

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

吴林秀¹, 梁红^{1#}, 赵应学², 何华梅¹, 梁杏梅¹, 周维海³, 甄汉深⁴, 黄敏琪¹, 刘喜华^{1*}

1. 广西卫生职业技术学院, 广西 南宁 530023

2. 广西壮族自治区江滨医院, 广西 南宁 530021

3. 广西科康科技集团有限公司, 广西 南宁 530001

4. 广西中医药大学, 广西 南宁 530001

摘要:目的 探究水蛭素对高尿酸血症大鼠的作用及机制。方法 雄性 Wistar 大鼠随机分为对照组、模型组、别嘌醇 (30 mg/kg) 组和水蛭素低、中、高剂量 (0.2、0.4、0.8 g/kg) 组。大鼠 ig 氧嗪酸钾 (0.75 g/kg), 1 次/d, 连续 5 周, 建立高尿酸血症模型; 同时各给药组分别 ig 相应剂量的药物, 1 次/d, 连续 5 周。采用生化法检测大鼠血清和尿液中的尿酸水平; 免疫组化法测定肾组织中有机阴离子转运蛋白 1 (organic anion transporter 1, OAT1) 水平; Western blotting 法测定肾组织中葡萄糖转运体 9 (glucose transporter 9, GLUT9)、OAT1、尿酸盐转运体 1 (urate transporter 1, URAT1) 蛋白表达; qRT-PCR 检测肾组织中 GLUT9、OAT1、URAT1 mRNA 表达。结果 模型组大鼠血清和尿液中尿酸水平显著升高 ($P < 0.01$), GLUT9、URAT1 mRNA 和蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.01$), OAT1 mRNA 和蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 水蛭素可显著降低大鼠血清和尿液中尿酸水平 ($P < 0.01$), 显著下调 GLUT9、URAT1 mRNA 和蛋白表达水平 ($P < 0.01$), 显著上调 OAT1 mRNA 和蛋白表达水平 ($P < 0.01$)。结论 水蛭素可通过调控高尿酸血症大鼠肾脏尿酸盐转运体 OAT1、URAT1、GLUT9 的表达, 从而发挥降尿酸作用。

关键词: 水蛭素; 高尿酸血症; 有机阴离子转运蛋白 1; 尿酸盐转运体 1; 葡萄糖转运体 9

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)22-5776-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.22.015

Effect of hirudin on expressions of urate transporters OAT1, URAT1 and GLUT9 in hyperuricemia rats

WU Lin-xiu¹, LIANG Hong¹, ZHAO Ying-xue², HE Hua-mei¹, LIANG Xing-mei¹, ZHOU Wei-hai³, ZHEN Han-shen⁴, HUANG Min-qi¹, LIU Xi-hua¹

1. Guangxi Medical College, Nanning 530023, China

2. Guangxi Jiangbin Hospital, Nanning 530021, China

3. Guangxi Kekang Technology Group Co., Ltd., Nanning 530001, China

4. Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001, China

Abstract: Objective To explore the effect of hirudin on hyperuricemia rats and its mechanism. **Methods** Male Wistar rats were randomly divided into control group, model group, allopurinol (30 mg/kg) group, hirudin low-, middle- and high-dose (0.2, 0.4, 0.8 g/kg) group. Rats were ig potassium oxonate (0.75 g/kg) to induce hyperglycemia model, once a day for five weeks. And all administration groups were respectively ig corresponding doses of drugs. The level of uric acid in serum and urine of rats were measured by biochemical method; The level of organic anion transporter 1 (OAT1) in kidney was measured by immunohistochemistry; The protein expressions of glucose transporter 9 (GLUT9), OAT1 and urate transporter 1 (URAT1) in kidney were measured by western blotting; The expression levels of GLUT9, OAT1 and URAT1 mRNA in kidney were detected by qRT-PCR. **Results** Compared with control group, the level of uric acid in

收稿日期: 2020-06-15

基金项目: 广西自然科学基金资助项目 (2018GXNSFAA281093); 广西教育厅科研项目 (2020KY43012); 广西科学研究与技术开发重大专项计划项目 (桂科重 1355001-5-9)

作者简介: 吴林秀 (1984—), 女, 硕士, 副教授, 从事糖尿病肾病研究。Email: wulinxiu201@163.com

*通信作者: 刘喜华, 男, 副教授, 从事中药、民族药分析研究。Email: liuxihua104@163.com

#并列第一作者: 梁红 (1980—), 讲师, 从事药理学、中药药理学教学和研究。Email: 316267123@qq.com

serum and urine of rats in model group was significantly increased ($P < 0.01$), the expressions of GLUT9, URAT1 mRNA and protein were significantly increased ($P < 0.01$), the expressions of OAT1 mRNA and protein were significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with model group, the level of uric acid in serum and urine of rats in hirudin group were significantly decreased ($P < 0.01$), the expressions of GLUT9, URAT1 mRNA and protein were significantly reduced ($P < 0.01$), the expressions of OAT1 mRNA and protein were significantly increased ($P < 0.01$). **Conclusion** Hirudin can reduce the uric acid by regulating the expressions of renal urate transporters OAT1, URAT1 and GLUT9 in hyperuricemia rats.

Key words: hirudin; hyperuricemia; OAT1; URAT1; GLUT9

高尿酸血症 (hyperuricaemia, HUA) 是一种体内嘌呤代谢紊乱, 导致血尿酸增多的代谢性疾病^[1]。随着人们日常饮食结构和生活方式的变化, HUA 患病率呈上升趋势^[2], 但 HUA 发病隐匿不可逆, 易被患者忽视。现代医学认为, HUA 是痛风最重要的生化基础^[3], 和高血压、高血脂、肾病、动脉粥样硬化、冠心病等疾病的发生密切相关^[4-5], 严重危害人类健康。目前用于治疗 HUA 的西药主要有别嘌醇、苯溴马隆等, 但因其会引起过敏、肝肾损伤、爆发性肝炎等不良反应, 在临床应用上受到限制^[6]。金边蚂蟥, 壮药中被称为堵平怀, 是医蛭科动物菲牛蛭 *Poecilobdella Manilensis* 的干燥全体, 具有调龙路、散淤肿的功效, 常用于治疗闭经、中风、扭挫伤等^[7]。水蛭素是金边蚂蟥的主要活性成分, 具有抗凝、抗栓溶栓、调血脂等作用^[8-10]。课题组前期研究结果表明, 金边蚂蟥显著降低高尿酸小鼠血清尿酸水平^[11], 水蛭素对高尿酸血症具有显著治疗作用^[12]。本研究以氧嗪酸钾建立 HUA 大鼠模型, 评价水蛭素对 HUA 大鼠尿酸盐转运蛋白的影响, 探讨水蛭素治疗 HUA 的作用机制。

1 材料与仪器

1.1 实验动物

36 只雄性 Wistar 大鼠, 体质量 (250 ± 20) g, 动物使用许可证号 SYXK (鄂) 2018-0104, 于 SPF 级条件下饲养, 饲养温度 $22 \sim 26$ °C, 相对湿度 50%~60%, 循环光照。

1.2 药品与试剂

金边蚂蟥活体 (批号 20180608) 购自南宁市金海科康生物医药科技有限公司, 经广西科学院生物研究所周维官研究员鉴定为医蛭科牛蛭属动物菲牛蛭; 氧嗪酸钾 (货号 P137112)、别嘌醇 (货号 A105386) 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 戊巴比妥钠购自 Sigma 公司; 尿酸测试盒购自南京建成生物工程研究所; 兔抗有机阴离子转运蛋白 1 (organic anion transporter 1, OAT1) 抗体购自 Abcam 公司; 兔抗尿酸盐转运体 1 (urate transporter,

URAT1)、兔抗葡萄糖转运体 9 (glucose transporter 9, GLUT9)、山羊抗兔 IgG 抗体购自武汉贝茵莱生物科技有限公司; 山羊抗兔/鼠 IgG 聚合物购自福州迈新生物技术开发有限公司; 山羊血清购自北京索莱宝科技有限公司; Trizol 试剂盒购自 Ambion 公司; 反转录试剂盒购自 TaKaRa 公司; OAT1、URAT1、GLUT9 引物购自武汉天一辉远生物科技有限公司; PVDF 膜、化学发光试剂购自 Millipore 公司。

1.3 仪器

DM1000 正置显微镜、RM2235 石蜡切片机购自 Leica 公司; TKD-TSB 组织脱水机购自湖北康强医疗器械有限公司; TB-718D 石蜡包埋机购自湖北胃泰科技实业有限公司; CFX-Connect 96 荧光定量 PCR 仪、mini protean 3 cell 电泳仪购自 Bio-Rad 公司; MK3 酶标仪购自芬兰雷勃公司。

2 方法

2.1 水蛭素的制备

将吸饱 2%氯化钠的金边蚂蟥活体放置在容器中, 加入适量硫酸锌和乙醇混合液, 收集金边蚂蟥活体吐出的唾液, 即为天然水蛭素提取液。纯化后加入辅料冷冻干燥, 获得的粉末即天然水蛭素 (凝血酶滴定约为 500 ATU/g)。以蒸馏水稀释分别配制成质量浓度为 0.02、0.04、0.08 g/mL 的溶液, 用作水蛭素低、中、高剂量 (0.2、0.4、0.8 g/kg) 组。

2.2 动物模型建立与分组

所有大鼠适应性饲养 7 d 后进行实验。将大鼠随机分为对照组、模型组、别嘌醇 (30 mg/kg, 称取 90 mg 别嘌醇, 蒸馏水溶解定容至 30 mL, 配制质量浓度为 3 mg/mL) 组和水蛭素低、中、高剂量组, 每组 6 只。每天 9:00 时大鼠 ig 氧嗪酸钾 (0.75 g/kg, 称取 10.5 g 氧嗪酸钾, 蒸馏水溶解定容至 140 mL, 配制质量浓度为 0.075 mg/mL), 1 次/d, 连续 5 周, 构建高尿酸血症模型; 同时 15:00 时对照组、模型组 ig 等剂量生理盐水, 各给药组分别 ig 相应剂量的药物, 给药体积为 10 mL/kg, 1 次/d, 连续 5 周。于给药结束次日 9:00 时收集代谢笼中大鼠尿液。大鼠 ip 1%戊巴比妥钠麻

醉后,腹主动脉采血,颈椎脱臼处死,取肾组织。

2.3 生化法检测大鼠血液和尿液中的尿酸水平

造模 2 周后,大鼠尾静脉取血,1 次/周,按照尿酸测试盒说明书检测血清尿酸水平,采用酶标仪检测 510 nm 波长处吸光度 (A) 值。

2.4 免疫组化法测定肾组织中 OAT1 水平

将肾组织固定、脱水、浸蜡包埋。按常规步骤制片、烤片、水化,以 0.01 mol/L 柠檬酸钠缓冲液高压修复抗原,3% H_2O_2 孵育消除内源性过氧化物酶活性,10%山羊血清封闭,加入 OAT1 抗体 (1:50) 和山羊抗兔/鼠 IgG 聚合物, DAB 染色、显色,苏木素复染,脱水,二甲苯透明后封片,于光学显微镜下拍照观察。

2.5 Western blotting 法测定肾组织中 GLUT9、OAT1、URAT1 表达

取 20 mg 大鼠肾组织,加入 200 μ L 裂解液混合匀浆,4 $^{\circ}$ C、12 000 $\times$ g 离心 15 min,取上清,采用 BCA 法进行蛋白定量。取 20 μ g 蛋白样品,经 12% SDS-PAGE 分离,浓缩胶电泳电压为 80 V,分离胶电泳电压为 120 V,电泳结束后采用湿转法将蛋白转移至 0.22 μ m PVDF 膜上,加入 5%脱脂奶粉于 4 $^{\circ}$ C 封闭过夜,分别加入 GLUT9、OAT1、URAT1 抗体 (1:1 000),室温孵育 1 h, PBST 洗涤 3 次,5 min/次。加入经辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔

IgG,室温孵育 1 h, PBST 洗涤 3 次,5 min/次。加入化学发光试剂,暗室曝光,用 TANON GIS 软件读取条带灰度值。

2.6 qRT-PCR 检测肾组织中 GLUT9、OAT1、URAT1 mRNA 表达水平

取 100 mg 大鼠肾组织,加入 1 mL Trizol 试剂,按照 Trizol 试剂盒说明书提取总 RNA,采用反转录试剂盒进行反转录扩增。引物根据 NCBI 的大鼠全基因组序列设计,选用 GAPDH 作为内参。引物序列如下: GLUT9 (F: 5'-TCCTACTGCTTCCTCGTCTT-3', R: 5'-TGGGT-TCTGTTCTTGGTCTCT-3', 89 bp); OAT1 (F: 5'-AAG-CAAGGACAACCCG-3', R: 5'-CGATGAGAGCACAC-AAGG-3', 182 bp); URAT1 (F: 5'-GACAACAGCA-CCTCCA-3', R: 5'-ACCCAGCCATCCTCACA-3', 200 bp); GAPDH (F: 5'-CAAGTTCAACGGCAG-3', R: 5'-CCAGTAGACTCCACGACAT-3', 138 bp)。qRT-PCR 扩增条件为 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min, 95 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 56 $^{\circ}$ C 退火 10 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 25 s, 40 个循环。

2.7 统计学分析

实验数据采用以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析。

3 结果

3.1 水蛭素对 HUA 大鼠血清中尿酸水平的影响

如表 1 所示,与对照组比较,第 2、3、4、5 周,

表 1 水蛭素对 HUA 大鼠血清尿酸水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effect of hirudin on level of uric acid in serum of HUA rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	尿酸/(μ mol·L ⁻¹)			
		第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周
对照	—	78.32 $\pm$ 9.42	82.63 $\pm$ 15.06	86.98 $\pm$ 9.26	85.33 $\pm$ 6.56
模型	—	143.63 $\pm$ 18.86**	145.93 $\pm$ 17.12**	167.30 $\pm$ 24.12**	200.25 $\pm$ 29.83**
别嘌醇	0.030	106.95 $\pm$ 3.65##	106.07 $\pm$ 4.87##	101.25 $\pm$ 1.96##	109.65 $\pm$ 2.48##
水蛭素	0.2	132.98 $\pm$ 6.59	135.07 $\pm$ 5.41	132.02 $\pm$ 5.96##	131.63 $\pm$ 4.67##
	0.4	120.47 $\pm$ 3.04##	121.45 $\pm$ 3.68##	121.63 $\pm$ 3.04##	121.15 $\pm$ 2.82##
	0.8	107.68 $\pm$ 2.98##	103.38 $\pm$ 5.08##	105.97 $\pm$ 3.26##	105.77 $\pm$ 4.94##

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$, 下同

** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group, same as belows

模型组大鼠血清中的尿酸水平明显升高 ($P < 0.01$),且随时间延长,血清中尿酸水平升高的幅度变大;与模型组比较,水蛭素中、高剂量组和别嘌醇组大鼠血清中尿酸水平明显下降 ($P < 0.01$),呈剂量相关性。

3.2 水蛭素对 HUA 大鼠尿液中尿酸水平的影响

如图 1 所示,与对照组比较,第 5 周模型组大鼠尿液中尿酸水平明显升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,水蛭素中、高剂量组和别嘌醇组大鼠尿液中尿酸水平明显下降 ($P < 0.01$)。

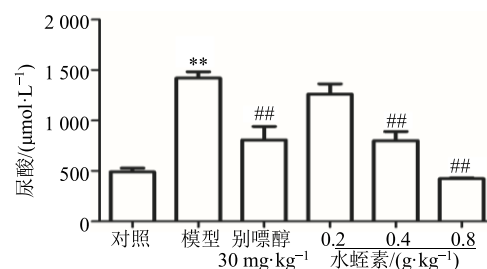


图 1 水蛭素对 HUA 大鼠尿液中尿酸水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Effect of hirudin on level of uric acid in urine of HUA rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.3 水蛭素对 HUA 大鼠肾组织中 OAT1 表达的影响

如图 2 所示,与对照组比较,模型组大鼠肾组织 OAT1 表达减少;与模型组比较,水蛭素低、中、高剂量组和别嘌醇组大鼠肾组织 OAT1 表达增加。

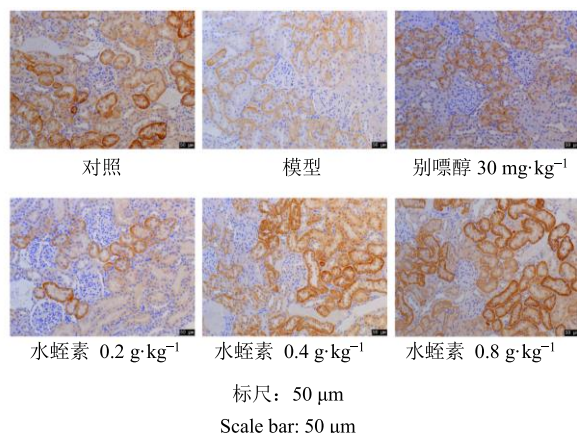


图 2 水蛭素对 HUA 大鼠肾组织中 OAT1 表达的影响 ($\times 200$; $\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Effect of hirudin on expression of OAT1 in kidney tissue of HUA rats ($\times 200$; $\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.4 水蛭素对 HUA 大鼠肾组织中 GLUT9、OAT1、URAT1 mRNA 和蛋白表达的影响

如图 3、4 所示,与对照组比较,模型组大鼠肾组织中 GLUT9、URAT1 mRNA 和蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.01$), OAT1 mRNA 和蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,水蛭素中、

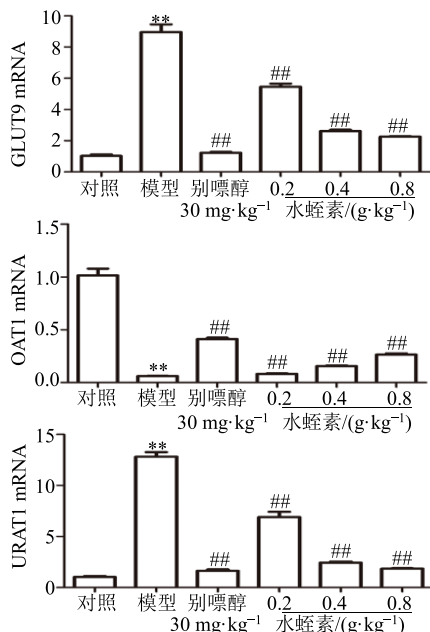


图 3 水蛭素对 HUA 大鼠肾组织中 GLUT9、OAT1、URAT1 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Effect of hirudin on expressions of GLUT9, OAT1, URAT1 mRNA in kidney tissue of HUA rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

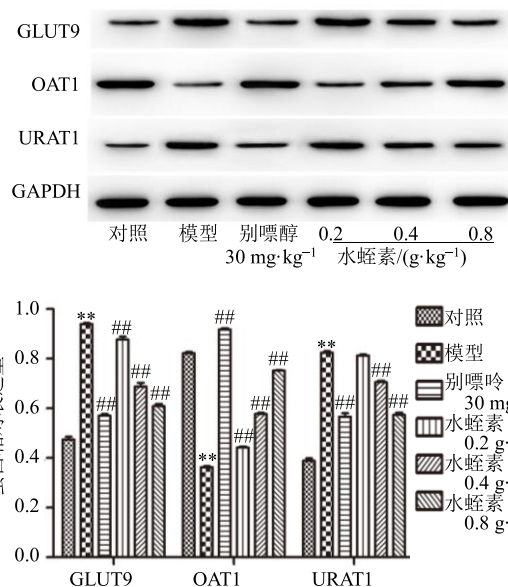


图 4 水蛭素对 HUA 大鼠肾组织中 GLUT9、OAT1、URAT1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Effect of hirudin on expressions of GLUT9, OAT1, URAT1 protein in kidney tissue of HUA rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

高剂量组和别嘌醇组大鼠肾组织中 GLUT9、URAT1 mRNA 和蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.01$), OAT1 mRNA 和蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.01$)。

4 讨论

HUA 的发病由遗传、环境等因素相互作用引起,与人们的生活方式密切相关,若不及时治疗会诱导痛风、肾结石,加速心血管疾病的进程^[13-14]。因此,对于 HUA 患者,早发现早治疗尤其重要^[15]。目前用于治疗 HUA 的药物如别嘌醇、非布司他、丙磺舒、苯溴马隆等,主要作用为减少尿酸产生、增加尿酸排泄,临床研究表明以上药物虽对 HUA 有较好的治疗作用,但存在较多不良反应,且停药后 HUA 易复发^[17]。随着对 HUA 的深入研究,中药在降低血尿酸方面具有增效减毒等优势^[18]。金边蚂蟥作为一种珍贵的广西特色壮药,对痛风的疗效确切。课题组前期研究提示,金边蚂蟥的主要活性成分水蛭素可能是一种潜在优良的高效、低毒、抗高尿酸痛风药物^[19]。本研究结果显示,大鼠 ig 氧嗪酸钾 2 周后,血清中尿酸水平明显升高,且与时间呈相关性,表明氧嗪酸钾成功诱导 HUA 大鼠模型。第 5 周,水蛭素中、高剂量组大鼠尿液中尿酸水平明显下降,提示水蛭素具有降低尿酸的作用。

肾脏的尿酸排泄和 OAT1、URAT1、GLUT9 等多种尿酸转运蛋白密切相关。OAT1 位于肾小管上皮细胞基底侧膜,负责将尿酸从肾小管毛细血管运

输至肾小管上皮细胞内,在肾脏中起到分泌尿酸的作用^[20];URAT1 在近端肾小管上皮细胞表面表达,参与尿酸从肾脏转运至血液,是调节血尿酸水平的重要机制^[21];GLUT9 作为葡萄糖转运体家族的一员,可以通过转运葡萄糖来加速对尿酸重吸收^[22]。本研究结果显示,与模型组比较,水蛭素中、高剂量组肾组织 GLUT9、URAT1 mRNA 和蛋白表达水平明显降低,OAT1 mRNA 和蛋白表达水平明显升高,提示水蛭素通过促进肾组织 OAT1 表达,抑制 GLUT9 和 URAT1 表达,从而发挥促进尿酸排泄、抑制肾小管重吸收的作用。

综上所述,水蛭素可通过上调 OAT1 表达,下调 GLUT9、URAT1 表达来发挥抗 HUV 作用。本研究为深入研发具有民族医药特色的多靶点抗 HUA 药物提供理论依据和数据支持。

参考文献

- [1] 叶茂高. 虎杖对高尿酸血症大鼠肾小管尿酸转运蛋白表达的影响 [J]. 浙江中医杂志, 2019, 54(12): 917-919.
- [2] Li C, Hsieh M C, Chang S J. Metabolic syndrome, diabetes and hyperuricemia [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2013, 25(2): 210-216.
- [3] Wortmann RL. Gout and hyperuricemia [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2002, 14(3): 281-286.
- [4] Adachi S I, Yoshizawa F, Yagasaki K. Hyperuricemia in type 2 diabetic model KK-Ay/Ta mice: A potent animal model with positive correlation between insulin resistance and plasma high uric acid levels [J]. *BMC Res Notes*, 2017, 10(1): 1-5.
- [5] Wu J N, Lei G T, Wang X, et al. Asymptomatic hyperuricemia and coronary artery disease in elderly patients without comorbidities [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(46): 80688-80699.
- [6] 朱育苹. 苯溴马隆与别嘌醇治疗高尿酸血症不良反应分析 [J]. 心理医生: 下半月版, 2012(9): 287-288.
- [7] 李东方, 李艳春, 郑远洋. 水蛭的生物学特性及养殖技术 [J]. 黑龙江水产, 2008(4): 6-7.
- [8] 覃 壬, 宋茹雪, 宋延坤, 等. 金边蚂蟥在各成长阶段不同含血量情况下抗凝血活性的变化 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(21): 82-83.
- [9] 来要水, 胡跃强. 水蛭治疗中风的研究进展 [J]. 河北中医, 2013, 35(5): 785-787.
- [10] 黄红坤, 王 诺, 王 弋, 等. 菲牛蛭提取物对顺铂治疗 S180 荷瘤鼠减毒作用的研究 [J]. 中国民族民间医药, 2014, 23(13): 12-14.
- [11] 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.
- [12] 刘喜华, 黄思诗, 黄敏琪, 等. 广西特色壮药金边蚂蟥抗痛风活性成分研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2018, 20(6): 941-946.
- [13] 史为伍, 吴红赤, 彭 艳, 等. 非肾脏沉积性高尿酸血症大鼠肾脏模型的建立及评价 [J]. 黑龙江医药科学, 2011, 34(6): 27-29.
- [14] Kuwabara M. Hyperuricemia, cardiovascular disease, and hypertension [J]. *Pulse (Basel)*, 2016, 3(3/4): 242-252.
- [15] 方 聪, 陈兰英, 李雪亮, 等. 藏药二十五味儿茶丸降尿酸作用及对尿酸转运蛋白表达水平的影响 [J]. 中成药, 2018, 40(11): 2374-2379.
- [16] 张 媛, 徐 红. 复方芪苓配方颗粒对大鼠高尿酸血症的调控作用 [J]. 中国现代医生, 2019, 57(33): 8-11.
- [17] 杨 媛, 李 静, 甄健存, 等. 抗痛风药别嘌醇、苯溴马隆及秋水仙碱不良反应报告分析 [J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(15): 1296-1297.
- [18] 庄丽华, 邓巧莉, 周 甜, 等. 威草胶囊对尿酸性肾病大鼠肾组织 miR-29a 和 miR-30c 的影响和机制 [J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 26(17): 1825-1830.
- [19] 刘喜华, 赵应学, 周元明, 等. 水蛭素抗痛风作用及其机制研究 [J]. 中草药, 2018, 49(6): 1365-1370.
- [20] Kojima R, Sekine T, Kawachi M, et al. Immunolocalization of multispecific organic anion transporters, OAT1, OAT2, and OAT3, in rat kidney [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13(4): 848-857.
- [21] Shibasaki K, Kimura M, Ikarashi R, et al. Uric acid concentration in saliva and its changes with the patients receiving treatment for hyperuricemia [J]. *Metabolomics*, 2012, 8(3): 484-491.
- [22] Witkowska K, Smith K M, Yao S Y, et al. Human SLC2A9a and SLC2A9b isoforms mediate electrogenic transport of urate with different characteristics in the presence of hexoses [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 303(4): F527-F539.