

# 达格列净通过丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶/内皮型一氧化氮合酶途径调节高糖环境下的内皮祖细胞功能

解丹丹,巫婷婷,赵晓彤,许慕蓉,陈明卫

**摘要** 目的 探讨达格列净(DAPA)对高糖环境下体外培养的大鼠内皮祖细胞(EPCs)功能的影响。方法 采用荧光染色法对SD大鼠骨髓来源EPCs进行鉴定。以EPCs为研究对象,设立对照组(CG组)、高糖组(HG组)、高糖+DAPA组(GD组)、高糖+DAPA+LY294002组(GDL组)。分别采用MTT法、流式细胞术、小管形成实验检测EPCs细胞活力、凋亡、形成小管能力。应用Western blot检测丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(AKT)/内皮型一氧化氮合酶(eNOS)信号通路相关蛋白表达。结果 与CG组相比较,HG组EPCs细胞活力、形成小管能力、磷酸化AKT(p-AKT)和磷酸化eNOS(p-eNOS)的蛋白表达以及p-AKT/AKT和p-eNOS/eNOS比值均降低( $P < 0.05$ ),而EPCs的凋亡率增加( $P < 0.05$ );与HG组相比较,GD组EPCs的细胞活力、形成小管能力、p-AKT和p-eNOS的蛋白表达以及p-AKT/AKT和p-eNOS/eNOS比值均增加( $P < 0.05$ ),而EPCs的凋亡率降低( $P < 0.05$ );与GD组相比较,GDL组EPCs的细胞活力、形成小管能力、p-AKT和p-eNOS的蛋白表达以及p-AKT/AKT和p-eNOS/eNOS比值均降低( $P < 0.05$ ),而EPCs的凋亡率增加( $P < 0.05$ )。结论 DAPA可通过AKT/eNOS途径保护EPCs免受高糖诱导的功能损害。

**关键词** 达格列净;糖尿病;内皮祖细胞;AKT;eNOS

**中图分类号** R 587.1

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2022)06-0957-06  
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.06.021

2022-04-17 接收

基金项目:安徽省重点研究与开发计划项目(编号:202004a0702-0016);安徽省自然科学基金(编号:2108085MH269)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院内分泌科,合肥 230022

作者简介:解丹丹,女,硕士研究生;

陈明卫,主任医师,教授,博士生导师,责任作者,E-mail:  
chmw1@163.com

研究<sup>[1]</sup>表明,高血糖可损害血管内皮细胞功能,从而启动糖尿病大血管病变。有学者<sup>[2]</sup>认为上述病变过程可能与高糖环境下内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)数量减少和功能异常有内在关系。Meta分析显示EPCs水平降低预示糖尿病患者具有较高的心血管事件、心血管死亡和全因死亡率<sup>[3]</sup>。

作为一种新型的降糖药物,达格列净(dapagliflozin, DAPA)已广泛应用于临床。来自DAPA-HF的III期临床试验<sup>[4]</sup>结果表明,与安慰剂相比,DAPA可显著降低受试者心血管死亡或心力衰竭恶化的风险。最近有研究<sup>[5]</sup>表明接受DAPA治疗的2型糖尿病(T2DM)患者外周血中EPCs的数量明显增加。目前有关DAPA对EPCs的作用效应以及机制尚不清楚。因此,该研究旨在通过体外实验探讨DAPA对高糖干预下的EPCs功能影响及其机制。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 8周龄健康SPF级雄性SD大鼠5只,体质量(213.5±12.4)g(中国科学院上海实验动物中心);FITC标记的荆豆凝集素(FITC-Ulex europaeus agglutinin, FITC-UEA-I)(美国Sigma公司);Dil标记的乙酰化低密度脂蛋白(Dil-acetylated low density lipoprotein, Dil-acLDL)(美国Invitrogen公司);4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)(美国Sigma公司);MTT细胞增殖检测试剂盒、Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒(上海贝博生物公司);甘油醛-3-磷酸脱氢酶

expression of interferon regulatory factor 9 (IRF9) protein as well as myxovirus resistance protein 1 (MxA) protein in the JAK/STAT signaling pathway. **Results** In HepG2 cells expressing HBV transiently and HepG2.2.15 cells stably expressing HBV, the expression of PTEN protein both decreased; the expression of HBV-related antigens and HBV pgRNA decreased in PTEN-OE HepG2.2.15 cells compared with the control group. After the treatment by poly(I:C), the level of IFN- $\alpha$  mRNA was significantly higher than that of the control group, and the expression of IRF9 and MxA protein related to the JAK/STAT signaling pathway both increased. **Conclusion** HBV may play a role in antagonizing the antiviral activity of IFN- $\alpha$  by down-regulating the expression of PTEN.

**Key words** hepatitis B virus; PTEN; IFN- $\alpha$ ; JAK/STAT signaling pathway; chronic hepatitis B

(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (serine-threonine kinase, AKT)、磷酸化丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (phosphorylated serine-threonine kinase, p-AKT)、内皮型一氧化氮 (endothelial nitric oxide, eNOS)、磷酸化内皮型一氧化氮 (phosphorylated endothelial nitric oxide, p-eNOS) 抗体及相应二抗、磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)/AKT 信号通路抑制剂 (LY294002) (上海碧云天生物技术有限公司); DAPA (英国 AstraZeneca 公司); 光学显微镜 (BX53M, 日本 Olympus 公司); 荧光显微镜 (IX73, 日本 Olympus 公司)。

**1.2 EPCs 的分离** 该研究获安徽医科大学动物伦理委员会批准 (批准文号: LLSC20192304)。参考文献<sup>[6]</sup>报道, EPCs 的分离方法简述如下: 5 只健康 SPF 级雄性 SD 大鼠, 正常饮食适应性喂养 1 周, 室温和湿度分别控制在 22 °C 和 50%。1 周后以 3% 戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 进行腹腔注射麻醉, 颈椎脱臼处死。用 PBS 冲洗骨髓腔, 直至冲洗液无色透明。随后将骨髓腔灌洗液收集到 15 ml 离心管中并离心。去除上清液和脂肪, 用 5 ml PBS 重新悬浮细胞。将 5 ml 淋巴细胞分离液和制备的细胞悬浮液添加到新的 15 ml 离心管中。通过密度梯度离心法获得单个核细胞, 并将其接种到涂有纤维连接蛋白的 6 孔板中。细胞在含有 20% FBS、20 ng/ml VEGF、5 ng/ml bFGF、1% 青 - 链霉素的 M199 培养基中生长。

**1.3 EPCs 的鉴定** 采用 FITC-UEA-I 和 Dil-acLDL 双荧光染色法鉴定 EPCs。在光学显微镜下连续观察细胞培养 3、5 和 10 d 后的形态学变化。至 10 d 时, 培养的 EPCs 融合率达 70%。用培养基将 Dil-acLDL 稀释至 30 μg/ml 后添加到细胞中, 并在 37 °C 培养箱中避光孵育 1 h, PBS 洗涤细胞 2 次, 加入 4% 多聚甲醛固定 10 min, PBS 重复洗涤 2 次, 加入 10 μg/ml 的 FITC-UEA-I 300 μl 后避光孵育 1 h, PBS 洗涤 2 次, 最后加入 1 μg/ml DAPI 避光孵育 5 min, PBS 洗涤 2 次, 制作玻片。应用荧光显微镜观察 DAPI 染色结果, 并进行 Merge 分析。

**1.4 细胞分组** 参照先前的研究<sup>[7]</sup>结果, 该研究中选择 DAPA 的干预浓度为 1 μmol/L。为观察 DAPA 对高糖干预下 EPCs 功能以及 AKT/eNOS 信号通路的影响, 将细胞分为 4 组: 对照组 (CG 组, D-葡萄糖 5 mmol/L + 25 mmol/L 甘露糖醇)、高糖组 (HG 组, D-葡萄糖 30 mmol/L)、高糖 + DAPA 组 (GD 组,

用 1 μmol/L DAPA 预处理 24 h, 然后用 30 mmol/L D-葡萄糖培养 24 h)、高糖 + DAPA + LY294002 组 (GD 组, 分别用 1 μmol/L DAPA 和 50 μmol/L LY294002 预处理 24 h 和 1 h, 然后用 30 mmol/L D-葡萄糖培养 24 h)。每组设 4 个复孔。

**1.5 细胞活力测定** 将体外培养至第 10 天的 EPCs 以每孔  $5 \times 10^4$  个接种于 96 孔板中, 按分组条件干预 48 h 后, 每孔加入 50 μl 无血清培养基和 50 μl MTT 试剂, 置于培养箱中孵育 3 h。吸弃上清液后加入二甲基亚砷振荡 10 min。酶标仪于 490 nm 处测定各孔吸光度值 (OD)。实验重复 3 次。

**1.6 细胞凋亡检测** 将体外培养至第 10 天的 EPCs 以每孔  $2 \times 10^6$  个接种在 6 孔板中, 每孔 2 ml DMEM-F12 培养基, 按分组条件下干预 48 h 后, 收集细胞后 800 r/min 离心 5 min, PBS 清洗 2 次, 细胞重悬于 400 μl 结合液, 5 μl Annexin V-FITC 混匀, 4 °C 避光孵育 15 min, 再加入 10 μl PI 4 °C 避光孵育 5 min, 立即用流式细胞仪检测, 实验重复 3 次。采用 Flowjo V7 软件分析结果。

**1.7 小管形成实验** 将预先冷却的 Matrigel 与无血清培养基混合形成混合物, 涂覆于 24 孔板中, 置于 37 °C 培养箱中 30 min, 以固化基质凝胶。将分组条件下处理过的各组细胞以每孔  $2 \times 10^4$  个接种在上述 24 孔板中, 并培养 24 h。在倒置显微镜下观察小管形成实验的结果。每孔随机选取 5 个视野计算小管形成长度, 并取平均值。实验重复 3 次。

**1.8 Western blot 实验** 将体外培养至第 10 天的 EPCs 以每孔  $2 \times 10^6$  个接种在 6 孔板中, 按分组条件干预, 培养 48 h 后收集细胞并提取总蛋白, BCA 法测定蛋白浓度。加入 25 μl 蛋白上样缓冲液 ( $\times 5$ )。按实验分组依次将蛋白上样, 电泳 1 h 分离, 200 mA 稳流 2 h 转移至 NC 膜上。5% 封闭液封闭 1 ~ 2 h, TBST 缓冲液洗膜 3 次, 加入 GAPDH (1 : 2 000)、AKT (1 : 1 000)、p-AKT (1 : 1 000)、eNOS (1 : 1 000)、p-eNOS (1 : 500), 4 °C 孵育一抗过夜, 洗膜 3 次, 5% 封闭液加入二抗 1 μl (1 : 8 000), 摇床上低速室温孵育二抗 1 h, 再次洗膜 3 次后滴加显影液显影。Quantity One 凝胶成像软件分析相对灰度值。

**1.9 统计学处理** 实验数据使用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示; 多组间数据比较采用单因素方差分析, 若进行两组间比较, 采用最小显著差值法 (LSD-*t* 法)。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

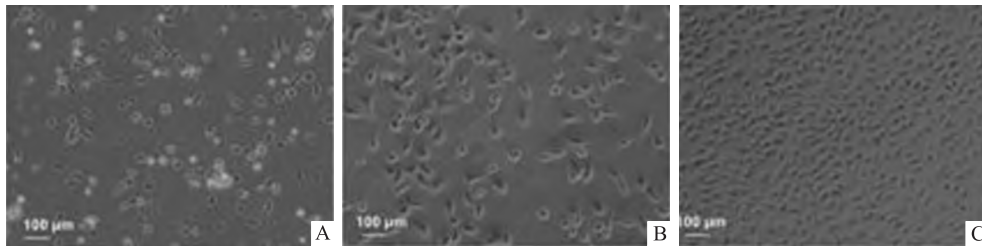


图1 EPCs 形态特征 ×200  
A: 第3天;B: 第5天;C: 第10天

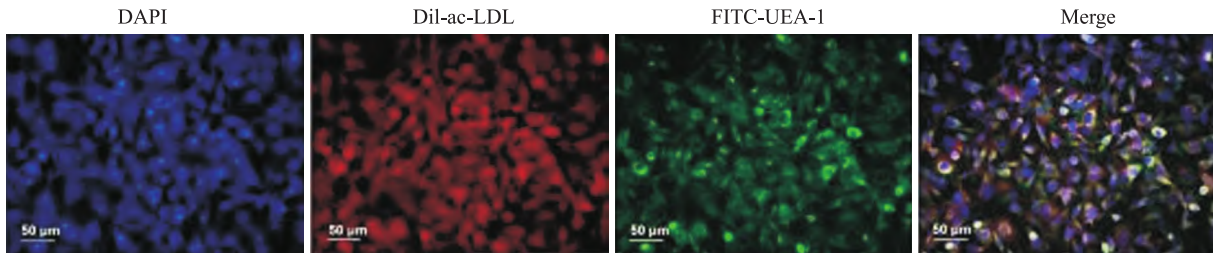


图2 EPCs 荧光染色 ×200

2 结果

2.1 骨髓来源的 EPCs 鉴定 EPCs 培养 3 d 后呈圆形或椭圆形,培养 5 d 后呈梭形或圆形,培养 10 d 后呈鹅卵石状。见图 1。Dil-ac-LDL 和 FITC-UEA-1 阳性表达的细胞被鉴定为分化的 EPCs,见图 2。

2.2 DAPA 对 EPCs 细胞活力的影响 与 CG 组比较,HG 组 OD 值降低;与 HG 组比较,GD 组 OD 值增加;与 GD 组比较,GDL 组 OD 值降低,差异均有统计学意义( $F = 38.25, P < 0.05$ ),见图 3。

2.3 DAPA 对 EPCs 凋亡的影响 HG 组、GD 组、GDL 组 EPCs 凋亡率分别为  $(35.95 \pm 4.18) \%$ 、 $(15.92 \pm 1.24) \%$ 、 $(22.27 \pm 3.98) \%$ ,与 CG 组  $(5.9 \pm 0.24) \%$  比较均增加,差异有统计学意义( $F = 41.54, P < 0.05$ );与 HG 组比较,GD 组 EPCs 凋亡

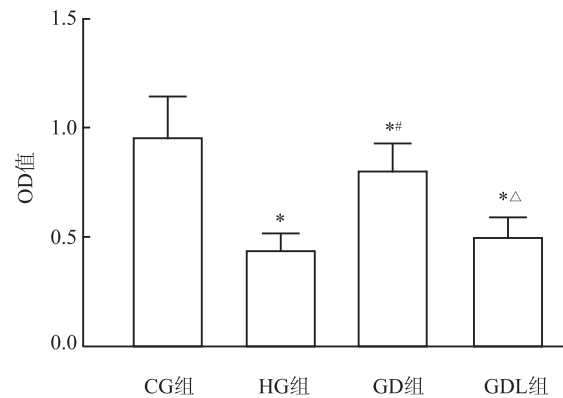


图3 DAPA 对 EPCs 细胞活力的影响

与 CG 组比较: \*  $P < 0.05$ ; 与 HG 组比较: #  $P < 0.05$ ; 与 GD 组比较:  $\Delta P < 0.05$

率降低;与 GD 组比较,GDL 组 EPCs 凋亡率增加,差异均有统计学意义( $F = 41.54, P < 0.05$ ),见图 4。

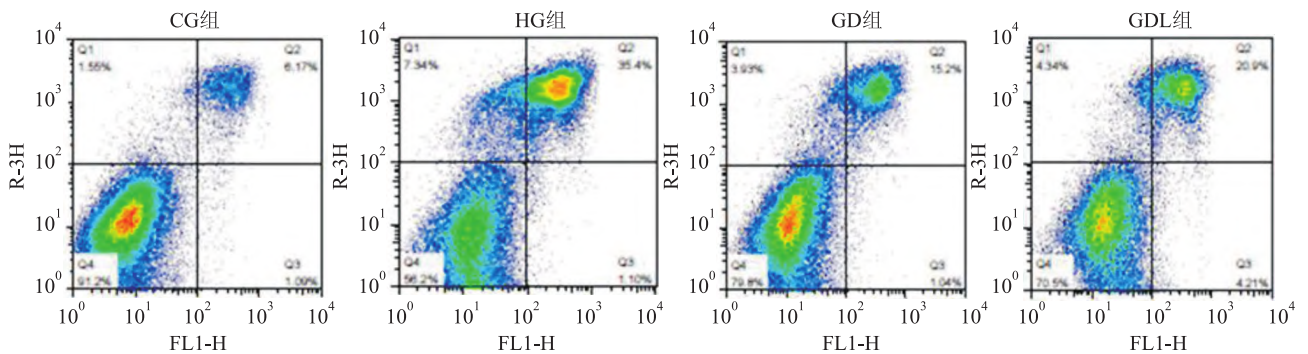


图4 流式细胞仪检测 EPCs 凋亡

**2.4 DAPA 对 EPCs 形成小管能力的影响** CG 组、HG 组、GD 组、GDL 组 EPCs 小管形成度分别为  $(0.61 \pm 0.11) \text{ mm/mm}^2$ 、 $(0.39 \pm 0.06) \text{ mm/mm}^2$ 、 $(1.23 \pm 0.16) \text{ mm/mm}^2$ 、 $(0.46 \pm 0.08) \text{ mm/mm}^2$ 。与 CG 组比较, HG 组小管形成度降低, GD 组小管形成度增加;与 HG 组比较, GD 组小管形成度增加;与 GD 组比较, GDL 组小管形成度降低, 差异均有统计学意义 ( $F = 39.15, P < 0.05$ )。见图 5。

**2.5 DAPA 对高糖环境中 AKT/eNOS 信号通路相关蛋白表达水平的影响** 与 CG 组比较, HG 组 AKT 和 eNOS 的蛋白表达差异均无统计学意义 ( $P$

$> 0.05$ ), 而 p-AKT 和 p-eNOS 的蛋白表达以及 p-AKT/AKT 和 p-eNOS/eNOS 比值均降低, 差异有统计学意义 ( $F = 57.97, P < 0.05$ ); 与 HG 组比较, GD 组 p-AKT 和 p-eNOS 的蛋白表达以及 p-AKT/AKT 和 p-eNOS/eNOS 比值均升高, 差异有统计学意义 ( $F = 57.97, P < 0.05$ ); 与 GD 组比较, GDL 组 AKT 和 eNOS 的蛋白表达差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 而 p-AKT 和 p-eNOS 的蛋白表达以及 p-AKT/AKT 和 p-eNOS/eNOS 比值均降低, 差异有统计学意义 ( $F = 57.97, P < 0.05$ )。见图 6。

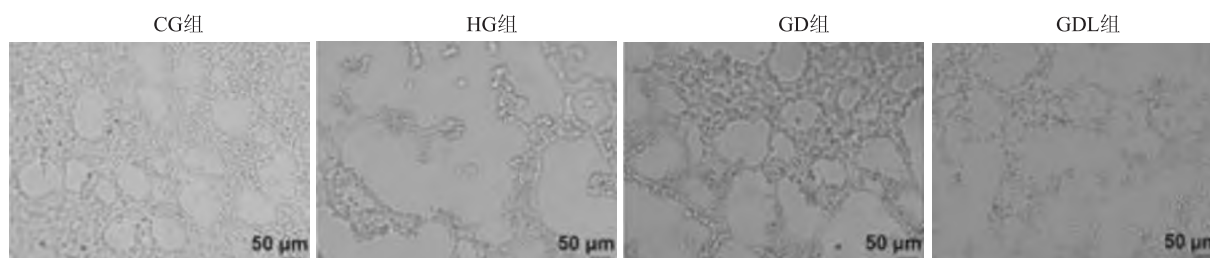


图 5 DAPA 对 EPCs 形成小管能力的影响

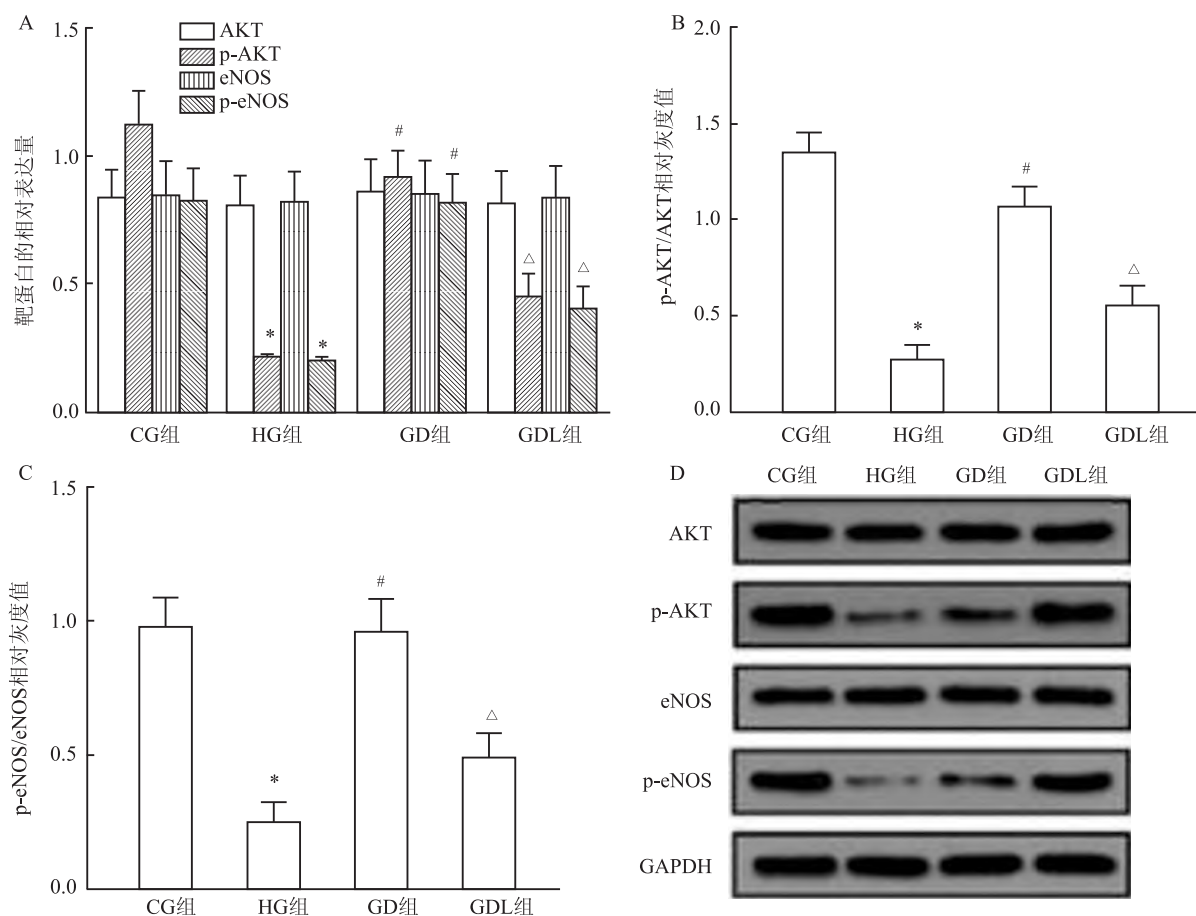


图 6 各组不同靶蛋白表达水平比较

A: 靶蛋白的相对表达量; B: p-AKT/AKT 的相对灰度值; C: p-eNOS/eNOS 的相对灰度值; 与 CG 组比较: \*  $P < 0.05$ ; 与 HG 组比较: #  $P < 0.05$ ; 与 GD 组比较:  $\Delta P < 0.05$

### 3 讨论

大鼠 EPCs 一般来源于外周血、骨髓和脾脏。考虑到骨髓中 EPCs 数量最多,该研究从 SD 大鼠股骨和胫骨骨髓腔分离培养干细胞。培养 10 d 后,观察到细胞呈鹅卵石样形态,并用 Dil-ac-LDL 和 FITC-UEA-I 双重荧光染色鉴定了 EPCs,这与先前的实验<sup>[8]</sup>结果一致。

该研究显示,在高糖环境下,EPCs 的增殖活力明显降低,凋亡率明显增加,血管生成特性显著受损。Huang et al<sup>[9]</sup>研究表明,高血糖可增加 EPCs 中活性氧自由基的积累,导致氧化应激损伤,从而带来 EPCs 功能异常。

临床研究<sup>[10-11]</sup>表明,包括二甲双胍、胰岛素、二肽基肽酶-4 抑制剂等在内的一系列降糖药物,在降低糖尿病患者血糖的同时,均可不同程度增加外周血 EPCs 的数量。近期一项研究<sup>[5]</sup>显示,在为期 12 周的小样本随机双盲安慰剂对照研究期间,接受 DAPA 10 mg/d、恩格列净 10 mg/d 治疗的 T2DM 患者外周血干细胞/祖细胞的数量并无明显改变;而在随后进行的长达 1.5 年延长期的观察研究中却发现,尽管 DAPA 治疗组与安慰剂对照组在血糖水平控制上无显著差异,但两组中治疗前后的外周血干细胞/祖细胞的数量改变却明显不同,前者显著增加,而后者却无显著变化,提示 DAPA 可对抗长期高血糖对 EPCs 生物学功能的不良影响。为进一步验证此假设,该实验设计此项体外研究,结果显示 DAPA 可逆转高糖对 EPCs 的不利影响,增加 EPCs 的增殖活力以及小管形成能力,降低其凋亡。近期发表的一项随机对照研究<sup>[12]</sup>表明,100 mg/d 的坎格列净持续 16 周治疗,可改善 T2DM 患者外周血 CD34<sup>+</sup> EPCs 功能。此外,与 CG 组比较,GD 组小管形成度显著增加,提示 DAPA 可能具有独立于抗高血糖之外的改善 EPCs 功能效应。

eNOS 是调节 NO 生成的关键酶,也是 AKT/eNOS 信号通路的重要靶点。研究<sup>[13]</sup>表明,高糖能显著降低 eNOS 的磷酸化水平和 NO 的生物利用度。VEGF 可通过 AKT 依赖的 eNOS 磷酸化途径激活 eNOS,从而增加循环 EPCs 的数量<sup>[14]</sup>。此外,AKT/eNOS 通路的激活促进了 EPCs 的增殖、转移和血管修复能力<sup>[15]</sup>。该实验结果显示,DAPA 可恢复 EPCs 中高糖所带来的 p-AKT/AKT 和 p-eNOS/eNOS 比值的降低。因此,DAPA 可能通过 AKT/eNOS 途径在

高糖处理的 EPCs 中发挥调节作用。为了验证这一假设,应用 PI3K 抑制剂 LY294002 抑制 PI3K/AKT 信号通路。与预期一致,LY294002 在 AKT/eNOS 通路相关蛋白表达、细胞增殖活力以及小管形成能力方面,阻碍了 DAPA 对高糖处理的 EPCs 的功能恢复,提示 DAPA 通过 AKT/eNOS 通路减轻高糖对 EPCs 的不利影响。

综上所述,DAPA 通过恢复 AKT/eNOS 信号通路,改善了高糖环境中 EPCs 的功能紊乱。该研究为治疗糖尿病及其并发症提供了潜在的新策略,也为揭示 SGLT2 类药物的心血管保护机制提供了新依据。

### 参考文献

- [1] Madonna R, Pieragostino D, Balistreri C R, et al. Diabetic macroangiopathy: pathogenetic insights and novel therapeutic approaches with focus on high glucose-mediated vascular damage [J]. *Vascul Pharmacol*, 2018, 107:27-34.
- [2] Mudyandzo T A. Endothelial progenitor cells and cardiovascular correlates [J]. *Cureus*, 2018, 10(9):e3342.
- [3] Rigato M, Avogaro A, Fadini G P. Levels of circulating progenitor cells, cardiovascular outcomes and death: a Meta-analysis of prospective observational studies [J]. *Circ Res*, 2016, 118(12):1930-9.
- [4] Petrie M C, Verma S, Docherty K F, et al. Effect of dapagliflozin on worsening heart failure and cardiovascular death in patients with heart failure with and without diabetes [J]. *JAMA*, 2020, 323(14):1353-68.
- [5] Bonora B M, Cappellari R, Albiero M, et al. Effects of SGLT2 inhibitors on circulating stem and progenitor cells in patients with type 2 diabetes [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018, 103(10):3773-82.
- [6] 曹乐,方晓,丁振飞,等. 内皮祖细胞条件培养基对脂肪干细胞成骨分化的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2018, 53(5):727-34.
- [7] Uthman L, Homayr A, Juni R P, et al. Empagliflozin and dapagliflozin reduce ROS generation and restore NO bioavailability in tumor necrosis factor alpha-stimulated human coronary arterial endothelial cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2019, 53(5):865-86.
- [8] Xu J, Bai S, Cao Y, et al. MiRNA-221-3p in endothelial progenitor cell-derived exosomes accelerates skin wound healing in diabetic mice [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2020, 13:1259-70.
- [9] Huang H T, Liu Z C, Wu K Q, et al. MiR-92a regulates endothelial progenitor cells (EPCs) by targeting GDF11 via activate SMAD2/3/FAK/AKT/eNOS pathway [J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(20):563.
- [10] Ambasta R K, Kohli H, Kumar P. Multiple therapeutic effect of

- endothelial progenitor cell regulated by drugs in diabetes and diabetes related disorder[J]. *J Transl Med*, 2017, 15(1):185.
- [11] Xu M, Zhao X, Zheng M, et al. Acute effects of sitagliptin on progenitor cells and soluble mediators in newly diagnosed type 2 diabetes[J]. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2020, 58(9):491 – 503.
- [12] Nandula S R, Kundu N, Awal H B, et al. Role of canagliflozin on function of CD34 + ve endothelial progenitor cells (EPC) in patients with type 2 diabetes[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2021, 20(1):44.
- [13] Meza C A, La Favor J D, Kim D H, et al. Endothelial dysfunction: is there a hyperglycemia-induced imbalance of NOX and NOS [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(15):3775.
- [14] Tsai C H, Liu S C, Chung W H, et al. Visfatin increases VEGF-dependent angiogenesis of endothelial progenitor cells during osteoarthritis progression[J]. *Cells*, 2020, 9(5):1315.
- [15] Yao S, Su C, Wu S H, et al. Aliskiren improved the endothelial repair capacity of endothelial progenitor cells from patients with hypertension via the Tie2/PI3k/AKT/eNOS signalling pathway[J]. *Cardiol Res Pract*, 2020, 2020:6534512.

## Dapagliflozin regulates high glucose treated endothelial progenitor cell function through AKT/eNOS pathway

Xie Dandan, Wu Tingting, Zhao Xiaotong, Xu Murong, Chen Mingwei

(Dept of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

**Abstract Objective** To explore the effect of dapagliflozin (DAPA) on the function of rat endothelial progenitor cells (EPCs) cultured *in vitro* in a high glucose environment. **Methods** Bone marrow derived EPCs from sprague-dawley (SD) rats were identified by fluorescence staining. EPCs were divided into control group (CG group), high glucose group (HG group), high glucose + DAPA group (GD group) and high glucose + DAPA + LY294002 group (GDL group). MTT assay, flow cytometry, tubule formation assay were used to detect the viability, apoptosis, tubule formation ability of EPCs, respectively. Western blot was used to detect the protein expression of AKT/eNOS signaling pathway. **Results** Compared with CG group, cell viability, the ability to form tubules, the protein expression of p-AKT and p-eNOS, and the ratio of p-AKT/AKT and p-eNOS/eNOS in HG group significantly decreased ( $P < 0.05$ ), while the apoptosis rate of EPCs significantly increased ( $P < 0.05$ ). Compared with HG group, cell viability, the ability to form tubules, the protein expression of p-AKT and p-eNOS, and the ratio of p-AKT/AKT and p-eNOS/eNOS in GD group significantly increased ( $P < 0.05$ ), while the apoptosis rate of EPCs was significantly reduced ( $P < 0.05$ ). Compared with GD group, cell viability, the ability to form tubules, the protein expression of p-AKT and p-eNOS, and the ratio of p-AKT/AKT and p-eNOS/eNOS in GDL group significantly decreased ( $P < 0.05$ ), while the apoptosis rate of EPCs significantly increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** DAPA can protect EPCs from high glucose induced functional damage through AKT/eNOS pathway.

**Key words** dapagliflozin; diabetes mellitus; endothelial progenitor cell; AKT; eNOS