

· 基础研究 ·

胸腺肽 $\alpha 1$ 对衰老小鼠肌肉减少症的调控机制

亚森江·买买提, 买买提吐尔洪·吐尔逊, 苏婷, 穆克达斯·阿布力提甫, 祖力菲亚·阿吉木, 徐红*

(新疆维吾尔自治区人民医院老年医学中心, 乌鲁木齐 830001)

【摘要】目的 探讨胸腺肽 $\alpha 1$ 对自噬接头蛋白 SQSTM1/p62 和衰老小鼠肌肉减少症的调节作用。**方法** 将小鼠成肌细胞 (C2C12) 分为对照组、地塞米松组、地塞米松+胸腺肽 $\alpha 1$ 组、地塞米松+胸腺肽 $\alpha 1$ +p62 沉默组。采用细胞计数试剂盒-8 检测各组细胞增殖活性 (450 nm 波长的 OD 值) 的变化, 并检测各组 C2C12 的肌管细胞形成情况。另外, 将 30 只 SAMP8 快速衰老小鼠用随机数表法分为 SAMP8 组、胸腺肽 $\alpha 1$ +SAMP8 组及胸腺肽 $\alpha 1$ +p62 沉默+SAMP8 组, 每组小鼠 10 只。检测各组小鼠的瘦体质量 (LBM) 与体质量 (BM) 的比值 [LBM/BM (%)]。采用 Western blotting 法检测各组 C2C12 和小鼠肌肉组织中 p62、肌球蛋白原 D (MyoD)、肌原细胞转录因子 (MyoG)、肌球蛋白重链 (MyHC)、肌肉 RING-指蛋白 1 (MuRF1) 和肌肉萎缩相关蛋白 (MAFbx) 的表达。采用 GraphPad PRISM 5.01 软件进行数据分析。根据数据类型, 组间比较采用 *t* 检验。**结果** 与对照组比较, 地塞米松组细胞的增殖活性和肌管细胞形成能力均显著下调 (均 $P<0.05$), p62、MyoD、MyoG、MyHC 的表达量都减少 (均 $P<0.05$), 但 MuRF1 和 MAFbx 的表达量均增加 (均 $P<0.05$)。与地塞米松组比较, 地塞米松+胸腺肽 $\alpha 1$ 组的增殖活性和肌管细胞形成能力均显著上调 (均 $P<0.05$), 而且 p62、MyoD、MyoG、MyHC 的表达量也都增加 (均 $P<0.05$), MuRF1 和 MAFbx 的表达量均减少 (均 $P<0.05$)。与地塞米松+胸腺肽 $\alpha 1$ 组比较, 地塞米松+胸腺肽 $\alpha 1$ +p62 沉默组的肌管细胞形成能力显著降低 (均 $P<0.05$), 而且 p62、MyoD、MyoG、MyHC 的表达量也都减少 (均 $P<0.05$), 但是 MuRF1 和 MAFbx 的表达量均增加 (均 $P<0.05$)。与 SAMP8 组比较, 胸腺肽 $\alpha 1$ +SAMP8 组的 LBM/BM 比值显著上调 ($P<0.05$), p62 的表达量增加 (均 $P<0.05$), 但 MuRF1 和 MAFbx 的表达量均减少 (均 $P<0.05$)。与胸腺肽 $\alpha 1$ +SAMP8 组比较, 胸腺肽 $\alpha 1$ +p62 沉默+SAMP8 组的 LBM/BM 比值显著下调 ($P<0.05$), p62 的表达量减少 (均 $P<0.05$), 但 MuRF1 和 MAFbx 的表达量均增加 (均 $P<0.05$)。**结论** 胸腺肽 $\alpha 1$ 通过激活 SQSTM1/p62 信号从而缓解衰老小鼠的肌肉减少症。

【关键词】 胸腺肽 $\alpha 1$; SQSTM1/p62; 自噬; 衰老; 肌肉减少症

【中图分类号】 R681; Q95-33

【文献标志码】 A

【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2024.02.026

Regulatory mechanism of thymosin $\alpha 1$ on sarcopenia in aging mice

Yasenjiang · Maimaiti, Maimaituerhong · Tuerxun, Su Ting, Mukedasi · Abulitifu, Zulifiya · Ajimu, Xu Hong*

(Geriatric Center, Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumqi 830001, China)

【Abstract】Objective To investigate the regulatory effects of thymosin $\alpha 1$ on autophagy adaptor protein SQSTM1/p62 and on sarcopenia in the aging mice. **Methods** Mouse myoblasts (C2C12) were divided into control group, dexamethasone group, dexamethasone+thymosin $\alpha 1$ group, and dexamethasone+thymosin $\alpha 1$ +p62 silence group. In each group, the proliferative activity (OD at 450 nm wavelength) of cells was examined using cell counting kit-8, and the formation of C2C12 muscle tube cells was detected. In addition, 30 SAMP8 rapidly aging mice were divided into SAMP8 group, thymosin $\alpha 1$ +SAMP8 group, and thymosin $\alpha 1$ +p62 silence+SAMP8 group using random number table method, with 10 mice in each group. The ratio of lean body mass (LBM) to body mass (BM) [LBM/BM (%)] of each group was detected. The expressions of p62, myosin D (MyoD), myogon transcription factor (MyoG), myosin heavy chain (MyHC), muscle ring-finger protein 1 (MuRF1) and muscle atrophy related protein (MAFbx) in C2C12 and muscle tissues were detected by Western blotting. GraphPad PRISM 5.01 was used for statistical analysis. According to the data type, comparison between groups was preformed using *t* test. **Results** Compared with the control group, the proliferative activity and myotubule cell formation of dexamethasone group were significantly down-regulated ($P<0.05$ for both), the expression of p62,

收稿日期: 2023-06-12; 接受日期: 2023-09-19

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2021D01C164)

通信作者: 徐红, E-mail: 1766332511@qq.com

MyoD, MyoG and MyHC was decreased ($P<0.05$ for all), but the expression of MuRF1 and MAFbx was increased ($P<0.05$ for both). Compared with dexamethasone group, the proliferative activity and myoduct cell formation of dexamethasone+thymosin $\alpha 1$ group were significantly up-regulated ($P<0.05$ for both), and the expression of p62, MyoD, MyoG and MyHC was increased ($P<0.05$ for all), while the expression of MuRF1 and MAFbx was decreased ($P<0.05$ for both). Compared with dexamethasone+thymosin $\alpha 1$ group, the myoduct cell formation of dexamethasone+thymosin $\alpha 1$ +p62 silence group was significantly decreased ($P<0.05$), and the expression of p62, MyoD, MyoG and MyHC was also decreased ($P<0.05$ for all). However, the expression of MuRF1 and MAFbx was increased ($P<0.05$ for both). Compared with SAMP8 group, the LBM/BM ratio of thymosin $\alpha 1$ +SAMP8 group was significantly up-regulated ($P<0.05$), and the expression of p62 was increased ($P<0.05$), but the expression of MuRF1 and MAFbx was decreased ($P<0.05$ for both). Compared with thymosin $\alpha 1$ +SAMP8 group, the LBM/BM ratio in+thymosin $\alpha 1$ +p62 silence+SAMP8 group was significantly decreased ($P<0.05$), and the expression of p62 was decreased ($P<0.05$). But the expression of MuRF1 and MAFbx was increased ($P<0.05$ for both). **Conclusion** Thymosin $\alpha 1$ alleviates sarcopenia in the aging mice by activating SQSTM1/p62 signal.

【Key words】 thymosin $\alpha 1$; SQSTM1/p62; autophagy; aging; sarcopenia

This work was supported by Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2021D01C164).

Corresponding author: Xu Hong, E-mail: 1766332511@qq.com

肌少症是一种以运动能力降低和肌肉量减少为特征的疾病,该病可增加人们致残和致死的风险^[1,2]。已知肌肉纤维在 40 岁后加速流失,到 80 岁时,肌肉将减少近 30%,且难以有效治疗,严重影响患者的生活质量^[3]。因此,亟待深入研究有效治疗肌少症的药物。胸腺肽 $\alpha 1$ 是一种从小牛胸腺中分离出来高度保守的小肽段^[4],在不同的生理和病理条件下(如感染、癌症、免疫缺陷、衰老),胸腺肽 $\alpha 1$ 具有恢复体内平衡的特殊能力,根据宿主的炎症或免疫功能障碍状态,胸腺肽 $\alpha 1$ 作为多任务蛋白发挥作用^[5,6]。然而,胸腺肽 $\alpha 1$ 对衰老导致的肌少症的作用并不清楚。本研究在地塞米松诱导的成肌细胞肌管直径减少模型和快速衰老型小鼠(SAMP8 小鼠)中探讨胸腺肽 $\alpha 1$ 对肌肉生成和肌肉萎缩的治疗作用,报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究材料

小鼠成肌细胞(C2C12)购于武汉普诺赛生物科技有限公司;地塞米松(dexamethasone, DEX)和胸腺肽 $\alpha 1$ 购于美国 Sigma 公司;杜氏改良培养基(Dulbecco's modified eagle medium, DMEM)和 10% 胎牛血清购于美国 Gibco 公司;30 只无特定病原级别(specified pathogen free, SPF)的雄性 SAMP8 小鼠(28.20 ± 1.80)g 购于北京华阜康生物科技股份有限公司;Lipofectamine 2000 购于美国 Invitrogen 公司;小干扰 RNA 针对沉默 p62 的重组载体(p62 沉默载体)购于上海吉玛公司;细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)购于上海碧云天生物科技有限公司;SQSTM1/p62 的第一抗体购于英国 Abcam 公司;肌球蛋白原 D(myosinogen D, MyoD)、肌原细胞转录因子(myogenin, MyoG)、肌球蛋白重链(myosin heavy chain, MyHC)、肌肉 RING-指蛋白 1

(muscle ring-finger protein 1, MuRF1)、肌肉萎缩相关蛋白(muscle atrophy related protein, MAFbx)的第一抗体均购于英国 Abcam 公司,所有对应的第二抗体均购于英国 Abcam 公司;TRIzol 试剂购于美国 Invitrogen 公司;聚偏二氟乙烯膜购于美国 Millipore 公司。

1.2 方法

1.2.1 C2C12 的培养和分组 C2C12 在 37℃ 的 5% CO₂ 培养箱中进行培养,培养基为含 10% 胎牛血清的 DMEM,每 2 天更换一次培养基。为了诱导 C2C12 肌管形成,细胞在 2% 马血清诱导下培养 6 d,然后将细胞分为 4 组,包括对照组(PBS 处理)、地塞米松组(50 $\mu\text{mol/L}$ 地塞米松处理)、地塞米松+胸腺肽 $\alpha 1$ 组(50 $\mu\text{mol/L}$ 地塞米松联合 50 ng/ml 胸腺肽 $\alpha 1$ 处理)及地塞米松+胸腺肽 $\alpha 1$ +p62 沉默组(50 $\mu\text{mol/L}$ 地塞米松、50 ng/ml 胸腺肽 $\alpha 1$ 、联合 p62 沉默载体和 Lipofectamine 2000 混合处理),每组各处理 24 h。所有各组的细胞在 37℃、5% CO₂ 的稳定环境中培养。用显微镜标尺策略各组细胞肌管的直径。

1.2.2 CCK-8 检测各组细胞的增殖活性 根据生产商提供的说明,将处理好的对照组、地塞米松组、地塞米松+胸腺肽 $\alpha 1$ 组的 C2C12 接种于 96 孔板(5×10^3 个细胞/孔)中过夜,然后与 10 μl CCK-8 溶液在 37℃ 下反应 3 h。随后,用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度(相对 OD 值)来表示细胞活力。

1.2.3 快速衰老 SAMP8 小鼠治疗和分组 将 30 只雄性 SAMP8 小鼠按照随机数表法分为 SAMP8 组、SAMP8+胸腺肽 $\alpha 1$ 组、胸腺肽 $\alpha 1$ +p62 沉默+SAMP8 组,每组 10 只。每组的处理方法如下:(1) SAMP8 组的 SAMP8 小鼠接受静脉注射 PBS;(2) 胸腺肽 $\alpha 1$ +SAMP8 组的 SAMP8 小鼠静脉注射 10 mg/kg 的胸

腺肽 α1; (3) 胸腺肽 α1+p62 沉默+SAMP8 组的 SAMP8 小鼠静脉注射 10 mg/kg 的胸腺肽 α1 和 5 μg/kg p62 沉默载体。

所有动物每天注射 1 次,注射 7 d,第 7 天对每组小鼠进行瘦体质量(lean body mass, LBM)和总体质量的测量,随后对所有动物进行安乐死,取小鼠比目鱼肌组织用于 Western blotting 实验检测。本研究所有的动物实验通过新疆维吾尔自治区人民医院伦理委员会的批准(伦理审查号:202207024)。

1.2.4 Western blotting 用放射免疫沉淀分析(radio-immunoprecipitation assay, RIPA)缓冲液裂解对照组、地塞米松组、地塞米松+胸腺肽 α1 组、地塞米松+胸腺肽 α1+p62 沉默组细胞和 SAMP8 组、SAMP8+胸腺肽 α1 组、p62 沉默+胸腺肽 α1+SAMP8 组小鼠肌肉组织的匀浆液。用二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)法定量提取液的浓度。将 20 μg 蛋白样品用聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)凝胶分离,转移到聚偏二氟乙烯膜上,用 5%脱脂牛奶密封 1 h。将膜与一抗在 4℃ 孵育 24 h,一抗包括 p62 (1:1 000)、MyoD (1:1 000)、MyoG (1:1 000)、MyHC (1:1 000)、MuRF1 (1:1 000)、MAFbx (1:500)。将膜与辣根过氧化物酶(horse radish peroxidase, HRP)偶联的山羊抗兔 IgG (1:2 000)一起孵育 1 h。与 HRP 偶联的二抗在 37℃ 孵育 2 h。最后,应用电化学发光(electrochemiluminescence, ECL)试剂显示蛋白条带,并用 ImageJ 软件分析每个条带的灰度值。

1.3 统计学处理

采用 GraphPad PRISM 5.01 统计软件进行数据分析。计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间采用 *t* 检验;多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),并进行 LSD-*t* 多重比较。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胸腺肽 α1 对小鼠成肌细胞 C2C12 增殖活性的影响

与对照组(1.00±0.13)比较,地塞米松组的增殖活性(0.82±0.09)降低,差异有统计学意义(*P*<0.05)。与地塞米松组(0.82±0.09)比较,地塞米松+胸腺肽 α1 组增殖活性(1.46±0.17)增加,差异有统计学意义(*P*<0.05)。

2.2 胸腺肽 α1 通过激活自噬活性抑制性信号 SQSTM1/p62 对小鼠成肌细胞肌管形成的影响

与对照组比较,地塞米松组中 p62 的表达水平

显著降低,差异有统计学意义(*P*<0.05);与地塞米松组比较,地塞米松+胸腺肽 α1 组中 p62 的表达水平显著增加,差异有统计学意义(*P*<0.05);与地塞米松+胸腺肽 α1 组比较,地塞米松+胸腺肽 α1+p62 沉默组中 p62 的表达水平显著降低,差异有统计学意义(*P*<0.05;图 1,表 1)。

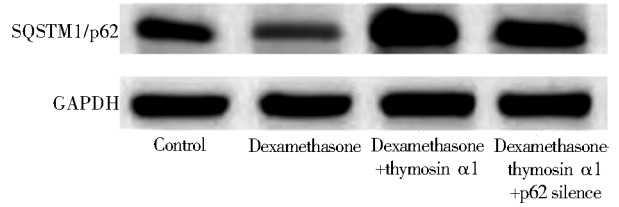


图 1 Western blotting 检测自噬活性抑制信号 SQSTM1/p62 的表达

Figure 1 Western blotting detection of the expression of autophagy inhibitory signal SQSTM1/p62
GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

表 1 4 组小鼠成肌细胞中 SQSTM1/p62 表达水平的比较

Table 1 Comparison of SQSTM1/p62 expression levels of mouse myoblasts in four groups ($\bar{x} \pm s$)	
Group	SQSTM1/p62
Control	1.00±0.02
Dexamethasone	0.32±0.04 [*]
Dexamethasone+thymosin α1	4.13±0.19 ^{**}
Dexamethasone+thymosin α1+p62 silence	1.59±0.25 ^Δ

Compared with control group, ^{*}*P*<0.05; compared with dexamethasone group, [#]*P*<0.05; compared with dexamethasone + thymosin α1 group, ^Δ*P*<0.05.

2.3 胸腺肽 α1 对小鼠成肌细胞肌管形成的影响

与对照组比较,地塞米松组的肌管直径显著减少,差异有统计学意义(*P*<0.05);与地塞米松组比较,地塞米松+胸腺肽 α1 组肌管细胞形成的肌管直径显著增加,差异有统计学意义(*P*<0.05);与地塞米松+胸腺肽 α1 组比较,地塞米松+胸腺肽 α1+p62 沉默组的肌管直径显著减少,差异有统计学意义(*P*<0.05;表 2)。

表 2 4 组小鼠成肌细胞所形成肌管直径的比较

Table 2 Comparison of myoduct diameter of mice myoblasts in 4 groups (μm , $\bar{x} \pm s$)	
Group	Myoduct diameter
Control	24.32±3.66
Dexamethasone	15.20±1.89 [*]
Dexamethasone+thymosin α1	42.14±5.91 ^{**}
Dexamethasone+thymosin α1+p62 silence	18.28±1.85 ^Δ

Compared with control group, ^{*}*P*<0.05; compared with dexamethasone group, [#]*P*<0.05; compared with dexamethasone + thymosin α1 group, ^Δ*P*<0.05.

2.4 胸腺肽 α1 通过激活 SQSTM1/p62 信号对分化相关蛋白和肌少症相关蛋白表达的影响

与对照组比较,地塞米松组 MyoD、MyoG、MyHC 的表达水平显著降低,而 MuRF1 和 MAFbx 的表达水平显著增加,差异均有统计学意义($P<0.05$);与地塞米松组比较,地塞米松+胸腺肽 α1 组 MyoD、MyoG、MyHC 的表达水平显著增加,而 MuRF1 和 MAFbx 表达水平均显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$);与地塞米松+胸腺肽 α1 组比较,地塞米松+胸腺肽 α1+p62 沉默组 MyoD、MyoG、MyHC 的表达水平显著降低,而 MuRF1 和 MAFbx 表达水平均显著增加,差异有统计学意义($P<0.05$;图 2,表 3)。

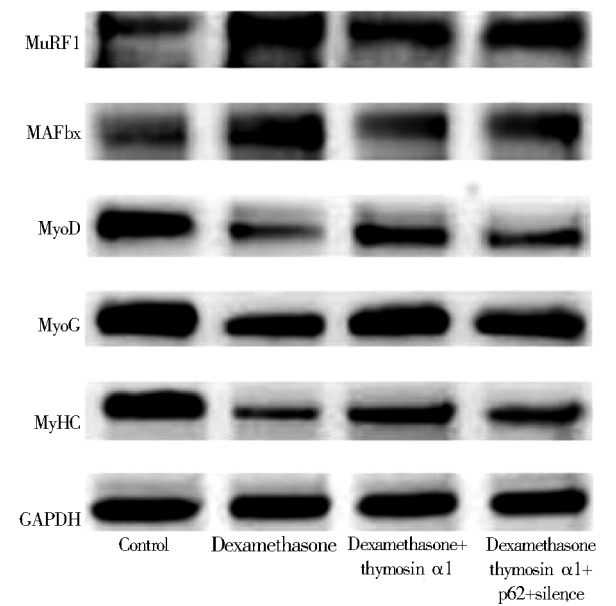


图 2 C2C12 细胞中细胞分化和肌少症相关蛋白的表达
Figure 2 Expression of proteins associated with cell differentiation and sarcopenia in C2C12 cells
MuRF1: muscle ring-finger protein 1; MAFbx: muscle atrophy related protein; MyoD: myosinogen D; MyoG: myogenin; MyHC: myosin heavy chain; GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

表 3 4 组小鼠成肌细胞中 MuRF1、MAFbx、MyoD、MyoG 及 MyHC 表达的比较
Table 3 Comparison of expression levels of MuRF1, MAFbx, MyoD, MyoG and MyHC of mouse myoblasts in four groups ($\bar{x}\pm s$)

Group	MuRF1	MAFbx	MyoD	MyoG	MyHC
Control	1.00±0.06	1.00±0.09	1.00±0.10	1.00±0.05	1.00±0.12
Dexamethasone	5.88±0.19 [*]	2.19±0.30 [*]	0.22±0.04 [*]	0.43±0.07 [*]	0.17±0.02 [*]
Dexamethasone+thymosin α1	1.50±0.22 ^{**}	1.25±0.13 ^{**}	0.75±0.01 ^{**}	0.81±0.04 ^{**}	0.59±0.06 ^{**}
Dexamethasone+thymosin α1+p62 silence	2.20±0.06 [△]	1.98±0.25 [△]	0.34±0.15 [△]	0.58±0.02 [△]	0.33±0.05 [△]

Compared with control group, ^{*} $P<0.05$; compared with dexamethasone group, [#] $P<0.05$; compared with dexamethasone+thymosin α1 group, [△] $P<0.05$. MuRF1: muscle ring-finger protein 1; MAFbx: muscle atrophy related protein; MyoD: myosinogen D; MyoG: myogenin; MyHC: myosin heavy chain.

2.5 胸腺肽 α1 通过激活自噬活性抑制信号 SQSTM1/p62 抑制 SAMP8 快速衰老小鼠的肌少症

与 SAMP8 组比较,胸腺肽 α1+SAMP8 组的 p62 显著上调,差异有统计学意义($P<0.05$);与胸腺肽 α1+SAMP8 组比较,胸腺肽 α1+p62 沉默+SAMP8 组的 p62 显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$);与 SAMP8 组比较,胸腺肽 α1+SAMP8 组的瘦体质量(lean body mass, LBM)/体质量(body mass, BM)占比显著上调,差异有统计学意义($P<0.05$);与胸腺肽 α1+SAMP8 组比较,胸腺肽 α1+p62 沉默+SAMP8 组的 LBM/BM 占比显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$);与 SAMP8 组比较,胸腺肽 α1+SAMP8 组的 MuRF1 和 MAFbx 的表达水平显著下调,差异有统计学意义(均 $P<0.05$);与胸腺肽 α1+SAMP8 组比较,胸腺肽 α1+p62 沉默+SAMP8 组的 MuRF1 和 MAFbx 的表达水平显著上调,差异有统计学意义(均 $P<0.05$;图 3,表 4)。

3 讨论

骨骼肌占人体质量的 40% 以上,在生命中承担着重要的体力、能量消耗和代谢任务,但是衰老引起的肌肉萎缩和减少导致活动能力下降、跌倒的风险增加,最终影响生活质量;因此,肌肉萎缩也会增加肌少症发病率和死亡率^[7]。此外,作为重要的内分泌器官,肌肉功能障碍也可引起肝脏和脂肪代谢紊乱。因此,预防或延缓肌肉萎缩的发生非常重要。然而,肌少症目前还没有有效的治疗方法^[8]。在本研究中,胸腺肽 α1 在体内和体外均能有效改善肌少症相关特征;其中胸腺肽 α1 可以逆转因地塞米松诱导所导致的成肌细胞肌管直径减少,上调成肌相关蛋白 MyoD、MyoG、MyHC 的表达。而在体内,胸腺肽 α1 显著抑制了衰老小鼠的肌少症相关蛋白 MuRF1、MAFbx 的表达并提高了小鼠瘦体质量在总体质量中的占比。这说明胸腺肽 α1 改善了衰老导致的肌少症。

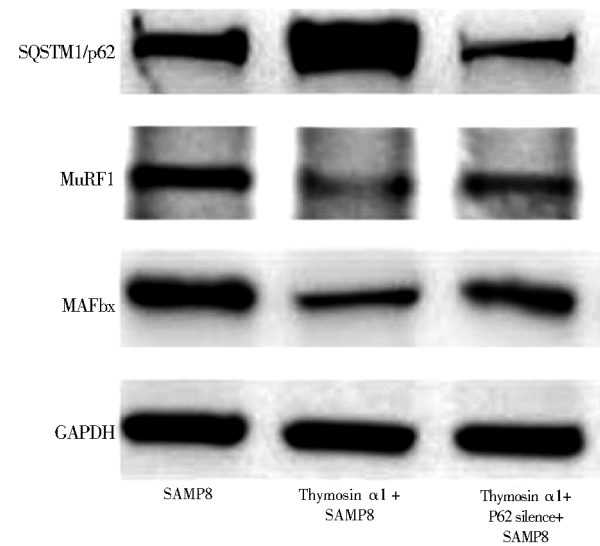


图3 Western blotting 检测胸腺肽 α1 治疗后 SAMP8 小鼠中 p62 和肌少症相关蛋白 MuRF1、MAFbx 的表达
Figure 3 Western blotting analysis of p62 and sarcopenia related proteins MuRF1 and MAFbx in SAMP8 mice after thymosin α1 treatment

MuRF1: muscle ring-finger protein 1; MAFbx: muscle atrophy related protein; GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

表4 胸腺肽 α1 治疗后 SAMP8 小鼠中 p62 和肌少症相关蛋白 MuRF1、MAFbx 的相对表达水平

Table 4 Relative expression levels of p62 and sarcopenia related proteins MuRF1 and MAFbx in SAMP8 mice after thymosin α1 treatment (n = 10, $\bar{x} \pm s$)

Group	LBM/BM (%)	p62	MuRF1	MAFbx
SAMP8	62.52±5.83	1.00±0.10	1.00±0.06	1.00±0.02
Thymosin α1+SAMP8	71.21±3.59*	4.01±0.28*	0.25±0.03*	0.15±0.02*
Thymosin α1+p62 silence SAMP8	67.62±4.77**	0.22±0.15**	0.69±0.10**	0.72±0.14**

Compared with SAMP8 group, * P<0.05; compared with Thymosin α1+SAMP8 group, # P<0.05. LBM/BM: lean body mass/body mass; MuRF1: muscle ring-finger protein 1; MAFbx: muscle atrophy related protein.

地塞米松是一种常见的糖皮质激素药物,用于治疗多种炎症性疾病^[9]。糖皮质激素对骨骼肌的作用是一把双刃剑。一方面,糖皮质激素通过协调葡萄糖、脂质和蛋白质的代谢来维持代谢平衡;另一方面,长期和高剂量使用糖皮质激素可能导致许多被动效应,包括肌少症^[10,11]。在使用类固醇药物超过4周的患者中,非炎症肌病的发生率超过50%^[12]。由于导致肌少症的病因的多因素变化,肌少症的潜在发病机制尚不完全清楚。目前的研究发现,地塞米松诱导活性氧上调,通过糖皮质激素受体激活泛素-蛋白酶体和溶酶体途径,导致肌肉萎

缩^[13]。本研究中,给药地塞米松导致成肌细胞的肌管直径减少,且肌少症相关蛋白 MuRF1 和 MAFbx 的表达都显著增加,这表明体外地塞米松处理成肌细胞可以形成肌少症的细胞特征。另外,地塞米松组中成肌相关蛋白 MyoD、MyoG、MyHC 的表达明显减少,而当单独使用胸腺肽 α1 治疗后,肌管直径和成肌相关蛋白 MyoD、MyoG、MyHC 的表达都明显增加,而肌少症相关蛋白 MuRF1 和 MAFbx 的表达都减少。已知 MyoD、MyoG、MyHC 等是肌生成的标志物和关键调节因子^[14]。MuRF1 和 MAFbx 则是与肌肉萎缩相关的蛋白,研究表明,MuRF1 和 MAFbx 水平在肌少症的早期上调,并在整个肌肉萎缩期保持高水平。MuRF1 和 MAFbx 的敲除对小鼠去神经支配诱导的肌肉萎缩具有保护作用^[15,16]。这表明了地塞米松诱导的体外肌少症可以被胸腺肽 α1 所部分逆转。

自噬是真核生物细胞质中极为保守的分解代谢过程,异常细胞器被转运到溶酶体中降解,进行细胞器的再循环和更新。因此,自噬是维持细胞稳态所必需的,在代谢、结构重建、生长发育中起着重要作用^[17]。已有研究表明,自噬的功能状态与骨骼肌萎缩密切相关,自噬过度和自噬不足均可导致肌肉萎缩^[18]。本研究检测到无论地塞米松诱导成肌细胞还是 SAMP8 快速衰老小鼠,只要经过胸腺肽 α1 的治疗,均可以显著提高自噬活性抑制信号 SQSTM1/p62 的表达。而当沉默 p62 后,则逆转了因胸腺肽 α1 治疗对 MyoD、MyoG、MyHC 的表达促进作用,并且明显抑制小鼠的 MuRF1 和 MAFbx 的表达以及显著减少 LBM 在总体质量中的占比。这表明,抑制细胞自噬的活性是胸腺肽 α1 治疗肌少症中必不可少的过程。

综上所述,本研究发现胸腺肽 α1 能有效抑制肌管和肌肉萎缩。进一步的机制探索证实,胸腺肽 α1 通过激活成肌细胞和衰老小鼠体内的自噬活性抑制的信号 SQSTM1/p62 从而发挥改善肌少症的作用。本研究为衰老导致的肌少症提供了有前途的治疗靶点。

【参考文献】

[1] Li C, Yu K, Shyh-Chang N, et al. Pathogenesis of sarcopenia and the relationship with fat mass: descriptive review[J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2022, 13 (2): 781 - 794. DOI: 10.1002/jcsm.12901.

[2] Petermann-Rocha F, Balntzi V, Gray SR, et al. Global prevalence of sarcopenia and severe sarcopenia: a systematic review and

- meta-analysis[J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2022, 13(1): 86–99. DOI: 10.1002/jcsm.12783.
- [3] Yin L, Li N, Jia W, *et al.* Skeletal muscle atrophy: from mechanisms to treatments[J]. Pharmacol Res, 2021, 172: 105807. DOI: 10.1016/j.phrs.2021.105807.
- [4] Bock-Marquette I, Maar K, Maar S, *et al.* Thymosin beta-4 denotes new directions towards developing prosperous anti-aging regenerative therapies[J]. Int Immunopharmacol, 2023, 116: 109741. DOI: 10.1016/j.intimp.2023.109741.
- [5] Dominari A, Hathaway Iii D, Pandav K, *et al.* Thymosin alpha 1: a comprehensive review of the literature[J]. World J Virol, 2020, 9(5): 67–78. DOI: 10.5501/wjv.v9.i5.67.
- [6] Matteucci C, Nepravishta R, Argaw-Denboba A, *et al.* Thymosin α 1 interacts with Galectin-I modulating the β -galactosides affinity and inducing alteration in the biological activity[J]. Int Immunopharmacol, 2023, 118: 110113. DOI: 10.1016/j.intimp.2023.110113.
- [7] Fry CS, Drummond MJ, Glynn EL, *et al.* Aging impairs contraction-induced human skeletal muscle mTORC1 signaling and protein synthesis[J]. Skelet Muscle, 2011, 1(1): 11. DOI: 10.1186/2044-5040-1v11.
- [8] Geng H, Song Q, Cheng Y, *et al.* MicroRNA 322 aggravates dexamethasone-induced muscle atrophy by targeting IGF1R and INSR[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(3): 1111. DOI: 10.3390/ijms21031111.
- [9] 闫晓红, 薄建萍. 呼出气一氧化氮在下气道慢性炎症疾病中的评估价值[J]. 内科理论与实践, 2022, 17(5): 418. DOI: 10.16138/j.1673-6087.2022.05.015.
- [10] Wang BY, Hsiao AW, Wong N, *et al.* Is dexamethasone-induced muscle atrophy an alternative model for naturally aged sarcopenia model? [J]. J Orthop Translat, 2023, 39: 12–20. DOI: 10.1016/j.jot.2022.11.005.
- [11] Hah YS, Lee WK, Lee S, *et al.* β -Sitosterol attenuates dexamethasone-induced muscle atrophy *via* regulating FoxO1-dependent signaling in C2C12 cell and mice model[J]. Nutrients, 2022, 14(14): 2894. DOI: 10.3390/nu14142894.
- [12] Nakamura Y, Miyaki S, Ishitobi H, *et al.* Mesenchymal-stem-cell-derived exosomes accelerate skeletal muscle regeneration [J]. FEBS Lett, 2015, 589(11): 1257–1265. DOI: 10.1016/j.febslet.2015.03.031.
- [13] Lee H, Kim YI, Nirmala FS, *et al.* Chrysanthemum zawadskii herbich attenuates dexamethasone-induced muscle atrophy through the regulation of proteostasis and mitochondrial function[J]. BioMed Pharmacother, 2021, 136: 111226. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111226.
- [14] Kitada M, Koya D. Autophagy in metabolic disease and ageing[J]. Nat Rev Endocrinol, 2021, 17(11): 647–661. DOI: 10.1038/s41574-021-00551-9.
- [15] Fan D, Wang Y, Liu B, *et al.* Hypoglycemic drug liraglutide alleviates low muscle mass by inhibiting the expression of MuRF1 and MAFbx in diabetic muscle atrophy[J]. J Chin Med Assoc, 2023, 86(2): 166–175. DOI: 10.1097/JCMA.0000000000000807.
- [16] Chen LL, Xia LY, Zhang JP, *et al.* Saikosaponin D alleviates cancer cachexia by directly inhibiting STAT3[J]. Phytother Res, 2023, 37(3): 809–819. DOI: 10.1002/ptr.7676.
- [17] Liang J, Zeng Z, Zhang Y, *et al.* Regulatory role of exercise-induced autophagy for sarcopenia[J]. Exp Gerontol, 2020, 130: 110789. DOI: 10.1016/j.exger.2019.110789.
- [18] Zeng Z, Liang J, Wu L, *et al.* Exercise-induced autophagy suppresses sarcopenia through Akt/mTOR and Akt/FoxO3a signal pathways and AMPK-mediated mitochondrial quality control[J]. Front Physiol, 2020, 11:583478. DOI: 10.3389/fphys.2020.583478.

(编辑: 温玲玲)