



中国比较医学杂志
Chinese Journal of Comparative Medicine
ISSN 1671-7856, CN 11-4822/R

《中国比较医学杂志》网络首发论文

题目：上中下通用痛风方通过 MEK/ERK/Nrf2 通路改善尿酸性肾病大鼠肾纤维化
作者：张继波，陈燕华，龙利，金晟，陈建武，王莹，施继禹
收稿日期：2025-12-31
网络首发日期：2026-06-04
引用格式：张继波，陈燕华，龙利，金晟，陈建武，王莹，施继禹. 上中下通用痛风方通过 MEK/ERK/Nrf2 通路改善尿酸性肾病大鼠肾纤维化[J/OL]. 中国比较医学杂志. <https://link.cnki.net/urlid/11.4822.R.20260604.1117.002>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

上中下通用痛风方通过 MEK/ERK/Nrf2 通路改善尿酸性肾病大鼠肾纤维化

张继波¹, 陈燕华^{2✉}, 龙利¹, 金晟¹, 陈建武¹, 王莹¹, 施继禹¹

(1. 湖北省第三人民医院 中西医结合肾病风湿科, 武汉 430000; 2. 湖北省妇幼保健院 中西医结合科, 武汉 430000)

*通信作者 陈燕华 (1984—), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 中西医结合疑难病诊治, 妇科疑难月经病诊治。E-mail: qycyaa@163.com

摘要 目的 探究上中下通用痛风方调控 MEK/ERK/Nrf2 通路 (抑制 MEK/ERK、激活 Nrf2) 对尿酸性肾病 (UAN) 大鼠肾纤维化的影响。方法 大鼠随机分为对照组、UAN 组、痛风方组、MEK 抑制剂 (PD98059) 组、痛风方+MEK 激活剂 (PMA) 组, 除对照组以外其余各组通过腺嘌呤联合氧嗪酸钾构建 UAN 模型。全自动生化分析仪检测肾功能指标; HE、Masson 和 PAS 染色检测肾组织病理损伤; 免疫组化检测肾组织中纤维化相关蛋白表达; DHE 染色和 ELISA 检测肾组织氧化应激; Western blot 检测 MEK/ERK/Nrf2 通路相关指标水平。结果 与对照组比较, UAN 组大鼠肾脏指数、血清尿酸 (SUA)、血清肌酐 (Scr)、血尿素氮 (BUN) 水平、肾组织炎症性浸润、纤维化面积、PAS 阳性面积、 α -SMA、TGF- β 1、Collagen I 表达、活性氧 (ROS)、丙二醛 (MDA)、p-MEK1/2/MEK1/2、p-ERK1/2/ERK1/2 均明显上调, 超氧化物歧化酶 (SOD)、血红素氧合酶-1 (HO-1)、Nrf2 明显下调 ($P<0.05$); 与 UAN 组比较, 痛风方组和 PD98059 组可明显改善上述指标 ($P<0.05$); 与痛风方组比较, 痛风方+PMA 组部分抵消痛风方的改善效应 ($P<0.05$)。结论 上中下通用痛风方通过抑制 MEK/ERK 通路, 激活下游 Nrf2 通路, 显著改善 UAN 大鼠肾纤维化程度和氧化应激损伤。

关键词 上中下通用痛风方; MEK/ERK/Nrf2 通路; 尿酸性肾病; 肾纤维化

Shang-Zhong-Xia Tongyong Tongfeng Formula alleviates renal fibrosis in uric acid nephropathy rats via the MEK/ERK/Nrf2 pathway

ZHANG Jibo¹, CHEN Yanhua^{2✉}, LONG Li¹, JIN Sheng¹, CHEN Jianwu¹, WANG Ying¹, SHI Jiyu¹

(1. Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Nephrology and Rheumatology, Hubei Provincial Third People's Hospital, Wuhan 430000, China. 2. Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hubei Maternal and Child Health Hospital, Wuhan 430000)

Abstract Objective To investigate the effect of Shang-Zhong-Xia Tongyong Tongfeng Formula on renal fibrosis in rats with uric acid nephropathy (UAN) by regulating MEK/ERK/Nrf2 signaling through inhibiting MEK/ERK and activating Nrf2. Methods Male Sprague-Dawley rats were randomized into control, UAN, gout formula, MEK inhibitor (PD98059), and gout formula + MEK activator (PMA) groups; the UAN model was established in all groups except the control using adenine and potassium oxonate, and renal function, histopathology, fibrosis-related proteins, oxidative stress, and MEK/ERK/Nrf2 pathway levels were assessed using automated biochemistry analyzers, HE/Masson/PAS staining, immunohistochemistry, DHE staining/ELISA, and Western blot, respectively. Results Compared with the control group, the UAN group showed significant upregulation of renal index, serum uric acid (SUA), serum creatinine (Scr), and blood urea nitrogen (BUN) levels, as well as renal tissue inflammatory infiltration, fibrosis area, PAS-positive area, α -SMA, TGF- β 1, collagen I expression, reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA), p-MEK1/2/MEK1/2, p-ERK1/2/ERK1/2; superoxide dismutase (SOD), heme oxygenase-1 (HO-1), and Nrf2 ($P<0.05$). Compared with the UAN group, both the gout formula and PD98059 groups significantly improved the aforementioned indices ($P<0.05$); compared with the gout formula group, the gout formula + PMA group partially reversed these therapeutic effects ($P<0.05$). Conclusions Shang-Zhong-Xia Tongyong Tongfeng Formula alleviates renal fibrosis and oxidative stress in UAN rats by inhibiting MEK/ERK signaling and activating Nrf2.

收稿日期: 2025-12-31

基金项目: 湖北省中医药管理局中医药科研项目 (ZY2025L045); 湖北省青年人才项目 (鄂卫函 (2024) 256 号)。

作者简介: 张继波 (1983—), 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 中西医结合诊治肾病、风湿免疫疾病。E-mail: dwaaa1@163.com

网络首发时间: 2026-06-04 14:39:03 网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/11.4822.R.20260604.1117.002>

Key words Shang-Zhong-Xia Tongyong Tongfeng Formula; MEK/ERK/Nrf2 pathway; Uric acid nephropathy; Renal fibrosis

尿酸性肾病(uric acid nephropathy, UAN)是由于体内尿酸(uric acid, UA)代谢紊乱, UA盐结晶沉积于肾脏引发的一种肾脏疾病^[1]。在 UAN 的发展中, 肾纤维化作为驱动肾功能持续性恶化的核心病理机制, 目前临床干预手段仍难以有效阻断其进展, 其作为 UAN 进展至终末期肾病的必经阶段, 以细胞外基质过度沉积为典型特征, 病理过程受氧化应激、炎症级联反应及关键信号通路异常激活协同调控^[2, 3]。在中医药的干预研究中发现, 上中下通用痛风方作为中医临床中治疗痛风及相关疾病的经典方剂, 其组方配伍蕴含的药物活性成分(黄柏、苍术、南星、川芎等), 具有清热利湿、活血通络、化痰散结等功效^[4]。中医理论认为, UAN 的病机涉及“湿热内蕴、瘀血阻络”, 上中下通用痛风方恰好契合该病机^[5], 推测其在临床应用中对缓解 UAN 患者的症状有一定效果。已有研究表明, MEK/ERK 通路是肾纤维化的关键信号通路, 其异常激活可促进氧化应激反应及纤维化相关蛋白表达, 进而加速肾纤维化进展^[6]。而 Nrf2 作为重要的抗氧化应激转录因子, 其活性受 MEK/ERK 通路的负向调控^[7]。活性氧(reactive oxygen species, ROS)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)以及血红素氧合酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)等是评估氧化应激水平的常见指标。与此同时, 上中下通用痛风方中的黄柏、川芎等均在肾脏疾病治疗中展现出独特价值, 二者均可通过激活 Nrf2 相关通路协同减轻肾脏的氧化应激损伤, 从而抑制肾纤维化的进展^[8, 9]。鉴于此, 本研究首次探究上中下通用痛风方是否可通过 MEK/ERK/Nrf2 通路对 UAN 大鼠肾纤维化产生影响, 为 UAN 的临床治疗提供新的观点。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选用 33 只 SPF 级别 SD 雄性 6~7 周龄大鼠, 体质量(200±20 g), 购自湖北贝恩特生物科技有限公司[SCXK(鄂)2021-0027]、动物合格证(120316210504823519), 所有动物均饲养于湖北贝恩特生物科技有限公司 SPF 级动物实验中心[SYXK(鄂)2021-0119], 温度(23±2)℃、湿度 55%±5%、12 h/12 h 明/暗循环。适应性饲养 1 周后进行后续实验。所有大鼠自由饮用无菌纯净水, 摄食国家标准啮齿类动物维持饲料(北京科澳协力饲料有限公司, 批号: 20240812)。本研究在湖北贝恩特生物科技有限公司动物伦理委员会批准(BNT-2025-304)下进行, 在动物饲养和实验过程中严格遵守实验动物使用的 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

上中下通用痛风方组方及配置^[4, 5]: 黄柏(盐炒)15 g、苍术(米泔水浸, 炒)12 g、南星(姜制)9 g、神曲(炒)15 g、川芎6 g、桃仁(去皮尖)9 g、防己9 g、白芷3 g、威灵仙2 g、羌活3 g、桂枝2 g、红花(酒洗)1.5 g、龙胆草1 g 组成, 上述药品均由本医院中药方提供, 并采用水煎醇沉法制成含生药 1 g/mL 的混悬液, 4℃保温备用。制备方法: 将上述饮片混合, 补充 10 倍量(v/w)的蒸馏水浸泡 30 min, 武火煮沸后文火煎煮 60 min, 收集双层纱布过滤的滤液。药渣再加入 8 倍量蒸馏水, 同法煎煮后过滤。合并两次滤液, 浓缩至相当于每毫升 1 g 生药的浓缩液。最后在 4℃条件下, 缓慢加入 95%乙醇至体系醇浓度达到 60%, 4℃静置过夜。弃去沉淀, 上清液通过 60℃减压旋转蒸发回收乙醇, 浓缩液用蒸馏水调整至最终浓度为生药 1 g/mL 的混悬液, 4℃保温备用。

MEK 激活剂 PMA(99.80%, 货号: HY-18739)、MEK 抑制剂 PD98059(98.89%, 货号: HY-12028)均购自美国 MCE 公司; 血清尿酸(Serum Uric Acid, SUA)检测(货号: S0232S)、血清肌酐(serum creatinine, Scr)检测(货号: S0291S)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)检测(货号: S0574M)、HE 染色(货号: C0105M)、Masson 染色(货号: C0189M)、PAS 染色(货号: C0142M)、ROS 检测(货号: DHE, S0064S)、MDA 检测(货号: S0131M)、SOD 检测(货号: S0109)试剂盒均购自上海碧云天公司; 抗体 α -SMA(货号: ab7817)、TGF- β 1(货号: ab315254)

和 Collagen I (货号: ab138492) 均购自上海艾博抗公司; HO-1 试剂盒 (货号: ml003108) 购自上海酶联公司; 抗体 p-MEK1/2 (货号: 9154)、MEK1/2 (货号: 8727)、p-ERK1/2 (货号: 4370)、ERK1/2 (货号: 9102)、Nrf2 (货号: 12721)、GAPDH (货号: 5174) 均购自美国 CST 公司。

7600-020 全自动生化分析仪购自日本日立; LSM900 显微镜购自德国蔡司; Varioskan ALF 酶标仪购自美国赛默飞; ChemiDoc™ 成像系统购自美国伯乐。

1.3 实验方法

1.3.1 UAN 大鼠模型构建与动物分组

选择 27 只大鼠通过采用腺嘌呤 (100 mg/kg) 联合氧嗪酸钾 (300 mg/kg) 构建 UAN 模型, 灌胃处理 4 周, 每天 1 次。其中 24 只大鼠 SUA $\geq$ 120 μ mol/L 且 Scr $\geq$ 50 μ mol/L 判定模型构建成功^[10]。对照组 (6 只) 给予等体积 0.9%氯化钠溶液。模型构建成功后, 随机分为 UAN 组、痛风方 (gout formula) 组、PD98059 组、痛风方+PMA (gout formula+PMA) 组, 每组 6 只。痛风方组给予上中下通用痛风方混悬液 10 mL/kg 灌胃^[4], PD98059 组给予 PD98059 溶液 (25 μ mol/L) 腹腔注射^[11], 痛风方+PMA 组先给予 PMA 溶液 (50 μ mol/L) 腹腔注射^[12], 1 h 后给予上中下通用痛风方混悬液 10 mL/kg 灌胃 (此间隔时间依据 PMA 药代动力学特点设定, 以确保通路激活与药物作用的时序性), 对照组和 UAN 组均给予等体积 0.9%氯化钠溶液, 各组每天给药 1 次, 连续给药 2 周。

1.3.2 样本采集

实验结束 12 h 后麻醉大鼠, 腹主动脉取血, 离心后分离血清用于肾功能指标的检测。迅速取出双侧肾脏, 冲洗干净后, 称取左肾重量, 计算肾脏指数 (左肾重量/体质量 $\times$ 100%), 其余保存于-80 $^{\circ}$ C 冰箱中用于 ELISA 检测氧化应激指标及 Western blot 检测 MEK/ERK/Nrf2 相关指标水平。右肾组织经过多聚甲醛固定后, 用于制作石蜡切片 (4 μ m), 进行 HE、Masson 和 PAS 染色, 免疫组化、DHE 染色。

1.3.3 全自动生化分析仪检测各组大鼠肾功能指标

严格按照肾功能试剂盒说明书操作, 使用全自动生化分析仪检测血清中 SUA、Scr、BUN 的含量。将分离的血清样本添加到相应的反应杯体中, 按照仪器设定程序, 依次添加相应试剂后在特定波长下检测吸光度, 并依据标准曲线计算 SUA、Scr、BUN 的浓度。

1.3.4 HE、Masson 和 PAS 染色检测各组大鼠肾组织病理损伤情况

HE 染色: 将切片脱蜡水化后, 先后使用苏木精、伊红染色后进行脱水, 透明, 封片。Masson 染色: 切片脱蜡水化后, 先后使用苏木素、丽春红酸性品红以及苯胺蓝染液染色后进行脱水, 透明, 封片。PAS 染色: 切片脱蜡水化后, 先使用高碘酸氧化, 随后使用 Schiff 试剂、苏木素染色后进行脱水, 透明, 封片。在显微镜下对切片进行观察, 采用 ImageJ 1.54f 软件对炎性细胞浸润 (0 分: 无; 1 分: 少量; 2 分: 中等; 3 分: 大量)、纤维化面积 (蓝色纤维化面积/总观察面积 $\times$ 100%) 及 PAS 阳性面积 (紫红色 PAS 阳性面积/总观察面积 $\times$ 100%) 进行半定量分析。

1.3.5 免疫组化检测各组大鼠肾组织中纤维化相关蛋白表达

取石蜡切片脱蜡水化, 过氧化氢孵育后使用枸橼酸盐缓冲液进行修复。添加山羊血清封闭后, 分别滴加 α -SMA、TGF- β 1 和 Collagen I 一抗 (稀释度均为 1:200) 在 4 $^{\circ}$ C 过夜孵育, 隔天补充相应的二抗孵育后使用 DAB 显色, 在显微镜下控制显色时间 (约 3~5 min), 当阳性区域 (棕黄色) 清晰显现而背景无色或浅色时, 立即用 PBS 冲洗终止显色。在显微镜下对图像进行拍照并分析 α -SMA、TGF- β 1 和 Collagen I 阳性表达 (棕黄色颗粒) 面积百分比。

1.3.6 DHE 染色和 ELISA 检测各组大鼠肾组织氧化应激损伤

DHE 染色: 将石蜡切片在室温条件下平衡 30 min, 滴加 10 μ mol/L 的 DHE 工作液, 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min 后添加抗荧光猝灭剂封片, 并在荧光显微镜下观察并将计算 ROS 荧光强度 (红色荧光/蓝色荧光 $\times$ 100%)。ELISA 检测: 取部分保存的左肾组织匀浆后, 加入到相应的酶标孔板中, 先后添加标准品、检测抗体、酶标二抗进行孵育, 添加底物显色后在酶标仪上进行吸光度检测, 依据 MDA、SOD 和 HO-1 的 ELISA 检测试剂盒说明书构建的标准曲线, 计算肾组织中相应氧化应激指标的含

量。

1.3.7 Western blot 检测各组大鼠肾组织中 MEK/ERK/Nrf2 通路相关指标水平

取部分保存的左肾组织添加 RIPA 后获取总蛋白。将蛋白变性后分离并转移到 PVDF 膜上。添加牛奶封闭后分别添加 p-MEK1/2、MEK1/2、p-ERK1/2、ERK1/2、Nrf2 及内参 GAPDH 抗体（稀释度均为 1:1 000）在 4 ℃下孵育过夜，次日补充二抗孵育后，ECL 显影，并在化学发光成像系统中拍照，使用 ImageJ 1.54f 软件评估蛋白条带的灰度值。以目标蛋白与 GAPDH 灰度值的比值进行半定量分析。

1.4 统计学方法

用 SPSS 25.0 进行统计学分析，实验数据用平均数±标准误差（ $\bar{x} \pm \bar{s}$ ）表示，各组间数据使用单因素方差分析， $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

2 结果

2.1 上中下通用痛风方对 UAN 大鼠肾功能的影响

与对照组比较，UAN 组大鼠肾脏指数以及 SUA、Scr、BUN 水平均明显升高（ $P < 0.05$ ）；与 UAN 组比较，痛风方组和 PD98059 组大鼠肾脏指数以及 SUA、Scr、BUN 水平均明显降低（ $P < 0.05$ ）；与痛风方组比较，痛风方+PMA 组大鼠肾脏指数以及 SUA、Scr、BUN 水平均明显升高（ $P < 0.05$ ）。见图 1 和表 1。

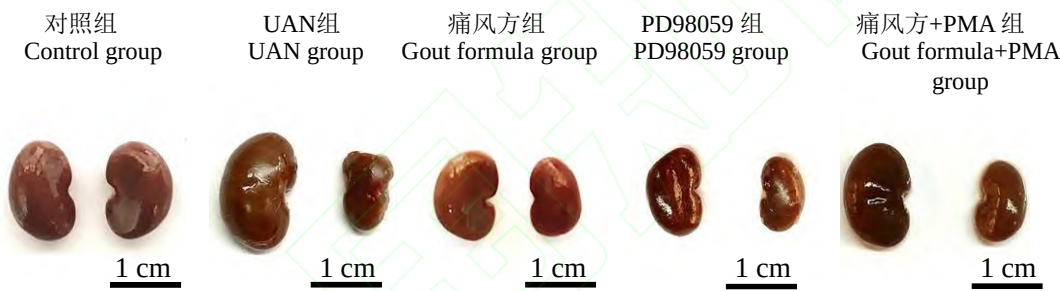


图 1 各组大鼠肾脏的代表性照片
Figure 1 Representative macroscopic photographs of rat kidneys in each group

表1 各组大鼠肾功能指标比较（ $\bar{x} \pm s$ ， $n=6$ ）
Table 1 Comparison of renal function indices in rats of each group（ $\bar{x} \pm s$ ， $n=6$ ）

分组 Group	肾脏指数/% Renal index/%	SUA/（ $\mu\text{mol/L}$ ）	Scr/（ $\mu\text{mol/L}$ ）	BUN/（ mmol/L ）
对照组 Control group	1.42±0.12	115.22±19.13	35.26±4.12	6.05±0.65
UAN 组 UAN group	3.01±0.35 ^a	357.33±27.79 ^a	95.87±8.02 ^a	19.21±1.02 ^a
痛风方组 Gout formula group	1.87±0.14 ^b	205.12±21.03 ^b	51.02±5.87 ^b	10.33±0.87 ^b
PD98059 组 PD98059 group	1.76±0.15 ^b	192.36±17.95 ^b	48.65±5.03 ^b	9.74±0.95 ^b
痛风方+PMA 组 Gout formula+PMA group	2.55±0.17 ^c	265.32±20.06 ^c	70.39±6.54 ^c	14.98±1.03 ^c

注：与对照组相比，^a $P < 0.05$ ；与 UAN 组相比，^b $P < 0.05$ ；与痛风方组相比，^c $P < 0.05$ 。

Note. Compared with control group, ^a $P < 0.05$. Compared with UAN group, ^b $P < 0.05$. Compared with gout formula group, ^c $P < 0.05$.

2.2 上中下通用痛风方对 UAN 大鼠肾病理损伤的影响

HE 染色结果显示，UAN 组大鼠肾组织出现肾小管扩张、上皮细胞水肿及中等量炎性细胞（主要为淋巴细胞）浸润，Masson 染色显示肾间质胶原纤维沉积（蓝色区域）显著增加，PAS 染色显示肾小管基底膜（PAS 阳性，紫红色区域）增厚、系膜基质增多，提示存在肾小管损伤与糖原沉积。与对照组比较，UAN 组大鼠肾组织炎性浸润、纤维化面积以及 PAS 阳性面积均明显升高（ $P < 0.05$ ）；与

UAN 组比较，痛风方组和 PD98059 组大鼠肾组织炎性浸润、纤维化面积以及 PAS 阳性面积均明显降低 ($P<0.05$)；与痛风方组比较，痛风方+PMA 组大鼠肾组织炎性浸润、纤维化面积以及 PAS 阳性面积均明显升高 ($P<0.05$)。见图 2 和表 2。

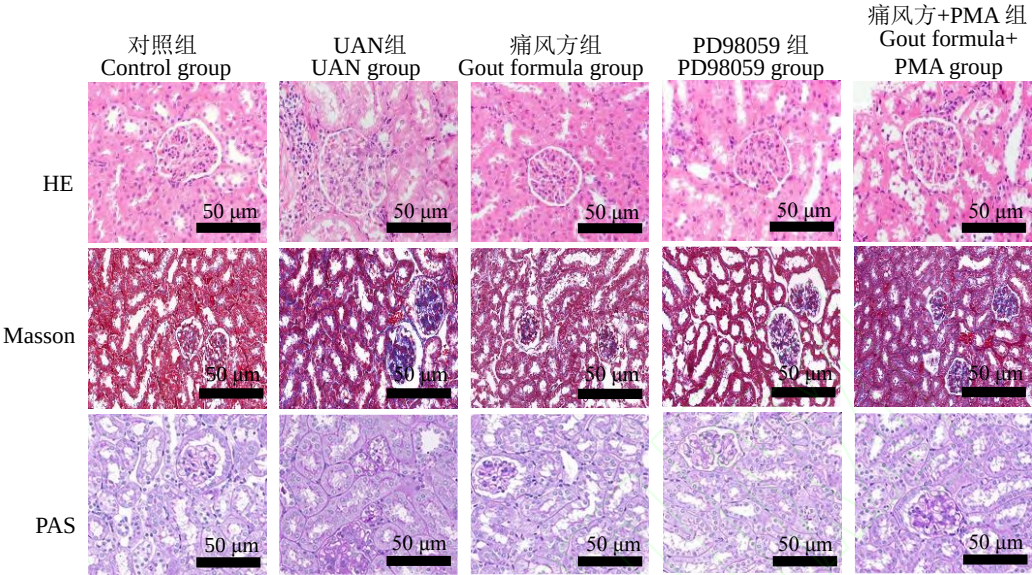


图 2 HE、Masson 和 PAS 染色检测各组大鼠肾组织病理损伤情况 (400×)
Figure 2 Pathological injury in renal tissues of rats in each group detected by HE, Masson, and PAS staining (400×)

表2 各组大鼠肾组织病理损伤的半定量分析 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)
Table 2 Semi-quantitative analysis of pathological injury in renal tissues of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

分组 Group	炎性浸润/分 Inflammatory infiltration /score	纤维化面积/% Fibrosis area/%	PAS 阳性面积/% PAS-positive area /%
对照组 Control group	0.24±0.05	3.58±0.32	5.82±0.69
UAN 组 UAN group	2.18±0.18 ^a	18.65±1.56 ^a	27.62±1.87 ^a
痛风方组 Gout formula group	0.98±0.11 ^b	7.02±0.87 ^b	10.06±1.03 ^b
PD98059 组 PD98059 group	1.03±0.10 ^b	7.82±0.96 ^b	11.65±0.98 ^b
痛风方+PMA 组 Gout formula+PMA group	1.69±0.15 ^c	13.66±1.06 ^c	18.66±1.32 ^c

注：与对照组相比，^a $P<0.05$ ；与 UAN 组相比，^b $P<0.05$ ；与痛风方组相比，^c $P<0.05$ 。

Note. Compared with control group, ^a $P<0.05$. Compared with UAN group, ^b $P<0.05$. Compared with gout formula group, ^c $P<0.05$.

2.3 上中下通用痛风方对 UAN 大鼠肾纤维化的影响

与对照组比较，UAN 组大鼠肾小球及肾小管间质区域 α -SMA、TGF- β 1 和 Collagen I 表达均明显升高 ($P<0.05$)；与 UAN 组比较，痛风方组和 PD98059 组大鼠肾小球及肾小管间质区域 α -SMA、TGF- β 1 和 Collagen I 表达均明显降低 ($P<0.05$)；与痛风方组比较，痛风方+PMA 组大鼠肾小球及肾小管间质区域 α -SMA、TGF- β 1 和 Collagen I 表达均明显升高 ($P<0.05$)。见图 3 和表 3。

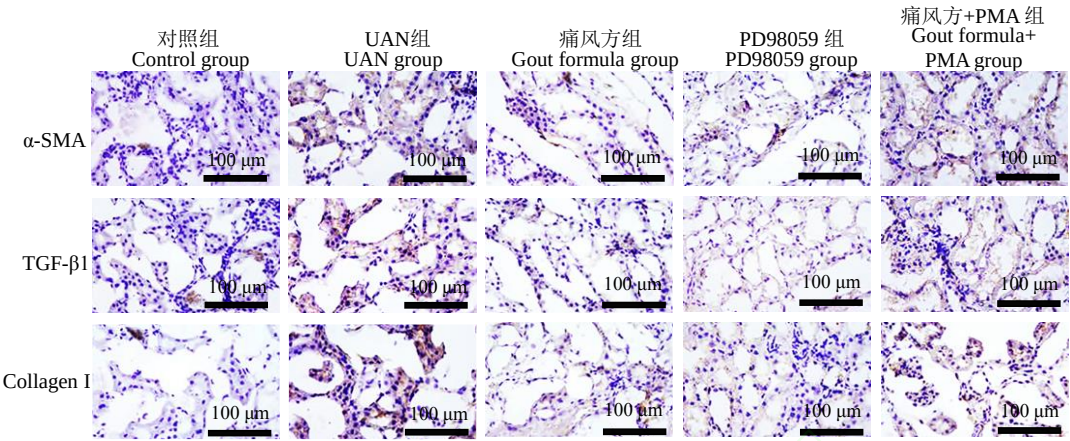


图3 免疫组化检测各组大鼠肾组织中纤维化相关蛋白表达 (200×)
Figure 3 Expression of fibrosis-related proteins in renal tissues of rats in each group detected by immunohistochemistry (200×)

表3 各组大鼠肾组织中肾纤维化相关蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$, %)

Table 3 Comparison of renal fibrosis-related protein expression in renal tissues of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6$, %)

分组 Group	α -SMA	TGF- β 1	Collagen I
对照组 Control group	3.46 $\pm$ 0.89	5.54 $\pm$ 0.97	4.66 $\pm$ 0.85
UAN组 UAN group	28.69 $\pm$ 1.88 ^a	30.24 $\pm$ 2.98 ^a	33.05 $\pm$ 2.65 ^a
痛风方组 Gout formula group	8.03 $\pm$ 0.96 ^b	10.02 $\pm$ 1.13 ^b	12.56 $\pm$ 1.02 ^b
PD98059组 PD98059 group	8.62 $\pm$ 1.02 ^b	9.88 $\pm$ 1.02 ^b	13.00 $\pm$ 1.16 ^b
痛风方+PMA组 Gout formula+PMA group	19.55 $\pm$ 1.16 ^c	17.87 $\pm$ 1.55 ^c	20.03 $\pm$ 2.19 ^c

注：与对照组相比，^a $P<0.05$ ；与 UAN 组相比，^b $P<0.05$ ；与痛风方组相比，^c $P<0.05$ 。

Note. Compared with control group, ^a $P<0.05$. Compared with UAN group, ^b $P<0.05$. Compared with gout formula group, ^c $P<0.05$.

2.4 上中下通用痛风方对 UAN 大鼠氧化应激损伤的影响

与对照组比较，UAN 组大鼠肾组织 ROS 荧光强度、MDA 水平表达均明显升高，SOD 活性、HO-1 含量均明显降低 ($P<0.05$)；与 UAN 组比较，痛风方组和 PD98059 组大鼠肾组织 ROS 荧光强度、MDA 水平表达均明显降低，SOD 活性、HO-1 含量均明显升高 ($P<0.05$)；与痛风方组比较，痛风方+PMA 组大鼠肾组织 ROS 荧光强度、MDA 水平表达均明显升高，SOD 活性、HO-1 含量均明显降低 ($P<0.05$)。见图 4 和表 4。

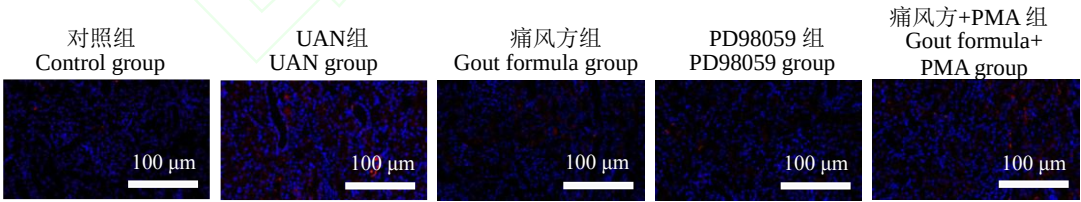


图4 DHE 染色检测各组大鼠肾组织中 ROS 水平 (200×)
Figure 4 ROS levels in renal tissues of rats in each group detected by DHE staining (200×)

表4 各组大鼠肾组织中氧化应激指标比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)
Table 4 Comparison of oxidative stress indicators in renal tissues of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

分组 Group	ROS 荧光强度/% ROS fluorescence intensity /%	MDA/ (nmol/mg)	SOD/ (U/mg)	HO-1/ (ng/mg)
对照组 Control group	14.26±2.35	3.52±0.59	120.06±10.02	39.65±8.12
UAN 组 UAN group	45.62±3.87 ^a	15.15±1.19 ^a	38.65±8.64 ^a	12.15±1.12 ^a
痛风方组 Gout formula group	22.36±2.12 ^b	6.59±0.54 ^b	81.26±9.69 ^b	24.54±5.06 ^b
PD98059 组 PD98059 group	24.09±2.65 ^b	6.98±0.62 ^b	85.87±8.18 ^b	26.19±4.69 ^b
痛风方+PMA 组 Gout formula+PMA group	31.58±3.62 ^c	10.57±1.02 ^c	57.64±4.98 ^c	17.66±1.87 ^c

注：与对照组相比，^a $P<0.05$ ；与 UAN 组相比，^b $P<0.05$ ；与痛风方组相比，^c $P<0.05$ 。

Note. Compared with control group, ^a $P<0.05$. Compared with UAN group, ^b $P<0.05$. Compared with gout formula group, ^c $P<0.05$.

2.5 上中下通用痛风方对 UAN 大鼠对 MEK/ERK/Nrf2 通路的影响

与对照组比较，UAN 组大鼠肾组织 p-MEK1/2/MEK1/2、p-ERK1/2/ERK1/2 比值均明显升高，Nrf2 蛋白表达明显降低 ($P<0.05$)；与 UAN 组比较，痛风方组和 PD98059 组大鼠肾组织 p-MEK1/2/MEK1/2、p-ERK1/2/ERK1/2 比值均明显降低，Nrf2 蛋白表达明显升高 ($P<0.05$)；与痛风方组比较，痛风方+PMA 组大鼠肾组织 p-MEK1/2/MEK1/2、p-ERK1/2/ERK1/2 比值均明显升高，Nrf2 蛋白表达明显降低 ($P<0.05$)。见图 5 和表 5。

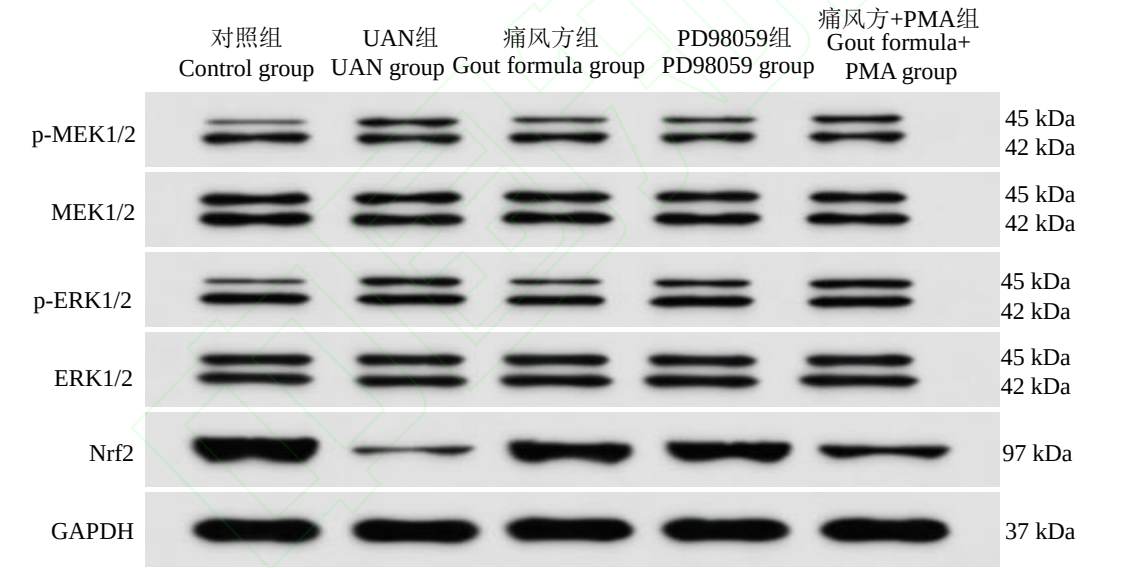


图 5 Western blot 检测各组大鼠肾组织中 MEK/ERK/Nrf2 通路相关指标水平
Figure 5 Levels of MEK/ERK/Nrf2 pathway-related indicators in renal tissues of rats in each group detected by Western blot

表5 各组大鼠肾组织中p-MEK1/2/MEK1/2、p-ERK1/2/ERK1/2比值以及Nrf2蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)Table 5 Comparison of the p-MEK1/2/MEK1/2 and p-ERK1/2/ERK1/2 ratios, and Nrf2 protein expression in renal tissues of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

分组 Group	p-MEK1/2/MEK1/2	p-ERK1/2/ERK1/2	Nrf2/GAPDH
对照组 Control group	0.20±0.06	0.33±0.07	0.98±0.07
UAN 组 UAN group	0.87±0.07 ^a	0.79±0.06 ^a	0.18±0.03 ^a
痛风方组 Gout formula group	0.34±0.05 ^b	0.48±0.05 ^b	0.64±0.05 ^b
PD98059 组 PD98059 group	0.37±0.04 ^b	0.51±0.04 ^b	0.67±0.07 ^b
痛风方+PMA 组 Gout formula+PMA group	0.59±0.05 ^c	0.65±0.05 ^c	0.30±0.04 ^c

注: 与对照组相比, ^a $P<0.05$; 与 UAN 组相比, ^b $P<0.05$; 与痛风方组相比, ^c $P<0.05$ 。Note. Compared with control group, ^a $P<0.05$. Compared with UAN group, ^b $P<0.05$. Compared with gout formula group, ^c $P<0.05$.

3 讨论

UAN 是一种常见的继发性肾脏疾病, 其发病机制复杂, 治疗难度大。临床常用的降 UA 药物 (如别嘌醇等) 通过在一定程度上降低血液中 UA 水平, 但对于已经发生的肾纤维化病变改善效果有限, 且长期用药可能伴随肝功能损伤、皮肤过敏等不良反应^[13, 14]。因此, 寻找安全有效的治疗方法, 对于改善 UAN 患者的预后具有临床价值。本研究通过腺嘌呤联合氧嗪酸钾灌胃构建 UAN 大鼠模型, 该造模方法可有效模拟人类 UAN 的病理生理过程, 当 $SUA \geq 120 \mu\text{mol/L}$ 且 $Scr \geq 50 \mu\text{mol/L}$ 时判定模型构建成功^[10]。此造模方式为后续研究提供了良好的实验基础。

上中下通用痛风方是多种中药配伍而成的经典方剂, 在中医理论指导下用于治疗痛风等病症治疗已由来已久^[4, 5]。现代药理学研究表明, 该方剂中的黄柏、川芎等均在肾脏疾病展现出独特价值。其中, 黄柏中的有效成分黄柏酮通过激活 Nrf2 通路抑制铁死亡, 改善肾脏损伤^[15]。川芎通过乙酯提取物调节尿酸转运蛋白的表达、降低血清 UA 水平并保护肾脏功能, 从而发挥抗高 UA 血症作用^[16]。本研究结果显示, 上中下通用痛风方治疗后可通过降低肾脏指数以及肾功能指标 (SUA、Scr、BUN) 水平来改善 UAN 大鼠的肾功能, 证实其确可能在缓解 UAN 患者症状中有一定效果。同时对肾组织的病理情况分析中发现, 上中下通用痛风方干预后大鼠肾组织炎症浸润、纤维化面积以及 PAS 阳性面积明显减少, PAS 染色阳性主要反映肾小球系膜基质增多及肾小管基底膜糖原、粘多糖等物质异常沉积, 是肾组织损伤的常见病理标志之一, 上述结果提示上中下通用痛风方可通过抗炎、抗纤维化以及抗肾小管损伤等途径改善肾功能。另外, 据报道, α -SMA、TGF- β 1、Collagen I 是肾纤维化进程中的重要调控因子, 其中 α -SMA 是肌成纤维细胞活化的关键标志物, TGF- β 1 可作为促纤维化的特异性蛋白, 而 Collagen I 则是细胞外基质合成的主要组分, 三者通过协同作用, 激活肌成纤维细胞、促进细胞外基质合成与沉积, 共同促进肾脏组织纤维化进程^[17, 18]。上述三个指标在上中下通用痛风方干预后大鼠肾组织中明显下调, 表明该方剂可有效缓解肾纤维化程度。在氧化应激方面, 该方剂治疗后大鼠肾组织中 ROS 荧光强度、MDA 水平降低, SOD 活性、HO-1 含量升高, 证明上中下通用痛风方还具有减轻 UAN 大鼠肾组织氧化应激损伤的作用, 与上述研究中关于方剂中各个成分的作用报道存在相似之初^[15, 16]。

MEK/ERK/Nrf2 通路是细胞内重要的信号通路, 在肾脏疾病发生和发展中发挥关键作用^[6, 7]。研究显示, 细胞受到生长因子、氧化因子等刺激后激活 MEK 发生磷酸化, 进而激活 ERK (p-ERK), 从而调节多种靶基因参与细胞增殖、分化以及纤维化过程。而 Nrf2 可通过调控下游抗氧化基因的表达, 发挥抗氧化应激作用, 其表达受 MEK/ERK 通路的负调控^[19, 20]。已有研究证实, 激活 MEK/ERK 信号通路通过促进上皮-间质转化和促纤维化细胞因子分泌, 驱动肾小管间质纤维化的进展^[6]。并且激活 Nrf2 介导的抗氧化基因 (如 HO-1) 表达可抑制氧化应激和炎症反应, 从而减轻肾纤维化进程^[21]。与之相一致的是, 本文中 UAN 大鼠肾组织 p-MEK1/2/MEK1/2、p-ERK1/2/ERK1/2 比值升高, Nrf2 表达降低, 表明 UAN 大鼠存在 MEK/ERK 通路激活以及下游 Nrf2 信号抑制情况。而上中下通用痛风方

和 MEK/ERK 通路抑制剂 PD98059 处理后,上述指标表达均被逆转,并且两组结果相似,提示上中下通用痛风方可能同样作为 MEK/ERK 通路抑制剂发挥抗肾纤维化过程。为了进一步探究上中下通用痛风方的作用机制,引入了 MEK/ERK 通路激活剂 PMA 进行回补实验,结果表明,PMA 干预后可部分阻断该方剂对 UAN 大鼠的治疗作用以及 MEK/ERK/Nrf2 通路的调控作用,进一步证实了上中下通用痛风方通过抑制 MEK/ERK 通路激活 Nrf2 来发挥改善 UAN 大鼠肾纤维化和氧化应激损伤的作用。值得注意的是,上中下通用痛风方作为复方,其疗效可能是多成分、多靶点协同作用的结果。除前文提及的黄柏^[8]、川芎^[9]外,该方剂中其他药味也可能通过不同机制协同参与肾保护。例如,防己活性成分粉防己碱可通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路进而肾脏氧化应激与炎症反应^[22];桃仁、红花中的主要成分苦杏仁苷与羟基红花黄色素 A 亦可通过调节 Nrf2/GPX4 通路抑制铁死亡与纤维化进程^[23]。这些成分与黄柏、川芎等在抗炎、抗氧化、抗纤维化等多个病理环节协同作用,极有可能通过交互调节 MEK/ERK/Nrf2 等信号通路,形成多靶点协同的网络调控,共同改善肾纤维化。上述研究表明,该方剂不仅降低血尿酸,更能从抗炎、抗氧化、抗纤维化多途径综合干预 UAN 的病理进程。然而,本研究为动物实验,其结论外推至临床需开展规范的临床研究,以明确其疗效、安全性及与现有药物的联合应用潜力。

综上,本研究显示上中下通用痛风方通过抑制 MEK/ERK 通路、激活下游 Nrf2 信号,减轻 UAN 大鼠肾纤维化和氧化应激损伤,进而改善肾功能。这一发现为该方剂在 UAN 的临床治疗中的应用提供了实验依据,具有一定的临床意义。然而本研究并未证实了上中下通用痛风方通过抑制 MEK/ERK 通路是如何具体调控 Nrf2 发挥肾保护作用。其次该方为多成分复方,其具体起效的关键活性成分(如黄柏酮、川芎嗪等)及各成分间的协同或拮抗关系仍不清楚。未来需结合网络药理学、分子对接的众多实验,进一步证实方剂与通路的直接靶点,并对比单味药或单体成分,以明确其药效物质基础及协同机制。

参考文献:

- [1] GONG S, CHEN J, ZHENG X, et al. Kidney targeting and modulating macrophage polarization through AMPK signaling: Therapeutic mechanism of berberine in uric acid nephropathy [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 138: 112632.
- [2] HU H, LI W, HAO Y, et al. The SGLT2 inhibitor dapagliflozin ameliorates renal fibrosis in hyperuricemic nephropathy [J]. *Cell Rep Med*, 2024, 5(8): 101690.
- [3] WANG Q, XI Y, ZHAO H, et al. Ferroptosis mediates the progression of hyperuricemic nephropathy by activating RAGE signaling [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2025, 43(1/2/3): 56-74.
- [4] 王书惠, 高丹, 王栋, 等. 上中下通用痛风方对痛风性关节炎大鼠 NLRP3/Caspase-1/IL-1 β 信号通路的影响 [J]. *中医药信息*, 2024, 41(5): 19-23.
WANG S H, GAO D, WANG D, et al. Effect of Shangzhongxia tongyong gout formula on NLRP3/caspase-1/IL-1 β signaling pathway in rats with gouty arthritis [J]. *Inf Tradit Chin Med*, 2024, 41(5): 19-23.
- [5] 孙海滨. 上中下通用痛风方对高尿酸血症小鼠尿酸及尿 $\alpha 1$ 微球蛋白的影响 [D]. 哈尔滨: 黑龙江省中医药科学院, 2019.
SUN H B. Study on the effects of shang zhong xia general gout formula on uric acid and urinary $\alpha 1$ -microglobulin in hyperuricemic mice [D]. Harbin: Heilongjiang Academy of Chinese Medical Sciences, 2019.
- [6] LU D, AJI G, LI G, et al. ZDHHC18 promotes renal fibrosis development by regulating HRAS palmitoylation [J]. *J Clin Invest*, 2025, 135(6): e180242.
- [7] ZHU M, SUN D, WANG H, et al. Preprotective effects of cardamomin from *Amomum villosum* Lour. on H₂O₂-induced oxidative damage *in vitro* and cerebral ischemic stroke *in vivo* [J]. *Phytother Res*, 2025, 39(11): 5378-5390.
- [8] 邱莎, 杨丽, 谭睿陟, 等. 黄柏酮对单侧输尿管梗阻模型小鼠肾间质纤维化及铁死亡的影响 [J]. *中国药房*, 2023, 34(5): 554-559.
QIU S, YANG L, TAN R Z, et al. Effects of obacunone on renal interstitial fibrosis and ferroptosis in unilateral ureteral obstruction model mice [J]. *China Pharm*, 2023, 34(5): 554-559.
- [9] YAN Y L, WU Y J, LIAO T Q, et al. Senkyunolide I alleviated renal fibrosis in UUO mice by regulating the Nrf2/xCT/GPX4 and NLRP3/caspase-1/GSDMD pathways to inhibit ferroptosis and pyroptosis [J]. *FASEB J*, 2025, 39(21): e71193.
- [10] YIN W, WANG J H, LIANG Y M, et al. Neferine targeted the NLRC5/NLRP3 pathway to inhibit M1-type polarization and pyroptosis of macrophages to improve hyperuricemic nephropathy [J]. *Curr Mol Med*, 2025, 25(1): 90-111.
- [11] LIU M, HE F, SHAO M, et al. PACAP inhibition alleviates neuropathic pain by modulating Nav1.7 through the MAPK/ERK signaling pathway in a rat model of chronic constriction injury [J]. *Neuropeptides*, 2023, 99: 102327.
- [12] ZHANG S, XU X, HUANG Y, et al. Anisodamine ameliorates ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats through activation of the extracellular signal-regulated kinase (ERK) pathway and anti-apoptotic effect [J]. *Pharmazie*, 2021, 76(5): 220.
- [13] ZHANG Y, WANG S, DAI X, et al. Simiao San alleviates hyperuricemia and kidney inflammation by inhibiting NLRP3 inflammasome and JAK2/STAT3 signaling in hyperuricemia mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 312: 116530.
- [14] LV W, CHEN H, ZHOU P, et al. Mechanisms associated with renal injury in hyperuricemia and strategies for the development of natural active substances [J]. *Int J Rheum Dis*, 2025, 28(2): e70096.
- [15] OU Y, ZHANG W. Obacunone inhibits ferroptosis through regulation of Nrf2 homeostasis to treat diabetic nephropathy [J]. *Mol Med Rep*, 2025, 31(5): 1-11.

- [16] MA K, ZHOU R, YANG H D, et al. Chuanxiong Rhizoma extracts alleviate hyperuricaemia-induced renal injury by reducing serum UA levels and renoprotection [J]. *Fitoterapia*, 2025, 182: 106456.
- [17] HU D, WANG L, ZHANG Y, et al. Sanqi oral solution ameliorates renal fibrosis by suppressing fibroblast activation *via* HIF-1 α /PKM2/glycolysis pathway in chronic kidney disease [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 335: 118679.
- [18] WU Z, ZHOU Y, YANG F, et al. Shizhifang alleviates hyperuricemia-induced renal injury by inhibiting Drp1 and maintaining mitochondrial homeostasis in renal tubular epithelial cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 351: 120084.
- [19] WANG Y, MA Z, PENG W, et al. 3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-Heptamethoxyflavonoid inhibits TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition by regulating oxidative stress and autophagy through MEK/ERK/PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2025, 15: 4567.
- [20] BAO B, LIU J, XIN J, et al. Excessive supplement of l-arginine induces myopia *via* orchestrating the MEK-ERK-NO signaling pathway [J]. *J Agric Food Chem*, 2024, 72(47): 26462-26474.
- [21] WANG D, LI Y, DAI L, et al. 1, 2, 3, 4, 6-penta-O-galloyl- β -D-glucose alleviates inflammation and oxidative stress in diabetic nephropathy rats through MAPK/NF- κ B and ERK/Nrf2/HO-1 signaling pathways [J]. *Exp Ther Med*, 2022, 24(4): 639.
- [22] SU L, CAO P, WANG H. Tetrandrine mediates renal function and redox homeostasis in a streptozotocin-induced diabetic nephropathy rat model through Nrf2/HO-1 reactivation [J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(16): 990.
- [23] XIAO Z, GAO S, LI S, et al. Taohong Siwu Decoction modulates glutathione metabolism to suppress hepatocyte ferroptosis and demonstrates anti-fibrotic effects in the liver [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 350: 120025.