

## 论著·临床研究

## 终末期肾病患者骨骼肌中丙酮酸脱氢酶活性与丙酮酸脱氢酶激酶 4 的表达

徐辰祺<sup>1\*</sup>, 闵璐琳<sup>1\*</sup>, 陈晓欢<sup>3</sup>, 陆任华<sup>1</sup>, 朱铭力<sup>1</sup>, 谢可炜<sup>1</sup>, 钱盈盈<sup>1</sup>, 郭相江<sup>2</sup>, 倪兆慧<sup>1</sup>,  
阿依加肯·卡司木马力<sup>3#</sup>, 顾乐怡<sup>1#</sup>

1. 上海交通大学医学院附属仁济医院肾脏科, 分子细胞(肾病)实验室, 上海 200127; 2. 上海交通大学医学院附属仁济医院血管外科, 上海 200127; 3. 新疆维吾尔自治区喀什地区第二人民医院肾病科, 喀什 844000

**[摘要]** **目的**·探讨终末期肾病(end-stage renal disease, ESRD)患者骨骼肌丙酮酸脱氢酶(pyruvate dehydrogenase, PDH)活性及丙酮酸脱氢酶激酶 4(pyruvate dehydrogenase kinase 4, PDK4)在骨骼肌中表达水平的变化。**方法**·收取 ESRD 患者和非慢性肾脏病(non-chronic kidney diseases, non-CKD)患者骨骼肌样本, 比较 2 组患者的临床特征, ELISA 法检测 PDH 活性, 实时荧光定量 PCR 法检测 *PDK1* ~ *PDK4* 型同工酶、*PDH* 各亚基的基因转录水平, Western blotting 检测 PDK1 和 PDK4 蛋白表达水平。**结果**·non-CKD 组和 ESRD 组患者在一般人口学资料上无明显差异, ESRD 组血浆肌酐、尿素氮显著升高(均  $P < 0.05$ ), 估算的肾小球滤过率、血红蛋白、白蛋白则显著降低(均  $P < 0.05$ )。ESRD 组骨骼肌 PDH 活性显著低于 non-CKD 组( $P = 0.014$ ), 2 组患者骨骼肌 *PDK1* ~ *PDK4* 及 *PDH* 各亚基 mRNA 转录水平无明显差异, ESRD 组 PDK4 蛋白表达量显著高于 non-CKD 对照组( $P = 0.000$ )。**结论**·ESRD 患者骨骼肌中 PDH 活性下降, 可能与 PDK4 表达上调有关。

**[关键词]** 终末期肾病; 骨骼肌; 丙酮酸脱氢酶; 丙酮酸脱氢酶激酶 4; 线粒体

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2018.03.012 **[中图分类号]** R692.5 **[文献标志码]** A

## Pyruvate dehydrogenase activity and pyruvate dehydrogenase kinase 4 expression in skeletal muscle of end-stage renal disease patients

XU Chen-qi<sup>1\*</sup>, MIN Lu-lin<sup>1\*</sup>, CHEN Xiao-huan<sup>3</sup>, LU Ren-hua<sup>1</sup>, ZHU Ming-li<sup>1</sup>, XIE Ke-wei<sup>1</sup>, QIAN Ying-ying<sup>1</sup>, GUO Xiang-jiang<sup>2</sup>, NI Zhao-hui<sup>1</sup>,  
AYIJIKEN Kasimumali<sup>3#</sup>, GU Le-yi<sup>1#</sup>

1. Molecular Cell Laboratory for Kidney Diseases, Renal Division, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China; 2. Department of Vascular Surgery, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China; 3. Department of Nephrology, Kashgar Second People's Hospital, Xinjiang Uygur Autonomous Region, Kashgar 844000, China

**[Abstract]** **Objective**·To explore the changes of pyruvate dehydrogenase (PDH) activity and pyruvate dehydrogenase kinase 4 (PDK4) expression in the end-stage renal disease (ESRD) patients' skeletal muscles. **Methods**·Skeletal muscle samples were collected from non-chronic kidney disease (non-CKD) patients and ESRD patients. PDH activity was detected by ELISA assay. Real-time qPCR was performed to examine gene transcription levels of *PDK1*~*PDK4* and *PDH* subunits. Western blotting analysis was used to detect protein expression levels of PDK1 and PDK4. **Results**·There were no demographic differences between two groups of patients. Plasma creatinine and urea nitrogen were significantly elevated in ESRD group (both  $P < 0.05$ ), while estimated glomerular filtration rate, hemoglobin and plasma albumin in ESRD group were significantly lower than those in non-CKD group (all  $P < 0.05$ ). Skeletal muscle PDH activity in ESRD group was markedly lower than that in non-CKD group ( $P = 0.014$ ). There were no differences in *PDK1*~*PDK4* and *PDH* subunits mRNA transcription levels between ESRD and non-CKD group. PDK4 protein expression was significantly higher than that in non-CKD group ( $P = 0.000$ ). **Conclusion**·The decreased PDH activity in ESRD patients' skeletal muscle may be related to up-regulation of PDK4.

**[Key words]** end-stage renal disease (ESRD); skeletal muscle; pyruvate dehydrogenase (PDH); pyruvate dehydrogenase kinase 4 (PDK4); mitochondria

慢性肾脏病(chronic kidney diseases, CKD)患者早期即出现活动能力降低, 表现为肌肉量和肌肉力量均下降<sup>[1]</sup>。随着疾病进展至终末期肾病(end-stage renal disease, ESRD)阶段, 上述临床症状逐渐加重, 其确切

机制至今不明。

肌肉分解代谢增加导致肌肉萎缩, 以及泛素-蛋白酶系统激活诱导肌肉细胞凋亡是 ESRD 患者肌肉减少已知的可能原因<sup>[2-4]</sup>。最新的研究<sup>[5-8]</sup>显示, 肾功能不全患

**[基金项目]** 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2015211C227)(Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region, 2015211C227)。

**[作者简介]** 徐辰祺(1988—), 男, 博士生; 电子信箱: chenqi\_xu\_nephro@hotmail.com。闵璐琳(1985—), 女, 住院医师, 硕士; 电子信箱: lulin0311019@hotmail.com。\* 为共同第一作者。

**[通信作者]** 顾乐怡, 电子信箱: guleyi@aliyun.com。阿依加肯·卡司木马力, 电子信箱: 15809042291@163.com。# 为共同通信作者。

者的肌肉活动能力以及线粒体功能均受到明显抑制;在ESRD小鼠肌肉细胞线粒体中,丙酮酸脱氢酶(pyruvate dehydrogenase, PDH)活性下降<sup>[8]</sup>。线粒体是细胞有氧代谢的主要细胞器,也是产生细胞能量ATP的最主要场所。葡萄糖进入三羧酸循环进行有氧代谢产生的ATP是肌肉组织的主要能量来源。丙酮酸转变成乙酰辅酶A是其进入三羧酸循环的关键步骤和限速步骤,催化该步骤的关键酶是丙酮酸脱氢酶复合体。该复合体由PDH(即E1)、二氢硫辛酰胺乙酰基转移酶(dihydrolipoamide acetyltransferase, E2)以及二氢硫辛酰胺脱氢酶(dihydrolipoamide dehydrogenase, E3)组成。丙酮酸脱氢酶复合体催化丙酮酸合成乙酰辅酶A由PDH完成。PDH的活性由丙酮酸脱氢酶激酶(pyruvate dehydrogenase kinase, PDK)和丙酮酸脱氢酶磷酸酶(pyruvate dehydrogenase phosphatase, PDP)2个调节酶进行调控<sup>[9]</sup>。目前,研究尚缺乏针对ESRD患者骨骼肌中PDH活性的研究资料,更缺乏PDK及PDP表达谱改变的研究,因此本文针对这一问题进行了初步探索。

1 材料与方法

1.1 患者筛选与样本采集

ESRD患者选自上海交通大学医学院附属仁济医院肾脏科行腹膜透析置管术而未接受过血液净化治疗的CKD5期患者,共10人。非慢性肾脏病(non-chronic kidney diseases, non-CKD)对照组患者选自上海交通大学医学院附属仁济医院血管外科因非肾脏、非肌肉疾病而接受手术治疗的患者,共10人。排除接受过血液透析或腹膜透析,有肌肉疾病、肿瘤病史,存在手术禁忌证的患者。本研究通过了上海交通大学医学院附属仁济医院和新疆维吾尔自治区喀什地区第二人民医院伦理委员会审批,所有入选患者均对本研究知情同意。ESRD患者腹直肌肌肉样本于腹透置管术中采集,non-CKD组的骨骼肌样本于相应手术(如大隐静脉剥脱术、因外伤行截肢术等)入路处采集,且患者病变部位不累及样本采集部位。所有肌肉组织样本一经取出,立即分出100 mg放置于液氮中,剩余组织于-80℃冻存,用于后续核酸和蛋白分析。

1.2 骨骼肌PDH活性测定

肌肉组织从液氮中取出后,以预冷磷酸缓冲液洗去血液,每100 mg组织加500 μL磷酸缓冲液,于冰上充分匀浆,加入蛋白酶抑制剂和氟化钠(磷酸酶抑制剂);BCA(Thermo Fisher公司)法测定样品总蛋白浓度,调整每

个样品蛋白浓度至23.7 mg/mL,加入裂解液冰上裂解后离心留取上清。使用PDH酶活性检测试剂盒(Abcam公司),用缓冲液稀释的样品以每孔100 μg蛋白加至预包被的96孔板中,室温孵育3 h,按说明书加入相应反应液,采用酶标仪动态监测450 nm处的吸光度[D(450 nm)],以100 mg蛋白每分钟[D(450 nm)]值升高的速率[ΔD/(min·100 mg)]来反映酶活性强弱。

1.3 实时荧光定量PCR检测

取适量组织于冰上匀浆,加入TRIzol裂解提取总RNA,反转录为cDNA后实时荧光定量PCR检测目的基因的转录。本研究所用引物序列详见表1。反应程序如下:95℃30 s预变性;95℃5 s,60℃30 s扩增,扩增结束读取荧光值,40个循环;95℃5 s,60℃1 min,0.11℃/s升温至95℃,读取荧光值5次/℃分析融解曲线;降温至50℃。

表1 引物序列和产物大小  
Tab 1 Sequences of the primers and expected product size

基因名称	引物序列 (5'→3')	产物长度 /bp
GAPDH	上游引物: GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT	196
	下游引物: GGCTGTTGTCATCTTCTCATGG	
PDHa1	上游引物: ACCCTGGAGTCAGTTACCGT	111
	下游引物: CCACACTGGCAAGATTGCTG	
PDHa2	上游引物: TGCTACCACTGATCCTGAGC	136
	下游引物: TTCACACGTAGCCTCCCTTT	
PDHb	上游引物: TGCAGGTGACAGTTCGTGAT	92
	下游引物: GGCAACTTCTTCTCCAAGCA	
PDK1	上游引物: GGTACGGGACAGATGCAGT	109
	下游引物: CGTGGTTGGTGTGTGAATGC	
PDK2	上游引物: CAACGTCTCTGAGGTGGTCA	127
	下游引物: GTGAATCGGCTGTTTGGAGT	
PDK3	上游引物: TGGTTCCTACAATGGCACAA	120
	下游引物: GGAAAGAGATGCGGTTGGTA	
PDK4	上游引物: AGAGGTGGAGCATTCTCGC	138
	下游引物: ATGTTGGCGAGTCTCACAGG	
PDP1	上游引物: TCCTCGTCGGGAAGAATCGT	102
	下游引物: ACTTTGGACGGGTGGAGGAT	
PDP2	上游引物: ATCTTGACCACCTCCGTGTC	119
	下游引物: CAGCGAGATGTCAGAATCCA	

1.4 免疫蛋白印迹检测

取适量组织于冰上匀浆,加入含1%蛋白酶抑制剂和1%磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液(Santa Cruz公司),提取组织总蛋白。BCA法测定样品蛋白浓度。提取的蛋白加入上样缓冲液煮沸变性后用于免疫蛋白印迹(Western blotting)检测。蛋白样品经SDS-PAGE凝胶电泳分离后

湿转移至 PVDF 膜。5% 牛血清白蛋白 (BSA) 室温封闭 2 h, 加入一抗, 4 ℃ 孵育过夜, TBST 洗膜后加入二抗, 室温孵育 1 h, TBST 洗膜后用天能化学发光扫描成像系统检测。一抗及稀释比例: 兔抗人 PDK1 和兔抗人 PDK4 (均为 1:1 000, Abcam 公司)、小鼠抗人 GAPDH (1:5 000, Proteintech Group 公司)。二抗及稀释比例: 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的山羊抗小鼠二抗和 HRP 标记的山羊抗兔二抗 (均为 1:10 000, 碧云天公司)。

1.5 统计学方法

应用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。定量资料以  $\bar{x} \pm s$  (正态分布) 或中位数 [ $Q1, Q3$ ] 表示 (非正态分布), 组

间比较采用  $t$  检验 (正态分布) 或 Mann-Whitney 检验 (非正态分布); 定性资料比较采用  $\chi^2$  检验。  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组患者的临床特征比较

ESRD 组和 non-CKD 组在人口学特征上差异无统计学意义。ESRD 组患者血浆肌酐、尿素氮显著升高 (均  $P < 0.05$ ), 估算的肾小球滤过率 (evaluated glomerular filtration rate, eGFR)、血红蛋白、白蛋白则显著降低 (均  $P < 0.05$ ) (表 2)。

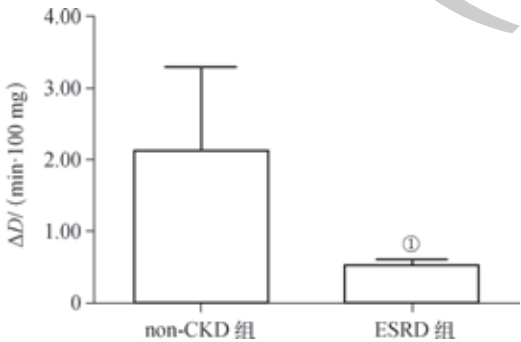
表 2 ESRD 组和 non-CKD 组患者临床特征比较  
Tab 2 Clinical characteristics comparison of non-CKD and ESRD patients

指标	ESRD 组 (N=10)	non-CKD 组 (N=10)	P 值	指标	ESRD 组 (N=10)	non-CKD 组 (N=10)	P 值
年龄 / 岁	57.00 ± 16.44	61.50 ± 15.27	0.534	生化指标			
男性 / n	7	6	1.000	血浆肌酐 / (μmol/L)	786.20 ± 231.33	62.61 ± 14.45	0.000
BMI / (kg/m <sup>2</sup> )	23.21 ± 3.04	23.71 ± 2.48	0.691	尿素氮 / (mmol/L)	30.395 ± 8.788	5.140 ± 1.050	0.000
合并症				eGFR / [mL / (min · 1.73m <sup>2</sup> )]	6.00 [4.00, 8.00]	99.02 [82.06, 137.80]	0.000
高血压病 / n	9	4	0.057	血红蛋白 / (g/L)	94.00 ± 13.50	136.40 ± 8.00	0.000
2 型糖尿病 / n	6	3	0.370	白蛋白 / (g/L)	32.73 ± 5.71	41.01 ± 3.76	0.001
肾脏原发疾病				C 反应蛋白 / (mg/L)	2.10 [0.68, 5.34]	6.60 [2.23, 24.40]	0.185
IgA 肾病 / n	3	N/A	N/A	谷草转氨酶 / (U/L)	15.00 ± 4.14	26.50 ± 17.04	0.065
狼疮性肾炎 / n	1	N/A	N/A	pH 值	7.34 ± 0.03	7.37 ± 0.04	0.156
糖尿病肾病 / n	2	N/A	N/A	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> / (mmol/L)	23.29 ± 3.08	23.62 ± 1.71	0.829
原发病不明 / n	4	N/A	N/A				

注: BMI 为体质指数; N/A 表示无或不适用。

2.2 骨骼肌 PDH 活性的检测

如图 1 所示, non-CKD 组 ( $n=10$ ) 的骨骼肌 PDH 活性显著高于 ESRD 组 ( $n=10$ ) ( $P=0.014$ )。



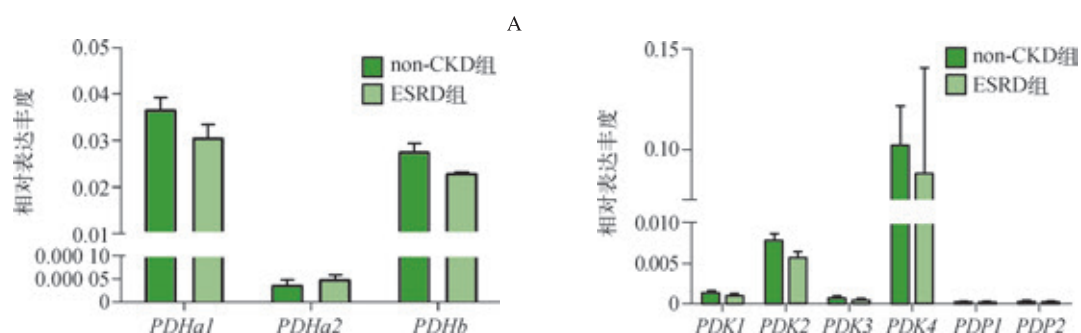
注: <sup>①</sup>  $P=0.014$ , 与 non-CKD 组比较。

图 1 骨骼肌 PDH 活性  
Fig 1 PDH activity in skeletal muscle

2.3 骨骼肌相关基因 mRNA 的检测

*PDHa1*、*PDHa2*、*PDHb* 分别编码 PDH 的 3 个亚基。目的基因的表达量均以相对于内参基因 *GAPDH* 的表达量表示。结果显示, 骨骼肌中以 *PDHa1* 和 *PDHb* 转录为主, *PDHa2* 转录水平很低, *PDHa1*、*PDHa2*、*PDHb* mRNA 表达在 non-CKD 组和 ESRD 组之间差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ ) (图 2A)。

PDK、PDP 是 PDH 活性的调节酶。实时荧光定量 PCR 结果显示, *PDK4* 在骨骼肌组织中表达丰度最高, 其余 1 ~ 3 型同工酶表达丰度远低于 *PDK4*, *PDK1* ~ *PDK4* mRNA 表达在 non-CKD 组和 ESRD 组之间差异无统计学意义。*PDP* 在骨骼肌中的表达丰度均极低 (均  $P > 0.05$ ) (图 2B)。



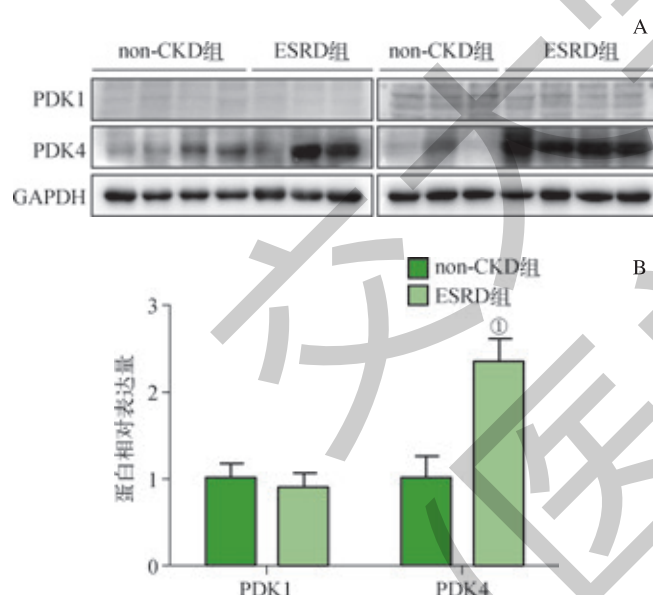
注: A. 编码 PDH 的 mRNA 转录水平; B. PDH 调节酶的 mRNA 转录水平。

图 2 骨骼肌中 PDH 及其调节酶相关基因的转录水平

Fig 2 Transcription level of PDH and its regulatory enzymes in skeletal muscle

## 2.4 骨骼肌 PDK1、PDK4 蛋白表达水平检测

PDK 磷酸化 PDH 丝氨酸调控位点使 PDH 处于失活状态。用 Western blotting 检测了骨骼肌组织 PDK1 和 PDK4 的表达。结果显示, ESRD 组 PDK4 表达显著高于 non-CKD 组 ( $P=0.000$ ), 2 组 PDK1 表达差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ) (图 3)。



注: A. 骨骼肌 PDK1 和 PDK4 蛋白条带; B. 2 组患者 PDK1 和 PDK4 表达水平的比较。①  $P=0.000$ , 与 non-CKD 组比较。

图 3 Western blotting 检测骨骼肌中 PDK1 和 PDK4 蛋白的表达水平

Fig 3 PDK1 and PDK4 expression level in skeletal muscle detected by Western blotting

## 3 讨论

本研究证实了 ESRD 患者骨骼肌中的 PDH 活性降低, 以及骨骼肌中 PDK4 的表达显著高于 non-CKD 患者, 提示 PDK4 调控 PDH 磷酸化失活可能是其活性降低的主要原因。

证实 ESRD 患者骨骼肌 PDH 活性降低具有重要意义。

最新发表的相关研究<sup>[8]</sup>在 ESRD 小鼠上观察到 PDH 活性的显著降低, 通过 PDH 激动剂二氯乙酸 (dichloroacetate, DCA) 恢复 PDH 活性后能显著恢复小鼠的运动能力。在 ESRD 患者中揭示 PDH 活性显著降低的机制, 意味着可通过寻找更多的治疗方法改善 ESRD 患者的肌肉力量, 最终改善患者的预后和相关临床症状。

PDH 丝氨酸调控位点的磷酸化和非磷酸化状态分别决定 PDH 的活化和失活<sup>[9]</sup>, 而 PDH 的磷酸化和去磷酸化受到 PDK 和 PDP 调控。PDK 催化 PDH 磷酸化使其失活, PDP 使 PDH 去磷酸化、被激活<sup>[10-11]</sup>, PDK 和 PDP 调控的平衡决定 PDH 的活性<sup>[12]</sup>。我们对编码 PDH 各亚基、PDK 和 PDP 各型同工酶的 mRNA 转录相对定量分析发现, 骨骼肌中 PDHa1 和 PDHb 的基因转录水平较高。虽然 PDK1 也被报道在骨骼肌中有一定的表达<sup>[13]</sup>, 但本研究发现 PDK2 和 PDK4 可能是骨骼肌中 PDK 的主要转录基因, 特别是 PDK4 同工酶在骨骼肌中转录水平最高, 而 PDP 的基因转录水平非常低。因此, 为进一步明确 PDH 活性的降低是否由 PDK 的磷酸化作用导致, 我们对 PDK1 和 PDK4 的蛋白表达水平进行检测; 结果发现, PDK4 的蛋白水平在 ESRD 患者肌肉中显著升高。由此推测 ESRD 患者 PDK4 表达显著升高, 使 PDH 保持高度磷酸化, 从而抑制 PDH 活性导致骨骼肌产生 ATP 减少。DCA 是 PDK 的抑制剂, 应用 DCA 可恢复 ESRD 小鼠肌肉运动能力, 这可能是通过抑制 PDK4, 从而保持 PDH 的去磷酸化, 提高肌肉线粒体利用葡萄糖产生 ATP 能力得以实现。

最新的研究<sup>[14]</sup>显示, 1 $\alpha$ , 25-二羟基维生素 D3 [1 $\alpha$ , 25 (OH) $_2$ D $_3$ ] 能够在体外实验中降低骨骼肌细胞 PDK4 和磷酸化 PDH 的表达, 同时还观察到线粒体促融合相关蛋白 OPA1 表达的增加和促分裂相关蛋白 DRP1 表达的减少。CKD 患者中 1 $\alpha$ , 25 (OH) $_2$ D $_3$  水平的降低比较常见, 这或许提示了维生素 D3 及其受体 (vitamin D3 receptor, VDR) 调控丙酮酸脱氢酶复合体活性在 ESRD 患者肌肉无力发病



机制中的作用。2011 年发表的一项 meta 分析<sup>[15]</sup>提示补充维生素 D3 或可增强肌肉力量, 也支持了这一假设。目前, 尚缺乏相关高质量的随机对照研究证实活性维生素 D3 与改善 ESRD 患者肌肉力量和活动能力的关系。

本研究中, 2 组患者在人口学特征上无明显差异。在合并症方面, ESRD 组高血压病的比例为 9/10, 而 non-CKD 组为 4/10, 可能由于病例数较少的原因, 差异无统计学意义。目前, 暂无高血压病与骨骼肌 PDH 活性和 PDK 表达的相关研究, 高血压状态是否会影响骨骼肌 PDH 活性尚不明确。本研究受样本量较小的限制, ESRD 组肾脏原发疾病仅收录到 3 种, 即 IgA 肾病、狼疮性肾炎、糖尿病肾病, 其他病理类型导致的 ESRD 是否在骨骼肌 PDH 和 PDK 表达谱上与本研究收录的病理类型有所不同暂不明确, 需要进一步扩大样本量进行探究和验证。既往的研究<sup>[16]</sup>显示, 营养缺乏是肌少症发生和进展的重要因素。在本研究中, ESRD 组的营养状况明显差于 non-CKD 组, 血红蛋白和白蛋白水平均明显低于 non-CKD 组。进而推测, 营养因素可能共同参与了 PDK4 表达上调

和 PDH 活性降低的过程。另外, 微炎症状态和代谢性酸中毒在 CKD 患者中普遍存在。有研究<sup>[17]</sup>表明, CKD 患者血浆 C 反应蛋白、白介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 水平异常升高, 这些微炎症状态是 CKD 患者肌肉萎缩、减少的重要原因<sup>[18]</sup>。代谢性酸中毒会导致肌肉蛋白分解增加、肌纤维萎缩。在本研究中, 2 组患者 C 反应蛋白水平、pH 值和  $\text{HCO}_3^-$  均未观察到有显著差异。

本研究尚存在一些不足。一是 ESRD 组 *PDK4* 的 mRNA 表达与 non-CKD 组无差异, 而蛋白质表达结果显示 ESRD 组显著增高; 其可能的机制为转录后的修饰调控, 还需进一步实验的验证和阐释。二是缺乏商品化抗体针对 PDP 进行蛋白质表达的检测, 对尿毒症时 PDP 的表达变化尚不清楚; 后续实验还需完善相关检测, 继而获得对 ESRD 患者肌肉功能更完善的评价。

综上所述, 本研究结果显示, ESRD 患者骨骼肌 PDK4 表达上调、PDH 的活性降低, 其可能是导致 ESRD 患者肌肉无力的发病机制之一。

## 参 · 考 · 文 · 献

- [1] Fried LF, Lee JS, Shlipak M, et al. Chronic kidney disease and functional limitation in older people: health, aging and body composition study[J]. J Am Geriatr Soc, 2006, 54(5): 750-756.
- [2] Johansen KL, Shubert T, Doyle J, et al. Muscle atrophy in patients receiving hemodialysis: effects on muscle strength, muscle quality, and physical function[J]. Kidney Int, 2003, 63(1): 291-297.
- [3] Du J, Wang X, Miereles C, et al. Activation of caspase-3 is an initial step triggering accelerated muscle proteolysis in catabolic conditions[J]. J Clin Invest, 2004, 113(1): 115-123.
- [4] Wang XH, Zhang L, Mitch WE, et al. Caspase-3 cleaves specific 19 S proteasome subunits in skeletal muscle stimulating proteasome activity[J]. J Biol Chem, 2010, 285(28): 21249-21257.
- [5] Joyner MJ, Coyle EF. Endurance exercise performance: the physiology of champions[J]. J Physiol, 2008, 586(1): 35-44.
- [6] Tadaishi M, Miura S, Kai Y, et al. Skeletal muscle-specific expression of PGC-1 $\alpha$ -b, an exercise-responsive isoform, increases exercise capacity and peak oxygen uptake[J]. PLoS One, 2011, 6(12): e28290.
- [7] Kosmadakis GC, Bevington A, Smith AC, et al. Physical exercise in patients with severe kidney disease[J]. Nephron Clin Pract, 2010, 115(1): c7-c16.
- [8] Tamaki M, Miyashita K, Wakino S, et al. Chronic kidney disease reduces muscle mitochondria and exercise endurance and its exacerbation by dietary protein through inactivation of pyruvate dehydrogenase[J]. Kidney Int, 2014, 85(6): 1330-1339.
- [9] Linn TC, Pettit FH, Reed LJ.  $\alpha$ -Keto acid dehydrogenase complexes. X. regulation of the activity of the pyruvate dehydrogenase complex from beef kidney mitochondria by phosphorylation and dephosphorylation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1969, 62(1): 234-241.
- [10] Yeaman SJ, Hutcheson ET, Roche TE, et al. Sites of phosphorylation on pyruvate dehydrogenase from bovine kidney and heart[J]. Biochemistry, 1978, 17(12): 2364-2370.
- [11] Teague WM, Pettit FH, Wu TL, et al. Purification and properties of pyruvate dehydrogenase phosphatase from bovine heart and kidney[J]. Biochemistry, 1982, 21(22): 5585-5592.
- [12] Sugden MC, Holness MJ. Recent advances in mechanisms regulating glucose oxidation at the level of the pyruvate dehydrogenase complex by PDKs[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2003, 284(5): E855-E862.
- [13] Hurtado E, Cilleros V, Just L, et al. Synaptic activity and muscle contraction increases PDK1 and PKC  $\beta$ I phosphorylation in the presynaptic membrane of the neuromuscular junction[J]. Front Mol Neurosci, 2017, 10: 270.
- [14] Ryan ZC, Craig TA, Folmes CD, et al. 1 $\alpha$ , 25-Dihydroxyvitamin D3 regulates mitochondrial oxygen consumption and dynamics in human skeletal muscle cells[J]. J Biol Chem, 2016, 291(3): 1514-1528.
- [15] Murad MH, Elamin KB, Abu Elnour NO, et al. Clinical review: the effect of vitamin D on falls: a systematic review and meta-analysis[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2011, 96(10): 2997-3006.
- [16] 关玮, 陶晔璇, 蔡骏. 老年性肌少症 (Sarcopenia) 与营养干预 [J]. 中华临床营养杂志, 2012, 20(3): 162-165.
- [17] Mak RH, Ikizler AT, Kovesdy CP, et al. Wasting in chronic kidney disease[J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2011, 2(1): 9-25.
- [18] 任红旗, 龚德华. 尿毒症肌少症的发病机制和治疗 [J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2015, 24(2): 181-185.

[收稿日期] 2018-12-27

[本文编辑] 瞿麟平

