

脂毒性在肌少症发生发展中作用的研究进展

蒋琪¹, 杨柳¹, 和娇娇¹, 李维辛^{2*}

1. 兰州大学第一临床医学院, 甘肃兰州 730000; 2. 兰州大学第一医院老年病科二病区, 甘肃兰州 730000

摘要: 肌肉减少症(肌少症)是老年人不可忽视的健康问题。肥胖老年人肌少症的发生可能与游离脂肪酸、甘油二酯、神经酰胺等脂毒性物质在细胞内蓄积对骨骼肌细胞造成的脂毒性息息相关。脂毒性物质通过诱导骨骼肌细胞炎性反应、氧化应激、内质网应激、胰岛素抵抗,导致骨骼肌细胞蛋白质代谢紊乱和再生障碍,最终导致肌少症的发生。目前,骨骼肌脂毒性导致肌少症发生发展的机制并不完全明确,进一步的深入研究可能给肌少症的预防和诊治带来新的方向。

关键词: 游离脂肪酸;脂毒性;肌少症;发病机制

中图分类号: R589.2 文献标志码: A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2023.12.1886

Progress of research on role of lipotoxicity in pathogenesis of sarcopenia

JIANG Qi¹, YANG Liu¹, HE Jiaojiao¹, LI Weixin^{2*}

1. The First Clinical Medical College of Lanzhou University, Lanzhou 730000;

2. the Second Department of Gerontology, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

Abstract: Sarcopenia is a serious health concern that must be payed attention by aged people. The occurrence of sarcopenia in obese older individuals may be intricately linked to lipotoxic substances such as free fatty acids (FFA), diacylglycerols (DAG), and ceramides, which are toxic to skeletal muscle cells. Lipotoxic substances induce inflammatory responses, oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and insulin resistance in skeletal muscle cells, disrupting protein metabolism and impairing regeneration and then lead to the onset of sarcopenia. Up to the present, the precise mechanisms by which lipotoxicity in skeletal muscle results in the development of sarcopenia remain incompletely understood. Further research may highlight the orientation for the prevention and treatment of sarcopenia.

Key words: free fatty acids; lipotoxicity; sarcopenia; pathogenesis

全球人口老龄化是不可避免的一个巨大问题,据统计,65岁以上老年人占全球总人口的13%,而中国60岁以上的老年人预计将在2033年突破3亿人口,占总人口的20%以上,届时中国将进入重度

老龄化阶段。

随着年龄的增长,骨骼肌中蛋白质合成和蛋白水解之间的平衡受损导致骨骼肌质量、力量和功能逐渐下降,被定义为肌肉减少症(肌少症)。相较于

收稿日期:2023-06-27 修回日期:2023-10-24

基金项目:甘肃省自然科学基金(22JR5RA925)

*通信作者(corresponding author): 1051742798@qq.com

仅患有肌肉减少症的个体,肌肉减少性肥胖(sarcopenic obesity,SO)患者发生与日常生活活动减少相关的残疾风险高2~3倍。肥胖相关脂代谢异常与肌少症发生密切相关,骨骼肌脂肪变性是肌少症的标志之一^[1]。肥胖老年人脂质代谢障碍,血液中游离脂肪酸(free fatty acid,FFA)增加,促进局部脂肪炎性反应和脂肪再分配,出现异位脂质沉积。肌肉相较于内脏器官更容易出现异位脂质沉积,高浓度的脂质和脂质衍生物在骨骼肌细胞内蓄积,破坏正常细胞信号转导,引起氧化应激(oxidative stress,OS)、胰岛素抵抗(insulin resistance,IR)、蛋白质降解和骨骼肌再生障碍,致使骨骼肌功能障碍,这一过程称为骨骼肌细胞中的脂毒性。

1 脂肪酸代谢紊乱诱发骨骼肌脂毒性

高脂饮食和脂肪酸代谢障碍导致血清FFA水平升高,骨骼肌细胞相关脂肪酸转运蛋白表达增加,FFA摄取超过细胞脂肪酸氧化的能力,表现出FFA在骨骼肌内的异位沉积^[2]。正常生理状态下,作为脂代谢的中间产物,FFA通过肉碱棕榈酰转移酶1(carnitine palmitoyl transferase I,CPT-1)及被动扩散进入线粒体基质进行 β 氧化被骨骼肌细胞利用。有效的 β 氧化是维持细胞内脂肪酸代谢平衡并防止FFA在细胞中积累的关键。CPT-1的过表达可以增强 β 氧化,改善高脂喂养大鼠的胰岛素敏感性,并防止FFA诱导的OS、内质网应激(endoplasmic reticulum stress,ERS)、细胞凋亡和炎症反应^[3]。丙二酰辅酶A(malonyl-CoA)是CPT-1的变构抑制剂,抑制FFA向线粒体的转运和 β 氧化,棕榈酸(palmitic acid,PA)会使大鼠骨骼肌细胞丙二酰CoA水平明显提高,表现出其抑制细胞 β 氧化的特性。

FFA进入细胞后除了参与 β 氧化,还可以通过酯化合成三酰甘油(triglyceride,TG),TG水解则生成二酰甘油(diacylglycerols,DAG)。高FFA条件下的骨骼肌细胞表现出DAG蓄积,DAG通过激活蛋白激酶C(protein kinase C,PKC)阻断胰岛素信号转导导致IR,并激活细胞炎症途径导致细胞凋亡^[4]。PA是脂毒性最强的脂肪酸,其与CoA酯化生成棕榈酰CoA,再在丝氨酸棕榈酰基转移酶作用下与L-丝氨酸合成神经酰胺。神经酰胺不仅能够抑制胰

岛素信号通路的关键分子蛋白激酶B(protein kinase B,PKB),还能够诱导线粒体损伤并增加细胞中的活性氧(reactive oxygen species,ROS)生成导致OS产生细胞毒性作用。棕榈酰CoA除了作为神经酰胺合成的底物外,在蛋白质脂酰化过程中也起着重要作用。蛋白质脂酰化是翻译后蛋白质修饰的过程,调节蛋白质的稳定性及功能,而失控的蛋白质脂酰化导致细胞周期停滞,是PA产生细胞毒性的基础^[5]。

2 脂毒性导致肌少症发生的机制

SO是多种代谢障碍及慢性炎症反应之间复杂的协同作用所造成的病理状态。FFA、DAG和神经酰胺等脂毒性物质促进巨噬细胞浸润及炎症因子的释放,使骨骼肌局部形成慢性炎症环境,进而诱导骨骼肌细胞发生OS、线粒体功能障碍、ERS以及IR。上述病理状态使蛋白质代谢负平衡并加速骨骼肌细胞凋亡,促进肌肉分解代谢及再生障碍,使骨骼肌功能受损,运动功能及代谢功能下降,增加肥胖患病风险,从而产生恶性循环。

2.1 脂毒性诱发骨骼肌细胞炎症反应

脂毒性通过诱发局部及全身性炎症反应,促进骨骼肌细胞凋亡。巨噬细胞在FFA的激活下转变为巨噬细胞样促炎状态,浸润骨骼肌并分泌炎症因子,介导骨骼肌细胞脂毒性的发生。FFA通过诱导单核细胞趋化蛋白(monocyte chemoattractant protein,MCP-1)、趋化因子受体2(C-C chemokine receptor type 2,CCR2)和血管细胞黏附分子1(vascular cell adhesion molecule-1,VCAM-1)等趋化因子的局部分泌引起巨噬细胞骨骼肌浸润。此外,FFA还参与Toll样受体(Toll-like receptor,TLR)的激活进而激活转录因子 κ B(nuclear factor- κ B,NF- κ B)和c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase,JNK)通路,促进IL-6、IL-18、IL-1 β 和TNF- α 等炎症因子的释放^[6-8]。DAG和神经酰胺的蓄积同样会引起细胞炎症反应。DAG是PKC亚型的变构激活剂,因FFA增加而出现的DAG蓄积会导致PKC的激活,进而诱导OS并激活NF- κ B。神经酰胺能有效阻断磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B,PKB/Akt)通路,促进炎症因子释放和IR。脂毒性物质通过直接

或间接的方式诱导细胞内炎性反应的各种信号通路,引起细胞炎性反应并向病理状态倾斜,导致细胞出现 IR、ERS 和 OS^[5]。因脂毒性损伤的骨骼肌纤维将失去储存脂肪酸的能力,释放的 FFA 进一步加重炎性反应造成恶性循环,进而出现骨骼肌质量、力量和功能的丧失,最终导致肌少症的发生。

2.2 脂毒性诱发骨骼肌细胞氧化应激和线粒体功能障碍

虽然肌肉减少症的确切机制尚不清楚,但已确认 OS 和线粒体功能障碍是骨骼肌老化的核心机制之一。许多肥胖和代谢功能障碍的动物模型都显示出 OS 增加和线粒体功能受损,高脂饮食喂养的小鼠骨骼肌线粒体在脂毒性物质作用下发生线粒体变性、肿胀、嵴排列紊乱、脂滴积聚和空泡化。老年人骨骼肌细胞的超微结构变化和线粒体功能障碍与脂质代谢相关的转录改变有关^[9]。FFA 在骨骼肌内的蓄积使线粒体富含脂肪酸和葡萄糖,从而增加乙酰 CoA 的生成,进一步促使三羧酸循环产生 NADH,刺激线粒体中电子转移链的增加,并导致 ROS 的过量产生。骨骼肌细胞无法平衡产生和清除的 ROS,从而引发 OS,导致氧化损伤^[10]。OS 与线粒体功能障碍之间存在密切的联系,FFA 除了参与 mtROS 的产生,还能降低两种主要的线粒体转录因子 PGC-1 α 和线粒体转录因子 A (mitochondrial transcription factor A, TFAM) 的表达。FFA 还可以改变参与线粒体功能的蛋白质水平,线粒体通透转换孔 (mitochondrial permeability transformation pore, MPTP) 异常开放,细胞内 CPT-1、细胞色素 C (cytochrome c, CytC) 和亲环素 F 蛋白 (cyclophilin F protein, PPIF) 增加,导致线粒体功能受损并进一步促进 ROS 的产生,形成恶性循环^[11]。功能受损的线粒体无法维持正常的钙平衡、氧化还原信号转导和细胞凋亡等过程,导致细胞稳态紊乱,从而使神经肌肉完整性和功能丧失,最终导致增龄性肌少症的发生和发展^[7,12]。

2.3 脂毒性诱发骨骼肌细胞内质网应激

内质网对调节钙稳态、脂质代谢、蛋白质合成以及翻译后修饰和运输很重要。内质网是脂质代谢的主要部位,许多参与脂质代谢的酶都位于内质网中。脂毒性过程增加 ROS 的产生和 OS 引发 ERS,免疫球蛋白重链结合蛋白 (binding immunoglobulin protein,

Bip) 池将耗尽,肌醇需求酶 1 (inositol requiring enzyme 1, IRE1)、蛋白激酶样内质网激酶 (protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase, PERK) 和转录激活因子 6 (transcription factor activating transcription factor 6, ATF6) 被释放,导致未折叠蛋白的蓄积,促进未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR) 的启动,减少蛋白质的合成从而缓解 ERS 并恢复细胞稳态。然而,上述机制并不足以解决 FFA 诱导的 ERS,反而会导致蛋白质代谢紊乱及细胞凋亡^[13]。在体外培养的人肌管中,经 PA 处理诱导后出现 ERS 标志物及 SCD1 的表达上调,并且出现细胞活力降低及肌肉细胞功能障碍^[14]。高脂饮食喂养的小鼠的 ERS 标记基因的表达水平,包括 BiP, XBP1 的剪接形式和 ATF4/CHOP 在骨骼肌中显著增加。这些结果均表明,ERS 在骨骼肌脂毒性中起着关键作用,并且减弱 ERS 可能会改善骨骼肌中的脂毒性。然而,UPR 的激活并不是由脂肪摄入来增加机体能量摄入激活,而是由骨骼肌的大量收缩活动或极度不活动激活。因此,ERS 在 PA 诱导的骨骼肌脂毒性中的作用尚不清楚,需要进一步研究。

2.4 脂毒性诱发骨骼肌细胞胰岛素抵抗

年轻人的正常肌肉中,在必需氨基酸和胰岛素的刺激下,蛋白质合成相较于蛋白水解占主导地位,最佳胰岛素敏感性有利于葡萄糖处理和脂质氧化。脂质沉积在骨骼肌引起葡萄糖摄取障碍,导致胰岛素信号转导、蛋白质合成和葡萄糖代谢受损。即使在胰岛素刺激下,氨基酸的合成代谢反应也减少。然而,这种 IR 对蛋白质、脂质和葡萄糖代谢的程度因人而异。

在正常骨骼肌中,胰岛素结合其酪氨酸激酶受体以发挥多种生物学效应,与葡萄糖代谢和蛋白质合成有关。受体的自磷酸化导致胰岛素受体底物 (IRS)-1 的募集,进而激活下游途径。当磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 被激活时,蛋白激酶 B (PKB)/AKT 发生磷酸化,并通过葡萄糖转运蛋白 (GLUT)-4 易位使得葡萄糖内化。糖原合酶激酶 3 (GSK3) 的磷酸化促进糖原合成。所有这些机制都旨在处理和储存葡萄糖。此外,PKB/AKT 激活哺乳动物雷帕霉素 (mTOR)、4E 结合蛋白 1 (4E-PB1) 和核糖体 S6 激酶 1 (S6K1) 的靶标,以此参与蛋白质合成,对肌

肉质量产生很大影响^[15]。腺苷酸活化激酶 (AMPK) 是另一重要信号通路,它通过与过氧化物酶体增殖受体 γ 激活剂 1α (PGC- 1α) 相互作用,促进 FFA 和葡萄糖代谢,并调节线粒体的长期反应。然而,AMPK 对肌肉质量似乎存在负面影响,在细胞内能量缺乏的情况下,AMPK 通过抑制 mTOR 信号转导来抑制蛋白质合成,并通过增加 FOXO 表达刺激肌原纤维蛋白降解^[16]。

毫无疑问的是,骨骼肌细胞内脂质沉积与胰岛素敏感性受损相关,如上所述,脂毒性造成的细胞内炎症反应、OS、线粒体功能障碍、ERS 都间接诱导 IR^[12]。神经酰胺和 DAG 在细胞内的累积可损伤线粒体呼吸链中酶复合物的功能,进而累积过多 ROS,损伤线粒体脂肪酸 β 氧化及葡萄糖利用的能力。反过来,IR 使脂肪酸 β 氧化障碍,FFA 生成增加,进一步加重脂肪异位沉积。综上所述,血清 FFA 升高及脂毒性导致 IR,降低葡萄糖利用率,进而加速肌肉降解并减缓蛋白质合成,最终减少肌肉质量。

2.5 脂毒性诱发骨骼肌再生障碍

在血液中 FFA 增多的病理状态下,机体通过骨骼肌再生以维持其代谢调控能力。骨骼肌再生是指受到损伤的骨骼肌产生的炎症因子激活肌纤维表面的卫星细胞变为肌原细胞,经过增殖、分化、融合,填补受损的肌纤维,以完成骨骼肌的修复。因此,骨骼

肌再生能力对维持骨骼肌功能具有重要意义^[17]。脂毒性物质的堆积所致的细胞炎症反应和 ERS 均是骨骼肌再生障碍的重要原因。高脂饮食喂养的小鼠骨骼肌细胞表现出肌纤维成熟障碍、再生纤维生长能力受限和胶原的沉积^[18]。神经酰胺可以下调磷脂酶 D1 (phospholipase D1, PLD) 的表达及活化来抑制肌源性分化。除此之外,神经酰胺还可通过阻断 IGF-1/Akt/mTOR 信号通路抑制骨骼肌的生长^[19]。虽然脂毒性导致骨骼肌再生障碍是明确的,但是其具体机制仍未阐明,有待进一步研究。

3 问题与展望

如前所述,SO 发生残疾、死亡等严重并发症的风险远高于仅患有肌肉减少症或肥胖症的个体,因此,对有代谢综合征的患者进行全面评估,以便更好地进行风险分层具有临床意义。当前仍需要进一步的研究脂毒性的分子细节及其对肌少症和肌肉减少症相关合并症的影响。

在治疗上,临床研究显示 DPP4 抑制剂可以减轻 2 型糖尿病患者肌肉质量的丧失^[20];利拉鲁肽通过促进葡萄糖转运减轻 IR 以逆转 PA 所诱导的细胞失活^[21];而一些天然化合物,包括草本假单胞菌甲醇提取物等,对代谢障碍也表现出一定的改善作用^[15],这些针对炎症反应、OS 和 IR 的药物也许会给 SO 的诊治带来新的方向。

参考文献:

- [1] Perissiou M, Borkoles E, Kobayashi K, *et al.* The effect of an 8 week prescribed exercise and low-carbohydrate diet on cardiorespiratory fitness, body composition and cardiometabolic risk factors in obese individuals: a randomised controlled Trial [J]. *Nutrients*, 2020, 12: 482. doi: 10.3390/nu12020482.
- [2] Corsetto PA, Montorfano G, Klersy C, *et al.* Fatty acid profile and antioxidant status fingerprint in sarcopenic elderly patients: role of diet and exercise [J]. *Nutrients*, 2019, 11: 2569. doi: 10.3390/nu11112569.
- [3] Zheng P, Wu H, Gu Y, *et al.* Atorvastatin ameliorates lipid overload-induced mitochondrial dysfunction and myocardial hypertrophy by decreasing fatty acid oxidation through inactivation of the p-STAT3/CPT1 pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 157: 114024. doi: 10.1016/j.biopha.2022.114024.
- [4] Blackburn ML, Ono-Moore KD, Sobhi HF, *et al.* Carnitine palmitoyltransferase 2 knockout potentiates palmitate-induced insulin resistance in C(2)C(12) myotubes [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2020, 319: E265-E275.
- [5] Sergi D, Morris AC, Kahn DE, *et al.* Palmitic acid triggers inflammatory responses in N42 cultured hypothalamic cells partially via ceramide synthesis but not via TLR4 [J]. *Nutr Neurosci*, 2020, 23: 321-334.
- [6] Kim M, Song K, Kim YS. Alantolactone improves palmi-

- tate-induced glucose intolerance and inflammation in both lean and obese states *in vitro*: adipocyte and adipocyte-macrophage co-culture system[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 49: 187-194.
- [7] Grujic-Milanovic JD, Miloradovic ZZ, Mihailovic-Stanojevic ND, *et al*. Excessive consumption of unsaturated fatty acids leads to oxidative and inflammatory instability in Wistar rats[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 139: 111691.doi: 10.1016/j.biopha.2021.111691.
- [8] 党彩虹,李维辛. 脂肪因子在老年人肌少症发病中作用的研究进展[J]. *基础医学与临床*, 2023, 43: 695-699.
- [9] Dlodla PV, Nkambule BB, Jack B, *et al*. Inflammation and oxidative stress in an obese state and the protective effects of gallic acid[J]. *Nutrients*, 2018, 11:23.doi: 10.3390/nu11010023.
- [10] Banerjee A, Das D, Paul R, *et al*. Altered composition of high-lipid diet may generate reactive oxygen species by disturbing the balance of antioxidant and free radicals[J]. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 2020, 31.doi: 10.1515/jbcpp-2019-0141.
- [11] Lee SR, Jo SL, Heo JH, *et al*. The aqueous fraction of *Castanea crenata* inner shell extract reduces obesity and intramuscular lipid accumulation via induction of mitochondrial respiration and fatty acid oxidation in muscle [J]. *Phytomedicine*, 2022, 98: 153974.doi: 10.1016/j.phymed.2022.153974.
- [12] Rivera ME, Vaughan RA. Comparing the effects of palmitate, insulin, and palmitate-insulin co-treatment on myotube metabolism and insulin resistance[J]. *Lipids*, 2021, 56: 563-578.
- [13] Yue XY, Sun XF, Che K, *et al*. Lpl-C310R mutation is associated with impaired glucose tolerance and endoplasmic reticulum stress in skeletal muscle[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 529: 480-486.
- [14] McNally BD, Ashley DF, Hanschke L, *et al*. Long-chain ceramides are cell non-autonomous signals linking lipotoxicity to endoplasmic reticulum stress in skeletal muscle [J]. *Nat Commun*, 2022, 13: 1748.doi: 10.1038/s41467-022-29363-9.
- [15] Kashyap B, Barge SR, Bharadwaj S, *et al*. Evaluation of therapeutic effect of *Premna herbacea* in diabetic rat and isoverbascoside against insulin resistance in L6 muscle cells through bioenergetics and stimulation of JNK and AKT/mTOR signaling cascade[J]. *Phytomedicine*, 2021, 93: 153761.doi: 10.1016/j.phymed.2021.153761.doi: 10.3390/cells12060920.
- [16] Vilchinskaya NA, Rozhkov SV, Turtikova OV, *et al*. AMPK phosphorylation impacts apoptosis in differentiating myoblasts isolated from atrophied rat soleus muscle [J]. *Cells*, 2023, 12:920.doi: 10.3390/cells12060920.
- [17] Verpoorten S, Sfyri P, Scully D, *et al*. Loss of CD36 protects against diet-induced obesity but results in impaired muscle stem cell function, delayed muscle regeneration and hepatic steatosis [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2020, 228: e13395.doi: 10.1111/apha.13395.
- [18] Pereyra AS, Rajan A, Ferreira CR, *et al*. Loss of muscle carnitine palmitoyltransferase 2 prevents diet-induced obesity and insulin resistance despite long-chain acylcarnitine accumulation [J]. *Cell Rep*, 2020, 33: 108374.doi: 10.1016/j.celrep.2020.108374.
- [19] Takehara M, Kobayashi K, Nagahama M. *Clostridium perfringens* alpha-toxin inhibits myogenic differentiation of C2C12 myoblasts[J]. *Anaerobe*, 2020, 65: 102265.doi: 10.1016/j.anaerobe.2020.102265.
- [20] Sencan C, Dost FS, Ates Bulut E, *et al*. DPP4 inhibitors as a potential therapeutic option for sarcopenia: A 6-month follow-up study in diabetic older patients[J]. *Exp Gerontol*, 2022, 164: 111832.doi: 10.1016/j.exger.2022.111832.
- [21] Ishii S, Nagai Y, Sada Y, *et al*. Liraglutide reduces visceral and intrahepatic fat without significant loss of muscle mass in obese patients with type 2 diabetes: A prospective case series[J]. *J Clin Med Res*, 2019, 11: 219-224.