从脾虚大鼠 AA-I 的排泄与脏腑 oatp2a1、oatp2b1 的表达探讨脾肾关系

项 婷[1] 任 斌[1] 杨璋斌[2] 孙保国[1] 陈泽雄[1] 陈 燕[1] 张诗军[1]

摘要 **目的** 通过观察脾虚大鼠马兜铃酸(aristolochic acid, AA)代谢与肾、大肠、小肠组织中有机阴离子转运肽(organic anion transporting polypeptide, oatp)2a1、oatp2b1 mRNA 及蛋白表达的关系,探讨中医学脾肾之间的相互关系。**方法** 46 只 SD 大鼠随机分为空白组(12 只)、脾虚组(22 只)、AA-I 组(6 只)、脾虚 AA-I 组(6 只)。脾虚组及脾虚 AA-I 组采用利血平 5 mg/(kg·d)皮下注射连续 16 天造模。空白组及脾虚组选取 6 只大鼠行颈动脉插管,并予 AA-I 灌胃后 5、15、30、45、60 min 颈动脉取血行 AA-I 药代动力学检测;脾虚组选 10 只大鼠行肾、大肠、小肠 AA-I 组织浓度测定;脾虚组及空白组各取 6 只分别予生理盐水灌胃,AA-I 组、脾虚 AA-I 组予 AA-I 灌胃后 60 min 时间点取肾、大肠、小肠 3 种组织,采用 RT-PCR 及 Western blot 方法检测各组织中 oatp2a1、oatp2b1 mRNA 及蛋白表达。**结果** 与空白组比较,脾虚组大鼠灌胃后 15、30、45、60 min 时体内 AA-I 血浆浓度值明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。脾虚组60 min时 AA-I 血浆浓度下降,肾及大肠组织浓度升高,小肠中组织浓度明显下降。空白组与脾虚组中上述 3 种组织 oatp2a1、oatp2b1 mRNA 表达无差异;与空白组比较,AA-I 组小肠 oatp2a1、oatp2b1 mRNA 表达降低,大肠 oatp2a1 mRNA 表达降低($P<0.05$, $P<0.01$);与脾虚组比较,脾虚 AA-I 组肾组织中 oatp2a1、oatp2b1 mRNA 表达升高($P<0.05$),大肠组织 oatp2b1 mRNA 表达升高($P<0.05$)。**结论** 脾虚脾失运化状态下,AA-I 代谢差异可能与肾、大肠、小肠组织 oatp2a1、oatp2b1 表达改变相关,并提示肾、大肠在脾虚状态下物质代谢中发挥重要协调作用,验证了中医脾肾相关理论。

关键词 有机阴离子转运肽;马兜铃酸;脾虚证;脾肾相关

Exploring the Correlation between Pi and Shen from the Excretion of AA-I and Expressions of Organic Anion Transporting Polypeptide 2a1 and 2 b1 in Pi Deficiency Model Rats

XIANG Ting[1], REN Bin[1], YANG Zhang-bin[2], SUN Bao-guo[1], CHEN Ze-xiong[1], CHEN Yan[1], and ZHANG Shi-jun[1]

1 Department of Traditional Chinese Medicine, First Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou (510080); 2 Department of Traditional Chinese Medicine, Fifth Hospital, Sun Yat-sen University, Guangdong (519000)

ABSTRACT Objective To explore the correlation between Pi and Shen by observing the relationship between the metabolism of aristolochic acid (AA) and mRNA and protein expression levels of organic anion transporting polypeptide (oatp) superfamily member 2a1 and 2 b1 (oatp2a1 and oatp2b1) in renal, small intestinal, and large intestinal tissues of Pi deficiency syndrome (PDS) model rats. Methods Totally 46 Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into four groups, i.e., the blank group ($n=12$), the PDS group ($n=22$), the AA-I group ($n=6$), and the PDS AA-I group ($n=6$). PDS model was established by subcutaneously injecting Reserpine at the daily dose of 5 mg/kg for 16 successive days. Carotid intubation was performed in 6 rats selected from the blank group and the PDS group. Phar-

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81072806);青年国家自然科学基金资助项目(No. 81102581);广东省自然科学基金资助项目(No. 9151008004000030)

作者单位:1.中山大学附属第一医院中医科(广州 510080);2.中山大学附属第五医院中医科(广东珠海 519000)

通讯作者:张诗军,Tel:13925080191,E-mail:zhsjun1967@hotmail.com

DOI: 10.7661/CJIM.2015.10.1255

macokinetics of AA-I were detected at 5, 15, 30, 45, and 60 min after gastrogavage of AA-I. AA-I concentrations in renal, small intestinal, and large intestinal tissues of 10 rats selected from the PDS group were determined. Normal saline was administered to 6 rats selected from the PDS group and the blank group by gastrogavage. Renal, small intestinal, and large intestinal tissues were collected in the AA-I group and the PDS AA-I group at 60 min after gastrogavage of AA-I. mRNA and protein expression levels of oatp2a1 and oatp2b1 in each tissue were detected using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot. Results　Compared with the blank group, plasma concentrations of *in vivo* AA-I were obviously higher in the PDS group at 15, 30, 45, and 60 min after gastrogavage of AA-I with statistical difference ($P<0.05$). Plasma concentrations of AA-I were obviously decreased at 60 min after gastrogavage of AA-I; AA-I concentrations in renal and large intestinal tissues were elevated; AA-I concentrations in small intestinal tissues were obviously reduced in the PDS group. There was no statistical difference in mRNA expression levels of oatp2a1 and oatp2b1 in the aforesaid three tissues of rats between the blank group and the PDS group. Compared with the blank group, mRNA expression levels of oatp2a1 and oatp2b1 decreased in small intestinal tissues of the AA-I group, and the mRNA expression level of oatp2a1 in large intestinal tissues significantly decreased ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the PDS group, mRNA expression levels of oatp2a1 and oatp2b1 increased in renal tissues of the PDS AA-I group ($P<0.05$); mRNA expression levels of oatp2b1 increased in large intestinal tissues of the PDS AA-I group ($P<0.05$). Conclusions　The difference in AA-I metabolism might be associated with changed expression levels of oatp2a1 and oatp2b1 in renal, small intestinal, and large intestinal tissues under Pi deficiency induced loss of transportation. Shen and Dachang played important roles in substance metabolism under Pi deficiency state, which proved Pi-Shen correlated in Chinese medical theories.

KEYWORDS　organic anion transporting polypeptide; aristolochic acid; Pi deficiency syndrome; Pi-Shen correlated

五脏系统各自发挥其生理功能,系统之间又相互关联为一个整体,共同完成机体的各项生理功能,其中脾肾两脏在生理功能上相连相通,病理上也密切相关,即脾肾互济[1]。张景岳将脾肾视为人身之根本,称“脾为五脏之根本,肾为五脏之化源”。李中梓正式提出“肾为先天之本,脾为后天之本”的观点,标志中医脾肾理论的形成。中医脾肾学说是中医五脏学说中重要的一支,现代医学将脾肾学说在神经肌肉系统及消化系统疾病研究中做了进一步理论及临床研究[2,3],其中邓铁涛教授多年来致力脾肾相关理论的研究,认为脾肾决定人的体质禀赋,并通过调理脾肾治疗运动神经元疾病取得一定疗效[4]。现代有多项研究集中在通过运用脾肾之间的关系进而治疗糖尿病、重症肌无力、痛风、骨质疏松、慢性肾衰竭等疾病[5-7],但两者之间的相互依存关系未见进一步微观探索研究。

有机阴离子转运肽(organic anion transporter polypeptide, oatp)是一种动物及人体内重要的膜转运蛋白,可高效地对多种生物体异物转运[8,9],实验发现脾虚状态下大鼠马兜铃酸(aristolochic acid, AA)代谢改变,其排泄增多与肾、大肠组织中oatp2a1、oatp2b1 表达改变相关[10,11],本实验以此为切入点进一步探讨中医脾肾间的相互联系。

材料与方法

1　动物　10 周龄 SPF 级 SD 健康成年雄性大鼠46 只,体重250 ~300 g,由中山大学动物实验中心提供,许可证号:SCXK(粤)2009 -0011。实验动物质量合格证号:0089588.

2　药物与试剂　马兜铃酸 I(AA-I) 20 mg/支,纯度≥99%,购自芜湖贰尔塔医药科技有限公司(批号:20101126);利血平注射液(1 mg/支),购自广州中医药大学附属第一医院(批号:101016);Trizol 提取试剂,购自 Invitrogen(批号:15596 -018);GAPDH 单克隆抗、PGT 一抗,购自 Santa Cruz;Anti-goat IgG-HRP,购自 ZSGB-BIO 公司;PVDF 膜,购自 Bio-Rad 公司;5 ×逆转录 buffer、5 ×定量 PCR buffer dNTPs mMLV Taq 酶等,购自 Takara DRR390A;ECL 荧光底物购自 Pierce 公司(批号:37071);氯仿、异丙醇、无水乙醇等,购自广州中南化工。

3　仪器　ABI 7500 荧光定量 PCR 仪(Ep-

pendof 公司),5417R 的冷冻台式高速离心机(Bio-Rad 公司),定性 PCR 仪(C1000)、超声细胞破碎仪购自上海天呈科技有限公司,垂直电泳仪及转移系统(Bio-Rad 公司),脱色摇床(Rotomix 公司),射线摄影暗匣(广州艺佳生物)。

4 分组及造模 动物购买后先饲养 2 天。将大鼠随机编号分成 4 组,分别为空白组(12 只)、脾虚组(22 只)、AA-I 组(6 只)、脾虚 AA-I 组(6 只)。常规饮食饮水,脾虚组及脾虚 AA-I 组予利血平 5 mg/(kg·d)皮下注射造模[12],空白组及 AA-I 组予 0.9% 氯化钠溶液皮下注射,连续 10 天,因脾虚组大鼠体重消瘦明显,精神萎靡,11 ~16 天利血平减量 3 mg/(kg·d),无大鼠死亡,模型成功率 100%。空白组及脾虚组各 6 只进行 AA-I 药代动力学检测;脾虚组取 10 只进行肾、大肠、小肠组织 AA-I 浓度检测;空白组、脾虚组、AA-I 组及脾虚 AA-I 组各 6 只大鼠进行 oatp2a1、oatp2b1 mRNA 及蛋白检测。

5 一般情况 实验过程中每天密切观察脾虚大鼠(脾虚组及脾虚 AA-I 组大鼠)及空白大鼠(空白组及 AA-I 组大鼠)的一般状态,如饮食量、饮水量、体重、生长体态、粪便情况、精神状态、活动状态、被毛色泽等。

6 AA-I 药代动力学及组织浓度检测 造模成功后,脾虚组及空白组各随机抽取 6 只大鼠行颈静脉插管,予 AA-I 20 mg/kg 灌胃后取 5、15、30、45、60、90 min时间点的血浆,检测 AA-I 药物代谢情况。同时另取 10 只脾虚组大鼠在予 AA-I 20 mg/kg 灌胃后 5、15、30、45、60 min 时分别取肾、大肠、小肠 3 种组织做组织浓度测定,每个时间点 2 只大鼠。均采用高效液相色谱法(HPLC)的外标法检测 AA-I 浓度[13]。

7 4 组大鼠 oatp2a1、oatp2b1 mRNA 及蛋白检测

7.1 动物内脏标本采集 造模成功后,脾虚组及空白组各取 6 只分别予生理盐水灌胃;AA-I 组、脾虚 AA-I 组予 20 mg/kg AA-I 灌胃后 60 min 时间点取肾、大肠、小肠 3 种组织。

7.2 采用 RT-PCR 检测 oatp2a1、oatp2b1 mRNA 表达 使用 GenBank 查找目的基因 mRNA 序列,在 CDS 区设计特异性引物,由上海英骏生物技术有限公司合成:oatp2a1:上游引物:5′-CAGCTACTGCTCCCGTCCAT- 3′;下游引物:5′-CACGCGAAGGACCATCATG- 3′;探针:5′-FAM-TTCCTCATTTCCTTTGCGGCGCT-TAMRA-3′.oatp2b1:上游引物:5′-TTCCAGTCGCACAGAAACCA- 3;′下游引物:5′-AGGAGATCCCAAAGGGCTGTA- 3′;探针: 5′-FAM-TGCTTGGCATTGGCGGTG-TAMRA-3′. R-GAPDH:上游引物:5′-TGGTCTACATGTTCCAGTATGACT- 3′;下游引物:5′-CCATTTGATGTTAGCGGGATCTC- 3′; 探针 5′-FAM-CCACGGCAAGTTCAACGGCACAGT-TAMRA-3′.取 4 μL RNA 模板做逆转录反应,反应条件为:93 ℃ 2 min,然后 93 ℃ 15 s,55 ℃ 25 s,72 ℃ 25 s,共 40 循环。反应结束后电脑自动分析计算各组织的 Ct 值,PCR 结果计算可按 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 来计算。

7.3 采用 Western blot 法检测 oatp2a1、oatp2b1 的蛋白表达 将上述组织加入裂解液,进行组织蛋白定量,将细胞样品取 100 μL 加入 5X 蛋白上样缓冲液 25 μL,放入沸水中煮沸使蛋白变性,10 000 r/min 离心。凝胶固定后电泳至溴酚蓝到达分离胶底部上方约 0.5 cm,电泳后进行转膜,封闭,洗膜,加一抗,ECL 化学发光法检测。

8 统计学方法 应用 SPSS 13.0 统计软件,实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组均数间比较采用方差分析,在结果数值不服从正态分布的情况下,采用 *Kruskal-Wallis* 检验进行多组数据比较,组间两两比较采用组间 *t* 检验,$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 脾虚大鼠与空白大鼠造模后体重、饮食、饮水情况比较(表 1) 造模期间,脾虚大鼠第 3 天开始出现便溏、肛周不洁等表现。从第 5 天,开始出现明显的食欲不振,饮食饮水量减少、嗜卧懒动、便溏(肛周不洁)、第 10 天出现消瘦明显、身体羸弱,毛色晦暗发黄、精神萎靡。与空白大鼠比较,脾虚大鼠造模后体重、饮食及饮水情况均明显下降,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

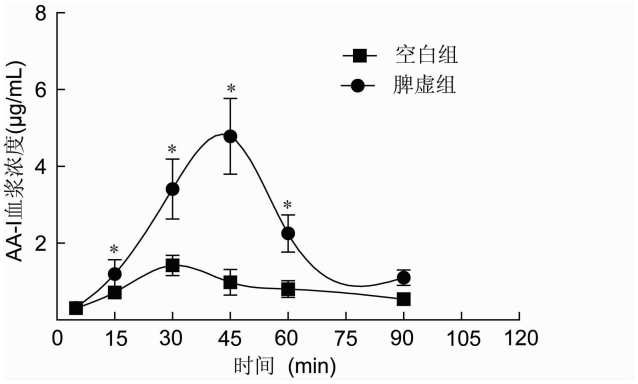
表 1 脾虚大鼠与空白大鼠造模后体重、饮食、饮水情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	*n*	体重(g)	饮食(g)	饮水(mL)
脾虚大鼠	28	236.88 ±6.62*	8.14 ±1.7*	9.17 ±2.03*
空白大鼠	18	317.19 ±4.68	25.56 ±0.98	24.20 ±1.11

注:与空白大鼠比较,*$P < 0.01$

2 空白组及脾虚组大鼠血浆中 AA-I 代谢曲线(图 1) 脾虚组大鼠灌胃后 45 min 时体内 AA-I 血浆浓度值达到峰值,较空白组峰值时间延后。但与空白

组比较，脾虚组大鼠灌胃后 15、30、45、60 min 时体内 AA-I 血浆浓度值明显较高，差异有统计学意义（$P < 0.05$）。



注：与空白组比较，$^{*}P < 0.05$

图 1　脾虚组及空白组大鼠 AA-I 血浆浓度曲线　（$n = 6$）

3　脾虚组肾、大肠、小肠 3 种组织中 AA-I 组织浓度比较（图 2）　从 5 min 开始，3 种组织浓度逐渐升高，45 min 时小肠组织中 AA-I 浓度达到高峰，60 min 时小肠浓度明显下降，但肾组织及大肠组织中 AA-I 浓度明显升高。各组织间及各时间点间比较，差异无统计学意义（$P > 0.05$）。

4　4 组大鼠肾、大肠、小肠中 oatp2a1、oatp2b1 mRNA 表达结果比较（图 3）　与空白组比较，AA-I 组

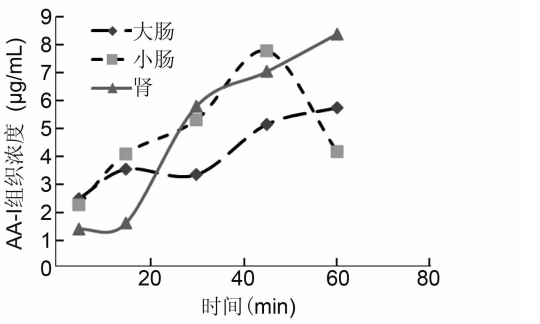
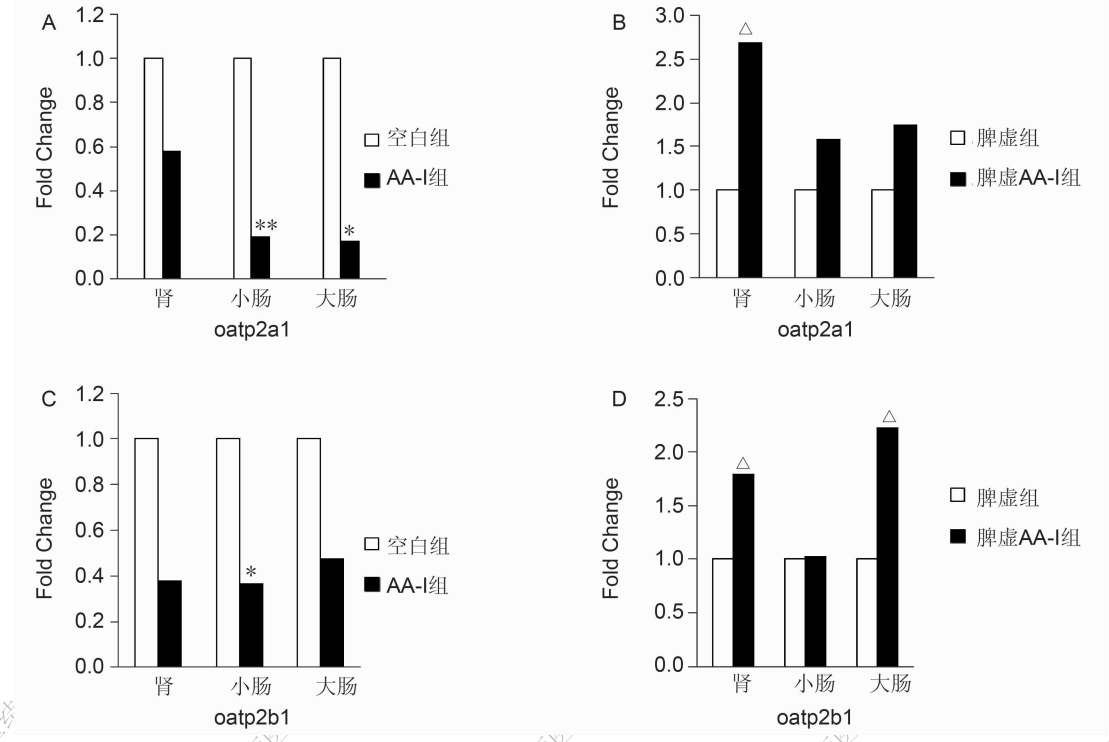


图 2　脾虚组大鼠肾、大肠、小肠组织中 AA-I 浓度曲线

小肠组织 oatp2a1、oatp2b1 mRNA 表达水平明显降低，大肠组织 oatp2a1 mRNA 表达水平明显降低，差异有统计学意义（$P < 0.05$，$P < 0.01$），2 组肾组织 mRNA 表达水平比较，差异无统计学意义（$P > 0.05$）；与脾虚组比较，脾虚 AA-I 组肾组织中 oatp2a1、oatp2b1 mRNA 表达水平明显升高，大肠组织中 oatp2b1 mRNA 表达水平也明显升高，差异有统计学意义（$P < 0.05$）。

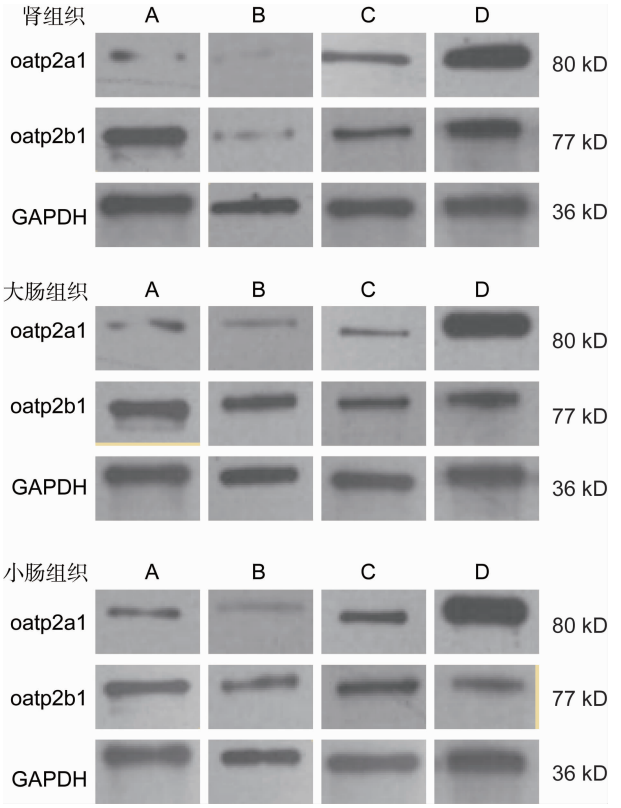
5　4 组大鼠肾、大肠、小肠中 oatp2a1、oatp2b1 蛋白表达情况（图 4）　4 组大鼠在肾、大肠、小肠 3 种组织中均有 oatp2a1、oatp2b1 蛋白表达，AA-I 组肾、大肠、小肠组织中 oatp2a1、oatp2b1 蛋白表达水平较空白组明显降低，而脾虚 AA-I 组肾、大肠、小肠组织中 oatp2a1、oatp2b1 蛋白表达水平较脾虚组明显升高。



注：与空白组比较，$^{*}P < 0.05$，$^{**}P < 0.01$；与脾虚组比较，$^{\triangle}P < 0.05$

图 3　4 组大鼠肾、大肠、小肠组织中 oatp2a1、oatp2b1 mRNA 表达（$n = 6$，$\bar{x} \pm s$）

中国中西医结合杂志



注:A 为空白组,B 为 AA - I 组,C 为脾虚组,D 为脾虚 AA-I 组

图 4　4 组肾、大肠、小肠组织 oatp2a1、oatp2b1 蛋白表达

讨　论

中医关于脾肾相关理论主要表现在以下两个方面:一为先后天根本论:肾为先天之本,主藏精气;脾为后天之本,主生气血,即"先天生后天,后天济先天"之脾肾相互资生关系;二为脾肾为病相互传变的关系,如《景岳全书》所说:"或先伤于气,气伤必及于精;或先伤于精,精伤必及于气",临床上可见脾病及肾,肾病及脾的传变规律。自邓铁涛教授在 1960 年开始集中研究脾肾相关理论,以健脾补肾的方法创建强肌健力方治疗运动神经元疾病并取得一定成效[14,15]。以上实验研究从客观临床到微观免疫等方面对脾肾关系的深入探讨,对脾肾本质的研究有了一定的进步,但仍处于研究的初始阶段,中医脾肾相互调节的物质基础仍待进一步阐明。

有研究发现脾肾虚同脂质代谢、内环境性激素代谢密切相关[15,16]。而本实验从脾虚角度入手,研究脾虚状态下 AA-I 代谢同肾、大肠、小肠组织中 oatp2a1、oatp2b1 的表达之间的相互关系来探讨脾肾在物质代谢中的相关关系。

AA-I 是 AA 类化合物中最常见的一种,具有潜在肾毒性、神经毒性、致基因突变的毒性物质,大鼠予 AA-I 灌胃后可迅速分布到多种脏器中,其分布半衰期为 0.68 h,大多数经肠道及尿液所清除[17,18]。研究发现 AA-I 口服 LD50 剂量为 203.4 mg/kg[19],本实验给予安全剂量的 AA-I (20 mg/kg)一次灌胃,发现在脾虚大鼠体内 AA-I 的血药浓度从 5 min 开始较空白组升高,45 min 时达高峰,峰值时间较空白组延后,说明脾虚状态下机体对 AA-I 这种外来性物质吸收转输出现障碍,可能与脾虚相关。但在 60 min 时间点血药浓度可迅速下降至与空白组类似的浓度,可见脾虚状态下机体对 AA-I 的代谢有一定的适应性调节代偿机制,以维持内环境的稳态。从脾虚组中各组织 AA-I 组织浓度的结果中发现 60 min 时肾及大肠中 AA-I 浓度明显升高,提示肾、大肠可能是脾虚大鼠中 AA-I 代谢的代偿脏器。

为进一步证实肾及大肠在在脾虚状态下的 AA-I 代谢中的代偿机制,本实验观察到在 60 min 时间点,脾虚及空白组大鼠肾脏、大肠、小肠组织中 oatp2a1、oatp2b1 的 mRNA 表达也发生了改变。oatps 属于溶质载体超家族,是动物内重要的膜转运蛋白,其分布广泛,分布在胃肠道、肝脏、肾脏等脏器中,介导多种内、外源物质的跨细胞转运,对保持机体及细胞内外环境的稳态平衡起着重要作用,不同组织中 oatps 的表达对其底物的代谢影响同该组织的生理功能密切相关,oatps 可介导细胞摄取大量结构各异的药物,在药物代谢的作用得到广泛公认[8,20]。实验发现在脾虚 AA-I 组 60 min 时间点,肾组织中 oatp2a1、oatp2b1 表达升高,大肠组织中 oatp2b1 表达也升高,说明肾及大肠中物质的跨膜转运增多,体内物质浓度发生改变,同此时间点大肠、肾组织中 AA-I 浓度明显升高,与血药浓度明显降低相吻合,以上结论说明 AA-I 血药浓度的改变同肾、大肠、小肠 3 种组织中 oatp2a1、oatp2b1 表达改变相关。oatp2a1、oatp2b1 可能是 AA-I 代谢的内源性机制之一。并提示脾虚情况下,机体对 AA-I 的排泄通过提高肾、大肠对其的排泄作用而维持内环境的稳定,脾肾可相互为用,相辅相成。

脾虚影响小肠分清泌浊功能,AA-I 在体内聚集,45 min 时小肠组织中 AA-I 浓度最高。但在 60 min 时,小肠组织中浓度下降,肾及大肠组织中 AA-I 浓度升高,此时肾组织中 oatp2a1、oatp2b1 表达明显升高,大肠组织中 oatp2b1 表达也升高,AA-I 跨膜转运增加,提示 AA-I 可通过增加肾、大肠组织的 oatps 转运将体内聚集的高浓度 AA-I 排出体外。大肠主传导,主排泄代谢废物;肾为水脏,可下接脾所散之精通过肾

之气化作用而排泄糟粕。说明脾虚状态下,肠道对 AA-I 代谢机制受损,此时机体通过加强对肠道及肾脏的调节机制加强 AA-I 的代谢以维持机体的稳态,是机体的一种自身代偿调节,体现脾肾之间的相互协调作用。同时也反应在脾虚情况下,AA-I 可能在肾脏中的积蓄作用加重,从脾虚到肾虚是一个渐进的过程,皆提示脾病可及肾,为脾肾相关理论提供佐证。

但本实验仅仅使用小剂量 AA-I 1 次灌胃,并局限于 1 h 内的观察,未见肾功能及形态的改变。在此实验的基础上,日后可进一步通过脾虚慢性 AA-I 蓄积模型,进一步观察肾脏功能的改变,完善脾病及肾的实验研究。

参 考 文 献

[1] 刘征堂,韦云,吴斌龙. 脾肾相关理论及其应用——脾胃学说传承与应用专题系列(7)[J]. 中医杂志, 2012, 56(16): 1351 -1355.

[2] 邢文文. 王宝亮教授从脾肾论治运动神经元病[J]. 光明中医, 2012, 28(03): 448 -449.

[3] 陈芝喜,刘小斌,周名璐,等. 健脾补肾药对脾虚大鼠细胞因子水平的影响(英文) [J]. 中国临床康复, 2004, 8(24): 5186 -5188.

[4] 刘成丽,刘小斌. 邓铁涛脾肾相关理论在运动神经元疾病中的应用[J]. 江苏中医药, 2009, 41(5): 15 -16.

[5] 邹慧,黄德珍,苗春华. 痛风从脾肾论治[J]. 辽宁中医学院学报, 2005, 7(2): 102 -103.

[6] 马济佩,何立群,郑平东. 慢性肾衰患者尿毒症毒素水平与中医辨证分型之间关系的临床研究[J]. 四川中医, 2005, 23(2): 21 -22.

[7] 朱运平. 骨质疏松症从脾肾论治及相关机理探讨[J]. 中医药临床杂志, 2004, 16(6): 589 -590.

[8] Takanohashi T, Kubo S, Arisaka H, et al. Contribution of organic anion transporting polypeptide (oatp) 1B1 and oatp1B3 to hepatic uptake of nateglinide, and the prediction of drug-drug interactions via these transporters[J]. J Pharm Pharmacol, 2012, 64(2): 199 -206.

[9] Hagenbuch B, Gui C. Xenobiotic transporters of the human organic anion transporting polypeptide (oatp) family[J]. Xenobiotica, 2008, 38(7 -8): 778 -801.

[10] 项婷,任斌,杨彰斌,等. 基于 AA-I 代谢中 oatp2b1 动态表达探讨脾虚证湿浊转运的机制[J]. 中国中医药科技, 2014, 21(4): 349 -352.

[11] 杨璋斌,孙保国,项婷,等. 脾虚湿困大鼠有机阴离子转运肽2a1、2 b1 和4a1 动态表达的探讨:中医湿浊转运机理研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(8): 2033 -2036.

[12] 赵宁,贾红伟,张皖东,等. 利血平所致脾虚大鼠脾阳虚证和脾气虚证的证候属性[J]. 中医杂志, 2008, 52(5): 449 -452.

[13] 吴敏江,张诗军,项婷,等. 高效液相色谱法测定大鼠组织样品中马兜铃酸 A 的含量[J]. 热带医学杂志, 2013, 13(3): 282 -284.

[14] 王立峰,陈芝喜,赵慧,等. 强肌健力方对脾肾两虚证大鼠胸腺增殖细胞核抗原表达的影响[J]. 中医杂志, 2011, 55(7): 585 -588.

[15] 陈芝喜,徐志伟,刘小斌,等. 强肌健力饮对脾虚大鼠性激素水平的影响[J]. 放射免疫学杂志, 2008, 21(1): 37 -41.

[16] 陈津岩,王立峰,赵慧,等. 右归丸对脾肾两虚证大鼠甲状腺激素及环核苷酸水平的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2009, 26(4): 377 -380.

[17] 尹广,刘正钊,刘志红,等. 不同剂型、不同剂量马兜铃酸药物导致马兜铃酸肾病临床病理特征[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2010, 24(7): 664 -667.

[18] 刘莎,杜贵友,李丽,等. 马兜铃酸-I 在大鼠体内的毒代动力学及组织分布研究[J]. 药物不良反应杂志, 2006, 8(3): 169 -174.

[19] 熊静悦,谭正怀. 马兜铃酸的主要毒性作用及其相关机制[J]. 四川中医, 2011, 29(9): 39 -42.

[20] Wlcek K, Svoboda M, Riha J, et al. The analysis of organic anion transporting polypeptide (oatp) mRNA and protein patterns in primary and metastatic liver cancer[J]. Cancer Biol Ther, 2011, 11(9): 801 -811.

(收稿:2014 -01 -01　修回:2015 -02 -09)

中国中西医结合杂志