研究动物有机体对低氧应答及其调控机制的模式生物。目前,线虫作为模式生物,可用于对不同氧浓度下生命体的应答和调控机制的研究,包括低氧条件下的神经损伤和代谢平衡,以及与人类同源的低氧相关的低氧诱导因子1(hypoxia-inducible factor 1, HIF-1)和无氧相关的胰岛素样受体 DAF-2 分子通路等^[15–17]。本文对近年来线虫对不同氧浓度的反应和调控机制研究进展作一综述,并介绍了相关研究设备。

1 用线虫研究机体对不同浓度氧气反应的优势和装置

1.1 用线虫研究动物机体对不同浓度氧气的反应及其调控机制的优势

利用线虫作为模式生物,可以研究氧气浓度变化对个体发育、细胞分裂周期以及组织结构和功能的影响,并揭示其分子调控机制。使用线虫作为研究不同氧气浓度,特别是低氧情况下的应答和调控机制的模式生物,其主要优势有:(1)土壤是线虫的自然生长环境,土壤中的氧气浓度会随温度、湿度和深度变化而发生波动,研究表明,线虫在常氧、低氧和短时间无氧以及100%高氧下都能存活,表明其能适应较宽的氧气浓度范围,且为了适应生存环境,可能进化出了在不同浓度氧气条件下的生存和调控机制^[18]。(2)线虫体积小,繁殖快,可以大规模培养,并且可以进行同步化而产生大量同时期的个体,适合进行低氧情况下的正向和反向遗传学筛选^[19,20],如Mabon等通过大规模的RNAi筛选,在线虫上鉴定出了198个潜在的参与低氧调控机制的基因^[20]。(3)线虫身体通体透明,适合观察低氧时胚胎发育情况,及缺氧状态下组织结构和形态的变化^[17]。利用荧光蛋白标记和钙成像可以观察由低氧引起的组织或单细胞变化^[21],并且可以通过光遗传学手段改变某一个神经元的活性,研究其在低氧调节中的作用^[22]。(4)线虫全基因组测序已完成^[23],其中60%~80%的人类基因在线虫基因组中具有同源基因^[24],40%与人类疾病相关的基因在线虫基因组中具有明确的同源基因^[25],且线虫被预测的蛋白编码基因中有38%在人类基因组中具有同源基因^[26]。Mabon等发现线虫有73个低氧相关的基因与人类同源^[20],表明线虫对低氧的敏感和耐受机制可能是保守的。综上所述,线虫是一种适合研究低氧调控机制的模式生物。

1.2 研究线虫对不同浓度氧气的反应及其调控机制的装置

氧气不足时,哺乳动物会通过加快呼吸或心率,增加向细胞运输的氧气量,而线虫没有血液循环系统,只能从环境中获取氧气后,通过充满了体液的皮下空腔扩散至细胞^[27],且线虫个体小,身体内部氧气水平容易被外部环境影响。利用这一生物学特征,将线虫暴露于人为构建的具有特定氧气浓度的环境中,可以精确控制线虫体内细胞的氧气浓度。根据不同的实验需求,线虫低氧模型所用装置不同。目前,科学家们已经设计和构建了多种用于研究线虫低氧下敏感与耐受的实验装置,如可视化的微流控装置,该装置可以迅速升高或降低氧气水平,实现对单个线虫进行精确的不同氧气浓度刺激,适合用于观察线虫神经元或其他组织对氧气浓度变化的反应^[27];聚二甲基硅氧烷 (polydimethylsiloxane, PDMS)-琼脂杂合芯片^[28]和行为分析装置^[29]适合用于研究线虫在不同氧浓度下的行为响应,PDMS-琼脂杂合芯片可构建一个0%~21%的氧气浓度梯度环境,用于观察线虫对氧气浓度的趋向性,而行为分析装置可以实现不同氧气浓度的快速切换,适于观察多条线虫在氧气浓度迅速变换后的运动速度和轨迹等;另外,厌氧生物袋可以迅速地构建一个无氧的环境,其通过钯催化剂消耗袋中氧气,并使用刃天青指示带指示无氧环境的形成,操作简单且不需要通入气体^[30,31];当进行大批量实验,如正向或反向遗传学筛选时,适合采用定制或自制的低氧小室,可以根据实验需求通入不同成分气体,形成低氧的环境,特定环境形成前会有一个过渡期^[17,32,33];而低氧操作台可以形成一个低氧的操作环境,将低氧小室置于操作台内,使之在实验过程中始终处于氧含量较低的状态中,有利于增加实验的稳定性^[32,34]。因此,目前用于线虫氧浓度刺激的装置可以构建出不同氧气浓度梯度的环境,研究者可根据实验线虫的数量选择相应的装置,进行灵活的实验设计。

除了不同氧浓度的物理装置外,化学试剂诱导产生低氧环境也是一种操作简单且可靠性强的方法。 Na_2SO_3 作为氧气清除剂,能在水溶液中产生并维持低氧环境,使用 Na_2SO_3 水溶液对线虫进行低氧处理,能对其造成与在物理低氧或无氧装置中一致的影响,包括缺氧死亡、细胞形态损伤以及HIF-1的增加等^[35,36]。

在以上不同实验装置中,需要判断线虫个体在

低氧处理后是否存活,判定线虫是否存活的方法有:(1)通过线虫的运动判断线虫的存活^[37-39]。例如,如果线虫不动,用铂金丝或睫毛制成的 picker 触碰,没有反应则认为死亡。如果线虫对触碰有反应,可以进一步分类,如能像正常线虫一样完成正弦运动,则认为低氧处理没有对线虫造成影响,如只能运动一部分身体,则认为存在影响。细分判定标准能够通过线虫的恢复状态评估它的低氧耐受强度。(2)用碘化丙锭 (PI) 染色可以在细胞水平上判断线虫体细胞的存活,PI染料不能通过活细胞膜,只能将已经死亡的线虫染色,研究者可在荧光显微镜下统计死亡线虫数^[32]。

2 线虫对不同浓度氧气的反应

2.1 线虫对低氧或高氧的识别和逃避反应及其调控机制

Gray等利用PDMS-琼脂杂合芯片研究了线虫对不同氧气浓度的趋向性,发现线虫会逃避低于2%或高于12%的氧气浓度,而趋向于氧气浓度为6.4%的环境^[28]。因为细菌会消耗氧气,所以氧气含量较低的区域可能存在细菌(食物),而氧气水平高可能意味着线虫接近缺少食物的环境基质的表面。线虫以这种极其敏感的方式响应氧气浓度的变化,以避免不利的氧气浓度对其造成的伤害,并且找到有利于后代生存和繁殖的最佳氧气环境^[27,40]。

研究表明,线虫中对氧气敏感的神经元有ASH、ADL、ADF、URX、BAG、AQR和PQR^[27,40]。URX和带有纤毛的BAG感觉神经元将树突延伸至线虫的鼻部顶端,感受外部环境的刺激,AQR和PQR感觉神经元延伸顶端带有纤毛的树突至线虫体腔中,可以感知体腔内部产生的刺激物或刺激物的水平。当氧气浓度升高至15%~21%时,URX神经元会感应氧气浓度的升高;当氧浓度降低至4%~10%时,BAG神经元会感知氧气浓度的降低。URX神经元中存在水溶性鸟苷酸环化酶GCY-35和GCY-36,可与氧气形成稳定的亚铁氧复合物,使由GTP产生的cGMP增加,cGMP引发TAX-2和TAX-4组成的环核苷酸通道打开,使 Ca^{2+} 内流,激活URX。同样,在氧浓度降低时,BAG神经元的GCY-31和GCY-33通过增加cGMP的产生,打开TAX-2和TAX-4组成的环核苷酸通道,激活BAG神经元^[27]。研究表明,BAG神经元也能感应 CO_2 ,调控线虫对高浓度 CO_2 的逃避行为,但其功能不依赖于GCY-31和

GCY-33^[41]。URX 或 BAG 神经元激活时会刺激其神经肽或神经递质的产生^[42]，进一步刺激下游中间神经元 RMG、RIA、AVB 和 AVA，使其控制肌肉组织，从而使线虫产生逃避高氧或低氧的行为^[40, 43–45](图 1)。

URX 和 BAG 神经元共同在氧气和食物水平变化的情况下调节线虫的脂质代谢。在氧气充足但缺少食物的情况下，URX 感觉神经元被激活并刺激肠道中的脂肪代谢，使线虫体内脂质含量减少；在较低的氧气浓度或存在食物的情况下，BAG 感觉神经元通过释放神经肽 FLP-17，抑制 URX 神经元对肠道脂质代谢的刺激。URX 和 BAG 神经元调节线虫对氧气浓度的趋向行为，并精确地调节脂肪消耗的速率和程度，共同调控线虫对氧气的利用以及体内稳态的维持^[46, 47]。因此环境中氧气浓度变化可刺激线虫产生逃避行为，进一步了解其信号转导通路以及体内脂质代谢的平衡关系是未来该领域的研究方向。

2.2 线虫对不同浓度氧气的适应性及其调控机制

不同的氧气浓度会刺激线虫神经元功能或神经环路的改变，使其对不同氧气浓度产生适应性。在

正常氧浓度下培养的线虫会逃避低于 2% 的氧气浓度，选择 5%~12% 的氧气浓度^[28]；而在 1% 氧气浓度下培养的线虫，如果神经肽受体 NPR-1 活性低下或功能突变，线虫会选择 0%~7% 的氧气浓度环境。因为在低浓度氧气培养条件下，线虫的 AQR、PQR 和 URX 神经元中鸟苷酸环化酶 GCY-32 和 GCY-34 被激活，使其适应氧浓度较低的环境^[48]。而线虫在较高氧气浓度的环境中适应后，其对 CO₂ 刺激的反应也会发生改变。Fenk 等^[34] 研究显示，在 7% 氧气浓度中适应后的线虫在 3% CO₂ 气体刺激下运动速度加快，而在 21% 氧气浓度中适应的线虫神经肽受体 NPR-1 突变，对 3% CO₂ 气体刺激没有反应，其原因是 21% 的氧气浓度会刺激线虫 URX 和 RMG 神经元，使 RMG 神经元持续释放神经肽并激活其反馈环路，改变 RMG 的功能，使线虫能忍受更高浓度的 CO₂ 刺激^[34, 48]，表明线虫在不同浓度氧气环境中具有灵活可改变的神经环路，调控其适应当前氧气浓度的环境。

总之，线虫通过神经元感知氧气浓度变化并调控其产生逃避行为，并且改变神经元功能或神经环

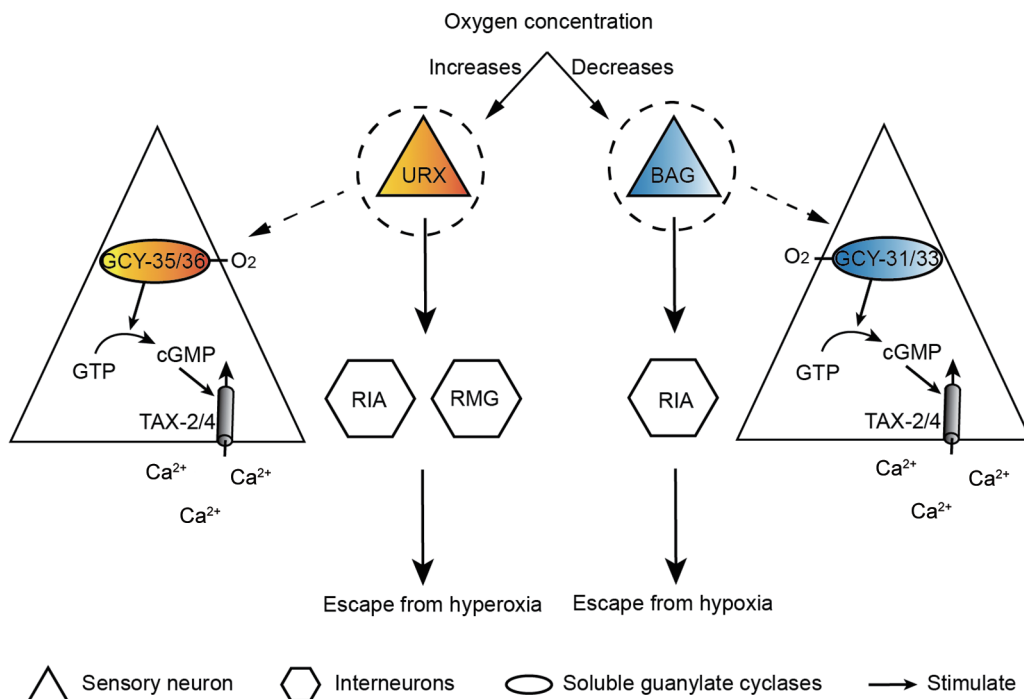


图 1. 线虫对低氧或高氧的识别和逃避机制示意图

Fig. 1. Schematic diagram of the mechanisms of hypoxia and hyperoxia identification and escape in *C. elegans*. When oxygen upshift, the water-soluble guanylate cyclases GCY-35 and GCY-36 in the *C. elegans* sensory neuron URX bind with oxygen, which increases the level of cGMP produced by GTP, opens the TAX-2/TAX-4 glycosylation channel, leads to an influx of Ca²⁺ and URX activation, and finally stimulates downstream neurons to produce hyperoxia escape behavior. When oxygen downshift, GCY-31 and GCY-33 bind with oxygen, activate BAG neurons, and produce hypoxic escape behavior.

路产生对周围不同浓度氧气环境的适应性，这一系列调控有利于线虫适应生活环境中氧气浓度波动，并寻找适宜的氧气浓度环境。线虫的适应性是其维持自身稳态的一种保护行为，是由多个神经元共同调控的，如线虫中 BAG 和 URX 神经元共同调节其对最佳氧浓度的趋向，URX、AQR 和 PQR 神经元调控其对酒精的感知和耐受，AFD 和 AWC 神经元调节其趋热性，ASH 神经元调节其对伤害的快速逃避行为^[49, 50]，表明特定神经元或一组功能相关的感觉神经元可能在不同的状态和环境中的作用，以寻求线虫的最佳生存环境，维持其正常的生理状态。

3 线虫对低氧的反应及其调控机制

3.1 低氧使线虫代谢减慢并破坏其蛋白质稳态

过低的氧气浓度会影响线虫的生存、发育和繁殖。当氧气浓度为 0.5%~1% 时，线虫保持运动，发育和产卵，但其代谢速率减慢；当氧气浓度为 0.1%~0.5%，胚胎以后时期的线虫能保持运动，但停止发育和产卵，在母体内未产下的卵会进入发育停止的状态；当氧气浓度为 0.1% 时，线虫已产下但未孵化的卵会继续发育，但伴有严重的形态和发育缺陷，在复氧后，这些卵大部分不能孵化，而另一部分会孵化成不正常的 L1 幼虫，并最终死亡^[51, 52]。线虫在低氧环境中还会保持一定的运动，因为与繁殖和组织维持相比，爬行所需的代谢成本相对较低，即使线虫的代谢速率降低 90%，其运动速率也与正常线虫没有明显差异^[18]。不过，低氧环境会扰乱线虫细胞中蛋白稳态，导致错误折叠蛋白质聚集而产生毒性；而无氧情况下，线虫蛋白稳态保持正常，表明蛋白稳态的破坏是由低氧所引起的，而不是简单的氧浓度降低导致的。低氧结束后恢复至正常氧环境中，线虫体内细胞内还会继续发生蛋白质的聚集^[53]。

3.2 HIF-1 调控线虫低氧耐受

hif-1 参与线虫在 0.25%~1% 低氧环境的存活^[52]，该基因编码与人类 HIF α 同源的 HIF-1。HIF α 和 HIF β 组成 HIF，其中 HIF α 的稳定性受到氧气水平的影响。当氧气充足时，脯氨酰羟化酶 (prolyl hydroxylase, PHD) 羟化 HIF α 的脯氨酸残基。羟化后的 HIF α 通过 E3 泛素化连接酶与 von Hippel-Lindau (VHL) 肿瘤抑制因子结合，被蛋白酶识别后降解。线虫中编码与人类同源的 HIF α 、HIF β 、PHD 和 VHL 蛋白的基因分别是 *hif-1*、*aha-1*、*egl-9* 和 *vhl-1*。在低氧情况下，EGL-9 的羟化作用被抑制，HIF-1 保

持稳定，并通过上调糖酵解或抗氧化相关基因，增强线虫在低氧中的存活能力^[54]。低氧情况下，*hif-1* mRNA 水平没有变化，表明低氧仅影响 *hif-1* 的蛋白水平^[55] (图 2)。

由低氧或 *egl-9* 功能丧失引起的 HIF-1 的增加，可改变线虫的神经回路，使其氧气浓度趋向性和一些味觉神经元功能发生变化^[56, 57]。HIF-1 使 Eph 受体酪氨酸激酶 VAB-1 表达升高，导致低氧时线虫胚胎神经元轴突发育异常^[58]。低氧会刺激活性氧的产生，而活性氧的增加影响了 HIF-1 的羟化，使 HIF-1 量增加 (图 2)，使线虫在低氧情况下寿命延长^[59]。

小分子气体信号分子 H₂S 可参与低氧调节，如 H₂S 和低温可以使小鼠代谢减慢，需氧量减少，进入一个类似冬眠的状态，并且能从这个状态中恢复^[60]。H₂S 的抗低氧胁迫功能与 HIF-1 相关，在常氧情况下，线虫在微量 H₂S 中存活需要 *hif-1*，低氧条件会产生较高水平的 H₂S，H₂S 进而激活半胱氨酸合成酶 CYSL-1，使其直接与 EGL-9 结合，从而阻止 EGL-9 对 HIF-1 的羟化，使 HIF-1 维持较高的水平 (图 2)。CYSL-1 主要表达在神经系统中，通过激活神经元的 HIF-1，调节线虫抗低氧胁迫的能力^[61, 62]。

生活在高海拔低氧环境中的人群中编码 HIF-2 α 以及 PHD2/EGLN1 的基因存在突变，这种基因突变普遍使 HIF 活性增加，以适应高海拔的慢性低氧^[5]，表明线虫在低氧环境中存活的机制在进化过程中是保守的。目前，用于稳定 HIF- α 亚基和增加 HIF 依赖的促红细胞生成素表达的小分子脯氨酰羟化酶抑制剂正在进行治疗慢性肾病患者贫血的 III 期临床试验；一些用来阻断 HIF-2 α 与 HIF-1 β 二聚化的小分子抑制剂正在进行治疗以肿瘤抑制因子 VHL 功能缺失为特征的肾细胞癌的临床试验^[63]。由此可见，利用线虫模型研究机体对低氧敏感或耐受的分子机制，可为低氧相关疾病的临床药物研发提供潜在靶标。

4 线虫对无氧的反应及其调控机制

4.1 线虫对无氧条件的反应

无氧 (氧气浓度小于 0.1%) 环境会使线虫出现缺氧。与低氧不同，在无氧环境中线虫会进入一个可逆的假死状态，此时 ATP/ADP 比例下降，胚胎停止细胞分裂和分化，野生型线虫停止运动、进食和产卵^[30]。线虫能从短时间的无氧处理中恢复，但长期的无氧处理会致其死亡。如 Scott 等在 28 °C

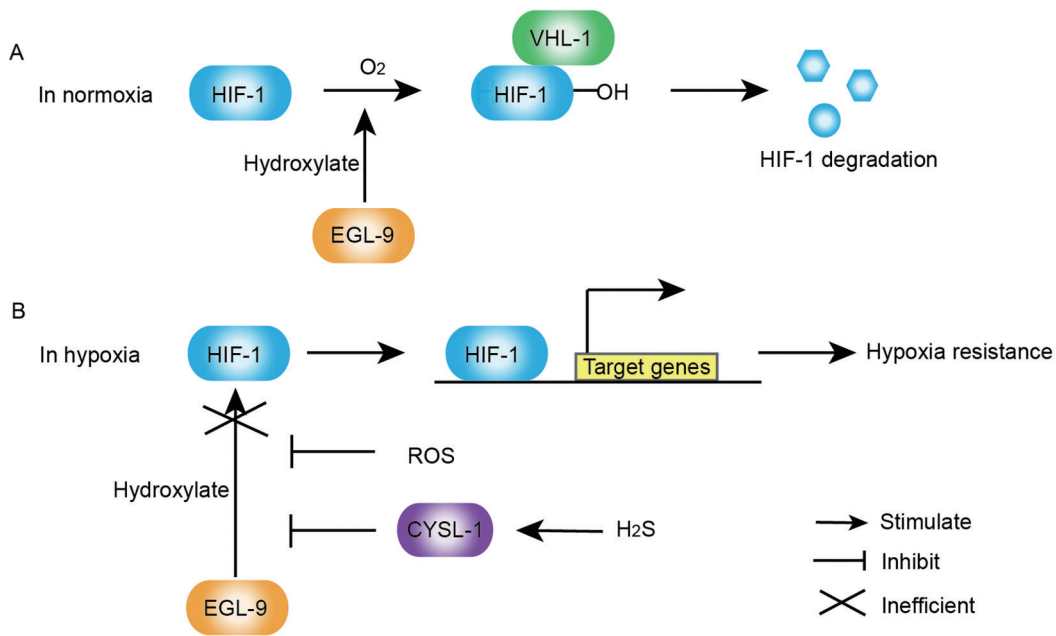


图 2. 线虫在常氧与低氧情况下低氧诱导因子1的调节机制示意图

Fig. 2. Schematic diagram for the mechanism of hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) regulation under normoxia and hypoxia in *C. elegans*. A: In normoxia, the deoxygenase EGL-9 hydroxylates HIF-1 with oxygen, then HIF-1 binds with the tumor suppressor VHL-1 and is degraded by protease. B: In hypoxia, the hydroxylation of HIF-1 is inhibited, then HIF-1 modulates the transcription of target genes associated with hypoxia resistance. Both reactive oxygen species (ROS) and H₂S can enhance the hypoxia resistance of *C. elegans* by inhibiting the hydroxylation of HIF-1 by EGL-9 and increasing HIF-1 level.

环境中利用无氧小室制造线虫缺氧模型，发现无氧处理 12 h 后成虫期线虫的存活率为 50%，而无氧处理 24 h 后，除 dauer 以外的其他时期线虫的存活率为 0^[17]。

无氧环境中线虫卵裂球细胞有丝分裂停滞，这种现象在斑马鱼和果蝇胚胎中同样存在^[64, 65]。采用免疫荧光染色或者 GFP 融合蛋白方法在活体中成像的研究显示，无氧时处于有丝分裂周期的线虫卵裂球细胞染色体凝聚，核孔蛋白聚集，纺锤体微管减少，纺锤体检查点蛋白 SAN-1 和蛋白质磷酸化减少，表明线虫卵裂球细胞有丝分裂停滞^[30, 66, 67]。无氧时细胞染色体凝聚可能有利于保持染色体完整性，但具体机制尚不清楚；胚胎有丝分裂细胞中的蛋白质磷酸化减少，可能是因为能量需求减少或者细胞内信号的改变；恢复至常氧环境后，停滞的卵裂球细胞会恢复有丝分裂进程，继续进行分裂和分化^[30]。

野生型线虫在无氧环境下进入假死状态，身体僵直、停止进食、运动、发育和产卵，恢复至常氧环境后，线虫会慢慢苏醒并恢复生理活动^[30]。Padilla 等发现 *hif-1* 突变体在无氧处理后存活率与

野生型没有明显差异，表明线虫无氧存活与 HIF-1 信号通路无关^[30]。无氧处理 24 h 在恢复至常氧环境后，大多数线虫能恢复正常运动，但不是所有的生理过程都以同样的速率恢复。例如，在结束无氧处理恢复常氧 12 h 后，在运动完全恢复之前，线虫会产生性腺的收缩和排卵现象^[68]。这可能是一种保护机制，如果虫体内卵的产生优先于排卵，则堆积的卵会在身体中孵化，使母体死亡。无氧处理后，从假死状态中恢复的线虫，其中一部分由于细胞内维持结构完整性的稳态过程被破坏，表现为头部肌肉和神经元出现损伤，且整个线虫体内出现较大的空泡或空洞^[69]。同时无氧处理使线虫的生育速度和繁殖能力减弱，停滞的卵继续孵化发育的线虫开始产卵的时间比正常情况下推迟，这有可能是面对胁迫的程序性保护机制或者是无氧引起的减数分裂细胞损伤造成的^[18]。长时间无氧处理后，线虫从假死状态中恢复的概率降低，而温度和食物等其他环境因素的预处理会影响线虫无氧处理后的存活率，如在 25 °C 环境中或者用 HT115 (碳水化合物水平高于 OP50 的大肠杆菌) 作为食物培养的线虫，相比于在 20 °C 环境中用 OP50 作为食物培养的线虫，

其在无氧处理后存活率显著升高^[39]。

4.2 线虫无氧耐受或敏感的调控机制

线虫无氧耐受能力取决于发育时期、培养温度、食物、基因型和生育能力。线虫无氧耐受能力最强的阶段是卵时期和 dauer 时期^[30]。野生型成虫无氧处理 8 h 后停止运动，而胰岛素样受体 *daf-2* 缺失的线虫在无氧处理 24 h 后还能继续运动^[69]。Scott 等^[17]发现无氧造成的缺氧组织损伤在 *daf-2* 突变体中明显减轻，该突变体在无氧处理后的存活率高于野生型，而且 *daf-2* 突变能促进机械感觉神经元损坏后的再生^[69, 70]。DAF-2 与一系列类胰岛素配体相互作用，通过 AGE-1/PI3K/AKT 信号转导通路磷酸化 DAF-16 叉头转录因子，抑制其核转位。*daf-2* 突变后，更多的 DAF-16 转录因子迁移至核内，诱导靶基因（超氧化物歧化酶 3 基因 *sod-3* 和过氧化氢酶基因 *ctl-2*）高表达，从而起到抵抗氧化应激的作用^[71]。此外，Mendenhall 等^[69]研究显示，糖酵解酶甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GPD)-2/3 参与了线虫中抵抗无氧胁迫的 DAF-2 信号转导通路。DAF-2 在神经元中以细胞非自主的方式调节寿命和 dauer 的形成，在 *daf-2* 突变体的神经元中特异性拯救 *daf-2* 基因，能拯救其长寿和 dauer 表型^[72]。*daf-2* 突变体寿命比野生型长，表明寿命延长的机制以及抗胁迫的机制可能存在协同作用，但寿命延长并不是抗胁迫所必需的^[17, 73]。

线虫的生育能力也是影响其无氧耐受的重要因素，研究表明不育的线虫具有更强的无氧耐受能力，如生殖细胞 *glp-1* 缺陷突变体的无氧耐受能力比野生型强^[39]。但是生育能力与无氧耐受不存在必然的联系，如 *spe-9* 和 *fer-15* 突变体是不育的，但它们是无氧敏感的^[74]。而 *daf-2* 突变体是可育的，但其无氧处理后存活率高于野生型。而 *daf-2* 突变体的生育周期比野生型长，平均每天产卵量比野生型少^[74]。表明性腺可能参与了无氧情况下线虫应对缺氧的调控，但具体机制尚不清楚。

蛋白质翻译调控参与了无氧处理下线虫应对缺氧的调节机制。*rrt-1* 编码精氨酸转运 RNA (transfer RNA, tRNA) 合成酶，是蛋白质翻译所必需的，Anderson 等发现 *rrt-1* 突变体的缺氧抵抗能力比野生型强，同时利用 RNAi 技术的研究显示，其他编码氨酰-tRNA 合成酶基因（如 *nrs-1*、*irs-1* 等）表达受抑制的线虫也具有缺氧抵抗能力^[75]。究其原因，可能对翻译的抑制能减少能量损耗，并且减轻错误

折叠蛋白所造成的伤害，使线虫对缺氧的抵抗能力增强。

Menuz 等发现编码神经酰胺合酶的基因 *hyl-2* 突变体无氧处理后存活率比野生型低^[32]。神经酰胺及其代谢产物能激活线虫中线粒体未折叠蛋白反应，调节神经肽的合成和分泌，并调控氧化应激反应^[76, 77]。线虫中神经酰胺合酶相关基因有 *hyl-1*、*hyl-2* 和 *lagr-1*，其中 *hyl-2* 在真核基因家族中被称为长寿保证基因，神经酰胺是鞘脂类的前体，HYL-2 可以通过生成 C20 至 C22 的神经酰胺和鞘磷脂来促进无氧条件下线虫的存活^[32]。鞘磷脂代谢参与线虫的发育和寿命的调节^[78]，而该调节作用是否与其缺氧保护机制相关还有待一步研究。甾醇调节元件结合蛋白 (sterol regulatory element binding protein, SREBP) 转录因子同源物 SBP-1 在低氧环境中被激活^[79]，SBP-1 是否与 HYL-2 信号转导通路相关还有待研究，且 HYL-2 相关的神经酰胺合酶通路是否与其他通路有相互作用，也是一个需要继续探索的问题。

Doshi 等对发育时期(L4时期)的线虫研究显示，*egl-3* 和 *unc-31* (合成和分泌神经肽所必需的基因) 突变体以及编码神经肽的基因 *nlp-40* 和该神经肽受体基因 *aex-2* 突变体在无氧处理后存活率均比野生型高，表明神经肽的合成和分泌参与发育中线虫在无氧下的存活，神经肽信号通路不依赖于一些经典的抗胁迫的途径，与 HIF-1 和 DAF-2 等已知的低氧信号通路不相关，是一种新发现的非细胞自主性的信号转导通路^[80]。

无氧导致线虫细胞死亡的作用机制与细胞凋亡和坏死相关，而且氧气或血流的缺少会诱导生物体细胞自噬的发生。Hayakawa 等用厌氧生物袋制造无氧的环境，发现含有 TIR 结构域的衔接蛋白 TIR-1 以及与哺乳动物同源的凋亡信号调节激酶蛋白家族的 NSY-1 可与丝裂原活化蛋白激酶 SEK-1 和 PMK-1 形成 TIR-1-NSY-1-SEK-1-PMK-1 信号转导通路，在线虫应对无氧中起重要作用；*tir-1*、*nsy-1* 以及 *sek-1* 突变体在无氧处理后存活率比野生型高，表明细胞凋亡相关基因 *nsy-1* 参与了线虫的缺氧存活调控，而 *tir-1* 以及 *sek-1* 同时参与了线虫的免疫应答和缺氧存活调控，表明免疫反应与缺氧调控可能存在相同的信号通路^[31]。而细胞自噬也与缺氧相关，氧气或血流的减少会导致哺乳动物细胞损伤，损伤细胞中的自噬体增加。在线虫中 *bec-1*

是自噬相关基因, Samokhvalov 等发现 *bec-1* 缺失线虫(细胞自噬被抑制)在无氧处理过程中存活率比野生型低,表明细胞自噬参与线虫无氧下的存活调控^[81]。细胞自噬、细胞坏死和细胞凋亡三者之间存在复杂的相互作用,如抑制凋亡可以减少神经元中由离子通道调节的细胞坏死,而自噬缺失可导致线虫的缺氧敏感和缺氧损伤,受到细胞坏死和凋亡途径的调控^[81,82](图 3)。

迄今为止的研究表明,线虫在无氧应激中存活的能力由多种信号通路共同调节,并且这些信号通路之间可能存在复杂的相互作用,这些相互作用还有待于研究。无氧时线虫细胞凋亡基因参与其存活调控,而 Zhao 等^[83]发现缺氧-复氧会导致小鼠心肌细胞凋亡,从而对小鼠造成缺氧损伤,并且发现小檗碱可以通过下调凋亡相关基因表达,减少缺氧对小鼠的损伤,提示在无氧情况下线虫的缺氧调控机制在哺乳动物中可能同样存在,这对新药研发有

借鉴意义。

5 总结和展望

自然界不同的地理位置空气中氧气浓度不同,人类能在氧气稀少的高原环境中生存,其特殊的适应机制还有待进一步研究,同时,与氧气相关疾病的病理机制及其治疗还需要大量的研究。线虫是研究低氧应答调控机制的良好模型,目前有多种应用于该模型的设备,但不同氧剥夺实验中温度、氧气浓度等条件不同,这些都是影响线虫存活率的重要因素^[39]。由于线虫在不同的温度和氧气浓度中有不同的应答机制,所以后期研究中确定实验温度以及精确的氧气含量对研究结果十分重要。另外当线虫面临氧剥夺时,保持活力或者进入假死是由氧气浓度或者代谢水平决定的^[52]。线虫在低氧状态下保持活力,在无氧状态下进入假死,哪些因素在分子水平决定线虫何时进入什么状态,以及这些因素在细胞和组织水平的调控机制等也有待进一步深入研究。如 HIF-1 是线虫低氧情况下一个重要的调控因子,但其不参与线虫在无氧情况下的调控,另外线虫中低氧会破坏细胞内蛋白稳态,而在无氧导致的假死状态下细胞内蛋白稳态保持稳定,表明线虫在低氧和无氧下存在不同的应答和调控机制^[53]。在哺乳动物中也存在这种现象,如 Peng 等发现,小鼠颈动脉体感觉神经元在低氧刺激时活性增强,而无氧时其活性较低,且 H₂S 仅在低氧而不是无氧情况下对其起到调控作用^[84]。所以生命体在不同的氧气浓度下会启动不同的应答和调控机制,但这些机制之间是否存在相互作用还不清楚。目前一些参与低氧或无氧应答和调控的基因已经被发现^[17,30,55],并且用线虫低氧模型进行筛选得到的化合物能有效作用于哺乳动物^[85]。因此,进一步了解这些基因的功能和相关信号通路,并将其应用于低氧相关疾病的病理机制研究及其干预药物的研发是未来研究的重点。

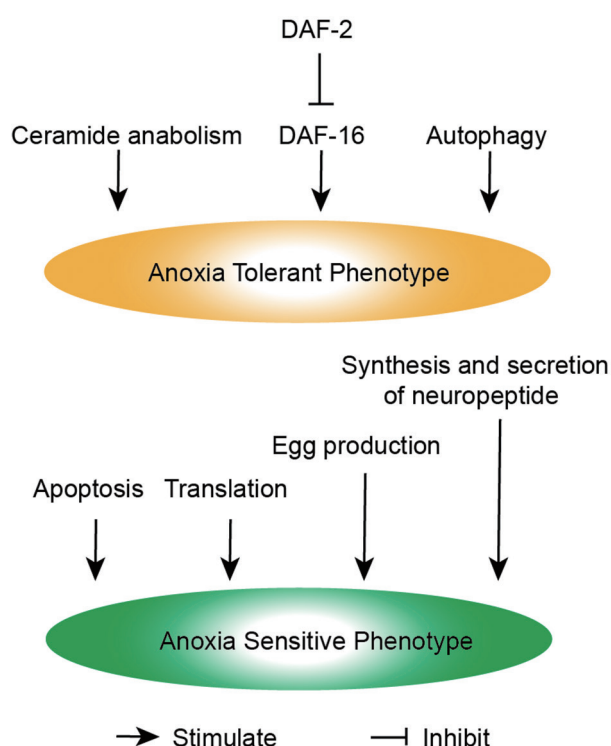


图 3. 影响线虫无氧耐受和敏感表型的调控因素

Fig. 3. Multiple factors affecting the phenotype of anoxia tolerance and sensitivity in *C. elegans*. The anoxia tolerant phenotype is multifactorial. Insulin receptor DAF-2 inhibits *C. elegans* anoxia tolerance through DAF-16, and ceramide anabolism and autophagy promote *C. elegans* anoxia tolerance phenotype, while apoptosis, translation, egg production, as well as synthesis and secretion of neuropeptide produce *C. elegans* anoxic sensitive phenotype.

参考文献

- Ilardo M, Nielsen R. Human adaptation to extreme environmental conditions. *Curr Opin Genet Dev* 2018; 53: 77–82.
- Beall CM, Decker MJ, Brittenham GM, Kushner I, Gebremedhin A, Strohl KP. An Ethiopian pattern of human adaptation to high-altitude hypoxia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99(26): 17215–17218.
- Hoit BD, Dalton ND, Gebremedhin A, Janocha A, Zimmer-

- man PA, Zimmerman AM, Strohl KP, Erzurum SC, Beall CM. Elevated pulmonary artery pressure among Amhara highlanders in Ethiopia. *Am J Hum Biol* 2011; 23(2): 168–176.
- 4 Moore LG. Measuring high-altitude adaptation. *J Appl Physiol* (1985) 2017; 123(5): 1371–1385.
- 5 Bigham AW, Lee FS. Human high-altitude adaptation: forward genetics meets the HIF pathway. *Genes Dev* 2014; 28(20): 2189–2204.
- 6 Semenza GL. Oxygen homeostasis. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* 2010; 2(3): 336–361.
- 7 Bano D, Nicotera P. Ca²⁺ signals and neuronal death in brain ischemia. *Stroke* 2007; 38(2 Suppl): 674–676.
- 8 Green AR. Pharmacological approaches to acute ischaemic stroke: reperfusion certainly, neuroprotection possibly. *Br J Pharmacol* 2008; 153 Suppl 1: S325–S338.
- 9 Larson J, Drew KL, Folkow LP, Milton SL, Park TJ. No oxygen? No problem! Intrinsic brain tolerance to hypoxia in vertebrates. *J Exp Biol* 2014; 217(Pt 7): 1024–1039.
- 10 Al Tameemi W, Dale TP, Al-Jumaily RMK, Forsyth NR. Hypoxia-modified cancer cell metabolism. *Front Cell Dev Biol* 2019; 7: 4.
- 11 Bundgaard A, James AM, Gruszczczyk AV, Martin J, Murphy MP, Fago A. Metabolic adaptations during extreme anoxia in the turtle heart and their implications for ischemia-reperfusion injury. *Sci Rep* 2019; 9(1): 2850.
- 12 Dhillon RS, Richards JG. Hypoxia induces selective modifications to the acetylome in the brain of zebrafish (*Danio rerio*). *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2018; 224: 79–87.
- 13 Napolitano G, Venditti P, Fasciolo G, Esposito D, Uliano E, Agnisola C. Acute hypoxia/reoxygenation affects muscle mitochondrial respiration and redox state as well as swimming endurance in zebrafish. *J Comp Physiol B* 2019; 189(1): 97–108.
- 14 Campbell JB, Andersen MK, Overgaard J, Harrison JF. Paralytic hypo-energetic state facilitates anoxia tolerance despite ionic imbalance in adult *Drosophila melanogaster*. *J Exp Biol* 2018; 221(Pt 12). pii: jeb177147. doi: 10.1242/jeb.177147.
- 15 Corsi AK, Wightman B, Chalfie M. A Transparent window into biology: A primer on *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 2015; 200(2): 387–407.
- 16 Pender CL, Horvitz HR. Hypoxia-inducible factor cell non-autonomously regulates *C. elegans* stress responses and behavior via a nuclear receptor. *Elife* 2018; 7: e36828.
- 17 Scott BA, Avidan MS, Crowder CM. Regulation of hypoxic death in *C. elegans* by the insulin/IGF receptor homolog DAF-2. *Science* 2002; 296(5577): 2388–2391.
- 18 Van Voorhies WA, Ward S. Broad oxygen tolerance in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *J Exp Biol* 2000; 203(Pt 16): 2467–2478.
- 19 Kutscher LM, Shaham S. Forward and reverse mutagenesis in *C. elegans*. *WormBook* 2014; 1–26.
- 20 Mabon ME, Mao X, Jiao Y, Scott BA, Crowder CM. Systematic identification of gene activities promoting hypoxic death. *Genetics* 2009; 181(2): 483–496.
- 21 Kerr R, Lev-Ram V, Baird G, Vincent P, Tsien RY, Schafer WR. Optical imaging of calcium transients in neurons and pharyngeal muscle of *C. elegans*. *Neuron* 2000; 26(3): 583–594.
- 22 Husson SJ, Gottschalk A, Leifer AM. Optogenetic manipulation of neural activity in *C. elegans*: from synapse to circuits and behaviour. *Biol Cell* 2013; 105(6): 235–250.
- 23 Thompson O, Edgley M, Strasbourger P, Flibotte S, Ewing B, Adair R, Au V, Chaudhry I, Fernando L, Hutter H, Kieffer A, Lau J, Lee N, Miller A, Raymant G, Shen B, Shendure J, Taylor J, Turner EH, Hillier LW, Moerman DG, Waterston RH. The million mutation project: a new approach to genetics in *Caenorhabditis elegans*. *Genome Res* 2013; 23(10): 1749–1762.
- 24 Kaletta T, Hengartner MO. Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5(5): 387–398.
- 25 Culetto E, Sattelle DB. A role for *Caenorhabditis elegans* in understanding the function and interactions of human disease genes. *Hum Mol Genet* 2000; 9(6): 869–877.
- 26 Shaye DD, Greenwald I. OrthoList: a compendium of *C. elegans* genes with human orthologs. *PLoS One* 2011; 6(5): e20085.
- 27 Zimmer M, Gray JM, Pokala N, Chang AJ, Karow DS, Marletta MA, Hudson ML, Morton DB, Chronis N, Bargmann CI. Neurons detect increases and decreases in oxygen levels using distinct guanylate cyclases. *Neuron* 2009; 61(6): 865–879.
- 28 Gray JM, Karow DS, Lu H, Chang AJ, Chang JS, Ellis RE, Marletta MA, Bargmann CI. Oxygen sensation and social feeding mediated by a *C. elegans* guanylate cyclase homologue. *Nature* 2004; 430(6997): 317–322.
- 29 Rojo Romanos T, Ng L, Pocock R. Behavioral assays to study oxygen and carbon dioxide sensing in *Caenorhabditis elegans*. *Bio Protoc* 2018; 8(1). pii: e2679. doi: 10.21769/BioProtoc.2679.
- 30 Padilla PA, Nystul TG, Zager RA, Johnson AC, Roth MB. Dephosphorylation of cell cycle-regulated proteins correlates with anoxia-induced suspended animation in *Caenorhabditis elegans*. *Mol Biol Cell* 2002; 13(5): 1473–1483.
- 31 Hayakawa T, Kato K, Hayakawa R, Hisamoto N, Matsumoto K, Takeda K, Ichijo H. Regulation of anoxic death in *Caenorhabditis elegans* by mammalian apoptosis signal-regulating kinase (ASK) family proteins. *Genetics* 2011; 187(3): 785–792.
- 32 Menuz V, Howell KS, Gentina S, Epstein S, Riezman I,

- Fornallaz-Mulhauser M, Hengartner MO, Gomez M, Riezman H, Martinou JC. Protection of *C. elegans* from anoxia by HYL-2 ceramide synthase. *Science* 2009; 324(5925): 381–384.
- 33 Queliconi BB, Kowaltowski AJ, Nehrke K. An anoxia-starvation model for ischemia/reperfusion in *C. elegans*. *J Vis Exp* 2014; (85): 51231. doi: 10.3791/51231.
- 34 Fenk LA, de Bono M. Memory of recent oxygen experience switches pheromone valence in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017; 114(16): 4195–4200.
- 35 Jiang B, Ren C, Li Y, Lu Y, Li W, Wu Y, Gao Y, Ratcliffe PJ, Liu H, Zhang C. Sodium sulfite is a potential hypoxia inducer that mimics hypoxic stress in *Caenorhabditis elegans*. *J Biol Inorg Chem* 2011; 16(2): 267–274.
- 36 Kagias K, Pocock R. microRNA regulation of the embryonic hypoxic response in *Caenorhabditis elegans*. *Sci Rep* 2015; 5: 11284.
- 37 Gerstbrein B, Stamatas G, Kollias N, Driscoll M. *In vivo* spectrofluorimetry reveals endogenous biomarkers that report healthspan and dietary restriction in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell* 2005; 4(3): 127–137.
- 38 Herndon LA, Schmeissner PJ, Dudaronek JM, Brown PA, Listner KM, Sakano Y, Paupard MC, Hall DH, Driscoll M. Stochastic and genetic factors influence tissue-specific decline in ageing *C. elegans*. *Nature* 2002; 419(6909): 808–814.
- 39 LaRue BL, Padilla PA. Environmental and genetic preconditioning for long-term anoxia responses requires AMPK in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS One* 2011; 6(2): e16790.
- 40 Chang AJ, Chronis N, Karow DS, Marletta MA, Bargmann CI. A distributed chemosensory circuit for oxygen preference in *C. elegans*. *PLoS Biol* 2006; 4(9): e274.
- 41 Hallem EA, Sternberg PW. Acute carbon dioxide avoidance in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(23): 8038–8043.
- 42 Flibotte JJ, Jablonski AM, Kalb RG. Oxygen sensing neurons and neuropeptides regulate survival after anoxia in developing *C. elegans*. *PLoS One* 2014; 9(6): e101102.
- 43 Abergel R, Livshits L, Shaked M, Chatterjee AK, Gross E. Synergism between soluble guanylate cyclase signaling and neuropeptides extends lifespan in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell* 2017; 16(2): 401–413.
- 44 Laurent P, Soltesz Z, Nelson GM, Chen C, Arellano-Carbajal F, Levy E, de Bono M. Decoding a neural circuit controlling global animal state in *C. elegans*. *Elife* 2015; 4. doi: 10.7554/eLife.04241.
- 45 Metaxakis A, Petratos D, Tavernarakis N. Multimodal sensory processing in *Caenorhabditis elegans*. *Open Biol* 2018; 8(6). pii: 180049. doi: 10.1098/rsob.180049.
- 46 Witham E, Comunian C, Ratanpal H, Skora S, Zimmer M, Srinivasan S. *C. elegans* body cavity neurons are homeostatic sensors that integrate fluctuations in oxygen availability and internal nutrient reserves. *Cell Rep* 2016; 14(7): 1641–1654.
- 47 Hussey R, Littlejohn NK, Witham E, Vanstrum E, Mesgarzadeh J, Ratanpal H, Srinivasan S. Oxygen-sensing neurons reciprocally regulate peripheral lipid metabolism via neuropeptide signaling in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Genet* 2018; 14(3): e1007305.
- 48 Cheung BH, Cohen M, Rogers C, Albayram O, de Bono M. Experience-dependent modulation of *C. elegans* behavior by ambient oxygen. *Curr Biol* 2005; 15(10): 905–917.
- 49 Chen YH, Ge CL, Wang H, Ge MH, He QQ, Zhang Y, Tian W, Wu ZX. GCY-35/GCY-36-TAX-2/TAX-4 signalling in O₂ sensory neurons mediates acute functional ethanol tolerance in *Caenorhabditis elegans*. *Sci Rep* 2018; 8(1): 3020.
- 50 Luo L, Cook N, Venkatachalam V, Martinez-Velazquez LA, Zhang X, Calvo AC, Hawk J, MacInnis BL, Frank M, Ng JH, Klein M, Gershow M, Hammarlund M, Goodman MB, Colon-Ramos DA, Zhang Y, Samuel AD. Bidirectional thermotaxis in *Caenorhabditis elegans* is mediated by distinct sensorimotor strategies driven by the AFD thermosensory neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111(7): 2776–2781.
- 51 Miller DL, Roth MB. *C. elegans* are protected from lethal hypoxia by an embryonic diapause. *Curr Biol* 2009; 19(14): 1233–1237.
- 52 Nystul TG, Roth MB. Carbon monoxide-induced suspended animation protects against hypoxic damage in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(24): 9133–9136.
- 53 Fawcett EM, Hoyt JM, Johnson JK, Miller DL. Hypoxia disrupts proteostasis in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell* 2015; 14(1): 92–101.
- 54 Shao Z, Zhang Y, Powell-Coffman JA. Two distinct roles for EGL-9 in the regulation of HIF-1-mediated gene expression in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 2009; 183(3): 821–829.
- 55 Jiang H, Guo R, Powell-Coffman JA. The *Caenorhabditis elegans hif-1* gene encodes a bHLH-PAS protein that is required for adaptation to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98(14): 7916–7921.
- 56 Chang AJ, Bargmann CI. Hypoxia and the HIF-1 transcriptional pathway reorganize a neuronal circuit for oxygen-dependent behavior in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(20): 7321–7326.
- 57 Pocock R, Hobert O. Hypoxia activates a latent circuit for processing gustatory information in *C. elegans*. *Nat Neurosci* 2010; 13(5): 610–614.
- 58 Pocock R, Hobert O. Oxygen levels affect axon guidance and neuronal migration in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Neurosci*

- 2008; 11(8): 894–900.
- 59 Bell EL, Klimova TA, James E, Schumacker PT, Chandel NS. Mitochondrial reactive oxygen species trigger hypoxia-inducible factor-dependent extension of the replicative life span during hypoxia. *Mol Cell Biol* 2007; 27(16): 5737–5745.
- 60 Blackstone E, Roth MB. Suspended animation-like state protects mice from lethal hypoxia. *Shock* 2007; 27(4): 370–372.
- 61 Ma DK, Vozdek R, Bhatla N, Horvitz HR. CYSL-1 interacts with the O₂-sensing hydroxylase EGL-9 to promote H₂S-modulated hypoxia-induced behavioral plasticity in *C. elegans*. *Neuron* 2012; 73(5): 925–940.
- 62 Budde MW, Roth MB. Hydrogen sulfide increases hypoxia-inducible factor-1 activity independently of von Hippel-Lindau tumor suppressor-1 in *C. elegans*. *Mol Biol Cell* 2010; 21(1): 212–217.
- 63 Semenza GL. Pharmacologic targeting of hypoxia-inducible factors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2019; 59: 379–403.
- 64 Padilla PA, Roth MB. Oxygen deprivation causes suspended animation in the zebrafish embryo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98(13): 7331–7335.
- 65 DiGregorio PJ, Ubersax JA, O’Farrell PH. Hypoxia and nitric oxide induce a rapid, reversible cell cycle arrest of the *Drosophila* syncytial divisions. *J Biol Chem* 2001; 276(3): 1930–1937.
- 66 Hajeri VA, Trejo J, Padilla PA. Characterization of sub-nuclear changes in *Caenorhabditis elegans* embryos exposed to brief, intermediate and long-term anoxia to analyze anoxia-induced cell cycle arrest. *BMC Cell Biol* 2005; 6: 47.
- 67 Nystul TG, Goldmark JP, Padilla PA, Roth MB. Suspended animation in *C. elegans* requires the spindle checkpoint. *Science* 2003; 302(5647): 1038–1041.
- 68 Padilla PA, Goy JM, Hajeri V. Anoxia-induced suspended animation in *Caenorhabditis elegans*. In: Palilla PA (Ed). *Anoxia*. IntechOpen, 2012. DOI: 10.5772/26580.
- 69 Mendenhall AR, LaRue B, Padilla PA. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase mediates anoxia response and survival in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 2006; 174(3): 1173–1187.
- 70 Caneo M, Julian V, Byrne AB, Alkema MJ, Calixto A. Diapause induces functional axonal regeneration after necrotic insult in *C. elegans*. *PLoS Genet* 2019; 15(1): e1007863.
- 71 Mabon ME, Scott BA, Crowder CM. Divergent mechanisms controlling hypoxic sensitivity and lifespan by the DAF-2/insulin/IGF-receptor pathway. *PLoS One* 2009; 4(11): e7937.
- 72 Murphy CT, Hu PJ. Insulin/insulin-like growth factor signaling in *C. elegans*. *WormBook* 2013: 1–43. doi: 10.1895/wormbook.1.164.1.
- 73 Dues DJ, Andrews EK, Senchuk MM, Van Raamsdonk JM. Resistance to stress can be experimentally dissociated from longevity. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2019; 74(8): 1206–1214.
- 74 Mendenhall AR, LeBlanc MG, Mohan DP, Padilla PA. Reduction in ovulation or male sex phenotype increases long-term anoxia survival in a daf-16-independent manner in *Caenorhabditis elegans*. *Physiol Genomics* 2009; 36(3): 167–178.
- 75 Anderson LL, Mao X, Scott BA, Crowder CM. Survival from hypoxia in *C. elegans* by inactivation of aminoacyl-tRNA synthetases. *Science* 2009; 323(5914): 630–633.
- 76 Kim S, Sieburth D. Sphingosine kinase regulates neuropeptide secretion during the oxidative stress-response through intertissue signaling. *J Neurosci* 2018; 38(38): 8160–8176.
- 77 Kim S, Sieburth D. Sphingosine kinase activates the mitochondrial unfolded protein response and is targeted to mitochondria by stress. *Cell Rep* 2018; 24(11): 2932–2945.e4.
- 78 Cutler RG, Thompson KW, Camandola S, Mack KT, Mattson MP. Sphingolipid metabolism regulates development and lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Mech Ageing Dev* 2014; 143–144: 9–18.
- 79 Taghibiglou C, Martin HG, Rose JK, Ivanova N, Lin CH, Lau HL, Rai S, Wang YT, Rankin CH. Essential role of SBP-1 activation in oxygen deprivation induced lipid accumulation and increase in body width/length ratio in *Caenorhabditis elegans*. *FEBS Lett* 2009; 583(4): 831–834.
- 80 Doshi S, Price E, Landis J, Barot U, Sabatella M, Lans H, Kalb RG. Neuropeptide signaling regulates the susceptibility of developing *C. elegans* to anoxia. *Free Radic Biol Med* 2019; 131: 197–208.
- 81 Samokhvalov V, Scott BA, Crowder CM. Autophagy protects against hypoxic injury in *C. elegans*. *Autophagy* 2014; 4(8): 1034–1041.
- 82 Toth ML, Simon P, Kovacs AL, Vellai T. Influence of autophagy genes on ion-channel-dependent neuronal degeneration in *Caenorhabditis elegans*. *J Cell Sci* 2007; 120(Pt 6): 1134–1141.
- 83 Zhao Y, Tian X, Liu G, Wang K, Xie Y, Qiu Y. Berberine protects myocardial cells against anoxia-reoxygenation injury via p38 MAPK-mediated NF-κB signaling pathways. *Exp Ther Med* 2019; 17(1): 230–236.
- 84 Peng YJ, Makarenko VV, Gridina A, Chupikova I, Zhang X, Kumar GK, Fox AP, Prabhakar NR. H₂S mediates carotid body response to hypoxia but not anoxia. *Respir Physiol Neurobiol* 2019; 259: 75–85.
- 85 Sun CL, Zhang H, Liu M, Wang W, Crowder CM. A screen for protective drugs against delayed hypoxic injury. *PLoS One* 2017; 12(4): e0176061.