

研究论文

C2C12细胞生肌分化和生脂转分化中糖脂代谢的差异

邱小宇^{1#} 韩旭^{2#} 齐仁立^{1,3*} 王敬¹ 王琪¹ 吴敏¹¹重庆市畜牧科学院, 重庆 402460; ²朝阳师范高等专科学校, 辽宁 122000; ³农业农村部养猪科学重点实验室, 重庆 402460

摘要 肌前体细胞在生脂诱导环境下可以转分化为脂肪细胞或脂肪细胞样细胞, 具备脂肪生成和存储的能力。该研究分析比较了C2C12肌前体细胞在正常生肌分化和生脂转分化两种状态下糖、脂代谢的差异。分别检测不同分化的细胞内葡萄糖的吸收和代谢, 脂质的吸收和代谢, 糖、脂代谢关键调控分子的蛋白水平变化。结果表明, 生肌分化的细胞对于葡萄糖的吸收、摄取能力更强, 胞内糖代谢和能量利用更为活跃。生脂分化的细胞对于脂质吸收、转运、合成和代谢强度更高。这些结果说明, 肌细胞生脂转化过程中胞内物质代谢发生了明显的变化, 这与细胞的形态结构、生理功能和分子特性密切相关。

关键词 生脂; 生肌; 转分化; C2C12细胞; 糖脂代谢

Differences of Glucose and Lipid Metabolisms between the Myogenic Differentiation and the Adipogenic Trans-Differentiation in C2C12 Cells

QIU Xiaoyu^{1#}, HAN Xu^{2#}, QI Renli^{1,3*}, WANG Jing¹, WANG Qi¹, WU Min¹¹Chongqing Academy of Animal Science, Chongqing 402460, China; ²Chaoyang Teachers College, Liaoning 122000, China; ³Key Laboratory of Pig Industry Sciences, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Chongqing 402460, China

Abstract Myoblasts could transdifferentiate into adipocytes or adipocyte-like cells with the capability for producing and storing intracellular lipids. This present study compared the difference in glucose and lipid metabolism in the normal myogenic differentiated and the adipogenic trans-differentiated C2C12 myoblasts. Results showed that the uptake, transport, metabolism of glucose and energy utilization were more active in the myogenic differentiated cells, while the adipogenic differentiated cells had higher intensity in lipid absorption, transport, and synthesis metabolism. These findings indicated that the cellular metabolism had undergone significant change during the lipogenic conversion process in muscle cells that was closely related to the changes of structure, functions and molecular characteristics of the cells.

Keywords adipogenesis; myogenesis; trans-differentiation; C2C12 cells; glucose and lipid metabolism

细胞的转分化是指一种类型的细胞转变为另外一种细胞类型。近年来, 一些研究表明, 肌前体细胞或者肌卫星细胞在生脂诱导(药物、细胞因子等)的

环境下可以转分化为脂肪细胞或脂肪细胞样细胞^[1-3]。生脂转分化的细胞失去生肌能力, 具备了大量产生和蓄积脂质的能力。转分化通常只发生在肌前体细

收稿日期: 2020-04-20 接受日期: 2020-07-17

重庆市基础与前沿重点项目(批准号: cstc2017jcyjBX0023)和国家重点研发计划项目(批准号: 2018YFD0500404)资助的课题

#共同第一作者

*通讯作者。Tel: 023-46792097, E-mail: qirenli999@sina.com

Received: April 20, 2020 Accepted: July 17, 2020

This work was supported by the Fundamental and Frontier Research Project of Chongqing (Grant No.cstc2017jcyjBX0023) and the National Key R&D Program of China (Grant No.2018YFD0500404)

#These authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel: +86-23-46792097, E-mail: qirenli999@sina.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5326>

胞(或卫星细胞)中,而处于分化终末的多核肌细胞(肌管)基本不具备转分化能力。转分化的过程涉及细胞命运、基因编程、物质代谢和细胞结构的明显变化^[4-6]。关于细胞转分化的研究能够帮助我们更好地理解生命的进化和遗传机制、器官的产生和发育机理,并为相关疾病的诊疗提供帮助。

越来越多的研究关注于揭示肌细胞生脂转分化的分子机制。很早以前,有研究发现使用噻唑烷二酮类药(thiazolidinediones)和脂肪酸处理C2C12肌细胞,可以降低细胞内肌生成素(myogenin)基因的表达,抑制肌管的形成,并且使细胞产生脂肪细胞分化的特性^[1]。近期的研究指出,在小鼠皮肤的创伤自愈过程中,毛囊的再生伴随着大量肌成纤维细胞(myofibroblasts)转化形成“生理成熟”和“代谢活跃”的白色脂肪细胞,BMP(bone morphogenetic protein)信号通路被激活并参与了转化过程的调控^[7]。在临床治疗中,地塞米松处理会造成破裂的肌腱自我修复能力减弱并伴随着脂肪化形变。在体外试验中,使用地塞米松处理大鼠的肌腱干细胞能够诱导细胞分化为脂肪细胞,这个过程伴随着*DKK1*(*Dickkopf1*)基因表达显著升高,敲除*DKK1*基因能够明显抑制肌细胞生脂转分化^[8]。我们课题组^[9-10]前期的研究也揭示了miR-199/脂肪酸转运蛋白1(fatty acid transport protein 1, FATP1)、PI3K-Akt通路等在C2C12肌细胞生脂过程中扮演了重要的调控角色。

虽然我们已经初步认识了肌细胞生脂转分化的分子调控机制,但是对于这个过程中细胞内物质代谢的变化还缺乏足够了解。本研究的主要目的是比较C2C12肌细胞在正常生肌分化和生脂转分化两种状态下细胞内糖、脂代谢的差异。相关结果有助于更好地揭示肌细胞生脂的机理。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

C2C12鼠源肌前体细胞系购自中国科学院细胞库(上海)。

1.2 试剂及仪器

Dulbecco's modified Eagle medium(DMEM)培养基、DMEM-F12培养基、马血清、胰酶、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE预制胶)购自美国Thermo Fisher Scientific公司;胎牛血清购自以色列Biological Industries公司;RIPA蛋白提取试

剂和蛋白浓度定量试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;胰岛素、地塞米松、3-异丁基-1-甲基黄嘌呤、罗格列酮、油红O、吉姆萨、青链霉素双抗、甘油三酯浓度检测试剂盒、游离脂肪酸浓度检测试剂盒、丙酮酸浓度检测试剂盒等购自北京索莱宝生物科技有限公司;BCA蛋白浓度检测试剂盒购自北京康为世纪生物科技有限公司;非放射性葡萄糖吸收检测试剂盒购自美国Promega公司;免疫荧光用Myod抗体购自美国Abcam公司;免疫印迹杂交用抗体FATP1、乙酰辅酶A合成酶(acyl-CoA synthetase, ACS)、CD36、PFKM、HK、GAPDH购自武汉三鹰生物技术有限公司;PGC-1 α 抗体购自北京博奥森生物技术有限公司;AMPK和P-AMPK抗体购自美国Cell Signaling Technology公司;聚偏氟乙烯(PVDF)膜购自美国GE公司。

6孔和24孔细胞培养板购自美国Costar公司;CO₂细胞培养箱购自美国Thermo Fisher Scientific公司;倒置荧光显微镜购自德国Leica公司;多功能酶标仪购自美国BioTek公司;化学发光成像仪器购自美国Bio-Rad公司。

1.3 细胞培养和分化诱导

肌细胞的培养和不同分化的诱导方法如我们之前的描述^[9-10]。复苏冻存的C2C12细胞,使用DMEM培养基(含10%胎牛血清)培养,待细胞密度达到90%以上时传代。生肌分化诱导:传代后的细胞继续使用DMEM培养基(含10%胎牛血清)培养1天,细胞密度达到70%时,更换为含有2%马血清的DMEM培养基诱导细胞生肌分化(myogenic differentiation),每2天换液。使用免疫荧光染色的方法,观察生肌分化的细胞肌管形成状态和细胞内生肌决定分子MyoD(myoblast determination protein)蛋白表达^[11]。分别在生肌分化早期(1天)、中期(3天)和后期(7天)换液6 h后收获细胞用于相应的检测。生脂分化(adipogenic differentiation)诱导:细胞传代后待密度达到90%左右开始生脂分化诱导。使用含有胰岛素(850 nmol)、地塞米松(1 μ mol)、3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(0.5 mmol)和罗格列酮(1 μ mol)的DMEM-F12培养基(含10%胎牛血清)培养2天,然后更换为只含有胰岛素(850 nmol)和罗格列酮(1 μ mol)的培养基继续培养2天,然后再更换为普通培养基继续培养6~8天,每2天换液1次。使用油红O方法染色观察生脂分化的细胞细胞形态变化和细胞内脂肪沉积情况^[9]。分

别在生脂分化早期(2天)、中期(4天)和后期(10天)换液6 h后收获细胞用于相应的检测。

1.4 葡萄糖摄取

不同分化细胞的葡萄糖摄取水平使用非放射性的荧光法葡萄糖摄取试剂盒(glucose uptake-glossay)(货号J1341, 美国Promega公司)检测。该试剂盒基于对2-脱氧葡萄糖-6-磷酸(2-deoxy-*D*-glucose-6-phosphate, 2DG6P)的检测, 确定细胞对葡萄糖摄取的能力。在指定的时间去除细胞培养基, PBS漂洗3次后向细胞培养皿加入2-脱氧葡萄糖(2DG, 工作浓度1 mmol), 2DG被转运进入细胞后迅速磷酸化为2DG6P, 并在细胞内聚集。室温孵育10 min后加入酸性去污剂(stop buffer)裂解细胞并终止细胞的葡萄糖摄取(反应40 min)。然后加入葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose 6 phosphate dehydrogenase, G6PDH), 氧化2DG6P生成6-磷酸脱氧葡萄糖内酯(6-phosphoglucan-lactonase, 6PDG)并同时产生了大量的NADPH。NADPH被重组荧光素酶(luciferase)利用产生荧光信号, 使用荧光酶标仪检测发光信号值, 发光信号同细胞内的2DG6P浓度成正比。具体检测过程参考试剂盒说明书。

1.5 丙酮酸含量

不同分化细胞内的丙酮酸(pyruvic acid, PA)含量使用微量法丙酮酸(PA)含量检测试剂盒检测(货号BC2205, 北京索莱宝科技有限公司)。分别在指定时间点收获细胞(2×10^4 个), 加入试剂盒中的提取试剂, 然后经超声波破碎(功率20%, 超声3 s, 间隔10 s, 重复30次), 静置30 min后常温离心10 min($8\ 000 \times g$), 取上清待测。具体检测过程参考试剂盒说明书。

1.6 甘油三酯含量

不同分化细胞内的甘油三酯(triglyceride, TG)含量使用甘油三酯含量检测试剂盒(货号BC062)检测。分别在指定时间点收获细胞(5×10^7 个), 经超声波破碎, (功率20%, 超声2 s, 间隔1 s, 重复10次), $4\ ^\circ\text{C}$ 离心10 min($8\ 000 \times g$), 取上清待测。具体检测过程参考试剂盒说明书。

1.7 游离脂肪酸含量

不同分化细胞的培养基中的游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)含量使用微量法游离脂肪酸含量检测试剂盒(货号BC0595)检测。分别在指定时间点吸取细胞培养液1 mL, 超微过滤去除细胞及残渣, 取滤液待测。具体检测过程参考试剂盒说明书。

1.8 免疫印迹杂交(Western blot, WB)

分别在指定时间收获各组细胞, 使用PIPA蛋白裂解液提取细胞内总蛋白。样品的总蛋白浓度使用BCA蛋白浓度检测试剂盒检测。使用10%或者12%的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶进行蛋白分离, 然后转印到0.22 μm 的聚偏氟乙烯膜上; 转印后的PVDF膜使用5%脱脂牛奶溶液室温封闭2 h, 然后使用相应的一抗溶液(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)室温孵育1.5 h; 然后用Tris缓冲生理盐水和吐温20溶液(Tris-buffered saline and Tween 20, TBST)漂洗3次; 再用相应的二抗溶液(0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$)室温孵育1 h; 最后用增强型ECL化学发光试剂和自动发光曝光仪进行拍照分析。GAPDH作为内参抗体。

1.9 数据统计

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示, 用Graphpad Prism 7.5软件进行非配对 t 检验分析和作图。 $P < 0.05$ 为具有显著性差异, $P < 0.01$ 为具有极显著性差异。

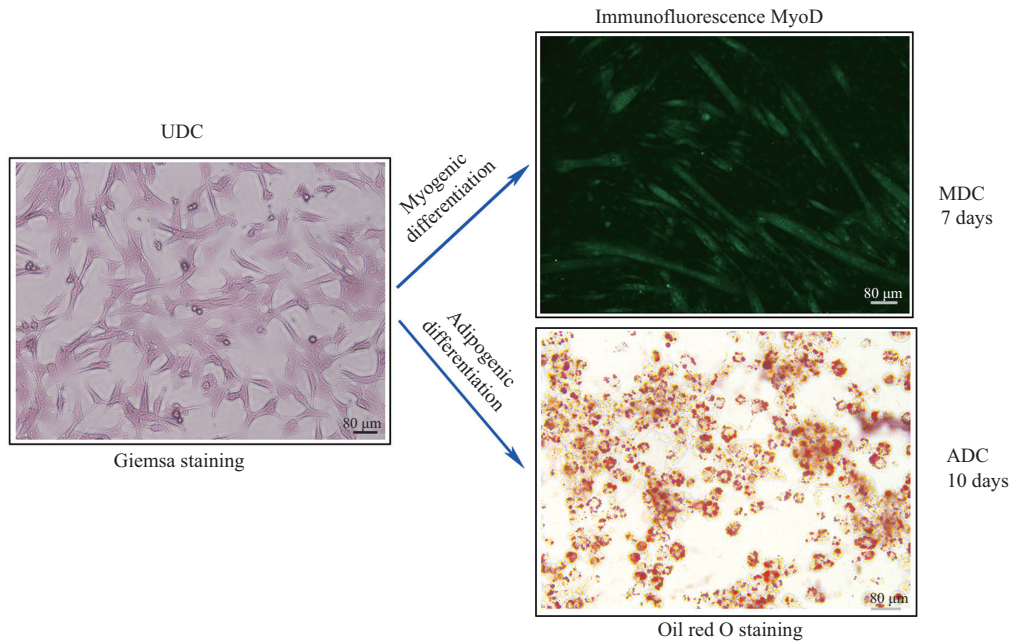
2 结果

2.1 C2C12细胞生肌和生脂分化

如图1所示, C2C12细胞在正常生肌诱导环境下可以逐渐分化为细长的多核肌细胞, 高表达肌细胞分化调控分子——MyoD。在生脂诱导环境下, 梭状细胞逐渐变圆, 细胞内开始生成大量脂滴。此外, 通过WB方法检测了未分化细胞(un-differentiation cell, UDC)、生肌分化细胞(myogenic differentiated cell, MDC)和生脂分化细胞(adipogenic differentiated cell, ADC)中过氧化物酶体增殖物激活受体C辅助基因因子-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor, gamma, coactivator-1 alpha, PGC-1 α)和AMP依赖蛋白激酶[adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK]的表达与活性变化。AMPK和PGC-1 α 是调控细胞能量周转平衡的重要分子。如图2所示, PGC-1 α 的蛋白水平在MDC中随着分化进程明显增高; 而在ADC中, PGC-1 α 只在生脂分化后期明显高表达。提示细胞内能量的消耗利用随着细胞分化进程在明显增加。AMPK和磷酸化的AMPK(p-AMPK)的蛋白水平在ADC和MDC分化后期显著增加, 特别是在生脂分化后期的表达水平显著高于生肌分化后期, 提示了生脂分化状态下细胞内能量合成代谢的旺盛。

2.2 C2C12细胞生肌和生脂分化中糖代谢的差异

MDC细胞的葡萄糖摄入水平(glucose uptake)

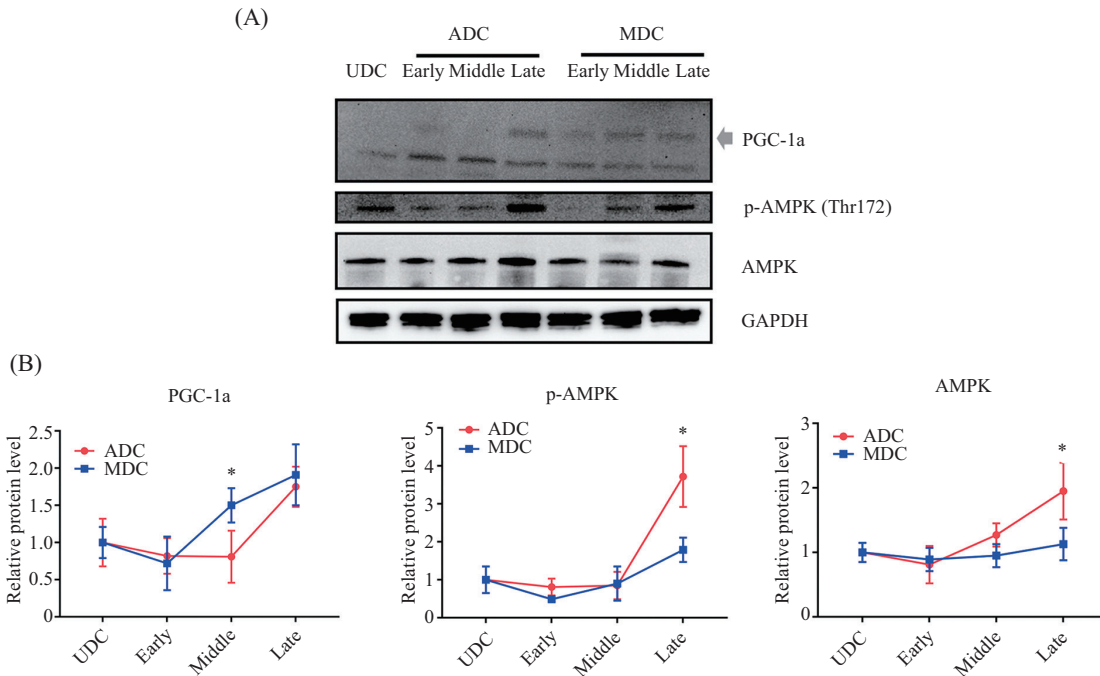


UDC: 未分化的C2C12细胞(吉姆萨染色); MDC: 生肌分化细胞(MyoD免疫荧光, 生肌分化第7天); ADC: 生脂分化的细胞(油红O染色, 生脂分化第10天)。

UDC: undifferentiated C2C12 cells (giemsa staining of UDC cells); MDC: myogenic differentiated cells (immunofluorescence of MyoD protein in the MDC cells at the day 7); ADC: adipogenic differentiated cells (oil red O staining of the ADC cells at the day 10).

图1 C2C12细胞的生肌分化和生脂转分化

Fig.1 Myogenic differentiation and adipogenic trans-differentiation of C2C12 cells



A: 能量稳态调控蛋白(PGC-1a和AMPK)的表达变化; B: PGC-1a和AMPK蛋白水平定量分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示, $n=3$, t 检验分析两组细胞在相同分化阶段的差异显著性, $*P<0.05$, 与MDC相比。

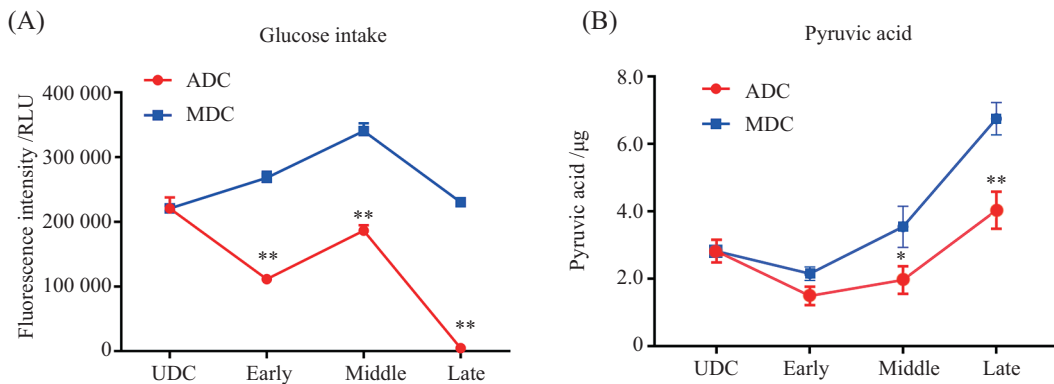
A: changes of expression levels of the proteins (PGC-1a and AMPK) related to cellular energy homeostasis; B: quantitative analysis of protein levels of PGC-1a and AMPK. The data is expressed in $\bar{x} \pm s$, $n=3$, the student t test was used to analyze the statistical significance between two groups of cells. $*P<0.05$ compared with MDC.

图2 不同分化C2C12细胞中能量稳态调控分子的表达差异

Fig.2 The expression differences of the regulators in cellular energy homeostasis between the different differentiated C2C12 cells

随着分化进程呈现先升高后降低的趋势, 并且MDC细胞的葡萄糖摄入水平在不同分化阶段都显著高于ADC细胞(图3A)。丙酮酸是细胞内糖代谢的重要中间产物。通过试剂盒检测发现, MDC细胞在分化中期和后期的丙酮酸含量都显著高于ADC细胞(图3B)。WB检测结果表明, MDC细胞中的葡萄糖

转运蛋白4(glucose transporter 4, GLUT4)和己糖激酶(hexokinase, HK)表达水平均随着生肌分化进程而明显升高, 并且都显著高于同时期的ADC细胞(图4)。在分化中期, ADC细胞中的磷酸果糖激酶(phosphofructokinase, PFKM)表达水平明显高于MDC细胞; 而在ADC细胞分化后期PFKM水平明显降低, 与

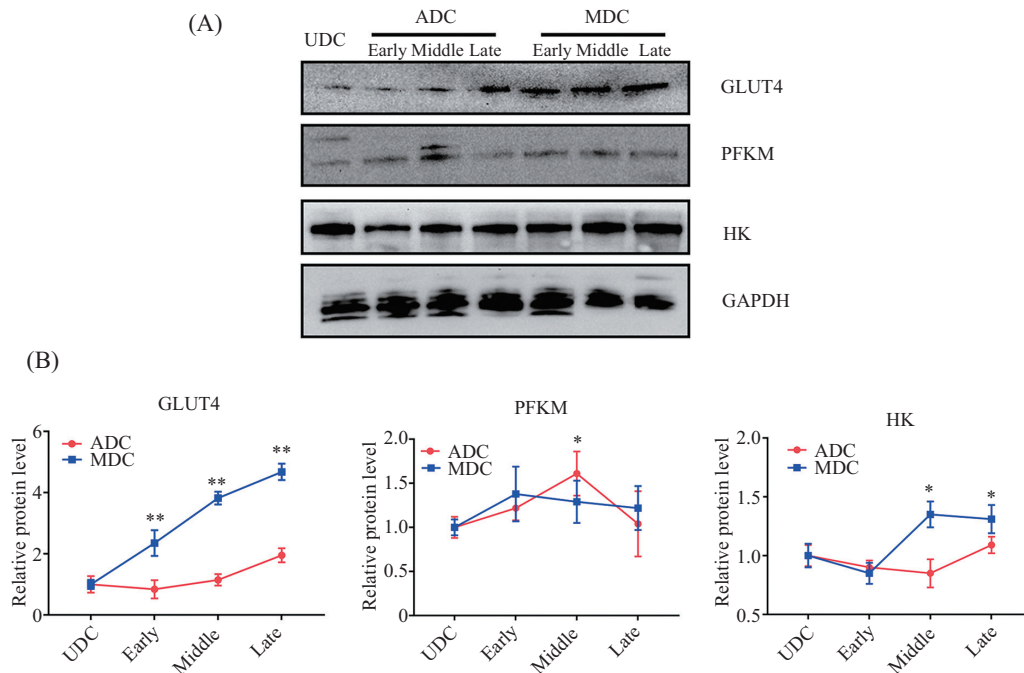


A: 不同分化细胞的葡萄糖吸收能力; B: 不同分化细胞内丙酮酸含量。数据以 $\bar{x}\pm s$ 形式表示, $n=3$, t 检验分析两组细胞在相同分化阶段的差异显著性, $*P<0.05$, $**P<0.01$, 与MDC相比。

A: glucose uptake in the different differentiated cells; B: contents of pyruvic acid in the different cells. The data is expressed in $\bar{x}\pm s$, $n=3$, the student t test was used to analyze the statistical significance between two groups of cells. $*P<0.05$, $**P<0.01$ compared with MDC.

图3 不同分化C2C12细胞中葡萄糖吸收和代谢变化

Fig.3 Changes of glucose uptake and metabolism in the different differentiated C2C12 cells

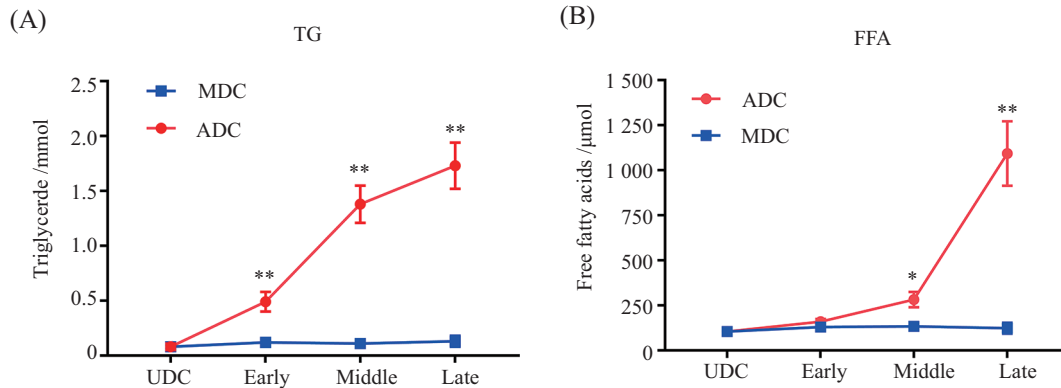


A: 葡萄糖吸收和代谢调控蛋白(Glut4、PFKM和HK)的表达变化; B: GLUT4、PFKM和HK蛋白水平定量分析。数据以 $\bar{x}\pm s$ 形式表示, $n=3$, t 检验分析两组细胞在相同分化阶段的差异显著性, $*P<0.05$, $**P<0.01$, 与MDC相比。

A: changes of expression levels of the proteins (GLUT4, PFKM and HK) related to glucose uptake and metabolism; B: quantitative analysis of protein levels of GLUT4, PFKM and HK. The data is expressed in $\bar{x}\pm s$, $n=3$, the student t test was used to analyze the statistical significance between two groups of cells. $*P<0.05$, $**P<0.01$ compared with MDC.

图4 不同分化C2C12细胞中葡萄糖吸收和代谢调控分子的表达差异

Fig.4 The expression differences of the regulators in glucose uptake and metabolism in the different differentiated C2C12 cells



A: 不同分化细胞内甘油三酯含量; B: 不同细胞的培养基中游离脂肪酸含量。数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示, $n=3$, t 检验分析两组细胞在相同分化阶段的差异显著性, $*P<0.05$, $**P<0.01$, 与MDC相比。

A: content of TG in the different differentiated cells; B: content of FFA in the culture medium of different differentiated cells. The data is expressed in $\bar{x} \pm s$, $n=3$, the student t test was used to analyze the statistical significance between two groups of cells. $*P<0.05$, $**P<0.01$ compared with MDC.

图5 不同分化C2C12细胞中的脂质沉积和代谢变化

Fig.5 Changes of lipid deposition and metabolism in different differentiated C2C12 cells

MDC细胞无明显差异。这些结果整体表明, MDC细胞的糖代谢活跃度明显高于ADC细胞。

2.3 C2C12细胞生肌和生脂分化中脂代谢的差异

如图5所示, 生脂分化细胞中脂类物质的含量显著增加。ADC细胞中的TG含量随着生脂分化进程显著增加, 而MDC细胞中TG含量在整个分化过程无明显变化。培养基中FFA含量一定程度上反映了细胞的脂肪分解代谢强度。在ADC细胞分化的中期和后期, 培养基中的FFA含量均显著增加, 而MDC细胞培养基中FFA的含量无明显变化趋势。脂肪酸移位酶(fatty acid translocase, FAT/CD36)和脂肪酸转运蛋白1是负责脂肪酸(特别是长链脂肪酸)吸收和转运进入细胞的关键蛋白, ACS是脂肪酸合成代谢的关键调控酶。WB检测发现, FAT/CD36的蛋白丰度在MDC和ADC细胞中都随着分化呈现明显的增加趋势, 但在两种细胞之间无明显差异; FATP1和ACS则在ADC细胞中的表达量显著高于MDC细胞(图6)。这些结果提示, ADC细胞比MDC细胞具有更强的脂质吸收和代谢能力。

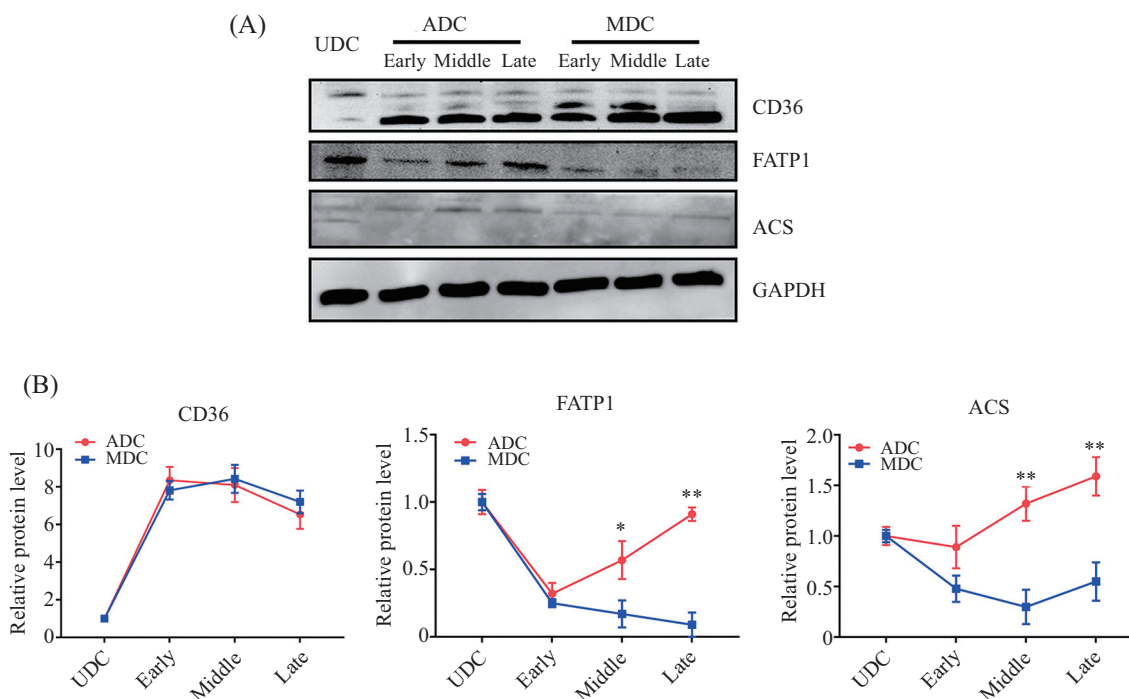
3 讨论

细胞谱系追踪发现, 人和动物的肌细胞和脂肪细胞来自于共同的中胚层多能干细胞, 它们在一定条件下可以相互转化^[4,12]。成熟的白色脂肪组织是哺乳动物机体内重要的“能量储存库”, 而骨骼肌系统则是能量消耗的“大客户”, 二者数量和状态的平衡对于机体代谢和能量稳态具有重要的影响^[13]。近

年来, 研究发现随着机体衰老或者在肌营养不良的情况下, 肌肉损伤修复期间会发生肌细胞被脂肪细胞替换的情况^[7,14], 肌细胞生脂转化的失衡会导致肌肉萎缩和肌再生功能障碍。大量肌细胞的生脂转化会影响机体的能量蓄积和平衡。肌肉组织中脂肪的过度蓄积还会导致组织炎症损伤, 诱发机体出现胰岛素抵抗和糖尿病等代谢症。陆续的研究报道了IGF1、Rho、Wnt、BMP、PI3K/AKT、PRDM16、MAPK等调控分子和相关信号通路在干细胞命运决定和肌细胞生脂转化中发挥了重要的调控作用^[4,7,10-11,15]。

尽管我们当前已经对肌细胞生脂转化的分子调控机制有了初步的了解, 但是对于细胞内代谢活动的变化还缺乏认识。糖是细胞的主要能量物质来源, 葡萄糖经过有氧代谢和无氧代谢可以产生大量能量供生命活动。脂质(脂肪酸及其衍生物)不仅是生物膜的骨架成分和能量供应者, 还以信号分子的形式参与多种生命过程。糖、脂代谢是人和动物各种生理活动的物质根本, 糖、脂代谢的稳态调控是保障健康生长的基本条件。

在人和动物中, 骨骼肌是葡萄糖吸收和摄取的主要组织, 并以糖原的形式储存糖和蓄能, 骨骼肌的数量和状态对于维持糖代谢平衡具有重要的影响^[16]。脂肪组织同样大量吸收和摄取葡萄糖、脂肪酸等物质, 白色脂肪细胞是脂质合成的主要场所, 并以脂滴(甘油三酯)的形式存储大量的能量^[17]。由于肌细胞和脂肪细胞在形态、结构、功能和生理活动等方面都存在巨大的差异, 两种细胞对于物质的吸收、



A: 脂质吸收和代谢调控蛋白(CD36、FATP1和ACS)的表达变化; B: CD36、FATP1和ACS蛋白水平定量分析。数据以 $\bar{x}\pm s$ 形式表示, $n=3$, t 检验分析两组细胞在相同分化阶段的差异显著性 * $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与MDC相比。

A: changes of expression levels of the proteins (CD36, FATP1 and ACS) related to lipids uptake and metabolism; B: quantitative analysis of protein levels of CD36, FATP1 and ACS. The data is expressed in $\bar{x}\pm s$, $n=3$, the student t test was used to analyze the statistical significance between two groups of cells. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ compared with MDC.

图6 不同分化C2C12细胞中脂质吸收和代谢调控分子的表达差异

Fig.6 The expression differences of the regulators in lipid uptake and metabolism in the different differentiated C2C12 cells

转运和利用都明显不同。本实验探索性地研究了C2C12肌前体细胞在正常生肌分化和生脂转分化两种途径下细胞内糖、脂代谢的差异,有助于揭示肌细胞-脂肪细胞之间相互转化的物质利用基础和代谢倾向变化。

研究表明,PGC-1 α 是一种协同刺激因子,在能量需求和利用较高的组织高表达,主要功能在于调控葡萄糖的吸收、线粒体功能、细胞能量消耗^[18]。MDC中PGC-1 α 的蛋白水平较高,说明了成肌分化状态下细胞能量周转利用加剧。AMPK被认为是细胞内的能量传感器,对于细胞内的能量产生和消耗非常敏感^[19]。本实验,在ADC和MDC分化早期和中期,AMPK的表达和活化差异不明显,但是在分化后期ADC细胞中AMPK和p-AMPK表达水平均明显高于MDC,说明ADC细胞内的合成代谢和能量蓄积水平高于MDC细胞。

葡萄糖摄取检测结果表明, MDC细胞的葡萄糖吸收和摄取能力强于ADC细胞。MDC细胞中高表达的GLUT4蛋白也证明了这一点。丙酮酸是细胞内

葡萄糖有氧代谢和无氧代谢的共同中间产物,是细胞器中的重要供能物质。糖代谢产生的大量丙酮酸可以在细胞浆中还原成乳酸供能,也可以进入线粒体内氧化生成乙酰CoA,后者通过三羧酸循环完成氧化功能^[20]。MDC细胞内丙酮酸含量从分化中期开始明显高于ADC细胞,再次说明了MDC细胞糖代谢的活跃度高于ADC细胞。

虽然ADC细胞对于葡萄糖的吸收和代谢弱于成肌分化条件下的MDC,但是其表现出更强的脂质(脂肪酸)吸收和代谢能力。ADC细胞内的脂质蓄积(甘油三酯含量)随着生脂分化进程而显著增加,代表了细胞内脂质合成的不断增强,这也与细胞内能量产生和蓄积是直接相关的。FATP1是FATP蛋白家族最为重要的一员,主要负责长链和超长链的脂肪酸摄取和转运。FATP1还兼具一定脂酰基辅酶A的催化能力,对于脂肪酸的氧化代谢具有重要的调控作用^[21]。FATP1的表达水平在ADC细胞中随着生脂分化而显著升高,并显著高于MDC细胞。乙酰辅酶A是细胞内脂肪酸合成的重要前体物, ACS的高表达

间接地反映了细胞内脂肪合成代谢的增强。

综上,本研究初步反映了肌前体细胞在生肌和生长两种分化途径下,细胞内糖、脂代谢出现了明显差异,这与细胞的生理功能和分子特性密切相关。生肌分化的细胞对于葡萄糖的吸收、摄取能力更强,胞内糖代谢和能量利用更为活跃。生脂分化的细胞对于脂质吸收、转运、合成和代谢强度更高。在今后的工作中,我们将通过蛋白组、代谢组等高通量分析进一步探索肌细胞生脂分化中物质利用、代谢通路和信号传导的转变机制。

参考文献 (References)

- [1] TEBOUL L, GAILLARD D, STACCINI L, et al. Thiazolidinediones and fatty acids convert myogenic cells into adipose-like cells [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(47): 28183-7.
- [2] ASAKURA A, RUDNICKI M A, KOMAKI M. Muscle satellite cells are multipotential stem cells that exhibit myogenic, osteogenic, and adipogenic differentiation [J]. *Differentiation*, 2001, 68(4/5): 245-53.
- [3] YEOW K, PHILLIPS B, DANI C, et al. Inhibition of myogenesis enables adipogenic trans-differentiation in the C2C12 myogenic cell line [J]. *FEBS Lett*, 2001, 506(2): 157-62.
- [4] SORDELLA R, JIANG W, CHEN G C, et al. Modulation of RHO GTPase signaling regulates a switch between adipogenesis and myogenesis [J]. *Cell*, 2003, 113(2): 147-58.
- [5] HE M, LI Y, TANG Q, et al. Genome-wide chromatin structure changes during adipogenesis and myogenesis [J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(1): 1571-85.
- [6] LEE E J, LEE H J, KAMLI M R, et al. Depot-specific gene expression profiles during differentiation and transdifferentiation of bovine muscle satellite cells, and differentiation of preadipocytes [J]. *Genomics*, 2012, 100(3): 195-202.
- [7] PLIKUS M V, GUERRERO-JUAREZ C F, ITO M, et al. Regeneration of fat cells from myofibroblasts during wound healing [J]. *Science*, 2017, 355(6326): 748-52.
- [8] CHEN W, TANG H, LIU X, et al. Dickkopf1 up-regulation induced by a high concentration of dexamethasone promotes rat tendon stem cells to differentiate into adipocytes [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(5): 1738-49.
- [9] QI R L, LONG D B, WANG J, et al. MicroRNA-199a targets the fatty acid transport protein 1 gene and inhibits the adipogenic trans-differentiation of c2c12 myoblasts [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39: 1087-97.
- [10] 齐仁立, 黄晓凤, 吴永江, 等. PI3K/Akt在C2C12肌细胞生脂转分化中的作用[J]. *生物化学与生物物理进展*(QI R L, HUANG X F, WU Y J, et al. Role of PI3K/Akt in the adipogenic trans-differentiation of C2C12 myoblasts [J]. *Prog Biochem Biophys*, 2017, 44(3): 224-31.
- [11] SEALE P, BJORK B, YANG W L, et al. PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch [J]. *Nature*, 2008, 454(7207): 961-7.
- [12] WANG C, LIU W Y, NIE Y H, et al. Loss of MyoD promotes fate transdifferentiation of myoblasts into brown adipocytes [J]. *EBioMedicine*, 2017, 16: 212-23.
- [13] OLEFSKY J M. Fat talks, liver and muscle listen [J]. *Cell*, 2008, 134(6): 914-6.
- [14] NAKAMURA S K, NAKANO S, MIYOSHI T, et al. Age-related resistance of skeletal muscle-derived progenitor cells to SPARC may explain a shift from myogenesis to adipogenesis [J]. *Aging*, 2012, 4(1): 40-8.
- [15] NEILL B T O, LAURITZEN H P M, HIRSHMAN M F, et al. Differential role of insulin/igf-1 receptor signaling in muscle growth and glucose homeostasis [J]. *Cell Rep*, 2015, 11(8): 1220-35.
- [16] MALTIN C A. Muscle development and obesity, is there a relationship [J]? *Organogenesis*, 2008, 4(3): 158-69.
- [17] GUILHERME A, VIRBASIVS J V, PURI V, et al. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 9(11): 367-77.
- [18] CHENG C F, KU H C, LIN H. PGC-1 α as a pivotal factor in lipid and metabolic regulation [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 3447.
- [19] GARCIA D, SHAW R J. AMPK: mechanisms of cellular energy sensing and restoration of metabolic balance [J]. *Mol Cell*, 2017, 66(6): 789-800.
- [20] ZHANG D, LI Y, YAO X, et al. miR-182 regulates metabolic homeostasis by modulating glucose utilization in muscle [J]. *Cell Rep*, 2016, 16(3): 757-68.
- [21] 齐仁立, 黄金秀, 杨飞云, 等. 脂肪酸转运蛋白家族及其介导的脂肪酸跨膜转运[J]. *动物营养学报*(QI R L, HUANG J X, YANG F Y, et al. Fatty acid transport protein family and their mediation in transmembrane transportation of fatty acids [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*), 2013, 25(5): 905-11.