

# 冬眠动物骨骼肌生理适应及机制的研究进展

党 凯 高云芳\*

西北大学生命科学学院 西安 710069

**摘要:** 非冬眠动物的骨骼肌在废用条件下会发生明显的萎缩。冬眠动物在历经数月的冬眠期骨骼肌废用后, 仍能保持较完整的形态结构与良好的收缩功能, 成为天然的抗废用性肌萎缩动物模型。探明冬眠动物骨骼肌对废用的生理适应机制, 是生理生态学领域的重要课题之一。本文从形态结构、肌纤维类型和收缩功能等方面综述了冬眠动物对冬眠期骨骼肌废用状态的生理适应, 并从蛋白质代谢、生长与分化的调控、代谢类型的调控、氧化应激以及线粒体结构与氧化能力等方面分析了冬眠期骨骼肌生理适应的可能机制。

**关键词:** 冬眠; 骨骼肌; 废用性肌萎缩; 生理适应

**中图分类号:** Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2016) 03-497-10

## Physiological Adaptation of Skeletal Muscles and Potential Mechanisms in Hibernators

DANG Kai GAO Yun-Fang\*

*College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China*

**Abstract:** Disuse leads to skeletal muscle atrophy in non-hibernating mammals. Despite facing prolonged period of hibernation disuse, skeletal muscles in hibernators are well protected, characterized with integrative structure and excellent contractile ability during hibernation. Therefore, hibernators provide a natural model to study the mechanisms preventing disuse muscles atrophy. Understanding the mechanisms of the physiological adaptation in hibernators' skeletal muscles is one of the major topics in physiological ecology field. However, such mechanisms in hibernators have not yet been elucidated. In this paper, physiological adaptation of skeletal muscles to hibernation disuse is reviewed with respect to morphology, fiber type distribution and contractile property. Moreover, the review focuses on the potential adaptive mechanisms, including protein metabolism, regulations of growth, differentiation and metabolic type, oxidative stress, and mitochondrial structure and oxidative capacity.

**Key words:** Hibernation; Skeletal muscles; Disuse muscle atrophy; Physiological adaption

**基金项目** 国家自然科学基金项目 (No. 30770273), 2011 年度高等学校博士学科点专项科研基金资助课题 (No. 20116101110013) 及陕西省国际科技合作与交流计划项目 (No. 2013KW26-01);

\* 通讯作者, E-mail: gaoyunf@nwu.edu.cn;

**第一作者介绍** 党凯, 男, 博士研究生; 研究方向: 动物生理学; E-mail: dangkaipower@hotmail.com.

收稿日期: 2015-09-09, 修回日期: 2016-02-24 DOI: 10.13859/j.cjz.201603018

在长期的自然选择过程中,有些动物进化出了独特的生存策略,冬眠便是其对冬季寒冷、食物缺乏等外界不良环境条件的一种适应。以往有关冬眠生理学的研究主要集中在冬眠的触发与激醒,冬眠期动物呼吸、心血管、能量代谢、体温调节以及神经系统的变化及机制等方面(赵以炳等 1955, Barnes et al. 1989, 王世强等 1996, Carey et al. 2003, 杨明等 2011)。近年来,冬眠动物对冬眠期骨骼肌废用(不活动状态)的适应引起了生理生态学家以及医学界的广泛兴趣(Hudson et al. 2002, Shavlakadze et al. 2006, Staples et al. 2008, Gao et al. 2012, Yang et al. 2014, Jiang et al. 2015a)。2004年始,我们实验室一直专注于冬眠动物骨骼肌生理适应的研究,本文将回顾以往关于这一领域的主要研究结果及相关文献,描述冬眠期间冬眠动物骨骼肌的表现与生理适应,分析其适应的可能机制,以使更多人了解这一充满未知、趣味与挑战的领域。

## 1 冬眠期动物骨骼肌的表现与生理适应

### 1.1 冬眠状态下骨骼肌形态结构与肌纤维类型的变化

根据形态学特征、代谢方式以及所含肌球蛋白重链(myosin heavy-chain, MHC)类型的不同,骨骼肌肌纤维可分为慢型(主要表达 I 型 MHC)和快型(主要表达 II 型 MHC)两大类,慢型肌纤维较细小,线粒体含量丰富,以有氧代谢获能,其收缩速度较慢,耐疲劳。快型肌纤维较粗大,肌红蛋白和细胞色素含量少,以糖酵解获能,其收缩速度较快,易疲劳。在废用(失重、卧床与不活动)状态下 10 d 左右,人类(*Homo sapiens*)与大鼠(*Rattus norvegicus*)等非冬眠动物的骨骼肌,特别是下肢抗重力肌即可出现明显的肌肉萎缩。从形态学角度看,主要表现为肌肉重量减轻、肌重与体重比降低、肌纤维横截面积减小以及肌纤维类型出现慢肌纤维向快肌纤维的转变等(Boonyarom et al. 2006, Williams et al. 2009, Bialek et al. 2011,

张扬媚等 2012)。

有关冬眠动物的研究表明,在长达数月的冬眠期不活动后,其骨骼肌的表现随肌纤维代谢类型的不同而不同,且有明显的种属差异。冬眠金背黄鼠(*Spermophilus lateralis*)的腓肠肌(混合肌)重量比冬眠前减少 14%,半腱肌(快肌)则减少了 42%(Wickler et al. 1991);趾长伸肌(快肌)的肌纤维横截面积显著减小,比目鱼肌(慢肌)的肌纤维横截面积则无明显变化(Steffen et al. 1991);冬眠美洲黑熊(*Ursus americanus*)的股二头肌(快肌)和腓肠肌的肌纤维横截面积以及腓肠肌的肌纤维比例均未发生明显变化,股二头肌的慢肌纤维(I 型)比例则轻度降低(Tinker et al. 1998, Harlow et al. 2001);冬眠达乌尔黄鼠(*S. dauricus*)的比目鱼肌与趾长伸肌重量均轻度下降,但肌纤维横截面积未发生明显变化,慢肌纤维比例出现不同程度增加(Gao et al. 2012, Dang et al. 2016)。有关长尾黄鼠(*Citellus undulatus*)、金背黄鼠、白尾草原犬鼠(*Cynomys leucurus*)、黑尾草原犬鼠(*C. ludovicianus*)与美洲黑熊的研究表明,冬眠动物的快肌(腰大肌、肱三头肌、背最长肌、跖肌、股外侧肌)与混合肌(腓肠肌)均出现了慢肌纤维比例的增加(Zuikova et al. 2005, Choi et al. 2009, Lazareva et al. 2012),慢肌(比目鱼肌)中的肌纤维比例则保持不变或同快肌一样出现慢肌纤维比例轻度增加(Rourke et al. 2004a, Vikhliantsev et al. 2004, Rourke et al. 2006)。

进一步的研究表明,冬眠期金背黄鼠骨骼肌的萎缩主要出现在冬眠初期,且萎缩程度远低于非冬眠动物(Nowell et al. 2011),冬眠期美洲黑熊骨骼肌蛋白质合成与分解速率与夏季相比均降低,但却保持平衡,部分参与蛋白质合成的基因表达量甚至出现增加(Lohuis et al. 2007a, Fedorov et al. 2009, Tessier et al. 2010),有研究发现,冬眠长尾黄鼠骨骼肌(包括所有的腿部肌肉和背部肌肉)中肌红蛋白的含量是夏季的 3 倍(Postnikova et al. 1999),冬眠达

乌尔黄鼠比目鱼肌的肌红蛋白相比于夏季也升高了 87% (Jiang et al. 2015a)。总之, 从已有的研究来看, 一般认为冬眠动物历经数月冬眠期的骨骼肌废用, 其慢肌无明显萎缩, 快肌萎缩与否以及萎缩程度, 则有不同报道, 骨骼肌的肌纤维代谢类型无明显变化或出现慢型肌纤维的轻度增加, 远不像非冬眠动物如人或大鼠那样出现严重的废用性肌萎缩, 且肌纤维的代谢类型出现明显的慢型(氧化型)向快型(酵解型)的转化。目前这一领域的研究还存在一些盲点与分歧, 主要体现为快肌在冬眠中的不同表现是由于动物的差异还是选择的快肌不同, 或是冬眠的不同时期所致, 尚不能确定。

超微结构的变化是衡量骨骼肌功能状态的一个重要指标 (Fitts et al. 2001, Volodina et al. 2004)。有研究表明, 在废用状态下, 人或大鼠骨骼肌肌纤维的超微结构会发生显著的退行性改变, 主要表现为肌原纤维排列紊乱、细肌丝密度降低、细胞核丢失、线粒体肿胀与数量减少等 (Appell 1986, Leivo et al. 1998, Boonyarom et al. 2006)。有关冬眠期骨骼肌废用对肌纤维超微结构的影响, 仅有一些零星报道。Malatesta 等 (2009) 关于睡鼠 (*Glis glis*) 的研究发现, 冬眠期股四头肌的肌纤维中出现了脂滴聚集、线粒体变大的现象; 肌细胞核的结构以及核内转录物与转录因子的数量、分布情况则未发生改变。我们实验室关于达乌尔黄鼠的研究发现, 冬眠黄鼠比目鱼肌中糖原颗粒增多, 趾长伸肌的糖原颗粒减少, 纤维间线粒体排列规则, 嵴结构完整, 肌膜下线粒体数量增多, 出眠后部分趾长伸肌的肌梭囊膜发生降解, 纤维间线粒体方向发生紊乱, 亦即快肌的退行性改变要比慢肌明显 (未发表数据), 目前我们正在研究冬眠黄鼠骨骼肌中线粒体增多现象的分子机制。

## 1.2 冬眠状态下骨骼肌收缩功能的变化

关于美洲黑熊的研究表明, 在长达数月的冬眠期后, 其骨骼肌的收缩力量无明显降低 (Harlow et al. 2001)。经历 110 d 冬眠期不活

动后, 美洲黑熊失去了 29% 的肌肉力量, 而卧床 90 d 的人 would 失去 54% 的力量, 美洲黑熊骨骼肌力量的损失只有卧床人的约二分之一。此外, 冬眠美洲黑熊骨骼肌的抗疲劳能力与其他收缩特性, 包括收缩时间、半舒张时间、达到峰值张力一半的时间等均未发生明显改变 (Lohuis et al. 2007b)。关于冬眠白尾草原犬鼠与黑尾草原犬鼠比目鱼肌与趾长伸肌收缩功能的研究, 也得出类似结论 (Cotton et al. 2010)。关于多纹黄鼠 (*S. tridecemlineatus*) 的研究则认为, 冬眠期比目鱼肌的最大输出功率保持不变, 但抗疲劳能力显著降低 (James et al. 2013), 这一报道与此前有关冬眠仓鼠 (*Phodopus sungorus*) 骨骼肌的疲劳性并无明显变化的研究结果有所不同 (James et al. 2011), 其原因尚待进一步的研究。

Soomro 等 (2013) 的研究发现, 冬眠期刺尾蜥 (*Uromastix hardwickii*) 腓肠肌的静息膜电位、动作电位及其时程没有显著变化, 但动作电位的其他参数, 包括阈电位、后电位及其时程均显著减小, 这些电生理特征变化的普适性以及与骨骼肌收缩功能的关系, 还有待进一步的研究。

此外, 有研究发现, 冬眠期棕熊 (*U. arctos*) 的骨骼肌对抗去神经影响的能力明显优于夏季, 因此认为冬眠动物的骨骼肌能够改变由神经活动所调节的代谢途径, 以至于机械性负荷和神经性的输入不再是其保存肌肉力量的必要因素, 而这些途径的探索可为废用性肌萎缩对抗措施的研发提供新思路 (Lin et al. 2012)。

总之, 多数研究认为, 冬眠期数月的骨骼肌废用对冬眠动物骨骼肌收缩功能的影响主要表现为收缩张力的轻度降低或无变化, 对收缩时程均无显著影响, 并未出现非冬眠动物在骨骼肌废用状态下出现的收缩张力降低、收缩时程缩短等显著的退行性改变 (Fitts et al. 2001, Lambertz et al. 2001, 张扬媚等 2012)。因此, 冬眠动物是一种天然的抗废用性肌萎缩动物模型, 其骨骼肌有着非凡的可塑性, 在形态与功

能、组织与细胞水平均表现出对骨骼肌废用的良好适应,从而保证了冬眠动物在历经长期的冬眠期不活动后,骨骼肌仍然保持了较完整的形态与良好的收缩功能。

## 2 冬眠期骨骼肌生理适应机制的研究

冬眠动物主要分布于温带与寒带,包括北极地区。冬眠的物种涵盖了无脊椎到脊椎动物的许多门类,哺乳动物的单孔目、有袋目、鳞甲目、啮齿目、灵长目、皮翼目、翼手目、食虫目、食肉目 9 个目中均有冬眠习性的物种。其中,啮齿类冬眠动物,由于其分布广、数量多、取材容易,一直是冬眠研究中最常用的实验动物,有关冬眠期骨骼肌生理适应的机制研究也主要以这类动物为主。不同物种和或分布区域不同的动物,其骨骼肌会有不同的适应机制。研究表明,在北极这样一个气温远低于 0℃ 的寒冷环境,冬眠动物储存的脂类物质无法提供动物生存所需的足够能量,肌肉分解是必须的,冬眠中北极黄鼠 (*Urocitellus parryi*) 的骨骼肌分解明显大于哥伦比亚黄鼠 (*U. columbianus*),后者主要分布于加拿大和美国西北部的山区和高原地区 (Boonstra et al. 2014)。因此,对冬眠期骨骼肌生理适应的机制研究,是一个非常复杂、充满未知的领域。

### 2.1 冬眠期骨骼肌蛋白质代谢的改变

有关非冬眠动物的研究表明,废用性肌萎缩发生的直接原因是蛋白质合成速率减慢和/或降解速率加快。一般认为蛋白质合成代谢减弱在肌肉萎缩的初始阶段起主要作用,而蛋白质降解代谢的增强在肌肉萎缩的中后期起主要作用 (Thomason et al. 1989, Booth et al. 1997, Fitts et al. 2000)。在冬眠研究中,冬眠期历时数月不活动对骨骼肌蛋白代谢的影响是最早受到关注的领域。

Lohuis 等 (2007a) 对夏季与冬眠不同时期美洲黑熊股外侧肌蛋白质代谢进行了比较研究,发现冬眠美洲黑熊骨骼肌的蛋白质合成与分解都比夏季要低,但两者能保持平衡,对骨

骼肌中蛋白质、氮以及核酸含量的检测也支持这一结论。此后, Lee 等 (2010) 对冬眠蝙蝠的研究也得出了类似结论,冬眠期间白腹管鼻蝠 (*Murina leucogaster*) 胸肌中的蛋白水解信号 (MAFbx、MuRF1 和 Skp2) 与合成代谢相关基因 (如 *p-mTOR*) 均无显著变化;肱二头肌中大多数代谢相关蛋白的表达量在冬眠过程中亦无明显变化,而一些蛋白质 (如肌动蛋白和电压依赖性阴离子通道蛋白 1) 在冬眠期和激醒初期与夏季活动时相比还出现了 1.6 ~ 1.8 倍的上调。热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 中的 HSP70 表达水平在冬眠期和激醒初期与夏季活动时相比出现了高达 1.7 倍的增加。热休克蛋白是一类广泛存在的热应激蛋白,当有机体暴露于高温状态下,就会激发合成此蛋白,来保护有机体自身。热休克蛋白最引人注目的是其分子伴侣作用,能促进整个细胞中蛋白质的合成和折叠。出眠以及冬眠中动物的周期性激醒均伴随着剧烈的肌肉颤抖和热应力,显然,热休克蛋白的上调或者至少维持平衡的调节有助于在此过程中保护骨骼肌的性能 (Lee et al. 2008)。此外, Fedorov 等 (2009) 使用 3200 cDNA 探针芯片检测了冬眠期与夏季美洲黑熊肝和骨骼肌的基因表达差异,结果发现,在美洲黑熊的肝和肌肉中,冬眠诱导了 12 个基因的表达升高,包括 RNA 结合蛋白 3 (RNA binding protein motif 3, Rbm3) 和一些主要参与蛋白质生物合成的基因。

血清和糖皮质激素诱导的蛋白激酶 1 (serum/glucocorticoid-induced kinase 1, SGK1) 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,参与多种生理功能的调节。Andres-Mateos 等 (2013) 关于冬眠多纹黄鼠的研究发现,血清和糖皮质激素诱导的蛋白激酶 1 能够通过减少蛋白质水解和细胞自噬、增加蛋白质合成来维持冬眠期骨骼肌的肌肉质量,以血清和糖皮质激素诱导的蛋白激酶 1 为靶标确定一个新的治疗方案,有望对抗非冬眠动物废用性萎缩造成的骨骼肌质量缺失。新近关于冬眠多纹黄鼠的研究也发现冬眠

期骨骼肌上调, 通过抑制蛋白水解、细胞自噬以及增加蛋白质合成, 阻止冬眠期的废用性肌肉萎缩 (Ivakine et al. 2014)。

关于冬眠动物骨骼肌蛋白组学的研究表明, 冬眠期多纹黄鼠的下肢肌肉, 有 216 个蛋白质发生改变, 这些差异性蛋白质的主要功能是调整代谢底物的选择。在冬眠期, 脂肪酸  $\beta$  氧化的相关蛋白质比夏季要丰富得多, 但在冬眠激醒过程中则依然保持对碳水化合物储备的依赖, 碳水化合物对于颤抖性产热是一种不可或缺的能量 (Hindle et al. 2011)。

此外, 有关废用性肌萎缩的研究发现, 骨骼肌纤维的胞浆钙超载是激活钙蛋白酶 (calpains) 进而引发骨骼肌蛋白分解加强的重要因素 (Bajotto et al. 2006, 武雪等 2012)。因此, 冬眠期骨骼肌纤维的胞浆钙浓度与钙蛋白酶活性也引起了关注。我们实验室新近关于达乌尔黄鼠的研究表明, 冬眠期比目鱼肌 calpains 1 和 2 的表达量无显著变化, 钙蛋白酶抑制剂 calpastatin 呈现高表达, 提示冬眠期钙蛋白酶抑制剂的显著增高是冬眠动物抑制钙蛋白酶活性, 进而避免骨骼肌蛋白分解、肌肉质量流失的重要机制 (Yang et al. 2014)。

Fuster 等 (2007) 的研究发现, 在冬眠美洲黑熊血浆中孵育的大鼠趾长伸肌, 其净蛋白水解率比用非冬眠美洲黑熊血浆孵育的减少了 40%。提示冬眠美洲黑熊能够产生一种强有力的蛋白水解酶抑制剂, 并通过血液循环阻止骨骼肌蛋白的水解。

总之, 从蛋白代谢的角度来看, 通过不同途径减少骨骼肌蛋白的分解是冬眠动物对抗废用性肌萎缩发生的主要机制, 增加部分蛋白的生物合成则似乎是一种辅助机制。

## 2.2 冬眠期骨骼肌生长与分化的调控

肌细胞增强因子 -2 (myocyte enhancer factor-2, MEF2) 调节多种收缩蛋白基因和其他与肌肉性能相关蛋白的基因表达, 包括葡萄糖转运蛋白 4 (glucose transporter 4, GLUT4) 和成肌分化抗原 (myogenic differentiation

antigen, MyoD)。对多纹黄鼠的研究发现, 冬眠期骨骼肌中 MEF2A 蛋白含量及其下游基因 (如 MyoD) 的表达显著升高 (Tessier et al. 2010)。显然, 冬眠期骨骼肌中 MEF2A 与 MyoD 基因表达水平的显著升高, 有利于维持冬眠中或出眠初期骨骼肌的生长与分化, 是其避免或减少冬眠期废用性肌萎缩的重要机制之一。

肌肉生长抑制素 (myostatin) 是肌肉生长限制因子, 近来的研究表明, 肌肉生长抑制素除对肌肉生长有负调控作用外, 还对脂肪的沉积和骨骼的生长发育具有重要调控作用, 甚至还能影响肌腱和韧带的强度。有学者研究了冬眠不同时期 6 个时间点的多纹黄鼠骨骼肌中肌肉生长抑制素的变化, 发现冬眠期动物的肌肉生长抑制素无显著变化, 当动物从冬眠中激醒时, 肌肉生长抑制素的蛋白表达水平大约增加了 6 倍, 并在出眠后一直保持在较高水平 (Brooks et al. 2011)。Nowell 等 (2011) 对肌肉生长抑制素 mRNA 的研究结果则发现, 冬眠期金背黄鼠比目鱼肌和膈肌中肌肉生长抑制素 mRNA 下调 50% ~ 75%, 促进蛋白分解代谢的转录因子 FOXO1 的 mRNA 也显著下调。我们认为, 造成这种分歧的原因可能是基因与蛋白表达水平的不同步调节, 基因的 mRNA 上调或下调经常是一种功能储备, 一种前瞻性调节, 而蛋白水平的调节更可能是一种实时调节。冬眠期肌肉生长抑制素 mRNA 下调对维持骨骼肌的生长与分化显然是有益的, 而动物激醒时显著升高的肌肉生长抑制素可能与激醒过程中动物的巨大能量需求有关, 高水平的肌肉生长抑制素对动物及时分解脂肪甚至骨骼肌以便迅速从深眠中激醒是必要的, 冬眠中与出眠或激醒中迥然不同的肌肉生长抑制素水平可能是机体主动调节的结果。

## 2.3 冬眠期骨骼肌代谢类型的调控机制

前已述及, 冬眠动物骨骼肌的肌球蛋白类型会出现快型向慢型的转变, 这一变化与非冬眠动物在骨骼肌废用时出现的变化相反。有关多种冬眠动物的研究表明, 肌球蛋白重链亚型

的这种转变在快肌（跖肌、趾长伸肌）要比慢肌如比目鱼肌明显（Rourke et al. 2004a, 2006, Gao et al. 2012）。这一区别，可能是因为动物从冬眠中迅速苏醒时需要分解骨骼肌，特别是快肌以满足迅速升高体温所需的能量。泛素蛋白连接酶 MAFbx 在骨骼肌的蛋白分解代谢中起重要作用，是骨骼肌蛋白质降解的标志。Rourke 等（2004b）的研究发现，在冬眠金背黄鼠的腓肠肌和跖肌中 MAFbx mRNA 的表达水平显著升高。快肌中高表达的 MAFbx mRNA 水平也佐证了冬眠动物在冬眠中部分快肌的减少不是废用性肌萎缩的结果，可能与苏醒过程的强烈活动有关。因此，冬眠期骨骼肌肌球蛋白亚型由快向慢的转变可能与动物苏醒时选择性分解快肌密切相关。此外，冬眠动物骨骼肌纤维出现快型（酵解型）向慢型（氧化型）的转变也与其代谢酶活性的变化以及氧化能力的提高有关。Steffen 等（1991）的研究发现，冬眠金背黄鼠跖肌的柠檬酸合成酶（有氧代谢的标志酶）活性显著高于夏季，而血清乳酸脱氢酶（无氧代谢的标志酶）活性降低了 25%。本实验室最新的研究表明，冬眠达乌尔黄鼠比目鱼肌血氧供应能力显著增加，从而确保了其氧化能力的提高（Jiang et al. 2015a, b）。

总之，冬眠期动物骨骼肌慢型肌球蛋白水平的增加或维持稳定，以及氧化能力的提高，是冬眠动物在长期不活动条件下保存收缩蛋白，维持骨骼肌良好收缩力的重要机制之一，也是其冬眠期肌纤维代谢类型出现慢肌比例增加的主要机制。

过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  辅助活化因子-1 $\alpha$ （peroxisome proliferators-activated receptor  $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$ , PGC-1 $\alpha$ ）是调节细胞能量代谢的关键因子，在线粒体增生、肌纤维类型的转化、葡萄糖代谢、脂肪酸氧化等方面都起重要作用，冷暴露、营养缺乏、低氧等条件会诱导该因子的表达。关于多纹黄鼠的研究结果表明，冬眠期间，PGC-1 $\alpha$  的上调介导了骨骼肌肌纤维类型由快型向慢型的转化，是冬眠

动物抗废用性肌萎缩的重要机制之一（Xu et al. 2013），这一结果引起同行的高度关注（Bodine 2013a）。

## 2.4 氧化应激与冬眠期骨骼肌的生理适应

Allan 等（2012）对冬眠多纹黄鼠骨骼肌氧化还原敏感的转录因子 NF- $\kappa$ B（nuclear factor kappa B）活性及下游基因的研究发现，在冬眠-觉醒（torpor-arousal）周期中，NF- $\kappa$ B 通过介导下游抗氧化剂锰超氧化物歧化酶（Mn-superoxide dismutase, MnSOD）与血红素加氧酶 1（hemeoxygenase-1, HO-1）的蛋白表达量增加，介导了冬眠期动物抗氧化防御能力上调的保护性反应。

小 RNA（microRNAs, miRNAs）是在真核生物中发现的一类内源性的非编码 RNA，其大小长约 20 ~ 25 个核苷酸，参与多种细胞功能的调节。最近的研究表明 miRNAs 也参与机体应激耐受性（stress tolerance）的调节。Kornfeld 等（2012）分析了多个 miRNAs 在冬眠莹鼠耳蝠（*Myotis lucifugus*）胸肌的表达水平，结果发现，这些 miRNAs 可能通过抑制肌肉生长抑制素与泛素蛋白连接酶 MAFbx 的表达，提高了机体的应激耐受性，从而参与了冬眠蝙蝠胸肌质量和功能的维护。

Andres-Mateos 等（2012）对冬眠动物受损骨骼肌的研究发现，冬眠多纹黄鼠的骨骼肌在受损并发炎症时，通过 p21 蛋白与 Myostatin 等信号通路的相互作用，使受损骨骼肌在修复过程中并未像非冬眠动物那样出现组织纤维化，因此，冬眠黄鼠为受损骨骼肌的重建提供了一个新的动物模型。

## 2.5 其他

在冬眠-觉醒周期中，如何利用有限的能量储存维持骨骼肌细胞内线粒体相对较高的呼吸率，以确保动物从深眠中苏醒时氧化能力能迅速恢复，是冬眠动物面临的又一重要挑战。有研究证实，在冬眠多纹黄鼠的骨骼肌内，线粒体在较低的琥珀酸浓度下能保持相对较高的呼吸率，这虽然会减少冬眠期间的能量储备，但

可防止冬眠期间骨骼肌纤维的线粒体损伤, 并维持其氧化能力在临界阈值之上, 同时也有利于出眠后骨骼肌氧化能力的迅速恢复 (Brown et al. 2013)。我们前期的研究发现, 冬眠期骨骼肌的线粒体数量明显增加。显然, 骨骼肌纤维线粒体结构与氧化能力的维持有利于减轻或避免废用性肌萎缩的发生。

### 3 研究展望

有关非冬眠动物如人类与大鼠的相关研究表明, 废用状态下, 运动神经对骨骼肌营养作用的缺失 (神经营养障碍学说)、传入与传出神经冲动的减少 (神经冲动减退学说) 以及机体的氧化应激反应增强 (氧化应激学说) 等均参与了废用性肌萎缩的发生 (邢国刚等 2000, 张扬媚等 2012, Bodine 2013b), 冬眠动物的骨骼肌如何应对这些不良因素的影响, 特别是长期冬眠时神经信号的缺乏, 这些问题均亟待深入研究。

另一方面, 冬眠过程中, 动物处于觉醒 (常温) 与昏睡 (低温) 交替的冬眠阵状态。整个冬眠期由一个个冬眠阵构成。动物的冬眠阵长度具有明显的个体差异, 同一动物经历的冬眠阵长度也有区别 (杨明等 2011, 孙小勇等 2012, Thomas et al. 2015)。冬眠阵的阵间清醒期骨骼肌发生了哪些变化? 这些长短不一的冬眠阵是不是冬眠动物抗废用性肌萎缩的重要机制? 我们课题组新近的研究表明, 阵间清醒期达乌尔黄鼠的骨骼肌纤维会出现显著的胞浆钙超载, 但经历 1~2 d 的阵间清醒后再入眠, 骨骼肌纤维的胞浆钙水平就可恢复到冬眠前水平 (未发表数据), 这一结果提示, 冬眠阵可能通过调节胞浆钙稳态的方式参与了冬眠动物抗废用性肌萎缩机制。

总之, 近年来冬眠动物骨骼肌对恶劣环境非凡的适应能力已经受到广泛关注, 有关适应机制的研究也取得了可喜进展, 但尚待研究的问题仍有很多, 且少有覆盖整体、细胞、分子水平的系统性研究, 因此, 可以预见, 这一领

域的研究工作必将是富有趣味、充满挑战的开拓性工作。

### 参 考 文 献

- Allan M E, Storey K B. 2012. Expression of NF- $\kappa$ B and downstream antioxidant genes in skeletal muscle of hibernating ground squirrels, *Spermophilus tridecemlineatus*. *Cell Biochemistry and Function*, 30(2): 166–174.
- Andres-Mateos E, Brinkmeier H, Burks T N, et al. 2013. Activation of serum/glucocorticoid-induced kinase 1 (SGK1) is important to maintain skeletal muscle homeostasis and prevent atrophy. *EMBO Molecular Medicine*, 5(1):80–91.
- Andres-Mateos E, Mejias R, Soleimani A, et al. 2012. Impaired skeletal muscle regeneration in the absence of fibrosis during hibernation in 13-lined ground squirrels. *PLoS One*, 7(11): e48884.
- Appell H J. 1986. Morphology of immobilized skeletal muscle and the effects of a pre- and postimmobilization training program. *International Journal of Sports Medicine*, 7(1): 6–12.
- Bajotto G, Shimomura Y. 2006. Determinants of disuse-induced skeletal muscle atrophy: exercise and nutrition countermeasures to prevent protein loss. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 52(4): 233–247.
- Barnes B M. 1989. Freeze avoidance in a mammal: Body temperatures below 0°C in an arctic hibernator. *Science*, 244(4912): 1593–1595.
- Bialek P, Morris C, Parkington J, et al. 2011. Distinct protein degradation profiles are induced by different disuse models of skeletal muscle atrophy. *Physiological Genomics*, 43(19): 1075–1086.
- Bodine S C. 2013a. Hibernation: The search for treatments to prevent disuse-induced skeletal muscle atrophy. *Experimental Neurology*, 248(5): 129–135.
- Bodine S C. 2013b. Disuse-induced muscle wasting. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 45(10): 2200–2208.
- Boonstra R, Mo K, Monks D A. 2014. Managing anabolic steroids in pre-hibernating Arctic ground squirrels: obtaining their benefits and avoiding their costs. *Biology Letters*, 10(11): 20140734.
- Boonyarom O, Inui K. 2006. Atrophy and hypertrophy of skeletal

- muscles: structural and functional aspects. *Acta Physiologica*, 188(2): 77–89.
- Booth F W, Criswell D S. 1997. Molecular events underlying skeletal muscle atrophy and the development of effective countermeasures. *International Journal of Sports Medicine*, 18(Suppl 4): 265–269.
- Brooks N E, Myburgh K H, Storey K B. 2011. Myostatin levels in skeletal muscle of hibernating ground squirrels. *Journal of Experimental Biology*, 214(15): 2522–2527.
- Brown J C, Chung D J, Cooper A N, et al. 2013. Regulation of succinate-fuelled mitochondrial respiration in liver and skeletal muscle of hibernating thirteen-lined ground squirrels. *Journal of Experimental Biology*, 216(9): 1736–1743.
- Carey H V, Andrews M T. 2003. Mammal in hibernation: cellular and molecular responses to depressed metabolism and low temperature. *Physiological Reviews*, 83(4): 1153–1181.
- Choi H, Selpides P J, Nowell M M, et al. 2009. Functional overload in ground squirrel plantaris muscle fails to induce myosin isoform shifts. *American Journal of Physiology: Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 297(3): 578–586.
- Cotton C J, Harlow H J. 2010. Avoidance of skeletal muscle atrophy in spontaneous and facultative hibernators. *Physiological and Biochemical Zoology*, 83(3): 551–560.
- Dang K, Li Y Z, Gong L C, et al. 2016. Stable atrogen-1 (Fbxo32) and MuRF1 (Trim63) gene expression is involved in the protective mechanism in soleus muscle of hibernating Daurian ground squirrels (*Spermophilus dauricus*). *Biology Open*, 5(1), 62–71.
- Fedorov V B, Goropashnaya A V, Toien O, et al. 2009. Elevated expression of protein biosynthesis genes in liver and muscle of hibernating black bears (*Ursus americanus*). *Physiological Genomics*, 37(2): 108–118.
- Fitts R H, Riley D R, Widrick J J. 2000. Physiology of a microgravity environment invited review: microgravity and skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 89(2): 823–839.
- Fitts R H, Riley D R, Widrick J J. 2001. Functional and structural adaptations of skeletal muscle to microgravity. *Journal of Experimental Biology*, 204(18): 3201–3208.
- Fuster G, Busquets S, Almendro V, et al. 2007. Antiproteolytic effects of plasma from hibernating bears: a new approach for muscle wasting therapy? *Clinical Nutrition*, 26(5): 658–661.
- Gao Y F, Wang J, Wang H P, et al. 2012. Skeletal muscle is protected from disuse atrophy in hibernating daurian ground squirrels. *Comparative Biochemistry and Physiology A: Molecular & Integrative Physiology*, 161(3): 296–300.
- Harlow H J, Lohuis T, Beck T D, et al. 2001. Muscle strength in overwintering bears. *Nature*, 409(6823): 997.
- Hindle A G, Karimpour-Fard A, Epperson L E, et al. 2011. Skeletal muscle proteomics: carbohydrate metabolism oscillates with seasonal and torpor-arousal physiology of hibernation. *American Journal of Physiology: Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 301(5): 1440–1452.
- Hudson N J, Franklin C E. 2002. Maintaining muscle mass during extended disuse: aestivating frogs as a model species. *Journal of Experimental Biology*, 205(15): 2297–2303.
- Ivakine E A, Cohn R D. 2014. Maintaining skeletal muscle mass: lessons learned from hibernation. *Experimental Physiology*, 99(4): 632–637.
- James R S, Staples J F, Brown J C, et al. 2013. The effects of hibernation on the contractile and biochemical properties of skeletal muscles in the thirteen-lined ground squirrel, *Ictidomys tridecemlineatus*. *Journal of Experimental Biology*, 216(14): 2587–2594.
- James R S, Tallis J A, Seebacher F, et al. 2011. Daily torpor reduces mass and changes stress and power output of soleus and EDL muscles in the Djungarian hamster, *Phodopus sungorus*. *Journal of Experimental Biology*, 214(17), 2896–2902.
- Jiang S f, Guo S P, Xue W, et al. 2015a. Seasonal oxidative capacity of skeletal muscles in hibernating Daurian ground squirrels (*Spermophilus dauricus*). *Canadian Journal of Zoology*, 93(8): 593–598.
- Jiang S f, Gao Y F, Zhang Y M, et al. 2015b. The research on the formation mechanism of extraordinary oxidative capacity of skeletal muscle in hibernating ground squirrels (*Spermophilus dauricus*). *Zoological Studies*, 54(1): 46–51.
- Kornfeld S F, Biggar K K, Storey K B. 2012. Differential expression of mature micromRNAs involved in muscle maintenance of hibernating little brown bats, *Myotis lucifugus*: A model of



- muscle atrophy resistance. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 10(5): 295–301.
- Lambertz D, Perot C, Kaspranski R, et al. 2001. Effects of long-term spaceflight on mechanical properties of muscles in humans. *Journal of Applied Physiology*, 90(1): 179–188.
- Lazareva M V, Trapeznikova K O, Vikhliantsev I M, et al. 2012. Seasonal changes in the isoform composition of the myosin heavy chains in skeletal muscles of hibernating ground squirrels *Spermophilus undulatus*. *Biofizika*, 57(6): 982–987.
- Lee K, Park J Y, Yoo W, et al. 2008. Overcoming muscle atrophy in a hibernating mammal despite prolonged disuse in dormancy: proteomic and molecular assessment. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 104(2): 642–656.
- Lee K, So H, Gwag T, et al. 2010. Molecular mechanism underlying muscle mass retention in hibernating bats: role of periodic arousal. *Journal of Cellular Physiology*, 222(2): 313–319.
- Leivo I, Kauhanen S, Michelsson J E. 1998. Abnormal mitochondria and sarcoplasmic changes in rabbit skeletal muscle induced by immobilization. *Acta Pathologica Microbiologica et Immunologica Scandinavica*, 106(7/12): 1113–1123.
- Lin D C, Hershey J D, Mattoon J S, et al. 2012. Skeletal muscles of hibernating brown bears are unusually resistant to effects of denervation. *Journal of Experimental Biology*, 215(12): 2081–2087.
- Lohuis T D, Harlow H J, Beck T D. 2007a. Hibernating black bears (*Ursus americanus*) experience skeletal muscle protein balance during winter anorexia. *Comparative Biochemistry and Physiology A: Molecular & Integrative Physiology*, 147(1): 20–28.
- Lohuis T D, Harlow H J, Beck T D, et al. 2007b. Hibernating bears conserve muscle strength and maintain fatigue resistance. *Physiological and Biochemical Zoology*, 80(3): 257–269.
- Malatesta M, Perdoni F, Battistelli S, et al. 2009. The cell nuclei of skeletal muscle cells are transcriptionally active in hibernating edible dormice. *Bmc Cell Biology*, 10(1): 19.
- Nowell M M, Choi H, Rourke B C. 2011. Muscle plasticity in hibernating ground squirrels (*Spermophilus lateralis*) is induced by seasonal, but not low-temperature, mechanisms. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical Systemic and Environmentalphysiology*, 181(1): 147–164.
- Postnikova G B, Tselikova S V, Kolaeva S G, et al. 1999. Myoglobin content in skeletal muscles of hibernating ground squirrels rises in autumn and winter. *Comparative Biochemistry and Physiology A: Molecular & Integrative Physiology*, 124(1): 35–37.
- Rourke B C, Cotton C J, Harlow H J, et al. 2006. Maintenance of slow type I myosin protein and mrna expression in overwintering prairie dogs (*Cynomys leucurus* and *ludovicianus*) and black bears (*Ursus americanus*). *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical Systemic and Environmentalphysiology*, 176(7): 709–720.
- Rourke B C, Qin A, Haddad F, et al. 2004a. Cloning and sequencing of myosin heavy chain isoform cdnas in golden-mantled ground squirrels: effects of hibernation on mrna expression. *Journal of Applied Physiology*, 97(5): 1985–1991.
- Rourke B C, Yokoyama Y, Milsom W K, et al. 2004b. Myosin isoform expression and mafbx mrna levels in hibernating golden-mantled ground squirrels (*Spermophilus lateralis*). *Physiological and Biochemical Zoology*, 77(4): 582–593.
- Shavlakadze T, Grounds M. 2006. Of bears, frogs, meat, mice and men: Complexity of factors affecting skeletal muscle mass and fat. *Bioessays*, 28(10): 994–1009.
- Soomro M S, Abdul A M, Kaneez F S, et al. 2013. Effects of season (summer & winter) on electrical characteristics of skeletal muscle membranes of the spiny-tailed lizard, *Uromastix hardwickii*. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 57(4): 390–398.
- Staples J F, Brown J C. 2008. Mitochondrial metabolism in hibernation and daily torpor: a review. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical Systemic and Environmentalphysiology*, 178(7): 811–827.
- Steffen J M, Koebel D A, Musacchia X J, et al. 1991. Morphometric and metabolic indices of disuse in muscles of hibernating ground squirrels. *Comparative Biochemistry and Physiology B: Biochemistry & Molecular Biology*, 99(4): 815–819.
- Tessier S N, Storey K B. 2010. Expression of myocyte enhancer factor-2 and downstream genes in ground squirrel skeletal muscle during hibernation. *Molecular and Cellular Biochemistry*,

- 344(1/2): 151–162.
- Thomas R, Fritz G. 2015. Daily torpor and hibernation in birds and mammals. *Biological Reviews*, 90(3): 891–926.
- Thomason D B, Biggs R B, Booth F W. 1989. Protein metabolism and beta-myosin heavy-chain mRNA in unweighted soleus muscle. *American Journal of Physiology*, 257(2-2): 300–305.
- Tinker D B, Harlow H J, Beck T D. 1998. Protein use and muscle-fiber changes in free-ranging, hibernating black bears. *Physiological and Biochemical Zoology*, 71(4): 414–424.
- Vikhliantsev I M, Malyshev S L, Shenkman B S, et al. 2004. The behavior of titin and the proteins of its family from skeletal muscles of ground squirrel (*Citellus undulatus*) during hibernation and rats under conditions of simulated microgravity. *Biofizika*, 49(6): 995–1002.
- Volodina A V, Pozdnyakov O M. 2004. Structural and functional rearrangement of muscle spindles in rats under conditions of zero gravity. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 137(1): 92–97.
- Wickler S J, Hoyt D F, van Breukelen F. 1991. Disuse atrophy in the hibernating golden-mantled ground squirrel, *Spermophilus lateralis*. *American Journal of Physiology: Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 261(5-2): 1214–1217.
- Williams D, Kuipers A, Mukai C, et al. 2009. Acclimation during space flight: effects on human physiology. *Canadian Medical Association Journal*, 180(13): 1317–1323.
- Xu R, Andres-Mateos E, Mejias R, et al. 2013. Hibernating squirrel muscle activates the endurance exercise pathway despite prolonged immobilization. *Experimental Neurology*, 247(3): 392–401.
- Yang C X, He Y, Gao Y F, et al. 2014. Changes in calpains and calpastatin in the soleus muscle of Daurian ground squirrels during hibernation. *Comparative Biochemistry and Physiology A: Molecular & Integrative Physiology*, 176(1): 26–31.
- Zuikova O V, Osipova D A, Vikhliantsev I M, et al. 2005. Myosin light chains of skeletal and cardiac muscles of ground squirrel *Citellus undulatus* in different periods of hibernation. *Biofizika*, 50(5): 797–802.
- 孙小勇, 高云芳, 王琦, 等. 2012. 达乌尔黄鼠实验室饲养、繁殖及其冬眠阵. *兽类学报*, 32(4): 356–361.
- 王世强, 周曾铨. 1996. 冬眠哺乳动物——天然的心血管医学研究模型. *生命科学*, 8(5): 36–37, 10.
- 武雪, 高云芳, 赵雪红, 等. 2012. 川芎嗪对废用状态下大鼠骨骼肌一氧化氮合酶活性及肌纤维内Ca<sup>2+</sup>浓度的影响. *中华医学杂志*, 92(29): 2075–2077.
- 邢国刚, 樊小力, 宋新爱. 2000. 废用性肌肉萎缩的研究. *国外医学: 物理医学与康复学分册*, 20(4): 145–150.
- 杨明, 王德华. 2011. 哺乳动物的蛰眠: 类型、物种分布与模式. *兽类学报*, 31(2): 195–204.
- 张扬媚, 高云芳. 2012. 废用性肌萎缩的研究进展. *中华物理医学与康复杂志*, 34(7): 550–557.
- 赵以炳, 叶甲壬. 1955. 刺猬冬眠的人工改变 I. 在非冬眠季节用低温导致冬眠的出现. *北京大学学报: 自然科学版*, (1): 127–134.