

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.08.006

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210203.0920.002.html\(2021-02-03\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210203.0920.002.html(2021-02-03))

槲皮素对慢性阻塞性肺疾病大鼠骨骼肌损伤的保护作用及其作用机制

王 丽¹, 刘佳育²

(1. 天津市滨海新区大港医院呼吸内科 300270; 2. 天津市胸科医院呼吸与危重症学科 300000)

[摘要] **目的** 探讨槲皮素对气管内注射脂多糖并结合香烟烟雾暴露所致慢性阻塞性肺疾病(COPD)大鼠模型中骨骼肌线粒体及过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1α (PGC- 1α)/沉默交配型信息调节因子 2 同源蛋白 3(SIRT3)信号通路的影响。**方法** 48 只雄性 Wistar 大鼠随机分为对照组($n=16$)、COPD 组($n=16$)和槲皮素组($n=16$)。COPD 组和槲皮素组大鼠气管内注射脂多糖并结合香烟烟雾暴露建立 COPD 模型。从第 31 天开始,对照组和 COPD 组大鼠灌服生理盐水,槲皮素组 COPD 大鼠灌服槲皮素(100 mg/kg)。实验结束时测量各组大鼠的肺功能,并对骨骼肌线粒体酶活性、氧化参数和细胞因子进行分析。通过实时 PCR 和 Western blot 分析大鼠左比目鱼肌组织中 PGC- 1α 和 SIRT3 的表达。**结果** 在肺功能参数测定中,COPD 组和槲皮素组大鼠峰值呼气流速(PEF)和用力呼气量(FEV_{0.3}/用力肺活量(FVC)比值均较对照组明显降低($P<0.05$)。COPD 组大鼠骨骼肌线粒体中细胞色素 C 氧化酶(COX)、琥珀酸脱氢酶(SDH)、 Na^+/K^+ -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性均显著低于对照组($P<0.05$);COPD 组骨骼肌线粒体丙二醛(MDA)含量明显高于对照组($P<0.05$),而锰超氧化物歧化酶(MnSOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和过氧化氢酶活性均显著低于对照组($P<0.05$);COPD 组大鼠骨骼肌白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)蛋白水平均显著高于对照组($P<0.05$);所有这些异常经槲皮素治疗均显著减弱($P<0.05$)。Western blot 和实时 PCR 检测显示,COPD 组 PGC- 1α 和 SIRT3 的蛋白和 mRNA 水平显著低于对照组($P<0.05$)。此外,槲皮素组 PGC- 1α 和 SIRT3 的蛋白和 mRNA 表达较 COPD 组显著升高($P<0.05$)。**结论** 槲皮素可通过减轻 COPD 大鼠骨骼肌线粒体功能损伤改善骨骼肌功能障碍,部分原因可能与 PGC- 1α /SIRT3 信号通路上调有关。

[关键词] 槲皮素;慢性阻塞性肺疾病;肺功能;骨骼肌;线粒体

[中图法分类号] R563

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2021)08-1289-07

Protective effect and mechanism of quercetin on skeletal muscle injury in rats with chronic obstructive pulmonary disease

WANG Li¹, LIU Jiayu²

(1. Binhai New Area Dagang Hospital, Tianjin 300270, China; 2. Department of Respiration and Intensive Care Medicine, Tianjin Municipal Chest Hospital, Tianjin 300000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of quercetin on mitochondria and PGC- 1α /SIRT3 signaling pathway of skeletal muscle in the rats with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) induced by intratracheal administration of lipopolysaccharide combined with cigarette smoke exposure. **Methods** A total of 48 male Wistar rats were randomly divided into the control group ($n=16$), COPD group ($n=16$) and quercetin group ($n=16$). The COPD model was established in the COPD group and quercetin group by intratracheal administration of lipopolysaccharide combined with cigarette smoke exposure. The control group and COPD group began to give the normal saline gavage on 31 d. The COPD rats in the quercetin group were given quercetin(100mg/kg). At the end of the experiment, the lung function of each group was measured, and the activity of mitochondrial enzyme, oxidation parameters and cytokines in skeletal muscle were analyzed. The expression of PGC- 1α and SIRT3 in rat left soleus muscle tissue was analyzed by real-time PCR and Western blot. **Results** In the determination of pulmonary function parameters, PEF and FEV_{0.3}/FVC in the COPD group and quercetin group were significantly decreased compared with those in the control group ($P<0.05$). The mitochondrial COX, SDH, Na^+/K^+ -ATPase and Ca^{2+} -ATPase activities of skeletal muscle in the COPD group were significantly lower than those in the control group ($P<0.05$); the MDA content of the skeletal

muscle mitochondria in the COPD group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$), while the activities of MnSOD, GSH-Px and catalase were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$); the levels of IL-6 and TNF- α protein in the skeletal muscle of the COPD group were significantly higher than those of the control group ($P < 0.05$); all of these abnormalities were significantly attenuated by the quercetin treatment ($P < 0.05$). Western blot and real-time PCR showed that the protein and mRNA levels of PGC-1 α and SIRT3 in the COPD group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$). In addition, the protein and mRNA expressions of PGC-1 α and SIRT3 in the quercetin group were significantly increased compared with those in the COPD group ($P < 0.05$). **Conclusion** Quercetin can improve the skeletal muscle dysfunction by reducing mitochondrial function injury in skeletal muscle of COPD rats, its partial cause may be related with the upregulation of PGC-1 α /SIRT3 signaling pathway.

[Key words] quercetin; chronic obstructive pulmonary disease; lung function; skeletal muscle; mitochondria

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是全球第三大死因^[1]。合并其他疾病,特别是伴有或不伴有肌肉丢失的骨骼肌功能障碍,是 COPD 患者的特征,甚至在疾病的早期阶段也是如此^[2]。在 COPD 患者中,股骨骼肌无力(定义为肌力下降)和质量损失已经被证明可以预测患者的生存率和死亡率^[3]。然而,COPD 肌肉功能障碍的病因尚不清楚,研究表明,先前的发生可能与线粒体紊乱、氧化应激、全身炎症和肌肉萎缩有关^[4-5]。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1 α (PGC-1 α)是一小类转录调节因子的成员,该转录调节因子控制与线粒体代谢、生物发生和氧化应激有关的基因表达^[6]。作为 PGC-1 α 的下游靶基因,沉默交配型信息调节因子 2 同源蛋白 3(SIRT3)主要位于线粒体基质中,其通过可逆酶脱乙酰化作用调节线粒体脂肪酸氧化^[7]。SIRT3 还与线粒体电子转移链的酶复合物相互作用,增加复合物活性,从而有助于电子传递^[7]。吸烟是 COPD 最常见的病因之一,据报道,在 8 周内每天暴露于香烟烟雾中小鼠的比目鱼肌和趾长肌中观察到 PGC-1 α 和 SIRT3 mRNA 的表达显著降低^[8]。

槲皮素是植物中含量最丰富的黄酮类化合物,具有抗炎、抗氧化、抗菌、抗癌等多种生物活性^[9]。已证明槲皮素的抗氧化活性与清除活性氧的能力有关,并通过多种转录因子诱导抗氧化蛋白的表达,保护细胞免受活性氧攻击^[10]。线粒体是活性氧的一个重要来源,有报道称槲皮素的另一个治疗靶点^[11]。槲皮素对线粒体的影响在糖尿病、癌症、衰老和神经退行性疾病中得到广泛研究^[12-13]。然而,口服槲皮素能否改善 COPD 进展过程中骨骼肌线粒体功能损伤尚不清楚。因此,本研究旨在探讨槲皮素对气管内注射脂多糖并结合香烟烟雾暴露所致 COPD 大鼠模型中骨骼肌线粒体及 PGC-1 α /SIRT3 信号通路的影响。

1 材料与方法

1.1 动物和处理方法

本研究共使用 48 只雄性 Wistar 大鼠(年龄 8

周),体重 180~220 g。所有大鼠均购自上海 SIPPR/BK 实验动物有限公司(合格证编号:SCXK 2008-0016),并在光照 12 h/黑暗 12 h,湿度 70%、温度(20 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C 的无病原体环境下饲养。为了进行生化分析,将大鼠随机分为对照组($n=16$)、COPD 组($n=16$)和槲皮素组($n=16$)。COPD 组和槲皮素组大鼠分别于第 1 天和第 15 天气管内滴注脂多糖(1 mg/mL,0.2 mL,购自美国 Sigma 公司),并在除第 1 天和第 15 天外的 60 d 里每天暴露于 6 支未过滤的商业香烟(购自湖南中研实业有限公司;每支香烟含有 1.4 mg 尼古丁和 14 mg 焦油碳)烟雾中 30 min,每日 2 次,烟雾暴露箱为 70 cm $\times$ 60 cm $\times$ 50 cm。对照组大鼠接受类似的治疗,但采用气管内滴注生理盐水和暴露于空气中的方法。从第 31 天开始,所有大鼠每天灌胃 1 次。对照组和 COPD 组大鼠灌服生理盐水,槲皮素组 COPD 大鼠灌服槲皮素(100 mg/kg)。本研究使用的槲皮素剂量基于先前的实验^[14]和笔者的初步研究。

1.2 肺功能检查

在第 62 天,对大鼠进行称重和麻醉。在第二和第三软骨环处用倒 Y 形切口打开气管,并立即用 Y 型套管插管,然后测量肺的吸气量和呼气量。气管内 Y 型插管的出口连接到与 PLY3211 小型动物肺功能测定仪(美国 Buxco-Research-Systems 公司)相连的压力传感器,另一侧用于向肺内注入空气。气管内通入空气 6.0 mL,测定第 0.3 秒用力呼气量(FEV0.3)、用力肺活量(FVC)、峰值呼气流量(PEF)和 FEV0.3/FVC 比值。

1.3 组织病理学评价

对大鼠进行肺功能评价后,从心脏针刺放血。在大鼠停止呼吸后,收集右肺上叶及右比目鱼肌标本,用 4%多聚甲醛固定 24 h,在 75%乙醇中脱水 12 h,包埋在石蜡中,切片,用苏木精-伊红(HE)染色,并固定在载玻片上。此外,骨骼肌切片也用 Masson 三色染色。组织学评价由一位病理学专家通过 CX31 显微

镜(日本 Olympus 公司)进行观察和拍摄切片,计算骨骼肌胶原体积分数,即胶原总面积除以整个视野面积。

1.4 骨骼肌线粒体功能评价

1.4.1 线粒体分离

使用线粒体粗提分离试剂盒(上海 Genemed scientific 公司)从比目鱼肌中分离出骨骼肌线粒体。按照说明书操作,在 4℃下,通过 1 000×g 离心 10 min 除去细胞核和未破碎的细胞。然后将上清液在 4℃下,用 10 000×g 离心 10 min,获得线粒体部分,并将其悬浮在线粒体存储液中,置于-80℃下保存。

1.4.2 线粒体酶活性测定

根据厂家说明书(南京建成生物工程研究所),用相应试剂盒测定骨骼肌线粒体中细胞色素 C 氧化酶(COX)、琥珀酸脱氢酶(SDH)、Na⁺/K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶的活性。

1.4.3 线粒体氧化参数测定

根据厂家说明书(南京建成生物工程研究所),用相应试剂盒测定骨骼肌线粒体中的氧化参数,包括用硫代巴比妥酸法测定丙二醛(MDA)水平,用分光光度法测定锰超氧化物歧化酶(MnSOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和过氧化氢酶的活性。

1.5 细胞因子测定

将左比目鱼肌冷冻组织标本置于含磷酸酶抑制剂和蛋白酶抑制剂的冷 RIPA 裂解缓冲液中匀浆。匀浆在 4℃下以 14 000×g 离心 20 min,使用相应的 ELISA 试剂盒(上海麦济生物技术有限公司)测定上清液中白细胞介素(IL)-6 和肿瘤坏死因子 α(TNF-α)水平。

1.6 实时 PCR 分析

使用 TRIZOL 试剂(美国 Invitrogen 公司)从左比目鱼肌中提取总 RNA。使用 RevertAid First Strand cDNA Synthesis 试剂盒(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)进行反转录。然后使用 Power SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)和 7500 序列检测实时 PCR 系统(美国 Applied Biosystems 公司)进行实时 PCR 分析。通过 GAPDH 校正并使用公式 $x=2^{-\Delta\Delta C_t}$ 进行计算。所用 PCR 引物的核苷酸序列如下: SIRT3 正向: 5'-TACA-GAAATCAGTGGCCCGA-3', 反向: 5'-GGTGGACA-CAAGAACTGCTG-3'; PGC-1α 正向: 5'-ATGAGAAGCGGGAGTCTGAA-3', 反向: 5'-GCGGTCTCTCAGT-TCTGTCC-3'; GAPDH 正向: 5'-TGCCACTCAGAAGACTGTGG-3', 反向: 5'-TTCAGCTCTGG GATGAC-CTT-3'。

1.7 Western blot 分析

在冰冷的 RIPA 裂解缓冲液中裂解左比目鱼肌

组织,然后在 4℃下匀浆。将细胞裂解物在 4℃下 12 000×g 离心 30 min 以除去细胞碎片。使用 BCA 蛋白质测定试剂盒(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)测定蛋白质浓度。在 8%~10% SDS-PAGE 凝胶上分离等量的蛋白质(50 μg),并转移到 PVDF 膜上。在室温下将膜在 5%脱脂牛奶中封闭 2 h,然后与针对 PGC-1α(1:1 000,英国 Abcam 公司)、SIRT3(1:500,美国 Santa Cruz Biotechnology 公司)和 GAPDH(1:1 000,美国 Santa Cruz Biotechnology 公司)的异性抗体一起孵育过夜。在室温下用适当的辣根过氧化物酶偶联的二抗(1:5 000;美国 Santa Cruz Biotechnology 公司)覆盖 2 h。最后,用增强的化学发光检测系统(美国 Pierce Biotechnology 公司)观察印迹。

1.8 统计学处理

采用 SPSS22.0 软件进行统计学处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,使用单向或双向方差分析,然后进行事后多重比较检验,分析平均值差异的显著性。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 COPD 大鼠模型评价及槲皮素对其影响

为确定 COPD 大鼠模型的建立是否成功,对其体重、肺功能和肺组织形态学进行了测定。在实验期间,COPD 组和槲皮素组各有 1 只大鼠死亡,死亡大鼠肺中可见大量肺大泡。呼吸衰竭和(或)灌胃刺激可能导致这些大鼠死亡。与对照组比较,COPD 组和槲皮素组大鼠的体重增长速度明显减慢($P<0.05$),见图 1A。在肺功能参数测定中,COPD 组和槲皮素组大鼠 PEF 和 FEV_{0.3}/FVC 均较对照组明显降低[(4.90±0.82) mL/s vs. (3.19±0.48) mL/s、(4.10±0.61) mL/s, $P<0.05$; (96.41±4.37)% vs. (63.50±11.50)%、(80.38±8.20)%, $P<0.05$],见图 1B、C。组织学分析显示,从对照组大鼠获得的肺组织样本显示肺泡间隔薄,肺泡正常,没有炎性细胞浸润(图 1D);而从 COPD 大鼠获得的肺组织样本显示肺泡间隔受损,肺泡增大,炎性细胞浸润(图 1E);所有这些异常经槲皮素治疗显著减弱(图 1F)。

2.2 骨骼肌组织病理学改变及定量分析

如图 2A 所示,对照组大鼠骨骼肌未见明显损伤。COPD 组大鼠骨骼肌出现明显的形态学改变,如肌纤维间隔增加、肌纤维萎缩和肌原纤维紊乱。此外,在 COPD 组大鼠中有更多的胶原沉积,而在对照大鼠中观察到很少的纤维化。所有这些异常经槲皮素治疗显著减弱。进一步定量分析显示,与对照组比较,COPD 组和槲皮素组的胶原体积分数明显增加[(1.21±0.24)% vs. (8.50±1.12)%、(4.62±0.85)%, $P<0.05$],槲皮素组的胶原体积分数较

COPD 组显著降低($P<0.05$),见图 2B。

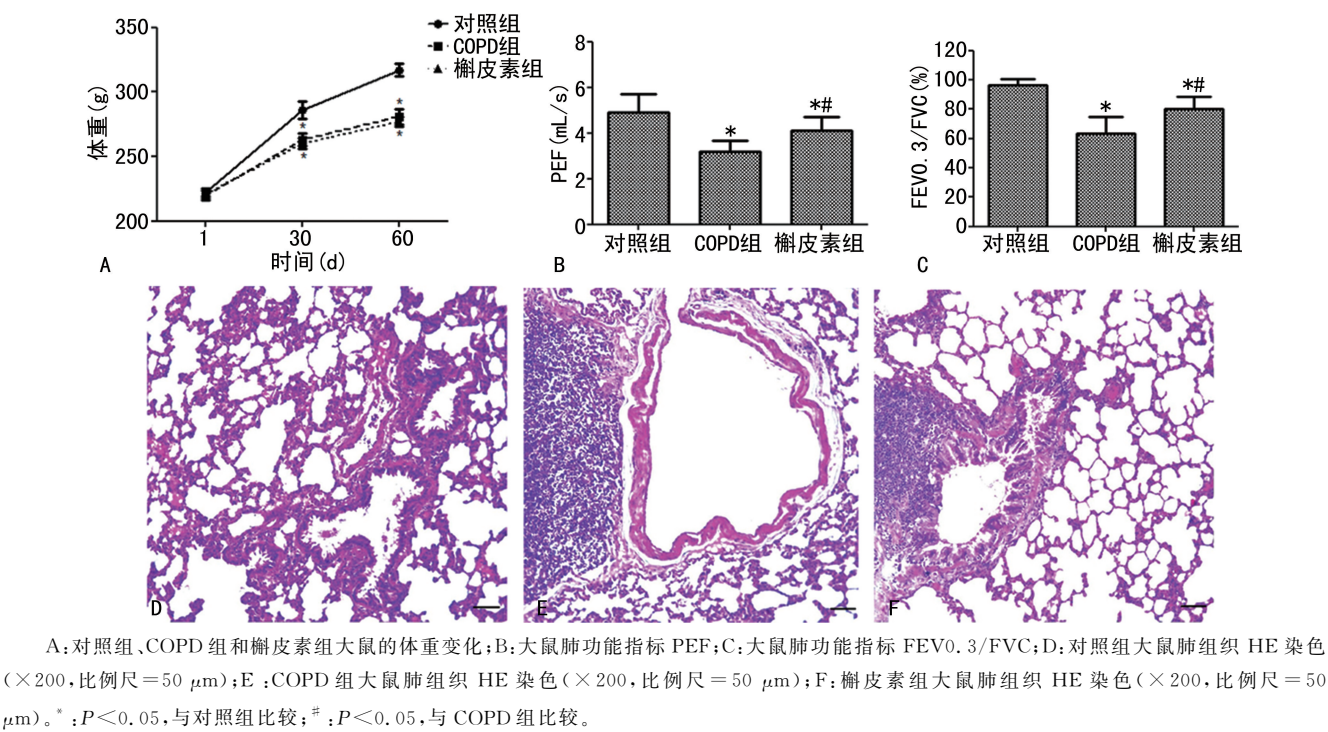


图 1 COPD 大鼠模型评价及槲皮素对其影响

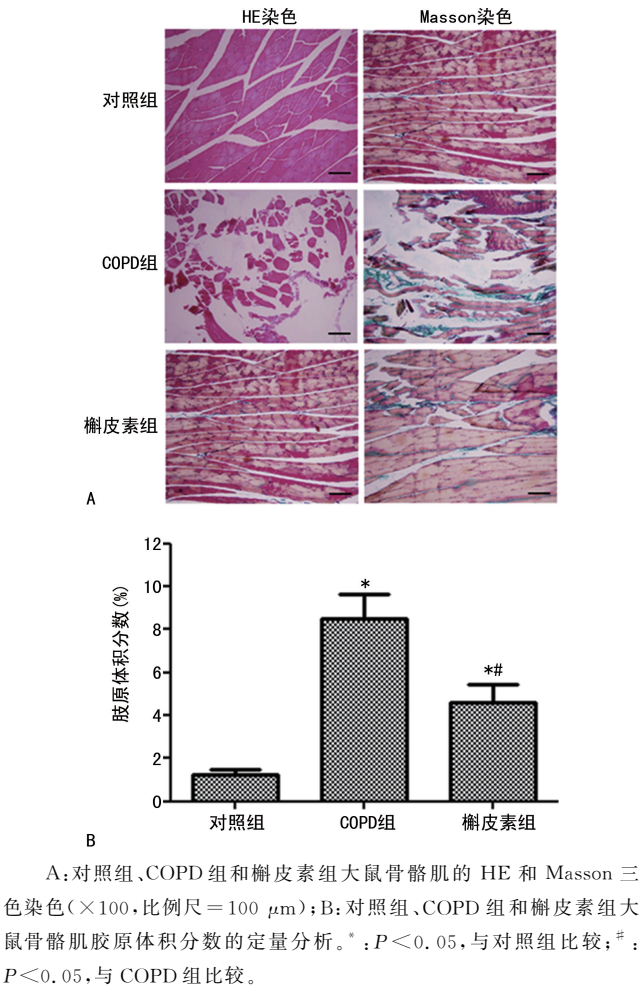


图 2 大鼠骨骼肌组织病理学观察及定量分析

2.3 骨骼肌线粒体酶活性研究

COPD 组和槲皮素组大鼠骨骼肌线粒体 COX、SDH、Na⁺/K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶活性均显著低于对照组($P<0.05$)。与 COPD 组比较,槲皮素组 COPD 大鼠骨骼肌线粒体 COX、SDH、Na⁺/K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶活性显著升高($P<0.05$),见表 1。

表 1 3 组大鼠骨骼肌线粒体酶活性($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	COX	SDH	Na ⁺ /K ⁺ -ATP 酶	Ca ²⁺ -ATP 酶
对照组	100.00±3.03	100.00±2.52	100.00±3.47	100.00±1.66
COPD 组	68.32±2.86*	72.37±2.94*	77.32±4.81*	66.28±4.25*
槲皮素组	87.55±2.45*#	85.60±2.13*#	90.23±4.56*#	88.24±3.08*#

*: $P<0.05$,与对照组比较;#: $P<0.05$,与 COPD 组比较。

2.4 骨骼肌线粒体氧化应激研究

骨骼肌线粒体中的氧化参数如表 2 所示。COPD 组骨骼肌线粒体 MDA 含量明显高于对照组($P<0.05$),而 MnSOD、GSH-Px 和过氧化氢酶活性均显著低于对照组($P<0.05$)。与 COPD 组比较,槲皮素组 COPD 大鼠骨骼肌线粒体 MDA 含量显著降低($P<0.05$),MnSOD、GSH-Px 和过氧化氢酶活性显著升高($P<0.05$)。

2.5 3 组骨骼肌 IL-6 和 TNF-α 水平比较

COPD 组大鼠骨骼肌 IL-6、TNF-α 水平均显著高于对照组($P<0.05$)。槲皮素显著降低 COPD 大鼠骨骼肌 IL-6 和 TNF-α 水平($P<0.05$),见表 3。

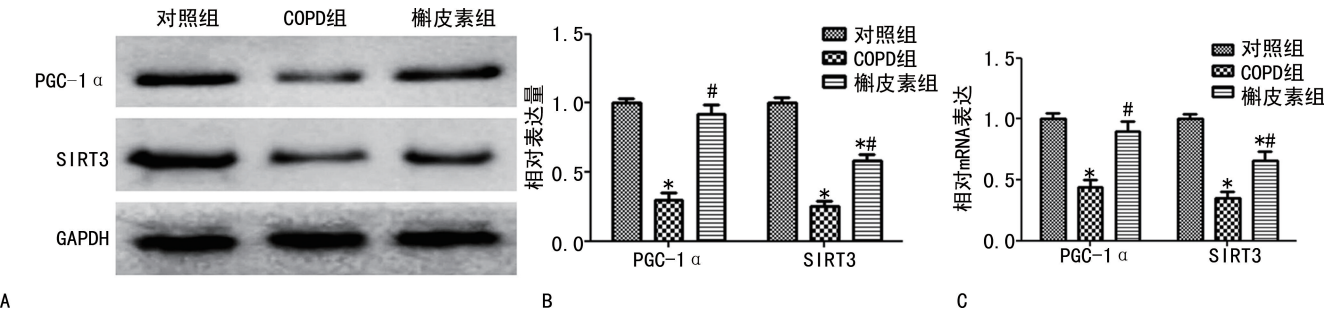
表 2 槲皮素对 COPD 大鼠骨骼肌线粒体氧化应激的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	MDA (nmol/mg)	MnSOD (U/mg)	GSH-Px (U/mg)	过氧化氢酶 (U/mg)
对照组	1.24±0.23	53.47±3.15	29.15±1.38	21.46±2.26
COPD 组	4.62±0.16 [*]	24.71±4.94 [*]	14.82±1.06 [*]	11.35±2.64 [*]
槲皮素组	2.85±0.25 ^{*#}	37.60±4.13 ^{*#}	23.06±1.14 ^{*#}	17.81±2.48 ^{*#}

^{*}:*P*<0.05,与对照组比较;[#]:*P*<0.05,与 COPD 组比较。

2.6 骨骼肌 PGC-1α/SIRT3 信号通路的变化

Western blot 和实时 PCR 检测骨骼肌 PGC-1α 和 SIRT3 的蛋白和 mRNA 表达结果如图 3 所示。



A:3 组大鼠骨骼肌组织 PGC-1α/SIRT3 蛋白表达的 Western blot 图;B:3 组大鼠骨骼肌组织 PGC-1α/SIRT3 蛋白表达水平;C:3 组大鼠骨骼肌组织 PGC-1α/SIRT3 mRNA 表达。^{*}:*P*<0.05,与对照组比较;[#]:*P*<0.05,与 COPD 组比较。

图 3 槲皮素对 COPD 大鼠骨骼肌组织 PGC-1α 和 SIRT3 表达的影响

3 讨 论

COPD 被认为是世界范围内的公共卫生问题,其患病率和病死率不断上升^[1]。调查显示,在 COPD 进展期间,30%~40%的患者出现骨骼肌质量损失和功能障碍^[15]。并且由于骨骼肌萎缩,COPD 患者可能出现营养不良,并与病情恶化和病死率有关^[16]。一项研究发现,随着 COPD 严重程度的增加,股四头肌无力变得更加严重^[17]。此外,在身体活动相对正常,气流受轻至中度阻塞的 COPD 患者中也观察到明显的肌肉无力,甚至在没有 COPD 的吸烟者中也观察到此现象,提示骨骼肌功能障碍可能在呼吸症状发作之前的早期发生^[18]。线粒体功能损伤是 COPD 患者骨骼肌功能障碍的最重要机制之一^[19]。因此,保护骨骼肌线粒体功能损伤对于改善 COPD 进展中骨骼肌功能障碍至关重要。本研究根据体重、肺功能和肺组织形态学三个参数建立 COPD 大鼠模型。与对照组比较,COPD 大鼠体重增加速度明显减慢,PEF 和 FEV0.3/FVC 明显降低,并且大鼠肺泡间隔破坏,肺泡增大,炎性细胞浸润,以及骨骼肌线粒体功能受到明显破坏。这些结果表明,COPD 大鼠模型的建立是成功的。本研究进一步调查了槲皮素对 COPD 大鼠的治疗作用,结果显示,槲皮素减轻 COPD 大鼠骨骼肌线粒体功能损伤与 PGC-1α/SIRT3 信号通路的上调有关。

COPD 组 PGC-1α 和 SIRT3 的蛋白和 mRNA 水平显著低于对照组(*P*<0.05)。此外,槲皮素组 PGC-1α 和 SIRT3 的蛋白和 mRNA 表达较 COPD 组显著升高(*P*<0.05)。

表 3 3 组骨骼肌 IL-6、TNF-α 水平比较($\bar{x} \pm s$,pg/mg)

组别	IL-6	TNF-α
对照组	97.51±8.47	61.05±5.34
COPD 组	174.28±10.28 [*]	134.52±7.57 [*]
槲皮素组	132.74±9.33 ^{*#}	92.41±7.05 ^{*#}

^{*}:*P*<0.05,与对照组比较;[#]:*P*<0.05,与 COPD 组比较。

槲皮素具有多种药理活性,其可以通过减轻线粒体功能损伤对多种疾病发挥治疗作用^[10]。最近研究发现,槲皮素可以减轻以气道炎症和肺气肿为特征的 COPD 大鼠肺泡上皮细胞线粒体损伤^[20]。因此,本研究对槲皮素是否也能减轻 COPD 大鼠骨骼肌线粒体功能损伤作了进一步探讨。病理学研究表明,COPD 大鼠骨骼肌发生肌纤维间隔增加、肌纤维萎缩和肌原纤维紊乱,经槲皮素治疗可明显改善这些病理特征,表明槲皮素对 COPD 进展过程中的骨骼肌功能障碍具有治疗作用。与相关研究结果一致^[15]。本研究结果表明,COPD 大鼠骨骼肌线粒体功能受到了明显破坏,口服槲皮素可提高 COPD 大鼠骨骼肌线粒体酶活性。有报道称线粒体是氧化应激的中心,线粒体功能损伤可显著诱导炎症反应^[21]。最近的证据表明,槲皮素的抗炎和抗氧化作用尤为重要^[10]。槲皮素可以抑制脂多糖刺激的星形胶质细胞、单核细胞或肺泡巨噬细胞中促炎性细胞因子和趋化因子的产生^[22-23]。槲皮素不仅可以通过清除活性氧和氮来诱导抗氧化活性,还可以通过激活抗氧化酶的表达来诱导抗氧化活性^[10]。因此,本研究进一步分析了槲皮素对 COPD 大鼠骨骼肌氧化应激和炎症反应的影响,通过测定 COPD 大鼠骨骼肌线粒体中 MDA、MnSOD、GSH-Px 和过氧化氢酶含量,发现槲皮素能显著降低氧化应激水平,增加抗氧化能力。此外,COPD 大鼠骨骼肌促

炎症细胞因子(IL-6 和 TNF- α)显著升高,槲皮素可逆转这些升高。因此,槲皮素对 COPD 大鼠骨骼肌线粒体具有保护作用。

PGC-1 α /SIRT3 信号通路为调节线粒体代谢、生物发生和氧化应激的必需因子^[24]。PGC-1 α 通过协同激活多种核转录因子来调节线粒体功能,从而增加包括 SIRT3 在内的核编码线粒体蛋白的表达^[25]。SIRT3 作为 sirtuin 家族成员,主要定位于线粒体,并通过靶向中枢代谢中的几种酶调节几个关键的氧化途径^[26]。以往的研究已经证明,PGC-1 α 基因敲除可以有效降低肌肉细胞和肝细胞中 SIRT3 的表达, SIRT3 通过几种代谢和呼吸酶的去乙酰化来调节重要的线粒体功能^[27]。然而,PGC-1 α /SIRT3 信号通路对 COPD 骨骼肌线粒体的影响尚不清楚。本研究表明,COPD 大鼠骨骼肌线粒体功能损伤时,PGC-1 α 和 SIRT3 的表达显著降低。进一步研究发现,槲皮素能上调 COPD 大鼠骨骼肌 PGC-1 α 和 SIRT3 的表达,提示 PGC-1 α /SIRT3 信号通路参与了槲皮素对 COPD 大鼠骨骼肌线粒体的保护作用 and 骨骼肌功能障碍的进展。然而,PGC-1 α /SIRT3 信号通路在 COPD 骨骼肌功能障碍中的具体机制有待进一步研究。

总之,本研究在 COPD 模型大鼠中发现了以肌纤维间隔增加、肌纤维萎缩和肌原纤维紊乱为特征的骨骼肌损伤。槲皮素可通过减轻 COPD 大鼠骨骼肌线粒体功能损伤来改善骨骼肌形态学,部分原因可能与 PGC-1 α /SIRT3 信号通路上调有关。这些结果进一步证明口服槲皮素治疗 COPD 骨骼肌功能障碍是可行的。

参考文献

- [1] 白易,李星明. 中国 1990 年和 2010 年慢性阻塞性肺病的流行情况[J]. 中华预防医学杂志, 2018,52(11):1199.
- [2] 毛静,王丽丽,李亚,等. 补肺健脾方对 COPD 大鼠骨骼肌 TNF- α 、Caspase-8 及 Caspase-3 的影响[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(6): 2373-2377.
- [3] ADAMI A, CAO R, PORZASZ J, et al. Reproducibility of NIRS assessment of muscle oxidative capacity in smokers with and without COPD[J]. Respir Physiol Neurobiol, 2017, 235: 18-26.
- [4] TÉNYI Á, CANO I, MARABITA F, et al. Network modules uncover mechanisms of skeletal muscle dysfunction in COPD patients [J]. J Transl Med, 2018, 16(1):34.
- [5] 张丹,曹丽华,王镇山,等. 红景天苷对香烟烟雾诱导的慢性阻塞性肺疾病大鼠骨骼肌功能影响的研究[J]. 大连医科大学学报, 2019, 41(3): 199-204, 209.
- [6] 马欢,张冬会,王杏,等. 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 1 α 在高脂饮食导致的大鼠骨骼肌线粒体功能紊乱中的作用机制[J]. 中华老年医学杂志, 2019, 38(4): 439-443.
- [7] LI Y, MA Y, SONG L, et al. SIRT3 deficiency exacerbates p53/Parkin-mediated mitophagy inhibition and promotes mitochondrial dysfunction: Implication for aged hearts[J]. Int J Mol Med, 2018, 41(6): 3517-3526.
- [8] ZHANG M, TANG J, LI Y, et al. Curcumin attenuates skeletal muscle mitochondrial impairment in COPD rats: PGC-1 α /SIRT3 pathway involved[J]. Chem Biol Interact, 2017, 277(2): 168-175.
- [9] 李丽,张根义. 槲皮素对黄曲霉毒素 B1 致大鼠肝细胞毒性的保护作用[J]. 食品工业科技, 2018, 39(13): 117-121, 127.
- [10] 张才科,白静,余慧,等. 槲皮素体外抗氧化及对小鼠血脂代谢作用的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(5): 663-667.
- [11] 彭媛媛,马于林,林明莹,等. 槲皮素保护顺铂诱导的 H9c2 细胞损伤的作用机制[J]. 武汉大学学报(医学版), 2019, 40(4): 524-528.
- [12] VIDYA PRIYADARSINI R, SENTHIL MURUGAN R, MAITREYI S, et al. The flavonoid quercetin induces cell cycle arrest and mitochondria-mediated apoptosis in human cervical cancer (HeLa) cells through p53 induction and NF- κ B inhibition[J]. Eur J Pharmacol, 2010, 649(1/3): 84-91.
- [13] FIORANI M, GUIDARELLI A, BLASA M, et al. Mitochondria accumulate large amounts of quercetin: prevention of mitochondrial damage and release upon oxidation of the extramitochondrial fraction of the flavonoid[J]. J Nutr Biochem, 2010, 21(5): 397-404.
- [14] ZHU S, WANG H, ZHANG J, et al. Antiasthmatic activity of quercetin glycosides in neonatal asthmatic rats[J]. 3 Biotech, 2019, 9(5): 189.
- [15] LU JJ, WANG Q, LI H X, et al. Tumor necro-

sis factor-like weak inducer of apoptosis regulates quadriceps muscle atrophy and fiber-type alteration in a rat model of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Tob Induc Dis*, 2017, 15 (1):43.

[16] ENGEL B, SCHINDLER C, LEUPPI JD, et al. Predictors of re-exacerbation after an index exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease in the REDUCE randomised clinical trial [J]. *Swiss Med Wkly*, 2017, 147 (1920): w14439.

[17] KHARBANDA S, SHYAM K, ANAND R. Prevalence of quadriceps muscle weakness in patients with COPD and its association with disease severity[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2015, 10:1727-1735.

[18] TRETHEWEY R, ESLIGER D, PETHERICK E, et al. Influence of muscle mass in the assessment of lower limb strength in COPD: validation of the prediction equation [J]. *Thorax*, 2017, 73(6):587-589.

[19] 张明, 唐晶晶, 谢颖颖, 等. 姜黄素对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺泡上皮细胞内质网应激的影响 [J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2018, 39(3): 361-365.

[20] FARAZUDDIN M, MISHRA R, JING Y, et al. Quercetin prevents rhinovirus-induced progression of lung disease in mice with COPD phenotype[J]. *PLoS One*, 2018, 13(7):e0199612.

[21] 赵宁, 李勇, 刘芬, 等. 线粒体 DNA 介导细胞焦亡放大肺泡巨噬细胞炎症反应[J]. *中华危重病急救医学*, 2018, 30(2):97-100.

[22] 朱玉婷, 邢同岳, 毛海芬. 槲皮素对高糖诱导的原代小胶质细胞炎症反应的抑制作用[J]. *中国医院药学杂志*, 2013, 33(21):1787-1790.

[23] 卢桃利, 霍芳芳, 翟中杰, 等. 槲皮素促进小鼠脊髓损伤后巨噬细胞表型转变及功能恢复[J]. *基础医学与临床*, 2018, 38(5):686-691.

[24] ZHANG X, REN X, ZHANG Q, et al. PGC-1 α /ERR α -Sirt3 pathway regulates DAergic neuronal death by directly deacetylating SOD2 and ATP synthase β [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2016, 24(6):312-328.

[25] YAO P, LI Y L, YANG Y J, et al. Triptolide improves cognitive dysfunction in rats with vascular dementia by activating the SIRT1/PGC-1 α signaling pathway [J]. *Neurochem Res*, 2019, 44(5):1977-1985.

[26] 马艳艳, 巩会平, 朱林, 等. SIRT3 基因与代谢综合征及心肌肥厚的相关性研究[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2017, 33(1):75-77.

[27] DING Y, YANG H M, YC W, et al. Sirtuin 3 is required for osteogenic differentiation through maintenance of PGC-1 α -SOD2-mediated regulation of mitochondrial function [J]. *Int J Biol Sci*, 2017, 13(2):254-264.

(收稿日期:2020-05-18 修回日期:2020-11-12)

(上接第 1288 页)

[13] DEHGHANI M R, AGHAEI Z M, VAHIDI M Y, et al. Evaluation of miR-181b and miR-126-5p expression levels in T2DM patients compared to healthy individuals: Relationship with NF-kappaB gene expression[J]. *Endocrinol Diabetes Nutr*, 2020, 17(2):227-235.

[14] LIMA Q A, ZHANG B, COMSTOCK D E, et al. miR-126-5p targets malate dehydrogenase 1 in non-small cell lung carcinomas[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 499(15):314-320.

[15] WANG C, ZHOU B, LIU M, et al. miR-126-5p restoration promotes cell apoptosis in cervical cancer by targeting Bcl2l2 [J]. *Oncol Res*, 2017, 25(6):463-470.

[16] CAI J, QIAO B, GAO N, et al. Oral squamous cell carcinoma-derived exosomes promote M2 subtype macrophage polarization mediated by exosome-enclosed miR-29a-3p[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2019, 316(3):C731-740.

[17] ZHAO L, GU C, GAN Y, et al. Exosome-mediated siRNA delivery to suppress postoperative breast cancer metastasis[J]. *J Control Release*, 2020, 31(8):1-15.

[18] MANGAN M S, LATZ E. NLRC3 puts the brakes on STING [J]. *Immunity*, 2014, 40 (12): 305-306.

[19] KARKI R, MAN S M, MALIREDDI R K S, et al. NLRC3 is an inhibitory sensor of PI3K-mTOR pathways in cancer [J]. *Nature*, 2016, 540(7):583-587.

(收稿日期:2020-06-18 修回日期:2020-12-22)