

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.17.002

不同香烟烟雾暴露强度对大鼠骨骼肌线粒体功能的影响*

章雨微¹ 高晶晶¹ 程意¹ 韩锋锋¹ 李刚² 罗勇^{1,2Δ}

(1 上海交通大学医学院附属新华医院呼吸内科 上海 200092;

2 上海交通大学医学院附属新华医院崇明分院呼吸内科 上海 202150)

摘要 目的:探讨不同烟熏暴露强度对大鼠外周骨骼肌线粒体功能的影响。方法:将 SD 大鼠随机分成 4 个组,分别接受正常空气或 3 个周期烟熏暴露(分别是 4 周、8 周、12 周)。采用 western blot 检测大鼠外周骨骼肌与线粒体生成有关的过氧化物酶体增殖激活受体 γ 共激活因子 1(PGC-1 α)以及涉及氧化磷酸化的细胞色素 c 氧化酶(COX)4 的蛋白表达,RT-PCR 检测与线粒体氧化代谢有关的 Sdhb、线粒体转录因子 A(TFAM)的基因表达以及比色法检测琥珀酸脱氢酶(SDH)活性,电镜检测线粒体形态结构的改变。结果:香烟烟雾暴露能够下调大鼠伸趾长肌(EDL)PGC-1 α 和 COX4 的蛋白表达,PGC-1 α 的表达下调呈明显的暴露强度依赖性。香烟烟雾暴露能够诱发大鼠比目鱼肌 Sdhb、TFAM 基因水平的下调,降低大鼠比目鱼肌 SDH 活性并呈明显的暴露强度依赖性。电镜显示香烟烟雾暴露诱发伸趾长肌线粒体发生空泡样变性。结论:香烟烟雾暴露诱发大鼠骨骼肌线粒体功能障碍,但该作用与骨骼肌的纤维类型组成无明显相关性。

关键词:慢性阻塞性肺疾病;线粒体功能障碍;氧化代谢;骨骼肌功能障碍

中图分类号:R-33;R563;R163.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)17-3208-05

Effects of Various Intensity Ranks of Cigarette Smoke Exposure on the Mitochondrial Function in the Skeletal Muscles of Rats*

ZHANG Yu-wei¹, GAO Jing-jing¹, CHENG Yi¹, HAN Feng-feng¹, LI Gang², LUO Yong^{1,2Δ}

(1 Department of Respiratory Medicine, Xinhua Hospital, Shanghai Jiao Tong University, School of Medicine, Shanghai, 200092, China;

2 Department of Respiratory Medicine, Chongming Branch of Xinhua Hospital, Shanghai Jiao Tong University, School of Medicine, Shanghai, 202150, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of cigarette smoke exposure of various intensity ranks on mitochondrial function during skeletal muscles in rats. **Methods:** Sprague Dawley rats were randomly divided into 4 groups and received normal air or one of three durations of cigarette smoke exposure (4 weeks, 8 weeks and 12 weeks). Western blot was adopted to detect the protein expression of peroxisome-proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 (PGC-1 α) and cytochrome c oxidase (COX) 4 related to mitochondrial biogenesis and oxidative phosphorylation respectively in peripheral skeletal muscle of rats. And the gene expressions of Sdhb and transcription factor A of mitochondria (TFAM) associated with mitochondrial oxidative metabolism were assayed by RT-PCR. Succinate dehydrogenase (SDH) activity was assessed colorimetrically. Besides, electron microscopy can be used for morphological and ultrastructural observation for mitochondria. **Results:** Cigarette smoke exposure can downregulate the protein expressions of PGC-1 α and COX4 during extensor digitorum longus (EDL) of rats in a significant intensity-dependent manner. Cigarette smoke exposure induced the downregulation of the gene expression of Sdhb and TFAM and reduced the SDH activity during soleus muscle of rats in a significant intensity-dependent manner. Electron microscopy presents cigarette smoke exposure induced vacuolar degeneration during EDL. **Conclusion:** Cigarette smoke exposure can induce the mitochondrial dysfunction in the skeletal muscles of rats, which is independent of the fiber type composition of skeletal muscles.

Key words: Chronic obstructive pulmonary disease; Mitochondrial dysfunction; Oxidative metabolism; Skeletal muscle atrophy

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R563; R163.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)17-3208-05

前言

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种以慢性气道炎症为特征的不完全可逆的阻塞性

气道疾病^[1-3]。COPD 患者除肺部病变以外,还有典型的全身临床表现,包括骨质疏松与骨骼肌功能障碍^[4]。骨骼肌功能障碍包括骨骼肌萎缩以及纤维类型转变,导致个人活动能力以及生活质量下降,已经发展为气流受限程度指标外的另一个影响

* 基金项目:上海市卫生和计划生育委员会资助项目(20134141);崇明区科学技术委员会科研攻关计划项目(CKY2017-13)

作者简介:章雨微(1993-),女,硕士研究生,主要研究方向:COPD 骨骼肌营养代谢的基础研究,E-mail: zhangyw16@sjtu.edu.cn

Δ 通讯作者:罗勇(1965-),男,硕士生导师,主任医师,主要研究方向:COPD 骨骼肌营养代谢的基础研究,E-mail: luoyong@xinhua.com.cn

(收稿日期:2019-03-04 接受日期:2019-03-28)

COPD 预后的因素^[5,6]。

线粒体是细胞内的一个重要细胞器,在骨骼肌组织中通过调节线粒体以及核基因组的基因转录产生与氧化磷酸化、钙离子平衡、凋亡、产热相关的蛋白从而在能量制造、信号传导级联等方面发挥着重要作用^[7,8]。在生理环境下,线粒体在通过氧化磷酸化生成 ATP 的同时也产生了适量的反应性氧种类(reactive oxygen species, ROS)^[9,10]。线粒体的相对丰度在骨骼肌组织中也反映了骨骼肌的纤维亚型,在 I 型纤维中线粒体含量较高,II 型纤维则较低。线粒体的含量与功能的改变在少肌症^[11,12]、肢体失用^[13]诱发的骨骼肌萎缩模型中得到证实。然而,线粒体功能障碍是否涉及 COPD 并发的骨骼肌功能障碍尚不明确。

烟草是 COPD 最为重要的致病原因^[14-17],骨骼肌的改变可以发生在 COPD 肺部病变的临床症状出现之前。因此,本研究选取了 3 个烟熏暴露周期构建香烟烟雾暴露的动物模型,模拟 COPD 发生前后的骨骼肌改变,旨在探究不同程度的烟熏暴露对骨骼肌线粒体功能的影响。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

SD 大鼠购于上海斯莱克(SLAC)实验动物公司,烟熏装置自制而成。SDH 活性检测试剂盒购于南京建成公司。Trizol、反转录以及 QPCR 试剂均购于日本 TAKARA 公司。PGC-1 α 、COX4 抗体购自美国 Abcam 公司,GAPDH 抗体购自美国 santa cruz 公司。辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗小鼠、兔抗体均购自碧云天公司。检测 Sdhb、TFAM、GAPDH 基因的上下游引物均订购于上海生工。

1.2 大鼠 COPD 模型的建立

将 24 只 SPF 级 SD 雌性大鼠(体重约 200-220 g,年龄约 6 周)随机分入正常对照组、烟熏 4 周(CS4w)组、烟熏 8 周(CS8w)组、烟熏 12 周(CS12w)组,我们采用香烟烟熏法构建 COPD 大鼠模型。接受烟熏的大鼠模型每 6 只置于烟熏装置,使其全身被动接受香烟烟雾暴露。正常对照组大鼠每天吸入正常空气。在实验终点统一进行大鼠的麻醉以及取材。分离伸趾长肌、比目鱼肌并称重,取伸趾长肌中段留做电镜观察,剩余标本经液氮速冻后转移到 -80℃ 冰箱。动物实验方案均经过上海交通大学医学院附属新华医院伦理委员会批准同意后开展进行。

1.3 SDH 活性检测

将比目鱼肌进行组织匀浆后,离心取上清,经蛋白浓度测定后配制工作液,在 96 孔板进行蛋白样品的加样后,继续加入适量工作液,间隔 1 分钟通过酶标仪检测吸光度的变化。

1.4 Real-time PCR 检测

使用 Trizol 试剂从比目鱼肌的组织匀浆液中提取 RNA,将 1000ng 的 RNA 反转录为 cDNA,最后将得到的 cDNA 进行 QPCR 检测。本实验所需的基因(Sdhb、TFAM、GAPDH)上下游引物包括:Sdhb 上游,5'-CCGATGGTGCTGGATGCTC-TAATC-3' 和下游,5'-AGCGTGTTCCTCCGTTGATG-3'; TFAM 上游,5'-CGTGCTAAGAACACTGGGGC-3' 和下游,5'-ACAGATAAGGCTGACAGGCGA-3'; GAPDH 上游,5'-GCAAGTTCAACGCACAG-3', 下游,5'-GCAAGTA-GACTCCACGACAT-3'。目的基因表达量是通过管家基因 GAPDH 的表达 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 计算得来。

1.5 Western blot 检测

将伸趾长肌加入 RIPA 裂解液进行组织匀浆,离心获取上清,经 BCA 法测定蛋白浓度,蛋白煮沸变性后行 SDS-PAGE 电泳。然后转移到 PVDF 膜上,进行后续的 5%脱脂牛奶室温封闭 2 小时,一抗 4℃ 孵育过夜,二抗室温孵育 1 小时以及曝光显影。将 GAPDH 作为内参对照,目的蛋白的灰度值经 GAPDH 灰度值校正后进行比较。

1.6 透射电子显微镜 (Transmission Electron Microscope, TEM) 观察

将伸趾长肌中放置于 2.5%戊二醛中 4℃ 固定过夜,经 1% 锇酸固定、乙醇脱水、环氧树脂包埋,即制成超薄切片。经 1%醋酸双氧铀染色后观察线粒体的超微结构。

1.7 统计学分析

本实验涉及的全部数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。组间比较通过 SAS 9.2 统计学软件的单因素方差分析完成。所有实验过程至少重复 3 次,每组设立 3 个副孔。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 烟熏暴露导致骨骼肌重量下降

随着烟熏强度的增加,大鼠比目鱼肌出现了持续萎缩的改变(图 1),肌肉重量在 CS12w 组达到最低水平[(30.862 $\pm$ 7.858) mg/g vs (56.747 $\pm$ 1.807) mg/g, $P < 0.001$],并且 CS12w 组比目鱼肌的重量显著低于 CS8w 组、CS4w 组[(30.862 $\pm$ 7.858) mg/g vs (45.747 $\pm$ 1.133) mg/g, $P < 0.01$] [(30.862 $\pm$ 7.858) mg/g vs (54.181 $\pm$ 1.748) mg/g, $P < 0.05$],比目鱼肌在 CS8w 组的重量较 CS4w 组及正常组减低[(45.747 $\pm$ 1.133) mg/g vs (54.181 $\pm$ 1.748) mg/g, $P < 0.05$] [(45.747 $\pm$ 1.133) mg/g vs (56.747 $\pm$ 1.807) mg/g, $P < 0.05$],但 CS4w 组大鼠比目鱼肌的重量与正常组之间未显示统计学差异 [(54.181 $\pm$ 1.748) mg/g vs (56.747 $\pm$ 1.807) mg/g, $P > 0.05$)]。

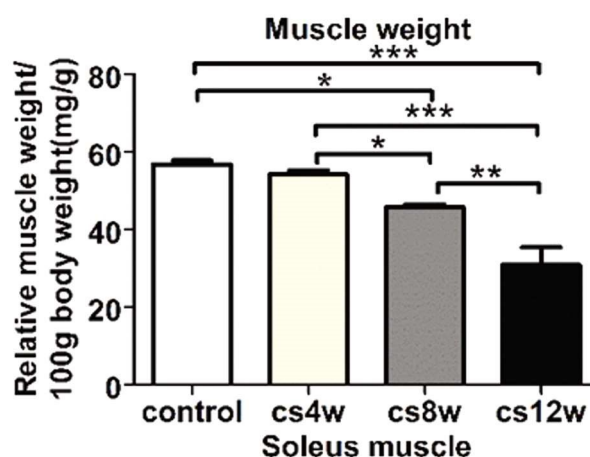


图 1 烟熏暴露对大鼠骨骼肌重量的影响

Fig.1 Effects of cigarette smoke exposure on the muscle weight in rats
注:图 1 展示了正常对照组、CS4w 组、CS8w 组、CS12w 组四组大鼠的比目鱼肌称重后得到的湿重,并经 100g 自身体重校正后得到的相对肌肉重量。 $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ 。

Notes: As presented in fig.1, the relative muscle weight for soleus during rats in four groups including normal control, CS4w, CS8w and CS12w was calculated by wet muscle weight normalized to corresponding body weight of 100 gram. $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$.

2.2 烟熏暴露强度引起外周骨骼肌线粒体氧化功能的下降

PGC-1 α 、COX4、Sdhb、TFAM 涉及线粒体生成、氧化磷酸化、线粒体 DNA(mitochondrial DNA,mtDNA)稳定的维持。随着烟熏暴露时间的延长,与正常对照相比,PGC-1 α 、COX4 蛋白水平表达(图 2A、B)基本呈下调趋势,差异有统计学意义(0.935 ± 0.031 倍, 0.920 ± 0.060 倍, 0.677 ± 0.064 倍, $P < 0.05$) (0.719 ± 0.096 倍, 0.591 ± 0.076 倍, 0.603 ± 0.049 倍, $P < 0.05$)。PGC-1 α 蛋白表达量在烟熏 12 周后达到最低 [(0.677 ± 0.064) 倍 vs (1.062 ± 0.054) 倍, $P < 0.001$]。COX4 在 CS12w 组表达略高于 CS8w 组,但差异无统计学意义 [(0.603 ± 0.049) 倍 vs (0.591 ± 0.076) 倍, $P > 0.05$],并且其表达量仍明显低于正常组,差异有显著的统计学意义 [(0.603 ± 0.049) 倍 vs (0.922 ± 0.168) 倍, $P < 0.01$]。烟熏处理后,Sdhb 的 mRNA 水平(图 2C)在三组实验组的比目鱼肌均低于正常对照组。在 CS4w 组与 CS12w 组的 Sdhb mRNA 水平同正常组相比表达下调,差异有统计学意义 [(0.657 ± 0.066) 倍 vs 1, $P < 0.05$], [(0.610 ± 0.262) 倍 vs 1, $P < 0.05$]。但在 CS8w 组 Sdhb 的基因水平只显示下降趋势,未呈现统计学差异 [(0.729 ± 0.107) 倍 vs 1, $P > 0.05$]。另外,在 CS12w 组的

Sdhb 基因表达量低于 CS8w 组,但在统计学水平上未显示出差异 [(0.610 ± 0.262) 倍 vs (0.729 ± 0.107) 倍, $P > 0.05$]。与正常对照相比,比目鱼肌的 TFAM 的 mRNA 水平(图 2C)通过烟熏暴露作用持续下调 (0.844 ± 0.107 倍, 0.755 ± 0.094 倍, 0.541 ± 0.068 倍, $P < 0.05$),在 CS12w 组表达量降至最低水平 [(0.541 ± 0.068) 倍 vs 1, $P < 0.001$],且其表达量明显低于 CS4w 组、CS8w 组,差异具有统计学意义 [(0.541 ± 0.068) 倍 vs (0.844 ± 0.107) 倍, $P < 0.05$] [(0.541 ± 0.068) 倍 vs (0.755 ± 0.094) 倍, $P < 0.01$]。在与线粒体含量及氧化功能相关的 SDH 活性水平上(图 2D),比目鱼肌在烟熏 8 周后开始出现明显的下降改变,并且 CS8w 组以及 CS12w 组的 SDH 活性水平都显著低于正常组和 CS4w 组,差异有统计学意义 [CS8w vs Control, (14.020 ± 2.713) OD/min/mgprot/ml vs (63.026 ± 15.399) OD/min/mgprot/ml, $P < 0.001$] [CS8w vs CS4w, (14.020 ± 2.713) OD/min/mgprot/ml vs (60.621 ± 16.007) OD/min/mgprot/ml, $P < 0.01$] [CS12w 组 vs Control, (8.172 ± 2.981) OD/min/mgprot/ml vs (63.026 ± 15.399) OD/min/mgprot/ml, $P < 0.001$] [CS12w vs CS4w, (8.172 ± 2.981) OD/min/mgprot/ml vs (60.621 ± 16.007) OD/min/mgprot/ml, $P < 0.001$]。

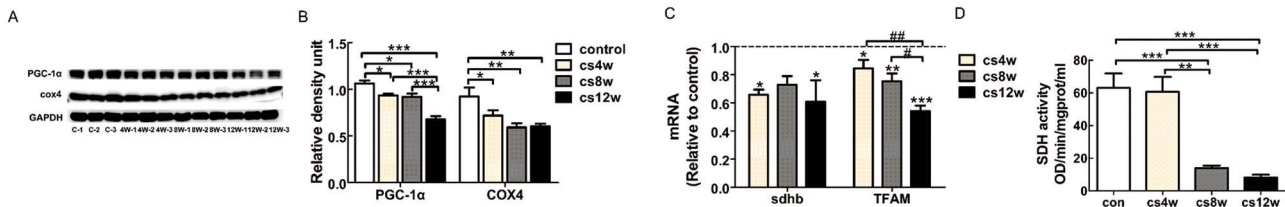


图 2 不同烟熏暴露对外周骨骼肌线粒体功能的影响

Fig.2 Effects of various cigarette smoke exposure on the mitochondrial function for peripheral skeletal muscle

注:图 2A-C 展示了来自正常对照组、CS4w 组、CS8w 组、CS12w 组大鼠 EDL 标本与线粒体生成以及氧化磷酸化相关的 PGC-1 α 、COX4 的蛋白表达含量以及比目鱼肌的 Sdhb、TFAM 的 mRNA 水平改变。图 2D 反映了来自四组大鼠的比目鱼肌通过比色法检测到的与线粒体含量相关的 SDH 活性水平。图 2B、D: $P < 0.05$, $P^{***} < 0.01$, $P^{***} < 0.001$;图 2C: $P < 0.05$ vs 正常对照组, $P^{**} < 0.01$ vs 正常对照组, $P^{***} < 0.001$ vs 正常对照组, $P \# < 0.05$, $P \# \# < 0.01$ 。

Notes: As presented in fig.2A-C, the protein expression of PGC-1 α and COX4 related to mitochondrial biogenesis and oxidative phosphorylation for EDL together with the mRNA level of Sdhb and TFAM for soleus from rats in four groups including normal control, CS4w, CS8w and CS12w was revealed. As shown in fig.2D, SDH activity associated with the mitochondrial contents was assessed colorimetrically in soleus from rats of four groups.

Fig.2B, D: $P < 0.05$, $P^{**} < 0.01$, $P^{***} < 0.001$; fig.2C: $P < 0.05$ versus normal control, $P^{**} < 0.01$ versus normal control, $P^{***} < 0.001$ versus normal control, $P \# < 0.05$, $P \# \# < 0.01$.

2.3 烟熏暴露诱导线粒体发生空泡样变性

在 TEM 镜下可见到的线粒体分为肌膜线粒体和肌纤维间线粒体两种类型。本研究重点观察肌纤维间线粒体的结构改变。随着烟熏暴露强度的增加,大鼠伸趾长肌的线粒体结构发生了明显的空泡样改变(图 3)。在正常对照组,结构异常的线粒体缺如。在 CS4w 组,可见病变线粒体异常肿胀,线粒体膜内多个空泡的形成,但线粒体的正常结构基本可以分辨。在 CS8w 组可见病变线粒体基本结构消失,整个线粒体呈空泡样改变。在 CS12w 组,线粒体的空泡样改变较 CS8w 组更加显著,无法分辨病变线粒体的正常形态。

3 讨论

烟草是 COPD 发病的首要原因^[18,19]。与 II 型肌纤维相比, I 型肌纤维线粒体、细胞色素、氧化酶含量以及活性均很高, PGC-1 α 的表达也较 II 型纤维高^[20]。因此,本研究选择的实验标

本分别为比目鱼肌和伸趾长肌,前者富含 I 型纤维,后者富含 II 型纤维,从而探究不同烟熏暴露对不同纤维亚型为主的骨骼肌线粒体功能的影响。

过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 1(peroxisome-proliferator-activated receptor- γ coactivator-1, PGC-1 α)最初被认为是过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome-proliferator-activated receptor- γ , PPAR γ)的协同激活子,通过研究了解到该分子能够与许多转录因子结合从而在线粒体生成、氧化代谢的调节以及糖类、脂类、能量代谢平衡的维持等方面发挥重要功能^[21]。同时,PGC-1 α 被推测可能具有调节纤维类型转变 (II $\rightarrow$ I) 以及抗肌肉萎缩的作用^[21-24]。而我们的研究结果表明烟熏暴露能够诱发 PGC-1 α 表达的下调,与在癌症恶病质、肾衰竭、糖尿病诱导的骨骼肌萎缩的啮齿类动物模型中观察到 PGC-1 α mRNA 表达水平的下降^[25,26]基本相符,提示 COPD 病人的骨骼肌萎缩与纤维类型转变可能与 PGC-1 α 的表达下调有

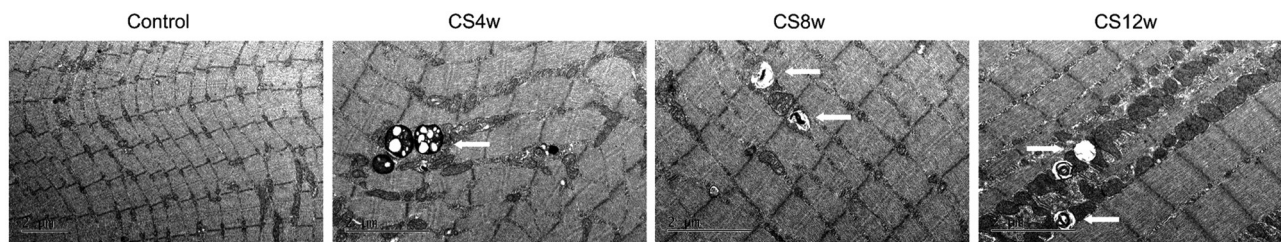


图3 伸趾长肌线粒体的超微结构

Fig.3 The ultrastructure of mitochondria in EDL

注:图3展示了正常对照组、CS4w组、CS8w组、CS12w组大鼠伸趾长肌在TEM镜下的细胞器超微结构包括内质网、线粒体等形态改变。比例尺为2 μ m。白色箭头代表结构异常的线粒体。

Notes: As presented in fig.3, the ultrastructural alterations for organelles such as endoplasmic reticulum and mitochondria were observed via TEM for EDL during rats in four groups including normal control, CS4w, CS8w and CS12w. Scale bar=2 μ m. The white arrows represent abnormal mitochondria in ultrastructure.

关。但在该香烟烟雾暴露的大鼠模型中,引起PGC-1 α 表达下调以及与PGC-1 α 有关的调控骨骼肌功能障碍的分子机制尚不明确。考虑到动物实验涉及到的个体的复杂性以及分子通路的多样性以及交互性,单纯使用烟熏干预而没有对PGC-1 α 进行敲除或过表达,很难说明该基因参与动物表型的改变。所以需要在香烟烟雾干预下骨骼肌萎缩的基因敲除和过表达的动物模型或者是肌管萎缩的细胞体外模型中进一步探讨涉及COPD骨骼肌功能障碍的分子机制。

细胞色素c氧化酶(Cytochrome c oxidase, COX)复合物是由mtDNA和细胞核DNA编码得到的13个亚基共同组成的其中一种呼吸链酶复合体^[20,27],在氧化磷酸化代谢过程中负责将电子从细胞色素c传递给氧,COX4是该酶复合物其中的一个亚基,表达水平能够反映线粒体氧化代谢。Sdhb能够编码线粒体呼吸链酶复合体II,其表达与线粒体呼吸功能有关。线粒体转录因子A(transcription factor A of mitochondria, TFAM)能够调控mtDNA编码的13个电子传递链(electron transport chain, ETC)亚基的转录,同时也能够控制线粒体DNA的复制与稳定^[28,29]。另外,SDH是构成线粒体呼吸链的重要酶成分^[30],所以本实验选择COX4、Sdhb、TFAM的表达水平以及SDH活性衡量线粒体氧化磷酸化功能。通过实验发现,烟熏暴露能够诱发伸趾长肌的COX4蛋白表达以及比目鱼肌的Sdhb、TFAM的基因表达的明显下调,表明烟熏暴露损害大鼠外周骨骼肌线粒体的氧化呼吸功能,并且该改变与骨骼肌的纤维类型组成无关。

通过香烟烟雾暴露,大鼠的比目鱼肌出现了明显的萎缩改变。与正常对照组相比,伸趾长肌COX4、PGC-1 α 蛋白表达下调,比目鱼肌Sdhb、TFAM基因表达下调以及SDH活性下降,结合电镜显示的伸趾长肌的线粒体空泡样变性,表明香烟烟雾暴露能够诱发骨骼肌的线粒体功能障碍,且该作用与骨骼肌纤维类型无关。考虑到线粒体在能量代谢的重要调控作用,所以该研究结果为COPD并发的骨骼肌萎缩与纤维类型转变的机制研究提供了线索。

4 结论

香烟烟雾暴露诱发大鼠骨骼肌的线粒体功能障碍,但该作用与骨骼肌的纤维类型组成无明显相关性。

参考文献(References)

- [1] BHATT S P, KIM Y I, HARRINGTON K F, et al. Smoking duration alone provides stronger risk estimates of chronic obstructive pulmonary disease than pack-years[J]. Thorax, 2018, 73(5): 414-421
- [2] KIM C Y, PARK Y, LEEM A Y, et al. Relationship between airway obstruction and incidence of metabolic syndrome in Korea: a community-based cohort study[J]. International journal of chronic obstructive pulmonary disease, 2018, 13: 2057-2063
- [3] RODRIGUEZ-ROISIN R, RABE K F, VESTBO J, et al. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 20th Anniversary: a brief history of time[J]. Eur Respir J, 2017, 50(1)
- [4] POMIES P, BLAQUIERE M, MAURY J, et al. Involvement of the FoxO1/MuRF1/Atrogin-1 Signaling Pathway in the Oxidative Stress-Induced Atrophy of Cultured Chronic Obstructive Pulmonary Disease Myotubes[J]. PLoS One, 2016, 11(8): e0160092
- [5] SANDERS K J, KNEPPERS A E, VAN DE BOOL C, et al. Cachexia in chronic obstructive pulmonary disease: new insights and therapeutic perspective[J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2016, 7(1): 5-22
- [6] DONALDSON A V, MADDOCKS M, MARTOLINI D, et al. Muscle function in COPD: a complex interplay [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2012, 7: 523-535
- [7] PAGEL-LANGENICKEL I, BAO J, PANG L, et al. The role of mitochondria in the pathophysiology of skeletal muscle insulin resistance [J]. Endocrine reviews, 2010, 31(1): 25-51
- [8] YU T, FERDJALLAH I, ELENBERG F, et al. Mitochondrial fission contributes to heat-induced oxidative stress in skeletal muscle but not hyperthermia in mice[J]. Life Sci, 2018, 200: 6-14
- [9] HINCHY E C, GRUSZCZYK A V, WILLOWS R, et al. Mitochondria-derived ROS activate AMP-activated protein kinase (AMPK) indirectly[J]. J Biol Chem, 2018, 293(44): 17208-17217
- [10] MAILLOUX R J, TREBERG J R. Protein S-glutathionylation links energy metabolism to redox signaling in mitochondria[J]. Redox biology, 2015, 8: 110-118
- [11] ROMANELLO V, GUADAGNIN E, GOMES L, et al. Mitochondrial fission and remodelling contributes to muscle atrophy [J]. Embo j, 2010, 29(10): 1774-1785
- [12] WENZ T, ROSSI S G, ROTUNDO R L, et al. Increased muscle PGC-1 α expression protects from sarcopenia and metabolic disease during aging [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(48): 19983-19988

20405-20410

- [13] POWERS S K, WIGGS M P, DUARTE J A, et al. Mitochondrial signaling contributes to disuse muscle atrophy [J]. American journal of physiology. Endocrinology and metabolism, 2012, 303(1): E31-E39
- [14] DEGENS H, GAYAN-RAMIREZ G, VAN HEES H W. Smoking-induced skeletal muscle dysfunction: from evidence to mechanisms[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2015, 191(6): 620-625
- [15] POSSO S V, QUESNOT N, MORAES J A, et al. AT-RVD1 repairs mouse lung after cigarette smoke-induced emphysema via downregulation of oxidative stress by NRF2/KEAP1 pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 56: 330-338
- [16] NEDELJKOVIC I, CARNERO-MONTORO E, LAHOUSSE L, et al. Understanding the role of the chromosome 15q25.1 in COPD through epigenetics and transcriptomics [J]. Eur J Hum Genet, 2018, 26(5): 709-722
- [17] RAAG M, PARNA K. Cigarette smoking and smoking-attributable diseases among Estonian physicians: a cross-sectional study[J]. BMC Public Health, 2018, 18(1): 194
- [18] SATO K, SHIBATA Y, INOUE S, et al. Impact of cigarette smoking on decline in forced expiratory volume in 1s relative to severity of air-flow obstruction in a Japanese general population: The Yamagata-Takahata study[J]. Respir Investig, 2018, 56(2): 120-127
- [19] SAVRAN O, ULRIC C S. Early life insults as determinants of chronic obstructive pulmonary disease in adult life [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2018, 13: 683-693
- [20] SILVESTRI E, CIOFFI F, DE MATTEIS R, et al. 3,5-Diiodo-L-Thyronine Affects Structural and Metabolic Features of Skeletal Muscle Mitochondria in High-Fat-Diet Fed Rats Producing a Co-adaptation to the Glycolytic Fiber Phenotype [J]. Frontiers in physiology, 2018, 9: 194-194
- [21] L Z, Y Z, W W, et al. Skeletal Muscle-Specific Overexpression of PGC-1 α Induces Fiber-Type Conversion through Enhanced Mitochondrial Respiration and Fatty Acid Oxidation in Mice and Pigs[J]. International journal of biological sciences, 2017, 13(9): 1152-1162
- [22] J C, L B, M S, et al. The role of alterations in mitochondrial dynamics and PGC-1 α over-expression in fast muscle atrophy following hindlimb unloading [J]. The Journal of physiology, 2015, 593 (8): 1981-9195
- [23] CANNAVINO J, BROCCA L, SANDRI M, et al. PGC1-alpha over-expression prevents metabolic alterations and soleus muscle atrophy in hindlimb unloaded mice [J]. J Physiol, 2014, 592 (20): 4575-4589
- [24] ATTAIX D, PICHARD C, BARACOS V E. Muscle wasting: is mitochondrial dysfunction a key target? [J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2015, 18(3): 213-214
- [25] M S, J L, C H, et al. PGC-1alpha protects skeletal muscle from atrophy by suppressing FoxO3 action and atrophy-specific gene transcription[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(44): 16260-16265
- [26] ARGILES J M, LOPEZ-SORIANO F J, BUSQUETS S. Muscle wasting in cancer: the role of mitochondria[J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2015, 18(3): 221-225
- [27] MITO T, ISHIZAKI H, SUZUKI M, et al. Transmitochondrial miceDelta and mtDNA mutator mice, but not aged mice, share the same spectrum of musculoskeletal disorders[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 456(4): 933-937
- [28] GASPARI M, LARSSON N G, GUSTAFSSON C M. The transcription machinery in mammalian mitochondria [J]. Biochim Biophys Acta, 2004, 1659(2-3): 148-152
- [29] SU Z, KLEIN J D, DU J, et al. Chronic kidney disease induces autophagy leading to dysfunction of mitochondria in skeletal muscle[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2017, 312(6): F1128-f1140
- [30] ACEVEDO L M, RAYA A I, MARTINEZ-MORENO J M, et al. Mangiferin protects against adverse skeletal muscle changes and enhances muscle oxidative capacity in obese rats [J]. PLoS One, 2017, 12(3): e0173028

(上接第 3243 页)

- [18] 郭丽婷,高志红,葛焕琦. 2 型糖尿病患者外周血 microRNA-155、细胞核因子- κ B 和可溶性细胞间黏附分子-1 的表达及其与血管并发症的关系研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2017, 25(3): 213-217
- [19] Bijkerk R, Duijs JM, Khairoun M, et al. Circulating microRNAs associate with diabetic nephropathy and systemic microvascular damage and normalize after simultaneous pancreas-kidney transplantation [J]. Am J Transplant, 2015, 15(4): 1081-1090
- [20] 唐春银,李玲玉,武艳,等.microRNAs 在糖尿病肾病中的研究进展[J]. 牡丹江医学院学报, 2017, 38(5): 123-125
- [21] 廖华君,文小敏,许帅.microRNA-21 在糖尿病肾病发病机制中的研究进展[J]. 安徽医科大学学报, 2018, 53(9): 1482-1485
- [22] Riancho J, Vázquez-Higuera JL, Pozueta A, et al. MicroRNA Profile in Patients with Alzheimer's Disease: Analysis of miR-9-5p and miR-598 in Raw and Exosome Enriched Cerebrospinal Fluid Samples [J]. J Alzheimers Dis, 2017, 57(2): 483-491
- [23] 杨雪唯,梁小弟,努尔斯曼古丽·奥斯曼,等. MicroRNA 及其靶基因在糖尿病肾病小鼠肾脏的表达[J]. 科技导报, 2017, 38(4): 84-89