

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2025.21.012

实验研究

当归芍药散对缺氧高糖诱导肾小球内皮细胞脂毒性损伤的影响

李睿嘉^{1,2}, 张倩倩², 李静², 王子轩^{1,2}, 郭世龙^{1,2}, 董雯³, 郭登洲²✉

1. 河北中医药大学研究生院, 河北省石家庄市桥西区新石南路326号, 050200; 2. 河北省中医院; 3. 河北医科大学第一医院

[摘要] **目的** 基于抑制沉默信息调节因子1 (Sirt1) 调控缺氧诱导因子1 α (Hif-1 α) /内质网应激 (ERS) 轴探讨当归芍药散治疗糖尿病肾脏疾病 (DKD) 的可能作用机制。**方法** 通过CCK8法检测小鼠肾小球内皮细胞 (MRGEC) 在不同浓度当归芍药散干预下的增殖率, 筛选当归芍药散干预浓度进行后续实验。将MRGEC分为缺氧低糖对照组、缺氧高糖模型组、当归芍药散组、厄贝沙坦组、Sirt1抑制剂组、Sirt1抑制剂+当归芍药散组、ERS抑制剂组, 按照分组分别予对应处理。观察细胞形态, 采用流式细胞术检测细胞凋亡率、细胞内活性氧 (ROS) 水平, 全自动生化仪检测细胞中甘油三酯 (TG) 和总胆固醇 (TC) 水平, Western Blot法检测细胞中Sirt1、Hif-1 α 、B细胞淋巴瘤2 (BCL-2)、磷酸化的蛋白激酶R样内质网激酶 (p-PERK)、葡萄糖调节蛋白78 (GRP78)、激活转录因子4 (ATF4)、C/EBP同源蛋白 (CHOP)、分化簇31 (CD31)、低密度脂蛋白受体 (VLDLr) 蛋白水平, RT-qPCR法检测细胞中GRP78、ATF4、CHOP mRNA表达, 免疫荧光法检测细胞中Hif-1 α 、GRP78、ATF4、CHOP的表达。**结果** 筛选出0.7 mg/ml浓度的当归芍药散进行后续实验。缺氧低糖对照组MRGEC呈梭形, 排列规则且有序; 缺氧高糖模型组MRGEC胞体缩小, 细胞间隙增大, 失去有序排列特征; Sirt1抑制剂组MRGEC杂乱分布, 细胞间隙更大; 当归芍药散组、厄贝沙坦组、Sirt1抑制剂+当归芍药散组、ERS抑制剂组上述特征均有所缓解。与缺氧低糖对照组比较, 缺氧高糖模型组细胞凋亡率、细胞内ROS水平升高 ($P<0.05$); 细胞中TG、TC水平升高, Sirt1、BCL-2、CD31蛋白水平降低, Hif-1 α 、p-PERK、VLDLr蛋白水平升高, GRP78、ATF4、CHOP蛋白及mRNA表达升高 ($P<0.05$)。与缺氧高糖模型组比较, Sirt1抑制剂组上述指标更加严重, 当归芍药散组、厄贝沙坦组、ERS抑制剂组上述指标有所改善 ($P<0.05$)。与Sirt1抑制剂+当归芍药散组比较, 当归芍药散组细胞上述指标有所改善 ($P<0.05$)。与Sirt1抑制剂组比较, Sirt1抑制剂+当归芍药散组细胞上述指标有所改善 ($P<0.05$)。**结论** 当归芍药散可以抑制缺氧高糖诱导的MRGEC凋亡, 其可能通过靶向Sirt1调控Hif-1 α /ERS, 从而缓解MRGEC的脂毒性损伤, 延缓DKD的进展。

[关键词] 糖尿病肾脏疾病; 肾小球内皮细胞; 当归芍药散; 糖脂代谢; 内质网应激; 缺氧

糖尿病肾脏疾病 (diabetic kidney disease, DKD) 是糖尿病最常见的微血管并发症之一, 其病理特征主要表现为进行性肾小球硬化和肾小管间质纤维化, 并以蛋白尿为主要临床表现, 约20%~40%的糖尿病患者最终进展为终末期肾病^[1]。目前DKD治疗的关键环节是降低尿蛋白和保护肾功能^[2]。近

年研究^[3-5]发现, 抑制沉默信息调节因子1 (Sirt1) 表达可增强缺氧诱导因子1 α (Hif-1 α) 引起的氧化应激和细胞凋亡; 高糖环境中Hif-1 α 促进内质网应激 (ERS) 增强促凋亡信号, 触发脂质代谢通路, 这些分子共同参与了DKD肾脏损伤的进展。

DKD属中医学“消渴病肾病”范畴, 本病由于消渴病日久不愈, 致“糖毒”弥漫, 损伤肾脏络脉, 形成肾络癥瘕, 血瘀贯穿疾病始终^[6]。依据《糖尿病肾脏疾病中西医结合诊疗指南》^[7], 本病早期、中期中医证候均表现出气虚血瘀。当归芍药散

基金项目: 河北省中医药管理局科研计划 (2025285); 河北省研究生创新资助项目 (XCXZZBS2025015); 河北省自然科学基金 (H2022423367)

✉ 通讯作者: hbgudengzhou@163.com

出自《金匱要略》，具有益气健脾、活血化瘀的功效，与早期、中期 DKD 病机契合^[8]，治疗早期糖尿病肾病有显著疗效^[9]。本研究从 Sirt1 调控 Hif-1 α /ERS 轴的角度探讨当归芍药散对缺氧高糖条件下小鼠肾小球内皮细胞 (MRGEC) 的脂毒性损伤的影响，为当归芍药散临床应用于 DKD 的治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 细胞株

MRGEC (货号: WN-10216)，购自武汉华纳纳生物科技有限公司。MRGEC 细胞培养于含 10% 胎牛血清 (FBS) +1% 双抗的 DMEM 低糖基础培养基 (葡萄糖 5.5 mmol/L) 中，在 37℃、5% CO₂ 饱和湿度培养箱中培养。

1.2 药物

当归芍药散 (组成: 当归 9 g, 白芍 48 g, 茯苓 12 g, 白术 12 g, 川芎 24 g, 泽泻 24 g) 由河北省中医院中药房提供; 厄贝沙坦片 (0.15 g/片, 修正药业集团, 批准文号: 国药准字 H20053912)。

1.3 主要试剂与仪器

Sirt1 抗体 (货号: BS6494)、Hif-1 α 抗体 (货号: BS3514)，伯乐生命医学产品 (南京) 有限公司; 分化簇 31 (CD31) 抗体 (货号: GB11063-2-50)、葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78) 抗体 (货号: GB11098-100)，武汉赛维尔生物科技有限公司; 极低密度脂蛋白受体 (VLDLr) 抗体 (货号: DF13667)，爱必信 (上海) 生物科技有限公司; 激活转录因子 4 (ATF4) 抗体 (货号: BS-1531R)、磷酸化的蛋白激酶 R 样内质网激酶 (p-PERK) 抗体 (货号: BS-3330R)，北京博奥森生物技术有限公司; B 细胞淋巴瘤 2 (BCL-2) 抗体 (货号: BA0412)、 β -肌动蛋白 (β -actin) 抗体 (货号: A00227-1)，武汉博士德生物工程有限公司; C/EBP 同源蛋白 (CHOP) 抗体 (货号: 15204-1-AP)，普诺泰生物技术 (上海) 有限公司; HRP 标记山羊抗兔 IgG 多克隆抗体 (华安生物科技有限公司, 货号: HA1001); DMEM 低糖基础培养基 (货号: QS-S013)、青霉素-链霉素溶液 (货号: QS-S402)、胰酶细胞消化液 (货号: QS-S401)，旗赛生物科技 (武汉) 有限公司; 4-苯基丁酸钠盐 (4-PBA, 货号: GC15002)、Sirt1 抑制剂 EX-527 (货号: GC1063)，格莱普生物科技 (上海) 有限公司; 细胞计数试剂盒 (CCK-8, 货号: KGA317)、细胞凋亡检测试剂盒 (货号: KGA107)、活性氧 (ROS)

检测试剂盒 (货号: KGT010-1)，南京建成生物工程研究所有限公司; 三赞胶试剂 (Trizol, 货号: R1100)，北京索莱宝生物科技有限公司; 实时荧光定量 PCR 试剂盒 (货号: R232)，南京诺唯赞生物科技有限公司。

YP-B 型电子天平，上海力辰仪器科技有限公司; BK-EL10C 型酶联免疫分析仪，山东博科科技有限公司; 721 型可见分光光度计，上海舜宇恒平科学仪器有限公司; BS-200 型全自动生化分析仪，深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司; DYCZ-24DN 型垂直电泳装置，北京市六一仪器厂; Eclipse Ti-S 型倒置显微镜，日本尼康公司; ViiA-7 型实时荧光定量 PCR 仪、proFlex 型 PCR 扩增仪，美国赛默飞世尔科技有限公司; CytoFLEX 型流式细胞仪，贝克曼库尔特有限公司。

1.4 当归芍药散干预浓度筛选

取处于对数生长期、生长状态良好的 MRGEC，以每孔 5×10^3 个细胞接种于细胞培养 96 孔板，37℃ 培养箱 (2% O₂，5% CO₂，93% N₂) 中培养过夜，次日加入 30 mmol/L 葡萄糖进行高糖干预^[10]，并在细胞孔周围孔内加入 200 μ l 无菌 PBS，同时分别给予当归芍药散 0.7、1.4、2.1、2.8 mg/ml 浓度进行干预。培养 48 h 后每孔加入 10 μ l 细胞计数试剂 (CCK-8)，培养 2 h，测定各孔吸光度 (A)。依据公式计算各组细胞的增殖率: 增殖率 = (A 处理组 - A 空白值) $\div$ (A 正常组 - A 空白值) $\times 100\%$ 。A 空白值为未接种细胞、仅含培养基和 CCK-8 空白孔的吸光度，A 正常组为葡萄糖 5.5 mmol/L 组的吸光度。根据增殖率结果，选择对细胞增殖作用最显著的浓度作为后续实验的干预浓度。

1.5 细胞培养和分组

取对数生长期、状态良好的 MRGEC 细胞以 5×10^5 个/孔密度接种于 6 孔板，每孔加入 2 ml 完全培养基，置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养过夜。次日更换各组对应处理的培养基: 1) 缺氧低糖对照组 (缺氧+葡萄糖 5.5 mmol/L); 2) 缺氧高糖模型组 (缺氧+葡萄糖 30.0 mmol/L); 3) 当归芍药散组 (缺氧+葡萄糖 30.0 mmol/L+最佳作用浓度的当归芍药散); 4) 厄贝沙坦组 (缺氧+葡萄糖 30.0 mmol/L+厄贝沙坦 10 μ mol/L); 5) Sirt1 抑制剂组 (缺氧+葡萄糖 30.0 mmol/L+EX-527 2 μ mol/L); 6) Sirt1 抑制剂+当归芍药散组 (缺氧+葡萄糖 30.0 mmol/L+EX-527 2 μ mol/L+最佳作用浓度的当归芍药散); 7) ERS 抑制剂组 (缺氧+葡萄糖 30.0 mmol/L+4PBA

2.5 mmol/L)。各组所用药物和试剂均依据相关文献及课题组前期实验筛选确定最佳浓度^[11-12]。所有处理均在缺氧条件下进行,即将细胞培养板置于缺氧培养箱(2% O₂, 5% CO₂, 93% N₂)中培养48 h以模拟肾小球内缺氧微环境。实验结束后收集细胞进行后续检测,每组设3个复孔。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 细胞一般情况 细胞处理期间,使用显微镜观察细胞形态,包括细胞的贴壁状态、形态是否发生改变,以及是否出现细胞漂浮、细胞质缩小、细胞间隙增大、细胞数量变化等。记录各组细胞的生长速度、密度以及有无死亡细胞或异常形态。若出现显著差异或异常现象,及时拍照并记录。上述指标作为细胞处理效果的初步评价依据。

1.6.2 流式细胞术检测细胞凋亡率、细胞内 ROS 水平 用胰酶消化收集细胞,用 PBS 将细胞润洗2次,4℃、1200 r/min、离心半径10 cm 条件下离心5 min。分别按照细胞凋亡检测试剂盒、ROS 检测试剂盒操作说明进行处理,使用流式细胞仪进行检测。

1.6.3 全自动生化仪检测细胞中甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)水平 细胞经 PBS 洗涤后胰酶消化,4℃、1000 r/min、离心半径10 cm 条件下离心5 min 收集细胞。200 μl PBS 重悬,反复冻融裂解细胞,4℃、3000 r/min、离心半径10 cm 条件下离心10 min 取上清,全自动生化仪检测分析。

1.6.4 Western Blot 法检测细胞中 Sirt1、VLDLr 及缺氧和 ERS 相关蛋白表达 各组细胞吸弃原培养液, PBS 洗涤,加入蛋白裂解液裂解,4℃、12 000 r/min、离心半径10 cm 条件下离心10 min 收集蛋白上清,将蛋白上清于-80℃冻存备用。取冻存上清定量蛋白,配制10%十二烷基硫酸钠(SDS)-聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)上样电泳,切胶后与预活化聚偏二氟乙烯(PVDF)膜按“海绵-滤纸-膜-胶-滤纸-海绵”顺序组装转膜。5%脱脂奶封闭1~2 h,孵育一抗(Sirt1、Hif-1α、BCL-2、p-PERK、GRP78、ATF4、CHOP、CD31、VLDLr 稀释比例为1:800,β-actin 稀释比例为1:1000),室温摇床1~2 h。二抗按1:8000 稀释孵育1 h,洗脱液洗4次。显影后,用 ImageJ 1.53k 软件分析条带灰度。将目标蛋白与β-actin 灰度值的比值作为校正表达量,并以缺氧低糖对照组为1进行归一化处理。

1.6.5 RT-qPCR 法检测细胞中 GRP78、ATF4、CHOP mRNA 表达 使用 Trizol 试剂分离各组细胞

总 RNA,提取后检测 RNA 的浓度和纯度。取 1 μg 总 RNA,按反转录试剂盒说明书合成 cDNA,反应条件为 50℃ 15 min、85℃ 5 s、4℃ 10 min,进行扩增。配制反应体系,反应条件为 95℃ 预变性 10 min、95℃ 变性 10 s、60℃ 退火延伸 60 s,共循环 40 次。以 β-actin 为内参,采用 2^{-ΔΔCt} 法计算 mRNA 相对表达量。引物由生工生物科技有限公司设计合成,序列见表 1。

表1 肾小球内皮细胞中 GRP78、ATF4、CHOP mRNA 引物序列

Table 1 Primers sequences of GRP78, ATF4, and CHOP mRNA in glomerular endothelial cells		
基因	序列(5'→3')	长度/bp
GRP78	上游: ACTTGGGGACCACTATTCCT	134
	下游: ATCGCCAATCAGACGCTCC	
ATF4	上游: TCGATGCTCTGTTTCGAATG	179
	下游: GGCAACCTGGTCGACTTTTA	
CHOP	上游: CTGGAAGCCTGGTATGAGGAT	121
	下游: CAGGGTCAAGAGTAGTGAAGGT	
β-actin	上游: GGCTGTATTCCTCCATCG	154
	下游: CCAGTTGCTAACAATGCCATGT	

注: GRP78, 葡萄糖调节蛋白 78; ATF4, 激活转录因子 4; CHOP, C/EBP 同源蛋白; β-actin, β-肌动蛋白。

1.6.6 荧光免疫法检测细胞中 Hif-1α、GRP78、ATF4、CHOP 水平 取对数生长期 MRGEC 细胞, PBS 清洗后爬片, 4% 多聚甲醛固定, 0.5% Triton X-100 (PBS 配制) 通透 5 min。山羊血清封闭 30 min, 滴加一抗(Hif-1α、GRP78、ATF4、CHOP, 1:100) 4℃ 孵育过夜。避光加荧光二抗(1:100) 37℃ 孵育 1 h, DAPI 染核, 封片后荧光显微镜下采集分析图像。荧光图像定量分析采用 ImageJ 1.53k 软件。每组随机选取 3 个视野, 对每个视野中所有阳性细胞的平均荧光强度进行统计分析。DAPI 染色用于细胞计数, 荧光强度以单位细胞数进行归一化处理。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 26.0、GraphPad Prism 8.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 方差齐者多组间比较采用单因素方差分析和重复测量方差分析, 两两比较采用 LSD 法检验; 方差不齐者进行 Welch's 方差分析。不符合正态分布的计量资料以中位数(上下四分位数)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示, 组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验, 若总体比较有统计学意义, 则进一步采用 Bonferroni 法校正进行两两比较。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 当归芍药散最佳干预浓度筛选结果

表 2 示, 与浓度为 0 时比较, 当归芍药散 0.7、1.4 mg/ml 浓度干预时细胞增殖率升高 ($P<0.05$), 其中 0.7 mg/ml 浓度细胞增殖率最高, 故选择 0.7 mg/ml 作为干预浓度进行后续实验。

表 2 不同浓度当归芍药散干预下细胞增殖率比较

Table 2 Comparison of cell proliferation rates under different concentrations of DSP intervention ($\bar{x}\pm s$)

当归芍药散浓度/mg·ml ⁻¹	复孔数	增殖率/%
0	3	71.36±6.39
0.7	3	88.16±3.17 ^{a)}
1.4	3	85.48±2.68 ^{a)}
2.1	3	81.39±3.01
2.8	3	72.42±2.05

注: a) 与浓度为 0 时比较, $P<0.05$ 。

2.2 各组细胞一般情况比较

图 1 示, 缺氧低糖对照组 MRGEC 呈梭形, 单层铺路石样排列, 形态饱满规则, 细胞间连接紧密且有序。缺氧高糖模型组 MRGEC 呈现变圆趋势, 胞体缩小, 部分呈现不规则椭圆形, 边缘欠清晰, 细胞间隙增大, 失去有序排列特征。Sirt1 抑制剂组 MRGEC 杂乱分布, 大小不一, 细胞间失去连接, 间隙更大。当归芍药散组、厄贝沙坦组、Sirt1 抑制剂+当归芍药散组、ERS 抑制剂组上述特征均有不同程度缓解。

2.3 各组细胞凋亡率、细胞内 ROS 水平比较

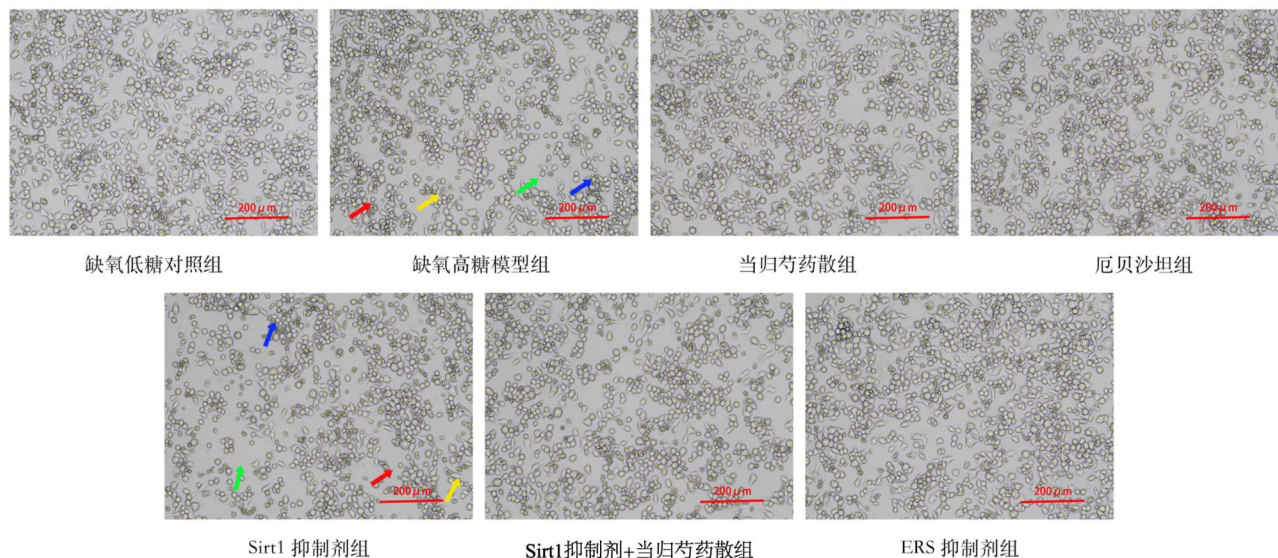
表 3 示, 与缺氧低糖对照组比较, 缺氧高糖模型组细胞凋亡率、细胞内 ROS 水平升高 ($P<0.05$); 与缺氧高糖模型组比较, 当归芍药散组、厄贝沙坦组、ERS 抑制剂组细胞凋亡率、细胞内 ROS 水平降低 ($P<0.05$), Sirt1 抑制剂组细胞凋亡率、细胞内 ROS 水平升高 ($P<0.05$); 与 Sirt1 抑制剂+当归芍药散组比较, 当归芍药散组细胞凋亡率、细胞内 ROS 水平降低 ($P<0.05$); 与 Sirt1 抑制剂组比较, Sirt1 抑制剂+当归芍药散组细胞凋亡率、细胞内 ROS 水平降低 ($P<0.05$)。

2.4 各组细胞中 TG、TC 水平比较

表 4 示, 与缺氧低糖对照组比较, 缺氧高糖模型组细胞中 TG、TC 水平升高 ($P<0.05$); 与缺氧高糖模型组比较, 当归芍药散组、厄贝沙坦组、ERS 抑制剂组细胞中 TG、TC 水平降低, Sirt1 抑制剂组细胞中 TG、TC 水平升高 ($P<0.05$); 与 Sirt1 抑制剂+当归芍药散组比较, 当归芍药散组细胞中 TG、TC 水平降低 ($P<0.05$); 与 Sirt1 抑制剂组比较, Sirt1 抑制剂+当归芍药散组细胞中 TG、TC 水平降低 ($P<0.05$)。

2.5 各组细胞中 Sirt1、VLDLr 及缺氧和 ERS 相关蛋白水平比较

表 5 示, 与缺氧低糖对照组比较, 缺氧高糖模型组细胞中 Sirt1、BCL-2 蛋白表达降低, Hif-1 α 蛋白表达升高 ($P<0.05$)。与缺氧高糖模型组比较,



注: 红色箭头示细胞呈现变圆趋势, 胞体缩小; 黄色箭头示细胞呈现不规则椭圆形, 边缘欠清晰; 绿色箭头示细胞间隙增大; 蓝色箭头示失去有序的排列特征。

图 1 各组细胞显微镜下一般情况比较 (×100)

Figure 1 Comparison of cell proliferation rates under different concentrations of DSP intervention (×100)

表 3 各组细胞凋亡率、细胞内 ROS 水平比较

Table 3 Comparison of apoptosis rate and intracellular ROS levels among groups

($\bar{x}\pm s$)

组别	复孔数	细胞凋亡率/%	ROS 水平
缺氧低糖对照组	3	14.16±0.30	23 354.47±2209.95
缺氧高糖模型组	3	25.13±1.04 ^{a)}	92 653.07±2117.15 ^{a)}
当归芍药散组	3	19.17±0.70 ^{b) c)}	60 213.57±1752.32 ^{b) c)}
厄贝沙坦组	3	16.25±1.01 ^{b)}	42 921.73±1269.07 ^{b)}
Sirt1 抑制剂组	3	32.70±1.59 ^{b) c)}	143 946.03±2036.03 ^{b) c)}
Sirt1 抑制剂+当归芍药散组	3	23.84±0.58	75 818.13±1472.75
ERS 抑制剂组	3	17.11±0.73 ^{b)}	52 003.23±1498.89 ^{b)}

注：ROS，活性氧。
a) 与缺氧低糖对照组比较， $P<0.05$ ；b) 与缺氧高糖模型组比较， $P<0.05$ ；c) 与 Sirt1 抑制剂+当归芍药散组比较， $P<0.05$ 。

表 4 各组细胞中 TG、TC 水平比较

Table 4 Comparison of intracellular TG and TC levels among groups

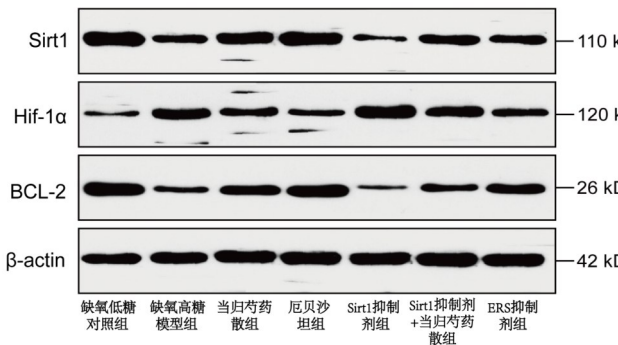
(mmol/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	复孔数	TG	TC
缺氧低糖对照组	3	0.14±0.02	0.44±0.04
缺氧高糖模型组	3	0.47±0.05 ^{a)}	1.24±0.07 ^{a)}
当归芍药散组	3	0.29±0.02 ^{b) c)}	0.85±0.05 ^{b) c)}
厄贝沙坦组	3	0.25±0.02 ^{b)}	0.74±0.05 ^{b)}
Sirt1 抑制剂组	3	0.60±0.05 ^{b) c)}	1.61±0.09 ^{b) c)}
Sirt1 抑制剂+当归芍药散组	3	0.38±0.03	1.11±0.10
ERS 抑制剂组	3	0.35±0.06 ^{b)}	1.03±0.06 ^{b)}

注：TG，甘油三酯；TC，总胆固醇。
a) 与缺氧低糖对照组比较， $P<0.05$ ；b) 与缺氧高糖模型组比较， $P<0.05$ ；c) 与 Sirt1 抑制剂+当归芍药散组比较， $P<0.05$ 。

当归芍药散组、厄贝沙坦组细胞中 Sirt1、BCL-2 蛋白表达升高，Hif-1 α 蛋白表达降低 ($P<0.05$)；ERS 抑制剂组细胞中 BCL-2 蛋白表达升高，Hif-1 α 蛋白表达降低 ($P<0.05$)；Sirt1 抑制剂组细胞中 Sirt1、BCL-2 蛋白表达降低，Hif-1 α 蛋白表达升高 ($P<0.05$)。与 Sirt1 抑制剂+当归芍药散组比较，当归芍药散组细胞中 Sirt1、BCL-2 蛋白表达升高，Hif-1 α 蛋白表达降低 ($P<0.05$)。与 Sirt1 抑制剂

组比较，Sirt1 抑制剂+当归芍药散组细胞中 Sirt1、BCL-2 蛋白表达升高，Hif-1 α 蛋白表达降低 ($P<0.05$)。各组细胞 Sirt1、Hif-1 α 、BCL-2 蛋白电泳图见图 2。



注：Sirt1，沉默信息调节因子 1；Hif-1 α ，缺氧诱导因子 1 α ；BCL-2，B 细胞淋巴瘤 2； β -actin， β -肌动蛋白。

图 2 各组细胞中 Sirt1、Hif-1 α 、BCL-2 蛋白电泳图

Figure 2 Electrophoretic bands of Sirt1, Hif-1 α , and BCL-2 proteins in each group

表 6 示，与缺氧低糖对照组比较，缺氧高糖模型组细胞中 p-PERK、GRP78、ATF4、CHOP 蛋白表达升高 ($P<0.05$)；与缺氧高糖模型组比较，当归芍药散组、厄贝沙坦组、ERS 抑制剂组细胞中上

表 5 各组细胞中 Sirt1、Hif-1 α 、BCL-2 蛋白相对表达量比较

Table 5 Comparison of the relative expression levels of Sirt1, Hif-1 α , and BCL-2 proteins among groups

($\bar{x}\pm s$)

组别	复孔数	Sirt1	Hif-1 α	BCL-2
缺氧低糖对照组	3	1.00±0.09	1.01±0.15	1.00±0.07
缺氧高糖模型组	3	0.46±0.03 ^{a)}	4.05±0.12 ^{a)}	0.37±0.04 ^{a)}
当归芍药散组	3	0.77±0.02 ^{b) c)}	2.07±0.19 ^{b) c)}	0.65±0.02 ^{b) c)}
厄贝沙坦组	3	0.79±0.03 ^{b)}	1.27±0.12 ^{b)}	0.80±0.06 ^{b)}
Sirt1 抑制剂组	3	0.24±0.03 ^{b) c)}	4.79±0.47 ^{b) c)}	0.21±0.02 ^{b) c)}
Sirt1 抑制剂+当归芍药散组	3	0.58±0.05	2.76±0.13	0.48±0.01
ERS 抑制剂组	3	0.54±0.08	1.33±0.27 ^{b)}	0.84±0.06 ^{b)}

注：Sirt1，沉默信息调节因子 1；Hif-1 α ，缺氧诱导因子 1 α ；BCL-2，B 细胞淋巴瘤 2。
a) 与缺氧低糖对照组比较， $P<0.05$ ；b) 与缺氧高糖模型组比较， $P<0.05$ ；c) 与 Sirt1 抑制剂+当归芍药散组比较， $P<0.05$ 。

表 6 各组细胞中 p-PERK、GRP78、ATF4、CHOP 蛋白相对表达量比较

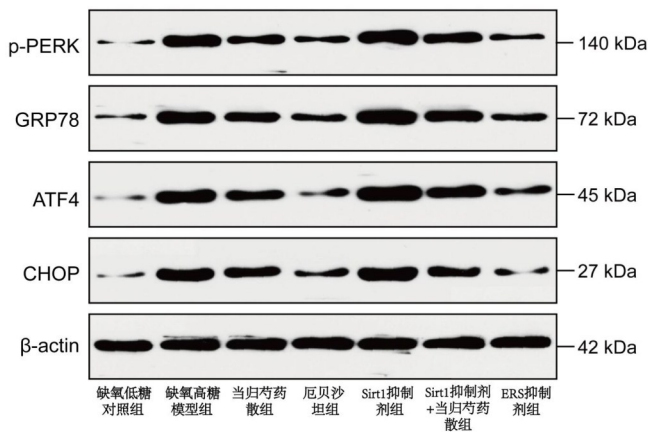
Table 6 Comparison of the relative expression levels of p-PERK, GRP78, ATF4, and CHOP proteins among groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	复孔数	p-PERK	GRP78	ATF4	CHOP
缺氧低糖对照组	3	0.98±0.07	0.99±0.09	0.99±0.04	0.99±0.05
缺氧高糖模型组	3	3.72±0.30 ^{a)}	2.54±0.06 ^{a)}	3.13±0.18 ^{a)}	3.72±0.27 ^{a)}
当归芍药散组	3	2.41±0.04 ^{b) c)}	1.86±0.06 ^{b) c)}	2.10±0.07 ^{b) c)}	2.35±0.39 ^{b) c)}
厄贝沙坦组	3	1.35±0.08 ^{b)}	1.21±0.01 ^{b)}	1.43±0.27 ^{b)}	1.91±0.25 ^{b)}
Sirt1 抑制剂组	3	4.19±0.14 ^{b) c)}	2.94±0.03 ^{b) c)}	3.69±0.26 ^{b) c)}	4.83±0.15 ^{b) c)}
Sirt1 抑制剂+当归芍药散组	3	3.12±0.07	2.25±0.14	2.69±0.12	3.33±0.28
ERS 抑制剂组	3	1.52±0.12 ^{b)}	1.41±0.13 ^{b)}	1.61±0.15 ^{b)}	1.96±0.10 ^{b)}

注：p-PERK，磷酸化的蛋白激酶 R 样内质网激酶；GRP78，葡萄糖调节蛋白 78；ATF4，激活转录因子 4；CHOP，C/EBP 同源蛋白。

a) 与缺氧低糖对照组比较， $P<0.05$ ；b) 与缺氧高糖模型组比较， $P<0.05$ ；c) 与 Sirt1 抑制剂+当归芍药散组比较， $P<0.05$ 。

述蛋白表达降低，Sirt1 抑制剂组细胞中上述蛋白表达升高 ($P<0.05$)；与 Sirt1 抑制剂+当归芍药散组比较，当归芍药散组细胞中上述蛋白表达降低 ($P<0.05$)；与 Sirt1 抑制剂组比较，Sirt1 抑制剂+当归芍药散组细胞中上述蛋白表达降低 ($P<0.05$)。各组细胞 p-PERK、GRP78、ATF4、CHOP 蛋白电泳图见图 3。



注：p-PERK，磷酸化的蛋白激酶 R 样内质网激酶；GRP78，葡萄糖调节蛋白 78；ATF4，激活转录因子 4；CHOP，C/EBP 同源蛋白；β-actin，β-肌动蛋白。

图 3 各组细胞中 p-PERK、GRP78、ATF4、CHOP 蛋白电泳图

Figure 3 Electrophoretic bands of p-PERK, GRP78, ATF4, and CHOP proteins in each group

表 7 示，与缺氧低糖对照组比较，缺氧高糖模型组细胞中 CD31 蛋白表达降低、VLDLr 蛋白表达升高 ($P<0.05$)；与缺氧高糖模型组比较，当归芍药散组、厄贝沙坦组、ERS 抑制剂组细胞中 CD31 蛋白表达升高、VLDLr 蛋白表达降低，Sirt1 抑制剂组细胞中 CD31 蛋白表达降低、VLDLr 蛋白表达升高 ($P<0.05$)；与 Sirt1 抑制剂+当归芍药散组比较，当归芍药散组细胞中 CD31 蛋白表达升高、VLDLr 蛋白表达降低 ($P<0.05$)；与 Sirt1 抑制剂

表 7 各组细胞中 CD31、VLDLr 蛋白相对表达量比较

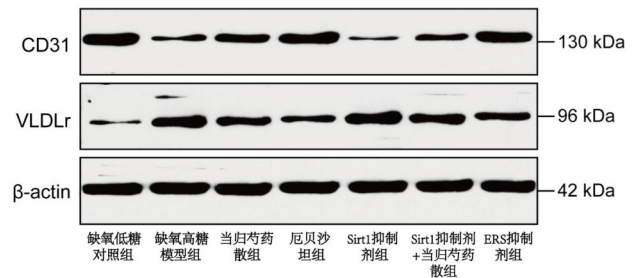
Table 7 Comparison of the relative expression levels of CD31 and VLDLr proteins among groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	复孔数	CD31	VLDLr
缺氧低糖对照组	3	1.00±0.09	1.02±0.07
缺氧高糖模型组	3	0.45±0.01 ^{a)}	3.18±0.14 ^{a)}
当归芍药散组	3	0.73±0.02 ^{b) c)}	2.11±0.21 ^{b) c)}
厄贝沙坦组	3	0.84±0.05 ^{b)}	1.73±0.13 ^{b)}
Sirt1 抑制剂组	3	0.28±0.01 ^{b) c)}	3.77±0.06 ^{b) c)}
Sirt1 抑制剂+当归芍药散组	3	0.55±0.01	2.62±0.05
ERS 抑制剂组	3	0.87±0.08 ^{b)}	1.88±0.18 ^{b)}

注：CD31，分化簇 31；VLDLr，极低密度脂蛋白受体。

a) 与缺氧低糖对照组比较， $P<0.05$ ；b) 与缺氧高糖模型组比较， $P<0.05$ ；c) 与 Sirt1 抑制剂+当归芍药散组比较， $P<0.05$ 。

组比较，Sirt1 抑制剂+当归芍药散组细胞中 CD31 蛋白表达升高、VLDLr 蛋白表达降低 ($P<0.05$)。各组细胞 CD31、VLDLr 蛋白电泳图见图 4。



注：CD31，分化簇 31；VLDLr，极低密度脂蛋白受体；β-actin，β-肌动蛋白。

图 4 各组细胞中 CD31、VLDLr 蛋白电泳图

Figure 4 Electrophoretic bands of CD31 and VLDLr proteins in each group

2.6 各组细胞中 GRP78、ATF4、CHOP mRNA 表达比较

表 8 示，与缺氧低糖对照组比较，缺氧高糖模型组细胞中 GRP78、ATF4、CHOP mRNA 表达升高

表 8 各组细胞中 *GRP78*、*ATF4*、*CHOP* mRNA 表达比较
Table 8 Comparison of *GRP78*, *ATF4*, and *CHOP* mRNA expression among groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	复孔数	GRP78	ATF4	CHOP
缺氧低糖对照组	3	0.89±0.09	1.01±0.12	1.01±0.15
缺氧高糖模型组	3	3.88±0.39 ^{a)}	4.07±0.35 ^{a)}	4.54±0.42 ^{a)}
当归芍药散组	3	2.55±0.26 ^{b) c)}	2.53±0.23 ^{b) c)}	2.49±0.27 ^{b) c)}
厄贝沙坦组	3	2.00±0.24 ^{b)}	2.00±0.20 ^{b)}	1.82±0.21 ^{b)}
Sirt1 抑制剂组	3	5.15±0.48 ^{b) c)}	5.03±0.40 ^{b) c)}	5.66±0.42 ^{b) c)}
Sirt1 抑制剂+当归芍药散组	3	3.20±0.29	3.42±0.31	3.26±0.33
ERS 抑制剂组	3	1.64±0.16 ^{b)}	1.51±0.19 ^{b)}	1.73±0.18 ^{b)}

注：*GRP78*，葡萄糖调节蛋白78；*ATF4*，激活转录因子4；*CHOP*，C/EBP同源蛋白。

a) 与缺氧低糖对照组比较， $P<0.05$ ；b) 与缺氧高糖模型组比较， $P<0.05$ ；c) 与 Sirt1 抑制剂+当归芍药散组比较， $P<0.05$ 。

($P<0.05$)；与缺氧高糖模型组比较，当归芍药散组、厄贝沙坦组、ERS 抑制剂组细胞中 *GRP78*、*ATF4*、*CHOP* mRNA 表达降低，Sirt1 抑制剂组上述指标升高 ($P<0.05$)；与 Sirt1 抑制剂+当归芍药散组比较，当归芍药散组细胞中上述指标降低 ($P<0.05$)；与 Sirt1 抑制剂组比较，Sirt1 抑制剂+当归芍药散组细胞中上述指标降低 ($P<0.05$)。

2.7 各组细胞中 Hif-1α、GRP78、ATF4、CHOP 水平比较

表 9 示，与缺氧低糖对照组比较，缺氧高糖模型组细胞中 Hif-1α、GRP78、ATF4、CHOP 水平升高 ($P<0.05$)；与缺氧高糖模型组比较，当归芍药散组、厄贝沙坦组、ERS 抑制剂组上述指标均降低，Sirt1 抑制剂组细胞中 ATF4、CHOP 水平升高 ($P<0.05$)；与 Sirt1 抑制剂+当归芍药散组比较，当归芍药散组上述指标降低 ($P<0.05$)；与 Sirt1 抑制剂组比较，Sirt1 抑制剂+当归芍药散组上述指标降低 ($P<0.05$)。各组细胞中 Hif-1α、GRP78、ATF4、CHOP 免疫荧光图见图 5。

3 讨论

DKD 是糖尿病最常见的微血管并发症之一，

DKD 的发病机制涉及多因素相互作用，其中高血糖环境是核心驱动因素，肾组织缺氧也是 DKD 发展的重要机制之一 [1]。在 DKD 进展中，Sirt1 活性降低使 Hif-1α 持续激活，引起氧化应激反应，并进一步促进脂质累积，导致肾脏细胞的脂毒性损伤及细胞凋亡 [13-14]。另有研究显示，Hif-1α/ERS 轴存在联合调控过程，缺氧与高糖微环境协同驱动 Hif-1α 的异常活化，进而通过多维度分子机制与 ERS 相互作用 [15-16]。持续高糖刺激时，Hif-1α 与缺氧反应元件 (HRE) 的特异性结合促进 GRP78 转录，形成正反馈环路加重未折叠蛋白反应，还可通过激活 ATF4-CHOP 轴增强促凋亡信号 [17-18]。在 DKD 缺氧高糖模型中，ERS 与 Hif-1α 之间形成双向调控网络，ERS 通过未折叠蛋白反应激活的多个信号通路可影响 Hif-1α 的稳定性与功能活性 [19]。蛋白激酶 R 样内质网激酶 (PERK) /真核起始因子 2α (eIF2α) 信号通路中磷酸化的 eIF2α 在抑制全局蛋白合成的同时，选择性增强 ATF4 翻译，后者通过直接结合 Hif-1α 基因的 HRE 增强其转录 [20]。ERS 激活的 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 通路可通过磷酸化修饰 Hif-1α 蛋白第 63 位丝氨酸残基，增强 Hif-1α 介导

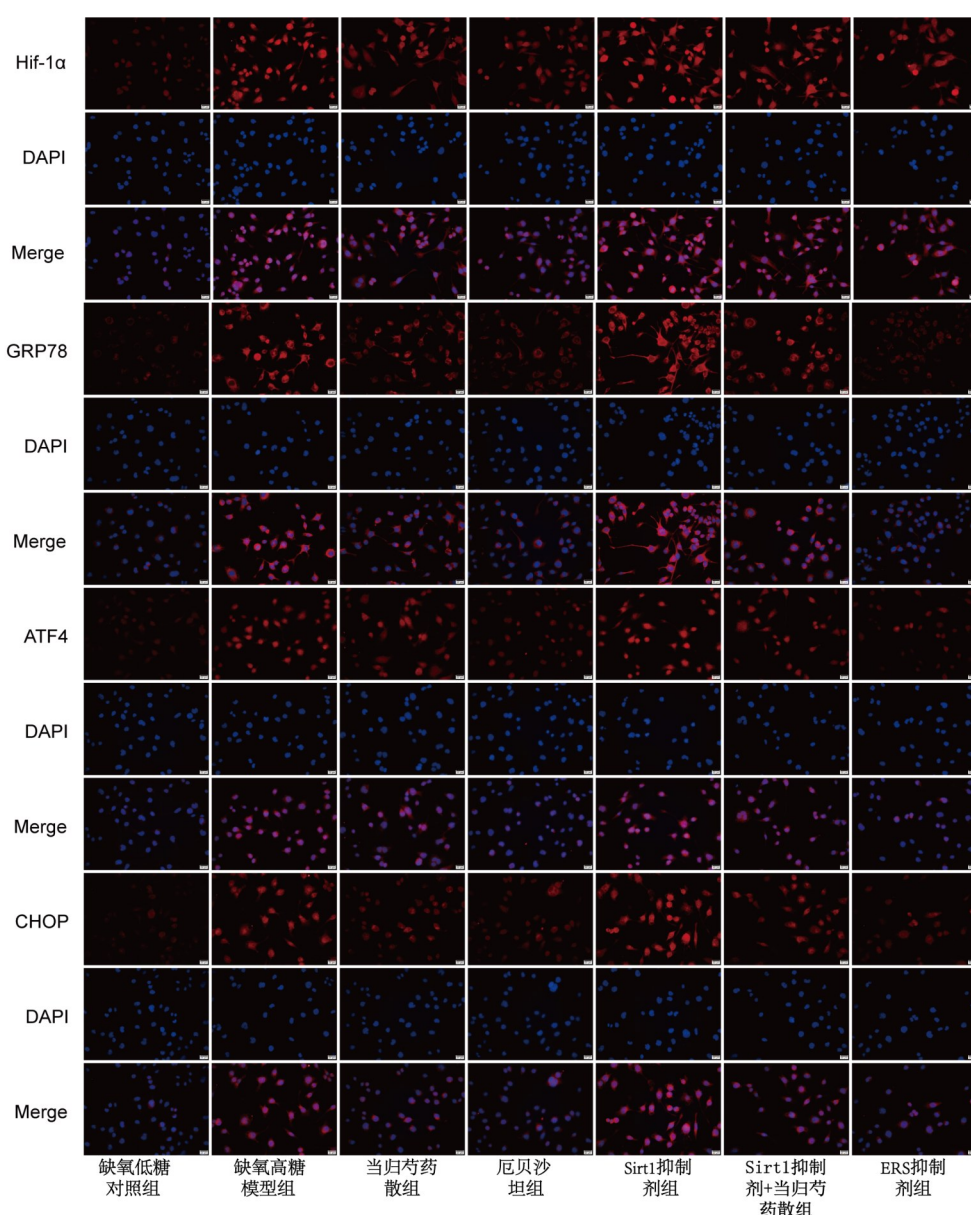
表 9 各组细胞中 Hif-1α、GRP78、ATF4、CHOP 免疫荧光表达比较

Table 9 Comparison of immunofluorescence expression levels of Hif-1α, GRP78, ATF4, and CHOP among groups [$M(P_{25}, P_{75})$]

组别	复孔数	Hif-1α	GRP78	ATF4	CHOP
缺氧低糖对照组	3	0.99 (0.98, 1.01)	0.96 (0.96, 1.02)	0.99 (0.96, 1.03)	0.98 (0.98, 1.01)
缺氧高糖模型组	3	2.59 (2.59, 2.66) ^{a)}	3.19 (3.08, 3.23) ^{a)}	3.04 (3.03, 3.09) ^{a)}	3.08 (2.97, 3.17) ^{a)}
当归芍药散组	3	1.78 (1.72, 1.81) ^{b) c)}	2.19 (2.14, 2.23) ^{b) c)}	2.04 (1.92, 2.25) ^{b) c)}	1.92 (1.89, 1.98) ^{b) c)}
厄贝沙坦组	3	1.57 (1.47, 1.64) ^{b)}	1.33 (1.32, 1.48) ^{b)}	1.55 (1.54, 1.64) ^{b)}	1.75 (1.74, 1.76) ^{b)}
Sirt1 抑制剂组	3	2.65 (2.65, 2.66) ^{c)}	3.43 (3.36, 3.61) ^{b) c)}	3.77 (3.68, 4.01) ^{b) c)}	3.88 (3.61, 4.11) ^{b) c)}
Sirt1 抑制剂+当归芍药散组	3	2.41 (2.36, 2.50)	2.48 (2.37, 2.49)	2.76 (2.74, 3.14)	2.76 (2.64, 2.90)
ERS 抑制剂组	3	1.99 (1.74, 2.03) ^{b)}	1.10 (1.10, 1.11) ^{b)}	1.64 (1.55, 1.7) ^{b)}	1.48 (1.47, 1.71) ^{b)}

注：Hif-1α，缺氧诱导因子1α；GRP78，葡萄糖调节蛋白78；ATF4，激活转录因子4；CHOP，C/EBP同源蛋白。

a) 与缺氧低糖对照组比较， $P<0.05$ ；b) 与缺氧高糖模型组比较， $P<0.05$ ；c) 与 Sirt1 抑制剂+当归芍药散组比较， $P<0.05$ 。



注：Merge，各指标和 DAPI 染色的重合图；Hif-1 α ，缺氧诱导因子 1 α ；GRP78，葡萄糖调节蛋白 78；ATF4，激活转录因子 4；CHOP，C/EBP 同源蛋白。

图 5 各组细胞中 Hif-1 α 、GRP78、ATF4、CHOP 免疫荧光图 (×400)

Figure 5 Immunofluorescence images of Hif-1 α , GRP78, ATF4, and CHOP in each group (×400)

的纤维化相关基因表达，并触发脂质代谢通路^[21]。本研究观察当归芍药散是否可通过靶向 Sirt1，联合调控 Hif-1 α /ERS 轴，达到改善 MRGEC 细胞脂毒性，并抑制缺氧高糖模型 MRGEC 细胞凋亡的作用。

本研究结果显示，缺氧高糖模型组细胞凋亡率增高，而 Sirt1 抑制剂组细胞凋亡率较缺氧高糖模型组细胞更高，提示 Sirt1 活性与细胞凋亡呈负相关。检测细胞内 ROS 含量发现，缺氧高糖模型组 ROS 升高，提示高糖负荷放大了缺氧条件下的氧化应激。Sirt1 抑制剂组的 ROS 表达较缺氧高糖模型组增加进一步提示了 Sirt1 依赖性去乙酰化活性在

维护氧化应激稳态中发挥关键作用，当归芍药散组、厄贝沙坦组较缺氧高糖模型组比较及 Sirt1 抑制剂+当归芍药散组较 Sirt1 抑制剂组比较上述指标均有不同程度的减轻。检测各组细胞 TG、TC，缺氧高糖模型组两项指标均升高，Sirt1 抑制剂组的升高最为明显，印证 Sirt1 抑制会加剧缺氧诱导的脂质沉积，Sirt1 抑制剂+当归芍药散组可在一定程度上逆转此模型下的脂代谢紊乱。Western Blot、RT-qPCR、免疫荧光结果提示，缺氧高糖损伤降低细胞中 Sirt1、CD31、BCL-2 蛋白水平，并伴随 Hif-1 α 、VLDLr 上调，Sirt1 抑制剂组趋势更加显著，CD31

作为内皮细胞的标志物, 其与 BCL-2 蛋白水平共同下降体现了细胞的损伤及凋亡^[22]。当归芍药散组、厄贝沙坦组的干预均能不同程度逆转上述改变, 提示该信号轴在药物干预中的关键地位。缺氧高糖模型组细胞 p-PERK、GRP78、ATF4 与 CHOP 蛋白、mRNA 表达均升高, 提示 ERS 被激活。ERS 抑制剂组中 4-PBA 可有效减轻细胞凋亡, 降低细胞内 ROS 含量。ERS 抑制剂组细胞中 TG 与 TC 降低, 提示缓解 ERS 对脂质稳态的重要调节作用。ERS 抑制剂组 Sirt1 蛋白水平未升高, 但较缺氧高糖模型组 Hif-1 α 、CHOP 蛋白表达降低, 证明 ERS 与缺氧之间存在紧密关系, 二者共同诱发细胞的凋亡, 同时进一步强调了 Sirt1 在此通路中的上游地位。

综上, Sirt1 作为核心调控因子, 通过去乙酰化作用影响 Hif-1 α 稳定性, Hif-1 α 与 ERS 互相作用致使脂代谢紊乱, 上述多靶点调控作用共同构成当归芍药散改善 MRGEC 脂毒性的分子基础, 为当归芍药散干预 DKD 提供了依据。未来需要更多高质量的临床研究验证其在真实世界中的疗效和最佳应用方案。

参考文献

- [1] SHEN S, ZHONG H, ZHOU X, et al. Advances in traditional Chinese medicine research in diabetic kidney disease treatment[J]. *Pharm Biol*, 2024, 62(1): 222-232.
- [2] LIU XJ, HU XK, YANG H, et al. A review of traditional Chinese medicine on treatment of diabetic nephropathy and the involved mechanisms[J]. *Am J Chin Med*, 2022, 50(7): 1739-1779.
- [3] WANG MJ, CAI X, LIANG RY, et al. SIRT1-dependent deacetylation of Txnip H3K9ac is critical for exenatide-improved diabetic kidney disease[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 167: 115515. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115515.
- [4] MA XJ, MA JR, LENG T, et al. Advances in oxidative stress in pathogenesis of diabetic kidney disease and efficacy of TCM intervention[J]. *Ren Fail*, 2023, 45(1): 2146512.
- [5] QIN X, JIANG M, ZHAO Y, et al. Berberine protects against diabetic kidney disease via promoting PGC-1 α -regulated mitochondrial energy homeostasis [J]. *Br J Pharmacol*, 2020, 177(16): 3646-3661.
- [6] 孙卫卫, 陈荟溪, 胡聿昕, 等. 糖尿病肾脏疾病辨治的难点和临床治疗模式[J]. *中医杂志*, 2025, 66(6): 569-574.
- [7] 中华中医药学会, 北京中医药大学东直门医院, 北京中医药大学. 糖尿病肾脏疾病中西医结合诊疗指南[J]. *北京中医药大学学报*, 2024, 47(4): 580-592.
- [8] 徐建龙, 禹田, 聂莉芳. 聂莉芳教授运用参芪当归芍药散治疗慢性肾脏病的经验 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2021, 22(9): 757-758.
- [9] 梅莎莎, 宋恩峰, 项琼. 当归芍药散联合氯沙坦治疗早期糖尿病肾病临床观察 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2016, 18(2): 101-103.
- [10] MOKAS S, LARIVIÈRE R, LAMALICE L, et al. Hypoxia-inducible factor-1 plays a role in phosphate-induced vascular smooth muscle cell calcification [J]. *Kidney Int*, 2016, 90(3): 598-609.
- [11] LI Y, LONG WH, ZHANG HF, et al. Irbesartan ameliorates diabetic nephropathy by activating the Nrf2/Keap1 pathway and suppressing NLRP3 inflammasomes in vivo and in vitro [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 131: 111844. doi: 10.1016/j.intimp.2024.111844.
- [12] SU PP, LIU DW, ZHOU SJ, et al. Down-regulation of Risa improves podocyte injury by enhancing autophagy in diabetic nephropathy [J]. *Mil Med Res*, 2022, 9(1): 23.
- [13] ZHANG T, CHI YQ, KANG YL, et al. Resveratrol ameliorates podocyte damage in diabetic mice via SIRT1/PGC-1 α mediated attenuation of mitochondrial oxidative stress [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 5033-5043.
- [14] MONA P, ANNA B, ROSALÍA RR, et al. SIRT1 regulates hepatic vldlr levels [J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22: 297. doi: 10.1186/s12964-024-01666-y.
- [15] CHEN W, WU P, YU F, et al. HIF-1 α regulates bone homeostasis and angiogenesis, participating in the occurrence of bone metabolic diseases [J]. *Cells*, 2022, 11(22): 3552.
- [16] TANG YY, WANG DC, WANG YQ, et al. Emerging role of hypoxia-inducible factor-1 α in inflammatory autoimmune diseases: a comprehensive review [J]. *Front Immunol*, 2023, 13: 1073971. doi: 10.3389/fimmu.2022.1073971.
- [17] SHI S, OU X, LIU C, et al. Research progress of HIF-1 α on immunotherapy outcomes in immune vascular microenvironment [J]. *Front Immunol*, 2025, 16: 1549276. doi: 10.3389/fimmu.2025.1549276.
- [18] LEE SY, LEE AR, CHOI JW, et al. IL-17 induces autophagy dysfunction to promote inflammatory cell death and fibrosis in keloid fibroblasts via the STAT3 and HIF-1 α dependent signaling pathways [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 888719. doi: 10.3389/fimmu.2022.888719.
- [19] RASHID M, ZADEH LR, BARADARAN B, et al. Up-down regulation of HIF-1 α in cancer progression [J]. *Gene*, 2021, 798: 145796. doi: 10.1016/j.gene.2021.145796.
- [20] SONG CW, KIM H, KIM MS, et al. Role of HIF-1 α in

- the responses of tumors to radiotherapy and chemotherapy [J]. *Cancer Res Treat*, 2025, 57(1): 1–10.
- [21] ZHANG FJ, LUO W, LEI GH. Role of HIF-1 α and HIF-2 α in osteoarthritis [J]. *Jt Bone Spine*, 2015, 82 (3): 144–147.
- [22] YANG XC, WANG X, LUO L, et al. RNA interference suppression of A100A4 reduces the growth and metastatic phenotype of human renal cancer cells via NF- κ B-dependent MMP-2 and bcl-2 pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2013, 17(12):1669–1680.

Effects of *Danggui Shaoyao Powder* (当归芍药散) on Lipotoxic Injury in Hypoxia and High Glucose-Induced Glomerular Endothelial Cells

LI Ruijia^{1,2}, ZHANG Qianqian², LI Jing², WANG Zixuan^{1,2}, GUO Shilong^{1,2}, DONG Wen³, GUO Dengzhou²

1. Graduate School, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang, 050200; 2. Hebei Hospital of Traditional Chinese Medicine; 3. The First Hospital of Hebei Medical University

ABSTRACT Objective To investigate the potential mechanism of *Danggui Shaoyao Powder* (当归芍药散, DSP) in the treatment of diabetic kidney disease (DKD) based on the regulatory role of silent information regulator 1 (Sirt1) on hypoxia-inducible factor 1 α (Hif-1 α) and endoplasmic reticulum stress (ERS). **Methods** The proliferation rate of mouse glomerular endothelial cells (MRGECs) under different concentrations of DSP was measured using the CCK-8 assay to determine the optimal intervention concentration for subsequent experiments. MRGECs were divided into the following groups: hypoxia-low glucose control, hypoxia-high glucose model, DSP, irbesartan, Sirt1 inhibitor, Sirt1 inhibitor + DSP, and ERS inhibitor. Cells in each group received corresponding treatments. Morphological changes were observed microscopically. Apoptosis rate and intracellular reactive oxygen species (ROS) levels were measured by flow cytometry; intracellular triglyceride (TG) and total cholesterol (TC) levels were assessed using an automated biochemical analyzer. Western Blotting was performed to detect protein levels of Sirt1, Hif-1 α , B-cell lymphoma 2 (BCL-2), phosphorylated protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase (p-PERK), glucose-regulated protein 78 (GRP78), activating transcription factor 4 (ATF4), C/EBP homologous protein (CHOP), cluster of differentiation 31 (CD31), and very low-density lipoprotein receptor (VLDLr). mRNA expression of GRP78, ATF4, and CHOP was determined by RT-qPCR, and the expression of Hif-1 α , GRP78, ATF4, and CHOP was visualized by immunofluorescence. **Results** The optimal DSP concentration was determined to be 0.7 mg/ml. In the hypoxia-low glucose control group, MRGECs showed spindle-like morphology and regular alignment. In contrast, the hypoxia-high glucose model group exhibited cell shrinkage, widened intercellular spaces, and disordered arrangement. Cells in the Sirt1 inhibitor group displayed more severe disorganization, while these morphological alterations were alleviated in the DSP, irbesartan, Sirt1 inhibitor + DSP, and ERS inhibitor groups. Compared with the hypoxia-low glucose control group, the hypoxia-high glucose model group showed significantly increased apoptosis rate and intracellular ROS levels ($P < 0.05$), elevated TG and TC levels, decreased Sirt1, BCL-2, and CD31 protein expression, increased Hif-1 α , p-PERK, and VLDLr protein levels, and upregulated GRP78, ATF4, and CHOP protein and mRNA expression ($P < 0.05$). Compared with the hypoxia-high glucose model group, these changes were further aggravated in the Sirt1 inhibitor group but significantly improved in the DSP, irbesartan, and ERS inhibitor groups ($P < 0.05$). Compared with the Sirt1 inhibitor + DSP group, the DSP group showed better improvements in all the above indices ($P < 0.05$). Compared with the Sirt1 inhibitor group, the Sirt1 inhibitor + DSP group also exhibited significant amelioration in these parameters ($P < 0.05$). **Conclusion** DSP inhibits apoptosis of MRGECs induced by hypoxia and high glucose, possibly by targeting Sirt1 to regulate the Hif-1 α /ERS axis, thereby alleviating lipotoxic injury and delaying the progression of DKD.

Keywords diabetic kidney disease; glomerular endothelial cells; *Danggui Shaoyao Powder* (当归芍药散); glucose and lipid metabolism; endoplasmic reticulum stress; hypoxia

(收稿日期: 2025-06-10; 修回日期: 2025-07-10)

[编辑: 金超]