

# 欧前胡素对恶病质模型小鼠的改善作用及机制研究<sup>Δ</sup>

王雅娴<sup>1,2\*</sup>, 杨全军<sup>2</sup>, 郭澄<sup>1,2#</sup>(1. 上海中医药大学药学院, 上海 201203; 2. 上海交通大学医学院附属第六人民医院药剂科, 上海 200233)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2023)04-0407-06  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2023.04.05



**摘要** 目的 探讨欧前胡素对恶病质模型小鼠的改善作用及机制。方法 将15只雄性C57BL/6J小鼠随机分为空白对照组、模型组和欧前胡素组,每组5只。除空白对照组外,余下小鼠均于背部皮下接种小鼠肺癌LLC细胞混悬液,于接种的第7天开始每日灌胃给药,欧前胡素组按60 mg/kg灌胃欧前胡素混悬液(溶剂为0.5%羧甲基纤维素钠溶液),空白对照组和模型组给予等体积0.5%羧甲基纤维素钠溶液,连续给药13 d。给药期间,每日定时记录小鼠的摄食量和体质量,每两日测量一次肿瘤的长径和短径,计算肿瘤体积,取材当日称量各组小鼠骨骼肌质量和肿瘤质量,并计算去瘤体质量;观察小鼠骨骼肌病理学变化,计算骨骼肌纤维横截面积;检测小鼠骨骼肌中信号转导和转录因子3(STAT3)磷酸化水平(以p-STAT3/STAT3比值计),肌肉萎缩盒F蛋白(MAFbx)、肌细胞生成素(Myog)、B细胞淋巴瘤2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)、胱天蛋白酶3(Caspase3)蛋白和mRNA表达水平。结果 与空白对照组比较,模型组小鼠体质量和骨骼肌质量均显著降低( $P<0.05$ ),摄食量有所下降;骨骼肌排列疏松,细胞间隙较大,骨骼肌纤维横截面积显著缩小;p-STAT3/STAT3比值和MAFbx、Bax、Caspase3蛋白表达量以及mRNA表达水平均显著升高( $P<0.05$ );Myog、Bcl-2蛋白表达量以及mRNA表达水平均显著降低( $P<0.05$ )。与模型组比较,欧前胡素组小鼠体质量、去瘤体质量、骨骼肌质量均显著升高( $P<0.05$ ),摄食量有所提高,同时肿瘤质量和肿瘤体积均显著降低( $P<0.05$ );上述蛋白以及基因的表达均有显著改善( $P<0.05$ )。结论 欧前胡素能改善小鼠肿瘤恶病质状态,其作用机制可能与调节泛素-蛋白酶体系统、抗细胞凋亡相关。

**关键词** 欧前胡素;肿瘤恶病质;肌肉萎缩;小鼠

## Study on improvement effects and mechanism of imperatorin on cachexia model mice

WANG Yaxian<sup>1,2</sup>, YANG Quanjun<sup>2</sup>, GUO Cheng<sup>1,2</sup>(1. School of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Dept. of Pharmacy, Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200233, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To investigate the improvement effects and mechanism of imperatorin on cachexia model mice. **METHODS** Fifteen male C57BL/6J mice were randomly divided into blank control group, model group and imperatorin group, with 5 mice in each group. Except for blank control group, the remaining mice were inoculated with LLC cell suspension subcutaneously on the dorsal surface, and the drug was administered by gavage daily from the 7th day of inoculation. The imperatorin group was gavaged with imperatorin suspension (0.5% sodium carboxymethylcellulose solution as solvent) at 60 mg/kg; blank control group and model group were given an equal volume of 0.5% sodium carboxymethylcellulose solution, for 13 d of continuous administration. During the administration period, food intake and body mass of mice were recorded daily and regularly, tumor long and short diameters were measured every two days, and tumor volume was calculated. The skeletal muscle mass and tumor mass of each group were weighed and the tumor-free body weight was calculated; the pathological changes of skeletal muscle were observed and the cross-sectional area of skeletal muscle fibers was calculated; the phosphorylation levels of signal transduction and activator of transcription 3 (STAT3) (measured as p-STAT3/STAT3 ratio), muscle atrophy box F gene (MAFbx), myostatin (Myog), B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax), Caspase3 protein and mRNA expression were all detected. **RESULTS** Compared with blank control group, body mass and skeletal muscle mass of model group were decreased significantly ( $P<0.05$ ), and reduced food intake, loose arrangement of skeletal muscle, large cell space were observed; the cross-sectional area of skeletal muscle fiber was significantly reduced, while p-STAT3/STAT3 ratio, protein and mRNA expressions of MAFbx, Bax and Caspase3 were increased significantly ( $P<0.05$ ). The protein and mRNA expressions of Myog and Bcl-2 were significantly reduced ( $P<0.05$ ). Compared with model group, body weight, tumor-free

<sup>Δ</sup> 基金项目 国家自然科学基金资助项目(No.82074063, No. 81873042, No.81872494)

\* 第一作者 硕士研究生。研究方向:肿瘤恶病质。E-mail: somo\_amour@163.com

# 通信作者 主任药师,博士生导师,教授。研究方向:肿瘤恶病质骨骼肌萎缩中药药理。E-mail:guopharm@126.com

weight and skeletal muscle weight were increased significantly in imperatorin group ( $P < 0.05$ ); food intake increased, while the expressions of tumor weight and volume were decreased significantly ( $P < 0.05$ ); the expressions of above proteins and genes were improved significantly ( $P < 0.05$ ). **CONCLUSIONS** Imperatorin can improve the tumor cachexia state, the mechanism of which may be related to the regulation of ubiquitin-proteasome pathway and anti-apoptosis.

**KEYWORDS** imperatorin; cancer cachexia; muscle atrophy; mice

肿瘤恶病质是一种以骨骼肌质量持续损失为特征的多因素综合征,或伴随着脂肪组织的损耗<sup>[1]</sup>,传统的营养支持不能完全逆转。其伴随着肌原纤维蛋白水解、脂肪组织分解增加、胰岛素抵抗、能量代谢异常和食物摄入量减少<sup>[2]</sup>,从而降低患者的治疗效果和生活质量,进一步恶化肿瘤患者的病情<sup>[3]</sup>。2020年全球有1 930万新发癌症病例和近1 000万癌症死亡病例<sup>[4]</sup>,然而50%~80%的晚期癌症患者会出现恶病质,其中至少20%直接因恶病质而死亡<sup>[5]</sup>,而非因为肿瘤本身。肿瘤恶病质发病机制复杂,迄今为止,仍然缺乏有效的干预手段,治疗方法多为营养治疗加体育锻炼<sup>[6]</sup>。在药物治疗方面,醋酸甲地孕酮作为唯一一个获批用于治疗肿瘤相关恶病质的药物,临床上常用其来刺激食欲,使得患者体质量增加,但其增加的是体脂含量而不是骨骼肌质量<sup>[7]</sup>。在肿瘤恶病质中,骨骼肌又是蛋白质丢失的主要部位<sup>[8]</sup>,肌肉质量和力量慢慢丧失,导致患者身体功能下降,且骨骼肌萎缩降低了患者对几种常见癌症治疗方法的耐受性<sup>[9]</sup>,因此研究肿瘤恶病质引起肌肉萎缩的治疗方法具有重要的临床意义。

欧前胡素是一种天然的呋喃香豆素类化合物,广泛存在于各类植物中<sup>[10]</sup>。欧前胡素的药理作用广泛,主要集中在抗氧化、抗肿瘤、抗炎、抗菌、抗病毒、抗过敏和神经保护方面<sup>[11-12]</sup>。因此,本研究通过构建肿瘤恶病质小鼠模型,旨在探索欧前胡素改善肿瘤恶病质肌肉萎缩的作用效果及机制,以期为临床治疗肿瘤恶病质提供更多实验依据。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有ABI ViiA7型实时荧光定量PCR仪、NanoDrop 2000型核酸蛋白浓度分析仪(美国Thermo Fisher Scientific公司),IXplore Standard型荧光倒置显微镜(日本Olympus公司),Mini型蛋白电泳系统电泳仪和转膜仪(美国Bio-Rad公司),KZ-III-F型低温型研磨仪(武汉赛维尔生物科技有限公司),Amersham Imager 600型化学发光成像仪(美国GE Healthcare Bio-Sciences AB公司)。

### 1.2 主要药品与试剂

欧前胡素(货号MUST-21030804,纯度>98%)购自成都曼思特生物科技有限公司;羧甲基纤维素钠(CMC-

Na,货号G1121)购自北京索莱宝科技有限公司;BCA蛋白定量试剂盒(货号P0011)购自上海碧云天生物技术有限公司;苏木素-伊红(HE)染料、麦胚凝聚素(WGA)染料均购自武汉赛维尔生物科技有限公司,货号分别为G1001、GDP1020;兔源肌细胞生成素(Myogenin, Myog)单克隆抗体、兔源肌肉萎缩盒F蛋白(Muscle atrophy F box, MAFbx)多克隆抗体均购自英国Abcam公司,货号分别为ab1835、ab168372;兔源B细胞淋巴瘤2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)单克隆抗体、兔源Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)单克隆抗体、山羊抗兔辣根过氧化物酶标记的IgG二抗、山羊抗鼠辣根过氧化物酶标记的IgG二抗均购自美国CST公司,货号分别为15071、89477、7074S、7076S;兔源磷酸化信号转导和转录因子3(phosphorylation-signal transducer and activator of transcription 3, p-STAT3)单克隆抗体、兔源信号转导和转录因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)多克隆抗体、兔源胱天蛋白酶3(Caspase3)单克隆抗体均购自武汉爱博泰克生物科技有限公司,货号分别为AP0705、A1192、A19654;鼠源微管蛋白( $\beta$ -tubulin)单克隆抗体(货号bsm-33034M)购自北京博奥森生物技术有限公司;ECL超灵敏化学发光检测试剂盒(货号SQ201)购自上海雅酶生物科技有限公司;引物序列由生工生物工程(上海)股份有限公司设计合成,详见表1。

表1 RPS18等基因引物序列和引物长度

基因	上游引物(5'→3')	下游引物(3'→5')	引物长度/bp
RPS18	GTAACCCGTTGAACCCCAIT	CCATCCAATCGGTAGTAGCG	85
Myog	AGAGGAAGTCTGTGTCGGTGGAC	GTAGGCGCTCAATGTACTGGATGG	177
MAFbx	GTCGGCAAGTCTGTGCTGGTG	AGGCAGTCCGTGATCGTGAG	138
Bcl-2	CCGTCGTGACTTCGACAGAGATG	ATCCCTGAAGAGTCTCCACCAC	97
Bax	TTTGCTACAGGGTTTCATCCAGGATC	TGCTGTCCAGTTTCATCCAAITCG	143
Caspase3	GCTTCTTCAGAGCGGACTACTGC	GCAAGCCATCTCCTCATCAGTCC	131

### 1.3 动物与细胞

SPF级雄性C57BL/6J小鼠(6周龄)15只,体质量18~22 g,购于上海计划生育研究所实验动物经营部,生产许可证号为SCXK(沪)2018-0006。动物实验已通过上海市第六人民医院动物福利伦理委员会批准,编号为DWLL2022-0545。小鼠肺癌LLC细胞购于中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。

## 2 方法

### 2.1 动物分组、建模及给药

将15只雄性C57BL/6J小鼠随机分为空白对照组、模型组和欧前胡素组,每组5只。参考相关文献<sup>[13]</sup>的方

法建立模型,除空白对照组外,余下2组小鼠均于背部皮下接种0.1 mL LLC细胞混悬液(细胞密度约为 $1 \times 10^6$ 个/mL),空白对照组注射等体积的生理盐水。接种LLC细胞混悬液第7天观察,除空白对照组小鼠外,其余小鼠可见肿瘤,并于第7天开始每日灌胃给药干预。参考相关文献<sup>[14]</sup>并结合前期预实验结果,欧前胡素组按60 mg/kg灌胃欧前胡素混悬液(溶剂为0.5%CMC-Na溶液),空白对照组和模型组给予等体积0.5%CMC-Na溶液,连续给药13 d。

## 2.2 指标检测

2.2.1 一般指标检测 给药期间,每日定时记录小鼠的摄食量和体质量;每两日测量一次肿瘤的长径( $x$ )和短径( $y$ ),计算肿瘤体积 $V(V=x \times y^2/2)$ ;取材当日称量肿瘤质量和骨骼肌质量,并计算去瘤体质量。

2.2.2 取材 末次给药结束后,用1%戊巴比妥按体质量5 mL/kg对小鼠进行麻醉,然后颈椎脱臼处死小鼠,取下肿瘤和双侧后肢骨骼肌,将部分骨骼肌置于4%多聚甲醛中固定,剩余部分放在 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 冷冻保存用于后续实验检测。

2.2.3 骨骼肌病理学检测和纤维横截面积计算 将4%多聚甲醛固定的骨骼肌组织包埋于石蜡中,制作石蜡切片,用常规方法进行HE染色,于显微镜下观察病理变化,采集图片。另取石蜡切片进行WGA染色,观察骨骼肌纤维横截面积的变化,每组测量100个骨骼肌纤维横截面积大小,并使用Image Pro Plus 6.0软件对小鼠骨骼肌纤维横截面积进行计算。

2.2.4 骨骼肌萎缩和凋亡相关蛋白表达检测 采用Western blot法进行检测。取出部分存于 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 的各组小鼠骨骼肌用于总蛋白提取,BCA法测量蛋白浓度,对蛋白浓度进行调平。每组动物均随机选取3个蛋白样本进行实验,蛋白经10%SDS-PAGE电泳分离后,电转至PVDF膜上,5%牛血清白蛋白封闭1 h,分别加入 $\beta$ -tubulin、p-STAT3、STAT3、Myog、MAFbx、Bcl-2、Bax、Caspase3一抗(稀释比均为1:1 000),于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 摇床孵育过夜。次日用TBST洗膜4次,每次5 min,加入相应二抗(稀释比均为1:10 000),常温孵育1 h后,用TBST洗膜3次,每次5 min,ECL化学发光法显影成像。收集图片,使用Image J软件进行灰度值计算,以目标蛋白与内参 $\beta$ -tubulin灰度值的比值作为其表达量,以p-STAT3与STAT3灰度值的比值反映STAT3的磷酸化水平,空白对照组作为统计结果矫正组。

2.2.5 骨骼肌萎缩和凋亡相关基因表达检测 采用实时荧光定量PCR法进行检测。取20 mg骨骼肌,加入1 mL Trizol,放入研磨机中低温匀浆裂解,提取组织总

RNA,测定纯度和浓度后,取 $1\text{ }\mu\text{g}$  RNA配制成 $20\text{ }\mu\text{L}$ 反应体系,将RNA反转录为cDNA。逆转录采用两步法反应程序: $95\text{ }^\circ\text{C}$ 预变性10 min; $95\text{ }^\circ\text{C}$ 变性15 s, $60\text{ }^\circ\text{C}$ 退火60 s,40个循环反应。以RPS18为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算各基因的相对表达量,空白对照组作为统计结果矫正组。

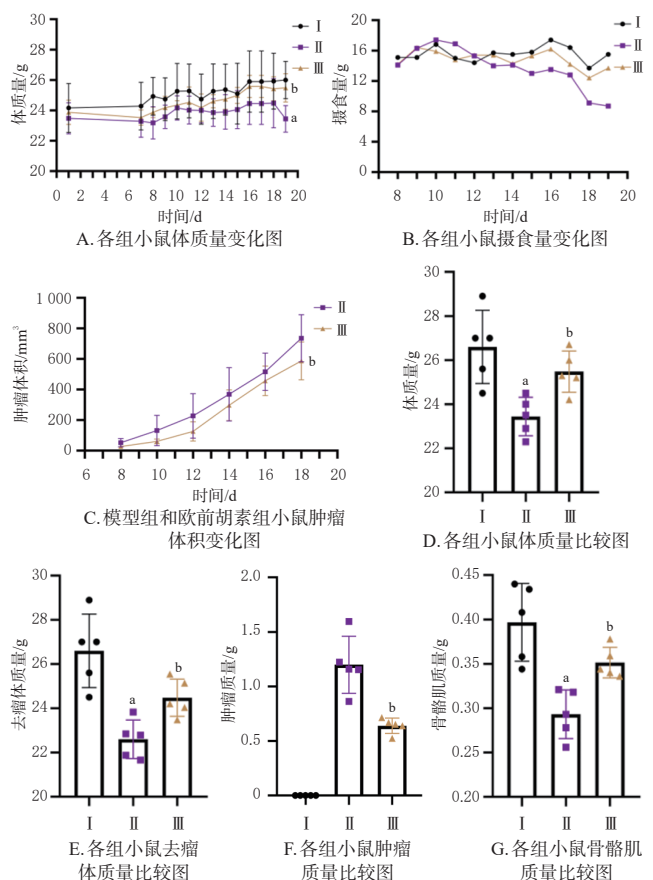
## 2.3 统计学分析

采用GraphPad Prism 8.0软件、SPSS 22.0软件对数据进行统计学分析和作图,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD- $t$ 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 3 结果

### 3.1 欧前胡素对恶病质模型小鼠一般指标的影响

与空白对照组比较,模型组小鼠体质量、骨骼肌质量均显著降低( $P<0.05$ ),摄食量有所下降;与模型组比较,欧前胡素组小鼠经过给药干预后体质量下降的速度有所减缓,最终的体质量、去瘤体质量、骨骼肌质量均显著升高( $P<0.05$ ),摄食量有所提高,同时肿瘤质量和肿瘤体积均显著降低( $P<0.05$ ),表明欧前胡素在抗肿瘤恶病质的基础上兼有抗肿瘤功效。结果见图1。

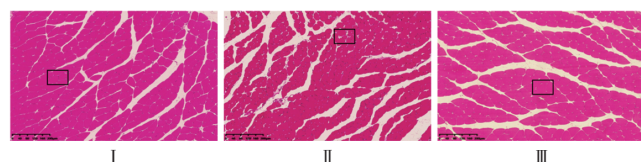


I: 空白对照组; II: 模型组; III: 欧前胡素组; a: 与空白对照组比较,  $P<0.05$ ; b: 与模型组比较,  $P<0.05$

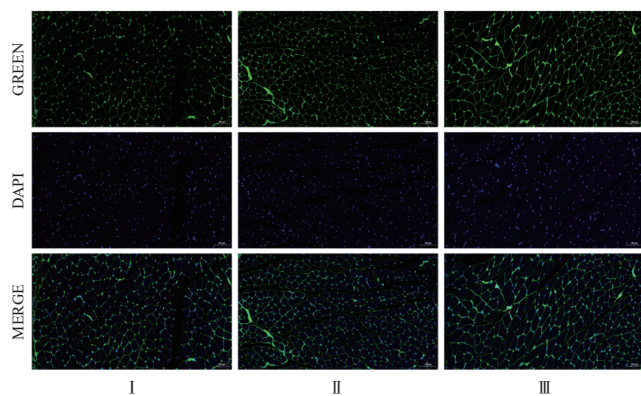
图1 欧前胡素对恶病质模型小鼠一般指标的影响 ( $n=5$ )

### 3.2 欧前胡素对恶病质模型小鼠骨骼肌病理状态及纤维横截面积的影响

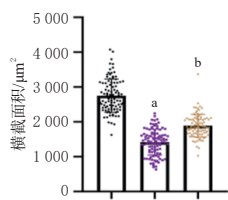
HE染色切片可以看出空白对照组小鼠骨骼肌排列紧密且整齐,细胞间隙较小,细胞多呈圆形或多边形;模型组小鼠骨骼肌排列疏松,细胞间隙较大;与模型组比较,欧前胡素组小鼠骨骼肌纤维排列紧密,细胞间隙较小。WGA染色结果显示,与空白对照组比较,模型组小鼠骨骼肌纤维横截面积显著缩小( $P<0.05$ );与模型组比较,欧前胡素组小鼠骨骼肌纤维横截面积显著增大( $P<0.05$ ),说明欧前胡素能够改善骨骼肌萎缩的症状。结果见图2。



A. 骨骼肌HE染色图( $\times 10$ )



B. 骨骼肌横截面WGA染色图( $\times 10$ )



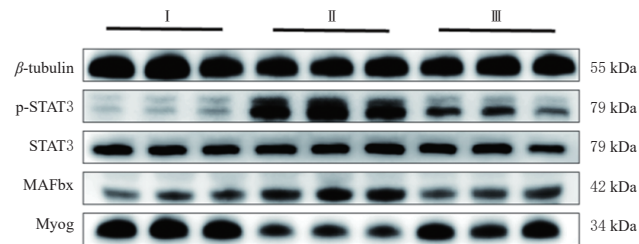
C. 骨骼肌纤维横截面积比较图( $n=100$ )

I:空白对照组;II:模型组;III:欧前胡素组;□:骨骼肌形态差异显著区域;a:与空白对照组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$

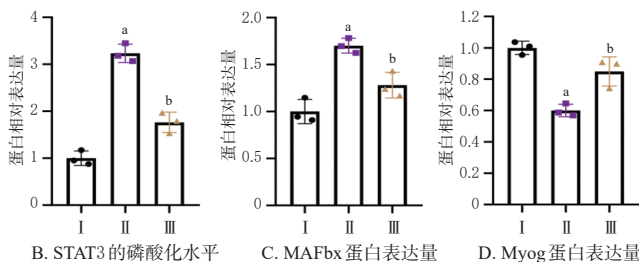
图2 各组小鼠骨骼肌HE染色和WGA染色结果

### 3.3 欧前胡素对恶病质模型小鼠骨骼肌中肌萎缩相关蛋白表达量的影响

与空白对照组比较,模型组小鼠骨骼肌中p-STAT3/STAT3比值和MAFbx蛋白表达量均显著升高( $P<0.05$ ),Myog蛋白表达量显著降低( $P<0.05$ )。与模型组比较,欧前胡素组小鼠骨骼肌中p-STAT3/STAT3比值和MAFbx蛋白表达量均显著降低( $P<0.05$ ),Myog蛋白表达量显著升高( $P<0.05$ )。结果见图3。



A. 骨骼肌中p-STAT3、STAT3、MAFbx、Myog蛋白表达电泳图

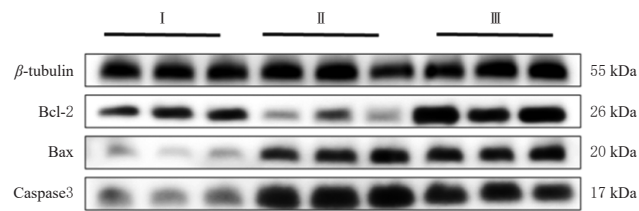


I:空白对照组;II:模型组;III:欧前胡素组;a:与空白对照组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$

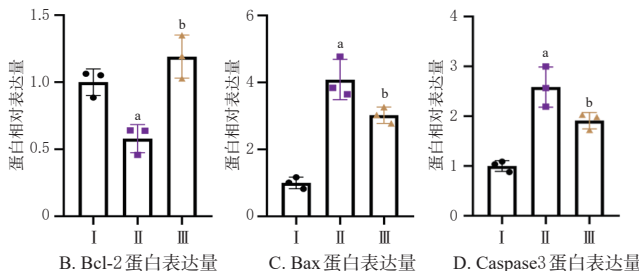
图3 欧前胡素对恶病质模型小鼠骨骼肌中肌萎缩相关蛋白表达的影响( $n=3$ )

### 3.4 欧前胡素对恶病质模型小鼠骨骼肌中凋亡相关蛋白表达量的影响

与空白对照组比较,模型组小鼠骨骼肌中Bcl-2蛋白表达量显著降低( $P<0.05$ ),Bax、Caspase3蛋白表达量均显著升高( $P<0.05$ )。与模型组比较,欧前胡素组小鼠骨骼肌中Bcl-2蛋白表达量显著升高( $P<0.05$ ),Bax、Caspase3蛋白表达量均显著降低( $P<0.05$ )。结果见图4。



A. 各组小鼠骨骼肌中Bcl-2、Bax、Caspase3蛋白表达电泳图



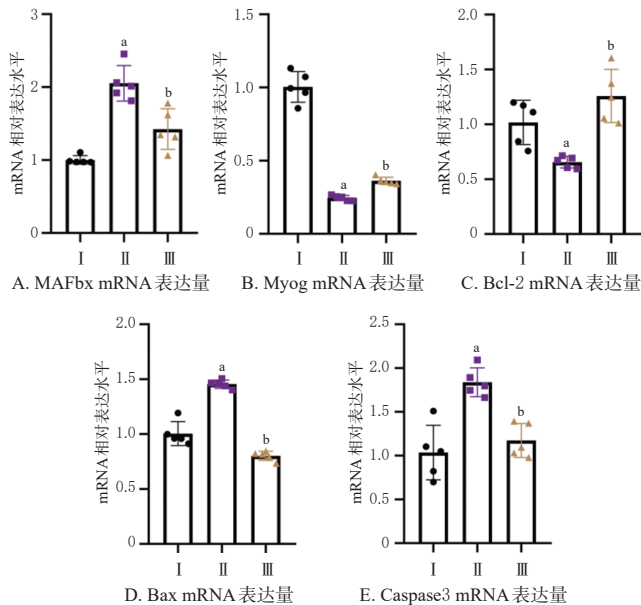
I:空白对照组;II:模型组;III:欧前胡素组;a:与空白对照组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$

图4 欧前胡素对恶病质模型小鼠骨骼肌中凋亡相关蛋白表达的影响( $n=3$ )

### 3.5 欧前胡素对恶病质模型小鼠骨骼肌中肌萎缩和凋亡相关基因表达的影响

与正常对照组比较,模型组小鼠骨骼肌中MAFbx、Bax、Caspase3 mRNA表达水平均显著升高( $P<0.05$ ),

Myog、Bcl-2 表达水平均显著降低 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 欧前胡素组小鼠骨骼肌中 MAFbx、Bax、Caspase3 mRNA 表达水平均显著降低 ( $P < 0.05$ ), Myog、Bcl-2 mRNA 表达水平均显著升高 ( $P < 0.05$ )。结果见图 5。



I: 空白对照组; II: 模型组; III: 欧前胡素组; a: 与空白对照组比较,  $P < 0.05$ ; b: 与模型组比较,  $P < 0.05$

图5 欧前胡素对恶病质模型小鼠骨骼肌萎缩和凋亡相关基因表达的影响 ( $n = 5$ )

#### 4 讨论

肿瘤恶病质是一种复杂的全身性疾病, 涉及不同组织和器官的不同代谢途径, 无论脂肪是否减少, 均伴随着骨骼肌的消耗<sup>[15]</sup>, 因此能否缓解骨骼肌的消耗性萎缩, 成为治疗肿瘤恶病质的关键。蛋白质合成减少、水解加快, 则是骨骼肌消耗性萎缩的关键原因<sup>[16]</sup>。蛋白水解主要涉及泛素依赖的蛋白水解途径, MAFbx 是泛素-蛋白酶体系统中参与蛋白降解的主要 E3 泛素连接酶, 在肌细胞中特异性表达, 介导肌蛋白的降解并抑制蛋白合成<sup>[15]</sup>。Myog 是骨骼肌生长、发育和再生的关键转录因子<sup>[17]</sup>。本研究发现, 恶病质模型小鼠 MAFbx 表达升高, Myog 表达降低, 蛋白合成减少、降解增多, 骨骼肌被大量消耗; 欧前胡素干预后显著降低促进蛋白水解的相关蛋白 MAFbx 的表达, 且升高肌生成相关蛋白 Myog 的表达, 且与 mRNA 表达结果一致。

STAT3 是信号传导及转录激活因子 STATs 家族中的一员, 在正常的生理状态下 STAT3 会被短暂快速地激活几分钟, 然而持续激活 STAT3 会引起与细胞增殖、分化和凋亡相关的基因异常表达<sup>[18]</sup>, STAT3 可通过增强肿瘤的发生、转移和免疫抑制来促进恶病质的发展。抑制 STAT3 激活可阻断骨骼肌萎缩, 并抑制泛素-蛋白酶体系统, 保存肌肉质量<sup>[19]</sup>。本研究发现, 模型组小鼠相较于空白对照组, p-STAT3/STAT3 比值显著升高, 提示造模

后 STAT3 信号通路被激活; 与模型组比较, 欧前胡素组 p-STAT3/STAT3 比值显著降低, 表明欧前胡素可通过抑制 STAT3 信号通路, 影响肌萎缩和肌生成相关蛋白, 从而改善恶病质模型小鼠的肌萎缩。

细胞凋亡是调节多种刺激诱导的骨骼肌分解代谢的重要过程, 并已成为肌肉质量损失的潜在控制点<sup>[20]</sup>。细胞凋亡的激活先于与肌肉消耗相关的蛋白质分解<sup>[21]</sup>, Bcl-2、Bax 和 Caspase3 是细胞凋亡过程的关键调控因子, 主要位于线粒体中, 参与调节线粒体凋亡途径<sup>[22]</sup>。本研究发现, 模型组小鼠 Bax 和 Caspase3 蛋白表达量均显著升高, Bcl-2 蛋白表达量显著降低, 表明恶病质模型小鼠骨骼肌细胞处于过度凋亡状态; 经过欧前胡素给药干预后, 凋亡情况有所好转。

综上所述, 欧前胡素改善肿瘤恶病质的机制可能通过抑制 STAT3 信号通路中 STAT3 磷酸化的激活从而改变泛素-蛋白酶体系统中与肌萎缩相关的蛋白和基因的表达, 改善恶病质模型小鼠骨骼肌过度消耗的状况, 并通过调节细胞凋亡相关蛋白和基因的表达, 减缓恶病质模型小鼠骨骼肌的萎缩进程。

#### 参考文献

- [1] BAAZIM H, ANTONIO-HERRERA L, BERGTHALER A. The interplay of immunology and cachexia in infection and cancer[J]. Nat Rev Immunol, 2022, 22(5): 309-321.
- [2] MARCECA G P, LONDHE P, CALORE F. Management of cancer cachexia: attempting to develop new pharmacological agents for new effective therapeutic options[J]. Front Oncol, 2020, 10: 298.
- [3] SIFF T, PARAJULI P, RAZZAQUE M S, et al. Cancer-mediated muscle cachexia: etiology and clinical management[J]. Trends Endocrinol Metab, 2021, 32(6): 382-402.
- [4] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [5] RYAN A M, POWER D G, DALY L, et al. Cancer-associated malnutrition, cachexia and sarcopenia: the skeleton in the hospital closet 40 years later[J]. Proc Nutr Soc, 2016, 75(2): 199-211.
- [6] AHMAD S S, AHMAD K, SHAIKH S, et al. Molecular mechanisms and current treatment options for cancer cachexia[J]. Cancers(Basel), 2022, 14(9): 2107.
- [7] ROELAND E J, BOHLKE K, BARACOS V E, et al. Management of cancer cachexia: ASCO guideline[J]. J Clin Oncol, 2020, 38(21): 2438-2453.
- [8] MARTIN A, FREYSSINET D. Phenotypic features of cancer cachexia-related loss of skeletal muscle mass and function: lessons from human and animal studies[J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2021, 12(2): 252-273.

- [9] KAZEMI-BAJESTANI S M, MAZURAK V C, BARACOS V. Computed tomography-defined muscle and fat wasting are associated with cancer clinical outcomes[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2016, 54:2-10.
- [10] BAEK N I, AHN E M, KIM H Y, et al. Furanocoumarins from the root of *Angelica dahurica*[J]. *Arch Pharm Res*, 2000, 23(5):467-470.
- [11] CHEN X P, LI W, XIAO X F, et al. Phytochemical and pharmacological studies on Radix *Angelica sinensis*[J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(6):577-587.
- [12] ZHANG Y, CAO Y J, ZHAN Y Z, et al. Furanocoumarins-imperatorin inhibits myocardial hypertrophy both *in vitro* and *in vivo*[J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(8):1188-1195.
- [13] CHEN L L, YANG Q J, ZHANG H, et al. Cryptotanshinone prevents muscle wasting in CT26-induced cancer cachexia through inhibiting STAT3 signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 260:113066.
- [14] YAN D Y, TANG J H, CHEN L, et al. Imperatorin promotes osteogenesis and suppresses osteoclast by activating AKT/GSK3  $\beta/\beta$ -catenin pathways[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(3):2330-2341.
- [15] PEIXOTO DA SILVA S, SANTOS J M O, COSTA E SILVA M P, et al. Cancer cachexia and its pathophysiology: links with sarcopenia, anorexia and asthenia[J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2020, 11(3):619-635.
- [16] HORSTMAN A M, OLDE DAMINK S W, SCHOLS A M, et al. Is cancer cachexia attributed to impairments in basal or postprandial muscle protein metabolism?[J]. *Nutrients*, 2016, 8(8):499.
- [17] HASTY P, BRADLEY A, MORRIS J H, et al. Muscle deficiency and neonatal death in mice with a targeted mutation in the myogenin gene[J]. *Nature*, 1993, 364(6437):501-506.
- [18] YU H, PARDOLL D, JOVE R. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3[J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(11):798-809.
- [19] HU W J, RU Z Y, ZHOU Y L, et al. Lung cancer-derived extracellular vesicles induced myotube atrophy and adipocyte lipolysis via the extracellular IL-6-mediated STAT3 pathway[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2019, 1864(8):1091-1102.
- [20] BALTGALVIS K A, BERGER F G, PEÑA M M, et al. Activity level, apoptosis, and development of cachexia in Apc (Min/+) mice[J]. *J Appl Physiol* (1985), 2010, 109(4):1155-1161.
- [21] ARGILÉS J M, LÓPEZ-SORIANO F J, BUSQUETS S. Apoptosis signalling is essential and precedes protein degradation in wasting skeletal muscle during catabolic conditions[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, 40(9):1674-1678.
- [22] ANTONSSON B. Bax and other pro-apoptotic Bcl-2 family "killer-proteins" and their victim the mitochondrion [J]. *Cell Tissue Res*, 2001, 306(3):347-361.
- (收稿日期:2022-08-07 修回日期:2023-01-06)  
(编辑:曾海蓉)

(上接第406页)

- [9] 景临林,杨颖,邵瑾,等. 7-羟乙基白杨素对低压低氧致脑组织损伤的保护作用[J]. *中国现代应用药学*, 2020, 37(9):1025-1029.
- [10] 张冬梅,曹琪璐,景临林,等. PC12细胞低压性缺氧损伤模型的建立[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2021, 50(5):614-620.
- [11] COIMBRA-COSTA D, GARZÓN F, ALVA N, et al. Intermittent hypobaric hypoxic preconditioning provides neuroprotection by increasing antioxidant activity, erythropoietin expression and preventing apoptosis and astrogliosis in the brain of adult rats exposed to acute severe hypoxia[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(10):5272.
- [12] 马慧萍,郭建魁,张冬梅,等. 一种压力控制型细胞缺氧培养箱:CN208995505U[P]. 2019-06-18.
- [13] 徐大来,司远,田蕾,等. 免疫效应细胞增殖与细胞毒性功能检测3种方法的比较[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2021, 41(3):355-360,414.
- [14] CHEN J H, OZANNE S E, HALES C N. Methods of cellular senescence induction using oxidative stress[J]. *Methods Mol Biol*, 2007, 371:179-189.
- [15] FAN Y, SANYAL S, BRUZZONE R. Breaking bad: how viruses subvert the cell cycle[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2018, 8:396.
- [16] HINCHCLIFFE E H, MILLER F J, CHAM M, et al. Requirement of a centrosomal activity for cell cycle progression through G<sub>1</sub> into S phase[J]. *Science*, 2001, 291(5508):1547-1550.
- [17] INTACHAI K, CHATTIPAKORN S C, CHATTIPAKORN N, et al. Acetylcholine exerts cytoprotection against hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis, autophagy and mitochondrial impairment through both muscarinic and nicotinic receptors[J]. *Apoptosis*, 2022, 27(3/4):233-245.
- (收稿日期:2022-06-14 修回日期:2023-01-10)  
(编辑:张元媛)