

Research Advances in Urate Oxidase

Peng Haibo^{1†}

1. Marine life college, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

†Email: penghaibo@stu.ouc.edu.cn

Abstract

Urate oxidase is an important medicinal enzyme, which is used clinically to diagnose and treat gout, hyperuricemia and tumor lysis syndrome and other diseases. Despite its various sources, but almost all the urate oxidase preparations were accompanied by defects such as expensive, immunogenic, and unstable. Here in this paper, the status, resources, existing problems and current research focus of urate oxidase were reviewed.

Keywords: Urate Oxidase; Gout; Hyperuricemia; Research Advances

尿酸氧化酶的研究进展

彭海波¹

1. 中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003

摘要: 尿酸氧化酶是一种重要的医药用酶, 临床上用来诊断和治疗痛风、高尿酸血症以及肿瘤溶解综合征等疾病。虽然其来源广泛, 但现有尿酸氧化酶制剂普遍存在价格贵、具有免疫原性、稳定性差等缺陷。本文综述了医用尿酸氧化酶治疗痛风的现状, 医用尿酸氧化酶的来源、存在的问题以及其现阶段的研究热点。

关键词: 尿酸氧化酶; 痛风; 高尿酸; 研究进展

尿酸的代谢及尿酸氧化酶

生物体内, 尿酸来自于嘌呤代谢, 而嘌呤则来自核酸的降解, DNA 和 RNA 被分解成核苷酸单体后, 继续在有关酶的作用下被分解成磷酸戊糖和嘌呤碱或嘧啶碱。嘌呤碱, 也就是腺嘌呤和鸟嘌呤, 经脱氨和氧化作用, 就会生成尿酸。人类和猿类, 还有鸟类、某些爬虫类以及昆虫等都是以尿酸作为嘌呤的最终代谢产物, 而其他很多生物则能进一步经尿酸氧化酶的氧化作用生成水溶性更好的尿囊素, 甚至有些物种还能更进一步分解成二氧化碳和氨。

嘌呤来自核酸的降解, 人体中核酸除主要来自食物外, 还会有一些来自组织的新陈代谢。甚至肿瘤患者在接受抗癌药物治疗时, 由于癌细胞的大量死亡, 也会产生大量的核酸代谢废物^[1]。

尿酸氧化酶 (urate oxidase, EC1.7.3.3, 简称 UOX) 是生物体内嘌呤降解代谢途径中的一种重要的酶, 它以氧作为受体, 能够催化尿酸氧化生成 5-羟基异尿酸 (图 1), 5-羟基异尿酸再经过两步自发地 (也可在有关酶的作用下) 生成尿囊素^[2]。早在 1909 年 Batelli 和 Stern 就提纯了尿酸氧化酶^[3], 自那以后许多物种中均发现有尿酸氧化酶的存在。但在高等哺乳动物(猿和人类)中, 由于漫长的进化作用, 尿酸氧化酶基因因突变失活而成为假基因, 不能转录翻译出正常的尿酸氧化酶, 只能以尿酸直接作为嘌呤降解代谢的最终产物了^[4]。

痛风及高尿酸血症的治疗现状

尿酸呈弱酸性, 水溶液中溶解度与温度正相关。正常水平下, 尿酸在人体血浆中的溶解度约为 7 mg/dL, 超过 6 mg/dL 时, 就成为高尿酸血, 持续超过 6 mg/dL 就会引发高尿酸血症^[5]。体液中长期过饱和的尿酸盐就会析出晶体, 附着在酸度偏高的组织血管内表皮形成血栓, 或沉积在温度较低的肢体远端关节例如

足趾，诱发痛风性关节炎。后者更为严重，给患者带来难以忍受的痛苦。随着血尿酸水平研究的不断突破，人们认识到血尿酸浓度高低不但直接与痛风相关，还间接和其他许多临床综合症有关，如肾脏疾病、糖尿病、心血管疾病、高血尿等，而这些疾病可能互为因果，也可能相互叠加加重病情^[5,6,7,8,9]。

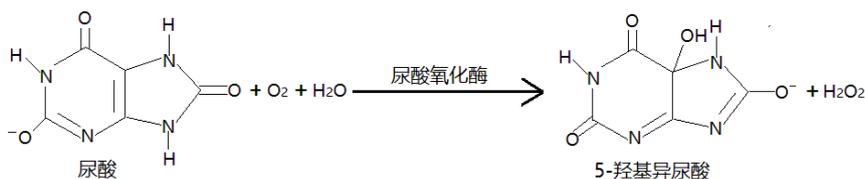


图1 尿酸氧化酶的催化反应

早期治疗痛风及高尿酸血症的药物根据作用方式，主要分为以下三类^[10]：

抗炎类药物，常用于治疗急性痛风的发作，又可细分为三小类：①抑制粒细胞浸润药，作用机理是通过抑制粒细胞浸润和乳酸生成来发挥抗炎作用，如秋水仙碱；②非甾体抗炎药，抑制前列腺素的合成发挥抗炎镇痛作用，如吲哚美辛、双氯芬酸等；③糖皮质激素类药物，主要通过抑制致炎物的产生与激活、稳定溶酶体和抑制肉芽组织形成来发挥强大的抗炎作用，如泼尼松等；

促进尿酸排泄药物：通过抑制近端肾小管对尿酸的重吸收而促进尿酸排泄，如丙磺舒、苯溴马隆等，适用于慢性痛风；

抑制尿酸生成药，如别嘌醇、非布索坦等，化学结构上是尿酸前体的结构类似物，通过与前体竞争催化生成尿酸的酶从而抑制尿酸的生成，直接以前体形式排出体外。

不难发现，这三类药物是从促进尿酸排泄、抑制尿酸生成和消炎三个方面来治疗痛风的，很明显只能起到缓解症状、不能达到治本的作用，而且长期用药还会带来比较严重的副作用。如长期服用别嘌醇会引发肝功能障碍，甚至是再生障碍性贫血。另外，对于已经产生了痛风石的患者来说，这些药物疗效甚微。

由于上述传统治药物存在着诸多缺陷，研发疗效好、副作用小的治疗痛风的新药就迫在眉睫了。尿酸氧化酶因为能够催化尿酸进一步发生反应，生成溶解度更高的产物，受到了广泛的关注。自上世纪 90 年代初，C-H Pui 等人^[11]首次将非重组的黄曲霉尿酸氧化酶用于治疗恶性淋巴瘤引起的高血尿酸，并取得了良好效果以来，尿酸氧化酶的药用价值就受到了国内外学者的广泛关注。经过了多年国内外研究者的不懈努力，目前，已经商业化的尿酸氧化酶已历经三代的发展^[12]：第一代尿酸氧化酶制剂，又叫非重组酶制剂，如 uricozyme，是由 Sanofi Winthrop 公司生产并在法国上市的尿酸酶制品，直接从黄曲霉中提取并纯化得到的；第二代是重组尿酸氧化酶，如由 Sanofi-Synthelabo 公司开发的 rasburicase，是由酵母系统表达的重组形式的曲霉菌尿酸氧化酶，属于第二代酶制品；第三代是聚乙二醇修饰的重组尿酸氧化酶，如 2010 年 FDA 批准的 pegloticase^[13,14]，就是 PEG 化的猪-狒狒重组尿酸氧化酶嵌合蛋白。

尿酸氧化酶除了治疗作用外，在临床上还可以用来检测血液尿酸水平，甚至可以制作成尿酸传感器来测定尿酸含量。另外，在治疗急性脑梗死和突发性耳聋上也有应用^[15]。

尿酸氧化酶的来源

尿酸氧化酶在自然界中广泛存在，在 Genebank 网站上以“urate oxidase”作为关键词，在“nucleotide”子数据库下搜索，可得到 12 000 多个条目，涵盖了动物、植物、真菌、原生生物、细菌、古细菌以及病毒，其中尤以细菌最多，其次是真菌。因此，微生物是产尿酸氧化酶的丰富宝藏，目前已有多种细菌、酵母菌和丝状真菌等来源的尿酸氧化酶被分离，甚至是克隆重组。关于部分不同微生物来源的 UOX 及其性质和克隆情况，国内已有学者进行过综述^[16]。为了更进一步研究产尿酸氧化酶细菌之间的进化关系，Fatemeh Dabbagh 等人^[17]还以 52 个菌株的 16s rRNA 和其尿酸氧化酶的蛋白序列进行了比对，构建了进化树，弄清了它们之间的进化关系。

医用尿酸氧化酶的现状

虽然尿酸氧化酶的来源很广泛，但目前能用来用于临床治疗目的的尿酸氧化酶仍然只是极少数。而且尽管人类使用尿酸氧化酶来诊断和治疗高尿酸血症已有 20 多年的历史了，并且也取得了长足的进展，表现出了其他抗痛风药物无可匹敌的优势。但目前在尿酸氧化酶使用过程中还是存在以下问题：

药物价格昂贵：以普瑞凯希（pegloticase 商品名）为例，目前市面价格约 18 000 元/8 mg，而一个成年患者的给药量就是一次静脉注射 8 mg，每两周一次。这样算下来，一个成年患者光一个月的尿酸氧化酶药费就需要 36 000 元了。这样的开销根本不是一个普通家庭能够负担起的。

免疫反应：由于是外源蛋白，目前临床使用的尿酸酶药物最大的局限性，在于难以避免的免疫原性，这会加速尿酸氧化酶的体内清除速率。虽然经 PEG 修饰可延长其半衰期，降低免疫原性，但 PEG 本身也会诱导人体的免疫反应^[18]，不适合长期给药。

体内和体外稳定性差：尿酸氧化酶是蛋白质酶类，结构容易发生失稳，引起药物失效，治疗过程需要多次重复给药，降低了治疗效果，同时也提高了治疗成本；在药物储存过程中失活会使尿酸氧化酶的保质期缩短，使药物的成本上升，同时会给治疗的安全性带来潜在的威胁。

给药途径单一：由于是蛋白质制剂，口服极易被胃肠道蛋白酶消化降解而失效，因此尿酸氧化酶目前只能通过静脉注射给药，给患者施药带来极大的不便。

目前尿酸氧化酶的研究方向、热点及进展

筛选更耐热稳定的酶：尿酸氧化酶的基因在三界生物中都广泛存在，尤其是微生物，更是尿酸氧化酶基因的丰富宝藏，而且还不乏嗜热微生物，目前已有文献表明温泉微生物中存在能够编码尿酸氧化酶的微生物^[19]。浙江大学周学来等人从土壤中分离出一种产尿酸氧化酶的微杆菌，从其得到的尿酸氧化酶在 70℃ 下 30min 活性完全不丧失，37℃ 保存 40 天仍保持大部分活性^[20]。而国外也有学者从芽孢杆菌中发现一种尿酸氧化酶，能够在 75℃ 下 45min 后几乎保持 100% 的活性^[21]。

筛选活性更高的尿酸氧化酶：这也一直是很多国内外学者孜孜不倦努力的方向，而且多是从微生物界寻找尿酸氧化酶资源。张金龙等人用分子生物学技术，将黄曲霉尿酸氧化酶中的一个氨基酸 Cys 定点突变为 Ala 后，活性比天然型增加了 60%^[22]。埃及有学者用低剂量的 γ 射线诱变两株黑曲霉，可使其尿酸产量增加^[23]。

PEG 修饰以降低免疫原性：PEG 修饰已成为提高生物药物尤其是蛋白质或多肽类药物药效的重要手段，采用 PEG 对尿酸氧化酶进行修饰，以降低其在血浆中的免疫原性，从而降低其血浆清除率、延长半衰期，以提高药物疗效并保证安全性，这一方向早已成为国内外的研究热点^[24]。

嵌合尿酸氧化酶的研发：这种方法的基本思路就是把人的假定尿酸氧化酶的抗原决定部分和另外一物种的尿酸氧化酶活性部分通过分子生物学的手段嵌合起来，从而降低免疫原性同时还能保持分解尿酸的活性。中国药科大学就有学者将人和野生猪的尿酸氧化酶基因嵌合起来建库，然后通过筛选得到了一种与人源蛋白同源性高且活性高的尿酸氧化酶^[25]。

综合技术的使用：要想得到一种疗效好且副作用小的药用尿酸氧化酶，单凭某一种方法几乎是不可能实现的，必须得综合几种方法才有可能实现。如前文提到的 pegloticase，是目前临床效果较好的药用尿酸氧化酶，就是联合使用 PEG 修饰和嵌合两种技术研发出来的。

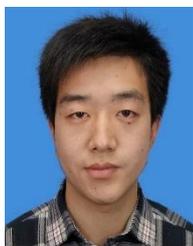
展望

随着经济的发展，人们的生活水平不断提高，饮食结构发生变化，痛风病的发病率也随之节节升高。高尿酸已经与原来的“三高”（高血压、高血脂、高血糖）并称为“四高”了。然而与此大环境并存的现状确是，国内外医药界都对现有的痛风及高尿酸治疗方式及效果不甚满意。因此研发出一种毒副作用小且治疗

效果好的短期降尿酸药或长期控尿酸药是一件迫在眉睫的大事。

展望未来，尿酸氧化酶仍将会是治疗痛风、高尿酸血症的首选药物，而降低其免疫原性、提高活性、延长半衰期仍然是其研究热点。如何在保持酶活性不明显降低的情况下，降低其免疫原性是现阶段尿酸酶研究的热点与难点。

【作者简介】



¹彭海波（1988-），男，汉族，硕士，职称，研究方向，学习经历：2014——至今，中国海洋大学硕士，生物化学与分子生物学专业；2009.09——2013.06，中国药科大学学士，生物工程专业。Email: penghaibo@stu.ouc.edu.cn