

尿酸转运蛋白在原发性痛风中的研究进展

毛古燧¹, 黄传兵², 汪元², 付俊¹, 闫学朋¹

(1. 安徽中医药大学, 安徽 合肥 230038; 2. 安徽中医药大学第一附属医院, 安徽 合肥 230031)

摘要:痛风是长期嘌呤代谢紊乱所导致的一种炎症性关节炎,具有一定的基因遗传性。基因突变所引起的功能缺失可导致原发性高尿酸血症与痛风,肾脏尿酸盐转运系统是原发性痛风相关基因研究的重点,维持尿酸盐的吸收和分泌平衡对血清尿酸水平的稳定起着决定性的调节作用。该文对目前已发现的与原发性痛风发生、发展相关的尿酸转运蛋白作简要概述,以供临床合理诊治原发性痛风提供参考。

关键词:尿酸转运蛋白;原发性痛风;研究进展

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2017.01.002

Research progress of urate transporter proteins in primary gout

MAO Gusui¹, HUANG Chuanbing², WANG Yuan², FU Jun¹, YAN Xuepeng¹

(1. *Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, Anhui 230038, China*; 2. *The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, Anhui 230031, China*)

Abstract: Gout, a hereditary disease associated with genes, is an inflammatory arthritis caused by long-term abnormal metabolism of purine. Functional deficiency caused by gene mutation may lead to primary hyperuricemia and gout. The transport system of urate in kidney is a research emphasis about genes associated with primary gout. The balance of absorption and secretion of urate in kidney is a major factor determining the serum concentration of uric acid. This article briefly outlines the urate transporter proteins related to the occurrence and development of primary gout. Research offers the reference for further rational diagnosis and treatment of primary gout.

Key words: Urate transporter protein; Primary gout; Research progress

原发性痛风多是由于先天性的嘌呤代谢紊乱或尿酸排泄障碍,血尿酸增高,形成高尿酸血症,随着血尿酸持续增高,晶体开始沉积,引起组织炎症反应,痛风随之发作。痛风是慢性高尿酸血症引起尿酸盐结晶沉积所致的晶体相关性疾病。痛风的发病呈不断递增趋势,这与饮食结构和生活方式的改变密切相关,痛风已呈现高流行、年轻化^[1]。目前,国际上以全基因组关联研究(GWAS)来探索原发性痛风病因与发病机制及其早期诊治,这已成为相关领域的研究热点,GWAS以锁定痛风相关易感基因为目的,研究发现基因突变导致的功能缺陷会影响血清尿酸水平,而尿酸转运体基因与原发性高尿酸血症和痛风相关,尿酸转运蛋白的功能缺陷会加大痛风发病的潜在风险。

1 痛风的发病机制

原发性痛风病因复杂,常与肥胖、高血压、糖尿病及高脂血症相伴发病,其发病危险因素涉及饮食

与遗传基因多态性等^[2],发病机制尚未完全明确。嘌呤代谢的紊乱是尿酸生成的基础,人体内尿酸排泄障碍或尿酸生成过多都会引起血尿酸浓度增高,进而导致痛风的发生。约90%以上的原发性痛风与尿酸排泄减少相关,仅仅10%是由尿酸生成增多引起的。

1.1 尿酸生成增多 人体内的尿酸有20%来源于食物,称为外源性尿酸,也即饮食源性,而体内大部分尿酸主要是由体内核酸分解代谢和其他嘌呤类化合物合成产生的,即内源性尿酸。相关基因突变所引起的尿酸高重吸收和低排泄可引起高尿酸血症,有报道尿酸排泄与家族性和肥胖相关^[3]。次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶(HPRP)和磷酸核糖焦磷酸合成酶(PRPS)的基因缺陷对体内嘌呤代谢影响重大,尤其上述酶的缺陷会导致原发性尿酸生成增多^[4]。嘌呤代谢的紊乱和尿酸排泄障碍是原发性痛风发病的基础,当HPRP基因突变所致的缺陷,会导致HPRP活性降低,内源性嘌呤的合成增多,引起高尿酸血症的产生^[5]。所以,PRPS超活性和HPRP功能缺陷对尿酸合成量起着关键性作用,是高尿酸血症和痛风发生重要的遗传因素。

基金项目:国家中医药管理局重点学科资助项目(2011bbxk003)

通信作者:黄传兵,男,主任医师,硕士生导师,研究方向:中医药防治风湿病的研究,E-mail:chuanbinh@163.com

1.2 尿酸排泄减少 人体内尿酸的排泄主要是通过肾脏进行的,而肾脏中尿酸盐的转运是通过肾小球的滤过、肾小管的重吸收、肾小管的分泌和分泌后的重吸收共同完成的。血尿酸经肾小球滤过,其中98%以上在肾近曲小管重吸收,吸收后再分泌,肾小管是影响尿酸排泄的重要部位。尿酸的净排泄量取决于肾小管的分泌作用以及分泌后的重吸收作用。研究发现,肾小管上皮细胞存在多种尿酸转运蛋白,这些尿酸转运蛋白的基因缺陷造成了嘌呤代谢的紊乱,进而影响了尿酸排泄平衡。GWAS锁定的基因编码与肾尿酸盐转运系统相关的蛋白质,对尿酸的重吸收和分泌起着重要作用,这些基因被称为“尿酸盐转运子”基因,该基因编码的尿酸转运体元件定位于肾近端小管的管腔膜和基底膜上,调节血尿酸水平稳态。尿酸转运体元件包括葡萄糖转运蛋白9(GLUT9)、尿酸阴离子转运蛋白1(URAT1)、有机阴离子转运蛋白溶质转运家族成员(SLC22A6、SLC22A8、SLC22A11、SLC22A13)、Na⁺ + 偶联单羧酸转运蛋白1和2(SLC5A8、SLC5A12)和ATP结合盒亚家族G成员2(ABCG2)。肾小管上皮细胞存在多种尿酸转运相关蛋白,按照功能不同可分为与尿酸排泄相关蛋白、重吸收相关蛋白以及骨架蛋白^[6]。

2 重吸收相关蛋白

2.1 URAT1 URAT1是第一个被发现的与肾脏尿酸盐转运的相关蛋白^[7],属于有机阴离子转运蛋白(OAT)家族,编码基因为SLC22A12,通过介导尿酸从管腔内利用重吸收作用(管腔两侧的浓度梯度和化学梯度)转运到肾小管上皮细胞,这是尿酸重吸收的第一步^[8]。Hosoyamada等^[9]对URAT1基因敲除的小鼠进行研究,发现这些小鼠血肌酐和血液中尿酸盐明显升高,这说明URAT1能减弱尿酸盐的重吸收作用。URAT1基因突变及功能缺失,可以导致尿酸排泄异常和肾脏功能障碍^[10]。功能研究显示,URAT1基因敲除小鼠较正常小鼠排泄的尿酸明显增加^[11]。最近研究发现,在大量的家族性肾性低尿酸血症的病人身上,显示尿酸转运蛋白1存在功能缺陷,这说明URAT1对近曲小管重吸收可能起到了关键性的调节作用。

2.2 GLUT9 GLUT9的编码基因为SLC2A9,是葡萄糖转运蛋白家族一员,葡萄糖转运蛋白9基因位于4p15.3-p16,含1个非编码区外显子和13个编码区外显子,有两种剪切变体:长型异构体(GLUT9L)和短型异构体(GLUT9S)^[12]。GLUT9主要分布于肝脏、肾脏和胎盘,在肾近曲小管中,

GLUT9L位于基底膜侧,而GLUT9S位于管腔侧膜^[13]。GLUT9S与URAT1的功能相似,SLC22A12和SLC2A9基因不仅是高尿酸血症的重要易感基因,也是尿酸水平低下的致病基因,该基因单核苷酸多态性可影响血清尿酸水平^[14]。在肾小管上皮细胞基底膜侧,GLUT9L与尿酸的重吸收密切相关,细胞学研究显示肾脏中GLUT9L的缺失会阻断尿酸的重吸收,这表明GLUT9在尿酸重吸收过程中至关重要。一项对GLUT9基因突变小鼠的研究显示其血尿酸水平增高,而尿酸排泄显著降低^[15]。人体内SLC2A9的功能性缺失可造成尿酸排泄升高,导致血尿酸水平降低^[16]。GLUT9是一种高效的尿酸盐转运蛋白,可以与其他尿酸盐转运蛋白组成尿酸盐转运复合体,介导尿酸的重吸收,维持体内血尿酸的平衡。

2.3 OATs 家族 OATs为有机阴离子转运体家族,已证实是SLC22A亚家族中的成员^[17],目前OATs中的10个成员OAT1~OAT10已被发现^[18],OATs参与转运体内的有机阴离子,OAT1和OAT3位于肾小管上皮细胞基底外侧膜,对尿酸起着逆向转运功能。其中,位于肾小管上皮细胞基底外侧膜的OAT1和OAT3对尿酸起着逆向转运功能,使肾间质中的尿酸转运到肾小管上皮细胞内,对尿酸盐的肾小管分泌起着重要作用。OAT4位于肾小管上皮刷状缘,通过参与尿酸的重吸收对,对尿酸盐进行转运,调节血浆尿酸水平。OAT4与URAT1有53%的同源性,提取有机阴离子并参与转运,使肾小管腔内的尿酸转运到肾脏近端小管细胞内^[19]。日本最近一项研究显示^[20],OAT4基因突变会影响尿酸的重吸收,可能由此引发原发性痛风的发病。

3 尿酸分泌相关蛋白

3.1 ATP结合盒超家族(ATP-binding cassette superfamily, ABC)

3.1.1 ABC转运蛋白G2(ABCG2) ABCG2属于ATP结合盒超家族G亚族,主要在肾脏近曲小管刷状缘膜中表达^[21],对尿酸的分泌起着重要作用,其基因单核苷酸多态性(SNPs)影响蛋白表达水平、底物的转运效率、蛋白活性等^[22]。在肾脏中,ABCG2作为一种尿酸分泌蛋白,主要功能是参与尿酸的分泌作用。体内ABCG2基因的功能性缺陷,会导致血尿酸水平升高,血尿酸平衡被打破,而且尿酸排泄增多,蛋白缺失也愈加严重^[23]。有研究发现,90%的低龄化痛风的病人(发病年龄小于30岁)有该表达的严重缺失,ABCG2基因突变的痛风病人的发病年龄比ABCG2功能正常痛风的病人明显提

前^[24],表明 ABCG2 功能缺失与痛风早期发病相关。随着基因敲除技术的日臻成熟,针对敲除 ABCG2 基因的小鼠实验发现肠道尿酸排泄水平明显降低,ABCG2 可能主要通过肠道对尿酸进行排泄,这说明尿酸转运蛋白发挥作用的多样化。随后其他学者也证实这一点^[25]。ABCG2 突变会导致尿酸转运速率下降,进而使血清尿酸增高,与原发性痛风的家族遗传性程度相关。ABCG2 的功能缺失会影响肾脏排泄尿酸的能力,致使血尿酸水平升高,也可以降低肠道尿酸排泄水平,增加肾脏的尿酸负荷,进而导致痛风发病^[26]。

3.1.2 多重耐药蛋白 4 (multidrug resistance protein 4, MRP4) 多重耐药 (MDR) 是指细胞可耐受结构、功能及杀伤机制不同的多种药物的致死量,一旦对某种药物产生耐受,即可同时对多种药物产生耐受,MRP 可以参与细胞内外多种复合物的转运,调整细胞内物质的分布,也可作为转运泵参与物质转运,是肿瘤细胞产生耐药的原因之一。MRP4 即 ABC 转运蛋白 4 (ABCG4),广泛分布于人体正常组织,肾脏、肝脏、小肠等器官较为丰富,可以转运体内各种内源性物质,在肾脏主要表达于近曲小管顶端膜。有研究显示 MRP4 可以显著促进人体树突状细胞向淋巴结转移,对免疫应答和免疫治疗可能起着相关的靶作用^[27]。MRP4 是第一个被发现的位于顶端膜介导尿酸盐分泌的转运子,参与肾脏中尿酸盐的转运,使其从上皮细胞进入肾小管腔内,另外它还转运肾脏中的其他底物。敲除编码 MRP4 基因的鸟类尿酸排泄量较对照组减少 35%^[28]。MRP4 在肝细胞的基侧膜也有表达,参与肝脏对尿酸的转运^[29]。尿酸经过肝细胞转运入血液,肝细胞基底外侧膜上的 MRP4 可能参与其转运,MRP4 是一种外排性转运体,目前其转运机制尚不明确。

3.2 Na⁺/磷酸盐协同转运蛋白 (NPT) NPT 是一种钠依赖性磷酸转运蛋白,在肾近曲小管顶膜上表达,其中 NPT1、NPT4 参与尿酸盐的分泌,也会介导有机阴离子跨膜转运。NPT1 能将尿酸盐分泌到肾小管管腔,NPT1 活性降低血清尿酸水平会明显上升。Chiba 等^[30]证明 NPT1 锚定于近曲小管顶膜,第 269 位异亮氨酸被苏氨酸替换的功能获得性突变会降低患尿酸排泄型痛风的风险,NPT1 可能是肾脏中尿酸排泄的首要转运蛋白,而 ABCG2 主要介导肠道尿酸的转运。SLC17A3/NPT4 参与尿酸及多种阴离子的排泄,Jutabha 等^[31]研究发现 NPT4 的第 257 位缬氨酸被组氨酸替换降低尿酸盐的转运水平,进而导致尿酸排泄量减小。

4 骨架蛋白

PDZ 结构域蛋白 1 是一种骨架蛋白,在体内广泛表达,在肾脏、肝脏及胃肠道均有发现。有研究发现 PDZ 蛋白激酶 1 基因单核苷酸多态性对原发性痛风发病具有遗传易感性^[32]。在肾脏,PDZK1 可能并不单一表达,而是通过其结构域与 GLUT9、URAT1 等共表达,使这些转运蛋白的活性更加稳定,是维持这些蛋白的正常构象和功能的关键^[33]。但目前 PDZK1 参与尿酸转运的机制尚有待进一步研究。

5 其他尿酸转运蛋白

近年来,一些其他尿酸转运蛋白也相继在肾脏近曲小管上皮细胞发现并被部分证实,例如单羧酸盐转运体 9 (monocarboxylate transporter 9, MCT9),其编码基因为 SLC16A9,与 NPT 相似,它也是一种钠离子依赖型转运蛋白。一项 Meta 分析表明 MCT9 的 SNPs 与血尿酸水平有关^[34],但其底物及作用机制目前尚不清楚。其次,UAT 为生电型尿酸盐/阴离子交换体,它在人体组织中广泛分布,主要表达于肾脏和肠道,介导尿酸盐从近曲小管分泌进入管腔,对调节全身尿酸的稳性发挥着重要作用^[35]。另外还存在 LRRC16A 蛋白,主要表达于肾脏,其编码基因为 LRRC16A,可调节肌动蛋白的聚合^[36],LRRC16A 蛋白在肌动蛋白的聚合过程中起着重要作用,参与提供肌动蛋白加帽蛋白抑制剂,此过程的调控异常和紊乱使尿酸盐转运不能正常完成^[37]。但是 LRRC16A 基因调节血尿酸水平的机制尚不清楚。

6 总结与展望

近年来有大量和尿酸转运相关的基因和蛋白相继被发现,虽然它们只能解释一部分原发性痛风发生、发展的原因,但已明白其中一些尿酸转运蛋白以及载体起着关键性的作用,为深入研究痛风的发生机制与防治策略提供了线索。鉴于目前尚缺乏针对我国痛风病人的大型基因调查数据,作为有效的尿酸盐转运通道尚未出现有关体内试验的研究报道,这些都有待将来的深入研究与探索。这些尿酸转运蛋白在定位、结构和功能上相互协同,提示需从多角度评估和研究尿酸的转运,研究尿酸转运蛋白及其表达调控机制可以进一步深化对原发性痛风发生机制的认识。围绕尿酸转运蛋白调节尿酸转运机制的研究已成为研究原发性痛风发病机制的热点,这也是设计新型降尿酸药物的重要靶点,有关研究必将为痛风的诊治提供新的理论依据。

参考文献

- [1] 王靖宇, 常宝成. 高尿酸血症/痛风流行病学特点及危险因素[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2016, 36(2): 78-81.
- [2] 侯蕾蕾, 赵心童, 贺圣文, 等. 痛风遗传易感基因及相关危险因素病例对照研究[J]. 中国慢性病预防与控制, 2013, 21(6): 663-665.
- [3] 张振文, 马洪杰, 赵秀芳, 等. 原发性痛风临床特点及危险因素分析[J]. 武警医学, 2011, 22(8): 649-651.
- [4] SCOTT DGI, WATTS RA. Landmark papers in rheumatology[M]. London: Oxford University Press, 2015: 237-241.
- [5] YAMADA Y, YAMADA K, NOMURA N, et al. Molecular analysis of X-linked inborn errors of purine metabolism: HPRT1 and PRPS1 mutations[J]. Nucleos Nucleot Nucl Ac, 2011, 30(12): 1272-1275.
- [6] 张冰清, 张响, 曾学军. 尿酸转运蛋白是治疗高尿酸血症的新靶点[J]. 基础医学与临床, 2014, 34(11): 1582-1585.
- [7] 张彩香, 祝开思. 尿酸盐转运体研究现状及其药物研发[J]. 药物与临床, 2015, 12(13): 24-27.
- [8] NAKANISHI T, OHYA K, SHIMADA S, et al. Functional cooperation of URAT1 (SLC22A12) and URATv1 (SLC2A9) in renal reabsorption of urate[J]. Nephrol Dial Transplant, 2013, 28: 603-611.
- [9] HOSOYAMADA M, TAKIUE Y, MORISAKI H, et al. Establishment and analysis of SLC22A12 (URAT1) knockout mouse[J]. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, 2010, 29(4/6): 314-320.
- [10] LI Z, DING H, CHEN C, et al. Novel URAT1 mutations caused acute renal failure after exercise in two Chinese families with renal hypouricemia[J]. Gene, 2013, 512(1): 97-101.
- [11] ERALY SA, VALLON V, RIEG T, et al. Multiple organic anion transporters contribute to net renal excretion of uric acid[J]. Physiol Genomics, 2008, 33: 180-192.
- [12] 林绍鹏, 潘速跃. 生物信息学辅助克隆和分析人 GLUT-9 基因启动子[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(18): 2961-2963.
- [13] WITKOWSKA K, SMITH KM, YAO SY, et al. Human SLC2A9a and SLC2A9b isoforms mediate electrogenic transport of urate with different characteristics in the presence of hexoses[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2012, 303: 527-539.
- [14] 周丹秋, 顾小叶, 李佩蕾, 等. 中国男性痛风病人 SLC2A9 基因单核苷酸多态性与尿酸水平的关系[J]. 中华风湿病学杂志, 2011, 15(9): 596-599.
- [15] KIMURA T, AMONPATUMRAT S, TSUKADA A, et al. Increased expression of SLC2A9 decreases urate excretion from the kidney[J]. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, 2011, 30: 1295-1301.
- [16] KAWAMURA Y, MATSUO H, CHIBA T, et al. Pathogenic GLUT9 mutations causing renal hypouricemia type2 (RHUC2) [J]. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, 2011, 30: 1105-1111.
- [17] ROTH M, OBAIDAT A, HAGENBUCH B. OATPs, OATs and OCTs: the organic anion and cation transporters of the SLCO, and SLC22A, gene superfamilies[J]. British Journal of Pharmacology, 2012, 165(5): 1260-1287.
- [18] BHATNAGAR V, RICHARD EL, WEI W, et al. Analysis of ABCG2 and other urate transporters in uric acid homeostasis in chronic kidney disease: potential role of remote sensing and signaling[J]. Ckj Clinical Kidney Journal, 2016, 9(3): 444-453.
- [19] ANTHONY M, REGINATO, DAVID B, et al. The genetics of hyperuricaemia and gout[J]. Nat Rev Rheumatol, 2012, 8(10): 610-621.
- [20] SAKIYAMA M, MATSUO H, SHIMIZU S, et al. A common variant of organic anion transporter 4 (OAT4 /SLC22A11) gene is associated with renal underexcretion type gout[J]. Drug Metab Pharmacol, 2014, 29(2): 208-210.
- [21] WOODWARD OM, KOTTGEN A, CORESH J, et al. Identification of a urate transporter, ABCG2, with a common functional polymorphism causing gout[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(25): 10338-10342.
- [22] 张蓓, 孙玉萍, 姚华. hURAT1、SLC2A9、ABCG2 与高尿酸血症、痛风的关系及临床意义[J]. 医学综述, 2013, 19(2): 216-218.
- [23] ICHIDA K, MATSUO H, TAKADA T, et al. Decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia[J]. Nat Commun, 2012, 3: 764.
- [24] MATSUO H, ICHIDA K, TAKADA T, et al. Common dysfunctional variants in ABCG2 are a major cause of early-onset gout[J]. Sci Rep, 2013, 3: 2014.
- [25] HOSOMI A, NAKANISHI T, FUJITA T, et al. Extra-renal elimination of uric acid via intestinal efflux transporter BCRP/ABCG2 [J]. PLoS One, 2012, 7(2): e30456.
- [26] MATSUO H, NAKAYAMA A, SAKIYAMA M, et al. ABCG2 dysfunction causes hyperuricemia due to both renal urate underexcretion and renal urate overload[J]. Sci Rep, 2014, 4: 3755.
- [27] VAN-DE-VEN R, SCHEFFER GA, LINDENBERG J, et al. A role for multidrug resistance protein 4 (MRP4; ABCG4) in human dendritic cell migration[J]. Blood, 2008, 112(6): 2353-2359.
- [28] BATAILLE AM, MAFFEO CL, RENFRO JL. Avian renal proximal tubule urate secretion is inhibited by cellular stress-induced AMP-activated protein kinase[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2011, 300(6): 1327-1338.
- [29] RUSSEL FGM, KOENDERINK JB, MASEREUEW R. Multidrug resistance protein 4 (MRP4/ABCC4): a versatile efflux transporter for drugs and signalling molecules[J]. Trends in Pharmacological Sciences, 2008, 29(4): 200-207.
- [30] CHIBA T, MATSUO H, KAWAMURA Y, et al. NPT1/SLC17A1 is a renal urate exporter in humans and its common gain-of-function variant decreases the risk of renal underexcretion gout[J]. Arthritis Rheumatol, 2015, 67(1): 281-287.
- [31] JUTABHA P, ANZAI N, KIMURA T, et al. Functional analysis of human sodium-phosphate transporter 4 (NPT4/SLC17A3) polymorphisms[J]. J Pharmacol Sci, 2011, 115(2): 249-253.
- [32] 王晓敏, 李鑫德, 苗志敏, 等. PDZ 蛋白激酶 1 基因 rs1967017 位点单核苷酸多态性与中国山东汉族男女性人群原发性痛风的相关性研究[J]. 中华风湿病学杂志, 2016, 20(3): 187-190.
- [33] BOBULESCU IA, MOE OW. Renal transport of uric acid: evolving concepts and uncertainties[J]. Adv Chronic Kidney Dis, 2012, 19: 358-371.
- [34] KOLZ M, JOHNSON T, SANNA S, et al. Meta-analysis of 28, 141 individuals identifies common variants within five new loci that influence uric acid concentrations[J]. PLoS Genet, 2009, 5(6): e1000504.
- [35] LEAL-PINTO E, TAO WJ, RAPPAPORT J, et al. Molecular cloning and functional reconstitution of a urate transporter/channel[J]. Biol Chem, 1997, 272(1): 617-625.
- [36] 任贵生, 胡伟新. 肾脏调节尿酸排泄的分子机制[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2014, 23(5): 467-471.
- [37] SAKIYAMA M, MATSUO H, SHIMIZU S, et al. A common variant of leucine-rich repeat-containing 16A (LRRC16A) gene is associated with gout susceptibility[J]. Human Cell, 2013, 27(1): 1-4.