桑枝总生物碱改善糖尿病肾病小鼠肾损伤 作用机制研究

郭思佳¹, 倪天奕¹, 朱雨洁¹, 周中源^{2*}

¹南京医科大学康达学院临床医学部,江苏 连云港 ²暨南大学附属顺德医院疼痛科,广东 佛山

收稿日期: 2025年4月24日; 录用日期: 2025年5月21日; 发布日期: 2025年5月30日

摘要

目的:探讨桑枝总生物碱(Sangzhi alkaloids, SZ-A)对糖尿病肾病小鼠肾损伤的改善作用机制。方法:将 db/m小鼠作为对照组、db/db小鼠随机分为模型组(db/db组)和桑枝总生物碱治疗组(SZ-A组),SZ-A组 小鼠接受SZ-A灌胃12周处理。对各组小鼠检测体重、空腹血糖以及血清ALP、BUN、CREA等指标,并结 合HE、PAS染色观察肾组织病理改变,同时利用ELISA和Western blot检测氧化应激、炎症因子(TNF-α, IL-6, IL-1β)和纤维化标志物(TGF-β1, Collagen IV, α-SMA)以及凋亡相关蛋白(Cleaved Caspase-3, Bax, Bcl-2)的表达水平。结果:db/db小鼠较db/m组呈现显著高血糖及肾功能异常,表现为血清ALP、BUN、 CREA水平升高,同时伴随氧化应激标志物SOD活性下降与MDA、LDH水平上升。该组小鼠肾脏组织出现 显著炎症反应,TNF-α、IL-6、IL-1β等促炎因子表达增强,并伴有TGF-β1介导的纤维化进程加速,Collagen IV和α-SMA异常沉积。p38 MAPK通路异常激活及Cleaved Caspase-3、Bax、Bcl-2凋亡调控失衡进一步 加重肾损伤(P < 0.05)。经SZ-A治疗后,上述高血糖、肾功能障碍、氧化损伤及炎症反应均获显著缓解, 肾组织纤维化程度减轻,病理结构改善,同时TGF-β1/p38 MAPK信号转导及细胞凋亡相关蛋白表达趋于 正常化(P < 0.05)。结论: SZ-A能显著改善糖尿病肾病小鼠的肾损伤,其作用机制可能与抑制TGF-β1/p38 MAPK纤维化信号通路以及调控细胞凋亡和炎症反应密切相关。

关键词

桑枝总生物碱,糖尿病肾病,炎症反应,纤维化,TGF-β1/p38 MAPK信号通路

Research on the Mechanism of Sangzhi Alkaloids in Improving Renal Injury in Diabetic Kidney Disease Mice

Sijia Guo¹, Tianyi Ni¹, Yujie Zhu¹, Zhongyuan Zhou^{2*}

*通讯作者。

¹School of Clinical Medicine, Kangda College of Nanjing Medical University, Lianyungang Jiangsu ²Department of Pain, The Affiliated Shunde Hospital of Jinan University, Foshan Guangdong

Received: Apr. 24th, 2025; accepted: May 21st, 2025; published: May 30th, 2025

Abstract

Objective: To investigate the mechanism by which Sangzhi alkaloids (SZ-A) improve kidney injury in mice with diabetic kidney disease. Methods: The db/m mice were used as the control group, while the db/db mice were randomly divided into a model group (db/db group) and a treatment group administered with Sangzhi alkaloids (SZ-A group). The SZ-A group received SZ-A via gavage for 12 weeks. Body weight, fasting blood glucose, and serum levels of ALP, BUN, CREA, and other indicators were measured in each group. Additionally, HE and PAS staining were employed to observe pathological changes in the kidney tissue. The expression levels of oxidative stress markers, inflammatory factors (TNF- α , IL-6, IL-1 β), fibrosis markers (TGF- β 1, Collagen IV, α -SMA), and apoptosis-related proteins (Cleaved Caspase-3, Bax, Bcl-2) were assessed using ELISA and Western blot. Results: The db/db mice exhibited significantly higher blood glucose levels and renal dysfunction compared to the db/m group, characterized by elevated serum ALP, BUN, and CREA levels, along with decreased SOD activity and increased levels of MDA and LDH as markers of oxidative stress. This group displayed significant inflammatory responses, with enhanced expression of pro-inflammatory factors TNF- α , IL-6, and IL-1 β , alongside accelerated fibrosis mediated by TGF- β 1, resulting in abnormal deposition of Collagen IV and α -SMA. Abnormal activation of the p38 MAPK pathway and imbalances in apoptosis regulation involving Cleaved Caspase-3, Bax, and Bcl-2 further exacerbated kidney injury (P < 0.05). Following treatment with SZ-A, the aforementioned high blood glucose levels, renal dysfunction, oxidative damage, and inflammatory responses were significantly alleviated, with reduced kidney tissue fibrosis and improvements in pathological structure. Concurrently, TGF- β 1/p38 MAPK signal transduction and the expression of apoptosis-related proteins tended toward normalization (P < 0.05). Conclusion: SZ-A significantly improves kidney injury in diabetic nephropathy mice, and its mechanism of action may be closely related to the inhibition of the TGF- β 1/p38 MAPK fibrotic signaling pathway and the regulation of apoptosis and inflammatory responses.

Keywords

Sangzhi Alkaloids, Diabetic Kidney Disease, Inflammatory Response, Fibrosis, TGF- β 1/p38 MAPK Signaling Pathway

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc. This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0). http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

1. 引言

糖尿病肾病(diabetic kidney disease, DKD)是终末期肾病的主要原因之一,其发病机制与 TGF-β1/p38 MAPK 信号轴介导的肾损伤及纤维化密切相关[1]-[3]。尽管该信号通路已成为重要治疗靶点,但现有 TGF-β1 抑制剂因显著的肝肾毒性限制了临床应用。桑枝总生物碱(Sangzhi alkaloids, SZ-A)作为创新型降糖中药,虽已证实其降糖作用,但其对 DKD 特异性病理进程的调控作用尚未阐明[4]。本研究基于 2 型糖尿病 db/db 小鼠模型,系统评估 SZ-A 对 2 型糖尿病 db/db 小鼠肾损伤及纤维化的影响,并探讨其肾脏保护作用是否与抑制 TGF-β1/p38 MAPK 信号通路的激活有关,为开发天然来源的 DKD 靶向治疗策略提供实

验依据。

2. 材料与方法

2.1. 主要试剂与仪器

桑枝总生物碱片购自北京五和博澳药业有限公司;苏木精-伊红(Hematoxylin-Eosin, HE)染色试剂盒、 过碘酸雪夫(Periodic Acid-Schiff, PAS)染色试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;小鼠肿瘤坏死因子 *α* (Tumor necrosis factor-*a*, TNF-*a*)、白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)、白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 酶联免疫吸附测定(Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA)试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司; 超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)活性、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)、乳酸脱氢酶(Lactate Dehydrogenase, LDH)试剂盒购自南京建成生物工程研究所;兔源多克隆 p-p38 MAPK、鼠源单克隆 p38 MAPK、兔源多克隆 Cleaved Caspase 3、兔源多克隆 α -SMA、兔源多克隆 Bax、兔源多克隆 Bcl-2、鼠源 单克隆 β -actin 一抗购自武汉三鹰生物技术有限公司;兔源单克隆 TGF- β 1、兔源多克隆 Collagen IV 一抗 购自美国 abcam 生物技术公司;彩虹 245 蛋白 Marker、彩虹 180 蛋白 Marker、荧光兔二抗、荧光鼠二抗 购自 VICMED 公司;手动移液器和高速冷冻离心机购自德国 Eppendorf 公司;Synergy2 多功能酶标仪购 自美国 BioTek 公司;第四代蛋白质电泳仪和电转仪购自美国 Bio-Rad 公司;Odyssey CLx 双色红外荧光 少扫描成像系统购自美国 LI-COR 公司;奥林巴斯 BX43 正置明场显微镜购自日本奥林巴斯株式会社。

2.2. 实验小鼠分组及处理

10 只雄性 6~7 周龄的健康 SPF 级 db/m (C57BLKS/J-lepr^{db/+})小鼠和 20 只雄性 6~7 周龄的健康 SPF 级 db/db (C57BLKS/J-lepr^{db/db})小鼠购自南京生物医药研究院,并饲养于南京医科大学康达学院动物实验中心的 SPF 级动物房。实验期间,小鼠均可自由饮水和进食,饲养环境为室温 24℃~26℃,湿度 50%~60%,光暗周期为 12 h 交替。将正常 db/m 小鼠设为对照组(db/m 组), 20 只 2 型糖尿病 db/db 小鼠采用简单随机抽样分为糖尿病肾病组(db/db 组)和桑枝总生物碱治疗组(SZ-A 组)。SZ-A 组小鼠每天给予 200 mg/kg 的桑枝总生物碱灌胃处理,db/m 和 db/db 组小鼠分别给予等量的生理盐水灌胃处理。经过连续 12 周的实验干预后,对各组小鼠进行相应的标本采集和实验指标检测。

2.3. 样品准备

在实验期间,定期检测各组小鼠体重和空腹血糖水平。药物治疗 12 周后,对小鼠进行麻醉,采集血 液样本,并通过高速离心收集血清。利用全自动生化分析仪测定血清碱性磷酸酶(Alkaline Phosphatase, ALP)、尿素氮(Blood Urea Nitrogen, BUN)和肌酐(Creatinine, CREA)水平。快速剥离小鼠肾脏,经过冲洗 后用滤纸吸干并称重。右肾用于氧化标志物检测、炎症因子分析及 Western blot 相关蛋白检测。左肾多聚 甲醛固定,进行石蜡包埋,并切成 4 µm 的切片,用于光学显微镜下的形态学观察和免疫组化检测。

2.4. 氧化应激标志物和炎症因子检测

将新鲜肾组织制成匀浆后,根据试剂盒说明书进行以下测定:采用黄嘌呤氧化酶法测定肾组织中的 SOD 酶活性,使用硫代巴比妥酸法测定 MDA 水平,以及通过比色法测定 LDH 水平。采用 ELISA 法检 测肾组织中 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 炎症因子水平。

2.5. HE 染色和 PAS 染色

将肾组织石蜡切片脱蜡至水后,根据试剂盒说明书进行苏木精-伊红(HE)染色和 PAS 染色,并在光学 显微镜下观察肾组织的形态变化。对于 PAS 染色的切片,进行肾小球系膜扩张指数评分[5]。具体评分标

准如下:正常肾小球为0分;系膜基质增生占肾小球面积的比例小于10%为1分;占比10%至20%为2分;占比20%至30%为3分;占比30%至40%为4分;占比大于40%为5分。计算每张切片3个视野下 平均得分,作为肾小球系膜扩张指数评分。

2.6. 免疫组化检测肾组织 TGF- β 1、Collagen IV 和 α -SMA 的表达

将肾组织石蜡切片脱蜡至水后,使用 10 mmol/L 柠檬酸钠缓冲液(pH 6.0)在 95℃下进行热诱导抗原 修复 20 min。抗原修复后,将组织置于室温下浓度为 10% BSA 封闭缓冲液溶液中封闭 30 min。随后,用 TGF-β1、Collagen IV 和 α-SMA 抗体在 4℃下过夜孵育。孵育后,充分洗涤切片,并使用过氧化物酶抑制 剂在室温下淬灭内源性过氧化物酶活性 30 min。接着,使用 Invitrogen 山羊抗小鼠 IgG(H+L)HRP 二抗 (1:500)进行孵育。最后,应用 Thermo Scientific 金属增强型 DAB 底物试剂盒进行比色检测。封片后,在 奥林巴斯 BX53 正置明场显微镜下进行检测和观察。

2.7. 免疫印迹法检测相关蛋白表达

将肾组织制成匀浆后提取蛋白,并进行定量蛋白制样,采用 8%、10%、12.5% SDS-PAGE 进行凝胶 电泳。每个样品的蛋白上样量为 40 μg,在 80 V 恒压下进行电泳,待分离胶中的蛋白 Marker 分开后,上 调电压至 125 V,继续电泳至样品达到适当位置后关闭电源。330 mA 恒流湿转法将蛋白转至硝酸纤维素 膜(Nitrocellulose filter membrane, NC 膜)上,快速封闭液封闭 20 min,清洗 NC 膜后分别加入 TGF-β1、 p-p38 MAPK、p38 MAPK、Cleaved Caspase 3 和 β-actin 抗体在 4℃下过夜孵育。NC 膜充分清洗后,在室 温下进行荧光二抗孵育 2 h。再次清洗 NC 膜,将膜置于 Odyssey CLx 双色红外荧光扫描仪中进行成像, 并记录相应条带的灰度值,计算目的蛋白与内参蛋白灰度值的平均比值,或磷酸化蛋白与非磷酸化蛋白 灰度值的平均比值,以进行半定量统计分析。

2.8. 统计学分析

使用 IBM SPSS 25.0 进行数据分析,并使用 GraphPad Prism 9.0 进行图表绘制。计量资料均符合正态 分布,以 x ± s 表示,多组间均数比较采用单因素方差分析,组间多重比较采用 LSD-t 检验。P < 0.05 为 差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. SZ-A 对 db/db 小鼠的体重、空腹血糖及肾功能指标的影响

与 db/m 组相比, db/db 组小鼠的体重和空腹血糖水平均显著升高(P < 0.01)。经 SZ-A 灌胃治疗后, SZ-A 组小鼠在第 8、12 周时间点的体重和空腹血糖水平略低于 db/db 组,但差异无统计学意义(P>0.05), 见图 1(A)和图 1(B)。此外,与 db/m 组相比, db/db 组小鼠 ALP、BUN 和 CREA 水平显著升高(P<0.01)。 SZ-A 组小鼠的血清 ALP、BUN 和 CREA 水平较 db/db 组显著降低(P<0.05),见图 1(C)~(E)。

3.2. SZ-A 减轻 db/db 小鼠肾组织病理结构损伤

HE 染色显示,db/m 组小鼠肾组织病理结构正常,而 db/db 组呈小鼠肾小球体积增大,伴有肾小管上 皮细胞空泡变性及管腔扩张,间质可见大量淋巴细胞浸润。SZ-A 组较 db/db 组小鼠肾组织病理损伤显著 改善(P<0.01),见图 2(A)和图 2(B)。PAS 染色结果进一步发现,db/db 组较 db/m 组小鼠肾小球基底膜明 显增厚,系膜基质面积占比升高,并伴有显著糖原沉积。SZ-A 组较 db/db 组小鼠肾小球基底膜增厚程度 降低,糖原沉积面积减少,系膜基质扩张指数 GMI 显著降低(P<0.01),见图 2(C)和图 2(D)。



Figure 1. Comparison of body weight and fasting blood glucose levels among different groups of mice (*P < 0.05, **P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, **P < 0.01) 图 1. 各组小鼠的体重和空腹血糖水平的比较(*P < 0.05, **P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, **P < 0.01)



Figure 2. Observation of the pathological morphology of renal tissues in each group of mice using HE staining (A) and PAS staining (B) (×400; *P < 0.05, **P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01) 图 2. HE 染色(A)和 PAS 染色(B)观察各组小鼠肾组织的病理形态(×400; *P < 0.05, **P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, #P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, #P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, #P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, #P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, #P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, #P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, #P < 0.01, compared with t

3.3. SZ-A 改善 db/db 小鼠肾组织氧化应激和炎症因子水平

与 db/m 组相比, db/db 组小鼠肾组织中 SOD 酶活性降低, 而 MDA 和 LDH 水平升高(P<0.01)。SZ-A 组较 db/db 组小鼠肾组织中 SOD 酶活性明显升高, MDA 和 LDH 水平降低(P<0.01), 见图 3(A)~(C)。 与 db/m 组相比, db/db 组小鼠肾组织中 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 炎症因子水平升高(P<0.01)。SZ-A 组较 db/db 组小鼠肾组织中 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 炎症因子水平降低(P<0.05), 见图 3(D)~(F)。



Figure 3. Comparison of oxidative stress and inflammation factor levels in renal tissues of different groups of mice (*P < 0.05, **P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01) **图 3.** 各组小鼠肾组织氧化应激和炎症因子水平的比较(*P < 0.05, **P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01)

3.4. SZ-A 抑制 db/db 小鼠肾组织纤维化进程

免疫组化检测显示,与 db/m 组相比,db/db 组小鼠组织中纤维化相关蛋白 TGF- β 1、Collagen IV 和 α -SMA 的阳性表达面积百分比升高(P<0.01)。SZ-A 组较 db/db 组小鼠上述纤维化标志物的表达水平降低 (P<0.01),见图 4。

3.5. SZ-A 调控 db/db 小鼠肾组织 TGF-β1/p38 MAPK 信号通路激活和凋亡相关蛋白表达

免疫印迹结果显示,与 db/m 组相比,db/db 组小鼠肾组织 TGF-β1 蛋白表达水平升高 P < 0.01),p38 MAPK 磷酸化水平升高(P < 0.01)。SZ-A 组较 db/db 组小鼠肾组织 TGF-β1 表达和 p38 MAPK 磷酸化水平 降低(P < 0.05),见图 5(A)~(C)。此外,db/db 组较 db/m 组小鼠肾组织 Cleaved Caspase-3 蛋白表达水平升高(P < 0.01),促凋亡蛋白 Bax 与抗凋亡蛋白 Bcl-2 的比值升高(P < 0.01)。SZ-A 组较 db/m 组小鼠肾组织 Cleaved Caspase-3 表达量下降,Bax/Bcl-2 比值显著降低(P < 0.01),见图 5(D)~(F)。



Figure 4. Comparison of the expression levels of fibrosis-related proteins in renal tissues of different groups of mice (×400; *P < 0.05, **P < 0.01, compared with the db/m group; *P < 0.05, ##P < 0.01)

图 4. 各组小鼠肾组织纤维化相关蛋白表达水平比较(×400; *P < 0.05, **P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01)



Figure 5. Comparison of TGF- β 1/p38 MAPK signaling pathway and apoptosis-related protein expression levels in kidney tissue of each group of mice (×400; *P < 0.05, **P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01) 图 5. 各组小鼠肾组织 TGF- β 1/p38 MAPK 通路及凋亡相关蛋白表达水平比较(×400; *P < 0.05, **P < 0.01, compared with the db/m group; #P < 0.05, ##P < 0.01)

4. 讨论

近年来,糖尿病的发病率显著提高并呈年轻化趋势,随之而来的 DKD 患者数量也快速攀升[6]。作为糖尿病最常见的微血管并发症之一,DKD 是导致终末期肾病的主要原因,其病理特征包括肾小球硬化、基底膜增厚以及肾小管间质纤维化等,而肾纤维化更是糖尿病肾病不断进展的关键环节[7]。研究显示, TGF-β1/p38 MAPK 信号通路在肾纤维化发生与发展过程中起到关键作用[8]。本研究以 2 型糖尿 db/db 小 鼠为模型,实验结果表明,SZ-A 处理后不仅显著改善了肾功能指标和病理学损伤,还有效抑制了肾组织 中氧化应激、炎症因子及纤维化相关标志物的异常表达,其作用机制可能与 TGF-β1/p38 MAPK 信号通路 的抑制密切相关。

SZ-A 作为天然来源降糖药物,其在抗炎、调节脂质代谢、平衡肠道菌群、促进创面愈合与心血管保 护等多方面均展现出显著的药理学活性[9]-[13]。Song 等人研究发现,SZ-A 可通过上调脂肪酸氧化、恢 复线粒体稳态,从而改善非糖尿病慢性肾脏病大鼠的肾损伤。本研究发现,SZ-A 能够显著改善肾功能和 病理损伤,包括降低尿蛋白、血清肌酐和尿素氮,减轻基底膜增厚、肾小管间质纤维化及胶原沉积,并 下调肾组织中 α-SMA 和 Col-I的表达。这表明 SZ-A 在 DKD 小鼠的治疗中表现出显著的抗纤维化和肾保 护作用。

在糖尿病状态下,持续性的高血糖会通过诱导氧化应激反应导致活性氧(Reactive oxygen species, ROS) 的过量生成,并引发脂质过氧化,从而加速 DKD 的病理进展[14]。在氧化应激条件下,肾组织中的抗氧 化防御系统,如 SOD 酶活性显著降低,而脂质过氧化产物 MDA 水平显著升高,表明肾组织的氧化损伤 加重。此外,LDH 水平升高往往提示肾组织细胞损伤程度加重[15]。Zhou 等人研究还发现,氧化应激还 可刺激肾组织 TNF-α、IL-6 以及 IL-1β 等促炎因子释放,进一步损害肾小球和肾小管结构,加速间质纤 维化的进展[15]。本研究发现,桑枝总生物碱干预能够显著改善db/db 小鼠肾皮质的氧化应激状态和炎症 水平,其抗氧化及抑炎作用对肾功能起到进一步的保护作用。

TGF-β1/p38 MAPK 信号通路在 DKD 的发病机制中具有重要作用。在 DKD 的病理过程中,持续高 血糖可诱导肾组织中 TGF-β1 的异常高表达,进而激活下游 p38 MAPK 信号通路,加速成纤维细胞活化 和细胞外基质的沉积,最终导致肾纤维化[8] [16]。本研究发现,SZ-A 下调了 TGF-β1 的表达并抑制 p38 MAPK 的过度激活,进而阻断了该信号通路的级联效应。研究表明 p38 MAPK 通路在细胞凋亡调控中同 样起到重要作用,抑制其磷酸化可有效降低凋亡水平并减轻肾脏损伤[17]。本研究进一步发现,SZ-A 干 预后的促凋亡指标 Cleaved Caspase-3 和 Bax 明显下调,Bcl-2 表达则显著上调,说明其抗凋亡效应不仅 直接保护肾脏细胞,也间接减缓肾纤维化进程。

尽管本研究取得了一系列积极成果,但仍存在一定局限性。本研究采用 2 型糖尿病 db/db 小鼠模型, 该模型虽能较好地模拟 DKD 的部分病理特征,但在肾纤维化的进程和复杂性上仍与人类 DKD 有所差 异,因此在临床转化过程中需要进一步验证。此外,本研究主要聚焦于 TGF-β1/p38 MAPK 信号通路及相 关分子指标,尚未系统评估其他可能参与 DKD 发病机制的信号路径,如 NF-κB、ERK 等,其交互作用 及综合调控效应有待进一步探讨。

综上所述,本研究首次系统性验证了 SZ-A 在 DKD 肾损伤中改善作用,并初步揭示了其机制可能与 抑制 TGF-β1/p38 MAPK 纤维化信号通路、减轻氧化应激和炎症反应,以及调控细胞凋亡密切相关。这些 结果不仅为进一步开发天然药物治疗 DKD 提供了科学依据,也为揭示糖尿病肾病的复杂病理过程提供 了新的视角。

基金项目

江苏省大学生创新创业训练计划项目(202313980023Y)。

参考文献

- Sindhu, D., Sharma, G.S. and Kumbala, D. (2023) Management of Diabetic Kidney Disease: Where Do We Stand? A Narrative Review. *Medicine*, **102**, e33366. <u>https://doi.org/10.1097/md.00000000033366</u>
- [2] Vega, G., Alarcón, S. and San Martín, R. (2016) The Cellular and Signalling Alterations Conducted by TGF-B Contributing to Renal Fibrosis. *Cytokine*, 88, 115-125. <u>https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.08.019</u>
- [3] Wang, S., Zhou, Y., Zhang, Y., He, X., Zhao, X., Zhao, H., *et al.* (2019) Roscovitine Attenuates Renal Interstitial Fibrosis in Diabetic Mice through the TGF-β1/p38 MAPK Pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **115**, Article 108895. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108895
- [4] Liu, W., Xu, S., Zhang, B. and Sun, X. (2024) *Ramulus mori* (Sangzhi) Alkaloids Alleviate Diabetic Nephropathy through Improving Gut Microbiota Disorder. *Nutrients*, 16, Article 2346. <u>https://doi.org/10.3390/nu16142346</u>
- [5] 周中源, 史媛媛, 王梦, 等. 有氧运动抑制 NLRP3 炎性小体活化减轻 2 型糖尿病小鼠肾脏损伤[J]. 中国运动医 学杂志, 2021, 40(12): 962-969.
- [6] Ong, K.L., Stafford, L.K., McLaughlin, S.A., Boyko, E.J., Vollset, S.E., Smith, A.E., *et al.* (2023) Global, Regional, and National Burden of Diabetes from 1990 to 2021, with Projections of Prevalence to 2050: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet*, **402**, 203-234. <u>https://doi.org/10.1016/s0140-6736(23)01301-6</u>
- [7] Lytvyn, Y., Bjornstad, P., van Raalte, D.H., Heerspink, H.L. and Cherney, D.Z.I. (2019) The New Biology of Diabetic Kidney Disease—Mechanisms and Therapeutic Implications. *Endocrine Reviews*, **41**, 202-231. <u>https://doi.org/10.1210/endrev/bnz010</u>
- [8] Wang, X., Liu, X., Xu, L., Li, Y., Zheng, B., Xia, C., *et al.* (2024) Targeted Delivery of Type I TGF-β Receptor-Mimicking Peptide to Fibrotic Kidney for Improving Kidney Fibrosis Therapy via Enhancing the Inhibition of TGF-β1/Smad and P38 MAPK Pathways. *International Immunopharmacology*, **137**, Article 112483. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.112483
- [9] Qu, L., Liang, X., Tian, G., Zhang, G., Wu, Q., Huang, X., *et al.* (2021) Efficacy and Safety of Mulberry Twig Alkaloids Tablet for the Treatment of Type 2 Diabetes: A Multicenter, Randomized, Double-Blind, Double-Dummy, and Parallel Controlled Clinical Trial. *Diabetes Care*, 44, 1324-1333. <u>https://doi.org/10.2337/dc20-2109</u>
- [10] Sun, Q., Lian, C., Chen, Y., Ye, J., Chen, W., Gao, Y., et al. (2022) Ramulus mori (Sangzhi) Alkaloids Ameliorate Obesity-Linked Adipose Tissue Metabolism and Inflammation in Mice. Nutrients, 14, Article 5050. https://doi.org/10.3390/nu14235050
- [11] Wang, F., Xu, S., Ye, F., Zhang, B. and Sun, X. (2023) Integration of Transcriptomics and Lipidomics Profiling to Reveal the Therapeutic Mechanism Underlying *Ramulus mori* (Sangzhi) Alkaloids for the Treatment of Liver Lipid Metabolic Disturbance in High-Fat-Diet/Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Nutrients*, **15**, Article 3914. https://doi.org/10.3390/nu15183914
- [12] Liu, D., Ye, J., Yan, Y., Chen, Y., Wang, H., Wang, M., et al. (2023) Ramulus mori (Sangzhi) Alkaloids Regulates Gut Microbiota Disorder and Its Metabolism Profiles in Obese Mice Induced by a High-Fat Diet. Frontiers in Pharmacology, 14, Article 1166635. <u>https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1166635</u>
- [13] Xiao, F., Rui, S., Zhang, X., Ma, Y., Wu, X., Hao, W., et al. (2024) Accelerating Diabetic Wound Healing with Ramulus mori (Sangzhi) Alkaloids via NRF2/HO-1/eNOS Pathway. Phytomedicine, 134, Article 155990. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2024.155990
- [14] Sapian, S., Budin, S.B., Taib, I.S., Mariappan, V., Zainalabidin, S. and Chin, K.Y. (2022) Role of Polyphenol in Regulating Oxidative Stress, Inflammation, Fibrosis, and Apoptosis in Diabetic Nephropathy. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders—Drug Targets*, 22, 453-470. <u>https://doi.org/10.2174/1871530321666211119144309</u>
- [15] Zhou, Z., Ying, C., Zhou, X., Shi, Y., Xu, J., Zhu, Y., et al. (2022) Aerobic Exercise Training Alleviates Renal Injury in db/db Mice through Inhibiting Nox4-Mediated NLRP3 Inflammasome Activation. *Experimental Gerontology*, 168, Article 111934. <u>https://doi.org/10.1016/j.exger.2022.111934</u>
- [16] Ma, X., Ma, J., Leng, T., Yuan, Z., Hu, T., Liu, Q., et al. (2023) Advances in Oxidative Stress in Pathogenesis of Diabetic Kidney Disease and Efficacy of TCM Intervention. *Renal Failure*, 45, Article 2146512. https://doi.org/10.1080/0886022x.2022.2146512
- [17] Meijles, D.N., Cull, J.J., Markou, T., Cooper, S.T.E., Haines, Z.H.R., Fuller, S.J., *et al.* (2020) Redox Regulation of Cardiac ASK1 (Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1) Controls P38-MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) and Orchestrates Cardiac Remodeling to Hypertension. *Hypertension*, **76**, 1208-1218. https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.119.14556