

化痰通络中药通过 TAK1/JNK 通路抑制巨噬细胞浸润及活化改善糖尿病肾病大鼠肾脏炎症

郭 帅^{1,2}, 方 敬¹, 李雅纯¹, 杨 帆¹, 陈志强^{1,3*}

¹河北中医学院; ²河北医科大学第三医院; ³河北省中医院, 石家庄 050000

摘要:观察化痰通络中药对糖尿病肾病大鼠肾脏炎症的干预作用,并探讨其机制。40 只 SD 大鼠随机选取 10 只为正常组(C 组),其余 30 只采用一次性腹腔注射链脲佐菌素(STZ, 40 mg/kg)联合高糖高脂饲料喂养建立糖尿病模型。造模成功大鼠随机分为模型组(M 组)和化痰通络中药组(Z 组)。Z 组予以中药干预。16 周后,各组大鼠留尿检测 24 h 尿蛋白定量(24 h UTP);ELISA 法检测血清中单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的表达;取肾组织,应用免疫荧光法检测巨噬细胞标志蛋白 CD68、经典活化巨噬细胞标志蛋白诱导性一氧化氮合成酶(iNOS)的表达,应用 Western blot 法检测 TAK1/JNK 信号通路相关蛋白转化生长因子激活酶-1(TAK1)、p-TAK1、c-Jun 氨基末端激酶(JNK)和 p-JNK 的表达。实验结果显示,与 C 组比较,M 组大鼠 24 h UTP、MCP-1、IL-1 β 和 TNF- α 水平均明显升高($P < 0.001$);肾间质可见大量 CD68 和 iNOS 蛋白的沉积;p-TAK1 和 p-JNK 蛋白的表达量明显增多($P < 0.001$)。与 M 组比较,Z 组大鼠 24 h UTP、MCP-1、IL-1 β 和 TNF- α 水平均显著降低($P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.01$, $P < 0.001$);CD68 和 iNOS 蛋白的沉积显著减少;p-TAK1 和 p-JNK 蛋白的表达量均显著减少($P < 0.05$)。结果表明化痰通络中药可降低糖尿病肾病大鼠蛋白尿,改善肾脏炎症反应,其机制可能与其抑制 TAK1/JNK 信号通路减少肾组织内巨噬细胞浸润、活化和炎症因子释放相关。

关键词:糖尿病肾病;化痰通络中药;巨噬细胞;TAK1/JNK 信号通路;炎症

中图分类号:R255.4

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)12-2020-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.12.005

Huayu Tongluo herbs alleviate renal inflammation by inhibiting macrophage infiltration and activation via TAK1/JNK pathway in diabetic nephropathy rats

GUO Shuai^{1,2}, FANG Jing¹, LI Ya-chun¹, YANG Fan¹, CHEN Zhi-qiang^{1,3*}

¹Hebei University of Chinese Medicine; ²The Third Hospital of Hebei Medical University;

³TCM Hospital of Hebei Province, Shijiazhuang 050000, China

Abstract: To observe the effect of Huayu Tongluo herbs on renal inflammation in diabetic nephropathy (DN) rats and explore its mechanism. Ten SD rats were randomly selected as normal control group (C group), and the other 30 rats were fed with one-time intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ, 40mg/kg) combined with high-glucose and high-fat diet to establish diabetic model. The successfully modeled rats were randomly divided into model group (M group) and Huayu Tongluo herbs group (Z group). Z Group was treated with traditional chinese medicine. After 16 weeks, 24 h urine total protein (24 h UTP), monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1), interleukin-1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected by ELISA method, the expression of CD68 and inducible nitric oxide synthase (iNOS) was detected by Immunofluorescence, and the expression of TAK1/JNK pathway related proteins transforming growth factor β -activated kinase 1 (TAK1), p-TAK1, c-Jun N-terminal kinase (JNK) and p-JNK was detected by Western blot method. The results showed that compared with C group, the levels of 24 h UTP, MCP-1, IL-1 β and TNF- α were significantly increased ($P < 0.001$), a large number of CD68 and iNOS protein deposits were seen in renal interstitium, and the expression of p-TAK1 and p-JNK protein was significantly

收稿日期:2020-08-06 接受日期:2020-10-23

基金项目:国家自然科学基金(81373804)

* 通信作者 Tel:86-311-69095003; E-mail:chenzhiqiang2011@163.com

increased in M group ($P < 0.001$). Compared with M group, the levels of 24 h UTP, MCP-1, IL-1 β and TNF- α were significantly decreased ($P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.01$, $P < 0.01$), the deposition of CD68 and iNOS protein was significantly decreased, and the expression of p-TAK1 and p-JNK protein was significantly decreased in Z group ($P < 0.05$). The results show that Huayu Tongluo herbs can reduce proteinuria and alleviate renal inflammation in DN rats, and its mechanism may be related to its reduction of macrophage infiltration and activation, and release of inflammatory factors in renal tissue via inhibiting TAK1/JNK pathway.

Key words: diabetic nephropathy; Huayu Tongluo herbs; macrophage; TAK1/JNK pathway; inflammatory

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病常见且严重的并发症,是世界范围内导致终末期肾病的首要原因^[1]。目前对 DN 的治疗主要是限制膳食钠摄入、控制血糖、降压及阻断肾素-血管紧张素系统 (RAS) 等,虽可以一定程度上延缓 DN 的进展,但其疗效并不理想^[2]。越来越多的证据表明,炎症反应在 DN 发生发展中起重要作用,巨噬细胞浸润及活化是肾脏炎症的中心环节^[3]。TAK1/JNK 信号通路是调节巨噬细胞浸润及活化的重要通路^[4]。因此,阻断 TAK1/JNK 信号通路是防治 DN 的有效策略。

本课题组认为“瘀血阻络”是 DN 的基本病机,在辨证论治的基础上加化癥通络中药成为治疗 DN 的基本原则。化癥通络类中药包含药物众多,本课题组经过 20 余年的临床实践,反复筛选,最终确定了川芎、丹参、地龙、水蛭、全蝎 5 味中药作为相对固定的治疗 DN 的基本药物。本课题组前期研究证实化癥通络中药可以抑制 DN 大鼠肾脏 RAS 的激活,可以减少足细胞裂孔膜蛋白及骨架蛋白的丢失,延缓 DN 的进展^[5,6]。但尚无该药对 DN 状态下炎症反应的研究。鉴于此,本研究以 SD 大鼠为研究对象,观察化癥通络中药对 DN 大鼠肾组织巨噬细胞浸润、活化及 TAK1/JNK 信号通路的影响,进一步明确化癥通络中药的作用靶点,为其临床推广应用提供实验依据。

1 材料和仪器

1.1 实验动物

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,许可证号:SCXK(京)2016-0006。

1.2 药物

化癥通络中药颗粒剂:丹参(1.8 g/袋,相当于饮片 10 g,批号:8080971)、川芎(1.3 g/袋,相当于饮片 6 g,批号:8122561)、地龙(1.0 g/袋,相当于饮片 10 g,批号:7125701)、水蛭(1.5 g/袋,相当于饮片 3 g,批号:8081351)、全蝎(1.0 g/袋,相当于饮片 3 g,

批号:8050111),由广东一方制药有限公司惠赠。

1.3 实验仪器和试剂

IX71 荧光倒置显微镜(日本奥林巴斯);Nano Drop 2000C 紫外分光光度计(Thermo Scientific 公司);DYCZ-24DN 电泳仪(北京六一公司);WSE-4040 半干转膜仪系统(ATTO 公司);Odyssey 红外激光扫描仪(LI-COR 公司)。

大鼠尿蛋白 ELISA 试剂盒(上海蓝基生物科技有限公司);大鼠 MCP-1 ELISA 试剂盒(上海森雄科技实业有限公司);大鼠 IL-1 β ELISA 试剂盒(上海森雄科技实业有限公司);大鼠 TNF- α ELISA 试剂盒(上海森雄科技实业有限公司); β -actin 抗体(碧云天生物技术有限公司);CD68 抗体(北京博奥森生物技术有限公司);iNOS 抗体(北京博奥森生物技术有限公司);TAK1 抗体(CST 公司);p-TAK1 抗体(CST 公司);JNK 抗体(CST 公司);p-JNK 抗体(CST 公司)。

2 实验方法

2.1 造模与分组

实验大鼠 40 只,普通饲料适应性喂养 1 周,检测血糖、尿糖和尿蛋白,均为阴性者用于实验。随机分为正常组(C 组)10 只、造模组 30 只,C 组大鼠予普通饮食,造模组大鼠予高糖高脂饲料(购自北京博泰宏达生物技术有限公司,CAS 号:HD001)喂养,6 周后,所有动物禁食不禁水 12 h,造模组大鼠予一次性腹腔注射 STZ(40 mg/kg),72 h 后尾静脉连续 3 次采血检测随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L 为糖尿病造模成功。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 2 组:模型组(M 组)14 只和化癥通络中药组(Z 组)14 只。C 组给予等体积不含 STZ 的枸橼酸缓冲液腹腔注射。

2.2 给药方法

Z 组大鼠灌服中药。成人临床使用剂量为:丹参 15 g、川芎 12 g、地龙 10 g、水蛭 6 g、全蝎 6 g。按照人和大鼠体表面积法,计算大鼠的给药剂量为:丹

参 1.35 g/(kg·d), 川芎 1.08 g/(kg·d), 地龙 0.9 g/(kg·d), 水蛭 0.54 g/(kg·d), 全蝎 0.54 g/(kg·d)。以上剂量均指中药饮片量。灌胃 1 次/日, 连续给药 16 周。C 组和 M 组灌服相应体积的蒸馏水。

2.3 标本采集

干预 16 周末, 在代谢笼中收集 24 h 尿液并记录尿量。大鼠禁食 12 h 后称重, 腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉(0.35 mL/100 g), 腹主动脉取血; 留取部分肾组织立即置入 4% 中性甲醛, 4 °C 保存, 待行免疫荧光检查; 留取部分肾组织置于冻存管中, 迅速放入液氮, 短暂冷却后移入 -80 °C 超低温冰箱保存, 待行 Western blot 检测。

2.4 检测指标及方法

2.4.1 24 h UTP 的检测

将收集到的 24 h 尿液, 离心 10 min (3 500 rpm), 取上清, 按照 ELISA 试剂盒操作说明检测各组大鼠尿蛋白浓度。

2.4.2 MCP-1、IL-1 β 和 TNF- α 的检测

将采集的血液, 离心 10 min (3 500 rpm), 取上清, 采用 ELISA 试剂盒检测血清中 MCP-1、IL-1 β 和 TNF- α 的浓度。

2.4.3 免疫荧光法检测肾组织 CD68 和 iNOS 的表达

石蜡切片脱蜡至水, 高压修复 (CD68 的修复液是柠檬酸, iNOS 修复液为 EDTA 修复液), 血清封闭, 加一抗 (CD68 1:100, iNOS 1:100) 4 °C 孵育过夜, 加二抗避光 37 °C 孵育 30 min, DAPI 复染细胞核, 淬灭组织自发荧光, 用抗荧光淬灭封片剂封片。荧光显微镜下观察并拍照。

2.4.4 Western blot 法检测肾组织 TAK1、p-TAK1、JNK 和 p-JNK 蛋白的表达

从大鼠肾组织提取总蛋白, 用 BCA 法定量。5 × 上样缓冲液稀释, 95 °C 变性 5 min。蛋白质样品在 SDS 聚丙烯酰胺凝胶中电泳, 然后转移到 PVDF 膜上。用 5% 脱脂奶粉将转有蛋白的 PVDF 膜室温封闭 1 h 后, 在 4 °C 与一抗 (TAK1 1:600, p-TAK1 1:750, JNK 1:600, p-JNK 1:750) 孵育过夜, 在 37 °C 与二抗孵育 1 h。使用 ECL 发光试剂反应后, 充分洗膜。扫描存档, PhotoShop 整理去色, 用 Quantity one 软件测定条带灰度值。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 25.0 统计分析软件进行处理, 数据均以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 若方差齐, 采用单因素方差分析, 两两比较采用 SNK-q 检验; 若方差不齐, 采用 Kruskal-Wallis 检验, 组间比较采用 All pairwise 法。P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组大鼠死亡情况

干预 16 周内, M 组大鼠死亡 4 只, Z 组大鼠死亡 3 只。

3.2 各组大鼠 24 h UTP、MCP-1、IL-1 β 和 TNF- α 水平的比较

与 C 组比较, M 组大鼠 24 h UTP、MCP-1、IL-1 β 和 TNF- α 水平均明显升高 (P < 0.001); 与 M 组比较, Z 组大鼠 24 h UTP、MCP-1、IL-1 β 和 TNF- α 水平均显著降低 (P < 0.001, P < 0.001, P < 0.01, P < 0.001)。提示化瘀通络中药可以降低 DN 大鼠蛋白尿, 下调炎症因子水平 (见表 1)。

表 1 各组大鼠 24 h UTP、MCP-1、IL-1 β 和 TNF- α 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Compariton of 24 h UTP, MCP-1, IL-1 β and TNF- α of rats in different groups ($\bar{x} \pm s$)

组别 Group	样本量 n	24 h 尿蛋白定量 24 h UTP (mg/24 h)	单核细胞趋化蛋白-1 MCP-1 (pg/mL)	白细胞介素-1 β IL-1 β (pg/mL)	肿瘤坏死因子- α TNF- α (pg/mL)
C 组	10	5.5 ± 2.3	75.7 ± 12.8	30.8 ± 6.9	24.9 ± 6.4
M 组	10	48.8 ± 11.0***	98.0 ± 11.5***	44.1 ± 4.9***	38.5 ± 6.4***
Z 组	11	34.1 ± 7.3###	76.1 ± 8.9###	34.7 ± 4.8##	25.4 ± 4.5###

注: 与 C 组比较, *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001; 与 M 组比较, #P < 0.05; ##P < 0.01; ###P < 0.001。

Note: Compared with C group, *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001; Compared with M group, #P < 0.05; ##P < 0.01; ###P < 0.001.

3.3 各组大鼠肾组织 CD68 和 iNOS 蛋白表达水平的比较

免疫荧光结果显示, C 组仅在肾间质有少量 CD68 和 iNOS 蛋白的沉积, 而 M 组在肾间质有大量 CD68 和 iNOS 蛋白的沉积, Z 组 CD68 和 iNOS 蛋白

的沉积较 M 组显著减少。提示化瘀通络中药可以抑制 DN 大鼠肾脏巨噬细胞浸润和活化 (见图 1)。

3.4 各组大鼠肾组织 TAK1、p-TAK1、JNK 和 p-JNK 蛋白表达水平的比较

Western blot 结果显示, 与 C 组比较, M 组大鼠

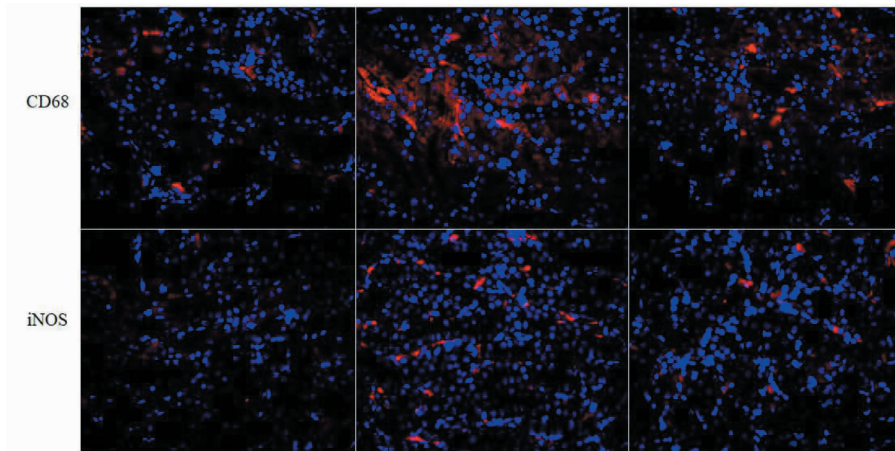


图1 各组大鼠肾组织 CD68 和 iNOS 蛋白表达水平的比较 (×200)

Fig. 1 Expression of CD68 and iNOS proteins in each group by Immunofluorescent(×200)

p-TAK1 和 p-JNK 蛋白的表达量明显增多 ($P < 0.001$);与 M 组比较,Z 组 p-TAK1 和 p-JNK 蛋白的表达量均显著减少 ($P < 0.05$);而 TAK1 和 JNK 在

各组的表达量无明显差异 ($P > 0.05$)。提示化痰通络中药可以抑制 DN 大鼠 TAK1/JNK 信号通路(见图 2)。

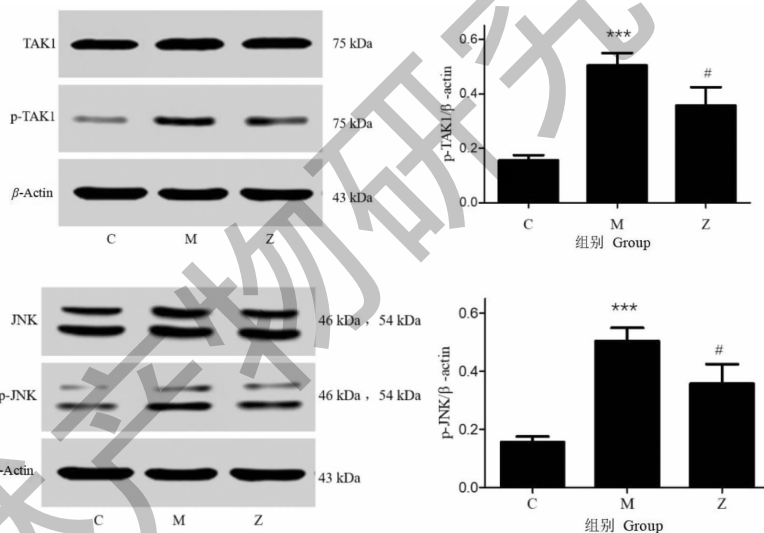


图2 各组大鼠肾组织 TAK1、p-TAK1、JNK 和 p-JNK 蛋白表达水平的比较

Fig. 2 Expression of TAK1, p-TAK1, JNK and p-JNK proteins in each group by Western blot

注:与 C 组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$;与 M 组比较, # $P < 0.05$; ## $P < 0.01$; ### $P < 0.001$ 。Note: Compared with C group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; Compared with M group, # $P < 0.05$; ## $P < 0.01$; ### $P < 0.001$ 。

4 讨论

近年来,中医对 DN 有较深入的认识,多数医家以瘀血立论。消渴发病,气虚无力运血则血行迟缓,日久渐致血瘀;阴虚火旺,煎熬津液,则津亏血少,血液粘稠不畅,久而致血瘀。《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”,瘀血迁延不愈,由经及络,络病乃成。DN 病程冗长,故其进

展符合中医学聚而成形、久而成积、瘀而络阻的变化。“瘀血阻络”贯穿 DN 始终,是其基本病机,活血化痰通络法已成为 DN 的基本治疗法则。然此瘀血息以成积不易消散,非常规活血化痰药所能及,故本课题组在应用丹参、川芎等常规活血化痰药基础上,加用水蛭、地龙、全蝎等功专疏通络脉虫类药。丹参是活血祛瘀之要药,其主要有效成分为丹参酚酸类和丹参酮类物质。现代药理学研究表明丹参可以调

节 DN 患者和实验动物的糖脂代谢,抑制氧化应激、炎症及纤维化,保护肾功能^[7,8]。川芎具有活血行气之功效,其主要有效成分为川芎嗪和阿魏酸,现代药理学研究表明川芎具有抑制血小板聚集和血栓形成,降低血液粘滞度,减少系膜细胞增殖,抑制内皮细胞增生等多种生物活性^[9]。水蛭功效为破血,逐瘀,通经。水蛭的主要有效成分是水蛭素,具有抗凝,抗栓,降脂,抑制炎症反应,抑制上皮-间质转分化,减少肾小管上皮细胞凋亡,减轻肾纤维化等作用^[10]。地龙治疗肾病取其通络,利尿之功效。地龙含蚓激酶,具有改善纤溶系统的失衡,抑制血小板活化,调节脂质代谢紊乱,抑制肾小球系膜细胞增殖和细胞外基质过度积聚的作用^[11]。全蝎具有祛风,通络,散结的功效。现代药理学研究表明,全蝎可抗凝,抗血栓,促纤溶,增加肾血流量,降低蛋白尿^[12,13]。此五味药合用,可使络脉得通,瘀滞尽去。

近期研究表明,巨噬细胞浸润是 DN 炎症反应的特征性表现之一^[3]。在 DN 患者和 DN 动物模型肾组织中均发现有巨噬细胞浸润,且其浸润程度与 DN 蛋白尿程度和肾功能减退呈正相关^[14-17]。研究表明,决定肾脏疾病发展方向的主要因素并不在于巨噬细胞浸润的数量,而是在于局部组织中巨噬细胞的活化状态^[18]。肾脏损伤后,血液中的单核细胞迁入肾组织分化成巨噬细胞,巨噬细胞在特定的微环境中获得两种不同的活化表型,即经典活化巨噬细胞(M1)和非经典活化巨噬细胞(M2)。M1 巨噬细胞通过分泌 iNOS、趋化因子(MCP-1、IL-8)及促炎因子(TNF- α 、IL-1 β)等,介导肾脏的炎症和纤维化;而 M2 产生抗炎因子 IL-1、IL-10 等,具有抗炎和组织修复功能。iNOS 是 M1 巨噬细胞活化的标志。在肾损伤早期阶段以 M1 巨噬细胞浸润为主,并释放 MCP-1、IL-1 β 、TNF- α 、ROS 等炎症因子,诱导并加强炎症反应。在本研究中,与正常组比较,模型组大鼠肾组织 CD68 阳性巨噬细胞聚集增加,M1 巨噬细胞活化标志物 iNOS 的表达增多,MCP-1、IL-1 β 、TNF- α 等炎症因子水平升高。化瘀通络中药可以抑制 DN 大鼠肾脏巨噬细胞的浸润、活化及炎症因子的释放,减轻肾脏炎症反应。

DN 肾组织中巨噬细胞的浸润和激活与 TAK1/JNK 信号通路密切相关。JNK 属于丝裂原活化蛋白激酶家族(MAPK)。每个 MAPK 家族都由一组三个顺序起作用的激酶组成:MAPKK 激酶(MAPKKK),MAPK 激酶(MAPKK)和 MAPK。活化的 MAPKKK

可磷酸化 MAPKK 而将其激活,活化的 MAPKK 将 MAPK 磷酸化而激活,活化的 MAPK 可以转位至细胞核内,调控靶基因的转录。近年来,动物实验和细胞实验已证实,JNK 通路促进肾脏炎症反应^[19-21]。TAK1 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,属于 MAPKKK 家族的一员,位于 JNK 的上游,是 JNK 信号转导的重要信号分子。在人类 DN、IgA 肾病、肾移植缺血/再灌注等肾脏疾病中,均可见 TAK1/JNK 信号通路的激活,且与炎症反应的进展密切相关^[22,23]。在 UO 小鼠中,抑制 TAK1/JNK 信号通路可以减少巨噬细胞浸润,抑制 M1 巨噬细胞活化,降低炎症因子水平^[4,19]。在本研究中,与正常组比较, DN 大鼠 TAK1/JNK 信号通路显著激活。化瘀通络中药可以显著降低 TAK1/JNK 信号通路相关蛋白的表达,抑制 TAK1/JNK 信号通路的激活。

综上所述,我们的研究表明,化瘀通络中药可以改善 DN 大鼠的蛋白尿,减轻肾脏炎症反应,作用机制可能与其抑制 TAK1/JNK 信号通路介导的巨噬细胞浸润、活化以及炎症因子的释放有关。

参考文献

- 1 Zhang L, Long J, Jiang W, et al. Trends in chronic kidney disease in China[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375:905-906.
- 2 Gallagher H, Suckling RJ. Diabetic nephropathy: where are we on the journey from pathophysiology to treatment[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2016, 18:641-647.
- 3 Tesch GH. Diabetic nephropathy is this an immune disorder [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2017, 131:2183-2199.
- 4 Ma FY, Tesch GH, Ozols E, et al. TGF- β 1-activated kinase-1 regulates inflammation and fibrosis in the obstructed kidney [J]. *Am J Physiol-Renal*, 2011, 300:F1410-F1421.
- 5 Xu J, Bai L, Ma EW, et al. Correlativity between blood measures related to blood stasis blocking collaterals and gene expression of angiotensin-converting enzyme of renal cortex in diabetic rats and effect of stasis removing and collaterals dredging[J]. *J Tradit Chin Med*, 2014, 34:597-603.
- 6 Bai L, Huo BB, Chen ZQ, et al. Effect of huayu tongluo herbs on reduction of proteinuria via inhibition of Wnt/ β -catenin signaling pathway in diabetic rats [J]. *Evid-based Compl Alt*, 2017, 2017:3054145.
- 7 Xiang X, Cai HD, Su SL, et al. *Salvia miltiorrhiza* protects against diabetic nephropathy through metabolome regulation and wnt/ β -catenin and TGF- β signaling inhibition[J]. *Pharmacol Res*, 2019, 139:26-40.
- 8 Shen Y, Wang S, Liu Y, et al. The effects of salvianolate

- combined with western medicine on diabetic nephropathy: a systematic review and meta-analysis [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 851.
- 9 Zhuang Z, Wang ZH, Huang YY, et al. Protective effect and possible mechanisms of ligustrazine isolated from *Ligusticum wallichii* on nephropathy in rats with diabetes: a preclinical systematic review and meta-analysis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 252: 112568.
 - 10 Xie YX, Lan F, Zhao J, et al. Hirudin improves renal interstitial fibrosis by reducing renal tubule injury and inflammation in unilateral ureteral obstruction (UUO) mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 81: 106249.
 - 11 Li L, Wang YX, Wang XH, et al. Research progress on mechanism of *pheretima* and compound on diabetic nephropathy [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2017, 23: 227-234.
 - 12 Wu FL, Dong QH, Wang H, et al. Research progress of Chinese *Scorpio* [J]. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med* (辽宁中医药大学学报), 2018, 20: 108-111.
 - 13 Wang B. Clinical efficacy research of *Scorpion granule* on the treatment of proteinuria caused by chronic glomerulonephritis [D]. Chengdu: Chengdu University of Chinese Medicine (成都中医药大学), 2012.
 - 14 Song ZQ, Wang JY. The role and possible mechanism of macrophages in the development of diabetic nephropathy [J]. *Chin J Prev Contr Chron Dis* (中国慢性病预防与控制), 2019, 11: 872-875.
 - 15 Han WB, Ma Q, Liu YL, et al. Huangkui capsule alleviates renal tubular epithelial - mesenchymal transition in diabetic nephropathy via inhibiting NLRP3 inflammasome activation and TLR4/NF- κ B signaling [J]. *Phytomedicine*, 2019, 57: 203-214.
 - 16 Zhou X, Sun X, Gong X, et al. Astragaloside IV from *astragalus membranaceus* ameliorates renal interstitial fibrosis by inhibiting inflammation via TLR4/NF- κ B *in vivo* and *in vitro* [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 42: 18-24.
 - 17 Gangadharan Komala M, Gross S, Zaky A, et al. Saxagliptin reduces renal tubulointerstitial inflammation, hypertrophy and fibrosis in diabetes [J]. *Nephrology (Carlton)*, 2016, 21: 423-431.
 - 18 Liu BC. Renal fibrosis: from basics to clinical practice (肾脏纤维化: 基础与临床) [M]. Beijing: Science Press, 2016: 103.
 - 19 Wang Y, Chen L, Wang K, et al. Suppression of TRPM2 reduces renal fibrosis and inflammation through blocking TGF- β 1-regulated JNK activation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 120: 109556.
 - 20 Song Y, Wang X, Qin S, et al. Esculin ameliorates cognitive impairment in experimental diabetic nephropathy and induces anti-oxidative stress and anti-inflammatory effects via the MAPK pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17: 7395-7402.
 - 21 Malik S, Suehal K, Khan SI, et al. Apigenin ameliorates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats via MAPK-NF- κ B-TNF- α and TGF- β 1-MAPK-fibronectin pathways [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2017, 313: F414-F422.
 - 22 De Borst MH, Prakash J, Sandovici M, et al. C-Jun NH2-terminal kinase is crucially involved in renal tubulo-interstitial inflammation [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2009, 331: 896-905.
 - 23 Kanellis J, Ma FY, Kandane-Rathnayake R, et al. JNK signaling in human and experimental renal ischemia/reperfusion injury [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2010, 25: 2898-2908.
- (上接第 2011 页)
- 20 Watanabe Y, Nagai Y, Honda H, et al. Isoliquiritigenin attenuates adipose tissue inflammation *in vitro* and adipose tissue fibrosis through inhibition of innate immune responses in mice [J]. *Rep*, 2016, 6: 23097.
 - 21 Xiao DW, Jin LZ, Wang CS, et al. The hematopoietic and immune effect of Shenfu injection after chemotherapy [J]. *Sichuan Med J* (四川医学), 2001, 22: 716-717.
 - 22 Jiang XB, Zheng J, Qiu HB. The preventive and therapeutic effect of Shen-fu injection and *Tripterygium wilfordii* polyglycoside on acute lung injury in mouse and the probable mechanisms [J]. *J Jiangsu Univ: Med* (江苏大学学报: 医学版), 2002, 12(1): 10-12.
 - 23 Yin LH. Molecular mechanism of acute kidney injury and intervention by Chinese medicine [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2016, 32: 1494-1500.
 - 24 Li HY, Wu KF, Tian JY. The protective role of astragalus-angelica mixture and atorvastatin on renal tubular epithelial cells with hypoxia reoxygenation [J]. *J Clin Nephrol* (临床肾脏病杂志), 2012, 12: 562-566.