松果菊苷对尿毒症大鼠肾损伤的影响及机制Δ

熊　玮*，彭　斌，高　智（武汉市中医医院肾病科，武汉　430014）

中图分类号　R965；R285　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）02-0198-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.02.13

摘　要　目的　研究松果菊苷（ECH）对尿毒症（URE）大鼠肾损伤的影响及机制。**方法**　采用5/6肾切除法建立URE大鼠模型。建模成功的大鼠分为尿毒症（URE）组、ECH低剂量[10 mg/（kg·d）]组、ECH中剂量组[20 mg/（kg·d）]、ECH高剂量组[40 mg/（kg·d）]和ECH高剂量+茴香霉素[p38丝裂原活化蛋白激酶（p38 MAPK）信号通路激活剂]组[ECH-H+Ani组，40 mg/（kg·d）ECH+2 mg/（kg·d）茴香霉素]，另设假手术组，每组12只。各药物组灌胃相应的ECH，ECH-H+Ani组再尾静脉注射茴香霉素，每天1次，连续给药8周。检测大鼠血清中肿瘤细胞因子α（TNF-α）、白细胞介素1β（IL-1β）、IL-6、血尿素氮（BUN）、β2-微球蛋白（β2-MG）、血肌酐（Scr）、中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白（NGAL）、肾损伤分子1（KIM-1）、胱抑素C（Cys-C）水平，24 h尿蛋白（24 h UP）和肾组织中丙二醛（MDA）水平、超氧化物歧化酶（SOD）活性；观察肾组织病理学变化；检测大鼠肾组织中α-平滑肌肌动蛋白（α-SMA）、E-上皮钙黏素（E-cadherin）阳性表达率和p38 MAPK、核因子κB（NF-κB）p65的磷酸化水平。**结果**　与URE组相比，ECH各剂量组大鼠肾小球肿胀及上皮细胞损伤坏死明显减轻，炎症细胞浸润明显减少；肾损伤评分和TNF-α、IL-1β、IL-6、BUN、Scr、β2-MG、24 h UP、NGAL、KIM-1、Cys-C、MDA水平及α-SMA阳性表达率、p38 MAPK和NF-κB p65的磷酸化水平均呈剂量依赖性降低而SOD活性和E-cadherin阳性表达率均呈剂量依赖性升高（$P<0.05$）。茴香霉素可显著逆转高剂量ECH对URE大鼠肾损伤及相关指标的改善作用（$P<0.05$）。**结论**　ECH可能通过抑制p38 MAPK/NF-κB信号通路激活来抑制URE大鼠的炎症反应和氧化应激反应，增强肾功能，改善肾损伤。

关键词　松果菊苷；尿毒症；肾损伤；p38丝裂原活化蛋白激酶/核因子κB信号通路

Effects of echinacoside on renal injury in uremia rats and its mechanism

XIONG Wei, PENG Bin, GAO Zhi (Dept. of Nephrology, Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430014, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the effects of echinacoside (ECH) on renal injury in uremia (URE) rats and its mechanism. **METHODS** URE model of the rat was established by 5/6 nephrectomy. Successfully modeled rats were grouped into uremia group (URE group), ECH low-dose [10 mg/(kg·d)] group, ECH medium-dose [20 mg/(kg·d)] group, ECH high-dose [40 mg/(kg·d)] group, ECH high-dose+anisomycin [p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK) pathway activator] group [ECH-H+Ani group, 40 mg/(kg·d) ECH +2 mg/(kg·d) anisomycin], with a sham operation group, 12 mice in each group. Each drug group was given corresponding ECH intragastrically, while ECH-H+Ani group was further injected with anisomycin via the tail vein, once a day, for 8 consecutive weeks. The serum levels of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β), IL-6, blood urea nitrogen (BUN), β2-microglobulin (β2-MG), serum creatinine (Scr), neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), kidney injury molecule-1 (KIM-1), cystatin C (Cys-C) and 24 h urine protein (24 h UP) as well as the levels of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) activity in renal tissue were all detected; pathological changes of renal tissue were observed; the rate of positive expression of α-smooth muscle protein (α-SMA) and E-cadherin, and the phosphorylation of p38 MAPK and nuclear factor-κB (NF-κB) p65 were determined in renal tissue of rats. **RESULTS** Compared with URE group, glomerular swelling, damage and necrosis of renal tubular epithelial cells and inflammatory cell infiltration were relieved significantly in ECH groups. The renal injury score, levels of TNF-α, IL-1β, IL-6, BUN, Scr, β2-MG, 24 h UP, NGAL, KIM-1, Cys-C and MDA, the positive expression rate of α-SMA in renal tissue, the phosphorylation of p38 MAPK and NF-κB p65 were decreased in dose-dependent manner, while SOD activity and the positive expression rate of E-cadherin were obviously increased in dose-dependent manner ($P<0.05$). Anisomycin significantly attenuated the improvement effect of high-dose ECH on renal injury in URE rats ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** ECH may inhibit inflammation and oxidative stress, enhance renal function, and improve renal injury in uremic rats by inhibiting the activation of p38 MAPK/NF-κB signaling pathway.

KEYWORDS　echinacoside; uremia; renal injury; p38 mitogen-activated protein kinase/nuclear factor-κB signaling pathway

Δ**基金项目**　武汉市医学科研项目（No.WZ20C16）

＊**第一作者**　主治医师，硕士。研究方向：中西医结合治疗肾脏病。E-mail：xw1980x@163.com

尿毒症（uremia，URE）是慢性肾脏病的终末阶段，也是急性肾损伤发展的最后状态。急性肾损伤若不及时有效地治疗，随着疾病的进展会出现恶化或延迟，进而发展为慢性肾功能不全、肾功能衰竭，最终发展为URE。

管花肉苁蓉是一种具有肝、肾、肠保护作用的植物，松果菊苷（echinacoside，ECH）是其主要活性成分，具有抗氧化、抗炎、抗神经毒素、抗细胞凋亡和保护神经等多种生物学效应[1]。目前ECH在临床上的应用尚未见报道，但有研究显示ECH可通过降低URE大鼠血清中白细胞介素1β（interleukin-1β，IL-1β）和IL-18的含量，改善其肾功能[2]；ECH可修复免疫系统动态平衡、抑制炎症反应、保护肾功能，改善脓毒症大鼠急性肾损伤[3]。ECH还能够通过抑制核因子κB（nuclear factor-κB，NF-κB）信号通路来抑制下游炎症因子的产生，减轻炎症反应[4]。p38丝裂原活化蛋白激酶（p38 mitogen-activated protein kinase，p38 MAPK）是NF-κB上游的信号通路，抑制p38 MAPK/NF-κB信号通路的激活能减轻5/6肾切除大鼠炎症反应和肾损伤[5]。基于此，本文研究了ECH对URE大鼠肾损伤和p38 MAPK/NF-κB信号通路的影响，初步探讨其作用机制，旨在为URE的治疗提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括JIDI-20D型台式多用途高速离心机（广州吉迪仪器有限公司）、HBS-1096A型酶标仪（南京德铁实验设备有限公司）、BX53M型光学显微镜[仪景通光学科技（上海）有限公司]、LSM 900型共聚焦显微镜（北京普瑞赛司仪器有限公司）、Mini-PROTEAN Tetra Cell型电泳仪[迪图（上海）生物科技有限公司]、Tanon MINI Space系列多功能凝胶图像分析系统（上海天能生命科学有限公司）。

1.2 主要药品与试剂

ECH（货号HY-N0020，纯度99.65%）和茴香霉素（p38 MAPK信号通路激活剂，货号HY-18982，纯度99.44%）均购自美国MCE公司；肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、IL-1β、IL-6酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒（货号分别为J22405、J22380、J22434）均购自武汉吉立德生物科技有限公司；血尿素氮（blood urea nitrogen，BUN）、β2-微球蛋白（β2-microglobulin，β2-MG）、血肌酐（serum creatinine，Scr）、24 h尿蛋白（24 h urine protein，24 h UP）、中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白（neutrophil gelatinase-associated lipocalin，NGAL）、肾损伤分子1（kidney injury molecule-1，KIM-1）、胱抑素C（cystatin C，Cys-C）ELISA试剂盒（货号分别为CB10659-Ra、CB10155-Ra、CB12464-Ra、CB10651-Ra、CB10849-Mu、CB10747-Ra、CB10229-Ra）均购自上海科艾博生物技术有限公司；丙二醛（malondialdehyde，MDA）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）ELISA试剂盒（货号分别为ml077384、ml059387）均购自上海酶联生物科技有限公司；兔抗p38 MAPK单克隆抗体和兔抗磷酸化p38 MAPK（p-p38 MAPK）多克隆抗体（货号分别为AF7668、AF5887）均购自上海碧云天生物技术有限公司；小鼠抗E-上皮钙黏素（E-cadherin）单克隆抗体、兔抗α-平滑肌肌动蛋白（α-smooth muscle protein，α-SMA）单克隆抗体、兔抗NF-κB p65多克隆抗体、兔抗磷酸化NF-κB p65（p-NF-κB p65）单克隆抗体、兔抗β-actin多克隆抗体和山羊抗兔IgG二抗（货号分别为ab231303、ab124964、ab19870、ab76302、ab8227、ab6721）均购自英国Abcam公司。

1.3 动物

SPF级SD大鼠，雄性，体重200～220 g，购自湖北贝恩特生物科技有限公司，实验动物生产许可证号SCXK（鄂）2021-0027。本研究方案符合实验动物伦理学要求，经武汉华联科生物技术有限公司伦理委员会审核批准，批件号HLK-202304-03。

2 方法

2.1 URE大鼠模型建立

大鼠在适宜的温度和湿度环境下，自由饮食饮水，适应性喂养7 d。根据参考文献方法[6]，利用5/6肾切除法建立URE大鼠模型：用3%戊巴比妥钠麻醉大鼠，背部剃毛消毒，左侧背部处切口，暴露肾脏，分离肾组织，解剖肾包膜，切除肾脏上、下极部位约2/3的左肾，止血复位缝合伤口；1周后，再次打开切口完全切除右肾。以仅切开大鼠左侧背部，暴露肾脏，但不摘除肾脏的大鼠作为假手术组（Sham组）。术后8周，检测Sham组和URE大鼠血清中BUN和Scr水平，如果URE大鼠血清中BUN、Scr水平为Sham组的2～3倍，则表示URE大鼠模型建立成功。

2.2 分组与给药

将建模成功的URE大鼠分为尿毒症（URE）组、ECH低剂量（ECH-L）组、ECH中剂量（ECH-M）组、ECH高剂量（ECH-H）组和ECH高剂量+茴香霉素（ECH-H+Ani）组，每组12只。ECH-L、ECH-M、ECH-H组大鼠分别灌胃10、20、40 mg/（kg·d）ECH[2]；ECH-H+Ani组大鼠灌胃40 mg/（kg·d）ECH，尾静脉注射2 mg/（kg·d）茴香霉素[7]；Sham组和URE组大鼠灌胃等体积生理盐水，每天1次，连续给药8周。

2.3 炎症、肾功能及肾损伤相关指标检测

各组大鼠末次给药2 h后，麻醉，眼眶静脉采血，以3 000 r/min离心10 min，取上清液，严格按照ELISA试剂盒说明书操作，检测血清中TNF-α、IL-1β、IL-6、BUN、β2-MG、Scr、NGAL、KIM-1和Cys-C水平。使用代谢笼收集各组大鼠24 h的尿液标本，离心，取上清液，严格按照ELISA试剂盒说明书操作，检测其中24 h UP水平。

2.4 脂质过氧化和抗氧化活性指标检测

眼眶静脉采血后，各组随机取6只大鼠断头处死，分离左肾组织，取部分肾组织进行匀浆，严格按照ELISA试剂盒说明书操作，检测肾组织中MDA水平和SOD活性。

2.5 肾组织病理学观察

将各组剩余的6只大鼠断头处死，分离肾组织，用4%多聚甲醛固定，将组织包埋于石蜡中，切片，干燥，脱蜡并用乙醇水合，苏木精-伊红（HE）染色5 min，使用光学显微镜观察大鼠的肾组织病理学变化。根据肾小管坏死、细胞肿胀、空泡化和肾小管上皮细胞脱落的病变部位面积占比，采用半定量组织学评分法进行评分：0分，＜10%；1分，10%～25%；2分，＞25%～50%；3分，＞50%～75%；4分，＞75%～100%[8]。

2.6 肾组织中α-SMA、E-cadherin阳性表达检测

取“2.5”项下肾组织切片，脱蜡、脱水，分别加入α-SMA和E-cadherin抗体（稀释比例均为1∶1 000），4 ℃孵育过夜；再加入相应二抗，室温孵育；用4′，6-二脒基-2-苯基吲哚（4′，6-diamidino-2-phenylindole，DAPI）复染细胞核，使用共聚焦显微镜观察α-SMA、E-cadherin阳性表达情况，并计算阳性表达率：阳性表达率＝阳性细胞数/全部细胞数×100%。

2.7 肾组织中p38 MAPK/NF-κB信号通路相关蛋白表达检测

取各组大鼠肾组织，提取总蛋白，检测蛋白浓度，电泳、分离后，将蛋白质转移到聚偏二氟乙烯膜上，并用5%脱脂奶粉封闭1 h；加入p38 MAPK、p-p38 MAPK、NF-κB p65、p-NF-κB p65、β-actin抗体（稀释比例分别为1∶1 000、1∶1 000、1∶500、1∶500、1∶1 000），4 ℃孵育过夜；加入山羊抗兔IgG二抗（稀释比例为1∶5 000），室温孵育1 h；ECL显影，使用Image J软件分析，以目标蛋白与内参蛋白（β-actin）灰度值比值表示蛋白表达水平，再以p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-NF-κB p65/NF-κB p65比值表示p38 MAPK、NF-κB p65的磷酸化水平。

2.8 统计学分析

采用SPSS 19.0软件对数据进行统计学分析，符合正态分布的资料以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用LSD-t检验；不符合正态分布时，组间比较采用Mann-whitney U秩和检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 ECH对URE大鼠血清中炎症因子水平的影响

与Sham组相比，URE组大鼠血清中TNF-α、IL-1β和IL-6水平均显著升高（$P<0.05$）；与URE组相比，ECH-L、ECH-M、ECH-H组大鼠血清中TNF-α、IL-1β和IL-6水平均呈剂量依赖性降低（$P<0.05$）；与ECH-H组相比，ECH-H+Ani组大鼠血清中TNF-α、IL-1β和IL-6水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见表1。

表1 ECH对URE大鼠血清中炎症因子水平的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=12$，pg/mL）

组别	TNF-α	IL-1β	IL-6
Sham组	14.85±1.32	66.43±5.13	32.61±1.05
URE组	42.62±4.06[a]	161.20±13.86[a]	58.42±3.47[a]
ECH-L组	36.04±2.17[b]	134.57±11.23[b]	51.66±2.55[b]
ECH-M组	27.42±1.86[bc]	108.69±9.11[bc]	46.32±2.12[bc]
ECH-H组	19.23±2.01[bcd]	75.92±5.28[bcd]	37.86±1.74[bcd]
ECH-H+Ani组	24.01±1.31[e]	89.41±4.92[e]	42.15±1.87[e]
F	242.772	198.635	205.987
P	<0.001	<0.001	<0.001

a：与Sham组相比，$P<0.05$；b：与URE组相比，$P<0.05$；c：与ECH-L组相比，$P<0.05$；d：与ECH-M组相比，$P<0.05$；e：与ECH-H组相比，$P<0.05$。

3.2 ECH对URE大鼠肾功能及肾损伤相关指标的影响

与Sham组相比，URE组大鼠的BUN、Scr、β2-MG、24 h UP、NGAL、KIM-1和Cys-C水平均显著升高（$P<0.05$）；与URE组相比，ECH-L、ECH-M、ECH-H组大鼠的BUN、Scr、β2-MG、24 h UP、NGAL、KIM-1和Cys-C水平均呈剂量依赖性降低（$P<0.05$）；与ECH-H组相比，ECH-H+Ani组大鼠的BUN、Scr、β2-MG、24 h UP、NGAL、KIM-1和Cys-C水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见表2。

3.3 ECH对URE大鼠脂质过氧化和抗氧化活性指标的影响

与Sham组相比，URE组大鼠的MDA水平显著升高，SOD活性显著降低（$P<0.05$）；与URE组相比，ECH-L、

表2 ECH对URE大鼠肾功能指标的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

组别	肾功能指标				肾损伤指标		
	BUN/（mmol/L）	Scr/（μmol/L）	β2-MG/（ng/mL）	24 h UP/mg	NGAL/（ng/mL）	KIM-1/（ng/L）	Cys-C/（mg/L）
Sham组	16.34±1.88	41.24±2.13	12.54±1.03	30.18±2.66	3.18±0.12	24.36±2.04	0.36±0.01
URE组	38.72±2.76[a]	82.03±7.62[a]	26.48±1.94[a]	62.01±6.07[a]	8.25±1.03[a]	84.51±6.97[a]	1.17±0.21[a]
ECH-L组	34.25±2.34[b]	65.51±4.32[b]	23.12±1.83[b]	56.32±3.89[b]	7.13±0.69[b]	71.62±6.01[b]	0.94±0.08[b]
ECH-M组	28.94±2.02[bc]	54.06±3.27[bc]	19.53±1.47[bc]	49.58±4.01[bc]	5.87±0.35[bc]	58.19±4.32[bc]	0.75±0.06[bc]
ECH-H组	20.38±1.37[bcd]	46.17±2.09[bcd]	14.17±1.28[bcd]	38.63±2.74[bcd]	3.65±0.20[bcd]	36.88±2.12[bcd]	0.41±0.03[bcd]
ECH-H+Ani组	25.42±1.82[e]	51.78±2.94[e]	17.62±1.30[e]	45.88±2.15[e]	4.43±0.17[e]	45.17±3.45[e]	0.55±0.02[e]
F	196.250	150.935	147.683	111.055	167.450	291.283	130.543
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

a：与Sham组相比，$P<0.05$；b：与URE组相比，$P<0.05$；c：与ECH-L组相比，$P<0.05$；d：与ECH-M组相比，$P<0.05$；e：与ECH-H组相比，$P<0.05$。

ECH-M、ECH-H组大鼠的MDA水平均呈剂量依赖性降低，SOD活性均呈剂量依赖性升高（$P<0.05$）；与ECH-H组相比，ECH-H+Ani组MDA水平显著升高，SOD活性显著降低（$P<0.05$）。结果见表3。

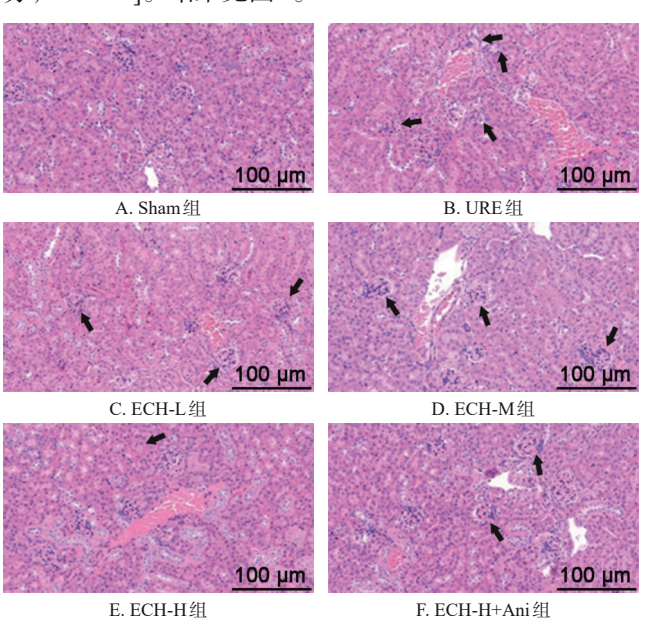
表3　ECH对URE大鼠脂质过氧化和抗氧化活性指标的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	MDA/（nmol/mg）	SOD/（U/mg）
Sham组	3.67±0.18	405.08±11.53
URE组	9.34±0.87[a]	262.54±4.32[a]
ECH-L组	7.65±0.52[b]	293.17±11.06[b]
ECH-M组	6.49±0.47[bc]	332.85±8.17[bc]
ECH-H组	4.03±0.20[bcd]	376.24±9.54[bcd]
ECH-H+Ani组	5.34±0.23[e]	341.10±5.09[e]
F	124.859	214.835
P	<0.001	<0.001

a：与Sham组相比，$P<0.05$；b：与URE组相比，$P<0.05$；c：与ECH-L组相比，$P<0.05$；d：与ECH-M组相比，$P<0.05$；e：与ECH-H组相比，$P<0.05$。

3.4　ECH对URE大鼠肾组织病理学变化及肾损伤评分的影响

与Sham组相比，URE组大鼠肾组织结构严重破坏，肾小球肿胀严重，基质增多，系膜增厚，肾小管上皮细胞出现大量损伤坏死，并伴有严重的间质炎症，肾损伤评分显著升高[（3.21±0.55）分vs. Sham组（0.00±0.00）分，$P<0.05$]；与URE组相比，ECH-L、ECH-M、ECH-H组大鼠肾小球肿胀及上皮细胞损伤坏死明显减轻，炎症细胞浸润明显减少，肾损伤评分呈剂量依赖性降低[（2.77±0.65）分、（2.35±0.49）分、（1.74±0.46）分vs. URE组（3.21±0.55）分，$P<0.05$]；与ECH-H组相比，ECH-H+Ani组大鼠肾小球和肾间质组织学病变加重，肾损伤评分显著升高[（2.13±0.32）分vs. ECH-H组（1.74±0.46）分，$P<0.05$]。结果见图1。



➡：肾小球肿胀、炎症细胞浸润。

图1　各组大鼠肾组织病理学变化显微图（HE染色）

3.5　ECH对URE大鼠肾组织中α-SMA和E-cadherin阳性表达的影响

与Sham组相比，URE组大鼠肾组织中α-SMA阳性表达率显著升高，E-cadherin阳性表达率显著降低（$P<0.05$）；与URE组相比，ECH-L、ECH-M、ECH-H组大鼠肾组织中α-SMA阳性表达率均呈剂量依赖性降低，E-cadherin阳性表达率均呈剂量依赖性升高（$P<0.05$）；与ECH-H组相比，ECH-H+Ani组大鼠肾组织中α-SMA阳性表达率显著升高，E-cadherin阳性表达率显著降低（$P<0.05$）。结果见图2、图3和表4。

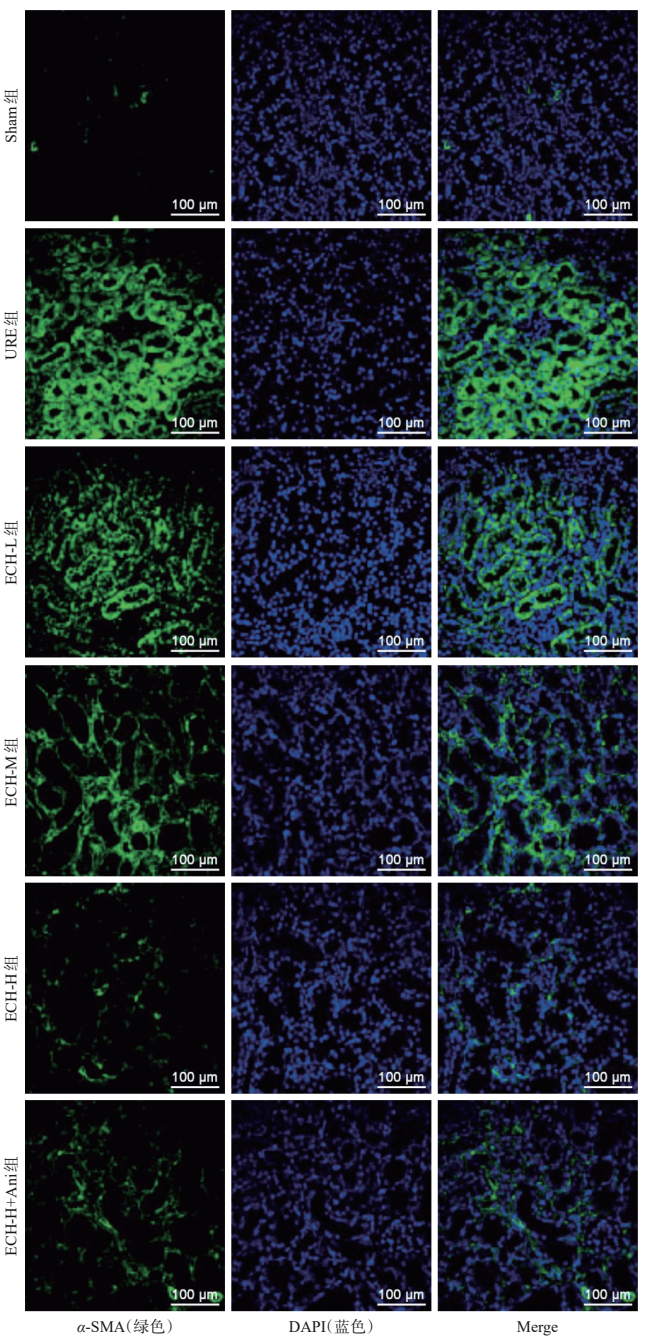


图2　各组大鼠肾组织中α-SMA阳性表达显微图

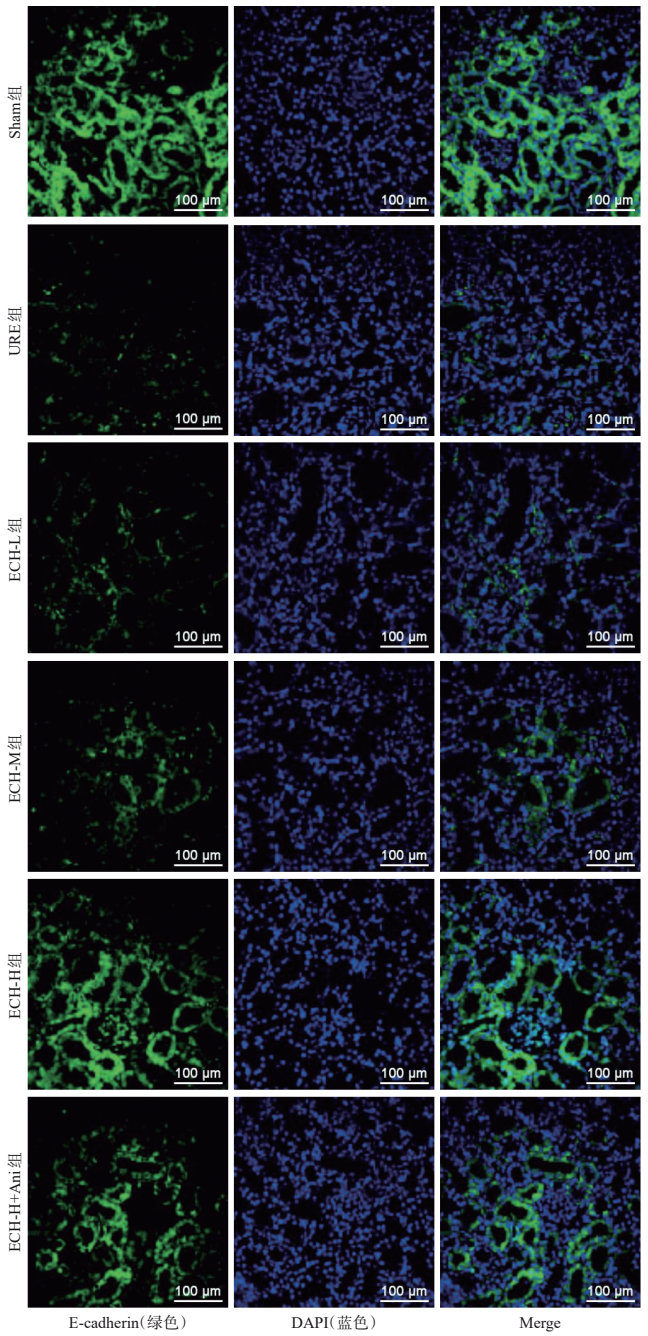


图3　各组大鼠肾组织中E-cadherin阳性表达显微图

表4　ECH对URE大鼠肾组织中α-SMA和E-cadherin阳性表达率的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=6$，%）

组别	α-SMA阳性表达率	E-cadherin阳性表达率
Sham组	10.35±1.03	56.76±3.81
URE组	66.10±5.17[a]	16.25±1.94[a]
ECH-L组	54.67±3.89[b]	24.81±1.85[b]
ECH-M组	43.13±3.13[bc]	35.62±2.74[bc]
ECH-H组	21.47±1.69[bcd]	48.33±2.88[bcd]
ECH-H+Ani组	27.82±1.12[e]	41.09±3.01[e]
F	282.771	172.638
P	<0.001	<0.001

a：与Sham组相比，$P<0.05$；b：与URE组相比，$P<0.05$；c：与ECH-L组相比，$P<0.05$；d：与ECH-M组相比，$P<0.05$；e：与ECH-H组相比，$P<0.05$。

3.6　ECH对URE大鼠肾组织中p38 MAPK/NF-κB信号通路相关蛋白表达的影响

与Sham组相比，URE组大鼠肾组织中p-p38 MAPK/p38 MAPK和p-NF-κB p65/NF-κB p65均显著升高（$P<0.05$）；与URE组相比，ECH-L、ECH-M、ECH-H组大鼠肾组织中p-p38 MAPK/p38 MAPK和p-NF-κB p65/NF-κB p65均呈剂量依赖性降低（$P<0.05$）；与ECH-H组相比，ECH-H+Ani组大鼠肾组织中p-p38 MAPK/p38 MAPK和p-NF-κB p65/NF-κB p65均显著升高（$P<0.05$）。结果见图4和表5。

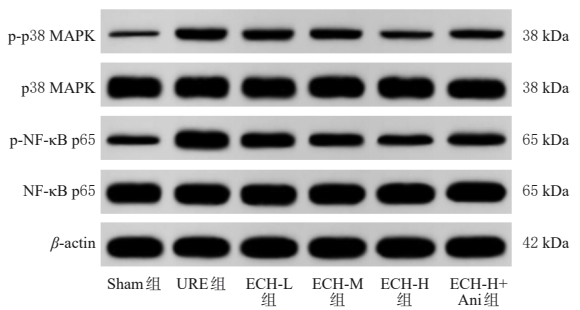


图4　各组大鼠肾组织中p38 MAPK/NF-κB信号通路相关蛋白表达的电泳图

表5　ECH对URE大鼠肾组织中p38 MAPK/NF-κB信号通路相关蛋白表达的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	p-p38 MAPK/p38 MAPK	p-NF-κB p65/NF-κB p65
Sham组	0.13±0.02	0.27±0.01
URE组	0.58±0.06[a]	0.91±0.06[a]
ECH-L组	0.47±0.02[b]	0.73±0.04[b]
ECH-M组	0.32±0.01[bc]	0.58±0.05[bc]
ECH-H组	0.18±0.01[bcd]	0.36±0.02[bcd]
ECH-H+Ani组	0.25±0.03[e]	0.44±0.03[e]
F	197.258	238.259
P	<0.001	<0.001

a：与Sham组相比，$P<0.05$；b：与URE组相比，$P<0.05$；c：与ECH-L组相比，$P<0.05$；d：与ECH-M组相比，$P<0.05$；e：与ECH-H组相比，$P<0.05$。

4　讨论

URE是一种与肾功能恶化相关的临床疾病，严重影响患者的生存质量。炎症和氧化应激反应可能是触发5/6肾切除大鼠肾损伤的关键原因[5]。α-SMA增加及E-cadherin减少会促进上皮间质转化，从而导致肾纤维化[9]。本研究结果显示，ECH干预后，URE大鼠肾小球和肾间质组织学病变减轻，肾损伤评分及TNF-α、IL-1β、IL-6、MDA水平和α-SMA阳性表达率均显著降低，SOD活性和E-cadherin阳性表达率均显著升高，且呈剂量依赖性。这表明ECH能抑制URE大鼠肾组织炎症和氧化应激反应，避免肾纤维化，改善肾组织病变。

肾功能异常时，肾小球滤过作用降低，尿液中会出现大量的蛋白质，故以UP水平作为检测肾功能的重要指标之一。BUN和Scr常用于评估肾损伤疾病中的肾功能[10]。β2-MG由淋巴细胞产生，是反映肾损伤时肾小球滤过率和近端小管重吸收功能的指标[11]。NGAL、

KIM-1和Cys-C是检测肾损伤的生物标志物[12]。本研究结果显示，ECH干预后，URE大鼠血清中BUN、Scr、β2-MG、24 h UP、NGAL、KIM-1和Cys-C水平均显著降低，且呈剂量依赖性。这表明ECH能抑制肾损伤标志物分泌，增强肾功能，改善URE大鼠肾损伤。

有研究表明，URE患者治疗后NF-κB水平下降，炎症状态减轻[13]。URE可通过NF-κB信号通路过度激活来诱发心肌损伤，而抑制该信号通路过度激活，能缓解炎症反应，保护心肌细胞，预防URE心肌病[14]。本研究结果显示，ECH干预后，URE大鼠肾组织中p38 MAPK和NF-κB p65的磷酸化水平均显著下调，且呈剂量依赖性。而在ECH处理的基础上给予p38 MAPK激活剂茴香霉素后，与高剂量ECH组相比，URE大鼠肾组织中p38 MAPK和NF-κB p65的磷酸化水平均显著升高，血清中TNF-α、IL-1β、IL-6、BUN、Scr、β2-MG、24 h UP、NGAL、KIM-1、Cys-C和肾组织中MDA水平、α-SMA阳性表达率均显著升高，肾组织中SOD活性和E-cadherin阳性表达率均显著降低，可见茴香霉素逆转了高剂量ECH对URE大鼠肾损伤的改善作用。这表明ECH能抑制p38 MAPK/NF-κB信号通路的表达和激活，抑制肾脏炎症反应和氧化应激反应，保护肾功能，减轻URE大鼠肾损伤程度。

综上所述，ECH可能通过抑制p38 MAPK/NF-κB信号通路的激活来抑制URE大鼠的炎症反应和氧化应激反应，增强肾功能，改善肾损伤。但其在临床上改善URE症状的具体作用效果还需要进一步研究。

参考文献

[1] DING Y H, ZHANG Y, WANG Z H, et al. Echinacoside from *Cistanche tubulosa* ameliorates alcohol-induced liver injury and oxidative stress by targeting Nrf2[J]. FASEB J, 2023, 37(3): e22792.

[2] ZHAO Y D, YI Y, GU B, et al. Echinacoside protects adenine-induced uremic rats from sciatic nerve damage by up-regulating α-klotho[J]. J Musculoskelet Neuronal Interact, 2021, 21(3): 413-421.

[3] 米妍妍，徐曼，王春双. 松果菊苷通过IL-33/STAT轴对脓毒症大鼠急性肾损伤的保护作用及机制研究[J]. 西部医学，2023，35(4)：519-523，528.
MI Y Y, XU M, WANG C S. Effect and mechanism of echinacoside on acute kidney injury in septic rats through IL-33/STAT axis[J]. Med J West China, 2023, 35(4): 519-523, 528.

[4] 高书涛. 松果菊苷抑制NF-κB/NLRP3信号通路减轻脊髓损伤的实验研究[D]. 乌鲁木齐：新疆医科大学，2020.
GAO S T. Alleviative effects of echinacoside against spinal cord injury via inhibiting NF-κB/NLRP3 signaling pathway[D]. Urumqi: Xinjiang Medical University, 2020.

[5] ZHANG H F, WANG Y L, GAO C, et al. Salvianolic acid A attenuates kidney injury and inflammation by inhibiting NF-κB and p38 MAPK signaling pathways in 5/6 nephrectomized rats[J]. Acta Pharmacol Sin, 2018, 39(12): 1855-1864.

[6] LI X S, ZHENG J, WANG J, et al. Effects of uremic clearance granules on p38 MAPK/NF-κB signaling pathway, microbial and metabolic profiles in end-stage renal disease rats receiving peritoneal dialysis[J]. Drug Des Devel Ther, 2022, 16: 2529-2544.

[7] 王晔，高宏宇，张莉，等. JNK/NF-κB通路在沙利度胺减轻膜性肾病大鼠足细胞损伤中的作用[J]. 中国中西医结合肾病杂志，2022，23(10)：910-912，946.
WANG Y, GAO H Y, ZHANG L, et al. The role of JNK/NF-κB pathway in thalidomide alleviating podocyte injury in rats with membranous nephropathy[J]. Chin J Integr Tradit West Nephrol, 2022, 23(10): 910-912, 946.

[8] SUN Z H, ZHENG W L, TENG J, et al. Resveratrol reduces kidney injury in a rat model of uremia and is associated with increased expression of heat shock protein 70 (Hsp70)[J]. Med Sci Monit, 2020, 26: e919086.

[9] RAFIEE Z, MOAIEDI M Z, GORJI A V, et al. P-coumaric acid mitigates doxorubicin-induced nephrotoxicity through suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis[J]. Arch Med Res, 2020, 51(1): 32-40.

[10] ZHU J F, ZHANG Y F, SHI L, et al. RP105 protects against ischemic and septic acute kidney injury via suppressing TLR4/NF-κB signaling pathways[J]. Int Immunopharmacol, 2022, 109: 108904.

[11] ZHANG L, SUN J, ZHANG M, et al. The significance of combined detection of CysC, urinary mAlb and β2-MG in diagnosis of the early renal injury in pregnancy-induced hypertension syndrome[J]. Saudi J Biol Sci, 2019, 26(8): 1982-1985.

[12] ŞEN S, ÖZALP KıZıLAY D, TANELI F, et al. Urinary NGAL is a potential biomarker for early renal injury in insulin resistant obese non-diabetic children[J]. J Clin Res Pediatr Endocrinol, 2021, 13(4): 400-407.

[13] 罗煜，吴嘉思，朱正文，等. 盐酸巴马汀抑制NF-κB/p38 MAPK信号通路及NLRP3炎症小体抗炎机制研究[J]. 中药新药与临床药理，2020，31(7)：762-768.
LUO Y, WU J S, ZHU Z W, et al. Anti-inflammatory effect of palmatine hydrochloride and its mechanism in regulation of NF-κB/p38 MAPK signaling pathway and NLRP3 inflammasome[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2020, 31(7): 762-768.

[14] 董倩兰，张琳萍，闫晓辉，等. 肾衰宁胶囊对尿毒症贫血患者外周血Hb、TNF-α及NF-κB水平的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志，2020，21(3)：241-242.
DONG Q L, ZHANG L P, YAN X H, et al. Effect of Shenshuaining capsule on the levels of Hb, TNF-α and NF-κB in peripheral blood of patients with uremic anemia [J]. Chin J Integr Tradit West Nephrol, 2020, 21(3): 241-242.

（收稿日期：2023-07-21　修回日期：2023-12-29）
（编辑：邹丽娟）