

Warburg效应的本质是糖异生

马建军, 樊代明, 石汉平, 李胜水*

河北省沧州市财政局, 河北 沧州 061001

摘要 : Warburg效应是指癌细胞在有氧环境下, 仍通过糖酵解产生ATP的过程, 即有氧酵解呼吸。在这个过程中, 谷氨酰胺和乳酸是其重要能源, 这种由非葡萄糖供能的现象, 在生物化学上被称为糖异生。糖异生改变了电子呼吸链类型和线粒体运行方式, 降低了能斯特方程势能, 促进基因自发突变。Warburg效应的形成是糖皮质激素作用下, G⁻菌呼吸爆发引起的。

关键词 : Warburg效应; 糖异生; 线粒体RTG; 呼吸链改变; 自发突变; 肿瘤代谢

The essence of the Warburg effect is gluconeogenesis

Ma Jianjun, Fan Daiming, Shi Hanping, Li Shengshui*

Finance Bureau of Cangzhou, Hebei, Cangzhou, Hebei 061001

Abstract : The Warburg effect refers to the process in which cancer cells produce ATP through glycolysis in an aerobic environment, known as aerobic respiration. In this process, glutamine and lactate are important energy sources, and this phenomenon, which is powered by non glucose sources, is known as gluconeogenesis in biochemistry. Glycogenesis alters the type of electronic respiratory chain and mitochondrial operation, reduces the potential energy of the Nernst equation, and promotes spontaneous gene mutations. The formation of Warburg effect is caused by the respiratory burst of G⁻bacteria under the action of glucocorticoids.

Keywords : Warburg effect; gluconeogenesis; mitochondrial RTG; changes in respiratory chain; spontaneous mutation; Tumor metabolism

一、引言

Warburg效应的糖代谢是糖异生(HMP途径)。糖异生与线粒体反向运行RTG和Nernst势能下降密切相关, 基因自发突变是糖异生的产物。糖皮质激素通过G⁻菌LPS引起的呼吸爆发产生的NADPH促进Warburg效应。

二、Warburg效应中的糖代谢是糖异生

糖异生(GNG)主要有两层含义: 1、非糖物质转糖, 多数人公知。2、非糖物质供能, 多数人忽略。Roninus指出, GNG是有氧与无氧之间一种有氧酵解代谢呼吸方式, 肌乳酸(pka3.87)浓度, 一般以有氧1mM <、有氧酵解2.45mM <和无氧32mM <的浓度依次升高, GNG的最大ΔG为428kJ/mol, EMP为960kJ/mol。

在肿瘤研究中, 很多人误将Gln糖异生当做糖酵解, 使肿瘤成为难解之谜。根据《运动生理学》等知识, GNG与EMP(糖酵解)在肌纤维类型、肌蛋白含量、能量类型等很多方面存在明显的区别。

表1 GNG与EMP区别简表

| 糖代谢类型 | 呼吸链 | 氧体积分数(%) | 有氧呼吸持续时间 | 有氧与无氧产ATP比例(%) | 催化酶类型 |
|-------|-----|----------|----------|----------------|-------|
| GNG | FAD | 10-16 | 长久 | 51.2:48.8 | 羧化酶 |
| EMP | 无 | 10 < | 4min < | 1:99 | 激酶 |

临床中, GNG最典型的例子是心梗时的心肌酶升高。心肌线粒体含67%的LDH1催化乳酸转丙酮酸入TCA供能; 骨骼肌含56%的LDH5催化丙酮酸转乳酸入EMP供能。有氧的LDH1与无氧的LDH5同时增加。肿瘤化疗中, 紫杉醇良好的疗效与其抑制细胞微管蛋白GNG密切相关。

三、糖异生改变了线粒体呼吸链类型

无氧酵解生成的丙酮酸和脂肪酸β氧化均产生乙酰COA。过量的乙酰COA能够抑制TCA中的丙酮酸脱氢酶的活性, 促进RTG中丙酮酸羧化酶的活性。Warburg效应中有氧ATP来自心肌线粒体脂肪酸β氧化, 无氧ATP来自肌纤维糖酵解。

综合《运动生物化学》多学科知识, 发现FAD呼吸链相关的琥珀酰COA, 在应激状态时, 来自游离的异亮氨酸和缬氨酸, 表明FAD呼吸链属于糖异生呼吸链。与此对应的是葡萄糖TCA的NAD呼吸链。深入研究后发现, 两者存在一个3-3.5倍差的代谢值规律, 如CRH、NO₂等。

FAD糖异生呼吸链为底物水平磷酸化, P/O比值1.5, 属于有氧酵解呼吸。与NAD呼吸链相比, Nernst势能下降: 电势与PH下降, 温度上升, 为熵增过程。Nernst方程的核心内容是溶液(体液水)酸碱度与温度正相关, 与氧化还原(呼吸链)电势负相关。如水温25℃时, PH7.0; 50℃时, PH6.63。人在流感, 新冠

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

通讯作者: 李胜水(1963--), 男, 中国河北沧州人, 教授, 从事肿瘤病理学研究, 邮箱: 1472313841@qq.com。

感染和癌症发烧时，体温超过38℃，肌肉PH约6.6。这是肿瘤多药耐药（MDR）和CSC形成的主要因素。Nernst方程的表达式之一为： $\Delta G = \Delta G^{0+} RT \ln Q$ （详情略）。表2 FAD呼吸链 Nernst 方程势能变化表

| 呼吸链类型 呼吸链类型 | 电势 (mv) | 线粒 体 PH | 骨骼肌 PH | 体温 (°C) | 吉布斯 自由能 |
|----------------|------------|------------|-----------|------------|------------|
| NAD | 1140 | 8.0 | 7.0 | 36.8±0.4 | -30.54 |
| FAD | 760 | 7.0 | 6.6 | 38.0±0.5 | -56.00 |

FAD呼吸链的有氧酵解呼吸与地球生物进化模拟温室地球模型（DNDC）表现一致。DNDC是Nernst方程和米曼方程联合建立的一个缺氧呼吸（有氧酵解）气球模型。其好氧状态的电势Eh为0.8v，而人体FAD的Eh为0.76v，此态的氧体积分数为10%—16%。Nernst方程和米曼方程肯定了G-FAD呼吸链有氧酵解呼吸的客观性，揭示了肿瘤、衰老及一起代谢性疾病的共同生化代谢规律。通过肌肉蛋白ATP/AMP磷酸盐调节系统中水溶液的PH变化，从宏观上肯定了人体酸碱的本质属性，为未来包括肿瘤在内的疾病治疗奠定了理论和实践基础。

在此环境下，骨骼肌耦联的ATP（PKa12.67）/AMP（PKa4.00）磷酸盐酸碱缓冲系统，通过每日50—75kg的水解氧化，将血浆中H₂O₂的浓度保持在约25μM，这是米曼方程中酶零级反应的阈值，使骨骼肌恒定在6.6左右，这是癌细胞最宜PH值。表达式：碱性ATP（PKa12.67）肌舒张+NAD1140mV+O₂+2H₂O（PKa15.7）→酸性AMP（PKa4.00）+FAD760mV+2H₂O₂（PKa1.65）+e⁻释放升温。（H₂O₂破坏线粒体缺氧促癌另文论述）

中国台湾国家卫生研究院郭呈钦博士研究发现，线粒体FAD呼吸链时，A549-cm等5种癌细胞琥珀酸的均值在0.41±0.16mM。

四、糖异生改变了线粒体运行方向

2020年7月6日，美国约翰霍普金斯大学Sidney kimmer综合癌症中心Jonathan D.Powll教授等在《Nature》发表报告，肠道G⁻菌TLR4和血乳酸增加，使中性粒细胞呼吸爆发并促进血浆NADPH增加。NADPH（HMP途径）和乙酰COA是线粒体苹果酸——柠檬酸穿梭的产物。美国纪念斯隆凯特癌症中心lydia finley实验室确认线粒体苹果酸——柠檬酸穿梭就是反向TCA（RTG）。RTG是一种表现遗传系统，能够上调驱动有氧酵解产能的基因表达，如myc、Ras、P₅₃、HIF、bcl-2等。通过底物水平磷酸化，持续的能量补偿，维持ΔG在约-56kJ/mol水平。该中心的蔡昕博士进一步发现，肌乳酸浓度的大小变化是线粒体TCA/RTG和呼吸链NAD/FAD的转换开关。NAD/FAO的转换阈值：NAD/NADH₂（乳酸/丙酮酸）电势-185mv，FAD/FADH₂（琥珀酸/延胡索酸）电势-180mv，阈值5mv。

RTG带来的效应

1. FAD/RTG激活Ras癌基因。Ras蛋白耦联线粒体GTP/GDP。麻省理工学院生物学教授Robert A Weinberg指出，Ras

蛋白处于复杂信号级联的中心位置，其下游的PI3K、MAPK和Ral-GEF三条信号通路，对于阐明癌症的发生，具有决定性作用和意义。

2. RTG通过细胞蛋白（占比80%）糖异生表达丰富内容。如表现遗传修饰、细胞的增殖、分化、凋亡、转移、浸润、化生等。其中，恶液质发生率为60%—80%，每日流失肌蛋白35—130g。

3. 促进基因自发突变。RTG在最大摄氧量V_{O₂max}25%—65%时，线粒体脂肪酸β氧化供能占约75%—50%，甘油三酯脂肪酶活性提高2.3倍，核酸CTP/CMP水解氧化增强，形成基因自发突变。

五、糖异生促进基因自发突变

CMP+H₂O→UMP+NH₃为基因自发突变。

蛋白质糖异生与核酸自发突变的关系。蛋白质是生命的核心，它包含了核酸DNA和RNA的全部内容，后者服务并从属于前者。蛋白质与核酸不是并行关系，而是从属关系。

自发突变中C的分析。波士顿著名生物学教授seyfried指出，细胞能量应激时（cums），代谢自动从葡萄糖转向脂肪，这种现象被称为兰德循环。MRI显示，应激时脂质双尖波化学位移0.99—1.32ppm，乳酸（肌糖原）1.32--4.1ppm，表明脂肪消耗先于葡萄糖。

自发突变中u的分析，生物化学反应的方向是按照吉布斯自由能降低的方向进行的。GNG的ΔG为-56kJ/mol，ump的前体物氨甲酰磷酸的ΔG为-51.4kJ/mol。因此，GNG时cmp分解就会通过氨甲酰磷酸向u转化。

中国科学院分院在用亚硝酸胺（自发突变产物NH₃衍生的唯一内源性强致癌物）诱导大鼠肝癌实验过程中发现：在健康组，与增殖有关的ACT（天门冬氨酸氨甲酰转移酶）下降，而与分化有关的OCT（鸟氨酸转移酶）上升。而肝癌组正好相反，ACT上升，OCT下降。这表明氨甲酰磷酸通过合成ump，进而合成RNA，促进癌细胞的异常增值，故临床使用5-Fu拮抗ump以抗癌。

自发突变中H₂O和NH₃的分析。水解氧化脱氨过程水中HO键中的O被氨中NH键中N取代的过程。HO键与NH键相比，前者稳定性低于后者，具有向后者转化的趋向。例如，键的取向力越大越不稳定，HO键为36.39kJ/mol，NH键为13.31kJ/mol。再例如，键的电负性越大越不稳定，HO键为1.4，NH键为0.9，键能和键角也都如此。在日常生活中，病理性发烧或生理性发汗，人体细胞内的结合H₂O和血浆中的H₂O（占比91%）会通过NH₃转换为尿液、汗液排出。这个过程中是人体有机化学碱H₂O（pka15.7）向弱酸NH₃（pka9.25）的转化过程。

NH₃的走向。美国哈佛医学院专家指出，氨是癌细胞的主要氮源，在肿瘤代谢重编程中居主导地位（science，2019.10.12）。基因自发突变产生的NH₃，目前已知有5个走向：1、通过氨甲酰磷酸、ump合成RNA促进细胞异常增值。2、通过氧化为NO₂

和亚硝酸胺，促进癌性溶血型贫血和内源性强致癌物形成。3、通过UDPG合成糖原。4、通过尿素合成途径促进琥珀酸FAD呼吸链。总反应： $\text{CO}_2 + \text{NH}_3 + \text{ASP} + 2\text{H}_2\text{O} + 3\text{ATP} (-30.5\text{kJ/mol}) \rightarrow \text{尿素} + 2\text{ADP} + \text{PPi} + \text{AMP} (-14.2\text{kJ/mol}) + \text{延胡索酸} \rightarrow \text{琥珀酸FAD}$ 。5、通过ump合成肠道G⁻菌脂多糖LPS，LPS与PMA（佛波醇）同属丝裂原活化诱导剂，是具有高度致癌活性的促癌剂。详见DOI: 10.12346/pmr.v3i4.4243。

六、糖皮质激素通过肠G⁻菌引起的呼吸爆发产生的NADPH促进Warburg效应。

糖异生的主要激素是糖皮质激素。肿瘤患者该激素始终是升高的。就中枢，正常组CRH $51.43 \pm 13.24\text{ng/L}$ ，肿瘤组 $104.5 \pm 17.15\text{ng/L}$ 。在外周，正常组ACTH $119.68 \pm 5.34\text{nM}$ ，肿瘤组 $163.45 \pm 31.49\text{nM}$ （李忠信，2014）。升高的ACTH促进细菌繁殖。

Ramakrishnan研究组通过研究与人类肠道同源的斑马鱼模型，发现G⁻菌衍生的TNF- α 诱导线粒体RTG及NADPH

升高。临床可见NOX₂上升，正常组 $3.98 \pm 1.24\mu\text{g/L}$ ，肿瘤组 $11.97 \pm 5.12\mu\text{g/L}$ （林国娟，2020）。如前所述，RTG和NADPH（HMP途径）是脂肪、氨基酸糖异生的产物，而糖异生正是Warburg效应的本质。

七、诱发Warburg效应的几个关键阈值

根据赵宝路、陈瑗等实验数据，结合Nernst方程和米曼方程原理，初步确定如下Warburg阈值范围：细菌cytb558型H₂O₂浓度 $25\mu\text{M}$ ，半衰期9.3—460h。NH₃衍生物NO₂浓度 $20\mu\text{M}$ ，半衰期3—31/h。PKa4.0的AMP浓度 0.4mM 。PKa4.19的琥珀酸浓度 0.41mM 。线粒体电势760—886mV，肌PH6.5—6.8，体温 37.6 ± 0.4 — $38.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 。总结：根据Nernst方程和米曼方程原理，人体肌蛋白磷酸盐系统（ATP/AMP）的酸碱性是客观存在的，前者PKa12.67为碱性，后者PKa400为酸性，其占比约84%。而人所共知的血浆碳酸氢盐呼吸调节系统，其占比约16%，不足以反映和代表人体酸碱属性（魏文汉，病理生理学）。

参考文献

- [1] 赵伟康. 生物化学. 北京: 中国中医药出版社, 1994.
- [2] 张蕴琨. 运动生物化学. 北京: 高等教育出版社, 2014.
- [3] 菲利普·纳尔逊. 生物物理学. 上海: 科学技术出版社, 2006.
- [4] 汤姆森·塞佛雷德. 癌症是一种代谢病. 北京: 科学出版社, 2020.
- [5] 陈瑗. 自由基—炎症与衰老疾病. 北京: 科学出版社, 2007.
- [6] 李长生. 生物地球化学科学基础与模型方法. 北京: 清华大学出版社, 2016.