

淫羊藿苷通过调控 HMGB1/TLRs/NF- κ B 信号通路和炎症反应缓解糖尿病肾病

徐长青¹, 刘宗梅², 张倩³, 付小燕^{4*}

1. 咸阳职业技术学院, 陕西 咸阳 712000
2. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712000
3. 陕西中医药大学附属医院 新生儿科, 陕西 咸阳 712000
4. 陕西中医药大学第二附属医院 高压氧室, 陕西 咸阳 712000

摘要: **目的** 探讨淫羊藿苷对糖尿病肾病 (diabetic kidney disease, DKD) 的治疗作用, 并从肾脏炎症反应及相关炎症信号通路的角度阐明其分子机制。**方法** 采用 C57BL/KsJ db/db 小鼠构建 DKD 模型, 以同背景 db/m 小鼠作为对照组。db/db 小鼠随机分为模型组、达格列净 (1.6 mg/kg) 组及淫羊藿苷高、中、低剂量 (120、60、30 mg/kg) 组, 每组 10 只。给予药物连续干预 4 周, 检测小鼠体质量、血糖、尿蛋白、血脂、心肌酶等生化指标; 通过苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色、透射电镜观察肾脏病理变化; 采用免疫荧光检测肾小球系膜细胞外基质蛋白纤连蛋白 (fibronectin, FN) 和 IV 型胶原 (collagen type IV, Col-IV) 表达; 通过 ELISA 和 Western blotting 检测炎症因子白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 及高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1, HMGB1) /Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) /核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路相关蛋白表达。体外实验以高糖诱导 SV40 MES-13 细胞, 观察淫羊藿苷对细胞外基质蛋白表达的影响。**结果** 体内实验结果显示, 高剂量的淫羊藿苷可显著降低 DKD 小鼠的体质量、尿蛋白、血脂及心肌酶水平 ($P < 0.01$ 、 0.001), 减轻肾小球系膜扩张、基底膜增厚及足突融合等病理改变 ($P < 0.001$), 降低血浆及肾组织中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平 ($P < 0.01$ 、 0.001), 减少肾脏巨噬细胞浸润, 并显著抑制肾组织中 HMGB1、TLR2、TLR4 及 p-p65 的蛋白表达 ($P < 0.001$)。体外实验结果显示, 淫羊藿苷可抑制高糖诱导的肾小球系膜细胞中 FN 和 Col-IV 的表达。**结论** 淫羊藿苷能有效抑制 HMGB1/TLRs/NF- κ B 信号通路, 进而减轻肾脏炎症反应与细胞外基质异常积聚, 最终改善 DKD 的病理损伤。

关键词: 糖尿病肾病; 淫羊藿苷; 炎症反应; HMGB1/TLRs/NF- κ B 信号通路; 细胞外基质

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)13-5130-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.13.016

Icariin alleviates diabetic kidney disease by regulating HMGB1/TLRs/NF- κ B signaling pathway and inflammatory response

XU Changqing¹, LIU Zongmei², ZHANG Qian³, FU Xiaoyan⁴

1. Xianyang Vocational Technical College, Xianyang 712000, China
2. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China
3. Department of Neonatology, Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China
4. Hyperbaric Oxygen Therapy Department, Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of icariin on diabetic kidney disease (DKD) and elucidate its molecular mechanism from the perspective of renal inflammatory response and related inflammatory signaling pathways. **Methods** A DKD model was established using C57BL/KsJ db/db mice, with age-matched db/m mice on the same genetic background serving as control group. The db/db mice were randomly divided into model group, dapagliflozin (1.6 mg/kg) group, icariin high-, medium-, low-dose

收稿日期: 2026-02-28

基金项目: 咸阳市重点研发计划项目 (L2003-ZDYF-SF-027); 咸阳职业技术学院科研基金项目 (2023KJB01)

作者简介: 徐长青 (1973—), 博士, 副教授, 副主任医师, 研究方向为内分泌代谢疾病中医药防治。E-mail: 2272549398@qq.com

*通信作者: 付小燕, 副主任医师, 研究方向为消化疾病中医药治疗。E-mail: 3085949230@qq.com

(120, 60, 30 mg/kg) groups, with 10 mice in each group. Drugs were given for continuously intervention over four weeks, biochemical parameters including body weight, blood glucose, urinary protein, blood lipids and serum creatinine were measured. Renal pathological changes were observed using hematoxylin-eosin staining and transmission electron microscopy. The expressions of extracellular matrix proteins [fibronectin (FN) and collagen type IV (Col-IV)] in the glomerular mesangium was assessed by immunofluorescence. Levels of inflammatory cytokines [interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α)] and proteins related to high mobility group box 1 (HMGB1)/Toll-like receptors (TLRs)/nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling pathway were detected by ELISA assay and Western blotting. *In vitro* experiments were performed to investigate the effect of icariin on extracellular matrix protein expressions in high glucose-induced SV40 MES-13 cells. **Results** *In vivo* experiments results showed that high-dose icariin significantly reduced the body weight, urinary protein, blood lipid and serum creatinine levels in DKD mice ($P < 0.01, 0.001$), alleviated pathological changes such as mesangial expansion, basement membrane thickening and podocyte fusion ($P < 0.001$), reduced the levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in plasma and renal tissue ($P < 0.01, 0.001$), decreased the infiltration of macrophages in the kidney, and significantly inhibited the protein expressions of HMGB1, TLR2, TLR4 and p-p65 in renal tissue ($P < 0.001$). *In vitro* experiments results showed that icariin inhibited the expressions of FN and Col-IV in high glucose-induced glomerular mesangial cells. **Conclusion** Icariin could effectively inhibit HMGB1/TLRs/NF- κ B signaling pathway, thereby attenuating renal inflammatory response and abnormal extracellular matrix accumulation, ultimately improving pathological injury in DKD.

Key words: diabetic kidney disease; icariin; inflammatory response; HMGB1/TLRs/NF- κ B signaling pathway; extracellular matrix

糖尿病肾病 (diabetic kidney disease, DKD) 是全球范围内慢性肾脏疾病和终末期肾脏疾病的主要病因之一, 影响着 20%~40% 的糖尿病患者^[1-4]。随着糖尿病患病率的不断攀升, DKD 所带来的负担日益加重, 对我国公共卫生构成了严峻挑战, 并严重影响患者的生活质量和生存期。DKD 是指糖尿病患者肾活检中存在由糖尿病引起的肾脏损伤的组织病理学特征, 包括肾小球基底膜增厚、系膜扩张、结节性肾小球硬化、动脉硬化和间质纤维化^[5-6]。DKD 的发展是一个多因素、多阶段的过程, 涉及高血糖、肾小球内压升高、肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS) 的激活、促纤维化因子、遗传因素、炎症反应以及免疫激活等多个环节。肾脏炎症反应在 DKD 的发生与进展中扮演着关键角色。糖尿病患者体内高血糖可诱发多种炎症因子的释放、巨噬细胞活化及免疫细胞向肾脏的浸润。炎症因子相互作用触发炎症级联反应, 促进血管炎症和纤维化进程, 进而引起肾小球基底膜增厚、肾小管间质纤维化及蛋白尿, 加速肾小球硬化, 最终导致终末期肾病的发生^[7]。因此, 靶向炎症的干预措施可能对 DKD 肾脏发挥潜在的保护作用。尽管目前采用了一系列标准治疗方案, 包括针对血糖、血压和蛋白尿的治疗, 如 RAAS 阻断剂、钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 抑制剂、胰高血糖素样肽-1 受体激动剂和非甾体类盐皮质激素受体拮抗剂, 但 DKD 的残余风险仍然较高^[8-10]。现有的临床管理方案在降低 DKD 的发病率和改善预后

方面仍面临挑战, 因此探索新的治疗方案显得尤为重要。面对日益增长的 DKD 患者群体, 需要不断探索更有效的治疗策略, 以减轻这一疾病对公共卫生系统的影响, 并改善患者的预后。

淫羊藿苷是从传统中药淫羊藿 *Epimedium Folium* 中提取的一种天然黄酮类化合物, 也是淫羊藿总黄酮的主要有效成分^[11]。作为一种低毒性且具备广泛药理活性的黄酮类化合物, 淫羊藿苷具有改善心血管功能、促进造血与免疫功能、调节骨代谢、抗肿瘤、抗骨质疏松、抗抑郁及改善阿尔茨海默病认知功能等多种生物活性^[12-15]。在骨关节炎治疗中, 淫羊藿苷表现出抗炎、免疫调节、促进软骨形成及镇痛作用^[16-17]。此外, 淫羊藿苷还能通过抑制内质网应激改善 1 型糖尿病大鼠的内皮功能障碍^[18], 并在 DKD 中发挥抗纤维化、抗氧化以及调节糖脂代谢和免疫功能的作用^[19-20]。目前, 关于淫羊藿苷治疗 DKD 的临床应用报道较少, 其在 DKD 中的具体保护作用、对炎症反应的影响及相关分子机制尚未完全阐明。尤其是淫羊藿苷是否通过调控肾脏局部炎症微环境、干预关键炎症信号通路来缓解 DKD, 尚缺乏系统性的研究, 相关分子机制有待深入阐明。本研究拟通过建立 DKD 小鼠模型并结合体外细胞实验, 探讨淫羊藿苷对 DKD 的防治作用; 围绕 DKD 肾脏炎症反应及相关信号通路, 分析淫羊藿苷干预对模型动物肾脏炎症因子表达及炎症通路的影响, 并深入阐明其作用机制, 以期对 DKD 的防治提供理论依据, 并对 DKD 的早期干预和靶向药物研发具有重要意义。

1 材料

1.1 细胞与动物

小鼠肾小球系膜 SV40 MES-13 细胞(货号 CL-0470)购自武汉普诺赛生物科技有限公司。

6 周龄 SPF 级雄性 C57BL/KsJ db/db 小鼠(体质量 35.2~36.1 g)及其对照 db/m 小鼠(体质量 24.6~25.4 g)均购自常州卡文斯实验动物有限公司, 许可证号 SYXK(苏)2023-0011, 合格证号 A202409090059。所有小鼠在陕西康瑞安集团医药有限公司 SPF 级动物实验中心内分笼饲养, 12 h 明暗交替, 温度(22±1)℃, 相对湿度(55±5)%。使用 SPF 级饲料, 自由饮水摄食, 笼具、垫料、饮水等均经消毒处理。动物实验经甘肃中医药大学伦理委员会批准(批准号 SVCMDL20211101001)。

1.2 药品与试剂

淫羊藿苷(质量分数>98%, 批号 18102102)购自扬子江药业集团有限公司; 达格列净片(国药准字 J20170040, 批号 NH3205)购自阿斯利康制药有限公司; DMEM 培养基(批号 KGL1213-500)、胰酶(批号 KGL2101-100)购自江苏凯基生物技术股份有限公司; 蛋白浓度测定试剂盒(批号 P0009)、蛋白上样缓冲液(批号 P0015)、聚丙烯酰胺凝胶电泳下层胶预混液(批号 P0670)、蛋白 Marker(批号 P0060S)、30% Acr-Bis(批号 ST003)、甘氨酸(批号 ST085)、硝酸纤维素膜(批号 FFN08)、聚偏二氟乙烯膜(批号 FFP80)、极超敏化学发光试剂盒(批号 P0018FM)、一抗/二抗去除液(批号 P0025)、HRP 标记的山羊抗兔抗体(批号 A0208)购自碧云天生物技术有限公司; 高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box 1, HMGB1)抗体(批号 3935)、Toll 样受体 2(Toll-like receptor 2, TLR2)抗体(批号 3744)、TLR4 抗体(批号 38519)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)抗体(批号 2242)、IL-6 抗体(批号 2912)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)抗体(批号 3707)、CD68 抗体(批号 97778)、F4/80 抗体(批号 70076)、p-p65 抗体(批号 3033)、p65 抗体(批号 8242)购自美国 CST 公司; 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(批号 HY-P2804)、纤连蛋白(fibronectin, FN)抗体(批号 HY-P86415)、IV型胶原(collagen type IV, Col-IV)抗体(批号 HY-P81201)购自美国 MedChemExpress 公司; 尿蛋白含量检测试剂盒(批号 D799855)、肌

酞检测试剂盒(批号 C011-2-1)购自南京建成生物工程研究所; 小鼠 IL-1 β ELISA 试剂盒(批号 D721017)、小鼠 IL-6 ELISA 试剂盒(批号 D721022)、小鼠 TNF- α ELISA 试剂盒(批号 D721150)购自上海生工生物工程有限公司。

1.3 仪器

Eppendorf 5702R 型低速低温离心机(德国 Eppendorf 公司); EA-18 型血糖测试仪(三诺生物传感股份有限公司); SpectraMax 型酶标仪(上海美谷分子仪器有限公司); LSM 980 型激光共聚焦显微镜、GeminiSEM 360 型电子显微镜(德国蔡司公司); BMJ-III型包埋机、BMJ-A 型病理组织包埋冷冻台(常州市中威电子仪器有限公司); Genie G 型超纯水制取器(法国 Gilson 公司); GloMax[®] Explorer 微孔板型多功能发光检测仪(美国 Promega glomax 公司); Mini-PROTEAN 型蛋白电泳仪、Mini-PROTEAN 型电转印槽、ChemiDoc Go 型化学发光成像系统(美国 Bio-Rad 公司); Heracell VIOS 160i 型恒温培养箱、Herasafe 2030i 型超净工作台、TDE 型超低温冰箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

选取 6 周龄雄性 SPF 级 db/db 小鼠(DKD 模型)50 只及同背景 db/m 小鼠 10 只, 适应性饲养 5 周后开始实验。50 只 db/db 小鼠小鼠随机分为模型组、达格列净(1.6 mg/kg)组及淫羊藿苷高、中、低剂量(120、60、30 mg/kg)^[20-21]组, 每组 10 只, 将 10 只 db/m 小鼠作为对照组。各给药组 ig 相应药物(5 mL/kg), 对照组和模型组 ig 等体积的蒸馏水, 1 次/d, 连续给药 4 周。给药期间, 每周检测小鼠体质量与血糖, 末次给药结束后(即第 4 周末), 对所有小鼠实施安乐死, 迅速取材。

2.2 样品采集及生化分析

每周监测小鼠体质量与血糖, 小鼠禁食不禁水后经眼内眦采血, 使用血糖仪测定血糖。收集小鼠 12 h 尿液, 采用 ELISA 法按照试剂盒说明书检测尿白蛋白水平。实验结束后, 麻醉状态下采集眼球血, 分离血清和血浆。采用全自动生化分析仪检测血清三酰甘油、总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇及胰岛素水平, 按照试剂盒说明书检测血清肌酐水平。采用 ELISA 法按照试剂盒说明书检测血浆中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平。

2.3 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色观察肾脏组织病理变化

肾组织经 4%多聚甲醛固定 24 h 后, 经梯度乙醇脱水、石蜡包埋后切片 (厚度为 3 μm), 进行常规 HE 染色。采用显微镜观察肾脏组织形态结构。随机选择 10 个不重叠视野, 分别对肾小球系膜扩张程度及肾小管间质损伤情况进行半定量分析。

2.4 透射电子显微镜观察肾脏组织超微结构

取肾皮质组织, 切为 3 个 1 mm^3 的组织块, 置于 2.5%戊二醛固定液中, 室温避光固定 2 h, 随后转移至 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。固定后的组织块经 1%锇酸固定, 梯度乙醇脱水后包埋于环氧树脂中。使用超薄切片机将树脂块切成超薄切片, 置于铜网上, 先后以醋酸铀和柠檬酸铅染色, 采用透射电子显微镜对肾系膜区进行观察并采集图像。

2.5 免疫组化检测肾脏组织 F4/80 和 CD68 表达

肾组织经 4%中性甲醛固定、石蜡包埋后制成切片。切片经脱蜡、水化及抗原修复后, 用 3% H_2O_2 阻断内源性过氧化物酶活性, 再用含 2%牛血清白蛋白的封闭液封闭, 滴加 F4/80 (1:200)、CD68 (1:300) 一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。PBS 洗涤后, 滴加 HRP 标记的二抗, 室温孵育 1 h, DAB 显色, 苏木素复染, 脱水、透明并用中性树胶封片, 于显微镜下观察并拍照。

2.6 Western blotting 检测肾脏组织 HMGB1/TLRs/核因子- κB (nuclear factor- κB , NF- κB) 信号通路相关蛋白表达

取肾组织, 用含蛋白酶抑制剂的裂解缓冲液提取总蛋白。等量蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 经 5%脱脂牛奶室温封闭 2 h 后, 分别加入 HMGB1 (1:800)、TLR2 (1:1000)、TLR4 (1:1000)、p-p65 (1:1500)、p65 (1:800)、IL-1 β (1:1000)、IL-6 (1:1000)、TNF- α (1:1000) 和 GAPDH (1:10000) 一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; TBST 洗涤后, 加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗, 室温孵育 1 h。使用超敏化学发光试剂显影, 并通过 Image J 软件对条带灰度值进行定量分析。

2.7 细胞培养

SV40 MES-13 细胞用含 10%胎牛血清的低糖 DMEM 培养基 (葡萄糖浓度 5.5 mmol/L) 中, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中常规培养。每日更换新鲜培养基, 待细胞融合度达到 90%左右时, 使用 0.25%

胰蛋白酶进行消化传代。

2.8 免疫荧光染色检测细胞 FN 和 Col-IV 表达

将 SV40 MES-13 细胞以 1×10^5 个/孔接种于放置有玻璃盖片的培养孔中, 换用含 30 mmol/L 葡萄糖的高糖 DMEM 培养基继续培养来建立体外高糖模型。设置对照组 (含 5.5 mmol/L 葡萄糖的培养基)、模型组 (含 30 mmol/L 葡萄糖的培养基) 和淫羊藿苷高、中、低剂量组 (含 30 mmol/L 葡萄糖及 10、3、1 $\mu\text{mol/L}$ 淫羊藿苷的培养基)。细胞处理 72 h 后经 4%多聚甲醛固定, 于室温下使用 0.3% Triton X-100 透化 20 min, 随后在 1%牛血清白蛋白阻断缓冲液中封闭 1 h。将 FN 与 Col-IV 抗体 (1:300) 滴加于盖片上, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。PBS 洗涤 3 次后, 加入相应荧光二抗, 室温避光孵育 1 h。滴加 DAPI (1:10000) 孵育 10 min 染色细胞核, 使用荧光显微镜采集图像。

2.9 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 GraphPad Prism 9 软件进行统计分析, 多组间比较使用单因素方差分析, 2 组间比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 淫羊藿苷对 DKD 小鼠糖脂代谢及肾功能的影响

为探究淫羊藿苷对 DKD 的治疗作用, 采用 C57BL/KsJ db/db 小鼠建立 DKD 模型, 并给予达格列净及不同剂量淫羊藿苷干预, 生化分析结果 (图 1) 显示, 与对照组比较, 模型组小鼠体质量、血糖、尿蛋白、胰岛素、总胆固醇、三酰甘油和血肌酐水平显著升高 ($P < 0.05$ 、0.001), 高密度脂蛋白胆固醇水平显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 淫羊藿苷高剂量组和达格列净组小鼠空腹血糖、尿蛋白、胰岛素、总胆固醇、三酰甘油和血肌酐水平显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 高密度脂蛋白胆固醇水平显著升高 ($P < 0.01$ 、0.001); 淫羊藿苷高、中剂量组和达格列净组小鼠体质量显著降低 ($P < 0.001$)。

3.2 淫羊藿苷对 DKD 小鼠肾脏组织病理及超微结构的影响

光镜下观察各组小鼠肾小球硬化和肾小管间质胶原蛋白沉积, 如图 2-A、C 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肾小球系膜区明显扩张, 细胞外基质沉积显著 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 给予高剂量的淫羊藿苷及达格列净干预后, 小鼠肾脏细胞外基质沉积、间质损伤及系膜区扩张均得到明显缓解 ($P < 0.01$ 、0.001), 而中、低剂量的淫羊藿苷并未明

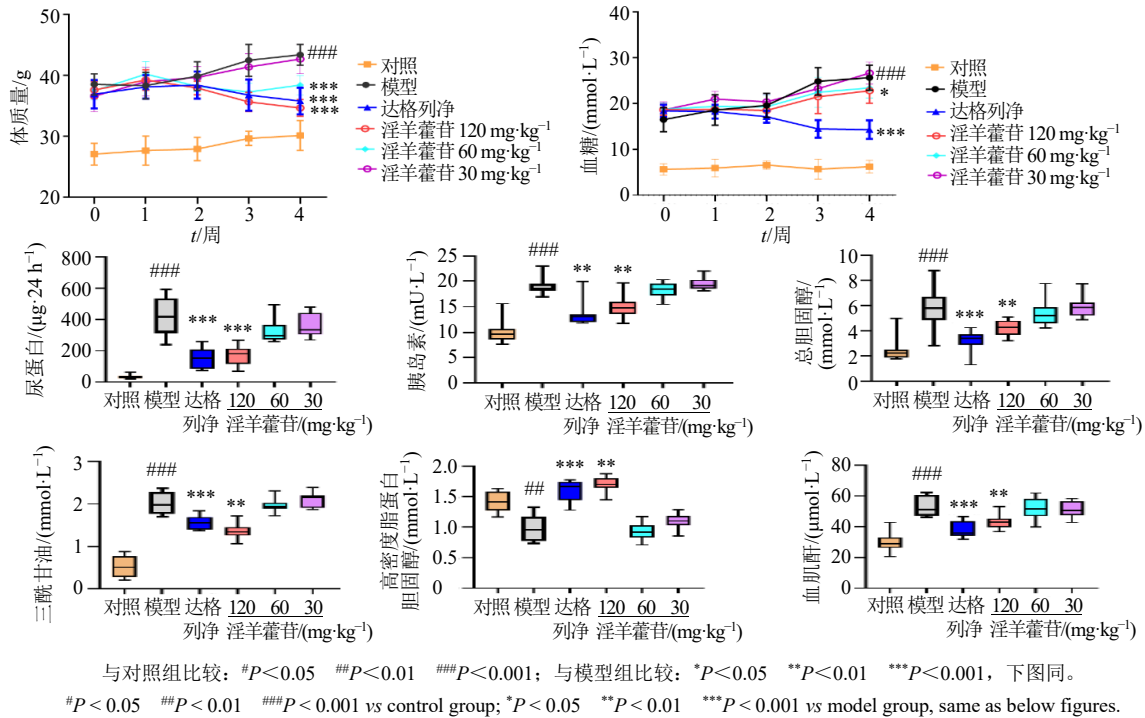
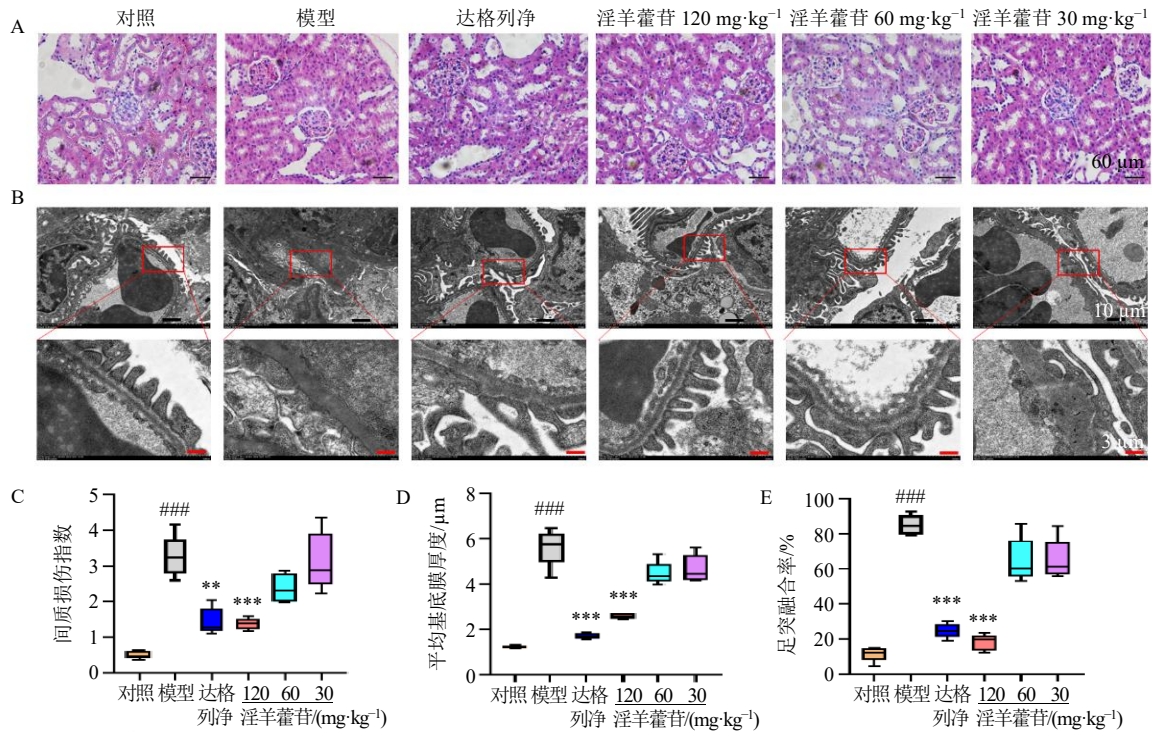


图1 淫羊藿苷对DKD小鼠糖脂代谢及肾功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 1 Effect of icariin on glucose and lipid metabolism and renal function in DKD mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)



A-肾脏组织 HE 染色代表性图片 ($\times 100$); B-肾脏组织电镜代表性图片 ($\times 15\ 000$); C-肾组织间质损伤评分统计; D-肾小球基底膜平均厚度统计; E-足突融合情况统计。

A-representative images of HE staining of renal tissues ($\times 100$); B-representative electron microscopy images of renal tissues ($\times 15\ 000$); C-statistical results of renal interstitial injury score; D-statistical results of mean glomerular basement membrane thickness; E-statistical results of foot process fusion.

图2 淫羊藿苷对DKD小鼠肾脏组织病理及超微结构的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effect of icariin on renal histopathology and ultrastructure in DKD mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

显著改善细胞外基质沉积与间质损伤。

电镜进一步观察各组小鼠肾脏超微结构的变化,如图 2-B、D、E 所示,模型组小鼠肾小球基底膜呈不规则增厚 ($P < 0.001$),足突广泛融合 ($P < 0.001$);与模型组比较,给予高剂量的淫羊藿苷与达格列净干预可显著减轻肾小球基底膜增厚与足突融合 ($P < 0.001$),而中、低剂量的淫羊藿苷干预后肾小球基底膜不规则增厚与足突融合仍较严重。

3.3 淫羊藿苷对 DKD 小鼠血浆中炎症因子及肾脏巨噬细胞浸润的影响

为探究淫羊藿苷对 DKD 小鼠炎症反应的影响,检测各组小鼠血浆中炎症因子水平及肾脏组织巨

噬细胞浸润情况。如图 3-A~C 所示,与对照组比较,模型组小鼠血浆中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.001);与模型组比较,各给药组小鼠血浆中 IL-6 水平显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001),淫羊藿苷高剂量组和达格列净组小鼠血浆中 TNF- α 和 IL-1 β 水平显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001)。免疫组化结果(图 3-D)显示,模型组小鼠肾脏组织中 F4/80 $^{+}$ 和 CD68 $^{+}$ 细胞浸润数量显著增加,而高、中剂量淫羊藿苷及达格列净干预后可减少肾脏组织中 F4/80 $^{+}$ 和 CD68 $^{+}$ 细胞的浸润。表明淫羊藿苷能够有效减少 DKD 小鼠炎症因子的产生和巨噬细胞浸润。

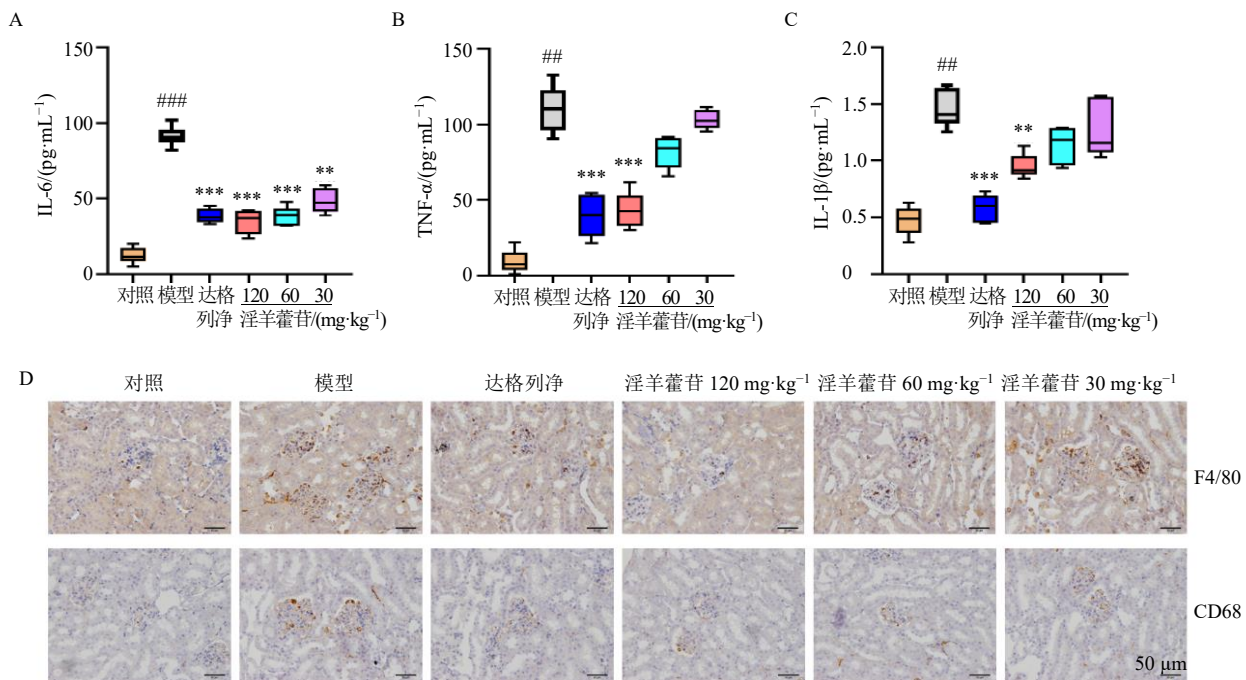


图 3 淫羊藿苷对 DKD 小鼠血浆中炎症因子水平 (A~C) 及肾脏巨噬细胞浸润 (D, $\times 100$) 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 3 Effect of icariin on levels of inflammatory factors in plasma (A—C) and renal macrophage infiltration (D, $\times 100$) in DKD mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

3.4 淫羊藿苷抑制 DKD 小鼠肾组织中 HMGB1/TLRs/NF- κ B 信号通路活化和炎症因子产生

鉴于淫羊藿苷可减少 DKD 小鼠炎症因子的产生及巨噬细胞浸润,采用 Western blotting 进一步检测小鼠肾组织中 HMGB1/TLRs/NF- κ B 信号通路及炎症相关蛋白表达。如图 4 所示,与对照组比较,模型组小鼠肾组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、HMGB1、TLR2、TLR4 和 p-p65/p65 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.001$);与模型组比较,淫羊藿苷中、高剂量组和达格列净组 IL-6、TLR2、TLR4 和 p-p65/p65 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001),淫

羊藿苷高剂量组和达格列净组 IL-1 β 、TNF- α 和 HMGB1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001)。表明淫羊藿苷可能通过抑制 HMGB1/TLRs/NF- κ B 信号通路减轻肾脏炎症反应,从而缓解 DKD 进程。

3.5 淫羊藿苷对高糖诱导的 SV40 MES-13 细胞外基质相关蛋白表达的影响

为探究淫羊藿苷对肾小球系膜细胞细胞外基质相关蛋白 FN 与 Col-IV 表达的影响,使用 10、3、1 μ mol/L 淫羊藿苷处理高糖诱导的 SV40 MES13 细胞,采用免疫荧光染色检测 FN 和 Col-IV 表达。如图 5 所示,高糖培养可显著上调 SV40 MES13 细胞

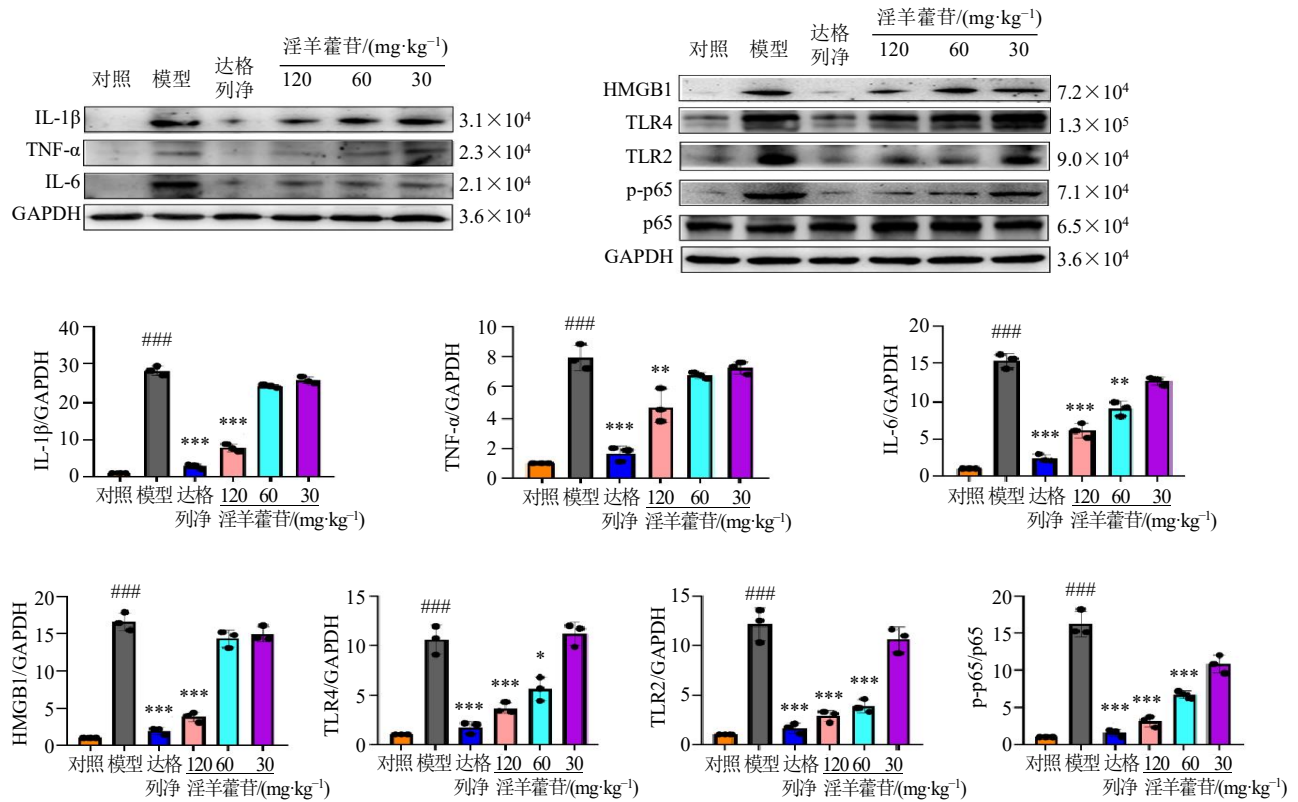


图4 淫羊藿苷抑制DKD小鼠肾组织中HMGB1/TLRs/NF- κ B信号通路活化和炎症因子产生 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Icariin inhibits activation of HMGB1/TLRs/NF- κ B signaling pathway and production of inflammatory factors in renal tissues of DKD mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

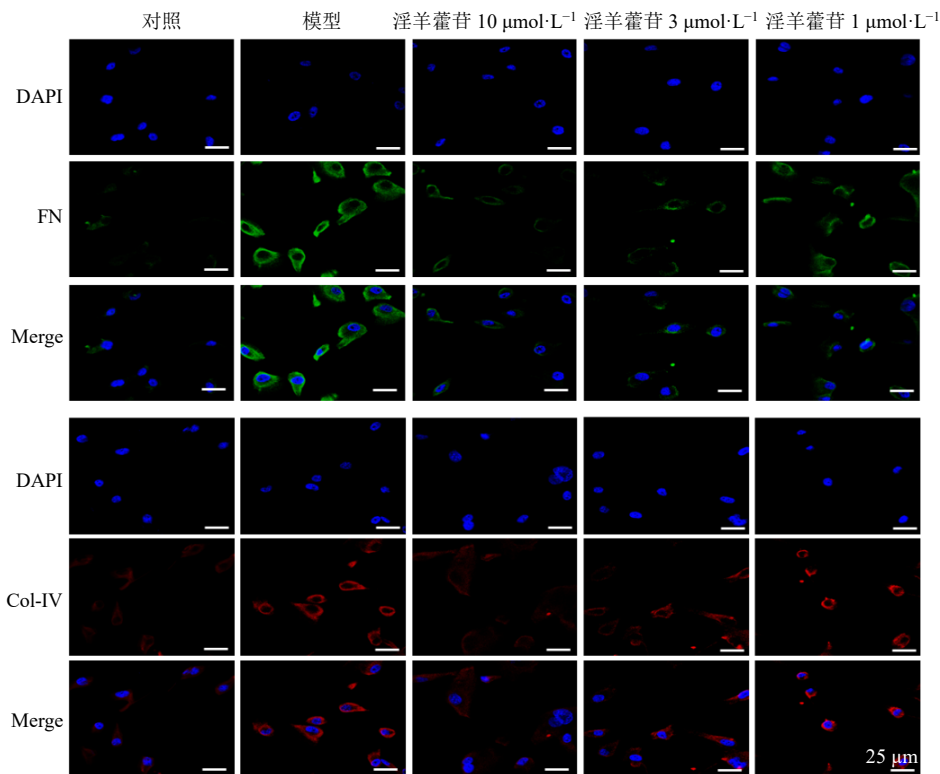


图5 淫羊藿苷对高糖诱导的SV40 MES-13细胞外基质相关蛋白表达的影响 ($\times 400$)

Fig. 5 Effect of icariin on expressions of extracellular matrix-related proteins in high glucose-induced SV40 MES-13 cells ($\times 400$)

中 FN 和 Col-IV 的表达, 而高、中剂量的淫羊藿苷能明显抑制高糖诱导的 FN 和 Col-IV 的表达。

4 讨论

淫羊藿苷是从小檗科植物淫羊藿及其同属植物的干燥茎叶中提取的主要有效成分, 属于异戊烯基黄酮类化合物, 也是评价淫羊藿药材质量的关键指标之一^[11]。淫羊藿的应用历史悠久, 具有补肝肾、强筋骨、助阳易精、祛风湿的功效, 常用于治疗腰膝软弱、风寒湿痹、四肢麻木、阳痿等症状^[22-24]。淫羊藿苷具有广泛的药理作用, 包括防治骨质疏松、抗肿瘤、免疫调节、改善生殖功能、降血糖、保护神经系统以及改善心脑血管功能等^[12-14]。近年来, 随着对淫羊藿苷研究的不断深入, 其在肾脏相关疾病中的保护作用受到了越来越多的关注, 成为肾病治疗领域的研究热点之一。

淫羊藿苷能在实验性单侧输尿管梗阻模型中保护肾脏免受损伤和纤维化^[25], 并能改善 db/db 小鼠的糖尿病性心脏病^[26]。在链脲佐菌素诱导的 1 型糖尿病肾病大鼠模型中, 淫羊藿苷通过抑制氧化应激, 减轻细胞外基质的积聚, 从而改善实验性糖尿病肾病^[19]。本研究利用 db/db 小鼠构建的 2 型糖尿病模型证实了淫羊藿苷对 DKD 小鼠肾脏的保护作用, 并从炎症反应与免疫细胞浸润的角度对其机制进行探讨。结果显示, 高、中剂量 (120、60 mg/kg) 淫羊藿苷处理均能显著降低 db/db 小鼠的体质量。然而在血糖方面, 高剂量淫羊藿苷虽可降低血糖, 但幅度有限; 中、低剂量 (60、30 mg/kg) 淫羊藿苷则未观察到显著影响。以上结果提示, 淫羊藿苷对血糖的调节作用可能需要较高的药物浓度或更长的干预周期方可显现。

炎症反应是 DKD 发生与发展的关键病理机制, 其驱动因素主要包括巨噬细胞活化及免疫细胞向肾脏的浸润。作为核心诱因的高血糖, 可通过晚期糖基化终末产物积累等代谢紊乱途径, 以及局部和全身 RAAS 激活所致的血流动力学改变, 共同加剧炎症过程。DKD 患者体内持续存在的高血糖状态可促进多种炎症介质的释放, 如 IL-1 β 、TNF- α 以及各类生长因子和黏附分子^[11]。本研究发现淫羊藿苷干预能显著降低模型小鼠血浆中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平。此外, 淫羊藿苷处理明显减少了 DKD 模型小鼠肾脏组织中的巨噬细胞浸润。作为与肾脏损伤密切相关的关键免疫细胞, 巨噬细胞的积累程度在实验模型中与疾病严重程度呈正相关, 并会加

速 DKD 进展^[27-29]。M1 型巨噬细胞可分泌包括 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 在内的促炎因子, 因此推测淫羊藿苷可能通过调节肾脏巨噬细胞的浸润与分化, 进而影响这些炎症因子的产生。本研究的局限性在于仅检测了血液和组织中炎症因子的水平, 尚未进一步探讨淫羊藿苷对肾脏巨噬细胞表型分化及功能活性的直接调控作用。同时, 结果显示, 淫羊藿苷可抑制 DKD 模型小鼠肾组织中 HMGB1/TLRs/NF- κ B 信号通路的活化。本研究主要检测了肾脏组织整体的信号通路变化, 其活化抑制是否特异性地发生于肾脏浸润的巨噬细胞内, 目前尚不明确。

本研究发现淫羊藿苷在显著降低肾脏炎症反应的同时, 也改善了系膜基质扩张和胶原沉积。绝大多数进展性肾脏疾病均与肾纤维化密切相关, 其病理特征主要表现为肾小管上皮细胞转化以及细胞外基质的过度积聚^[30]。正常情况下, 肾间质中几乎不存在肌成纤维细胞; 而在病理状态下, 当成纤维细胞被激活后, 会分化为肌成纤维细胞, 进而大量合成细胞外基质, 最终促使肾纤维化形成^[31]。因此, 本研究进一步探究了淫羊藿苷是否能够下调纤维化相关蛋白的表达。发现淫羊藿苷处理可显著抑制高糖诱导的肾小球系膜细胞中细胞外基质相关蛋白 FN 和 Col-IV 的表达。同时, 在 DKD 模型小鼠的肾脏组织中也观察到淫羊藿苷干预能够明显减少细胞外基质的沉积。然而, 由于本研究检测指标有限, 关于淫羊藿苷对 DKD 肾纤维化的干预作用及其具体机制仍有待进一步深入探究。

本研究选择达格列净作为阳性对照药, 主要基于其作为目前临床治疗 DKD 的一线药物 (钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 抑制剂), 具有明确的肾脏保护作用, 可作为评估新型药物疗效的可靠参照。尽管其机制 (抑制钠-葡萄糖协同转运蛋白 2、改善血流动力学和糖代谢) 与淫羊藿苷的抗炎、抗纤维化机制不同, 但选择临床有效药物作为阳性对照, 可以更好地评估淫羊藿苷的潜在治疗价值及相对疗效。这符合药理学研究中“以临床标准治疗为参照”的阳性对照原则。本研究发现淫羊藿苷的抗炎作用, 是其与达格列净在机制上的区别点, 也提示淫羊藿苷可能作为针对 DKD 炎症病理环节的潜在补充或替代疗法。

本研究通过构建糖尿病肾病模型和细胞实验, 系统评估了淫羊藿苷对 DKD 的防治作用。结果表明, 淫羊藿苷能够通过抑制 HMGB1/TLRs/NF- κ B 信

号通路及相关炎症反应, 缓解糖尿病肾病的病理进程。本研究将 DKD 的炎症病理机制与中药活性成分的干预效应进行系统整合, 明确了淫羊藿苷特异性调控肾脏局部炎症微环境、干预关键炎症信号通路的分子基础。从临床应用角度看, 淫羊藿苷作为一种低毒、具有多重药理活性的黄酮类化合物, 其明确的作用机制为 DKD 的早期干预及靶向药物研发提供了新的候选分子和理论依据。未来若能开展更多临床转化研究, 淫羊藿苷有望成为 DKD 综合治疗策略中的补充或辅助手段, 从而降低患者残余风险、延缓疾病进展、改善预后。本研究不仅为淫羊藿苷用于 DKD 的防治提供了分子机制依据, 也为该药的临床转化应用奠定了理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Joumaa J P, Raffoul A, Sarkis C, *et al.* Mechanisms, biomarkers, and treatment approaches for diabetic kidney disease: Current insights and future perspectives [J]. *J Clin Med*, 2025, 14(3): 727.
- [2] Młynarska E, Czarnik W, Dzieża N, *et al.* Type 2 diabetes mellitus: New pathogenetic mechanisms, treatment and the most important complications [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(3): 1094.
- [3] Fang Z Y, Liu R J, Xie J Y, *et al.* Molecular mechanism of renal lipid accumulation in diabetic kidney disease [J]. *J Cell Mol Med*, 2024, 28(11): e18364.
- [4] 臧英鑫, 李高, 琦殷越. 白藜芦醇治疗糖尿病肾病的药理作用研究进展 [J]. *现代药物与临床*, 2026, 41(1): 232-240.
- [5] Efiog E E, Bazireh H, Fuchs M, *et al.* Crosstalk of hyperglycaemia and cellular mechanisms in the pathogenesis of diabetic kidney disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(20): 10882.
- [6] Tan R J, Liu Y H. Matrix metalloproteinases in kidney homeostasis and diseases: An update [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2024, 327(6): F967-F984.
- [7] Song Y, Ye L X, Zhou H, *et al.* Macrophages at the Core: Metabolic shifts and renal cell cross-talk as key mediators in diabetic nephropathy [J]. *Biochem Pharmacol*, 2026, 248: 117869.
- [8] Li H Y, Chen H, Gao R H, *et al.* Traditional Chinese medicine formulae and Chinese patent medicines for the treatment of diabetic kidney disease: Efficacies and mechanisms [J]. *Am J Chin Med*, 2025, 53(3): 675-707.
- [9] Wu Z, Gao Y, Zuo C Y, *et al.* The status of studies on the mechanism of microcirculatory dysfunction in the process of diabetic kidney injury [J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2025, 17(1): 154.
- [10] 岑筠, 王英, 黄利华. 糖尿病肾病发病机制及临床应用的研究进展 [J]. *广州城市职业学院学报*, 2025, 19(1): 90-95.
- [11] Gu J Y, Li F J, Hou C Z, *et al.* Mechanism of icariin for the treatment of osteoarthritis based on network pharmacology and molecular docking method [J]. *Am J Transl Res*, 2023, 15(8): 5071-5084.
- [12] Hu W J, Si Y M, Xie X, *et al.* Research progress on icariin promoting bone injury repair and regeneration [J]. *Pharmaceuticals*, 2025, 18(8): 1174.
- [13] Gao J, Gao J H, Zhang Y F, *et al.* The multifaceted regulatory effect of icariin on macrophages: A mini-review [J]. *Front Immunol*, 2026, 17: 1765533.
- [14] 侯凌波, 郭建文, 高小玲, 等. 淫羊藿及其复方干预中枢神经系统疾病的作用机制研究进展 [J]. *中草药*, 2025, 56(18): 6797-6808.
- [15] 刘琪, 李林臻, 张君涛. 淫羊藿苷促进关节软骨损伤修复作用机制研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(6): 1393-1399.
- [16] Li X H, Xu Y T, Li H, *et al.* Verification of pain-related neuromodulation mechanisms of icariin in knee osteoarthritis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 144: 112259.
- [17] Wang P Z, Xiong X F, Zhang J L, *et al.* Icariin increases chondrocyte vitality by promoting hypoxia-inducible factor-1 α expression and anaerobic glycolysis [J]. *Knee*, 2020, 27(1): 18-25.
- [18] Yao W H, Wang K, Wang X N, *et al.* Icariin ameliorates endothelial dysfunction in type 1 diabetic rats by suppressing ER stress via the PPAR α /Sirt1/AMPK α pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(3): 1889-1902.
- [19] Wang K, Zheng X L, Pan Z Z, *et al.* Icariin prevents extracellular matrix accumulation and ameliorates experimental diabetic kidney disease by inhibiting oxidative stress via GPER mediated p62-dependent Keap1 degradation and Nrf2 activation [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 559.
- [20] 王喜鸟, 姚文慧, 潘珍珍, 等. 淫羊藿苷改善糖尿病小鼠血管功能的作用及其机制 [J]. *中国药科大学学报*, 2022, 53(2): 215-221.
- [21] Yao W H, Tao R P, Xu Y, *et al.* AR/RKIP pathway mediates the inhibitory effects of icariin on renal fibrosis and endothelial-to-mesenchymal transition in type 2 diabetic nephropathy [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 320: 117414.
- [22] Hua W B, Li S, Luo R J, *et al.* Icariin protects human

- nucleus pulposus cells from hydrogen peroxide-induced mitochondria-mediated apoptosis by activating nuclear factor erythroid 2-related factor 2 [J]. *Biochim Biophys Acta BBA Mol Basis Dis*, 2020, 1866(1): 165575.
- [23] Ye L, Yu Y P, Zhao Y P. Icariin-induced miR-875-5p attenuates epithelial-mesenchymal transition by targeting hedgehog signaling in liver fibrosis [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2020, 35(3): 482-491.
- [24] He C, Wang Z, Shi J. Pharmacological effects of icariin on cytochrome function and its roles in inflammation and cancer [J]. *Adv Pharmacol*, 2020, 87: 277-306.
- [25] Chen H, Chen C M, Guan S S, *et al.* The antifibrotic and anti-inflammatory effects of icariin on the kidney in a unilateral ureteral obstruction mouse model [J]. *Phytomedicine*, 2019, 59: 152917.
- [26] Ni T J, Lin N, Huang X X, *et al.* Icariin ameliorates diabetic cardiomyopathy through Apelin/Sirt3 signalling to improve mitochondrial dysfunction [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 256.
- [27] Youssef N, Noureldein M H, Riachi M E, *et al.* Macrophage polarization and signaling in diabetic kidney disease: A catalyst for disease progression [J]. *Am J Physiol Ren Physiol*, 2024, 326(3): F301-F312.
- [28] Islamuddin M, Qin X B. Renal macrophages and NLRP3 inflammasomes in kidney diseases and therapeutics [J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10: 229.
- [29] Li H D, You Y K, Shao B Y, *et al.* Roles and crosstalks of macrophages in diabetic nephropathy [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1015142.
- [30] Nastase M V, Zeng-Brouwers J, Wygrecka M, *et al.* Targeting renal fibrosis: Mechanisms and drug delivery systems [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, 129: 295-307.
- [31] Yuan Q, Tan R J, Liu Y H. Myofibroblast in kidney fibrosis: Origin, activation, and regulation [A] // *Renal Fibrosis: Mechanisms and Therapies* [M]. Singapore: Springer Singapore, 2019: 253-283.

[责任编辑 李亚楠]