

陈园园, 曾亚南, 杜小浪, 等. 复方木姜叶柯活性茶对高尿酸血症肾病小鼠尿酸和肾功能的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(1): 60-68.

Chen YY, Zeng YN, Du XL, et al. Effects of compound active tea of *Lithocarpus litseifolius* on uric acid and renal function in mice with hyperuricemia nephropathy [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(1): 60-68.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.01.007

复方木姜叶柯活性茶对高尿酸血症肾病小鼠 尿酸和肾功能的影响

陈园园¹, 曾亚南¹, 杜小浪¹, 慕泽涇¹, 廖成东², 章常华^{1*}, 曹 岚^{1*}

(1. 江西中医药大学, 南昌 330004; 2. 井冈山市木姜叶柯农林开发有限公司, 江西 井冈山 343604)

【摘要】 目的 探究复方木姜叶柯活性茶对高尿酸血症肾病小鼠的尿酸和肾功能的影响, 为开发治疗高尿酸血症肾病的药物和功能性食品提供实验依据。方法 采用氧嗪酸钾联合腺嘌呤建立高尿酸血症肾病小鼠模型。小鼠随机分为空白组、模型组、阳性组(10 mg/(kg·d))、复方茶高、中、低剂量组(10 g/(kg·d)、3.33 g/(kg·d)、1.11 g/(kg·d))。末次给药 1 h 后, 取尿液, 采用 CBB 法测定尿蛋白(UP), 脲酶法检测尿液尿素氮(UUN); 眼眶取血, 采用酶比色法检测尿酸(UA)含量, 脲酶法检测血清尿素氮(BUN)含量, 酶联免疫法检测白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF-α)含量; 取肾组织, 荧光定量分析法检测尿酸盐转运蛋白 1(URAT1)及葡萄糖转运体 9(GLUT9)含量, HE 染色观察肾组织病理变化情况。结果 与空白组相比, 模型组小鼠中 UP、UUN、UA、BUN、IL-6、URAT1、GLUT9 及 TNF-α 水平显著增高($P < 0.01$, $P < 0.05$), 肾组织结构正常。与模型组相比, 阳性组中 UP、UUN、UA、BUN、URAT1、IL-6、TNF-α 水平显著降低($P < 0.01$, $P < 0.05$), 肾组织有少量肾小球萎缩变形, 偶见肾小管扩张, 无炎性细胞浸润。与模型组相比, 复方茶高剂量组中 UP、UUN、UA、BUN、IL-6、URAT1、TNF-α 水平显著降低($P < 0.01$, $P < 0.05$); 复方茶中剂量组中 UP、UUN、UA、IL-6、URAT1、GLUT9、TNF-α 水平显著降低($P < 0.01$, $P < 0.05$); 复方茶低剂量组中 UP、UUN、UA、IL-6、URAT1、BUN、TNF-α、GLUT9 水平显著降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。结论 复方木姜叶柯活性茶能降低高尿酸血症肾病小鼠的尿酸, 且对肾组织具有一定的保护作用, 其机制可能与抑制尿酸重吸收有关, 具体机制有待进一步研究。

【关键词】 复方木姜叶柯活性茶; 高尿酸血症肾病; 尿酸; 肾功能; 尿酸转运蛋白

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 01-0060-09

Effects of compound active tea of *Lithocarpus litseifolius* on uric acid and renal function in mice with hyperuricemia nephropathy

CHEN Yuanyuan¹, ZENG Yanan¹, DU Xiaolang¹, MU Zejing¹, LIAO Chengdong², ZHANG Changhua^{1*}, CAO Lan^{1*}

(1. Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China. 2. Jinggangshan Mujiangyeke Augriculuture and Forestry Development Co., Ltd, Jinggangshan 343604)

【Abstract】 Objective To explore the effect of compound active tea of *Lithocarpus litseifolius* on uric acid levels and kidney function of mice with hyperuricemia nephropathy and to provide an experimental basis for the development of

[基金项目] 江西省现代农业产业技术体系建设专项(JXARS-41); 江西中医药大学创新创业项目(202210412065, 202210412336); 赣鄱俊才-江西省主要学科学术和技术带头人培养项目(领军人才-学术类)(20232BCJ22022)。

[作者简介] 陈园园(1999—), 女, 硕士, 研究方向: 中药资源与民族药。E-mail: 2643247452@qq.com

[通信作者] 章常华(1977—), 男, 博士, 教授, 研究方向: 中药药理学。E-mail: zhangch@126.com

曹岚(1970—), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 中药资源与民族药。E-mail: 674179402@qq.com

* 共同通信作者

hyperuricemia nephropathy drugs and functional food. **Methods** A mouse model of hyperuricemia nephropathy was established by administering potassium oxazinate with adenine. Mice were randomly divided into common, model, positive drug (10 mg/(kg·d)) and compound active tea of *Lithocarpus litseifolius* high-, middle- and low-dose groups (10 g/(kg·d), 3.33 g/(kg·d) and 1.11 g/(kg·d), respectively). One hour after the last gavage, urine protein (UP) was measured by CBB method, urea nitrogen (UUN) was measured by urease method. Orbital blood sampling, blood was collected for uric acid (UA) analysis by enzyme ratio method, urea nitrogen (BUN) was measured by urease method. The serum contents of interleukin 6 (IL-6) and tumor necrosis factor (TNF- α) were measured by ELISA. Take kidney tissue, levels of urate transporter 1 (URAT1) and glucose transporter 9 (GLUT9) were measured by quantitative fluorescence, kidney histopathological changes were observed by HE staining. **Results** Compared with the control group, the model group's levels of UP, UUN, UA, BUN, IL-6, URAT1, ULUT9 and TNF- α were significantly increased ($P < 0.01$, $P < 0.05$), and the renal tissue structure was normal. Compared with the model group, the positive group's levels of UP, UUN, UA, BUN, IL-6 and TNF- α were significantly decreased ($P < 0.01$, $P < 0.05$), there was little glomerular atrophy or deformation in the kidneys, kidney tubular dilatation was occasionally seen, but there was no inflammatory cell infiltration. Compared with the model group, the high-dose compound active tea of *Lithocarpus litseifolius* group's UP, UUN, UA, BUN, IL-6, URAT1, TNF- α and GLUT9 levels were significantly decreased ($P < 0.01$, $P < 0.05$). The middle-dose compound active tea of *Lithocarpus litseifolius* group's UP, UUN, UA content, IL-6, URAT1, GLUT9, BUN and TNF- α were significantly decreased ($P < 0.01$, $P < 0.05$). The low-dose compound active tea of *Lithocarpus litseifolius* group's UP, UUN, UA, IL-6, URAT1, BUN, TNF- α and GLUT9 levels were significantly decreased ($P < 0.01$, $P < 0.05$). **Conclusions** Compound active tea of *Lithocarpus litseifolius* can reduce uric acid in mice with hyperuricemia nephropathy and has a certain protective effect on the kidneys. The mechanism may be related to the inhibition of uric acid reabsorption, and the specific mechanistic details should be further investigated.

【Keywords】 compound active tea of *Lithocarpus litseifolius*; hyperuricemic nephropathy; uric acid; renal function; uric acid transporter

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

高尿酸血症(hyperuricemia, HUA)为嘌呤代谢紊乱所致尿酸产生过多或者排泄不良引起的代谢性疾病,是继高血压、高血脂、高血糖“三高”之后的第四高^[1]。以血循环中尿酸含量异常升高为特征的HUA导致尿酸微盐结晶在肾沉积引发肾间质炎性反应、肾小管堵塞以及肾单位丧失,从而导致高尿酸血症性肾病(hyperuricemic nephropathy, HN)^[2],HN是HUA最常见的靶器官损伤^[3],高尿酸血症患病率的升高直接导致高尿酸血症肾病发病率的上升^[4-7]。

现代医学治疗HN主要通过降低尿酸的合成与促进尿酸的排泄来保护肾,从而达到治疗的目的,但有较强的毒副作用,停药后血尿酸反弹明显^[8-11]。研究发现HN主要属于中医学的“痹症”“历节”“肾劳”“关格”等范畴,其病变之本多为肝脾肾亏虚,基本病机为气阴两虚,治则当以补益肝脾肾为主,清热利湿、活血化痰为要,并随证施治^[8-11]。

复方木姜叶柯活性茶由木姜叶柯叶、黄精、黄芪与平卧菊三七4种中药在中医药理论指导下进行配伍后采用现代制药技术制备而成。其中木姜叶柯叶别名甜茶,为新食品资源(卫计委公告2017年

第7号),其叶在中国民间具有悠久的茶用历史,全国第四次中药资源普查中发现,木姜叶柯叶是江西省遂川和井冈山等地客家人日常用茶,德兴畲族村(兰村)村民也有饮用木姜叶柯叶茶的习惯,且民间用于辅助治疗痛风;现代药理研究表明,木姜叶柯叶中的酮类物质具有降血糖作用,三叶苷和根皮苷具有降血脂、降血糖、抗氧化、抗肿瘤、抑菌、抗病毒、预防、治疗血管疾病等生物活性^[12-15]。黄精为药食同源中药(卫法监发[2002]51号),具有补气养阴、健脾、润肺、益肾之效,现代研究表明黄精治疗痛风、高尿酸血症及顽咳效著^[16]。黄芪为药食两用物质(国家卫生健康委员会、国家市场监督管理总局2023年第9号),具有补气升阳,固表止汗,利水消肿等功效,主要用于气虚乏力,食少便溏,中气下陷等症^[17]。现代研究表明以黄芪为主的黄芪保心汤、防己黄芪汤、黄芪四妙散等多个组方在治疗高尿酸血症上效果显著^[18-20]。平卧菊三七为新资源食品(卫生部公告2012年第8号),其醇提物具有抗炎、降糖、治疗酒精性肝损伤、提高免疫力等多种保健功能^[21-22]。现代研究证明平卧菊三七具有显著的降UA作用^[23]。因此本研究探讨自制的复方木

姜叶柯活性茶对 HN 小鼠的尿酸和肾功能的影响, 为后续研制以木姜叶柯叶等药食同源中药为原料的养生产品提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

健康 SPF 级雄性 KM 小鼠, 6 周龄, 体重 25 ~ 30 g, 36 只, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司 [SCXK(湘) 2019-0004]。动物饲养于江西中医药大学动物实验中心 [SYXK(赣) 2023-0001], 小鼠适应性喂养后开始实验, 饲养室相对湿度为 70%, 温度为 (23±2) °C。实验由江西中医药大学伦理委员会批准 (JZSYDWLL20200507), 实验过程中对动物遵循 3R 原则。

1.1.2 药物及制备

复方木姜叶柯活性茶原料药材由研究团队采自或购自江西、甘肃等地, 并经江西中医药大学慕泽涇副研究员鉴定为木姜叶柯 *Lithocarpus litseifolius* (Hance) Chun (批号: 20211211, 购自江西省井冈山市柏露镇井冈山市木姜叶柯农林开发有限公司种植基地); 平卧菊三七 *Gynura procumbens* (Lour.) Merr (批号: 20211201, 购自江西省信丰县铁石口镇江西华紫仁农业开发有限公司种植基地); 黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge (批号: 20211101, 购自甘肃省陇西县首阳镇陇西县义诚药业有限公司种植基地); 多花黄精 *Polygonatum cyrtonema* Hua (批号: 20210110, 购自江西省乐安县招携镇江西省思乡赣品绿色食品有限公司)。样品保存于江西中医药大学中药资源与民族药研究中心标本室。

取复方木姜叶柯活性茶煎煮浓缩至含生药量 0.5 g/mL 的高剂量流浸膏、含生药量为 0.17 g/mL 的中剂量浓度及 0.06 g/mL 的低剂量浓度 4 °C 冷藏备用, 以下简称复方茶。

1.2 主要试剂与仪器

氧嗪酸钾、腺嘌呤 (Macklin, 批号: C12977932, C12642924); 苯溴马隆片 (德国赫曼大药厂, 批号: 2001179); 异丙醇、三氯甲烷、无水乙醇 (广州化学试剂厂, 批号: 1710181, 1712092, 2110099); 苏木素伊红 (HE) 染色液 (北京雷根生物技术有限公司, 批号: DH0006); 羟甲基纤维素钠 (CMC-Na) (Macklin, 批号: C804625); TRIzol Reagent (Ambion, 批号:

343906); PrimeScript^{RT} reagent kit (TaKaRa, 批号: AL50946A); TB GreenPremix Ex Taq (TaKaRa, 批号: AL14419A); β -action、尿酸盐转运蛋白 1 (URAT1) 和葡萄糖转运体 9 (GLUT9) 引物 (上海生工生物有限公司); 肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6) ELISA 试剂盒 (CUSABIO, 批号: X10026021, T11026022); 尿素氮 (脲酶法, BUN/UUN)、尿酸 (酶比色法, UA)、尿蛋白 (CBB 法, UP) 定量测试盒 (南京建成生物工程研究所, 批号: C013-2-1, C012-1-1, C035-2-1)。

-80 °C 冰箱 (日本 SOYO 公司); Agilent 2100 bioanalyzer (美国 Agilent 公司); DZKW-D-2 型电热恒温水浴锅 (北京市永光明医疗仪器有限公司); F6/10 手持式高速匀浆机 (上海净信实验设备科技部); Neofuge13R 型台式低温高速离心机 (Heal Force 公司); VARIOSKAN FLASH 多功能酶标仪 (Thermo Fisher); NanoDrop 型核酸浓度测定仪 (Thermo 公司); Lightcycler 96 荧光定量 PCR 仪 (Roche 公司); 石蜡包埋机 EG1150 (徠卡); 石蜡切片机 RM2016 (徠卡); 明美 MF43 显微镜 (广州市明美光电技术有限公司); 明美 MC50 数码成像测量分析系统 (广州市明美光电技术有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 造模、分组及给药

36 只雄性 SPF 级 KM 小鼠可以自由进食、饮水, 光照 12 h/d。小鼠随机分为空白 (common) 组、模型 (model) 组、苯溴马隆阳性 (R) 组 (10 mg/(kg · d))、复方茶高 (H)、中 (M)、低 (L) 剂量组 (10 g/(kg · d)、3.33 g/(kg · d)、1.11 g/(kg · d)), 每组 6 只。实验期间, 除空白组以外, 其余各组动物每天灌胃氧嗪酸钾 (500 mg/kg) 和腺嘌呤 (24 mg/kg) 混悬液 (溶剂为 0.5% CMC-Na), 空白组给予相同体积的 0.5% CMC-Na 溶液, 连续 21 d。通过观察小鼠的一般情况及测定尿酸水平, 确定该高尿酸血症模型成功建立。造模第 8 天开始给予药物, 空白组、模型组每天给予相同体积的纯水。给药体积均为 1 mL/100 g。末次给药 1 h 后取得实验样本。

1.3.2 一般情况观察

实验期间, 每天观察并记录各组小鼠的精神状态、毛色、进食及垫料等情况, 每 3 d 称量并记录小鼠体重。

1.3.3 小鼠尿液指标测定

末次给药前 1 d, 通过反射排尿采集尿液, CBB

法测定小鼠最后一次 24 h 尿液中 UP 含量 , 脲酶法检测 UUN 含量。

1.3.4 小鼠血清生化指标测定

末次给药 1 h 后 , 眼眶取血 , 离心机分离血清 (3500 r/min , 4℃ , 15 min) , -80℃ 保存待测。酶比色法检测 UA 含量 , 脲酶法检测 BUN 含量 , 酶联免疫法检测 IL-6、TNF-α 含量。

1.3.5 Real-time PCR 检测肾组织中 URAT1、GLUT9 mRNA 水平

用总 RNA 提取试剂提取肾组织 RNA , 采用逆转录 PCR 两步法 根据逆转录试剂盒说明书逆转录 RNA , 得到 cDNA , 然后以 cDNA 为模版进行扩增目的基因。反应体系为 20 μL , 设置反应条件: 95℃ 预变性 30 s , 95℃ 变性 15 s , 60℃ 30 s 后读板 , 40 个循环后 , 对实验所得 CT 值(每个样本每个基因的循环阈值) , 按公式 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 进行数据分析 , 计算相对表达量。从 NCBI 网站搜索以下基因 mRNA 序列 , 由生工生物工程(上海) 股份有限公司设计合成 , 序列详见表 1。

1.3.6 小鼠肾组织病理观察

取小鼠肾组织 , 去除肾薄膜并纵切 , 肉眼观察并拍照记录各小鼠肾组织形态。

1.3.7 HE 染色病理学检测

取小鼠肾组织固定于 4% 多聚甲醛溶液中 , 进行石蜡包埋及切片 , HE 染色 , 在光学显微镜下观察肾组织病理形态。

表 1 qRT-PCR 所用基因引物序列
Table 1 Gene primer sequences for Real-time PCR

引物 Primers	序列(5' - 3') Sequences(5' - 3')	长度(bp) Length
URAT1	F: GACCTTGGACCGATGTTCTTCTG R: CGTGCCGTGGACTCTGTAAGC	117
GLUT9	F: CGGATACCCTGACTCTGCTCTGG R: AATCATCTTCACCATCAGCGTCCC	86

1.4 统计学分析

采用 GraphPadPrism 8.0 统计软件包对实验数据进行分析、处理和统计。两组间数据的比较采用 *t* 检验。数值以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$) 表示 , *P* < 0.05 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况观察

空白组小鼠精神状况良好 , 饮水、进食变化不大 , 大小便颜色正常 , 毛色光滑均匀; 模型组小鼠精神萎靡 , 饮水、进食量下降 , 大小便增多 , 大便多不成型 , 毛色发黄; 与模型组相比 , 复方茶高剂量组小鼠毛色略有打结、大便少见不成形 , 饮水、进食量变化不大; 复方茶中剂量组小鼠毛色光滑正常 , 大小便、饮水、进食量变化不大; 复方茶低剂量组小鼠大便多不成形、毛色脏污、精神萎靡 , 饮水、进食量减少(实验流程见图 1)。

2.2 复方木姜叶柯活性茶对高尿酸血症肾病小鼠体重的影响

实验期间 , 空白组小鼠在第 5 天后体重持续稳定增长。与空白组相比 , 模型组小鼠体重呈波浪形浮动 , 且在造模前 9 d , 体重持续下降; 与模型组相比 , 复方木姜叶柯活性茶高剂量组小鼠在实验第 13 天体重下降 , 复方茶中剂量组小鼠第 17 天体重略有下降 , 复方茶低剂量组小鼠体重持续增长 , 阳性组小鼠体重呈波浪线增长趋势(见图 2)。

2.3 复方木姜叶柯活性茶对高尿酸血症肾病小鼠尿液中 UP、UUN 含量的影响

与空白组相比 , 模型组小鼠尿液 UP 含量均显著增加(*P* < 0.01) ; 与模型组相比 , 复方茶高、中、低剂量组与阳性组 UP 含量均显著降低(*P* < 0.01) 。与空白组相比 , 模型组小鼠尿液 UUN 含量显著增加(*P* < 0.01) ; 与模型组相比 , 复方茶高、中、低剂量组

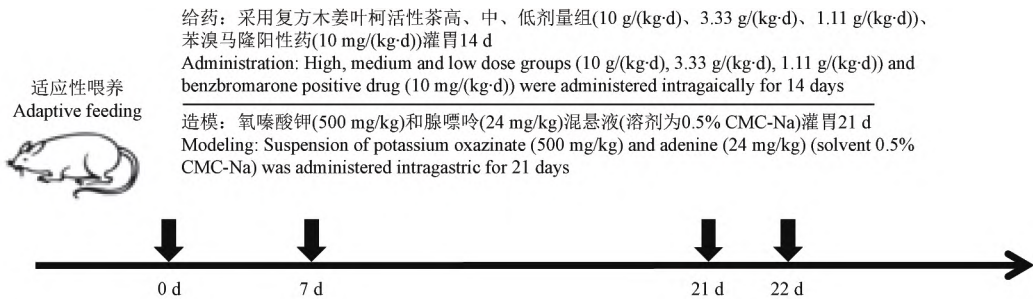


图 1 复方木姜叶柯活性茶实验流程
Figure 1 Flow of compound active tea of *Lithocarpus litseifolius*

与阳性组 UUN 含量显著降低 ($P < 0.01$) (见图 3)。

2.4 复方木姜叶柯活性茶对高尿酸血症肾病小鼠血清中 UA、BUN、IL-6 及 TNF- α 水平的影响

与空白组相比,模型组小鼠 UA 含量显著增加 ($P < 0.01$),可见高尿酸血症肾病的模型成功构建;与模型组相比,复方茶高、中、低剂量组与阳性组 UA 含量显著降低 ($P < 0.01$)。与空白组相比,模型组小鼠 BUN 含量显著增加 ($P < 0.01$);与模型组相比,复方茶高、低剂量组与阳性组均显著降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与空白组相比,模型组小鼠血清中 IL-6 水平显著增加 ($P < 0.01$);与模型组相比,复方茶高、中、低剂量组与阳性组的 IL-6 水平均显著降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与空白组相比,模型组小鼠血清中 TNF- α 水平显著增加 ($P < 0.05$);与模型组相比,复方茶高、中、低剂量组及阳性组的 TNF- α 水平均显著降低 ($P < 0.05$)。结果显示,复方木姜叶柯活性茶可以显著降低尿酸水平,对高尿酸血症肾病小鼠的高尿酸具有一定的改善作用(见图 4)。

2.5 复方木姜叶柯活性茶对高尿酸血症肾病小鼠肾组织中 URAT1、GLUT9 表达水平的影响

与空白组相比,模型组小鼠肾组织中 GLUT9 表达水平显著增加 ($P < 0.01$);与模型组相比,复方茶中、低剂量组肾组织中的 GLUT9 表达水平显著降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与空白组相比,模型组小鼠肾组织中 URAT1 表达水平显著增加 ($P < 0.01$);与模型组相比,复方茶高、中、低剂量组肾组织中 URAT1 表达水平显著降低 ($P < 0.01$) (见图 5)。

2.6 复方木姜叶柯活性茶对高尿酸血症肾病模型小鼠肾组织形态的影响

肉眼观察到,空白组小鼠的肾组织表面光滑,呈规则的淡粉色,剖面输尿管颜色浅白;模型组小鼠肾组织外形略苍白,表面颜色不均匀,纵切面肾组织呈现病态的棕黄色;阳性组小鼠肾组织外形颜色略淡;复方茶高剂量组小鼠肾组织表面粗糙,外形略苍白,表面颜色不均匀,纵切面肾组织少量呈现病态的棕黄色;复方茶中剂量组小鼠肾组织外形略呈不均匀的淡粉色;复方茶低剂量组小鼠肾组织外形略呈不均匀的淡粉色,纵切面少量呈现病态的棕黄色(见图 6)。

HE 染色显示,空白组小鼠的肾组织结构正常,肾小管排列整齐,上皮细胞未见变性,无炎性细胞浸润;模型组小鼠肾可见部分肾小球萎缩变形,大

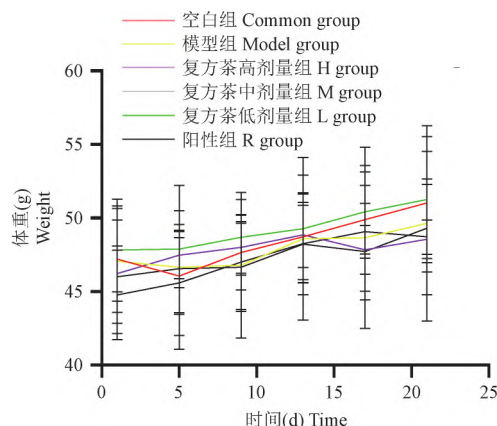
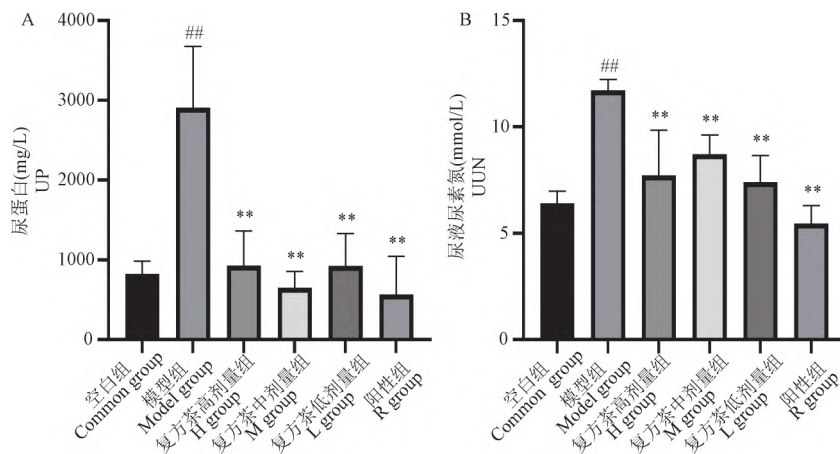


图 2 复方木姜叶柯活性茶对 HN 小鼠体重的影响 ($n = 6$)

Figure 2 Effects of compound active tea of *Lithocarpus litseifolius* on body weight in HN model mice

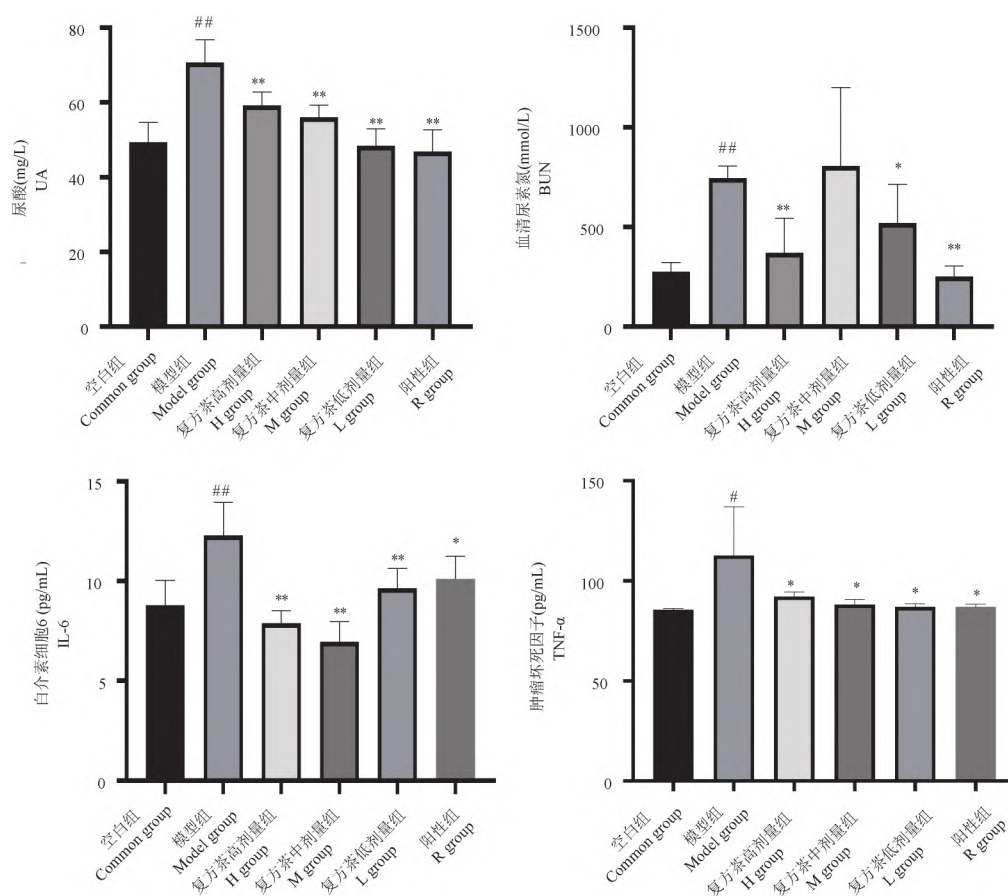


注:与空白组相比,## $P < 0.01$;与模型组相比,** $P < 0.01$ 。

图 3 复方木姜叶柯活性茶对 HN 小鼠尿液中 UP 及 UUN 含量的影响 ($n = 6$)

Note. Compared with common group, ## $P < 0.01$. Compared with model group, ** $P < 0.01$.

Figure 3 Effects of compound active tea of *Lithocarpus litseifolius* on UP and UUN content in urine of HN model mice

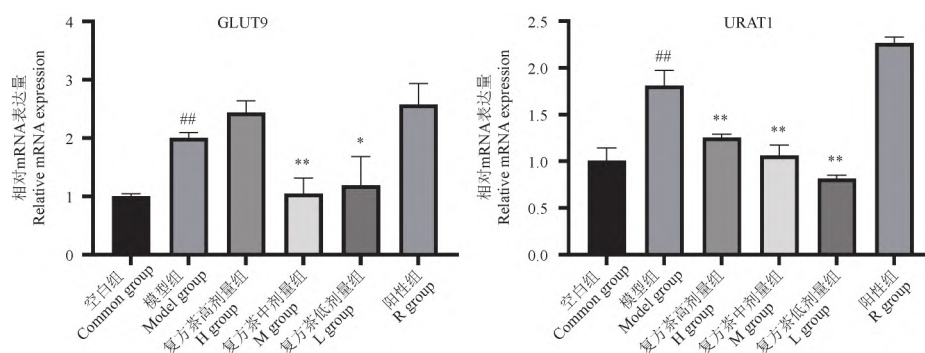


注: 与空白组相比, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组相比, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ 。

图 4 复方木姜叶柯活性茶对 HN 小鼠血清中 UA、BUN、IL-6 及 TNF-α 含量的影响 ($n = 6$)

Note. Compared with common group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$. Compared with model group, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$.

Figure 4 Effects of compound active tea of *Lithocarpus litseifolius* on UA, BUN, IL-6 and TNF-α in serum of HN model mice



注: 与空白组相比, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组相比, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ 。

图 5 复方木姜叶柯活性茶对 HN 小鼠肾 GLUT9 及 URAT1 水平的影响 ($n = 3$)

Note. Compared with common group, ^{##} $P < 0.01$. Compared with model group, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$.

Figure 5 Effects of compound active tea of *Lithocarpus litseifolius* on GLUT9 and URAT1 in kidney of HN model mice

量肾小管扩张,上皮细胞排列紊乱、脱落、增生明显,有大出血,大量炎性细胞浸润;阳性组小鼠肾组织有少量肾小球萎缩变形,肾偶见肾小管扩张,无炎性细胞浸润;复方茶高剂量组,部分肾小球萎缩变形,较多肾小管扩张,上皮细胞排列紊乱、脱落,

有少量炎性细胞浸润;复方茶中剂量组,部分肾小球萎缩变形,偶见肾小管扩张,少量上皮细胞脱落、轻微增生,有少量炎性细胞浸润;复方茶低剂量组,部分肾小球萎缩变形,可见肾小管扩张,上皮细胞排列紊乱、脱落,有大量炎性细胞浸润(见图7)。

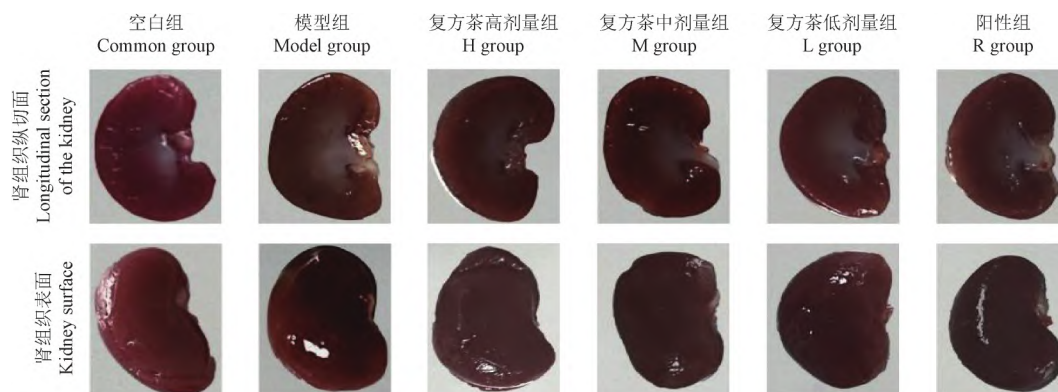


图 6 复方木姜叶柯活性茶对 HN 小鼠肾组织病理形态

Figure 6 Effects of compound active tea of *Lithocarpus litseifolius* in pathological morphology of kidney tissue in HN model mice

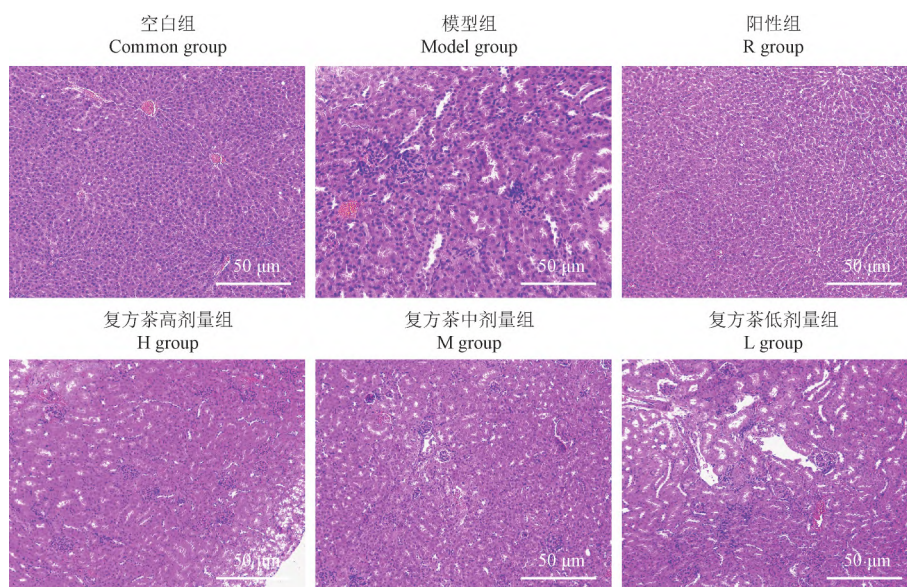


图 7 HE 染色观察复方木姜叶柯活性茶对 HN 小鼠肾组织形态的影响

Figure 7 Effects of compound active tea of *Lithocarpus litseifolius* on the morphology of kidney tissue in HN model mice by HE staining

3 讨论

本研究采用氧嗪酸钾联合腺嘌呤建立小鼠高尿酸血症肾病模型,该造模方法在建立 HN 模型上得到了广泛使用^[24-26],有助于建立稳定、持续的高尿酸血症肾病模型^[27]。

实验过程中通过对各组小鼠的一般日常状态观察记录,发现复方木姜叶柯活性茶高、中剂量组小鼠后期体重呈现下降趋势,结合这两组小鼠精神多萎靡、毛色脏污、大小便增多且大便多不成形,我们推测木姜叶柯可以促进肠道反应,后续可以进一步以复方木姜叶柯活性茶低剂量为基础开展研究。

UP 反映了肾小管间质受到的损害情况^[28]; BUN 是检测肾功能的灵敏指标,反映了肾小球功能是否正常。实验结果显示,模型组小鼠尿液中 UP、

血清中的 UA、BUN 含量均显著升高,病理学检测部分肾小球萎缩变形,大量肾小管扩张,上皮细胞排列紊乱、脱落、增生明显,有大出血,大量炎性细胞浸润,表明该模型可造成肾损伤;复方木姜叶柯活性茶高、中、低剂量组中 HN 小鼠尿液中 UP 及血清中的 UA、BUN 含量均降低,HE 染色病理观察肾小球萎缩改善,炎性细胞浸润减少,肾小管上皮细胞状态均有所改善,表明复方木姜叶柯活性茶对 HN 小鼠的肾具有一定的保护作用。

炎症反应是高尿酸血症肾病的重要病理机制,研究表明炎症因子 IL-6 与 TNF- α 参与了尿酸导致的肾小球和肾小管损伤^[29]。持续性的高尿酸水平会导致单核细胞分泌 IL-6、TNF- α 等致炎因子,并诱导固有免疫细胞启动下游炎症通路,同时促进炎症因子的生成。IL-6 与 TNF- α 的表达增加加重了肾

的局部炎症,导致肾小球硬化。本实验结果表明,复方木姜叶柯活性茶可以显著降低高尿酸血症肾病小鼠的 IL-6 与 TNF- α 水平,有效减轻肾炎症。

HN 主要是由于 HUA 所导致的慢性肾病,与体内尿酸的合成增多或排泄减少密切相关,研究表明,尿酸排泄障碍最初是由近端小管中尿酸转运体的表达异常引起的^[30]。URAT1 为尿酸盐转运蛋白,是参与尿酸从肾向血液转运的重要基因,是调节血尿酸水平的主要机制,也是苯溴马隆片和氯沙坦等降尿酸药物的重要靶点^[31]。URAT1 在肾近端小管上皮细胞的刷状缘表达,当有机阴离子积聚在近曲肾小管上皮细胞内时,因与 URAT1 有很高的亲和力,故细胞内的阴离子会与肾小管腔中的尿酸盐相交换,在电化学梯度的作用下,尿酸从肾小管的管腔被吸收回细胞中,导致尿酸重吸收增加。GLUT9 是一种高容量的葡萄糖转运体,主要利用 GLUT9 对尿酸较强的亲和力,将管腔内的尿酸重吸收到细胞内,将细胞内的尿酸转运到肾间质,从而完成尿酸吸收入血的过程^[32-33]。因此,在 URAT1 与 GLUT9 的配合下,完成了尿酸由尿液入血的重吸收过程。通过对小鼠肾匀浆中 URAT1、GLUT9 表达量的检测可知,HN 模型组小鼠肾匀浆中 GLUT9、URAT1 蛋白表达量显著升高,表达异常;复方木姜叶柯活性茶高、中、低组小鼠肾匀浆中 GLUT9、URAT1 蛋白表达量显著降低,进一步降低了这种表达。

综上所述,本研究自制的复方木姜叶柯活性茶可降低 HN 模型小鼠尿酸且对肾组织具有一定的保护作用,其机制可能与抑制尿酸重吸收有关。该研究可为 HN 治疗药物或辅助治疗 HN 的功能性食品研究开发提供实验依据。

参考文献:

- [1] 郭立新. 从《高尿酸血症和痛风治疗中国专家共识》谈高尿酸血症的治疗 [J]. 药品评价, 2014, 11(1): 21-23, 31.
Guo LX. Treatment of hyperuricemia through Chinese expert consensus about hyperuricemia and gout treatment [J]. Drug Eval, 2014, 11(1): 21-23, 31.
- [2] 聂秀玲, 宋林凌, 李明珍, 等. 住院痛风患者并发慢性肾病的危险因素分析 [J]. 中国医师杂志, 2021, 23(5): 707-710, 715.
Nie XL, Song LL, Li MZ, et al. Risk factors analysis for chronic kidney disease among hospitalized gout patients [J]. J Chin Physician, 2021, 23(5): 707-710, 715.
- [3] Fathallah-Shaykh SA, Cramer MT. Uric acid and the kidney [J]. Pediatr Nephrol, 2014, 29: 999-1008.
- [4] 方宁远, 吕力为, 吕晓希, 等. 中国高尿酸血症相关疾病诊疗多学科专家共识 [J]. 中华内科杂志, 2017, 56(3): 235-248.
- Fang NY, Lyu LW, Lyu XX, et al. Chinese multi-disciplinary consensus on the diagnosis and treatment of hyperuricemia and its related diseases [J]. Chin J Intern Med, 2017, 56(3): 235-248.
- [5] Cui LF, Meng LM, Wang GY, et al. Prevalence and risk factors of hyperuricemia: results of the Kailuan cohort study [J]. Mod Rheumatol, 2017, 27: 1066-1071.
- [6] 周晓燕, 赵琦, 王娜, 等. 上海市松江区社区居民高尿酸血症与慢性肾病的相关性研究 [J]. 中华疾病控制杂志, 2019, 23(3): 278-282, 293.
Zhou XY, Zhao Q, Wang N, et al. Relationship between hyperuricemia and chronic kidney disease in adult residents of communities in the Songjiang district, Shanghai [J]. Chin J Dis Contr Prev, 2019, 23(3): 278-282, 293.
- [7] 李少峰, 陈燕, 董陆玲, 等. 河北省张家口地区高尿酸血症流行现状及影响因素分析 [J]. 医学动物防制, 2018, 34(5): 455-457.
Li SF, Chen Y, Dong LL, et al. Epidemiological status and influencing factors of hyperuricemia in Zhangjiakou of Hebei Province [J]. J Med Pest Contr, 2018, 34(5): 455-457.
- [8] Strilchuk L, Fogacci F, Cicero AF. Safety and tolerability of available urate-lowering drugs: a critical review [J]. Expert Opin Drug Saf, 2019, 18: 261-271.
- [9] 袁永华. 中西医结合治疗尿酸性肾病 60 例疗效观察 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2010, 11(9): 803-804.
Yuan YH. Clinical observation on 60 cases of uric acid nephropathy treated by combination of traditional Chinese and Western medicine [J]. Chin J Integr Tradit West Nephrol, 2010, 11(9): 803-804.
- [10] 郭晨涛, 杨进, 丁谊, 等. 中医药治疗尿酸性肾病辨证及用药分析 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(4): 9-10.
Guo NT, Yang J, Ding Y, et al. Analysis on common used syndromes and herbs on clinical therapy of uric acid nephropathy [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2011, 13(4): 9-10.
- [11] 廖国华, 冯春俭, 蒋敏, 等. 中西医结合治疗痛风性肾病 56 例临床研究 [J]. 江苏中医药, 2014, 46(4): 25-27.
Liao GH, Feng CJ, Jiang M, et al. Clinical study on 56 cases of gouty nephropathy treated by combination of traditional Chinese and Western medicine [J]. Jiangsu J Tradit Chin Med, 2014, 46(4): 25-27.
- [12] 王慧莹. 多穗柯根皮苷的提取纯化研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2014.
Wang HY. Studies on extraction and purification of phlorizin in *Lithocarpus polysachyus* rehd [D]. Changsha: Central South University, 2014.
- [13] Cheng YB, Liu FJ, Wang CH, et al. Bioactive triterpenoids from the leaves and twigs of *Lithocarpus litseifolius* and *L. corneus* [J]. Planta Med, 2018, 84(1): 49-58.
- [14] Hou SZ, Chen SX, Huang S, et al. The hypoglycemic activity of *Lithocarpus polystachyus* Rehd. leaves in the experimental hyperglycemic rats [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 138(1): 142-149.

- [15] Hou SZ, Xu SJ, Jiang DX, et al. Effect of the flavonoid fraction of *Lithocarpus polystachyus* Rehd. on spontaneously hypertensive and normotensive rats [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 143: 441–447.
- [16] 孙咸茂. 黄精治疗痛风、高尿酸血症及顽咳效著 [J]. 中医杂志, 2001, 73(1): 13.
Sun XM. *Polygonatum sibiricum* is effective in treating gout, hyperuricemia and intractable cough [J]. J Tradit Chin Med, 2001, 42(1): 13.
- [17] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部 [M]. 北京: 中国医药出版社; 2015.
National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: 1st edition [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press; 2015.
- [18] 王星, 薛宁, 李洪雷, 等. 防己黄芪汤对高尿酸血症小鼠降尿酸及肾保护作用机制的研究 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(21): 5248–5255.
Wang X, Xue N, Li HL, et al. Study on mechanism of Fangji Huangqi Decoction on hypouricemic effect and renal protection in hyperuricemia mice [J]. China J Chin Mater Med, 2020, 45(21): 5248–5255.
- [19] 刘贺, 李志刚, 张培影. 黄芪保心汤治疗慢性心力衰竭合并高尿酸血症临床观察 [J]. 中国中医急症, 2017, 26(9): 1651–1654.
Liu H, Li ZG, Zhang PY. Clinical observation of Huangqi Baixin Decoction on chronic heart failure complicated with hyperuricemia [J]. J Emerg Tradit Chin Med, 2017, 26(9): 1651–1654.
- [20] 钟云良, 詹利霞, 余远青. 黄芪四妙散治疗高尿酸血症 50 例 [J]. 江西中医药, 2014, 45(7): 57–58.
Zhong YL, Zhan LX, Yu YQ. Treatment of 50 cases of hyperuricemia with Huangqi Simiao Powder [J]. Jiangxi J Tradit Chin Med, 2014, 45(7): 57–58.
- [21] 许溪, 何鹿玲, 王木兰, 等. 平卧菊三七各提取物抗痛风作用的实验研究 [J]. 江西中医药大学学报, 2018, 30(2): 82–85, 90.
Xu X, He LL, Wang ML, et al. Experimental study of *Gynura procumbens* for gout in each extract [J]. J Jiangxi Univ Tradit Chin Med, 2018, 30(2): 82–85, 90.
- [22] 吴磊, 曹明原, 吴静, 等. 平卧菊三七的化学成分及生物活性研究进展 [J]. 现代食品科技, 2022, 38(8): 334–351.
Wu L, Cao MY, Wu J, et al. Research progress on chemical constituents and biological activities of *Gynura procumbens* [J]. Mod Food Sci Technol, 2022, 38(8): 334–351.
- [23] 彭宝莹, 李欣, 黄俊明, 等. 平卧菊三七固体饮料的抗尿酸血症作用及机制研究 [J]. 华南预防医学, 2021, 47(12): 1540–1544.
Peng BY, Li X, Huang JM, et al. Anti-hyperuricemia effect and its mechanism of solid beverage of *Gynura procumbens* (Lour.) Merr [J]. South China J Prev Med, 2021, 47(12): 1540–1544.
- [24] Li H, Liu X, Lee MH, et al. Vitamin C alleviates hyperuricemia nephropathy by reducing inflammation and fibrosis [J]. J Food Sci, 2021, 86(7): 3265–3276.
- [25] Liu N, Wang L, Yang T, et al. EGF receptor inhibition alleviates hyperuricemic nephropathy [J]. J Am Soc Nephrol, 2015, 26(11): 2716–29.
- [26] Fang C, Chen LY, He MZ, et al. Molecular mechanistic insight into the anti-hyperuricemic effect of *Eucommia ulmoides* in mice and rats [J]. Pharm Biol, 2019, 57(1): 112–119.
- [27] Wen S, Wang D, Yu H, et al. The time-feature of uric acid excretion in hyperuricemia mice induced by potassium oxonate and adenine [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(15): 5178.
- [28] 张为垣, 袁建洋, 张富春. 尿蛋白与尿微量白蛋白水平检测在糖尿病肾病诊断中的应用 [J]. 糖尿病新世界, 2023, 26(16): 57–60.
Zhang WY, Yuan JY, Zhang FC. Application of urinary protein and urinary microalbumin detection in diagnosis of diabetic nephropathy [J]. Diabetes N World, 2023, 26(16): 57–60.
- [29] 路巍, 颜刚, 阎胜利, 等. 高尿酸血症血尿酸与 TNF- α 、IL-6 的关系 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2007, 23(2): 160–161.
Lu W, Wang YG, Yan SL, et al. Association of blood uric acid with TNF- α and IL-6 in patients with hyperuricemia [J]. Chin J Endocrinol Metab, 2007, 23(2): 160–161.
- [30] Pan J, Shi M, Li L, et al. Pterostilbene, a bioactive component of blueberries, alleviates renal fibrosis in a severe mouse model of hyperuricemic nephropathy [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 109: 1802–1808.
- [31] 呼琴, 金华, 陈诺, 等. 清补通络方治疗尿酸性肾病临床观察及其对血清 URAT1、GLUT9 的影响 [J]. 山西中医, 2023, 39(1): 21–23.
Hu Q, Jin H, Chen N, et al. Efficacy observation of Qingbu Tongluo formula on uric acid nephropathy, and its effect on serum URAT1 and GLUT9 [J]. Shanxi J Tradit Chin Med, 2023, 39(1): 21–23.
- [32] 张凤阳, 邢志华, 申光焕, 等. 基于尿酸转运蛋白的中药治疗高尿酸血症的研究进展 [J]. 中南药学, 2022, 20(5): 1123–1128.
Zhang FY, Xing ZH, Shen GH, et al. Research progress in traditional Chinese medicine treatment based on uric acid transporter for hyperuricemia [J]. Cent South Pharm, 2022, 20(5): 1123–1128.
- [33] 白莉, 刘广运, 张晓萍, 等. 牡丹花总黄酮对高尿酸血症大鼠降尿酸作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(18): 38–45.
Bai L, Liu GY, Zhang XP, et al. Effect of total flavonoids in flower of *Paeonia suffruticosa* on uric acid in rats with hyperuricemia [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2022, 28(18): 38–45.

(收稿日期) 2023-05-08