

人参三醇皂苷对 D-半乳糖诱导小鼠骨骼肌衰老的改善作用 及其机制

贾贺强¹, 潘路*, 王振江², 逯家宇³, 王丹¹, 刘立峰², 董营¹, 于春艳^{1,4}

(1. 北华大学基础医学院病理学教研室, 吉林 吉林 132013; 2. 北华大学基础医学院解剖学教研室, 吉林 吉林 132013; 3. 北华大学附属医院麻醉科, 吉林 吉林 132013; 4. 吉林医药学院基础医学院病理学教研室, 吉林 吉林 132013)

[摘要] **目的:** 探讨人参三醇皂苷 (PTS) 对 D-半乳糖 (D-gal) 诱导小鼠骨骼肌衰老的作用, 并阐明其可能的分子机制。**方法:** 将 72 只 C57BL/6J 雄性小鼠随机分为对照组、D-gal 组、PTS 组和 D-gal+PTS 组, 构建 D-半乳糖构建骨骼肌衰老模型, 再给予 PTS。观察各组小鼠一般情况, 测量小鼠股直肌质量并计算肌肉质量指数 (SI), 采用 HE 染色观察各组小鼠骨骼肌组织病理形态表现, Western blotting 法检测各组小鼠骨骼肌中真核翻译起始因子 2 α (eIF2 α) / 激活转录因子 4 (ATF4) 信号通路内质网 (ER) 应激相关蛋白表达水平。**结果:** 与对照组比较, D-gal 组小鼠皮肤毛发稀疏、质地较差, 行为异常、活动减少; 与 D-gal 组比较, D-gal+PTS 组小鼠毛发状态明显改善, 行为状态改善, 更为活跃。与对照组比较, D-gal 组小鼠体质量、左股直肌和右股直肌 SI 均明显降低 ($P<0.01$); 与 D-gal 组比较, D-gal+PTS 组小鼠体质量、左股直肌和右股直肌 SI 明显升高 ($P<0.01$)。HE 染色, 与对照组比较, D-gal 组小鼠股直肌横截面可见破碎的肌纤维, 肌细胞核内移, 细胞间隙明显增宽, 呈肌肉减少的形态学改变; PTS 组小鼠上述组织未出现明显差异。与 D-gal 组比较, D-gal+PTS 组小鼠肌细胞形态规则, 细胞间隙不增宽, 无肌细胞核内移, 肌肉形态明显改善。Western blotting 法, 与对照组比较, D-gal 组小鼠骨骼肌组织中磷酸化蛋白激酶 RNA 样内质网激酶 (p-PERK) / PERK 比值、C/EBP 同源蛋白 (CHOP) 和 ATF4 和激活转录因子 5 (ATF5) 蛋白表达水平及磷酸化 eIF2 α (p-eIF2 α) / eIF2 α 比值均明显升高 ($P<0.01$); 与 D-gal 组比较, PTS 组和 D-gal+PTS 组小鼠骨骼肌组织中 p-PERK/PERK p-eIF2 α /eIF2 α 比值和 ATF4 及 ATF5 蛋白表达水平均明显降低 ($P<0.01$)。与对照组比较, D-gal 组小鼠骨骼肌组织中 B 细胞淋巴瘤 2 (Bcl-2) 相关 X 蛋白 (Bax) 蛋白表达水平明显升高 ($P<0.01$), Bcl-2 蛋白表达水平明显降低 ($P<0.01$); 与 D-gal 组比较, PTS 组和 D-gal+PTS 组小鼠骨骼肌组织中 Bax 蛋白表达水平明显降低 ($P<0.01$), PTS 组和 D-gal+PTS 组小鼠骨骼肌组织中 Bcl-2 蛋白表达水平明显升高 ($P<0.01$)。**结论:** PTS 可改善 D-gal 诱导小鼠骨骼肌衰老, 并下调 eIF2 α /ATF4 信号通路蛋白表达, 其作用机制可能与 eIF2 α /ATF4 信号通路和 Bax 与 Bcl-2 的分子机制有关。

[关键词] 骨骼肌衰老; 人参三醇皂苷; D-半乳糖; 内质网应激; 蛋白激酶 RNA 样内质网激酶
[中图分类号] R739.5 **[文献标志码]** A

[收稿日期] 2025-09-26 [录用日期] 2025-11-10

[基金项目] 吉林省科技厅科技发展计划项目 (20230203073SF, YDZJ202301ZYTS112, 20210101022JC); 吉林省教育厅科学技术研究项目 (JJKH20230079KJ); 北华大学校级大学生创新创业训练计划项目 (2025 年); 北华大学研究生创新计划项目 (研创合字 [2024] 022)

[作者简介] 贾贺强 (1997—), 男, 山西省忻州市人, 在读硕士研究生, 主要从事衰老生理学方面的研究。

[通信作者] 董营, 副教授 (E-mail: dongying@beihua.edu.cn);

于春艳, 教授, 硕士研究生导师 (E-mail: gchunyanyu@163.com)

©《吉林大学学报 (医学版)》编辑部, 开放获取遵循 CC BY-NC-ND 协议。

© Editorial Board of Journal of Jilin University (Medicine Edition). Open access under CC BY-NC-ND license.

Improving effect of Panaxatriol saponins on D-galactose-induced skeletal muscle aging of mice and its mechanism

JIA Heqiang¹, PAN Lu^{*}, WANG Zhenjiang², LU Jiayu³, WANG Dan¹, LIU Lifeng², DONG Ying¹,
YU Chunyan^{1,4}

(1. Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences, Beihua University, Jilin 132013, China;
2. Department of Human Anatomy, School of Basic Medical Sciences, Beihua University, Jilin 132013,
China; 3. Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital, Beihua University, Jilin 132013, China;
4. Department of Pathology, School of Basic Medicine Sciences, Jilin Medical University, Jilin 132013, China)

ABSTRACT Objective: To discuss the effect of Panaxatriol saponins (PTS) on D-galactose (D-gal)-induced skeletal muscle aging of mice, and to clarify its possible molecular mechanism. **Methods:** Seventy-two male C57BL/6J mice were randomly divided into control group, D-gal group, PTS group, and D-gal+PTS group. A D-gal-induced skeletal muscle aging model was established, and then PTS was administered; the general condition of the mice in various groups was observed; the weight of rectus femoris muscle of mice was measured and the sarcopenia index (SI) was calculated; HE staining was used to observe the pathomorphology of skeletal muscle tissue of the mice in various groups; Western blotting method was used to detect the expression levels of endoplasmic reticulum(ER) stress-related proteins in the eukaryotic translation initiation factor 2 α (eIF2 α)/activating transcription factor 4 (ATF4) signaling pathway in skeletal muscle tissue of the mice in various groups. **Results:** The observation of general condition showed that compared with control group, the mice in D-gal group had sparse and poor quality hair, abnormal behavior, and decreased activity; compared with D-gal group, the mice in D-gal+PTS group showed significantly improved hair condition, improved behavioral state, and were more active. The measurement results showed that compared with control group, the body mass, left rectus femoris SI, and right rectus femoris SI of the mice in D-gal group were significantly decreased ($P<0.01$); compared with D-gal group, the body mass, left rectus femoris SI, and right rectus femoris SI of the mice in D-gal+PTS group were significantly increased ($P<0.01$). The HE staining results showed that compared with control group, the cross-section of rectus femoris muscle of the mice in D-gal group showed broken muscle fibers, nuclear internalization of myocytes, and significantly widened intercellular space were observed, showing the morphological changes of sarcopenia; no significant differences were observed in the above tissues of the mice in PTS group; compared with D-gal group, the myocytes of the mice in D-gal+PTS group had regular morphology, no widening of intercellular space, no nuclear internalization, and the muscle morphology was significantly improved. The Western blotting method results showed that compared with control group, the ratio of phosphorylated PERK (p-PERK) to PERK (p-PERK/PERK ratio), the expression levels of C/EBP homologous protein (CHOP) and ATF4 and activating transcription factor 5 (ATF5) proteins, and the ratio of phosphorylated eIF2 α (p-eIF2 α) to eIF2 α (p-eIF2 α /eIF2 α ratio) in skeletal muscle tissue of the mice in D-gal group were significantly increased ($P<0.01$); compared with D-gal group, the p-PERK/PERK ratio, p-eIF2 α /eIF2 α ratio, and the expression levels of ATF4 and ATF5 proteins in PTS group and D-gal+PTS group were significantly decreased ($P<0.01$). The Western blotting method results also showed that compared with control group, the expression level of B-cell lymphoma 2 (Bcl-2)-associated X protein (Bax) in skeletal muscle tissue of the mice in D-gal group was significantly increased ($P<0.01$), and the expression level of Bcl-2 protein was significantly decreased ($P<0.01$); compared with D-gal group, the expression levels of Bax protein in skeletal muscle tissue of the mice in PTS group and D-gal+PTS group were significantly decreased ($P<0.01$), and the expression

levels of Bcl-2 protein in skeletal muscle tissue of the mice in PTS group and D-gal+pts group were significantly increased ($P<0.01$). **Conclusion:** PTS can ameliorate D-gal-induced skeletal muscle aging of the mice and down-regulate the expression of proteins in the eIF2 α /ATF4 signal pathway; its mechanism may be related to eIF2 α /ATF4 signal pathway and molecular mechanism of Bax and Bcl-2.

KEYWORDS Skeletal muscle aging; Panaxatriol saponins; D-galactose; Endoplasmic reticulum stress; Protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum

随着年龄的增长,骨骼肌逐渐经历退化和衰老的过程^[1-2]。肌肉衰退和萎缩是衰老的重要标志,常表现为骨骼肌质量、力量和运动功能的进行性下降,最终发展为肌肉减少症^[3],常伴随肌肉功能丧失和行动能力受限,生活质量显著降低及各种疾病的死亡率升高。在细胞和分子水平上,肌肉减少症的潜在因素之一是内质网(endoplasmic reticulum, ER)应激^[4]。蛋白激酶R样内质网激酶(protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase, PERK)是一种ER应力传感器,被激活后PERK启动信号通路,提高ER质量控制的效率。ER应激触发了一系列细胞信号通路,真核翻译起始因子2 α (eukaryotic translation initiation factor 2 α , eIF2 α)/激活转录因子4(activating transcription factor 4, ATF4)通路在长期或过度激活的情况下,可能导致细胞应激反应的失控,从而引发炎症反应和细胞凋亡。在骨骼肌中eIF2 α /ATF4通路的激活与肌肉蛋白质合成减少、肌肉纤维退化及肌肉力量下降密切相关^[5]。提示eIF2 α /ATF4通路可能在骨骼肌衰老中发挥关键作用,但其确切机制尚未完全阐明。

研究^[6]显示:人参三醇皂苷(Panaxatriol Saponins, PTS)可能与ER应激的调节有关,可能通过维护ER的正常功能,减少细胞受损的风险。本研究探讨PTS作为一种具有抗氧化和抗炎特性生物活性物质对衰老小鼠骨骼肌中eIF2 α /ATF4通路的影响,分析PTS对相关通路的调节作用,阐明其在骨骼肌衰老进程中的作用机制。为未来发展针对骨骼肌衰老的干预策略提供新的理论和实验基础,以改善老年人的肌肉健康和生活质量。

1 材料与方法

1.1 实验动物、药物、主要试剂和仪器 SPF级健康3月龄雄性C57BL/6J小鼠共72只,体质量12~15 g,购自北京华阜康股份有限公司,动物生产许可证号:SCXK(京)2014-0004,本研究通过北华大学动物伦理委员会批准(伦理审批号:

2024082206)。小鼠饲养温度为22℃~25℃,湿度为40%~55%,自由摄食饮水,分笼喂养。PTS由吉林大学化学院提供。HE染色试剂盒购自南京建成生物工程研究所,TRIzol试剂购自美国英杰生命技术有限公司,二喹啉甲酸法(bicinchoninic acid assay, BCA)蛋白浓度测定试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司, C/EBP同源蛋白(C/EBP homologous protein, CHOP)、磷酸化PERK(phosphorylated-PERK, p-PERK)和PERK抗体均购自美国SANTA CRUZ公司,磷酸化eIF2 α (phosphorylated-eIF2 α , p-eIF2 α)、eIF2 α 和ATF4均购自武汉Proteintech公司,激活转录因子5(activating transcription factor 5, ATF5)、 β -actin、B细胞淋巴瘤2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)和Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)抗体均购自美国Abcam公司, D-半乳糖(D-galactose, D-gal)购自合肥博美生物科技有限责任公司。石蜡包埋机(型号: Acradia H&C)和半自动轮转式切片机(型号: RM2245)购自德国Leica公司,台式离心机(型号: 5804R)购自德国Eppendorf公司,蛋白电泳仪(型号: Powerpac Basic)购自美国Bio-Rad公司,全自动酶标仪(型号: Infinite 200pro)购自瑞士TECAN集团公司。

1.2 衰老小鼠模型制备、分组和处理 参考文献[7]采用加速衰老法中的D-gal诱导衰老方法建立小鼠骨骼肌衰老模型。选用72只3月龄C57BL/6J雄性小鼠随机分为对照组、D-gal组、PTS组和D-gal+PTS组,每组18只。对照组小鼠每日腹腔注射与D-gal组相同体积的生理盐水, D-gal组小鼠每日腹腔注射150 mg·kg⁻¹ D-gal, PTS组小鼠每日灌胃200 mg·kg⁻¹ PTS, D-gal+PTS组小鼠每日上午腹腔注射150 mg·kg⁻¹ D-gal, 下午灌胃200 mg·kg⁻¹ PTS,连续7周。

1.3 观察各组小鼠一般情况 每天定时观察小鼠的皮肤毛发情况,持续监测小鼠的行为活动,观察小鼠的活跃度、探索行为、社交行为和自我清洁等活动情况,观察小鼠进食和饮水情况。在实验过程

中, 确保小鼠的生活环境卫生及温度和湿度适宜, 并严格按照实验室动物伦理规范操作。

1.4 小鼠股直肌标本的采集 采用乌拉坦麻醉小鼠, 称量各组小鼠的体质量, 找到股直肌的位置, 取出两侧股直肌肌肉。在取出过程中, 尽量减少对组织的机械损伤, 如牵引、挫伤和压迫。称量肌肉后, 切成3个部分。采用0.1%磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)洗涤血液后, 取部分骨骼肌组织, 在甲醛溶液中固定72 h, 制备石蜡切片进行形态学观察; 剩余的骨骼肌组织置于冷冻保存管中, 储存在液氮中, 以备提取RNA和蛋白质。

1.5 测量小鼠股直肌质量并计算肌肉质量指数(sarcopenia index, SI) 分离小鼠股直肌, 去除表面筋膜, 用生理盐水彻底清洗。清洗完毕后, 将股直肌放在滤纸上, 用滤纸吸收多余的生理盐水和组织液。使用精确的天平称取股直肌的质量。称量小鼠股直肌质量(mg)和体质量(g), 计算各组小鼠SI, SI为股直肌质量(mg)与体质量(g)的比值。

1.6 HE染色观察各组小鼠骨骼肌组织病理形态表现 取小鼠骨骼肌组织浸泡在甲醛溶液中固定72 h, 石蜡包埋后切片(厚度为5 μm)。烘箱60℃, 烤片2 h。脱蜡水化, 苏木素染核3~5 min, 冲洗, 分化15 s, 返蓝10~15 min, 伊红染色30 s, 冲洗, 脱水, 树脂封片, 显微镜观察各组小鼠骨骼肌组织病理形态表现。

1.7 Western blotting法检测各组小鼠骨骼肌中相关蛋白表达水平 取30 mg骨骼肌组织放入EP管中。在EP管中加入200 μL RIPA组织裂解液提取总蛋白。采用BCA蛋白质浓度测定法, 配制12%的聚丙烯酰胺凝胶, 30 μg蛋白质样品行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE), 转移至PVDF膜, 转膜1 h放入5%脱脂奶粉中封闭1 h。含吐温20的Tris-缓冲盐(Tris-

buffered saline with Tween® 20, TBST)溶液洗膜3次, 每次10 min。一抗4℃孵育过夜。TBST溶液洗膜3次, 每次10 min。二抗孵育, 羊抗兔-HRP(1:2 000)或羊抗小鼠-HRP(1:2 000)稀释, 室温摇床孵育2 h。TBST溶液洗膜3次, 每次10 min。ECL显色, 采用Image J软件分析蛋白条带灰度值, 以β-actin为内参, 计算目的蛋白表达水平。目的蛋白表达水平=目的蛋白条带灰度值/内参蛋白条带灰度值。

1.8 统计学分析 采用SPSS 26.0软件进行统计学分析, 各组细胞中p-PERK/PERK比值、p-eIF2α/eIF2α比值和ATF4、ATF5、Bax及Bcl-2蛋白表达水平均符合正态分布且方差齐, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间样本均数比较采用单因素方差分析, 组间样本均数两两比较采用LSD-*t*检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠的一般情况 与对照组比较, D-gal组小鼠皮肤毛发稀疏、质地较差, 行为异常、活动减少; 与D-gal组比较, D-gal+PTS组小鼠毛发状态明显改善, 行为状态得到改善, 表现出更为活跃的特征。提示通过D-gal诱导成功建立了小鼠骨骼肌衰老模型。

2.2 各组小鼠体质量和SI 与对照组比较, D-gal组小鼠体质量、左股直肌和右股直肌SI均明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与D-gal组比较, D-gal+PTS组小鼠体质量、左股直肌和右股直肌SI明显升高($P < 0.01$)。其余各组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

2.3 各组小鼠骨骼肌组织病理形态表现 与对照组比较, D-gal组小鼠股直肌横截面可见破碎的肌纤维, 肌细胞核内移, 细胞间隙明显增宽, 呈肌肉减少的形态学改变; PTS组小鼠骨骼肌组织未出现明显差异。与D-gal组比较, D-gal+PTS组小鼠骨

表1 各组小鼠体质量和SI
Tab. 1 Body weights and SI of mice in various groups (n=4, $\bar{x} \pm s$)

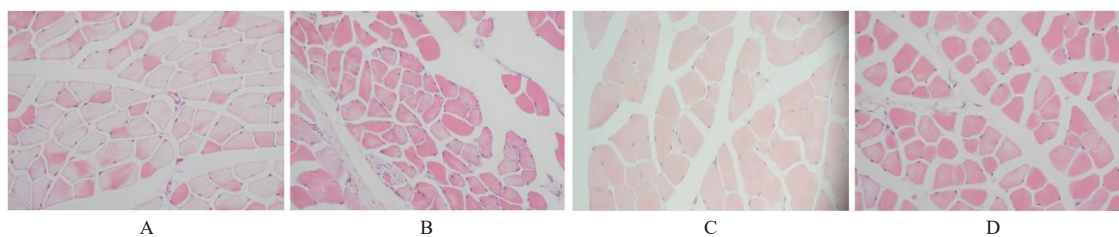
Group	Body weight (m/g)	Left rectus femoris muscle SI	Right rectus femoris muscle SI
Control	33.66±2.17	0.004 28±0.000 40	0.004 03±0.000 30
D-gal	28.29±2.79*	0.003 64±0.001 10**	0.003 75±0.000 90**
PTS	33.56±3.13	0.004 03±0.000 70	0.004 08±0.000 80
D-gal+PTS	32.92±1.92 [△]	0.004 48±0.000 40 [△]	0.004 24±0.001 10 [△]

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with control group; [△] $P < 0.01$ compared with D-gal group.

骨骼肌细胞形态规则,细胞间隙不增宽,无肌细胞核内移,肌肉形态明显改善。见图1。

2.4 各组小鼠骨骼肌组织中PERK/eIF2 α 信号通路相关蛋白表达水平 与对照组比较,D-gal组小鼠骨骼肌组织中p-PERK/PERK比值、p-eIF2 α /eIF2 α 比值和CHOP、ATF4及ATF5蛋白表达水

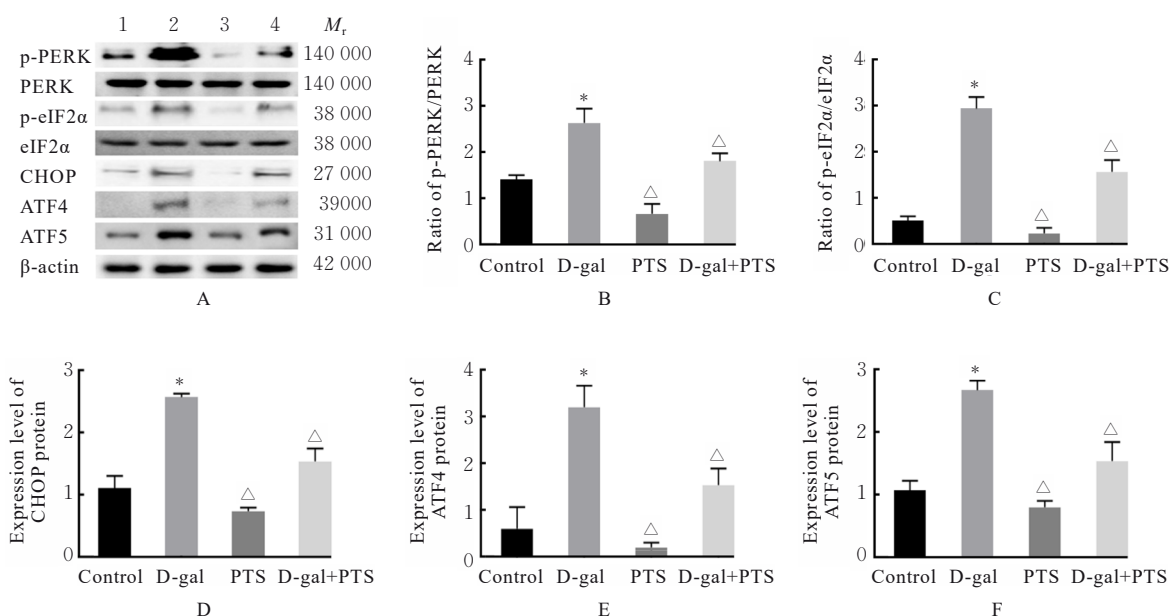
平均明显升高($P<0.01$)。与D-gal组比较,PTS组和D-gal+PTS组小鼠骨骼肌组织中p-PERK/PERK比值、p-eIF2 α /eIF2 α 比值和CHOP、ATF4及ATF5蛋白表达水平均明显降低($P<0.01$)。见图2。



A: Control group; B: D-gal group; C: PTS group; D: D-gal+PTS group.

图1 各组小鼠骨骼肌组织病理形态表现(HE, ×400)

Fig. 1 Pathomorphology of rectus femoris muscle tissue of mice in various groups (HE, ×400)



Lane 1: Control group; Lane 2: D-gal group; Lane 3: PTS group; Lane 4: D-gal+PTS group. B: p-PERK/PERK ratio; C: p-eIF2 α /eIF2 α ratio; D: CHOP; E: ATF4; F: ATF5. * $P<0.01$ compared with control group; $\Delta P<0.01$ compared with D-gal group.

图2 Western blotting法检测各组小鼠骨骼肌组织中PERK/eIF2 α 信号通路相关蛋白表达电泳图(A)和直条图(B~F)

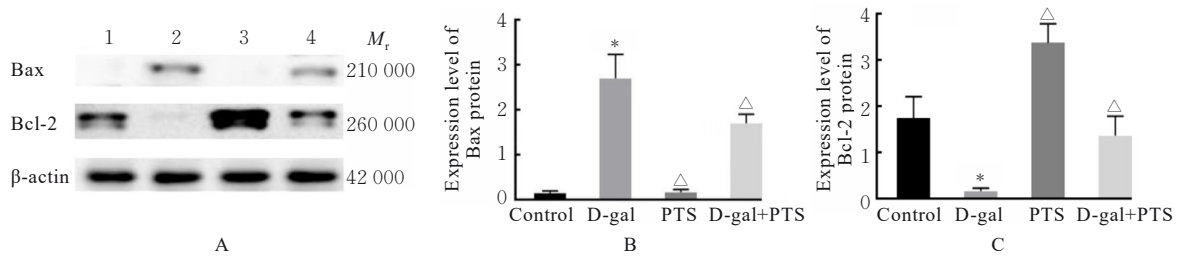
Fig. 2 Electrophoregram(A) and histograms(B~F) of expressions of PERK/eIF2 α signal pathway proteins in rectus femoris muscle tissue of mice in various groups detected by Western blotting method

2.5 各组小鼠骨骼肌组织中Bax和Bcl-2蛋白表达水平 与对照组比较,D-gal组小鼠骨骼肌组织中Bax蛋白表达水平明显升高($P<0.01$),Bcl-2蛋白表达水平明显降低($P<0.01$)。与D-gal组比较,PTS组和D-gal+PTS组小鼠骨骼肌组织中Bax蛋白表达水平明显降低($P<0.01$),PTS组和

D-gal+PTS组小鼠骨骼肌组织中Bcl-2蛋白表达水平明显升高($P<0.01$)。见图3。

3 讨论

本研究探讨PTS作为一种具有抗氧化和抗炎特性的生物活性物质,PTS可改善D-gal诱导的骨骼肌减少症,其机制可能与调控ER应激eIF2 α /



Lane 1: Control group; Lane 2: D-gal group; Lane 3: PTS group; Lane 4: D-gal+PTS group. B: Bax protein; C: Bcl-2 protein.

* $P < 0.01$ compared with control group; $^{\Delta}P < 0.01$ compared with D-gal group.

图3 Western blotting法检测各组小鼠骨骼肌组织中Bax和Bcl-2蛋白表达电泳图(A)及直条图(B,C)

Fig. 3 Electrophoregram (A) and histograms (B, C) of expressions of Bax and Bcl-2 proteins in rectus femoris muscle tissue of mice in various groups detected by Western blotting method

ATF4通路有关。

ER是细胞内的一个重要结构,当细胞面临外部压力和氧化应激等情况时,ER会受到损害,导致ER应激的发生。骨骼肌退变具有典型的形态学改变^[8-9]。骨骼肌肉的过早衰老可由氧化应激引起,活性氧可加速骨骼肌肉的提前衰老^[10-11]。在细胞和分子水平上,肌肉减少症的潜在因素之一是ER应激^[12]。PTS是人参中的一种主要活性成分,能促进健康并延缓衰老^[13]。PTS可通过减少氧化应激和炎症反应,改善细胞的健康状态^[14]。本研究应用PTS缓解D-gal诱导骨骼肌衰老的形态,利用D-gal诱导衰老方法复制小鼠骨骼肌衰老模型,结果显示:骨骼肌衰老模型小鼠表现出明显的双侧股直肌质量减少,可见破碎的肌纤维,肌细胞核由胞膜处移至胞内,出现内移现象,细胞间隙明显增宽,呈肌肉减少的形态学改变,这是骨骼肌自然衰老的典型改变^[15]。

ER应激发生时,ER蛋白稳态监测由未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)介导,调整细胞的蛋白质折叠能力,或者在发生慢性损伤时诱导凋亡细胞死亡^[16]。在ER应激条件下,跨膜蛋白PERK被激活并磷酸化eIF2 α ,导致整体蛋白质翻译受抑制的同时选择性促进ATF4的翻译。本研究结果显示:D-gal组小鼠骨骼肌组织中ER应激PERK/eIF2 α 途径相关蛋白CHOP、ATF4和ATF5蛋白表达水平以及p-eIF2 α /eIF2 α 和p-PERK/PERK比值均明显升高;与D-gal组比较,D-gal+PTS组小鼠骨骼肌组织中ATF4和ATF5蛋白表达水平以及p-PERK/PERK和p-eIF2 α /eIF2 α 比值均明显降低。PTS能缓解D-gal诱导的eIF2 α 和ATF4蛋白表达,提示PTS处理能够显著减轻ER

应激的程度,并抑制eIF2 α /ATF4蛋白表达。本研究进一步验证了PTS对骨骼肌衰老的积极影响,PTS显著提高了D-gal诱导衰老小鼠的体质量和SI,其可能通过调节eIF2 α /ATF4信号通路,影响蛋白质合成和细胞内稳态,从而实现对骨骼肌的保护作用,PTS可改善D-gal诱导的骨骼肌衰老。

研究^[17]发现:ER功能紊乱引起的ER应激会传递至线粒体,导致线粒体功能发生改变。骨骼肌衰老与线粒体有关,线粒体功能障碍在衰老中发挥着重要作用,也是导致退行性疾病的关键因素^[18]。在ER应激的早期适应阶段,呼吸链活性增加,导致线粒体三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)的合成短暂增加^[19]。而慢性ER应激会对细胞代谢产生负面影响,导致线粒体呼吸减少和细胞ATP水平下降^[20-21]。D-gal可诱导线粒体DNA缺失的增加,这导致了细胞中ATP水平的下降,最终导致线粒体功能受损^[22]。最常见的ER应激介导的凋亡机制是调控CHOP^[23]。研究^[24-25]发现:缺乏CHOP的细胞能显著减少由ER应激诱导剂所引起的细胞死亡,ATF4随后转位至细胞核并上调CHOP的表达,CHOP作为转录抑制因子直接结合Bcl-2基因启动子区域抑制其转录,同时作为转录激活因子促进Bax基因表达,这种双向调控导致细胞内Bcl-2/Bax比值明显降低。在ER应激时,Bcl-2的转录下调导致其相互作用Bcl-2转移至ER膜并激活Caspase-12^[26-27]。本研究结果显示:D-gal组小鼠骨骼肌组织中Bcl-2蛋白表达水平明显降低,Bax蛋白表达水平明显升高,PTS处理后Bcl-2蛋白表达上调而Bax蛋白表达下调。

综上所述,PTS可改善D-gal诱导的骨骼肌衰老,并下调eIF2 α /ATF4信号通路蛋白表达水平。

PTS缓解D-gal诱导肌少症的作用可能与eIF2 α /ATF4信号通路和Bax及Bcl-2的分子机制有关,本研究也为PTS作为抗骨骼肌衰老药物的潜在应用提供了科学依据。

利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:

贾贺强参与实验设计、实验操作、数据收集和分析及论文撰写,潘路参与实验设计、实验操作和数据分析,王振江参与数据收集和分析,逯家宇参与实验设计、实验操作和数据分析,王丹和刘立峰参与数据收集和分析,董营和于春艳参与论文选题、实验设计、论文修改及审校。

[参考文献]

- [1] PIGNOLO R J, PASSOS J F, KHOSLA S, et al. Reducing senescent cell burden in aging and disease[J]. Trends Mol Med, 2020, 26(7): 630-638.
- [2] CHEN T H, KOH K Y, LIN K M, et al. Mitochondrial dysfunction as an underlying cause of skeletal muscle disorders[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(21): 12926.
- [3] 夏君玫, 邓 琪, 郝宏弢, 等. 运动因子对肌少症与认知障碍共病的作用机制[J]. 生物化学与生物物理进展, 2025, 52(12): 3072-3091.
- [4] GALLOT Y S, BOHNERT K R. Confounding roles of ER stress and the unfolded protein response in skeletal muscle atrophy[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(5): 2567.
- [5] DERISBOURG M J, HARTMAN M D, DENZEL M S. Perspective: Modulating the integrated stress response to slow aging and ameliorate age-related pathology[J]. Nat Aging, 2021, 1(9): 760-768.
- [6] 黄 嫚, 罗 琪, 高 杨. 人参皂苷在血管重塑中的研究进展[J]. 中国新药与临床杂志, 2025, 44(12): 899-907.
- [7] 王淦民, 王 瑶, 陈士坤, 等. Sirt6通过Nrf2/HO-1信号途径抑制铁死亡并延缓D-Gal诱导的小鼠骨骼肌衰老[J]. 中国病理生理杂志, 2025, 41(7): 1354-1364.
- [8] KAMEL H K. Sarcopenia and aging [J]. Nutr Rev, 2003, 61(5 Pt 1): 157-167.
- [9] BÜTIKOFER L, ZURLINDEN A, BOLLIGER M F, et al. Destabilization of the neuromuscular junction by proteolytic cleavage of agrin results in precocious sarcopenia[J]. FASEB J, 2011, 25(12): 4378-4393.
- [10] MANCINELLI R, CHECCAGLINI F, COSCIA F, et al. Biological aspects of selected myokines in skeletal muscle: focus on aging[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(16): 8520.
- [11] KUMAR A, DAVULURI G, WELCH N, et al. Oxidative stress mediates ethanol-induced skeletal muscle mitochondrial dysfunction and dysregulated protein synthesis and autophagy [J]. Free Radic Biol Med, 2019, 145: 284-299.
- [12] 翁爱彬, 郭晶晶, 张荣霞, 等. 内质网应激相关基因在DLBCL中的生物信息学探究[J]. 莆田学院学报, 2025, 32(5): 48-56.
- [13] WANG L J, HUANG Y, YIN G, et al. Antimicrobial activities of Asian ginseng, American ginseng, and notoginseng[J]. Phytother Res, 2020, 34(6): 1226-1236.
- [14] TAN S J, ZHOU F, LI N, et al. Anti-fatigue effect of ginsenoside Rb1 on postoperative fatigue syndrome induced by major small intestinal resection in rat [J]. Biol Pharm Bull, 2013, 36(10): 1634-1639.
- [15] 韩治文, 李 京, 赵凝慧, 等. 第三腰椎骨骼肌质量指数对慢加急性肝衰竭患者预后的预测价值[J]. 临床肝胆病杂志, 2025, 41(4): 698-702.
- [16] HETZ C, ZHANG K Z, KAUFMAN R J. Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(8): 421-438.
- [17] QUAN Y, XIN Y G, TIAN G E, et al. Mitochondrial ROS-modulated mtDNA: a potential target for cardiac aging [J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 9423593.
- [18] 陈宇轩, 吴 颖, 张闻达, 等. 线粒体低毒兴奋效应在衰老中作用的研究进展[J]. 国际老年医学杂志, 2025, 46(2): 129-133.
- [19] BRAVO R, VICENCIO J M, PARRA V, et al. Increased ER-mitochondrial coupling promotes mitochondrial respiration and bioenergetics during early phases of ER stress[J]. J Cell Sci, 2011, 124(Pt 13): 2143-2152.
- [20] EVINOVA A, HATOKOVA Z, TATARKOVA Z, et al. Endoplasmic reticulum stress induces mitochondrial dysfunction but not mitochondrial unfolded protein response in SH-SY5Y cells [J]. Mol Cell Biochem, 2022, 477(3): 965-975.
- [21] LEBEAU J, SAUNDERS J M, MORAES V W R, et al. The PERK arm of the unfolded protein response regulates mitochondrial morphology during acute endoplasmic reticulum stress[J]. Cell Rep, 2018, 22(11): 2827-2836.
- [22] GUO B, GUO Q, WANG Z, et al. D-Galactose-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in the cochlear basilar membrane: an *in vitro* aging model[J]. Biogerontology, 2020, 21(3): 311-323.

- [23] LEE S, HONG E, JO E, et al. Gossypol induces apoptosis of human pancreatic cancer cells *via* CHOP/endoplasmic reticulum stress signaling pathway[J]. J Microbiol Biotechnol, 2022, 32(5): 645-656.
- [24] 陈明珍, 丁如欣, 万志影, 等. 脂肪干细胞调控CHOP/Bcl-2通路缓解犬急性胰腺损伤[J]. 中国兽医学报, 2025, 45(11): 2500-2506.
- [25] HU H, TIAN M X, DING C, et al. The C/EBP homologous protein (CHOP) transcription factor functions in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis and microbial infection [J]. Front Immunol, 2018, 9: 3083.
- [26] 丁虹, 王雪可, 芦晓帆, 等. 刺芒柄花素对变应性鼻炎小鼠鼻黏膜组织铁死亡和NLRP3炎症小体活化的影响[J]. 郑州大学学报(医学版), 2025, 60(2): 249-256.
- [27] LIU X J, HUANG R Z, GAO Y G, et al. Calcium mitigates fluoride-induced kallikrein 4 inhibition *via* PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP endoplasmic reticulum stress pathway in ameloblast-lineage cells[J]. Arch Oral Biol, 2021, 125: 105093.
- *北华大学临床医学院2023级临床医学专业