

· 药理 ·

保元解毒汤改善 $Apc^{min/+}$ 恶病质模型肌肉萎缩的机制分析

宗鑫¹, 张亚楠¹, 章洪华¹, 季旭明^{2*}
(1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 浙江中医药大学 基础医学院, 杭州 310053)

[摘要] 目的: 研究保元解毒汤对 $Apc^{min/+}$ 恶病质小鼠血清中白细胞介素-6(IL-6)含量及腓肠肌中肌肉萎缩盒 F 蛋白 1 (Atrogin-1),肌肉特异性环指蛋白-1 (MuRF-1),线粒体解偶联蛋白-2 (UCP-2),解偶联蛋白-3 (UCP-3)表达的影响,探讨其改善恶病质模型小鼠肌肉萎缩的作用机制。方法: 14 周龄 $Apc^{min/+}$ 恶病质小鼠模型,随机分为模型组,保元解毒汤组 ($23\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),甲地孕酮组 ($0.024\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),C57BL/6J 小鼠为正常组,每组 10 只,连续灌胃给药 12 周,测定腓肠肌质量及肌纤维横径,酶联免疫吸附测定 (ELISA)检测 $Apc^{min/+}$ 恶病质小鼠血清中 IL-6 含量;蛋白免疫印迹法 (Western blot),实时荧光定量聚合酶链式反应 (Real-time PCR)检测小鼠腓肠肌中 Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 蛋白及 mRNA 表达。结果: 与正常组比较,模型组小鼠腓肠肌质量、纤维横径明显减小 ($P<0.05$),血清 IL-6 含量显著升高,小鼠腓肠肌中 Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 mRNA 及蛋白表达明显升高 ($P<0.05$);与模型组比较,给药组小鼠腓肠肌质量、腓肠肌纤维横径显著增加,血清中 IL-6 含量明显降低,腓肠肌中 Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 mRNA 及蛋白表达明显降低 ($P<0.05$)。结论: 保元解毒汤可改善 $Apc^{min/+}$ 恶病质小鼠模型肌肉萎缩,其机制可能与降低血清中 IL-6 含量,下调 Atrogin-1, MuRF-1 表达,降低线粒体 UCP-2, UCP-3 mRNA 表达相关。

[关键词] $Apc^{min/+}$; 癌性恶病质; 肌肉萎缩; 保元解毒汤; 解偶联蛋白

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2019)21-0019-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20192102

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190718.1143.003.html>

[网络出版时间] 2019-07-18 16:39

Mechanism of Baoyuan Jiedu Decoction in Alleviating
Muscle Atrophy in $Apc^{min/+}$ Cachexia Mice

ZONG Xin¹, ZHANG Ya-nan¹, ZHANG Hong-hua¹, JI Xu-ming^{2*}
(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China;
2. Basic Medical School, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Baoyuan Jiedu decoction on serum interleukin-6 (IL-6) content, expression of muscle atrophy F-box 1 (Atrogin-1), muscle ring finger-1 (MuRF-1), uncoupling proteins-2 (UCP-2), uncoupling proteins-3 (UCP-3) in $Apc^{min/+}$ mice, in order to explore the mechanism in improving muscle atrophy in cancer cachexia model. **Method:** The 14-week-old $Apc^{min/+}$ cachexia mice model was randomly divided into model group, Baoyuan Jiedu decoction group ($23\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and megestrol group ($0.024\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$). C57BL/6J mice were normal group, with 10 mice in each group, and given continuous intragastric administration for 12 weeks. The quality of gastrocnemius muscle and the transverse diameter of muscle fibers were measured. The content of IL-6 in serum of $Apc^{min/+}$ cachexia mice was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The expressions of Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 mRNA and protein in gastrocnemius muscle were detected by Western blot and quantitative real-time fluorescence polymerase chain reaction (Real-time PCR). **Result:**

[收稿日期] 20190327(008)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(81573871,81774198,81703839);山东省中医经典名方协同创新中心开放课题(2018KFZ03)
[第一作者] 宗鑫,博士,从事中西医结合抗肿瘤研究,E-mail:810997361@qq.com
[通信作者] *季旭明,教授,博士生导师,从事中西医结合抗肿瘤研究,E-mail:jixuming724@163.com

Compared with the normal group, the weight of gastrocnemius muscle and the transverse diameter of fibers in the model group decreased significantly ($P < 0.05$), while the concentration of IL-6 in serum and the expressions of Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2 and UCP-3 in gastrocnemius muscle of mice increased significantly ($P < 0.05$). Compared with the model group, the weight of gastrocnemius muscle, the expression of UCP-3 and protein in the treated group increased significantly ($P < 0.05$). The transverse diameter of muscle fibers increased significantly, whereas the concentration of IL-6 in serum and the expressions of Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2 and UCP-3 in gastrocnemius muscle of mice decreased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion:** Reduction of the concentration of IL-6 in serum and the down-regulation of the expressions of Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2 and UCP-3 genes may be the possible mechanism of Baoyuan Jiedu decoction in alleviating muscle atrophy in $Apc^{min/+}$ cachexia mice model.

[**Key words**] $Apc^{min/+}$; cancer cachexia; muscular atrophy; Baoyuan Jiedu decoction; uncoupling protein

癌性恶病质(CC)主要表现为不能被营养支持所缓解的进行性骨骼肌萎缩^[1]。严重影响肿瘤患者的生活质量及预后等情况,是恶性肿瘤患者死亡的直接原因之一^[2-3]。癌性恶病质造成的肌肉萎缩与骨骼肌蛋白质降解增多、合成减少有密切关系。此外,线粒体功能异常导致的能量代谢改变也在癌性恶病质肌肉萎缩中发挥重要作用^[4-6],目前尚没有治疗癌症恶病质的特效药物。中医中药辨证论治,在缓解肌肉萎缩,提高患者的生活质量,延长患者生存期方面取得一些临床效果^[7-8]。

本课题组在国家自然科学基金项目“保元解毒汤通过 p38 丝裂原活化蛋白激酶/过氧化物酶体增殖活化受体 γ 共激活因子 1(p38 MAPK/PGC-1) 通路调控线粒体功能改善癌性恶病质肌肉萎缩机制研究”中发现,由《景岳全书》保元汤与《洞天奥旨》参花汤相合加减而成的保元解毒汤对癌因性肌肉萎缩有明显的改善作用^[9-10]。但没有自发性恶病质模型方面的研究,本研究拟采用的 $Apc^{min/+}$ 恶病质模型是在小鼠同源 APC 基因第 850 位点发生无义突变,造成其肠道多发腺瘤的特性,是目前比较成熟的结肠直肠癌和恶病质模型^[11-12],研究保元解毒汤改善肌肉萎缩的作用和相关的线粒体解偶联机制,拓展保元解毒汤的深入研究。

1 材料

1.1 动物 14 周龄 $Apc^{min/+}$ 恶病质小鼠模型雄性 30 只,鼠龄及遗传背景相同的 C57BL/6J 小鼠 10 只,雄性,均购自南京大学模式动物研究所,合格证号 SCXK(苏)2015-0001。此研究动物使用与相关动物保护条例相符合,且由山东中医药大学动物实验伦理会批准,编号 SDUTCM201805311223。

1.2 药物及试剂 保元解毒汤由人参片(批号 1903002)9 g,附片(批号 180701)9 g,黄芪(批号 180801)18 g,当归(批号 1812583112)15 g,金银花(批

号 1805003)12 g,甘草片(批号 1811001)9 g 组成,上述中药饮片均购自山东省中医院药剂科,经山东中医药大学李峰教授鉴定均为正品;醋酸甲地孕酮片(西安远大德天药业股份有限公司,批号 05181202);将饮片置平底烧瓶中,加 6 倍量水回流提取 2 次,每次 1 h,过滤收集滤液。合并 2 次提取液,浓缩后置于 4 ℃ 冰箱冷藏备用;苏木素染色液(上海伯奥生物科技有限公司,批号 18017),伊红染色液(国药集团化学试剂有限公司,批号 20181201);白细胞介素-6(IL-6)酶联免疫吸附测定(ELISA)检测试剂盒(上海研辉生物科技有限公司,批号 20180701A);肌肉萎缩盒 F 蛋白(Atrogin-1),肌肉特异性环指蛋白 1(MuRF-1),线粒体解偶联蛋白 2(UCP-2),解偶联蛋白 3(UCP-3)抗体(美国 Abcam 公司,批号分别为 GR283254-2,180576-1,ab97931,ab193470)。

1.3 仪器 RM2125RTS 型石蜡病理切片机(德国徕卡公司);BX53M 型显微镜(日本奥林巴斯公司);RaytoRT-6100 型酶标仪(美国雷杜公司);ABI7500 型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(美国赛默飞公司);Power PacH 型电泳仪,Bio-Rad V3 Western Workflow 型凝胶成像分析系统(美国伯乐公司)。

2 方法

2.1 分组给药 随机将 $Apc^{min/+}$ 恶病质小鼠模型小鼠分为保元解毒汤组,甲地孕酮组,模型组,每组 10 只;C57BL/6J 小鼠 10 只作为正常组,根据“人与动物体表面积折算等效剂量比率表”并结合课题组前期研究^[13],换算后保元解毒汤组给药剂量 $23\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$;甲地孕酮组给药剂量 $0.024\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,模型组、正常组给予等体积的生理盐水灌胃,给药 1 次/d,连续灌胃 12 周。

2.2 ELISA 检测血清中 IL-6 的含量 给药干预 12 周后,小鼠摘眼球取血,分离血清,保存备用。按

ELISA 试剂盒说明书操作,检测血清中 IL-6 含量。

2.3 苏木素-伊红(HE)染色观察腓肠肌组织病理学变化及肌纤维横径测定 分离小鼠腓肠肌,同样标本称质量 3 次后,取平均值作为该样本的最终质量。4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋,常规切片 HE 染色,400 倍光镜下,每组随机选定 5 个视野,每个视野随机选定 5 个比较完整的肌纤维横截面,用 Image J 软件测定横截面的最大横径(μm),求平均值代表肌纤维横径。

2.4 Real-time PCR 检测 Atrogin-1, MuRF-1,

UCP-2,UCP-3 mRNA 表达

提取腓肠肌总 RNA。按逆转录试剂盒说明书进行操作,总反应体积为 20 μL 。Real-time PCR 反应 20 μL 反应体系。反应条件为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 20 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 20 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s。采集荧光 17 s,共进行 40 个循环。每个标本均作复管 PCR 反应,重复 3 次。采用 β -肌动蛋白(β -actin)作为内参。实验组的目的基因相对于正常组的表达量以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算得出。引物由石家庄德萨生物科技有限公司合成,序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列
Table 1 Primer sequences of PCR

引物	序列(5'-3')		长度 /bp
	上游	下游	
Atrogin-1	TGGATACTGTACTTTGGGGGA	CAGGGATGTGAGCTGTGACTT	127
MuRF-1	TCTAGCCTGATTCCTGATGG	AGATGTCGTTGGCACACTTC	142
UCP-2	GATGAGCTTTGCCTCCGTC	ACCTGTGGTGCTACCTGCC	115
UCP-3	GCCCAACATCACAAGAAAT	CTCCAAAGGCAGAGACAAA	131
β -actin	GGCACCACACCTTCTAC	CTGGGTCATCTTTTCAC	107

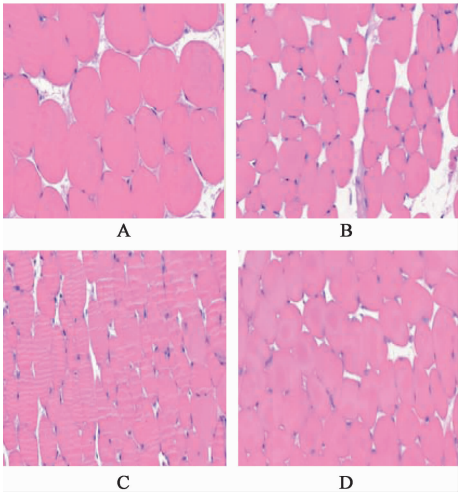
2.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 蛋白的表达 提取腓肠及组织总蛋白,BCA 测定法进行蛋白定量。上样,SDS-PAGE 电泳,恒流电转至硝酸纤维素膜上。5% 的脱脂牛奶封闭 2 h,与 1:1 000 稀释的一抗 Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。经 TBST 洗涤后,加入 1:1 000 稀释的二抗,室温下孵育 1 h。采用 UVP 分析仪器进行扫描,测定电泳条带的灰度值。

2.6 统计学方法 采用 SPSS 25.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间均数比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 $\text{Apc}^{\text{min/+}}$ 小鼠腓肠肌组织病理形态学的影响 与正常组比较,模型组小鼠腓肠肌质量、肌纤维细胞横径明显减小($P < 0.05$);与模型组比较,保元解毒汤组小鼠腓肠肌质量、肌纤维细胞横径明显增大($P < 0.05$)。见图 1,表 2。

3.2 对 $\text{Apc}^{\text{min/+}}$ 小鼠血清中 IL-6 含量的影响 与正常组比较,模型组小鼠血清中 IL-6 含量明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,保元解毒汤组、甲地孕酮组小鼠血清中 IL-6 含量明显降低($P < 0.05$)。见表 3。



A. 正常组;B. 模型组;C. 保元解毒汤组;D. 甲地孕酮组(图 2 同)
图 1 保元解毒汤对 $\text{Apc}^{\text{min/+}}$ 小鼠腓肠肌组织病理形态学的影响(HE, $\times 400$)
Fig.1 Effect of Baoyuan Jiedu decoction on pathomorphology in gastrocnemius of $\text{Apc}^{\text{min/+}}$ mice(HE, $\times 400$)

3.3 对 $\text{Apc}^{\text{min/+}}$ 小鼠腓肠肌组织 Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 mRNA 表达的影响 与正常组比较,模型组 Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 mRNA 表达明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,保元解毒汤组、甲地孕酮组 Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 mRNA 表达明显降低($P < 0.05$)。见表 4。

表 2 保元解毒汤对 $Apc^{min/+}$ 小鼠腓肠肌质量及肌纤维横径的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Baoyuan Jiedu decoction on quality and transverse diameter in gastrocnemius of $Apc^{min/+}$ mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	腓肠肌质量/g	肌纤维横径/ μm
正常	—	0.19 $\pm$ 0.06	361.52 $\pm$ 21.31
模型	—	0.14 $\pm$ 0.04 ¹⁾	143.43 $\pm$ 9.16 ¹⁾
保元解毒汤	23	0.17 $\pm$ 0.05 ³⁾	244.81 $\pm$ 18.24 ³⁾
甲地孕酮	0.024	0.16 $\pm$ 0.03 ³⁾	231.65 $\pm$ 13.78 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 3 ~ 5 同)。

表 3 保元解毒汤对 $Apc^{min/+}$ 小鼠血清中 IL-6 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of Baoyuan Jiedu decoction on content of IL-6 in serum of $Apc^{min/+}$ mice($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	IL-6/ $ng \cdot L^{-1}$
正常	—	52.60 $\pm$ 8.80
模型	—	133.64 $\pm$ 12.82 ¹⁾
保元解毒汤	23	81.39 $\pm$ 7.30 ³⁾
甲地孕酮	0.024	97.85 $\pm$ 12.61 ³⁾

表 4 保元解毒汤对 $Apc^{min/+}$ 小鼠腓肠肌组织 Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Effect of Baoyuan Jiedu decoction on expression of Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 mRNA in gastrocnemius of $Apc^{min/+}$ mice($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	Atrogin-1	MuRF-1	UCP-2	UCP-3
正常	—	1.07 $\pm$ 0.41	1.03 $\pm$ 0.29	0.99 $\pm$ 0.17	0.98 $\pm$ 0.24
模型	—	10.86 $\pm$ 0.98 ¹⁾	5.60 $\pm$ 0.51 ¹⁾	4.31 $\pm$ 0.45 ¹⁾	5.56 $\pm$ 0.39 ¹⁾
保元解毒汤	23	3.13 $\pm$ 0.48 ³⁾	2.31 $\pm$ 0.39 ³⁾	2.71 $\pm$ 0.59 ³⁾	2.09 $\pm$ 0.17 ³⁾
甲地孕酮	0.024	4.83 $\pm$ 0.82 ³⁾	3.47 $\pm$ 0.49 ³⁾	3.43 $\pm$ 0.44 ³⁾	3.11 $\pm$ 0.45 ³⁾

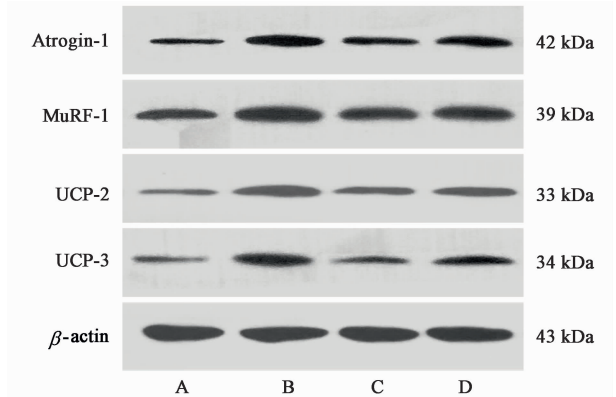


图 2 小鼠腓肠肌中 Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 蛋白表达电泳
Fig. 2 Electrophoresis of Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 protein expression in gastrocnemius of mice

3.4 对 $Apc^{min/+}$ 小鼠腓肠肌组织 Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组 Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 蛋白表达明显增高 ($P < 0.05$);与模型组比较,保元解毒汤组、甲地孕酮组 Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 蛋白表达明显降低 ($P < 0.05$)。见图 2,表 5。

4 讨论

癌性恶病质属中医“虚劳”范畴。保元解毒汤由人参片、附子、黄芪、当归、金银花、甘草片组成。黄芪大补元气,益气升阳;人参片益气生津;附子温一身之阳气,与黄芪、人参片配伍,气阳双补。金银花清热解毒;当归补血活血;甘草片调和诸药,清热解毒。全方温阳益气为主,辅以活血解毒,诸药相合,气阳双补,邪正兼顾,针对癌性恶病质本虚标实的病因病机辨证论治,符合中医的治法治则^[14-15]。

$Apc^{min/+}$ 小鼠在 9 周时肠道腺瘤形成,随后腺瘤数目不变,体积不断增大,15 周以后腺瘤快速生长,24 周时由于腺瘤体积过大及对营养的过度消耗导致多数小鼠致死^[16]。 $Apc^{min/+}$ 模型的肌肉萎缩过程可以由多种因子诱导,炎性细胞因子 IL-6 等是导致该过程的重要因素^[17-19]。IL-6 水平升高可以诱导

泛素-蛋白酶体系统引起骨骼肌蛋白降解,同时增加解偶联蛋白表达,引起能量消耗^[20],既是诱导 $Apc^{min/+}$ 肠道小鼠肿瘤发生的关键因素,又是模型小鼠骨骼肌质量迅速降低的直接原因^[21]。

泛素-蛋白酶体系统是骨骼肌蛋白水解的重要通路,也是癌症恶病质骨骼肌消耗的主要途径^[22]。在依赖于 ATP 的泛素-蛋白酶体途径(UPP)中,小泛素蛋白通过 E3 泛素连接酶附着于赖氨酸残基上,并通过靶向 26S 蛋白酶体促进肌肉蛋白的水解。因此 E3 泛素连接酶 Atrogin-1 和 MuRF-1 是造成癌性恶病质患者骨骼肌萎缩的重要标记物^[23]。相关研究表明,Atrogin-1 和 MuRF-1 在癌性恶病质患者及动物模型中表达增高,促进了骨骼肌蛋白降解,导致

表 5 保元解毒汤对 $Apc^{min/+}$ 小鼠腓肠肌组织 Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Effect of Baoyuan Jiedu decoction on expression of Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 protein in gastrocnemius of $Apc^{min/+}$ mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	Atrogin-1/ β -actin	MuRF-1/ β -actin	UCP-2/ β -actin	UCP-3/ β -actin
正常	—	0.39 $\pm$ 0.08	0.49 $\pm$ 0.08	0.37 $\pm$ 0.07	0.20 $\pm$ 0.02
模型	—	1.11 $\pm$ 0.17 ¹⁾	1.19 $\pm$ 0.06 ¹⁾	1.20 $\pm$ 0.13 ¹⁾	0.78 $\pm$ 0.06 ¹⁾
保元解毒汤	23	0.52 $\pm$ 0.05 ³⁾	0.73 $\pm$ 0.08 ³⁾	0.56 $\pm$ 0.05 ³⁾	0.35 $\pm$ 0.04 ³⁾
甲地孕酮	0.024	0.64 $\pm$ 0.06 ³⁾	0.84 $\pm$ 0.12 ³⁾	0.59 $\pm$ 0.03 ³⁾	0.49 $\pm$ 0.02 ³⁾

肌肉萎缩的发生^[24-25]。在本研究中,保元解毒汤降低了 $Apc^{min/+}$ 小鼠腓肠肌中 Atrogin-1 和 MuRF-1 mRNA 和蛋白的表达,通过抑制 UPP 减少骨骼肌蛋白水解,使骨骼肌萎缩得到改善。

在癌性恶病质全身炎症反应状态下^[26],升高的 IL-6 等细胞因子参与 UPP 的激活^[27],UPP 激活导致了 E3 泛素连接酶 Atrogin-1 和 MuRF-1 表达的相应增高,在线粒体膜上有包括 Atrogin-1 和 MuRF-1 在内的多种泛素连接酶,相关研究发现在细胞质内加入蛋白酶体抑制剂后线粒体膜上的解偶联蛋白 2,3 异常增加^[28],而解偶联蛋白 UCP-2,UCP-3 介导的质子泄漏现象,使线粒体电子传递产生的质子电化学势能被质子漏消耗,破坏膜两侧的电化学梯度,将质子电化学势能转化为热量散失,引起能量的消耗和代谢的紊乱,促进了癌性恶病质的形成^[29]。Collins 等^[30]研究发现接种腹水瘤后,大鼠骨骼肌中的 UCP2 和 UCP3 mRNA 水平明显增高。并且 UCP2 和 UCP3 在结肠癌、乳腺癌等许多恶性肿瘤患者中表达水平增加^[31],在本实验中,保元解毒汤降低了 $Apc^{min/+}$ 小鼠腓肠肌中 UCP-2 和 UCP-3 mRNA 和蛋白的表达,通过抑制解偶联作用,减少了能量的无意义散失,从而保存了骨骼肌的质量。

综上所述,保元解毒汤干预后, $Apc^{min/+}$ 小鼠腓肠肌质量、腓肠肌纤维横径显著增加,血清 IL-6 含量显著降低,小鼠腓肠肌中 Atrogin-1, MuRF-1, UCP-2, UCP-3 mRNA 及蛋白表达显著降低,提示保元解毒汤通过抑制 IL-6 诱导的泛素-蛋白酶体途径及线粒体解偶联途径,改善 $Apc^{min/+}$ 小鼠骨骼肌萎缩。为保元解毒汤用于改善癌因性恶病质肌肉萎缩提供了可靠的实验依据。

[参考文献]

[1] YANG Q J, ZHAO J R, HAO J, et al. Serum and urine metabolomics study reveals a distinct diagnostic model for cancer cachexia[J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2018, 9(1): 71-85.

[2] ZHANG G, LIU Z, DING H, et al. Tumor induces muscle wasting in mice through releasing extracellular Hsp70 and Hsp90[J]. Nat Commun,2017,8(1):589.

[3] Aversa Z, Costelli P, Muscaritoli M. Cancer-induced muscle wasting latest findings in prevention and treatment[J]. Ther Adv Med Oncol, 2017, 9(5): 369-382.

[4] 洪梓德,莫志贤. 中药抗肿瘤机制中的 11 种信号通路[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(21): 205-218.

[5] 田龙夫,张琦,王波涛,等. 血根碱通过调控 PI3K/Akt 信号通路诱导胰腺癌细胞凋亡的机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(19): 166-171.

[6] 苗久旺,荆雪宁,高荧,等. 自噬对双去甲氧基姜黄素诱导肝癌 HepG2 细胞凋亡作用的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(17): 167-171.

[7] 赵能刚,金红艳,刘倩,等. 归脾汤制膏治疗晚期癌症恶病质状态的临床观察[J]. 湖北中医药大学学报, 2018,20(5): 70-72.

[8] 张媛,罗玲,陶劲. 养阴填精化瘀合剂对癌症恶病质患者的临床疗效观察[J]. 南京中医药大学学报, 2018,34(6): 561-564.

[9] 章洪华,宗鑫,邓甜甜,等. 保元解毒汤通过细胞因子-泛素-蛋白酶体途径干预癌因性肌管萎缩机制的研究[J]. 北京中医药大学学报,2018,41(8): 642-647.

[10] ZHANG Y,HAN X,OUYANG B, et al. Chinese herbal medicine Baoyuan Jiedu decoction inhibited muscle atrophy of cancer Cachexia through Atrogin-1 and MuRF-1[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2017,doi:10.1155/2017/ 6268378.

[11] Ikeda K,Mutoh M,Teraoka N,et al. Increase of oxidant-related triglycerides and phosphatidylcholines in serum and small intestinal mucosa during development of intestinal polyp formation in Min mice[J]. Cancer Sci, 2011,102(1): 79-87.

[12] Michael P, Polly N, Karen M, et al. Blood lipids and colorectal polyps: testing an etiologic hypothesis using phenotypic measurements and Mendelian randomization [J]. Cancer Causes Control,2015,26(3): 467-473.

[13] 王文苹,季旭明,刘超,等. 癌性恶病质模型生活质量评价体系的建立及保元解毒汤的干预作用研究[J]. 微循环学杂志,2012,22(2): 91.

[14] 宗鑫,吴智春,王媛,等. 基于中药整合药理学平台分析保元解毒汤干预恶性肿瘤作用机制研究[J]. 中华肿瘤防治杂志,2018,25(13): 931-934,950.

[15] 于华芸,王文苹,吴智春,等. 保元解毒汤对癌性恶病质小鼠骨骼肌蛋白质降解及MAFbx、MuRF-1 基因表达的影响[J]. 时珍国医国药,2015,26(1): 226-229.

[16] CHANG W C L, Jackson C, Riel S, et al. Differential preventive activity of sulindac and atorvastatin in Apc^{+/Min-FCCC} mice with or without colorectal adenomas [J]. Gut,2018,67(7): 1290-1298.

[17] Carson J A, Fix D K, Vanderveen B N. Disrupted skeletal muscle mitochondrial dynamics, mitophagy, and biogenesis during cancer cachexia: a role for inflammation[J]. Oxid Med Cell Longev,2017,15(1): 1-13.

[18] CHEN J L, Colgan T D, Walton K L, et al. The TGF- β signalling network in muscle development, adaptation and disease [J]. Adv Exp Med Biol, 2016, 900: 97-131.

[19] CHEN L, WANG S, WANG Y, et al. IL-6 influences the polarization of macrophages and the formation and growth of colorectal tumor [J]. Oncotarget, 2018, 9 (25): 17443-17454.

[20] Patel H J, Patel B M. TNF- α and cancer cachexia: molecular insights and clinical implications [J]. Life Sci,2016,170: 56-63.

[21] White J P, Puppa M J, Sato S, et al. IL-6 regulation on skeletal muscle mitochondrial remodeling during cancer cachexia in the Apc^{Min/+} mouse [J]. Skeletal Muscle, 2012,2(1): 14.

[22] Marchione R, Leibovitch S, Lenormand J L. The translational factor eIF3f; the ambivalent eIF3 subunit [J]. Cell Mol Life Sci,2013,70(19): 3603-3616.

[23] YUAN L, HAN J, MENG Q, et al. Muscle-specific E3 ubiquitin ligases are involved in muscle atrophy of cancer cachexia: an *in vitro* and *in vivo* study [J]. Oncol Rep,2015,33(5): 2261-2268.

[24] Lecker S H, Solomon V, Mitch W E, et al. Muscle protein breakdown and the critical role of the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states [J]. J Nutr,1999,129(1S): 227S-237S.

[25] 张洪秀,聂明秀,杨桦,等. 泛素蛋白酶体途径及其在肾癌中的研究进展[J]. 昆明理工大学学报:自然科学版,2015,40(4): 84-90.

[26] Vanderveen B N, Fix D K, Carson J A. Disrupted skeletal muscle mitochondrial dynamics, mitophagy, and biogenesis during cancer cachexia: a role for inflammation [J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 7: 1-13.

[27] Bilodeau P A, Coyne E S, Wing S S. The ubiquitin proteasome system in atrophying skeletal muscle: roles and regulation[J]. Am J Physiol Cell Physiol,2016,311(3): C392-C403.

[28] Azzu V, Mookerjee S A, Brand M D. Rapid turnover of mitochondrial uncoupling protein 3 [J]. Biochem J, 2010,426(1): 13-17.

[29] Sayeed V A, MENG Z, Luciani G, et al. Negative regulation of UCP2 by TGF β signaling characterizes low and intermediate-grade primary breast cancer[J]. Cell Death Dis,2010,1(7): e53.

[30] Collins S, CAO W, Daniel K W, et al. Adrenoceptors, uncoupling proteins, and energy expenditure [J]. Exp Biol Med,2001,226(11): 982-990.

[31] Robbins D, ZHAO Y. New aspects of mitochondrial uncoupling proteins (UCPs) and their roles in tumorigenesis [J]. Int J Mol Sci, 2011, 12 (8): 5285-5293.

[责任编辑 周冰冰]