

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20250213.001

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20250213.1821.002>

基于网络药理学和实验验证探讨肾苏Ⅳ治疗糖尿病肾病的分子作用机制

李 雪¹, 张珍珍¹, 郑 航¹, 王茂泓²✉

(1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330006; 2. 江西中医药大学附属医院, 江西 南昌 330004)

[摘要] **目的:**通过网络药理学、分子对接和动物实验相结合的方式,探讨了肾苏Ⅳ在治疗糖尿病肾病(diabetic kidney disease, DKD)中的潜在机制。**方法:**基于网络药理学预测肾苏Ⅳ的核心成分、靶基因和主要通路,对其中DKD相关成分、靶基因、通路进行筛选;复制DKD大鼠模型,观察肾苏Ⅳ对DKD大鼠的作用,对网络药理学结果进行机制验证。**结果:**网络药理学结果表明,肾苏Ⅳ 53个成分中含有38个相关靶点,DKD相关靶点3 121个,交集靶点313个;获得四神经内酯素A、二氢异黄酮、山奈酚、熊竹素等主要活性成分和蛋白激酶1、表皮生长因子受体、雌激素受体1、非受体酪氨酸激酶、基质金属蛋白酶9等核心靶点;通过KEGG分析发现相关通路有癌症通路、代谢途径、PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路等;通过GO分析发现主要涉及的生物过程对异生物质刺激的反应、蛋白质磷酸化的调控、基因表达的正调控等。动物实验结果表明,与模型组比较,治疗组大鼠肾脏组织电镜、光镜下损伤明显减轻,qRT-PCR检测结果显示治疗组AKT1、PI3K表达降低($P<0.05$)。**结论:**研究揭示了肾苏Ⅳ治疗DKD具有多成分、多靶点和多通路的作用特点,为后续的研究提供了一定的方向与参考。

[关键词] 肾苏Ⅳ;糖尿病肾病;网络药理学;PI3K-AKT信号通路

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2026)06-0447-13

Molecular mechanism of Shensu Ⅳ in the treatment of diabetic nephropathy based on network pharmacology and experimental verification

LI Xue¹, ZHANG Zhenzhen¹, ZHENG Hang¹, WANG Maohong²✉

(1. Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330006, China; 2. Affiliated Hospital of Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Foundation Project]: This study was supported by the National Natural Science Foundation of China(82160879)

[Author]: LI Xue, E-mail: lx850244595@163.com。

[Correspondence to]: WANG Maohong, Chief Traditional Chinese Medicine Physician, Doctoral Supervisor, E-mail: wmh7079@163.com.

Received: 2024-10-25

Revised: 2025-01-29

JHMu, 2026;32(6):447-459

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective:** To explore the potential mechanisms of Shensu Ⅳ in the treatment of diabetic kidney disease (DKD) through a combination of network pharmacology, molecular docking, and animal experiments. **Methods:** Based on the core components, target genes, and major pathways of Shensu Ⅳ predicted by network pharmacology, components, target genes, and pathways related to DKD were selected. A diabetic kidney disease rat model was established, and the effects of Shensu Ⅳ on DKD rats were observed, followed by mechanism verification of the network pharmacology results. **Results:** Network pharmacology results showed that among the 53 components in Shensu Ⅳ, involved 38 related targets, 3 121 DKD-related target, 313 intersection targets. Key active components such as Tetraneurin A, Isoflavanone, Kaempferol, and Jaranol were identified, along with core targets including AKT serine/threonine kinase 1, epidermal growth factor receptor, steroid receptor coactivator, estrogen receptor 1, and matrix metalloproteinases 9. KEGG analysis revealed that relevant pathways included the cancer pathways, metabol-

[基金项目] 国家自然科学基金(82160879)

[作者简介] 李雪, E-mail: lx850244595@163.com。

[通讯作者] 王茂泓, 主任中医师, 博士生导师, E-mail: wmh7079@163.com。

[收稿日期] 2024-10-25

[修回日期] 2025-01-29

网络出版时间: 2025-02-14 10:12:59

ic pathways, PI3K-Akt signaling pathway, and MAPK signaling pathway. GO analysis indicated that key biological processes involved responses to exogenous stimuli, regulation of protein phosphorylation, and positive regulation of gene expression. Animal experiments showed that compared to the model group, the treatment group exhibited significantly reduced kidney damage under both electron microscopy and light microscopy. qRT-PCR results indicated decreased expression of *AKT1* and *PI3K* in the treatment group ($P < 0.05$). **Conclusion:** This study reveals that Shensu IV may exert its therapeutic effects on DKD through a multi-target, multi-pathway mechanism, providing a direction and reference for further research

[Key words] Shensu IV; Diabetic kidney disease; Network pharmacology; PI3K-AKT signaling pathway

糖尿病肾病(diabetic kidney disease, DKD)是糖尿病最严重的微血管并发症之一,临床表现为蛋白尿和肾功能的逐步损害,约40%的糖尿病患者会发展成DKD,最终发展为终末期肾病^[1,2]。DKD目前治疗方案主要予以对症治疗,如纠正血糖、血压、血脂,改善患者生活方式等,进而延缓肾脏损伤进程^[3]。而近年来中医药在对DKD的临床治疗及基础实验研究方面取得一定的成效,具有独特的优势,已成为治疗DKD的研究热点。

DKD在传统医学文献中并没有与之相对应的病名,其临床症状复杂,并发症多,病机多变,临床多认为与“脾肾亏虚,痰浊瘀互结”相关。本研究在脾肾亏虚的基础上,提出“风伏厥阴,肾络失和”的病机,采用“益气祛风,调和肾络”的治法,运用肾苏IV对DKD患者进行治疗,临床上取得良好的疗效。前期研究发现^[4,5],肾苏IV能有效调控podocin、VEGF蛋白表达平衡,恢复足细胞骨架结构损伤,一定程度上改善DKD损伤。为深入了解肾苏IV的作用机制,预测药物活性成分及潜在作用靶点,拟利用网络药理学和分子对接技术探究肾苏IV治疗DKD的潜在机制。

1 材料与方法

1.1 网络药理学研究分析

1.1.1 肾苏IV活性成分和靶点的筛选与预测 在中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP, <https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php/>)中检索肾苏IV的组成药物黄芪、当归、防己、青风藤、泽兰,在本草组鉴数据库(HERB, <http://herb.ac.cn/>)中检索僵蚕、重楼的有效成分,以口服生物利用度 $OB \geq 30\%$ 与类药性 $DL \geq 0.18$ ^[6]为条件筛选出每味中药的有效成分,使用成分名或其CAS号在PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)找到相应的SMILE号,再将SMILE号放入SwissTargetPrediction数据库(<http://swisstargetprediction.ch/>)预测靶点基因,利用UniProt数据库(<https://www.uniprot.org/>),物种设置为“HUMAN”,将获得的靶点基因校正为官方基因名。

1.1.2 潜在作用靶点的预测 以“diabetic nephrop-

athy”、“diabetic kidney disease”为检索词,分别在Disgenet数据库(<https://www.disgenet.org/>)、GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>)、OMIM数据库(<https://www.omim.org/search/advanced/geneMap>)进行DKD靶点的检索与筛选,合并后删除重复靶点。随后,将肾苏IV中药成分活性靶点和DKD相关疾病靶点输入到Venny 2.1.0(<https://bioinfop. cnb. csic. es/tools/venny/index.html>),制作韦恩图,获得药物-疾病交集靶点(潜在靶点)。

1.1.3 蛋白质-蛋白质互作网络的构建及网络拓扑分析 将获得的交集基因上传STRING网站(<https://cn.string-db.org/>),设置物种为“Homo Sapiens”构建蛋白质-蛋白质互作(protein-protein interactions, PPI)网络,下载相应TSV格式文件,导入Cytoscape3.9.1软件将其可视化,并利用Centiscape2.2插件对网络拓扑图进行分析,以高于度值(Degree),中介中心性(Betweenness),紧密中心性(Closeness)的中心值为条件,进行DKD核心治疗靶点的筛选。

1.1.4 单味药-活性成分-作用靶点”网络构建 将肾苏IV的药物、有效药物成分、药物-疾病交集的核心靶点与DKD相互作用关系导入Cytoscape3.9.1软件中,构建“单味药-活性成分-靶点”可视化网络图,利用软件工具Network Analyzer分析网络的拓扑特征,计算每个节点的Degree。

1.1.5 基因本体富集分析和京都基因组学百科全书途径富集分析 为更好了解潜在基因潜在的生物学过程,将获得的交集基因放入DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp>)中,将物种设置为“Homo Sapiens”,进行基因本体(gene ontology, GO)功能富集分析及京都基因组学百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)信号通路富集分析。GO富集分析包括生物学过程、细胞组分和分子功能3个部分,KEGG富集分析预测肾苏IV治疗KEGG可能涉及到的主要信号通路。将获得了GO分析和KEGG分析按Degree值排序后,选择生物学过程、细胞组分和分子功能前10及

KEGG 前 20 导入微生信网站(<https://www.bioinformatics.com.cn/>),对结果进行可视化分析。

1.1.6 分子对接 在 PPI 网络中选择 Degree 值排名前 5 的靶点基因,“单味药-活性成分-靶点”网络中选择节点最多的前 5 关键药物成分,分别依次进行分子对接。在 PubChem 数据库下载药物有效成分的结构文件,利用 Open Babel 2.3.2 软件将 SDF 文件转化为 PDB 文件,从 pdb 数据库(<https://www.rcsb.org/>)检索获得受体蛋白。在 PyMOL 2.3.4 软件中对受体蛋白进行去水、去配体等操作,采用 AutoDockTools 软件对受体蛋白进行加氢、平衡电荷等修饰,将受体蛋白和配体小分子分别转化为 pdbqt 格式。利用 AutoDock Vina 1.1.2 对受体蛋白与配体小分子进行分子对接,并利用 PLIP 分析对接结果。对接结果使用 PyMOL 软件进行可视化。

1.2 动物实验验证

1.2.1 实验动物 选用雄性大鼠 32 只,购自江西中医药大学,6 周龄,体重 160~180 g,常温下饲养于江西中医药大学实验室,自由饮水摄食 7 d,进行新环境适应。饲养中心许可证号:SYXK(赣)2017-0004,动物实验伦理委员会批准(伦理批号:LL-202304270005),本研究的动物实验设计和操作流程均符合动物伦理要求。

1.2.2 实验主要试剂及仪器 链脲佐菌素(STZ)(Sigma 公司, S0130);厄贝沙坦片(赛菲诺 EA1932);苏木精-伊红(H&E)染色试剂盒(上海碧云天, C0105S);罗康血糖试纸条(德国罗氏罗康);sw-cj-2fd 超净工作台(苏净安泰公司);(优越型)罗康全血糖仪(德国罗氏罗康);SPL0960 型实时荧光定量 PCR 仪器(赛默飞公司);H-7650 型透射电镜(日本日立公司);BH-2 型光学显微镜(日本奥林巴斯公司)。

中药药液为江西中医药大学附属医院中药房煎制,肾苏Ⅳ的组成为黄芪 30 g,当归 10 g,青风藤 15 g,泽兰 15 g,防己 10 g,僵蚕 10 g,重楼 10 g,所有药品重复煎煮 3 次,浓缩为 100 mL 的汁液备用(1.00 g 生药/mL);。

1.2.3 实验动物的分组、造模及给药 所有大鼠适应性喂养 1 周后,禁食 12 h,将大鼠随机分为空白组(NC 组),模型组(DN 组),肾苏Ⅳ组(SC 组)及厄贝沙坦组(DN+厄贝沙坦组),每组各 8 只。除 NC 组外的大鼠均予以腹腔注射 STZ 溶液,60 mg/kg(STZ 溶液是由 pH 值为 4.5 的柠檬酸盐缓冲液配制,柠檬酸盐含量为 0.1 mol/L)建立 DN 大鼠模型。

NC 组大鼠予以等体积的柠檬酸钠缓冲液。高脂饲养 1 周后通过尾静脉测量空腹大鼠血糖,若空腹血糖 ≥ 16.7 mmol/L 则为造模成功。在造模成功后第 1 天起,SC 组大鼠给予剂量为 1.8 mL/400 (g·d)的肾苏Ⅳ(参考相关文献[7]及课题组前期实验[5])灌胃,DN+厄贝沙坦组按 0.0135 g/kg,纯净水配置成 2 mL 厄贝沙坦悬浊液灌胃,NC 组和 DN 组大鼠灌服同等剂量生理盐水,每日一次,干预 6 周,灌胃期间继续高脂饲养。

1.2.4 实验动物的取材 6 周后处死大鼠,取出双肾,观察肾脏的形态并摄片,用 PBS 液清洗肾脏至发白,轻柔吸去水分后用于冰盒上分离肾脏,光镜检测部分用 10% 的甲醛固定;电镜检查部分用 2.5% 戊二醛固定;剩余肾组织冷藏于液氮中,放置在一 80℃冰箱中,用于后续 PCR 检测。

1.2.5 观察指标及检验方法

1.2.5.1 电镜观察各组大鼠肾组织病理变化 将戊二醛固定后的各组肾组织进行丙酮溶液梯度脱水、树脂包埋,烤箱过夜充分聚合,切片后用枸橼酸铅和醋酸铀联合染色,用透射电镜观察并摄片。

1.2.5.2 光镜(H&E 染色)观察各组大鼠肾组织病理变化 将 10% 的甲醛固定的各组大鼠肾组织进行梯度浓度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、连续 5 μ m 厚切片后进行 H&E 染色,染色结束后用二甲苯封片后光镜观察并摄片。

1.2.5.3 RT-qPCR 法检测相关基因表达 在无菌低温环境下将肾脏组织剪碎,用 RNA 提取试剂盒提取总 RNA,检测浓度及纯度。根据 $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 计算纯度,当 $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 在 1.8~2.2 时,则表示 RNA 提取合格,取样品 RNA 1 000 ng 进行反转录合成 cDNA。按照说明操作,将取得的 cDNA 进行配制总反应体系为 10 μ L 的 qRT-PCR 反应体系,采用全自动 PCR 仪按以下条件进行 PCR 反应:95℃变性 10 s,60℃退火/延伸 30 s,进行 40 次循环。反应结束后获取循环阈值,分析实验数据。引物由武汉塞维尔生物科技有限公司合成。引物序列见表 1。记录每反应管中标本的 Ct 值,实验结果采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行相对定量分析。

1.3 统计学处理

通过 SPSS 25.0 软件进行数据处理,若符合正态分布则以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,采用 Graphpad prism 8.0 软件进行数据分析和显著性差异分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

表 1 引物序列
Tab 1 Primer sequences

基因		引物序列	长度(bp)
PI3K	Forward primer	5'-AGTGGCTCAAGGACAAGAACAAG-3'	112
	Reverse primer	5'-CGGTCTCCAATTCCCAAGATAAA-3'	
Akt1	Forward primer	5'-CGACGTAGCCATTGTGAAGGAG-3'	173
	Reverse primer	5'-ATTGTGCCACTGAGAAGTTGTTG-3'	

2 结果

2.1 网络药理学研究结果

2.1.1 肾苏Ⅳ的活性成分及相应靶点 通过在 TC-MSP 和 HERB 数据库中对肾苏Ⅳ组成中药进行检索,以 $OB \geq 30\%$ 与 $DL \geq 0.18$ 为条件进行筛选后,共获得 53 个有效成分,其中黄芪 20 个,当归 2 个,防己 3 个,青风藤 6 个,泽兰 2 个,重楼 18 个,僵蚕 8 个,其中 3 个为重复成分。见表 2、3。

使用有效成分名或 CAS 号在 PubChem 数据库中找到相应的 SMILE 号放入 SwissTargetPrediction 数据库中预测靶点,去除 probability 为 0 的靶点,53 个药物成分,去除重复值后,共获得 682 个靶点作为肾苏Ⅳ的中药活性成分靶点,用 UniProt 数据库校正为官方基因名。

2.1.2 DKD 相关靶点的筛选 用 DKD 和 DN 在 GeneCards 数据库检索分别得到 14 653 个和 4 144 个,放入 excel 中经中位数筛选后保留 1 832 个和 DN 1 052 个,在 OMIM 数据库中分别得到 546 个和 261 个,DN 在 Disgenet 数据库中检索得到 1 189 个,将 3 个数据库合并后去重,得到 3 121 个疾病靶点。在 Venny2.1.0 制作韦恩图,获得交集靶点 313 个,作为肾苏Ⅳ治疗 DKD 的潜在靶点进一步研究。见图 1。

2.1.3 PPI 网络的构建及核心靶点的筛选 将韦恩图中交集基因上传 STRING 数据库后得到 TSV 文件后导入 Cytoscape3.9.1 进行可视化,得到 313 个节点,6 535 条边,利用 Centiscape2.2 插件进行数据分析分析后, $Degree > 41.757$ 、 $Betweenness > 333.234$ 、 $Closeness > 0.0016$ 为条件进行筛选后,得到 60 个节点,962

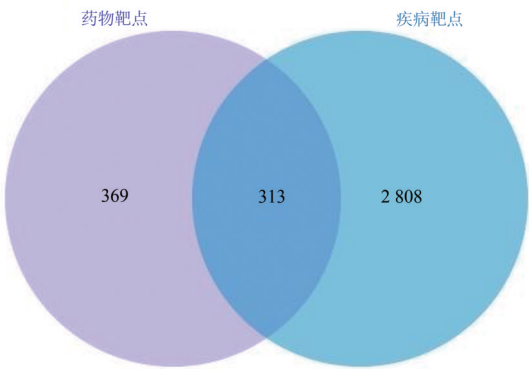


图 1 肾苏Ⅳ成分靶点与 DKD 靶点韦恩图

Fig 1 Venn diagram of targets of renal Su iv components and DKD targets

条边,60 个靶基因,按度值进行排列,颜色越深、形状越大代表相关性越大。筛选过程见图 2。其中度值前 5 的核心基因为蛋白激酶 1 (AKT serine/threonine kinase 1, *AKT1*)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, *EGFR*)、雌激素受体 1 (estrogen receptor 1, *ESR1*)、非受体酪氨酸激酶 (Proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src, *SRC*)、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinases 9, *MMP9*),见表 4。

2.1.4 “单味药-活性成分-作用靶点”网络构建 使用 Cytoscape3.9.1 软件将 7 种组方药材、53 种药物活性成分和 60 个核心靶点基因构建药物-活性成分-疾病靶点基因网络图,共得到 120 个节点 356 条边。见图 3。节点连线交集越多代表药物和疾病靶点基因的联系越密切。利用 NetworkAnalyzer 对数据进行分析,选择靶点最密集前 5 的药物成分,见表 5。

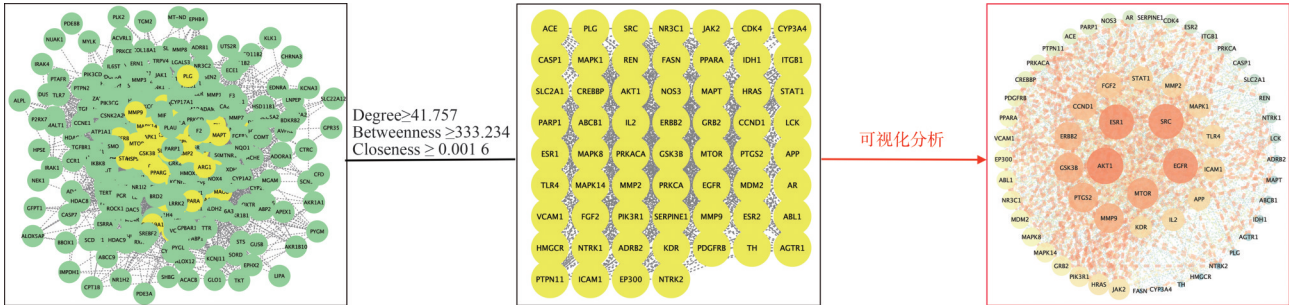


图 2 肾苏Ⅳ治疗 DKD 靶点筛选示意图

Fig 2 Schematic diagram of target screening for Shensu IV treatment of DKD

表 2 黄芪、当归、防己、青风藤、泽兰有效成分
Tab 2 Active ingredients of Huangqi, Danggui, Fangji, Qingfengteng, Zelan

编号	Mol ID	分子名	OB(%)	DL	Herb
HQ1	MOL000211	Mairin	55.38	0.78	Huangqi
HQ2	MOL000239	Jaranol	50.83	0.29	Huangqi
HQ3	MOL000296	hederagenin	36.91	0.75	Huangqi
HQ4	MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-ylot- tan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenan- thren-3-ol	36.23	0.78	Huangqi
HQ5	MOL000354	isorhamnetin	49.60	0.31	Huangqi
HQ6	MOL000371	3,9-di-O-methylnissoin	53.74	0.48	Huangqi
HQ7	MOL000374	5'-hydroxyiso-muronulatol-2',5'-di-O-glucoside	41.72	0.69	Huangqi
HQ8	MOL000378	7-O-methylisomucronulatol	74.69	0.30	Huangqi
HQ9	MOL000379	9,10-dimethoxypterocarpan-3-O-β-D-glucoside	36.74	0.92	Huangqi
HQ10	MOL000380	(6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol	64.26	0.42	Huangqi
HQ11	MOL000387	Bifendate	31.10	0.67	Huangqi
HQ12	MOL000392	formononetin	69.67	0.21	Huangqi
HQ13	MOL000398	isoflavanone	109.99	0.30	Huangqi
HQ14	MOL000417	Calycosin	47.75	0.24	Huangqi
HQ15	MOL000433	FA	68.96	0.71	Huangqi
HQ16	MOL000438	(3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol	67.67	0.26	Huangqi
HQ17	MOL000439	isomucronulatol-7,2'-di-O-glucosiole	49.28	0.62	Huangqi
HQ18	MOL000442	1,7-Dihydroxy-3,9-dimethoxy pterocarpene	39.05	0.48	Huangqi
DG1	MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76	Danggui
FG1	MOL002333	Tetraneurin A	35.40	0.31	Fangji
FG2	MOL002341	Hesperetin	70.31	0.27	Fangji
QFT1	MOL000621	16-epi-Isositsirikine	49.52	0.59	Qingfengteng
QFT2	MOL000622	Magnograndiolide	63.71	0.19	Qingfengteng
QFT3	MOL000623	Michelenolide	47.54	0.25	Qingfengteng
QFT4	MOL000625	Sinomenine	46.09	0.53	Qingfengteng
QFT5	MOL000627	Stepholidine	33.11	0.54	Qingfengteng
ZL1	MOL000296	hederagenin	36.91	0.75	Zelan
A	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	Danggui、 Fangji、Qing- fengteng
B	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	Huangqi、Jiang- can
C	MOL000098	quercetin	46.43	0.28	Huangqi、Jiang- can

注:A:防己、青风藤共有成分;B:黄芪、僵蚕共有成分;C:黄芪、僵蚕共有成分。

2.1.5 GO及KEGG 通路富集分析 将313个交集基因导入DAVID数据库,进行GO及KEGG富集分析。GO富集分析中,潜在靶点涉及的生物过程包括对异生物质刺激的反应、蛋白质磷酸化的调控、基因表达的正调控、细胞群增殖的正调、凋亡过程的负调控等;涉及到的细胞组分包括细胞膜、凋亡过程的负调控、质膜、细胞外间隙、细胞外区等;

涉及到的分子功能包括蛋白激酶活性、酶结合、ATP结合、蛋白质同源二聚化活性等,见图4A。KEGG分析中,癌症通路(Pathways in cancer),代谢途径(Metabolic pathways),PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、Ras信号通路、糖尿病代谢AGE-RAGE信号通路等可为肾苏Ⅳ治疗DKD涉及的主要信号通路。见图4B。

表 3 僵蚕、重楼有效成分
Tab 3 The active ingredients of Jiangcan, Chonglou

编号	分子名	Canonical SMILES	Pubchem CID	药物
C	Quercetin	5 280 343	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>	HuangqJiJiangcan
B	Kaempferol	5 280 863	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O</chem>	HuangqJiJiangcan
JC2	Beauvericin	3 007 984	<chem>CC(C)C1C(=O)N(C(C(=O)OC(C(=O)N(C(C(=O)OC(C(=O)N(C(C(=O)O1)CC2=CC=CC=C2)C)C(C)C)CC3=CC=CC=C3)C)C(C)C)CC4=CC=CC=C4)C</chem>	Jiangcan
JC3	Leucine	6 106	<chem>CC(C)CC(C(=O)O)N</chem>	Jiangcan
JC4	3-Hydroxykynurenine	89	<chem>C1=CC(=C(C(=C1O)N)C(=O)CC(C(=O)O)N</chem>	Jiangcan
JC5	Aspartic acid	5 960	<chem>C(C(C(=O)O)N)C(=O)O</chem>	Jiangcan
JC6	Cholesterol	5 997	<chem>CC(C)CCCC(C)C1CCC2C1(CCC3C2CC=C4C3(CCC(C4)O)C)C</chem>	Jiangcan
CL1	L-alanine	5 950	<chem>CC(C(=O)O)N</chem>	Chonglou
CL2	L-asparagine	6 267	<chem>C(C(C(=O)O)N)C(=O)N</chem>	Chonglou
CL3	diosgenin	99 474	<chem>CC1CCC2(C(C3C(O2)CC4C3(CCC5C4CC=C6C5(CCC(C6)O)C)C)C)OC1</chem>	Chonglou
CL4	pennogenin	12 314 056	<chem>CC1CCC2(C(C3C(O2)CC4C3(CCC5C4CC=C6C5(CCC(C6)O)C)C)C)OC1</chem>	Chonglou
CL5	trillin	11 827 970	<chem>CC1CCC2(C(C3C(O2)CC4C3(CCC5C4CC=C6C5(CCC(C6)OC7C(C(C(C(O7)CO)O)O)C)C)C)OC1</chem>	Chonglou
CL6	β-ecdysone	5 459 840	<chem>CC12CCC3C(=CC(=O)C4C3(CC(C(C4)O)O)C)C1(CCC2C(C)(C(CCC(C)C)O)O)O</chem>	Chonglou
CL7	γ-aminobutyric acid	119	<chem>C(CC(=O)O)CN</chem>	Chonglou
CL8	polyphyllin I	11 018 329	<chem>CC1CCC2(C(C3C(O2)CC4C3(CCC5C4CC=C6C5(CCC(C6)OC7C(C(C(C(O7)CO)OC8C(C(C(O8)CO)O)O)OC9C(C(C(C(O9)C)O)O)O)C)C)C)OC1</chem>	Chonglou
CL9	polyphyllin II	46 200 821	<chem>CC1CCC2(C(C3C(O2)CC4C3(CCC5C4CC=C6C5(CCC(C6)OC7C(C(C(C(O7)CO)OC8C(C(C(O8)CO)O)O)OC9C(C(C(C(O9)C)O)O)O)O)C)C)C)OC1</chem>	Chonglou
CL10	polyphyllin B	328 441	<chem>CC1CCC2(C(C3C(O2)CC4C3(CCC5C4CC=C6C5(CCC(C6)OC7C(C(C(C(O7)CO)OC8C(C(C(O8)C)OC9C(C(C(C(O9)C)O)O)O)O)O)OC2C(C(C(C(O2)C)O)O)O)C)C)C)OC1</chem>	Chonglou
CL11	dioscin	119 245	<chem>CC1CCC2(C(C3C(O2)CC4C3(CCC5C4CC=C6C5(CCC(C6)OC7C(C(C(C(O7)CO)OC8C(C(C(O8)C)O)O)O)OC9C(C(C(C(O9)C)O)O)O)C)C)C)OC1</chem>	Chonglou
CL12	polyphyllin VI	10 417 550	<chem>CC1CCC2(C(C3C(O2)CC4C3(CCC5C4CC=C6C5(CCC(C6)OC7C(C(C(C(O7)CO)O)O)OC8C(C(C(C(O8)C)O)O)O)C)C)O)C)OC1</chem>	Chonglou
CL13	paris saponin VII	176 233	<chem>CC1CCC2(C(C3C(O2)CC4C3(CCC5C4CC=C6C5(CCC(C6)OC7C(C(C(C(O7)CO)OC8C(C(C(O8)C)OC9C(C(C(C(O9)C)O)O)O)O)O)OC2C(C(C(C(O2)C)O)O)O)C)C)O)C)OC1</chem>	Chonglou
CL14	polyphyllin VII	71 307 572	<chem>CC1C2C(CC3C2(CCC4C3CC=C5C4(CCC(C5)OC6C(C(C(C(O6)CO)OC7C(C(C(O7)CO)O)O)OC8C(C(C(C(O8)C)O)O)O)O)C)C)OC1(CCC(C)COC9C(C(C(C(O9)CO)O)O)O)OC</chem>	Chonglou
CL15	paris saponin H	101 615 586	<chem>CC1CCC2(C(C3C(O2)CC4C3(CCC5C4CC=C6C5(CCC(C6)OC7C(C(C(C(O7)CO)OC8C(C(C(O8)CO)O)O)OC9C(C(C(C(O9)C)O)O)O)C)C)O)C)OC1</chem>	Chonglou
CL16	polyphyllin F	71 664 512	<chem>CC1CCC2(C(C3C(O2)CC4C3(CCC5C4CC=C6C5(CCC(C6)OC7C(C(C(C(O7)C)OC8C(C(C(C(O8)C)O)O)O)OC9C(C(C(C(O9)C)O)O)O)OC2C(C(C(C(O2)CO)O)O)O)C)C)C)OC1</chem>	Chonglou
CL17	progenin III	11 061 578	<chem>CC1CCC2(C(C3C(O2)CC4C3(CCC5C4CC=C6C5(CCC(C6)OC7C(C(C(C(O7)CO)O)O)OC8C(C(C(C(O8)C)O)O)O)C)C)C)OC1</chem>	Chonglou
CL18	polyphillin C	44 429 637	<chem>CC1CCC2(C(C3C(O2)CC4C3(CCC5C4CC=C6C5(CCC(C6)OC7C(C(C(C(O7)CO)O)OC8C(C(C(C(O8)C)O)O)O)O)C)C)C)OC1</chem>	Chonglou

2.1.6 分子对接 结合PPI网络及单味药-活性成分-作用靶点网络图结果,选取靶基因 AKT1、EGFR、SRC、ESR1、MMP9 作为配体,药物活性成分

四神经内酯素 A (Tetraneurin A)、二氢异黄酮(iso-flavanone),山奈酚(kaempferol)、黄芪紫檀烷苷(6aR, 11aR)-9, 10-dimethoxy-6a, 11a-dihydro-6H -

表 4 核心基因度值前5基本信息
Tab 4 Top 5 basic information of core gene degree values

基因名	蛋白名	Degree	Betweenness	Closeness	Uniprot ID	Gene ID
AKT1	AKT serine/threonine kinase 1	189	9 314.386 78	0.002 392 34	P31749	207
EGFR	Epidermal growth factor receptor	150	3 948.061 82	0.002 173 91	P00533	1956
SRC	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src	149	5 511.425 89	0.002 164 50	P12931	83805
ESR1	Estrogen receptor	135	3 849.043 82	0.002 105 26	P03372	2099
MMP9	Matrix metalloproteinase-9	119	1 890.717 64	0.002 028 40	P14780	4318

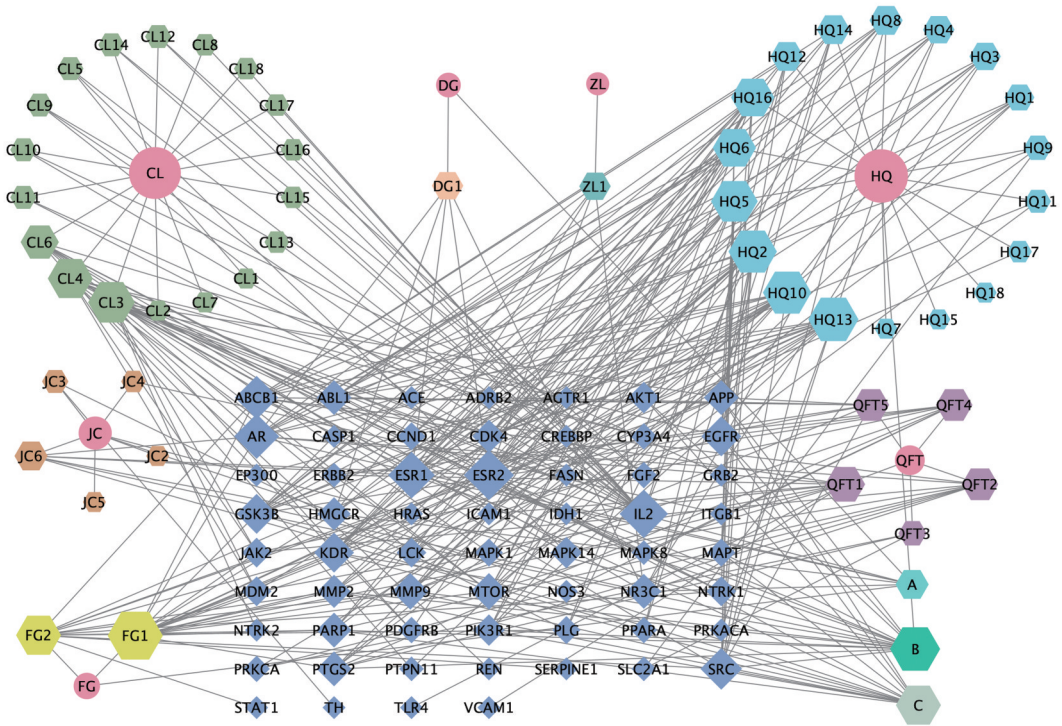


图 3 肾苏Ⅳ活性成分治疗 DKD 靶点基因网络图
Fig 3 Network of target genes for the treatment of DKD by the active

表 5 肾苏Ⅳ治疗 DKD 活性成分度值前5基本信息
Tab 5 Top 5 basic information of active ingredient degree values of Shensu Ⅳ in the treatment of DKD

编号	Mol ID	分子名	PubChem ID	分子式	Degree
FG1	MOL002333	Tetraneurin A	174868	C ₁₇ H ₂₂ O ₆	20
HQ13	MOL000398	isoflavanone	160767	C ₁₅ H ₁₂ O ₂	17
B	MOL000422	kaempferol	5280863	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	17
HQ2	MOL000239	Jaranol	5318869	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	16
HQ10	MOL000380	(6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol	14077830	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	16

benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol、熊竹素(Jaranol)作为受体进行分子对接,结合能见表6,核心药物成分结构见图5。其结合能均<0,说明配体分子都能够与受体蛋白自发结合,且结合能越小表明对接效果越佳。重点药物成分与关键靶点结合二维图见图6。

2.2 动物实验验证结果
实验期间,各组大鼠生活状态良好,体质量稳定增加,无死亡及不良反应发生。
2.2.1 各组实验大鼠肾组织电子显微镜结果 透射电镜观察,DN组基底膜不均匀增厚,系膜区细胞增生且见沉积的免疫复合物。部分肾小球足突融合并

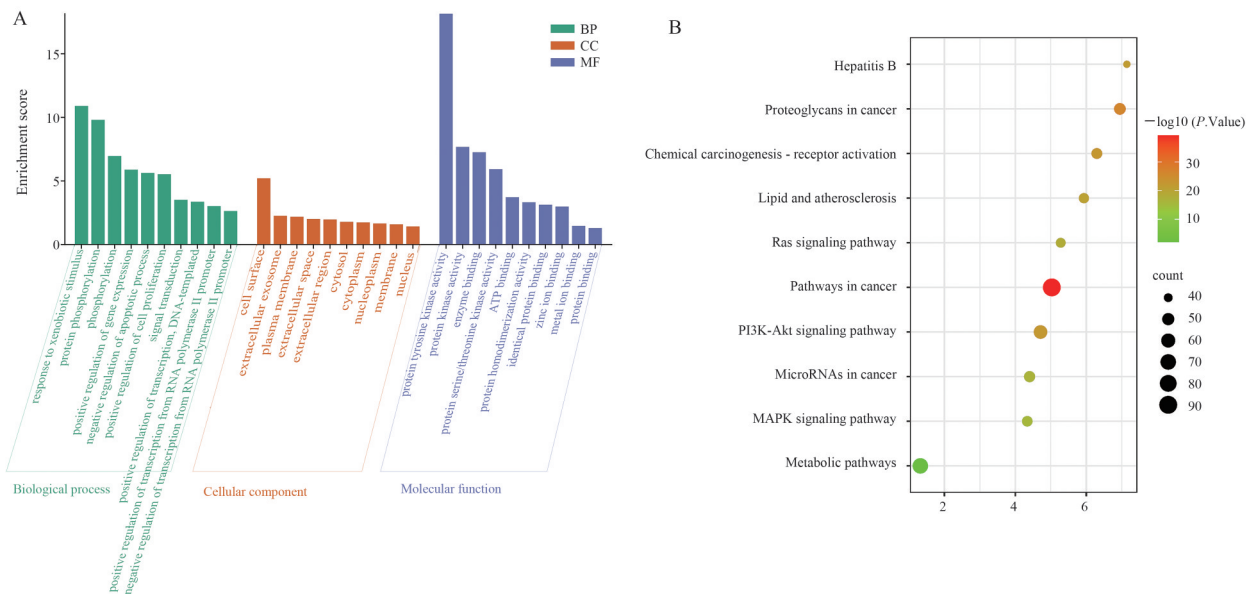


图4 GO功能富集分析可视化结果&KEGG通路富集分析可视化

Fig 4 Visualization results of GO functional enrichment analysis & Visualization of KEGG pathway enrichment analysis

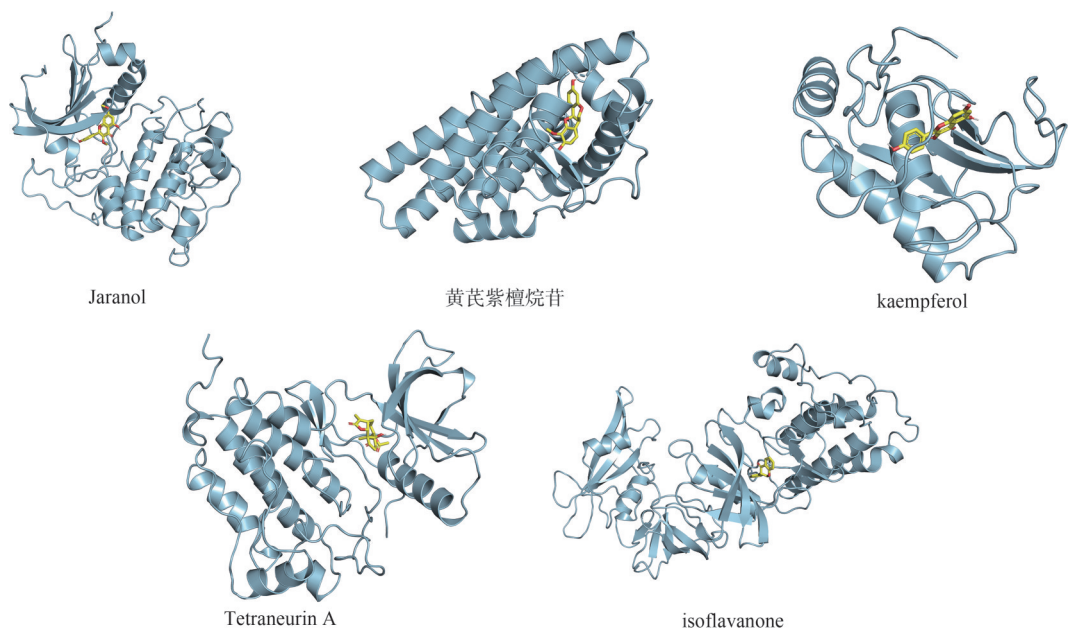


图5 核心药物成分结构示意图

Fig 5 Schematic diagram of the core drug component structure

表6 肾苏Ⅳ治疗DKD核心成分和核心靶点结合能(kCal/mol)

Tab 6 Binding energy of core components and core targets of Shensu Ⅳ in the treatment of DKD (kCal/mol)

中文名	分子	AKT1	EGFR	SRC	ESR1	MMP9
四神经内酯素 A	Tetraneurin A	-6.6	-7.3	-6.8	-8.4	-5.5
二氢异黄酮	isoflavanone	-7.6	-8.0	-7.8	-8.0	-9.4
山奈酚	kaempferol	-8.1	-8.5	-8.1	-8.1	-8.5
黄芪紫檀烷苷 (6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol		-7.4	-7.4	-7.3	-8.6	-7.6
熊竹素	Jaranol	-7.3	-8.2	-7.3	-6.2	-8.1

伴随线粒体变性,入球小动脉出现透明样变,此外,部分肾小球伴有硬化、炎症细胞浸润等改变。与DN组

相比,DN+SC组大鼠病变程度明显减轻。见图7。
2.2.2 各组实验大鼠肾组织 H&E 染色结果 与

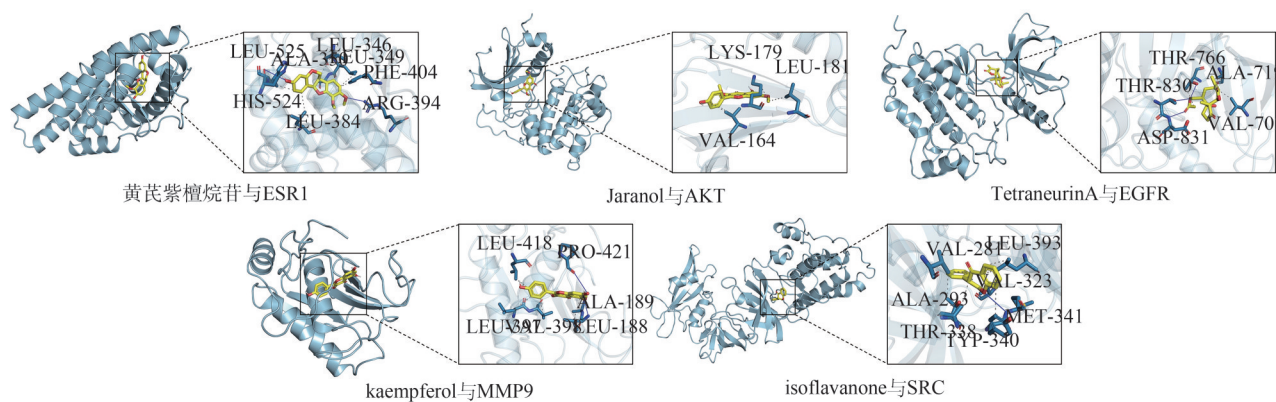
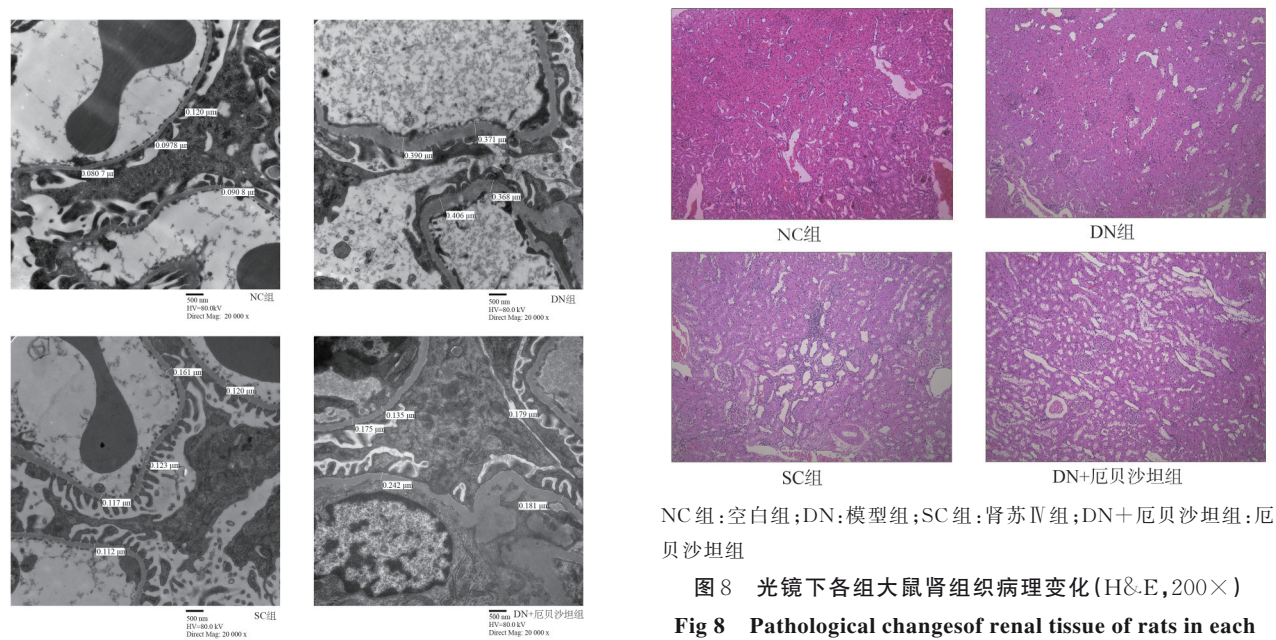


图6 重点药物成分与关键靶点结合二维图
Fig 6 2D diagram of key drug components binding to key targets

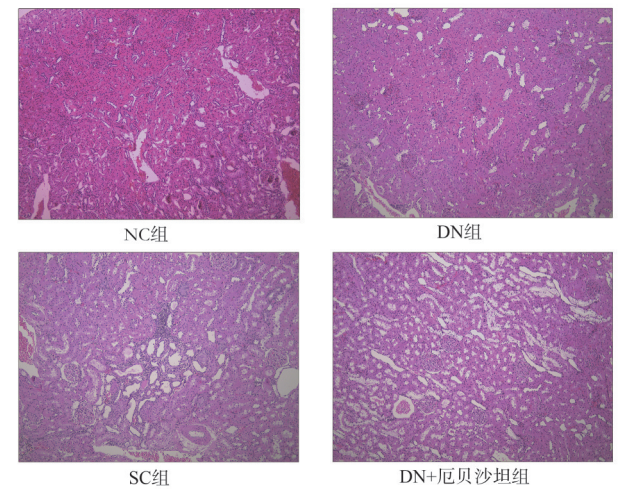


NC组:空白组;DN:模型组;SC组:肾苏Ⅳ组;DN+厄贝沙坦组:厄贝沙坦组

图7 电镜下各组大鼠肾组织病理变化(20 000×)
Fig 7 Pathological changes of renal tissues of rats in each group under electron microscopy (20 000×)

NC组相比,DN组和SC组可见肾小球系膜增生,多处炎症细胞浸润;部分肾小管上皮细胞脱落,少许见空泡样变性;肾间质偶见纤维化,伴有动脉管壁增厚。与DN组相比,SC组大鼠的肾脏病理损伤明显减轻。见图8。

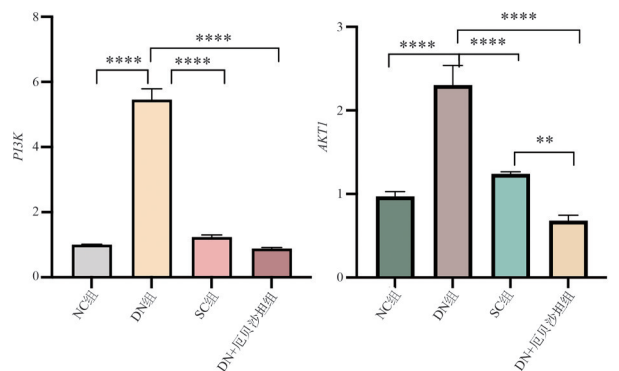
2.2.3 各组大鼠肾组织潜在靶点基因表达水平 经检验,各组数据均为正态分布,差异具有统计学意义($P<0.05$)。qRT-PCR检测靶点基因结果显示,与空白组比较,模型组中AKT1、PI3K表达明显升高,差异具有统计学意义($P<0.001$);与模型组相比,SC组和厄贝沙坦组AKT1、PI3K表达降低,差



NC组:空白组;DN:模型组;SC组:肾苏Ⅳ组;DN+厄贝沙坦组:厄贝沙坦组

图8 光镜下各组大鼠肾组织病理变化(H&E,200×)
Fig 8 Pathological changes of renal tissue of rats in each group under light microscopy (H&E,200×)

异具有统计学意义($P<0.001$)。见图9。



NC组:空白组;DN:模型组;SC组:肾苏Ⅳ组;DN+厄贝沙坦组:厄贝沙坦组; ** $P<0.005$; **** $P<0.0001$

图9 各组大鼠靶基因表达水平
Fig 9 Expression levels of target genes in rats of each group

3 讨论

DKD是糖尿病患者常见的慢性并发症,也是终末期肾病的主要原因之一,属于“消渴病”范畴,晚期可归属于“水肿”“腰痛”“关格”等,其病机主要涉及“脾肾亏虚,痰浊瘀互结”,根据前期研究,其进一步发展则多为“脾肾亏虚,风伏厥阴,肾络失和”。本研究基于此病机,提出益气祛风,调和肾络的治法,临床化裁出肾苏Ⅳ方,本方中黄芪、当归益气养血,滋养肾络;防己、青风藤、僵蚕共疏厥阴伏风;重楼、泽兰解毒通络,诸药协同共奏益气祛风、养血和络之效。DKD的发生具体机制尚未明确,可能与氧化应激、炎症反应、细胞凋亡等病理过程相关^[8-10]。本实验通过网络药理学对肾苏Ⅳ治疗DKD的有效成分进行筛选,对相关靶点与作用机制进行探讨,并进行初步验证。

基于网络药理学结果分析,肾苏Ⅳ共筛选出53个有效成分,作用于682个靶点发挥作用,包括山奈酚、黄芪紫檀烷苷、白桦脂酸、川芎嗪、熊竹素、四神经内酯素A等。研究发现山奈酚作为一种多酚化合物,在僵蚕、黄芪、雷公藤^[11,12]等中药中存在,既往研究证实其具有显著的抗氧化、抗炎作用^[13],四神经内酯素A可能通过抑制特定激酶活性,在肾脏纤维化中发挥保护作用^[14,15]。白桦脂酸能够调节高血糖引发的炎症反应,可能通过下调TNF- α 、IL-1 β 和IL-6等炎症因子的水平,抑制肾脏的慢性炎症反应,也可能通过激活AMPK/mTOR/ULK1信号通路,促进细胞的自噬,减轻内质网应激带来的细胞功能障碍^[16,17]。川芎嗪通过抗血栓作用,调节凝血因子,减少血小板聚集,改善肾脏的血液灌注,减轻因微循环障碍引发的肾脏损伤^[18,19]。熊竹素能够激活PI3K-AKT信号通路,从而减少炎症等缓解肾脏损伤^[20,21]。

通过PPI网络分析,筛选出了肾苏Ⅳ的核心靶点AKT1、EGFR、SRC、MMP9、ESR1。AKT1作为PI3K-AKT信号通路的关键分子,广泛调节细胞存活、增殖、代谢及应激反应,且其过度激活与DKD中的炎症、氧化应激、细胞凋亡和肾脏纤维化密切相关^[22-24]。EGFR是参与细胞增殖、修复和生长的重要分子,在调节细胞增殖和修复方面具有重要作用,但其异常激活可能导致肾小管间质细胞增殖和纤维化^[25-27]。SRC作为一种非受体酪氨酸激酶,广泛参与细胞的增殖、迁移与修复,其异常激活与细胞凋亡、增殖失调和组织纤维化有关^[28-31]。MMP9是基质金属蛋白酶家族的成员,可诱导足细胞的去分化,中断足细胞的完整性,并为细胞外基

质的合成和降解提供稳态环境,以维持肾小球的结构和功能完整性^[32,33]。分子对接表明四神经内酯素A、二氢异黄酮、山奈酚、黄芪紫檀烷苷、熊竹素与AKT1、EGFR、SRC、ERS1、MMP9结合活性较佳,说明肾苏Ⅳ方中的核心成分与核心蛋白结合较稳定,可以起到干预DKD的作用。

根据KEGG富集分析得到肾苏Ⅳ可能通过调控PI3K-AKT、MAPK、AGE-RAGE等多个关键信号通路改善DKD肾损伤。MAPK通路在细胞的增殖、迁移和应激反应中发挥着重要作用,特别是在DKD的发病机制中,能够调节慢性肾衰中的炎症介质和细胞外基质的沉积^[34],缓解肾脏的炎症和纤维化^[35-37]。研究发现槲皮素能够通过降低血清超氧化物歧化酶(SOD)活性和一氧化氮合成酶/ β -连环蛋白(iNOS/ β -actinin)等方式调节氧化应激,改善肾脏纤维化。AGE-RAGE轴通过激活氧化应激、炎症通路,抑制细胞自噬等影响肾脏结构和功能,引发血管损伤,导致细胞的炎症反应和纤维化^[38]。研究发现益糖康颗粒可能通过介导AGE-RAGE通路调控PI3K/Akt/FoxO1,改善肾脏的功能。

课题组前期研究发现肾苏Ⅳ能有效改善DKD肾足细胞损伤^[5],亦有实验证明,可通过抑制PI3K-AKT通路增强足细胞自噬减少细胞凋亡^[34,39]。本研究的动物实验进一步验证了这一机制。通过qRT-PCR分析,肾苏Ⅳ能够显著下调AKT1、PI3K的表达,减轻肾脏的细胞损伤和炎症反应,组织学分析进一步验证了肾苏Ⅳ能够减轻肾小管的损伤和纤维化。PI3K-AKT是DKD中调节细胞增殖、凋亡、代谢及炎症反应的关键通路。高血糖、氧化应激和晚期糖基化终产物积累可激活该通路,导致足细胞损伤、肾小球基底膜增厚、炎症反应加剧及肾小管纤维化,引发肾小球和肾小管的损伤^[40]。AKT是PI3K的关键下游分子,其家族中以AKT1在DKD中的作用最为突出。研究发现,高血糖通过磷酸化PI3K激活AKT1,促进其调控mTOR、FOXO3a等下游分子,从而推动细胞增殖、抗凋亡及炎症反应。AKT1的过度激活可通过增强TGF- β /Smad信号通路的活性,诱导肾小管上皮-间质转化及细胞外基质沉积,加重肾小管间质纤维化。多项实验研究证明,PI3K-AKT的激活促进DKD小鼠模型显示肾脏炎症因子(TNF- α 、IL-6)水平显著升高,使用抑制剂后能够显著降低了肾脏炎症指标剂纤维化标志物(α -SMA和Collagen I)的表达^[41,42]。

综上所述,肾苏Ⅳ治疗DKD具有多成分、多靶

点和多通路的作用特点。联合网络药理学、分子对接和实验初步验证,证实肾苏IV能有效改善组织病理变化,可能通过多酚类(山奈酚、熊竹素、黄芪紫檀烷苷)及五环三萜类化合物(白桦脂酸等)调控AKT1、EGFR、SRC、MMP9、ESR1靶点或PI3K-AKT、MAPK、AGE-RAGE等多个关键信号通路达到治疗DKD的效果。但是,本研究采取的实验研究方法较简单,尚未对预测中可治疗DKD的有效成分进行体内验证,后续有必要开展更深入的分子生物学实验,为本研究所预测结果提供更加精准的实验依据。

作者贡献度说明:

李雪:设计实验方案,开展具体实验,整理、分析数据,撰写论文;张珍珍:协助实验,收集、整理数据;郑航:协助实验,收集、整理数据;王茂泓:指导实验方案设计,指导论文与修改。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

- Liu P, Zhang Z, Cai Y, et al. Ferroptosis: Mechanisms and role in diabetes mellitus and its complications [J]. *Ageing Res Rev*, 2024, 94: 102201.
- Rayego-Mateos S, Rodrigues-Diez RR, Fernandez-Fernandez B, et al. Targeting inflammation to treat diabetic kidney disease: The road to 2030 [J]. *Kidney Int*, 2023, 103(2): 282-296.
- Wang H, Liu D, Zheng B, et al. Emerging role of ferroptosis in diabetic kidney disease: Molecular mechanisms and therapeutic opportunities [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(9): 2678-2694.
- 黄勇, 吴国庆, 窦一田, 等. 肾苏IV干预嘌呤霉素肾病大鼠足细胞损伤的机制研究 [J]. *陕西中医*, 2016, 37(11): 1559-1562.
Huang Y, Wu GQ, Dou YT, et al. Mechanism study on the intervention of Shensu IV in podocyte injury in puromycin aminonucleoside nephropathy rats [J]. *Shannxi J Tradit Chin Med*, 2016, 37(11), 1559-1562.
- 黄勇, 程洁, 周晔华, 等. 肾苏IV对糖尿病肾病大鼠足细胞、podocin及VEGF水平的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(15): 3280-3285.
Huang Y, Cheng J, Zhou YH, et al. Effect of Shensu IV on podocytes, podocin, and VEGF levels in diabetic nephropathy rats [J]. *Chin J Geriatr*, 2021, 41(15), 3280-3285.
- 柯昌虎, 吴亚晴, 黄慧敏, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨丹红注射液治疗急性心肌梗死的作用机制 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(5): 668-672.
Ke CH, Wu YQ, Huang HM, et al. Mechanism of Danhong Injection in the treatment of acute myocardial infarction based on network pharmacology and molecular docking [J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2024, 40(5): 668-672.
- 李仪奎. 中药药理实验方法学(第2版) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006.
Li YK. *Experimental pharmacology of traditional Chinese medicine* (2nd ed.) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2006.
- Chen SJ, Lv LL, Liu BC, et al. Crosstalk between tubular epithelial cells and glomerular endothelial cells in diabetic kidney disease [J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(3): e12763.
- Levey AS, Eckardt KU, Dorman NM, et al. Nomenclature for kidney function and disease: Report of a kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) consensus conference [J]. *Kidney Int*, 2020, 97(6): 1117-1129.
- Elwakiel A, Mathew A, Isermann B. The role of endoplasmic reticulum-mitochondria-associated membranes in diabetic kidney disease [J]. *Cardiovasc Res*, 2024, 119(18): 2875-2883.
- 后叶虎, 邱璐, 靳晓杰, 等. 基于化学生物信息学方法探讨黄芪通过调节能量代谢发挥“补气”功效的物质基础和分子机制 [J]. *中国现代应用药学*, 2023, 40(14): 1906-1916.
Hou YH, Qiu L, Jin XJ, et al. Exploration on material basis and molecular mechanism of *Astragali Radix* exerting the effect of “Invigorating Qi” through regulating energy metabolism based on chemo-bioinformatics methods [J]. *Chin J Mod Appl Pharmacol*, 2023, 40(14), 1906-1916.
- 邹孟龙, 黄晓燕, 陈雅璐, 等. Geo芯片分析联合网络药理学探讨雷公藤治疗溃疡性结肠炎的分子机制 [J]. *中国药理学通报*, 2021, 37(12): 1743-1749.
Zou ML, Huang XY, Chen YL, et al. GEO chip analysis combined with network pharmacology to explore the molecular mechanisms of *Tripterygium wilfordii* in the treatment of ulcerative colitis [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2021, 37(12), 1743-1749.
- Alrumaihi F, Almatroodi SA, Alharbi HOA, et al. Pharmacological potential of kaempferol, a flavonoid in the management of pathogenesis via modulation of inflammation and other biological activities [J]. *Molecules*, 2024, 29(9): 2007.
- Khan A, Ikram M, Hahm JR, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of citrus flavonoid hesperetin: Special focus on neurological disorders [J]. *Antioxi-*

- dants, 2020, 9(7): 609.
- 15 Recio MC, Giner RM, Uriburu L, et al. *In vivo* activity of pseudoguaianolide sesquiterpene lactones in acute and chronic inflammation [J]. Life Sci, 2000, 66 (26) : 2509-2518.
 - 16 Bai LL, Chen H, Zhou P, et al. Identification of tumor necrosis factor- α (TNF- α) inhibitor in rheumatoid arthritis using network pharmacology and molecular docking[J]. Front Pharmacol, 2021, 12:690118.
 - 17 Zhong W, Jia H, Zhu H, et al. Sarcopenia is attenuated by mairin in SAMP8 mice *via* the inhibition of FAPs fibrosis through the AMPK-TGF- β -SMAD axis [J]. Gene, 2024, 931: 148873.
 - 18 안종민. Chemical constituents from aerial parts of houttuynia cordata and their inhibitory activity against NO production in Macrophage[D]. 서울:서울대학교 대학원, 2017.
 - 19 Donkor PO, Chen Y, Ding L, et al. Locally and traditionally used ligusticum species-a review of their phytochemistry, pharmacology and pharmacokinetics [J]. J Ethnopharmacol, 2016, 194: 530-548.
 - 20 Yao H, Hou Y, Ren J, et al. Anti-hepatocarcinoma HepG2 cell mechanism of jaranol: Based on PI3K/akt signaling pathway [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2022: 80-87.
 - 21 Qian Y, Xu Y, Zhang Q, et al. Identification of novel therapeutic targets for jaranol alleviating cognitive impairment in db/db mice[Z]. Research Square, 2024. <https://www.researchsquare.com/article/rs-4240841/v1>.
 - 22 Hanatani S, Izumiya Y, Araki S, et al. Akt1-mediated fast/glycolytic skeletal muscle growth attenuates renal damage in experimental kidney disease [J]. J Am Soc Nephrol, 2014, 25(12): 2800-2811.
 - 23 Kim IY, Song SH, Seong EY, et al. Akt1 is involved in renal fibrosis and tubular apoptosis in a murine model of acute kidney injury-to-chronic kidney disease transition [J]. Exp Cell Res, 2023, 424(2): 113509.
 - 24 Peng Z, Aggarwal R, Zeng N, et al. AKT1 regulates endoplasmic reticulum stress and mediates the adaptive response of pancreatic β cells[J]. Mol Cell Biol, 2020, 40(11): e00031-20.
 - 25 Yonesaka K, Tanizaki J, Maenishi O, et al. HER3 augmentation *via* blockade of EGFR/AKT signaling enhances anticancer activity of HER3-targeting patritumab deruxtecan in EGFR-mutated non-small cell lung cancer [J]. Clin Cancer Res, 2022, 28(2): 390-403.
 - 26 Dong RF, Zhu ML, Liu MM, et al. EGFR mutation mediates resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in NSCLC: From molecular mechanisms to clinical research[J]. Pharmacol Res, 2021, 167: 105583.
 - 27 Pan Z, Wang K, Wang X, et al. Cholesterol promotes EGFR-TKIs resistance in NSCLC by inducing EGFR/src/erk/SP1 signaling-mediated ERR α re-expression[J]. Mol Cancer, 2022, 21(1): 1-17.
 - 28 Fang R, Chen X, Zhang S, et al. EGFR/SRC/ERK-stabilized YTHDF2 promotes cholesterol dysregulation and invasive growth of glioblastoma[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 177.
 - 29 Dorotea D, Jiang S, Pak ES, et al. Pan-Src kinase inhibitor treatment attenuates diabetic kidney injury *via* inhibition of Fyn kinase-mediated endoplasmic reticulum stress [J]. Exp Mol Med, 2022, 54(8): 1086-1097.
 - 30 Xiao X, Xu M, Yu H, et al. Mesenchymal stem cell-derived small extracellular vesicles mitigate oxidative stress-induced senescence in endothelial cells *via* regulation of miR-146a/Src [J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 1-15.
 - 31 Ahangari F, Becker C, Foster DG, et al. Saracatinib, a selective Src kinase inhibitor, blocks fibrotic responses in preclinical models of pulmonary fibrosis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2022, 206(12):1463-1479.
 - 32 Wang X, Yu YY, Lieu S, et al. MMP9 regulates the cellular response to inflammation after skeletal injury[J]. Bone, 2013, 52(1): 111-119.
 - 33 Chen S, Li B, Chen L, et al. Uncovering the mechanism of resveratrol in the treatment of diabetic kidney disease based on network pharmacology, molecular docking, and experimental validation [J]. J Transl Med, 2023, 21(1): 380.
 - 34 Jin D, Liu F, Yu M, et al. Jiedu Tongluo Baoshen Formula enhances podocyte autophagy and reduces proteinuria in diabetic kidney disease by inhibiting PI3K/akt/mTOR signaling pathway[J]. J Ethnopharmacol, 2022, 293: 115246.
 - 35 Kuang L, You Y, Qi J, et al. Qi-dan-dihuang decoction ameliorates renal fibrosis in diabetic rats *via* p38MAPK/AKT/mTOR signaling pathway [J]. Environ Toxicol, 2024, 39(6): 3481-3499.
 - 36 Guo S, Wu X, Zheng J, et al. Identification of 4'-Demethyltangeretin as a major urinary metabolite of tangeretin in mice and its anti-inflammatory activities[J]. J Agric Food Chem, 2021, 69(15): 4381-4391.
 - 37 Ghanim AMH, Farag MRT, Anwar MA, et al. Taurine alleviates kidney injury in a thioacetamide rat model by mediating Nrf2/HO-1, NQO-1, and MAPK/NF- κ B signaling pathways[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2022, 100(4): 352-360.
 - 38 Reynaert NL, Gopal P, Rutten EPA, et al. Advanced

- glycation end products and their receptor in age-related, non-communicable chronic inflammatory diseases; Overview of clinical evidence and potential contributions to disease[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 81(Pt B): 403-418.
- 39 Chen F, Sun Z, Zhu X, et al. Astilbin inhibits high glucose-induced autophagy and apoptosis through the PI3K/akt pathway in human proximal tubular epithelial cells[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 1175-1181.
- 40 Zhang Y, Jin D, Kang X, et al. Signaling pathways involved in diabetic renal fibrosis[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 696542.
- 41 Bai X, Li X, Tian J, et al. Antiangiogenic treatment diminishes renal injury and dysfunction *via* regulation of local AKT in early experimental diabetes[J]. *PloS One*, 2014, 9(4): e96117.
- 42 Xu WL, Zhou PP, Yu X, et al. Myricetin induces M2 macrophage polarization to alleviate renal tubulointerstitial fibrosis in diabetic nephropathy *via* PI3K/Akt pathway[J]. *World J Diabetes*, 2024, 15(1): 105-125.
- [本文编辑] 朱金月