

分类号:
学号: 20232014092

密级: 公开
单位代码: 10759

石河子大学

硕士学位论文



探讨黄葵胶囊联合非奈利酮对高糖环境下肾小管上皮细胞的保护机制

学位申请人	刘炫科
指导教师	杨晓萍 教授 张春江 教授
申请学位门类级别	医学硕士
学科、专业名称	内科学
研究方向	糖尿病肾病的诊治
所在学院	临床医学院

中国·新疆·石河子
2026年5月

分类号：
学 号：20232014092

密 级：公开
单位代码：10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



探讨黄葵胶囊联合非奈利酮对高糖环境下肾小管上皮细胞的保护机制

学 位 申 请 人	刘炫科
指 导 教 师	杨晓萍 教授
	张春江 教授
申请学位门类级别	医学硕士
学科、专业名称	内科学
研 究 方 向	糖尿病肾病的诊治
所 在 学 院	临床医学院

中国·新疆·石河子
2026年5月

To investigate the protective mechanism of Huangkui capsule combined
with finerenone on renal tubular epithelial cells in high glucose
environment

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Medicine

By

XuanKe Liu

(Nephrology)

Dissertation Supervisor:**Prof. Xiaoping Yang**

May, 2026

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：刘炫科

时间：2026年5月20日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：刘炫科

时间：2026年5月20日

导师签名：杨晓萍

时间：2026年5月20日

摘要

目的：糖尿病肾病（Diabetic Nephropathy, DN）作为糖尿病微血管并发症的核心体现，其临床诊疗现状仍存在若干挑战性难题。现有研究资料表明，JAK2/STAT3 信号传导通路在该疾病的病理生理进程中扮演着重要调节角色。黄葵胶囊（HuangKui Capsule, HKC）和非奈利酮（Finerenone）作为单药在 DN 治疗中显示出潜力，但其联合作用机制尚不明确。本研究旨在通过网络药理学、分子对接、动力学模拟及体内外实验验证，探讨 HKC 联合 Finerenone 治疗 DN 的协同作用机制，重点关注其对 JAK2/STAT3 信号通路的调控作用。

方法：1. 网络药理学与分子对接：通过数据库挖掘筛选 HKC 的活性成分（如槲皮素、杨梅素、棉花皮素）及非奈利酮的潜在靶点，构建“药物-成分-靶点-疾病”网络，分析核心靶点与 JAK2/STAT3 通路的相互作用。2. 动物实验：采用 STZ 诱导的 DN 小鼠模型，分为模型组、HKC 组（0.45g/kg/d）、Finerenone 组（1.55mg/kg/d）及联合用药组，干预 8 周后检测 24 小时尿蛋白、血清肌酐、尿素氮及炎症因子（IL-6、TNF- α ）水平，并通过 HE、PAS、Masson 染色及免疫组化评估肾脏病理变化；IF 与 TUNEL 共染分析炎症蛋白（MCP-1、MIP-2）与细胞凋亡的共定位；qRT-PCR 检测各组小鼠肾组织 JAK2/STAT3 通路基因，及凋亡相关基因的 mRNA 表达水平；免疫印迹实验被用于评估 JAK2/STAT3 信号传导路径、细胞凋亡相关蛋白及其炎症应答相关蛋白的表达丰度。3. 细胞实验：以高糖（30mmol/L）联合脂多糖（LPS, 10 μ g/ml）诱导 HK2 细胞炎症与凋亡模型，分别用槲皮素（Que, 40 μ M）、Finerenone（Fine, 60 μ M）及联合药物（Que+Fine, 15、30 μ M）干预，使用流式细胞术检测细胞凋亡率；免疫荧光检测各组细胞炎症标志物（MCP-1、MIP-2）的荧光表达水平；WB 检测 JAK2/STAT3 通路蛋白、小管损伤标志蛋白（NGAL、KIM-1）及炎症蛋白表达水平。并通过 Chou-Talalay 法计算联合指数（CI），验证协同效应。4. 信号通路机制验证：构建 STAT3 过表达 HK2 细胞模型，探讨联合药物对 STAT3 介导的炎症与凋亡的调控作用。

结果：1. 网络药理学：筛选出 HKC 的 3 种核心成分（槲皮素、杨梅素、棉布素）及 11 个关键靶点（如 JAK2、STAT3、AKT1 等）。分子对接和动力模拟显示：槲皮素-Finerenone 与 JAK2/STAT3 具有强结合亲和力（STAT3-槲皮素复合物的 $\Delta G = -65.465$ kcal/mol）。2. 动物实验：联合治疗显著降低 DN 小鼠 24 小时尿蛋白（vs. 模型组, $p < 0.001$ ），改善肾功能指标（血清肌酐、尿素氮），并降低炎症因子（IL-6、TNF- α , $p < 0.01$ ）和促凋亡基因水平（Bax、Caspase3/8、PARP, $p < 0.01$ ），同时升高抗凋亡基因 Bcl-2 水平。肾脏病理学染色显示，联合治疗显著减轻肾小管损伤标志物（NGAL、KIM-1, $p < 0.01$ ）的表达，还减轻了肾小管上皮细胞空泡化、核脱落、间质炎性细胞浸润（ $p < 0.05$ ）、间质纤维化（ $p < 0.01$ ）及肾小球系膜增生和糖原沉积增加（ $p < 0.001$ ）。免疫蛋白印迹显示联合组（C/DI 组）下调 p-JAK2、p-STAT3、Bax/Bcl-2 比值及 cleaved Caspase-3/8 的水平（ $p < 0.01$ ），上调抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达水平（ $p < 0.05$ ）。3. 细胞实验：槲皮素与 Finerenone 协同抑制高糖联合 LPS 诱导的 HK2 细胞凋亡（ $p < 0.05$ ）与炎症蛋白表达（MCP-1、MIP-2, $p < 0.05$ ），此外基于 Chou-Talalay 算法也得到槲皮素与 Finerenone 存在协同作用（ $CI < 1$ ，表明协同作用）。在信号通路的调控机制上，

槲皮素与 Finerenone 协同抑制高糖联合 LPS 诱导的 HK2 细胞 STAT3 通路的磷酸化 ($p<0.05$)，减轻小管损伤标志物蛋白 (NGAL、KIM-1, $p<0.05$) 和炎症蛋白 (IL6、TNF- α , $p<0.05$) 表达。在 STAT3 过表达后的 HK2 细胞中，含有高糖联合 LPS 的细胞里加剧炎症与凋亡，而联合治疗可逆转此效应 ($p<0.01$)。

结论：本研通过网络药理学预测、分子动力学模拟及体内外实验验证，证实联合用药能够靶向并协同抑制 JAK2/STAT3 信号通路的异常激活，有效阻断了高糖诱导的肾小管上皮细胞的炎症级联反应与细胞凋亡，显著减轻了 DN 小鼠肾小管间质纤维化，改善了肾功能。该干预策略为糖尿病肾病的临床治疗提供了新的理论依据和潜在方案。

关键词：黄葵胶囊；非奈利酮；糖尿病肾病；网络药理学；JAK2/STAT3 信号通路

Abstract

Objective: Diabetic Nephropathy (DN) is the core manifestation of diabetic microvascular complications, but there are still several challenges in the clinical diagnosis and treatment of DN. Existing studies have shown that JAK2/STAT3 signaling pathway plays an important regulatory role in the pathophysiological process of the disease. HuangKui Capsule (HKC) and Finerenone have shown potential as single drugs in the treatment of DN, but the mechanism of their combined action is still unclear. The aim of this study is to explore the synergistic mechanism of HKC combined with finerenone in the treatment of DN through network pharmacology, molecular docking, kinetic simulation and in vitro and in vivo experiments, with a special focus on the regulation of JAK2/STAT3 signaling pathway.

Methods: 1. Network pharmacology and molecular docking: The active components of HKC (such as Quercetin, Myricetin, and Gossypetin) and potential targets of finerenone were screened by database mining to construct a "drug-component-target-disease" network and analyze the interaction between core targets and JAK2/STAT3 pathway. 2. Animal experiments: STZ-induced DN mouse model was used and divided into model group, HKC group (0.45g/kg/d), finerenone group (1.55mg/kg/d) and combination treatment group (CDI group). After 8 weeks of intervention, 24-hour urine protein, serum creatinine, urea nitrogen and inflammatory factors (IL-6, TNF- α) levels were detected, and renal pathological changes were evaluated by HE, PAS, Masson staining and immunohistochemistry. IF and TUNEL co-staining were used to analyze the co-localization of inflammatory proteins (MCP-1, MIP-2) and apoptosis. qRT-PCR was used to detect the mRNA expression levels of JAK2/STAT3 pathway genes and apoptosis-related genes in renal tissues of mice in each group. Western blot was used to evaluate the expression abundance of JAK2/STAT3 signaling pathway, apoptosis-related proteins and inflammatory response related proteins. 3. Cell experiments: HK2 cells were treated with quercetin (Que, 40 μ M), finerenone (Fine, 60 μ M) and quercetin +Fine (Que+ FINE, 15, 30 μ M), respectively. Flow cytometry was used to detect the apoptosis rate of HK2 cells. Immunofluorescence was used to detect the expression levels of inflammatory markers (MCP-1 and MIP-2) in each group. The expression levels of JAK2/STAT3 pathway proteins, tubular injury marker proteins (NGAL, KIM-1) and inflammatory proteins were detected by Western blot. The combination index (CI) was calculated by Chou-Talalay method to verify the synergistic effect. Signaling pathway mechanism verification: The STAT3 overexpression HK2 cell model was constructed to explore the regulatory effect of combined drugs on STAT3-mediated inflammation and apoptosis.

Results: 1. Network pharmacology: three core components (Quercetin, Myricetin, and Gossypetin) and 11 key targets (JAK2, STAT3, AKT1, etc.) of HKC were screened. Molecular docking and ki

netic simulation showed that Quercetin-Finerenone had a strong binding affinity with JAK2/STAT3 ($\Delta G = -65.465$ kcal/mol of STAT3-quercetin complex). 2. Animal experiment: Combination treatment significantly reduced 24-hour urinary protein in DN mice (vs. Model group, $p < 0.001$), improved renal function indexes (serum creatinine, urea nitrogen), reduced inflammatory factors (IL-6, TNF- α , $p < 0.01$) and pro-apoptotic genes (Bax, Caspase3/8, PARP, $p < 0.01$), and increased the high anti-apoptotic gene Bcl-2. Pathological staining showed that the combined treatment significantly reduced renal tubular injury markers (NGAL and KIM-1, $p < 0.01$), and also reduced renal tubular epithelial cell vacuolization, nuclear exfoliation, interstitial inflammatory cell infiltration ($p < 0.05$), interstitial fibrosis ($p < 0.01$), mesangial proliferation and glycogen deposition ($p < 0.001$). Western blot showed that p-JAK2, p-STAT3, Bax/Bcl-2 ratio and cleaved Caspase-3/8 were down-regulated ($p < 0.01$) and anti-apoptotic protein Bcl-2 was up-regulated ($p < 0.05$) in combined group (CDI group). 3. Cell experiments: Quercetin and finerenone synergistically inhibited HK2 cell apoptosis ($p < 0.05$) and inflammatory protein expression (MCP-1, MIP-2, $p < 0.05$) induced by high glucose combined with LPS. In addition, based on Chou-Talalay algorithm, there was a synergistic effect between Quercetin and Finerenone (combination index $CI < 1$, indicating synergistic effect). In the regulatory mechanism of signaling pathways, Quercetin and Finerenone synergistically inhibited the phosphorylation of STAT3 pathway in HK2 cells induced by high glucose and LPS ($p < 0.05$), and reduced the expression of tubular injury marker proteins (NGAL, KIM-1, $p < 0.05$) and inflammatory proteins (IL-6, TNF- α , $p < 0.05$). In HK2 cells overexpressing STAT3, high glucose combined with LPS exacerbated inflammation and apoptosis, which were reversed by combined treatment ($p < 0.01$).

Conclusion: Through network pharmacological prediction, molecular dynamics simulation and in vitro and in vivo experimental verification, this study confirmed that the combination of drugs can target and synergistically inhibit the abnormal activation of JAK2/STAT3 signaling pathway, effectively block the inflammatory cascade and apoptosis of renal tubular epithelial cells induced by high glucose, and significantly reduce renal tubulointerstitial fibrosis and improve renal function in DN mice. This intervention strategy provides a new theoretical basis and potential scheme for the clinical treatment of diabetic nephropathy.

Key words: Huangkui capsule; Finerenone; Diabetic Nephropathy; Network Pharmacology; JAK2/STAT3 signaling pathway

目录

摘要	I
Abstract	III
中英文缩略词对照表	IX
第 1 章 前言	1
第 2 章 基于网络药理学探究黄葵胶囊联合非奈利酮干预糖尿病肾病的分子机制	4
2.1 研究平台与工具	4
2.1.1 核心数据获取平台	4
2.1.2 核心分析工具	5
2.2 研究方法	5
2.2.1 黄葵胶囊与非奈利酮活性成分的筛选与确定	5
2.2.2 黄葵胶囊和非奈利酮作用靶点的预测及标准化	5
2.2.3 糖尿病肾病疾病靶点的获取与整合	6
2.2.4 药物作用与疾病相关靶点的交集识别及“药物-成分-靶点-疾病”互作网络的构建	6
2.2.5 PPI 网络构建和核心靶点筛选	7
2.2.6 交集靶点的功能注释与通路富集分析	7
2.2.7 模块靶点在 GEO 芯片数据集分析	8
2.2.8 网络药理学实验技术路线图	9
2.3 网络药理学分析结果	9
2.3.1 黄葵胶囊与非奈利酮活性成分的筛选与确定	9
2.3.2 黄葵胶囊与非奈利酮作用靶点的预测及筛选	10
2.3.3 糖尿病肾病疾病靶点的获取	11
2.3.4 交集靶点的筛选与“药物-成分-靶点-疾病”调控网络的构建	11
第 3 章 黄葵胶囊联合非奈利酮治疗糖尿病肾病的分子模拟分析	19
3.1 分子模拟的材料与工具	19
3.1.1 主要数据资源	19
3.1.2 核心分析软件	19
3.2 实验方法	19
3.2.1 配体与受体的前期处理	19
3.2.2 分子对接模拟	21
3.2.3 分子动力学模拟	22

3.2.4	分子对接与动力学模拟实验技术路线图	24
3.3	分子模拟实验结果	25
3.3.1	用于分子对接的配体与受体准备	25
3.3.2	分子对接结果的可视化与分析	26
3.3.3	分子动力学模拟体系的稳定性评估	28
第4章	黄葵胶囊与非奈利酮联用治疗糖尿病肾病的动物实验研究	32
4.1	材料	32
4.1.1	实验动物	32
4.1.2	主要试剂	32
4.1.3	实验仪器与设备	34
4.2	实验方法	34
4.2.1	主要实验试剂配制方案	35
4.2.2	实验分组	36
4.2.3	小鼠 DN 模型的构建与给药方案	37
4.2.4	实验动物观察与样本采集	37
4.2.5	肾功能生化指标评估	38
4.2.6	肾组织病理形态学观察与评估	39
4.2.7	ELISA 法检测小鼠血清中炎症因子 (IL-6 和 TNF- α) 的水平	42
4.2.8	免疫组化法检测肾组织 NGAL 及 KIM-1 蛋白表达	44
4.2.9	免疫荧光与 TUNEL 染色共染检测肾组织中炎症蛋白 (MCP1、MIP2) 与肾小管凋亡相互促进作用	45
4.2.10	实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测肾组织目的基因表达	46
4.2.11	免疫印迹法检测肾组织相关蛋白表达	50
4.3	体内动物实验技术路线图	54
4.4	数据统计分析	55
4.5	动物实验研究结果	55
4.5.1	各组小鼠基础状态观察	55
4.5.2	联合用药对 DN 模型小鼠 24 小时尿蛋白排泄的影响	58
4.5.3	联合用药对 DN 模型小鼠肾功能指标及尿蛋白与肌酐比值的影响	59
4.5.4	联合用药对 DN 小鼠血清促炎细胞因子水平的抑制作用	60
4.5.5	联合用药对 DN 小鼠肾脏病理形态学的影响	61
4.5.6	联合用药方案对 DN 小鼠肾小管损伤的改善作用评估	64
4.5.7	联合用药对 DN 小鼠肾小管炎症和凋亡的影响	66

4.5.8 联合用药对 DN 小鼠肾组织 JAK2/STAT3 通路及凋亡关键基因转录水平的影响	68
4.5.9 联合用药对 DN 小鼠肾组织中 JAK2/STAT3 通路和凋亡相关蛋白的表达影响	70
第 5 章 黄葵胶囊核心成分（槲皮素）联合非奈利酮治疗糖尿病肾病的体外实验探讨	72
5.1 材料	72
5.1.1 实验细胞	72
5.1.2 实验主要试剂	72
5.1.3 实验主要仪器	73
5.2 方法	74
5.2.1 主要试剂配制	74
5.2.2 细胞实验分组	75
5.2.3 CCK8 检测槲皮素和非奈利酮对 HK2 细胞的药物毒性	76
5.2.4 Chou-Talalay 法计算槲皮素与非奈利酮对 HK2 细胞的联合指数值	78
5.2.5 细胞 IF 检测各组细胞炎症蛋白（MCP1、MIP2）的表达	80
5.2.6 流式细胞术检测各组转染前细胞的凋亡百分比	81
5.2.7 免疫蛋白印迹检测各组细胞中转染前相关蛋白水平	82
5.2.8 慢病毒转染法获得稳转过表达 STAT3 基因的 HK2 细胞株	85
5.2.9 免疫蛋白印迹检测在过表达 STAT3 后的各组 HK2 细胞相关蛋白水平	87
5.2.10 流式细胞术检测在过表达 STAT3 后的各组细胞的凋亡百分比	89
5.3 数据统计与分析	89
5.4 体外细胞实验技术路线图	90
5.5 体外实验结果	91
5.5.1 槲皮素与非奈利酮对 HK2 细胞的药物毒性影响	91
5.5.2 槲皮素联合非奈利酮对 HK2 细胞的协同效应影响	93
5.5.3 槲皮素联合非奈利酮对高糖+LPS 诱导 HK2 细胞的炎症影响	95
5.5.4 槲皮素联合非奈利酮对高糖+LPS 诱导 HK2 细胞的凋亡影响	97
5.5.5 槲皮素联合非奈利酮对高糖+LPS 诱导 HK2 细胞炎症、小管保护蛋白及 STAT3 信号通路的影响	99
5.5.6 在 HK2 细胞成功构建含有过表达 STAT3 基因的稳转株	100
5.5.7 槲皮素联合非奈利酮对含过表达 STAT3 的 HK2 细胞加入高糖+LPS 刺激后调控凋亡的影响	101
5.5.8 槲皮素联合非奈利酮对含过表达 STAT3 的 HK2 细胞加入高糖+LPS 刺激后调控小管炎症和损伤的影响	103

第 6 章 讨论与展望	105
6.1 讨论	105
6.1.1 网络药理学与分子模拟揭示 HKC 联合非奈利酮治疗 DN 的协同效应基础	106
6.1.2 动物实验证实 HKC 联合非奈利酮通过抑制 JAK2/STAT3 通路减轻 DN 小鼠 肾小管损伤	107
6.1.3 细胞实验揭示槲皮素与非奈利酮协同调控 STAT3 信号通路的直接证据	107
6.1.4 协同效应与临床转化潜力：HKC 联合非奈利酮治疗 DN 的策略优势	108
6.2 结论	110
6.3 不足和展望	111
第 7 章 综述	112
参考文献	127
致谢	144

中英文缩略词对照表

英文缩写	英文全称	中文全称
HKC	Huangkui capsule	黄葵胶囊
Fine	Finerenone	非奈利酮
QUE	Quercetin	槲皮素
CDI	Combination Drug Interaction	联合药物相互作用
AOD	Average optical density	平均光密度值
BC	Betweenness centrality	介数中心性
BSA	Bovine serum albumin	牛血清白蛋白
BUN	Blood urea nitrogen	血尿素氮
CC	Closeness centrality	接近中心性
CKD	Chronic kidney disease	慢性肾脏病
BUN	Blood urea nitrogen	血清尿素氮
FBG	Fasting Blood Glucose	空腹血糖
UP	Urine Protein	尿蛋白
KWI	Kidney Weight Index	肾重指数
UPCR	Urine Protein-to-Creatinine Ratio	尿蛋白/血肌酐比值
DC	Degree centrality	度中心性
DM	Diabetes mellitus	糖尿病
DN	Diabetic nephropathy	糖尿病肾病
EC	Eigenvector centrality	特征向量中心性
ECL	Enhanced chemiluminescent	增强化学发光
ECM	Extracellular matrix	细胞外基质
EMT	Epithelial-Mesenchymal Transition	上皮-间质转化
ESRD	End stage renal disease	终末期肾病
GFR	Glomerular filtration rate	肾小球滤过率
HRP	Horseradish peroxidase	辣根过氧化物酶
IHC	Immunohistochemistry	免疫组化
IF	Immunofluorescence	免疫荧光
TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling	原位末端转移酶标记技术
FITC	Fluorescein Isothiocyanate	异硫氰酸荧光素
PI	Propidium Iodide	碘化丙啶
7-AAD	7-Aminoactinomycin D	7-氨基放线菌素 D
APC	Allophycocyanin	别藻蓝蛋白
JAK2	Janus kinase 2	蛋白酪氨酸激酶 2
LAC	Local average Connectivity	局部平均连通性
MDS	Molecular dynamics simulation	分子动力学模拟
MD	Molecular Docking	分子对接
NP	Network pharmacology	网络药理学

续表：中英文缩略词对照表

英文缩写	英文全称	中文全称
PTPs	Protein tyrosine phosphatases	蛋白酪氨酸磷酸酶
PEW	Protein-energy wasting	蛋白质能量消耗
PBS	Phosphate buffer solution	磷酸盐缓冲液
PFA	Paraformaldehyde	多聚甲醛
PAS	Periodic Acid-Schiff stain	糖原染色
RMSF	Root mean square fluctuation	均方根波动
RG	Radius of gyration	回旋半径
MRA	Mineralocorticoid Receptor Antagonists	盐皮质激素受体拮抗剂
STZ	Streptozocin	链脲佐菌素
STAT3	Signal transducer and activators of transcription 3	信号转导转录激活因子 3
BCL-2	B-cell lymphoma 2	B 细胞淋巴瘤 2
BAX	BCL2-associated X protein	BCL2 相关 X 蛋白
Caspase	Cysteine-aspartic acid protease	半胱天冬酶
PARP	Poly (ADP-ribose) polymerase	聚腺苷二磷酸核糖聚合酶
KIM-1	Kidney injury molecule-1	肾损伤分子 1
NGAL	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin	中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白
IL-6	Interleukin-6	白细胞介素-6
TNF- α	Tumor necrosis factor-alpha	肿瘤坏死因子- α
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1	单核细胞趋化蛋白-1
MIP-2	Macrophage Inflammatory Protein-2	巨噬细胞炎症蛋白-2
IFN- γ	Interferon-gamma	干扰素- γ
TNFR	Tumor Necrosis Factor Receptor	肿瘤坏死因子受体
NF- κ B	nuclear factor kappa-B	核因子 κ B
NLRP3	NOD-, LRR- and Pyrin Domain-Containing Protein 3	NLR 家族 Pyrin 域蛋白 3
PI3K	Phosphoinositide 3-Kinase	磷酸肌醇 3-激酶
AKT	Threonine KinaseAKT	丝氨酸/苏氨酸激酶
TGF- β 1	Transforming Growth Factor-beta 1	转化生长因子 β 1
Smad	Sma- and Mad-related proteins	Sma 和 Mad 相关蛋白
p38MAPK	p38 Mitogen-Activated Protein Kinase	p38 丝裂原活化蛋白激酶
DAMPs	Damage-Associated Molecular Patterns	损伤相关分子模式
TLR4	Toll-like receptor 4	Toll 样受体 4
TCM	Traditional Chinese medicine	中医药
RMSF	Root mean square fluctuation	均方根波动
TBST	Tris Buffered Saline with Tween	Tris 缓冲盐水
TIMP	tissue inhibitor of matrix metalloproteinase	基质金属蛋白酶抑制剂
HK2 cells	Human KiDNeY 2 cells	人肾小管上皮细胞系

续表：中英文缩略词对照表

英文缩写	英文全称	中文全称
CI	Combination Index	联合用药指数
MOI	multiplicity of infection	感染复数
LPS	Lipopolysaccharide	脂多糖
HG	High Glucose	高葡萄糖
LV	Lentivirus	慢病毒
OE	Overexpression	过表达
PVDF	Polyvinylidene fluoride	聚偏二氟乙烯
RMSD	Root mean square deviation	均方根偏差
CCK8 Cell	Counting Kit-8	细胞计数试剂盒-8

第 1 章 前言

糖尿病 (Diabetes mellitus, DM) 是一种以胰岛素分泌或功能受损导致的慢性高血糖为特征的代谢紊乱。未得到控制的糖尿病常引起多器官损害, 特别是影响眼、肾、血管和神经系统。在这些并发症中, 糖尿病肾病 (Diabetic nephropathy, DN) 是一种严重的微血管炎症表现, 是全球范围内终末期肾病 (End stage renal disease, ESRD) 的主要原因^[1]。无可否认的是, DM 已成为全球性重大公共卫生问题。最新流行病学数据显示, 2021 年全球 20-79 岁人群糖尿病患病率已达 10.5%, 患病人数超过 5.36 亿^[2]。慢性低度炎症和细胞凋亡在 DN 进展中起重要作用。高血糖激活核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 和 NLR 家族 Pyrin 域蛋白 3 (NOD-, LRR- and Pyrin Domain-Containing Protein 3, NLRP3) 炎症小体通路, 增加促炎细胞因子(肿瘤坏死因子 α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素 6 (Interleukin-6, IL-6), 损伤肾小球内皮细胞、足细胞和肾小管上皮细胞^[3]。此外, 高糖可上调 BCL2 相关 X 蛋白/B 细胞淋巴瘤 2 (BCL2-associated X protein/B-cell lymphoma 2, Bax/Bcl-2) 比值, 激活半胱天冬酶 3 (Cysteine-aspartic acid protease-3, caspase-3), 促进肾小管上皮细胞凋亡和肾纤维化。值得注意的是, 足细胞凋亡破坏了肾小球滤过屏障, 而肾小球滤过屏障是 DN 相关蛋白尿的关键因素^[4]。

对于 DN 传统的观点主要集中于肾小球的改变和治疗上, 而忽略了近曲肾小管在疾病进展中发挥的作用, 尽管肾小球的改变非常重要, 但它可能不是糖尿病患者肾脏预后的主要决定因素, 也可能不是 DN 发展的主要因素^[5,6]。有研究表明, 高达 51% 的糖尿病患者在没有蛋白尿的情况下可能有肾损害^[7], 约 7% 的患者在前弹力膜-肾小管交界处出现无功能的肾小球萎缩, 因此肾小管损伤可能是独立于肾小球病变的早期关键环节。即使是正常白蛋白尿患者也可出现与肌酐清除率呈负相关的异常肾小球小管连接^[8]。在分子机制上, 肾小管损伤可通过旁分泌信号途径启动足细胞损伤^[9]。除了传统的作用外, 肾小管还可以介导糖尿病诱导的炎症和细胞凋亡。肾小管上皮细胞损伤进而引发足细胞的功能障碍、肾小球损伤、间质炎症和纤维化的恶性循环, 加速肾脏功能下降^[10]。因此, 针对肾小管病变进行干预, 对于延缓 DN 的进展具有重要意义。

中成药黄葵胶囊 (Huangkui capsule, HKC) 是中药黄蜀葵 (Abelmoschus manhot (L.) Medic.) 的标准化制剂, 该药物的批准号为 (国药准字: Z19990040), 含有金丝桃苷、槲皮素、芦丁、杨梅素等具有生物活性的黄酮类物质。临床研究表明, HKC 对慢性肾小球肾炎、IgA 肾病和 DN 患者具有减轻炎症、减少蛋白尿和保护肾功能的作用^[11]。槲皮素 (Quercetin, Que) 是 HKC 的主要活性成分, 可通过磷酸肌醇 3-激酶/丝氨酸/苏氨酸激酶 (Phosphoinositide 3-Kinase/Threonine Kinase AKT, PI3K/AKT) 信号