

骨骼肌萎缩信号通路的研究进展

张凤奇, 庄朋伟, 林映雪, 张艳军*

天津中医药大学, 天津 300193

摘要: 在恶性肿瘤、脓毒血症、糖尿病甚至长期太空飞行等状态下常伴随着骨骼肌萎缩的现象。骨骼肌萎缩是肌蛋白合成下降和(或)分解代谢加速的结果。骨骼肌萎缩的程度与患者的康复、生活能力和生活质量息息相关, 防治并逆转骨骼肌的萎缩对上述疾病的治疗具有重要意义。现代医学对骨骼肌萎缩的分子生物学机制进行了大量研究, 对近年骨骼肌萎缩相关信号通路及药物对其防治作用做一简要综述, 以期对骨骼肌萎缩相关疾病的研究与治疗提供参考。

关键词: 骨骼肌萎缩; 信号通路; 肌蛋白

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2013)04-0624-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.04.040

Research progress in signaling pathway of skeletal muscle atrophy

ZHANG Feng-qi, ZHUANG Peng-wei, LIN Ying-xue, ZHANG Yan-jun

Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Skeletal muscle atrophy often accompanies with tumors, sepsis, diabetes, and even long-term space flight. Skeletal muscle atrophy lies in the decrease of muscle protein synthesis and/or catabolism acceleration. Since the degree of skeletal muscle atrophy is closely related with the rehabilitation, live abilities, and living quality of patients, the prevention and reversal of skeletal muscle atrophy are of great significance. Modern researchers have undertaken the abundant researches on the molecular biology mechanism of skeletal muscle atrophy. Recent investigations on the preventive effect of the medicine on the signaling pathway of skeletal muscle atrophy are briefly summarized, in order to offer the guidance for the research and treatment of the skeletal muscle atrophy related disease.

Key words: skeletal muscle atrophy; signaling pathway; muscle protein

骨骼肌由具有收缩能力的肌细胞(肌纤维)所组成, 占人体总质量的 40%~50%, 直接影响人体的力量和耐力, 并且身体的任何活动都是由骨骼肌的收缩来完成。在疾病或者不适环境状态下, 骨骼肌质量会显著下降, 出现明显的萎缩现象。现代医学研究表明, 骨骼肌的质量主要取决于蛋白质的合成和分解^[1], 这两个生化过程并非彼此独立, 而是受到一个完整的网状系统调控。适当的干预手段可以延缓甚至逆转这一病理过程。目前大量研究表明生长因子、激素以及一些中药有效成分可以防治骨骼肌萎缩。现代医学对骨骼肌萎缩相关分子机制已有了深入研究, 明确其相关信号转导通路对开发作用靶点明确、疗效确切的药物具有重要意义。本文综述了关于骨骼肌萎缩的相关信号通路以及药物对其调控的研究进展。

1 骨骼肌萎缩信号通路调控机制

1.1 ATP-泛素蛋白酶系统调控肌蛋白降解

目前已经确认泛素蛋白酶系统是细胞内最主要的蛋白降解系统。蛋白酶体存在于所有真核细胞中, 约占细胞蛋白总量的 1%, 是具有蛋白降解作用的复合酶体, 主要降解细胞中不需要的或受到损害的蛋白质。真核生物的绝大多数蛋白都是通过泛素蛋白酶通路降解的, 这一通路主要包括: 泛素(Ub)、泛素活化酶(E1)、泛素耦合酶(E2)、泛素蛋白连接酶(E3)、蛋白酶体和去泛素化蛋白, 其中 E3 是该途径关键酶, 参与底物识别并能结合特异性的靶蛋白序列或者降解决定子来特异性地调节靶蛋白的降解序列与速率^[2]。泛素蛋白酶体降解蛋白质的过程即需要被降解的蛋白首先被泛素标记, 然后被蛋白酶体识别和降解, 通过这样一个依赖 ATP 的过程,

收稿日期: 2013-04-15

基金项目: 国家重大新药创制项目(2012zx09101202)

作者简介: 张凤奇(1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药理学。Tel: 13312178177 E-mail: zhangfengqi2013@163.com

*通信作者 张艳军, 男, 教授, 博士生导师。E-mail: zyjsunye@163.com

细胞以高度特异性对不需要的蛋白质进行降解。泛素蛋白酶体系统具有高度选择性、有效性、可控性。

1.2 IGF-1/PI3K/Akt 通路调控肌蛋白合成

胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factors, IGF) 是肌肉生长正向调节信号, 能促进骨骼肌干细胞增殖、分化及融合成肌管。IGF 受体缺陷的小鼠表现出生长迟缓、器官及骨骼肌质量减少, IGF 过表达的小鼠则表现为蛋白合成增加、肌纤维肥大及肌细胞增加^[3]。Akt 又称 PKB, 即蛋白激酶 B, 是一种丝氨酸、苏氨酸蛋白激酶, 在细胞存活和凋亡中起重要作用。胰岛素等生长和存活因子都可以激活 Akt 信号途径。PI3K 即磷脂酰肌醇-3 激酶, PI3K-Akt 途径是一条经典的信号途径, LY294002 等 PI3K 的抑制剂抑制 PI3K 时, 即可抑制磷脂酰肌醇-3 磷酸(PIP3)的生成, 阻断 Akt 的活化。在 IGF-1 下游信号中, PI3K-Akt 处于研究的中心地位, Akt 的下游信号中, 有促进肌肉合成的 Akt-mTOR-p70s6k 通路和抑制肌肉分解的 Akt-FOXOs-Atrogin-MuRF 通路^[4]。

1.2.1 Akt-mTOR-p70s6k 通路 雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 是存在于胞浆中的一种丝/苏氨酸蛋白激酶, 是哺乳动物雷帕霉素 (rapamycin) 的靶分子, 属于磷脂酰肌醇-3-激酶 (PIKK) 相关激酶家族。作为 Akt 下游的重要底物之一, mTOR 可以整合氨基酸、能量、生长因子所激发的信号通路, 通过控制其下游与翻译、转录相关的多种蛋白的磷酸化来发挥其生物作用, 在蛋白合成、核糖体合成、线粒体合成等多种代谢过程中起中心调控作用。mTOR 在哺乳动物中能形成两种功能完全不同的复合体, 一是由 mTOR、raptor 组成的雷帕霉素敏感复合体 mTORC1, 另一个是由 mTOR、Rictor 组成的雷帕霉素耐受体 mTORC2^[5-7]。

TSC1 与 TSC2 是肿瘤抑制基因, TSC2 可使 Rheb-GTP (mTOR 的正调节物) 成为 Rheb-GDP 失活, 是 mTOR 的负调节物。Akt 不仅能直接激活 mTOR, 还能阻断 TSC1/TSC2 磷酸化并阻断其对 Rheb (mTOR 激活所必需) 活性的影响, 间接激活 mTOR^[8]。mTOR 通过感受上游信号因子、生长因子、能量、环境压力、氨基酸的变化, 经由两条主要的传导通路磷酸化下游的效应蛋白 p70s6k 和 4E-BP1 (两者均是蛋白翻译的关键调节因子), 从而调控骨骼肌的生长和代谢。p70s6k 是核糖体 40S 小亚基 S6 蛋白激酶, 它通过磷酸化 S6 蛋白进而调

控 5-TOPmRNA 翻译蛋白起始。4E-BP1 是真核翻译起始因子 eIF4E 的抑制蛋白, 磷酸化的 4E-BP1 可以激活 eIF4E 促使蛋白翻译及细胞生长。mTOR 又一信号通路 LKB1-AMPK-TSC-mTOR 参与机体能量代谢等方面的调控, 此通路中, AMPK 对 TSC 起正向调节作用, 从而负向调节 mTOR^[9]。

近年来, mTOR 对骨骼肌蛋白合成作用研究主要集中在氨基酸和胰岛素两个方面, Han 等^[10]分别用 IGF-1 和亮氨酸处理肌卫星细胞, 结果发现, 添加 IGF-1 和亮氨酸都能提高 mTOR 下游效应因子 S6k、4E-BP1 的磷酸化; 用雷帕霉素抑制 mTOR 后, S6k、4E-BP1 的磷酸化减少, 骨骼肌蛋白质的合成和细胞的增殖受到抑制。

mTOR 广泛存在于各种细胞, 在骨骼肌细胞中能够感受氨基酸、生长因子等信号, 通过上下游一系列信号因子的作用, 调控骨骼肌蛋白质合成, 因此了解 mTOR 的作用机制及相关通路对骨骼肌蛋白合成有重要意义。

1.2.2 Akt-FOXOs-Atrogin-MuRF 通路 FOXOs 叉头蛋白家族是一大类高度保守的 DNA 结合转录因子家族中的成员, 负责调控代谢、细胞增殖与分化、信号转录、应激耐受。FOXOs 亚族包括 FOXO1、FOXO3、FOXO4 以及最近研究的 FOXO6, 除了 FOXO6 以外, 这些蛋白的转录活性决定于其是在胞浆中还是细胞核中与特异性 DNA 序列结合^[11]。Atrogin-1 (也可称为 MAFbx) 和 MuRF 是两个肌肉特异性 E3 连接酶^[12], FOXOs 可以调节二者的表达, 当禁食、糖尿病、癌症、糖皮质激素、去神经支配、失重训练等引起肌肉萎缩时, Atrogin-1 和 MuRF 都会被显著激活且先于代谢变化^[13-15], 因此 Atrogin-1 和 MuRF 可以作为骨骼肌萎缩的早期分子标记物, 在肌肉相关疾病的诊断中起辅助性作用。有实验表明, 当特异性敲除大鼠 Atrogin-1 或者 MuRF 时, 大鼠表型正常并发生肌萎缩抵抗, 这说明仅抑制一个 E3S 就可以调节多因素诱发的肌肉萎缩, 同时也说明这两个 E3S 对肌萎缩是正向调节作用^[16]。另有研究发现, IGF 可以单独抑制 Atrogin-1 mRNA 的增加而对 MuRF 无作用, 说明这两种酶的调节途径是相互独立的^[17-18]。Akt 是蛋白合成效应器, 它可以抑制 FOXOs 的核转位而抑制 Atrogin-1 和 MuRF 的表达, 进而有效控制骨骼肌萎缩。

川芎嗪是川芎中起活血化瘀作用的主要药效成分, 用川芎嗪对抗去神经导致的肌肉萎缩大鼠发现,

川芎嗪可能通过降低 FoXO3a、MAFbx、MuRF1 mRNA 和蛋白表达水平进而延缓失神经骨骼肌萎缩^[19]。银杏叶提取物 (extract of *Ginkgo biloba*, EGb761) 能延缓大鼠去神经导致的肌肉萎缩, 其作用机制是 EGb761 能使活体细胞中促使 FOXO3a 乙酰化的氧自由基清除, 从而使 FOXO3a 失活下调 MAFbx^[20]。综上说明, 下调 FOXO3a 可下调其下游 MuRF1 的表达进而延缓骨骼肌萎缩。

1.3 IKK/NF- κ B/MuRF 通路调控肌蛋白降解

NF- κ B 是细胞质广泛存在的转录因子, 当细胞受到外界刺激时可由细胞质转移到细胞核中, 起着传递信号和诱导基因表达的作用。现已知 NF- κ B 家族成员由 5 部分组成: e-Rel、RelA (p65)、RelB、NF- κ B1 (p50)、NF- κ B2 (p52)。它们都拥有一个高度保守的 Rel 同源区 RHR (Rel homology region), 位于 N 端约有 300 个氨基酸, 包括 DNA 结合区域、核定位区域、前激肽释放酶激活剂磷酸化区域以及二聚化区域。NF- κ B 家族以一定的方式两两结合在一起, 其中异源二聚体 p50/p65 分布最广生物活性最高, 所以一般所指 NF- κ B 就是 p50/p65。IKB (inhibit kappa B) 是细胞浆中存在的另一种蛋白, 可与 p50/p65 结合成三聚体从而掩盖 NF- κ B 的核定位信号区域沉默其表达。IKB 包括 IKB α 、IKB β 、IKB ϵ 、Bcl-3 及前体蛋白 p100、p105 等, 一般 IKB α 与 p50/p65 结合, 是 p50/p65 主要抑制蛋白。IKK (IKB kinase) 是一种蛋白激酶复合体, 属于丝/苏氨酸激酶, 其包括 IKK α 、IKK β 以及 IKK γ (NF- κ B essential modulator)。当细胞受到氧化应激、细胞因子、病毒及代谢产物等细胞外界信号刺激时, 通过一个或者多个途径激活 IKK 复合体从而诱导 IKB 磷酸化, 进而使 p50/p65 从复合物中解离, 进入细胞核中与靶向基因的启动子 FOXO 结合, 进而诱导 MuRF 的表达, 从而启动泛素蛋白酶体途径加速肌蛋白的降解。

白藜芦醇 (一种 NF- κ B 干扰剂) 应用荷 MAC16 鼠 24 h 后能显著改善体质量下降和抑制比目鱼肌蛋白降解, 且腓肠肌中 NF- κ B 活性下降^[21]。通过对转基因小鼠 MIKK 和 MISR 的研究发现, MIKK 小鼠的 MuRF-1 升高, 而 MISR 转基因鼠 MuRF-1 则降低, 这说明 NF- κ B 引起的肌肉萎缩有部分是通过 MuRF-1 上调引起的, 抑制 IKK/NF- κ B/MuRF 通路可以抑制小鼠的肌肉萎缩^[22]。

1.4 抑制素 Myostatin/ActR II B 信号通路介导的

骨骼肌萎缩

肌肉生长抑制素 (myostatin) 是转化生长因子 (TGF- β) 超家族的一员, 特异表达于胚胎期以及成体的骨骼肌, 是骨骼肌蛋白合成和肌肉肥大的抑制剂。Myostatin 信号转导类似于 TGF- β 超家族的 TGF- β , 是由两种不同类型的丝氨酸/苏氨酸激酶受体介导的。Myostatin 可使活化素 Activin II A/B (ActR II A/B) 受体活化, 然后与之结合, 但 myostatin 与 Activin II B 结合更紧密。Myostatin 与 Activin II B 结合后, 再与 I 型受体 ALK4 或者 ALK5 结合, 然后磷酸化 Smad2/3 进而下调 MyoD (一种肌肉形成因子) 的表达, 导致蛋白质合成减少引起骨骼肌萎缩。Myostatin 还能抑制 Akt 磷酸化诱导 FOXOs 表达, 上调 Atrogin-1 和 MuRF, 加速蛋白降解, 与此同时还能抑制 IGF-1 调控的肌细胞增殖, 而且此途径与 NF- κ B 途径是相互独立的^[23]。IGF-1 也能抑制 Myostatin 通路, 所以这两个信号相互间是反馈调节关系。

用 sActivin II B (Activin II B 抑制剂) 对恶病质状态导致的肌萎缩小鼠治疗后发现, sActivin II B 不仅可以阻止肌肉降解还能促进肌蛋白合成, 逆转心肌和骨骼肌萎缩, 其机制可能是 sActivin II B 完全阻断 Smad2 激活, 提高磷酸化 FOXOs 水平, 进而降低 Atrogin-1 和 MuRF 表达, 同时还可以刺激肌卫星细胞增殖。综上, 抑制素 Myostatin/ActR II B 介导的信号通路可能是肌萎缩的一条重要通路, ActR II B 也可能是一个有效治疗骨骼肌消耗的靶点^[24]。

2 小结

骨骼肌萎缩与机体蛋白质代谢异常密切相关, 骨骼肌蛋白合成下降而分解代谢旺盛, 引起肌肉消耗, 其调控机制涉及胰岛素受体后信号系统受损、炎症因子 NF- κ B 途径、抑制素/Myostatin/ActR II B 途径等, 目前尚缺乏有效的治疗方法。但以上信号通路的深入研究也提示, 这几条信号通路中存在着治疗肌肉萎缩疾病的有效靶点, 探讨骨骼肌萎缩的发病机制及有效干预措施, 并为将来研发治疗肌肉萎缩新药物奠定基础, 具有十分重要的意义。

参考文献

- [1] Matsakas A, Patel K. Skeletal muscle fibre plasticity in response to selected environmental and physiological stimuli [J]. *Histol Histopathol*, 2009, 24(5): 611-629.
- [2] Rohde J R, Breitkreutz A, Chenal A, et al. Type III secretion effectors of the IpaH family are E3 ubiquitin ligases [J]. *Cell Host Microbe*, 2007, 1(1): 77-83.

- [3] Baker J, Liu J P, Robertson E J, *et al.* Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth [J]. *Cell*, 1993, 75(1): 73-82.
- [4] Léger B, Cartoni R, Praz M, *et al.* Akt signalling through GSK-3 β , mTOR and Foxo1 is involved in human skeletal muscle hypertrophy and atrophy [J]. *J Physiol*, 2006, 576(Pt3): 923-933.
- [5] Robida-Stubbs S, Glover-Cutter K, Lamming D W, *et al.* TOR signaling and rapamycin influence longevity by regulating SKN-1/Nrf and DAF-16/FoxO [J]. *Cell Metab*, 2012, 15(5): 713-724.
- [6] Peterson T R, Laplante M, Thoreen C C, *et al.* DEPTOR is an mTOR inhibitor frequently overexpressed in multiple myeloma cells and required for their survival [J]. *Cell*, 2009, 137(5): 873-886.
- [7] Frias M A, Thoreen C C, Jaffe J D, *et al.* mSin1 is necessary for Akt/PKB phosphorylation, and its isoforms define three distinct mTORC2s [J]. *Curr Biol*, 2006, 16(18): 1865-1870.
- [8] MacLea K S, Abuhagr A M, Pitts N L, *et al.* Rheb, an activator of target of rapamycin, in the blackback land crab, *Gecarcinus lateralis*: cloning and effects of molting and unweighting on expression in skeletal muscle [J]. *J Exp Biol*, 2012, 215(Pt4):590-604.
- [9] Drummond M J, Dreyer H C, Fry C S, *et al.* Nutritional and contractile regulation of human skeletal muscle protein synthesis and mTORC1 signaling [J]. *J Appl Physiol*, 2009, 106(4): 1374-1384.
- [10] Han B, Tong J, Zhu M J, *et al.* Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and leucine activate pig myogenic satellite cells through mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway [J]. *Mol Reprod Dev*, 2008, 75(5): 810-817.
- [11] Birkenkamp K U, Coffer P J. Regulation of cell survival and proliferation by the FOXO subfamily of Forkhead transcription factors [J]. *Biochem Soc Trans*, 2003, 31(Pt1): 292-297.
- [12] Bodine S C, Latres E, Baumhueter S, *et al.* Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy [J]. *Science*, 2001, 294(5547): 1704-1708.
- [13] Gomes M D, Lecker S H, Jagoe R T, *et al.* Atrogin-1, a muscle-specific F-box protein highly expressed during muscle atrophy [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(25): 14440-14445.
- [14] Dehoux M J, van Beneden R P, Fernández-Celemín L, *et al.* Induction of MafBx and Murf ubiquitin ligase mRNAs in rat skeletal muscle after LPS injection [J]. *FEBS Lett*, 2003, 544(1/3): 214-217.
- [15] Sackey J M, Hyatt J P, Raffaello A, *et al.* Rapid disuse and denervation atrophy involve transcriptional changes similar to those of muscle wasting during systemic diseases [J]. *FASEB J*, 2007, 21(1): 140-155.
- [16] Li Y P, Chen Y, John J, *et al.* TNF- α acts via p38 MAPK to stimulate expression of the ubiquitin ligase atrogin1/MAFbx in skeletal muscle [J]. *FASEB J*, 2005, 19(3): 362-370.
- [17] Frost R A, Nystrom G J, Jefferson L S, *et al.* Hormone, cytokine, and nutritional regulation of sepsis-induced increases in atrogin-1 and MuRF1 in skeletal muscle [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007, 292(2): E501-512.
- [18] Nystrom G, Pruznak A, Huber D, *et al.* Local insulin-like growth factor I prevents sepsis-induced muscle atrophy [J]. *Metabolism*, 2009, 58(6): 787-797.
- [19] 王红兵, 梁炳生, 彭春辉, 等. 川芎嗪对失神经骨骼肌萎缩大鼠 FOXO3a、MAFbx 以及 MuRF1 表达的影响 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2012, 26(5): 597-600.
- [20] 任晋华. FOXO3a 通路调控失神经肌萎缩的作用机制及银杏提取物的治疗作用 [D]. 太原: 山西医科大学, 2012.
- [21] Wyke S M, Russell S T, Tisdale M J. Induction of proteasome expression in skeletal muscle is attenuated by inhibitors of NF- κ B activation [J]. *Br J Cancer*, 2004, 91(9): 1742-1750.
- [22] Cai D, Frantz J D, Tawa N E Jr, *et al.* IKK β /NF- κ B activation causes severe muscle wasting in mice [J]. *Cell*, 2004, 119(2): 285-298.
- [23] McFarlane C, Plummer E, Thomas M, *et al.* Myostatin induces cachexia by activating the ubiquitin proteolytic system through an NF- κ B-independent, FoxO1-dependent mechanism [J]. *J Cell Physiol*, 2006, 209(2): 501-514.
- [24] Zhou X, Wang J L, Lu J, *et al.* Reversal of cancer cachexia and muscle wasting by ActRIIB antagonism leads to prolonged survival [J]. *Cell*, 2010, 142(4): 531-543.