

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.01.004

天麻素注射液对高糖诱导的足细胞增殖、迁移和上皮-间质转化的影响及分子机制研究^{*}

马医林, 李 镔, 赵芳芳[△]

陕西省汉中市人民医院内分泌肾病科, 陕西汉中 723000

摘要:目的 探讨天麻素注射液(GI)对高糖(HG)诱导的糖尿病肾病(DN)人肾小球足细胞(HGPC)增殖、迁移及上皮-间质转化(EMT)进程的影响,以及分析 GI 是否通过调控蛋白 Janus 激酶(JAK)2/信号转导和转录激活因子(STAT)3 信号通路而发挥作用。方法 通过含 30 mmol/L D-葡萄糖的培养基刺激 HGPC 建立 HG 损伤模型作为 HG 组,同时将体外培养的 HGPC 细胞分为对照组(Con 组,不做干预),不同浓度 GI 组(10、20、30、40 $\mu\text{mol/L}$ GI 组)进行预实验,通过细胞活力实验筛出最佳作用浓度作为 GI 组进行后续实验。后续实验将细胞分为 6 组,分别是 Con 组(不做干预)、HG 组(加入 30 mmol/L D-葡萄糖处理)、GI 组(加入最佳作用浓度的 GI 处理)、JAK2/STAT3 信号通路抑制剂(AG490)组(加入 30 mmol/L D-葡萄糖+40 $\mu\text{mol/L}$ AG490 处理)、GI+AG490 组(加入 30 mmol/L D-葡萄糖+最佳作用浓度的 GI+40 $\mu\text{mol/L}$ AG490 处理)、GI+JAK2/STAT3 信号通路激活剂(C-A1)组(加入 30 mmol/L D-葡萄糖+最佳作用浓度的 GI+20 $\mu\text{mol/L}$ C-A1),每组干预时间均为 24 h。采用细胞计数试剂盒检测 HGPC 活力;采用 5-乙炔基-2'-脱氧尿苷法检测 HG-PC 增殖能力;通过 Transwell 小室实验检测 HGPC 迁移能力;采用蛋白免疫印迹法检测 HGPC 中 EMT 相关蛋白及 JAK2/STAT3 信号通路相关蛋白水平。结果 20 $\mu\text{mol/L}$ GI 组、30 $\mu\text{mol/L}$ GI 组、40 $\mu\text{mol/L}$ GI 组细胞活力均高于 HG 组($P<0.05$),且 20 $\mu\text{mol/L}$ GI 组效果最好,因此后续实验选用 20 $\mu\text{mol/L}$ 作为 GI 的最佳作用浓度。与 Con 组相比,HG 组细胞迁移数和 p-JAK2、p-STAT3、波形蛋白(Vimentin)、纤连蛋白(FN)、神经型钙黏蛋白(N-cadherin)蛋白水平均明显升高($P<0.05$),细胞增殖率和上皮型钙黏蛋白(E-cadherin)蛋白水平均降低($P<0.05$);GI 组、AG490 组细胞迁移数和 p-JAK2、p-STAT3、Vimentin、FN、N-cadherin 蛋白水平均低于 HG 组($P<0.05$),细胞增殖率和 E-cadherin 蛋白水平均高于 HG 组($P<0.05$);与 GI 组相比,GI+AG490 组细胞迁移数和 p-JAK2、p-STAT3、Vimentin、FN、N-cadherin 蛋白水平均降低($P<0.05$),细胞增殖率和 E-cadherin 蛋白水平均升高($P<0.05$);与 GI 组相比,GI+C-A1 组细胞迁移数和 p-JAK2、p-STAT3、Vimentin、FN、N-cadherin 蛋白水平均升高($P<0.05$),细胞增殖率和 E-cadherin 蛋白水平均降低($P<0.05$)。结论 GI 可以通过抑制 JAK2/STAT3 的磷酸化来抑制 HGPC 的迁移及 EMT 进程,促进细胞增殖。

关键词:糖尿病肾病; 人肾小球足细胞; 高糖; 天麻素注射液; 增殖; 迁移; Janus 激酶 2/信号转导和转录激活因子 3; 上皮-间质转化

中图法分类号:R587.2;R285

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2025)01-0018-06

Effect and molecular mechanism of gastrodin injection on proliferation, migration and epithelial-mesenchymal transformation of podocytes induced by high glucose^{*}

MA Yilin, LI Kai, ZHAO Fangfang[△]

Department of Endocrine Nephrology, Hanzhong Municipal People's Hospital, Hanzhong, Shaanxi 723000, China

Abstract: Objective To explore the effects of gastrodin injection (GI) on high glucose (HG) induced diabetic nephropathy (DN) human glomerular podocytes (HGPC) proliferation, migration and epithelial-mesenchymal transformation (EMT) process, and to analyze whether or not GI playing the role by regulating the Janus kinase (JAK) 2/signal transduction and transcriptional activator (STAT) 3 signaling pathway. **Methods** The HGPC cells were stimulated by the medium containing 30 mmol/L D-glucose to establish the

* 基金项目:国家卫生健康委员会“十四五”规划重点课题(YYWS9499)。

作者简介:马医林,女,主治医师,主要从事内分泌肾病方向的研究。 [△] 通信作者, E-mail:15457515@qq.com。

HG injury model as the HG group. At same time, the in vitro cultured HGPC were divided into the control group(Con group without intervention) and different concentrations of GI groups(10, 20, 30, 40 $\mu\text{mol/L}$ GI groups) for conducting the pre-experiment. The optimal action concentration was screened by the cell viability experiment to conduct the follow up experiment. The cells were divided into 6 groups by the follow up experiment, which were the Con group(without intervention), HG group(treating by adding 30 mmol/L D-glucose), GI group(treating by adding the optimal action concentration GI), JAK2/STAT3 signaling pathway inhibitor(AG490) group (treating by adding 30 mmol/L D-glucose + 40 $\mu\text{mol/L}$ AG490), GI + AG490 group (treating by adding 30 mmol/L D-glucose + optimal action concentration GI + 40 $\mu\text{mol/L}$ AG490), GI + JACK2/STAT3 signaling pathway activator(C-A1) group(adding 30mmol/L D-glucose + optimal action concentration GI + 20 $\mu\text{mol/L}$ C-A1), and the intervention time in each group was 24 h. The cell count reagent was adopted to detect the HGPC activity; the s-ethynyl-2'-deoxyuridine method was used to detect the HGPC proliferation ability; the HGPC migration ability was detected by the Transwell chamber experiment; the EMT related protein and JAK2/STAT3 signaling pathway related protein levels in HGPC were detected by Western blot. **Results** The cell viability of the 20 $\mu\text{mol/L}$ GI group, 30 $\mu\text{mol/L}$ GI group and 40 $\mu\text{mol/L}$ GI group were all significantly higher than that of the HG group ($P < 0.05$), moreover the effect of the 20 $\mu\text{mol/L}$ GI group was the best, so the follow up experiment selected 20 $\mu\text{mol/L}$ as the GI optimal action concentration. Compared with the Con group, the cell migration number and protein levels of p-JAK2, p-STAT3, Vimentin, fibronectin (FN), neural cadherin (N-cadherin) in the HG group were significantly increased ($P < 0.05$), while the cellular proliferation rate and the level of epithelial cadherin (E-cadherin) were decreased ($P < 0.05$). The cell migration number and the protein levels of p-JAK2, p-STAT3, Vimentin, FN and N-cadherin in the GI group and AG490 group were lower than those in the HG group ($P < 0.05$), and the cellular proliferation rate and E-cadherin protein level were increased ($P < 0.05$). Compared with the GI group, cell migration number and levels of p-JAK2, p-STAT3, Vimentin, FN, and N-cadherin proteins in the GI + AG490 group were decreased ($P < 0.05$), and the cell proliferation rate and E-cadherin protein level were increased ($P < 0.05$). Compared with the GI group, the cell migration number and protein levels of p-JAK2, p-STAT3, Vimentin, FN and N-cadherin in the GI + C-A1 group were increased ($P < 0.05$), and the cellular proliferation rate and E-cadherin protein level were decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** GI could inhibit the HGPC transformation and EMT process by inhibiting the phosphorylation of JAK2/STAT 3, and promote the cellular proliferation.

Key words: diabetic nephropathy; human glomerular podocyte; gastrodin injection; roliferation; migration; Janus kinase 2/signal transduction and transcriptional activator 3; epithelial-mesenchymal transformation

糖尿病肾病(DN)是进行性肾脏疾病,终末期 DN 患者需进行透析或肾脏替代治疗,患者痛苦大,家庭经济负担重^[1]。DN 致病机制复杂,主要发病原因之一就是足细胞损伤,中医认为 DN 病因是本虚标实,中医药对其治疗具有独特优势。天麻素是天麻提取物,以天麻素为主要成分的天麻素注射液(GI)在临床应用广泛,治疗心血管疾病、糖尿病、神经性疾病等有较好的效果^[2-3]。Janus 激酶(JAK)/信号转导和转录激活因子(STAT)信号通路异常表达与人和动物的慢性肾脏疾病密切相关,对多种细胞因子具有调节作用,具体来说, JAK1 和 JAK2 表达增强促进 DN 进展,而抑制 JAK1 和 JAK2 表达则延缓 DN 进展^[4-5]。有研究表明,GI 能通过抑制 JAK2/STAT3 信号通路改善刀豆球蛋白 A 诱导的急性肝炎^[6],但 GI 能否通

过调控 JAK2/STAT3 信号通路对 DN 发挥作用尚不明确,因此本研究探讨 GI 对人肾小球足细胞(HGPC)增殖、迁移及上皮-间质转化(EMT)进程的影响,以及分析 GI 是否通过调控 JAK2/STAT3 信号通路而发挥作用,以期为临床治疗 DN 提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 细胞株 HGPC 购自美国菌种保藏中心(ATCC)。

1.2 药品试剂 GI、D-葡萄糖、JAK2/STAT3 信号通路抑制剂(AG490)、JAK2/STAT3 信号通路激活剂 Coumermycin A1(C-A1)均购自上海源叶生物科技有限公司;细胞计数(CCK-8)试剂盒购自阿拉丁试剂(上海)有限公司;5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EDU)细胞增殖检测试剂盒购自万物生物科技有限公司;

0.1%结晶紫水溶液购自北京索莱宝科技有限公司;鼠抗人波形蛋白(Vimentin)、纤连蛋白(FN)、神经型钙黏蛋白(N-cadherin)、上皮型钙黏蛋白(E-cadherin)、JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3、肌动蛋白(β -actin)一抗及山羊抗鼠 IgG 抗体(碱性磷酸酶)二抗均购自武汉艾美捷科技有限公司。完全培养基:10%胎牛血清(FBS)+DMEM,购自美国 Hyclone 公司。

1.3 主要仪器 DSY2000X 型倒置荧光显微镜购自北京麦特微科技有限公司;HEPA CLASS100 型 CO₂ 培养箱、SpectraMax iD3 型酶标仪均购自上海美谷分子仪器有限公司;Champ Gd5000 型凝胶成像系统购自赛智创业凝胶成像北京有限公司;CX-201 型超净工作台购自蚌埠净化设备厂。

1.4 方法

1.4.1 HGPC 培养 复苏液氮保存 HGPC,先将细胞进行同化(无血清、无糖 DMEM 培养基培养 24 h),再将 HGPC 接种至含完全培养基(含 10% FBS、100 U/mL 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素的 DMEM)的 T25 瓶中,在 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂、70%~80%湿度条件下培养,当细胞密度 $\geq$ 80%时进行传代培养,并取对数期细胞进行药物处理后完成指标测定。

1.4.2 分组处理 使用含 30 mmol/L D-葡萄糖的培养基刺激 HGPC 建立高糖(HG)损伤模型作为 HG 组,同时将体外培养的 HGPC 分为对照组(Con 组,不做干预),采用不同浓度 GI(10、20、30、40 μ mol/L GI 组)进行预实验,通过细胞活力实验筛出最佳作用浓度作为 GI 组进行后续实验。后续实验将 HGPC 分为 6 组,分别是 Con 组(不做干预)、HG 组(加入 30 mmol/L D-葡萄糖处理^[7])、GI 组(加入最佳作用浓度的 GI 处理)、AG490 组(加入 30 mmol/L D-葡萄糖+40 μ mol/L AG490 处理^[8])、GI+AG490 组(加入 30 mmol/L D-葡萄糖+最佳作用浓度的 GI+40 μ mol/L AG490 处理)、GI+C-A1 组(加入 30 mmol/L D-葡萄糖+最佳作用浓度的 GI+20 μ mol/L C-A1 处理^[9]),实验重复 3 次,且每组干预时间均为 24 h。

1.4.3 检测细胞活力 将 HGPC 用含 10%FBS 培养基重悬后,接种至 96 孔板(接种密度: 5×10^3 个)。Con 组、HG 组、10 μ mol/L GI 组、20 μ mol/L GI 组、30 μ mol/L GI 组、40 μ mol/L GI 组按 1.4.2 方法处理细胞后,将各个处理孔加入 CCK-8 液(每孔 10 μ L),孵育 2 h,最后,将 96 孔板置于酶标仪上,记录各个处理孔的 A₄₅₀。细胞活力(%)=(HG 组或 10 μ mol/L GI 组、20 μ mol/L GI 组、30 μ mol/L GI 组、40 μ mol/L GI 组 A 值/Con 组 A 值) $\times 100\%$ 。检测至少重复 3 次,取均值。

1.4.4 检测细胞增殖率 将干预 24 h 的各组细胞,进行 EDU 处理,每组设置 3 个复孔,按照试剂盒说明书对待测细胞进行固定、EDU 染色,Hoechst 33342 (Hoechst)染色装片之后在倒置荧光显微镜下(10 $\times$)随机选取 3 个不同的视野进行拍照、计数,计算 Hoechst 阳性细胞与 EDU 阳性细胞的个数,细胞增殖率以 EDU 阳性细胞数(红色)占总细胞数(蓝色)的百分比表示。检测至少重复 3 次,取均值。

1.4.5 检测细胞迁移能力 将干预 24 h 的各组细胞,在 1 000 r/min 条件下离心 10 min,用无 FBS 培养基将细胞制成细胞悬液,调整细胞密度为 1×10^5 个/mL。将不含 FBS 的培养基制备的细胞悬液(200 μ L)加至 Transwell 上室,在下室中加入培养基(含 10% FBS)600 μ L,并进行 24 h 培养后弃上清液,将小室上表面的细胞擦去,进行 3 次清洗,固定 30 min(4%甲醇),染色 10 min 后进行 3 次清洗。倒置荧光显微镜对实验结果进行采集并收集照片。采用 Image-J 统计迁移细胞数。检测至少重复 3 次,取均值。

1.4.6 检测 EMT 相关蛋白及 JAK2/STAT3 信号通路相关蛋白水平 将细胞按照 1×10^5 个/孔接种于 6 孔板中,各组按照 1.4.2 方法进行处理后,收集细胞然后在冰上裂解(RIPA 液),提取蛋白,定量并上样,进行凝胶电泳、转膜,利用脱脂牛奶法进行膜封闭,接着加入一抗(JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3、Vimentin、FN、N-cadherin、E-cadherin),在 4 $^{\circ}$ C 条件下进行过夜处理,加入二抗后室温孵育 2 h,洗涤后加入显影液,拍照记录(凝胶成像系统)。蛋白灰度用 Image-J 图像分析软件来确定,内参为 β -actin,计算目的蛋白的相对表达量。检测至少重复 3 次,取均值。

1.5 统计学处理 采用 SPSS25.0、GraphPad Prism 8 软件进行数据分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GI 作用浓度筛选 Con 组、HG 组、10 μ mol/L GI 组、20 μ mol/L GI 组、30 μ mol/L GI 组、40 μ mol/L GI 组的细胞活力分别为(100.00 ± 2.31)%、(51.67 ± 3.51)%、(56.67 ± 1.53)%、(72.00 ± 3.61)%、(69.67 ± 2.52)%、(62.33 ± 4.04)%,多组间比较,差异有统计学意义($F=94.802, P<0.001$),HG 组细胞活力低于 Con 组($P<0.05$),20 μ mol/L GI 组、30 μ mol/L GI 组、40 μ mol/L GI 组细胞活力均

高于 HG 组($P<0.05$),且 20 $\mu\text{mol/L}$ GI 组效果最好,因此后续实验选用 20 $\mu\text{mol/L}$ 作为 GI 的最佳作用浓度。

2.2 各组细胞增殖能力比较 Con 组、HG 组、GI 组、AG490 组、GI+AG490 组、GI+C-A1 组的细胞增殖率分别为 $(43.67\pm3.06)\%$ 、 $(20.00\pm2.00)\%$ 、 $(29.00\pm1.00)\%$ 、 $(27.67\pm1.53)\%$ 、 $(37.00\pm2.00)\%$ 、 $(22.33\pm1.53)\%$,多组间比较,差异有统计学意义($F=62.659, P<0.001$),HG 组细胞增殖率低于 Con 组($P<0.05$),GI 组和 AG490 组细胞增殖率高于 HG 组($P<0.05$),GI+AG490 组细胞增殖率高于 GI 组($P<0.05$),GI+C-A1 组细胞增殖率低于 GI 组($P<0.05$)。

2.3 各组细胞迁移能力比较 Con 组、HG 组、GI 组、AG490 组、GI+AG490 组、GI+C-A1 组的细胞迁移数分别为 (141.00 ± 8.19) 、 (485.67 ± 11.24) 、 (363.67 ± 10.60) 、 (352.00 ± 10.54) 、 $(227.33\pm$

$10.79)$ 、 (429.33 ± 14.19) 个,多组间比较,差异有统计学意义($F=401.431, P<0.001$),HG 组细胞迁移数高于 Con 组($P<0.05$),GI 组和 AG490 组细胞迁移数低于 HG 组($P<0.05$),GI+AG490 组细胞迁移数低于 GI 组($P<0.05$),GI+C-A1 组细胞迁移数高于 GI 组($P<0.05$)。见图 1。

2.4 各组 EMT 相关蛋白水平比较 HG 组 Vimentin、FN、N-cadherin 蛋白水平均高于 Con 组($P<0.05$),E-cadherin 蛋白水平低于 Con 组($P<0.05$);GI 组和 AG490 组 Vimentin、FN、N-cadherin 蛋白水平均低于 HG 组($P<0.05$),E-cadherin 蛋白水平均高于 HG 组($P<0.05$);GI+AG490 组 Vimentin、FN、N-cadherin 蛋白水平均低于 GI 组($P<0.05$),E-cadherin 蛋白水平高于 GI 组($P<0.05$);GI+C-A1 组 Vimentin、FN、N-cadherin 蛋白水平均高于 GI 组($P<0.05$),E-cadherin 蛋白水平低于 GI 组($P<0.05$)。见图 2、表 1。

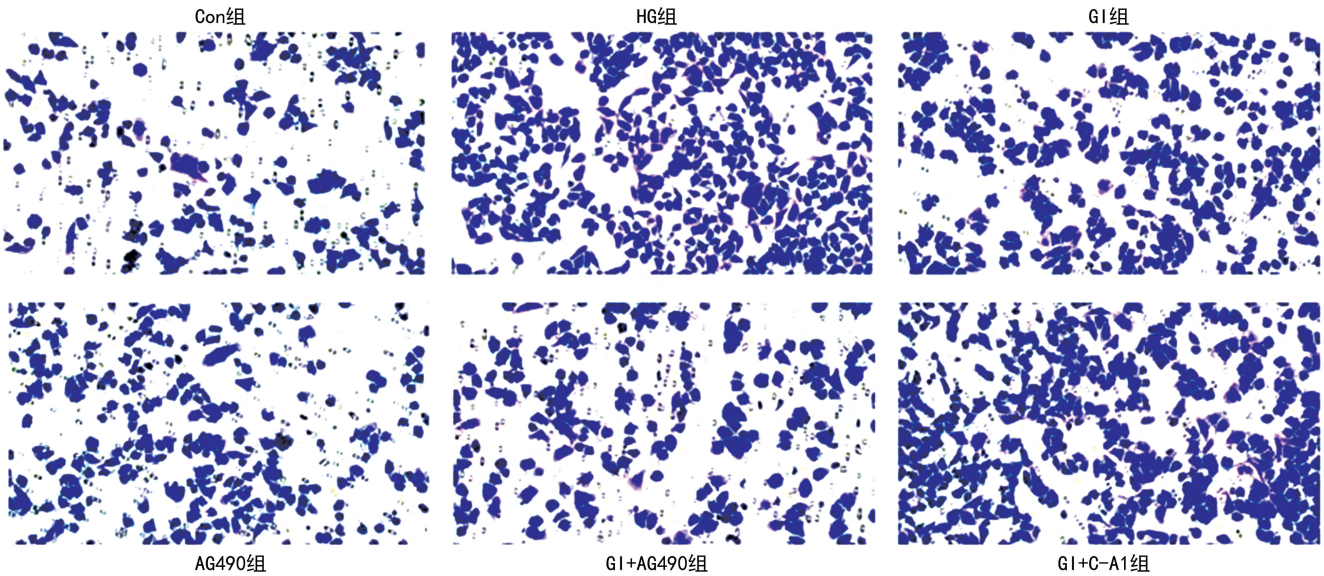


图 1 各组 HGPC 迁移能力(结晶紫染色,200 $\times$)

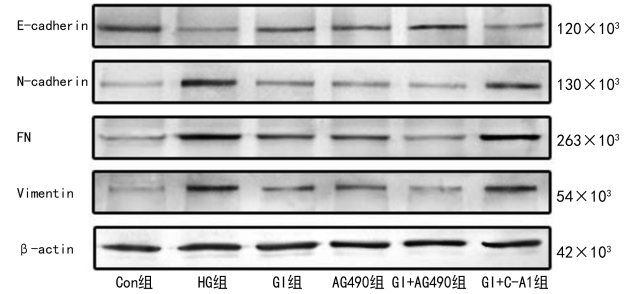


图 2 各组 EMT 相关蛋白电泳图

2.5 各组 JAK2/STAT3 通路相关蛋白水平比较 HG 组 p-JAK2、p-STAT3 蛋白水平均高于 Con 组($P<0.05$);GI 组和 AG490 组 p-JAK2、p-STAT3 蛋白水平均低于 HG 组($P<0.05$);GI+AG490 组细

胞中 p-JAK2、p-STAT3 蛋白水平均低于 GI 组($P<0.05$),GI+C-A1 组 p-JAK2、p-STAT3 蛋白水平均高于 GI 组($P<0.05$)。见图 3、表 2。

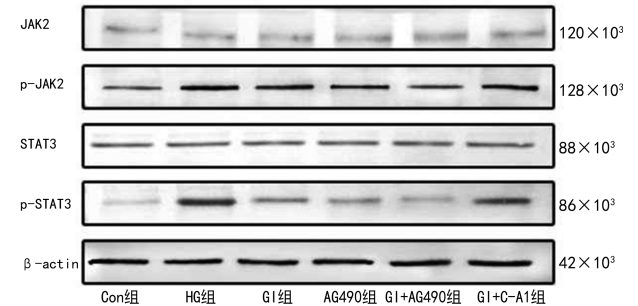


图 3 各组 JAK2/STAT3 通路相关蛋白电泳图

表 1 各组 EMT 相关蛋白水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	E-cadherin	N-cadherin	FN	Vimentin
Con 组	0.69±0.04	0.11±0.01	0.19±0.03	0.12±0.01
HG 组	0.29±0.01 ^a	0.67±0.02 ^a	0.84±0.02 ^a	0.67±0.03 ^a
GI 组	0.43±0.02 ^b	0.24±0.03 ^b	0.40±0.04 ^b	0.30±0.01 ^b
AG490 组	0.42±0.02 ^b	0.25±0.01 ^b	0.36±0.01 ^b	0.28±0.01 ^b
GI+AG490 组	0.60±0.03 ^c	0.12±0.01 ^c	0.21±0.02 ^c	0.16±0.01 ^c
GI+C-A1 组	0.28±0.01 ^c	0.54±0.01 ^c	0.78±0.02 ^c	0.48±0.04 ^c
F	139.766	563.894	374.905	266.090
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 Con 组比较,^a $P<0.05$;与 HG 组比较,^b $P<0.05$;与 GI 组比较,^c $P<0.05$ 。

表 2 各组 JAK2/STAT3 通路相关蛋白水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	JAK2	p-JAK2	STAT3	p-STAT3
Con 组	0.28±0.02	0.17±0.01	0.38±0.03	0.10±0.01
HG 组	0.26±0.01	0.99±0.07 ^a	0.38±0.01	1.08±0.06 ^a
GI 组	0.26±0.02	0.56±0.03 ^b	0.36±0.01	0.33±0.03 ^b
AG490 组	0.28±0.01	0.51±0.05 ^b	0.35±0.02	0.34±0.02 ^b
GI+AG490 组	0.27±0.02	0.24±0.01 ^c	0.37±0.01	0.21±0.01 ^c
GI+C-A1 组	0.25±0.01	0.76±0.06 ^c	0.37±0.03	0.64±0.05 ^c
F	1.760	142.537	0.984	302.968
P	0.196	<0.001	0.466	<0.001

注:与 Con 组比较,^a $P<0.05$;与 HG 组比较,^b $P<0.05$;与 GI 组比较,^c $P<0.05$ 。

3 讨 论

DN 是由糖尿病引起的一种慢性肾脏疾病,糖尿病引起的肾损伤的进展率远远高于非 DN 患者^[10-11]。目前,DN 仍缺乏有效的治疗方法,一线临床药物只能缓解 DN 引发的肾功能问题,且易出现多种不良反应,预后不佳^[12]。中医记载 DN 晚期会出现内障、雀盲、疮廕等多种并发症^[13]。中医药对 DN 的治疗具有一方多效的作用,能整体调理、缓解 DN 患者肾功能症状^[14]。

天麻素作为传统中药天麻的主要活性成分之一,在抗炎、抗氧化和促凋亡方面发挥重要作用。GI 是由天麻素制成的中药单体制剂,具有镇静、安眠、镇痛之功效,在眩晕症治疗中具有突出效果,近几年发现其在糖尿病及其并发症中发挥作用。张勇等^[15]研究表明,GI 在 2 型糖尿病小鼠模型具有明显的降血糖、改善胰岛素抵抗和减轻 DN 的作用。沈理等^[16]研究表明,GI 可通过上调 Klotho 表达抑制 HG 诱导的小鼠足细胞 MPC5 损伤。这些研究提示 GI 很可能作为配体的信号转导物参与 DN 的发生、发展。本研究结果显示,20 $\mu\text{mol/L}$ GI 可提高 HG 诱导下的 HGPC 活力和增殖能力,抑制 HGPC 迁移能力及 EMT 过程,表现为 HG 诱导后的 HGPC 经 GI 处理后,HGPC 中

的 E-cadherin 蛋白水平升高,Vimentin、N-cadherin、FN 蛋白水平降低,同时伴随着细胞增殖能力增加和细胞迁移能力降低。

JAK2/STAT3 信号通路在控制细胞生长、分化、凋亡、炎症反应及其他病理过程中有着重要作用,如在肿瘤、自身免疫性疾病及心血管疾病中呈现持续激活状态^[17];该通路的激活与 DN 的发生、进展密切相关,且可以介导细胞外系膜基质蛋白、Ⅳ型胶原和 FN 的产生及转化生长因子- β_1 活化,在 DN 等肾脏疾病的发生、发展过程中起关键作用^[18]。隋悦^[19]发现 GI 还可以通过 STAT3 信号通路抑制脑缺血诱导的星形胶质细胞炎症小体活化。LI 等^[20]报道芍药苷可以减轻肾损伤的作用机制依赖于对 JAK2/STAT3 信号通路的抑制作用;此外,ZITMAN-GAL 等^[21]研究结果表明,利拉鲁肽发挥的肾保护机制也与抑制 JAK2/STAT3 信号通路有关,提示该通路可能是一个抑制 DN 的治疗靶点。天麻素对小鼠的抑郁样行为的改善,对炎症反应的缓解,也与 JAK2、STAT3 表达下调有关^[22]。而 GI 是否通过 JAK2/STAT3 信号通路发挥抗 DN 的作用鲜有报道。本研究结果显示,GI 治疗 HG 诱导的 HGPC 后 p-JAK2、p-STAT3 蛋白水平降低,当 GI 与 AG490 联用时可进一步下调 p-JAK2、p-

STAT3 蛋白水平,而当与激活剂 C-A1 联用时则扭转了 GI 治疗时 p-JAK2、p-STAT3 蛋白水平的变化,表明 GI 可通过负调控 JAK2/STAT3 信号通路在 HG 诱导的 HGPC 中发挥作用;且 GI 与 AG490 联合给药能诱导 E-cadherin 蛋白水平升高,Vimentin、N-cadherin、FN 蛋白水平降低,细胞增殖能力更强,迁移能力更弱,然而 GI 与 JAK2/STAT3 信号通路激活剂 C-A1 联合给药对上述指标的影响则更小,提示 GI 对 HG 诱导的 HGPC 增殖有促进作用,对细胞迁移有抑制作用,且该抑制作用与 EMT 过程的阻遏和 JAK2/STAT3 信号通路的抑制有关。

综上所述,GI 通过抑制 JAK2/STAT3 信号转导降低 HG 诱导的 HGPC 迁移及 EMT 进程,促进细胞增殖。以上研究结果表明,GI 对 DN 有明显的改善作用,能够为 GI 对 DN 的治疗提供理论支持。但不足的是,GI 在 DN 中是否对其他生物学行为和其他信号通路具有调控作用仍需要进行进一步研究。

参考文献

- [1] 莫梓沂,刘畅,薛世圆,等. 糖尿病肾病发病机制及治疗的研究进展[J]. 局解手术学杂志,2021,30(12):1093-1098.
- [2] 王莹,周静威,王珍,等. 糖尿病肾病中西医结合治疗进展[J]. 中国全科医学,2022,25(12):1411-1417.
- [3] 张静怡,李凤兰. 天麻素改善糖尿病及其并发症的研究进展[J]. 实用药物与临床,2022,25(6):553-556.
- [4] 邹杰锋,许云鹏,张燕子,等. JAK2/STAT3 信号通路在局灶节段性肾小球硬化足细胞损伤中的作用及机制[J]. 中华临床医师杂志,2021,15(9):683-690.
- [5] BROSIUS F C, TUTTLE K R, KRETZLER M. JAK inhibition in the treatment of diabetic kidney disease[J]. Diabetologia,2016,59(8):1624-1627.
- [6] ZHOU Y, CHEN J, YAO Z, et al. Gastrodin ameliorates concanavalin A-induced acute hepatitis via the IL-6/JAK2/STAT3 pathway [J]. Immunopharm Immunot, 2022,44(6):925-934.
- [7] 王梦迪,郭弋凡,庞彦余,等. 保肾通络方含药血清调节线粒体自噬对高糖诱导下足细胞氧化损伤的影响[J]. 首都医科大学学报,2022,43(5):687-693.
- [8] 李清雪,张贺玲. 米非司酮联合 STAT3 抑制剂 AG490 对子宫内膜异位症细胞增殖、凋亡和细胞周期的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2022,38(4):313-317.
- [9] CELE FN, KUMALO H, SOLIMAN M E. Mechanism of inhibition of Hsp90 dimerization by gyrase B inhibitor coumermycin A1 (C-A1) revealed by molecular dynamics simulations and thermodynamic calculations[J]. Cell Biochem Biophys,2016,74(3):353-363.

- [10] 刘丹宁,黄国东,杨鑫勇. 中医药治疗糖尿病肾病肾足细胞损伤的研究进展[J]. 广西医学,2021,43(8):1008-1010.
- [11] AL O,BAKRIS G L. Non-steroidal mineralocorticoid antagonists:prospects for renoprotection in diabetic kidney disease[J]. Diabetes Obes Metab,2020,22:69-76.
- [12] TANG G, LI S, ZHANG C, et al. Clinical efficacies, underlying mechanisms and molecular targets of Chinese medicines for diabetic nephropathy treatment and management[J]. Acta Pharm Sin B,2021,11(9):2749-2767.
- [13] 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.
- [14] ZHANG L, MIAO R, YU T, et al. Comparative effectiveness of traditional Chinese medicine and angiotensin converting enzyme inhibitors, angiotensin receptor blockers, and sodium glucose cotransporter inhibitors in patients with diabetic kidney disease: a systematic review and network Meta-analysis[J]. Pharmacol Res,2022,177:106111.
- [15] 张勇,武燕彬,孔维佳. 天麻素在 KK-Ay 小鼠中抗糖尿病作用的实验研究[J]. 中国药理学通报,2018,34(7):917-924.
- [16] 沈理,薛诗国. 天麻素通过调控 Klotho 基因表达对高糖诱导的足细胞损伤的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2021,22(7):594-596.
- [17] ZHAO X, ZHANG E, REN X, et al. Edaravone alleviates cell apoptosis and mitochondrial injury in ischemia-reperfusion-induced kidney injury via the JAK/STAT pathway [J]. Biol Res,2020,53(1):28.
- [18] JO H A, KIM J Y, YANG S H, et al. The role of local IL6/JAK2/STAT3 signaling in high glucose-induced podocyte hypertrophy[J]. Kidney Res Clin Pract,2016,35(4):212-218.
- [19] 隋悦. 天麻素通过 STAT3 信号通路抑制脑缺血诱导的星形胶质细胞炎性小体活化[D]. 昆明:昆明医科大学,2019.
- [20] LI X, WANG Y, WANG K, et al. Renal protective effect of paeoniflorin by inhibition of JAK2/STAT3 signaling pathway in diabetic mice[J]. Biosci Trends,2018,12(2):168-176.
- [21] ZITMAN-GAL T, EINBINDER Y, OHANA M, et al. Effect of liraglutide on the Janus kinase/signal transducer and transcription activator (JAK/STAT) pathway in diabetic kidney disease in db/db mice and in cultured endothelial cells[J]. J Diabetes,2019,11(8):656-664.
- [22] 王上. JAK2-STAT3 信号转导通路在天麻素改善小鼠抑郁样行为中的作用研究[D]. 昆明:昆明医科大学,2021.