

# 竹节参皂苷IV<sub>a</sub>对糖尿病肾病大鼠的肾脏保护作用及机制<sup>Δ</sup>

王永丽<sup>1\*</sup>, 陈海<sup>1</sup>, 田小芳<sup>1</sup>, 王雪春<sup>1</sup>, 袁立英<sup>1</sup>, 刘丹<sup>1</sup>, 李忠发<sup>1</sup>, 孟艳芳<sup>2</sup>, 杨秀勇<sup>3#</sup>(1.遵义市第一人民医院肾脏内科, 贵州遵义 563000; 2.遵义市第一人民医院风湿免疫科, 贵州遵义 563000; 3.遵义市第一人民医院内分泌科, 贵州遵义 563000)

中图分类号 R965;R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)07-0908-06  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.07.14



**摘要** 目的 研究竹节参皂苷IV<sub>a</sub>(chsIV)对糖尿病肾病(DN)模型大鼠肾脏功能的保护作用及可能机制。方法 采用高脂饮食联合链脲佐菌素注射的方法构建DN大鼠模型。将造模成功的36只大鼠随机分为模型组(灌胃生理盐水,高脂饮食)和低、高剂量chsIV组(灌胃90、180 mg/kg chsIV,高脂饮食),每组12只;另取10只正常大鼠作为对照组(灌胃生理盐水,常规饮食)。自链脲佐菌素注射后的第5~12周,每天灌胃给药/生理盐水1次。末次给药后,测定大鼠空腹血糖、空腹胰岛素、血尿素氮、血肌酐、尿蛋白以及肾组织中还原型谷胱甘肽(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)水平,计算胰岛素抵抗指数;采用苏木精-伊红、过碘酸希夫和Masson染色法观察肾组织病理学变化;采用免疫组化染色法与Western blot法检测肾组织中Notch信号通路相关蛋白的表达。结果 与模型组比较,低、高剂量chsIV组大鼠的肾组织病理形态学均得到明显改善,肾脏组织学评分、系膜扩张指数以及肾小球硬化评分均显著降低( $P<0.05$ ),空腹血糖、空腹胰岛素、血尿素氮、血肌酐和尿蛋白水平,胰岛素抵抗指数,肾组织中MDA含量以及Notch1、Notch胞内结构域、毛状增强子分裂蛋白1和Delta样蛋白1的表达水平均显著降低( $P<0.05$ ),肾组织中GSH、SOD水平均显著升高( $P<0.05$ ),并且高剂量chsIV组大鼠的上述指标改善程度均显著优于低剂量chsIV组( $P<0.05$ )。结论 chsIV可改善DN大鼠的肾脏病理损伤及功能障碍,其潜在机制包括恢复血糖稳态与胰岛素敏感性、减轻肾组织氧化应激以及抑制Notch信号通路关键分子的异常激活。

**关键词** 竹节参皂苷IV<sub>a</sub>;糖尿病肾病;胰岛素抵抗;氧化应激;Notch信号通路

## Protective effect and mechanism of chikusetsu saponin IV<sub>a</sub> on the kidney in diabetic nephropathy rats

WANG Yongli<sup>1</sup>, CHEN Hai<sup>1</sup>, TIAN Xiaofang<sup>1</sup>, WANG Xuechun<sup>1</sup>, YUAN Liying<sup>1</sup>, LIU Dan<sup>1</sup>, LI Zhongfa<sup>1</sup>, MENG Yanfang<sup>2</sup>, YANG Xiuyong<sup>3</sup>(1. Dept. of Nephrology, the First People's Hospital of Zunyi, Guizhou Zunyi 563000, China; 2. Dept. of Rheumatology and Immunology, the First People's Hospital of Zunyi, Guizhou Zunyi 563000, China; 3. Dept. of Endocrinology, the First People's Hospital of Zunyi, Guizhou Zunyi 563000, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To study the protective effect and potential mechanism of chikusetsu saponin IV<sub>a</sub> (chsIV) on renal function in diabetic nephropathy (DN) model rats. **METHODS** DN rat model was established by high-fat diet combined with streptozotocin injection. Thirty-six model rats were randomly divided into model group (i.g. administration of normal saline, high-fat diet), chsIV low-dose and high-dose groups (i.g. administration of 90, 180 mg/kg chsIV, high-fat diet), with 12 rats in each group. Additionally, 10 normal rats were set as the control group (i.g. administration of normal saline, regular diet). From the 5th to the 12th week after streptozotocin injection, they were given intragastric administration of relevant drug or normal saline, once a day. After the last medication, the levels of fasting blood glucose, fasting insulin, blood urea nitrogen, serum creatinine and urine protein as well as the levels of reduced glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in renal tissues were measured. Additionally, the insulin resistance index was calculated. Hematoxylin-eosin, periodic acid-Schiff, and Masson staining techniques were employed to examine the histopathological alterations in the renal tissue. The expressions of Notch signaling pathway-related proteins in renal tissue were detected by immunohistochemical staining and Western blot methods. **RESULTS** Compared with model group, the histomorphological of renal tissues in the chsIV low- and high-dose groups were significantly improved, with significant decreases in renal histological scores, mesangial expansion index, and glomerulosclerosis scores ( $P<0.05$ ); the levels of fasting blood glucose, fasting insulin, blood urea nitrogen, serum creatinine, urine protein and homeostasis model

<sup>Δ</sup> 基金项目 贵州省科技计划项目(No.黔科合基础-ZK[2024]一般679);遵义市科技计划项目(No.遵市科合HZ字[2022]73号, No.遵市科合HZ字[2022]72号)

\* 第一作者 副主任医师。研究方向:糖尿病肾病。E-mail: m15185282080\_1@163.com

# 通信作者 副主任医师, 硕士。研究方向:糖尿病肾病、内分泌性高血压。E-mail: yangxiuyongwang@163.com

assessment for insulin resistance, as well as MDA content, the expression levels of Notch1, Notch intracellular domain, hairy and enhancer of Split 1 and Delta-like protein 1 in renal tissue were all significantly decreased ( $P<0.05$ ). The levels of GSH and SOD in renal tissue were significantly elevated ( $P<0.05$ ). Moreover, the improvement in these indicators was significantly more pronounced in the chs IV high-dose group compared to the chs IV low-dose group ( $P<0.05$ ). **CONCLUSIONS** Chs IV can ameliorate renal pathological damage and functional impairment in DN rats. Its underlying mechanisms include restoration of glucose homeostasis and insulin sensitivity, attenuation of renal oxidative stress, and suppression of aberrant Notch signaling pathway activation.

**KEYWORDS** chikusetsu saponin IV<sub>a</sub>; diabetic nephropathy; insulin resistance; oxidative stress; Notch signaling pathway

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)作为糖尿病最常见的微血管并发症之一,已成为全球终末期肾病的主要病因<sup>[1]</sup>。随着糖尿病患者率的持续攀升, DN的发病率也显著上升,且患病年龄呈年轻化趋势,给公共卫生系统带来了沉重负担<sup>[2]</sup>。目前,尽管在DN的诊断和常规治疗方面已取得一定进展,但现有手段仍难以有效阻断疾病进展<sup>[2]</sup>。因此,开发DN的新型治疗策略具有重要临床价值。

DN的发病机制复杂,其核心驱动因素为持续高血糖诱发胰岛素抵抗,加剧了肾脏局部及全身的代谢紊乱,构成疾病始动环节<sup>[1-2]</sup>。在此背景下,肾脏局部氧化应激反应增强,导致活性氧大量积累,直接损伤肾小球及肾小管结构,是重要的中间致病途径<sup>[3]</sup>。近年来的研究进一步揭示,上述病理变化可异常激活在正常成人肾脏中处于静息状态的Notch通路,该通路活化后可参与足细胞凋亡、肾小管上皮-间质转分化等关键事件,最终驱动肾纤维化的进程<sup>[4-5]</sup>。由此可见,高血糖、胰岛素抵抗、代谢紊乱、氧化应激与Notch信号通路等相互关联,共同构成了DN发生发展的核心病理网络。

竹节参皂苷IV<sub>a</sub>(chikusetsu saponin IV<sub>a</sub>, chs IV)是五加科植物竹节参的主要活性成分,现代药理研究证实它具有抗炎、抗氧化、调节代谢等多重生物活性<sup>[6-7]</sup>。值得注意的是,已有研究表明, chs IV在糖尿病动物模型中能改善胰腺β细胞功能,促进外周组织葡萄糖摄取,并对心、脑、肝等多器官具有保护作用<sup>[5-8]</sup>;且有研究发现, chs IV可通过抑制氧化应激和细胞凋亡减轻急性肾损伤<sup>[9]</sup>。这些证据提示, chs IV可能通过调控糖代谢、氧化应激和细胞信号通路等环节发挥肾脏保护作用。鉴于此,本研究通过建立DN大鼠模型,系统评估 chs IV对模型大鼠肾脏功能和结构的影响,并从糖代谢、氧化应激和Notch通路3个维度探讨其可能的作用机制,为开发DN新型治疗策略提供实验依据,也为中药活性成分的多靶点作用机制研究提供新思路。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有: EnVision型酶标仪(美国Revity公司)、ScanLater型蛋白质电泳转印系统(美国

Molecular Devices公司)、eBlot型成像系统(上海易亨特光电技术有限公司)、moticBA210型光学显微镜(厦门麦克奥迪实业集团有限公司)。

### 1.2 主要药品与试剂

chs IV对照品(纯度>98%,批号BP0675)购自武汉科斯坦生物科技有限公司;链脲佐菌素(纯度>99%,批号T1507)购自美国Target Mol公司;还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、尿蛋白(urine protein, UPRO)和血肌酐(serum creatinine, SCr)测定试剂盒(批号分别为A006-2-1、A001-3-2、A003-1-2、C013-2-1、C035-2-1、C011-2-1)均购自南京建成生物工程研究所有限公司;大鼠胰岛素(insulin, INS)检测试剂盒(批号XF02128)购自上海信帆生物科技有限公司;兔源Notch1抗体(批号MBS801459)购自美国MyBioSource公司;兔源毛状增强子分裂蛋白1(hairy and enhancer of Split 1, Hes1)抗体(批号11988)购自美国Cell Signaling Technology公司;兔源Delta样蛋白1(Delta-like protein 1, Dll1)抗体(批号ab10554)购自英国Abcam公司;增强型化学发光检测试剂盒、兔源Notch胞内结构域(Notch intracellular domain, NICD)抗体(批号分别为PK10001、20687-1-AP)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;RIPA试剂、兔源甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体和辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记山羊抗兔IgG二抗(批号分别为P0013C、AG019、A0208)均购自上海碧云天生物技术有限公司;即用型免疫组化试剂盒(批号abs957)购自爱必信(上海)生物科技有限公司。

### 1.3 实验动物

50只SPF级SD雄性大鼠(7周龄,体重210~230 g)购自遵义医科大学动物实验中心[动物生产许可证号: SCXK(黔)2021-0002]。大鼠饲养在遵义医科大学实验动物中心屏障环境动物房内,动物房温度22~25℃、湿度50%~70%、12 h光/12 h暗循环。大鼠在适应性饲养阶段自由摄食和饮水;在实验阶段按实验要求接受喂食,可自由饮水。本动物实验方案已获得遵义市第一人

民医院伦理委员会批准[批件号:伦审(2025)-2-800号],实验操作均遵照实验动物福利伦理相关规范进行。

## 2 方法

### 2.1 造模、分组与给药

大鼠适应性饲养5 d后,随机选取40只,按文献[10]方法建立DN大鼠模型。首先,建立糖尿病大鼠模型——先以高脂饮食饲养5周,随后连续3 d每日腹腔注射1次链脲佐菌素(30 mg/kg);检测大鼠空腹血糖水平,当空腹血糖水平 $>16.7$  mmol/L,视为糖尿病模型构建成功。接着,继续予以高脂饮食饲养12周。在糖尿病模型建立成功并继续以高脂饮食饲养第4周末(即整个高脂饮食的第9周末),若检测到大鼠空腹尿微量白蛋白呈阳性(视为DN早期阶段),即认为DN大鼠模型构建成功。最终共有36只大鼠造模成功。

将造模成功的36只大鼠按照随机数字表法分为模型组和低、高剂量chsIV组,每组12只。低、高剂量chsIV组大鼠在糖尿病建模后的第5周起至第12周分别每日灌胃90、180 mg/kg的chsIV(剂量参考文献[8]设定),全程维持高脂饮食;模型组大鼠灌胃等体积生理盐水;另取10只正常大鼠作为对照组,全程常规饮食喂养,并同步灌胃等体积生理盐水。

### 2.2 血糖水平、胰岛素抵抗和肾功能指标检测

给药结束后,大鼠禁食、禁水8 h,测定其空腹血糖水平;次日清晨收集其尿液和尾静脉血。将血液于4 °C下以 $2\,500\times g$ 离心5 min,分离血清。依据相应试剂盒说明书操作,分别检测血清中INS、BUN和SCr水平以及尿液中UPRO水平。计算胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment for insulin resistance, HOMA-IR): $HOMA-IR = \text{空腹血糖水平}(\text{mmol/L}) \times \text{空腹INS水平}(\mu\text{U/mL})/22.5$ 。

### 2.3 肾组织病理形态学分析

取血后,大鼠经腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)深度麻醉,迅速取出其双侧肾组织。将部分新鲜肾组织用于组织生化与Western blot分析;另一部分肾组织经4%多聚甲醛固定、石蜡包埋后制备6  $\mu\text{m}$ 厚切片,常规进行苏木精-伊红(HE)、过碘酸希夫(periodic acid Schiff, PAS)和Masson染色。肾组织病理学评估于光学显微镜( $\times 40$ 物镜)下进行,由研究者参照文献[11—12]方法进行肾脏组织学评分、系膜扩张指数测定以及肾小球硬化评分。每只大鼠至少分析10张非连续切片,每张切片随机选取20个肾皮质视野或20~30个肾小球,取平均值作为最终评分。

### 2.4 肾组织中GSH、SOD和MDA水平测定

称取“2.3”项下大鼠新鲜肾组织(每只称取10 mg),置于1.0 mL冷生理盐水中研磨匀浆30 min,将匀浆液以

$2\,000\times g$ 离心10 min,收集上层匀浆液。按照试剂盒说明书操作,测定肾组织中GSH、SOD和MDA水平。

### 2.5 肾组织中Notch1通路相关蛋白检测

#### 2.5.1 免疫组化染色法

取“2.3”项下肾组织切片,依次进行烤片、脱蜡、复水和微波加热抗原修复后,以3% $\text{H}_2\text{O}_2$ 处理10 min,用5%BSA封闭30 min。将切片置于37 °C恒温湿盒中,分别与一抗[Notch1(稀释比例为1:200)、NICD(稀释比例为1:100)、Hes1(稀释比例为1:100)、DII1(稀释比例为1:200)]一起孵育1.5 h。洗片后,依次滴加聚合物增强剂(37 °C孵育25 min)和HRP标记山羊抗兔聚合物(稀释比例为1:200,37 °C孵育30 min)。洗涤后,以DAB显影,苏木素复染,于光学显微镜下观察目标蛋白表达情况并采集图像,每张切片随机选取5个不重叠视野进行分析。遵循文献[5,10—11]方法,采用双参数免疫组化评分法(H-score改良版)进行半定量分析。该法依据染色强度(0~3分)和阳性细胞百分比(0~4分)2项指标,将各自得分相乘获得最终评分(范围为0~12分),分值越高表明目标蛋白表达水平越强。

#### 2.5.2 Western blot法

取“2.3”项下大鼠新鲜肾组织,采用RIPA裂解液提取肾组织中总蛋白,经BCA法测定总蛋白浓度并进行变性处理后,取蛋白经10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,随后在恒流(200 mA)条件下将蛋白转印(转膜时间90 min)至PVDF膜,以5%脱脂牛奶-TBST溶液室温封闭1 h。将膜分别与一抗Notch1(稀释比例为1:2 000)、NICD(稀释比例为1:1 000)、Hes1(稀释比例为1:500)、DII1(稀释比例为1:800)、GAPDH(稀释比例为1:8 000)在37 °C条件下孵育2 h;经TBST洗涤3次后,与HRP标记山羊抗兔IgG二抗(稀释比例为1:2 000)室温孵育1 h;再次洗涤后,用ECL Western blot化学发光底物使蛋白条带显像,用Western blot成像系统采集蛋白条带图像,利用Image J 18.0软件分析目标蛋白条带的光密度值,计算目标蛋白相对表达量。目标蛋白相对表达量=目标蛋白条带的光密度值/内参(GAPDH)蛋白条带的光密度值。

### 2.6 统计学方法

采用GraphPad Prism 9.0软件进行统计分析。符合正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用Bonferroni检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 3 结果

3.1 大鼠血糖水平、胰岛素抵抗和肾功能指标测定结果与对照组比较,模型组大鼠空腹血糖水平,血清中

空腹INS、BUN、SCr水平,尿液中UPRO水平以及HOMA-IR均显著升高( $P<0.05$ );与模型组比较,低、高剂量chsIV组大鼠上述指标均显著降低( $P<0.05$ ),其中高剂量chsIV组大鼠的上述指标均显著低于低剂量chsIV组( $P<0.05$ )。结果见表1。

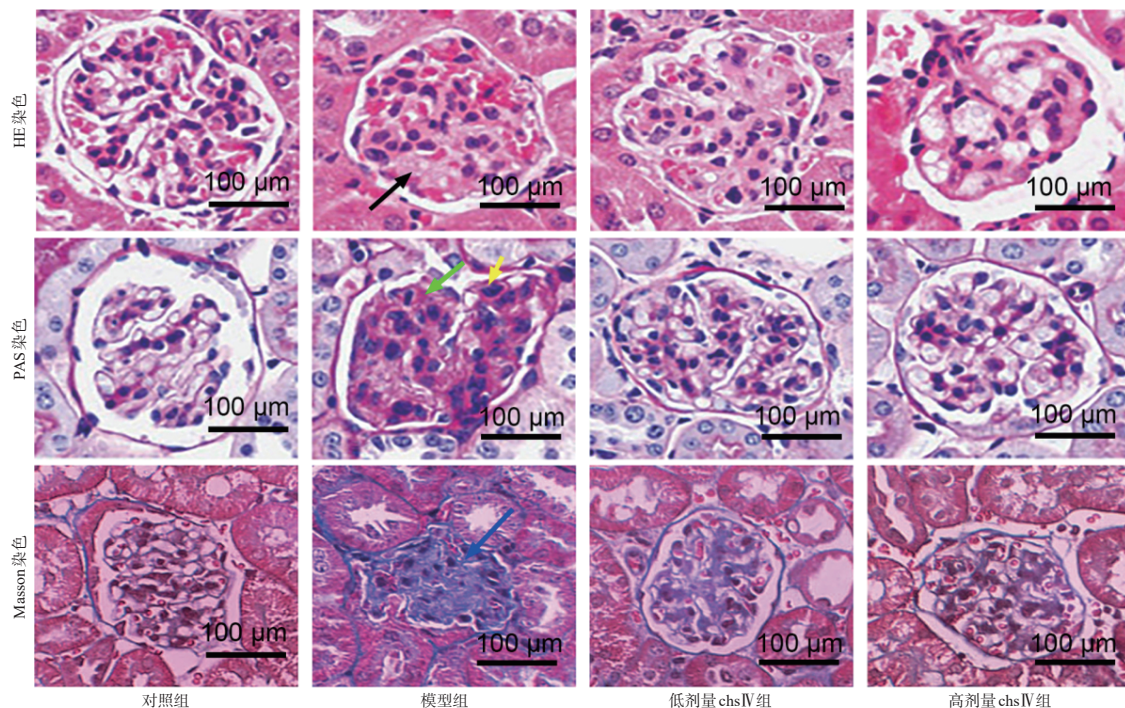
表1 各组大鼠血糖水平、胰岛素抵抗和肾功能指标水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	空腹血糖/ (mmol/L)	空腹INS/ ( $\mu$ U/mL)	HOMA-IR	BUN/ (mmol/L)	SCr/ ( $\mu$ mol/L)	UPRO/ (mg/L)
对照组	10	5.81 $\pm$ 1.03	8.15 $\pm$ 0.74	2.06 $\pm$ 0.35	6.98 $\pm$ 1.12	78.35 $\pm$ 8.54	14.37 $\pm$ 0.89
模型组	12	22.63 $\pm$ 3.13 <sup>a</sup>	12.34 $\pm$ 1.52 <sup>a</sup>	11.41 $\pm$ 1.81 <sup>a</sup>	21.14 $\pm$ 1.68 <sup>a</sup>	162.75 $\pm$ 12.57 <sup>a</sup>	42.54 $\pm$ 1.52 <sup>a</sup>
低剂量chsIV组	12	16.72 $\pm$ 2.31 <sup>b</sup>	10.15 $\pm$ 1.03 <sup>b</sup>	7.54 $\pm$ 1.06 <sup>b</sup>	15.06 $\pm$ 1.04 <sup>b</sup>	134.73 $\pm$ 13.46 <sup>b</sup>	33.91 $\pm$ 0.73 <sup>b</sup>
高剂量chsIV组	12	14.38 $\pm$ 1.86 <sup>c</sup>	9.74 $\pm$ 0.92 <sup>c</sup>	6.22 $\pm$ 0.87 <sup>c</sup>	10.14 $\pm$ 0.78 <sup>c</sup>	116.54 $\pm$ 11.61 <sup>c</sup>	18.46 $\pm$ 0.94 <sup>c</sup>
F		35.284	21.056	56.719	38.562	25.786	43.169
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

a:与对照组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$ ;c:与低剂量chsIV组比较, $P<0.05$ 。

### 3.2 大鼠肾组织病理形态学观察结果

HE、PAS和Masson染色结果(图1)显示,模型组大鼠肾组织可见肾小球K-W结节、系膜扩张、基底膜增厚、胶原沉积和纤维化;低、高剂量chsIV组大鼠肾组织的上述病理形态学改变均减轻。统计结果(表2)显示,与对照组比较,模型组大鼠肾脏组织学评分、系膜扩张指数以及肾小球硬化评分均显著升高( $P<0.05$ );与模型组比较,低、高剂量chsIV组大鼠上述评分均显著降低( $P<0.05$ ),其中高剂量chsIV组大鼠的上述评分和系膜扩张指数均显著低于低剂量chsIV组( $P<0.05$ )。



注:黑色箭头所指为肾小球K-W结节;黄色箭头所指为系膜扩张;绿色箭头所指为基底膜增厚;蓝色箭头所指为胶原沉积、纤维化。

图1 各组大鼠肾组织HE、PAS和Masson染色的显微图

### 3.3 大鼠肾组织中GSH、SOD和MDA水平测定结果

与对照组比较,模型组大鼠肾组织中MDA水平显著升高( $P<0.05$ ),GSH、SOD水平均显著降低( $P<0.05$ )。与模型组比较,低、高剂量chsIV组大鼠肾组织中MDA水平均显著降低( $P<0.05$ ),GSH、SOD水平均显著升高( $P<0.05$ );其中高剂量chsIV组大鼠肾组织中MDA水平显著低于低剂量chsIV组( $P<0.05$ ),GSH、SOD水平均显著高于低剂量chsIV组( $P<0.05$ )。结果见表3。

### 3.4 大鼠肾组织中Notch1信号通路相关蛋白表达测定结果

免疫组化染色结果[表4(免疫组化染色图可扫描本文首页二维码,进入“增强出版”页面查看附图1)]显示,Notch1、NICD和DII1主要分布在细胞质,而Hes1则定位于细胞核。模型组大鼠肾组织中Notch1、NICD、Hes1和DII1蛋白表达的免疫组化评分较对照组显著提高( $P<0.05$ );低、高剂量chsIV组大鼠肾组织中Notch1、NICD、Hes1和DII1蛋白表达的免疫组化评分较模型组均显著降低( $P<0.05$ ),且高剂量chsIV组各项评分均显著低于低剂量chsIV组。

Western blot检测结果(表4、图2)显示,与对照组比较,模型组大鼠肾组织中Notch1、NICD、Hes1和DII1蛋白的表达水平均显著升高( $P<0.05$ );与模型组比较,低、高剂量chsIV组大鼠肾组织中上述蛋白的表达水平均显著降低( $P<0.05$ ),其中高剂量chsIV组大鼠肾组织中上述蛋白的表达水平均显著低于低剂量chsIV组( $P<0.05$ )。

表2 各组大鼠肾组织的组织学评分、系膜扩张指数和肾小球硬化评分比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	肾组织学评分	系膜扩张指数	肾小球硬化评分
对照组	10	0.21 ± 0.03	1.03 ± 0.04	0.00 ± 0.00
模型组	12	3.17 ± 0.38 <sup>a</sup>	3.04 ± 0.43 <sup>a</sup>	2.51 ± 0.35 <sup>a</sup>
低剂量chsIV组	12	2.09 ± 0.21 <sup>b</sup>	2.18 ± 0.14 <sup>b</sup>	1.23 ± 0.16 <sup>b</sup>
高剂量chsIV组	12	1.25 ± 0.84 <sup>bc</sup>	1.56 ± 0.22 <sup>bc</sup>	0.52 ± 0.08 <sup>bc</sup>
F		41.075	34.062	23.462
P		<0.001	<0.001	<0.001

a: 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与低剂量chsIV组比较,  $P < 0.05$ 。

表3 各组大鼠肾组织中MDA、GSH和SOD水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	MDA/(mmol/g)	GSH/(mmol/g)	SOD/(U/mg)
对照组	10	2.02 ± 0.04	15.62 ± 0.06	143.58 ± 8.65
模型组	12	6.13 ± 0.41 <sup>a</sup>	4.26 ± 0.13 <sup>a</sup>	38.73 ± 14.72 <sup>a</sup>
低剂量chsIV组	12	4.64 ± 0.43 <sup>b</sup>	6.15 ± 0.11 <sup>b</sup>	63.54 ± 16.17 <sup>b</sup>
高剂量chsIV组	12	3.04 ± 0.25 <sup>bc</sup>	9.47 ± 0.09 <sup>bc</sup>	85.75 ± 7.82 <sup>bc</sup>
F		35.173	41.865	45.891
P		<0.001	<0.001	<0.001

a: 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与低剂量chsIV组比较,  $P < 0.05$ 。

表4 各组大鼠肾组织中Notch1、NICD、Hes1和DII1蛋白表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	Notch1		NICD	
		免疫组化评分	Notch1/GAPDH	免疫组化评分	NICD/GAPDH
对照组	10	1.58 ± 0.39	1.04 ± 0.26	1.23 ± 0.23	1.01 ± 0.11
模型组	12	9.08 ± 1.04 <sup>a</sup>	6.06 ± 0.31 <sup>a</sup>	6.75 ± 0.81 <sup>a</sup>	6.14 ± 0.33 <sup>a</sup>
低剂量chsIV组	12	6.02 ± 0.75 <sup>b</sup>	5.02 ± 0.36 <sup>b</sup>	3.26 ± 0.45 <sup>b</sup>	4.56 ± 0.24 <sup>b</sup>
高剂量chsIV组	12	2.28 ± 0.46 <sup>bc</sup>	2.12 ± 0.28 <sup>bc</sup>	2.83 ± 0.34 <sup>bc</sup>	3.02 ± 0.36 <sup>bc</sup>
F		96.402	35.173	49.406	38.752
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

组别	n	Hes1		DII1	
		免疫组化评分	Hes1/GAPDH	免疫组化评分	DII1/GAPDH
对照组	10	0.26 ± 0.05	1.02 ± 0.03	0.38 ± 0.07	0.96 ± 0.06
模型组	12	5.34 ± 0.93 <sup>a</sup>	7.04 ± 0.08 <sup>a</sup>	9.84 ± 1.35 <sup>a</sup>	2.73 ± 0.12 <sup>a</sup>
低剂量chsIV组	12	2.35 ± 0.43 <sup>b</sup>	4.67 ± 0.15 <sup>b</sup>	5.23 ± 0.86 <sup>b</sup>	2.05 ± 0.17 <sup>b</sup>
高剂量chsIV组	12	1.08 ± 0.35 <sup>bc</sup>	2.23 ± 0.14 <sup>bc</sup>	2.56 ± 0.37 <sup>bc</sup>	1.21 ± 0.15 <sup>bc</sup>
F		30.374	53.062	83.452	21.041
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

a: 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与低剂量chsIV组比较,  $P < 0.05$ 。

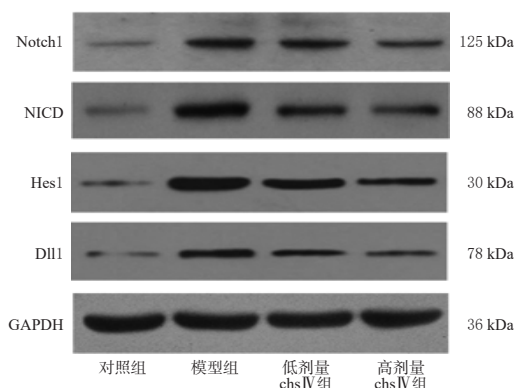


图2 各组大鼠肾组织中Notch1、NICD、Hes1和DII1检测的电泳图

## 4 讨论

DN发病机制复杂,涉及代谢紊乱、氧化应激、炎症反应及多种信号通路的异常活化等。其中,葡萄糖稳态失调已被广泛认为是DN发生发展的关键驱动因素<sup>[1-2]</sup>。长期高血糖状态可通过多种分子途径导致肾组织损伤,包括促进晚期糖基化终末产物积累、激活蛋白激酶C信号、引发多元醇通路活性增强等,进而引起肾小球基底膜增厚、系膜基质扩张和肾小管间质纤维化等病理改变<sup>[1-2,13]</sup>。本研究结果显示,chsIV能显著降低DN模型大鼠的血糖水平,并改善胰岛素抵抗状态,提示其可通过调控葡萄糖代谢稳态,从上游环节抑制高血糖对肾脏的毒性作用,为后续肾脏保护效应奠定了代谢基础。

在DN进展过程中,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的异常积聚是导致肾小球硬化和肾功能进行性丧失的核心病理特征<sup>[1-2]</sup>。高血糖可激活转化生长因子 $\beta$ 等促纤维化因子,刺激系膜细胞合成胶原蛋白、纤维连接蛋白等ECM成分,同时抑制其降解,引发基底膜增厚,进而推动肾小球硬化及肾小管间质纤维化进程<sup>[1-2]</sup>。本研究通过组织病理学分析发现,chsIV干预能明显缓解DN大鼠肾小球系膜区扩张、基质沉积及肾小球硬化程度,同时伴随BUN、SCr和UPRO水平的下降,表明chsIV对DN相关的肾脏结构和功能损害具有明确的缓解效应。这一效应可能与chsIV调节糖代谢、减轻糖毒性间接相关,也可能与其直接作用于肾脏细胞调控ECM代谢平衡相关。

除代谢因素外,高血糖诱导的氧化应激在DN发病与进展机制中占有重要地位<sup>[1-3]</sup>。持续高血糖可促进线粒体电子传递链活性增强,导致活性氧过量产生,进而引起脂质、蛋白质和DNA的氧化损伤<sup>[3]</sup>。其中,MDA作为脂质过氧化的代表性产物,其水平直接反映组织氧化损伤程度;而GSH和SOD是体内重要的抗氧化防御分子,其在肾组织中的活性下降将进一步加剧氧化应激恶性循环。研究表明,恢复肾脏中MDA/GSH/SOD的平衡能有效延缓DN进展<sup>[4]</sup>。本研究中,chsIV干预后显著降低了模型大鼠肾组织MDA水平,并显著提高了GSH水平和SOD活性,说明chsIV可通过增强抗氧化防御能力减轻高血糖引发的氧化应激反应,从而保护肾脏细胞免受氧化损伤。

近年来研究表明,Notch信号通路的异常激活与DN等多种肾小球疾病的病理进程密切相关<sup>[4]</sup>。该通路主要由Notch 1~4这4种受体及Jagged 1~2、DII1/3/4等配体构成。当配体与受体结合后,经 $\gamma$ -分泌酶介导的蛋白酶切反应释放NICD入核,激活Hes1、Hey1等下游基因表达<sup>[15]</sup>。在DN动物模型和细胞模型中,Notch信号(尤其是Notch1/Hes1轴)异常活化可促进肾小球系膜细胞增殖、足细胞凋亡、上皮-间质转化及ECM积聚,从而加剧

肾纤维化进程<sup>[4-5,16]</sup>,而抑制该通路则可减轻肾损伤。此外,Hes1还被证实可通过调节抗氧化反应元件进一步放大氧化应激,形成恶性循环<sup>[17]</sup>。本研究通过Western blot及免疫组化分析发现,chsIV能显著下调DN大鼠肾组织中Notch1、NICD、Hes1及Dll1等关键信号分子的表达,提示其肾脏保护作用可能与抑制Notch信号通路活化有关。然而,本研究仅观察到chsIV给药后Notch信号通路相关分子的变化,尚未通过基因敲除或激动剂/拮抗剂干预等手段明确其因果关联。未来可利用Notch抑制剂或条件性基因敲除动物模型,进一步验证该信号通路在chsIV药效中的作用。同时,深入探索是否存在其他信号通路,如沉默信息调节因子蛋白1、腺苷酸活化蛋白激酶、核因子E2相关因子2等,参与调节代谢及抗氧化效应。

综上所述,本研究从多角度证实chsIV对DN大鼠具有明显的肾脏保护作用。其在功能上体现为降低血糖、提高胰岛素敏感性以及改善肾功能指标;在组织学层面表现为减轻肾小球硬化、减少基质沉积;在分子机制方面则涉及增强抗氧化能力及抑制Notch信号通路。这些结果提示chsIV可能通过“调控血糖-减轻氧化应激-抑制Notch信号通路活化”这一多环节、多靶点的网络机制发挥对DN的治疗作用。今后研究应进一步聚焦于chsIV的直接分子靶点鉴定、信号通路的因果验证以及临床前安全性与有效性的系统评价,为其成为DN治疗新型药物提供更深层的理论依据和转化前景。

### 参考文献

[1] LI X, LU L H, HOU W T, et al. Epigenetics in the pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2022, 54(2):163-172.

[2] GUPTA S, DOMINGUEZ M, GOLESTANEH L. Diabetic kidney disease: an update[J]. *Med Clin North Am*, 2023, 107(4):689-705.

[3] VODOŠEK HOJS N, BEVC S, EKART R, et al. Oxidative stress markers in chronic kidney disease with emphasis on diabetic nephropathy[J]. *Antioxidants*, 2020, 9(10):925.

[4] MA T K, LI X, ZHU Y H, et al. Excessive activation of Notch signaling in macrophages promote kidney inflammation, fibrosis, and necroptosis[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:835879.

[5] LIU X M, ZHANG Y Y, SHI M J, et al. Notch1 regulates PTEN expression to exacerbate renal tubulointerstitial fibrosis in diabetic nephropathy by inhibiting autophagy via interactions with Hes1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 497(4):1110-1116.

[6] CUI J, XI M M, LI Y W, et al. Insulinotropic effect of chikusetsu saponin IV<sub>a</sub> in diabetic rats and pancreatic β-cells[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 164:334-339.

[7] DUAN J L, YIN Y, CUI J, et al. Chikusetsu saponin IV<sub>a</sub> ameliorates cerebral ischemia reperfusion injury in diabetic mice via adiponectin-mediated AMPK/GSK-3β pathway *in vivo* and *in vitro*[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(1):728-743.

[8] LI Y W, ZHANG T J, CUI J, et al. Chikusetsu saponin IV<sub>a</sub> regulates glucose uptake and fatty acid oxidation: implications in antihyperglycemic and hypolipidemic effects[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2015, 67(7):997-1007.

[9] WANG S C, ZENG M N, LI B K, et al. Raw and salt-processed *Achyranthes bidentata* attenuate LPS-induced acute kidney injury by inhibiting ROS and apoptosis via an estrogen-like pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 129:110403.

[10] PENG Q Y, ZHANG H Y, LI Z Y. KAT2A-mediated H3K79 succinylation promotes ferroptosis in diabetic nephropathy by regulating SAT2[J]. *Life Sci*, 2025, 376:123746.

[11] JIANG Y P, XIE F F, LV X, et al. Mefunidone ameliorates diabetic kidney disease in STZ and db/db mice[J]. *FASEB J*, 2021, 35(1):e21198.

[12] PAN S, JIANG S S, LI R, et al. Hong Guo Ginseng Guo (HGGG) protects against kidney injury in diabetic nephropathy by inhibiting NLRP3 inflammasome and regulating intestinal flora[J]. *Phytomedicine*, 2024, 132:155861.

[13] SAMSU N. Diabetic nephropathy: challenges in pathogenesis, diagnosis, and treatment[J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021:1497449.

[14] ZHU Y Y, ZHU C H, YANG H X, et al. Protective effect of ginsenoside Rg<sub>3</sub> against kidney injury via inhibition of NLRP3 inflammasome activation and the MAPK signaling pathway in high-fat diet/streptozotocin-induced diabetic mice[J]. *Pharmacol Res*, 2020, 155:104746.

[15] RONCARATI R, SESTAN N, SCHEINFELD M H, et al. The gamma-secretase-generated intracellular domain of beta-amyloid precursor protein binds Numb and inhibits Notch signaling[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(10):7102-7107.

[16] WEI B, LIU Y S, GUAN H X. microRNA-145-5p attenuates high glucose-induced apoptosis by targeting the Notch signaling pathway in podocytes[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(3):1915-1924.

[17] TIAN H Y, YANG J B, XIE Z C, et al. Gliquidone alleviates diabetic nephropathy by inhibiting Notch/snail signaling pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51(5):2085-2097.

(收稿日期:2025-12-18 修回日期:2026-03-16)

(编辑:林 静)