



1,25(OH)₂VD₃对Zucker糖尿病肥胖大鼠肝 线粒体损伤的保护作用

李艳艳,冯里茹,张红敏,谭洪兴,朱李佳,王 俊*

(深圳市慢性病防治中心,广东 深圳 518020)

【摘要】 目的 探讨1,25(OH)₂VD₃对Zucker糖尿病肥胖(Zucker diabetic fatty,ZDF)大鼠肝线粒体损伤的保护作用及相关机制。**方法** 雄性5~6周龄Zucker瘦型(Zucker lean,ZL)大鼠(对照鼠)及ZDF大鼠(模型鼠)按照体重随机分为3组,即对照组(ZL)、模型组(ZDF)及维生素D(vitamin D,VD)干预组(ZDF+VD)。各组大鼠喂养至12周龄后,检测肝损伤、线粒体损伤相关指标及潜在信号通路蛋白的变化。**结果** 与ZL组相比,ZDF组大鼠肝出现严重的脂质沉积,氧化损伤[活性氧簇(ROS)生成增加、丙二醛(MDA)水平明显升高,而谷胱甘肽(GSH)水平明显降低],线粒体肿胀、变性、膜电位显著下降,线粒体生物合成关键蛋白过氧化物酶体增殖物激活受体γ辅激活因子1α(peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1α,PGC-1α)、核呼吸因子-1(nuclear respiratory factor 1,NRF1)和线粒体转录因子A(mitochondrial transcription factor A,TFAM)及上游调控蛋白沉默信息调节因子2相关酶1(sirtuin 1,SIRT1)表达均明显下降,1,25(OH)₂VD₃干预减轻了ZDF大鼠肝氧化损伤、线粒体损伤,上调了SIRT1、PGC-1α、NRF1和TFAM的水平,增强了线粒体生物合成。**结论** 1,25(OH)₂VD₃可能通过SIRT1/PGC-1α介导的线粒体保护机制减轻ZDF大鼠肝损伤。

【关键词】 1,25(OH)₂VD₃;ZDF大鼠;肝氧化损伤;线粒体生物合成

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 11-0001-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.11.001

Protective effect of 1,25(OH)₂VD₃ on liver mitochondrial injury in ZDF rats

LI Yanyan, FENG Liru, ZHANG Hongmin, TAN Hongxing, ZHU Lijia, WANG Jun*

(Shenzhen Center for Chronic Disease Control, Shenzhen 518020, China)

【Abstract】 Objective To investigate the protective effect of 1,25(OH)₂VD₃ on hepatic mitochondrial injury in ZDF rats and the potential mechanism. **Methods** Male Zucker rats (5-6 weeks old) were randomly divided into three groups according to their weight: control (ZL), model (ZDF), and 1,25(OH)₂VD₃ supplementation (ZDF+VD) groups. All rats were treated to 12 weeks of age, and then the related parameters were analyzed. **Results** ZDF rats treated with 1,25(OH)₂VD₃ showed a significant decrease in serum ALT/AST and liver lipid droplet deposition. Treatment with 1,25(OH)₂VD₃ ameliorated mitochondrial injury and increased the expression of mitochondrial biogenesis-related factors SIRT1, PGC-1α, NRF1, and TFAM. **Conclusions** These findings suggest that 1,25(OH)₂VD₃ alleviates diabetic liver

【基金项目】 国家自然科学基金(81703226);广东省医学基金(A2016130);深圳市科技计划项目(JCYJ20160428145633098, JCYJ20170307144652484);深圳市卫生计生系统科研项目(201605016);深圳市医疗卫生三名工程项目(SZSM201611017)。

【作者简介】 李艳艳(1987—),女,博士研究生,专业:营养与食品卫生学。E-mail: lyyhust@126.com

【通信作者】 王俊(1978—),男,主任技师,研究方向:分子营养学。E-mail: junwangwh@hotmail.com

injury by improving mitochondrial biogenesis through upregulating SIRT1, PGC-1 α , NRF1, and TFAM expression.

【Keywords】 1, 25(OH) $_2$ VD $_3$; ZDF rat; liver oxidative damage; mitochondrial biogenesis

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是当前严重威胁人类健康的代谢性疾病,长期的代谢紊乱可引起全身多器官病变。肝是糖脂代谢的主要场所,也是胰岛素作用的重要靶器官,肝损伤在 DM 发生发展过程中发挥重要作用^[1]。

糖尿病肝损伤机制复杂,其中活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)介导的氧化应激被认为是肝损伤的关键机制并贯穿始终^[2]。线粒体是细胞内的能量供应中心,参与多种生理活动,然而,线粒体也是内源性 ROS 产生的主要部位^[3]。糖尿病状态下,高糖高脂加重了线粒体负荷,在呼吸链电子传递中产生的过量 ROS 将自身作为首要靶标导致线粒体结构破坏和功能障碍,进一步加剧 ROS 的积聚导致肝严重损伤,从而加重糖脂代谢的紊乱,形成恶性循环^[4-5]。因此,减轻线粒体损伤、修复线粒体结构和功能对于防治糖尿病肝损伤具有重要意义。

线粒体生物合成(mitochondrial biogenesis)是核基因及线粒体基因协同调控下的重要生理活动,在线粒体结构修复及功能维持过程中发挥关键作用^[6]。在糖尿病肝线粒体损伤情况下,增加线粒体生物合成对于恢复肝细胞正常糖脂代谢尤为重要。维生素 D(vitamin D, VD)是一种脂溶性维生素,经肝、肾转化成活性形式 1,25(OH) $_2$ VD $_3$ 后与维生素 D 受体(vitamin D receptor, VDR)结合发挥多种生物学效应,在糖脂代谢过程中亦发挥重要的调节作用^[7]。然而,维生素 D 能否通过线粒体生物合成改善糖尿病肝损伤及相关机制目前鲜有研究。因此,本研究以维生素 D 缺乏状态下的 Zucker 糖尿病肥胖(Zucker diabetic fatty, ZDF)大鼠为对象,探讨 1,25(OH) $_2$ VD $_3$ 对糖尿病肝线粒体损伤的保护作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性自发性肥胖型 2 型糖尿病大鼠(ZDF 大鼠)20 只,体重(127.1 \pm 13.7) g,5~6 周龄;SPF 级雄性 Zucker 瘦型(Zucker lean, ZL)大鼠 10 只,体重(114.3 \pm 7.2) g,5~6 周龄,购于维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2016-0011],动物饲养于华中科技大学实验动物中心

[SYXK(鄂)2016-0057]。本研究通过华中科技大学同济医学院实验动物医学伦理委员会审批(IACUC Number:432)。

1.2 主要试剂与仪器

1,25(OH) $_2$ VD $_3$ (Cayman);2.5%戊二醛固定液(谷歌生物);血清 ALT、AST 检测试剂盒(南京建成);MDA、GSH 测定试剂盒(南京建成);DHE 荧光探针(南京碧云天);线粒体提取试剂盒(碧云天);四甲基罗丹明甲酯(tetramethylrhodamine methyl ester, TMRM)(Sigma-Aldrich);RIPA 裂解液(碧云天);总蛋白提取试剂盒(南京碧云天);蛋白定量试剂盒(Bio-Rad);SIRT1 抗体、PGC-1 α 抗体、TFAM 抗体、NRF1 抗体(Abcam);HRP 标记抗小鼠 IgG 抗体、HRP 标记抗兔 IgG 抗体(CST);ECL 化学发光剂(Millipore)。倒置显微镜(奥林巴斯);透射电子显微镜(Hitachi);化学发光成像仪(Bio-Rad);荧光分光光度计(Thermo)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组

所有大鼠在喂养过程中均按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。适应性喂养 1 周后,瘦型鼠为对照组(ZL),胖型鼠按照体重随机分为 2 组:模型组(ZDF)和维生素 D 干预组(ZDF + VD),胖型鼠体重为 105~152 g,分为 105~110 g、111~120 g、121~130 g、130~140 g、141~152 g 五个等级,然后将每个等级的大鼠随机分为 2 组。喂养 Zucker 大鼠专用饲料 Purina #5008(北京科奥协力饲料有限公司提供),在原饲料配方基础上去除添加的维生素 D;1,25(OH) $_2$ VD $_3$ 溶于玉米油中根据体重每两天灌胃 1 次,剂量为每千克体重 5 μ g(剂量根据预实验确定);ZL 组与 ZDF 组大鼠灌胃等体积的玉米油。各组大鼠喂养至 12 周龄,喂养结束后,眼眶取血,迅速剥离肝,进行电镜及病理观察的固定,其他肝组织分装于 -80 $^{\circ}$ C 保存。

1.3.2 肝损伤指标检测

按照血清 ALT、AST 检测试剂盒操作步骤检测各组大鼠血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)水平;HE 染色观察肝病理改变;硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定心脏丙二醛(MDA)水平,二硫代二硝基苯甲酸(DTNB)比色法测定心脏谷胱甘肽(GSH)水平;肝 ROS 检测:肝组织冰冻切片孵育

DHE 荧光探针, 荧光显微镜观察红色荧光强度并拍照。

1.3.3 肝超微结构观察

动物处死 1 min 内迅速切取截面积为 1 mm^2 的 5 mm 肝组织长条, 用 2.5% 的戊二醛缓冲液固定, 经过处理后的切片用透射电子显微镜观察肝超微结构, 尤其是线粒体的损伤。

1.3.4 线粒体膜电位测定

取 100 mg 新鲜肝组织用线粒体提取试剂盒提取线粒体, 使用 100 nmol/L TMRM 荧光染料孵育 (37°C , 30 min) 后, 用荧光分光光度计读取荧光强度。

1.3.5 线粒体生成相关蛋白的检测

Western blot 检测肝线粒体生成相关蛋白 NRF1、TFAM 表达量及上游调节蛋白 SIRT1、PGC-1 α 的表达。称取 100 mg 左右肝组织, 加入 10 倍体积的 RIPA 裂解液提取总蛋白。蛋白浓度用 BCA 试剂盒测定。利用 SDS-PAGE 电泳分离蛋白后, 通过湿转法将蛋白转移到 PVDF 膜上。根据抗体说明书进行一抗和经 HRP 标记的二抗孵育。最后, 加入 ECL 化学发光试剂进行显色, 利用化学发光成像系统进行拍照和灰度统计。

1.4 统计学方法

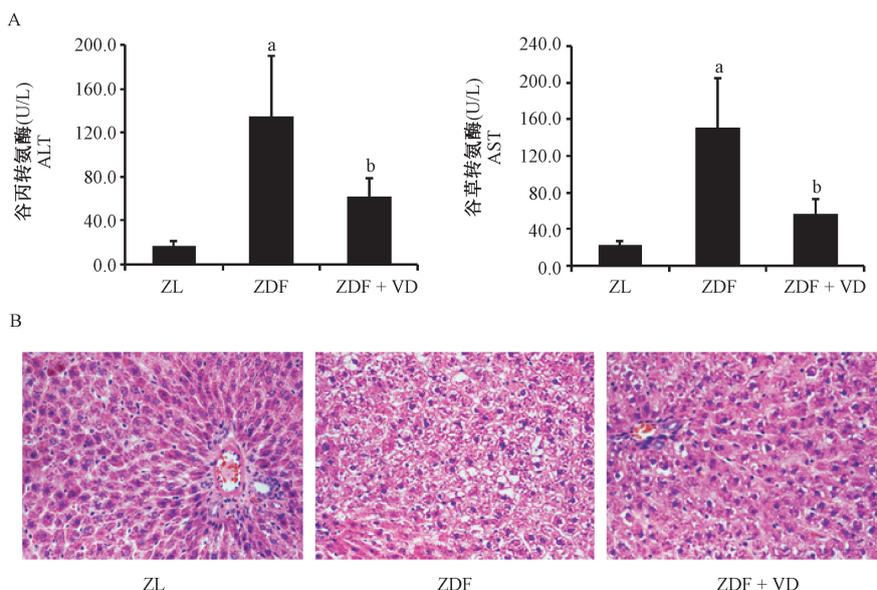
利用 SPSS 18.0 统计软件包进行数据分析, 数据用平均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用单因素方差中的 LSD-*t* 两两比较方法检验, 以 $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

2 结果

2.1 $1,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$ 改善 ZDF 大鼠肝损伤

血清 ALT、AST 是反映肝损伤的敏感指标。如图 1A 所示: 与 ZL 组相比, ZDF 组大鼠肝细胞 ALT、AST 释放水平显著升高, 血清 ALT、AST 水平约分别增加了 8.3 倍和 6.8 倍。 $1,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$ 干预后明显减轻了 ZDF 大鼠肝细胞 ALT、AST 的释放。

喂养结束后, 较 ZL 组相比, ZDF 组大鼠肝出现明显的病理改变, 肝体积明显增大, 颜色变浅偏黄, HE 染色结果显示, ZL 组大鼠肝小叶清晰, 肝细胞索以小叶中央静脉为中心呈放射状排列, 没有出现脂滴以及脂肪变性, 细胞核为圆形, 位于细胞中央; 而 ZDF 组大鼠肝出现明显的脂肪病变, 弥漫性小泡脂滴几乎占满整个肝细胞; $1,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$ 干预有效缓解了 ZDF 大鼠肝病变。如图 1B 所示。



注: A: 大鼠血清转氨酶水平。与 ZL 组比较, $^a P < 0.05$; 与 ZDF 组比较, $^b P < 0.05$ 。B: 大鼠肝组织 HE 染色 ($\times 200$)。

图 1 $1,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$ 对大鼠血清 ALT、AST 及肝病理损伤的影响

Note. A: Serum transaminases of Zucker rats. Compared with the ZL group, $^a P < 0.05$. Compared with the ZDF group, $^b P < 0.05$. B: Liver histology. HE staining ($\times 200$).

Figure 1 Effect of $1,25(\text{OH})_2\text{VD}_3$ on serum transaminases and liver histology in the Zucker rats

2.2 1,25(OH)₂VD₃ 改善 ZDF 大鼠肝氧化损伤

图 2A 展现的是肝 ROS 水平,较 ZL 组,ZDF 组大鼠肝组织孵育 DHE 探针后红色荧光显著增强,ROS 的产生明显升高。脂质过氧化产物——丙二醛(MDA)的水平能够反映脂质氧化损伤程度,谷胱甘肽(GSH)则反映机体抗氧化水平,如图 2B 所示,与 ZL 组相比,ZDF 组大鼠肝 MDA 水平显著上升而 GSH 水平明显降低,1,25(OH)₂VD₃ 干预后,MDA 水平降低了约 25%,GSH 水平升高了约 41%,显著缓解了 ZDF 大鼠肝氧化损伤。

2.3 1,25(OH)₂VD₃ 对 ZDF 大鼠肝线粒体结构及功能的影响

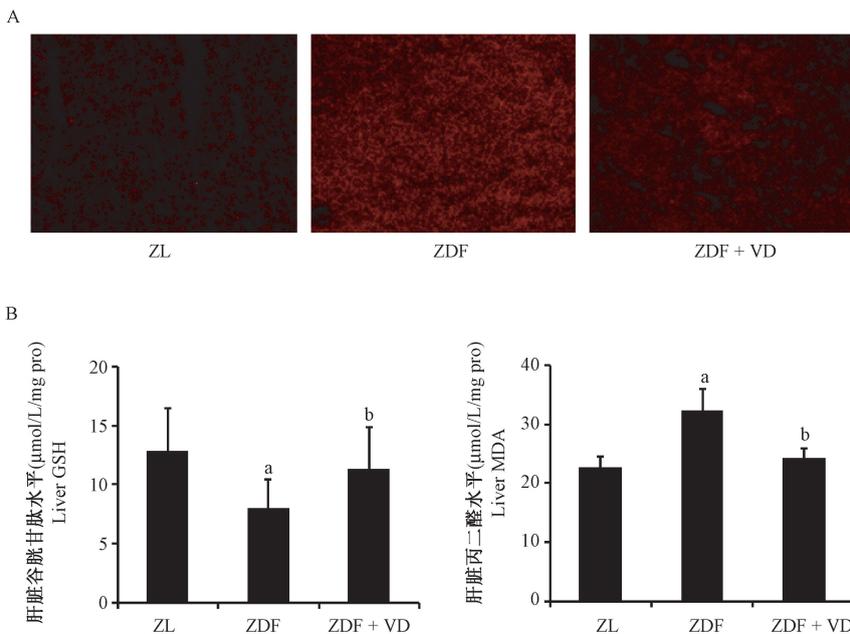
图 3A 电镜结果显示:ZL 组大鼠肝线粒体呈椭圆形、短棒状或者圆形,大小均一;ZDF 组大鼠肝细胞胞浆中出现大小不一的脂滴,线粒体肿胀、形态异常并伴有空泡化;1,25(OH)₂VD₃ 干预后线粒体形态基本恢复正常。线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential,MMP)是反映线粒体膜损伤及功能的重要指标,与 ZL 组相比,ZDF 组大鼠肝 MMP 下降了约 43%,1,25(OH)₂VD₃ 逆转了线粒体膜通透性的改变,减轻了线粒体损伤(图 3B)。

2.4 1,25(OH)₂VD₃ 改善 ZDF 大鼠肝线粒体生物合成

线粒体生物合成对于机体维持和修复线粒体结构和功能具有重要意义。介导线粒体生物合成最重要的是 PGC-1 α 及其下游转录因子 NRF1 和 TFAM。如图 4 所示,ZDF 组大鼠肝组织中 PGC-1 α 、NRF1 及 TFAM 的表达比 ZL 组约分别降低了 58%、38% 及 62%,此外,PGC-1 α 上游调节蛋白 SIRT1 的表达也显著降低;1,25(OH)₂VD₃ 能够上调线粒体生成相关调控蛋白 SIRT1、PGC-1 α 及其下游 NRF1 和 TFAM 的表达,缓解 ZDF 大鼠肝线粒体稳态失衡。

3 讨论

糖尿病是以高血糖为特征的代谢性疾病,可导致全身多个器官损害,肝损伤就是其中主要的损伤之一。研究发现,约 50% 的糖尿病患者合并肝病变,肝损伤在糖尿病的发生发展进程中发挥着重要作用^[8]。ZDF 大鼠是从出现糖尿病表型的 Zucker 大鼠中筛选并近亲杂交培育出的一种自发性糖尿病模型鼠^[9],ZDF 大鼠经高血脂高血糖、糖耐量异

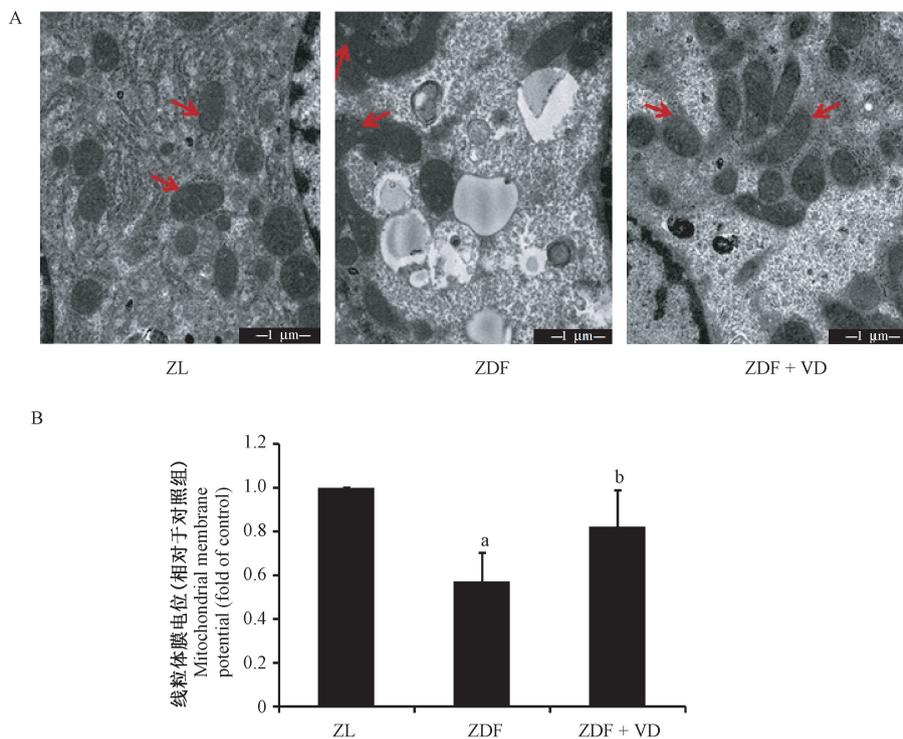


注:A:大鼠肝组织 ROS 水平($\times 200$)。B:大鼠肝谷胱甘肽及丙二醛水平。与 ZL 组比较,^a $P < 0.05$;与 ZDF 组比较,^b $P < 0.05$ 。

图 2 1,25(OH)₂VD₃ 对大鼠肝氧化损伤的影响

A: Liver ROS detected under a fluorescence microscope ($\times 200$). B: Liver GSH and MDA detected by spectrophotometry. Compared with the ZL group, ^a $P < 0.05$. Compared with the ZDF group, ^b $P < 0.05$.

Figure 2 Effect of 1,25(OH)₂VD₃ on oxidative damage in the ZDF rat liver



注:A:大鼠肝超微结构($\times 3500$),红色箭头指示线粒体。B:大鼠肝线粒体膜电位水平。与ZL组比较,^a $P < 0.05$;与ZDF组比较,^b $P < 0.05$ 。

图3 1,25(OH)₂VD₃对ZDF大鼠肝线粒体损伤的保护作用

Note. A: Liver ultrastructure of Zucker rats observed by transmission electron microscopy ($\times 3500$). Red arrows indicate mitochondria. B: Liver mitochondrial membrane potential. Compared with the ZL group, ^a $P < 0.05$. Compared with the ZDF group, ^b $P < 0.05$.

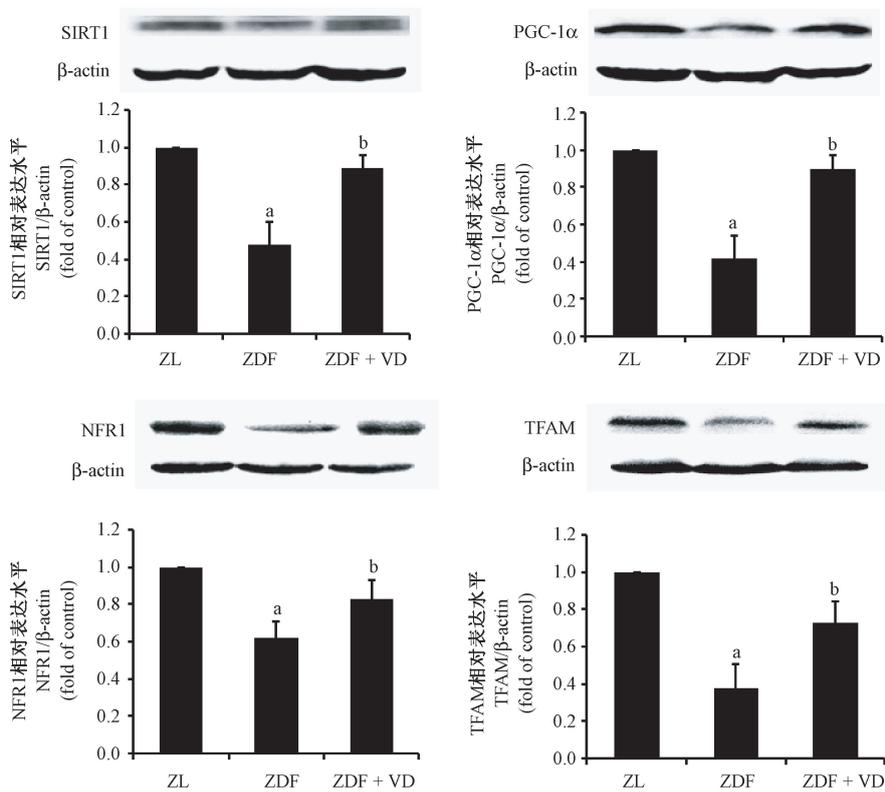
Figure 3 Protective effect of 1,25(OH)₂VD₃ on hepatic mitochondrial injury in the ZDF rats

常、胰岛素抵抗等程序化发展为2型糖尿病,被认为是2型糖尿病及并发症研究的理想动物模型^[10-11]。本研究发现,ZDF大鼠血清ALT、AST水平异常升高,肝出现损伤,组织病理切片显示,ZDF大鼠肝细胞出现严重的脂肪变性。

糖尿病肝损伤机制复杂,ROS介导的氧化应激备受关注。在高糖高脂状态下,过量的ROS会攻击蛋白质、脂质和核酸等生物大分子,导致肝细胞脂质过氧化,引起肝的病变^[12]。研究认为,线粒体是细胞内ROS产生的主要场所,病理状态下,呼吸链电子传递过程中大量产生的ROS将线粒体自身作为首要靶标,造成线粒体结构与功能的异常,加速ROS的生成,导致细胞严重的氧化损伤^[13]。本研究电镜结果显示,ZDF大鼠线粒体出现肿胀、变性、空泡化,线粒体膜电位也随之降低。与此同时,ZDF大鼠肝ROS产生显著增多、脂质过氧化产物MDA含量升高,最严重的是肝的抗氧化能力却逐渐下降,表现为GSH耗竭,这些结果提示ZDF大鼠肝出

现明显的氧化损伤。与以往研究结果相似,在STZ诱导的糖尿病大鼠肝细胞出现线粒体功能障碍及氧化损伤^[14],这些结果提示,线粒体结构及功能障碍可能在糖尿病肝损伤中起着关键作用。

线粒体生物合成是线粒体结构和功能修复的重要生理活动。介导线粒体生成最重要的调控因子为PGC-1 α ^[15],对机体线粒体生物合成及氧化应激的调控具有重要意义。此外,PGC-1 α 下游转录因子NRF1和TFAM也是调控线粒体合成与功能的关键分子,参与线粒体DNA的复制与转录^[16]。研究显示,在糖尿病大鼠视网膜病变中,线粒体损伤及ROS的增加与PGC-1 α 下降密切相关^[17]。2型糖尿病ob/ob小鼠心肌细胞PGC-1 α 、NRF1及TFAM表达显著降低并伴随线粒体mtRNA拷贝数的减少与ROS产生的增加^[18]。研究发现,SIRT1可通过乙酰化作用激活PGC-1 α 从而促进线粒体生物合成^[19]。然而,在STZ诱导的糖尿病及db/db糖尿病小鼠模型肾组织中SIRT1表达与活性均显著降



注:与 ZL 组比较,^a $P < 0.05$;与 ZDF 组比较,^b $P < 0.05$ 。

图 4 1,25(OH)₂VD₃ 对 ZDF 大鼠肝线粒体合成的影响

Note. Compared with the ZL group, ^a $P < 0.05$. Compared with the ZDF group, ^b $P < 0.05$.

figure 4 Protective effect of 1,25(OH)₂VD₃ on hepatic mitochondrial biogenesis in the ZDF rats

低,上调能够缓解氧化损伤、凋亡等病理改变^[20]。本研究发现,伴随着氧化应激及线粒体功能损害,ZDF 大鼠肝线粒体生物合成关键分子 PGC-1 α 及其下游 NRF1 及 TFAM 的表达明显下降,PGC-1 α 的上游调控因子 SIRT1 的表达也显著降低,提示 ZDF 大鼠肝损伤与线粒体生物合成受阻相关。

近年来,维生素 D 已成为糖尿病发生发展的重要影响因素。维生素 D 经肝、肾转化成活性形式 1,25(OH)₂VD₃ 后与维生素 D 受体(VDR)结合,参与糖脂代谢,调节胰岛素敏感性,在糖尿病及其并发症的防治中具有重要意义^[7]。此外,研究显示,1,25(OH)₂VD₃ 可通过抗氧化、抗炎等多种机制缓解非酒精性肝损伤。我们前期研究发现,维生素 D 缺乏会加速和加重 ZDF 大鼠的病情^[21],本实验结果显示,维生素 D 缺乏状态下的 ZDF 大鼠肝出现了严重的氧化损伤及线粒体损害,1,25(OH)₂VD₃ 干预后肝损伤明显缓解,ROS 产生减少,线粒体结构及功能趋于正常。其他研究也发现,1,25(OH)₂VD₃ 能够调节骨骼肌线粒体功能及其酶活性^[22]。然而,目前关于

1,25(OH)₂VD₃ 改善线粒体功能的相关机制鲜有报道。本研究显示,1,25(OH)₂VD₃ 能够上调线粒体生物合成关键蛋白 SIRT1、PGC-1 α 及下游 NRF1 和 TFAM 的表达,修复 ZDF 大鼠肝由于高糖高脂引起的线粒体结构和功能损伤,同时缓解了肝氧化损伤。

综上所述,1,25(OH)₂VD₃ 可通过上调 SIRT1/PGC-1 α 通路增强线粒体生物合成,修复线粒体结构与功能,从而缓解了 ZDF 大鼠肝氧化损伤。本实验为 1,25(OH)₂VD₃ 防治糖尿病及肝损伤提供了新的理论基础,1,25(OH)₂VD₃ 是如何调控 SIRT1 及更深入的机制需进一步实验研究。

参考文献:

- [1] Bhatt HB, Smith RJ. Fatty liver disease in diabetes mellitus [J]. Hepatobiliary Surg Nutr, 2015, 4(2): 101-108.
- [2] Lucchesi AN, Freitas NT, Cassettari LL, et al. Diabetes mellitus triggers oxidative stress in the liver of alloxan-treated rats; a mechanism for diabetic chronic liver disease [J]. Acta Cir Bras, 2013, 28(7): 502-508.
- [3] Kowaltowski AJ, de Souza-Pinto NC, Castilho RF, et al. Mitochondria and reactive oxygen species [J]. Free Radical Biol

- Med, 2009, 47(4): 333–343.
- [4] Salgueiro AC, Folmer V, da Silva MP, et al. Effects of *Bauhinia forficata* tea on oxidative stress and liver damage in diabetic mice [J]. Oxid Med Cell Longev, 2016, 2016: 8902954.
- [5] Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB 3rd. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants; a review [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2003, 17(1): 24–38.
- [6] Cao MM, Lu X, Liu GD, et al. Resveratrol attenuates type 2 diabetes mellitus by mediating mitochondrial biogenesis and lipid metabolism via Sirtuin type 1 [J]. Exp Ther Med, 2018, 15(1): 576–584.
- [7] Mitri J, Pittas AG. Vitamin D and diabetes [J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2014, 43(1): 205–232.
- [8] Tolman KG, Fonseca V, Dalpiaz A, et al. Spectrum of liver disease in type 2 diabetes and management of patients with diabetes and liver disease [J]. Diabetes Care, 2007, 30(3): 734–743.
- [9] Shiota M, Printz RL. Diabetes in Zucker diabetic fatty rat [J]. Methods Mol Biol, 2012, 933: 103–123.
- [10] 高秀莹, 周迎生. 2 型糖尿病鼠类模型的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2014, 22(4): 71–76.
- [11] 宋丹, 冉丽媛, 姜如娇, 等. 糖尿病研究中的动物模型进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2016, 26(9): 83–87.
- [12] Rochette L, Zeller M, Cottin Y, et al. Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1840(9): 2709–2729.
- [13] Avery SV. Molecular targets of oxidative stress [J]. Biochem J, 2011, 434(2): 201–210.
- [14] Chen N, Leng YP, Xu WJ, et al. Contribution of endogenous inhibitor of nitric oxide synthase to hepatic mitochondrial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Cell Physiol Biochem, 2011, 27(3–4): 341–352.
- [15] Puigserver P, Spiegelman BM. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha (PGC-1 alpha): transcriptional coactivator and metabolic regulator [J]. Endocr Rev, 2003, 24(1): 78–90.
- [16] Campbell CT, Kolesar JE, Kaufman BA. Mitochondrial transcription factor A regulates mitochondrial transcription initiation, DNA packaging, and genome copy number [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1819(9–10): 921–929.
- [17] Zheng Z, Chen H, Wang H, et al. Improvement of retinal vascular injury in diabetic rats by statins is associated with the inhibition of mitochondrial reactive oxygen species pathway mediated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 alpha [J]. Diabetes, 2010, 59(9): 2315–2325.
- [18] Zhang L, Huang D, Shen D, et al. Inhibition of protein kinase C β II isoform ameliorates methylglyoxal advanced glycation endproduct-induced cardiomyocyte contractile dysfunction [J]. Life Sci, 2014, 94(1): 83–91.
- [19] Rodgers JT, Lerin C, Haas W, et al. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 alpha and SIRT1 [J]. Nature, 2005, 434(7029): 113–118.
- [20] Kume S, Kitada M, Kanasaki K, et al. Anti-aging molecule, Sirt1: a novel therapeutic target for diabetic nephropathy [J]. Arch Pharm Res, 2013, 36(2): 230–236.
- [21] 李艳艳, 王宁, 刘妍妍, 等. 维生素 D 缺乏对自发性糖尿病大鼠发病的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(2): 20–25.
- [22] Ryan ZC, Craig TA, Folmes CD, et al. $1\alpha, 25$ -Dihydroxyvitamin D_3 regulates mitochondrial oxygen consumption and dynamics in human skeletal muscle cells [J]. J Biol Chem, 2016, 291(3): 1514–1528.

[收稿日期] 2018-04-03