文章编号:1000-5404(2014)22-2277-06

论著

UCP2在硫酸吲哚酚诱导心肌细胞肥大中的作用

徐新丽,杨 可,管 旭,肖堂利,何 婷,余彦琳,刘 亮,赵景宏 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院肾内科)

[摘要] **目的** 探讨解耦联蛋白2(uncoupling protein 2, UCP2)在硫酸吲哚酚(indoxyl sulfate,IS)诱导心肌细胞肥大中的作用和机制。**方法** 分离培养新生Sprague-Dawley大鼠心肌细胞,0、100、250、500、1 000 μmol/L IS孵育心肌细胞1 h或500 μmol/L IS孵育心肌细胞0、15、30、45、60 min后,Western blot检测心肌细胞UCP2蛋白表达变化。UCP2慢病毒转染心肌细胞后,通过α-actinin免疫荧光染色观察细胞大小,^{3}H-亮氨酸掺入法评价蛋白合成速率,Real-time PCR检测肥大相关基因ANF、BNP和β-MHC mRNA的表达,同时利用Mitosox™探针检测活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成情况。**结果** 与对照组相比,IS处理组心肌细胞的UCP2蛋白水平明显下降($P<0.05$);与IS处理组相比,UCP2过表达可以明显抑制IS诱导的心肌细胞ROS生成、体积增大、^{3}H-亮氨酸摄入增加及肥大相关基因(ANF、BNP和β-MHC mRNA)的表达增高,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** IS诱导心肌细胞肥大可能与其下调UCP2表达及促进氧化应激有关,而UCP2过表达或许可以通过抑制氧化应激拮抗IS诱导的心肌细胞肥大。

[关键词] 硫酸吲哚酚;心肌细胞肥大;解偶联蛋白2;机制
[中图法分类号] R341;R363.21;R542.2 [文献标志码] A

Effects of uncoupling protein 2 on cardiomyocyte hypertrophy induced by indoxyl sulfate

Xu Xinli, Yang Ke, Guan Xu, Xiao Tangli, He Ting, Yu Yanlin, Liu Liang, Zhao Jinghong (Department of Nephrology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects of uncoupling protein 2 (UCP2) on cardiomyocyte hypertrophy induced by indoxyl sulfate (IS). **Methods** Neonatal rat cardiomyocytes were separately treated with IS of 0, 100, 250, 500, and 1 000 μmol/L for 1 h or with 500 μmol/L IS for 0, 15, 30, 45, and 60 min. Then UCP2 expression was tested with Western blotting. After neonatal rat cardiomyocytes were infected with lentivirus, we observed the expression of UCP2 by Western blotting and detected reactive oxygen species (ROS) production by Mitosox™. Cell size was tested by immunofluorescent staining of α-actinin. ANF, BNP and β-MHC mRNA and [^{3}H] leucine incorporation were examined as indicators of cardiomyocyte hypertrophy. **Results** Compared with the control group, IS treatment reduced the expression of UCP2 in a dose- and time-dependent manner ($P<0.05$). UCP2 overexpression significantly suppressed ROS generation, inhibited the increase of cell volume and [^{3}H] leucine incorporation, and reduced the mRNA expression of ANF, BNP, and β-MHC induced by IS ($P<0.05$). **Conclusion** IS may induce cardiomyocyte hypertrophy by down-regulating UCP2 expression and enhancing oxidative stress. UCP2 overexpression may antagonize IS-induced cardiomyocyte hypertrophy by inhibiting oxidative stress.

[**Key words**] indoxyl sulfate; cardiomyocyte hypertrophy; UCP2; mechanism

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81270290, 30700316). Corresponding author: Zhao Jinghong, E-mail: zhaojh@tmmu.edu.cn

尿毒症心肌病是慢性肾病最常见的并发症之一,也是尿毒症患者最主要的死亡原因。慢性肾病(chronic kidney diseases, CKD)患者常出现左室肥厚,除外高血压和容量负荷增高等因素外,尿毒症毒素导致的高氧化应激可能在左室肥厚中扮演重要角色[1-2],但其具体机制仍未完全明确。Yisireyili等[3]及我们前期研究[4]均发现尿毒症毒素硫酸吲哚酚可以通过增强氧化应激诱导心肌肥大。解耦联蛋白2(oupling protein,

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81270290,30700316)
[通信作者] 赵景宏,E-mail: zhaojh@tmmu.edu.cn
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140821.1440.012.html(2014-08-21)

UCP2)作为一种抑制活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成的线粒体转运蛋白,近年来大量研究提示其心血管保护作用,但其是否在IS诱导的心肌肥大中发挥作用并不清楚。本研究观察IS诱导心肌细胞肥大过程中UCP2的表达变化,通过慢病毒介导UCP2转染心肌细胞,明确UCP2过表达是否可以拮抗IS诱导的心肌细胞肥大,以期深入揭示尿毒症状态下左室肥厚的发生机制,为尿毒症心肌病探索新的防治靶点。

1 材料与方法

1.1 心肌细胞原代培养与慢病毒转染

出生0~3 d的SD大鼠,雌雄不限(第三军医大学实验动物中心提供),75%酒精消毒胸腹部,快速开胸后取出心脏,置于预冷的PBS溶液内,组织镊剥离血块及血管,再用PBS洗心脏2次。随后用眼科剪将心脏剪至1 mm^3左右,PBS清洗组织1次。加入适量0.125%的胰酶(Sigma-Aldrich,USA)轻轻吹打心肌组织,待液体变浑时,提取上层液体置于含适量胎牛血清(HyClone,USA)的离心管内,重复3次。接着加入适量0.1%的Ⅱ型胶原酶(Sigma-Aldrich,USA)消化剩余组织,轻轻吹打数次后,同胰酶消化液一起静置于37 ℃敷箱(5% CO_2、95% O_2、37 ℃,美国NAPCO4520)1 h左右。所得消化液用200目滤网过滤,收集滤液,1 500 r/min离心5 min后,弃上清液,加入PBS重悬细胞,同样条件下再离心1次收集细胞。用含20%胎牛血清的高糖DMEM(HyClone,USA)培养基重悬细胞,接种至培养瓶。细胞置于37 ℃敷箱差速贴壁,90 min后取出培养瓶,将其内细胞悬液用含20%胎牛血清的高糖DMEM培养基按适当比例稀释后接种至培养载体上,置于37 ℃敷箱培养。

用慢病毒Le-UCP2及Le-GFP(Vehicle)感染心肌细胞,心肌细胞接种48 h后更换培养基为含病毒无血清培养基,24 h后弃去含病毒培养基,更换为含10% FBS培养基,24 h后观察转染效率。

1.2 Western blot检测

将细胞接种至培养瓶72 h后,用不同浓度的IS(0、100、250、500、1 000 μmol/L)处理细胞1 h,或用500 μmol/L IS处理不同时间(0、15、30、45、60 min)后收集细胞,提取蛋白质,用BCA法测定蛋白质浓度。各组取50 μg蛋白加入1∶4体积的5×SDS凝胶加样缓冲液(碧云天,上海),100 ℃煮5 min,经10%聚丙烯酰凝胶电泳后,90 V恒压电转膜90 min,5% BSA封闭30 min后,一抗(UCP2 1∶500,Abcam; GAPDH 1∶500,碧云天)4 ℃孵育过夜,TBST洗膜3次,每次8 min,加入相应的辣根过氧化物酶标记二抗(碧云天,上海)37 ℃孵育1 h, TBST洗膜3次,每次10 min。将PVDF膜浸入化学发光试剂(碧云天,上海),用增强化学发光法显影、曝光,采用Image J图像分析软件检测。以GAPDH作为内参,检测蛋白质的相对含量,实验重复3次。

1.3 免疫荧光染色

将慢病毒颗粒转染至原代心肌细胞,细胞随机分为4组:①对照组;②IS处理组;③IS + Vehicle组;④IS + Le-UCP2组(IS处理浓度为500 μmol/L,IS处理时间为48 h)。4%的多聚甲醛固定10 min, 0.3% Triton x100室温打孔5 min,10%山羊血清37 ℃封闭30 min,加入1∶25稀释一抗Mouse Anti-α-Actinin(Sarcomeric,博士德,武汉)4 ℃孵育过夜。再与1∶200稀释二抗cy3标记山羊抗小鼠IgG(碧云天,北京)37 ℃避光孵育1 h。DAPI染色封片后于激光共聚焦显微镜下观察细胞大小。

1.4 ^{3}H-亮氨酸渗入法检测心肌细胞蛋白合成

将慢病毒颗粒转染至原代心肌细胞,细胞随机分为4组:①对照组;②IS处理组;③IS + Vehicle组;④IS + Le-UCP2组(IS处理浓度为500 μmol/L,IS处理时间为48 h),随后弃药物并加入无血清培养基稀释好的^{3}H-亮氨酸(1 μCi/μL)(PerkinElmer, USA)作用。18 h后用无血清培养基洗细胞3次,加入适量0.125%的胰酶使细胞悬浮。用液闪仪(LS6500,USA Beckman)检测其放射性,结果用液闪仪每分钟记录脉冲数(cpm)表示。

1.5 Real-time PCR检测

将慢病毒颗粒转染至原代心肌细胞,细胞随机分为4组:①对照组;②IS处理组;③IS + Vehicle组;④IS + Le-UCP2组(IS处理浓度为500 μmol/L ,IS处理时间为48 h)。PBS洗细胞3次后,加入TRIzol,振荡数次后将细胞收集至无酶EP管,加入1/5体积三氯甲烷,震荡混匀后于4 ℃ 12 000 × *g* 离心10 min,收集上清加入等体积异丙醇震荡混匀后于4 ℃ 12 000 × *g* 离心10 min,弃上清后加入1 mL 75%乙醇混悬后于4 ℃ 12 000 × *g* 离心10 min,弃液干燥后加入适量DEPC水重悬沉淀RNA。检测各组RNA浓度,调整每组上样量为1 000 ng,将RNA逆转录为cDNA,以适当的退火温度用Applied Biosystems step one进行检测和分析。各个引物序列见表1。

表1 引物名称及相应碱基序列

引物名称	扩增长度(bp)	上游碱基序列	下游碱基序列
ANF	205	5′-ATGGGCTCCTTCTCCATCAC-3′	5′-TTCATCGGTATGCTCGCTCA-3′
BNP	236	5′-TGGGAAGTCCTAGCCAGTCT-3′	5′-GATCCGGTCTATCTTCTGCC-3′
β-MHC	196	5′-TGACAGTCGGGAGAACCAG-3′	5′-CCGAACTGTCTTGGCATTGC-3′
GAPDH	221	5′-CTGCACCACCAACTGCTTAG-3′	5′-TCAGCTCTGGGATGACCTTG-3′

1.6 活性氧自由基(ROS)检测

将慢病毒颗粒转染至原代心肌细胞,细胞随机分为4组:①对照组;②IS处理组;③IS + Vehicle组;④IS + Le-UCP2组(IS处理浓度为500 μmol/L,IS处理时间为6 h)。弃药物并用无血清DMEM清洗细胞3次,每次5 min,再加入用无血清DMEM配置的Mitosox™(5 μmol/L, Invitrogen UK)37 ℃避光孵育30 min,无血清DMEM吸取残留探针,PBS洗细胞1次后,使用510 nm激发波长,580 nm发射波长,酶标仪(Thermo,USA)检测荧光强弱,再用共聚焦显微镜(Olympus,JPN)观察探针荧光亮度。

1.7 统计学分析

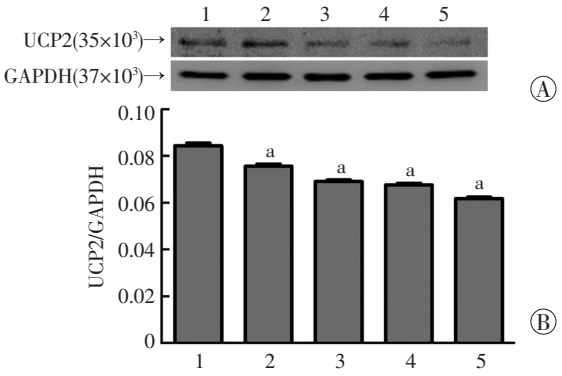
采用SPSS 17.0统计软件,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用Tukey检验。

2 结果

2.1 IS对心肌细胞UCP2表达的影响

Western blot结果显示,与对照组相比,用500 μmol/L IS孵育心肌细胞不同时间(15、30、45、60 min)后,细胞内UCP2蛋白

表达水平明显下降,差异有统计学意义($P<0.05$,图 1),1 h 时表现最明显。与对照组相比,用不同浓度的 IS(100、250、500、1 000 μmol/L)孵育心肌细胞 1 h 后,细胞内 UCP2 的表达明显下降($P<0.05$,图 2)。提示 IS 可以下调新生大鼠心肌细胞内 UCP2 的蛋白水平。

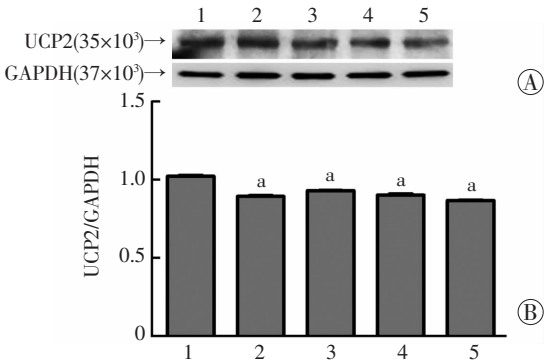


1:对照组;2:IS 预孵育 15 min;3:IS 预孵育 30 min;4:IS 预孵育 45 min;5:IS 预孵育 60 min A:Western blot 检测;B:半定量分析 a:$P<0.05$,与对照组比较

图 1 500 μmol/L IS 作用不同时间后心肌细胞 UCP2 蛋白表达

2.2 UCP2 重组慢病毒转染心肌细胞

转染重组慢病毒颗粒 UCP2 的心肌细胞,在荧光显微镜下观察到绿色荧光,转染效率达 90%,表明 UCP2 在心肌细胞中成功过表达,空载体对照组亦可见到较强的绿色荧光(图 3)。Western blot 检测结果显示,与空白对照组(相对表达量为 0.472 2±0.110 8)相比,空载体组 UCP2 的表达(0.575 1±0.028 3)未见明显变化,而 Le-UCP2 转染组 UCP2 表达量(0.705 8±0.076 9)显著增加,差异具有统计学意义($P<0.05$)。



1:对照组;2:100 μmol/L IS 处理组;3:250 μmol/L IS 处理组;4:500 μmol/L IS 处理组;5:1 000 μmol/L IS 处理组 A:Western blot 检测;B:半定量分析 a:$P<0.05$,与对照组比较

图 2 不同浓度 IS 作用 1 h 后心肌细胞 UCP2 蛋白表达

2.3 UCP2 过表达对 IS 诱导心肌细胞肥大相关指标的影响

500 μmol/L IS 孵育心肌细胞 48 h 后,心肌细胞体积增大,^{3}H-亮氨酸渗入增加,肥大相关基因 ANF、BNP 和 β-MHC mRNA 表达增高,提示 IS 可以显著诱导心肌细胞肥大。与 IS 组及空载体转染 IS 组相比,IS 处理的 UCP2 过表达组细胞体积减小(图 4),蛋白合成速率减慢(约为 IS 组的 69%,IS + Vehicle 组的 67%),差异有统计学意义($P<0.05$,图 5)。与对照组相比,IS 组 ANF、BNP、β-MHC mRNA 的相对表达量分别为 1.32±0.09、1.74±0.23、2.12±0.24;IS + Vehicle 组 3 种基因 mRNA 的相对表达量为 1.43±0.16、1.94±0.32、2.29±0.44;IS + Le-UCP2 组 3 种基因 mRNA 的相对表达量为 1.04±0.07、1.18±0.05、1.11±0.15,统计分析显示 IS + Le-UCP2 组心肌细胞肥大相关基因 mRNA 表达较 IS 组及 IS + Vehicle 组明显下调($P<0.05$),提示 UCP2 过表达可以拮抗 IS 诱导的心肌细胞肥大。

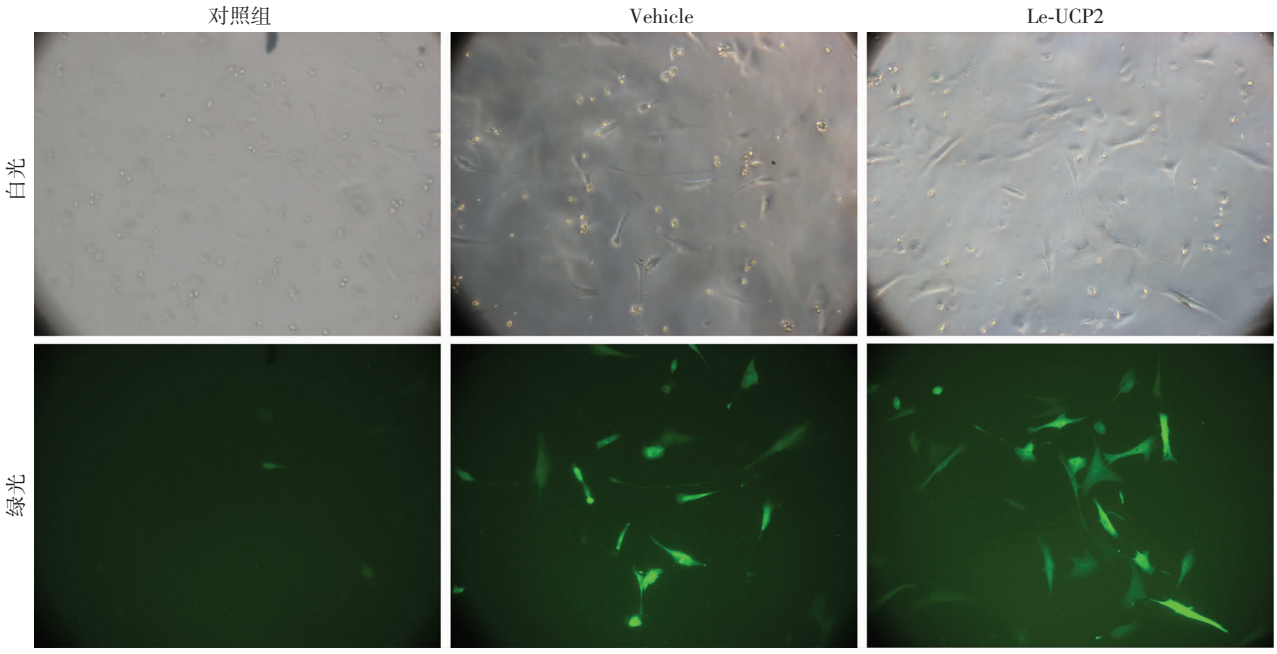


图 3 荧光显微镜下观察重组慢病毒颗粒 UCP2(Le-UCP2)转染新生大鼠心肌细胞 (×200)

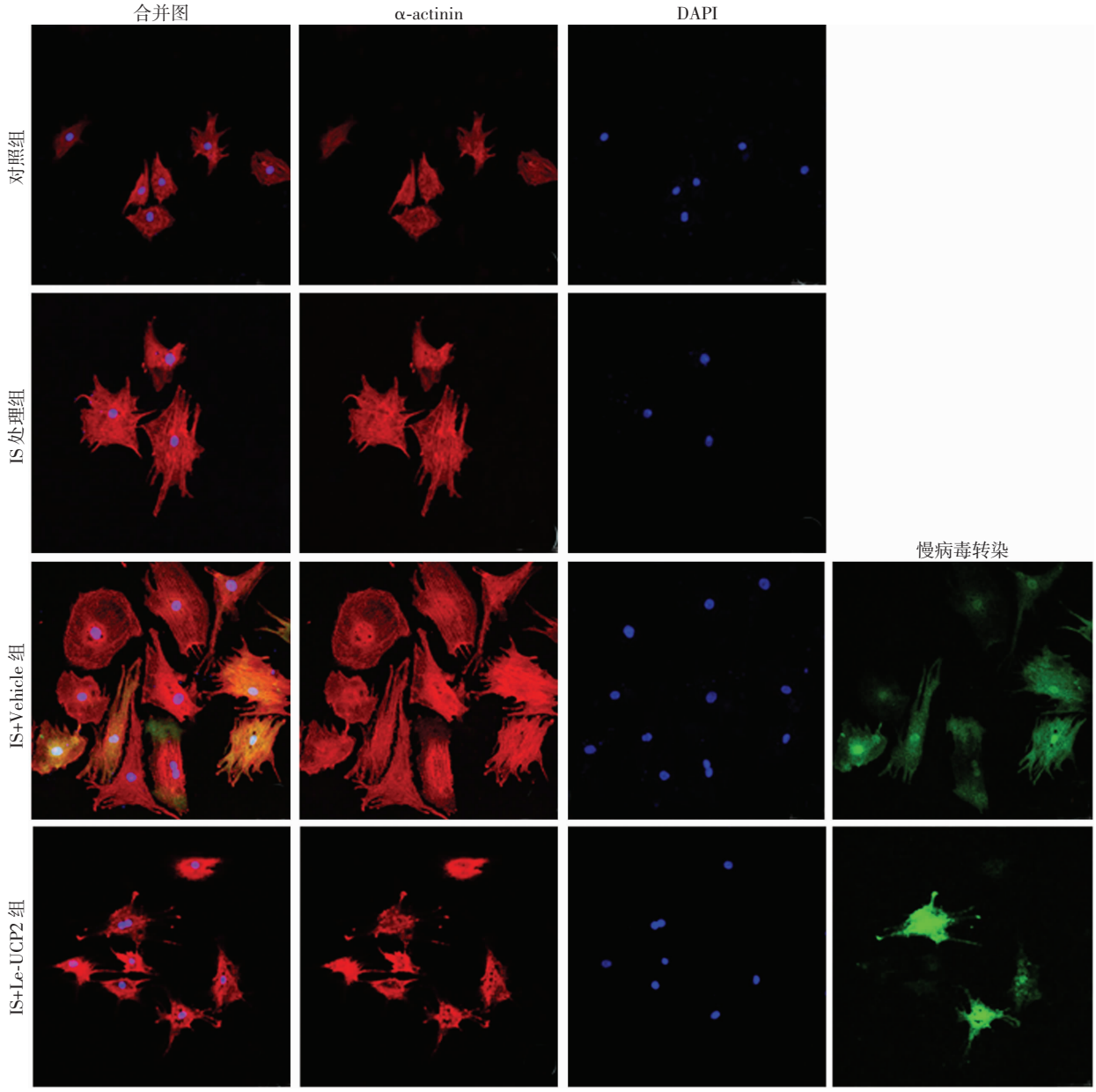
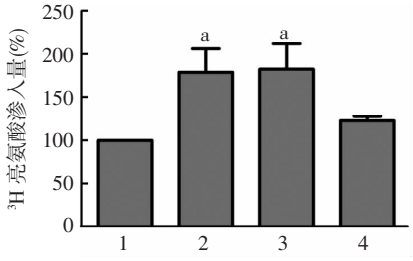


图4 α-actinin免疫荧光染色观察心肌细胞的体积 （共聚焦显微镜 ×400）

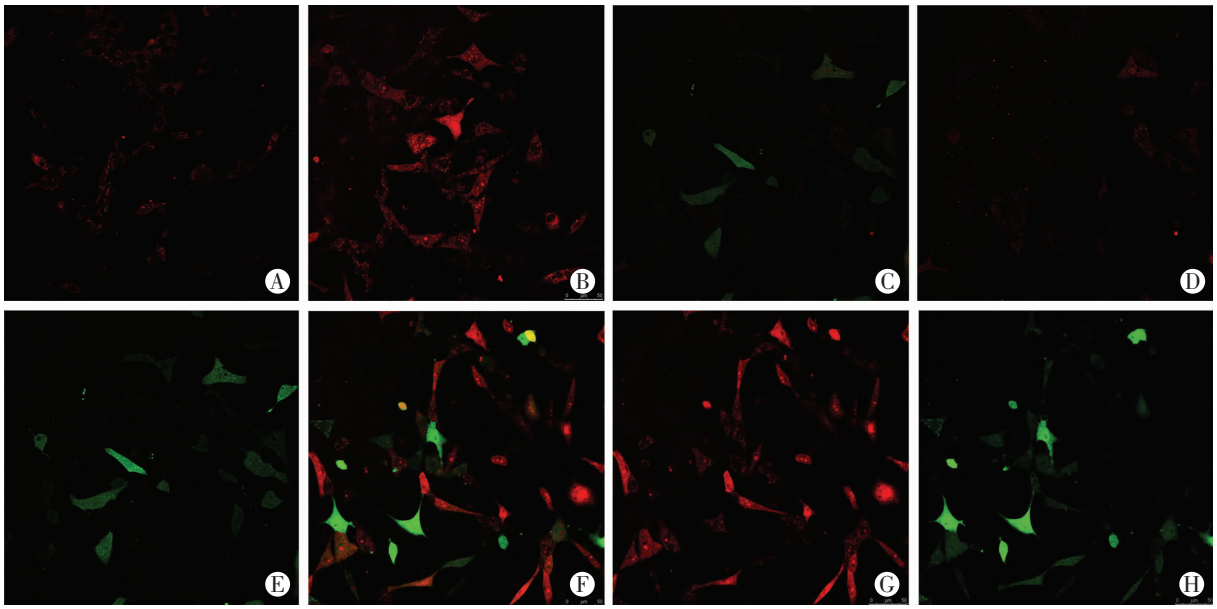


1：对照组；2：IS处理组；3：IS + Vehicle组；4：IS + Le-UCP2组　IS处理浓度均为500 μmol/L，处理时间均为48 h　a：$P<0.05$，与对照组及IS + Le-UCP2组比较

图5 ^{3}H-亮氨酸检测心肌细胞的蛋白合成速率

2.4 UCP2过表达对心肌细胞ROS生成的影响

为了进一步明确UCP2过表达抑制心肌细胞肥大的具体机制，我们观察了500 μmol/L IS对正常和UCP2过表达心肌细胞ROS生成的影响。与对照组相比，IS组及IS + Vehicle组红光更强（图6），ROS生成明显增多（约为对照组的2.3倍）；而IS + Le-UCP2组较IS组和IS + Vehicle组红光强度较弱（图6），ROS产物明显减少（分别为IS及IS + Vehicle组的42%、36%）。表明IS可以诱导心肌细胞内ROS生成，而UCP2过表达可以抑制IS诱导的ROS生成。提示IS诱导心肌细胞肥大可能与细胞的氧化应激增强有关，UCP2过表达可能通过减轻细胞氧化应激水平抑制心肌细胞肥大。



A:对照组;B:IS 处理组;C ~ E:IS + Le-UCP2 组合并图、ROS 产量、慢病毒转染;F ~ H:IS + Vehicle 组合并图、ROS 产量、慢病毒转染
红光:Mitosox™ 荧光;绿光:慢病毒自发荧光

图 6 Mitosox™ 探针检测心肌细胞线粒体内 ROS 产量 (共聚焦显微镜 ×400)

3 讨论

心血管并发症在慢性肾病患者中有很高的发病率,并且是尿毒症患者的首位死亡原因,因此了解尿毒症心肌病的发病机制并阻止其发生发展成为当前的迫切课题。研究显示,心肌细胞肥大和心肌间质纤维化是尿毒症心肌病的主要病理变化[5-6]。左室肥厚作为上述病变的重要结果,其发生机制尚不明确。目前研究发现的可能因素包括代谢毒素的作用,RAAS 激活及继发性甲旁亢等。IS 是一种小分子尿毒症毒素,有报道显示左室肥厚发生于 CKD 的 3、4 期并随 CKD 的恶化而加重[7-8],而 IS 恰恰在 CKD 3 期开始升高[8],提示 IS 应该与心肌肥厚关系密切。新近较多研究[1-4]表明 IS 可以诱导心肌肥大。但是,体内大多数 IS 以蛋白结合状态存在,很难通过现有的方法清除。因此,探讨 IS 诱导心肌细胞肥大的机制及其阻断方法具有重要意义。本研究在明确 IS 促心肌细胞肥大作用的基础上,发现 IS 可以下调心肌细胞内 UCP2 的表达水平,通过慢病毒介导心肌细胞 UCP2 过表达,发现 UCP2 可以拮抗 IS 诱导的心肌细胞肥大。本研究为 IS 诱导心肌细胞肥大的机制研究提供了新的方向。

由 ROS 检测结果可知,IS 明显增加心肌细胞内 ROS 生成,提示细胞内氧化应激增强。而免疫荧光、^{3}H 示踪蛋白合成及 Real-time PCR 结果均显示 IS 具有促心肌细胞肥大作用。因此,我们认为 IS 可能通过促进氧化应激诱导了心肌肥大,此结论也被多项研究证实。Fujii 等[9]在尿毒症动物模型中发现尿中 IS 与尿及心肌中氧化应激标志物呈正相关,与 AST-120 组相比,对照组氧化应激明显增强并出现心肌肥大。表明 AST-120 可以通过减轻 IS 的促氧化应激作用而抑制心肌肥大。另外,Lekawanvijit 等[1]也发现 IS 可通过激活 ROS 下游信号通路 MAPK 诱导心肌细胞肥大。最近,Yisireyili 等[3]在高血压模型鼠中也发现 IS 可以促进氧化应激并进一步诱导心肌纤维化及肥大。由此可见,CKD 患者的左室肥厚与 IS 的促氧化应激作用关系密切,但截至目前,对于 IS 通过何种机制促进氧化应激尚不清楚。

UCP2 是线粒体内膜上的阴离子转运蛋白,广泛表达于人体各组织,可以破坏线粒体内膜的质子梯度,降低膜电位,具有抑制活性氧产生,调节能量代谢,抗细胞凋亡和炎症等功能。以往的研究认为 UCP2 可能通过调节能量代谢恶化心脏疾病[10-11],但最近越来越多的研究提示 UCP2 的心血管保护作用[12-15],其机制可能与 UCP2 的抗氧化应激作用有关。早在 1997 年,Negre-Salvayre 等[16]就发现 UCP2 可以抑制细胞内 ROS 生成增多。随后,Teshima 等[17]通过腺病毒转染使 UCP2 过表达后发现,UCP2 可以减少 ROS 生成进而抑制心肌细胞凋亡。最近,更有 Tian 等[15]及 Xu 等[18]在内皮细胞证实了 UCP2 的抗氧化应激作用。因此,抑制氧化应激极可能是 UCP2 的重要作用之一。

但是,UCP2 是否在 IS 诱导的心肌肥大中发挥作用尚少见报道。我们首先观察了 IS 对心肌细胞内 UCP2 表达的影响。Western blot 结果显示,IS 可以下调心肌细胞内 UCP2 的蛋白表达。这一结果提示 IS 可能通过下调 UCP2 表达介导 ROS 产生增多并进一步诱导心肌细胞肥大。

为进一步证实 UCP2 在 IS 诱导心肌细胞肥大中的关键作用。我们通过慢病毒转染心肌细胞使 UCP2 过表达,再观察 IS 诱导心肌细胞肥大的情况,结果显示与 IS 处理和 IS + Vehicle 组相比,IS + Le-UCP2 组 ROS 生成明显减少,细胞体积减小,细胞内蛋白合成减少,心肌细胞肥大相关基因 mRNA 表达下调。表明 UCP2 过表达可以抑制 IS 诱导的氧化应激和心肌细胞肥大。提示 UCP2 过表达可能通过抑制氧化应激拮抗 IS 诱导的心肌细胞肥大。当然,本研究仅为细胞水平,UCP2 是否可以通过拮抗心肌肥大保护心脏有待体内试验进一步证实。

综上所述,IS 的促心肌细胞肥大作用可能与其下调了 UCP2 的表达有关。IS 对 UCP2 的下调解除了 UCP2 对 ROS 生成的抑制,细胞内 ROS 的增多提高了细胞内的氧化应激水平进而诱导了心肌细胞肥大。这可能是尿毒症心肌病变的重要发生机制。由于临床上尚无清除 IS 等蛋白结合毒素的有效方法,近年来虽然有 AST-120 可以减少 IS 的报道,但依然处于探索阶段,所以研究此类毒素对心血管的损害机制变得异常重要。本研究发现 UCP2 在 IS 诱导心肌细胞肥大中的重要作用,提示上调心肌 UCP2 表达可能会改善尿毒症毒素导致的心肌损害,为尿毒症心肌病的临床治疗提供了新的干预靶点。

参考文献:

[1] Lekawanvijit S, Adrahtas A, Kelly D J, *et al*. Does indoxyl sulfate, a uraemic toxin, have direct effects on cardiac fibroblasts and myocytes? [J]. Eur Heart J, 2010, 31(14): 1771 – 1779.

[2] Liu S, Wang B H, Kompa A R, *et al*. Antagonists of organic anion transporters 1 and 3 ameliorate adverse cardiac remodelling induced by uremic toxin indoxyl sulfate[J]. Int J Cardiol, 2012, 158(3): 457 – 458.

[3] Yisireyili M, Shimizu H, Saito S, *et al*. Indoxyl sulfate promotes cardiac fibrosis with enhanced oxidative stress in hypertensive rats[J]. Life Sci, 2013, 92(24/26): 1180 – 1185.

[4] 杨可, 孙蕾, 管旭, 等. 硫酸吲哚酚诱导心肌细胞肥大的研究[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(24): 2630 – 2633.

[5] Mall G, Huther W, Schneider J, *et al*. Diffuse intermyocardiocytic fibrosis in uraemic patients[J]. Nephrol Dial Transplant, 1990, 5(1): 39 – 44.

[6] Amann K, Buzello M, Simonaviciene A, *et al*. Capillary/myocyte mismatch in the heart in renal failure--a role for erythropoietin? [J]. Nephrol Dial Transplant, 2000, 15(7): 964 – 969.

[7] Berl T, Henrich W. Kidney-heart interactions: epidemiology, pathogenesis, and treatment[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2006, 1(1): 8 – 18.

[8] Meert N, Schepers E, De-Smet R, *et al*. Inconsistency of reported uremic toxin concentrations[J]. Artif Organs, 2007, 31(8): 600 – 611.

[9] Fujii H, Nishijima F, Goto S, *et al*. Oral charcoal adsorbent (AST-120) prevents progression of cardiac damage in chronic kidney disease through suppression of oxidative stress[J]. Nephrol Dial Transplant, 2009, 24(7): 2089 – 2095.

[10] Strom C C, Aplin M, Ploug T, *et al*. Expression profiling reveals differences in metabolic gene expression between exercise-induced cardiac effects and maladaptive cardiac hypertrophy[J]. FEBS J, 2005, 272(11): 2684 – 2695.

[11] Bodyak N, Rigor D L, Chen Y S, *et al*. Uncoupling protein 2 modulates cell viability in adult rat cardiomyocytes[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007, 293(1): H829 – H835.

[12] Dromparis P, Paulin R, Sutendra G, *et al*. Uncoupling protein 2 deficiency mimics the effects of hypoxia and endoplasmic reticulum stress on mitochondria and triggers pseudohypoxic pulmonary vascular remodeling and pulmonary hypertension[J]. Circ Res, 2013, 113(2): 126 – 136.

[13] Sun J, Pu Y, Wang P, *et al*. TRPV1-mediated UCP2 upregulation ameliorates hyperglycemia-induced endothelial dysfunction[J]. Cardiovasc Diabetol, 2013, 12: 69.

[14] Zhang Y, Li L, Hua Y, *et al*. Cardiac-specific knockout of ET(A) receptor mitigates low ambient temperature-induced cardiac hypertrophy and contractile dysfunction[J]. J Mol Cell Biol, 2012, 4(2): 97 – 107.

[15] Tian X Y, Wong W T, Xu A, *et al*. Uncoupling protein-2 protects endothelial function in diet-induced obese mice[J]. Circ Res, 2012, 110(9): 1211 – 1216.

[16] Negre-Salvayre A, Hirtz C, Carrera G, *et al*. A role for uncoupling protein-2 as a regulator of mitochondrial hydrogen peroxide generation [J]. FASEB J, 1997, 11(10): 809 – 815.

[17] Teshima Y, Akao M, Jones S P, *et al*. Uncoupling protein-2 overexpression inhibits mitochondrial death pathway in cardiomyocytes[J]. Circ Res, 2003, 93(3): 192 – 200.

[18] Xu M J, Song P, Shirwany N, *et al*. Impaired expression of uncoupling protein 2 causes defective postischemic angiogenesis in mice deficient in AMP-activated protein kinase α subunits[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(8): 1757 – 1765.

(**收稿**:2014-06-05;**修回**:2014-07-05)

(编辑 龙 亮)