

读 书 报 告



汇报人：米佳丽



日期：2019年12月1日



ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](http://www.sciencedirect.com)

Biochemical and Biophysical Research Communications

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ybbrc



Catechins activate muscle stem cells by Myf5 induction and stimulate muscle regeneration



A Rum Kim ^a, Kyung Min Kim ^a, Mi Ran Byun ^a, Jun-Ha Hwang ^a, Jung Il Park ^a,
Ho Taek Oh ^a, Hyo Kyeong Kim ^b, Mi Gyeong Jeong ^b, Eun Sook Hwang ^b,
Jeong-Ho Hong ^{a, *}

儿茶素通过Myf5诱导激活肌肉干细胞，促进肌肉再生



目录

CONTENTS

1

研究背景

2

研究内容

3

结论与讨论

4

收获与思考



研究背景

- 儿茶素是什么?
- 骨骼肌减少症
- 什么肌卫星细胞
- 肌源性调节因子

儿茶素 Catechins



是从茶叶等天然植物中
提取出来的一类酚类活
性物质。



是茶叶中主要的抗
氧化多酚。



包括四种主要的表
儿茶素衍生物。

儿茶素 Catechins

■ 表儿茶素

epicatechin, EC

表儿茶素没食子酸酯 ■

epicatechin gallate, ECG



■ 表没食子儿茶素

epigallocatechin, EGC

表没食子儿茶素没食子酸酯 ■

epigallocatechin gallate, EGCG

茶中含量丰富的多酚成分



儿茶素的作用



骨骼肌减少症是由于衰老而导致骨骼肌质量和力量的丧失。肌量减少和肌肉萎缩导致肌肉功能缺陷，从而使运动受限。据报道，**绿茶提取物可减轻肌肉的损耗，维持肌肉功能**，EGCG和ECG是茶中含量丰富的儿茶素，能保护肌少症大鼠的肌肉功能，有效缓解小鼠骨骼肌萎缩。虽然儿茶素对骨骼肌减少症是存在有益作用的，但它们**对肌肉干细胞的增殖和分化的作用尚不清楚**。

肌生成相关综述

Seminars in Cell & Developmental Biology 72 (2017) 19–32

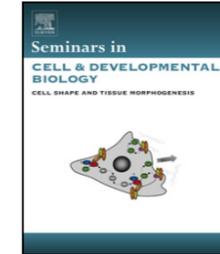


ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Seminars in Cell & Developmental Biology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/semcdb



Review

Function of the myogenic regulatory factors Myf5, MyoD, Myogenin and MRF4 in skeletal muscle, satellite cells and regenerative myogenesis

Peter S. Zammit



Muscle structure and the satellite cell niche

肌肉结构和肌卫星细胞

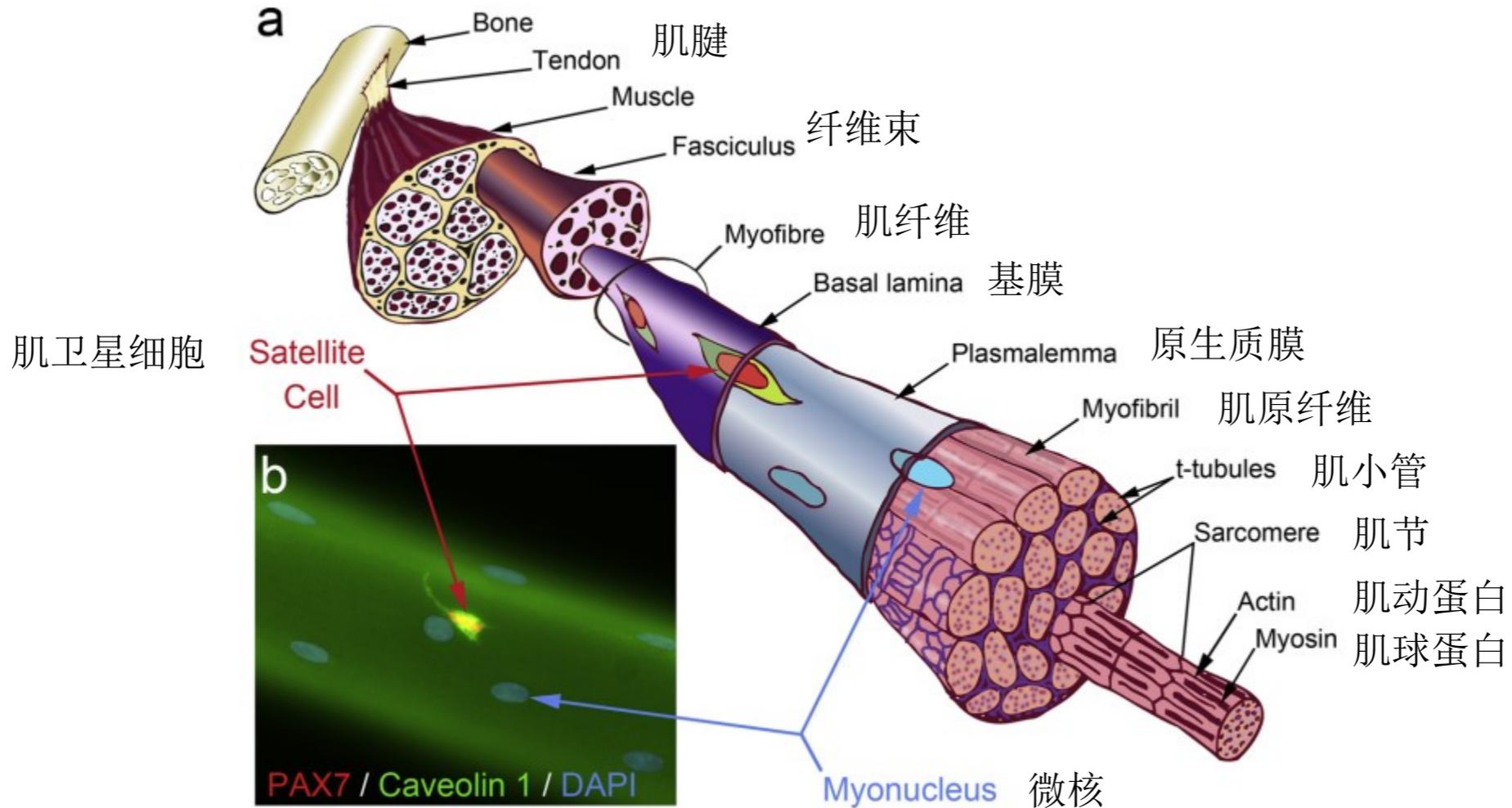
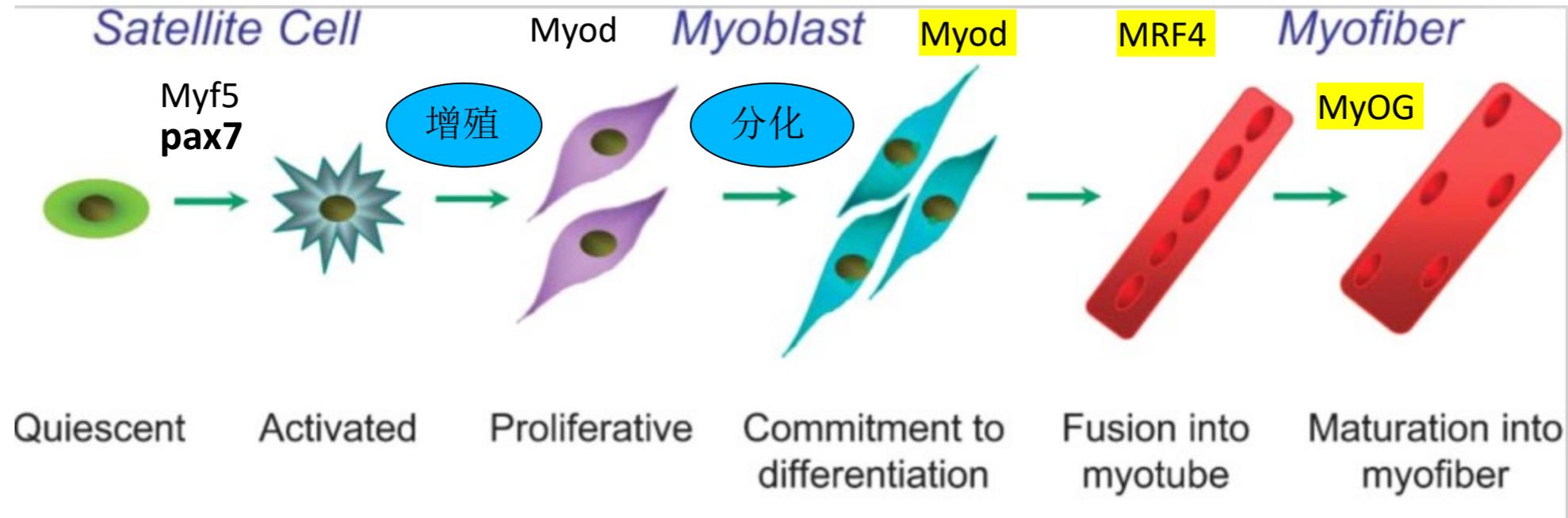


Fig. 1. Muscle structure and the satellite cell niche.

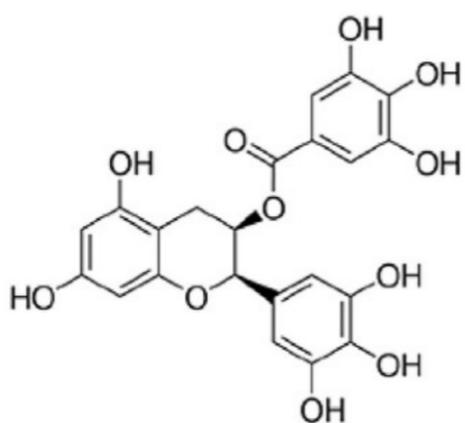
Schematic showing the structure of skeletal muscle. The satellite cell niche is on the plasmalemma of the myofibre, beneath the surrounding basal lamina (a). A quiescent murine satellite cell retained in its niche on a myofibre isolated from the *extensor digitorum longus* muscle of an adult mouse (b). The satellite cell has been co-immunolabelled for Caveolin 1 (b; green) and the transcription factor PAX7 (b; red-nuclear). DAPI counterstaining reveals the myonuclei of the myofibre.

肌卫星细胞 The satellite cell

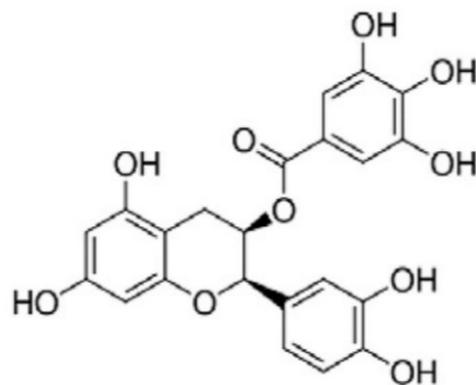


*MyOG*可迫使成肌细胞退出细胞周期，融合成多核肌纤维，在1989年研究就发现，*MyOG*是可以让成肌细胞发生肌源性分化的序列。

A



(-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)



(-)-Epicatechin gallate (ECG)



ECG和EGCG对肌卫星细胞是否有激活作用？能否促进肌源性分化，又是通过哪个通路进行的调节？





研究内容

- 技术路线
- 研究方法
- 研究成果

技术路线

In vitro

8W的雄性C57BL/6小鼠的每块胫骨前肌注射0.1mg/ml心脏毒素

3d后

肌卫星细胞培养

ECG
0、5、10、20 μ M

EGCG
0、5、10、20 μ M

ECG
20 μ M

检测Myf5、Pax7蛋白表达、mRNA表达水平

ECG和EGCG是否激活了肌卫星细胞

检测Akt、Erk1/2和p38 MAPK及其磷酸化特异性抗体的蛋白表达

PI3K/Akt信号通路

抑制剂+/-
LY294002

ECG+/ECG-
Myf5表达量

技术路线

In vitro

ECG诱导肌卫星细胞和C2C12细胞的肌源性分化

ECG

0、5、10、20 μ M ECG孵育
肌卫星细胞

ECG孵育5d
C2C12细胞

24h, 检测MHC,
Myogenin
的蛋白表达量。

肌源性分化开始6h后,
检测ECG+/ECG-的
Myogenin and *MCK* 的
表达水平

免疫荧光法
观察细胞分
化和多核肌
管形成

检测MHC,
Myogenin
的蛋白表达量

检测3d、5d的
Myogenin and *MCK*
的表达水平

免疫荧光法
观察细胞分
化和多核肌
管形成

技术路线

In vivo

8W的雄性C57BL/6小鼠的每块胫骨
前肌注射1mg/ml心脏毒素

2d后注射25mg/kg ECG
设空白对照

ECG

2d后注射25mg/kg EGCG
设空白对照

EGCG

注射后1d取肌肉组织

免疫荧光技术检测CD34
和Myf5

qRT-PCR
检测Myf5、
MyOD、
Pax7的表
达

检测Myf5、
Pax7的蛋
白表达量，
及其基因
的表达量。

组织
学分
析

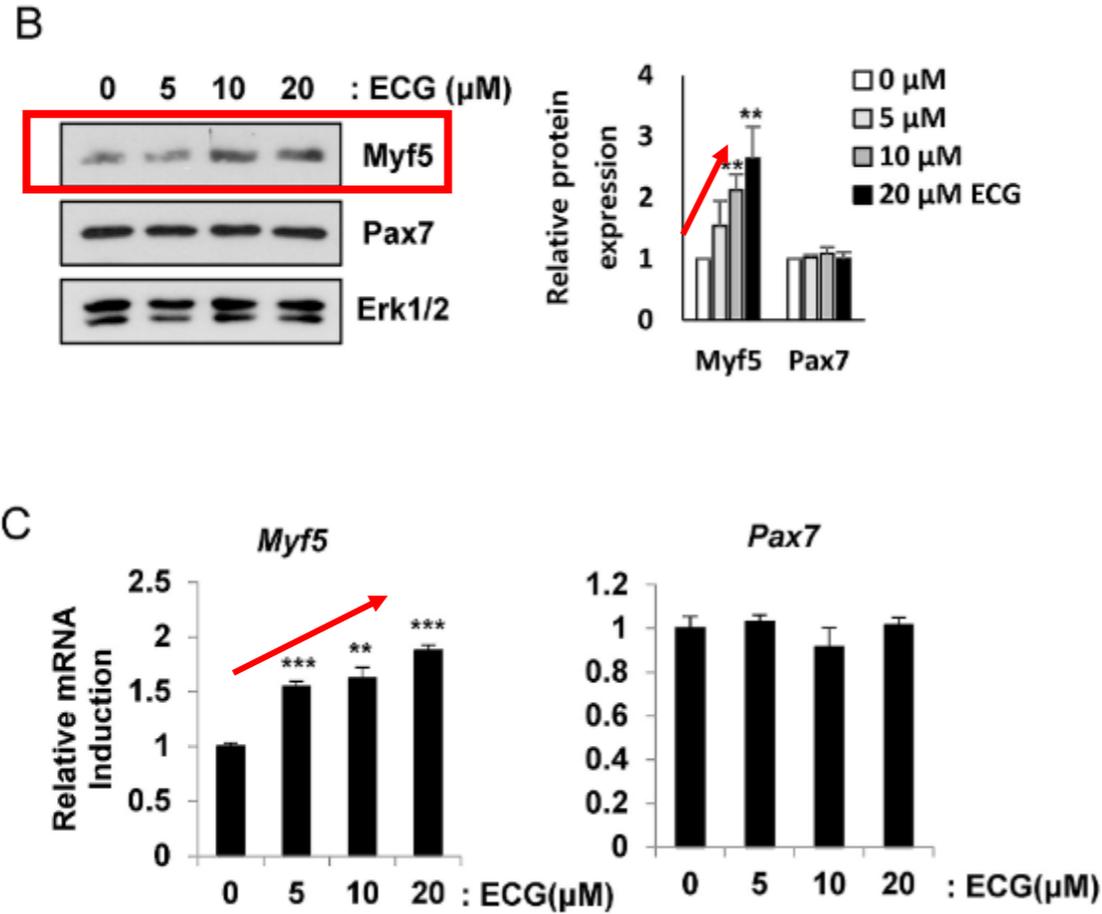
新肌纤
维大小
数量的
统计

ECG是否可在体内激活肌卫星细胞

EGCG是否可以修复受损肌肉

研究结果

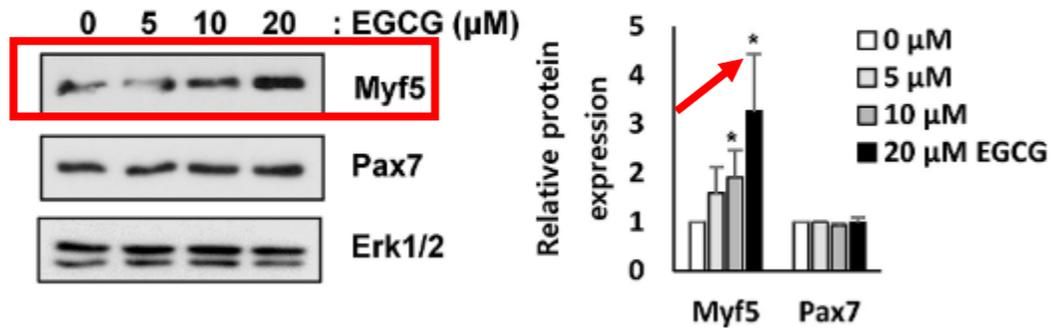
•3.1 EGCG和ECG在体外加速了卫星细胞的激活 (体外)



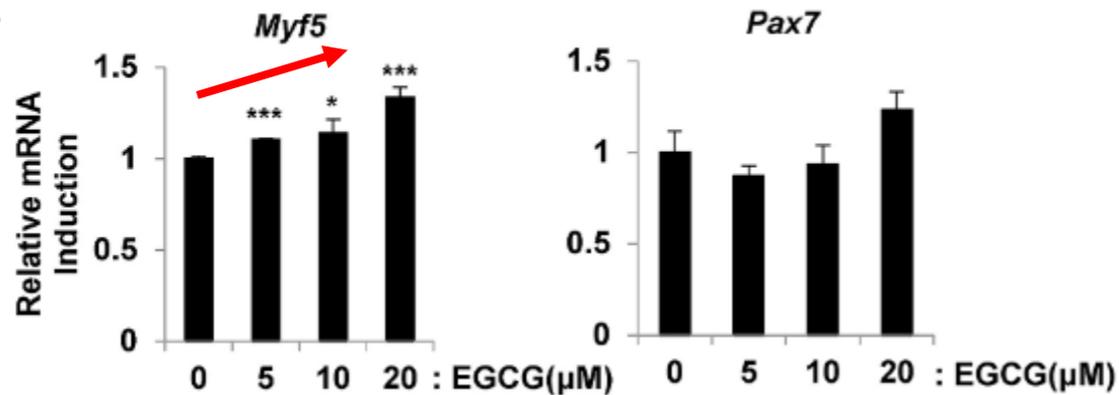
在ECG孵育24h后，我们使用Western blot观察到Myf5的蛋白表达量增加，而Pax7的表达没有显著改变；相对应的qRT-PCR结果显示，Myf5表达显著增加，Pax7表达没有改变，提示ECG未激活Pax7表达。

•3.1 EGCG和ECG在体外加速了卫星细胞的激活（体外）

D

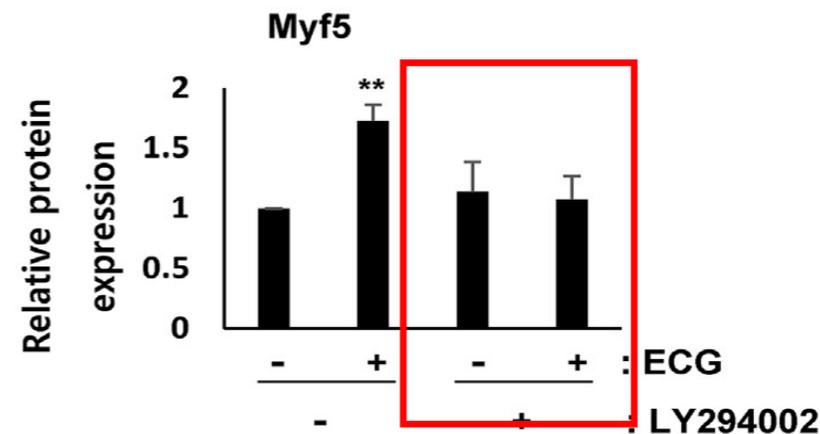
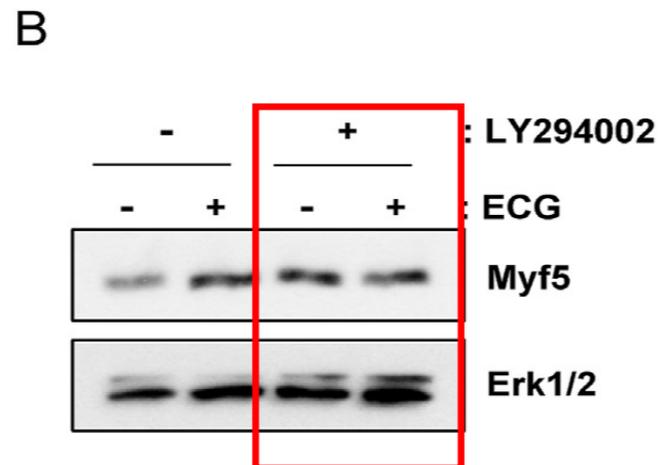
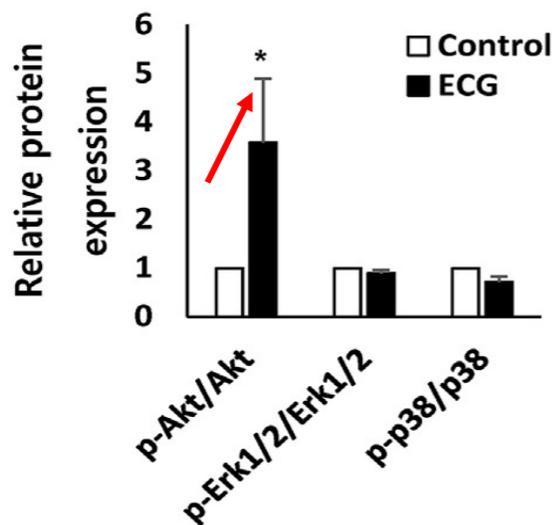
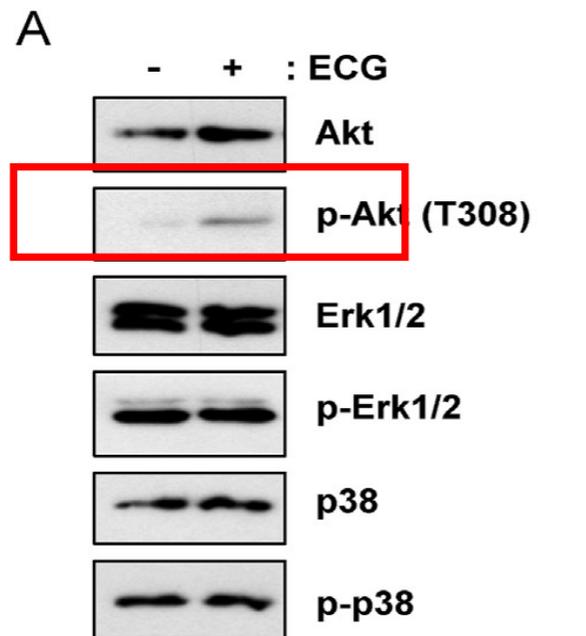


E

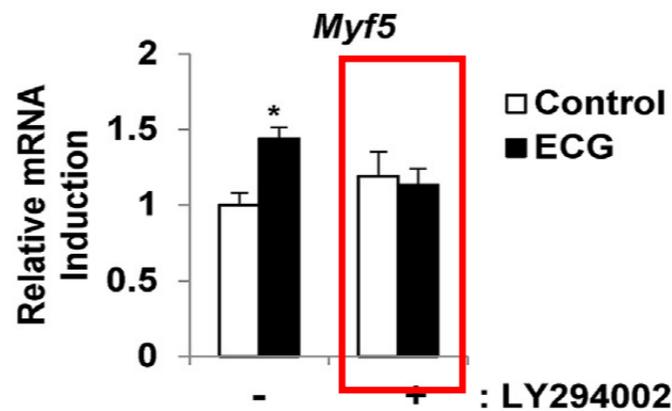


EGCG可以增加Myf5的表达，刺激Myf5基因的转录，但不会引起Pax7表达的显著改变。这与ECG处理后的卫星细胞活化方面结果也是类似的。结果表明儿茶素ECG和EGCG通过诱导Myf5激活了肌卫星细胞。

•3.2. ECG通过Akt激酶激活卫星细胞 (体外)



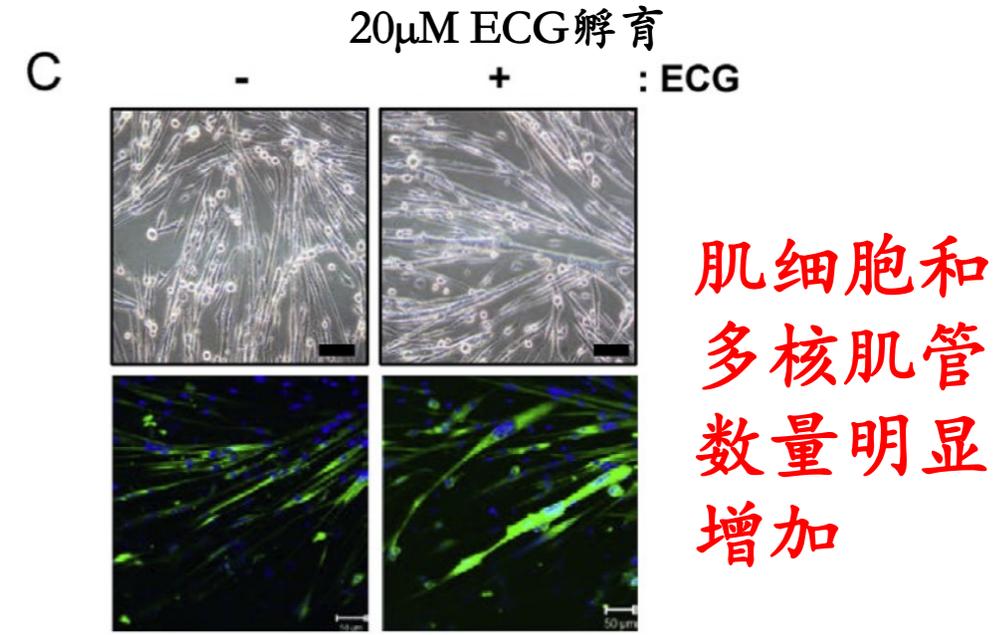
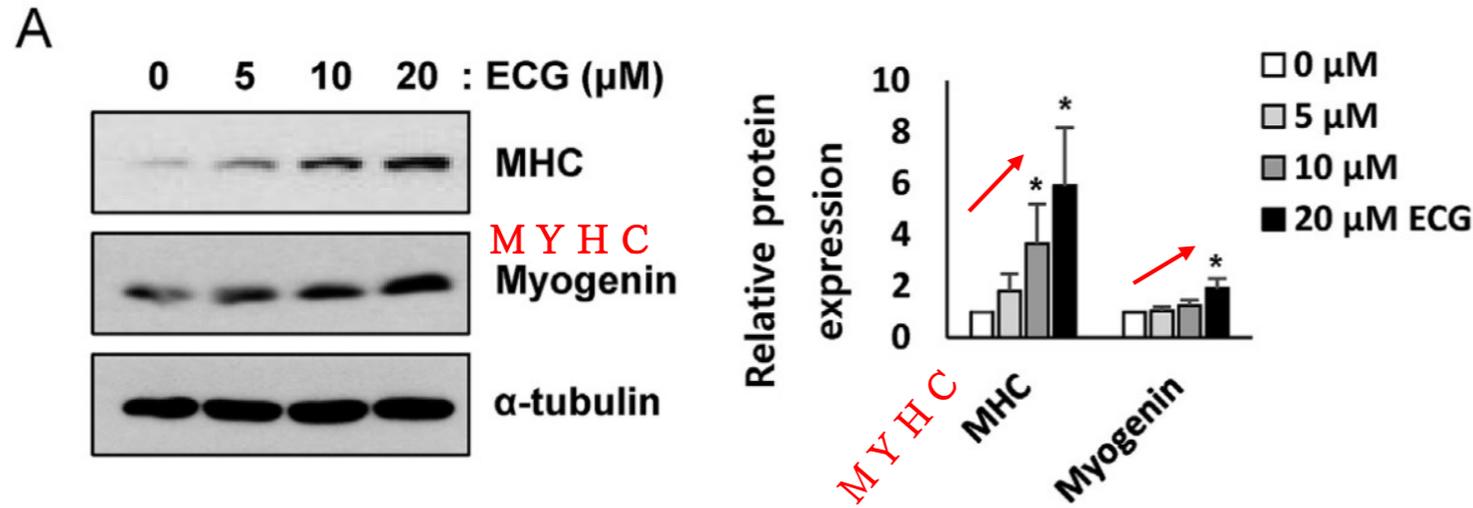
C



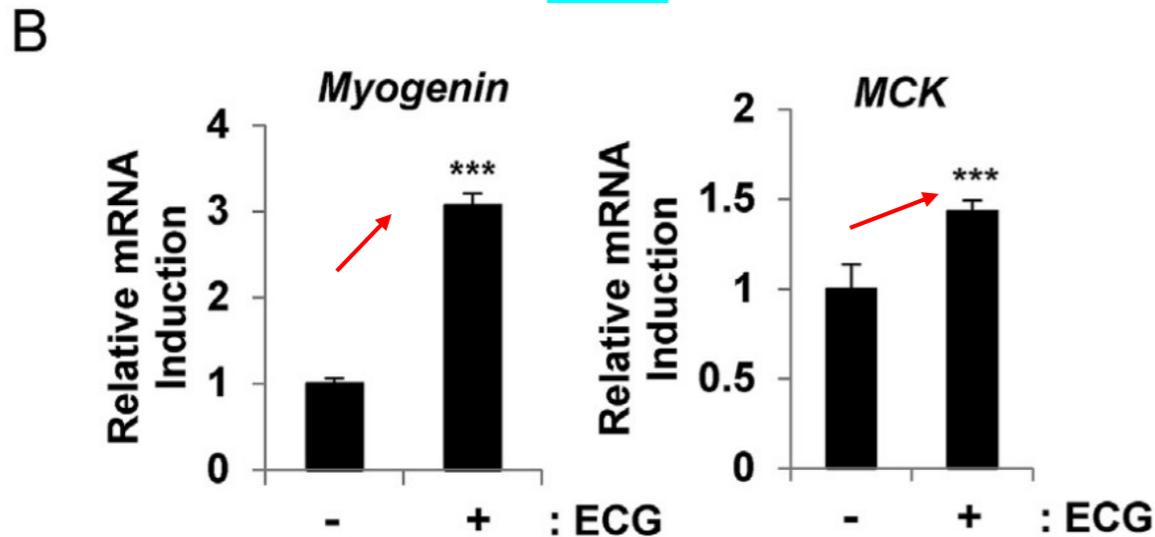
ECG通过PI3K/Akt
信号通路刺激卫
星细胞活化

PI3K/Akt抑制剂

•3.3 ECG可诱导肌卫星细胞和C2C12细胞的肌源性分化 (体外)



在肌源性分化过程中，MHC和肌生成素的表达呈剂量依赖性增加



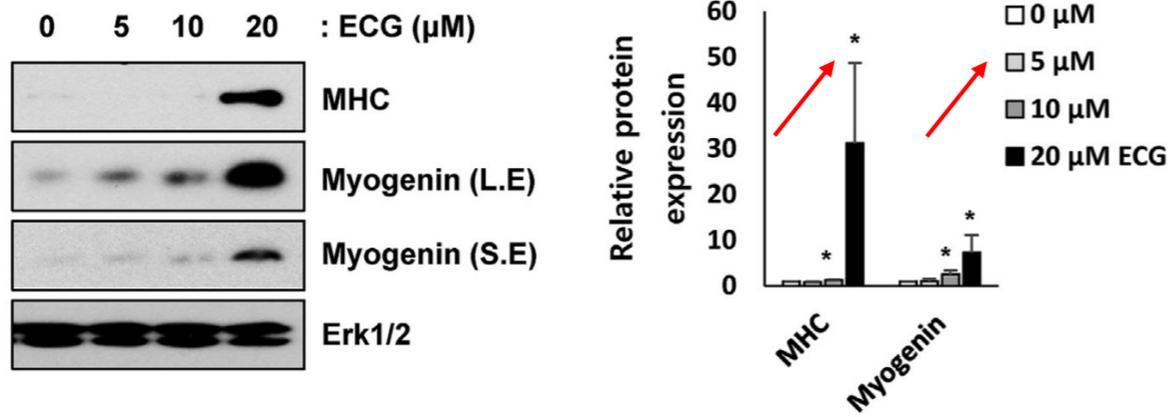
MHC:肌球蛋白重链 (myosin heavy chain) 是肌球蛋白的基本组成单位，在保证肌细胞正常工作中发挥着重要的作用。

MCK:肌酸激酶 (muscle creatine Kinase, MCK)，也称为肌酸磷酸激酶。是一个与细胞内能量运转、肌肉收缩、ATP再生有直接关系的重要激酶。常用于骨骼肌疾病诊断。

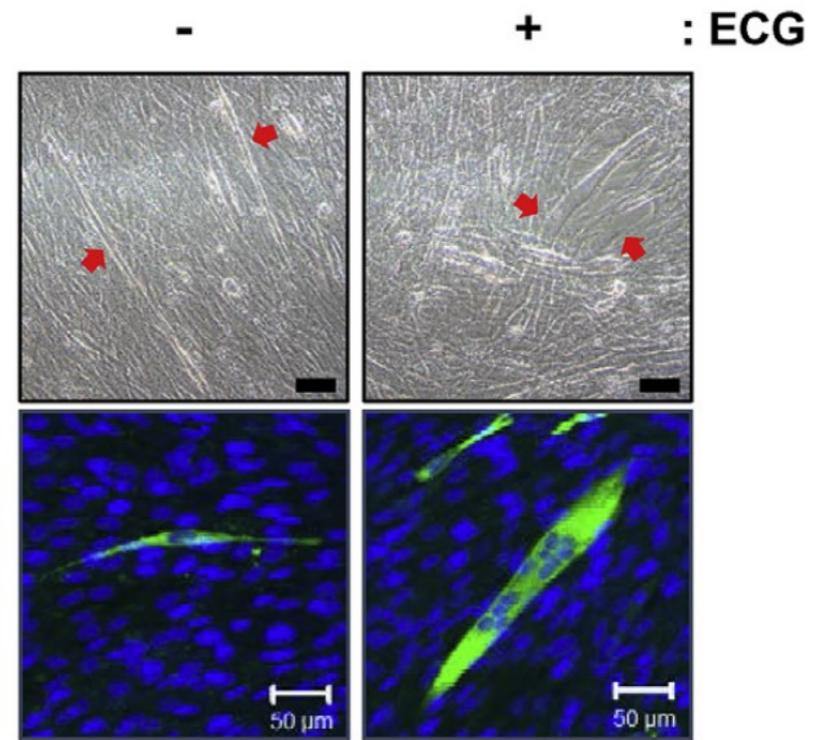
肌生成素和肌酸激酶(MCK)等肌源性分化标记基因的表达也在ECG存在时显著增加

•3.3 ECG可诱导肌卫星细胞和C2C12细胞的肌源性分化 (体外)

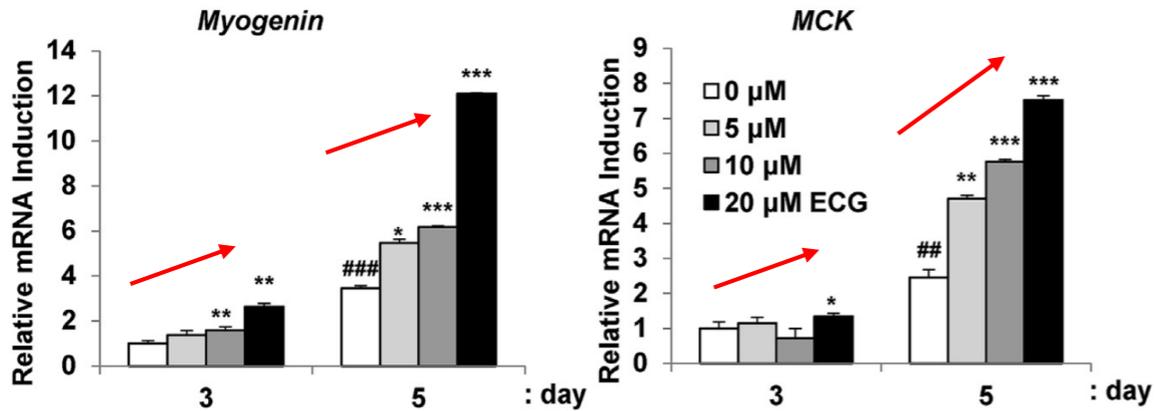
D



F

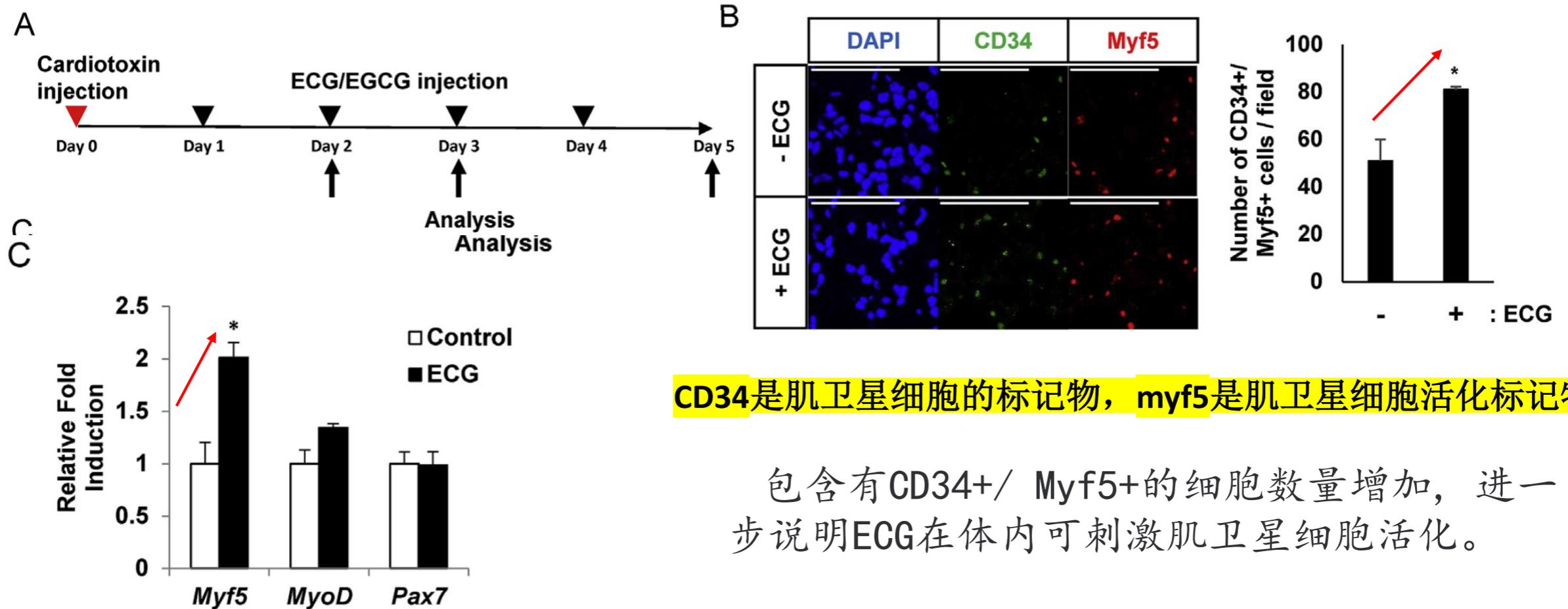


E



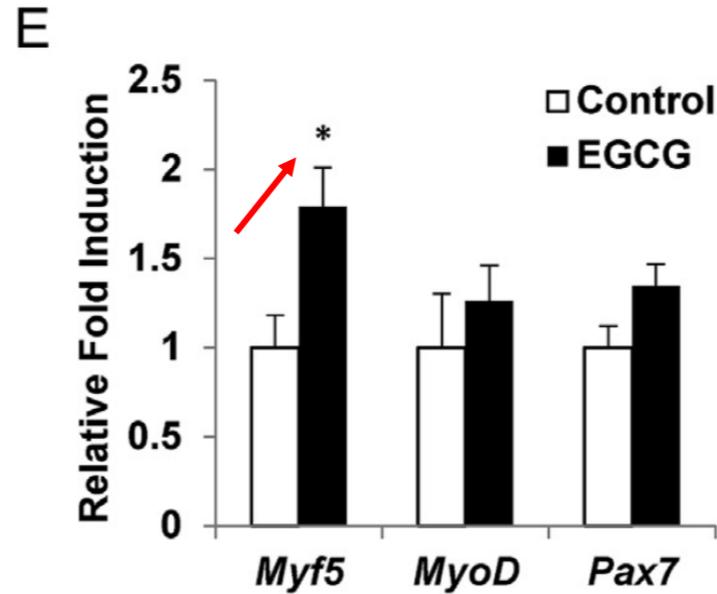
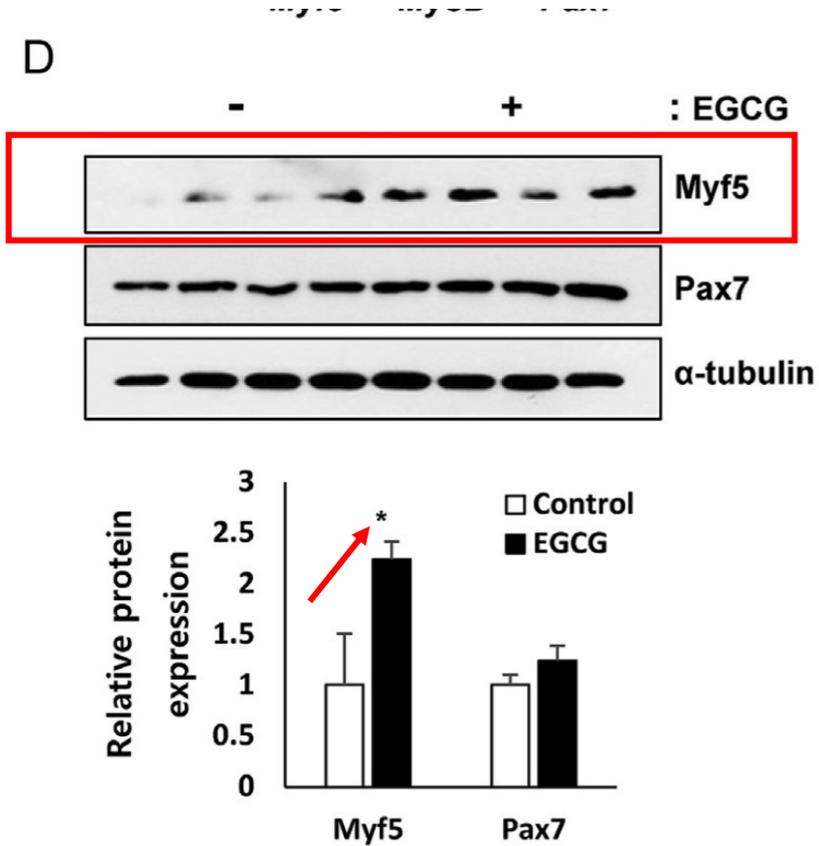
ECG可促进C2C12细胞的肌源性分化

•3.4. ECG增加了在体中肌卫星细胞体内CD34+/ Myf5+,EGCG刺激肌肉损伤后再生。(体内)

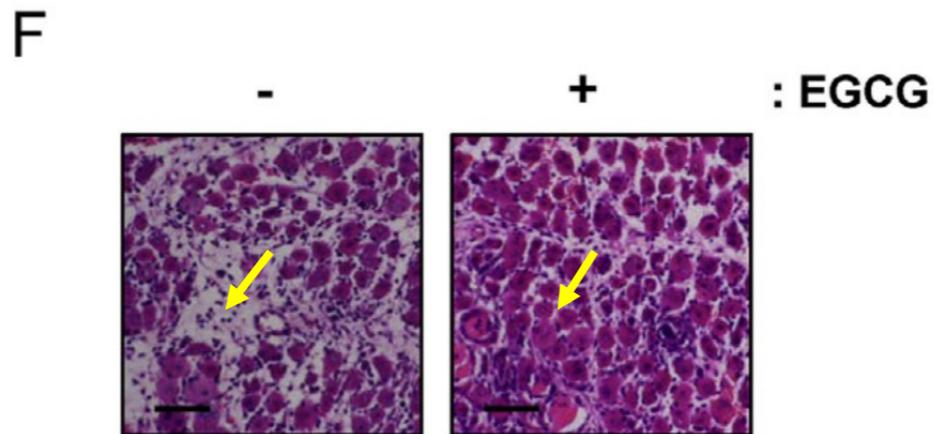


实验结果表明，ECG可在体内激活卫星细胞。

•3.4. ECG增加了在体中卫星细胞体内CD34+/ Myf5+, **EGCG**刺激肌肉肌肉损伤后再生。(体内)

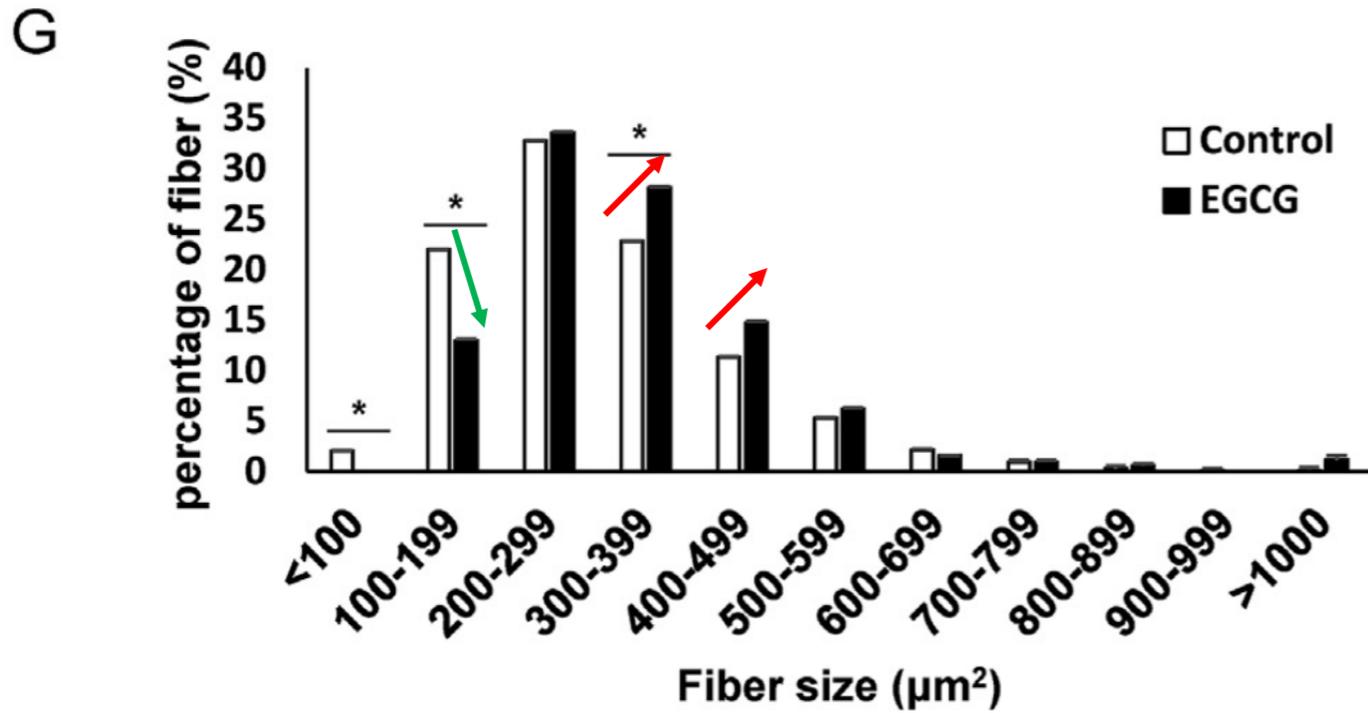


EGCG处理后Myf5表达明显升高，Pax7表达略有升高，但不显著。同样，Myf5的表达也增加了，但Pax7和MyoD的转录没有明显的诱导作用。



组织学分析表明EGCG处理后明显修复了受损的肌纤维。

•3.4. ECG增加了在体中卫星细胞体内CD34+/ Myf5+, EGCG刺激肌肉肌肉损伤后再生。(体内)



观察到小尺寸(小于200 μm^2)肌纤维的**数量**下降, 而较大肌纤维的数量(300~500 μm^2)与对照组相比有所增加。说明EGCG治疗后肌肉的再生能力增强(图4G)。这些结果提示EGCG通过激活体内肌卫星细胞来促进肌肉再生。

ECG和EGCG可在体内刺激肌卫星细胞的激活和分化, 最终促进肌肉再生。

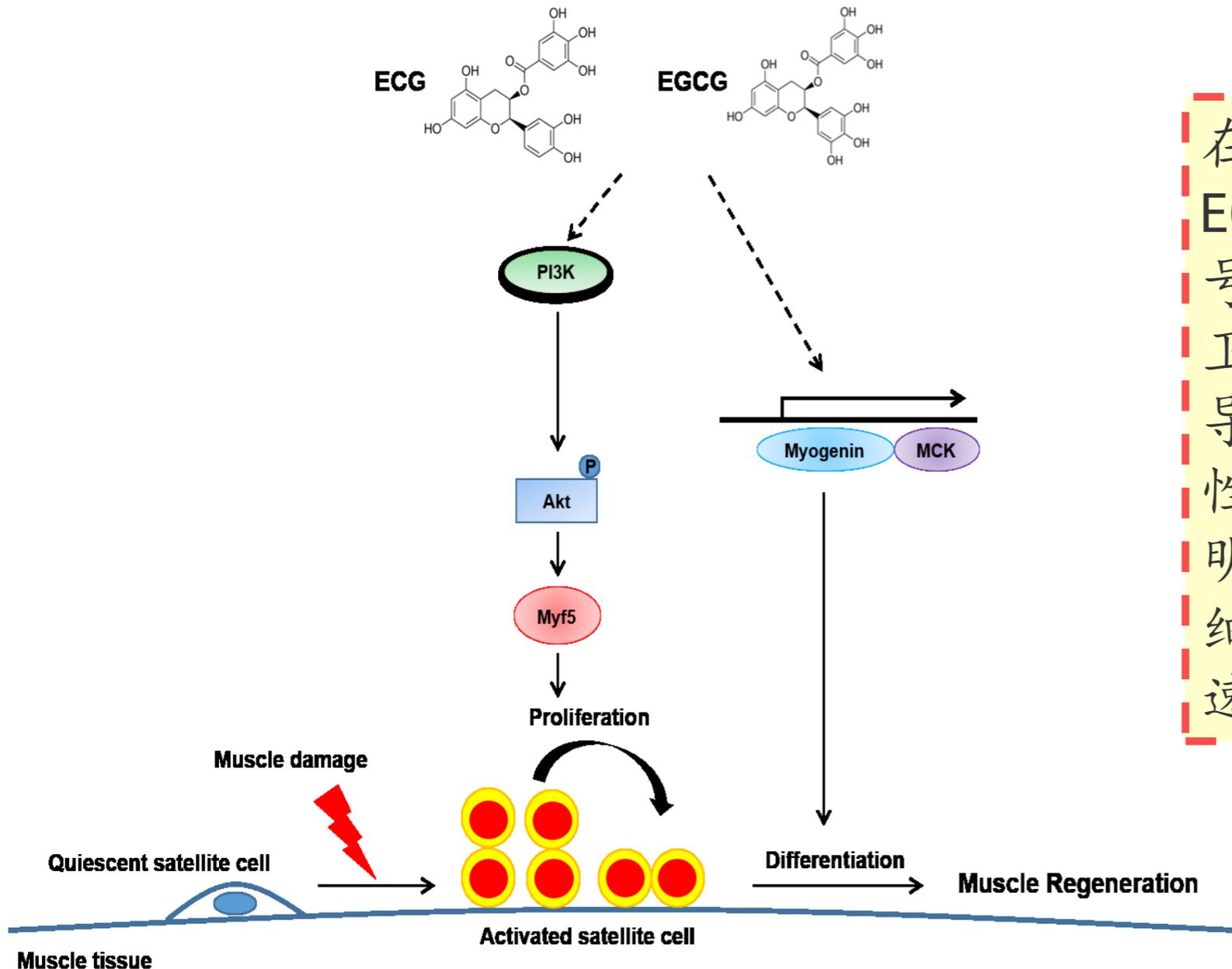


结论与讨论

- 结论

- 讨论

结论



在损伤后的肌肉再生过程中，EGC和EGCG刺激PI3K/Akt信号通路，诱导Myf5表达激活卫星细胞。儿茶素还通过诱导肌原蛋白和MCK促进肌源性分化。我们的研究表明，儿茶素可以刺激肌肉干细胞的活化和分化，从而加速肌肉的再生。

讨论

1. ECG和EGCG激活细胞内Akt信号通路，激活卫星细胞。最近，大量研究显示，Akt活化对卫星细胞活化的重要性被提出。ECG可能与细胞受体相互作用，介导其信号通路激活卫星细胞，但还需要进一步的研究。

2. 有研究表明，p38 MAPK随机体年龄的增加限制了卫星细胞的扩展，在本研究中，ECG没有激活p38 MAPK通路。排除了p38 MAPK在ECG诱导的卫星细胞活化中的作用。

3. ECG和EGCG治疗后，除了激活卫星细胞外，还可刺激**细胞分化**，这在多种标志蛋白中得以验证，在C2C12成肌细胞中也观察到分化潜能。



收获与思考

收获与思考



通过文章查阅了相关综述文章、了解相关知识点。了解了免疫组化、细胞免疫荧光、组织免疫荧光这几种技术。



要学会用辩证的思维去看文献，揣摩作者实验思路的同时，思考自己该如何设计这个实验。



对肌卫星细胞相关通路、相关调节基因有了一定的了解。

01

02

03

谢 谢 聆 听

请各位老师、同学批评指正！

