

水蛭素抗痛风作用及其机制研究

刘喜华¹, 赵应学^{2#}, 周元明^{1,3}, 黄敏琪¹, 黄思诗¹, 甄汉深⁴, 熊万娜¹, 刘笑¹, 刘安韬^{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. 广西中医药大学附属瑞康医院, 广西 南宁 530011

4. 广西中医药大学, 广西 南宁 530001

摘要:目的 探讨水蛭素抗痛风作用及其机制。方法 利用次黄嘌呤复制小鼠高尿酸血症模型, 尿酸钠诱导大鼠急性痛风性炎症模型, 观察水蛭素对急性高尿酸血症尿酸水平及其诱导炎症的影响; 利用氧嗪酸钾诱导小鼠慢性高尿酸血症模型, 观察水蛭素对慢性高尿酸血症小鼠血清尿酸、尿素氮水平及血清、肝脏黄嘌呤氧化酶活性, 肾脏的病理学改变、C-反应蛋白(CRP)水平及葡萄糖转运体 9 (GLUT9) 表达的影响。结果 水蛭素可显著降低次黄嘌呤引起的高尿酸血症小鼠血清尿酸水平, 显著抑制由尿酸钠引起的大鼠足跖急性肿胀; 可显著降低由氧嗪酸钾引起的慢性高尿酸小鼠血清高尿酸水平, 降低血清尿素氮水平, 显著抑制 GLUT9 的表达, 减轻肾脏病理学损伤。结论 水蛭素具有显著的抗高尿酸血症及抗痛风作用, 其机制可能与保护肾脏作用及调节 GLUT9 表达有关。

关键词: 水蛭素; 金边蚂蟥; 高尿酸血症; 痛风; 葡萄糖转运体 9; 抗炎作用

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)06-1365-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.06.020

Anti-gout effect of hirudin and its mechanism

LIU Xi-hua¹, ZHAO Ying-xue², ZHOU Yuan-ming^{1,3}, HUANG Min-qi¹, HUANG Si-shi¹, ZHEN Han-shen⁴, XIONG Wan-na¹, LIU Xiao¹, LIU An-tao¹

1. Guangxi Medical College, Nanning 530023, China

2. Guangxi Jiangbin Hospital, Nanning 530021, China

3. Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530011, China

4. Guangxi University of Chinese Medical, Nanning 530001, China

Abstract: Objective To investigate the anti-gout effect of hirudin and its mechanism. **Methods** Hypoxanthine was used to replicate mouse model of hyperuricemia. Sodium uric induced acute gouty inflammation in rats to observe the effect of hirudin on the level of uric acid and inflammation induced by acute hyperuricemia. The serum uric acid, serum urea nitrogen, serum xanthine oxidase activity, and liver xanthine oxidase activity were observed in chronic hyperuricemia mouse model induced by potassium oxonate. The changes of renal pathology, the level of C-reactive protein (CRP) and the expression of glucose transporter 9 (GLUT9) were also be tested. **Results** Hirudin could significantly reduce the serum uric acid level in hyperuricemia mice induced by hypoxanthine and significantly inhibit acute toe swelling induced by sodium uric acid in rats. It could significantly reduce the level of serum hyperuricemia, decrease the level of blood urea nitrogen (BUN), significantly inhibit the expression of GLUT9 and alleviate the pathological changes of kidney in chronic hyperuricemia mice induced by potassium oxazinate. **Conclusion** Hirudin has significant anti-hyperuricemia and anti-gout effects, and its mechanism may be related to the protection of kidney and the regulation of GLUT9 expression.

Key words: hirudin; *Poecilobdella manillensis* Lesson; hyperuricemia; gout; GLUT9; anti-inflammation effect

高尿酸血症是指在正常嘌呤饮食状态下, 非同日 2 次空腹血尿酸水平男性高于 420 $\mu\text{mol/L}$, 女性高于 360 $\mu\text{mol/L}$ 。引起痛风及其相关疾病较特殊, 严重威胁人类的健康。金边蚂蟥系蛭科动物菲牛蛭

收稿日期: 2018-01-24

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(2015GXNSFBA139150); 广西教育厅科研项目(2017KY1228); 广西科学研究与技术开发重大专项计划(桂科重: 1355001-5-9)

作者简介: 刘喜华(1983—), 男, 硕士, 副教授, 从事中药、民族药分析研究。Tel: 13647819061 E-mail: liuxihua104@163.com

*通信作者 刘安韬, 男, 副教授, 从事中药教学及研究工作。Tel: 15107713699

#并列第一作者 赵应学(1983—), 男, 硕士, 主管药师。Tel: 15977752390 E-mail: 465770916@qq.com

Poecilobdella manillensis Lesson 的干燥全体, 为常用壮、瑶药, 具有破血通经、逐瘀消癥之功, 用于治疗血瘀经闭、症瘕痞块、中风偏瘫、跌打扭伤等症^[1]。现代研究表明其具有抗血栓、调血脂等药理活性^[2-3]。前期研究结果表明, 金边蚂蟥具有良好的抗痛风作用, 可显著降低由次黄嘌呤诱导的高尿酸小鼠血清尿酸水平, 且可显著抑制由尿酸钠引起的大鼠足趾肿胀^[4]。水蛭素是金边蚂蟥的主要活性组分, 且含量高, 本研究团队首次发现水蛭素对高尿酸血症具有显著作用, 为阐明水蛭素抗痛风作用及其机制, 本研究利用次黄嘌呤复制小鼠高尿酸血症模型, 尿酸钠诱导的大鼠急性痛风性关节炎模型, 观察水蛭素的抗痛风作用; 利用氧嗪酸钾诱导小鼠慢性高尿酸模型, 观察水蛭素对慢性高尿酸血症小鼠血清尿酸水平、肾脏的影响, 为将其开发成为具有独立知识产权的高效低毒抗痛风药物提供理论依据。

1 材料

1.1 实验动物

SPS 级昆明种小鼠, 体质量 18~22 g; Wistar 大鼠, 体质量 180~220 g, 均由广西医科大学实验动物中心提供, 动物合格证号 SCXK 桂 2014-0002。

1.2 药品与试剂

水蛭素, 自制; 别嘌醇片, 上海信宜万象药业股份有限公司, 批号 05161002; 次黄嘌呤、尿酸和氧嗪酸钾, 均为 Sigma 公司产品; 尿酸试剂盒 (批号 20170426) \ 尿素氮试剂盒 (批号 20170208) \ 黄嘌呤氧化酶试剂盒 (批号 20170207), 南京建成生物工程研究所; 小鼠 C-反应蛋白 (CRP) 测定试剂盒, 上海源叶生物科技有限公司, 批号 E20171001A; 葡萄糖转运体 9 (GLUT9) 抗体, 北京赛驰生物科技有限公司; 抗兔免疫球蛋白 (IgG) 抗体, 上海晶美生物科技有限公司。

1.3 仪器

13960 型 iMark 酶标仪 (Japan Bio-Rad 公司); TDL-5000B 型低速冷冻离心机 (上海安亭科学仪器厂); ChemiDoc XRS 化学发光成像系统 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 水蛭素的制备

取金边蚂蟥活体 (南宁市金海科康生物医药科技有限公司, 批号 20161205), 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 (金边蚂蟥) *Poecilobdella manillensis* Lesson。将

吸饱诱导液 (2%氯化钠) 后的金边蚂蟥活体置于容器中, 加入一定量的硫酸锌与乙醇的混合液使其吐出体内的唾液, 即天然水蛭素提取液, 天然水蛭素提取液经纯化后加入辅料进行冷冻干燥得到的粉末即为天然水蛭素产品 (质量分数 96%, 凝血酶滴定约 5 200 ATU/g), 实验用水蛭素加入稀释剂 (蒸馏水) 配成含水蛭素 200 ATU/g 溶液。

2.2 对次黄嘌呤诱导的急性高尿酸血症小鼠的影响^[5]

选取体质量 18~22 g 昆明种小鼠 60 只, 雄性, 随机分为 6 组, 每组 10 只, 即对照组, 模型组, 阳性药别嘌醇片 (10 mg/kg) 组, 水蛭素高、中、低剂量 (800、400、200 mg/kg) 组。各组均 ig 给药, 每天 1 次, 对照组和模型组 ig 给予等体积蒸馏水, 连续 12 d。除对照组外, 其余各组末次给药 1 h 后小鼠 ip 次黄嘌呤 600 mg/kg, 1 h 后眼球取血, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液测定血清尿酸水平 (磷钨酸比色法)。

2.3 对尿酸钠引起大鼠急性炎症的影响^[5]

2.3.1 微晶型尿酸钠结晶 (MSU) 的制备 将 5 g 尿酸置 1 000 mL 沸水中, 用 NaOH 调 pH 值至 7.4, 加热至 95℃。放室温条件冷却并轻轻搅拌, 滤过即得 MSU, 将 MSU 置于 200℃ 高温灭菌, 临用时用无菌生理盐水配成 100 mg/mL 的混悬液备用。

2.3.2 对 MSU 致大鼠足跖肿胀的影响 选取体质量 180~220 g Wistar 雄性大鼠 50 只, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 即对照组, 模型组, 阳性药别嘌醇片 (10 mg/kg) 组, 水蛭素高、低剂量 (800、200 mg/kg) 组。各组均 ig 给药, 每天 1 次, 对照组和模型组 ig 给予等体积蒸馏水, 连续 12 d。末次给药 1 h 后, 除对照组外, 其余各组于大鼠右后足跖 sc 0.15 mL MSU (100 mg/mL) 致炎, 分别于致炎前后测定右后足跖周长。观察和测定注射后 1、3、5、7、8 h 不同时刻大鼠右后足跖肿胀情况及其周长, 计算足跖肿胀度。

足跖肿胀度 = (致炎后足跖周长 - 致炎前足跖周长) / 致炎前足跖周长

2.4 对氧嗪酸钾诱导的慢性高尿酸血症小鼠的影响^[5]

选取体质量 18~22 g 昆明种小鼠 60 只, 雄性, 随机分为 6 组, 每组 10 只, 即对照组, 模型组, 阳性药别嘌醇片 (5 mg/kg) 组, 水蛭素高、中、低剂量 (800、400、200 mg/kg) 组。各组均 ig 给药, 每天 1 次, 对照组和模型组 ig 给予等体积蒸馏水, 连续 45 d。除对照组外, 各组小鼠每天 ig 给予 2.5 g/kg 的氧嗪酸钾, 复制高尿酸血症模型。末次给药

1 h 后,除对照组外,各组小鼠 ig 给予氧嗪酸钾,3 h 后眼球取血,3 000 r/min 离心 10 min,取血清,测定血清尿酸(磷钨酸比色法)和尿素氮的水平。

小鼠处死后取肝组织,-70℃ 冻存。检测前加生理盐水制备成肝组织匀浆液,采用比色法检测血清和肝脏中黄嘌呤氧化酶活性。

取部分肾脏,匀浆,离心,取上清液,测定肾脏 CRP 水平。取部分肾脏,10%甲醛固定,石蜡包埋,制成 4 μm 切片,HE 染色,显微镜观察肾脏的病变。将部分肾脏放入加有液氮的研磨器中研磨捣碎,加入 1:100 的蛋白裂解液在冰上裂解 20 min,离心 5 min (12 000 r/s),吸取上清液,加 4× 蛋白上样缓冲液,放入金属锅煮沸(96℃,10 min)。配制 12%的分离胶,凝胶 30 min,配制 5%的浓缩胶,凝胶 30 min 后拔梳子,胶板放入电泳池中电泳液没过短板,加蛋白样品液电泳(电压 80 V,时间 30 min)跑浓缩胶,调整电压(120 V,60 min)跑分离胶,转膜(80 V,2 h),转膜结束后封闭液(0.5 g 脱脂奶粉 + 10 mL TBST)封闭 2 h,敷一抗(0.1 g 脱脂奶粉 + 10 μL VEGF + 10 mL TBST),4℃ 过夜,敷二抗(2 μL IgG HRP + 10 mL TBST)2 h,TBST 洗 3 次,最后将发光液按 1:1 比例(一般各 200 μL)涂布在 PVDF 膜上,放入机器上曝光,采用 Image Lab 对蛋白条带进行扫描,采用 ImageJ Launcher 对蛋白条带进行灰度分析,并进行半定量分析。

2.5 统计学方法

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析,组间比较采用 LSD 分析。

3 结果

3.1 对次黄嘌呤引起高尿酸血症小鼠血清尿酸的影响

与对照组比较,模型组小鼠血清尿酸水平显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,别嘌呤片组及水

蛭素高、中、低剂量组均可明显降低小鼠血清尿酸水平($P < 0.05$ 、 0.01)。见表 1。

3.2 对 MSU 致大鼠足跖肿胀的影响

与对照组比较,模型组大鼠足跖肿胀度明显升高($P < 0.01$)。与模型组比较,水蛭素高、低剂量组均能显著抑制大鼠足跖肿胀($P < 0.05$)。见表 2。

3.3 对氧嗪酸钾致慢性高尿酸血症小鼠的影响

3.3.1 对小鼠血清指标的影响 与对照组比较,模型组小鼠血清尿酸及尿素氮水平显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,别嘌呤片组和水蛭素高、中剂量组可明显降低小鼠血清尿酸及尿素氮水平($P < 0.05$)。见表 3。

3.3.2 对小鼠血清及肝脏黄嘌呤氧化酶活性的影响 与对照组比较,模型组小鼠血清及肝脏黄嘌呤氧化酶活性均无显著变化($P > 0.05$);与模型组比较,别嘌呤片、水蛭素各剂量组对氧嗪酸钾引起的高尿酸血症小鼠血清及肝脏黄嘌呤氧化酶活性均无显著影响。但在阳性组及水蛭素组均表现降低的作用趋势。见表 4。

表 1 水蛭素对急性高尿酸血症小鼠血清尿酸水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Effects of hirudin on uric acid in serum of acute hyperuricemic mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	尿酸/(μmol·L ⁻¹)
对照	—	126.63 ± 27.61
模型	—	232.73 ± 50.93 ^{##}
别嘌呤片	10	61.23 ± 29.84 ^{**}
水蛭素	800	140.70 ± 25.97 ^{**}
	400	149.07 ± 39.28 ^{**}
	200	177.59 ± 38.59 [*]

与对照组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

^{**} $P < 0.01$, 下同

[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below

表 2 水蛭素对 MSU 致大鼠足跖肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Effects of hirudin on paw swelling of rats induced by MSU ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	致炎后不同时间足跖肿胀度/%				
		1 h	3 h	5 h	7 h	8 h
对照	—	3.78 ± 3.29	4.34 ± 2.92	5.90 ± 2.83	5.55 ± 3.96	4.77 ± 3.81
模型组	—	5.14 ± 2.69	14.16 ± 3.44 ^{##}	7.28 ± 3.32 ^{##}	13.41 ± 4.54 ^{##}	7.84 ± 2.61
别嘌呤片	10	4.65 ± 3.53	9.68 ± 3.86 [*]	12.33 ± 3.05 ^{**}	8.57 ± 5.27 [*]	6.62 ± 3.81
水蛭素	800	3.91 ± 2.67	10.16 ± 4.39 [*]	12.07 ± 4.81 [*]	7.81 ± 6.84 [*]	7.08 ± 5.62
	200	4.31 ± 2.93	11.66 ± 2.64	12.79 ± 5.19 [*]	9.00 ± 4.94	8.34 ± 6.46

表 3 水蛭素对氧嗪酸钾引起慢性高尿酸血症小鼠血清尿酸和尿素氮水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of hirudin on of uric acid and BUN in serum of hyperuricemia mice caused by potassium oxonate ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	尿酸/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	尿素氮/ (mmol·L ⁻¹)
对照	—	138.56 ± 49.80	4.40 ± 0.87
模型	—	197.37 ± 73.89 [#]	5.54 ± 1.05 [#]
别嘌醇片	5	100.03 ± 35.45 ^{**}	4.17 ± 1.57 [*]
水蛭素	800	139.91 ± 39.55 ^{**}	4.55 ± 0.86 [*]
	400	136.53 ± 58.30 [*]	4.54 ± 1.04 [*]
	200	196.01 ± 21.14	4.60 ± 1.71

表 4 水蛭素对氧嗪酸钾引起慢性高尿酸血症小鼠血清及肝脏黄嘌呤氧化酶活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of hirudin on xanthine oxidase activity in serum and liver of hyperuricemia mice caused by potassium oxonate ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	黄嘌呤氧化酶活性/(U·L ⁻¹)	
		血清	肝脏
对照	—	2.72 ± 1.01	5.28 ± 1.73
模型	—	3.44 ± 0.98	7.35 ± 2.90
别嘌醇片	5	2.51 ± 0.95	6.23 ± 3.14
水蛭素	800	2.82 ± 0.29	5.33 ± 2.24
	400	2.72 ± 0.96	6.74 ± 2.62
	200	2.65 ± 0.56	7.04 ± 4.48

3.3.3 对小鼠肾脏 CRP 水平的影响 与对照组比较,模型组小鼠肾脏 CRP 水平显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较,别嘌醇片及水蛭素高、中、低剂量组对氧嗪酸钾引起高尿酸血症小鼠肾脏 CRP 水平无显著影响 ($P > 0.05$)。结果见图 1。

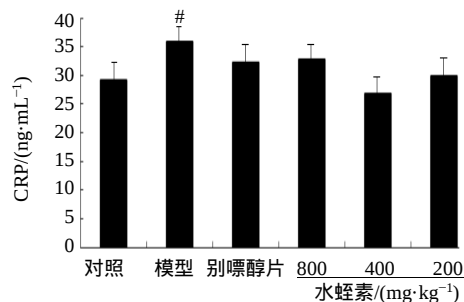


图 1 水蛭素对氧嗪酸钾引起高尿酸血症小鼠肾脏 CRP 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 1 Effects of hirudin on CRP level in kidney of hyperuricemia mice caused by potassium oxonate ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

3.3.4 对小鼠肾脏病理学改变的影响 对照组肾组织结构正常,未见明显病理改变。模型组和水蛭素各剂量组小鼠肾脏均可见不同程度的病理改变,虽未见尿酸盐结晶沉积、炎性浸润细胞,但可见肾小管扩张,肾小管有蛋白样渗出物。和模型组比较,各给药组病理改变的程度均有所减轻。见图 2。

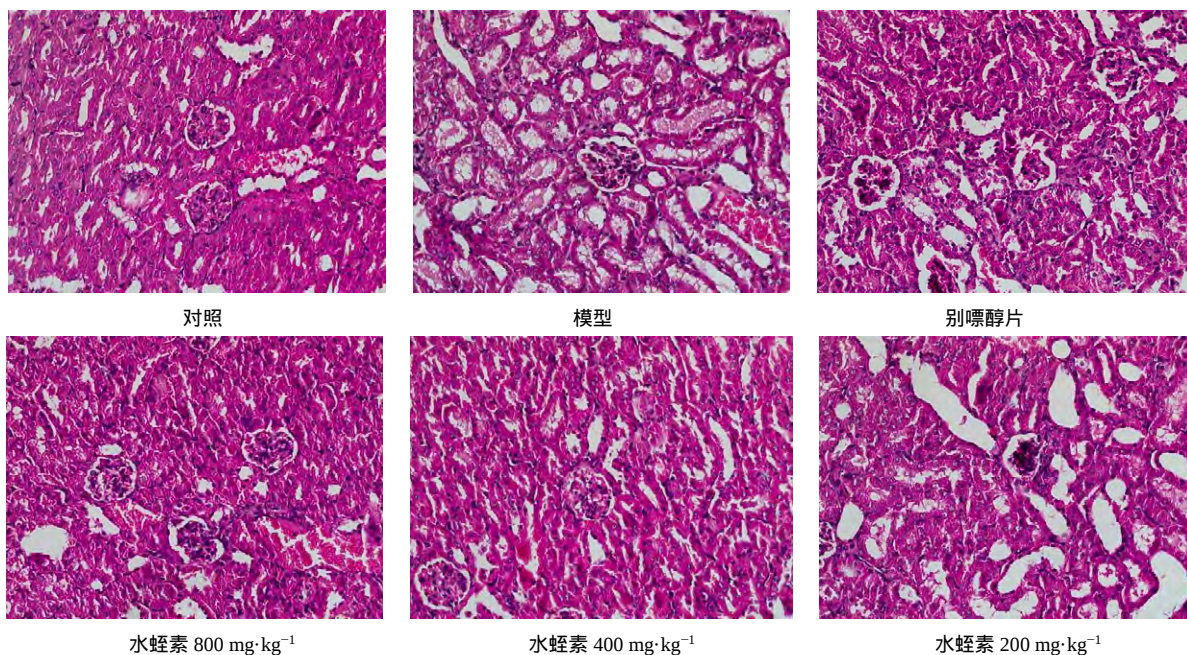


图 2 水蛭素对氧嗪酸钾引起高尿酸血症小鼠肾脏病理学改变的影响 (HE, ×200)

Fig. 2 Effects of hirudin on renal pathology changes of hyperuricemia mice caused by potassium oxonate (HE, ×200)

3.3.5 对小鼠肾脏 GLUT9 表达水平的影响 与对照组比较,模型组小鼠肾脏 GLUT9 蛋白表达显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,水蛭素高、中剂量能显著逆转模型动物肾脏转运体的异常表达 ($P < 0.01$)。结果见图 3。

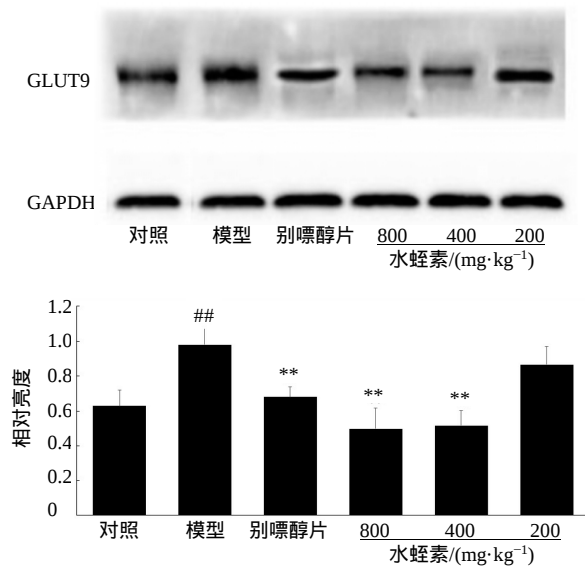


图 3 水蛭素对氧嗪酸钾引起慢性高尿酸血症小鼠肾脏 GLUT9 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 3 Effects of hirudin on GLUT9 expression in kidney of hyperuricemia mice caused by potassium oxonate ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

4 讨论

研究结果表明,水蛭素可显著降低由次黄嘌呤引起的急性高尿酸血症小鼠及由氧嗪酸钾引起的慢性高尿酸小鼠血清尿酸水平,显著抑制由尿酸钠引起的大鼠足跖急性肿胀;水蛭素对氧嗪酸钾引起的慢性高尿酸小鼠血清及肝脏黄嘌呤氧化酶的活性有抑制趋势,对肾脏 CRP 无显著影响。可显著降低由氧嗪酸钾引起的慢性高尿酸小鼠血清尿素氮水平,缓解肾脏病理学改变;显著抑制由氧嗪酸钾引起的慢性高尿酸小鼠肾脏 GLUT9 的表达。提示水蛭素具有显著抗高尿酸血症及抗痛风作用。

尿酸是鸟类和爬行类嘌呤代谢的终产物,嘌呤代谢紊乱导致高尿酸血症。目前,引起高尿酸的病理学基础尚未完全阐明,对高尿酸的研究主要关注尿酸的合成和尿酸的排泄 2 个方面,影响尿酸合成的靶点主要为尿酸合成的关键酶黄嘌呤氧化酶^[6-7],影响尿酸排泄主要关注肾脏小管的尿酸转移因子 GLUT9、OAT 等^[8-9]。当前,临床上使用的抗高尿酸药物主要为嘌呤醇等,取得一定的疗效,但其副

作用限制了在临床上的使用。因此,研究开发高效低毒的抗高尿酸血症药物极其迫切。中药在临床上的使用具有悠久的历史,特别是和金边蚂蟥一样的拟黑多刺蚁具有良好的抗高尿酸作用,且具有安全性好的特点^[10-12]。同为虫类的金边蚂蟥,同样具有显著的抗高尿酸及抗痛风作用,值得关注和研究。

本研究结果表明,水蛭素对慢性高尿酸血症小鼠血清及肝脏黄嘌呤氧化酶水平无显著影响,说明水蛭素抗高尿酸作用的靶点可能不在尿酸的合成环节。但是,水蛭素可以显著抑制慢性高尿酸血症小鼠肾脏 GLUT9 的表达,表明水蛭素的抗高尿酸血症作用,可能与对 GLUT9 的表达调控有关。尿酸的重吸收、分泌过程中,尿酸盐转运蛋白在肾脏中发挥重要作用,而 GLUT9 起着关键的作用。GLUT9 在肾脏重吸收尿酸的过程中发挥重要的作用,作为高容量、高亲和性的尿酸盐转运体,与其他尿酸盐转运体组成尿酸盐转运复合体共同维持血尿酸水平^[13-15]。水蛭素抗高尿酸血症作用更具体的机制,待进一步研究。

参考文献

- [1] 广西壮族自治区壮药质量标准 [S]. 2011.
- [2] 张彬,汪波,龚元,等. 几种水蛭抗凝血物质提取及活性分析 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2014, 51(2): 92-96.
- [3] 曹斌,周维海,韦锦斌,等. 菲牛蛭对实验性高脂血症血脂及血液流变学的影响 [J]. 广西医科大学学报, 2010, 27(2): 198-200.
- [4] 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.
- [5] 李仪奎. 中药药理实验方法学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006.
- [6] 黄敬群,朱妙章,王四旺. 染料木素、芹菜素、槲皮素、芦丁和落新妇苷对高尿酸血症小鼠黄嘌呤氧化酶活性及血清尿酸水平的影响 [J]. 中国药理学通报, 2011, 27(4): 561-565.
- [7] 牛艳芬,刘恺,高丽辉,等. 3,5,2',4'-四羟基查尔酮对小鼠血尿酸及肝脏 XOD/XDH 的影响 [J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(1): 34-38.
- [8] Preitner F, Bonny O, Laverrière A, et al. Glut9 is a major regulator of urate homeostasis and its genetic inactivation induces hyperuricosuria and urate nephropathy [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(36): 15501-15506.
- [9] Mandal A K, Mount D B. The molecular physiology of uric acid homeostasis [J]. Annu Rev Physiol, 2015, 77: 323-345.
- [10] 韦桂宁,苏启表,何飞,等. 拟黑多刺蚁乙醇提取物

- 中降低小鼠血清尿酸水平活性部位的筛选与化学成分分析 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013, 27(4): 673-677.
- [11] 韦桂宁, 苏启表, 曾宪彪, 等. 拟黑多刺蚁乙醇提取物石油醚部位抗痛风作用及物质基础研究 [J]. 中药药理与临床, 2013, 29(1): 99-103.
- [12] 韦桂宁, 曾宪彪, 牙启康, 等. 拟黑多翅蚁抗痛风作用研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(20): 205-207.
- [13] Liu S, Yuan Y, Zhou Y, *et al.* Phloretin attenuates hyperuricemia-induced endothelial dysfunction through co-inhibiting inflammation and GLUT9 mediated uric acid uptake [J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(10): 2553-2562.
- [14] Taniguchi K, Tamura Y, Kumagai T, *et al.* Stimulation of V1a receptor increases renal uric acid clearance via urate transporters: insight into pathogenesis of hypouricemia in SIADH [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2016, 20(6): 845-852.
- [15] Mancikova A, Krylov V, Hurba O, *et al.* Functional analysis of novel allelic variants in URAT1 and GLUT9 causing renal hypouricemia type 1 and 2 [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2016, 20(4): 578-584.