

- [11] HU J, WU X, YANG C, et al. Anticancer effect of icaritin on prostate cancer via regulating miR-381-3p and its target gene UBE2C[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(18): 7833-7845.
- [12] JIN D, GUO J, WU Y, et al. UBE2C, directly targeted by miR-548e-5p, increases the cellular growth and invasive abilities of cancer cells interacting with the EMT marker protein zinc finger e-box binding homeobox 1/2 in NSCLC[J]. *Theranostics*, 2019, 9(7): 2036-2055.
- [13] FENG N, WANG Y, ZHENG M, et al. Genome-wide analysis of DNA methylation and their associations with long noncoding RNA/mRNA expression in non-small-cell lung cancer[J]. *Epigenomics*, 2017, 9(2): 137-153.
- [14] DENG P, CHANG XJ, GAO ZM, et al. Downregulation and DNA methylation of ECRG4 in gastric cancer[J]. *OncoTargets Ther*, 2018, 11(1): 4019-4028.
- [15] GE S, XU Y, WANG H, et al. Downregulation of esophageal cancer-related gene 4 promotes proliferation and migration of hepatocellular carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(3): 3689-3696.
- [16] LI L, LI X, WANG W, et al. UBE2C is involved in the functions of ECRG4 on esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 98(1): 201-206.
- [17] ZHANG HQ, ZHAO G, KE B, et al. Overexpression of UBE2C correlates with poor prognosis in gastric cancer patients.[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(6): 1665-1671.
- [18] CHEN JY, WU X, HONG CQ, et al. Downregulated ECRG4 is correlated with lymph node metastasis and predicts poor outcome for nasopharyngeal carcinoma patients [J]. *Clin Transl Oncol*, 2017, 19(1): 84-90.

(收稿日期:2020-03-02,修回日期:2020-04-27)

引用本文:刘祥华,罗湘筠,李文倩.针刺激活轴抑制蛋白1、腺苷酸活化蛋白激酶、丝/苏氨酸蛋白激酶信号通路对失神经骨骼肌萎缩大鼠的保护作用[J].安徽医药,2022,26(5):913-917.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.05.015.

◇临床医学◇



针刺激活轴抑制蛋白1、腺苷酸活化蛋白激酶、丝/苏氨酸蛋白激酶信号通路对失神经骨骼肌萎缩大鼠的保护作用

刘祥华,罗湘筠,李文倩

作者单位:湖南中医药高等专科学校附属第一医院(湖南省直中医医院)针灸科,湖南 株洲 412000

摘要: 目的 研究针刺对失神经骨骼肌萎缩大鼠骨骼肌细胞丝/苏氨酸蛋白激酶(AKT)、腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)、轴抑制蛋白1(Axin1)表达水平的影响。方法 将48只SD大鼠采用简单随机分组分为空白对照组、假手术组、模型组和针刺组各12只。模型组和针刺组大鼠采用手术切断坐骨神经制备失神经骨骼肌萎缩大鼠模型,假手术组只暴露坐骨神经,空白对照组不做任何处理。针刺组在造模后进行电针治疗(“足三里”和“承山”穴),每次10 min,连续治疗3周。治疗后,检测各组大鼠腓肠肌组织的湿重比、肌纤维横截面积及肌细胞直径比;HE染色检测各组大鼠腓肠肌损伤;TUNEL染色检测各组大鼠腓肠肌细胞凋亡;蛋白质印迹法(Western blotting)检测p-AKT、AKT、p-AMPK、AMPK、Axin1、B细胞淋巴瘤2(Bcl-2)、Bcl相关X蛋白(Bax)、活化胱天蛋白酶(cleaved caspase-3)和增殖细胞核抗原(PCNA)蛋白的表达。结果 与空白对照组和假手术组相比,模型组大鼠腓肠肌湿重比(0.38±0.06)、肌纤维横截面积比(0.52±0.12)和肌纤维直径比(0.53±0.16)均明显下降($P<0.05$),细胞凋亡率(30.85±5.74)%明显升高($P<0.05$),Bcl-2(0.40±0.03)、Bax(0.53±0.05)、cleaved caspase-3(0.58±0.06)、PCNA(0.44±0.05)、p-AKT/AKT(0.54±0.06)、p-AMPK/AMPK(0.73±0.04)和Axin1(0.41±0.05)的表达明显上调($P<0.05$);与模型组相比,针刺组大鼠腓肠肌湿重比(0.52±0.07)、肌纤维横截面积比(0.64±0.11)和肌纤维直径比(0.66±0.15)均明显增加($P<0.05$),细胞凋亡率(21.39±3.87)%明显下降($P<0.05$),Bcl-2(0.61±0.05)、PCNA(0.72±0.08)、p-AKT/AKT(0.82±0.09)和Axin1(0.62±0.06)的表达明显上调($P<0.05$),Bax(0.33±0.04)、cleaved caspase-3(0.34±0.04)和p-AMPK/AMPK(0.51±0.03)的表达明显下调($P<0.05$)。结论 针刺可能通过调控Axin1/AMPK/AKT的表达,延缓失神经大鼠骨骼肌的萎缩。

关键词: 周围神经损伤; 失神经; 骨骼肌萎缩; 大鼠; 丝/苏氨酸蛋白激酶; 腺苷酸活化蛋白激酶; 轴抑制蛋白1

Protective effect of acupuncture on denervated skeletal muscle atrophy rats by activating Axin1/AMPK/AKT signaling pathway

LIU Xianghua, LUO Xiangyun, LI Wenqian

Author Affiliation: Department of Acupuncture and Moxibustion, the First Affiliated Hospital of Hunan College of Traditional Chinese Medicine (Hunan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhuzhou, Hunan 412000, China)

Abstract: Objective To explore effects of acupuncture on expression levels of serine/threonine protein kinase (AKT), adenosine monophosphate activated protein kinase (AMPK) and Axis inhibition protein 1 (Axin1) in skeletal muscle cells of rats with denervation skeletal muscle atrophy. **Methods** Forty-eight SD rats were randomly assigned into blank group, sham operation group, model group and acupuncture group, 12 cases in each group. In model group and acupuncture group, sciatic nerve was surgically cut to prepare rats models of denervation skeletal muscle atrophy. Only the sciatic nerve was exposed in sham group and nothing was done in blank group. In acupuncture group, electroacupuncture (Zusanli point and Bear Hill acupuncture point) was conducted after modeling, 10 min/once. They were continuously treated for 3 weeks. After treatment, wet to weight ratio of gastrocnemius muscle tissue, ratio of muscle fiber cross-sectional area to myocyte diameter in each group were detected. The gastrocnemius muscle injury in each group was detected by HE staining. The apoptosis of gastrocnemius muscle in each group was detected by TUNEL staining. Western Blot was performed to detect expression of p-AKT, AKT, p-AMPK, AMPK, Axin1, B cell lymphoma 2 (Bcl-2), Bcl-associated X protein (Bax), cleaved caspase-3 and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) proteins. **Results** Compared with blank group and sham operation group, wet to weight ratio of gastrocnemius muscle tissue (0.38 ± 0.06), ratio of muscle fiber cross-sectional area (0.52 ± 0.12) and muscle fiber diameter (0.53 ± 0.16) were significantly decreased in model group ($P<0.05$), while apoptosis rate ($30.85\pm 5.74\%$) was significantly increased ($P<0.05$), and expressions of Bcl-2 (0.40 ± 0.03), Bax (0.53 ± 0.05), cleaved caspase-3 (0.58 ± 0.06), PCNA (0.44 ± 0.05), p-AKT/AKT (0.54 ± 0.06), p-AMPK/AMPK (0.73 ± 0.04) and Axin1 (0.41 ± 0.05) were significantly up-regulated ($P<0.05$). Compared with model group, wet to weight ratio of gastrocnemius muscle tissue (0.52 ± 0.07), ratio of muscle fiber cross-sectional area (0.64 ± 0.11) and muscle fiber diameter (0.66 ± 0.15) were significantly increased in acupuncture group ($P<0.05$), while apoptosis rate ($21.39\pm 3.87\%$) was significantly decreased ($P<0.05$), expression of Bcl-2 (0.61 ± 0.05), PCNA (0.72 ± 0.08), p-AKT/AKT (0.82 ± 0.09) and Axin1 (0.62 ± 0.06) was significantly up-regulated ($P<0.05$), and expression of Bax (0.33 ± 0.04), cleaved caspase-3 (0.34 ± 0.04) and p-AMPK/AMPK (0.51 ± 0.03) was significantly down-regulated ($P<0.05$). **Conclusion** Acupuncture may delay skeletal muscle atrophy of denervation rats by regulating expression of Axin1/AMPK/AKT.

Key words: Peripheral nerve injuries; Denervation; Skeletal muscle atrophy; Rat; AKT; AMPK; Axin1

失神经骨骼肌萎缩是周围神经损伤后,骨骼肌失去神经支配与营养,发生的一系列形态学和功能变化,临床常发生于工伤事故伤、车祸伤等^[1]。目前,失神经骨骼肌萎缩主要采用电刺激、药物、外科手术等来治疗,可以在一定程度上修复损伤神经,但仍有部分病人的疗效有待提高^[2]。建立大鼠的失神经骨骼肌萎缩模型,探讨更有效的治疗手段,对失神经骨骼肌萎缩的防治具有重要意义。针灸是传统中医的重要组成部分,主要通过捻转与提插等针刺手法刺激特定部位来治疗疾病,近年来受到了研究者的广泛关注^[3]。已有研究显示^[4],针灸可以促进周围神经损伤后的修复,对于失神经肌肉萎缩具有良好的临床疗效,可以改善大鼠的肌肉萎缩状态,但其作用机制尚有待进一步探讨。基于此,本研究于2019年5—6月建立了大鼠失神经骨骼肌萎缩模型,旨在分析针刺治疗失神经骨骼肌萎缩的作用机制,为临床针刺在失神经骨骼肌萎缩中的治疗提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与动物 荧光显微镜购自日本 Olympus 公司;戊巴比妥钠购自美国 Sigma-Aldrich 公司;TUNEL 检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;兔抗鼠丝/苏氨酸蛋白激酶(AKT)、腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)、轴蛋白1(Axin1)、磷酸化的丝/苏氨酸蛋白激酶(p-AKT)、磷酸化的腺苷酸活化

蛋白激酶(p-AMPK)、B细胞淋巴瘤2(Bcl-2)、Bcl相关X蛋白(Bax)、活化胱天蛋白酶(cleaved caspase-3)和增殖细胞核抗原(PCNA)单克隆抗体均购于美国 Santa Cruz 公司;辣根过氧化酶标记的羊抗兔免疫球蛋白(IgG),购于上海信裕生物科技有限公司。

SD 雄性大鼠 48 只,SPF 级,体质量范围 200~220 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物许可证号:SCXK(京)2015-0001。所有大鼠均饲养于本院动物中心实验室,维持室内温度在 25℃ 左右,模拟昼夜光照环境,大鼠可自由摄食和饮水。

1.2 动物造模及干预 48 只大鼠经过预饲养 7 d 后,采用简单随机分组将其分为空白对照组($n=12$)、假手术组($n=12$)、模型组($n=12$)和针刺组($n=12$)。模型组和针刺组采用手术切断坐骨神经法制备失神经骨骼肌萎缩大鼠模型^[5],首先常规麻醉大鼠,局部消毒,在大鼠的右后肢股后外侧行一切口,钝性分离、暴露坐骨神经,于中段切断,造成 1.0 mm 神经缺损;假手术组只暴露坐骨神经,不切断;空白对照组不做任何处理,造模过程中死亡 1 只大鼠。造模后第 2 天,针刺组大鼠采用针刺干预,参考《实验针灸学》^[6]给予电针治疗,取术侧“足三里”和“承山”穴,以 0.5 寸的毫针垂直刺入,针刺深度为 5~7 mm,接入韩氏电针穴位刺激仪,频率为 5 Hz,电流强度为 1.5 mA,每天 1 次,持续电针刺激 10 min,连续治疗 3 周。术后观察大鼠的行为状态。

1.3 各组大鼠腓肠肌的湿重比 术后3周迅速处死大鼠,取大鼠双侧腓肠肌,生理盐水冲洗,置于-80℃超低温冰箱暂存。取术侧腓肠肌观察肌肉萎缩情况,对双侧腓肠肌称重,计算腓肠肌组织的湿重比,随后将其分成两份,一份置于质量分数为4%的多聚甲醛溶液中固定,用于病理检测,另一份直接冻存于-80℃冰箱,用于蛋白检测。

1.4 HE染色和TUNEL染色检测大鼠的腓肠肌组织病理变化 取在4%多聚甲醛溶液中固定的腓肠肌组织,进行常规制作切片,随后将其分成两份,分别进行HE染色和TUNEL染色,在光学显微镜下观察腓肠肌组织的病理变化和凋亡情况。HE染色切片使用Olympus Cell Sens Standard 1.6图像采集系统随机测量在分析肌纤维直径和横截面积,计算患侧肌纤维横截面积比和肌纤维直径比。TUNEL染色切片采用Image J分析图像,每张采用随机数字表法选取10个视野,计算阳性细胞数与总细胞数,计算细胞的凋亡率。

1.5 蛋白质印迹法(Western blotting)检测各组大鼠腓肠肌细胞AKT、AMPK、Axin1、Bcl-2、Bax、cleaved caspase-3和PCNA的表达 取冻存于-80℃冰箱的大鼠腓肠肌组织,匀浆,严格按照蛋白裂解步骤提取匀浆组织中的总蛋白,经采用二喹啉甲酸蛋白定量分析试剂盒确定蛋白浓度。取50 μg总蛋白依次经过电泳、转PVDF膜,加入质量分数为5%的脱脂牛奶,在室温环境下封闭2 h,随后洗膜,加一抗AKT、AMPK、Axin1、Bcl-2、Bax、cleaved caspase-3和PCNA,在温度为4℃环境下孵育过夜,洗膜,加入二抗,在室温下环境下孵育2 h。再用电化学发光显示图像,以β-actin为内参,经凝胶成像分析系统分析各蛋白的相对表达量。

1.6 统计学方法 采用SPSS 17.0软件分析所得实验数据,以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,多组间差异采用单因素方差分析,两两组间的差异采用SNK法分析,以 $P < 0.05$ 表示组间差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般行为学 空白对照组和假手术组大鼠行为无明显异常,针刺术侧皮肤有反应;模型组大鼠术侧肢拖地,针刺术侧皮肤无反应,大部分大鼠足部皮肤出现溃烂;针刺组大鼠术侧肢拖地,针刺术侧皮肤有轻微反应,少部分大鼠足部皮肤出现溃烂。

2.2 各组大鼠的腓肠肌组织病理损伤 HE染色结果显示,空白对照组和假手术组大鼠的腓肠肌肌肉组织排列规则,未见异常;模型组大鼠的腓肠肌细胞排列松散,细胞间隙变宽,肌纤维横截面积缩小;

针刺组大鼠腓肠肌细胞排列较整齐,肌纤维横截面积明显改善。见图1。

2.3 针刺对失神经骨骼肌萎缩大鼠腓肠肌组织形态的影响 模型组大鼠腓肠肌湿重比、肌纤维截面积比和肌纤维直径比均明显低于空白对照组和假手术组($P < 0.05$);针刺组大鼠腓肠肌湿重比、肌纤维截面积比和肌纤维直径比均明显高于模型组($P < 0.05$)。见表1。

表1 针刺对失神经骨骼肌萎缩大鼠腓肠肌组织形态的影响/ $\bar{x} \pm s$

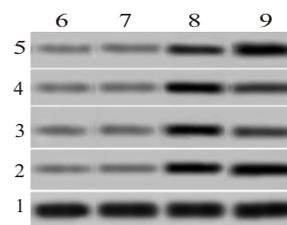
组别	鼠数	湿重比	肌纤维截面积比	肌纤维直径比
空白对照组	12	1.00±0.03	1.00±0.05	1.00±0.07
假手术组	12	0.99±0.04	0.98±0.14	0.97±0.13
模型组	11	0.38±0.06 ^{①②}	0.52±0.12 ^{①②}	0.53±0.16 ^{①②}
针刺组	12	0.52±0.07 ^{①②③}	0.64±0.11 ^{①②③}	0.66±0.15 ^{①②③}
F值		434.97	56.05	35.92
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:①与空白对照组比, $P < 0.05$ 。②与假手术组比, $P < 0.05$ 。③与模型组比, $P < 0.05$ 。

2.4 针刺对失神经骨骼肌萎缩大鼠腓肠肌细胞凋亡的影响 模型组大鼠腓肠肌细胞凋亡率(30.85±5.74)%明显高于空白对照组(5.21±0.51)%和假手术组(5.37±0.53)%($P < 0.05$);针刺组大鼠细胞凋亡率(21.39±3.87)%明显低于模型组($P < 0.05$)。见图2。

2.5 针刺对失神经骨骼肌萎缩大鼠腓肠肌增殖和凋亡相关蛋白的影响 模型组大鼠腓肠肌组织Bcl-2、Bax、cleaved caspase-3和PCNA的表达明显高于空白对照组和假手术组($P < 0.05$);针刺组大鼠腓肠肌组织Bcl-2和PCNA的表达明显高于模型组($P < 0.05$),Bax和cleaved caspase-3的表达明显低于模型组($P < 0.05$)。见图3、表2。

2.6 针刺对失神经骨骼肌萎缩大鼠腓肠肌AKT、AMPK、Axin1蛋白表达的影响 模型组大鼠腓肠肌组织p-AKT/AKT、p-AMPK/AMPK、Axin1的表达



注:1-β肌动蛋白(β-actin);2-增殖细胞核抗原(PCNA);3-活化胱天蛋白酶(cleaved caspase-3);4-Bcl相关X蛋白(Bax);5-B细胞淋巴瘤2(Bcl-2);6-空白对照组;7-假手术组;8-模型组;9-针刺组。

图3 各组大鼠腓肠肌细胞增殖和凋亡相关蛋白的表达

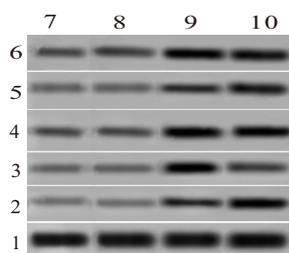
表2 各组大鼠腓肠肌细胞增殖和凋亡相关蛋白的表达/ $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数	Bcl-2	Bax	cleaved caspase-3	PCNA
空白对照组	12	0.27±0.02	0.23±0.02	0.25±0.03	0.25±0.03
假手术组	12	0.29±0.02	0.24±0.02	0.26±0.03	0.25±0.03
模型组	11	0.40±0.03 ^{①②}	0.53±0.05 ^{①②}	0.58±0.06 ^{①②}	0.44±0.05 ^{①②}
针刺组	12	0.61±0.05 ^{①②③}	0.33±0.04 ^{①②③}	0.34±0.04 ^{①②③}	0.72±0.08 ^{①②③}
F值		276.68	183.23	156.21	241.04
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: Bcl-2为B细胞淋巴瘤2, Bax为Bcl相关X蛋白, cleaved caspase-3为活化胱天蛋白酶, PCNA为增殖细胞核抗原。

①与空白对照组比, $P<0.05$ 。②与假手术组比, $P<0.05$ 。③与模型组比, $P<0.05$ 。

明显高于空白对照组和假手术组($P<0.05$); 针刺组大鼠腓肠肌组织 p-AKT/AKT、Axin1 的表达明显高于模型组($P<0.05$), p-AMPK/AMPK 的表达明显低于模型组($P<0.05$)。见图4、表3。



注: 1— β 肌动蛋白(β -actin); 2—轴蛋白1(Axin1); 3—磷酸化的腺苷酸活化蛋白激酶(p-AMPK); 4—腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK); 5—磷酸化的丝/苏氨酸蛋白激酶(p-AKT); 6—丝/苏氨酸蛋白激酶(AKT); 7—空白对照组; 8—假手术组; 9—模型组; 10—针刺组。

图4 各组大鼠腓肠肌细胞 AKT、AMPK、Axin1 蛋白表达的影响

表3 各组大鼠腓肠肌细胞丝/苏氨酸蛋白激酶(AKT)、腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)、轴蛋白1(Axin1)蛋白表达的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数	p-AKT/AKT	p-AMPK/AMPK	Axin1
空白对照组	12	0.35±0.04	0.34±0.03	0.26±0.03
假手术组	12	0.37±0.04	0.35±0.02	0.27±0.03
模型组	11	0.54±0.06 ^{①②}	0.73±0.04 ^{①②}	0.41±0.05 ^{①②}
针刺组	12	0.82±0.09 ^{①②③}	0.51±0.03 ^{①②③}	0.62±0.06 ^{①②③}
F值		152.11	405.02	172.34
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注: ①与空白对照组比, $P<0.05$ 。②与假手术组比, $P<0.05$ 。③与模型组比, $P<0.05$ 。

3 讨论

失神经骨骼肌萎缩在中医属“痿症”范畴, 主要表现为筋骨痿软、皮肤麻木等, 主要病机为气血亏虚、血脉瘀滞^[7]。针灸是我国中医的重要组成部分之一, 《黄帝内经》指出“治痿独取阳明”, “足三里”具有理气和血、舒筋活络的功能, 和“承山”均为治疗下肢痿症之要穴, 两穴配合可以改善下肢局部的微循环, 抑制肌肉萎缩^[8]。因此, 本研究取“足三里”和“承山”, 分析电针对失神经骨骼肌萎缩大鼠的作

用机制。本研究中, 电针治疗可以有效增加失坐骨神经大鼠腓肠肌的湿重、肌纤维的直径和面积。腓肠肌是坐骨神经的靶器官, 坐骨神经损伤后, 腓肠肌会失去神经支配, 从而出现肌纤维不可逆地萎缩、变形^[9]。陈玄等^[10]的研究显示, 电针治疗可以增加失神经骨骼肌萎缩大鼠的湿重, 与本研究结果基本一致, 证实电针治疗可以延缓失神经大鼠骨骼肌的萎缩。

临床研究显示, 肌肉萎缩主要是由于细胞凋亡和增殖之间的平衡被打破后, 引起的肌细胞数量减少和残存的肌细胞体积减小^[11]。本研究中, 电针治疗可以抑制失坐骨神经大鼠腓肠肌的凋亡, 促进组织细胞中 Bcl-2 和 PCNA 蛋白表达, 降低 Bax 和 cleaved caspase-3 蛋白表达。Bcl-2/Bax 是一组调控组织细胞凋亡的蛋白, 主要通过调节线粒体膜的通透性, 释放细胞色素 C 进入胞质, 激活凋亡执行蛋白 Caspase-3, 从而降解细胞内的重要蛋白, 诱导组织细胞凋亡^[12]。吴珍元等^[13]的研究显示, 细胞凋亡在大鼠失神经骨骼肌萎缩的发生发展中具有重要作用, 抑制骨骼肌细胞的凋亡对于延缓骨骼肌萎缩具有重要意义, 提示电针治疗可能通过抑制失坐骨神经大鼠骨骼肌细胞的凋亡, 延缓骨骼肌萎缩。PCNA 是一种细胞增殖核抗原, 是真核细胞 DNA 合成所必需的一种核蛋白, 可以反映肌卫星细胞的增殖活性^[14]。吴梦佳等^[15]的研究显示, 针刺治疗可以调节肌卫星细胞的增殖分化和凋亡, 防治骨骼肌萎缩, 本研究结果与其类似。结合本研究结果表明, 电针治疗可能通过促进肌卫星细胞的增殖, 抑制其凋亡, 延缓失神经大鼠骨骼肌的萎缩。

本研究中, 电针治疗可以上调 Axin1 和 p-AKT 的表达, 下调 AMPK 的磷酸化。AMPK 是 AMP 依赖的蛋白激酶, 也是骨骼肌细胞的能量感受器, 是机体能量代谢调节的关键因子^[16]。研究显示, AMPK 被激活后可以降低 Akt 的磷酸化水平, 降解骨骼肌蛋白质, 参与能量代谢^[17]。AKT 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 又称蛋白激酶 B, 参与了而机体多条关键信

号通路,在细胞的存活和凋亡中具有重要作用^[18]。Axin蛋白在生物体内普遍表达,包括Axin 1和Axin 2两个亚型,参与了机体多种信号通路,是Wnt/ β -catenin、p53等信号通路的关键蛋白,可以参与调节肌卫星细胞的增殖、分化、凋亡等过程^[19]。Zhang等^[20]的研究显示,Axin 1可能通过与AMPK发生免疫共沉淀,形成复合物,抑制AMPK的活化,从而激活肌管细胞中的AKT。AKT的磷酸化可以参与机体多种信号通路,抑制肌蛋白降解,促进蛋白合成,促进生肌细胞分化,抑制肌肉萎缩^[21-22]。高睿琦等^[22]的研究显示,电针可以上调失神经大鼠AKT的磷酸化,改善骨骼肌萎缩,与研究结果基本相符,提示电针治疗可能通过上调Axin1的表达,与AMPK形成复合物,从而抑制AKT的磷酸化,促进肌细胞的分化,抑制肌蛋白的降解。

综上所述,电针治疗可能通过上调Axin1的表达,抑制AMPK的磷酸化,激活AKT的磷酸化,促进骨骼肌的增殖、分化,抑制其凋亡,延缓失神经大鼠骨骼肌的萎缩,为临床治疗提供了一定的理论依据。但Axin1/AMPK/AKT参与了机体多种生物学过程,电针治疗作用于失神经骨骼肌萎缩大鼠的关键靶位点尚需进一步探索验证。

(本文图1,2见插图5-1)

参考文献

- [1] NAKAO R, YAMAMOTO S, HORIKAWA K, et al. Atypical expression of circadian clock genes in denervated mouse skeletal muscle[J]. *Chronobiol Int*, 2015, 32(4):486-496.
- [2] 马颖, 严隽陶. 失神经骨骼肌萎缩物理疗法的研究进展[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2018, 40(3):237-240.
- [3] WANG Z, CHEN T, LONG M, et al. Electro-acupuncture at acupoint ST36 ameliorates inflammation and regulates Th1/Th2 balance in delayed-type hypersensitivity [J]. *Inflammation*, 2017, 40(2):422-434.
- [4] 吴珍元, 黄英如, 冼华, 等. 电针对失神经骨骼肌萎缩及纤维化的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2016, 31(2):177-182.
- [5] 刘泽远, 张文革, 黄强开, 等. 被动运动干预对大鼠失神经萎缩骨骼肌中miRNA-1表达和成肌细胞分化的影响[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2016, 30(5):612-618.
- [6] 郭义. *实验针灸学* [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 402-417.
- [7] 郭汝宝, 翁军, 李增图, 等. 推拿手法对家兔失神经支配后肌球蛋白重链mRNA表达的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2015, 33(1):46-48.
- [8] 虎力, 徐平, 王晓南, 等. 针灸在骨骼肌萎缩中的研究现状与展望[J]. *中华中医药学刊*, 2015, 33(4):890-893.
- [9] 崔弘, 宋婷婷, 陶媛媛, 等. 检测蟾蜍离体坐骨神经和腓肠肌生理功能的简便有效辅助装置[J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32(9):1723-1728.
- [10] 陈玄, 叶笑然, 黄晓卿. 电针对大鼠失神经支配骨骼肌萎缩及IGF-1/PI3K/AKT表达的影响[J]. *中国针灸*, 2018, 38(12):1311-1317.
- [11] QUATTROCELLI M, BAREFIELD DY, WARNER JL, et al. Intermittent glucocorticoid steroid dosing enhances muscle repair without eliciting muscle atrophy [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2017, 127(6):2418-2432.
- [12] ZHU L, HAN M B, GAO Y, et al. Curcumin triggers apoptosis via upregulation of Bax/Bcl-2 ratio and caspase activation in SW872 human adipocytes [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2015, 12(1):1151-1156.
- [13] 吴珍元, 黄英如, 李沿江, 等. 低强度脉冲超声波对大鼠失神经骨骼肌萎缩的影响[J]. *中国矫形外科杂志*, 2015, 23(23):2191-2197.
- [14] CHOE KN, MOLDOVAN GL. Forging ahead through darkness: PCNA, still the principal conductor at the replication fork [J]. *Molecular Cell*, 2017, 65(3):380-392.
- [15] 吴梦佳, 唐成林, 黄思琴, 等. 针刺治疗骨骼肌萎缩实验研究进展[J]. *中国康复理论与实践*, 2018, 24(11):1292-1295.
- [16] HARDIE DG, SCHAFFER BE, BRUNET A. AMPK: an energy-sensing pathway with multiple inputs and outputs [J]. *Trends in Cell Biology*, 2016, 26(3):190-201.
- [17] HAWLEY SA, ROSS FA, GOWANS GJ, et al. Phosphorylation by Akt within the ST loop of AMPK- α down-regulates its activation in tumour cells [J]. *Biochemical Journal*, 2015, 459(2):275-287.
- [18] XING SS, YANG XY, ZHENG T, et al. Salidroside improves endothelial function and alleviates atherosclerosis by activating a mitochondria-related AMPK/PI3K/Akt/eNOS pathway [J]. *Vascular Pharmacology*, 2015, 72:141-152.
- [19] YANG L, LIN C, LIU ZR. P68 RNA helicase mediates PDGF-induced epithelial mesenchymal transition by displacing Axin from beta-catenin [J]. *Cell*, 2006, 127(1):139-155.
- [20] ZHANG CS, HAWLEY SA, ZONG Y, et al. Fructose-1, 6-bisphosphate and aldolase mediate glucose sensing by AMPK [J]. *Nature*, 2017, 548(7665):112-116.
- [21] DENG HP, CHAI JK, SHEN CA, et al. Insulin down-regulates the expression of ubiquitin E3 ligases partially by inhibiting the activity and expression of AMP-activated protein kinase in L6 myotubes [J]. *Biosci Rep*, 2015, 35(4):20150017. DOI: 10.1042/BSR20150017.
- [22] 于加倍, 胡扬, 李燕春, 等. 抗阻训练通过Akt-FoxO1通路抑制低氧诱导的骨骼肌萎缩[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2018, 34(10):1118-1126.
- [23] 高睿琦, 唐成林, 曹净, 等. 电针对去神经支配骨骼肌萎缩大鼠PI3K/Akt/mTOR信号通路的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2018, 33(1):15-21.

(收稿日期:2019-10-22,修回日期:2019-12-08)