

◇基础医学研究◇

佐剂性关节炎大鼠肾功能损伤及对肾脏有机阴离子转运体3表达的影响

李孟阳^{1*}, 汪乾镭^{2*}, 魏伟¹, 王春¹

(¹ 安徽医科大学临床药理研究所, 抗炎免疫药物教育部重点实验室, 抗炎免疫药物安徽省协同创新中心, 合肥 230032; ² 安徽医科大学科研实验中心, 合肥 230032)

摘要 目的 研究佐剂性关节炎(AA)对大鼠肾脏功能和肾脏有机阴离子转运体3(OAT3)表达的影响。方法 在大鼠右侧后足趾皮内注射弗氏完全佐剂建立AA模型。固定时间点收集大鼠血液和尿液, 观察肾损伤指标的动态变化。通过肾脏的HE染色切片观察肾损伤情况。免疫组化和Western blot检测肾皮质OAT3蛋白和炎症因子白介素-6(IL-6)、白介素-1 β (IL-1 β)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的表达水平。结果 与正常组相比, AA大鼠关节炎指数评分、继发性足爪肿胀、关节肿胀数、全身评分均显著增加($P < 0.05$)。X线检测结果显示, AA模型大鼠足爪骨关节出现软组织水肿以及骨畸形的特征。生化指标显示, AA大鼠的肾损伤指标出现明显异常。免疫组化与Western blot结果显示, AA大鼠肾皮质OAT3的表达水平显著降低, 同时炎症因子IL-6、TNF- α 和IL-1 β 的表达水平明显升高($P < 0.05$)。结论 AA大鼠的肾功能损伤可能与肾脏OAT3的表达降低及炎症因子表达升高有关。

关键词 佐剂性关节炎; 肾损伤; 大鼠; 肾皮质; 有机阴离子转运体3; 炎症因子

中图分类号 R 969.1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)09-1495-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.09.001

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)至今为止具体病因尚不完全清楚。部分RA患者会出现心血管疾病和肾损伤等其他组织器官并发症^[1-2]。有机阴离子转运体3(organic anion transporter 3, OAT3)是溶质超家族中的一员, 主要在肾小管基底膜上表达, 其生理性作用主要是介导许多内源性物质和外源性药物摄取进入肾脏, 作用底物为经肾代谢和排泄的多种化合物, 包括尿酸、抗生素、利尿剂等, 是人体肾脏最主要的转运体之一^[3-4]。有研究^[5-6]表明, 敲除OAT3会引起慢性肾病^[7], 而OAT3表达的提高能够改善肾功能。多项研究表明OAT3受到炎症反应的调控。例如有研究^[8]证明白介素1 β (interleukin 1 β , IL-1 β)能够直接下调OAT3的表达, 抑制其转运功能。然而实验性关节炎模型

中肾脏OAT3的表达尚不清楚。因此, 该研究以佐剂性关节炎(adjuvant arthritis, AA)大鼠为模型, 观察OAT3的表达变化, 探讨RA并发症肾损伤潜在的治疗靶点, 为临床RA肾损伤防治提供一定的实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 18只SPF级Wistar雄性健康大鼠, 190~210 g, 购自斯贝福(北京)生物技术有限公司, 动物许可证号: SCXK(京)2019-0010。

1.1.2 主要试剂与仪器 灭菌液体石蜡(江苏强盛化学股份有限公司); 卡介苗(美国Chondrex公司); 肌酐测定试剂盒、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)测试盒、尿蛋白试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司); 细胞膜蛋白与细胞质蛋白抽提试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司); 肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)和IL-1 β 一抗(英国Abcam公司); OAT3一抗(美国Affinity Biosciences公司); 白介素6(interleukin 6, IL-6)一抗(美国Proteintech公司); 生物素标记的山羊抗兔IgG二抗(美国ImmunoWay公司)。自动化学发光

2024-08-29 接收

基金项目: 安徽省重点研究与开发计划(编号: 2023s07020003)

作者简介: 李孟阳, 男, 硕士研究生;

魏伟, 男, 教授, 博士生导师, 通信作者, E-mail: wwei@ahmu.edu.cn;

王春, 男, 副教授, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: wangchun@ahmu.edu.cn

* 对本文具有同等贡献

图像分析系统 (Tanon5200, 上海 Tanon 公司); BioTek Elx × 808 酶标仪 (美国 BioTek 公司); 莱卡正置荧光显微镜 (DM4B, 德国 Leica 公司); X 线透视成像系统 (LabScope, 德国 GLENBROOK TECHNOLOGIES 公司); 艾本德离心机 (Centrifuge 5810, 德国 Eppendorf 公司)。

1.2 方法

1.2.1 模型的建立及处理 将 Wistar 大鼠在 SPF 级动物房适应性喂养 1 周, 随机将大鼠分为正常组 (6 只) 和模型组 (12 只)。根据文献^[9]提供的方法将卡介苗在 80 °C 的水浴锅中灭活 1 h, 与提前灭菌好的液体石蜡混合进行充分研磨成 10 mg/ml 的完全弗氏佐剂 (Freund's complete adjuvant, FCA) 后, 对 12 只模型组大鼠的右后足跖皮下注射 0.18 ml FCA, 诱导成 AA 模型, 正常组大鼠常规饲养。造模后定期对大鼠关节炎指数、继发性足爪肿胀、关节肿胀数、全身关节炎进行评估, 同时称量记录体质量。全身评分 (共 8 分): 2 只耳朵、嘴巴、鼻子、四肢、尾巴每个各 1 分; 关节炎指数 (共 16 分): 0 分为爪子没有肿胀和局部发红, 1 分为踝关节或腕关节轻度肿胀和局部发红, 2 分为踝关节或腕关节中度肿胀和局部发红, 3 分为整个踝关节或腕关节严重肿胀和局部发红, 4 分为整个踝关节或腕关节畸形或强直和局部发红。关节炎肿胀数评分 (共 24 分): 每只大鼠的每只足爪计 1 个踝关节和 5 个趾关节, 每个肿胀各 1 分。

1.2.2 组织样本的收集 使用代谢笼在第 7、12、15、18 天收集大鼠 24 h 尿液, 期间禁食不禁水, 收集的尿液样本 4 °C、3 000 r/min 离心 10 min 后, 吸取上清液放 -20 °C 保存。在收集尿液的相同时间眼眶静脉取血, 室温静置 2 h 后 4 °C、3 000 r/min 离心 20 min, 吸取血清后 -20 °C 储存备用。在第 20 天颈椎脱臼处死所有大鼠, 收集大鼠肾脏在生理盐水中荡洗干净, 滤纸吸干, 取部分肾脏浸泡于 4% 的多聚甲醛中, 用于 HE 染色观察肾脏病理改变; 剩余部分肾脏保存于 -80 °C 备用。

1.2.3 生化指标的检测 采用试剂盒检测尿肌酐 (creatinine, Cr)、血肌酐 (serum creatinine, Scr)、BUN 和尿蛋白水平。每个时间点的血清和尿液样本在室温下离心吸取上清液。按照检测指标的相应试剂盒说明书操作, 计算出相应的数值结果。大鼠 Cr 清除率 (%) = Cr 浓度 (μmol/L) × 每分钟尿量 (ml/min) / Scr 浓度 (μmol/L)。

1.2.4 X 线检测骨关节破坏 采用 X 线检测所有

大鼠的足爪骨关节破坏程度, 评估关节软组织水肿、骨畸形以及局部骨密度降低情况。

1.2.5 肾脏的 HE 染色 大鼠肾脏使用 4% 多聚甲醛固定液固定后进行 HE 染色, 使用显微镜观察拍照, 每个肾脏 HE 染色片选取 3 个位置拍摄。病理切片观察炎症细胞浸润、急性肾小管损伤情况, 并分级。根据病理评分标准对切片进行评分。

1.2.6 肾脏的免疫组化染色 取大鼠的肾脏组织石蜡切片进行免疫组化染色。石蜡切片进行脱蜡处理后置于 EDTA 抗原修复缓冲液中于微波炉内加热煮沸 30 min, 随后阻断内源性过氧化物酶, 血清封闭, 按 1:100 稀释一抗, 4 °C 孵育过夜后使用生物素标记的山羊抗兔 IgG 二抗室温孵育 30 min, DAB 显色, 复染细胞核, 脱水封片, 苏木精复染细胞核为蓝色, DAB 显出的阳性表达为棕黄色。

1.2.7 Western blot 检测肾脏组织 IL-6、TNF-α 和 IL-1β 炎症因子水平及肾皮质基底膜上 OAT3 的表达 剪下肾脏组织的肾皮质部位, 称取约 100 mg 放入匀浆器中, 再加入先前配好的 RIPA 裂解液和蛋白酶抑制剂混合液约 400 μl, 将装有组织的匀浆器置于冰上研磨 20 min 左右。将研磨后的组织液加入 1.5 ml 离心管中, 在 -80 °C 和 4 °C 下反复冻融 3 次。之后以 4 °C、12 000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液于另一离心管中, 采用 BCA 法对蛋白进行定量。肾皮质组织蛋白按细胞膜蛋白与细胞质蛋白抽提试剂盒说明书操作。按照上清液: 上样缓冲液 4:1 的量加入上样缓冲液后 100 °C 水浴 10 min 得到蛋白样本。取适量样本进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳后将蛋白转移到 PVDF 上, 用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h, 一抗按 1:1 000 稀释孵育过夜, 二抗按 1:10 000 稀释孵育 2 h, 通过发光成像分析仪显影, 最后使用 Image J 软件对蛋白条带进行分析。

1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism V8.0 软件进行统计学处理, 数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 所有数据均符合正态分布, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AA 大鼠模型评价 观察正常组和模型组大鼠的左右后足爪, 结果显示, 与正常组相比, AA 大鼠的关节炎指数评分、继发性足爪肿胀度、关节肿胀数、全身评分和体质量在造模第 10~20 天差异有统计学意义 (*P* < 0.05) (图 1A-1G)。后期经 X 线拍

摄足爪,观察到足爪骨关节破坏符合 AA 模型大鼠软组织水肿及骨畸形的特征(图 1H、1I)。

2.2 AA 大鼠肾损伤指标变化 在造模后第 15 天,与正常组相比,模型组大鼠 Scr 水平显著升高($t = 4.976, P < 0.01$)。造模后第 18 天,与正常组相比,模型组大鼠 Cr 水平显著降低($t = 2.48, P < 0.05$)。在造模后第 12 天,与正常组相比,模型组大

鼠血清 BUN 水平显著升高($t = 5.562, P < 0.01$)。在造模后第 15、18 天,与正常组相比,相应时间的模型组大鼠尿蛋白水平平均显著升高($t = 2.76, P < 0.05; t = 2.62, P < 0.05$)。与正常组相比,相对应时间下模型组大鼠 Cr 清除率显著下降($t = 3.533, P < 0.01; t = 2.485, P < 0.05; t = 5.203, P < 0.001; t = 2.616, P < 0.05$)。见图 2。

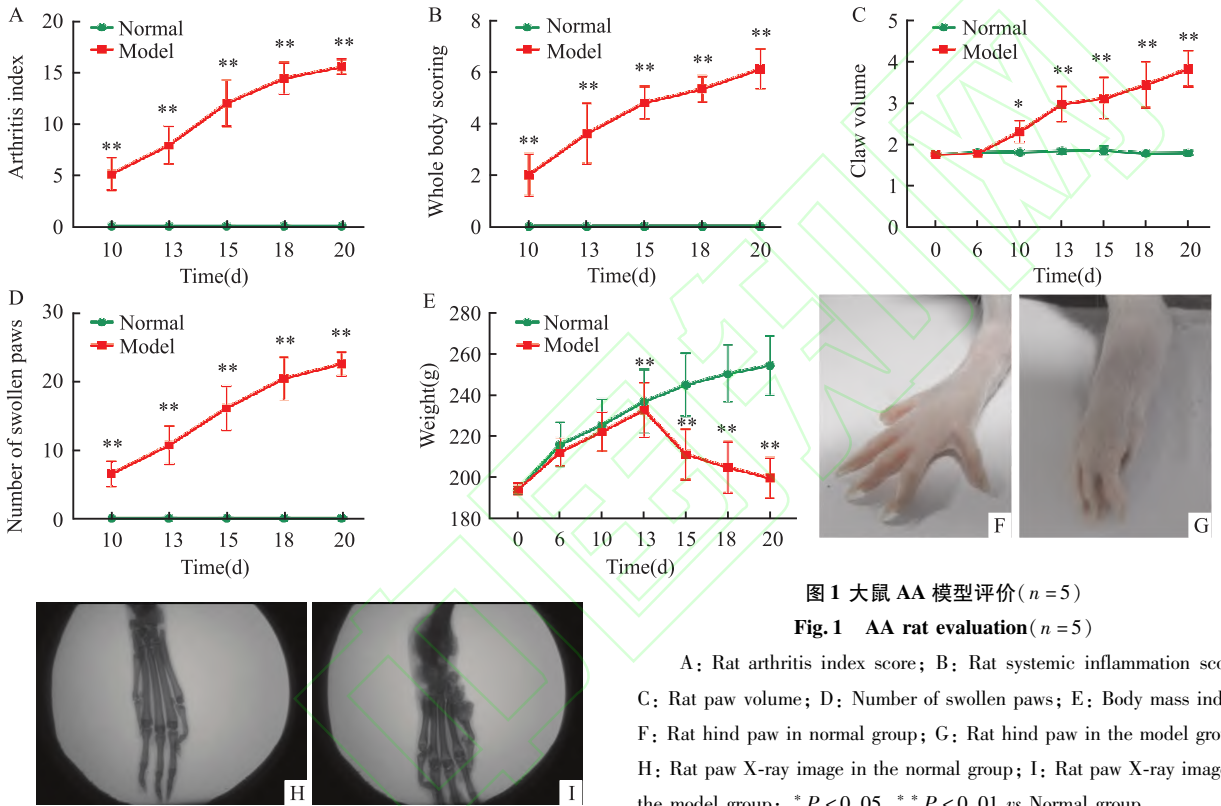


图 1 大鼠 AA 模型评价 (n = 5)

Fig.1 AA rat evaluation (n = 5)

A: Rat arthritis index score; B: Rat systemic inflammation score; C: Rat paw volume; D: Number of swollen paws; E: Body mass index; F: Rat hind paw in normal group; G: Rat hind paw in the model group; H: Rat paw X-ray image in the normal group; I: Rat paw X-ray image in the model group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Normal group.

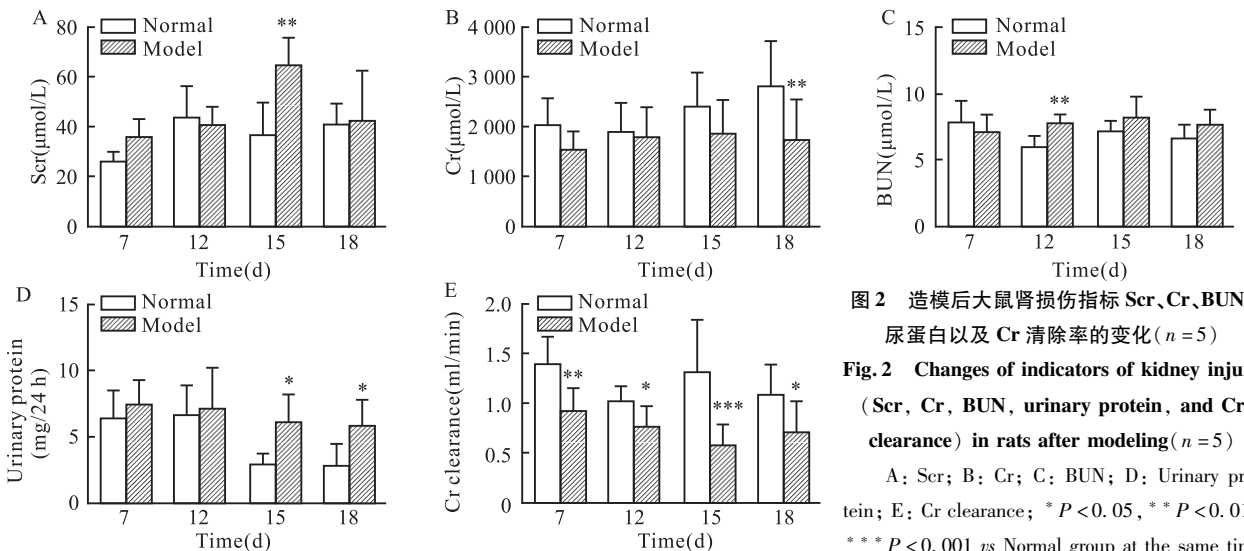


图 2 造模后大鼠肾损伤指标 Scr、Cr、BUN、尿蛋白以及 Cr 清除率的变化 (n = 5)

Fig.2 Changes of indicators of kidney injury (Scr, Cr, BUN, urinary protein, and Cr clearance) in rats after modeling (n = 5)

A: Scr; B: Cr; C: BUN; D: Urinary protein; E: Cr clearance; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs Normal group at the same time point.

2.3 大鼠肾组织病理及 OAT3 表达变化 在造模后第 20 天,病理检查显示正常组大鼠肾脏细胞结构完整,肾小球和肾小管形态完整。而 AA 大鼠肾脏出现明显的炎症细胞浸润和急性肾小管损伤,具体表现为炎症细胞聚集,细胞质变薄,刷状缘缺失,细胞核数量减少。此外,免疫组化结果显示,AA 大鼠肾脏 OAT3 表达显著降低。见图 3。

2.4 肾组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和肾皮质 OAT3 蛋白的表达 与正常组相比,模型组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的表达明显升高 ($t = 3.799, P < 0.05; t = 3.957, P < 0.05; t = 14.65, P < 0.01$)。与正常组相

比,模型组肾皮质基底膜上 OAT3 的表达水平明显下降 ($t = 3.458, P < 0.05$)。见图 4。

3 讨论

迄今为止,RA 的治疗仍然是临床实践和药物开发的一个挑战。作为一种慢性的自身免疫性疾病,RA 除了关节炎的临床表现以外,还会对心脏、肺和肾等器官产生损伤^[2]。炎症因子作为 RA 发病的关键因素,也是引起这些器官损伤的主要原因,例如在 AA 大鼠模型中大量释放的 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 已被证明是造成肾损伤的原因之一^[9]。不仅

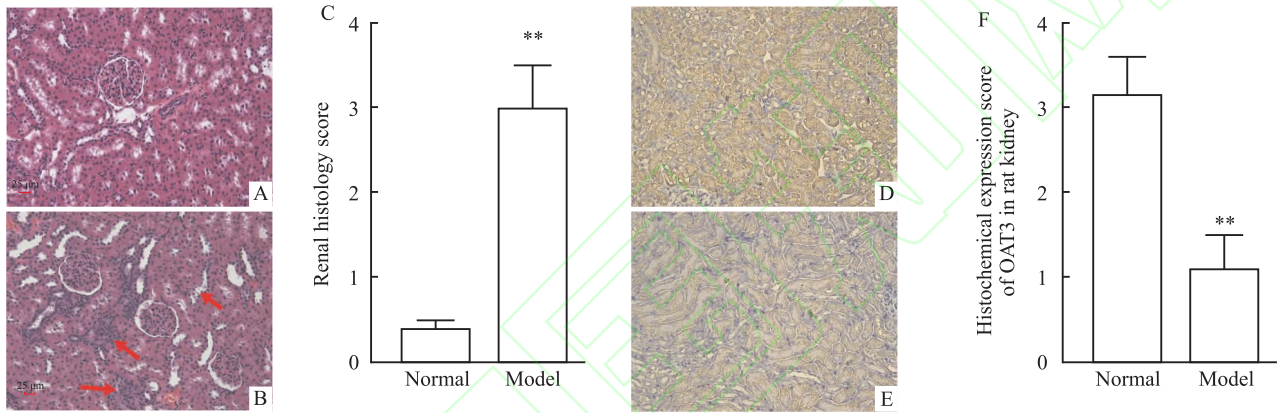


图 3 大鼠肾脏组织病理及 OAT3 免疫组化表达图 ($n = 5$)

Fig. 3 Histopathology images and immunohistochemical expression of OAT3 in rat kidney ($n = 5$)

A: HE staining photomicrograph of rat kidneys in normal group $\times 200$; B: HE staining photomicrograph of rat kidneys in model group $\times 200$; red arrows: inflammatory cell infiltration, acute tubular injury; C: Histopathological scores of rat kidneys; D: Immunohistochemical photomicrographs of rat kidneys with OAT3 in normal group $\times 200$; E: Immunohistochemical photomicrographs of rat kidneys with OAT3 in model group $\times 200$; F: Rat kidney OAT3 immunohistochemical expression score; ** $P < 0.01$ vs Normal group.

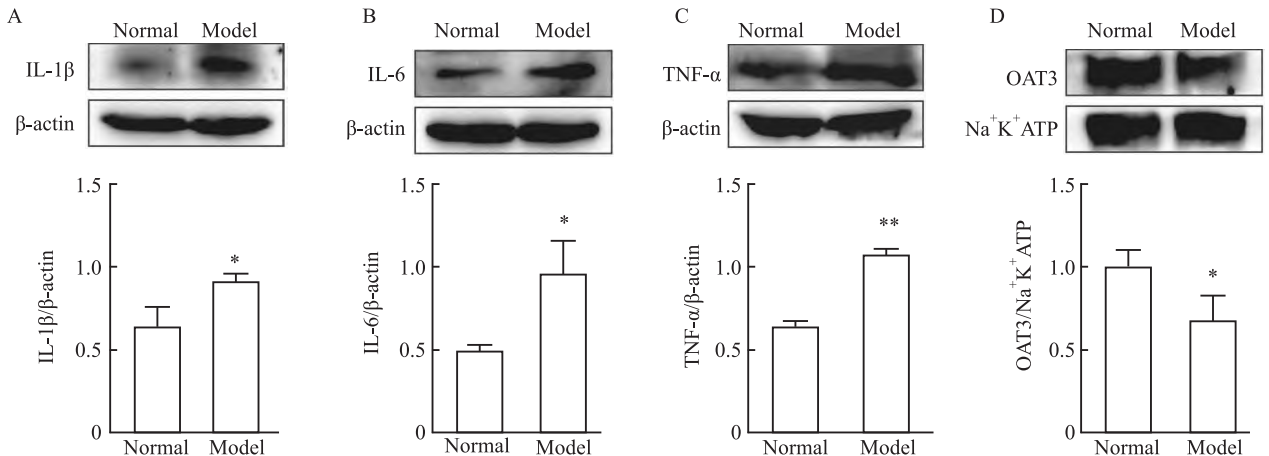


图 4 炎症因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的表达及肾皮质 OAT3 的表达水平 ($n = 5$)

Fig. 4 Expression of inflammatory factors IL-1 β , IL-6, TNF- α and expression level of OAT3 in renal cortex ($n = 5$)

A: Western blot was used to detect the expression of IL-1 β in the kidneys of AA rats; B: Western blot was used to detect the expression of IL-6 in the kidneys of AA rats; C: Western blot was used to detect the expression of TNF- α in the kidneys of AA rats; D: Western blot was used to detect the expression of OAT3 in the kidneys of AA rats; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Normal group.

如此,目前临床上治疗关节炎的首选药物包括甲氨蝶呤、质子泵抑制剂、抗感染药物(阿昔洛韦)等主要通过肾脏进行排泄,这些药物也会给 RA 患者的肾脏带来负担^[10-12]。肾脏上的 OAT3 转运蛋白位于近端肾小管的基底膜,是维持肾小管分泌和重吸收功能的主要转运体,可以通过利用钠-钾 ATP 酶产生的能量将其底物从血液摄取到肾小管细胞中,从而清除在生理 pH 下存在的代谢产物,对于维持体内系统稳态起关键作用^[13]。研究^[13]证明,OAT3 的缺失会导致阴离子药物呋塞米的肾脏排泄几乎消失,并且未发现有其他类型肾小管分泌对其补偿,同时肾小球滤过功能明显下降。然而,RA 患者体内释放的大量炎症因子在造成肾损伤的同时也会抑制肾脏上 OAT3 的表达^[8]。当 OAT3 表达异常时,会造成肾小管转运功能下降,这些代谢产物(肾毒性药物、抗生素、利尿剂、尿酸等)的累积将会进一步加重肾损伤^[14-15]。这些研究提示炎症因子不仅会造成关节炎和肾损伤,还会引起 OAT3 的表达异常,导致治疗关节炎的肾毒性药物累积,进一步加重肾损伤,这对开发新的关节炎治疗药物是一个重要思路。因此,本研究通过检测 AA 大鼠肾损伤指标的动态改变,为 RA 伴随的肾功能损伤的研究提供模型时间点的参考,同时检测 AA 大鼠肾脏出现肾损伤后,观察肾脏炎症因子与 OAT3 的表达改变,在一定程度上为 RA 的肾损伤机制研究提供新思路。

本研究首先建立了 AA 大鼠模型,随后进行不同时间点的肾损伤指标检测,研究结果显示,与正常组对比,AA 大鼠的 Scr、Cr、BUN 和尿蛋白指标显著升高($P < 0.05$),通过对大鼠 Cr 清除率的计算统计,证明 AA 大鼠存在明显的肾功能损伤并存在显著差异($P < 0.05$)。肾脏 HE 染色结果也显示,AA 大鼠出现了明显的炎性细胞浸润和急性肾小管损伤的情况($P < 0.05$)。后期通过对肾脏组织的炎症因子检测,发现 AA 大鼠肾脏炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平显著升高($P < 0.05$)。此外,由于存在于肾小管上皮细胞的 OAT3 在肾毒素排泄过程中发挥作用^[15],本研究还通过免疫组化和 Western blot 法检测了 AA 大鼠肾脏基底膜上 OAT3 的表达水平,结果显示与其他疾病引起的肾损伤疾病类似,OAT3 的表达水平显著降低($P < 0.05$)。

综上所述,本研究结果表明 AA 大鼠模型伴随着明显的肾功能损伤,这可能与炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 表达上调,转运蛋白 OAT3 表达下调有关。

参考文献

- [1] Sumida K, Molnar M Z, Potukuchi P K, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with biologic agents lowers the risk of incident chronic kidney disease[J]. *Kidney Int*, 2018, 93(5):1207-16. doi:10.1016/j.kint.2017.11.025.
- [2] 桑成晨,钱龙. 类风湿关节炎患者血浆外泌体 miR-16-5p 和 miR-223-3p 的表达及临床意义[J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(10):1628-32. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.10.030.
- [2] Sang C C, Qian L. Expression and clinical significance of miR-16-5p and miR-223-3p in plasma exosomes of patients with rheumatoid arthritis[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2020, 55(10):1628-32. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.10.030.
- [3] Carlos C P, de Carvalho E P, Angeli Junior E V, et al. Angiotensin involvement in kidney injury induced by rheumatoid arthritis in rat[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2021, 48(9):1271-9. doi:10.1111/1440-1681.13527.
- [4] Zhu J, Wang H, Chen J, et al. Inhibition of plasma kallikrein-kinin system to alleviate renal injury and arthritis symptoms in rats with adjuvant-induced arthritis[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2018, 40(2):134-48. doi:10.1080/08923973.2017.1418883.
- [5] 张明康,周燕,陈宇玥,等. 槲皮素对尿酸性肾病大鼠肾损伤的作用机制研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2022, 38(2):142-6. doi:10.13699/j.cnki.1001-6821.2022.02.010.
- [5] Zhang M K, Zhou Y, Chen Y Y, et al. Effect and mechanism of quercetin on the renal injury in uric acid nephropathy rats[J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2017, 292:15789-803. doi:10.13699/j.cnki.1001-6821.2022.02.010.
- [6] 魏萌萌. 有机阴离子转运体(Oats)和糜酶/Ang II 在阿德福韦所致慢性肾损伤和甲氨蝶呤所致急性肾损伤中的作用[D]. 兰州:兰州大学, 2020. doi:10.27204/d.cnki.glzhu.2020.001108.
- [6] Wei M M. Roles of organic anion transporters (Oats) and chymase/Ang II in chronic kidney injury induced by adefovir or acute kidney injury induced by methotrexate[J]. *Lanzhou: Lanzhou Univ*, 2020. doi:10.27204/d.cnki.glzhu.2020.001108.
- [7] Bush K T, Wu W, Lun C, et al. The drug transporter OAT3 (SLC22A8) and endogenous metabolite communication via the gut-liver-kidney axis[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292:15789-803. doi:10.1074/jbc.M117.796516.
- [8] 王传旭,周嘉宝,吴志远,等. 基于 IL-1 β 探讨矢志方对高尿酸血症小鼠肾组织 OAT1/3 表达的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2022, 29(12):70-5. doi:10.19879/j.cnki.1005-5304.202203682.
- [8] Wang C X, Zhou J B, Wu Z Y, et al. Effects of Shizhi prescription on the expression of OAT1/3 in the renal tissue of hyperuricemic mice based on IL-1 β [J]. *Chin J Inform TCM*, 2022, 29(12):70-5. doi:10.19879/j.cnki.1005-5304.202203682.
- [9] 刘德芳,晏姣,李莹,等. 三黄一龙汤调控 RAAS 防治佐剂性关节炎模型大鼠肾损伤机制研究[J]. *中国中西医结合杂*

- 志,2022,42(12):1469-75. doi:10.7661/j.cjim.20220506.015.
- [9] Liu D F, Yan J, Li W, et al. Mechanism of Sanhuang Yilong formula regulating RAAS and preventing kidney injury in adjuvant arthritis model rats[J]. *Chin J Integr Trad Western Med*,2022,42(12):1469-75. doi:10.7661/j.cjim.20220506.015.
- [10] 赵新才,卢进,吴红媛,等.大剂量甲氨蝶呤血药浓度影响因素和检测方法的研究进展[J]. *药学服务与研究*,2019,19(5):369-72. doi:10.5428/pcar20190512.
- [10] Zhao X C, Lu J, Wu H Y, et al. Research progress in influential factors and determination methods of plasma concentration of high-dose methotrexate[J]. *Pharm Care Res*,2019,19(5):369-72. doi:10.5428/pcar20190512.
- [11] 王丹,刘静,陈勇,等.类风湿关节炎患者MTHFR C677T基因多态性与甲氨蝶呤药物不良反应的关系[J]. *山东医药*,2021,61(34):11-4. doi:10.3969/j.issn.1002-266X.2021.34.003.
- [11] Wang D, Liu J, Chen Y, et al. Association between MTHFR C677T polymorphism and adverse drug reactions of methotrexate in rheumatoid arthritis patients[J]. *Shandong Med J*,2021,61(34):11-4. doi:10.3969/j.issn.1002-266X.2021.34.003.
- [12] Svanström H, Lund M, Melbye M, et al. Use of proton pump inhibitors and the risk of acute kidney injury among patients with rheumatoid arthritis: Cohort study[J]. *Drug Saf*,2018,41(8):817-26. doi:10.1007/s40264-018-0663-1.
- [13] 勾雪艳.基于CRISPR/Cas9技术构建有机阴离子转运体1/3双敲除大鼠模型及其基本特征评价[D].兰州:兰州大学,2023. doi:10.27204/d.cnki.glzhu.2023.002217.
- [13] Gou X Y. Construction and evaluation of an organic anion transporter 1/3 double-knockout rat model based on CRISPR/Cas9 technology[D]. Lanzhou:Lanzhou Univ, 2023. doi:10.27204/d.cnki.glzhu.2023.002217.
- [14] Liao X Y, Deng Q Q, Han L, et al. Leflunomide increased the renal exposure of acyclovir by inhibiting OAT1/3 and MRP2[J]. *Acta Pharmacol Sin*,2020,41(1):129-37. doi:10.1038/s41401-019-0283-z.
- [15] Nigam S K. The SLC22 transporter family: A paradigm for the impact of drug transporters on metabolic pathways, signaling, and disease[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*,2018,58:663-87. doi:10.1146/annurev-pharmtox-010617-052713.

Effects of adjuvant arthritis on renal function and expression of organic anion transporter 3 in rats

Li Mengyang¹, Wang Qianlei², Wei Wei¹, Wang Chun¹

(¹*Institute of Clinical Pharmacology, Anhui Medical University, Key Lab of Anti-inflammatory and Immune Medicine, Ministry of Education, Anhui Collaborative Innovation Center for Anti-inflammatory and Immune Medicine, Hefei 230032*; ²*The Center for Scientific Research of Anhui Medical University, Hefei 230032*)

Abstract Objective To investigate the effects of adjuvant arthritis (AA) on renal function and the expression of organic anion transporter 3 (OAT3) in rats. **Methods** The AA model was established *via* intradermal injection of Freund's complete adjuvant into the right hind toe of the rats. Blood and urine were collected at fixed time points to observe the dynamic changes of renal injury indicators. The kidney injury was observed by HE staining. Immunohistochemistry and Western blot were used to detect the expression levels of OAT3 protein and inflammatory factors interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in renal cortex. **Results** Compared with the normal group, the arthritis index score, the secondary paw swelling, the number of joint swelling, and the whole body score of AA rats significantly increased ($P < 0.05$). The X-ray results showed that the AA model rats had soft tissue edema and bone deformity. Biochemical indicators showed that the renal injury indicators of AA rats were significantly abnormal. The results of immunohistochemistry and Western blot showed that the expression level of OAT3 in renal cortex of AA rats significantly decreased, while the expression levels of inflammatory factors IL-6, TNF- α and IL-1 β significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** The renal injury of AA rats may be related to the decreased expression level of OAT3 and the increased expression level of inflammatory factors in kidney.

Key words adjuvant arthritis; kidney injury; rat; renal cortex; OAT3; inflammatory factors

Fund program Key Research and Development Program of Anhui Province (No. 2023s07020003)

Corresponding authors Wei Wei, E-mail: wwei@ahmu.edu.cn; Wang Chun, E-mail: wangchun@ahmu.edu.cn