

复肾功方对慢性肾衰竭大鼠 p38 MAPK 信号通路的影响

童潘, 黄学宽*, 沈清, 张洋, 徐珂, 罗洪玉
(重庆医科大学 中医药学院 附属第一医院, 重庆 400016)

[摘要] **目的:**观察复肾功方对慢性肾衰竭(CRF)大鼠 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)信号通路的影响,探讨其减轻肾组织炎症反应及延缓肾间质纤维化发展的作用机制。**方法:**将 55 只雄性 SD 大鼠随机分为正常组,模型组,复肾功方低、中、高剂量组,每组 11 只。正常组常规饲养,其余 4 组大鼠食用含 0.5% 腺嘌呤饲料制造 CRF 模型,连续造模 21 d。造模成功后,所有大鼠改用常规饲料。正常组和模型组灌胃生理盐水 20 mL·kg⁻¹,复肾功方低、中、高剂量组分别以 4, 8, 16 g·kg⁻¹灌胃水煎剂,每日 1 次,连续 30 d。实验结束后,Masson 染色观察肾间质纤维化程度,免疫组化检测肾脏单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的表达情况,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肾脏磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p-p38 MAPK)及转化生长因子-β₁(TGF-β₁)蛋白的表达情况。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠肾间质胶原沉积明显增多,肾脏组织 MCP-1 平均光密度值和 p-p38 MAPK, TGF-β₁ 蛋白表达水平均明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,复肾功方各剂量组肾间质胶原沉积明显减少,肾脏 MCP-1 平均光密度值及 p-p38 MAPK, TGF-β₁ 蛋白表达水平均明显降低($P < 0.05$)。**结论:**复肾功方能有效抑制 CRF 大鼠肾脏组织相关炎症因子表达,从而减轻肾组织炎症反应,延缓肾间质纤维化的发展,其机制可能与抑制 p38 MAPK 信号通路的激活有关。

[关键词] 复肾功方; 慢性肾衰竭; 肾组织炎症反应; 肾间质纤维化; p38 丝裂原活化蛋白激酶信号通路; 六味地黄丸

[中图分类号] R2-0; R285.5; R692 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)14-0105-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201440

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200511.1330.002.html>

[网络出版日期] 2020-5-11 15:14

Effect of Fushengong Prescription on p38 MAPK Signal Pathway of Rats with Chronic Renal Failure

TONG Pan, HUANG Xue-kuan*, SHEN Qing, ZHANG Yang, XU Ke, LUO Hong-yu
(College of Traditional Chinese Medicine, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of Fushengong prescription on p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK) signal pathway of rats with chronic renal failure (CRF), and to explore its mechanism of reducing inflammatory reaction of renal tissues and delaying the progress of renal interstitial fibrosis. **Method:** The 55 male Sprague-Dawley rats were randomly divided into normal group, model group, and low, medium and high dose groups of Fushengong prescription, with 11 rats in each group. The normal group was routinely reared, and the other four groups of rats were fed a diet containing 0.5% adenine to produce a model of CRF, which was continuously molded for 21 days. After successful modeling, all rats switched to conventional feed. Normal group and model group were given normal saline 20 mL·kg⁻¹, and each group of

[收稿日期] 20191226(013)

[基金项目] 重庆市卫生和计划生育委员会、重庆市科学技术委员会联合资助项目(ZY201802148);重庆市技术创新与应用发展专项面上项目(cstc2019jcsx-msxmX0119)

[第一作者] 童潘,在读硕士,从事肾病中医基础与临床研究,E-mail:631131907@qq.com

[通信作者] *黄学宽,教授,博士生导师,从事内分泌代谢疾病及肾病中医理论与临床,E-mail:xkhuang2002@cqmu.edu.cn

Fushengong prescription was given 4, 8, 16 g·kg⁻¹ of water prescription once a day for 30 days. After the experiment, Masson staining was used to observe the degree of renal interstitial fibrosis. The expression of monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) in renal tissues was detected by immunohistochemistry. The expression of phosphorylated p38 mitogen-activated protein kinase (p-p38 MAPK) and transformed growth factor- β_1 (TGF- β_1) in renal tissues were detected by Western blot. **Result:** Compared with normal group, the renal interstitial collagen deposition increased significantly, the average optical density value of MCP-1 and the expression levels of p-p38 MAPK and TGF- β_1 also increased significantly in model group ($P < 0.05$). Compared with model group, the renal interstitial collagen deposition reduced significantly, the average optical density value of MCP-1 and the protein expression levels of p-p38 MAPK and TGF- β_1 also decreased significantly in each dose group of Fushengong prescription ($P < 0.05$). **Conclusion:** Fushengong prescription can effectively inhibit the expression of related inflammatory factors in the renal tissue of CRF rats, so as to reduce the inflammatory response in the renal tissue and delay the progress of renal interstitial fibrosis, the mechanism of which may be related to inhibit the activation of p38 MAPK signal transduction pathway.

[Key words] Fushengong prescription; chronic renal failure; inflammatory reaction of renal tissues; renal interstitial fibrosis; p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway; Liuwei Dihuangwan

慢性肾衰竭(CRF)是由于慢性进行性肾实质损害而导致肾小球滤过率下降和与此相关的代谢紊乱及不适症状的一种临床综合征,为各种慢性肾脏疾病(CKD)持续发展的最终归宿^[1]。肾间质纤维化作为CKD进行性发展的最终结局,也是CRF的主要病理基础。中药及其复方在防治慢性疾病中有独特优势,可通过化浊除湿、调补肝肾、补益气血等作用改善CKD患者的临床症状,降低并发症并提高其生存质量^[2]。复肾功方是著名中医学家、首届国医大师郭子光教授根据《小儿药证直诀》所载六味地黄丸化裁而成,是治疗慢性肾衰竭早中期的经验方^[3],也是本课题组长期动物实验研究治疗慢性肾衰竭的干预方剂。前期实验研究发现,本方能有效改善肾功能,降低肾组织 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)表达^[4],升高足细胞裂孔隔膜蛋白(nephrin)mRNA的表达^[5],同时对Shh信号通路具有调控作用^[6];经基于同位素标记相对和绝对定量(iTRAQ)蛋白质组学研究显示,其差异蛋白主要聚集在补体凝血级联和炎症反应途径^[7]。而炎症是CKD形成的始动因素之一,且持续存在的微炎症状态贯穿于该病发展的始末^[8],复肾功方能有效干预CRF大鼠肾组织炎症的发展是否与抑制p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)信号通路的激活有关,目前尚未见有关报道。而p38 MAPK信号通路作为MAPKs家族中4个主要信号转导途径之一,在调控肾组织炎症反应过程中有着十分重要的作用^[9]。为此,研究复肾功方对CRF大鼠p38 MAPK信号通路及相关细胞因子表达的影响,可进一步阐释其延缓

CRF进展的可能作用机制,为该方治疗CRF提供新的实验依据。

1 材料

1.1 动物 SPF级SD大鼠55只,雄性,体质量(200±20)g,IVC环境饲养,温度为19~25℃,湿度为50%~80%,由重庆医科大学动物实验中心提供,合格证号SCXK(渝)2018-0003,动物使用许可证号SYXK(渝)2018-0003,实验操作经重庆医科大学实验动物伦理委员会批准(批准号CMU2015-011)。

1.2 药物及试剂 复肾功方由生黄芪、水蛭、生地黄、山药、山茱萸、牡丹皮、茯苓、车前子、黄柏、苍术、牛膝、杜仲等组成,原生药材购自重庆桐君阁股份有限公司;0.5%腺嘌呤饲料购自南通特洛菲饲料科技有限公司。免疫组化试剂盒(武汉谷歌生物科技有限公司,批号AR1022);SDS-PAGE凝胶制备试剂盒,BCA蛋白定量检测试剂盒(重庆海韵生物技术有限公司,批号分别为P0012A,P0010S);兔抗p-p38 MAPK(美国CST公司,批号4511);兔抗p38 MAPK,转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)(英国Abcam公司,批号分别为ab32142,ab92486);Masson染色液兔抗单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1),鼠抗 β -肌动蛋白(β -actin),辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗大鼠二抗(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号分别为G1006,GB11199,GB12001,GB23302)。

1.3 仪器 KZ-II型匀浆仪(武汉康涛科技有限公司);D3024R型台式高速冷冻型微量离心机(北京大龙兴创实验仪器有限公司);NanoDrop2000型超

微量分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); PL-203 型电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司); BX51T-PHD-J11 型显微镜, 图像采集系统(日本 Olympus 公司); Rt2100c 酶标检测仪(美国 Rayto 公司); DYY-6C 型电泳仪(北京六一仪器厂); V300 型扫描仪(日本 Epson 公司); AlphaEaseFC 型灰度分析软件(美国 Alpha Innotech 公司); Adobe PhotoShop 图像分析软件(美国 Adobe 公司)等。

2 方法

2.1 动物造模、分组及给药方法 55 只 SD 雄性大鼠 IVC 环境适应性喂养 1 周后, 随机分为正常组, 模型组, 复肾功方低、中、高剂量组, 每组 11 只。正常组常规饲养, 其余 4 组大鼠食用含 0.5% 腺嘌呤饲料制造 CRF 模型, 连续 21 d。造模后大鼠血肌酐和尿素氮值明显升高, 肾脏有大量炎症细胞浸润和肾间质纤维化严重等病理表现, 表明 CRF 大鼠模型造模成功^[10]。造模成功后停用造模饲料, 各组均采用常规饲料饲养。复肾功方水煎剂是通过用冷水浸泡药物 30 min, 大火煮沸后小火煎 30 min 共煎 3 次, 合并药液, 并浓缩为 $1.0 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的水煎剂制作而成。正常组、模型组采用生理盐水灌胃, $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; 根据课题组前期研究和参照《药理学实验方法学》换算大鼠用药量^[11], 复肾功方低、中、高剂量组分别按照生药 4, 8, 16 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体质量比例每日 1 次灌胃复肾功方水煎剂, 连续灌胃 30 d。

2.2 标本采集与指标检测

2.2.1 病理组织学观察 末次给药后, 大鼠禁食不禁水 12 h, 以 20% 乌拉坦 $5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 麻醉, 心脏采血 3~5 mL, 静置 1~2 h, $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 分离出血清, 取上清液, 4°C 保存以备其他生化指标检测用。颈椎脱臼处死大鼠, 打开腹腔, 取出肾脏组织, 部分肾脏组织用 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 切片, 经二甲苯脱蜡、梯度乙醇和 Masson 染色, 常规脱水、透明、中性树脂封片、镜检。

2.2.2 免疫组化检测肾脏 MCP-1 的表达 取肾组

织, 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋切片, 脱蜡至水化, 添加抗原修复液微波修复, 缓冲液 5 min/次, 一抗 37°C 反应 1 h, 冲洗, 二抗室温孵育 30 min, DAB 染色后重染, 脱水透明; 显微镜观察, 棕黄色为阳性染色, 采用 Image-Pro Plus 6.0 软件对各组 MCP-1 平均积分吸光度 AA 进行统计分析。

2.2.3 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肾脏 p-p38 MAPK, p38 MAPK, TGF- β_1 蛋白的表达 取肾组织, 置于匀浆管中剪碎, 低温研磨 3 次, 冰浴, 采用半径为 8.5 cm 的低温离心机 4°C , $13000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 提取上清液, 参照 BCA 蛋白定量检测试剂盒说明书测定蛋白浓度, 上样缓冲液配平, 金属浴 15 min 变性, -20°C 分装备用; SDS-PAGE 电泳, 灌胶, 上样, 电泳, 转膜, 5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 一抗 p-p38 MAPK, p38 MAPK, TGF- β_1 , β -actin (1:1 000) 4°C 孵育过夜, 清洗, 二抗 HRP (1:3 000) 室温孵育 30 min, TBST 清洗 3 次, 每次 15 min, 滴加 ECL 显影 2 min, 凝胶成像系统进行灰度扫描, Image-Pro Plus 及 Alpha 软件处理分析目标条带的光密度值。

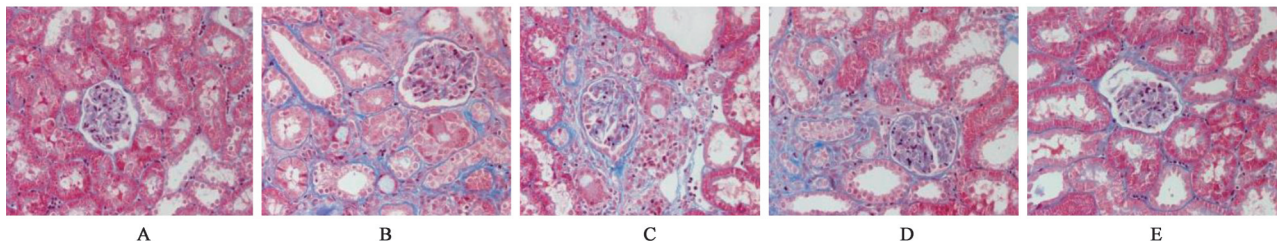
2.3 统计学处理 数据运用 SPSS 19.0 软件进行分析, 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 CRF 大鼠肾组织形态学的影响 Masson 染色显示, 正常组大鼠肾间质出现少量胶原丝状沉积, 而模型组大鼠肾间质可见胶原沉积明显增多, 环状沉积则主要见于肾小球基底膜和肾小管上皮等处, 提示模型组大鼠肾间质出现明显纤维化; 经复肾功方各剂量组干预治疗后, 大鼠肾间质胶原沉积明显减少, 提示肾间质纤维化明显改善。见图 1。

3.2 对 CRF 大鼠肾组织 MCP-1 蛋白表达的影响

正常组大鼠在肾小管上皮细胞只有少量 MCP-1 蛋白表达, 且分布较为均匀; 模型组及复肾功方各剂量组 MCP-1 的表达主要集中分布在健存肾小管



A. 正常组; B. 模型组; C. 复肾功方低剂量组; D. 复肾功方中剂量组; E. 复肾功方高剂量组(图 2, 3 同)

图 1 复肾功方对 CRF 大鼠肾组织形态学的影响(Masson, $\times 400$)

Fig. 1 Effect of Fushengong prescription on morphology of renal tissues in CRF rats(Masson, $\times 400$)

上皮细胞,表达水平平均高于正常组($P<0.05$),尤以模型组表达更为明显;经复肾功方各剂量组干预治疗

后,各组阳性表达平均吸光度值均明显减少($P<0.05$),以复肾功方高剂量组为最低。见图2,表1。

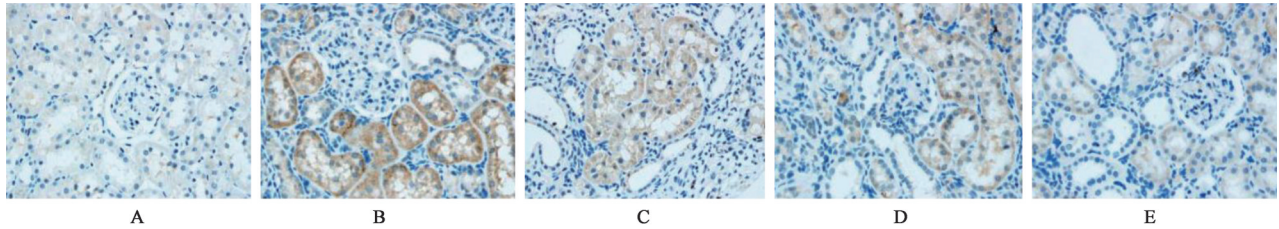


图2 复肾功方对CRF大鼠肾组织MCP-1蛋白表达的影响(免疫组化,×400)

Fig. 2 Effect of Fushengong prescription on MCP-1 protein of renal tissues in CRF rats(IHC, ×400)

表1 复肾功方对CRF大鼠肾组织MCP-1平均积分光密度值的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Effect of Fushengong prescription on mean integral optical density values of MCP-1 of renal tissues in CRF rats($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	MCP-1
正常	-	0.041±0.005
模型	-	0.097±0.019 ¹⁾
复肾功方	16	0.063±0.003 ^{2,3,4)}
	8	0.068±0.001 ^{2,3)}
	4	0.074±0.004 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较²⁾ $P<0.05$;与复肾功方低剂量组比较³⁾ $P<0.05$;与复肾功方中剂量组比较⁴⁾ $P<0.05$ (表2同)。

3.3 对CRF大鼠肾组织p-p38 MAPK, TGF-β₁蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组肾组织p-p38 MAPK, TGF-β₁蛋白表达明显升高($P<0.05$);与模型组比较,复肾功方各剂量组p-p38 MAPK, TGF-β₁蛋白表达水平均明显下降($P<0.05$),以高剂量组为最低。见图3,表2。

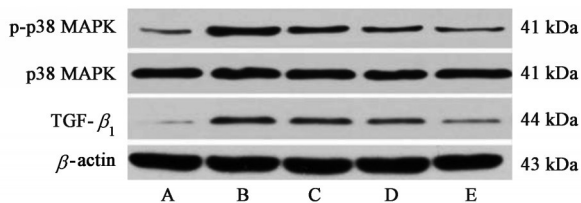


图3 各组大鼠肾组织中p-p38 MAPK, p38 MAPK, TGF-β₁蛋白表达电泳

Fig. 3 Electrophoresis of protein expression of p-p38 MAPK, p38 MAPK and TGF-β₁ in renal tissues of each group rats

4 讨论

CRF给人类健康带来的负担是巨大的,据世界卫生组织估计,2012年CKD导致死亡人数已占全球死亡人数的1.5%,到2030年其死亡率将持续增加,达到每10万人中有14人死亡^[12];而我国CKD患

表2 复肾功方对CRF大鼠肾组织p-p38 MAPK, TGF-β₁蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effect of Fushengong prescription on p-p38 MAPK and TGF-β₁ protein of renal tissues in CRF rats($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	p-p38 MAPK /p38 MAPK	TGF-β ₁ /β-actin
正常	-	0.20±0.02	0.16±0.03
模型	-	0.81±0.10 ¹⁾	0.56±0.03 ¹⁾
复肾功方	16	0.35±0.04 ^{2,3,4)}	0.27±0.01 ^{2,3,4)}
	8	0.44±0.05 ^{2,3)}	0.44±0.04 ^{2,3)}
	4	0.64±0.07 ²⁾	0.48±0.01 ²⁾

病率大约为13%,较2012年升高了近3个百分点^[13]。现代医学目前主要依靠控制血压、血糖、蛋白尿、改善饮食、纠正紊乱等治疗方案,而随着对其发病机制的不断研究,如靶向炎症控制、纤维化改善及足细胞损伤修复等新的治疗方法也在不断出现,但仍无法持续有效地干预其进展并可能伴有更加明显的副作用^[14]。

复肾功方由六味地黄丸加生黄芪、水蛭、杜仲、车前子、苍术、牛膝、黄柏等中药化裁而成,具有补肾活血降浊之功,适应于CRF早、中期的治疗。现代药理研究证实,方中生黄芪具有利尿、调节血压、降低尿蛋白和提高免疫力作用;水蛭有抗血小板聚集、抗血栓等作用,能改善血液流变性,对慢性肾炎循环免疫复合物还有清除作用;生地、山药、山茱萸均有抗炎、抗氧化、调节血压和提高免疫力等作用;牡丹皮有抗炎、抗凝血和抗血栓等作用;茯苓有利尿作用;杜仲有利尿、抗炎、调节免疫等作用;车前子可抑制肾脏草酸钙结晶的沉积和抑制肾脏Na⁺-K⁺-ATP酶的活性;苍术有抗菌、降糖等功效;牛膝所含甾体类激素有增强肾脏蛋白质合成等作用;黄柏有抗炎、降压、降低血尿酸等作用^[15]。全方合用,有抗炎、抗血小板聚集、改善肾血流量和保护肾功能等作用。故慢性肾衰竭早中期及时采用复肾功方

治疗可有效减轻炎症、改善肾血流量,从而保护和改善肾功能。

CRF常表现为肾小球硬化和间质纤维化等病理组织学改变,而纤维化作为一种反应过程主要发生在上皮损伤的反应中,几乎总是伴有炎症存在,可表现为炎症细胞因子表达增加和巨噬细胞、炎症细胞的积聚^[10],这与前期研究复肾功方干预CRF的血清蛋白质组学实验结果接近。而炎症细胞因子的弥漫性浸润是CRF肾间质纤维化的基本特征,成纤维细胞的活化增殖以及组织固有细胞的转分化常可导致细胞外基质(ECM)的过度积累^[16];当肾脏发生损伤时,各种炎症因子、炎症细胞作为血流动力障碍、氧化应激、代谢紊乱等致病机制的下游途径,贯穿于整个CRF的发生和发展过程,并在持续存在的组织炎症反应中,炎症细胞的募集又会不断释放出大量炎症致纤维化因子,同时也刺激肾脏固有细胞的转分化,从而加速了CRF的进程^[17]。

p38 MAPK作为MAPKs家族中4个主要信号转导途径之一,近年研究发现其参与了肾组织炎症损伤过程中的细胞内信号转导^[18]。当p38 MAPK信号转导通路的上游启动因子(外界细胞因子、炎症因子以及应激等因素)通过与细胞表面上各种相应受体结合后,触发3级激酶级联反应依次磷酸化PAK(MAPKKKK)和MLK(MAPKKK或MKKK),MKK3/MKK6,p38 MAPK^[19],活化后的p38 MAPK(p-p38 MAPK)作为其转导通路下游的关键蛋白分子进入细胞核内,调控某些转录因子的活性表达,促进MCP-1,TGF- β 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-6(IL-6)等相关炎症细胞因子的产生,从而增加组织细胞的炎症浸润^[20]。而其产生的MCP-1与其相应受体结合后可上调某些黏附分子如ICAM-1,VCAM-1的表达,促进炎症细胞如单核、巨噬细胞向炎症反应部位聚集。有研究表明,受趋化和黏附分子的影响,巨噬细胞在组织炎症反应部位的募集会适应性分泌大量促炎、促纤维化和结缔组织因子参与组织的过度修复过程^[21],其聚集活化也可直接分化为成纤维细胞,从而加快组织纤维化的形成^[22]。故研究复肾功方对CRF大鼠p38 MAPK信号通路的影响,从炎症因子角度探讨其延缓CRF肾间质纤维化的可能作用机制具有十分重要的意义。

本实验结果显示,与正常组比较,模型组大鼠肾间质胶原沉积和p-p38 MAPK蛋白表达明显增多,表明p38 MAPK信号转导通路在其中得到激活;

而经复肾功方干预治疗后,肾间质胶原沉积与p-p38 MAPK蛋白表达明显降低,提示复肾功方能有效降低肾间质中胶原沉积和p38 MAPK蛋白分子在肾组织中的活化表达,从而抑制p38 MAPK信号通路的激活;而在免疫组化实验中发现,模型组大鼠MCP-1蛋白平均积分光密度值明显增高,经复肾功方干预治疗后其表达水平明显降低,提示CRF大鼠肾组织中的炎症反应得到一定程度控制,其结果与前期的血清蛋白质组学研究结论相佐证;Western blot免疫印迹实验结果显示致纤维化的关键因子TGF- β_1 蛋白的表达也得到一定程度控制。

可见,复肾功方能有效抑制相关炎症因子的表达,减轻肾组织炎性损伤,延缓CRF肾间质纤维化的发展,其机制可能与抑制p38 MAPK信号通路的激活,减少下游相关炎症性因子的表达有关。而中药复方治疗CRF具有多靶点、多调控机制的作用,但其内在作用机制及调控靶点还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 韩海燕,路建饶,王新华. 肾衰方改善早中期慢性肾衰竭患者肾功能及纤维化的临床观察[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(15):166-170.
- [2] ZHONG Y, MENON M C, DENG Y Y, et al. Recent advances in traditional Chinese medicine for kidney disease[J]. Am J Kidney Dis,2015,66(3):513-522.
- [3] 黄学宽. 郭子光临床经验集[M]. 北京:人民卫生出版社,2009:275.
- [4] 王玲,黄学宽,万磊,等. 复肾功方对慢性肾功能衰竭大鼠肾脏 α -平滑肌肌动蛋白表达的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学,2016,21(1):33-37.
- [5] 王玲,黄学宽,万磊,等. 复肾功方对慢性肾功能衰竭大鼠肾脏Nephrin mRNA表达的影响[J]. 四川大学学报:医学版,2016,47(3):342-346.
- [6] 万磊,黄学宽,王玲,等. 复肾功方对慢性肾功能衰竭大鼠肾功能及Shh信号通路的影响[J]. 中医杂志,2015,56(20):1771-1774.
- [7] YANG Y, WEI J M, HUANG X K, et al. iTRAQ-based proteomics of chronic renal failure rats after FuShengong Prescription treatment reveals haptoglobin and Alpha-1-Antitrypsin as potential biomarkers [J]. eCAM, 2017, doi: 10.1155/2017/1480514.
- [8] LIM A K H, TESCH G H. Inflammation in diabetic nephropathy [J]. Mediators Inflamm, 2012, doi: 10.1155/2012/146154.
- [9] LIU Y. Cellular and molecular mechanisms of renal

- fibrosis[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2011, 7(12):684-696.
- [10] 梁亮,王圣志,何学红. 参芪泄浊饮对腺嘌呤致慢性肾衰大鼠模型肾组织细胞外基质表达影响[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2015, 17(1):27-29.
- [11] 魏伟. 药理实验方法学[M]. 4版. 北京:人民卫生出版社, 2010:69-73.
- [12] WEBSTER A C, NAGLER E V, MORTON R L, et al. Chronic kidney disease [J]. *Lancet*, 2017, 389(10075):1238-1252.
- [13] 康阳. 中国成人慢性肾脏病患病率Meta分析[D]. 郑州:郑州大学, 2017:6.
- [14] ZHONG J Y, YANG H C, FOGO A B. A perspective on chronic kidney disease progression [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2017, 312(3):F375-F384.
- [15] 梅全喜. 简明实用中药药理手册[M]. 北京:人民卫生出版社, 2010.
- [16] SATO Y K, YANAGITA M. Resident fibroblasts in the kidney: a major driver of fibrosis and inflammation [J]. *Inflamm Regen*, 2017, 37:17.
- [17] YANG Y, SONG M F, LIU Y, et al. Renoprotective approaches and strategies in acute kidney injury [J]. *Pharmacol Ther*, 2016, 163:58-73.
- [18] DECLÈVES A E, SHARMA K. Novel targets of antifibrotic and anti-inflammatory treatment in CKD [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2014, 10(5):257-267.
- [19] CASSIDY H, RADFORD R, SLYNE J, et al. The role of MAPK in drug-induced kidney injury [J]. *J Signal Transduct*, 2012, doi: 10.1155/2012/463617.
- [20] 黄燕如,万毅刚,孙伟,等. 雷公藤多苷调节肾组织 p38 MAPK 信号通路改善糖尿病肾病肾小球炎症性损伤的作用和机制[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(21):4102-4109.
- [21] XU L H, SHEN P Q, BI Y L, et al. Danshen injection ameliorates STZ-induced diabetic nephropathy in association with suppression of oxidative stress, pro-inflammatory factors and fibrosis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 38:385-394.
- [22] 陈建,曾莉,何立群,等. 从巨噬细胞角度研究肾纤维化发病机制进展[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2015, 16(7):639-641.

[责任编辑 孙丛丛]