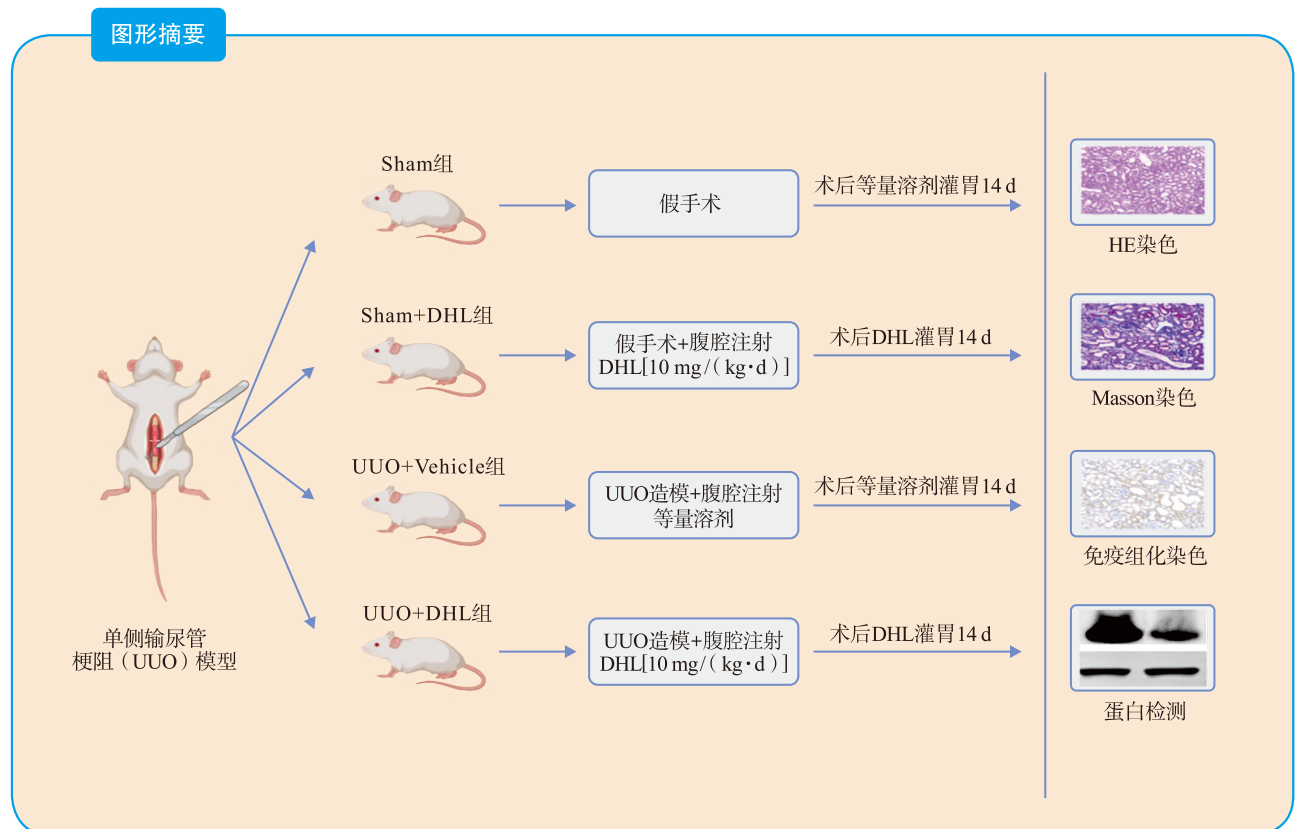


· 论著 ·

# 去氢木香烃内酯通过抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad2/3 通路改善单侧输尿管梗阻大鼠肾间质纤维化

黎忠大 王舒泓 谭宏伟 王晓 庄锦焯 申升 孙其鹏



**【摘要】** 目的 探讨去氢木香烃内酯 (DHL) 对单侧输尿管梗阻 (UUO) 大鼠肾间质纤维化 (RIF) 的作用机制。方法 将 44 只雄性 SD 大鼠随机分为假手术组 (Sham 组)、单纯药物干预组 (Sham+DHL 组)、实验组 (UUO+Vehicle 组) 和 DHL 治疗组 (UUO+DHL 组), 每组 11 只, 分别进行假手术、假手术+腹腔注射 DHL[10 mg/(kg·d)]、UUO 造模+腹腔注射等量溶剂、UUO 造模+腹腔注射 DHL[10 mg/(kg·d)], 手术造模 2 d

DOI: 10.12464/j.issn.1674-7445.2025171

基金项目: 广东省自然科学基金面上项目 (2021A1515011379)

作者单位: 510317 广州, 暨南大学附属广东省第二人民医院器官移植科 (黎忠大、谭宏伟、王晓、庄锦焯、申升、孙其鹏); 暨南大学附属第一医院神经内科 (王舒泓)

作者简介: 黎忠大 (ORCID 0009-0002-5775-1940), 硕士, 主治医师, 研究方向为肾脏缺血-再灌注损伤机制, Email: LZD13590024576@163.com

通信作者: 孙其鹏 (ORCID 0009-0005-6486-9869), 博士, 副主任医师, 研究方向为肾脏缺血-再灌注损伤机制, Email: sysusqp@163.com

后连续用 DHL 或等量溶剂灌胃 14 d。通过苏木素-伊红 (HE) 和 Masson 染色观察大鼠肾组织病理学改变; 免疫组织化学染色检测 collagen I、collagen III 及  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -SMA) 表达水平; 蛋白质印迹法检测转化生长因子 (TGF)- $\beta$ 1/Smad2/3 通路蛋白水平。结果 与 UUO+Vehicle 组比较, DHL 治疗缓解大鼠肾间质病理损伤, 减少胶原纤维沉积以及 collagen I、collagen III、 $\alpha$ -SMA 表达, 同时抑制 TGF- $\beta$ 1 和 Smad2/3 蛋白的表达。结论 DHL 通过抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad2/3 通路减轻大鼠 RIF, 为慢性肾病的治疗提供新策略。

【关键词】 去氢木香烃内酯; 转化生长因子- $\beta$ 1; 胶原纤维; 单侧输尿管梗阻; 肾间质纤维化; 胶原蛋白;  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白; 慢性肾病

【中图分类号】 R617, R692 【文献标志码】 A 【文章编号】 1674-7445 (2025) 05-0011-08

**Dehydrocostus lactone ameliorates renal interstitial fibrosis in rats with unilateral ureteral obstruction by inhibiting the TGF- $\beta$ 1/Smad2/3 pathway** Li Zhongda\*, Wang Shuhong, Tan Hongwei, Wang Xiao, Zhuang Jinyang, Shen Sheng, Sun Qipeng.

\*Department of Organ transplantation, the Second People's Hospital of Guangdong Province, Affiliated to Jinan University, Guangzhou 510317, China

Corresponding author: Sun Qipeng, Email: sysusqp@163.com

【Abstract】 **Objective** To explore the action mechanism of dehydrocostus lactone (DHL) on renal interstitial fibrosis (RIF) in rats with unilateral ureteral obstruction (UUO). **Methods** Forty-four male SD rats were randomly divided into four groups: the sham surgery group (Sham group), the pure drug intervention group (Sham+DHL group), the experimental group (UUO+Vehicle group) and the DHL treatment group (UUO+DHL group), with 11 rats in each group. The rats underwent sham surgery, sham surgery + DHL [10 mg/(kg·d)], UUO modeling + the same volume of solvent and UUO modeling + DHL [10 mg/(kg·d)], respectively. After surgery, DHL or the same volume of solvent was administered by gavage for 14 days starting from day 2 post-surgery. Hematoxylin-eosin (HE) and Masson staining were used to observe the pathological changes in renal tissue. Immunohistochemical staining was performed to detect the expression levels of collagen I, collagen III and  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA). Western blotting was used to detect the protein levels of the transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 1/Smad2/3 pathway. **Results** Compared with the UUO+Vehicle group, DHL treatment alleviated renal interstitial pathological damage, reduced collagen fiber deposition, and decreased the expression of collagen I, collagen III and  $\alpha$ -SMA. It also inhibited the expression of TGF- $\beta$ 1 and Smad2/3 proteins. **Conclusions** DHL mitigates RIF in rats by inhibiting the TGF- $\beta$ 1/Smad2/3 pathway, providing a new strategy for the treatment of chronic kidney disease.

【Key words】 Dehydrocostus lactone; Transforming growth factor- $\beta$ 1; Collagen fiber; Unilateral ureteral obstruction; Renal interstitial fibrosis; Collagen;  $\alpha$ -smooth muscle actin; Chronic kidney disease

慢性肾病 (chronic kidney disease, CKD) 已成为全球公共卫生重大挑战。流行病学数据显示, 2017 年全球约 8 亿人罹患 CKD, 其发生率持续攀升, CKD 已成为 21 世纪的主要病死原因之一<sup>[1]</sup>。终末期肾病患者依赖透析或肾移植维持生命, 但供者短缺及技术限制使多数患者面临沉重医疗负担<sup>[2]</sup>。肾间质纤维化 (renal interstitial fibrosis, RIF) 作为 CKD 进展至终末期的核心病理特征, 以细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 异常沉积、肾小管上皮-间质转化及成纤维细胞异常活化为主导机制, 最终导致肾功能不可逆损伤<sup>[3-4]</sup>。研究表明, 转化生长因子 (transforming growth factor, TGF)- $\beta$ 1/Smad 信

号通路在 RIF 进程中发挥枢纽作用<sup>[5]</sup>。TGF- $\beta$ 1 通过激活磷酸化 Smad2/3, 促进胶原蛋白、纤连蛋白等促纤维化分子表达, 同时诱导成纤维细胞增殖分化, 加速 ECM 沉积<sup>[6]</sup>。然而, TGF- $\beta$ 1 具有多重生物学效应, 包括调控细胞增殖、凋亡及免疫应答等<sup>[7]</sup>。完全抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad 通路可能引发严重不良反应, 这使得靶向干预策略面临重大挑战。当前研究聚焦于调控 TGF- $\beta$ 1 下游效应分子, 以期实现抗纤维化治疗的精准调控。

天然药物因其多靶点作用特性, 为抗纤维化治疗提供了新方向。去氢木香烃内酯 (dehydrocostus lactone, DHL) 作为倍半萜类天然产物, 已证实

肺纤维化、动脉粥样硬化等疾病中通过调节 JNK/p38/MAPK-NF- $\kappa$ B、Wnt/ $\beta$ -catenin 等通路发挥抗炎及抗纤维化作用<sup>[8-11]</sup>。值得注意的是, DHL 可显著降低 TGF- $\beta$  等促纤维化因子表达, 提示其可能通过干预 TGF- $\beta$ 1 相关信号网络调控纤维化进程<sup>[12]</sup>。然而, DHL 在 RIF 中的作用机制尚未明确, 亟待深入探索。本研究采用单侧输尿管梗阻 (unilateral ureteral obstruction, UO) 大鼠模型, 系统评价 DHL 对肾间质纤维化的干预效应。通过整合分子生物学及病理学技术, 重点解析 DHL 对 TGF- $\beta$ 1/Smad 通路的调控作用, 为开发新型抗肾纤维化药物提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物与主要试剂

雄性无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级 SD 大鼠, 8 周龄, 体质量 190~210 g, 均购自珠海百试通生物科技有限公司。实验动物饲养于广东省第二人民医院动物实验中心 SPF 级环境中, 采用动物独立通气系统, 自由摄食, 按随机 3 只/笼进行分组。本研究获广东省第二人民医院实验动物福利与伦理委员会审批 (批号: 2022-DW-KZ-042-03)。

DHL (纯度 $\geq$ 98%) 及 4% 多聚甲醛均购自上海吉至生化科技有限公司; PEG300 及 Tween80 均购自上海 MedChemExpress 生物科技有限公司; 二甲基亚砜购自上海昂一生物科技有限公司; 无水乙醇、二甲苯、中性树胶均购自国药集团化学试剂有限公司; 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色试剂盒、Masson 染色试剂盒、RIPA 裂解液、磷酸化蛋白酶抑制剂、BCA 蛋白定量检测试剂盒、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶制备试剂盒、collagen I/III 抗体、 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA) 抗体、Smad 2/3 抗体均购自武汉赛维尔生物科技有限公司, TGF- $\beta$ 1 单克隆抗体购自北京博奥生物技术有限公司。

### 1.2 实验分组与模型构建

将 44 只雄性 SD 大鼠随机分为 4 组: 假手术组 (Sham 组)、单纯药物干预组 (Sham+DHL 组)、实验组 (UO+Vehicle 组) 和 DHL 治疗组 (UO+DHL 组), 每组 11 只, 分别进行假手术、假手术+腹腔注射 DHL[10 mg/(kg·d)]、UO 造模+腹腔注射 DHL[10 mg/(kg·d)]、UO 造模+腹腔注射 DHL[10 mg/(kg·d)]。Sham+DHL 组和 UO+DHL 组在手术造

模 2 d 后予 10 mg/kg DHL 溶液进行灌胃, 连续 14 d。Sham 组和 UO+Vehicle 组在手术造模 2 d 后予等体积溶剂 (二甲基亚砜+PEG300+Tween-80+生理盐水) 进行灌胃, 连续 14 d。灌胃 14 d 后, 每组分别取 6 只大鼠肾组织制作石蜡切片供病理学观察, 余 5 只大鼠取肾组织供蛋白质水平检测。

适应性饲养雄性 SD 大鼠 1 周后, 提前 12 h 禁食禁饮, 用 2% 异氟烷 (动物实验中心提供) 麻醉 SD 大鼠后固定于手术板上, 以 1% 异氟烷维持麻醉, 按经典的 UO 术式为大鼠行左侧输尿管结扎手术<sup>[13]</sup>。具体步骤如下: 大鼠左下腹剃毛消毒后, 沿腹白线平行切开约 2 cm, 逐层开腹。暴露腹腔后, 推开肠道暴露下腔静脉与腹主动脉, 沿左髂血管寻找到左输尿管, 用玻璃分针钝性分离其周围组织确认来源于肾盂。于输尿管近肾门端 1/3 处间隔 2 mm 结扎两道 4-0 丝线, 并在其间剪断输尿管。随后复位肠道, 逐层关腹。术后消毒伤口, 待大鼠停麻醉机清醒、活动恢复后放回笼中并按编号记录。Sham 组及 Sham+DHL 组均按上述方式进行开腹, 游离输尿管后关腹, 不结扎输尿管。术后各组大鼠均正常饮食, 本实验各组大鼠仅存在体质量差异, 均无发生死亡且活动良好。连续灌胃 14 d 后, 各组取肾组织进行后续实验。

### 1.3 研究内容与方法

1.3.1 病理学观察 取出左侧肾脏放入 4% 多聚甲醛中固定 24 h, 再逐步放入不同浓度乙醇中去除水分。二甲苯透明化组织后放入熔化的石蜡中浸泡, 使用切片将石蜡包埋的组织切成 4  $\mu$ m 的薄片。将制备好的肾组织切片进行 HE、Masson 染色。

按照文献建议评分方法对肾小管间质损伤程度进行评分<sup>[14]</sup>: 包括肾小管扩张程度、肾小管萎缩程度、肾小管细胞空泡化比例、红细胞管型及蛋白管型、肾间质炎症细胞浸润程度、肾间质水肿程度、肾间质纤维化面积, 分为正常 (0 分)、轻度受损 (1 分)、中度受损 (2 分)、重度受损 (3 分)、极重度受损 (4 分) 5 个等级。

1.3.2 免疫组织化学染色 肾组织石蜡切片脱蜡后水洗, 乙二胺四乙酸抗原修复, 封闭。collagen I (1:300)、collagen III (1:300)、 $\alpha$ -SMA (1:300) 一抗覆盖切片, 4 $^{\circ}$ C 过夜后加入辣根过氧化物酶偶联的山羊抗兔二抗 (1:200) 孵育, 3,3'-二氨基联苯胺染色, 根据棕色显色程度及显示范围判断

阳性表达量。使用 Image J 软件分析免疫组织化学（免疫组化）染色阳性率。

1.3.3 蛋白质印迹法 提取大鼠肾脏蛋白，通过制胶、电泳、转膜等步骤后，把稀释的一抗（TGF-β1、Smad2/3、β-actin）和聚偏二氟乙烯膜一起放入盒中，4℃过夜，洗涤后加入二抗稀释液于室温下孵育 1 h，随后行化学发光检测，检测 TGF-β1/Smad2/3 信号通路蛋白水平。

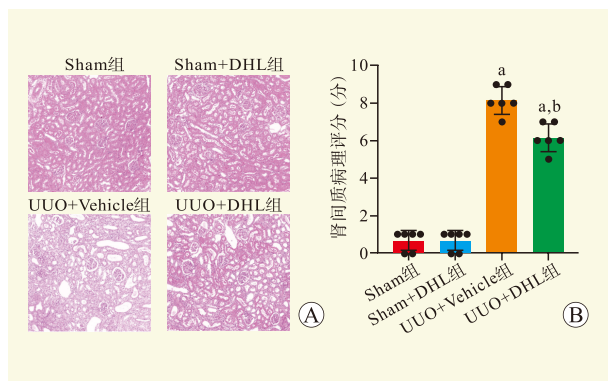
### 1.4 统计学方法

采用 Image J 软件对图片进行量化处理。采用 GraphPad Prism 9.0 和 SPSS 26.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以均数±标准差表示，两组间比较采用独立样本 *t* 检验，多组间比较采用单因素方差分析。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 DHL 缓解 UO 大鼠肾间质损伤

各组大鼠肾间质 HE 染色结果显示（图 1A），Sham 组和 Sham+DHL 组肾小球、肾小管及肾间质结构基本正常。UUO+Vehicle 组肾间质中肾小球数量减少，分布不均，肾小囊扩张明显；部分肾小管扩张明显，形态各异，部分肾小管呈现萎缩状态，体积减少；肾组织纤维化明显，可见大量淋巴细胞浸润。UUO+DHL 组肾间质以上病理损伤均减轻。与 Sham 组比较，UUO+Vehicle 组肾间质病理评分升高；与 UUO+Vehicle 组比较，UUO+DHL 组肾间质病理评分降低（均为 *P*<0.05，图 1B）。



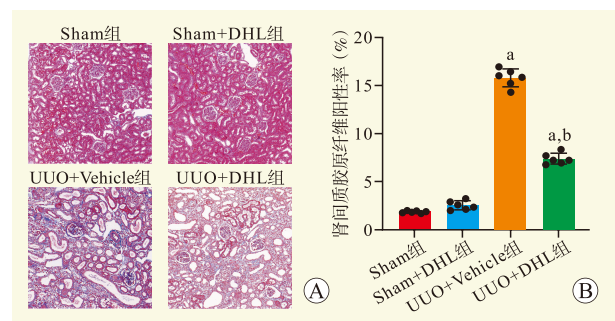
注：A 图为各组大鼠肾间质 HE 染色结果（×200）；B 图为各组大鼠肾间质病理评分结果。与 Sham 组比较，<sup>a</sup>*P*<0.05；与 UUO+Vehicle 组比较，<sup>b</sup>*P*<0.05。

图 1 各组大鼠肾间质病理学改变

Figure 1 Pathological changes in the renal interstitium of rats in each group

### 2.2 DHL 减少 UO 大鼠肾间质胶原纤维沉积

各组大鼠肾间质 Masson 染色结果显示（图 2A），Sham 组和 Sham+DHL 组切片均匀红染，肾间质偶见少量蓝染胶原纤维，且蓝染较浅；UUO+Vehicle 组肾间质除血管周围纤维蓝染区域外，可见肾小球、肾小管周围大量线性蓝染区域，肾间质蓝染区增多，且染色较深；UUO+DHL 组肾间质胶原蓝染增多（图 2A）。与 Sham 组比较，UUO+Vehicle 组胶原纤维阳性率增高；与 UUO+Vehicle 组比较，UUO+DHL 组胶原纤维阳性率降低（均为 *P*<0.05，图 2B）。



注：A 图为各组大鼠肾间质 Masson 染色结果（×200）；B 图为各组大鼠肾间质胶原纤维阳性率。与 Sham 组比较，<sup>a</sup>*P*<0.05；与 UUO+Vehicle 组比较，<sup>b</sup>*P*<0.05。

图 2 各组大鼠肾间质 Masson 染色结果分析

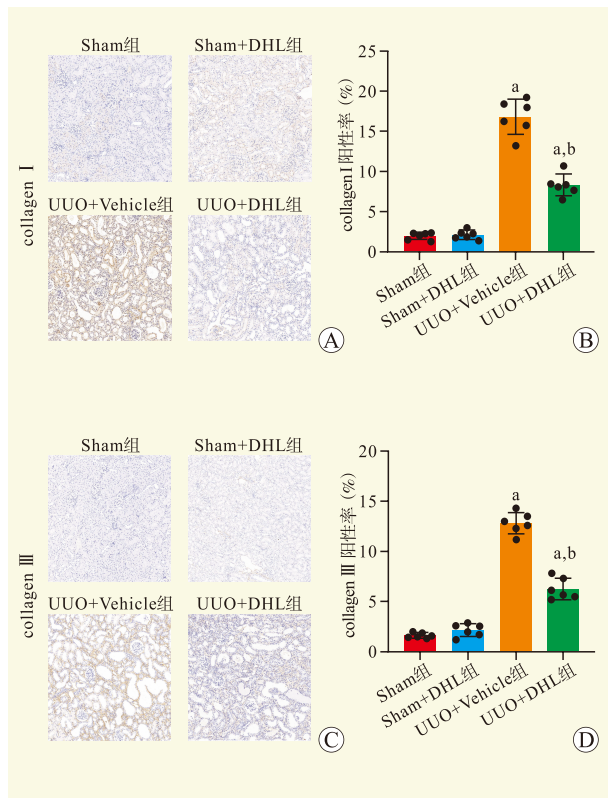
Figure 2 Analysis of Masson staining results in the renal interstitium of rats in each group

### 2.3 DHL 抑制 UO 大鼠肾间质 collagen I、collagen III 表达

各组大鼠肾间质 collagen I、collagen III 免疫组化染色显示，Sham 组和 Sham+DHL 组中 collagen I、collagen III 均表达较少；UUO+Vehicle 组的肾小管基底膜与肾间质中 collagen I、collagen III 均表达较多；UUO+DHL 组表达较少（图 3A、C）。与 Sham 组比较，UUO+Vehicle 组 collagen I、collagen III 阳性率均增高；与 UUO+Vehicle 组比较，UUO+DHL 组 collagen I、collagen III 阳性率均降低（均为 *P*<0.05，图 3B、D）。

### 2.4 DHL 抑制 UO 大鼠肾间质 α-SMA 的表达

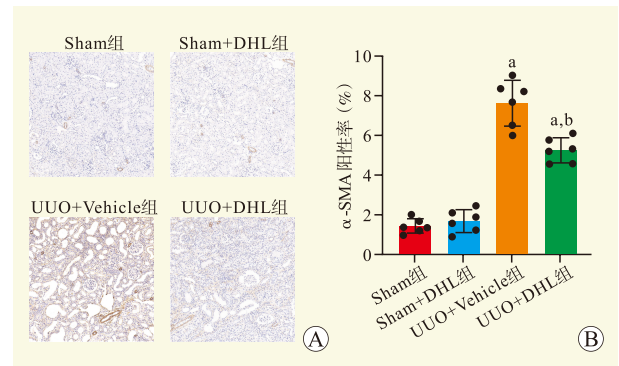
Sham 组和 Sham+DHL 组中 α-SMA 表达较少；UUO+Vehicle 组的肾小管基底膜与间质中 α-SMA 表达较多；UUO+DHL 组中 α-SMA 表达较少（图 4A）。与 Sham 组比较，UUO+Vehicle 组 α-SMA 阳性率增高；与 UUO+Vehicle 组比较，UUO+DHL 组 α-SMA 阳性率降低（均为 *P*<0.05，图 4B）。



注：A 图和 C 图分别为各组大鼠肾间质 collagen I、collagen III 免疫组化染色结果 (×200)；B 图和 D 图分别为各组大鼠肾间质 collagen I、collagen III 阳性率。与 Sham 组比较，<sup>a</sup>*P*<0.05；与 UUO+Vehicle 组比较，<sup>b</sup>*P*<0.05。

图 3 各组大鼠肾间质 collagen I 和 collagen III 免疫组化染色分析

Figure 3 Analysis of immunohistochemical staining for collagen I and collagen III in the renal interstitium of rats in each group



注：A 图为各组大鼠肾间质 α-SMA 免疫组化染色结果 (×200)；B 图为各组大鼠肾间质 α-SMA 阳性率。与 Sham 组比较，<sup>a</sup>*P*<0.05；与 UUO+Vehicle 组比较，<sup>b</sup>*P*<0.05。

图 4 各组大鼠肾间质 α-SMA 免疫组化染色分析

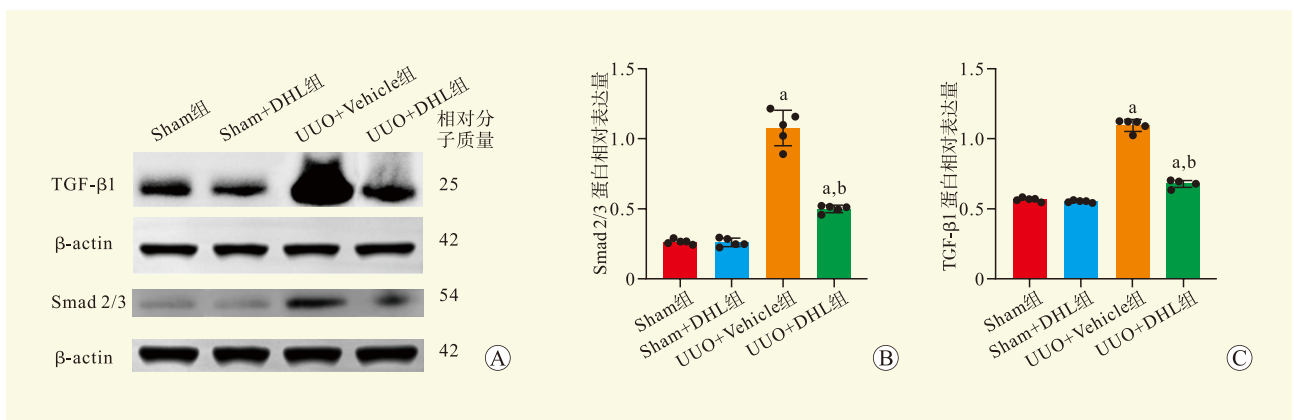
Figure 4 Analysis of immunohistochemical staining for α-SMA in the renal interstitium of rats in each group

### 2.5 DHL 减少 UUO 大鼠肾间质 TGF-β1 和 Smad2/3 蛋白的表达

与 Sham 组和 Sham+DHL 组相比，UUO+Vehicle 组 TGF-β1、Smad2/3 蛋白水平均升高；与 UUO+Vehicle 组相比，UUO+DHL 组 TGF-β1、Smad2/3 蛋白水平均降低 (均为 *P*<0.05，图 5)。

## 3 讨论

RIF 是 CKD 的核心病理机制，广泛存在于糖尿病肾病、高血压肾病等代谢性肾损伤、各型肾小球肾炎等免疫性肾病、尿路梗阻性肾病及药物性肾毒性损伤等多种肾脏疾病进程<sup>[15-17]</sup>。在当前供者器官严重匱



注：A 图为蛋白质印迹法检测各组大鼠肾间质 TGF-β1、Smad 2/3 蛋白的表达水平；B 图和 C 图分别为 Smad 2/3、TGF-β1 蛋白条带量化结果。与 Sham 组比较，<sup>a</sup>*P*<0.05；与 UUO+Vehicle 组比较，<sup>b</sup>*P*<0.05。

图 5 各组大鼠肾间质 TGF-β1 和 Smad 2/3 蛋白水平检测

Figure 5 Detection of TGF-β1 and Smad 2/3 protein levels in renal interstitium of rats in each group

乏的背景下, 异体肾移植面临配型难题、技术瓶颈、伦理争议及临床获益不确定性问题<sup>[18]</sup>。即便获得合适供肾, 移植围手术期亦存在缺血性损伤、再灌注氧化应激<sup>[19-21]</sup>, 以及术后排斥反应和免疫抑制药毒性作用协同促进肾纤维化等严峻挑战<sup>[22-23]</sup>。

在 RIF 治疗领域中, 中药提取物及中成药显示出多信号通路调控的抗纤维化潜力, 其机制涉及 TGF- $\beta$ /Smad、Wnt/ $\beta$ -catenin 等通路<sup>[24]</sup>。本实验聚焦传统中药木香类提取物 DHL 的抗 RIF 作用, 采用手术结扎大鼠左侧输尿管 2 周诱导机械性梗阻性肾纤维化的经典 UUO 模型, 该模型操作简便、病理特征明确且稳定<sup>[25]</sup>。基于 DHL 前期预实验结果 [5、10、20 mg/(kg·d)], 所有剂量组大鼠均未发生死亡、行为异常或肝功能指标异常。10 mg/(kg·d) 组在改善肾纤维化表型方面优于 5 mg/(kg·d) 组, 且与 20 mg/(kg·d) 组效果差异无统计学意义。结合上述结果及相关文献<sup>[26]</sup>, 本研究采取 10 mg/(kg·d) 为正式实验剂量。病理学研究表明, RIF 以 ECM 异常沉积为特征, 其中 collagen I 最为常见, collagen III、纤维连接蛋白等表达均增加<sup>[27]</sup>。活化的肌成纤维细胞是 ECM 异常沉积的关键效应细胞, 其典型标志物  $\alpha$ -SMA 通过形成跨膜应力纤维, 介导细胞-基质间机械信号传导<sup>[28]</sup>。在慢性损伤中, 肌成纤维细胞收缩力导致 ECM 过度沉积形成纤维化瘢痕<sup>[29]</sup>, 该进程由 TGF- $\beta$ 、血小板源性生长因子以及结缔组织生长因子等多种细胞因子刺激成纤维细胞活化驱动<sup>[30]</sup>。本实验通过 Masson 染色分析总体胶原蛋白的表达, 免疫组化染色检测 collagen I、collagen III 及  $\alpha$ -SMA 的表达。结果表明, 在 UUO 2 周后, 模型组肾间质 collagen I、collagen III 及  $\alpha$ -SMA 均高于正常组, 而 DHL 干预能抑制以上指标的表达, 证实其抗纤维化作用。

鉴于 TGF- $\beta$ 1/Smad 通路是肾纤维化的主要驱动因素和治疗靶点<sup>[31]</sup>, 本研究重点探讨其机制。TGF- $\beta$ 1 是 TGF- $\beta$  最主要亚型, 通过直接激活肾小球系膜细胞和成纤维细胞, 诱导其增殖、迁移及转录胶原蛋白、纤维连接蛋白等促纤维化分子<sup>[32-33]</sup>。TGF- $\beta$ 1 结合受体后, 磷酸化 Smad2/3, 并于 Smad4 结合入核调控靶基因<sup>[34]</sup>。本研究结果显示, UUO 模型组肾组织中 TGF- $\beta$ 1 和磷酸化 Smad2/3 蛋白表达均增加, 而 DHL 治疗均减少其表达, 表明 DHL 通过抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad2/3 通路减轻肾纤维化。TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通

路是调节组织纤维化的核心通路, 广泛参与调控细胞增殖、分化、凋亡、自噬以及免疫反应等多种生物学过程<sup>[35-37]</sup>。本研究证实, 在 UUO 模型中, 木香提取物 DHL 表现出显著抗肾间质纤维化作用, 其机制可能涉及抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad2/3 通路活性。然而需阐明, 这一结论主要基于给药后观察到的通路关键分子表达下调与纤维化表型改善等药效性关联证据。目前尚未通过分子间直接相互作用实验, 例如结合测定或分子相互作用分析等, 确认 DHL 与该通路的受体复合物或 Smad 蛋白等核心效应元件之间存在特异性结合或直接靶向作用。因此, DHL 对该通路活性的抑制效应也可能通过间接机制实现, 一方面, DHL 具有的抗炎及抗氧化特性可能通过改善局部损伤微环境, 间接抑制 TGF- $\beta$ 1 的表达及其生物活性释放; 另一方面, DHL 也可能直接干扰 TGF- $\beta$ 1 与其细胞表面受体的结合过程。此外, DHL 还可能作用于 MAPK、PI3K/Akt 等 TGF- $\beta$  非 Smad 依赖性信号通路, 间接调控 Smad 信号的传导效率<sup>[38-39]</sup>。

尽管 TGF- $\beta$ 1 是公认的纤维化核心靶点, 其多种抑制剂 (如中和抗体、受体诱饵、小分子激酶抑制剂) 已被研发<sup>[40-41]</sup>。然而, 与这些通常在分子层面展现高亲和力靶向性, 但可能伴有脱靶效应或高昂成本的合成抑制剂相比, 源于传统中药的 DHL 显示出独特的潜在价值。基于既往及本研究的安全性评估数据, DHL 在整体安全性和生产可及性方面具备相对优势<sup>[11]</sup>。更重要的是, 其天然的多靶点特性虽缺乏高选择性, 却能通过调控多通路对抗复杂的纤维化过程, 提供更广泛的保护作用, 契合中药作用特点。目前, 其作用机制尚未完全阐明, 长期用药安全性需通过多器官毒理实验验证。其潜在的药物相互作用网络、药代动力学特征, 特别是口服生物利用度以及最优化的给药策略仍需在未來研究中深入探索与系统优化。

本研究证实 DHL 可显著改善 UUO 模型大鼠肾间质纤维化, 其作用机制与抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad2/3 信号通路、减少胶原蛋白沉积密切相关。作为天然倍半萜类化合物, 其多靶点调控作用为慢性肾病治疗提供了候选药物。未来研究需进一步解析 DHL 对 TGF- $\beta$ 1/Smad 通路下游调控机制, 特别是对肾小管上皮-间质转化过程相关基因表达的影响, 并结合转录组学或蛋白组学技术探索其与炎症、氧化应激通路的交互机制, 同时开展 DHL 的剂量优化及长期毒性评估, 为临床转化奠定基础。

## 参考文献:

- [1] ARRIOLA-MONTENEGRO J, CHEUNG PASITPORN W, THONGPRAYOON C, et al. Public interest in chronic kidney disease and dialysis: a 20-year data analysis[J]. *Ren Fail*, 2025, 47(1): 2462253. DOI: 10.1080/0886022X.2025.2462253.
- [2] 李正夫, 赵云芄. 终末期肾病的临床治疗策略及研究进展[J]. *中国实用医药*, 2025, 20(9): 177-180. DOI: 10.14163/j.cnki.11-5547/r.2025.09.048.
- LI Z F, ZHAO Y J. Clinical treatment strategy and research progress of end-stage renal disease[J]. *China Pract Med*, 2025, 20(9): 177-180. DOI: 10.14163/j.cnki.11-5547/r.2025.09.048.
- [3] TAN K, DENG J, LIU Y, et al. Yiqi Juanshen decoction alleviates renal interstitial fibrosis by targeting the LOXL2/PI3K/AKT pathway to suppress EMT and inflammation[J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 4248. DOI: 10.1038/s41598-025-86622-7.
- [4] JIANG X, WANG Y, QIU S, et al. Jiawei Danggui Buxue decoction reduces apoptosis and EMT of renal interstitial fibrosis by regulating JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2025, DOI: 10.2174/0113862073355322250226050458 [Epub ahead of print].
- [5] YANG S, WU H, LI Y, et al. Inhibition of PFKF in renal tubular epithelial cell restrains TGF- $\beta$  induced glycolysis and renal fibrosis[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(12): 816. DOI: 10.1038/s41419-023-06347-1.
- [6] 姚思琦, 黎文正, 汪虹. 转化生长因子  $\beta$ /Smad 信号通路与瘢痕疙瘩的靶向治疗[J]. *中国组织工程研究*, 2024, 28(16): 2619-2624. DOI: 10.12307/2024.337.
- YAO S Q, LI W Z, WANG H. Transforming growth factor beta/Smad signaling pathway and targeted therapy of keloid scars[J]. *Chin J Tissue Eng Res*, 2024, 28(16): 2619-2624. DOI: 10.12307/2024.337.
- [7] XIANG T, WANG X, HUANG S, et al. Inhibition of PKM2 by shikonin impedes TGF- $\beta$ 1 expression by repressing histone lactylation to alleviate renal fibrosis[J]. *Phytomedicine*, 2025, 136: 156324. DOI: 10.1016/j.phymed.2024.156324.
- [8] DONG G Z, SHIM A R, HYEON J S, et al. Inhibition of Wnt/ $\beta$ -catenin pathway by dehydrocostus lactone and costunolide in colon cancer cells[J]. *Phytother Res*, 2015, 29(5): 680-686. DOI: 10.1002/ptr.5299.
- [9] CHEN Y, MIAO Z, SHENG X, et al. Sesquiterpene lactones-rich fraction from *Aucklandia lappa* Decne. alleviates dextran sulfate sodium induced ulcerative colitis through co-regulating MAPK and Nrf2/Hmox-1 signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 295: 115401. DOI: 10.1016/j.jep.2022.115401.
- [10] PANDEY M M, RASTOGI S, RAWAT A K S. *Saussurea costus*: botanical, chemical and pharmacological review of an ayurvedic medicinal plant[J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 110(3): 379-390. DOI: 10.1016/j.jep.2006.12.033.
- [11] CHEN Y, SHEN J, YUAN M, et al. Dehydrocostus lactone suppresses gastric cancer progression by targeting ACLY to inhibit fatty acid synthesis and autophagic flux[J]. *J Adv Res*, 2025, 67: 331-348. DOI: 10.1016/j.jare.2024.01.028.
- [12] ZHOU Q, ZHANG W X, HE Z Q, et al. The possible anti-inflammatory effect of dehydrocostus lactone on DSS-induced colitis in mice[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020: 5659738. DOI: 10.1155/2020/5659738.
- [13] FENG M, LUO F, WU H, et al. Network pharmacology analysis and machine-learning models confirmed the ability of YiShen HuoXue decoction to alleviate renal fibrosis by inhibiting pyroptosis[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2023, 17: 3169-3192. DOI: 10.2147/DDDT.S420135.
- [14] HAN Y, LU J S, XU Y, et al. Rutin ameliorates renal fibrosis and proteinuria in 5/6-nephrectomized rats by anti-oxidation and inhibiting activation of TGF $\beta$ 1-smad signaling[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5): 4725-4734.
- [15] QIAN L, HU W, WANG Y, et al. LncRNA TUG1 mitigates chronic kidney disease through miR-542-3p/HIF-1 $\alpha$ /VEGF axis[J]. *Heliyon*, 2024, 11(1): e40891. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e40891.
- [16] LU T, CHEN S, XU J. RGS1 mediates renal interstitial fibrosis through activation of the inflammatory response[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2023, 750: 109744. DOI: 10.1016/j.abb.2023.109744.
- [17] LIN Y, WEI J, ZHANG Y, et al. Shen Qi Wan attenuates renal interstitial fibrosis through upregulating AQP1[J]. *Chin J Nat Med*, 2023, 21(5): 359-370. DOI: 10.1016/S1875-5364(23)60453-4.
- [18] YUAN Y, HU Q, LIU L, et al. Dehydrocostus lactone suppresses dextran sulfate sodium-induced colitis by targeting the IKK $\alpha$ / $\beta$ -NF- $\kappa$ B and Keap1-Nrf2 signalling pathways[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 817596. DOI: 10.3389/fphar.2022.817596.
- [19] RODRIGUEZ-SANCHEZ E, ACEVES-RIPOLL J, MERCADO-GARCÍA E, et al. Donor-dependent variations in systemic oxidative stress and their association with one-year graft outcomes in kidney transplantation[J]. *Am J Nephrol*, 2024, 55(5): 509-519. DOI: 10.1159/000539509.
- [20] XU C, WANG H, WANG H, et al. Schisandrin B regulates mitochondrial dynamics via AKT1 activation and mitochondrial targeting to ameliorate renal ischemia-reperfusion injury[J]. *Phytomedicine*, 2025, 141: 156672. DOI: 10.1016/j.phymed.2025.156672.
- [21] ISHII Y, FUKUI-MIYAZAKI A, IWASAKI S, et al. Impaired immunoproteasomal function exacerbates renal ischemia-reperfusion injury[J]. *Exp Mol Pathol*, 2024,

- 140: 104939. DOI: 10.1016/j.yexmp.2024.104939.
- [22] FODOR DURIC L, BASIC JUKIC N, VUJICIC B. Comparison of autologous and allogeneic adipose-derived stem cells in kidney transplantation: immunological considerations and therapeutic efficacy[J]. *J Clin Med*, 2024, 13(19): 5763. DOI: 10.3390/jcm13195763.
- [23] HUMPHREYS B D. Mechanisms of renal fibrosis[J]. *Annu Rev Physiol*, 2018, 80: 309-326. DOI: 10.1146/annurev-physiol-022516-034227.
- [24] LIU W, GAO Y, ZHOU Y, et al. Mechanism of cordyceps sinensis and its extracts in the treatment of diabetic kidney disease: a review[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 881835. DOI: 10.3389/fphar.2022.881835.
- [25] ZHAO W M, CHU F, ZHU J X, et al. Diosmin attenuates UUO-induced renal ferroptosis and fibrosis by inhibiting the HIF-1 $\alpha$ /FABP4 signaling axis[J]. *Phytomedicine*, 2025, 141: 156738. DOI: 10.1016/j.phymed.2025.156738.
- [26] XIONG Y, CUI X, ZHOU Y, et al. Dehydrocostus lactone inhibits BLM-induced pulmonary fibrosis and inflammation in mice via the JNK and p38 MAPK-mediated NF- $\kappa$ B signaling pathways[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 98: 107780. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.107780.
- [27] LI L, ZOU Q, LI B, et al. Type XXVIII collagen regulates renal interstitial fibrosis and epithelial-mesenchymal transition by SREBP1-mediated HKDC1 expression[J]. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 2022: 9582559. DOI: 10.1155/2022/9582559.
- [28] LIN W, SONG Y, LI T, et al. Triptolide attenuates pulmonary fibrosis by inhibiting fibrotic extracellular matrix remodeling mediated by MMPs/LOX/integrin[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 166: 115394. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.115394.
- [29] XU H, WANG M, LI Y, et al. Blocking connexin 43 and its promotion of ATP release from renal tubular epithelial cells ameliorates renal fibrosis[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(5): 511. DOI: 10.1038/s41419-022-04910-w.
- [30] FENG Y L, WANG W B, NING Y, et al. Small molecules against the origin and activation of myofibroblast for renal interstitial fibrosis therapy[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 139: 111386. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111386.
- [31] LOBODA A, SOBCZAK M, JOZKOWICZ A, et al. TGF- $\beta$ 1/smads and miR-21 in renal fibrosis and inflammation[J]. *Mediators Inflamm*, 2016: 8319283. DOI: 10.1155/2016/8319283.
- [32] YANG X, ZHENG F, YAN P, et al. S100A2 activation promotes interstitial fibrosis in kidneys by FoxO1-mediated epithelial-mesenchymal transition[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2024, 40(1): 86. DOI: 10.1007/s10565-024-09929-7.
- [33] WANG B, WEI J, MENG L, et al. Advances in pathogenic mechanisms and management of radiation-induced fibrosis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121: 109560. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109560.
- [34] PURI B, MAJUMDER S, GAIKWAD A B. CRISPR/Cas9 based knockout of lncRNA MALAT1 attenuates TGF- $\beta$ 1 induced Smad 2/3 mediated fibrosis during AKI-to-CKD transition[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2025, 207: 107044. DOI: 10.1016/j.ejps.2025.107044.
- [35] CHEN H, XU Y, YANG G, et al. Mast cell chymase promotes hypertrophic scar fibroblast proliferation and collagen synthesis by activating TGF- $\beta$ 1/Smads signaling pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(5): 4438-4442. DOI: 10.3892/etm.2017.5082.
- [36] 赵进玉, 林延延, 岳平, 等. 胆道纤维化的发生发展与治疗[J]. *中华消化外科杂志*, 2024(7): 989-1000. DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20240417-00208.  
ZHAO J Y, LIN Y Y, YUE P, et al. Pathogenesis, progression and treatment of biliary fibrosis[J]. *Chin J Dig Surg*, 2024(7): 989-1000. DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20240417-00208.
- [37] WEI H, LI D, LUO Y, et al. Aluminum exposure induces nephrotoxicity via fibrosis and apoptosis through the TGF- $\beta$ 1/Smads pathway in vivo and in vitro[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2023, 249: 114422. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2022.114422.
- [38] ZHAO M, YE N, LIU L, et al. Novel isoalantolactone-based derivatives as potent NLRP3 inflammasome inhibitors: design, synthesis, and biological characterization[J]. *J Med Chem*, 2024, 67(9): 7516-7538. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.4c00357.
- [39] YU L, SUN L, YU Q, et al. Bioactive compounds and mechanism of Xianglian pill in the treatment of gastric cancer: network pharmacology analysis and experimental validation[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 314: 116573. DOI: 10.1016/j.jep.2023.116573.
- [40] 金爱花, 朱洁波, 尹学哲, 等. 草苈蓉环烯醚萜苷 (IGBR) 对 TGF- $\beta$ 1 诱导的 HepG2 细胞上皮间质转化模型的影响[J]. *临床肝胆病杂志*, 2024, 40(6): 1175-1182. DOI: 10.12449/JCH240617.  
JIN A H, ZHU J B, YIN X Z, et al. Effect of iridoid glycosides from *Boschniakia rossica* on epithelial-mesenchymal transition of HepG2 cells induced by transforming growth factor-beta 1[J]. *J Clin Hepatol*, 2024, 40(6): 1175-1182. DOI: 10.12449/JCH240617.
- [41] ZHAO H, ZHANG H L, JIA L. High glucose dialysate-induced peritoneal fibrosis: pathophysiology, underlying mechanisms and potential therapeutic strategies[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 165: 115246. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.115246.

(收稿日期: 2025-05-29)

(本文编辑: 谢诗韵 吴秋玲)