

参芪复方对 2 型糖尿病大鼠骨骼肌细胞凋亡的作用

任雪交¹, 吴贤波², 丁若兰³, 朱海燕^{4*}, 唐宋琪^{5*}

(1. 成都中医药大学, 四川 成都 610037; 2. 成都体育学院, 四川 成都 610041; 3. 成都中医药大学附属医院, 四川 成都 610072; 4. 成都医学院临床医学院第一附属医院, 四川 成都 610500; 5. 海南医学院, 海南 海口 571199)

摘要: **目的** 研究参芪复方对 2 型糖尿病大鼠骨骼肌细胞凋亡的调节作用及其对 Bcl-2 家族蛋白表达的影响。**方法** 30 只雄性自发性 2 型糖尿病 GK 大鼠, 给予高脂饲料喂养, 连续 3 d 检测随机血糖 ≥ 11.1 mmol/L 即确认造模成功。造模成功后, 将 2 型糖尿病大鼠模型随机分为模型对照组、参芪复方组、罗格列酮组, 每组 10 只; 另取 10 只雄性 Wistar 大鼠作为正常对照组, 普通饲料喂养。参芪复方组灌胃给予参芪复方浸膏 (14.33 g/kg), 罗格列酮组灌胃给予罗格列酮混悬液 (0.67 mg/kg), 模型对照组和正常对照组均给予等体积生理盐水灌胃, 每天 1 次, 连续给药 8 周。采用 TUNEL 法荧光染色观察骨骼肌细胞凋亡情况, RT-qPCR、Western blot 检测骨骼肌组织中 Bad、Bak、Bax、Bcl-2、Bcl-xL mRNA 和蛋白表达。**结果** 参芪复方可降低模型大鼠骨骼肌细胞凋亡率 ($P<0.05$), 下调 Bak mRNA 表达与 Bad、Bax 蛋白表达 ($P<0.05$, $P<0.01$), 并上调 Bcl-2 mRNA 和蛋白表达 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 参芪复方可通过抑制 2 型糖尿病大鼠骨骼肌细胞凋亡, 从而改善糖尿病骨骼肌病变, 其机制与调控 Bak、Bad、Bax、Bcl-2 的表达密切相关。

关键词: 参芪复方; 糖尿病大鼠; 骨骼肌细胞; 细胞凋亡; Bcl-2 家族

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2022)02-0560-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.02.042

糖尿病骨骼肌病变由糖尿病状态下高血糖持续对骨骼肌及相应血管神经的损害而引发, 是 2 型糖尿病 (T2DM) 的常见并发症之一, 临床主要表现为肌无力, 肌肉萎缩等^[1-2]。参芪复方由人参、黄芪、山药、山茱萸、生地、天花粉、丹参、制大黄组成, 具有益气健脾、清热生津、活血化瘀的功效, 临床观察该方可明显改善糖尿病患者的肌肉萎软无力、疼痛、萎缩等症状。前期实验研究表明^[3], 参芪复方可改善 2 型糖尿病大血管病变模型小鼠的糖脂代谢和血管损害, 减轻模型动物的骨骼肌细胞萎缩、水肿、断裂和炎症状况, 对糖尿病小鼠的骨骼肌具有保护作用。但其作用机制尚不明确。

许多研究表明, 肌纤维细胞凋亡在肌肉萎缩中起重要作用^[4-6], 且以线粒体功能障碍而激发的细胞凋亡为主要贡献者^[7-10], 而 Bcl-2 家族是介导线粒体损伤引起细胞凋亡的重要成员。因此, 本研究拟从骨骼肌线粒体相关凋亡蛋白切入, 进一步探究参芪复方对糖尿病骨骼肌细胞凋亡的影响及作用机制。

1 材料

1.1 动物及饲料 30 只自发性 2 型糖尿病 GK 大鼠, SPF 级, 雄性, 8 周龄, 体质量 (210 ± 10) g; 10 只 Wistar 大鼠, SPF 级, 雄性, 8 周龄, 体质量 (210 ± 10) g, 均购自常州卡文斯实验动物有限公司, 动物生产许可证号 SCXK (苏) 2016-0010。普通饲料和高脂饲料 (基础饲料 55%, 脂肪 10%, 胆固醇 10%, 糖 20%, 奶粉 5%, 另加少量微量元素) 均由恩施维尔公司提供。

1.2 药物 参芪复方水煎液由成都中医药大学附属医院药剂科提供 (批号 20190420), 所用药材均由成都中医药大学黄巍教授鉴定为正品。罗格列酮 (批号 190304, 成都恒瑞制药有限公司)。

1.3 试剂 蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合物 (货号 P1050)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (货号 P0010)、RIPA 裂解液 (货号 P0013B)、PMSF (货号 ST506) 均购于上海碧云天生物技术有限公司; Bak 抗体 (货号 12105, 美国 Cell Signaling Technology 公司); Bad 抗体 (货号 ab32445)、Bax

收稿日期: 2021-03-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81660788); 国家中医药管理局应用基础项目 (yyjc20200907); 四川省中医药管理局科学技术研究专项 (2018QN051); 成都医学院第一附属医院高层次人才科研启动基金 (NCYFY-GQ02)

作者简介: 任雪交 (1996—), 女 (苗族), 硕士生, 从事中药药理研究。Tel: 17723543114, E-mail: carrie@stu.cdutcm.edu.cn

* 通信作者: 朱海燕 (1979—), 女, 博士, 副教授, 从事中医药防治内分泌代谢病的基础与临床研究。Tel: 15528081146, E-mail: zhuhaiyan19791@126.com

唐宋琪 (1981—), 男, 博士, 教授, 从事中医药防治变态反应性疾病的临床与实验研究。E-mail: tangsongqi@hainmc.edu.cn

抗体（货号 ab32503）、Bcl-2 抗体（货号 ab196495）、Bcl-xL 抗体（货号 ab178844）、Prism Ultra Protein Ladder（货号 ab116028）、Goat anti-Rabbit IgG（H + L）Secondary Antibody HRP（货号 ab205118）、Anti-COX IV antibody（HRP）（货号 ab209958）均购于英国 Abcam 公司；大鼠 *ACTB* 内参引物（货号 B661202）、大鼠 *RPS18* 内参引物（货号 B661201）均购于生工生物工程上海（股份）有限公司；RT Easy II（货号 RT-01023）、Animal Total RNA Isolation Kit（货号 RE-03011）均购于成都福际生物技术有限公司；SsoAdvanced Universal SYBRGreen Supermix（货号 1725271）、Clarity Western ECL Substrate（货号 170-5060）均购于美国 Bio-Rad 公司。

1.4 仪器 TSJ-II 型全自动封闭式组织脱水机、BMJ-III 型包埋机、PHY-III 型病理组织漂烘仪均购于常州中威电子仪器有限公司；转轮式切片机（德国徕卡公司）；DeadEnd TM 荧光测定 TUNEL 系统 [普洛麦格（北京）生物技术有限公司]；血糖仪（美国 Abbott Diabetes Care 公司）；电泳仪、荧光定量 PCR（美国 Bio-Rad 公司）；酶标仪（美国 ThermoFisher 公司）；超微量核酸分析仪（德国 IMPLEN 公司）；基因扩增仪（杭州朗基科学仪器有限公司）；全自动化学发光凝胶成像系统（北京赛智创业科技有限公司）。

2 方法

2.1 药液制备 参芪复方水煎液制备工艺，称取人参 15 g、黄芪 15 g、山药 10 g、山茱萸 10 g、生地 10 g、天花粉 10 g、丹参 10 g、酒制大黄 6 g，加入 10 倍量水，浸泡 30 min，煎煮 30 min，滤过，收集滤液；再加入 8 倍量水，煎煮 30 min，滤过，合并 2 次滤液，减压浓缩至含生药量 2 g/mL。参芪复方受试药液配制，取参芪复方水煎液 30 mL，加生理盐水 10 mL，配制成 1.5 g/mL 混悬液备用。罗格列酮混悬液配制，取罗格列酮 1 粒，碾碎后加入生理盐水 57.1 mL，配制成 0.07 mg/mL 混悬液备用。

2.2 造模方法 将 2 型糖尿病模型大鼠适应性饲养 1 周后，换以高脂饲料喂养，每周监测随机血糖，连续 3 d 检测随机血糖 ≥ 11.1 mmol/L 视为造模成功。造模 37 d，给药期间同时给予高脂饲料喂养。

2.3 分组及干预 课题组前期实验研究发现，参芪复方临床等效剂量的 10 倍剂量对 2 型糖尿病动物模型的血糖、血脂代谢紊乱和骨骼肌病变的改善作用最佳^[1]，因此本实验选择了 10 倍剂量的参芪复方作为中药组。造模成功后，将 2 型糖尿病大鼠模型随机分为 3 组，即模型对照组、参芪复方组、罗格列酮组，每组 10 只，另取 10 只 Wistar 大鼠为正常对照组。参芪复方组灌胃给予 14.33 g/kg 参芪复方混悬液，罗格列酮组灌胃给予 0.67 mg/kg 罗格列酮混悬液，正常对照组、模型对照组均灌胃等体积生理盐水。每天 1 次，连续给药 8 周，8 周后处死大鼠。

2.4 标本采集 实验结束后，标本采集处死前 12 h 禁食不禁水，以 2% 戊巴比妥（45 mg/kg）麻醉后置于冰盘上，迅速剥离腓肠肌，并切成 1 cm×1 cm×0.5 cm 的小块以 10%

的多聚甲醛固定，剩余腓肠肌组织分装至 EP 管并标记后投入液氮中，于-80 ℃冰箱保存待测。

2.5 骨骼肌细胞凋亡率检测 将 10% 多聚甲醛固定的腓肠肌组织制成石蜡切片，切片常规脱蜡至水，以水浸泡 5~10 min，浸入 PBS 漂洗 2 次，每次 5 min；制备 TUNEL 反应混合液，孵育 8~10 min，避光将切片浸入 PBS 漂洗 3 次，每次 5 min，甘油封片，荧光显微镜检测，每张切片随机选取 3 个视野，进行凋亡细胞分析。

2.6 RT-qPCR 检测骨骼肌组织中目的基因表达 用液氮将大鼠腓肠肌组织研磨成粉末状，按 Animal Total RNA Isolation Kit 说明书提取 RNA，微量核酸分析仪检测 RNA 质量浓度和纯度，将样本 RNA 质量浓度调整为 84 ng/ μ L，RT Easy II 试剂盒将 mRNA 样本逆转录为 cDNA（2×RT OR-EasyTM Mix 溶液 10 μ L，样本 10 μ L；42 ℃ 15 min 逆转录，85 ℃ 5 min 失活），SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix 试剂盒检测目标 mRNA 相对表达量，以 *ACTB* 和 *RPS18* 作为归一化内参基因。PCR 反应体系（20 μ L）为 2×SYBR Green mixture 10 μ L，正反向引物各 0.8 μ L，cDNA 1 μ L，RNase Free water 7.4 μ L；进行 40 个 PCR 循环，循环后进行熔解曲线实验，观察扩增产物有无非特异性扩增及扩增片段长度。PCR 引物序列见表 1。

表 1 基因引物序列

基因名称	引物碱基序列 5'→3'	产物长度/bp
<i>Bcl-2</i>	正向 ACGGTGGTGGAGGAAGCTCTTCAG	168
	反向 GGTGTGCAGATGCCGGTTCAG	
<i>Bcl-xL</i>	正向 GGTCGCATTGTGGCCTTCTTCTC	151
	反向 AGCCGCCGTCTCTCTGGATC	
<i>Bax</i>	正向 CCAGGACGCATCCACCAAGAAG	138
	反向 GCTGCCACACGGAAGAAGACC	
<i>Bak</i>	正向 AATTCACGTATAGCAGTTCCTGCC	129
	反向 TGTCACCTGCCTGACTGCTC	
<i>Bad</i>	正向 CGTACAGCGTTGAGTTCCTTCCG	172
	反向 CCAGGACTCGCAACTTAGCACAG	

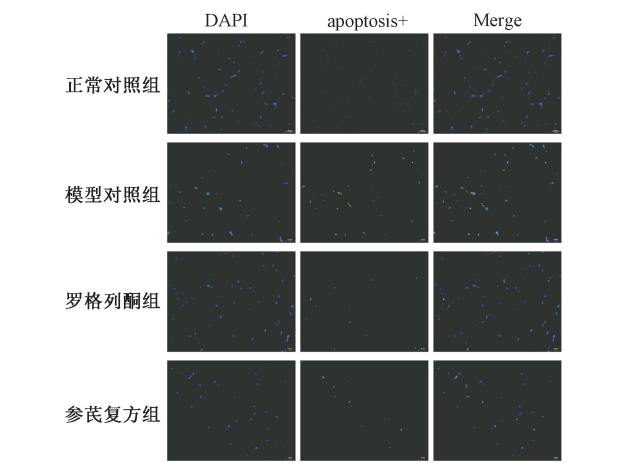
2.7 Western blot 检测骨骼肌组织中目的蛋白表达 剪取 100 mg 大鼠腓肠肌组织，加入含蛋白酶和磷酸化酶抑制剂的 RIPA 混合裂解液，冰上匀浆，4 ℃ 裂解 1 h 后离心（12 000 r/min，5 min），收集上清液，BCA 法检测总蛋白浓度，每孔以 20 μ g 蛋白上样，100 V 电泳，100 V 湿转，5% 脱脂牛奶封闭 2 h，加入相应一抗，4 ℃ 孵育 16 h，二抗室温孵育 2 h，ECL 试剂盒显影，化学发光成像系统曝光拍摄，凝胶分析系统分析条带净光密度值。

2.8 统计学分析 通过 GraphPad Prism 8.3 软件进行处理，计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差（one-way ANOVA）分析，组间两两比较采用 Tukey 检验，方差不齐采用 Dunnett T3 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 参芪复方对大鼠骨骼肌细胞凋亡的影响 与正常对照组比较，模型对照组大鼠骨骼肌细胞凋亡率升高（ $P < 0.01$ ）；

与模型对照组比较, 罗格列酮组与参芪复方组大鼠骨骼肌细胞凋亡率降低 ($P<0.05$); 罗格列酮组与参芪复方组比较大鼠骨骼肌细胞凋亡率无明显变化 ($P>0.05$), 见图 1、表 2。



注: 绿色荧光标示凋亡细胞, 蓝色荧光标示细胞核。
图 1 各组大鼠骨骼肌细胞凋亡情况 (TUNEL 荧光染色, $\times 400$)

表 3 各组大鼠骨骼肌组织 <i>Bad</i> 、 <i>Bak</i> 、 <i>Bax</i> 、 <i>Bcl-2</i> 、 <i>Bcl-xL</i> mRNA 表达 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)					
组别	<i>Bad</i>	<i>Bak</i>	<i>Bax</i>	<i>Bcl-2</i>	<i>Bcl-xL</i>
正常对照组	1.09 $\pm$ 0.11	1.05 $\pm$ 0.06	1.10 $\pm$ 0.13	0.96 $\pm$ 0.04	1.00 $\pm$ 0.04
模型对照组	1.48 $\pm$ 0.22 [*]	1.07 $\pm$ 0.18	1.16 $\pm$ 0.17	0.88 $\pm$ 0.15	0.74 $\pm$ 0.05 [*]
罗格列酮组	1.10 $\pm$ 0.06 ^{Δ}	0.93 $\pm$ 0.14	1.03 $\pm$ 0.08	1.06 $\pm$ 0.13	0.92 $\pm$ 0.12
参芪复方组	1.23 $\pm$ 0.03	0.69 $\pm$ 0.00 ^{Δ*}	0.89 $\pm$ 0.00	1.20 $\pm$ 0.05 ^{Δ}	0.81 $\pm$ 0.08

注: 与正常对照组比较, $^* P<0.05$; 与模型对照组比较, $^{\Delta} P<0.05$ 。
蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), Bcl-2 蛋白表达升高 ($P<0.01$), 参芪复方组大鼠骨骼肌组织 *Bad*、*Bax* 蛋白表

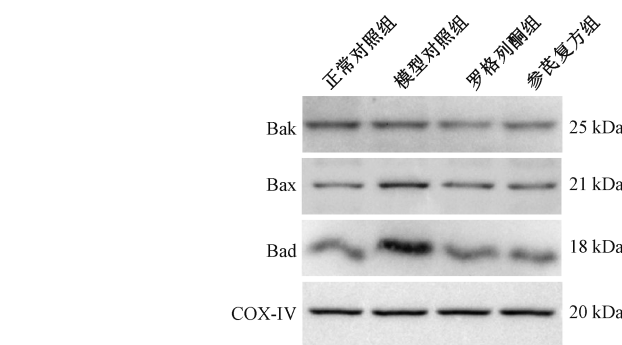


图 2 各组大鼠骨骼肌组织 *Bad*、*Bak*、*Bax*、*Bcl-2*、*Bcl-xL* 蛋白条带图

表 4 各组大鼠骨骼肌组织 <i>Bad</i> 、 <i>Bak</i> 、 <i>Bax</i> 、 <i>Bcl-2</i> 、 <i>Bcl-xL</i> 蛋白表达 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)					
组别	<i>Bad</i>	<i>Bak</i>	<i>Bax</i>	<i>Bcl-2</i>	<i>Bcl-xL</i>
正常对照组	0.98 $\pm$ 0.10	1.10 $\pm$ 0.10	1.08 $\pm$ 0.12	1.06 $\pm$ 0.06	1.20 $\pm$ 0.18
模型对照组	1.55 $\pm$ 0.12 ^{**}	0.99 $\pm$ 0.17	1.46 $\pm$ 0.18 [*]	0.68 $\pm$ 0.06 ^{**}	0.80 $\pm$ 0.11 [*]
罗格列酮组	1.09 $\pm$ 0.11 ^{$\Delta\Delta$}	0.76 $\pm$ 0.12 [*]	1.07 $\pm$ 0.10 ^{Δ}	0.84 $\pm$ 0.04 ^{**Δ}	0.67 $\pm$ 0.08 ^{**}
参芪复方组	0.93 $\pm$ 0.13 ^{$\Delta\Delta$}	0.81 $\pm$ 0.04	1.07 $\pm$ 0.11 ^{Δ}	0.94 $\pm$ 0.03 ^{*$\Delta\Delta$}	0.77 $\pm$ 0.05 ^{**}

注: 与正常对照组比较, $^* P<0.05$, $^{**} P<0.01$; 与模型对照组比较, $^{\Delta} P<0.05$, $^{\Delta\Delta} P<0.01$ 。

4 讨论

骨骼肌是全身葡萄糖吸收的重要组织之一, 也是胰岛素作用的主要靶组织之一, 对维持机体葡萄糖动态平衡具

表 2 各组大鼠骨骼肌细胞凋亡率 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

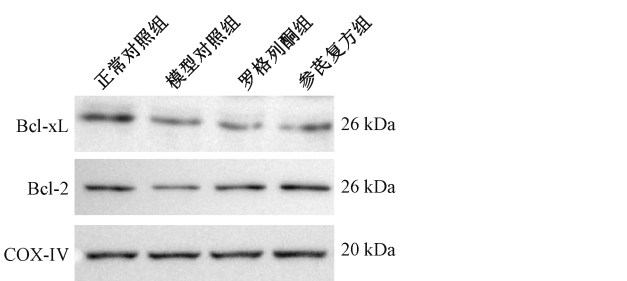
组别	平均凋亡率/%
正常对照组	2.23 $\pm$ 2.74
模型对照组	12.58 $\pm$ 3.91 ^{**}
罗格列酮组	6.96 $\pm$ 2.64 ^{*Δ}
参芪复方组	7.08 $\pm$ 1.90 ^{*Δ}

注: 与正常对照组比较, $^* P<0.05$, $^{**} P<0.01$; 与模型对照组比较, $^{\Delta} P<0.05$ 。

3.2 参芪复方对大鼠骨骼肌组织 *Bad*、*Bak*、*Bax*、*Bcl-2*、*Bcl-xL* mRNA 表达的影响 与正常对照组比较, 模型对照组大鼠骨骼肌组织 *Bad* mRNA 表达升高 ($P<0.05$), *Bcl-xL* mRNA 表达降低 ($P<0.05$); 与模型对照组比较, 罗格列酮组大鼠骨骼肌组织 *Bad* mRNA 表达降低 ($P<0.05$), 参芪复方组大鼠骨骼肌组织 *Bak* mRNA 表达降低 ($P<0.05$)、*Bcl-2* mRNA 表达升高 ($P<0.05$), 见表 3。

3.3 参芪复方对大鼠骨骼肌组织 *Bad*、*Bak*、*Bax*、*Bcl-2*、*Bcl-xL* 蛋白表达的影响 与正常对照组比较, 模型对照组大鼠骨骼肌组织 *Bad*、*Bax* 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), *Bcl-2*、*Bcl-xL* 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$); 与模型对照组比较, 罗格列酮组大鼠骨骼肌组织 *Bad*、*Bax*

达均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)、*Bcl-2* 蛋白表达升高 ($P<0.01$), 见图 2、表 4。



有关键性作用。长期处于高血糖环境下的骨骼肌易受损害, 其中以氧化型肌纤维受损最为突出, 在光镜下主要表现为肌纤维萎缩^[11]。研究发现, 其发病机制可能与线粒体损伤

引起的细胞凋亡有关。Kelley 等^[12]在 2 型糖尿病患者的肌肉中观察到线粒体破裂。蒙碧辉等^[13]发现, 树鼩糖尿病模型的肌组织中存在明显的线粒体损伤和细胞凋亡前状态, 提示细胞凋亡可能与糖尿病骨骼肌病变相关。本实验骨骼肌组织 TUNEL 荧光染色显示, 模型对照组大鼠骨骼肌细胞凋亡率高于正常对照组, 这进一步说明骨骼肌细胞凋亡可能参与糖尿病骨骼肌病变的发生; 参芪复方组与罗格列酮组大鼠骨骼肌细胞凋亡率低于模型对照组, 提示参芪复方可改善 2 型糖尿病大鼠模型的骨骼肌细胞凋亡现象。

Bad、Bak、Bax、Bcl-2、Bcl-xL 蛋白共属于 B 细胞淋巴瘤 (Bcl) -2 家族, 其中 Bcl-2、Bcl-xL 属于抗凋亡成员, Bad、Bak、Bax 属于促凋亡成员。Bcl-2 家族在调节细胞凋亡信号上起重要作用, 可结合相关蛋白调节线粒体的稳态, 参与线粒体外膜孔道的形成, 与线粒体外膜通透性有关^[14]。细胞色素 C (Cyt C) 是一种细胞色素氧化酶, 位于线粒体内膜外侧, 是线粒体呼吸链的重要组成部分, 也是一种重要的细胞凋亡调控因子^[15]。Bcl-2 家族中 Bcl-2、Bcl-xL 等抗凋亡成员可抑制线粒体释放 Cyt C, Bak、Bad、Bax 等促凋亡成员则促进线粒体释放 Cyt C。在细胞内凋亡刺激因子作用下, 促凋亡蛋白 Bak、Bax 等在线粒体外膜上形成线粒体内部通向胞质的孔道, 使得 Cyt C 得以通过线粒体外膜进入细胞质, 并在 ATP 的作用下与凋亡酶激活因子 (Apaf-1)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-9 (caspase-9) 组成凋亡小体, 引起下游与细胞生命相关蛋白的降解, 最终引起细胞凋亡^[16-17]。

本实验研究发现, 与正常对照组比较, 模型对照组大鼠骨骼肌组织 *Bad* mRNA 表达升高、*Bcl-xL* mRNA 表达降低, 而 Bad、Bax、Bcl-2、Bcl-xL 的蛋白表达均有明显的改变, 证实 Bcl-2 家族参与了 2 型糖尿病大鼠模型的骨骼肌细胞凋亡过程; 与模型对照组比较, 参芪复方组大鼠骨骼肌 *Bak* mRNA 表达与 Bad、Bax 蛋白表达均降低, Bcl-2 mRNA 及蛋白表达均升高。提示参芪复方可影响 2 型糖尿病大鼠模型骨骼肌细胞 Bcl-2 家族中促凋亡成员 Bak、Bad、Bax 以及抗凋亡成员 Bcl-2 的表达。

综上所述, 参芪复方可通过调控 Bak、Bad、Bax、Bcl-2 的表达, 减少 2 型糖尿病大鼠模型骨骼肌细胞凋亡, 从而发挥改善糖尿病骨骼肌病变的作用。

参考文献:

[1] 马春明, 张 宏. 糖尿病骨骼肌病变发病机制[J]. 辽宁实用糖尿病杂志, 2004, 12(4): 51-53.

[2] Mesinovic J, Zengin A, De Courten B, *et al.* Sarcopenia and type 2 diabetes mellitus: a bidirectional relationship [J].

Diabetes Metab Syndr Obes, 2019, 12: 1057-1072.

[3] 朱海燕, 高 泓, 郭保根, 等. 参芪复方对 2 型糖尿病大血管病变小鼠糖脂代谢及骨骼肌病变的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(4): 124-128.

[4] Dupont-Versteegden E E. Apoptosis in skeletal muscle and its relevance to atrophy [J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12 (46): 7463-7466.

[5] Whitman S A, Wacker M J, Richmond S R, *et al.* Contributions of the ubiquitin-proteasome pathway and apoptosis to human skeletal muscle wasting with age[J]. *Pflugers Arch*, 2005, 450(6): 437-446.

[6] Siu P M, Pistilli E E, Alway S E. Apoptotic responses to hindlimb suspension in gastrocnemius muscles from young adult and aged rats [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005, 289(4): R1015-R1026.

[7] Cheema N, Herbst A, McKenzie D, *et al.* Apoptosis and necrosis mediate skeletal muscle fiber loss in age-induced mitochondrial enzymatic abnormalities[J]. *Aging Cell*, 2015, 14(6): 1085-1093.

[8] Ji L L, Yeo D. Mitochondrial dysregulation and muscle disuse atrophy[J]. *F1000Res*, 2019, 8: 1621.

[9] Ji L L, Yeo D, Kang C. Muscle disuse atrophy caused by discord of intracellular signaling [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2020, 33(11): 1-44.

[10] Powers S K, Wiggs M P, Duarte J A, *et al.* Mitochondrial signaling contributes to disuse muscle atrophy[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, 303(1): E31-E39.

[11] 蒙碧辉. 糖尿病骨骼肌病变[J]. 国外医学 (内分泌学分册), 2002, 22(5): 336-338.

[12] Kelley D E, He J, Menshikova E V, *et al.* Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes[J]. *Diabetes*, 2002, 51(10): 2944-2950.

[13] 蒙碧辉, 刘 红, 梁 莹, 等. 1 型糖尿病树鼩骨骼肌病变及其发病机制 [J]. 中华糖尿病杂志, 2005, 13 (4): 290-292.

[14] Kiraz Y, Adan A, Yandim K M, *et al.* Major apoptotic mechanisms and genes involved in apoptosis[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(7): 8471-8486.

[15] 鲁翠芳, 李世英. 论细胞色素 C、细胞凋亡诱导因子与细胞凋亡的关系[J]. 求医问药 (下半月), 2013, 11(11): 37-40.

[16] 吴宗盛, 卢中秋, 姚咏明. 线粒体融合蛋白 2 与细胞凋亡 [J]. 医学研究杂志, 2012, 41(1): 12-16.

[17] Zhou F F, Yang Y, Xing D. Bcl-2 and Bcl-xL play important roles in the crosstalk between autophagy and apoptosis [J]. *FEBS J*, 2011, 278(3): 403-413.