

2018-07-26 由 徐克成 發表于健康

---

## 第 42 講 氫分子的生物學作用及其控制癌症的機制

### 閱讀要點

- 氫氣 (H<sub>2</sub>) 是非自由基、非反應性、非極性、高度可擴散的中性氣體，業已發現 H<sub>2</sub> 能預防和治療癌症以及各個器官，包括腦、心、腎、胰、肺、肝和軟組織的疾病；
- 氧化應激與癌症起始、促進和進展所有三個階段都有關。 活性氧 (ROS) 可以促進腫瘤細胞增殖、存活和細胞遷移；
- ROS 通過多種機制在細胞內由細胞膜、線粒體、過氧化物酶體和內質網產生；外源性 ROS 可以由污染物、菸草、煙霧、藥物、異生素、紫外線或輻射產生；
- 毒性 ROS 可引起 DNA 損傷，誘發基因突變，干擾信號傳導，促發慢性炎症，損傷線粒體，促進癌症進展和轉移，助長癌幹細胞；
- 氫分子選擇性消除 ROS，具有抗氧化、抗炎症、抗凋亡、保護線粒體等作用；
- H<sub>2</sub> 控制癌症主要由抗氧化實現，進而通過抗炎症、改善代謝等多種機制，發揮預防癌症發生（一級預防）、常規治療前「新輔助治療」、常規治療後消除／調控殘存癌細胞（輔助治療）以及預防復發和轉移等作用

### 引言

人體細胞常常處於氧化應激狀態，這源於過量自由基即活性氧的異常氧化潛力。急性氧化可來自各種狀態，例如強力運動、炎症、缺血再灌注性損傷、出血、組織移植等。慢性持續性氧化應激與許多生活方式相關性疾病、老化和癌症密切相關。但是，臨床上雖然有許多試驗性抗氧化品，但或者劑量小不會發生效果，或者因其劑量大，其毒性高，無法使用。尋找無毒或少毒性抗氧化劑用於治療許多疾病，一直是夢寐以求的工作。

近幾十年，經過不懈的努力，人們終於發現氫 (H<sub>2</sub>)，一種可燃性無色無味氣體，是一種無毒、天然、簡便、 有效的選擇性抗氧化分子。1976 年 Dole 等報告 H<sub>2</sub> 對皮膚鱗狀細胞癌的治療作用。此後，有報告吸氫可治療肝臟寄生蟲感

染引起的肝炎。2007 年日本東京醫科大學的研究者發現，H<sub>2</sub> 具有抗氧化特性，能選擇性中和氫氧根(•OH)和過氧硝基(ONOO-)，保護腦免受輻射和中風的傷害。

氣體對疾病具有治療作用，不是一個新概念。氧氣是人類生存不可缺少的物質，其在醫學上的應用，已是眾所皆知。20 世紀 80 年代，發現硝酸甘油治療心絞痛的 的分子機制是一種氣體分子一氧化氮（NO）。該種氣體起源於血管內皮細胞，有鳥苷酸環化酶的活化而產生，是導致血管擴張的分子形式。從那時起，對醫用氣體的研究取得快速進展。生物體內產生的產生血紅素的一氧化碳和產生硫酸甲酯的分解產生的硫化氫具有很強的抗氧化作用，被認為是非常重要的神經遞質。這 3 種氣體分子（即一氧化氮、一氧化碳和硫化氫）被稱為體內的氣體信號分子（表 1）。NO 的研究者因此被授予諾貝爾獎。

NO 已經在臨床上用於治療心臟和肺部疾病。臨床研究已開始在腎移植和嚴重呼吸衰竭患者中進行一氧化碳治療，以及對腎功能不全患者和經歷過冠狀動脈旁路術的患者進行氫硫化物治療。

然而，長期以來，人們難以相信氫分子即氫氣（H<sub>2</sub>）可以發揮任何生物效應，因為與這些其他氣體相比，氫氣是非自由基、非反應性、非極性、高度可擴散的中性氣體，不太可能具有特異性結合位點，或與特異性受體發揮特異性相互作用。

	NO	CO	HS	H2
色、味	无、无	无、无	无、刺激性味	无、无
可燃性	-	-	+	++
毒性	+	++	++	-
体内产生	通过 NOS、XO	通过 HO	通过 CBS、CSE	肠道菌群
血管扩张	++	+	+	-
抗炎症作用	+	+	+	+
抗凋亡作用	+	+	+	+

NOS：一氧化氮合成酶；XO：黄嘌呤氧化酶；HO：血红素加氧酶；CBS：胱硫醚β-合成酶；CSE：胱硫醚γ-裂解酶

表1 治疗性气体

但是從演化的角度來看，氫可能會產生生物效應並不奇怪。除了它在宇宙起源中的作用外，氫還參與了生命的起源，並且在真核生物的進化過程中發揮了積極的作用。在數百萬年的進化過程中，植物和動物與產氫細菌發生互惠關係，導致真核系統中氫分子保持一定基礎水平。 有理由推斷，真核生物在數百萬年的進化過程中可能保存了對氫分子的敏感性和依賴性。

迄今，業已發現 H<sub>2</sub> 能預防和治療體內各個器官，包括腦、心、腎、胰、肺、肝和軟組織的疾病，對危害人類最大的癌症，也具有控制作用。

自由基和活性氧

癌症是一包含起始、促進和進展多階段過程。氧化應激與該過程的所有三個階段都有關。通過誘導細胞信號轉導途徑，活性氧（ROS）可以促進腫瘤細胞增殖、存活和細胞遷移。

（一）什麼是自由基和活性氧（ROS）？

自由基是具有不成對價電子的原子、分子或離子。因為電子喜歡成對地「行進」或需要伴侶，如果化學物本身只有一個電子， 這將使這個化學實體具有很強的反應性，並且很容易從周圍環境中「竊取」電子（圖 1）。由於這種特性，自由基具有很強的反應性。

活性氧（ROS）物質是在其最外層電子殼中具有單個不成對電子的自由基、離子或分子。 ROS 可分為兩類：游離氧自由基和非自由基 ROS（表 2），後者是可以轉化為自由基或起氧化劑的作用的分子。超氧化物、過氧化氫和羥基自由基是癌症中研究最多的 ROS。

游离氧自由基	非自由基ROS
羟基（ $\cdot\text{OH}$ ）	过氧化氢 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )
超氧化物 ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )	单线态氧 ( $^1\text{O}_2$ )
一氧化氮 ( $\text{NO}^{\cdot}$ )	臭氧/三氧 ( $\text{O}_3$ )
有机基团 ( $\text{R}^{\cdot}$ )	有机氢过氧化物 ( $\text{ROOH}$ )
过氧自由基 ( $\text{ROO}^{\cdot}$ )	次氯酸盐 ( $\text{HOCl}$ )
烷氧基 ( $\text{RO}^{\cdot}$ )	过氧亚硝酸盐 ( $\text{ONO}^-$ )
硫基 ( $\text{RS}^{\cdot}$ )	亚硝基过氧碳酸根阴离子 ( $\text{O}=\text{NOOCO}_2^-$ )
磺酰基 ( $\text{ROS}^{\cdot}$ )	硝酸氢根阴离子 ( $\text{O}_2\text{NOCO}_2^-$ )
硫代过氧自由基 ( $\text{RSOO}^{\cdot}$ )	二氧化氮 ( $\text{N}_2\text{O}_2$ )
二硫化物 ( $\text{RSSR}$ )	硝鎗 ( $\text{NO}_2^+$ )
	高反应性脂质或碳水化合物衍生的羰基化合物

表2 活性氧的种类

## （二）活性氧的產生

ROS 通過多種機制在細胞內產生，取決於細胞和組織類型。「專業」ROS 生產者有細胞膜、線粒體、過氧化物酶體和內質網中的 NADPH 氧化酶（NOX）複合物。在線粒體中，ROS 是氧化磷酸化的副產物。電子傳遞鏈包括線粒體內膜上的複合物 I-IV 和 ATP 合酶。在複合物 I 和 III 處產生超氧化物並釋放到膜間空間（約 80% 的產生的超氧化物）或線粒體基質（約 20%）。通過線粒體外膜的通透性轉換孔（MPTP），超氧化物滲漏到細胞質中。超氧化物在線粒體基質（通過 MnSOD）或細胞漿（通過 Cu / ZnSOD）中被歧化為  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。 $\text{H}_2\text{O}_2$  是一種真正的第二信使，具有高度可擴散性（圖 2）。

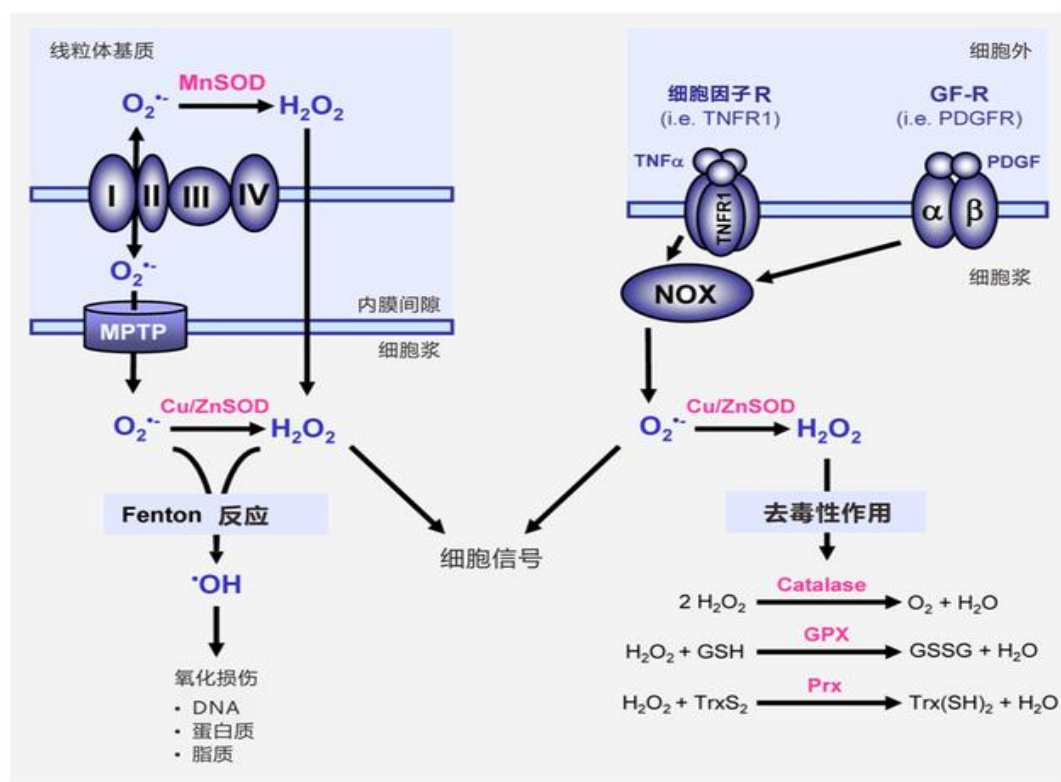
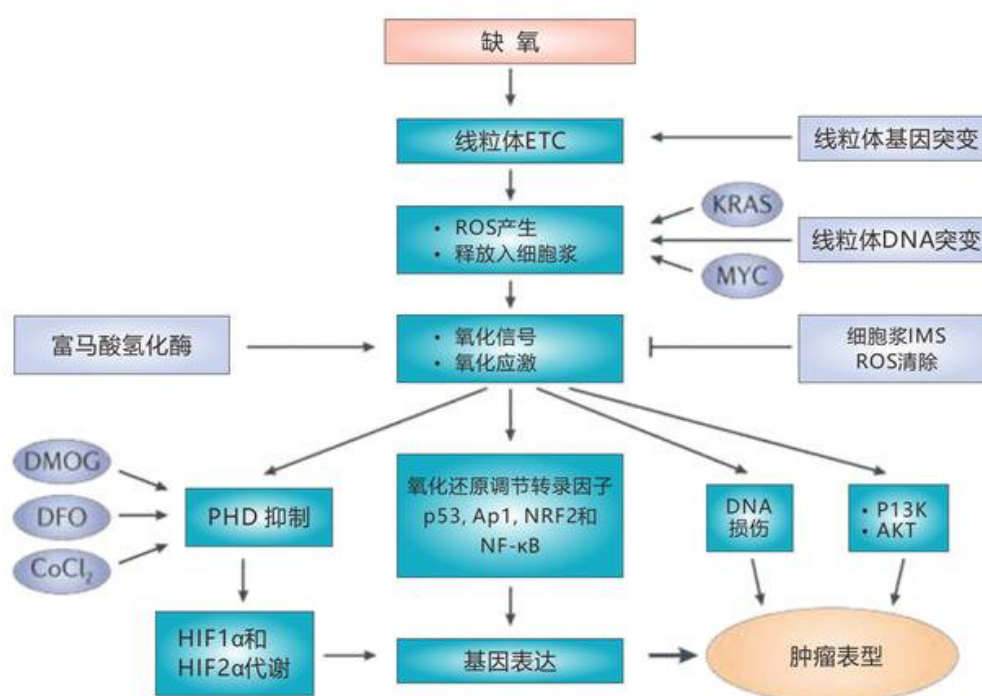


圖 2 ROS 產生和解毒的主要機制：超氧化物( $\text{O}_2^{\bullet-}$ )自由基在線粒體的內膜處產生，作為電子傳遞鏈的副產物，然後通過線粒體通透性轉換孔（MPTP）釋放到線粒體基質或胞質溶膠中。生長因子受體（GF-R）或細胞因子受體可激活 NADPH 氧化酶（NOX），也產生超氧化物。超氧化物歧化酶（SOD），例如線粒體基質中的 MnSOD 或細胞漿中的 Cu / ZnSOD，能將超氧化物還原成  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。細胞漿中抗氧化系統，包括過氧化氫酶、谷胱甘肽過氧化物酶（GPX）和過氧化物酶（Prx），還原過氧化氫為水。過氧化氫和超氧化物參與細胞信號傳導，但也可形成羥基自由基( $\bullet\text{OH}$ )。羥基自由基在 Fenton 反應中由  $\text{O}_2^{\bullet-}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  產生，對蛋白質、DNA 和脂質具有破壞性作用

除線粒體外，過氧化物酶體是細胞 ROS 產生的其他主要部位。在這些呼吸性細胞器中，超氧化物和  $H_2O_2$  通過過氧化物酶體基質和過氧化物酶體膜中的黃嘌呤氧化酶產生。

外源性 ROS 可以由污染物、菸草、煙霧、藥物、異生素、紫外線或輻射產生。電離輻射與水的相互作用，產生破壞性中間體，這一過程稱為輻射分解。由於水占人體的 55%-60%，因此在電離輻射的存在下，輻射分解的可能性非常高。在該過程中，水失去電子並變得具有高度反應性。然後通過三步鏈反應，水依次轉化為羥基自由基( $\bullet OH$ )、過氧化氫( $H_2O_2$ )、超氧自由基( $O_2^{\bullet -}$ )，最終生成氧氣( $O_2$ )。

缺氧是 ROS 生成的促進因素：缺氧通過線粒體電子傳遞鏈(ETC)觸發 ROS 產生，抑制脯氨酰羟化酶(PHD)，激活缺氧誘導因子 1(HIF1)和 HIF2；(2) 缺氧還通過 ROS 依賴性信號傳導激活其他反應和轉錄因子；(3) 癌基因包括 KRAS 和 MYC，可以進一步推動 ROS 的產生；(4) 線粒體 DNA (mtDNA) 突變 - 或核 DNA 編碼的蛋白質可以增加線粒體 ROS 的產生(圖 3)。



**圖 3 缺氧激活線粒體產生 ROS 和氧化信號，驅動腫瘤細胞表型：**缺氧通過線粒體電子傳遞鏈(ETC)觸發 ROS 產生，抑制脯氨酰羟化酶(PHD)，激活缺氧誘導因子 1(HIF1)和 HIF2。癌基因包括 KRAS 和 MYC，可以進一步推動 ROS 的產生。線粒體 DNA (mtDNA) 突變 - 或核 DNA 編碼的蛋白質可以增加線粒體 ROS 的產生

AP1，激活蛋白 1; IMS，膜間隙; NF- $\kappa$ B，核因子- $\kappa$ B; NRF2，核呼吸因子 2

活性氮物質（RNS）由含氮氧化劑如一氧化氮（NO）形成。線粒體呼吸鏈可在低氧條件下產生 RNS，而 RNS 可進一步產生其他活性物質，現在已知連續性細胞 ROS 和 RNS 產生是多種因素的結果，包括致癌物暴露、炎症和線粒體呼吸。

### （三）活性氧的生理作用

在生物學背景下，ROS 是氧的正常代謝的天然副產物，在細胞信號傳導和體內平衡中起重要作用。在內源性代謝反應中，嗜氧細胞產生 ROS，包括  $O_2^{\bullet-}$ 、 $H_2O_2$  和  $\bullet OH$ ，參與控制著細胞功能，包括調節細胞凋亡（程序性細胞死亡）、誘導宿主防禦基因和離子轉運系統、參與傷口修復和血液穩態。血小板釋放 ROS，促使血小板募集到損傷部位。ROS 還通過募集白細胞，參與免疫調節。

在環境壓力（例如，輻射、紫外線或化學物暴露）下，ROS 水平會急劇增加，並可能導致細胞結構損害。這被稱為氧化應激，對細胞的有害影響表現為——

- 細胞核內 DNA 或 RNA 損傷
- 線粒體 DNA 損傷
- 脂質中多不飽和脂肪酸的氧化（脂質過氧化）
- 蛋白質中胺基酸的氧化
- 通過輔因子的氧化，氧化滅活特定的酶

### 活性氧和癌症

腫瘤細胞產生的 ROS 比正常細胞更多，並導致氧化應激增加。根據文獻報導，ROS 對 DNA 造成的損傷涉及慢性炎症性疾病和各種癌症類型，包括膀胱癌、腦瘤、乳腺癌、宮頸癌、胃癌、肝癌、肺癌、黑素瘤、多發性骨髓瘤、白血病、淋巴瘤、口腔癌、卵巢癌、胰腺癌、攝護腺癌和肉瘤。

#### （一）誘導 DNA 氧化損傷

ROS 通過過氧化，損傷 DNA，引起 DNA 基因突變和結構改變，啟動癌症；ROS 通過引起異常基因表達，上調參與細胞周期的細胞周期蛋白 mRNA 水平，包括細胞周期蛋白 B2、細胞周期蛋白 D3、細胞周期蛋白 E1 和細胞周期蛋白



E2，加速 G1 向 S 期轉變，促進細胞增殖或減少起始細胞群的凋亡。有資料表明，環境致癌物刺激癌細胞中 ROS 產生，並加速 S 期進展和隨後的細胞增殖（圖 4）。

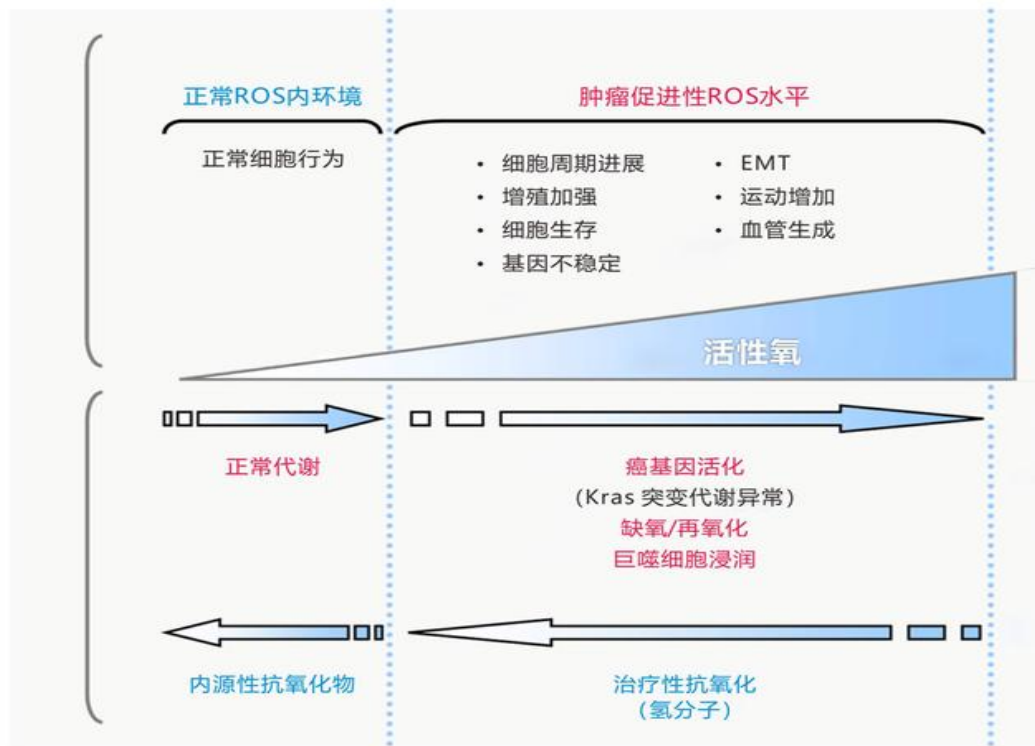


圖 4 ROS 和致癌。ROS 在正常細胞過程中產生，細胞表達抗氧化劑以消耗細胞內氧自由基水平。腫瘤發生事件包括癌基因激活（即 K-ras 的突變）、組織中的代謝改變或巨噬細胞浸潤或缺氧/再氧化過程，通過增加細胞內 ROS 水平並促進腫瘤形成或進展。這些促進腫瘤的 ROS 水平可導致細胞周期進展，促進增殖和存活信號傳導、EMT、運動性、基因組不穩定性和血管生成，治療性抗氧化劑可抑制上述過程。化學治療藥物可引起細胞內 ROS 水平的過度增加，誘導腫瘤細胞的細胞周期停滯、衰老或細胞死亡，內源性抗氧化劑可對抗 ROS 增加

ROS 氧化 DNA 可以產生幾種類型的 DNA 損傷，包括鹼基修飾、無鹼基位點、單鏈斷裂、蛋白質-DNA 加合物和鏈內/鏈間 DNA 交聯。據估計，通過正常細胞代謝產生的內源性 ROS，每天在單個細胞中能修飾約 20,000 個鹼基的 DNA。在 DNA 複製過程中，DNA 聚合酶錯配 8-氧鳥嘌呤與腺嘌呤，導致 G→T 顛換突變。由此產生的基因組不穩定性直接導致致癌作用。

## （二）干擾信號傳導途徑

ROS 刺激細胞內和細胞外環境的信號傳導途徑，抑制凋亡。在缺氧微環境下，ROS 上調血管內皮生長因子、肝細胞生長因子、缺氧誘導因子-1 $\alpha$ （HIF-1 $\alpha$ ）、NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 等的表達，激活一系列轉錄因子，包括核轉錄因子 NF- $\kappa$ B、激活蛋白 1、HIF-1 $\alpha$ 、基質金屬蛋白酶、 $\beta$ -連環蛋白/ Wnt 和核因子紅細胞相關因子 2（Nrf2）、信號轉導子和轉錄激活子 3（STAT3），導致慢性炎症、細胞轉化、腫瘤細胞存活、腫瘤細胞增殖和侵襲、血管生成以及轉移的相關蛋白質表達。ROS 還抑制各種腫瘤抑制基因的表達，如 p53、視網膜母細胞瘤基因（Rb）和磷酸酶和張力蛋白同源物（PTEN）（圖 5）。

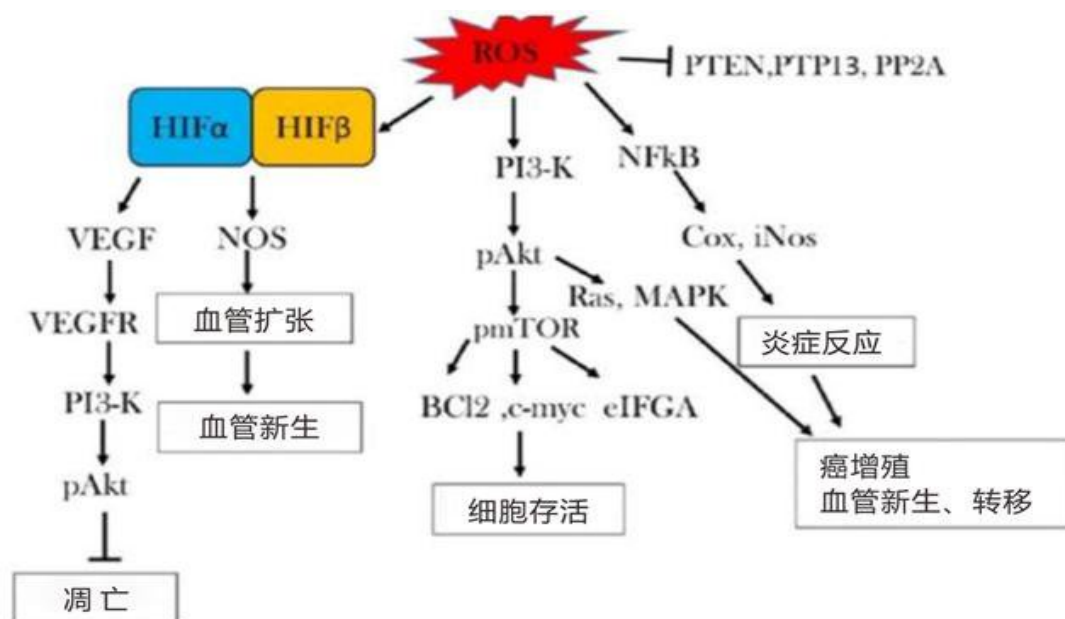


圖 5 ROS 在信號轉導中的作用：ROS 誘導 PI3K / AKT / mTOR 存活信號激活，導致 2 種信號傳導途徑激活：第一是 Ras-MAPK，導致細胞增殖，第二是 PI3K-Akt-eNOS，導致代謝調節和細胞存活。缺氧引起 HIF $\alpha$ -HIF $\beta$  的激活，其進一步激活血管生成生長因子 VEGF。在癌細胞 ROS 中，高濃度的 ROS 激活存活途徑，並使啟動細胞凋亡的 PTEN 途徑失活，導致癌細胞生存

ROS：活性氧; PTEN：磷酸酶和張力蛋白同源物; VEGF：血管內皮生長因子

### （三）誘發慢性炎症

過去幾年的實驗和流行病學研究表明，ROS、慢性炎症和癌症之間存在密切聯繫。ROS 通過誘導 COX-2、炎性細胞因子（TNF $\alpha$ 、白細胞介素 1〔IL-1〕、IL-6）、趨化因子（IL-8、CXCR4）和促炎轉錄因子（NF- $\kappa$ B）誘導慢性炎症。這些趨化因子和趨化因子受體反過來促進各種腫瘤的侵襲和轉移。

在慢性炎症期間炎症細胞中 ROS 產生增加，會引發 DNA 損傷和突變。尚沒有直接證據顯示腫瘤微環境中的個體細胞可以通過 ROS 誘導鄰近上皮細胞的突



變。最新的一項研究表明，骨髓細胞中 ROS 的產生增加，可以促進腸道腫瘤的生長並刺激腫瘤進展，這為炎症性疾病患者的癌症風險增加提供了可能的解釋。

#### （四）損傷線粒體，干擾能量代謝

近年來，線粒體在癌症發生和發展中的作用受到重視。有認為，癌症是一種代謝性或線粒體疾病，而啟動因素與 ROS 有關。

線粒體通過促進生物能量學、代謝、生物合成，與細胞死亡或存活功能有著密切關係。線粒體產生的活性氧（ROS）參與正常細胞中的應激信號傳導。在癌症發生的背景下，線粒體 ROS 的重要靶標是線粒體 DNA（mtDNA），可啟動核或線粒體 DNA 突變，促進腫瘤轉化。人線粒體含有由~16.6 千鹼基組成的 DNA 環狀多重拷貝，編碼氧化磷酸化系統（OXPHOS 系統）、12S 和 16S 核糖體 RNA 以及 22 種轉移 RNA 的 13 種多肽組分。每個線粒體可能攜帶數十個 mtDNA 拷貝，每個細胞含有數十個線粒體，因此每個細胞可能含有數百個 mtDNA 拷貝。與核 DNA 不同，mtDNA 不受組蛋白的保護，校對能力有限，易受鉅量 ROS 的攻擊。線粒體突變率遠高於核 DNA。突變可包括缺失、插入、點突變和 mtDNA 拷貝數的變化。受損的線粒體導致細胞有氧呼吸障礙，細胞能量供應不足，導致線粒體 DNA（mtDNA）突變，進而導致三羧酸（TCA）循環酶的突變，再通過產生氧化劑信號傳導，驅動腫瘤細胞進展（圖 6）。

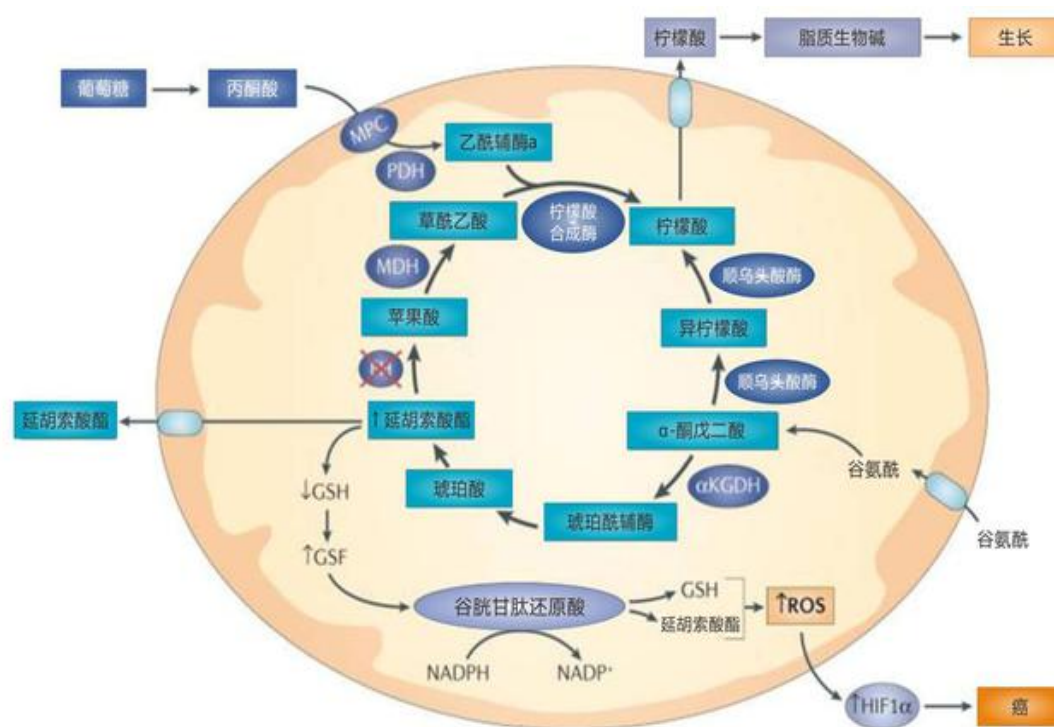


圖 6 三羧酸（TCA）循環酶的突變通過產生氧化劑信號傳導，驅動腫瘤細胞進展。富馬酸水合酶（FH）中的失活突變阻斷 TCA 循環功能，導致富馬酸鹽和琥珀酸鹽的積累。富馬酸與還原型谷胱甘肽（GSH）反應生成琥珀酸化谷胱甘肽（GSF），這是一種致瘤性代謝物（oncometabolite），被谷胱甘肽還原酶降解，同時消耗 NADPH。釋放出來的 GSH 可以在消耗 NADPH 的無效循環中與富馬酸重組。這削弱了線粒體對活性氧（ROS）的解毒能力，導致 ROS 釋放到細胞漿中增加，抑制脯氨酰羧化酶，並增加缺氧誘導因子 1 $\alpha$ （HIF1 $\alpha$ ）的穩定性。線粒體繼續代謝  $\alpha$ -酮戊二酸，通過反向羧化作用生成檸檬酸。由谷氨酰胺脫氨基生成谷氨酸，保持  $\alpha$ -酮戊二酸的供應。然後檸檬酸鹽輸出到細胞漿基質中，在那裡產生乙酰-CoA，供脂質生物合成。因此，通過驅動 ROS 依賴性和 ROS 非依賴性信號傳導，TCA 循環抑制可在腫瘤細胞形成和進展中產生多種作用。

**$\alpha$ KGDH**： $\alpha$ -酮戊二酸脫氫酶；**Acon**：烏頭酸酶；**KEAP1**：kelch 樣 ECH 相關蛋白 1；**MDH**：蘋果酸脫氫酶；**MPC**：線粒體丙酮酸載體；**NRF2**：核呼吸因子 2；**PDH**：丙酮酸脫氫酶

Nat Rev Cancer. 2014; 14(11): 709–721.

Mitochondria cooperate with their host cells by contributing to bioenergetics, metabolism, biosynthesis, and cell death or survival functions. Reactive oxygen species (ROS) generated by mitochondria participate in stress signalling in normal cells but also contribute to the initiation of nuclear or mitochondrial DNA mutations that promote neoplastic transformation. In cancer cells, mitochondrial ROS amplify the tumorigenic phenotype and accelerate the accumulation of additional mutations that lead to metastatic behaviour. As mitochondria carry out important functions in normal cells, disabling their function is not a feasible therapy for cancer. However, ROS signalling contributes to proliferation and survival in many cancers, so the targeted disruption of mitochondria-to-cell redox communication represents a promising avenue for future therapy.

Mitochondria cooperate with their host cells by contributing to bioenergetics, metabolism, biosynthesis, and cell death or survival functions. Reactive oxygen species (ROS) generated by mitochondria participate in stress signalling in normal cells but also contribute to the initiation of nuclear or mitochondrial DNA mutations that promote neoplastic transformation. In cancer cells, mitochondrial ROS amplify the tumorigenic phenotype and accelerate the accumulation of additional mutations that lead to metastatic behaviour. As mitochondria carry out important functions in normal cells, disabling their function is not a feasible therapy for cancer. However,

ROS signalling contributes to proliferation and survival in many cancers, so the targeted disruption of mitochondria-to-cell redox communication represents a promising avenue for future therapy.

#### （五）ROS 促進腫瘤細胞的運動和轉移

在靜脈注射 ROS 處理的小鼠，癌細胞加速轉移。低或非運動性乳腺癌細胞系中，在高水平的內源性 ROS 者，癌細胞運動性增加，更多轉移至肺、肝和脾。對轉移性乳腺癌和高侵襲性胰腺癌細胞所做的研究顯示，ROS 水平高和抗氧化活性低與轉移發生密切相關。ROS 促進癌症轉移的機制有——

- 降低細胞對細胞外基質的粘附性，引起細胞 - 細胞間粘連的喪失，引發不依賴貼壁性存活，從而增加的遷移和侵襲潛力；
- 增加血管通透性。ROS 上調白細胞介素-8 (IL-8) 和細胞表面蛋白 ICAM-1 (細胞內粘附蛋白 1, CD54) 的表達。後兩者均可引起血管內皮的完整性降低，促進腫瘤細胞的跨內皮遷移；
- 促進血管上皮生長因子 (VEGF) 的表達，增強腫瘤血管生成；
- 誘導腫瘤細胞基質金屬蛋白酶 (MMPs) 的分泌，降低其活性。MMPs 是降解細胞外基質的相關酶家族，被認為是促進腫瘤侵襲的重要因子，是觸發上皮 - 間質轉化 (EMT) 的重要因素；
- 激活血紅素加氧酶-1，該酶促進產生一氧化碳或誘導一氧化氮形成，其活性增加可引發血管舒張，增加腫瘤的血液供應，有利於腫瘤運動和轉移

#### （六）助長癌幹細胞生存

已經確定，在化療或放療後，存活的原發性癌細胞的小亞群可以引發復發。這種小亞群表達幹細胞標誌物並且具有高度耐藥性，稱為癌症幹細胞 (CSC)。CSC 利用氧化還原調節機制，促進細胞存活和對治療的耐受。內源性和外源性 ROS 介導 CSC 的藥物抗性，促進這些細胞在治療期間存活。一定的 ROS 水平對於維持幹細胞功能至關重要。

#### 氫分子 (H<sub>2</sub>) 生物學作用

H<sub>2</sub> 的生物學作用的主要分子靶標是 ROS。對於諸如慢性炎症、信號傳導、基因、免疫和代謝（線粒體）等的影響，基本上是通過對 ROS 的作用而實現（圖 7）。

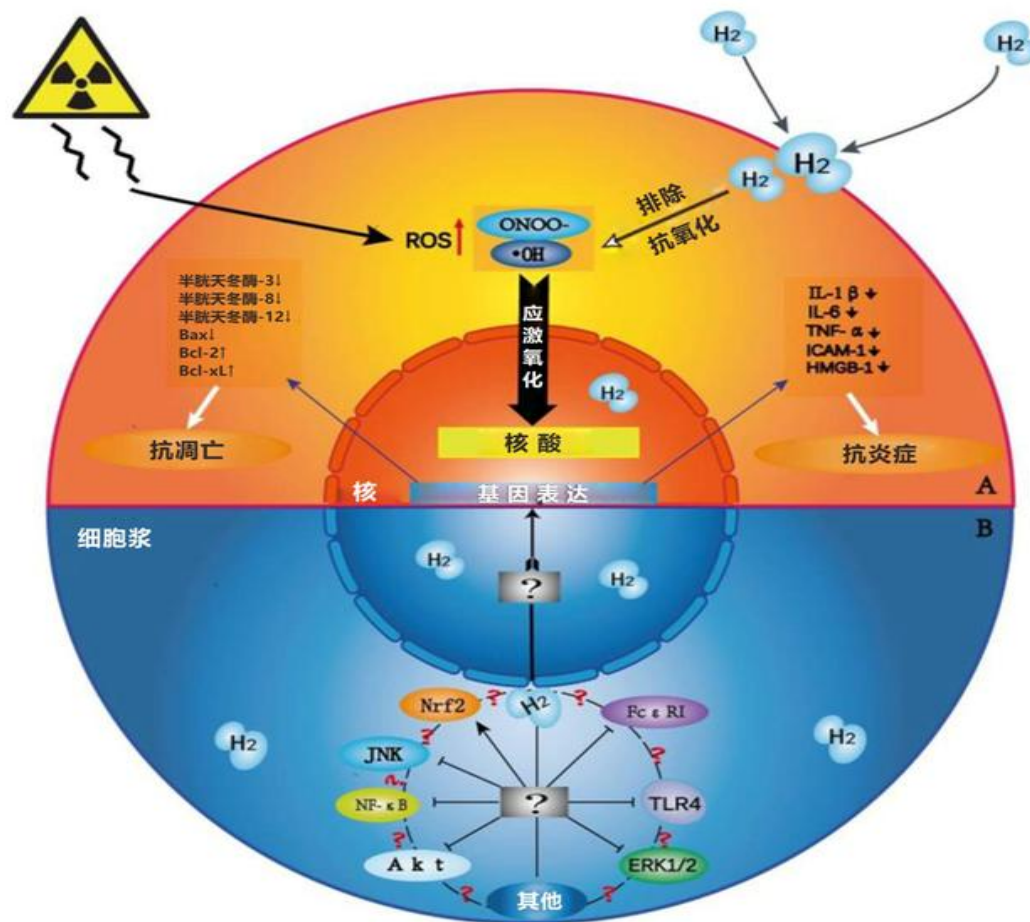


圖 7 H<sub>2</sub> 生物效應和可能的作用機制

(A) H<sub>2</sub> 具有選擇性的抗氧化、抗炎和抗凋亡特性。由輻射等因素引起的外源性損傷誘導過量的細胞 ROS 產生。H<sub>2</sub> 穿透生物膜並有效地到達細胞核。H<sub>2</sub> 選擇性清除•OH 和 ONOO<sup>-</sup>，從而防止 DNA 損傷。H<sub>2</sub> 還下調促炎症性和炎症性細胞因子如白介素 (IL) -1β、IL-6、腫瘤壞死因子 (TNF) -α、細胞間黏附分子 (ICAM) -1 和高遷移率族蛋白 (HMGB) -1 的表達以及促凋亡因子如半胱天冬酶-3、半胱天冬酶 -12、半胱天冬酶-8 和 Bax。H<sub>2</sub> 上調抗凋亡因子如 Bcl-2 和 Bcl-xL 的表達。(B) H<sub>2</sub> 調節許多途徑內和途徑之間的信號轉導。H<sub>2</sub> 的確切目標和分子機制未知，例如各種信號通路之間是否發生串擾？如果是這樣，它是如何觸發的？有待進一步的研究

Nrf2: 一種抗氧化蛋白；Bcl-2、Bcl-xL 與 Bax 共屬於一個家族，通過控制線粒體膜的通透性來調節凋亡激活物；TLR4: Toll 樣受體 4；ERK1/2: 細胞外調節蛋白激酶；JNK: c-Jun 氨基末端激酶；‘AKT: 蛋白激酶 B；NFκb: 一種信號通路

## （一）選擇性抗氧化

分子氫是線粒體中氧化應激的理想抗氧化分子，由於其體積小，它是極少數能夠到達線粒體內部的抗氧化分子之一。H<sub>2</sub> 直接保護暴露於活性氧的線粒體。

H<sub>2</sub> 是一抗氧化劑，在許多生物活性過程中發揮作用。體內最強大和毒性的氧化劑有•OH 和 ONOO<sup>-</sup>，能作用於核酸、脂質和蛋白質，引起 DNA 受損、脂質過氧化和蛋白變性。H<sub>2</sub> 是這兩種氧化劑的特異性清除劑。所幸是，H<sub>2</sub> 對在體內具有正常生理功能的活性氧無作用。

業已證明，H<sub>2</sub> 在人類各種疾病和動物模型時，H<sub>2</sub> 可減低各種氧化應激標誌物的表達，這些標誌物包括髓過氧化物酶、丙二醛、8-羥基 - 脫氧鳥苷 8-OHdG、8-異攝護腺素 F2a 和硫代巴比妥酸反應物質。近來還報告 H<sub>2</sub> 的抗氧化作用能改變植物的某些病理過程，有助水果保鮮。

氫抗氧化損傷的另一種機制是通過 NRF2 途徑。H<sub>2</sub> 活化 Nrf2-Keap1 系統，隨後誘導抗氧化劑應答元件（ARE）途徑，進而導致產生各種細胞保護性蛋白質，如谷胱甘肽、過氧化氫酶、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽過氧化物酶以及血紅素-1 加氧酶等生成。

最初認為氫的有益作用是由於氫選擇性中和細胞毒性羥基自由基所致。然而，雖然 H<sub>2</sub> 減少了•OH 自由基，它可能不是通過直接清除，也不能完全解釋氫的所有良好作用。例如，在類風濕性關節炎的雙盲安慰劑對照試驗中，氫具有殘留效應，停止給氫後 4 周，疾病症狀仍持續改善。許多細胞研究還表明，在氫氣從體系中消失之後很長時間內，對施加的攻擊（例如毒素，輻射，損傷等）仍具有抵抗力。因此，H<sub>2</sub> 的良好作用可能還有其他機制。

## （二）抗炎症作用

2001 年有一研究發現，吸入高濃度 H<sub>2</sub> 治癒了寄生蟲引起的肝臟炎症，從而第一個證明 H<sub>2</sub> 具有抗炎症特性。進一步在各種損傷模型發現 H<sub>2</sub> 有抗炎症作用，通過下調各種促炎症性和炎症性細胞因子，如白介素(IL)-1β、IL-6、腫瘤壞死因子 -α(TNF-α)、細胞內細胞黏附分子-1、高遷移率組框-1（HMGB-1）、核因子 kappa B (NF-κB) 和攝護腺素 E2 等，抑制炎症性損傷。在敗血症小鼠，H<sub>2</sub> 能提高生存率，減少器官損傷，主要由於下調早期或後期血清和組織內促炎症性細胞因子。有資料顯示，腸道內生成的 H<sub>2</sub> 也具有抑制炎症的效能。

### （三）抗凋亡

H<sub>2</sub> 能上調或下調與凋亡相關的因子，實施抗凋亡作用。已知 H<sub>2</sub> 能抑制促凋亡因子、B 細胞淋巴瘤-2 相關性 X 蛋白、caspase-3、caspase-8 和-2 的表達，上調抗凋亡因子、B 細胞淋巴瘤-2 和 B 細胞淋巴瘤-特大（B-cell lymphoma-2 and B-cell lymphoma-extra large）表達。H<sub>2</sub> 尚能調節特殊通路內和之間的信號傳導，抑制凋亡。有人還發現，H<sub>2</sub> 的神經保護作用，至少部分地與神經元內抗凋亡蛋白激酶 B 激活有關。

### （四）改變基因表達

H<sub>2</sub> 在體內可誘導各種基因表達，例如 NF- $\kappa$ B、c-Jun N-末端激酶(JNK)、增生細胞核抗原、血管內皮生長因子 (VEGF)、膠質纖維酸性蛋白 (GFAP) 和肌酐激酶。這些分子中某些可被 H<sub>2</sub> 再次調節，某些是直接 H<sub>2</sub> 的靶標。在正常大鼠肝臟中，H<sub>2</sub> 被發現對個體基因的表達影響不大，但上調氧化還原相關基因。H<sub>2</sub> 的抗炎和抗凋亡特性可以通過調節促炎症和炎症性細胞因子的表達以及凋亡相關因子來實現。

氫調節表觀遺傳效應的分子，而間接影響基因表達。分子氫可以：

- 阻礙 NF- $\kappa$ B 的釋放
- 減少 TNF $\alpha$
- 減少過量的一氧化氮
- 清除過氧亞硝酸鹽

除了潛在的羥基自由基清除和/或 Nrf2 途徑的激活外，氫可以通過細胞調節作用改善氧化應激並減少自由基的形成，例如下調 NADPH 氧化酶系統。氫的各種細胞調節作用參與氫的抗炎、抗過敏和抗肥胖作用。氫能下調促炎細胞因子（例如白介素-1 (IL-1)、IL-6、IL-8 等），減少 TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B、NFAT、NLRP3 和 HMGB1 等炎症介質的激活。另外，通過增加 FGF21、PGC-1 $\alpha$ 、PPAR $\alpha$  等的表達，氫能減少肥胖，改善代謝。其他能受 H<sub>2</sub> 影響或調節的第二信使分子或轉錄因子還有生長素釋放肽、JNK-1、ERK1/2、PKC、GSK、TXNIP、STAT3、ASK1、MEK、SIRT1 等等。已知超過 200 種生物分子，包括超過 1000 種基因表達，可被氫氣改變。

H<sub>2</sub> 可能影響多個信號通路以發揮廣泛的作用，這些通路之間的交互聯絡又可能影響 H<sub>2</sub> 治療結果（圖 8）。作為氣體信號調節劑，H<sub>2</sub> 的作用涉及信號分子網絡，H<sub>2</sub> 在這種環境中的到底發揮何種作用，值得進一步研究。



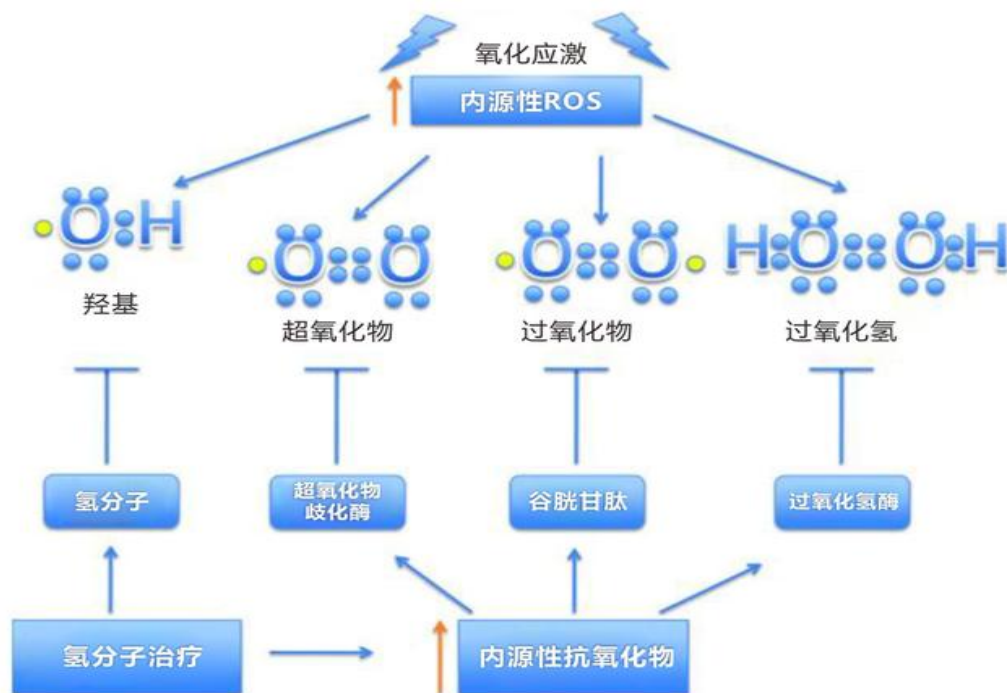


图 8 氢可以减少羟自由基，增加内源性抗氧化剂，发挥抗氧化应激作用

有關氫調節信號轉導、基因表達和蛋白磷酸化的確切機制仍在研究中。《科學報導》（Sci Rep）最近發表的一篇文章指出，氫能修飾細胞膜中的脂質過氧化反應，這可能是其實現各種細胞調節作用的機制之一。微陣列分析（comprehensive microarray analysis）確定，在生物相關濃度的培養細胞中，氫能抑制自由基鏈反應依賴性過氧化作用並恢復  $\text{Ca}^{2+}$  誘導的基因表達。

### （五）免疫保護作用

有研究表明，氫能保護免疫系統免受輻射損害。在接受輻射的小鼠實驗中， $\text{H}_2$  預處理組的脾臟指數較高，脾臟結構損傷較輕，輻射誘導的細胞凋亡受抑和促凋亡蛋白下調， $\text{CD4}^+$  和  $\text{CD8}^+$  T 細胞的絕對數量和百分比相對保持正常， $\text{TGF-}\beta 1$  的水平顯著下降，提示  $\text{H}_2$  可糾正輻射誘導的 T 細胞失衡。研究顯示，輻射引起的免疫異常與 ROS 有關，提示  $\text{H}_2$  的免疫調節作用可能通過消除 ROS 實現。

### 氫分子的控癌作用

$\text{H}_2$  可以作為抗腫瘤劑。早先有人用中性 pH  $\text{H}_2$  富集的電解（NHE）水作為抗氧化劑，發現能抵抗 ROS，抑制腫瘤細胞增殖和侵襲。氫氣水優先抑制人舌癌細胞的克隆生長，抑制人纖維肉瘤細胞侵襲。據報導，在  $\text{H}_2$  環境下，在 Ehrlich 腹水腫瘤中觀察到細胞數量減少、細胞皺縮、細胞凋亡、細胞變形和膜表面的微絨毛。

實驗研究證明，H<sub>2</sub> 能控制或抑制癌症的啟動、進展和轉移，其機制主要以 ROS 為中心，通過對 ROS 的中和和拮抗，發揮以下作用——

- ROS 引起 DNA 基因突變和結構改變，啟動癌症發生。H<sub>2</sub> 中和 ROS，預防癌症發生；
- ROS 引起異常基因表達，刺激細胞內和細胞外環境的信號傳導途徑，干擾信使系統，促進癌細胞增殖。H<sub>2</sub> 中和 ROS，減緩癌症進展；
- ROS 誘發慢性炎症，上調趨化因子和趨化因子，促進腫瘤的侵襲。ROS 下調各種促炎症性和炎症性細胞因子；
- ROS 損傷線粒體，細胞有氧呼吸發生障礙，導致 線粒體 DNA (mtDNA) 突變，促發癌症發展。H<sub>2</sub> 很易進入線粒體，對線粒體發揮保護作用；
- ROS 通過降低細胞對細胞外基質的粘附性、增加血管通透性 ROS、促進腫瘤血管生成、誘導腫瘤細胞基質金屬蛋白酶的分泌、激活血紅素加氧酶-1，促進腫瘤細胞的運動和轉移。H<sub>2</sub> 消除 ROS 的上述作用
- ROS 助長癌幹細胞生存和對藥物耐受。H<sub>2</sub> 可阻抑 ROS 的上述作用。
- ROS 能破壞免疫系統的平衡。H<sub>2</sub> 能糾正致癌因素引起的免疫失調。
- ROS 的氧化活性及其促發的慢性炎症，可干擾和全身各系統的功能。H<sub>2</sub> 能上調或下調與凋亡相關的因子，抑制凋亡，發揮細胞保護作用。這對於改善癌症患者的 全身狀態和維護各系統功能，減輕治療的不良反應，具有極大意義。

辯證法認為，合理的就是合乎理性的，合乎理性的就是現實的。ROS 和 H<sub>2</sub> 是天生的一對冤家，H<sub>2</sub> 是天生的 ROS 剋星。既然 ROS 對癌症發生、發展和轉移均有啟動和促進作用，那麼 H<sub>2</sub> 用於癌症的預防和治療，將是合乎邏輯和天生合理的。

## 結語

氧化應激是許多常見疾病，包括癌症的主要原因，比其他自由基清除劑相比，氫分子具有獨特優勢：（1）氫可透過細胞膜，可以靶向細胞器，包括線粒體和細胞核，這是 ROS 生成的主要站點；（2）氫專門淬滅有害的 ROS，如•OH 和過氧亞硝酸鹽（ONOO<sup>-</sup>），同時保持參與代謝氧化還原反應的無害 ROS，如氧氣（O<sub>2</sub>）、過氧化氫（H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>）和硝酸氧化物（NO）；（3）氫氣易於獲得，可被氧化，生成對我們身體安全而有益的水。

總體而言，H<sub>2</sub> 通過在無細胞反應中與強活性氧物質反應，來降低與生活方式和環境相關的氧化應激的風險。對於氧化應激相關性癌症，氫分子從癌症發生、發展和進展，均有抑制作用，適用於——

- 在癌症發生的高危人群（例如 B 肝病毒、人類乳頭瘤病毒、EB 病毒、幽門螺桿菌感染，長期吸菸史，長期接受輻射），H<sub>2</sub> 可預防癌症發生，是為「一級預防」；
- 在接受常規治療（手術、消融、放療和化療）前的癌症患者，預先使用 H<sub>2</sub>，可作為「新輔助治療」，為進一步治療創造條件；
- 在接受常規治療（手術、消融、放療和化療）後的癌症患者，H<sub>2</sub> 可作為輔助治療，消除/調控可能存在的殘存癌腫；
- 在接受了成功治療的癌症患者，H<sub>2</sub> 可用於預防復發和轉移，是為「三級預防」；
- 常規治療失敗，或因高齡、體質差等原因，不能接受或拒絕常規治療的晚期癌症患者，可以試用吸氫治療

氫分子對癌症作用的研究尚在發展中。有關 H<sub>2</sub> 的生物學效應、藥代動力學、外源性 H<sub>2</sub> 和內源性 H<sub>2</sub> 的關係，雖然有待進一步闡明，但臨床的檢驗似乎更為重要。現有的 H<sub>2</sub> 讓癌症患者獲得顯著改善甚至「痊癒」的事實，已經讓從事氫分子學基礎研究的專家興奮不已。

相信不遠的未來，這種從最便宜最易得的水獲取的 H<sub>2</sub>，一定會在癌症防治的整個系統中，發揮無可取代的作用。

#### 主要參考文獻

1. Dole M, Wilson FR, Fife WP. Hyperbaric hydrogen therapy: a possible treatment for cancer. *Science*. 1975;190:152–154.
2. Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat Med*. 2007;13:688–694.
3. Zhan Y, Chen C, Suzuki H, et al. Hydrogen gas ameliorates oxidative stress in early brain injury after subarachnoid hemorrhage in rats. *Crit Care Med*. 2012;40:1291–1296.

4. Sobue S, Yamai K, Ito M, et al. Simultaneous oral and inhalational intake of molecular hydrogen additively suppresses signaling pathways in rodents. *Mol Cell Biochem.* 2015;403:231–241.
5. Igarashi T, Ohsawa I, Kobayashi M, et al. Hydrogen prevents corneal endothelial damage in phacoemulsification cataract surgery. *Sci Rep.* 2016;6:31190.
6. Kikkawa YS, Nakagawa T, Taniguchi M, Ito J. Hydrogen protects auditory hair cells from cisplatin-induced free radicals. *Neurosci Lett.* 2014;579:125–129.
7. Tomofuji T, Kawabata Y, Kasuyama K, et al. Effects of hydrogen-rich water on aging periodontal tissues in rats. *Sci Rep.* 2014;4:5534.
8. Azuma T, Yamane M, Ekuni D, et al. Drinking hydrogen-rich water has additive effects on non-surgical periodontal treatment of improving periodontitis: a pilot study. *Antioxidants (Basel)* 2015;4:513–522.
9. Tamaki N, Orihuela-Campos RC, et al. Hydrogen-rich water intake accelerates oral palatal wound healing via activation of the Nrf2/antioxidant defense pathways in a rat model. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:5679040.
10. Yu S, Zhao C, Che N, et al. Hydrogen-rich saline attenuates eosinophil activation in a guinea pig model of allergic rhinitis via reducing oxidative stress. *J Inflamm (Lond)* 2017;14:1.
11. Xu FF, Yu SQ, Zhao CL, et al. Effect of hydrogen-rich saline on the CD4(+) CD25(+) Foxp3(+) Treg cells of allergic rhinitis guinea pigs model. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi.* 2017;52:506–511.
12. Zhao C, Yu S, Li J, et al. Changes in IL-4 and IL-13 expression in allergic-rhinitis treated with hydrogen-rich saline in guinea-pig model. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2017;45:350–355.
13. Runtuwene J, Amitani H, Amitani M, et al. Hydrogen-water enhances 5-fluorouracil-induced inhibition of colon cancer. *Peer J.* 2015; 3:e859.
14. Terasaki Y, Ohsawa I, Terasaki M, et al. Hydrogen therapy attenuates irradiation-induced lung damage by reducing oxidative stress. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2011;301:L415–426.

15. Zhao S, Yang Y, Liu W, et al. Protective effect of hydrogen-rich saline against radiation-induced immune dysfunction. *J Cell Mol Med*. 2014;18:938–946. [
16. Meng X, Chen H, Wang G, et al. Hydrogen-rich saline attenuates chemotherapy-induced ovarian injury via regulation of oxidative stress. *Exp Ther Med*. 2015;10:2277–2282.
17. Liou GY, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic Res*. 2010 May;44(5):479-496
- 18.** Li HM, Shen L, Ge JW, Zhang RF..The transfer of hydrogen from inert gas to therapeutic gas. *Med Gas Res*. 2018 Jan 22;7(4):265-272.
- 19.Sabharwal SS , Schumacker PT. Mitochondrial ROS in cancer: initiators, amplifiers or an Achilles 』 heel? *Nat Rev Cancer*. 2014; 14(11): 709–721.
20. Wang D, Wang L, Zhang Y et al. Hydrogen gas inhibitslung cancer progression through targeting SMC3. *Biomed Pharmacother*. 2018;104:788-797.