

# 芪芍胶囊通过调节 Caspase-8 和 Caspase-3 抑制足细胞凋亡 改善 db/db 小鼠糖尿病肾损伤

刘靖薇<sup>1,2</sup>, 吴振华<sup>1,2</sup>, 杨冰<sup>1,2</sup>, 杨凤文<sup>2</sup>, 檀森<sup>3</sup>, 李婷婷<sup>1,2</sup>, 檀金川<sup>2\*</sup>

(1. 河北中医药大学, 石家庄 050200; 2. 河北中医药大学第一附属医院/河北省中医院, 石家庄 050011; 3. 河北医科大学第四医院, 石家庄 050000)

**[摘要]** 目的:观察芪芍胶囊对糖尿病肾脏疾病(DKD)db/db小鼠肾损伤的作用,探讨其通过抑制足细胞凋亡实现保护肾脏的机制。方法:以db/m小鼠(7只)作为正常组,db/db小鼠(35只)随机分为模型组、达格列净组(0.001 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)及芪芍胶囊低(0.341 3 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、中(0.682 5 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、高剂量组(1.365 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>),药物连续干预8周,取材后测定小鼠血清肾功能[肌酐(SCr)、尿素氮(BUN)]、空腹血糖(FBG)、24小时尿蛋白定量(24 h-UTP)等指标;过碘酸六胺银(PASM)染色、马松(Masson)染色观察肾脏病理组织形态;免疫组化检测胱天蛋白酶(Caspase)-3和B细胞淋巴瘤-2蛋白(Bcl-2);蛋白免疫印迹法(Western blot)检测Caspase-8、Caspase-7、Caspase-3等分子的蛋白表达;肾组织原位末端标记法(TUNEL)染色观察细胞凋亡情况;肾母细胞瘤抑制基因-1(WT-1)的免疫荧光染色观察足细胞损伤情况;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测实验小鼠肾脏中Caspase-8、Caspase-3 mRNA表达。采用统计软件GraphPad Prism 10进行数据分析。结果:与正常组比较,模型组24 h-UTP、SCr、BUN、FBG均显著升高( $P<0.01$ );肾组织PASM染色出现了糖原沉积增多,肾小球肥大,基底膜增厚;Masson染色显示肾组织胶原纤维增生;透射电镜显示模型组小鼠肾组织基底膜增厚,足突融合或丢失;免疫组化结果显示,模型组小鼠肾脏中Caspase-3显著升高( $P<0.01$ ),Bcl-2蛋白表达水平显著下降( $P<0.01$ );肾组织TUNEL阳性细胞显著增多( $P<0.01$ );WT-1在足细胞阳性表达显著降低( $P<0.01$ );Western blot分析肾组织中Caspase-8、Caspase-7和Caspase-3蛋白表达显著上调( $P<0.01$ );肾脏中Caspase-8、Caspase-3 mRNA表达水平显著升高( $P<0.01$ )。与模型组比较,芪芍胶囊组24 h-UTP、SCr、BUN、FBG水平显著降低( $P<0.01$ );肾组织病理损伤及足细胞损伤有一定的改善,肾脏中免疫组化显示Caspase-3显著降低( $P<0.01$ )和Bcl-2蛋白表达水平显著升高( $P<0.01$ ),肾组织TUNEL阳性细胞数显著减少( $P<0.01$ ),WT-1在足细胞阳性表达显著升高( $P<0.01$ ),肾组织中Caspase-8、Caspase-7和Caspase-3蛋白表达明显下调( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),Caspase-8、Caspase-3 mRNA表达水平显著下降( $P<0.01$ )。结论:芪芍胶囊可通过调控Caspase-8、Caspase-7和Caspase-3的表达抑制足细胞凋亡,进而改善db/db小鼠糖尿病肾损伤。

**[关键词]** 芪芍胶囊; 足细胞; 糖尿病肾脏疾病; 细胞凋亡; 胱天蛋白酶(Caspase)-8/Caspase-3

**[中图分类号]** R282;R285;R259 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)02-0126-10

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20251138

**[网络出版地址]** <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20250610.1928.002>

**[网络出版日期]** 2025-06-11 10:18:54



## Qishao Capsules Improve Diabetic Renal Injury in db/db Mice by Inhibiting Podocyte Apoptosis via Regulating Caspase-8 and Caspase-3

LIU Jingwei<sup>1,2</sup>, WU Zhenhua<sup>1,2</sup>, YANG Bing<sup>1,2</sup>, YANG Fengwen<sup>2</sup>,  
TAN Miao<sup>3</sup>, LI Tingting<sup>1,2</sup>, TAN Jinchuan<sup>2\*</sup>

(1. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China; 2. First Affiliated Hospital of Hebei University of Chinese Medicine, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China; 3. Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China)

**[收稿日期]** 2025-02-24

**[基金项目]** 河北省自然科学基金项目(H2023423086)

**[第一作者]** 刘靖薇,在读博士,副主任医师,从事中西医结合治疗肾脏病研究,E-mail:jingweishaniu@163.com

**[通信作者]** \*檀金川,博士,教授,博士生导师,主任医师,从事中西医结合治疗肾脏病研究,E-mail:1955981973@qq.com

**[Abstract] Objective:** To observe the effect of Qishao capsules on renal injury in db/db mice with diabetic kidney disease (DKD), and explore its mechanism of protecting the kidney by inhibiting podocyte apoptosis. **Methods:** db/m mice (7 mice) were used as the normal group, and db/db mice (35 mice) were randomly divided into a model group, a dapagliflozin group ( $0.001 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ), and low-, medium-, and high-dose groups of Qishao capsules ( $0.341 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,  $0.682 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ , and  $1.365 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ , respectively). Drug intervention lasted for 8 consecutive weeks. After sampling, the serum renal function indicators [creatinine (SCr), and urea nitrogen (BUN)], fasting blood glucose (FBG), 24 h urinary protein quantification (24 h-UTP), and other indicators of the mice were measured. The pathological tissue morphology of the kidney was observed by periodic acid-silver methenamine (PASM) and Masson's trichrome (Masson) staining. Immunohistochemical detection of cysteine-dependent aspartate-specific protease (Caspase)-3 and B-cell lymphoma 2 (Bcl-2) was performed. Western blot was used to detect the protein expression of Caspase-8, Caspase-7, Caspase-3, and other molecules. Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick End labeling (TUNEL) staining was used to observe apoptosis in renal tissue. Immunofluorescence staining of Wilms tumor suppressor gene-1 (WT-1) was used to observe podocyte injury. Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) was employed to detect Caspase-8 and Caspase-3 mRNA expression in the kidneys of experimental mice. Data analysis was conducted using statistical software GraphPad Prism 10. **Results:** Compared with the normal group, the model group showed significantly increased 24 h-UTP, SCr, BUN, and FBG ( $P<0.01$ ). Additionally, PASM staining of renal tissue showed increased glycogen deposition, glomerular hypertrophy, and thickening of the basement membrane. Masson staining showed collagen fiber proliferation in renal tissue. Transmission electron microscopy showed thickening of the renal tissue basement membrane and fusion or loss of foot processes in the model group. The immunohistochemical results showed that Caspase-3 in the kidneys of the mice in the model group significantly increased ( $P<0.01$ ), while the Bcl-2 protein expression level decreased significantly ( $P<0.01$ ). The number of TUNEL positive cells in renal tissue significantly increased ( $P<0.01$ ). The positive expression of WT-1 in podocytes was significantly reduced ( $P<0.01$ ). Western blot analysis showed significant upregulation of Caspase-8, Caspase-7, and Caspase-3 protein expression in renal tissue ( $P<0.01$ ). The mRNA expression levels of Caspase-8 and Caspase-3 in the kidneys increased significantly ( $P<0.01$ ). Compared with the model group, the Qishao capsules groups can significantly reduce the levels of 24 h-UTP, SCr, BUN, and FBG ( $P<0.01$ ). The pathological damage of renal tissue and podocyte injury were improved to some extent. Immunohistochemistry in the kidney showed a significant decrease in Caspase-3 ( $P<0.01$ ) and a significant increase in Bcl-2 protein expression level ( $P<0.01$ ). Additionally, there were a significant decrease in the number of TUNEL positive cells in renal tissue ( $P<0.01$ ), a significant increase in WT-1 positive expression in podocytes ( $P<0.01$ ), marked downregulation of Caspase-8, Caspase-7, and Caspase-3 protein expression in renal tissue ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), and a significant decrease in Caspase-8 and Caspase-3 mRNA expression levels ( $P<0.01$ ). **Conclusion:** Qishao capsules can inhibit podocyte apoptosis by regulating the expression of Caspase-8, Caspase-7, and Caspase-3, thereby improving the diabetic renal injury in db/db mice.

**[Keywords]** Qishao capsules; podocytes; diabetic kidney disease; apoptosis; cysteine-dependent aspartate-specific protease (Caspase)-8/Caspase-3

糖尿病肾脏疾病(DKD)是目前全球关注的重要健康问题,在发达国家和发展中国家的发病率上升明显,截至2021年,全世界有5.37亿成人糖尿病患者,预计到2045年将增加到7.83亿<sup>[1-2]</sup>。持续高血糖加重糖尿病患者的肾损伤,随后蛋白尿的出现是诊断DKD的标志,进而出现肾小球滤过率(GFR)急剧下降至90%以下,严重者发展为终末期肾病(ESRD)<sup>[3]</sup>,对患者、家庭和社会造成负担。对DKD进行早期干预,延缓其进展,对于全社会有积极意义,因此,研究DKD复杂的发病机制和寻找新的预防治疗策略是当前迫切需要解决的关键问题。

目前已有研究表明DKD发病机制可能与高血糖、脂代谢紊乱、慢性炎症、氧化应激、免疫异常相关<sup>[4]</sup>。高血糖会增加肾小球细胞中促炎性细胞因子的释放<sup>[5]</sup>、活性氧自由基(ROS)激增,从而加重氧化应激(OS),加速导致DKD的病理改变和功能异常,导致炎症、纤维化和凋亡等<sup>[6]</sup>。细胞凋亡

(Apoptosis)是一种程序性细胞死亡方式,导致糖尿病肾脏肾小球损伤,足细胞数量减少<sup>[7]</sup>,足细胞损伤是DKD发生和进展的关键病理机制之一,其结构和功能的完整性直接影响蛋白尿的产生及肾小球病变的程度。同时,高血糖可能是刺激促凋亡信号和随后的DKD足细胞损伤的基础,导致足细胞功能的变化和随后的肾小球滤过屏障的破坏<sup>[8]</sup>。足细胞是肾小球滤过屏障的重要组成部分,足细胞损伤导致肾小球通透性增加进而导致或加重DKD,因此,保护足细胞是防治DKD进展的关键因素<sup>[9]</sup>。

中医药作为一种稳定有效的手段可为DKD的防治提供新的方向,且具有多靶点、多机制、安全性高的优势<sup>[6,10]</sup>。芪芍胶囊(QSJM)具有益气滋阴、活血通络、健脾益肾之功,在临床治疗糖尿病肾脏疾病取得了显著疗效<sup>[11]</sup>,但其治疗DKD的作用靶点、机制等尚不明确,还需要更多的研究来探讨相关的治疗机制。故本研究以细胞凋亡为切入点,研究

QSJN防治糖尿病小鼠肾损伤形成的机制,进一步明确芪芍胶囊改善DKD的疗效,以期为中医药防治糖尿病肾脏疾病提供临床依据和新视角。

## 1 材料

**1.1 动物** 8周龄雄性db/db小鼠35只和同笼杂合雄性db/m小鼠7只,购自江苏华创信诺医药科技有限公司,合格证号SCXK(苏)2020-0009,所有动物饲养在河北医科大学第四医院实验动物中心SPF级动物房,3只/笼,条件为温度(22±1)℃,湿度55%~60%,明暗循环各12h。所有动物自由饮水和饮食。

**1.2 伦理** 本研究严格按照实验室动物护理和使用指南的要求进行,并通过河北医科大学第四医院动物福利伦理委员会审查及批准,伦理审查编号Approval No.IACUC-4th Hos Hebm-2023310。

**1.3 药物** 达格列净,由阿斯利康制药有限公司生产,规格10mg/片,国药准字HJ20170119;芪芍胶囊由20种中草药组成:黄芪、白芍、知母、麦冬、天花粉、玄参、白术、茯苓、熟地黄、山茱萸、菟丝子、黑芝麻、川牛膝、当归、川芎、红花、蒲黄、僵蚕、土木香、香附,经水煎、浓缩、烘干后制成棕黄色细小颗粒,然后装于空心胶囊制成,由河北省中医院制剂室提供,生药量为5.4g,规格0.3g/粒,冀药制字Z20051141。

**1.4 试剂** 血糖试纸(北京怡成生物电子技术股份有限公司,京械注准20152400921);肌酐(SCr)、尿素氮(BUN)测定试剂盒(深圳雷杜生命科技,批号分别为S03076、S03036);24h蛋白尿定量(24h-UTP)测定试剂盒(南京建成科技有限公司,批号20240307);肾母细胞瘤抑制基因-1(WT-1)抗体、B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)抗体(美国Sabbitech公司,货号分别为48959、40639);原位末端标记法(TUNEL)试剂盒、六胺银(PASM)染液套装、马松(Masson)三色染色液(武汉赛维尔生物科技有限公司,货号分别为G1507、G1059、G1006);胱天蛋白酶(Caspase)-8、Caspase-7、Caspase-3抗体(美国Signalway Antibody LLC公司,货号分别为40674、56098、32628); $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)二抗(英国Abcam公司,批号分别为ab8227、ab7090);反转录试剂盒(美国GeneCopeia公司,货号QP056)。

**1.5 仪器** 5D-7型血糖仪(北京怡成生物电子技术股份有限公司);SOPTOP OD6型倒置显微镜(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);Epson Perfection V39

型扫描仪(日本Epson公司);DYCZ-24DN型垂直电泳装置(北京市六一仪器厂);Chemray 240x型全自动生化分析仪(深圳雷杜生命科技);NIKON ECLIPSE C1型正置荧光显微镜(日本尼康公司);SLAN-96S型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(上海宏石医疗科技有限公司)。

## 2 方法

**2.1 动物造模、分组及给药** 8周龄雄性db/db小鼠35只和同笼杂合雄性db/m小鼠7只,实验小鼠适应喂养1周后,每周测定db/db小鼠随机血糖,db/db表现为明显的高血糖,9周龄时随机血糖15~33.3mmol·L<sup>-1</sup>,小鼠随机血糖 $\geq$ 16.7mmol·L<sup>-1</sup>视为糖尿病模型制备成功<sup>[12]</sup>。继续标准饲料喂养,至db/db小鼠10周龄时检测小鼠尿蛋白水平,尿蛋白定性试纸条测试阳性,认定DKD小鼠造模成功。将7只db/m小鼠作为正常组,35只db/db小鼠分为5组:糖尿病肾病模型组,达格列净组,芪芍胶囊低、中、高剂量组。按照人和小鼠体表面积折算的等效剂量表计算,各给药组每1kg小鼠给药量为人(60kg)的9.1倍,达格列净组小鼠按0.001g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>给药,芪芍胶囊低、中、高剂量组小鼠分别按照0.3413、0.6825、1.365g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>给药,每日灌胃1次。正常组和模型组组db/db小鼠灌胃等体积蒸馏水(0.3mL)。药物治疗持续8周。

**2.2 标本采集** 实验结束后,将所有实验小鼠单独置于代谢笼中,禁食不禁水,收集24h尿液,在4℃下3000r·min<sup>-1</sup>离心10min(离心半径10cm,下同),收集上清,用全自动生化分析仪测定24h-UTP。使用异氟烷吸入麻醉,测定体质量和空腹血糖(FBG)水平,小鼠眼球取血法采集血样,收集血液1.5mL离心管中,室温静置1h,4℃、3000r·min<sup>-1</sup>离心15min,分离上层血清,4℃冰箱保存,检测SCr、BUN。实验小鼠麻醉取血后,沿腹部中线开腹,迅速地分离肾组织,去除肾包膜、肾上腺等多余组织,在预冷的生理盐水中清洗残留血液,并用滤纸吸去脏器表面的血液及体液,双侧肾脏称质量,计算肾脏指数=双肾质量(g)/体质量(g)×100%。部分1/2的肾脏放入5mL的离心管中,用4%多聚甲醛室温浸泡48h;其余肾组织置于5mL冻存管,于-80℃冰箱保存备用。

**2.3 24h-UTP、FBG及血清SCr、BUN的测定** 采用考马斯亮蓝(CCB)法检测小鼠24h-UTP水平;使用血糖仪检测小鼠尾静脉FBG;全自动生化分析仪检测小鼠血清SCr、BUN水平。

**2.4 肾组织病理形态及免疫组织化学观察** 肾组织用4%多聚甲醛溶液室温浸泡48 h,经脱水、石蜡包埋、切片后,分别进行过碘酸六胺银(PASM)染色和马松(Masson)染色,并进行细胞凋亡相关蛋白Caspase-3、Bcl-2的免疫组化染色,通过光学显微镜下观察肾组织病理学变化并采集图像,用Image J软件分析免疫组化图片阳性面积半定量。将一部分肾组织固定于2.5%戊二醛溶液中,1%锇酸固定,经过脱水、包埋及染色处理后,使用透射电子显微镜观察肾脏变化。

**2.5 肾组织TUNEL染色观察细胞凋亡情况** 石蜡包埋肾组织,切薄片,脱蜡至水,二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木素复染细胞核,脱水中性树胶封片,光学显微镜拍片,每张切片随机选6个视野,使用Image J统计每个视野中肾小球的TUNEL阳性细胞率。

**2.6 WT-1的免疫荧光染色观察足细胞损伤情况** 石蜡切片脱蜡至水,抗原修复,画圈血清封闭。依次滴加一抗、对应的二抗,DAPI复染细胞核,淬灭组织自发荧光,封片,正置荧光显微镜下采集图像。

**2.7 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测db/db小鼠肾组织Caspase-8、Caspase-7、Caspase-3蛋白表达** 取动物组织并提取总蛋白,通过BSA法测定所有样本浓度。取合适量的蛋白样品上样,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)、转膜等,室温摇动封闭2 h。剪膜后置于含Caspase-8、Caspase-7、Caspase-3(1:1 000), $\beta$ -actin(1:2 000)一抗中4 °C孵育过夜。洗膜后置于含对应二抗(1:8 000)孵育盒中,室温孵育1.5 h。洗膜后置于Western Lightning™ Chemiluminescence Reagent显色剂中30 s,立即曝光,随后进行显影、定影处理。胶片用Epson Perfection V39扫描仪进行扫描成像,以 $\beta$ -actin为内参分析各组蛋白条带的亮度值,得到校正后蛋白条带亮度值。

**2.8 Real-time PCR检测实验小鼠肾脏中Caspase-8、Caspase-3 mRNA表达** 称取肾组织50 mg,使用TRIzol试剂提取总RNA,反转录为cDNA,以cDNA为模板,以 $\beta$ -actin作为内参,Real-time PCR扩增mRNA,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析Caspase-8、Caspase-3 mRNA相对表达量。扩增程序为95 °C预变性30 s,95 °C变性15 s,60 °C退火30 s,循环40次。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,引物序列见表1。

**2.9 统计学分析** 统计学处理采用GraphPad Prism 10,所有实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,样本数据差

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
Caspase-8	上游 TGCTTGACTACATCCCACAC	169
	下游 TGCAGTCTAGGAAGTTGACCA	
Caspase-3	上游 TGGTGATGAAGGGGTCATTATG	105
	下游 TTCGGCTTCCAGTCAGACTC	
$\beta$ -actin	上游 GTACCCAGGCATTGCTGACA	237
	下游 AACGCAGCTCAGTAACAGTC	

异采用单因素方差分析(One-way ANOVA)和Dunnett-*t*、Tukey's检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对DKD小鼠体质量、肾脏指数和24 h-UTP的影响** db/db小鼠8周龄时,与db/m小鼠比较,表现出了明显的肥胖,18周龄时,达格列净组和芪芍胶囊低、中、高剂量组的db/db小鼠体质量显著降低( $P < 0.01$ );与正常组比较,模型组体质量显著升高,肾脏指数显著降低( $P < 0.01$ );各用药组小鼠肾脏指数均低于模型组,但差异无统计学意义。在24 h-UTP方面,db/db小鼠显著高于db/m小鼠( $P < 0.01$ )。药物干预8周后,与模型组比较,达格列净组和芪芍胶囊低、中、高剂量组小鼠的尿蛋白显著降低( $P < 0.01$ )。见表2。

**3.2 对DKD小鼠FBG和血清SCr、BUN水平的影响** 与正常组db/m小鼠比较,模型组db/db小鼠FBG和血清SCr、BUN水平显著升高( $P < 0.01$ );与模型组比较,达格列净组和芪芍胶囊低、中、高剂量组的FBG和血清SCr、BUN水平均显著降低( $P < 0.01$ ),其中达格列净组在降糖和SCr方面更明显,芪芍胶囊高剂量组降低BUN明显,降糖方面较其他剂量中药组明显。见表3。

**3.3 对DKD小鼠肾组织病理学及电镜观察的影响** 肾切片PASM染色光镜结果显示,正常组db/m小鼠肾小球及肾小管结构完整,细胞外基质分布正常,无系膜增生;而模型组小鼠出现了糖原沉积增多,肾小球肥大,基底膜增厚;Masson染色显示肾组织胶原纤维增生;与模型组比较,各给药组小鼠肾小球肥大、肾小球基底膜增厚、胶原纤维增生等均有不同程度的改善。透视电镜显示,与正常组比较,模型组小鼠基底膜增厚,足突融合或丢失;与模型组比较,各给药组,小鼠足细胞超微结构均有不同程度改善。见图1。

表 2 芪苈胶囊对 DKD 小鼠体重、肾脏指数和 24 h-UTP 的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=7$ )

Table 2 Effect of Qishao capsules on weight, renal index and 24 h-UTP in DKD mice ( $\bar{x}\pm s, n=7$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	体质量/g	肾脏指数/%	24 h-UTP/mg
正常组		27.90±1.62	1.35±0.13	0.55±0.07
模型组		60.73±5.22 <sup>1)</sup>	0.83±0.15 <sup>1)</sup>	3.35±0.18 <sup>1)</sup>
达格列净组	0.001	51.95±4.81 <sup>3)</sup>	0.83±0.12	1.32±0.11 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊低剂量组	0.341 3	42.59±3.55 <sup>3)</sup>	0.95±0.13	1.95±0.14 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊中剂量组	0.682 5	42.43±7.67 <sup>3)</sup>	0.97±0.18	1.66±0.09 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊高剂量组	1.365	40.19±6.54 <sup>3)</sup>	0.94±0.09	1.31±0.15 <sup>3)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup>P<0.01;与模型组比较<sup>2)</sup>P<0.05,<sup>3)</sup>P<0.01(表 3-表 8 同)

表 3 芪苈胶囊对 DKD 小鼠 FBG 和血清 SCr、BUN 的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=7$ )

Table 3 Effect of Qishao capsules on FBG, serum SCr and BUN in DKD mice ( $\bar{x}\pm s, n=7$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	FBG /mmol·L <sup>-1</sup>	SCr /μmol·L <sup>-1</sup>	BUN /mmol·L <sup>-1</sup>
正常组		3.77±0.90	20.98±0.64	6.34±1.00
模型组		28.43±4.39 <sup>1)</sup>	29.46±2.50 <sup>1)</sup>	11.23±0.75 <sup>1)</sup>
达格列净组	0.001	8.76±2.18 <sup>3)</sup>	18.20±2.62 <sup>3)</sup>	7.10±0.67 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊低剂量组	0.341 3	14.00±3.66 <sup>3)</sup>	22.94±1.65 <sup>3)</sup>	5.64±2.02 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊中剂量组	0.682 5	13.07±1.95 <sup>3)</sup>	21.59±3.51 <sup>3)</sup>	5.51±0.86 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊高剂量组	1.365	11.28±3.97 <sup>3)</sup>	21.14±1.69 <sup>3)</sup>	5.44±1.48 <sup>3)</sup>

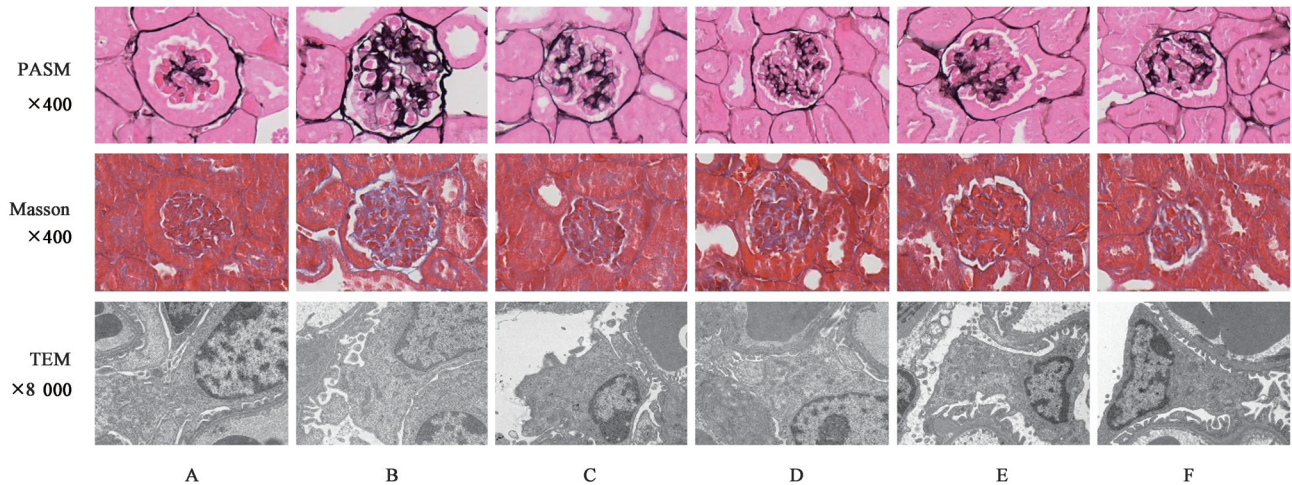
### 3.4 对 DKD 小鼠肾组织 Caspase-3 和 Bcl-2 免疫组化表达水平的影响

免疫组化结果显示,肾小球与

肾小管均有 Caspase-3 和 Bcl-2 表达,与正常组比较,模型组小鼠肾脏中 Caspase-3 显著升高( $P<0.01$ ), Bcl-2 蛋白表达水平下降( $P<0.01$ );与模型组比较,达格列净组及芪苈胶囊低、中、高剂量组小鼠肾脏中 Caspase-3 降低,差异具有统计学意义( $P<0.01$ ), Bcl-2 蛋白表达水平升高,差异具有统计学意义( $P<0.01$ )。见图 2、表 4。

### 3.5 对 DKD 小鼠肾组织细胞 DNA 损伤的影响

与正常组比较,模型组肾组织 TUNEL 阳性细胞显著增多,差异具有统计学意义( $P<0.01$ );与模型组比较,达格列净组及芪苈胶囊低、中、高剂量组 TUNEL 阳性细胞率显著降低,差异具有统计学意义( $P<0.01$ )。见图 3、表 5。



注:A.正常组;B.模型组;C.达格列净组;D.芪苈胶囊低剂量组;E.芪苈胶囊中剂量组;F.芪苈胶囊高剂量组(图 2-图 5 同)

图 1 芪苈胶囊对 DKD 小鼠肾组织病理学及电镜观察的影响

Fig. 1 Effect of Qishao capsules on renal histopathology and electron microscopy observation in DKD mice

### 3.6 对 DKD 小鼠肾组织 WT-1 定位表达的影响

与正常组比较,模型组小鼠 WT-1 在足细胞阳性表达显著降低( $P<0.01$ )。与模型组比较,达格列净组及芪苈胶囊低、中、高剂量组小鼠肾组织中 WT-1 表达显著升高( $P<0.01$ )。见图 4、表 6。

### 3.7 对 DKD 小鼠肾组织 Caspase-8、Caspase-7、Caspase-3 蛋白表达的影响

Western blot 结果显示,与正常组比较,模型组小鼠肾组织中 Caspase-8、Caspase-7 和 Caspase-3 蛋白表达显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,达格列净组及芪苈胶囊

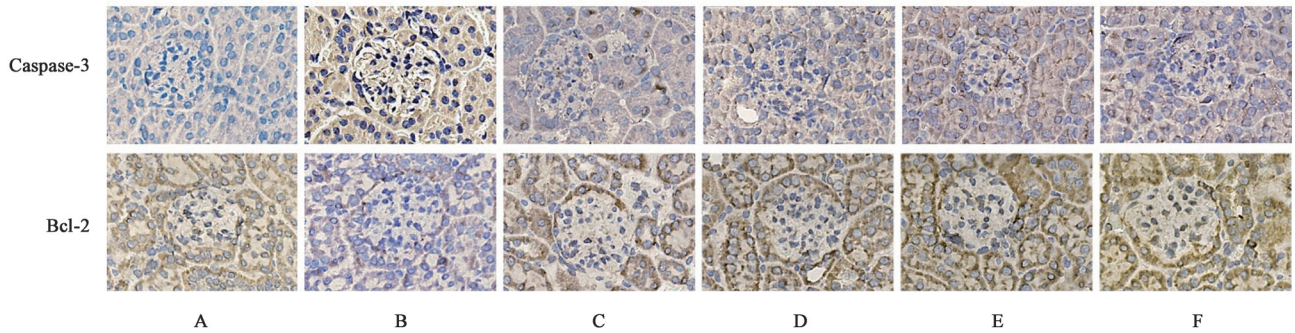


图2 芪苈胶囊对DKD小鼠肾组织Caspase-3和Bcl-2免疫组化表达水平的影响(IHC, ×400)

Fig. 2 Effect of Qishao capsules on immunohistochemical expression levels of Caspase-3 and Bcl-2 in renal tissue of DKD mice (IHC, ×400)

表4 芪苈胶囊对DKD小鼠肾组织Caspase-3和Bcl-2免疫组化表达水平的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 4 Effect of Qishao capsules on immunohistochemical expression levels of Caspase-3 and Bcl-2 in renal tissue of DKD mice ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	Caspase-3	Bcl-2
正常组		0.108±0.005	0.630±0.025
模型组		0.323±0.006 <sup>1)</sup>	0.149±0.006 <sup>1)</sup>
达格列净组	0.001	0.147±0.002 <sup>3)</sup>	0.417±0.007 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊低剂量组	0.341 3	0.193±0.005 <sup>3)</sup>	0.453±0.007 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊中剂量组	0.682 5	0.174±0.003 <sup>3)</sup>	0.491±0.005 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊高剂量组	1.365	0.153±0.001 <sup>3)</sup>	0.521±0.005 <sup>3)</sup>

低、中、高剂量组小鼠肾组织中Caspase-8、Caspase-7和Caspase-3蛋白表达明显下降( $P<0.05, P<0.01$ )。见图5、表7。

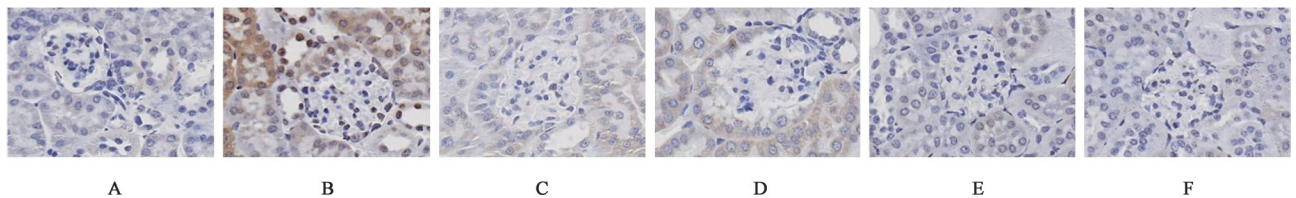


图3 芪苈胶囊对DKD小鼠肾组织细胞DNA损伤的影响(TUNEL, ×400)

Fig. 3 Effect of Qishao capsules on DNA damage in renal tissue cells of DKD mice (TUNEL, ×400)

表5 芪苈胶囊对DKD小鼠肾组织细胞DNA损伤的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 5 Effect of Qishao capsules on DNA damage in renal tissue cells of DKD mice ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	阳性细胞率/%
正常组		6.46±0.99
模型组		26.73±2.47 <sup>1)</sup>
达格列净组	0.001	11.32±1.01 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊低剂量组	0.341 3	13.35±0.89 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊中剂量组	0.682 5	11.73±0.30 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊高剂量组	1.365	8.02±0.66 <sup>3)</sup>

3.8 对DKD小鼠肾组织中Caspase-8、Caspase-3 mRNA表达水平的影响 与正常组比较,模型组小鼠肾脏中Caspase-8、Caspase-3 mRNA表达水平显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,各给药组小鼠肾脏中Caspase-8、Caspase-3 mRNA表达水平显著下降( $P<0.01$ )。见表8。

#### 4 讨论

DKD是影响肾脏的糖尿病常见并发症,近年,通过了解疾病的潜在机制、改进诊断工具和开发新的治疗策略在预防和治疗DKD方面取得了重大进展<sup>[13]</sup>。某些药物也已开发用于治疗DKD,如血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)和血管紧张素Ⅱ受体拮抗剂(ARB)通常用于降低DKD患者的血压和蛋白尿<sup>[14]</sup>。其他有前景治疗方法包括钠-葡萄糖共转运蛋白2(SGLT2)抑制剂,如达格列净已被证明可以

改善糖尿病患者的肾功能并降低心血管事件的风险<sup>[15]</sup>,并可以通过抑制炎症、氧化应激和足细胞凋亡而改善DKD<sup>[16]</sup>,故本研究采用达格列净作为阳性对照药。这些防治措施虽然取得了一定的进展,但对于延缓DKD患者向ESRD进展的目标仍有一定的差距。中医药对DKD治疗也有很大的前景,有望改善DKD患者的预后,本研究与课题组前期中药复方治疗慢性肾脏病(CKD)的研究<sup>[17-18]</sup>相互补充,提示中药复方可通过多路径干预CKD不同阶段,体现中药多靶点治疗优势。

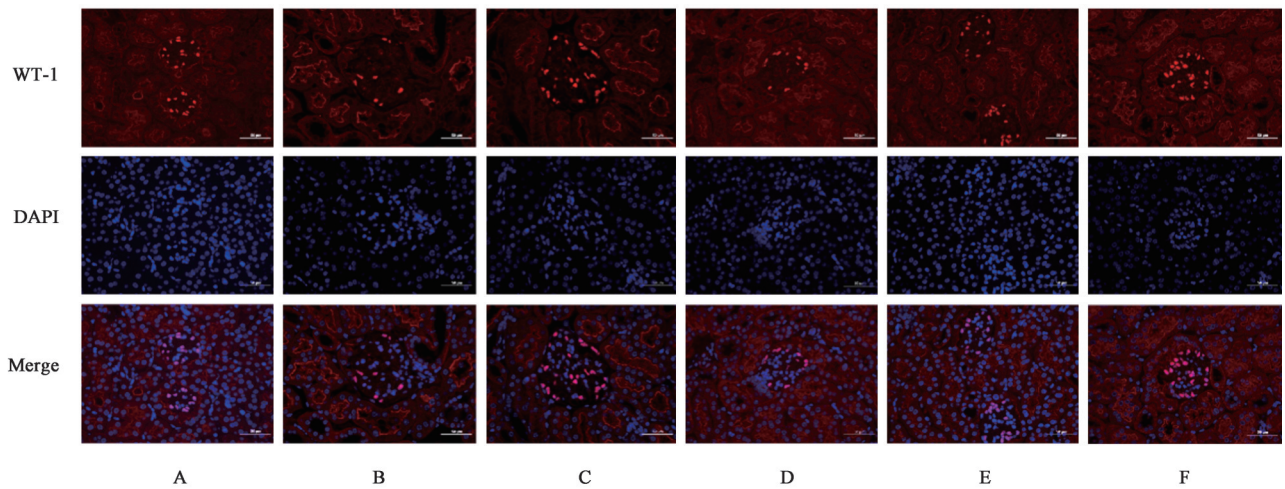


图4 芪苈胶囊对DKD小鼠肾组织WT-1定位表达的影响(1F, ×400)

Fig. 4 Effect of Qishao capsules on localization expression of WT-1 in renal tissue of DKD mice (1F, ×400)

表6 芪苈胶囊对DKD小鼠肾组织WT-1定位表达的影响( $\bar{x} \pm s$ , n=6)

Table 6 Effect of Qishao capsules on localization expression of WT-1 in renal tissue of DKD mice ( $\bar{x} \pm s$ , n=6)

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	WT-1
正常组		222.07±3.94
模型组		72.10±4.23 <sup>1)</sup>
达格列净组	0.001	211.64±2.61 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊低剂量组	0.341 3	207.38±1.06 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊中剂量组	0.682 5	212.59±0.75 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊高剂量组	1.365	218.52±2.30 <sup>3)</sup>

表7 芪苈胶囊对DKD小鼠肾组织Caspase-8、Caspase-7、Caspase-3蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s$ , n=3)

Table 7 Effect of Qishao capsules on protein expression of Caspase-8, Caspase-7 and Caspase-3 in renal tissue of DKD mice ( $\bar{x} \pm s$ , n=3)

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	Caspase-8 /β-actin	Caspase-7 /β-actin	Caspase-3 /β-actin
正常组		1.00±0.15	1.00±0.34	1.00±0.19
模型组		2.69±0.07 <sup>1)</sup>	2.42±0.13 <sup>1)</sup>	3.15±0.12 <sup>1)</sup>
达格列净组	0.001	1.69±0.09 <sup>3)</sup>	1.50±0.27 <sup>3)</sup>	1.88±0.24 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊低剂量组	0.341 3	2.31±0.08 <sup>2)</sup>	1.73±0.24 <sup>2)</sup>	2.55±0.26 <sup>2)</sup>
芪苈胶囊中剂量组	0.682 5	1.73±0.15 <sup>3)</sup>	0.53±0.23 <sup>3)</sup>	1.91±0.25 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊高剂量组	1.365	0.86±0.15 <sup>3)</sup>	0.88±0.22 <sup>3)</sup>	1.04±0.13 <sup>3)</sup>

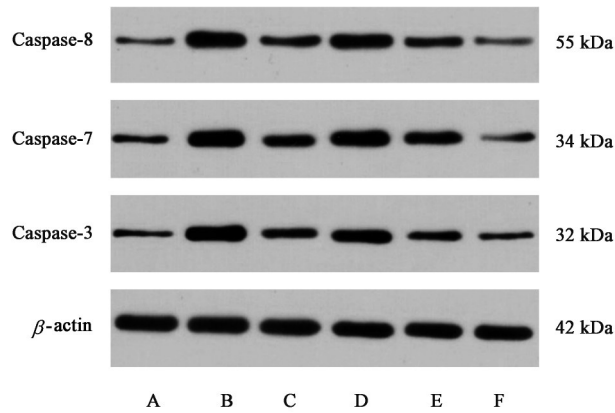


图5 DKD小鼠肾组织Caspase-8、Caspase-7、Caspase-3蛋白表达电泳

Fig. 5 Electrophoresis of protein expression of Caspase-8, Caspase-7, and Caspase-3 in renal tissue of DKD mice

表8 芪苈胶囊对DKD小鼠肾组织Caspase-8、Caspase-3 mRNA表达水平的影响( $\bar{x} \pm s$ , n=3)

Table 8 Effect of Qishao capsules on mRNA expression levels of Caspase-8 and Caspase-3 in renal tissue of DKD mice ( $\bar{x} \pm s$ , n=3)

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	Caspase-8	Caspase-3
正常组		1.01±0.13	1.01±0.11
模型组		3.29±0.42 <sup>1)</sup>	2.49±0.76 <sup>1)</sup>
达格列净组	0.001	1.58±0.16 <sup>3)</sup>	1.92±0.25 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊低剂量组	0.341 3	1.91±0.18 <sup>3)</sup>	2.50±0.45 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊中剂量组	0.682 5	1.48±0.20 <sup>3)</sup>	1.99±0.11 <sup>3)</sup>
芪苈胶囊高剂量组	1.365	1.24±0.08 <sup>3)</sup>	1.27±0.20 <sup>3)</sup>

DKD相当于中医的“消渴病肾病”,属于本虚标实的疾病,以脾肾两虚为本,以水、湿、痰、瘀、毒为标,日久迁延不愈导致气阴两虚、血络瘀阻,治法理当益气养阴、活血通络、健脾益肾。芪苈胶囊由20种中草药组成,方中以黄芪为君药,补气生津、利水

消肿,现在药理学研究黄芪有效活性成分黄芪甲苷可通过抑制线粒体功能障碍而抑制足细胞凋亡<sup>[19]</sup>;黄芪加当归组成中药经典名方即当归补血汤,具有补气生血、活血化瘀的功效,在治疗DKD方面起到降低炎症因子和氧化应激水平、减轻肾脏纤维化程度、减少尿蛋白等功效,作用机制可能与改善足细

胞损伤、抑制足细胞凋亡等有关<sup>[20]</sup>；白芍的主要有效成分是白芍总苷，能通过抑制炎症细胞和炎症因子使肾脏病理变化得到改善，同时可保护足细胞，减少尿蛋白<sup>[21]</sup>；茯苓健脾利水渗湿，其有效成分茯苓多糖具有降低蛋白尿、保护肾功能的作用<sup>[22]</sup>；活血行气药如知母、川芎、红花、蒲黄、僵蚕、土木香、香附活血化瘀通络，配伍川牛膝引血下行，助活血通络之效；麦冬、天花粉助养阴清热生津之效；熟地黄、菟丝子、山茱萸、黑芝麻、玄参、白术滋阴健脾、补肾助阳；诸药共施益气养阴、活血通络之效。在一项临床研究中，芪芍胶囊治疗早期DKD(气阴两虚血瘀证)有较好的临床疗效，能够减少尿蛋白，明显改善患者中医症状体征，且无明显不良反应，其治疗作用机制可能与减轻炎症因子超敏C反应蛋白(hs-CRP)相关<sup>[23]</sup>。在动物实验中，芪芍胶囊具有降低DKD大鼠尿蛋白、提高血浆蛋白、降低血脂的作用，对肾组织的保护作用可能与其通过下调肾组织血管生成素I(Ang I)表达、抑制病理性血管新生有关<sup>[24]</sup>。

多项临床研究表明，长期高血糖是介导DKD肾脏系列损伤的最关键因素<sup>[25-26]</sup>。持续的高血糖损害了小鼠的肾小球滤过膜，导致白蛋白的流失，造成肾功能损伤。蛋白尿和肾脏损伤是DKD重要的特征<sup>[27]</sup>，而SCr和BUN通常用于评估肾损伤的程度<sup>[28]</sup>。DKD早期肾小球滤过膜电荷屏障受损，可以出现尿白蛋白的升高，而血液中SCr和BUN需经肾小球滤过再排出体外，所以DKD早期也可出现肾小球滤过率的降低。而持续进展的尿蛋白又可加重肾小球的损伤，导致DKD肾损害进行性加重<sup>[29]</sup>。因此，降低DKD小鼠的血糖，可防止和延缓肾脏发生损坏。在本项研究中，以db/db小鼠作为DKD模型得到了认可<sup>[30]</sup>，db/db小鼠经达格列净和芪芍胶囊灌胃8周后的FBG、24h-UTP和血清SCr、BUN都均有所降低，且芪芍胶囊高剂量组较其他剂量中药组效果明显，表明芪芍胶囊具有降低血糖、防止蛋白质流失并保护肾功能的作用。肾切片PASM染色和Masson染色显示芪芍胶囊组小鼠肾小球肥大、胶原纤维增生等均有不同程度的改善；在透视电镜上，芪芍胶囊组小鼠肾组织基底膜增厚、足突融合或丢失均有不同程度改善。以上数据均表明了芪芍胶囊对DKD的治疗潜力。

芪芍胶囊改善db/db小鼠糖尿病肾损害可能是通过抑制足细胞凋亡实现的。DKD主要病理表现为足细胞损伤和足突消失、肾小球基底膜增厚、间

质纤维化等，其中足细胞的损伤和足突丢失是DKD早期重要的病理标志物，而细胞凋亡是足细胞最常见的死亡方式<sup>[31]</sup>。细胞凋亡是一种程序性细胞死亡，有内、外两种不同的途径<sup>[32]</sup>，其调控是一个复杂的过程，受多种信号通路控制<sup>[33]</sup>。Caspase-8是上游不可或缺的启动子，通过调节和启动死亡受体介导的程序性细胞死亡而激活，随后引起细胞凋亡的蛋白质信号传导<sup>[34]</sup>。Caspase-3和Caspase-7是凋亡的关键执行者，在凋亡细胞中通过死亡配体途径激活。Caspase-8和Caspase-3/7分别在Caspase级联的启动和执行中起着核心作用，激活的Caspase-8会触发Caspase蛋白水解的级联反应，从而激活其下游的Caspase-3和Caspase-7以诱导细胞凋亡——作为重要的效应型Caspase的Caspase-7，常与Caspase-3协同执行凋亡程序，参与DNA降解、细胞骨架拆解等终末环节<sup>[35-36]</sup>，这一过程在细胞凋亡的发生和所有凋亡信号转导的共同途径中至关重要<sup>[37]</sup>。Caspase-8的上调促进了凋亡机制中Caspase-3和Caspase-7的表达。Bax和Bcl-2是调控内源性细胞凋亡的重要介质；Bax促进其活化，Bcl-2发挥抑制作用<sup>[38]</sup>。此外，高血糖相关的肾损伤通过降低Bcl-2、增加Bax和Caspase-3/7表达诱导肾细胞凋亡<sup>[39]</sup>。许多证据表明，Caspase的激活可触发多种细胞的凋亡过程。此外，活化的Bax蛋白可损伤线粒体外膜，促进线粒体膜通透性<sup>[40]</sup>，最终导致细胞的破坏<sup>[41]</sup>。在本研究中，在DKD小鼠肾组织中存在细胞凋亡的证据：Caspase-8、Caspase-7、Caspase-3蛋白表达显著增加，DKD小鼠肾组织中mRNA提示Caspase-8、Caspase-3表达升高，免疫组化结果验证了Caspase-3在肾组织中的表达升高、抗凋亡信号Bcl-2表达降低，而经芪芍胶囊干预后，这些蛋白信号在DKD小鼠肾组织的表达逆转，表明芪芍胶囊可调节DKD小鼠肾组织Caspase-8/Caspase-3信号通路抑制细胞凋亡改善糖尿病小鼠的肾损害。

DKD发病初期就存在足细胞的损伤，足细胞数量减少和足突密度降低与尿蛋白及糖尿病肾损害的进展呈正相关<sup>[42]</sup>。WT-1是足细胞特异性标记物，是慢性肾脏疾病多阶段中足细胞损伤最敏感的标志物，而且能阻止细胞凋亡，因此使用WT-1作为评估足细胞损伤的标志蛋白，可间接反映足细胞损伤程度及数量<sup>[43]</sup>。在本研究中，DKD小鼠中WT-1蛋白表达降低，而芪芍胶囊可升高WT-1蛋白表达。TUNEL法目前广泛应用于细胞程序性死亡的检测，细胞DNA损伤时即出现TUNEL染色阳

性<sup>[44]</sup>。本研究中,模型组小鼠 TUNEL 阳性细胞率显著升高,芪芍胶囊干预后可降低 TUNEL 阳性细胞率,提示芪芍胶囊可改善 DKD 小鼠足细胞损伤。

综上,本研究应用 db/db 小鼠为 DKD 模型,经芪芍胶囊灌胃 8 周,发现 DKD 小鼠的 24 h-UTP、SCr、BUN、肾组织病理形态、足细胞超微结构、肾固有细胞 DNA 损伤情况均有所改善及足细胞标志蛋白 WT-1 表达水平升高,验证了芪芍胶囊可通过改善 DKD 小鼠足细胞损伤,减少尿蛋白进而发挥肾保护作用;初步探讨了芪芍胶囊治疗 DKD 的可能作用机制是通过抑制细胞凋亡信号 Caspase-8 和 Caspase-3 的表达。然而本研究仅在动物实验验证了芪芍胶囊治疗 DKD 的机制,并未在体外的足细胞实现,还需要进一步的细胞实验来验证。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] DENG B W, SONG A N, ZHANG C. Cell-cycle dysregulation in the pathogenesis of diabetic kidney disease: An update[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2133.
- [2] SAMSU N. Diabetic nephropathy: Challenges in pathogenesis, diagnosis, and treatment[J]. *Bio Med Res Int*, 2021, doi: 10. 1155/2021/1497449.
- [3] FAN Q Q, LI R X, WEI H T, et al. Research progress of pyroptosis in diabetic kidney disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(13): 7130.
- [4] WARREN A M, KNUDSEN S T, COOPER M E. Diabetic nephropathy: An insight into molecular mechanisms and emerging therapies[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2019, 23(7): 579-591.
- [5] WU X M, PAN C Q, CHEN R, et al. BML-111 attenuates high glucose-induced inflammation, oxidative stress and reduces extracellular matrix accumulation via targeting Nrf2 in rat glomerular mesangial cells[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 79: 106108.
- [6] MA X J, MA J G, LENG T, et al. Advances in oxidative stress in pathogenesis of diabetic kidney disease and efficacy of TCM intervention[J]. *Ren Fail*, 2023, 45(1): 2146512.
- [7] EREKAT N S. Programmed cell death in diabetic nephropathy: A review of apoptosis, autophagy, and necroptosis[J]. *Med Sci Monit*, 2022, 28: e937766.
- [8] CHOUDHURY S M, SARKAR R, KARKI R, et al. A comparative study of apoptosis, pyroptosis, necroptosis, and PANoptosis components in mouse and human cells[J]. *PLoS One*, 2024, 19(2): e0299577.
- [9] ZHU R, BAI X, XU C Y, et al. Research progress on podocyte pyroptosis in diabetic nephropathy[J]. *Curr Med Chem*, 2025, 32(27): 5772-5789.
- [10] TIAN Y, ZHOU C X, YAN Q, et al. Dapagliflozin improves

diabetic kidney disease by inhibiting ferroptosis through  $\beta$ -hydroxybutyrate production [J]. *Ren Fail*, 2025, 47(1): 2438857.

- [11] 郭晓玲,康丽霞,檀金川. 芪芍胶囊联合厄贝沙坦治疗糖尿病肾病[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(3): 183-187.  
GUO X L, KANG L X, TAN J C. Effect of Qishao capsules combined with irbesartan in treatment of diabetic nephropathy [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2016, 22(3): 183-187.
- [12] 杨丹阳,张暇蔚,姚文涛,等. 鸡血藤对 db/db 糖尿病皮肤溃疡小鼠创面愈合的影响及作用机制研究[J]. *世界中医药*, 2024, 19(23): 3583-3591.  
YANG D Y, ZHANG X W, YAO W T, et al. Effect and mechanism of spatholobi caulis on wound healing in db/db mice with diabetic cutaneous ulcers [J]. *World Chin Med*, 2024, 19(23): 3583-3591.
- [13] ELENDEU C, JOHN OKAH M, FIEMOTONGHA K D J, et al. Comprehensive advancements in the prevention and treatment of diabetic nephropathy: A narrative review [J]. *Medicine*, 2023, 102(40): e35397.
- [14] CORREA-ROTTER R, MAPLE-BROWN L J, SAHAY R, et al. New and emerging therapies for diabetic kidney disease [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2024, 20(3): 156-160.
- [15] JAFAR T H. FDA approval of dapagliflozin for chronic kidney disease: A remarkable achievement? [J]. *Lancet*, 2021, 398(10297): 283-284.
- [16] JAIKUMKAO K, THONGNAK L, HTUN K T, et al. Dapagliflozin and metformin in combination ameliorates diabetic nephropathy by suppressing oxidative stress, inflammation, and apoptosis and activating autophagy in diabetic rats [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2024, 1870(1): 166912.
- [17] 张尧,高飞,檀森,等. 丹参多酚酸盐通过 AMPK/Sirt1/PGC-1 $\alpha$  信号通路诱导膜性肾病大鼠足细胞自噬的机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(8): 203-213.  
ZHANG Y, GAO F, TAN M, et al. Mechanism of salvianolate in inducing autophagy in podocytes of rats with membranous nephropathy via AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  signaling pathway [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2023, 29(8): 203-213.
- [18] 辛鑫,吴振华,檀森,等. 大黄泄浊方对慢性肾衰竭大鼠炎症及 SOCS3/TLR4 通路的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(7): 95-104.  
XIN X, WU Z H, TAN M, et al. Effect of Dahuang Xiezhuo prescription on inflammation and SOCS3/TLR4 pathway in rats with chronic renal failure [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2023, 29(7): 95-104.
- [19] SHEN Q, FANG J, GUO H, et al. Astragaloside IV attenuates podocyte apoptosis through ameliorating mitochondrial dysfunction by up-regulated Nrf2-ARE/TFAM signaling in diabetic kidney disease [J]. *Free Radic Biol Med*, 2023, 203: 45-57.
- [20] 姜惠,肖紫雯,李芳. 当归补血汤治疗糖尿病肾病研究进展 [J]. *光明中医*, 2024, 39(24): 5079-5082.

- JING H, XIAO Z W, LI F. Research progress on the treatment of diabetic nephropathy by Danggui Buxue decoction [J]. *Guangming J Chin Med*, 2024, 39(24):5079-5082.
- [21] 曹秋夏, 杨发奋. 白芍总苷治疗糖尿病肾病的研究进展[J]. *右江医学*, 2018, 46(2):237-240.
- CAO Q X, YANG F F. Research progress on total glucoside of paeony in the treatment of diabetic nephropathy [J]. *Chin Youjiang Med J*, 2018, 46(2):237-240.
- [22] 张慧儒, 吕会新, 康希, 等. 茯苓多糖抗2型糖尿病肾病大鼠肾间质纤维化作用研究[J]. *当代医学*, 2016, 22(8):1-2.
- ZHANG H R, LYU H X, KANG X, et al. Study on the anti-renal interstitial fibrosis effect of pachyman in type 2 diabetic nephropathy rats [J]. *Contemporary Med*, 2016, 22(8):1-2.
- [23] 徐梦园. 芪苈胶囊治疗早期DKD(气阴两虚血瘀证)的疗效观察及对血清hs-CRP的影响[D]. 石家庄:河北中医学院, 2020.
- XU M Y. Effect of Qishao capsules on early DKD (syndrome of qi-yin deficiency and blood stasis) and its influence on serum hs-CRP [D]. Shijiazhuang: Hebei University of Chinese Medicine, 2020.
- [24] 郭晓玲, 陈文军, 檀金川, 等. 芪苈胶囊对糖尿病肾病大鼠的肾保护作用及对肾组织促血管生成素1表达的影响[J]. *中药药理与临床*, 2016, 32(4):80-84.
- GUO X L, CHEN W J, TAN J C, et al. Effect of Qishao capsules on renal protection and angiogenin-1 expression of diabetic nephropathy rats [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2016, 32(4):80-84.
- [25] ABAIS J M, ZHANG C, XIA M, et al. NADPH oxidase-mediated triggering of inflammasome activation in mouse podocytes and glomeruli during hyperhomocysteinemia [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 18(13):1537-1548.
- [26] ZHOU L L, LIU Y H. Wnt/ $\beta$ -catenin signalling and podocyte dysfunction in proteinuric kidney disease [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2015, 11(9):535-545.
- [27] JUN W D, MAKINO H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Clin Sci*, 2013, 124(3):139-152.
- [28] TANG G Y, LI S, ZHANG C, et al. Clinical efficacies, underlying mechanisms and molecular targets of Chinese medicines for diabetic nephropathy treatment and management [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(9):2749-2767.
- [29] PUGLIESE G. Updating the natural history of diabetic nephropathy [J]. *Acta Diabetol*, 2014, 51(6):905-915.
- [30] MAEKAWA M, MAEKAWA T, SASASE T, et al. Pathophysiological analysis of uninephrectomized db/db mice as a model of severe diabetic kidney disease [J]. *Physiol Res*, 2022, 71(2):209-217.
- [31] YANG C, ZHANG Z, LIU J T, et al. Research progress on multiple cell death pathways of podocytes in diabetic kidney disease [J]. *Mol Med*, 2023, 29(1):135.
- [32] D'ARCY M S. Cell death: A review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy [J]. *Cell Biol Int*, 2019, 43(6):582-592.
- [33] JIANG L, LIU X Q, MA Q Y, et al. hsa-miR-500a-3P alleviates kidney injury by targeting MLKL-mediated necroptosis in renal epithelial cells [J]. *FASEB J*, 2019, 33(3):3523-3535.
- [34] TUMMERS B, GREEN D R. Caspase-8: Regulating life and death [J]. *Immunol Rev*, 2017, 277(1):76-89.
- [35] THORNBERRY N A, LAZEBNIK Y. Caspases: Enemies within [J]. *Science*, 1998, 281(5381):1312-1316.
- [36] MCILWAIN D R, BERGER T, MAK T W. Caspase functions in cell death and disease: Figure 1 [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2015, 7(4):a026716.
- [37] WANG S T, NING H M, HUA L S, et al. Exposure to fluoride induces apoptosis in the liver, kidney, and heart of *Xenopus laevis* by regulating the Caspase-8/3 signaling pathway [J]. *Acta Histochem*, 2023, 125(3):151999.
- [38] LIU X Q, JIANG L, LI Y Y, et al. Wogonin protects glomerular podocytes by targeting Bcl-2-mediated autophagy and apoptosis in diabetic kidney disease [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2022, 43(1):96-110.
- [39] APAYDIN YILDIRIM B, DOGAN T, SENOCAK E A, et al. *Punica granatum* L. peel extract protects diabetic nephropathy by activating the Nrf-2/HO-1 pathway [J]. *Acta Diabetol*, 2025, 62(4):469-480.
- [40] ZHANG Y H, XU L S, LU Y R, et al. Protective effect of *Cordyceps sinensis* against diabetic kidney disease through promoting proliferation and inhibiting apoptosis of renal proximal tubular cells [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2023, 23(1):109.
- [41] CZABOTAR P E, COLMAN P M, HUANG D C. Bax activation by Bim? [J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(9):1187-1191.
- [42] YI Z X, YANG B, WAN F Y, et al. Chinese medicine Linggui Zhugan formula protects against diabetic kidney disease in close association with inhibition of proteinase 3-mediated podocyte apoptosis in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 335:118650.
- [43] 蓝梦麟, 林栩, 杨岚茵. 足细胞及其标志蛋白在糖尿病肾病诊断价值中的研究进展 [J]. *右江医学*, 2024, 52(1):1-5.
- LAN M L, LIN X, YANG L Y. Research progress on the diagnostic value of podocytes and their marker proteins in diabetic kidney disease [J]. *Chin Youjiang Med J*, 2024, 52(1):1-5.
- [44] NASELLI F, CARDINALE P S, VOLPES S, et al. An alternative approach of TUNEL assay to specifically characterize DNA fragmentation in cell model systems [J]. *Histochem Cell Biol*, 2024, 162(5):429-442.

[责任编辑 孙丛丛]