

益气化湿通络方通过调节 NF- κ B 信号通路改善慢性肾功能衰竭大鼠炎性纤维化的实验研究

朱晓婷^{1,3}, 陈志强^{1,2*}, 张亚楠¹, 李洁¹, 延小丽¹, 赵卓¹, 李婷¹

1. 河北中医学院, 河北 石家庄 050228

2. 河北省中医院, 河北 石家庄 050011

3. 唐山市人民医院, 河北 唐山 063001

摘要: 目的 观察益气化湿通络方对慢性肾功能衰竭(CRF)大鼠炎症及纤维化的改善作用,并探讨其可能的分子机制。方法 用Platt法制备CRF大鼠模型,将造模成功的24只SD雄性大鼠分为模型组、益气化湿通络方组和贝那普利组,每组8只,同时设假手术组(8只)。观察大鼠血生化指标血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)及通过HE和天狼星红染色观察残肾组织病理改变;通过实时荧光定量PCR检测FN mRNA表达水平;Western blotting技术观察大鼠肾组织核转录因子- κ B(NF- κ B)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、纤维连接蛋白(FN)蛋白表达情况;免疫组化法观察FN蛋白表达情况,免疫荧光法观察NF- κ B蛋白的表达情况。结果 模型组大鼠Scr、BUN水平升高,病理改变呈现明显的炎症浸润及胶原沉积,NF- κ B、ICAM-1、TGF- β 1、FN蛋白表达水平增高。经益气化湿通络方及贝那普利干预后Scr、BUN值降低,炎症减少,胶原沉积减少,NF- κ B、ICAM-1、TGF- β 1、FN蛋白表达减少。结论 益气化湿通络方改善了CRF模型大鼠的肾功能,通过调节NF- κ B通路和TGF- β 1蛋白水平减缓残存肾脏炎症及纤维化的病理进程。

关键词: 益气化湿通络方;慢性肾功能衰竭;炎症;纤维化;NF- κ B信号通路;TGF- β 1

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)08-2193-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.08.028

Study on effect of Yiqi Huashi Tongluo Formula on renal inflammation and fibrosis in rats with chronic renal failure via regulating NF- κ B pathway

ZHU Xiao-ting^{1,3}, CHEN Zhi-qiang^{1,2}, ZHANG Ya-nan¹, LI Jie¹, YAN Xiao-li¹, ZHAO Zhuo¹, LI Ting¹

1. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050228, China

2. Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China

3. Tangshan People's Hospital, Tangshan 063001, China

Abstract: Objective To observe the ameliorative effect of Yiqi Huashi Tongluo Formula on inflammation and fibrosis in rats with chronic renal failure and explore its possible related mechanism. **Methods** The rat model of chronic renal failure was established by Platt method. 24 SD male rats were divided into model group (Model), Yiqi Huashi Tongluo Formula group (YHT) and benazepril group (Benazepril Hydrochloride, BH) with eight rats in each group. At the same time, eight sham-operated control groups were set up with (Sham). The blood biochemical indexes Scr and BUN were observed, and the pathology of remnant kidney was observed by HE and Sirius red staining. The expression of FN mRNA protein was detected by real-time fluorescence quantitative PCR, and the expression of NF- κ B (activated nuclear factor-kappaB), ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1), TGF- β 1 (transforming growth factor- β 1) and FN (fibronectin) in rat kidney tissue was observed by Western blot technique, and the expression of FN protein was observed by immunohistochemistry and NF- κ B protein was observed by immunofluorescence staining. **Results** In the model group, the levels of Scr and BUN were increased, the pathological film showed obvious inflammatory infiltration and collagen deposition, and the expression levels of NF-kappaB, ICAM-1, TGF- β 1 and FN were increased. After the intervention of Yiqi Huashi Tongluo Formula or benazepril, the values of Scr and bun were decreased, inflammation level was reduced, collagen deposition was decreased,

收稿日期: 2019-10-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81373804);河北省科技计划项目(14277708D);河北省研究生创新资助项目(XCXZZBS2019003)

作者简介: 朱晓婷(1982—),女,博士,研究方向为慢性肾脏病的中医药治疗及机制研究。Tel: 13315553950 E-mail: xiaotingxxn@163.com

*通信作者 陈志强(1962—),男,博士生导师,教授,研究方向为中西医结合治疗肾脏疾病。Tel: (0311)69095003 E-mail: chenzhqiang2011@163.com

and the expression levels of NF- κ B, ICAM-1, TGF- β 1 and FN protein were decreased. **Conclusion** Yiqi Huashi Tongluo Formula can improve renal function, reduce inflammation and inhibit fibrosis in rats with 5/6 renal resection, and its mechanism is related to affecting NF- κ B signaling pathway and regulating TGF- β 1 protein. It is suggested that Yiqi Huashi Tongluo Formula can effectively treat chronic renal failure.

Key words: Yiqi Huashi Tongluo Formula; chronic renal failure; inflammation; fibrosis; NF- κ B pathways; TGF- β 1

慢性肾功能衰竭 (chronic renal failure, CRF) 是各种慢性肾脏疾病 (chronic kidney disease, CKD) 的共同结局, 已成为我国重要的公共卫生问题^[1]。CRF 的病理演化过程是多种因素引起肾小球和肾小管的损伤, 持续损伤造成肾组织萎缩、纤维化, 最终进展为 CRF。越来越多的证据表明炎症在 CRF 的进展中起着重要的作用^[2]。炎症开始是多种肾脏损伤的保护性反应; 然而, 持续的炎症刺激物可活跃成纤维细胞促进肾成纤维原基因表达和进展性肾纤维化^[3]。大量报道提示核转录因子- κ B (NF- κ B) 信号通路对巨噬细胞浸润和炎症的调节具有重要作用^[4]。因此调节 NF- κ B 信号通路可以起到控制炎症反应进而延缓 CRF 进展的作用。本实验旨在探讨在 5/6 肾切除大鼠 CRF 的模型中 NF- κ B 信号通路和转化生长因子- β 1 (TGF- β 1) 与 CRF 炎症、纤维化进程的关系及益气化湿通络方治疗 CRF 可能的分子机制。

中医药有着几千年的历史, 临床应用有着可靠和有益的治疗效果^[5-7]。目前, 中医学界对 CRF 炎症与纤维化反应临床表现出的症状辨证, 认识到 CRF 基本病机是气阴两虚、瘀湿阻滞络脉贯穿病程始终。提示 CRF 瘀湿阻滞肾络与炎性纤维化反应发病学说之间具有一定的相关性^[8]。益气化湿通络方治以益气补肾、化湿通络, 祛除病理产物, 缓解纤维化, 有效改善 CRF 患者症状并延缓其进入透析及肾移植等晚期阶段的进程^[9]。本研究旨在探讨益气化湿通络方是否是通过调控炎症反应, 改善 CRF 大鼠的肾功能及纤维化, 并阐明此方对 CRF 产生治疗作用可能的分子机制。

1 材料

1.1 动物

SPF 级健康雄性 SD 大鼠 60 只, 体质量 (190 \pm 20) g, 购自北京维通利华实验动物有限公司, 合格证号 SCXK (京) 2008-0016。大鼠分笼饲养于河北中医学院实验动物中心, 大鼠自由饮水和进食, 进食标准普通饲料, 12 h 交替光照。

1.2 药物

益气化湿通络方组方药材: 黄芪 (批号

18111301) 25 g、当归 (批号 1811073) 12 g、川芎 (批号 180604) 10 g、红花 (批号 181105) 10 g、地龙 (批号 18062001) 10 g、水蛭 (批号 1809082) 3 g、仙茅 (批号 180501) 10 g、仙灵脾 (批号 180703) 12 g、藿香 (批号 181101) 6 g、佩兰 (批号 180905) 6 g、陈皮 (批号 180701) 12 g、白豆蔻 (批号 20181001) 6 g、土茯苓 (批号 180801) 30 g、积雪草 (批号 187101) 30 g, 以上药材均为中药颗粒剂 (广东一方制药有限公司提供, 河北省中医院处方); 盐酸贝那普利片 (商品名洛丁新, 购于北京诺华制药有限公司, 批号 X1763)。

1.3 试剂与仪器

尿素氮 (BUN)、血肌酐 (Scr) 试剂均购自南京建成生物工程研究所。兔抗大鼠 NF- κ B、细胞间黏附分子-1 (ICAM-1)、TGF- β 1、纤维连接蛋白 (FN) 单克隆一抗购于美国 Abcam 公司, 山羊抗兔二抗由武汉博士德生物公司提供。RNA 提取试剂盒、逆转录酶试剂盒、荧光定量试剂盒均购自普洛麦格生物有限公司, 引物由上海生物工程有限公司合成。

2 方法

2.1 动物模型制备

采用 Platt 法制备 5/6 肾切除 CRF 大鼠模型。用 10% 水合氯醛 (3.5 mL/kg) ip 麻醉大鼠, 大鼠俯卧左脊骨旁切口, 游离出左肾, 弧形切除上下极各 1/3 肾皮质组织, 止血、复位、缝合; 1 周后切摘整个右肾。假手术组大鼠进行剥离两侧肾包膜操作, 不切除肾脏。造模成功的模型大鼠 24 只, 假手术组大鼠 8 只, 本实验模型组存活率约 50% (此存活率与文献报道相符^[10])。

2.2 分组及干预

将成模大鼠随机分为模型组、益气化湿通络方组、贝那普利阳性对照组、假手术组共 4 组。益气化湿通络方组将颗粒剂 [以大鼠与人药物剂量折算方法折算临床剂量 2.76 g/(kg·d)] 溶于沸水按 10 mL/kg 制成混悬液, 放至室温后 ig 给药; 贝那普利组 ig 贝那普利溶液 [贝那普利片 0.9 mg/(kg·d) 温开水溶解, 按 10 mL/kg 制成溶液]; 假手术组和模

型组 ig 等量温开水。造模成功分组后即开始给药，每天 1 次，连续 12 周。

2.3 标本采集及检测

2.3.1 标本采集 12 周给药结束后，3%戊巴比妥钠 1.5 mL/kg ip 麻醉大鼠，腹主动脉取血，分离血清用于相关指标检测；取大鼠左侧肾脏，部分放于 10%福尔马林溶液，用于病理学指标检测，部分存储于 -80 °C 冰箱，用于蛋白及基因表达检测。

2.3.2 血生化指标测定 用全自动血生化分析仪检测血 Scr、血 BUN 水平。

2.3.3 肾脏病理检测 取福尔马林固定后的肾脏标本，石蜡包埋，制成 3 μm 切片，经 HE 染色、天狼星红染色后，显微镜下观察肾组织病理改变。

2.3.4 Western blotting 检测肾组织 NF-κB、ICAM-1、TGF-β1 和 FN 蛋白表达 取少量肾组织，用含蛋白酶抑制剂和苯甲磺酰氟的溶解缓冲液进行匀浆。离心 10 min，取上清液作为蛋白提取液。提取总蛋白，用 Bradford 法进行浓度测定。取 30 μg 总蛋白进行 SDS-PAGE 电泳，然后用微型蛋白质双凝胶电泳系统将其转移到硝化棉膜上。室温下用 5% 牛血清白蛋白 (BSA) 孵育 RRED 膜 3 h。一抗孵育过夜，然后二抗 (抗体稀释 1 : 2 000) 室温孵育 2 h 后，应用 Fusion FX5 Spectra 多功能成像系统 (法国 Viber 公司) 发光显色并拍照。采用 Quantity One 分析软件对每个蛋白的含量进行灰度测定分析，每个条带重复 3 次。

2.3.5 免疫组织化学法检测 NF-κB、FN 蛋白表达 石蜡包埋的肾组织切片在二甲苯中分离，在不同浓度的乙醇中再水化。在柠檬酸缓冲液 (pH 6.0) 中，92~95 °C 作用 15 min，进行微波抗原修复，高火 1 min，间歇 1 min，反复 3 次。冷却至室温，用 PBS 洗涤 3 次，每次 5 min。用 8.3% H₂O₂ 浸泡 20 min。3 次用 PBS 冲洗 5 min。然后在 4 °C 下用一次抗体孵育一次，用 PBS 冲洗 3 次，5 min。滴加二抗 B 放置 30 min，PBS 洗 3 次，每次 5 min。用 DAB 显色，苏木素复染、封片。用光学显微镜对 200 倍放大切片的显微照片进行图像分析。棕色区域为阳性，染色强度以积分吸光度值计算。

2.3.6 荧光显微镜检测 NF-κB 在细胞核内的表达情况 肾组织石蜡切片经脱蜡、梯度酒精复水后，抗原修复、漂洗、湿盒内封闭，一抗染色抗 (NF-κB 1 : 100) 过夜。加荧光标记的二抗，防荧光淬灭封片剂封片，在荧光显微镜下观察拍照。

2.3.7 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测肾组织的 FN mRNA 表达 按 Trizol 说明提取 RNA，测定并计算 RNA 的浓度和纯度；取 RNA 在反转录酶的作用下合成 cDNA，利用 SYBR 绿色 PCR 主混合物 (Termo Fisher ScienceInc.) 进行实时 PCR 反应。PCR 反应体系为 SYBR buffer (2×) 25 μL，上、下游引物各 1 μL，cDNA 模板 1 μL，加灭菌蒸馏水至 50 μL。反应条件：94 °C 初始变性 5 min，94 °C 变性 30 s，58 °C、30 s，72 °C 延长 15 s。FN 上游引物序列：5'-GGATCCCCTCCAGAGAAGT-3'，下游引物序列：5'-GGGTGTGGAAGGGTAA-CCAG-3'，引物长度 188 bp。检测荧光信号，得出 C_t 值，然后根据 C_t 值计算其相对表达量，实验重复 3 次。

2.4 统计学方法

数据采用 SPSS 22.0 统计软件进行分析，统计结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间的相关数据比较分析采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 各组大鼠 Scr、BUN 的变化

结果见表 1。与假手术组相比，模型组大鼠血清 Scr、BUN 水平明显增高 ($P < 0.05$)，提示模型组大鼠肾功能有一定的损伤。与模型组比较，各治疗组大鼠血清 Scr、BUN 水平均有一定程度的降低 ($P < 0.05$)。

表 1 益气化湿通络方对 CRF 大鼠肾功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 1 Effect of Yiqi Huashi Tongluo Formula on CRF rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	Scr/(μmol·L ⁻¹)	BUN/(mg·L ⁻¹)
假手术	34.25 ± 4.11	50.5 ± 7.2
模型	73.75 ± 13.67 [#]	123.8 ± 22.7 [#]
贝那普利	57.00 ± 4.08 [*]	91.3 ± 7.9 [*]
益气化湿通络方	51.75 ± 7.14 [*]	82.1 ± 14.5 [*]

与假手术组比较：[#] $P < 0.05$ ；与模型组比较：^{*} $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ vs Sham group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

3.2 各组大鼠肾组织病理改变比较

结果见图 1。HE 染色光镜下可见，假手术组大鼠肾小球结构清晰，体积正常。模型组大鼠肾小球系膜细胞增生，毛细血管壁增厚，肾小管基底膜增厚，部分肾小管上皮细胞呈空泡变性，核固缩，肾小球周围有大量炎症细胞浸润。各治疗组以上病变减轻。

天狼星红染色结果 (图 2) 显示，假手术组没

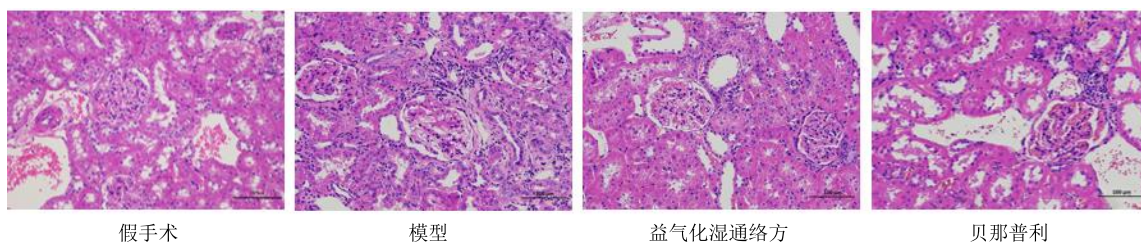


图 1 HE 染色检测 5/6 肾切除术后左侧残肾组织病理形态改变 (×200)

Fig. 1 Remnant kidney of Five/sixth nephrectomy rats was detected by HE staining (× 200)

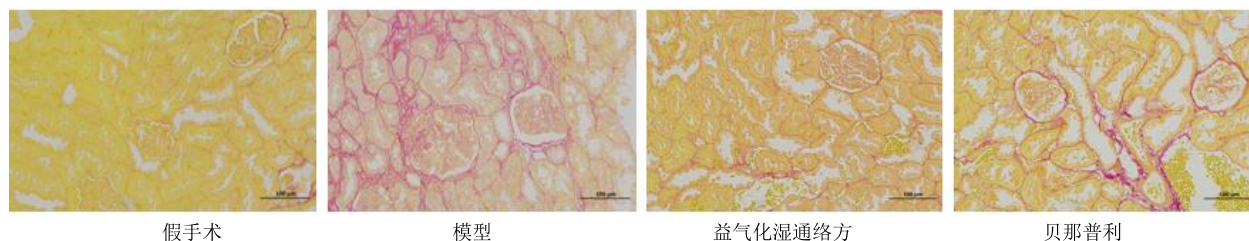


图 2 天狼星红染色法检测 5/6 肾切除大鼠残肾组织病理形态改变 (×200)

Fig. 2 Remnant kidney of five-sixths nephrectomy rats detected by HE staining (× 200)

有明显红染,表明假手术组肾组织肾小球、肾小管结构较正常。模型组肾小球基底膜、系膜细胞外基质 (ECM) 的积累增加和肾小管扩张,弥漫性分布,肾小球、肾小管结构较紊乱。与模型组相比,药物治疗后红染减轻,肾小管、肾小球结构变清晰。

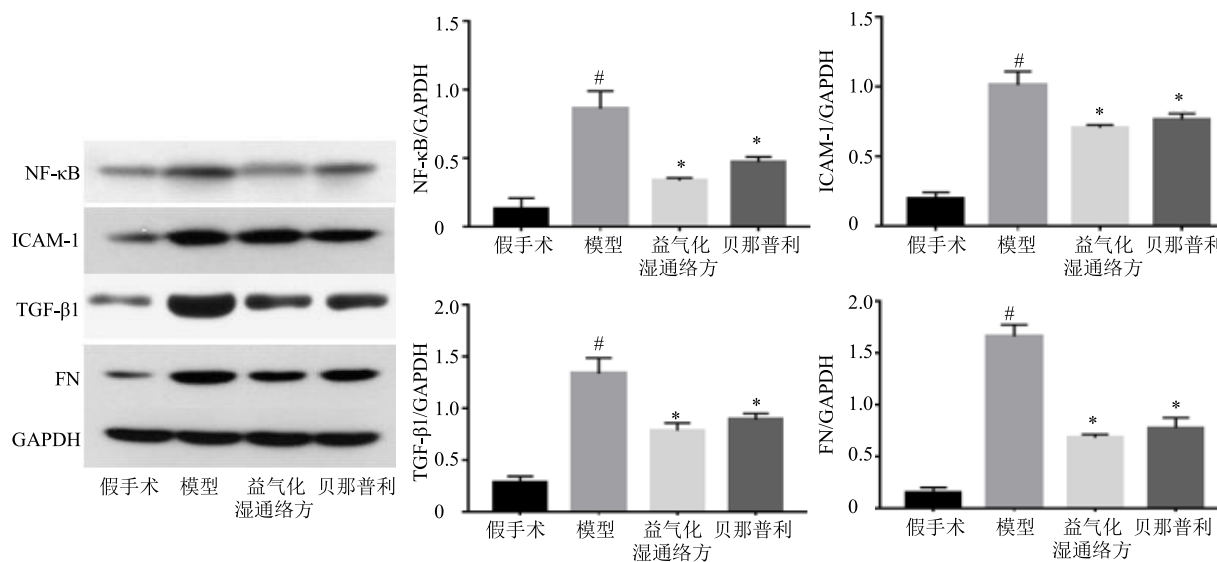
3.3 各组大鼠肾组织 NF-κB、ICAM-1、TGF-β1 和 FN 蛋白表达的比较

Western blotting 结果见图 3。与假手术组相比,模型组大鼠肾组织 NF-κB、ICAM-1、TGF-β1 和 FN

蛋白表达量明显增高 ($P < 0.05$); 与模型组比较,各治疗组 NF-κB、ICAM-1、TGF-β1 和 FN 蛋白表达量均明显降低 ($P < 0.05$)。

3.4 免疫组化检测各组大鼠 NF-κB、FN 蛋白表达

免疫组化检测结果见图 4。与假手术组比较,模型组大鼠肾组织 NF-κB、FN 蛋白呈棕黄色小颗粒状,主要在肾小球中呈现阳性反应, NF-κB、FN 蛋白表达量明显增高 ($P < 0.05$); 与模型组比较,各治疗组 NF-κB、FN 蛋白表达量均明显降低 ($P <$



与假手术组比较: # $P < 0.05$; 与模型组比较: * $P < 0.05$, 下图同

$P < 0.05$ vs Sham group; * $P < 0.05$ vs model group, same as below figures

图 3 各组大鼠肾组织 NF-κB、ICAM-1、TGF-β1、FN 的蛋白表达情况 (Western blotting)

Fig. 3 Protein expressions of NF-κB, ICAM-1, TGF-β1, FN in rat renal tissues (Western blotting)

0.05)。

3.5 荧光检测 NF-κB 在细胞核内的表达

免疫荧光结果 (图 5) 显示, 标记 NF-κB 蛋白为红色荧光, DAPI 染色细胞核为蓝色荧光。结

果显示, 假手术组几乎没有红色荧光表达; 模型组红色荧光强度高, 提示模型组 NF-κB 蛋白高表达; 各治疗组细胞核中红色荧光强度较模型组稍降低, 差异显著 ($P < 0.05$)。

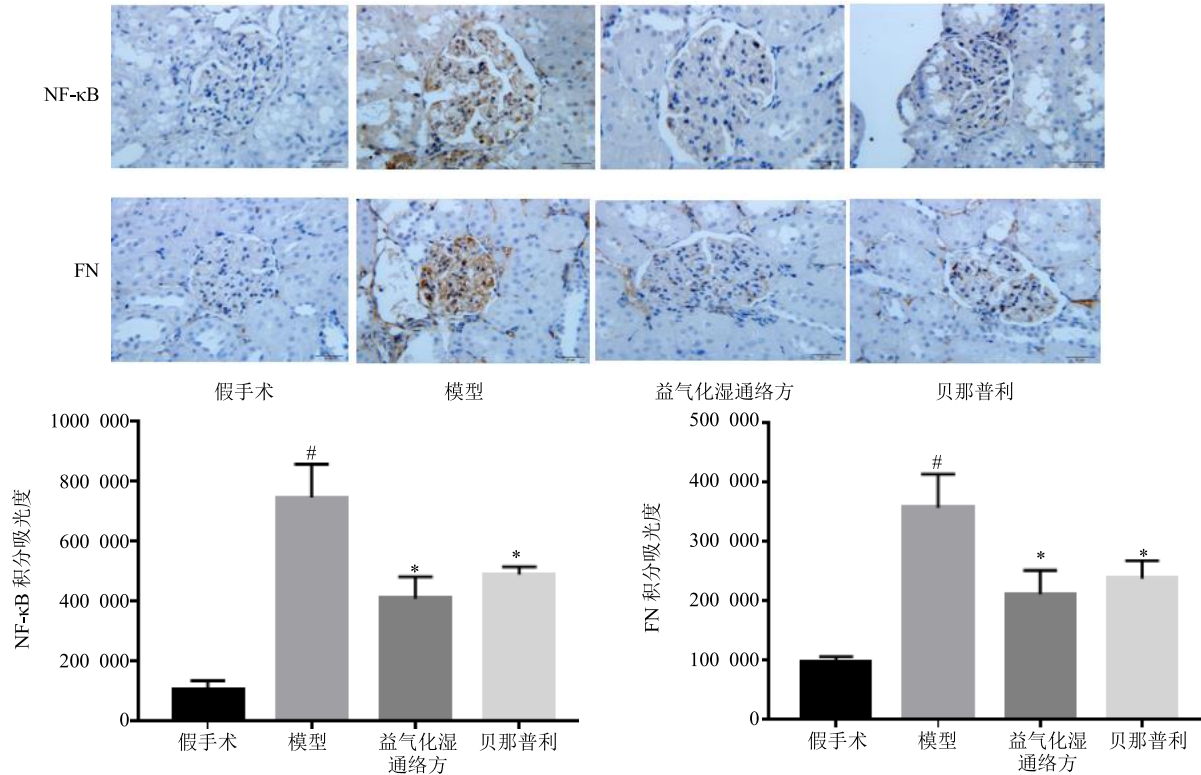


图 4 免疫组化检测大鼠肾组织 NF-κB、FN 的蛋白表达情况 (×400)

Fig. 4 Protein expressions of NF-κB, FN in rat renal tissues observed by immunohistochemistry (× 400)

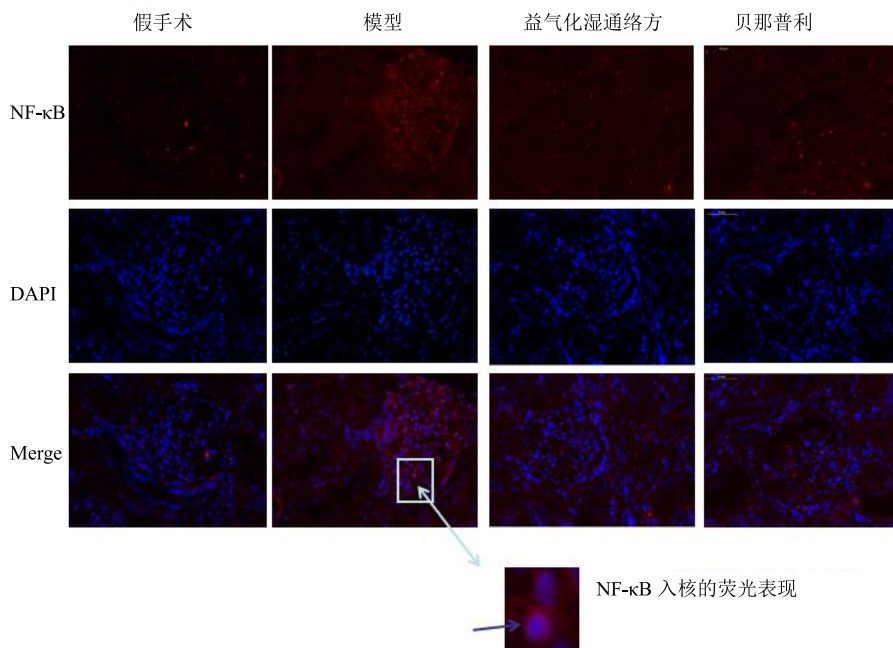


图 5 荧光检测 NF-κB 在细胞内的表达 (×400)

Fig. 5 Expression of NF-κB in cells detected by fluorescence (× 400)

3.6 各组大鼠肾组织 FN mRNA 表达的比较

结果见图 6。与假手术组相比,模型组大鼠肾组织中 FN mRNA 表达量显著增高 ($P < 0.05$);与模型组比较,各治疗组 FN mRNA 表达量显著降低 ($P < 0.05$)。

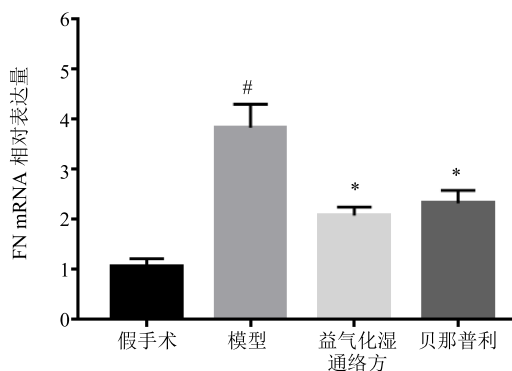


图 6 益气化湿通络方对 CRF 大鼠肾组织 FN mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 6 Effects of Yiqi Huashi Tongluo Formula on mRNA expression levels of FN in renal tissue of rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

4 讨论

CRF 特点是炎症细胞浸润、趋化因子分泌、细胞外基质积累和肾组织损伤,肾纤维化是累进性肾脏损伤的最终途径,随后导致肾功能衰竭。5/6 肾切除大鼠是一种典型的 CRF 模型,表现为进行性损伤,导致肾功能不全,并伴有明显的 Scr 和 BUN 异常。Scr 和 BUN 反映肾脏从血液中清除肌酐并将其集中在尿液中的能力。病变受损的肾脏不能从血液中清除尿素,导致 Scr、BUN 升高。在本研究中,与假手术组比较,模型大鼠的 Scr 和 BUN 显著增加;HE、天狼星红染色病理观察到肾组织炎症细胞浸润,肾小球硬化和肾组织纤维化等病理表现,此模型很好地还原了所研究疾病的病程进展。

笔者以多年的临床经验归纳总结出,病患多以脾肾气虚、湿浊毒淤蕴藉肾脏,瘀毒阻络贯穿 CRF 所有病程阶段。针对此病机创制益气化湿、通络祛瘀的益气化湿通络方,临床疗效明显。本方由益气健脾补肾扶正的黄芪、仙茅、仙灵脾为君药,促进 CRF 的进展中修复不足引起的各种症状,治疗补益久病引起的正虚阳虚等症。三焦分消祛湿邪的藿香、佩兰、陈皮、白豆蔻、土茯苓、积雪草,祛除在 CRF 的进展中炎症反应产生的各种刺激物引起的症状,治疗湿浊毒瘀内阻等症。泻浊瘀通肾络的当归、川芎、红花、地龙、水蛭,祛除 CRF 的进展中微循环障碍引起的各种肾脏病理损伤症状,治疗瘀血阻络表现的各种病症。本研究应用益气化湿通络方干预

5/6 肾切除大鼠模型,发现其能明显抑制肾组织炎症细胞浸润,改善肾功能,有效缓解肾小球硬化和肾组织纤维化等病理损伤进程,证实此方确有疗效。

越来越多的证据表明炎症和纤维反应在 CRF 的进展中起着重要的作用。CRF 进程复杂,涉及多种细胞因子/趋化因子、黏附分子和生长因子^[11-12]。NF- κ B 信号通路和促纤维细胞因子 TGF- β 1 对肾功能衰竭的损害有重要作用^[13-14]。目前大量报道提示炎症反应受 NF- κ B 信号通路调节的影响,在静止的细胞中,NF- κ B 和 I κ B 形成一个复合体,在细胞质中不起作用。当细胞受到细胞外炎症信号的刺激时,NF- κ B 二聚体的抑制蛋白 I κ B (inhibitor of NF- κ B, I κ Bk) 失活导致 I κ B 磷酸化,NF- κ B 核定位位点暴露,游离 NF- κ B 与特异性 I κ B 的快速易位诱导靶基因转录,促进靶细胞 TNF- α 、ICAM-1 等的增殖,触发肾损害^[15-16]。NF- κ B 增加巨噬细胞浸润,促进产生 TGF- β 1。TGF- β 1 增加纤维化和胶原合成,增加 ECM 在肾组织中的积累。同时,TGF- β 1 又可诱导 NF- κ B 介导的肾炎症反应^[17-19]。传统上,TGF- β 1 被认为是引起上皮间充质转化 (EMT) 的重要因子。EMT 进一步诱导肾小管破坏和萎缩,导致肾小管退化。EMT 的进展又调节 TGF- β 1、NF- κ B、FN 等因子使得 CRF 进入不断纤维化的进程中^[20]。

FN 是一种重要的 ECM 蛋白,在 CRF 中表达上调。它是一种相对分子质量 250 000 的糖蛋白,与多种基质蛋白相互作用,并调节多种细胞过程。在生理上, FN 在细胞黏附、细胞运动和组织修复中起着重要的作用^[21]。病理上与 NF- κ B 表达密切相关。NF- κ B 活化可以调控黏附分子 ICAM-1、FN 和其他 ECM 组分的过度表达,导致持续的炎症和肾脏损伤^[22]。ICAM-1 是表达于血管内皮细胞的跨膜糖蛋白,生理状态下负责细胞间黏附,病理刺激会引起激酶效应,招募白细胞等炎细胞聚集,产生促炎症反应^[23]。如上述炎症反应又促进纤维化的进展,如此往复循环促成肾脏纤维化,肾功能恶化直至衰竭。本研究对炎症和纤维化相关细胞因子的表达进行了检测。以上研究结果所示,在模型组中,NF- κ B、ICAM-1、TGF- β 1 和 FN 蛋白表达显著上调。经益气化湿通络方或贝那普利干预后可逆转肾组织以上蛋白的高表达,达到缓解 CRF 病情进展的治疗效果。为进一步探讨益气化湿通络方治疗肾功能衰竭的机制提供有力的实验依据。

综上所述,本研究结果证实 5/6 肾切除 CRF 大

鼠模型存在炎症反应、肾纤维化及肾功能障碍。益气化湿通络方可减轻 5/6 肾切除大鼠肾炎症损伤及纤维化,改善肾功能。此疗效可能是通过抑制 NF- κ B 信号通路介导的炎症反应和 TGF- β 1 介导的纤维化进展起到的作用。本研究为益气化湿通络方治疗肾功能衰竭提供了分子生物学依据。

参考文献

- [1] Zhang L, Long J, Jiang W, *et al.* Prevalence of chronic kidney disease in China: A cross-sectional survey [J]. *Engl J Med*, 2016, 375(9): 905-906.
- [2] Zhao Y Y, Wang H L, Cheng X L, *et al.* Metabolomics analysis reveals the association between lipid abnormalities and oxidative stress, inflammation, fibrosis, and Nrf2 dysfunction in aristolochic acid-induced nephropathy [J]. *Sci Rep*, 2015, 5(1): 12936.
- [3] Meng X M, Nikolic-Paterson D J, Lan H Y. Inflammatory processes in renal fibrosis [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2014, 10(9): 493-503.
- [4] Liu W, Zhu H, Fang H. Propofol potentiates sevoflurane-induced inhibition of nuclear factor-kappaB-mediated inflammatory responses and regulation of mitogen-activated protein kinases pathways via Toll-like receptor 4 signaling in lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice [J]. *Am J Med Sci*, 2017, 354(5): 493-505.
- [5] Wang M, Chen L, Liu D, *et al.* Metabolomics highlights pharmacological bioactivity and biochemical mechanism of traditional Chinese medicine [J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 273(8): 133-141.
- [6] Zhong Y, Deng Y, Chen Y, *et al.* Therapeutic use of traditional Chinese herbal medications for chronic kidney diseases [J]. *Kidney Int*, 2013, 84(6): 1108-1118.
- [7] Chen D Q, Chen H, Chen L, *et al.* Metabolomic application in toxicity evaluation and toxicological biomarker identification of natural product [J]. *Chem Biol Interact*, 2016, 252(5): 114-130.
- [8] 王月华, 陈志强, 郭登洲, 等. 益气养阴消癥通络中药对糖尿病肾病大鼠 TGF- β /Smads 信号传导系统的影响 [J]. *中草药*, 2009, 40(4): 606-608.
- [9] 郭立芳, 王凤丽, 王月华, 等. 益气通络解毒降浊方结合西医基础疗法治疗早、中期慢性肾功能衰竭疗效观察 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2012, 32(8): 1042-1045.
- [10] 刘恩歧, 尹海林, 顾为望. 医学实验动物学 [M]. 北京: 科学出版社, 2008.
- [11] He L, Shen P, Fu Q, *et al.* Nephro-protective effect of Kangqianling decoction on chronic renal failure rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 122(2): 367-373.
- [12] Manresa M C, Godson C, Taylor C T. Hypoxia-sensitive pathways in inflammation-driven fibrosis [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2014, 307(12): R1369-R1380.
- [13] Kielar M L, Jeyarajah D R, Zhou X J, *et al.* Docosahexaenoic acid ameliorates murine ischemic acute renal failure and prevents increases in mRNA abundance for both TNF-alpha and inducible nitric oxide synthases [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14(2): 389-396.
- [14] Pereira Júnior C D, Guimarães C S, da Silva A C, *et al.* Influence of the expression of inflammatory markers on kidney after fetal programming in an experimental model of renal failure [J]. *J Immunol Res*, 2016, 28(11): 915-924.
- [15] Oh Y C, Jeong Y H, Ha J H, *et al.* Oryeongsan inhibits LPS-induced production of inflammatory mediators via blockade of the NF-kappaB, MAPK pathways and leads to HO-1 induction in macrophage cells [J]. *BMC Compl Altern Med*, 2014, 14(14): 242-245.
- [16] Suh S H, Lee K E, Kim I J, *et al.* Alpha-lipoic acid attenuates lipopolysaccharide-induced kidney injury [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2015, 19(1): 82-91.
- [17] Li A, Zhang X, Shu M, *et al.* Arctigenin suppresses renal interstitial fibrosis in a rat model of obstructive nephropathy [J]. *Phytomedicine*, 2017, 30(7): 28-41.
- [18] Du C, Ren Y, Yao F, *et al.* Sphingosine kinase 1 protects renal tubular epithelial cells from renal fibrosis via induction of autophagy [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2017, 90(9): 17-28.
- [19] Guiteras R, Sola A, Flaquer M, *et al.* Macrophage overexpressing NGAL ameliorated kidney fibrosis in the UUO mice model [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(5): 1945-1960.
- [20] Fan J M, Ng Y Y, Hill P A, *et al.* Transforming growth factor-beta regulates tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation *in vitro* [J]. *Kidney Int*, 1999, 56(4): 1455-1467.
- [21] Stevens V A, Saad S, Chen X M, *et al.* The interdependence of EGF-R and SGK-1 in fibronectin expression in primary kidney cortical fibroblast cells [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(5): 1047-1054.
- [22] Xie X, Peng J, Huang K, *et al.* Polydatin ameliorates experimental diabetes-induced fibronectin through inhibiting the activation of NF-kappaB signaling pathway in rat glomerular mesangial cells [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 362(1/2): 183-193.
- [23] 张曼丽, 陈卫东, 杨萍, 等. MCP-1、ICAM-1 在糖尿病肾病大鼠肾脏损害中作用及厄贝沙坦干预的影响 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2013, 14(12): 1040-1043.