

李聪,高泽林,方碧青,等. 肌少症动物模型的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(1): 85-90.

Li C, Gao ZL, Fang BQ, et al. Research advances in animal model of sarcopenia [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(1): 85-90.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.01.012

肌少症动物模型的研究进展

李聪,高泽林,方碧青,史仍飞*

(上海体育学院运动科学学院,上海 200438)

【摘要】 肌少症是随着年龄增长,出现的自身肌肉质量减少与力量相应减弱的现象。近年来,肌少症动物模型在老年人肌肉萎缩的预防及其机制探讨方面已有广泛应用。本文综述近年来肌少症动物模型的研究现状,动物肌少症模型的建立及应用进行对比分析,并对各类模型的优缺点进行探讨,为开展相关的实验提供参考。

【关键词】 肌少症;动物模型;小鼠;研究进展

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021) 01-0085-06

Research advances in animal model of sarcopenia

LI Cong, GAO Zelin, FANG Biqing, SHI Rengfei*

(School of Kinesiology, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China)

Corresponding author: SHI Rengfei. E-mail: rfshi@sus.edu.cn

【Abstract】 Sarcopenia is considered to be the phenomena of decreases in muscle mass and strength with age. In recent years, animal models of sarcopenia have been widely used to examine the prevention and mechanisms of muscle atrophy during aging. This article reviews the animal models of sarcopenia, mainly discusses the establishment and application of animal models of sarcopenia, and provides a basis to carrying out relevant experiments.

【Keywords】 sarcopenia; animal model; mouse; research progress

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

肌少症(sarcopenia)主要是指随着年龄的增长,出现全身性骨骼肌质量的丢失和力量的降低,其本质是骨骼肌在衰老进程中表现为“蛋白质合成抵抗”等问题。随着社会老龄化进程的加剧,肌少症已成为影响老年人健康的突出问题,且探讨肌少症发生机制及防治的研究也是目前研究热点。选择和建立肌少症动物模型是开展相关研究的基础,本文通过检索近几年肌少症建模方面的文献,梳理各自优缺点及评价标准,以期进行相关的实验研究提供参考。

1 肌肉减少综合症

1.1 肌肉减少综合症的定义

“肌肉减少综合症”是Rosenberg^[1]于1989年首次提出的概念,简称肌少症(sarcopenia)。肌肉减少综合症用来描述老年人随着年龄增长,自身肌肉质量与肌肉力量相应减弱,从而引起全身的活动能力下降,导致跌倒、骨折甚至残疾的风险增加。2010年,欧洲老年人肌少症工作组(EWGSOP)将其定义为:“一种以进行性骨骼肌肌量和强度广泛损失引起的肢体功能障碍、生活质量下降和死亡等不良事

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(31371197),上海自然科学基金(19ZR1452900),科技部重点研发项目(2020YFC2005604)。

Funded by National Natural Science Foundation of China(31371197), Natural Science Foundation of Shanghai(19ZR1452900), Key R&D Project of Ministry of Science and Technology(2020YFC2005604).

【作者简介】 李聪(1994—),男,在读硕士研究生,研究方向:运动营养。Email: licongace@163.com

【通信作者】 史仍飞(1976—),男,教授,硕士生导师,研究方向:运动与骨骼肌适应的研究。Email: rfshi@sus.edu.cn

件风险增加的综合症”^[2]。除了欧洲老年人肌少症工作组 (EWGSOP) 以外, 国际肌少症工作组 (IWGS) 及亚洲肌少症工作组 (AWGS) 均给出了各自的定义, 基本上其临床表现主要在两个方面: 骨骼肌质量的下降和骨骼肌肌力的减弱。2016 年中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会发布了中国的《肌少症共识》^[3]。

1.2 肌少症的研究现状

肌肉减少综合症严重影响老年人的身体功能, 研究显示老年肌少症患者跌倒风险增加可能与肌肉纤维数量及运动神经元数量的减少有关, 这些生理变化会对机体功能产生不良影响, 导致老年人平衡能力减弱、步速减缓、身体摇摆增加^[4]。另外, 肌肉减少综合症不仅损害老年人的身体功能, 也会对其心理健康状况造成不良影响, 导致老年人心理负担加重, 最终严重影响老年人的生活质量。

目前, 人口老龄化趋势增加已成为全球性关注的健康问题。在中国, 人口老龄化状况越来越严重, 根据“第六次全国人口普查”的数据显示, 2010 年底我国 60 岁以上老年人口的比例为 13.3%^[5], 表明我国已进入老年化社会, 而且老年人口比例还在进一步升高。开展人口老龄化相关的研究也成为重中之重。

1.3 动物肌少症模型构建对于肌肉减少综合症研究的意义

虽然国际上对肌少症的研究热度越来越高, 但目前还没有明确的肌肉减少综合症治疗方案, 对于肌少症的研究仍需拓展加深。选择适宜的动物模型对研究肌少症尤为重要。由于研究老龄化的复杂性及实验干预的不确定性等问题, 目前主要关注动物建模的评定指标、建模方式、优缺点和目的等。本文将以大鼠和小鼠为实验对象, 介绍肌少症建模的方案及特点, 为进行相关的研究提供参考。

2 肌少症的评定指标及评定方式

肌少症主要表现为骨骼肌质量下降、骨骼肌肌力减弱为主要临床特征。这也是建立肌少症动物模型的依据。

对大鼠和小鼠肌肉质量的检测主要通过称重和仪器检测的方式来进行, 活体可以采用的仪器检测包括: 生物电阻抗测量 (BIA)、核磁共振技术 (MRI)、计算机 X 线体层摄影 (CT) 和双能 X 线吸收测量 (DXA)^[6]。而对大鼠和小鼠肌肉力量和功

能的检测常使用抓力仪和转棒式疲劳仪来检测^[7]。

3 肌肉减少综合症模型

肌少症建模目前常采用大鼠、小鼠作为建模对象, 常用的方法主要有试剂注射法、物理法、选材法和手术法等。

3.1 地塞米松注射法

药物注射法是动物建模的常用方法, 在肌少症模型中常采用地塞米松 (dexamethasone, DXM) 药物注射。DXM 属于糖皮质激素, 具有抗炎、抗过敏和抗休克的功效, 但长期注射会有体重增加、肌肉萎缩、脂肪向心性堆积等副作用^[8]。基于此方面的作用, 在一些实验研究中, 对小鼠注射 DXM, 被用作小鼠肌少症建模的方案。我国学者鲁飞翔等^[9]采用 6 ~ 7 月龄 C57BL/6 小鼠, 进行 6 周皮下注射 DXM, 注射剂量为 5 mg/kg 体重, 发现小鼠肌肉质量和功能均显著降低, 认为造模成功。同时, 在王月兵等^[10]人的研究中也出现类似的结果, 此项实验中分别对 8 ~ 10 周龄小鼠和 6 ~ 7 月龄小鼠使用 DXM 试剂注射干预 19 d, 注射剂量为 5 mg/kg 体重。结果发现 8 ~ 10 周龄实验组小鼠与对照组相比, 肌肉质量降低了 14.33% ($P < 0.01$); 6 ~ 7 月龄实验组小鼠与对照组相比, 肌肉质量降低了 6.06% ($P < 0.05$)。但需要注意的是 6 ~ 7 月龄小鼠脂肪的增加高于 8 ~ 10 周龄小鼠, 因此认为在此实验条件下 6 ~ 7 月龄小鼠相较于 8 ~ 10 周龄小鼠更适合作为长期研究肌肉衰减综合征模型。

国外学者 Aru 等^[11]人采用 22 月龄的雌性 Wistar 大鼠, 进行 10 d 的皮下注射 DXM, 注射剂量为 0.50 $\mu\text{g/g}$, 造成大鼠体重和瘦体重均明显下降, 同时后肢抓力也下降了 25% ($P < 0.01$), 认为造模成功。

以上研究表明, 通过 DXM 注射能够造成肌肉质量降低和肌肉功能减弱, 达到与老年人肌少症高度相似的特征, 认为采用成年大小鼠, 进行 DXM 注射建立肌少症模型是可行的, 但是最佳的 DXM 注射剂量和注射周期还有待进一步研究, 以及潜在的副作用尚不清楚。

3.2 肉毒毒素 A (botulinum toxin) 注射法

神经退行性病变被认为是引起肌少症的发病机制之一。肉毒毒素 A (botulinum toxin, BTX) 是一种高分子蛋白毒素, 能抑制运动神经元乙酰胆碱释放到神经肌肉连接处的突触间隙, 使肌肉麻痹, 从

而导致肌肉的快速丢失^[12],也被应用于建立肌少症模型。Brent 等^[13]的研究中,对成年雌性 Wistar 大鼠(12 ~ 14 周龄)进行 BTX 注射 6 周(2IU),能显著造成肌肉质量和肌肉横截面积降低,成功建立肌少症动物模型。但需要注意的是,BTX 在造成肌肉流失的同时,往往伴随骨质流失,这与单独的老年人肌少症有一定的差异,所以针对此方法的可行性还需进一步研究探讨。

3.3 后肢悬吊(hind limb suspension)法

小鼠后肢悬吊法(hind limb suspension, HLS)是常用的肌少症造模方法^[14]。通常采用动物后肢悬吊装置(见图 1)模拟微重力条件造成废用性肌肉模型^[15]。Morey 等^[16]采用后肢悬吊装置对大鼠进行 HLS 一定时间,大鼠的肌肉会出现废用性萎缩,肌肉质量和肌肉力量均会降低。同时,荆小马等^[17]对老龄小鼠(26 月龄)进行 HLS 2 周后,导致小鼠腓肠肌质量显著降低,证实 HLS 会诱发小鼠肌肉的萎缩。

除此以外,Goldspink 等^[18]的研究还发现,使用小鼠 HLS 的方式建立小鼠肌少症模型,小鼠的 I 型慢速肌纤维的减少比 II 型快速肌纤维的减少更明显,这种微重力状况下导致的肌肉丢失与老年人肌少症的症状:II 型肌纤维的减少多于 I 型肌纤维的减少不太相似。

通常,在康复医疗和航天医学领域的研究中可能会使用此方式建模,从建模的机制上探讨,运用此方法建模的优点是无需药物干预,对后续实验差异的影响较小。不过,最大的局限在于运用此方式

建模小鼠肌肉衰减所表现出的特征与老年人不相符。

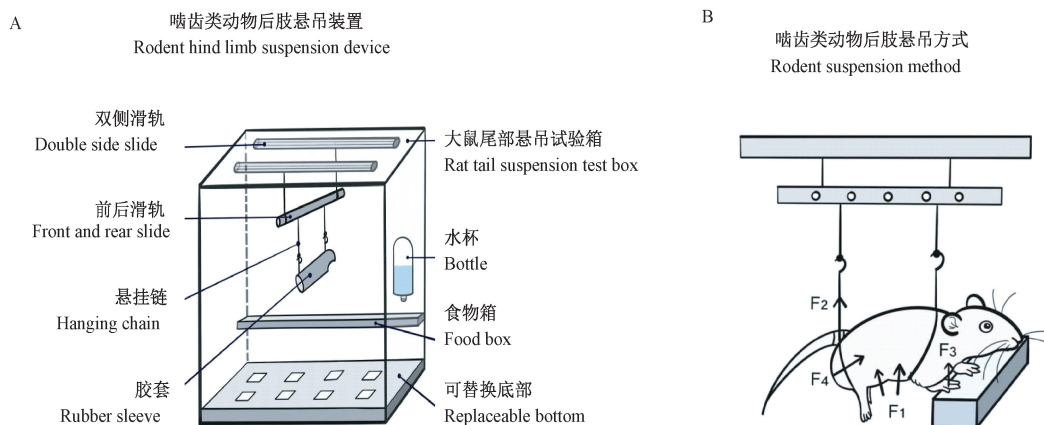
3.4 关节位置固定法

关节位置固定法主要造成被固定的肌肉失去收缩舒张等活动,从而引起肌肉萎缩(图 2),此方法常被用作模拟骨折后的石膏、绷带或螺旋线进行包裹固定,从而限制大鼠的关节活动,在限制大鼠关节活动一段时间后,可能会造成大鼠肌肉的废用性萎缩,导致大鼠肌肉质量和肌肉力量的降低,从而建立大鼠肌少症模型。Ohira 等^[19]的研究中对成年 Wistar 大鼠进行后肢固定,经过 10 d 的固定就成功造成比目鱼肌出现废用性萎缩,且 I 型慢速肌纤维的减少量大于 II 型快速肌纤维。

虽然关节位置固定也是一种无需药物干预,简便且易于操作的建模方法,但是局限性也在于运用此方法建模,其肌肉衰减所表现出的症状与老年人不相符。不仅如此,目前关于使用关节位置固定法进行大鼠肌少症建模的研究仍较少,其固定方式和固定干预时间仍需进一步研究探讨。

3.5 直接选材法

虽然注射法、物理法等方法可以导致大鼠和小鼠的肌肉质量和肌肉力量降低,但与老年人肌少症的表现症状仍有差别,因此直接选取老年大鼠建立肌少症模型有一定的优势。在 Kob 等^[20]的实验中,直接选取 6 月龄的大鼠并进行高脂饮食饲养,在第 16 月时通过检测发现雄性大鼠的肌肉横截面积减少,认为造模成功。不过需要注意的是,在此实验中雌性大鼠的肌肉量并没有明显减少。



注:A:啮齿类动物后肢悬吊装置;B:啮齿类动物后肢悬吊方式。F1、F2:纵向拉力;F3:前肢支撑力;F4:斜向拉力。

图 1 啮齿类动物后肢悬吊示意图

Note. A. Rodent hind limb suspension device. B. Rodent suspension method. F1、F2. Vertical tension. F3. Forelimb support. F4. Diagonal pull.

Figure 1 Schematic diagram of rodent hind limb suspension

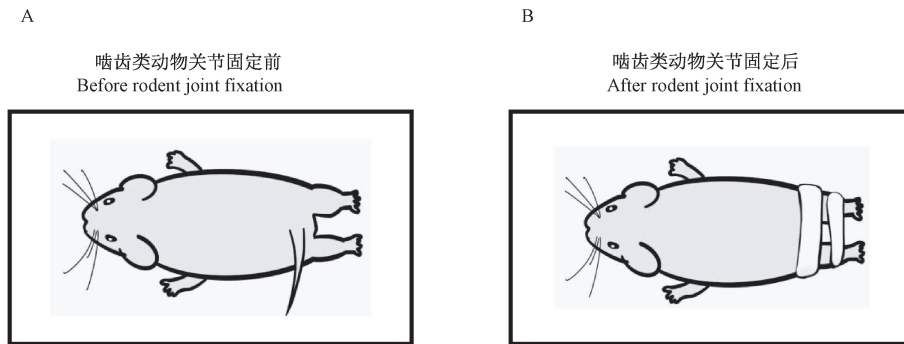


图 2 啮齿类动物后肢关节固定法

Figure 2 Rodent hind limb joint fixation

虽然直接选取老龄肌肉衰减大鼠的“天然模型”有其自身的优势,但较高的经济成本和时间成本投入让直接采取这种方法建立肌少症模型显得有些困难,同时选材法可能还存在大鼠的性别差异。

3.6 加速衰老模型

为了进一步研究肌肉减少综合症,一些加速衰老的小鼠已被开发。这类小鼠会快速衰老,方便观察其肌肉生理变化和解剖形态。研究显示, SAMP6^[21] 和 SAMP8^[22] 是建立小鼠骨骼肌衰老的理想模型。Derave 等^[23] 研究发现相比于 SAMR1 抗衰老模型小鼠,加速衰老的 SAMP6 和 SAMP8 两种小鼠均随着年龄增长出现肌肉力量、肌纤维尺寸以及肌肉磷酸肌酸水平的下降。与此同时, SAMP8 小鼠相较于 SAMP6 小鼠其肌肉量和肌肉力量下降速度更快,开始出现下降的时间也更早。根据这些发现进行推断,使用 SAMP8 小鼠可能是建立肌少症的理想模型。

另一种能够建立小鼠肌少症模型的加速衰老小鼠是 POLG 小鼠, POLG 对线粒体 DNA 的复制和修复起到十分重要的作用, POLG 缺失将导致线粒体功能的紊乱^[24]。这种加速衰老模型的小鼠在 6 月龄后即表现出肌肉流失,可能也是小鼠肌少症建模的一种理想选材。

3.7 转基因小鼠

转基因小鼠也被开发用于肌少症建模。MKR 小鼠是一种骨骼肌中 IGF-1 受体表达转变的转基因小鼠, IGF-1 受体的缺失可能会影响小鼠的肌肉发育生长^[25]。Mavalli 等^[26] 发现, IGF-1 受体缺失的小鼠在 6 周龄和 16 周龄时相比野生型小鼠,其肌纤维横截面积均明显减少。

除了 IGF-1 受体缺失的小鼠可用于小鼠肌少症建模, Akt1/Akt2 双敲除的小鼠也表现出严重的生

长缺陷及骨骼肌萎缩,与 IGF-1 受体缺失小鼠类似^[27]。需要注意的是,尽管这两种类型的小鼠都表现出肌肉萎缩,但 Akt 双敲除的小鼠主要表现为肌细胞尺寸减少,而 IGF-1 缺失的小鼠则表现为肌细胞数量的减少。

3.8 雌性大鼠去除卵巢建模法

雌激素在骨质疏松中起着重要的调节作用,雌激素缺乏将引起骨质疏松症^[28]。而当骨质疏松 (osteoporosis) 发生后,骨骼肌的代谢水平也会随之发生变化,并出现肌肉质量和功能的减退^[29]。这一特征与肌少症的症状高度相似,运用雌激素的这一机制,可以尝试通过大鼠卵巢去除手术 (ovariectomy, OVX) 进行肌少症建模。

在 Nakaoka 等^[30] 的实验中,对 24 只 12 周龄的 Sprague-Dawley 大鼠进行 OVX 实验,7 d 后经测量发现雌性大鼠的骨骼肌质量明显降低。另外,尹博^[31] 对 28 只三月龄 SD 雌性大鼠进行 OVX,一周后进行测量,发现手术后的雌性大鼠腓肠肌质量和抓力均明显下降,认为造模成功。

运用雌性大鼠去除卵巢的方式建模其特征与老年人肌少症的症状高度相似,美中不足是过程繁琐以及对手术技术要求较高。

4 小结

鉴于肌少症是影响老年人群健康和生活质量的重要因素,进行相关的研究也是目前的研究热点。选择及建立肌少症动物模型是开展相关研究的保障,目前肌少症模型方案主要有试剂注射法、物理法、选材法、手术法和基因敲除等方法,但关于模型之间的对比研究每种方法各有其优缺点,需要根据实际情况进行选择。但缺乏各肌少症模型之间的对比研究,以及模拟人体衰老中骨骼肌丢失的

理想模型还有待于探索。

参 考 文 献(References)

- [1] Rosenberg IH. Sarcopenia; origins and clinical relevance [J]. J Nutr, 1997, 127: 990-991.
- [2] Cruz JAJ, Bahat G, Bauer J, et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis [J]. Age Ageing, 2010, 39(4): 412-423.
- [3] 中华医学会骨质疏松和骨矿物盐疾病分会. 肌少症共识 [J]. 中华骨质疏松和骨矿物盐疾病杂志, 2016, 9(3): 215-227. Chinese Society of Osteoporosis And Bone Mineral Research. Sarcopenia consensus [J]. Chin J Osteoporos Bone Miner Res, 2016, 9(3): 215-227.
- [4] Cruz-Jentoft AJ, Sayer AA. Sarcopenia [J]. Lancet, 2019, 393(10191): 2636-2646.
- [5] 2010 年第六次全国人口普查主要数据公报(第 1 号)[J]. 中国计划生育学杂志, 2011, 19(8): 511-512. Bulletin of main data of the sixth national census in 2010 (No.1) [J]. Chin J Fam Plan, 2011, 19(8): 511-512.
- [6] 周仙杰, 李军, 鲁飞翔, 等. 肌肉衰减综合征诊断标准及诊断指标测量方法研究进展 [J]. 山东医药, 2016, 56(27): 107-109. Zhou XJ, Li j, Lu FX, et al. Research progress on diagnostic criteria and diagnostic index measurement methods of muscle attenuation syndrome [J]. Shandong Med J, 2016, 56(27): 107-109.
- [7] 卞龙艳. 自噬水平在成年运动小鼠主要器官中的变化 [D]. 苏州: 苏州大学; 2011. Bian LY. Changes of autophagy level in main organs of adult exercise mice [D]. Suzhou: Suzhou University; 2011.
- [8] 张海英, 李玉珍. 糖皮质激素类药物的药理特性及合理应用 [J]. 临床药物治疗杂志, 2004, 2(3): 36-42. Zhang HY, Li YZ. Pharmacological characteristics and rational application of glucocorticoids [J]. Clin Med J, 2004, 2(3): 36-42.
- [9] 鲁飞翔, 李军, 周仙杰, 等. 地塞米松致小鼠肌肉衰减综合征模型建立 [J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(22): 5542-5544. Lu FX, Li J, Zhou XJ, et al. Establishment of dexamethasone induced mouse model of muscle wasting syndrome [J]. Chin J Gerontol, 2016, 36(22): 5542-5544.
- [10] 王月兵, 刘庆春, 鲁飞翔, 等. 地塞米松对小鼠体成分的影响 [J]. 武警医学, 2017, 28(11): 1093-1095, 1099. Wang YB, Liu QC, Lu FX, et al. Effect of dexamethasone on body composition in mice [J]. Med J Chin Peop Arm Pol For, 2017, 28(11): 1093-1095, 1099.
- [11] Aru M, Alev K, Pehme A, et al. Changes in body composition of old rats at different time points after dexamethasone administration [J]. Curr Aging Sci, 2019, 11(4): 255-260.
- [12] Thomsen JS, Christensen LL, Vegger JB, et al. Loss of bone strength is dependent on skeletal site in disuse osteoporosis in rats [J]. Calcif Tissue Int, 2012, 90(4): 294-306.
- [13] Brent MB, Brüel A, Thomsen JS. PTH (1-34) and growth hormone in prevention of disuse osteopenia and sarcopenia in rats [J]. Bone, 2018, 110: 244-253.
- [14] Cannon CM, Dieter SH, Stodieck LS, et al. A novel combination of methods to assess sarcopenia and muscle performance in mice [J]. Biomed Sci Instrum, 2005, 41: 116-121.
- [15] Lawler JM, Song W, Demaree SR. Hindlimb unloading increase oxidative stress and disrupts antioxidant capacity in skeletal muscle [J]. Free Radic Biol Med, 2003, 35(1): 9-16.
- [16] Morey HER, Globus RK. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects [J]. J Appl Physiol, 1985, 92(4): 1367-1377.
- [17] 荆小马, 王全全, 郝延磊. 肌肉衰减综合征小鼠腓肠肌 Sirt 1 和 mTOR 活性的变化 [J]. 基础医学与临床, 2018, 38(7): 922-927. Jing XM, Wang QQ, Hao YL. Alterations of Sirt1 and mTOR activity in gastrocnemius muscle of mice with sarcopenia [J]. Basic Clin Med, 2018, 38(7): 922-927.
- [18] Goldspink DF, Morton AJ, Loughna P, et al. The effect of hypokinesia and hypodynamia on protein turnover and the growth of four skeletal muscles of rat [J]. Pflugers Arch, 1986, 407(3): 333-340.
- [19] Ohira Y, Yoshinaga T, Ohara M, et al. The role of neural and mechanical influences in maintaining normal fast and slow muscle properties [J]. Cells Tissues Organs, 2006, 182(3-4): 129-142.
- [20] Kob R, Fellner C, Bertsch T, et al. Gender-specific differences in the development of sarcopenia in the rodent model of the ageing high-fat rat [J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2015, 6(2): 181-191.
- [21] Hirofuji C, Ishihara A, Roy RR, et al. SDH activity and cell size of tibia lies anterior motoneurons and muscle fibers in SAMP6 [J]. Neuroreport, 2000, 11(4): 823-828.
- [22] Nishikawa T, Takahashi JA, Matsushita T, et al. Tubular aggregates in the skeletal muscle of the senescence-accelerated mouse; SAM [J]. Mech Ageing Dev, 2000, 114(2): 89-99.
- [23] Derave W, Eijnde BO, Ramaekers M, et al. Soleus muscles of SAMP8 mice provide an accelerated model of skeletal muscle senescence [J]. Exp Gerontol, 2005, 40(7): 562-572.
- [24] Trifunovic A, Wredenberg A, Falkenberg M, et al. Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase [J]. Nature, 2004, 429(6990): 417-423.
- [25] Fernández AM, Kim JK, Yakar S. et al. Functional inactivation of the IGF-1 and insulin receptors in skeletal muscle causes type 2 diabetes [J]. Genes Dev, 2001, 15(15): 1926-1934.
- [26] Mavalli MD, Digirolamo DJ, Fan Y, et al. Distinct growth hormone receptor signaling modes regulate skeletal muscle development and insulin sensitivity in mice [J]. J Clin Invest, 2010, 120(11): 4007-4020.
- [27] Liu JP, Baker J, Perkins AS, et al. Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (igf-1) and type 1 IGF receptor (Igf1r) [J]. Cell, 1993, 75(1): 59-72.

- [28] Xiong Q, Tang P, Gao Y, et al. Proteomic analysis of estrogen-mediated signal transduction in osteoclasts formation [J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 596789.
- [29] Damas F, Phillips S, Vechin FC, et al. A review of resistance training-induced changes in skeletal muscle protein synthesis and their contribution to hypertrophy [J]. Sports Med, 2015, 45 (6): 801-807.
- [30] Nakaoka K, Yamada A, Noda S, et al. Influence of dietary vitamin D deficiency on bone strength, body composition, and muscle in ovariectomized rats fed a high-fat diet [J]. Nutrition, 2019, 60: 87-93.
- [31] 尹博. 负重跑台运动与低强度脉冲超声对去卵巢大鼠骨骼肌的影响及分子机制研究 [D]. 西安: 陕西师范大学; 2018.
- Yin B. Effects of treadmill exercise and low intensity pulsed ultrasound on skeletal muscle of ovariectomized rats and its molecular mechanism [D]. Xian: Shanxi Normal University; 2018.

[收稿日期] 2020-06-17