

基于网络药理学和实验验证探讨香青兰改善慢性肾脏疾病的作用机制

衡元元^{1,2}, 谭梅娥², 舒合拉·朱马别克², 吴彤³, 兰卫^{1,2*}, 于宁^{2*}

1. 新疆医科大学中医学院, 新疆 乌鲁木齐 830017

2. 新疆维吾尔自治区药物研究院 新疆维吾尔药重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830000

3. 中国医药工业研究总院 上海医药工业研究院 先导物成药性研究全国重点实验室, 上海 201203

摘要: 目的 通过网络药理学结合动物实验探究香青兰改善慢性肾脏疾病 (chronic kidney disease, CKD) 的作用及机制。方法 通过文献查阅得到香青兰的活性成分, 同时采用网络药理学方法获得活性成分和 CKD 交集靶点, 构建“活性成分-靶点-疾病”网络和潜在靶点相互作用网络, 并通过度值筛选出核心靶点和核心成分, 借助 Matescape 在线平台对核心靶点进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能及京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析。建立 CKD 大鼠模型, 给予复方 α -酮酸片或香青兰提取物干预 28 d, 给药结束后取血测定尿素氮和肌酐水平; 苏木素-伊红 (HE) 染色观察各组大鼠肾组织病理变化; Western blotting 检测各组大鼠肾组织 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA)、碳酸酐酶 IV (carbonic anhydrase IV, CAIV)、 β -连环蛋白 (β -catenin)、基质金属蛋白 9 (matrix metalloprotein 9, MMP9) 和纤连蛋白 (fibronectin, FN) 表达。结果 得到香青兰活性成分 61 个, 相关靶点 789 个, CKD 靶点 2194 个, 香青兰与 CKD 交集靶点 349 个。富集分析结果显示, 香青兰可能通过 7,4'-二氢黄酮、木犀草素、黄酮素、木犀草苷、木犀草素-7-葡萄糖醛酸苷等核心成分调节 CAIV、MMP9、醛糖还原酶 (aldose reductase, AKR1B1) 等核心靶点, 作用于癌症、脂质和动脉粥样硬化、磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)-蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路等途径防治 CKD。动物实验结果显示, 与模型组比较, 香青兰提取物能够显著降低大鼠血清中尿素氮和肌酐水平 ($P < 0.05, 0.01$), 改善大鼠肾单位损伤, 显著下调肾组织 CAIV、 α -SMA、MMP9 和 FN 蛋白表达 ($P < 0.05, 0.01$), 上调 β -catenin 蛋白表达 ($P < 0.05$)。结论 香青兰通过多成分、多靶点发挥治疗 CKD 的作用, 其主要活性成分可能通过作用于 CAIV 调控 β -catenin、 α -SMA、MMP9、FN 的表达, 从而改善 CKD。

关键词: 香青兰; 慢性肾脏疾病; 肾纤维化; CAIV; 木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷; 迷迭香酸; 田蓟苷; 7,4'-二氢黄酮; 木犀草素; 黄酮素; 木犀草苷

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)11-3947-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.11.015

Mechanism of *Dracocephalum moldavica* in improving chronic kidney disease in rats based on network pharmacology and experimental verification

HENG Yuanyuan^{1,2}, TAN Meie², ZHUMABIEKE Shuhela², WU Tong³, LAN Wei^{1,2}, YU Ning²

1. College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830017, China

2. Key Laboratory of Xinjiang Uygur Autonomus Medicine, Xinjiang Uygur Autonomus Institute of Materia Medica, Urumqi 830000, China

3. National Key Laboratory of Lead Druggability Research, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China

Abstract: Objective To explore the effect and mechanism of *Dracocephalum moldavica* on chronic kidney disease (CKD) through network pharmacology combined with animal experiments. **Methods** The active ingredients of *D. moldavica* were obtained through

收稿日期: 2024-09-30

基金项目: “天山英才”医药卫生高层次人才培养计划项目 (TSYC202301B099); 新疆维吾尔自治区自然科学基金面上项目 (2022D01A303); 新疆维吾尔自治区公益性科研院所基本科研业务经费资助项目 (KY2022145)

作者简介: 衡元元, 女, 硕士研究生, 主要从事中药药剂和中药药理学研究。Tel: 15099630173 E-mail: 1046981578@qq.com

*通信作者: 兰卫, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事中药基础研究。Tel: (0991)2110289 E-mail: lanwei516@sina.com

于宁, 女, 硕士, 研究员, 硕士生导师, 主要从事药物新制剂及新剂型研究。Tel: (0991)2318172 E-mail: ynjy798@163.com

literature review, the intersection targets of active ingredients and CKD were obtained using network pharmacology. The “active ingredient-target-disease” network and potential target interaction network were constructed, the core targets and core components were screened by degree values. Gene ontology (GO) function and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis of core targets were performed using Matescape online platform. CKD rat model was established, Compound α -Ketoacid Tablets or *D. moldavica* extracts were given for intervention for 28 d. After the end of administration, blood was taken to measure urea nitrogen and creatinine levels; Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes in renal tissue of rats in each group; Western blotting was used to detect the expressions of α -smooth muscle actin (α -SMA), carbonic anhydrase IV (CAIV), β -catenin, matrix metalloproteinase 9 (MMP9) and fibronectin (FN) in renal tissues of rats in each group. **Results** A total of 61 active ingredients, 789 related targets, 2 194 CKD targets, and 349 intersecting targets between *D. moldavica* and CKD were obtained. The enrichment analysis results showed that *D. moldavica* might regulate CAIV, MMP9, aldose reductase (AKR1B1) and other core targets through 7,4'-dihydroflavone, luteolin, scrophulein, luteolin-7-*O*-glucoside, luteolin-7-glucuronide and other core components, and act on cancer, lipid and atherosclerosis, phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-protein kinase B (Akt) signal pathway and other pathways to prevent CKD. Animal experiment results showed that compared with model group, *D. moldavica* extract could significantly reduce the levels of urea nitrogen and creatinine in serum of rats ($P < 0.05, 0.01$), improve nephron damage, significantly down-regulate the protein expressions of CAIV, α -SMA, MMP9 and FN in renal tissue ($P < 0.05, 0.01$), and up-regulate the protein expression of β -catenin ($P < 0.05$). **Conclusion** *D. moldavica* exerts therapeutic effects on CKD through multiple components and targets, and its main active ingredients may improve CKD by regulating the expressions of β -catenin, α -SMA, MMP9, and FN through CAIV.

Key words: *Dracocephalum moldavica* L.; chronic kidney disease; renal fibrosis; CAIV; luteolin-7-*O*- β -D-glucuronide; rosmarinic acid; leptomerine; 7,4'-dihydroflavone; luteolin; scrophulein; luteolin-7-*O*-glucoside

慢性肾脏疾病 (chronic kidney disease, CKD) 是以肾纤维化为特征和病理变化的一种常见临床综合征, 随之加重逐渐演变为慢性肾衰竭, 是造成尿毒症等多种终末期肾脏疾病的主要原因之一。当肾组织受到损伤时, 释放炎症介质, 促使肾固有细胞纤维化、肾小球滤过率降低、足细胞功能受损、细胞外基质聚集, 导致尿素氮、肌酐和尿酸异常增加以及蛋白尿的生成, 加重肾小管损伤, 最终促进 CKD 的发展^[1-3]。肾为水脏, 主水液代谢, 《内经·水热穴论》曰“肾者至阴也, 至阴者盛水也”。湿浊内阻于肾, 气化失司, 引发水肿。湿浊聚毒, 加重肾脏负担^[4]。维医学理论认为血液质、黏液质过剩, 瘀阻于内, 湿热积聚, 延缓代谢, 长期引发肾脏的慢性病变^[5]。因此, 温补肾阳、清热利水可能成为预防和治疗 CKD 的重要方向。

香青兰 *Dracocephalum moldavica* L. 是唇形科香青兰属植物, 维吾尔名为巴迪然吉布亚, 以地上部分全草入药。香青兰在维吾尔医学和民间常用于茶饮, 具有活血化瘀、清热燥湿和利尿等功效^[6], 香青兰主要含有田蓟苷、木犀草素、木犀草苷、芹菜素、香叶木素和金合欢素等多种活性成分, 这些活性成分在肾脏疾病方面均有显著的疗效^[7-9]。研究表明, 田蓟苷可以降低肾小管上皮细胞中肌酐和尿素氮水平, 显著减轻肾小管空泡变性、管腔形成和

细胞坏死^[10]; 木犀草素、木犀草苷和芹菜素可以逆转高尿酸血症肾病小鼠肾小管上皮细胞中运输蛋白水平, 降低血清尿酸水平^[11]; 芹菜素可以减少功能性肾损伤和纤维化, 降低转化生长因子- β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)、Smad2/3 信号通路和细胞外基质蛋白的表达^[12]; 金合欢素可以上调核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2 related factor 2, Nrf2)、血红素氧化酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 和白细胞介素-10 (interleukin-10, IL-10) 表达, 同时抑制缺氧/复氧损伤诱导的 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 和 IL-6 的释放, 降低血清肌酐、血尿素氮和丙二醛水平^[13-15]。香青兰在民间常作为茶饮, 具有利尿功效, 可能对防治 CKD 有一定作用, 然而香青兰用于 CKD 治疗的研究目前未见报道。因此, 本研究运用网络药理学研究思路和方法, 结合动物实验药效评价, 探讨香青兰防治 CKD 的主要活性成分及作用靶点, 研究香青兰对 CKD 防治作用的相关机制, 为香青兰防治 CKD 提供理论依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 48 只, 8 周龄, 体质量 220~260 g, 购自新疆医科大学, 许可证号 SCXK (新) 2023-0001。动物分笼饲养, 保持室内相对湿度

度 45%~70%，温度 19~23 °C，室内 12 h 明暗自动切换，自由进食饮水。动物实验经新疆维吾尔自治区药物研究院动物伦理委员会批准（批准号 XJIMM-20240406），遵循国家实验动物福利相关的规定。

1.2 药材

香青兰药材产自新疆维吾尔自治区玛纳斯县，经新疆维吾尔自治区药物研究所何江研究员鉴定为唇形科植物香青兰 *D. moldavica* L. 的干燥地上部分。

1.3 药品与试剂

复方 α -酮酸片（批号 81QG315）购自北京费森尤斯卡医药有限公司；羊抗兔二抗（批号 31460，稀释比例 1 : 10 000）、碳酸酐酶 IV（carbonic anhydrase IV, CAIV）抗体（批号 PA5-114926，稀释比例 1 : 500）、 β -连环蛋白（ β -catenin）抗体（批号 MA5-41089，稀释比例 1 : 500）、基质金属蛋白 9（matrix metalloprotein 9, MMP9）抗体（批号 MA5-32705，稀释比例 1 : 5 000）购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司； α -平滑肌肌动蛋白（ α -smooth muscle actin, α -SMA）抗体（批号 19245，稀释比例 1 : 1 000）、纤连蛋白（fibronectin, FN）抗体（批号 63779，稀释比例 1 : 1 000）购自赛信通（上海）生物试剂有限公司。 β -actin 抗体（批号 4970）购自美国 CST 公司；尿素氮测定试剂盒（批号 20240628）、肌酐测定试剂盒（批号 240625）购自南京建成科技有限公司。

1.4 仪器

EG1150H 型石蜡包埋机、EG1150C 型冷冻台、HI1220 型病理烘片机、EM-UC6 型超薄型切片机（德国 Leica 公司）；Centrifuge5410D 型台式离心机（美国 Eppendorf 公司）；B120S 型电子天平（德国 SARTORIUS 公司）；KB-2 型脱色摇床仪（海门市其林贝尔仪器制造有限公司）；DW-86L338J 型超低温冰箱（青岛海尔股份有限公司）；Nexus 制冰机（意大利 Angelantoni Industrie 公司）；Milli-Q 超纯水系统（美国 Millipore 公司）；Cobasc111 型自动生化分析仪（德国 Roche 公司）；EOL-JEM-1230 型投射电子显微镜（日本 Nikon 公司）；SPARK 多功能微孔板检测仪（瑞士 TECAN 公司）；cell1658001 型垂直电泳槽、164-5050 型电泳仪（美国 Bio-Rad 公司）；Pico-17 型台式低温离心机、Vortex-Genie 系列涡旋振荡器、FX6 型多功能成像系统（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；IMS-50 型全自动制冰机（北京长

流科学仪器）。

2 方法

2.1 网络药理学研究

2.1.1 香青兰活性成分及靶点的筛选 以“香青兰有效部位”为关键词，通过文献检索获得香青兰的化学成分^[16-18]，通过化源网（<https://www.chemsrc.com/>）和 PubChem（<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>）获得相应成分的 2D 结构。根据药动学参数，在 SwissADME 数据库（<http://www.swissadme.ch/>）筛选潜在的活性成分。筛选标准：（1）定义药动学中胃肠道吸收为“高”；（2）生物利用度评分 ≥ 0.5 ；（3）至少 2 种药物（药物相似性）规则为“是”。为了保证数据的准确性和完整性，将不符合筛选标准但具有生物活性的分子也作为候选活性分子。最后，选择 61 个化合物作为候选活性分子。利用 SwissTargetPrediction 数据库（<http://www.swiss-targetprediction.ch/>）以人为目标获取活性成分的相关靶点。

2.1.2 CKD 的候选靶点筛选及蛋白质-蛋白质相互作用（protein-protein interaction, PPI）网络构建 在 GeneCard 数据库（<https://www.genecards.org/>）以“chronic kidney disease”为检索词进行检索，获得 CKD 的相关靶点基因。将香青兰与 CKD 的共同靶点导入微生信平台（<https://www.bioinformatics.com.cn/>）获得两者交集靶点后，将交集靶点导入 STRING 数据库（<http://string-db.org/cgi/input.pl/>）获得 PPI 网络。

2.1.3 关键靶点基因本体（gene ontology, GO）功能及京都基因与基因组百科全书（Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG）通路富集分析 将交集靶点利用 matescape 数据库（<https://metascape.org/gp/index.html/>）进行 GO 和 KEGG 分析，分别对筛选出的 GO 功能和 KEGG 通路分析结果绘图。将以香青兰活性成分、CKD 及两者交集靶点等信息制作的网络文件和属性文件导入 Cytoscape v3.10.1 软件绘制“活性成分-靶点-疾病”网络。

2.1.4 分子对接验证 将筛选出的前 5 个核心成分及前 5 个核心靶点进行分子对接，从 PubChem 网站获得核心成分的 3D 结构，通过 OpenBabel 软件转换成 pdb 格式。通过 PDB 数据库（<https://www.rcsb.org/>）获得核心靶点的蛋白晶体结构，利用 Mymol 2.2.0 软件对所有蛋白进行修饰，去除水分子及多余的配体。采用 AutoDock Vina 1.5.7 软件进行

分子对接工作, Pymol 2.2.0 将对接结果进行可视化。

2.2 动物实验验证

2.2.1 香青兰提取物的制备 取香青兰药材, 加入 40 倍量 40%乙醇回流提取, 滤过, 滤液减压浓缩至无醇味, 加入无水乙醇至乙醇体积分数为 75%, 4 °C 静置 24 h, 滤过, 滤液再次减压浓缩, 经 HPD600 大孔树脂纯化, 依次用水和 70%乙醇洗涤, 收集 70%乙醇洗脱液, 浓缩, 干燥, 得香青兰提取物, 其中总黄酮质量分数为 67.5%, 木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷质量分数为 14.0%, 田蓟苷质量分数为 18.2%; 迷迭香酸质量分数为 14.1%。

2.2.2 动物分组、造模与给药 48 只雄性 SD 大鼠适应性喂养 1 周后, 随机分为对照组、模型组、复方 α -酮酸 (1 g/kg) 组和香青兰提取物低、中、高剂量组, 每组 8 只。按香青兰单方制剂益心巴迪然吉布亚颗粒临床用量为 18 g/d, 对应大鼠香青兰提取物剂量为 80 mg/d, 香青兰提取物低、中、高剂量分别为 65、170、340 mg/kg。模型组和各给药组大鼠异氟烷吸入麻醉, 在背部肋骨下缘沿脊椎旁切开皮肤, 暴露左侧肾脏, 钝性分离上下极包膜, 分别切除肾脏的上极与下极 (共 2/3 左肾), 止血海绵压迫止血, 缝合肌层和皮肤, 关闭腹腔; 1 周后在背部肋骨下缘沿脊椎旁切开皮肤, 暴露另一边右肾并钝性分离包膜, 结扎肾蒂后摘除右肾, 缝合肌层和皮肤, 关闭腹腔。对照组大鼠以相同方法麻醉、暴露肾脏和分离包膜, 但不切除肾脏。术后待动物清醒自由进食饮水。各给药组大鼠分别于造模成功后 ig 相应药物, 对照组和模型组 ig 等体积的生理盐水, 1 次/d, 连续给药 28 d。

2.2.3 样本收集 给药结束后, 禁食不禁水 12 h, 异氟烷吸入麻醉大鼠, 腹主动脉取血, 于 4 °C 静置 30 min, 低温离心, 取上层血清于离心管中, -80 °C 保存。取剩余肾脏分为 2 份, 1 份于 4%多聚甲醛固定, 另 1 份于液氮冻存后置 -80 °C 保存。

2.2.4 血清肌酐、尿素氮水平的检测 按照尿素氮测定试剂盒和肌酐测定试剂盒说明书测定各组大鼠血清肌酐和尿素氮水平。

2.2.5 肾组织病理变化 取已固定的各组大鼠肾组织, 经 80%、90%、95%、100%乙醇脱水及二甲苯透明处理后包埋在石蜡中, 5 μ m 切片, 于 40 °C 恒温烤箱中放置 30 min 烤干。经二甲苯脱蜡及 100%、95%、85%、75%乙醇复水, 苏木素染色 5 min, 流水冲洗 5 min, 70%乙醇中加入 1%盐酸分化

15 s, 流水冲洗 15 min, 使其恢复蓝色, 1%伊红染色 5 min, 蒸馏水水洗 2 min; 90%、95%、100%乙醇脱水及二甲苯透明处理后, 中性树胶封片, 于显微镜下观察肾组织病理变化。

2.2.6 Western blotting 检测肾组织 CAIV、 α -SMA、MMP9、FN 和 β -catenin 蛋白表达 取对照组、模型组和香青兰提取物高剂量组大鼠肾组织, 匀浆后加入 RIPA 裂解液进行充分裂解, 离心提取总蛋白。蛋白样品经 12%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 加入 5%脱脂牛奶于室温封闭 2 h, 分别加入一抗, 4 °C 孵育过夜; PBS 洗涤后, 加入二抗, 室温孵育 1 h 后 PBS 洗涤, 加入 ECL 发光试剂显影, 凝胶成像系统采集图像并用 Image J 软件进行灰度值分析。

2.2.7 统计学分析 采用 Graphpad Prism 9.5 软件对数据进行统计学分析, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组间数据均符合方差齐性检验及正态分布检验, 两组间均数比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 香青兰活性成分及靶点的筛选

以“香青兰有效部位”为关键词, 从相关文献中共获取 61 个活性成分, 结果见表 1。通过 Swiss TargetPrediction 数据库获取活性成分的相关靶点 6 868 个, 去除重复靶点后得到 789 个相关靶点。

3.2 CKD 的候选靶点筛选及 PPI 网络构建

在 GeneCard 数据库以“chronic kidney disease”为检索词进行检索, 获得 CKD 的相关靶点基因 9 120 个, 以相关性为筛选依据, 多次筛选其相关性中数以上 (≥ 9) 靶点为标准得到疾病靶点 2 194 个。将香青兰与 CKD 靶点导入微生信平台获得两者交集靶点共 349 个 (图 1), 然后将交集靶点导入 STRING 数据库, 并采用 Cytoscape v3.10.1 软件构建 PPI 网络, 如图 2 所示, PPI 网络由 349 节点和 8 885 条边组成, 表明香青兰防治 CKD 可能涉及多靶点。

3.3 关键靶点的 GO 功能及 KEGG 通路富集分析

将交集靶点利用 Matescape 数据库进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析, 取排名前 10 条 GO 分析结果绘制柱状图, 如图 3 所示, 其中细胞组成 (cell composition, CC) 主要包括膜筏、膜微区、膜侧、细胞质核周区、质膜的外侧、受体复杂、胞体、神经元胞体、轴突、树突等, 生物过程 (biological process, BP) 主要包括细胞对氮化合物的反应、对

表 1 香青兰中的活性成分

Table 1 Active ingredients in *D. moldavica*

序号 Pubchem CID	化合物	序号 Pubchem CID	化合物
1 5280445	木犀草素	32 48568814	香叶木素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷
2 5280443	芹菜素	33 11016019	香叶木素-7-O-β-D-葡萄糖苷
3 5280863	山柰酚	34 3084961	汗黄芩苷
4 5280343	槲皮素	35 5280459	木犀草素-6-脱氧吡喃糖苷
5 5280666	金圣草(黄)素	36 5281602	芹菜素-7-O-(6"-O-丙二酸单酰)-β-D-葡萄糖苷
6 5281612	香叶木素	37 5281643	金丝桃苷
7 3083783	8-羟基-三裂鼠尾草素	38 5280805	槲皮素-3-O-芸香糖苷
8 261859	槲子(黄)素A	39 689043	咖啡酸
9 161271	三裂鼠尾草素	40 68141	对香豆酸
10 11349	黄酮醇	41 5319484	芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷
11 5281654	异鼠李素	42 5281793	丹酚酸A
12 5280442	金合欢素	43 5281792	迷迭香酸
13 442662	thymonin	44 5317385	山柰酚-7-O-新橙皮糖苷
14 71314865	5,7,4'-三羟基-3'-甲氧基黄酮	45 5281602	金合欢素-7-O-(6"-O-丙二酸单酰)-β-D-葡萄糖苷
15 188323	蒽黄素	46 171120110	dracocephalumoid A
16 5282073	7,4'-二氢黄酮	47 171120111	dracocephalumoid B
17 52929806	金合欢素-7-(6"-乙酰葡萄糖苷)	48 171120112	dracocephalumoid C
18 5321954	田蓟苷	49 171120113	dracocephalumoid D
19 15344014	金合欢素-7-O-葡萄糖醛酸苷	50 171120114	dracocephalumoid E
20 44257871	金合欢素-6-葡萄糖醛酸苷	51 73207	黄姜味草醇
21 5317025	蒙花苷	52 72326	白桦脂醇
22 44257799	芹菜素-7-半乳糖苷	53 11092	丹皮酚
23 5280637	木犀草苷	54 8768	原儿茶醛
24 11016019	香叶木素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷	55 482030142	山柰酚-7-O-葡萄糖苷
25 5282102	紫云英苷	56 11606086	迷迭香酸-4-O-葡萄糖苷
26 5318083	高车前苷	57 471121	rabdosiin
27 114776	异红草素	58 95224420	紫草酸甲酯
28 5280601	木犀草素-7-葡萄糖醛酸苷	59 44437692	迷迭香酸乙酯
29 5281669	木犀草素-7-O-(6-O-丙二酰葡萄糖苷)	60 5281416	秦皮乙素
30 10371536	槲皮素-3-O-洋槐糖苷	61 44258581	takakin 8-O-β-D-glucoside
31 5280804	异槲皮苷		

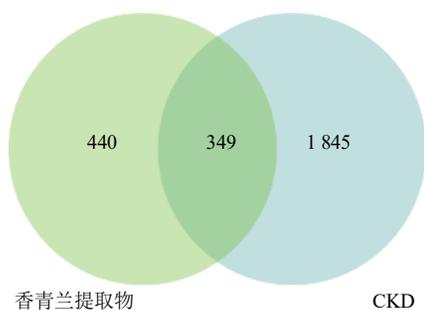


图 1 香青兰成分靶点与 CKD 靶点 Venn 图

Fig. 1 Venn diagram of active ingredient targets in *D. moldavica* and CKD targets

激素的反应、细胞对有机氮化合物的反应、对肽的反应、蛋白质磷酸化、对无机物质的反应、磷酸化、积极调节细胞迁移、细胞运动的正向调节、运动正向调节，分子功能（molecular function, MF）主要包括蛋白激酶活性、磷酸转移酶活性、醇基为受体及激酶活性、蛋白酪氨酸激酶活性、激酶绑定、蛋

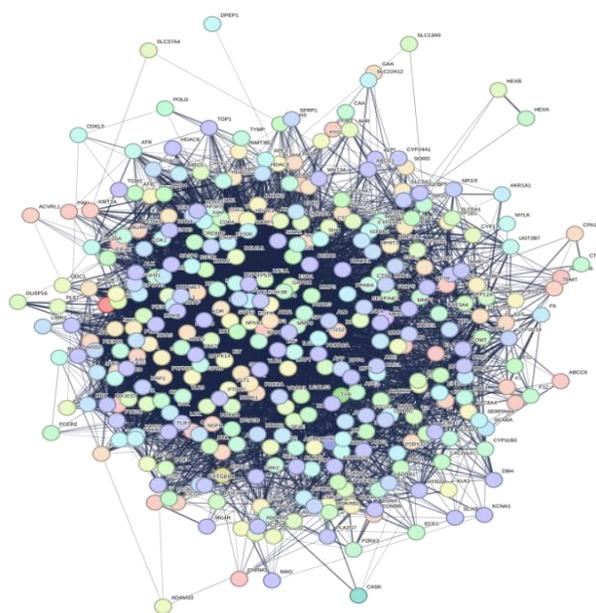


图 2 PPI 网络

Fig. 2 PPI network

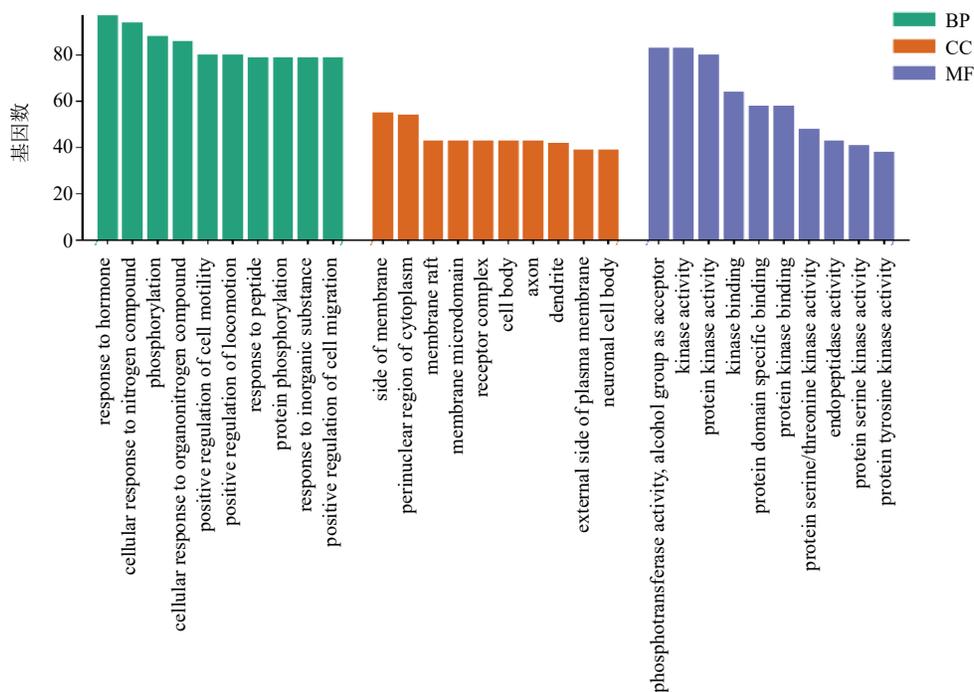


图3 GO功能富集分析(前10)

Fig. 3 GO function enrichment analysis (top 10)

白质结构域特异性结合、蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性、蛋白激酶结合、肽链内切酶活性、蛋白丝氨酸激酶活性。取排名前10条KEGG分析结果绘制富集气泡图,如图4所示,主要包括癌症途径、脂质和动脉粥样硬化、磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)-蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)信号通路、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)酪氨酸激酶抑制剂耐药性、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、乙型肝炎、癌症中的蛋白聚糖、化学致癌-受体活化、前列腺癌、高级糖基化终产物(advanced

glycation end products, AGE)-受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)信号通路在糖尿病并发症中的作用。

3.4 “活性成分-靶点-疾病”网络构建

将以CKD、香青兰活性成分及交集靶点等信息制作的网络文件和属性文件导入Cytoscape v3.10.1软件绘制“活性成分-靶点-疾病”网络见图5,并通过度值筛选得到核心成分20个(表2),核心靶点20个(表3)。

3.5 分子对接实验验证

采用AutoDock Vina 1.7.5软件将筛选出的前5个核心成分(7,4'-二氢黄酮、木犀草素、黄酮素、木犀草苷、木犀草素-7-葡萄糖醛酸苷)及核心靶点CAII(PDB ID: 6YZK)、CAIV(PDB ID: 3FW3)、EGFR(PDB ID: 8A27)、醛糖还原酶(aldose reductase, AKR1B1, PDB ID: 5OU0)、MMP9(PDB ID: 6ESM)进行对接验证,得到各小分子化合物与大分子蛋白的结合能,见表4。通常认为结合能 ≤ -5 kJ/mol易自发结合,由结果可知,7,4'-二氢黄酮、木犀草素、黄酮素、木犀草苷和木犀草素-7-葡萄糖醛酸苷与CAII、CAIV、EGFR、AKR1B1和MMP9靶点有较低的结合能。结合能 ≤ -9 kJ/mol时具有较强的亲和力,将部分对接结果进行可视化展示,见图6。

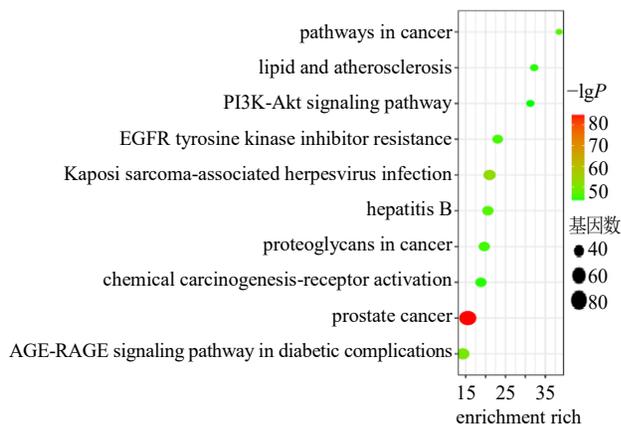
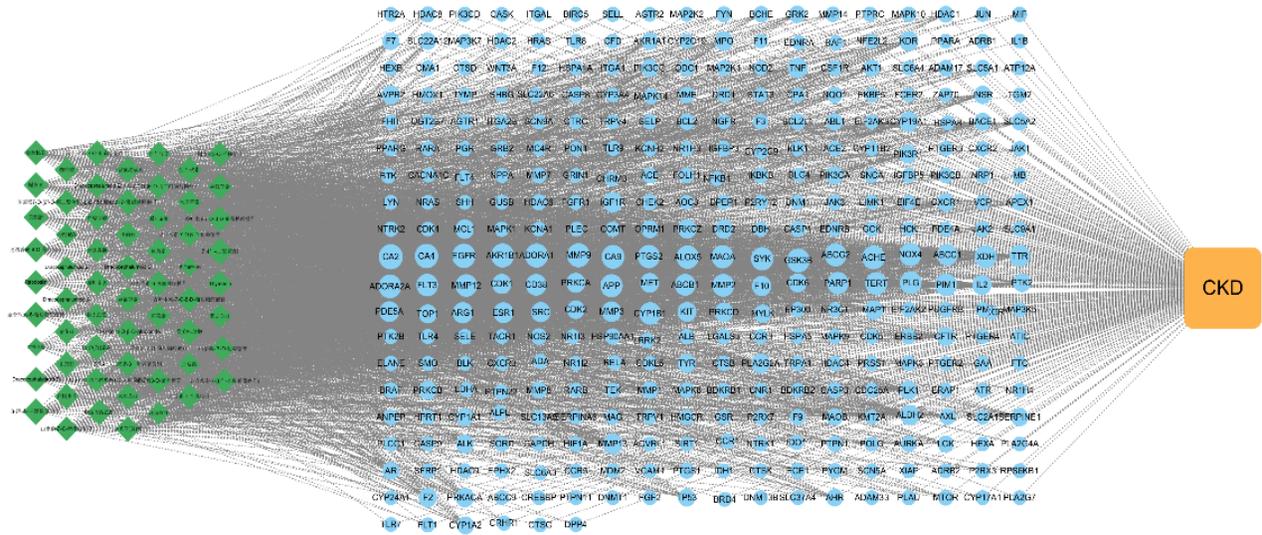


图4 KEGG通路富集分析(前10)

Fig. 4 KEGG pathway enrichment analysis (top 10)



菱形表示活性成分，圆形表示靶点，正方形表示疾病，形状大小代表节点度值大小。

Rhombus represents active ingredient, circular represents target, square represents disease, shape size represents size of node degree value.

图5 “活性成分-靶点-疾病”网络

Fig. 5 “Active ingredient-target-disease” network

表2 香青兰防治CKD的核心成分

Table 2 Core components of *D. moldavica* in preventing and treating CKD

序号	化合物	序号	化合物
1	7,4'-二氢黄酮	11	黄酮醇
2	木犀草素	12	异鼠李素
3	蒽黄素	13	thymonin
4	木犀草苷	14	槲皮素-3-O-洋槐糖苷
5	木犀草素-7-葡萄糖醛酸苷	15	香叶木素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷
6	槲子(黄)素A	16	迷迭香酸乙酯
7	8-羟基-三裂鼠尾草素	17	芹菜素
8	黄姜味草醇	18	槲皮素
9	金合欢素	19	三裂鼠尾草素
10	takakin 8-O-β-D-glucoside	20	5,7,4'-三羟基-3'-甲氧基黄酮

表3 香青兰防治CKD的核心靶点

Table 3 Core targets of *D. moldavica* in preventing and treating CKD

序号	靶点	序号	靶点
1	CAII	11	ADORA2A
2	CAIV	12	APP
3	EGFR	13	SYK
4	AKR1B1	14	PTGS2
5	MMP9	15	MAOA
6	CAIX	16	XDH
7	ADORA1	17	MMP2
8	GSK3B	18	ABCG2
9	ACHE	19	PIM1
10	ALOX5	20	NOX4

3.6 香青兰提取物对CKD大鼠血清中尿素氮和肌酐水平的影响

如图7所示，与对照组比较，模型组大鼠血清

中尿素氮和肌酐水平显著升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，复方α-酮酸组和香青兰提取物高、中剂量组大鼠血清中尿素氮和肌酐水平显著降低 ($P < 0.05, 0.01$)。

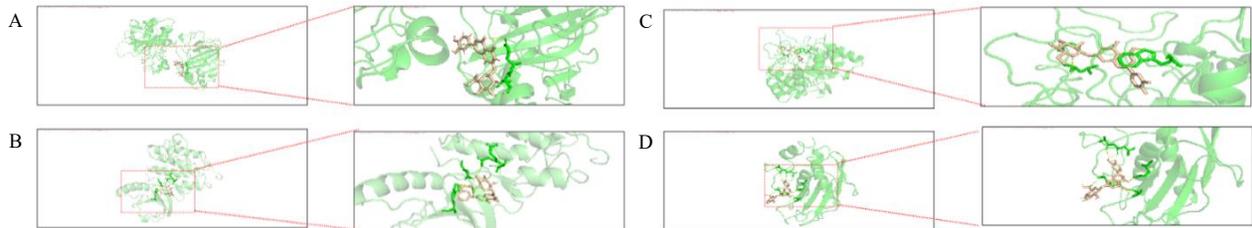
3.7 香青兰提取物对CKD大鼠肾组织病理变化的影响

如图8所示，对照组大鼠肾脏肾单位结构正常，模型组肾脏肾单位出现明显的病理变化，包括肾小球萎缩、肾小管上皮细胞局灶性坏死、空泡变性、炎细胞浸润和管腔形成；复方α-酮酸组和香青兰提取物低剂量组大鼠肾脏肾单位损伤轻度减轻，表现为中度炎症细胞浸润和局灶性坏死；香青兰提取物高、中剂量组大鼠肾单位损伤减轻明显，表现为肾小球萎缩、空泡变性和管腔形成减少，轻度炎症细

表 4 核心成分与核心靶点的分子对接结合能

Table 4 Molecular docking binding energy of core components with core targets

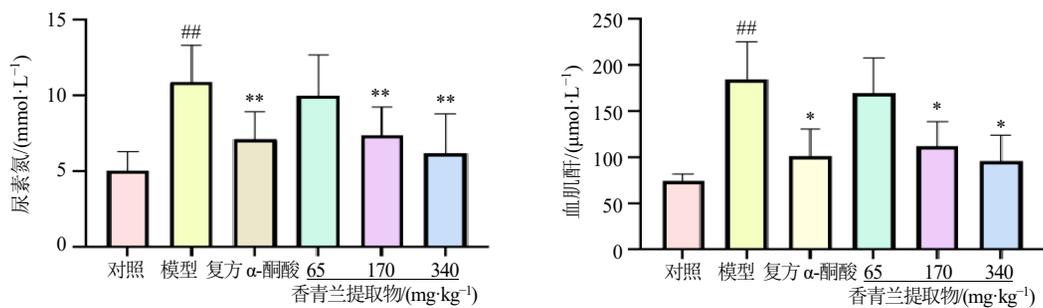
成分	结合能/(kJ·mol ⁻¹)				
	CAII	CAIV	EGFR	AKR1B1	MMP9
7,4'-二氢黄酮	-7.2	-5.0	-9.4	-9.4	-6.2
木犀草素	-7.8	-8.1	-9.4	-9.1	-5.6
木犀草苷	-8.5	-8.7	-7.8	-9.9	-6.2
蒽黄素	-7.5	-7.3	-8.2	-8.8	-9.6
木犀草素-7-葡萄糖醛酸苷	-9.0	-9.0	-10.9	-9.9	-10.7



A-CAIV-木犀草素-7-葡萄糖醛酸苷; B-EGFR-木犀草素-7-葡萄糖醛酸苷; C-AKR1B1-木犀草苷; D-MMP9-木犀草素-7-葡萄糖醛酸苷。
A-CAIV-luteolin-7-glucuronide; B-EGFR-luteolin-7-glucuronide; C-AKR1B1-luteolin-7-O-glucoside; D-MMP9-luteolin-7-glucuronide.

图 6 香青兰核心成分与核心靶点的分子对接示意图

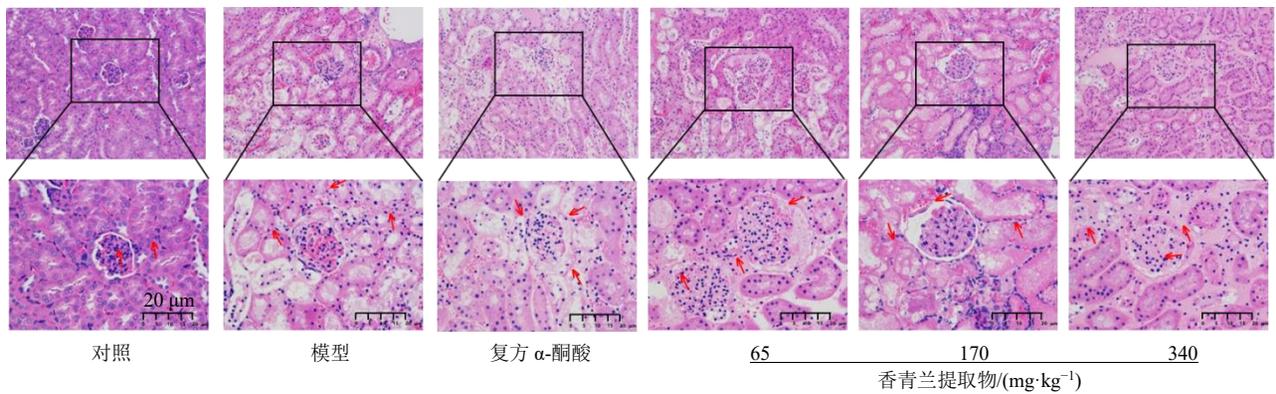
Fig. 6 Molecular docking of key components in *D. moldavica* and key targets



与对照组比较: #*P*<0.05 ##*P*<0.01; 与模型组比较: **P*<0.05 ***P*<0.01, 图 9 同。
#*P*<0.05 ##*P*<0.01 vs control group; **P*<0.05 ***P*<0.01 vs model group, same as Fig. 9.

图 7 香青兰提取物对 CKD 大鼠血清中尿素氮和肌酐水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 7 Effect of *D. moldavica* extract on levels of blood urea nitrogen and creatinine in serum of CKD rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)



红色箭头表示肾小球萎缩、坏死的肾组织、空泡变性、炎细胞浸润和管腔扩张。

Red arrow indicates glomerular atrophy, necrotic renal tissue, vacuolar degeneration, inflammatory cell infiltration, and lumen dilation.

图 8 香青兰提取物对 CKD 大鼠肾组织病理变化的影响 (HE, ×200)

Fig. 8 Effect of *D. moldavica* extract on pathological changes in renal tissue of CKD rats (HE, ×200)

胞浸润和局灶性坏死。以上结果表明香青兰提取物对CKD大鼠的肾组织具有良好的保护作用。

3.8 香青兰提取物对CKD大鼠肾组织FN、 β -catenin、MMP9、 α -SMA、CAIV蛋白表达的影响

如图9所示,与对照组比较,模型组大鼠肾组织FN、MMP9、 α -SMA、CAIV蛋白表达水平显著

升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), β -catenin 蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较,香青兰提取物高剂量组肾组织FN、MMP9、 α -SMA、CAIV蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), β -catenin 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$), 表明香青兰通过调控FN、MMP9、 α -SMA、CAIV蛋白表达防治CKD。

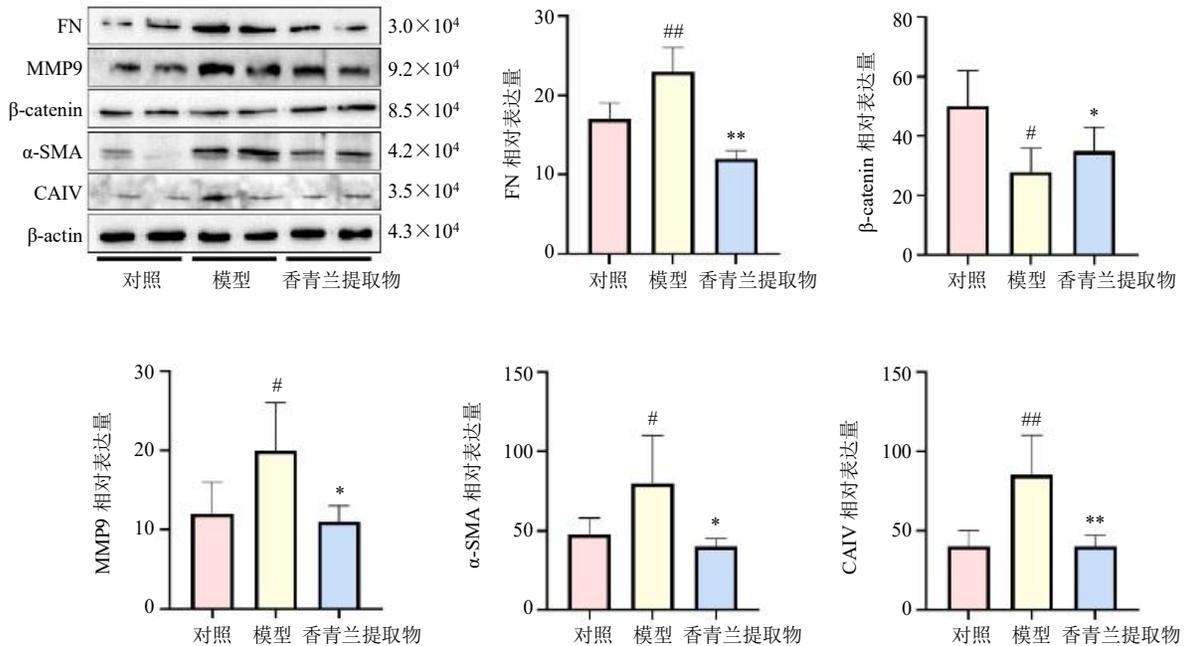


图9 香青兰提取物对CKD大鼠肾组织FN、 β -catenin、MMP9、 α -SMA、CAIV蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 9 Effect of *D. moldavica* extract on expressions of FN, β -catenin, MMP9, α -SMA and CAIV in renal tissue of CKD rats ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

CKD是一种发病率高、起病隐匿、重视率低的常见肾病,在临床上常与肾炎、高血压和糖尿病等疾病并发^[19]。氧化应激和炎症是CKD的主要特征,两者不仅促进CKD的进展使其出现肾纤维化等病理特征,还可能导致CKD的发生^[20]。氧化应激在CKD的发生和进展中起关键作用,能诱导肾细胞损伤、炎症和纤维化^[21-22]。当细胞受到氧化应激等刺激时,内质网稳态失衡促使内质网发生应激反应。CKD机制复杂,病理过程多样,而单一成分往往只能调节其中一个通路,中医药通过多成分、多靶点调节多个通路从而治疗CKD。香青兰具有抗氧化、抗炎的作用,已有大量文献报道香青兰可以治疗心血管相关疾病,但目前尚无香青兰治疗CKD的报道。因此,本研究通过网络药理、分子对接和实验验证探究香青兰改善CKD的药效和作用机制。

本研究利用网络药理学方法将成分靶点与疾

病靶点取交集后构建PPI网络,进一步说明作用靶点与成分之间的关系,PPI网络共有349个节点,8885条边,说明香青兰通过调节多种靶点防治CKD。“活性成分-靶点-疾病”网络显示,7,4'-二氢黄酮、木犀草素、黄酮素、木犀草苷、木犀草素-7-葡萄糖醛酸苷等活性成分与CAII、CAIV、EGFR、AKR1B1、MMP9等靶点的关联度较高,可能是香青兰防治CKD的核心成分和核心靶点,提示香青兰可通过7,4'-二氢黄酮、木犀草素、黄酮素、木犀草苷、木犀草素-7-葡萄糖醛酸苷等成分作用于CAII、CAIV、EGFR、AKR1B1和MMP9等靶点保护CKD。CAIV和MMP9等靶点已被证实与肾病密切相关。碳酸酐酶(carbonic anhydrase, CA)是一种由糖基磷脂酰肌醇键固定在质膜上的膜蛋白,可作为研究膜蛋白功能的理想模型^[23]。CA在体内常作pH调节剂,是红细胞中主要的蛋白质成分之一,几乎是人体所有生理过程的核心,常在肾、肝中表

达^[24]。在肾脏中,位于细胞质的 CAII、细胞膜上的 CAIV 及 CA 酸碱转运体的协同作用在尿酸分泌中发挥重要作用^[25]。尿酸通过氧化应激导致血管内皮细胞功能损伤。EGFR 激活其内在激酶结构域的活化和细胞质尾部特定酪氨酸残基的磷酸化,直接或间接导致肾初始周细胞/成纤维细胞迁移和增殖^[26]。AKR1B1 是醛酮还原家族的一个亚族成员,在葡萄糖代谢中发挥巨大作用,AKR1B1 的过度表达与炎症介质和糖代谢相关的肾病密切相关。MMP9 属于基质金属蛋白酶家族成员,具有降解多种细胞外基质的作用。细胞外基质在组织纤维化过程中起着关键作用,其过度沉积是纤维化形成的重要病理特征。当纤维化发生时,MMP9 的表达会出现异常改变,从而促进纤维化的进展。而 β -catenin 同时参与修复炎症细胞、纤维细胞并调节氧化应激^[27-28]。据报道,CAIV 可以通过多种机制抑制 β -catenin 的表达^[29]。CAIV 能够增强 β -catenin 蛋白负调节因子的结合活性,抑制 β -catenin 相关信号通路的激活;CAIV 通过多泛素化途径促进 β -catenin 蛋白负调节因子关联蛋白的降解,降低 β -catenin 的传导能力,并抑制 β -catenin 的活性,阻止 β -catenin 从细胞质向细胞核转移及其下游靶基因的转录激活;CAIV 可通过诱导 β -catenin 上游蛋白的转导,抑制 β -catenin 表达^[30-32]。异常的 β -catenin 在 CKD 的发生和发展中起着关键作用,近端小管 β -catenin 可能通过促进肾中上皮细胞的存活减缓 CKD 进展为肾纤维化^[33-34]。肾纤维化引发肾小管上皮细胞-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT),巨噬细胞分泌的 MMP9 和肌成纤维细胞能引起胶原和 FN 过度沉积及肌纤维化。而 α -SMA 是肌成纤维细胞的标志,抑制 MMP9、FN 和 α -SMA 可以降低肾脏纤维化的进展^[35-37]。GO 功能和 KEGG 通路富集分析表明,大多数靶点富集在脂质和动脉粥样硬化、PI3K-Akt 信号通路等通路。miR-887-3p 可能通过 PI3K-Akt 加速肾功能障碍,导致转录因子 FoxO3 下调其促凋亡基因,诱导早期糖尿病肾病的氧化应激^[38]。过量活性氧引起肾的一氧化氮生物利用度降低、细胞内功能紊乱以及氧化应激,促进动脉粥样硬化进程。动脉粥样硬化加剧脂质沉积,巨噬细胞和平滑肌细胞吞噬,又使细胞内功能紊乱^[39]。为进一步验证网络药理学预测结果,本研究采用动物实验探讨香青兰对 CKD 的保护作用,并结合上述核心靶点最终选取 CAIV、 β -catenin、MMP9 及肾纤维

化标志性蛋白进行体内验证。

采用 5/6 肾切除建立 CKD 模型,可排除外因对残余肾脏的影响,模拟了临床人体慢性肾病的缓慢进展过程,表现出高灌注、高压、高渗透及操作简单、实验费用低、重复性好的特点,是一种目前较成熟的 CKD 造模方法,因此本研究选用 5/6 肾切除建立 CKD 模型。与对照组比较,模型组大鼠血清中尿素氮和肌酐水平明显升高,肾组织损伤明显,表明造模成功;与模型组比较,各给药组大鼠血清中尿素氮和肌酐水平明显下降,肾组织肾小球损伤、肾小管明显改善,且呈剂量相关性。表明香青兰可以有效改善 CKD。Western blotting 结果显示,模型组大鼠肝组织 CAIV、 α -SMA、MMP9、FN 蛋白表达水平显著升高, β -catenin 蛋白表达水平显著降低;香青兰可显著降低 CKD 大鼠残肾肾小球中胶原纤维的沉积和间充质细胞标志物,下调 CAIV、 α -SMA、MMP9、FN 的表达,并上调 β -catenin 表达。表明香青兰可能通过 CAIV/ β -catenin 通路改善 CKD 大鼠肾小球损伤。

本研究基于网络药理学系统地分析了香青兰防治 CKD 的主要活性成分及潜在作用机制,结合动物实验证实香青兰通过 CAIV/ β -catenin 通路改善 CKD 大鼠肾功能和肾组织损伤。本研究为香青兰资源的开发利用和临床中的应用提供了理论依据,也为病理机制复杂的 CKD 治疗方案提供了理论指导。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 朱晓婷,陈志强,张亚楠,等. 益气化湿通络方通过调节 NF- κ B 信号通路改善慢性肾功能衰竭大鼠炎症纤维化的实验研究 [J]. 中草药, 2020, 51(8): 2193-2199.
- [2] 张小军. 现代泌尿科疾病的诊疗与处置 [M]. 赤峰: 内蒙古科学技术出版社, 2020: 17-30.
- [3] 迪丽努尔·买买提依明. CMS 大鼠及后代模型的建立和 N-乙酰半胱氨酸及维药香青兰药物干预的研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2014.
- [4] 赵敏,彭海平,刘宝厚. 刘宝厚教授从血瘀论治慢性肾衰竭经验 [J]. 中国老年保健医学, 2017, 15(3): 65-66.
- [5] 中国医学百科全书编辑委员会. 维吾尔医学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005: 57.
- [6] Nensén O, Hansell P, Palm F. Role of carbonic anhydrase in acute recovery following renal ischemia reperfusion injury [J]. *PLoS One*, 2019, 14(8): e0220185.
- [7] 李德,刘俊炜,宋钱林,等. 芹菜素-7-葡萄糖苷通过 IRE1/ASK1/P38 MAPK 途径对草酸诱导的 HK-2 细胞

- 损伤发挥修复作用 [J]. 临床泌尿外科杂志, 2022, 37(6): 440-446.
- [8] 许孟霞, 黄忠明, 唐洪英, 等. 香叶木素缓解 MRL/lpr 狼疮性肾炎小鼠肾脏炎症反应的作用及可能机制 [J]. 陆军军医大学学报, 2022, 44(12): 1237-1242.
- [9] Zhang R B, Lu M, Zhang S, *et al.* Renoprotective effects of Tiliainin in diabetic rats through modulation of oxidative stress via Nrf2-Keap1 pathway and inflammation via TLR4/MAPK/NF- κ B pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 88: 106967.
- [10] Liu Z Y, Guan C, Li C Y, *et al.* Tiliainin reduces apoptosis via the ERK/EGR1/BCL2L1 pathway in ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury mice [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 862584.
- [11] Zhu J X, Yang H Y, Hu W Q, *et al.* Active components from *Lagotis brachystachya* maintain uric acid homeostasis by inhibiting renal TLR4-NLRP3 signaling in hyperuricemic mice [J]. *Inflammopharmacology*, 2021, 29(4): 1187-1200.
- [12] Vargas F, Romecín P, García-Guillén A I, *et al.* Flavonoids in kidney health and disease [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 394.
- [13] Alvani A, Jalili C, Shiravi A, *et al.* Acacetin inhibits oxidative stress and inflammation in renal ischemia-reperfusion injury [J]. *Jentashapir J Cell Mol Biol*, 2023, 14(1): 7.
- [14] Wu W Y, Li Y D, Cui Y K, *et al.* The natural flavone acacetin confers cardiomyocyte protection against hypoxia/reoxygenation injury via AMPK-mediated activation of Nrf2 signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 497.
- [15] Jiang G P, Liao Y J, Huang L L, *et al.* Effects and molecular mechanism of pachymic acid on ferroptosis in renal ischemia reperfusion injury [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(1): 63.
- [16] 王海宁, 靳敏, 于慧, 等. 香青兰化学成分、药理活性及其影响因素研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(10): 157-164.
- [17] 谭梅娥, 何承辉, 帕依曼·亥米提, 等. 高效液相色谱法同时测定维药香青兰有效部位中10个化学成分的含量 [J]. 医药导报, 2024, 43(4): 567-571.
- [18] Zheng R F, Kader K, Liu D W, *et al.* A network pharmacology approach to decipher the mechanism of total flavonoids from *Dracocephalum moldavica* L. in the treatment of cardiovascular diseases [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2024, 24(1): 15.
- [19] Webster A C, Nagler E V, Morton R L, *et al.* Chronic kidney disease [J]. *Lancet*, 2017, 389(10075): 1238-1252.
- [20] Kishi S, Nagasu H, Kidokoro K, *et al.* Oxidative stress and the role of redox signalling in chronic kidney disease [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2024, 20(2): 101-119.
- [21] Zheng C M, Hou Y C, Liao M T, *et al.* Potential role of molecular hydrogen therapy on oxidative stress and redox signaling in chronic kidney disease [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 176: 116802.
- [22] 金童, 陈铖. 内质网应激及其在糖尿病肾病中的作用机制 [J]. 生物技术进展, 2021, 11(1): 40-46.
- [23] Zhang J I. Recurrence related marker carbonic anhydrase IV (CAIV) exerts its tumor suppressive effect on colorectal cancer development by inhibiting Wnt/ β -catenin signaling pathway [D]. Hong Kong: The Chinese University of Hong Kong, 2016.
- [24] 于洋, 刘琦, 吕静, 等. 碳酸酐酶固定及在二氧化碳捕集应用研究进展 [J]. 洁净煤技术, 2021, 27(2): 69-78.
- [25] Lee S K, Boron W F, Occhipinti R. Potential novel role of membrane-associated carbonic anhydrases in the kidney [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(4): 4251.
- [26] Cao S R, Pan Y, Terker A S, *et al.* Epidermal growth factor receptor activation is essential for kidney fibrosis development [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 7357.
- [27] Purkerson J M, Schwartz G J. The role of carbonic anhydrases in renal physiology [J]. *Kidney Int*, 2007, 71(2): 103-115.
- [28] Kim M K, McGarry T J, Broin P O, *et al.* An integrated genome screen identifies the Wnt signaling pathway as a major target of WT1 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(27): 11154-11159.
- [29] Zhang J W, Tsoi H, Li X X, *et al.* Carbonic anhydrase IV inhibits colon cancer development by inhibiting the Wnt signalling pathway through targeting the WTAP-WT1-TBL1 axis [J]. *Gut*, 2016, 65(9): 1482-1493.
- [30] Wang L J, Xue Y M, Li H, *et al.* Wilms' tumour 1-associated protein inhibits endothelial cell angiogenesis by m6A-dependent epigenetic silencing of desmoplakin in brain arteriovenous malformation [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(9): 4981-4991.
- [31] Cohen C, Mhaidly R, Croizer H, *et al.* WNT-dependent interaction between inflammatory fibroblasts and FOLR2⁺ macrophages promotes fibrosis in chronic kidney disease [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 743.

- [32] Tian Y, Chen J C, Huang W S, *et al.* Myeloid-derived Wnts play an indispensable role in macrophage and fibroblast activation and kidney fibrosis [J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(6): 2310-2322.
- [33] Nlandu-Khodo S, Osaki Y, Scarfe L, *et al.* Tubular β -catenin and FoxO3 interactions protect in chronic kidney disease [J]. *JCI Insight*, 2020, 5(10): e135454.
- [34] Gu M R, Jiang H L, Tan M Z, *et al.* Palmitoyltransferase DHHC9 and acyl protein thioesterase APT1 modulate renal fibrosis through regulating β -catenin palmitoylation [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 6682.
- [35] 曾聪聪, 俞文秀, 王成功, 等. 新肾病1号方调控 miR-199b-5p 抑制肾小管上皮间充质转化改善肾纤维化的作用研究 [J]. *中草药*, 2024, 55(5): 1600-1608.
- [36] 吴锋, 韦丽. 桑叶生物碱抑制糖尿病肾病大鼠肾间质纤维化的研究 [J]. *临床肾脏病杂志*, 2022, 22(8): 666-673.
- [37] 任滌非, 王於尘, 苗芸. 巨噬细胞在移植肾纤维化中的作用研究进展 [J]. *器官移植*, 2023, 14(5): 723-729.
- [38] Tepus M, Tonoli E, Verderio E A M. Molecular profiling of urinary extracellular vesicles in chronic kidney disease and renal fibrosis [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 13: 1041327.
- [39] Yan R Y, Zhang X, Xu W L, *et al.* ROS-induced endothelial dysfunction in the pathogenesis of atherosclerosis [J]. *Aging Dis*, 2024, 16(1): 250-268.

[责任编辑 李亚楠]