

# 自拟中药汤剂联合百令胶囊对慢性肾脏病大鼠肾脏炎症及 p38 MAPK 信号通路的影响\*

郭亚平<sup>1</sup>, 郭补林<sup>1\*\*</sup>, 赵亚峰<sup>2</sup>, 刘旭琴<sup>1</sup>, 鲁小庆<sup>1</sup>, 赵东艳<sup>1</sup>, 闫隐隐<sup>1</sup>

(1. 榆林市中医医院, 陕西 榆林 719000; 2. 陕西省中医医院, 陕西 西安 710003)

**[摘要]** 目的: 观察中药汤剂联合百令胶囊对慢性肾脏病(CKD)大鼠的治疗作用及对 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)信号通路的影响。方法: 40 只雄性 SD 大鼠随机分为空白组、CKD 组、百令胶囊和中药汤剂联合百令胶囊组,后 3 组大鼠采用灌胃腺嘌呤方法建立 CKD 模型;模型建立后,百令胶囊组和中药汤剂联合百令胶囊组分别用相应药物灌胃干预,空白组和 CKD 组给予等量生理盐水,连续给药 4 周;给药结束后处死大鼠,测定各组大鼠血清中肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)及 24 h 尿白蛋白(UAlb/24h)和尿 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷(NAG)酶含量,ELISA 检测各组大鼠肾脏组织中 I 型胶原(Col-I)和 III 型胶原(Col-III)含量,HE 染色观察肾组织形态学,qRT-PCR 检测炎症因子白细胞介素-6(IL-6)、IL-8 和干扰素-γ(INF-γ)mRNA 表达,Western blot 检测 p38 MAPK、p-p38 MAPK、JNK、p-JNK、ERK1/2 和 p-ERK1/2 蛋白表达。结果:与空白组比较,CKD 组 Scr、BUN、UAlb/24h、尿 NAG 酶、Col-I 和 Col-III 明显升高( $P < 0.01$ ),肾组织出现明显病理变化,IL-6、IL-8、INF-γ mRNA 水平明显增加( $P < 0.01$ ),肾组织中 p38 MAPK、JNK、p-JNK、ERK1/2 和 p-ERK1/2 蛋白表达显著升高( $P < 0.01$ );与 CKD 组比较,百令胶囊组和中药汤剂联合百令胶囊组上述肾功能损伤指标和炎症因子均降低( $P < 0.05$ ),肾组织病理学变化被改善,肾组织中 p38 MAPK、JNK、p-JNK、ERK1/2 和 p-ERK1/2 蛋白表达降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ );与百令胶囊组比较,中药汤剂联合百令胶囊组上述肾功能损伤指标和炎症因子的下降更明显,p-JNK 蛋白表达降低( $P < 0.05$ )。结论:中药汤剂联合百令胶囊可降低腺嘌呤诱导的大鼠肾功能损害和炎症反应,其机制可能与抑制 p38 MAPK 信号通路某些蛋白质的过度激活有关。

**[关键词]** 大鼠, Sprague-Dawley; 炎症; 慢性肾脏病; p38MAPK 信号通路; 肾功能; 百令胶囊

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2020)04-0444-07

**DOI:**10.19367/j.cnki.1000-2707.2020.04.013

## Effect of Chinese Herbal Decoction Combined with Bering Capsule on Renal Inflammation and p38 MAPK Signal Pathway in Rats with Chronic Kidney Disease

GUO Yaping<sup>1</sup>, GUO Bulin<sup>1</sup>, ZHAO Yafeng<sup>2</sup>, LIU Xuqin<sup>1</sup>, LU Xiaoqing<sup>1</sup>, ZHAO Dongyan<sup>1</sup>, YAN Yinyin<sup>1</sup>

(1. Yulin Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yulin 719000, Shaanxi, China; 2. Shanxi Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xian 710003, Shaanxi, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the therapeutic effect of traditional Chinese medicine decoction combined with Bailing capsule on chronic kidney disease (CKD) rats and its effect on p38 MAPK signaling pathway. **Methods:** The 40 male SD rats were randomly divided into blank group, CKD group, Bering capsule and traditional Chinese medicine decoction combined with Bailing capsule group, and the CKD model was established by gavage adenine method in the latter three groups. After the model was established, Bailing capsule group and traditional Chinese medicine decoction combined with Bailing capsule group were given the same amount of normal saline in the blank group and the CKD group, respectively, for 4 weeks. The serum contents of serum creatinine (Scr), urea nitrogen

\*[基金项目] 陕西省中医药管理局中医药科学技术研究课题(LCPT007); 榆林市科技项目(2060499-06)

\*\*通信作者 E-mail: GBL31@163.com

(BUN), 24 h urinary albumin (UAlb/24 h) and enzyme content of urinary N- acetyl  $\beta$ -D-glucosamine (NAG) were determined in each group. The contents of I collagen (Col- I ) and III collagen (Col-III ) in kidney tissue of each group were detected by ELISA test, and the renal histomorphology was observed by HE staining. The inflammatory factors interleukin-6 (IL-6), IL-8, interferon  $\gamma$ (INF- $\gamma$ ) mRNA and the protein expression of p38 MAPK, p-p38 MAPK, JNK, p-JNK, ERK1/2 and p-ERK1/2 were detected by Western blot and qRT-PCR. **Results:** Scr, BUN, UAlb/24 h, Urine NAG enzyme, Col- I and Col-III increased significantly in CKD group compared with blank group( $P < 0.01$ ). Renal tissue showed obvious pathological changes and the level of IL-6, IL-8 and INF- $\gamma$  mRNA increased significantly( $P < 0.01$ ). The protein expression of p38MAPK, JNK, p-JNK, ERK1/2 and p-ERK1/2 in renal tissues increased significantly( $P < 0.01$ ). Compared with CKD group, the above indexes of kidney function injury and inflammatory factors were significantly decreased in Bailing capsule group and traditional Chinese medicine decoction combined with Bailing capsule group( $P < 0.05$ ). Renal histopathological changes were improved and the protein expression of p38 MAPK, JNK, p-JNK, ERK1/2 and p-ERK1/2 in renal tissues was significantly decreased( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Compared with Bailing capsule group, the indexes of kidney function injury and inflammatory factors were decreased, and the expression of p-JNK protein was decreased( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Chinese herbal decoction combined with Bering capsule can reduce renal dysfunction and inflammatory response induced by adenine in rats. The mechanism may be related to the inhibition of excessive activation of some proteins in p38 MAPK signaling pathway.

[ **Key words** ] rats, sprague-dawley; inflammation; chronic kidney disease (CKD); p38MAPK signaling pathway; kidney function; bering capsule

慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD) 是指由多种原因引起的肾功能下降和肾实质损害、短期或长期不可逆转的一类肾脏疾病,其病理表现为肾小球和肾间质内的炎症反应导致的肾脏纤维化,故抑制炎症反应对治疗 CKD 具有重要意义<sup>[1]</sup>。有文献报道,p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK) 信号通路参与了肾脏炎症反应,其可将外界刺激转入细胞内,诱导产生肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6 (IL-6) 和 IL-8 等多种炎症因子,导致肾脏损害及肾纤维化,故阻断 p38 MAPKs 信号通路对缓解 CKD 进展有重要的作用<sup>[2]</sup>。中医药在 CKD 等多种慢性疾病治疗中有独特的优势<sup>[3]</sup>。百令胶囊为人工合成的冬虫夏草,是我国有名的滋补强壮中药,研究已证实其对 CKD 患者的肾功能指标有一定的改善效果<sup>[4]</sup>。本研究采用自拟中药汤剂联合百令胶囊对 CKD 模型大鼠进行治疗,探讨这两类中药对 CKD 的治疗机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 40 只 SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量

(200  $\pm$  20)g,购自成都达硕生物科技有限公司[质量合格证号为 SCXKC (111) 2008-24] 大鼠自由摄食饮水,适应性饲养 1 周。

1.1.2 药物与试剂 腺嘌呤 (批号 0183) 购自美国 Amresco 公司,百令胶囊 (批号 Z10910036) 购自杭州中美华东制药有限公司,生黄芪、茯苓、党参、苍术、炒白术、巴戟天、泽兰叶、六月雪、红花、桃仁、莪术、酒大黄和水蛭粉均购自成都杏林大药房,大鼠 I 型胶原 C 端肽 (CTX- I ) ELISA 试剂盒 (批号 ZC - 35983) 和大鼠 III 型胶原 (Col III) ELISA 试剂盒 (批号 ZC - 36009) 均购自上海茁彩科技有限公司, RNA 提取试剂盒和逆转录试剂盒购自美国 Promega 公司, SYBR Green Gene Expression Assay 购自大连 Takara 公司, p-p38 MAPK 多克隆抗体 (批号 44 - 684G)、p38 MAPK 单克隆抗体 (批号 33 - 1300)、p-JNK 单克隆抗体 (批号 PA1 - 9594)、JNK 单克隆抗体 (批号 AHO1362)、p-ERK1/2 单克隆抗体 (批号 MA5 - 15174)、ERK1/2 单克隆抗体 (批号 MA5 - 15134)、IL-6 多克隆抗体 (批号 ARC0062)、IL-8 单克隆抗体 (批号 MA5 - 24081)、干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 单克隆抗体 (批号 ARC4033) 和  $\beta$ -actin 单克隆抗体 (批号 MA5 - 15739) 均购自 Thermo Fisher 公司, HRP 标记山羊抗兔、山羊抗鼠

抗体均购自上海碧云天生物技术有限公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 模型建立及给药** 将大鼠随机分为空白组、CKD 组、百令胶囊组和中药汤剂联合百令胶囊组 4 组,每组 10 只。空白组大鼠灌胃生理盐水,其他组灌胃 2.5% 腺嘌呤混悬液(300 mg/kg),连续 4 周,建立大鼠 CKD 模型。第 5 周,空白组和 CKD 组灌胃生理盐水,百令胶囊组按 0.625 g/kg 剂量灌胃百令胶囊,中药汤剂联合百令胶囊组在百令胶囊基础上加服中药汤剂,根据大鼠和成人用药计量换算系数 6.25,计算得大鼠用中药汤剂的剂量为 20.94 g/kg。所有大鼠均按体质量每 100 g 给予 1 mL 剂量给药,每天灌胃 1 次。自拟中药汤剂制备方法:将生黄芪 30 g,茯苓 20 g,党参、苍术、炒白术、巴戟天、泽兰叶各 15 g,六月雪 30 g、红花、桃仁、莪术各 12 g,酒大黄 7 g,水蛭粉 3 g,加入 2 000 mL 蒸馏水煎煮 60 min,浓缩至 96 mL,浓缩液中中药含量为  $2.09 \times 10^3$  g/L。

**1.2.2 标本采集** 末次给药后大鼠置于代谢笼收集尿液样本,并禁食 24 h,按照 30 mg/kg 剂量腹腔注射戊巴比妥钠进行麻醉,麻醉后取腹主动脉血于抗凝采血管,静置 1 h 后,于 3 000 r/min 离心 10 min,收集血清,−20 ℃ 保存备用。采血结束后处死大鼠,摘取大鼠肾脏组织,生理盐水清洗残余血液后,将组织分为 3 部分,一部分置于 4% 多聚甲醛固定 24 h,制作 HE 病理切片;一部分肾脏组织置于液氮速冻后转入 −80 ℃ 保存备用;另一部分制备匀浆液,3 000 r/min 离心 10 min 取上清液,−80 ℃ 保存。

**1.2.3 肾功能指标及 Col-I 和 Col-III 检测** 采用全自动生化仪检测各组大鼠血清中血肌酐(Scr)和尿素氮(BUN)含量,检测 24 h 尿白蛋白(UAlb/24 h)和尿 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷(NAG)酶含量。采用 ELISA 试剂盒检测肾组织匀浆液上清中 Col-I 和 Col-III 的含量。

**1.2.4 肾脏组织学观察** 肾脏组织固定 24 h 后进行脱水、透明、包埋和切片,HE 染色后观察各组大鼠肾脏组织组织学变化。

**1.2.5 肾组织中 IL-6、IL-8 和 INF-γ mRNA 的表达** 使用总 RNA 提取试剂提取各组大鼠肾脏组织总 RNA,并使用逆转录试剂盒 PrimeScript™ RT reagent Kit 合成 cDNA,以 cDNA 样品为模板,对 IL-6、IL-8 和 INF-γ mRNA 表达量进行检测,引物由上海生工生物有限公司合成。IL-6 引物:F 端为 5'-

GAC TGA TGT TGT TGA CAG CCA CTG C -3',R 端为 5'-AGC CAC TCC TTC T GT G AC TC T AAC T -3'。IL-8 引物:F 端为 5'-TGG TCT CAG CCA CCCGC-3',R 端为 5'-CCC TGT GGC TTG GCG G-3'。INF-γ 引物:F 端为 5'-ATG AGT GCT ACA CGC CGC GTC TTG G-3',R 端为 5'-GAG TTC ATT GAC AGC TTT GTG CTG G-3'。β-actin 引物:F 端为 5'-GAC TGA TGT TG T TGA CAG CCA CT G C -3',R 端为 5'-TAG CCA CTC CTT CTG TGA CTC TAA CT-3'。反应体系 12.5 μL;SYBR Premix Ex Taq™ II 6 μL,上游引物 0.5 μL,下游引物 0.5 μL,模板 5 μL,ddH<sub>2</sub>O 补足。反应条件:95 ℃ 预变性 3 min;95 ℃ 变性 10 s,60 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 30 s,25 个循环。以 β-actin 为参照,用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算组织中各基因的相对表达量。

**1.2.6 肾组织中 IL-6、IL-8、INF-γ、p38 MAPK、p-p38 MAPK、JNK、p-JNK、ERK1/2 和 p-ERK1/2 蛋白表达** 取 100 mg 肾组织剪碎后,根据蛋白提取试剂盒操作说明提取各组大鼠肾脏组织总蛋白,并用二喹啉甲酸(BCA)法进行定量。使用等量蛋白质上样,蛋白变性后选择 10% SDS-PAGE 进行分离,分离后的蛋白质转移至 PVDF 膜上,用 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h,加入一抗(IL-6、IL-8、INF-γ、p38 MAPK、p-p38 MAPK、JNK、p-JNK、ERK1/2 和 p-ERK1/2 和 β-actin 均按 1:400 稀释),4 ℃ 孵育过夜后用 TBST 清洗 3 次,每次 10 min,然后用相应二抗 IgG(稀释比例均为 1:5 000)室温孵育 1 h,再用 TBST 清洗 3 次,ECL 暗室显色。Bio-Rad 全功能成像系统采集图像后,用 Image-ProPlus 分析灰度值密度,以 β-actin 为内参,计算各组大鼠肾脏组织中相关蛋白的相对表达量,重复 3 次。

## 1.3 统计学分析

用 SPSS 22.0 进行统计分析,结果以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),两两比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 血清 BUN、Scr 及 UAlb/24 h 及尿 NAG 酶

与空白组相比,CKD 组大鼠血清中 BUN、Scr 含量、UAlb/24 h 以及尿 NAG 酶明显升高( $P < 0.01$ ),表明 CKD 模型复制成功;与 CKD 组比较,百令胶囊组和中药汤剂联合百令胶囊组大鼠上述

指标均降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与百令胶囊组相比,中药汤剂联合百令胶囊组 BUN 和 Scr 含量均明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 各组大鼠肾功能相关指标( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Tab.1 Related indexes of renal function of rats in each group( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

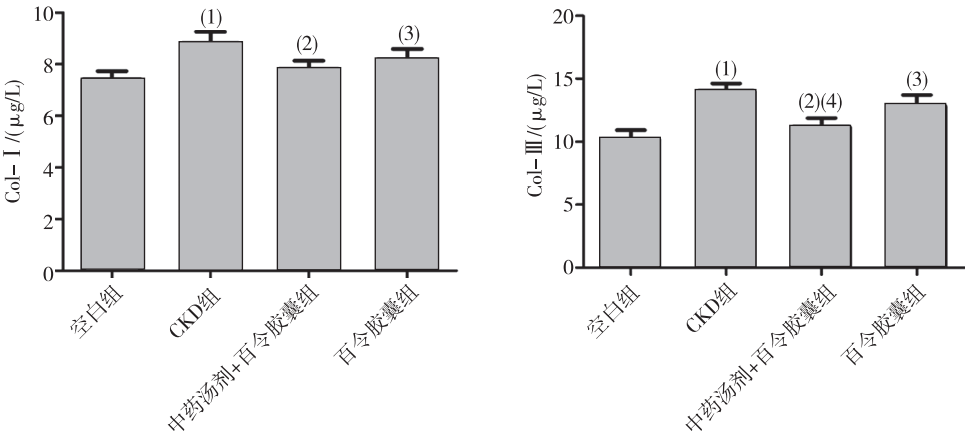
指标	空白组	CKD 组	中药汤剂联合百令胶囊组	百令胶囊组
BUN/(mmol/L)	6.78 ± 0.91	16.97 ± 1.3 <sup>(1)</sup>	8.47 ± 1.11 <sup>(2)(5)</sup>	13.32 ± 4.3 <sup>(3)</sup>
Scr/(μmol/L)	48.54 ± 2.80	181.57 ± 4.74 <sup>(1)</sup>	83.31 ± 3.69 <sup>(2)(4)</sup>	166.48 ± 9.28 <sup>(3)</sup>
Ualb/24 h/mg	6.27 ± 0.82	11.52 ± 0.9 <sup>(1)</sup>	7.75 ± 0.24 <sup>(2)</sup>	9.70 ± 1.16 <sup>(3)</sup>
尿 NAG/(U/L)	4.50 ± 0.51	8.75 ± 0.6 <sup>(1)</sup>	5.22 ± 1.0 <sup>(2)</sup>	7.11 ± 0.6 <sup>(3)</sup>

注: <sup>(1)</sup>与空白组比较,  $P < 0.01$ ; 与 CKD 组比较, <sup>(2)</sup> $P < 0.01$ , <sup>(3)</sup> $P < 0.05$ ; 与百令胶囊组比较, <sup>(4)</sup> $P < 0.01$ , <sup>(5)</sup> $P < 0.05$ 。

2.2 肾组织中 Col- I 和 Col-Ⅲ表达

与空白组相比,CKD 组大鼠肾组织中 Col-I 和 Col-Ⅲ含量增加,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与

CKD 组相比,百令胶囊组和中药汤剂联合百令胶囊组大鼠肾组织中 Col-I 和 Col-Ⅲ含量明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见图 1。



注: <sup>(1)</sup>与空白组比较,  $P < 0.01$ ; 与 CKD 组比较, <sup>(2)</sup> $P < 0.01$ , <sup>(3)</sup> $P < 0.05$ ; <sup>(4)</sup>与百令胶囊组比较,  $P < 0.05$ 。

图 1 各组大鼠肾组织中 Col- I 和 Col-Ⅲ 的表达

Fig.1 The expression of Col- I and Col-Ⅲ in renal tissue of rats in each group

2.3 肾组织学观察

各组大鼠肾脏组织学结果显示,对照组和百令胶囊组大鼠肾小管排列正常,肾小球结构完整;CKD 组大鼠肾小球结构紊乱,肾小管坏死,囊性扩张,同时伴纤维增生及大量炎性细胞浸润;与 CKD

组比较,百令胶囊组和中药汤剂联合百令胶囊组大鼠肾组织完整,肾小球数目增多,肾小管扩张程度降低,炎性细胞数量明显减少,而中药汤剂联合百令胶囊组肾小管扩张程度、炎性细胞数量减少更明显。见图 2。

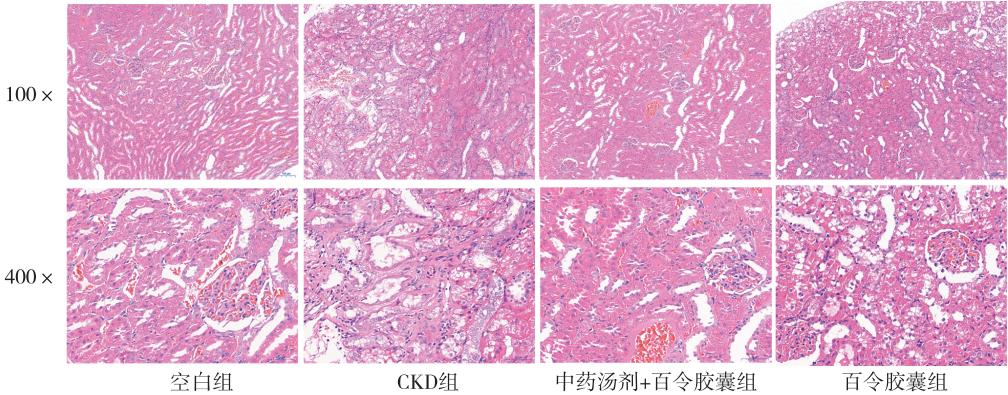


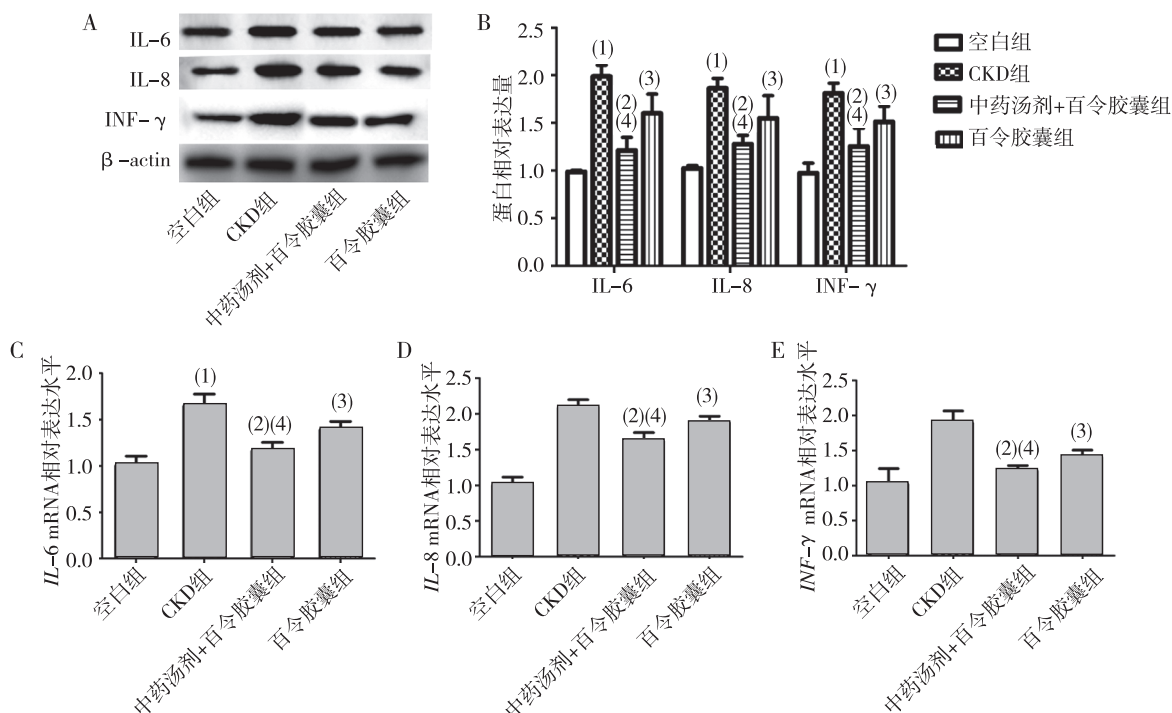
图 2 各组大鼠肾脏组织学变化(HE)

Fig.2 Changes of renal histology of rats in each group(HE)

## 2.4 肾组织中炎症因子

CKD 组大鼠肾组织中 *IL-6*、*IL-8* 和 *INF-γ* mRNA 和蛋白表达量均显著性上升,与空白组相比,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与 CKD 组相比,百令胶囊组和中药汤剂联合百令胶囊组大鼠的 *IL-6*、

*IL-8* 和 *INF-γ* mRNA 和蛋白含量均降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );与百令胶囊组比较,中药汤剂联合百令胶囊组大鼠肾组织中 *IL-6*、*IL-8* 和 *INF-γ* mRNA 和蛋白含量降低更明显,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见图 3。



注:A、B 为 Western blot 结果,C ~ E 为 Real-time PCR 结果;(1)与空白组比较, $P < 0.01$ ;  
与 CKD 组比较,(2)  $P < 0.01$ 、(3)  $P < 0.05$ ;(4)与百令胶囊组比较, $P < 0.05$ 。

图 3 各组大鼠肾组织中 *IL-6*、*IL-8* 和 *INF-γ* mRNA 和蛋白表达

Fig.3 The expression of *IL-6*, *IL-8*, *INF-γ* mRNA and protein expressions in renal tissue of rats in each group

## 2.5 肾组织中 p-p38MAPK、p-JNK、JNK、p-ERK1/2 和 ERK1/2 蛋白的表达

与空白组相比,CKD 组大鼠肾组织中 p-p38MAPK、p-JNK、JNK、p-ERK1/2 和 ERK1/2 蛋白均明显升高( $P < 0.01$ ),而百令胶囊组大鼠肾组织中上述蛋白表达量均降低,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与 CKD 组相比,中药汤剂联合百令胶囊组的 p-p38 MAPK、p-JNK、JNK、p-ERK1/2 和 ERK1/2 蛋白表达量降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。与百令胶囊组相比,中药汤剂联合百令胶囊组 p-JNK 蛋白表达明显降低( $P < 0.05$ ),其余蛋白表达量也减少,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见图 4。

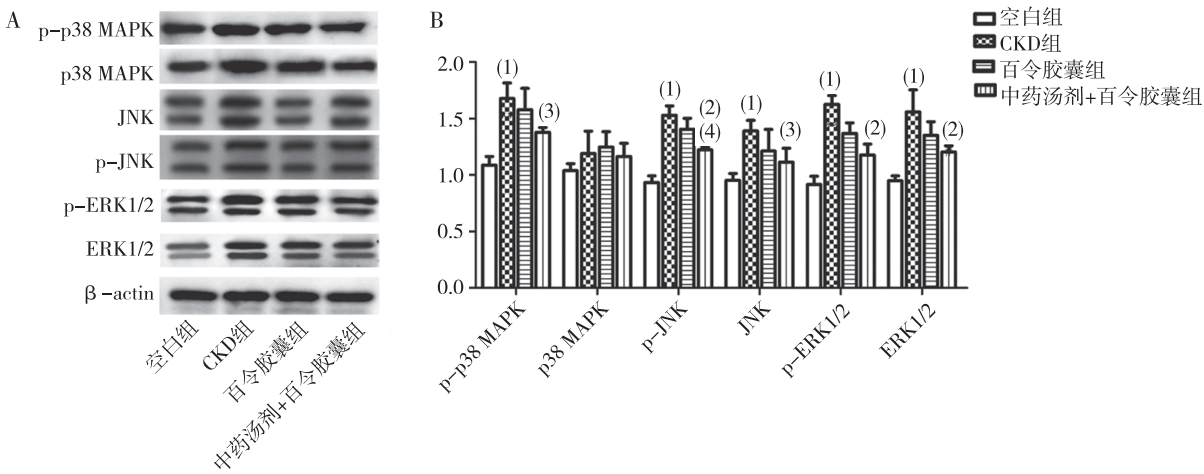
## 3 讨论

最新 CKD 流行病学调查资料显示,我国 CKD

的发病率和死亡率呈逐年上升趋势,对我国人民的生命健康造成了极大的危害,已是肾脏疾病领域的研究热点<sup>[5]</sup>。虽然研究已证实肾脏组织的炎症反应及其相关的组织损伤是导致其进展至终末期肾病(end-stage renal disease, ESRD)的重要因素,但目前尚缺乏能有效抑制肾脏炎症反应和改善肾脏组织损伤的药物<sup>[6-7]</sup>。

中医认为 CKD 病性为本虚标实和虚实夹杂,病机为人体脏腑功能失调、气血亏损、阴阳失衡、脾肾亏虚、浊毒内蕴以及清浊不合等特点<sup>[8]</sup>。本研究采用自拟中药汤剂联合百令胶囊治疗,方中生黄芪补气升阳、益气固表、利水消肿<sup>[9]</sup>,茯苓利水渗湿、健脾益胃,党参和炒白术补中益气、健脾益肺<sup>[10]</sup>,苍术燥湿健脾,巴戟天温肾壮阳、益精血、强筋骨、祛风湿,红花、泽兰叶、桃仁、莪术和水蛭粉均有活血化瘀、行水消肿的功效,配酒大黄活血泄浊,六月雪疏风、清热、利湿、舒筋活络、解毒行淤,巧配





注：<sup>(1)</sup>与空白组比较， $P < 0.01$ ；与 CKD 组比较，<sup>(2)</sup> $P < 0.01$ 、<sup>(3)</sup> $P < 0.05$ ；<sup>(4)</sup>与百令胶囊组比较， $P < 0.05$ 。

图 4 各组大鼠肾组织中 p-p38 MAPK、p38 MAPK、p-JNK、JNK、p-ERK1/2 和 ERK1/2 蛋白表达

Fig. 4 The expression of p-p38 MAPK, p38 MAPK, p-JNK, JNK, p-ERK1/2 and ERK1/2 protein expression in renal tissue of rats in each group

巴戟天以温肾祛湿，疏通经脉，化散瘀滞。现代药理学表明，生黄芪<sup>[11]</sup>、酒大黄<sup>[12]</sup>、苍术<sup>[13]</sup>、莪术<sup>[14]</sup>具有调节免疫功能，党参、巴戟天具有抗氧化、抗衰老、抗炎、抗疲劳、增强记忆和抗肿瘤功能<sup>[15-16]</sup>。百令胶囊与天然冬虫夏草药理活性相似，主要成分包括 D-甘露醇、麦角醇、虫草酸、载体生物碱、多种氨基酸、维生素和微量元素等，在中医学理论上具有补益肺肾和止血化痰之功效<sup>[17]</sup>。现代药理学表明，百令胶囊具有免疫调节、抗氧化、抗炎和抗肿瘤等多种药理学活性，对肾脏、肺脏和肝脏均有保护效果<sup>[18]</sup>。研究发现，百令胶囊能改善 CKD 患者临床症状、提高生活质量<sup>[19]</sup>。因此，本文联合自拟中药汤剂和百令胶囊对 CKD 大鼠进行干预，评价治疗效果和可能机制。

Scr 和 BUN 是反映肾功能损害的常规检测指标。UAlb/24h 与尿 NAG 酶被认为是早期肾损伤的主要标志物，而 Col-I 和 Col-III 的过度沉积也是肾脏损伤的标志性病理特征<sup>[20]</sup>。本研究结果发现，CKD 模型大鼠出现了典型的肾功能损伤症状，包括 Scr、BUN、UAlb/24h、尿 NAG、Col-I 和 Col-III 含量增加；经百令胶囊治疗后，升高的上述肾损伤指标均被明显抑制。同时，HE 染色显示，百令胶囊能改善 CKD 大鼠肾小球结构紊乱、肾小管坏死、肾小管间质纤维化和炎症细胞浸润等病理变化，提示百令胶囊有保护肾脏的药理学活性。用中药汤剂联合百令胶囊治疗后，大鼠肾功能损伤指标被进一步降低，而肾脏组织病理学损伤也被进一步改

善。表明中药汤剂能增强百令胶囊对 CKD 大鼠的治疗效果。Yang 等<sup>[21]</sup>认为炎症反应既是导致 CKD 的主要原因，又是 CKD 发生发展导致的结果。本研究进一步验证了 CKD 中炎症因子的变化及百令胶囊对炎症因子的调控作用。结果表明，CKD 模型大鼠肾组织中 *IL-6*、*IL-8* 和 *INF-γ* mRNA 表达量显著性增加，百令胶囊可显著降低肾组织中 *IL-6*、*IL-8* 和 *INF-γ* mRNA 的含量，而中药汤剂能增强百令胶囊对促炎因子的抑制，提示中药汤剂联合百令胶囊能通过调节 *IL-6*、*IL-8* 和 *INF-γ* 等炎症因子，从而减轻炎症反应和肾脏损害。

肾组织炎症反应的病理特征主要指肾组织炎症细胞浸润、活化以及相关信号通路的激活。多条炎症信号通路及细胞因子的活化参与了肾组织炎症反应的调控，其中，p38MAPK 作为重要的炎症调控因子，其激活后进入细胞核调控多种转录因子的表达，从而促进炎症细胞的浸润与活化，加剧肾组织损伤<sup>[22]</sup>。研究发现，坎地沙坦和表没食子儿茶素-3-没食子酸酯通过 p38-MAPK 途径改善庆大霉素诱导的大鼠肾脏损伤<sup>[23]</sup>。为了进一步探讨百令胶囊抑制大鼠肾组织炎症反应的可能作用机制，本研究检测了 p38 MAPK 信号通路相关蛋白表达情况。研究结果表明，CKD 模型大鼠肾组织中的 p-p38 MAPK、p38 MAPK、p-JNK、JNK、p-ERK1/2 和 ERK1/2 均明显显著增加，表明 CKD 模型大鼠肾组织中 p38 MAPK 信号通路被激活，百令胶囊能抑制大鼠 p38 MAPK 磷酸化蛋白 (p-p38MAPK) 及其

下游的 JNK 和 ERK 通路的激活,但并无显著性差异,而用中药汤剂联合百令胶囊干预后,激活的 p38 MAPK 信号通路被显著性抑制。研究结果提示,模型鼠肾脏 p38MAPK 信号通路被激活后,p-p38MAPK 进入细胞内,通过促进核内多种炎症因子的表达,导致肾组织发生炎症损伤。推测中药汤剂联合百令胶囊可通过下调 p-p38MAPK 的表达,从而改善 CKD 模型大鼠肾组织炎症损伤。

综上所述,中药汤剂联合百令胶囊可降低 CKD 大鼠 BUN、Scr、UAlb/24 h、尿 NAG 酶、Col- I 和 Col-III 含量,改善肾脏组织病理变化和减轻炎症损伤,其机制可能与抑制 p38MAPK 信号通路的激活有关。但中药汤剂联合百令胶囊调控 p38MAPK 信号通路,改善 CKD 大鼠肾损伤的上游通路还有待进一步研究。

## 4 参考文献

- [1] 舒小雨,李启富. 环境污染物与糖尿病肾病[J]. 中华糖尿病杂志,2018,10(4):255-258.
- [2] 谭菲,盛瑶环,何勇. 尿毒清颗粒对糖尿病肾病大鼠肾脏抗炎抗氧化保护作用及对 TGF- $\beta_1$ /p38MAPK 信号通路影响的研究[J]. 中药新药与临床药理,2019,30(1):122-127.
- [3] 韩世盛,陈敏,徐艳秋,等. 中药注射剂联合常规西医疗法治疗慢性肾功能衰竭的 Meta 分析[J]. 中成药,2019,41(11):2825-2829.
- [4] 石超,周长华,朱富祥,等. 前列地尔联合百令胶囊治疗早期慢性肾脏病 46 例[J]. 医药导报,2018,37(1):70-73.
- [5] YANG Y, ZHOU W, WANG Y, et al. Gender-specific association between uric acid level and chronic kidney disease in the elderly health checkup population in China [J]. Renal Failure, 2019, 41(1):197-203.
- [6] 于翔,戴铭卉,刘猛,等. 通腑泄浊法对慢性肾脏病大鼠 TGF- $\beta_1$ /p38MAPK 信号通路的调节作用[J]. 中国药理学通报,2019,41(5):1000-1005.
- [7] 席敦香,巩萍. 治疗慢性肾脏疾病相关性贫血的新药: daprodustat[J]. 中国新药与临床杂志,2018,31(11):612-615.
- [8] 梁晶. 郭登洲教授治疗慢性肾脏病的经验研究[J]. 河北中医药学报,2017,32(2):59-62.
- [9] 杨柳,李爱平,张王宁,等. 黄芪及含黄芪经方在治疗肾病方面的药理作用及临床应用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(14): 3419-3424.
- [10] 周荣荣,张萌,朱彦,等. 含党参方剂的数据挖掘及防治胃肠道疾病的分子机制[J]. 药学学报,2018,53(9):1422-1428.
- [11] CHEN S M, TSAI Y S, LEE S W, et al. Astragalus membranaceus modulates Th1/2 immune balance and activates PPARgamma in a murine asthma model[J]. Biochem Cell Biol, 2014, 92(5):397-405.
- [12] JIAO J, WU J, WANG M, et al. Rhubarb supplementation promotes intestinal mucosal innate immune homeostasis through modulating intestinal epithelial microbiota in goat kids [J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(4):1047-1057.
- [13] TSANG M S, CHENG S W, ZHU J, et al. Anti-Inflammatory activities of pentaherbs formula and its influence on gut microbiota in allergic asthma [J]. Molecules, 2018, 23(11):e2776.
- [14] HAN H, WANG L, LIU Y, et al. Combination of curcuma zedoary and kelp inhibits growth and metastasis of liver cancer in vivo and in vitro via reducing endogenous H2S levels[J]. Food Funct, 2019, 10(1):224-234.
- [15] CHEN M, LI Y, LIU Z, et al. Exopolysaccharides from a Codonopsis pilosula endophyte activate macrophages and inhibit cancer cell proliferation and migration[J]. Thorac Cancer, 2018, 9(5):630-639.
- [16] HE Y Q, ZHANG Q, SHEN Y, et al. Rubiadin-1-methyl ether from morinda officinalis how. inhibits osteoclastogenesis through blocking RANKL-induced NF-kappaB pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 506(4):927-931.
- [17] 张燕,张继强,陈卫东,等. 雷公藤多苷联合百令胶囊保护糖尿病肾病患者足细胞损害[J]. 中成药,2016,38(12):2551-2555.
- [18] 郭志伯,张晨洁,马李娜,等. 人羊膜间充质干细胞移植联合百令胶囊改善大鼠肾功能及血液高凝状态[J]. 中国组织工程研究,2017,21(1):133-139.
- [19] 朱廷富,邹朝春. 百令胶囊对小儿糖尿病肾损伤患儿疗效研究[J]. 中国临床药理学与治疗学,2018,23(8):912-915.
- [20] LI Q P, WEI R B, YANG X, et al. Protective effects and mechanisms of shenhua tablet on toll-like receptors in rat model of renal ischemia-reperfusion injury[J]. Chin J Integr Med, 2019, 25(1):37-44.
- [21] YANG H, SONG Y, LIANG Y N, et al. Quercetin treatment improves renal function and protects the kidney in a rat model of adenine-induced chronic kidney disease[J]. Medical Science Monitor; International Medical Journal of Experimental and Clinical Research, 2018, 24(10):4760-4766.
- [22] YI W, OUYANG Q. Adiponectin improves diabetic nephropathy by inhibiting necrotic apoptosis [J]. Arch Med Sci, 2019, 15(5):1321-1328.
- [23] AHMED H I, MOHAMED E A. Candesartan and epigallocatechin-3-gallate ameliorate gentamicin-induced renal damage in rats through p38-MAPK and NF-kappaB pathways [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2019, 33(3):e22254.

(2020-01-02 收稿, 2020-03-26 修回)  
中文编辑: 文箴颖; 英文编辑: 乐 萍