

• 综述 •

尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶与内源性物质的相互作用

高欣^{1,2}, 吴疆³, 袁永兵³, 曹云峰⁴, 刘泽源¹

1. 军事医学科学院附属医院, 北京 100071

2. 武警后勤学院, 天津 300162

3. 天津药物研究院, 天津 300193

4. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203

摘要: 尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 (UGT) 是人体重要的 II 相代谢酶, 代谢药物的同时也代谢许多重要的内源性物质, 如胆红素、甲状腺激素、雌激素、雄激素、胆汁酸和 5-羟色胺等。该酶对许多内源性物质的代谢是灭活和清除这些内源性物质的关键步骤, 能够防止内源性物质累积引发的毒性反应, 或及时终止内源性激素的信号防止肿瘤的发生。然而, 内源性物质对 UGT 酶也会产生影响, 特别是在一些生理病理条件下, 某些内源性物质能够抑制 UGT 酶活性, 影响其参与的代谢反应。将就内源性物质和 UGT 酶的相互作用做一综述, 以引起人们对 UGT 酶和内源性物质相互作用的关注。

关键词: 药物代谢; 尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶; 内源性物质

中图分类号: R969.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2015)04-0421-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2015.04.017

Interaction of uridine diphosphate glucuronic acid transferase and endogenous substances

GAO Xin^{1,2}, WU Jiang³, YUAN Yong-bing³, CAO Yun-feng⁴, LIU Ze-yuan¹

1. Affiliated Hospital of Military academy of medical sciences, Beijing 100071, China

2. Logistics University of People's Armed Police Force, Tianjin 300162, China

3. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

4. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China

Abstract: Uridine diphosphate glucuronic acid transferase (UGT) is an important phase II metabolism enzyme in human body, it metabolites many drugs and endogenous substances. For many endogenous substances, such as bilirubin, thyroid hormones, estrogens, et al, the UGT enzymes are the key enzymes for inactivated and remove endogenous substances. It can prevent toxic effects caused by accumulation. Its termination of endogenous hormone signal can prevent the occurrence of cancer. On the other hand, endogenous substances can affect the enzymes. In some physiological and pathological conditions, some of endogenous substances can inhibit UGT enzymes, and exert an influence on UGT enzymes involved metabolism. This article will make a review on the interaction of endogenous substances and UGT enzymes.

Key words: drug metabolism, uridine diphosphate glucuronyl transferase, endogenous substance

尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 (UDP-glucuronosyl transferase, UGT) 家族所催化的葡萄糖醛酸化反应是一种重要的 II 相代谢反应, 占有所有药物 II 相代谢

的 35% 左右。UGT 家族不仅能影响许多药物的体内行为, 如药物半衰期、清除率以及生物利用度等。更重要的是, UGT 酶能代谢许多内源性物质。这里

收稿日期: 2015-06-08

作者简介: 高欣 (1977—), 男, 讲师, 研究方向为药物代谢。E-mail: 15302062855@189.cn

*通信作者 刘泽源 E-mail: 13702165095@163.com

网络出版时间: 2015-07-15 13:56:11

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1409.R.20150715.1356.004.html>

内源性物质是指正常机体内天然存在的活性化合物,包括激素、细胞介质以及代谢产物等^[1]。UGT酶和内源性物质相互作用有重要研究价值,一方面是因为UGT酶参与一些内源性物质的代谢,防止蓄积中毒;甚至一些内源性物质的信号终止依赖于UGT酶,而这些信号及时终止可以防范组织过度增生,甚至肿瘤的发生。另一方面,现在确已发现许多内源性物质可抑制UGT酶活性。明确这种抑制的强度,涉及的内源性物质的种类,相互之间的关系,以及在生理和病理条件下的意义有助于评估生理病理条件下个体的药物代谢能力,开展合理的个体化治疗;也有助于评价各种UGT酶基因多态性下的肿瘤发生的危险性并采取相应的干预措施。目前这方面的研究国际上还处在数据积累的阶段,本文从一定的角度综述了UGT酶与内源性物质之间的相互作用。

1 UGT酶家族

UGT酶是位于内质网腔侧面的一类微粒体糖蛋白,该蛋白能够催化内源性物质、药物等与尿苷二磷酸葡萄糖醛酸(Uridine Diphosphate Glucuronic Acid, UDPGA)结合,使其水溶性增加,能有效地从尿或胆汁中排出,是机体的一个重要的解毒机制。UGT可以根据进化的差异分成许多亚家族,在这些亚家族中最重要的是UGT1和UGT2这两个家族。人UGT酶一般属于UGT1A、2A和2B家族^[2]。

UGT酶在组织中分布广泛,肝、肾、呼吸道、肺、胃、小肠、结肠中均有表达,因为肝脏是发生II相代谢的主要器官,因此肝脏中表达大部分的UGT酶^[3]。但有些UGT酶在肝外组织中表达,并有一定的组织特异性,如UGT1A7、UGT1A8、UGT1A10在肠道中表达,是机体代谢外源性分子的第一道屏障^[4];UGT2A1和UGT2A2在呼吸道与嗅觉系统中表达,与气味分子的代谢相关^[5]。UGT酶的组织分布差异可能会影响不同组织中内源性物质或药物的分布与清除,从而对内源性物质或药物的作用产生影响。

2 UGT酶与内源性物质的代谢

UGT酶参与体内许多内源性物质的代谢,在内源性物质的活性终止,解毒和促进从体内排出起到非常重要的作用。

2.1 UGT与胆红素的代谢

胆红素(bilirubin)是从衰老的红细胞的血红蛋白中代谢的产物,正常人每天每千克体质量约产生

4 mg。胆红素主要在肝脏由UGT1A1催化,生成结合胆红素:胆红素葡萄糖醛酸一酯(bilirubin monoglucuronide)和胆红素葡萄糖醛酸二酯(bilirubin diglucuronide),胆红素葡萄糖醛酸二酯是人胆汁中胆红素的主要结合产物,占70%~80%^[3]。

胆红素和UGT1A1的亲合力很高,有报道称胆红素和UGT1A1的亲合力小于 $10\ \mu\text{mol/L}$ ^[6];Ma等^[7]利用高效液相联合紫外检测方法,建立了葡萄糖醛酸化胆红素体外检测方法,测定胆红素经UGT1A1代谢的为 $(0.40\pm 0.022)\ \mu\text{mol/L}$,和肝微粒体代谢胆红素米氏常数(K_m)值相似 $(0.44\pm 0.018\ \mu\text{mol/L})$,并且人肝微粒体和UGT1A1对胆红素的代谢遵循米氏方程。这些都表明胆红素和UGT1A1有很高的亲合力,也是肝脏代谢胆红素的主要酶。胆红素在肝脏的代谢过程可以被许多因素干扰。临床上许多药物都能抑制UGT1A1活性,使胆红素代谢发生障碍,进一步致血中游离胆红素升高。如抗癌药物索拉菲尼(Sorafenib)^[8],人类免疫缺陷病毒蛋白酶抑制剂(HIV protease inhibitors)等。Zhang等^[9]全面考察了包括阿扎那韦(atazanavir)、茚地那韦(indinavir)、洛匹那韦(lopinavir)、奈非那韦(nelfinavir)、利托那韦(ritonavir)和沙奎那韦(saquinavir)在内的人类免疫缺陷病毒蛋白酶抑制剂对UGT酶的抑制作用。发现抑制UGT1A1最强的是阿扎那韦和茚地那韦,其抑制常数(K_i)值分别为 1.9 、 $47.9\ \mu\text{mol/L}$,并由体外数据向体内进行推测在此类药物中这两种药物最有可能在临床使用中引起体内胆红素升高。

除了药物影响,编码UGT1A1的基因缺陷也会影响到胆红素的代谢,如Crigler-Nijjar综合征和Gilbert综合征的患者^[10],可见血中游离胆红素升高。尤其是Crigler-Nijjar综合征,有报道其UGT1A1活性与正常人相比下降90%,常由于严重高胆红素血症导致胆红素脑病^[11]。UGT1A1的基因多态性也能够影响其对胆红素的代谢能力,其中UGT1A1*1纯合子的代谢能力最强。有报道UGT1A1*1/UGT1A1*28杂合子、UGT1A1*28纯合子其UGT1A1的活性只有UGT1A1*1纯合子的63%和48%^[12]。携带UGT1A1*28的HIV患者在使用阿扎那韦时更容易出现胆红素升高^[13]。综上所述UGT1A1在胆红素的代谢清除中起到至关重要的作用,对该酶的抑制或该酶本身的缺陷都会致高胆红素血症,甚至引起胆红素毒性反应。

2.2 UGT 与甲状腺激素的代谢

甲状腺激素 (thyroid hormones) 是由甲状腺滤泡上皮细胞合成的酪氨酸碘化物。主要是四碘甲状腺原氨酸 (thyroxine, T₄) 和三碘甲状腺原氨酸 (triiodothyronine, T₃)，此外，还有少量无活性的逆-三碘甲状腺原氨酸 (3, 3', 5'-triiodothyronine, rT₃) [14]。

甲状腺激素在体内的代谢涉及外环脱碘化 (Outer ring deiodination)、内环脱碘化 (Inner ring deiodination)、葡萄糖醛酸化 (Glucuronidation) 和磺酸化 (Sulfation)。T₃ 和 rT₃ 分别就是 T₄ 经过外环脱碘化和内环脱碘化生成的。甲状腺激素的葡萄糖醛酸化是其代谢的重要途径，可以发生在酚羟基，也可以发生在羧基，分别称为酚羟基葡萄糖醛酸化 (Phenolic glucuronidation) 和酰基葡萄糖醛酸化 (Acyl glucuronidation) 反应。由于酰基葡萄糖醛酸化的甲状腺激素不稳定，并且在人体 pH 值下是优先生成酚羟基葡萄糖醛酸化产物的，因此可测得的人体甲状腺葡萄糖醛酸化产物主要是酚羟基葡萄糖醛酸化产物 [15]。

多种 UGT 酶参与了甲状腺激素葡萄糖醛酸化。Yamanaka 等 [16] 考察了人肝、肾、肠微粒体和重组人 UGT 酶对甲状腺激素的葡萄糖醛酸化反应，并结合抑制剂的实验推断出甲状腺激素在肝脏主要是 UGT1A1 催化，在肠道主要是 UGT1A8 和 UGT1A10 催化，而在肾脏甲状腺激素主要通过 UGT1A7、UGT1A9、UGT1A10 催化。Kato 等 [17] 使用了来自 7 个不同供体的肝微粒体，详细探讨了肝微粒体内 UGT 酶的表达量和对甲状腺激素表达的关系，发现在肝脏中甲状腺激素的转化主要是由 UGT1A1 和 UGT1A3 介导的，并推测甲状腺激素葡萄糖醛酸化的个体差异可能是由于 UGT1A1 和 UGT1A3 个体表达水平的不同所致。Tong 等 [18] 在体外考察了 T₄、T₃ 的葡萄糖醛酸化过程，并利用高效液相色谱质谱联用 (LC/MS) 技术对体外转化产物及时进行检测，发现确实存在 T₄、T₃ 的酰基葡萄糖醛酸化产物，UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT2B7 都能催化甲状腺激素的酰基葡萄糖醛酸化，其中 UGT1A3 的活性最高。

2.3 UGT 与雌激素的代谢

人体雌激素 (estrogen) 主要包括雌二醇 (estradiol, E₂)、雌酮 (estrone, E₁)、雌三醇 (estriol, E₃) 等，E₂ 是最重要的雌激素。雌激素在人体

内代谢非常复杂，有多种酶，包括细胞色素 P450 酶 (cytochrome P450, CYP)、儿茶酚氧位甲基转移酶 (catechol-O-methyltransferase, COMT)、尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 (UDP-glucuronosyl transferase, UGT)、硫酸转移酶 (sulfotransferases)、硫酸酯酶 (sulfate sulfatases) 参与雌激素的代谢。雌激素在体内所形成的代谢产物的类型也很多，包括儿茶酚 (羟基化) 雌激素、甲氧化雌激素、雌激素酮/半酮、脱嘌呤雌激素、葡萄糖醛酸化雌激素、磺酸化雌激素等 [19]。上述的雌激素的代谢产物中，不论是磺酸化、甲基化还是儿茶酚雌激素，都还具有一定的类雌激素的活性 [20]。有些雌激素的代谢产物甚至有致癌的作用，如 4-羟基儿茶酚雌二醇会通过脱嘌呤反应产生致癌物质 [21]。现在研究认为，雌激素及其代谢产物只有通过 UGT 酶催化生成葡萄糖醛酸化产物才是没有活性的最终产物。因此从这个意义上说，UGT 酶是体内灭活和调控雌激素活性的重要酶 [22]。

目前的研究表明至少有 6 种 UGT 酶，包括 UGT1A1、UGT1A3、UGT1A8、UGT1A9、UGT1A10、UGT2B7 参与雌激素和雌激素的甲基化、羟基化衍生物的代谢 [23]。就雌二醇来说，其 3 位和 17 位的葡萄糖醛酸化主要分别是由 UGT1A1 和 UGT2B7 催化的 [24]。目前已知某些组织，如乳腺组织，长期受雌激素及其衍生物的作用可能发生癌变。因此 UGT 酶在局部对雌激素和其衍生物代谢和癌症发生的相关性研究，引起了人们极大的兴趣。有研究表明乳腺癌局部组织中 4-羟基儿茶酚雌激素 (4-hydroxy-catecholestrogens, 4-OHCEs) 水平升高，而 4-OHCEs 的代谢产物是有致癌作用的，表明 4-OHCEs 不能被 UGT 及时的代谢清除可能是乳腺内的一个致癌因素 [22]。尽管许多研究就雌激素水平和乳腺癌发生的关系上的结论还不统一 [25-26]，但毋庸置疑，与其他酶代谢雌激素时的产物还有一定活性相比，UGT 酶灭活雌激素不论是在整体还是在局部的雌激素水平调控中都具有重要意义。

2.4 UGT 酶和雄激素的代谢

雄激素是一种促进男性生殖系统发育成熟和维持男性特征的内分泌激素，人体内能够和雄激素受体结合发挥作用的主要是睾酮 (testosterone) 和二氢睾酮 (dihydrotestosterone, DHT)。DHT 是睾酮在 5 α -还原酶 (5 α -reductase) 作用下生成的，其在人体血液中的含量低于睾酮，但对雄激素受体的亲

和力却比睾酮高5~10倍^[27]。DHT在体内可以被I相代谢酶如3 α -羟基类固醇脱氢酶(3 α -hydroxysteroid dehydrogenase, 3 α -HSD)和17 β -羟基类固醇脱氢酶(17 β -hydroxysteroid dehydrogenase, 17 β -HSD)等催化生成3 α -雄烷二醇(androstane-3 α , 17 β -diol, 3 α -DIOL)、雄甾烷二酮(androstanedione, A-DIONE)和雄甾酮(androsterone, ADT)^[28-29]。长期以来,人们一直认为这些I相代谢产物是没有活性的。但现在人们知道这些雄激素的I相代谢产物在外周组织中还可以转化为DHT或者是睾酮而继续发挥雄激素作用。而UGT酶催化睾酮、DHT以及他们的I相代谢产物和葡萄糖醛酸的结合可以使雄激素灭活并被机体排出,因此UGT催化的葡萄糖醛酸化反应对雄激素信号终止至关重要^[30]。甚至有人认为UGT在某些外周组织中转化雄激素和其代谢产物活性的降低是一些癌症(如前列腺癌)发生的基础。如UGT2B15存在基因多态性:UGT2B15*Y85和UGT2B15*D85,而UGT2B15*Y85活性高于UGT2B15*D85,美国的一项研究发现在前列腺癌患者中的携带UGT2B15*D85的比例高于正常对照组;并且UGT2B15*D85纯合子前列腺癌的发病率是普通人的3倍^[31]。尽管目前对该结论还有争议,但提示了UGT酶灭活雄激素对机体的重要性^[32]。

目前已知涉及转化雄激素及其I相代谢产物的UGT酶有UGT2B7、UGT2B15、UGT2B17。UGT2B7在肠道、肝脏、肾脏、皮肤、脑、子宫和乳腺中都有表达,但这种酶在前列腺和脂肪组织不表达。主要催化雄激素和/或I相代谢产物3位羟基的葡萄糖醛酸化。UGT2B15在肝脏、肾脏、乳腺、前列腺和子宫中表达,和其他两个UGT酶不同的是,UGT2B15特异性的在脂肪组织中表达,这可能是脂肪组织中灭活雄激素的酶。UGT2B15催化雄激素及其产物的17位羟基的葡萄糖醛酸化。UGT2B17在肝脏、肾脏、皮肤、脑、乳腺、子宫中表达,并且和UGT2B15高度同源(同源性高达96%)。然而和UGT2B15不同,UGT2B17对雄激素及其产物3位和17位的葡萄糖醛酸化都有催化作用^[33]。

UGT对雄激素及其I相产物的代谢使雄激素最终灭活,因此UGT对雄激素的代谢可被认为是对雄激素信号的终结。而UGT在组织中特异性表达和体内各种因素对UGT的调节,可能是外周组织中精细调控雄激素作用的基础。

2.5 UGT酶与胆汁酸的代谢

胆汁酸是肝脏以胆固醇为原料合成的,合成胆汁酸是肝脏代谢清除胆固醇的重要通路。人体胆汁酸按照其来源可以分为初级胆汁酸和次级胆汁酸^[34]。病理条件下,血中胆汁酸浓度会升高并产生毒性。如胆汁排出受阻时(胆道梗阻),肝细胞内和循环中的胆汁酸浓度升高,会导致细胞的氧化应激、凋亡以及随之发生的组织破坏(如胆汁淤积型肝炎、胆汁淤积性肝硬化)^[35]。

胆汁酸在体内可以和甘氨酸、牛磺酸、葡萄糖醛酸在相应的酶的作用下发生结合反应。而UGT催化的胆汁酸葡萄糖醛酸化反应被认为在促进血液中胆汁酸从尿液中排出和降低胆汁酸毒性方面有十分重要的作用。胆汁酸的葡萄糖醛酸化反应可以发生在胆汁酸的3位、6位的羟基和24位的羧基。这一过程涉及多种UGT酶。如UGT1A3被认为是胆汁酸24位羧基葡萄糖醛酸化的主要酶;UGT2B4和UGT2B7可以催化胆汁酸3位、6位羟基的葡萄糖醛酸化;UGT1A4具有较高的催化鹅脱氧胆酸(CDCA)生成CDCA-3G的活性;UGT2A1能催化石胆酸(LCA)、CDCA、脱氧胆酸(DCA)、猪去氧胆酸(HDCA)的3位和24位糖苷化;UGT2A2催化胆酸(CA)和CDCA形成CA-24G和CDCA-24G的活性较高。这些UGT酶在体内胆汁酸的解毒与清除中发挥着非常重要的作用^[36-38]。

2.6 UGT酶与5-羟色胺的代谢

5-羟色胺(serotonin, 5-HT)又称为血清素,是一种单胺型神经递质,由色氨酸经色氨酸羟化酶、5-羟色氨酸脱羧酶转化而来。5-HT可以被线粒体上的单胺氧化酶(MAO)催化成5-羟吲哚乙醛,5-羟吲哚乙醛再经过醛脱氢酶生成5-羟吲哚乙酸而随尿液排出体外^[39]。

除了上述的代谢途径,研究发现5-HT还可以被肝微粒体葡萄糖醛酸化。人和多种动物(大鼠、小鼠、牛、猪、马、狗、兔、猴等)的微粒体都可以生成葡萄糖醛酸化的5-HT(5-HTG),但是猫微粒体不能催化这个反应。已知猫体内缺乏UGT1A6的表达,推测5-HT是由UGT1A6催化的^[40]。进一步使用重组表达的UGT单酶和微粒体研究发现,只有UGT1A6能催化生成5-HTG,并且利用肝微粒体和UGT1A6单酶测得的 K_m 值非常接近,这些表明UGT1A6对5-HT的催化具有专属性。这种专一性对酶的研究具有很大意义,因此5-HT已经成为

研究 UGT1A6 的专属的探针底物广泛用于各种酶与抑制剂的研究^[41]。

3 内源性物质对 UGT 酶的抑制作用

UGT 酶在代谢内源性物质的同时,其活性也会受到内源性物质的影响。已经发现许多内源性物质可以对 UGT 酶产生抑制作用。

3.1 脂酰辅酶 A 对 UGT 酶的抑制作用

脂酰辅酶 A (fatty acyl-CoAs) 尤其是长链脂酰辅酶 A (long chain fatty acyl-CoAs) 具有调节 UGT 活性的作用。使用打孔剂处理的微粒体和单酶的研究中都发现脂酰辅酶 A 能抑制 UGT 酶活性。例如,棕榈酰辅酶 A (palmitoyland oleoyl-CoAs) 能浓度依赖性的抑制丙甲菌素 (Alamethicin) 处理过的微粒体的 UGT 酶活性^[42]。arachidonoyl-CoA 能够抑制 UGT 酶对睾酮的代谢。研究还发现,脂酰辅酶 A 对 UGT 酶抑制的 IC_{50} 大多在 20~30 mmol/L, 动力学研究显示酰基辅酶 A 对 UGT 的抑制属于非竞争性的抑制,推测酰基辅酶 A 和 UGT 酶的结合可能导致了 UGT 酶构象的改变^[43]。

3.2 核苷酸对 UGT 酶的抑制作用

Hallinan 等^[44]的早期试验首次报道了核苷酸对 UGT 酶的抑制。他使用猪的肝微粒体发现 4 mmol/L 的三磷酸腺苷 (ATP) 能显著抑制 UGT 酶对硝基苯酚、E2 和 E1 的催化。Nishimura 等^[45]的研究发现 ATP 和其衍生物 (ADP、腺嘌呤) 对 UGT 酶的抑制能力更高, $IC_{50} < 20 \mu\text{mol/L}$ 。目前核苷酸对 UGT 酶抑制的专属性的研究还不够充分。大多数研究中只是采用了 4-甲基伞形酮 (4-methylumbelliferone, 4-MU) 作为 UGT 的底物。4-MU 是广谱的 UGT 酶的底物,不能确定抑制的特异性^[46]。有些研究采用 E2 作为 UGT 酶的底物,但 E2 的 3 位葡萄糖醛酸化和 17 位葡萄糖醛酸化,也是由不同的 UGT 酶催化的。UGT1A1 催化 3 位葡萄糖醛酸化,而 17 位是多种 UGT 催化,包括多种 UGT2B 家族^[47]。腺嘌呤核苷酸和其类似物对两种糖苷化都能抑制。目前认为核苷酸对 UGT 酶的抑制可能是广谱的,但也有所侧重。ATP、NADP、NAD 对 UGT1A1 催化形成 E2 的 3 位葡萄糖醛酸化有抑制作用^[45]。ATP 和 NADP 对 UGT2B7 转化 4-MU 有抑制作用。核苷酸抑制的 UGT 酶在人体中有较重要的作用,如 UGT1A1 在人体催化胆红素以及一些药物如依托泊苷、伊立替康的中间产物 SN-38 等。UGT2B7 催化许多反应,包括吗啡和齐多夫定的葡萄糖醛酸化。

因此,这些酶活性的改变会带来一些不可预料的药物副作用。

除了腺嘌呤核苷酸之外,其他的核苷酸也有抑制 UGT 酶的作用。如鸟嘌呤核苷酸中的三磷酸鸟苷 (GTP) 就是 UGT 酶的强抑制剂。GTP 对 4-MU 以及 E2 葡萄糖醛酸化的抑制能力是 ATP 的 7 倍。但是鸟嘌呤核苷酸及其衍生物中只有 GTP 能抑制 UGT 酶,其他的如鸟嘌呤、二磷酸鸟苷 (GDP)、单磷酸鸟苷 (GMP) 都没有这种作用。同样的现象也发生在胞嘧啶核苷酸,即只有三磷酸胞苷有抑制 UGT 酶的作用。这些特点不同于腺嘌呤核苷酸,推测他们可能存在不同的抑制机制。就腺嘌呤核苷酸来说,情况也有特殊。虽然 ATP 和 ADP 能抑制 UGT 酶,但是单磷酸腺苷 (AMP) 没有抑制葡萄糖醛酸化的直接作用,但是却能够以浓度相关的方式抑制 ATP 抑制 UGT 酶的能力^[45]。

3.3 胆汁酸对 UGT 酶的抑制作用

胆汁酸是 UGT 酶的底物之一,某些胆汁酸还能够强烈的抑制 UGT 酶。有人对胆汁酸抑制 UGT 酶做过详细的考察。结果发现对 UGT 酶抑制作用最大的是牛磺石胆酸 (TLCA) 和石胆酸 (LCA),这两种胆汁酸都属于次级胆汁酸。如果把胆汁酸对 UGT 酶的抑制看成是一种毒副作用,那么上述结果提示了胆汁酸在体内如果不能及时排除 (如胆道梗阻、胆汁淤积),次级胆汁酸生成增多时,将会对机体产生毒性作用。尤其是 TLCA,对大多数的 UGT 酶 (UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A7、UGT1A10、UGT2B7 和 UGT2B15) 表现出强烈的抑制作用 ($K_i=0.03\sim 16 \mu\text{mol/L}$),这里不乏体内重要的 UGT 酶^[48]。

3.4 卵磷脂和溶血性卵磷脂对 UGT 酶的抑制作用

磷脂酰胆碱 (phosphatidylcholines, PCs), 俗称卵磷脂 (lecithin), 是以甘油分子为骨架的磷酸甘油酯。PCs 是一类化合物的总称,根据 R1 和 R2 取代基的不同而分为不同的 PCs。PCs 是一种营养物质,同时也是构成细胞膜的基础成分之一,担负着能量代谢、信号传导以及蛋白质锚定等重要的生理和生化功能。溶血磷脂酰胆碱 (lysophosphatidylcholines, LPCs) 是 PCs 在磷脂酶作用下,水解去除一个脂肪酸链而生成的,和磷脂一样也是血清中的正常成分之一。磷脂的代谢紊乱和许多疾病密切相关,如代谢综合征、糖尿病、脑梗死和动脉粥样硬化等^[49]。有研究表明,PCs 还可能通过影响体内

药物代谢的酶,如 CYP 酶,从而影响药物的代谢。这使得代谢紊乱引起的磷脂代谢异常有进一步加重代谢紊乱的可能^[50]。而 LPCs 也担负着多种重要的生理生化功能,并且和许多疾病密切相关。如 LPCs 能活化血小板,促进血栓的形成,促进转录因子 NF- κ B 以及 E 选择素、细胞间黏附分子 (ICAM-1) 和 IL-8 等炎症因子的表达。在血栓类疾病及某些肿瘤患者血清中 LPCs 可达正常人 2~3 倍甚至更高^[51]。在某些代谢性疾病,如糖尿病,也可见血中 LPCs 水平的升高^[52]。

本研究室曾对磷脂类系列化合物抑制 UGT 酶做了详细的考察^[53]。发现相对于 PCs, LPCs 对 UGT 酶的抑制更加广泛而强烈。而且长链的 LPCs 对 UGT 酶的抑制作用强于短链的 LPCs。所有的酶中, UGT1A6 和 UGT1A8 最容易受到磷脂类化合物的抑制,而这两种酶在机体中参与一些重要的代谢解毒过程。UGT1A6 分布于人体的肝脏、肾脏、脑、肺脏、和肠道等组织中,在代谢环境毒素、致癌物、药物以及内源性物质中发挥重要的作用,如解热镇痛药对乙酰氨基酚、抗惊厥药物丙戊酸钠、致癌物苯并芘、内源性物质 5-羟色胺等。UGT1A8 是在肝脏外表达的一种重要的 UGT 酶。是肝外组织(如肠道)内源性和外源性物质代谢的重要酶。它参与天然产物黄酮以及异黄酮的代谢,也代谢许多重要的药物,如免疫抑制药霉酚酸,降糖药曲格列酮,抗骨质疏松药雷洛昔芬等。

4 总结

作为体内 II 相代谢最重要的酶,UGT 酶在许多内源性物质代谢方面发挥了不可替代的作用。一些内源性物质(如胆红素)经过代谢使极性增加,易溶于水,从而促进排出,防止蓄积中毒;一些内源性物质(如胆汁酸)本身就是一种体内的代谢终产物,对机体有毒性,病理情况下在体内蓄积时(如胆道梗阻),经 UGT 酶的代谢可以降低毒性;还有一些内源性物质(如雌、雄激素)在体内有多种其他的代谢方式,但只有经过 UGT 酶的代谢才能使其真正灭活,反映了 UGT 酶在终止体内激素信号方面不可替代作用。

然而 UGT 酶在代谢内源性物质的同时,本身活性也会受到内源性物质的影响。现已知脂酰辅酶 A、核苷酸、胆汁酸、磷脂对 UGT 酶有抑制作用,这其中不乏重要的 UGT 酶,并且有不少表现出强烈的抑制作用。这种内源性物质对 UGT 酶的抑制

意义目前还不十分清楚,这种抑制有可能是一种调节机制,在整体或者局部调节 UGT 酶参与的代谢;也有可能就是一种代谢紊乱,长期影响会对机体产生不利的影 响,如致癌,或者导致某些临床药物治疗的低效,甚至失败。

为了更加深刻理解这种抑制的意义和作用,首先应当扩展内源性物质对 UGT 酶抑制的研究。在获得各种内源性物质对 UGT 酶抑制的动力学数据的基础上,建立内源性物质抑制 UGT 酶的数据库。并结合临床上生理病理条件下内源性物质在体内浓度变化的数据,评价对个体 UGT 酶的代谢能力影响,从而为采取措施消除不利影响,或是制定某些药物的个体化治疗方案提供依据。

参考文献

- [1] 郭 栋, 庞良芳, 周宏灏. UGT 酶的遗传药理学研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2011, 20(13): 1188-1193.
- [2] 张 艳, 郝海平, 王广基. 尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶介导的药物相互作用的研究进展 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2011, 16(4): 447-454.
- [3] Igarashi Y, Ishiyama S, Urayama M, *et al.* Experimental study on the bilirubin metabolism after major hepatectomy: alterations in the proportions of bile bilirubin subfractions [J]. *Surg Res*, 1999, 82(1): 67-72.
- [4] Lazard D, Zupko K, Poria Y, *et al.* Odorant signal termination by olfactory UDP glucuronosyl transferase [J]. *Nature*, 1991, 349: 790-793.
- [5] Tukey R H, Strassburg C P. Genetic multiplicity of the human UDP-glucuronosyltransferases and regulation in the gastrointestinal tract [J]. *Mol Pharmacol*, 2001, 59: 405-414.
- [6] Luukkanen L, Taskinen J, Kurkela M, *et al.* Kinetic characterization of 1A family of recombinant human UDP-glucuronosyltransferases [J]. *Drug Metab Dispos*, 2005, 33:1017-1026.
- [7] Ma G, Lin J, Cai W, *et al.* Simultaneous determination of bilirubin and its glucuronides in liver microsomes and recombinant UGT1A1 enzyme incubation systems by HPLC method and its application to bilirubin glucuronidation studies [J]. *Pharm Biomed Anal*, 2014, 92: 149-159.
- [8] Peer C J, Sissung T M, Kim A, *et al.* Sorafenib is an inhibitor of UGT1A1 but is metabolized by UGT1A9: implications of genetic variants on pharmacokinetics and hyperbilirubinemia [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(7): 2099-2107.
- [9] Zhang D, Chando T J, Everett D W, *et al.* *In vitro*

- inhibition of UDP glucuronosyltransferases by atazanavir and other HIV protease inhibitors and the relationship of this property to *in vivo* bilirubin glucuronidation [J]. *Drug Metab Dispos*, 2005, 33(11): 1729-1739.
- [10] 车芳, 骆子义. UGT1A1 基因在 Gilbert 综合征及 Crigler-Najjar 综合征发病机制中研究进展 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2015, 30(9): 219-222.
- [11] Tukey R H, Strassburg C P. Human UDP-glucuronosyl transferases: Metabolism, expression and disease [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2000, 40: 581-616.
- [12] Raijmakers M T, Jansen P L, Steegers E A, *et al*. Association of human liver bilirubin UDP-glucuronosyl transferase activity with a polymorphism in the promoter region of the UGT1A1 gene [J]. *Hepatol*, 2000, 33: 348-351.
- [13] Chang J L, Bigler J, Schwarz Y, *et al*. UGT1A1 polymorphism is associated with serum bilirubin concentrations in a randomized, controlled, fruit and vegetable feeding trial [J]. *Nutr*, 2007, 137(4): 890-897.
- [14] Visser T J. Pathways of thyroid hormone metabolism [J]. *Acta Med Austriaca*, 1996, 23: 10-16.
- [15] Inada M, Nishikawa M. Thyroid hormone metabolism. [J]. *Nihon Naibunpi Gakkai Zasshi*, 1993, 69: 9-15.
- [16] Yamanaka H, Nakajima M, Katoh M, *et al*. Glucuronidation of thyroxine in human liver, jejunum, and kidney microsomes [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35(9): 1642-1648.
- [17] Kato Y, Ikushiro S, Emi Y, *et al*. Hepatic UDP-glucuronosyltransferases responsible for glucuronidation of thyroxine in humans [J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36(1): 51-55.
- [18] Tong Z, Li H, Goljer I, *et al*. *In vitro* glucuronidation of thyroxine and triiodothyronine by liver microsomes and recombinant human UDP glucuronosyltransferases [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35(12): 2203-2210.
- [19] Thomas M P, Potter B V. The structural biology of oestrogen metabolism [J]. *Steroid Biochem Mol Biol*, 2013, 137: 27-49.
- [20] Chatterton R T, Geiger A S, Gann P H, *et al*. Formation of estrone and estradiol from estrone sulfate by normal breast parenchymal tissue [J]. *Steroid Biochem Mol Biol*, 2003, 86: 159-166.
- [21] Cavalieri E, Frenkel K, Liehr J G, *et al*. Estrogens as endogenous genotoxic agents: DNA adducts and mutations [J]. *Natl Cancer Inst Monogr*, 2000, 27: 75-93.
- [22] Rogan E G, Badawi A F, Devanesan P D, *et al*. Relative imbalances in estrogen metabolism and conjugation in breast tissue of women with carcinoma: potential biomarkers of susceptibility to cancer. [J]. *Carcinogenesis*, 2003, 24: 697-702.
- [23] Lepine J, Bernard O, Plante M, *et al*. Specificity and regioselectivity of the conjugation of estradiol, estrone and their catechol estrogen and methoxyestrogen metabolites by human uridine diphosphoglucuronosyl transferases expressed in endometrium [J]. *Clin Endocrinol Metab*, 2004, 22: 207-215.
- [24] Cheng Z, Rios G R, King C D, *et al*. Glucuronidation of catechol estrogens by expressed human UDP-glucuronosyltransferases 1A1, 1A3, and 2B7 [J]. *Toxicol Sci*, 1998, 45: 52-57.
- [25] Guillemette C, Millikan R C, Newman B, *et al*. Genetic polymorphisms in uridine diphospho-glucuronosyl transferase 1A1 and association with breast cancer among African Americans [J]. *Cancer Res*, 2000, 60: 950-956.
- [26] Sparks R, Ulrich C, Bigler J, *et al*. UDP-glucuronosyl transferase and sulfotransferase polymorphisms, sex hormone concentrations, and tumor receptor status in breast cancer patients [J]. *Breast Cancer Res*, 2004, 6: 488-498.
- [27] Zhou Z X, Lane M V, Kempainen J A, *et al*. Specificity of ligand-dependent androgen receptor stabilization: receptor domain interactions influence ligand dissociation and receptor stability [J]. *Mol Endocrinol*, 1995, 9: 208-218.
- [28] Dufort I, Labrie F, Luu-The V. Human types 1 and 3 3 alpha-hydroxysteroid dehydrogenases: differential lability and tissue distribution [J]. *Clin Endocrinol Metab*, 2001, 841-846.
- [29] Labrie F, Luu-The V, Lin S X, *et al*. Role of 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenases in sex steroid formation in peripheral intracrine tissues [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2000, 11: 421-427.
- [30] Horton R, Lobo R. Lobo R. Peripheral androgens and the role of androstanediol glucuronide [J]. *Clin Endocrinol Metab*, 1986, 15: 293-306.
- [31] MacLeod S L, Nowell S, Plaxco J, *et al*. An allele-specific polymerase chain reaction method for the determination of the D85Y polymorphism in the human UDP-glucuronosyltransferase 2B15 gene in a case-control study of prostate cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2000, 7: 777-782.
- [32] Gsur A, Preyer M, Haidinger G, *et al*. A polymorphism in the UDP glucuronosyltransferase 2B15 gene (D85Y)

- is not associated with prostate cancer risk [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2002, 11: 497-498.
- [33] Turgeon D. Relative enzymatic activity, protein stability and tissue distribution of human steroid metabolizing UGT2B subfamily members [J]. *Endocrinology*, 2001, 142: 778-787.
- [34] Monte M J, Marin J J, Antelo A, *et al.* Bile acids: chemistry, physiology, and pathophysiology [J]. *Gastroenterol*, 2009, 15: 804-816.
- [35] Pauli M C, Meier P J. Hepatocellular transporters and cholestasis [J]. *Gastroenterol*, 2005, 39: S103-S110.
- [36] Trottier J, Perreault M, Rudkowska I, *et al.* Profiling serum bile acid glucuronides in humans: gender divergences, genetic determinants, and response to fenofibrate [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2013, 94:533-543.
- [37] Perreault M, Gauthier L L, Trottier J, *et al.* The Human UDP glucuronosyltransferase UGT2A1 and UGT2A2 enzymes are highly active in bile acid glucuronidation [J]. *Drug Metab Dispos*, 2013, 41: 1616-1620.
- [38] Mackenzie P, Little J M, Radomska P A. Glucosidation of hyodeoxycholic acid by UDP-glucuronosyltransferase 2B7 [J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 65: 417-421.
- [39] Kang K, Park S, Kim Y S, *et al.* Biosynthesis and biotechnological production of serotonin derivatives [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2009, 83: 27-34.
- [40] Krishnaswamy S, Duan S X, Von Moltke L L, *et al.* Serotonin glucuronidation *in vitro*: assay development, human liver microsomes activities and species differences [J]. *Xenobiotica*, 2003, 33: 169-180.
- [41] Krishnaswamy S, Duan S X, Von Moltke L L, *et al.* Validation of serotonin (5-hydroxytryptamine) as an *in vitro* substrate probe for human UDP glucuronosyltransferase (UGT) 1A6 [J]. *Drug Metab Dispos*, 2003, 31: 133-139.
- [42] Csala M, Baánhegyi G, Kardon T, *et al.* Inhibition of glucuronidation by an acyl-CoA-mediated indirect mechanism [J]. *Biochem Pharmacol*, 1996, 52: 1127-1131.
- [43] Yamashita A, Nagatsuka T, Watanabe M, *et al.* Inhibition of UDP glucuronosyltransferase activity by fatty acyl-CoA: Kinetic studies and structure-activity relationship [J]. *Biochem Pharmacol*, 1997, 53: 561-570.
- [44] Hallinan T, Pohl K R, Brito R. Studies on the inhibition of hepatic microsomal glucuronidation by uridine nucleotides or adenosine triphosphate [J]. *Med Biol*, 1979, 57: 269-273.
- [45] Nishimura Y, Maeda S, Ikushiro S, *et al.* Inhibitory effects of adenine nucleotides and related substances on UDP-glucuronosyltransferase: structure-effect relationships and evidence for an allosteric mechanism [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1770: 1557-1566.
- [46] Uchaipichat V, Mackenzie P I, Guo X H, *et al.* Human UDP glucuronosyltransferases: isoform selectivity and kinetics of 4-methylumbelliferone and 1-naphthol glucuronidation, effects of organic solvents, and inhibition by diclofenac and probenecid [J]. *Drug Metab Dispos*, 2004, 32: 413-423.
- [47] King C D, Green M D, Rios G R, *et al.* The glucuronidation of exogenous and endogenous compounds by stably expressed rat and human UDP glucuronosyltransferase [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1996, 332: 92-100.
- [48] Fang Z Z, He R R, Cao Y F, *et al.* A model of *in vitro* UDP-glucuronosyltransferase inhibition by bile acids predicts possible metabolic disorders [J]. *Lipid Res*, 2013, 54: 3334-3344.
- [49] Lagace T A, Ridgway N D. The role of phospholipids in the biological activity and structure of the endoplasmic reticulum [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833: 2499-2510.
- [50] Diatlovitskaia E V, Lemenovskaia A F, Archakov A I, *et al.* Alteration of the lipid composition of rat liver microsomes on reconstitution of the cytochrom P-450 system [J]. *Biokhimiia*, 1977, 42:139-143.
- [51] Matsumoto T, Kobayashi T, Kamata K. Role of lysophosphatidylcholine (LPC) in atherosclerosis [J]. *Curr Med Chem*, 2007, 14: 3209-3220.
- [52] Han M S, Lim Y M, Quan W, *et al.* Lysophosphatidylcholine as an effector of fatty acid-induced insulin resistance [J]. *Lipid Res*, 52: 1234-1246.
- [53] Gao X, Qu H, Ai C Z, *et al.* Regulation profile of phosphatidylcholines (PCs) and lysophosphatidylcholines (LPCs) components towards UDP-glucuronosyl transferases (UGTs) isoforms [J]. *Xenobiotica*, 2015, 45: 197-206.