

程雅欣, 李佳, 刘明玉, 等. 高温高湿环境对大鼠血尿酸水平的影响及其作用机制研究 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(7): 905-912.

Cheng YX, Li J, Liu MY, et al. Influence and mechanism of elevated serum uric acid levels in rats in a high temperature-humidity environment [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(7): 905-912.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.07.009

高温高湿环境对大鼠血尿酸水平的影响及其作用机制研究

程雅欣^{1,2}, 李佳^{1*}, 刘明玉¹, 谭文彬¹

(1. 中国人民解放军南部战区总医院内分泌科, 广州 510010; 2. 广州中医药大学研究生院, 广州 510405)

【摘要】 目的 基于临床证据表明高温高湿环境致高尿酸血症患病风险增加的现状, 本实验在课题组前期成功建立高尿酸血症大鼠模型的基础上, 进一步观察高温高湿环境对大鼠血尿酸水平的影响及其可能的作用机制。**方法** 通过传统化学药物法建立氧嗪酸钾组 (potassium oxonate group, PO) 和高嘌呤饮食组 (high purine diet group, HPD) 诱导的高尿酸血症大鼠, 在此基础上通过特有的高温高湿培养箱对大鼠进行照射 (设置箱内温度 37℃、湿度 80%、时长 1 h/d), 从而构建高温高湿组 (high temperature-humidity group, HTH) 和高嘌呤饮食 + 高温高湿组 (HPD + HTH), 另设置有空白对照组 (control group, CON), 实验持续 12 周。每日照射前后测肛温、体重, 每 4 周采血分析各组血尿酸水平和肾功能损害情况。实验结束后摘取双肾, 通过免疫蛋白印迹法检测 ATP 结合转运蛋白 G2 (ATP-binding cassette superfamily G2, ABCG2) 和肾尿酸转运蛋白 1 (urate transporter 1, URAT1) 表达水平, 免疫组织化学法 (immunohistochemistry, IHC) 观察上述尿酸转运蛋白定位表达情况。**结果** (1) HTH 组和 HPD + HTH 组大鼠经高温高湿箱照射后肛温和脱水率显著升高 ($P < 0.05$)。 (2) 不仅 4 组大鼠血尿酸平均值显著高于 CON 组, 且 HTH 组高于 PO 组、HPD + HTH 组高于 HPD 组 ($P < 0.05$), 但 12 周时各组大鼠血肌酐值未呈现明显差异 ($P > 0.05$)。 (3) Western Blot 结果提示 HTH 组和 HPD + HTH 组尿酸分泌蛋白 ABCG2 表达较 CON 组显著降低, 且 HTH 组低于 PO 组、HPD + HTH 组低于 HPD 组 ($P < 0.05$); HTH 组和 HPD + HTH 组尿酸重吸收转运蛋白 URAT1 表达较 CON 组显著升高, 且 HTH 组高于 PO 组、HPD + HTH 组高于 HPD 组 ($P < 0.05$)。 (4) IHC 结果提示 ABCG2 和 URAT1 蛋白均表达于近曲小管上皮细胞上, HPD + HTH 组和 HTH 组 ABCG2 表达低于其他组 ($P < 0.05$), HPD + HTH 组和 HTH 组 URAT1 表达高于其他组。**结论** 高温高湿环境可通过调控肾近端小管上尿酸转运蛋白 ABCG2、URAT1 的功能以影响尿酸的排泄和重吸收, 导致血尿酸水平升高, 促进高尿酸血症的发生发展。

【关键词】 高温高湿环境; 高尿酸血症; ATP 结合转运蛋白 G2; 尿酸转运蛋白 1; 大鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 07-0905-08

Influence and mechanism of elevated serum uric acid levels in rats in a high temperature-humidity environment

CHENG Yaxin^{1,2}, LI Jia^{1*}, LIU Mingyu¹, TAN Wenbin¹

(1. Department of Endocrinology, General Hospital of Southern Theater Command, PLA, Guangzhou 510010, China. 2. Graduate School of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405)

Corresponding author: LI Jia. E-mail: gdnflj@126.com

【Abstract】 Objective Clinical evidence suggests that the risk of hyperuricemia is increased under high temperature-humidity conditions. The current study aimed to explore this effect and the possible molecular mechanism

【基金项目】 2021 年度南部战区总医院科技计划课题 (2021NZA001), 军队后勤科研项目 (2023038)。
Funded by 2021 Project of Science and Technology Plan of General Hospital of Southern Theater Command (2021NZA001), Scientific Research Project of Military Logistics (2023038).

【作者简介】 程雅欣 (1997—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 高尿酸血症发病机制。Email: cyx961126@163.com

【通信作者】 李佳 (1981—), 女, 副主任医师, 博士, 研究方向: 高尿酸血症与痛风及其并发症发病机制。Email: gdnflj@126.com

responsible for the environmental effect on serum uric acid (SUA) levels, using a recently established hyperuricemia rat model. **Methods** Hyperuricemia was induced in rats by potassium oxonate (PO group) or a high-purine diet (HPD group) using traditional chemical-induction method. The rats were also irradiated in a high temperature-humidity incubator (37°C, 80% humidity) for 1 h/d to produce the high temperature-humidity group (HTH group) and high purine diet + high temperature-humidity group (HPD + HTH group). A control group (CON group) was also included. The experiment lasted for 12 weeks. Anal temperature and body weight were measured during daily irradiation, and blood samples were collected every 4 weeks to examine SUA and creatine levels in each group. After the experiment, the kidneys were removed and expression levels of ATP-binding cassette super family G2 (ABCG2) and urate transporter 1 (URAT1) were determined by Western Blot and immunohistochemistry. **Results** The anal temperature and dehydration rate of rats in the HTH and HPD + HTH groups were significantly increased after irradiation in a high temperature-humidity incubator ($P < 0.05$). SUA levels were significantly higher in the HTH group compared with the CON and PO groups, and in the HPD + HTH compared with the HPD group ($P < 0.05$). There was no significant difference in serum creatinine among the five groups after 12 weeks ($P > 0.05$). Expression levels of the uric acid secretion protein ABCG2 were significantly lower in the HTH and HPD + HTH groups compared with the CON group, in the HTH group compared with the PO group, and in the HPD + HTH group compared with the HPD group, as shown by Western Blot ($P < 0.05$). Expression levels of the urate transporter URAT1 were significantly higher in the HTH and HPD + HTH groups compared with the CON group, in the HTH group compared with the PO group, and the HPD + HTH group compared with the HPD group ($P < 0.05$). Immunohistochemistry indicated that both ABCG2 and URAT1 were expressed in proximal convoluted tubule epithelial cells. ABCG2 expression levels were lower while URAT1 expression levels were higher in the HPD + HTH and HTH groups compared with the other groups ($P < 0.05$). **Conclusions** A high temperature-humidity environment can influence the secretion and reabsorption of uric acid by disrupting the function of the uric acid transporters ABCG2 and URAT1, which are located in the proximal tubules of the kidney. This can lead to increased SUA levels, potentially aggravating the occurrence and development of hyperuricemia.

[Keywords] high temperature-humidity environment; hyperuricemia; ATP-binding cassette superfamily G2; urate transporter 1; rat

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

高尿酸血症 (hyperuricemia, HUA) 是一种以血清尿酸水平升高为特征的代谢性疾病^[1]。原发性多由先天嘌呤代谢异常所致, 常与肥胖、脂代谢异常、高血压、动脉粥样硬化等聚集发生有关; 继发性则由其他疾病、药物、膳食产品等引起的尿酸盐生成过量或肾清除减少所致。而新的研究表明, 高温高湿环境可显著影响户外工作人群, 甚至当地普通居民血尿酸水平, 增加 HUA 患病率^[2-3]。然而, 该环境引起血尿酸水平升高的相关基础研究较少, 其分子机制尚未完全阐明。

在生理情况下, 内源性细胞分解代谢产生的大量核酸占尿酸生成的 80%, 其余则由饮食外源性摄入; 尿酸的排泄 75% 由肾调节, 其余经肠道排泄 (25%)^[4]。肾中尿酸盐排泄包括 4 个步骤: 肾小球的滤过、近端小管重吸收、肾小管的分泌和分泌后的重吸收^[5]。肾小球滤过的尿酸 98% 以上被肾小管重吸收、分泌, 所以肾小管是影响尿酸排泄的重要部位^[6]。而尿酸在肾的滤过、排泄由近端小管上的一组尿酸转运蛋白控制, 包括将尿酸盐从管腔运

输入细胞的尿酸转运蛋白 1 (urate transporter 1, URAT1)、有机阴离子转运体 4 (organic anion transporter 4, OAT4)、OAT10 和葡萄糖转运蛋白 9 (glucose transporter 9, GLUT 9), 以及负责分泌尿酸盐的 ATP 结合转运蛋白 G2 (ATP-binding cassette superfamily G2, ABCG2)、ABCC4 和钠依赖性磷酸转运蛋白 1 (Na^+ -dependent phosphate co-transporters 1, NPT1) 等, 其中 ABCG2 和 URAT1 功能障碍与全球范围内高尿酸血症和痛风发病关系最为密切^[7]。本课题组前期成功模拟高温高湿环境建立了高尿酸血症大鼠模型, 基于此, 本实验进一步从肾尿酸转运蛋白的角度探究上述环境影响大鼠血尿酸水平升高的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级雄性健康 SD 大鼠 30 只, 6 ~ 7 周龄, 体重 150 ~ 200 g, 购自广州锐格生物科技有限公司

【SCXK(粤)2021-0059】。正式实验前大鼠适应性喂养 1 周,期间正常饮食、饮水,12 h/12 h 昼夜交替照明,温度(24 ± 2)℃,相对湿度 40% ~ 60%。实验动物的饲养和标本采集均在中国人民解放军南部战区总医院实验动物中心 SPF 级屏障环境进行【SYXK(粤)2019-0100】,实验方案经过中国人民解放军南部战区总医院实验动物中心伦理委员会审批(SYDW2022007)。

1.1.2 主要试剂与仪器

羧甲基纤维素钠(sodium carboxymethyl cellulose Na, CMC-Na,上海麦克林生化科技有限公司)、98% 氧嗪酸钾(上海麦克林生化科技有限公司)、CMC-Na 采用蒸馏水煮沸配置成 0.5% CMC-Na 溶液,置于 4℃ 冰箱内,可保存 1 周;氧嗪酸钾通过 0.5% CMC-Na 溶液制备成 PO 混悬液,浓度为 50 mg/mL,现配现用。20%酵母饲料(广东省实验动物中心制作),方法为将酵母膏(北京索莱宝科技有限公司)按照 1:4 的比例均匀拌入碾碎的普通鼠类维持饲料中混匀,并重新压制成型,⁶⁰Co 辐射灭菌 15 d。

尿酸检测试剂盒、肌酐测定试剂盒(南京建成生物工程研究所),蛋白质定量试剂盒(BCA 法)、ECL 发光液、封闭血清(上海碧云天生物技术有限公司),10% PAGE 凝胶快速制备试剂盒(上海雅酶生物医药科技有限公司),PVDF 膜(德国 Millipore 公司),URAT1、ABCG2 多克隆抗体(武汉三鹰生物技术有限公司), β -肌动蛋白(β -actin)内参抗体、二抗(江苏亲科生物研究中心有限公司),免疫组化兔二步法检测试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司),载玻片、盖玻片(江苏世泰实验器材有限公司),中性树胶(北京索莱宝科技有限公司)。

动物肛温计(山东尚农电子科技有限公司),电子体重秤(上海瑶新电子科技有限公司),微量移液枪(德国 Eppendorf 公司),920 恒温培养箱(宁波戴维医疗器械股份有限公司),冷冻台式高速离心机(美国 Thermo Scientific 公司),Multiskan Go 酶标仪(美国 Thermo Scientific 公司),电泳及转膜套装设备(美国 Bio-rad 公司),全自动化学发光成像系统(中国广州广仪生物公司),石蜡切片机(德国 Leica 公司),电热恒温病理烤箱(上海精宏实验设备有限公司),BX-51 正置荧光显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验分组

30 只 SPF 级 SD 大鼠采用随机数字表法分为正

常对照(control group, CON)组、氧嗪酸钾(potassium oxonate group, PO)组、高嘌呤饮食(high purine diet group, HPD)组、高温高湿(high temperature-humidity group, HTH)组和高嘌呤饮食 + 高温高湿(HPD + HTH group)组,每组 6 只,分笼饲养。

1.2.2 造模方法

CON 组大鼠每日予以 0.5% CMC-Na 溶液灌胃 1 次,普通饲料喂养;PO 组每日予以 250 mg/kg PO 混悬液灌胃 1 次,普通饲料喂养;HTH 组在每日予以 250 mg/kg PO 混悬液灌胃的基础上,采用特定恒温培养箱照射,参考文献^[8-10]和本课题组预实验结果设置培养箱内温度为(37.0 ± 0.5)℃、相对湿度为(80 ± 1)%,时长 1 h/d。HPD 组予以 250 mg/kg PO 混悬液灌胃,20%酵母饲料喂养;HPD + HTH 组在同剂量氧嗪酸钾灌胃和酵母饲料喂养的基础上,采用恒温培养箱照射,温度、湿度和时长同 HTH 组。

所有大鼠在每日 9:00 灌胃,15:00 将 HTH 组和 HPD + HTH 组大鼠转运至恒温培养箱照射。照射期间所有 5 组大鼠统一禁食禁水,每 20 min 测量 1 次肛温,测量深度为 3 cm,测量时长至少 1 min,保证培养箱内氧气充足,并持续观察箱内大鼠精神状态,生命体征。照射结束后,使用脱脂纱布将体表水分擦拭干净,称重并计算脱水率,运回常温动物实验室。脱水率 = (照射前体重 - 照射后体重)/照射前体重。

1.2.3 标本采集方法

实验持续 12 周,第 0、4、8、12 周时所有大鼠禁食不禁饮 12 h,于尾部采血 0.5 mL,以检测血尿酸、肌酐水平。血液标本于室温静置 30 min 后,进行离心(4℃,3500 r/min,15 min)取上层血清,采用尿酸和肌酐测定试剂盒,按照说明书及生产厂家指导检测其水平。实验 12 周后所有大鼠予以 30 mg/kg 的 3%戊巴比妥钠麻醉,解剖取出双肾,选取左侧切取包括肾皮质在内的同一部位浸泡于 10%福尔马林中,右侧立即放入液氮中并随后转运至超低温冰箱冻存。

1.2.4 免疫蛋白印迹法检测肾尿酸转运蛋白表达情况

取出超低温冷冻的肾组织 0.1 g 放入匀浆器中,加入 1 mL 含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液,充分研磨后置于冰上裂解 30 min,离心(12 000 r/min,15 min,4℃)取上清液。采用蛋白质定量试剂盒测出上清液蛋白浓度,取 30 μ g 配上样缓冲液煮

沸变性后在 PAGE 凝胶缓冲系统中进行电泳,其后将凝胶上的蛋白转移到聚偏二氟乙烯膜上。经 TBST 溶液清洗 5 min × 3 次后用 5% 脱脂奶粉溶液进行封闭,时间为 2 h。再次清洗后 4℃ 过夜孵育一抗(ABCG2 抗体稀释比例为 1 : 1000, URAT1 抗体稀释比例为 1 : 1000, β-actin 抗体稀释比例为 1 : 10 000)。次日常 TBST 溶液清洗 10 min × 3 次后孵育二抗(1 : 8000), 2 h, 再次清洗。取出滴加 ECL 发光液,于化学发光仪内曝光显影、采集图片,通过 Image J 软件分析条带灰度,以 β-actin 为内参,计算目的蛋白相对表达量。

1.2.5 免疫组织化学法检测肾尿酸转运蛋白定位情况

将浸泡在福尔马林中的肾组织进行石蜡包埋,晾干后连续切片,厚度为 3 μm,于烤箱 60℃ 烤片 2 h 后立即浸入二甲苯中脱蜡。经常规脱蜡水化后,采用过氧化物酶阻断剂处理 10 min, PBS 溶液洗涤 5 min × 3 次,放入柠檬酸钠溶液中于沸水中煮 10 min 进行抗原修复,继续在该溶液中冷却至室温,采用 10% 山羊血清室温封闭 30 min,甩去血清无需洗片直接滴加 URAT1 或 ABCG2 一抗(1 : 100)于 4℃ 孵育过夜。次日用 PBS 溶液清洗 5 min × 3 次,滴加反应增强液 37℃ 孵育 20 min, PBS 洗 5 min × 3 次,后用辣根过氧化物酶标记的二抗 37℃ 孵育 20 min, PBS 清洗 5 min × 3 次。滴加 DAB 显色液室温下孵育 8 min,滴加苏木素染色液反应 1.5 min, 1% 盐酸酒精分化 5 s, 自来水返蓝 5 min, 后采用常规方法脱水透明封片,晾干后于显微镜下观察、拍照。

1.3 统计学分析

应用 IBM SPSS 25.0 统计学软件进行数据分析,计量数据采用平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,治疗前后及两组间各项指标的均数比较采用 *t* 检验分析方法,多组间血尿酸、肌酐等指标平均值的比较采用单因素方差分析 One-way ANOVA 分析方法, *P* < 0.05 表示组间差异具有统计学意义。若多组间比较差异有统计学意义,再采用 LSD-*t* 检验进行组间多重比较,采用 Graphpad Prism 8.0 进行曲线图和条形图的绘制。通过 Image J 软件对免疫蛋白印迹条带灰度值进行测算。

2 结果

2.1 各组大鼠肛温 and 脱水率变化情况

本实验在使用培养箱高温高湿照射期间,同时

测量所有组别大鼠肛温,随着照射时间增加, HTH 组和 HPD + HTH 组肛温逐渐上升,经照射 60 min 后, HTH 组和 HPD + HTH 组大鼠肛温达到 41℃ 左右,明显高于其他三组 (*P* < 0.05), 见图 1。照射结束后可见上述两组大鼠足垫部位和身体背部毛发潮湿,照射后体重较照射前明显减少,经计算脱水率高于其他三组 (*P* < 0.05), 见图 2。尽管 HTH 组和 HPD + HTH 组大鼠持续接受了 12 周的高温高湿处理,但每日照射结束后均可观察到所有大鼠都保持良好的生命体征,未显示出中暑的迹象(体温过高超过 42℃, 动脉压下降到约 30 mmHg),未出现肌肉痉挛、刻板行为以及强烈应激反应等。连续造模实验 12 周后, 5 组大鼠存活率均为 100%, 高温高湿处理的两组大鼠存活率无明显下降。

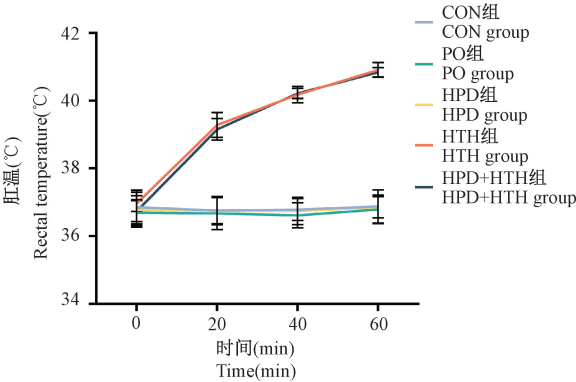
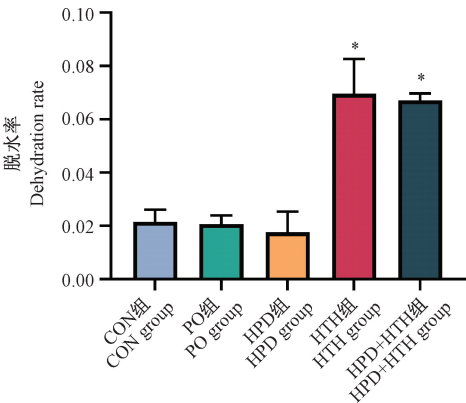


图 1 肛温变化

Figure 1 Changes of rectal temperature of the rats



注:与 CON 组相比, * *P* < 0.05。

图 2 脱水率变化

Note. Compared with CON group, * *P* < 0.05.

Figure 2 Changes of rectal temperature of the rats

2.2 血清尿酸检测结果

实验开始前检测所有大鼠血尿酸基线水平,多组间比较其差异不具有统计学意义($P = 0.620 > 0.05$)。实验 4 周后,除 CON 组外,其余各组血尿酸值均显著上升,且 HTH 组显著高于 PO 组、HPD + HTH 组高于 HPD 组($P < 0.05$)。随着实验时间的持续,本实验观察到 HTH 组和 HPD + HTH 组大鼠血尿酸水平更为稳定,直至第 12 周时均保持在相对较高的水平。相反,PO 组大鼠血尿酸水平从第 4 周起开始下降,至 12 周时已降至基线水平以下。总体而言,高温高湿环境建立的高尿酸血症大鼠模型较传统的药物诱导高尿酸血症大鼠模型,更为稳定,高尿酸状态持续更久,见图 3。

2.3 血清肌酐检测结果

血清肌酐上升是出现肾损伤的标志。随着实验时间持续,各组大鼠血肌酐值均有所上升,至第 8 周时最高,且与 CON 组相比,其他四组血肌酐值显

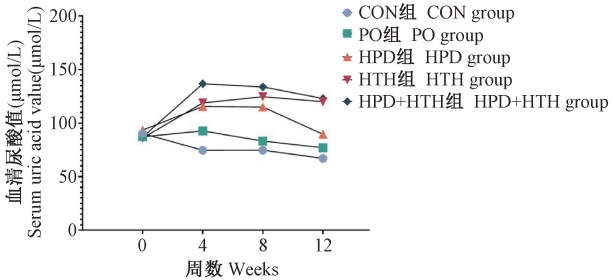


图 3 实验不同时间点各组大鼠血尿酸值变化折线图
Figure 3 Line chart of serum uric acid value of rats in different time points in the experiment

著升高($P = 0.002 < 0.05$)。但第 12 周时 PO、HPD、HTH 和 HPD + HTH 组血肌酐值均有所下降,HTH 和 HPD + HTH 组血肌酐值与其他组别无明显差异($P > 0.05$),见表 1。因此,本实验造模 12 周后,各实验组大鼠肾功能均有所下降,但 HTH 组和 HPD+HTH 组大鼠的肾功能损伤情况并未显著重于 CON 组、PO 组和 HPD 组($P > 0.05$)。

表 1 实验不同时间点各组大鼠血肌酐值变化表(μmol/L)

Table 1 Changes of serum creatine level in rats of different time points in the experiment(μmol/L)				
分组 Groups	0 周 0 weeks	4 周 4 weeks	8 周 8 weeks	12 周 12 weeks
CON 组 CON group	19.2 ± 4.7	28.9 ± 3.9	30.7 ± 3.2	36.0 ± 4.4
PO 组 PO group	17.6 ± 5.3	35.2 ± 6.0	43.8 ± 4.6 ^a	33.3 ± 5.8
HPD 组 HPD group	19.9 ± 3.6	35.3 ± 7.2	50.5 ± 7.8 ^a	32.9 ± 12.1
HTH 组 HTH group	23.7 ± 7.6	37.4 ± 6.3	50.7 ± 3.0 ^a	40.6 ± 5.0
HPD + HTH 组 HPD + HTH group	16.5 ± 5.8	37.3 ± 10.7	50.7 ± 4.0 ^a	39.7 ± 6.6
P	0.601	0.258	0.002	0.240

2.4 Western Blot 检测 HTH 和 HPD + HTH 组尿酸转运蛋白表达变化

与 CON 组相比,HPD、HTH 组和 HPD + HTH 组 ABCG2 蛋白水平均显著降低($P = 0.006$ 、 0.001 、 $0.001 < 0.05$);HTH 组与 PO 组相比,ABCG2 蛋白水平显著降低($P = 0.000 < 0.05$);与 HPD 组相比,HPD + HTH 组 ABCG2 蛋白水平显著降低($P = 0.001 < 0.05$)。对于 URAT1 蛋白水平,HPD 组、HTH 组和 HPD + HTH 组均显著高于 CON 组($P = 0.043$ 、 0.001 、 $0.001 < 0.05$);更为重要的是,HTH 组 URAT1 水平显著高于 PO 组($P = 0.001 < 0.05$),HPD + HTH 组 URAT1 水平显著高于 HPD

组($P = 0.001 < 0.05$),见图 4。
2.5 免疫组织化学法观察实验各组大鼠肾尿酸转运蛋白定位表达变化

本实验通过免疫组化法检测造模 12 周后各组大鼠肾上尿酸转运蛋白 ABCG2 和 URAT1 定位表达情况。光镜下可见尿酸转运蛋白 ABCG2 和 URAT1 均位于肾近曲小管上皮细胞上。ABCG2 是负责尿酸分泌的蛋白,在本实验 CON 组中该蛋白定位清洗,颜色正常,PO 组和 HPD 组同样也有表达,颜色仍较为明显,而 HTH 组和 HPD + HTH 组 ABCG2 表达显著下降,颜色明显变浅,分布面积少,见图 5A。URAT1 是尿酸重吸收转运蛋白,在本实验中,CON

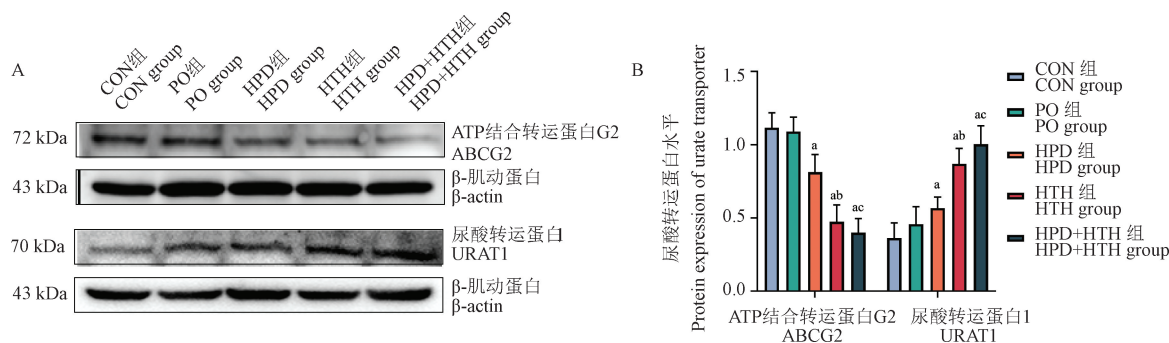
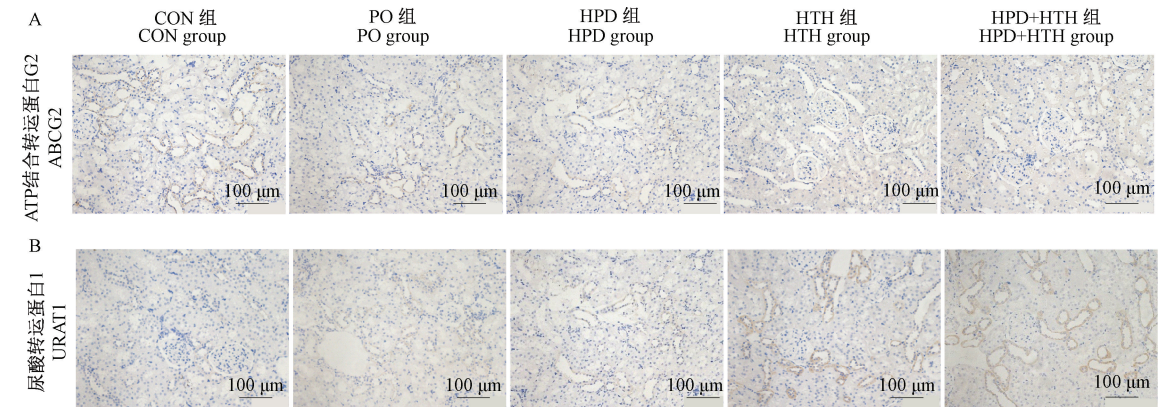


图 4 免疫蛋白印迹实验结果

Figure 4 Results of Western Blot experiment

组、PO 组和 HPD 组该蛋白均有表达,电镜下可见部分肾小管呈棕褐色,而 HTH 组和 HPD + HTH 组大鼠肾小管中呈棕褐色的管腔数量显著增多,颜色加深,分布面积更广泛,见图 5B。



注:A:ABCG2 在大鼠肾组织中的表达;B:URAT1 在大鼠肾组织中的表达。

图 5 免疫组织化学实验结果

Note. A. Expression of ABCG2 in the kidney tissue. B. Expression of URAT1 in the kidney tissue.

Figure 5 Results of immunohistochemistry experiment

3 讨论

高温高湿环境是工作环境温度在 32℃ 以上和生活环境温度在 35℃ 以上、相对湿度在 60% 以上的环境。随着全球气候变暖对人类健康构成的威胁与日俱增,高温高湿环境显著增加全球住院率、病死率,造成包括传染病、心肺系统疾病、消化系统疾病、不良妊娠结局以及内分泌系统疾病等在内的多种健康问题^[11]。在此背景下,新的流行病学调查发现,我国南方沿海地区居民 HUA 患病率已高达 49.11%、痛风患病率为 8.26%^[12],远超我国总体水平 (HUA 患病率 13.3%、痛风患病率 1.1%)^[13],而该地域患病率升高与其高温高湿的气候特征关系密切^[14]。

当环境温度高于 35℃ 时,人体只有通过汗液蒸发才能降低体温,而汗液蒸发会将体内的水和电解

质带走,使细胞外液丢失^[15]。从生理上讲,机体通过排汗和增加流向皮肤的血液流量来适应炎热的环境,热量将跟随汗液和血液传导到体表从而促进其代谢。肾在体温调节的生理代偿机制中发挥着关键作用,例如调节血压、维持水钠平衡、钾和磷等身体化学物质的整体平衡。在正常情况下,肾通过自身调节机制保持肾血流量相对稳定,从而使肾小球滤过率和终尿的生成量保持相对恒定,而肾小球的滤过、肾小管和集合管的重吸收、分泌尿液,都受到神经和体液因素的调节^[16]。

因此,一方面,当机体面临高温环境而处于热应激状态时,肾交感神经兴奋,传出冲动使肾小球滤过率减少,尿液生成减少。另一方面,高热情况下,机体由于大量出汗等原因出现脱水,血浆晶体渗透压升高,视上核及其周围区域渗透压感受器受刺激,使神经垂体释放抗利尿激素,肾集合管管腔

对水的通透性增加,水的重吸收增多,尿液浓缩,尿量减少^[17]。本实验中 HTH 组和 HPD + HTH 组大鼠血尿酸水平显著高于未经培养箱高温高湿处理的组别,且随着照射时间延长其肛温持续增长,并可见足垫部位及身体背部毛发明显潮湿。经称量体重后发现,该两组大鼠脱水率明显高于其他组,说明其血尿酸水平升高与高温高湿环境下脱水关系密切。而长期的高尿酸血症,高温大量的汗液和血液流向体表引起的慢性脱水和肾动脉血流量减少,高渗诱导的肾素-血管紧张素-醛固酮系统的激活,很有可能进一步导致肾组织损害,造成罹患急、慢性肾病风险显著增加^[18],从而加重高尿酸血症的病程进展。

健康 SD 大鼠的血尿酸水平一般在 70 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ ^[19],但由于已有的高尿酸血症模型造模动物、造模方法的选择众多,导致啮齿类动物高尿酸血症诊断标准难以界定,尚缺少公认的血尿酸高值作为诊断标准,因此,目前以模型组血尿酸水平高于空白对照组为造模成功标准^[20]。根据上述标准本实验在造模 4 周即成功建立高尿酸血症大鼠模型。SD 大鼠血肌酐的正常水平在 30 $\mu\text{mol/L}$ 以内,本实验中除空白对照组外,其余模型组均自第 4 周血肌酐水平即开始逐步上升。而造模 12 周时模型组大鼠血尿酸水平有所回落,本课题组考虑与尿酸在大鼠体内形成刺激,反馈性增强尿酸酶的表达,导致对尿酸的分解增强有关。12 周时血肌酐水平的回落可能与大鼠适应性和血尿酸水平下降有关。

人体中 2/3 的尿酸是由肾在排尿过程中代谢出体外的,肾小球滤过的尿酸 98% 以上被肾小管重吸收、分泌,所以肾小管不仅是尿液生成和排出的重要部位,也是影响尿酸排泄的重要部位。肾对尿酸的排泄过程是通过尿酸转运蛋白将血液中尿酸经过肾小球的滤过、近端小管重吸收、肾小管的分泌及分泌后的重吸收等过程转运至肾小管管腔内,从而与尿液一起排出体外^[3]。其中起作用的尿酸转运蛋白包括 URAT1、OAT4、OAT10、GLUT9、ABCG2 等,URAT1、OAT4、OAT10、GLUT9 位于肾近端小管上皮细胞顶端膜上,介导尿酸盐从管腔转运到细胞中,调控尿酸盐的重吸收,URAT1 发挥最主要的作用;ABCG2 介导尿酸盐从细胞转运至肾小管管腔中,是调控尿酸分泌的关键尿酸转运蛋白^[7,21]。

本实验通过免疫组织化学法明确观察到大鼠 ABCG2 表达在肾近端小管上皮细胞中。多项研究

表明,ABCG2 功能障碍可导致血尿酸水平的升高,促进 HUA 和痛风的发生发展,并可能进一步导致肾小球滤过率的加速下降^[22-23]。笔者在光镜下观察到 HTH 组和 HPD + HTH 组大鼠在高温高湿环境下 ABCG2 蛋白表达量显著降低,不仅免疫组化阳性表达区域较对照组显著减少,颜色更浅;且结合 Western Blot 发现,上述两组蛋白条带更浅,几乎无表达,提示在高温高湿环境下,极有可能导致 ABCG2 蛋白功能障碍,减少肾小管对尿酸的排泄,促进 HUA 的发生发展。

URAT1 蛋白是由 SLC22A12 基因编码的有机阴离子转运体(OAT/SLC22)家族成员之一,负责在近曲小管基底膜外侧重吸收 50% 尿酸的功能,因此被认为是调节机体尿酸水平的主要转运蛋白^[24]。Liu 等^[25]关于高原缺氧气候舱内大鼠 URAT1 表达进行研究,发现其 URAT1 表达较对照组明显上升,且实验 4 周时是 1 周时的 1.5 倍,并同时观察到大鼠血尿酸水平的上升($P < 0.05$)。本研究中通过对 HTH 组和 HPD + HTH 组进行了为期 12 周的高温高湿处理,发现其 URAT1 表达量显著上升,高于未接受照射的其他 3 组,提示高温高湿的环境可能通过上调 URAT1 的表达量,促进肾小管对尿酸的重吸收,从而增加 HUA 患病率。

4 结论

高温高湿环境会明显升高大鼠肛温、脱水率及血尿酸水平,并降低肾组织中分泌型尿酸转运蛋白 ABCG2 的表达,上调重吸收型尿酸转运蛋白 URAT1 的表达。本研究对高温高湿环境引起血尿酸水平升高的机制提供了新的见解,后续仍需要进一步探究上述尿酸转运蛋白相关的信号转导通路,为降低该环境下作业工人的血尿酸水平,甚至预防尿酸性肾病的发生发展提供更多科学证据。

参 考 文 献 (References)

- [1] Wu M, Ma Y, Chen X, et al. Hyperuricemia causes kidney damage by promoting autophagy and NLRP3-mediated inflammation in rats with urate oxidase deficiency [J]. Dis Model Mech, 2021, 14(3): dmm048041.
- [2] Shan R, Ning Y, Ma Y, et al. Incidence and risk factors of hyperuricemia among 2.5 million Chinese adults during the years 2017-2018 [J]. Int J Environ Res Public Health, 2021, 18(5): 2360.
- [3] 罗佳丽, 许燕君, 陈子慧, 等. 广东省秋冬季气温与人群血清尿酸水平的关联 [J]. 环境与职业医学, 2021, 38(2): 113-118, 124.

- Luo JL, Xu YJ, Chen ZH, et al. Association between ambient temperature and serum uric acid in autumn and winter in Guangdong Province [J]. *J Environ Occup Med*, 2021, 38(2): 113–118, 124.
- [4] Borghi C, Palazzuoli A, Landolfo M, et al. Hyperuricemia: a novel old disorder-relationship and potential mechanisms in heart failure [J]. *Heart Fail Rev*, 2020, 25(1): 43–51.
- [5] Mandal AK, Mount DB. The molecular physiology of uric acid homeostasis [J]. *Annu Rev Physiol*, 2015, 77: 323–345.
- [6] Skoczyńska M, Chowaniec M, Szymczak A, et al. Pathophysiology of hyperuricemia and its clinical significance-a narrative review [J]. *Reumatologia*, 2020, 58(5): 312–323.
- [7] Dalbeth N, Gosling AL, Gaffo A, et al. Gout [J]. *Lancet*, 2021, 397(10287): 1843–1855.
- [8] Sánchez-Lozada LG, García-Arroyo FE, Gonzaga G, et al. Kidney injury from recurrent heat stress and rhabdomyolysis: protective role of allopurinol and sodium bicarbonate [J]. *Am J Nephrol*, 2018, 48(5): 339–348.
- [9] 张伯瑞, 薛崇祥, 何世勇, 等. 药食两用 3 号方对大鼠热证痛风性关节炎的抗炎抗氧化活性研究 [J]. *风湿病与关节炎*, 2019, 8(5): 5–8.
- Zhang BR, Xue CX, He SY, et al. Study on anti-inflammatory and anti-oxidative activities of edible-drug formula 3 in rats with gouty arthritis of heat syndrome [J]. *Rheum Arthritis*, 2019, 8(5): 5–8.
- [10] 张世安, 汪晓, 方坚, 等. 高温高湿条件下劳力性热射病致病特点与肝损伤机制 [J]. *中国临床研究*, 2018, 31(8): 1025–1028, 1032.
- Zhang SA, Wang X, Fang J, et al. Pathogenic characteristics and liver injury mechanism of exertional heat stroke under high temperature and high humidity conditions in rats [J]. *Chin J Clin Res*, 2018, 31(8): 1025–1028, 1032.
- [11] Ebi KL, Capon A, Berry P, et al. Hot weather and heat extremes: health risks [J]. *Lancet*, 2021, 398(10301): 698–708.
- [12] 宋志兴, 董慧敏, 陈泽娜, 等. 广州天河区健康体检人群的高尿酸血症患病率调查 [J]. *新医学*, 2016, 47(3): 195–198.
- Song ZX, Dong HM, Chen ZN, et al. Prevalence of hyperuricemia in physical examination population from Tianhe District of Guangzhou [J]. *J New Med*, 2016, 47(3): 195–198.
- [13] Liu R, Han C, Wu D, et al. Prevalence of hyperuricemia and gout in mainland China from 2000 to 2014: a systematic review and meta-analysis [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 762820.
- [14] Romaszko J, Dragańska E, Cymes I, et al. Are the levels of uric acid associated with biometeorological conditions? [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 819: 152020.
- [15] Tawatsupa B, Lim LL, Kjellstrom T, et al. Association between occupational heat stress and kidney disease among 37, 816 workers in the Thai Cohort Study (TCS) [J]. *J Epidemiol*, 2012, 22(3): 251–260.
- [16] 王庭槐. 生理学 [M]. 北京: 人民卫生出版社; 2018.
- Wang TH. *Physiology* [M]. Beijing: People's Medical Publishing House; 2018.
- [17] Mattson DL. Heat stress nephropathy and hyperuricemia [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 315(4): F757–F758.
- [18] Eckenstaler R, Benndorf RA. The role of ABCG2 in the pathogenesis of primary hyperuricemia and gout-an update [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(13): 6678.
- [19] 陈林军, 杨焱, 吴迪, 等. 高尿酸血症及并其发病大鼠模型的建立 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(4): 510–516.
- Chen LJ, Yang Y, Wu D, et al. Establishment of a rat model of hyperuricemia and its complications [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2020, 28(4): 510–516.
- [20] 程雅欣, 李佳. 高尿酸血症和痛风动物模型及其建立方法的研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(2): 251–256.
- Cheng YX, Li J. Animal models of hyperuricemia and gout: established methods and research progress [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2023, 31(2): 251–256.
- [21] Ohashi Y, Kuriyama S, Nakano T, et al. Urate transporter ABCG2 function and asymptomatic hyperuricemia: a retrospective cohort study of CKD progression [J]. *Am J Kidney Dis*, 2023, 81(2): 134–144.
- [22] Toyoda Y, Mančíková A, Krylov V, et al. Functional characterization of clinically-relevant rare variants in *ABCG2* identified in a gout and hyperuricemia cohort [J]. *Cells*, 2019, 8(4): 363.
- [23] 辛家东, 周嘉宝, 吴志远, 等. 尿酸排泄及其相关转运蛋白在高尿酸血症中的研究进展 [J]. *中国全科医学*, 2023, 26(15): 1916–1922.
- Xin JD, Zhou JB, Wu ZY, et al. Advances in urate excretion and urate transporters in hyperuricemia [J]. *Chin Gen Pract*, 2023, 26(15): 1916–1922.
- [24] 杜艺, 棋梅, 王文莉, 等. 高原低氧对大鼠肾组织细胞形态、肾脏尿酸转运蛋白表达的影响 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2022, 23(10): 901–904, 943.
- Du Y, Qi M, Wang WL, et al. Effects of high altitude hypoxia on cell morphology and expression of uric acid transporter in kidney of rats [J]. *Chin J Integr Tradit West Nephrol*, 2022, 23(10): 901–904, 943.
- [25] Liu J, Varghese BM, Hansen A, et al. Hot weather as a risk factor for kidney disease outcomes: a systematic review and meta-analysis of epidemiological evidence [J]. *Sci Total Environ*, 2021, 801: 149806.