

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.17.015

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200628.1314.002.html\(2020-06-28\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200628.1314.002.html(2020-06-28))

柚皮甙通过 Akt 信号通路降低肌细胞 ROS 治疗废用性肌少症*

张晓宇¹,王平¹,张君涛¹,李禄²,杨光¹,张超¹,吴思¹,张玉亮¹,巩树伟³,刘爱峰^{1△}

(1.天津中医药大学第一附属医院骨伤科 300381;2.天津市南开医院针灸理疗科 300100;

3.天津中医药大学研究生院 301617)

[摘要] **目的** 通过细胞、分子生物学实验明确废用性肌少症的发病机制,进一步探讨柚皮甙治疗废用性肌少症的分子机制。**方法** 通过鼠尾悬吊的方法制作废用性肌少症小鼠模型(模型组),原代培养肌细胞,使用 CCK-8 检测柚皮甙对肌细胞增殖能力的影响;2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA)和荧光显微镜检测细胞内活性氧(ROS)水平;实时荧光定量 PCR(RT-PCR)和 Western blot 检测蛋白激酶 B(Akt)信号通路相关蛋白及 mRNA 表达情况。**结果** 与对照组(柚皮甙 0 ng/mL)比较,柚皮甙能促进肌细胞的增殖($P < 0.05$),且浓度在 500 ng/mL 时其促进肌细胞增殖的能力最强。模型组的原代肌细胞内 ROS 水平较对照组显著增高($P < 0.05$);而免疫荧光结果也发现柚皮甙干预能降低模型组肌细胞的 ROS 水平。同时与对照组比较,模型组肌细胞的 Sod2 mRNA 水平显著下降($P < 0.05$);Western blot 结果显示:与对照组比较,双氧水组(模拟模型组 ROS 增高)的 p-AKT 水平显著降低($P < 0.05$);而与双氧水组比较,双氧水+柚皮甙组 p-AKT 水平显著增高($P < 0.05$)。另外与模型+柚皮甙组比较,模型+甙柚皮+曼青霉素组的 Sod2 mRNA 表达水平显著降低($P < 0.05$)。**结论** 柚皮甙是一种良好的治疗废用性肌少症的药物,其治疗废用性肌少症的机制可能是通过激活 Akt 信号通路降低废用性肌少症肌细胞内 ROS 的水平并促进肌细胞增殖。

[关键词] 柚皮甙;肌少症;活性氧;蛋白激酶 B;信号传导**[中图法分类号]** R286**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2020)17-2839-05

Naringin reduces muscle cell ROS through Akt signaling pathway to treat disuse sarcopenia*

ZHANG Xiaoyu¹,WANG Ping¹,ZHANG Juntao¹,LI Lu²,YANG Guang¹,
ZHANG Chao¹,WU Si¹,ZHANG Yuliang¹,GONG Shuwei³,LIU Aifeng^{1△}

(1. Department of Orthopedics and Traumatology, the First Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300381, China; 2. Department of Acupuncture and Moxibustion, Tianjin NanKai Hospital, Tianjin 300100, China; 3. Graduate School, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)

[Abstract] **Objective** To clarify the pathogenesis of disuse sarcopenia by cell and molecular biology experiments, and to further explore the molecular mechanism of naringin in the treatment of disuse sarcopenia. **Methods** The mouse model of disuse sarcopenia was made, and the primary muscle cells were cultured. CCK-8 was used to detect the effect of naringin on the proliferation of muscle cells. DCFH-DA and fluorescence microscopy were used to detect the intracellular reactive oxygen species (ROS) levels. Western blot and RT-PCR was used to detect the expression levels of protein and mRNAs of Akt signaling pathway related proteins. **Results** Compared with the control group, the naringin intervention group could promote the proliferation of muscle cells ($P < 0.05$), and its concentration at 500 ng/mL showed strongest ability to promote the proliferation of muscle cells. The ROS level in the muscle cells of the experimental group (rat tail suspension group) was significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$); when compared with the control group, the Sod2 mRNA level in the model group was significantly reduced ($P < 0.05$). Western blot results showed that

* 基金项目:国家中医药管理局区域中医(骨伤科)诊疗中心、天津市教委科研计划项目(2018KJ040);王平劳模创新工作室-天津市教委资助项目(津教工[2016]3号);中医传承工作室-天津卫计委资助项目(津卫中[2017]193号)。 作者简介:张晓宇(1985-),主治医师,硕士,主要从事中医药防治骨质疏松及肌少症研究。 △ 通信作者, E-mail: draifeng@163.com。

the level of p-AKT in the hydrogen peroxide group was significantly reduced ($P < 0.05$), when compared with the control group, while when compared with the model group, the level of p-AKT in the hydrogen peroxide+naringin group was significantly increased ($P < 0.05$). In addition, compared with the model+naringin group, the expression levels of Sod2 mRNA in the model+naringin+wortmannin group was significantly reduced ($P < 0.05$).

Conclusion Naringin is a good drug for the treatment of disuse sarcopenia. The mechanism may be through reducing the level of ROS in muscle cells of suspended mice and promoting the proliferation of muscle cells by activating the Akt signaling pathway.

[Key words] naringin; sarcopenia; reactive oxygen species; Akt; signaling transduction

废用性肌少症是一类由于长期制动、卧床等因素引起的肌量进行性降低的疾病^[1]。目前有关废用性肌少症的相关研究仍然较少,关于其发病机制尚不明确。已经有学者研究了几个因子和信号蛋白在调节废用性萎缩方面的作用,除了直接位于翻译上游的已知信号传导蛋白之外,下游的信号级联是否影响蛋白质合成或肌肉萎缩目前尚不清楚^[2]。导致肌肉废用萎缩的信号级联反应(通常从减少肌肉张力开始并延伸至对蛋白质合成和降解的影响)机制尚未明确,但已有研究表明几种潜在的信号分子,如蛋白激酶 B (Akt)、核因子- κ B (NF- κ B),在废用性肌少症中起到重要作用^[3]。

柚皮甙,也被称为柚皮素 7-O-新霉素糖,是存在于柑橘类几种果实中的天然类双氢黄酮^[4]。柚皮甙的作用十分广泛,目前已知的研究表明,柚皮甙具有抗炎、抗癌、抗过敏、抗氧化、改善局部微循环、治疗骨质疏松等作用^[4]。然而,目前尚未有研究报道柚皮甙对废用性肌少症的作用机制。Akt 信号通路在蛋白质合成和细胞增殖方面起到重要的作用,当 Akt 信号通路被激活时,下游的 Foxo 信号通路会被抑制并进一步抑制 Mafbx 等基因的活化,从而促进蛋白的合成、抑制蛋白的降解^[5]。另外,有研究表明柚皮甙可以通过抗氧化应激从而减少细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)治疗骨质疏松症^[6],而锰超氧化物歧化酶(Sod2)是调控 ROS 的重要基因之一,有文献报道 Sod2 在骨质疏松症患者中的表达显著降低^[7-8]。笔者推测柚皮甙的抗 ROS 能力可能是通过 Akt 信号通路实现的,其可能在废用性肌少症中起到关键的作用,本文通过细胞和分子生物学技术明确其作用机制,为废用性肌少症的临床治疗提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 废用性肌少症模型

12 只平均体重为(20.0±0.2)g 的 C57BL/6J 雄性小鼠(购自中科院遗传与发育生物学研究所)随机分为两组,对照组(不做任何处理,6 只)和模型组(采用鼠尾悬吊的方法模拟小鼠下肢制动,制作废用性肌

少症模型,6 只)。小鼠饲养在通风的鼠房中,保持温度 20 ℃左右,12 h 白天/黑夜循环,给予正常的水和食物。两组小鼠饲养 4 周,采用颈椎脱臼法处死,并取腓肠肌肌细胞进行原代细胞培养。

1.2 小鼠肌细胞原代培养、细胞分化和处理方式

将模型组和对照组小鼠腓肠肌使用无菌的 Hanks 溶液(索莱宝,中国)清洗干净,并在无菌操作台下将腓肠肌斩碎成 1 mm 左右的组织块,使用 I 型胶原酶(Sigma,美国)消化,加入适量的含 10% 胎牛血清(FBS, Hyclone, 美国)的 DMEM 高糖细胞培养液(Hyclone, 美国)进行清洗、离心,取离心的沉淀物用细胞培养液重悬,接种到 6 孔板,在 5% CO₂、37 ℃ 细胞培养箱中培养。接种后的第 3 天进行细胞半定量换液,第 4 天全量换液,第 5 天观察细胞形态,并进行细胞传代。肌细胞在 6 孔板融合达到 90% 以上时进行肌细胞分化实验,加入成肌分化培养液(DMED+马血清+胰岛素),诱导 5 d 显微镜下观察肌管生成。将柚皮甙粉末(Sigma, 美国)溶解于 DMSO 中,并使用 PBS 缓冲液稀释成 5 ng/mL、50 ng/mL、500 ng/mL、5 μg/mL 和 50 μg/mL 的浓度梯度,使用不同浓度梯度的柚皮甙与肌细胞共培养,观察肌细胞的增殖能力。PBS 与双氧水分别作用于对照组及模型组肌细胞,免疫荧光观察肌细胞内 ROS 水平,确认鼠尾悬吊可引起肌细胞 ROS 水平升高,使用 100 μmol/L 的双氧水处理正常肌细胞(双氧水组)以模拟模型组肌细胞,另与 500 ng/mL 的柚皮甙共培养(双氧水+柚皮甙组),免疫荧光观察细胞内的 ROS 水平变化。

1.3 细胞内 ROS 的检测

细胞内 ROS 检测使用检测试剂盒(上海碧云天),细胞接种在 24 孔板中,在检测前使用 PBS 冲洗 3 遍,2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA)探针使用细胞培养液稀释成 10 μmol/L,在 24 孔板中加入 500 μL DCFH-DA 探针,37 ℃ 避光孵育 1 h,孵育完成后弃掉上清液,使用 PBS 冲洗 3 遍,在荧光显微镜下观察细胞的荧光强度。

1.4 实时荧光定量 PCR(RT-PCR)

使用 TRIzol(Qiagen, 德国)试剂提取细胞内的总 RNA, cDNA 合成使用 Prime Script RT 试剂盒 (TaKaRa, 日本), 使用 CFX96PCR 仪 (Bio-rad, 美国) 进行 RT-PCR 实验。内参基因使用 GAPDH, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因相对表达水平。PCR 的引物序列如下, Sod2 正向引物为 5'-TAA CGC GCA GAT CAT GCA GCT G-3', Sod2 反向引物为 5'-AGG CTG AAG AGC GAC CTG AGT T-3'。

1.5 Western blot

使用 RIPA(索莱宝, 北京)细胞裂解液充分裂解细胞。使用 BCA 蛋白测定试剂盒 (Pierce, 美国) 测量样品的蛋白质含量。然后取 40 μg 蛋白样品进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 电泳结束后将蛋白转移到聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜 (Millipore, 美国) 上, 并加抗 AKT 抗体、抗 p-AKT 抗体 (Abcam, 美国)、抗 GAPDH 抗体 (三鹰, 中国) 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 环境中孵育过夜, 一抗稀释比例为 1 : 1 000。接着, 使用辣根过氧化物酶标记的二抗 (三鹰, 中国) 进行孵育, PBS 冲洗 3 遍后使用增强的化学发光检测系统 (Pierce, 美国) 检测条带, 并且使用 NIH Image-J 软件对条带灰度值进行定量分析, 计量蛋白相对表达水平。

1.6 CCK-8 实验

使用 CCK-8 试剂盒 (索莱宝, 北京) 检测肌细胞的增殖能力, 将细胞接种至 96 孔板, 每孔 2 000 个细胞, 待细胞贴壁后, 每孔加入 10 μL CCK-8 试剂, 并在培养箱中孵育 4 h, 使用酶标仪测定在 450 nm 的吸光度 (A), 并分别检测第 0、1、2、3 天的细胞增殖情况。

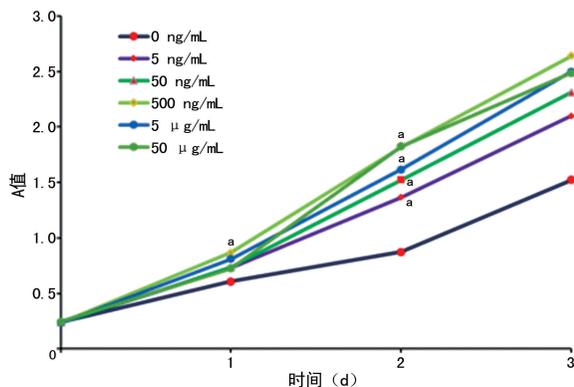
1.7 统计学处理

采用 SPSS19.0 软件分析数据, 正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析 (ANOVA) 进行统计学分析, 随后通过 Dunnett's 检验进行组间多重比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同浓度的柚皮甙促进肌细胞的增殖能力

为检测柚皮甙是否能促进正常肌细胞的增殖, 采用 CCK-8 实验加以检测。酶标仪检测各浓度梯度柚皮甙作用细胞第 0、1、2、3 天的 A 值, 结果显示: 柚皮甙能促进肌细胞的增殖, 且随着时间的延长其促进肌细胞的增殖能力逐渐增强; 不同浓度梯度的柚皮甙促进肌细胞增殖的能力是不同的, 且与对照组 (柚皮甙 0 ng/mL) 比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 其中在 500 ng/mL 的浓度时其促进肌细胞的增殖能力最强, 因此以此浓度作后续实验, 并设模型 + 柚皮甙组。见图 1。

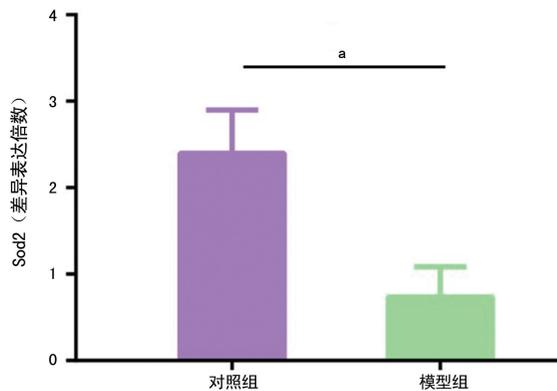


^a: $P < 0.05$, 与对照组 (柚皮甙 0 ng/mL) 比较。

图 1 不同浓度柚皮甙作肌细胞后肌细胞的增殖曲线图

2.2 鼠尾悬吊引起肌细胞内 ROS 水平升高

为了确定鼠尾悬吊是否能引起肌细胞内 ROS 水平升高, 首先通过 RT-PCR 检测了模型组和对照组肌细胞的 Sod2 mRNA 表达水平, 结果显示模型组的 Sod2 mRNA 表达水平要明显低于对照组 ($P < 0.05$), 见图 2。使用双氧水和 PBS 处理模型组和对照组肌细胞 1 h 后检测肌细胞内 ROS 水平, 免疫荧光结果显示: PBS 处理后模型组的 ROS 水平显著高于对照组, 双氧水处理后对照组和模型组的 ROS 水平均明显升高, 但模型组显著高于对照组, 说明鼠尾悬吊确实引起了肌细胞内 ROS 水平升高, 见图 3。



^a: $P < 0.05$ 。

图 2 RT-PCR 检测 Sod2 在模型组和对照组肌细胞内的表达水平

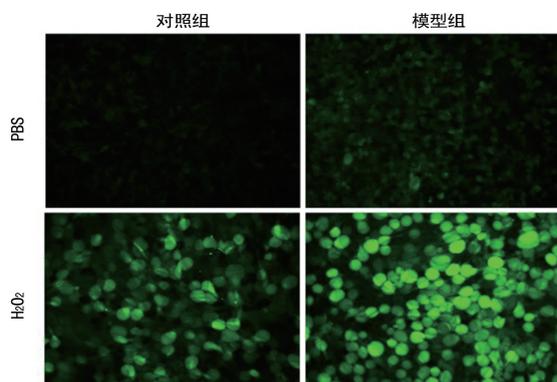


图 3 免疫荧光显微镜观察细胞内的 ROS 水平 ($\times 200$)

2.3 柚皮甙可以降低细胞内 ROS 的水平

与对照组比较,模型组中 Sod2 mRNA 的表达水平显著降低($P < 0.05$);与模型组比较,模型+柚皮甙组 Sod2 mRNA 的表达水平显著增高($P < 0.05$);与对照组比较,双氧水组 Sod2 mRNA 的表达水平显著降低($P < 0.05$),而与双氧水组比较,柚皮甙+双氧水组 Sod2 mRNA 的表达水平显著增高($P < 0.05$),见图 4。免疫荧光结果显示:与对照组比较,模型组的 ROS 水平显著提高;与模型组比较,模型+柚皮甙组 ROS 水平显著降低;与对照组比较,双氧水组 ROS 水平显著增高;而与双氧水组比较,双氧水+柚皮甙组 ROS 水平显著降低,这说明柚皮甙可以降低细胞的

ROS 水平,具有很强的抗氧化应激能力,见图 5。

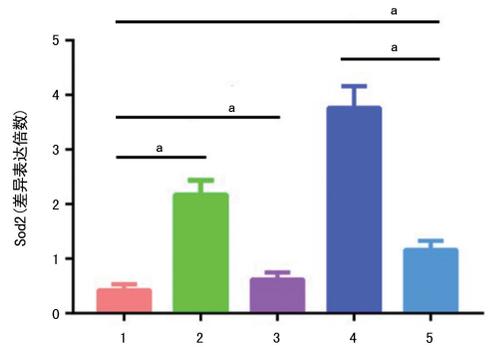


图 4 RT-PCR 检测各组 Sod2 mRNA 的表达情况
1: 模型组;2: 对照组;3: 模型+柚皮甙组;4: 双氧水+柚皮甙组;5: 双氧水组;^a: $P < 0.05$ 。

图 4 RT-PCR 检测各组 Sod2 mRNA 的表达情况

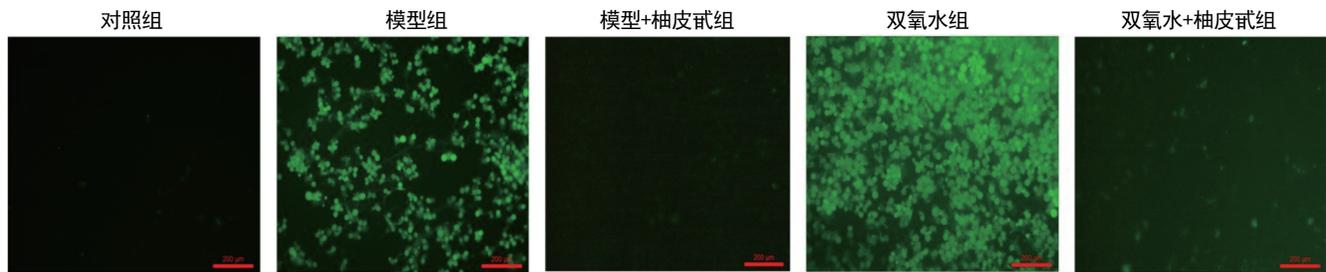
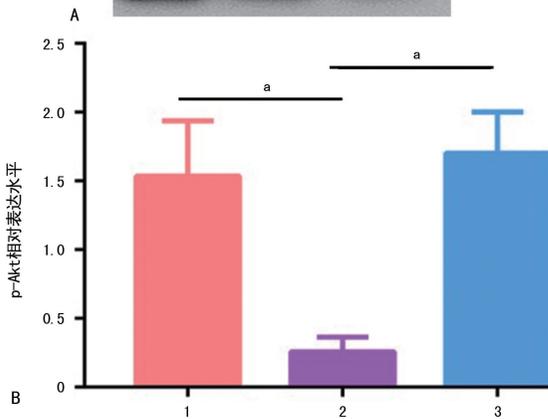
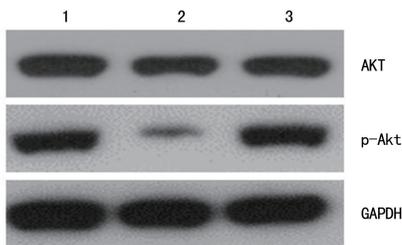


图 5 免疫荧光检测各组肌细胞内 ROS 水平



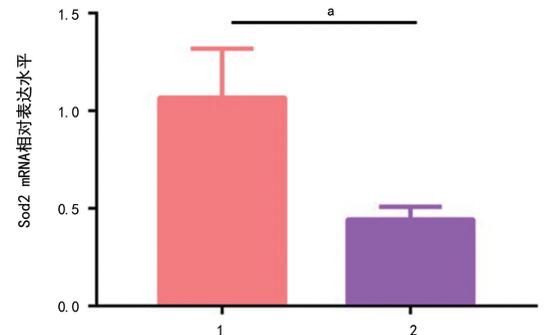
1: 对照组;2: 双氧水组;3: 双氧水+柚皮甙组;A: Western blot;B: Western blot 分析图;^a: $P < 0.05$ 。

图 6 Western blot 检测 Akt 和 p-Akt 的表达情况

2.4 柚皮甙通过激活 Akt 信号通路降低模型组小鼠肌细胞内 ROS 的水平

双氧水刺激可有效在体外模拟细胞内环境中 ROS 的产生,为了探索柚皮甙降低模型组小鼠肌细胞内 ROS 的机制,本研究使用双氧水刺激肌细胞产生

ROS,进一步检测了 Akt 信号通路在此过程中的表达情况。实验结果显示:与对照组比较,双氧水组 p-Akt 蛋白的表达显著降低($P < 0.05$);与双氧水组比较,双氧水+柚皮甙组 p-Akt 蛋白的表达增高($P < 0.05$),见图 6。在使用柚皮甙处理模型组小鼠肌细胞后,使用 Akt 抑制剂渥曼青霉素抑制 Akt 信号通路,结果发现:与模型+柚皮甙组比较,模型+柚皮甙+渥曼青霉素组的 Sod2 mRNA 表达水平显著降低($P < 0.05$),见图 7。



1: 模型+柚皮甙组;2: 模型+柚皮甙+渥曼青霉素组;^a: $P < 0.05$ 。

图 7 RT-PCR 检测 Sod2 基因的表达水平

3 讨论

随着人口老龄化的加剧,废用性肌少症受到越来越广泛的关注,由于术后长期卧床引起的废用性肌少症进而导致的各种临床并发症已经成为重要的临床

问题^[5,9-13]。目前有关肌少症的研究相对较少,关于其发病的分子机制尚不清楚。本研究发现,废用性肌少症的发病机制可能是通过增加肌细胞内 ROS 的产生并抑制 Akt 信号通路实现的,而柚皮甙作为传统的中药可以有效地治疗废用性肌少症。

肌肉萎缩中 ROS 的产生是受到一定程度关注的一个领域。肌肉萎缩导致 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 超氧化物歧化酶的表达上调,更重要的是由于过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶可能伴随 Mn^{2+} 超氧化物歧化酶表达水平的降低而增加 ROS 对细胞的毒性,从而导致细胞内 ROS 的积累,对细胞造成更加严重的后果^[14]。有学者报道,使用 H_2O_2 处理肌肉细胞导致肌肉蛋白质分解增加,肌球蛋白表达减少,并且泛素-蛋白酶体蛋白水解途径的组分表达增加^[15],从而引起肌细胞的凋亡,肌量减少^[16]。另外,国外有文献在细胞培养和动物模型中证实了 NF- κ B 信号通路可能在肌少症中起到重要的作用。就像在其他类型细胞中一样,一些细胞因子可在肌肉细胞中激活 NF- κ B^[1,17]。而 Akt 是 NF- κ B 信号通路的上游蛋白,因此笔者推测 Akt 也有可能肌少症中起到关键作用,本研究结果也很好证实了这一点,Akt 在废用性肌少症中起到了重要的调节作用。

本研究另一重要发现是柚皮甙可以有效干预肌少症的发病过程,并降低悬吊小鼠肌细胞内的 ROS。以往柚皮甙作为一种抗骨质疏松药物常被用于原发性和继发性骨质疏松的治疗^[4],本研究发现柚皮甙可以有效抑制细胞内 ROS 的产生,并促进 Sod2 基因的表达,另外使用渥曼青霉素抑制 Akt 信号通路可以显著降低 Sod2 基因的表达水平,这进一步说明了 Akt 可以通过调控 Sod2 基因的表达对 ROS 起到调控作用。本研究阐述了柚皮甙调控细胞 ROS 水平并激活 Akt 信号通路以治疗肌少症的分子机制。目前尚未见国内外文献报道相关研究。

柚皮甙作为一种物美价廉的传统中草药,可以有效地治疗由于患者长期卧床引起的废用性肌少症,且笔者详细地研究了柚皮甙治疗废用性肌少症的机制,这一发现可为临床废用性肌少症的治疗提供理论依据。

参考文献

- [1] JACKMAN R W, KANDARIAN S C. The molecular basis of skeletal muscle atrophy[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 287(4): C834-843.
- [2] SANDRI M, BARBERI L, BIJLSMA A Y, et al. Signalling pathways regulating muscle mass in ageing skeletal muscle: the role of the IGF1-Akt-mTOR-FoxO pathway[J]. *Biogerontology*, 2013, 14(3): 303-323.
- [3] DI FILIPPO E S, MANCINELLI R, PIETRAN-GELO T, et al. Myomir dysregulation and reactive oxygen species in aged human satellite cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 473(2): 462-470.
- [4] LAVRADOR P, GASPAR V M, MANO J F. Bioinspired bone therapies using naringin: applications and advances[J]. *Drug Discov Today*, 2018, 23(6): 1293-1304.
- [5] MALAVAKI C J, SAKKAS G K, MITROU G I, et al. Skeletal muscle atrophy: disease-induced mechanisms may mask disuse atrophy[J]. *J Muscle Res Cell Motil*, 2015, 36(6): 405-421.
- [6] BEDARD N, JAMMOUL S, MOORE T, et al. Inactivation of the ubiquitin-specific protease 19 deubiquitinating enzyme protects against muscle wasting[J]. *FASEB J*, 2015, 29(9): 3889-3898.
- [7] MANNOLAGAS S C. From estrogen-centric to aging and oxidative stress: a revised perspective of the pathogenesis of osteoporosis[J]. *Endocr Rev*, 2010, 31: 266-300.
- [8] SENDUR O F, TURAN Y, TASTABAN E, et al. Antioxidant status in patients with osteoporosis: a controlled study[J]. *Joint Bone Spine*, 2009, 76: 514-518.
- [9] KIM J, PARK M Y, KIM H K, et al. Cortisone and dexamethasone inhibit myogenesis by modulating the AKT/mTOR signaling pathway in C2C12[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2016, 80(11): 2093-2099.
- [10] SATO A Y, RICHARDSON D, CREGOR M, et al. Glucocorticoids induce bone and muscle atrophy by tissue-specific mechanisms upstream of E3 ubiquitin ligases[J]. *Endocrinology*, 2017, 158(3): 664-677.
- [11] SAKUMA K, AOI W, YAMAGUCHI A. The intriguing regulators of muscle mass in sarcopenia and muscular dystrophy[J]. *Front Aging Neurosci*, 2014, 6: 230. (下转第 2848 页)

- 183.
- [7] 程瑞婷,王晨斌,田春雨,等. MIN6 细胞损伤模型不同造模方法对比研究[J]. 华北理工大学学报(医学版),2017,19(4):258-262.
- [8] CHEN C, COHRS C M, STERTMANN J, et al. Human beta cell mass and function in diabetes; recent advances in knowledge and technologies to understand disease pathogenesis[J]. *Mol Metab*, 2017, 6(9):943-957.
- [9] AHMAD K. Insulin sources and types; a review of insulin in terms of its mode on diabetes mellitus[J]. *Tradit Chin Med*, 2014, 34(2):234-7.
- [10] 李琳,刘瑜,刘屏,等. 黄芪多糖对 MIN6 细胞增殖、凋亡及胰岛素分泌的影响[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(21):2139-2142.
- [11] 吴成香,杨达性,姚伟昊,等. 白藜芦醇对 db/db 小鼠胰岛 β 细胞功能的影响[J]. 中国糖尿病杂志, 2017, 25(11):1027-1032.
- [12] 张强,杨宏杰,何燕铭,等. 灵芝提取物及其含药血清对胰岛 β 细胞的影响[J]. 海南医学, 2018, 29(9):1188-1191.
- [13] BANIKAZEMI Z, HAJI H A, MOHAMMADI M, et al. Diet and cancer prevention: Dietary compounds, dietary Micro RNAs, and dietary exosomes[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(1):185-196.
- [14] TAVAKOLIZADEH J, ROSHANAIE K, SALMANINEJAD A, et al. Micro RNAs and exosomes in depression; Potential diagnostic biomarkers[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(5):3783-3797.
- [15] TSUKAMOTO Y, NAKADA C, NOGUCHI T, et al. MMicroRNA-375 is downregulated in gastric carcinomas and regulates cell survival by targeting PDK1 and 14-3-3zeta[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(6):2339-2349.
- [16] POY M N, HAUSSER J, TRAJKOVSKI M, et al. miR-375 maintains normal pancreatic alpha- and beta-cell mass [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(14):5813-5818.
- [17] PLAISANCE V, ABDERRAHMANI A, PERRETT-MENOUD V, et al. Micro RNA-9 controls the expression of Granuphilin/Slp4 and the secretory response of insulin - producing cells[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(37):26932-26942.
- [18] LOVIS P, ROGGLI E, LAYBUTT D R, et al. Alterations in micro RNA expression contribute to fatty acid-induced pancreatic beta-cell dysfunction[J]. *Diabetes*, 2008, 57(10):2728-2736.
- (收稿日期:2020-03-02 修回日期:2020-04-05)
-
- (上接第 2843 页)
- [12] FAN J, KOU X, JIA S, et al. Autophagy as a potential target for sarcopenia[J]. *J Cell Physiol*, 2016, 231(7):1450-1459.
- [13] LAURENT M R, DUBOIS V, CLAESSENS F, et al. Muscle-bone interactions; from experimental models to the clinic? A critical update [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2016, 432:14-36.
- [14] GUMUCIO J P, MENDIAS C L. Atrogin-1, MuRF-1, and sarcopenia[J]. *Endocrine*, 2013, 43(1):12-21.
- [15] JACKSON M J, MCARDLE A. Role of reactive oxygen species in age-related neuromuscular deficits[J]. *J Physiol*, 2016, 594(8):1979-1988.
- [16] WEI C, LI L, KIM I, et al. NF- κ B mediated miR-21 regulation in cardiomyocytes apoptosis under oxidative stress[J]. *Free Radic Res*, 2014, 48(3):282-291.
- [17] ZHOU J, ZHANG S, WANG H, et al. LncFunNet; an integrated computational framework for identification of functional long noncoding RNAs in mouse skeletal muscle cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(12):e108.
- (收稿日期:2020-03-08 修回日期:2020-05-10)