

OAT1/3在肾小管表达差异及竞争性抑制对急性马兜铃酸I肾小管损伤的影响

杨心怡¹, 黄春华^{1, 2}, 李小芬^{1, 2}, 李茂娟^{1, 2}, 夏 铭^{1, 2, 3}, 汤海明^{1, 2}, 刘德芳^{1, 2, 3}, 艾兴辉^{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. 贵州中医药大学司法鉴定所, 贵州 贵阳 550000

3. 贵州中医药大学 贵州省法医中药毒理学特色重点实验室, 贵州 贵阳 550000

摘要: 目的 通过丙磺舒 (PRB) 抑制有机阴离子转运蛋白 (OAT) 1 和 3, 观察马兜铃酸I (AAI) 对大鼠肾小管上皮细胞的急性损伤, 以探究 AAI 进入肾小管上皮细胞的途径。方法 雄性 SD 大鼠随机分为空白对照组、溶剂对照 (PEG300) 组、PRB (150 mg·kg⁻¹) 组、AAI (80 mg·kg⁻¹) 组、AAI (80 mg·kg⁻¹) + PRB (150 mg·kg⁻¹) 组, 每 2 天 ig 给药 1 次, 连续给药 4 次。观察大鼠肾脏指数; 生化仪检测血清肌酐 (CREA) 和尿素氮 (BUN) 水平; 苏木精-伊红 (HE) 染色观察肾脏组织病理学变化; 免疫组化染色观察 OAT1 和 OAT3 在肾小管的组织定位和蛋白表达水平; 免疫透射电镜观察 OAT1 和 OAT3 在肾小管上皮细胞的亚细胞定位和表达水平。结果 与溶剂对照组相比, AAI 组肾脏指数、CREA 和 BUN 水平显著增加 ($P < 0.01, 0.001$); AAI + PRB 组与 AAI 组相比, 肾脏指数、CREA 和 BUN 水平显著降低 ($P < 0.05, 0.001$)。HE 染色结果显示, 与溶剂对照组相比, AAI 组肾近端小管上皮细胞 (PCTEC) 出现空泡样变性、微绒毛脱落以及片状坏死脱落, 而 AAI + PRB 组与 AAI 组相比, PCTEC 空泡样变性率下降, 无其他类型病理学变化; 另外, 肾远端小管上皮细胞 (DCTEC) AAI 组与 AAI + PRB 组呈现少量空泡样变性。免疫组化和电镜结果显示, OAT1 主要在 PCTEC 基底膜侧表达, OAT3 主要在 DCTEC 基底膜侧表达, 且 AAI 暴露后, 与溶剂对照组比较, 前者在近端小管 (PCT) 表达有下降趋势 ($P < 0.05$), 后者在远端小管 (DCT) 表达有上升趋势 ($P < 0.05$)。结论 AAI 能够导致 PCT 和 DCT 的损伤, PRB 抑制 OAT1 和 OAT3 后, 能够改善肾脏功能, 并减少肾小管上皮细胞的病理学损害; OAT1 可能是 AAI 进入 PCTEC 的主要通道, 而 OAT3 则可能是其进入 DCTEC 的主要通道。

关键词: 马兜铃酸I; 有机阴离子转运蛋白1; 有机阴离子转运蛋白3; 丙磺舒; 肾小管损伤

中图分类号: R992 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2024) 10-2301-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.10.009

Effects of OAT1/3 differential expression and competitive inhibition on renal tubular injury induced by aristolochic acid I

YANG Xinyi¹, HUANG Chunhua^{1, 2}, LI Xiaofen^{1, 2}, LI Maojuan^{1, 2}, XIA Ming^{1, 2, 3}, TANG Haiming^{1, 2}, LIU Defang^{1, 2, 3}, AI Xinghui^{1, 2, 3}, LOU Didong^{1, 2, 3}

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

2. Judicial Appraisal Center, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550000, China

3. Guizhou Provincial Key Laboratory of Forensic Medicine Toxicology, Guizhou University of Chinese Medicine Guiyang 550000, China

Abstract: **Objective** Utilizing probenecid (PRB) as an inhibitor of organic anion transporter (OAT) 1 and 3, to investigate the acute injury of renal tubular epithelial cells in rats induced by aristolochic acid I (AAI) and elucidate the pathway through which AAI enters renal tubular epithelial cells. **Methods** Male Sprague-Dawley rats were randomly assigned to five groups: the blank control group, the solvent control (PEG300) group, the PRB (150 mg·kg⁻¹) group, the AAI (80 mg·kg⁻¹) group, and the AAI+PRB (80 mg·kg⁻¹ + 150 mg·kg⁻¹) group. Administer ig once every two days for four consecutive doses. Observed the renal organ index of rats, and

收稿日期: 2024-06-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82160099); 贵州省科技计划项目 (黔科合基础-ZK[2021]一般 356); 贵州省科技厅基础研究计划 (黔科合基础-ZK[2022]一般 465)

第一作者: 杨心怡, 女, 硕士研究生, 从事中药毒理学研究。E-mail: 572600754@qq.com

*通信作者: 楼迪栋, 男, 博士, 教授, 从事法医中药毒理学研究。E-mail: 15761879@qq.com

biochemical analyzer detected serum creatinine (CREA) and urea nitrogen (UREA) levels. Hematoxylin-eosin (HE) staining was employed to examine the pathological alterations in renal tissue. Immunohistochemical (IHC) staining was conducted to assess the tissue localization and protein expression levels of OAT1 and OAT3 in renal tubules. Immunoelectron microscopy was utilized to investigate the subcellular localization and expression levels of OAT1 and OAT3 in renal tubular epithelial cells. **Results** Compared with the solvent control group, the renal index, CREA, and BUN levels in the AA I group were significantly increased ($P < 0.01$, 0.001); Compared with the AAI group, the renal index, CREA, and BUN levels were significantly reduced in the AA I+PRB group ($P < 0.05$, 0.001). HE staining revealed cellular edema, necrotic shedding, microvillous loss in proximal convoluted tubule epithelial cells (PCTEC) in the AAI group ($P < 0.05$). Conversely, in the AAI+PRB group, the incidence of vacuolar degeneration in PCTEC decreased significantly ($P < 0.05$) without other observed pathological changes. Additionally, a minor degree of vacuolar degeneration was observed in distal convoluted tubule epithelial cells (DCTEC) in both the AA I and AAI+PRB groups. IHC and electron microscopy revealed that OAT1 was predominantly expressed in the basolateral membrane of PCTEC, while OAT3 was primarily expressed in the basolateral membrane of DCTEC. Following exposure to AAI, the expression of OAT1 exhibited a decreasing trend in the proximal convoluted tubule (PCT) ($P < 0.05$), whereas the expression of OAT3 showed an increasing trend in the distal convoluted tubule (DCT) ($P < 0.05$). **Conclusion** AAI induces damage to both proximal convoluted tubules (PCT) and distal convoluted tubules (DCT), while PRB inhibiting OAT1 and OAT3 demonstrates improvement in renal function and reduction in pathological damage to renal tubular epithelial cells. These findings suggest that OAT1 may primarily facilitate the entry of AAI into PCTEC, whereas OAT3 may serve as the primary route for its entry into DCTEC.

Key words: aristolochic acid I; organic anion transporter 1; organic anion transporter 3; probenecid; renal tubular injury

马兜铃酸是一种含氮的多环芳香族有机化合物,存在于马兜铃科的植物中^[1]。这类植物(如马兜铃、青木香、关木通和细辛)曾在临床中被广泛应用^[2]。然而,众多研究已经证实,这些含马兜铃酸的中草药可引发一种称为马兜铃酸肾病^[3](AAN)的急性或慢性肾小管间质疾病,其病理表现包括肾小管损伤、不同程度的肾小管间质炎症及肾间质纤维化^[4]。

马兜铃属植物主要含有的有毒成分是马兜铃酸I(AAI),它是导致肾损伤的关键因素^[5-7]。AAI通过胃肠道吸收进入血液,与血浆白蛋白结合^[8],最终通过肾脏代谢和排泄。有机阴离子转运蛋白(OAT)是属于溶质载体超家族的非特异性转运蛋白,主要分布在屏障上皮细胞和内皮细胞中,与AAI有很高的亲和力^[9]。在肾近端小管上皮细胞(PCTEC)和肾远端小管上皮细胞(DCTEC)中,OAT1和OAT3表达丰富^[10],它们主要负责将血液中的AAI转运到PCTEC和DCTEC内^[11]。因此,抑制OAT1和OAT3的活性有望成为治疗AAN的潜在策略。此外,丙磺舒(PRB)主要通过肾小管主动分泌排泄,能与OAT竞争性地结合,从而抑制其他有机酸类药物在肾小管的转运,为治疗AAN提供了一种可能^[12]。

本课题组前期连续观察了AAN的肾小管病理学改变,发现AAN以PCTEC损害为主,DCTEC和集合管上皮细胞(CDEC)的病理改变时间较晚^[13]。此外,肾小管的mRNA测序发现^[14],*SLC22A6*(OAT1)和*SLC22A8*(OAT3)在肾近端小管(PCT)和肾远端小

管(DCT)存在表达差异,这可能是AAI优先诱导PCT毒性的原因。然而,目前对这一现象的科学阐述仍然缺乏更多的证据。

本研究通过PRB抑制OAT1/3来保护AAI引起的肾损伤,验证AAI进入肾小管上皮细胞的离子通道。并通过观察OAT1/3在PCT和DCT的表达差异,探讨AAI损伤PCT的分子机制。旨在为预防马兜铃酸中毒和AAN的治疗提供新的靶点,并为进一步阐明AAI的毒理机制提供新的理论依据。

1 材料

1.1 药物与主要试剂

AAI对照品(质量分数 $\geq 98\%$,批号DST231116-021)购自成都乐美天医药科技有限公司;PRB对照品(质量分数 $\geq 99.95\%$,批号151978)购自贵州奥怡生物技术有限公司;二甲基亚砜、聚山梨酯80(北京索莱宝科技有限公司);PEG300(上海麦克林生化科技股份有限公司);苏木素-伊红(HE)染液(武汉塞维尔生物科技有限公司);免疫组化(IHC)二步法试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司);OAT1兔多克隆抗体(赛默飞世尔科技中国有限公司);OAT3兔多克隆抗体(Alpha Diagnostic International);肾损伤分子1(KIM1)兔多克隆抗体(北京博奥森生物技术有限公司)。

1.2 实验动物

雄性SD大鼠15只,7周龄,质量 (180 ± 10) g,购自于河南斯克贝斯生物科技股份有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(豫)2020-0005。饲养于贵

州中医药大学动物研究所, (22±2)℃, 自由饮食。本研究经贵州中医药大学动物伦理委员会批准(审批文号20230175), 实验过程严格按照《实验动物福利伦理审查指南(GB/T358922018)》要求执行。

1.3 主要仪器

AU5800全自动生化分析仪购自美国贝克曼库尔特有限公司; KD-3368AM全自动组织切片机购自金华市科迪仪器有限公司; Motic EasyScan 数字切片扫描仪购自麦克奥迪实业集团有限公司; Leica EM UC7 超薄切片机购自德国徕卡光学公司; HITACHI HT7700 80kv 透射电镜购自日立高新技术公司。

2 方法

2.1 实验动物分组、药物及制备给药

将15只SD大鼠适应性喂养4 d后, 随机分为空白对照组、溶剂对照组、PRB (150 mg·kg⁻¹) 组、AAI (80 mg·kg⁻¹)^[15] 组、AAI + PRB (80 mg·kg⁻¹ + 150 mg·kg⁻¹)^[11], 每组3只。

AAI溶于二甲基亚砜和PGE300中, 制成悬浊液; PRB溶于二甲基亚砜和50% PEG300中, 聚山梨酯80助溶, 制成悬浊液。每2天ig给药1次, 给AAI前30 min, PRB组与AAI + PRB组大鼠分别ig PRB, 30 min后AAI组和AAI + PRB组大鼠分别ig AAI, 连续给药4次, 共8 d。

2.2 样本采集

在第8天将大鼠ip戊巴比妥钠麻醉, 腹主动脉采血后, 取双侧新鲜肾脏组织, 一侧用4%多聚甲醛固定, 另一侧取1 mm³组织用免疫电镜固定液固定。

2.3 肾脏生化指标检测

将采集的血液标本4℃、3 000 r·min⁻¹离心10 min, 取上清, 采用贝克曼AU5800生化仪检测其肌酐(CREA)和尿素氮(BUN)含量。

2.4 肾脏组织HE染色

将固定好的肾脏组织经乙醇梯度脱水、二甲苯透明、浸蜡、石蜡包埋、切片(切片厚度3 μm), 进行HE染色, 光学显微镜下观察肾脏组织病理变化, 并对肾小管上皮细胞病理学改变计数统计。

2.5 IHC染色

切片置于72℃烘箱中60 min融蜡, 二甲苯脱蜡、乙醇梯度脱水。磷酸缓冲液(PBS)冲洗后, 置于柠檬酸钠抗原修复液(pH值7.4)中, 微波炉中高火加热20 min, 室温冷却后PBS浸洗。随后滴加内源性过氧化物阻断酶室温孵育10 min, PBS浸洗。分别滴加KIM1 (1:200)、OAT1 (1:200)和OAT3 (1:

200)蛋白一抗, 4℃冰箱湿盒孵育过夜, 结束后用PBS浸洗。滴加反应增强液, 37℃孵育20 min, PBS浸洗。滴加生物素标记山羊抗兔IgG, 37℃孵育60 min, PBS浸洗。滴加DAB显色液, 显色至肉眼可见切片变色, PBS浸洗终止染色, 苏木素复染, 酒精梯度脱水, 二甲苯透明, 封片。用Image J软件对IHC图像进行分析统计。

2.6 免疫透射电镜

将肾脏组织从固定液取出, 乙醇梯度脱水, 树脂渗透后包埋。超薄切片机切成70~80 nm超薄切片, 镀膜镍网捞片, 超纯水悬浮5 min, 进行复温后TBS清洗, 用1% BSA封闭液室温封闭30 min, 加入OAT1 (1:200)和OAT3 (1:200) 4℃过夜孵育, TBS清洗, 加入12 nm胶体金山羊抗兔抗体37℃烘箱孵育60 min, TBS清洗。铀复染后用70%乙醇清洗, 滤纸吸干后放入网板中, 透射电子显微镜下观察并采集图像。

2.7 统计学分析

用随机区域计数法选择HE图像、IHC图像、免疫透射电镜图像进行计数统计, IHC图像采用Image J软件对吸光度(A)值进行统计。采用SPSS 26.0软件进行统计分析, 多组间采用单因素方差分析比较(满足方差齐性检验和正态分布后), 两组样本之间采用t检验(满足方差齐性检验和正态分布后)。

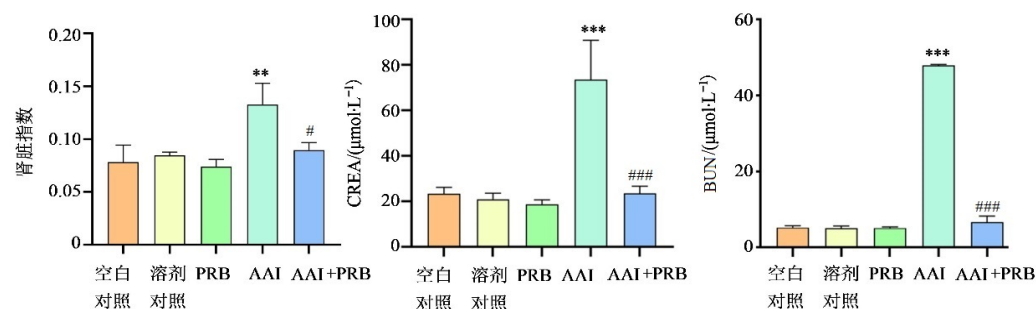
3 结果

3.1 PRB对AAI诱导的大鼠肾损伤具有保护作用

3.1.1 PRB对大鼠肾脏脏器指数和血清中CREA和BUN含量的影响 结果如图1所示, 与溶剂对照组相比, AAI组肾脏指数显著增高($P<0.01$ 、 0.001); 而AAI + PRB组与AAI组相比, 肾脏指数显著下降($P<0.05$ 、 0.001), 其余各组之间差异均无统计意义。

如图1所示, 与溶剂对照组相比, AAI组血清CREA、BUN水平显著增高($P<0.001$); 而AAI + PRB组与AAI组比较, CREA、BUN水平显著下降($P<0.001$), 其余各组之间差异均无统计学意义。

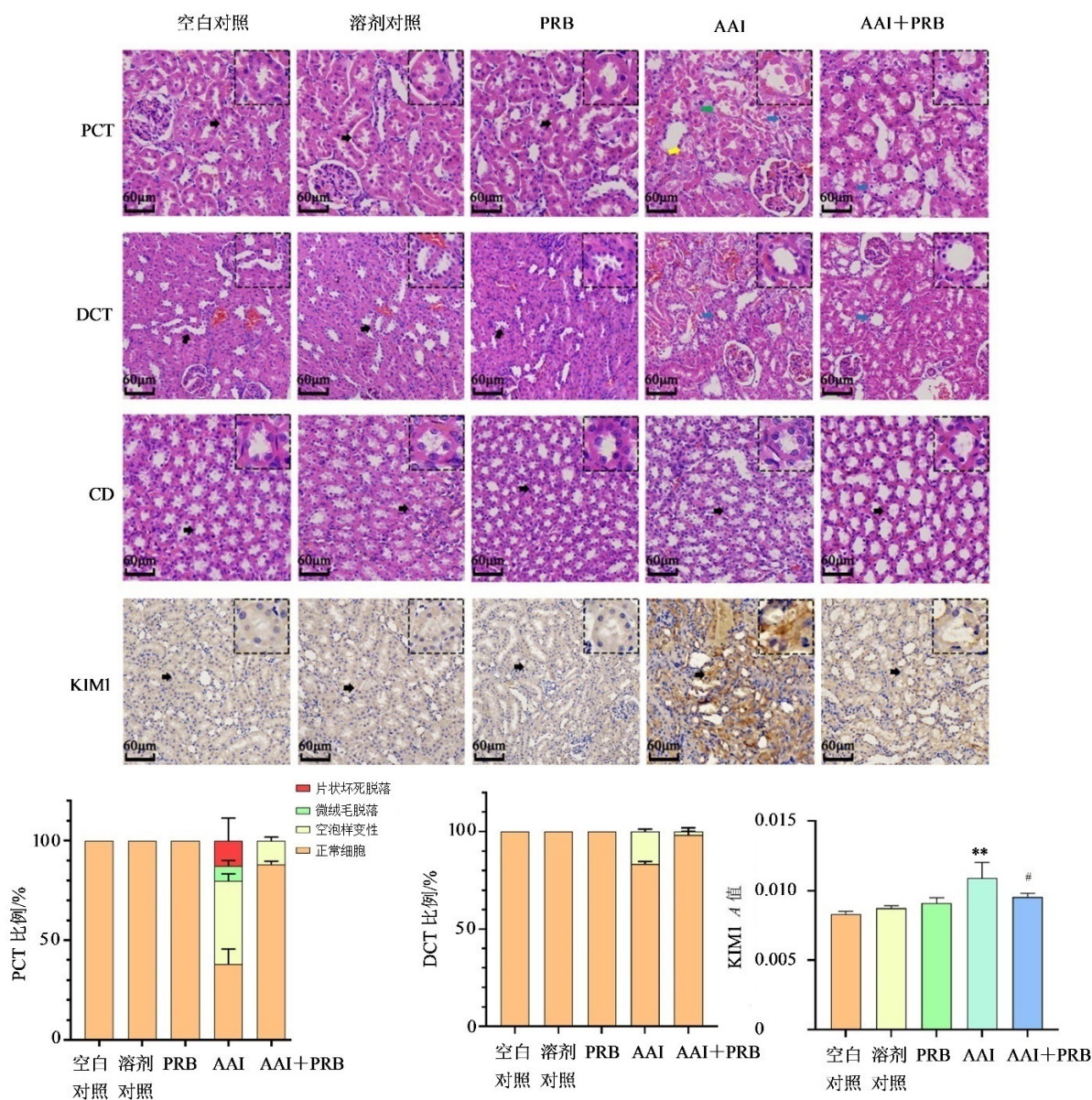
3.1.2 PRB对大鼠肾脏组织病理学的影响 如HE染色结果所示(图2), 与溶剂对照组相比, AAI组PCTEC出现空泡样变性、微绒毛脱落以及片状坏死脱落; 而DCTEC和CDEC只出现少量空泡样变, 其余组别无明显改变。统计分析结果发现(图2), 与溶剂对照组相比, AAI组PCTEC 52%空泡样变性、19%片状坏死脱落、7%微绒毛脱落, DCTEC 16%空



与溶剂对照组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与AAI组比较: # $P < 0.05$ ### $P < 0.001$ 。
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs solvent control group; # $P < 0.05$ ### $P < 0.01$ vs model group.

图1 大鼠肾脏脏器指数和血清CREA、BUN水平 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 1 Rat kidney organ index and serum CREA and BUN level in rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)



黄色箭头-微绒毛脱落; 绿色箭头-片状坏死脱落; 蓝色箭头-空泡样变性; 与溶剂对照组比较: ** $P < 0.01$; 与AAI组比较: # $P < 0.05$ 。
Yellow arrows-microvilli shedding; green arrows-lamellar necrotic shedding, blue arrows-vacuolike degeneration; ** $P < 0.01$ vs solvent control group; # $P < 0.05$ vs model group.

图2 HE染色和KIM1 IHC染色 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 2 HE staining and IHC of KIM1 staining ($\bar{x} \pm s, n=3$)

泡样变性。而AAI+PRB组与AAI组相比,PCTEC空泡样变性率下降28%,且无其他病理改变。

IHC结果显示,KIM1主要表达在损伤的肾小管上皮细胞中,统计分析发现,与溶剂对照组相比,AAI组KIM1 A值增加62%,差异显著($P<0.01$),而AAI+PRB组与AAI组相比,KIM1 A值降低31%,差异显著($P<0.05$),其余组别无显著差异。

3.2 OAT1/3在PCT、DCT的表达

3.2.1 大鼠肾小管 OAT1/3 IHC 结果 如IHC结果所示(图3),OAT1主要在PCTEC基底膜侧表达,OAT3主要在DCTEC基底膜侧表达。

结果统计分析发现,OAT1均在PCT表达,且与溶剂对照组相比,AAI组A值降低29%,差异显著($P<0.05$);与AAI组相比,AAI+PRB组A值增加27%,差异显著($P<0.05$)。OAT3均在DCT表达,且与溶剂对照组相比,AAI组A值增加47%,差异显著($P<0.05$)。另外,比较各组间PCT中OAT1的A值和DCT中OAT3的A值,结果表明,前者高于后者84%($P<0.05$)。

3.2.2 大鼠肾小管 OAT1、OAT3 免疫透射电镜结果 如OAT1免疫透射电镜结果所示(图4),空白对照组PCTEC基底面质膜褶皱突起、排列整齐。AAI组PCTEC基底面质膜褶皱突起消失、排列紊乱,空泡改变明显,线粒体形态结构异常,数量减少。AAI+PRB组PCTEC基底面质膜褶皱突起,无明显空泡,线粒体形态结构和数目基本恢复。DCTEC无明显病理改变。同时,空白对照组与AAI+PRB组OAT1主要定位于靠近细胞线粒体嵴和基底面质膜褶皱处,而AAI组OAT1则主要定位于细胞质内。

结果统计发现,与DCTEC相比,OAT1在PCTEC的阳性胶体金颗粒数显著增加($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001)。与空白对照组相比,AAI组PCTEC阳性胶体金颗粒数减少57个,差异显著($P<0.05$),而与AAI组相比,AAI+PRB组PCTEC阳性胶体金颗粒数增加12个($P<0.05$)。

如OAT3免疫透射电镜结果所示(图5),空白对照组与AAI+PRB组OAT3主要定位于靠近细胞线粒体嵴和基底面质膜褶皱处,而AAI组OAT3则主

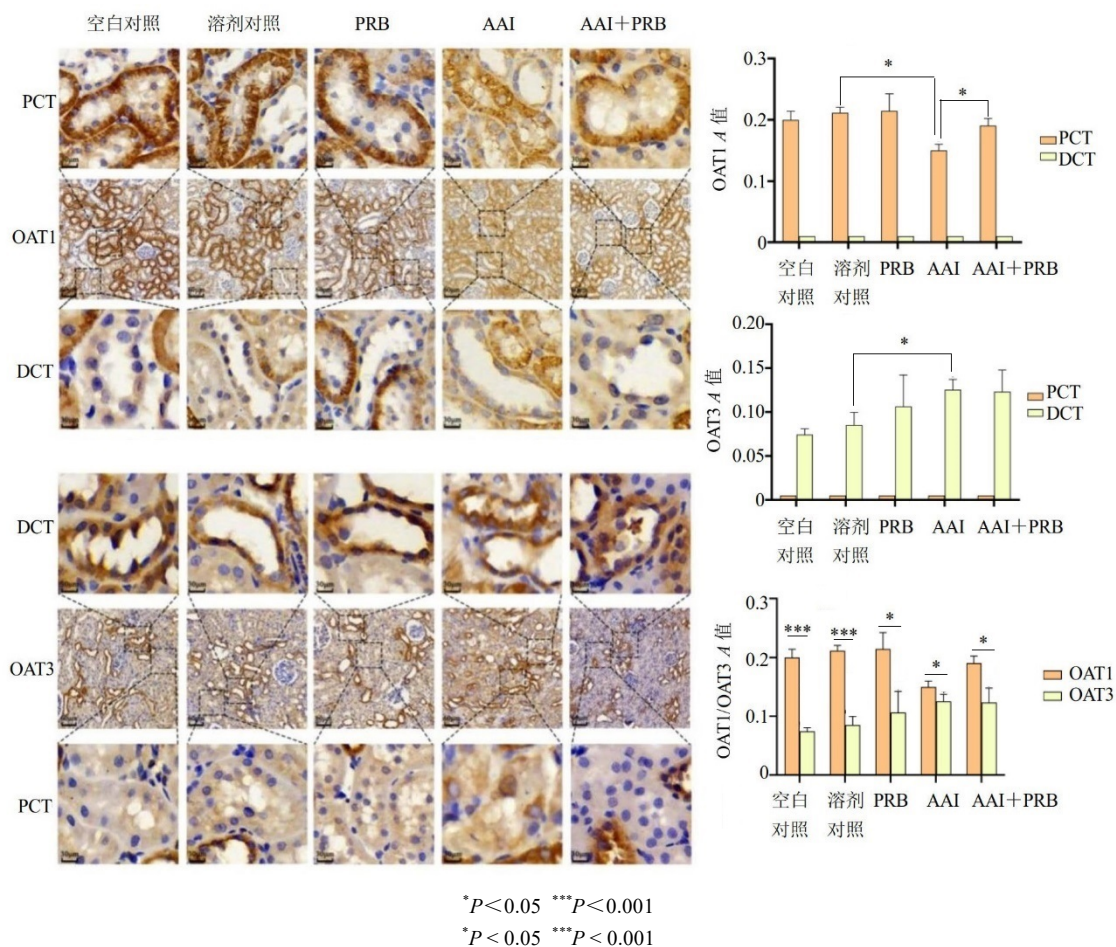
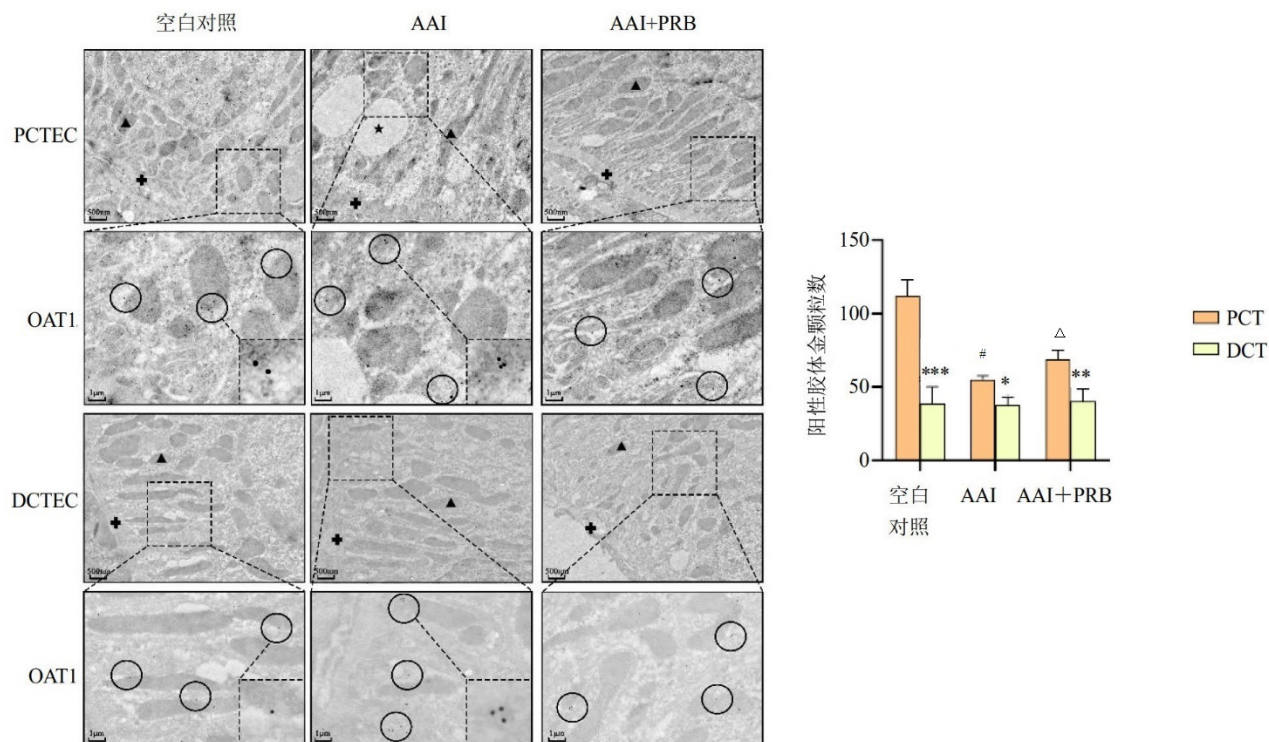


图3 PCT和DCT中OAT1/OAT3 IHC染色($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig. 3 IHC staining of OAT1/OAT3 in PCT and DCT ($\bar{x}\pm s, n=3$)



黑色圆圈内为12 nm黑色胶体金颗粒;OAT1蛋白阳性表达;三角形表示线粒体;五角星表示空泡样变性,加号表示肾小管上皮细胞基底膜。与PCT比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$;与空白对照组比较: # $P < 0.05$;与AAI组比较: $\Delta P < 0.05$ 。

Black colloidal gold particles (12 nm inside the black circle): positive expression of OAT3 protein; triangles indicate mitochondria, pentagrams indicate vacuolike degeneration, the plus sign indicates the basement membrane of renal tubular epithelial cells. * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs PCT; # $P < 0.05$ vs black control group; $\Delta P < 0.05$ vs AAI group.

图4 PCT和DCT中OAT1免疫透射电镜结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 4 Result immunoelectron microscopic images of OAT1 in PCT and DCT($\bar{x} \pm s, n=3$)

要定位于细胞质内。结果统计发现,与PCTEC相比,OAT3在DCTEC的阳性胶体金颗粒数增加7个,差异显著($P < 0.05$)。与空白对照组相比,AAI组DCTEC阳性胶体金颗粒数增加3个,差异显著($P < 0.05$)。

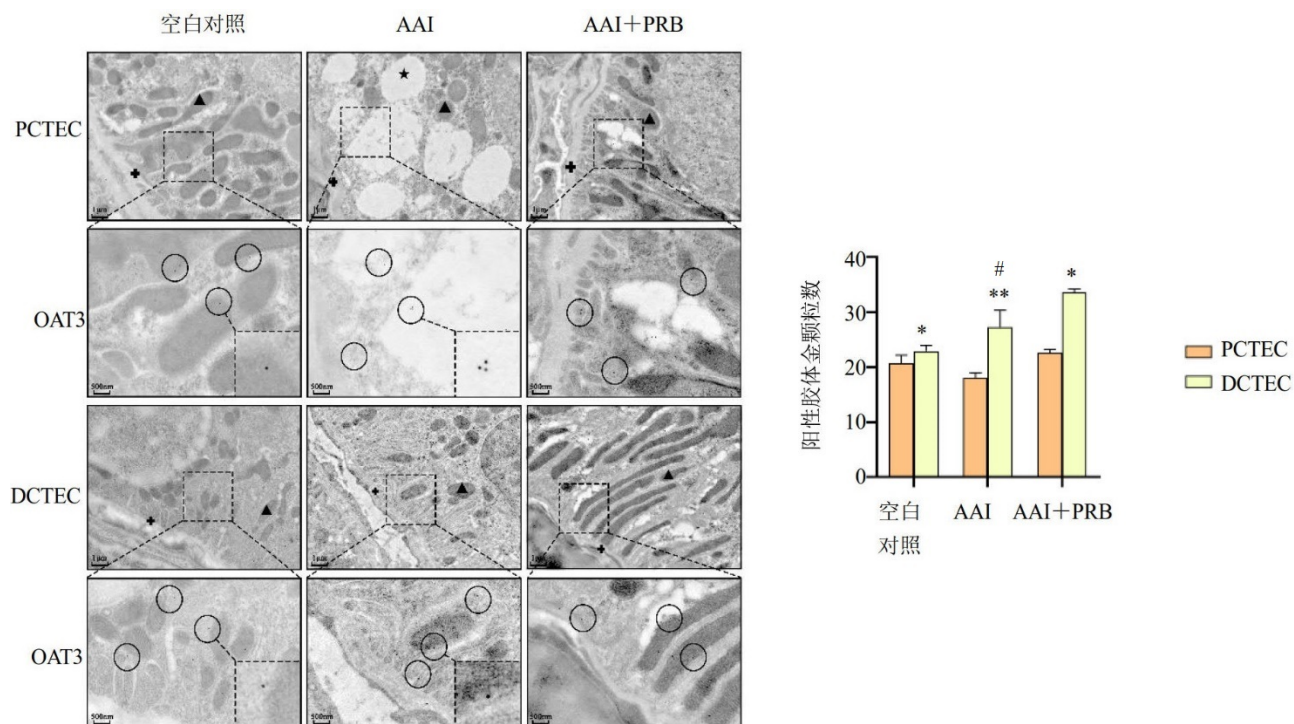
4 讨论

早在20世纪初,多个国家已经正式禁止使用和销售含有马兜铃酸的中草药,然而,全球仍不断有相关病例出现^[16]。尽管对AAI的研究已经取得了诸多进展,但其引发的急性肾毒性和不可逆转的致癌风险,仍然严重威胁着全球公共卫生安全^[17]。因此,深入探索AAI的毒理机制,寻找潜在的治疗靶点,为延缓AAN进程和改善患者预后显得尤为迫切。

研究表明^[18-19],OAT1/3负责AAI在肾小管的转运,因此,抑制OAT1/3能够预防AAI引起的肾小管坏死。本研究发现,PRB能够缓解AAI引起的大鼠肾脏水肿,降低脏器指数,并改善大鼠异常的肾脏生化功能,恢复CREA和BUN在肾脏的排泄,降低其在血清的含量。此外,PRB还能减轻AAI导致的

PCTEC空泡样变性、微绒毛脱落及片状坏死脱落样损伤作用。并且,通过观察KIM1的表达量变化,进一步验证了PRB对减轻肾损伤的效果。另外,通过观察大鼠PCTEC的超微结构,发现PRB能够恢复细胞基底面质膜褶皱结构;减少细胞空泡样变性;以及改善线粒体结构和数量。所以,PRB可以减轻AAI所导致的急性肾损伤,这表明OAT1/3的抑制是AAN治疗的潜在靶点。

目前的研究表明^[20],PCTEC是AAI作用的主要靶标,DCTEC则损伤较轻,这可能是由于OAT1/3的表达差异,导致了AAI对PCTEC和DCTEC的敏感性不同。因此从组织水平察了OAT1/3在PCT和DCT的表达情况,结果显示,OAT1主要在PCT中表达,而在DCT中的表达几乎可以忽略不计;相反,OAT3主要在DCT中表达,在PCT中的表达几乎可以忽略不计。同时发现OAT1在PCT中的表达量显著高于OAT3在DCT中的表达量。有研究表明^[21]OAT1摄取AAI的活性大于OAT3。因此推测由于OAT1的表达量、摄取活性及其定位,使得PCT相比于DCT能更有效地摄取和积累AAI,导致了



黑色圆圈内为12 nm黑色胶体金颗粒;OAT1蛋白阳性表达;三角形表示线粒体;五角星表示空泡样变性,加号表示肾小管上皮细胞基底膜。

与PCT比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$;与空白对照组比较: # $P < 0.05$ 。

Black colloidal gold particles (12 nm inside the black circle): positive expression of OAT3 protein; triangles indicate mitochondria, pentagrams indicate vacuolike degeneration, the plus sign indicates the basement membrane of renal tubular epithelial cells. * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs PCT; # $P < 0.05$ vs black control group.

图5 PCT和DCT中OAT3免疫透射电镜结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 5 Result immunoelectron microscopic images of OAT3 in PCT and DCT($\bar{x} \pm s, n=3$)

PCT的高敏感性。

进一步深入研究,从亚细胞层面观察了OAT1/3在PCTEC和DCTEC中的表达情况。结果表明,OAT1/3主要定位于靠近细胞线粒体嵴和基底面质膜褶皱处。这种表达模式与上皮细胞基底面质膜增加表面积以控制物质转运和提供物理支持的需求有关,并且该膜上存在多种能量依赖性转运蛋白,其可能需要线粒体提供能量行使功能^[22]。因此,线粒体与褶皱的基底面质膜形成一个三维网络,使得OAT1/3的阳性胶体金颗粒主要定位于此。统计结果发现,OAT1在PCTEC的表达量显著高于DCTEC,而OAT3在DCTEC的表达量显著高于PCTEC。

另外,本研究发现AAI暴露后,OAT1在PCTEC的表达量显著下调,相反,OAT3在DCT的表达量显著上调。给予PRB治疗后,OAT1表达量显著上调,OAT3则持续上调。这可能是由于AAI暴露导致PCTEC基底面质膜褶皱结构消失;线粒体的结构和数目改变;使得OAT1定位异常或能量缺失,最终导致其表达量下调。而OAT3上调则可能是因为DCT

是对PCT重吸收分泌作用的补充,当PCT中的OAT1下调时,DCT中的OAT3代偿性上调,以确保肾小管能够正常地处理体内的废物和维持电解质及酸碱平衡。

PRB对由AAI引起的大鼠肾损伤显示出保护效果,这揭示了OAT1/3是AAI进入肾小管上皮细胞的结构基础。并且OAT1是AAI进入PCTEC的主要通道,而OAT3则是其进入DCTEC的主要通道,这种差异导致了PCT对AAI引起的损伤更加敏感。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 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): 297.
- [2] Yang B, Xie Y, Guo M J, et al. Nephrotoxicity and Chinese herbal medicine [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2018, 13(10): 1605-1611.
- [3] 田婧卓, 刘素彦, 高月, 等. 论含马兜铃酸中药的风险评估、安全用药与科学监管: 马兜铃酸种类不同毒性各异, 检控马兜铃酸I/II是关键 [J]. 中国中药杂志, 2022,

- 47(14): 3693-3700.
- Tian J Z, Liu S Y, Gao Y, et al. Risk assessment, safe medication and scientific supervision of traditional Chinese medicine containing aristolochic acids—Toxicity is different among aristolochic acids, and detection and control of aristolochic acid I/II is critical [J]. *China J Chin Mater Med*, 2022, 47(14): 3693-3700.
- [4] 史文慧, 王艳梅, 蒋黎, 等. 111例马兜铃酸肾病调查分析 [J]. *药学实践与服务*, 2024, 42(1): 38-42.
- Shi W H, Wang Y M, Jiang L, et al. Analysis of 111 cases of aristolochic acids nephropathy [J]. *J Pharm Pract Serv*, 2024, 42(1): 38-42.
- [5] Bastek H, Zubeil T, Stemmer K, et al. Comparison of Aristolochic acid I derived DNA adduct levels in human renal toxicity models [J]. *Toxicology*, 2019, 420: 29-38.
- [6] 霍桂桃, 秦超, 王超, 等. 马兜铃酸I致C57BL/6和C3H/He小鼠急性毒性研究 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(8): 1827-1837.
- Huo G t, Qin C, Wang C, et al. Short-term toxicity of aristolochic acids I in C57BL/6 and C3H/He mice [J]. *Drug Eval Res*, 2024, 47(8): 1827-1837.
- [7] Yue L J, Yang K J, Jiang F, et al. Chemical profiling of principle active and toxic constituents in herbs containing aristolochic acids [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(2): 293-300.
- [8] Wu X H, Liu J J, Huang H M, 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.
- [9] 李发双, 李玲, 高丽辉. 有机阴离子转运蛋白研究进展 [J]. *国际药学研究杂志*, 2017, 44(10): 931-934.
- Li F S, Li L, Gao L H. Organic anion transporter: Research advances [J]. *J Int Pharm Res*, 2017, 44(10): 931-934.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] 王小楠, 付冉, 孟璐, 等. 钠-葡萄糖共转运蛋白2抑制剂相关的药物相互作用 [J]. *中国医院用药评价与分析*, 2020, 20(4): 503-507.
- Wang X N, Fu R, Meng L, et al. Drug interactions associated with sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors [J]. *Eval Anal Drug Use Hosp China*, 2020, 20(4): 503-507.
- [13] 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.
- [14] Chen L, 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.
- [15] Mei Y J, Yang G X, Guo Y H, et al. Parametric MRI detects aristolochic acid induced acute kidney injury [J]. *Tomography*, 2022, 8(6): 2902-2914.
- [16] 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.
- [17] Zhou Q Q, Jiang L, Su T, et al. Overview of aristolochic acid nephropathy: An update [J]. *Kidney Res Clin Pract*, 2023, 42(5): 579-590.
- [18] 王崇. JBP485缓解亚胺培南及马兜铃酸I肾脏毒性的药动学机制研究 [D]. 大连: 大连医科大学, 2022.
- Wang C. Pharmacokinetic mechanism of JBP485 in alleviating the nephrotoxicity of imipenem and aristolochic acid I [D]. Dalian: Dalian Medical University, 2022.
- [19] Zhang H M, Zhao X H, Sun Z H, et al. Recognition of the toxicity of aristolochic acid [J]. *J Clin Pharm Ther*, 2019, 44(2): 157-162.
- [20] 杨心怡, 黄春华, 李小芬, 等. 肾小管上皮细胞特异性转运马兜铃酸机制研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(2): 401-408.
- Yang X Y, Huang C H, Li X F, et al. Advances in mechanism of specific transport of aristolochic acid in renal tubular epithelial cells [J]. *Drug Eval Res*, 2024, 47(2): 401-408.
- [21] 李彩玉. 天然化合物中有机阴离子转运体1和3强效抑制剂的筛选及其对马兜铃酸肾毒性的保护作用 [D]. 天津: 天津大学, 2020.
- Li C Y. Screening of powerful inhibitors of organic anion transporters 1 and 3 in natural compounds and their protective effects on aristolochic acid nephrotoxicity [D]. Tianjin: Tianjin University, 2020.
- [22] Ivanyuk A, Livio F, Biollaz J, et al. Renal drug transporters and drug interactions [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2017, 56(8): 825-892.