

## • 维生素 D: 临床与基础 •

1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 对高糖诱导肾小管上皮细胞解耦联蛋白 2 表达及氧化应激的影响

郭汉城 兰珊 武俏颖

**【摘要】** 体外培养的 HK-2 细胞分为正常对照组(NG 组, 5.5 mmol/L D-葡萄糖)、高糖处理组(HG 组, 30 mmol/L D-葡萄糖)、高渗对照组(MG 组, 5.5 mmol/L D-葡萄糖+24.5 mmol/L D-甘露醇)、高糖培养液中又加入不同浓度的 1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> [1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] 组(V1~V3 组)、N-乙酰半胱氨酸药效对照组(NAC 组, 30 mmol/L D-葡萄糖+1.0 mmol/L N-乙酰半胱氨酸)和无水乙醇溶剂对照组(SG 组, 30 mmol/L D-葡萄糖+6.86×10<sup>-2</sup> mol/L 乙醇)。检测细胞活性氧簇荧光强度、线粒体膜电位、解耦联蛋白 2(UCP2) mRNA、蛋白表达、总超氧化物歧化酶(SOD)活力和丙二醛水平。结果 HG 组细胞的线粒体膜电位明显低于 NG 组( $P<0.01$ ), 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 处理后细胞的线粒体膜电位与 HG 组比较显著下降(均  $P<0.01$ ); HG 组总 SOD 活力显著低于 NG 组( $P<0.01$ ), 丙二醛含量明显高于 NG 组( $P<0.01$ ), 而 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 处理后细胞总 SOD 活力较 HG 组显著增高( $P<0.05$ ), 丙二醛水平显著低于 HG 组( $P<0.01$ ); HG 组 UCP2 mRNA 与蛋白表达显著高于 NG 组( $P<0.05$ ), 而 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 处理后细胞 UCP2 的表达与 HG 组比较显著降低( $P<0.01$ )。结果表明高糖可诱导体外培养的 HK-2 细胞氧化应激损伤; 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 可能通过降低线粒体膜电位、活性氧簇生成及调节胞内 UCP2 表达抑制高糖诱导的氧化应激反应。

**【关键词】** 糖尿病肾病; 1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub>; HK-2 细胞; 解耦联蛋白 2; 氧化应激

**Effects of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on high glucose-induced expression of uncoupling protein 2 and oxidative stress in human renal tubular epithelial cells**

GUO Han-cheng, LAN Shan, WU Qiao-ying. Department of Nephrology, Teaching Hospital of Fujian Medical University, Zhongshan Hospital, Xiamen University, Xiamen 361004, China

Email: guohancheng@tom.com

**【Summary】** The HK-2 cells with different culture media were divided into normal glucose group(NG group, 5.5 mmol/L D-glucose); high glucose group(HG group, 30 mmol/L D-glucose); mannitol group(MG group, 5.5 mmol/L D-glucose+24.5 mmol/L mannitol); 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> [1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] groups(V1-V3 group) which were exposed to medium containing 30 mmol/L D-glucose and different concentrations of 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>; Nethyl-cystein control group(NAC group, 30 mmol/L D-glucose + 1.0 mmol/L N-Nethyl-cystein); and ethanol control group(SG group, 30 mmol/L D-glucose + 6.86×10<sup>-2</sup> mol/L ethanol). The level of intracellular reactive oxygen species, mitochondrial membrane potential, activity of total-superoxide dismutase(T-SOD), level of malondialdehyde, expression of UCP2 mRNA and protein in HK-2 cells were detected. Compared with NG group, the mitochondrial membrane potential significantly decreased in HG group( $P<0.01$ ), and the mitochondrial membrane potential in V group was lower than that in HG group( $P<0.01$ ). The activity of T-SOD in HG group was significantly lower than that in NG group( $P<0.01$ ), while its level of malondialdehyde was significantly higher than that in NG group( $P<0.01$ ). Compared with HG group, the activity of T-SOD in V groups was significantly increased( $P<0.05$ ) and the level of malondialdehyde in these groups significantly decreased( $P<0.01$ ). The mRNA expression of UCP2 in HG group was increased significantly in comparison with NG group( $P<0.05$ ) and the expression in V groups was significantly decreased in comparison with HG group( $P<0.01$ ). The results suggest that 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> could reduce the mitochondrial membrane potential, the production of reactive oxygen species, and regulate the expression of UCP2 in order to suppress the oxidative stress induced by high glucose.

**【Key words】** Diabetic nephropathy; 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>; Human renal tubular epithelial cells; Uncoupling protein 2; Oxidative stress

(Chin J Endocrinol Metab, 2013, 29: 849-852)

1, 25-二羟维生素 D<sub>3</sub> [1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] 主要调节体内钙、磷代谢, 此外还可抑制细胞的有丝分裂, 发挥抗增殖、抗分化、调节细胞凋亡、介导免疫反应等作用<sup>[1,2]</sup>。目前已证实 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 可通过与其核受体结合, 抑制脂肪细胞中解耦联蛋白 (uncoupling proteins, UCP) 表达<sup>[3]</sup>。维生素 D 受体基因敲除鼠能量消耗、耗氧量增加, 脂肪酸 β 氧化增强<sup>[4]</sup>。Li 等<sup>[5]</sup> 在神经皮层细胞中发现 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 可减少细胞内的氧化应激, 具有神经细胞的保护作用。

氧化应激与糖尿病肾病的发生发展密切相关, 线粒体是活性氧簇的主要来源。UCP 是线粒体内膜上具有调节质子跨膜作用的特殊蛋白, 可直接转运氢离子进入基质, 调节能量代谢及活性氧簇产生, UCP2 又是唯一在肾脏表达的 UCPs 蛋白<sup>[6]</sup>。1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 与肾小管 UCP2 表达及细胞内氧化应激的关系, 尚缺乏研究。本研究通过 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 对于体外培养的 HK-2 细胞 UCP2 表达及氧化应激影响, 探讨其在糖尿病肾病肾小管氧化应激损伤中的作用。

## 一、材料和方法

1. 材料: 低糖型 (5.5 mmol/L D-葡萄糖) DMEM 培养基、高糖型 (25 mmol/L D-葡萄糖) DMEM 培养基、胎牛血清、0.25% 胰蛋白酶、青链双抗均购自美国 HyClone 公司; 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>、N-乙酰半胱氨酸均购于美国 Sigma 公司; 总 RNA 提取试剂盒 (GeneJET RNA Purification Kit)、逆转录试剂盒 (RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit) 均购自 Thermo 公司; 小鼠抗人 UCP2 单克隆抗体 (目的一抗)、小鼠抗人 COX IV (内参一抗) 单克隆抗体均购自 Abcam 公司, HRP 标记的兔抗小鼠 IgG (二抗) 购自杭州联科生物技术公司; 总超氧化物歧化酶 (SOD) 和丙二醛测试盒购自南京建成生物公司; 活性氧检测试剂盒 (reactive oxygen species assay kit) C1300 购自北京普利莱公司; 新型细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒 (KGA317) 购自南京凯基生物公司。HK-2 细胞株购于中国经典培养物保藏中心 (CCTCC) 为人近端肾小管上皮细胞株。用含 10% 胎牛血清的低糖 DMEM 培养液常规传代培养。

2. 细胞分组: 根据加入的培养液将细胞分为 8 组: (1) 正常对照组 (NG 组): 5.5 mmol/L 的 D-葡萄糖; (2) 高糖处理组 (HG 组): 30 mmol/L 的 D-葡萄糖; (3) 高渗对照组 (MG 组): 5.5 mmol/L 的 D-葡萄糖 + 24.5 mmol/L 的 D-甘露醇; (4) 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 处理 1 组 (V1 组): 30 mmol/L 的 D-葡萄糖 + 1 × 10<sup>-9</sup> mol/L 的 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>; (5) 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 处理 2 组 (V2 组): 30 mmol/L 的 D-葡萄糖 + 1 × 10<sup>-8</sup> mol/L 的 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>; (6) 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 处理 3 组 (V3 组): 30 mmol/L 的 D-葡萄糖 + 1 × 10<sup>-7</sup> mol/L 的 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>; (7) N-乙酰半胱氨酸药效对照组 (NAC 组): 30 mmol/L 的 D-葡萄糖 + 1.0 mmol/L 的 N-乙酰半胱氨酸; (8) 无水乙醇溶剂对照组 (SG 组): 30 mmol/L 的 D-葡萄糖 + 6.86 × 10<sup>-2</sup> mol/L 的乙醇。

3. 细胞内活性氧水平观察: 细胞接种到 6 孔板贴壁后分组干预 5 h, PBS 洗 2 遍, 分别加入 1 ml 的 DCFH-DA 工作液, 37℃ 孵育 30 min 后 PBS 洗 3 遍。荧光显微镜观察。

4. 流式细胞仪检测线粒体膜电位: 收集分组干预后的细胞并调至 1 × 10<sup>6</sup> 个/ml; 按 JC-1 说明书操作并上机检测, 记录激发

波长 488 nm 处红色荧光。

5. 细胞内总 SOD 活性和丙二醛水平检测: 收集各组细胞胞浆, 按试剂盒说明书操作, 分别在 550 nm 和 532 nm 处测定总 SOD 和丙二醛的 OD 值。计算总 SOD 活力。

6. RT-PCR: 按照总 RNA 提取试剂盒和逆转录试剂盒说明书步骤提取细胞总 RNA 并将其逆转录成 cDNA。查阅目的基因 (NCBI) NM\_003355.2, 引物序列设计如下: UCP2, 上游引物为 5'-TCTCATCACCTTTCCTCTGGA-3', 下游引物为 5'-ATGGTCTTGTAGGCATGACG-3', 扩增片段为 414 bp; 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH), 上游引物序列为 5'-CAAGGTCATCCATGACAACTTTG-3', 下游引物序列为 5'-GTCCACCACCCTGTGCTGTAG-3', 扩增片段 496 bp, 引物由上海生工生物公司合成, 在普通 PCR 扩增仪进行 PCR 反应。按照下列条件进行扩增: 95℃ 2 min 预变性; 95℃ 30 s 变性, 55℃ 30 s 退火, 72℃ 30 s 延伸, 扩增 35 个循环。计算产物相对表达量 (即各基因条带/GAPDH 基因条带吸光度)。实验重复 6 次。

7. Western 印迹: 收集细胞并用预冷的匀浆介质重悬, 冰浴超声裂解制成 10% 的细胞匀浆。按试剂盒说明书提取线粒体蛋白并保存。UCP2 和内参 COX IV 均用 12% 的分离胶, 上层胶为 5% 浓缩胶, 每孔上样 80 μg, 进行 SDS-PAGE 电泳后, 250 mA 恒流流转, 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h, 一抗按相应比例稀释 (UCP2 1 : 500, COX IV 1 : 2 000), 4℃ 孵育过夜。次日常规洗膜、孵二抗、显影后用 Quantity One 软件分析灰度值, 并计算 UCP2 条带和 COX IV 条带的比值作为目的蛋白的相对表达量。实验重复 6 次。

8. 统计学处理: 实验所得计量资料数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间资料比较用方差分析, 使用 SPSS 19.0 统计软件进行统计分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 二、结果

1. 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 对高糖诱导下 HK-2 细胞内活性氧的影响: 荧光强度与胞内活性氧簇水平成正比。HG 组活性氧簇荧光强度较 NG 组明显升高, 而 V1 组与 NAC 组荧光强度均较 HG 组减弱。

2. 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 对高糖诱导下 HK-2 细胞线粒体膜电位的影响: 以 Q4/(Q2+Q4), 即线粒体膜电位下降率为判断标准。实验结果表明, HG 组细胞的线粒体膜电位显著低于 NG 组 (P < 0.01); V1 组线粒体膜电位与 HG 组比较显著下降 (P < 0.01), 与 NAC 组趋势一致。

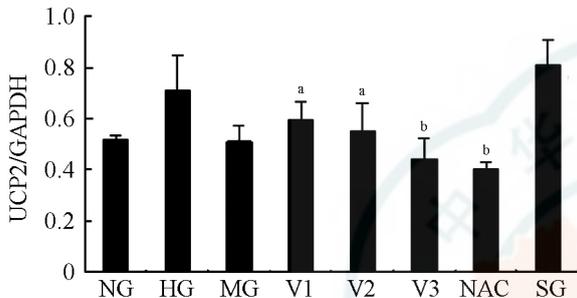
3. 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 对高糖诱导下 HK-2 细胞内总 SOD 活力和丙二醛水平的影响: 高糖作用 HK-2 细胞 24 h、48 h、72 h 后, 其胞浆中总 SOD 活力比 NG 组显著降低 (均 P < 0.01), 而丙二醛水平显著升高 (均 P < 0.01), 并呈时间依赖性; 加用不同浓度 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (V1、V2、V3 组), 在 24 h、48 h 和 72 h 后总 SOD 活性较 HG 组显著升高 (均 P < 0.05), 而丙二醛水平显著降低 (均 P < 0.01), 并呈剂量依赖性 (表 1)。

4. 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 对高糖诱导的 HK-2 细胞 UCP2 mRNA 表达的影响: 在培养 72 h 时 HG 组 UCP2 mRNA 表达较 NG 组显著增加 (P < 0.05), V1 组 UCP2 mRNA 的表达较 HG 组减少 (P < 0.05), 并随着 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 浓度的增加 UCP2 mRNA 的表达

表 1 各组 HK-2 细胞胞浆总 SOD 活力及丙二醛水平( $\bar{x}\pm s$ )

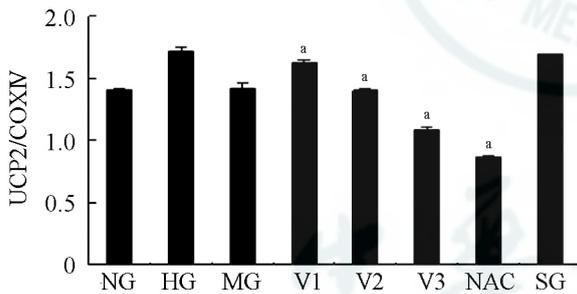
组别	例数	总 SOD (U/mg prot)			丙二醛 (nmol/mg prot)		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
NG	6	35.19±1.55	32.96±1.35	30.02±2.11	1.24±0.13	1.62±0.16	2.07±0.24
HG	6	24.47±1.32 <sup>a</sup>	18.88±1.79 <sup>a</sup>	11.84±1.10 <sup>a</sup>	4.06±0.29 <sup>a</sup>	9.52±0.22 <sup>a</sup>	13.55±1.25 <sup>a</sup>
MG	6	33.73±1.48	31.58±1.24	28.19±1.71	1.31±0.32	1.79±0.11	2.45±0.49
V1	6	28.67±1.39 <sup>b</sup>	22.71±2.05 <sup>b</sup>	18.18±2.38 <sup>c</sup>	2.73±0.20 <sup>c</sup>	6.97±0.14 <sup>c</sup>	8.89±1.09 <sup>c</sup>
V2	6	29.01±2.16 <sup>b</sup>	23.03±2.23 <sup>b</sup>	22.34±1.95 <sup>c</sup>	2.39±0.18 <sup>c</sup>	6.55±0.17 <sup>c</sup>	7.26±1.37 <sup>c</sup>
V3	6	29.22±2.08 <sup>b</sup>	26.87±1.19 <sup>b</sup>	25.61±2.12 <sup>c</sup>	1.99±0.10 <sup>c</sup>	4.92±0.13 <sup>c</sup>	5.93±1.40 <sup>c</sup>
NAC	6	28.44±1.78 <sup>b</sup>	23.80±1.61 <sup>b</sup>	22.88±1.57 <sup>c</sup>	2.51±0.37 <sup>c</sup>	3.36±0.09 <sup>c</sup>	6.15±0.77 <sup>c</sup>
SG	6	24.99±2.43	19.24±1.66	12.56±1.62	3.88±0.45	9.37±0.14	13.13±1.44

注:NG:正常对照组;HG:高糖处理组;M:高渗对照组;V1:1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 处理 1 组;V2:1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 处理 2 组;V3:1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 处理 3 组;NAC:N-乙酰半胱氨酸药效对照组;SG:无水乙醇溶剂对照组;SOD:超氧化物歧化酶;与 NG 比较, <sup>a</sup>P<0.01;与 HG 比较, <sup>b</sup>P<0.05, <sup>c</sup>P<0.01



注:UCP2:解耦联蛋白 2;GAPDH:甘油醛-3-磷酸脱氢酶;NG:正常对照组;HG:高糖处理组;MG:高渗对照组;V1:1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 处理 1 组;V2:1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 处理 2 组;V3:1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 处理 3 组;NAC:N-乙酰半胱氨酸药效对照组;SG:无水乙醇溶剂对照组;与 HG 比较, <sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01

图 1 各组 HK-2 细胞 UCP2 与 GAPDH mRNA 表达比较



注:UCP2:解耦联蛋白 2;NG:正常对照组;HG:高糖处理组;MG:高渗对照组;V1:1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 处理 1 组;V2:1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 处理 2 组;V3:1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 处理 3 组;NAC:N-乙酰半胱氨酸药效对照组;SG:无水乙醇溶剂对照组;与 HG 比较, <sup>a</sup>P<0.01

图 2 1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 作用 72 h 下 HK-2 细胞 UCP2 与 COXIV 蛋白表达比较

较 HG 组逐渐减少(图 1)。

5. 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 对高糖诱导的 HK-2 细胞 UCP2 蛋白表达的影响:细胞培养 72 h 后 HG 组细胞 UCP2 蛋白表达较 NG 组显著增加;V1 组 UCP2 蛋白表达较 HG 组减少(P<0.01),并随着 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 浓度的增加,V2、V3 组 UCP2 蛋白表达较 HG 组逐渐减少(图 2)。

三、讨论

糖尿病肾病的发病机制十分复杂,目前,越来越多的证据提示高血糖、氧化应激和糖尿病并发症之间密切相关<sup>[7]</sup>。由

Brownlee<sup>[8]</sup> 提出的“糖尿病并发症的共同机制”学说认为高血糖引起线粒体中活性氧簇生成过多,导致组织细胞发生氧化应激,最终导致糖尿病的各种并发症。活性氧簇在糖尿病肾病的发生发展中起着重要作用。研究发现 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 可通过抗炎、抑制细胞增殖、下调肾素-血管紧张素系统等多种机制发挥延缓糖尿病肾病的作用<sup>[9-14]</sup>。但其确切机制尚不明确,有待进一步研究。

细胞内的氧化还原水平主要受控于活性氧簇与抗氧化体系。在正常生理条件下,两者处于平衡状态;当机体因高糖环境而出现氧化应激时,这种平衡被打破,所致的细胞损伤可表现在胞内活性氧簇含量上升、抗氧化酶类活性的下降以及过氧化反应终产物的增多等。本研究结果表明:高糖处理细胞后活性氧簇和丙二醛的含量显著高于 NG 组,而总 SOD 活性明显低于 NG 组(P<0.01);1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 可以呈剂量依赖性地增强细胞内总 SOD 的活性,降低细胞内活性氧簇和丙二醛的水平。提示 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 可能通过提高细胞内抗氧化能力,减少氧自由基生成来达到减弱氧化应激损伤。

UCP2 是 1997 年发现的 UCPs 家族中的一个新成员,是线粒体内膜上的一种质子转运蛋白,可以降低质子电化学梯度,调节线粒体能量代谢,抑制活性氧簇的生成<sup>[15]</sup>。UCP2 又是唯一在肾脏表达的 UCPs 蛋白<sup>[6]</sup>。当机体受到感染、过敏、缺血再灌注等刺激时,细胞内活性氧簇增加的同时 UCP2 的表达也上调<sup>[16]</sup>,并同时降低线粒体膜电位<sup>[17]</sup>。本研究用高糖刺激细胞得到的胞内活性氧簇产生增加、UCP2 呈保护性表达增加、大量活性氧簇通过某种中介物激活 UCP2 质子漏活性进而导致线粒体膜电位下降与其结果一致。

应用 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 后,胞内活性氧簇水平、UCP2 表达量及线粒体膜电位均较 HG 组降低。若仅就 UCP2 表达减少单方面来看,活性氧簇水平和线粒体膜电位理论上应呈上升趋势。Sun 等<sup>[18]</sup> 发现 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 在高于生理剂量时可促进小鼠脂肪细胞线粒体膜电位下降;Weitsman 等<sup>[19]</sup> 认为,1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 对肿瘤坏死因子诱导的乳腺癌细胞线粒体膜电位下降有促进作用。因此,1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 对于 HK-2 细胞具有降低活性氧簇以及线粒体膜电位的作用。其机制可能是 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 通过自身具有的调节细胞凋亡功能,适当减低 HK-2 的线粒体膜电位,由此,必需依赖线粒体膜电位才能生成的活性氧簇的量相应减

少,活性氧簇的减少削弱了对 UCP2 的激活,UCP2 的表达量也随之减少。正如,Brand 等<sup>[20]</sup> 提出一个 UCP2 负调控的假设模型,过氧化物产生依赖于线粒体内膜的质子电势差,当内膜质子电势差升高时,过氧化物的产生也相应升高;过氧化物通过某种中介物激活 UCP2 的内膜质子漏活性,因此导致线粒体膜电位的下降,从而以一种反馈回路的方式限制了线粒体过氧化物的产生。因此,本研究得出:1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 可以使线粒体膜电位维持在较低水平,并降低胞内活性氧簇含量,进而削弱 UCP2 的高表达,并与其呈剂量依赖关系。

综上所述,在用 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 干预高糖诱导的 HK-2 细胞后,总 SOD 活性回升,细胞的线粒体膜电位、活性氧簇、丙二醛以及 UCP2 的表达量均呈下降趋势。这表明 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 能提高 HK-2 细胞内抗氧化系统活性、抑制过氧化物生成、降低线粒体膜电位、并调节 UCP2 表达量来发挥其抗氧化的作用。1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 可能通过调节肾脏 UCP2 表达及抑制氧化应激损伤防治糖尿病肾病肾脏病变进展。但其确切机制有待进一步研究。

### 参 考 文 献

- [1] Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev*, 2005, 26:662-687.
- [2] Tian J, Liu Y, Williams LA, et al. Potential role of active vitamin D in retarding the progression of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*, 2007, 22:321-328.
- [3] Sun X, Zemel MB. Role of uncoupling protein 2 expression and 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in modulating adipocyte apoptosis. *FASEB J*, 2004, 18:1430-1432.
- [4] Wong KE, Szeto FL, Zhang W, et al. Involvement of the Vitamin D Receptor in Energy Metabolism: Regulation of uncoupling proteins. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2009, 59:E820-E828.
- [5] Li L, Prabhakaran K, Zhang X, et al. 1α, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> attenuates cyanide induced neurotoxicity by inhibiting uncoupling protein-2 up-regulation. *Neurosci Res*, 2008, 86:1397-1408.
- [6] Friederich M, Nordquist L, Olerud J, et al. Identification and distribution of uncoupling protein isoforms in the normal and diabetic rat kidney. *Adv Exp Med Bio*, 2009, 645:205-212.
- [7] 许益笑,王德选,李素娟,等. 血糖波动对糖尿病大鼠肾脏氧化应激与凋亡的影响. *中华内分泌代谢杂志*, 2012, 28:325-329.
- [8] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 2001, 414:813-820.
- [9] 刘会苗,秦贵军,余勤,等. 2 型糖尿病肾病患者血清 25-(OH) 维生素 D<sub>3</sub> 的变化及意义. *中华内分泌代谢杂志*, 2011, 27:1002-1003.
- [10] Tian J, Liu Y, Williams LA, et al. Potential role of active vitamin D in retarding the progression of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*, 2007, 22:321-328.
- [11] Huhtakangas JA, Olivera CJ, Bishop JE, et al. The vitamin D receptor is present in caveolae-enriched plasma membranes and binds 1 alpha, 25(OH)<sub>2</sub>-vitamin D<sub>3</sub> in vivo and in vitro. *Mol Endocrinol*, 2004, 18:2660-2671.
- [12] 王凤英,卢思广,赵彤,等. 系膜增生型原发性肾病综合征患儿细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 基因多态性、蛋白表达及外周血淋巴细胞凋亡的研究. *中华儿科杂志*, 2007, 45:633-634.
- [13] Cantorna MT, Zhu Y, Froicu M, et al. Vitamin D status, 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, and the immune system. *Am J Clin Nutr*, 2004, 80(Suppl):1717S-1720S.
- [14] Spach KM, Pedersen LB, Nashold FE, et al. Gene expression analysis suggests that 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> reverses experimental autoimmune encephalomyelitis by stimulating inflammatory cell apoptosis. *Physiol Genomics*, 2004, 18:141-151.
- [15] Echtay KS, Winkler E, Frischmuth K, et al. Uncoupling proteins 2 and 3 are highly active H<sup>+</sup> transporters and highly nucleotide sensitive when activated by coenzyme Q. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98:1416-1421.
- [16] Echtay KS, Roussel D, St-pierre J. Superoxide activates mitochondrial uncoupling proteins. *Nature*, 2002, 415:96-99.
- [17] Li L, Prabhakaran K, Mills EM, et al. Enhancement of cyanide-induced Mitochondrial dysfunction and cortical cell necrosis by uncoupling protein 2. *Toxicol Sci*, 2005, 86:116-124.
- [18] Sun X, Zemel MB. Role of uncoupling protein 2 expression and 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in modulating adipocyte apoptosis. *FASEB J*, 2004, 18:1430-1432.
- [19] Weitsman GE, Ravid A, Liberman UA, et al. Vitamin D enhances caspase-dependent and -independent TNFalpha-induced breast cancer cell death: The role of reactive oxygen species and mitochondria. *Int J Cancer*, 2003, 106:178-186.
- [20] Brand MD, Affourtit C, Esteves TC, et al. Mitochondrial superoxide: production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. *Free Radic Biol Med*, 2004, 37:755-767.

(收稿日期:2012-12-04)

(本文编辑:朱梅华)