

2019年诺贝尔生理学或医学奖获得者，从左到右：格雷格·塞门扎、彼得·拉特克利夫、威廉·凯林



从拒绝到相伴终生， 我们如何与氧相爱相杀

撰文·供图
许秀华

闭上口鼻，一口气你最最长能憋多久？数秒开始，1、2、3、4、5……，憋气时间最长的世界纪录是22分钟。一般的，大家都可以憋气到5~10分钟。憋气的长短，就是你的身体能够忍受氧气缺乏的最长时间。

2019年的诺贝尔生理学或医学奖很接地气，主题是时刻伴随我们、不离不弃的氧气，获奖者为哈佛大学的威廉·凯林（William G. Kaelin）、牛津大学的彼得·拉特克利夫（Sir Peter J. Ratcliffe）和约翰·霍普金斯医学院的格雷格·塞门扎（Gregg L. Semenza），以表彰他们在“理解细胞感知、适应氧气变化机制”中的贡献。

我们对习以为常的事物，总是抱着司空见惯的态度，不知不觉地轻视其重要性，却总是给稀奇古怪的事物赋予重要意义。2019年的诺奖在一定程度上纠正了我们的偏见，把我们的注意力拉回到了身边的世界。

后勤保障不给多不给少，恰恰好

2019年的国庆节，最盛大的活动就是天安门广场大阅兵了。细心的你有没有发现，受阅部

队里第一次出现了后勤保障方阵。战争在某种程度上比拼的是后勤保障能力，武器装备重要，战地救护重要，炊事班也同样重要。要在指定的时间，将指定的物资和人员，不多不少定量地送到指定的战斗位置。少了，可能导致战斗失败。多了，物资积压，占用道路空间，影响部队机动性，且有安全隐患。生物体也是如此。机体的修复和更新，需要新陈代谢作为生物体的后勤保障。呼吸需要供应的是氧气，承担任务的是呼吸系统。饮食需要供应的是各种生物大分子、生物小分子、微量元素以及水，承担任务的是消化系统。它们都是新陈代谢的供货方。血液则是新陈代谢的运输部队，负责把氧气和被消化系统处理后的营养物质送到身体各器官组织的每个细胞中去。对细胞来说，多多益善、照单全收并不是最佳选择，按需索取、适可而止才是明智决策。细胞对特定物质，必须在合适的时机以合适的量进行摄取，过犹不及，太多对细胞来说也是有害的。

细胞对氧的利用就处于这种二难困境。氧气难道不是多多益善吗？当然不是。为什么呢？这得从生命和氧气的历史渊源说起。

最早，地球上出现生命时，当时的次生大气

和现在大气中的成分大相径庭，氧尚不能作为氧气自由地存在。那时的原核生命，以二氧化碳为碳源，通过氧化无机物来获取能量，对于氧气它们是拒绝和抵制的。因为氧气对它们有毒，会和它们细胞内的物质发生氧化还原反应，把细胞的生理功能搅合得一塌糊涂！

当33亿年前，蓝藻开始进行光合作用，以水为还原剂，释放出水分子中的氧气。蓝藻产生的氧用了近10亿年的时间才消耗掉早期地球上的还原性物质。之后，氧气开始在大气层内逐渐累积，终于在距今26亿年前引发了生命界的“大氧化事件”。厌氧的古核生物域因DNA被氧气破坏大量灭绝，今天我们只能在深海热液喷口、高浓度的盐碱湖湖底这种极端缺氧的环境中，才能见到古细菌的踪迹。

幸存者穷极思变，逐步演化到有能力去使用氧来有效地从有机物中抽取能量，如此，才有了今日生机勃勃的生命世界。

现在，人们对氧在新陈代谢中扮演的角色有了更全面的认识。我们知道，氧气对于人类来说必不可少，其表现在能量代谢和物质代谢两个方面。先看能量代谢，在我们的呼吸过程中，氧气进入细胞的线粒体驱动呼吸链，同时大量产生ATP，这是我们身体里能量的主要来源。再看物质代谢，氧气的作用主要表现在3个方面。第一是纳新，生物体对营养物质葡萄糖、脂肪酸的吸收利用，往往伴随着氧化酶或者还原酶的参与，这需要氧气的深入参与。第二是吐故，将细胞内产生的代谢废物顺利排出体外，需要增加其溶解性，为此需要通过加氧酶加入氧原子。第三是助人为乐，DNA和蛋白质等很多生物大分子也需要在分子中加减氧原子来改变其三维立体构象和生物活性。

不过，氧气也不是越多越好。氧多了会把本不该被氧化的物质氧化掉，产生自由基等副产品，影响生物体正常的生理过程，甚至造成细胞的衰老死亡。

如何才能不多不少？这就需要细胞中有“一杆秤”，能够称量出细胞内的需氧量，能够称量出将要进入细胞的氧气量，之后设立关卡，按需

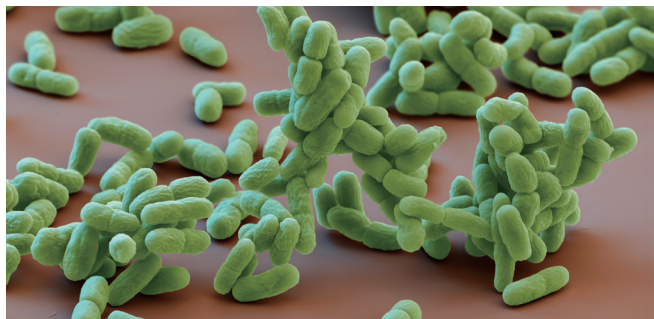
摄取。这杆高度智能化的“氧气秤”就是细胞内的氧气感应机制。

故事从贫血病人的大救星EPO说起

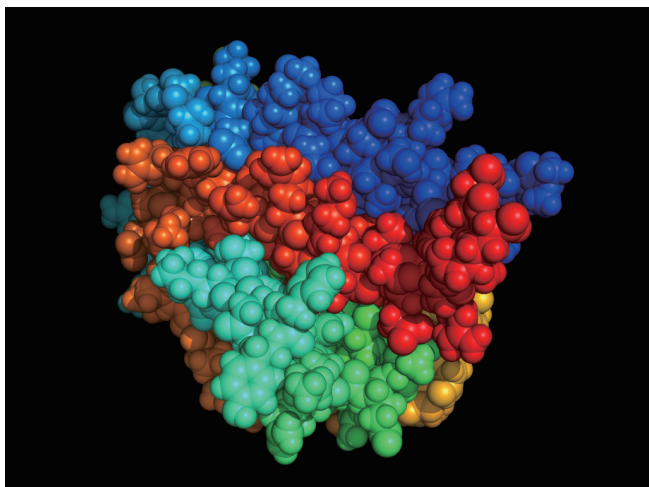
EPO，即促红细胞生成素，又称红细胞刺激因子、促红素，是一种人体内源性糖蛋白激素，可刺激红细胞生成。EPO既是贫血病人的大救星，也是臭名昭著的运动兴奋剂。为什么EPO的名誉冰火两重天？在于它是机体氧气感应机制中的“关键人物”，那杆灵敏的“氧气秤”。

1882年，法国生理学家保罗·伯特（Paul Bert）首次发现缺氧会产生心血管效应，以及暴露在高海拔环境时人体中的红细胞数量会增加。1906年，法国生理学家保尔·卡诺（Paul Carnot）和他的助手德弗朗德（Deflandre）发现，给正常的兔子输注了贫血兔子的血清后，正常兔子血浆里红细胞的计数增加了。这是怎么回事？1950年，美国生化学家雷斯曼（Riesman）和鲁恩施特罗·鲍尔（Ruhensstroth Bauer）做了一个异种共生实验。他们通过外科手术将两只活体大鼠的循环系统连接在一起，然后将其中一只置于低氧环境，另一只置于正常的空气，结果两只老鼠的体内都大量生成了红细胞。这说明血液循环系统中存在一种能够刺激红细胞生成的激素，这种激素由低氧环境诱发，在正常老鼠中也会增加红细胞数量。他们将其命名为Erythropoietin，英文缩写为EPO，中文名为促红细胞生成素。

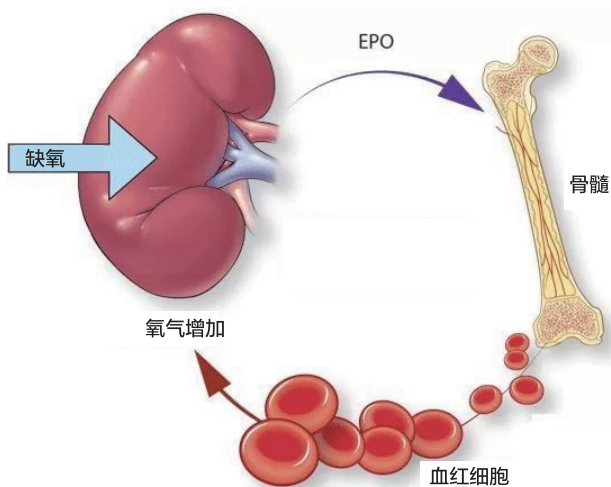
EPO到底是何方神圣？要看庐山真面目，必须先得到EPO真身。这可不容易。人体中EPO的含量太低了，一升血液才能获取几微克。而且



蓝藻



EPO的立体结构



肾脏合成的EPO可以促进骨髓产生红细胞

EPO不是一直在血液中存在，它们像巡回演出的马戏团一样，是阶段性产生的，且每次在血液里登场后，只停留很短的时间，就会被分解掉。

1962年，美国生物化学家尤金·格尔德瓦瑟（Eugene Goldwasser）研究组用放射性的铁同位素标记新生的红细胞，使得从动物体液样本分离纯化浓度极低的EPO（每毫升纳克级）变得可能。他们历时15年，测试了肾脏、贫血绵羊血浆、钩虫感染严重缺铁的病人尿液，终于在1977年从2550升日本再生障碍性贫血患者的尿液中纯化得到8毫克的人EPO蛋白。他们同时发现，缺氧时，肾脏中促红细胞生成素（EPO）基因的转录表达增加。

现在我们知道了，EPO是主要由肾脏分泌

的一种激素样物质。为什么EPO要在肾脏合成呢？因为每分钟有1升左右的血液流经肾脏，肾脏能够快速有效地监测到血液中氧含量的变化。当肾脏监测到机体处于缺氧状态时，就快速响应，大量合成EPO，通过血液循环将其送入骨髓，促进其中的红系祖细胞向红细胞的转变，并将成熟的红细胞从骨髓中释放到循环系统，以提高机体对氧气的结合能力。正常情况下人类的红细胞生成速率很低，但在出血、溶血以及缺氧等胁迫压力下，红细胞的生成速率甚至可以提高8倍。

贫血的人体内缺乏足够的健康红细胞，细胞供氧不足，能量代谢受阻。之前，治疗贫血一般需要通过输血来补充红细胞的不足，而血液总是稀缺，现在EPO的分离提纯给贫血病人带来了新的希望。格尔德瓦瑟的研究成果吸引了美国安进（Amgen）公司与之进行商业合作，却因理念不合，最后分道扬镳。

1985年，我国台湾的科学家林福坤克隆了人EPO的基因，人源EPO的蛋白质测序以及基因克隆得以完成。之后安进公司开发了重组人源EPO技术，摆脱了EPO对新鲜血液的依赖。在随后的20年里，安进在重组人源EPO市场里始终处于统治地位，并且获得了巨大的商业利益。格尔德瓦瑟及其所在的芝加哥大学从来没有为EPO申请专利，更没有因此获利。

低氧调控网络，呼之欲出

生命科学研究，不仅要搞清楚WHO，即是什么，WHY，即为什么，还要搞清楚HOW，即生命怎么样发生的，以及WHEN和WHERE，即这个过程在什么样的时机、在哪个组织器官开始和结束。如果说数学物理是诗歌，化学地质天文是短篇小说，生命科学更像长篇小说，按季更新连绵不绝的电视连续剧。

低氧调控网络就是这样一部长篇小说，一部永远在播放新剧情的电视连续剧。

生命演化，究竟是如何创作低氧调控网络的？一场科研接力赛开始了，人们要找出大主

角EPO背后的导演、编剧、场务、灯光以及与之配戏的诸多配角……还要找出逐字版的编剧剧本，任重而道远，需上下求索。

第一棒选手——塞门扎

20世纪90年代，塞门扎想弄清楚低氧气浓度下，肾脏细胞内的EPO基因是如何里应外合被激活的，EPO基因内部的里应者是谁，EPO外部的的外合者又是谁。

第一步，在EPO基因内部找内应者，这是一段DNA序列，叫作低氧应答元件——HRE。1992年，塞门扎在编码EPO蛋白的基因序列下游3'端找到一段256个碱基关键的非编码序列，命名为低氧应答元件(hypoxia response element, HRE)。如果突变或删除这段元件序列，EPO蛋白就对低氧的响应能力大大下降。如果把这段元件序列融合到其他与低氧无关的基因下游3'端，这些改造后的基因在低氧条件下也会被激活。

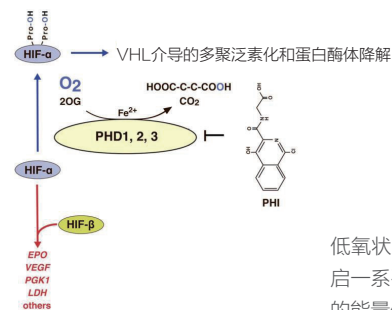
第二步，在EPO基因外部找外合者，这是一个蛋白质分子，叫作低氧诱导因子1——HIF-1。塞门扎课题组的王广良博士用EPO基因的低氧应答元件作饵，在几百升细胞裂解液中钓到了一种能与HRE特异结合的蛋白质。该蛋白质只在低氧环境下稳定存在，常氧时蛋白质几近消失，因此将其命名为低氧诱导因子1(hypoxia-inducible factor 1, HIF-1)。

接下来，发现HIF-1含有两种亚基，HIF-1 α 和HIF-1 β 。其中HIF-1 β 与前期发现的芳香烃受体核转位蛋白(aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator, ARNT)相同，其含量与氧的浓度无关。HIF-1 α 则为首次发现的新成分，其含量受氧的严格调控。HIF-1最终被证实为响应低氧条件，调控EPO基因增加转录的调控因子。当肾脏检测到流经的血液中氧气浓度下降，HIF-1 α 的含量上升，大量的HIF-1 α 结合到EPO基因的HRE部位增强EPO的表达。当氧气浓度恢复正常，HIF-1 α 则迅速降解；而在低氧状态下，HIF-1 α 则会存在相当长的时间，直到肾脏认为血液中氧气含量正常。

之后，塞门扎小组在EPO基因之外还鉴定



选手介绍：格雷格·塞门扎，1974年进入哈佛大学学习遗传学，随后在宾夕法尼亚大学获得博士学位。1986年赴约翰·霍普金斯大学做博士后研究，后成为该校教授。塞门扎2008年成为美国国家科学院院士，2010年获盖尔德纳国际奖，2016年获拉斯克基础医学研究奖
选手成绩：发现了EPO基因DNA序列上的低氧应答元件——HRE，发现了激活HRE的蛋白质分子低氧诱导因子1——HIF-1



出来多种受HIF-1调控的低氧诱导基因，如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、葡萄糖转运蛋白1(glucose transporter-1, GLUT1)。现在我们知道，HIF蛋白还可影响数百个基因的表达，是一个非常重要的蛋白质。

第二棒选手——凯林

在氧气含量正常的情况下，HIF-1 α 是如何被降解的呢？凯林在研究一种名为冯·希佩尔-林道(von Hippel-Lindau, VHL)的遗传性疾病时，无意中揭开了这个秘密。

1904年，德国眼科医生冯·希佩尔(Eugen von Hippel)首次描述了一种眼血管瘤；1927年，瑞典病理学家林道(Arvid Vilhelm Lindau)则独立描述了一种小脑和脊髓血管瘤。



选手介绍：威廉·凯林，1979年获杜克大学化学学士学位，1982年获得杜克大学医学博士学位，1998年成为霍华德·休斯医学研究所研究员。目前，凯林是哈佛医学院丹纳-法伯研究所基础科学部副主任、布莱根妇女医院高级内科医师。2010年，凯林当选美国国家科学院院士，并获盖尔德纳国际奖；2016年凯林获拉斯克基础医学研究奖

选手成绩：发现VHL基因，发现VHL蛋白介导常氧状态下HIF-1 α 的降解

后来发现，两位研究人员描述的其实是同一疾病，因此从20世纪60年代开始将这种疾病统一命名为冯·希佩尔-林道疾病，患者发生血管瘤、血管网状细胞瘤和肾癌等概率极大增加。

凯林从1995年起开始研究这种疾病，找到并分离克隆了这种疾病的罪魁祸首——突变的VHL基因。他发现，典型的VHL肿瘤里，经常会有异常形成的新生血管，且较多的VEGF与促红细胞生成素，与机体缺氧时的表征颇为类似，莫非它们原本就是“同路人”？

1996年，凯林发现，VHL突变细胞即使在常氧情况下仍可大量表达低氧诱导基因如VEGF等，当为其转入正常VHL基因后这种现象消失。进一步研究发现，VHL突变细胞之所以在常氧环境下表达低氧诱导基因是由于原本应降解的HIF-1 α 并没有被降解导致的。这说明VHL基因突变破坏了HIF-1 α 在常氧下的降解能力。那么VHL基因在HIF-1 α 降解中究竟扮演什么角色呢？

进一步的研究表明，VHL蛋白的特殊能力，来源于与之结合的一些特定蛋白。这些特定蛋白犹如垃圾分类专家，会区分出细胞不再需要

的蛋白质，然后打上“扔掉”的标签，送往蛋白酶体或者溶酶体中降解掉。这些与VHL结合的特定蛋白其实是一种泛素。泛素(ubiquitin)，顾名思义，广泛存在的要素，是一种存在于所有真核生物中的小蛋白。它的工作职能类同上海市各小区内协助居民进行垃圾分类的志愿者，给细胞中要降解掉的蛋白质打上“扔掉”标签。实际上，VHL就是泛素使用“扔掉”标签中的一种。HIF-1 α “沾上”VHL，就走上了死亡之路。HIF-1 α 的蛋白末端会被添加一个短的泛素多肽，之后蛋白水解酶识别出泛素多肽，在蛋白酶体中对其进行分解。给HIF-1 α 添加泛素标签的过程，同样受到氧气浓度的影响。

凯林的发现很好解释了肾癌高度血管化的现象。VHL蛋白在常氧环境下降解HIF-1 α 的故事梗概有了，电视剧里众演员们又是如何表演的呢？生命科学研究要求看到活灵活现的故事情节。

第三棒选手——拉特克利夫

为啥HIF-1 α 只在富氧环境下被降解呢？

拉特克利夫的专业背景为肾脏生理，他在20世纪90年代早期开始研究EPO。他最先发现HIF-1基因和恶性肿瘤之间存在关联。拉特克利夫将人的肝癌细胞移植入小鼠体内，小鼠长出的肿瘤内部中心的缺氧区低氧诱导基因如VEGF和GLUT1大量出现。当破坏肿瘤细胞中的HIF-1基因后，上述现象不再出现，且肿瘤生长速度开始放缓。1999年，拉特克利夫团队发现，VHL催化的HIF-1 α 泛素化是造成常氧环境下HIF-1 α 蛋白稳定性下降的主要原因。凯林紧接着证明，VHL蛋白其实是泛素连接酶(E3)复合物的关键亚基。

下一个问题接踵而来，细胞低氧感知、VHL启动HIF-1 α 泛素化之间有着怎样的故事？

拉特克利夫发现，是否被羟基化是HIF-1 α 的基因激活的开关。他们详细分析HIF-1 α 与VHL的结合区域的氨基酸序列，发现倘若移除一个脯氨酸，就会抑制其泛素化。在富氧环境下，在脯氨酰羟化酶的帮助下，氧原子会和脯氨酸的一个氢原子结合，给脯氨酸加上两个羟基(-OH)，之后会被VHL识别并打上了“扔掉”标签，从而被

蛋白酶体分解。由于这步反应需要氧原子的参与，这就解释了为何HIF-1 α 不会在缺氧环境下被降解。这正是HIF-1 α 的调控关键！

拉特克利夫和同事进一步从果蝇中鉴定出一种双加氧酶，其负责催化HIF-1 α 的羟基化。哺乳动物也存在双加氧酶，称为脯氨酰羟化酶结构域蛋白（prolyl hydroxylase domain, PHD）。拉特克利夫还发现，这一低氧应答元件并不是负责生产EPO的肾脏细胞所专有的，而是在机体各处的细胞中广泛存在。那么这些细胞中必然存在一种功能类似于EPO的分子，能够感受到氧气浓度的变化，结合到低氧应答元件上开启应答。

现在，完整的故事梗概如下：

以人为例。当处于低氧环境中时，呼吸进来的空气中氧气含量不足，相应地血液里血红蛋白的携氧量减少。当血液流经肾脏时，肾脏细胞里的EPO分子感受到氧含量的变化，启动HIF-1 α 的表达，HIF-1 α 的含量上升，大量的HIF-1 α 结合到EPO基因的HRE部位增强EPO的表达，EPO通过血液循环将其送入骨髓，促进其中的红系祖细胞向红细胞的转变，并将成熟的红细胞从骨髓中释放到循环系统。红细胞增多后，血液携带氧能力增加，氧气进入细胞，在PHD的协助下，将氧气中的两个氧原子拆开，分别加在HIF-1 α 与VHL的结合区域氨基酸序列中的脯氨酸上，相当于为脯氨酸加上两个羟基，之后VHL就将HIF-1 α 打上“扔掉”标签，将其送入蛋白酶体中降解掉。如果氧气含量迟迟不上来，那么，HIF-1 α 不会被分解，继续刺激EPO转录，EPO继续刺激红细胞产生。

他们的研究和普通人之间距离有多远

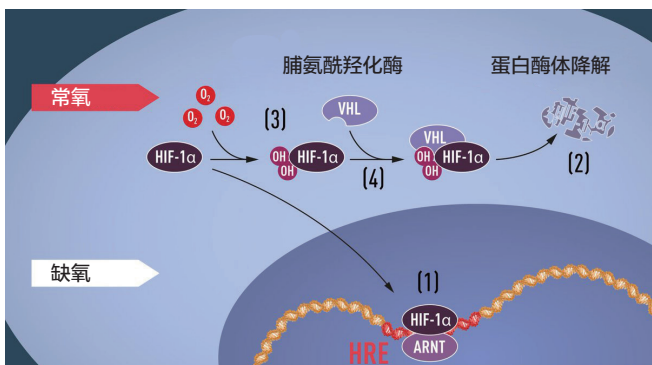
低氧应答机制的发现开创了一个全新研究领域，随着研究的深入，一部氧气主演的全景式大剧目已经在我们面前次第有序地上演着。

低氧应答机制是机体对抗恶劣环境的代偿性的保护反应，包括红细胞生成增多、耗氧量降低等。当发生冠状动脉疾病、外周动脉疾病、伤口愈合、器官移植排斥和结肠炎时，低氧应答机



选手介绍：彼得·拉特克利夫，先后求学于剑桥大学和圣巴多罗买医院，后来在牛津大学研究肾循环生理学。1990年，作为惠康基金会高级研究员，他在牛津大学韦瑟罗尔分子医学研究所成立了缺氧生物学实验室。他是弗朗西斯·克里克研究所临床研究主任，同时也是牛津大学路德维希癌症研究院成员和靶标研发院主任

选手成绩：最先发现HIF-1基因和恶性肿瘤之间存在关联。发现HIF-1 α 的脯氨酸（proline）羟基化修饰，是解释HIF-1 α 只在富氧环境下被降解的关键



HIF-1 α 的降解过程

制在默默地保护着我们。但是，过度低氧也会造成机体损伤，导致遗传性红细胞增多症、慢性缺血性心肌病和阻塞性睡眠呼吸暂停等，其增加葡萄糖摄取、血管生成等策略最终还促进了癌细胞的增殖和转移。

大多数固体肿瘤都存在低氧信号通路异常活化现象，并且与患者预后呈负相关。低氧信号通路通过其关键元件还成为疾病治疗的重要靶点，尤其肾癌是对于低氧效应最明显的肿瘤。

总之，这是一整条药物发现的新通路，人类健康的新起点。

（责编 桑新华）