

梓醇对尘肺大鼠运动能力及骨骼肌功能改善作用研究

刘 薇¹, 赵彤彤¹, 李春云¹, 王 涛², 何 君^{1*}

1. 南京市职业病防治院 药剂科, 江苏 南京 210042

2. 中国药科大学药物科学研究院 新药筛选中心, 江苏 南京 210009

摘要: 目的 探讨梓醇对尘肺模型大鼠运动能力及骨骼肌功能的改善作用。方法 通过气管注射石英粉尘建立大鼠慢性尘肺模型,造模3个月后,取造模大鼠30只随机分为3组:模型组、梓醇 100 mg·kg⁻¹组、梓醇 50 mg·kg⁻¹组,每组10只,另取10只正常大鼠作为对照组。大鼠ig给药,每天1次,每周给药6 d,连续给药8周。观察大鼠一般状况及体质量变化;采用小动物跑台检测大鼠的1次力竭运动时间;采用抓力测定仪进行大鼠骨骼肌力量检测;解剖大鼠取同一位置肺叶,HE染色用于观察肺组织基本结构及炎症反应等状态,Masson染色用于观察肺组织胶原沉积和纤维化情况;取双侧后肢的腓肠肌和比目鱼肌,称质量,计算质量指数(肌肉质量/体质量);试剂盒法检测腓肠肌组织线粒体膜电位($\Delta\phi_m$)和腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)水平;试剂盒法检测腓肠肌组织超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)水平及琥珀酸脱氢酶(SDH)活性;实时荧光定量PCR(qRT-PCR)法检测过线粒体生物发生相关基因——氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子1 α (*Pgc-1 α*)、核呼吸因子1(*Nrf1*)、线粒体转录因子A(*Tfam*)的mRNA表达水平。结果 与模型组比较,梓醇 100、50 mg·kg⁻¹对尘肺大鼠肺部炎症和纤维未见显著改善;梓醇 100、50 mg·kg⁻¹均能显著延长尘肺大鼠跑动力竭时间($P<0.05$ 、 0.01);梓醇可显著增加尘肺大鼠的肌肉抓力,其中100 mg·kg⁻¹组差异显著($P<0.05$);梓醇 100 mg·kg⁻¹组尘肺大鼠的腓肠肌和比目鱼肌质量指数显著增加($P<0.05$ 、 0.01),50 mg·kg⁻¹组的比目鱼肌质量指数显著增加($P<0.05$);梓醇可明显升高尘肺大鼠腓肠肌ATP水平和 $\Delta\phi_m$,其中100 mg·kg⁻¹组差异显著($P<0.05$);梓醇 100 mg·kg⁻¹显著增加腓肠肌SDH和SOD活力、同时降低MDA水平($P<0.05$ 、 0.01),梓醇 50 mg·kg⁻¹显著增加腓肠肌SDH活力、同时降低MDA水平($P<0.05$ 、 0.01);梓醇 100、50 mg·kg⁻¹显著上调腓肠肌中线粒体生物发生相关基因表达($P<0.05$ 、 0.01)。结论 梓醇可以调节尘肺模型大鼠骨骼肌线粒体功能,减轻肌肉萎缩并增强运动能力,此作用可能通过PGC-1 α /NRF1、TFAM途径促进线粒体生物发生而介导。

关键词: 梓醇; 尘肺; 运动能力; 骨骼肌; 线粒体

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2022)12-2501-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.12.014

Catalpol improves exercise ability and skeletal muscle function in pneumoconiosis rats

LIU Wei¹, ZHAO Tongtong¹, LI Chunyun¹, WANG Tao², HE Jun¹

1. Department of Pharmaceutics, Nanjing Prevention and Treatment Center for Occupational Diseases, Nanjing 210042, China

2. Center for New Drug Screening, School of Pharmaceutical Research, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of catalpol on the exercise ability and skeletal muscle function in pneumoconiosis rats. **Methods** The rat model of chronic pneumoconiosis was established by intratracheal injection of quartz dust. Three months after the model was established, thirty model rats were randomly divided into three groups: model group, catalpol 100 mg·kg⁻¹ group and catalpol 50 mg·kg⁻¹ group with 10 rats in each group, and 10 normal rats were selected as control group. The rats were ig given the drug, once a day, for six days a week for eight weeks. The general condition and body mass of rats were observed. The time of one exhaustive exercise of rats was measured by small animal running table. The muscle strength of rats was measured by grip force analyzer. HE staining was used to observe the basic structure and inflammatory response of lung tissue, and Masson staining was used to observe the collagen deposition and fibrosis of lung tissue. The gastrocnemius and soleus muscles of the bilateral hind limbs were taken and weighed, and the mass index (muscle mass/body mass) was calculated. Mitochondrial membrane potential ($\Delta\phi_m$) and

收稿日期: 2022-08-06

基金项目: 南京市卫生科技发展项目资助(YKK21188);青海省高端创新人才千人计划项目(2018年)

第一作者: 刘 薇(1979-),女,硕士,副主任药师,研究方向为职业病药物评价。Tel: (025)85420404 E-mail: lw1029@126.com

*通信作者: 何 君 Tel: (025)85474122 E-mail: he_jun_001@163.com

adenine riboside triphosphate (ATP) levels in gastrocnemius were determined by kit method. The activity of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and succinate dehydrogenase (SDH) in gastrocnemius were detected by kit method. Real-time quantitative fluorescence PCR (qRT-PCR) was used to detect the mRNA expression levels of oxisome proliferator-activated receptor γ -coactivator 1 α (*Pgc-1 α*), nuclear respiratory factor 1 (*Nrf1*) and mitochondrial transcription factor A (*Tfam*). **Results** Compared with model group, catalpol 100 and 50 mg·kg⁻¹ did not significantly improve pulmonary inflammation and fiber in rats with pneumoconiosis. Compared with model group, catalpol of 100 and 50 mg·kg⁻¹ could significantly prolong the running exhaustion time of rats with pneumoconiosis ($P < 0.05, 0.01$). Catalpol significantly increased the muscle gripping power of rats with pneumoconiosis, and the difference was significant in 100 mg·kg⁻¹ group compared with model group ($P < 0.05$). The gastrocnemius muscle mass index and soleus muscle mass index of pneumoconiosis rats in catalpol 100 mg·kg⁻¹ group were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$), and soleus muscle mass index in 50 mg·kg⁻¹ group was significantly increased compared with model group ($P < 0.05$). Catalpol significantly increased ATP level and $\Delta\phi_m$ in gastrocnemius of pneumoconiosis rats, and the difference was significant in 100 mg·kg⁻¹ group ($P < 0.05$). Catalpol of 100 mg·kg⁻¹ significantly increased the activities of SDH and SOD in gastrocnemius and decreased the level of MDA ($P < 0.05, 0.01$), and catalpol of 50 mg·kg⁻¹ significantly increased the activities of SDH and decreased the level of MDA in gastrocnemius ($P < 0.05, 0.01$). Catalpol of 100 and 50 mg·kg⁻¹ significantly up-regulated the expression of mitochondrial biogenesis related genes in gastrocnemius ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Catalpol can regulate the mitochondrial function of skeletal muscle in pneumoconiosis model rats, alleviate muscle atrophy and enhance exercise ability, which may be through PGC-1 α -Nrf1/TFAM pathways promoting mitochondrial biogenesis.

Key words: catalpol; pneumoconiosis; exercise ability; skeletal muscle; mitochondrion

肺尘埃沉着病又称尘肺病,是我国目前危害最严重和最常见的职业病,迄今尚没有针对尘肺病纤维化有效的治疗药物和措施,仅能通过积极的康复治疗 and 训练,维持相对正常的生活质量和健全的社会活动能力^[1]。尘肺病患者除了呼吸功能障碍,运动能力也严重下降,而长期的活动减少还会加剧肌肉萎缩,造成运动能力进一步下降的恶性循环。研究表明,尘肺病患者肺功能异常程度越严重,其运动能力下降越明显^[2]。在《尘肺病肺康复中国专家共识(2022年版)》中^[3],力量耐力训练和有氧运动是尘肺病患者康复方案的核心内容,同时运动和肌肉能力评估也是尘肺病患者康复的首要指标,包括6 min步行试验,心肺运动测试,肌力、肌张力评估等。国内外多项临床研究表明,运动训练为主的康复治疗可提高尘肺病患者的运动能力和耐力,还可以改善其呼吸状况和肺健康,提高生存质量^[4-7]。因此改善尘肺病患者的肌肉功能和运动能力成为临床迫切需求。

梓醇是地黄中主要的环烯醚萜类成分,早期研究显示该化合物对心、脑缺血损害具有很好的保护作用,同时具有良好的改善能量代谢和抗糖尿病作用^[8-9]。本课题组在前期研究中发现梓醇可以促进线粒体功能,改善骨骼肌细胞的糖代谢能力,增加肌肉质量和增强骨骼肌功能^[10-11];此外,梓醇还可促进骨骼肌卫星细胞分化和肌发生,增强骨骼肌功能^[12]。另有研究表明梓醇对坐骨神经损伤导致的小鼠肌肉萎缩具有改善作用,其作用机制与线粒体调控的凋亡和自噬途径有关^[13]。本研究采用大鼠

尘肺模型,考察梓醇对模型大鼠运动能力和骨骼肌功能的影响,并开展初步的骨骼肌作用机制探讨,探讨其对尘肺病防治的潜在应用价值。

1 材料

1.1 药物及主要试剂

梓醇,类白色粉末,质量分数98%,批号TQ191124,购自青海央宗药业有限公司;石英粉,粒径 $< 5 \mu\text{m}$,购自江苏联瑞新材料股份有限公司,采用生理盐水制备成50 mg·mL⁻¹混悬液供造模用;无菌生理盐水(辰欣药业股份有限公司);琥珀酸脱氢酶(SDH)、丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)生化试剂盒(南京建成生物工程研究所);线粒体分离试剂盒和线粒体膜电位($\Delta\phi_m$)检测试剂(JC-1,碧云天生物技术有限公司);腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)检测试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司);其余试剂均为市售分析纯。

1.2 实验动物

SPF级雄性SD大鼠,体质量180~220 g,购自杭州医学院实验动物中心,实验动物生产许可证号SCXK(浙)2019-0002。大鼠饲养于中国药科大学动物中心,动物使用许可证号SYXK(苏)2021-0011,实验室温度(24 $\pm$ 2) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度60%~80%,每小时空气交换10~15次,光照周期12 h(日)/12 h(夜),每笼不超过5只。所有动物实验均符合中国药科大学动物伦理委员会标准。

1.3 主要仪器

BS210S精密电子天平(0.1 mg~10 g)(德国

sartorius); ZH-PT/5S 型动物实验跑台(安徽正华生物仪器设备有限公司); YLS-13A 大小鼠抓力测定仪(济南益延科技发展有限公司); TL 系列高通量组织细胞研磨破碎仪(北京鼎昊源科技有限公司); VarioskanLux 多功能酶标仪(美国 Thermo 公司); Applied Biosystems StepOne™ 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo 公司)。

2 方法

2.1 模型建立

参考《职业卫生标准制定指南》及文献报道方法^[14], 将研磨过的石英粉(99% 粉尘颗粒直径 $\leq 5 \mu\text{m}$)用生理盐水制备成 $50 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 混悬液供造模用。

SD 大鼠麻醉仰卧位固定, 于颈部切口, 分离肌肉, 暴露气管, 将 1 mL 石英粉尘混悬液经气管慢速注入(10 s), 注射完毕竖立大鼠, 保持大鼠直立位, 并按摩双肺 10 次, 使粉尘进入肺内并均匀分布。注射完毕, 缝合颈部肌肉和皮肤, 标记并分笼饲养。根据前期实验结果, 采用本方法约在造模后 3 个月出现明显的肺纤维化及呼吸状态改变, 肺组织病理检查可见中度的肺泡炎(HE 染色)和肺纤维化(Masson 染色), 接近尘肺病病变特征^[7]。

2.2 动物分组及给药

造模 3 个月后, 取造模大鼠 30 只, 根据体质量随机分为 3 组: 模型组、梓醇 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组、梓醇 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组, 每组 10 只, 另取 10 只正常大鼠作为对照组。大鼠 ig 给药, 每天 1 次, 每周给药 6 d, 连续给药 8 周, 给药体积均为 $1 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。对照组和模型组给予同体积蒸馏水。

2.3 检测指标

2.3.1 一般状况观察及体质量测定 每天给药前, 观察大鼠毛色、行为、运动等一般状态, 重点观察呼吸系统的相关症状, 包括: 呼吸困难、腹式呼吸、喘息、呼吸暂停、紫绀、呼吸急促、鼻分泌物等。每周测定体质量 1 次, 并根据体质量调整给药量。

2.3.2 运动能力 给药第 8 周, 采用小动物跑台检

测大鼠的 1 次力竭运动时间(跑台速度 $35 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$), 以反映其运动耐力。大鼠力竭的判断标准: 动物从跑台履带上滑落到跑台后部, 电击和木棒驱赶无效, 出现身体蜷缩、背部弓起、呼吸急促等症状, 顽固拒跑。

2.3.3 肌肉抓力 给药第 8 周, 采用抓力测定仪进行大鼠骨骼肌力量的检测, 包括前肢抓力和四肢抓力。大鼠依次用前肢或四肢抓住抓力测定仪的网格, 测试人员抓住大鼠的尾巴往后拉, 用力使得大鼠松开, 从网格脱离, 仪器自动记录并显示该前肢或四肢最大抓力值。

2.3.4 肺组织病理学和纤维化 给药完毕, 大鼠颈椎脱臼处死。解剖取同一位置肺叶, 10% 甲醛固定 48 h 以上, 常规石蜡包埋、 $4 \mu\text{m}$ 切片, 分别采用 HE 和 Masson 染色, 光镜观察。其中 HE 染色用于观察肺组织基本结构及炎症反应等状态, Masson 染色用于观察肺组织胶原沉积和纤维化情况。

2.3.5 肌肉质量 解剖取双侧后肢的腓肠肌和比目鱼肌, 称质量, 计算质量指数(肌肉质量/体质量)。称质量完毕, 部分新鲜腓肠肌用于线粒体功能检测, 余下肌肉组织液氮冻存备用。

2.3.6 骨骼肌线粒体功能检测 每组取部分新鲜腓肠肌组织, 常规制备组织匀浆, 采用碧云天线粒体分离试剂盒, 提取纯化膈肌线粒体, 分别采用相应试剂盒检测 $\Delta\phi_m$ 和 ATP 水平。

2.3.7 骨骼肌氧化应激指标检测 每组取冻存腓肠肌组织, 常规制备组织匀浆, 取上清液, 试剂盒法检测 SOD 活性、MDA 水平及 SDH 活性变化, 考察骨骼肌组织的氧化应激状态。

2.3.8 骨骼肌线粒体生物发生信号分子表达 取各组冻存腓肠肌组织, 采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)法检测线粒体生物发生信号分子的 mRNA 表达水平, 包括: 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1 α (*Pgc-1 α*)、核呼吸因子 1 (*Nrf1*)、线粒体转录因子 A (*Tfam*)。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
<i>Pgc-1α</i>	TATGGAGTGACATAGAGTGTGCT	CCACTTCAATCCACCCAGAAAG
<i>Tfam</i>	GGAATGTGGAGCGTGCTAAAA	ACAAGACTGATAGACGAGGGG
<i>Nrf1</i>	AGCACGGAGTGACCCAAAC	TGTACGTGGCTACATGGACCT
β -actin	CATTGCTGACAGGATGCAGAAGG	TGCTGGAAGGTGGACAGTGAGG

Trizol 一步法提取组织总 RNA,按照逆转录试剂盒说明书,37℃孵育 15 min,85℃、5 s,4℃、2 min 获得的 cDNA 样品,-80℃保存。取 96 孔 PCR 板,依次加入下列成分(总体积 20 μL):EvaGreensuper mix 10 μL、混合引物(10 μmol·L⁻¹)1 μL、cDNA 1 μL、超纯水 8 μL。涡旋混匀,1 500 r·min⁻¹离心 2 min,按下列循环条件反应:95℃、30 s,95℃、5 s,60℃、10 s,40 个循环;65~95℃,10 min。

2.4 数据处理与统计方法

计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 Microsoft Excel 2010 统计软件,组间比较采用 Student-*t* 检验考察显著性。

3 结果

3.1 一般状况观察及体质量测定

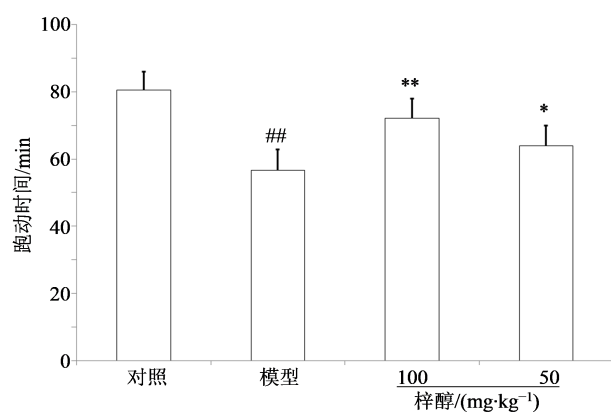
给药期间各组大鼠精神状态较好,模型组部分大鼠可见活动轻度减少,呼吸频率有所增加,其他未见明显异常。与对照组相比,模型大鼠体质量有轻度下降,梓醇给药组大鼠体质量有所增加,接近对照组,差异均无统计学意义。

3.2 运动能力

与对照组大鼠相比,模型组大鼠运动能力明显减弱,力竭时间显著缩短($P < 0.01$);与模型组比较,梓醇 100、50 mg·kg⁻¹ 均能显著延长大鼠跑动力竭时间($P < 0.05$ 、 0.01)。结果见图 1。

3.3 肌肉抓力

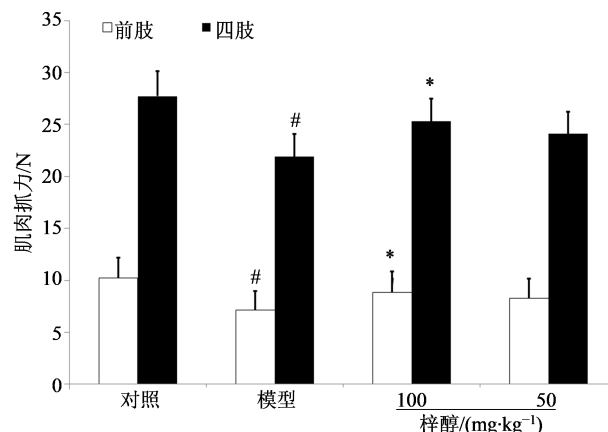
与对照组大鼠相比,模型组大鼠前肢和四肢抓力均显著减弱($P < 0.05$);与模型组比较,梓醇可显著增加尘肺模型大鼠的肌肉抓力,其中梓醇 100 mg·kg⁻¹ 组具有统计学差异($P < 0.05$)。结果见图 2。



与对照组比较:## $P < 0.01$;与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
$P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

图 1 梓醇对尘肺模型大鼠跑动时间的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Fig. 1 Effects of catalpol on running time in pneumoconiosis model rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)



与对照组比较: # $P < 0.05$;与模型组比较: * $P < 0.05$
$P < 0.05$ vs control group; * $P < 0.05$ vs model group

图 2 梓醇对尘肺模型大鼠肌肉抓力的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Fig. 2 Effects of catalpol on grip in pneumoconiosis model rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

3.4 肺组织病理学和纤维化

如图 3 所示,肺组织切片 HE 染色结果显示,对照组大鼠肺组织结构和形态正常、完整;尘肺模型组可见肺间质炎细胞浸润、肺间质纤维化,且多为中重度,光镜下见肺泡壁显著增厚、肺泡结构紊乱,肺泡腔由胶原纤维、成纤维细胞及淋巴细胞占据。肺组织切片 Masson 染色结果显示,与对照组大鼠相比,尘肺模型大鼠肺间质中胶原沉积显著增多。梓

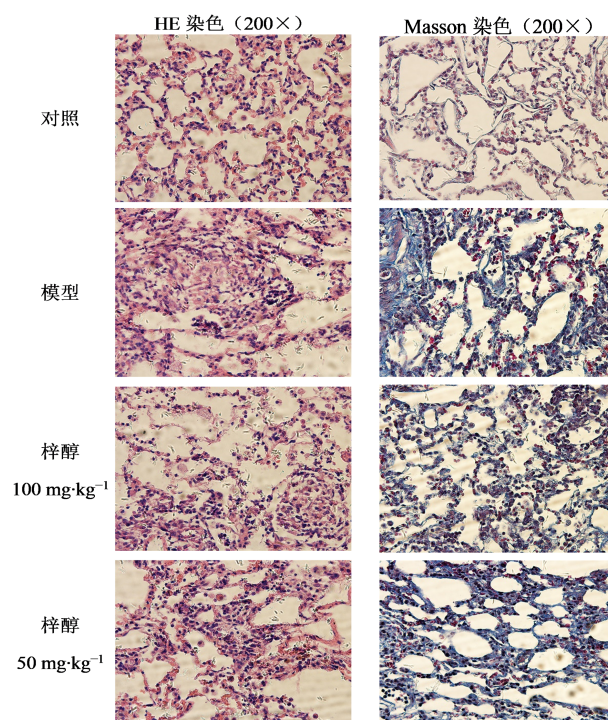


图 3 梓醇对尘肺模型大鼠肺组织病理学(HE 染色)和纤维化(Masson 染色)的影响

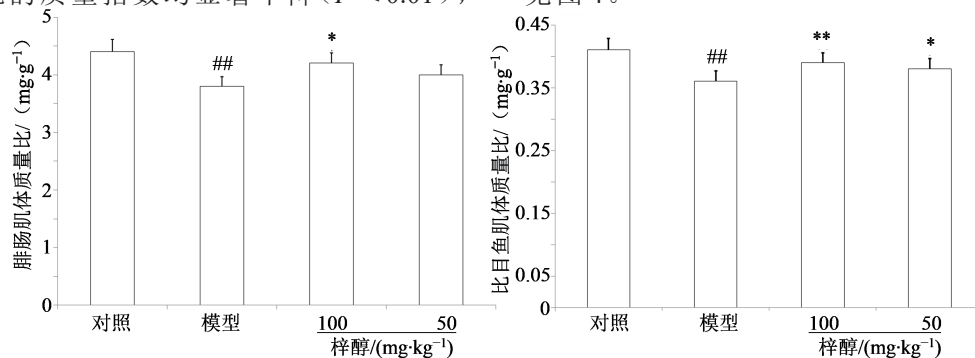
Fig. 3 Effects of catalpol on lung histopathology (HE stain) and fibrosis (Masson stain) in pneumoconiosis model rats

醇高、低剂量对尘肺模型大鼠肺组织病变和纤维化有部分改善趋势,但整体改善作用不明显。

3.5 肌肉质量

与对照组大鼠相比,尘肺模型大鼠腓肠肌和比目鱼肌的质量指数均显著下降($P<0.01$),

表现为一定的肌肉萎缩;与模型组比较,梓醇100 mg·kg⁻¹组大鼠的腓肠肌和比目鱼肌质量指数显著增加($P<0.05$ 、 0.01),50 mg·kg⁻¹组的比目鱼肌质量指数显著增加($P<0.05$)。结果见图4。



与对照组比较:^{##} $P<0.01$;与模型组比较:^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$

^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group

图4 梓醇对尘肺模型大鼠腓肠肌和比目鱼肌质量的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

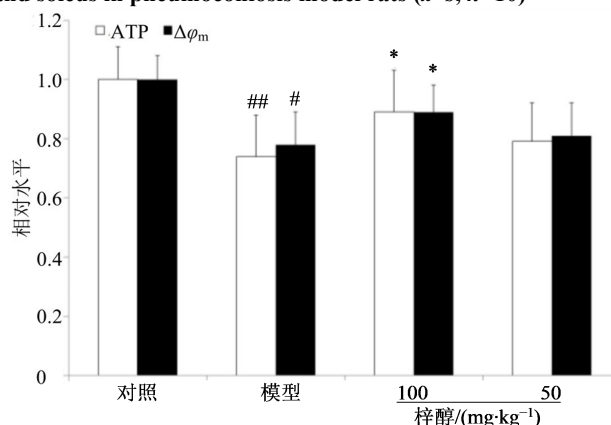
Fig. 4 Effects of catalpol on weight of gastrocnemius and soleus in pneumoconiosis model rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

3.6 骨骼肌线粒体功能检测

与对照组大鼠相比,尘肺模型大鼠腓肠肌ATP水平和 $\Delta\phi_m$ 均显著降低($P<0.05$ 、 0.01);与模型组比较,梓醇可明显升高尘肺模型大鼠腓肠肌ATP水平和 $\Delta\phi_m$,其中100 mg·kg⁻¹组具有显著差异($P<0.05$)。结果见图5。

3.7 骨骼肌氧化应激指标检测

如图6所示,与对照组相比,模型组大鼠腓肠肌SDH活力显著下降($P<0.01$),提示线粒体氧化代谢功能障碍;同时SOD活力显著下降、MDA水平显著增加($P<0.01$),表明骨骼肌组织出现明显的氧化应激损害。与模型组比较,梓醇100 mg·kg⁻¹可以显著增加腓肠肌SDH和SOD活力、同时降低MDA水平($P<0.05$ 、 0.01);梓醇50 mg·kg⁻¹显著增加腓肠肌SDH活力、同时降低MDA水平($P<0.05$ 、 0.01)。

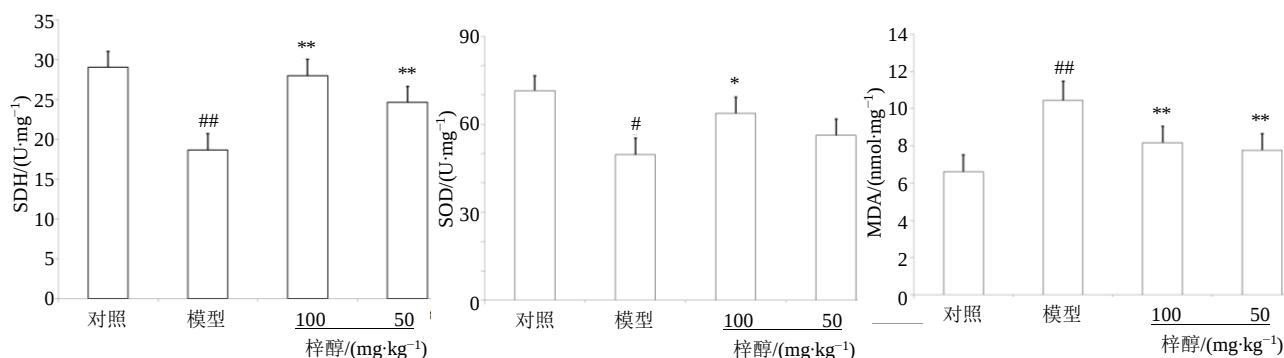


与对照组比较:[#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$;与模型组比较:^{*} $P<0.05$

^{*} $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ vs model group

图5 梓醇对尘肺大鼠腓肠肌ATP水平和 $\Delta\phi_m$ 的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Fig. 5 Effects of catalpol on gastrocnemius ATP level and mitochondrial membrane potential in pneumoconiosis rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)



与对照组比较:[#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$;与模型组比较:^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$

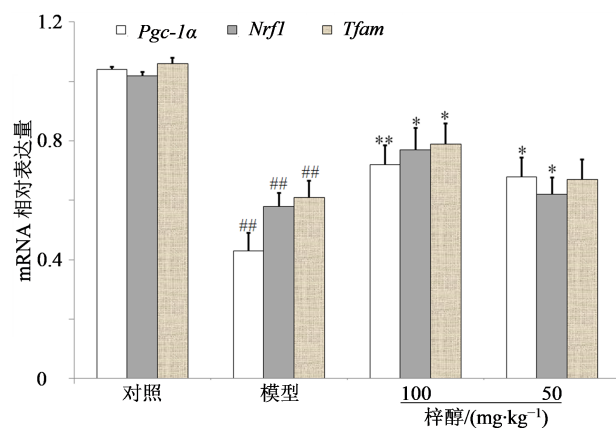
[#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group

图6 梓醇对尘肺模型大鼠腓肠肌SDH、SOD活力及MDA水平的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Fig. 6 Effects of catalpol on activities of SDH, SOD and level of MDA of gastrocnemius in pneumoconiosis model rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

3.8 骨骼肌线粒体生物发生信号分子表达

与对照组大鼠相比,尘肺模型大鼠腓肠肌组织 *Pgc-1 α* 、*Nrf1* 和 *Tfam* 等线粒体生物发生相关基因的 mRNA 水平均显著下调($P<0.01$);与模型组比较,梓醇 100、50 mg·kg⁻¹ ig 给药可以显著上调腓肠肌中线粒体生物发生相关基因表达($P<0.05$ 、 0.01)。结果见图 7。



与对照组比较: ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$
^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group

图 7 梓醇对尘肺模型大鼠腓肠肌线粒体发生相关基因 mRNA 表达水平的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Fig. 7 Effects of catalpol on mRNA expression of mitochondrial biogenesis related genes of gastrocnemius in pneumoconiosis model rats ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

4 讨论

临床证据表明,积极的康复治疗可以减缓尘肺患者运动能力的损害,患者生活质量和病情进展也有较好的改善作用。然而,由于尘肺病患者大多病情长、年龄大、文化程度偏低等,在日常生活中难以长期坚持规范的运动康复,因此寻找可以增强患者骨骼肌功能和运动能力的药物,对于尘肺病的临床治疗具有重要价值^[3]。

本研究建立大鼠尘肺模型^[15-16],模型大鼠肺组织出现明显的炎症和纤维化等改变,梓醇对于肺部病变未见明显改善作用。同时,模型大鼠出现明显的运动能力减弱、四肢肌肉力量下降、骨骼肌质量降低,表明模型大鼠出现明显的肌肉萎缩和运动能力下降。梓醇对模型大鼠的骨骼肌功能和运动能力具有明显的改善作用,此结果与梓醇在其他模型中改善骨骼肌功能的作用一致^[17-18]。

骨骼肌作为运动功能的主要组织十分依赖线粒体的能量供应,多项研究发现线粒体异常可造成慢性阻塞性肺病患者骨骼肌功能障碍,包括呼吸肌疲劳和外周骨骼肌萎缩^[19-21],而增强线粒体功能是

运动锻炼改善骨骼肌功能的重要机制^[22-24]。本实验中,尘肺模型大鼠腓肠肌 $\Delta\phi_m$ 和 ATP 水平均显著降低,表明骨骼肌线粒体功能和能量供应出现明显障碍,这可能与运动能力下降互为因果。此外,尘肺模型大鼠骨骼肌 SDH 活力显著下降,提示线粒体氧化代谢功能障碍;同时 SOD 活力下降、MDA 水平增加,表明骨骼肌出现明显的氧化应激损害。前期研究显示,梓醇对糖尿病小鼠骨骼肌线粒体功能具有良好的促进作用,骨骼肌是梓醇发挥抗糖尿病的重要靶器官^[11-12]。梓醇可显著升高尘肺模型大鼠腓肠肌 $\Delta\phi_m$ 和 ATP 水平,上调 SDH 和 SOD 酶活力并降低 MDA 水平,这提示改善线粒体功能和减轻氧化应激也可能是梓醇增强尘肺模型大鼠运动能力潜在的作用途径。

线粒体是一个动态调节的细胞器,可通过线粒体生物发生调节线粒体数量和功能,进而适应组织能量代谢的变化^[25]。PGC-1 α 是目前已知调控线粒体生物发生最为关键的转录因子,NRF1 和 TFAM 是线粒体重要功能蛋白,其表达量可以反映线粒体生物发生的水平^[26-27]。本实验中,梓醇给药可以显著上调模型组大鼠腓肠肌中线粒体生物发生相关基因表达,此作用与梓醇前期研究^[10]一致,这可能是梓醇调节骨骼肌线粒体功能,改善尘肺模型大鼠运动能力的潜在机制。

本研究结合当前尘肺病临床防治需求和梓醇药理作用特点,通过大鼠尘肺模型,考察梓醇对骨骼肌功能和运动能力的改善作用及相关机制。结果表明,梓醇可以调节尘肺模型大鼠骨骼肌线粒体功能,减轻肌肉萎缩并增强运动能力,此作用可能通过 PGC-1 α /NRF1、TFAM 途径促进线粒体生物发生而介导。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张喆,张新日,王婧.尘肺病免疫发病机制研究进展[J].中华劳动卫生职业病杂志,2022(6): 471-476.
Zhang Z, Zhang X R, Wang J. Research progress on immune pathogenesis of pneumoconiosis [J]. Chin J Ind Hyg Occup Dis, 2022(6): 471-476.
- [2] 唐忠权,黄春吉,邓婷婷,等.不同程度肺功能异常职业性尘肺病患者运动能力分析[J].中国职业医学,2021, 48(1): 81-84.
Tang Z Q, Huang C J, Deng T T, et al. Analysis on exercise capacity of patients with pneumoconiosis and

- different degrees of pulmonary dysfunction [J]. *China Occup Med*, 2021, 48(1): 81-84.
- [3] 中华预防医学会劳动卫生与职业病分会职业性肺病学组, 中华预防医学会煤炭系统分会职业病学组. 尘肺病肺康复中国专家共识(2022年版) [J]. *环境与职业医学*, 2022, 39(5): 574-588.
- Occupational Lung Disease Group of Labor Hygiene and Occupational Diseases Branch of Chinese Preventive Medicine Association, Occupational Diseases Group of Coal System Branch of Chinese Preventive Medicine Association. Consensus of Chinese experts on pulmonary rehabilitation of pneumoconiosis (2022) [J]. *J Environ Occup Med*, 2022, 39(5): 574-588.
- [4] Dale M T, McKeough Z J, Troosters T, et al. Exercise training to improve exercise capacity and quality of life in people with non-malignant dust-related respiratory diseases [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2015(11): CD009385.
- [5] Dale M T, McKeough Z J, Munoz P A, et al. Exercise training for asbestos-related and other dust-related respiratory diseases: A randomised controlled trial [J]. *BMC Pulm Med*, 2014, 14: 180.
- [6] Kawaji T, Hasegawa T, Uchiyama Y. Dyspnea and outcome expectations are associated with physical activity in persons with pneumoconiosis: A cross-sectional study [J]. *BMC Pulm Med*, 2022, 22 (1): 335.
- [7] 王苗苗, 张群, 云翔, 等. 运动训练干预对尘肺稳定期患者康复的作用 [J]. *中国康复医学杂志*, 2021, 36(5): 564-569.
- Wang M M, Zhang Q, Yun X, et al. Effects of exercise training intervention on rehabilitation of patients with stable pneumoconiosis [J]. *Chin J Rehabilitation Med*, 2021, 36(5): 564-569.
- [8] Yang C J, Shi Z Y, You L T, et al. Neuroprotective effect of catalpol via anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-apoptotic mechanisms [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 690.
- [9] Hu L A, Sun Y K, Zhang H S, et al. Catalpol inhibits apoptosis in hydrogen peroxide-induced cardiac myocytes through a mitochondrial-dependent caspase pathway [J]. *Biosci Rep*, 2016, 36(3): e00348.
- [10] Xu D Q, Li C J, Jiang Z Z, et al. The hypoglycemic mechanism of catalpol involves increased AMPK-mediated mitochondrial biogenesis [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(6): 791-799.
- [11] Xu D Q, Huang X F, Hassan H M, et al. Hypoglycaemic effect of catalpol in a mouse model of high-fat diet-induced prediabetes [J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2020, 45(10): 1127-1137.
- [12] Xu D Q, Wang L, Jiang Z Z, et al. A new hypoglycemic mechanism of catalpol revealed by enhancing MyoD/MyoG-mediated myogenesis [J]. *Life Sci*, 2018, 209: 313-323.
- [13] Wang Y, Shao Y L, Gao Y Q, et al. Catalpol prevents denervated muscular atrophy related to the inhibition of autophagy and reduces BAX/BCL2 ratio via mTOR pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 13: 243-253.
- [14] 高天旭, 韦大文, 徐江雁, 等. 维金康口服液对尘肺引起肺纤维化大鼠模型干预的初步研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2010, 25(3): 358-360.
- Gao T X, Wei D W, Xu J Y, et al. Experimental study on effect of Weijinkang Oral Liquid on rats' models with pulmonary fibrosis caused by pneumoconiosis [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2010, 25(3): 358-360.
- [15] 王静, 蒋舒凡, 胡伟燚, 等. 金水宝胶囊对大鼠尘肺模型的药效学研究 [J]. *职业与健康*, 2018, 34 (13): 1772-1776.
- Wang J, Jiang S F, Hu W Y, et al. Pharmacodynamic study on Jinshuibao Capsules on rat pneumoconiosis model [J]. *Occup Heal*, 2018, 34(13): 1772-1776.
- [16] 刘薇, 蒋舒凡, 涂雷, 等. 金水宝胶囊对尘肺模型大鼠的改善作用及其机制 [J]. *中国药科大学学报*, 2018, 49 (4): 476-482.
- Liu W, Jiang S F, Tu L, et al. Mechanism of JinShuiBao capsule in ameliorating rat pneumoconiosis model [J]. *J China Pharm Univ*, 2018, 49(4): 476-482.
- [17] Xu D Q, Li C J, Jiang Z Z, et al. The hypoglycemic mechanism of catalpol involves increased AMPK-mediated mitochondrial biogenesis [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(6): 791-799.
- [18] Xu D, Wang L, Jiang Z, et al. A new hypoglycemic mechanism of catalpol revealed by enhancing MyoD/MyoG-mediated myogenesis [J]. *Life Sci*, 2018, 209: 313-323.
- [19] 胡涛, 周晓芸, 薛丹, 等. 加味四君子汤对慢性阻塞性肺疾病小鼠膈肌线粒体损伤的修复作用 [J]. *广州中医药大学学报*, 2020, 37(3): 523-527.
- Hu T, Zhou X Y, Xue D, et al. Protective effect of modified sijunzi decoction against diaphragmatic mitochondria injury of mice with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med*, 2020, 37(3): 523-527.
- [20] 叶斌, 李福祥. 慢性阻塞性肺病患者肋间外肌线粒体相关功能的临床研究 [J]. *中华肺部疾病杂志: 电子版*, 2018, 11(5): 544-550.
- Ye B, Li F X. Clinical studies on the functions of mitochondrial function of intercostal muscles in patients

- with chronic obstruction pulmonary disease [J]. Chin J Lung Dis Electron Ed, 2018, 11(5): 544-550.
- [21] Puente-Maestu L, Pérez-Parra J, Godoy R, et al. Abnormal mitochondrial function in locomotor and respiratory muscles of COPD patients [J]. Eur Respir J, 2009, 33(5): 1045-1052.
- [22] Parry H A, Roberts M D, Kavazis A N. Human skeletal muscle mitochondrial adaptations following resistance exercise training [J]. Int J Sports Med, 2020, 41(6): 349-359.
- [23] Philp A M, Saner N J, Lazarou M, et al. The influence of aerobic exercise on mitochondrial quality control in skeletal muscle [J]. J Physiol, 2021, 599(14): 3463-3476.
- [24] 邱 霓, 李 聪, 方伟进, 等. 耐力运动8周对大鼠骨骼肌收缩功能和线粒体生物合成的影响及机制 [J]. 中国药理学通报, 2015, 31(5): 691-697.
- Qiu N, Li C, Fang W J, et al. Effects and mechanisms of endurance exercise for 8 weeks on contractile function and mitochondrial biogenesis in rat skeletal muscles [J]. Chin Pharmacol Bull, 2015, 31(5): 691-697.
- [25] 薛春玲, 诸葛远莉, 曾静霞. 姜黄素对高糖诱导的L6细胞线粒体功能障碍的改善作用 [J]. 中国药科大学学报, 2016, 47(3): 342-347.
- Xue C L, Zhuge Y L, Zeng J X. Improved effect of curcumin on mitochondrial dysfunction induced by high glucose in L6 cells [J]. J China Pharm Univ, 2016, 47(3): 342-347.
- [26] Taylor D F, Bishop D J. Transcription factor movement and exercise-induced mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: Current knowledge and future perspectives [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(3): 1517.
- [27] Sligar J, DeBruin D A, Saner N J, et al. The importance of mitochondrial quality control for maintaining skeletal muscle function across health span [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2022, 322(3): C461-C467.

[责任编辑 兰新新]