

基于网络药理学与动物实验探讨益肾化湿颗粒对糖尿病肾病的保护作用

付彦杰， 刘炫科， 代晶晶， 张春江， 许晓刚， 刘 刚， 杨晓萍*
(石河子大学第一附属医院，新疆 石河子 832000)

摘要：目的 探讨益肾化湿颗粒对糖尿病肾病的保护作用。**方法** 通过查阅文献及检索 TCMSP 等数据库获取益肾化湿颗粒的活性成分及其靶点，GEO 等数据库搜索糖尿病肾病靶点，取两者交集得到相关作用靶点；STRING 平台和 Cytoscape 软件分析益肾化湿颗粒核心成分及蛋白互作网络，CytoNAC 等相关插件进行网络拓扑分析，获取相关核心靶点；MCODE 插件分析交集靶点核心模块并进行功能富集分析，预测相关作用机制；AutoDock Vina 软件进行核心成分和核心靶点的分子对接预测。构建糖尿病肾病小鼠模型，检测 24 h 尿蛋白、血肌酐、尿素氮水平，HE、Masson、PAS 染色观察病理变化，Western blot 法检测肾组织 JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3、SHP2 蛋白表达。**结果** 益肾化湿颗粒通过 153 个靶点调控糖尿病肾病，主要以 6 个核心靶点（Akt1、JAK2、STAT3、PIK3CA、PIK3R1、SHP2）发挥作用；富集通路主要涉及内分泌代谢、免疫调节、炎症反应等，其中 JAK/STAT 信号通路发挥主要作用；核心成分（黄芪甲苷 IV、人参皂苷 Rg2、柠檬苦素）与核心靶点（JAK2、STAT3、SHP2）结合自由能最低。益肾化湿颗粒能改善糖尿病肾病小鼠肾功能减退及病理损伤，降低 p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），升高 SHP2 蛋白表达（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ）。**结论** 益肾化湿颗粒可能通过调控 JAK2/STAT3/SHP2 信号通路，从而发挥治疗糖尿病肾病的作用。

关键词：益肾化湿颗粒；糖尿病肾病；网络药理学；动物实验；JAK2；STAT3；SHP2

中图分类号：R285.5；R966 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-1528(2026)01-0289-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.01.042

糖尿病肾病是糖尿病最易累及的微血管并发症之一，也是慢性肾脏病和终末期肾病形成的主要病因^[1]，本病早期仅表现为微量蛋白尿，但逐渐发展为大量蛋白尿和肾功能减退，最终导致肾衰竭^[2]。因此，早期诊治对糖尿病肾病预后至关重要。

当前，糖尿病肾病的发病机制未完全阐明，肾素-血管紧张素系统、炎症反应、氧化应激等因素均参与本病进展^[3]，目前其方案有限，以 RASS 抑制剂为主的西药在调控时有所不足。因此，探索安全有效的药物对糖尿病肾病的治疗具有重要意义。

中药在治疗复杂疾病时具有多途径、多靶点、疗效显著、不良反应少等优势。源于《脾胃论》中的升阳益胃汤并经现代工艺制成的益肾化湿颗粒临床应用多年，可通过调控糖尿病肾病患者的炎症、氧化应激来发挥肾保护作用^[4]，然而其分子

机制尚未完全阐明。网络药理学以“多成分-多靶点-多途径”的理念探索药物对疾病的调控机制^[5]，从而明确方剂中不同中药产生的效果及毒性，目前已成为分析中药疗效的一种重要手段。本研究利用网络药理学和动物实验探究益肾化湿颗粒对糖尿病肾病保护的作用及其机制，以期对相关临床治疗提供基础理论。

1 材料

1.1 数据库与软件 TCMSP 数据库（<https://tcmsp.w.com/tcmsp.php>）；SwissTarget 数据库（<http://www.Swisstargetprediction.ch/>）；GEO 数据库（<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>）；PubChem 数据库（<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>）；Uniprot 数据库（<https://www.uniprot.org/>）；DisGeNET 数据库（<https://www>

收稿日期：2024-11-25

基金项目：新疆生产建设兵团指导性项目（2022ZD040）

作者简介：付彦杰（1989—），男，硕士，住院医师，研究方向为糖尿病肾病诊疗。Tel：18636444158，E-mail：850721720@qq.com

* 通信作者：杨晓萍（1965—），女，博士，主任医师，研究方向为肾脏病诊疗。Tel：13579458071，E-mail：sbkxyp@163.com

网络出版日期：2025-02-26

网络出版地址：<http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20250225.1829.002.html>

disgenet. org/); GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>); Super-PRED 数据库 (<https://prediction.charite.de/index>); STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>); RCSB PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>); Metascape 数据库 (<https://metascape.org/gp/index>); 微生信数据库 (<https://www.bioinformatics.com.cn/>)。

1.2 动物 75 只 6 周龄雄性 SPF 级 C57BL/6J 小鼠, 体质量 (20±2) g, 购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2024-0001], 饲养于石河子大学医学院实验动物房 (温度 22~26 ℃, 相对湿度 50%~70%), 自由进食饮水。动物实验经石河子大学伦理委员会批准 [伦理号 2023 伦审 (175) 号]。

1.3 试剂与药物 厄贝沙坦片 [国药准字 H20040494, 赛诺菲 (杭州) 制药有限公司, 0.15 g/片]; 益肾化湿颗粒 (国药准字 Z20090250, 广州康臣药业有限公司, 10 g/袋)。链脲佐菌素 (STZ, 北京索莱宝科技有限公司, 货号 S8050); 兔抗 JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3 抗体 (英国 Abcam 公司, 货号 ab108596、ab108596、ab68153、ab267373); 兔抗 SHP2 (PTPN11) 抗体 (武汉博士德生物工程有限公司, 货号 PB9675)。

1.4 仪器 酶标仪、核酸蛋白定量仪、化学成像分析仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 电转仪、电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司); 光学显微镜 (日本 Olympus 公司)。

2 方法

2.1 网络药理学

2.1.1 益肾化湿颗粒活性成分及其靶点获取 检索文献 [6-7] 并通过 HPLC-Q-TOF-MS/MS 法获取活性成分, 将得到的 110 个化合物在 TCMSP 数据库中以口服生物吸收度 (OB) ≥20、药物相似性 (DL) ≥0.1 为标准进行筛选。再采用 PubChem 数据库中候选化合物的 SMILES 表达式, 在 SwissTarget、SuperPred 数据库中搜索相关靶点, Uniprot 数据库校正。

2.1.2 益肾化湿颗粒治疗糖尿病肾病作用靶点筛选 以 “diabetic kidney disease” 为关键词, 在 DisGeNET、GeneCards 数据库中搜索疾病靶点, 同时在 GEO 数据库中搜索人类糖尿病肾病的转录组芯片 GSE30528 (包含 9 例患者肾脏样本和 13 例正常人肾脏样本), 采用 normalize 函数进行归一化处理, 以 $|\log FC| \geq 1$ 、Adjusted P value<0.05 为标

准筛选差异基因, 取 3 个数据的并集靶点作为疾病靶点。再通过韦恩图对疾病靶点与药物靶点取交集, 得到相关作用靶点。

2.1.3 “药物-成分-靶点-疾病” 网络构建 通过 Cytoscape3.9.1 软件绘制 “药物-成分-靶点-疾病” 网络, Network Analyzer 插件计算节点网络拓扑参数, 根据度值筛选益肾化湿颗粒治疗糖尿病肾病的核心成分。

2.1.4 蛋白互作网络、核心靶点获取 将 “2.1.2” 项下作用靶点导入 STRING 数据库中, 设置生物种类为 “*Homo sapiens*”, 置信度 ≥0.8, 并勾选隐藏离散值, 得到蛋白-蛋白质互作网络 (PPI)。采用 CytoNAC 插件对 PPI 网络进行拓扑学分析, 对介数中心性 (betweenness centrality, BC)、接近中心性 (closeness centrality, CC)、度中心性 (degree centrality, DC)、特征向量中心性 (eigenvector centrality, EC)、局部平均连通性 (local average connectivity, LAC) 和网络中心性 (network centrality, NC) 进行 2 次中位值计算, 得到关键靶点^[8]; 采用 Cytohubba 插件中的 MCC 算法对 PPI 网络中的蛋白进行分析, 得到关键靶点, 两者取交集, 即为益肾化湿颗粒治疗糖尿病肾病的核心靶点。

2.1.5 GO、KEGG 富集分析 采用 MCODE 插件对 PPI 网络进行分析, 设置参数 “Degree Cutoff = 2” “Node Score Cutoff = 0.6” “K-Core = 2”, 选取分值最高的模块生成新的 PPI 网络, 根据度值调整其节点大小、颜色、透明度等, 得到起核心作用的蛋白模块。再采用 Metascape 平台对模块靶点进行 GO、KEGG 富集分析, 其中 GO 富集结果柱状图通过微生信绘制, KEGG 富集结果网络图通过 ClueGO 插件绘制。

2.1.6 分子对接 将 “2.1.3” 项下核心成分与 “2.1.4” 项下核心靶点进行分子模拟, 在 PubChem、PDB 数据库中下载两者 3D 结构, 通过 AutoDockTools Vina 软件进行分子对接, 筛选最佳对接构象, 配体分子与受体蛋白结合能越低, 分子越稳定。再采用 Discovery Studio 2019 软件进行可视化。

2.2 动物实验

2.2.1 造模、分组与给药 小鼠适应性饲养 1 周后随机抽取 15 只作为对照组, 采用普通饲料喂养; 小鼠其余 60 只为造模组, 采用高糖高脂饲料喂养, 8 周后造模组小鼠禁食不禁水 12 h, 腹腔注射 120 mg/kg STZ, 而对照组小鼠腹腔注射等体积柠

柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液, 4 h 后恢复进食, 分别在第 3、7、10 天检测空腹血糖水平, 3 次数值均超过 11.1 mmol/L 时表示糖尿病造模成功^[9]; 后期监测 24 h 尿蛋白水平, >30 mg 时表示糖尿病肾病造模成功^[10]。造模过程中共剔除 20 只小鼠 (死亡 13 只, 未成模 7 只), 将达标的 40 只小鼠随机分为模型组、厄贝沙坦组 (0.03 g/kg) 和益肾化湿颗粒低、高剂量组 (2.5、5 g/kg), 每组 10 只, 分笼饲养, 灌胃给予相应药物, 对照组和模型组小鼠灌胃给予等体积生理盐水, 每天 2 次, 连续 8 周。药物干预结束后处死小鼠, 摘取眼球取血并分离血清, 取双侧肾脏, 称定湿重, 右肾置于-80 ℃冰箱中保存, 左肾置于 4% 多聚甲醛中固定, 用于制备石蜡切片。

2.2.2 尿蛋白水平检测 在给药后第 0、4、8 周, 将小鼠置于代谢笼中, 收集 24 h 尿液, 过滤, 离心, 设置空白管 (0.05 mL 双蒸水)、蛋白标准液管 (0.05 mL 双蒸水) 和测定管 (0.05 mL 尿液上清), 均加入 3 mL 考马斯亮蓝染液, 充分反应 5 min, 在酶标仪上检测吸光度, 计算尿蛋白总量。

2.2.3 肾功能检测 将小鼠血清置于生化分析仪中, 检测肌酐、尿素氮水平。

2.2.4 肾脏病理分析 小鼠肾组织经多聚甲醛固定后全自动组织脱水浸蜡, 石蜡包埋, 切取 3 μm 切片, 常规脱蜡、水化后分别进行 HE、Masson、PAS 病理染色, 脱水封片, 在显微镜下观察并拍照。采用 ImageJ 软件分析图片, 以肾小球内胞核计数评估肾脏损伤程度, 按照胶原纤维所占比例进行肾组织纤维化程度评分, 公式为胶原纤维所占比例= (蓝色染色区域面积/总面积) ×100%; 按照糖原沉积所占比例进行肾组织损伤程度评分, 公式为糖原沉积所占比例= (粉色染色区域面积/总面积) ×100%, 其中所占比例≤5% 为 0 分, 5% <所占比例≤25% 为 1 分, 25% <所占比例≤50% 为 2 分, 50% <所占比例≤75% 为 3 分, 所占比例>75% 为 4 分^[11]。

2.2.5 Western blot 法检测小鼠肾组织 JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3、SHP2 (PTPN11) 蛋白表达 取小鼠肾组织约 50 mg, 置于无酶 EP 管中, 加入含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液进行裂解, BCA 法提取蛋白, 检测浓度, 变性, 蛋白缓冲液制成样品质量浓度为 2 μg/μL, 冷冻保存, 制备聚丙烯酰胺凝胶, 上样, 电泳后湿转至 PVDF 膜, 5% BSA 室温封闭 2 h, 分别加入 JAK2、p-

JAK2、STAT3、p-STAT3、SHP2 (PTPN11) 抗体 (1 : 1 000), 4 ℃孵育过夜, 次日洗膜后加入二抗 (1 : 10 000), 室温孵育 2 h, 再次洗膜后通过 ECL 发光液显色定影。以 β-actin 为内参, 采用 ImageJ 软件对图像进行分析。

2.2.6 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理, GraphPad Prism 9.0 软件作图, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 检验。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 网络药理学

3.1.1 活性成分及其靶点 共筛选得到 56 种活性成分、9 024 个靶点, 校正去重后, 最终得到 941 个相关靶点。

3.1.2 作用靶点 通过 DisGeNET、GeneCards 数据库分别获得 206、436 个作用靶点; 从 GEO 数据库中的 GSE30528 基因芯片分析得到 317 个糖尿病肾病差异基因, 其中 235 个上调, 82 个下调; 整合疾病靶点并去除重复值, 得到 834 个糖尿病肾病靶点, 见图 1A。再将上述疾病靶点与 941 个药物靶点取交集, 得到 153 个相关靶点, 见图 1B。

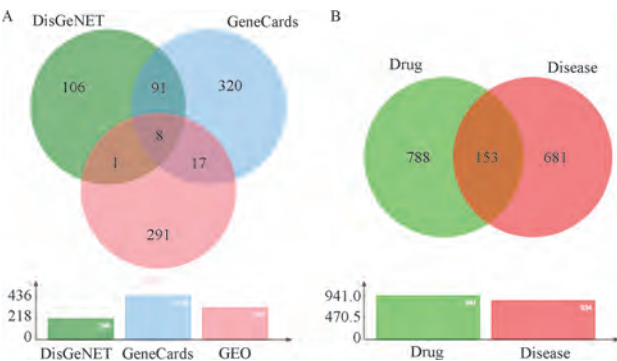


图 1 益肾化湿颗粒治疗糖尿病肾病作用靶点

3.1.3 “药物-成分-靶点-疾病”网络 将 153 个作用靶点输入 Cytoscape 软件中进行网络构建, 见图 2, 得到 227 个节点、2 015 条边, 以节点度值为判断其重要性的依据。其中, 排名前 10 位的化合物分别为黄芪甲苷 I ~ IV、人参皂苷 Rg2、柠檬苦素等, 平均度值为 42.5, 高于整体化合物平均度值的 1.5 倍, 表明它们能作用于糖尿病肾病中的大部分靶点, 可能是益肾化湿颗粒有效物质, 见表 1。

3.1.4 蛋白互作网络及核心靶点 共得到 153 个交集靶点的 PPI 互作网络, 通过 Cytoscape 软件构

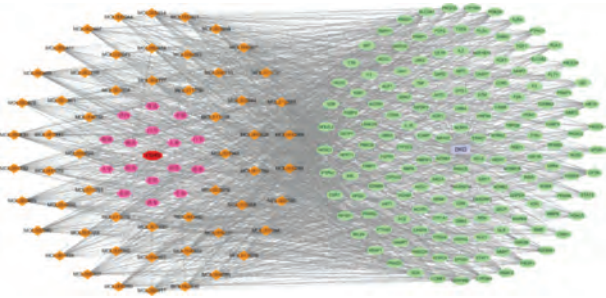


图2 “药物-成分-靶点-疾病”网络图

表 1 益肾化湿颗粒治疗糖尿病肾病核心成分（前 10 位）

MOL ID	名称	度值	来源
MOL000405	黄芪甲苷Ⅲ	49	黄芪
MOL000407	黄芪甲苷Ⅳ	49	黄芪
MOL000285	猪苓酸 C	46	茯苓
MOL000401	黄芪甲苷Ⅰ	46	黄芪
MOL001792	甘草素	46	甘草
MOL000830	泽泻醇 B	45	泽泻
MOL000403	黄芪甲苷Ⅱ	44	黄芪
MOL005280	人参皂苷 Rh1	44	人参
MOL012333	人参皂苷 Rg2	44	人参
MOL003959	柠檬苦素	39	黄连、陈皮

建 PPI 网络图，见图 3A。通过 CytoNAC 插件对各网络节点进行第 1 次拓扑学分析，得到参数值大于中位值的靶点有 38 个，其子网络见图 3B，再计算各节点上述拓扑参数的中位数，得到 14 个靶点，其子网络见图 3C。采用 CytosHubba 插件对 PPI 网络进行分析，得到 14 个预测分值最高的靶点，其子网络见图 3D，取交集，得到 22 个靶点，其中靶点 Akt1、JAK2、STAT3、PIK3CA、PIK3R1、SHP2（PTPN11）在 2 种插件中均可获得，可能是益肾化湿颗粒治疗糖尿病肾病的重要靶点，见图 3E。

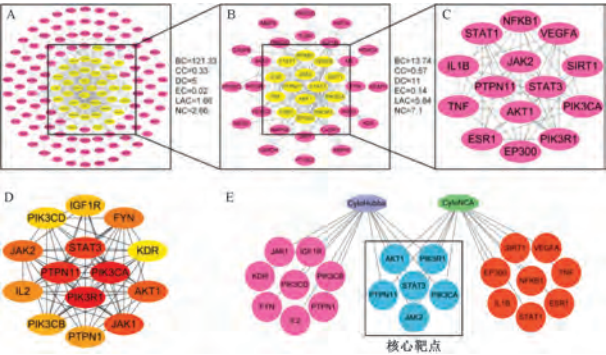


图3 益肾化湿颗粒治疗糖尿病肾病核心靶点

3.1.5 GO、KEGG 富集分析 通过 MCODE 插件得到分值为 12.12 的蛋白模块，由 51 个蛋白靶点（包含 6 个核心靶点）组成，见图 4A。GO 富集结果包含 462 个生物过程（BP）、37 个细胞组成

（CC）、105 个分子功能（MF），主要涉及细胞质、线粒体、细胞核等细胞组成，蛋白激酶 B 信号传导、炎症反应、氧化应激等生物过程，胰岛素受体结合、激酶活性、转录共激活因子结合等分子功能，选取富集最显著的前 10 个条目绘制柱状图，见图 4B。KEGG 富集结果包含 89 条信号通路，对前 30 条通路可视化分析，见图 4C，主要与内分泌代谢、免疫调节、炎症反应、细胞增殖等有关，其中 Akt1、JAK2、STAT3 等 6 个核心靶点均被富集到 JAK/STAT 信号通路中，说明上述通路在益肾化湿颗粒治疗糖尿病肾病过程中发挥更核心的作用。

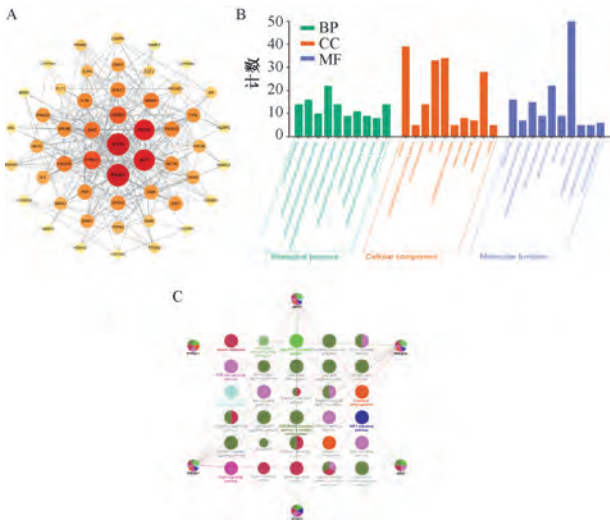


图4 GO、KEGG 富集分析图

3.1.6 分子对接 如图 5A 所示，所有核心成分的结合自由能均小于-5 kcal/mol。将排名前 6 位的模型进行三维图展示，如图 5B~5G 所示，黄芪甲苷Ⅳ-SHP2、柠檬苦素-JAK2、人参皂苷 Rg2-STAT3 结合自由能最佳，并能以氢键等分子间作用力形成稳定构象，表明益肾化湿颗粒中的 10 种核心成分能与 6 个核心靶蛋白产生良好的结合关系，并且 3 种核心成分（黄芪甲苷Ⅳ、人参皂苷 Rg2、柠檬苦素）及 3 个靶蛋白（JAK2、STAT3、SHP2）是其发挥调控机制的关键。

3.2 动物实验

3.2.1 益肾化湿颗粒对糖尿病肾病小鼠 24 h 尿蛋白水平的影响 STZ 注射后的第 7 天，各组小鼠 24 h 尿蛋白水平保持稳定，无明显变化（ $P>0.05$ ）；给药 4、8 周后，与对照组比较，模型组小鼠 24 h 尿蛋白水平升高（ $P<0.01$ ），而与模型组比较，益肾化湿颗粒各剂量组和厄贝沙坦组小鼠 24 h 尿蛋白水平降低（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），见表 2。

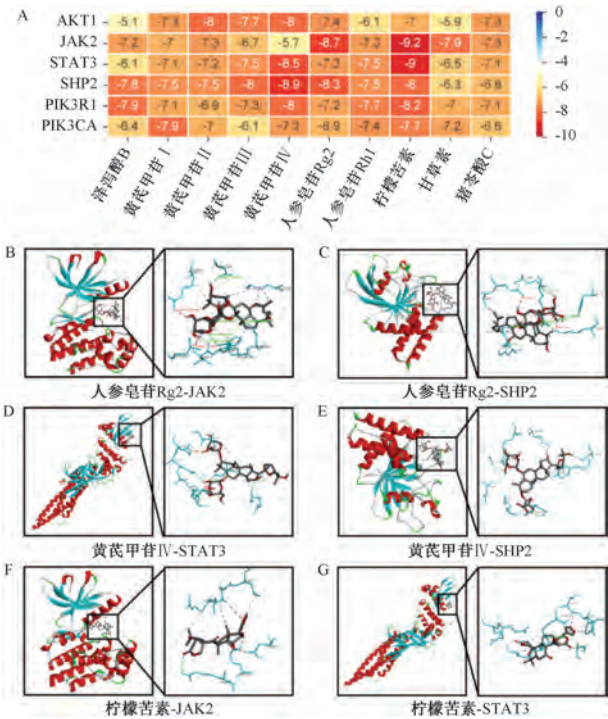
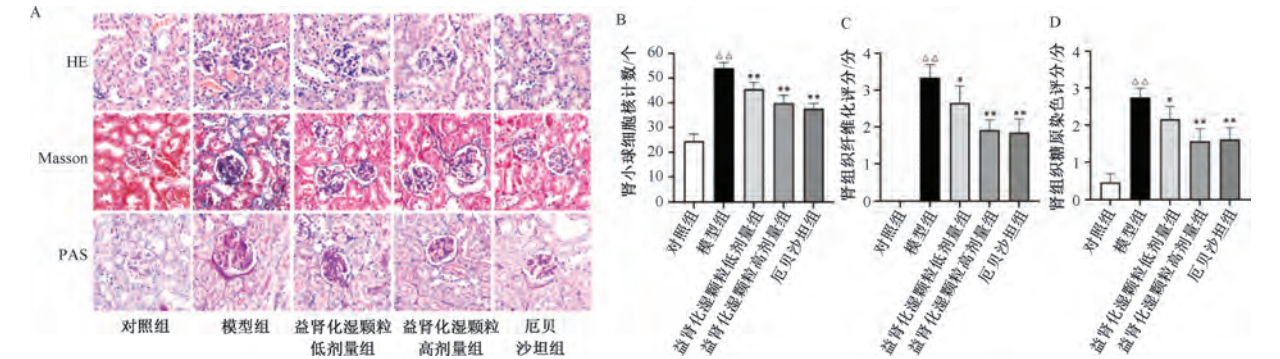


图 5 核心成分与核心靶点分子对接图

表 2 益肾化湿颗粒对糖尿病肾病小鼠 24 h 尿蛋白水平的影响 (mg/L, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	给药前	给药 4 周	给药 8 周
对照组	146.03±44.34	184.55±37.83	163.35±61.76
模型组	165.73±44.21	505.88±79.56 $\Delta\Delta$	841.81±57.82 $\Delta\Delta$
益肾化湿颗粒低剂量组	144.95±42.23	419.79±52.53*	338.20±36.22**
益肾化湿颗粒高剂量组	132.11±31.14	335.24±24.08**	229.37±29.46**
厄贝沙坦组	150.85±31.70	291.80±24.81**	200.00±13.74**

注：与对照组比较， $\Delta\Delta P<0.01$ ；与模型组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。



注：与对照组比较， $\Delta\Delta P<0.01$ ；与模型组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.05$ 。

图 6 益肾化湿颗粒对糖尿病肾病小鼠肾组织病理变化的影响 ($\times 400$, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

表 3 益肾化湿颗粒对糖尿病肾病小鼠肾功能的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

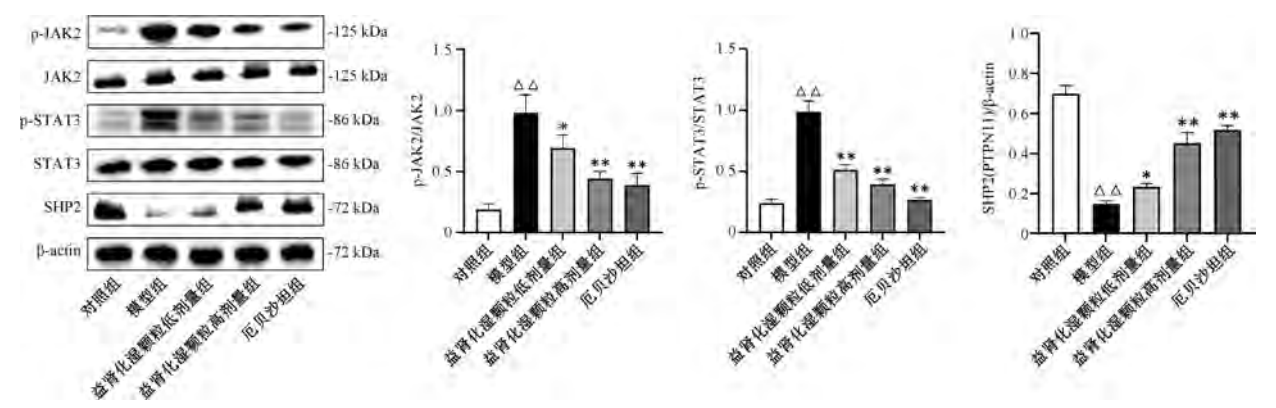
组别	肌酐/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	尿素氮/($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)
对照组	17.13±1.18	6.32±0.32
模型组	25.07±1.58 $\Delta\Delta$	9.97±0.50 $\Delta\Delta$
益肾化湿颗粒低剂量组	22.37±1.05*	9.02±0.31*
益肾化湿颗粒高剂量组	20.67±0.75*	8.33±0.56*
厄贝沙坦组	20.80±1.13*	8.47±0.34*

注：与对照组比较， $\Delta\Delta P<0.01$ ；与模型组比较，* $P<0.05$ 。

3.2.2 益肾化湿颗粒对糖尿病肾病小鼠肾功能的影响 与对照组比较，模型组小鼠血清肌酐、尿素氮水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，益肾化湿颗粒各剂量组和厄贝沙坦组小鼠血清肌酐、尿素氮水平降低 ($P<0.05$)，见表 3。

3.2.3 益肾化湿颗粒对糖尿病肾病小鼠肾组织病理变化的影响 如图 6A 所示，对照组小鼠肾小球及小管结构正常，无胶原纤维、糖原沉积；模型组小鼠肾小球明显肥大，系膜细胞及基质增生，边界模糊，部分肾小管上皮空泡样改变及间质炎细胞浸润，肾小球及间质出现广泛的胶原纤维、糖原沉积，提示模型复制成功；益肾化湿颗粒及厄贝沙坦干预后，上述病理变化有所改善。如图 6B~6D 所示，与对照组比较，模型组小鼠肾小球内核计数、纤维化改变、糖原沉积程度增加 ($P<0.01$)；与模型组比较，益肾化湿颗粒各剂量组和厄贝沙坦组小鼠肾小球内核计数、纤维化改变、糖原沉积程度降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。

3.2.4 益肾化湿颗粒对糖尿病肾病小鼠肾组织 p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3、SHP2 (PTPN11) 蛋白表达的影响 与对照组比较，模型组小鼠肾组织 p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达升高 ($P<0.01$)，SHP2 蛋白表达降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，益肾化湿颗粒各剂量组和厄贝沙坦组小鼠肾组织 p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，SHP2 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见图 7。



注：与对照组比较，^{ΔΔ}*P*<0.01；与模型组比较，^{*}*P*<0.05，^{**}*P*<0.01。

图 7 益肾化湿颗粒对糖尿病肾病小鼠肾组织 p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3、SHP2 (PTPN11) 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, *n*=3)

4 讨论

糖尿病肾病被现代中医根据其临床表现归属于“肾消”“尿浊”“水肿”等范畴^[12]，认为脾气虚弱是引起消渴证候的根本原因，脾肾两虚则表现为气阴两虚证^[13]。益肾化湿颗粒由人参、黄芪等 16 味中药组成，具有升阳补脾、化湿利水等功效，对脾虚湿盛证所致蛋白尿疗效显著。本研究发现，黄芪甲苷、人参皂苷、柠檬苦素等 10 种核心成分可能在益肾化湿颗粒调控糖尿病肾病中起重要疗效，其中黄芪甲苷 IV 可通过减轻足细胞内 ROS 产生、调节内质网稳态等机制发挥保护足细胞、减轻蛋白尿的作用^[14-15]；人参皂苷 Rh1 可通过 AMPK/PI3K/Akt 通路来减轻糖尿病肾病小鼠炎症因子水平，从而延缓疾病进展^[16-17]；尽管柠檬苦素对糖尿病肾病的疗效尚未报道，但它可通过抑制活化 CD4⁺T 细胞中 NF-κB P65 核易位来减轻炎症损伤^[18]。本研究结果显示，益肾化湿颗粒能降低糖尿病肾病小鼠 24 h 尿蛋白、肾功能，同时改善肾脏病理损伤，其疗效得益于上述成分的协调效应。

在“药物-成分-靶点-疾病”网络图中，上述 10 种核心成分可调控多种疾病靶点，体现益肾化湿颗粒在治疗糖尿病肾病时具有多成分、多靶点调控效应。PPI 网络图显示，这些靶点之间呈现相互作用，其中 Akt1、JAK2、STAT3、SHP2 (PTPN11)、PIK3CA、PIK3R1 居于网络中心，并且 KEGG 通路富集显示它们所调控的 PI3K/Akt、JAK/STAT 信号通路具有较高的富集系数，可发挥串扰作用。PI3K/Akt 信号通路在多种肾脏疾病中均有涉及，与调控细胞分化、增殖和凋亡等功能相关^[19]，课题组前期研究发现，益肾化湿颗粒可通过调控 PCNA、p-Akt 表达来减轻 MsPGN 大鼠肾脏病

变^[20]。此外，益肾化湿颗粒也可通过 PI3K/Akt/mTOR 通路改善糖尿病肾病小鼠肾纤维化来抑制疾病进展^[21]，但尚未进行药理机制探索。本研究通过分子对接等方法再次验证了 PI3K/Akt 通路及其靶点 Akt1 和 PI3Ks (PIK3CA、PIK3R1) 可能是益肾化湿颗粒调控糖尿病肾病的关键途径。JAK/STAT 信号通路可通过信号转导和基因转录双重功能介导炎症反应、细胞增殖和免疫调节，在糖尿病肾病发展过程中起核心作用^[22]。高糖、炎症因子、血管紧张素 II 等可与靶细胞相关受体结合导致其二聚化，从而激活 JAK2，p-JAK2，进一步使 STAT3 上的 Tyr705 位点磷酸化，后者以二聚体形式进入细胞核，并与特定的 DNA 位点结合，不仅调控多种细胞因子的基因转录，还可与 PI3K/Akt 等信号通路形成偶联效应^[23]。此外，来源于蛋白酪氨酸磷酸酶的 SHP2 (PTPN11) 蛋白在负调控 STAT3 的磷酸化中发挥重要作用^[24]，其活性对平衡食物摄入和能量消耗是必要的，而其功能阻断会导致糖尿病和肥胖的发生^[25]，因此，调控该因子活性也可能是治疗糖尿病肾病的新思路。本研究通过分子对接发现，益肾化湿颗粒中的 10 种核心成分均与 JAK2、STAT3、SHP2 有良好的结合能力，其中黄芪甲苷 IV、人参皂苷 Rg2、柠檬苦素的结合效果最佳。Western blot 结果表明，各剂量益肾化湿颗粒均可降低 p-JAK2、p-STAT3 蛋白在糖尿病肾病小鼠肾组织中的表达，升高 SHP2 蛋白表达，提示对 JAK2、STAT3、SHP2 蛋白的调控可能是益肾化湿颗粒治疗糖尿病肾病的重要分子机制。

综上所述，本研究通过网络药理学和动物实验来挖掘益肾化湿颗粒治疗糖尿病肾病的成分及靶

点,其中 JAK2/STAT3/SHP2 信号通路可能是其核心机制,可为相关临床治疗提供理论支撑。

参考文献:

[1] Ishibashi M, Shiiyama R. A case of psoriasis vulgaris treated with brodalumab in a hemodialysis patient with end-stage renal disease due to diabetic nephropathy[J]. *Case Rep Dermatol Med*, 2020, 2020: 3863152.

[2] Szejder M, Piwkowska A. AMPK signalling: Implications for podocyte biology in diabetic nephropathy[J]. *Biol Cell*, 2019, 111(5): 109-120.

[3] Yu S M W, Leventhal J S, Cravedi P. Totally tubular, dude: rethinking DKD pathogenesis in the wake of SGLT2i data[J]. *J Nephrol*, 2021, 34(3): 629-631.

[4] 涂元宝,李传平,高 磊. 益肾化湿颗粒辅助治疗早期糖尿病肾病的疗效及安全性分析[J]. *世界中医药*, 2020, 15(7): 1042-1046.

[5] 苑 婕,胡 静,贺 虹,等. 网络药理学在中医药现代化研究中的进展[J]. *海南医学*, 2020, 31(20): 2688-2691.

[6] Chan Y C, Zhao J, Hu Q, *et al.* Chemical profile assessment and potential bioactive component screening of a Chinese patent herbal drug Yi-Shen-Hua-Shi Granule[J]. *Nat Prod Commun*, 2021, 16(6): 1862-1872.

[7] 姜 晨,徐荣佳,崔师妍,等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 和网络药理学探讨益肾化湿颗粒治疗 IgA 肾病作用机制[J]. *中草药*, 2021, 52(21): 6576-6585.

[8] 周 红,雷 杰,程 欢. 基于网络药理学和分子对接探索脑栓通胶囊治疗脑梗死的潜在机制研究[J]. *现代医院*, 2024, 24(1): 134-139.

[9] 左心真,王蒙蒙,董 晓. 2 型糖尿病小鼠模型的建立[J]. *青岛农业大学学报 (自然科学版)*, 2022, 39(4): 259-264.

[10] Li Y, Xue M, Hu F, *et al.* Klotho prevents epithelial-mesenchymal transition through Egr-1 downregulation in diabetic kidney disease[J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2021, 9(1): e002038.

[11] 许晓刚,张春江,付彦杰,等. 益肾化湿颗粒对 MsPGN 大鼠肾组织 TGF-β1 信号通路和 ERK1/2 磷酸化的影响[J]. *中成药*, 2023, 45(12): 4137-4142.

[12] 董 萍,王明选,钟家芳,等. 中医治疗糖尿病肾病研究进展[J]. *实用中医药杂志*, 2008, 24(2): 126-127.

[13] 韩雪莹,单国顺,杨宇峰,等. 益糖康对 2 型糖尿病模型大鼠糖脂代谢和肠道菌群的影响[J]. *中医杂志*, 2022, 63(1): 64-71.

[14] Zhang L L, Wen Z G, Han L, *et al.* Research progress on the pathological mechanisms of podocytes in diabetic nephropathy[J]. *J Diabetes Res*, 2020, 2020: 7504798.

[15] Gui D K, Guo Y P, Wang F, *et al.* Astragaloside IV, a novel antioxidant, prevents glucose-induced podocyte apoptosis *in vitro* and *in vivo*[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e39824.

[16] Qi M Y, Wang X T, Xu H L, *et al.* Protective effect of ferulic acid on STZ-induced diabetic nephropathy in rats[J]. *Food Funct*, 2020, 11(4): 3706-3718.

[17] Su W Y, Li Y, Chen X, *et al.* Ginsenoside Rh1 improves type 2 diabetic nephropathy through AMPK/PI3K/Akt-mediated inflammation and apoptosis signaling pathway[J]. *Am J Chin Med*, 2021, 49(5): 1215-1233.

[18] Kim W, Fan Y Y, Smith R, *et al.* Dietary curcumin and limonin suppress CD4⁺ T-cell proliferation and interleukin-2 production in mice[J]. *J Nutr*, 2009, 139(5): 1042-1048.

[19] 万金艳,龙 宇,张羽璐,等. PI3K/Akt 信号通路在糖尿病肾病中的作用及中药干预的研究进展[J]. *中草药*, 2021, 52(12): 3705-3716.

[20] 董王钰,杨 锐,张春江,等. 益肾化湿颗粒对抗 Thy-1 型肾炎大鼠肾组织中 PCNA、Akt 表达的影响[J]. *中成药*, 2022, 44(9): 2799-2804.

[21] Zhao T T, Li M Y, Xiang Q, *et al.* Yishen Huashi Granules ameliorated the development of diabetic nephropathy by reducing the damage of glomerular filtration barrier[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 872940.

[22] 曹 宇,王保兴. JAK/STAT 通路在肾脏疾病发病中的作用[J]. *中华临床医师杂志 (电子版)*, 2017, 11(1): 114-118.

[23] Liu Y J, Wang W K, Zhang J T, *et al.* JAK/STAT signaling in diabetic kidney disease[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11: 1233259.

[24] Kim M, Morales L D, Jang I S, *et al.* Protein tyrosine phosphatases as potential regulators of STAT3 signaling[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9): 2708.

[25] Bu Y Y, Shi T, Meng M H, *et al.* A novel screening model for the molecular drug for diabetes and obesity based on tyrosine phosphatase Shp2[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21(2): 874-878.