

# 基于 SIRT3/HIF-1 $\alpha$ 通路介导的代谢重编程探讨肾消通络方对糖尿病肾病小鼠巨噬细胞极化的影响

李光<sup>1</sup>, 王婉卿<sup>1</sup>, 郭献炳<sup>1</sup>, 宋天毅<sup>1</sup>, 焦文浩<sup>1</sup>, 赵冬<sup>1</sup>, 丁英钧<sup>1,2\*</sup>

(1. 河北中医药大学, 河北石家庄 050200; 2. 河北省中西医结合肝肾病证研究重点实验室, 河北石家庄 050091)

**摘要:** **目的** 探讨肾消通络方对糖尿病肾病小鼠巨噬细胞极化和炎症反应的影响。**方法** 将 CD-1 小鼠随机分为对照组、模型组、恩格列净组 (10 mg/kg)、肾消通络方组 (19.11 g/kg)、肾消通络方+SIRT3 敲低组、肾消通络方+SIRT3 载体组、SIRT3 敲低组、SIRT3 载体组, 每组 9 只。采用腹腔注射链脲佐菌素复制糖尿病肾病模型, 敲低和载体组小鼠在糖尿病肾病成模后尾静脉注射相应的 AAV9 和空载体, 2 周后, 各组给予相应药物, 持续 8 周。测定小鼠体质量、肾脏指数与空腹血糖; ELISA 法检测 24 h U-mALB 和肾组织 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-10 水平; 全自动生化分析仪检测血清 BUN、Scr 水平和肾组织乳酸水平; HE、PAS 和 Masson 染色观察肾组织病理形态; Western blot 法检测肾组织 SIRT3、HIF-1 $\alpha$ 、ATP5b、Cox6c、PKM2、LDHA、F4/80、iNOS、CD206 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 肾消通络方组和恩格列净组小鼠体质量升高 ( $P<0.01$ ), 肾脏指数、空腹血糖降低 ( $P<0.01$ ); 24 h U-mALB 及血清 BUN、Scr 水平降低 ( $P<0.01$ ); 肾组织病理损伤减轻; IL-6、TNF- $\alpha$  水平降低 ( $P<0.01$ ), IL-10 水平升高 ( $P<0.01$ ); CD206、ATP5b、Cox6c、SIRT3 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), F4/80、iNOS、PKM2、LDHA、HIF-1 $\alpha$  蛋白表达降低 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。与肾消通络方组比较, SIRT3 敲低后肾消通络方的调节作用受到干扰。**结论** 肾消通络方可能通过 SIRT3/HIF-1 $\alpha$  信号通路介导的代谢重编程调节巨噬细胞极化, 进而减轻糖尿病肾病小鼠肾脏炎症反应。

**关键词:** 肾消通络方; 糖尿病肾病; 炎症; 代谢重编程; 巨噬细胞极化; SIRT3/HIF-1 $\alpha$  信号通路

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1528(2026)06-2030-08

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.06.036

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病的主要微血管并发症<sup>[1]</sup>。巨噬细胞介导的炎症反应是 DN 发生和发展的关键机制<sup>[2]</sup>。然而, 当机体处于高血糖状态时, 巨噬细胞极化呈现出以 M1 促炎型极化为主, M2 抗炎症极化受抑制的偏移<sup>[3]</sup>。Wei 等<sup>[4]</sup>发现 M1 型巨噬细胞的能量代谢方式以有氧糖酵解为主, M2 型以氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation, OXPHOS) 为主。然而, 在 DN 中, 能量代谢会由线粒体 OXPHOS 转变为糖酵解, 即代谢重编程, 促使巨噬细胞向 M1 极化, 抑制 M2 极化<sup>[5]</sup>。因此, 调节代谢重编程是维持 M1/M2 型巨噬细胞极化平衡、减轻 DN 肾脏炎症的关键。

沉默调节蛋白 3 (sirtuin 3, SIRT3) 是线粒体基质中调节去乙酰化的因子。研究显示, 在 DN 中 SIRT3 可以恢复 OXPHOS, 抑制缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (hypoxia induce factor 1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ) 介导的糖酵

解, 减轻肾脏能量代谢紊乱<sup>[6-7]</sup>。因此, SIRT3/HIF-1 $\alpha$  通路可能是调节 DN 代谢重编程的关键通路。课题组前期研究发现, 赵玉庸教授的肾消通络方可以抑制 DN 肾脏炎症反应和巨噬细胞浸润<sup>[8-9]</sup>, 且其对 DN 大鼠 SIRT3/HIF-1 $\alpha$  通路和代谢重编程具有一定的调节作用<sup>[10]</sup>, 但其与巨噬细胞极化平衡的关系尚不明确。因此, 本研究从代谢重编程和巨噬细胞极化角度出发, 探讨肾消通络方对 DN 小鼠肾脏炎症反应的作用靶点, 以为肾消通络方的临床应用提供科学依据。

## 1 材料

1.1 动物 72 只雄性 SPF 级 CD-1 小鼠, 7 周龄, 体质量 (35 $\pm$ 3) g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2021-0006], 饲养于河北中医药大学肝肾病证重点实验室 [实验动物使用许可证号 SYXK (冀) 2022-010], 期间自由饮食, 12 h/12 h 明暗交替。

收稿日期: 2026-02-03

基金项目: 河北省自然科学基金 (H2023423008)

作者简介: 李光 (2000—), 男, 硕士在读, 从事中医药防治糖尿病肾病的研究。E-mail: YJS20232065@hebcm.edu.cn

\* 通信作者: 丁英钧 (1972—), 男, 博士, 主任医师, 从事中医药防治糖尿病肾病的研究。E-mail: zxyjhydyj@hebcm.edu.cn

本研究经河北中医药大学实验动物伦理委员会批准(伦理批准号DWLL202306069)。

1.2 药物 肾消通络方颗粒由黄芪、玄参、黄连、丹参、蝉蜕、僵蚕、地龙、蜈蚣、金雀根组成(批号24082461、24041871、230424B1、24081361、23080482、230408L2、24042471、230103N2、230605H1),由神威药业集团有限公司提供,并经河北中医药大学药学院院长张丹教授鉴定为正品。恩格列净片(批号G38186,规格10 mg),由德国Boehringer Ingelheim公司提供。

1.3 试剂 血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、尿微量白蛋白(urine micro albuminurba, U-mALB)检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号BC1535、SEKM-0255);血肌酐(serum creatinine, Scr)、乳酸检测试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司,货号C011-2-1、A019-2-1);白介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、IL-10检测试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,货号E-EL-M0044、E-EL-M3063、E-EL-M0046);SIRT3、HIF-1 $\alpha$ 、ATP合酶亚基 $\beta$ (ATP synthase subunit beta, ATP5b)、M2型丙酮酸激酶(pyruvate kinase M2, PKM2)、乳酸脱氢酶A(lactate dehydrogenase A, LDHA)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)抗体(上海雅酶生物医药科技有限公司,货号R010359、R015076、R014646、R014143、R013758、R013877);细胞色素c氧化酶亚基6c(cytochrome c oxidase subunit 6c, Cox6c)、F4/80、CD206、山羊抗兔IgG二抗(英国Cohesion Biosciences公司,货号CPA5938、CQA3692、CMA9002、CSA2115); $\beta$ -actin抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号81115-1-R)。

1.4 仪器 BS-1000M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);SVE-2型电泳仪(武汉赛维尔生物科技有限公司);101A-1型电热鼓风干燥箱(上海光地仪器设备有限公司);Synergy H1型酶标仪(美国BioTek公司);SH-compact523型化学发光显影仪(杭州申花科技有限公司)。

## 2 方法

2.1 分组、造模及给药 72只CD-1小鼠适应性饲养1周后,按随机数字表法分为对照组、模型组、肾消通络方组、恩格列净组、肾消通络方+

SIRT3敲低组、肾消通络方+SIRT3载体组、SIRT3敲低组、SIRT3载体组,每组9只。除对照组外,其余小鼠腹腔注射链脲佐菌素(150 mg/kg,溶于pH=4.5的柠檬酸钠),2周后检测血糖,以血糖 $\geq 16$  mmol/L为糖尿病标准,4周后24 h U-mALB高于对照组且差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),表示DN模型构建成功<sup>[11-12]</sup>。造模成功后,肾消通络方+SIRT3敲低组和SIRT3敲低组尾静脉注射AAV9 100  $\mu$ L ( $8.59 \times 10^{12}$  vg/mL),肾消通络方+SIRT3载体组和SIRT3载体组尾静脉注射空载体 100  $\mu$ L ( $8.78 \times 10^{12}$  vg/mL)。2周后,肾消通络方组小鼠灌胃给予19.11 g/kg肾消通络方(按转换因子9.1换算,成人剂量为147 g/d),恩格列净组小鼠灌胃恩格列净10 mg/kg;其余各组灌胃等体积羧甲基纤维素钠,每天1次,连续8周。

2.2 取材与处理 给药8周后,所有小鼠均在取样前1 d禁食不禁水12 h,异氟烷麻醉后,眼眶后静脉丛采血,3 500 r/min离心10 min,分离血清,同时将小鼠肾脏排出残余血液并剥离肾膜,微量天平称定质量,部分放入多聚甲醛中固定,用于病理形态观察;另一部分于-80  $^{\circ}$ C冰箱保存,用于Western blot检测。

2.3 血糖与体质量检测 取样前1 d,使用罗氏血糖仪检测各组小鼠空腹血糖,并称定体质量。

2.4 24 h U-mALB与肾功能检测 取样前,收集小鼠24 h尿液,按ELISA试剂盒说明书操作,检测U-mALB,并根据其24 h尿量计算24 h U-mALB。全自动生化分析仪检测血清BUN、Scr水平。

2.5 肾组织乳酸水平检测 采用全自动生化分析仪检测肾组织乳酸水平。

2.6 肾组织病理形态观察 取多聚甲醛中固定的肾组织,进行脱水、石蜡包埋,用病理切片机制备厚度3  $\mu$ m的切片,采用HE、PAS、Masson染色,置于显微镜下观察并拍照。

2.7 Western blot法检测肾组织SIRT3、HIF-1 $\alpha$ 、ATP5b、Cox6c、PKM2、LDHA、F4/80、iNOS、CD206蛋白表达 称取肾组织20 mg,加入裂解液和蛋白酶抑制剂,充分研磨后离心,收集上清液,上样,电泳2 h分离蛋白,随后转膜、牛奶封闭,加入一抗SIRT3(1:1 000)、HIF-1 $\alpha$ (1:1 000)、ATP5b(1:1 000)、Cox6c(1:500)、PKM2(1:1 000)、LDHA(1:1 000)、F4/80(1:500)、iNOS(1:1 000)、CD206(1:500)

和  $\beta$ -actin (1:5 000) 4 ℃ 孵育过夜, 次日加入山羊抗兔二抗 IgG (1:5 000) 室温孵育 1 h, 显影, 拍照, 采用 Image J 软件分析目的条带灰度值。

2.8 统计学分析 通过 IBM SPSS 26.0 软件进行处理, 数据以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 满足正态分布和方差齐性, 组间比较采用单因素方差分析。  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

### 3 结果

3.1 肾消通络方对 DN 小鼠体质量和肾脏指数的影响 与对照组比较, 模型组小鼠体质量降低 ( $P < 0.01$ ), 肾脏指数升高 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 肾消通络方组和恩格列净组小鼠体质量升高 ( $P < 0.01$ ), 肾脏指数降低 ( $P < 0.01$ ); SIRT3 敲低组小鼠体质量减轻 ( $P < 0.05$ ), 肾脏指数升高 ( $P < 0.01$ ); SIRT3 载体组体质量、肾脏指数无明显变化 ( $P > 0.05$ )。与肾消通络方组比较, 肾消通络方+SIRT3 敲低组小鼠体质量降低 ( $P < 0.05$ ), 肾脏指数升高 ( $P < 0.01$ ); 肾消通络方+SIRT3 载体组体质量、肾脏指数无明显变化 ( $P > 0.05$ )。结果见表 1。

表 1 各组小鼠体质量、肾脏指数比较 ( $\bar{x} \pm s, n=9$ )

组别	体质量/g	肾脏指数
对照组	45.38±0.85	14.52±2.57
模型组	28.46±2.02**	22.55±2.02**
肾消通络方组	34.29±3.05 <sup>#</sup>	16.72±3.71 <sup>#</sup>
恩格列净组	34.08±3.25 <sup>#</sup>	16.73±4.61 <sup>#</sup>
肾消通络方+SIRT3 敲低组	32.13±0.52 <sup>▲</sup> <sup>§</sup> <sup>△</sup>	22.59±1.35 <sup>▲</sup> <sup>§</sup> <sup>△</sup>
肾消通络方+SIRT3 载体组	35.86±2.12 <sup>**</sup>	14.99±2.42 <sup>**</sup>
SIRT3 敲低组	25.89±1.59 <sup>**</sup>	27.51±4.84 <sup>**</sup>
SIRT3 载体组	27.91±0.53	21.18±2.13

注: 与对照组比较, \*\*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较, <sup>#</sup>  $P < 0.05$ , <sup>#</sup>  $P < 0.01$ ; 与肾消通络方组比较, <sup>▲</sup>  $P < 0.05$ , <sup>▲</sup>  $P < 0.01$ ; 与肾消通络方+SIRT3 载体组比较, <sup>§</sup>  $P < 0.01$ ; 与 SIRT3 敲低组比较, <sup>△</sup>  $P < 0.05$ , <sup>△</sup>  $P < 0.01$ ; 与 SIRT3 载体组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

表 3 各组小鼠 24 h-UmALB、BUN、Scr 水平比较 ( $\bar{x} \pm s, n=9$ )

组别	24 h U-mALB/(mg·24h <sup>-1</sup> )	BUN/(mg·dL <sup>-1</sup> )	Scr/( $\mu$ mol·L <sup>-1</sup> )
对照组	0.29±0.25	18.70±0.63	30.07±4.76
模型组	1.56±0.48**	24.37±0.35**	55.49±2.53**
肾消通络方组	0.51±0.30 <sup>#</sup>	21.36±0.22 <sup>#</sup>	36.82±6.50 <sup>#</sup>
恩格列净组	0.53±0.26 <sup>#</sup>	20.19±1.07 <sup>#</sup>	33.40±4.00 <sup>#</sup>
肾消通络方+SIRT3 敲低组	1.48±0.41 <sup>▲</sup> <sup>§</sup> <sup>△</sup>	24.10±1.86 <sup>▲</sup> <sup>§</sup>	48.24±3.13 <sup>▲</sup> <sup>§</sup>
肾消通络方+SIRT3 载体组	0.56±0.24 <sup>**</sup>	20.38±1.20 <sup>**</sup>	34.63±4.60 <sup>**</sup>
SIRT3 敲低组	2.78±0.46 <sup>**</sup>	25.89±0.92 <sup>**</sup>	66.86±2.09 <sup>**</sup>
SIRT3 载体组	1.43±0.22	24.40±0.43	52.49±3.92

注: 与对照组比较, \*\*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较, <sup>#</sup>  $P < 0.05$ , <sup>#</sup>  $P < 0.01$ ; 与肾消通络方组比较, <sup>▲</sup>  $P < 0.05$ , <sup>▲</sup>  $P < 0.01$ ; 与肾消通络方+SIRT3 载体组比较, <sup>§</sup>  $P < 0.01$ ; 与 SIRT3 敲低组比较, <sup>△</sup>  $P < 0.01$ ; 与 SIRT3 载体组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

3.2 肾消通络方对 DN 小鼠空腹血糖的影响 与对照组比较, 模型组小鼠空腹血糖升高 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 肾消通络方组和恩格列净组小鼠空腹血糖降低 ( $P < 0.01$ ); SIRT3 敲低组空腹血糖升高 ( $P < 0.01$ ); SIRT3 载体组空腹血糖水平无明显变化 ( $P > 0.05$ )。与肾消通络方组比较, 恩格列净组和肾消通络方+SIRT3 载体组小鼠空腹血糖无明显变化 ( $P > 0.05$ ); 肾消通络方+SIRT3 敲低组小鼠空腹血糖升高 ( $P < 0.01$ )。结果见表 2。

表 2 各组小鼠空腹血糖比较 ( $\bar{x} \pm s, n=9$ )

组别	空腹血糖/(mmol·L <sup>-1</sup> )
对照组	7.96±0.75
模型组	26.94±2.49**
肾消通络方组	14.92±2.70 <sup>#</sup>
恩格列净组	13.44±2.51 <sup>#</sup>
肾消通络方+SIRT3 敲低组	24.50±2.35 <sup>▲</sup> <sup>§</sup> <sup>△</sup>
肾消通络方+SIRT3 载体组	16.39±3.24 <sup>**</sup>
SIRT3 敲低组	32.07±1.08 <sup>**</sup>
SIRT3 载体组	25.20±1.96

注: 与对照组比较, \*\*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较, <sup>#</sup>  $P < 0.01$ ; 与肾消通络方组比较, <sup>▲</sup>  $P < 0.01$ ; 与肾消通络方+SIRT3 载体组比较, <sup>§</sup>  $P < 0.01$ ; 与 SIRT3 敲低组比较, <sup>△</sup>  $P < 0.01$ ; 与 SIRT3 载体组比较, \*\*  $P < 0.01$ 。

3.3 肾消通络方对 DN 小鼠肾功能的影响 与对照组比较, 模型组小鼠 24 h U-mALB、BUN、Scr 水平升高 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 肾消通络方组和恩格列净组小鼠 24 h U-mALB、BUN、Scr 水平降低 ( $P < 0.01$ ); SIRT3 敲低组 24 h U-mALB、BUN、Scr 水平升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); SIRT3 载体组 24 h U-mALB、BUN、Scr 水平无明显变化 ( $P > 0.05$ )。与肾消通络方组比较, 恩格列净组 24 h U-mALB、BUN、Scr 水平无明显变化 ( $P > 0.05$ ); 肾消通络方+SIRT3 载体组小鼠 24 h U-mALB、BUN、Scr 水平无明显变化 ( $P > 0.05$ ); 肾消通络方+SIRT3 敲低组小鼠 24 h U-mALB、BUN、Scr 水平升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。结果见表 3。

3.4 肾消通络方对DN小鼠肾组织病理形态的影响 HE和PAS染色显示,与对照组比较,模型组小鼠肾小球肥大、系膜增多、基底膜增厚,肾小管颗粒、空泡变性。肾消通络方或恩格列净可改善这些病理变化。与肾消通络方组小鼠比较,肾消通络方+SIRT3敲低组肾小球系膜增多、基底膜增厚,肾小管颗粒、空泡样变性。与模型组比较,SIRT3载体组无明显变化,SIRT3敲低组表现出更严重的

病理改变。

Masson染色显示,与对照组比较,模型组小鼠肾脏蓝染纤维增多。肾消通络方或恩格列净给药后蓝染纤维减少。与肾消通络方组比较,肾消通络方+SIRT3敲低组小鼠肾脏蓝染纤维增多,肾消通络方+SIRT3载体组无明显变化。与模型组比较,SIRT3载体组无明显变化,SIRT3敲低组肾组织蓝染纤维增多。结果见图1。

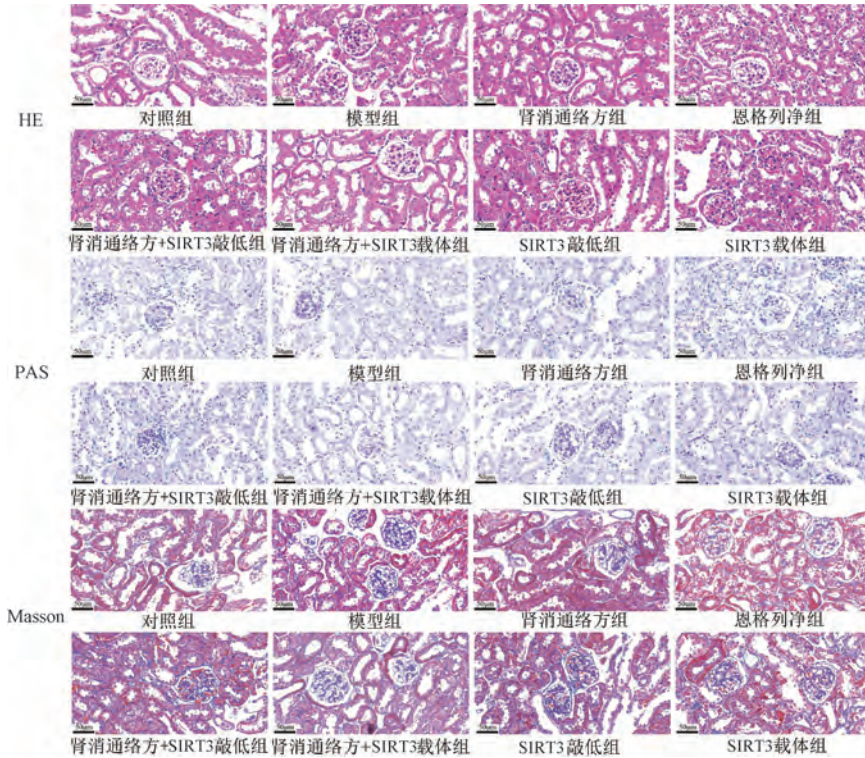


图1 各组小鼠肾皮质病理形态改变 (×400)

3.5 肾消通络方对DN小鼠肾组织IL-6、TNF-α、IL-10水平的影响 与对照组比较,模型组小鼠肾组织IL-6、TNF-α水平升高 ( $P < 0.01$ ),IL-10水平降低 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较,肾消通络方组和恩格列净组小鼠肾组织IL-6、TNF-α水平降低 ( $P < 0.01$ ),IL-10水平升高 ( $P < 0.01$ );SIRT3敲低组小鼠肾组织IL-6、TNF-α水平升高 ( $P < 0.01$ ),

IL-10水平降低 ( $P < 0.01$ );SIRT3载体组IL-6、TNF-α、IL-10水平无明显变化 ( $P > 0.05$ )。与肾消通络方组比较,肾消通络方+SIRT3敲低组小鼠肾组织IL-6、TNF-α水平升高 ( $P < 0.01$ ),IL-10水平降低 ( $P < 0.01$ );肾消通络方+SIRT3载体组IL-6、TNF-α、IL-10水平无明显变化 ( $P > 0.05$ )。见表4。

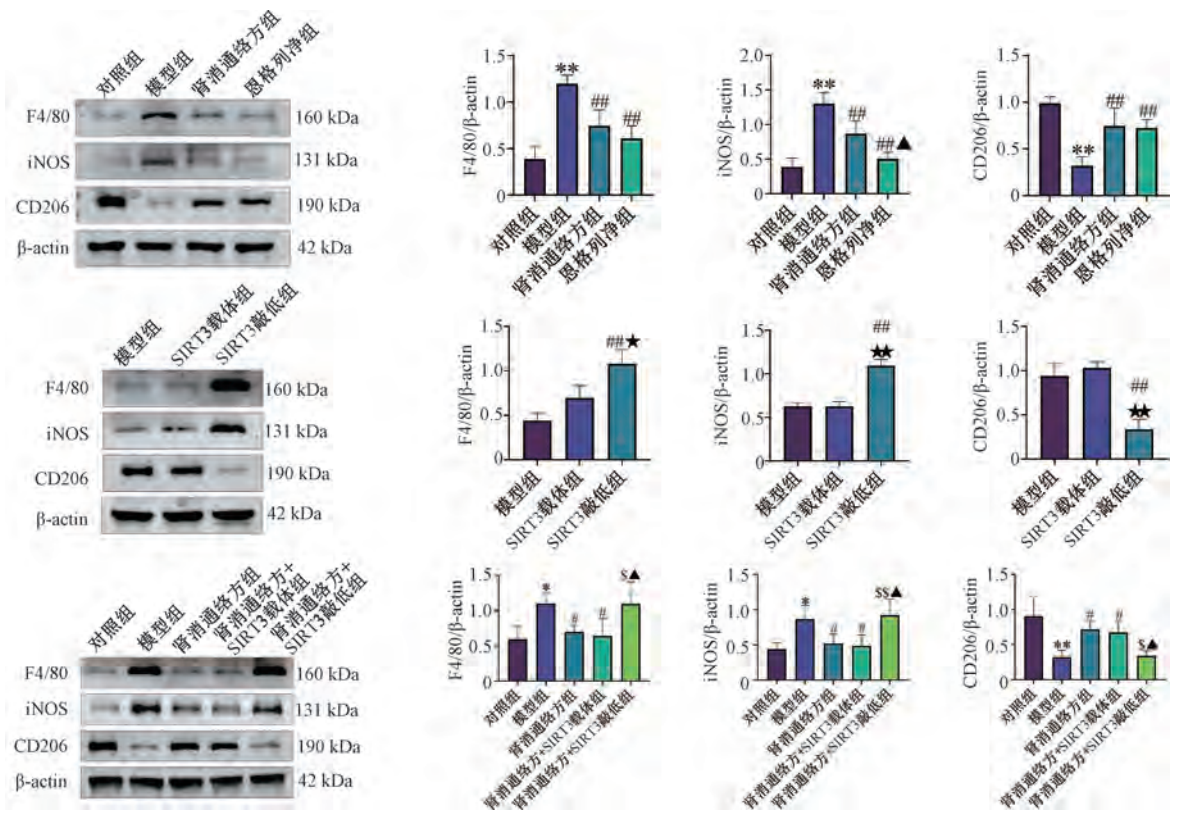
表4 各组小鼠肾组织IL-6、IL-10、TNF-α水平比较 ( $\bar{x} \pm s, n=9$ )

组别	IL-6/(ng·mL <sup>-1</sup> )	IL-10/(ng·mL <sup>-1</sup> )	TNF-α/(ng·mL <sup>-1</sup> )
对照组	2.92±0.90	1.18±0.08	4.22±1.67
模型组	12.90±1.20 <sup>**</sup>	0.23±0.05 <sup>**</sup>	28.82±3.52 <sup>**</sup>
肾消通络方组	7.58±1.45 <sup>##</sup>	0.44±0.05 <sup>##</sup>	14.05±5.08 <sup>##</sup>
恩格列净组	6.59±2.29 <sup>##</sup>	0.46±0.06 <sup>##</sup>	15.83±2.68 <sup>##</sup>
肾消通络方+SIRT3敲低组	20.78±2.67 <sup>▲▲\$ \$△△</sup>	0.21±0.06 <sup>▲▲\$ \$△△</sup>	28.71±2.87 <sup>▲▲\$ \$△△</sup>
肾消通络方+SIRT3载体组	6.72±1.56 <sup>**</sup>	0.43±0.07 <sup>**</sup>	12.26±2.44 <sup>**</sup>
SIRT3敲低组	27.86±2.32 <sup>###**</sup>	0.06±0.03 <sup>###**</sup>	44.59±4.23 <sup>###**</sup>
SIRT3载体组	12.14±1.79	0.23±0.08	29.29±3.46

注:与对照组比较,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与肾消通络方组比较,<sup>▲▲</sup> $P < 0.01$ ;与肾消通络方+SIRT3载体组比较,<sup>\$ \$</sup> $P < 0.01$ ;与SIRT3敲低组比较,<sup>△△</sup> $P < 0.01$ ;与SIRT3载体组比较,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

3.6 肾消通路方对DN小鼠巨噬细胞标志物相关蛋白F4/80、iNOS、CD206表达的影响 与对照组比较,模型组小鼠肾组织F4/80、iNOS蛋白表达升高( $P < 0.01$ ),CD206蛋白表达降低( $P < 0.01$ )。与模型组比较,肾消通路方组和恩格列净组小鼠肾组织F4/80、iNOS蛋白表达降低( $P < 0.01$ ),CD206蛋白表达升高( $P < 0.01$ );SIRT3敲低组小鼠肾组织F4/80、iNOS蛋白表达升高( $P < 0.01$ ),CD206蛋白表达降低( $P < 0.01$ );

SIRT3载体组F4/80、iNOS、CD206蛋白表达无明显变化( $P > 0.05$ )。与肾消通路方组比较,恩格列净组iNOS蛋白表达降低( $P < 0.05$ ),F4/80、CD206蛋白表达无明显变化( $P > 0.05$ );肾消通路方+SIRT3敲低组小鼠肾组织F4/80、iNOS蛋白表达升高( $P < 0.05$ ),CD206蛋白表达降低( $P < 0.05$ );肾消通路方+SIRT3载体组F4/80、iNOS、CD206蛋白表达无明显变化( $P > 0.05$ )。结果见图2。



注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,# $P < 0.05$ ,### $P < 0.01$ ;与SIRT3载体组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与肾消通路方组比较,▲ $P < 0.05$ ;与肾消通路方+SIRT3载体组比较,§ $P < 0.05$ ,§§ $P < 0.01$ 。

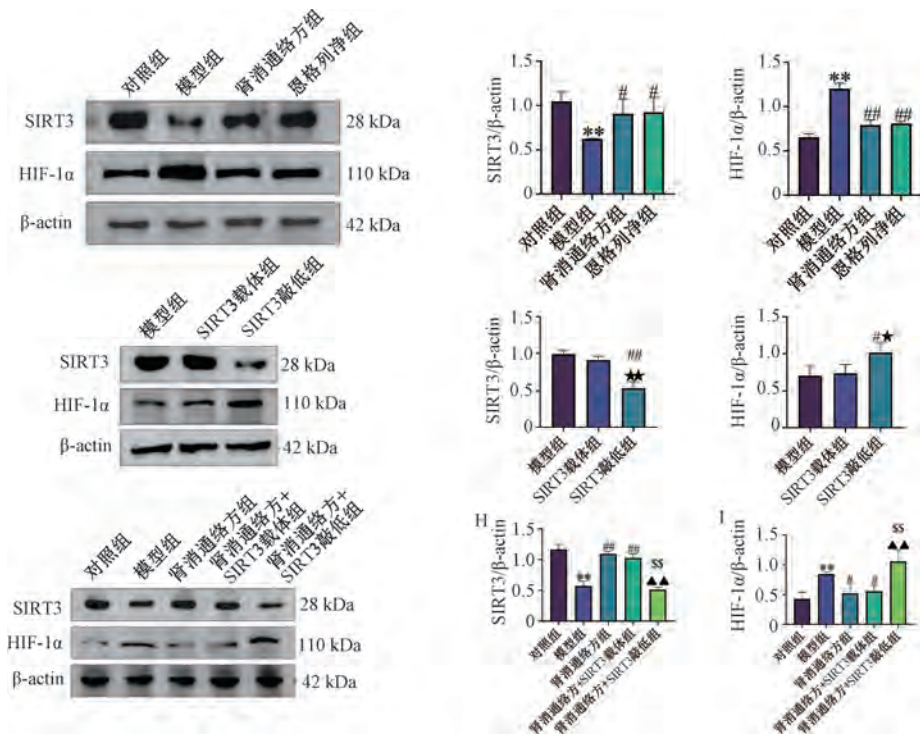
图2 各组小鼠肾组织巨噬细胞极化相关蛋白表达比较( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

3.7 肾消通路方对DN小鼠代谢重编程相关蛋白ATP5b、Cox6c、PKM2、LDHA表达的影响 与对照组比较,模型组小鼠肾组织氧化磷酸化ATP5b、Cox6c蛋白表达降低( $P < 0.01$ ),糖酵解PKM2、LDHA蛋白表达升高( $P < 0.01$ )。与模型组比较,肾消通路方组和恩格列净组小鼠肾组织ATP5b、Cox6c蛋白表达升高( $P < 0.05, P < 0.01$ ),PKM2、LDHA蛋白表达降低( $P < 0.05$ );SIRT3敲低组小鼠肾组织ATP5b、Cox6c蛋白表达降低( $P < 0.01$ ),PKM2、LDHA蛋白表达升高( $P < 0.01$ );SIRT3载体组ATP5b、Cox6c、PKM2、LDHA蛋白表达无明显变化( $P > 0.05$ )。与肾消通路方组比

较,恩格列净组和肾消通路方+SIRT3载体组ATP5b、Cox6c、PKM2、LDHA蛋白表达无明显变化( $P > 0.05$ );肾消通路方+SIRT3敲低组小鼠肾组织ATP5b、Cox6c蛋白表达降低( $P < 0.01$ ),PKM2、LDHA蛋白表达升高( $P < 0.01$ )。结果见图3。

3.8 肾消通路方对DN小鼠肾组织乳酸水平的影响 与对照组比较,模型组小鼠肾组织乳酸水平升高( $P < 0.01$ )。与模型组比较,肾消通路方组和恩格列净组小鼠肾组织乳酸水平降低( $P < 0.01$ );SIRT3敲低组乳酸水平升高( $P < 0.01$ );SIRT3载体组乳酸水平无明显变化( $P > 0.05$ )。与肾消通路





注：与对照组比较，\*\*  $P < 0.01$ ；与模型组比较，#  $P < 0.05$ ，##  $P < 0.01$ ；与 SIRT3 载体组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$ ；与肾消通络方组比较，▲  $P < 0.01$ ；与肾消通络方+SIRT3 载体组比较，§  $P < 0.01$ 。

图 4 各组小鼠肾组织 SIRT3、HIF-1 $\alpha$  蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

制<sup>[14]</sup>。研究显示，M1 型巨噬细胞的过度极化会导致促炎因子 TNF- $\alpha$  和 IL-6 分泌增多<sup>[3]</sup>，而 M2 型巨噬细胞极化的降低会导致抗炎因子 IL-10 分泌减少，加剧肾脏损伤<sup>[15]</sup>。因此，调节肾脏巨噬细胞极化、抑制炎症是治疗 DN 的关键。巨噬细胞表型主要受其代谢模式调控<sup>[16]</sup>。Pei 等<sup>[17]</sup>发现，高血糖状态下的糖酵解升高会为 M1 巨噬细胞极化提供能量，促进 M1 极化。同时，糖酵解产生的大量乳酸，会破坏线粒体 OXPHOS，抑制 M2 极化，形成恶性循环<sup>[18]</sup>。肾消通络方中的黄芪、玄参、僵蚕等被证实可以调节 DN 代谢紊乱和巨噬细胞极化失衡<sup>[19]</sup>。因此，代谢重编程和巨噬细胞极化平衡可能是肾消通络方治疗 DN 的关键。团队前期研究证实，肾消通络方可以调节 DN 大鼠代谢重编程<sup>[10]</sup>，减少肾脏巨噬细胞浸润<sup>[8]</sup>，但其是否可以通过代谢重编程调节巨噬细胞极化尚不明确。本研究显示，DN 小鼠肾脏炎症损伤加重，巨噬细胞倾向于促进 M1 极化，抑制 M2 极化，糖酵解和乳酸水平升高，OXPHOS 反应降低，而肾消通络方可显著抑制 DN 小鼠肾组织炎症，维持 M1/M2 巨噬细胞极化和代谢重编程平衡，证实了肾消通络方可以通过调节代谢重编程影响巨噬细胞极化，进而减轻 DN 小鼠肾组织炎症损伤。

SIRT3 是线粒体基质中负责调节氧化还原平衡和能量代谢的因子<sup>[20]</sup>。在 DN 中，SIRT3 的脱乙酰化可以激活超氧化物歧化酶 2，减轻 ROS 对 OXPHOS 造成的损伤<sup>[21]</sup>，抑制 NOD 样蛋白受体 3 炎症囊泡的激活，调节巨噬细胞代谢<sup>[22]</sup>；SIRT3 的脱乙酰化直接激活线粒体三羧酸循环的关键底物异柠檬酸脱氢酶 2，促进能量代谢<sup>[23]</sup>；SIRT3 作为 HIF-1 $\alpha$  表达的上游调节剂，可以抑制 HIF-1 $\alpha$  的转录活性，减轻 PKM2、LDHA 过度激活引起的代谢失衡<sup>[7]</sup>。同时，肾消通络方中的黄芪、丹参等被证实可以恢复 SIRT3 表达<sup>[24]</sup>。因此，SIRT3/HIF-1 $\alpha$  可能是肾消通络方调节 DN 小鼠能量代谢的关键。本研究检测到 DN 小鼠 SIRT3 表达降低，HIF-1 $\alpha$  表达升高，与模型组比较，SIRT3 敲低后 HIF-1 $\alpha$  表达升高，糖酵解反应升高，OXPHOS 抑制，巨噬细胞倾向 M1 极化，降低 M2 极化，证实了 SIRT3 是维持 DN 小鼠代谢重编程和巨噬细胞极化平衡的关键。肾消通络方可以升高 DN 小鼠 SIRT3 表达，抑制 HIF-1 $\alpha$  表达，而 SIRT3 敲低抑制了肾消通络方对 HIF-1 $\alpha$ 、代谢重编程、巨噬细胞极化的调节作用，证实了肾消通络方通过 SIRT3/HIF-1 $\alpha$  信号通路来调节 DN 小鼠肾脏代谢重编程。

综上所述，肾消通络方可以通过 SIRT3/HIF-

1 $\alpha$  信号通路调节代谢重编程, 恢复 M1/M2 巨噬细胞极化平衡, 减轻 DN 小鼠肾组织炎症反应, 改善肾损伤。未来将通过体外实验进一步明确肾消通络方对巨噬细胞极化的调节机制。

### 参考文献:

- [ 1 ] Yao H K, Zhang W T, Yang F, *et al.* Discovery of caffeoylisocitric acid as a Keap1-dependent Nrf2 activator and its effects in mesangial cells under high glucose[J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2022, 37(1): 178-188.
- [ 2 ] Wu Z, Gao Y, Zuo C Y, *et al.* The status of studies on the mechanism of microcirculatory dysfunction in the process of diabetic kidney injury[J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2025, 17(1): 154.
- [ 3 ] Xiong S X, Huang L J, Liu H S, *et al.* Dapagliflozin exerts anti-apoptotic effects by mitigating macrophage polarization *via* modulation of the phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B signaling pathway[J]. *World J Diabetes*, 2025, 16(2): 97287.
- [ 4 ] Wei Y, Yang H Y, Zhou L, *et al.* Targeting lipid metabolic reprogramming to alleviate diabetic kidney disease: molecular insights and therapeutic strategies[J]. *Front Immunol*, 2025, 16: 1549484.
- [ 5 ] 吴 慧, 王凤玲, 谢林虎. 代谢重编程与巨噬细胞极化: 糖尿病肾病治疗的新靶点[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2025, 26(6): 561-564.
- [ 6 ] Zhou Y X, Liu L, Jin B M, *et al.* Metrn1 alleviates lipid accumulation by modulating mitochondrial homeostasis in diabetic nephropathy[J]. *Diabetes*, 2023, 72(5): 611-626.
- [ 7 ] Srivastava S P, Li J P, Kitada M, *et al.* SIRT3 deficiency leads to induction of abnormal glycolysis in diabetic kidney with fibrosis[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(10): 997.
- [ 8 ] 聂浩坤, 聂 远, 林 健, 等. 基于析因设计探讨金雀根及肾消通络方对糖尿病肾病大鼠肾组织 CD68/iNOS 和 p38MAPK 信号通路的影响[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(3): 1235-1240.
- [ 9 ] 杨秀芳, 白秀云, 丁英钧, 等. 肾消通络方对自发性糖尿病 db/db 小鼠肾脏炎性损伤及 MCP-1、TNF- $\alpha$  水平的影响[J]. 中成药, 2022, 44(2): 602-604.
- [ 10 ] 许藏藏, 郭献炳, 李 光, 等. 基于 PGC-1 $\alpha$ /SIRT3/HIF-1 $\alpha$  信号通路探讨肾消通络方对糖尿病大鼠肾脏损伤的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(17): 108-116.
- [ 11 ] Cai X, Cao H Y, Wang M J, *et al.* SGLT2 inhibitor empagliflozin ameliorates tubulointerstitial fibrosis in DKD by downregulating renal tubular PKM2[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2025, 82(1): 159.
- [ 12 ] 金航宇, 任则学, 徐 军, 等. 葛根解肌汤通过调节 Nrf2/HO-1/GPX4 途径治疗糖尿病肾病小鼠的机制研究[J]. 时珍国医国药, 2025, 36(16): 3052-3056.
- [ 13 ] 聂 远, 聂浩坤, 林 健, 等. 基于析因设计探讨金雀根及其复方对糖尿病肾病大鼠的治疗作用及对氧化应激的干预[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(1): 66-70.
- [ 14 ] Asma S A, Rana M A, Lama M A, *et al.* Macrophage depletion alleviates immunosenescence in diabetic kidney by modulating GDF-15 and Klotho[J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(9): 3990.
- [ 15 ] 苏 焱, 宋 科. 黄芪甲苷通过调控 HIF-1 $\alpha$  信号通路调节 M2 巨噬细胞极化对糖尿病肾病的作用机制研究[J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35(7): 25-35.
- [ 16 ] Thomas A W, Kevin M V. Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis[J]. *Immunity*, 2016, 44 ( 3 ): 450-462.
- [ 17 ] Pei X Y, Liu J, Wei Y, *et al.* PINK1 affects mitochondrial oxidative phosphorylation by regulating MFN2 to alleviate diabetic kidney disease[J]. *Int Immunopharmacol*, 2025, 157: 114786.
- [ 18 ] Uttkarsh A, Aneesh K, Heather T, *et al.* Metabolic rewiring of macrophages by epidermal-derived lactate promotes sterile inflammation in the murine skin[J]. *EMBO J*, 2024, 43(7): 1113-1134.
- [ 19 ] 李 凡, 王 杰, 崔成姬, 等. 基于巨噬细胞募集与极化探讨温阳解毒通络方对糖尿病肾病小鼠的影响[J]. 中成药, 2025, 47(5): 1494-1501.
- [ 20 ] Marina M, Perico L, Ariela B. Sirtuins in renal health and disease[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29(7): 1799-1809.
- [ 21 ] Chen Y F, Wang Y, Yu D R, *et al.* Sirtuin 3 in diabetic kidney disease: mechanisms and pharmacotherapy[J]. *Ren Fail*, 2025, 47(1): 2543927.
- [ 22 ] Li R Y, Yan X Y, Zhao Y X, *et al.* Oxidative stress induced by nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) dysfunction aggravates chronic inflammation through the NAD<sup>+</sup>/SIRT3 axis and promotes renal injury in diabetes[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2025, 14(3): 267.
- [ 23 ] Zhang Y J, Liu Y, Hou M Z, *et al.* Reprogramming of mitochondrial respiratory chain complex by targeting SIRT3-COX4I2 axis attenuates osteoarthritis progression[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, 10(10): e2206144.
- [ 24 ] 张婧璐, 金丽霞, 张晓东, 等. 中医药调控 SIRT 蛋白酶家族防治肾纤维化研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(15): 306-314.