

·基础研究·

脂肪间充质干细胞注射对离心运动大鼠肌肉修复中肌肉抑制素信号通路的影响机制*

刘秀娟¹ 张念云¹ 王 斌¹ 孙 颢¹ 徐 妍²

摘要

目的:通过肌肉注射异体脂肪间充质干细胞,观察大鼠骨骼肌肌肉抑制素(myostatin,MSTN)信号通路及肌纤维超微结构的变化,探讨脂肪间充质干细胞在离心运动后骨骼肌修复过程中的作用机制。

方法:8周龄雄性SD大鼠,进行一次性离心运动后,在大鼠的左腿腓肠肌外侧头注射生理盐水(NS),右腿腓肠肌外侧头注射脂肪间充质干细胞(ASCs),然后,随机分为运动后1天组(D1)、运动后3天组(D3)、运动后7天组(W1)和运动后14天组(W2)。分别在相应的时间点将大鼠处死,收集样本。采用ELISA测定血清肌酸激酶(CK)、骨骼肌肌钙蛋白I(sTnI)、MSTN、卵泡抑素(follistatin,FST)的含量;实时荧光定量PCR测定骨骼肌MSTN、激活素A受体II B(ACVR2B)、FST mRNA相对表达量。Western Blot测定骨骼肌MSTN、ACVR2B、FST、信号转导蛋白smad2/3磷酸化(p-smad2/3)蛋白的表达。

结果:与D1组比较,W1、W2组血清CK水平显著降低($P<0.05$),D3和W1组血清sTnI显著升高($P<0.05$);与D1组比较,W1组血清MSTN水平显著降低($P<0.05$),但W2组血清MSTN水平显著升高($P<0.05$);与D1组比较,W2组血清FST水平显著升高($P<0.05$)。与NS组相比,ASCs组MSTN mRNA相对表达量在时间点D3显著降低($P<0.05$),在时间点W2极显著降低($P<0.01$);ACVR2B和FST mRNA相对表达量与NS组相比无显著变化;与NS组相比,ASCs组MSTN蛋白表达在时间点D1和D3均显著降低($P<0.05$);ACVR2B蛋白表达在时间点D1、D3、W1均显著升高($P<0.05$),在时间点W2却显著降低($P<0.05$);与NS组相比,smad2/3的磷酸化水平在时间点W2显著降低($P<0.05$)。

结论:离心运动后,肌注异体脂肪间充质干细胞对MSTN的影响可能比对FST的影响大;肌注异体脂肪间充质干细胞可能通过影响MSTN下游信号通路来促进离心运动后骨骼肌的再生修复。

关键词 离心运动;脂肪间充质干细胞;骨骼肌;肌肉抑制素

中图分类号:R873.5,R49 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2021)-01-0016-07

The role of myostatin signaling pathway in the improvement of muscle repair by injection of adipose mesenchymal stem cells in rats after eccentric exercise/LIU Xiujuan, ZHANG Nianyun, WANG Bin, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2021, 36(1): 16—22

Abstract

Objective: To observe the changes of myostatin signaling pathway and muscle fiber ultrastructure by injection of adipose mesenchymal stem cells (ASCs) in rats after a single eccentric exercise, to investigate the mechanism of ASCs injection in skeletal muscle injury repair after eccentric exercise.

Method: After a one-off eccentric exercise in 8-week-old male SD rats, normal saline was injected into the gastrocnemius muscle in the left leg, and ASCs were injected into the gastrocnemius muscle of the right leg. The rats were randomly divided into four groups: one day(D1), three days(D3), seven days(W1) and fourteen days(W2) post exercise. The rats were killed at the corresponding time points. The content of CK, sTnI, myo-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2021.01.004

*基金项目:国家自然科学基金青年项目(31900844)

1 南京体育学院运动健康学院运动人体科学系,江苏省南京市玄武区灵谷寺路8号,210014; 2 南京市再生医学工程技术研究中心
第一作者简介:刘秀娟,女,博士,副教授; 收稿日期:2019-07-09

statin(MSTN)and follistatin(FST)in serum was determined by ELISA method. Real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect the expressions of MSTN,ACVR2B and FST mRNA in skeletal muscle. The expressions of MSTN,ACVR2B,FST and p-smad2/3 protein in skeletal muscle were detected by Western Blot.

Result: Compared with group D1, the serum CK contents in group W1 and group W2 were significantly decreased ($P<0.05$), the serum sTnI content in group D3 and group W1 was remarkably increased ($P<0.05$), the serum myostatin level in group W1 was significantly decreased ($P<0.05$), but which was remarkably increased ($P<0.05$) in group W2. Compared with group D1, the serum FST level in group W2 was significantly increased ($P<0.05$). Compared with group NS, relative expression quantity of MSTN mRNA in group ASCs was significantly decreased at time point D3 ($P<0.05$), which was extremely significantly down-regulated at time point W2 ($P<0.01$). However, relative expression quantities of ACVR2B and FST mRNA had no significant difference between the two groups. Compared with group NS, the expression of MSTN protein was significantly decreased at time point D1 and D3 ($P<0.05$), the expression of ACVR2B protein was remarkably increased at time point D1,D3 and W1($P<0.05$), while significantly decreased at time point W2 ($P<0.05$). Compared with group NS, the phosphorylation of smad2/3 was significantly decreased at the time point W2 in group ASCs ($P<0.05$).

Conclusion: After eccentric exercise, the effect of allogeneic adipose mesenchymal stem cells on MSTN may be greater than on FST. Allogeneic adipose mesenchymal stem cells injected intramuscularly may improve the regeneration and repair of skeletal muscle after eccentric exercise through affecting the downstream signaling pathway of MSTN.

Author's address Department of Sports Science,School of Kinesiology,Nanjing Sports Institute,Nanjing,210014

Key word eccentric exercise; adipose mesenchymal stem cells; skeletal muscle;myostatin

肌肉抑制素(myostatin,也称MSTN或GDF8),属于转化生长因子 β (TGF- β)超家族成员。大量的研究证实,MSTN作为一个蛋白激酶B(PKB/Akt)哺乳动物类雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号途径的负调节因子,与其它信号分子共同影响骨骼肌蛋白的合成^[1-2]。MSTN下游信号smad2/3能够部分通过mTOR信号途径抑制肌肉的肥大^[3]。近年来有研究报道,MSTN参与骨骼肌的再生修复^[4]。运动经常会引起骨骼肌的损伤,如何快速修复骨骼肌运动损伤成为人们关心的热点问题之一。

干细胞具有自我更新、高度增殖和分化的能力,并可以大量移植,所以有被用于临床组织再生和疾病治疗的应用前景^[5-6]。研究报道,间充质干细胞可以促进生肌和生脂,促进肌肉损伤的再生修复^[7]。脂肪来源干细胞(adipose derived stem cells, ASCs)和骨髓间充质干细胞、脐带血间充质干细胞相似,具有自我更新和多向分化的潜能。同其他干细胞相比,脂肪来源干细胞具有方便获得、含量高等优点。正因这些独特的优点,使脂肪来源干细胞在治疗骨骼肌损伤和萎缩,促进骨骼肌再生方面有很

好的应用前景。MSTN具有促进大鼠骨髓间充质干细胞生长和向腱细胞分化的能力^[8]。我们前期的研究表明,肌注异体间充质干细胞可以影响骨骼肌MSTN的mRNA表达,在运动后肌肉损伤修复过程中MSTN信号变化如何,间充质干细胞注射是否影响MSTN信号鲜见报道。本研究通过离心运动建立肌肉损伤模型,观察局部注射脂肪间充质干细胞对MSTN信号的影响,探讨MSTN信号通路在脂肪间充质干细胞注射促进肌肉损伤修复中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

8周龄SPF级SD雄性大鼠44只,购自南京医科大学实验动物中心,适应性饲养1周,自由进食进水,光照比为12h:12h。然后进行一次性离心运动,运动后随机分为4组,分别是运动后1天组(D1)、运动后2天组(D2)、运动后7天组(W1)和运动后14天组(W2),每组11只。

1.2 主要仪器设备与试剂

全自动酶标仪(TECAN M200pro)、实时荧光

定量PCR仪(ABI Step One Plus, Applied Biosystems公司),蛋白质电泳仪,转印系统及化学发光成像系统(Bio-Rad公司)。MSTN酶联免疫检测试剂盒购于南京福麦斯生物技术有限公司,CK、sTnI、FST酶联免疫检测试剂盒购于南京菲亚生物技术有限公司。提取组织RNA及PCR相关试剂Trizol(Invitrogen Life Technology),反转录试剂盒(TAKARA BIOINC, Japan),购自上海皓佳生物技术有限公司。

1.3 运动方案

参考Armstrong等运动方案^[9](-16°, 16m/min, 90min),进行一次性离心运动,跑台坡度为-20°,速度为20m/min,运动时间为90min。实验开始前,为适应运动,首先让大鼠从静止慢慢加速到20m/min,这个渐进加速过程在5min内完成,等速度增加至20m/min时,开始计算时间,并且之后一直保持在这个速度,持续90min。运动结束后30min,在大鼠的左腿腓肠肌外侧头注射100μl生理盐水,右腿腓肠肌外侧头注射100μl含间充质干细胞数量为5×10⁵的生理盐水(脂肪间充质干细胞的提取及注射工作由徐妍博士及其助手完成),分别在注射后24h, 72h, 7d, 14d后将大鼠麻醉处死,收集血液,血液经3000r/min, 4℃离心后,分离血清置于-80℃超低温冰箱保存。分别收集左右两腿的腓肠肌,部分固定,用于组织学研究,部分置于液氮速冻,后转入-80℃超低温冰箱冻存备用。

1.4 血清CK、sTnI、MSTN和FST的测定

CK、sTnI、MSTN和FST的检测完全按照试剂盒说明书进行测定。

1.5 基因检测

腓肠肌总RNA用Trizol试剂盒提取。提取的总RNA用Nano Drop分光光度计(ND 2000)测定总RNA浓度和纯度(OD260/OD280=1.8—2.0)。用琼脂糖—甲醛变性凝胶电泳验证RNA的完整性。检测合格后,进行RT,获得各样品RNA的cDNA。RT产物经验证无基因组DNA污染后,保存在-20℃用于PCR检测。根据GenBank上大鼠的相关cDNA序列采用Primer 5设计目的基因和内参GAPDH的引物,引物由上海捷瑞生物技术有限公司合成,详细序列见表1。实验采用实时荧光定量PCR,以GAPDH为内参,对目的基因的表达进行相对定量,用2^{-ΔΔCT}法对有效性数据进行统计分析。

蛋白检测:取腓肠肌组织100mg左右,加裂解液1:10(w/v),冰浴匀浆,冰上放置30min, 4℃, 10000r/min离心10min,吸上清,BCA法测定蛋白浓度。配制10% SDS—PAGE分离胶,4%浓缩胶。以30 μg蛋白样品量上样,转印,一抗、二抗孵育,化学发光检测,用Quantity One软件对结果进行分析,一抗分别为兔源的购自abcam公司的MSTN和ACVR2B以及购自巴傲德生物技术有限公司的Phosphor-smad2/3、smad2/3、FST,内参为GAPDH,二抗为羊抗兔IgG。抗体信息见表2。

1.6 统计学分析

实验数据用JMP 12.0软件数据包处理,各数据用平均数±标准差表示。多组间比较采用One-way ANOVA中的两两比较(LSD 检验),以P<0.05和P<0.01定为差异显著性的界值。

表1 基因上下游引物序列

基因	引物序列(F)	引物序列(R)
MSTN	CCGTCAAGACTCCTACAA	CAATACTCTGCCAAATACC
ACVR2B	GCCGTCAAGACTCCTACA	TGCCAAATACCAAGTGCC
FST	CCCTCATCTTCAGAGCAGTC	TTCCCTCATAGGCTAATCCA
GAPDH	CAAGTTCAACGGCACAG	CCAGTAGACTCCACGACAT

表2 抗体信息

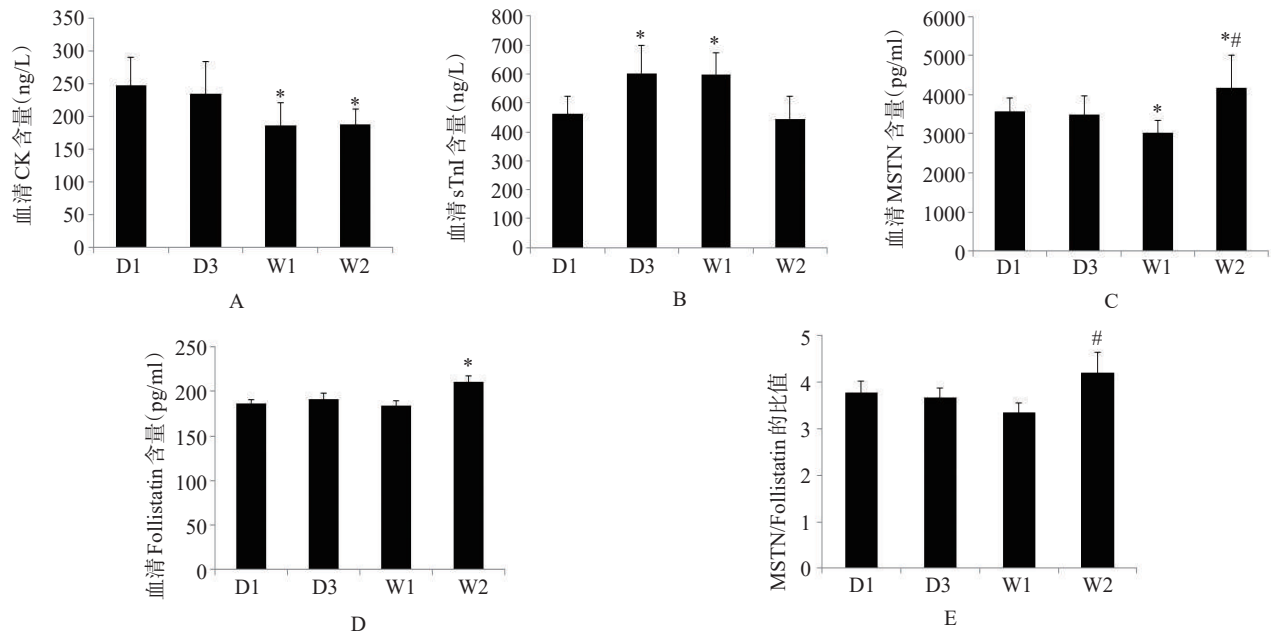
名称	货号	公司
MSTN	ab203076	abcam
ACVR2B	ab180185	abcam
Phosphor-smad2/3	AP0326	Bioworld Technology Inc
smad2/3	AP0445	Bioworld Technology Inc
FST	BS7118	Bioworld Technology Inc
GAPDH	AP0063	Bioworld Technology Inc
Goat-anti-Rabbit IgG	BS13278	Bioworld Technology Inc

2 结果

2.1 不同时间点大鼠血清CK、sTnI、MSTN和FST

与D1组相比,W1、W2血清CK显著降低(见图1A, P<0.05), D3、W1组血清sTnI水平显著升高(见图1B, P<0.05); W1组MSTN水平显著降低(见图1C, P<0.05); W2组MSTN和FST水平均显著升高

图1 不同时间点大鼠血清CK、sTnI、MSTN和FST的变化



A:CK;B:sTnI;C:MSTN;D:FST;E:MSTN与FST的比值 *与D1组比, $P<0.05$;#与W1组比, $P<0.05$

(图1C, 1D, $P<0.05$)。与W1组相比, W2组MSTN与FST的比值显著升高(图1E, $P<0.05$)。需要说明的是, 由于在本实验设计中, 注射实验是在同一只大鼠的两条腿进行的, 左腿注射NS, 右腿注射含干细胞的NS, 故血清的检测数据无法进行两组间比较, 只能进行注射后不同时间点的变化比较。

2.2 注射干细胞后大鼠腓肠肌基因表达的变化

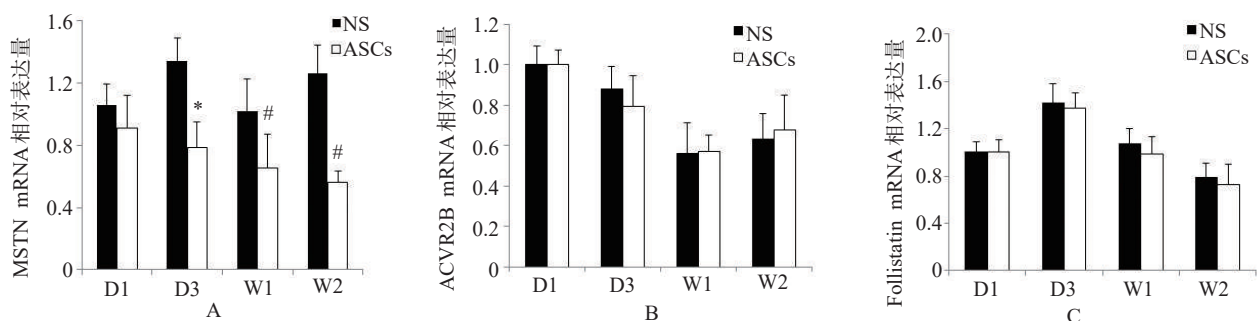
ASCs注射后, 在4个时间点骨骼肌MSTN mRNA均呈现下调趋势。注射3天后, 骨骼肌MSTN mRNA显著降低(图2A, $P<0.05$), 两周后极显著降低(图2A, $P<0.01$)。ASCs注射后在4个时间

点骨骼肌ACVR2B和FST mRNA与NS注射的变化趋势一致, ACVR2B mRNA是先降低后升高(图2B), 而FST mRNA的表达是先升高后降低(图2C)。与NS组相比, ASCs注射对ACVR2B mRNA(图2B)和FST mRNA的表达并无显著影响(图2C, $P>0.05$)。

2.3 注射干细胞后大鼠腓肠肌蛋白表达的变化

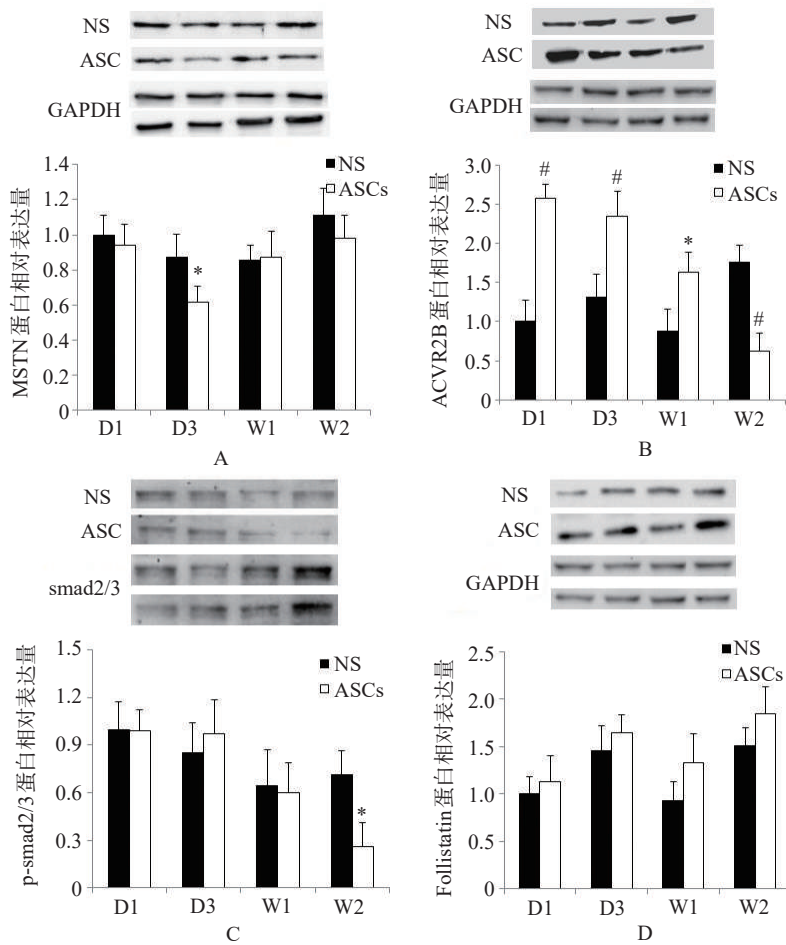
与NS组相比, 间充质干细胞注射后, 在D3时间点骨骼肌MSTN蛋白表达显著降低(图3A, $P<0.05$), ACVR2B蛋白表达在D1、D3、W1时间点均显著升高(图3B, $P<0.05$), 但在W2时间点却极显著下

图2 注射干细胞后不同时间点大鼠腓肠肌基因mRNA相对表达量



A:MSTN mRNA;B:ACVR2B mRNA;C:FST mRNA *与NS组比, $P<0.05$;#与NS组比, $P<0.01$

图3 注射干细胞后不同时间点大鼠腓肠肌蛋白相对表达量



A: MSTN; B: ACVR2B; C: p-smad2/3; D: FST *与NS组比, $P < 0.05$; #与NS组比, $P < 0.01$

降(见图3B, $P < 0.01$);与NS组相比, p-smad2/3的磷酸化水平在间充质干细胞注射W2时间点也显著降低(见图3C, $P < 0.05$), FST的蛋白表达有上调的趋势,但差异不显著(见图3D, $P < 0.05$)。

3 讨论

急性运动特别是离心运动会引起骨骼肌结构发生变化,进而导致延迟性肌肉酸痛。我们前期的研究发现一次性离心运动引起大鼠腓肠肌超微结构的改变。一次性急性运动还引起血清酶发生变化,其中较为经典的是血清CK,运动后血清CK水平变化与骨骼肌损伤之间的关系已比较明确。因此,CK被认为是评价运动性肌肉损伤的灵敏指标。在离心运动后骨骼肌损伤修复过程中,血清CK的变化已

有不少报道,苏全生^[10]的研究报道,离心运动后即刻血液CK水平显著升高,后逐渐降低,梁健等^[11]报道,离心运动后即刻血清CK水平显著升高,24h后仍处于高值,后逐渐降低,直至6天后恢复到对照组水平。本结果显示,离心运动后1天和3天血清CK均处于高值,1周后降低,这与梁健等人的结果一致。骨骼肌钙蛋白I(sTnI)是反映运动性骨骼肌损伤的特异性敏感标志,测定运动后血液中肌钙蛋白浓度,可以较早的判断运动导致的骨骼肌损伤^[12-13]。研究报道,离心运动后,sTnI与CK平行升高并在24h内达到峰值,而且至少在运动后1—2天内仍保持升高^[13]。本结果显示,离心运动后血清sTnI在3天和一周显著升高,两周后降低,这与CK的变化不一致,可能受ASCs注射的影响,引起其变化的深入机制有待进一步探讨。

MSTN是TGF- β 超家族成员,是一种主要由骨骼肌分泌的负调节因子,其缺失会引起骨骼肌重量的增加和肌纤维的过度肥大,抑制MSTN可以恢复骨骼肌质量和抑制

肌肉变性的进程。MSTN在能量代谢中也发挥重要的调节作用。卵泡抑素(follistatin, FST)是一种TGF- β 家族成员的功能拮抗剂,是MSTN的生理抑制剂,可引起骨骼肌重量的急剧增加。研究表明,FST可增加骨骼肌质量,增加肌肉蛋白的百分合成率和绝对合成率^[14]。FST可抑制MSTN的作用,FST处理显著增加肌纤维横截面积和卫星细胞的活化频率,增加MyoD和Myf5的表达,降低MSTN的表达^[14]。FST不仅能阻断MSTN,还能使其他激活因子在肌肉发育中发挥作用^[15-16]。MSTN/FST比值可用于监测肌肉萎缩和恢复的进展^[17]。对竞技摔跤运动员的研究显示,快速减肥明显增加血清MSTN含量,降低FST水平,MSTN/FST比值显著升高,提示骨骼

肌处于分解代谢的早期阶段^[18]。抗阻运动和有氧运动可引起MSTN下降和FST水平升高,从而防止关节炎、肌肉无力等多种肌肉生理疾病的发生^[19]。血清MSTN水平的升高似乎反映了过度运动引起的肌肉分解过程^[20]。本研究发现,离心运动后1周,血液MSTN水平显著降低,两周后,MSTN与FST均显著升高,且MSTN/FST的比值与运动后一周相比显著升高,提示在本研究中,肌注异体间充质干细胞对MSTN的影响比对FST的影响更大,其具体的原因,尚需进一步深入研究。

研究报道,ASCs移植治疗骨骼肌损伤或者骨骼肌萎缩,可促进骨骼肌再生^[21-22]。ASCs可与骨骼肌成肌细胞共培养,一定条件下分化为骨骼肌细胞。人ASCs在体外具有分化后再生肌纤维和重建的作用^[23]。在体内,ASCs也显示了一种肌源性分化的能力。在小鼠肌营养不良模型中,将ASCs直接注射到受影响的肌肉中并配合静脉给药,能够恢复肌肉功能^[24]。因此,ASCs在治疗骨骼肌损伤及再生方面有很高的临床应用价值。此外,ASCs分泌胰岛素样生长因子1(IGF1)可以保护成肌细胞对抗MSTN的负面效应^[25]。最近研究报道,MSTN影响骨骼肌的再生修复^[26-27]。体外MSTN基因失活阻止肌管的形成,但体内MSTN敲除的肌肉干细胞(MDSCs)明显改善肌纤维的修复,MDSCs可能是通过激活MSTN敲除后原本沉默的关键基因来恢复其肌源性能力^[28]。然而,肌肉损伤修复中,新形成的肌纤维出现在第7天,且在第7天Myogenin mRNA表达与MSTN mRNA表达上调相一致,表明新形成的肌纤维可能部分由MSTN调节^[29-30]。离心运动有助于间充质干细胞在骨骼肌中出现^[31]。骨髓间充质干细胞有助于离心运动后卫星细胞的扩张,对肌肉生长有益。运动有利于干细胞的出现,在离心运动引起的肌肉损伤修复过程中,ASCs注射如何影响肌肉损伤修复的进程鲜见报道。我们前期通过形态学研究发现,局部注射ASCs显著促进离心运动后骨骼肌损伤修复,并且通过检测生肌调节因子和肌肉生长调节因子发现,局部注射ASCs显著下调离心运动后大鼠腓肠肌MSTN mRNA的表达。本研究发现,ASCs注射对大鼠腓肠肌FST和MSTN受体ACVR2B的mRNA表达没有显著影响,Jensky等^[32]

报道一次性或多次的最大离心运动不会显著改变FST mRNA的表达^[32],这与我们的结果相符。但ASCs注射组MSTN下游信号ACVR2B蛋白表达在离心运动后1天、3天、1周3个时间点均显著升高,但在两周后极显著下降,smad2/3的磷酸化水平在离心运动后两周后也显著降低,提示离心运动后ASCs注射可能通过抑制MSTN信号促进骨骼肌的损伤修复。ASCs注射组FST蛋白表达在离心运动一周后有上调的趋势,但无显著性意义,提示ASCs注射对MSTN的影响比对FST的影响更大,FST是否参与MSTN信号的抑制,有待进一步深入研究。

本研究中,ASCs注射3天后,MSTN基因与蛋白表达趋势一致,但在两周后,MSTN mRNA显著降低,而蛋白表达没有显著变化,提示可能miRNAs参与MSTN的调节。研究报道,miR-27a/b通过对MSTN的负调控,在促进卫星细胞活化、促进成肌细胞增殖、防止肌肉萎缩等方面发挥重要作用^[33]。而miR-206和miR-1可以靶向MSTN的3' UTR,抑制MSTN的表达,引起肌肉肥大表型^[34]。血液中的MSTN水平与腓肠肌中的MSTN蛋白水平随时间变化不一致,可能由于MSTN是一个分泌性蛋白,不仅在骨骼肌中表达,在心肌及脂肪等组织均有表达,并且其分泌成熟过程要经过复杂的修饰加工。在运动损伤后,ASCs注射3天后,MSTN表达下降,有助于肌细胞的损伤修复及再生;待两周后,损伤基本修复,血液中MSTN升高,但其受体ACVR2B及下游信号smad2/3显著降低,这与Wang等的报道一致,miR-23a/miR-27a降低MSTN的表达和SMAD-2/3下游信号,降低caspase-3和caspase-7的活性,增加肌肉再生标记物的表达^[35]。综上,ASCs注射后,前期可能主要影响MSTN的基因表达,两周后,影响体现在MSTN信号通路上,这其中miRNAs可能起着重要的作用,具体机制有待进一步深入研究。

4 结论

离心运动后,肌注异体脂肪间充质干细胞对MSTN的影响可能比对FST的影响大。肌注异体脂肪间充质干细胞可能通过影响MSTN下游信号通路来促进离心运动后骨骼肌的再生修复。

参考文献

- [1] Schiaffino S, Dyar KA, Ciciliot S, et al. Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy[J]. FEBS J, 2013, 280(17):4294—4314.
- [2] Walton KL, Johnson KE, Harrison CA. Targeting TGF-beta mediated SMAD signaling for the prevention of fibrosis[J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 461:1—11.
- [3] Paris ND, Soroka A, Klose A, et al. Smad4 restricts differentiation to promote expansion of satellite cell derived progenitors during skeletal muscle regeneration[J]. Elife, 2016, 5: e19484.
- [4] Baghdadi MB, Tajbakhsh S. Regulation and phylogeny of skeletal muscle regeneration[J]. Dev Biol, 2018, 433(2): 200—209.
- [5] Fu X, Wang H, Hu P. Stem cell activation in skeletal muscle regeneration[J]. Cell Mol Life Sci, 2015, 72(9):1663—1677.
- [6] Joannisse S, Nederveen JP, Snijders T, et al. Skeletal muscle regeneration, repair and remodelling in aging: The importance of muscle stem cells and vascularization[J]. Gerontology, 2017, 63(1):91—100.
- [7] Galimov A, Merry TL, Luca E, et al. MicroRNA-29a in adult muscle stem cells controls skeletal muscle regeneration during injury and exercise downstream of fibroblast growth factor-2[J]. Stem Cells, 2016, 34(3):768—780.
- [8] Le W, Yao J. The Effect of myostatin (GDF-8) on proliferation and tenocyte differentiation of rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. J Hand Surg Asian Pac Vol, 2017, 22(2):200—207.
- [9] Armstrong RB, Ogilvie RW, Schwane JA. Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle[J]. J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol, 1983, 54(1):80—93.
- [10] 苏全生, 田野, 王东辉, 等. 大蒜素对大鼠离心运动后血IL-6、CK、CK-MM和Ca²⁺变化的影响[J]. 体育科学, 2006, 26(3):73—76.
- [11] 梁健, 李焕春. 预处理对离心运动大鼠骨骼肌超微结构、血清CK、LDH及氧化应激的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2017, 33(2):102—104.
- [12] 王洪恩, 张慧敏. 运动性骨骼肌和心肌损伤与肌钙蛋白的关系[J]. 中国临床康复, 2005, 9(32): 201—203.
- [13] Sorichter S, Mair J, Koller A, et al. Skeletal troponin I as a marker of exercise-induced muscle damage[J]. J Appl Physiol (1985), 1997, 83(4):1076—1082.
- [14] Dasarthy S, McCullough AJ, Muc S, et al. Sarcopenia associated with portosystemic shunting is reversed by follistatin [J]. J Hepatol, 2011, 54(5):915—921.
- [15] Barbe C, Kalista S, Loumaye A, et al. Role of IGF-I in follistatin-induced skeletal muscle hypertrophy [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2015, 309(6):E557—E567.
- [16] Liu HH, Wang JW, Yu HY, et al. Injection of duck recombinant follistatin fusion protein into duck muscle tissues stimulates satellite cell proliferation and muscle fiber hypertrophy[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2012, 94(5):1255—1263.
- [17] Wu RH, Wang P, Yang L, et al. A potential indicator of denervated muscle atrophy: the ratio of myostatin to follistatin in peripheral blood[J]. Genet Mol Res, 2011, 10(4):3914—3923.
- [18] Motevalli MS, Dalbo VJ, Attarzadeh RS, et al. The effect of rate of weight reduction on serum myostatin and follistatin concentrations in competitive wrestlers[J]. Int J Sports Physiol Perform, 2015, 10(2):139—146.
- [19] Rashidlamir A, Attarzadeh HS, Hejazi K, et al. The effect of eight weeks resistance and aerobic training on myostatin and follistatin expression in cardiac muscle of rats [J]. J Cardiovasc Thorac Res, 2016, 8(4):164—169.
- [20] Kersch-Schindl K, Thalmann MM, Weiss E, et al. Changes in serum levels of myokines and wnt-antagonists after an ultramarathon race[J]. PLoS One, 2015, 10(7):e132478.
- [21] Kesireddy V. Evaluation of adipose-derived stem cells for tissue-engineered muscle repair construct-mediated repair of a murine model of volumetric muscle loss injury[J]. Int J Nanomedicine, 2016, 11:1461—1473.
- [22] Rybalko V, Hsieh PL, Ricles LM, et al. Therapeutic potential of adipose-derived stem cells and macrophages for ischemic skeletal muscle repair[J]. Regen Med, 2017, 12(2):153—167.
- [23] Desiderio V, De Francesco F, Schiraldi C, et al. Human Ng²⁺ adipose stem cells loaded in vivo on a new cross-linked hyaluronic acid-Lys scaffold fabricate a skeletal muscle tissue[J]. J Cell Physiol, 2013, 228(8):1762—1773.
- [24] Mizuno H. The potential for treatment of skeletal muscle disorders with adipose-derived stem cells[J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2010, 5(2):133—136.
- [25] Gehmert S, Wenzel C, Loibl M, et al. Adipose tissue-derived stem cell secreted IGF-1 protects myoblasts from the negative effect of myostatin[J]. Biomed Res Int, 2014, 2014:129048.
- [26] Knipe DW, Fraser A, Lawlor DA, et al. Is interpregnancy interval associated with cardiovascular risk factors in later life? A cohort study[J]. BMJ Open, 2014, 4(3):e4173.
- [27] Rossi G, Antonini S, Bonfanti C, et al. Nfix regulates temporal progression of muscle regeneration through modulation of myostatin expression[J]. Cell Rep, 2016, 14(9):2238—2249.
- [28] Tsao J, Vernet DA, Gelfand R, et al. Myostatin genetic inactivation inhibits myogenesis by muscle-derived stem cells in vitro but not when implanted in the mdx mouse muscle[J]. Stem Cell Res Ther, 2013, 4(1):4.
- [29] Ni X, Sun W, Sun S, et al. Therapeutic potential of adipose stem cells in tissue repair of irradiated skeletal muscle in a rabbit model[J]. Cell Reprogram, 2014, 16(2):140—150.
- [30] Srikuea R, Pholpramool C, Kitiyanant Y, et al. Satellite cell activity in muscle regeneration after contusion in rats [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2010, 37(11):1078—1086.
- [31] Valero MC, Huntsman HD, Liu J, et al. Eccentric exercise facilitates mesenchymal stem cell appearance in skeletal muscle[J]. PLoS One, 2012, 7(1):e29760.
- [32] Jensky NE, Sims JK, Dieli-Conwright CM, et al. Exercise does not influence myostatin and follistatin messenger RNA expression in young women[J]. J Strength Cond Res, 2010, 24(2):522—530.
- [33] McFarlane C, Vajjala A, Arigela H, et al. Negative autoregulation of myostatin expression is mediated by Smad3 and microRNA-27 [J]. PLoS One, 2014, 9(1):e87687.
- [34] Ma G, Wang Y, Li Y, et al. MiR-206, a key modulator of skeletal muscle development and disease [J]. Int J Biol Sci, 2015, 11(3):345—352.
- [35] Wang B, Zhang C, Zhang A, et al. MicroRNA-23a and MicroRNA-27a mimic exercise by ameliorating CKD-induced muscle atrophy[J]. J Am Soc Nephrol, 2017, 28(9):2631—2640.