

# 缩泉益肾方对高糖诱导的HK-2细胞炎症因子影响的研究

王 珏<sup>1</sup>, 肖 曼<sup>2</sup>, 谢毅强<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>贵州中医药大学中医学院, 贵州 贵阳

<sup>2</sup>海南医学院生物技术学院, 海南 海口

收稿日期: 2023年5月8日; 录用日期: 2023年6月20日; 发布日期: 2023年6月27日

## 摘 要

目的: 观察缩泉益肾方对高糖(HG)诱导的HK-2细胞炎症因子的影响。方法: 将HK-2细胞分成N组、HG组、5% SQYSF + HG组、10% SQYSF + HG组、20% SQYSF + HG组、Cana + HG组。经过细胞干预24 h后, 使用CCK8法检测细胞存活比率, 流式细胞仪检测细胞凋亡比率, ELISA法检测细胞中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 及IL-6炎症因子水平。使用GraphPad Prism 9.5对实验数据进行统计处理。结果: 与N组相比, HG组细胞存活率明显降低、细胞凋亡率和炎症因子浓度显著增加( $P < 0.05$ ); 且HG组与5% SQYSF + HG组(简称SL组)、10% SQYSF + HG组(简称SM组)、20% SQYSF + HG组(简称SH组)及Cana + HG组(简称Cana组)相比, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。与HG组比较, Cana组、SL组、SM组、SH组HK-2细胞存活率明显升高( $P < 0.05$ )。对于TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 炎症因子水平的影响, HG组与SL组、SM组、SH组及Cana组差异明显( $P < 0.05$ )。结论: 缩泉益肾方可降低HG诱导下HK-2细胞炎症因子水平。

## 关键词

糖尿病肾病, 缩泉益肾方, 炎症因子

# Study on the Effect of Suoquan Yishen Formula on HK-2 Cell Inflammatory Factors Induced by High Sugar

Jue Wang<sup>1</sup>, Man Xiao<sup>2</sup>, Yiqiang Xie<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>School of Traditional Chinese Medicine, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

<sup>2</sup>School of Biotechnology, Hainan Medical University, Haikou Hainan

Received: May 8<sup>th</sup>, 2023; accepted: Jun. 20<sup>th</sup>, 2023; published: Jun. 27<sup>th</sup>, 2023

\*通讯作者。

文章引用: 王珏, 肖曼, 谢毅强. 缩泉益肾方对高糖诱导的 HK-2 细胞炎症因子影响的研究[J]. 中医学, 2023, 12(6): 1343-1350. DOI: 10.12677/tcm.2023.126201

## Abstract

**Objective:** To observe the effect of Suoquan Yishen Formula on HK-2 cell inflammatory factors induced by high glucose (HG). **Methods:** HK-2 cells were divided into N group, HG group, 5% SQYSF + HG group, 10% SQYSF + HG group, 20% SQYSF + HG group and Cana + HG group. After 24 h of cell intervention, cell survival ratio was detected by CCK8 assay, cell apoptosis ratio was detected by elaptometry, and levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 inflammatory factors were detected by ELISA. Statistical processing of experimental data was performed using GraphPad Prism 9.5. **Results:** Compared with N group, the survival rate of HG group was significantly decreased, the apoptosis rate and inflammatory factor concentration were significantly increased ( $P < 0.05$ ). The differences between HG group and 5% SQYSF + HG group (SL group), 10% SQYSF + HG group (SM group), 20% SQYSF + HG group (SH group) and Cana + HG group (Cana group) were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with HG group, the survival rate of HK-2 cells in Cana group, SL group, SM group and SH group was significantly increased ( $P < 0.05$ ). There were significant differences between HG group and SL group, SM group, SH group and Cana group on the levels of TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-1 $\beta$  ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Suoquan Yishen Formula can reduce the level of HK-2 cell inflammatory factors induced by HG.

## Keywords

Diabetic Nephropathy, Suoquan Yishen Formula, Inflammatory Cytokines

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

糖尿病肾病(Diabetic Kidney Disease, DKD)与全身和局部肾脏炎症相关,参与关键的炎症细胞、分子和炎症途径,如巨噬细胞、核转录因子- $\kappa$ B (NF $\kappa$ B)、janus 激酶/信号转导和转录激活因子(JAK/STAT)途径和炎症细胞因子的表达[1] [2]。在肾脏中,血源性细胞以及不同的内在肾细胞(肾小球细胞、内皮细胞、肾小管细胞和系膜细胞)都能够合成炎症细胞因子[3]。这些物质的水平随着 DKD 的进展而增加,而白细胞介素 1 (IL-1 $\beta$ )、白细胞介素 6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )等多种细胞因子的不同作用共同参与了 DKD 的发病机制[4] [5]。其中 IL-1 $\beta$  通过诱导磷脂酶 A2 的产生和前列腺素 E 的释放,引发肾小球血流动力学异常[6]; IL-6 则通过诱导炎性细胞向肾小管间质渗透,引发细胞外基质动力学异常,从而使肾小球基底膜增厚、肾脏及足细胞肥大、细胞周期阻滞[7]; TNF- $\alpha$  通过与其细胞表面受体相互作用,对肾脏细胞发挥影响,它可以引起细胞毒性反应,诱导及分泌炎症因子、导致细胞凋亡、肾小球血流动力学改变、血管内皮通透性增加,诱导氧化应激的发生[8]。有研究发现,早期糖尿病肾小管及肾小球细胞中 TNF- $\alpha$  mRNA 表达水平升高[9]。而中医药在治疗 DKD 中有其独特的优势,研究发现芪归药可通过激活 Nrf2 通路调控氧化应激从而改善 DKD 患者症状[10]。Kong 等人发现芪归药有减少蛋白尿,抑制肾小球系膜细胞增殖,抑制肾脏炎症反应,抵抗氧化应激反应,以及抑制血管重建等作用,起到保护肾脏、治疗 DKD 的目的[11]。缩泉益肾方由乌药-益智仁药对结合海南本地病证特点加味配伍而成,有丰富的临床应用经验,并取得国家发明专利[12],本研究通过观察缩泉益肾方治疗效果对 HK-2 细胞内炎症因子的影响,探讨此方在治疗 DKD 中的可能机制及有效性,为中医药治疗 DKD 提供新的理论与方法。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 药物与试剂

海口同仁堂药店购入缩泉益肾方：益智仁 10 g、乌药 10 g、天花粉 10 g、赤芍 10 g、苍术 10 g、茯苓 15 g、丹参 15 g，生产批号：201002。按照药物剂量比例，按中药煎煮标准。卡格列净，规格 100 mg/片，购自海南医学院第一附属医院，生产批号：KFL9A00。MEM 培养基购自普诺赛科技有限公司(武汉)。细胞培养板、培养皿和培养瓶购自 LABSELECT 公司(北京)。HidffTM qPCR SYBR<sup>®</sup>Green Master Mix、胎牛血清(FBS)、Annexin V-FITC/PI 试剂盒及逆转录试剂盒(Hifair<sup>™</sup>II 1st)均购自翌圣生物技术有限公司(上海)。CCK8 试剂盒(CK04)购自 Dojindo Laboratories 公司(日本)。生工生物工程有限公司(上海)购入 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  ELISA 试剂盒。

### 2.2. 细胞复苏与传代

复苏 HK-2 细胞(购自武汉普诺赛生命有限公司, Procell CL-0110)。将细胞移入含 3 ml MEM 培养基(含 10% FBS + 100X 5% 青链霉素双抗 + 90% MEM 培养液)的无菌离心管中，1300 r 离心 5 min，丢掉上清。将细胞转移至培养瓶，在湿度饱和、37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 环境下孵育。观察 HK-2 细胞形态，细胞密度范围达到 70%~80% 时，使用胰酶(EDTA)消化细胞并进行传代，选状态最佳的细胞进行下一步实验。

### 2.3. 动物与含药血清制备

24 只 SPF 级 7 周龄雄性大鼠，每只重量(180  $\pm$  20)克(购自长沙市天勤生物有限公司，证号为 SCXK(湘)2019~0015。饲养于海南医学院药物评价中心，证号：SYXK(琼) 2016-0016。动物饲养条件：空气湿度 50  $\pm$  5%、室温(24  $\pm$  2) $^{\circ}$ C、换风频率 15~20 次/h、光照明暗交替/12 h，将 SD 大鼠分为 5 组：正常组(N 组)、高糖组(HG 组)、缩泉益肾方低剂量组(SL 组)、中剂量组(SM 组)、高剂量组(SH 组)，卡格列净组(Cana 组)，4 只每组。参考王鑫国主编的《中药药理学实验教程》(第二版)，按照人与动物表面积折算法，计算大鼠口服标准剂量为 7.2 g/kg·d，制备为 0.72 g 生药/mL，保存于 4 $^{\circ}$ C 备用。N 组予等量生理盐灌胃每次 2 ml，每天两次，共 7 次，最后一次灌胃 1 h 后麻醉，从腹主动脉抽血，将其静置 2 h，3000 r 离心 15 min，取上清液，使用滤菌器过滤，无菌 EP 管分装，56 $^{\circ}$ C 水浴灭菌，并于 -80 $^{\circ}$ C 储存。Cana 配制：根据体表面积每只大鼠口服标准剂量 0.009 g/kg·d 换算，电子微量秤称取 Cana，无水乙醇溶化，无血清 MEM 培养基稀释，用孔径 0.2  $\mu$ m 滤膜抽滤，分装于青霉素小瓶，保存于 -20 $^{\circ}$ C。

### 2.4. 造模、干预方法与分组

参照参考资料[13]与课题组预实验对细胞进行造模。取状态较好的细胞，用 EDTA 消化后，培养于 6 孔板，24 h 后分组造模：N 组(90% MEM 培养基)、HG 组(HG, 60 mmol/L Glucose)、SL 组(5% SQYSF + HG, SQYSF 含药血清 5% + 60 mmol/L Glucose)、SM 组(10% SQYSF + HG, SQYSF 含药血清 10% + 60 mmol/L Glucose)、SH 组(20% SQYSF + HG, SQYSF 含药血清 20% + 60 mmol/L Glucose)、Cana 组(Cana + HG, Cana 含药血清 10% + 60 mmol/L Glucose)。24 h 后进行后续实验。

### 2.5. CCK8 法检测细胞活力

分组、干预方法及造模参照“2.4”。取健康细胞，EDTA 消化后，将细胞密度调整为 5  $\times$  10<sup>6</sup> 个/mL，并于 96 孔培养板中培养，加入 100  $\mu$ L 细胞悬液，每组设立 6 个复孔。HG 及药物干预 24 h 后加入 10  $\mu$ L CCK8 溶液/孔，培养箱内孵育半小时，最后用酶标仪在 450 nm 波段上检测 OD 值。此实验重复 3 次。

## 2.6. 流式细胞术检测细胞凋亡

将密度约  $1 \times 10^5$  个/孔的细胞培养于 6 孔板中, 使用 HG 及药物干预后, EDTA 消化并收集细胞, 采用双荧光染料 Annexin V-FITC / PI 进行处理, 使用流式细胞仪观察细胞凋亡情况。

## 2.7. ELISA 法检测细胞中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平

分组、干预方法及造模参照“2.4”。取生长状态较好的细胞, 于 6 孔板中培养。经 24 h 造模及上药后, EDTA 消化, 无菌管采集细胞, 离心机 3000 r 离心 20 min, 获得细胞上清。在酶标包被板中加入样品稀释液 40  $\mu$ l, 再加入待测样品 10  $\mu$ l。每孔加入酶标试剂 100  $\mu$ l。封板后放于 37 $^{\circ}$ C 环境中温育 60 min。每孔加满洗涤液, 静置 30 s 后弃去, 此步骤重复 5 次。每孔加入显色剂 A 及显色剂 B 各 50  $\mu$ l, 37 $^{\circ}$ C 避光显色 15 min。每孔加入 50  $\mu$ l 终止液, 用酶标仪在 450 nm 波长处检测 OD 值, 并通过标准曲线计算各组细胞中炎症因子含量。此实验重复 3 次。

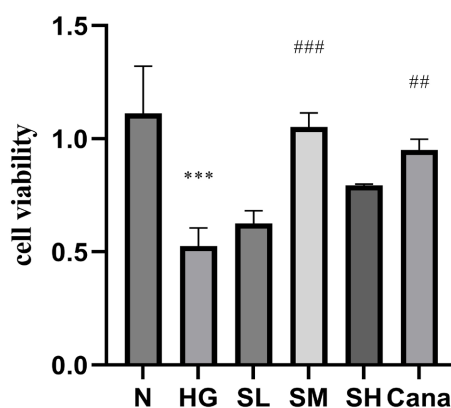
## 2.8. 统计方法

使用 Prism 9.5 软件分析和处理实验数据, 使用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示计量资料, 采用单因素方差分析评估组内差异。当  $P < 0.05$  时具备统计学意义。

## 3. 结果

### 3.1. HK-2 细胞活力

细胞活力 HG 组最低。与 N 组相比较, HG 组细胞活力下降( $P < 0.001$ ), 与 HG 组比较, SL 组、SH 组差异没有统计学意义( $P > 0.05$ ), 但 SM 组细胞活力与之相比显著升高( $P < 0.001$ ), 且 SM 组细胞活力高于 Cana 组。见图 1。



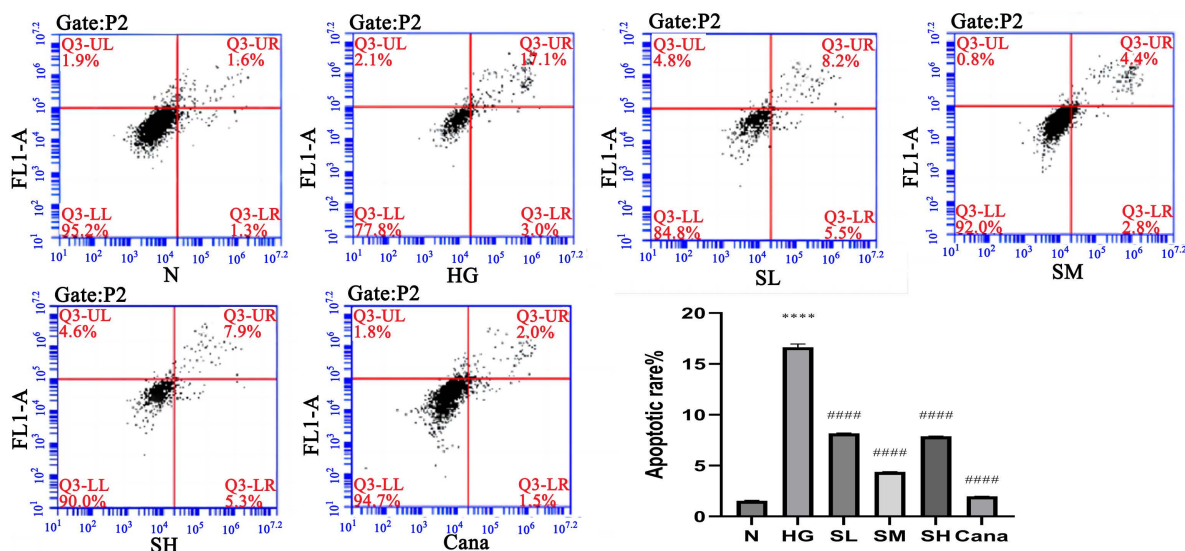
与 N 组相比, \*\*\* $P < 0.001$ ; 与 HG 组相比较  
## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$ 。

Figure 1. Cell survival rate of each group

图 1. 各组细胞存活率

### 3.2. HK-2 细胞凋亡率

结果所示, N 组细胞凋亡率为 1.6%, HG 组凋亡率为 17.1%, SL 组凋亡率是 8.2%, SM 组凋亡率是 4.4%, SH 组凋亡率是 7.9%, Cana 组凋亡率是 2.0%。与 N 组比较, HG 组细胞凋亡率明显增加( $P < 0.0001$ ); 与 HG 组比较, 经药物处理后, SL 组、SM 组、SH 组、Cana 组细胞凋亡率明显下降( $P < 0.0001$ ), 见图 2。



与 N 组相比, \*\*\*\* $P < 0.0001$ ; 与 HG 组相比较#### $P < 0.0001$ 。

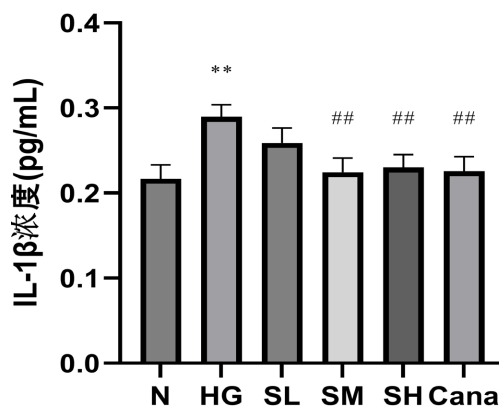
**Figure 2.** Apoptosis rate in each group

**图 2.** 各组细胞凋亡率

### 3.3. 各组细胞炎症指标水平

#### 3.3.1. IL-1 $\beta$

IL-1 $\beta$  是由巨噬细胞、脂肪细胞等产生及分泌, 可通过炎症反应导致胰岛  $\beta$  细胞发生损伤, 加重 DKD 患者病情[14]。我们实验发现在 HG 胁迫下 IL-1 $\beta$  浓度升高, 与 N 组相比差异明显( $P < 0.01$ )。与 HG 组相比, 药物干预后 IL-1 $\beta$  浓度均显著降低( $P < 0.01$ )。见图 3。



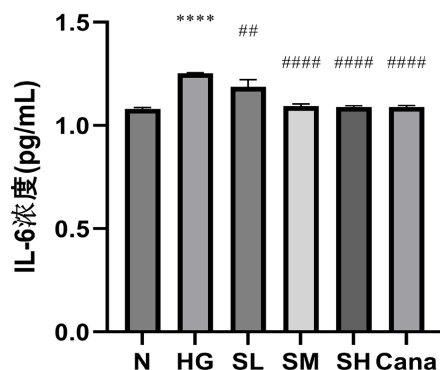
与 N 组相比, \*\* $P < 0.01$ ; 与 HG 组相比较, ## $P < 0.01$ 。

**Figure 3.** IL-1 $\beta$  concentration in each group

**图 3.** 各组细胞 IL-1 $\beta$  浓度

#### 3.3.2. IL-6

IL-6 是炎症细胞家族的主要成员, 由纤维母细胞、淋巴细胞、单核巨噬细胞等产生, 与肾损伤的发生与发展密切相关[15]。我们实验发现与 N 组比较, HG 组 IL-6 浓度显著升高( $P < 0.0001$ )。HG 组与药物干预组比较差异明显, 其中 SM 组、SH 组 IL-6 水平显著降低( $P < 0.0001$ ), 效果与 Cana 相当。见图 4。

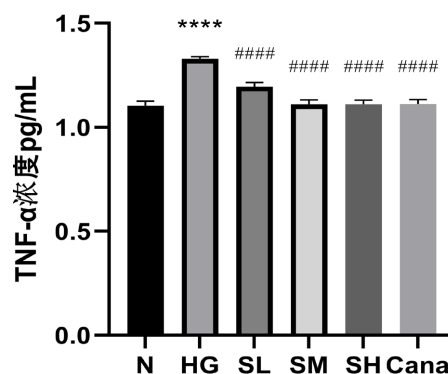


与 N 组相比, \*\*\*\* $P < 0.0001$ ; 与 HG 组相比较## $P < 0.01$ , #### $P < 0.0001$ 。

**Figure 4.** IL-6 concentration in each group  
**图 4.** 各组细胞 IL-6 浓度

### 3.3.3. TNF- $\alpha$

TNF- $\alpha$  是体内重要的炎性细胞因子, 在糖尿病患者体内糖基化终末产物(AGE)的刺激下, 肾脏固有细胞表达并释放 TNF- $\alpha$ , 引起肾小球炎症、系膜细胞增生、基底膜变厚、小球硬化和间质纤维化[16]。我们研究发现, HG 干预后, 细胞中 TNF- $\alpha$  浓度明显升高, 与 N 组相比差异有统计学意义( $P < 0.0001$ )。HG 组与药物干预组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.0001$ )。见图 5。



与 N 组相比, \*\*\*\* $P < 0.0001$ ; 与 HG 组相比较, #### $P < 0.0001$ 。

**Figure 5.** Concentration of TNF- $\alpha$  in each group  
**图 5.** 各组细胞 TNF- $\alpha$  浓度

## 4. 讨论

炎症机制在 DKD 的发生发展中起到重要的作用[17] [18], 高血糖会激活多种促炎细胞因子(如 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$ )的产生, 导致炎症细胞向肾脏募集[19] [20]。研究证实, 糖尿病患者肾小管损伤与 HK-2 细胞中 HG 诱导的促炎细胞因子有关[21] [22]。因此, 用 HK-2 细胞来探索 DKD 的潜在机制。通过 CCK8 法检测细胞存活比率, 实验结果示, HG 组细胞的存活率最低, 经缩泉益肾方干预后细胞存活率明显增加, 说明缩泉益肾方可以增加细胞活力, 改善 HG 诱导的细胞损伤。细胞凋亡是诱导肾细胞进行性丢失的机制之一, 从而导致肾小球硬化, 肾小管萎缩和肾间质纤维化[23], Lv L.等研究发现, 熊果苷可以通过上调 miR-2a 介导 JNK 和 mTOR 信号通路, 下调 p53 和裂解半胱天冬酶-3, 并上调 Bcl-2 表达水平, 从而减

轻 HG 诱导的 HK-2 细胞凋亡[24]。本次实验通过流式细胞术检测了 HG 诱导下各组 HK-2 细胞凋亡率,结果显示 HG 组细胞凋亡率最高,而 SL 组、SM 组、SH 组及 Cana 组均可减少 HG 诱导下 HK-2 细胞凋亡率。

缩泉益肾方是根据海南地区疾病特点由缩泉丸加味而来,它包含益智仁、乌药、天花粉、茯苓、赤芍、苍术和丹参 7 味药,其中乌药、益智仁为君,药性辛温,同归于肾脾二经,入太阴、少阴两经,两药配伍,共奏温肾固涩,温脾助阳之功。苍术、赤芍、茯苓、丹参四药入肾经。苍术善祛风燥湿,配伍茯苓甘补淡渗,可固精涩肾。丹参-赤芍为临床上常用的活血化瘀药对,能够养血活血,清热滋阴。天花粉可清热泻火,生津止渴。本方以辛、温、通、补之品散结通络,补益正气,顾护脾胃为法,对 DKD 有较好的疗效[25]。研究发现,缩泉益肾方能减轻 DKD 患者血清中炎症因子表达水平并改善肾功能[26]。本实验通过检测各组细胞中 IL-1 $\beta$ 、IL-6 及 TNF- $\alpha$  炎症指标水平,结果发现 HG 组中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  明显升高,而缩泉益肾方干预后炎症表达水平得到明显抑制。

本研究以 HK-2 细胞为研究对象,通过测定 HK-2 细胞存活率、凋亡率,以及 HG 环境下 HK-2 细胞中炎症因子水平,评价缩泉益肾方在保护 HK-2 细胞中抗炎的功效。研究结果表明缩泉益肾方可减少炎症反应及细胞凋亡率,同时增加 HK-2 细胞存活率,为缩泉益肾方在抗炎,改善细胞活力机制方面提供了理论基础。

## 参考文献

- [1] García-García, P.M., Getino-Melián, M.A., Dominguez-Pimentel, V. and Navarro-González, J.F. (2014) Inflammation in Diabetic Kidney Disease. *World Journal of Diabetes*, **5**, 431-443. <https://doi.org/10.4239/wjd.v5.i4.431>
- [2] Donate-Correa, J., Martín-Nuñez, E., Muros-de-Fuentes, M., Mora-Fernández, C. and Navarro-González, J.F. (2015) Inflammatory Cytokines in Diabetic Nephropathy. *Journal of Diabetes Research*, **2015**, Article ID: 948417. <https://doi.org/10.1155/2015/948417>
- [3] Rayego-Mateos, S., Morgado-Pascual, J.L., Opazo-Ríos, L., et al. (2020) Pathogenic Pathways and Therapeutic Approaches Targeting Inflammation in Diabetic Nephropathy. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, Article No. 3798. <https://doi.org/10.3390/ijms21113798>
- [4] Navarro-González, J. and Mora-Fernández, C. (2008) The Role of Inflammatory Cytokines in Diabetic Nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, **19**, 433-442. <https://doi.org/10.1681/ASN.2007091048>
- [5] Navarro-González, J., Mora-Fernández, C., de Fuentes, M. and García-Pérez, J. (2011) Inflammatory Molecules and Pathways in the Pathogenesis of Diabetic Nephropathy. *Nature Reviews Nephrology*, **7**, 327-340. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2011.51>
- [6] Milas, O., Gadalean, F., Vlad, A., et al. (2020) Pro-Inflammatory Cytokines Are Associated with Podocyte Damage and Proximal Tubular Dysfunction in the Early Stage of Diabetic Kidney Disease in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Journal of Diabetes and Its Complications*, **34**, Article ID: 107479. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2019.107479>
- [7] Li, Y., Hu, Q., Li, C., et al. (2019) PTEN-Induced Partial Epithelial-Mesenchymal Transition Drives Diabetic Kidney Disease. *Journal of Clinical Investigation*, **129**, 1129-1151. <https://doi.org/10.1172/JCI121987>
- [8] Das, N.A., Carpenter, A.J., Belenchia, A., et al. (2020) Empagliflozin Reduces High Glucose-Induced Oxidative Stress and miR-21-Dependent TRAF3IP2 Induction and RECK Suppression, and Inhibits Human Renal Proximal Tubular Epithelial Cell Migration and Epithelial-to-Mesenchymal Transition. *Cellular Signalling*, **68**, Article ID: 109506. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2019.109506>
- [9] Ruster, C. and Wolf, G. (2008) The Role of Chemokines and Chemokine Receptors in Diabetic Nephropathy. *Frontiers in Bioscience*, **13**, 944-955. <https://doi.org/10.2741/2734>
- [10] 张效丽, 周吉, 阴永辉. 芪归药对治疗糖尿病肾病疗效及对 Nrf2 通路的影响[J]. *山东中医杂志*, 2020, 39(9): 944-949.
- [11] Kong, C., Chen, D.F., Song, Z.H., et al. (2018) Exploration of Treating Diabetic Nephropathy with Astragalus and Angelica. *Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine*, **45**, 267-269.
- [12] 谢毅强, 尹德辉, 黄凌, 朱叶, 刘嫻. 一种用于治疗糖尿病肾病的中药组合物、中药制剂及其制备方法[P]. 中国专利, CN105878894A, 2016-08-24.

- [13] 尹德辉, 朱叶, 倪雅丽, 姚宇剑, 林丹, 谢毅强. 缩泉益肾方治疗 2 型糖尿病肾病的临床疗效[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(9): 2091-2092.
- [14] Zhang, J., Jiang, T., Liang, X., *et al.* (2019) LncRNA MALAT1 Mediated High Glucose-Induced K-2 Cell Epithelial-to-Mesenchymal Transition and Injury. *Journal of Physiology and Biochemistry*, **75**, 443-452. <https://doi.org/10.1007/s13105-019-00688-2>
- [15] Zhang, J., Zhang, Q., Lou, Y., *et al.* (2018) Hypoxia-Inducible Factor-1 $\alpha$ /Interleukin-1 $\beta$  Signaling Enhances Hepatoma Epithelial-Mesenchymal Transition through Macrophages in a Hypoxic-Inflammatory Microenvironment. *Hepatology*, **67**, 1872-1889. <https://doi.org/10.1002/hep.29681>
- [16] 张铭晖. 糖尿病肾病患者血清脂联素、脂蛋白 A 和白介素 6 水平变化及意义[J]. 河北医药, 2019, 41(17): 2642-2645.
- [17] 张翠平. 血清 OPG、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平与糖尿病肾病的关系[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(2): 189-192.
- [18] Tang, S.C.W. and Yiu, W.H. (2020) Innate Immunity in Diabetic Kidney Disease. *Nature Reviews Nephrology*, **16**, 206-222. <https://doi.org/10.1038/s41581-019-0234-4>
- [19] Wellen, K.E. and Hotamisligil, G.S. (2005) Inflammation, Stress, and Diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, **115**, 1111-1119. <https://doi.org/10.1172/JCI25102>
- [20] Matoba, K., Takeda, Y., Nagai, Y., Kawanami, D., Utsunomiya, K. and Nishimura, R. (2019) Unraveling the Role of Inflammation in the Pathogenesis of Diabetic Kidney Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article No. 3393. <https://doi.org/10.3390/ijms20143393>
- [21] Pérez-Morales, R.E., Del Pino, M.D., Valdivielso, J.M., Ortiz, A., Mora-Fernández, C. and Navarro-González, J.F. (2019) Inflammation in Diabetic Kidney Disease. *Nephron*, **143**, 12-16. <https://doi.org/10.1159/000493278>
- [22] Panchapakesan, U., Pegg, K., Gross, S., *et al.* (2013) Effects of SGLT2 Inhibition in Human Kidney Proximal Tubular Cells—Renoprotection in Diabetic Nephropathy? *PLOS ONE*, **8**, e54442. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054442>
- [23] Zhu, Y., Cui, H., Xia, Y. and Gan, H. (2016) RIPK3-Mediated Necroptosis and Apoptosis Contributes to Renal Tubular Cell Progressive Loss and Chronic Kidney Disease Progression in Rats. *PLOS ONE*, **11**, e0156729. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156729>
- [24] Lv, L., Zhang, J., Tian, F., Li, X., Li, D. and Yu, X. (2019) Arbutin Protects HK-2 Cells against High Glucose-Induced Apoptosis and Autophagy by up-Regulating microRNA-27a. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, **47**, 2940-2947. <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1640231>
- [25] 倪雅丽, 姚宇剑, 汤灿, 等. 缩泉益肾方与益智仁对糖尿病肾脏疾病小鼠疗效及肠道菌群的影响差异研究[J]. 海南医学院学报, 2021, 27(11): 820-826. <https://doi.org/10.13210/j.cnki.jhmu.20210104.002>
- [26] 尹德辉, 朱叶, 吴珠, 等. 缩泉益肾方对糖尿病肾脏疾病患者的血清炎症因子及肾功能的影响[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(8): 1931-1933.