

镰形棘豆炮制品改善大鼠肾纤维化的作用及机制研究^Δ

张 晴^{1*}, 马新换^{2#}, 杨明静¹, 徐志伟³, 王文婧¹, 宋 慧¹(1. 甘肃中医药大学药学院, 兰州 730030; 2. 甘肃省第二人民医院药学部, 兰州 730099; 3. 甘肃省中医院科研制剂中心, 兰州 730050)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)09-1167-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.09.10



摘要 **目的** 研究镰形棘豆炮制品对肾纤维化(RF)大鼠的改善作用及机制。**方法** 采用腺嘌呤构建RF模型大鼠。造模成功后,将大鼠分为模型组、阳性对照组(秋水仙碱,0.45 mg/kg)及镰形棘豆炮制品低、中、高剂量组(0.5、1、2 g/kg),另设不造模的空白组,每组8只。阳性对照组和镰形棘豆炮制品各剂量组大鼠灌胃相应药液,空白组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水,每天1次,连续28 d。观察大鼠肾脏外观和肾组织病理学形态;检测大鼠血清中肾功能指标[血尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)]和炎症因子[白细胞介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)]水平;检测大鼠肾组织中纤连蛋白(FN)、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、I型胶原(Col-I)表达水平;检测肾组织中转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)、Smad3、胞外信号调节激酶1(ERK1)、ERK2 mRNA表达水平以及TGF- β_1 蛋白表达水平和Smad3、ERK1/2蛋白磷酸化水平。**结果** 与空白组比较,模型组大鼠肾脏体积增大,颜色苍白且表面粗糙不平;肾小管可见大量炎症细胞浸润和空泡化细胞,胶原纤维增生明显;血清中BUN、Cr、IL-6、TNF- α 水平,肾组织中 α -SMA、Col-I、FN蛋白和TGF- β_1 、Smad3、ERK1、ERK2 mRNA表达水平以及TGF- β_1 蛋白表达水平和Smad3、ERK1/2蛋白磷酸化水平均显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,镰形棘豆炮制品各剂量组大鼠肾脏病理改变减轻,炎症细胞浸润和胶原纤维增生减少;上述定量指标水平均显著逆转($P<0.05$)。**结论** 镰形棘豆炮制品可改善RF大鼠肾功能,减轻炎症反应和胶原纤维异常沉积,其作用机制可能与抑制TGF- β_1 /Smad信号通路活性有关。

关键词 镰形棘豆;炮制品;肾纤维化;TGF- β_1 /Smad信号通路;胶原纤维沉积

Study on the effect and mechanism of processed *Oxytropis falcata* in improving renal fibrosis in rats

ZHANG Qing¹, MA Xinhuan², YANG Mingjing¹, XU Zhiwei³, WANG Wenjing¹, SONG Hui¹ (1. School of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730030, China; 2. Dept. of Pharmacy, Second People's Hospital of Gansu Province, Lanzhou 730099, China; 3. Scientific Research and Preparation Center, Gansu Provincial Hospital of TCM, Lanzhou 730050, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the improvement effect and mechanism of processed *Oxytropis falcata* on renal fibrosis (RF) in rats. **METHODS** RF model was induced by adenine. After modeling, the rats were divided into the model group, positive control group (colchicine, 0.45 mg/kg), and processed *O. falcata* low-, medium- and high-dose groups (0.5, 1, 2 g/kg), respectively. Additionally, a blank group without modeling was set up, with 8 rats in each group. The positive control group and the various dosage groups of processed *O. falcata* were given the corresponding medicinal solutions intragastrically, while the blank group and model group were given equal volume of normal saline intragastrically, once daily for 28 consecutive days. The appearance and histopathological morphology of the rats' kidneys were observed. Serum levels of renal function indexes [blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr)] and inflammatory factors [interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α)] in rats were detected. Protein expressions of fibronectin (FN), α -smooth muscle actin (α -SMA) and collagen type I (Col-I) in renal tissue of rats were determined. mRNA expressions of transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1), Smad3 and extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2) in renal tissues were measured. Protein expression of TGF- β_1 and phosphorylation levels of Smad3 and ERK1/2 in renal tissues were detected. **RESULTS** Compared with the blank group, the rats in the model group exhibited enlarged kidneys with pale color, rough and uneven surface. There was a significant infiltration of inflammatory cells and vacuolated cells in the renal tubules, along with marked proliferation of collagen fibers. Serum levels of BUN, Cr, IL-6 and TNF- α , protein expressions of α -SMA, Col-I and FN in renal tissues, mRNA expressions of TGF- β_1 , Smad3, ERK1 and ERK2 and protein expression of TGF- β_1 as well as phosphorylation levels of Smad3 and ERK1/2 in renal tissues were increased significantly ($P<0.05$). Compared with the model group, renal pathological changes of rats were alleviated in processed *O. falcata* groups, with reduced infiltration of inflammatory cells and proliferation of collagen fibers. The levels of the aforementioned quantitative indicators were all significantly reversed ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Processed *O. falcata* can improve renal function in RF rats, alleviate inflammatory responses, and reduce abnormal collagen fiber deposition. Its

^Δ基金项目 甘肃省中医药科研课题(No.GZKP-2022-44);兰州市科技计划项目(No.2025-3-088, No.2022-3-7);兰州市城关区科技计划项目(No.2025KJZC00030)

* 第一作者 硕士研究生。研究方向:中药炮制与制药工艺。
E-mail:2093434475@qq.com

通信作者 主任药师,硕士生导师。研究方向:中药制剂新工艺。E-mail:421509223@qq.com

mechanism of action may be related to the inhibition of the activity of the TGF- β /Smad signaling pathway.

KEYWORDS *Oxytropis falcata*; processed product; renal fibrosis; TGF- β /Smad signaling pathway; collagen fiber deposition

慢性肾脏病(chronic kidney disease,CKD)的患病率已超过全球人口的10%,肾纤维化(renal fibrosis,RF)是CKD进展至终末期肾病的主要病理特征,最终可导致肾功能完全丧失^[1-2]。RF主要表现为细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的异常积累和上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的形成,并伴随炎症细胞浸润及肾小管上皮细胞凋亡^[3]。西医治疗RF的主要药物包括肾素-血管紧张素系统抑制剂、钠-葡萄糖共转运蛋白2抑制剂等^[4],然而这些药物存在一定副作用,因此开发新的治疗RF的药物具有重要意义。

镰形棘豆*Oxytropis falcata* Bunge为豆科棘豆属植物,主要分布在西藏、青海、甘肃等地^[5],因其突出的抗炎疗效,被藏医誉为“三大抗炎药”之一^[6]。研究发现,镰形棘豆的提取物可以改善小鼠肾功能,发挥抗RF作用^[7-8]。然而,镰形棘豆属于毒性草本植物,若不进行炮制,容易引发肾脏及神经毒性^[9],因此,临床应用时常采用复制法、乳汁制法对其进行炮制,以起到减毒作用。

转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1)是目前公认的致纤维化因子之一,可通过Smad依赖及非依赖2个途径协同调控靶基因转录及蛋白表达,从而诱导RF^[10]。研究发现,TGF- β_1 /Smad信号通路异常激活可促进肾小球硬化和间质纤维化的病理进程,在Smad非依赖途径中,以丝裂原活化蛋白激酶家族的胞外信号调节激酶1/2(extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2)为主,其激活后可促进Smad3的磷酸化,最终介导肾间质的病理性损伤^[11-12];ERK1/2还可放大纤维化信号,加速EMT,诱导成纤维细胞异常增殖^[13-14]。基于此,本研究拟采用马奶炮制镰形棘豆,以降低其毒性;并基于TGF- β_1 /Smad信号通路探讨镰形棘豆炮制品对RF大鼠的改善作用及机制,以期为镰形棘豆防治RF的临床应用提供理论依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括TGL-16型高速低温台式离心机(德国Eppendorf公司)、Multiskan Mk3型酶标仪(美国Thermo Fisher Scientific公司)、Gentier 96R型实时定量聚合酶链式反应(PCR)仪(西安天隆科技有限公司)、SH-Compact523型化学发光成像系统(杭州申花科技有限公司)、IX51型荧光显微镜(日本Olympus公司)。

1.2 主要药品与试剂

镰形棘豆(货号20230901)购自西藏那曲市嘉黎县,经甘肃省第二人民医院药学部马新换主任中药师鉴定为豆科棘豆属植物镰形棘豆的干燥全草。马奶粉(货号20221105)购自新疆源西域生物科技有限公司;秋水仙碱(货号H20113208)购自广东彼迪药业有限公司;腺嘌呤(货号K459001)购自上海笛柏生物科技有限公司;苏

木精-伊红(HE)、马松(Masson)染色试剂盒(货号分别为G1100、G340)均购自北京索莱宝科技有限公司;肌酐(creatinine, Cr)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)试剂盒(货号分别为C011-2-1、C013-2-1)均购自南京建成生物工程研究所;白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(货号分别为ml064292、002859)均购自上海酶联生物科技有限公司;兔源I型胶原(collagen type I, Col-I)抗体(货号ab6308)购自英国Abcam公司;兔源纤连蛋白(fibronectin, FN)抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G二抗(货号分别为15613-1-AP、SA00001-2)购自武汉三鹰生物技术有限公司;兔源 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)抗体(货号BM0002)购自美国Boster公司;兔源TGF- β_1 、Smad3、ERK1/2、磷酸化Smad3(p-Smad3)、磷酸化ERK1/2(p-ERK1/2)、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(货号分别为bsm-61027R、bsm-52224R、bsm-52259R、bs-3484R、bsm-54491R、bs-0061R)均购自北京博奥森生物技术有限公司;TGF- β_1 、Smad3、ERK1、ERK2、 β -actin基因的引物序列由生工生物工程(上海)股份有限公司设计合成,具体信息见表1。

表1 PCR引物序列和扩增产物长度

基因	引物序列(5'-3')	扩增产物长度/bp
TGF- β_1	正向:GACTCTCCACCTGCAAGACC	139
	反向:GGACTGCGAGCCTTAGTTT	
Smad3	正向:AGAGTTAAAAGCGAAGTTCGGG	100
	反向:TTCACGTTCTGCGTGGTGA	
ERK1	正向:CCAAACAAGCGCATCACAGT	295
	反向:CCACTGGTTCATCTGTGCGA	
ERK2	正向:TCCATGTAGTAGAGTGCCCTTC	82
	反向:ACCCAGAGCATCAGTCTGTGA	
β -actin	正向:ACTCTGTGTGGATGGTGGC	73
	反向:GCAGCTCAGTAACAGTCCGC	

1.3 实验动物

本研究所用动物为SPF级SD雄性大鼠,体重(200 $\pm$ 20)g,共56只,均购自中国农业科学院兰州兽医研究所,动物生产许可证号为SCXK(甘)2023-0003。本实验经西北民族大学伦理委员会审查批准(伦理批号为xbmu-sm-202588)。

2 方法

2.1 镰形棘豆炮制品的制备

本课题组前期采用藏药特色的马奶炮制方法对镰形棘豆进行炮制,得到最佳工艺参数为:取镰形棘豆50g,加入12倍量马奶,浸泡60min,再置于60℃干燥箱中烘干,即得^[15]。取上述炮制后的镰形棘豆适量,加入12倍量水浸泡0.5h,煎煮1h,过滤;再加入8倍量水煎煮0.5h,过滤;合并2次滤液,减压浓缩成质量浓度为0.1g/mL(以生药量计)的镰形棘豆炮制品提取液,备用。

2.2 造模、分组与给药

将所有大鼠适应性喂养1周后,取45只复制RF模型:大鼠每天灌胃腺嘌呤混悬液(250 mg/kg)1次,连续15 d;然后改为隔日1次,连续15 d^[16]。末次给药2 h后,随机选取5只造模大鼠和3只不造模大鼠,经麻醉后腹主动脉取血,测定血清中BUN、Cr水平,随后剖取肾脏进行HE染色。若造模大鼠血清中BUN、Cr水平相比不造模大鼠明显升高,且肾脏病理学形态提示肾小管萎缩、空泡变性、炎症细胞浸润等典型RF特征,则表明造模成功。将造模成功的40只大鼠采用随机数字表法分为模型组、阳性对照组(秋水仙碱,0.45 mg/kg^[10])及镰形棘豆炮制品低、中、高剂量组(0.5、1、2 g/kg,剂量根据人和动物体表面积比率表计算而得^[17],其中中剂量为临床等效剂量,低、高剂量分别为等效剂量的0.5、2倍),每组8只。另取8只不造模的大鼠作为空白组。阳性对照组和镰形棘豆炮制品各剂量组大鼠灌胃相应药液,空白组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水,灌胃体积为10 mL/kg,每天1次,连续28 d。

2.3 样本收集与处理

末次给药24 h后,各组大鼠称重后以3%戊巴比妥钠麻醉;经腹主动脉取血,血样以3 000 r/min离心10 min,取上层血清置于-80℃条件下保存。取血完成后,处死大鼠,剖取肾脏,以生理盐水洗净,拍照;将肾脏分成两份,其中一份用4%多聚甲醛固定,另一份用液氮速冻后置于-80℃条件下保存。

2.4 大鼠肾组织病理学形态观察

取各组大鼠于4%多聚甲醛中固定的肾组织适量,经过脱水、透明、包埋、切片、脱蜡后,取一部分切片进行HE染色,一部分切片进行Masson染色(剩余部分用于免疫组化染色),采用光学显微镜观察大鼠肾组织病理学形态变化。

2.5 大鼠血清中肾功能指标和炎症因子水平检测

取各组大鼠血清适量,按照试剂盒说明书方法操作,使用酶标仪分别检测大鼠血清中肾功能指标(BUN、Cr)和炎症因子(IL-6、TNF-α)水平。

2.6 大鼠肾组织中α-SMA、Col- I、FN蛋白表达水平检测

采用免疫组化法检测。取“2.4”项下切片(每组取3只大鼠),经脱蜡、水化、抗原修复、山羊血清封闭等处理后,滴加α-SMA、Col- I、FN抗体(稀释度为1:250)孵育过夜,次日加入二抗(稀释度为1:500);经DAB显色和苏木精染色后,进行梯度乙醇脱水、二甲苯透明、中性树脂封片,采用光学显微镜观察目的蛋白的阳性表达(呈棕黄色或棕褐色)情况;每张切片随机选取5个不重叠的高倍视野,采用Image-Pro Plus 6.0软件对阳性表达区域的平均光密度(mean optical density,MOD)进行定量分析,以MOD值表示α-SMA、Col- I、FN蛋白的表达水平。

2.7 大鼠肾组织中TGF-β₁、Smad3、ERK1、ERK2 mRNA表达水平检测

取“2.3”项下各组3只大鼠肾组织适量,根据试剂盒

说明书方法提取总RNA,再反转录为cDNA,以cDNA为模板进行PCR扩增。PCR扩增条件为95℃预变性120 s;95℃变性30 s,60℃退火60 s,40个循环。以β-actin为内参,采用2^{-ΔΔCt}法测定TGF-β₁、Smad3、ERK1、ERK2 mRNA的表达水平。

2.8 大鼠肾组织中TGF-β₁、Smad3、p-Smad3、ERK1/2、p-ERK1/2蛋白表达水平检测

取“2.3”项下各组3只大鼠肾组织适量,加入RIPA裂解液提取总蛋白,经BCA法测定蛋白浓度后,将蛋白进行变性处理;取变性后的蛋白30 μg,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,经转膜、封闭后,加入TGF-β₁、Smad3、p-Smad3、ERK1/2、p-ERK1/2一抗(稀释度均为1:1 500)于4℃条件下孵育过夜;次日加入相应二抗(稀释度为1:10 000)室温孵育2 h,经发光液处理后,采用凝胶成像系统成像,然后采用Image J软件分析蛋白灰度值。以目的蛋白与内参蛋白(β-actin)的灰度值比值反映目的蛋白的表达水平,以p-Smad3与Smad3、p-ERK1/2与ERK1/2的表达水平比值反映Smad3、ERK1/2蛋白的磷酸化水平。

2.9 统计学方法

采用SPSS 26.0软件进行统计分析。所有计量数据均服从正态分布且方差齐性,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用SNK-*q*检验。检验水准α=0.05。

3 结果

3.1 镰形棘豆炮制品对大鼠肾脏外观的影响

空白组大鼠肾脏形态结构完整,色泽鲜红,表面光滑;模型组大鼠肾脏体积较空白组明显增大,颜色苍白,表面粗糙不平,呈颗粒样改变;阳性对照组和镰形棘豆炮制品各剂量组大鼠肾脏病理改变较模型组明显减轻,但肾脏表面仍呈缺血状态。结果见图1。

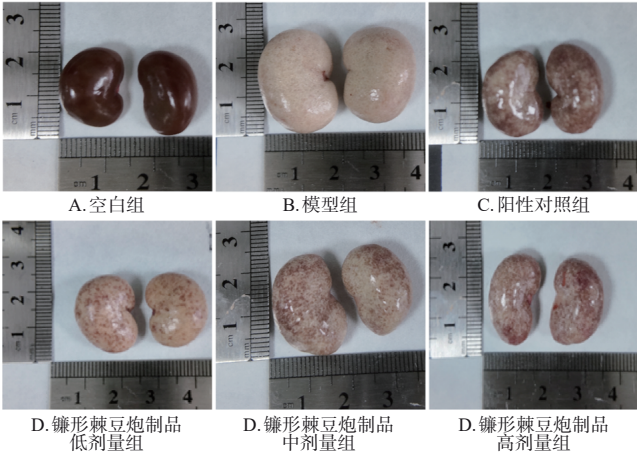
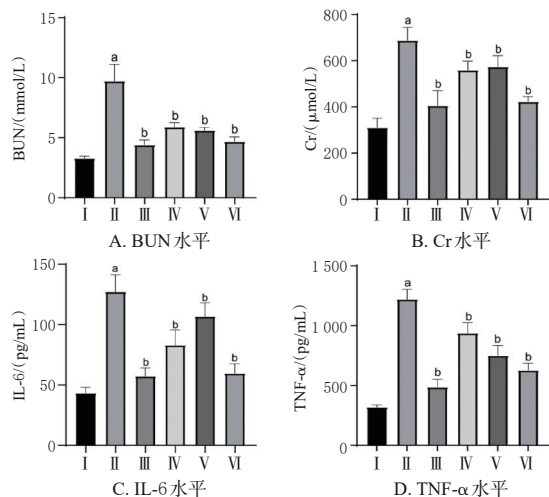


图1 各组大鼠肾脏外观观察图

3.2 镰形棘豆炮制品对大鼠肾功能指标和炎症因子水平的影响

与空白组比较,模型组大鼠血清中BUN、Cr、IL-6、TNF-α水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,阳性

对照组、镰形棘豆炮制品各剂量组大鼠血清中BUN、Cr、IL-6、TNF- α 水平均显著降低($P<0.05$)。结果见图2。

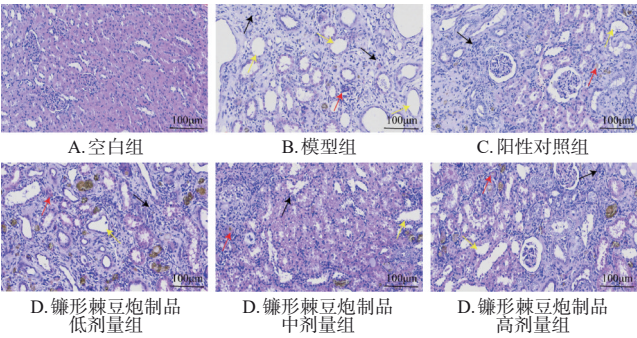


I:空白组;II:模型组;III:阳性对照组;IV:镰形棘豆炮制品低剂量组;V:镰形棘豆炮制品中剂量组;VI:镰形棘豆炮制品高剂量组;a:与空白组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

图2 各组大鼠肾功能指标和炎症因子水平比较($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

3.3 镰形棘豆炮制品对大鼠肾组织病理学形态的影响

HE染色结果显示,空白组大鼠肾组织结构完整,未见炎症细胞浸润,肾小管间质正常;模型组大鼠肾小管可见大量炎症细胞浸润和空泡化细胞,肾小管间质增宽,可见系膜增生;阳性对照组和镰形棘豆炮制品各剂量组大鼠肾组织损伤相较于模型组有所减轻。Masson染色结果显示,空白组大鼠未见明显胶原纤维增生,结构纹理清晰;模型组大鼠胶原纤维增生明显,有面积纤维蛋白沉积,纤维间隔增宽;阳性对照组和镰形棘豆炮制品各剂量组大鼠相较于模型组胶原纤维增生减少,纤维间隔变窄。结果见图3、图4。

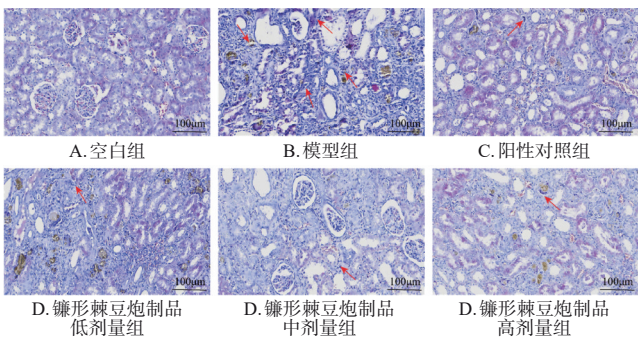


注:黑色箭头所指为炎症细胞;红色箭头所指为肾小球固缩;黄色箭头所指为肾小管结构不完整。

图3 各组大鼠肾组织HE染色显微图

3.4 镰形棘豆炮制品对大鼠肾组织中 α -SMA、Col-I、FN蛋白表达水平的影响

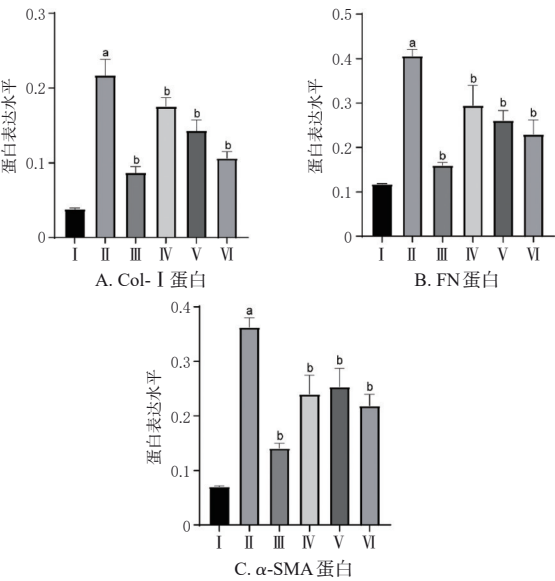
与空白组比较,模型组大鼠肾组织中 α -SMA、Col-I、FN蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,阳性对照组和镰形棘豆炮制品各剂量组大鼠肾组织中上述蛋白表达/磷酸化水平均显著降低($P<0.05$)。结果见图5、图6。



注:红色箭头所指为胶原纤维增生。

图4 各组大鼠肾组织Masson染色显微图

中 α -SMA、Col-I、FN蛋白表达水平均显著降低($P<0.05$)。结果见图5、图6。



I:空白组;II:模型组;III:阳性对照组;IV:镰形棘豆炮制品低剂量组;V:镰形棘豆炮制品中剂量组;VI:镰形棘豆炮制品高剂量组;a:与空白组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

图5 各组大鼠肾组织中 α -SMA、Col-I、FN蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3.5 镰形棘豆炮制品对大鼠肾组织中TGF- β_1 、Smad3、ERK1、ERK2 mRNA表达水平的影响

与空白组比较,模型组大鼠肾组织中TGF- β_1 、Smad3、ERK1、ERK2 mRNA表达水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,阳性对照组和镰形棘豆炮制品各剂量组大鼠肾组织中TGF- β_1 、Smad3、ERK1、ERK2 mRNA表达水平均显著降低($P<0.05$)。结果见图7。

3.6 镰形棘豆炮制品对大鼠肾组织中TGF- β_1 、Smad3、p-Smad3、ERK1/2、p-ERK1/2蛋白表达水平的影响

与空白组比较,模型组大鼠肾组织中TGF- β_1 蛋白表达水平和Smad3、ERK1/2蛋白磷酸化水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,阳性对照组和镰形棘豆炮制品各剂量组大鼠肾组织中上述蛋白表达/磷酸化水平均显著降低($P<0.05$)。结果见图8。

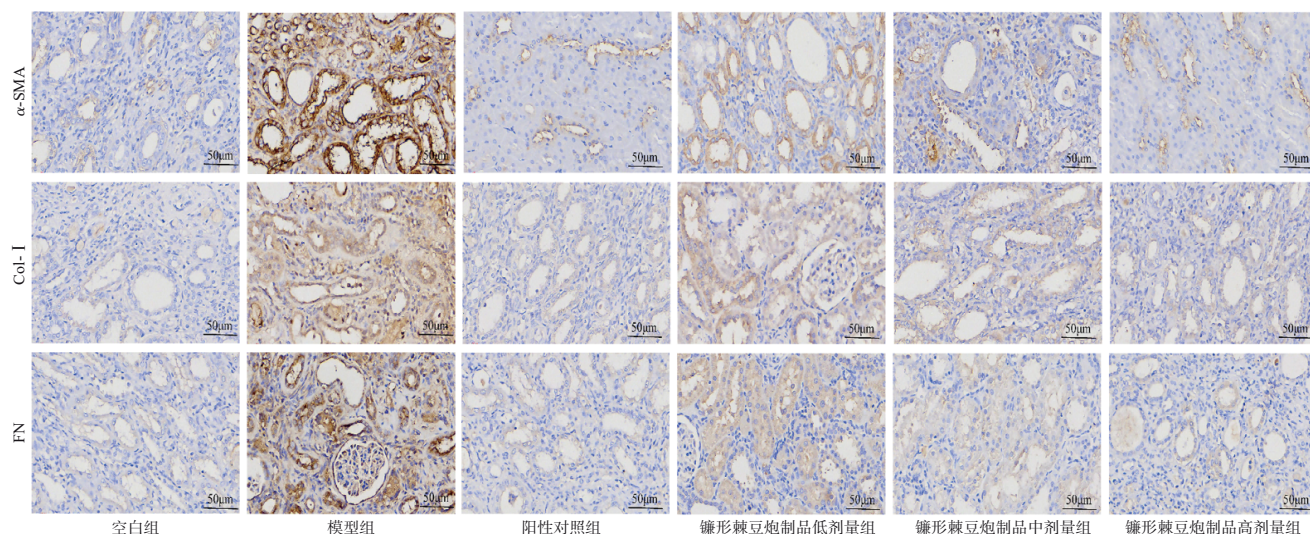
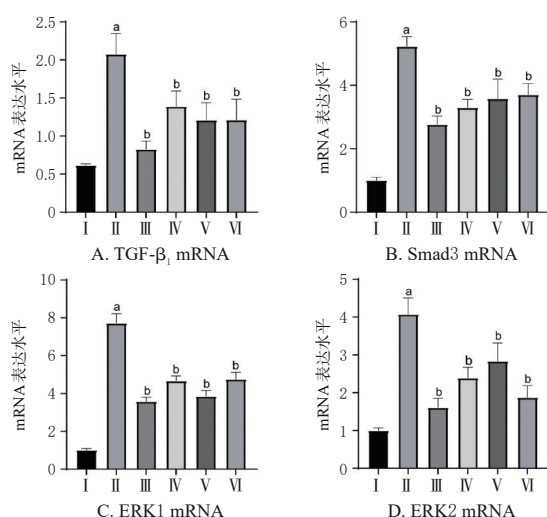


图6 各组大鼠肾组织中 α -SMA、Col-I、FN蛋白表达的免疫组化显微图



I: 空白组; II: 模型组; III: 阳性对照组; IV: 镰形棘豆炮制品低剂量组; V: 镰形棘豆炮制品中剂量组; VI: 镰形棘豆炮制品高剂量组; a: 与空白组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$ 。

图7 各组大鼠肾组织中 TGF- β_1 、Smad3、ERK1、ERK2 mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

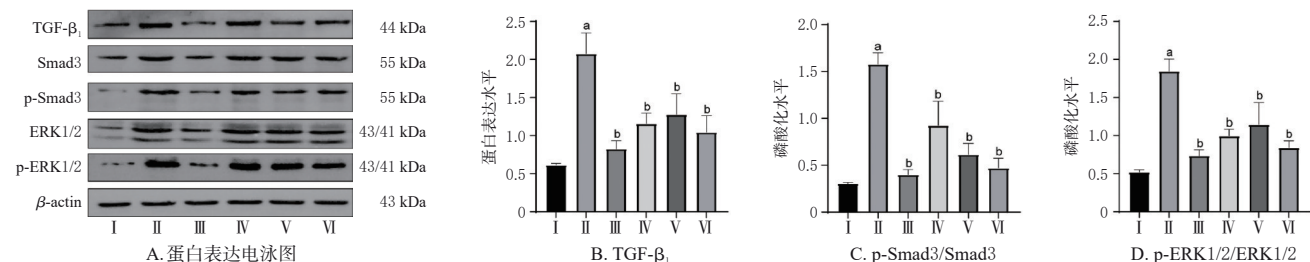
4 讨论

RF 主要发生在 CKD 的发展进程中, 尤其在中晚期 CKD 患者中更为常见, 可进一步加重肾损伤并诱发多系统并发症。有研究显示, 镰形棘豆可改善肾损伤, 抑制炎症反应^[18]。然而, 镰形棘豆属于毒性草本植物, 主要含有生物碱类毒性物质^[19]。马奶由于含有酪蛋白、乳清

蛋白, 可与生物碱形成氢键复合物^[20]。因此, 本研究采用马奶炮制镰形棘豆以降低其毒性。腺嘌呤可阻碍患者体内氮质代谢产物排泄, 促使尿酸过饱和并形成结晶, 继而触发局部炎症反应^[21]; 秋水仙碱可破坏细胞骨架完整性、抑制炎症反应, 从而发挥抗 RF 作用^[22]。因此, 本研究采用腺嘌呤诱导建立 RF 模型, 并以秋水仙碱作为阳性对照药物。本研究结果显示, 镰形棘豆炮制品干预后, RF 大鼠肾脏外观明显改善, 炎症细胞、空泡化细胞以及胶原纤维增生均有所减少, 这表明镰形棘豆炮制品对 RF 具有明显的改善作用。

BUN、Cr 等内源性代谢毒素在患者体内滞留, 可促使炎症因子持续处于高表达状态^[23]; IL-6、TNF- α 均为 RF 进程中关键的促炎因子^[23]; 当肾脏遭受病理性损伤后, 促炎因子可加快 EMT 进程; α -SMA 作为 EMT 的关键标志物, 其高表达提示肾小管上皮细胞向肌成纤维细胞转化, 从而促使 ECM 相关成分(如 Col-I、FN)分泌增多, 大量基质成分在肾脏异常沉积, 进而推动 RF 进展^[24]。本研究结果显示, 镰形棘豆炮制品干预后, RF 大鼠血清中 BUN、Cr、IL-6、TNF- α 水平以及肾组织中 α -SMA、Col-I、FN 蛋白表达水平均显著降低, 提示镰形棘豆炮制品可通过抑制 EMT、减少 ECM 异常沉积, 减轻 RF 病变。

TGF- β_1 结合受体后可激活 Smad 蛋白, 促进纤维化基因表达^[25]。ERK 包括 ERK1 和 ERK2 两个亚型, 可参与细胞的增殖、分化与迁移过程^[26]。ERK1/2 信号通路作



I: 空白组; II: 模型组; III: 阳性对照组; IV: 镰形棘豆炮制品低剂量组; V: 镰形棘豆炮制品中剂量组; VI: 镰形棘豆炮制品高剂量组; a: 与空白组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$ 。

图8 各组大鼠 TGF- β_1 、Smad3、p-Smad3、ERK1/2、p-ERK1/2 蛋白表达电泳图和表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

为关键的纤维化信号放大环节,可显著增强 TGF- β /Smad 信号通路的促纤维化效应,加速 EMT,诱导成纤维细胞异常增殖,最终与 Smad 信号通路形成协同放大效应,共同推动 RF 的发生发展^[13]。研究显示,镰形棘豆总黄酮可通过抑制 TGF- β /Smad 信号通路,下调 Col I/III、纤溶酶原激活物抑制物 1 的表达,从而抑制肾小管上皮细胞纤维化^[27]。本研究结果显示,镰形棘豆炮制品干预后,大鼠肾组织中 TGF- β 、Smad3、ERK1、ERK2 mRNA 表达水平以及 TGF- β 蛋白表达水平和 Smad3、ERK1/2 蛋白磷酸化水平均显著降低,这表明镰形棘豆炮制品可通过抑制 TGF- β /Smad 信号通路活性,改善大鼠 RF。

综上所述,镰形棘豆炮制品可改善 RF 大鼠肾功能,减轻炎症反应和胶原纤维异常沉积,其作用机制可能与抑制 TGF- β /Smad 信号通路活性有关。本研究采用腺嘌呤诱导的单一动物模型,可能存在一定的局限性;后续研究可拓展至细胞水平,结合代谢组学、蛋白质组学等多组学技术,深入挖掘镰形棘豆炮制品的作用靶点与通路,从而为临床治疗 RF 提供实验依据。

参考文献

- [1] 张婧璐,金丽霞,张晓东,等.中医药调控 SIRT 蛋白酶家族防治肾纤维化研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2025,31(15):306-314.
- [2] JADOUL M, AOUN M, MASIMANGO IMANI M. The major global burden of chronic kidney disease[J]. Lancet Glob Health, 2024, 12(3):e342-e343.
- [3] NICULAE A, GHERGHINA M E, PERIDE I, et al. Pathway from acute kidney injury to chronic kidney disease: molecules involved in renal fibrosis[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(18):14019.
- [4] HUANG R S, FU P, MA L. Kidney fibrosis: from mechanisms to therapeutic medicines[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8:129.
- [5] 张蕾,张旭,巨福星,等.三种藏药材的鉴定研究[J].中兽医医药杂志,2017,36(2):55-56.
- [6] 才让草,李魁,杨红岩,等.藏药莪达夏的研究进展[J].中国药事,2018,32(8):1069-1072.
- [7] 高博,魏瑞贤,杨丽霞,等.镰形棘豆总黄酮对糖尿病 KK 小鼠肾小管上皮细胞转分化的影响[J].辽宁中医杂志,2022,49(3):206-210,227-228.
- [8] 程涛,杨丽霞,李钦,等.镰形棘豆总黄酮含药血清对 TGF- β 诱导的人肾小管上皮细胞 VEGF mRNA 表达的影响[J].西部中医药,2017,30(1):4-6.
- [9] 张晓晶,刘伟霞,魏鹏,等.藏药镰形棘豆毒性及化学成分相关性分析[J].中国中药杂志,2014,39(7):1157-1162.
- [10] 张明昊,赵绅,杜婧雯,等.灯盏花素通过调控 TGF- β 介导的 Smad 和 ERK 通路干预肾纤维化大鼠的作用机制研究[J].中药新药与临床药理,2022,33(10):1347-1356.
- [11] 王季阳,何凤霞,程圣禹,等. TGF- β 信号通路和巨噬细胞极化在肾纤维化中的调控机制及其相互作用关系[J].中国医药导报,2024,21(22):56-58,101.
- [12] GRYNBERG K, MA F Y, NIKOLIC-PATERSON D J. The JNK signaling pathway in renal fibrosis[J]. Front Physiol, 2017, 8:829.
- [13] LI J, HU G Y, LIU W X, et al. Patchouli alcohol against renal fibrosis of spontaneously hypertensive rats via Ras/Raf-1/ERK1/2 signaling pathway[J]. J Pharm Pharmacol, 2023, 75(7):995-1010.
- [14] TANG C R, LUO S G, LIN X, et al. Silenced miR-21 inhibits renal interstitial fibrosis via targeting ERK1/2 signaling pathway in mice[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(Suppl.3):110-116.
- [15] 马芳兄,马新换,徐志伟,等.基于改进组合赋权-逼近理想解排序(TOPSIS)法优化藏药莪达夏的炮制工艺[J].中药材,2024,47(7):1678-1682.
- [16] 刘洋,张瑞红,只素娟,等.肾纤维化手术动物模型构建及相关机制研究进展[J].解剖学杂志,2022(2):157-160.
- [17] 黄继汉,黄晓晖,陈志扬,等.药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J].中国临床药理学与治疗学,2004,9(9):1069-1072.
- [18] 李钦,杨丽霞,程卫东,等.镰形棘豆提取物对人肾小管上皮细胞转分化的影响[J].中药药理与临床,2015,31(6):90-94.
- [19] 李荣焜,马新换,谢兴文,等.莪达夏的化学成分及药理毒理机制的研究进展[J].华西药理学杂志,2025,40(1):110-116.
- [20] MUSAIEV A, SADYKOVA S, ANAMBAYEVA A, et al. Mare's milk: composition, properties, and application in medicine[J]. Arch Razi Inst, 2021, 76(4):1125-1135.
- [21] CHANG X Y, CUI L, WANG X Z, et al. Quercetin attenuates vascular calcification through suppressed oxidative stress in adenine-induced chronic renal failure rats[J]. Biomed Res Int, 2017, 2017:5716204.
- [22] 黄文彦,陈荣华,郭梅,等.微管解聚剂秋水仙碱抗肾间质纤维化的研究[J].南京医科大学学报(自然科学版),2002,22(4):337-338.
- [23] SU H, LEI C T, ZHANG C. Interleukin-6 signaling pathway and its role in kidney disease: an update[J]. Front Immunol, 2017, 8:405.
- [24] HA S, CHUNG K W, LEE J, et al. Renal tubular PAR2 promotes interstitial fibrosis by increasing inflammatory responses and EMT process[J]. Arch Pharmacol Res, 2022, 45(3):159-173.
- [25] FINTHA A, GASPARICS Á, ROSIVALL L, et al. Therapeutic targeting of fibrotic epithelial-mesenchymal transition-an outstanding challenge[J]. Front Pharmacol, 2019, 10:388.
- [26] SUN Y, LIU W Z, LIU T, et al. Signaling pathway of MAPK/ERK in cell proliferation, differentiation, migration, senescence and apoptosis[J]. J Recept Signal Transduct Res, 2015, 35(6):600-604.
- [27] 李钦,李晓东,姜华,等.镰形棘豆总黄酮对 TGF- β 诱导的人肾小管上皮细胞纤维化因子的影响[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(11):220-223.

(收稿日期:2025-12-17 修回日期:2026-04-20)

(编辑:唐晓莲)