

线粒体缺氧促癌机制综述

马建军 黄常志 樊嘉 李胜水*
沧州市财政局

DOI:10.12238/bmtr.v6i4.8507

[摘要] 当今医学领域,就肿瘤病因主要有两种观点:一是基因自发突变,二是线粒体缺氧。本文通过分析酸性的 H_2O_2 对碱性线粒体内膜蛋白SDH巯基的氧化损伤,引起线粒体琥珀酸积累及其间耦联的FAD呼吸链的增强,经过Ras蛋白激活形成缺氧促癌机制。

[关键词] 线粒体; 缺氧; H_2O_2 ; SDH; 能斯特方程

中图分类号: R845.2+2 **文献标识码:** A

Review on the mechanism of mitochondrial hypoxia promoting cancer

Jianjun Ma Changzhi Huang Jia Fan Shengshui Li*

Cangzhou City finance Bureau

[Abstract] In today's medical field, there are two main views on the etiology of cancer: one is spontaneous gene mutation, the other is mitochondrial hypoxia. In this paper, the oxidative damage of acidic H_2O_2 to the sulfhydryl group of alkaline mitochondrial endometrial protein SDH was analyzed, which led to the accumulation of mitochondrial succinic acid and the enhancement of the organ-coupled FAD respiratory chain, and the mechanism of hypoxia promoting cancer was formed through the activation of Ras protein.

[Key words] mitochondria; Lack of oxygen; H_2O_2 ; SDH; Nernst equation

引言

本文通过ATP与线粒体结构和呼吸链类型的关系、ATP磷酸盐系统的酸碱调节以及cytb560与cytb558之间的比较,揭示了cytb558型 H_2O_2 氧化线粒体内膜蛋白琥珀酸脱氢酶的巯基引起的线粒体缺氧促癌机制。

1 ATP与线粒体结构和呼吸链类型的关系

对于线粒体缺氧机制的研究,首先要将其相关的基本问题清晰化,如NAD与FAD呼吸链的特征及其关系、线粒体机制与膜间隙的特征及其关系,以及他们与ATP之间的联系等。这些问题如果不清晰,线粒体缺氧促癌机制(即warburg缺氧促癌)就是一句空话。到目前为止,除了基质FOF₁-ATP酶的研究以外,上述问题的研究几乎没有见到公开报道。

表1 Nernst方程下NAD与FAD呼吸链的主要区别

呼吸链	电势(mV)	线粒体PH	肌蛋白PH	温度(°C)	氧体积分数(%)
NAD	1140	8	7	36.8±0.4	16-21
FAD	760	7	6.6	38.0±0.5	10-16

根据李长生《生物地球化学》中能斯特(Nernst)方程和米曼方程联合建立的有氧酵解(厌氧)大气模式(DNDC),结合《生物

化学》等基础知识,对人体线粒体NAD与FAD呼吸链在PH、电势和温度上进行比较,得出了应激状态和非应激状态两种不通过状态的Nernst值。

应激的有氧酵解呼吸和非应激的有氧呼吸是人体最常见的两种生活状态,表达于肌收缩与肌舒张、感染与非感染等状态。根据《生物化学》糖异生的概念,结合《运动生物化学》等多学科知识,对NAD与FAD呼吸链进一步细分。

表2 NAD与FAD呼吸链的细化区别

呼吸链	位置	线粒体状态	磷酸化类型	能量类型及ATP分子数	有氧及无产ATP比值	糖代谢
NAD	基质	TCA	氧化磷酸化	葡萄糖30分子	99:01:00	有氧代谢
FAD	膜间隙	RTG	底物磷酸化	脂肪酸106分子	51.2:48.8	HMP途径

Powl教授等发现G-菌引起呼吸爆发促进血浆NADPH(HMP途径)和线粒体苹果酸-柠檬酸穿梭,该穿梭就是RTG(反向TCA)(Nature, 2020. 7. 6)。

2 ATP磷酸盐系统调节肌蛋白PH占总调节力的约84%

明确ATP磷酸盐系统对酸碱调节的主导作用,对于正确回答线

粒体缺氧促癌十分重要。因为人体氧化方式决定人体酸碱调节方式: 水解或水合方式。而癌症发生及衰老都不可避免的遇到人体酸化过程即水解氧化。至此, 人体已不是是否存在酸碱性的问题, 而是在多大程度上存在酸性(肌蛋白PH7.04-6.43)。

ATP磷酸盐酸碱调节系统十分重要, 它占人体酸碱总调节力的约84%, 其主要调节人体骨骼肌蛋白PH7.04-6.43, 这被绝大多数人忽视。而心肺呼吸系统的碳酸氢钠血红蛋白(Hb)调解系统, 主要通过血液的 O_2/CO_2 变换调节血浆PH7.35-7.45的范围, 为肌红蛋白(Mb)提供 O_2 , 使人体血液保持碱性。这被绝大多数人所关注, 但它只占酸碱总调节力的约16%(魏文汉, 病理生理学)。

ATP的 $P_{ka}12.67$ 为碱性, 与线粒体基质中的NADH₂耦联, 与 O_2 、 H_2O ($p_{ka}15.7$)正相关, 成人每日代谢量在50-75kg之间。AMP的 $P_{ka}4.00$ 为酸性, 与骨骼肌及线粒体内膜(膜间隙)的琥珀酸FAD耦联, 与 H_2O_2 ($P_{ka}1.65$)正相关。肌蛋白及膜间隙标志酶催化ATP($P_{ka}12.67$)+AMP($P_{ka}4.00$)=2ADP($P_{ka}6.48$)。这个反应与水解水合反应 O_2+2H_2O ($P_{ka}15.7$)= $2H_2O_2$ ($P_{ka}1.65$)同步进行, 用于肌肉收缩活动或细菌感染。总反应式为: 碱性ATP($P_{ka}12.67$)线粒体基质NAD⁺1140mv+ O_2 (血浆碳酸氢钠调节系统)+血浆细胞结合水 $2H_2O$ ($P_{ka}15.7$)+肌舒张+36.8±0.4℃=酸性AMP($P_{ka}4.00$)线粒体膜间隙FAD760mv+血浆 $2H_2O_2$ ($P_{ka}1.65$)+肌收缩+38.0±0.5℃+e⁻热量。这个反应式表达了Nernst方程基本原理: 电势与PH正相关, 与温度负相关。生活中最典型的例子就是新冠感染引起的持续发烧。癌症与它原理是一样的。

Nernst方程原理对人体酸化进行了定性, 米曼方程原理对人体酸化进行了定量, 两者有机结合构成了Warburg效应和FAD呼吸链的基本框架(详见Warburg效应的本质是糖异生)。人体酸化不可能无限进行, 当化学反应达到米曼方程非线性酶零级反应时, 人体肌蛋白PH在6.6左右, AMP、CMP、尿酸、琥珀酸浓度大约在0.4mM。 H_2O_2 (由水解反应而来)和 NO_2 (由 NH_3 氧化而来)分别是氧氮自由基中半衰期最长的自由基, 其半衰期分别为9h20min-460h和3-31h。较长的半衰期为癌细胞的产生创造有利条件, 其致癌阈值分别为25 μM和20 μm。

3 cytb₅₆₀与cytb₅₅₈之间的比较

SDH最重要。美国哥伦比亚医学中心研究人员在项大规模的研究中, 分析了22个肿瘤类型基因表达数据, 并确定了数百个有可能切断肿瘤燃料供应靶点。最后, 他们发现琥珀酸脱氢酶(SDH)最重要, 它能使线粒体反向运行, HMP途径及NADPH增加, G-菌呼吸爆发产生。

SDH的巯基对 H_2O_2 十分敏感。至少表现出三层意义: (1)PH差距: 线粒体PH8.0, SDHPI等电点7.6, H_2O_2 最宜PH3.5-4.5。 H_3O^+ 质子浓度差产生Nernst势。(2)氧浓度差: TCA时, 线粒体含氧99%, H_2O_2 含氧57%, 缺氧明显。(3)G-菌厌氧呼吸及代谢全面介入, E. coli厌氧呼吸链FAD→FeS→CoQ→QH₂→cytb₅₅₈→cytb₅₀₅→cytd。乙醛酸循环、 NO_2/NO_3 、延胡索酸/琥珀酸电子质子逆向传输, 形成菌群失调和细菌感染。

原核真核cytb₅₅₈的交叉呼吸。人体G-菌感染中性粒细胞呼

吸爆发时, E. coli的cytb₅₅₈厌氧呼吸链与人体cytb₅₅₈有氧酵解呼吸产生交叉作用(NOX酶含cytb₅₅₈)。肿瘤临床可见NOX₂酶约3倍的升高值规律。

Cytb₅₅₈简介

Cytb₅₅₈化学成为 $C_{15}H_{11}O_4$ 【(H-吡啶-5-基)苯甲醛】, 它包含 $P_{22}phOx$, 是NOX酶的骨架。NOX酶是人体唯一专职产 H_2O_2 的酶。NOX₂(也称gp91phox)主要存在于中性粒细胞中。在非应激状态下, $p_{22}phox$ 与NOX₂结合为复合物, 抑制NOX₂与NADPH结合产生cytb₅₅₈型 H_2O_2 , $p_{22}phox$ 不独立表达。在应激状态下, $p_{22}phox$ 与NOX₂分离, 独立过表达, 使NOX₂与NADPH结合产生cytb₅₅₈型 H_2O_2 , 类似于植物界的 eH_2O_2 。肿瘤化疗药紫杉醇良好的抗癌作用, 主要的原理就是能够下调E. coli cytb₅₅₈中 $p_{22}phOx$ 的表达, 降低肝脏cytb₅₅₈型 H_2O_2 的浓度。林国娟等对60例非小细胞癌患者血清NOX₂的研究后发现: 健康组为 $3.98 \pm 1.24 \mu g/L$, 肿瘤组为 $11.97 \pm 5.12 \mu g/L$ 。

Cytb₅₅₈型 H_2O_2 与mTOR途径密切相关。

赵莉的研究表明, 在mTOR途中, G-菌 $P70^{68K1}T_{389}$ 位点磷酸化, 使细菌和癌细胞产生多药耐药(MDR)。人体 $P85^{68K1}T_{412}$ 位点磷酸化, 使CD8⁺T细胞凋亡, 癌细胞免疫逃逸。

Cytb₅₅₈型 H_2O_2 使线粒体分别产生电子漏和质子漏。人菌呼吸爆发过程产生cytb₅₅₈型 H_2O_2 类似于植物界的 eH_2O_2 , 在人的信号通路中与多种细胞信号相连。B558型 H_2O_2 将线粒体内膜SDH蛋白的巯基氧化为S-S, S-S距离为2Å(埃)(头发丝直接的25万分之一), 电子e⁻可以通过, H⁺氢质子2.8Å不能通过。H⁺在膜间隙泛醌处经mPTP从外膜流向血浆引起肌蛋白PH下降。电子e⁻在膜间隙cytc处经内膜SDH的S-S2Å间隙流向内膜琥珀酸FAD呼吸链, 使FAD替代NAD呼吸链。SDH的-SH/S-S转化反应的催化酶为PDI(二硫化物异构酶), 其催化SDH的EC1.3.5.1及产物反丁烯二酸(富马酸)异构为SDH的EC1.3.99.1及产物(毒)顺丁烯二酸(马来酸)。线粒体这种异构反应在柠檬酸、苹果酸也有表达。

李畅等对cytb₅₅₈和cytb₅₆₀的更深入研究。细胞色素b在可见光区具有特征性光a吸收带在cytb₅₅₈-cytb₅₆₀纳米是目前研究的热点和难点。其中, cytb₅₅₈尤其引人注目。李畅等通过对SDH的cytb₅₆₀和cytb₅₅₈深入研究后发现, 人体FAD呼吸链从C₀Q到cytb₅₆₀的距离是6Å(埃), 电势+100mV, 具有电子传输优势。而从C₀Q到cytb₅₅₈的距离是11.4Å, 电势+36mV, 不利用电子传输。两者电势差74mV, 距离差5.4Å。要消除这个电势差和距离差, 唯一的途径就是内质网钙离子内流线粒体基质。

Ca²⁺内流线粒体形成FAD呼吸链转换。癌症是一种典型的应激性疾病, H_2O_2 是应激呼吸爆发的产物, 与Ca²⁺正相关。当 H_2O_2 达到约25 μm的米曼方程阈值时, 会引起内质网应激(ERS), Ca²⁺浓度阈值约400 μm(黄文林, 2006)。其经膜间隙电势-140mV到达基质电势-210mV, 恰好消除两者电势差。Ca²⁺电位为70-90mV, 有助于消除基质/膜间隙电势差。不知是巧合? 还是内在必然? Cytb₅₆₀与cytb₅₅₈的电势差为74mV, 而线粒体基质与膜间隙的电势差也是70mV, 两者配合默契。由于基质NAD呼吸链与(膜间隙)

内膜FAD呼吸链电位差由于Ca²⁺内流而消失,所以,FAD呼吸链就成为唯一(临时)电子传递链。

线粒体氧化性损伤先于细胞损伤。通过对Ras癌基因研究发现,肿瘤细胞中,线粒体mtDNA发生突变与高水平的(约25 μm)H₂O₂相一致。G-菌引起的呼吸爆发,使线粒体mtDNA的D-100p区突变,使mtDNA细胞变为rho细胞,而rho细胞在多种肿瘤中高表达。瑞士洛桑联邦理工学院(EPFL) johan Auwerx团队发现癌细胞和细菌依靠线粒体RTG(蛋白质糖异生)产生的柠檬酸和乙酰CoA促进自身增殖。Singh的研究表明,关闭线粒体RTG,将正常线粒体DNA移植到rho细胞中,则细胞恢复呼吸功能并保持基因组稳定,使癌细胞逆转。

4 结束语

G-菌LPS通过呼吸爆发产生的cytb558型H₂O₂是人体主要的内源性促癌剂。其通过氧化线粒体内膜SDH的巯基,引起线粒体电子e⁻内流和H⁺质子外流。电子内流形成FAD呼吸链和体温上升,质子外流形成癌细胞酸化和PH下降。上述过程通过Nernst和米曼方程原理表现了Warburg有氧酵解呼吸和代谢效应。G-菌肠道85%发生率的APC、95.6%阳性率的Lgr5及CEA等,成为肿瘤CSC标

志物。

[参考文献]

[1]李畅,侯玉霞,覃兆海.琥珀酸脱氢酶的结构与活性氧的产生[J].世界农药,2009,31(02):17-21.

[2]林国娟等.非小细胞肺癌患者血清NO_x和Her-2的表达水平及临床意义的研究[D].临床医学,2020.

[3]李长生.生物地球化学科学基础与模型方法[D].北京:清华大学出版社,2016.

[4]李霞.线粒体动力学原理及应用[D].北京:化学工业出版社,2021.

[5]魏文汉.病理生理学[D].上海:上海科学技术出版社,1984.

[6]桑亚新,李秀婷.食品微生物学[D].北京:轻工业出版社,2017.

作者简介:

马建军(1959--),男,回族,中国河北沧州人,本科,从事肿瘤病因学研究。