

质子漏及其在基础代谢中的作用*

宋志刚 王德华**

(中国科学院动物研究所, 农业虫害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100080)

摘要 “质子漏”是指电子传递链跨膜泵出的质子通过不涉及 ATP 合成的途径而跨膜扩散流回基质的过程, 它的出现形成了由呼吸链驱动的质子泵出和质子回漏的无效循环通路。质子漏的耗氧在呼吸速率中占有重要的比重, 对细胞呼吸有很强的控制作用, 可以调节能量偶联系数, 同时质子漏也是重要的产热过程, 它承担了基础代谢产热的 20%~30%。质子漏的生理功能有产热、增加代谢调节潜能、清除有害自由基和调节碳流等。

关键词 质子漏, 基础代谢率, 线粒体

学科分类号 Q591

质子漏现象自发现以来, 它在代谢中的作用就受到了人们的普遍关注。本文综述了质子漏的发生、对细胞耗氧和基础代谢率的贡献, 及其影响因素和调节机理, 同时还讨论了质子漏在基础代谢中的生理功能。

1 质子漏的发生

在线粒体中, 电子传递链跨内膜向膜间隙泵出质子, 形成质子动力势 ΔP 。质子动力势驱动质子通过 ATP 合成酶返回基质, 同时合成 ATP。不过, 并不是所有的质子返回都与 ATP 合成相偶联, 质子也可以通过其他的途径流回基质。质子不通过 ATP 合成酶复合体进行 ATP 合成, 而直接通过线粒体内膜回到基质的过程, 就称之为“质子漏”^[1~3]; 这一过程中, 贮存在质子动力势中的自由能全部以热的形式释放。

质子漏广泛地存在于各种组织细胞的线粒体中^[4], 是真实存在的生理现象^[5]。其发生的机理尚不清楚。在褐色脂肪组织中的解偶联蛋白 (uncoupling protein, UCP), 能专一性地引起线粒体的质子漏用于产热, 但肝细胞线粒体中并未发现解偶联蛋白^[1]。一般认为它是线粒体膜和其他生物膜的一般特性, 是通过脂双层扩散的无酶过程。线粒体膜是非欧姆导体 (non-ohmic), 这决定了质子漏的 ΔP 依赖性, 即 ΔP 增加/减少时, 质子漏以更大的幅度增加/减少^[5]。

质子漏在动物的基础代谢中占有重要的地位, 对细胞的呼吸和整体的代谢率都有重要的贡献。

2 线粒体质子漏对细胞呼吸速率的贡献

质子漏对呼吸速率的重要贡献表现在氧耗比重和对呼吸的控制作用上。质子漏反应消耗的氧气在整个细胞的氧耗中占有较大的比重。根据 43 只大鼠肝细胞研究的结果, 用于驱动线粒体质子漏的氧耗在细胞总氧耗中的平均比率是 26.1%, 在线粒体呼吸耗氧中的比重更高, 可达 33.3%^[5,6]。

质子漏耗氧不仅在呼吸中所占的比率很高, 而且对细胞呼吸速率有显著的控制作用。这可以通过流量控制系数看出来。在休眠状态的肝细胞中, 质子漏对细胞氧耗速率的控制系数为 0.24^[6], 表明质子漏的变化可以引起细胞氧耗的显著变化。

质子漏在细胞氧耗中的重要地位以及其对 ΔP 的依赖性, 决定了它对偶联系数 (有效 P/O 比) 的调节作用。这一调节包括暂时性调节和长期调节。在某一时刻 ATP 的需求增加时, ΔP 值的降低导致了质子漏速率降低, 使偶联系数迅速提高。如果质子漏速率发生不是 ΔP 引起的长期改变, 则偶联系数就会发生长期改变。这一调节可以通过控制系数的值反映出来: 肝细胞中的有效 P/O 比可以由 ATP 需求 (控制系数 0.31) 和质子漏 (控制

* 国家自然科学基金资助项目 (39970128 和 30070125), 国家自然科学基金重点项目 (39730090) 和中国科学院重大基金项目 (KZ 951-B1-106)。

** 通讯联系人。

Tel: 010-62613511, E-mail: wangdh@panda.ioz.ac.cn

收稿日期: 2000-09-08, 接受日期: 2000-11-03

系数 0.34) 共同控制, 几乎不受底物氧化反应 (控制系数 0.03) 控制^[1].

有效 P/O 比是底物 (NADH) 氧化还原势能转换为高能磷酸键能 (ATP) 过程中总的能量偶联量度, 反映了能量转化的效率. 偶联系数受质子漏调节具有重要的意义: 如果偶联系数固定不变, ATP 因需求增加要求合成加倍, 呼吸速率和伴随的产热也会加倍; 但由于 ATP 需求的增加降低了 ΔP 及相应的质子漏速率, 提高了 P/O 比, 呼吸速率和产热就不需要加倍^[1]. 这样提高了能量利用的效率, 减少了 ATP 合成中的副产品——热量的产生, 因而对代谢和产热都有重要的影响.

3 线粒体质子漏对动物基础代谢率的贡献

线粒体质子漏形成了由呼吸链驱动的质子泵出和质子回漏的无效循环通路, 使能量以热的形式释放, 这些产热是基础代谢率 (basal metabolic rate, BMR) 的重要组成部分. 产热作用主要发生在肝脏、肌肉、心脏、脑和肾脏等器官中.

肝脏是动物氧气消耗的重要器官, 承担了呼吸率的 15% ~ 20%^[7]. 离体的肝细胞在静息状态下用于驱动质子漏的氧耗比率可以达到 26%^[1], 即使在合成尿和糖等活性状态下也能达到 22%^[8]. 如果肝组织中用于驱动质子漏的呼吸比率与离体细胞中的比率相似 (22% ~ 26%), 那么大鼠肝脏线粒体的质子漏就可以单独承担 BMR 的 5%^[9].

离体骨骼肌线粒体中的质子漏特征与肝脏和其他组织中的质子漏十分相似^[10], 表明肌肉质子漏也是 BMR 的重要贡献者. Brand 等^[1]分析了整体灌流肌肉系统中的质子漏, 结果发现有 52% 的氧气消耗用来驱动跨线粒体内膜质子泵出和回漏的无效循环. 在痉挛收缩的肌肉中, 质子漏耗氧也能占到细胞耗氧的 1/3^[8]. Brand 等^[1]还发现, 骨骼肌线粒体质子漏对呼吸速率和有效 P/O 比有很强的控制作用 (0.26 和 -0.72), 细胞内有效 P/O 比只是最大值的 34%. 因此, 骨骼肌的线粒体质子漏在能量代谢中的作用比肝的还要重要, 可以占到基础代谢产热的 15%^[9].

Challoner^[11]认为体内心脏中的耗氧量最大有 10% ~ 13% 与质子漏偶联. 这可能过高地估计了质子漏的实际贡献, 但由于肝和骨骼肌中对质子漏的估计偏离不会超过 50%, 所以 Rolfe 等^[7]认为心脏中质子漏对 BMR 的贡献约占 5% ~ 10%. 从脑、肾分离出的线粒体中也发现了质子漏, 并且与肝线

粒体质子漏有相似的特征^[12]. 不过, 在基础条件下, 这些器官比骨骼肌的 ATP 需求量相对要大, 因而质子漏所占比重相对较少.

肝和肌肉消耗的氧气占据了大鼠总氧耗的 60%^[7], 这两种组织中的质子漏共同承担了动物 BMR 的 20%. 假定其他组织中用以驱动质子漏的氧耗比率与肝脏相似, 那么, 各种组织中线粒体质子漏就可能共同承担了 BMR 的 25% ~ 30%^[9]. Rolfe 等^[7]考虑到脑、肾等器官中的 ATP 需求量比骨骼肌相对要大, 因而质子漏所占比重相对较少, 推测质子漏对人体 BMR 的贡献约为 20%.

4 影响线粒体质子漏速率的因素和调节机理

质子漏速率并不是一成不变的, 它的变化可以分为应激变化和长期改变. 细胞中某些反应速率的变化会间接引起 ΔP 的变化, 从而导致质子漏在瞬间内改变速度, 如 ATP 需求, 人为试剂或天然成分如解偶联剂等的直接作用都可以引起应激变化. 激素的作用可以引起质子漏发生长期改变, 这需要几天的时间才能产生效果; 而对于不同种系发生和不同体重的动物来说, 其线粒体质子漏的差异则是一种与进化相关的遗传差别.

动物细胞中的线粒体质子漏速率主要由三个方面决定, 它们是线粒体内膜总面积, ΔP (质子回漏的驱动力) 和内膜本身的质子通透性. ATP 需求通过影响 ΔP 发挥作用. 解偶联剂则利用了解偶联蛋白的催化作用, 相当于增加了膜的质子通透性^[13]. 甲状腺激素可以刺激内膜面积的增长和内膜流动性的增加, 因而通过增加内膜面积和质子通透性起作用^[14]. 单位体重的内膜总面积随物种体重增加而减少, 因此体重的影响可以通过内膜面积的变化得到部分解释^[4]. 不过内膜面积的变化不能解释种系间的质子漏差别, 种系间的差别只能用内膜的质子通透性来解释^[14]. 内膜质子通透性与膜磷脂脂肪酸的不饱和程度、蛋白脂和比等有密切的关系^[15].

5 质子漏在基础代谢中的功能作用

质子漏在基础代谢中表现出四种不同的生理功能^[16]. 产热以维持体温; 提高调节代谢的潜能; 减少有害自由基的产生和碳流的调节.

5.1 产热

质子漏回漏过程中, 所有的自由能都没有被利用, 全部以热的形式释放, 这一产热途径占到基础

代谢产热的 20% ~ 30%。动物需要保持较为稳定的体温, 在热中性区时所需的热全部由基础代谢产生, 因而质子漏产热对动物维持体温有重要的作用。热不能只看作代谢反应不可避免产生的废物, 动物体内不产生热量就无法保持体温, 所以产热可以作为质子漏的一项功能^[16]。不过在恒温动物和变温动物中质子漏的耗氧比例不变, 这可能表明产热不是质子漏的唯一功能, 甚至也不是质子漏的主要功能^[16]。

5.2 提高调节潜能

质子漏的出现使代谢体系缩短了达到稳定状态所需的时间, 提高了对影响因子的敏感性, 增加了更多的调节位点^[16]。中间代谢产物产生和消耗速度越高其净生产率越高, 但即使生产和消耗速度有较匀一的变化也将导致净生产率有较大的变化, 因而提高了控制的灵敏度。线粒体质子漏使 ATP 合成解偶联, 在细胞 ATP 利用过程中, 能够提高灵敏度, 缩短了变化所需的时间, 也就是提高了灵敏度和氧化磷酸化对影响因子作出反应的速度。因而质子漏增加了调节潜能。

5.3 清除有害自由基

BMR 的一项重要功能是清除有害自由基。质子漏是清除自由基的一条途径, 有害自由基的产生与细胞中氧气的浓度成正比, 质子漏的产生可以降低氧浓度, 从而减少了自由基的产生。由于清除自由基不是 BMR 的主要功能^[7], 质子漏的这一功能研究相对较少。

5.4 调节碳流

在休眠的细胞或组织中, 还原态辅酶如 NADH 的浓度可能会增加, 从而危及到某些中间代谢产物的生物合成, 如从草酰乙酸合成必需氨基酸。草酰乙酸的合成及随后的氨基酸合成需要 NAD⁺。同样, 生酮反应需要在没有 NADH 用于 ATP 合成的条件下持续进行脂肪酸氧化。在这些情况下, 质子漏的功能可能是保持细胞中 NAD⁺ / NADH 比值足够高, 以使所需要的碳流能够进行^[16]。

综上所述, 线粒体中质子漏的出现形成了由呼吸链驱动的质子泵出和质子回漏的无效循环通路, 这对细胞呼吸有重要的贡献, 在基础代谢产热中的比例可占到 20% ~ 30%。质子漏速率随细胞对 ATP 的需求而进行调整, 还可以受解偶联剂的催化作用而提高。甲状腺激素水平、体重和种系发生

等都可以影响到质子漏速率, 它们作用的机理不同。质子漏的主要生理功能包括产热、增加代谢调节潜能、清除有害自由基和调节碳流等。

参 考 文 献

- 1 Brand M D, Chien L F, Ainscow E K, *et al.* The causes and functions of mitochondrial proton leak. *Biochim Biophys Acta*, 1994, **1187** (1): 132~ 139
- 2 Brand M D, Chien L F, Dioloz P. Experimental discrimination between proton leak and redox slip during mitochondrial electron transport. *Biochem J*, 1994, **297** (1): 27~ 29
- 3 Brand M D. The proton leak across the mitochondrial inner membrane. *Biochim Biophys Acta*, 1990, **1018** (1): 128~ 133
- 4 Porter R K, Brand M D. Body mass dependence of H⁺ leak in mitochondria and its relevance to metabolic rate. *Nature*, 1993, **362** (6421): 628~ 630
- 5 Nobes C D, Brown G C, Olive P N, *et al.* Non-ohmic proton conductance of the mitochondrial inner membrane in hepatocytes. *J Biol Chem*, 1990, **265** (22): 12903~ 12909
- 6 Harper M E, Brand M D. The quantitative contributions of mitochondrial proton leak and ATP turnover reactions to the changed respiration rates of hepatocytes isolated from rats of different thyroid status. *J Biol Chem*, 1993, **268** (20): 14850~ 14860
- 7 Rolfe D F, Brown G C. Cellular energy utilization and molecular origin of standard metabolic rate in mammals. *Physiol Rev*, 1997, **77** (3): 731~ 758
- 8 Rolfe D F, Newman J M B, Buckingham J A, *et al.* Contribution of mitochondrial proton leak to respiration rate in working skeletal muscle and liver and to SMR. *Am J Physiol*, 1999, **276** (3): C692~ C699
- 9 Brand M D, Bishop T, Boutilier R G, *et al.* Mitochondrial proton conductance, standard metabolic rate and metabolic depression. In: Heldmaier G, Klingenspor M, eds. *Life in the Cold*. Berlin: Springer, 2000. 413~ 430
- 10 Rolfe D F, Brand M D. Proton leak and control of oxidative phosphorylation in perfused, resting rat skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta*, 1996, **1276** (1): 45~ 50
- 11 Challoner D R. Respiration in myocardium. *Nature*, 1968, **217** (5123): 78~ 79
- 12 Rolfe D F, Hulbert A J, Brand M D. Characteristics of mitochondrial proton leak and control of oxidative phosphorylation in the major oxygen consuming tissues of the rat. *Biochim Biophys Acta*, 1994, **1188** (3): 405~ 416
- 13 Stuart J A, Brindle K M, Harper J A, *et al.* Mitochondrial proton leak and the uncoupling proteins. *J Bioenerg Biomembr*, 1999, **31** (5): 517~ 525
- 14 Brand M D, Couture P, Else P L, *et al.* Evolution of energy metabolism: proton permeability of inner membrane of liver mitochondria is greater in a mammal than in a reptile. *Biochim Biophys Acta*, 1991, **1187** (2): 132~ 139
- 15 Brookes P S, Buckingham J A, Tenreiro A M, *et al.* The proton permeability of the inner membrane of liver mitochondrial from ectothermic and endothermic vertebrates and from obese rats: correlations with standard metabolic rate and phospholipid fatty acid composition. *Comp Biochem Physiol Biochem Mol Biol*, 1998, **119** (2): 325~ 334
- 16 Rolfe D F, Brand M D. The physiological significance of mitochondrial proton leak in animal cells and tissues. *Biosci Rep*, 1997, **17** (1): 9~ 16

Proton Leak and its Role in Basal Metabolism^{*}

SONG Zhi-Gang, WANG De-Hua^{**}

(Institute of Zoology, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

Abstract The causes of the proton leak, its contribution to basal metabolic rate (BMR), influencing effect factors, and its physiological significance are reviewed. The mitochondrial proton leak occurs in intact cells and tissues, and divides energy into heat production and ATP turnover. The heat production can account for 20% ~ 30% of BMR. However the ability to allow rapid switching of proton flux from leak to ATP turnover may have an even more important significance than that of heat production. The physiological functions of proton leak are including producing heat, increasing the potential for regulation of metabolism, reducing harmful free radical production and regulating carbon fluxes.

Key words proton leak, basal metabolic rate, mitochondrion

^{*} This work was financially supported by National Natural Science Foundation of China (39970128, 30070125 and 39730090), and the Key Research Programs of the Chinese Academy of Sciences (KZ 951-B1-106).

^{**} Corresponding author. Tel: 86-10-62613511, E-mail: wangdh@panda.ioz.ac.cn

Received: September 8, 2000 Accepted: November 3, 2000