

本文引用: 周 钰, 刘一凡, 姜维娜, 宫成军. 益元饮通过下调 TGF- β 1/PI3K/Akt 信号通路治疗糖尿病肾病的作用机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(3): 490–498.

益元饮通过下调 TGF- β 1/PI3K/Akt 信号通路治疗 糖尿病肾病的作用机制

周 钰¹, 刘一凡¹, 姜维娜², 宫成军^{2*}

1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110032; 2. 辽宁中医药大学附属医院, 辽宁 沈阳 110032

〔摘要〕 **目的** 探讨益元饮通过调节转化生长因子- β 1(TGF- β 1)/磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)信号通路治疗糖尿病肾病的作用机制。**方法** 75 只 SPF 级雄性 Wistar 大鼠随机分为 5 组, 包括正常组、模型组、益元饮组(23.52 g·kg⁻¹·d⁻¹)、胰激肽原酶片组(36 U·kg⁻¹·d⁻¹)、真武汤组(4.2 g·kg⁻¹·d⁻¹), 每组 15 只。除正常组外, 其余通过高糖高脂饮食喂养 4 周后, 联合腹腔注射链脲佐菌素(STZ)(30 mg·kg⁻¹·d⁻¹)构建糖尿病肾病大鼠模型, 连续干预 8 周。观察各组大鼠的一般情况; HE 与 Masson 染色观察肾脏组织病理改变; 记录各组大鼠随机血糖(GLU)、24 h 尿蛋白定量(24 hUTP)、尿白蛋白/肌酐(UACR); Western blot 检测肾组织 TGF- β 1、PI3K、Akt、磷酸化 PI3K(p-PI3K)、磷酸化 Akt(p-Akt)及纤维连接蛋白(FN)的表达水平。**结果** 正常组大鼠一般情况良好, 精神、饮食、活动、饮水量与排泄量正常; 模型组大鼠精神萎靡, 毛发光泽差, 出现多饮、多食、多尿症状; 益元饮组大鼠精神状态、活动度、对外界刺激应答等表现有显著恢复, 饮水量与尿量较模型组减少, 体重稳定增长; 胰激肽原酶片组大鼠精神状态及活动度等表现恢复较好, 真武汤组大鼠精神较活跃, 但仍嗜卧倦怠, 对外界刺激反应较为迟滞。正常组大鼠肾小球形态规整, 肾间质仅见少量蓝染胶原纤维; 模型组第 8 周出现肾脏肾小球系膜基质显著增生, 肾小管上皮细胞水肿, 肾间质胶原纤维大量沉积; 真武汤组恢复效果居中; 益元饮组及胰激肽原酶片组, 肾小球和肾小管形态恢复较好, 肾间质纤维化程度明显下降。与正常组比较, 模型组大鼠体重质量降低($P<0.05$)、GLU 升高($P<0.05$)、24 hUTP 水平升高($P<0.05$)、UACR 水平升高($P<0.05$), 肾组织中 TGF- β 1、p-PI3K、p-Akt 和 FN 蛋白表达上调($P<0.01$)。与模型组比较, 各治疗组体重质量有所增加($P<0.05$), 肾脏肥大指数均降低($P<0.05$), 24 hUTP 水平、UACR 水平均下降($P<0.05$), 且各治疗组均能显著抑制 TGF- β 1 的表达($P<0.01$), 并降低 PI3K、Akt 的磷酸化水平($P<0.05$, $P<0.01$), 同时下调 FN 蛋白表达水平($P<0.05$, $P<0.01$)。与真武汤组比较, 胰激肽原酶片组 24 hUTP 水平、UACR 水平均下降($P<0.05$); 益元饮组体重质量升高($P<0.05$), 24 hUTP 水平、UACR 水平均下降($P<0.05$)。益元饮组上述指标改善程度与胰激肽原酶片组相当($P>0.05$)。**结论** 益元饮能够降低 DKD 大鼠的血糖水平、改善肾功能、改善肾脏病理损伤, 延缓 DKD 进程, 其作用机制可能与抑制 TGF- β 1/PI3K/Akt 信号通路激活有关。

〔关键词〕 糖尿病肾病; 肾纤维化; 益元饮; 转化生长因子- β 1/磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路; 链脲佐菌素

〔中图分类号〕 R285.5

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.03.008

Mechanism of action of Yiyuan Drink in treating diabetic kidney disease by down-regulating the TGF- β 1/PI3K/Akt signaling pathway

ZHOU Yu¹, LIU Yifan¹, JIANG Weina², GONG Chengjun^{2*}

1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, Liaoning 110032, China;

〔收稿日期〕 2025-12-01

〔基金项目〕 辽宁省教育厅 2023 年度高等学校基本科研项目(JYTMS20231818); 第五批全国中医临床优秀人才研修项目(国中医药人教函〔2022〕1 号); 全国名老中医药专家传承工作室建设项目(国中医药人教函〔2022〕75 号)。

〔通信作者〕 * 宫成军, 男, 主任医师, 教授, E-mail: hongjunxue25@126.com。

2. The First Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang
Liaoning 110032, China

[Abstract] **Objective** To investigate the mechanism of action by which Yiyuan Drink treats diabetic kidney disease (DKD) by regulating the transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)/phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway. **Methods** Seventy-five SPF male Wistar rats were randomly divided into five groups: control group, model group, Yiyuan Drink group ($23.52 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), pancreatic kininogenase tablets group ($36 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), and Zhenwu Decoction group ($4.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), with 15 rats in each group. Except for the control group, the remaining rats were fed with a high-sugar and high-fat diet for 4 weeks, followed by intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ, $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) to establish the DKD model. Treatments were administered for 8 successive weeks. The general conditions of rats in each group were observed. Renal histopathological changes were examined by HE and Masson staining. Random blood glucose (GLU), 24-hour urinary protein (24 hUTP), and urinary albumin-to-creatinine ratio (UACR) in each group were measured. Western blot analysis was performed to test the expression levels of TGF- β 1, PI3K, Akt, phosphorylated PI3K (p-PI3K), phosphorylated Akt (p-Akt), and fibronectin (FN) in renal tissues. **Results** Rats in the control group exhibited good overall conditions, including normal mental state, appetite, activity levels, water intake, and excretion. Rats in the model group exhibited lethargy, lusterless hair, and polydipsia, polyphagia, and polyuria. Rats in the Yiyuan Drink group showed significant improvement in mental state, activity levels, and responses to external stimuli; their water intake and urine output were reduced compared to the model group, and their body weight increased steadily. Rats in the kininogenase tablet group showed relatively good recovery in mental state and activity levels. Rats in the Zhenwu Decoction group were relatively active but still exhibited a tendency to lie down and appeared lethargic, with sluggish responses to external stimuli. Histopathological examination revealed that rats in the control group had regular glomerular morphology and minimal collagen deposition in the renal interstitium. In contrast, rats in the model group showed marked mesangial matrix proliferation, tubular epithelial cell edema, and massive collagen deposition in the renal interstitium by week 8. The Zhenwu Decoction group showed moderate recovery, while the Yiyuan Drink and the pancreatic kininogenase tablets groups showed improved renal morphology and reduced renal interstitial fibrosis. Compared with the control group, rats in the model group exhibited reduced body weight ($P < 0.05$), elevated GLU levels ($P < 0.05$), increased 24-hUTP levels ($P < 0.05$), and elevated UACR ($P < 0.05$), along with significantly upregulated expressions of TGF- β 1, p-PI3K, p-Akt, and FN ($P < 0.01$) in renal tissues. Compared with the model group, all treatment groups exhibited increased body weight ($P < 0.05$), decreased renal hypertrophy index ($P < 0.05$), reduced 24-h UTP and UACR levels ($P < 0.05$). Furthermore, all treatment groups significantly suppressed TGF- β 1 expression ($P < 0.01$) and reduced the phosphorylation levels of PI3K and Akt ($P < 0.05$, $P < 0.01$), while simultaneously downregulating the expression levels of the FN protein ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the Zhenwu Decoction group, the pancreatic kininogenase tablets group showed decreased levels of 24-h UTP and UACR ($P < 0.05$). In the Yiyuan Drink group, body weight increased ($P < 0.05$), while the levels of 24-h UTP and UACR were reduced ($P < 0.05$). The degree of improvement in the aforementioned indicators in the Yiyuan Drink group was comparable to that in the Pancreatin kininogenase tablets group ($P > 0.05$). **Conclusion** Yiyuan Drink can reduce GLU levels, improve renal function, and alleviate pathological damage in DKD rats, thereby delaying the progression of DKD. Its underlying mechanism of action may be related to inhibiting the activation of the TGF- β 1/PI3K/Akt signaling pathway.

[Keywords] diabetic kidney disease; renal fibrosis; Yiyuan Drink; TGF- β 1/PI3K/Akt signaling pathway; streptozotocin

糖尿病肾病(diabetic kidney disease, DKD)是糖尿病最常见的微血管并发症,其核心病理环节是肾小管间质纤维化(tubulointerstitial fibrosis, TIF)^[1-3]。据统计,预计到2045年,成年糖尿病患者比例将达12.5%,其中30%~40%将出现不同程度的肾功能损害,并发展为DKD^[4-5]。临床上,常规降糖药物(如双

胍类、磺酰脲类等)在长期应用中常伴随消化道反应、低血糖及肝肾损伤等风险^[6]。尽管常规降糖药物可通过控制高血糖延缓DKD的病程,但仍会使部分DKD患者最终发展到终末期肾衰竭^[7]。而中医药在该领域显示出独特优势^[8-9]。中医学将DKD归属于“水肿”“虚劳”等范畴,核心病机以气阴两虚为本,

以瘀血浊毒阻络为标^[10-11]。宫成军教授基于郭恩绵教授所创“肾衰饮”并结合自身临床经验化裁出“益元饮”,据此立益气养阴、活血通络之法,该方由黄芪、黄精、山药、山茱萸、丹参等 12 味药组成。现代药理研究证实,其组方核心成分(黄芪、白术)具有调节糖代谢、抑制炎症与氧化应激、抗肾脏纤维化等作用^[12-13],为本方应用提供了药理学依据。

研究表明,DKD 肾纤维化的关键驱动因子是转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1),其可通过诱导上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)等机制促进细胞外基质(extracellular matrix, ECM)沉积^[14-15]。TGF- β 1 的促纤维化效应与磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)信号通路的激活密切相关,该通路是调控细胞生长、代谢的核心枢纽^[16],PI3K/Akt 通路激活还能进一步加剧炎症反应并抑制保护性的细胞自噬,从而共同推动肾纤维化进程^[17-18]。课题组前期网络药理学预测发现,益元饮核心活性成分(如槲皮素^[19]、山柰酚^[20]等)的作用靶点显著富集于 PI3K/Akt 等信号通路。基于上述研究背景,本研究提出核心假说:益元饮可通过干预 TGF- β 1/PI3K/Akt 信号轴,从而延缓肾纤维化,发挥治疗 DKD 的作用。然而,该复方对此通路中具体分子事件的调控方式尚未完全阐明。因此,本研究通过构建链脲佐菌素(streptozocin, STZ)诱导的 DKD 大鼠模型,重点观察益元饮对该信号通路关键蛋白表达的影响,以期从现代药理学角度验证假说,深入阐释其“方证相应”的作用机制。

1 材料

1.1 动物来源

75 只 SPF 级雄性 Wistar 大鼠,体质量(200 ± 20) g,购自辽宁长生生物技术股份有限公司,生产许可证号:SCXK(辽)2020-0001。大鼠在室温 20℃左右、湿度 50%左右下饲养,明暗周期 12 h,适应性喂养 1 周,自由饮食饮水,实验室光源充足,通风良好。本实验经辽宁中医药大学伦理委员会批准实施,伦理审批号:21000042020053。

1.2 药物

益元饮组方:黄芪 30 g,黄精 20 g,白术 15 g,山药 20 g,山茱萸 20 g,丹参 20 g,金樱子 20 g,灵芝 15 g,钩藤 20 g,半枝莲 20 g,僵蚕 15 g,鳖甲

20 g。真武汤组方:茯苓 9 g,白芍 9 g,白术 6 g,生姜 9 g,炮附子 9 g。上述药物均购自辽宁中医药大学附属医院中药局。根据《中华人民共和国药典》(2020 年版)的方法制备,将药材置于 8 倍量冷水中浸泡 30 min,随后煎煮 30 min,重复煎煮 2 次;合并两次煎煮液,过滤后浓缩,分别制备成浓度为 1.3 g/mL 和 0.23 g/mL 的药液。胰激肽原酶片(规格:240 U $\times$ 24 片)购自常州千红生化制药股份有限公司。

1.3 主要试剂

柠檬酸钠缓冲液(福州飞净生物科技有限公司,0.1 mol/L、pH=4.5,货号:PH1716);链脲佐菌素(上海陶术生物科技有限公司,货号:T1507);TGF- β 1、PI3K、磷酸化 PI3K(phosphorylated PI3K, p-PI3K)、磷酸化 Akt(phosphorylated Akt, p-Akt)、纤维连接蛋白(fibronectin, FN)抗体(武汉博士德生物科技有限公司,货号:BA0290、AF3241、A00318、BM4390、BA1772);Akt 抗体(武汉爱博泰克生物科技有限公司,货号:A11027);HE 染色试剂盒(北京索莱宝生物科技有限公司,货号:G1280);Masson 染色试剂盒(武汉赛维尔生物科技有限公司,货号:G1006);无水乙醇、二甲苯(国药集团化学试剂有限公司,货号:10009259、10023428)。

1.4 主要仪器

电子体质量秤(北京宝元兴业科技有限公司,型号:By-dzc);血糖仪、试纸(强生医疗器械有限公司,货号:HC01200195、V271932);高速冷冻离心机(四川蜀科仪器有限公司,型号:TGL-1850);组织自动脱水机、石蜡包埋机、石蜡切片机(德国徕卡公司,型号:ASP300S、EG1150H、RM2235);化学发光成像系统(上海天能科技有限公司,型号:5200);SDS-PAGE 凝胶电泳系统、蛋白湿式转印系统、化学发光成像系统配套电泳电源[伯乐生命医学产品(上海)有限公司,型号:Mini-PROTEAN Tetra、Mini Trans-Blot、PowerPac Basic]。

2 方法

2.1 造模分组与给药

本课题组根据《药理实验方法学》^[21],基于体表面积的人和动物间等效剂量比值,在前期预实验中确定了动物给药量的计算方法,即:大鼠剂量(mg/kg)=成人剂量(mg/kg) $\times$ 6.25(成人体质量按 70 kg 计算)。其中,益元饮组为 23.52 g $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹(按生药量计算,

后同),真武汤组为 $4.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,胰激肽原酶片组为 $36 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

适应性饲养1周后,将75只大鼠随机取15只为正常组(普通饲料),其余60只为造模组(高糖高脂饲料)。4周后,正常组腹腔注射生理盐水;造模组腹腔注射 30 mg/kg STZ 构建 DKD 大鼠模型,连续3 d 血糖 $\geq 16.7 \text{ mmol/L}$ 者为 DKD 大鼠造模成功^[2]。最终造模成功52只,造模成功率86.7%,将其随机分为模型组、益元饮组、真武汤组、胰激肽原酶片组(西药组),每组13只。实验过程中因动物死亡等原因造成部分样本脱落,最终每组9只纳入统计分析。益元饮组、真武汤组分别按 $23.52, 4.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 剂量给药;胰激肽原酶片组按 $36 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 剂量给药;模型组与正常组给予等体积蒸馏水。之后每2周根据大鼠体质量调整用药剂量,用药周期为8周。

2.2 动物处死和肾脏组织处理

实验结束时,大鼠禁食(不禁水)12 h 称重后,经 CO_2 麻醉后处死。快速完整取出肾脏,右肾放入生理盐水中洗净,无菌纱布擦干,称量右肾质量以计算肾脏肥大指数。肾脏肥大指数=(右肾质量/最终体质量) $\times 100\%$ 。再取1/2左肾组织经4%多聚甲醛固定;剩余肾脏切成小块,置于液氮中,转至 -80°C 冰箱冷冻保存。

2.3 一般情况观察

实验过程中,每天观察大鼠的毛色光泽度、精神状态、摄食与饮水量的变化、体质量变化、二便量及日常活动情况。每隔2周,各组大鼠进行一次称重与尾静脉取血测定随机血糖,并记录。每隔4周,应用大鼠代谢笼收集各组大鼠(禁食不禁水)24 h 尿液,记录饮水量及尿量,留取尿液标本送检。

2.4 肾脏组织病理学变化

2.4.1 HE 染色 取经脱水、包埋、切片、脱蜡、脱苯后的大鼠肾脏组织,进行 HE 染色,经乙醇梯度脱水,透明后,滴加中性树胶,盖上盖玻片,自然晾干或烘干,于光镜下观察并拍摄,重点观察肾小球细胞增生、硬化以及肾小管与间质损伤等。

2.4.2 Masson 染色 大鼠肾组织切片经脱蜡处理及梯度水化至蒸馏水状态,经细胞核染色、分化与返蓝、细胞质与纤维染色、分化与分色、胶原纤维复染、

脱水后,经二甲苯透明化并以树脂封固,于显微镜下观察染色结果。肾小球的结构损伤越大、蓝染越深,说明肾小球硬化程度越重;肾小管之间的蓝色胶原填充范围越大,说明肾间质纤维化程度越重。

2.5 Western blot 测定大鼠肾脏组织中 TGF- $\beta 1$ 、PI3K、Akt、p-PI3K、p-Akt、FN 蛋白表达水平

取出于 -80°C 冷冻保存的肾脏样本,裂解提取总蛋白,采用 BCA 法测定蛋白浓度。沸水浴中处理10 min 变性。取 $20 \mu\text{g}$ 变性蛋白上样,转移至 PVDF/NC 膜上,室温封膜1 h。一抗孵育:5% TBST 奶粉稀释的 TGF- $\beta 1$ (1:1 000)、PI3K(1:1 000)、Akt(1:1 000)、p-PI3K(1:1 000)、p-Akt(1:1 000)及 FN(1:1 000)抗体,于 4°C 孵育过夜。次日,将膜在室温复温20 min, TBST 洗涤3次,每次5 min。加入5%脱脂奶粉TBST 溶液稀释(1:10 000)HRP 标记的羊抗兔二抗, 37°C , 孵育1 h, TBST 洗涤3次,每次5 min。最后,采用 ECL 法进行曝光显影,利用 ImageJ 软件分析目标条带的灰度值,以 β -actin 作为内参,计算各目标蛋白的相对表达水平。

2.6 统计学方法

采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据分析。计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。多组间比较采用单因素方差分析;若方差齐性,组间两两比较采用 LSD 法;若方差不齐,则采用 Tamhane's T^2 法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠一般状况以及肾脏肥大指数比较

实验期间,正常组大鼠一般情况良好,精神、饮食、活动、饮水量与排泄量正常;模型组大鼠第8周出现精神萎靡,毛发光泽差,出现多饮、多食、多尿症状;益元饮组大鼠精神状态、活动度、对外界刺激应答等表现有显著恢复,饮水量与尿量较模型组减少,体质量稳定增长;胰激肽原酶片组大鼠精神状态及活动度等表现恢复较好;真武汤组大鼠精神较活跃,但仍嗜卧倦怠,对外界刺激反应较为迟滞。

实验结束时,与正常组相比,模型组体质量降低($P < 0.05$),肾脏肥大指数升高($P < 0.05$)。与模型组对比,各治疗组体质量在治疗4、6、8周末均有所增加

表 1 各组大鼠体质量比较(g, $\bar{x} \pm s$, $n=9$)Table 1 Comparison of body weight among groups of rats (g, $\bar{x} \pm s$, $n=9$)

组别	治疗前	治疗 2 周末	治疗 4 周末	治疗 6 周末	治疗 8 周末
正常组	360.08±4.08	373.20±4.78	386.30±5.12	402.30±9.52	419.80±10.29
模型组	361.30±7.52*	360.30±7.85*	351.30±8.25*	340.60±8.19*	332.10±7.30*
胰激肽原酶片组	360.89±6.87*	369.78±9.40*	377.67±9.31* [#]	387.22±10.16* [#]	397.11±9.56* [#]
益元饮组	359.67±8.86*	370.33±11.09*	381.00±12.46* [#]	393.78±12.36* [#]	406.67±13.33* ^{#△}
真武汤组	361.10±6.62*	367.00±7.56*	374.00±8.23* [#]	382.30±7.80* [#]	389.80±8.66* [#]

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与真武汤比较,[△] $P<0.05$ 。

($P<0.05$)。与真武汤组相比,胰激肽原酶片组体质量在治疗 2、4、6、8 周末均有所升高,但差异无统计学意义($P>0.05$);而益元饮组在治疗期间体质量较真武汤组升高,且在治疗 8 周末时体质量有显著差异($P<0.05$)。益元饮组在治疗 2、4、6、8 周末体质量均高于胰激肽原酶片组,但差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表 1。

与正常组对比,模型组的肾脏肥大指数均升高($P<0.05$);与模型组对比,各治疗组肾脏肥大指数均降低($P<0.05$)。胰激肽原酶片组低于益元饮组,但差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表 2。

3.2 肾脏组织病理学变化

3.2.1 HE 染色结果 正常组大鼠肾脏结构正常,分布均匀,纹理清楚,肾小球形态规整,系膜区无增宽,肾小管及集合管上皮细胞结构清晰。与正常组相比,模型组大鼠肾脏肾小球系膜基质显著增生,肾小管上皮细胞水肿、炎症浸润较重。经药物干预后,益

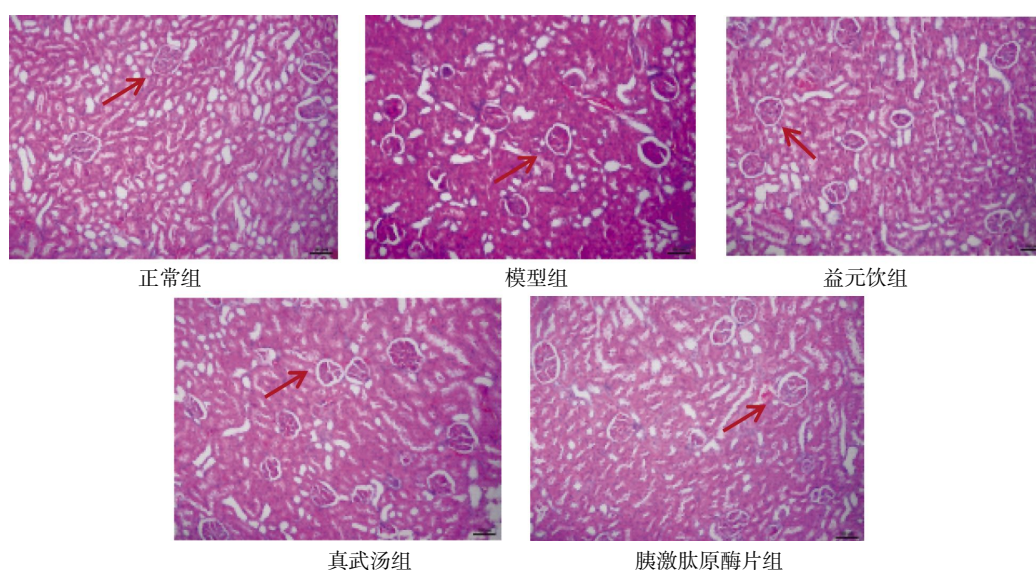
表 2 各组大鼠肾脏肥大指数比较(mg/g, $\bar{x} \pm s$, $n=9$)Table 2 Comparison of kidney hypertrophy indexes among different groups of rats (mg/g, $\bar{x} \pm s$, $n=9$)

组别	肾脏肥大指数
正常组	3.13±0.18
模型组	4.84±0.24*
胰激肽原酶片组	3.57±0.25* [#]
益元饮组	3.66±0.35* [#]
真武汤组	4.03±0.26* [#]

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$ 。

元饮组及胰激肽原酶片组肾小球和肾小管形态恢复较好,炎性浸润改善,真武汤组上述效果居中。详见图 1。

3.2.2 Masson 染色结果 正常组肾间质仅见少量蓝染胶原纤维,分布正常。模型组肾小球周围及肾间质出现大量蓝染胶原纤维沉积。经药物干预后,各治疗组均观察到肾间质纤维化程度减轻,益元饮组与胰激肽原酶片组肾小球结构改善,系膜增生减轻,肾

图 1 各组大鼠肾脏组织 HE 染色结果($\times 100$)Fig.1 HE staining results of renal tissues in each group of rats ($\times 100$)

间质纤维化程度明显下降，真武汤组上述效果居中。详见图 2。

3.3 各组大鼠 GLU 水平比较

正常组大鼠 GLU 水平稳定在正常区间。与正常组相比，模型组与各治疗组大鼠 GLU 水平均升高 ($P<0.05$)。与模型组相比，各治疗组在治疗 6、8 周末 GLU 水平均显著下降 ($P<0.01$)。与真武汤组对比，胰激肽原酶片组与益元饮组大鼠 GLU 水平均下降，但差异无统计学意义 ($P>0.05$)，且胰激肽原酶片组与益元饮组大鼠 GLU 水平相当 ($P>0.05$)。详见表 3。

3.4 各组大鼠 24 h 尿蛋白定量水平、尿白蛋白/肌酐水平比较

与正常组相比，模型组与各治疗组大鼠 24 hUTP、UACR 水平均增加 ($P<0.05$)。治疗 8 周末，与模型组对比，各治疗组大鼠 24 hUTP、UACR 水平均下降 ($P<0.05$)；与真武汤组对比，益元饮组与胰激肽原酶片组 24 hUTP、UACR 水平均下降 ($P<0.05$)；益元饮

组 24 hUTP 水平、UACR 水平均低于胰激肽原酶片组，但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。详见表 4—5。

3.5 各组大鼠肾脏组织中 TGF- β 1、PI3K、Akt、p-PI3K、p-Akt、FN 蛋白表达水平比较

与正常组相比，模型组大鼠肾组织中 TGF- β 1、p-PI3K、p-Akt 及 FN 蛋白表达水平均显著升高 ($P<0.01$)。与模型组相比，各治疗组均能抑制 TGF- β 1 的表达，降低 PI3K、Akt 的磷酸化水平，下调 FN 蛋白表达水平 ($P<0.05$, $P<0.01$)。益元饮组与胰激肽原酶片组效果优于真武汤组，两组差异无统计学意义 ($P>0.05$)。详见图 3、表 6。

4 讨论

中医学将 DKD 归结为“消瘴”“肾消”“水肿”“尿浊”等范畴，其基本病机在于脾肾之气阴两虚，兼夹血瘀，属本虚标实之证^[23-24]。本研究基于“益气养阴、活血通络”治法组方益元饮，与临床治疗 DKD 的高频用药规律（如黄芪、山药、山茱萸、丹参等）相

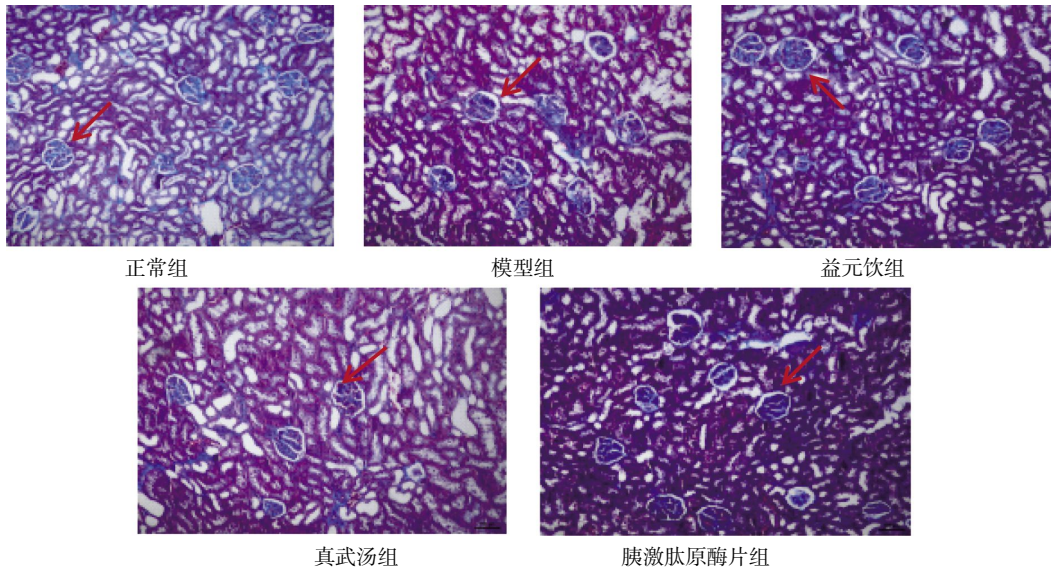


图 2 各组大鼠肾脏组织 Masson 染色结果($\times 100$)

Fig.2 Masson staining results of renal tissues in each group of rats ($\times 100$)

表 3 各组大鼠血糖情况比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$, $n=9$)

Table 3 Comparison of blood glucose levels in each group of rats (mmol/L, $\bar{x} \pm s$, $n=9$)

组别	治疗前	治疗 2 周末	治疗 4 周末	治疗 6 周末	治疗 8 周末
正常组	9.42 $\pm$ 1.68	9.93 $\pm$ 2.02	9.43 $\pm$ 2.20	9.57 $\pm$ 1.50	10.33 $\pm$ 1.95
模型组	28.26 $\pm$ 3.03*	27.41 $\pm$ 1.76*	27.68 $\pm$ 0.92*	27.51 $\pm$ 0.69*	28.37 $\pm$ 0.74*
胰激肽原酶片组	27.86 $\pm$ 2.52*	25.78 $\pm$ 2.22*	25.54 $\pm$ 1.78*	23.34 $\pm$ 3.26* ^{##}	21.49 $\pm$ 3.45* ^{##}
益元饮组	28.76 $\pm$ 2.76*	25.31 $\pm$ 2.32*	23.82 $\pm$ 3.11*	21.06 $\pm$ 3.17* ^{##}	19.10 $\pm$ 3.18* ^{##}
真武汤组	30.04 $\pm$ 3.89*	26.55 $\pm$ 2.99*	26.08 $\pm$ 2.86*	23.14 $\pm$ 2.89* ^{##}	21.98 $\pm$ 4.04* ^{##}

注：与正常组比较，* $P<0.05$ ；与模型组比较，^{##} $P<0.01$ 。

表 4 各组大鼠 24 h 尿蛋白定量的比较(mg/24 h, $\bar{x}\pm s$, $n=9$)**Table 4** Comparison of 24-h urinary protein quantification among different groups of rats (mg/24 h, $\bar{x}\pm s$, $n=9$)

组别	治疗 4 周末	治疗 8 周末
正常组	14.12±5.68	11.60±4.02
模型组	115.04±76.19*	131.84±25.34*
胰激肽原酶片组	82.13±4.86*	58.05±6.27** [△]
益元饮组	84.24±7.57*	56.76±5.70** [△]
真武汤组	103.86±8.87*	87.78±6.50**

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,** $P<0.05$;与真武汤组比较,[△] $P<0.05$ 。

表 5 各组大鼠 UACR 水平比较(mg/g, $\bar{x}\pm s$, $n=9$)**Table 5** Comparison of UACR levels among different groups of rats (mg/g, $\bar{x}\pm s$, $n=9$)

组别	治疗 4 周末	治疗 8 周末
正常组	6.93±1.35	8.53±1.28
模型组	183.58±20.16*	211.29±34.04*
胰激肽原酶片组	119.19±13.47*	87.66±7.16** [△]
益元饮组	118.56±21.04*	85.97±6.41** [△]
真武汤组	142.12±9.56*	110.96±13.08**

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,** $P<0.05$;与真武汤组比较,[△] $P<0.05$ 。

符^[25]。方中黄芪、黄精共为君药,益气健脾、滋阴固肾;山药、山茱萸、白术、灵芝为臣药,助君药补肾涩精、健脾益气;丹参、僵蚕、鳖甲共为佐药,活血祛瘀、通络散结;钩藤、半枝莲、金樱子共为使药,清热平肝、固精缩尿。全方扶正祛邪并举,旨在补益亏损之气阴、疏通瘀阻之肾络,契合 DKD 的基本病机演变。同时,本研究选用温阳利水的经典方剂真武汤作为中药对照,该方虽能通过调节相关通路改善肾功能、减少蛋白尿,但其证治要点侧重于 DKD 晚期的脾肾阳虚证^[26-27]。实验结果显示,DKD 模型大鼠表现为多饮、消瘦、乏力等,与中医学“气阴两虚、络

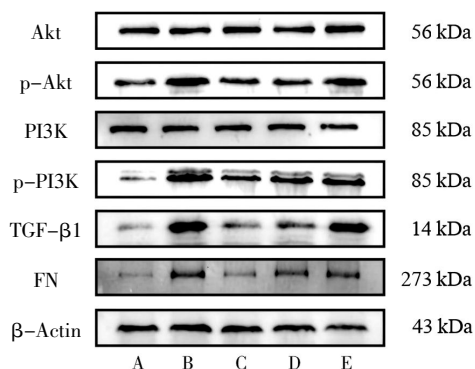


图 3 各组大鼠肾组织中 TGF-β1、p-PI3K、p-Akt、FN 蛋白表达水平比较

Fig.3 Comparison of protein expression levels of TGF-β1, p-PI3K, p-Akt, and FN in renal tissues among different groups of rats

注:A.正常组;B.模型组;C.益元饮组;D.胰激肽原酶片组;E.真武汤组。

脉瘀阻”证候特点高度吻合,且益元饮在改善上述证候方面,效果优于真武汤。

相关研究表明,TGF-β 是纤维化的关键调控因子。它一方面可直接激活肾脏间质中的成纤维细胞,使其转化为具有收缩功能并能大量合成胶原的肌成纤维细胞;另一方面,也能刺激肾小管上皮细胞,促进 ECM 相关蛋白的生成^[28-29]。研究进一步表明,TGF-β1 可特异性上调 FN 及 I 型胶原等 ECM 关键成分的表达与分泌,从而共同推动肾脏结构与功能的纤维化重构^[30-31]。PI3K/Akt 通路也参与调节肾小管上皮细胞生长、EMT 及脂质代谢等过程,这些过程与肾脏纤维化的发生密切相关^[32]。此外,长期高糖环境下的 PI3K/Akt 通路异常激活,还可能促进局部免疫炎症反应,加剧肾小球基底膜等结构的损害^[33]。本研究结果表明,益元饮的干预有效缓解了 DKD 模型大鼠精神萎靡、多饮多尿等“三多一少”症状,毛色与活动度显著恢复;在改善 GLU、24 hUTP、UACR 水平方面效果显著。病理学观察进一步证实,益元饮组肾

表 6 各组大鼠肾组织中 TGF-β1、p-PI3K、p-Akt、FN 蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s$, $n=3$)**Table 6** Comparison of protein expression levels of TGF-β1, p-PI3K, p-Akt, and FN in renal tissues among different groups of rats ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	n	TGF-β1/β-Actin	p-Akt/Akt	p-PI3K/PI3K	FN/β-Actin
正常组	3	1±0.19	1±0.16	1±0.14	1±0.16
模型组	3	4.86±0.42**	2.11±0.17**	5.15±0.25**	3.21±0.27**
胰激肽原酶片组	3	1.77±0.19***	1.13±0.10***	3.03±0.10***	1.35±0.24***
益元饮组	3	2.49±0.16***	1.22±0.11***	3.62±0.36***	1.79±0.29***
真武汤组	3	3.37±0.31***	1.53±0.14***	4.16±0.40***	2.22±0.25***

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,*** $P<0.01$ 。

小球和肾小管形态恢复较好,肾间质纤维化程度明显下降。Western blot 检测证实,经益元饮干预后,DKD 模型大鼠肾皮质中 TGF- β 1 的蛋白表达显著下调,同时降低其下游信号分子 p-PI3K 与 p-Akt 水平,并减少 FN 表达。这些结果提示,益元饮能同步抑制纤维化枢纽因子 TGF- β 1 及其下游 PI3K/Akt 信号通路的磷酸化水平,并减少 ECM 主要成分 FN 的沉积。

以上结果表明,益元饮的抗肾脏纤维化作用可能与其能够有效抑制 TGF- β 1/PI3K/Akt 信号轴的过度活化密切相关。这一整体调控效应,恰是益元饮作为复方“多成分-多靶点-多通路”协同作用的体现。进一步分析认为,方中多种活性成分可能从不同层面协同发挥效应。(1)针对核心轴的上游驱动因素:君药黄芪、黄精中的多糖类成分(黄芪多糖、黄精多糖)已被报道可通过抑制 TGF- β /Smad 等通路活性,从源头弱化纤维化启动信号^[12-13],这可能间接减缓了对 PI3K/Akt 通路的驱动。(2)作用于核心轴的微环境:臣药白术、山药中的多糖成分(白术多糖、山药多糖)在改善糖代谢、减轻氧化应激与炎症方面具有协同作用^[13,34],而高糖与氧化应激正是持续激活 PI3K/Akt 等通路的重要病理基础^[33]。佐使药丹参的核心成分丹参酮 II A,则被证实可抑制 STAT3 等炎症相关通路,减轻肾细胞损伤^[35],其可能通过通路间的交互作用辅助改善 PI3K/Akt 通路的异常状态。(3)多途径直接或间接保护肾单位:方中山柰酚、槲皮素、小檗碱等小分子化合物,分别通过抗凋亡、调节脂代谢、激活保护性自噬等多重途径,共同维护肾小管上皮细胞等靶细胞的稳态^[36-39],增强了组织对纤维化刺激的抵抗能力。

综上所述,本研究初步阐明,中药复方益元饮可通过下调 TGF- β 1/PI3K/Akt 信号通路活性,抑制肾脏细胞外基质积累,从而改善 STZ 诱导的 DKD 大鼠肾功能及病理损伤。其疗效机制体现了“益气养阴治其本,活血通络治其标”中医治法与现代医学抗纤维化机制的融合。本研究实验周期较短,未能观察长期疗效,未来研究可进一步分离鉴定益元饮中调控该通路的核心活性成分群,并在细胞模型上进行更深入的靶点验证。

参考文献

[1] 李 英. 2019 年 ADA 有关糖尿病肾病诊治标准更新的解读与

思考[J]. 中华肾病研究电子杂志, 2020, 9(1): 7-11.

- [2] 范 婷, 杨晓晖, 李 怡, 等. 糖尿病肾病的中医临床研究进展[J]. 北京中医药, 2019, 38(10): 1036-1041.
- [3] 唐 利, 廖常彬, 王 强, 等. 糖尿病肾病(Ⅲ~Ⅳ期)气阴两虚血瘀证患者应用益气养阴通络汤治疗效果及作用机制[J]. 中药材, 2022, 45(10): 2507-2511.
- [4] SUN H, SAEEDI P, KARURANGA S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045[J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2022, 183: 109119.
- [5] ZHANG P N, ZHOU M Q, GUO J, et al. Mitochondrial dysfunction and diabetic nephropathy: nontraditional therapeutic opportunities[J]. Journal of Diabetes Research, 2021, 2021: 1010268.
- [6] 印成霞, 许凤泉. 糖尿病类药物使用及不良反应的统计分析[J]. 中国实用医药, 2020, 15(1): 179-180.
- [7] FENG X M, GAO X, WANG S, et al. PPAR- α agonist fenofibrate prevented diabetic nephropathy by inhibiting M1 macrophages via improving endothelial cell function in db/db mice[J]. Frontiers in Medicine, 2021, 8: 652558.
- [8] 徐 睿, 雍 军, 郭小平, 等. 芪苈糖肾方调控 Nrf2/Gpx4 通路改善糖尿病肾病肾纤维化的机制研究[J/OL]. 海南医学院学报, 1-16 [2026-01-22]. <https://doi.org/10.13210/j.cnki.jhmu.20250519.001>.
- [9] 潘 军, 宣建宗, 丁仁华, 等. 参芪糖肾方对气阴两虚证糖尿病肾病患者临床疗效及血清肾纤维化标志物的影响[J]. 临床误诊误治, 2025, 38(1): 96-100.
- [10] 黄赛娇, 林 意, 卢 艳, 等. 基于内质网应激探讨越婢加术汤对糖尿病肾病患者的治疗机制[J]. 广州中医药大学学报, 2024, 41(2): 299-305.
- [11] 杨月华, 林 燕. 基于“虚-滞-积”动态演变探讨糖尿病肾病的病机与治疗[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(6): 1111-1116.
- [12] MENG X, WEI M M, WANG D, et al. Astragalus polysaccharides protect renal function and affect the TGF- β /Smad signaling pathway in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. The Journal of International Medical Research, 2020, 48(5): 0300060520903612.
- [13] XU D N, LI B X, CAO N, et al. The protective effects of polysaccharide of Atractylodes macrocephala Koidz (PAMK) on the chicken spleen under heat stress via antagonizing apoptosis and restoring the immune function[J]. Oncotarget, 2017, 8(41): 70394-70405.
- [14] FENG X M, WANG S, SUN Z C, et al. Ferroptosis enhanced diabetic renal tubular injury via HIF-1 α /HO-1 pathway in db/db mice[J]. Frontiers in Endocrinology, 2021, 12: 626390.
- [15] JIANG N, ZHAO H, HAN Y C, et al. HIF-1 α ameliorates tubular injury in diabetic nephropathy via HO-1-mediated control of mitochondrial dynamics[J]. Cell Proliferation, 2020, 53(11): e12909.

- [16] QIANG M, CHEN Z, LIU H Y, et al. Targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway in lung cancer: Mechanisms and therapeutic targeting[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2025, 16: 1516583.
- [17] AMDUR R L, FELDMAN H I, GUPTA J, et al. Inflammation and progression of CKD: The CRIC study[J]. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 2016, 11(9): 1546–1556.
- [18] HOU G X, TANG S M, LI Q H, et al. Exercise combined with metformin ameliorates diabetic kidney disease by increasing renal autophagy and reducing oxidative stress in rats with high-fat diet and streptozotocin induced diabetes[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2025, 752: 151373.
- [19] 孙 燕, 刘亮阳, 罗 飘, 等. 基于 PI3K/AKT 信号通路探讨槲皮素对乳腺癌 MCF-7 他莫昔芬耐药细胞的作用机制[J]. *中国药理学通报*, 2025, 41(11): 2199–2200.
- [20] 丁 敏, 甄海宁, 王 倩, 等. 山奈酚通过抑制 PI3K/AKT 信号通路抑制 COPD 模型细胞炎症反应和细胞外基质损伤[J]. *中药材*, 2024, 47(8): 2063–2066.
- [21] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 202–204.
- [22] 黄湘宁, 王屹菲, 俞赟丰, 等. 基于文献的糖尿病肾病动物模型应用分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(13): 188–196.
- [23] 孙 顺, 郑玉玲, 程 蕙, 等. 中医药治疗糖尿病肾病研究进展[J]. *中西医结合慢性杂志*, 2025, 2(2): 89–96.
- [24] 杨月萍, 车树强, 生晓迪. 车树强治疗糖尿病肾病经验[J]. *湖南中医杂志*, 2018, 34(12): 24–25, 52.
- [25] 阎慧敏, 张春玲, 陈 露, 等. 基于数据挖掘分析中医药治疗气阴两虚兼血瘀证糖尿病肾病用药规律[J]. *中医临床研究*, 2025, 17(4): 16–21.
- [26] 周丰宝, 马 群. 真武汤合五皮饮加减对糖尿病肾病患者肾脏纤维化、肾小管氧化损伤和 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路的影响[J]. *中国医院用药评价与分析*, 2024, 24(4): 451–454, 458.
- [27] 靳玉秋, 陈光顺, 白 敏, 等. 真武汤调控 ROCK/IKK/NF- κ B 通路关键分子表达改善脾肾阳虚型 DN 小鼠肾脏炎症损伤的机制研究[J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(18): 5041–5048.
- [28] WANG L, WANG H L, LIU T T, et al. TGF- β as a master regulator of diabetic nephropathy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(15): 7881.
- [29] LURJE I, GAISA N T, WEISKIRCHEN R, et al. Mechanisms of organ fibrosis: Emerging concepts and implications for novel treatment strategies[J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2023, 92: 101191.
- [30] TANG R, XIAO X C, LU Y, et al. Interleukin-22 attenuates renal tubular cells inflammation and fibrosis induced by TGF- β 1 through Notch1 signaling pathway[J]. *Renal Failure*, 2020, 42(1): 381–390.
- [31] YAN H F, PENG X W, XU H, et al. Inhibition of aortic intimal hyperplasia and vascular smooth muscle proliferation and extracellular matrix protein expressions by Astragalus–Angelica combination[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 2018: 1508637.
- [32] 李新宝, 庞欣欣, 彭紫凝, 等. 基于生物信息学及动物实验对芪黄固肾通络方治疗糖尿病肾病的研究[J]. *世界中医药*, 2024, 19(5): 615–622.
- [33] YANG C, HUANG F, FANG H, et al. Jiawei Shengjiangsan's effect on renal injury in diabetic nephropathy mice is investigated via the PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway[J]. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 2024, 17: 1687–1698.
- [34] 朱娇娇, 周安婕, 丁 怡, 等. 3 种天然植物多糖的抗氧化与降血糖活性研究[J]. *粮食与油脂*, 2018, 31(8): 96–100.
- [35] 赵仲秋, 张 诏. 丹参及其有效成分治疗糖尿病肾病的作用机制研究进展[J]. *环球中医药*, 2024, 17(11): 2368–2374.
- [36] 汤利华, 方 超, 王浩然, 等. 山奈酚对高糖诱导的糖尿病肾病大鼠肾功能和组织病理损伤的保护作用[J]. *免疫学杂志*, 2018, 34(12): 1041–1046.
- [37] SHAO L, LIU K, HUANG F, et al. Opposite effects of quercetin, uteolin, and epigallocatechin gallate on insulin sensitivity under normal and inflammatory conditions in mice[J]. *Inflammation*, 2013, 36(1): 1–14.
- [38] HENAGAN T M, CEFALU W T, RIBNICKY D M, et al. In vivo effects of dietary quercetin and quercetin-rich red onion extract on skeletal muscle mitochondria, metabolism, and insulin sensitivity[J]. *Genes & Nutrition*, 2015, 10(1): 451.
- [39] 刘 青, 汪佳佳, 胡亚琴, 等. 小檗碱调节 PI3K/AKT/FOXO1/Bim 信号通路改善高糖诱导的足细胞损伤[J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(3): 329–334.

(本文编辑 苏 维)