

·基础研究·

小鼠骨骼肌损伤修复过程中肌再生调节因子和血管再生因子的表达规律研究*

刘晓光¹ 赵淋淋¹ 曾志刚^{1,2} 郑莉芳¹ 周永战¹ 陈佩杰¹ 肖卫华^{1,3}

摘要

目的:观察骨骼肌损伤修复过程中肌再生调节因子和血管再生因子表达规律,探讨肌再生调节因子和血管再生因子在骨骼肌损伤修复过程中可能发挥的作用。

方法:40只雄性C57小鼠随机分为对照组(C组,n=8)和损伤组(S组,n=32)。骨骼肌钝挫伤后0d,1d,3d,7d,14d取右侧腓肠肌用于HE染色,左侧腓肠肌进行荧光定量PCR检测肌再生调节因子(MyoD, myogenin, IGF-1, MGF, HGF, uPA, Myostain, GDF11, LIF)和血管再生因子(HIF-1 α , Angpt-1, VEGF)mRNA表达变化。

结果:①骨骼肌钝挫伤后第3天有少量再生肌纤维,第7天显著增加,第14天基本恢复正常。②与对照组相比,肌再生调节因子(MyoD, myogenin, IGF-1, MGF, HGF, uPA, GDF11, LIF)mRNA在损伤后表达显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),Myostain mRNA在损伤后表达显著降低($P < 0.01$)。③血管再生因子(HIF-1 α , Angpt1)mRNA在损伤后表达显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)而VEGF mRNA在损伤后表达显著降低($P < 0.05$)。

结论:骨骼肌钝挫伤后多种肌再生调节因子表达上调,可能促进骨骼肌再生。血管再生因子(HIF-1 α 和Angpt1)表达上调,可能参与了骨骼肌损伤后血管再生以及骨骼肌再生。

关键词 骨骼肌;损伤;修复;肌再生调节因子;血管再生因子

中图分类号:R685.4,R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2016)-12-1294-007

Expression of muscle regeneration regulatory factors and angiogenesis factors in skeletal muscle injury and repair/LIU Xiaoguang, ZHAO Linlin, ZENG Zhigang, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2016, 31(12): 1294—1300

Abstract

Objective: To confirm the roles of muscle regeneration regulatory factors and angiogenesis factors over skeletal muscle injury and repair process by investigating the changes of muscle regeneration regulatory factors and angiogenesis factors after injury.

Method: Forty C57 male mice were divided into control group (C, n=8) and muscle contusion group (S, n=32). Subsequently, their gastrocnemius muscles were harvested at 0d, 1d, 3d, 7d, 14d after injury. HE stain were used to assess the changes of muscle morphology. In addition, the gene expression of regeneration regulatory factors and angiogenesis factors was analyzed by real-time polymerase chain reaction.

Result: ①Morphology of skeletal muscles showed signs of regeneration at 3d post injury. The maximum amount of regeneration muscle fibers appeared at one week post contusion. Two weeks post-injury morphology of myofibers nearly recovered to normal. ②After injury, compared with group C, the regulatory factors for muscle regeneration (MyoD, myogenin, IGF-1, MGF, HGF, uPA, GDF11, LIF) mRNA increased significantly

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2016.12.001

*基金项目:国家自然科学基金项目(31300975;31271273);教育部博士点基金项目(20133156120004);运动健身科技省部共建教育部重点实验室(上海体育学院)资助项目

1 上海体育学院运动科学学院,上海,200438; 2 井冈山大学体育学院; 3 通讯作者

作者简介:刘晓光,男,硕士研究生; 收稿日期:2016-04-15

($P < 0.05$ or $P < 0.01$), the Myostatin mRNA reduced significantly ($P < 0.01$). ③The data showed that the expression of angiogenesis factors (HIF-1 α , Angpt1) mRNA increased significantly after muscle contusion ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), while VEGF mRNA significant reduced post injury ($P < 0.05$).

Conclusion: The expression regulatory factors for muscle regeneration up regulated after muscle contusion, may play important role in skeletal muscle regeneration. Angiogenesis factors up regulated also after muscle contusion, it may involve in muscle angiogenesis and regeneration.

Author's address School of Kinesiology, Shanghai University of Sport, Shanghai, 200438

Key word skeletal muscle; injury; regeneration; regulatory factors; angiogenesis factors

骨骼肌损伤是常见的软组织损伤,其修复过程复杂,需多种细胞因子、炎症因子和肌再生调节因子的协调配合。肌再生调节因子^[1]和血管再生因子^[2]在骨骼肌损伤修复过程中发挥重要作用,但目前缺乏骨骼肌钝挫伤后肌再生调节因子和血管再生因子表达规律的研究。因此,我们建立骨骼肌钝挫伤模型,探究骨骼肌钝挫伤后不同时间点肌再生调节因子,如MyoD, myogenin, 胰岛素样生长因子1 (insulin-like growth factors-1, IGF-1), 机械生长因子 (mechano growth factor, MGF), 肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF), 尿激酶型纤溶酶原激活物 (urokinase plasminogen activator, uPA), 白血病抑制因子 (leukemia inhibitory factor, LIF), 肌肉生长抑制素 (myostatin), 生长分化因子 11 (growth differentiation factor, GDF11), 以及与肌再生相关血管再生因子, 如低氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α), 血管生成素 1 (angiopoietin-1, Ang-1), 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) mRNA 的表达规律, 以深入了解骨骼肌损伤再生机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物和分组: 8—10 周龄 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠 40 只, 体重 18.2—22.9g, 购自第二军医大学实验动物中心, SYXK(沪)2013-0016。随机选取 8 只作为正常对照组(C组), 余下进行骨骼肌钝挫伤, 分为伤后 1d、3d、7d、14d 组。

1.1.2 骨骼肌钝挫伤模型: 采用一简便可重复的骨骼肌钝挫伤造模方法^[3], 略有改动。小鼠行 2.5% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后, 固定于膝关节伸直 0°, 踝关节背伸 90° 位, 一质量 16.8g, 直径 15.9mm 的实

心不锈钢钢珠置于一透明管道顶端(高 125cm, 内径 16.0mm) 释放后垂直击中一打击装置, 打击装置底端撞击小鼠双侧腓肠肌肌腹中段(打击面积 28.26mm²) 通过这种钝挫伤造模方法, 打击部位会产生较严重血肿, 随后发生大面积的骨骼肌再生, 修复过程和人类骨骼肌钝挫伤后相似。

1.1.3 动物取材: 钝挫伤后小鼠在不同时间点(1d, 3d, 7d, 14d) 取材, 小鼠麻醉下颈椎脱位致死, 迅速取双侧受损腓肠肌, 对照组取相同部位腓肠肌, 其中每组右侧腓肠肌制作石蜡标本行组织形态学检测, 左侧腓肠肌进行荧光定量 PCR 检测(n=8)。

1.2 实验方法

1.2.1 骨骼肌组织 HE 染色: 骨骼肌经 4% 多聚甲醛固定后, 石蜡包埋, 横切 3—4 μ m 厚的连续薄片, 脱蜡后进行 HE 染色, 中性树胶封片。20 倍物镜下观察并计算 3d, 7d, 14d (随机挑选 3 个视野) 再生肌纤维占总肌纤维的比例, 评定骨骼肌损伤后再生情况。

1.2.2 RNA 抽提和 cDNA 合成: 在腓肠肌肌腹中点处剪取约 60mg 组织, 剪碎后机械超声, 用异硫氰酸胍—氯仿经典法抽提总 RNA。测 OD 值, OD₂₆₀/OD₂₈₀ 为 1.8—2.0 的样品可用。用 Fermentas 公司第一链 cDNA 合成试剂盒在梯度 PCR 仪 (Mastercycler EP, 德国 Eppendorf 公司) 进行反转录。反应过程中的温度控制是 25 $^{\circ}$ C 5min, 42 $^{\circ}$ C 60min, 70 $^{\circ}$ C 5min, 然后温度降低到 4 $^{\circ}$ C, cDNA 既合成完成。合成的 cDNA 储存在 -20 $^{\circ}$ C 备用。

1.2.3 荧光定量 PCR: 荧光定量 PCR 反应体系包括 12.5 μ l 2 \times Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master mix (Thermo Scientific), 1 μ l cDNA, 无核酸酶水和 300nM 的上下游引物。引物来自文献或生工生物工程(上海)股份有限公司合成, 见表 1。使用荧光定量 PCR 仪 (ABI SteponePlus Real Time

表1 荧光定量PCR引物一览表

基因	上游引物序列	下游引物序列
MyoD	5'-GAGCGCATCTCCACAGACAG-3'	5'-AAATCGCATTGGGGTTTGAG-3'
Myogenin	5'-CCAGTACATTGAGCGCCTAC-3'	5'-ACCGAACTCCAGTGCATTGC-3'
HGF	5'-AGGAACAGGGGCTTTACGTT-3'	5'-GCTGCCTCCTTTACCAATGA-3'
uPA	5'-AGTGTGGCCAGAAGGCTCTA-3'	5'-GCTGCTCCACCTCAAACCTTC-3'
IGF-I	5'-GCTTGCTCACCTTTACCAGC-3'	5'-AAATGTACTTCCTTCTGGGTCT-3'
MGF	5'-GCTTGCTCACCTTTACCAGC-3'	5'-AAATGTACTTCCTTCTCTTC-3'
LIF	5'-GGGATTGTGCCCTTACTGCT-3'	5'-ATGAAGAGAGCATTGGCGCT-3'
Myostain	5'-TGCAAAAATGGCTCAAACAG-3'	5'-GCAGTCAAGCCAAAAGTCTC-3'
GDF11	5'-ATCAGCCGGGAGGTAGTGAA-3'	5'-GTGGTAGCGTGGTACTCGTC-3'
HIF-1 α	5'-GGCGAGAACGAGAAGAAAAAGATGA-3'	5'-GCTCACATTGTGGGGAAGTGG-3'
Angpt1	5'-AACCGGATTCAACATGGGCA-3'	5'-GAGCGTTGGTGTGTACTGC-3'
VEGF	5'-TAACAGTGAAGCCCTGGAGTG-3'	5'-TTTGACCCTTCCCTTCTCG-3'
GAPDH	5'-ACTCCACTCACGGCAAATTC-3'	5'-TCTCCATGGTGGTGAAGACA-3'

PCR System7500, USA)进行扩增。反应条件为:预变性 95℃ 10min, 95℃变性 15s 40个循环, 60℃ 1min 退火/延伸。通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算所测样本 mRNA 的相对含量^[4]。

1.3 统计学分析

实验数据采用 SPSS 20.0 软件处理, 结果以均数±标准差表示。应用单因素 ANOVA 和 Bonferroni 事后检验进行统计学分析。

2 结果

2.1 损伤骨骼肌形态学变化

见图1。HE染色结果显示, 对照组骨骼肌肌纤维呈多边形, 形态规则, 紧密排列, 横纹清晰可见, 胞质呈粉红色, 细胞核分布在肌膜下, 呈圆形或卵圆形, 肌膜完整性较好, 无出血、坏死及炎性细胞浸润。骨骼肌损伤后第1天可见坏死肌纤维肿胀、肥大, 有多核炎性细胞浸润, 而损伤后第3天, 肌细胞变性坏死、胞核消失, 炎性细胞浸润进一步增加, 出现部分少量有中央核肌纤维。在损伤后第7天, 中央核肌纤维数量增加, 炎性细胞数量明显减小。损伤后第14天, 具有中央核肌纤维数量较少但仍可见, 提示损伤骨骼肌已完成部分修复。而且和骨骼肌损伤后第3天相比, 骨骼肌损伤后第7天 ($P < 0.01$) 和14天 ($P < 0.05$) 再生肌纤维占总肌纤维的比例, 均显著升高。

2.2 肌卫星细胞增殖与分化标志物的表达

荧光定量PCR分析显示, 骨骼肌损伤后第1天, MyoD(肌卫星细胞增殖标志)mRNA 显著增加 ($P <$

0.01), Myogenin(肌卫星细胞分化标志)mRNA 在骨骼肌损伤后第3天表达量显著增加 ($P < 0.01$), 但和 myogenin 相比 MyoD 在损伤后表达占优势。见图2, 表2。

2.3 骨骼肌挫伤后肌再生调节因子的表达

IGF-1 mRNA 在骨骼肌损伤后第1天, 第3天显著增加 ($P < 0.05$)。而 IGF-1 变异体 MGF mRNA 在损伤后第3天显著增加并达到峰值, 但在第7天仍显著高于对照组 ($P < 0.05$)。HGF mRNA 表达和 IGF-1 相似, 在损伤后第3天显著增加并达到峰值, 而 uPA mRNA 在骨骼肌损伤后第1天, 第3天均显著增加 ($P < 0.05$), 但相对于 HGF 和 LIF 相比变化幅度较小。Myostain mRNA 在骨骼肌损伤后第7天, 第14天显著降低 ($P < 0.01$)。而 GDF11 mRNA 在损伤后第1天显著增加并达到峰值。LIF mRNA 的表达和以上因子表达都不同, 出现两次表达变化, 损伤后第1天表达升高然后在第3天表达量又降低, 但无显著变化, 直到损伤后第7天表达量显著增加 ($P < 0.01$)。见图2, 表2。

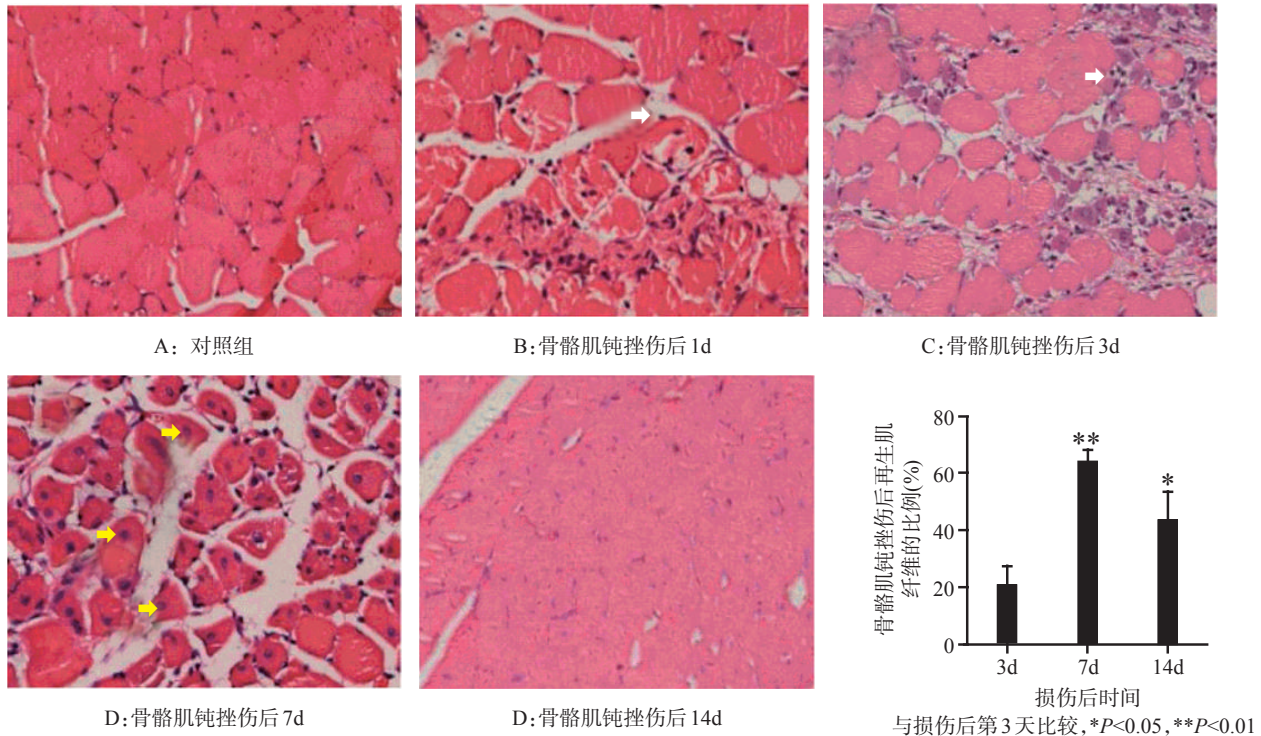
2.4 骨骼肌挫伤后血管再生因子的表达

荧光定量PCR研究发现, 骨骼肌损伤后第1天, 第3天, 第7天 HIF-1 α 表达显著高于对照组, Ang-1 mRNA 在损伤后第3天显著增加, 第7天达到峰值, VEGF mRNA 在损伤后第1天表达下降, 第3天表达增加但和对照组相比没有显著差异, 第7天显著降低, 但相对于其他两个血管再生因子表达变化幅度较小。见图2, 表3。

2.5 肌再生调节因子和血管再生因子与再生肌纤

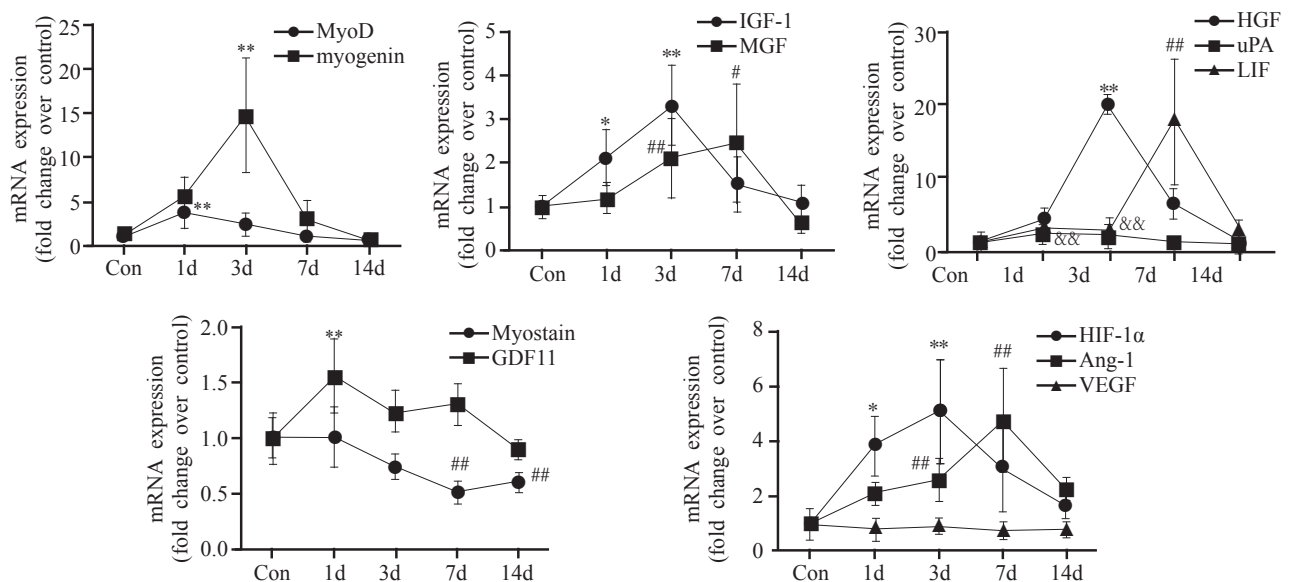
图1 小鼠腓肠肌再生肌纤维情况

(HE染色,×400)



白色箭头表示炎性细胞,黄色箭头表示再生肌纤维

图2 骨骼肌损伤修复过程中肌再生调节因子和血管再生因子mRNA表达变化



与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; & $P < 0.05$, && $P < 0.01$

维的相互关系

为了探究肌再生因子和血管再生因子在骨骼肌损伤修复中可能发挥的作用,我们通过皮尔逊相关分析,分析肌再生因子和血管再生因子与再生肌纤维

维的相关性。结果发现,再生肌纤维和肌再生因子(myogenin, IGF-1, HGF, Myostain)以及血管再生因子(Ang-1)有显著相关性。见表4。

表2 骨骼肌钝挫伤后肌再生相关因子mRNA相对表达变化

组别	MyoD	myogenin	IGF-1	MGF	HGF	uPA	LIF	Myostain	GDF11
对照组	1.00±0.58	1.00±0.43	1.00±0.26	1.00±0.13	1.00±0.21	1.00±0.30	1.00±0.64	1.00±0.18	1.00±0.22
损伤1d组	3.86±1.62 ^②	5.62±2.20	2.13±0.65 ^①	1.19±0.36	4.18±2.48	2.40±0.61 ^②	2.89±0.76	1.01±0.28	1.56±0.34 ^①
损伤3d组	2.47±1.36	14.77±6.63 ^②	3.29±0.98 ^②	1.90±0.64 ^②	19.75±9.27 ^②	2.09±0.87 ^②	2.85±1.46	0.74±0.11	1.24±0.19
损伤7d组	1.15±0.32	2.96±2.32	1.52±0.65	1.70±0.60 ^①	6.28±3.44	1.13±0.57	17.98±7.63 ^②	0.51±0.10 ^②	1.31±0.17
损伤14d组	0.60±0.13	0.60±0.16	1.09±0.41	0.56±0.16	1.48±0.61	0.67±0.22	2.95±1.52	0.60±0.07 ^②	0.90±0.09

与对照组相比:①P<0.05;②P<0.01

表3 骨骼肌钝挫伤后血管再生因子mRNA相对表达变化

组别	HIF-1α	Ang-1	VEGF
对照组	1.00±0.25	1.00±0.45	1.00±0.20
损伤1d组	3.82±1.08 ^①	2.11±0.30	0.82±0.11
损伤3d组	5.09±1.87 ^②	2.59±0.78 ^①	0.90±0.14
损伤7d组	3.01±1.55 ^①	4.79±1.88 ^②	0.76±0.15 ^①
损伤14d组	1.63±0.24	2.22±0.41	0.80±0.11

与对照组相比:①P<0.05;②P<0.01

表4 肌再生调节因子和血管再生因子mRNA相对表达量与再生肌纤维比例的相关关系

肌再生及血管再生因子	再生肌纤维比例	
	r	P
MyoD	0.453	0.221
Myogenin	0.761	0.017 ^①
IGF-1	0.808	0.008 ^②
MGF	0.072	0.855
HGF	0.703	0.035 ^①
uPA	0.414	0.268
LIF	0.404	0.090
Myostain	0.804	0.009 ^②
GDF11	0.070	0.859
HIF-1α	0.610	0.081
Ang-1	0.758	0.018 ^①
VEGF	0.470	0.202

①在0.05水平上显著相关;②在0.01水平上显著相关

3 讨论

3.1 骨骼肌钝挫伤模型的建立

骨骼肌损伤修复过程通常包括三个阶段:损伤炎症期、修复期和组织塑形期,这三个阶段是紧密相连,有相互重叠部分,又各有特点^[2]。本实验用16.8g钢珠自125cm自由落下,打击腓肠肌中部,动能为0.21J,打击面积为28.26mm²。小鼠腓肠肌钝挫伤后,可见打击部位隆起,肿胀,血肿形成。HE染色显示,

骨骼肌损伤后第1天,可见肌纤维和毛细血管超微结构被破坏,提示骨骼肌损伤形成。骨骼肌损伤后第3天,可见坏死的肌纤维被部分清除,并出现大量新生肌纤维,至损伤后第14天,逐渐融合成多核肌小管,最终转变成成熟肌纤维。此结果证实,模型的建立是成功的。

3.2 损伤骨骼肌中肌再生调节因子的作用

骨骼肌损伤后具有较强的自我修复能力且主要依赖于肌卫星细胞^[5]。通常将MyoD作为肌卫星细胞增殖标志,将myogenin作为肌卫星细胞分化标志^[6]。和其他损伤模型相似,本实验发现,骨骼肌损伤后第1天肌卫星细胞增殖阶段,MyoD表达量显著增加,骨骼肌损伤后第3天肌卫星细胞分化阶段myogenin表达量显著增加。因此,MyoD作为生肌调节因子可能参与卫星细胞激活,而myogenin可能参与肌卫星细胞分化^[7]。

研究表明,IGF-1和其异构体MGF在骨骼肌损伤修复过程中发挥重要作用,MGF和IGF-1均可促进成肌细胞增殖,有促进骨骼肌质量增加的潜能^[8]。Hill等^[9]发现,骨骼肌损伤后IGF-1和MGF mRNA表达显著增加,且MGF mRNA表达早于IGF-1的表达。骨骼肌损伤后MGF可能参与肌卫星细胞激活,而IGF-1可能与蛋白质合成有关^[9]。本实验中,IGF-1和MGF mRNA在骨骼肌钝挫伤后均显著增加,而MGF mRNA并未较IGF-1先表达,但MGF mRNA在骨骼肌损伤后第7天和对照组相比仍显著较高,同时,相关分析发现IGF-1和再生肌纤维具有较强的相关性。因此笔者认为,骨骼肌损伤后IGF-

1和MGF均可能参与骨骼肌损伤修复,但其具体作用还需进一步研究。

HGF是参与骨骼肌损伤修复的重要因子,外源性注射HGF到损伤肌肉中,可激活静息状态下的肌卫星细胞,促进成肌细胞增殖^[10]。同时,骨骼肌损伤后uPA与HGF活性有关。uPA敲除鼠和野生鼠相比,骨骼肌损伤后HGF和c-met活化水平显著降低,成肌细胞增殖及骨骼肌损伤修复能力受损,而外源性补充uPA可恢复损伤骨骼肌HGF水平,促进骨骼肌损伤修复^[11]。本实验RT-PCR数据显示,骨骼肌损伤后第1天uPA mRNA表达量显著增加并达到峰值,而HGF mRNA在损伤后第3天才达到峰值,提示uPA可能参与HGF活性的调节。

Myostatin(GDF8)属于TGF β 超家族中的一员,对骨骼肌生长和再生起负向调节作用,敲除GDF8基因促进骨骼肌肥大,外源性补充GDF8则抑制骨骼肌生长及损伤后再生^[12]。本实验发现,在骨骼肌损伤后再生阶段(第7天—第14天),GDF8 mRNA表达量显著低于对照组,且相关性分析发现GDF8和再生肌纤维有强相关性。提示GDF8可能参与骨骼肌损伤后再生的调控。和GDF8一样,GDF11也属于TGF β 超家族中的一员,且二者在羧基末端有90%的氨基酸序列相同^[13],但其功能却有所不同。如Sinha等^[14]发现,恢复老年小鼠机体GDF11水平可以逆转因增龄引起的骨骼肌功能紊乱,外源性补充GDF11可提高肌卫星细胞数量以及DNA完整性,促进老龄鼠损伤骨骼肌再生^[14]。但也有研究认为GDF11和GDF8作用相似,可抑制损伤骨骼肌再生^[15]。骨骼肌损伤特别是骨骼肌钝挫伤后内源性GDF11是如何变化却鲜有研究,本实验发现,内源性GDF11 mRNA在骨骼肌损伤后表达显著增加,提示其可能参与骨骼肌损伤后再生的调节,但其在骨骼肌损伤修复过程中究竟发挥何种作用,还需进一步研究。

LIF是一种肌肉因子在骨骼肌损伤和运动后高丰度表达,敲除LIF基因的小鼠骨骼肌损伤后修复能力受损,外源性补充重组LIF又可促进骨骼肌损伤后再生^[16]。本实验中,LIF mRNA在骨骼肌损伤后第7天高丰度表达,此时HE染色显示有大量再生肌纤维出现,提示LIF可能在骨骼肌再生过程中发

挥重要作用。

3.3 损伤骨骼肌中血管再生因子的作用

HIF-1 α 是低氧环境诱导产生的关键因子,不仅可促进血管发生,且在骨骼肌损伤修复过程中发挥重要作用。敲除C2C12成肌细胞HIF-1 α 可抑制成肌细胞分化^[17],敲除小鼠HIF-1 α 可抑制骨骼肌正常发育^[18]以及损伤后修复^[19]。和其他损伤模型相似,本实验中发现,小鼠腓肠肌钝挫伤后HIF-1 α 也显著上调表达,提示HIF-1 α 可能在骨骼肌损伤后再生过程中发挥重要作用。

在缺氧条件下,VEGF,能被HIF-1 α 诱导而转录激活^[20]。骨骼肌急性损伤后,外源性补充VEGF可减少结缔组织面积,增加再生肌纤维相对数量,促进骨骼肌损伤后力量恢复^[21]。本实验发现,骨骼肌损伤后第7天VEGF mRNA表达显著降低。此结果和Mofarrah等^[2]研究相似,他们用心脏毒素损伤胫骨前肌,发现损伤后第1天和第3天VEGF表达量显著低于对照组。

Ang-1不仅是一种促血管再生因子,还是一种生肌因子。骨骼肌损伤后,向心脏毒素诱导损伤的胫骨前肌注射腺病毒转染的Ang-1,能显著提高损伤骨骼肌收缩力量,提高再生肌纤维比例以及毛细血管密度^[2],在体外实验中Ang-1可促进成肌细胞增殖、迁移和分化^[22]以及肌卫星细胞的自我更新^[23]。和其他损伤模型相似^[2],骨骼肌钝挫伤后Ang-1 mRNA表达显著增加,提示Ang-1可能在骨骼肌损伤修复过程中对血管再生以及肌再生发挥重要作用。以上研究说明,肌再生因子和血管再生因子在骨骼肌损伤修复中可能发挥重要作用,但在本研究中,时间点的选择相对较少,未对这些因子蛋白表达进行半定量分析以及免疫组化分析。

综上所述,骨骼肌钝挫伤后,多种肌再生调节因子(IGF-1, MGF, HGF, uPA, Myostatin, GDF11, LIF)表达上调,可能促进骨骼肌再生,血管再生因子(HIF-1 α 和Angpt1)表达也出现上调,可能参与了损伤骨骼肌中血管再生以及骨骼肌再生。

参考文献

- [1] Tidball JG. Mechanisms of muscle injury, repair, and regeneration[J]. Compr Physiol, 2011, 1(4):2029—2062.

- [2] Mofarrah M, McClung JM, Kontos CD, et al. Angiopoietin-1 enhances skeletal muscle regeneration in mice[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2015, 308(7):R576—589.
- [3] Wright-Carpenter T, Opolon P, Appell HJ, et al. Treatment of muscle injuries by local administration of autologous conditioned serum: animal experiments using a muscle contusion model[J]. *Int J Sports Med*, 2004, 25(8):582—587.
- [4] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method[J]. *Methods*, 2001, 25(4):402—408.
- [5] 刘晓光,肖卫华,赵淋淋,等.间充质干细胞移植治疗骨骼肌损伤的研究进展[J].*中国康复医学杂志*,2015,(12):1313—1317.
- [6] Cornelison DD, Wold BJ. Single-cell analysis of regulatory gene expression in quiescent and activated mouse skeletal muscle satellite cells[J]. *Dev Biol*, 1997, 191(2):270—283.
- [7] Xiao W, Liu Y, Luo B, et al. Time-dependent gene expression analysis after mouse skeletal muscle contusion [J]. *Journal of Sport and Health Science*, 2016,5(1):101—108.
- [8] 肖卫华,陈佩杰,刘宇.巨噬细胞在骨骼肌急性损伤修复中的作用研究进展[J].*中国运动医学杂志*,2014,(03):269—274.
- [9] Hill M, Wernig A, Goldspink G. Muscle satellite (stem) cell activation during local tissue injury and repair[J]. *J Anat*, 2003, 203(1):89—99.
- [10] Grasman JM, Do DM, Page RL, et al. Rapid release of growth factors regenerates force output in volumetric muscle loss injuries[J]. *Biomaterials*, 2015, (72):49—60.
- [11] Sisson TH, Nguyen MH, Yu B, et al. Urokinase-type plasminogen activator increases hepatocyte growth factor activity required for skeletal muscle regeneration[J]. *Blood*, 2009, 114(24):5052—5061.
- [12] Wagner KR. Muscle regeneration through myostatin inhibition[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2005, 17(6):720—724.
- [13] 刘晓光,赵淋淋,田向阳,等.生长分化因子 11 在延缓衰老中的作用[J].*中国老年学杂志*,2015,(17):5016—5019.
- [14] Sinha M, Jang YC, Oh J, et al. Restoring systemic GDF11 levels reverses age-related dysfunction in mouse skeletal muscle[J]. *Science*, 2014, 344(6184):649—652.
- [15] Egerman MA, Cadena SM, Gilbert JA, et al. GDF11 Increases with Age and Inhibits Skeletal Muscle Regeneration [J]. *Cell Metab*, 2015, 22(1):164—174.
- [16] 刘晓光,赵淋淋,陈佩杰,等.白血病抑制因子在骨骼肌损伤与肥大中的作用及其机制[J].*生命的化学*,2016,36(02):198—202.
- [17] Ono Y, Sensui H, Sakamoto Y, et al. Knockdown of hypoxia-inducible factor-1alpha by siRNA inhibits C2C12 myoblast differentiation[J]. *J Cell Biochem*, 2006, 98(3):642—649.
- [18] Wagatsuma A, Kotake N, Yamada S. Spatial and temporal expression of hypoxia-inducible factor-1 α during myogenesis in vivo and in vitro[J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 347(1—2):145—155.
- [19] Scheerer N, Dehne N, Stockmann C, et al. Myeloid hypoxia-inducible factor-1 α is essential for skeletal muscle regeneration in mice[J]. *J Immunol*, 2013, 191(1):407—414.
- [20] Breen E, Tang K, Olfert M, et al. Skeletal muscle capillarity during hypoxia: VEGF and its activation[J]. *High Alt Med Biol*, 2008, 9(2):158—166.
- [21] Frey SP, Jansen H, Raschke MJ, et al. VEGF improves skeletal muscle regeneration after acute trauma and reconstruction of the limb in a rabbit model[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2012, 470(12):3607—3614.
- [22] Lee EH, Woo JS, Hwang JH, et al. Angiopoietin 1 enhances the proliferation and differentiation of skeletal myoblasts [J]. *J Cell Physiol*, 2013, 228(5):1038—1044.
- [23] Abou-Khalil R, Le Grand F, Pallafacchina G, et al. Autocrine and paracrine angiopoietin 1/Tie-2 signaling promotes muscle satellite cell self-renewal[J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 5(3):298—309.