

# The Research Progress and Application Prospect of Uncoupling Protein 1 (UCP1)

Wenrong Gao, Lin Zhang, Tingting Yu, Wanlong Zhu, Zhengkun Wang\*

School of Life Science, Yunnan Normal University, Kunming  
Email: gaowenrong2012@163.com, \*wzk\_930@yahoo.com.cn

Received: Aug. 14<sup>th</sup>, 2012; revised: Aug. 29<sup>th</sup>, 2012; accepted: Sep. 7<sup>th</sup>, 2012

**Abstract:** UCP1 is the only one expression of uncoupling protein in the brown adipose tissue (BAT). Different from the uncoupling protein family other member functions, UCP1's main function is to participate thermogenic regulation and energy metabolism in BAT to maintain the body's energy metabolic balance. In succession studies clarify regulation UCP1 participate heat production regulation and energy metabolism molecular mechanism in BAT, gradually reveals the UCP1 in BAT energy metabolic process involved in the signal path and transcription regulation. This not only let us better understand UCP1 in BAT energy metabolism control of the important role, but based on brown adipose tissue obesity treatment provides a theoretical basis. This paper describes the research in recent years UCP1 found in BAT energy metabolism process play an important role in the signal path and transcription regulation, and discussed based on various for brown adipose tissue obesity treatment of the effectiveness and feasibility.

**Keywords:** Uncoupling Protein 1 (Ucp1); Heat Production Adjustment; Signal Path; Transcription Regulation; Obesity Treatment

## 解偶联蛋白-1(UCP1)的研究进展及其应用前景

高文荣, 张 麟, 余婷婷, 朱万龙, 王政昆\*

云南师范大学生命科学学院, 昆明  
Email: gaowenrong2012@163.com, \*wzk\_930@yahoo.com.cn

收稿日期: 2012年8月14日; 修回日期: 2012年8月29日; 录用日期: 2012年9月7日

**摘 要:** UCP1 是唯一在褐色脂肪组织(BAT)中表达的解偶联蛋白质。有别于解偶联蛋白家族其他成员的功能, UCP1 的主要功能是参与 BAT 的产热调节和能量代谢来维持机体的能量代谢平衡。陆续有研究阐明调控 UCP1 参与 BAT 产热调节和能量代谢的分子机制, 逐渐揭示了 UCP1 在 BAT 能量代谢过程中涉及的信号通路与转录调控。这不仅让我们更好地理解 UCP1 在 BAT 能量代谢调控中的重要作用, 而且为基于褐色脂肪组织的肥胖治疗提供了理论依据。本文阐述了近年来研究发现的 UCP1 在 BAT 能量代谢过程中发挥重要作用的信号通路与转录调控, 并讨论了多种基于针对褐色脂肪组织的肥胖治疗手段的有效性与可行性。

**关键词:** 解偶联蛋白-1(UCP1); 产热调节; 信号通路; 转录调控; 肥胖治疗

### 1. 引言

肥胖症是当今全人类健康所面临的严重威胁<sup>[1]</sup>。根据世界卫生组织估计, 目前有超过 10 亿人口的身体过重(体重指数 BMI > 25), 典型肥胖症患者的人

\*通讯作者。

数超过 3 亿(BMI > 30)。到 2025 年, 这些数字还要增加一半。在一般医疗条件下, 肥胖症导致一些威胁人类健康主要疾病风险显著增加, 包括 II 型糖尿病、非酒精性脂肪肝、胆结石、心血管疾病以及某些癌症(World Health Organisation, 2011)。药物治疗受到相当

大的限制,尤其是最近 FDA 取缔了利莫那班和西布曲明后,这种情况尤为明显。因此,急需开发治疗肥胖症的新方法<sup>[2]</sup>。以能量消耗,即生物能量学途径治疗肥胖症是极富吸引力、也可能是最有效的途径<sup>[3]</sup>。首先,就目前使用的各种药物来看,几乎没有一种药物能有效而在无副作用的前提下治疗肥胖症。第二,根据最近的研究结果证明了成年人体内确实存在具有活性的褐色脂肪组织,从而使得这种高能耗组织有可能成为治疗肥胖症的靶器官。第三,现在已经证明增加能量消耗能够非常有效地降低体重。例如,线粒体氧化作用的非特异性解偶联剂 2,4-二硝基苯酚(DNP)确实能在不产生耐药性的情况下<sup>[4]</sup>,显著持续增加能量消耗,达到降低体重的目的。但是,因 DNP 同时产生的强烈副作用已经被 FDA 禁止在临床上使用。最后,增加能量消耗是有机体长期进化而形成的抵抗体重出现适应性增加所固有的方式,这种方式是脑和机体之间通过整合一个或多个不同部位的体重调定点而最终整合形成一个综合体重调节系统<sup>[5]</sup>。增加能量消耗的治疗干预系统能重新设定肥胖症患者体重调定点,使其降低或返回到正常健康水平<sup>[5]</sup>。考虑到褐色脂肪组织对抗肥胖的潜在作用,人们希望将其作为一个寻找治疗肥胖症新方法的重要靶标。而 UCP1 是唯一在 BAT 中表达的解偶联蛋白质,其主要功能是参与该组织的产热周节和能量代谢。本文就 UCP1 及其潜在的生理学意义进行概述。

## 2. 解偶联蛋白(UCPs)

解偶联蛋白(UCPs)是分布于线粒体内膜上的一类产热蛋白<sup>[6]</sup>。其活性与热量散失紧密相关,受嘌呤核苷(ADP, ATP)、鸟苷(GDP, GTP)及游离脂肪酸(FFA)的调节,在哺乳动物产热和能量代谢调节中具有重要的作用<sup>[6]</sup>。目前已发现主要有五种类型的 UCP:UCP1、UCP2、UCP3、UCP4 和 UCP5。UCP1 活性存在于哺乳动物 BAT 中;UCP2 则广泛分布于全身组织,如白色脂肪组织(WAT)、心、肝、肾、脾、甲状腺、胃肠等<sup>[7]</sup>;UCP3 主要分布于骨骼肌中<sup>[8]</sup>;UCP4 主要分布于神经组织中;UCP5 主要存在于脑及神经组织中<sup>[9]</sup>。这些蛋白质都属于线粒体载体族蛋白。Sanchis et al. (1998)在啮齿类和人的大脑里发现存在一种与 UCP3 功能相似的线粒体载体蛋白,称为脑线粒体载体蛋白-1(BMCPI)。在马铃薯和拟南芥中也发现与哺乳动物

UCPs 类似的解偶联蛋白,即 StUCP 和 AtUCP,可能与植物抵抗低温胁迫功能有关。近年来的研究大都支持 UCPs 作用于线粒体状态 IV 呼吸,引起呼吸解偶联或质子泄漏的观点<sup>[10]</sup>。目前,不仅在哺乳动物和植物组织中发现有多种解偶联蛋白质(UCP1、UCP2、UCP3、UCP4、BMCP1、StUCP、AtUCP)存在,而且在原生动、鱼类中均发现存在与哺乳动物和植物 UCPs 相类似的解偶联蛋白。因此 UCPs 可能存在于整个真核生物中<sup>[11]</sup>。其中 UCP1、UCP2、UCP3 是决定哺乳动物线粒体解偶联过程的主要蛋白质,在哺乳动物产热和能量代谢调节中具有重要的作用。UCP1,可能还有 UCP3 主要功能决定了 BAT 和骨骼肌的非颤抖性产热能力<sup>[12]</sup>。UCP2 可能在调节体重和维持能量代谢平衡中起着重要的作用。哺乳动物真兽纲中的几个目一直以来存在分类学的争论。其中包括我们研究的中缅甸树鼩的系统分类问题。目前大多数学者趋向于将其单独列为一个攀鼩目,但是对于其进化来源却存在很大争议。对其 UCPs 进行深入系统的研究可为中缅甸树鼩的系统分类提供更多的分子生物学依据。

## 3. UCP1 的结构及其功能

Aquila et al.(1985)研究指出 UCP1 的一级结构由 306 个氨基酸残基构成,具有 6 个由  $\alpha$ -螺旋构成的疏水环的过渡区域。UCP1 分子的末端位于线粒体内膜的外表面,并且具有一个核苷酸结合位点。最近,有人深入地研究了 UCP1 分子上核苷酸结合位点的结构状况,结果表明,UCP1 的核苷酸结合位点可能位于由 UCP1 分子构成的一个亲水通道上<sup>[13]</sup>。通过核磁共振(NMR)和圆二色性分析,发现残基 263-268 位置正好具有一个  $\alpha$ -螺旋结构,它是第六跨膜域的 N-末端。若在结构或区域定向上发生改变,则会导致核苷酸或脂肪酸调节以及转运活性功能改变。Gonzalez et al. (1999)报道 BAT、线粒体 UCP1 的 261-269 区域在控制质子转移活动中具有重要作用。若残基 Phe257-Lys268-Gly269 缺失则导致蛋白质的核苷酸调节功能丧失,而且如果这个片断完全缺失,则会导致膜穿孔。Hamann et al. (1998)用单链构象多态性检测(SSCP)和序列分析检测 UCP1 基因中的突变。结果表明有四个预期的氨基酸突变被检测到,即 Arg40Trp(外显子 1),Lys257Arg(外显子 5),它们的发生频率较低,而 Ala64Thr(外显子 2)与 Met229Leu(外显子 5)突变发生

频率则较高。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(GDP)结合位点位于第 258 和 279 号氨基酸残基<sup>[13]</sup>。这四个突变在瘦人中的出现频率普遍比肥胖人低，因而这些 UCP1 基因突变可能与肥胖发生有关<sup>[14]</sup>。另外，冷刺激能使褐色脂肪细胞膜上的肾上腺素受体被神经突触释放的儿茶酚胺类物质激活，造成脂肪动员，激活 UCP1。UCP1 引起线粒体氧化呼吸的电子传递和 ATP 产生解偶联作用，从而降低脂肪酸氧化代谢的产能效率，大量能量以热能的形式散发，经过 BAT 丰富的血管被输送到身体的各个部分<sup>[14]</sup>。

定向位点突变常用来检验 UCP1 的功能结构。在细菌表达系统、重组哺乳动物细胞株或酵母菌表达系统得到 UCP1，在此基础上进行其功能结构的研究。位于 83、182、276 位点的 Arg 残基位于穿膜域的  $\alpha$ -螺旋结构处。这些实验数据支持了膜上具有核苷酸结合的口袋结构。对 UCP1 进行氨基酸测序发现有一段序列与 ADP/ATP 载体非常相似。随后又发现这一区域与田鼠 UCP1 的 261~269 位的氨基酸残基相对应，这段区域被认为是核苷酸结合位点和  $\alpha$ -螺旋结构。与这种假设一致的是 267~269 位的氨基酸缺失仍然可以组成一种 UCP。这种 UCP 可以被脂肪酸激活，但不能被核苷酸抑制。核苷酸与 UCP1 的结合极易受 pH 值的影响。所以 pH 值被认为是调节褐色脂肪细胞 UCP1 的机制之一。

#### 4. UCP1 在 BAT 产热调节和能量代谢中的主要信号通路

生物的生存适应是现代生理生态学研究的重要领域之一，动物在冷环境下的适应性产热及其调节机理研究更是当前生理生态学研究的热点之一。对大多数哺乳动物来说，出生时的非颤抖性产热(NST)是一个相当重要的过程。NST 的主要来源是 BAT，其产热能力主要取决于其线粒体内膜上 UCPs 的含量。UCPs 在啮齿类动物冷暴露期间、冬眠动物觉醒期间以及在大多数哺乳动物的新生儿(包括人类婴幼儿)体内尤其活跃，它的发现揭示了哺乳动物抵御寒冷和调节体温的一种类型的机制(图 1)。

BAT 线粒体的解偶联状态被解释为内膜对质子及离子的通透性，这与 UCP1 有关。对线粒体呼吸的研究表明：去除非脂化脂肪酸或是提供核苷酸可以保

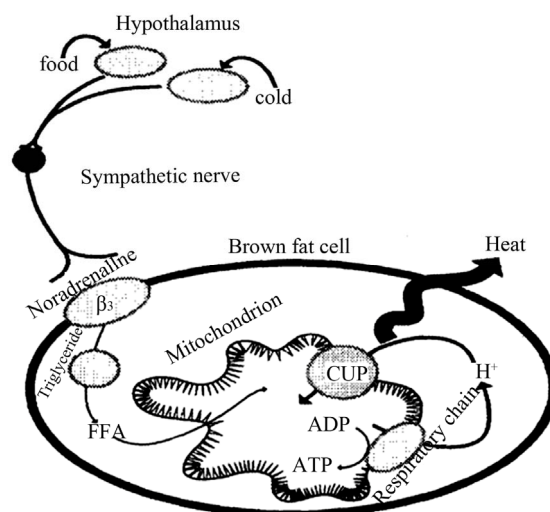


Figure 1. Models of the mechanism of generating heat of UCP1 (Zhu Liping, 2003)  
图 1. UCP1 产热机制模型图(朱莉平, 2003)

证重建偶联呼吸及 UCP1 受到抑制。关于 UCP1 活性的调节，大部分的究者认为它的行为受核苷酸的抑制和受非脂化脂肪酸的激活。对 UCP1 的氨基酸序列分析表明，UCP1 的第三域(C-末端)内与 ADP/ATP 载体具有很强的同源性，也是线粒体内膜质子载体族的成员。而且 UCP1 除了可以运输质子外，还具有阴离子运输能力。

现在关于 UCP1 的解偶联行为和脂肪酸的作用共提出了两种假设：

1) Klingenberg 提出的模型：UCP1 确实是转运质子的载体，而脂肪酸则是提供众多的羧基，使得转运成为可能，或是更有效。2) Garlid 提出的：此理论涉及到了脂肪酸在内膜的循环，而 UCP1 保证了阴离子的运输。在脂肪酸循环模型中，脂肪酸对于质子流通及解偶联活动是必需的。然而，在没有脂肪酸的条件下仍然可以观测到 UCP1 介导的解偶联。说明在没有进行脂肪酸循环时，质子通道仍然是开启的。线粒体呼吸的数据表明就算是清蛋白与脂肪酸相结合了，线粒体仍处于解偶联状态。清蛋白转运脂肪酸的功能被提出置问，因此，现在假设用不可交换的脂肪酸来解释 BAT 线粒体 UCP1 的解偶联活性。然而，这又与重组实验相矛盾，即重组系中的 UCP1 的解偶联活性需要较高浓度的脂肪酸。而且脂肪酸循环模型还包括脂肪酸池和膜磷脂的平衡作用。在酵母菌重组系统中，UCP1 可以促进线粒体质子泄露，这并不受脂肪酸的影响。当线粒体膜两侧的势能差达到一定程度时，

UCP1 可以促进质子回流, 可以诱导不受脂肪酸激活的解偶联呼吸。对于脂肪酸在 UCP1 解偶联活动中的作用的研究有两个不同层次的研究: 线粒体中的 UCP1 和重组体中的 UCP1。在线粒体中发现了脂肪酸(FA)对  $H^+$  转运的激活, 但是对其在解偶联中的作用还不能下定论。关于脂肪酸对解偶联活动的激活作用在科研界中引起了热烈的讨论。但是所进行的一系列研究活动都是在细胞外进行的, 其结构及生理活性与在体内的情况是不同的, 所以所得出的一些结论只能作为 UCP1 在体内生理活性的推论。UCP1 对脂肪酸的分子结构要求比较宽松。但是 GDP 和 DTP 可以抑制脂肪酸与 UCP1 的结合。科研人员们同时也对不同条件下 UCP1 解偶联活动所需要的脂肪酸浓度作了大量的工作。在 BAT 线粒体的 UCP1 解偶联活动的激活需要脂肪酸(KI/2)为  $90 \text{ nM}^{[15]}$ 。但是对脂肪酸的要求是具有亲水性, 碳链长度的最低限度为 10(癸酸)<sup>[15]</sup>。引起科研者强烈兴趣的是 UCP1 对亲水性取代基的兼容性。二溴代软脂酸具有很强的激活性。就算是软脂酸  $\omega$ -位置被吡喃型葡萄糖所代替, 仍然可以激活 UCP1 的解偶联活性。与其它的  $H^+$  膜载体相比较而言, UCP1 结构的简单尤为突出。有部分科研人员认为 FA 为  $H^+$  的协同运输载体<sup>[16]</sup>, 即 FA 的碳链与 UCP1 的一些功能残基一起完成  $H$  离子的运输。在这个模型中, 细胞质中的羧基组与线粒体基质侧的组氨酸对形成  $pK$  梯度, 与  $\Delta\phi$  共同作用驱使  $H$  离子进入线粒体基质中。D210(pK 值较低)接受  $H$  离子, 并把其 UCP1 通道结构中, 接着由脂肪酸接受, 再传递给 D27 或是 H145 + H147。FA 在此模型中的作用就是  $H$  离子的膜表面受体, 把它送入 UCP1 通道中, 同时完成脂肪酸的循环(图 2)。

## 5. UCP1 参与 BAT 产热调节和能量代谢过程中发挥重要作用的因子

UCP1 基因水平的调节在 UCP1 含量和 BAT 产热调节中起着决定作用, 是 BAT 产热生理调节的中心<sup>[17]</sup>。

Miroux et al.(1992)在 *E. coli* 中表达出大白鼠 UCP1 分子。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 很可能构成  $H^+$  的转运通道, 而且  $H^+$

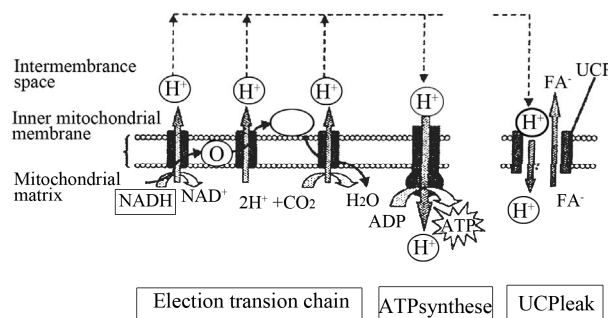


Figure 2. Models of the mechanism of action of UCP1, showing  $H^+$  transport and the participation of fatty acids (Zhu Liping, 2003)

图 2. UCP1 活性的机理模型;  $H^+$  转运和脂肪酸的参与(朱莉平, 2003)

泄漏通道部分在转运  $H^+$  时还与游离脂肪酸分子中的羧基有关。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<sup>[18]</sup>; 如果完全去掉 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<sup>[19]</sup>。

采用转基因小白鼠对 UCP1 基因的精细结构研究结果表明, 在 5'-端有一个 3 kb 的 DNA 区域具有抑制冷诱导 UCP1 基因转录的功能, 因此在 5'-端的 -3 和 -1.2 kb 区域内可能有一个控制 UCP1 基因转录的功能序列, 而且在转录起始位点处可能有一个 -2.8 kb 的上游序列, 该上游序列具有对 cAMP 反应的特征<sup>[20]</sup>。从对大白鼠 UCP1 基因进行转染和转基因小白鼠的研究中发现, 大白鼠 UCP1 基因中 5'-端具有一个控制 UCP1 组织特异性表达和肾上腺能反应因子的片段, 该片段长 4.5 kb<sup>[20]</sup>。在 UCP1 基因中, 位于 2.3 kb 处, 具有一个长度为 200 bp 的增强子和一个抑制区域。一个具有 40-base 序列的上游有增强 UCP1 基因基础表达的功能。人 UCP1 基因在 -3826 bp 处出现的多态变化可能是导致人 UCP1 mRNA 减少的重要因素<sup>[21]</sup>。

低温或交感神经释放的去甲肾上腺素(NE)是激活 BAT 细胞 UCP1 合成增加的主要生理信号<sup>[22]</sup>(图 3)。NE 对 UCP1 合成的调节主要通过 NE 与  $\beta 1$ 、 $\beta 3$  肾上腺能受体介导, 其次  $\alpha 1$ -肾上腺能受体也可能参与了介导

UCP1 的合成<sup>[21]</sup>。不过 UCP1 基因表达可能受到任何一种肾上腺能受体亚型激动剂的影响,但是,最大影响是在三种亚型激动剂同时存在时出现<sup>[23]</sup>。

UCP1 基因可能在白色脂肪组织细胞中异位表达<sup>[24]</sup>;在冷暴露  $\beta$ 3-AR 激动剂刺激下,能够诱导白色脂肪组织细胞 UCP1 表达<sup>[25]</sup>。在冷暴露条件下,啮齿动物 WAT 中出现具有 BAT 细胞特征的细胞数量显著增加<sup>[24]</sup>。因而,  $\beta$ -AR 激动剂对 BAT 细胞发育或 WAT 细胞中的前 BAT 细胞分化起到一定作用。

UCP1 合成强烈受到转录水平的调节。cAMP 是激活 UCP1 基因转录的主要激活剂<sup>[26]</sup>。用  $\beta$ 3-AR 特异性激动剂 L-755507 慢性处理猕猴,可导致 BAT 细胞 UCP1 mRNA 水平显著增加、体重降低、脂肪分解作用增强、静止代谢率上升<sup>[27]</sup>。CGP 12177 处理大白鼠

后,导致 UCP1 mRNA 水平显著上升<sup>[28]</sup>。狗口服 CL316243 5~7 周后,体重和生长率显著降低,UCP1 和其 mRNA 显著增加<sup>[29]</sup>。BRL35135 也可以导致 (fa/fa)Zucker 大鼠 BAT 细胞中 UCP1 mRNA 增加 2.6 倍<sup>[30]</sup>。视紫酸也能够显著刺激 UCP1 基因的表达。不过视紫酸刺激 UCP1 基因表达的作用小于  $\beta$ 3-AR 激动剂,同时视紫酸处理并不显著改变动物的耗氧量。在四氢唑啉(TZD)处理后,UCP1 mRNA 合成对 NE 的反应显著增强,很可能是通诱导 BAT 细胞停止分化来增强能量消耗,并且 TZD 很可能影响到 BAT 中特异性 cAMP 反应序列<sup>[31]</sup>。

除 NE 外,啮齿类动物 UCP1 的合成还需要其他激素,如三碘甲状腺原氨酸(3,3',5'-triiodothyronine, T3)(图 4)、Leptin 蛋白、胰岛素、糖皮质激素、皮质酮等的影响<sup>[32]</sup>。

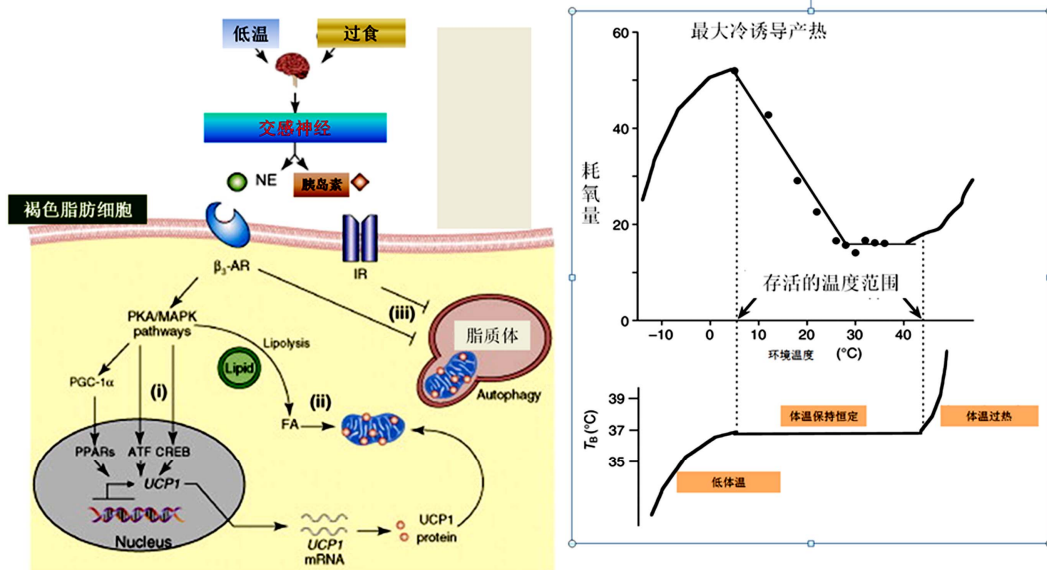


Figure 3. Effects of low temperature and overfeeding on UCP1 thermogenesis in BAT (Collins et al., 1997)  
图 3. 低温和过食对 UCP1 参与 BAT 产热的影响(Collins et al., 1997)

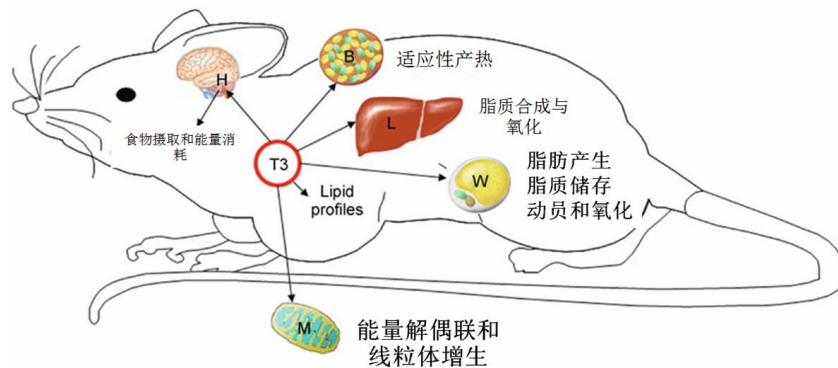


Figure 4. Effects of T3 on thermogenesis (Searpace et al., 1997)  
图 4. 三碘甲状腺原氨酸(T3)对产热的影响(Searpace et al., 1997)

Leptin 是脂肪细胞中特有的一种蛋白质，是肥胖基因的产物，它作用于下丘脑，调节个体能量平衡，在调节动物整体能量代谢消耗中具有重要的意义<sup>[32]</sup>。Leptin 蛋白不仅可以显著刺激肥胖型大鼠代谢率增加、摄食减少，同时刺激 BAT 细胞中 UCP1 mRNA 水平显著上升<sup>[33]</sup>。脑内灌注 Leptin 蛋白有利于 UCP1 基因的表达<sup>[32]</sup>。Leptin 蛋白具有刺激核温升高、交感神经活性增强和刺激 BAT 细胞内肾上腺素周转的功能<sup>[32]</sup>。Commins 等(1999)发现 Leptin 蛋白可以显著刺激大白鼠腹膜 WAT 细胞 UCP1 mRNA 和 UCP1 显著增加，从而证实了 Leptin 蛋白具有刺激 WAT 细胞产热的作用。Leptin 增加附辜 WAT UCP1 基因表达，而 BAT 中 UCP1, UCP2 和 LPL 却降低 WAT 中的 LPL 表达：给予 Lepin 则降低 WAT 中 lepin 基因表达，且与食物摄入，血清胰岛素及皮质酮浓度无关<sup>[33]</sup>。许多学者认为，Leptin 蛋白刺激 UCP1 基因表达增强主要通过刺激交感神经而实现的。这一结论得到 Hwa et al.(1997)的研究结果的支持。他们发现从中枢或外周神经注射 Lentin 蛋白均可显著改变动物的呼吸商，导致二氧化碳减少，脂肪氧化作用显著增强，同时耗氧量增加，血清游离脂肪酸水平显著上升等，因而 Leptin 蛋白刺激能量利用增加可能主要通过刺激产热活性增强的途径而得以实现<sup>[34]</sup>。

Yoshitomi-H et al.(1998)用特异性  $\beta$ 3-肾上腺素受体拮抗剂(CL316, 243)慢性处理 BAT，导致 UCP1，

UCP2 和 UCP3 mRNA 表达分别增加 14, 6 和 16 倍。在 WAT 中，UCP1 和 UCP3 mRNA 表达分别增加 12 倍和 9 倍，但 UCP2 mRNA 表达却没有变化。UCP2 和 UCP3 mRNA 表达在骨骼肌和心脏中剧烈下降。尤其是骨骼肌中 UCP3 mRNA 表达水平降低至对照小鼠的 10%，表明 UCPs mRNA 表达受组织特异性调节。血浆中胰岛素和循环 FFA 浓度也显著降低，表明与骨骼肌及心脏中的 UCP2 和 UCP3 mRNA 表达降低有关。BAT 和 WAT 中 UCP1 及 UCP3 mRNA 表达主要受下丘脑通过交感神经系统控制，但胰岛素，FFA 或两者都在骨骼肌和心脏中控制 UCP2 和 UCP3 mRNA 表达具有重要作用。

## 6. UCP1 与肥胖的治疗

随着遗传易感性决定肥胖发生发展的理论获得普遍共识，近年来开展肥胖病因的遗传学研究倍受重视，迄今为止已发现有两百多个基因及多个染色体区域与肥胖相关。已知，解偶联蛋白家族(UCPs)是一类位于线粒体内膜上的基因，由于其参与 BAT 的能量代谢，因此其与肥胖发生发展的关系引起关注<sup>[35]</sup>。

我们通常认为，当机体摄取的能量长期超过消耗时，多余的能量就会以脂肪的形式储存在身体内，久而久之造成肥胖(图 5)。从能量平衡的角度看，通过增加产热、提高能量的消耗来减轻体重，不失为一种抵抗肥胖的手段<sup>[36]</sup>(图 6)。目前发现成年人体内也存在

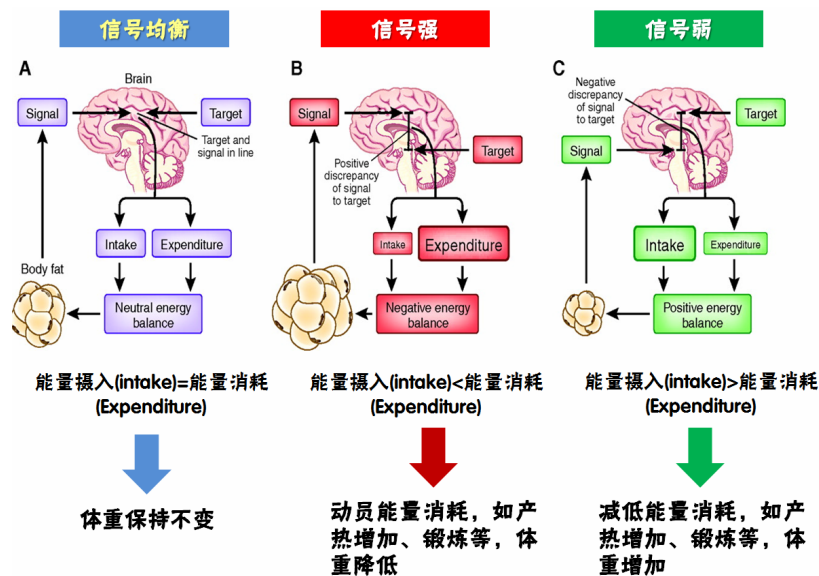


Figure 5. Lipostatic theory (Speakman et al., 2011)  
图 5. 体脂调节稳态模型(Speakman et al., 2011)

## 解偶联蛋白-1(UCP1)的研究进展及其应用前景

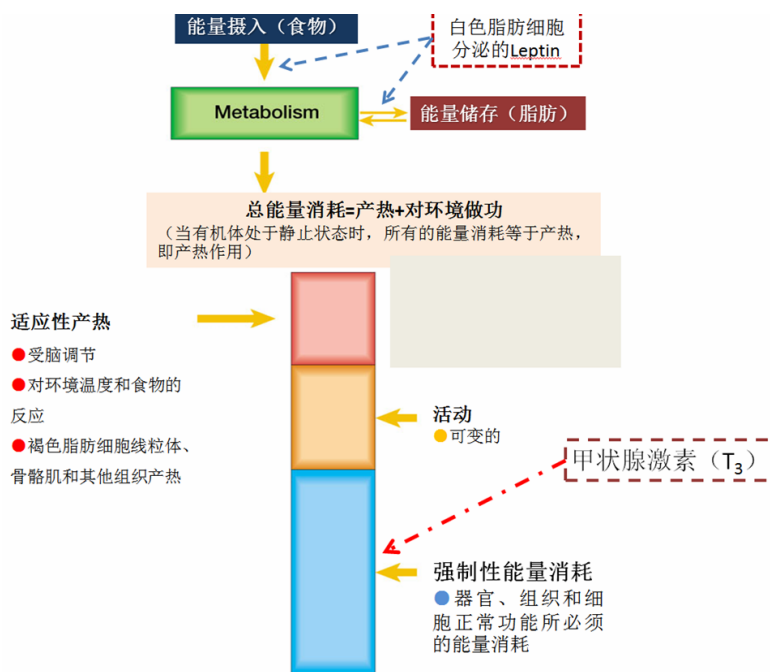


Figure 6. Animal energy distribution (Vickers et al., 2011)  
图 6. 动物能量分配(Vickers et al., 2011)

具有耗散能量功能的 BAT，研究人员就希望能够通过调节 BAT 的产热功能来治疗、预防肥胖及其相关疾病。归纳起来，有两种途径来增加 BAT 的总量和活性：一是通过小分子药物或者生长因子来刺激体内 BAT 的生长、分化和激活；二是通过体外诱导干细胞分化成褐色脂肪细胞，然后植入肥胖患者体内，从某种意义上说就是脂肪组织移植(图 7)。

采用小分子药物或者生长因子来激活 BAT 的产热功能并非是不可能的。例如 DNP 是一种非特异性的线粒体氧化解偶联剂，它能够持续增加机体消耗能量，并且不会使机体产生耐受性<sup>[37]</sup>。但 DNP 具有多方面危及生命的副作用，已经被 FDA 禁止在临床上使用。此外，增加机体能量消耗能帮助身体自行建立体重增加适应机制。有理论认为，受到神经系统与内分泌系统的复杂体调控，人体的体重能够维持在某一个特定的范围内，这个范围被称为体重的设定点。短期内的能量摄取(或消耗)过度所引起的体重增加(或降低)，会在能量摄取(或消耗)恢复到正常水平后降低(增加)到原有体重范围内。BAT 是一个重要的能量代谢调节器官，而 UCP1 基因水平的调节 BAT 产热调节中起着决定作用，是 BAT 产热生理调节的中心。通过增加 UCP1 介导的能量消耗的手段可以重新将肥胖者的体重设定点调定到较低、较健康的水平<sup>[38]</sup>。

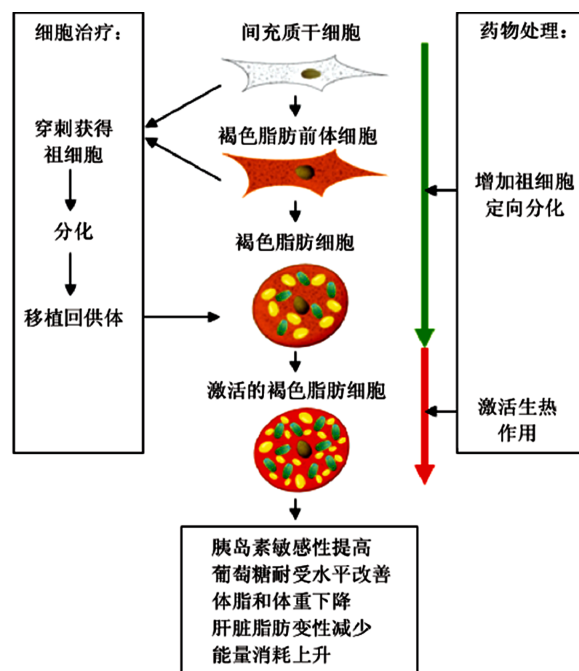


Figure 7. Two BAT-based therapies to treat obesity  
(Yao Xuan et al., 2011)

图 7. 两种利用褐色脂肪组织功能治疗肥胖的方法(姚旋等, 2011)

通过移植 BAT 来增加机体能量的消耗，从而改善能量代谢的手段，也受到越来越多的关注。起初脂肪组织的移植是为了改善人们的面貌，满足人们的审美需求。后来，为了研究不同部位脂肪组织的分化来源

与生物学功能, 实验动物水平的脂肪组织移植技术得到越来越频繁的使用。如今, 随着移植技术的日趋完善, 人们寄希望于移植脂肪组织或细胞来防治疾病。这方面的研究涉及到褐色脂肪相关的细胞与组织, 它们在移植方式、成功率等方面差别很大。可移植的细胞主要包括 SVF(脂肪组织经过胶原酶消化后、去除成熟的脂肪细胞而得到的多种细胞混合物, 包括脂肪前体细胞、成纤维细胞、血管细胞、血细胞和巨噬细胞)、脂肪前体细胞(一种间充质细胞, 在合适的外界条件刺激下只会分化成脂肪细胞)和褐色脂肪细胞。在培养皿中长满的前体细胞、去分化的原代成熟脂肪细胞和 SVF 比完全分化的细胞或者成熟脂肪细胞更容易移植。移植的成功率还和移植部位的血管丰富程度有关, 使用抗体抑制 VEGF 干扰血管功能会导致移植的脂肪组织无法存活。在大鼠中, 小块 BAT 能够成功移植, 相比之下, 前体细胞或成熟褐色脂肪细胞移植后则不能存活<sup>[39]</sup>。

关于药物与生长因子激活 BAT 和褐色脂肪移植都在实验动物水平积累了大量的研究结果, 但是将这些理论应用在临床时仍需考虑一些因素。例如, 人体内的 BAT 呈现出极大的年龄与个体差异。研究表明, 随着年龄的增长, BAT 呈现衰退的趋势。这一现象从某种程度上解释了中年肥胖发生的原因, 但同时也为 BAT 激活来治疗肥胖带来难题<sup>[40]</sup>。此外, 从更加实际的角度考虑, 为了增加 BAT 的活性, 是否需要持续用药, 还是必须在某个特定的阶段用药, 是否在增加 BAT 能量消耗的同时也需要增加能量的摄入以维持肥胖个体的能量需求; 如果需要, 摄入量又是多少, 这些都是必须解决的。由此可见, 通过 BAT 来抵御和治疗肥胖在理论上是可行的, 但距离临床应用还有很多技术手段问题需要解决。

## 7. 研究的难点和展望

从褐色脂肪定向分化关键因子 BMP-7、PRDM16 的发现和深入研究<sup>[41]</sup>到成年人体内具有功能的 BAT 的发现和鉴定, 越来越多的生物学家开始重新关注 UCP1, 使得 UCP1 相关研究逐渐成为生物能量代谢研究领域的一个热点。最近两年, 关于 UCP1 的研究成果频频发表。尽管如此, 在 UCP1 的活化和参与产热作用方面的研究, 仍有许多无法解释的现象和技术上

的缺陷, 因而导致很多领域未被涉足。

从技术上来说, BAT 组织特异性表达 Cre 的工具鼠是阻碍研究进展的一大问题。虽然曾经有实验室构建出 UCP1-Cre 小鼠, 但是由于种种原因, 这种小鼠没有被广泛应用。不能在 BAT 中特异敲除待研究的基因, 就很难阐明这些基因所发挥的作用, 无法得到体内的研究成果。FABP4-Cre 工具鼠虽能在 BAT 中敲除目的基因, 但同时也可能在 WAT 中沉默目的基因。由于 BAT 和 WAT 在整体能量代谢过程中都存在重要作用, 并且二者功能互相影响, 因此所得到的基因敲除鼠即使出现某些表型, 其原因也并不能完全归结于所敲除基因在 BAT 中的作用。

另外, 目前小鼠的饲养方式也阻碍甚至误导了某些实验结论的推导。研究表明, 小鼠的平衡温度是 30 °C, 此时小鼠不需要适应性产热, 形象地讲就是, 在这个温度下小鼠不需要穿衣保暖。而目前小鼠的饲养环境温度是低于该温度的。在这种饲养温度下, UCP1 被激活, BAT 发挥适应性产热的功能。因此在这样的饲养温度下, 所得到的基因敲除小鼠的表型通常不能单纯反映被敲除基因的功能。有些在 BAT 中确有功能的基因被敲除后, 却没有明显的表型, 也看不到 UCP1 被激活。这是因为在低于平衡温度的环境中, UCP1 已经处于激活的状态。相反, 有些对 WAT 的脂质生成具有重要作用的基因被敲除后, 小鼠无法通过脂质积累维持体重; 同时, BAT 中的 UCP1 由于低温环境处于激活状态, 导致小鼠能量代谢旺盛, 引起实验动物体重减轻。这样的现象会导致研究者错误地认为该基因可以激活 BAT 产热作用。另外, 由于个体差异(如被毛的密度、运动能力等), 小鼠等实验动物对寒冷的抵御能力也不一样, UCP1 被激活的需求也不尽相同。因此, BAT 中 UCP1 被激活很有可能是体重或体脂改变的反映, 而不是引发体重或体脂改变的原因。如果将实验小鼠的饲养环境的温度提高至 30 °C, 可以避免环境温度因素对 BAT 功能研究中产生的干扰。

从研究所涉及的分子机制来看, 目前对 UCP1 的研究主要还是围绕着信号通路和转录调控, 尚未广泛接触其它一些新兴研究领域, 比如 RNA 编辑、选择性剪切、非编码 RNA、DNA 甲基化修饰和组蛋白修饰等。我们相信在未来的几年里, UCP1 的研究将在这些新兴研究领域有所突破。借助当今日新月异的生物技术, 我们对褐色脂肪细胞分化与代谢的调控机制



会越来越清楚,利用 BAT 来抵御和治疗肥胖将不再是梦想。

对于解偶联蛋白的研究已经进行了几十年。自从 Lin et al.(1980)首次将解偶联蛋白(后来定名为 UCP1)从仓鼠 BAT 中纯化出来以后,小型哺乳动物的产热特征研究就进入了分子水平阶段,国外许多学者对 UCP1 的分子结构特征进行了大量的研究。但主要来自实验啮齿动物或人类,野生动物的研究却很少,尤其是国内关于野生动物 UCPs 的研究罕见,仅见王政昆等(1996)综述了中缅树鼩 BAT 产热特征;Liu et al.(1998)报道了采用 Northern 印迹法测定冷驯化下爪沙鼠 UCP1 mRNA 的变化;刘永明等(1999)就解偶联蛋白基因-3826 多态性与其 mRNA 表达相关性进行了研究;张武先(2001),朱莉萍(2003),张逊(2005),王颖(2007)对中缅树鼩 UCP1 进行了研究;关于 UCP1 的分离纯化方法在国内的研究也十分罕见,仅见张武先等(2001)在 Lin et al.(1980)从啮齿类中纯化 UCP1 的方法基础上,成功地从中缅树鼩褐色脂肪组织中分离和纯化出了 UCP1。

由以上研究结果可见,由于 UCPs 的功能与产热能力紧密相关,以及与肥胖症和 II 型糖尿病等密切相关,因而成为目前研究个体和细胞能量代谢调节的前沿,同时也能促进从分子水平角度来探讨影响产热能力的各种因素及症状发生的分子水平原因,也对阐明动物受低温环境胁迫时的适应能力、适应模式及其进化途径具有重要的意义。在哺乳类动物细胞中,能量以热的形式消耗掉,是由于细胞线粒体的呼吸链和氧化磷酸化系统解偶联,降低呼吸过程中产生的质子梯度,这就是所谓的质子泄漏问题。但大多数的研究都集中在啮齿目和灵长目这两类动物,还应该再在其更多的物种身上进行比较研究,无论是个体水平、细胞水平,还是分子水平,这都会更加迅速地推进 UCPs 与其产热机制的研究,同时,在不同环境因子作用下 UCPs 与其产热机制的变化,也是一个值得深入研究的问题。

现在已知 UCP1 序列的哺乳动物中, BAT UCP1 的同源性非常高,达到 99%以上。从其他类型 UCP 的同源性来,人的 UCP2 基因与鼠 UCP2 同源性约为 95%,鱼 UCP2 与人 UCP2 基因同源性为 59%,小鼠 UCP3 基因与人约 85.6%同源表明在进化地位或起源

上越是接近的种类,其同型 UCP 的氨基酸序列同源性越高。中缅树鼩 BAT UCP1 分子量与人,大鼠,小鼠非常近似。从蛋白质分子量上进行粗略地比较,中缅树的 BAT UCP1 似乎与啮齿类更为接近。作为同一类型,并且功能相同的蛋白质,中缅树鼩 BAT UCP1 一级结构的功能序列也可能与其他哺乳动物 BAT UCP1 可能非常接近。至于一级结构全序列同源性还有待于对中缅树的 BAT UCP1 氨基酸序列及相关基因序列进一步研究。对氨基酸序列同源性进行研究,能为树鼩科动物在系统演化或进化树上的定位提供意义重大的数据,也为长期以来人们对树鼩科动物究竟应该归为食虫类,啮齿类,还是灵长类提供一个非常确凿的分子生物学证据。因此,进一步对中缅树鼩 UCP1 蛋白质的一级结构,空间晶体结构,核酸序列,基因结构,甚至在核苷酸突变、UCP1 基因人工去除等方面进行深入研究,将为树鼩科动物及相关类目动物的系统学分类提供更为有力的分子生物学证据。

## 8. 致谢

感谢国家自然科学基金项目(No. 31071925),云南省应用基础研究面上项目(No. 2011FZ082)的支持,感谢云南师范大学生命科学学院生理生态研究室所有老师和同学的帮助。

## 参考文献 (References)

- [1] H. Jia, E. I. Lubetkin. Trends in quality-adjusted life-years lost contributed by smoking and obesity. *American Journal of Preventive Medicine*, 2010, 38(2): 138-144.
- [2] Y. H. Tseng, A. M. Cypess and C. R. Kahn. Cellular bioenergetics as a target for obesity therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2010, 9(6): 465-482.
- [3] W. P. Cawthorn, E. L. Scheller and O. A. MacDougald. Adipose tissue stem cells meet preadipocyte commitment: Going back to the future. *Journal of Lipid Research*, 2012, 53(2): 227-246.
- [4] M. E. Harper, K. Green and M. D. Brand. The efficiency of cellular energy transduction and its implications for obesity. *Annual Review of Nutrition*, 2008, 28: 13-33.
- [5] J. R. Speakman, D. A. Levitsky, D. B. Allison, et al. Set points, settling points and some alternative models: Theoretical options to understand how genes and environments combine to regulate body adiposity. *Disease Models & Mechanisms*, 2011, 4(6): 733.
- [6] J. Himms-Hagen. Brown adipose tissue thermogenesis: Interdisciplinary studies. *Afseb Journal*, 1990, 4: 2890-2898.
- [7] S. Hidaka, T. Kakuma, H. Yoshimatsu, S. Yasunaga, M. Kurokawa and T. Sakata. Molecular cloning of rat uncoupling protein 2 cDNA and its expression in genetically obese Zucker fatty (fa/fa) rats. *Biochim-Biophys-Acta*, 1998, 1389(3): 178-186.
- [8] G. Solanes, A. Vidal-Puig, D. Grujic, J. S. Flier and B. B. Lowell. The human uncoupling protein-3 gene. Genomic structure, chromosomal localization, and genetic basis to short and long

- form transcripts. The Journal of Biological Chemistry, 1997, 272(41): 25433-25436.
- [9] W. Mao, X. X. Yu, A. Zhong, W. Li, J. Brush, S. W. Sherwood, S. H. Adams and G. Pan. UCP4, a novel brain-specific mitochondrial protein that reduces membrane potential in mammalian cells. FEBS-Letters, 1999, 443(3): 326-330.
- [10] D. Ricquier, F. Bouillaud. The uncoupling protein homologues: UCP1, UCP2, UCP3, StUCP and AtUCP. Biochemical Journal, 2000, 345(2): 161-179.
- [11] W. Jarmuszkiewicz, A. M. Almeida, A. E. Vercesi, F. E. Sluse and C. M. Sluse-Goffart. Proton re-uptake partitioning between uncoupling protein and ATP Synthase during benzohydroxamic acid-resistant state 3 respiration in tomato fruit 1 mitochondria. Biological Chemistry, 2000, 275: 13315-13320.
- [12] D. W. Mount, 著. 钟扬, 王莉等, 译. 生物信息学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 212-215.
- [13] P. Mayinger, M. Klingenberg. Labeling of two different regions of the nucleotide binding site of the uncoupling protein from brown adipose tissue mitochondria with two ATP-analogs. Biochemistry, 1992, 31(43): 10536-10543.
- [14] 张敏. 解偶联蛋白(UCPs)与肥胖关系研究及 UCP4 基因在脂肪组织中的功能探讨[D]. 南京医科大学, 2008.
- [15] K. S. Echtay. Mitochondrial uncoupling proteins—What is their physiological role? Free Radical Biology & Medicine, 2007, 43: 1351-1371.
- [16] M. Jastroch, K. Withers and M. Klingenspor. Uncoupling protein 2 and 3 in marsupials: Identification, phylogeny and gene expression in response to cold and fasting in *Antechinus flavipes*. Physiological Genomics, 2004, 17: 130-139.
- [17] S. Rehmark, A. C. Biabco, J. D. Kieffer and J. E. Silva. Transcriptional and post transcriptional mechanisms in uncoupling protein mRNA response to cold. Physiology, 1992, 262: E58-E67.
- [18] M. Modriansky, D. L. Murdza-Englis, H. V. Patel, K. B. Freeman and K. D. Garlid. Identification by site-directed mutagenesis of three arginines in uncoupling protein that are essential for nucleotide binding and inhibition. The Journal of Biological Chemistry, 1997, 272(40): 24759-24762.
- [19] H. Esterbauer, H. Oberkofler, Y. M. Liu, D. Breban, E. Hell, F. Krempler and W. Patsch. Uncoupling protein-1 mRNA expression in obese human subjects: The role of sequence variations at the uncoupling protein-1 gene locus. The Journal of Lipid Research, 1998, 39(4): 834-844.
- [20] D. Ricquier, L. Casteilla and F. Bouillaud. Molecular studies of the uncoupling protein. Faseb Journal, 1991, 5: 2237-2242.
- [21] E. M. Rohlf, K. W. Daniel, R. T. Premont, L. P. Kozak and S. Collins. Regulation of the uncoupling protein gene (UCP) by  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ , and  $\beta_3$ -adrenergic receptor subtypes in immortalized brown adipose cell lines. Biological Chemistry, 1995, 270(18): 10723-10732.
- [22] S. Collins, K. W. Daniel, A. E. Petro and R. S. Surwit. Strain-specific response to beta 3-adrenergic receptor agonist treatment of diet-induced obesity in mice. Endocrinology, 1997, 138(1): 405-413.
- [23] C. Pico, M. L. Bonet and A. Palou. Stimulation of uncoupling protein synthesis in white adipose tissue of mice treated with the beta 3-adrenergic agonist CGP-12177. Cellular and Molecular Life Sciences, 1998, 54(2): 191-195.
- [24] S. R. Ross, L. Choy, R. A. Graves, N. Fox, V. Solejjeva, S. Klaus, D. Riquier and B. M. Spiegelman. Hibernoma formation in transgenic mice and isolation of a brown adipocyte cell line expressing the uncoupling protein gene. Proceedings of the National Academy of Sciences of USA, 1992, 89: 7561-7565.
- [25] S. Saito, C. T. Saito and R. Shingai. Adaptive evolution of the uncoupling protein 1 gene contributed to the acquisition of novel nonshivering thermogenesis in ancestral eutherian mammals. Gene, 2008, 408(1-2): 37-44.
- [26] M. V. Kumar, P. J. Scarpacer. Differential effects of retinoic acid on uncoupling Protein-1 and leptin gene expression. Journal of Endocrinology, 1998, 57(2): 237-243.
- [27] N. Sasaki, E. Uchida, M. Nityama, T. Yoshida and M. Saito. Anti-obesity effects of selective agonists to the beta 3-adrenergic receptor in dogs & Recruitment of thermogenic brown-adipocytes and reduction of adiposity after chronic treatment with a beta 3-adrenergic agonist. Journal of Veterinary Medical Science, 1998, 60(4): 465-469.
- [28] E. Savontaus, J. Rouru, O. Boss, R. Huupponen and M. Koulu. Differential regulation of uncoupling proteins by chronic treatments with  $\beta_3$ -adrenergic agonist BRL35135 and metformin in obese fa/fa Zucker rats. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1998, 246(3): 899-904.
- [29] R. Rabelo, A. Cammand and J. E. Silva. 3', 5'-cyclic adenosine monophosphate-response sequences of the uncoupling proteins gene are sequentially recruited during darglitazone-induced brown adipocyte differentiation. Endocrinology, 1997, 138(12): 5325-5332.
- [30] S. Klaus, L. Casteilla, F. Bouillaud and D. Ricquier. The uncoupling proteins UCPs a membrane mitochondrial ion carrier exclusively expressed in brown adipose tissue. Biochemistry, 1991, 23: 791-801.
- [31] R. Burcelin, J. Kande, D. Ricquier and J. Girard. Changes in uncoupling protein and GLUT4 glucose transporter expressions in interscapular brown adipose tissue of diabetic rats: Relative roles of hyperglycaemia and hypoinsulinemia. Biochemical Journal, 1993, 291: 109-113.
- [32] P. J. Seearpace, M. Matheny, B. H. Pollock and N. Tumer. Leptin increases uncoupling protein expression and energy expenditure. American Journal of Physiology, 1997, 273(1): E226-E230.
- [33] P. J. Seearpace, M. Matheny. Leptin induction of UCP1 gene expression is dependent on sympathetic innervation. American Journal of Physiology, 1998, 275(2): E259-E264.
- [34] S. P. Commins, P. M. Watson, M. A. Padgett, A. Dudley. G. Argyropoulos and T. W. Gettys. Induction of uncoupling protein expression in brown and white adipose tissue by leptin. Endocrinology, 1999, 140(1): 292-300.
- [35] D. X. Tan, L. Manchester, L. Fuentes-Broto, et al. Significance and application of melatonin in the regulation of brown adipose tissue metabolism: Relation to human obesity. Obesity Reviews, 2011, 12(3): 167-188.
- [36] S. P. Vickers, H. C. Jackson and S. C. Cheetham. The utility of animal models to evaluate novel anti-obesity agents. British Journal of Pharmacology, 2011, 164(4): 1248-1262.
- [37] P. G. Shekelle, M. L. Hardy, S. C. Morton, M. Maglione, W. A. Mojica, M. J. Suttrop, et al. Efficacy and safety of ephedra and ephedrine for weight loss and athletic performance: A meta-analysis. The Journal of the American Medical Association, 2003, 289(12): 1537-1545.
- [38] J. R. Speakman, D. A. Levitsky, D. B. Allison, et al. Set points, settling points and some alternative models: Theoretical options to understand how genes and environments combine to regulate body adiposity. Disease Models & Mechanisms, 2011, 4(6): 733.
- [39] R. L. Van, D. A. Roncari. Complete differentiation *in vivo* of implanted cultured adipocyte precursors from adult rats. Cell Tissue Research, 1982, 225(3): 557-566.
- [40] J. Nedergaard, B. Cannon. The changed metabolic world with human brown adipose tissue: Therapeutic visions. Cell Metabolism, 2010, 11(4): 268-272.
- [41] 张麟, 朱万龙, 王政昆等. 褐色脂肪组织分化及其调节机制研究进展[J]. 生物过程, 2011, 1: 13-17.