

· 药理 ·

基于cAMP信号通路探讨补肾开玄通络方改善 糖尿病肾病的作用机制

徐淼^{1,2}, 赵保胜¹, 王友¹, 常宇卓¹, 刘泽豪¹, 秦灵灵¹, 王海焱¹,
高明³, 吕翠岩^{2*}, 刘铜华¹

(1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 首都医科大学附属北京中医医院, 北京 100010;
3. 日本武库川女子大学, 日本 663-8558)

[摘要] 目的:探究补肾开玄通络方调节环磷酸腺苷(cAMP)信号通路发挥糖尿病肾病(DKD)小鼠肾脏保护作用的分子机制。方法:30只SPF级雄性db/db小鼠适应性喂养3周,检测尾静脉随机血糖 ≥ 11.1 mmol·L⁻¹,计算尿微量白蛋白/肌酐(ACR) ≥ 30 mg·g⁻¹者视为造模成功。将成模小鼠随机分为模型组,补肾开玄通络低、中、高剂量组(7、14、28 g·kg⁻¹·d⁻¹)及阳性药厄贝沙坦(20 mg·kg⁻¹·d⁻¹)组,每组6只;另取6只db/m小鼠作为空白组。各组分别予上述相应浓度的补肾开玄通络方、厄贝沙坦或等体积的纯水灌胃干预,持续12周。实验期间动态监测小鼠一般状况、体质量变化及肾功能指标。干预结束后,采用血糖仪检测小鼠空腹血糖(FBG),采用全自动生化仪检测小鼠肌酐(SCr)、血尿素氮(BUN)、尿微量白蛋白(uALB)、ACR、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、瘦素(LEP)、糖化血清蛋白(GSP)、胰岛素(INS)水平。取肾组织行苏木素-伊红(HE)、过碘酸-雪夫(PAS)和马松(Masson)染色观察其组织病理变化。采用免疫组化法(IHC)检测小鼠蛋白激酶A(PKA)、cAMP反应原件结合蛋白(CREB)表达;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测小鼠肾组织PKA、磷酸化(p)-PKA、CREB、p-CREB、B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)蛋白表达水平;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测小鼠肾组织中PKA、CREB、Bcl-2 mRNA表达水平。结果:与空白组比较,模型组小鼠精神萎靡,活动下降,体质量显著增加($P < 0.01$);生化指标显示BUN、uALB、ACR、AST、ALT、TC、TG、FBG、LEP、GSP、INS显著上升($P < 0.01$),SCr有上升趋势,差异无统计学意义;与模型组比较,补肾开玄通络方干预组小鼠的一般状况改善,体质量呈现下降趋势;生化指标显示BUN、uALB、ACR、TC、GSP、INS明显降低($P < 0.05$),SCr、AST、ALT、TG、LEP有降低趋势,差异无统计学意义。肾组织病理学分析显示,模型组可见肾小球基底膜增厚、系膜基质扩张、肾小管间质胶原纤维沉积等DKD病变的典型特征,各治疗组均能减轻上述病理损伤。免疫组化结果显示,与空白组比较,模型组肾组织中p-PKA、p-CREB表达水平显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,补肾开玄通络方中剂量组其表达水平显著增加($P < 0.01$),p-CREB表达水平有增加趋势,差异无统计学意义。Western blot结果显示,与空白组比较,模型组p-PKA/PKA、p-CREB/CREB、Bcl-2表达水平明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,补肾开玄通络方中剂量组其表达水平显著增加($P < 0.01$)。Real-time PCR结果显示,与空白组比较,模型组PKA、CREB、Bcl-2的mRNA表达明显下调($P < 0.05$);与模型组比较,补肾开玄通络方中剂量组其表达明显上调($P < 0.05$)。结论:补肾开玄通络方能改善db/db小鼠肝肾功能,纠正脂代谢紊乱及糖代谢失衡,其肾脏保护作用与上调cAMP信号通路改善肾纤维化,减轻氧化应激水平,进而保护肾功能。

[关键词] 糖尿病肾病; 补肾开玄通络方; 环磷酸腺苷(cAMP)信号通路; 中医药

[中图分类号] R259;R285;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)11-0087-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20251938

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.r.20250926.1658.004>

[网络出版日期] 2025-09-28 09:59:04



Mechanism of Bushen Kaixuan Tongluo Prescription in Improving Diabetic Nephropathy Based on cAMP Signaling Pathway

XU Miao^{1,2}, ZHAO Baosheng¹, WANG You¹, CHANG Yuzhuo¹, LIU Zehao¹, QIN Lingling¹,

[收稿日期] 2025-07-14

[基金项目] 科技部国家重点研发计划政府间国际科技创新合作重点专项(2021YFE0106300)

[第一作者] 徐淼,在读硕士,从事中医药防治肾脏疾病的相关研究,E-mail:xm18810536695@163.com

[通信作者] * 吕翠岩,博士,教授,主任医师,从事中医药防治内分泌代谢性疾病的临床与实验研究,E-mail:lv cuiyan@bjzhongyi.com

WANG Haiyan¹, GAO Ming³, LYU Cuiyan^{2*}, LIU Tonghua¹

(1. *Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;*

2. *Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100010, China;*

3. *Mukogawa Women's University, Hyogo Prefecture 663-8558, Japan)*

[Abstract] **Objective:** To investigate the molecular mechanism by which the Bushen Kaixuan Tongluo prescription exerts a renal protective effect in mice with diabetic kidney disease (DKD) by regulating the cyclic adenosine monophosphate (cAMP) signaling pathway. **Methods:** Thirty specific pathogen-free (SPF) male db/db mice were adaptively fed for three weeks. Mice with a random tail vein blood glucose level $\geq 11.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ and urinary albumin-creatinine ratio (ACR) $\geq 30 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ were considered successfully modeled. The successfully modeled mice were randomly divided into five groups with six mice in each group: the model group, the low-, medium-, and high-dose Bushen Kaixuan Tongluo prescription groups (administered at doses of 7, 14, 28 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ respectively), and the positive drug irbesartan group (administered at a dose of 20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$). Additionally, six db/m mice were selected as the blank group. Mice in each group were given intragastric administration of the Bushen Kaixuan Tongluo prescription at the corresponding concentrations, irbesartan, or an equal volume of pure water, and the intervention lasted for 12 weeks. During the experiment, the general conditions, body weight changes, and renal function indicators of the mice were dynamically monitored. After the intervention, a blood glucose meter was used to measure the fasting blood glucose (FBG) of the mice. An automatic biochemical analyzer was employed to detect the levels of serum creatinine (SCr), blood urea nitrogen (BUN), urinary microalbumin (uALB), ACR, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), total cholesterol (TC), triglycerides (TG), leptin (LEP), glycosylated serum protein (GSP), and insulin (INS) in the mice. Renal tissues were collected for hematoxylin-eosin (HE) staining, periodic acid-Schiff (PAS) staining, and Masson's trichrome staining to observe the histopathological changes. Immunohistochemistry (IHC) was used to detect the expressions of protein kinase A (PKA) and cAMP response element-binding protein (CREB) in the mice. Western blot analysis was performed to determine the expression levels of PKA, phosphorylated protein kinase A (p-PKA), CREB, phosphorylated cAMP response element-binding protein (p-CREB), and B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) proteins in the renal tissues of the mice. Real-time quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) was used to detect the mRNA expression levels of PKA, CREB, and Bcl-2 in the renal tissues of the mice. **Results:** Compared with the blank group, the mice in the model group showed listlessness, decreased activity, and a significant increase in body weight ($P<0.01$). Biochemical indicators revealed that the levels of BUN, uALB, ACR, AST, ALT, TC, TG, FBG, LEP, GSP, and INS were significantly increased ($P<0.01$), while SCr showed an increasing trend with no statistically significant difference. Compared with the model group, the mice in the Bushen Kaixuan Tongluo prescription intervention groups had improved general conditions and a decreasing trend in body weight. Biochemical indicators showed that the levels of BUN, uALB, ACR, TC, GSP, and INS were significantly decreased ($P<0.05$), while SCr, AST, ALT, TG, and LEP showed a decreasing trend with no statistically significant difference. Renal histopathological analysis showed that the model group exhibited typical DKD pathological features such as thickening of the glomerular basement membrane, expansion of the mesangial matrix, and deposition of collagen fibers in the renal tubulointerstitium, and all treatment groups could alleviate the above pathological damages. The IHC results showed that compared with the blank group, the expression levels of p-PKA and p-CREB in the renal tissues of the model group were significantly decreased ($P<0.01$). Compared with the model group, the expression level of p-PKA in the medium-dose Bushen Kaixuan Tongluo prescription group was significantly increased ($P<0.01$), while the expression level of p-CREB showed an increasing trend with no statistically significant difference. Western blot results showed that compared with the blank group, the expression levels of p-PKA/PKA, p-CREB/CREB, and Bcl-2 in the model group were significantly decreased ($P<0.05$). Compared with the model group, the expression levels of these proteins in the medium-dose Bushen Kaixuan Tongluo prescription group were significantly increased ($P<0.01$). Real-time PCR results showed that compared with the blank group, the mRNA expressions of PKA, CREB, and Bcl-2 in the model group were significantly down-regulated ($P<0.05$). Compared with the model group, the mRNA expressions of these genes in the medium-dose Bushen Kaixuan Tongluo prescription group were significantly up-regulated ($P<0.05$). **Conclusion:** The Bushen Kaixuan Tongluo prescription can improve the liver and kidney functions of db/db mice, correct lipid metabolism disorders and glucose metabolism imbalance. Its renal protective effect is associated with up-regulating the cAMP signaling pathway to improve renal fibrosis and reduce the level of oxidative stress, thereby protecting renal function.

[Keywords] diabetic kidney disease (DKD); Bushen Kaixuan Tongluo prescription; cyclic adenosine monophosphate (cAMP) signaling pathway; traditional Chinese medicine (TCM)

作为糖尿病最具危害性的微血管并发症之一，糖尿病肾病 (DKD) 是全球范围内终末期肾病 (ESRD) 发生的主要病因，其流行态势对公共卫生体系构成严峻挑战^[1-2]。DKD 病理特征表现为肾小

球系膜基质进行性增生硬化、肾小管间质纤维化及持续性蛋白尿,发病机制复杂,涉及糖脂代谢紊乱、氧化应激及各信号通路的异常激活等多维度的调控失衡^[3-4]。当前临床一线治疗多以肾素-血管紧张素系统抑制剂为主,虽可通过降低肾小球内高压并延缓早期蛋白尿进展,但对已发生肾小管间质纤维化的患者疗效有限,仍有30%~40%患者进展为ESRD^[5-6]。因此,深入探索DKD发病的新机制,并据此寻找安全有效的新型防治手段和干预靶点,具有迫切的科学需求和广阔的临床应用前景。

传统医学在DKD防治中呈现多靶点整合调节优势,且药物不良反应谱较窄,更适用于需长期用药的慢性肾病患者^[7]。补肾开玄通络方为临床治疗DKD的经验方,实际疗效确切。本团队前期临床试验已证实,补肾开玄通络方可有效改善患者临床症状并延缓疾病进程^[8]。然而,其发挥肾脏保护作用的具体分子机制,尤其是与关键信号通路之间的关联,尚未得到系统深入的阐释。已有研究表明,环磷酸腺苷(cAMP)/蛋白激酶A(PKA)/cAMP反应元件结合蛋白(CREB)信号通路可能具有改善肾纤维化等作用,但相关研究尚少^[9]。据此,本研究聚焦于cAMP/PKA/CREB信号通路,旨在深入探究补肾开玄通络方改善糖尿病肾病的潜在分子机制,以期为DKD的诊疗寻求新的依据和策略。

1 材料

1.1 动物 7周龄SPF级雄性db/db小鼠30只,体质量(37.58±0.62)g,同周龄雄性野生型db/m小鼠6只,体质量(24.38±0.35)g,购自江苏华创信诺医药科技有限公司,实验动物合格证号SCXK(苏)2020-0009。实验动物饲养于北京中医药大学SPF级动物实验中心,小鼠在温度20~24℃、相对湿度50%~70%、明暗交替节律12h、室内通风良好、自由饮水及摄食的标准条件下进行饲养,实验动物许可证号SYXK(京)2020-0033。

1.2 伦理 本研究已由北京中医药大学动物伦理委员会审批通过,批准编号BUCM-2024041506-2090。

1.3 药物 补肾开玄通络方由黄芪45g(批号2203064)、丹参30g(批号2305028)、水蛭6g(批号2102002)、防风20g(批号2212041)、炒僵蚕15g(批号2211065)、蝉蜕15g(批号2301028)、黑顺片10g(批号2210008)、生地黄20g(批号2308010)、山萸肉20g(批号2305087)、金樱子肉20g(批号2304033)、麸炒芡实30g(批号2209056)、覆盆子

30g(批号2303039)、蛇床子20g(批号2202043)、怀牛膝30g(批号2305097)、山药片20g(批号2304044)组成,中药饮片均购置于北京大洋树康药业有限责任公司,由北京大洋树康有限责任公司徐亚执业药师进行鉴定,符合2020年版《中华人民共和国药典》要求。制备方法:水煎浓缩法,生药浸泡后2次煎煮,合并滤液减压浓缩至稠膏,喷雾干燥得干膏粉。临用前以纯水定容至1.43g·mL⁻¹生药浓度。厄贝沙坦片(赛诺菲制药有限公司,国药准字J20171089,规格0.15g/片,批号DA203)。

1.4 试剂 苏木素-伊红(HE)染液、过碘酸-雪夫(PAS)染液、马松三色(Masson)染色染液套装(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号分别为G1005、G1008、G1006);柱式动物组织总蛋白抽提试剂盒(上海雅酶生物医药科技有限公司,批号PC201);PKA、CREB、磷酸化(p)-CREB、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(美国CST公司,批号分别为4782、9197、9198、4970);p-PKA、山羊抗兔二抗(英国Abcam公司,批号分别为ab75991、ab6721);B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)抗体(美国Proteintech公司,批号68103-1-Ig);SuperReal荧光定量预混试剂(北京天根生化科技有限公司,批号A1024A);免疫组化兔二步法检测试剂盒、免疫组化小鼠二步法检测试剂盒、二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号分别为PV-9001、PV-9002、ZLI-9018)。

1.5 仪器 HY-YQ-01型迈瑞BS-420全自动生化仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司);3K15型台式高速冷冻离心机(德国Sigma公司);BX53型光学显微镜(日本Olympus公司);JJ-12J型脱水机、JB-P5型包埋机(武汉俊杰电子有限公司);782BR20794型CFX Duet实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)系统(伯乐生命医学产品上海有限公司);RM2016型病理切片机(上海徠卡仪器有限公司);KD-P型组织摊片机(浙江科迪仪器设备有限公司);HY-YQ-08型华卫德朗DR-200BS酶标仪(无锡华卫德朗仪器有限公司);043BR83677型垂直电泳仪、721BR06231型凝胶成像仪(美国Bio-Rad公司)。

2 方法

2.1 DKD模型评价 db/db小鼠经3周适应性饲养后,通过尾静脉采血测定随机血糖值 ≥ 11.1 mmol·L⁻¹(符合美国糖尿病协会糖尿病诊断标准),计算尿微量白蛋白肌酐比(ACR)=尿微量白蛋白(uALB)/尿

肌酐 $\geq 30 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,则确认为DKD模型建立成功^[10]。

2.2 分组与给药 将造模成功的db/db小鼠随机分为5组($n=6$):模型组,补肾开玄通络方低、中、高剂量组,厄贝沙坦组。另取6只db/m小鼠作为空白组。给药剂量依据人-鼠体表面积等效剂量换算公式^[11]确定,补肾开玄通络方1g稠膏相当于2.8g生药,以此作为中剂量,补肾开玄通络方低、中、高剂量组分别灌胃给予7、14、28 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 的补肾开玄通络方,空白组和模型组给予等体积纯水。厄贝沙坦组灌胃给予20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 的厄贝沙坦。自由摄食饮水条件下持续干预12周。

2.3 标本采集与处理 干预结束后,将小鼠安置于单独的代谢笼中采集尿液样本,禁食不禁水,24 h后将代谢笼中尿液计量,后转移至2 mL无菌离心管,4 $^{\circ}\text{C}$ 、3 000 $\times\text{g}$ 离心10 min(离心半径8.22 cm,下同),后取上清液转移至新的离心管中,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。禁食12 h后测空腹血糖(FBG),后行摘眼球取血,静置析出血清,4 $^{\circ}\text{C}$ 、3 000 $\times\text{g}$ 离心10 min,分装,-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用;肾脏组织分为2份,肾门部组织经4%多聚甲醛固定用于病理学分析,皮质区组织速冻于液氮后转-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存,用于蛋白免疫印迹法(Western blot)检测。

2.4 指标观察与检测 采用全自动生化分析仪测定尿液中uALB,计算ACR;血清中血肌酐(SCr)、尿素氮(BUN)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、胰岛素(INS)、瘦素(LEP)、糖化血清蛋白(GSP)。尿液及血清相关指标由北京华英生物技术研究检测。

2.5 肾组织病理学检测 利用4%多聚甲醛固定肾组织经石蜡包埋后制作切片,分别进行HE、PAS、Masson染色脱水后封片,显微镜下观察肾组织形态变化。

2.6 免疫组化(IHC)检测肾组织cAMP/PKA/CREB通路相关蛋白表达 肾组织石蜡切片经脱蜡、水化处理,进行抗原热修复、山羊血清封闭等预处理后,将切片置于4 $^{\circ}\text{C}$ 与特异性一抗(p-PKA, 1:5 000; p-CREB, 1:400)共同孵育过夜。次日,移除一抗并充分清洗,加入相应的二抗进行结合反应。应用DAB底物进行显色反应,苏木素复染细胞核。染色后经梯度脱水,中性树胶封固,光学显微镜下观察评估抗体阳性信号。

2.7 Western blot检测肾组织中cAMP通路蛋白表达 取适量冻存的肾组织经低温研磨离心后提取

蛋白,采用蛋白定量法(BCA)测定蛋白浓度,随后加入Loading buffer,95 $^{\circ}\text{C}$ 加热制备蛋白样品。采用10%聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)凝胶,配置凝胶后取蛋白25 μg 进行上样,经电泳、转膜、封闭后,依次加入一抗 p-PKA、PKA、p-CREB、CREB(1:1 000),Bcl-2(1:5 000), β -actin(1:10 000),4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日经TBST清洗3次后,室温孵育山羊抗兔IgG二抗(1:10 000),TBST清洗3次,使用化学发光成像仪进行图像采集,采用Image J软件定量分析条带灰度值。

2.8 Real-time PCR检测肾组织中检测cAMP/PKA/CREB信号通路各mRNA表达 采用动物组织总RNA提取试剂盒提取肾组织总RNA,经浓度测定后,依据反转录试剂盒说明书反转录合成cDNA。反转录程序设定:42 $^{\circ}\text{C}$ 15 min基因组DNA去除及反转录、95 $^{\circ}\text{C}$ 3 min酶灭活,产物于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。随后,使用SuperReal荧光定量预混试剂配制反应体系,于Real-time PCR仪中进行扩增。扩增程序为95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性15 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性10 s,65 $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s,共40个循环。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)作为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行相对定量分析。本实验引物由北京泰科美生物科技有限公司进行合成,具体引物序列见表1。

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
PKA	上游 GCTGGAGATGGTGAACCGGA	671
	下游 CGTCCTTGAGCTCCACATTC	
CREB	上游 AGCAGCTCATGCAACATCATC	152
	下游 AGTCCTTACAGGAAGACTGAACT	
Bcl-2	上游 GCTACCGTCGTGACTTCGC	147
	下游 CCCACCGAAGCTCAAAGAAGG	
GAPDH	上游 AGGTGGGTGTGAACGGATTTG	95
	下游 GGGGTCGTTGATGGCAACA	

2.9 统计学方法 所有数据均用GraphPad Prism 9.0软件统计分析;方差一致时多组间比较用单因素方差分析,然后进行Tukey检验,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 补肾开玄通络方对db/db小鼠一般情况的影响 空白组小鼠行为活跃,毛色光泽;模型组小鼠体型偏胖,精神萎靡,活动时间大幅降低;其余给药组小鼠状态较模型组有一定的改善。

3.2 补肾开玄通络方对 db/db 小鼠体质量的影响
实验周期内,与空白组比较,模型组小鼠体质量显著增加,差异有统计学意义($P<0.01$);与模型组比

较,各给药组小鼠体质量有下降趋势,自第8周出现差异,其中补肾开玄通络方高剂量组效果最佳。见表2。

表2 补肾开玄通络方对 db/db 小鼠体质量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	0周	4周	8周	12周
空白组		24.38±0.35	29.88±0.46	32.92±0.90	33.14±0.49
模型组		37.27±1.46 ²⁾	45.63±1.85 ²⁾	49.38±3.52 ²⁾	50.86±4.69 ²⁾
补肾开玄通络方低剂量组	7	36.47±1.40	44.07±1.84	43.41±1.33	40.03±1.36 ³⁾
补肾开玄通络方中剂量组	14	37.57±1.01	44.23±2.05	42.47±3.36 ³⁾	40.25±4.78 ³⁾
补肾开玄通络方高剂量组	28	38.03±1.62	43.28±1.63	40.82±1.87 ⁴⁾	36.49±1.93 ⁴⁾
厄贝沙坦组	0.02	38.58±1.66	44.63±1.66	46.03±2.10	44.83±2.43

注:与空白组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与模型组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表3-表8同)

3.3 补肾开玄通络方对 db/db 小鼠肾功能的影响
与空白组比较,模型组小鼠SCr有升高趋势,差异无统计学意义,BUN、uALB、ACR水平明显升高($P<0.05, P<0.01$);与模型组比较,补肾开玄通络方各给药组SCr有降低趋势,差异无统计学意义,

BUN、uALB、ACR水平明显降低($P<0.05, P<0.01$),其中BUN以补肾开玄通络方高剂量组效果最佳,而补肾开玄通络方中剂量组效果最佳,厄贝沙坦给药组小鼠SCr、BUN有降低趋势,差异无统计学意义,uALB、ACR显著降低($P<0.01$)。见表3。

表3 补肾开玄通络方对 db/db 小鼠肾功能的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	SCr/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	BUN/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	uALB/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	ACR/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
空白组		53.76±0.91	6.79±0.26	1.69±0.13	9.54±1.01
模型组		61.34±1.89	9.08±0.73 ¹⁾	4.16±0.19 ²⁾	63.08±9.92 ²⁾
补肾开玄通络方低剂量组	7	55.69±3.55	6.99±0.54 ³⁾	1.81±0.05 ⁴⁾	21.37±0.62 ⁴⁾
补肾开玄通络方中剂量组	14	50.45±3.02	6.48±0.26 ⁴⁾	1.21±0.08 ⁴⁾	19.99±2.03 ⁴⁾
补肾开玄通络方高剂量组	28	51.59±3.09	6.01±0.30 ⁴⁾	1.34±0.09 ⁴⁾	22.72±1.38 ⁴⁾
厄贝沙坦组	0.02	55.33±2.31	7.93±0.48	1.37±0.09 ⁴⁾	27.00±3.83 ⁴⁾

3.4 补肾开玄通络方对 db/db 小鼠肝功能、脂代谢的影响
与空白组比较,模型组小鼠ALT、AST、TC、TG水平明显升高($P<0.05, P<0.01$);与模型组比较,补肾开玄通络方各给药组小鼠AST、ALT水平有降低趋势,差异无统计学意义,TC水平显著降

低($P<0.01$),补肾开玄通络方中剂量组TG水平显著降低($P<0.01$),余中药组TG水平有降低趋势,差异无统计学意义,厄贝沙坦给药组小鼠TC有降低趋势,差异无统计学意义,TG水平显著降低($P<0.01$)。见表4。

表4 补肾开玄通络方对 db/db 小鼠肝功能、脂代谢的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	AST/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$	ALT/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$	TC/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	TG/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
空白组		158.80±6.44	56.31±3.00	2.40±0.08	1.22±0.11
模型组		310.20±53.30 ¹⁾	206.70±24.98 ²⁾	2.98±0.21 ¹⁾	3.71±0.22 ²⁾
补肾开玄通络方低剂量组	7	202.50±22.27	125.30±8.74	2.09±0.06 ⁴⁾	3.13±0.18
补肾开玄通络方中剂量组	14	263.10±31.37	166.80±34.28	1.94±0.10 ⁴⁾	2.23±0.32 ⁴⁾
补肾开玄通络方高剂量组	28	266.20±22.96	166.80±22.61	1.97±0.05 ⁴⁾	2.96±0.26
厄贝沙坦组	0.02	215.30±14.43	101.70±20.41	2.50±0.19	2.42±0.31 ⁴⁾

3.5 补肾开玄通络方对 db/db 小鼠糖代谢的影响
与空白组比较,模型组小鼠 FBG、LEP、GSP、INS 水平显著升高 ($P<0.01$);与模型组比较,各给药组小鼠 FBG 无降低趋势,补肾开玄通络方给药组小鼠

LEP 水平有降低趋势,差异无统计学意义,厄贝沙坦给药组小鼠 LEP 明显降低 ($P<0.05$),各给药组 GSP、INS 水平明显降低,差异有统计学意义 ($P<0.05, P<0.01$)。见表 5。

表 5 补肾开玄通络方对 db/db 小鼠糖代谢的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

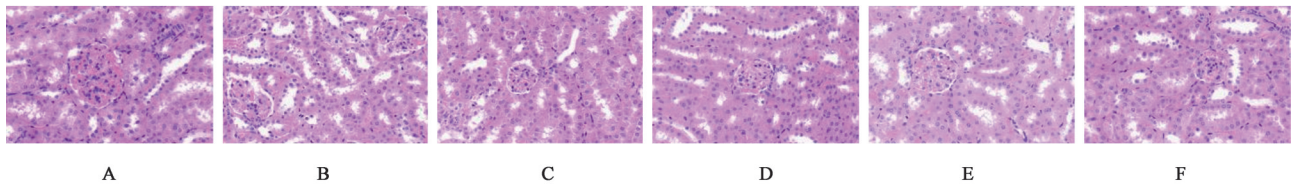
Table 5 Effect of Bushen Kaixuan Tongluo prescription on glucose metabolism in db/db mice ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/ $g\cdot kg^{-1}$	FBG/ $mmol\cdot L^{-1}$	LEP/ $\mu g\cdot L^{-1}$	GSP/ $\mu mol\cdot L^{-1}$	INS/ $mU\cdot L^{-1}$
空白组		4.17±0.26	5.32±0.18	127.30±2.69	7.99±0.13
模型组		18.87±3.84 ²⁾	6.46±0.22 ¹⁾	239.40±14.98 ²⁾	23.34±2.16 ²⁾
补肾开玄通络方低剂量组	7	28.22±2.30	5.60±0.30	201.80±4.68 ⁴⁾	18.52±0.72 ³⁾
补肾开玄通络方中剂量组	14	28.00±3.33	5.98±0.46	193.30±5.79 ⁴⁾	15.64±0.33 ⁴⁾
补肾开玄通络方高剂量组	28	33.30±0.00 ⁴⁾	5.50±0.08	178.70±2.63 ⁴⁾	14.57±0.23 ⁴⁾
厄贝沙坦组	0.02	25.62±2.36	5.27±0.14 ³⁾	163.80±2.32 ⁴⁾	14.28±0.57 ⁴⁾

3.6 补肾开玄通络方对 db/db 小鼠肾组织病理学的影响
HE 染色结果显示,空白组小鼠肾脏组织结构正常,肾小球形态规则,肾小管上皮细胞结构完整,模型组中可见肾小球形态不规则、系膜细胞中度增生,伴有炎症细胞浸润及肾小管上皮细胞空泡样变等病理改变,补肾开玄通络方低、中、高剂量组及厄

贝沙坦组中的上述病理特征有所改善。见图 1。

PAS 染色结果显示,空白组小鼠肾小球细胞外基质可见少量沉积,模型组中可见肾小球细胞外基质大量沉积,基底膜增厚显著,补肾开玄通络方低、中、高剂量组及厄贝沙坦组中的上述病理特征有一定改善。见图 2。



注:A.空白组;B.模型组;C.补肾开玄通络方低剂量组;D.补肾开玄通络方中剂量组;E.补肾开玄通络方高剂量组;F.厄贝沙坦组(图2、图3同)

图 1 补肾开玄通络方对 db/db 小鼠肾组织病理形态的影响(HE,×400)

Fig. 1 Effect of Bushen Kaixuan Tongluo prescription on renal pathological morphology in db/db mice (HE,×400)

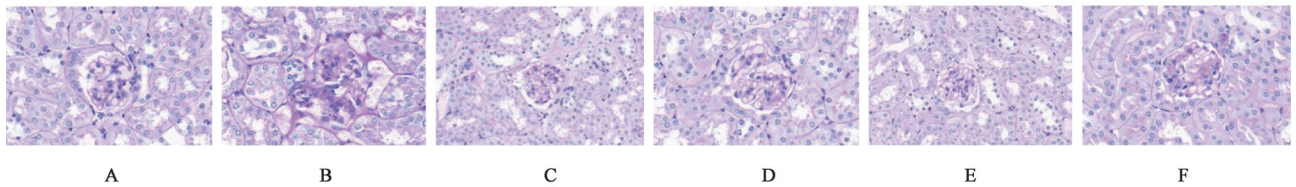


图 2 补肾开玄通络方对 db/db 小鼠肾组织细胞外基质沉积的影响(PAS,×400)

Fig. 2 Effect of Bushen Kaixuan Tongluo prescription on deposition of extracellular matrix in renal tissue of db/db mice (PAS,×400)

Masson 染色结果显示,空白组小鼠肾小球结构正常,可见少量病理性胶原纤维沉积,模型组中可见肾小球和肾间质出现大量蓝色胶原纤维沉积,补肾开玄通络方低、中、高剂量组及厄贝沙坦组中的上述病理特征有不同程度的改善。见图 3。

3.7 补肾开玄通络方对 db/db 小鼠肾组织 p-PKA、p-CREB 表达的影响
与空白组比较,模型组小鼠肾组织中 p-PKA、p-CREB 着色程度显著降低 ($P<$

0.01);与模型组比较,补肾开玄通络方中剂量组小鼠肾组织中 p-PKA 表达显著增加 ($P<0.01$)。见图 4、表 6。

3.8 补肾开玄通络方对 db/db 小鼠肾组织中 p-PKA、PKA、p-CREB、CREB、Bcl-2 蛋白表达的影响
与空白组比较,模型组小鼠肾组织中 p-PKA/PKA、p-CREB/CREB、Bcl-2 蛋白表达明显降低 ($P<0.05, P<0.01$);与模型组比较,补肾开玄通络方

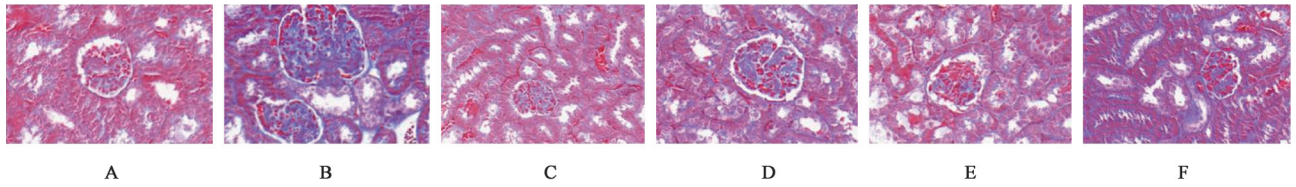
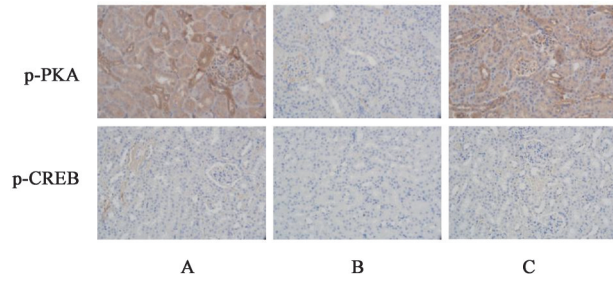


图3 补肾开玄通络方对db/db小鼠肾组织纤维化程度的影响(Masson, ×400)

Fig. 3 Effect of Bushen Kaixuan Tongluo prescription on degree of renal tissue fibrosis in db/db mice (Masson, ×400)



注:A.空白组;B.模型组;C.补肾开玄通方中剂量组(图5同)

图4 补肾开玄通络方对db/db小鼠肾组织中p-PKA、p-CREB表达的影响(IHC, ×400)

Fig. 4 Effect of Bushen Kaixuan Tongluo prescription on expressions of p-PKA and p-CREB in renal tissue of db/db mice (IHC, ×400)

表6 补肾开玄通络方对db/db小鼠肾组织中p-PKA、p-CREB表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 6 Effect of Bushen Kaixuan Tongluo prescription on expressions of p-PKA and p-CREB in renal tissue of db/db mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	p-PKA	p-CREB
空白组		81.47±4.87	3.26±0.76
模型组		10.67±1.49 ²⁾	0.26±0.05 ²⁾
补肾开玄通络方中剂量组	28	74.78±2.57 ⁴⁾	1.60±0.29

中剂量组小鼠肾组织中p-PKA/PKA、p-CREB/CREB、Bcl-2蛋白表达显著增加($P < 0.01$)。见图5、表7。

3.9 补肾开玄通络方对db/db小鼠肾组织中PKA、CREB、Bcl-2 mRNA表达的影响 与空白组比较,模型组小鼠肾组织中PKA、CREB、Bcl-2 mRNA表达显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,补肾开玄通络方中剂量组小鼠肾组织中PKA、CREB、Bcl-2 mRNA表达明显增加($P < 0.05, P < 0.01$)。见表8。

表7 补肾开玄通络方对db/db小鼠肾组织中p-PKA、PKA、p-CREB、CREB、Bcl-2蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 7 Effect of Bushen Kaixuan Tongluo prescription on protein expressions of p-PKA, PKA, p-CREB, CREB, and Bcl-2 in renal tissue of db/db mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	p-PKA/PKA	p-CREB/CREB	Bcl-2/β-actin
空白组		1.00±0.04	1.00±0.05	1.00±0.06
模型组		0.62±0.07 ¹⁾	0.46±0.03 ²⁾	0.70±0.09 ¹⁾
补肾开玄通络方中剂量组	28	1.11±0.16 ⁴⁾	1.01±0.08 ⁴⁾	1.11±0.07 ⁴⁾

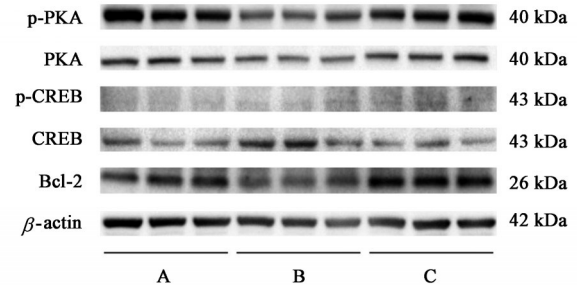


图5 db/db小鼠肾组织中p-PKA、PKA、p-CREB、CREB、Bcl-2蛋白表达电泳

Fig. 5 Electrophoresis of protein expressions of p-PKA, PKA, p-CREB, CREB, and Bcl-2 in renal tissue of db/db mice

4 讨论

传统中医文献虽未明确记载DKD的病名,但其泡沫尿等临床主症,现代中医学者普遍将其归属为“尿浊”“关格”等病证范畴^[12]。吕翠岩教授结合其多年临床经验,创立补肾开玄通络方。该方以黄芪为君,借其补气升阳之效,配伍附子温肾助阳,共奏益气温阳以化浊之功。臣药丹参、水蛭活血通络,防风、僵蚕、蝉蜕祛风透邪。佐以地黄、山茱萸滋肾填精,怀牛膝引药下行,更以金樱子、芡实、覆盆子、蛇床子固肾摄精,使药山药健脾固肾。诸药合用,配伍得当,共奏补肾健脾、化浊祛瘀之效,临床疗效可观。现代药理学研究揭示,方中各组分活性物质可通过多靶点改善肾功能:丹参酮II_A与水蛭素能抑制转化生长因子-β(TGF-β)/丝氨酸/苏氨酸受体激酶相关信号转导蛋白(Smad)信号级联反应,减轻肾间质纤维化及微循环障碍^[13-14];防风多糖可下调核转录因子-κB(NF-κB)通路介导的炎症反应,缓解DKD的慢性炎症状态^[15-16];山茱萸苷通过激活核转录因子E₂相关因子2(Nrf2)/抗氧化反应元

表8 补肾开玄通络方对db/db小鼠肾组织中PKA、CREB、Bcl-2的mRNA表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 8 Effect of Bushen Kaixuan Tongluo prescription on mRNA expressions of PKA, CREB, and Bcl-2 in renal tissue of db/db mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/ g·kg ⁻¹	PKA	CREB	Bcl-2
空白组		1.00±0.01	1.00±0.08	1.00±0.06
模型组		0.19±0.07 ²⁾	0.74±0.01 ²⁾	0.44±0.02 ²⁾
补肾开玄通络方中剂量组	28	0.93±0.19 ³⁾	1.16±0.02 ⁴⁾	0.83±0.12 ³⁾

件(ARE)通路增强抗氧化酶表达^[17-18];牛膝甾酮可调控磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号抑制足细胞程序性死亡^[19];薯蓣皂苷元通过腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)通路调节自噬,改善肾小管上皮细胞代谢记忆效应^[20]。

cAMP信号通路作为细胞能量代谢与基因表达调控的核心枢纽,广泛参与细胞生存及线粒体功能维持等重要生理过程,对维持肾脏稳态至关重要^[21]。生理状态下,腺苷酸环化酶(AC)催化生成第二信使cAMP,后者变构激活PKA。活化的PKA催化亚基进而磷酸化转录因子CREB,形成其活性形式p-CREB^[22]。随后,p-CREB转位入核,特异性识别并结合靶基因启动子区的CRE,启动下游效应基因Bcl-2的转录表达,发挥其抗凋亡作用,减轻细胞损伤^[23-24]。在DKD病理进程中,持续高血糖微环境通过双重机制破坏cAMP代谢稳态:一方面显著抑制肾脏组织内AC的催化活性,另一方面代偿性增强磷酸二酯酶(PDE)的降解活性,最终导致cAMP水平显著下降^[25]。这种代谢失衡直接削弱PKA/CREB信号传导,引发线粒体功能受损、抗氧化酶合成不足、抗凋亡因子表达下调等连锁反应,加速肾小球硬化与肾小管间质纤维化进程。因此,靶向激活cAMP信号通路具有多途径肾脏保护潜能。研究证实,cAMP/PKA通路活化有助于维持足细胞裂孔膜蛋白表达,保护肾小球滤过屏障完整性,直接改善DKD特征性的蛋白尿表现^[26]。另有报道,CREB可诱导超氧化物歧化酶2(SOD2)等抗氧化酶基因转录,从而减轻DKD中普遍存在的肾小管上皮细胞氧化应激损伤^[27]。同时,有研究发现,Bcl-2表达可降低线粒体电子传递链的电子泄漏,抑制活性氧积累,保护细胞免受氧化损伤,维持高糖微环境中足细胞和肾小管上皮细胞的存活^[28]。已有研究证实,血糖正常化可减少晚期糖基化终产物

(AGEs)积累及其受体激活,从而减轻肾小球基底膜增厚及足细胞损伤^[29]。同时,改善血脂谱可抑制肾脏脂质沉积与巨噬细胞浸润,最终实现延缓肾小球硬化和间质纤维化进展^[25,30]。然而,目前基于cAMP信号通路探讨补肾开玄通络方改善DKD的分子机制研究尚属空白。

本研究选用db/db小鼠模拟人类DKD病理进程,通过补肾开玄通络方进行药物干预评估其肾脏保护作用,同时具有一定的肝脏安全性。实验结果表明,补肾开玄通络方可明显改善db/db小鼠整体状态,显著改善小鼠肾功能。此外,补肾开玄通络方可明显改善小鼠糖脂代谢,表明其具有调节糖脂代谢紊乱作用。肾脏组织病理学评估显示,补肾开玄通络方可缓解db/db小鼠肾小球基底膜增厚、系膜基质扩张及肾小管间质胶原纤维沉积等典型DKD病变特征,进一步表明该方具有明显的改善DKD药效学作用。分子机制进一步研究揭示,补肾开玄通方可通过上调db/db小鼠肾组织中PKA、CREB、Bcl-2 mRNA表达水平及p-PKA/PKA、p-CREB/CREB、Bcl-2蛋白表达水平,激活cAMP信号通路核心节点,进而增强肾脏抗氧化能力并改善滤过屏障功能。

综上所述,补肾开玄通络方能改善db/db小鼠的肝肾功能,纠正脂代谢紊乱及糖代谢失衡,并通过上调cAMP信号通路减轻肾纤维化病变及氧化应激损伤,最终实现肾功能保护作用。本研究初步阐释了补肾开玄通络方改善DKD的分子药理学机制,不仅为其临床应用提供了实验依据,更为靶向调控cAMP信号通路的新型DKD治疗策略奠定了理论基础。需要说明的是,本研究虽从整体动物、组织病理及分子水平证实补肾开玄通络方可通过调控cAMP信号通路发挥DKD治疗作用,但尚未涉及该通路下游效应分子如脑源性神经营养因子(BDNF)的验证工作,未来需就此展开纵深探索,以进一步完善其作用机制网络。

[利益冲突] 刘铜华为《中国实验方剂学杂志》编委,未参与审稿等环节;本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] YANG R, CHEN R, XU N, et al. Therapeutic targeting of PRSS3 to alleviate kidney damage in DKD [J]. Cell Biol Toxicol, 2025, 41(1):108.
- [2] WANG Y, GU S, XIE Z, et al. Trends and disparities in the burden of chronic kidney disease due to type 2 diabetes in china from 1990 to 2021: A population-based study [J]. J

- Diabetes, 2025, 17(4): e70084.
- [3] 徐森, 贾晓蕾, 秦灵灵, 等. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨中医药干预糖尿病肾病的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(11): 90-97.
XU M, JIA X L, QIN L L, et al. Research progress on PI3K/Akt signaling pathway in prevention and treatment of diabetes nephropathy and intervention of traditional Chinese medicine [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(11): 90-97.
- [4] 张钦媛, 陈彦旭, 秦大凯, 等. 中药调控 Nrf2 信号通路干预糖尿病肾病研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(18): 277-285.
ZHANG Q Y, CHEN Y X, QIN D K, et al. Intervention of traditional Chinese medicine in diabetic nephropathy by regulating Nrf2 signaling pathway: A review [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(18): 277-285.
- [5] ZHANG Y, YANG Y, HU X, et al. RAS protein activator-like 2 (RASAL2) initiates peritubular capillary rarefaction in hypoxic renal interstitial fibrosis [J]. Transl Res, 2024, 269: 14-30.
- [6] WANG H, SHI H, SHENG G, et al. The chemical-pharmacological continuum of Yucan formula: Integrated component-tissue exposure correlation informs diabetic kidney disease target network [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2025, doi: 10.1016/j.jchromb.2025.124715.
- [7] 王婷, 黄莉吉, 余江毅. “治未病”指导下的糖尿病肾病防治策略[J]. 江西中医药, 2022, 53(4): 12-15.
WANG T, HUANG L J, YU J Y. Prevention and treatment strategy of diabetic nephropathy under the guidance of "preventive treatment of disease" [J]. Jiangxi J Tradit Chin Med, 2022, 53(4): 12-15.
- [8] 周洛卿, 王友, 贾晓蕾, 等. 补肾开玄通络方联合西药治疗 G3a 期糖尿病肾病的疗效观察[J]. 北京中医药, 2024, 43(5): 551-554.
ZHOU L Q, WANG Y, JIA X L, et al. Clinical observation of Bushen Kaixuan Tongluo recipe combined with western medicine in the treatment of G3a stage diabetic nephropathy [J]. Beijing J Tradit Chin Med, 2024, 43(5): 551-554.
- [9] 贺晓丹, 张紫媛, 胡雅玲, 等. 黄芪甲苷通过调控环磷酸腺苷/蛋白激酶 A 信号通路抑制铁死亡减轻单侧输尿管梗阻大鼠肾纤维化[J]. 中国血液净化, 2025, 24(6): 479-484.
HE X D, ZHANG Z Y, HU Y L, et al. Astragaloside IV alleviates renal fibrosis in unilateral ureteral obstruction rats by inhibiting ferroptosis through the regulation of the cAMP/PKA signaling pathway [J]. Chin J Blood Purif, 2025, 24(6): 479-484.
- [10] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)[J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(4): 292-344.
Chinese Diabetes Society. Guidelines for the prevention and control of type 2 diabetes in China (2017 Edition) [J]. Chin J Pract Int Med, 2018, 38(4): 292-344.
- [11] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069-1072.
HUANG J H, HUANG X H, CHEN Z Y, et al. Equivalent dose conversion among animals and between animals and humans in pharmacological experiments [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [12] 王和强, 张太坤, 符莹, 等. 中医药治疗糖尿病肾病新进展[J]. 中医药临床杂志, 2013, 25(7): 651-653.
WANG H Q, ZHANG TK, FU Y, et al. New progress in the treatment of diabetic nephropathy with traditional Chinese medicine [J]. Clin J Tradit Chin Med, 2013, 25(7): 651-653.
- [13] 张明昊, 高一盈, 赵盈盈, 等. 复方丹参片通过调控 TGF- β 1/Smad 通路及基质金属蛋白酶水平对肾纤维化大鼠的作用机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2022, 33(3): 300-306.
ZHANG M H, GAO Y Y, ZHAO Y Y, et al. Pharmacodynamics and mechanistic study of compound Danshen tablet on renal fibrosis rats by regulating TGF- β 1/Smad pathway and level of matrix metalloproteinase [J]. Tradit Chin Drug R Clin Pharm, 2022, 33(3): 300-306.
- [14] 何怡芊, 谢骏, 赵炳佳, 等. 水蛭素对糖尿病大鼠肾脏的保护作用及其分子机制[J]. 协和医学杂志, 2024, 15(6): 1372-1381.
HE Y Q, XIE J, ZHAO B J, et al. Protective effect and molecular mechanism of hirudin on kidney of diabetic rats [J]. Med J Pek Union Med, 2024, 15(6): 1372-1381.
- [15] YU Y, ZHU H, SHEN M, et al. Sulfate glycosaminoglycan from swim bladder exerts immunomodulatory potential on macrophages via toll-like receptor 4 mediated NF- κ B signaling pathways [J]. Int J Biol Macromol, 2024, 13(1): 115-123.
- [16] 章涛, 梁建庆, 杨霞, 等. 大黄糖络丸调控 AGEs/RAGE/IKK/NF- κ B 通路改善糖尿病肾病小鼠肾脏炎症损伤的机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(20): 77-85.
ZHANG P, LIANG J Q, YANG X, et al. Mechanism of Dahuang Tangluo pill in improving renal inflammatory injury in diabetic kidney disease by regulating AGEs/RAGE/IKK/NF- κ B pathway [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2024, 30(20): 77-85.
- [17] 丁国明, 耿晴, 韩颖敏. 山茱萸提取物对慢性肾功能衰竭大鼠的肾保护作用及对 oxidase/ROS/ERK 信号通路的影响[J]. 新中医, 2020, 52(18): 14-18.
DING G M, JI Q, HAN Y M. Extract of cornus officinalis has effect on renal protection and Oxidase/ROS/ERK signaling pathway in rats with chronic renal failure [J]. J New Chin Med, 2020, 52(18): 14-18.
- [18] 邵琰, 牟微娜, 俞莹莹. 山茱萸提取物经 COX-2/Nrf2 信号通路对脓毒症模型大鼠肝损伤的改善作用[J]. 浙江中西医结合杂志, 2021, 31(4): 308-313.
SHAO Y, MU W N, YU Y Y. Effect of *Cornus officinalis* extract on protection of liver injury in a rat sepsis model via regulation of COX-2/Nrf2 signaling [J]. Zhejiang J Int Tradit Chin West Med, 2021, 31(4): 308-313.

- [19] 魏元基,李峻昊,王利波,等. 牛膝活性成分 β -蜕皮甾酮通过Akt信号干预地塞米松诱导的骨细胞凋亡[J]. 中国骨质疏松杂志,2019,25(3):375-379.
WEI Y J, LI J H, WANG L B, et al. β -Ecdysone protects osteocytes from glucocorticoid-induced apoptosis via Akt signal pathway *in vitro* [J]. Chin J Osteop, 2019, 25 (3) : 375-379.
- [20] 徐林飞,刘晟,林勇峰,等. 薯蓣皂苷元通过腺苷酸活化蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白通路增强前列腺癌细胞放疗敏感性的实验研究[J]. 中国性科学,2022,31(12):34-39.
XU L F, LIU S, LIN Y F, et al. An experimental study of diosgenin enhancing the radiotherapy sensitivity of prostate cancer cells through AMPK/mTOR pathway [J]. Chin J Human Sex,2022,31(12):34-39.
- [21] ZHANG L, LIU W, LI S, et al. Astragaloside IV alleviates renal fibrosis by inhibiting renal tubular epithelial cell pyroptosis induced by urotensin II through regulating the cAMP/PKA signaling pathway[J]. PLoS One, 2024, 19(5) : e0304365.
- [22] OSTROM K F, LAVIGNE J E, BRUST T F, et al. Physiological roles of mammalian transmembrane adenylyl cyclase isoforms[J]. Physiol Rev,2022,102(2):815-857.
- [23] ZHANG H, KONG Q, WANG J, et al. Complex roles of cAMP-PKA-CREB signaling in cancer [J]. Exp Hematol Oncol, 2020, 9(1):32.
- [24] 王文婷,郝阳晶,苏文娜,等. 地黄饮子通过SIRT2调节突触可塑性改善学习记忆障碍小鼠认知功能的作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2025,31(6):9-17.
WANG W T, HAO Y J, SU W N, et al. Dihuang Yinzi improves cognitive function of mouse model of learning and memory impairments by regulating synaptic plasticity via SIRT2[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(6):9-17.
- [25] WANG M, ZHANG Q, LOU S, et al. Inhibition of MD2 by natural product-driven JM-9 attenuates renal inflammation and diabetic nephropathy in mice[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 168: 115660.
- [26] 向芑,谢可炜,姜金星,等. 蛋白激酶A部分通过环磷腺苷效应元件结合蛋白信号防止足细胞凋亡[J]. 上海交通大学学报:医学版,2016,36(1):6-12.
XIANG P, XIE K W, JIANG J X, et al. Prevention of apoptosis of podocytes by protein kinase A via cAMP response element binding protein signaling pathway [J]. J Shanghai Jiao Tong Uni:Med Sci,2016,36(1):6-12.
- [27] 章俊,邱敏姿,马亚琼,等. 晚期蛋白氧化产物通过氧化应激诱导肾小管上皮细胞转分化[J]. 南方医科大学学报,2014,34(5):659-663.
ZHANG J, QIU M Z, MA Y Q, et al. Advanced oxidation protein products induce epithelial-to-mesenchymal transition in cultured human proximal tubular epithelial cells via oxidative stress[J]. J South Med Uni,2014,34(5):659-663.
- [28] VRINGER E, TAIT S W G. Mitochondria and cell death-associated inflammation[J]. Cell Death Differ, 2023, 30(2) : 304-312.
- [29] ROTH J, EDELSTEIN R. Diabetes/Metabolism reviews becomes Diabetes/Metabolism research and reviews [J]. Diabetes Metab Res Rev, 1999, 15(1):2.
- [30] GNECCO-GONZÁLEZ S, AMAYA-MONTOYA M, HERRERA-PARRA L J, et al. Strong negative association of non-HDL cholesterol goal achievement with incident CKD among adults with diabetes[J]. J Endocr Soc, 2023, 7(3) : bvac193.

[责任编辑 孙丛丛]