

玉米须总黄酮对大鼠尿酸性肾病的改善作用及其机制

路 静¹, 刘萌萌¹, 韩跃威², 黄晓巍^{1,3}, 王雨辰¹, 林 贺¹, 张天柱¹, 林 喆¹, 律广富^{1,4}

(1. 长春中医药大学药学院中药资源重点研究室, 吉林 长春 130117; 2. 长春赛斯医疗生物工程有限公司技术部, 吉林 长春 130021; 3. 长春中医药大学东北亚中医药研究院基础研究所, 吉林 长春 130117; 4. 长春中医药大学吉林省人参科学研究院药理组, 吉林 长春 130117)

[摘要] **目的:** 探讨玉米须总黄酮(TFCS)对尿酸性肾病模型大鼠肾脏损伤的改善作用, 并阐明其可能的机制。**方法:** 60只Wistar雄性大鼠随机分为对照组、模型组、阳性对照组[苯溴马隆(BZM)组, $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$]、低剂量TFCS组($20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、中剂量TFCS组($40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)和高剂量TFCS组($80\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), 每组10只。除对照组外, 其余各组大鼠灌服 $350\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 氧嗪酸钾+ $70\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 腺嘌呤4周, 建立尿酸性肾病大鼠模型, 不同剂量TFCS组大鼠连续灌服TFCS 2周。散斑血流成像仪检测各组大鼠肾脏血液灌注情况并计算各组大鼠肾脏系数, HE染色法和Masson染色法检测各组大鼠肾组织病理形态表现及纤维化程度, 酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测各组大鼠血清中尿酸(UA)、肌酐(Cr)、血尿素氮(BUN)、白细胞介素6(IL-6)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平以及尿液中 β_2 -微球蛋白(β_2 -MG)和微量白蛋白(ALB)水平, Western blotting法检测各组大鼠肾组织中尿酸盐转运蛋白1(URAT1)、葡萄糖转运蛋白9(GLUT9)和ATP结合转运蛋白G2(ABCG2)蛋白表达水平。**结果:** 与对照组比较, 模型组大鼠肾脏血流灌注量明显降低($P<0.01$); 与模型组比较, BZM组和低、中及高剂量TFCS组大鼠肾脏血流灌注量均升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与对照组比较, 模型组大鼠肾脏质量增加, 肉眼可观察到肾脏表面有白色颗粒状斑点, 无血色, 体积增加; 与模型组比较, BZM组和中及高剂量TFCS组大鼠肾脏体积减小, 颜色趋于对照组, 表面白色颗粒状斑点明显减少。与模型组比较, BZM组和中及高剂量TFCS组大鼠肾脏系数降低($P<0.01$)。HE染色法, 对照组大鼠肾组织结构无异常; 模型组大鼠肾组织可见少量棕黄色尿酸结晶沉积, 间质结缔组织增生; 与模型组比较, BZM组和不同剂量TFCS组大鼠肾组织损伤均有不同程度减轻, 炎症浸润减轻。Masson染色法, 对照组大鼠肾组织未见明显胶原纤维沉积; 模型组大鼠肾组织可见大量蓝色胶原纤维沉积, 胶原容积分数(CVF)较对照组升高($P<0.01$); 与模型组比较, BZM组和不同剂量TFCS组大鼠CVF降低($P<0.01$)。ELISA法, 与对照组比较, 模型组大鼠血清中UA、Cr、BUN、IL-6和TNF- α 水平升高($P<0.01$); 与模型组比较, BZM组和中及高剂量TFCS组大鼠血清中UA、Cr、BUN、IL-6和TNF- α 水平降低($P<0.01$)。与对照组比较, 模型组大鼠尿液中 β_2 -MG和ALB水平升高($P<0.01$); 与模型组比较, BZM组和不同剂量TFCS组大鼠尿液中 β_2 -MG和ALB水平降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。Western blotting法, 与对照组比较, 模型组大鼠肾组织中URAT1和GLUT9蛋白表达水平升高($P<0.01$), ABCG2蛋白表达水平降低($P<0.01$); 与模型组比较, BZM组和不同剂量TFCS组大鼠肾组织中URAT1和GLUT9蛋白表达水平均降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$), ABCG2蛋白表达水平均升高($P<0.01$)。**结论:** TFCS能明显减轻尿酸性肾病模型大鼠的肾脏损伤, 其机制可能与TFCS降低肾组织中URAT1和GLUT9蛋白表达水平及升高ABCG2蛋白表达

[收稿日期] 2024-10-06 [录用日期] 2024-12-15

[基金项目] 吉林省科技厅科技发展计划项目(20240602036RC)

[作者简介] 路 静(1984—), 女, 吉林省长春市人, 在读硕士研究生, 主要从事中药资源与开发方面的研究。

[通信作者] 律广富, 副研究员, 硕士研究生导师(E-mail: message219@163.com);

张天柱, 教授, 硕士研究生导师(E-mail: 183277264@qq.com)

©《吉林大学学报(医学版)》编辑部, 开放获取遵循CC BY-NC-ND协议。

© Editorial Board of Journal of Jilin University (Medicine Edition). Open access under CC BY-NC-ND license.

水平有关联。

[关键词] 玉米须黄酮提取物; 尿酸性肾病; 血液灌注; 尿酸转运体; 肾脏损伤

[中图分类号] R96 [文献标志码] A

Ameliorative effect of total flavonoids from corn silk on urate nephropathy in rats and its mechanism

LU Jing¹, LIU Mengmeng¹, HAN Yuewei², HUANG Xiaowei^{1,3}, WANG Yuchen¹, LIN He¹,
ZHANG Tianzhu¹, LIN Zhe¹, LYU Guangfu^{1,4}

(1. Key Laboratory of Chinese Medicine Resource Science, School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 2. Technical Department, Changchun Seth Medical & Biological Engineering Co., Changchun 130021, China; 3. Basic Research Institute, Northeast Asia Institute of Chinese Medicine, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 4. Department of Pharmacology, Jilin Ginseng Academy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

ABSTRACT Objective: To discuss the ameliorative effect of total flavonoids from corn silk (TFCS) on kidney injury in the rats with urate nephropathy, and to clarify the possible mechanism. **Methods:** Sixty male Wistar rats were randomly divided into control group, model group, positive control group [benzbromarone (BZM) group, $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$], low dose of TFCS group ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), medium dose of TFCS group ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), and high dose of TFCS group ($80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), and there were 10 rats in each group. Except for control group, the rats in the other groups were administered potassium oxonate ($350 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and adenine ($70 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) by gavage for 4 weeks to establish the hyperuricemic nephropathy models. The rats in different doses of TFCS groups were treated with TFCS for 2 weeks. Speckle blood flow imager was used to detect the renal blood perfusion of the rats in various groups and the kidney coefficients of the rats in various groups were calculated; HE staining and Masson staining were used to observe the pathomorphology and fibrosis degrees of kidney tissue of the rats in various groups and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method was used to detect the levels of uric acid (UA), creatinine (Cr), blood urea nitrogen (BUN), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the serum and levels of β_2 -microglobulin (β_2 -MG) and microalbumin (ALB) in the urine of the rats in various groups; Western blotting method was used to detect the expression levels of urate transporter 1 (URAT1), glucose transporter 9 (GLUT9), and ATP-binding cassette transporter G2 (ABCG2) proteins in kidney tissue of the rats in various groups. **Results:** Compared with control group, the renal blood perfusion volume of the rats in model group was significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with model group, the renal blood perfusion volumes of the rats in BZM group and low, medium, and high doses of TFCS groups were significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with control group, the kidney weight of the rats in model group was increased, with visible white granular spots on the surface, absence of blood color, and kidney volume was increased. Compared with model group, the kidney volumes of the rats in BZM group and medium and high doses of TFCS groups were decreased, with color tending toward that in control group, and the white granular spots on the surface were significantly reduced. Compared with model group, the kidney coefficients of the rats in BZM group and medium and high doses of TFCS groups were decreased ($P < 0.01$). The HE staining results showed there were no abnormalities in kidney tissue structure in control group, while there were a small amount of brown-yellow urate crystal deposition and interstitial connective tissue hyperplasia in model group; compared with

model group, the kidney tissue damage and inflammatory infiltration were alleviated to varying degrees in BZM group and different doses of TFCS groups. The Masson staining results revealed no obvious collagen fiber deposition in control group, whereas significant blue collagen fiber deposition in kidney tissue of the rats was found in model group, and the collagen volume fraction (CVF) was increased compared with control group ($P<0.01$); compared with model group, the CVFs of the rats in BZM group and different doses of TFCS groups were decreased ($P<0.01$). The ELISA results showed that compared with control group, the levels of UA, Cr, BUN, IL-6, and TNF- α in serum of the rats in model group were increased ($P<0.01$); compared with model group, the levels of UA, Cr, BUN, IL-6, and TNF- α in serum of the rats in BZM group and medium and high doses of TFCS groups were decreased ($P<0.01$). Compared with control group, the levels of β_2 -MG and ALB in urinary in model group were increased ($P<0.01$); compared with model group, the levels of β_2 -MG and ALB in urinary of the rats in different doses of TFCS groups were decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$). The Western blotting results showed that compared with control group, the expression levels of URAT1 and GLUT9 proteins in kidney tissue of the rats in BZM group and model group were increased ($P<0.01$), while the expression level of ABCG2 protein was decreased ($P<0.01$). Compared with model group, the expression levels of URAT1 and GLUT9 proteins in kidney tissue of the rats in different doses of TFCS groups were decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$), and the expression level of ABCG2 protein was increased ($P<0.01$). **Conclusion:** TFCS can significantly alleviate the kidney injury in the rats with urate nephropathy model, and its mechanism may be related to the downregulation of expression of URAT1 and GLUT9 proteins and upregulation of ABCG2 protein expression in kidney tissue.

KEYWORDS Extract of total flavonoids from corn silk; Urate nephropathy; Blood perfusion; Uric acid transporter; Kidney injury

尿酸性肾病是一种慢性疾病, 主要因嘌呤代谢功能紊乱导致尿酸升高形成尿酸盐沉积于肾小管和肾间质内, 进而引发间质性肾炎, 又称为痛风性肾病^[1]。高尿酸血症作为尿酸(uric acid, UA)的生物化学基础, 不仅能导致尿酸性肾病的发生, 同时也可作为独立的危险因素与高血压、糖尿病和高血脂等代谢性疾病的发生发展有密切关联^[2-3]。高尿酸已经成为继高血脂、高血糖和高血压“三高”后, 威胁人类大健康的“第四高”。有效控制UA水平对于高血压、高血脂和心血管疾病的治疗具有重要意义^[4-5]。目前尚无疗效理想的药物控制人体的UA水平。西药可以短时间内控制UA水平, 但长时间服用会对人体造成严重的不良反应, 同时也是诱发尿酸性肾病的潜在因素之一。玉米须作为药食同源的一类中药材, 具有多种药理作用, 主要用于治疗肾炎性水肿、小便不利、湿热黄疸、高血压和糖尿病等疾病。本研究通过制备尿酸性肾病模型评价玉米须总黄酮(total flavonoids from corn silk, TFCS)对尿酸性肾病模型大鼠肾脏损伤的保护作用及其作用机制, 为治疗高尿酸血症和尿酸性肾病提供理论依据, 同时为促进玉米须的综合利用和新

药研制提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物、主要试剂和仪器 60只雄性SPF级Wistar大鼠, 体质量(200 ± 20)g, 购自吉林省长春市亿斯实验动物技术有限责任公司, 动物生产许可证号: SCXK(吉)2020-0002, 实验动物饲养和处理均在长春中医药大学动物实验中心进行, 动物使用许可证号: SYXK(吉)2023-0015, 且经长春中医药大学动物实验伦理委员会批准(伦理审批号: 2023456), 饲养环境保持在光照明暗交替、温度 $22\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 26\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度40%~70%条件下。TFCS由长春中医药大学药学院制备。苯溴马隆(benzbromarone, BZM)(常州康普药业有限公司), 氧嗪酸钾和腺嘌呤(美国MedChemExpress公司), 大鼠 β_2 -微球蛋白(β_2 -microglobulin, β_2 -MG)、微量白蛋白(microalbumin, ALB)、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子 α (tumour necrosis factor- α , TNF- α)酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)分析试剂盒(江苏酶免实业有限公司), UA、肌酐(creatinine, Cr)和血尿素氮(blood urea nitrogen,

BUN)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司),BCA蛋白浓度检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司),尿酸盐转运蛋白1(urate transporter 1, URAT1)(武汉三鹰生物技术有限公司),葡萄糖转运蛋白9(glucose transporter 9, GLUT9)、ATP结合转运蛋白G2(ATP-binding cassette transporter G2, ABCG2)蛋白和GAPDH抗体(英国Abcam公司)。散斑血流成像仪(型号:PeriCam PSI,瑞典帕瑞医学公司),酶标仪(型号:Multiskan FC,美国赛默飞世尔科技公司),显微镜(型号:DM250,德国LEICA公司),电泳仪(型号:BE6085,美国Bio-Rad公司),化学发光成像仪(型号:Q9-Aliance,英国UVItec公司)。

1.2 实验动物分组和尿酸性肾病模型制备^[6] 大鼠自由饮食饮水7 d后,随机分为对照组、模型组、阳性对照组(BZM组)、低剂量TFCS组(20 mg·kg⁻¹ TFCS)、中剂量TFCS组(40 mg·kg⁻¹ TFCS)和高剂量TFCS组(80 mg·kg⁻¹ TFCS),每组10只,除对照组外,其余各组大鼠每天灌服氧嗪酸钾350 mg·kg⁻¹+腺嘌呤70 mg·kg⁻¹,连续灌胃28 d。第15天,对照组、模型组大鼠灌胃给予生理盐水(10 mL·kg⁻¹·d⁻¹),BZM组大鼠灌胃BZM混悬液(5 mg·kg⁻¹·d⁻¹),各剂量TFCS组大鼠灌胃相应剂量TFCS,连续给药治疗14 d。

1.3 散斑血流成像仪检测各组大鼠肾脏血流灌注量 大鼠经戊巴比妥钠(40 mg·kg⁻¹)麻醉后俯卧固定于手术台上,剪去肾脏所在区域的毛发,用手术剪将大鼠背部皮肤剪开,小心清理肾脏周围的组织,暴露肾脏,采用散斑血流成像仪检测大鼠肾脏血流变化,以PU作为血流灌注量的单位(即Per Unit,相对制单位),检测高度8.5 cm,检测范围4 cm²,检测频率10张/s,检测时间30 s。计算30 s内灌注量(30 s内所有监测数据的平均值)和平均曲线下面积(取各组样本30 s内灌注曲线下面积平均值)。

1.4 各组大鼠血清、尿液和肾脏采集及肾脏系数计算 末次给药后称量各组大鼠体质量,收集24 h尿液,过滤、离心,取上清,-80℃保存备用。肾脏血流监测后,腹主动脉取血分离血清,摘取各组大鼠肾脏,观察肾脏大体形态表现,称量肾脏质量,计算肾脏系数。肾脏系数=单侧肾脏质量/大鼠体质量×100%,将组织样品转移至-80℃超低温冰箱中保存备用。

1.5 HE染色法和Masson染色法观察各组大鼠肾组织病理形态表现及纤维化程度 取固定好的肾脏样本,按照病理制片操作流程进行蜡块制作和HE染色及Masson染色,观察各组大鼠肾组织病理变化,采用Image Pro Plus软件分析Masson染色切片视野总范围中胶原像素面积,通过胶原沉积面积占比即胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF)评估各组大鼠肾间质纤维化情况。

1.6 ELISA法检测各组大鼠血清中UA、Cr、BUN、IL-6和TNF-α水平以及尿液中β₂-MG和ALB水平 按照ELISA试剂盒说明书分别检测各组大鼠血清中UA、Cr、BUN、IL-6和TNF-α水平以及尿液中β₂-MG和ALB水平。

1.7 Western blotting法检测各组大鼠肾组织中URAT1、GLUT9和ABCG2蛋白表达水平 将冻存于-80℃超低温冰箱中的大鼠肾组织取出,常温解冻,裂解、匀浆、破碎,取上清液进行蛋白浓度的测定,上样电泳后转膜,5%脱脂奶粉室温封闭1 h。加入URAT1(1:1 000)、GLUT9(1:1 000)、ABCG2(1:1 000)和GAPDH(1:5 000)抗体,孵育过夜,室温孵育相应种属的二抗,洗膜后ECL显色,凝胶成像系统进行图像采集并保存,以GAPDH为内参,计算目的蛋白表达水平。目的蛋白表达水平=目的蛋白条带灰度值/GAPDH蛋白条带灰度值。

1.8 统计学分析 采用SPSS 20.0统计软件进行统计学分析。各组大鼠肾脏血流灌注量,平均曲线下面积,肾脏系数,血清中UA、Cr、BUN、IL-6和TNF-α水平,尿液中β₂-MG和ALB水平,肾组织中URAT1、GLUT9和ABCG2蛋白表达水平均符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间样本均数比较采用单因素方差分析,组间样本均数两两比较采用SNK-*q*检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

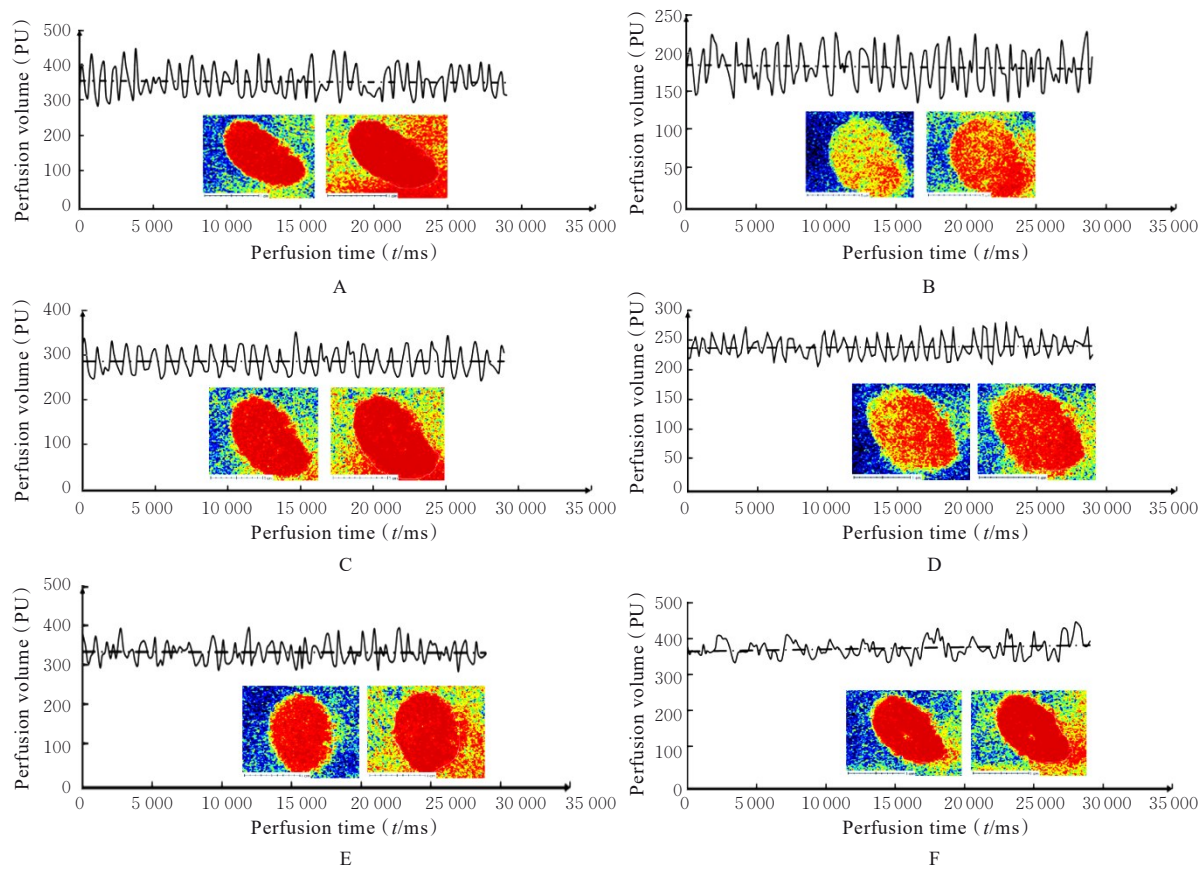
2.1 各组大鼠肾脏血流灌注量 与对照组比较,模型组大鼠肾脏血流灌注量和平均曲线下面积明显降低($P < 0.01$);与模型组比较,BZM组和低、中及高剂量TFCS组大鼠肾脏血流灌注量均明显升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),中和高剂量TFCS组大鼠平均曲线下面积升高($P < 0.01$),且具有一定的剂量依赖性,其中高剂量TFCS组效果最为明显。见表1和图1。

2.2 各组大鼠肾脏大体形态表现和肾脏系数 与

表 1 各组大鼠肾脏平均血流灌注量
Tab. 1 Renal blood perfusion of rats in various groups (n=10, $\bar{x}\pm s$)

Group	Perfusion volume(PU)	Average area under curve(PU·mm ²)
Control	308.81±16.47	8 971.45±338.27
Model	243.09±17.67*	6 689.36±523.58*
BZM	275.23±16.05 ^{△△}	7 547.09±642.23 ^{△△}
TFCS		
Low dose	272.63±10.71 [△]	6 816.57±278.40
Medium dose	276.22±16.47 ^{△△}	7 268.67±338.27 ^{△△}
High dose	283.08±12.89 ^{△△}	8 180.33±463.37 ^{△△}

*P<0.01 vs control group; [△]P<0.05, ^{△△}P<0.01 vs model group.



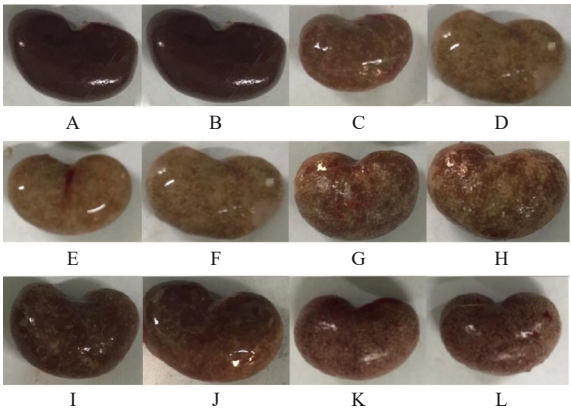
A: Control group; B: Model group; C: BZM group; D: Low dose of TFCS group; E: Medium dose of TFCS group; F: High dose of TFCS group.

图 1 各组大鼠肾脏血流灌注曲线

Fig. 1 Curves of renal blood perfusion of rats in various groups

对照组比较, 模型组大鼠肾脏质量增加, 肉眼可观察到肾脏表面有白色颗粒状斑点, 无血色, 体积大于正常动物的肾脏; 与模型组比较, BZM组和中及高剂量TFCS组大鼠肾脏体积减小, 颜色趋于对照组, 肾脏表面白色颗粒状斑点明显减少。与对照组比较, 模型组大鼠肾脏系数升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 不同剂量TFCS组大鼠肾脏系数均

有所降低, 其中BZM组和中及高剂量TFCS组大鼠肾脏系数降低 ($P<0.01$)。见图2和表2。
2.3 各组大鼠肾组织病理形态表现和纤维化程度 HE染色结果显示: 对照组大鼠肾组织结构无异常, 结构清晰, 间质结缔组织无明显增生; 模型组大鼠肾组织可见少量棕黄色尿酸结晶沉积, 间质结缔组织增生, 伴有少量淋巴细胞浸润, 肾小



A,B:Control group;C,D:Model group;E,F:BZM group;G,H: Low dose of TFCS group; I,J: Medium dose of TFCS group; K,L:High dose of TFCS group.

图2 各组大鼠肾脏大体形态表现

Fig. 2 Gross morphology of kidney of rats in various groups

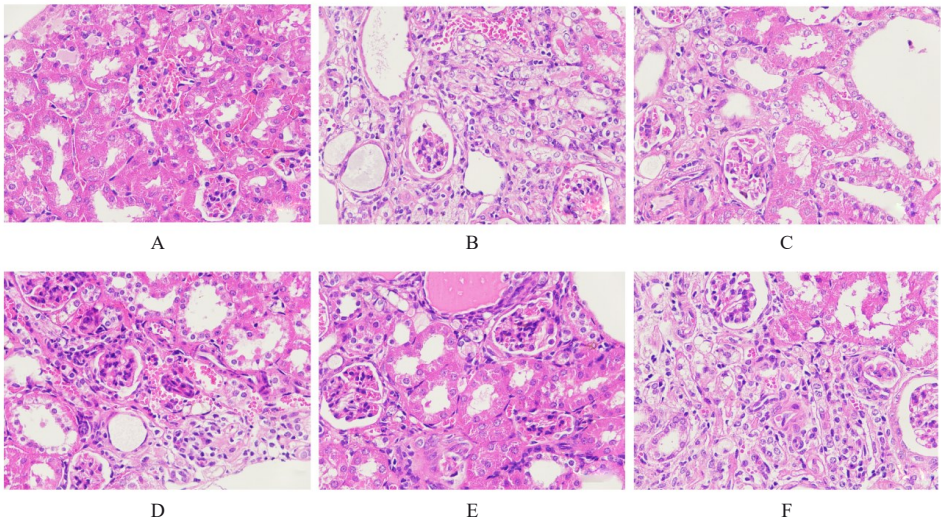
管扩张，上皮细胞坏死脱落，排列不规则，间质纤维化严重；与模型组比较，BZM 组和各剂量 TFCS 组大鼠肾组织损伤均有不同程度减轻，炎症浸润减轻，未见或偶见尿酸盐结晶，其中以高剂量

表2 各组大鼠肾脏质量和肾脏系数
Tab. 2 Kidney coefficients of rats in various groups
($n=10, \bar{x} \pm s$)

Group	Unilateral kidney weight(m/g)	Kidney coefficient ($\eta/\%$)
Control	1.17 ± 0.23	0.38 ± 0.04
Model	1.69 ± 0.21	$0.58 \pm 0.09^*$
BZM	1.42 ± 0.46	$0.43 \pm 0.03^\Delta$
TFCS		
Low dose	1.58 ± 0.08	0.55 ± 0.05
Medium dose	1.35 ± 0.26	$0.49 \pm 0.09^\Delta$
High dose	1.28 ± 0.09	$0.42 \pm 0.02^\Delta$

* $P<0.01$ vs control group; $^\Delta P<0.01$ vs model group.

TFCS 组大鼠肾组织损伤程度最小。Masson 染色结果显示：对照组大鼠肾组织未见明显胶原纤维沉积；模型组大鼠肾组织可见大量蓝色胶原纤维沉积，胶原阳性面积占比较对照组明显升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，BZM 组和不同剂量 TFCS 组大鼠肾组织 CVF 均降低 ($P<0.01$)。见图 3、图 4 和表 3。



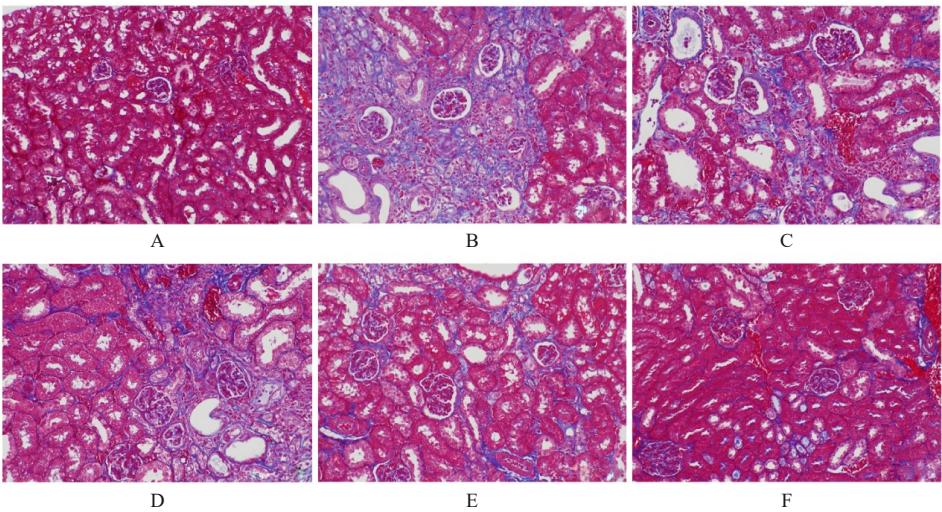
A: Control group; B: Model group; C: BZM group; D: Low dose of TFCS group; E: Medium dose of TFCS group; F: High dose of TFCS group.

图3 各组大鼠肾组织病理形态表现(HE, ×400)

Fig. 3 Pathomorphology of kidney tissue of rats in various groups(HE, ×400)

2.4 各组大鼠血清中 UA、Cr、BUN、IL-6 和 TNF- α 水平 与对照组比较，模型组大鼠血清中 UA、Cr、BUN、IL-6 和 TNF- α 水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，BZM 组和不同剂量 TFCS 组大鼠血清中 UA、Cr、BUN、IL-6 及 TNF- α 水平

降低 ($P<0.01$)。见表 4。
2.5 各组大鼠尿液中 β_2 -MG 和 ALB 水平 与对照组比较，造模 4 周后模型大鼠尿液中 β_2 -MG 和 ALB 水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，BZM 组和不同剂量 TFCS 组大鼠尿液中 β_2 -MG 和 ALB 水平



A: Control group; B: Model group; C: BZM group; D: Low dose of TFCS group; E: Medium dose of TFCS group; F: High dose of TFCS group.

图4 各组大鼠肾组织纤维化程度(Masson, ×200)

Fig. 4 Degrees of kidney tissue fibrosis of rats in various groups(Masson, ×200)

表3 各组大鼠肾组织 CVF

Tab. 3 CVF in kidney tissue of rats in various groups
($n=10, \bar{x} \pm s, \eta/\%$)

Group	CVF
Control	6.63±0.99
Model	53.61±2.76*
BZM	42.78±2.77 [△]
TFCS	
Low dose	38.55±2.19 [△]
Medium dose	24.59±5.00 [△]
High dose	19.43±3.12 [△]

* $P<0.01$ vs control group; [△] $P<0.01$ vs model group.

降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。见表5。

2.6 各组大鼠肾组织中 URAT1、GLUT9 和 ABCG2 蛋白表达水平 与对照组比较, 模型组大

鼠肾组织中 URAT1 和 GLUT9 蛋白表达水平升高 ($P<0.01$), ABCG2 蛋白表达水平降低 ($P<0.01$); 与模型组比较, BZM 组和不同剂量 TFCS 组大鼠肾组织中 URAT1 和 GLUT9 蛋白表达水平均降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), ABCG2 蛋白表达水平升高 ($P<0.01$)。见图5和表6。

3 讨论

研究^[7]显示: 氧嗪酸钾联合腺嘌呤可诱导制备稳定的大鼠尿酸性肾病动物模型, 该方法诱导的尿酸性肾病与人类发病机制更为接近。腺嘌呤在黄嘌呤氧化酶的作用下转变为 UA, 而高浓度腺嘌呤则转变为溶解性较差的 2, 8-二羟基腺嘌呤, 沉积于肾小管, 引起肾小管阻塞^[8]。氧嗪酸钾是一种尿酸酶抑制剂, 能够有效阻止尿酸排泄, 氧嗪酸钾与

表4 各组大鼠血清中 UA、Cr、BUN、IL-6 和 TNF-α 水平

Tab. 4 Levels of UA, Cr, BUN, IL-6, and TNF-α in serum of rats in various groups ($n=10, \bar{x} \pm s$)

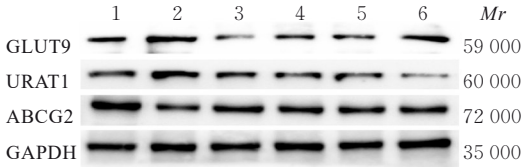
Group	UA [$c_B/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$]	Cr [$c_B/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$]	BUN [$c_B/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$]	IL-6 [$\rho_B/(\text{ng}\cdot\text{L}^{-1})$]	TNF-α [$\rho_B/(\text{ng}\cdot\text{L}^{-1})$]
Control	38.57±3.29	50.52±4.72	19.84±2.18	24.37±3.36	40.15±8.22
Model	98.52±11.74*	84.36±12.37*	42.15±10.59*	66.42±12.83*	102.58±18.62*
BZM	62.47±8.56 ^{△△}	47.22±9.59 [△]	24.46±7.04 ^{△△}	38.41±5.45 ^{△△}	74.27±13.61 ^{△△}
TFCS					
Low dose	75.49±10.92 [△]	79.54±12.29	39.58±11.52	38.73±8.17 ^{△△}	74.59±13.14 ^{△△}
Medium dose	58.71±8.28 ^{△△}	52.54±9.03 ^{△△}	27.51±7.28 ^{△△}	32.86±8.29 ^{△△}	74.88±13.46 ^{△△}
High dose	43.18±6.33 ^{△△}	40.65±9.73 ^{△△}	18.05±6.27 ^{△△}	26.75±6.19 ^{△△}	70.45±11.83 ^{△△}

* $P<0.01$ vs control group; [△] $P<0.05$, ^{△△} $P<0.01$ vs model group.

表 5 各组大鼠尿液中 β_2 -MG 和 ALB 水平
Tab. 5 Levels of β_2 -MG and ALB in urinary of rats in various groups [n=10, $\bar{x}\pm s$, $\rho_B/(mg\cdot L^{-1})$]

Group	β_2 -MG	ALB
Control	5.08±0.71	5.50±4.79
Model	39.44±10.14*	17.81±2.81*
BZM	26.08±5.42 $\triangle\triangle$	8.54±2.75 $\triangle\triangle$
TFCS		
Low dose	32.72±8.32 $\triangle$	10.04±5.04 $\triangle$
Medium dose	27.64±6.13 $\triangle\triangle$	11.21±1.10 $\triangle\triangle$
High dose	22.82±6.67 $\triangle\triangle$	8.73±3.71 $\triangle\triangle$

*P<0.01 vs control group; $\triangle$ P<0.05, $\triangle\triangle$ P<0.01 vs model group.



Lane 1: Control group; Lane 2: Model group; Lane 3: BZM group; Lane 4: High dose of TFCS group; Lane 5: Medium dose of TFCS group; Lane 6: Low dose of TFCS group.

图 5 各组大鼠肾组织中 URAT1、GLUT9 和 ABCG2 蛋白表达电泳图

Fig. 5 Electrophoregram of expressions of URAT1, GLUT9, and ABCG2 proteins in kidney tissue of rats in various groups

腺嘌呤联合可诱导大鼠 UA 水平稳定升高，更接近于人类尿酸性肾脏病变^[9]。本研究采用 350 mg·kg⁻¹ 氧嗪酸钾 + 70 mg·kg⁻¹ 腺嘌呤连续灌胃 Wistar 大鼠 28 d，建立了稳定的尿酸性肾病模型，建立的模型大鼠 UA、Cr 和 BUN 水平均较对照组升高，肾脏组织病理切片显示肾组织有黄色结晶微粒（尿酸盐沉）沉积，肾间质出现纤维化改变，同时模型组大

鼠肾脏外观较对照组出现更多白色颗粒状斑点，无血色，体积大于正常动物的肾脏，提示大鼠尿酸性肾病模型建立成功。

UA 分泌过多和肾脏 UA 排泄紊乱可导致尿酸盐结晶沉积在肾脏，引发肾小管和间质的炎症反应^[10]，通过炎症细胞的浸润和促纤维化作用，导致肾脏血流量灌注不足，最终引起多种肾损害^[11]。肾脏是机体供血量最丰富的器官，具有较强的血流自主调节能力以维持肾血流量的稳定^[12]。多种因素（炎症反应、高尿酸、梗阻、缺血-再灌注损伤和手术等）均可以导致肾血流自主调节功能受损，导致肾脏血流量变化，引起肾功能损伤^[13-14]。由于高尿酸血症可引起血管平滑肌细胞增生，抑制血管内皮细胞的增生，激活局部的环氧合酶 2 和肾素-血管紧张素系统，诱发氧化应激，导致肾小球的动脉病变，引起肾缺血^[15]，因此对肾脏灌注水平的监测尤为重要。本研究结果显示：氧嗪酸钾 + 腺嘌呤诱导尿酸性肾病大鼠模型肾脏外观出现肿大、内部呈现白色颗粒状，无血色，而对照组大鼠肾脏外观红润，有光泽。激光散斑血流成像是利用血液系统中红细胞的能量来显示血流的信号，彩色信号的亮度以及颜色代表多普勒信号的能量大小，其能量大小与红细胞数量有关联，本研究采用激光散斑血流成像仪在体检测了各组大鼠肾脏血流灌注情况，结果显示：模型组大鼠血流灌注量较对照组明显降低，进一步表明尿酸性肾病大鼠肾脏血液循环障碍。

高浓度血 UA 可引起肾小管和间质炎症反应，这种炎症反应伴随着炎症细胞的浸润和促纤维化作用，最终引起多种肾损伤和肾功能障碍^[16]，本研究检测了大鼠血清中 UA、Cr 和 BUN 水平以及尿液中 β_2 -MG 和 ALB 水平，上述指标可反映肾脏生理功能

表 6 各组大鼠肾组织中 URAT1、GLUT9 和 ABCG2 蛋白表达水平
Tab. 6 Expression levels of URAT1, GLUT9, and ABCG2 proteins in kidney tissue of rats in various groups (n=10, $\bar{x}\pm s$)

Group	URAT1	GLUT9	ABCG2
Control	1.027±0.049	1.048±0.061	1.021±0.031
Model	1.415±0.086*	1.769±0.074*	0.532±0.020*
BZM	0.862±0.032 $\triangle\triangle$	0.507±0.036 $\triangle\triangle$	0.776±0.023 $\triangle\triangle$
TFCS			
Low dose	0.488±0.149 $\triangle\triangle$	1.383±0.084 $\triangle$	0.649±0.041 $\triangle\triangle$
Medium dose	0.857±0.037 $\triangle\triangle$	0.804±0.052 $\triangle\triangle$	0.691±0.026 $\triangle\triangle$
High dose	0.814±0.011 $\triangle\triangle$	0.842±0.047 $\triangle\triangle$	0.741±0.038 $\triangle\triangle$

*P<0.01 vs control group; $\triangle$ P<0.05, $\triangle\triangle$ P<0.01 vs model group.

和损伤程度^[17-18], 尿酸性肾病模型大鼠经2周给药后尿液中 β_2 -MG和ALB水平明显低于模型组, 特别是高剂量TFCS组效果最为明显, 表明TFCS可改善尿酸性肾病大鼠的肾脏损伤, 对肾脏有一定保护作用。另一方面, 炎症反应在尿酸性肾病肾脏损伤的进程中也起重要作用, 是诱发和加重尿酸性肾病肾脏损伤的重要因素之一^[19], 当血液中UA储存超量时会促使肾脏固有细胞(巨噬细胞)表型发生转化, 释放多种炎症介质和细胞外基质, 导致肾小球炎症病变和慢性进展性损害^[20]。既往研究^[21-22]显示: 慢性肾衰竭患者体内TNF- α 和IL-6水平升高, 且其水平与肾功能呈一定的相关性, 即肾功能下降越明显, 炎症指标相对越高, 提示炎症反应参与了肾脏损伤的发生发展。本研究结果显示: 尿酸性肾病大鼠血清中炎症介质IL-6和TNF- α 水平明显升高, TFCS给药14 d后, IL-6和TNF- α 水平明显降低, 提示TFCS还能够抑制尿酸性肾病大鼠肾脏炎症反应, 结合HE和Masson染色结果可推断TFCS能够抑制肾脏损伤炎症反应, 改善肾脏病理环境, 对肾脏具有一定的保护作用。

TFCS是玉米须中的主要化学成分之一, 占玉米须干重的3%, 包括木犀草素、芒柄花素和异鼠李素等在内的TFCS有多种药理活性, 在抗氧化、抗炎和降UA等方面作用显著^[23], 具有潜在的治疗尿酸性肾病的能力。黄酮摄入与高尿酸血症发生风险之间存在明显的负相关关系^[24]。TFCS可抑制黄嘌呤氧化酶, 促进肾UA排泄^[25]。TFCS, 如木犀草素可通过降低TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平以降低大鼠UA水平^[26], 花青素可降低GLUT9蛋白表达水平^[27]。

本研究探讨了TFCS对UA转运蛋白的调控作用, URAT1、GLUT9和ABCG2在肾脏中是参与UA转运的重要蛋白, 也是目前国内外开发降UA新药的热门靶点^[28], 本研究重点探讨了TFCS对UA重吸收蛋白URAT1和GLUT9及UA分泌蛋白ABCG2的作用。URAT1表达于近曲小管上皮细胞的管腔侧, 通过影响有机阴离子-尿酸盐的交换, 介导尿酸盐在近曲小管的重吸收^[29]。GLUT9能够促进UA在近端肾小管的重吸收, 可将被吸收入肾小管上皮细胞内的UA转运入肾间质中^[30]。ABCG2在肾脏中位于肾近端小管上皮细胞膜刷状缘, 介导细胞内UA的分泌, 是一种高能的UA转运蛋白^[31]。ABCG2蛋白表达降低会导致UA排出

减少, 可引起UA水平升高。上述3种蛋白已被证实UA的代谢过程中起重要作用。本研究结果显示: TFCS可降低大鼠肾组织中URAT1和GLUT9蛋白表达水平并升高ABCG2蛋白表达水平, 提示TFCS可使尿酸盐在近曲小管重吸收减少, 排出增多, 引起血中UA水平降低。

综上所述, TFCS能够有效改善尿酸性肾病大鼠的血UA水平和炎症反应, 并提高肾脏血流灌注等, 对尿酸性肾病大鼠肾脏起一定的保护作用, 该作用可能与调控UA转运蛋白URAT1、GLUT9和ABCG2蛋白表达水平有关联。

利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:

路静和刘萌萌参与数据收集、统计学分析及论文撰写, 韩跃威提供样品, 王雨辰、林贺和律广富参与论文选题、实验操作及实验样品提取与分离, 黄晓巍、张天柱和林喆参与实验设计及实验指导。

[参考文献]

- [1] DU L, ZONG Y, LI H R, et al. Hyperuricemia and its related diseases: mechanisms and advances in therapy[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 212.
- [2] KUWABARA M, KODAMA T, AE R, et al. Update in uric acid, hypertension, and cardiovascular diseases[J]. *Hypertens Res*, 2023, 46(7): 1714-1726.
- [3] RHO Y H, ZHU Y Y, CHOI H K. The epidemiology of uric acid and fructose[J]. *Semin Nephrol*, 2011, 31(5): 410-419.
- [4] TORRALBA K D, DE JESUS E, RACHABATTULA S. The interplay between diet, urate transporters and the risk for gout and hyperuricemia: current and future directions [J]. *Int J Rheum Dis*, 2012, 15(6): 499-506.
- [5] ZHENG Y, CHEN Z R, YANG J Y, et al. The role of hyperuricemia in cardiac diseases: evidence, controversies, and therapeutic strategies [J]. *Biomolecules*, 2024, 14(7): 753.
- [6] 范丽妃, 郭玉琴, 林 敏, 等. 基于自噬途径探讨补阳还五汤合抵挡汤改善尿酸性肾病大鼠肾脏损伤的作用机制[J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(8): 3989-3995.
- [7] 李东东, 刘伟伟, 周子正, 等. 降尿酸方对尿酸性肾病大鼠肾脏细胞凋亡的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2022, 29(6): 49-54.
- [8] 夏新泽, 赖文辉, 黄 帅, 等. 2型糖尿病合并终末期肾

- 病患者同期胰肾联合移植术后危险因素: UNOS数据库50230例分析[J]. 解放军医学杂志, 2024, 49(4): 371-379.
- [9] 王倩茹, 侯久文, 梅其炳, 等. 人类肾脏疾病动物模型研究进展[J]. 神经药理学报, 2023, 13(4): 29-35.
- [10] ZHENG Z H, HARMAN J L, CORESH J, et al. The dietary fructose: vitamin C intake ratio is associated with hyperuricemia in African-American adults [J]. *J Nutr*, 2018, 148(3): 419-426.
- [11] JOHNSON R J, NAKAGAWA T, JALAL D, et al. Uric acid and chronic kidney disease: which is chasing which? [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2013, 28(9): 2221-2228.
- [12] CALIXTO FERNANDES M H, SCHRICKER T, MAGDER S, et al. Perioperative fluid management in kidney transplantation: a black box [J]. *Crit Care*, 2018, 22(1): 14.
- [13] ALHUMMIANY B, SHARMA K, BUCKLEY D L, et al. Physiological confounders of renal blood flow measurement [J]. *MAGMA*, 2024, 37(4): 565-582.
- [14] BEIERWALTES W H, HARRISON-BERNARD L M, SULLIVAN J C, et al. Assessment of renal function; clearance, the renal microcirculation, renal blood flow, and metabolic balance [J]. *Compr Physiol*, 2013, 3(1): 165-200.
- [15] KO J, KANG H J, KIM D A, et al. Uric acid induced the phenotype transition of vascular endothelial cells *via* induction of oxidative stress and glycocalyx shedding [J]. *FASEB J*, 2019, 33(12): 13334-13345.
- [16] PAN J, SHI M, MA L, et al. Mechanistic insights of soluble uric acid-related kidney disease [J]. *Curr Med Chem*, 2020, 27(30): 5056-5066.
- [17] UEMURA T, NISHIMOTO M, ERIGUCHI M, et al. Utility of serum β 2-microglobulin for prediction of kidney outcome among patients with biopsy-proven diabetic nephropathy [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2024, 26(2): 583-591.
- [18] WANG Y C, HUANG M, DU X, et al. Renal tubular cell necroptosis: a novel mechanism of kidney damage in trichloroethylene hypersensitivity syndrome mice [J]. *J Immunotoxicol*, 2021, 18(1): 173-182.
- [19] 阮颖新, 贾俊亚, 武占飞, 等. NLRP3炎症小体在大鼠单侧输尿管梗阻引起肾间质纤维化中的作用及其机制 [J]. 吉林大学学报(医学版), 2024, 50(3): 587-595.
- [20] WANG M, LIN X, YANG X M, et al. Research progress on related mechanisms of uric acid activating NLRP3 inflammasome in chronic kidney disease [J]. *Ren Fail*, 2022, 44(1): 615-624.
- [21] BRAGA T T, FORESTO-NETO O, CAMARA N O S. The role of uric acid in inflammasome-mediated kidney injury [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2020, 29(4): 423-431.
- [22] KONO H, CHEN C J, ONTIVEROS F, et al. Uric acid promotes an acute inflammatory response to sterile cell death in mice [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(6): 1939-1949.
- [23] 闫书博, 冯聪慧, 张原宾, 等. 玉米须功能性成分及药理价值研究进展 [J]. 食品工程, 2023(3): 7-9.
- [24] LI H L, SHI L, CHEN X L, et al. Association between dietary intake of flavonoids and hyperuricemia: a cross-sectional study [J]. *BMC Public Health*, 2023, 23(1): 1227.
- [25] YE C, HUANG X J, WANG R Y, et al. Dietary inflammatory index and the risk of hyperuricemia: a cross-sectional study in Chinese adult residents [J]. *Nutrients*, 2021, 13(12): 4504.
- [26] LODHI S, VADNERE G P, PATIL K D, et al. Protective effects of luteolin on injury induced inflammation through reduction of tissue uric acid and pro-inflammatory cytokines in rats [J]. *J Tradit Complement Med*, 2019, 10(1): 60-69.
- [27] YANG Y, ZHANG J L, ZHOU Q. Targets and mechanisms of dietary anthocyanins to combat hyperglycemia and hyperuricemia: a comprehensive review [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2022, 62(4): 1119-1143.
- [28] OTANI N, OUCHI M, MISAWA K, et al. Hypouricemia and urate transporters [J]. *Biomedicines*, 2022, 10(3): 652.
- [29] HOSOYAMADA M, TSURUMI Y, HIRANO H, et al. Urat1-Uox double knockout mice are experimental animal models of renal hypouricemia and exercise-induced acute kidney injury [J]. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 2016, 35(10-12): 543-549.
- [30] TOYODA Y, CHO S K, TASIC V, et al. Identification of a dysfunctional exon-skipping splice variant in *GLUT9/SLC2A9* causal for renal hypouricemia type 2 [J]. *Front Genet*, 2023, 13: 1048330.
- [31] ECKENSTALER R, BENNDORF R A. The role of ABCG2 in the pathogenesis of primary hyperuricemia and gout-an update [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(13): 6678.