

• 论著 •

基于 Nrf2/ARE 信号通路探究人参皂苷 Rg3 对高糖诱导 HMC 细胞纤维化及生物活性作用机制^{*}

吴胜斌¹ 曹振东² 王应灯¹ 王雷² 贡纲²

(上海交通大学医学院附属第九人民医院 1. 肾脏内科; 2. 中医科, 上海 200011)

【摘要】目的 基于核因子 NF-E2 相关因子(Nrf2)/抗氧化物反应元件(ARE)信号通路探究人参皂苷 Rg3 对高糖诱导人肾小球系膜细胞(HMC)纤维化及生物活性作用机制。**方法** 将人肾小球系膜细胞分为 NC 组、HG 组、Rg3A 组、Rg3B 组、Rg3C 组 5 组。检测细胞生物活性; 荧光探针 DCFH-DA 法检测细胞中 ROS 含量; 蛋白质印迹检测细胞中 Nrf2、HO-1 蛋白及 TGF-β、IV-C、FN 蛋白表达。**结果** 与 NC 组相比, HG 组细胞增殖活性及侵袭能力均显著增加($P < 0.05$); 与 HG 组相比, Rg3A 组、Rg3B 组、Rg3C 组细胞增殖活性及侵袭能力均显著降低($P < 0.05$); Rg3C 组细胞增殖活性及侵袭能力显著低于 Rg3A 组、Rg3B 组($P < 0.05$)。与 NC 组相比, HG 组细胞凋亡率显著降低, G1 期增加($P < 0.05$); 与 HG 组相比, Rg3A 组、Rg3B 组、Rg3C 组细胞凋亡率均显著增加, G1 期均显著降低, Rg3C 组细胞 G1 期 $<$ Rg3B 组 $<$ Rg3A 组($P < 0.05$), 呈递增趋势($P < 0.05$), 且 Rg3C 组细胞凋亡率和细胞周期变化最为显著($P < 0.05$)。与 NC 组相比, GH 组细胞中 ROS 含量显著增加($P < 0.05$); 与 GH 组相比, Rg3A 组、Rg3B 组、Rg3C 组细胞中 ROS 含量均显著降低($P < 0.05$)。与 NC 组相比, GH 组细胞中 NNrf2 和 HO-1 蛋白表达均显著降低($P < 0.05$); 与 GH 组相比, Rg3A 组、Rg3B 组、Rg3C 组细胞中 Nrf2、HO-1 蛋白表达均显著增加, 且 Rg3C 组细胞中蛋白表达增加最显著($P < 0.05$)。与 NC 组相比, GH 组细胞中 TGF-β、IV-C、FN 明显增加($P < 0.05$); 与 GH 组相比, Rg3A 组、Rg3B 组、Rg3C 组细胞中 TGF-β、IV-C、FN 表达均显著降低, 且 Rg3C 组低于 Rg3B 组($P < 0.05$)。**结论** 人参皂苷 Rg3 可抑制高糖诱导的 HMC 细胞增殖、侵袭, 促进 HMC 细胞凋亡, 通过对细胞内 Nrf2/ARE 信号通路相关蛋白的调控加强系膜细胞的抗氧化能力。

【关键词】 Nrf2/ARE 信号通路; 人参皂苷 Rg3; 高糖; HMC 细胞; 纤维化; 生物活性

【中图分类号】 R285.5 **【文献标志码】** A **DOI:** 10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 10. 003

The mechanism of ginsenoside Rg3 on the fibrosis and biological activity of HMC cells induced by high glucose based on Nrf2/ARE signaling pathway

WU Shengbin¹, CAO Zhendong², WANG Yingdeng¹, WANG Lei², KUI Gang²

(1. Department of Nephrology, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai JiaoTong University School of Medicine, Shanghai 200011, China;

2. Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai JiaoTong University School of Medicine, Shanghai 200011, China)

【Abstract】Objective To explore the mechanism of ginsenoside Rg3 on the fibrosis and biological activity of HMC cells induced by high glucose based on Nrf2/ARE signaling pathway. **Methods** Human mesangial cells were divided into 5 groups: NC group, HG group, Rg3A group, Rg3B group and Rg3C group. Cell proliferation, invasion, apoptosis and cell cycle were detected. Fluorescence probe DCFH-DA method was used to detect ROS content in cells. The expressions of Nrf2, HO-1, TGF-β, IV-C and FN were detected by Western blot. **Results** Compared with NC group, the proliferation activity and invasion ability of HG group were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with HG group, the proliferation activity and invasion ability of Rg3A, Rg3B and Rg3C groups were significantly decreased ($P < 0.05$). The proliferation activity and invasion ability of Rg3C group were significantly lower than those of Rg3A group and Rg3B group ($P < 0.05$). Compared with NC group, the apoptosis rate of HG group was significantly decreased, and G1 phase

基金项目: 上海交通大学“交大之星”计划医工交叉研究基金(YG2021ZD15)

通信作者: 贡纲, E-mail: fg2016kl@126.com

引用本文: 吴胜斌, 曹振东, 王应灯, 等. 基于 Nrf2/ARE 信号通路探究人参皂苷 Rg3 对高糖诱导 HMC 细胞纤维化及生物活性作用机制[J]. 西部医学, 2022, 34(10): 1414-1419. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 10. 003

was increased ($P<0.05$). Compared with HG group, the apoptosis rate of Rg3A group, Rg3B group and Rg3C group was significantly increased, and the G1 phase was significantly decreased with an increasing trend ($P<0.05$), and the apoptosis rate and cell cycle change of Rg3C group were the most significant ($P<0.05$). Compared with NC group, ROS content in GH group was significantly increased ($P<0.05$). Compared with GH group, ROS content in Rg3A, Rg3B and Rg3C groups was significantly decreased ($P<0.05$). Compared with NC group, the protein expressions of NNrf2 and HO-1 in GH group were significantly decreased ($P<0.05$). Compared with GH group, the protein expressions of Nrf2 and HO-1 in Rg3A group, Rg3B group and Rg3C group were significantly increased, and the protein expression in Rg3C group was most significantly increased ($P<0.05$). Compared with NC group, TGF- β , IV-c and FN in GH group were significantly increased ($P<0.05$). Compared with GH group, the expressions of TGF- β , IV-C and FN in Rg3A, Rg3B and Rg3C groups were significantly decreased, and the expressions of TGF- β , IV-C and FN in Rg3C group were lower than those in Rg3B group and Rg3A group ($P<0.05$). **Conclusion** Ginsenoside Rg3 can inhibit the proliferation and invasion of HMC cells induced by high glucose, promote HMC cell apoptosis, and enhance the antioxidant capacity of mesangial cells by regulating the protein related to the Nrf2/ARE signaling pathway in the cell.

【Key words】 Nrf2/ARE signaling pathway; Ginsenoside Rg3; High sugar; The HMC cells; Fibrosis; Biological activity

糖尿病肾病(Diabetic nephropathy, DN)是糖尿病患者最常见并发症之一,数据^[1]显示,我国糖尿病患者35%以上会发展为糖尿病肾病。目前,临幊上一般采用控制饮食、生活方式及降糖药物等控制患者血糖,以此延缓发展为DN的速度,但并不能从实质上对糖尿病肾病进行治疗^[2]。糖尿病患者发展为损伤的机制较为复杂,目前学者们一致认为主要因素为高糖、高血压导致的代谢异常和血流动力学改变^[3]。肾小球系膜细胞过度增殖、细胞外基质聚集等是DN早期重要的病理表现,其中肾小球系膜细胞和DN的发展密切相关^[4]。近年来研究^[5]发现,肾小球系膜细胞会因多种不同因素刺激而造成损伤,例如高糖、超氧化物、炎性因子、血管紧张素Ⅱ等,最终导致患者发展为糖尿病肾病。因此以人肾小球系膜细胞(Human mesangial cells, HMC)为研究对象,寻找合适的药物修复其在特殊情况下导致的损伤具有重要的科研意义。人参皂苷是人参中有效活性成分之一,在抗炎、抗氧化等中发挥多种药理作用^[6-7]。有研究证实,人参皂苷Rg3可保护糖尿病大鼠的肾脏,并有效延缓纤维化的发展,在多种肾疾病中均有很好的保护作用^[8]。目前DN的发病机制尚未完全阐明,有研究证实氧化应激和炎症反应是DN发展中不可或缺的两个驱动因素。核因子NF-E2相关因子(Nrf2)是转录因子中的一种,介导氧化应激通路,当Nrf2和抗氧化物反应元件(Antioxidant response elements, ARE)进行相互作用时,促进抗氧化蛋白、Ⅱ相解毒酶的表达,同时对体内氧化应激产生的自由基能有效清除,进而对细胞的氧化还原状态进行维持;相反Nrf2的缺失会减少机体内的抗氧化酶,加重细胞中氧化应激的负效应,进而对氧化应激性纤维化疾病进行诱导^[9-10]。本研究探讨人参皂苷Rg3对高糖诱导肾小球系膜细胞

纤维化、生物活性及Nrf2/ARE信号通路的作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 细胞系 人肾小球系膜细胞购自中国上海科学院。

1.1.2 试剂和仪器 人参皂苷Rg3(山东靶点药物研究有限公司);Nrf2、ARE多克隆抗体(美国Santa Cruz Biotechnology公司);胎牛血清、RPMI-1640培养基(美国Gibco公司);MTT试剂(广州康盛生物科技股份有限公司);MoFlo XDP流式细胞仪(Beckman Coulter公司);150i二氧化碳培养箱(美国Thermo Fisher公司);TDZ4台式低温离心机(湖南赫西仪器装备有限公司);电子分析天平(美国丹佛仪器公司)。

1.2 细胞培养和分组 常规复苏人肾小球系膜细胞,将细胞接种于含10%胎牛血清的DMEM培养基中,于37℃、5%CO₂及饱和湿度的孵育箱中培养。细胞贴壁生长,2~3 d传代,当细胞生长达到60%~80%融合状态时,取对数生长期的细胞用于实验。将人肾小球系膜细胞分NC组(用含5.6 mmol/L葡萄糖的培养基培养HMC细胞48 h)、HG组(用含30 mmol/L葡萄糖的培养基培养HMC细胞)、Rg3A组(用含30 mmol/L葡萄糖+10 μmol/L的培养基培养HMC细胞)、Rg3B组(用含30 mmol/L葡萄糖+30 μmol/L的培养基培养HMC细胞)、Rg3C组(用含30 mmol/L葡萄糖+50 μmol/L的培养基培养HMC细胞)。

1.3 MTT法检测细胞增殖 取对数生长的人肾小球系膜细胞,消化后接种于96孔板内,置于常规培养箱中分别配于12、24、48、72 h。将新鲜配制的5 g/L MTT溶液分别加入到空版内,弃掉上清液,将150 μL二甲基亚砜加入到各孔的细胞中,溶解甲瓒。测定酶

标仪于490 nm处的吸光度值。

1.4 Transwell侵袭实验检测细胞侵袭能力 将各组细胞置于24孔板内,每组设4个复孔,培养48 h后,将Matrigel基质胶稀释1倍后均匀的铺在Transwell小室的上室微孔膜上,于常规培养箱孵育4 h。收集各组HMC细胞制成单细胞悬液,调整细胞密度为 2×10^5 /mL,常规培养箱饥饿培养细胞24 h。在上室中加入不含血清的饥饿培养细胞悬液,同时上室加入0.1%BSA,将500 μL含15%FBS的DMEM培养基加入到Transwell小室的下室中,培养36 h,用棉签将上室上面的非侵袭细胞及基质胶擦拭干净,于4%多聚甲醛室温固定30 min,0.01%伊红染色液37℃染色30 min,悬挂晾干小室并置于载玻片上,倒置显微镜下随机读取10个高倍视野,计算穿模细胞数并取均值。

1.5 流式细胞仪检测细胞凋亡及细胞周期水平 取各组细胞,培养48 h后,用胰蛋白酶消化,PBS溶液洗涤细胞并重悬,用5 μL膜联蛋白V-FITC和10 μL PI于室温环境中染色细胞,15 min后孵育细胞,用流式细胞仪检测细胞。凋亡细胞用膜联蛋白V表达标记,和对照组比较后计算细胞的凋亡率。将各组细胞用冰冷的70%乙醇固定,PBS重悬细胞,将RNA酶加入到细胞中,于37℃环境中孵育细胞,30 min后将细胞置于400 μL PI中,室温培养细胞40 min。用流式细胞仪分析G0、G1、S、M中不同相中的细胞。

1.6 ROS水平检测 采用荧光探针DCFH-DA法检测细胞内ROS水平。取各组细胞,培养48 h后,并悬浮于1 mL终浓度为10 μmol/L的DCFH-DA液中,置于37℃培养箱避光孵育。30 min后离心细胞(1000 r/min,5 min)和PBS洗涤,上流式细胞仪488 nm激发波长、525 nm发射波长检验荧光强度(FI),间接检测ROS含量。

1.7 蛋白质印迹检测细胞中Nrf2/ARE信号通路相关蛋白 Nrf2、HO-1蛋白表达及TGF-β、IV-C、FN的表达取各组细胞,培养48 h后裂解,离心裂解后的细胞,收集上清液,用BCA法测定上清液中的蛋白浓

度。将5×上样缓冲液加入到细胞中,煮沸细胞至变性,保存于-80℃环境中。取5 μL蛋白样品并电泳,待半干时转移到PVDF膜上,脱脂奶粉(5%)封闭1 h,用特异性抗体孵育膜过夜(4℃),用对应的二抗继续孵育2 h。用ECL法检测,并分析蛋白条带灰度值。

1.8 统计学分析 统计学分析采用SPSS 19.0软件,所有剂量资料用均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析;每两组间的数据比较用t检验,用GraphPad Prism 7软件对实验数据进行相关图片的绘制,以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组细胞增殖能力比较 HG组细胞增殖活性较NC组显著增加(P<0.05);与HG组相比,Rg3A组、Rg3B组、Rg3C组细胞增殖活性均显著降低(P<0.05);Rg3C组细胞增殖活性低于Rg3B组,Rg3B组细胞增殖活性低于Rg3A组(P<0.05)。见图1。

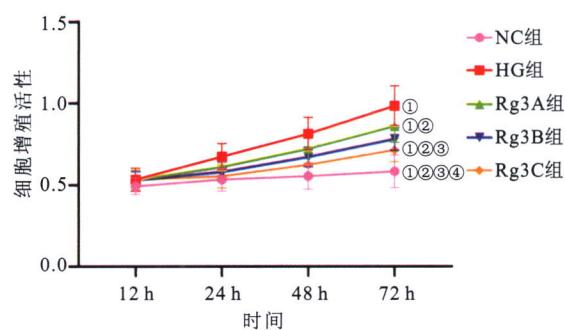


图1 细胞增殖能力比较

Figure 1 Comparison of cell proliferation ability

注:与NC组相比,①P<0.05;与HG组相比,①P<0.05;与Rg3A组相比,③P<0.05;与Rg3B组相比,④P<0.05

2.2 各组细胞侵袭能力比较 NC组细胞侵袭数量为 (1.10 ± 0.10) 个,与NC组相比,HG组细胞侵袭数量 $[(51.32 \pm 5.14) \text{ 个}]$ 显著增加(P<0.05);与HG组相比,Rg3A组 (34.67 ± 4.08) 个、Rg3B组 (19.36 ± 2.94) 个、Rg3C组 (6.82 ± 1.17) 个细胞侵袭数量均逐渐降低(P<0.05);Rg3C组细胞侵袭数量均低于Rg3A组和Rg3B组。见图2。

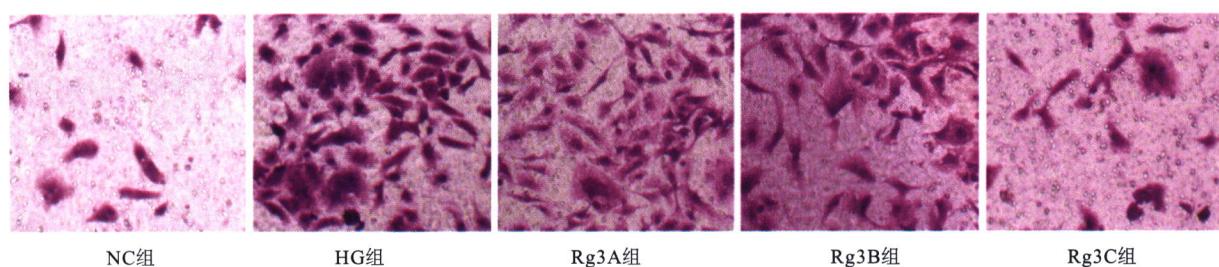


图2 Transwell小室法检测细胞侵袭数量

Figure 2 Transwell method to detect the number of cell invasion

2.3 各组细胞凋亡能力和周期比较 HG 组细胞凋亡率较 NC 组显著降低 ($P < 0.05$)；与 HG 组相比，Rg3A 组、Rg3B 组、Rg3C 组细胞凋亡率均显著增加，且呈递增趋势 ($P < 0.05$)，且 Rg3C 组细胞凋亡率明显高于 Rg3A 组和 Rg3B 组 ($P < 0.05$)。HG 组细胞 G1 期明显高于 NC 组 ($P < 0.05$)；与 HG 组相比，Rg3A 组、Rg3B 组、Rg3C 组细胞 G1 期均显著降低 ($P < 0.05$)；Rg3C 组细胞 G1 期 $<$ Rg3B 组 $<$ Rg3A 组 ($P < 0.05$)。见表 1 和图 3。

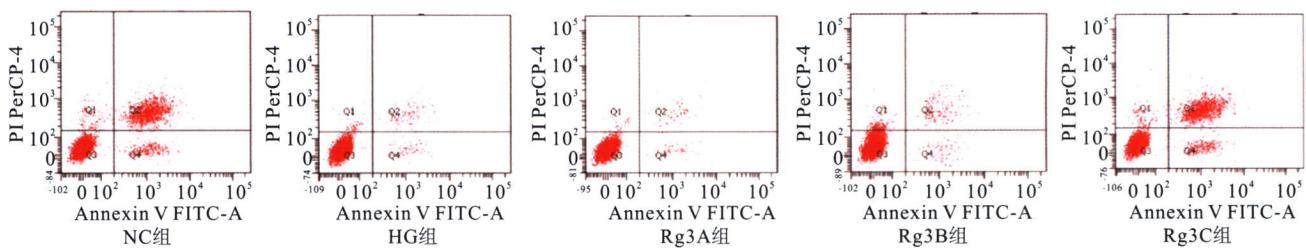


图 3 流式细胞仪检测细胞凋亡
Figure 3 Flow cytometry detection of apoptosis

2.4 各组细胞中 ROS 含量比较 NC 组细胞中 ROS 含量为 (1.00 ± 0.11) ，与 NC 组相比，HG 组细胞中 ROS 含量 (110.23 ± 5.15) 显著增加 ($P < 0.05$)；Rg3A 组 (72.81 ± 4.06) 、Rg3B 组 (56.27 ± 2.97) 、Rg3C 组

表 1 各组细胞凋亡能力和周期比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of apoptotic capacity and cycle of cells in each group

组别	凋亡率($\times 10^{-2}$)	G1 期
NC 组	10.11 ± 1.12	21.34 ± 2.56
HG 组	$3.24 \pm 0.23^{\oplus}$	$71.29 \pm 5.45^{\oplus}$
Rg3A 组	$5.37 \pm 0.54^{\oplus\oplus}$	$58.64 \pm 4.21^{\oplus\oplus}$
Rg3B 组	$7.36 \pm 0.72^{\oplus\oplus\oplus}$	$46.31 \pm 3.67^{\oplus\oplus\oplus}$
Rg3C 组	$9.27 \pm 1.01^{\oplus\oplus\oplus\oplus}$	$34.25 \pm 3.08^{\oplus\oplus\oplus\oplus}$
F	75.84	150.6
P	<0.0001	<0.0001

注：与 NC 组相比，① $P < 0.05$ ；与 HG 组相比，② $P < 0.05$ ；与 Rg3A 组相比，③ $P < 0.05$ ；与 Rg3B 组相比，④ $P < 0.05$

(23.46 ± 1.38) 细胞中 ROS 含量显著低于 HG 组 ($P < 0.05$)；与 Rg3A 组和 Rg3B 组相比，Rg3C 组细胞中 ROS 含量最低 ($P < 0.05$)。见图 4。

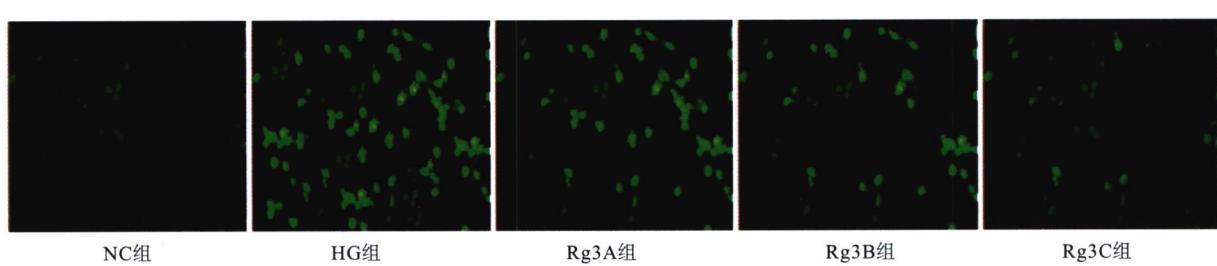


图 4 显微镜下细胞内活性氧荧光强度(DCFH-DA 探针染色, 200×)
Figure 4 Intracellular reactive oxygen species fluorescence intensity under microscope

2.5 各组细胞中 Nrf2、HO-1 蛋白表达及 TGF-β、IV-C、FN 表达 与 NC 组相比，GH 组细胞中 Nrf2/ARE 信号通路相关蛋白 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达均显著降低 ($P < 0.05$)；与 GH 组相比，Rg3A 组、Rg3B 组、Rg3C 组细胞中 Nrf2、HO-1 蛋白表达均显著增加，且 Rg3C 组细胞中蛋白表达增加最显著 ($P < 0.05$) (见图 5A、图 5B)。与 NC 组相比，GH 组细胞中 TGF-β、IV-C、FN 明显增加 ($P < 0.05$)；与 GH 组相比，Rg3A 组、Rg3B 组、Rg3C 组细胞中 TGF-β、IV-C、FN 表达均显著降低，且 Rg3C 组低于 Rg3B 组低于 Rg3A 组 ($P < 0.05$)。见图 5C、图 5D)。

3 讨论

糖尿病肾病是糖尿病患者中最严重的一种微血

管并发症^[11]。系膜细胞是肾小球内固有的活跃功能细胞，其过度增殖是糖尿病肾病中重要的病理特征。有研究发现，高糖可诱导系膜细胞的过度增殖，并对糖尿病肾病的发展有明显的促进作用^[12]。有学者们研究发现，高糖诱导的系膜细胞是观察细胞增殖最优的体外模型。因此，本研究采用人肾小球系膜细胞作为实验细胞，同样用高糖诱导系膜细胞发现其发生过度增殖，和前文结果一致。

文献显示，中医可有效治疗糖尿病肾病且疗效确切，虽然部分中药的成为较复杂，但中药在临床上的治疗不仅可以对临床症状进行改善，缓解患者的病情，而且还能对患者的肾脏进行保护。近些年，随着天然药物化学等领域的兴盛，中药在治疗糖尿病肾病

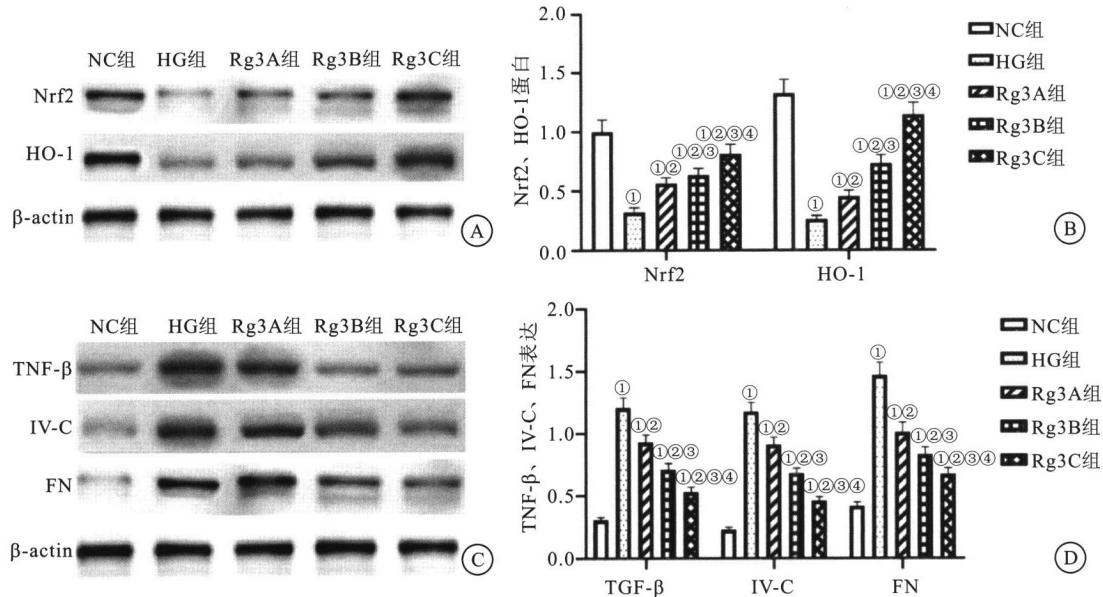


图5 各组细胞中Nrf2、HO-1蛋白表达及TGF-β、IV-C、FN表达

Figure 5 Nrf2, HO-1 protein expression and TGF-β, IV-C, FN expression in each group of cells

注: A. 各组细胞中 Nrf2、HO-1 蛋白表达; B. 各组细胞中 Nrf2、HO-1 蛋白表达比较; C. 各组细胞中 TGF-β、IV-C、FN 蛋白表达; D. 各组细胞中 TGF-β、IV-C、FN 表达比较。与 NC 组相比, ① $P < 0.05$; 与 HG 组相比, ② $P < 0.05$; 与 Rg3A 组相比, ③ $P < 0.05$; 与 Rg3B 组相比, ④ $P < 0.05$

的治疗上显现出广阔的应用前景。人参皂苷 Rg3 主要提取于人参, 是其中重要的活性成分之一, 在减轻炎症反应、氧自由基和抗氧化等中有很好的疗效^[13]。有学者研究发现, DN 大鼠的肾脏病理损伤可用过人参皂苷 Rg3 进行改善, 同时对大鼠的血糖、肌酐、24 h 蛋白尿具有很好的抑制作用, 进而对肾脏进行保护^[14]。本研究发现, 人参皂苷 Rg3 能有效调控系膜细胞的生物学活性, 提示其对肾小球系膜细胞的过度增殖有很好的抑制作用。冀楷等^[15]研究证实, 人参皂苷 Rg3 可有效抑制高糖诱导的系膜细胞增殖, 可预防并治疗糖尿病肾病的发生发展, 进而发挥肾脏保护作用。TGF-β 是高糖以及一些导致肾脏损伤的生化因素的重要递质, 介导糖尿病肾病的生物活性等, TGF-β 可作为检测肾间质纤维化成为的指标之一^[16]。IV-C 是肾小球基底膜胶原中重要成分之一, 是基质胶原中最典型的一种, 可由多种细胞分泌和合成, 例如活化的肾小球系膜细胞、上皮细胞等, 因此 IV-C 合成和降解平衡出现失调, 可导致糖尿病肾病肾小球发生病理性改变。FN 是组成细胞外基质的一部分之一, 正常状态下系膜细胞会产生少量 FN, 在病理情况下系膜细胞产生 FN 的含量增多。本研究结果显示, 不同浓度的人参皂苷 Rg3 均可抑制细胞中 TGF-β、IV-C、FN 表达。吴胜斌等^[17]研究证实, 人参皂苷 Rg1 可通过上调肾间质 HGF 水平, 抑制 TGF-β1 表达来延缓肾间质纤维化进程, 发挥肾组织保护作用。

有学者研究发现, ROS 是氧化应激中高活性分子

之一, 对肾细胞损伤有一定促进作用, 且高糖会促进 ROS 的生成, 进而破坏肾小球滤过膜, 诱导蛋白尿的发生; 大量的 ROS 会激活细胞内的转导信号, 增加 ECM 蛋白合成, 减少其降解, 进而对糖尿病肾病起促进作用^[18]。Nrf2/ARE 为机体内重要的抗氧化信号通路, Nrf2 可通过对 ARE 依赖的第Ⅱ相解毒酶基因和抗氧化基因的转录活性进行调控, 如 SOD、HO-1 等, 进而对氧化应激反应进行抑制。有研究^[19]证实, Nrf2 在组织对抗糖尿病氧化应激损伤中起着重要作用。本研究结果显示, 不同浓度的人参皂苷 Rg3 均可抑制细胞中 ROS 含量, 同时增加细胞中 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达, 提示人参皂苷 Rg3 能通过抑制 ROS 含量和调控 Nrf2/ARE 信号通路的相关蛋白, 加强人肾小球系膜细胞的抗氧化能力, 进而减轻 DN 导致的氧化损伤。赵颖丹等^[20]研究发现, PM2.5 诱导肾小管上皮细胞出现氧化损伤, 黄芪甲苷可抑制细胞中氧化应激反应, 其机制是通过调控 Keap1-Nrf2-ARE 信号通路来实现的。

4 结论

人参皂苷 Rg3 可抑制高糖诱导的 HMC 细胞增殖、侵袭, 促进 HMC 细胞凋亡, 通过对细胞内 Nrf2/ARE 信号通路相关蛋白的调控加强系膜细胞的抗氧化能力。

【参考文献】

- [1] ZHANG L, ZHAO S, ZHU Y. Long noncoding RNA growth

- arrest-specific transcript 5 alleviates renal fibrosis in diabetic nephropathy by downregulating matrix metalloproteinase 9 through recruitment of enhancer of zeste homolog 2[J]. The FASEB Journal, 2020, 34(2):2703-2714.
- [2] WANG R, XUE A, ZHENG W, et al. Elevated serum preptin concentrations in patients with diabetic nephropathy[J]. Journal of Investigative Medicine, 2019, 67(7):1048.
- [3] CHEN M B, WANG H, CUI W Y, et al. Effect of SGLT inhibitors on weight and lipid metabolism at 24 weeks of treatment in patients with diabetes mellitus: A systematic review and network meta-analysis[J]. Medicine, 2021, 100(6):e24593.
- [4] DONG J, DING L, WANG L, et al. Effects of bradykinin on proliferation, apoptosis, and cycle of glomerular mesangial cells via the TGF- β 1/Smad signaling pathway[J]. Turkish journal of biology, 2021, 45(1):17-25.
- [5] CHAUDHARI S, SHOTORBANI P Y, TAO Y, et al. Inhibition of interleukin-6 on matrix protein production by glomerular mesangial cells and its pathway involved[J]. American journal of physiology. Renal physiology, 2020, 318(6):671-679.
- [6] 方伟. 人参皂苷干预糖尿病及其并发症研究进展[J]. 实用中医药杂志, 2019, 35(5):125-127.
- [7] 李贵明, 李燕. 人参皂苷药理作用研究现状[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(8):1024-1027.
- [8] 吴胜斌, 王应灯. 人参皂苷 Rg3 对糖尿病肾病大鼠肾组织 Bax 和 B 淋巴细胞瘤-2 蛋白表达及肾细胞凋亡的影响[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2020, 34(1):5-8.
- [9] 李晓强, 隋峰, 王洋, 等. Keap1-Nrf2/ARE 信号通路在肿瘤中的双重作用及其与耐药性的关系[J]. 生物技术通讯, 2019, 30(6):827-832.
- [10] HUANG K, ZHAO X. USP9X prevents AGEs-induced upregulation of FN and TGF- β 1 through activating Nrf2-ARE pathway in rat glomerular mesangial cells[J]. Experimental Cell Research, 2020, 393(2):112100.
- [11] TAN Y M, GAO Y, TEO G, et al. Plasma Metabolome and Lipidome Associations with Type 2 Diabetes and Diabetic Nephropathy[J]. Metabolites, 2021, 11(4):228.
- [12] 曲萌, 侯勤龙, 翁诗雅, 等. 玉米须多糖对高糖诱导的肾小球系膜细胞增殖及炎症因子表达的影响[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2020, 21(4):461-465.
- [13] 袁佳蕾, 陈钦开. 人参皂苷 Rg3 抗肿瘤机制的研究进展[J]. 南昌大学学报医学版, 2019, 59(5):96-98.
- [14] 唐俊, 左满花. 人参皂苷 Rg3 对糖尿病肾脏疾病大鼠氧化应激和凋亡的影响[J]. 中国糖尿病杂志, 2017, 10(25):70-73.
- [15] 冀凯, 杜世豪, 李新, 等. 人参皂苷 Rg3 抑制高糖诱导的人肾小球系膜细胞过度增殖、炎症反应和 PTX3 的表达[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2020, 33(1):55-62.
- [16] 郑思道, 曹春, 姚全. 人参皂苷调控转化生长因子- β 信号通路的作用机制[J]. 世界中医药, 2019, 14(3):766-770.
- [17] 吴胜斌, 王应灯. 人参皂苷 Rg1 对肾间质纤维化大鼠肾组织肝细胞生长因子及转化生长因子- β _1 的影响[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2019, 33(5):422-425.
- [18] 王蕾蕾, 高学敏, 贾岚, 等. 青钱柳对 2 型糖尿病大鼠早期肾损伤标志物以及氧化应激的影响[J]. 环球中医药, 2020, 13(3):9-13.
- [19] HSIEH A R, HUANG Y C, YANG Y F, et al. Lack of association of genetic variants for diabetic retinopathy in Taiwanese patients with diabetic nephropathy[J]. BMJ Open Diabetes Research & Care, 2020, 8(1):e000727.
- [20] 赵颖丹, 张天嵩, 马骏, 等. 黄芪甲苷通过调控 Keap1-Nrf2-ARE 信号通路减轻 PM2.5 诱导的肾小管上皮细胞氧化损伤[J]. 安徽中医学院学报, 2020, 39(2):69-75.

(收稿日期: 2021-09-05; 修回日期: 2022-06-03; 编辑: 王小菊)

(上接第 1413 页)

- [12] TOURMENTE M, VILLAR-MOYA P, RIAL E, et al. Differences in ATP Generation Via Glycolysis and Oxidative Phosphorylation and Relationships with Sperm Motility in Mouse Species [J]. J Biol Chem, 2015, 290(33):20613-20626.
- [13] MALO A F, GOMENDIO M, GARDE J, et al. Sperm design and sperm function[J]. Biol Lett, 2006, 2(2):246-249.
- [14] M JANDERSON, JNYHOLT A F. Sperm competition and the evolution of sperm midpiece volume in mammals[J]. Dixson, 2005, 267(2), 135-140.
- [15] VERTIKA S, SINGH K K, RAJENDER S. Mitochondria, spermatogenesis, and male infertility - An update[J]. Mitochondrion, 2020, 54:26-40.
- [16] DURAIRAJANAYAGAM D, SINGH D, AGARWAL A, et al. Causes and consequences of sperm mitochondrial dysfunction [J]. Andrologia, 2021, 53(1):e13666.

- [17] FERNIE A R, CARRARI F, SWEETLOVE L J. Respiratory metabolism: glycolysis, the TCA cycle and mitochondrial electron transport[J]. Curr Opin Plant Biol, 2004, 7(3):254-261.
- [18] MARTÍNEZ-REYES I, CHANDEL N S. Mitochondrial TCA cycle metabolites control physiology and disease[J]. Nat Commun, 2020, 11(1):102.
- [19] JORDAN F, NEMERIA N, GERFEN G. Human 2-Oxoglutarate Dehydrogenase and 2-Oxoadipate Dehydrogenase Both Generate Superoxide/H₂O₂ in a Side Reaction and Each Could Contribute to Oxidative Stress in Mitochondria[J]. Neurochem Res, 2019, 44(10):2325-2335.
- [20] TRETTNER L, ADAM-VIZI V. Alpha-ketoglutarate dehydrogenase: a target and generator of oxidative stress[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2005, 360(1464):2335-2345.
- [21] YANG Y, GIBSON G E. Succinylation Links Metabolism to Protein Functions[J]. Neurochem Res, 2019, 44(10):2346-2359.

(收稿日期: 2021-11-12; 修回日期: 2022-04-20; 编辑: 王小菊)