

本文引用: 艾坤, 谢万健, 余艳, 宋泉, 瞿启睿, 陈彦灵, 江浩清, 张蕾, 邓奕辉. 左归降糖通脉方治疗糖尿病神经源性膀胱的效应及分子靶点预测与机制验证研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(7): 1323–1335.

左归降糖通脉方治疗糖尿病神经源性膀胱的效应及分子靶点预测与机制验证研究

艾坤¹, 谢万健¹, 余艳¹, 宋泉¹, 瞿启睿¹, 陈彦灵¹, 江浩清², 张蕾², 邓奕辉^{1*}

1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208; 2. 福建省漳州市医院, 福建 漳州 363000

【摘要】目的 基于网络药理学及分子对接技术, 筛选左归降糖通脉方治疗糖尿病神经源性膀胱(DNB)的主要活性成分及潜在作用靶点, 并通过建立 DNB 动物模型验证左归降糖通脉方对该疾病的作用机制。**方法** 应用中药系统药理学数据库与分析平台和本草组鉴数据库筛选左归降糖通脉方的活性成分及作用靶点, 通过通用蛋白质资源数据库规范靶点对应的基因名称。依托人类基因综合数据库和人类孟德尔遗传数据库检索 DNB 的相关靶点基因, 利用 Venny 软件获取复方与 DNB 的交集靶点韦恩图, 借助 STRING 在线平台与 Cytoscape 软件进行可视化处理, 构建蛋白质-蛋白质相互作用网络, 通过相关数据库进行基因本体(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析, 在微信云信平台呈现结果。运用 CB-Dock2 对复方相应活性成分与核心靶点蛋白受体进行分子对接验证。在筛选出左归降糖通脉方治疗 DNB 的潜在作用靶点后, 通过动物实验进行效应验证。将 36 只雌性 SD 大鼠随机分为空白组 6 只与造模组 30 只, 采用单次腹腔注射链脲佐菌素(STZ)溶液制备模型。成模后将造模组随机分为模型组、低剂量组、中剂量组、高剂量组及阳性药物组, 每组 6 只。低、中、高剂量组分别予以 6.5、13、26 g/kg 左归降糖通脉方灌胃, 阳性药物组予以 α -硫辛酸 100 mg/kg 灌胃, 每日 1 次, 持续 4 周。实验过程中各组各剔除 1 只不合格样本, 最终每组有效样本量为 5。给药 1 个月 after 取材, 采用尿流动力学检测膀胱功能, Western blot 检测相关蛋白[磷酸化蛋白激酶 B(p-AKT)、磷酸化信号转导与转录激活因子 3(p-STAT3)、磷酸化原癌基因酪氨酸蛋白激酶 Src(p-SRC)、肿瘤蛋白 p53、90 kDa 热休克蛋白(HSP90)]表达。**结果** 共获得左归降糖通脉方治疗 DNB 的交集靶点 357 个, 主要活性成分包括槲皮素、黄芪异黄酮苷、二氢辣椒素、2-去甲基迷迭香-3 和木犀草素, 核心靶点包括 TP53、AKT1、SRC、HSP90AA1、STAT3。GO 功能富集获得生物过程 1 077 条、细胞组分 120 条和分子功能 260 条, KEGG 通路富集获得 186 条通路, 其中 AGE-RAGE 信号通路可能是重要作用通路。分子对接结果显示, 主要活性成分与核心靶点均具有较好的结合活性, 其中黄芪异黄酮苷与 AKT1 的结合活性最强。与模型组比较, 左归降糖通脉方低、中、高剂量组大鼠排尿时长均缩短、排尿速度均增加($P<0.05$), 中剂量组漏尿点压升高($P<0.05$), 各剂量组最大膀胱容量和膀胱顺应性差异均无统计学意义($P>0.05$); 蛋白质印迹结果显示, 中剂量组 p-AKT、p-STAT3、p53 蛋白表达降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 高剂量组 p-AKT 蛋白表达降低($P<0.05$), 中、高剂量组 AGE、RAGE 蛋白表达降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。**结论** 左归降糖通脉方可显著改善 DNB 模型大鼠的排尿功能, 其作用机制可能与调控 AKT、STAT3、SRC、p53、HSP90 等核心靶点及抑制 AGE-RAGE 信号通路有关。

【关键词】 左归降糖通脉方; 糖尿病神经源性膀胱; 网络药理学; 分子对接; 尿流动力学; AGE-RAGE 信号通路; AKT; STAT3

〔中图分类号〕R285.5

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.07.003

Efficacy, molecular target prediction, and mechanism validation of Zuogui Jiangtang Tongmai Formula in treating diabetic neurogenic bladder

AI Kun¹, XIE Wanjian¹, SHE Yan¹, SONG Quan¹, QU Qirui¹, CHEN Yanling¹, JIANG Haoqing²,
ZHANG Lei², DENG Yihui^{1*}

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;

2. Zhangzhou Municipal Hospital of Fujian Province, Zhangzhou, Fujian 363000, China

〔收稿日期〕2026-03-26

〔基金项目〕国家自然科学基金面上项目(81874510)。

〔通信作者〕* 邓奕辉, 女, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: 644138330@qq.com。

[Abstract] Objective To screen the main active components and potential action targets of Zuogui Jiangtang Tongmai Formula (ZGJTTF) in treating diabetic neurogenic bladder (DNB) based on network pharmacology and molecular docking technology, and to verify its mechanism of action by establishing a DNB animal model. **Methods** The active components and corresponding action targets of ZGJTTF were screened using the Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform and the HERB database, and gene names corresponding to the action targets were standardized using the Universal Protein Resource (UniProt) database. DNB-related target genes were retrieved from the GeneCards and Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) databases. Venny software was used to construct a Venn diagram of the intersecting action targets between the formula and DNB. A protein-protein interaction (PPI) network was constructed and visualized using the STRING online platform and Cytoscape software. Gene Ontology (GO) functional enrichment and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analyses were performed using relevant databases, with the results presented on the Bioinformatics Cloud platform. Molecular docking between the active components and core target protein receptors was validated using CB-Dock2. After screening the potential action targets of ZGJTTF against DNB, animal experiments were conducted for in vivo validation. Thirty-six female SD rats were randomly divided into a blank group ($n=6$) and a modeling group ($n=30$). The DNB model was established by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) solution. After successful modeling, the rats in the modeling group were randomly divided into model group, low-dose group, medium-dose group, high-dose group, and positive drug group, with 6 rats in each group. The low-, medium-, and high-dose groups were administered 6.5, 13, and 26 g/kg of ZGJTTF by gavage, respectively, while the positive drug group received α -lipoic acid at 100 mg/kg by gavage, once daily for 4 weeks. During the experiment, one unqualified sample was excluded from each group, leaving a final effective sample size of 5 per group. After one month of administration, bladder function was assessed by urodynamic testing. Protein expression levels of phosphorylated protein kinase B (p-AKT), phosphorylated signal transducer and activator of transcription 3 (p-STAT3), phosphorylated proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src (p-SRC), tumor protein p53 (p53), and heat shock protein 90 kDa (HSP90) were determined by Western blot. **Results** A total of 357 intersecting targets of ZGJTTF against DNB were identified. The main active components included quercetin, isomucronulatol 7-O- β -D-glucoside, dihydrocapsaicin, 2-demethylplastoquinone-3, and luteolin. The core targets included TP53, AKT1, SRC, HSP90AA1, and STAT3. GO functional enrichment analysis yielded 1,077 biological processes, 120 cellular components, and 260 molecular functions, while KEGG pathway enrichment identified 186 pathways, among which the AGE-RAGE signaling pathway might be a key pathway. Molecular docking results showed good binding affinity between the main active components and the core targets, with isomucronulatol 7-O- β -D-glucoside exhibiting the strongest binding activity to AKT1. Compared with the model group, the rats in the low-, medium-, and high-dose groups of ZGJTTF all showed shortened urination duration and increased urination flow rate ($P<0.05$), while the medium-dose group showed an increased leak point pressure ($P<0.05$). There were no statistically significant differences in maximum bladder capacity or bladder compliance among the dose groups ($P>0.05$). Western blot results revealed that p-AKT, p-STAT3, and p53 protein expression decreased in the medium-dose group ($P<0.05$ or $P<0.01$), p-AKT expression decreased in the high-dose group ($P<0.05$), and AGE and RAGE protein expression decreased in the medium- and high-dose groups ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion** ZGJTTF can significantly improve urinary function in DNB model rats, and its mechanism of action may be related to the regulation of core targets such as AKT, STAT3, SRC, p53, and HSP90, as well as the inhibition of the AGE-RAGE signaling pathway.

[Keywords] Zuogui Jiangtang Tongmai Formula; diabetic neurogenic bladder; network pharmacology; molecular docking; urodynamics; AGE-RAGE signaling pathway; AKT; STAT3

糖尿病神经源性膀胱(diabetic neurogenic bladder, DNB)是糖尿病常见的慢性并发症之一,是由长期高血糖引起自主神经受损导致的膀胱排尿功能及尿道功能障碍,临床表现为排尿困难、尿潴留、尿频、

尿失禁等下尿路症状^[1]。DNB在糖尿病患者中的发病率高达40%~80%,且患病风险随着糖尿病病程延长显著增加,病程15年以上的患者尤为高发^[2]。DNB起病隐匿,早期症状缺乏典型性,多数患者就诊时已

存在明显膀胱功能损害,既严重降低生活质量,还会增加泌尿系统感染乃至肾衰竭的发生风险。目前,西医对 DNB 的治疗主要包括控制血糖、营养神经及间歇导尿等对症处理,严重者需考虑手术治疗,但整体疗效尚不理想,不良反应较多,且治疗成本高昂^[3]。因此,寻找更为安全有效的治疗策略成为临床亟待解决的问题。

中医学认为,DNB 归属于“消渴”继发“癃闭”“遗溺”等范畴,病位主要在肾与膀胱,与肺、脾、三焦等脏腑功能失调密切相关,病机多属本虚标实,以气阴两虚为本,瘀血、痰浊、湿热为标^[4-5]。近年来,临床研究表明,中医药通过辨证论治、内外合治,在改善 DNB 患者排尿功能、延缓疾病进展方面显示出良好疗效,且不良反应较少^[6-8]。左归降糖通脉方基于传统名方左归丸化裁而来,由熟地黄、枸杞子、山茱萸、黄芪、黄连、地龙、丹参、川芎、水蛭和石菖蒲组成,具有滋肾养阴、活血通脉、助膀胱气化之功效,契合消渴日久所致的神经源性膀胱“虚、瘀、浊”互结之病机。课题组前期在糖尿病血管内皮损伤、糖脂代谢紊乱、脑梗死合并动脉粥样硬化等多种模型中证实,该方可调控细胞凋亡,改善炎症反应、氧化应激及神经功能损伤,显示出多靶点、多途径的治疗特点^[9-12],且临床用于糖尿病及其血管并发症的治疗取得了较好疗效^[13]。然而,该方治疗 DNB 的药效物质基础及分子作用机制尚不明确,限制了其临床推广与精准运用。

网络药理学是一门融合系统生物学与生物信息学的新兴学科,其整体性、系统性的研究特点与中医药“多成分-多靶点-多通路”的作用模式高度契合,已成为揭示复方作用机制的重要工具^[14-15]。分子对接技术则可从分子层面预测活性成分与靶点蛋白的结合亲和力,为网络药理学预测结果提供验证^[16-17]。近年来,该联合方法在中药复方作用机制研究中得到了广泛应用^[18-20]。然而,现有数据库信息尚不完善,预测结果可能存在假阳性;同时,该方法只能反映成分与靶点之间的静态结合关系,难以模拟药物在生物体内复杂的动态代谢过程及多靶点协同调控的真实效应。因此,网络药理学所筛选出的关键靶点与通路,最终仍需通过体内外实验加以验证。

基于此,本研究在运用网络药理学预测及分子对接筛选左归降糖通脉方治疗 DNB 潜在靶点与通路的基础上,进一步建立 DNB 大鼠模型,通过动物实验干预观察该方对关键靶点的调控作用,旨在将

生物信息学预测与实验验证有机结合,更为系统地阐明左归降糖通脉方治疗 DNB 的作用机制,为其临床应用提供更为可靠的实验依据。

1 资料与方法

1.1 左归降糖通脉方有效活性成分与潜在靶点筛选

利用中药系统药理学分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP)^[21] 分别收集左归降糖通脉方中黄芪、熟地黄、山茱萸、枸杞子、丹参、川芎、黄连、石菖蒲的化学成分。根据口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 筛选活性成分,收集相应靶点,删除无明确作用靶点的化合物,得到相关潜在作用靶点;TCMSP 数据库中未收录地龙、水蛭,从高通量中药实验参考数据库本草组鉴(high-throughput experiment- and reference-guided database of Traditional Chinese Medicine, HERB)^[22] 及查阅文献报道收集地龙、水蛭的活性化学成分及相应的化学文摘社登记号,通过检索 PubChem 数据库,得到相关成分的 SMILES 号二维结构数据文件,将上述信息导入 SwissADME 数据库^[23],以相对分子质量 ≤ 500 、Lipinski 五规则为初步筛选标准后,获得地龙、水蛭主要成分,再利用 SwissADME 数据库预测其吸收、分布、代谢与排泄(absorption, distribution, metabolism and excretion, ADME)参数,以胃肠道吸收度为“High”、DL 满足 3 项及以上“Yes”作为进一步筛选标准,获得地龙、水蛭的有效成分;将有效成分信息导入 SwissTargetPrediction 数据库^[24],将“Probability>0”的靶点作为药物潜在靶点;最后将获得的所有潜在作用靶点提交至通用蛋白质资源数据库(Universal Protein Resource, UniProt)进行靶点信息比对和基因名规范化。

1.2 DNB 疾病靶点筛选以及潜在治疗靶点的获取

在 GeneCards 人类基因数据库(GeneCards)^[25]、在线人类孟德尔遗传数据库(online mendelian inheritance in man, OMIM)^[26] 数据库中以“Diabetic neurogenic bladder”为检索词获得疾病靶点,合并 2 个数据库检索结果并去除重复靶点。通过 Venny 2.1 在线平台绘制左归降糖通脉方有效成分靶点与 DNB 靶点的韦恩图,获得的交集靶点即左归降糖通脉方治疗 DNB 的潜在作用靶点。

1.3 构建“复方-成分-交集靶点”网络图

将左归降糖通脉方中的药味、活性成分及成分与疾病交集靶点相关靶点的对应网络文件和类型文件导入生物信息学网络分析与可视化软件(Cytoscape 3.7.1),分析网络后以度值(Degree)调整网络构图,调整后得到左归降糖通脉方的“复方-成分-交集靶点”网络,并筛选左归降糖通脉方治疗 DNB 关键成分。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用网络(protein-protein interaction, PPI)构建及核心靶点筛选

将 1.2 中获得的交集靶点提交至检索相互作用基因/蛋白质数据库(search tool for the retrieval of interacting genes/proteins, STRING)^[27],物种设置为“Homo sapiens”,置信度 ≥ 0.7 ,隐藏孤立节点,获得蛋白质之间的相互作用数据并导入 Cytoscape 3.7.1 软件,生成 PPI 网络图,最后使用 CytoNCA 插件筛选核心靶点。

1.5 基因本体(gene ontology, GO)功能和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

通过 DAVID 数据库对交集基因进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析。将富集结果导入微生信在线作图平台^[28]进行可视化展示,得到生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)、细胞组成(cellular component, CC)富集条目。

1.6 左归降糖通脉方核心有效成分与 DNB 关键靶点的分子对接及可视化

使用 PubChem 数据库检索 1.3 结果中度值排名前 5 的核心有效成分,下载其三维结构文件,对于无 3D 结构文件的成分则下载其 2D 结构文件后使用 Chem3D 软件将其转换为 3D 结构。使用蛋白质结构数据库(protein data bank, PDB)检索 1.4 结果中度值排名前 5 的 DNB 关键靶点,下载其蛋白质结构文件。通过 CB-Dock2 在线平台^[29-30]进行分子对接,该平台基于曲率空腔检测算法预测蛋白质表面的潜在结合口袋,并利用 AutoDock Vina(版本 1.2.0)进行对接计算,根据 Vina 结合能评分评价活性成分与靶点蛋白的结合情况,结合能 < 0 kcal/mol(1 kcal=4.2 kJ)表明配体与受体可自发结合,数值越低则表示结合越紧密。记录对接结果中的最小结合能,选取结合能排名前 4 的有效成分-疾病靶点复合物,

导入 PyMol 软件进行结合模式可视化展示。

1.7 实验动物

健康 6 周龄雌性 SPF 级 SD 大鼠 36 只,体质量 150~180 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,许可证号为 SYXK(湘)2019-0009。实验分笼饲养,每笼 3 只,自由饮水、标准饲料饲喂;饲养环境温度 24~26 ℃,相对湿度 55%~60%,设置标准光暗循环,饲养于 SPF 级动物实验室。所有大鼠统一饲喂基础饲料,并提供足够的饮用水。本动物实验方案经湖南中医药大学动物伦理委员会批准(编号:HNUCM21-2601-22),动物饲养和实验过程遵循科技部的《关于善待实验动物的指导性意见》相关要求。

1.8 主要试剂和仪器

链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)、柠檬酸钠缓冲液、DL- α -硫辛酸(北京索莱宝科技有限公司,货号:S8050、C1013、D8761);磷酸化信号转导与转录激活因子 3(phosphorylated signal transducer and activator of transcription 3, p-STAT3)抗体、磷酸化蛋白激酶 B(phosphorylated protein kinase B, p-AKT)抗体、磷酸化原癌基因酪氨酸蛋白激酶 Src(phosphorylated proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src, p-SRC)抗体、90 kDa 热休克蛋白(heat shock protein 90 kDa, HSP90)抗体(杭州华安生物技术有限公司,货号:ET1607-39、ET1607-73、HA723270、ET1605-57);肿瘤蛋白 p53(tumor protein p53, p53)抗体、RAGE 抗体、GAPDH 抗体(成都正能生物技术有限公司,货号:345567、R381618、R380626);AGE 抗体(美国 MedChemExpress 公司,货号:HY-P81087);兔二抗(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,货号:E-AB-1003)。

台式微量冷冻离心机(美国 Thermo Fisher 公司,型号:Sorvall ST 16R);电泳仪、GloMax 酶标仪(美国 Bio-Rad 公司,型号:041BR126545、GM3030);双通道微量注射泵(史密斯医学仪器有限公司,型号:WZ-50C6);多通道生理记录仪(美国 BIOPAC 公司,型号:MP150-WSW);F3 导尿管(上海康鸽医疗器械有限公司,货号:F34567)。

1.9 动物分组

36 只 SD 大鼠使用耳标编号,并随机分为空白组 6 只与造模组 30 只,造模组均进行糖尿病造模。在完成造模后,将造模成功的 30 只大鼠采用随机数字表法分为模型组、低剂量组、中剂量组、高剂量组、

阳性药物组,每组6只。在后续给药、样本采集及指标检测过程中,空白组、模型组、低剂量组、中剂量组、高剂量组、阳性药物组各有1只大鼠因灌胃意外、样本采集失败或检测指标异常等原因被剔除,最终所有组别纳入统计分析的有效样本量均为5只。所有大鼠按每笼3只的标准进行分笼饲养。

1.10 动物模型

全部大鼠适应性喂养7 d后禁食12 h,配置0.1 mmol/L 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液(pH 值为4.5),4 ℃下加入STZ制成浓度2% STZ溶液^[31]。造模组大鼠予以左下腹注射STZ溶液(55 mg/kg),后续给予高脂肪高糖分配比的饲料(配方:普通饲料、蔗糖、熟猪油、奶粉、鸡蛋之比为58:20:15:5:2),采用不规则分时段交替喂养,即单日上午投喂、双日下午投喂,持续8周。将血糖水平 ≥ 16.7 mmol/L、垫料长期湿润及膀胱尿流动力学提示最大膀胱容量增大、尿流速率降低作为DNB大鼠造模成功的标准^[32]。空白组则不注射药物,全程采用普通饲料喂养。

1.11 干预方法

实验采用左归降糖通脉方颗粒剂进行药物干预,该颗粒剂17.5 g等效于72 g饮片,以饮片计量设定低、中、高剂量组给药剂量分别为6.5、13、26 g/kg,各用30 ℃左右热水冲泡并溶于20 mL水中配制药水,所有药水均现配现用,于每日上午9点对低、中、高剂量组大鼠实施该药物灌胃干预。阳性药物组则使用 α -硫辛酸研磨成粉与生理盐水制备成混悬液再进行灌胃,剂量为100 mg/kg。其余组别均使用生理盐水灌胃。持续4周,每天1次。

1.12 取材及处理

干预完成后,各组大鼠进行尿流动力学检查。采用腹腔注射32 mg/kg 戊巴比妥钠麻醉大鼠,以趾反射消失、呼吸频率稳定为判定麻醉达标的依据^[33]。随后将大鼠仰卧位固定,按压腹部以帮助排空尿液。会阴部消毒后,将导尿管经尿道缓慢插入膀胱,并通过三通管连接至尿动力仪和微量灌注泵。当压力曲线稳定后,记录此时的膀胱压力。之后将生理盐水以0.2 mL/min的速率注入膀胱,当观测到大鼠尿道外口有液体溢出时立刻停止灌注。此时的膀胱内压即为漏尿点压,此时的灌注容量为最大膀胱容量。计算并比较各组的尿流动力学参数,每只大鼠重复测定3次,并取平均值。次日予以1%戊巴比妥钠注射液5 mL/kg腹腔注射麻醉。取各组大鼠膀胱组织于离

心管中,液氮速冻后转移至-80 ℃冰箱保存,以备Western blot检测。

1.13 观察指标

1.13.1 尿流动力学检查 大鼠腹腔注射1%戊巴比妥钠麻醉,通过三通管连接多导生理记录仪、微量注射泵及F3导尿管,辅助排尿后,将润滑后的导管经尿道置入大鼠膀胱,以0.2 mL/min的速率注入生理盐水,同步记录各指标变化^[34]。

1.13.2 Western blot 检测 从-80 ℃冰箱取出膀胱组织,加入RIPA裂解液反复研磨,4 ℃、12 000 r/min、离心半径7.5 cm离心20 min,取上清液。使用BCA蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度,经电泳、转膜、封闭后,加入目的蛋白兔抗p-STAT3一抗(1:1 000)、p-SRC(1:1 000)、p53(1:1 000)、HSP90(1:1 000)、AGE(1:1 000)、RAGE(1:1 000)、p-AKT(1:5 000),4 ℃孵育过夜。再加入二抗(1:8 000),常温孵育1 h,并使用ECL发光液进行曝光、显影。完成目的蛋白显影后,抗体进行剥脱,再加入内参GAPDH兔一抗(1:8 000)过夜,加入二抗、曝光、显影。采用Image Lab软件分析目的蛋白和内参蛋白条带灰度值。

1.14 统计学方法

实验数据均进行正态性检验,符合正态分布的数据以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,若方差齐性组间比较采用单因素方差分析;若方差分析结果显示组间存在显著差异,则进一步使用Tukey事后检验进行两两比较。不符合正态分布或方差不齐的数据,组间比较采用Mann-Whitney U检验(两组)或Kruskal-Wallis检验(多组),若总体存在差异则进一步采用Dunn's检验进行事后分析。所有统计分析均使用GraphPad Prism 10软件完成,统计显著性阈值设定为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 左归降糖通脉方的有效成分及作用靶点的收集

左归降糖通脉方通过TCMSP和HERB数据库检索以及文献补充,共得到主要活性成分178种,分别为黄芪21种、熟地黄2种、山茱萸16种、枸杞子42种、丹参61种、川芎7种、黄连13种、石菖蒲4种、地龙26种、水蛭1种;其中,两种或以上药物之间的共有成分10种,详见表1。通过TCMSP数据库、SwissTargetPrediction预测,去除probability ≤ 0 的靶点,合并去重后得到812个潜在作用靶点。

2.2 DNB疾病靶点筛选以及潜在治疗靶点的获取

在OMIM、GeneCards数据库中分别检索疾病靶

表 1 两种或以上药物之间的共有成分

Table 1 Common components shared by two or more herbs

编号	MOL ID	化合物名称	OB	DL	所属中药
A1	MOL000422	Kaempferol(山柰酚)	41.88	0.24	黄芪、石菖蒲
A2	MOL000433	Folic Acid(叶酸)	68.96	0.71	黄芪、川芎
B1	MOL000098	Quercetin(槲皮素)	46.43	0.28	黄芪、枸杞子、黄连
C1	MOL000359	Sitosterol(谷甾醇)	36.91	0.75	熟地黄、山茱萸、川芎
D1	MOL000449	Stigmasterol(豆甾醇)	43.83	0.76	熟地黄、山茱萸、枸杞子
E1	MOL001495	Ethyl linolenate(亚麻酸乙酯)	46.10	0.20	山茱萸、枸杞子
E2	MOL001771	γ-Sitosterol(γ-谷甾醇)	36.91	0.75	山茱萸、丹参
E3	MOL000358	β-Sitosterol(β-谷甾醇)	36.91	0.75	山茱萸、枸杞子
F1	MOL001494	Ethyl linoleate(亚油酸乙酯)	42.00	0.19	山茱萸、枸杞子、川芎
G1	MOL003578	Cycloartenol(环阿尔廷醇)	38.69	0.78	枸杞子、石菖蒲

点,分别得到 DNB 相关的疾病靶点 3 918 个和 264 个。因 GeneCards 检索的疾病靶点过多,取 score ≥ 中位数的疾病靶点为 1 959 个,将两个数据库的靶点并集后去重,共获得 2 174 个靶点。使用 Venny 2.1 在线工具将左归降糖通脉方的 812 个作用靶点与 DNB 的 2 174 个疾病靶点进行交集分析,得到 357 个交集靶点,即可能为左归降糖通脉方治疗 DNB 的关键靶点。详见图 1。

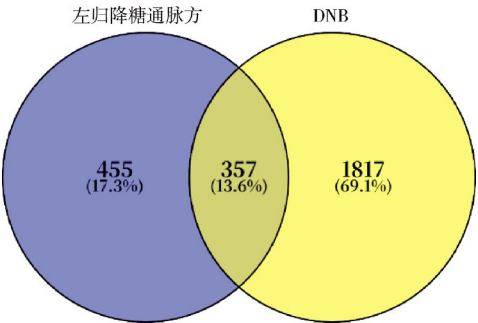


图 1 左归降糖通脉方与 DNB 的交集靶点韦恩图
Fig.1 Venn diagram of intersecting targets between ZGJTTFM and DNB

2.3 构建“复方-有效成分-交集靶点”网络图

使用 Cytoscape 3.7.1 软件进行可视化处理,将数据导入软件,对左归降糖通脉方的有效成分构建“复方-有效成分-交集靶点”网络图。拓扑分析结果显示,图中共有 545 节点、2 365 条边。节点大小与 Degree 值成正比,Degree 值越大,说明该有效成分越重要,根据 Degree 值的大小列出复方中排名前10的主要有效成分:B1、HQ14、DL1、CX4、DS7、HL12、HL11、DL22、A1、DS58。详见图 2、表 2。

2.4 PPI 网络构建及核心靶点筛选

将 2.2 中复方和疾病交集得到的 357 个共同靶点导入 STRING 数据库,物种选择“Homo sapiens”,置信度得分设置为 0.9,隐藏游离靶点,得出结果边数为 1 367、平均节点度数为 7.66、平均局部聚类系数为 0.43。将 STRING 数据结果录入 Cytoscape 3.7.1 软件,对其进行网络拓扑学分析,利用 CytoNCA 插件计算“连接度中心性(degree centrality, DC)”“紧密度中心性(closeness centrality, CC)”“介度中心性

表 2 左归降糖通脉方治疗 DNB 主要有效成分

Table 2 Main active components of ZGJTTFM in treating DNB

编号	MOL ID	化合物名称	所属中药	Degree
B1	MOL000098	Quercetin(槲皮素)	黄芪、枸杞子、黄连	108
HQ14	MOL000379	Methylnissoisin-3-O-glucoside(黄芪异黄酮苷)	黄芪	54
DL1	MOL008698	Dihydrocapsaicin(二氢辣椒素)	地龙	52
CX4	MOL002151	2-demethylplastoquinone-3(2-去甲基质体醌-3)	川芎	51
DS7	MOL000006	Luteolin(木犀草素)	丹参	51
HL12	MOL013352	Obacunone(黄柏酮)	黄连	50
HL11	MOL008647	N-trans-feruloyltramine(N-反式阿魏酰酪胺)	黄连	49
DL22	MOL012144	Myristelaidic acid(肉豆蔻酸)	地龙	48
A1	MOL000422	Kaempferol(山柰酚)	黄芪、石菖蒲	41
DS58	MOL007123	miltirone II(丹参新酮 II)	丹参	40

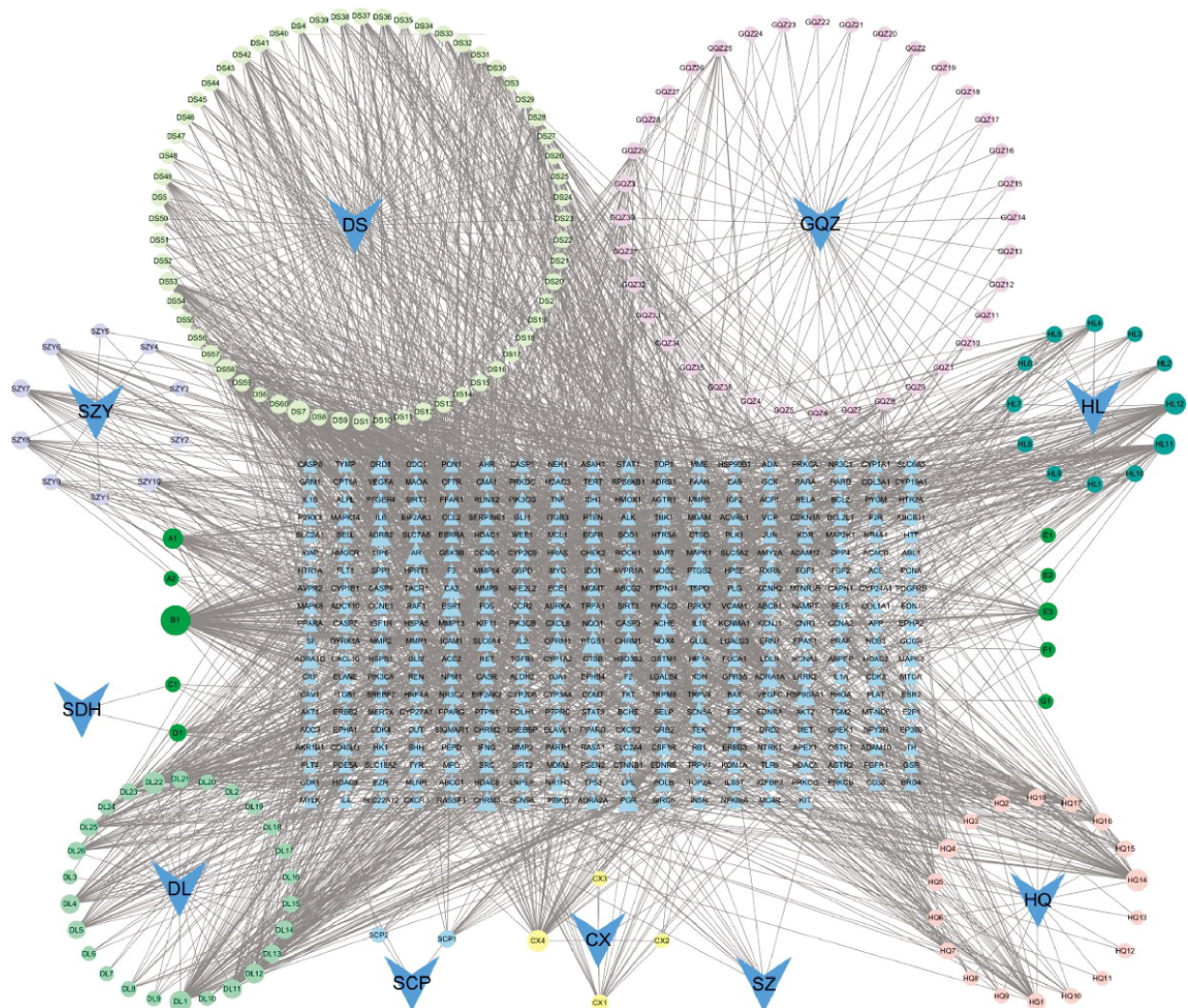


图2 “复方-有效成分-交集靶点”网络图

Fig.2 Network diagram of compound-active component-intersecting targets

注:箭头表示药物,圆形表示药物的活性成分,深绿色圆形表示药物间的共有活性成分,三角形表示与疾病相关的交集靶点。

(betweenness centrality, BC)“特征向量中心性 (eigenvector centrality, EC)”。以 $DC \geq$ 两倍中位数、 $EC \geq$ 中位数为筛选标准,获得核心靶点。初步根据 $DC \geq 12$ 筛选靶点,进一步根据 $EC \geq 0.091$ 筛选出核心靶点 37 个。网络中颜色越深、圆圈越大,表示靶点的度值越大,根据度值由大到小得出 5 个关键靶

点,包括 TP53、AKT1、SRC、HSP90AA1、STAT3,提示可能是左归降糖通脉方治疗 DNB 的潜在核心靶点。详见图 3。

2.5 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

将 2.2 交集靶点基因导入 DAVID 数据库,得到 GO 功能及 KEGG 通路富集分析结果,再通过微生

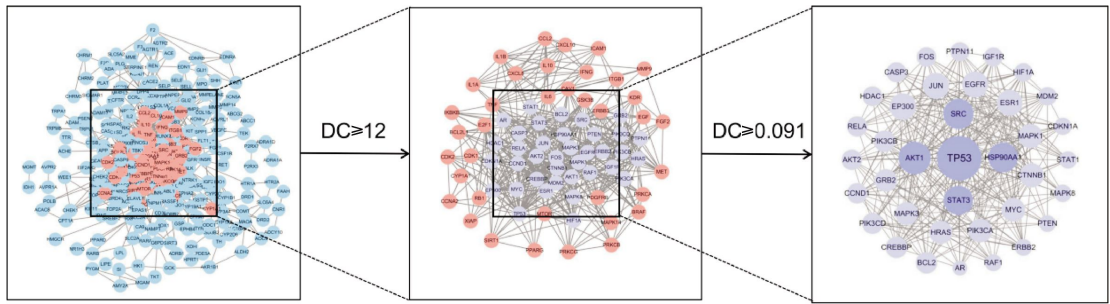


图3 PPI 构建及核心靶点筛选

Fig.3 Construction of PPI network and screening of core targets

注:节点代表药物作用于疾病的靶点,连线代表靶点间相互作用。

信在线平台进行可视化绘图。GO 分析得到 $P < 0.05$ 的 BP 条目 1 077 条、CC 条目 120 条、MF 条目 260 条。将 P 值排名前 10 的 BP、CC、MF 利用微生信在线平台绘制气泡图, 详见图 4。由图可知, 左归降糖通脉方治疗 DNB 主要涉及 BP 包括对外源性物质刺激的响应、细胞群体增殖的正向调控、MAPK 级联反应的正向调控、抑制凋亡过程、表皮生长因子受体信号通路等; 主要涉及的 CC 包括质膜、受体复合物、细胞表面、含蛋白复合物、细胞质等; 主要涉及的 MF 包括同源蛋白结合、酶结合、蛋白激酶活性、干细胞因子受体活性、蛋白酪氨酸激酶受体活性、胎盘生长因子受体活性、肝细胞生长因子受体活性、GPI-链接 ephrin 受体活性、脑源性神经营养因子受体活性、boss 受体活性等。

KEGG 通路富集分析得到 $P < 0.05$ 的条目共 186 条, 根据 P 值选取排名前 20 的通路利用微生信在线平台绘制气泡图, 详见图 5。由 KEGG 通路富集结果可知, 左归降糖通脉方治疗 DNB 的关键通路为癌症通路、前列腺癌、AGE-RAGE 信号通路在糖尿病并发症中的作用、脂质和动脉粥样硬化、PI3K-Akt 信号通路、癌症中的蛋白聚糖、乙型肝炎、表皮生长因子受体酪氨酸激酶、抑制剂耐药性、非小细胞肺癌、内分泌抵抗等。

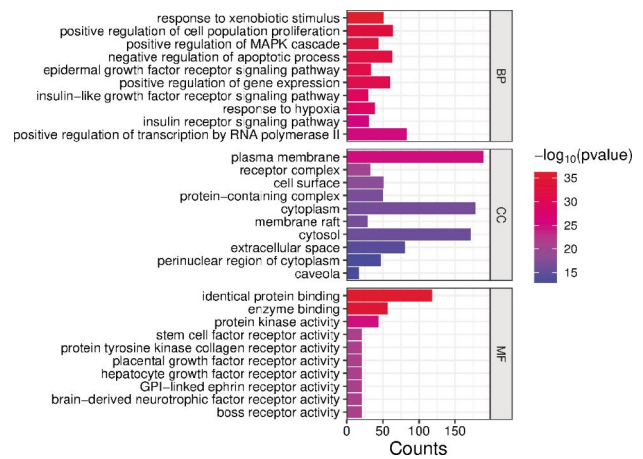


图 4 GO 功能富集分析条形图

Fig.4 Bar chart of GO functional enrichment analysis

2.6 分子对接结果及可视化

选取 2.3“复方-有效成分-交集靶点”网络中 Degree 值前 5 的成分(槲皮素、黄芪异黄酮苷、二氢辣椒素、2-去甲基槲皮素-3、木犀草素)与 2.4PPI 网络分析中得到的 Degree 值前 5 的核心靶点(TP53、AKT1、SRC、HSP90AA1、STAT3)分别进行分子对接, 将每对组合的最低结合能(vina score)结果以热图形式展示, 详见图 6。通过最低结合能的大小评估有效成分与疾病关键靶点的结合活性, 结合能越小表示分子对接结合效果越好, 结合能 < -5 kcal/mol 表

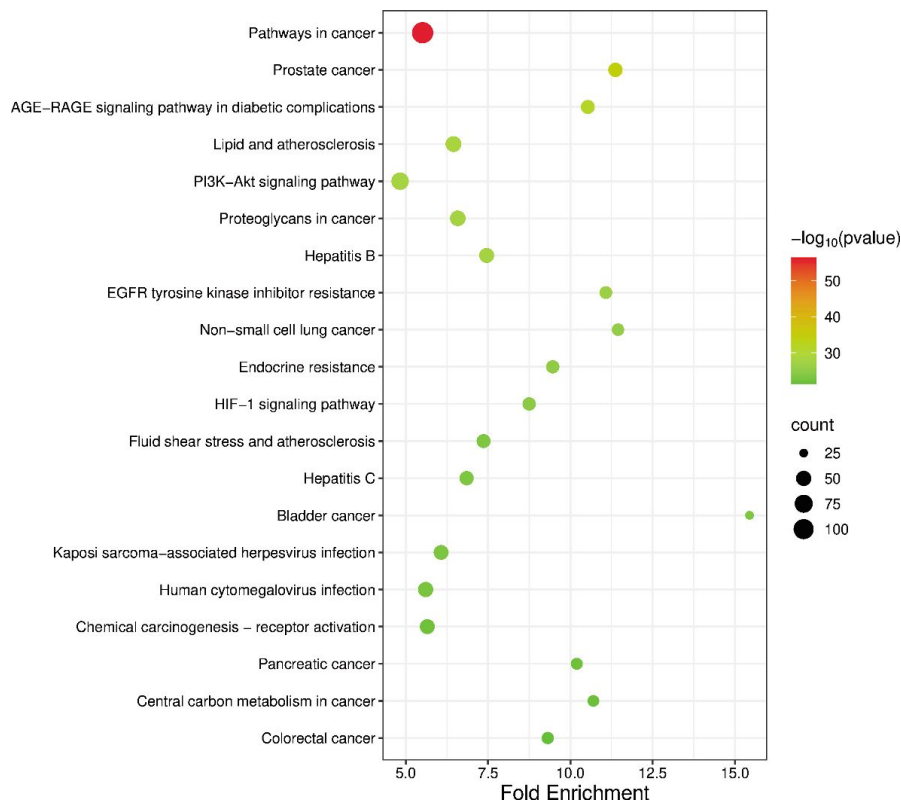


图 5 KEGG 通路富集分析气泡图

Fig.5 Bubble plot of KEGG pathway enrichment analysis

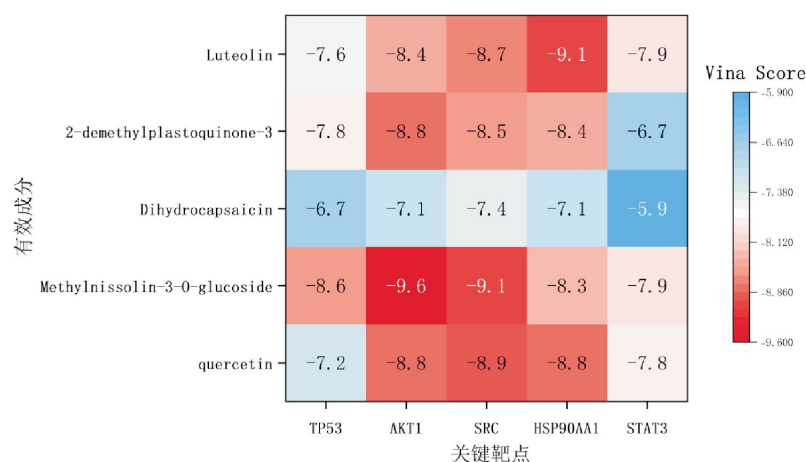


图6 5个主要成分与核心靶点结合能热图

Fig.6 Heatmap of binding energy between the five main active components and core targets

注:红色越深表示结合能越小,结合效果越好;蓝色越深则表示结合能越大,结合效果越差。

示结合活性较好,结合能 <-7 kcal/mol 表示结合活性较强。其中,黄芪异黄烷苷(Methylnissolin-3-O-glucoside)与 AKT1 结合最为紧密。为进一步分析其结合模式,选取结合能排名前4的有效成分-疾病靶点复合物导入 PyMol 软件进行结合模式可视化展示。详见图 7。

2.7 不同干预方式对大鼠尿流动力学的影响

与空白组比较,模型组大鼠最大膀胱容量增加($P<0.05$);与模型组比较,各干预组最大膀胱容量差异均无统计学意义($P>0.05$)。与空白组比较,模型组大鼠漏尿点压降低($P<0.05$);与模型组比较,中剂量组漏尿点压增加($P<0.05$),其余干预组差异均无统计学意义($P>0.05$)。与空白组比较,模型组大鼠膀胱顺应性增加($P<0.05$)。与模型组比较,各干预组膀胱

顺应性未见明显变化($P>0.05$)。与空白组比较,模型组大鼠排尿时长延长($P<0.05$);与模型组比较,低、中、高剂量组及阳性药物组排尿时长均缩短($P<0.05$)。与空白组比较,模型组大鼠排尿速度降低($P<0.05$);与模型组比较,低、中、高剂量组及阳性药物组排尿速度均增加($P<0.05$)。详见表 3。

2.8 不同干预方式对大鼠膀胱靶点蛋白的影响

与空白组比较,模型组靶点蛋白 p-AKT、p-STAT3、p-SRC、p53、HSP90 表达量均增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组比较,低剂量组靶点蛋白 p-AKT、p-STAT3、p-SRC、p53、HSP90 蛋白表达虽有下降趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$);中剂量组靶点蛋白 p-AKT、p-STAT3、p53 表达降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$), p-SRC、HSP90 蛋白表达虽差异无统计学意义($P>$

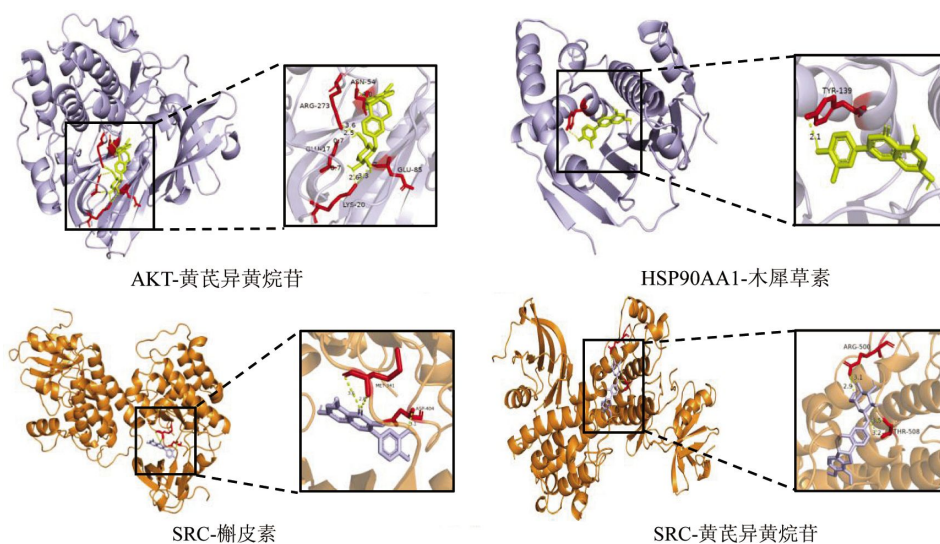


图7 结合能排名前4的组合分子对接模式图

Fig.7 Molecular docking modes of the top four complexes ranked by binding energy

表 3 各组大鼠尿流动力学相关参数比较($\bar{x}\pm s, n=5$)

Table 3 Comparison of urodynamic parameters among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	最大膀胱容量/mL	漏尿点压/cmH ₂ O	膀胱顺应性/(mL/cmH ₂ O)	排尿时长/s	排尿速度/(mL/s)
空白组	1.82±0.43	34.85±9.03	0.05±0.01	3.64±0.59	0.19±0.03
模型组	5.14±0.60*	20.88±2.48*	0.25±0.04*	26.30±9.40*	0.04±0.03*
低剂量组	6.58±3.72	25.23±5.50	0.26±0.13	15.92±7.90 [#]	0.14±0.04 [#]
中剂量组	4.58±2.81	29.16±3.00 [#]	0.16±0.09	9.06±3.21 [#]	0.13±0.07 [#]
高剂量组	4.16±0.98	25.11±3.02	0.17±0.05	8.60±3.14 [#]	0.15±0.12 [#]
阳性药物组	6.10±2.19	25.18±4.47	0.24±0.08	11.24±4.97 [#]	0.17±0.05 [#]

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$ 。

0.05),但呈现出下降趋势;高剂量组仅 p-AKT 蛋白表达降低($P<0.05$),其余蛋白表达差异均无统计学意义($P>0.05$);阳性药物组 p-AKT、p-STAT3、p-SRC、p53、HSP90 蛋白表达均降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与阳性药物组比较,中剂量组各项蛋白表达差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见图 8。

2.9 不同干预方式对大鼠膀胱 AGE-RAGE 信号通路蛋白的影响

与空白组比较,模型组 AGE、RAGE 蛋白表达均

显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,低剂量组 AGE、RAGE 蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$);中剂量组 AGE、RAGE 蛋白表达均显著下降($P<0.01$);高剂量组 AGE、RAGE 蛋白表达下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$),但下降幅度稍少于中剂量组;阳性药物组 AGE、RAGE 蛋白表达均显著下降($P<0.01$)。与阳性药物组比较,中剂量组各项蛋白表达差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见图 9。

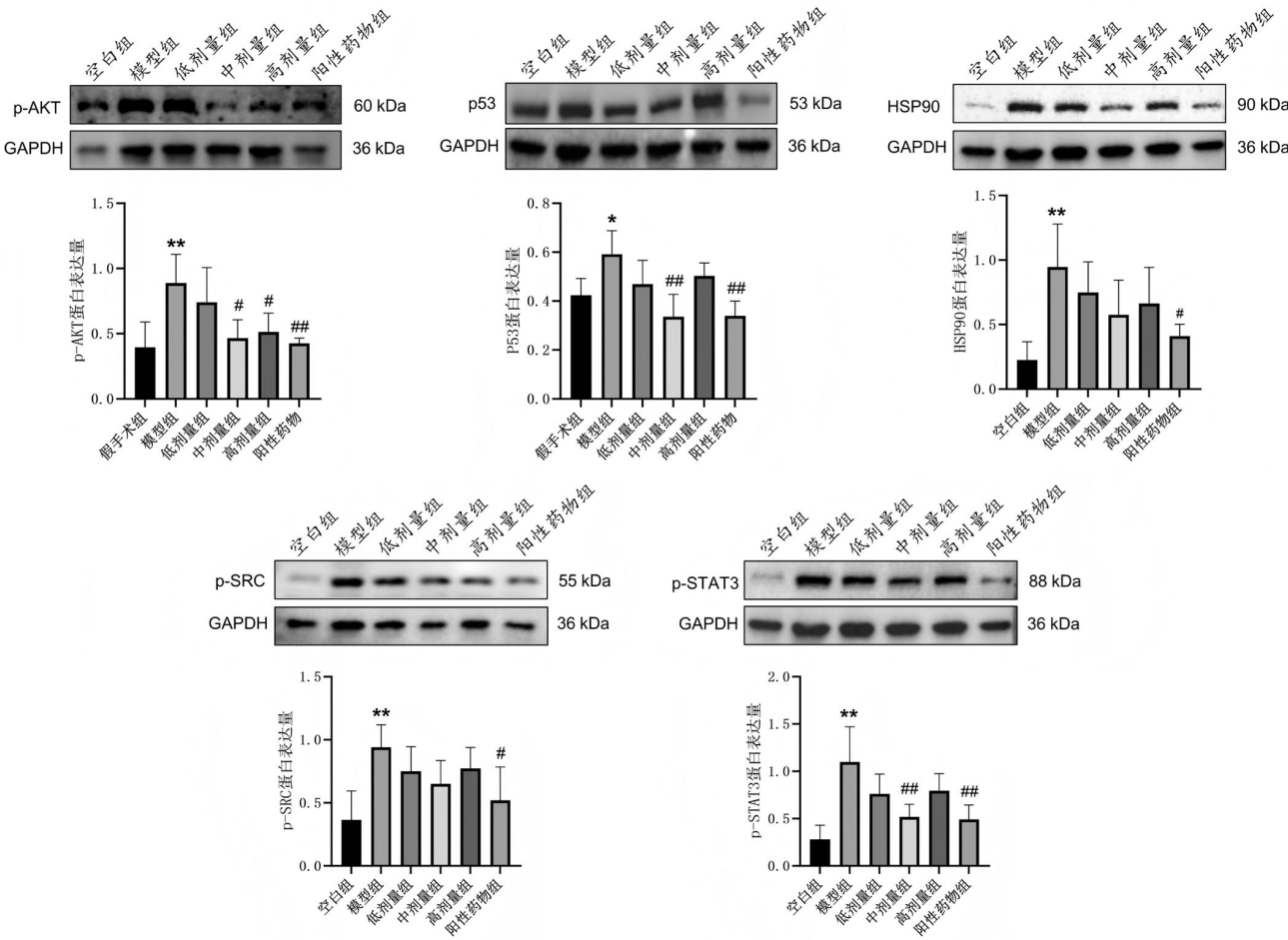


图 8 各组大鼠膀胱靶点蛋白表达比较($\bar{x}\pm s, n=5$)

Fig.8 Comparison of target protein expression in the bladders among different groups of rats ($\bar{x}\pm s, n=5$)

注:与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$ 。

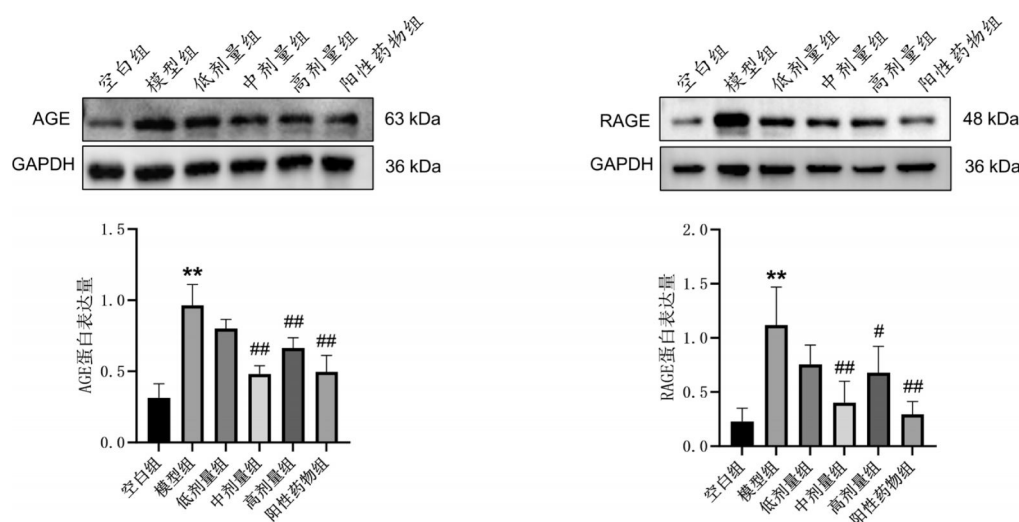


图9 各组大鼠膀胱 AGE-RAGE 信号通路蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Fig.9 Comparison of protein expression of the AGE-RAGE signaling pathway in the bladders among different groups of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

3 讨论

长期高血糖所致自主神经功能障碍是 DNB 发生发展的重要病理基础^[35-37],由此引起的排尿困难、尿潴留及尿失禁等下尿路功能异常可严重影响患者生活质量^[38]。中医学认为,DNB 病机多属本虚标实,以气阴两虚为本,瘀血、痰浊、湿热为标。左归降糖通脉方由左归丸化裁而来,具有滋肾养阴、活血通脉之功,契合本病的基本病机。前期研究显示,该方在糖尿病及其血管并发症中具有一定疗效,但其改善 DNB 的具体作用环节尚未完全阐明。本研究采用网络药理学联合分子对接技术,系统筛选左归降糖通脉方治疗 DNB 的活性成分与潜在靶点,并通过动物实验对关键信号通路进行验证,初步揭示了该方“多成分-多靶点-多通路”协同调控 DNB 的作用机制。

本研究首先通过网络药理学筛选出左归降糖通脉方与 DNB 的共同靶点 357 个,其中核心活性成分包括槲皮素、黄芪异黄酮、二氢辣椒素、2-去甲基酪氨酸-3、木犀草素等,核心靶点为 TP53、AKT1、SRC、HSP90AA1、STAT3。KEGG 通路富集分析提示,AGE-RAGE 信号通路在糖尿病并发症中的作用尤为突出,提示该通路可能是左归降糖通脉方治疗 DNB 的关键通路之一。分子对接结果显示,上述核心成分与核心靶点均具有良好的结合活性,其中黄芪异黄酮与 AKT1 结合最为紧密,提示该成分可能通过调控 AKT

信号通路发挥保护作用。在长期高血糖环境下,AGE-RAGE 信号通路被过度激活,触发下游氧化应激与炎症级联反应,而 AKT1、STAT3、SRC、p53、HSP90AA1 等关键分子恰好处于该通路及其交叉网络中,分别参与着细胞的代谢与存活、慢性炎症反应、氧化应激、细胞凋亡、稳定促炎等生理活动,共同构成了 DNB“代谢异常-氧化应激-炎症-凋亡”的恶性网络。因此,左归降糖通脉方若能同时干预这些关键靶点并抑制 AGE-RAGE 通路,便有可能从整体上逆转或延缓 DNB 的病理进程。基于网络药理学与分子对接的预测结果,本研究进一步通过采用雌性 SD 大鼠进行动物实验以验证该方的作用效应。尽管 DNB 存在性别差异,但长期高血糖引发的各种通路改变远强于动情周期激素波动的影响^[39-41],加之雌性 SD 大鼠尿道短直便于无创导尿^[42],且女性是该病高发人群^[43],故选用雌性模型具有科学依据。

在动物实验中,尿流动力学检测是客观评估 DNB 模型大鼠膀胱功能的关键手段^[44]。结果显示,与模型组相比,中剂量左归降糖通脉方组大鼠的漏尿点压和排尿速度显著增加、排尿时长显著缩短,且改善效果优于低剂量组、高剂量组和阳性药物组。进一步 Western blot 结果显示,模型组大鼠膀胱组织中 p-AKT、p-STAT3、p53、p-SRC、HSP90 蛋白表达均显著升高,提示 DNB 状态下上述信号分子被异常激活,可能参与了膀胱神经损伤及逼尿肌功能紊乱。经左归降糖通脉方干预后,中剂量组 p-AKT、p-STAT3、p53

表达显著下降, p-SRC、HSP90 亦呈下降趋势; 而高剂量组仅 p-AKT 显著下降, 其余靶点无统计学差异。值得注意的是, 中剂量组在改善尿流动力学指标和下调靶点蛋白表达方面均优于低剂量组和高剂量组, 呈现出非线性的剂量-效应关系。这种规律可能源于中药复方多成分的协同与拮抗平衡作用, 在中剂量时各成分血药浓度恰能实现最佳协同, 而低剂量时部分成分未达有效浓度, 高剂量时某些成分则可能产生非特异性作用或竞争性抑制, 削弱整体疗效。同时, DNB 状态下 AKT、STAT3 等信号通路的异常激活存在调控阈值, 中剂量可将其适度下调至接近生理水平, 而高剂量可能导致过度抑制, 触发细胞的代偿性负反馈, 减弱持续干预效果。此外, 高剂量还可能增加药物中潜在毒性成分的暴露, 对膀胱组织造成轻微氧化应激或炎症刺激, 部分抵消治疗效益。此外, 本研究中阳性药物 α -硫辛酸虽然能显著下调多个靶点蛋白, 但在尿流动力学改善方面并未优于中剂量左归降糖通脉方, 提示中药复方通过多靶点整合调节的优势可能优于单一成分的抗氧化干预。

AGE-RAGE 信号通路蛋白检测结果显示, 模型组大鼠膀胱组织中 AGE、RAGE 蛋白表达显著升高, 而中、高剂量左归降糖通脉方均可显著降低其表达, 且中剂量组下降最为显著, 并与阳性药物组相比无统计学差异。这表明左归降糖通脉方可能通过抑制 AGE-RAGE 信号通路, 减轻膀胱组织中的氧化应激与炎症反应, 从而改善神经源性膀胱功能。结合 KEGG 通路富集结果中 AGE-RAGE 通路的显著富集, 以及 AKT、STAT3 等靶点与该通路的上下游调控关系, 本研究认为 AGE-RAGE 信号通路是该方发挥治疗作用的核心信号轴之一, 而 AKT1、STAT3、SRC、p53、HSP90 则可能是该通路下游的关键效应分子。

综上所述, 本研究通过网络药理学预测结合动物实验验证, 初步揭示了左归降糖通脉方可通过调控 AKT1、STAT3 等核心靶点及 AGE-RAGE 信号通路, 改善 DNB 模型大鼠的排尿功能。该结果为左归降糖通脉方的临床精准应用提供了实验依据, 也为中医药治疗糖尿病并发症的机制研究提供了方法学参考。但本研究还存在网络药理学数据库信息不完善、动物实验样本量较小、未设置信号通路特异性抑制剂进行反向验证以及未对多时间点动态变化进行

监测等局限性, 未来研究可进一步通过扩大样本量、结合基因敲除或特异性抑制剂干预以及联合多组学分析等方法对上述结果进行深入验证。

参考文献

- [1] Matri A R. Neuropathology of diabetic neurogenic bladder[J]. *Annals of Internal Medicine*, 1980, 92(2 Pt 2): 316-318.
- [2] Liao L M. Evaluation and management of neurogenic bladder: What is new in China? [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(8): 18580-18600.
- [3] 李生龙, 龚美胜, 卢刚刚, 等. 糖尿病神经源性膀胱治疗现状[J]. *数理医药学杂志*, 2024, 37(3): 211-216.
- [4] 刘凡清, 杨宇峰. 基于“燥热拂郁”理论探讨糖尿病神经源性膀胱的防治[J]. *实用中医内科杂志*, 2026, 40(1): 48-51.
- [5] 李生龙, 赵永强, 贾云鹏, 等. 中医药治疗糖尿病性神经源性膀胱研究进展[J]. *山东中医杂志*, 2024, 43(4): 435-440.
- [6] 董艳, 刘震钢, 刘媛, 等. 电针对糖尿病神经源性膀胱患者膀胱功能影响的随机对照研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2025, 52(4): 170-173.
- [7] 姚文平, 李明, 田卫, 等. 电针结合长针骶刺治疗糖尿病神经源性膀胱的疗效分析及尿流动力学研究[J]. *针灸临床杂志*, 2025, 41(1): 47-51.
- [8] 姚南珍, 蔡宏桂. 电针八髎穴对糖尿病神经源性膀胱患者氧化应激、神经传导速度和尿流动力学的影响[J]. *针灸临床杂志*, 2024, 40(11): 40-44.
- [9] 彭岚玉, 李定祥, 姚敬心, 等. 基于肠道菌群及其代谢产物 SCFA 探讨左归降糖通脉方对 2 型糖尿病大鼠脂代谢的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2024, 44(3): 365-373.
- [10] 彭岚玉, 李定祥, 姚敬心, 等. 基于 GPR43/ β -arrestin-2/I κ B α /NF- κ B 通路探讨左归降糖通脉方对糖尿病大鼠血管内皮炎症保护的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2024, 44(5): 558-566.
- [11] 陈静, 吴琴, 张亚男, 等. 左归降糖通脉方对糖尿病动脉粥样硬化小鼠短链脂肪酸及 G 蛋白偶联受体 109A 的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2025, 32(3): 76-82.
- [12] 蔡昱哲, 李定祥, 刘艺璇, 等. 左归降糖通脉方对 2 型糖尿病合并脑梗死大鼠坏死性凋亡通路的影响[J]. *中成药*, 2024, 46(9): 2936-2942.
- [13] 李钰佳, 李定祥, 张熙, 等. 基于 AGEs/RAGE/NF- κ B 通路探讨左归降糖通脉方对大鼠脑微血管内皮细胞损伤的保护作用[J]. *湖南中医药大学学报*, 2022, 42(7): 1057-1063.
- [14] 薛潇春, 胡晋红. 网络药理学研究方法与应用进展[J]. *药学实践杂志*, 2015, 33(5): 401-405.
- [15] Li S, Xiao W. General expert consensus on application of network pharmacology in research and development of new traditional Chinese medicine drugs[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2024, 49(18): 5055-5068.
- [16] 乔会晶, 戴子茹, 葛广波, 等. 分子对接技术在新药研发领域中的应用进展[J]. *南阳师范学院学报*, 2015, 14(12): 29-34, 35.

- [17] Li X L, Li Z F. Advances in the application of molecular docking in nanomedicine[J]. Journal of Computer-Aided Molecular Design, 2026, 40(1): 70.
- [18] 马宇慧, 孟佳磊. 基于网络药理学及分子对接探讨槐花-地榆药对治疗溃疡性结肠炎的作用机制[J]. 中药新药与临床药理, 2026, 37(1): 107-114.
- [19] 于斋卓, 张亮, 陈九, 等. 基于网络药理学、分子对接和细胞试验探究麻杏石甘汤对牛支原体感染的治疗机制[J]. 中国畜牧兽医, 2026, 53(2): 995-1008.
- [20] 邱玺瑞, 朱钰晴, 王敏华, 等. 基于网络药理学、分子对接和实验验证探究散寒化湿方治疗呼吸道合胞病毒肺炎的作用机制[J]. 南京中医药大学学报, 2026, 42(1): 65-78.
- [21] Ru J L, Li P, Wang J N, et al. TCMSPP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. Journal of Cheminformatics, 2014, 6(1): 13.
- [22] Gao K, et al. HERB 2.0: An updated database integrating clinical and experimental evidence for traditional Chinese medicine[J]. Nucleic Acids Research, 2025, 53(D1): D1404-D1414.
- [23] Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 42717.
- [24] Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: Updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules[J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(W1): W357-W364.
- [25] Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, et al. The GeneCards suite: From gene data mining to disease genome sequence analyses[J]. Current Protocols in Bioinformatics, 2016, 54: 1.30.1-1.30.33.
- [26] Amberger J S, Bocchini C A, Scott A F, et al. OMIM.org: Leveraging knowledge across phenotype-gene relationships [J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(D1): D1038-D1043.
- [27] Szklarczyk D, Nastou K, Koutrouli M, et al. The STRING database in 2025: Protein networks with directionality of regulation[J]. Nucleic Acids Research, 2025, 53(D1): D730-D737.
- [28] Tang D D, Chen M J, Huang X H, et al. SRplot: A free online platform for data visualization and graphing[J]. PLoS One, 2023, 18(11): e0294236.
- [29] Liu Y, Yang X C, Gan J H, et al. CB-Dock2: Improved protein-ligand blind docking by integrating cavity detection, docking and homologous template fitting[J]. Nucleic Acids Research, 2022, 50(W1): W159-W164.
- [30] Antypenko L, Shabelnyk K, Antypenko O, et al. In silico identification and characterization of spiro [1, 2, 4] triazolo [1, 5 -c] quinazolines as diacylglycerol kinase α modulators[J]. Molecules, 2025, 30(11): 2324.
- [31] 方元龙, 周兴, 陈潮江, 等. 链脲佐菌素制备糖尿病神经源性膀胱大鼠模型研究[J]. 解剖学研究, 2013, 35(6): 439-442.
- [32] 韩栩珂, 陈一丁, 陈慧臻, 等. 2型糖尿病神经源性膀胱大鼠模型的建立与评价[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(17): 2713-2719.
- [33] Xu S F, Du G H, Abulikim K, et al. Verification and defined dosage of sodium pentobarbital for a urodynamic study in the possibility of survival experiments in female rat[J]. BioMed Research International, 2020, 2020: 6109497.
- [34] 许明, 张泓, 张健, 等. 电针对骶上脊髓损伤后神经源性膀胱大鼠尿流动力学及脊髓组织中半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3表达的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2017, 32(12): 1338-1344.
- [35] 杨超, 张阁钧, 刘校吾, 等. 糖尿病大鼠膀胱平滑肌组织中 AGEs 与 iNOS 表达的相关性研究[J]. 中国医科大学学报, 2011, 40(9): 822-824.
- [36] 董兴有, 赵江, 朱景振, 等. AGEs 激活 RAGE/p38-MAPK 信号通路参与糖尿病膀胱逼尿肌细胞凋亡的机制研究[C]//全国泌尿外科学术会议, 2018: 1.
- [37] 李顺. 糖尿病膀胱病排尿功能障碍的机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2016.
- [38] 刘就娣, 张帆. 糖尿病神经源性膀胱的治疗进展[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2012, 32(3): 177-179, 183.
- [39] Visco A G, Cholhan H J, O'Toole L, et al. Effects of menstrual cycle and urinary tract instrumentation on uroflowmetry[J]. Neurourology and Urodynamics, 2000, 19(2): 147-152.
- [40] Lin H H, Yang Y, Wang X, et al. Targeting the AGEs-RAGE axis: Pathogenic mechanisms and therapeutic interventions in diabetic wound healing[J]. Frontiers in Medicine, 2025, 12: 1667620.
- [41] Izumi K, Kamijo T C, Oshiro T, et al. Time-dependent bladder activity changes in streptozotocin-induced female diabetic rats[J]. Physiological Reports, 2025, 13(4): e70220.
- [42] Reis L O, Sopena J M, Fávoro W J, et al. Anatomical features of the urethra and urinary bladder catheterization in female mice and rats. An essential translational tool[J]. Acta Cirurgica Brasileira, 2011, 26(Suppl 2): 106-110.
- [43] Patra P B, Patra S. Sex differences in the physiology and pharmacology of the lower urinary tract[J]. Current Urology, 2013, 6(4): 179-188.
- [44] 刘夏铭, 王蕊, 徐邓建伟, 等. 尿流动力学检测仪器的历史、现状及展望[J]. 现代泌尿外科杂志, 2024, 29(11): 1017-1020, 1027.

(本文编辑 匡静之)