

褐色脂肪组织中的解偶联蛋白

马金华, 王海

(西昌学院, 四川 西昌 615022)

【摘要】褐色脂肪组织的调节产热等方面的功能近年来一直倍受关注,尤其是存在其中的解偶联蛋白更是近年来研究的热点,本文概述了解偶联蛋白及其基因的结构、解偶联蛋白的生理作用。

【关键词】褐色脂肪组织;解偶联蛋白

【中图分类号】Q753 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1673-1891(2008)02-0051-04

褐色脂肪组织(BAT)是在动物体内具有特定分布区的一类特殊的脂肪组织,具有高密度的线粒体,因此氧化速率高,产热能力强。BAT与WAT在结构和功能上都有较大的差异;BAT的颜色呈褐色,与单空泡(脂滴)的WAT相比,它的颜色深浅取决于线粒体细胞色素的含量和分布在多空泡中的脂肪数量(戈峰,2002)。BAT似乎仅分布于哺乳动物,特别是体型较小的哺乳动物和冬眠动物,但实际上包括人类在内的大型哺乳动物的新生幼体内也有分布。BAT的主要功能是调节产热,它的产热能力与不受细胞ATP分解所抑制的脂肪酸氧化速率相关。BAT的这种特性与其线粒体内膜上的一种分子量为32kDa的多肽有关,这种多肽称为解偶联蛋白。UCP的存在建立了绕过氧化磷酸化的质子旁路。目前认为UCP1不仅是决定BAT产热的主要物质(Nicholls et al, 1986; Ricquier et al, 1991),同时,也参与体重调节(Boss et al, 1997)。

已知的UCP包括UCP1、UCP2、UCP3、UCP4、BMCP1以及植物中的UCP等(肖放和孙野青, 2003)。UCP1、UCP2和UCP3在结构上十分相似,均以二聚体形式存在于线粒体内膜。其单体分子含有约100个氨基酸的相似的结构域,每个结构域含两个跨膜蛋白螺旋,由位于基质中的环连接起来,重复区N端和C端位于线粒体内膜内侧,而且每个结构域含一段线粒体载体信号序列。

1 UCP蛋白及其基因的含义

UCP1与ADP/ATP载体蛋白、磷酸载体、酮戊二酸/苹果酸等载体蛋白,同属于线粒体内膜转移蛋白族的成员,具有明显的相似性,很可能起源于同一祖先蛋白(Ricquier et al.,1991)。这类蛋白质大约是300个氨基酸残基的蛋白质,其分子结构均有三段,其中100个左右氨基酸残基组成了重复序列。这种一致性表明它们具有相似的膜组织形式。ucp1基因结构在鼠和人之间高度保守。UCP1具有6个由

α -螺旋构成的疏水环的过膜区域。采用傅里叶变换光谱分析法研究结果表明,UCP1分子含有大约50%的 α -螺旋,28%~30%的 β -折叠片,13%~15%的 β -转角和8%的无序结构。采用2-叠氮ATP分解结果则显示出ATP的结合位点位于UCP1分子C-末端的第三个氨基酸残基上;核苷酸结合位点位于第258和279号氨基酸残基。UCP1的分子结构特征与其他线粒体转运蛋白分子的二级结构具有很大的相似性。Miroux et al.(1993)在E.coli中得到大白鼠UCP1分子的表达。表达产物经过纯化后,能结合到线粒体内膜上;并且证明了第258和279号氨基酸残基位于线粒体内膜的基质一侧,第255和273号氨基酸残基位于线粒体基质中的结论。位于线粒体基质一侧的组氨酸145和147构成H⁺的转运通道,而且H⁺泄漏通道部分在转运H⁺时还与游离脂肪酸分子中的羟基有关。如果Arg83和Arg182发生突变,则使UCP1分子几乎完全失去与核苷酸结合的功能,质子传导功能也完全受到抑制。Arg276突变后,UCP1分子却仍然具有与核苷酸结合的功能,但是完全失去抑制质子传导的功能;如果删除267~269位氨基酸残基,UCP1分子丧失与核苷酸结合的能力;如果完全删除261~269位氨基酸残基,UCP1分子将转变为完全没有功能的泄漏孔道。因此,UCP1分子中261~269位氨基酸残基的结构很可能与核苷酸结合有关;而且UCP1分子与核苷酸分子的结合部位与抑制质子传导的部位可能不同。

人UCP1位于第4号染色体,有6个外显子。UCP2和UCP3基因结构与UCP1类似,其编码区也是由6个外显子组成,然而在UCP2和UCP3基因的5'端分别有2个和1个不翻译的外显子。UCP2/UCP3基因位点在小鼠、大鼠和人中分别位于7号、1号和11号染色体上,两者相距约7~8kb。UCP1基因主要在褐色脂肪组织中表达。而最近又发现UCP1表达于小鼠子宫纵向平滑肌细胞中,以及消化道和

雄性生殖道的平滑肌中。UCP2与UCP1在氨基酸序列上有59%的同源性。UCP2的mRNA广泛存在于人和啮齿类动物的大多数组织中,但最近有研究发现小鼠的心脏、骨骼肌、肝中无UCP2存在。UCP3与UCP1和UCP2在氨基酸序列上的同源性分别为57%和73%。UCP3基因主要在小鼠的骨骼肌、BAT中表达。在人骨骼肌中,除了有全长的UCP3(UCP3L),还有短的UCP3S,它的mRNA缺少最后一个编码的外显子(肖放和孙野青,2003)。UCP4和BUCP1主要表达于脑中。

2 UCP的生理特点

电子传递链产生 H^+ 跨线粒体内膜的势能。在偶联状态下,势能驱使 H^+ 通过ATP合成酶而重新回到线粒体基质中,同时将势能转化为ATP的化学能;而 H^+ 也可通过UCP回到线粒体基质,即质子渗漏,此途径不与任何消耗能量的过程相偶联,能量以热能形式释放,减少了ATP合成。自由脂肪酸可促进UCP1介导的 H^+ 运输,而嘌呤核苷酸可抑制UCP1活性。对于脂肪酸促进UCP1运输的机制有两种假说(肖放和孙野青,2003)。第一种假说认为,UCP1运输的是 H^+ ,而脂肪酸为运输 H^+ 提供羧基。第二种假说则认为,UCP1运输的是自由脂肪酸而不是 H^+ ,这方面的机制还有待进一步的研究。

BAT中存在大量的UCP1。BAT中的UCP1可产生热能,减少ATP的合成,因此,UCP1在啮齿类动物中有产生热量以维持体温的重要作用。此外,UCP1可控制ROS的产生,在肥胖和糖尿病中也有一定作用。对UCP2和UCP3的功能则存在较多争议,目前认为虽然UCP2和UCP3也能像UCP1一样有适应性产热功能,它们更主要在控制ROS产生和控制脂肪酸氧化中起作用,并且与肥胖和糖尿病有密切关系。

适应性产热可由食物或温度变化诱导产生,其在控制能量稳态和体重中有重要作用。UCP1基因剔除的小鼠在寒冷中无法维持体温,所以UCP1也可介导任意食物诱导的产热。UCP1所介导寒冷诱导的产热可分为短期和长期两种。短期反应一般在几分钟之内,而长期反应一般为几小时或几天。短期反应的机制是寒冷可诱导交感神经系统释放去甲肾上腺素,然后通过褐色脂肪组织上的 β -肾上腺素能受体刺激cAMP的产生,cAMP激活PKA,PKA使脂解产生、释放出脂肪酸,脂肪酸进而促进UCP1对 H^+ 的运输;而长期反应中PKA激活一系列级联反应,最终导致ucp1的表达增加、新线粒体的合成和褐色脂肪组织的增生。剔除小鼠ucp2或

UCP3对寒冷时体温维持没有影响,因此UCP2和UCP3在寒冷诱导的适应性产热中不起重要作用,当然不排除补偿途径的存在。

大部分ROS由电子传递链产生,已证明在分离的线粒体中,当 H^+ 电势高的时候,ROS的产生也增加。因此,UCP可能通过降低 H^+ 电势而抑制ROS的产生。实验表明,在UCP2或UCP3剔除的小鼠中,ROS的产生增多。而UCP对ROS的抑制可能是一种反馈抑制机制。研究发现,在肝细胞中ROS增加时UCP2表达也增加。Echtay等证明在分离的线粒体中,超氧化物可激活UCP1、UCP2和UCP3的产生,而UCP可能反过来减少超氧化物的产生。而寒冷可诱导植物中UCP的表达,有可能是因为寒冷会增加ROS的产生。如果UCPs可以抑制ROS的产生,那它应在衰老和凋亡中起重要作用。最近有实验表明受辐射后的L. Yas细胞中UCP2升高,它可能参与了诱导细胞的凋亡(Voehringer D W et al.2000)。而且,UCP2在巨嗜细胞介导的免疫反应中也有重要作用。ucp2剔除的小鼠ROS增多,使巨嗜细胞杀死病原菌的活性增强,可以抵抗Toxoplasma gondii(毒浆原虫)感染(Denis A et al.2000)。因此,对ucp2-/-小鼠的研究将为抵抗感染的分子机制研究提供线索,而且调控ucp2的表达可能为治疗感染提供新手段。

大量实验表明,UCP2和UCP3与脂肪酸代谢有密切关系。 β 氧化增强时,UCP2和UCP3的mRNA水平升高。新生小鼠的骨骼肌直到哺乳期才产生UCP3;新生鼠没有内源性的脂肪储备,如果不让其哺乳,则不诱导UCP3产生,而如果此时喂养脂肪乳剂,则可显著诱导UCP3产生。而UCP2和UCP3在脂肪酸代谢中可能起运输脂肪酸的作用。例如UCP3可能运输MTE-1(线粒体硫酯酶1)产生的脂肪酸,UCP2和UCP3也可能是防止脂肪过度代谢引起的毒性。脂肪过度氧化使ROS过量产生;UCP2减少ROS的产生。例如,脂类在胰腺 β 细胞中的积累可能造成脂毒性,使得 β 细胞功能受损;而UCP2能改善fa/fa鼠胰岛中 β 细胞的胰岛素分泌,从而降低了这种毒害作用。但是,UCP3剔除的小鼠血液中自由脂肪酸没有明显变化。因此,虽然UCP2和UCP3与脂肪代谢有密切关系,但其在脂肪代谢中发挥的具体作用还需进一步研究。

UCPs与糖尿病也有密切的关系。在I型糖尿病的啮齿类动物和II型糖尿病病人的心肌和骨骼肌中,UCP2和UCP3的mRNA水平升高。研究表明,高血糖可增加自由基的产生,而UCP1的超表达可

抑制ROS的产生,并且改善高血糖所引发的症状。例如,在主动脉内皮细胞中,UCP1可以抑制高血糖引起的单核细胞的聚集。UCP2有调控胰岛素分泌的作用。最近,已证明UCP2可负调控葡萄糖诱导的胰岛素分泌。患糖尿病的ob/ob鼠胰腺中的UCP2升高,胰岛素分泌受到抑制。而剔除了UCP2基因的ob/ob鼠,高血糖降低,胰岛素分泌恢复,血液中胰岛素水平升高,这表明胰岛 β 细胞的功能得到了改善。因此,调控ucp表达可能成为治疗糖尿病的新方法。

通过大量的连锁分析和多态性分析表明UCP与人类肥胖有密切关系,目前UCP已作为肥胖候选基因。UCP1在啮齿类动物中的主要作用是产生热量以维持体温及能量稳态,在控制体重和脂肪含量中有重要作用。而成年人只含有少量BAT,所以UCP1不可能在其体重调节及能量稳态中起重要作用。但研究发现,在UCP1基因的TATA上游3826处的一个多态性位点与人类的脂肪积累、BMI(body mass index),以及高热量食物引起的BMI变化有关。因此,尽管UCP1不是人类肥胖的主要基因,它与脂肪的积累还是有密切关系的。在鼠类动物中,尽管UCP2剔除的小鼠并不肥胖,但UCP2与肥胖也有密切的关系。连锁分析表明,UCP2与鼠及人的肥胖和糖尿病位点相连锁。而且在几种喂养于高脂肪食物的小鼠种系和ob/ob鼠的肝细胞中都发现UCP2的mRNA水平升高。并且,UCP2在脂肪组织中的水平与其对肥胖的抗性有关,在易于肥胖的C57BL/6J小鼠中UCP2表达水平比在不易于肥胖A/J鼠和C57BL/KsJ鼠低。在人类中,已发现骨骼肌和WAT中UCP2的mRNA水平与BMI等人类肥胖的指数正相关。人类UCP2基因的突变株与PIMA Indians睡眠代谢率相关,而且与South Indians的BMI相关。但也有一些实验表明,UCP2的突变体在肥胖发病中不起重要作用。UCP3基因剔除的小鼠并不肥胖,所以UCP3在控制小鼠体重中的作用不大,当然也不排除UCP1、UCP2翻译及翻译后水平的变化以及其它途径的补偿作用。在PIMA Indians中发现UCP3与BMI呈负相关,与睡眠代谢率呈正相关。而人UCP3第六个外显子的突变造成一个与UCP3S类似的蛋白质,此突变体可能是在美国黑人

中一个重要的肥胖和糖尿病基因。也有一些研究表明,UCP3突变体与人类肥胖没有关系。虽然UCP在肥胖发生中所起的作用还不是很清楚,但是增加UCP基因的表达会对治疗肥胖有重要意义。实验表明,使ucp1高于WAT和BAT中,可使遗传肥胖的Ay鼠的体重下降,并且皮下脂肪减少。而将UCP3超表达于骨骼肌中能使小鼠体重下降、脂肪组织减少。

1997年,Laloi等从马铃薯中克隆出第一个植物UCP基因,命名为StUCP,与人UCP1,UCP2和UCP3同源率为44%~48%。寒冷可使StUCP表达增加。此外已克隆的UCP基因的植物还有拟南芥、水稻、大麦等。寒冷可增加植物中UCP的表达,这表明UCP在植物中可能起产热和抵御寒冷的作用。

3 展望

动物与环境之间的关系问题一直是动物学家们所关心的问题,动物只有与环境条件相协调相适应才能够顺利生存下去。动物对环境的适应是一个能动的过程,动物通过启动与抗冷性有关的基因进行表达,给出在逆境中的保护措施,能协助动物自身渡过难关。生物机体形成冷适应后,表现出基础代谢或非寒颤性产热增加(李秋玲等,2006)。

UCP在产热、抑制ROS和调节ATP/ADP、葡萄糖、脂肪酸代谢和脂肪酸转运,以及肥胖和糖尿病的发生中发挥重要作用(李秋玲等,2006)。深入研究UCP在更宽生理情况下的调节类型,在免疫反应、病理性发热中的作用,有利于揭示UCP在组织特异性调节中的作用。进一步研究UCP与细胞的分化、凋亡和衰老的关系,以及调控胰岛素分泌和在治疗肥胖、糖尿病和感染上的作用将具有重大意义(李秋玲等,2006)。

综上所述,随着对UCPs结构和功能研究的深入,其在生理作用机制及其可能的临床意义将逐步被阐明。但UCP的具体作用机制,调节方式,其亚型的分类及分布,尤其是与能量代谢的关系等问题都有待于进一步研究。此外UCPs基因的表达、调控研究将有助于人类更深入地了解肥胖的发病机制,帮助寻找减肥新药,理论上提高体内UCPs基因表达不失为一种简单有效的减肥方法(IshigakiY et al. 2005)。

注释及参考文献:

[1]肖放,孙野青. 解偶联蛋白及功能研究进展[J]. 生命的化学,2003,23(3):14-17.

[2]李庆芬,刘小团,黄晨西,等. 长爪沙鼠冷驯化过程中褐色脂肪组织产热活性及解偶联蛋白基因表达[J]. 动物学报,2001,47(4):29-34.

[3]戈峰. 现代生态学[M]. 北京:科学出版社,2002.

[4]Nicholls, D.G., Locke R.M., Thermogenic mechanism in brown fat. *Physiol. Rev.* 1986:1-64.
 [5]Ricquier D., Casteilla L., Bouillaud F., *FASEB J*1991, 5:2237-2242.
 [6]Boss O., Samec S., Paoloni-Giacobino A., Rossier C., Dulloo A., Seydoux J., Muzzin P., Giacobino J.P., *FEBS Lett.* 1997, 408: 39-42.
 [7]李秋玲, 许尚忠, 答林森.解偶联蛋白与动物的冷适应[J].*中国畜牧兽医*, 2006, 33(4):3-5.
 [8]IshigakiY, KatagiriH, YamadaT, et al. Dissipating excess energy stored in the liver is apotential treatments strategy for diabetes associated with obesity[J]. *Diabetes*, 2005, 54 (2) : 322-332.

The Uncoupling Protein in the Brown Adipose Tissue

MA Jin-hua, WANG Hai

(*Xichang College, Xichang, Sichuan 615022*)

Abstract: In recent years, the adjustment functions and the heat production capabilities of the brown adipose tissue have always been closely concerned about, in particular, the presence of uncoupling protein in the brown adipose tissue is a hot topic in recent researches. The paper summarizes the structure of the uncoupling protein and its gene structure as well as its physiological functions.

Key words: Brown adipose tissue; Uncoupling protein

~~~~~  
(上接 50 页)

[8]赵敏,钱程.白腐菌木素氧化酶系的检测及其漆酶诱导产生的研究[J].*中国造纸学报*, 2005, 20(2):101-105.

## Research on Basic Enzymology Properties of Coprinus Comatus Laccase

HAN Hong-bo

(*Biology & Chemistry Engineering College, Panzhihua College, Panzhihua, Sichuan 617000*)

**Abstract:**This paper studied the Coprinus comatus laccase basic enzymology properties. The result showed that the optimum temperature of crude enzyme of coprinus comatus is 60℃, and the activity was obviously decreased in the high-temperature water bath of above 60℃ and more than an hour.The optimum pH is 6.0~7.0, there is a little change in pH 4~7.

**Key words:**Coprinus comatus laccase; Optimum temperature; Thermal stability; Optimum pH