

慢性尿酸性肾病动物模型研究及中医药对其的影响

高志卿 邓跃毅 王琳 陈以平

摘要 近年来,慢性尿酸性肾病的实验研究逐渐增多,人们主要从基因重组、抑制尿酸排泄、促进血尿酸产生几方面来复制动物模型。中医药在降低血尿酸、调整细胞因子水平、延缓肾间质纤维化方面显现出较好疗效,但尚待进一步加大对中药或其提取成分的研究。本文就上述内容进行了综述。

Researches on the Establishment of Chronic Uratic Nephropathy Models and the Effect of TCM on these Models GAO Zhi-qing, DENG Yue-yi, WANG Lin, et al *Department of Renal Diseases, Longhua Hospital, Shanghai TCM University, Shanghai (200032)*

Following contents were reviewed in this article: More and more experimental studies related with chronic uratic nephropathy were carried out in recent years. In most of these studies, the animal models were established mainly from viewpoints of gene recombination, urinary uric acid inhibition and blood uric acid production promoting. TCM showed good effects in lowering blood uric acid, regulating levels of cytokines and postponing interstitial fibrosis. However, further studies on Chinese herbs and their extracts is necessary.

尿酸是嘌呤代谢的终末产物,正常情况下人体合成的尿酸 2/3 由肾脏排泄。慢性尿酸性肾病又称痛风性肾病,是由于体内嘌呤代谢紊乱,血尿酸生成过多或排泄减少,血尿酸升高导致的肾脏损害,是西方国家的一种常见病,欧美国家发病率约为 0.3%,欧洲透析移植协会报道终末期肾衰由痛风所致者占 0.6% ~ 1.0%^[1]。

近年来,随着生活水平的提高,高蛋白、高嘌呤饮食增加,我国尿酸性肾病患病率逐年增高,本病较常见于中年以上男性(90% 以上为男性),叶任高等^[2]报道 87.5% 的患者伴有痛风性关节炎或痛风石,且间质性肾损害的程度与血尿酸升高的水平和持续时间长短成正比。尿酸性肾病的研究日益引起人们重视,实验研究逐渐增多。

1 慢性尿酸性肾病动物模型研究近况 动物模型是进行实验研究的基础,尿酸氧化酶为嘌呤代谢酶,可以将尿酸转化成尿囊素,但灵长类动物体内缺乏此酶的存在,故易患高尿酸血症,而大鼠、小鼠等啮齿类动物体内存在尿酸氧化酶,故尿酸性肾病动物模型的制作有一定难度。腺嘌呤是核酸的主要组成成分之一,食物中的大部分腺嘌呤在黄嘌呤氧化酶的作用下

转变成尿酸,1952 年 Philips 等^[3]报道了腺嘌呤体内氧化产物 2,8-二羟基腺嘌呤以不溶性结晶沉积于肾小管,导致大鼠肾功能衰竭,为腺嘌呤用于尿酸性肾病动物模型的复制提供了可能依据。综合文献,可将尿酸性肾病动物模型的复制方法总结为以下几类。

1.1 基因重组 通过基因重组或者基因敲除的方法复制动物模型是近年来的一个热点,所复制模型具有稳定的特性,但同时由于技术要求较高,价格昂贵,难以全面推广。有学者^[4]通过胚胎干细胞同源重组,破坏小鼠尿酸酶基因,建立高尿酸血症及高尿酸性肾病动物模型,结果表明,这些小鼠的存活期不足 4 周,难以用于实验研究,不是理想的动物模型。Susan 等^[5]曾将本模型用于实验研究。

1.2 抑制尿酸排泄 主要是通过给动物服用抑制尿酸排泄的药物,或者同时给予产生尿酸的原料来复制尿酸性肾病动物模型。如金沈锐等^[6]用黄嘌呤(600 mg/kg)、次黄嘌呤(600 mg/kg)和盐酸乙胺丁醇(250 mg/kg)灌胃连续 5 天,而使昆明种小鼠尿酸显著升高。熊湘明等^[7]以雄性 Wistar 大鼠为造模动物,采用乙胺丁醇(250 mg/kg)加腺嘌呤(200 mg/kg、100 mg/kg、50 mg/kg)给高、中、低三个剂量组灌胃,测定实验前后大鼠血清尿酸、尿素氮、肌酐。结果:高剂量组、中剂量组血尿酸升高,高剂量组肾损害严重,认为把中剂量组作为高尿酸血症动物模型较为合适。

通过抑制尿酸的排泄,可以复制出尿酸性肾病的动物模型,但此种方法复制出的仅仅是继发性尿酸性

作者单位:上海中医药大学附属龙华医院肾内科(上海 200032)

通讯作者:高志卿, Tel: 021 - 64385700 转 1201, E-mail: gaozhiqing

@sina.com

肾病动物模型,与人类慢性尿酸性肾病的发病机理上有一定差距。

1.3 促进血尿酸产生 人类高尿酸血症的产生主要是因为缺乏尿酸氧化酶同时存在嘌呤代谢紊乱,而致血尿酸生成过多,进而可以损害肾脏,导致慢性尿酸性肾病。因此,通过促进血尿酸产生来复制尿酸性肾病动物模型是目前的一个主要方法。

70 年代 Waisman 等^[8-10]将尿酸氧化酶抑制剂 Oxonic Acid (0.4 mg/d)与尿酸(0.6 mg/d)喂养大鼠,结果 1 个月后发现尿酸性肾病特征,36 周和 52 周后出现肾间质单核细胞浸润及肾间质纤维化,而无肾功能衰竭。张冰等^[11]参照 Hall 等人^[12]的方法,通过同时给予 C57BL/6 小鼠尿酸和尿酸酶抑制剂,3 周后小鼠血尿酸和甘油三酯水平均显著升高,同时伴有肾功能的改变。陈文照等^[13]在普通饲料中加入 5% 的尿酸氧化酶抑制剂 Oxonic Acid 与 1% 的尿酸,每日 15 g 限量喂饲雄性 Wistar 大鼠,连续 33 天。结果发现,动物造模后 3 天检测血尿酸即明显升高,约增加 3 倍,即形成高尿酸血症,造模后第 18 天检测肾脏病理,发现炎症细胞大量浸润、肾小管萎缩,尿酸性肾病形成。

同时,过多腺嘌呤摄入会导致尿酸的生成增加,沉积于肾脏则引起尿酸性肾病的发生,从而使腺嘌呤被用于尿酸性肾病动物模型的复制。徐曼等^[14]按每日 3 mg/kg 将腺嘌呤混入 2% 淀粉液灌胃 Wistar 大鼠 5 周,出现了类似人类继发性尿酸性肾病的病理变化。黄天伦等^[15-17]以雄性 SD 大鼠为对象,将腺嘌呤溶于羧甲基纤维素钠溶液中,制成 3% 的混悬液,按 300 mg/(kg·d)的剂量给大鼠灌胃,每 100 g 固体饲料中混入 5 g 沙丁鱼,自由饮食 30 天。结果大鼠血尿酸、肌酐、血尿酸氮、尿酸水平及血腺嘌呤氧化酶活性均有显著升高。张超等^[18]以不同剂量腺嘌呤(1 g/kg、2 g/kg、4 g/kg)分别饲喂雄性 Wistar 大鼠,并设别嘌呤醇作为治疗组,结果示中剂量组大鼠于实验第 3 天血尿酸水平升高,可持续 1 周。第 10 天出现肾功能损害,并可见间质性肾炎改变,别嘌呤醇组改变不明显。认为中剂量组大鼠可作为观察药物预防作用的高尿酸血症及尿酸性肾病动物模型。曹克光等^[19]基于鸡与人类一样缺乏尿酸酶,尿酸是其嘌呤代谢的最终产物,故以不同剂量腺嘌呤(2 g/kg、4 g/kg、6 g/kg)分别饲喂 1 月龄鸡,结果示中剂量组鸡于实验第 3 周血尿酸水平升高,且持续稳定升高 8 周以上,肾超微结构改变不明显,可作为观察药物治疗作用的高尿酸血症动物模型。

增加腺嘌呤的摄入只是一个引起尿酸性肾病的诱

因,临床上尿酸性肾病的发生主要是由于机体内嘌呤代谢存在一定程度的紊乱,因此,干扰嘌呤代谢可以作为一种原发因素引起尿酸性肾病的发生。酵母即核糖核酸,在体内充分水解能产生含氮的有机碱(包括嘌呤碱类和嘧啶碱类)和磷酸,当大剂量的酵母投入体内后,能干扰机体正常的嘌呤代谢,主要表现为黄嘌呤氧化酶活性增加,加速了尿酸的生成,进而损害肾功能。何立群等^[20]采用酵母配方的饲料饲喂 SD 大鼠 20 天,观察血清尿酸、肌酐、尿素氮已明显升高,肾脏病理变化亦类似于人类的尿酸性肾病,从而认为单纯酵母诱发的疾病模型是一种较理想的原发性尿酸性肾病的动物模型。奚九一等^[21]以酵母(10 g/kg)、腺嘌呤(100 mg/kg)饲料喂养 SD 大鼠,观察大鼠血清中尿酸、肌酐、尿素氮含量的动态变化以及停用该饲料后大鼠自然恢复情况,同时观察大鼠肾脏病理改变。19 天时大鼠血清中尿酸、肌酐、尿素氮明显升高($P < 0.01$),肾脏出现与临床痛风性肾病相类似的病理改变。停用酵母、腺嘌呤饲料后,大鼠有自然恢复趋势,但周期较长(>52 天)。刘小青等^[22,23]以酵母饲料(15 g/d,内含酵母干粉 3 g)喂养迪法克雄性鹌鹑,发现 7 天后形成高尿酸血症,且比较稳定,可以持续至实验 35 天,同时黄嘌呤氧化酶也有一过性升高,认为此模型具有与人类高尿酸血症相符、塑模造价低、模型稳定、重复性好等优点,可望成为研究高尿酸血症的理想动物模型。

2 中医药对慢性尿酸性肾病动物模型的影响 对于慢性尿酸性肾病的治疗,西医主要从减少尿酸生成和增加尿酸排泄两方面入手,分别选用别嘌呤醇、丙磺舒,确实在降低血尿酸水平方面起了重要作用,但这些药物在治疗的同时所产生的副作用(如急性间质性肾炎、肾实质淋巴细胞和嗜酸性粒细胞浸润等)又在一定程度上加重了患者肾功能损害程度,加速了肾间质纤维化的进程,从而限制了其在临床上的广泛应用。

近年来,中医药治疗慢性尿酸性肾病日益引起人们重视,在降低血尿酸、调整细胞因子水平、延缓肾间质纤维化方面显现出较好疗效。目前对中医药治疗慢性尿酸性肾病的实验研究尚显不足,但科研工作者已进行了一些尝试,涉及药剂学、药效学、药理学等方面。陈文照等^[13]以尿酸利仙冲剂(由土茯苓、桑寄生、丹参、制胆南星等组成)灌胃模型动物,分预防组和治疗组,分别于造模后第 3 和第 18 天开始用药,第 33 天处死动物,用药后测血尿酸,预防组、治疗组与模型组比较差异有显著性($P < 0.01$);用药前后血尿酸自身比较,预防组、治疗组差异亦有显著性($P < 0.01$),同时,肾间质炎症细胞浸润减少,肾小管萎缩减轻,肾脏痛风

性病理变化大有改善。黄天伦等^[15-17]对威草胶囊(威灵仙、草决明、生大黄、金钱草、益母草等)治疗尿酸性肾病进行了系列实验研究,实验结果表明,威草胶囊能明显改善大鼠的一般症状,使模型大鼠的外观、体重、活动接近正常大鼠,明显降低模型大鼠的尿酸、尿素氮、肌酐和 24 h 尿蛋白,促进尿酸的排泄,抑制黄嘌呤氧化酶,使尿酸的生成减少、排泄增多,降低尿酸盐的沉积,降低 TGF-β₁、TIMP-1、α-SMA、NK-κB 在模型大鼠肾组织中的表达,减轻肾间质纤维化,并推测其肾保护作用可能与降尿酸基础上抑制肾小管和肾间质上皮细胞表型转化有关。刘小青等^[23]发现予小剂量菊苣提取物(6.6 g/kg)7 天始即可明显降低酵母诱发的鹌鹑血尿酸升高,且降尿酸作用持续时间长,并可对抗一过性的血糖升高,认为中药菊苣对嘌呤核苷酸代谢紊乱有较好的调节作用,其提取物有望成为降尿酸的二类新药。

慢性尿酸性肾病的实验研究已取得了一些成果,众多学者用不同的方法建立了各自的动物模型,为尿酸性肾病的实验研究提供了良好的平台,但还应该看到,目前对于尿酸性肾病的实验研究集中于体内实验,尚无体外实验研究的报道,有必要进行慢性尿酸性肾病体外模型的研究。同时,动物模型的复制应该针对疾病的病因及发病机理,尿酸性肾病的发生是以体内存在嘌呤代谢紊乱为基础,复加以体外诱发因素,如高嘌呤饮食、药物影响等,基于此,笔者认为,酵母加腺嘌呤的造模方法似更合理、更贴近于临床实际。

中医药治疗慢性尿酸性肾病具有作用广泛、不良反应小等特点,日益引起重视。众多医家也根据自己的临床经验,提出了一些具有降低血尿酸的药物,如补肾痛风汤^[24](杜仲、枸杞子、菟丝子、党参、茯苓、丹参、威灵仙各 20 g,生黄芪、生薏苡仁各 30 g,苍术、黄柏、独活、当归、泽泻、桂枝各 10 g)、化湿泄浊祛瘀汤^[25](土茯苓 30 g、萆薢 30 g、苍术 15 g、黄柏 12 g、牛膝 12 g、薏苡仁 30 g、木瓜 20 g、五加皮 15 g、土鳖虫 6 g、延胡索 9 g、丹参 15 g、车前草 30 g)等复方以及土茯苓、威灵仙、萆薢、秦皮、山楂、玉米须、虎杖、汉防己、晚蚕沙等单味药^[26],可谓仁者见仁、智者见智,但这些药物是否真的有此作用,还有待实验研究来证实。应该加大对中药或其提取成分的研究,力争开发出成分清楚、作用靶点明确的新型降尿酸中成药,这将为尿酸性肾病患者带来无尽的福音。

参 考 文 献

1 王海燕,主编.肾脏病学.第 2 版.北京:人民卫生出版社,

1987:976—978.
 Wang HY, chief editor. Nephrology. Beijing: People's Medical Publishing House, 1987:976—978.
 2 叶任高,沈清瑞,主编.肾脏病诊断与治疗学.北京:人民卫生出版社,1994:361—363.
 Ye RG, Shen QR, editors. Diagnosis and iatreusiology of nephropathy. Beijing: People's Medical Publishing House, 1994:361—363.
 3 Philips FS, Thiersch JB, Bendich A, et al. Adenine intoxication in relation to in vivo formation and deposition of 2, 8-dioxyadenine in renal tubules. J Pharmacol Exp Ther 1952; 104(1):20—30.
 4 Wu X, Wakamiya M, Vaishnav S, et al. Hyperuricemia and urate nephropathy in urate oxidase-deficient mice. Proc Natl Acad Sci USA 1994;91(2):742—746.
 5 Kelly SJ, Delnomdedieu M, Oliverio MI, et al. Diabetes insipidus in uricase-deficient mice: A model for evaluating therapy with poly (ethylene glycol)-modified uricase. J Am Soc Nephrol 2001;12(5):1001—1009.
 6 金沈锐,郑军,刘绍唐.小鼠高尿酸血症模型初探.成都中医药大学学报 1999;22(1):49—50.
 Jin SR, Zheng J, Liu ST. Preliminary studies on animal models of hyperuricemia mice. J Chengdu Univ TCM 1999; 22(1):49—50.
 7 熊湘明,曲竹秋.大鼠高尿酸血症模型建立.天津中医学院学报 2001;20(4):28—29.
 Xiong XM, Qu ZQ. Establishment of rat model of hyperuricemia. J Tianjin Coll TCM 2001;20(4):28—29.
 8 Waisman J, Bluestone R, Klinenberg JR. A preliminary report of nephropathy in hyperuricemic rats. Lab Invest 1974; 30(6):716—722.
 9 Bluestone R, Brady S, Waisman J, et al. Experimental hyperuricemic nephropathy. A model for human urate deposition disease. Arthritis Rheum 1975;18(6 Suppl):823—834.
 10 Bluestone R, Waisman J, Klinenberg JR. Chronic experimental hyperuricemic nephropathy. Lab Invest 1975; 33(3): 273—279.
 11 张冰,刘小青,张浩军,等.小鼠高尿酸高甘油三酯血症复合模型建立及机理探讨.中药新药与临床药理 2002; 13(2):80—82.
 Zhang B, Liu XQ, Zhang HJ, et al. Establishment of mouse models of hyperuricaemia complicated with hyperlipidemia and its pathogenesis. J New Drug Clin Pharmacol Tradit Chin Med 2002;13(2):80—82.
 12 Hall IH, Scoville JP, Reynolds DJ, et al. Substituted cyclic imides as potential anti-gout agents. Life Sci 1990;46(26): 1923—1927.
 13 陈文照,徐红,谷焕鹏.尿酸利仙冲剂治疗痛风性肾病的

- 实验研究. 中国中西医结合肾病杂志 2002;3(7):422—423.
- Chen WZ, Xu H, Gu HP. Experimental study of Niacosuan Lixian Granules treating gouty nephrosis. Chin J Integr Tradit West Nephrol 2002;3(7):422—423.
- 14 徐曼, 孙锁柱, 邹万忠. 尿酸性肾病胰岛素样生长因子和成纤维细胞生长因子的表达. 中华肾脏病杂志 1999;15(5):281—283.
- Xu Man, Sun SZ, Zou WZ. The expression of insulin-like growth factor and fibroblast growth factor in uric acid nephropathy. Chin J Nephrol 1999;15(5):281—283.
- 15 黄天伦, 夏明珠, 任开明, 等. 威草胶囊治疗尿酸性肾病的实验研究. 中国现代医学杂志 2003;12(2):13—16.
- Huang TL, Xia MZ, Ren KM, et al. Experimental study on capsule Weicao on uric acid nephropathy in rat. Chin J Modern Med 2003;12(2):13—16.
- 16 黄天伦, 夏明珠, 任开明, 等. 威草胶囊对尿酸性肾病大鼠 TGF- β_1 和 TIMP-1G 表达的影响. 实用医学杂志 2002;18(9):922—924.
- Huang TL, Xia MZ, Ren KM, et al. Effect of Weicao capsule on expression of TGF- β_1 and TIMP-1G in uric acid nephropathy rat. J Pract Med 2002;18(9):922—924.
- 17 黄天伦, 夏明珠, 任开明, 等. 威草胶囊对尿酸性肾病大鼠 α 平滑肌肌动蛋白和核因子 κ B 蛋白表达的影响. 中医杂志 2003;44(4):296—298.
- Huang TL, Xia MZ, Ren KM, et al. Effect of Weicao capsules on expression of (alpha)-smooth muscle actin and nuclear factor-(kappa) b protein in the rat of uric acid nephropathy rat. J TCM 2003;44(4):296—298.
- 18 张超, 曹克光, 杨崇青, 等. 高尿酸血症及尿酸性肾病动物模型的建立及应用. 实验动物科学与管理 1999;16(4):18—22.
- Zhang C, Cao KG, Yang CQ, et al. Establishment of animal model of hyperuricemia and hyperuricemic nephropathy. J Lab Anim Sci Administration 1999;16(4):18—22.
- 19 曹克光, 臧力学, 唐丽, 等. 高尿酸血症动物模型的建立及应用. 实验动物科学与管理 2000;17(2):6—9.
- Cao KG, Zang LX, Tang L, et al. Establishing and application animal's model of hyperuricemia. J Exp Animals Sci Management 2000;17(2):6—9.
- 20 何立群, 聂永红, 邹士林. 新型尿酸性肾病动物模型的建立. 上海实验动物科学 2001;21(1):22—25.
- He LQ, Nie YH, Zou SL. A new rat model of uric acid nephropathy. Shanghai Lab Anim Sci 2001;21(1):22—25.
- 21 奚九一, 赵兆琳, 鲁培基, 等. 高尿酸血症肾病的实验动物模型研究. 上海中医药杂志 2001;35(10):10—12.
- Xi JY, Zhao ZL, Lu PJ, et al. Research on the experimental animal model of hyperuricemia nephropathy. Shanghai J TCM 2001;35(10):10—12.
- 22 刘小青, 张冰, 刘春梅, 等. 鹌鹑高尿酸血症模型建立初探. 中国病理生理杂志 2001;17(10):1038—1040.
- Liu XQ, Zhang B, Liu CM, et al. Study on hyperuricemia animal model in quail. Chin J Pathophysiol 2001;17(10):1038—1040.
- 23 刘小青, 张冰, 胡京红, 等. 鹌鹑高尿酸血症模型建立及菊苣提取物对其影响的实验研究. 中国中西医结合杂志 2003;23(1):44—47.
- Liu XQ, Zhang B, Hu JH, et al. Study on establishing of hyperuricemia quail model and effect of cichorii extracts. Chin J Integr Tradit West Med 2003;23(1):44—47.
- 24 钟洪, 赵洁. 补肾痛风汤治疗早期痛风性肾病 23 例. 湖北中医杂志 2002;24(11):18.
- Zhong H, Zhao J. 23 cases of early gouty nephropathy treated by Bushen Tongfeng decoction. Hubei J TCM 2002;24(11):18.
- 25 伍新林, 李俊彪, 周莺. 化湿泄浊祛瘀法治疗湿浊瘀阻型慢性尿酸性肾病 54 例临床观察. 中医杂志 2000;41(9):532—536.
- Wu XL, Li JB, Zhou Y. Clinical observation on treatment of 54 cases of chronic uric-acid nephropathy of blood stasis type with drugs for purging turbid, resolving dampness and dispelling phlegm. J TCM 2000;41(9):532—536.
- 26 陈以平, 主编. 肾病的辨证与辨病治疗. 北京: 人民卫生出版社, 2003:170.
- Chen YP, editor. Treating nephropathy by syndrome differentiation and disease differentiation. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003:170.

(收稿:2004-06-14 修回:2004-11-11)