

· 基础研究 ·

芪精益肾汤对糖尿病肾病大鼠 Nrf2/HO-1 信号通路的作用及机制研究

陶春鹤¹ 张玉笛¹ 轩晨² 代攀¹ 杨云昊¹ 章蓝月¹ 曹文富^{1,2}

摘要 **目的** 探讨芪精益肾汤 (QJYSD) 是否通过调节核转录因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) / 血红素加氧酶-1 (HO-1) 信号通路减轻糖尿病肾病 (DN) 大鼠氧化应激损伤, 从而发挥保护肾功能、延缓肾纤维化进程的作用。**方法** 采用高脂饮食联合小剂量一次性注射链脲佐菌素的方法制备糖尿病大鼠模型。实验分为正常对照组、模型组、QJYSD 低、中、高剂量组 [5.76、11.52、23.04 g/(kg·d)] 和缬沙坦组 [30 mg/(kg·d)], 每组 8 只。灌胃 12 周后, 记录各组大鼠一般情况, 测空腹血糖 (FBG), 并收集尿液、血液以及肾组织进行 24h 尿总蛋白 (24h UPro)、糖化血清蛋白 (GSP)、血肌酐 (SCr)、尿素氮 (BUN)、组织病理学 (HE 染色、Masson 染色)、氧化应激损伤指标 [超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、丙二醛 (MDA) 含量] 的检测; 采用 Western Blot 法检测肾组织 Nrf2、HO-1、FN 等蛋白表达水平, 免疫组化法检测 FN 蛋白沉积。**结果** 与正常对照组比较, 模型组大鼠体重减轻, 饮水量以及饮水量增多 ($P<0.01$); 肾脏指数 (RI)、24 h UPro、FBG、GSP、SCr、BUN 水平升高 ($P<0.01$); 肾组织中肾小球体积增大、系膜区增生, 肾间质炎性细胞浸润, 胶原容积比升高 ($P<0.01$); 血清 MDA 含量显著升高, SOD 活性显著降低 ($P<0.01$); 肾组织中总 Nrf2、HO-1、细胞核 Nrf2、FN 蛋白表达水平升高, 且 FN 蛋白沉积显著增加 ($P<0.01$)。与模型组比较, QJYSD 各剂量组与缬沙坦组大鼠饮水量以及饮水量减少 ($P<0.05$, $P<0.01$); RI、24h UPro、FBG、GSP、SCr、BUN 水平一定程度下降 ($P<0.05$, $P<0.01$); 肾组织中系膜区增生程度以及炎性细胞浸润减少, 胶原容积比下降 ($P<0.05$, $P<0.01$); 血清 MDA 含量减少、SOD 活性增加 ($P<0.05$, $P<0.01$); 肾组织中总 Nrf2、HO-1、细胞核 Nrf2、FN 蛋白表达水平下降 ($P<0.05$, $P<0.01$), 且 FN 蛋白沉积减少 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与缬沙坦组比较, QJYSD 高剂量组 DN 大鼠 FBG、GSP 水平降低 ($P<0.05$), 对肾组织 HO-1、细胞核 Nrf2 水平降低, FN 水平上升 ($P<0.05$)。**结论** QJYSD 可以通过促进 DN 大鼠肾组织 Nrf2/HO-1 信号通路活化, 增强机体抗氧化应激能力, 从而减轻肾损伤, 改善肾组织结构及功能, 延缓肾纤维化进程。

关键词 芪精益肾汤; 糖尿病肾病; Nrf2/HO-1 信号通路; 氧化应激

Effect and Mechanism of Qijing Yishen Decoction on Nrf2 / HO-1 Signaling Pathway in Diabetic Nephropathy Rats TAO Chun-he¹, ZHANG Yu-di¹, XUAN Chen², DAI Pan¹, YANG Yun-hao¹, ZHANG Lan-yue¹, and CAO Wen-fu^{1,2} ¹ College of Traditional Chinese Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing (400016); ² Department of Integrated Traditional Chinese Medicine and Western Medicine, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing (400016)

ABSTRACT Objective To investigate whether Qijing Yishen Decoction (QJYSD) can protect the kidneys from oxidative stress injury by regulating Nuclear factor E2 related factor 2 (Nrf2) / Heme oxygenase-1 (HO-1) signaling in a diabetic nephropathy (DN) rat model. **Methods** The rats were administered with a high-fat and high-sugar diet combined with a one-time small-dose streptozotocin injection. Rats were then divided into a normal control group, a model group, QJYSD low-, medium- and high-dosage groups (5.76, 11.52,

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81573860)

作者单位: 1. 重庆医科大学中医药学院 (重庆 400016); 2. 重庆医科大学附属第一医院中西医结合科 (重庆 400016)

通讯作者: 曹文富, Tel: 023-65712061, E-mail: 13883658367@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20210512.079

and $23.04 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, respectively), and a valsartan group ($30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), 8 in each group. After 12 weeks of treatment, general situation indicators and fasting blood glucose (FBG) were measured. Urine and blood samples and kidney tissues were collected to assess metabolic indicators, including 24-h urine total protein (24h UPro), glycated serum protein (GSP), serum creatinine (SCr), blood urea nitrogen (BUN), histopathology (HE staining and Masson's Trichome staining) and oxidative stress injury indicators [superoxide dismutase (SOD) activity and malondialdehyde (MDA)]. The expression of Nrf2, HO-1, and FN in kidney tissues were assessed by Western blot, and FN protein deposition was ALSO assessed by immunohistochemistry.

Results Compared to the control group, intake of food and water increased and weight decreased in the model group ($P < 0.01$), the RI, 24h UPro, FBG, GSP, SCr, and BUN significantly increased in the model group ($P < 0.01$). Meanwhile, the glomerular volume, mesangial area, renal interstitial inflammation, and collagen volume ratio also increased ($P < 0.01$). Further, the serum MDA increased and serum SOD activity decreased in the model group ($P < 0.01$). The expression of total Nrf2, HO-1, nuclear Nrf2, and FN protein and the deposition of FN protein in the kidney significantly increased in the model group ($P < 0.01$). In comparison with the model group, intake of food and water decreased in the valsartan group and the QJYSD groups in a dose-dependent manner ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Further, the RI, 24h UPro, FBG, GSP, SCr, and BUN decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), as did the glomerular volume, mesangial area, renal interstitial inflammation, and collagen volume ratio ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The serum MDA decreased and the serum SOD activity increased in the QJYSD groups and the valsartan group compared to the model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). In the meantime, the expression of total Nrf2, HO-1, nuclear Nrf2, and FN protein and the deposition of FN protein in the kidney decreased significantly in the QJYSD groups and the valsartan group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared to the valsartan group, FBG, GSP, HO-1, and Nrf2 in renal tissues decreased in the high-dose QJYSD group ($P < 0.05$), whereas FN was increased ($P < 0.05$). **Conclusions** QJYSD can enhance the intrinsic ability of antioxidants by promoting activation of the Nrf2/HO-1 signaling pathway to alleviate renal injury in DN rat model. Therefore, it can improve renal tissue structure and function and delay the progression of renal fibrosis.

KEYWORDS Qijing Yishen Decoction; diabetic nephropathy; Nrf2/HO-1 signaling pathway; oxidative stress

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 主要的微血管并发症, 该疾病晚期所致的肾功能衰竭是终末期肾病常见的原因之一。DN 典型的病理改变主要表现在肾小球及肾小管基底膜增厚、系膜基质增生、肾小管间质纤维化等, 引起尿蛋白排泄增加, 逐渐导致肾功能衰竭^[1]。研究表明, DN 的发生和发展与氧化应激、糖脂代谢紊乱、晚期糖基化终产物沉积以及肾脏血流动力学改变^[2]等多种因素相关。其中, 高血糖所致的氧化应激损伤对加速 DN 的病程至关重要^[3]。核转录因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2) / 血红素加氧酶 -1 (heme oxygenase-1, HO-1) 通路是一条经典的抗氧化通路, 与 DN 的发展尤为相关^[4]。

目前, 现代医学对 DN 治疗方式主要为控制血糖、控制血压、透析以及肾脏移植等, 但治疗效果不理想, 疾病病程仍在不断发展。中医药具有多靶点调节, 疗效好, 不良反应小的优势^[5]。芪精益肾汤 (Qijing Yishen Decoction, QJYSD) 是重庆医科

大学附属第一医院曹文富教授的临床基础经验方。为进一步观察 QJYSD 对 DN 的作用及机制, 本研究采用高脂饮食联合小剂量一次性注射链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 诱导的 DN 大鼠模型, 从分子水平阐述 QJYSD 保护 DN 肾组织, 延缓肾纤维化的可能机制。

材料与方法

1 动物 4~6 周龄 SD 大鼠 48 只, SPF 清洁级, 体重 (90 ± 20) g, 购买并饲养于重庆医科大学实验动物中心 [清洁级, 许可证号: SCXK-(渝)2012-0002]。本研究涉及的动物实验所有操作均获得重庆医科大学动物伦理委员会审核批准 (No. 20200520)。

2 药物 QJYSD 由黄芪 30 g 黄精 15 g 川芎 10 g 人参叶 9 g 组成, 相应药物的颗粒剂型及质检合格证委托华润三九医药股份有限公司提供, 批号如下: 黄芪: 1902001W, 黄精: 1806001W, 川芎: 1901001W, 人参叶: 1812001W, 并分别按照 TS-Z-PC-0211-003、TS-Z-PC-0209-003、TS-Z-

PC-0076-003、TS-Z-PC-0601-003 标准质检合格。缬沙坦胶囊(代文,规格:每粒 80mg),瑞士 Novartis 公司,购于重庆医科大学附属第一医院,生产批号: X1913。大鼠 45%kcal 高脂饲料,美国 Research Diets, Inc, 批号: D12451。STZ, 中国 Solarbio 公司, 批号: S8050。

3 主要试剂及仪器 柠檬酸钠缓冲液(0.1 mol/L, pH4.5, 无菌溶液), 中国 Solarbio 公司, (批号: C1013)、HE 染色套装, (批号: G1003)、Masson 染液套装, (批号: G1006), 均购自中国 Servicebio 公司; 兔抗 Nrf2 抗体, 中国 Affinity 公司, 批号: AF0639; 兔抗 HO-1/HMOX1 抗体, 中国 Proteintech 公司, 批号: 27282-1-AP; 兔抗核纤层蛋白 B (lamin B) Antibody, 中国 BLOSS, 批号: bs-24328R; 兔抗 β -actin 抗体, 中国 BLOSS, 批号: bs-0061R; 兔抗纤连蛋白 (fibronectin, FN) 抗体, 英国 Abcam, 批号: ab268020; 山羊抗兔 IgG 二抗, 中国 Sino biological, 批号: SSA004; RIPA 蛋白裂解液, (批号: P0013B)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒, (批号: P0012)、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒, (批号: P0012A)、细胞核蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒, (批号: P0028), 均购自中国碧云天生物技术公司; 肌酐 (creatinine, Cr) 测定试剂盒, (批号 C011-2-1; 尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN) 测定试剂盒, (批号: C013-2-1; 糖化血清蛋白 (glycosylated serum protein, GSP) 测定试剂盒 (批号: A037-2-1)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 测定试剂盒 (批号: A003-1-2)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 测定试剂盒, (批号: A001-3-2), 均购自中国南京建成生物工程研究所; 化学发光液, 常州天地人和生物科技有限公司, 批号: 30500。低温高速离心机, 美国 Sigma; 电泳仪及电泳槽, 美国 Bio-Rad; BX 荧光正置显微镜及 CellSens Standard 图像采集软件, 日本 Olympus; 化学发光成像仪, Odyssey Cls; 血糖仪及配套血糖试纸, 瑞士罗氏 (Roche) 卓越金采系列。

4 造模及分组方法 48 只 SD 大鼠按照随机数字表法选出 8 只为正常对照组。正常对照组大鼠予以普通饮食饲养, 其余大鼠予以高脂饮食饲养, 持续 4 周。4 周后对所有大鼠禁食 12 h, 然后予以 35 mg/kg STZ (高脂饮食组) 或等体积柠檬酸钠缓冲液 (正常组对照) 腹腔注射^[6]。分别于注射后第 3、5、7 天测定大鼠尾静脉随机血糖, 若有 2 次及 2 次以上血糖值 ≥ 16.7 mmol/L, 则认为 DM 大鼠模型成功^[7]。

4 周后收集所有 DM 大鼠尿液, 若 24 h 尿蛋白 (24 h UPro) >30 mg, 则视为 DN 大鼠模型成功^[8]。将造模成功的大鼠按照随机数字法分为模型组, QJYSD 低、中、高剂量组, 缬沙坦组, 每组 8 只。

5 干预方法 参考《药理实验方法学》^[9] 换算人-大鼠的 QJYSD 口服标准剂量为 5.76 g/(kg·d)。在本实验中, QJYSD 低、中、高剂量组每只大鼠的灌胃剂量依次为标准剂量的 1、2、4 倍, 即 5.76、11.52、23.04 g/(kg·d)。缬沙坦按照此方法换算得到缬沙坦组每只大鼠灌胃剂量为 30 mg/(kg·d)。每种药物均溶于纯水中, 每天固定进行灌胃, 每日 1 次, 连续进行 12 周。每日观察大鼠精神状态及其他一般情况。

6 动物取材方法 灌胃 12 周后, 记录大鼠体重、饮水量、饮水量; 并利用独立代谢笼收集所有大鼠 24 h 尿液, 收集过程中禁食不禁水, 保证尿液清洁、且无食物残渣污染, 并记录尿量。尿液予以 3 000 r/min, 室温离心后, 吸取上清, -80°C 保存备用, 用于检测尿蛋白浓度。动物处死前测定所有大鼠空腹血糖 (fasting blood glucose, FBG) 及 GSP。所有大鼠采用 2.5 mL/kg 2% 戊巴比妥钠麻醉后, 下腔静脉取血, 收集血清, 放入 -80°C 保存, 用于检测 SCr、血清 BUN、GSP、SOD、MDA 等指标。随后, 摘除大鼠双肾并记录肾重, 右肾纵向切开后固定于 4% 多聚甲醛, 用于肾脏组织病理学 (HE 染色、Masson 染色) 以及免疫组化分析; 剩余肾皮质切碎后立即放入液氮中, 随后转移至 -80°C 保存, 用于蛋白检测。

7 检测指标及方法

7.1 肾脏组织病理学检查 肾组织固定后, 乙醇阶梯脱水、二甲苯透明、石蜡包埋。用切片机制成 4 μm 厚的切片, 根据 HE、MASSON 的试剂盒说明书进行染色。每张切片于光镜下观察, 至少随机选取 5 个高倍镜视野 ($\times 400$) 进行阳性统计, 并进行肾组织 Masson 评分, 采用 Image J 作为分析软件。

7.2.1 24 h 尿蛋白检测 尿液从 -80°C 冰箱取出, 冰上融解后, 采用 Quick Start Bradford 1x Dye Reagent (Bio-Rad Laboratories, USA) 试剂测定尿蛋白浓度, 并进行 24 hUPro 计算, 计算公式如下: $24\text{hUPro}(\text{mg}) = \text{尿蛋白浓度}(\frac{\text{mg}}{\text{ml}}) \times 24\text{h 尿量}$ 。操作按照试剂说明书执行。

7.2.2 血液相关指标检测 血清从 -80°C 冰箱取出, 冰上融解后, 采用相应的试剂盒分别检测 SCr、BUN、GSP、SOD 以及 MDA 等指标, 所有操作均按照试剂说明书执行。

7.3 Western Blot 法检测 为了观察 QJYSD 对 DN 大鼠肾脏 Nrf2/HO-1 通路的影响, 采用 Western Blot 法检测相关蛋白的表达。大鼠肾皮质分别采用 RIPA 裂解液提取总蛋白, 核质蛋白抽提试剂盒提取核、质蛋白。运用 BCA 法测定蛋白浓度。主要步骤如下: 首先, 采用 10% SDS-PAGE 分离胶电泳, 分离蛋白; 其次, 将分离后的蛋白电转至 PVDF 膜, 并予以 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h; 随后予以一抗 Nrf2 (1:1 000 稀释)、HO-1 (1:1 000 稀释)、FN (1:1 000 稀释) 4 ℃ 孵育过夜; 次日, 予以 HRP 标记的兔二抗 (1:5 000 稀释) 室温孵育 2 h; 最后, 采用化学发光法于化学发光成像仪中显影。采用 Image J 软件分析蛋白灰度值, 计算目的蛋白与相应内参蛋白灰度值之比, 评估该蛋白的相对表达量。

7.4 免疫组化法检测 FN 蛋白表达 为了观察 QJYSD 对 DN 大鼠肾脏纤维化的影响, 采用免疫组化法检测 FN 蛋白的表达情况。主要步骤如下: 首先, 将肾组织石蜡切片 (4 μm) 脱蜡至水, 采用柠檬酸抗原修复缓冲液 (pH 6.0) 进行抗原修复, 3% 双氧水溶液阻断内源性过氧化物酶, 胎牛血清封闭; 其次, 予以一抗 FN (1:500 稀释) 室温孵育 30 min; 然后, 予以 HRP 标记的兔二抗室温孵育 30 min; 最后, 采用 DBA 显色, 复染细胞核以及脱水后封片。于光镜下观察, 每张切片随机选取 8 个高倍镜视野 (×400) 进行分析, 采用 Image-Pro Plus system 软件分析染色阳性面积的平均光密度值, 评估 FN 蛋白的表达量。

8 统计学方法 本研究所有实验均独立重复 3 次。采用 SPSS 20.0 统计软件分析实验数据, 若数据符合正态分布, 采用 $\bar{x} \pm s$ 描述, 检验采用单因素方差分析, 若方差齐则进行 LSD 检验; 若方差不齐则采用 Dunnett's T3 检验。P<0.05 认为差异有统计学意义。

结 果

1 大鼠一般情况 (表 1) 正常对照组大鼠精神状态良好, 活动敏捷, 皮毛光滑, 体重、饮水量以及饮水量正常。模型组大鼠精神状态差, 活动减少, 皮毛杂乱、色泽黯淡, 各治疗组大鼠精神、活动、皮毛状态较模型组大鼠有不同程度改善。与正常对照组比较, 模型组大鼠体重降低, 饮水量以及饮水量增加 (P<0.01)。与模型组比较, QJYSD 中、高剂量组及缬沙坦组大鼠饮水量以及饮水量明显减少 (P<0.05, P<0.01), 各组体重无明显改变, 差异无统计学意义 (P>0.05)。QJYSD 高剂量组饮水量、饮水量均低于 QJYSD 低剂量组 (P<0.05, P<0.01), 饮水量亦少于 QJYSD 中剂量组 (P<0.05)。

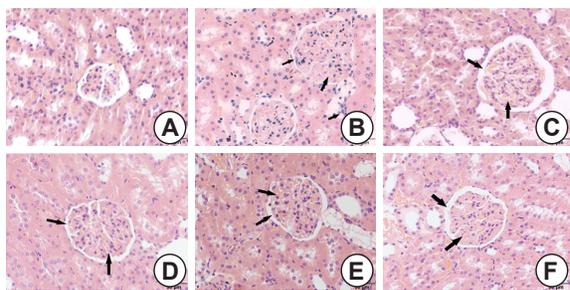
2 肾组织形态学观察 (图 1、2, 表 2) HE 染色结果如图 1 所示, 正常对照组大鼠肾小球结构形态正常, 肾间质无异常, 肾小管排列整齐, 轮廓完整清晰。与正常对照组比较, 模型组大鼠肾小球体积增大、系膜区增生, 肾间质有少量炎性细胞浸润; 与模型组比较, QJYSD 低、中、高剂量组及缬沙坦组大鼠肾小球、肾小管、肾间质结构排列较整齐, 肾小球系膜区增生、肾小球体积增大等情况均有改善。

Masson 染色结果如图 2 所示, 在正常对照组大鼠肾组织中, 胶原纤维少量分布且主要集中在肾小球、肾小管基底膜以及系膜区。与正常对照组比较, 模型组大鼠肾小球、肾小管基底膜, 系膜区以及肾间质胶原纤维沉积明显增加。与模型组比较, QJYSD 低、中、高剂量组及缬沙坦组大鼠肾小球、肾小管基底膜, 系膜区以及肾间质胶原纤维沉积减少。Masson 染色半定量分析如表 2 所示, 与正常对照组比较, 模型组大鼠肾组织胶原容积分数显著 (P<0.01); 与模型组比较, QJYSD 低、中、高剂量组及缬沙坦组大鼠肾组织胶原容积分数减少 (P<0.01); 与 QJYSD 低剂量组比较, QJYSD

表 1 各组大鼠灌胃第 12 周体重、饮水量、饮水量水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

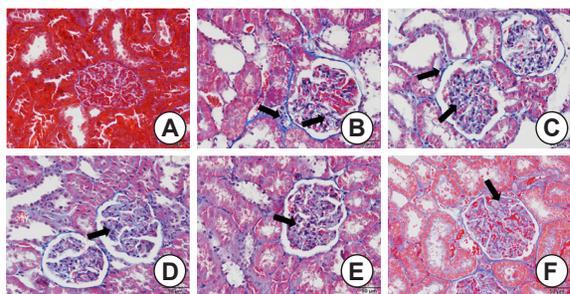
组别	n	体重 (g)	饮水量 [g / (kg·d)]	饮水量 [g / (kg·d)]
正常对照	8	495.33 ± 41.46	40.74 ± 4.63	69.02 ± 18.89
模型	8	303.13 ± 28.77*	164.13 ± 21.73*	750.94 ± 92.84*
QJYSD 低剂量	8	348.71 ± 87.26	146.24 ± 17.04	589.05 ± 52.82
QJYSD 中剂量	8	361.13 ± 46.84	129.77 ± 9.89 ^{△△}	538.72 ± 46.78 [△]
QJYSD 高剂量	8	368.22 ± 52.46	107.69 ± 13.50 ^{△△△}	458.68 ± 29.26 ^{△△△▲}
缬沙坦	8	354.00 ± 41.40	122.91 ± 42.58 [△]	531.13 ± 148.51 [△]

注: 与正常对照组比较, *P<0.01; 与模型组比较, △ P<0.05, △△ P<0.01; 与 QJYSD 低剂量组比较, ▲P<0.05, ▲▲P<0.01; 与 QJYSD 中剂量组比较, ○P<0.05



注: A 为正常对照组; B 为模型组; C 为 QJYSD 低剂量组; D 为 QJYSD 中剂量组; E 为 QJYSD 高剂量组; F 为缬沙坦组; 下同; 箭头所指为肾小球系膜区增生

图 1 各组大鼠第 12 周 HE 肾组织染色 (HE, ×400)



注: 箭头所指蓝色部分肾小球纤维化部分

图 2 各组大鼠第 12 周肾组织 Masson 染色 (Masson, ×400)

表 2 各组大鼠肾组织胶原容积分数 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	n	胶原容积
正常对照	8	0.40 ± 0.26
模型	8	22.69 ± 2.77*
QJYSD 低剂量	8	19.62 ± 2.14 △
QJYSD 中剂量	8	16.36 ± 1.54 △△
QJYSD 高剂量	8	15.70 ± 1.21 △△△
缬沙坦	8	14.53 ± 2.60 △△△

注: 与正常对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, △ $P < 0.01$; 与 QJYSD 低剂量组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$

中、高剂量及缬沙坦组胶原容积分数减少 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

3 各组大鼠 FBG、GSP 水平比较 (表 3) 与正常对照组比较, 模型组 FBG 和 GSP 水平升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, QJYSD 中、高剂量组 FBG 和高剂量组 GSP 水平均下降 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与 QJYSD 低剂量比较, QJYSD 高剂量组 FBG 和 GSP 水平下降, 缬沙坦组大鼠 FBG 水平升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与 QJYSD 中剂量比较, 缬沙坦组大鼠 FBG 升高 ($P < 0.05$); 与 QJYSD 高剂量组比较, 缬沙坦组大鼠 FBG、GSP 升高 ($P < 0.05$)。

4 各组大鼠尿液、血液生化指标检测结果比较 (表 4) 与正常对照组比较, 模型组大鼠 RI、SCr、

表 3 各组大鼠灌胃第 12 周 FBG、GSP 水平比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	FBG	GSP
正常对照	8	6.03 ± 0.29	1.00 ± 0.06
模型	8	30.63 ± 2.57*	2.59 ± 0.22*
QJYSD 低剂量	8	28.42 ± 4.11	2.34 ± 0.06
QJYSD 中剂量	8	26.83 ± 1.32 △△	2.34 ± 0.11
QJYSD 高剂量	8	24.60 ± 1.63 △△△	2.15 ± 0.47 △△△
缬沙坦	8	31.30 ± 2.49 ▲○	2.56 ± 0.18 ●

注: 与正常对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$; 与 QJYSD 低剂量组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$; 与 QJYSD 中剂量组比较, ○ $P < 0.01$; 与 QJYSD 高剂量组比较, ● $P < 0.05$

BUN、24 h UPro 均升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, QJYSD 低、中、高剂量组及缬沙坦组大鼠 RI 及 24 h UPro 降低, QJYSD 中、高剂量组及缬沙坦组 SCr、BUN 降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与 QJYSD 低剂量组比较, QJYSD 中、高剂量组 RI 降低, QJYSD 高剂量组 SCr 降低, QJYSD 高剂量组及缬沙坦组大鼠 24h UPro 减少 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与 QJYSD 中剂量组比较, QJYSD 高剂量组 RI 降低, QJYSD 高剂量组及缬沙坦组 24h UPro 减少 ($P < 0.01$); 与 QJYSD 高剂量组比较, 缬沙坦组 RI、SCr 及 24 h UPro 降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

5 各组血清 SOD 活性和 MDA 含量结果比较 (表 5) 与正常对照组比较, 模型组大鼠血清 MDA 含量升高, SOD 活性降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, QJYSD 低、中、高剂量组及缬沙坦组 MDA 含量下降, QJYSD 高剂量组和缬沙坦 SOD 活性增高 ($P < 0.01$)。与 QJYSD 低剂量组比较, QJYSD 中、高剂量组及缬沙坦组 MDA 含量降低, QJYSD 高剂量组 SOD 活性增高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与 QJYSD 中剂量组比较, QJYSD 高剂量组 SOD 活性增高 ($P < 0.05$); 与 QJYSD 高剂量组比较, 缬沙坦 SOD 活性降低 ($P < 0.05$)。

6 各组 Nrf2、HO-1、细胞核 Nrf2 蛋白表达比较 (图 3, 表 6) 与正常对照组比较, 模型组大鼠肾组织中总 Nrf2、HO-1、细胞核 Nrf2 表达轻度升高 ($P < 0.01$), 但细胞质 Nrf2 表达无明显变化, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与模型组比较, QJYSD 低、中、高剂量组和缬沙坦组大鼠肾组织中总 Nrf2、HO-1 和细胞核 Nrf2 的表达均有升高, 仅 QJYSD 高剂量组和缬沙坦组细胞质 Nrf2 表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与 QJYSD 低剂量组比较, QJYSD 中、高剂量组及缬沙坦组 HO-1 表达增高, QJYSD 中、高

表 4 各组大鼠灌胃第 12 周 RI、SCr、BUN、24 hUPro 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	RI (g/kg)	SCr (μ mol/L)	BUN (mmol/L)	24h UPro (mg/24h)
正常对照	8	6.81 \pm 0.68	10.63 \pm 1.38	8.06 \pm 1.69	11.92 \pm 1.07
模型	8	12.88 \pm 0.80*	50.78 \pm 15.32*	39.65 \pm 10.44*	64.23 \pm 8.15*
QJYSD 低剂量	8	12.05 \pm 0.50 [△]	27.11 \pm 3.10	29.56 \pm 11.24	54.39 \pm 5.54 ^{△△}
QJYSD 中剂量	8	11.31 \pm 0.32 ^{△△}	21.32 \pm 3.39 [△]	22.46 \pm 3.96 [△]	48.87 \pm 4.48 ^{△△}
QJYSD 高剂量	8	10.49 \pm 0.50 ^{△△△○}	16.76 \pm 1.89 ^{△△△}	19.92 \pm 2.26 [△]	29.86 \pm 6.18 ^{△△△○}
缬沙坦	8	11.34 \pm 0.78 ^{△△●}	22.57 \pm 1.87 ^{△●}	23.90 \pm 5.29 [△]	35.75 \pm 4.88 ^{△△△○●●}

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$;与 QJYSD 低剂量组比较,[▲] $P < 0.05$,^{▲▲} $P < 0.01$;与 QJYSD 中剂量组比较,[○] $P < 0.01$;与 QJYSD 高剂量组比较,[●] $P < 0.05$,^{●●} $P < 0.01$

表 5 各组大鼠灌胃第 12 周 MDA 含量、SOD 活性水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MDA (mmol/L)	SOD (U/mL)
正常对照	8	2.29 \pm 0.59	225.98 \pm 29.98
模型	8	5.95 \pm 0.61*	172.28 \pm 3.91*
QJYSD 低剂量	8	4.67 \pm 0.83 [△]	179.34 \pm 11.27
QJYSD 中剂量	8	3.43 \pm 0.63 ^{△△△}	185.68 \pm 7.50
QJYSD 高剂量	8	2.65 \pm 0.38 ^{△△△}	202.97 \pm 3.38 ^{△△○}
缬沙坦	8	3.12 \pm 0.97 ^{△△△}	189.26 \pm 6.46 ^{△●}

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.01$;与 QJYSD 低剂量组比较,[▲] $P < 0.05$,^{▲▲} $P < 0.01$;与 QJYSD 中剂量组比较,[○] $P < 0.05$;与 QJYSD 高剂量组比较,[●] $P < 0.05$

剂量组总 Nrf2 和细胞核 Nrf2 表达增高, QJYSD 高剂量组细胞质 Nrf2 表达增高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与 QJYSD 中剂量组比较, QJYSD 高剂量组 HO-1 表达显著升高, 缬沙坦组 HO-1、细胞核 Nrf2 表达显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与 QJYSD 高剂量组比较, 缬沙坦组 HO-1 及细胞核 Nrf2 表达显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

7 各组 FN 表达以及沉积结果比较 (图 3、4, 表 7) 与正常对照组比较, 模型组大鼠肾组织中 FN 表达升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, QJYSD 低、中、高剂量组和缬沙坦组大鼠肾组织中 FN 表达降低 ($P < 0.01$)。与 QJYSD 低剂量组比较, QJYSD 高剂量组及缬沙坦组 FN 表达减少, ($P < 0.01$)。与 QJYSD 中剂量组比较, QJYSD 高剂量组及缬沙坦组 FN 表达减少 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与 QJYSD 高剂量组比较, 缬沙坦组 FN 表达减少 ($P < 0.05$)。免疫组化结果显示, 正常对照组大鼠肾组织有少量 FN 沉积, 且以肾小球系膜区为主。与正常对照组比较, 模型组大鼠肾组织 FN 沉积增加, 其平均光密度升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, QJYSD 低、中、高剂量组和缬沙坦组大鼠肾组织中 FN 沉积减少, 其平均光密度降低 ($P < 0.01$)。与 QJYSD 低剂量组比较, QJYSD 中、高剂量组及缬沙坦组 FN 沉积减少, 其平均光密度降低 ($P < 0.01$)。与 QJYSD 中剂量组比较, QJYSD 高剂量组及缬沙坦组 FN 沉积减少, 其

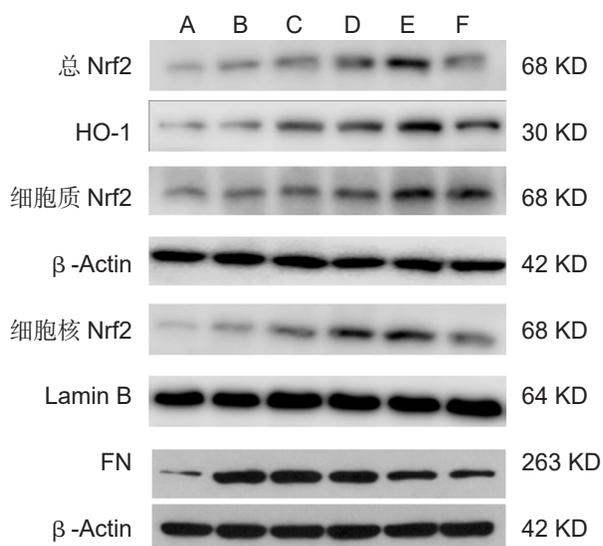


图 3 各组大鼠蛋白电泳图

表 6 各组大鼠肾皮质总 Nrf2、HO-1、细胞质 Nrf2、细胞核 Nrf2 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	总 Nrf2	HO-1	细胞质 Nrf2	细胞核 Nrf2
正常对照	8	0.1075 \pm 0.1171	0.1151 \pm 0.0013	0.1998 \pm 0.0075	0.1054 \pm 0.0275
模型	8	0.2043 \pm 0.0176*	0.1540 \pm 0.0011*	0.2367 \pm 0.0020	0.2081 \pm 0.0187*
QJYSD 低剂量	8	0.2587 \pm 0.0306 [△]	0.3113 \pm 0.0013 ^{△△}	0.2485 \pm 0.0064	0.3446 \pm 0.0616 ^{△△}
QJYSD 中剂量	8	0.3768 \pm 0.0348 ^{△△▲}	0.3341 \pm 0.0024 ^{△△▲▲}	0.3385 \pm 0.0356	0.4849 \pm 0.0272 ^{△△▲▲}
QJYSD 高剂量	8	0.4803 \pm 0.0280 ^{△△▲}	0.4645 \pm 0.0014 ^{△△▲▲○}	0.4702 \pm 0.0164 ^{△▲}	0.4957 \pm 0.0601 ^{△△▲▲}
缬沙坦	8	0.2801 \pm 0.0372 ^{△△}	0.3160 \pm 0.0021 ^{△△○●●}	0.4258 \pm 0.0088 ^{△△}	0.3942 \pm 0.0697 ^{△△○●}

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$;与 QJYSD 低剂量组比较,[▲] $P < 0.05$,^{▲▲} $P < 0.01$;与 QJYSD 中剂量组比较,[○] $P < 0.05$,^{○○} $P < 0.01$;与 QJYSD 高剂量组比较,[●] $P < 0.05$,^{●●} $P < 0.01$

平均光密度降低 ($P < 0.05$)。

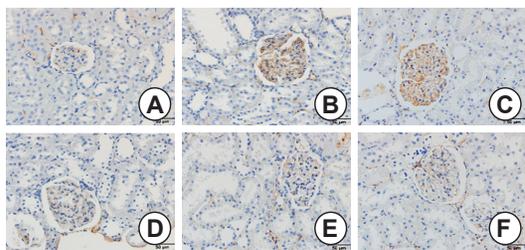


图 4 各组大鼠肾组织 FN 免疫组化结果 ($\times 400$)

表 7 各组大鼠第 12 周 FN 蛋白表达及平均光密度比水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	FN (Western Blot)	IOD (免疫组化)
正常对照	8	0.2297 \pm 0.0012	12.74 \pm 1.86
模型	8	1.0184 \pm 0.1109*	41.29 \pm 3.43*
QJYSD 低剂量	8	0.8771 \pm 0.0452 [△]	31.11 \pm 3.13 [△]
QJYSD 中剂量	8	0.7678 \pm 0.0868 [△]	26.47 \pm 2.01 ^{△△}
QJYSD 高剂量	8	0.6076 \pm 0.0575 ^{△△○}	21.43 \pm 2.15 ^{△△○}
缬沙坦	8	0.4803 \pm 0.0506 ^{△△○○●}	19.09 \pm 1.19 ^{△△○○}

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.01$;与 QJYSD 低剂量组比较,[△] $P < 0.01$;与 QJYSD 中剂量比较,[○] $P < 0.05$,^{○○} $P < 0.01$;与 QJYSD 高剂量比较,[●] $P < 0.05$

讨 论

中医学认为, DN 是由于消渴日久, 肾气损耗所致, 属于“水肿”“尿浊”“关格”“消渴病肾病”等范畴; 其疾病过程中典型的病理改变肾纤维化属于“肾微型癥瘕”范畴; 其共同的基本病理为痰瘀互结, 基本病机为气虚、阴虚、血瘀。清代名医程国彭在《医学心悟·三消》中谈到“治上消者宜润其肺, 兼清其胃, 治中消者宜清其胃, 兼滋其肾, 治下消者宜滋其肾, 兼补其肺”^[10]。国医大师吕仁和认为, DN 所致肾损伤为“肾络微型癥瘕”^[11], 治宜用益气养血之方, 贯穿疾病始终, 故治疗 DN 以补肾养阴、活血祛瘀、益气生津为主。本研究观察的 QJYSD 是临床上长期治疗 DN 行之有效的经验方, 以益气、养阴、活血为组方配伍原则。其中, 黄芪可补益脾肺之气, 利水消肿, 为方中君药; 黄精补气养阴, 健脾, 润肺, 益肾, 参叶补气滋阴, 益肺, 清热, 生津二者共为臣药; 川芎活血行气, 祛风止痛, 为方中佐使药。四药合用, 以期改善 DN “微型癥瘕”的病理状态, 从而在一定程度上延缓 DN 肾纤维发展进程。

DM 是临床上最常见的内分泌代谢性疾病, 由胰岛素绝对或相对不足所致, 主要临床表现有多饮、多食、多尿、体重减少以及血糖升高。长期血糖升高, 可导致肾滤过膜机械及电荷屏障受损, 蛋白尿随之产

生^[12]。本研究结果表明, QJYSD 可以部分减轻 DM 大鼠。糖化血清蛋白是血清蛋白在体内的糖基化产物, 可以反映过去 1~3 周的平均血糖浓度, 为临床常用监测 DM 指标之一。在本实验中, QJYSD 部分减轻 DM 大鼠 QJYSD “三多一少”的症状, 降低血糖以及糖化血清蛋白水平, 说明其对稳定降糖具有一定作用, 进而减轻高糖对肾组织损伤。

DN 是 DM 主要微血管并发症之一, 以蛋白尿增加、肾功能受损为主要临床表现。本研究结果表明, QJYSD 可以减轻 DM 大鼠 24h UPro、SCr、BUN 等水平, 保护肾功能。DN 初期起病隐匿, 可出现肾小球肥大的病理改变; 中期进展缓慢, 可出现肾小球及肾小管基底膜增厚, 系膜区明显增生等病理改变; 伴随持续性蛋白尿, 后期可出现肾小球硬化、间质纤维化以及肾小管萎缩等病理改变, 最终导致肾功能衰竭^[13]。本研究结果进一步表明, QJYSD 可减轻肾小球体积增大、系膜区增生、基底膜增厚等病理改变程度, 从而延缓 DN 疾病病程。因此, QJYSD 对 DN 肾功能、肾组织病理均具有改善作用, 从而延缓肾纤维化病理进程。

氧化应激是机体内过多生成的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 与内源性氧化酶失衡引起的内部反应^[14]。目前研究发现, 氧化应激是 DN 发生的重要机制^[15]。高血糖环境可致使 ROS 水平升高^[16], 导致 DNA、蛋白质和脂质的氧化, 诱发基因突变、蛋白质变性^[17]。MDA 是细胞膜脂质过氧化终产物, SOD 是氧自由基清除剂之一。MDA 和 SOD 作为衡量机体 ROS 水平的常用指标^[18]。当机体发生强烈氧化应激时, SOD 合成减少, MDA 产生增加, MDA 产生的速率超过 SOD 清除速率^[19], 进而损伤肾脏, 影响肾功能^[20]。本研究结果表明, 在 DN 大鼠血清中, MDA 含量明显升高, SOD 活性明显降低, 这与前期研究结果相一致^[21]。QJYSD 可以降低 DN 大鼠血清中 MDA 含量, 增加 SOD 活性, 从而减轻氧化应激对肾脏的损伤。

Nrf2/HO-1 信号通路是抗氧化应激的经典信号通路, Nrf2 是该信号途径中重要的细胞保护性转录因子^[22]。当机体发生氧化应激时, Nrf2 从细胞质中与 Keap1 解离, 转移至细胞核中, 与抗氧化原件结合, 激活下游 HO-1 等内源性抗氧化剂的基因表达, 以此清除过量的 ROS^[23], 减轻机体氧化应激损伤程度。本研究结果表明, 在 DN 大鼠肾组织中, 总 Nrf2、核 Nrf2 和 HO-1 等蛋白表达水平轻度增高, 考虑可能与机体对氧化应激损害产生的保护性反应相关, 这与

Zhu 等的结果一致^[24]。QJYSD 可以显著增加 DN 大鼠肾组织中总 Nrf2 蛋白与核 Nrf2 蛋白表达水平，从而加剧 Nrf2 核转移。另外，研究结果进一步显示，QJYSD 亦可以增加 DN 大鼠肾组织中抗氧化剂 HO-1 蛋白表达。以上结果表明，在 DN 大鼠中，QJYSD 可以通过调节 Nrf2 核转移，促进 HO-1 蛋白表达，从而增强机体抗氧化应激的能力。

细胞质外基质 (extracellular matrix, ECM) 产生增加而降解减少，是导致器官纤维化的主要原因。FN 是细胞外基质的主要组成蛋白之一，其含量增加，提示可能有肾损伤的发生；FN 是促进肾小球硬化的成分，可以反映早期肾损伤程度^[25]。在高糖环境下，过度的氧化应激会使肾脏 ECM 沉积增加，致使系膜区扩张，最终导致 DN^[26]。本研究结果表明，在 DN 大鼠肾组织中，FN 蛋白表达水平增高，且肾小球系膜区沉积显著增加，表明高糖内环境可增加肾纤维化风险，这与之前的研究结果一致^[27]。QJYSD 可以减轻 DN 大鼠肾组织 FN 的表达以及沉积。以上结果表明，在 DN 大鼠肾组织中，QJYSD 可以一定程度上抑制 ECM 过度表达以及沉积，维持肾小球结构，改善肾小球功能，延缓肾纤维化进程。

目前，临床上药物治疗 DN 主要以控制血糖、血压为主，尚无针对性用药。2 型 DM 合并慢性肾功能衰竭患者，且伴随持续性大量蛋白尿，属于出现终末期肾功能衰竭和心血管并发症高危风险人群，常推荐使用肾素血管紧张素系统拮抗剂。缬沙坦属于临床常用血管紧张素 II 受体拮抗剂，作为本研究中阳性对照药物，具有减少尿蛋白，保护肾功能作用。本研究表明，在 DN 大鼠中，QJYSD (呈剂量依赖性) 及缬沙坦均可减少 24h UPro 排泄，降低 SCr、BUN 等水平，减轻肾组织病理改变，改善肾脏结构和功能；并可促进肾组织 Nrf2 的核转移，增加 HO-1 等抗氧化物的表达，增强机体抗氧化应激能力，延缓肾纤维化进程。不仅如此，QJYSD 在一定程度上还能降低血糖，从而发挥调节血糖、保护肾功能的综合作用，充分体现其多靶点复合调节的特点。

本研究探讨了 QJYSD 对 DN 大鼠 Nrf2/HO-1 通路的作用及机制，表明该方可以通过促进 Nrf2/HO-1 通路活化，增强机体抗氧化应激能力，从而减轻肾损伤，改善肾组织结构及功能，延缓肾纤维化进程，且可以降低血糖，在延缓 DN 病理进程上发挥综合性调节优势，为临床应用 QJYSD 治疗 DN 提供进一步的科学理论依据，促进中医药事业现代

化发展。

利益冲突：本文无任何利益冲突。

参 考 文 献

- [1] Li XQ, Chang DY, Chen M, et al. Complement activation in patients with diabetic nephropathy[J]. *Diabetes Metab*, 2019, 45 (3): 248-253.
- [2] Han W, Wang C, Yang Z, et al. SRT1720 retards renal fibrosis via inhibition of HIF-1alpha /GLUT1 in diabetic nephropathy[J]. *J Endocrinol*, 2019, JOE-18-0536.R2.
- [3] Huang W, Man Y, Gao C, et al. Short-chain fatty acids ameliorate diabetic nephropathy via GPR43-mediated inhibition of oxidative stress and NF-kappaB signaling[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 4074832.
- [4] Alaofi AL. Sinaptic acid ameliorates the progression of streptozotocin (STZ) -induced diabetic nephropathy in rats via NRF2/HO-1 mediated pathways[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 1119.
- [5] 王春辉, 常乐, 孟楠, 等. 中药黄芪的药理作用及临床应用效果观察 [J]. *中医临床研究*, 2018, 10 (35): 104-107.
- [6] 兴桂华, 张健, 何静, 等. 利拉鲁肽对糖尿病模型大鼠肾脏组织核因子- κ B、单核细胞趋化蛋白-1 和血管细胞间黏附分子-1 表达的影响 [J]. *中国老年学*, 2017, 37 (9): 2119-2121.
- [7] Zhang Y, Tao C, Xuan C, et al. Transcriptomic analysis reveals the protection of astragaloside IV against diabetic nephropathy by modulating inflammation[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 9542165.
- [8] 胡霞, 唐宏图, 戴红, 等. 玉液汤对 2 型糖尿病性肾病大鼠肾损害的保护作用研究 [J]. *中药材*, 2020, 43 (2): 464-468.
- [9] 魏伟主编. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1049.
- [10] 清·程国彭. 医学心悟 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 189.
- [11] 黄晓强, 赵进喜, 王世东, 等. 基于 CiteSpace 的“微型癥瘕”知识图谱分析 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2020, 27 (10): 99-102.
- [12] 刘书伟. 依普利酮对糖尿病肾病大鼠的保护机制研究

- [J]. 中国现代应用药学, 2018, 35 (6): 812–815.
- [13] Huang YM, Xu D, Long J, et al. Spectrum of chronic kidney disease in China: A national study based on hospitalized patients from 2010 to 2015[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2019, 24 (7): 725–736.
- [14] Talib WH, Al-Ataby IA, Mahmood AI, et al. The impact of herbal infusion consumption on oxidative stress and cancer: the good, the bad, the misunderstood[J]. *Molecules*, 2020, 25 (18): 4207.
- [15] Opazo-Rios L, Sanchez Matus Y, Rodrigues-Diez RR, et al. Anti-inflammatory, antioxidant and renoprotective effects of SOCS1 mimetic peptide in the BTBR ob/ob mouse model of type 2 diabetes[J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2020, 8 (1): e001242.
- [16] 乔先栋, 刘婷, 洪丽英, 等. CHIP 参与高糖介导下的血管内皮细胞损伤 [J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36 (8): 1368–1374.
- [17] 刘春燕, 梁承谦, 谷依红, 等. 金匱肾气汤对单侧输尿管梗阻大鼠肾纤维化缺氧的影响及作用机制 [J]. 北京中医药大学学报, 2019, 42 (9): 753–759.
- [18] Chen Z, Li W, Shi L, et al. Kidney-targeted astaxanthin natural antioxidant nanosystem for diabetic nephropathy therapy[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2020, 156: 143–154.
- [19] Wang X, Han C, Cui Y, et al. Florfenicol induces renal toxicity in chicks by promoting oxidative stress and apoptosis[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2020, 28 (1): 936–946.
- [20] Kapucu A. Crocin ameliorates oxidative stress and suppresses renal damage in streptozotocin induced diabetic male rats[J]. *Biotech Histochem*, 2020, 96 (2): 153–160.
- [21] 马冰沁, 钱唯韵, 罗振国, 等. 芦荟苷对糖尿病肾病大鼠 NOX4/ROS/p38 MAPK 信号通路及足细胞功能的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30 (9): 1–7.
- [22] Mohan T, Narasimhan KKS, Ravi DB, et al. Role of Nrf2 dysfunction in the pathogenesis of diabetic nephropathy: Therapeutic prospect of epigallocatechin-3-gallate[J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 160: 227–238.
- [23] Chen HY, Ho YJ, Chou HC, et al. The role of transforming growth factor-beta in retinal ganglion cells with hyperglycemia and oxidative stress[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (18): 6482.
- [24] Zhu X, Chen Y, Chen Q, et al. Astaxanthin promotes Nrf2/ARE signaling to alleviate renal fibronectin and collagen IV accumulation in diabetic rats[J]. *J Diabetes Res*, 2018, 2018: 6730315.
- [25] 申永超, 蔡胜艳, 董天, 等. 糖尿病肾病小鼠肾组织与细胞中 miR-92b 表达及其对纤维化的影响 [J]. 山东医药, 2019, 59 (11): 48–52.
- [26] Hallow KM, Gebremichael Y, Helmlinger G, et al. Primary proximal tubule hyperreabsorption and impaired tubular transport counterregulation determine glomerular hyperfiltration in diabetes: a modeling analysis[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2017, 312 (5): F819–F835.
- [27] Du L, Wang L, Wang B, et al. A novel compound AB38b attenuates oxidative stress and ECM protein accumulation in kidneys of diabetic mice through modulation of Keap1/Nrf2 signaling [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2020, 41 (3): 358–372.

(收稿: 2020-09-29 在线: 2021-09-09)

责任编辑: 汤 静