

· 综述 ·

三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G2 与痛风/高尿酸血症

文钟 童晓霞 谢文光 青玉凤 钟晓武 周京国

【摘要】 三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G2(ABCG2)是 ABC 转运蛋白超家族成员之一,编码基因位于 4 号染色体上,为定位于细胞膜的转运蛋白,在肝、肾、肠等组织广泛表达,具有转运尿酸的功能,其功能异常会导致尿酸排泄减少。目前已经发现,多种单基因多态性影响 ABCG2 的尿酸转运功能,从而引起高尿酸血症和痛风。所以研究 ABCG2 靶点药物意义重大,但仍需进一步研究。

【关键词】 尿酸;高尿酸血症;痛风;三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G2;ABC 转运蛋白超家族;遗传多态性

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81670801);国家卫计委公益性行业科研专项(201502024);四川省教育厅资助科研项目(16CZ0023)

ATP-binding cassette sub-family G member 2 and gout/hyperuricemia Wen Zhong*, Tong Xiaoxia, Xie Wenguang, Qing Yufeng, Zhong Xiaowu, Zhou Jingguo. * Department of Rheumatology and Immunology, The North Sichuan Medical College, Nanchong 637000 China
Corresponding author: Zhou Jingguo, Email: jgzhou@nsmccmc.edu.cn

【Abstract】 ATP-binding cassette sub-family G member 2(ABCG2) is one of the members of the ATP-binding cassette transporter superfamily. The coding gene is located on chromosome 4 and it is a transporter located in the cell membrane. It is widely expressed in liver, kidney and intestine. ABCG2 has the function of transporting uric acid, abnormal function of it can lead to decrease of uric acid excretion. It has been found that multiple single-gene polymorphisms affect the uric acid transport function of ABCG2 and cause hyperuricemia and gout. Therefore, research on ABCG2 target drug is significant, but it still need further study.

【Key words】 Uric acid; Hyperuricemia; Gout; ATP-binding cassette sub-family G member 2; ABC transporter superfamily; Genetic polymorphism

Fund program: National Natural Science Foundation of China(81670801); Special Research Project for National Health And Family Planning Commission in the Public Welfare Industry(201502024); Project Funded by Sichuan Provincial Department of Education(16CZ0023)

痛风是由于嘌呤代谢紊乱和(或)尿酸排泄减少,导致尿酸晶体沉积于组织或器官的一组疾病^[1]。有文献报道,高尿酸血症和痛风与血脂、血糖异常、慢性肾功能不全、高血压、冠心病、急性心肌梗死及脑卒中有显著相关性^[2]。尿酸转运蛋白作为痛风、高尿酸血症重要的治疗靶点,已经成为近年的研究热点,对尿酸转运蛋白的深入研究有利于发现痛风及高尿酸血症的发病基础。本文将对尿酸转运蛋白三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G2(ABCG2)的

结构、组织分布、生物学功能、遗传基因多态性、靶点药物研究等方面作一综述。

1 ABCG2 的结构

ABCG2 基因位于 4q22.1,由 20 个外显子组成,mRNA 全长 2 247 bp,编码区 1 968 bp,编码含 655 个氨基酸的蛋白,蛋白相对分子质量为 72 000。ABCG2 蛋白是 20 世纪 90 年代由 Doyle 等^[3]首次发现的一种跨膜转运蛋白,为 ABC 转运蛋白超家族成员之一,定位于细胞膜。它含有 1 个跨膜结构域(TMD)和 1 个 ATP 结合域(NBD),为半转运蛋白,在细胞膜中以四聚体形式存在并行使功能^[4]。ABCG2 蛋白 N 端为 NBD 区域,该区域在 ATP 酶的作用下通过结合、催化及水解 ATP,将能量传递于高度疏水的 C 端 TMD 区域,并通过 TMD 区域行使对底物的识别及跨膜转运功能。如果 NBD 区域缺乏

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2017.06.017

作者单位:637000 南充,川北医学院附属医院风湿免疫科(文钟,童晓霞,青玉凤,周京国),医学研究中心(谢文光),检验科(钟晓武);637000 南充,川北医学院风湿免疫研究所(谢文光);610083 成都医学院(周京国)

通信作者:周京国,Email: jgzhou@nsmccmc.edu.cn

ATP 酶,将导致ABCG2蛋白加工及折叠缺陷,从而影响ABCG2转运功能,其中ABCG2 Q141K位点突变是导致ABCG2功能丧失的最主要原因^[5]。此外,在2016年Ripperger和Benndorf^[6]的研究又对Q141K位点突变导致ABCG2功能异常有了新的解释,认为Q141K突变体导致蛋白表达减少是由于转录过程microRNA与靶基因mRNA序列3'非翻译区结合,抑制ABCG2翻译过程所致。可见Q141K突变体功能异常不仅与构象异常有关,更有负调控机制参与其中。

2 ABCG2 的组织分布

ABCG2 蛋白组织分布广泛。在肾脏近端肾小管上皮的顶膜(刷状缘)、小肠、大肠黏膜上皮细胞、肝细胞、肺泡上皮细胞、皮脂腺、膀胱移行上皮细胞、睾丸间质细胞、前列腺上皮细胞、子宫颈管细胞、宫颈鳞状上皮细胞、胰岛细胞、胰腺腺泡细胞、肾上腺网状带及胎盘合体滋养细胞中均发现ABCG2蛋白的表达^[7-8]。

3 ABCG2 的生物学功能

ABCG2 功能多样,一方面可以作为药物泵,限制化疗药物、免疫抑制剂、抗病毒药物向细胞内转运,导致药物耐药,降低药物的治疗效果^[9-11]。另一方面ABCG2还参与了血-脑屏障、血-胎盘屏障、血-睾屏障的保护作用,限制有害因素的侵入^[12-14]。

而近年来的研究又证实,ABCG2是一种高容量尿酸转运蛋白,参与尿酸的外排作用。有研究发现,LLC-PK1细胞(猪肾小管上皮细胞)表达的ABCG2功能在被抑制后,尿酸的排泄与对照相比明显降低。进一步通过对表达有人ABCG2的非洲爪蟾卵母细胞进行尿酸清除率的计算,发现细胞内尿酸盐含量下降高达75%^[16]。由此可见ABCG2蛋白有极强的尿酸转运能力。

而Takada等^[17]在小鼠模型的体内实验中对尿液、胆汁和肠腔内尿酸排泄进行研究发现,ABCG2基因敲除小鼠肾尿酸排泄量增加,而肠道尿酸排泄量减少到不足一半,血尿酸水平显著高于对照小鼠,而胆汁尿酸排泄无明显差异。由此可见,肠道尿酸排泄减少最终导致了ABCG2基因敲除小鼠血尿酸升高。此观点与通常意义理解的ABCG2功能障碍导致肾尿酸排泄减少的结论相反。推测可能与肾脏拥有一套完备的尿酸转运蛋白系统有关。在ABCG2发生功能障碍时,通过增加肾脏上其他外排型尿酸转运蛋白的表达量及转运能力,使得尿酸总体的排泄分数不降反升,从而大大增加了尿酸的排泄。而肠道则不具备这样的能力。

4 ABCG2 的基因多态性

4.1 Q141K(rs2231142) 目前对Q141K位点的研究是最全面、最完善的。该位点与血尿酸密切相关,

欧洲人群10%的痛风患者与该突变相关^[15]。在我国以及韩国的研究均发现其Q141K多态性,与痛风的患病风险显著相关^[18-20]。另一项荟萃分析数据显示,Q141K与美国、日本、德国、中国汉族、新西兰(毛利人、白种人、太平洋岛国人群)人群的痛风风险显著相关。数据分析种族与性别之间差异时,发现Q141K与痛风风险之间的关联在白种人和蒙古人种显著,而在波利尼西亚种族中不显著,在男性与女性之间也存在明显的异质性。可见在不同种族、性别之间应采取与之相适应的痛风预防、干预策略,个体化治疗^[21]。除以上研究外,还发现ABCG2 Q141K突变在肥胖男性和消瘦男性之间的效应有统计学差异,并且体重指数与尿酸水平之间的趋势接近正相关,肥胖者ABCG2单核苷酸多态性指数对尿酸盐的影响程度比消瘦男性减少一半以上,可见肥胖增加了Q141K位点突变风险^[22]。另外在日本人群的研究发现,占88.2%的有轻度至重度ABCG2功能障碍的痛风患者为20岁以下的早发痛风患者^[23]。可见Q141K突变体还可以明显增加20岁以下早发痛风的发病风险。

4.2 V12M(rs2231137)和Q126X(rs72552713)

V12M、Q126X为ABCG2另两个常见的错义突变。其中在对中国台湾汉族和原住民的痛风患者研究发现,V12M突变体不论在汉族人群还是原住民均与痛风显著相关,而Q126X仅与汉族人群显著相关,与原住民无相关性。可见Q126X在中国台湾汉族与原住民两种种族间存在明显异质性^[24]。另外一项荟萃分析对来自3个国家(中国、新西兰和德国)的人群研究显示,Q126X突变体显著增加了亚洲人的痛风风险,而在其他人种未发现相关性^[25]。由此可见,Q126X变异体有明显的种族差异性。

4.3 rs2199936 研究发现,rs2199936位点突变将导致老年期发生痛风的风险增加3.29倍,其中老年女性痛风与rs2199936突变的相关性比老年男性更高^[26]。所以可以推测在中年期如果存在rs2199936位点突变,尤其是女性,将预示着在老年期痛风发病风险大大增加。

4.4 rs10011796 研究发现,rs10011796位点与西波利尼西亚痛风石性痛风患者有显著相关性,但与东波利尼西亚和非波利尼西亚人群痛风石性痛风患者无相关性^[27]。该位点是否确实存在明显地域差异,是否一定与痛风石性痛风相关,目前缺乏其他文献报道支持,还需进一步证实。

5 以 ABCG2 为靶点的药物治疗

别嘌醇是一种黄嘌呤氧化酶抑制剂,有强大的抑制尿酸生成作用,在痛风的降尿酸治疗中有着举足轻重的作用。一项针对别嘌醇降尿酸效果与

ABCG2 的关联研究发现, Q141K (ABCG2) 突变与别嘌呤醇的药效反应不佳显著相关, 在调整年龄、性别、体重指数、种族、肾小球滤过率、利尿剂使用等可变因素后这种相关性仍然显著^[28]。虽然以上的研究仅发现 ABCG2 Q141K 突变体对别嘌呤醇降尿酸能力会产生影响。但是 Q141K 突变体作为 ABCG2 最常见的错义突变, 有此位点突变痛风人数众多, 这样将大大降低别嘌呤醇降尿酸的治疗率, 导致痛风不断进展。而另一种降尿酸药物非布司他是否也有类似的影响还有待进一步研究。

关于中药对尿酸转运蛋白影响的相关性研究报道极少, 其中针对 ABCG2 的研究也只是近几年才有零星的报道。

(1) 复方土茯苓: 李静^[29] 将雄性高尿酸血症模型 Sprague-Dawley 大鼠给予复方土茯苓治疗后, 检测尿酸水平, 并取出大鼠肝、肾、肠组织行 qRT-PCR, Western 印迹及免疫组化, 证实复方土茯苓可能通过增加 ABCG2 的表达, 促进尿酸排泄。

(2) 穿山龙总皂苷: 卢芳等^[30] 通过检测高尿酸血症小鼠肾脏 ABCG2 蛋白的 mRNA 和蛋白表达水平, 发现高尿酸血症小鼠模型组 ABCG2 蛋白表达降低, 而穿山龙总皂苷高、中、低剂量组均显示 ABCG2 蛋白的表达增加。

(3) 虎杖-桂枝: 施琬等^[31] 对雄性高尿酸血症模型 Sprague-Dawley 大鼠分析认为, 虎杖-桂枝可以明显升高小肠 ABCG2 表达, 促进尿酸排泄。

以上几位中国学者的研究发现, 中药能对尿酸转运关键因子——ABCG2 蛋白起作用, 但以上研究仅针对动物模型, 还缺乏相关的功能研究。

痛风治疗最关键的就是对尿酸的控制, 尿酸水平控制在合理范围才有利于控制痛风的反复发作。ABCG2 作为一种重要的尿酸转运蛋白, 在调控人体尿酸平衡中起着至关重要的作用。对 ABCG2 的研究目前还处于起步阶段, 需不断的深入研究才有利于发现痛风及高尿酸血症所致的尿酸失衡的分子生物学机制。找寻新的高尿酸血症相关的基因多态性, 发现新的痛风治疗靶点, 开发新的药物, 有利于痛风的早期诊断及治疗。

参 考 文 献

- [1] Richette P, Bardin T. Gout [J]. Lancet, 2009, 375 (9711): 318-328. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60883-7.
- [2] 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. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2016.02.002.
- [3] Doyle LA, Yang W, Abruzzo LV, et al. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998, 95(26): 15665-15670.
- [4] Wong K, Briddon SJ, Holliday ND, et al. Plasma membrane dynamics and tetrameric organisation of ABCG2 transporters in mammalian cells revealed by single particle imaging techniques [J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1863(1): 19-29. DOI: 10.1016/j.bbamer.2015.10.002.
- [5] Sarankó H, Tordai H, Telbisz Á, et al. Effects of the gout-causing Q141K polymorphism and a CFTR $\Delta F508$ mimicking mutation on the processing and stability of the ABCG2 protein [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 437(1): 140-145. DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.06.054.
- [6] Ripberger A, Benndorf RA. The C421A (Q141K) polymorphism enhances the 3'-untranslated region (3'-UTR)-dependent regulation of ATP-binding cassette transporter ABCG2 [J]. Biochem Pharmacol, 2016, 104: 139-147. DOI: 10.1016/j.bcp.2016.02.011.
- [7] Huls M, Brown CD, Windass AS, et al. The breast cancer resistance protein transporter ABCG2 is expressed in the human kidney proximal tubule apical membrane [J]. Kidney Int, 2008, 73(2): 220-225. DOI: 10.1038/sj.ki.5002645.
- [8] Fetsch PA, Abati A, Litman T, et al. Localization of the ABCG2 mitoxantrone resistance-associated protein in normal tissues [J]. Cancer Lett, 2006, 235(1): 84-92. DOI: 10.1016/j.canlet.2005.04.024.
- [9] Westover D, Li F. New trends for overcoming ABCG2/BCRP-mediated resistance to cancer therapies [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2015, 34: 159. DOI: 10.1186/s13046-015-0275-x.
- [10] Atisha-Fregoso Y, Lima G, Pascual-Ramos V, et al. Rheumatoid arthritis disease activity is determinant for ABCB1 and ABCG2 drug-efflux transporters function [J]. PLoS One, 2016, 11(7): e0159556. DOI: 10.1371/journal.pone.0159556.
- [11] Tsuchiya K, Hayashida T, Hamada A, et al. Low raltegravir concentration in cerebrospinal fluid in patients with ABCG2 genetic variants [J]. J Acquir Immune Defic Syndr, 2014, 66(5): 484-486. DOI: 10.1097/QAI.0000000000000222.
- [12] Bauer M, Römermann K, Karch R, et al. Pilot PET study to assess the functional interplay between ABCB1 and ABCG2 at the human Blood-brain barrier [J]. Clin Pharmacol Ther, 2016, 100(2): 131-141. DOI: 10.1002/cpt.362.
- [13] Kumar JS, Wei BR, Madigan JP, et al. Bioluminescent imaging of ABCG2 efflux activity at the blood-placenta barrier [J]. Sci Rep, 2016, 6: 20418. DOI: 10.1038/srep20418.
- [14] Klein DM, Cherrington NJ. Organic and inorganic transporters of the testis: a review [J]. Spermatogenesis, 2015, 4(2): e979653. DOI: 10.4161/21565562.2014.979653.
- [15] Woodward OM, Köttgen A, Coresh J, et al. Identification of a urate transporter, ABCG2, with a common functional polymorphism causing gout [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(25): 10338-10342. DOI: 10.1073/pnas.0901249106.
- [16] Woodward OM, Köttgen A, Köttgen M. ABCG transporters and disease [J]. FEBS J, 2011, 278(18): 3215-3225. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2011.08171.x.
- [17] Takada T, Ichida K, Matsuo H, et al. ABCG2 dysfunction increases serum uric acid by decreased intestinal urate excretion [J]. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, 2014, 33(4-6): 275-281. DOI: 10.1080/15257770.2013.854902.
- [18] 吴蕾, 何耀, 张迪. ABCG2 基因 rs2231142 位点基因多态性与东亚人群痛风相关性研究的 Meta 分析 [J]. 中华流行病学杂志, 2015, 36(11): 1291-1296. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.11.022.

- [19] 余家会, 何霞, 张蓓, 等. 新疆地区维吾尔族和汉族人群 ABCG2 基因 rs2231142 位点多态性与高尿酸血症的相关性[J]. 临床检验杂志, 2015, 33(2):142-146. DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2015.02.16.
- [20] Kim YS, Kim Y, Park G, et al. Genetic analysis of ABCG2 and SLC2A9 gene polymorphisms in gouty arthritis in a Korean population[J]. Korean J Intern Med, 2015, 30(6):913-920. DOI: 10.3904/kjim.2015.30.6.913.
- [21] Dong Z, Guo S, Yang Y, et al. Association between ABCG2 Q141K polymorphism and gout risk affected by ethnicity and gender: a systematic review and meta-analysis[J]. Int J Rheum Dis, 2015, 18(4):382-391. DOI:10.1111/1756-185X.12519.
- [22] Huffman JE, Albrecht E, Teumer A, et al. Modulation of genetic associations with serum urate levels by body-mass-index in humans[J]. PLoS One, 2015, 10(3):e0119752. DOI:10.1371/journal.pone.0119752.
- [23] 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. DOI: 10.1038/srep02014.
- [24] Stiburkova B, Miyata H, Závada J, et al. Novel dysfunctional variant in ABCG2 as a cause of severe tophaceous gout: biochemical, molecular genetics and functional analysis[J]. Rheumatology (Oxford), 2016, 55(1):191-194. DOI:10.1093/rheumatology/kev350.
- [25] Li R, Miao L, Qin L, et al. A meta-analysis of the associations between the Q141K and Q126X ABCG2 gene variants and gout risk[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(9):9812-9823.
- [26] Burke BT, Köttgen A, Law A, et al. Gout in older adults: the atherosclerosis risk in communities study[J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2016, 71(4):536-542. DOI: 10.1093/gerona/glv120.
- [27] He W, Phipps-Green A, Stamp LK, et al. Population-specific association between ABCG2 variants and tophaceous disease in people with gout[J]. Arthritis Res Ther, 2017, 19(1):43. DOI: 10.1186/s13075-017-1254-8.
- [28] Roberts RL, Wallace MC, Phipps-Green AJ, et al. ABCG2 loss-of-function polymorphism predicts poor response to allopurinol in patients with gout[J]. Pharmacogenomics J, 2017, 17(2):201-203. DOI:10.1038/tpj.2015.101.
- [29] 李静. 复方土茯苓颗粒治疗痛风患者高尿酸血症疗效及基于 ABCG2 降尿酸机制研究[D]. 广州中医药大学, 2016.
- [30] 卢芳, 周琦, 张颖, 等. 基于痛风性关节炎 ABCG2 尿酸转运靶点的穿山龙调控机制研究[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(5):1057-1061. DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2016.05.010.
- [31] 施琬, 李钟, 顾祖莲, 等. 虎杖-桂枝药对配伍对大鼠慢性高尿酸血症和肾、肠尿酸转运体表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(2):107-112. DOI:10.13422/j.cnki.syfx.2016020107.

(收稿日期:2017-04-23)

(上接第 410 页)

- [16] Nesbitt V, Pitceathly RD, Turnbull DM, et al. The UK MRC mitochondrial disease patient cohort study: clinical phenotypes associated with the m.3243A>G mutation--implications for diagnosis and management[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2013, 84(8):936-938. DOI:10.1136/jnnp-2012-303528.
- [17] Chinnery PF, Hudson G. Mitochondrial genetics[J]. Br Med Bull, 2013, 106:135-159. DOI:10.1093/bmb/ldt017.
- [18] Jokinen R, Marttinen P, Sandell HK, et al. Gimap3 regulates tissue-specific mitochondrial DNA segregation[J]. PLoS Genet, 2010, 6(10):e1001161. DOI: 10.1371/journal.pgen.1001161.
- [19] Shanske S, Pancrudo J, Kaufmann P, et al. Varying loads of the mitochondrial DNA A3243G mutation in different tissues: implications for diagnosis[J]. Am J Med Genet A, 2004, 130A(2):134-137. DOI:10.1002/ajmg.a.30220.
- [20] Laloi-Michelin M, Meas T, Ambonville C, et al. The clinical variability of maternally inherited diabetes and deafness is associated with the degree of heteroplasmy in blood leukocytes[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2009, 94(8):3025-3030. DOI:10.1210/jc.2008-2680.
- [21] de Laat P, Koene S, van den Heuvel LP, et al. Clinical features and heteroplasmy in blood, urine and saliva in 34 Dutch families carrying the m.3243A>G mutation[J]. J Inher Metab Dis, 2012, 35(6):1059-1069. DOI:10.1007/s10545-012-9465-2.
- [22] Sue CM, Quigley A, Katsabanis S, et al. Detection of MELAS A3243G point mutation in muscle, blood and hair follicles[J]. J Neurol Sci, 1998, 161(1):36-39.
- [23] Singh R, Ellard S, Hattersley A, et al. Rapid and sensitive real-time polymerase chain reaction method for detection and quantification of 3243A>G mitochondrial point mutation[J]. J Mol Diagn, 2006, 8(2):225-230. DOI:10.2353/jmolx.2006.050067.
- [24] Liou CW, Huang CC, Lin TK, et al. Correction of pancreatic beta-cell dysfunction with coenzyme Q(10) in a patient with mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes syndrome and diabetes mellitus[J]. Eur Neurol, 2000, 43(1):54-55. DOI:8130.
- [25] Dongre UJ, Meshram VG. Evaluation of glutathione dependant antioxidant enzymes in maternally inherited type 2 diabetes mellitus[J]. J Pharm Sci Res, 2015, 7(3):137-140.
- [26] Sinnathuray AR, Raut V, Awa A, et al. A review of cochlear implantation in mitochondrial sensorineural hearing loss[J]. Otol Neurotol, 2003, 24(3):418-426.
- [27] Guéry B, Choukroun G, Noël LH, et al. The spectrum of systemic involvement in adults presenting with renal lesion and mitochondrial tRNA(Leu) gene mutation[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(8):2099-2108.
- [28] Silveiro SP, Canani LH, Maia AL, et al. Myocardial dysfunction in maternally inherited diabetes and deafness[J]. Diabetes Care, 2003, 26(4):1323-1324.

(收稿日期:2017-02-09)