

芒果苷促进高尿酸血症小鼠尿酸排泄和肾功能改善以及调节相关肾脏转运体的作用

胡庆华[‡], 张 宪[‡], 王 钰, 孔令东^{*}

(南京大学医药生物技术国家重点实验室, 江苏 南京 210093)

摘要: 在氧嗪酸钾盐诱导小鼠产生高尿酸血症模型上, 研究芒果苷促进尿酸排泄和肾功能改善以及调节相关肾脏转运体的作用。实验动物随机分为正常对照组、高尿酸血症模型对照组、芒果苷 50、100 和 200 mg·kg⁻¹ 剂量组、别嘌醇 5 mg·kg⁻¹ 剂量组。每天在灌胃给予氧嗪酸钾盐 (250 mg·kg⁻¹) 1 h 后灌胃给药, 连续 7 天。分别测定血清尿酸、肌酐与尿素氮水平及尿液尿酸和肌酐水平。采用 RT-PCR 和 Western blotting 方法分别测定动物肾脏转运体 mRNA 及蛋白表达水平。采用 ELISA 方法检测血清、尿液和肾脏尿调素 (UMOD) 含量。与模型对照组比较, 芒果苷显著降低高尿酸血症小鼠血清尿酸、肌酐和尿素氮水平, 提高 24 h 尿液尿酸和肌酐排泄量以及尿酸排泄分数, 具有促进肾脏尿酸排泄和保护肾功能作用。研究发现, 芒果苷显著下调高尿酸血症小鼠肾脏尿酸盐重吸收转运体 1 (mURAT1) 和葡萄糖转运体 9 (mGLUT9) mRNA 和蛋白表达并上调肾脏有机阴离子转运体 1 (mOAT1) 表达, 提示芒果苷可能通过抑制肾脏尿酸重吸收和增加尿酸分泌而促进高尿酸血症小鼠尿酸排泄以降低血清尿酸水平。另外, 芒果苷显著上调肾脏有机阳离子和肉毒碱转运体 (mOCT1、mOCT2、mOCTN1 和 mOCTN2) 表达水平、提高尿液 mUMOD 水平并降低血清和肾脏 mUMOD 水平, 这些发现可能与其改善肾功能作用有关。

关键词: 芒果苷; 高尿酸血症; 肾脏转运体; 尿调素

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 10-1239-08

Mangiferin promotes uric acid excretion and kidney function improvement and modulates related renal transporters in hyperuricemic mice

HU Qing-hua[‡], ZHANG Xian[‡], WANG Yu, KONG Ling-dong^{*}

(State Key Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: The effects of mangiferin on uric acid excretion, kidney function and related renal transporters were investigated in hyperuricemic mice induced by potassium oxonate. Mice were divided into normal control group, and 5 hyperuricemic groups with model control, 50, 100, and 200 mg·kg⁻¹ mangiferin, and 5 mg·kg⁻¹ allopurinol. Mice were administered by gavage once daily with 250 mg·kg⁻¹ potassium oxonate for seven consecutive days to create the model. And 3 doses of mangiferin were orally initiated on the day 1 h after potassium oxonate was given, separately. Serum uric acid, creatinine and urea nitrogen levels, as well as urinary uric acid creatinine levels were measured. Mouse uromodulin (mUMOD) levels in serum, urine and kidney were determined by ELISA method. The mRNA and protein levels of related renal transporters

收稿日期: 2010-05-05.

基金项目: 教育部 2006 年新世纪优秀人才支持计划项目 (NCET-06-0442).

[‡]同为第一作者

^{*}通讯作者 Tel / Fax: 86-25-83594691, E-mail: kongld@nju.edu.cn

were assayed by RT-PCR and Western blotting methods, respectively. Compared to model group, mangiferin significantly reduced serum uric acid, creatinine and urea nitrogen levels, increased 24 h uric acid and creatinine excretion, and fractional excretion of uric acid in hyperuricemic mice, exhibiting uric acid excretion enhancement and kidney function improvement. Mangiferin was found to down-regulate mRNA and protein levels of urate transporter 1 (mURAT1) and glucose transporter 9 (mGLUT9), as well as up-regulate organic anion transporter 1 (mOAT1) in the kidney of hyperuricemic mice. These findings suggested that mangiferin might enhance uric acid excretion and in turn reduce serum uric acid level through the decrease of uric acid reabsorption and the increase of uric acid secretion in hyperuricemic mice. Moreover, mangiferin remarkably up-regulated expression levels of renal organic cation and carnitine transporters (mOCT1, mOCT2, mOCTN1 and mOCTN2), increased urine mUMOD levels, as well as decreased serum and kidney mUMOD levels in hyperuricemic mice, which might be involved in mangiferin-mediated renal protective action.

Key words: mangiferin; hyperuricemia; renal transporter; uromodulin

高尿酸血症是严重危害人类健康的常见代谢性疾病。它是痛风发作的重要病理基础,更是高血压、冠心病、肥胖症及胰岛素抵抗等疾病发生的危险因素,并增加心血管疾病和糖尿病死亡率。肾脏排泄尿酸功能失常是导致高尿酸血症的主要原因之一^[1]。肾脏 SLC22 基因家族有机阴离子转运体 (OATs) 可调节肾脏尿酸排泄,其中 OAT1 (SLC22A6) 是尿酸盐分泌的重要转运体^[2],而尿酸-阴离子交换转运体 1 (URAT1、SLC22A12) 是肾脏尿酸重吸收的主要转运体^[3]。近期研究发现,SLC2A 家族 SLC2A9 (葡萄糖转运体 9, GLUT9) 影响肾脏尿酸重吸收机制,是决定机体尿酸平衡的关键因素之一^[4]。高尿酸血症易引起肾功能损害。SLC22A 基因家族有机阳离子及肉毒碱转运体 (OCTs 和 OCTNs) 介导肾脏有机阳离子吸收与排泄而影响肾功能^[5,6]。尿调节素 (UMOD) 是正常尿液含量最为丰富的蛋白,其基因突变与家族型高尿酸血症肾病有关^[7]。提示肾脏转运体和 UMOD 与尿酸排泄和肾功能异常密切相关。国外研究证实,氧嗪酸钾盐所致高尿酸血症大鼠存在肾脏 rOAT1 和 rOCT2 低表达^[8]。本课题组近期也发现,高尿酸血症小鼠肾脏转运体和 mUMOD 表达异常,并以此作为高尿酸血症和肾功能异常主要病理标志物和药物作用新靶点^[9,10]。

芒果苷是双苯吡酮类黄酮化合物,具有抗氧化^[11]、降血糖^[12]和肾功能保护^[13]等作用。本课题组在高尿酸血症小鼠上初步证实,芒果苷具有降低血清尿酸水平的作用^[14],但其调控尿酸失衡和改善肾功能作用机制尚需探索。本文基于前期工作,在评价芒果苷对高尿酸血症小鼠血清和尿液尿酸和 mUMOD 水平、肾功能等影响基础上,重点研究其

对肾脏转运体 mRNA 和蛋白表达及 UMOD 的影响,为其干预高尿酸血症和肾功能异常提供科学依据。

材料与方法

药品和试剂 芒果苷购自南京泽琅公司,纯度为 95%。氧嗪酸钾盐和别嘌醇 (allopurinol) 为美国 Sigma 公司产品;肌酐检测试剂盒、尿素氮检测试剂盒和 mUMOD ELISA 试剂盒均为南京建成生物公司产品。

实验仪器 XHF-D 高速分散器为宁波新芝生物科技股份有限公司产品;3K15 台式高速冷冻离心机为美国 Sigma 公司产品;T6 紫外可见分光光度计为北京普析通用仪器有限责任公司产品;PCR 扩增仪和 ChemiDoc XRS 化学发光成像系统为美国 Bio-Rad 公司产品。

实验动物 72 只雄性昆明种小鼠,体重 (20±2) g,由南京市青龙山实验动物繁殖场提供 (普通级);生产许可证号: SCXK (苏) 2007-0008;自由水食,每天 12 h 照明,环境温度为 (25±2) °C。

动物分组、给药和处理 小鼠随机分为 6 组,每组 12 只,分别为正常对照组 (生理盐水 10 mL·kg⁻¹)、模型对照组 (氧嗪酸钾 250 mg·kg⁻¹)、芒果苷剂量组 (氧嗪酸钾 250 mg·kg⁻¹ + 芒果苷 50 mg·kg⁻¹、氧嗪酸钾 250 mg·kg⁻¹ + 芒果苷 100 mg·kg⁻¹、氧嗪酸钾 250 mg·kg⁻¹ + 芒果苷 200 mg·kg⁻¹)、阳性药对照组 (氧嗪酸钾 250 mg·kg⁻¹ + 别嘌醇 5 mg·kg⁻¹)。每天于 9:00 (am) 分别灌胃 (ig) 给予模型对照组及各给药组氧嗪酸钾,1 h 后各药物组分别灌胃给药,时间为 7 天。正常对照组和模型对照组灌胃给予等量生理盐水。灌

胃给药的体积均为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。在第 5 天给药 1 h 后, 每组分别取 7 只小鼠上代谢笼, 适应 1 天后, 于给药第 6 天收集 24 h 尿液。分别在 $2\,000 \times g$ 离心条件下常温离心 10 min, 取上清液, 测量尿液体积。在第 7 天给药 1 h 后, 小鼠眼球后静脉丛取血 (取血前 12 h 断粮), 在 $10\,000 \times g$ 条件下离心 5 min, 取血清。尿液和血清分别置于 4°C 保存, 用于生化指标测定。然后断颈处死动物, 在冰台上快速分取肾脏组织, 去除膜和髓质, 经液氮冷冻后置于 -70°C 条件下保存, 用于 RT-PCR 和 Western blotting 分析。

生化指标测定 采用磷钨酸还原法测量血清和尿液尿酸 (SUA、UUA) 水平。按照相应试剂盒说明书分别测定血清肌酐 (SCr) 和尿素氮 (BUN) 水平。尿液稀释一定倍数后分别测定肌酐 (UCr) 浓度, 并计算 24 h 尿酸排泄量 (24 h UUA)、肌酐排泄量 (24 h UCr) 以及尿酸排泄分数 (fractional excretion of uric acid, FEUA) $\text{FEUA} = \text{UUA} \times \text{SCr} / (\text{SUA} \times \text{UCr})$ 。另外, 按 ELISA 试剂盒方法分别测定血清、尿和肾脏 UMOD 含量。

肾脏转运体和 mUMOD mRNA 表达的 RT-PCR 测定 分别取各组 0.1 g 肾脏皮层组织加入 Trizol 试剂 (Invitrogen) 1 mL, 按照试剂盒说明书方法提取总 RNA。取总 RNA $3 \mu\text{L}$, 加 DEPC 水 1.5 mL 稀释后在 260 nm 测定吸收度值, 将总 RNA 原液统一稀释至吸收度值为 0.010。利用 1% 琼脂糖凝胶电泳方法在紫外灯下观察总 RNA 完整性。取稀释后 RNA 原液 $5 \mu\text{L}$, 加入 $2 \mu\text{L}$ 的 oligdT18 引物及反转录体系 (m-mlv 酶 $1 \mu\text{L}$ 、 $5 \times$ 反转录 buffer $5 \mu\text{L}$ 、dNTP $1.25 \mu\text{L}$ 、RNA 酶抑制剂 $0.625 \mu\text{L}$ 、 ddH_2O $10.125 \mu\text{L}$) 后合成 cDNA。分别根据基因库中 mURAT1、mGLUT9 (mSLC2A9)、mOAT1、mOCT1、mOCT2、mOCTN1、mOCTN2 和 mUMOD 核苷酸序列, 用 Primer premier 5.0 软件设计引物, 并由南京生兴生物工程技术服务有限公司合成。引物序列分别为: mURAT1 (5'-GCTACCAGAATC GGCACGCT-3', 5'-CACCGGGAAGTCCACAATCC-3'); mGLUT9 (5'-GAGATGCTCATTGTGGGACG-3', 5'-GT GCTACTTCGTCCTCGGT-3'); mOAT1 (5'-ACGGGA AACAAGAAGAGGG-3', 5'-AAGAGAGGTATGGAG GGGTAG-3'); mOCT1 (5'-ACATCCATGTTGCTCTTT CG-3', 5'-TTGCTCCATTATCCTTACCG-3'); mOCT2 (5'-ACAGGTTTGGGCGGAAGT-3', 5'-CACCAGAAA TAGAGCAGGAAG-3'); mOCTN1 (5'-TGTTCTTCGT AGGCGTTCT-3', 5'-TGGAATAAACACCACAGG-3');

mOCTN2 (5'-TCTACGAAGCCTCAGTTGC-3', 5'-ATT CCTTTGACCCTTAGCAT-3'); mUMOD (5'-CGGATAA CGGCAGATGG-3', 5'-GGTAGGGCTCTGGAACAAT-3'); mGAPDH (5'-GAGAAGATTTGGCACCACAC-3', 5'-CATCACAATGCCAGTGGTAC-3')。PCR 反应体系总体积为 $25 \mu\text{L}$ 。PCR 扩增条件为 95°C 预变性 5 min、对应扩增步骤和 72°C 延伸 10 min。mURAT1 和 mGLUT9 扩增步骤为 94°C 变性 30 s、 58°C 退火 35 s、 72°C 延伸 45 s, 共 30 个循环。mOAT1、mOCT1 和 mOCT2 扩增步骤为 94°C 变性 30 s、 58°C 退火 30 s、 72°C 45 s, 共 29 个循环。mOCTN1 和 mOCTN2 扩增步骤为 94°C 变性 30 s、 53°C 退火 35 s、 72°C 延伸 45 s, 共 32 个循环。mUMOD 扩增步骤为 94°C 变性 30 s、 56°C 退火 35 s、 72°C 延伸 45 s, 共 35 个循环。mGAPDH 扩增步骤为 94°C 变性 30 s、 58°C 退火 35 s、 72°C 延伸 45 s, 共 35 个循环。PCR 扩增产物于 -20°C 保存。分别取各组 PCR 产物 $4 \mu\text{L}$, 经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳、溴化乙啶染色后, 在凝胶影像分析仪 (Bio-Rad ChemiDoc XRS) 上进行成像, 并对条带进行吸收度分析。计算待测基因与 mGAPDH 的比值, 从而得到待测基因的相对表达值。

肾脏转运体蛋白表达的 Western blotting 测定 取 0.3 g 肾脏皮层组织, 提取刷状缘蛋白。具体方法: 肾组织在肾脏刷状缘提取缓冲液 buffer 1 ($300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ D-甘露醇、 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EGTA、pH 7.4 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Hepes-Tris) 1 mL 中匀浆, 并加入 $120 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 至终浓度为 $12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 静置 20 min 后在 $2\,400 \times g$ 条件下离心 15 min (4°C), 取其上清液继之在 $30\,000 \times g$ 条件下离心 30 min (4°C)。取沉淀用肾脏刷状缘提取缓冲液 buffer 2 ($150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ D-甘露醇、 $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EGTA、 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ pH 7.4 Hepes-Tris) 悬浮, 并加入 $120 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 至终浓度为 $12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 静置 20 min 后在 $2\,400 \times g$ 条件下离心 15 min (4°C), 取上清液在 $30\,000 \times g$ 条件下离心 30 min (4°C)。所获沉淀在裂解液中溶解, 用考马斯亮蓝法测定蛋白浓度, 并统一稀释至 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。另取 0.1 g 肾脏皮层组织, 提取肾皮层蛋白。具体方法: 在肾组织中加入裂解液 1 mL, 继之加入 PMSF 溶液 $10 \mu\text{L}$ 匀浆, 匀浆液在 $12\,000 \times g$ 条件下离心 20 min (4°C), 取上清液, 用考马斯亮蓝法测量蛋白浓度, 并统一稀释至 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。上述所提取的刷状缘膜蛋白及肾脏皮层蛋白均按如下进行操作: 经 12% SDS-PAGE 电泳分离后, 在 300 mA 条件下将蛋白转

移到 PVDF 膜上 (100 min)。在 5% 脱脂奶粉封闭 2 h 后, 刷状缘膜蛋白分别用 mURAT1 (1:500)、mOCTN1 (1:1 000)、mOCTN2 (1:1 000) 一抗和内参 mNa⁺-K⁺ ATPase (1:1 000); 肾脏皮层蛋白分别用 mGLUT9 (1:2 000)、mOAT1 (1:2 000)、mOCT1 (1:2 000)、mOCT2 (1:2 000) 一抗和内参 mGAPDH (1:5 000), 在 4 °C 条件下孵育过夜。PVDF 膜经 0.5% TBS-T 溶液洗膜 3 次, 每次 5 min。继之 PVDF 膜再与 HRP 标记的二抗 (1:6 000) 进行反应, 室温摇床轻摇 4 h 后再用 0.5% TBS-T 溶液洗膜 3 次, 每次 5 min。在膜上加入 TMB 显色液, 显示的条带扫描后在凝胶影像分析仪上分析条带。

数据处理及统计 所有实验数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 SPSS13.0 进行单因素方差分析 (ANOVA) 考察模型对照组与正常对照组、模型对照组与给药组之间的统计学差异, 各组间比较采用 *t* 检验。

结果

1 芒果苷对高尿酸血症小鼠血清尿酸水平的影响

与正常对照组比较, 模型对照组小鼠血清尿酸水平显著增加, 表明高尿酸血症动物模型建模成功。与模型对照组比较, 芒果苷各剂量组 (50、100 和 200 mg·kg⁻¹) 和别嘌醇组 (5 mg·kg⁻¹) 均可有效降低模型动物血清尿酸水平。随剂量增加, 芒果苷的降尿酸作用有增强趋势 (表 1)。

2 芒果苷对高尿酸血症小鼠尿酸排泄和肾功能的影响

与正常对照组比较, 模型对照组小鼠血清肌酐和血清尿素氮水平显著升高, 24 h 尿液尿酸和肌酐排泄量显著减少, 随之尿酸排泄分数显著降低, 表明高尿酸血症小鼠肾脏尿酸排泄减少及肾功能下降。与模型对照组比较, 芒果苷 (100 和 200 mg·kg⁻¹) 组及

别嘌醇 (5 mg·kg⁻¹) 组显著逆转高尿酸血症小鼠血清肌酐和尿素氮的升高。芒果苷各剂量组和别嘌醇 (5 mg·kg⁻¹) 组均显著提高模型动物 24 h 尿液尿酸和肌酐排泄量及尿酸排泄分数。结果表明, 芒果苷具有促进高尿酸血症小鼠肾脏尿酸排泄和改善肾功能的作用 (表 1 和表 2)。

3 芒果苷对高尿酸血症小鼠肾脏转运体 mRNA 表达的影响

与正常对照组比较, 模型对照组小鼠肾脏 mURAT1 和 mGLUT9 mRNA 表达升高, 而 mOAT1、mOCT1、mOCT2、mOCTN1 和 mOCTN2 mRNA 表达均下降。与模型对照组比较, 芒果苷 (200 mg·kg⁻¹) 可下调高尿酸血症小鼠肾脏 mURAT1 和 mGLUT9 mRNA 表达, 并上调 mOAT1、mOCT1、mOCT2、mOCTN1 和 mOCTN2 mRNA 表达。芒果苷 (100 mg·kg⁻¹) 及别嘌醇 (5 mg·kg⁻¹) 对 mGLUT9 mRNA 表达无显著影响, 但对其他转运体均有一定的作用 (图 1 和图 2)。

4 芒果苷对高尿酸血症小鼠肾脏转运体蛋白表达的影响

与正常对照组比较, 模型对照组小鼠肾脏 mURAT1 和 mGLUT9 蛋白表达升高, 而 mOAT1、mOCT1、mOCT2、mOCTN1 和 mOCTN2 蛋白表达均下降。与模型对照组比较, 芒果苷 (200 mg·kg⁻¹) 能显著逆转上述模型动物肾脏转运体的异常表达。芒果苷 (100 mg·kg⁻¹) 可下调 mGLUT9 蛋白表达、上调 mOCT2 和 mOCTN2 蛋白表达。别嘌醇 (5 mg·kg⁻¹) 对 mGLUT9 蛋白表达无显著影响, 但对其他转运体均有一定作用 (图 1 和图 2)。

5 芒果苷对高尿酸血症小鼠血清、尿液及肾脏 mUMOD 水平和表达的影响

与正常对照组比较, 模型对照组小鼠肾脏和血

Table 1 Effects of mangiferin on biochemical indexes in serum and urine in hyperuricemic mice. *n* = 7, $\bar{x} \pm s$. ^{##}*P* < 0.01, ^{###}*P* < 0.001 vs normal group; **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001 vs model group. SUA: Serum uric acid; SCr: Serum creatinine; 24 h UUA: 24 h excretion of uric acid; 24 h UCr: 24 h excretion of creatinine; FEUA: Fractional excretion of uric acid

Group	Dose/mg·kg ⁻¹	SUA/mg·dL ⁻¹	SCr/mg·dL ⁻¹	24 h UUA/mg	24 h UCr/mg	FEUA
Normal (vehicle)		4.17 ± 0.07	0.96 ± 0.02	0.37 ± 0.03	0.49 ± 0.05	19.6 ± 0.8
Model (vehicle)		5.55 ± 0.39 ^{##}	1.21 ± 0.06 ^{##}	0.18 ± 0.03 ^{###}	0.23 ± 0.02 ^{###}	14.5 ± 1.1 ^{##}
Allopurinol	5	3.92 ± 0.16 ^{**}	0.95 ± 0.02 ^{**}	0.31 ± 0.02 ^{**}	0.47 ± 0.01 ^{***}	20.6 ± 1.5 ^{**}
Mangiferin	50	4.48 ± 0.13 [*]	0.99 ± 0.05 [*]	0.21 ± 0.01	0.27 ± 0.01	21.4 ± 2.8 [*]
	100	4.39 ± 0.11 [*]	1.05 ± 0.02 [*]	0.29 ± 0.03 [*]	0.31 ± 0.03 [*]	17.2 ± 1.0 [*]
	200	4.31 ± 0.07 ^{**}	0.93 ± 0.02 ^{***}	0.31 ± 0.03 ^{**}	0.46 ± 0.05 ^{**}	23.2 ± 1.9 ^{**}

Table 2 Effects of mangiferin on mUMOD levels in serum, urine or renal and BUN level in serum in hyperuricemic mice. $n = 7$, $\bar{x} \pm s$. $^{###}P < 0.01$ vs normal group; $^{**}P < 0.01$ vs model group. BUN: Blood urea nitrogen; SUMOD: Serum UMOD; UUMOD: Urine UMOD; RUMOD: Renal UMOD

Group	Dose/mg·kg ⁻¹	BUN/mg·dL ⁻¹	SUMOD/ μ g·mL ⁻¹	UUMOD/mg·mL ⁻¹	RUMOD/mg·g ⁻¹ (wet tissue)
Normal (vehicle)		14.2 $\pm$ 0.4	5.25 $\pm$ 0.07	0.73 $\pm$ 0.02	7.9 $\pm$ 0.3
Model (vehicle)		17.0 $\pm$ 0.6 ^{##}	5.80 $\pm$ 0.15 ^{##}	0.65 $\pm$ 0.01 ^{##}	10.3 $\pm$ 0.7 ^{##}
Allopurinol	5	14.9 $\pm$ 0.3 ^{**}	5.12 $\pm$ 0.09 ^{**}	0.73 $\pm$ 0.02 ^{**}	8.0 $\pm$ 0.4 ^{**}
Mangiferin	50	15.8 $\pm$ 0.5	5.19 $\pm$ 0.18 ^{**}	0.65 $\pm$ 0.02	9.2 $\pm$ 0.6
	100	16.5 $\pm$ 0.3	5.16 $\pm$ 0.12 ^{**}	0.74 $\pm$ 0.05	8.3 $\pm$ 0.5 ^{**}
	200	14.7 $\pm$ 0.4 ^{**}	5.09 $\pm$ 0.14 ^{**}	0.72 $\pm$ 0.01 ^{**}	7.7 $\pm$ 0.4 ^{**}

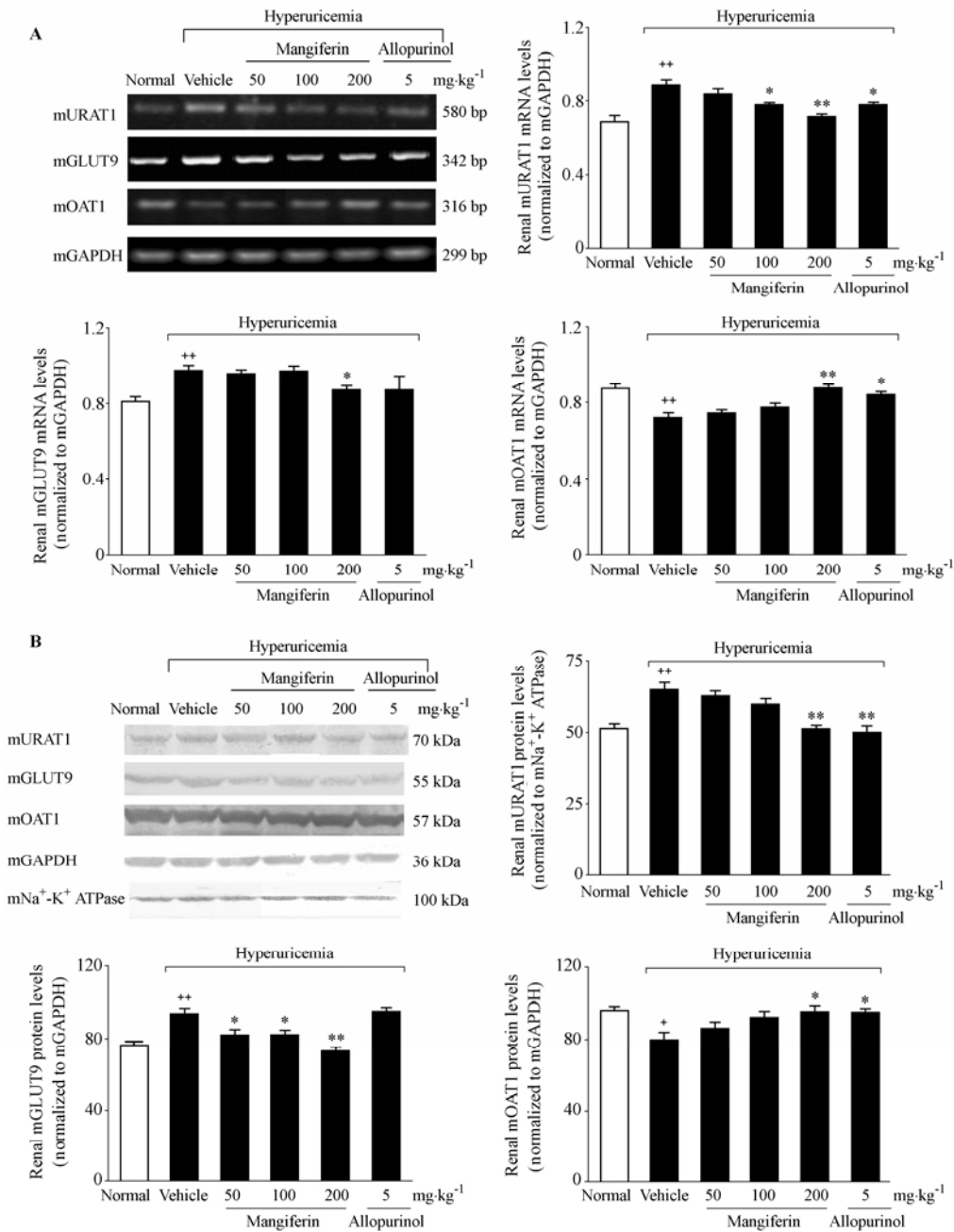


Figure 1 Effects of mangiferin on the mRNA (A) and protein (B) levels of renal mURAT1, mGLUT9 and mOAT1 in hyperuricemic mice. $n = 4$, $\bar{x} \pm s$. $^{+}P < 0.05$, $^{++}P < 0.01$ vs normal group; $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ vs model (vehicle) group

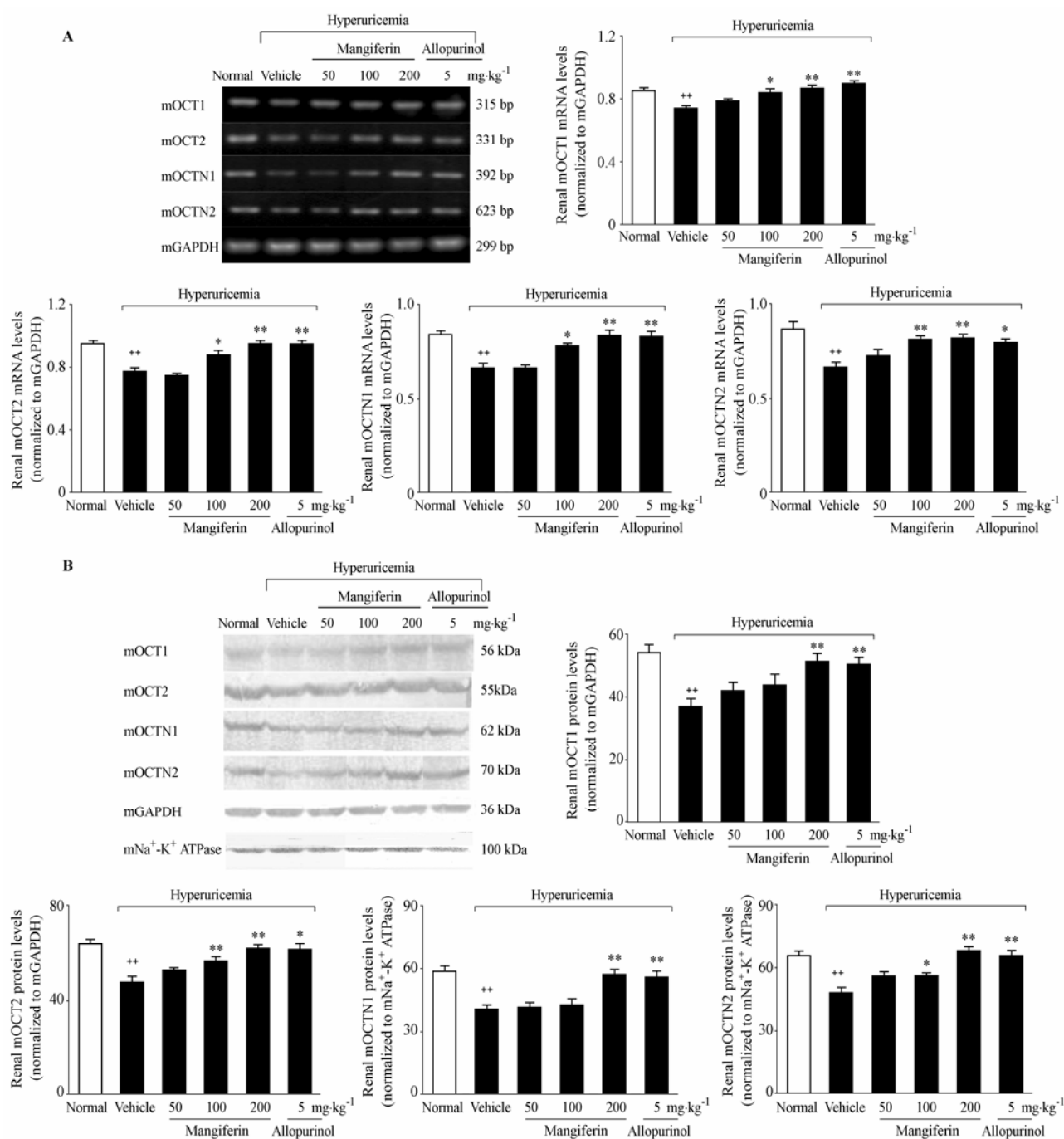


Figure 2 Effects of mangiferin on the mRNA (A) and protein (B) levels of renal mOCT1, mOCT2, mOCTN1 and mOCTN2 in hyperuricemic mice. $n = 4$, $\bar{x} \pm s$. $^{++}P < 0.01$ vs normal group; $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ vs model (vehicle) group

清 UMOD 水平显著增加、尿液 UMOD 水平显著减少、肾脏 mUMOD mRNA 上调。与模型对照组比较, 芒果苷 ($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和别嘌醇 ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 均可有效降低肾脏和血清 UMOD 水平、增加尿液 UMOD 水平、下调肾脏 mUMOD mRNA 表达。而芒果苷 ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 仅降低肾脏和血清 UMOD 水平 (表 2 和图 3)。

讨论

本研究在前期工作基础上^[14], 参考芒果苷改善动物肾损伤所报道的剂量范围^[15, 16], 并结合本课题组在连续 7 天口服给予氧嗪酸钾 ($250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 所引起高尿酸血症小鼠模型上预实验的结果, 确定用于研究芒果苷干预高尿酸血症和肾功能异常的剂量。本研究证实, 芒果苷具有降低高尿酸血症小鼠血清

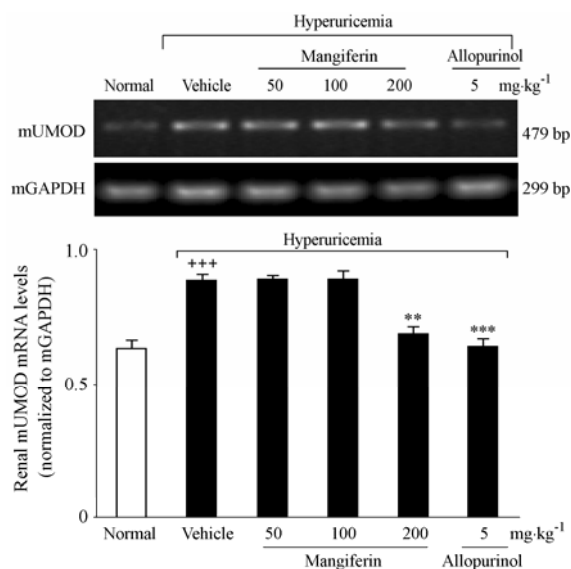


Figure 3 Effects of mangiferin on the mRNA levels of renal mUMOD in hyperuricemic mice. $n = 4$, $\bar{x} \pm s$. *** $P < 0.001$ vs normal group; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs model (vehicle) group

尿酸水平作用, 并发现其可缓解肾脏尿酸和肌酐排泄的减少及尿酸排泄分数的降低, 提示芒果苷具有促进肾脏尿酸排泄作用。同时, 芒果苷可降低高尿酸血症小鼠血清肌酐和尿素氮等水平, 具有肾功能保护作用。进一步研究发现, 芒果苷所具上述作用的机制可能是基于其对肾脏 mURAT1、mGLUT9、mOAT1、mOCT1、mOCT2、mOCTN1 和 mOCTN2 等转运体及 mUMOD 的调节作用。

URAT1 和 GLUT9 在肾脏尿酸重吸收过程中起重要作用^[3, 4]。本研究发现, 芒果苷可下调高尿酸血症小鼠肾脏 mURAT1 和 mGLUT9 mRNA 和蛋白表达, 提示芒果苷可能抑制该模型动物肾脏近曲小管细胞对尿酸的重吸收作用。OAT1 可驱动近曲小管基底膜能量依赖性尿酸分泌过程^[3]。本研究发现, 芒果苷上调高尿酸血症小鼠肾脏 mOAT1 mRNA 和蛋白表达, 提示其可能具有促进尿酸分泌作用。这些研究结果表明, 芒果苷促进高尿酸血症小鼠肾脏尿酸排泄以降低血清尿酸水平与其调节肾脏有机阴离子转运体表达作用密切相关。mURAT1、mGLUT9 和 mOAT1 可作为芒果苷干预高尿酸血症新的作用靶点。

肾脏转运体在肾脏近曲小管细胞有机阴离子和阳离子转运中起主要作用, 其表达异常与肾功能受损有关。本研究证实, 芒果苷能恢复高尿酸血症小鼠肾脏 mOCT1、mOCT2、mOCTN1 及 mOCTN2 mRNA

和蛋白异常表达至正常, 这与其改善肾功能作用一致。结果提示, 芒果苷可能通过降低高尿酸血症状态下动物内源性和外源性有害物质在肾脏中的积累改善肾功能。

UMOD 在肾脏损伤和高尿酸血症中具有重要作用。芒果苷可提高高尿酸血症小鼠尿液 UMOD 水平, 降低血清 UMOD 水平, 并恢复肾脏 UMOD 水平和 mUMOD mRNA 表达。研究表明, 芒果苷可能部分通过调节 UMOD 以改善动物高尿酸血症状态下的肾功能。另外, 本研究观察到芒果苷对高尿酸血症小鼠 UMOD 作用与其对肾脏转运体调节作用一致, 提示芒果苷可能通过改善 UMOD 水平和表达, 使高尿酸血症小鼠肾脏转运体转运尿酸和其他有机离子功能恢复正常。这些研究结果为芒果苷作为潜在治疗高尿酸血症和肾损伤的候选药物提供了有力的证据。

References

- [1] Choi HK, Mount DB, Reginato AM. Pathogenesis of gout [J]. *Ann Intern Med*, 2005, 143: 499–516.
- [2] 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: 848–857.
- [3] Enomoto A, Kimura H, Chairoungdua A, et al. Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels [J]. *Nature*, 2002, 417: 447–452.
- [4] Vitart V, Rudan I, Hayward C, et al. SLC2A9 is a newly identified urate transporter influencing serum urate concentration, urate excretion and gout [J]. *Nat Genet*, 2008, 40: 437–442.
- [5] Karch H, Kricke J, Meyer-Wentrup F, et al. Localization of organic cation transporters OCT1 and OCT2 in rat kidney [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2000, 279: 679–687.
- [6] Wang FC, Guo RC. Advances in the study of regulation of novel organic cation transporter-2 [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2009, 44: 1061–1065.
- [7] Calado J, Gaspar FJ, Clement C, et al. A novel heterozygous missense mutation in the UMOD gene responsible for familial juvenile hyperuricemic nephropathy [J]. *BMC Med Genet*, 2005, 6: 5–9.
- [8] Yasushi H, Ikuko Y, Ayako T, et al. Decreased activity of basolateral organic ion transports in hyperuricemic rat kidney: roles of organic ion transporters, rOAT1, rOAT3 and rOCT2 [J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 66: 1107–1114.

- [9] Hu QH, Wang C, Li JM, et al. Allopurinol, rutin, and quercetin attenuate hyperuricemia and renal dysfunction in rats induced by fructose intake: renal organic ion transporter involvement [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 297: 1080-1091.
- [10] Hu QH, Jiao RQ, Wang X, et al. Simiao pill ameliorates urate underexcretion and renal dysfunction in hyperuricemic mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 128: 685-692.
- [11] Sanchez GM, Re L, Giuliani A, et al. Protective effects of *Mangifera indica* L. extract, mangiferin and selected antioxidants against TPA-induced biomolecules oxidation and peritoneal macrophage activation in mice [J]. *Pharmacol Res*, 2000, 42: 565-573.
- [12] Garciaa D, Delgadob R, Ubeira FM. Modulation of rat macrophage function by the *Mangifera indica* L. extracts vimang and mangiferin [J]. *Int Immunopharmacol*, 2002, 2: 797-806.
- [13] Muruganandan S, Gupta S, Kataria M, et al. Mangiferin protects the streptozotocin-induced oxidative damage to cardiac and renal tissues in rats [J]. *Toxicology*, 2002, 176: 165-173.
- [14] Mo SF. Effects of Flavonoids on Serum and Hepatic Uric Acid Levels in Mice and Xanthine Dehydrogenase and Xanthine Oxidase Activities in Mouse Liver (黄酮类化合物对小鼠尿酸水平及相关酶活性影响的研究) [D]. Nanjing: Nanjing University, 2006.
- [15] Prabhu S, Jainua M, Sabithaa KE, et al. Role of mangiferin on biochemical alterations and antioxidant status in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 107: 126-133.
- [16] Li X, Cui XB, Sun XY, et al. Mangiferin prevents diabetic nephropathy progression in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Phytother Res*, 2010, 24: 893-899.

欢迎订阅 2011 年《药学报》

《药学报》(CN: 11-2163/R, ISSN: 0513-4870)是由中国药学会主办、中国医学科学院药物研究所承办、国内外公开发行的药学综合性学术期刊。辟有栏目:述评和综述、研究论文、研究简报、学术动态。本刊自 1953 年创刊以来,一直报道药学领域原始性、创新性科研成果,旨在促进国内外学术交流。刊登论文内容包括药理学、合成药物化学、天然药物化学、药物分析学、药剂学、生药学等。

《药学报》为我国自然科学核心期刊,据中国科学引文数据库的统计数据,在中国科技核心期刊排行表中,《药学报》名列前茅,在药学类期刊中居首位;本刊已被世界主要检索系统收录,为我国药学界高水平的学术刊物,在国际上享有一定知名度。本刊 1999 年荣获首届“国家期刊奖”,2001 年入选中国期刊方阵“双高”(高知名度、高学术水平)期刊;2002 年被评为第二届“国家期刊奖百种重点科技期刊”,并荣获第三届“中国科技优秀期刊奖”二等奖;2002~2008 年连续 7 届荣获“百种中国杰出学术期刊”称号;2008、2009 年获得中国科协精品科技期刊工程项目资助(B类)。

本刊为 128 页,月刊,大 16 开本。每期定价 40 元,全年定价 480 元。国内邮发代码:2-233,国外代码:M105。欢迎广大作者踊跃投稿,欢迎广大读者订阅。可采用的订阅方式如下:

- 通过当地邮局;
- 通过 E-mail (yxxb@imm.ac.cn) 或从网上 (www.yxxb.com.cn) 下载订阅单,填好后寄至编辑部;
- 通过本刊编辑部,联系人:李淑芬、张晓晔

电话:86-10-63165208, 传真:86-10-63026192

编辑部地址:北京市先农坛街 1 号《药学报》编辑部

邮编:100050