

引用:陈莉莉,胡淑娟,李旭华,彭瑶,周彤艺,喻嵘,彭亚军.基于AP-1/TGF- $\beta$ 1/Smad3信号通路探讨左归降糖益肾方对糖尿病肾病小鼠的肾脏保护作用[J].中医药导报,2026,32(5):41-48.

# 基于AP-1/TGF- $\beta$ 1/Smad3信号通路探讨左归降糖益肾方对糖尿病肾病小鼠的肾脏保护作用\*

陈莉莉<sup>1,2</sup>,胡淑娟<sup>1</sup>,李旭华<sup>2</sup>,彭瑶<sup>1,2</sup>,周彤艺<sup>1</sup>,喻嵘<sup>1</sup>,彭亚军<sup>2</sup>  
(1.湖南中医药大学,湖南长沙 410208;  
2.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙 410007)

**[摘要]** 目的:探讨左归降糖益肾方对糖尿病肾病小鼠的肾脏保护作用及可能的作用机制。方法:50只db/db小鼠,普通饲料喂养8周后,建立糖尿病肾病小鼠模型。模型小鼠随机分为模型组、左归降糖益肾方低剂量组、左归降糖益肾方中剂量组、左归降糖益肾方高剂量组及达格列净组,每组10只。10只db/m小鼠设为正常组。左归降糖益肾方低、中、高剂量组分别予左归降糖益肾方药液(6.4、12.8、25.6 g/kg)灌胃,达格列净组小鼠予达格列净溶液(1.3 mg/kg)灌胃,干预8周。正常组和模型组小鼠予等体积生理盐水灌胃。给药期间,观察小鼠空腹血糖(FBG)、尿微量白蛋白/肌酐比值(UACR)变化。干预8周后,检测白蛋白(ALB)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、尿酸(UA);苏木精-伊红(HE)染色、过碘酸希夫染色(PAS)、马松(Masson)染色及透射电镜(TEM)观察小鼠肾组织病理改变;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测肾组织紧密连接蛋白1(ZO-1) mRNA、激活蛋白1(AP-1) mRNA、转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1) mRNA、Smad家族成员3(Smad3) mRNA表达水平;蛋白质印迹法(Western blotting)检测肾组织ZO-1、AP-1、TGF- $\beta$ 1、Smad3蛋白表达水平。结果:第2、4、6、8周,模型组小鼠FBG高于正常组( $P<0.05$ );第6、8周,左归降糖益肾方低、中、高剂量组及达格列净组小鼠FBG低于模型组( $P<0.05$ )。第4、8周,模型组小鼠UACR水平高于正常组( $P<0.05$ );第4周,左归降糖益肾方低、高剂量组小鼠UACR水平低于模型组( $P<0.05$ );第8周,左归降糖益肾方低、中、高剂量组及达格列净组小鼠UACR水平低于模型组( $P<0.05$ )。模型组小鼠血清Scr、BUN、UA、ALB、ALT、AST与正常组比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ );左归降糖益肾方低、中、高剂量组及达格列净组小鼠血清Scr、BUN、UA、ALB、ALT、AST与模型组比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。正常组小鼠肾小球、肾小管结构完整;与正常组比较,模型组小鼠肾小球足突融合,系膜细胞和基质增生,基底膜增厚,间质纤维增生;与模型组比较,左归降糖益肾方低、中、高剂量组及达格列净组小鼠肾小球及其内皮细胞、足细胞病变改善。模型组小鼠肾组织糖原阳性面积占比和胶原纤维阳性面积占比大于正常组( $P<0.05$ );左归降糖益肾方低、中、高剂量组及达格列净组小鼠肾组织糖原阳性面积占比和胶原纤维阳性面积占比小于模型组( $P<0.05$ )。模型组小鼠肾组织ZO-1 mRNA、Smad3 mRNA相对表达量高于正常组( $P<0.05$ );左归降糖益肾方低、中、高剂量组和达格列净组小鼠肾组织ZO-1 mRNA、Smad3 mRNA相对表达量低于模型组( $P<0.05$ )。模型组小鼠肾组织ZO-1、AP-1、Smad3蛋白相对表达量高于正常组( $P<0.05$ );左归降糖益肾方低、中、高剂量组及达格列净组小鼠肾组织Smad3蛋白相对表达量低于模型组( $P<0.05$ )。结论:左归降糖益肾方可能通过调控AP-1/TGF- $\beta$ 1/Smad3信号通路,改善糖代谢,保护足细胞,从而延缓糖尿病肾病进展。

**[关键词]** 糖尿病肾病;左归降糖益肾方;2型糖尿病;db/db小鼠;AP-1/TGF- $\beta$ 1/Smad3信号通路

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2026)05-0041-08

**DOI:** 10.13862/j.cn43-1446/r.2026.05.007

Exploring the Renal Protective Effect of Zuogui Jiangtang Yishen Formula (左归降糖益肾方) on Diabetic Kidney Disease in db/db Mice via the AP-1/TGF- $\beta$ 1/Smad3 Signaling Pathway

\*基金项目:湖南省自然科学基金项目(2023JJ30473)

通信作者:彭亚军,男,主任医师,研究方向为中医药防治肾脏病

CHEN Lili<sup>1,2</sup>, HU Shujuan<sup>1</sup>, LI Xuhua<sup>2</sup>, PENG Yao<sup>1,2</sup>, ZHOU Tongyi<sup>1</sup>, YU Rong<sup>1</sup>, PENG Yajun<sup>2</sup>

(1.Hunan University of Chinese Medicine, Changsha Hunan 410208, China;

2.The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha Hunan 410007, China)

[Abstract] Objective: To investigate the renal protective effect and possible mechanism of Zuogui Jiangtang Yishen formula (ZGJTYSF) in mice with diabetic kidney disease. Methods: Totally 50 db/db mice were fed with normal diet for 8 weeks to establish a diabetic kidney disease model. The model mice were randomly divided into a model group, a low-dose ZGJTYSF group, a medium-dose ZGJTYSF group, a high-dose ZGJTYSF group, and a dapagliflozin group, with 10 mice in each group. A total of 10 db/m mice served as the normal group. The low-dose ZGJTYSF group, medium-dose ZGJTYSF group, and high-dose ZGJTYSF group were administered the corresponding drugs (6.4,12.8,25.6 g/kg) by gavage respectively, while the dapagliflozin group was administered with dapagliflozin solution (1.3 mg/kg) by gavage. All groups received continuous administration for 8 weeks. The normal group and model group were administered with an equal volume of normal saline by gavage. During the administration period, changes in fasting blood glucose (FBG) and urinary albumin-to-creatinine ratio (UACR) were observed. After 8 weeks of drug administration, albumin (ALB), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), and uric acid (UA) were measured. Hematoxylin-eosin (HE), periodic acid-Schiff (PAS), Masson staining, and transmission electron microscopy (TEM) were used to observe the pathological changes of renal tissue. Real-time quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) was used to detect the expressions of Zonula occludens-1 (ZO-1) mRNA, Activator protein 1 (AP-1) mRNA, Transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) mRNA, and Smad family member 3 (Smad3) mRNA in renal tissue. Western blotting was used to detect the expression of ZO-1, AP-1, TGF- $\beta$ 1, and Smad3 proteins. Results: FBG in the model group was significantly higher than that in the normal group at weeks 2<sup>nd</sup>, 4<sup>th</sup>, 6<sup>th</sup>, and 8<sup>th</sup> ( $P < 0.05$ ). FBG in the low-dose ZGJTYSF group, medium-dose ZGJTYSF group, high-dose ZGJTYSF group, and dapagliflozin group were significantly lower than that in the model group at weeks 6<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> ( $P < 0.05$ ). UACR in the model group were significantly higher than that in the normal group at weeks 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> ( $P < 0.05$ ). UACR in the low-dose ZGJTYSF group and high-dose ZGJTYSF group was significantly lower than that in the model group at week 4<sup>th</sup> ( $P < 0.05$ ). UACR in the low-dose ZGJTYSF group, medium-dose ZGJTYSF group, high-dose ZGJTYSF group, and dapagliflozin group was significantly lower than that in the model group at week 8<sup>th</sup> ( $P < 0.05$ ). There were no significant differences in Scr, BUN, UA, ALB, ALT and AST between the model group and the normal group ( $P > 0.05$ ). Similarly, no statistically significant differences were observed in these indicators among the low-dose ZGJTYSF group, medium-dose ZGJTYSF group, high-dose ZGJTYSF group, and dapagliflozin group compared with the model group ( $P > 0.05$ ). The glomeruli and tubules of mice were intact in the normal group. Compared with the normal group, the model group exhibited podocyte foot process fusion, mesangial cells proliferation, mesangial matrix expansion, glomerular basement membrane thickening, and interstitial fibrosis. Compared with the model group, the pathological lesions of glomeruli as well as endothelial cells and podocytes were improved in the low-dose ZGJTYSF group, medium-dose ZGJTYSF group, high-dose ZGJTYSF group, and dapagliflozin group. The positive areas of glycogen and collagen fibers in the model group were significantly larger than those in the normal group ( $P < 0.05$ ). The positive areas of glycogen and collagen fibers in the low-dose ZGJTYSF group, medium-dose ZGJTYSF group, high-dose ZGJTYSF group, and dapagliflozin group were significantly smaller than those in the model group ( $P < 0.05$ ). Compared with the normal group, the relative expression levels of ZO-1 mRNA and Smad3 mRNA in renal tissue were significantly higher in the model group ( $P < 0.05$ ). The relative expression levels of ZO-1 mRNA and Smad3 mRNA in renal tissue were significantly lower in the low-dose ZGJTYSF group, medium-dose ZGJTYSF group, high-dose ZGJTYSF group, and dapagliflozin group than those in the model group ( $P < 0.05$ ). Compared with the normal group, the relative expression levels of ZO-1, AP-1 and Smad3 proteins in renal tissue were significantly higher in the model group ( $P < 0.05$ ). The relative expression level of Smad3 protein in renal tissue in the low-dose ZGJTYSF group, medium-dose ZGJTYSF group, high-dose ZGJTYSF group, and dapagliflozin group was significantly lower than that in the model group ( $P < 0.05$ ). Conclusion: Zuogui Jiangtang Yishen formula may delay the progression of diabetic kidney disease by regulating the AP-1/TGF- $\beta$ 1/Smad3 signaling pathway, improving glucose metabolism, and protecting podocytes.

[Keywords] diabetic kidney disease; Zuogui Jiangtang Yishen formula; type 2 diabetes; db/db mouse; AP-1/TGF- $\beta$ 1/Smad3 signaling pathway

糖尿病肾病是糖尿病常见的微血管并发症之一。数据显示,2024年全球20~79岁成年人中约有5.89亿人患有糖尿病,预计到2050年,糖尿病患者总数将增至8.53亿<sup>[1]</sup>。随着糖尿病患者的增加,糖尿病肾病的患病率也呈日益上升的趋势,已成为世界范围内终末期肾脏病的主要病因<sup>[2]</sup>。其病理改变包括肾小球基底膜增厚、肾小球硬化、足细胞凋亡、系膜基质增加及肾小管间质纤维化等<sup>[3-4]</sup>。高糖状态可活化激活蛋白1(activating protein 1, AP-1),促进多种炎症因子如转化生长因子- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)的表达<sup>[5-6]</sup>,导致糖尿病肾病<sup>[7]</sup>。TGF- $\beta$ 1/Smad家族成员3(smads family member 3, Smad3)信号通路是调控糖尿病肾病发生发展的经典途径。抑制TGF- $\beta$ 1/Smad3信号通路的活化可明显改善糖尿病肾病肾脏纤维化程度,减轻肾脏损伤<sup>[8-10]</sup>。

中医药治疗糖尿病肾病有良好的效果<sup>[11-12]</sup>,目前已成为糖尿病肾病研究的重要方向。左归降糖益肾方由左归丸化裁而来,具有滋阴益气、活血解毒之效。课题组前期研究表明,该方可改善糖尿病肾病大鼠糖代谢,减少尿微量白蛋白,抑制肾脏细胞焦亡,延缓疾病进展<sup>[13-14]</sup>,但其作用机制仍待进一步探讨。故本实验以db/db小鼠为糖尿病肾病模型,探讨左归降糖益肾方治疗糖尿病肾病的作用机制。

## 1 材 料

1.1 实验动物 50只6周龄SPF级雄性db/db小鼠和10只6周龄db/m小鼠,体质量(22±3)g,均购自常德卡文斯实验动物有限公司。动物生产许可证号:SCXK(苏)2021-0013;动物质量合格证号:NO.202353230。所有小鼠饲养于湖南中医药大学SPF级实验动物中心,环境温度保持在22~24℃,相对湿度维持在50%~60%,12 h/12 h明暗循环,自由摄食饮水。本实验获湖南中医药大学第一附属医院实验动物伦理委员会审批,伦理审批编号:ZYFY2022111-76。

1.2 药物与试剂 左归降糖益肾方组成:黄芪18 g,丹参9 g,山药12 g,黄连6 g,益母草9 g,牛膝9 g,熟地黄12 g,玉米须12 g,山萸肉12 g。黄芪(批号:CK22092602)、丹参(批号:TH22092602)、山药(批号:CK22101803)、黄连(批号:2022092402)、益母草(批号:2208040032)、牛膝(批号:TH22091401)、熟地黄(批号:2208203)、玉米须(批号:2208086)、山萸肉(批号:2022090103)均购自湖南一方天江药业有限公司,经湖南中医药大学药学院吴勇军教授鉴定为正品。汤剂制备:将上述药物放入煎药机中,加入8倍量水煎煮2次,混合过滤后浓缩,生药质量浓度为2 g/mL,经灭菌后放置于4℃冰箱中储存备用。达格列净(阿斯利康制药有限公司,批号:2210126)用0.9%氯化钠溶液稀释成质量浓度为1.3 mg/kg的溶液;苏木精-伊红(HE)染液(批号:G1076)、过碘酸希夫染色(periodic acid-Schiff stain, PAS)染液(批号:G1008)、马松(Masson)染液(批号:GP1032)均购自武汉赛维尔生物科技有限公司; $\beta$ -actin抗体(批号:AF7018)、TGF- $\beta$ 1抗体(批号:AF1027)均购自美国Affinity公司;紧密连接蛋白1(Zonulaoccludens-1, ZO-1)抗体(批号:A23837)、AP-1抗体(批号:A12481)、Smad3抗体(批号:A21649)均购自美国AAB公司;动物组织总RNA提取试剂盒(北京艾德莱生物科技有限公司,批号:RN0102);无水乙醇(批号:I811925)、异丙醇(批号:I811925)均购自上海麦克林生化科技有限公司;二抗(批号:MD912565)、DEPC

(批号:MD911875)均购自北京百奥思科生物医学技术有限公司;Ultra Pure Agarose(北京博迈德基因技术有限公司,批号:SH441-01);蛋白分子量marker(北京中生奥邦生物,批号:02.15005);实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR) SuperScript III RT逆转录试剂盒(成都市蓉为基因生物科技有限公司,批号:A502);Sybr qPCR mix(美国ABI公司,批号:4472920)。

1.3 主要仪器 分光光度计(杭州优米仪器有限公司,型号:Unano-1000);电泳仪(美国Bio-Rad公司,型号:EPS 300);SDS-PAGE电泳系统(美国Bio-Rad公司,型号:Mini-PRO-TEAN® Tetra Cell, MiniTrans-Blot® Module, PowerPac™ Universal Power Supply);凝胶成像系统(美国UVP公司,型号:GelDoc-It310);凝胶成像仪(北京君意东方电泳设备有限公司,型号:JY02S);化学发光成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司,型号:ChemiScope 6100);荧光定量PCR仪(杭州朗基科学仪器有限公司,型号:Q2000B);台式高速冷冻离心机(北京兰杰柯科技有限公司,型号:CF1524R)。

## 2 方 法

2.1 造模与分组 50只db/db小鼠适应性喂养1周后,以普通饲料喂养8周,制备成糖尿病肾病模型<sup>[15]</sup>,每周定期检测小鼠尿微量白蛋白/肌酐比值(urine albumin to creatinine ratio, UACR)及空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)水平,以FBG $\geq$ 11.1 mmol/L, UACR $\geq$ 30 mg/g判定模型制备成功。将造模成功的db/db小鼠随机分为模型组、左归降糖益肾方低剂量组、左归降糖益肾方中剂量组、左归降糖益肾方高剂量组、达格列净组,每组10只。另取10只db/m小鼠设为正常组。

2.2 给药 按人和动物体表面积<sup>[16]</sup>的等效剂量系数折算法,选用70 kg成人用量换算,左归降糖益肾方低、中、高剂量组分别予低、中、高剂量左归降糖益肾方药液(6.4、12.8、25.6 g/kg)灌胃,达格列净组予达格列净溶液(1.3 mg/kg)灌胃,1次/d,连续8周。正常组和模型组每日予等体积生理盐水(20 mL/kg)灌胃,1次/d,连续8周。

2.3 取材 药物干预后每2周定时尾静脉采血检测FBG,并于给药8周后处死前检测1次。每4周收集1次随机尿液标本,并将标本以4℃、3 000 r/min(离心半径5 cm)离心10 min,分离上清液,以离心管分装,每管1 mL,并于-80℃冰箱中保存,以备后续相关检测。末次给药后,所有小鼠禁食不禁水12 h,称量体质量后使用2%戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉小鼠,眼眶静脉丛取血,室温静置1 h分层,4℃、3 000 r/min(离心半径5 cm)离心15 min,取上层血清储存于-80℃冰箱待后续相关指标的检测。然后迅速解剖小鼠取出肾脏,并称肾脏质量,取大小适宜的肾组织固定在4%多聚甲醛溶液中,用于HE、PAS、Masson染色以观察肾组织病理学改变。取约2 mm×3 mm×3 mm大小的肾脏组织固定在2.5%戊二醛溶液中,用于透射电镜下观察肾组织超微结构;其余肾脏组织用液氮速冻后储存于-80℃冰箱,用于实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测及蛋白质印迹法(Western blotting)检测。

## 2.4 观察指标

2.4.1 UACR 取“2.3”中留取的尿液标本,采用全自动生化仪检测UACR。

2.4.2 空腹血糖 干预期间每2周,即第0、2、4、6、8周,定时(禁食不禁水12 h)检测FBG,用75%乙醇消毒小鼠尾部,刺破

尾尖静脉,取第2滴血用血糖仪检测。

2.4.3 肝功能、肾功能 将储存于-80℃冰箱中的血清取出,采用全自动生化仪检测血清白蛋白(albumin, ALB)、丙氨酸氨基转移酶(alanine amino-transferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate transferase, AST)、血肌酐(creatinine, Cr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、尿酸(uric acid, UA)水平。

2.4.4 肾脏病理及电镜观察 将固定在4%多聚甲醛溶液中的肾脏组织取出,进行脱水,包埋,切片,HE、PAS、Masson染色,显微镜下观察肾脏组织病理变化;取2 mm×3 mm×3 mm大小的肾组织放于电镜固定液中,透射电镜观察肾脏组织的超微结构。PAS糖原阳性呈紫红色,使用Image J软件评估PAS染色结果,计算肾组织的糖原阳性面积占比。肾脏组织糖原阳性面积占比=(糖原阳性面积/总面积)×100%。Masson胶原纤维呈蓝色,使用Image J软件评估Masson染色结果,计算肾组织的胶原纤维面积占比。肾脏组织胶原纤维面积占比=(胶原纤维面积/总面积)×100%。

2.4.5 肾组织ZO-1 mRNA、AP-1 mRNA、TGF-β1 mRNA、Smad3 mRNA表达水平 取适量肾组织,采用Trizol法提取总RNA,核酸浓度测定仪测定RNA浓度和纯度;使用逆转录试剂盒Exon ScriptRT Super Mix with dsDNase合成cDNA。按以下反应条件进行PCR扩增:95℃预变性5 min,95℃变性10 s,58℃退火20 s,72℃延伸20 s,共40个循环。熔解曲线反应程序:95℃15 s,60℃60 s;温度缓慢上升(20 min),95℃15 s。记录CT值,以2<sup>-ΔΔCt</sup>测定目的基因相对表达量。引物合成由武汉金开瑞生物工程有限公司完成,引物序列见表1。

表1 引物序列

目的基因	引物序列(5'-3')	扩增产物长度/bp
Actin	上游:ACCCAGATCATGTTGAGACCT	82
	下游:GACCAGAGGCATACAGGGACAAC	
ZO-1	上游:GTTGCCCTCACAGTACAGCC	188
	下游:GGTCTTCTCGAGTTGGTGGT	
AP-1	上游:GGGGAGCATTTGGAGAGTCC	61
	下游:CCCGGACTTGTGAGCTTCTT	
TGF-β1	上游:ACTCTCCACCTGCAAGACC	96
	下游:CTGGCGAGCCTTAGTTGGAC	
Smad3	上游:GTGCTCCATCTCCTACTACGA	88
	下游:AGTGAAGCCATCTACTGTCA	

2.4.6 肾组织ZO-1、AP-1、TGF-β1、Smad3蛋白表达水平 提取小鼠肾脏组织总蛋白,加入蛋白裂解液后,4℃、12 000 r/min(离心半径5 cm)离心15 min,收集上清,BCA法测定蛋白浓度,蛋白上样Buffer将蛋白定量为4 mg/mL,-20℃保存备用。将总蛋白样品与5×样缓冲液混合均匀,95℃变性10 min,制备SDS-PAGE凝胶(10%分离胶、5%浓缩胶)进行电泳,随后转印至NC膜[转膜前NC膜先置于100%甲醇中浸泡2~3 min,水、电转液依次漂洗(2分组×2次),置于电转移液中]。转移膜置于封闭液中1 h后,加入一抗TGF-β1(1:1 000)、ZO-1(1:1 000)、AP-1(1:1 000)、Smad3(1:1 000),β-actin抗体(1:3 000),4℃孵育过夜,TBST洗脱一抗后加入二抗(1:300),室温孵育60 min,TBST充分洗涤。使用ECL法显色,Image J软件分析条带灰度值。

2.5 统计学方法 采用SPSS 29.0软件进行统计,计量资料以“均数±标准差”(x̄±s)表示。若数据符合正态分布且方差齐时,采用单因素方差分析(One-way ANOVA),涉及多时间节点的重复测量计量资料,采用重复测量方差分析;方差不齐时采用最小显著性差异法(LSD)进行组间两两比较,方差不齐时采用Dunnett's T3法进行组间两两比较。若数据不符合正态分布,采用非参数检验。P<0.05为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠FBG比较 所有小鼠不同时间点FBG比较,差异无统计学意义(P>0.05),即不存在时间效应。各组小鼠FBG总体比较,差异有统计学意义(P<0.05),即存在分组效应;第2、4、6、8周,模型组小鼠FBG高于正常组(P<0.05);第6、8周,左归降糖益肾方低、中、高剂量组及达格列净组小鼠FBG低于模型组(P<0.05)。时间因素与分组因素存在交互效应(P<0.05),即各组小鼠FBG变化幅度不一致。(见表2、图1)

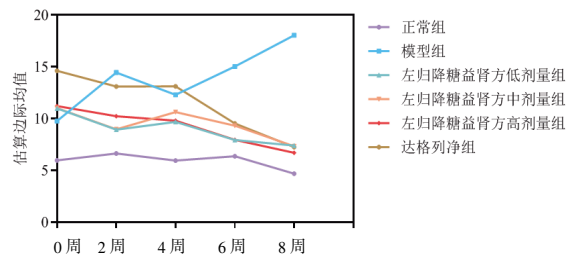


图1 FBG交互效应轮廓图

3.2 各组小鼠UACR比较 所有小鼠不同时间点UACR比较,差异无统计学意义(P>0.05),即不存在时间效应。各组小

表2 各组小鼠FBG比较 (x̄±s, mmol/L)

组别	n	给药剂量	第0周	第2周	第4周	第6周	第8周	F	P
正常组	10		5.97±0.85	6.63±0.44	5.95±0.39	6.37±0.27	4.70±0.24	0.575	0.683
模型组	10		9.77±2.12	14.45±5.27 <sup>a</sup>	12.32±2.54 <sup>a</sup>	15.03±4.17 <sup>a</sup>	18.05±9.82 <sup>a</sup>	3.729	0.015
左归降糖益肾方低剂量组	10	6.4 g/kg	10.98±3.28	8.93±1.88	9.68±1.86	7.95±1.74 <sup>b</sup>	7.40±0.52 <sup>b</sup>	0.986	0.432
左归降糖益肾方中剂量组	10	12.8 g/kg	11.03±1.57	8.97±1.09	10.63±1.99	9.32±4.33 <sup>b</sup>	7.33±0.50 <sup>b</sup>	0.877	0.491
左归降糖益肾方高剂量组	10	25.6 g/kg	11.22±2.02	10.23±3.69	9.80±3.16	7.97±0.86 <sup>b</sup>	6.72±0.42 <sup>b</sup>	1.181	0.341
达格列净组	10	1.3 mg/kg	14.62±5.55	13.10±3.94	13.12±6.55	9.53±2.66 <sup>b</sup>	7.27±0.57 <sup>b</sup>	3.162	0.030
F			5.268	4.904	3.407	6.896	8.337		
P			0.001	0.002	0.015	0.000	0.000		

注:F<sub>时间主效应</sub>=2.588, P<sub>时间主效应</sub>=0.054; F<sub>分组主效应</sub>=14.830, P<sub>分组主效应</sub>=0.000; F<sub>交互效应</sub>=2.712, P<sub>交互效应</sub>=0.001;与正常组比较,<sup>a</sup>P<0.05;与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.05。

鼠UACR总体比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),即存在分组效应;第4、8周,模型组小鼠UACR水平高于正常组( $P<0.05$ );第4周,左归降糖益肾方低、高剂量组小鼠UACR水平低于模型组( $P<0.05$ );第8周,左归降糖益肾方低、中、高剂量组及达格列净组小鼠UACR水平低于模型组( $P<0.05$ )。时间因素与分组因素不存在交互效应( $P>0.05$ )。(见表3、图2)

表3 各组小鼠UACR比较 ( $\bar{x}\pm s$ , mg/g)

组别	n	给药剂量	第0周	第4周	第8周	F	P
正常组	10		3.90±2.00	4.79±1.27	5.44±0.31	0.004	0.996
模型组	10		114.33±128.02	174.68±135.43 <sup>a</sup>	155.50±96.76 <sup>a</sup>	4.460	0.020
左归降糖益肾方低剂量组	10	6.4 g/kg	50.92±31.30	36.24±18.61 <sup>b</sup>	35.64±17.49 <sup>b</sup>	0.471	0.629
左归降糖益肾方中剂量组	10	12.8 g/kg	76.09±44.78	61.99±37.50	36.88±5.46 <sup>b</sup>	2.915	0.070
左归降糖益肾方高剂量组	10	25.6 g/kg	49.68±26.12	50.34±35.67 <sup>b</sup>	24.45±29.17 <sup>b</sup>	1.380	0.268
达格列净组	10	1.3 mg/kg	105.12±61.69	72.92±61.45	41.77±9.57 <sup>b</sup>	7.482	0.002
F			2.508	4.796	9.618		
P			0.052	0.002	0.000		

注:  $F_{\text{时间主效应}}=2.345$ ,  $P_{\text{时间主效应}}=0.116$ ;  $F_{\text{分组主效应}}=5.976$ ,  $P_{\text{分组主效应}}=0.000$ ;  $F_{\text{交互效应}}=1.726$ ,  $P_{\text{交互效应}}=0.114$ ; 与正常组比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P<0.05$ 。

3.3 各组小鼠肝功能、肾功能比较 模型组小鼠血清ALB、ALT、AST、Scr、BUN、UA与正常组比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ );左归降糖益肾方低、中、高剂量组及达格列净组小鼠肾功能、肝功能指标与模型组比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。(见表4)

表4 各组小鼠肾功能、肝功能比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	给药剂量	ALB/(g/L)	ALT/(U/L)	AST/(U/L)	Scr/( $\mu\text{mol/L}$ )	BUN/(mmol/L)	UA/( $\mu\text{mol/L}$ )
正常组	10		38.21±2.03	35.66±7.79	72.17±6.59	31.40±5.74	7.80±1.01	87.10±21.40
模型组	10		37.28±4.28	52.48±15.03	79.75±27.89	28.00±1.82	6.34±1.38	128.40±64.51
左归降糖益肾方低剂量组	10	6.4 g/kg	34.96±2.64	57.79±25.09	102.35±41.65	26.80±4.24	6.95±2.09 <sup>a</sup>	232.00±49.38 <sup>a</sup>
左归降糖益肾方中剂量组	10	12.8 g/kg	37.46±2.86	57.97±43.39	89.29±39.46	27.60±2.27	6.40±0.64 <sup>a</sup>	232.60±49.17 <sup>a</sup>
左归降糖益肾方高剂量组	10	25.6 g/kg	37.38±2.39	51.16±22.41	79.24±16.00	27.20±4.42	6.19±0.76	187.40±86.17
达格列净组	10	1.3 mg/kg	35.30±2.40	52.57±21.55	85.05±13.84	29.20±3.97	5.99±0.96 <sup>a</sup>	227.50±58.29 <sup>a</sup>
检验统计量			$H=11.516$	$H=8.877$	$H=6.943$	$H=5.411$	$F=3.943$	$H=27.674$
P			0.042	0.114	0.225	0.368	0.009	0.000

注:与正常组比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ 。

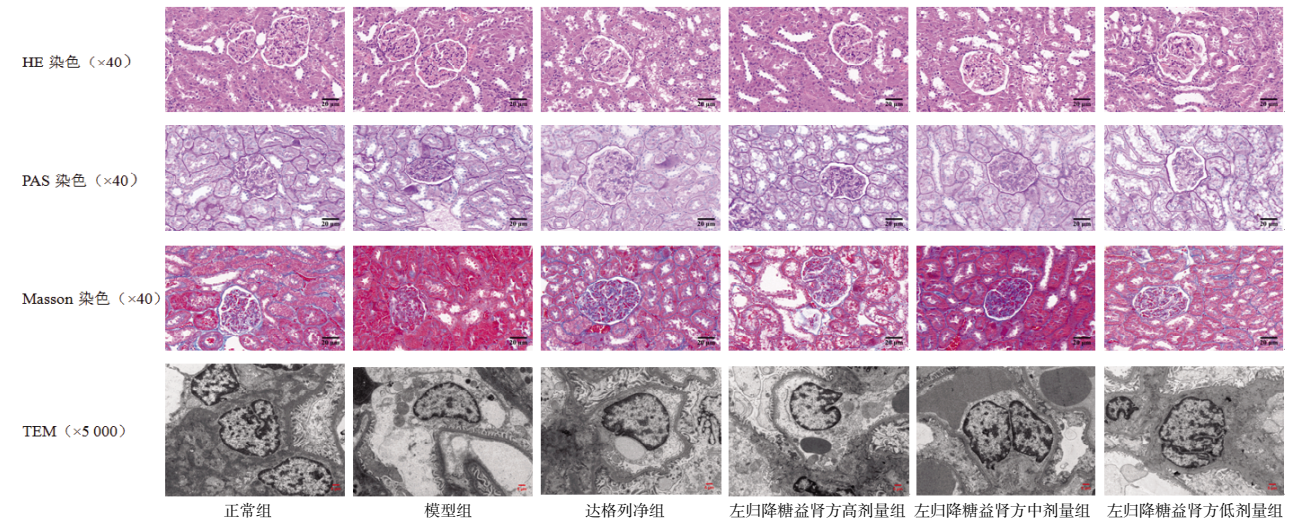


图3 小鼠肾组织病理学形态

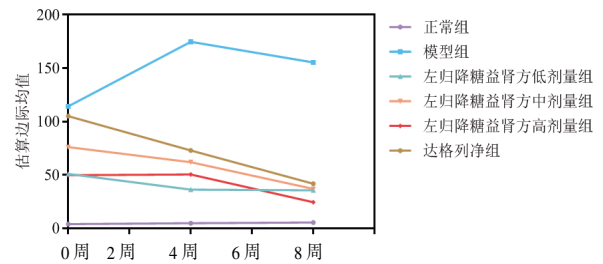


图2 UACR交互效应轮廓图

3.4 小鼠肾脏病理及电镜观察 HE、PAS、Masson染色结果显示,正常组小鼠肾小球、肾小管结构完整。与正常组比较,模型组小鼠肾小球体积增大,球囊腔壁层细胞增生,球囊腔缩窄,系膜细胞和基质增生,基底膜增厚,部分肾小管萎缩、上皮细胞坏死,间质内可见大量胶原纤维增生。电镜结果显示,正常组小鼠肾小球基质和系膜未见明显异常变化,基底膜均匀无增厚,足细胞突起交错排列,形成滤过裂隙,胞质分布均匀。模型组小鼠肾小球基底膜弥漫性均质增厚,部分足突融合或消失,内皮细胞肿胀,内皮窗孔结构消失。与模型组比较,左归降糖益肾方低、中、高剂量组及达格列净组小鼠肾脏组织病理变化均有不同程度改善。达格列净组小鼠肾小球足细胞足突部分融合减少。左归降糖益肾方高剂量组小鼠内皮细胞水肿减轻,基底膜增厚缓解。(见图3)

模型组小鼠肾组织糖原阳性面积占比和胶原纤维阳性面积占比大于正常组( $P<0.05$ );左归降糖益肾方低、中、高剂量组及达格列净组小鼠肾组织糖原阳性面积占比和胶原纤维

维阳性面积占比小于模型组( $P<0.05$ )。(见表5)

表5 各组小鼠肾组织糖原阳性面积占比和胶原纤维阳性面积占比比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	给药剂量	糖原阳性面积占比/%	胶原纤维阳性面积占比/%
正常组	10		7.90 ± 1.28	16.28 ± 3.73
模型组	10		15.09 ± 2.21 <sup>a</sup>	25.96 ± 2.87 <sup>a</sup>
左归降糖益肾方低剂量组	10	6.4 g/kg	12.86 ± 1.32 <sup>ab</sup>	21.70 ± 2.75 <sup>ab</sup>
左归降糖益肾方中剂量组	10	12.8 g/kg	11.95 ± 1.93 <sup>ab</sup>	19.60 ± 2.99 <sup>ab</sup>
左归降糖益肾方高剂量组	10	25.6 g/kg	11.63 ± 2.00 <sup>ab</sup>	18.63 ± 2.02 <sup>ab</sup>
达格列净组	10	1.3 mg/kg	9.83 ± 1.44 <sup>ab</sup>	16.86 ± 1.67 <sup>ab</sup>
F			20.340	16.892
P			0.000	0.000

注:与正常组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

3.5 各组小鼠肾组织ZO-1 mRNA、AP-1 mRNA、TGF-β1 mRNA、Smad3 mRNA相对表达量比较 模型组小鼠肾组织ZO-1 mRNA、Smad3 mRNA相对表达量高于正常组( $P<0.05$ );左归降糖益肾方低、中、高剂量组和达格列净组小鼠肾组织ZO-1 mRNA、Smad3 mRNA相对表达量低于模型组( $P<0.05$ );各组小鼠肾组织AP-1 mRNA、TGF-β1 mRNA相对表达量比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。(见表6)

表6 各组小鼠肾组织ZO-1 mRNA、AP-1 mRNA、TGF-β1 mRNA、Smad3 mRNA相对表达量比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	给药剂量	ZO-1 mRNA	AP-1 mRNA	TGF-β1 mRNA	Smad3 mRNA
正常组	10		0.99 ± 0.07	1.01 ± 0.08	1.02 ± 0.09	1.00 ± 0.05
模型组	10		2.10 ± 0.12 <sup>a</sup>	1.42 ± 0.08	1.39 ± 0.14	1.66 ± 0.08 <sup>a</sup>
左归降糖益肾方低剂量组	10	6.4 g/kg	1.45 ± 0.07 <sup>ab</sup>	1.17 ± 0.11	1.21 ± 0.14	1.33 ± 0.07 <sup>ab</sup>
左归降糖益肾方中剂量组	10	12.8 g/kg	1.47 ± 0.10 <sup>ab</sup>	1.18 ± 0.15	1.24 ± 0.07	1.32 ± 0.09 <sup>ab</sup>
左归降糖益肾方高剂量组	10	25.6 g/kg	1.14 ± 0.19 <sup>b</sup>	1.14 ± 0.19	1.27 ± 0.12	1.28 ± 0.09 <sup>ab</sup>
达格列净组	10	1.3 mg/kg	1.14 ± 0.16 <sup>b</sup>	1.14 ± 0.16	1.31 ± 0.10	1.26 ± 0.09 <sup>ab</sup>
检验统计量			F=29.315	F=2.856	H=9.327	F=21.376
P			0.000	0.063	0.097	0.000

注:与正常组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$

3.6 各组小鼠肾组织ZO-1、AP-1、TGF-β1、Smad3蛋白相对表达量比较 模型组小鼠肾组织ZO-1、AP-1、Smad3蛋白相对表达量高于正常组( $P<0.05$ );左归降糖益肾方低、中、高剂量组及达格列净组小鼠肾组织Smad3蛋白相对表达量低于模型组( $P<0.05$ )。(见图4、表7)

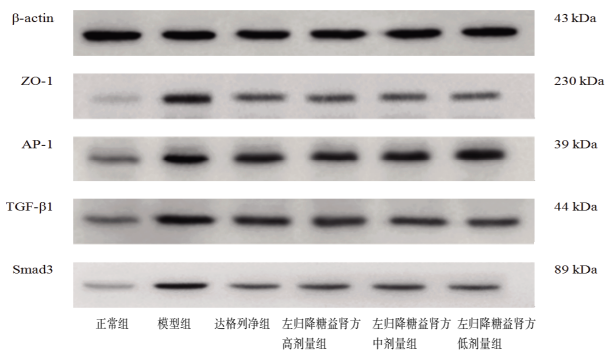


图4 各组小鼠肾组织ZO-1、AP-1、TGF-β1、Smad3蛋白表达 Western blotting图

表7 各组小鼠肾组织ZO-1、AP-1、TGF-β1、Smad3蛋白相对表达量比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	给药剂量	ZO-1	AP-1	TGF-β1	Smad3
正常组	10		0.30 ± 0.07	0.49 ± 0.03	0.51 ± 0.08	0.46 ± 0.06
模型组	10		0.64 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.78 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.78 ± 0.06	0.79 ± 0.09 <sup>a</sup>
左归降糖益肾方低剂量组	10	6.4 g/kg	0.53 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.62 ± 0.05	0.63 ± 0.10	0.63 ± 0.11 <sup>ab</sup>
左归降糖益肾方中剂量组	10	12.8 g/kg	0.55 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.62 ± 0.04	0.64 ± 0.12	0.63 ± 0.12 <sup>ab</sup>
左归降糖益肾方高剂量组	10	25.6 g/kg	0.54 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.60 ± 0.05	0.60 ± 0.09	0.63 ± 0.06 <sup>ab</sup>
达格列净组	10	1.3 mg/kg	0.53 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.59 ± 0.08	0.58 ± 0.12	0.61 ± 0.10 <sup>b</sup>
检验统计量			F=6.644	H=12.602	H=7.480	F=3.909
P			0.003	0.027	0.187	0.025

注:与正常组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

#### 4 讨论

糖尿病肾病是糖尿病的并发症之一,早期临床表现以微量白蛋白尿为主,疾病进展后期出现大量蛋白尿并伴随进行性肾功能损害及高血压。中医学认为其当属“消渴病”之“下消”及“水肿”“虚劳”等范畴。对于糖尿病肾病的病机,中医学界尚无统一论,普遍认为本病为本虚标实之证。基本病机在于气阴两虚,常兼夹痰凝、湿聚,血瘀等实邪。其演变过程可以分为3个阶段:疾病初起多为气阴两虚渐至肝肾阴虚;随着病情迁延进展,病变常损及脾肾之阳,表现为脾肾阳虚;病情进入终末阶段,则多见浊毒瘀阻、五脏受损,终致气血阴阳俱衰<sup>[7]</sup>。近年来越来越多的学者指出糖尿病肾病的治疗当重视“痰瘀”“毒损肾络”或“肾虚血瘀”等理论<sup>[18-22]</sup>。课题组结合临床与文献调研认为,糖尿病肾病的主要病机在于气阴两虚,血瘀毒蕴,治疗上以滋阴益气、活血解毒为法,以求扶正固本兼治标实,并据此化裁张景岳创立的左归丸组成左归降糖益肾方。该方具有滋阴益气、活血解毒、利尿消肿等功效。方中重用熟地黄,滋阴养肾,以填真阴;黄芪、山药益气健脾;酒山萸肉、牛膝补肝肾,强腰膝;黄连清热燥湿,泻火解毒;丹参、益母草活血化瘀;玉米须清热利湿,利尿消肿<sup>[23]</sup>。

db/db小鼠因瘦素受体基因突变,导致瘦素信号转导障碍,进而出现肥胖、高血糖及胰岛素抵抗,引起自发性2型糖尿病,并可逐渐出现蛋白尿、系膜基质扩张及肾小球肥大等特征<sup>[15]</sup>。这与人类糖尿病肾病表现相似。故本实验选用db/db小鼠作为研究对象。结果表明,模型组小鼠空腹血糖升高,尿蛋白增加,肾组织肾小球肥大,肾小管结构不清晰,上皮细胞坏死,系膜细胞增生,基底膜增厚,足突消失,内皮细胞肿胀,提示小鼠存在早期糖尿病肾病肾脏病理改变。经左归降糖益肾方、达格列净干预后,小鼠空腹血糖、UACR降低,肾组织足突部分恢复、融合减少,内皮细胞水肿减轻,肾小球基底膜增厚缓解,表明左归降糖益肾方、达格列净可减少尿蛋白,改善糖尿病肾病小鼠糖代谢,减轻肾脏病理损伤。此外,左归降糖益肾方和达格列净对糖尿病肾病小鼠肝功能和肾功能的影响无明显差别,可能与糖尿病肾病处于早期相关。

蛋白尿是糖尿病肾病主要临床表现。正常情况下,白蛋白等带负电荷的物质和超过一定分子量的物质不能透过由肾小球足细胞、内皮细胞和肾小球基底膜共同构成的肾小球滤过屏障。但在高血糖刺激、血流动力改变等各种因素的作

用下,肾小球滤过屏障受到破坏,白蛋白等物质从滤过膜滤出,超过了肾小管重吸收的能力,使尿中蛋白漏出,导致蛋白尿。足细胞作为肾小球滤过屏障的重要组成部分,其损伤是导致蛋白尿及糖尿病肾病发生发展的关键环节。左归降糖益肾方可抑制足细胞凋亡、改善足细胞损伤、减少尿蛋白从而保护肾脏<sup>[24-25]</sup>,但其作用机制尚不清楚。ZO-1是一种连接蛋白,在肾小球上主要集中于足细胞裂孔隔膜伸入足突处的胞质侧。它能将跨膜蛋白连接到肌动蛋白细胞骨架上,对细胞间紧密连接的形成及其稳定性的维持起到了重要作用<sup>[26]</sup>。研究发现,高糖环境可导致ZO-1表达及分布异常,破坏足细胞间紧密连接,使足细胞对血浆蛋白的通透性增加,引发蛋白尿<sup>[27]</sup>。同时这些改变还可能促进糖尿病肾病的发生发展<sup>[28]</sup>。调控ZO-1的表达可降低足细胞通透性,修复屏障功能,减轻损伤<sup>[29]</sup>。由于其表达、定位的特殊性直接影响足细胞结构与肾小球滤过屏障的功能,本研究选择ZO-1作为足细胞损伤标志物。结果发现模型组小鼠肾组织ZO-1 mRNA及ZO-1蛋白表达水平高于正常组,而给予左归降糖益肾方干预后,小鼠ZO-1 mRNA及ZO-1蛋白表达均下调,提示左归降糖益肾方能够减轻糖尿病肾病小鼠肾脏足细胞损害。

TGF- $\beta$ 1是多功能细胞因子,能促进细胞分化、增殖、凋亡、细胞外基质沉积、组织器官纤维化<sup>[30]</sup>。Smad蛋白是TGF- $\beta$ 1下游的主要信号转导分子。TGF- $\beta$ 1信号可结合II型跨膜受体,磷酸化招募并激活I型跨膜受体,进而在羧基末端的丝氨酸残基处磷酸化并激活Smad2和Smad3。活化的Smad2、Smad3再与Smad4结合,形成复合物并转移到细胞核内,促进细胞外基质沉积,从而发挥促纤维化作用<sup>[30-32]</sup>。其中TGF- $\beta$ 1/Smad3通路在糖尿病肾病的进程中起重要作用。在db/db小鼠中,Smad3可促进肾纤维化的发展,而这一过程可通过敲除Smad3来抑制<sup>[33]</sup>。多项实验证实,抑制TGF- $\beta$ 1/Smad3信号通路的活化可明显改善糖尿病肾病肾脏纤维化程度,减轻肾脏损伤<sup>[8-10]</sup>。AP-1是一种由Fos蛋白家族和Jun蛋白家族组成的异二聚体蛋白转录因子。研究发现,TGF- $\beta$ 1的基因启动子中含有两个AP-1的结合位点<sup>[34]</sup>,其表达水平可由AP-1调控<sup>[35]</sup>。高糖环境可刺激AP-1的活化,进而与TGF- $\beta$ 1启动子中的AP-1位点结合,上调TGF- $\beta$ 1表达<sup>[36]</sup>,导致细胞毒性损伤和功能障碍<sup>[7]</sup>。而敲低AP-1亚基或使用抑制剂阻断AP-1信号通路可下调TGF- $\beta$ 1表达<sup>[37]</sup>。YAMAMURA Y等<sup>[38]</sup>研究发现,Smad3/Smad4和特定形式的AP-1复合物可协同介导TGF- $\beta$ 1的凋亡信号传导。这提示AP-1可与Smad3发生交互,共同参与TGF- $\beta$ 1的信号转导。张慧等<sup>[39]</sup>研究表明,抑制TGF- $\beta$ 1/Smad/AP-1信号通路的激活,可显著减轻慢性肾衰竭大鼠肾纤维化程度,从而发挥肾脏保护作用。本研究结果表明,模型组小鼠肾组织Smad3 mRNA相对表达量及AP-1、TGF- $\beta$ 1、Smad3蛋白相对表达量均升高。左归降糖益肾方干预后,Smad3 mRNA及Smad3蛋白表达均下调,提示左归降糖益肾方可能通过靶向调控AP-1/TGF- $\beta$ 1/Smad3信号通路激活,发挥肾脏保护作用。

综上所述,左归降糖益肾方可通过调控AP-1/TGF- $\beta$ 1/Smad3信号通路,改善糖尿病肾病小鼠糖代谢,保护足细胞,减少蛋白漏出,减轻肾脏组织病理改变,从而达到延缓糖尿

病肾病进展的目的。

## 参考文献

- [1] GENITSARIDI I, SALPEA P, SALIM A, et al. 11<sup>th</sup> edition of the IDF Diabetes Atlas: Global, regional, and national diabetes prevalence estimates for 2024 and projections for 2050[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2026, 14(2): 149-156.
- [2] ZHANG L X, LONG J Y, JIANG W S, et al. Trends in chronic kidney disease in China[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(9): 905-906.
- [3] 中华医学会肾脏病学分会专家组. 糖尿病肾脏疾病临床诊疗中国指南[J]. *中华肾脏病杂志*, 2021, 37(3): 255-304.
- [4] KRIZ W, LÖWEN J, GRÖNE H J. The complex pathology of diabetic nephropathy in humans[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2023, 38(10): 2109-2119.
- [5] SANCHEZ A P, SHARMA K. Transcription factors in the pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. *Expert Rev Mol Med*, 2009, 11: e13.
- [6] TAN Y S, CAO H M, LI Q F, et al. The role of transcription factor Ap1 in the activation of the Nrf2/ARE pathway through TET1 in diabetic nephropathy[J]. *Cell Biol Int*, 2021, 45(8): 1654-1665.
- [7] RAMANA K V. ALDOSE REDUCTASE: New insights for an old enzyme[J]. *Biomol Concepts*, 2011, 2(1-2): 103-114.
- [8] 应勤丽, 黄月碧, 杨秀翠, 等. 圣草酚通过抑制TGF- $\beta$ 1/Smad3信号通路改善糖尿病肾病大鼠肾纤维化[J]. *中国免疫学杂志*, 2023, 39(4): 693-697.
- [9] ZHANG J T, QIN Y, LIU J, et al. Effect of miR-29a-3p on renal interstitial fibrosis in diabetic kidney disease through FOXPI-mediated TGF- $\beta$ 1/Smad3 signaling pathway[J]. *Cytotechnology*, 2025, 77(3): 120.
- [10] DONG L N, YU L, ZHONG J. Histone lysine-specific demethylase 1 induced renal fibrosis via decreasing sirtuin 3 expression and activating TGF- $\beta$ 1/Smad3 pathway in diabetic nephropathy [J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2022, 14(1): 2.
- [11] 彭电, 黄娟, 丑安, 等. 中药治疗慢性肾脏病的研究进展[J]. *中医导报*, 2022, 28(3): 135-142.
- [12] 刘晓芹, 王雯, 程丽霞. 中医药治疗糖尿病肾脏病的现状及研究进展[J]. *中医导报*, 2024, 30(6): 152-155.
- [13] 胡淑娟, 李旭华, 刘秀, 等. 左归降糖益肾方调控miRNA-27a/Wnt/ $\beta$ -catenin通路对糖尿病肾病大鼠的影响及机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(19): 90-97.
- [14] HU S J, LI X H, LIU X, et al. Effects of Zuogui Jiangtang Yishen Formula in regulating the NLRP3/caspase-1/GSDMD signaling axis on pyroptosis in rats with diabetic kidney disease [J]. *Digital Chinese*

- Medicine, 2025, 8(3):379-388.
- [15] SHARMA K, MCCUE P, DUNN S R. Diabetic kidney disease in the db/db mouse[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2003, 284(6):F1138-F1144.
- [16] NAIR A, MORSY M A, JACOB S. Dose translation between laboratory animals and human in preclinical and clinical phases of drug development[J]. *Drug Dev Res*, 2018, 79(8):373-382.
- [17] 余江毅,倪青,刘苏.糖尿病肾病病证结合诊疗指南[J].*中医杂志*, 2022, 63(2): 190-197.
- [18] 冯辉,刘永林,陈益民.痰、瘀、毒与糖尿病肾病[J].*江西中医药大学学报*, 2016, 28(2): 11-12.
- [19] 程汉桥.糖尿病肾病从“痰瘀”辨治的中医治疗体会[J].*光明中医*, 2014, 29(11):2398, 2409.
- [20] 刘秀,武明珠,喻嵘,等.滋阴益气、活血解毒法在糖尿病肾病治疗中的应用[J].*中国中医急症*, 2017, 26(9): 1566-1568.
- [21] 于敏,张波,史耀勋,等.南征教授“毒损肾络”理论学说探析及临床运用[J].*中华中医药学刊*, 2010, 28(2):243-246.
- [22] 李娜,马钰,董奥,等.国医大师张大宁教授从“肾虚血瘀”辨证论治糖尿病肾脏病经验[J].*世界中西医结合杂志*, 2023, 18(4):668-670, 686.
- [23] 惠博平,易子漾,陈林,等.左归降糖益肾方HPLC指纹图谱及4种成分的含量测定研究[J].*湖南中医药大学学报*, 2023, 43(8):1421-1429.
- [24] 罗文娟,喻嵘,唐元,等.左归降糖益肾方对2型糖尿病肾病小鼠足细胞凋亡的影响[J].*中医杂志*, 2015, 56(6):511-514.
- [25] 印红爱,吴勇军,喻嵘,等.左归降糖益肾方对2型糖尿病肾病小鼠足细胞nephrin与podocin表达的影响[J].*中国中医药信息杂志*, 2014, 21(3):53-57.
- [26] GONZÁLEZ-MARISCAL L, BETANZOS A, AVILA-FLORES A. MAGUK proteins: Structure and role in the tight junction[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2000, 11(4): 315-324.
- [27] ITOH M, NAKADATE K, HORIBATA Y, et al. The structural and functional organization of the podocyte filtration slits is regulated by Tjp1/ZO-1[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9):e106621.
- [28] RINCON-CHOLES H, VASYLYEVA T L, PERGOLA P E, et al. ZO-1 expression and phosphorylation in diabetic nephropathy[J]. *Diabetes*, 2006, 55(4): 894-900.
- [29] TANG Y W, JIANG M Y, CAO J W, et al. Trip-tolide decreases podocytes permeability by regulating TET2-mediated hydroxymethylation of ZO-1[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2024, 249:10051.
- [30] ZHANG Y Q, JIN D, KANG X M, et al. Signaling pathways involved in diabetic renal fibrosis[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:696542.
- [31] WANG L, WANG H L, LIU T T, et al. TGF-beta as a master regulator of diabetic nephropathy[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(15):7881.
- [32] 陈彦旭,姜晓雪,张钦媛,等.TGF-beta/Smad信号通路在糖尿病肾病中的作用及中药干预的研究进展[J].*中国中药杂志*, 2023, 48(10):2630-2638.
- [33] XU B H, SHENG J Y, YOU Y K, et al. Deletion of Smad3 prevents renal fibrosis and inflammation in type 2 diabetic nephropathy[J]. *Metabolism*, 2020, 103:154013.
- [34] RUIZ-TORRES M P, PEREZ-RIVERO G, DIEZ-MARQUES M L, et al. Role of activator protein-1 on the effect of arginine-Glycine-aspartic acid containing peptides on transforming growth factor-beta1 promoter activity[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(1):133-145.
- [35] YI H A, JIANG Y B, LI W, et al. Scutellarin prevents obesity-induced renal fibrosis via reduced activation of AP-1[J]. *J Transl Med*, 2025, 23(1):611.
- [36] WEIGERT C, SAUER U, BRODBECK K, et al. AP-1 proteins mediate hyperglycemia-induced activation of the human TGF-beta1 promoter in mesangial cells[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2000, 11(11):2007-2016.
- [37] ZHOU P, WAN X X, ZOU Y, et al. Transforming growth factor beta (TGF-beta) is activated by the CtBP2-p300-API transcriptional complex in chronic renal failure[J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(2):204-215.
- [38] YAMAMURA Y, HUA X, BERGELSON S, et al. Critical role of Smads and AP-1 complex in transforming growth factor-beta-dependent apoptosis[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(46):36295-36302.
- [39] 张慧,罗进辉,杨柳,等.黄芪多糖调节TGF-beta1/Smad/AP-1信号通路对慢性肾衰竭大鼠肾纤维化的影响[J].*中国老年学杂志*, 2024, 44(16):4040-4044.

(收稿日期:2026-02-12 编辑:蒋凯彪)

(上接第32页)

- [19] CHEN L, LI L, HAN Y, et al. Tong-fu-li-Fei decoction exerts a protective effect on intestinal barrier of sepsis in rats through upregulating ZO-1/occludin/claudin-1 expression[J]. *J Pharmacol Sci*, 2020, 143(2):89-96.
- [20] TAN F, CAO Y L, ZHENG L, et al. Diabetes exacerbated sepsis-induced intestinal injury by promoting M1 macrophage polarization via miR-3061/Snail1 signaling[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:922614.
- [21] CHEN H Z, YU Z F, QI Z M, et al. Tongfu Lifei decoction attenuated sepsis-related intestinal mucosal injury through regulating Th17/treg balance and modulating gut microbiota[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2024, 44(5):208-220.

(收稿日期:2025-06-10 编辑:刘国华)