doi:10.11659/jjssx.09E018001

·基础研究·

低氧高糖条件下家兔骨骼肌Ⅰ型纤维向Ⅱ型纤维转化的作用

刘 建,刘 杰,丁九阳,朱光琼,焦金源,张星星,陈 颖,宋亚琼,周播江 (遵义医学院人体解剖学教研室,贵州 遵义 563006)

[摘 要] **目的** 通过在体外对家兔骨骼肌两型肌纤维细胞进行不同培养方法的摸索和对其标志蛋白MHC同功型变化的检测,探索两型肌纤维细胞间的转化条件。**方法** 运用改良的肌球蛋白ATP酶组织化学染色法对家兔骨骼肌的肌纤维类型进行染色并观察;应用RT-PCR方法检测在不同培养条件下家兔骨骼肌MHC亚型mRNA的表达情况。**结果** 肌组织消化组:固有半膜肌表达MHCⅠ型及少量的MHCⅡ型,副半膜肌表达MHCⅡa和Ⅱb型。细胞培养组:常氧高糖组固有半膜肌表达MHCⅡa和Ⅱb,不表达MHCⅠ型;副半膜肌表达MHCⅡa和Ⅱb,不表达MHCⅠ型;低氧高糖组固有半膜肌表达MHCⅡa和Ⅱb,不表达MHCⅠ型;副半膜肌表达MHCⅡb,不表达MHCⅠ型。**结论** 含15% FBS的常氧高糖培养基适宜骨骼肌细胞生长,并且在低氧高糖条件下,骨骼肌Ⅰ型纤维有向Ⅱ型纤维转化的趋势。

[关键词] 肌纤维;肌球蛋白重链;细胞培养;逆转录多聚酶链式反应;骨骼肌
[中图分类号] R392.5 [文献标识码] A [收稿日期] 2018-09-01

Effect of low oxygen and high glucose on skeletal muscle Ⅰ type fiber transformed into Ⅱ fiber in rabbit

LIU Jian, LIU Jie, DING Jiu-yang, ZHU Guang-qiong, JIAO Jin-yuan, ZHANG Xing-xing, CHEN Ying, SONG Ya-qiong, ZHOU Bo-jiang (Department of Human Anatomy, Zunyi Medical College, Zunyi Guizhou 563006, China)

Abstract: Objective To explore suitable culture condition for type Ⅰ and type Ⅱ muscle fiber cells by rabbit, the change of marker protein MHC isoforms of skeletal muscle fiber type was detected, and the transformation conditions between the two types of muscle fiber cells were preliminarily explored. **Methods** The modified myosin ATP enzyme histochemical staining method was used to stain and observe the muscle fiber types of inherent semimembranosus and sub-semimembranosus muscles in rabbits, and the expression of the MHC isoforms mRNA of the inherent semimembranosus and sub-semimembranosus muscles under different culture conditions was detected by RT-PCR. **Results** Non-cultured inherent semimembranosus cells expressed MHC Ⅰ and a small amount of MHC Ⅱ, non-cultured sub-semimembranosus cells expressed MHC Ⅱa and MHC Ⅱb. Inherent semimembranosus cell with high glucose culture group expressed MHC Ⅱa and MHC Ⅱb, not MHC Ⅰ, and sub-semimembranosus expressed MHC Ⅱa and MHC Ⅱb, not MHC Ⅰ. Under condition of hypoxia and high glucose, inherent semimembranosus expressed MHC Ⅱa and MHC Ⅱb, not MHC Ⅰ, sub-semimembranosus expressed MHC Ⅱb, not MHC Ⅰ. **Conclusion** The normoxia and high glucose DMEM containing 15% fetal calf serum is suitable for the growth of skeletal muscle cells, which can promote the transformation of type Ⅰ fiber of skeletal muscle into type Ⅱ fiber in the condition of hypoxia and high glucose.

Keywords: muscle fibers; myosin heavy chain; cell culture; RT-PCR; skeletal muscle

骨骼肌是由大量异质性纤维组成的组织,每种纤维都是由成肌细胞分化和纤维细胞融合而形成的多核合胞体[1]。骨骼肌的功能是通过收缩来完成人体运动时所需要的动力[2]。根据肌球蛋白重链同功型,将其分为快慢两种类型[3],为了在肌肉的生长发育过程中执行不同的功能需求,这些纤维类型已经进化出不同的生物物理学特性。目前,国内外对骨骼肌纤维类型的转换有很多研究,也发现了很多信号通路。Leeuw等[4]认为肌纤维中有一些特殊的基因可以改变其表达方式来应对肌纤维类型的转换;Azad等[5]的研究发现,外界环境改变、运动和神经刺激等都会引发肌纤维中MHC异构体的改变,说明骨骼肌纤维类型之间是可以相互转换的。但目前未见骨骼肌纤维转换机制和条件的相关报道。目前发现家兔半膜肌的各亚部是由单一纤维类型所构成,为研究转换提供了有利条件,但对肌纤维细胞类型转换的最适培养条件未见报道,骨骼肌纤维能通过功能需要的变化而产生适应改变,慢肌纤维能否在体外转换为快肌纤维,也有待进一步研究。因此,本实验拟在体外对骨骼肌两型肌纤维细胞转换的不同培养条件进行初步摸索,为后续实验做铺垫,以期在骨骼肌疾病的防治中发挥一定作用。

[基金项目] 遵义医学院博士启动基金(F-132)
[通信作者] 周播江,E-mail:lj13698345814@126.com

1 材料与方法

1.1 材料

家兔20只,体质量1.5~2 kg,购于遵义医学院动物中心。二甲胂酸钠(阿姆雷斯科公司),胎牛血清、DMEM高糖培养基和PCR扩增引物(上海生工),逆转录试剂(赛默飞公司)。

1.2 取材

耳缘静脉注射麻醉(戊巴比妥钠30 mg/kg),取家兔四肢固有半膜肌和副半膜肌,剔除筋膜和脂肪等组织,剪成约5 mm小块,备用。

1.3 改良肌球蛋白ATP酶染色法

将肌组织迅速放入液氮中,冰冻切片机连续切片(片厚10 μm),置于4%多聚甲醛中固定,后依次行漂洗、染色、脱水、透明、封片,光镜下观察肌纤维的类型并拍照。

1.4 实验分组

体外获取家兔半膜肌,将实验分成固有半膜肌(Ⅰ型)和副半膜肌(Ⅱ型)组织组,Ⅰ和Ⅱ型肌消化细胞组,Ⅰ和Ⅱ型肌细胞常氧高糖细胞组,Ⅰ和Ⅱ型肌细胞低氧(3% O_2)高糖细胞组。

1.5 骨骼肌细胞体外培养

家兔行耳缘静脉注射麻醉,无菌状态下取出固有半膜肌和副半膜肌,分别放入无酶EP管中,剔除脂肪组织等结构,PBS磷酸盐冲洗3次,剪成0.2 cm^3 组织块并加入0.25%胰酶,恒温水浴箱中消化40 min,血清终止消化,过滤,离心,弃上清液,用DMEM培养基(含15% FBS)1 mL重悬细胞,分别移入培养瓶中,并加入DMEM培养基(含15% FBS)4 mL。常氧高糖细胞组:将获得的Ⅰ型和Ⅱ型细胞悬液分别接种至培养瓶,在37 ℃、5% CO_2 孵箱中培养,3 d换液,分别在第1、3、7天观察细胞生长状态并提取RNA。低氧高糖细胞组:将用上述方法获取的骨骼肌细胞先在37 ℃、5% CO_2 孵箱中培养24 h后转移入氧气浓度为3%的孵箱中,每天在低氧箱中培养2 h,其余时间在常氧箱中培养。

1.6 RT-PCR检测

抽提各组的RNA,并进行浓度和纯度的测定。用逆转录和PCR扩增试剂盒进行后续实验。反应条件为:预变性95 ℃、3 min;变性95 ℃、30 s;退火55 ℃、30 s;延伸72 ℃、60 s,34个循环;保温72 ℃、5 min;4 ℃保存,电泳,凝胶成像系统观察并摄像。

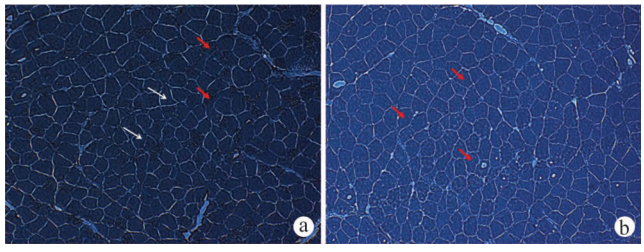
1.7 统计学处理

用Quantity one软件测量电泳图灰度值,计算各基因含量与内参的比值,用SPSS 17.0软件录入,组间作t检验,多组间作单因素方差分析。

2 结果

2.1 染色结果

改良肌球蛋白ATP酶化学染色结果显示:在切片上见肌纤维呈多边形或不规则形,相邻肌纤维间界限清晰,排列紧凑。固有半膜肌肌纤维染色不均匀,可见浅染区(呈浅蓝色)和深染区(呈深蓝色);副半膜肌肌纤维染色相对均匀,为深染区(呈深蓝色),见图1。大体观察见固有半膜肌为红肌,主要含慢肌纤维,从切片见其主要含Ⅰ型肌纤维,Ⅱ型肌纤维则相对较少;而副半膜肌为白肌,主要含快肌纤维,从切片见其主要含Ⅱ型肌纤维。

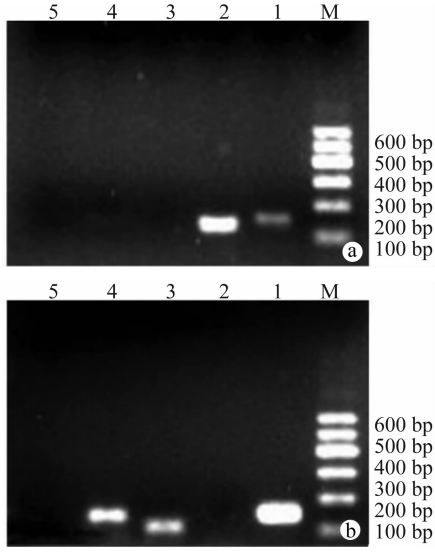


a:固有半膜肌;b:副半膜肌 白箭头:浅染区;红箭头:深染区

图1 改良肌球蛋白ATP酶染色(×200)

2.2 骨骼肌组织RT-PCR检测结果

固有半膜肌表达MHCⅠ型,副半膜肌表达MHCⅡa和Ⅱb型(图2)。



a:固有半膜肌组织MHC mRNA的表达;b:副半膜肌组织MHC mRNA的表达 M:marker;1:GAPDH;2:MHCⅠ;3:MHCⅡa;4:MHCⅡb;5:MHCⅡx

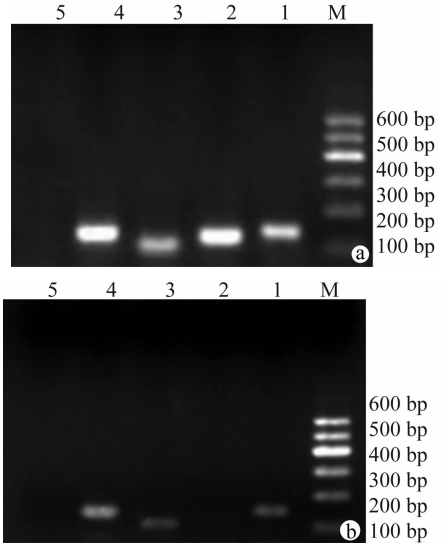
图2 骨骼肌组织RT-PCR检测结果

2.3 消化后未经培养的细胞 RT-PCR 检测结果

固有半膜肌表达 MHC Ⅰ、MHC Ⅱa 和Ⅱb 型,副半膜肌表达 MHC Ⅱa 和 Ⅱb 型(图 3)。

2.4 培养细胞 RT-PCR 检测结果

在常氧高糖培养组(1、3、7 d)固有半膜肌表达 MHC Ⅱa 和Ⅱb,不表达 MHC Ⅰ型;副半膜肌表达 MHC Ⅱa 和Ⅱb,不表达 MHC Ⅰ型。在低氧高糖培养组 3 d,固有半膜肌表达 MHC Ⅱa 和Ⅱb,不表达 MHC Ⅰ型;副半膜肌表达 MHC Ⅱb,不表达 MHC Ⅰ型(图 4)。测量肌组织组、常氧高糖细胞组与低氧高糖细胞组第 3 天的灰度值,Ⅰ型肌纤维细胞在常氧高糖及低氧高糖的条件下,MHC Ⅰ型基因表达与Ⅰ型肌纤维组织的 MHC Ⅰ型基因表达经单因素方差分析差异有统计学意义($P<0.05$),而 MHC Ⅱa、Ⅱb 和Ⅱx 型基因表达差异无统计学意义($P>0.05$)。Ⅱ型肌纤维细胞在常氧高糖及低氧高糖条件下,MHC Ⅰ、MHC Ⅱa、Ⅱb 和Ⅱx 型基因表达与Ⅱ型肌纤维组织的基因表达相同,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

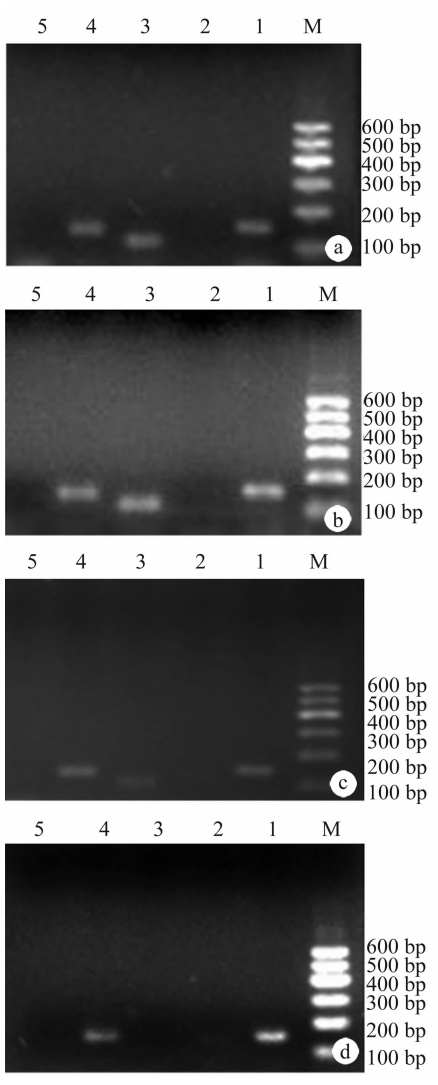


a:固有半膜肌消化后组织 MHC mRNA 的表达;b:副半膜肌组织消化后 MHC mRNA 的表达 M:marker;1:GAPDH;2:MHC Ⅰ;3:MHC Ⅱa;4:MHC Ⅱb;5:MHC Ⅱx

图 3 消化后未经培养的细胞 RT-PCR 检测结果

表 1 骨骼肌Ⅰ、Ⅱ型及其亚型在组织、细胞常氧高糖和低氧高糖培养第 3 天基因 mRNA 的表达情况($\bar{x}\pm s$,cm)

组别	MHC Ⅰ	MHC Ⅱa	MHC Ⅱb	MHC Ⅱx
组织组	1.15±0.38	0.57±0.20	0.56±0.27	0.44±0.30
常氧高糖组	0.52±0.09	0.78±0.22	1.03±0.32	0.51±0.12
低氧高糖组	0.60±0.21	0.89±0.21	1.01±0.18	0.68±0.25



a:固有半膜肌常氧高糖培养第 3 天 MHC mRNA 的表达;b:副半膜肌常氧高糖培养第 3 天 MHC mRNA 的表达;c:固有半膜肌低氧高糖培养第 3 天 MHC mRNA 的表达;d:副半膜肌低氧高糖培养第 3 天 MHC mRNA 的表达 M:marker;1:GAPDH;2:MHC Ⅰ;3:MHC Ⅱa;4:MHC Ⅱb;5:MHC Ⅱx

图 4 培养细胞 RT-PCR 检测结果

3 讨论

3.1 骨骼肌两型肌纤维细胞体外培养的探索

骨骼肌细胞的分离、培养已见诸多文献报道,但未见骨骼肌两型肌纤维细胞单独在体外培养最适条件的报道,因此本实验对体外培养最适条件进行初步摸索。目前骨骼肌细胞培养常用含 10% FBS 的高糖培养基,有报道通过对骨骼肌细胞不同培养条件的研究,发现含 2% FBS 的高糖培养基利于肌母细胞分化,能促进肌管形成,而含 10% FBS 则不能使肌细胞分化。实验中使用高糖培养基,目的是满足骨骼肌细胞在体外培养中有足够的能量来源。朱道立等[6]采用 10% ~

20%胎牛血清对小鼠快、慢肌细胞进行培养,发现骨骼肌细胞生长和增殖情况良好;而用小于5%胎牛血清则促进细胞分化。本研究中我们发现,用高糖培养基加入15%胎牛血清和谷氨酰胺进行培养,细胞长势良好且能满足实验需要。由此,我们以高糖加15%胎牛血清的培养基为基础,进一步研究常氧和低氧对骨骼肌细胞培养的影响。有文献报道消化方法的不同获得骨骼肌细胞的数量及活力亦不同[7-10]。骨骼肌细胞的消化是以0.25%的胰蛋白酶或联用胶原酶进行消化,多用来消化肌细胞中的胶原纤维,故本实验未联合使用[7]。经多次消化摸索,确定30~40 min消化效果最佳,这样能减少对骨骼肌细胞的损伤和降低细胞污染及缩短实验过程[8]。

3.2 MHC在两型骨骼肌细胞培养过程中的变化

对家兔半膜肌在组织和消化组的MHC检测发现:固有半膜肌表达MHC Ⅰ型和少量表达MHC Ⅱa和MHC Ⅱb型,副半膜肌表达MHC Ⅱa和MHC Ⅱb型,不表达MHC Ⅰ型。而在常氧高糖细胞组和低氧高糖细胞组固有半膜肌表达MHC Ⅱa和MHC Ⅱb型,不表达MHC Ⅰ型;副半膜肌在常氧高糖细胞组表达MHC Ⅱa和MHC Ⅱb型,在低氧高糖细胞组表达MHC Ⅱb型,均不表达MHC Ⅰ型。这和文献的研究结果基本一致[11-14],说明固有半膜肌主要为Ⅰ型纤维,副半膜肌主要为Ⅱ型纤维。但在细胞组中的检测则出现明显变化,均表达MHC Ⅰ型及表达MHC Ⅱa和MHC Ⅱb型。我们认为这可能是Ⅰ型肌纤维细胞离体后逐渐从由氧化为主转变为以无氧糖酵解为主的能量代谢,其肌纤维出现了相应的适应性改变,从而Ⅱ型肌纤维的标志蛋白出现表达,说明骨骼肌细胞离体后其纤维类型就开始从Ⅰ型肌纤维细胞逐渐向Ⅱ型转变。黄金秀等[15]在体外对猪骨骼肌卫星细胞培养发现相似的变化,即氧化型肌纤维相比酵解型肌纤维明显降低,其原因可能是在体外培养中代谢方式是以无氧酵解为主,这与我们实验的结果一致。研究发现细胞离体后,在失去机体内环境、神经体液的调节和细胞间的相互作用下,缺乏相对稳定的动态平衡,则会发生分化现象逐渐减弱,形态功能朝单一方向发展,或死亡、转化后获得永恒性变成无限增殖的连续性细胞系[16]。体外培养的细胞从离体后就发生了差异性变化[17]。

3.3 低氧条件在两型骨骼肌纤维转换间的作用

骨骼肌纤维类型的转变与骨骼肌能量代谢方式的不同有很大关系。本课题前期已经通过基因芯片技术对骨骼肌两型肌纤维的差异基因的表达情况进行了检测,结果表明缺氧诱导因子(HIF-1α)在家兔半膜肌中呈高表达状态,而在副半膜肌中呈低表达状态,和两型肌纤维的能量代谢特点一致[18]。HIF-1是由调节性α亚基和组成性β亚基组成的异源性蛋白二聚体,此两种亚基同属basic-helix-loop-helix基因序列和PAS家族蛋白。有研究表明,缺氧诱导因子与骨骼肌纤维类型的转换机制、生长发育及能量代谢密切相关[19]。在机体内直接或间接接受HIF-1调控的基因有数百种,可参与体内碳水化合物的代谢、血管的发生、pH的调节、铜代谢、核苷酸代谢、氨基酸及铁的代谢等多个方面[20-23]。缺氧可以通过HIF-1α调控机制引起机体生物学的改变,这是调控中的关键性转录因子[24]。Slot等[25]在研究小鼠比目鱼肌时发现,8%的低氧环境有利于肌纤维类型的转换。低氧条件下,骨骼肌收缩蛋白可以不断改变肌纤维的成分,这些成分的改变与肌内HIF-1密切相关。Holloway等[26]发现不同强度的训练可以改变骨骼肌的纤维类型同时伴有缺氧诱导因子蛋白表达量的变化。Acevedo等[27]切除大鼠肾5/6,于12周后观察见骨骼肌出现急性缺血缺氧变化,比目鱼肌出现轻度的快慢肌纤维的转变,伴有HIF-1基因的表达增加。Chaillou等[28]发现骨骼肌在再生过程中处于相对缺氧的状态,以HIF-1基因依赖的方式改变骨骼肌氧化能力,从而延迟骨骼肌再生修复的时间,但不影响快慢肌肌球蛋白重链表型的转换。Lefaucheur等[29]发现骨骼肌两型肌纤维细胞的转化遵循以下规律:Ⅰ↔Ⅱa↔Ⅱx↔Ⅱb,随着外界条件的改变使肌纤维类型向左或向右转化。本研究中,我们通过对家兔骨骼肌两型纤维细胞进行了低氧(3% O_2)培养,并在第3天进行RT-PCR的检测,结果表明骨骼肌两型纤维细胞均表达MHC Ⅱa和MHC Ⅱb型,不表达MHC Ⅰ型,与组织相比MHC Ⅰ明显减少。结果表明骨骼肌细胞在离体后其能量利用方式发生了改变,造成其纤维类型也发生了相应的变化,Ⅰ型纤维细胞在低氧条件下均出现向Ⅱ型纤维细胞转化的趋势,且有促进Ⅱ型纤维细胞的亚型向收缩速度更快的Ⅱb型纤维细胞转化的趋势。

综上所述,我们认为低氧条件有利于Ⅰ型纤维细胞向Ⅱ型纤维细胞转换。本实验中我们的培养条件主要是促进肌纤维类型由左向右转化,即Ⅰ型纤维细胞依次向各Ⅱ型纤维细胞的亚型转化。

[参考文献]

[1] Zhang L,Zhou Y,Wu W,et al. Skeletal Muscle-specific overexpression of PGC-1α induces fiber-type conversion through enhanced mitochondrial respiration and fatty acid oxidation in mice and pigs[J]. Int J Biol Sci,2017,13(9):1152. doi: 10.7150/ijbs.20132.

[2] Hoppeler H. Molecular networks in skeletal muscle plasticity[J]. J Exp

Biol,2016,219(Pt 2):205. doi: 10.1242/jeb.128207.

[3] 廖八根,杨 明.运动致骨骼肌纤维类型转换的机制[J]. 中国老年学杂志,2010, 30(16):2382 - 2385. doi:10.3969/j.issn.1005 - 9202.2010.16.071.

[4] Leeuw T, Pette D. Coordinate changes of myosin light and heavy chain isoforms during forced fiber type transitions in rabbit muscle[J]. Developmental Genetics, 2015, 19(2):163 - 168.

[5] Azad M, Khaledi N, Hedayati M. Effect of acute and chronic eccentric exercise on FOXO1 mRNA expression as fiber type transition factor in rat skeletal muscles[J]. Gene,2016, 584(2):180 - 184. doi: 10.1016/j.gene.2016.02.033.

[6] 朱道立,陈佩林,王康乐,等.小鼠快慢肌卫星细胞的分离培养及β肌动蛋白的表达[J].上海交通大学学报(医学版),2011,31 (1):26 - 30. doi:10.3969/j.issn.1674 - 8115.2011.01.006.

[7] 薛庆善.体外培养的原理技术[M].北京:科学技术出版社,2001:989 - 1050.

[8] 侯士方,蒙 馨,湘泓冰,等.大鼠骨骼肌细胞的原代培养与鉴定[J].实验室研究与探索,2011,30(4):26 - 30. doi:10.3969/j.issn.1006 - 7167.2011.04.009.

[9] 魏宽海,裴国献,金 丹,等.体外培养的骨骼肌卫星细胞生长与分化特性的研究[J].中国创伤骨科杂志,2011,3(4):253 - 255. doi:10.3760/cma.j.issn.1671 - 7600.2001.04.004.

[10] 戴秀莉,魏 萍,任德强.猪骨骼肌细胞的体外培养初探[J]. 中国兽医杂志,2008,44(10):76 - 77. doi:10.3969/j.issn.0529 - 6005.2008.10.053.

[11] 陈 渊,钟天来,李寿田,等.家兔半膜肌各亚部肌球蛋白重链表达差异的实验研究[J].遵义学院学报,2011,34(5):448 - 452. doi:10.3969/j.issn.1000 - 2715.2011.05.001.

[12] 焦金源.两型骨骼肌纤维能量代谢调控基因的表达差异[D].遵义:遵义医学院,2013:23 - 26.

[13] 刘 杰.骨骼肌两型肌纤维体外培养条件的初探[D]. 遵义:遵义医学院,2014:16 - 20.

[14] 陈 颖.两型骨骼肌纤维在体外培养过程中的相互转换[D]. 遵义:遵义医学院, 2016:16 - 24.

[15] 黄金秀, 杨飞云, 刘作华,等. 共轭亚油酸对体外培养的猪骨骼肌肌纤维类型组成的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2010, 41(3):295 - 300.

[16] 宋文刚, 孙玉芹. 细胞培养技术[M].第1版.吉林大学出版社, 2011:8 - 15.

[17] 弗雷谢尼动物细胞培养:基本技术指南(第五版)[M].章静.译.北京:科学出版社,2008:57 - 61.

[18] 袁 源, 钟 竑. 缺氧诱导因子-1α结构及功能的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2010, 10(5):961 - 963. doi:10.13241/j.cnki.pmb.2010.05.021.

[19] Junchul S, Aki N, Yasuo K, et al. Prolyl hydroxylase domain 2 deficiency promotes skeletal muscle fiber-type transition via a calcineurin/NFATc1-dependentpathway[J]. Skeletal Muscle,2015,6(1):5. doi:10.1186/s13395 - 016 - 0079 - 5.

[20] Semenza GL. Hypoxia-inducible factors: mediators of cancer progression and targets for cancer therapy[J]. Trends Pharmacol Sci,2012, 33(4):207 - 214. doi: 10.1016/j.tips.2012.01.005.

[21] Jazwa A, Florczyk U, Grochot-Przeczek A, et al. Limb ischemia and vessel regeneration: is there a role for VEGF? [J]. Vasc Pharmacol, 2016, 86:18 - 30. doi: 10.1016/j.vph.2016.09.003.

[22] 张文菁, 王 韬, 肖 颖,等. 铜调控低氧诱导因子1转录活性的研究进展[J]. 生理科学进展, 2016, 47(2):119 - 123.

[23] Chepelev NL, Willmore WG. Regulation of iron pathways in response to hypoxia [J]. Free Radical Bio Med, 2011, 50(6):645 - 666. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.

[24] Karuppagounder SS, Ratan RR. Hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibition:robust new target or another big bust for stroke therapeutics[J]. J Cereb Blood Flow Metab,2012,32(7):1347 - 1361. doi:10.1038/jcbfm.2012.28.

[25] Slot IG, Schols AM, de Theije CC, et al. Alterations in skeletal muscle oxidative phenotype in mice exposed to 3 weeks of normobaric hypoxia [J]. J Cell Physiol, 2015, 231(2):377 - 392. doi: 10.1002/jcp.25083.

[26] Holloway TM, Bloemberg D, Da SM, et al. High-intensity interval and endurance training are associated with divergent skeletal muscle adaptations in a rodent model of hypertension[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol,2015,308(11):R927 - 934. doi: 10.1152/ajpregu.00048.2015.

[27] Acevedo LM, Peralta-Ramírez A, López I, et al. Slow- and fast-twitch hindlimb skeletal muscle phenotypes 12 wk after 5/6 nephrectomy in Wistar rats of both sexes[J]. Am J Physiol-Renal, 2015, 309(7):F638 - 647. doi: 10.1152/ajprenal.00195.

[28] Chaillou T, Koulmann N, Meunier A, et al. Effect of hypoxia exposure on the recovery of skeletal muscle phenotype during regeneration [J]. Mol Cell Biochem,2014, 390(1 - 2):31 - 40. doi: 10.1007/s11010 - 013 - 1952 - 8.

[29] Lefaucheur L, Milan D, Ecolan P, et al. Myosin heavy chain composition of different skeletal muscles in Large white and meishan pigs [J]. J Anim Sci, 2004, 82(7):1931 - 1941. doi:10.2527/2004.8271931x.

(编辑:刘 艺)