化瘀通络中药通过抑制 TGF-β1/ERK 通路减轻糖尿病肾病大鼠肾纤维化研究

郭　帅[1]，方　敬[1]，杨　帆[1]，李雅纯[1]，陈志强[1, 2*]

1. 河北中医学院，河北 石家庄　050000
2. 河北省中医院，河北 石家庄　050000

摘　要：目的　考察化瘀通络中药对糖尿病肾病大鼠肾纤维化的治疗作用，并基于转化生长因子-β1（transforming growth factor-β1，TGF-β1）/细胞外信号调节蛋白激酶（extracellular regulated protein kinase，ERK）信号通路探讨其作用机制。**方法**　随机选取 10 只 SD 大鼠作为对照组，其余大鼠 ip 链脲佐菌素（40 mg/kg）联合高脂饲料喂养建立糖尿病模型，糖尿病模型大鼠随机分为模型组和化瘀通络中药组。给予化瘀通络中药第 0、4、8、12、16 周末，大鼠尾静脉采血检测空腹血糖；给予化瘀通络中药 16 周后，检测各组大鼠血清中肌酐、尿素氮和尿酸水平；考察各组大鼠肾组织病理变化；采用免疫组化法检测肾组织 III 型胶原（collagen III，Col-III）和 TGF-β1 表达；采用 qRT-PCR 法检测肾组织 *TGF-β1* mRNA 表达；采用 Western blotting 法检测肾组织 c-Raf、磷酸化 c-Raf（p-c-Raf）、丝裂原活化细胞外信号调节蛋白激酶（mitogen-activated extracellular signal regulated kinase，MEK）、p-MEK、ERK 和 p-ERK 蛋白表达。**结果**　与模型组比较，化瘀通络中药组大鼠血清中肌酐和尿素氮水平显著降低（$P<0.01$），肾组织病理损伤和纤维化减轻，肾组织 Col-III 和 TGF-β1 沉积减少，*TGF-β1* mRNA 表达水平明显降低（$P<0.05$），p-c-Raf、p-MEK 和 p-ERK 蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）。**结论**　化瘀通络中药能够减轻糖尿病肾病大鼠肾组织病理损伤，改善肾纤维化，其机制可能与抑制 TGF-β1/ERK 信号通路相关。

关键词：化瘀通络中药；糖尿病肾病；肾损伤；肾纤维化；TGF-β1/ERK 信号通路

中图分类号：R285.5　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2021)10 - 2996 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.10.016

Huayu Tongluo Chinese medicines alleviate renal fibrosis by inhibiting TGF-β1/ERK pathway in diabetic nephropathy rats

GUO Shuai[1], FANG Jing[1], YANG Fan[1], LI Ya-chun[1], CHEN Zhi-qiang[1, 2]

1. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050000, China
2. Hebei Provincial Hospital of TCM, Shijiazhuang 050000, China

Abstract: Objective　To investigate the therapeutic effect of Huayu Tongluo Chinese medicines (removing blood stasis and dredging collaterals) on renal fibrosis in diabetic nephropathy rats, and explore its mechanism based on transforming growth factor-β1 (TGF-β1)/extracellular signal regulated protein kinase (ERK) signaling pathway. **Methods**　Ten SD rats were randomly selected as control group, the rest rats were ip administrated streptozotocin (40 mg/kg) and fed with high-fat diet to establish a diabetes model. Diabetes model rats were randomly divided into model group and Huayu Tongluo Chinese medicines group. Rats were given Huayu Tongluo Chinese medicines on 0th, 4th, 8th, 12th, and 16th weekends, and blood was collected from tail vein to detect fasting blood glucose; On 16th week after given Huayu Tongluo herbs, levels of creatinine, urea nitrogen and uric acid in serum of rats were measured. Pathological changes in kidney tissue of rats in each group was investigated. Immunohistochemistry was used to detect the expression of collagen III (Col-III) and TGF-β1 in kidney tissue. *TGF-β1* mRNA level in renal tissue was detected by qRT-PCR. Expressions of c-Raf, phosphorylated c-Raf (p-c-Raf), mitogen-activated extracellular signal regulated kinase (MEK), p-MEK, ERK and p-ERK were detected by Western blotting. **Results**　Compared with model group, levels of creatinine and urea nitrogen in serum of rats in Huayu Tongluo Chinese medicines group were significantly reduced ($P < 0.01$), renal tissue pathological damage and fibrosis were reduced, deposition of Col-III and TGF-β1 in renal tissue was reduced, *TGF-β1* mRNA level was significantly reduced ($P < 0.05$), protein expressions of p-c-Raf, p-MEK and p-ERK were

收稿日期：2021-02-21

基金项目：国家自然科学基金资助项目（81373804）

作者简介：郭　帅（1985—），女，博士研究生，主治医师，从事中医药防治肾脏病的基础和临床研究。E-mail: sjzguoshuai@163.com

***通信作者：**陈志强（1962—），男，博士，教授，博士生导师，从事中医药防治肾脏病的基础和临床研究。E-mail: chenzhqiang2011@163.com

significantly reduced ($P < 0.05$). **Conclusion** Huayu Tongluo Chinese medicines can reduce pathological damage of kidney in diabetic nephropathy rats and improve renal fibrosis, and its mechanism may be related to inhibition of TGF-β1/ERK signaling pathway.

Key words: Huayu Tongluo Chinese medicines; diabetic nephropathy; renal injury; renal fibrosis; TGF-β1/ERK signaling pathway

糖尿病肾病（diabetic nephropathy，DN）是糖尿病常见且严重的微血管并发症之一，是导致终末期肾脏病的主要原因[1]。DN 的主要病理改变为肾小球和肾间质内细胞外基质（extracellular matrix，ECM）过度沉积，导致肾小球硬化和肾小管间质纤维化[2]。转化细胞因子-β1（transforming growth factor-β1，TGF-β1）是重要的致纤维化因子[3]。Smad 依赖的信号通路是传导 TGF-β1 的主要通路，此外，Smad 非依赖的 TGF-β1 信号通路在肾纤维化中也具有重要作用[4]。Smad 非依赖途径以细胞外信号调节激酶（extracellular signal-regulated kinase，ERK）信号通路为主，ERK 信号通路是 TGF-β1 介导肾纤维化的另一重要信号通路[5]。因此，阻断 TGF-β1/ERK 信号通路对于防治 DN 肾纤维化具有重要意义。

DN 经久不愈，久病多瘀、久病入络。瘀血阻络是 DN 的基本病机，化瘀通络中药临床上对 DN 具有较好的疗效[6-7]。课题组前期研究从 DN 大鼠的一般情况和实验室指标等方面证实了 DN 中“血瘀证”的客观存在[8]，并筛选出化瘀通络中药治疗 DN 大鼠的最佳剂量，化瘀通络中药具有肾保护作用，作用比阳性对照药物厄贝沙坦更稳定、持久；化瘀通络中药能够通过抑制 TGF-β1/Smad 信号通路来减轻 DN 肾病理损伤[9-12]。本研究探讨化瘀通络中药对 DN 大鼠肾组织 TGF-β1/ERK 信号通路相关蛋白表达的影响，为其临床应用提供依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只，3～5 周龄，体质量 60～80 g，购自北京维通利华实验动物技术有限公司，动物许可证号 SCXK（京）2016-0006。动物饲养于河北中医学院动物房，温度（23±2）℃、湿度 50%～70%，12 h 光照/12 h 黑暗交替，通风良好，自由进食饮水。动物实验经河北中医学院伦理委员会批准（批准号 DWLL2020052）。

1.2 药品与试剂

化瘀通络中药所用药物为颗粒剂，均由广东一方制药有限公司惠赠，规格如下：丹参（批号 8080971，1.8 g/袋，相当于 10 g 饮片）、川芎（批号 8122561，1.3 g/袋，相当于 6 g 饮片）、地龙（批号 7125701，1.0 g/袋，相当于 10 g 饮片）、水蛭（批号 8081351，1.5 g/袋，相当于 3 g 饮片）、全蝎（批号 8050111，1.0 g/袋，相当于 3 g 饮片）；高脂饲料（批号 HD001）购自北京博泰宏达生物技术有限公司；链脲佐菌素（批号 S8050）购自北京索莱宝科技有限公司；肌酐试剂盒（批号 AUZ3562）、尿素氮试剂盒（批号 AUZ3611）、尿酸试剂盒（批号 AUZ3629）购自美国 Beckman 公司；III 型胶原（collagen type III，Col-III）兔多克隆抗体（批号 GB111629）、HRP 标记的山羊抗兔抗体（批号 GB23303）购自武汉赛维尔生物科技有限公司；TGF-β1 兔单克隆抗体（批号 ab215715）购自英国 Abcam 公司；β-actin 小鼠单克隆抗体（批号 AF0003）购自上海碧云天生物技术有限公司；c-Raf 兔单克隆抗体（批号 53745）、磷酸化 c-Raf（p-c-Raf）兔单克隆抗体（批号 9427）、丝裂原活化细胞外信号调节蛋白激酶（mitogen-activated extracellular signal regulated kinase，MEK）兔单克隆抗体（批号 8728）、p-MEK 兔单克隆抗体（批号 9154）、兔单克隆抗体（批号 4695）、p-ERK 兔单克隆抗体（批号 4376）购自美国 CST 公司。

1.3 仪器

HEMIX-180 全自动生化分析仪（日本 Sysmex 公司）；Active 血糖仪（瑞士 Roche 公司）；RM2016 病理切片机（上海徕卡仪器有限公司）；BX51 光学显微镜（日本 Olympus 公司）；Case Viewer 2.2 扫描浏览软件（匈牙利 3DHISTECH 公司）；Image-Pro Plus 6.0 图片分析软件（美国 Media Cybemetics 公司）；Stepone plus 荧光定量 PCR 仪（美国 ABI 公司）；22331 hamburg 蛋白浓度定量仪（德国 Eppendorf 公司）；DYCZ-24DN 电泳仪（北京六一生物科技有限公司）；WSE-4040 半干转膜仪系统（日本 ATTO 公司）；Odyssey 红外激光扫描仪（美国 LI-COR 公司）。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

大鼠适应性饲养 1 周，随机选取 10 只作为对照组常规饲养，其余大鼠给予高脂饲料饲养 6 周。大鼠禁食不禁水 12 h，对照组 ip 枸橼酸缓冲液，其余

ip 链脲佐菌素（40 mg/kg），72 h 后于尾静脉连续采血 3 次，血糖≥16.7 mmol/L 则表明 DN 模型制备成功。造模过程中无大鼠死亡，2 只大鼠血糖＜16.7 mmol/L 予以剔除。将造模成功的大鼠随机分为模型组和化瘀通络中药组，每组 14 只。化瘀通络中药组丹参、川芎、地龙、水蛭、全蝎剂量分别为 1.35、1.08、0.9、0.54、0.54 g/kg（以中药饮片量计），相当于临床等效剂量，以上 5 种颗粒按剂量配比混匀，溶于热纯净水配制成混悬液，放置至室温。化瘀通络中药组 ig 相应药物，对照组和模型组 ig 等体积纯净水，1 次/d，连续 16 周。

2.2 化瘀通络中药对 DN 大鼠空腹血糖的影响

给药第 0、4、8、12、16 周末，大鼠尾静脉采血，采用血糖仪检测各组大鼠空腹血糖水平。

2.3 化瘀通络中药对 DN 大鼠血清中肌酐、尿素氮和尿酸水平的影响

给药结束后，大鼠禁食 12 h，ip 10%水合氯醛（3.5 mL/kg）麻醉，腹主动脉采血，离心取上清，采用全自动生化分析仪检测大鼠血清中肌酐、尿素氮和尿酸水平。

2.4 化瘀通络中药对 DN 大鼠肾脏组织病理变化的影响

大鼠脱颈椎处死，取肾组织于 4%中性甲醛中固定，梯度乙醇脱水、透明、浸蜡后，石蜡包埋并切片（厚 3 μm），进行 PAS 和 Masson 染色，脱水后，中性胶封片，于显微镜下观察肾脏病理变化。PAS 染色中，糖蛋白呈红色，细胞核呈浅蓝色；Masson 染色中，胶原纤维呈蓝色，免疫复合物、纤维蛋白呈红色。

2.5 化瘀通络中药对 DN 大鼠肾组织 Col-III 和 TGF-β1 蛋白表达的影响

取各组大鼠肾组织石蜡切片，于二甲苯常规脱蜡，加入柠檬酸抗原修复，于 3%双氧水溶液室温避光孵育 25 min 阻断内源性过氧化物酶，于 3%牛血清白蛋白中室温封闭 30 min，分别加入 Col-III 抗体（1∶300）、TGF-β1 抗体（1∶500），4 ℃孵育过夜；加入 HRP 标记的山羊抗兔抗体，室温孵育 50 min，DAB 显色并水洗后，苏木素复染细胞核，梯度乙醇脱水、二甲苯透明、中性树胶封片。于显微镜下观察，细胞核为蓝色，阳性表达为棕黄色。

2.6 化瘀通络中药对 DN 大鼠肾组织 *TGF-β1* mRNA 表达的影响

按照试剂盒说明书提取各组大鼠肾组织总 RNA 并合成 cDNA，进行 qRT-PCR 分析。引物序列：*TGF-β1* 上游引物 5’-ATGGTGGACCGCAACAAC-3’，下游引物 5’-TGAGCACTGAAGCGAAAGC-3’；*GAPDH* 上游引物 5’-CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG-3’，下游引物 5’-GGTGGAAGAATGGGAGTTGCT-3’。

2.7 化瘀通络中药对 DN 大鼠肾组织 c-Raf、p-c-Raf、MEK、p-MEK、ERK 和 p-ERK 蛋白表达的影响

取各组大鼠肾组织，加入裂解液匀浆，提取总蛋白，采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白质量浓度，蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，转至 PVDF 膜，室温封闭 30 min，分别加入 c-Raf 抗体（1∶600）、p-c-Raf 抗体（1∶750）、MEK 抗体（1∶600）、p-MEK 抗体（1∶800）、ERK 抗体（1∶600）、p-ERK 抗体（1∶750）、β-actin 抗体（1∶1000），4 ℃孵育过夜；加入 HRP 标记的山羊抗兔抗体，室温孵育 30 min 后显影，采用 Quantity one 软件分析目标条带的灰度值。

2.8 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件进行统计学处理，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，方差齐者采用单因素方差分析，两两比较采用 SNK-q 检验；方差不齐者采用 Kruskal-Wallis 检验。

3 结果

3.1 各组大鼠死亡情况

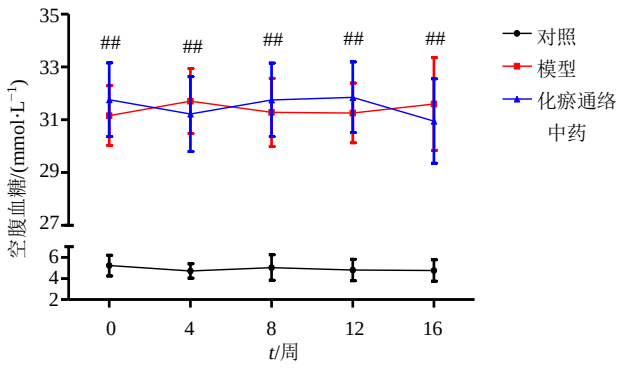
给药 16 周内，模型组大鼠死亡 4 只，化瘀通络中药组大鼠死亡 3 只。经大体解剖发现 5 只大鼠死于感染，表现为皮下多发脓肿及肾脓肿；另 2 只大鼠死亡原因不明确，推测与高血糖导致的酮症酸中毒或高渗性高血糖状态有关。

3.2 化瘀通络中药对 DN 大鼠空腹血糖的影响

如图 1 所示，给药第 0、4、8、12、16 周末，与对照组比较，模型组大鼠空腹血糖水平明显升高（P＜0.01）；与模型组比较，化瘀通络中药组大鼠空腹血糖水平无明显变化。

3.3 化瘀通络中药对 DN 大鼠血清中肌酐、尿素氮和尿酸水平的影响

如表 1 所示，与对照组比较，模型组大鼠血清中肌酐、尿素氮和尿酸水平显著升高（P＜0.01）；与模型组比较，化瘀通络中药组大鼠血清中肌酐和尿素氮水平显著降低（P＜0.01），尿酸水平有所降低，但无显著性差异。



与对照组比较：##P<0.01

##P < 0.01 *vs* control group

图 1 化瘀通络中药对 DN 大鼠空腹血糖的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 1 Effect of Huayu Tongluo Chinese medicines on fasting blood glucose in DN rats ($\bar{x} \pm s$)

3.4 化瘀通络中药对 DN 大鼠肾脏组织病理变化的影响

如图 2 所示，对照组大鼠肾脏结构正常，肾小球、肾小管及间质均无异常改变；模型组大鼠肾小球毛细血管袢肥大，基底膜轻中度增厚，系膜细胞和基质轻中度增生，肾小管空泡和颗粒变性，局灶状萎缩，肾间质有较多的胶原纤维沉积；与模型组比较，化瘀通络中药组大鼠肾脏损伤和胶原纤维沉积均有一定程度地减轻。

3.5 化瘀通络中药对 DN 大鼠肾组织 Col-III 和 TGF-β1 蛋白表达的影响

如图 3 所示，对照组大鼠肾间质有少量 Col-III 和 TGF-β1 蛋白沉积；模型组大鼠肾小管间质 Col-III 和 TGF-β1 阳性表达增加；化瘀通络中药组大鼠肾间质 Col-III 和 TGF-β1 沉积减少。

表 1 化瘀通络中药对 DN 大鼠血清中肌酐、尿素氮和尿酸水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of Huayu Tongluo Chinese medicines on levels of creatinine, urea nitrogen and uric acid in serum of DN rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	肌酐/(μmol·L⁻¹)	尿素氮/(mmol·L⁻¹)	尿酸/(μmol·L⁻¹)
对照	10	24.57±3.18	8.22±1.62	43.97±10.68
模型	10	58.10±7.75##	18.68±1.49##	88.27±23.82##
化瘀通络中药	11	44.85±5.71**	13.45±2.78**	70.74±16.05

与对照组比较：##P<0.01；与模型组比较：**P<0.01

##P < 0.01 *vs* control group; **P < 0.01 *vs* model group

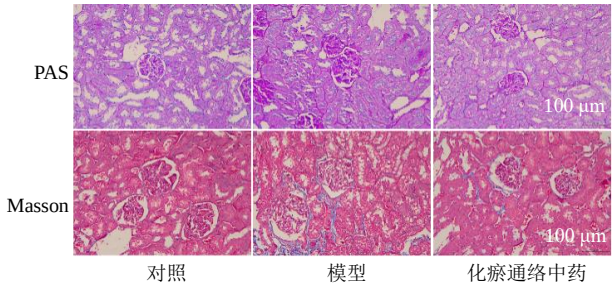


图 2 化瘀通络中药对 DN 大鼠肾脏组织病理变化的影响 (×200)

Fig. 2 Effect of Huayu Tongluo Chinese medicines on pathological changes of kidneys in DN rats (× 200)

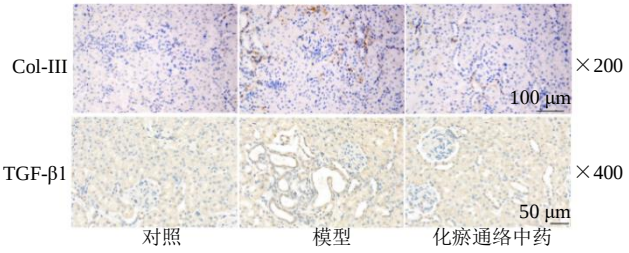


图 3 化瘀通络中药对 DN 大鼠肾组织 Col-III 和 TGF-β1 蛋白表达的影响

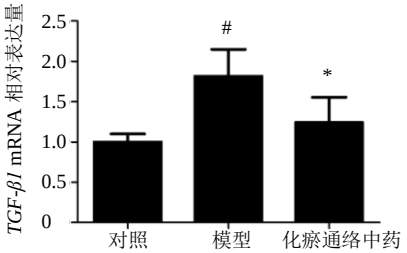
Fig. 3 Effect of Huayu Tongluo Chinese medicines on expressions of Col-III and TGF-β1 in kidney tissue of DN rats

3.6 化瘀通络中药对 DN 大鼠肾组织 *TGF-β1* mRNA 表达的影响

如图 4 所示，与对照组比较，模型组大鼠 *TGF-β1* mRNA 表达水平明显升高（P<0.05）；与模型组比较，化瘀通络中药组大鼠 *TGF-β1* mRNA 表达水平显著降低（P<0.05）。

3.7 化瘀通络中药对 DN 大鼠肾组织 p-c-Raf、p-MEK 和 p-ERK 蛋白表达的影响

如图 5 所示，与对照组比较，模型组大鼠肾组

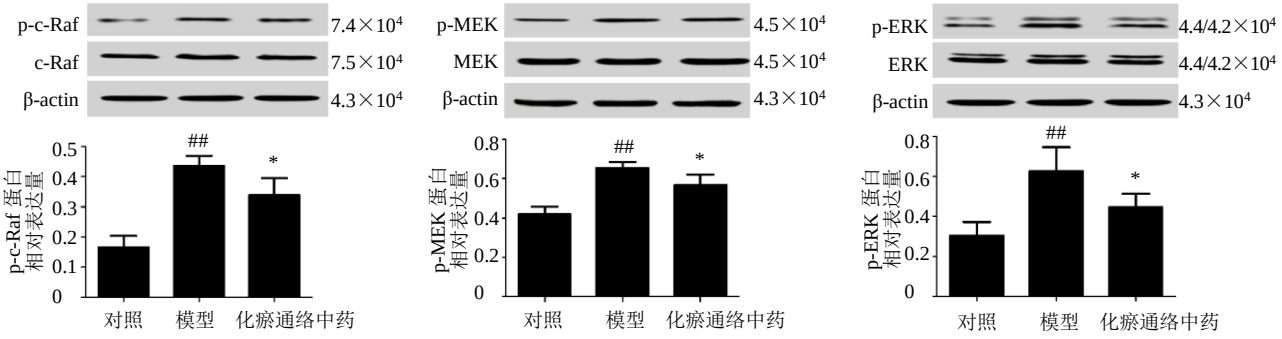


与对照组比较：#P<0.05；与模型组比较：*P<0.05

#P < 0.05 *vs* control group; *P < 0.05 *vs* model group

图 4 化瘀通络中药对 DN 大鼠肾组织 *TGF-β1* mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 4 Effect of Huayu Tongluo Chinese medicines on TGF-β1 mRNA level in kidney tissue of DN rats ($\bar{x} \pm s$)



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

$^{\#\#}P < 0.01$ *vs* control group; $^{*}P < 0.05$ *vs* model group

图 5　化瘀通络中药对 DN 大鼠肾组织 p-c-Raf、p-MEK 和 p-ERK 蛋白表达的影响（$\bar{x} \pm s$）

Fig. 5　Effect of Huayu Tongluo Chinese medicines on expressions of p-c-Raf, p-MEK and p-ERK in kidney tissue of DN rats ($\bar{x} \pm s$)

织 p-c-Raf、p-MEK 和 p-ERK 蛋白表达水平明显升高（$P<0.01$）；与模型组比较，化瘀通络中药组大鼠肾组织 p-c-Raf、p-MEK 和 p-ERK 蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）。

4　讨论

瘀血既是 DN 的主要病理产物，又是其重要致病因素，贯穿 DN 始终。DN 病程冗长，叶天士在《临证指南医案》中强调“凡经主气，络主血，久病血瘀”“初为气结在经，久则血伤入络”。瘀阻肾络，气血不畅，水谷精微外泄而见蛋白尿；瘀血阻络，新血不生，脾肾失养，水湿停滞，故见水肿；DN 晚期，脾肾衰微、瘀血内停、三焦壅滞、气机逆乱，可见恶心、呕吐、纳差。因此，瘀血阻络是贯穿 DN 全程的主体病机。化瘀通络法是 DN 的基本治法，在辨证论证的基础上加用化瘀通络中药成为治疗 DN 的基本原则。课题组经过多年的临证筛选，最终确定了丹参、川芎、地龙、水蛭和全蝎 5 味中药作为相对固定的治疗 DN 的化瘀通络药物。《血证论 • 瘀血》谓“瘀血在经络脏腑之间，则结为癥瘕”，《医宗必读》曰“盖积之为义，日积月累，匪伊朝夕”，可见瘀血久不消散，息以成积，深入于络，难以祛之，故在使用丹参、川芎常规活血化瘀药物的基础上，加用水蛭、地龙、全蝎等虫类药入络搜剔，此 5 种药合用，共奏化瘀通络之效，可使络脉得通、瘀滞尽去。

DN 的病理特征为正常肾单位丢失、大量肌成纤维细胞激活和增殖、ECM 过度沉积、肾小球和肾小管基底膜增厚、肾小球内 K-W 结节形成、小管间质纤维化，最终导致 DN 肾纤维化[2]。胶原是 ECM 的骨架结构，Col-III 是肾间质 ECM 的主要成分。因此，检测肾组织中 Col-III 蛋白表达，对评估肾纤维化程度、判定 DN 预后具有重要意义。本研究结果显示，模型组大鼠出现了 DN 典型的病理改变，肾组织 Col-III 蛋白表达增多，血清中肌酐、尿素氮、尿酸水平升高，表明 DN 模型制备成功；化瘀通络中药显著减轻了肾病理损害和纤维化程度；模型组大鼠空腹血糖水平显著升高，化瘀通络中药无明显降糖作用，提示化瘀通络中药对 DN 的肾保护作用并不依赖于降低血糖。

TGF-β1 是肾纤维化的重要刺激因子，TGF-β1 与细胞膜上的受体（TβRI、TβRII）结合，激活 c-Raf/MEK/ERK 途径，在肾纤维化的发生发展中发挥关键作用。c-Raf 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶，活化的 c-Raf 磷酸化双特异性激酶 MEK，继而磷酸化 ERK，活性 ERK 易位进入细胞核或在细胞质中磷酸化多种底物，使细胞对外来信号产生生物学应答[13]。ERK 是丝裂原活化蛋白激酶家族（mitogen-activated protein kinase，MAPK）中研究最广泛的成员，ERK 分为 ERK1 和 ERK2 2 种亚型，二者基因同源性为 84%，负责调控细胞增殖、分化、衰老、死亡、迁移等生理过程。白色念珠菌感染导致的小鼠肾纤维化模型中，TGF-β1/c-Raf/ERK1/2 处于高度激活状态，c-Raf 抑制剂可显著减轻肾纤维化和损伤[14]。ERK 信号通路在多种肾纤维化动物模型中均呈激活状态，抑制该通路可以改善肾纤维化[15-18]。TGF-β1 可激活体外培养的足细胞 ERK 信号通路，并诱导金属基质蛋白酶-9 表达，从而抑制 ECM 降解[19]。在高糖处理的小鼠系膜细胞 SV40-MES13

中，抑制长非编码 RNA ANRIL 可以通过抑制 Wnt/β-catenin 和 MEK/ERK 通路，从而抑制细胞增殖、炎症和纤维化[20]。本研究结果显示，模型组大鼠肾组织中 TGF-β1 蛋白及 mRNA 表达水平显著升高，p-c-Raf、p-MEK 和 p-ERK 蛋白表达水平显著升高；化瘀通络中药显著下调 TGF-β1 蛋白及 mRNA 表达水平，显著降低 p-c-Raf、p-MEK 和 p-ERK 蛋白表达水平，表明化瘀通络中药能够抑制 DN 大鼠肾组织 TGF-β1/ERK 信号通路的激活。

综上所述，化瘀通络中药能够改善 DN 大鼠的肾病理损伤和肾纤维化，其机制可能与抑制 TGF-β1/ERK 信号通路有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Gheith O, Farouk N, Nampoory N, *et al*. Diabetic kidney disease: World wide difference of prevalence and risk factors [J]. *J Nephropharmacol*, 2016, 5(1): 49-56.

[2] Hu C, Sun L, Xiao L, *et al*. Insights into the mechanisms involved in the expression and regulation of extracellular matrix proteins in diabetic nephropathy [J]. *Curr Med Chem*, 2015, 22(24): 2858-2870.

[3] Meng X M, Nikolic-Paterson D J, Lan H Y. TGF-β: The master regulator of fibrosis [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2016, 12(6): 325-338.

[4] Malik S, Suchal K, Khan S I, *et al*. Apigenin ameliorates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats via MAPK-NF-κB-TNF-α and TGF-β1-MAPK-fibronectin pathways [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2017, 313(2): F414-F422.

[5] Wu Y R, Wang L Y, Deng D, *et al*. Renalase protects against renal fibrosis by inhibiting the activation of the ERK signaling pathways [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(5): 855.

[6] 胡筱娟, 秦艳, 刘恬园, 等. 糖尿病肾病中医证型与肾络瘀阻相关性临床探讨 [J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(1): 91-92.

[7] 张晓莉, 王德惠, 李晋宏, 等. 刘文峰教授治疗早期糖尿病肾病的经验 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(2): 464.

[8] 郭倩, 陈志强, 方敬, 等. 化瘀通络中药对糖尿病肾病大鼠瘀血阻络证相关实验室指标的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(12): 5188-5191.

[9] 刘利飞. 化瘀通络中药对糖尿病肾脏病大鼠肾组织 Notch 和 Hh 信号通路表达的干预作用 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2018.

[10] 白璐. 化瘀通络中药不同配伍对糖尿病肾病大鼠肾组织整合素 α3β1 及 Wnt/β-catenin 通路相关蛋白表达的影响 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2017.

[11] 方敬. 化瘀通络中药不同配伍对糖尿病肾病大鼠足细胞相关蛋白的靶向作用 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2016.

[12] 白璐, 陈志强, 陈永哲, 等. 化瘀通络中药对糖尿病肾病大鼠肾脏病理及肾脏 TGF-β1/Smad 信号通路的影响 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(6): 1285-1288.

[13] Terrell E M, Morrison D K. Ras-mediated activation of the Raf family kinases [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2019, 9(1): a033746.

[14] Chen W Y, Wu S Y, Lin T C, *et al*. Human dendritic cell-specific ICAM-3-grabbing non-integrin downstream signaling alleviates renal fibrosis via Raf-1 activation in systemic candidiasis [J]. *Cell Mol Immunol*, 2019, 16(3): 288-301.

[15] Geng X Q, Ma A, He J Z, *et al*. Ganoderic acid hinders renal fibrosis via suppressing the TGF-β/Smad and MAPK signaling pathways [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(5): 670-677.

[16] Deng B C, Yang W L, Wang D, *et al*. Peptide DR8 suppresses epithelial-to-mesenchymal transition via the TGF-β/MAPK signaling pathway in renal fibrosis [J]. *Life Sci*, 2020, 261: 118465.

[17] Wu Y R, Wang L Y, Deng D, *et al*. Renalase protects against renal fibrosis by inhibiting the activation of the ERK signaling pathways [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(5): 855.

[18] Shao X, Kong W X, Li Y T. MiR-133 inhibits kidney injury in rats with diabetic nephropathy via MAPK/ERK pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(24): 10957-10963.

[19] Das R, Xu S H, Nguyen T T, *et al*. Transforming growth factor β1-induced apoptosis in podocytes via the extracellular signal-regulated kinase-mammalian target of rapamycin complex 1-NADPH oxidase 4 axis [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(52): 30830-30842.

[20] Fang X, Hu J, Zhou H Y. Knock-down of long non-coding RNA ANRIL suppresses mouse mesangial cell proliferation, fibrosis, inflammation via regulating Wnt/β-catenin and MEK/ERK pathways in diabetic nephropathy [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2020, doi: 10.1055/a-1185-9283.

[责任编辑 李亚楠]