DOI:10.16016/j.2097-0927.202304058

雌马酚通过调控自噬干预棕榈酸诱导的 L6 细胞肌管萎缩

于生财,倪向敏,卢 亨,张贵明,王 建 400037 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第二附属医院营养科

[摘要] **目的** 观察雌马酚(equol, Eq)干预对棕榈酸(palmitic acid,PA)诱导的 L6 大鼠成肌细胞肌管萎缩的影响,并探讨其机制。**方法** 体外培养 L6 细胞,以不同浓度的 Eq、PA 处理 24 h,通过 CCK-8 法检测相对细胞活力确定 Eq、PA 干预的适宜浓度。将细胞分为对照组、模型组(PA:0.25 mmol/L)、干预组(PA:0.25 mmol/L+Eq:1 μmol/L)和自噬抑制剂组(PA:0.25 mmol/L+Eq:1 μmol/L+3-MA:1 mmol/L)。干预 24 h 后检测各组细胞葡萄糖摄取能力;HE 染色观察细胞肌管生长情况;透射电镜观察细胞自噬小体数量;激光共聚焦显微镜观察经线粒体荧光探针标记的线粒体形态;Western blot 检测 MyHC、p62 蛋白、LC3 蛋白、MFN2 和 DRP1 表达水平。**结果** 干预 24 h 后,与对照组比较,模型组 L6 细胞葡萄糖消耗明显减低($P<0.05$),肌管直径明显减小($P<0.05$),自噬小体数量减少,线粒体裂变增加,MyHC、MFN2 蛋白表达水平降低($P<0.05$),而 p62、DRP1 表达水平及 LC3-Ⅰ/LC3-Ⅱ比值增加($P<0.05$);与模型组相比,干预组 L6 细胞葡萄糖消耗明显增加($P<0.05$),肌管直径明显增大($P<0.05$),自噬小体数量增加,线粒体裂变减少,MyHC、MFN2 蛋白表达水平升高($P<0.05$),而 p62、DRP1 表达水平及 LC3-Ⅰ/LC3-Ⅱ比值降低($P<0.05$);Eq 对 PA 诱导的 L6 细胞葡萄糖消耗,肌管直径,自噬小体数量,线粒体裂变,MyHC、p62、MFN2、DRP1 蛋白表达水平及 LC3-Ⅰ/LC3-Ⅱ比值的影响可被 3-MA 有效抑制。**结论** Eq 可有效改善 PA 诱导的 L6 细胞肌管萎缩,其部分机制与 Eq 通过促进自噬,减轻线粒体裂变有关。

[关键词] 雌马酚;L6 细胞;自噬;肌管萎缩;棕榈酸

[中图法分类号] R322.74; R592; R977.12 [文献标志码] A

Equol interferes with palmitic acid-induced muscle tube atrophy in L6 cells by regulating autophagy

YU Shengcai, NI Xiangmin, LU Heng, ZHANG Guiming, WANG Jian Department of Nutrition, Second Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400037, China

[**Abstract**] **Objective** To observe the effect of equol (Eq) intervention on palmitic acid (PA)-induced myoblast atrophy in rat myoblast cell line L6 and to explore its underlying mechanism. **Methods** L6 cells were divided into control group, model group (0.25 mmol/L PA), intervention group (0.25 mmol/L PA+1 μmol/L Eq) and autophagy inhibitor (3-methyladenine, 3-MA) group (0.25 mmol/L PA+1 μmol/L Eq+1 mmol/L 3-MA). After 24 h of intervention, glucose uptake capacity of cells was detected, muscle tube growth was observed by HE staining, autophagosome number was observed with transmission electron microscopy, and mitochondrial morphology labeled by fluorescent probe was observed by laser confocal microscopy. The expression levels of MyHC, p62, LC3, MFN2 and DRP1 were detected by Western blotting. **Results** Compared with the control group, 24 h of PA treatment resulted in significantly decreased glucose

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81973040)

[通信作者] 王 建,E-mail:wangjian_1996@aliyun.com

2097-0927/Copyright © 2023, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

consumption ($P<0.05$), decreased muscle tube diameter ($P<0.05$), reduced number of autophagosomes, increased mitochondrial fission, and reduced expression levels of MyHC and MFN2 ($P<0.05$), and elevated DRP1, p62 level and LC3-Ⅰ/LC3-Ⅱ ratio ($P<0.05$). While Eq intervention reserved above changes induced by PA treatment ($P<0.05$). However, the effects of Eq on PA-induced glucose consumption, myotube diameter, autophagosome number, mitochondrial fission, protein levels of MyHC, p62, MFN2, DRP1 and LC3-Ⅰ/LC3-Ⅱ ratio in L6 cells could be effectively inhibited by 3-MA treatment. **Conclusion** Eq effectively ameliorates PA-induced muscle tube atrophy in L6 cells, which may partially be related to Eq alleviating mitochondrial fission by promoting autophagy.

[**Key words**] equol; L6 cells; autophagy; myotube atrophy; palmitic acid

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81973040). Corresponding author: WANG Jian, E-mail: wangjian_1996@aliyun.com

肌少症是由衰老、营养不良、代谢紊乱等因素引起的骨骼肌质量下降和肌力减退的老年性疾病,导致跌倒、骨折甚至死亡的风险增加,同时会引起一系列并发症,严重影响老年人的身心健康和生活质量[1]。2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus,T2DM)患者因葡萄糖利用障碍导致脂肪分解增加,继而引起高游离脂肪酸血症等脂代谢紊乱;研究发现 T2DM 合并高游离脂肪酸血症会加重肌肉功能障碍,从而使老年患者肌少症发生率升高[1-4]。

骨骼肌是糖脂代谢的主要器官,对于血糖的稳定至关重要;而骨骼肌对糖脂的利用依赖于线粒体功能的正常发挥。线粒体既是细胞的能量工厂,也是细胞内信号的传导中心;线粒体稳态破坏导致细胞合成代谢等过程的能量供应发生障碍,影响 MyHC 蛋白的合成,导致肌管发育不良;同时线粒体稳态的破坏导致活性氧的过量积累,引起一系列不良反应,促进了 T2DM 肌少症的发生[5-7]。自噬是细胞对受损细胞器进行选择性清除的主要机制,其中线粒体自噬通过调控线粒体融合和裂变,维持线粒体稳态,对于调节细胞的生长、氧化应激与凋亡至关重要[8]。高游离脂肪酸导致的骨骼肌自噬紊乱是线粒体损害的主要原因,在成人 T2DM 患者肌肉功能障碍的病理生理过程中发挥重要作用。因此,改善骨骼肌线粒体自噬紊乱、维持线粒体稳态是目前治疗 T2DM 肌少症的重要方法[9]。

研究发现,雌激素可通过其受体调节骨骼肌细胞生长和再生[10];同时雌激素可以对小鼠骨骼肌线粒体发挥保护效应[11]。雌马酚(equol,Eq)是大豆异黄酮(soy isoflavone,SI)通过肠道菌群作用产生的体内代谢产物,具有和雌激素相似的化学结构,且活性强于 SI,可以调节糖脂代谢,改善炎症氧化应激等反应,同时能避免合成雌激素不良反应的发生[12-13]。研究表明,膳食中添加 SI 可以促进骨骼肌细胞的线粒体生物发生,提示 Eq 可能对线粒体功能具有一定的调节作用[14]。然而,目前国内外关于 Eq 对 T2DM 肌少症的干预效应尚不清楚。本研究利用棕榈酸(palmitic acid,PA)诱导 L6 细胞肌管萎缩模拟 T2DM 肌少症病变,观察 Eq 的作用效果,同时结合自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine,3-MA)干预探究其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 试剂与器材

微量台式低温离心机、全波长多功能酶标仪购自赛默飞世尔科技有限公司,倒置荧光显微镜购自日本奥林巴斯公司,超灵敏凝胶成像系统购自美国 GE 公司,激光共聚焦显微镜购自德国 ZEISS 公司,高频电泳仪购自美国 Bio-Rad 公司,超声破碎仪购自昆山禾创超声仪器有限公司。s-雌马酚购自上海大赛璐药物手性技术有限公司,DMEM 高糖培养基、青霉素-链霉素混合液、胎牛血清、胰蛋白酶-EDTA 溶液购自武汉普赛诺生命科技有限公司,自制棕榈酸溶液[15],葡萄糖测试盒购自南京建成生物工程研究所,PAGE 凝胶快速配成试剂盒购自西安米鼠生物科技有限公司,超敏 ECL 化学发光试剂盒、CCK-8 试剂盒、RIPA 裂解液、BCA 蛋白定量试剂盒、线粒体红色荧光探针、MyHC 一抗购自上海碧云天生物技术有限公司,p62 抗体、线粒体融合蛋白 2(mitochondrial fusion protein 2,MFN2)一抗购自英国 Abcam 公司,动力相关蛋白 1(dynamin related protein1,DRP1)一抗购自美国 CST 公司,LC3B 一抗购自上海艾比玛特生物医药有限公司,苏木精染色液、伊红染色液、兔 GAPDH 抗体、过氧化物酶偶联的二抗购自上海生工生物工程股份有限公司,3-MA 购自武汉爱博泰克生物技术有限公司。

1.2 细胞培养

传代培养:复苏 L6 细胞(陆军军医大学营养与食品安全研究中心提供),培养在 10%FBS、100 kU/L 双抗的 DMEM 培养基中,置于 5%CO_2、37 ℃的细胞培养箱中孵育。当细胞融合度达 80%时,0.125%胰酶消化 2 min,调整细胞数为 5×10^4/mL,按 1∶3传代。

诱导 L6 细胞向肌管细胞分化:待细胞贴壁达 80%时,0.125%胰酶消化细胞,调整细胞数为 1×10^4/孔,2 mL/孔,接种于 6 孔培养板。细胞贴壁 24 h 换含 1%FBS、100 kU/L 双抗的 DMEM 培养基诱导分化(3~5) d,每隔 24 h 换液,当细胞呈规则排列的梭形有肌管出现时,即得到成熟的骨骼肌细胞。

1.3 Eq、PA 对 L6 细胞增殖能力的影响

实验设空白组、对照组、不同浓度 Eq 或 PA 药物处理组,其中空白组为不含药物及细胞的培养基、对照组为含细胞的完全培养基。将生长至 80%的 L6 细胞以 5×10^4/mL 接种于 96 孔板,100 μL/孔,设 5 个复孔,置于细胞培养箱。培养 24 h 后,每孔加入 10 μL CCK-8 试剂,细胞培养箱中反应 1 h,置酶标仪中测定波长 450 nm 处光密度值[$D(450)$]。

$$细胞存活率=\frac{给药组\ D(450)-空白组\ D(450)}{对照组\ D(450)-空白组\ D(450)}\times100\%$$

1.4 细胞分组及干预

根据 1.3 确定的 Eq、PA 干预浓度,将分化后的细胞分为对照组、模型组(PA)、干预组(PA+Eq)和自噬抑制剂组(PA+Eq+3-MA),在 PA(0.250 mmol/L)、Eq(1.0 μmol/L)和 3-MA (1 mmol/L)作用 24 h 后分别收集培养基及细胞进行检测。

1.5 葡萄糖消耗实验

将分化后的 L6 细胞分别于 6、12、24 h 收集培养基,离心后取上清液加入到 96 孔板中,按葡萄糖测试盒操作说明检测各组培养液中葡萄糖含量,进一步计算葡萄糖消耗量。

葡萄糖消耗量=总葡萄糖含量-不同处理组葡萄糖含量

1.6 HE 染色

将 L6 细胞接种于 6 孔板,待分化完成后按上述分组干预 24 h 后,用 PBS 漂洗 2 次;4%多聚甲醛固定 10 min;0.3%曲拉通透膜 10 min;PBS 漂洗 2 次,苏木精染色 30 min;PBS 漂洗 2 次,盐酸乙醇溶液分色数秒后,使用 PBS 漂洗 2 次;伊红染液染色 1 min,使用无水乙醇漂洗 1 次后在倒置显微镜下观察并采集图像。使用 Image J 软件对分化好的随机 5 个肌管直径进行测量,测量直径时避开细胞核。

1.7 透射电镜

将分化好的 L6 细胞按上述分组培养 24 h 后收集细胞,1 000 r/min,离心 5 min,弃去上层培养基,缓慢加入 2.5%戊二醛放于 4 ℃冰箱固定过夜。1%锇酸后固定后用梯度浓度的乙醇脱水、环氧树脂包埋、超薄切片、染色,继而透射电镜观察,并采集图片。

1.8 线粒体荧光探针标记线粒体

将诱导分化后的 L6 细胞,使用 0.125%胰酶消化离心后调整细胞数为 1×10^4/mL,按 1 mL/孔,接种于玻底培养皿,待细胞贴壁 24 h 后,将细胞分为对照组、模型组、干预组和抑制剂组,按上述干预方法培养 24 h 后,按照线粒体荧光探针试剂盒操作说明进行线粒体染色。染色完成后置于激光共聚焦显微镜下观察并拍照。

1.9 Western blot 检测

将干预 24 h 的各组细胞收集于 1.5 mL 离心管中,裂解细胞提取全蛋白;使用 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量,加入蛋白上样缓冲液,95 ℃煮样 5 min。使用 Western blot 检测各组 MyHC、p62、MFN2、DRP1、LC3 和 GAPDH 的表达情况。显影后用 Image J 软件对条带进行分析。

1.10 统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析,使用 GraphPad Prism 9 软件作图,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 t 检验。$P<0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

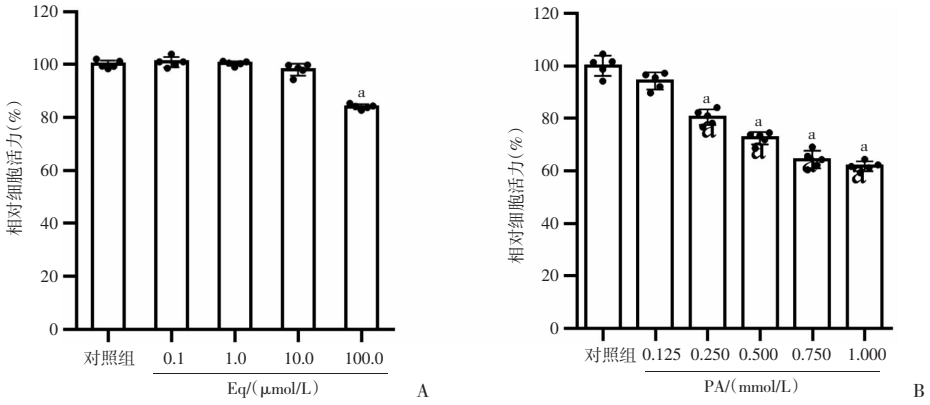
2 结果

2.1 雌马酚、棕榈酸对 L6 细胞活力的影响

当雌马酚浓度为 100.0 μmol/L 时雌马酚明显影响 L6 细胞增殖能力,细胞存活率小于 85%;当浓度为 0.1~10.0 μmol/L 时,细胞存活率接近 100%,见图 1A;后续实验雌马酚浓度选择 1.0 μmol/L。PA 浓度为 0.125 mmol/L 时,细胞活力与对照组差异无统计学意义($P>0.05$),当 PA 浓度>0.250 mmol/L 时,细胞活力明显下降($P<0.05$),见图 1B,后续实验 PA 浓度选择 0.250 mmol/L。

2.2 雌马酚对 L6 细胞葡萄糖摄取能力的影响

干预 6 h,与模型组比较,对照组、干预组和抑制剂组葡萄糖消耗量无明显差异($P>0.05$),与干预组相比,抑制剂组葡萄糖消耗量明显降低($P<0.05$);干预 12、24 h,与模型组比较,对照组和干预组葡萄糖消耗量明显增加($P<0.05$),Eq 对细胞葡萄糖消耗量的作用可被 3-MA 有效抑制,见表 1。



a:$P<0.05$ 与对照组比较

A:Eq 对 L6 细胞活力影响;B:PA 对 L6 细胞活力影响

图 1 Eq、PA 对 L6 细胞活力的影响

表 1 各组细胞干预不同时间葡萄糖消耗量比较

(mmol/L,$n=5$,$\bar{x}\pm s$)

组别	6 h	12 h	24 h
对照组	2.05±0.49	4.90±0.69[a]	7.72±0.32[a]
模型组	1.52±0.29	3.33±0.67	5.07±0.44
干预组	1.93±0.41	4.81±0.51[a]	7.57±0.67[a]
抑制剂组	1.22±0.44[b]	2.94±1.23[b]	5.70±0.72[b]

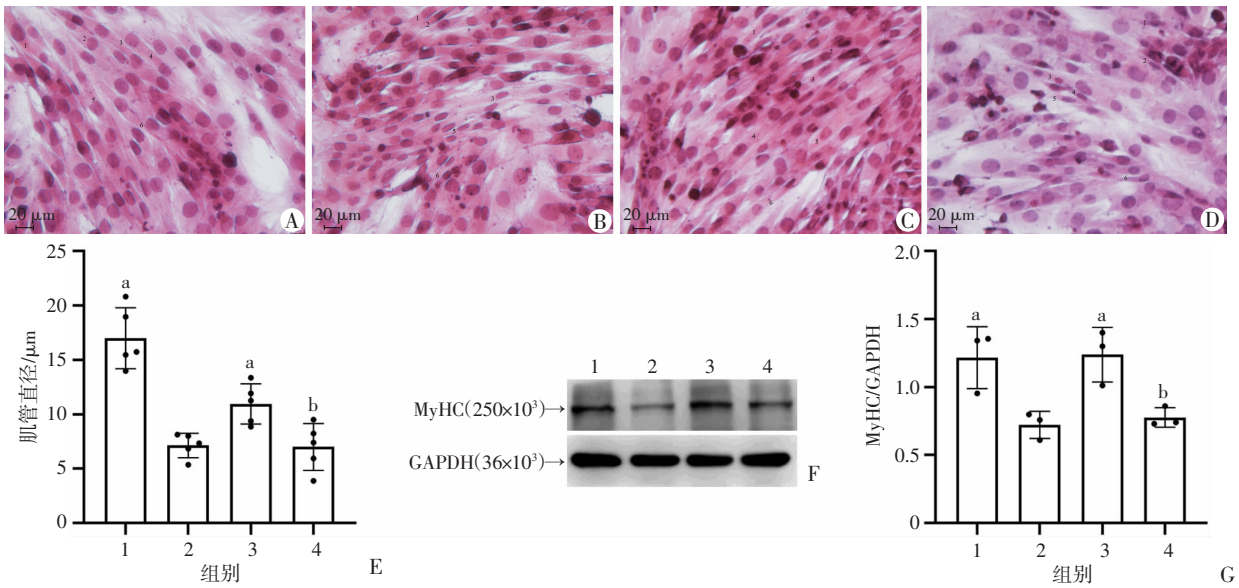
a:$P<0.05$,与模型组比较;b:$P<0.05$,与干预组比较

2.3 Eq 对 L6 细胞肌管发育的影响

与模型组比较,对照组、干预组肌管直径增加($P<0.05$),MyHC 蛋白表达上升($P<0.05$),而自噬抑制剂组肌管直径、MyHC 蛋白表达与模型组差异均无统计学意义($P>0.05$);与干预组比较,自噬抑制剂组肌管直径明显减小($P<0.05$),MyHC 蛋白表达明显降低($P<0.05$),见图 2。

2.4 雌马酚干预对 L6 细胞自噬的影响

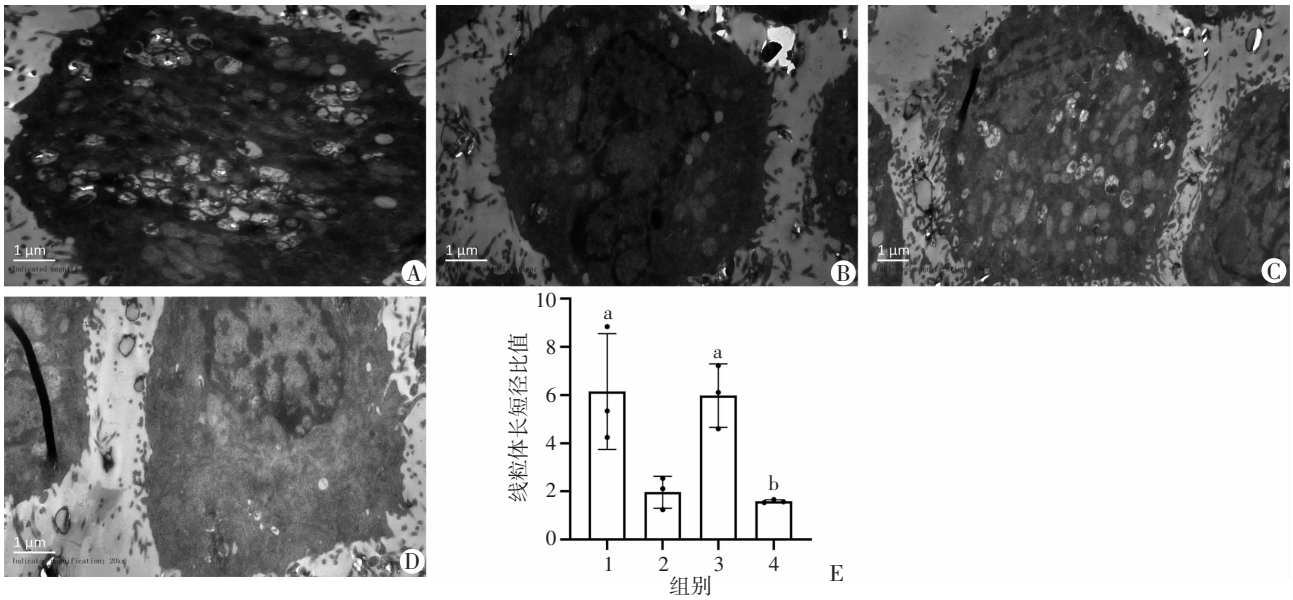
与对照组比较,模型组自噬小体数量较少,线粒体肿胀明显,线粒体形态偏圆,线粒体长短径比值明显降低($P<0.05$),与模型组比较,Eq 干预后细胞自噬小体增多,线粒体肿胀减轻、呈长杆状、结构较完整,线粒体长短径比值明显升高($P<0.05$);Eq 对细胞线粒体自噬的作用可被 3-MA 有效抑制,见图 3。



1:对照组;2:模型组;3:干预组;4:抑制剂组;a:$P<0.05$,与模型组比较;b:$P<0.05$,与干预组比较

A~D:分别为 HE 染色观察对照组、模型组、干预组和抑制剂组 L6 细胞肌管发育;E:各组细胞肌管直径对比;F:Western blot 检测结果;G:MyHC 半定量分析

图 2 各组细胞 HE 染色、细胞肌管直径及 MyHC 蛋白表达水平比较



A~D:分别为透射电镜观察对照组、模型组、干预组和抑制剂组细胞线粒体形态学变化;E:各组细胞线粒体长短对比 1:对照组;2:模型组;3:干预组;4:抑制剂组;a:$P<0.05$,与模型组比较;b:$P<0.05$,与干预组比较

图 3 各组细胞线粒体透射电镜结果及线粒体长短径比值变化

2.5 Eq 对 L6 细胞线粒体动力学的影响

干预 24 h 后,对照组细胞线粒体多为长杆状,线粒体相互融合长条状,而模型组细胞线粒体呈颗粒状,碎片化;经 Eq 干预后细胞杆状线粒体数量增多且相互融合,而颗粒状线粒体数量减少;Eq 对细胞线粒体动力学的效应可被 3-MA 有效抑制,见图 4。

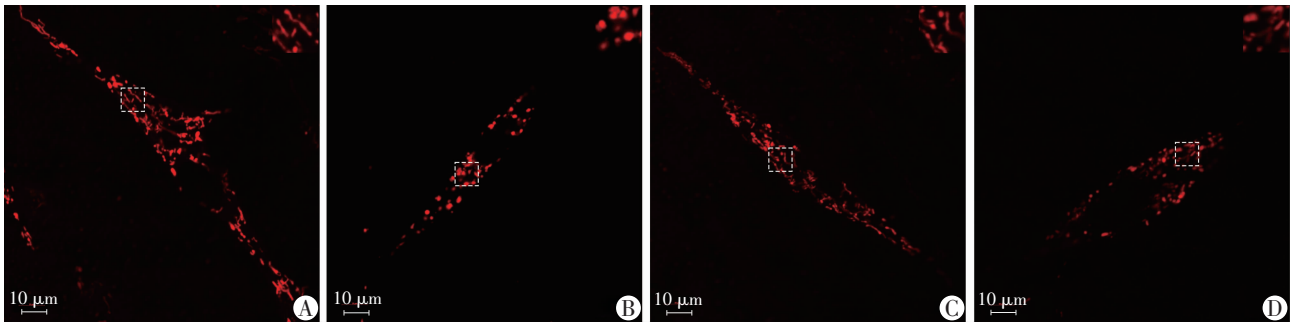
2.6 Eq 对 L6 细胞 MFN2、DRP1、LC3-Ⅰ、LC3-Ⅱ和 p62 蛋白表达的影响

与对照组比较,模型组细胞 MFN2 蛋白表达水平降低($P<0.05$),而 p62、DRP1 蛋白表达水平与 LC3-Ⅰ/LC3-Ⅱ比值升高($P<0.05$);与模型组比较,Eq 干预后细胞 MFN2 蛋白表达水平升高($P<0.05$),而 p62、DRP1 蛋白表达水平与 LC3-Ⅰ/LC3-Ⅱ比值降低($P<0.05$);Eq 对细胞目的蛋白表达的调控作用可被 3-MA 有效抑制,见图 5。

3 讨论

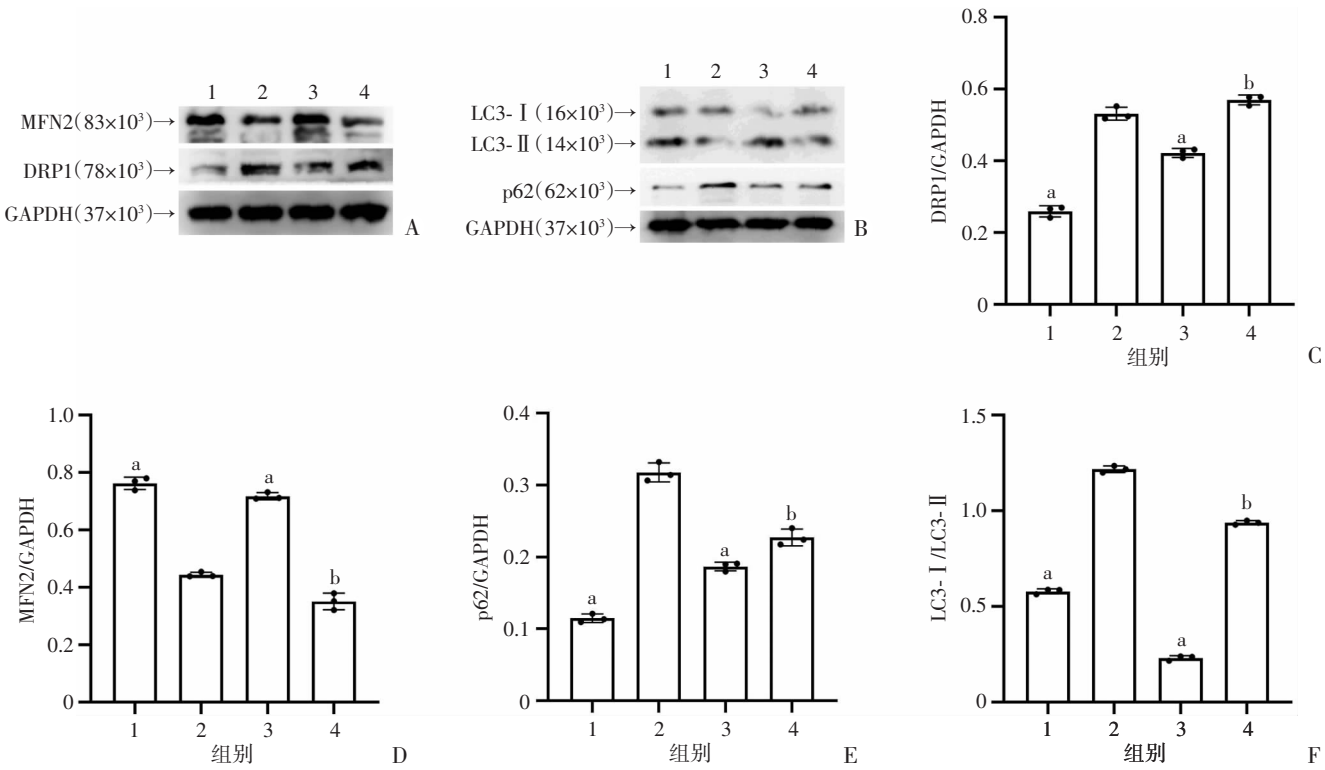
人口老龄化进程加速以及 T2DM 发病率的增加使老年人 T2DM 肌少症患病率呈逐年上升趋势,这种疾病的日益流行将会给广大老年患者带来巨大的医疗负担和较差的生活质量[1-3]。针对 T2DM 肌少症的防治研究对广大老年人具有重要现实意义。本研究通过 0.25 mmol/L PA 诱导 L6 细胞肌管萎缩,观察 Eq 的干预效应并进一步探讨其作用机制,为 T2DM 肌少症探索更好的治疗手段提供实验依据。

T2DM 肌少症的发病机制目前尚未阐明,部分研究指出高血糖是导致 2 型糖尿病肌少症的主要原因,同时也有研究显示高游离脂肪酸对 2 型糖尿病肌少症



A~D:分别为对照组、模型组、干预组和抑制剂组;右上角图像为方框区域放大 4 倍图像

图 4 各组细胞线粒体荧光探针染色结果



1:对照组;2:模型组;3:干预组;4:抑制剂组;a:$P<0.05$,与模型组比较;b:$P<0.05$,与干预组比较

A、B:Western blot 检测分析;C~E:分别为 DRP1、MFN2、p62 半定量分析;F:LC3-Ⅰ/LC3-Ⅱ比值

图 5 各组细胞 DRP1、MFN2、LC3-Ⅰ、LC3-Ⅱ和 p62 蛋白表达水平比较

具有重要影响[16-17]。本研究发现,与单纯的高糖条件(对照组)相比,高糖高脂条件下(模型组)L6 细胞肌管直径明显减小、肌管萎缩明显,与 LEE 等[18]的研究结果一致;通过检测细胞葡萄糖消耗量和 MyHC 蛋白表达发现,模型组细胞葡萄糖利用能力较对照组下降,同时 MyHC 蛋白表达降低,其可能的原因是高糖高脂环境下 L6 细胞葡萄糖利用能力下降会限制 ATP 的生成,从而使细胞的合成代谢过程受到影响并引起 MyHC 合成降低,最终导致肌管萎缩,而 Eq 干预可有效逆转这一过程。

线粒体是细胞的能量工厂,线粒体损伤将导致能量的合成效率下降,从而对细胞产生不良影响,在细胞代谢紊乱时,线粒体可通过动力学上的变化来适应能量的改变。MFN2 和 DRP1 是反映线粒体动力学的关键指标,二者水平的动态改变使线粒体发生融合和裂变的变化,是维持线粒体稳态的关键环节[19]。正常情况下,线粒体相互融合呈长杆状,有利于提高能量的产生效率;而线粒体裂变在一定程度内增加有利于受损线粒体被及时清除,如果受损的线粒体不能及时清除,裂变的线粒体会释放过量活性氧,最终会导致细胞凋亡。本研究发现,与对照组相比,模型组细胞线粒体融合降低、裂变增加,同时 MFN2 蛋白表达水平降低,而 DRP1 蛋白表达水平升高;经 Eq 干预后细胞线粒体融合增加、裂变减少,同时 MFN2 蛋白表达水平升高,而 DRP1 蛋白表达水平降低。

目前细胞已进化出线粒体质量控制的多种机制用于维持线粒体稳态,自噬是其中最关键的途径[20]。自噬是细胞选择性清除线粒体等受损细胞器的机制,通过及时清除受损的线粒体可避免受损线粒体进一步释放活性氧造成细胞的再次损伤,有利于维持线粒体稳态[21]。线粒体自噬受多种信号通路调节,其中由 PINK1/帕金森蛋白介导的线粒体自噬是其中的经典途径。PINK1 是一种 E3 泛素连接酶,在线粒体受损早期,线粒体膜电位下降,PINK1 在受损线粒体表面积累,招募帕金森蛋白和 p62,促进 LC3Ⅰ向 LC3Ⅱ转化增加,促进自噬体形成,使功能失调的线粒体降解,避免了细胞的凋亡[22-23]。本研究发现,与对照组相比,模型组细胞自噬下降,同时 p62 蛋白表达水平和 LC3-Ⅰ/LC3-Ⅱ比值升高;经 Eq 干预后细胞自噬增强,同时 p62 蛋白表达水平和 LC3-Ⅰ/LC3-Ⅱ比值降低。

为明确 Eq 对 L6 细胞肌管萎缩的干预效应是否与自噬有关,本研究利用自噬抑制剂 3-MA 干预后发现,与 Eq 干预组相比,抑制剂组细胞自噬下降,线粒体融合降低、裂变增加,MFN2 蛋白表达水平降低,而 p62、DRP1 蛋白表达水平和 LC3-Ⅰ/LC3-Ⅱ比值升高;同时细胞葡萄糖利用能力下降,MyHC 蛋白表达降低,肌管直径减小、肌管萎缩明显。以上结果说明 Eq 通过促进线粒体自噬调节了线粒体动力学变化,从而改善线粒体功能,并进一步改善 PA 诱导的 L6 细胞萎缩。

雌激素受体在肌肉能量代谢、收缩功能、骨骼肌生长和线粒体生物发生上起重要作用,骨骼肌上雌激素受体表达丰富的 ERα 和 ERβ 受体,通过激活骨骼肌 ERβ 可有效调节线粒体功能进而改善糖脂代谢和骨骼肌功能[24-27]。Eq 主要通过与雌激素受体结合发挥生物学效应[28],因此 Eq 调控自噬、改善肌管萎缩的效应可能与雌激素受体有关,需要在以后的研究中进一步证实。

综上所述,Eq 可有效改善 PA 诱导的 L6 细胞肌管萎缩,其部分机制可能与 Eq 通过自噬减轻线粒体裂变、维持线粒体稳态、增加细胞葡萄糖利用能力有关,但其具体的作用机制仍需要进一步深入研究。同时,本研究结论是基于体外实验结果,其在动物包括人体中的具体效应仍有待证实。Eq 作为一种副作用小的天然化合物,在未来有可能成为治疗 T2DM 肌少症的理想植物化合物。

参考文献:

[1] FU J L, SUN L N, MU Z J, *et al*. Free fatty acids are associated with muscle dysfunction in Chinese adults with type 2 diabetes[J]. Endocrine, 2022, 77(1): 41-47. DOI: 10.1007/s12020-022-03053-4.

[2] IZZO A, MASSIMINO E, RICCARDI G, *et al*. A narrative review on sarcopenia in type 2 diabetes mellitus: prevalence and associated factors[J]. Nutrients, 2021, 13(1): 183. DOI: 10.3390/nu13010183.

[3] ANAGNOSTIS P, GKEKAS N K, ACHILLA C, *et al*. Type 2 diabetes mellitus is associated with increased risk of sarcopenia: a systematic review and meta-analysis[J]. Calcif Tissue Int, 2020, 107(5): 453-463. DOI: 10.1007/s00223-020-00742-y.

[4] AL SAEDI A, DEBRUIN D A, HAYES A, *et al*. Lipid metabolism in sarcopenia[J]. Bone, 2022, 164: 116539. DOI: 10.1016/j.bone.2022.116539.

[5] BELLANTI F, BUGLIO A L, VENDEMIALE G. Mitochondrial impairment in sarcopenia[J]. Biology, 2021, 10(1): 31. DOI: 10.3390/biology10010031.

[6] CRUZ-JENTOFT A J, SAYER A A. Sarcopenia[J]. Lancet, 2019, 393(10191): 2636-2646. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)31138-9.

[7] HESSELINK M K C, SCHRAUWEN-HINDERLING V, SCHRAUWEN P. Skeletal muscle mitochondria as a target to prevent or treat type 2 diabetes mellitus[J]. Nat Rev Endocrinol, 2016, 12(11): 633-645. DOI: 10.1038/nrendo.2016.104.

[8] NG M Y W, WAI T, SIMONSEN A. Quality control of the mitochondrion[J]. Dev Cell, 2021, 56(7): 881-905. DOI: 10.1016/j.devcel.2021.02.009.

[9] BERGMAN R N, ADER M. Free fatty acids and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus[J]. Trends Endocrinol Metab, 2000, 11(9): 351-356. DOI: 10.1016/S1043-2760(00)00323-4.

[10] TORRES M J, RYAN T E, LIN C T, *et al*. Impact of 17β-estradiol on complex I kinetics and H_2O_2 production in liver and skeletal muscle mitochondria[J]. J Biol Chem, 2018, 293(43): 16889-16898. DOI: 10.1074/jbc.RA118.005148.

[11] SEKO D, FUJITA R, KITAJIMA Y, *et al*. Estrogen receptor β controls muscle growth and regeneration in young female mice[J]. Stem Cell Rep, 2020, 15(3): 577-586. DOI: 10.1016/j.stemcr.2020.07.017.

[12] JACKSON R L, GREIWE J S, SCHWEN R J. Emerging evidence of the health benefits of S-equol, an estrogen receptor β agonist[J]. Nutr Rev, 2011, 69(8): 432-448. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2011.00400.x.

[13] SETCHELL K D R, CLERICI C, LEPHART E D, *et al*. S-equol, a potent ligand for estrogen receptor beta, is the exclusive enantiomeric form of the soy isoflavone metabolite produced by human intestinal bacterial flora[J]. Am J Clin Nutr, 2005, 81(5): 1072-1079. DOI: 10.1093/ajcn/81.5.1072.

[14] YOSHINO M, NAKA A, SAKAMOTO Y, *et al*. Dietary isoflavone daidzein promotes Tfam expression that increases mitochondrial biogenesis in C2C12 muscle cells[J]. J Nutr Biochem, 2015, 26(11): 1193-1199. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2015.05.010.

[15] 杨宁宁, 王佑民, 陈冬, 等. 棕榈酸致大鼠 L6 肌细胞胰岛素抵抗与 JNK1 活化的关系[J]. 安徽医科大学学报, 2012, 47(3): 241-244. DOI: 10.3969/j.issn.1000-

1492.2012.03.003.
YANG N N, WANG Y M, CHEN D, *et al*. Association of JNK1 activation with palmitic acid-induced insulin resistance in L6 rat muscle cells[J]. Acta Univ Med Anhui, 2012, 47(3): 241-244. DOI: 10.3969/j.issn.1000-1492.2012.03.003.

[16] IZZO A, MASSIMINO E, RICCARDI G, *et al*. A narrative review on sarcopenia in type 2 diabetes mellitus: prevalence and associated factors[J]. Nutrients, 2021, 13(1): 183. DOI: 10.3390/nu13010183.

[17] DE FREITAS M M, DE OLIVEIRA V L P, GRASSI T, *et al*. Difference in sarcopenia prevalence and associated factors according to 2010 and 2018 European consensus (EWGSOP) in elderly patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Exp Gerontol, 2020, 132: 110835. DOI: 10.1016/j.exger.2020.110835.

[18] LEE H, LIM J Y, CHOI S J. Oleate prevents palmitate-induced atrophy *via* modulation of mitochondrial ROS production in skeletal myotubes[J]. Oxidative Med Cell Longev, 2017, 2017: 1-11. DOI: 10.1155/2017/2739721.

[19] FEALY C E, GREVENDONK L, HOEKS J, *et al*. Skeletal muscle mitochondrial network dynamics in metabolic disorders and aging[J]. Trends Mol Med, 2021, 27(11): 1033-1044. DOI: 10.1016/j.molmed.2021.07.013.

[20] YU L, CHEN Y, TOOZE S A. Autophagy pathway: cellular and molecular mechanisms[J]. Autophagy, 2018, 14(2): 207-215. DOI: 10.1080/15548627.2017.1378838.

[21] TANIDA I. Autophagosome formation and molecular mechanism of autophagy[J]. Antioxid Redox Signal, 2011, 14(11): 2201-2214. DOI: 10.1089/ars.2010.3482.

[22] TERE̊AK P, LAPAO A N, SUBIC N, *et al*. Regulation of PRKN-independent mitophagy[J]. Autophagy, 2022, 18(1): 24-39. DOI: 10.1080/15548627.2021.1888244.

[23] PICKLES S, VIGIÉ P, YOULE R J. Mitophagy and quality control mechanisms in mitochondrial maintenance[J]. Curr Biol, 2018, 28(4): R170-R185. DOI: 10.1016/j.cub.2018.01.004.

[24] KLINGE C M. Estrogenic control of mitochondrial function[J]. Redox Biol, 2020, 31: 101435. DOI: 10.1016/j.redox.2020.101435.

[25] IKEDA K, HORIE-INOUE K, INOUE S. Functions of estrogen and estrogen receptor signaling on skeletal muscle[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2019, 191: 105375. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2019.105375.

[26] KLINGE C M. Estrogenic control of mitochondrial function and biogenesis[J]. J Cell Biochem, 2008, 105(6): 1342-1351. DOI: 10.1002/jcb.21936.

[27] RIBAS V, DREW B G, ZHOU Z Q, *et al*. Skeletal muscle action of estrogen receptor α is critical for the maintenance of mitochondrial function and metabolic homeostasis in females[J]. Sci Transl Med, 2016, 8(334): 334ra54. DOI: 10.1126/scitranslmed.aad3815.

[28] MAYO B, VÁZQUEZ L, FLÓREZ A B. Equol: a bacterial metabolite from the daidzein isoflavone and its presumed beneficial health effects[J]. Nutrients, 2019, 11(9): 2231. DOI: 10.3390/nu11092231.

(收稿:2023-04-13;修回:2023-05-20)
(编辑 汪勤俭)