

水蛭素基于 NF- κ B 信号通路调控 M1 巨噬细胞极化保护高尿酸血症肾损伤作用及机制

刘喜华¹, 杨雯琪^{1#}, 梁杏梅¹, 秦永洁², 罗海坤², 刘安韬¹, 周维海^{3*}, 赵应学^{2*}

1. 广西卫生职业技术学院 药学院, 广西 南宁 530023

2. 广西壮族自治区江滨医院 药学部, 广西 南宁 530021

3. 广西科康科技集团有限公司, 广西 南宁 530000

摘要: **目的** 探讨天然水蛭素对高尿酸血症肾损伤的保护作用, 并基于核因子- κ B (NF- κ B) 信号通路及 M1 型巨噬细胞极化阐明其机制。**方法** SD 大鼠随机分为 7 组: 对照组、模型组、别嘌醇(阳性对照, 30 mg·kg⁻¹)和水蛭素低、中、高剂量组(0.266、0.533、1.066 g·kg⁻¹)及水蛭素(0.533 g·kg⁻¹)+NF- κ B 通路激活剂(A2, 5 mg·kg⁻¹)组。除对照组外, 其余各组每天上午 ig 氧嗪酸钾(0.75 g·kg⁻¹)造模, 连续 5 周; 各给药组于造模同时每天下午 ig 相应药物, 对照组和模型组 ig 等体积 0.9%氯化钠溶液。通过苏木精-伊红(HE)染色、酶联免疫吸附测定(ELISA)、免疫荧光、Western blotting 及转录组测序技术, 评估水蛭素对肾脏病理、血清炎症因子、M1 型巨噬细胞极化、尿酸转运蛋白表达及肾组织转录组谱的影响。**结果** 水蛭素可缓解高尿酸血症大鼠体重降低($P<0.001$), 减轻肾脏病理损伤($P<0.05$ 、 0.001), 减轻肾小管上皮细胞变性与间质炎症细胞浸润, 减少单钠尿酸盐(MSU)晶体沉积; 显著降低血清白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平($P<0.01$ 、 0.001); 显著抑制肾组织 CD86 阳性 M1 型巨噬细胞的浸润($P<0.01$ 、 0.001); 双向调节尿酸转运蛋白表达, 即下调尿酸盐转运蛋白 1 (URAT1)、葡萄糖转运蛋白 9 (GLUT9), 上调有机阴离子转运蛋白 1 (OAT1)、有机阴离子转运蛋白 3 (OAT3)、三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G2 (ABCG2)($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001)。联合 NF- κ B 通路激活剂可削弱或逆转水蛭素的上述效应。转录组测序显示, 水蛭素可部分逆转高尿酸血症诱导的肾脏基因表达紊乱, 差异基因显著富集于白细胞介素-17(IL-17)信号通路、核苷酸结合寡聚化结构域(NOD)样受体信号通路及上皮细胞分化等过程。**结论** 水蛭素可能通过抑制 NF- κ B 信号通路活化, 负向调控 M1 型巨噬细胞极化, 减轻 MSU 晶体相关炎症反应, 并恢复肾脏尿酸转运蛋白稳态, 从而保护高尿酸血症肾损伤。

关键词: 高尿酸血症; 水蛭素; 巨噬细胞极化; NF- κ B 信号通路; 转录组学; 白细胞介素-17(IL-17)信号通路; 核苷酸结合寡聚化结构域(NOD)样受体信号通路

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2026)10-3615-14

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.10.018

Effect and mechanism of hirudin in regulating M1 macrophage polarization to protect against hyperuricemia-induced renal injury via NF- κ B signaling pathway

LIU Xihua¹, YANG Wenqi¹, LIANG Xingmei¹, QIN Yongjie², LUO Haikun², LIU Antao¹, ZHOU Weihai³, ZHAO Yingxue²

1. School of Pharmacy, Guangxi Health Science College, Nanning 530023, China

2. Department of Pharmacy, Jiangbin Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

3. Guangxi Kekang Technology Group Co., Ltd., Nanning 530000, China

Abstract: Objective To investigate the renoprotective effects of natural hirudin on hyperuricemia-induced renal injury, and to elucidate the underlying mechanisms with a focus on the nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling pathway and M1 macrophage

收稿日期: 2026-06-05

基金项目: 广西自然科学基金项目面上项目(2024GXNSFAA010388); 广西自然科学基金项目面上项目(2023GXNSFAA026210); 广西中医药优秀人才研修项目(桂中医药科教发(2024)11号); 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2025KY1801)

作者简介: 刘喜华, 男, 教授, 研究方向为中药、民族药分析。E-mail: liuxihua104@163.com

#共同第一作者: 杨雯琪, 女, 讲师, 研究方向为中药及民族药鉴定与开发。E-mail: yywinky@163.com

***通信作者:** 周维海, 男, 高级工程师, 研究方向为生物医药开发。E-mail: zhouweihai@126.com

赵应学, 男, 硕士, 主任药师, 研究方向为中药药效基础与质量标准。E-mail: free2012wind@163.com

polarization. **Methods** SD rats were randomly divided into seven groups: control group, model group, allopurinol (positive control, 30 mg·kg⁻¹) group, low, medium, and high-dose hirudin groups (0.266, 0.533, 1.066 g·kg⁻¹), and hirudin (0.533 g·kg⁻¹) + NF-κB pathway activator (activator 2, A2, 5 mg·kg⁻¹) group. Except for the control group, all other groups received model establishment by ig administration of potassium oxonate (0.75 g·kg⁻¹) every morning for 5 consecutive weeks. The drug administration groups received corresponding drugs by ig administration every afternoon at the same time as model establishment, while the control and model groups received ig administration of equal volumes of 0.9% sodium chloride solution. Renal histopathology, serum inflammatory cytokines, M1 macrophage polarization, urate transporter expression, and renal transcriptomic profiles were evaluated using hematoxylin-eosin (HE) staining, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), immunofluorescence, Western blotting, and RNA sequencing, respectively. **Results** Hirudin exerted a protective effect against body weight reduction ($P < 0.001$) and pathological renal injury ($P < 0.05$, and 0.001) in hyperuricemic rats, as evidenced by reduced degeneration of renal tubular epithelial cells, infiltration of interstitial inflammatory cells, and deposition of monosodium urate (MSU) crystals. Hirudin significantly decreased the serum levels of interleukin-1β (IL-1β), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor-α (TNF-α), and inhibited the infiltration of CD86-positive M1 macrophages in renal tissue ($P < 0.01$ and 0.001). In addition, hirudin exerted bidirectional regulatory effects on the expression of urate transporters, characterized by downregulation of urate transporter 1 (URAT1) and glucose transporter 9 (GLUT9), while upregulation of organic anion transporter 1 (OAT1), organic anion transporter 3 (OAT3), and ATP-binding cassette subfamily G member 2 (ABCG2) ($P < 0.05$, 0.01 and 0.001). These effects of hirudin were attenuated or completely reversed by co-administration of NF-κB pathway activator. Transcriptomic analysis further demonstrated that hirudin partially restored hyperuricemia-induced dysregulation of renal gene expression, with differentially expressed genes significantly enriched in the interleukin-17 (IL-17) signaling pathway, NOD-like receptor signaling pathway, and epithelial cell differentiation processes. **Conclusion** Hirudin may protect against hyperuricemia-induced renal injury by inhibiting the activation of the NF-κB signaling pathway, thereby negatively regulating M1 macrophage polarization, mitigating MSU crystal-associated inflammatory responses, and restoring the homeostasis of renal urate transporters.

Key words: hyperuricemia; hirudin; macrophage polarization; NF-κB signaling pathway; transcriptomics; interleukin-17 (IL-17) signaling pathway; nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptor signaling pathway

高尿酸血症 (HUA) 是嘌呤代谢紊乱和 (或) 尿酸排泄障碍所致的代谢性疾病, 为痛风、慢性肾脏病及心血管疾病的重要危险因素^[1-3]。当前观点认为, 单纯血尿酸升高并非唯一致病因素, 单钠尿酸盐 (MSU) 晶体沉积及其诱导的无菌性炎症, 是推动组织损伤进展的关键环节^[4-5]。MSU 晶体被单核-巨噬细胞识别吞噬后, 可激活炎症信号通路, 促使白细胞介素 (IL)-1β、IL-6、肿瘤坏死因子 (TNF)-α 等促炎因子大量释放, 放大炎症级联反应^[6-7]。该过程不仅涉及核苷酸结合寡聚化结构域 (NOD) 样受体蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体介导的 IL-1β 成熟与释放, 还与核因子 (NF)-κB 信号通路的协同激活密切相关^[8-10]。

巨噬细胞在 HUA 相关并发症中起枢纽作用^[11-12]。在不同微环境刺激下, 巨噬细胞可发生表型极化, 分化为促炎的 M1 型或具抗炎修复功能的 M2 型^[13]。MSU 晶体刺激可显著促进其向 M1 型极化, 增强 NF-κB 通路活化, 上调诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、分化簇 86 (CD86) 等表达, 进而加剧局部组织损伤^[14-15]。NF-κB 作为炎症反应的核心转录

因子, 其经典通路的持续激活是维持慢性低度炎症和促进肾小管间质损伤的重要机制^[16-18]。因此, 调控巨噬细胞极化及抑制 NF-κB 异常活化, 是干预高尿酸相关炎症损伤的重要方向。

水蛭素是医蛭科菲牛蛭 *Poecilobdella manillensis* 体内分泌的天然活性多肽^[19]。菲牛蛭为广西道地壮药, 壮药名金边蚂蟥, 传统具有破血通经、消癥散瘀的药用功效; 壮医理论认为其可“调龙路、散淤肿”^[20-21]。广西民间常用于痛风及关节肿痛等病症的治疗。现代药理研究显示, 水蛭素除抗凝作用外, 还具有抗炎、抗氧化及改善微循环等活性, 可通过调控 NF-κB 等通路降低炎症因子表达^[22-23]。针对痛风及高尿酸动物模型的实验亦提示, 水蛭相关治疗可能影响血尿酸水平及炎症反应^[24-25]。然而, 其在高尿酸背景下是否通过调控巨噬细胞极化及 NF-κB 通路发挥肾脏保护作用, 尚缺乏系统研究。

从中医理论看, HUA 及痛风多属“痹证”“历节”范畴, 病机以湿热蕴结、痰瘀互结为主, 久则瘀阻络脉^[26-29]。MSU 晶体沉积所致炎症与“瘀热互结”的病理特点具有相通之处。水蛭素作为活血化

瘀代表药物,其“破血逐瘀”之功与现代医学所揭示的抗炎效应可能存在内在关联^[30]。本研究旨在从 NF- κ B 信号通路和巨噬细胞极化角度,探讨水蛭素干预高尿酸相关炎症损伤的作用基础,以期为阐明其现代药理机制及推动民族药资源研究提供参考。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 56 只,体质量 180~220 g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,实验动物生产许可证号为 SCXK(京)2024-0001。所有大鼠实验时均适应性饲养 7 d,饲养条件:温度(22±2)℃,相对湿度 50%~60%,12 h/12 h 光暗周期,自由摄食饮水。实验期间每天观察大鼠一般状态,每周称量体质量。本研究方案经广西壮族自治区江滨医院伦理委员会审批通过(审批编号 KY-GZR-2023-02),实验操作遵循相关伦理规范。

1.2 药物和主要试剂

金边蚂蟥来源于广西陆川金海科康水蛭养殖专业合作社,经广西大学野生动物研究所潘红平鉴定,结果为菲牛蛭 *Poecilobdella manillensis* 活体。天然水蛭素来源于金边蚂蟥活体唾液分泌物。选取健康活体金边蚂蟥,经过诱导催吐、粗品收集、酸沉、水浴加热、冷却、平板离心过滤、中和、管式离心去沉淀、微滤、纳滤浓缩,最终成品收集后冷冻干燥,制得粉末状天然水蛭素^[31]。经检测,水蛭素质量分数为 96%,凝血酶滴定效价约为 500 ATU·g⁻¹。实验时以无菌蒸馏水溶解并稀释至 200 ATU·g⁻¹ 工作浓度,现配现用,4℃保存。阳性对照药别嘌醇,货号 HY-B0219,以无菌蒸馏水配制成相应浓度溶液备用;NF- κ B 通路激活剂(NF- κ B activator 2, A2, 分子式 C₁₆H₁₁FN₂O₃),货号 HY-134477,均购自 MedChemExpress 公司。

抗体:兔抗 GAPDH 多克隆抗体(货号 LJS-A-7021,武汉灵捷思生物技术有限公司);兔抗 NF- κ B p65 多克隆抗体(货号 10745-1-AP)、兔抗尿酸盐转运蛋白 1(URAT1)多克隆抗体(货号 14937-1-AP)、兔抗葡萄糖转运蛋白 9(GLUT9)抗体(货号 67530-1-Ig),武汉三鹰生物技术有限公司;兔抗磷酸化 NF- κ B p65 (p-p65)多克隆抗体(货号 AF2006, Affinity Biosciences);兔抗机阴离子转运体 1(OAT1)多克隆抗体(货号 bs-0606R)、兔抗 ATP 结合盒转运蛋白 G2(ABCG2)多克隆抗体(货号 bs-0662R),BIOSS 公司;兔抗 OAT3 多克隆抗体(货号 ER1914-

28, 华安生物技术有限公司)。

试剂盒: CCK-8 试剂盒(货号 HYCCK8-500T, HYCEZMBIO 公司);大鼠 IL-1 β 、IL-6、TNF- α ELISA 试剂盒(货号 LJS-E-02649、LJS-E-02873、LJS-E-02863, 武汉灵捷思生物技术有限公司);丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、尿素、肌酐、尿酸测定试剂盒(货号 S03030、S03040、S03036、S03076、S03035, 雷杜生命科学股份有限公司)。其余常规试剂均为分析纯或分子生物学级。

1.3 主要仪器

Nano-100 微量核酸测定仪(杭州奥盛仪器有限公司);LightCycler 96 实时荧光定量 PCR 仪(Roche 公司);SW-CJ-2FD 超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司);XD202 显微镜(江南永新光学有限公司);Pico 17 台式离心机、3111 CO₂ 培养箱(Thermo 公司);HBS-1096A 酶标仪(南京德铁生物科技有限公司);DYY-11 电泳仪(北京六一生物科技有限公司)。

2 方法

2.1 造模与给药

大鼠适应性饲养 7 d 后,随机分为 7 组(每组 6 只):对照组、模型组、别嘌醇(阳性对照, 30 mg·kg⁻¹)组和水蛭素低、中、高剂量组(0.266、0.533、1.066 g·kg⁻¹)及水蛭素(0.533 g·kg⁻¹)+A2(5 mg·kg⁻¹)组。除对照组外,其余各组每天上午 ig 氧嗪酸钾(0.75 g·kg⁻¹)造模^[32],连续 5 周;各给药组于造模同时每日下午 ig 相应药物,对照组和模型组 ig 等体积 0.9%氯化钠溶液。末次给药后,大鼠禁食 12 h,异氟烷吸入麻醉,经心脏采血,3 000 r·min⁻¹离心 10 min 分离血清冻存于-80℃。采血后处死大鼠,迅速摘取双侧肾脏,每组随机取 3 只肾组织固定于 4%多聚甲醛用于病理检测,其余肾组织冻存于-80℃(其中 3 只用于转录组测序)。

2.2 血清炎症因子 ELISA 检测

取冻存血清样本,室温解冻后,按 ELISA 试剂盒说明书检测 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 水平。设标准孔与样本孔,经加样、温育、洗涤后,加入显色剂避光显色,终止反应后于 450 nm 波长处测定吸光度(A)值,依据标准曲线计算各样本浓度。

2.3 肾组织苏木精-伊红(HE)染色及病理学观察

肾组织经 4%多聚甲醛固定后,常规梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋,制备 4 μ m 厚切片。

切片经脱蜡至水后,行 HE 染色,中性树胶封片。于光学显微镜下观察肾组织病理损伤、炎症细胞浸润及 MSU 晶体沉积情况。每组随机选取 3 只大鼠的肾组织标本,由 2 名具备病理诊断经验的人员在不知晓实验分组的情况下独立阅片。每只大鼠

随机选取 5 个不重叠视野,对肾小管扩张、肾小管上皮变性、炎症细胞浸润、管型形成及间质损伤 5 项指标进行评分。计算每只大鼠 5 个视野评分的平均值,作为该动物的病理损伤评分。半定量评分标准见表 1。

表 1 病理损伤半定量评分标准
Table 1 Semiquantitative scoring criteria for histopathological injury

指标	0 分	1 分	2 分	3 分	4 分
肾小管扩张	无	<10%	≥10%~<25%	≥25%~<50%	≥50%
肾小管上皮变性	无	轻微	中度	明显	严重
炎症浸润	无	少量	散在	明显	广泛
管型形成	无	少量	中等	多量	广泛
间质损伤	无	轻微	中度	明显	严重

2.4 肾脏组织免疫荧光检测

肾组织石蜡切片经脱蜡、抗原修复及封闭后,与兔抗大鼠 CD86 单克隆抗体(1:100)4℃孵育过夜,再与 Alexa Fluor 488 标记的山羊抗兔 IgG 二抗(1:200)37℃避光孵育 1 h。DAPI 复染细胞核,抗荧光淬灭封片剂封片。染色完成后,于荧光显微镜下观察并采集图像。CD86 免疫荧光信号定量采用 Image J 软件完成:将图像导入 Image J 后,提取 CD86 通道进行灰度分析,在肾组织实质区域内避开组织折叠、脱片、非特异性高背景,选取感兴趣区域(ROI);各组间保持相同的 ROI 选择原则和测量设置。测量各 ROI 内 CD86 通道的平均信号强度,以该值反映 ROI 内 CD86 免疫荧光信号水平;每例样本以所测各 ROI 的均值作为该样本的 CD86 免疫荧光信号强度定量值。定量数据采用 GraphPad Prism 9.5 软件进行整理并绘制柱状图。

2.5 肾脏组织转录组测序分析

分别取对照组、模型组、水蛭素高剂量组大鼠肾组织各 3 例,TRIzol 法提取总 RNA。构建 cDNA 文库后,于 Illumina NovaSeq 6000 平台进行双末端 150 bp 测序。使用 HISAT2 比对至大鼠参考基因组,DESeq2 R 包进行差异表达基因分析(筛选标准:|log₂ fold change|>1 且 P<0.05)。对差异基因进行基因本体(GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析(以 P<0.05 为阈值)。

2.6 Western blotting 检测

取各组肾组织,提取总蛋白并定量。取等量蛋白(40 μg)经 SDS-PAGE 电泳分离后,湿转至 PVDF

膜。5%脱脂奶粉封闭后,分别加入兔抗大鼠 OAT1、OAT3、URAT1、ABCG2、GLUT9 及 GAPDH 一抗,4℃孵育过夜。TBST 洗膜后加入 HRP 标记二抗室温孵育。ECL 法显色,采集图像。使用 Image-Pro Plus 软件分析条带灰度值,以目的蛋白与 GAPDH 灰度值比值表示蛋白相对表达量。

2.7 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 GraphPad Prism 9.5.0 软件分析。两组间比较采用独立样本 t 检验;多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),方差齐时以 Tukey HSD 检验进行事后比较,方差不齐时采用 Games-Howell 检验。

3 结果

3.1 水蛭素改善 HUA 大鼠全身状态及肾脏病理损伤

如图 1 所示,为评价水蛭素对 HUA 相关肾脏损伤的干预作用,本研究对各组大鼠一般状态及肾脏形态进行了观察。实验结束时,对照组肾脏形态正常,色泽红润,表面光滑;模型组肾脏体积稍显肿大,包膜紧张,表面略显苍白;与模型组比较,水蛭素低、中、高剂量组肾脏外观均有不同程度改善,肿大及颜色异常有所减轻,其中中、高剂量组改善更为明显;别嘌醇组肾脏外观亦较模型组改善。实验期间体质量变化曲线显示,对照组大鼠体质量随时间呈稳定增长趋势;模型组体质量增长速度明显低于对照组;与模型组相比,各水蛭素干预组体质量增长趋势均有所提升,水蛭素中、高剂量组提升幅度更为突出,别嘌醇组亦表现出类似的改善趋势。第 5 周终点体质量统计结果显示,与对照组比较,模型组体质量显著降低(P<0.001);与模型组

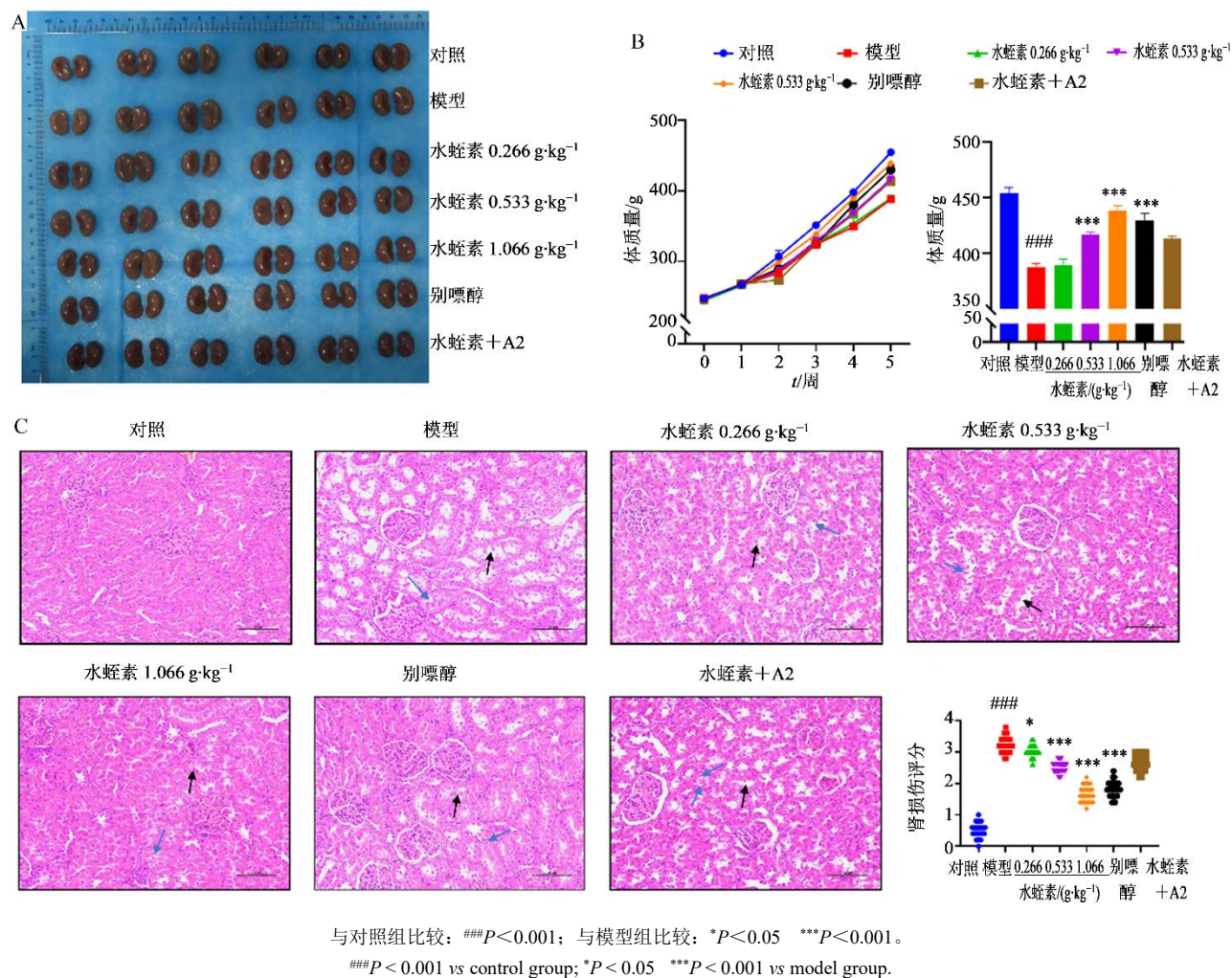


图 1 水蛭素对 HUA 模型大鼠肾脏形态 (A)、体重 (B) 及肾脏病理损伤 (C, ×200) 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 1 Effect of hirudin on kidney morphology (A), body weight (B), and renal pathological damage (C, ×200) in HUA model rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

比较, 水蛭素中、高剂量组及别嘌醇组体质量均显著升高 ($P < 0.001$), 提示水蛭素中、高剂量及别嘌醇干预能明显改善 HUA 模型大鼠体质量增长受限的状态。

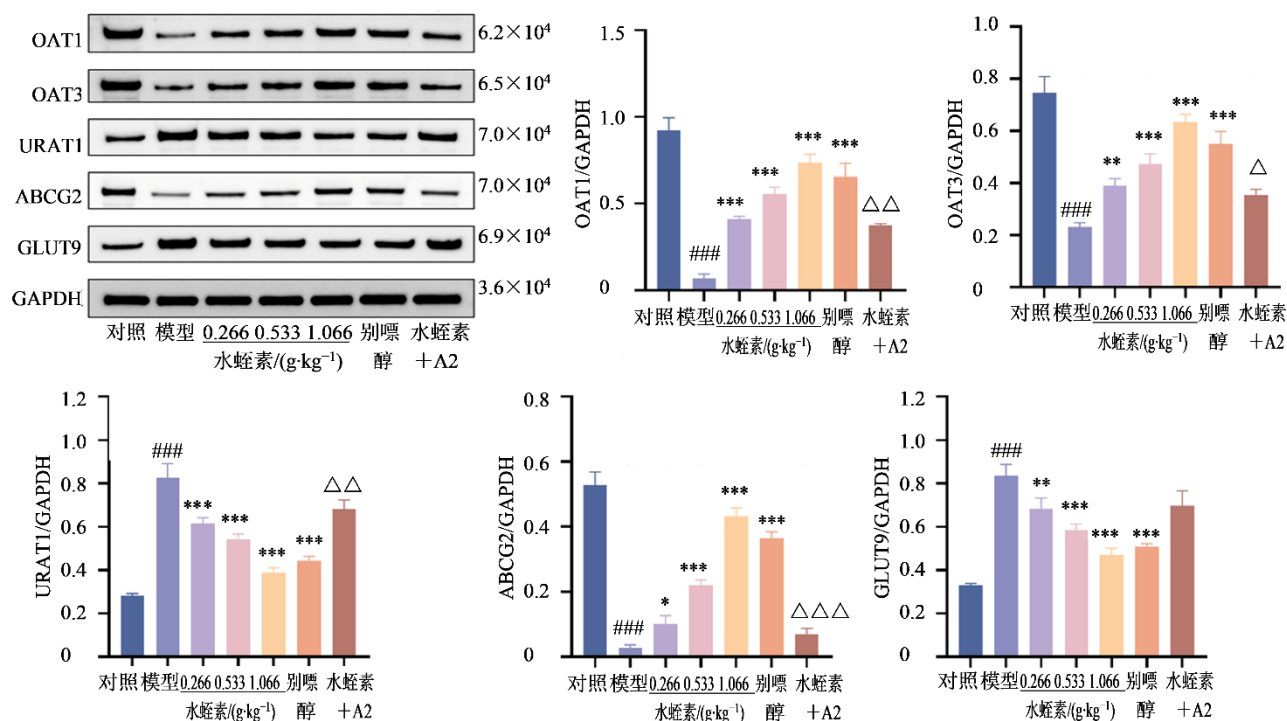
肾组织 HE 染色观察显示, 对照组肾小球结构完整, 肾小管上皮细胞排列整齐, 间质未见明显异常。模型组则呈现典型的肾组织损伤改变: 肾小管上皮细胞明显肿胀, 胞浆内可见大量空泡样变性, 肾间质炎症细胞浸润增多, 并可见针状或无定形结构的 MSU 晶体沉积。与模型组相比, 水蛭素低、中、高剂量组肾小管上皮细胞肿胀及空泡样变性均不同程度减轻, 间质炎症细胞浸润减少, MSU 晶体沉积范围缩小、数量减少, 其中水蛭素中、高剂量组病理改善更为显著; 别嘌醇组上述病理改变亦得到明显缓解; 水蛭素 + A2 组肾脏外观及 HE 染色所

示病理改善程度均不及水蛭素中剂量组, 表现为肾小管损伤减轻幅度变小, 炎症细胞浸润及 MSU 晶体沉积减少程度较弱。

肾损伤半定量评分结果进一步量化了上述病理改变。模型组肾损伤评分较对照组显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组相比, 水蛭素低、中、高剂量组评分显著降低 ($P < 0.001$), 且呈现剂量相关性。结果提示, 水蛭素可有效改善 HUA 模型大鼠整体状态, 并减轻肾组织病理损伤, 其保护作用随剂量增加而增强。

3.2 水蛭素调节肾脏尿酸转运蛋白表达

如图 2 所示, 与对照组比较, 模型组肾组织 OAT1 和 OAT3 蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 水蛭素和别嘌醇干预后, OAT1 与 OAT3 表达呈剂量相关性升高 ($P < 0.001$);



与对照组比较: #### $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与水蛭素中剂量组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ 。
$P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group; $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ vs hirudin medium-dose group.

图 2 水蛭素对 HUA 模型大鼠肾脏尿酸转运蛋白表达的调节作用 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 2 Regulatory effects of hirudin on expression of renal urate transporters in HUA model rats ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

与水蛭素中剂量组比较,水蛭素+A2 组中水蛭素所诱导的 OAT1 和 OAT3 表达升高被部分削弱 ($P < 0.05$ 、 0.01)。ABCG2 蛋白检测结果呈现类似变化,模型组 ABCG2 表达较对照组明显下降 ($P < 0.001$);水蛭素各剂量组 ABCG2 表达逐渐回升 ($P < 0.05$ 、 0.001),高剂量组已接近对照组水平;而联合应用 NF- κ B 激活剂后,水蛭素对 ABCG2 的促表达作用减弱 ($P < 0.001$)。结果提示,水蛭素能够剂量相关性地恢复 HUA 状态下降低的尿酸排泄相关转运蛋白表达,且该调节作用可能受 NF- κ B 信号影响。

在尿酸重吸收相关蛋白方面,模型组 URAT1 和 GLUT9 表达水平均较对照组显著升高 ($P < 0.001$);与模型组相比,水蛭素干预后 URAT1 和 GLUT9 表达呈剂量相关性下降 ($P < 0.01$ 、 0.001)。当同时给予 NF- κ B 激活剂时,水蛭素降低 URAT1 表达的趋势被部分逆转 ($P < 0.01$),提示 NF- κ B 信号的增强可减弱水蛭素对尿酸重吸收相关蛋白的负向调控效应。

NF- κ B 激活剂可部分拮抗水蛭素对肾脏尿酸转运蛋白的调节作用,表现为削弱排泄相关蛋白 OAT1、OAT3 与 ABCG2 的表达恢复,同时减

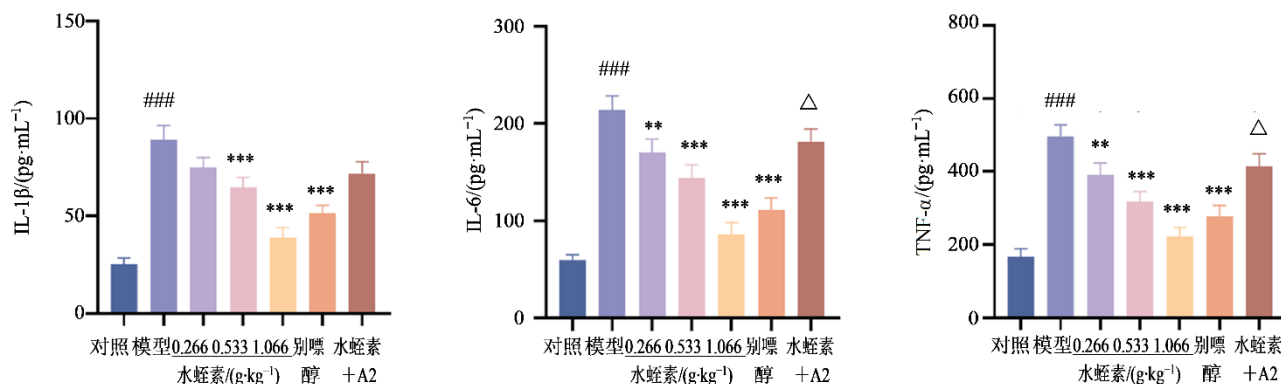
弱重吸收相关蛋白 URAT1 的表达抑制,提示 NF- κ B 信号可能参与水蛭素调控尿酸转运蛋白表达的过程。

3.3 水蛭素降低血清促炎细胞因子水平

如图 3 所示,与对照组相比,模型组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平显著升高 ($P < 0.001$);经水蛭素干预后,低、中、高剂量组大鼠血清 IL-6、TNF- α 水平均较模型组显著下降 ($P < 0.01$ 、 0.001),中、高剂量组 IL-1 β 水平显著下降 ($P < 0.001$);阳性药物别嘌醇同样可显著降低 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平 ($P < 0.001$)。NF- κ B 通路激活剂的联用显著削弱水蛭素对 IL-6、TNF- α 的抑制作用 ($P < 0.05$)。

3.4 水蛭素抑制肾脏 M1 型巨噬细胞极化

免疫荧光染色结果(图 4)显示,对照组大鼠肾组织中仅见稀疏且微弱的 CD86 阳性红色荧光信号,表明正常生理状态下肾脏内 M1 型巨噬细胞浸润水平极低;与对照组相比,HUA 模型组肾间质区域出现大量弥散分布的强阳性红色荧光信号,CD86 阳性细胞数量显著增多,荧光强度明显增强,提示氧嗪酸钾诱导的 HUA 可有效促进肾脏 M1 型巨噬细胞的募集与活化。水蛭素干预各剂量组呈现剂量

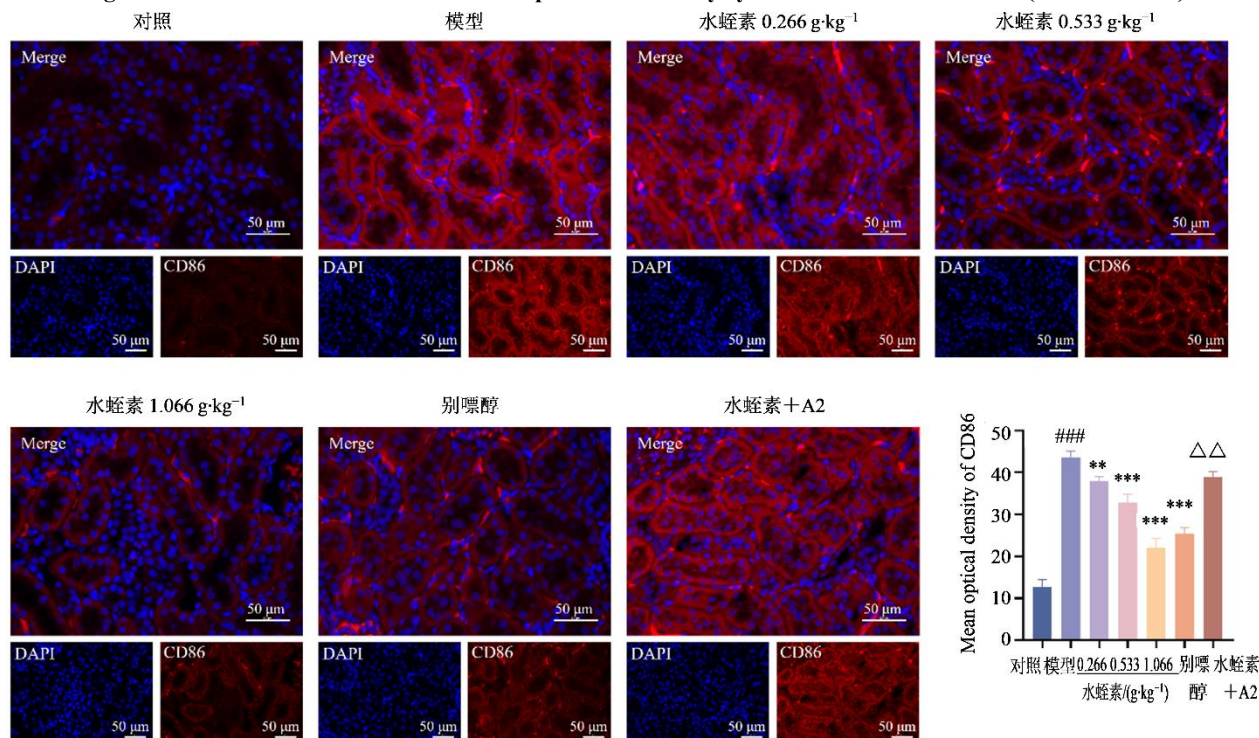


与对照组比较: ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$; 与水蛭素中剂量组比较: [△] $P < 0.05$ 。

^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group; [△] $P < 0.05$ vs hirudin medium-dose group.

图 3 水蛭素对 HUA 模型大鼠血清促炎细胞因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 3 Effects of hirudin on serum levels of pro-inflammatory cytokines in HUA model rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)



与对照组比较: ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$; 与水蛭素中剂量组比较: ^{△△} $P < 0.01$ 。

^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group; ^{△△} $P < 0.01$ vs hirudin medium-dose group.

图 4 水蛭素对 HUA 模型大鼠肾脏 M1 型巨噬细胞极化的抑制作用 ($\times 400$, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 4 Inhibitory effect of hirudin on M1 macrophage polarization in kidneys of HUA model rats ($\times 400$, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

相关性的 CD86 荧光信号减弱趋势, 其中水蛭素高剂量组阳性细胞数量及荧光强度最为接近对照组, 表明水蛭素干预能够剂量相关性地抑制 HUA 所致肾脏 M1 型巨噬细胞浸润。阳性药物别嘌醇组亦显示较模型组明显减弱的红色荧光信号, 证实其同样可抑制 M1 型巨噬细胞聚集。水蛭素中剂量联合 NF- κ B 通路激活剂组中, 原本被水蛭素抑制的 CD86 红

色荧光信号再次显著增强, 其阳性细胞分布密度及荧光强度与模型组相近, 表明外源性激活 NF- κ B 通路可有效逆转水蛭素对 M1 型巨噬细胞浸润的抑制作用。

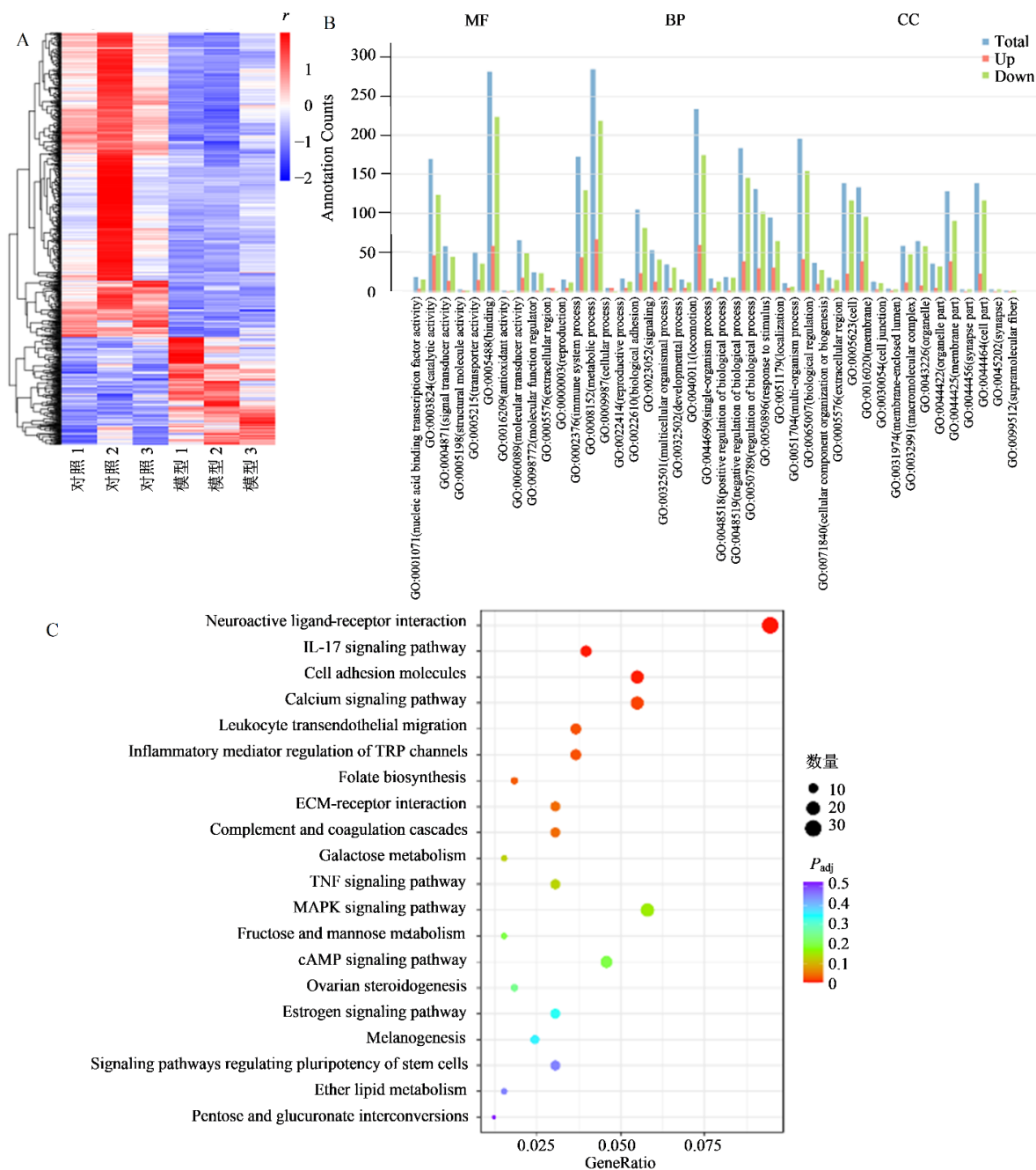
定量分析结果表明, 模型组平均荧光强度较对照组显著升高 ($P < 0.001$); 水蛭素低、中、高剂量组平均荧光强度均低于模型组, 且组间差异具有统计学意义 ($P < 0.01$ 、 0.001); 水蛭素 + A2 组的平均

荧光强度相较于水蛭素中剂量组显著回升 ($P < 0.01$)。结果表明,水蛭素可能通过抑制 NF- κ B 通路活化来减少肾脏 M1 型巨噬细胞的极化与浸润,从而缓解 HUA 诱导的肾脏炎症损伤。

3.5 转录组学揭示水蛭素对肾脏基因表达的调控

从分子层面探究水蛭素缓解 HUA 肾损伤的

潜在机制,本研究对对照组、模型组及水蛭素中剂量组大鼠的肾脏组织进行了转录组测序分析。比较疾病状态下的基因表达改变,结果如图 5-A 所示,差异表达基因聚类热图呈现出鲜明的红蓝区块分布,表明 HUA 模型成功诱导了肾脏组织中广泛的转录组重编程。与对照组相比,模型组中大量基因



A-对照组与模型组之间差异表达基因的聚类热图; B-对照组与模型组之间差异表达基因的 GO 注释柱状图; C-对照组与模型组之间差异表达基因显著富集的前 20 条 KEGG 通路气泡图。

A-Cluster heatmap of differentially expressed genes between the control group and the model group; B-GO annotation bar chart of differentially expressed genes between the control group and the model group; C-Bubble chart of the top 20 KEGG pathways significantly enriched by differentially expressed genes between the control group and the model group.

图 5 转录组学分析揭示 HUA 模型大鼠肾脏基因表达谱变化

Fig. 5 Transcriptomics analysis reveals changes in gene expression profile of kidney in HUA model rats

的表达水平发生显著上调(红色)或下调(蓝色),提示高尿酸状态下肾实质细胞的功能状态及代谢通路均受到系统性扰动。图 5-B 进一步展示了这些差异基因在 GO 3 大类别[生物过程(BP)、细胞组分(CC)、分子功能(MF)]中的注释分布,并区分了上、下调基因数量。整体而言,HUA 影响了涉及炎症反应、免疫应答、物质跨膜运输及细胞凋亡等多种生物学过程的基因群,其中上调基因可能主导了炎症相关进程,而下调基因则可能与肾小管转运功能损伤密切相关。图 5-C 以气泡图形式呈现了模型组差异基因显著富集的 Top 20 条 KEGG 信号通路,其中包括 IL-17 信号通路、钙信号通路等,这些通路在既往研究中已被证实参与 HUA 诱导的肾脏炎症与纤维化过程。

进一步分析水蛭素干预后的转录组变化,图 6-A 的热图显示,与模型组相比,水蛭素组中异常表达的基因呈现回调趋势,表明水蛭素能够部分逆转 HUA 所导致的基因表达紊乱。图 6-B 的 GO 注释柱状图显示,水蛭素干预后差异表达基因的总数量较模型组显著减少,且上、下调基因在各功能类别中的分布发生改变,提示水蛭素可能通过抑制特定致病性转录程序的激活来恢复肾脏的稳态。图 6-C 展示了水蛭素干预后差异基因富集的前 20 条 KEGG 通路,包括细胞黏附分子通路及 NOD 样受体信号通路等。NOD 样受体家族作为模式识别受体的重要成员,其信号通路的富集进一步印证了水蛭素对肾脏固有免疫应答的调控作用。

3.6 转录组测序分析揭示水蛭素对 HUA 大鼠肾脏基因表达谱的调控作用

为进一步阐明水蛭素改善 HUA 相关肾损伤的分子机制,本研究采用转录组测序技术比较了对照组、模型组及水蛭素中剂量组大鼠肾脏组织的基因表达谱。差异基因韦恩图(图 7-A)显示,在对照组与模型组比较中,共鉴定出 1 076 个差异表达基因;在模型组与水蛭素干预组比较中,鉴定出 617 个差异表达基因;两组比较之间共有的差异基因数量为 356 个。这一结果提示,水蛭素干预能够逆转部分由 HUA 诱导的肾脏基因表达变化,且这些共有差异基因可能是水蛭素发挥保护作用的关键分子靶点。基于上述 356 个共有差异基因编码的蛋白质,进一步构建了蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络(图 7-B),图中节点代表蛋白质,连线表示已报道或预测的相互作用关系。该网络揭示了多个核

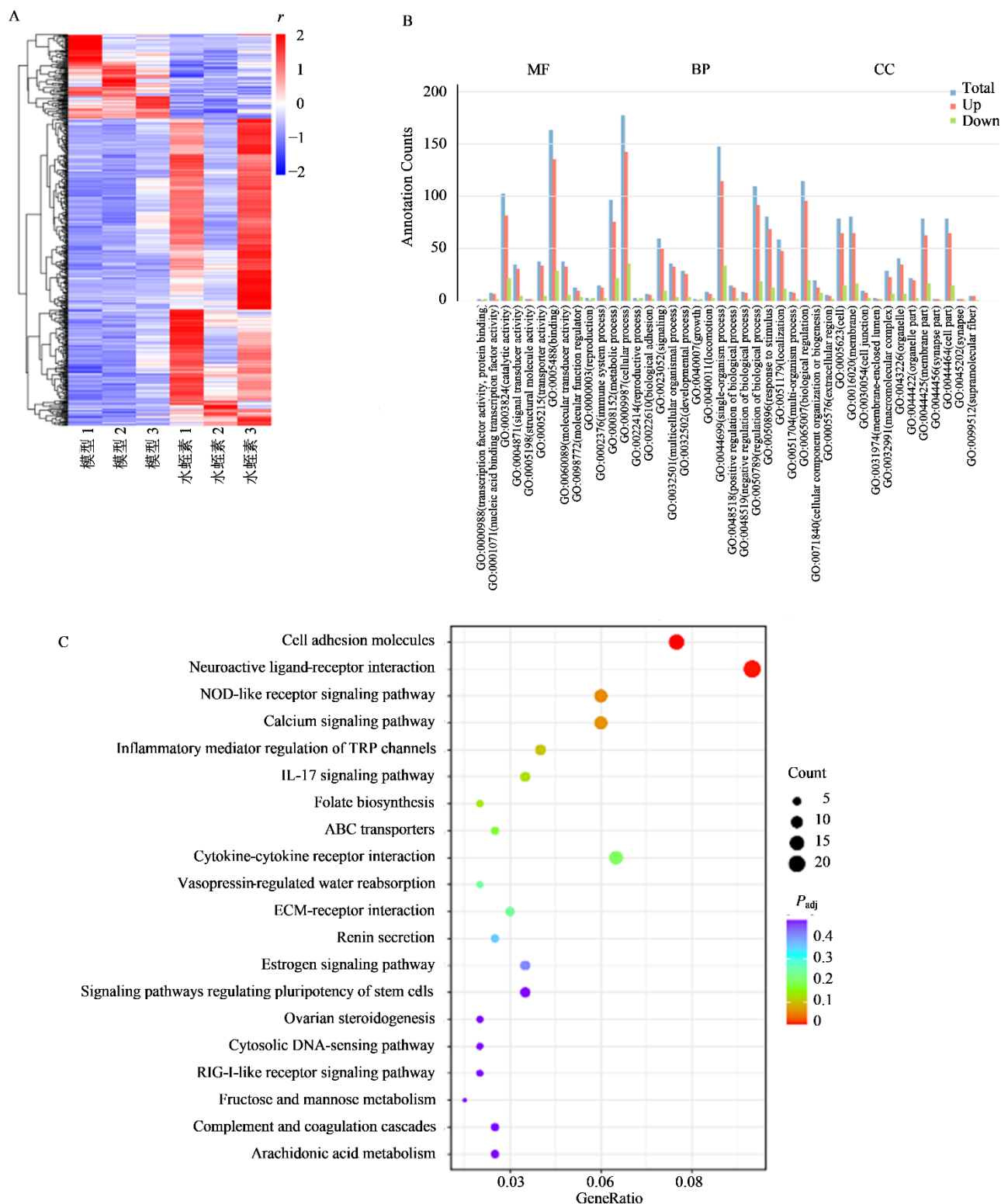
心节点蛋白之间存在紧密的相互作用,暗示水蛭素可能通过调控一个相互关联的蛋白功能模块来影响下游生物学过程。

对共有差异基因进行 KEGG 信号通路富集分析,结果以气泡图呈现(图 7-C)。图中每个气泡代表一个信号通路,气泡颜色越深表示富集显著性($-\lg P$ 值)越高,气泡越大则表示富集到该通路的差异基因数量越多。分析表明,水蛭素干预后差异基因显著富集于多个炎症相关及代谢相关通路,其中较为突出的包括 IL-17 信号通路、钙信号通路等。这些通路的富集提示水蛭素可能通过抑制炎症信号转导和调节细胞内钙稳态来缓解 HUA 诱导的肾组织损伤。GO 生物学过程富集分析(图 7-D)以柱状图形式展示了差异基因显著富集的生物学过程,其中上皮细胞分化等过程被显著富集。该结果表明,水蛭素干预不仅影响炎症反应相关过程,还可能参与调控肾小管上皮细胞的分化与修复,从而改善 HUA 引起的肾脏结构和功能异常。

4 讨论

本研究从整体动物、组织病理、炎症因子、免疫细胞及分子网络层面,系统观察了水蛭素对 HUA 相关肾损伤的保护作用。结果提示,水蛭素可减轻肾组织病理损伤,降低血清 IL-1 β 、IL-6 与 TNF- α 水平,并减少肾内 CD86 阳性巨噬细胞浸润;同时能够上调尿酸分泌相关蛋白 OAT1、OAT3 及 ABCG2 的表达,下调重吸收蛋白 URAT1 和 GLUT9 的异常升高。经 NF- κ B 激活剂干预后,上述抗炎、调节巨噬细胞表型及恢复尿酸转运蛋白的效应均被部分削弱,表明 NF- κ B 信号可能参与了水蛭素的保护环节。转录组分析进一步揭示,水蛭素可能影响 NOD 样受体信号通路、IL-17 信号通路及细胞黏附等相关过程。这些发现为水蛭素干预 HUA 肾损伤提供了新的实验依据。

高尿酸环境下沉积的 MSU 晶体不仅是代谢终产物,更是一种强烈的无菌性炎症刺激物,可经巨噬细胞表面受体识别,激活 NF- κ B 等炎症转录程序,驱动 IL-1 β 等促炎因子大量释放,从而持续加重肾小管间质损伤。本研究中水蛭素显著降低多种炎症因子的水平,与其抑制 MSU 相关炎症反应的作用表现一致。在细胞层面,M1 型巨噬细胞高表达 CD86,是推动局部炎症的关键效应细胞^[33]。本研究发现水蛭素可减少肾组织 CD86 阳性细胞浸润,提示其可能影响巨噬细胞的致炎表型分化,但

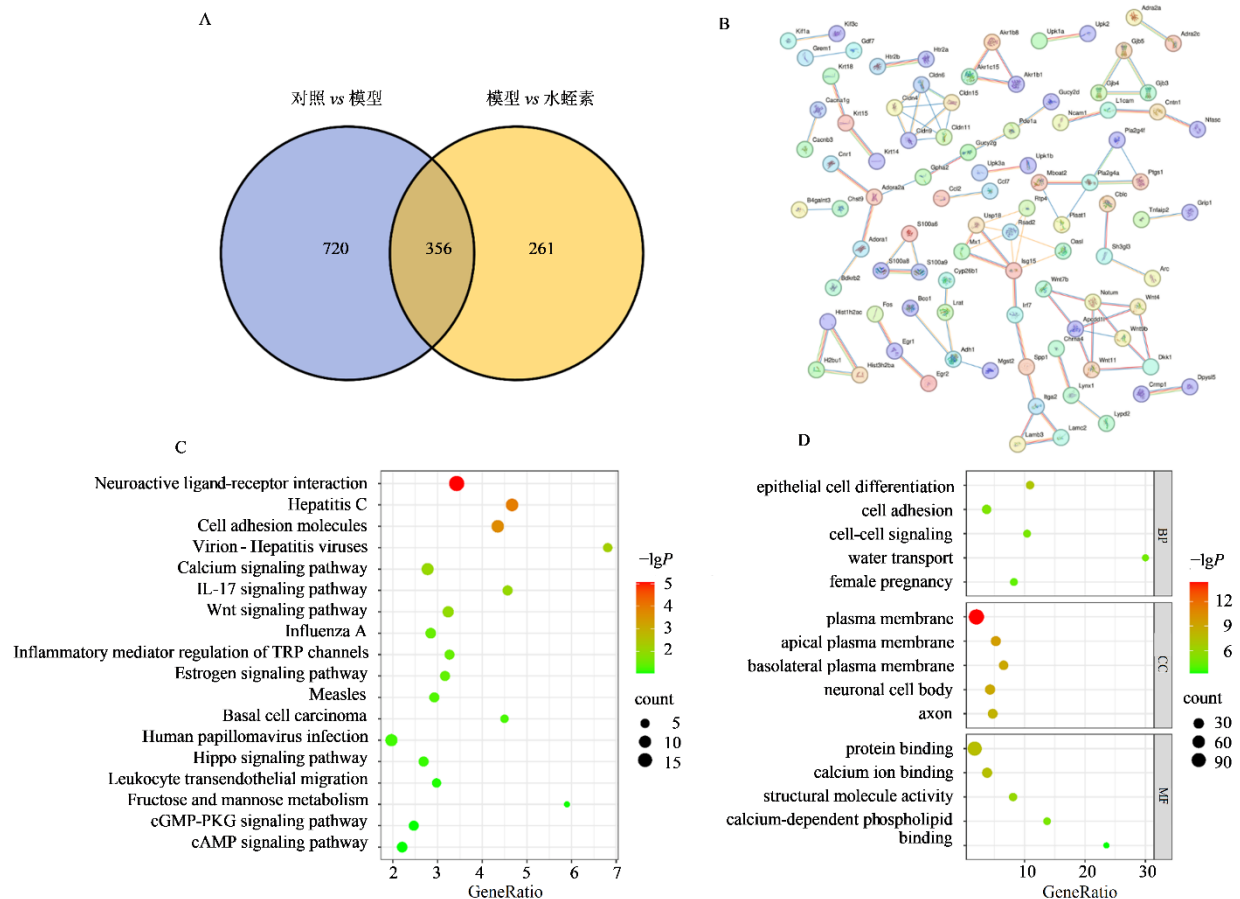


A-模型组与水蛭素中剂量组之间差异表达基因的聚类热图；B-模型组与水蛭素中剂量组之间差异表达基因的 GO 注释柱状图；C-模型组与水蛭素中剂量组之间差异表达基因显著富集的前 20 条 KEGG 通路气泡图。

A-cluster heatmap of differentially expressed genes between model group and medium-dose hirudin group; B-GO annotation bar chart of differentially expressed genes between model group and medium-dose hirudin group; C-bubble chart of top 20 KEGG pathways significantly enriched by differentially expressed genes between model group and medium-dose hirudin group.

图 6 转录组学分析揭示水蛭素对 HUA 模型大鼠肾脏基因表达谱的逆转效应

Fig. 6 Transcriptomic analysis reveals reversing effect of hirudin on renal gene expression profiles in HUA model rats



A-差异表达基因韦恩图; B-基于 356 个共有差异基因编码蛋白的 PPI 网络图, 节点代表蛋白质, 连线表示相互作用关系; C-共有差异基因的 KEGG 信号通路富集气泡图; D-共有差异基因的 GO 生物学过程富集柱状图。

A-venn diagram of differentially expressed genes; B-PPI network based on 356 overlapping differentially expressed genes-encoded proteins, where nodes represent proteins and edges indicate reported or predicted interactions; C-KEGG pathway enrichment bubble plot of the overlapping differentially expressed genes; D-GO biological process enrichment bar plot of overlapping differentially expressed genes.

图 7 转录组测序分析揭示水蛭素对 HUA 模型大鼠肾脏基因表达谱的调控作用

Fig. 7 Transcriptomic analysis reveals regulatory effects of hirudin on renal gene expression profiles in HUA model rats

由于未检测 CD206、精氨酸酶-1 (Arg-1) 及 IL-10 等 M2 标志物, 尚无法得出其促进 M2 极化的结论, 仅能推测其参与调节巨噬细胞极化状态。联合 NF- κ B 激活剂实验的结果进一步支持, NF- κ B 信号节点在水蛭素减轻肾脏炎症与免疫细胞浸润中发挥重要作用, 但该过程是否依赖 p65 核转位或核因子 κ B 抑制蛋白 α (I κ B α) 降解尚待直接验证。

肾脏尿酸稳态的维持依赖于分泌与重吸收过程的精密平衡^[34]。本研究观察到水蛭素可恢复 HUA 状态下 OAT1、OAT3 和 ABCG2 的表达, 并抑制 URAT1 与 GLUT9 的异常增高, 提示其可能通过调节尿酸转运蛋白网络, 改善尿酸转运失衡, 进而维持尿酸稳态。因尚缺乏尿酸清除率及排泄分数的直接检测, 其对尿酸排泄的确切调控功能仍需进一步明确。

转录组测序从分子层面揭示了水蛭素的作用广度。模型组差异基因富集于 IL-17、NOD 样受体等通路, 印证了固有免疫与适应性免疫在其中的参与。水蛭素干预后, 上述通路富集程度降低, 且差异基因在上皮细胞分化等修复过程中富集, 提示其兼具抗炎与促修复双重潜力。这与中医“活血化瘀”为组织修复创造条件的内涵相呼应。

从中医角度审视, HUA 及其肾损伤可归属于“痹证”“历节”范畴, 湿热蕴结、痰瘀互阻、络脉不畅是核心病机^[35]。水蛭素具有破血逐瘀、通络散结的传统功效, 本研究揭示的水蛭素抗炎、调节巨噬细胞表型及改善尿酸转运蛋白表达等作用, 可能为“活血化瘀”传统治法在现代炎症免疫调控层面提供一种可能的解释, 体现了民族药多环节、多靶点干预的特征。

本研究存在一定局限：其一，虽用激活剂验证了 NF- κ B 通路的关键作用，但水蛭素与通路中具体靶点的直接结合尚待分子对接或表面等离子体共振等技术验证；其二，未评估水蛭素对 M2 型巨噬细胞极化的影响，M1/M2 平衡调控有待明确；其三，转录组筛选出的关键节点蛋白未进行功能验证；其四，氧嗪酸钾模型主要模拟排泄障碍型 HUA，未来需在其他模型（如尿酸酶敲除小鼠）中进一步验证；其五，水蛭素作为多肽，其口服后体内的药动学特征及肾组织分布浓度尚需深入研究。

水蛭素能够通过抑制 NF- κ B 信号通路的活化，降低 M1 型巨噬细胞的极化程度并减少促炎因子的释放，恢复尿酸转运蛋白表达的平衡状态，进而保护 HUA 相关的肾损伤。本研究为水蛭素的现代化开发提供了实验支撑。同时，本研究为水蛭素借助抑制 NF- κ B/M1 型巨噬细胞极化轴来保护 HUA 肾损伤提供了实验依据，也为“活血化瘀、解毒抗炎”的治疗方法提供了现代科学阐释。后续研究应直接分子靶点、体内代谢过程以及多通路协同作用机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 刘源源, 张朝甲, 尹伟洲. 高尿酸血症与慢性肾脏病进展的相关性及对肾功能影响的研究 [J]. 黑龙江医药科学, 2026, 49(2): 55-57, 61.
- [2] Johnson R J, Sanchez Lozada L G, Lanaspá M A, et al. Uric acid and chronic kidney disease: Still more to do [J]. Kidney Int Rep, 2022, 8(2): 229-239.
- [3] Takata T, Mae Y, Hoi S, et al. Hyperuricemia in chronic kidney disease: Emerging pathophysiology and a novel therapeutic strategy [J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(18): 9000.
- [4] Terkeltaub R, Dodd D. The gut microbiome in hyperuricemia and gout [J]. Arthritis Rheumatol, 2025, 77(8): 955-965.
- [5] Terkeltaub R. Emerging urate-lowering drugs and pharmacologic treatment strategies for gout: A narrative review [J]. Drugs, 2023, 83(16): 1501-1521.
- [6] Lan Z, Chen L Y, Feng J, et al. Mechanosensitive TRPV4 is required for crystal-induced inflammation [J]. Ann Rheum Dis, 2021, 80(12): 1604-1614.
- [7] Gu H C, Yu H Q, Qin L, et al. MSU crystal deposition contributes to inflammation and immune responses in gout remission [J]. Cell Rep, 2023, 42(10): 113139.
- [8] Chen C, Wang J Y, Guo Y Y, et al. Monosodium urate crystal-induced pyroptotic cell death in neutrophil and macrophage facilitates the pathological progress of gout [J]. Small, 2024, 20(23): e2308749.
- [9] Panipinto P M, Yue G E, Prasad B, et al. Pentagalloyl glucose inhibits monosodium urate-induced inflammation and NLRP3 inflammasome formation via TAK1 [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2025, 329(2): C500-C512.
- [10] Li M, Yin Z J, Li L, et al. Rutaecarpine attenuates monosodium urate crystal-induced gouty inflammation via inhibition of TNFR-MAPK/NF- κ B and NLRP3 inflammasome signaling pathways [J]. Chin J Integr Med, 2025, 31(7): 590-599.
- [11] Li D L, Yuan S Y, Deng Y Y, et al. The dysregulation of immune cells induced by uric acid: Mechanisms of inflammation associated with hyperuricemia and its complications [J]. Front Immunol, 2023, 14: 1282890.
- [12] Zhao H R, Lu J M, He F R, et al. Hyperuricemia contributes to glucose intolerance of hepatic inflammatory macrophages and impairs the insulin signaling pathway via IRS2-proteasome degradation [J]. Front Immunol, 2022, 13: 931087.
- [13] Luo M, Zhao F K, Cheng H, et al. Macrophage polarization: An important role in inflammatory diseases [J]. Front Immunol, 2024, 15: 1352946.
- [14] Notsu T, Kurata Y, Tsuneto M, et al. Soluble uric acid enhances gouty inflammation via activating gene expression related to innate immune responses, M1 macrophage polarization and urate crystal phagocytosis in mouse macrophage-like cells: Novel insights into its mechanisms from RNA sequencing [J]. Hypertens Res, 2026, 49(5): 1771-1777.
- [15] Zhou Q, Sun H J, Liu S M. Effects of total saponins from *Dioscorea nipponica makino* on monosodium urate-induced M1-polarized macrophages through arachidonic acid signaling pathway: An *in vitro* study [J]. Chin J Integr Med, 2023, 29(1): 44-51.
- [16] Sun Z J, Chang D Y, Chen M, et al. Deficiency of CFB attenuates renal tubulointerstitial damage by inhibiting ceramide synthesis in diabetic kidney disease [J]. JCI Insight, 2022, 7(24): e156748.
- [17] Chen Z, Chen R, Wang J M, et al. Ligusticum cycloprolactam ameliorates hyperuricemic nephropathy through inhibition of TLR4/NF- κ B signaling [J]. J Nutr

- Biochem, 2025, 139: 109864.
- [18] Meng Z N, Li M Y, Wang X L, et al. Inula britannica ameliorates alcohol-induced liver injury by modulating SIRT1-AMPK/Nrf2/NF- κ B signaling pathway [J]. Chin Herb Med, 2024, 16(4): 667-678.
- [19] 赵应学, 秦永洁, 周维海, 等. 水蛭素抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路减轻高尿酸诱导的肾小管上皮细胞损伤 [J]. 中国医院药学杂志, 2026, 46(11): 1257-1263.
- Zhao Y X, Qin Y J, Zhou W H, et al. Hirudin attenuates high uric acid-induced renal tubular epithelial cell injury by inhibiting the TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. Chin J Hosp Pharm, 2026, 46(11): 1257-1263.
- [20] 刘喜华, 林忠文, 刘安韬, 等. 广西特色壮药金边蚂蟥抗高尿酸血症物质基础研究 [EB/OL]. (2019-01-02) [2026-05-05]. https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=AnfjKog0mmwp-Fz4H_foSpzmkv4HPrWtWZg2ejSUkvAzIMY7YUL1vABEi1xDuDiwXHmWHlc5Zq8mQJGhrvnsLx7ierilC3dXxt657YeuQerPj6jobSe652-KE1oq8kdsNtfa0fozrPdeT-q929RpHc17W-LPENmOYtzDCpckYkQ8CGPJQcb6w=&uniplatform=NZKPT&language=CHS.
- Liu X H, Lin Z W, Liu A, et al. Research on the substantive basis of Jinbian Malnutria, a characteristic zhuang medicine from Guangxi, in treating hyperuricemia [EB/OL]. (2019-01-02) [2026-05-05]. https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=AnfjKog0mmwp-Fz4H_foS pzmkv4HPrWtWZg2ejSUKvAzIMY7YUL1vABEi1xDuDiwXHmWHlc5Zq8mQJGhrvnsLx7ierilC3dXxt657YeuQerPj6jobSe652-KE1oq8kdsNtfa0fozrPdeT-q929RpHc17W-LPENmOYtzDCpckYkQ8CGPJQcb6w=&uniplatform=NZKPT&language=CHS.
- [21] 刘喜华, 黄敏琪, 林忠文, 等. 金边蚂蟥抗痛风作用研究 [J]. 中草药, 2014, 45(12): 1747-1750.
- Liu X H, Huang M Q, Lin Z W, et al. Anti-gout effect of *Poecilobdella manillensis* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2014, 45(12): 1747-1750.
- [22] 程晓梅, 张萌, 王继红, 等. 水蛭素的研究进展 [J]. 吉林医药学院学报, 2021, 42(2): 135-137.
- Cheng X M, Zhang M, Wang J H, et al. Research progress of hirudin [J]. J Jilin Med Univ, 2021, 42(2): 135-137.
- [23] 柳志诚, 方永晟, 杨国华, 等. 水蛭素的药理作用研究进展 [J]. 中国医药科学, 2022, 12(21): 56-59, 115.
- Liu Z C, Fang Y S, Yang G H, et al. Research progress on pharmacological effects of hirudin [J]. China Med Pharm, 2022, 12(21): 56-59, 115.
- [24] 赵应学, 黄思诗, 梁红, 等. 水蛭素对大鼠 NRK-52E 细胞尿酸盐转运体表达的影响 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2021, 23(6): 1972-1977.
- Zhao Y X, Huang S S, Liang H, et al. Effect of hirudin on the expression of urate transporter in NRK-52E cells [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2021, 23(6): 1972-1977.
- [25] 吴林秀, 梁红, 赵应学, 等. 水蛭素对高尿酸血症大鼠尿酸盐转运体 OAT1、URAT1、GLUT9 表达的影响 [J]. 中草药, 2020, 51(22): 5776-5780.
- Wu L X, Liang H, Zhao Y X, et al. Effect of hirudin on expressions of urate transporters OAT1, URAT1 and GLUT9 in hyperuricemia rats [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(22): 5776-5780.
- [26] 李满意, 刘红艳, 陈传榜, 等. 历节风的证治 [J]. 风湿病与关节炎, 2023, 12(8): 45-49.
- Li M Y, Liu H Y, Chen C B, et al. The diagnosis and treatment of severe and migratory arthralgia [J]. Rheum Arthritis, 2023, 12(8): 45-49.
- [27] 曹娟, 朱佳奇, 豆一凡, 等. 基于“开鬼门, 洁净府, 去菀陈莖”理论探讨痹证的病机 and 治疗方法 [J]. 中医正骨, 2025, 37(11): 60-65.
- Cao J, Zhu J Q, Dou Y F, et al. Exploring the pathogenesis and treatment of arthromyodynia based on the TCM theory of opening the Guimen (sweat pores), cleansing the Jingfu (urinary bladder), and removing the stagnated wastes [J]. J Tradit Chin Orthop Traumatol, 2025, 37(11): 60-65.
- [28] 常甜, 姜泉, 张柔曼. 经方辨证论治痹证的理法方药探要 [J]. 中国医药导报, 2025, 22(36): 129-132.
- Chang T, Jiang Q, Zhang R M. Exploration on principle-method-recipe-medicines of classical prescriptions in the syndrome differentiation and treatment of *bi* syndrome [J]. China Med Her, 2025, 22(36): 129-132.
- [29] 柴威涛, 郭成龙, 魏玉娇, 等. 从《金匱要略》历节病论治痛风 [J]. 中国民族民间医药, 2023, 32(6): 7-10.
- Chai W T, Guo C L, Wei Y J, et al. Treating gout from lijie disease in synopsis of the golden chamber [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharmacy, 2023, 32(6): 7-10.
- [30] 谢兴文, 王小强, 徐世红, 等. 基于破血逐瘀理论探讨中药水蛭及其复方治疗肿瘤的研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(3): 1-4.
- Xie X W, Wang X Q, Xu S H, et al. Research progress on treatment of tumors with traditional Chinese medicine Shuizhi (leech) and its compound based on theory of breaking blood and removing stasis [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2024, 42(3): 1-4.
- [31] 李焕华, 周维海. 一种规模化水蛭素分离纯化生产工艺方法及设备: 中国, CN112480243A [P]. 2021-03-12.
- Li H H, Zhou W H. A production process method and equipment for large-scale hirudin separation and

