

DOI: 10.11830/ISSN.1000-5013.202402003



金线莲多糖通过抑制 NF- κ B 信号通路 对糖尿病小鼠肾损伤的改善作用

盛世美¹, 张建刚², 陈烨¹, 戴招龙¹, 李乐¹, 刘青¹

(1. 华侨大学 化工学院, 福建 厦门 361021;

2. 兰州大学 基础医学院, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 为了考察金线莲多糖对糖尿病小鼠肾损伤的改善作用,将糖尿病小鼠随机分为模型组、二甲双胍组及高、低剂量金线莲多糖组(100 和 300 mg \cdot kg⁻¹),给药 4 周后测定小鼠血清生化指标、炎症因子及肾皮质中的蛋白表达,并观察肾组织形态学变化。结果表明:与正常组比,模型组小鼠 24 h 的尿蛋白质量,血肌酐浓度、丙二醛浓度、炎症因子显著升高,而血清超氧化物歧化酶活力显著下降;模型组小鼠肾组织 p-NF- κ B p65 的蛋白表达显著上调,podocin, Nephlin 的蛋白表达明显下调;组织学检查显示模型组小鼠肾组织结构异常改变;经金线莲多糖干预后,糖尿病小鼠血清生化指标、肾组织中蛋白表达均明显逆转,组织学检查也显示糖尿病小鼠肾损伤明显改善。

关键词: 金线莲多糖; 糖尿病; 肾损伤; NF- κ B 信号通路

中图分类号: R 965.1

文献标志码: A

文章编号: 1000-5013(2024)05-0635-07

Improvement Effects of *Anoectochilus roxburghii* Polysaccharose on Renal Injury in Diabetic Mice by Inhibiting NF- κ B Signaling Pathway

SHENG Shimei¹, ZHANG Jiangang², CHEN Ye¹,
DAI Zhaolong¹, LI Le¹, LIU Qing¹

(1. College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China;

2. School of Basic Medicine, Lanzhou University, Lanzhou 73/000, China)

Abstract: To investigate the improvement effect of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharide on renal injury in diabetic mice, the diabetic mice were randomly divided into model group, metformin group and *Anoectochilus roxburghii* polysaccharide groups (100 and 300 mg \cdot kg⁻¹). After 4 weeks of treatment, the serum biochemical indexes, inflammatory factors and protein expression in renal cortex of the mice were measured, and the renal morphological changes were observed. The results showed that compared with the control group, 24-hour urine protein mass, serum creatinine concentration, malondialdehyde content and inflammatory factors of mice in model group were significantly increased, while serum superoxide dismutase activity was significantly decreased. The protein expression of p-NF- κ B p65 in renal tissue of model group was significantly up-regulated, and the protein expressions of podocin and Nephlin were significantly down-regulated. Histological examination showed abnormal changes of renal tissue structure of mice in model group. The serum biochemical indexes and protein expression in kidney tissue of diabetic mice were significantly reversed after the intervention of the

收稿日期: 2024-02-15

通信作者: 刘青(1970-),女,副教授,博士,主要从事药理及中药提取物的活性研究。E-mail:liuq@hqu.edu.cn。

Anoectochilus roxburghii polysaccharide, and the histological examination also showed that the kidney injury of diabetic mice treated with *Anoectochilus roxburghii* polysaccharide was significantly improved.

Keywords: *Anoectochilus roxburghii* polysaccharose; diabetes; renal injure; NF- κ B signaling pathway

糖尿病肾病是糖尿病最常见的综合症。在持续高血糖的毒性作用下糖尿病患者肾脏的结构和功能发生改变,导致肾小球高滤过,尿蛋白增加及肾脏损伤^[1]。肾小球滤过屏障异常,蛋白尿的出现是糖尿病肾病早期标志性的临床表现。足细胞及其足突之间的裂孔隔膜构成滤过屏障的最外层,足细胞结构异常是蛋白尿发生的重要原因。足细胞的足突间交叉形成裂孔,其上覆盖的隔膜中表达多种特异性蛋白,podocin 和 Nephlin 是裂孔膜上的重要蛋白分子,对维持裂孔膜的完整起关键作用。如果足细胞的特征性蛋白丢失,裂孔间隙就会变大,引起肾小球滤过屏障高渗漏,蛋白就进入尿液,形成蛋白尿^[2]。引起糖尿病肾病的机制复杂,目前临床上还没有理想的治疗糖尿病肾病的特异性药物。

金线莲是兰科开唇属的多年生草本植物,在我国主要分布于福建、江西、台湾等地。金线莲性平味甘,具有清热凉血、祛风利湿的功效^[2],且无毒副作用,在民间常用于治疗肾炎、糖尿病、高血压等病症^[3]。金线莲多糖是金线莲的主要有效成分之一,以往的研究显示,金线莲多糖有很好的降血糖、降血脂等作用^[4-5]。金线莲多糖能保护糖尿病小鼠的肾组织^[6],但金线莲多糖是否能通过改善糖尿病小鼠的肾小球过滤屏障而改善肾功能还未见研究。基于此,本文研究金线莲多糖通过抑制 NF- κ B 信号通路对糖尿病小鼠肾损伤的改善作用。

1 实验材料

1.1 材料与试剂

金线莲原植物(福建省佳晟生物有限公司);二甲双胍肠溶片($0.25\text{ mg}\cdot\text{片}^{-1}$,贵州天安药业股份有限公司),药物均采用蒸馏水现配现用。金线莲多糖(*Anoectochilus roxburghii* polysaccharose, ARP)由兰州大学功能有机分子化学国家重点实验室提取、鉴定并提供^[6],纯度 $\geq 95\%$ 。

链脲佐菌素(STZ,美国 Sigma 公司);高脂饲料(HFD,按照 20%脂肪、2%胆固醇、10%蔗糖、0.5%胆酸钠、其他为基础鼠饲料进行配置);尿蛋白、总超氧化物歧化酶(T-SOD)、丙二醛(MDA)、肌酐、IL-6 试剂盒、TNF- α ELISA 试剂盒(南京建成生物公司);p-NF- κ B p65 抗体(Affinity 试剂公司);Nephlin 抗体、podocin 抗体(武汉博士德生物工程有限公司); β -actin 抗体(武汉爱博泰克生物科技有限公司);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);二抗(上海圣克鲁斯生物技术有限公司)。

1.2 实验动物

SPF 级雄性 ICR 小鼠,体质量为(18 ± 2) g,由福建医科大学实验动物中心提供,许可证号 SYXK(闽)2016-0006。将小鼠置于温度(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度(50 ± 5)%,光暗周期为 12 h/12 h(光照时间 7:00—19:00)的环境中饲养,自由获取饮水与饲料,适应性饲养 1 周后开始糖尿病模型的诱导。实验遵守华侨大学伦理批第(A2019016)号审查要求。

1.3 仪器

微量核酸蛋白测定仪(英国 Bio Drop 公司);M530 型组织切片机(德国 MEDITE 公司);MUL-TISKAN ASCENT-354 型酶标仪(美国热电公司);JY-SCZ2 型垂直板电泳槽、JY300C 型电泳仪(北京君意东方电泳设备有限公司);Image Station 4000MM 型化学发光成像仪(美国柯达公司);快速血糖检测仪(美国罗氏生物技术有限公司)。

2 实验方法

2.1 2 型糖尿病小鼠模型的建立

高脂饲料(HFD)/STZ 诱导 2 型糖尿病小鼠建模方法参考文献[6],即除正常组小鼠给予标准饲料外,其余小鼠给予 HFD 喂养 3 周,小鼠体质量明显增加后,将小鼠禁食不禁水 12 h 后,采用质量比为 $130\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 STZ 一次性腹腔注射。72 h 后,测小鼠空腹血糖浓度。选择血糖浓度 $\geq 11.1\text{ mmol}\cdot$

L⁻¹为糖尿病小鼠,血糖不达标的小鼠 3 d 后再用 80 mg · kg⁻¹ 的 STZ 一次性腹腔注射,72 h 后,选择血糖浓度≥11.1 mmol · L⁻¹为糖尿病小鼠。将糖尿病小鼠随机分为 4 组,每天分别灌胃给予同体积不同药物。糖尿病模型组(生理盐水,9 只)、二甲双胍组(200 mg · kg⁻¹,8 只),低剂量 ARP 组(100 mg · kg⁻¹,9 只)、高剂量 ARP 组(300 mg · kg⁻¹,9 只),所有糖尿病小鼠均持续给予高脂饲料,正常组小鼠给予普通饲料(10 只)。药物处理 4 周之后,处死动物。处死动物前 3 d,收集小鼠 24 h 尿液,测尿蛋白质量,并测定小鼠空腹血糖浓度。小鼠处死后收集血液,分离血清,用于生化检测,并分离右侧肾脏皮质组织,快速冷冻,于-80 ℃保存,用于 Western blot 分析。左侧肾脏保存于 4 g · mL⁻¹的多聚甲醛溶液中,用于组织学观察。

2.2 生化检测

使用血糖仪检测小鼠的空腹血糖浓度。取血液样品,分离血清,采用生化检测试剂盒检测小鼠 24 h 尿蛋白质量及血清中 SOD 活性、MDA 浓度及肌酐浓度。

2.3 ELISA 分析

分离血清,按照试剂盒说明书要求检测小鼠血清中 IL-6,TNF-α 的质量浓度。

2.4 Western blot 分析

采用 Western blot 分析小鼠肾组织 p-NF-κB p65,podocin,Nephrin 的蛋白表达。取小鼠肾脏组织匀浆约 50 mg,加入含蛋白酶抑制剂的预冷细胞裂解液,充分裂解后,离心取上清,采用 BCA 法测蛋白质量并定量。将各组蛋白样品用裂解液调成相同浓度(50 μmol · L⁻¹),经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)恒压电泳分离蛋白,将电泳好的凝胶转膜至硝酸纤维素膜,将转好的膜加 5 g · mL⁻¹脱脂牛奶封闭后,分别加入相应一抗,即 p-NF-κB p65 抗体(1 : 1 000)、podocin 抗体(1 : 1 000)、Nephrin 抗体(1 : 1 000)和 β-actin 单抗(1 : 300),4 ℃下孵育过夜。最后,加二抗 37 ℃下孵育 1 h,ECL 电化学发光成像。使用 Quantity-one 专业分析软件对 Western blot 实验所得图片进行光密度扫描分析。

2.5 苏木精-伊红染色观察小鼠肾脏组织损伤

用 4 g · mL⁻¹多聚甲醛溶液固定小鼠肾脏组织 24 h 以上,经脱水、浸蜡、包埋,制成石蜡块,再用切片机切成 4 μm 厚的切片,脱蜡至水,苏木精-伊红(HE)染色,二甲苯透明,树胶封片,于 400 倍光学显微镜下观察肾脏组织损伤情况。

2.6 统计学分析

实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,数据用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析,多组比较采用单因素方差分析,2 组比较采用 LSD-*t* 检验。当 $P < 0.05$ 时,表示差异具有统计学意义。与正常组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与模型组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$ 。

3 实验结果与分析

3.1 小鼠的血糖与体质量

各组小鼠血糖浓度及体质量变化,如图 1 所示。图 1 中:*c₀* 为小鼠血糖浓度;*m* 为小鼠体质量。

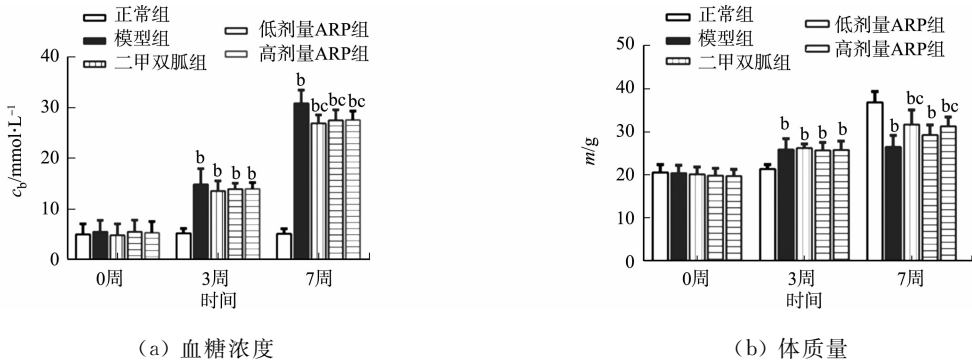


图 1 各组小鼠血糖水平及体质量变化
Fig. 1 Changes of blood glucose level and body mass of mice

由图 1 可知:实验开始时(0 周),各组小鼠的血糖浓度没有明显差异,小鼠经 HFD 喂养 3 周,STZ

诱导后,糖尿病小鼠的血糖浓度比正常组明显升高($P<0.01$);随着实验时间的延长,与正常组相比,糖尿病小鼠的血糖浓度持续升高,而与模型组相比,给予不同药物干预 4 周后,药物组小鼠血糖明显下降($P<0.05$);实验开始时,各组小鼠的体质量无明显差异,HFD 喂养 3 周后,小鼠体质量明显增加($P<0.01$);随着实验时间的延长,正常组小鼠体质量增加较快,相比之下,模型组小鼠的体质量明显下降($P<0.01$);经药物治疗 4 周后,糖尿病小鼠的体质量下降得到明显缓解($P<0.01$)。

3.2 生化检测结果

生化检测结果,如图 2 所示。图 2 中: z 为 SOD 的活性; c_{MDA} 为 MDA 浓度; m_p 为 24 h 尿蛋白质量; c_{cr} 为血肌酐浓度。

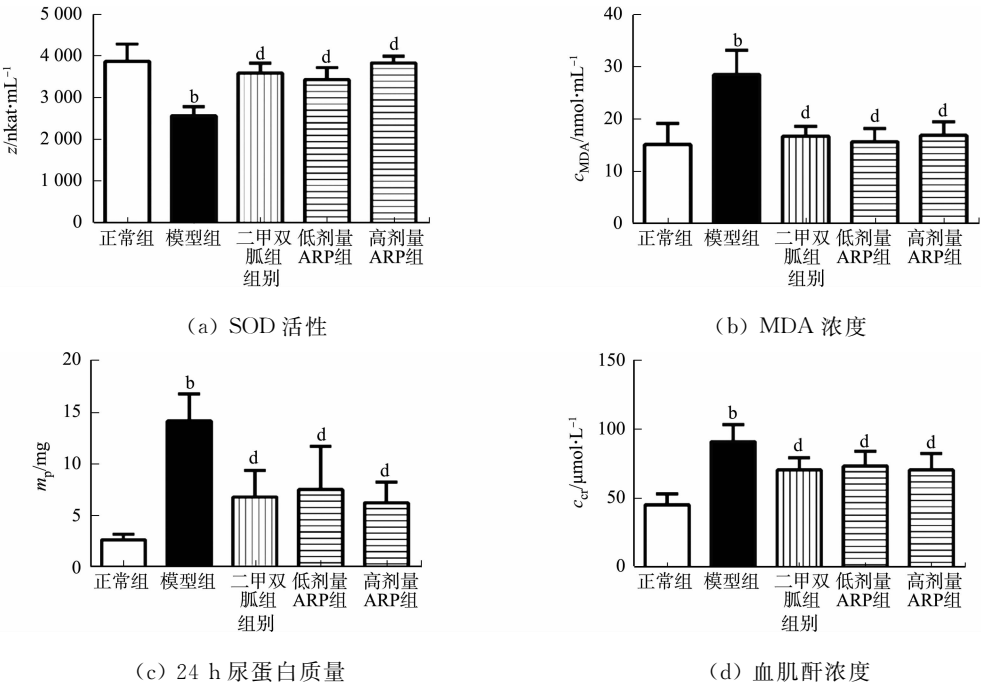


图 2 生化检测结果

Fig. 2 Results of biochemical test

由图 2 可知:与正常小鼠相比,模型组小鼠的血清中抗氧化酶 SOD 的活性下降,MDA 浓度增多,表明糖尿病小鼠的氧化应激作用增强;同时,模型组小鼠的 24 h 尿蛋白质量及血肌酐浓度增多,表明模型组小鼠肾功能异常;给予糖尿病小鼠金线莲多糖后,高、低两个剂量的 ARP 组小鼠的 24 h 尿蛋白质量及血肌酐浓度均明显下降($P<0.01$),表明糖尿病小鼠肾小球高滤过现象得到改善;给予不同剂量金线莲多糖干预后,小鼠血清中 SOD 的活性显著上升($P<0.01$),MDA 浓度明显降低($P<0.01$),表明糖尿病小鼠增强的氧化应激作用减弱。

3.3 Elisa 检测结果

小鼠血清中 IL-6, TNF- α 的质量浓度,如图 3 所示。图 3 中: ρ_{IL-6} , $\rho_{TNF-\alpha}$ 分别为 IL-6, TNF- α 的质量

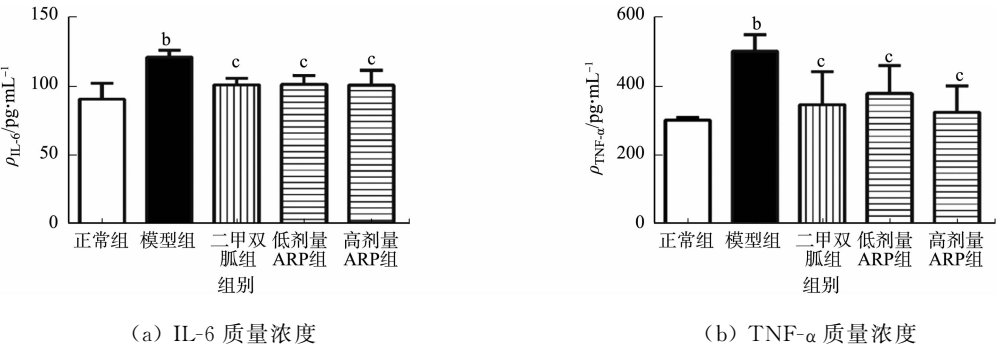


图 3 小鼠血清中 IL-6, TNF- α 的质量浓度

Fig. 3 Mass concentrations of IL-6 and TNF- α in mouse serum

浓度。由图 3 可知:模型组小鼠血清中炎症因子 IL-6,TNF- α 的质量浓度比正常小鼠高,经金线莲多糖干预后,糖尿病小鼠血清中炎症因子 IL-6,TNF- α 的质量浓度明显下降($P<0.05$),表明金线莲多糖有较强的抗炎作用。

3.4 Western blot 分析

小鼠肾脏组织中 p-NF- κ B p65,podocin,Nephrin 的蛋白表达,如图 4 所示。由图 4 可知:模型组小鼠肾脏组织中 p-NF- κ B p65 的表达上调,提示糖尿病小鼠肾脏组织中 NF- κ B 信号通路被激活;模型组小鼠肾脏组织中 podocin,Nephrin 的蛋白表达均下调,提示糖尿病小鼠肾小球滤过膜受损;给予金线莲多糖后,糖尿病小鼠肾脏组织中 p-NF- κ B p65 的表达下调($P<0.01$),podocin,Nephrin 的蛋白表达均上调(低剂量 ARP 组 $P<0.05$,高剂量 ARP 组 $P<0.01$),(低、高剂量 ARP 组 $P<0.01$)。

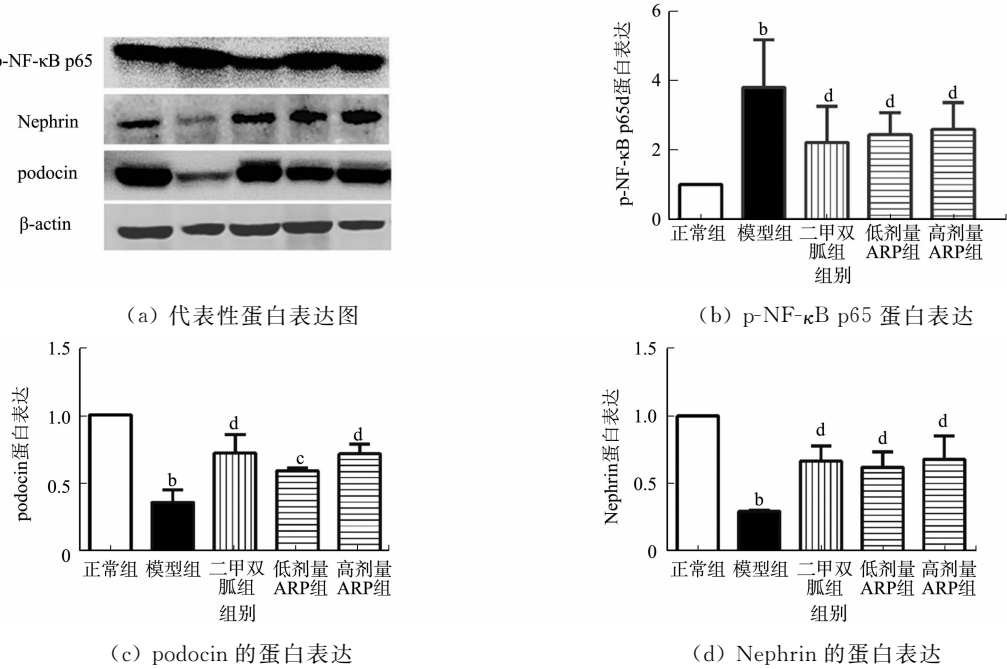
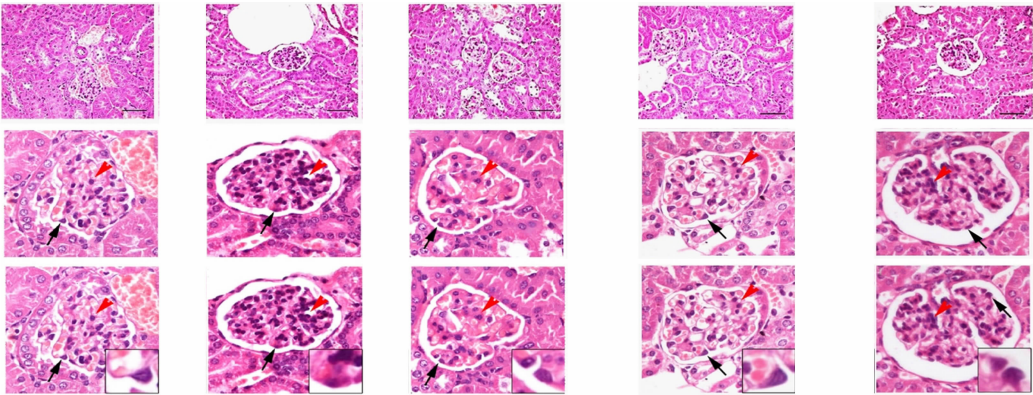


图 4 小鼠肾脏组织中 p-NF- κ B p65,podocin,Nephrin 及 β -actin 的蛋白表达

Fig. 4 Protein expressions of p-NF- κ B p65, podocin, Nephrin and β -actin in renal tissue of mice

3.5 HE 染色分析

金线莲多糖对糖尿病小鼠肾脏组织病理学变化的影响,如图 5 所示。图 5 中:红色箭头显示系膜区增生;黑色箭头显示足细胞病变;右下角方框内为箭头所示足细胞局部放大图。



(a) 正常组 (b) 模型组 (c) 二甲双胍组 (d) 低剂量 ARP 组 (e) 高剂量 ARP 组

图 5 金线莲多糖对糖尿病小鼠肾脏组织病理学变化的影响

Fig. 5 Effect of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharide on renal histopathological changes in diabetic mice

正常组小鼠肾小球系膜细胞及基质无增生,毛细血管管腔通畅,肾小球囊无扩张(图 5(a));与正常小鼠相比,模型组小鼠的肾脏结构明显改变,肾小球系膜细胞呈现明显增生,系膜基质增多,呈弥漫或节

段性,毛细血管受压,管腔狭窄,肾小球囊扩张,足细胞萎缩、变性(图 5(b));给予二甲双胍的糖尿病小鼠的肾小球体积如常,系膜基质、系膜细胞呈局灶节段或节段性轻度增多,毛细血管扩张,肾小球囊无明显扩张,足细胞增生(图 5(c));给予低剂量金线莲多糖的糖尿病小鼠的肾小球系膜细胞及基质呈节段性轻度增生,以系膜基质增生为主,毛细血管腔无明显受压,足细胞肥大,损伤明显缓解,肾小球囊无明显扩张(图 5(d));给予高剂量金线莲多糖的糖尿病小鼠的肾小球系膜细胞及基质呈节段性明显增生,毛细血管受压贫血,肾小球囊扩张,但比模型组小鼠有所改善,足细胞增生(图 5(e))。

4 结 论

糖尿病肾病占糖尿病患者的 30%~40%,是最常见的糖尿病并发症。引起糖尿病肾病的确切机制还不清楚。大量的报道显示,炎症反应、氧化应激、胰岛素抵抗等与糖尿病肾病病理密切相关^[7-9]。对糖尿病机制及治疗药物的研究是医疗领域的热点,目前 HFD/STZ 诱导的 2 型糖尿病模型被很多糖尿病研究者采用^[10-11]。实验小鼠经高脂饮食喂养 3 周,出现明显肥胖后,一次性注射 STZ 损伤小鼠胰岛 β 细胞,并持续给予高脂饲料喂养,经 HFD/STZ 诱导将小鼠发展为 2 型糖尿病。糖尿病小鼠随着血糖浓度的升高,体质量逐渐减轻,其 24 h 蛋白尿质量及血肌酐浓度均明显升高,表明糖尿病小鼠肾脏功能受损。肾小球高滤过,炎症、氧化应激与糖尿病肾病的发病机制有关^[12-13]。实验结果表明,糖尿病小鼠在持续高血糖作用下,血清抗氧化酶 SOD 活性显著下降。SOD 是内源性自由基清除酶,SOD 活性下降使体内氧化与抗氧化失衡,导致活性氧 ROS 产生量增多,引起脂质过氧化中间产物 MDA 浓度增多,MDA 浓度越高,表明氧化损伤越严重。

NF- κ B 信号通路是对氧化应激及炎症敏感的信号通路。糖尿病状态下,在过多活性氧 ROS 及炎症因子的刺激下,NF- κ B 信号通路被激活,促进系膜表达 TGF- β ,引起细胞外基质增生,导致肾小球基底膜增厚和肾小球硬化,加速纤维化进程,并引起或加剧炎症^[14-15]。足细胞损伤也是糖尿病肾病早期的一个关键特征。糖尿病状态下,足细胞丢失,导致肾小球内皮细胞的损伤和高通透性,引起蛋白尿的发生^[16]。实验中糖尿病小鼠血清中炎症因子 IL-6 和 TNF- α 的质量浓度显著升高。过多的炎症因子与氧化应激使糖尿病小鼠肾脏组织中 p-NF- κ B p65 的表达上调,激活了 NF- κ B 信号通路,激活的 NF- κ B 信号通路反过来又调控 IL-6 和 TNF- α 等炎症因子,加速疾病的进展^[17]。组织学检查显示,糖尿病小鼠肾小球系膜细胞明显增生,系膜基质增多,毛细血管腔明显受压,肾小球囊扩张,肾小球结构明显改变。肾小球结构的改变进一步引起肾小球功能的改变。实验中糖尿病小鼠肾脏组织的 podocin 和 Nephlin 的表达显著下降,podocin 和 Nephlin 是足细胞裂孔膜上的特殊蛋白分子,它们的减少导致肾小球滤过屏障缺损,使蛋白分子进入尿液,糖尿病小鼠出现蛋白尿、血肌酐浓度升高症状,并出现糖尿病肾病。

给予金线莲多糖后,糖尿病小鼠肾脏炎症因子水平明显下调,血清 SOD 活性增加,MDA 浓度显著减少,氧化应激反应降低,肾脏组织 p-NF- κ B p65 的表达下调,NF- κ B 信号通路被抑制。病理学检查结果显示,金线莲多糖组小鼠的损伤减轻,特别是低剂量金线莲多糖组系膜细胞及基质呈节段性轻度增生,毛细血管腔无明显受压,肾小球囊无明显扩张,足细胞损伤缓解(图 5(d))。与病理学结果一致的是,经金线莲多糖干预后,糖尿病小鼠尿蛋白明显减少,血肌酐浓度降低,糖尿病肾病明显好转。

临床上还没有理想的糖尿病肾病治疗药物,目前主要采用血管紧张素转化酶抑制剂,血管紧张素 II 受体阻断剂等药物治疗糖尿病肾病。但总体疗效和远期预后较差,加上不良反应多,不能有效阻止糖尿病肾病患者发展为终末期肾病。二甲双胍是临床推荐使用的抗 2 型糖尿病的一线药物,它可能增加乳酸中毒的风险,不适用于晚期糖尿病肾病的治疗^[18]。实验结果表明,金线莲多糖有与二甲双胍相似的作用,糖尿病肾病治疗药物仍是临床面临的难题,糖尿病肾病不仅提高了心血管疾病的病死率,还加重了患者和社会的负担。考虑到金线莲多糖基本无毒,能通过抗炎、抗氧化,抑制 NF- κ B 信号通路发挥肾保护作用,因此,将金线莲用于治疗糖尿病肾病可能具有较好的前景。

参考文献:

[1] MOHANDS S,DOKE T,HU Hailong,*et al.* Molecular pathways that drive diabetic kidney disease[J]. Journal of Clinical Investigation,2023,133(4):e165654. DOI:10.1172/JCI165654.

- [2] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴(第五册)[M]. 北京:科学出版社,1980.
- [3] QIU Yi, SONG Wenbo, YANG Ying, *et al.* Isolation, structural and bioactivities of polysaccharides from *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl.: A review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 236: 123883. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2023.123883.
- [4] GAO Huashan, DING Linlin, LIU Rui, *et al.* Characterization of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharide and its therapeutic effect on type 2 diabetic mice[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 179: 259-269. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2021.02.217.
- [5] 刘青,李永,盛世美.金线莲多糖抗衰老作用及其机制[J].华侨大学学报(自然科学版),2020,41(1):77-83. DOI:10.11830/ISSN.1000-5013.201907059.
- [6] LI Le, LI Yumeng, LIU Zhenling, *et al.* The renal protective effects of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharose on diabetic mice induced by high-fat diet and streptozotocin[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2016, 178: 58-65. DOI:10.1016/j.jep.2015.12.002.
- [7] SAMSU N. Diabetic nephropathy: Challenges in pathogenesis, diagnosis, and treatment[J]. Biomed Research International, 2021, 2021: 1497449. DOI:10.1155/2021/1497449.
- [8] RAYEGO-MATEOS S, MORGADO-PASCUAL J L, OPAZO-RÍOS L, *et al.* Pathogenic pathways and therapeutic approaches targeting inflammation in diabetic nephropathy[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(11): 3798. DOI:10.3390/ijms21113798.
- [9] JIN Qi, LIU Tongtong, QIAO Yuan, *et al.* Oxidative stress and inflammation in diabetic nephropathy: Role of polyphenols[J]. Frontiers in Immunology, 2023, 14: 1185317. DOI:10.3389/fimmu.2023.1185317.
- [10] ZHOU Yingjun, TAO Heng, XU Nuo, *et al.* Chrysin improves diabetic nephropathy by regulating the AMPK-mediated lipid metabolism in HFD/STZ-induced DN mice[J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(12): e14379. DOI:10.1111/jfbc.14379.
- [11] SHEN Qiong, QI Simin, ZHANG Jingtian, *et al.* Platycodin D inhibits HFD/STZ-induced diabetic nephropathy via inflammatory and apoptotic signaling pathways in C57BL/6 mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2023, 314: 116596. DOI:10.1016/j.jep.2023.116596.
- [12] SAPIAN S, BUDIN S B, TAIB I S, *et al.* Role of polyphenol in regulating oxidative stress, inflammation, fibrosis, and apoptosis in diabetic nephropathy[J]. Endocrine, Metabolic & Immune Disorders: Drug Targets, 2022, 22(5): 453-470. DOI:10.2174/187153032166621119144309.
- [13] MA Xiaojun, MA Jingru, LENG Tian, *et al.* Advances in oxidative stress in pathogenesis of diabetic kidney disease and efficacy of TCM intervention[J]. Renal Failure, 2023, 45(1): 2146512. DOI:10.1080/0886022X.2022.2146512.
- [14] JI Jing, TAO Pengyu, WANG Qian, *et al.* SIRT1: Mechanism and protective effect in diabetic nephropathy[J]. Endocrine, Metabolic & Immune Disorders: Drug Targets, 2021, 21(5): 835-842. DOI:10.2174/1871530320666201029143606.
- [15] XIAN Yuxin, GAO Yanyan, LÜ Wenshan, *et al.* Resveratrol prevents diabetic nephropathy by reducing chronic inflammation and improving the blood glucose memory effect in non-obese diabetic mice[J]. Naunyn-Schmiedeberg's Archiv für Experimentelle Pharmakologie, 2020, 393(10): 2009-2017. DOI:10.1007/s00210-019-01777-1.
- [16] BARUTTA F, BELLINI S, GRUDEN G. Mechanisms of podocyte injury and implications for diabetic nephropathy[J]. Clinical Science (Lond), 2022, 136(7): 493-520. DOI:10.1042/CS20210625.
- [17] LI Ying, HOU Jingang, LIU Zhi, *et al.* Alleviative effects of 20(R)-Rg3 on HFD/STZ-induced diabetic nephropathy via MAPK/NF- κ B signaling pathways in C57BL/6 mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2021, 267: 113500. DOI:10.1016/j.jep.2020.113500.
- [18] DAIJI K, YUICHI T, MAKITO T. Significance of metformin use in diabetic kidney disease[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(12): 4239. DOI:10.3390/ijms21124239.

(责任编辑:黄晓楠 英文审校:刘源岗)