

外源性H₂O₂对小鼠骨骼肌细胞MG53膜修复作用的影响*吴迎¹ 石丽君¹ 伊木清^{2,3}

摘要

目的:研究不同浓度外源性H₂O₂干预对骨骼肌细胞MG53(Mitsugumin 53)膜修复作用的影响,探讨H₂O₂与MG53的关系。

方法:培养C2C12细胞,不同浓度外源性H₂O₂干预后检测MG53蛋白表达;培养MG53基因敲除(MG53 KO)小鼠原代骨骼肌细胞,转染绿色荧光蛋白(Green fluorescent protein, GFP)-MG53质粒后用不同浓度外源性H₂O₂干预,活细胞成像系统观察细胞膜损伤后MG53的修复过程,用荧光相对改变量 $\Delta F/F_0$ 表示MG53修复能力。

结果:①外源性H₂O₂能显著促进MG53蛋白表达升高;②高浓度的H₂O₂能显著增强MG53的膜修复作用。

结论:H₂O₂能促进MG53蛋白表达并增强其修复作用。

关键词 MG53;H₂O₂;细胞培养;小鼠;骨骼肌细胞;修复

中图分类号:R493,Q241 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-1242(2019)-06-0683-06

MG53是骨骼肌和心肌中特异性表达的胞浆蛋白,2009年首次发现MG53在骨骼肌细胞膜损伤中发挥了修复作用^[1]。随后,MG53在心脏^[2-3]、皮肤^[4]、肺^[5-6]、肾^[7]等组织器官损伤中的保护作用也陆续得到证实。本实验室前期研究发现^[8],MG53在延迟性肌肉酸痛期能明显减轻骨骼肌损伤。通过透射电镜及细胞膜功能检测发现,MG53敲除(MG53^{-/-})小鼠在离心运动后骨骼肌损伤表现为出现早、程度重、恢复慢的特点,这提示MG53在运动后肌纤维超微结构的损伤修复中发挥了重要作用,但其作用机制尚不清楚。

活性氧(reactive oxygen species, ROS)在延迟性肌肉酸痛期较为活跃,其中H₂O₂又是最具代表性的ROS,与其他ROS相比其稳定性更高,具有相对较长的半衰期和较长的跨膜扩散距离,被认为广泛参与了细胞内的信号转导。研究发现,H₂O₂在骨骼肌细胞内信号转导中扮演了重要角色^[9]。因此,本研究将利用活细胞成像技术在细胞水平研究H₂O₂与MG53的关系,观察外源性H₂O₂对MG53膜修复作用的影响,有助于进一步揭示MG53参与运动后损伤修复的启动及信号转导机制。

1 对象和方法

1.1 小鼠基因型鉴定

MG53(+/-)杂合基因型小鼠进行杂交,生育的小鼠中约有20%为MG53(-/-), (MG53基因敲除小鼠:KO),健康的

MG53 KO小鼠用于后续原代骨骼肌细胞培养。

基因鉴定步骤:①剪取小鼠左耳组织充分剪碎,加入蛋白酶K和Tail lysis buffer混匀后静置,使其充分裂解;②待充分裂解后加入NaCl, Vortex混匀。低温离心后提取上清液;③用无水乙醇与上清液充分震荡混匀,离心;④离心后吸除无水乙醇后用TE溶解(pH=8),进行PCR反应;⑤制胶、电泳、卸板、固定、染色和脱色。记录基因鉴定结果。

1.2 实验对象及分组

培养C2C12细胞,诱导分化后不同浓度外源性H₂O₂干预检测MG53蛋白表达;培养MG53 KO小鼠原代骨骼肌细胞,转染GFP-MG53质粒后不用同浓度外源性H₂O₂干预,活细胞成像系统观察细胞膜损伤后MG53的修复过程,用荧光相对改变量 $\Delta F/F_0$ 表示MG53修复能力。见表1。

1.3 诱导C2C12细胞分化培养

待C2C12细胞长至60%—70%时更换分化培养基(高糖DMEM、2%马血清、1%青霉素/链霉素)诱导其分化,隔天换

表1 实验分组

细胞	不同浓度外源性H ₂ O ₂ 孵育	实验方法
C2C12成肌细胞	C、10 μ M、20 μ M、100 μ M、500 μ M、1mM	Western blot
MG53 KO原代细胞	C、10 μ M、100 μ M、500 μ M	Live Cell Imaging

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2019.06.011

*基金项目:国家自然科学基金项目(31371205,31771312);中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2018RC002)

1 北京体育大学运动人体科学学院,北京市,100084; 2 国家体育总局运动医学研究所; 3 通讯作者

作者简介:吴迎,男,博士,讲师; 收稿日期:2018-12-19

液并记录其生长曲线,生长状态良好的细胞诱导分化后5—6天可见肌管细胞形成。

1.4 不同浓度外源性H₂O₂孵育细胞

H₂O₂用生长培养基溶解,配制成浓度为1mol/L的原液(现配现用)。不同浓度H₂O₂孵育时间均为1h,对照组为等体积的生长培养液。C2C12细胞在外源性H₂O₂干预后匀浆处理,Western blot检测MG53表达。转染GFP-MG53质粒的MG53 KO小鼠原代骨骼肌细胞在外源性H₂O₂干预后,活细胞成像系统观察细胞膜损伤后MG53的修复。

1.5 Western blot检测细胞MG53蛋白水平

将处理好的样品加入到预制胶中,每孔均含有蛋白5μg,用NuPAGE Novex 10% Bis-Tris凝胶电泳分离蛋白,200V恒压电泳50min。电泳结束后采用湿转法转至PVDF膜上,5%BSA封闭1.5h,一抗4℃孵育过夜,二抗孵育1h,加入ECL发光液曝光显像,采用Quantity One软件分析条带。

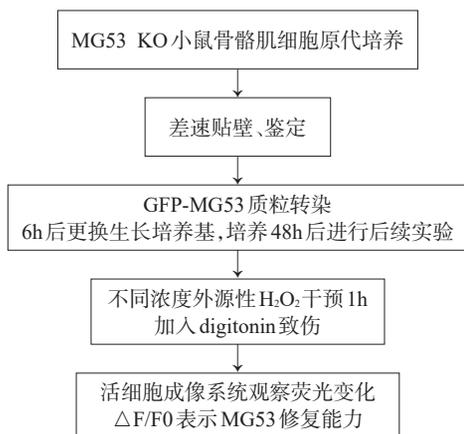
1.6 MG53 KO小鼠骨骼肌细胞原代培养、鉴定及转染

分离新生MG53 KO乳鼠(出生3—5天)骨骼肌,经差速贴壁培养后可得到大量骨骼肌卫星细胞。小鼠骨骼肌细胞原代培养方案参照Dorfman^[10]的方法并稍作改进,原代骨骼肌细胞用Desmin免疫细胞化学染色进行鉴定。原代细胞长至密度为70%—90%时用Lipofectamine 2000进行GFP-MG53质粒转染,转染后培养6h后更换生长培养基,培养48h后可进行后续实验。

1.7 活细胞成像系统观察MG53的修复过程

将转染后的细胞置于不同浓度外源性H₂O₂(C、10μM、100μM、500μM,共4组)干预1h后,于活细胞成像系统观察细胞,锁定细胞后调节GFP光源观察开始拍摄(激发波长:488nm,发射波长:507nm)。加入digitonin致伤(工作浓度:10μg/ml)^[11],观察绿色荧光变化,用荧光相对改变量ΔF/F₀表示MG53修复能力。见图1。

图1 活细胞成像实验流程



1.8 统计学分析

采用SPSS 13.0软件进行统计分析。实验数据以均数±标准差表示。采用单因素方差分析进行数理统计。 $P < 0.05$ 表示有显著性差异, $P < 0.01$ 表示有非常显著性差异。

2 结果

2.1 小鼠基因型鉴定结果

根据基因鉴定结果,选用健康的MG53 KO小鼠用于原代骨骼肌细胞的培养。见图2。

图2 小鼠基因型鉴定



注:ko-敲除型;wt-野生型;M-Marker;W-水对照

2.2 外源性H₂O₂对C2C12成肌细胞MG53蛋白表达的影响

不同浓度外源性H₂O₂干预对C2C12成肌细胞MG53蛋白表达的影响如图3、表2所示,与对照相比,20μM、100μM H₂O₂组升高了26%和29%,具有显著性差异($P < 0.05$);500μM、1mM H₂O₂组分别升高了43%和54%,具有非常显著性差异($P < 0.01$)。

2.3 原代骨骼肌细胞转染效率观察

原代骨骼肌MG53^{-/-}细胞培养后用Desmin染色,可见95%以上为骨骼肌卫星细胞。转染GFP-MG53质粒48h后于活细胞成像系统下观察(图4),可见细胞状态良好,呈梭形,其触角伸展充分,转染效率较高,可用于后续试验。

2.4 活细胞影像下观察外源性H₂O₂对MG53膜修复作用的影响

MG53k KO原代骨骼肌细胞培养后转染GFP-MG53质粒,用10μM、100μM、500μM H₂O₂干预,研究其对MG53膜修复作用的影响。图5—6所示,低浓度和中浓度H₂O₂对GFP-MG53的膜修复作用没有显著影响,而高浓度(500μM)H₂O₂明显增强了MG53的膜修复作用,ΔF/F₀较对照组显著性升高($P < 0.05$),表现为强绿色荧光的聚集。

3 讨论

运动往往导致骨骼肌细胞膜损伤的发生,骨骼肌细胞在“感知”到细胞膜损伤后,能够迅速“调动”相关膜修复蛋白参与到膜损伤的修复中,以防止胞内成分的大量外流和胞外

图3 不同浓度外源性H₂O₂干预后C2C12细胞MG53表达

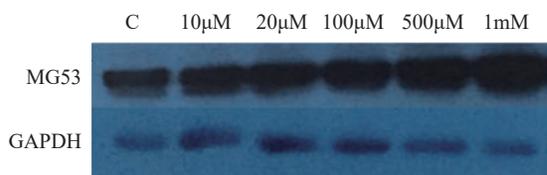


图4 GFP-MG53转染效率

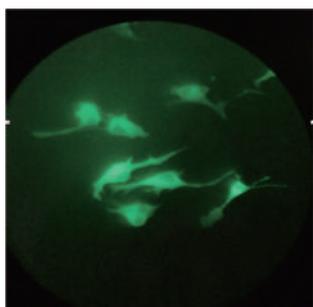


表2 不同浓度外源性H₂O₂干预后C2C12细胞MG53表达

组别	MG53蛋白
C组	1.00±0.00
10µM组	0.95±0.06
20µM组	1.26±0.11 ^①
100µM组	1.29±0.13 ^①
500µM组	1.43±0.14 ^②
1mM组	1.54±0.25 ^②

注:与安静对照相比,①P<0.05;②P<0.01

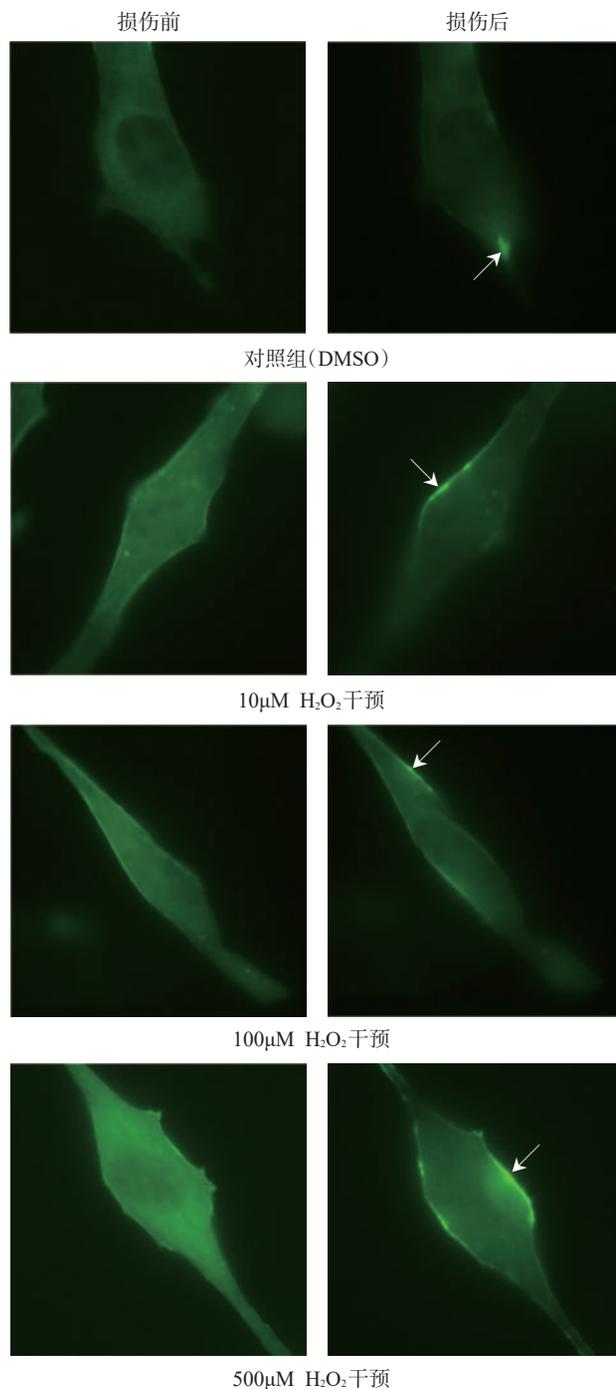
Ca²⁺、K⁺的进入,如未能及时修复将导致细胞死亡^[12]。肌细胞膜作为维持细胞结构和功能稳态的重要屏障,其自身修复具有重要意义。骨骼肌细胞膜修复是由Ca²⁺、胞内囊泡、修复蛋白等共同参与介导的^[13],目前骨骼肌细胞膜的修复过程还有许多未解之谜。已发现的具有膜修复作用的蛋白有Dysferlin、Cav-1、Cav-3、AHNAK、Annexins等,而MG53的出现极大丰富了骨骼肌细胞膜损伤的修复体系。

MG53最先被观察到对于运动骨骼肌细胞膜损伤有修复作用是在离心运动的模型下发现的,其在离心运动后的修复作用已被证实,但MG53的启动及信号转导机制仍不完全清楚。探究其在运动后骨骼肌损伤修复的启动机制将有助于进一步揭开MG53的神秘“面纱”。前期研究发现,离心运动后H₂O₂显著升高,且MG53对氧化环境比较敏感,那么H₂O₂和MG53之间是否存在某种联系呢?本研究将深入探讨这一问题,希望找到打开MG53修复的“钥匙”。

3.1 H₂O₂对骨骼肌细胞膜修复作用的影响

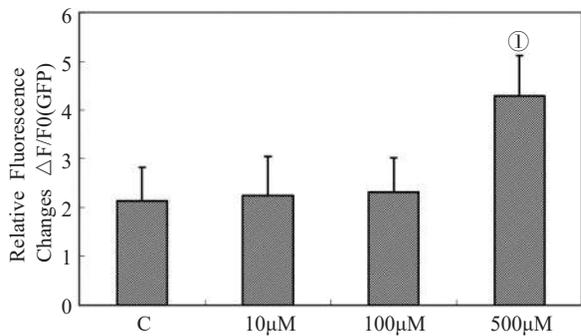
H₂O₂、超氧阴离子(O₂⁻)、羟自由基(·OH)等是由氧衍生出来的自由基及其产物,统称为ROS。ROS在骨骼肌细胞膜

图5 活细胞成像观察不同浓度H₂O₂对MG53膜修复的影响



损伤的修复中发挥了重要作用。Horn等^[14]研究发现,骨骼肌细胞膜损伤后Ca²⁺的进入会导致胞内ROS升高,ROS进而激活GTPase RhoA,导致F-actin在“伤口”聚集并发挥修复作用。同时,Horn团队还证实,离心运动后,ROS是骨骼肌细

图6 不同浓度 H₂O₂对MG53膜修复的影响



注:与对照相比,①P<0.05

胞膜修复的关键,加入ROS淬灭剂mito-TEMPO干预后,骨骼肌细胞运动后膜修复能力显著下降。

H₂O₂是具有温和活性的ROS,也是细胞内最主要的ROS,它们能适当参与胞内信号转导。骨骼肌H₂O₂生理浓度范围是30—150μM^[15],而运动等应激条件下H₂O₂浓度会急剧升高。H₂O₂在骨骼肌细胞水平的研究一般在0—1mM之间,一定浓度的H₂O₂能促进细胞的增殖、分化和修复等生理过程,而过高浓度的H₂O₂则可抑制细胞生长甚至诱导死亡^[16]。大量研究在细胞水平证实H₂O₂在胞内信号转导中扮演了重要角色,一定浓度的H₂O₂可以激活如PGC1-α、PI3K/Akt、MAPK家族蛋白(ERK1/2、JNK、p38)等^[19,17—21]许多胞内信号,参与到复杂的信号传递与互话中。本研究通过活细胞成像观察到,较高浓度的H₂O₂可增强骨骼肌细胞膜的修复。Duan等^[22]研究发现,H₂O₂孵育能显著增强C2C12细胞膜损伤的修复。用激光致C2C12肌母细胞膜损伤实验中,0.5mM H₂O₂干预1h能显著增强细胞膜修复速率,是对照组的2倍,而较低浓度的H₂O₂则没有这一作用,与本研究结果一致。Yao等^[23]研究证实,0.5mM H₂O₂干预1h能显著降低由压力应激导致的C2C12细胞膜损伤,通过PI荧光染色发现,0.5mM H₂O₂防损伤效果好于0.1mM H₂O₂干预组。

3.2 外源性H₂O₂对MG53膜修复作用的影响

外源性H₂O₂对细胞能产生促进增殖或诱导死亡等不同的细胞应答,其原因与受刺激的细胞类型、H₂O₂浓度及干预时间等因素有关^[24]。研究表明,1μM—1mM H₂O₂在2h内对C2C12细胞存活率没有明显影响,而2mM H₂O₂作用1.5h就能诱导C2C12细胞凋亡,10mM H₂O₂孵育2h就可明显降低细胞存活率。本研究选用生理浓度范围内10μM—1mM外源性H₂O₂来研究其对MG53的影响。

安静状态下的MG53以单体形式存在,当细胞膜破损后,胞外的介质进入激活单体形式的MG53寡聚化形成寡聚体,然后与聚合酶转录释放因子(polymerase and transcript

release factor, PTRF)结合, PTRF把MG53转运至囊泡并绑定MG53至肌膜发挥修复作用^[25]。MG53、Cav-3等膜修复蛋白均是在细胞分化形成肌管细胞后才产生的,肌母细胞中并没有MG53^[26],所以为了避免C2C12细胞分化速度不同导致的内源性MG53差异,本实验在研究H₂O₂对MG53膜修复作用的影响时,采用了MG53 KO小鼠原代培养的骨骼肌肌母细胞转染GFP-MG53质粒进行实验,主要有以下原因:①为防止细胞间培养与分化差异造成肌细胞内源性MG53表达不同,所以选择原代培养MG53 KO小鼠并外源性转染GFP-MG53,保证MG53来源一致;②细胞转染时要求细胞活性较好,处在指数增长长期时转染效率最高,故选择在肌母细胞这一细胞活性最强时期转染。综上所述,本研究参照Dr.Ma等的研究模型,原代培养MG53 KO小鼠骨骼肌细胞,并在肌母细胞阶段转染GFP-MG53用于实验。

研究结果显示,20μM、100μM H₂O₂处理后, MG53蛋白表达分别较安静组升高了26%和29%,具有显著性差异(P<0.05);500μM、1mM H₂O₂处理后, MG53蛋白分别较安静组显著性升高了43%和54%,具有非常显著性差异(P<0.01)。表明外源性H₂O₂可明显增加MG53蛋白表达, MG53蛋白表达在一定范围内和H₂O₂浓度成正比。活细胞成像系统连续拍摄观察H₂O₂干预对MG53膜修复作用的影响,发现500μM H₂O₂干预1h后能显著性增强MG53的膜修复作用, ΔF/F0明显增强(P<0.05)。

H₂O₂能显著增强MG53蛋白表达与修复作用,可能与MG53对氧化环境较为敏感有关。当骨骼肌细胞存在于氧化环境时(Thimerosal干预), GFP-MG53在损伤出现后修复能力显著提高,当处于抗氧化环境时(DTT干预), GFP-MG53在诱导损伤后修复能力显著降低,这说明MG53在氧化环境中活性加强^[1]。Cai等^[11]研究发现, MG53在氧化环境中可与半胱氨酸242位点结合形成低聚复合体,从而加速组装囊泡修复损伤的细胞膜。研究发现,让大鼠以25m/min的速度在-10°的跑台上进行下坡跑,运动后24h骨骼肌H₂O₂含量开始显著性升高,本实验室前期研究发现MG53在小鼠离心运动后24h也出现表达升高^[8],和离心运动后H₂O₂升高的时间点相一致,提示MG53在运动后的升高可能是由于H₂O₂升高所致,本文在细胞水平证实了这一结果。Duan^[22]和Yao等^[23]的研究同样证实了0.5mM H₂O₂这一浓度干预1h能显著提高C2C12细胞的膜修复能力,但对于H₂O₂通过什么途径使骨骼肌细胞膜修复能力增强并没有进行深入研究。本实验对Duan和Yao的研究进行了进一步探讨,首次发现H₂O₂是通过介导MG53实现膜修复的,这将有助于深入揭示MG53的启动机制。

另一方面, H₂O₂介导MG53增强细胞膜修复也可能与H₂O₂参与调控细胞存活信号有关。一定浓度的H₂O₂可诱导

细胞存活相关信号通路SDF-1/CXCR4、ERK1/2、NF- κ B等激活^[27-28]。生理浓度的H₂O₂预处理可有效保护PC12细胞存活,主要是通过诱导STAT3上调Bcl-2等抗凋亡蛋白的表达来实现的^[29]。Ma等^[30]研究发现,500mM H₂O₂孵育1h能够显著增强细胞中CD38表达,从而促进细胞存活。Liu等^[31]研究证实,H₂O₂可通过激活c-Met-PI3K-Akt和c-Met-Grb2/SOS-Ras-p38通路提高A549细胞存活效率。有研究表明,MG53也参与了细胞存活的调控^[32]。Zhang等^[33]研究发现,MG53和Cav-3联合作用激活再灌注损伤补救激酶(reperfusion injury salvage kinase,RISK)途径对心肌细胞产生保护作用,MG53^{-/-}可抑制心肌细胞RISK途径对心肌的保护。Cao等^[34]发现,MG53在缺血后处理过程中发挥了保护作用,MG53同样激活RISK通路对缺血再灌注损伤发挥保护效应。综上所述,H₂O₂可位于上游调控MG53介导细胞存活,但其下游机制还不清楚,有待进一步深入研究。

本研究还发现,20 μ M较低浓度的H₂O₂就可以激活MG53蛋白表达增加,但只有较高浓度的H₂O₂才能促进MG53的膜修复作用增强,10 μ M和100 μ M H₂O₂并不会显著提高MG53的膜修复功能,提示MG53可能还参与介导了其他除修复以外的生理过程。

4 结论

本研究运用基因敲除和质粒转染等技术,在细胞水平首次证实H₂O₂位于MG53上游,并发现一定浓度的H₂O₂能促进MG53蛋白表达并使其膜修复作用增强,提示H₂O₂可能是介导MG53在延迟性肌肉酸痛期发挥修复作用的重要因素。

参考文献

- [1] Cai C, Masumiya H, Weisleder N, et al. MG53 nucleates assembly of cell membrane repair machinery[J]. *J Biol Chem*, 2008, 11:56—64.
- [2] Wang X, Xie W, Zhang Y, et al. Cardioprotection of ischemia/reperfusion injury by cholesterol dependent MG53-mediated membrane repair[J]. *Circ Res*, 2010, 107(1):76—83.
- [3] He B, Tang RH, Weisleder N, et al. Enhancing muscle membrane repair by gene delivery of MG53 ameliorates muscular dystrophy and heart failure in delta-Sarcoglycan-deficient hamsters[J]. *Mol Ther*, 2012, 20(4):727—735.
- [4] Li H, Duann P, Lin PH, et al. Modulation of wound healing and scar formation by MG53 protein-mediated cell membrane repair[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(40):24592—24603.
- [5] Kim SC, Kellett T, Wang S, et al. TRIM72 is required for effective repair of alveolar epithelial cell wounding[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2014, 307(6):L449—L459.
- [6] Jia Y, Chen K, Lin P, et al. Treatment of acute lung injury by targeting MG53-mediated cell membrane repair[J]. *Nat Commun*, 2014, 5:4387.
- [7] Duann P, Li H, Lin P, et al. MG53-mediated cell membrane repair protects against acute kidney injury[J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(279):279ra236.
- [8] 吴迎,伊木清,曾凡星. MG53基因敲除对小鼠延迟性肌肉酸痛期骨骼肌损伤的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2017, 32(6):636—642.
- [9] Saxena I, Srikanth S, Chen Z. Cross talk between H₂O₂ and interacting signal molecules under plant stress response[J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7:570.
- [10] Dorfman J, Duong M, Zibaitis A, et al. Myocardial tissue engineering with autologous myoblast implantation[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1998, 116(5):744—751.
- [11] Miyamoto K, Yamashita T, Tsukiyama T, et al. Reversible membrane permeabilization of mammalian cells treated with digitonin and its use for inducing nuclear reprogramming by Xenopus egg extracts[J]. *Cloning Stem Cells*, 2008, 10(4):535—542.
- [12] Draeger A, Schoenauer R, Atanassoff AP, et al. Dealing with damage: Plasma membrane repair mechanisms[J]. *Biochimie*, 2014, 107:66—72.
- [13] Reddy A, Caler EV, Andrews NW. Plasma membrane repair is mediated by Ca²⁺-regulated exocytosis of lysosomes[J]. *Cell*, 2001, 106:157—169.
- [14] Horn A, Van der Meulen JH, Defour A, et al. Mitochondrial redox signaling enables repair of injured skeletal muscle cells[J]. *Sci Signal*, 2017, 495(10):1—11.
- [15] Jensen TE, Schjerling P, Viollet B, et al. AMPK α 1 activation is required for stimulation of glucose uptake by twitch contraction, but not by H₂O₂, in mouse skeletal muscle[J]. *Plos One*, 2008, 3(5):e2102.
- [16] Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing[J]. *Nature*, 2000, 408:239—247.
- [17] Hu Y, Kang C, Philp RJ. PKC delta phosphorylates p52ShcA at Ser29 to regulate ERK activation in response to H₂O₂[J]. *Cell Signal*, 2007, 19(2):410—418.
- [18] Kim YK, Bae GU, Kang JK. Cooperation of H₂O₂-mediated ERK activation with Smad pathway in TGF-beta 1 induction of p21(WAF1/Cip1) [J]. *Cell Signal*, 2006, 18(2):236—243.
- [19] Maryam, Rasoul, Asadollah, et al. Time course study of JNK activation in response to H₂O₂ induced oxidative stress [J]. *Alzheimer's and Dementia*, 2014, 10:493.
- [20] Sen P, Chakraborty PK, Raha S, et al. p38 mitogen-activated protein kinase (p38MAPK) upregulates catalase levels in response to low dose H₂O₂ treatment through enhancement of mRNA stability[J]. *FEBS Lett*, 2005, 579(20):4402—4406.
- [21] Hensley, Robinson, Stewart, et al. Modulation of p38 kinase activation by IL1 beta, H₂O₂ and antioxidants in primary glial cell culture[J]. *Faseb Journal*, 1998, 12(8):1403.
- [22] Duan X, Chan KT, Lee KK, et al. Oxidative stress and plasma membrane repair in single myoblasts after femtosecond laser photoporation[J]. *Ann Biomed Eng*, 2015, 43(11):2735—2744.
- [23] Yao Y, Xiao Z, Wong S, et al. The effects of oxidative stress on the compressive damage thresholds of C2C12 mouse myoblasts: implications for deep tissue injury[J]. *Ann Biomed Eng*, 2015, 43(2):287—296.

- [24] Sablina AA, Budanov AV, Llynskaya GV, et al. The antioxidant function of the P53 tumor suppressor [J]. Nat Med, 2005, 11:1306—1313.
- [25] Zhu H, Lin P, De G, et al. Polymerase transcriptase release factor (PTRF) anchors MG53 protein to cell injury site for initiation of membrane repair [J]. J Biol Chem, 2011, 286(15):12820—12824.
- [26] Nguyen N, Yi JS, Park H, et al. Mitsugumin53(MG53) ligase ubiquitinates focal adhesion kinase during skeletal myogenesis[J]. J Biol Chem, 2014, 289(6):3209—3216.
- [27] Samuel H, Xingming S, Maribeth H, et al. Stromal cell-derived factor-1 β mediates cell survival through enhancing autophagy in bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. PLoS One, 2013, 8(3):e58207.
- [28] Philip L, Shivakumar K. cIAP-2 protects cardiac fibroblasts from oxidative damage: an obligate regulatory role for ERK1/2 MAPK and NF-kappaB[J]. J Mol Cell Cardiol, 2013, 62:217—226.
- [29] Yu M, Zhi J, Cui Y, et al. Role of the JAK-STAT pathway in protection of hydrogen peroxide preconditioning against apoptosis induced by oxidative stress in PC12 cells [J]. Apoptosis, 2006, 11: 931—941.
- [30] Ma Y, Wu D, Ding X, et al. CD38 plays key roles in both antioxidation and cell survival of H₂O₂-treated primary rodent astrocytes[J]. Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol, 2014, 6(2):102—108.
- [31] Liu Y, Shi QF, Ye YC, et al. Activated O₂⁻ and H₂O₂ mediated cell survival in SU11274- treated non-small-cell lung cancer A549 cells via c-Met-PI3K-Akt and c-Met-Grb2/SOS-Ras-p38 pathways[J]. J Pharmacol Sci, 2012, 119(2): 150—159.
- [32] Zhang Y, Wu HK, Lv FX, et al. MG53 is a double-edged sword for human diseases[J]. Acta Physiologica Sinica, 2016, 68(4):505—516.
- [33] Zhang Y, Lv F, Jin L, et al. MG53 participates in ischaemic preconditioning through the RISK signaling pathway [J]. Cardiovascular Res, 2011, 91:108—115.
- [34] Cao CM, Zhang Y, Weisleder N, et al. MG53 constitutes a primary determinant of cardiac ischemic preconditioning [J]. Circulation, 2010, 121:2565—2574.

·临床研究·

经皮穴位电刺激治疗癌因性疲乏的随机对照试验研究

黄菲¹ 赵焰^{1,2}

摘要

目的:评价经皮穴位电刺激(transcutaneous electrical acupoint stimulation, TEAS)治疗癌因性疲乏(cancer-related fatigue, CRF)的临床疗效和安全性。

方法:将120例癌因性疲乏患者随机分为试验组和对照组,每组60例。试验组采用经皮穴位电刺激神阙、关元、气海、血海、足三里,强度为6—12mA,频率10—100Hz,每次30min,每周5次;对照组采用耳穴贴压肝、脾、胃、神门、交感,每穴按压4—6次,每次3—5min,每次贴压一侧耳穴,3d后改为另侧耳穴;4周为1疗程,共2个疗程。于治疗前、治疗第4周、治疗第8周,采用Piper疲乏修订量表(Revised Piper Fatigue Scale, RPFS)评分评价CRF的疲劳状态,采用匹兹堡睡眠质量指数量表(Pittsburgh Sleep Quality Index, PSQI)和生存质量量表(EORTC QLQ-C30)评价患者的睡眠质量和生存质量,同时观察TEAS的安全性。

结果:与耳穴贴压组相比,TEAS组RPFS评分和生存质量评分在第4周末、第8周末显著降低,差异具有显著性意义($P < 0.05$);PSQI评分有所改善,但差异无显著性意义($P > 0.05$)。与入组前相比,TEAS组和耳穴贴压组的RPFS评分、PSQI评分和生存质量量表评分均在第4周末、第8周末时明显降低,差异具有显著性意义($P < 0.05$);与第4周末相比,TEAS组和耳穴贴压组的RPFS评分、PSQI评分和生存质量量表评分均在第8周末时明显降低,差异具有显著性意义($P < 0.05$)。

结论:TEAS治疗癌因性疲乏有助于改善患者的生存质量和睡眠质量,缓解患者的疲乏症状且安全性良好。

关键词 癌因性疲乏; 经皮穴位电刺激; 生存质量; Piper疲乏修订量表; 匹兹堡睡眠质量指数量表

中图分类号: R493 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-1242(2019)-06-0688-05

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2019.06.012

1 湖北省中医院(湖北中医药研究院); 2 通讯作者

作者简介:黄菲,女,副主任医师; 收稿日期:2017-12-26