

解耦联蛋白 UCP1 在肿瘤恶病质中的研究进展

代月宇, 宋启斌, 胡伟国, 钟方圆

(武汉大学人民医院, 湖北 武汉 430060)

摘要:解耦联蛋白(UCP1)是一种特殊的线粒体蛋白,能够促进线粒体的呼吸作用而产生热量消耗。UCP1 是在棕色脂肪细胞中发现的第一个解耦联蛋白,其定位于线粒体内膜,可以降低电子传递系统产生的质子(H⁺)梯度,更容易直接产生热量。棕色脂肪细胞的 UCP1 活动被认为是一种很有前途的对抗肥胖和代谢疾病的策略。癌症恶病质是一种以全身炎症、体重减轻、骨骼肌和脂肪组织萎缩为特征的消瘦综合征,其潜在的机制和有限的、可用的治疗选择是不明确的。癌症细胞中棕色脂肪样表型的异常表达先前已被证实与肿瘤生长有关。恶性肿瘤中褐色脂肪相关蛋白的表达可能与肿瘤的预后有关。全文主要从 UCP1 的表达、解耦联机制以及过程中与恶性肿瘤恶病质之间存在的联系等作一综述。

关键词:解耦联蛋白;棕色脂肪细胞;癌症恶病质;产热

中图分类号:R730.231 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2020)01-0053-05

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2020.01.B012

The Role of Uncoupling Protein 1 in Cancer-associated Cachexia

DAI Yue-yu, SONG Qi-bin, HU Wei-guo, ZHONG Fang-yuan

(Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

Abstract:Uncoupling protein 1(UCP1) is a special mitochondrial protein that promotes mitochondrial respiration and generates heat consumption. Brown adipose tissue (BAT), on the other hand, is adept at adaptive thermogenesis and directly consumes in the form of heat. It contains a large number of mitochondria and has a high expression of UCP1. UCP1, the first decoupling protein found in brown fat cells, is located in the mitochondrial intima and can reduce the proton (H⁺) gradient generated by the electron transport system, making it easier to generate heat directly by passing ATP synthase. Due to the oxidative effect of decoupling on stored excess energy, UCP1 activity in brown fat cells is considered as a promising strategy against obesity and metabolic diseases. Cancer-associated cachexia(CAC) is a wasting syndrome characterized by systemic inflammation, weight loss, skeletal muscle and adipose tissue atrophy, and its underlying mechanisms are unclear and available treatment options are limited. Abnormal expression of brown fat-like phenotypes in cancer cells has previously been linked to tumor growth. Therefore, the expression of brown fat-related proteins in malignant tumors may be related to the prognosis of tumors. This article reviews the expression of UCP1, the decoupling mechanism and the relationship between UCP1 and cancer-associated cachexia.

Subject words:uncoupling protein 1; brown adipocyte; cancer-associated cachexia; produces heat

癌症恶病质(cancer-associated cachexia, CAC)是一种进行性代谢紊乱,能导致脂肪组织和骨骼肌的消耗。越来越多的研究表明,维持恶病质中的脂肪组织质量可以改善患者的生活质量和生存期。癌症

通信作者:宋启斌,主任,主任医师,教授,博士;武汉大学人民医院肿瘤中心,湖北省武汉市武昌区解放路238号(430060);E-mail:qibinsong@163.com

胡伟国,副主任医师,博士;武汉大学人民医院肿瘤中心,湖北省武汉市武昌区解放路238号(430060);E-mail:hwg74@163.com

收稿日期:2019-04-02; **修回日期:**2019-06-04

恶病质影响大约30%的癌症患者,并且与发病率和死亡率相关^[1-3]。对啮齿类动物恶病质的研究表明,线粒体氧化磷酸化解耦作用的增加和棕色脂肪组织中脂肪酸氧化水平的升高可能有助于提高癌症恶病质患者的全身脂质利用率^[4-5]。棕色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)主要由含有多个小脂滴和线粒体含量高的棕色脂肪细胞组成,其血管化程度高,受到神经支配,几乎每个细胞都有自己的神经末梢^[6],

其表型的主要特征是解耦联蛋白 1 (uncoupling protein 1, UCP1) 的表达。线粒体氧化磷酸化是正常组织 ATP 产生的主要来源。在这个过程中, 会横跨线粒体内膜产生一个质子梯度, 这是 ATP 合酶形成 ATP 中必不可少的^[7]。然而, 大约 25% 质子梯度能量是通过将质子泵入内膜空间消耗的, 这是一个被称为线粒体解耦的“质子泄漏”过程^[8-9]。UCP1 表达导致的线粒体呼吸链质子泄漏, 使得能量以热量的形式耗散, 而不是以三磷酸腺苷(ATP)的形式耗散, UCP1 主要与能量消耗和代谢有关^[10]。

1 线粒体解耦联蛋白 UCP1 解耦联机制

1.1 基于 UCP1 结构的 UCP1 功能和调控意义

在 20 世纪 70 年代, 生物化学家致力于了解一种热发生机制的分子基础, 并在棕色脂肪细胞线粒体的内膜中发现了一种特殊的线粒体蛋白。这种蛋白质使得褐色脂肪线粒体能够主动呼吸, 而且不需要使 ADP 磷酸化, 在这种特殊情况下, 能量会以热量的形式消散^[11]。这就是线粒体解耦联蛋白 1 (UCP1), 一种线粒体内膜转运体, 它直接参与了褐色脂肪细胞中独特的产热机制。

棕色脂肪细胞线粒体中 UCP1 解耦的动力学范围在 220~166mV 之间, 解耦范围约为 55mV^[12]。棕色脂肪细胞线粒体里, 其超微结构存在质子泵, 这些超微结构不是将质子泵向胞质本身, 而是将质子泵向长晶体内空间(intercrystalline space, ICS), 后者垂直于线粒体外膜 (outer mitochondrial membrane, OMM)、外膜空间区域和内边界膜(internal boundary membrane, IBM)组成的圆柱形结构^[13]。UCP1 作为二聚体存在于线粒体内膜中, 能够结合单个核苷酸分子^[14]。这些纯化的 UCP1 保留了每个单体 UCP1 紧密结合的三分子心磷脂。基于 ADP/ATP 载体的晶体结构, 为 UCP1 隐含的建模结构^[15]。在这种情况下, 带正电荷的残基存在于蛋白表面, 这些残基被证明可以结合脂肪酸, 并包含一个面向嘌呤核苷酸结合位点(胞质取向)的晶体内空间(ICS)。UCP1 包含一个外表面空腔, 在没有 Mg²⁺的情况下, 这个空腔被嘌呤核苷酸二磷酸和三磷酸占据, 从而导致 UCP1 抑制^[16]。当肿瘤恶病质发生时, UCP1 通过的脂肪酸循环被激活。

1.2 脂肪酸循环机制

棕色脂肪细胞的产热与脂肪酸代谢 (fatty acid cycle, FA) 有关。实验证明小分子解耦联蛋白模拟物能够在磷脂双层膜中进行脂肪酸(FA)激活的 H⁺易位^[17]。脂肪酸循环机制假设了 UCP1 和其他 UCPs 不是原核团, 而是脂肪酸阴离子单载体, 脂肪酸阴离子从 ICS 表面膜移动到 ICS 表面, 从而消耗 Δp ^[18], 即由 UCP 介导的易位后, 脂肪酸阴离子被质子化, 在生理 pH 值下, 质子化的中性脂肪酸 FA 可以很容易地通过 ICS 膜的脂质双层膜翻转到基质表面^[13]。因此, 解耦联时 Δp 消耗并不是发生在 UCP 蛋白质上, 而是通过自发扩散的质子化 FAs 磷脂膜 (触发器机制) 产生的^[13]。这就证明了通过 UCP 介导的脂肪酸阴离子转运, 确保了循环的延续。整个 FA 循环产生了 UCP 介导的 H⁺移位^[19]。有研究指出辅酶 Q (coenzyme Q, CoQ) 是 H⁺转运活性的一个强制性辅因子, 影响着 UCP1 功能。同时 H⁺转运对嘌呤核苷酸高度敏感, 只被氧化 CoQ 激活, 而不被还原性辅酶 2 激活, 并且与内源 CoQ 含量相关。但是, 由于 UCP1 在含 CoQ 的线粒体和缺乏 CoQ 的酵母线粒体中的活性是相似的, 因此, 当 UCP1 在酵母线粒体中表达时, CoQ 既不是一个强制性的辅因子, 也不是 UCP1 质子转运的激活因子^[20]。无论是酵母线粒体中异常表达的 UCP1, 还是棕色脂肪细胞中天然的 UCP1, 都表明内源性泛素氧化还原状态对脂肪酸诱导的 UCP1 活性并无影响, 只能通过对嘌呤核苷酸抑制的敏感性来调节这种活性^[21]。即嘌呤核苷酸在 CoQ 还原水平高时(超过总 CoQ85%)减轻 UCP1 的抑制^[13]。由于这些脂肪酸阴离子也不能以质子化的形式在脂质双分子层上触发。因此, 观察到“非活性脂肪酸阴离子”而缺少 UCP1 激活的现象, 则有力地支持了脂肪酸循环假说^[13]。

2 棕色脂肪细胞线粒体与 UCP1

在棕色脂肪细胞中活化的 UCP1 可以将线粒体呼吸从 ATP 合成中分离出来, 导致呼吸系统的活动增强, 从而增加氧气消耗和热量产生。通过线粒体中的呼吸链, 膜间隙间积累的质子可以通过与 UCP 长链脂肪酸相结合, 从而被带回到线粒体基质中^[22]。脂肪酸质子在线粒体内膜上被泵入, 然后产生短路, 从

而产生热量,也就是指脂肪酸质子在 IMM 上的回流循环导致了热量的产生。同时,组织特异性表达的特殊线粒体解耦蛋白(UCPs)则提供了一种额外的可调节的“质子泄漏”^[23],其具有扩散基础、 ΔP 依赖性的基本质子,并且回流时有固定的线粒体内膜渗透率,这也被称为质子漏^[24]。在这个过程中,线粒体内膜上产生质子梯度,通过将质子泵入内膜空间消耗该质子梯度的大约 25% 能量,这个过程绕过了 ATP 合酶,产生热量。另一方面,UCP1 催化的质子泄漏受到嘌呤核苷酸、游离脂肪酸表达水平的调控,还可能受到 UCPs 翻译后修饰的调控。

棕色脂肪组织是哺乳动物非颤抖性产热的主要部位,而解耦联蛋白 1(UCP1)则特异于这些组织,是产热的关键因素^[22]。棕色脂肪细胞最大的特点在于,棕色脂肪细胞中存在大量异常的线粒体。此外,这些线粒体被高度发达的线粒体内膜的嵴所横切,线粒体和棕色脂肪细胞具有巨大的呼吸和氧化底物和还原辅酶的能力。早在 20 世纪 60 年代,研究人员已经确定线粒体的呼吸作用是与 ADP 磷酸化结合的必要条件。然而事实证明,棕色脂肪细胞线粒体消耗了大量呼吸能量作为热量,换句话说,棕色脂肪细胞线粒体不需要 ADP 磷酸化就可以主动呼吸,这与线粒体能量守恒定律相反^[11]。因此,在棕色脂肪细胞中寻找一种特定的 ATP 酶来水解 ATP 是不成功的。在 1967 年研究人员也通过实验证明了棕色脂肪细胞线粒体的呼吸与 ADP 磷酸化不耦合或松散耦合^[6]。线粒体内膜中任何增强的质子通透性都会降低膜电位差,从而激活呼吸链和减少耗氧量、减少三磷酸腺苷的合成以及将激发的能量作为热量耗散掉。所以,UCP1 是一种化学合成解耦联剂,其作为质子转运蛋白,添加到线粒体呼吸中,由于解耦联剂使膜电位差严重减少,从而立即激活

呼吸,使其氧化成能量,不与 ATP 形成耦合,并以热量的形式消散。通过对棕色脂肪细胞线粒体的质子电导的分析,具有热原活性的线粒体具有异常高的质子通透性,其在去除游离脂肪酸和添加外源性嘌呤核苷酸(ATP、ADP、GTP 或 GDP)后发生下调,表明了其通透性接受添加的游离脂肪酸和提取的核苷酸的刺激。

3 白色/棕色脂肪细胞线粒体 UCP1 调控与恶性肿瘤恶病质

脂肪组织是癌症恶病质的重要组成部分,是由白色脂肪组织(white adipose tissue, WAT)和棕色脂肪组织共同构成的代谢分泌器官^[25]。越来越多的证据表明,在肿瘤恶病质期间,白色脂肪组织经历一个由白变褐的褐变过程,导致脂肪动员和能量消耗增加^[25]。这个过程被称为“WAT browning”,在动物模型中表现为癌症恶病质、慢性炎症,已被证明会导致 UCP-1 表达的增加和从 WAT 到 BAT 的转换^[26]。肿瘤恶病质动物的棕色脂肪细胞的线粒体蛋白质制剂非常显著的含有更多的 UCP1 蛋白质,相比非恶病质的细胞,则具有降低的线粒体 UCP1 蛋白质。因

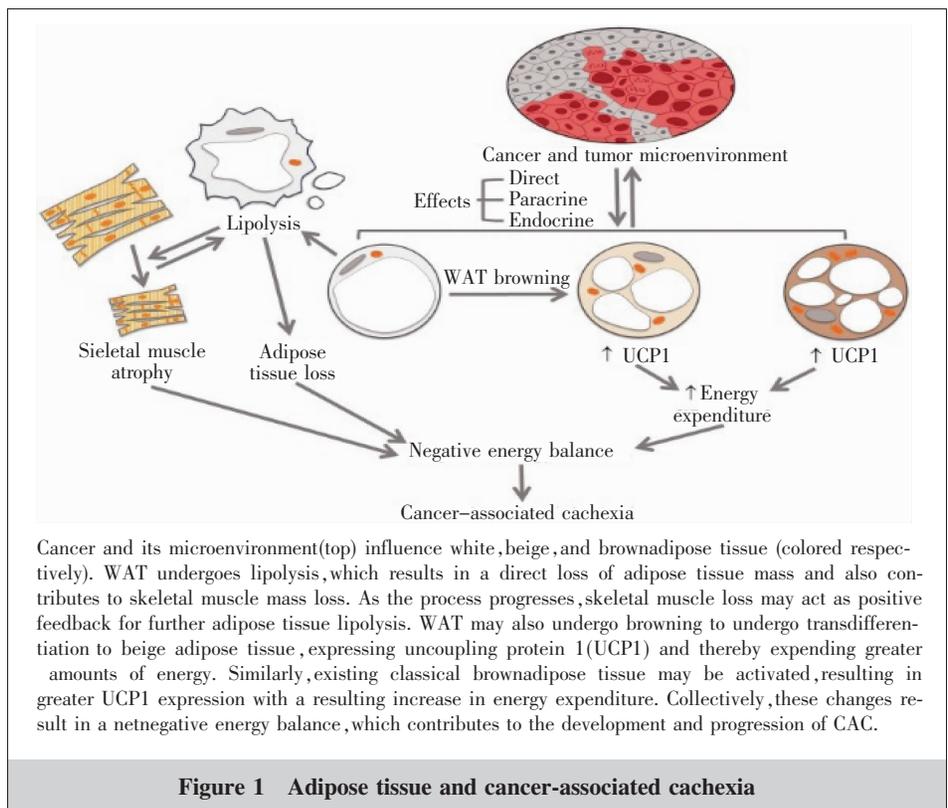


Figure 1 Adipose tissue and cancer-associated cachexia

此,当每个含有棕色脂肪细胞的器官表达总UCP1蛋白含量时,肿瘤恶病质小鼠表现更为显著。由此可见,当恶性肿瘤出现恶病质时,机体由于UCP1高表达,使得大量能量直接以热量的形式耗散,增加了生热活性,使得癌症中脂肪动员和骨骼肌萎缩发生与发展成为了早期事件^[27]。因此,由于UCP1在肝脏、肌肉等组织中含丰富,从而解释了肿瘤恶病质患者消瘦时首先发生在肌肉组织、肝脏等含UCP1丰富的部位(Figure 1)^[25]。

癌症恶病质作为消耗性综合征,尽管恶病质很常见,但是治疗上并不充分,潜在的机制也不明确^[28]。棕色脂肪组织的UCP1在恶性肿瘤里高表达,意味着直接性消耗大大增加,并且骨骼肌的萎缩与解耦联蛋白1(UCP1)的表达增加有关,UCP1在线粒体里参与呼吸与产热而不是ATP合成解耦,导致脂质动员和能量消耗增加。在癌症恶病质患者中,慢性炎症和细胞因子白细胞介素-6增加白色脂肪细胞中UCP1表达,并且减少炎症或 β -肾上腺素能,减少白色脂肪细胞褐变成棕色脂肪细胞,并改善恶病质的严重性^[29]。在一项多种癌症小鼠模型研究中,8例结肠癌恶病质患者的脂肪细胞中发现7例表达UCP1,而在20例无恶病质患者中未发现UCP1表达^[26]。因此,抑制UCP1基因高表达以及WAT褐变是改善癌症患者恶性肿瘤恶病质有希望的方法。

肿瘤恶病质是复杂的,是由炎症和代谢失衡引起的,可导致体重极度减轻^[25]。癌症恶病质患者中,棕色脂肪细胞中都有大量异常增多的UCP1,UCP1大量出现为热量消耗增加提供了基础;同时导致进骨骼肌蛋白质的降解速率加剧,这其中包括通过蛋白-蛋白酶体和自噬-溶酶体等途径的不同蛋白水解系统的激活,由于肿瘤诱导的全身炎症反应释放的激素改变和炎症介质促进了这些变化,这也就直观地表现在肿瘤恶病质患者的消瘦、热消耗增加等^[30]。恶病质患者肿瘤细胞里UCP1表达程度与存活率显著性相关,肿瘤不表达UCP1患者生存期较差,UCP1表达为肿瘤预后与治疗提供了有价值的参考。

参考文献:

- [1] Fearon K, Strasser F, Anker SD, et al. Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus [J]. *Lancet Oncol*, 2011, 12(5): 489-495.
- [2] Zhou X, Wang JL, Lu J, et al. Reversal of cancer cachexia and muscle wasting by ActRIIB antagonism leads to prolonged survival [J]. *Cell*, 2010, 142(4): 531-543.
- [3] Kliewer KL, Ke J Y, Tian M, et al. Adipose tissue lipolysis and energy metabolism in early cancer cachexia in mice [J]. *Cancer Biol Ther*, 2015, 16(6): 886-897.
- [4] Arruda AP, Milanski M, Romanatto T, et al. Hypothalamic actions of tumor necrosis factor alpha provide the thermogenic core for the wastage syndrome in cachexia [J]. *Endocrinology*, 2010, 151(2): 683-694.
- [5] Tsoli M, Moore M, Burg D, et al. Activation of thermogenesis in brown adipose tissue and dysregulated lipid metabolism associated with cancer cachexia in mice [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(17): 4372-4382.
- [6] Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance [J]. *Physiol Rev*, 2004, 84(1): 277-359.
- [7] Giatromanolaki A, Balaska K, Kalamida D, et al. Thermogenic protein UCP1 and UCP3 expression in non-small cell lung cancer: relation with glycolysis and anaerobic metabolism [J]. *Cancer Biol Med*, 2017, 14(4): 396-404.
- [8] Rolfe DF, Newman JM, Buckingham JA, et al. Contribution of mitochondrial proton leak to respiration rate in working skeletal muscle and liver and to SMR [J]. *Am J Physiol*, 1999, 276(3): C692-C699.
- [9] Brand MD, Chien LF, Ainscow EK, et al. The causes and functions of mitochondrial proton leak [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1994, 1187(2): 132-139.
- [10] Jastroch M, Oelkrug R, Keipert S. Insights into brown adipose tissue evolution and function from non-model organisms [J]. *J Exp Biol*, 2018, 221(Pt Suppl 1): pii: jeb169425.
- [11] Ricquier D. UCP1, the mitochondrial uncoupling protein of brown adipocyte: a personal contribution and a historical perspective [J]. *Biochimie*, 2017, 134: 3-8.
- [12] Jezek P, Zackova M, Ruzicka M, et al. Mitochondrial uncoupling proteins—facts and fantasies [J]. *Physiol Res*, 2004, 53(Suppl 1): S199-S211.
- [13] Jezek P, Jaburek M, Porter RK. Uncoupling mechanism and redox regulation of mitochondrial uncoupling protein 1 (UCP1) [J]. *Biochim Biophys Acta Bioenerg*, 2019, 1860(3): 259-269.
- [14] Klingenberg M, Huang SG. Structure and function of the uncoupling protein from brown adipose tissue [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1415(2): 271-296.

- [15] Pebay-Peyroula E, Dahout-Gonzalez C, Kahn R, et al. Structure of mitochondrial ADP/ATP carrier in complex with carboxyatractyloside[J]. *Nature*, 2003, 426(6962):39–44.
- [16] Zhu R, Rupprecht A, Ebner A, et al. Mapping the nucleotide binding site of uncoupling protein 1 using atomic force microscopy[J]. *J Am Chem Soc*, 2013, 135(9):3640–3646.
- [17] Wu X, Gale PA. Small-molecule uncoupling protein mimics: synthetic anion receptors as fatty acid-activated proton transporters[J]. *J Am Chem Soc*, 2016, 138(50):16508–16514.
- [18] Garlid KD, Jaburek M, Jezek P, et al. How do uncoupling proteins uncouple? [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1459(2–3):383–389.
- [19] Jaburek M, Varecha M, Jezek P, et al. Alkylsulfonates as probes of uncoupling protein transport mechanism. Ion pair transport demonstrates that direct H⁺ translocation by UCP1 is not necessary for uncoupling[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(34):31897–31905.
- [20] Echtay KS, Winkler E, Klingenberg M. Coenzyme Q is an obligatory cofactor for uncoupling protein function[J]. *Nature*, 2000, 408(6812):609–613.
- [21] Swida-Barteczka A, Woyda-Ploszczyc A, Sluse FE, et al. Uncoupling protein 1 inhibition by purine nucleotides is under the control of the endogenous ubiquinone redox state[J]. *Biochem J*, 2009, 424(2):297–306.
- [22] Chang SH, Song NJ, Choi JH, et al. Mechanisms underlying UCP1 dependent and independent adipocyte thermogenesis[J]. *Obes Rev*, 2019, 20(2):241–251.
- [23] Rupprecht A, Brauer AU, Smorodchenko A, et al. Quantification of uncoupling protein 2 reveals its main expression in immune cells and selective up-regulation during T-cell proliferation[J]. *PLoS One*, 2012, 7(8):e41406.
- [24] Jastroch M, Divakaruni AS, Mookerjee S, et al. Mitochondrial proton and electron leaks[J]. *Essays Biochem*, 2010, 47:53–67.
- [25] Daas SI, Rizeq BR, Nasrallah GK. Adipose tissue dysfunction in cancer cachexia[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 234(1):13–22.
- [26] Petruzzelli M, Schweiger M, Schreiber R, et al. A switch from white to brown fat increases energy expenditure in cancer-associated cachexia [J]. *Cell Metab*, 2014, 20(3):433–447.
- [27] Dalal S. Lipid metabolism in cancer cachexia[J]. *Ann Palliat Med*, 2019, 8(1):13–23.
- [28] Sun L, Quan XQ, Yu S. An epidemiological survey of cachexia in advanced cancer patients and analysis on its diagnostic and treatment status [J]. *Nutr Cancer*, 2015, 67(7):1056–1062.
- [29] Han J, Meng Q, Shen L, et al. Interleukin-6 induces fat loss in cancer cachexia by promoting white adipose tissue lipolysis and browning[J]. *Lipids Health Dis*, 2018, 17(1):14.
- [30] Argiles J M, Lopez-Soriano F J, Busquets S. Mediators of cachexia in cancer patients[J]. *Nutrition*, 2019, 66:11–15.