淡豆豉异黄酮调控 TGF－β1/Smads 信号通路改善小鼠糖尿病肾病*

刘晶，范芳芳，卢军，张彦，赵生俊✉

新疆医科大学附属中医医院药学部，新疆 乌鲁木齐 830000

摘要：目的：探讨淡豆豉异黄酮调控转化生长因子－β1（transforming growth factor－β1，TGF－β1）/Smads 通路改善小鼠糖尿病肾病（diabetic nephropathy，DN）的作用机制。方法：50 只 SPF 级昆明小鼠随机抽取 10 只作为对照组，剩余小鼠经高脂饲料连续喂养 6 周并腹腔注射链脲佐菌素构建 DN 模型。将造模成功的小鼠随机分为模型组、淡豆豉异黄酮高剂量组（50 mg·kg^{-1}）、淡豆豉异黄酮中剂量组（25 mg·kg^{-1}）、淡豆豉异黄酮低剂量组（12.5 mg·kg^{-1}），每组 10 只。各组小鼠以淡豆豉异黄酮或生理盐水灌胃，连续 8 周。检测各组小鼠随机血糖、血清肌酐（serum creatinine，Scr）、尿素氮（blood urea nitrogen，BUN）及 24 小时尿蛋白含量。采用 Masson 染色观察小鼠肾组织纤维化情况，RT－qPCR 检测肾组织纤维化与上皮－间充质转化（epithelial－mesenchymal transition，EMT）相关分子 mRNA 水平，免疫组织化学法检测肾组织 EMT 相关蛋白表达水平，Western blot 法检测肾组织 TGF－β1/Smads 信号通路相关蛋白表达水平。结果：与对照组比较，模型组小鼠随机血糖、Scr、BUN 及 24 小时尿蛋白含量显著升高（$P<0.05$），肾组织出现明显胶原纤维沉积，结缔组织生长因子（connective tissue growth factor，CTGF）、Ⅲ型胶原蛋白（collagen type Ⅲ，Col Ⅲ）、Ⅳ型胶原蛋白（collagen type Ⅳ，Col Ⅳ）、*N－cadherin*、*Vimentin* mRNA 水平升高（$P<0.05$），E－钙黏蛋白（E－cadherin）mRNA 水平降低（$P<0.05$），N－cadherin 和 Vimentin 阳性百分比升高（$P<0.05$），E－cadherin 阳性百分比降低（$P<0.05$），TGF－β1、p－Smad2/3、SNAIL 蛋白表达水平升高（$P<0.05$）。与模型组比较，淡豆豉异黄酮高、中、低剂量组小鼠上述指标均显著改善（$P<0.05$）。结论：淡豆豉异黄酮可减轻 DN 小鼠肾纤维化和 EMT 以改善肾功能损伤，作用机制可能与抑制 TGF－β1/Smads 信号通路有关。

关键词：淡豆豉异黄酮；糖尿病肾病；肾纤维化；上皮－间充质转化；TGF－β1/Smads 信号通路；小鼠
DOI：10.16368/j.issn.1674－8999.2026.10.347
中图分类号：R285.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674－8999(2026)10－2247－08

Dandouchi (Semen Sojae Praeparatum) Isoflavone Regulating TGF－β1/Smads Signaling Pathway to Improve Diabetic Nephropathy in Mice

LIU Jing，FAN Fangfang，LU Jun，ZHANG Yan，ZHAO Shengjun

Department of Pharmacy，Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University，Urumqi Xinjiang China 830000

Abstract：Objective：To investigate the mechanism by which Daundouchi (Semen sojae praeparatum) isoflavone regulates the transforming growth factor－β1 (TGF－β1)/Smads pathway to improve diabetic nephropathy (DN) in mice. Methods：Fifty SPF Kunming mice were randomly selected，with 10 as the control group. The remaining mice were fed a high－fat diet for 6 weeks and injected with streptozotocin to establish the DN model. Mice that successfully developed the model were randomly divided into the model group，high－dose Daundouchi (Semen sojae praeparatum) isoflavone group (50 mg·kg^{-1})，medium－dose group (25 mg·kg^{-1})，and

* **基金项目**：新疆维吾尔自治区药学会科研基金资助项目（YXH202113）
作者简介：刘晶（1985－），女，河北邯郸人，医学硕士，副主任药师，研究方向：中药药理学。
✉ **通信作者**：赵生俊，主任药师，研究方向：中药药理学，临床药学。E－mail：zyyzsj0707@126.com

low – dose group (12.5 mg · kg^{-1}), with 10 mice per group. All groups were gavaged with either Daundouchi (Semen sojae praeparatum) isoflavone or saline for 8 weeks. Random blood glucose, serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), and 24 – hour urine protein levels were measured. Masson staining was used to observe kidney tissue fibrosis, RT – qPCR was used to detect mRNA levels of molecules related to kidney fibrosis and epithelial – mesenchymal transition (EMT), immunohistochemistry was used to detect EMT – related protein expression in kidney tissue, and Western blot was used to measure the expression of proteins related to the TGF – β1/Smads signaling pathway in kidney tissue. Results: Compared with the control group, the mice in the model group showed significantly increased random blood glucose, Scr, BUN, and 24 – hour urine protein content ($P<0.05$). There was obvious collagen fiber deposition in the kidney tissue, and the mRNA levels of connective tissue growth factor (CTGF), collagen type Ⅲ (Col Ⅲ), collagen type Ⅳ (Col Ⅳ), N – cadherin, and Vimentin were elevated ($P<0.05$), while E – cadherin mRNA levels decreased ($P<0.05$). The protein expression levels of TGF – β1, p – Smad2/3, and SNAIL were increased ($P<0.05$). Compared with the model group, mice in the high, medium, and low dose groups of dandouchi (Semen sojae praeparatum) isoflavone showed significant improvements in the above indicators ($P<0.05$). Conclusion: Dandouchi (Semen sojae praeparatum) isoflavone can alleviate renal fibrosis and EMT in DN mice to improve kidney function, and its mechanism may be related to inhibiting the TGF – β1/Smads signaling pathway.

Key words: Dandouchi (Semen sojae praeparatum) isoflavone; diabetic nephropathy; renal fibrosis; epithelial – mesenchymal transition; TGF – β1/Smads signaling pathway; mouse

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是由糖尿病相关的葡萄糖代谢紊乱所触发的肾脏代谢、血流动力学、炎症及纤维化改变共同驱动,以肾小球肥大、肾小球硬化、肾小管间质炎症及纤维化为主要临床表现,是 1 型和 2 型糖尿病常见且难治的并发症之一[1]。DN 的特征是肾间质纤维化引起的持续性白蛋白尿,其机制涉及高葡萄糖诱导的上皮 – 间充质转化(epithelial – mesenchymal transition, EMT)和肾小管纤维化[2]。纤维化出现在包括 DN 在内的多种慢性炎症性疾病中,其特征是胶原蛋白和纤连蛋白等细胞外基质(extracellular matrix, ECM)持续性积累所导致的器官功能障碍[3]。转化生长因子 – β1(transforming growth factor – β1, TGF – β1)通过激活经典 Smad2/3 信号通路调节炎症和纤维化,且是 DN 发生发展的关键介质[4]。淡豆豉异黄酮是从淡豆豉中提取的有效成分,具有调节脂质代谢和血糖等作用[5],但淡豆豉异黄酮对 DN 的改善作用及其机制尚不明确。因此,本研究旨在探讨淡豆豉异黄酮对 TGF – β1/Smads 通路和 EMT 的调控作用,以期为 DN 的防治提供实验依据。

1　材料

1.1　实验动物　50 只 SPF 级昆明小鼠购自新疆医科大学实验动物中心,动物生产许可证号:SCXK(新)2018 – 0003,雌雄各半,4 ~ 6 周龄,体质量 18 ~ 30 g,饲养环境温度 25 ~ 27 ℃,湿度 40% ~ 60%,自由进食和饮水,12 h/12 h 明暗交替循环。本研究通过新疆医科大学实验动物伦理委员会批准,伦理批号:IAACUC – 20220227 – 86。

1.2　药物与试剂　淡豆豉(湖北道地药材科技有限公司,批号:200723);蛋白质定量(BCA)法检测试剂盒(上海碧云天生物科技有限公司,货号:P0012);小鼠血肌酐(serum creatinine, Scr)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、尿蛋白检测试剂盒(南京建成生物工程有限公司,货号:C011 – 2 – 1、C013 – 2 – 1、C035 – 1 – 1);福尔马林组织固定液(南京森贝伽生物科技有限公司,货号:R2052);Masson 三色染色试剂盒(上海尚宝生物科技有限公司,批号:R23200);苏木素染色液(上海生工生物有限公司,货号:E607317);中性树胶(北京索莱宝生物科技有限公司,货号:G8590);Trizol 试剂(美国 Invitrogen 公司,货号:Y10185);反转录试剂盒(Takara 公司,批号:210714);SYBR Green PCR Mastermix(北京金克隆生物技术有限公司,批号:RE1210);抗 TGF – β1 抗体、抗 E – 钙黏蛋白(E – cadherin)抗体、抗 N – 钙黏蛋白(N – cadherin)抗体、抗波形蛋白(Vimentin)抗体(英国 Abcam 公司,货号:ab215715、ab76055、ab76011、ab8978);抗 Smad2/3 抗体、抗 p – Smad2/3 抗体、抗 SNAIL 抗体、抗 GAPDH 抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司,货号:3102、8828、3879、2118)。

1.3　仪器　HS – 4000 型组织切片机(金华市华速科技有限公司);ACCU – CHEK 血糖仪(德国罗氏生物科技有限公司);BX51 正置荧光显微镜(日本 Olympus 公司);DYY – 60 型电泳仪(北京六一生物科技有限公司);T100 型实时荧光定量 PCR 扩增

仪、ChemiDoc XRS$^+$ 化学发光凝胶成像系统(美国 Bio－Rad 公司);Fresco 21 高速冷冻离心机、NanoDrop One 微量蛋白浓度测定仪(美国 ThermoFisher Scientific 公司)。

2　方法

2.1　药物制备　参照文献[6]采用回流浸提技术提取淡豆豉异黄酮。按料液比 1∶10 将淡豆豉饮片置于圆底烧瓶中,加入 70% 乙醇浸没,瓶口安装冷凝管并接通冷凝水,70 ℃水浴加热回流浸提 2 h,过滤回流液后再加入 70% 乙醇重复浸提,共浸提 3 次,合并回流液。采用紫外分光光度法测定回流液中淡豆豉异黄酮含量为(3.58 ±0.82)mg·g^{-1}。

2.2　分组、造模及给药　50 只 SPF 级昆明小鼠适应性喂养 1 周后随机抽取 10 只作为对照组,剩余小鼠经高脂饲料(碳水化合物 21.21%、蛋白质 18.14%、脂肪 60.65%)连续喂养 6 周,禁食 12 h 后腹腔注射链脲佐菌素(60 mg·kg^{-1}),隔 72 h 后再注射 1 次,此后每天检测小鼠空腹血糖(fasting blood glucose,FBG),若 FBG≥11.1 mmol·L^{-1}即可判定糖尿病模型构建成功。糖尿病小鼠继续高脂饲料喂养 8 周,若 24 小时尿蛋白≥15 mg·dL^{-1}判定 DN 模型构建成功[7]。将造模成功的小鼠采用随机数字表法分为模型组、淡豆豉异黄酮高剂量组(50 mg·kg^{-1})、淡豆豉异黄酮中剂量组(25 mg·kg^{-1})、淡豆豉异黄酮低剂量组(12.5 mg·kg^{-1}),每组 10 只。各组小鼠以淡豆豉异黄酮或生理盐水灌胃,每日 1 次,连续 8 周。

2.3　样本制备　所有小鼠在末次灌胃后,禁食禁水 24 h,收集 24 h 尿液;摘眼球取血后,3 000 r·min^{-1}离心 10 min 获得血清;无菌条件下开腹摘取双侧肾脏,称取体质量与肾脏质量并计算肾脏系数;左肾组织经福尔马林溶液固定后用于 Masson 染色和免疫组织化学染色;右肾组织于－80 ℃超低温冰箱保存,用于 RT－qPCR 与 Western blot 检测。

2.4　小鼠随机血糖、Scr、BUN 和 24 小时尿蛋白测定　采用 ACCU－CHEK 血糖仪检测各组小鼠随机血糖水平,按照试剂盒说明书检测 24 小时尿蛋白含量,采用 ELISA 法检测小鼠血清 Scr、BUN 水平。

2.5　Masson 染色检测小鼠肾脏纤维化情况　取福尔马林溶液固定 4 d 的小鼠肾组织,经梯度乙醇脱水,石蜡包埋后制备 4 μm 连续切片。切片依次经二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化后,在蒸馏水中放置 30 s;苏木素染核 5 min,1% 盐酸乙醇分色 5 s,1% 碳酸锂返蓝 5 min;Masson 丽春红酸性复红液染色 5 min,2% 冰醋酸冲洗 1 min;苯胺蓝水溶液染色 2 min,2% 冰醋酸冲洗 1 min;梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。光学显微镜下观察,胶原纤维呈蓝色。

2.6　免疫组织化学染色检测小鼠肾脏 EMT 相关蛋白表达水平　小鼠肾脏组织经固定、包埋、切片、水化处理后,使用热柠檬酸钠溶液加热切片 15 min 进行抗原修复;PBS 冲洗 2 次,滴加内源性过氧化物酶阻断液,室温孵育 10 min;PBS 冲洗 5 min,加封闭血清 37 ℃孵育 30 min;滴加一抗 37 ℃孵育 2 h,PBS 冲洗 5 min,再用二抗 37 ℃孵育 30 min,PBS 冲洗后用 DAB 显色液染 5 min,再滴加苏木素染液 30 s,蒸馏水冲洗,经脱水、透明后用中性树胶封片。采用 Image J 软件进行半定量分析,每张切片随机选取 5 个不重叠的肾皮质视野,测量并计算每个视野中 DAB 阳性染色区域(棕黄色)的面积占肾小管组织总面积的百分比。

2.7　RT－qPCR 检测小鼠肾组织纤维化和 EMT 相关分子基因表达水平　采用 Trizol 提取小鼠肾组织总 RNA,通过反转录试剂盒逆转录成 cDNA,然后通过 SYBR－Green 进行 RT－qPCR,反应体系包括 1 × buffer、0.4 mmol·L^{-1} dNTPs、上游引物 0.4 μmol·L^{-1}、下游引物 0.4 μmol·L^{-1}、DNA 模板 100 ng、热启动酶 5 U、ddH_2O 50 μL。引物序列如表 1 所示,采用 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 法计算目的基因的相对表达量。

2.8　Western blot 法检测小鼠肾组织 TGF－β1/Smad2/3 通路蛋白表达水平　取小鼠肾组织,加入 RIPA 裂解液提取总蛋白,BCA 试剂盒测量蛋白浓度后,加入上样缓冲液于 100 ℃沸水变性 5 min,等量蛋白通过 10% SDS－PAGE 电泳分离蛋白后进行转膜处理。PVDF 膜在 5% 脱脂奶粉中室温封闭 1 h,加入 TGF－β1 抗体(1∶1 000)、Smad2/3 抗体(1∶1 000)、p－Smad2/3 抗体(1∶500)和 SNAIL 抗体(1∶1 000),4 ℃孵育过夜,次日回收一抗,用 TBST 缓冲液室温洗涤 3 次后,加入辣根过氧化物酶耦合的二抗室温孵育 1 h,TBST 室温清洗 3 次后,加显色液于 ECL 发光仪成像。

2.9　统计学方法　采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,通过 *K－S* 检验和 *Levene* 检验对数据进行正态性和方差齐性检验,对于满足正态分布和方差齐性的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)描述,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 *t* 检验。$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

表 1　引物序列

基因	序列
CTGF	上游:5′ – GCGCCAAGCAGCTGGGAGAA – 3′
	下游:5′ – CGGCCCCATCCAGGCAAGTG – 3′
Ⅲ型胶原蛋白(collagen type Ⅲ,Col Ⅲ)	上游:5′ – GCTATAGCCTCTCGCCTCTGACC – 3′
	下游:5′ – TATCGCCTCTCGCATATCGTTCGCCT – 3′
Ⅳ型胶原蛋白(collagen type Ⅳ,Col Ⅳ)	上游:5′ – TACTCAATCGTGAAGCAGTCGT – 3′
	下游:5′ – CGCATTACCGTTAACGTCAGAT – 3′
E – cadherin	上游:5′ – CTGAAGTGACTCGTAACGACG – 3′
	下游:5′ – CATGTCACCCAGCTTCTTGAA – 3′
N – cadherin	上游:5′ – GTGGGAGTTCGAGGTGACAG – 3′
	下游:5′ – GGGATGGTTTCTATGATTACAGC – 3′
Vimentin	上游:5′ – TATCCTGGTTGTTAATTGCGACCG – 3′
	下游:5′ – GGACTGGCACAAATGACATGCTTAG – 3′
β – actin	上游:5′ – CACGATGGAGGGGCCGCACTCATG – 3′
	下游:5′ – TAAAGACCTCTATGCCAAACACAGT – 3′

3　结果

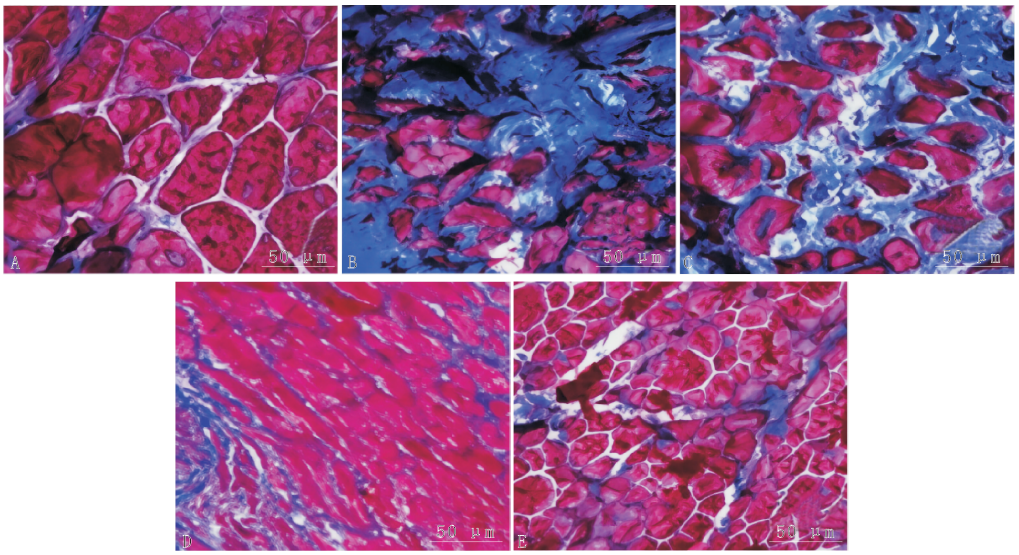
3.1　淡豆豉异黄酮改善 DN 小鼠代谢和肾功能　与对照组比较,模型组小鼠体质量降低,随机血糖、肾脏系数、Scr、BUN 及 24 小时尿蛋白水平显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,淡豆豉异黄酮高、中、低剂量组小鼠体质量升高,随机血糖、肾脏系数、Scr、BUN 及 24 小时尿蛋白水平显著降低($P<0.05$),见表 2。

表 2　各组小鼠代谢和肾功能比较　($\bar{x}\pm s$)

组别	n	体质量(m/g)	随机血糖(c/mmol·L^{-1})	肾脏系数	Scr(ρ/mg·dL^{-1})	BUN(ρ/mg·dL^{-1})	24 小时尿蛋白(ρ/mg·dL^{-1})
对照组	10	29.55±0.36	9.84±0.43	5.50±0.26	0.61±0.02	14.18±0.14	12.20±0.72
模型组	10	20.40±1.11*	22.68±1.24*	9.95±0.30*	1.00±0.02*	23.88±0.52*	29.61±0.93*
淡豆豉异黄酮低剂量组	10	22.02±0.50$^{\#}$	18.82±1.10$^{\#}$	8.44±0.22$^{\#}$	0.82±0.01$^{\#}$	20.68±0.55$^{\#}$	21.96±1.08$^{\#}$
淡豆豉异黄酮中剂量组	10	25.30±0.49$^{\#}$	15.81±1.16$^{\#}$	7.69±0.17$^{\#}$	0.76±0.01$^{\#}$	19.45±0.84$^{\#}$	17.52±1.96$^{\#}$
淡豆豉异黄酮高剂量组	10	26.99±0.52$^{\#}$	10.91±1.18$^{\#}$	6.65±0.11$^{\#}$	0.69±0.02$^{\#}$	17.45±0.61$^{\#}$	15.19±1.87$^{\#}$

注:与对照组比较,$^{*}P<0.05$;与模型组比较,$^{\#}P<0.05$。

3.2　淡豆豉异黄酮改善 DN 小鼠肾脏纤维化　Masson 染色结果显示,与对照组比较,模型组小鼠肾组织胶原纤维显著增加;淡豆豉异黄酮高、中、低剂量组小鼠肾组织中胶原纤维沉积较模型组减少,见图 1。定量分析显示,与对照组比较,模型组小鼠肾组织纤维化比例显著升高($P<0.05$);与模型组比较,淡豆豉异黄酮高、中、低剂量组小鼠肾组织纤维化比例显著降低($P<0.05$),见表 3。



注:A:对照组;B:模型组;C:淡豆豉异黄酮低剂量组;D:淡豆豉异黄酮中剂量组;E:淡豆豉异黄酮高剂量组。

图 1　各组小鼠肾组织 Masson 染色图(100×)

表 3　各组小鼠肾组织纤维化比例比较　（$\bar{x} \pm s$，%）

组别	n	纤维化比例
对照组	10	5.21 ± 1.10
模型组	10	48.72 ± 3.54*
淡豆豉异黄酮低剂量组	10	32.14 ± 2.81#
淡豆豉异黄酮中剂量组	10	18.52 ± 2.23#
淡豆豉异黄酮高剂量组	10	9.36 ± 1.52#

注：与对照组比较，* $P<0.05$；与模型组比较，# $P<0.05$。

RT－qPCR 结果显示，与对照组比较，模型组小鼠肾组织 *CTGF*、*Col* Ⅲ、*Col* Ⅳ mRNA 表达水平显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，淡豆豉异黄酮高、中、低剂量组小鼠肾组织 *CTGF*、*Col* Ⅲ、*Col* Ⅳ mRNA表达水平显著降低（$P<0.05$），见表 4。

3.3　淡豆豉异黄酮改善 DN 小鼠肾组织 EMT

RT－qPCR 结果显示，与对照组比较，模型组小鼠肾组织 *N－cadherin*、*Vimentin* mRNA 表达水平升高，*E－cadherin* mRNA 表达水平降低（$P<0.05$）。与模型组比较，淡豆豉异黄酮高、中、低剂量组小鼠肾组织 *N－cadherin*、*Vimentin* mRNA 表达水平降低，*E－cadherin* mRNA 表达水平升高（$P<0.05$），见表 5。

免疫组织化学结果显示，与对照组比较，模型组小鼠肾组织 E－cadherin 阳性百分比降低，N－cadherin 和 Vimentin 阳性百分比升高（$P<0.05$）；与模型组比较，淡豆豉异黄酮高、中、低剂量组小鼠肾组织 E－cadherin 阳性百分比升高，N－cadherin 和 Vimentin 阳性百分比降低（$P<0.05$），见图 2、表 6。

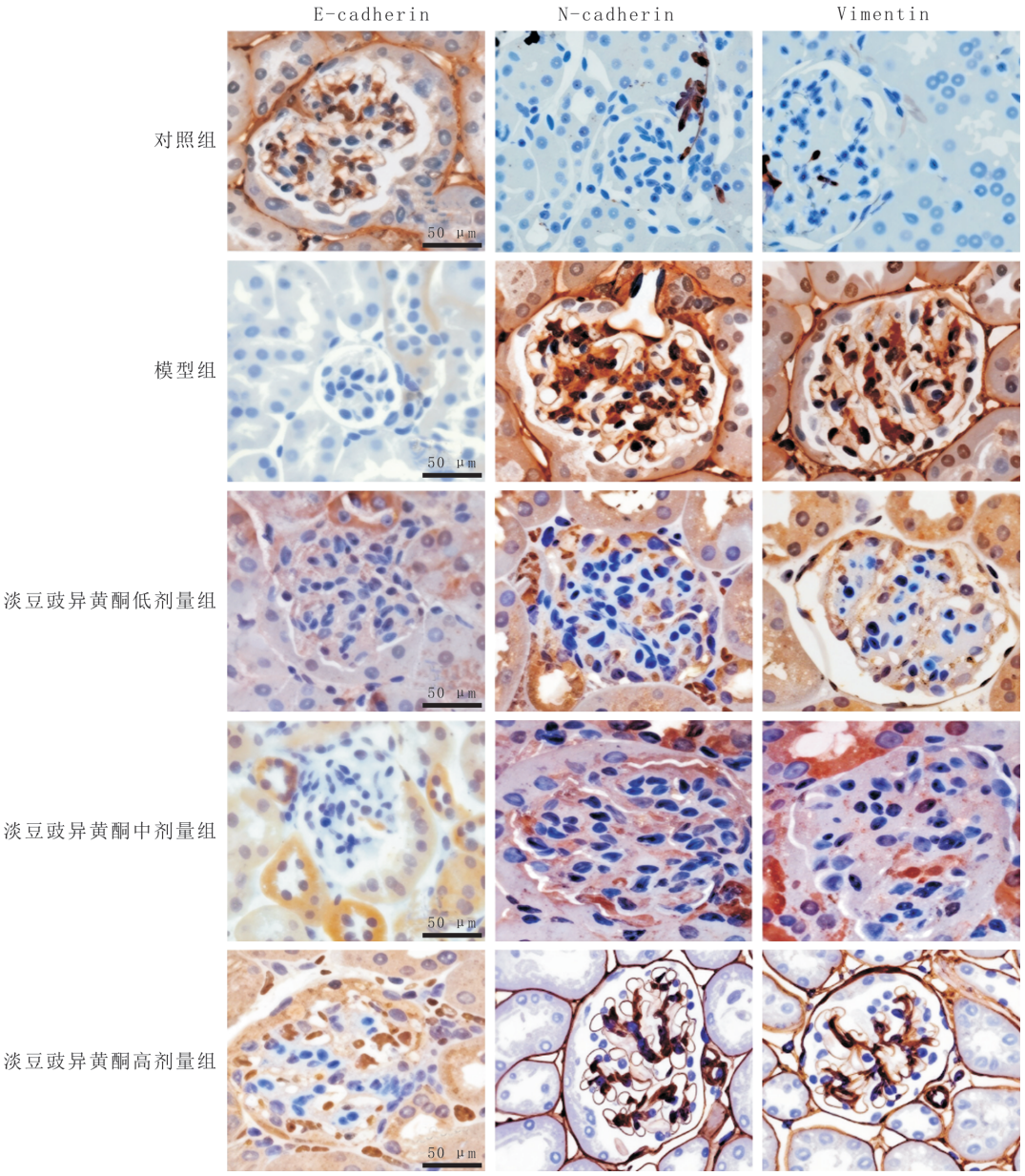


图 2　各组小鼠肾组织 EMT 相关因子免疫组化染色图（100 ×）

表 4　各组小鼠肾组织 *CTGF*、*Col* Ⅲ、*Col* Ⅳ mRNA 表达水平比较　（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	*CTGF* mRNA	*Col* Ⅲ mRNA	*Col* Ⅳ mRNA
对照组	10	1.33 ± 0.13	1.18 ± 0.15	1.62 ± 0.26
模型组	10	4.32 ± 0.25 *	4.97 ± 0.19 *	5.50 ± 0.14 *
淡豆豉异黄酮低剂量组	10	3.30 ± 0.13#	3.44 ± 0.14#	4.30 ± 0.33#
淡豆豉异黄酮中剂量组	10	2.19 ± 0.28#	2.78 ± 0.12#	3.93 ± 0.73#
淡豆豉异黄酮高剂量组	10	1.49 ± 0.21#	2.11 ± 0.24#	2.83 ± 0.16#

注：与对照组比较，* $P < 0.05$；与模型组比较，#$P < 0.05$。

表 5　各组小鼠肾组织 EMT 相关分子 mRNA 表达水平比较　（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	*E – cadherin* mRNA	*N – cadherin* mRNA	*Vimentin* mRNA
对照组	10	4.08 ± 0.12	1.23 ± 0.15	1.32 ± 0.30
模型组	10	1.69 ± 0.09 *	4.65 ± 0.12 *	5.10 ± 0.28 *
淡豆豉异黄酮低剂量组	10	2.19 ± 0.15#	3.65 ± 0.16#	3.94 ± 0.22#
淡豆豉异黄酮中剂量组	10	3.63 ± 0.33#	2.73 ± 0.11#	3.09 ± 0.13#
淡豆豉异黄酮高剂量组	10	4.07 ± 0.08#	2.05 ± 0.14#	2.29 ± 0.10#

注：与对照组比较，* $P < 0.05$；与模型组比较，#$P < 0.05$。

表 6　各组小鼠肾组织 EMT 相关分子阳性百分比比较　（$\bar{x} \pm s$，%）

组别	n	E – cadherin	N – cadherin	Vimentin
对照组	10	65.32 ± 4.21	12.45 ± 2.33	5.18 ± 1.02
模型组	10	22.15 ± 3.45 *	54.87 ± 3.76 *	52.34 ± 2.98 *
淡豆异黄酮低剂量组	10	35.28 ± 2.67#	45.23 ± 3.12#	42.56 ± 2.45#
淡豆异黄酮中剂量组	10	48.56 ± 3.01#	30.12 ± 2.78#	25.67 ± 2.13#
淡豆异黄酮高剂量组	10	58.43 ± 2.89#	18.34 ± 1.95#	10.23 ± 1.45#

注：与对照组比较，* $P < 0.05$；与模型组比较，#$P < 0.05$。

3.4　淡豆豉异黄酮抑制 DN 小鼠 TGF – β1/Smads 信号通路　Western blot 显示，与对照组比较，模型组小鼠肾组织 TGF – β1、Smad2/3、p – Smad2/3、SNAIL 蛋白表达水平升高（$P < 0.05$）。与模型组比较，淡豆豉异黄酮高、中、低剂量组小鼠肾组织 TGF – β1、Smad2/3、p – Smad2/3、SNAIL 蛋白表达水平降低（$P < 0.05$），见图 3、表 7。

表 7　各组小鼠肾组织 TGF – β1/Smads 信号通路相关蛋白表达水平比较　（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	TGF – β1	Smad2/3	p – Smad2/3	SNAIL
对照组	10	0.42 ± 0.05	0.96 ± 0.07	0.35 ± 0.04	0.41 ± 0.05
模型组	10	1.87 ± 0.12 *	1.03 ± 0.08 *	1.68 ± 0.11 *	1.72 ± 0.13 *
淡豆异黄酮低剂量组	10	1.23 ± 0.08#	0.97 ± 0.06#	1.12 ± 0.07#	1.15 ± 0.08#
淡豆异黄酮中剂量组	10	0.78 ± 0.06#	0.92 ± 0.05#	0.68 ± 0.05#	0.76 ± 0.06#
淡豆异黄酮高剂量组	10	0.48 ± 0.04#	0.89 ± 0.06#	0.39 ± 0.03#	0.45 ± 0.04#

注：与对照组比较，* $P < 0.05$；与模型组比较，#$P < 0.05$。

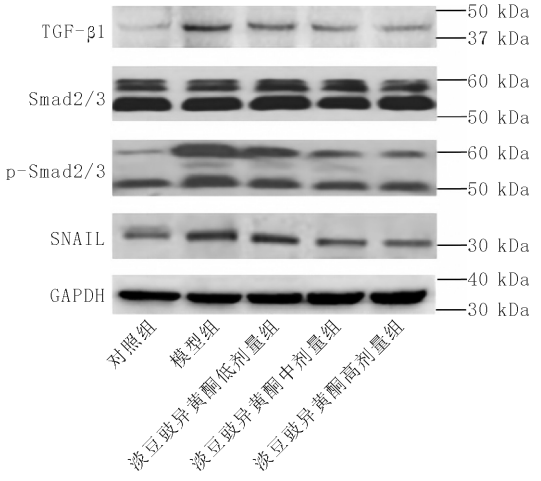


图 3　各组小鼠肾组织 TGF – β1/Smads 信号通路相关蛋白条带图

4　讨论

DN 是糖尿病患者残疾和死亡的主要原因之一，早期临床症状较轻微，疾病进程较缓慢。但若不及时干预可出现大量蛋白尿并最终发展为慢性肾功能衰竭，需要通过透析维持生命[8-10]。由于目前缺乏有效控制 DN 进展的靶向药物，因此探索 DN 的发病和病理机制对于制定有效防治措施具有重要意义。

DN 归属于中医“肾消”“水肿”等范畴，以肾精亏虚、微型癥瘕为主要病机，痰、热、郁、瘀胶结于肾，治疗应以补肾固精为总则，兼以活血通脉、解郁清热[11-12]。淡豆豉善治阴虚消渴，其所富含的异黄酮可通过调节糖脂代谢发挥降血糖和防治糖尿病引起的大血管病变等作用[13-15]。本研究结果亦显示，淡豆豉异黄酮可显著降低 DN 小鼠随机血糖、Scr、BUN 及 24 小时尿蛋白水平，并改善肾组织纤维化，且具有剂量依赖性。

在高糖和尿蛋白等病理状态刺激下，肾小管上皮细胞向间充质干细胞转化，失去其上皮表型并分化为成纤维细胞或肌成纤维细胞，进而分泌细胞因子和趋化因子以促进 ECM 合成，最终导致 DN 进展过程中肾功能恶化和肾小管间质纤维化[16-18]。因此，EMT 被认为是导致肾功能衰竭的 DN 的主要病理特征，抑制 EMT 可挽救 DN 患者肾功能障碍并逆转肾间质纤维化进展。本研究结果显示，淡豆豉异黄酮能够显著减少 DN 小鼠肾组织纤维化和胶原蛋

白沉积，恢复上皮标志物 E－cadherin 的表达，降低间充质细胞标志物 N－cadherin 和 Vimentin 的表达，这表明淡豆豉异黄酮对于逆转 DN 肾组织损伤、纤维化和 EMT 进程具有显著疗效。

TGF－β1/Smads 信号通路的异常激活与多种纤维化疾病的发生发展有关，在肾小球系膜区和肾小管间质细胞外基质代谢过程中具有重要作用[19－21]。TGF－β1/Smads 信号通路激活导致纤维化分子的基因转录增加，加快肾系膜增生与纤维化。在 DN 病变过程中，由于肾基底膜区域受损同时伴有 TGF－β1 过度激活，大量蛋白质漏出，导致蛋白尿出现[22－23]。本研究的结果与之一致，DN 模型组 TGF－β1/Smad2/3 通路出现过度激活，TGF－β1、p－Smad2/3 与其靶分子 SANIL 蛋白表达水平显著升高，淡豆豉异黄酮则能显著抑制 TGF－β1/Smad2/3 通路的激活。研究表明，TGF－β1/Smads 信号通路通过促进 EMT 诱导肾实质细胞凋亡以及激活肾间质成纤维细胞和炎症细胞参与肾组织纤维化[24－25]。本研究结果也表明，淡豆豉异黄酮对 EMT 和 TGF－β1/Smads 信号通路均具有抑制作用。

本研究尚存在一定局限性，首先，样本量相对较小；其次，仅评估了 TGF－β1/Smads 通路中部分关键分子的蛋白水平变化，未能对各信号环节进行系统干预；再者，淡豆豉异黄酮－TGF－β1/Smads－EMT－肾纤维化机制轴的因果关系尚需更深入的研究加以阐明。后续研究可通过基因敲除或特异性抑制剂干预进一步验证各环节之间的相互作用。

综上所述，淡豆豉异黄酮可减轻 DN 小鼠肾纤维化和 EMT 以改善肾功能损伤，作用机制可能与抑制 TGF－β1/Smads 信号通路有关。本研究为阐明 DN 发病机制及开发靶向治疗药物提供了新的实验依据。

参考文献：

[1] Wang N, Zhang C. Recent advances in the management of diabetic kidney disease: slowing progression[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(6): 3086.

[2] Ma Z J, Zhu L L, Wang S S, et al. Berberine protects diabetic nephropathy by suppressing epithelial－to－mesenchymal transition involving the inactivation of the NLRP3 inflammasome[J]. Ren Fail, 2022, 44(1): 923－932.

[3] Sharma S, Watanabe T, Nishimoto T, et al. E4 engages uPAR and enolase－1 and activates urokinase to exert antifibrotic effects[J]. JCI Insight, 2021, 6(24): e144935.

[4] Lin H C, Paul C R, Kuo C H, et al. Glycyrrhiza uralensis root extract ameliorates high glucose－induced renal proximal tubular fibrosis by attenuating tubular epithelial－myofibroblast transdifferentiation by targeting TGF－β1/Smad/Stat3 pathway[J]. J Food Biochem, 2022, 46(5): e14041.

[5] 马晶鑫，郭金洲，陈海宁，等. 淡豆豉异黄酮通过 PPARγ/LXRα/ABCA1 信号通路改善动脉粥样硬化小鼠脂质代谢的作用[J]. 中国实验方剂学杂志，2022，28(11)：110－118.

[6] 刘晶，黄文娟，卢军，等. 基于 2 型糖尿病小鼠模型探索生品黑豆、淡豆豉对二肽基肽酶－4 活性的影响[J]. 世界中医药，2023，18(1)：70－74，80.

[7] Zhu X X, Meng X Y, Du X Y, et al. Vaccarin suppresses diabetic nephropathy through inhibiting the EGFR/ERK1/2 signaling pathway[J]. Acta Biochim Biophys Sin, 2024, 56(12): 1860－1874.

[8] Guo M, He F F, Zhang C. Molecular therapeutics for diabetic kidney disease: an update[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(18): 10051.

[9] Rana R, Natoli T A, Khandelwal P, et al. VEPTP inhibition with an extracellular domain targeting antibody did not restore albuminuria in a mouse model of diabetic kidney disease[J]. Physiol Rep, 2024, 12(18): e70058.

[10] 刘仕琦，王艳，齐铮，等. 基于网络药理学探讨七味白术散预防糖尿病肾病的作用机制[J]. 世界科学技术－中医药现代化，2022，24(12)：4735－4744.

[11] 杨依萌，王诗尧，蔡秉洋，等. 国医大师吕仁和基于“通活血脉”应用川芎治疗糖尿病肾病[J]. 中医学报，2026，41(1)：142－146.

[12] 狄炳男，郑慧娟，曹博宁，等. 肾络风邪与糖尿病肾病尿蛋白的内在联系[J]. 中医学报，2024，39(7)：1400－1403.

[13] 牛丽颖，常淑凤，刘姣，等. 淡豆豉正丁醇提取物对糖尿病大鼠血糖及糖耐量的影响[J]. 时珍国医国药，2008，19(6)：1398－1399.

[14] 陈泓霖，申金金，李梦鸽，等. 淡豆豉活性成分与药理作用的研究进展[J]. 生物技术进展，2026，16(2)：277－287.

[15] 王益红. 淡豆豉提取物对Ⅱ型糖尿病大鼠大血管病变的防治作用及机制研究[D]. 石家庄：河北医科大学，2010.

[16] Liu Z J, Nan P, Gong Y H, et al. Endoplasmic reticulum stress－triggered ferroptosis via the XBP1－Hrd1－Nrf2 pathway induces EMT progression in diabetic nephropathy[J]. Biomedecine Pharmacother, 2023, 164: 114897.

[17] 谢冰，卫萌莹，孙新宇. 益肾通络方对糖尿病肾病大鼠 MEK/ERK 信号通路的影响[J]. 中医学报，2026，41(6)：1315－1322.

（下转第 2260 页）

er:a randomized, double - blind, phase 3 trial[J]. Cancer Pathog Ther,2025,3(4):337 - 345.
[12]Pan Q Z,Zhao J J,Liu L,et al. XELOX (capecitabine plus oxaliplatin) plus bevacizumab (anti - VEGF - A antibody) with or without adoptive cell immunotherapy in the treatment of patients with previously untreated metastatic colorectal cancer:a multicenter, open - label, randomized, controlled, phase 3 trial[J]. Sig Transduct Target Ther,2024,9(1):79.
[13]Duska L R,Lim J,Calderón Boyle T A,et al. The BEV1L study:Do real - world outcomes associated with the addition of bevacizumab to first - line chemotherapy in patients with ovarian cancer reinforce clinical trial findings? [J]. Cancer,2025,131(10):e35821.
[14]范微,吕媛琳,倪晓晨,等. 从缺氧微环境论"瘀毒"科学内涵:探肿瘤进展"土壤"之性及微观治道[J]. 中国中药杂志,2025,50(12):3483 - 3488.
[15]陈可冀,史载祥. 实用血瘀证学[M]. 北京:人民卫生出版社,1999.
[16]熊露,田少霞. 肺癌中医抗血管生成研究的几个关键问题[J]. 中医杂志,2009,50(11):965 - 967.
[17]于敏,徐婕,朱淼,等. 基于"脾为之卫"探讨中药对免疫检查点抑制剂治疗肿瘤的影响[J]. 中医学报,2025,40(3):515 - 522.
[18]王皓月,艾静,程悦蕾,等. 基于肿瘤相关巨噬细胞代谢重编程探讨大肠癌"脾虚瘀毒"病机[J]. 中医学报,2025,40(3):481 - 487.
[19]吴时礼,徐振晔. 近十年恶性肿瘤中医病因病机进展[J]. 吉林中医药,2020,40(7):976 - 980.
[20]王晓戎,李平,吴志丽. 肿瘤化疗后中医证候学特征调查研究[J]. 山东中医杂志,2006,25(1):18 - 20.
[21]蒋健鸿. 晚期非小细胞肺癌 TP 方案化疗前后中医证候特征临床研究[D]. 南京:南京中医药大学,2017.
[22]金柏军. 化疗对乳腺癌患者血糖和中医证候的影响[D]. 北京:北京中医药大学,2015.
[23]李沫函. 晚期大肠癌患者化疗前后中医证候变化的临床研究[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学,2014.
[24]李丹. 大肠癌化疗前后中医证型演变研究[D]. 南京:南京中医药大学,2020.
[25]孙语男,王凌. 王凌教授从"虚 - 痰 - 郁 - 火"辨证治疗恶性肿瘤放化疗及靶向治疗后虚劳经验[J]. 中国医药导报,2024,21(10):103 - 107.
[26]袁颢宸,李慧杰. 基于中医证型探讨乳腺癌化疗后骨髓抑制研究进展及方药药效分析[J]. 山东中医杂志,2025,44(3):359 - 364.

收稿日期:2026 - 05 - 07
编辑:秦小川

(上接第 2253 页)

[18]郑玲,陈立,王月. 新加肾元方调控 RIPK1/RIPK3/MLKL 通路对高糖诱导的糖尿病肾病肾小球足细胞损伤的影响[J]. 河北医学,2022,28(12):1961 - 1969.
[19]Wu H M,Xu F,Huang X L,et al. Lupenone improves type 2 diabetic nephropathy by regulating NF - κB pathway - mediated inflammation and TGF - β1/Smad/CTGF - associated fibrosis[J]. Phytomedicine,2023,118:154959.
[20]Qi C Y,Hu Y,Zeng M Y,et al. Verteporfin inhibits the dedifferentiation of tubular epithelial cells via TGF - β1/Smad pathway but induces podocyte loss in diabetic nephropathy[J]. Life Sci,2022,311(Pt B):121186.
[21]王晨,燕苗苗,邱志广,等. 金水缓纤方联合针刺对肺纤维化大鼠上皮间质转化及 TGF - β1/Smad2/3 通路的影响[J]. 中医学报,2025,40(8):1597 - 1605.
[22]Kundu S,Ghosh A,Yadav K S,et al. Imperatorin ameliorates kidney injury in diabetic mice by regulating the TGF - β/Smad2/3 signaling axis, epithelial - to - mesenchymal transition,and renal inflammation[J]. Eur J Pharmacol,2024,963:176250.
[23]郭轶彤,张文琦,高佳琦,等. 基于 TGF - β1/Smads 通路与线粒体自噬探讨益气养阴活血化瘀理论在糖尿病肾病中的应用[J/OL]. 中医学报,2026 (2026 - 03 - 02). https://link. cnki. net/urlid/41. 1411. R. 20260302. 1142. 041.
[24]Peng W,Zhou X C,Xu T T,et al. BMP - 7 ameliorates partial epithelial - mesenchymal transition by restoring SnoN protein level via Smad1/5 pathway in diabetic kidney disease[J]. Cell Death Dis,2022,13(3):254.
[25]许蒙恩,朱向东,陈冠廷,等. 基于 TGF - β1/Smads 通路探究芪丹肾络方抑制糖尿病肾病足细胞 EMT 的作用机制[J/OL]. 中国比较医学杂志,2026 (2026 - 07 - 09). https://link. cnki. net/urlid/11. 4822. R. 20260708. 1448. 002.

收稿日期:2026 - 05 - 10
编辑:刘凯歌