

【综述】

肾小管上皮细胞特异性转运马兜铃酸机制研究进展

杨心怡^{1, 2}, 黄春华^{1, 2, 3}, 李小芬^{1, 2, 3}, 汤海明^{1, 2, 3}, 楼迪栋^{1, 2, 3*}

1. 贵州中医药大学 基础医学院 法医学教研室, 贵州 贵阳 550000

2. 贵州省法医中药毒理学特色重点实验室, 贵州 贵阳 550000

3. 贵州中医药大学 司法鉴定所, 贵州 贵阳 550000

摘要: 因应用不当或饮食污染摄入马兜铃酸I所引起的、以进展性间质纤维化为特征的急慢性肾炎称为马兜铃酸肾病或巴尔干地方性肾病。马兜铃酸I特异性损伤近端小管, 而对肾脏其他组织细胞未表现出明显的直接损伤作用。因此, 近端小管上皮细胞通过有机阴离子蛋白1和3特异性摄入马兜铃酸I, 是马兜铃酸I发挥特异性肾毒性作用的关键。近年来对肾小管摄取马兜铃酸I的机制已明确, 但参与其在肾小管上皮细胞顶膜侧转运的蛋白鲜有报道。通过综述马兜铃酸I在肾小管的消除机制, 以期为预防和治疗马兜铃酸肾病提供新靶点。

关键词: 马兜铃酸; 马兜铃酸I; 马兜铃酸肾病; 有机阴离子转运蛋白; 肾毒性; 近端小管

中图分类号: R969.1, R969.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2024) 02-0401-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.02.022

Advances in mechanism of specific transport of aristolochic acid in renal tubular epithelial cells

YANG Xinyi^{1, 2}, HUANG Chunhua^{1, 2, 3}, LI Xiaofen^{1, 2, 3}, TANG Haiming^{1, 2, 3}, LOU Didong^{1, 2, 3}

1. Department of Forensic Medicine, Guizhou University of Chinese Medicine, Guiyang 550000, China

2. Guizhou Provincial Key Laboratory of Forensic Medicine Toxicology, Guiyang 550000, China

3. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine Forensic Institute, Guiyang 550000, China

Abstract: Acute and chronic nephritis characterised by progressive interstitial fibrosis caused by ingestion of aristolochic acid I through misapplication or dietary contamination is known as aristolochic acid nephropathy or Balkan endemic nephropathy. Aristolochic acid I specifically damages the proximal tubules, while it does not show any significant direct damaging effect on other tissue cells of the kidney. Therefore, the specific uptake of aristolochic acid I by proximal tubular epithelial cells via organic anionic proteins 1 and 3 is the key to the specific nephrotoxic effects of aristolochic acid I. The mechanism of renal tubular uptake of aristolochic acid I has been clarified in recent years, but the proteins involved in its transport on the apical side of renal tubular epithelial cells have rarely been reported. By reviewing the mechanism of aristolochic acid I elimination in renal tubules, we hope to provide new targets for the prevention and treatment of aristolochic acid nephropathy.

Key words: aristolochic acid; aristolochic acid I; aristolochic acid nephropathy; organic anion transporter; nephrotoxicity; proximal tubule

马兜铃酸是硝基菲羧酸类化合物^[1-2], 广泛存在于马兜铃科植物中, 多种含马兜铃酸植物用作中药材, 如关木通、广防己、马兜铃、青木香、细辛等^[3-4]。

20世纪90年代初, 比利时年轻女性因服用“苗条丸”出现以肾小管损害和间质纤维化为主的慢性肾病^[5-6], 经研究确认其中含有的马兜铃酸是罪魁祸首

收稿日期: 2023-08-21

基金项目: 贵州省法医中药毒理学特色重点实验室项目(黔教合KY字[2021]004), 贵州省科技厅基础研究计划资助项目(黔科合基础-ZK[2022]一般465)

第一作者: 杨心怡, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药毒理学。E-mail: 572600754@qq.com

*通信作者: 楼迪栋, 男, 教授, 研究方向为法医病理学。E-mail: 15761879@qq.com

首。也就此明确了巴尔干半岛地区流行的地方性慢性肾病的真正病因是由于该地区居民服用了小麦田铁线莲状马兜铃污染饮食造成的^[7]。直接或间接摄入马兜铃酸所引起的肾病称为马兜铃酸肾病(AAN),也称巴尔干地方性肾病,其病理表现主要为肾小管损伤,伴有严重的间质纤维化并最终发展为慢性肾功能衰竭。

马兜铃酸I是主要的马兜铃酸类化合物,也称马兜铃酸A(AAI),经小肠吸收进入血液后,与血浆载体蛋白结合,经肾脏代谢与排泄。AAI通过载体蛋白特异性进入肾小管上皮细胞内发生代谢反应并造成近端小管的持续性损伤。最终,未代谢的AAI与代谢产物通过顶膜侧的转运体外排至肾小管腔,完成AAI在肾小管的消除。

近曲小管上皮细胞膜上特异性膜转运蛋白介导的马兜铃酸特异性转运,是马兜铃酸代谢和排泄的基础,也是肾小管上皮细胞特异性损伤的关键环节。本文综述了肾小管上皮细胞通过转运蛋白摄入马兜铃酸及排泄马兜铃酸及其代谢产物的分子机制,以期为进一步研究马兜铃酸在肾脏排泄机制提供理论参考,也为预防马兜铃酸中毒和AAN治疗提示新的靶点。

1 人血清白蛋白介导AAI在血液中的运输

因AAI属弱极性小分子化合物,在体内的分布与运输主要依靠与人血清白蛋白(HSA)的结合。HSA是血浆中含量最丰富的蛋白质,总相对分子质量为66 400,由3个高度同源的结构域I、II和III构成。HSA上具有2个芳香配体和杂环配体结合位点,即Sudlow位点I和II^[8]。Wu等^[9-10]研究发现,HSA的固有荧光强度因Sudlow位点I上色氨酸残基周围环境的变化可发生改变。当AAI与HSA结合时,随着AAI浓度增加,HSA的本征荧光发射逐渐降低,最终淬灭到较弱的水平。这表明AAI与HSA Sudlow位点I上色氨酸残基发生结合,形成HSA-AAI复合物。

肾脏是负责排泄外来化合物及其生物转化产物的主要器官之一,也是AAI毒性作用的主要靶器官。肾脏的排泄功能由肾小球滤过作用和肾小管重吸收分泌作用组成,肾小球滤过膜具有屏障作用,包括孔径屏障和电荷屏障^[11]。孔径屏障允许分子半径在2~4 nm的物质选择性滤过,阻止分子半径大于4 nm或相对分子质量70 000的物质滤过,而电荷屏障不允许带负电荷较多的大分子物质滤过^[12]。HSA分子半径为3.6 nm,相对分子质量为

66 400,在体液中主要带负电荷,所以HSA-AAI复合物几乎不能通过肾小球滤过,而是流入球后毛细血管网解离为AAI单体,随后游离的AAI通过结合肾小管上皮细胞基底膜上相应的载体蛋白进入肾小管上皮细胞。

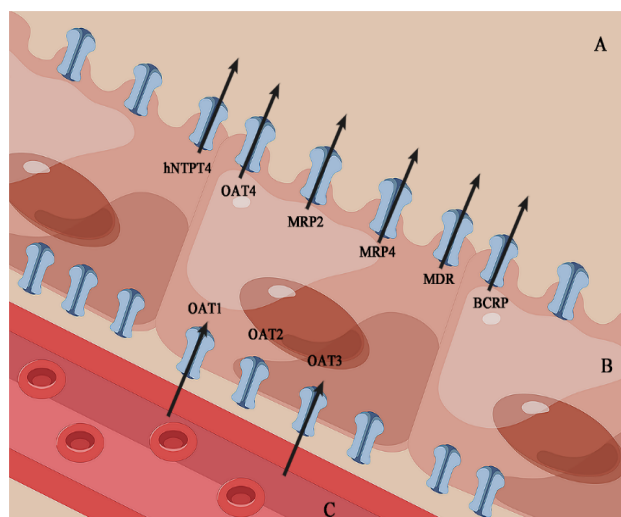
2 肾小管上皮细胞通过有机阴离子转运蛋白摄入AAI

2.1 有机阴离子转运蛋白1和3对AAI的摄取

肾小管重吸收和分泌排泄功能依赖于近曲小管上皮细胞膜上的众多转运蛋白,主要包括溶质载体转运家族22(SLC22)和ATP结合盒转运蛋白(ABC)。一般来说,对毛细血管网中物质的摄取主要由SLC22转运蛋白介导,这些转运蛋白大多位于基底膜外侧。而ABC转运蛋白大多数位于顶膜侧,主要负责胞内物质外排^[12-13]。SLC22主要包括:有机阴离子转运蛋白(OATs)、OAT类转运蛋白,OAT相关转运蛋白、有机阳离子转运蛋白(OCTs)、有机阳离子/肉碱转运蛋白(OCTs/OCTNs)和OCT/OCTN相关转运蛋白^[14]。

OATs是多特异性转运蛋白,主要定位于屏障上皮细胞以及内皮细胞,如肾近曲小管上皮细胞、肝细胞、脉络膜丛细胞、嗅觉上皮等^[15]。其中OAT1/2/3表达于近曲小管上皮细胞基底膜侧,总结为图1。OAT4表达于近曲小管上皮细胞顶端膜侧,OATs主要负责小分子有机阴离子的运输,包括药物、毒物、内源性代谢产物。有研究表明,典型的OAT底物是带负电荷或部分带负电荷并包含1个疏水结构域的分子,AAI的结构允许其作为OAT的底物^[16-17]。

Bakhiya等^[18]间接测定了OAT1/3/4对AAI的摄取,将过表达人OAT1/3/4的人胚胎肾细胞(HEK293)用100 mol·L⁻¹ AAI处理24 h,与亲本细胞比较,过表达OAT的细胞AAI-DNA加合物显著增加,这表明OAT1/3/4介导AAI向细胞内转运。Xue等^[19]发现,对OAT1和OAT3基因敲除型(KO)小鼠单次颈iv剂量为10 mg·kg⁻¹ AAI后,KO小鼠较野生型(WT)小鼠肾脏AAI浓度显著降低,而肝脏AAI浓度无明显变化。此外,AAI可显著提高WT小鼠的肌酐和尿素氮水平,对KO小鼠影响则相对较小,AAI对KO小鼠造成的肾病(肾小管坏死、透明管型和肾小管扩张)没有WT小鼠严重。因此,基因敲除OAT1和OAT3均可减轻AAI诱导的小鼠肾病。所以OAT1/3介导AAI在肾脏中的基底膜外侧摄取,是AAI发挥毒性的关键环节。



A-近曲小管管腔;B-近曲小管上皮细胞;C-毛细血管。
A-lumen; B-kidney proximal tubular cell; C-blood vessel.

图1 近曲小管排泄示意图

Fig. 1 Schematic diagram of proximal tubular excretion

2.2 抑制OAT1/3成为AAN治疗的新靶点

肾脏溶质载体转运超家族中的SLC22A6(OAT1)和SLC22A8(OAT3)介导AAI进入近曲小管上皮细胞已经得到了充分的证明,而抑制OAT1/3也成为新的解毒靶点。

有研究表明,在天然化合物中对OAT存在抑制作用的主要是类黄酮、苯丙素和萜烯类成分,蟛蜞菊内酯和汉黄芩素作为典型的苯丙素类和黄酮类OAT抑制剂能够显著减轻小鼠肾脏病变^[20]。给小鼠ip蟛蜞菊内酯50、100 mg·kg⁻¹·d⁻¹或汉黄芩素100、200 mg·kg⁻¹·d⁻¹连续5 d,30 min后注射AAI 5 mg·kg⁻¹·d⁻¹,结果表明蟛蜞菊内酯和汉黄芩素均能显著降低AAN小鼠肌酐和尿素氮,并呈剂量相关。组织学分析显示,蟛蜞菊内酯和汉黄芩素均能明显减轻AAN小鼠肾脏损伤。

丹红注射液能够抑制OAT介导AAI转运,减轻AAI对肾脏的损伤作用。Li等^[21]将SD大鼠以1 mL·min⁻¹速度单独尾iv AAI 10 mg·kg⁻¹或注射AAI前30 min经尾iv丹红注射液4.16 mL·kg⁻¹,分别在注射AAI后15、30、45、60、90、120 min检测到大鼠肾脏AAI含量较单独给药时由11.96 ng·mg⁻¹降至5.35 ng·mg⁻¹;相应地,丹红注射液在不同时间显著增加了AAI的血浆浓度。此外,连续7 d固定时间小鼠单次尾iv丹红注射液6.01 mL·kg⁻¹,给药后30 min同时注射AAI 10 mg·kg⁻¹。结果表明单独注射AAI时,小鼠肾脏的损伤主要表现为内生肌酐水平升高、肾小球肿胀、肾小管阻塞和淋巴细胞浸润;

而AAI与丹红注射液联合应用时,血浆肌酐水平由26.0 mmol·L⁻¹降至23.12 mmol·L⁻¹,肾小球肿胀和淋巴细胞滤过明显减轻,总损伤评分从1.8降至1.4。

有研究^[22]表明,大黄及其提取物属蒽醌类药物,作为OAT1/3抑制剂能够显著降低AAI在肾脏中的蓄积,给SD大鼠ig大黄酸100 mg·kg⁻¹及其提取物5 g·kg⁻¹,5 min后ip AAI。结果检测到联合给药组显著增加了肝、脾、心、肺的AAI浓度;同时,联合给药组大鼠肾脏AAI浓度较单独给药组显著降低63%、58%和68%,且并未显著增加血浆中AAI的浓度。

由此可见,通过抑制OAT1/3,阻断AAI进入肾近曲小管上皮细胞,降低AAI在肾脏的蓄积,减轻AAI对肾脏损伤,为预防AAI中毒以及AAN治疗提供了新的策略,也为临床筛选药物指明了方向。

2.3 OAT1/3在AAN发展过程中的表达改变

王一凡等^[23]以小鼠为实验动物每2天ig给予AAI 5 mg·kg⁻¹,第8天取肾脏观察病理学改变,发现以近曲小管损伤为主,远曲小管及集合管损伤则较低。Chen等^[24]通过显微解剖,人为地将肾小管分为14小片段进行RNA测序,结果显示SLC22A6(OAT1)和SLC22A8(OAT3)在近曲小管和远曲小管及集合管的表达有差异,且在近曲小管表达高于远曲小管及集合管。因此,认为OAT1/3在肾小管中的表达差异可能是AAN发展过程中近曲小管更易受到损伤的原因。

Baudoux等^[25]发现AAN急性期向慢性期发展时,小鼠肾小管出现大量新生细胞,肾小管管腔结构恢复,基底膜裸露率减少,恢复部分肾小管功能。研究表明Pax-2和神经细胞黏附分子1(NCAM1)在成人肾脏中几乎不表达^[26],在缺血性或肾毒性肾损伤后,Pax-2和NCAM1在存活的肾小管上皮中的表达显著增加,出现了具有未成熟表型的细胞以及表现出强大的克隆能力,这表明残留上皮细胞开始增殖或转化:一类成功增殖再生并修复肾小管上皮;另一类转化为含间质功能的上皮细胞簇,驻于肾小管内或迁移到间质,并产生大量纤维化诱导因子或细胞外基质,促进纤维化。因此,肾小管内的上皮间质细胞簇表达OAT1/3异常,是其AAI摄取能力下降而表现出肾小管毒性作用耐受的可能原因。

3 AAI在近曲小管内的代谢及分泌

3.1 AAI在近曲小管内的代谢

AAI通过近曲小管上皮细胞基底外侧膜的OAT1/3从血液中转运到上皮细胞内,有研究表明^[27-28],大鼠单次ip 20 mg·kg⁻¹ AAI可以在其肾小管

上皮细胞内产生代谢中间产物 *N*-羟基马兜铃内酰胺 I, 并转化为环状酰基氮离子与嘌呤碱基的环外氨基反应生成 AAI-DNA 加合物, 总结为图 2。这些加合物可以在近曲小管中引起 DNA 特征性突变 A:T→T:A, 这种突变在 AAN 患者尿路上皮肿瘤的全基因组中发现频率很高, 包括肿瘤抑制基因 *TP53* 等关键致癌基因^[29]。

AAI 代谢还可以触发氧化应激, 通过诱导氧化应激和线粒体损伤或激活丝裂原活化蛋白激酶通路导致细胞凋亡^[30-31]。AAI 在近曲小管上皮细胞内代谢终产物一般为马兜铃内酰胺 I、马兜铃内酰胺 Ia 和马兜铃内酰胺 Ia-*O*-葡萄糖醛酸苷等代谢产物^[32], 这些产物以及未代谢的 AAI 再通过顶膜侧的转运蛋白外排至管腔并随尿液排出体外, 但介导 AAI 及其代谢产物外排的转运蛋白尚未阐明。

3.2 参与 AAI 及其代谢产物分泌的转运蛋白

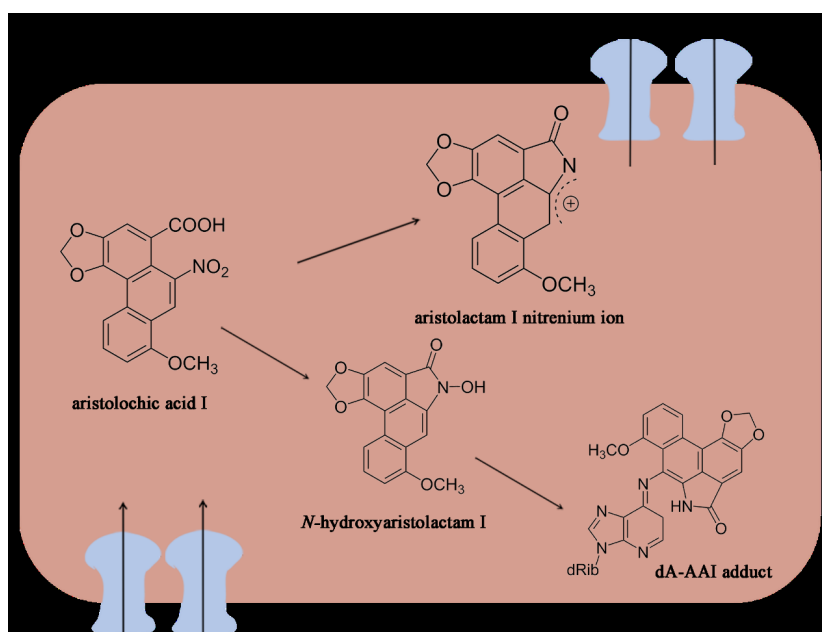
参与肾小管药物分泌和重吸收的主要是位于近曲小管上皮细胞顶膜侧的 ABC 转运体, 该家族转运蛋白结合 ATP 并利用能量驱动各种分子的运输, 包括糖、氨基酸、金属离子、多肽、蛋白质、疏水化合物及其代谢物穿过细胞膜^[33-34]。

肠道外排药物转运体在药物的肠道吸收中起重要作用, 主要包括 ABC 转运体中的多药耐药相关蛋白 (MRP)-2 和 MRP-4、多药耐药蛋白 (MDR)、P-糖蛋白和乳腺癌耐药蛋白 (BCRP), 肠外排药物转

运体在肾近曲小管上皮细胞顶膜侧也有表达, 负责将有机阴离子外排至小管腔^[35-36]。Dean 等^[37]通过细胞抑制和积累实验发现 AAI 是 BCRP 的底物。MRP2 和 MRP4 底物特异性与 OAT1/3 相似, 包括内酰胺类药物、抗病毒药物、利尿剂、非甾体抗炎药和甲氨蝶呤^[38]。Ivanyuk 等^[39]还证明马兜铃内酰胺 I 可以转化为马兜铃内酰胺-*N*-硫酸盐, 其是通过 MRP-3 和 MRP-4 被转运出肝脏的有毒代谢物, 所以 AAI 及其代谢产物有理由作为 BCRP、MRP-2 和 MRP-4 的底物。与其他表达在肾小管上皮细胞基底面的 OATs 不同, OAT4 表达于上皮细胞顶膜侧, 既可以参与肾小管液中物质重吸收促进细胞积累, 也能在跨上皮细胞分泌过程中介导底物外排^[40]。

另外, Otani 等^[41]利用非洲爪蟾卵母细胞表达了人类 I 型磷酸钠转运蛋白 4 (hNPT4), 证实了 hNPT4 作为电压驱动的外排转运体, 介导有机阴离子在近曲小管的外排, 如多环芳烃、硫酸雌酮、利尿剂和尿酸盐, 所以 NPT4 可能是参与 AAI 及其代谢产物外排的转运蛋白。

92% 肾脏排泄的外源性化合物通过肾小管消除^[42], 1 种载体蛋白和转运蛋白可运输多种底物, 而 1 种化合物可被多种蛋白转运, 是肾脏消除种类繁多的各种外源性化合物的物质基础^[43]。目前的研究表明, 参与 AAI 及其代谢产物在近曲小管外排的并不是单一蛋白, 而可能由 BCRP、MRP-2、MRP-4、



从左到右从上到下依次为 AAI、*N*-羟基马兜铃内酰胺 I、马兜铃内酰胺 I、dA-AAI 加合物。
order from top left to bottom right is AAI, *N*-hydroxyaristolactam I, aristolactam I, dA-AAI adduct.

图 2 AAI 在近曲小管上皮细胞内的代谢反应

Fig. 2 Metabolic reactions of AAI in proximal tubular epithelial cells

OAT4等膜转运蛋白共同介导。

4 中药配伍对马兜铃酸的减毒作用

近年来,随着含马兜铃酸中药所致肾病的报道逐渐增多,引起了中医药研究人员的关注。大量研究表明,通过中药配伍的方式可以减轻药物的肾毒性,综述与含马兜铃酸中药配伍减毒的中药,以期临床合理用药提供依据。

4.1 单味中药配伍减毒

4.1.1 配伍黄连 在乙腈:(水+冰醋酸)=51:49,体积流量 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$,紫外检测波长为 250 nm ,进样量 $10\text{ }\mu\text{L}$ 的色谱条件下检测,关木通与黄连配伍比例为1:1.5时,AAI含量下降了72%,其机制是黄连中的小檗碱能与AAI在水煎剂中发生中和反应,形成不溶物,有效减少AAI的含量从而实现了配伍减毒^[44-45]。

4.1.2 配伍生地黄 在乙腈:(水+酸)=70:30,体积流量 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温室温,紫外检测波长为 248 nm ,进样量 $10\text{ }\mu\text{L}$ 的色谱条件下检测,广防己与生地黄配伍比例为2:1时,AAI含量降低了49.5%,这是因为生地黄可降低煎剂中AAI的溶出量,导致AAI含量降低^[46-47]。

4.1.3 配伍丹皮 在甲醇-水-冰醋酸(70:29:1);体积流量 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温室温,紫外检测波长为 315 nm ,进样量为 $10\text{ }\mu\text{L}$ 的色谱条件下检测,关木通与丹皮共煎液中的AAI下降了19%。将大鼠ig关木通单煎液或配伍组煎液,每天1次、连续6周后测定大鼠静脉肾肾功能指标,大鼠肾功能相关指标 β_2 微球蛋白、血肌酐和血尿素氮含量明显低于关木通单煎液ig组。这是因为丹皮酚有助于AAI溶出不完全以及溶出后发生化学反应^[48-49]。

中草药中含有的某些植物成分可与AAI产生不同的化学反应,使AAI的有效含量下降,最终到达配伍减毒的目的。

4.2 复方中药配伍减毒

4.2.1 导赤散 导赤散由关木通、生地黄、生甘草、竹叶组成。研究表明,将导赤散与关木通配伍水煎液ig给药SD大鼠7d后,配伍组肾脏生化功能和组织形态学均未发现明显的损伤^[50]。

4.2.2 龙胆泻肝汤 龙胆泻肝汤由关木通、龙胆草、黄芩、栀子、泽泻、车前子、当归、生地黄、柴胡、生甘草组成。将SD大鼠按 $17.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 龙胆泻肝汤ig给药8周,检测肾脏生化指标。结果显示,与关木通组比较,配伍组大鼠血清肌酐、尿素氮显著下降,并且组织形态学结果显示肾小球结构基本正常,肾

小管轻度扩张呈条带状分布,肾小管间质炎性细胞浸润,纤维细胞轻度增生现象,总体损伤较轻^[51]。

4.2.3 六味地黄丸 六味地黄丸由山萸肉、山药、茯苓、丹皮、熟地黄、泽泻等组方,关木通与六味地黄丸共煎后提取,并在乙腈:(水+冰醋酸)=58:42(水:冰醋酸=52.5:1),体积流量 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温室温,紫外波长为 250 nm ,进样量 $5\text{ }\mu\text{L}$ 的色谱条件下检测,AAI含量降低48%^[52]。

4.2.4 脑灵片 脑灵片由黄精、淫羊藿、苍耳子、麦冬、红参、远志、酸枣仁、五味子等组方,关木通与脑灵片共煎后进行提取,并在乙腈:水:冰醋酸(48:5:1),体积流量 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温室温,进样量 $10\text{ }\mu\text{L}$ 的色谱条件下检测,AAI含量降低49.7%^[53]。

早在21世纪初,国家取消了关木通、广防己等含马兜铃酸中药的药用身份,但通过合理配伍其他中药或复方达到降低其肾毒性的目的,对在临床治疗疑难疾病时重启这类中药具有重要意义。

5 结语

马兜铃酸具有抗肿瘤、抗感染、抗炎、镇痛、抗生育和调节血压的作用,广泛存在于马兜铃科植物中。青木香、马兜铃、广防己等来源于马兜铃科植物的中药材长期或过量使用,可造成持续进展性的慢性肾病,目前暂无治疗手段。虽然广防己、关木通、青木香等马兜铃属药材已不再被《中国药典》2020年版收录,但仍是民间常用药材,马兜铃酸中毒事件偶有发生,仍在一定程度上威胁公众健康。

机体摄入AAI后在肠道吸收入血,在血液中与HSA结合形成复合物,随体循环到达肾脏。因肾小球滤过作用对分子大小和电荷具有选择性,HSA-AAI复合物不能通过肾小球滤过进入原尿,而是随出球小动脉流经肾小管,被特异性表达OAT1/3的肾小管摄取进入上皮细胞内。AAI进入肾小管上皮细胞后经代谢激活,中间代谢产物通过氧化应激、激活转化生长因子- β (TGF- β)和Wnt通路、失活细胞内嘌呤类化合物干扰代谢、与DNA形成加合物等途径造成肾小管上皮细胞持续性损伤,部分代谢产物和少量的马兜铃酸经顶面转运蛋白分泌到原尿中。

近年来的研究也表明,抑制近曲小管上皮细胞基底膜外侧载体蛋白的表达可以降低AAI在肾小管的积累并减弱其对肾小管的损伤,而抑制顶膜侧转运蛋白表达则导致AAI在肾小管的清除率降低,促进AAI及其代谢产物在近曲小管上皮细胞内蓄积,造成AAI毒性增强。近曲小管高表达的OAT1/3

被证实是介导肾小管上皮细胞特异性转运马兜铃酸的主要载体,也解释了马兜铃酸主要损伤近曲小管而对远曲小管或集合管仅造成轻微损伤。因此,以OAT1/3为代表的SLC22超家族中转运蛋白可以作为AAN治疗的潜在靶点。

寻找可减少肾小管上皮细胞马兜铃酸摄入的转运蛋白抑制剂来降低马兜铃酸的肾毒性,值得进一步研究探索。另一方面,负责将AAI及其代谢产物从肾小管上皮细胞顶面转运至肾小管管腔的运输蛋白还知之甚少,如能明确AAI及其代谢产物从肾小管上皮细胞排出的载体蛋白及排出的分子机制,也可为寻找AAN治疗的新靶点提供线索。

转录组测序结果支持SLC22A6、SLC22A8基因在近曲小管表达高于远曲小管和集合管,缺乏蛋白定位和定量实验,因此需要进一步研究证实。同时,研究表明AAN由急性期向慢性期发展过程中,残留的肾小管上皮细胞出现上皮间质转化,此时OAT1/3的表达量是否下调仍然未知,这可能是慢性期AAN耐受AAI的机制,但缺乏确切证据。而且,当前对OAT在整个AAN病程中的表达研究较少,应进一步深入探讨其在疾病发展过程中的变化机制,以期临床控制疾病发展提供有效的治疗手段。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 邵鑫, 张月, 郑雁雪, 等. 中药中马兜铃酸快速检测及分离技术研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(19): 6200-6212.
Shao X, Zhang Y, Zheng Y X, et al. Research progress on rapid detection and separation techniques of aristolochic acids in traditional Chinese medicine [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(19): 6200-6212.
- [2] Zhang Q, Luo P, Chen J, et al. Dissection of targeting molecular mechanisms of aristolochic acid-induced nephrotoxicity via a combined deconvolution strategy of chemoproteomics and metabolomics [J]. Int J Biol Sci, 2022, 18(5): 2003-2017.
- [3] Luciano R L, Perazella M A. Aristolochic acid nephropathy: Epidemiology, clinical presentation, and treatment [J]. Drug Saf, 2015, 38(1): 55-64.
- [4] Yang B, Xie Y, Guo M, et al. Nephrotoxicity and Chinese herbal medicine [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2018, 13(10): 1605-1611.
- [5] Jadot I, Declèves A E, Nortier J, et al. An integrated view of aristolochic acid nephropathy: Update of the literature [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(2):292-316.
- [6] Boot A, Jiang N, Rozen S G. Toward clinical understanding of aristolochic acid upper-tract urothelial carcinoma [J]. Theranostics, 2020, 10(12): 5578-5580.
- [7] Jelaković B, Dika Ž, Arlt V M, et al. Balkan endemic nephropathy and the causative role of aristolochic acid [J]. Semin Nephrol, 2019, 39(3): 284-296.
- [8] Nishi K, Yamasaki K, Otagiri M. Serum albumin, lipid and drug binding [J]. Subcell Biochem, 2020, 94: 383-397.
- [9] Wu X, Liu J, Huang H, et al. Interaction studies of aristolochic acid I with human serum albumin and the binding site of aristolochic acid I in subdomain IIA [J]. Int J Biol Macromol, 2011, 49(3): 343-350.
- [10] 吴新虎. 氯氮平和马兜铃酸I与人血清白蛋白的相互作用 [D]. 兰州: 兰州大学, 2011.
Wu X H. The Interaction of clozapine and aristolochic acid I with human serum albumin [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2011.
- [11] 韩敏, 郭敬, 刘子云. 微小RNA-31水平在糖尿病肾病患者外周血中的表达及其与肾小球滤过功能的关系研究 [J]. 中国医刊, 2022, 57(7): 789-792.
Han M, Guo J, Liu Z Y. Expression of micro RNA-31 levels in peripheral blood of patients with diabetic nephropathy and its relationship with glomerular filtration function in patients with diabetic nephropathy [J]. Chin J Med, 2022, 57(7): 789-792.
- [12] 林国钰. 基于自监督表示学习的肾小球滤过屏障分割研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2023.
Lin G Y. A study of glomerular filtration barrier segmentation based on self-supervised representation learning [D]. Guangzhou: South Medical University, 2023.
- [13] Wang L, Sweet D H. Renal organic anion transporters (SLC22 family): Expression, regulation, roles in toxicity, and impact on injury and disease [J]. Aaps J, 2013, 15(1): 53-69.
- [14] Yang X, Ma Z, Zhou S, et al. Multiple drug transporters are involved in renal secretion of entecavir [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2016, 60(10): 6260-6070.
- [15] Nigam S K, Bush K T, Martovetsky G, et al. The organic anion transporter (OAT) family: A systems biology perspective [J]. Physiol Rev, 2015, 95(1): 83-123.
- [16] Nigam S K. The SLC22 transporter family: A paradigm for the impact of drug transporters on metabolic pathways, signaling, and disease [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2018, 58: 663-687.
- [17] Shen Q Q, Wang J J, Roy D, et al. Organic anion transporter 1 and 3 contribute to traditional Chinese medicine-induced nephrotoxicity [J]. Chin J Nat Med, 2020, 18(3): 196-205.

- [18] Bakhiya N, Arlt V M, Bahn A, et al. Molecular evidence for an involvement of organic anion transporters (OATs) in aristolochic acid nephropathy [J]. Toxicology, 2009, 264(1/2): 74-79.
- [19] Xue X, Gong L K, Maeda K, et al. Critical role of organic anion transporters 1 and 3 in kidney accumulation and toxicity of aristolochic acid I [J]. Mol Pharm, 2011, 8(6): 2183-2192.
- [20] Li C, Wang X, Bi Y, et al. Potent inhibitors of organic anion transporters 1 and 3 from natural compounds and their protective effect on aristolochic acid nephropathy [J]. Toxicol Sci, 2020, 175(2): 279-291.
- [21] Li J, Lu J, Peng Y, et al. Characteristic and mechanism of drug-herb interaction between acetylsalicylic acid and danhong injection mediated by organic anion transporters [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 577012-577022.
- [22] Ma L, Shen Z, Hu H, et al. Effects of rhein and *Rheum palmatum* L. extract on the pharmacokinetics and tissue distribution of aristolochic acid I and its demethylated metabolite in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 267: 1135-1137.
- [23] 王一凡, 刘爽, 汪思齐, 等. 急性马兜铃酸中毒小鼠肾损伤及 Wnt7b/ β -catenin/MMP-7 的表达变化 [J]. 中国医科大学学报, 2023, 52(6): 505-511.
Wang Y F, Liu S, Wang S Q, et al. Renal injury and expression of Wnt7b/ β -catenin/MMP-7 in mice with acute aristolochic acidosis [J]. J China Med Univ, 2023, 52(6): 505-511.
- [24] Chen L H, Chou C L, Knepper M A. A comprehensive map of mRNAs and their isoforms across All 14 renal tubule segments of mouse [J]. J Am Soc Nephrol, 2021, 32(4): 897-912.
- [25] Baudoux T, Jadot I, Declèves A E, et al. Experimental aristolochic acid nephropathy: A relevant model to study AKI-to-CKD transition [J]. Front Med, 2022, 9: 822-870.
- [26] Jiang H, Yang X Y, Zhu W J. Networks of E-cadherin, β 1 integrin, and focal adhesion kinase in the pathogenesis of tubal pregnancy [J]. Gynecol Endocrinol, 2019, 35(4): 346-350.
- [27] Burckhardt G. Drug transport by organic anion transporters (OATs) [J]. Pharmacol Ther, 2012, 136(1): 106-130.
- [28] Pelis R M, Wright S H. Renal transport of organic anions and cations [J]. Compr Physiol, 2011, 1(4): 1795-1835.
- [29] Priestap H A, Torres M C, Rieger R A, et al. Aristolochic acid I metabolism in the isolated perfused rat kidney [J]. Chem Res Toxicol, 2012, 25(1): 130-139.
- [30] Anger E E, Yu F, Li J. Aristolochic acid-induced nephrotoxicity: Molecular mechanisms and potential protective approaches [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(3): 11-57.
- [31] Sidorenko V S. Biotransformation and toxicities of aristolochic acids [J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1241: 139-166.
- [32] Kim J Y, Leem J, Jeon E J. Protective effects of melatonin against aristolochic acid-induced nephropathy in mice [J]. Biomolecules, 2019, 10(1): 11-25.
- [33] Declèves A, Jadot I, Colombaro V, et al. Protective effect of nitric oxide in aristolochic acid-induced toxic acute kidney injury: An old friend with new assets [J]. Exp Physiol, 2016, 101(1): 193-206.
- [34] Baudoux T, Husson C, De P E, et al. CD4(+) and CD8(+) T cells exert regulatory properties during experimental acute aristolochic acid nephropathy [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 34-53.
- [35] Liu X. ABC family transporters [J]. Adv Exp Med Biol, 2019, 1141: 13-100.
- [36] Thomas C, Tampé R. Structural and mechanistic principles of ABC transporters [J]. Ann Rev Biochem, 2020, 89: 605-636.
- [37] Dean M, Moitra K, Allikmets R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily [J]. Hum Mutat, 2022, 43(9): 1162-1182.
- [38] Ma L, Qin Y, Shen Z, et al. Aristolochic acid I is a substrate of BCRP but not P-glycoprotein or MRP2 [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 172: 430-435.
- [39] Ivanyuk A, Livio F, Biollaz J, et al. Renal drug transporters and drug interactions [J]. Clin Pharmacokinet, 2017, 56(8): 825-892.
- [40] Chang S Y, Weber E J, Sidorrenko V S, et al. Human liver-kidney model elucidates the mechanisms of aristolochic acid nephrotoxicity [J]. JCI Insight, 2017, 2(22): e957-998.
- [41] Otani N, Ouchi M, Hayashi K, et al. Roles of organic anion transporters (OATs) in renal proximal tubules and their localization [J]. Anat Sci Int, 2017, 92(2): 200-206.
- [42] Noguci S, Nishimura T, Mukaida S, et al. Cellular uptake of levocetirizine by organic anion transporter 4 [J]. J Pharm Sci, 2017, 106(9): 2895-2898.
- [43] Łapczuk R J, Drożdżik M, Oswald S, et al. Kidney drug transporters in pharmacotherapy [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(3): 28-56.
- [44] 文星星, 张朝辉, 刘可钦, 等. 含马兜铃酸中药的减毒存效研究进展 [J]. 工业微生物, 2023, 53(5): 68-70.
Wen X X, Zhang Y H, Liu K Q, et al. Progress in the study of the toxicity reduction and survival of aristolochic acid-containing Chinese herbal medicines [J]. Indus Microbiol, 2023, 53(5): 68-70.
- [45] 马艳苗, 王永辉, 宋美清, 等. 黄连与关木通配伍对马兜

- 铃酸A含量的影响[J]. 山西中医, 2015, 31(7): 57-58.
- Ma Y M, Wang Y H, Song M Q, et al. Effects of the combination of *Rhizoma Coptidis* and Guanmutong on the content of aristolochic acid A [J]. Shanxi Tradit Chin Med, 2015, 31(7): 57-58.
- [46] 朱竹菁, 苏励. 单味中药配伍含马兜铃酸中药后肾脏减毒作用的实验研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2015, 49(4): 98-101.
- Zhu Z Q, Su L. Renal attenuation of toxicity in single herbs after compounding with aristolochic acid-containing herbs progress of experimental research [J]. Shanghai J Tradit Chin Med, 2015, 49(4): 98-101.
- [47] 冯振宇, 闫润红, 李艳彦, 等. 生地对广防己减毒作用最佳配伍比例的研究 [J]. 世界中西医结合杂志, 2009, 4(4): 251-253.
- Feng Z Y, Yan RH, Li Y Y, et al. Study on the optimum ratio of raw land on the detoxification effect of *Radix et Rhizoma Dioscoreae* on *Radix et Rhizoma Dioscoreae* [J]. World J Integr Tradit West Med, 2009, 4(4): 251-253.
- [48] 王勇, 邓晓春. 丹皮与关木通配伍对马兜铃酸I的影响 [J]. 中草药, 2008, 39(12): 1805-1807.
- Wang Y, Deng X C. Effect of compatibility between *Caulis Aristolochiae Manshuriensis* and *Cortex Moutan* on aristolochic acid I [J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 2008, 39(12): 1805-1807.
- [49] 朱杰华. 丹皮与关木通配伍减毒作用研究 [J]. 中国实用医药, 2012, 7(17): 164.
- Zhu J H. Study on the toxicity-reducing effect of the combination of Dampi and Guanmutong [J]. China Pract Med, 2012, 7(17): 164.
- [50] 李春香, 朱晓卉, 丁芳, 等. 配伍降低关木通肾毒性的研究现状 [J]. 河北中医药学报, 2005(2): 35-37.
- Zhu C F, Zhu X H, Ding F, et al. Current status of the study on the reduction of Guanmutong nephrotoxicity by compounding [J]. J Hebei Tradit Chin Med Pharmacol, 2005(2): 35-37.
- [51] 谢鸣, 张娜. 佐使配伍对含关木通的龙胆泻肝汤全方肾毒性作用的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2007(10): 674-677.
- Xie M, Zhang N. Influence of compatibility of whole Longdanxiegan Decotion (containing *Aristolochiae Manshuriensis*) on nephrotoxicity [J]. Beijing Univ Chin Med, 2007(10): 674-677.
- [52] 赵慧辉, 刘养清, 侯娜, 等. 六味地黄丸对关木通减毒作用的初步研究 [J]. 中成药, 2006, 28(10): 1497-1499.
- Zhao H H, Liu Y Q, Hou N, et al. Preliminary study on the attenuating effect of Liuwei Dihuang Wan on Guanmutong [J]. Chin Tradit Patent Med, 2006, 28(10): 1497-1499.
- [53] 毛晓春, 冯高平, 孙芸, 等. 脑灵片对关木通减毒作用的初步研究 [J]. 中药材, 2008, 31(2): 298-300.
- Mao X C, Feng G P, Sun Y, et al. Preliminary study on the attenuating effect of Cerebral Spirit Tablets on Guanmutong [J]. J Chin Med Mater, 2008, 31(2): 298-300.

[责任编辑 李红珠]