



胡苹, 中国科学院生物化学与细胞生物学研究所研究员。于北京大学生命科学学院获得学士学位, 美国纽约州立大学Stony Brook分校/冷泉港实验室获得博士学位。在加州大学Berkeley分校/HHMI从事博士后研究。长期从事肌肉再生与肌肉稳态维持的研究, 主要研究内容包括肌肉干细胞保持、增殖与分化的微环境, 以及在衰老和病理情况下微环境变化对于肌肉干细胞的影响, 为相关肌肉退行性疾病的治疗提供新策略。同时, 致力于肌肉干细胞在多种肌肉退行性疾病治疗及肌肉再生与萎缩过程中的表观遗传调控的研究。胡苹实验室解决了长期困扰成体干细胞领域的“无效扩增”问题, 发现急性炎症和T细胞是肌肉干细胞增殖的重要微环境, 建立了免疫系统与肌肉再生的直接联系, 在世界上率先建立了功能性肌肉干细胞在体外长期扩增的系统, 为肌肉干细胞的临床应用奠定了基础。还发现衰老导致的肌肉萎缩的分子标记和药物靶点, 建立了诊断、治疗肌少症的新策略。

<http://www.sibcb.ac.cn/PI.asp?id=136>



张勇, 2004年获得哈尔滨医科大学遗传学博士学位, 2004—2006年在中国医学科学院基础医学研究所从事博士后研究。2012年任中国医学科学院基础医学研究所国家重点实验室研究员, 博士生导师。中国细胞生物学会细胞代谢分会副秘书长, 中国细胞生物学会理事。多次参加国内外学术会议并受邀报告, 参与发起并组织内陆和香港承办的骨骼肌发育与代谢、骨骼肌再生与疾病为主题的学术会议。在非编码RNA和骨骼肌代谢微环境调控骨骼肌干细胞功能及骨骼肌损伤再生方面取得一系列原创性成果, 发表学术论文40余篇, 被引用1500余次。

<http://sbm.pumc.edu.cn/article/11512>

骨骼肌的再生

傅鑫¹ 李虎² 杨雯隽¹ 韩婉虹³ 张勇^{3*} 胡苹^{1,2*}

¹中国科学院分子细胞卓越创新中心/生物化学与细胞生物学研究所, 细胞生物学国家重点实验室, 上海 200031;

²中国科学院干细胞与再生创新研究院, 北京 100101;

³中国医学科学院基础医学研究所, 北京协和医学院基础学院, 医学分子生物学国家重点实验室, 北京 100005)

摘要 骨骼肌是体内最大的器官, 对呼吸、代谢、体温保持、运动等基本生命活动有重要的调控作用。运动、疾病、创伤以及其他因素会导致骨骼肌的损伤, 骨骼肌能够通过再生对于这些损伤进行程度不同的修复。骨骼肌再生主要通过骨骼肌干细胞进行。骨骼肌再生涉及到多种细

中国科学院器官重建与制造战略性先导科技专项(批准号: XDA16021400)、国家科技部重大科学研究计划项目(批准号: 2017YFA002700、2015CB943103)、国家自然科学基金(批准号: 91649104、31671536、91540206)、中国科学院青年科学促进会(批准号: 2016246)和上海市科学技术委员会NN-CAS基金(批准号: Y753S11802、18ZR1446300)资助的课题

*通讯作者。Tel: 021-54921254, E-mail: hup@sibcb.ac.cn; Tel: 010-65105081, E-mail: yongzhang@ibms.pumc.edu.cn

This work was supported by the Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences (Grant No.XDA16021400), Ministry of Science and Technology of China (Grant No.2017YFA002700, 2015CB943103), the National Natural Science Foundation of China (Grant No.91649104, 31671536, 91540206), Chinese Academy of Sciences (Grant No.2016246) and NN-CAS Fund of Science and Technology of Commission of Shanghai Municipality (Grant No.Y753S1180218ZR1446300)

*Corresponding authors. Tel: +86-21-54921254, E-mail: hup@sibcb.ac.cn; Tel: +86-10-65105081, E-mail: yongzhang@ibms.pumc.edu.cn

网络出版时间: 2019-09-29 16:47:28

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190929.1647.014.html>

胞类型的协同作用, 受到复杂、精细的调控, 以保证再生过程的有序进行。该文对骨骼肌再生的最新进展进行简略综述。

关键词 骨骼肌; 骨骼肌损伤; 骨骼肌再生; 骨骼肌干细胞; 骨骼肌再生调控

Regeneration of Skeletal Muscle

FU Xin¹, LI Hu², YANG Wenjun¹, HAN Wanhong³, ZHANG Yong^{3*}, HU Ping^{1,2*}

(¹State Key Laboratory of Cell Biology, Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China; ²Institute for Stem Cell and Regeneration, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; ³The State Key Laboratory of Medical Molecular Biology, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences and School of Basic Medicine, Peking Union Medical College, Beijing 100005, China)

Abstract Skeletal muscle, as the biggest organ in human body, plays key roles in breathing, metabolism, body temperature maintenance, exercises, and other vital movements. Exercises, illnesses, and traumas can all cause skeletal muscle injury. Skeletal muscle regeneration mediated by muscle stem cell which could self-renew, proliferate, and differentiate into mature myofibers, is able to repair muscle injury to various extents. The regeneration of skeletal muscle is regulated by complex molecular network and several cell types present in the microenvironment to achieve timely regeneration. Here we review the recent progress in this field.

Keywords skeletal muscle; muscle injuries; muscle regeneration; muscle stem cell; regulation of skeletal muscle regeneration

骨骼肌是体内最大的器官, 对呼吸、代谢、体温保持、运动等基本生命活动有重要的调控作用。运动、疾病、创伤以及其他因素会导致肌肉的损伤, 对于轻度肌肉损伤, 肌肉能够通过再生进行修复。肌肉再生主要通过肌肉干细胞进行。体内对于肌肉再生有复杂、精细的调控。

1 骨骼肌再生的发育生物学基础

骨骼肌具有再生能力, 其对于疾病和创伤条件下, 维持骨骼肌组织稳态、保障正常生理功能的发挥具有重要意义。近年来, 一系列研究采用遗传示踪、细胞生物学、分子生物学等研究方法, 发现高等动物成年骨骼肌的再生过程与胚胎发育过程中肌组织形成的早期发育事件具有相当高的相似性。

在胚胎发育阶段, 骨骼肌的形成主要依靠肌肉祖细胞(muscle precursor cell)的增殖和分化。肌肉祖细胞起源于轴旁中胚层(paraxial mesoderm)。轴旁中胚层进一步发育为体节(somite), 在高浓度的FGF、Wnt及Notch信号作用下, 发育为生皮肌节(dermomyotome)。肌肉祖细胞存在于生皮肌节和随后形成的肌节(myotome)中^[1-3]。肌肉祖细胞既能彼

此融合形成新的肌纤维, 也能够通过与已有的肌纤维融合形成肌肉^[4-8]。

2 骨骼肌干细胞(muscle stem cell, satellite cell)与骨骼肌再生

事实上, 早在1961年Mauro^[9]在电镜下观察到了位于肌纤维膜和基底膜之间的单核细胞, 将其命名为肌卫星细胞。接下来几十年的研究表明, 肌卫星细胞的功能是骨骼肌成体干细胞。但是, 人们一直不清楚肌卫星细胞的胚胎起源。直到2005年6月, Relaix^[5]和Gros^[6]分别采用遗传示踪、鸡-鹌鹑生皮肌节移植策略, 同时在*Nature*发表论文, 揭示了肌卫星细胞的胚胎起源——来源于生皮肌节的骨骼肌始祖细胞。由此, 奠定了成体骨骼肌再生的细胞生物学和发育生物学基础。

非常有趣的是, 区别于由单核细胞组成的组织, 发育过程中决定的多核结构的骨骼肌纤维可能具有非常重要的生理学和再生医学意义, 目前尚不十分清楚。最近的一个研究工作表明, 骨骼肌组织损伤以后, 多核结构的肌纤维架构(ghost fiber)引导肌卫星细胞迁移、增殖和自我更新, 对骨骼肌损伤修复

具有重要调控功能^[10]。骨骼肌纤维的多个核(myonucleus)可能通过脱分化(dedifferentiation)参与骨骼肌损伤再生^[11-12]。这些研究结果进一步说明,成体骨骼肌损伤再生的发育生物学基础具有重要意义。

2.1 骨骼肌干细胞的激活

出生之后骨骼肌质量的增加和损伤修复依赖骨骼肌干细胞(又称肌骨骼肌干细胞)。骨骼肌干细胞是存在于骨骼肌中的成体干细胞,具有自我更新能力,能够分化为成熟的肌肉组织。目前认为,多数骨骼肌干细胞也起源于体节,但是其具体的发生过程还不是非常清楚^[5-6,13-14]。在新生儿时期,为了配合机体的快速生长,骨骼肌干细胞处在高度活化和大量增殖状态,肌肉的形成也处于高峰时期。此时,骨骼肌干细胞的数目达到顶峰,为肌细胞核数目的30%~35%。成年之后,骨骼肌干细胞的数量大幅减少,仅为肌细胞核数目的2%~7%,并大部分时期处在静息状态,仅维持必需的细胞自我更新^[15-16]。旺盛生长过后,在成年时期,骨骼肌干细胞处在静息状态(quiescent stage)。静息状态下的骨骼肌干细胞定位于肌肉肌膜和基底膜之间的干细胞巢中,具有较大的细胞核质比,极少数目的线粒体,表达Pax7、M-cadherin、Syndecan 4、CD34、integrin-A7、CXCR4、Myf5等基因标记^[17-19],但不表达MyoD^[20-21]。在肌肉受到损伤或者其他病理条件下,肌肉干细胞会被激活,离开干细胞巢,进行增殖,进而通过融合到已有的肌纤维或形成全新的肌纤维,修复受损的肌肉组织。活化后的骨骼肌干细胞的核质比变小,仍表达活化前的基因标记并进入细胞周期,不同的是活化后的骨骼肌干细胞中Myf5表达水平大大提高,并开始表达MyoD^[22-23]。骨骼肌干细胞分化为肌母细胞——成肌细胞(myoblast)之后将不再表达Pax7等干细胞标记,但仍然大量表达MyoD。成肌细胞可以进一步分化为肌纤维。

2.2 骨骼肌干细胞的自我更新与增殖

处在静息状态下的骨骼肌干细胞能够进行自我更新,以维持体内一定的干细胞数量。在机体生长、损伤修复等情况下,骨骼肌干细胞能够进行大量增殖,满足机体对于骨骼肌干细胞的需求。

2.2.1 骨骼肌干细胞的对称与不对称分裂

骨骼肌干细胞可以进行对称分裂和不对称分裂,并通过调节对称和不对称分裂发生的频率与比例,调节干细胞自我更新与分化。

骨骼肌干细胞位于肌纤维基底膜下的特殊位置^[24]。静息骨骼肌干细胞处于高度极化状态。在垂直和平行于基底膜的两个方向上表达不同的黏附蛋白,并影响骨骼肌干细胞的静息和细胞极性^[24]。在靠近基底膜的一侧,骨骼肌干细胞表达高水平的整合素integrin-A7、integrin-B1以及Dystroglycan^[25-26]。相反,近肌纤维膜的一侧,骨骼肌干细胞表达M-cadherin和神经细胞黏附因子(neural cell adhesion molecule, NCAM)^[27]。基底膜和肌膜的成分也各不相同,从而构成骨骼肌干细胞的极性微环境。最近的研究认为,极性微环境可能是建立骨骼肌干细胞内部细胞极性的基础,通过空间限制的方式调节细胞内部极性^[28]。骨骼肌干细胞在沿基底膜-肌膜方向分裂后,靠近肌膜的子细胞不再与基底膜相接触,倾向于分化,与邻近肌纤维相融合。而靠近基底膜的子细胞倾向于保持干性,回归静息状态。这些观察提示,干细胞与基底膜的直接接触能够促进分裂后产生的子细胞回到静息状态。目前的研究认为,PAR等极性复合体可能参与不对称分裂的调控。这些极性复合物的正确定位决定了有丝分裂的方向,对于驱动不对称分裂和高效的肌肉修复是必需的。

根据机体的不同需求,骨骼肌干细胞可以进行自我更新以维持体内干细胞库的稳定;也可以进行大量增殖,产生足量的骨骼肌干细胞支持骨骼肌的再生。在过去的二十年里,关于体内骨骼肌干细胞的分裂模式,一直存在两种假说。一种是随机假说,该假说认为骨骼肌干细胞的分裂和命运决定没有关系,骨骼肌干细胞分裂时是对称的,子细胞以随机的方式决定命运,其中的一个保持干性,成为干细胞,另外一个与邻近的肌纤维融合分化。另一种假说是不对称分裂。该假说认为,骨骼肌干细胞的分裂是不对称的,有丝分裂与细胞命运紧密相连,细胞命运在细胞分裂的时候就已经决定。细胞命运和有丝分裂联结干细胞的空间定位及其与不对称的微环境相互作用,将有丝分裂与细胞命运决定紧密联系起来。骨骼肌干细胞的不对称分裂首先在BrdU标记实验中被观察到, Numb和BrdU标记的DNA选择性地分离到一个子细胞中^[29]。用Myf5-Cre和R26R-YFP报告基因在小鼠中进行谱系示踪,有丝分裂后的骨骼肌干细胞一个表达Myf5,一个不表达Myf5,从而直接证明了在骨骼肌组织和分离的骨骼肌纤维中不对称分裂的存在^[30]。Myf5阴性的骨骼肌干细胞可以进

行与基底膜平行的对称分裂(平行分裂), 生两个Myf5阴性的干细胞; 也可以进行垂直于基底膜方向的不对称分裂(垂直分裂), 产生一个Myf5阴性的干细胞和一个Myf5阳性的前体细胞。细胞移植实验进一步表明, Myf5阴性细胞确实是自我更新的骨骼肌干细胞, 而Myf5阳性细胞代表分化的骨骼肌前体细胞^[30-31]。

随着技术的发展, 应用Pax7CreERT2:R26RBrainbow2.1小鼠对骨骼肌干细胞的有丝分裂与命运决定进行了多色谱系追踪研究^[32]。这些谱系追踪实验发现, 在急性损伤后, 骨骼肌干细胞经历90%的平行分裂和10%的垂直分裂, 再次证实不对称分裂在体内存在^[33]。在斑马鱼中也观察到急性损伤后体内骨骼肌干细胞存在广泛的不对称分裂^[34], 提示不对称分裂在进化上具有保守性。进一步的研究表明, 在衰老过程中骨骼肌干细胞的不对称分裂逐步减少, 这也许是衰老后肌肉损伤修复能力下降的原因之一^[35]。

2.2.2 骨骼肌干细胞的增殖 在损伤或其他条件下, 静息的骨骼肌干细胞被激活。静息的骨骼肌干细胞表达Sdc-3和Sdc-4, 它们作为integrins、Notch和Fzd7(Frizzled-7)的共同受体, 能够与细胞外基质成分相互作用, 并捕获存在于微环境中的可溶性生长因子, 调控肌肉干细胞从静息到增殖的转换^[27-36]。肌干细胞静息-激活转换的分子机制尚有待进一步探索。

伴随骨骼肌干细胞的激活, 在多种调控机制的协调作用下, 骨骼肌干细胞进入增殖阶段。在增殖过程中, MyoD的mRNA和蛋白水平均显著提高, Myf5的蛋白水平显著提高, Pax7的表达水平逐渐降低^[22-23]。伴随着MyoD和Myf5的表达, 骨骼肌干细胞大量增殖。随着Pax7表达水平的降低, 骨骼肌干细胞在增殖中逐渐失去干性, 转变为成肌细胞, 为下一步的分化做准备。

目前已有许多信号通路被证实在骨骼肌干细胞的增殖中发挥重要作用。IGF、FGF信号通路可以促进骨骼肌干细胞的增殖, 其中FGF被广泛应用于骨骼肌干细胞的体外培养^[37-39]。研究表明, 经典的Wnt信号通路在调控骨骼肌干细胞增殖和分化中发挥作用, 如外源Wnt1、3a、5a可以促进骨骼肌干细胞的增殖, 而Wnt4、6则抑制其增殖^[40]。β-catenin促进骨骼肌干细胞的自我更新并抑制其分化^[41-42]。非经典的Wnt7a可以促进骨骼肌干细胞的对称分裂并在肌肉再生过程中诱导Wnt7a-Frizzle-7-PCP信号

通路, 从而促进肌肉干细胞分化^[43]。抑制p38-MAPK信号通路可以促进骨骼肌干细胞的自我更新并抑制骨骼肌干细胞的衰老^[44-46]。这些信号通路如何彼此协同, 以平衡骨骼肌干细胞的增殖和分化是领域内亟需解决的问题。最近的研究表明, Vgll4通过稳定MyoD和TEAD4的相互作用, 以不依赖于Hippo的模式促进肌肉干细胞的分化^[47], 为骨骼肌干细胞的增殖与分化平衡提供了新线索。

2.3 骨骼肌干细胞的分化

骨骼肌干细胞能够分化为肌管细胞。骨骼肌干细胞的分化受到一系列肌肉特异性转录因子的严格调控。MyoD、Myogenin、Myf5、MRF4等bHLH(basic helix-loop-helix)家族转录因子在骨骼肌干细胞分化过程中特异性表达, 发挥决定性的调控作用。这些转录因子统称为肌源调控因子(muscular regulatory factors, MRFs)^[21,48-50]。其中, MyoD是肌肉谱系的决定性调控因子(master regulator)。在非肌肉细胞中表达外源MyoD能够将这些细胞转分化为肌肉细胞。MyoD与Myf5双敲小鼠中肌肉无法形成, 进一步说明, MyoD和Myf5在肌肉谱系形成中的决定性作用。Myogenin基因表达可以被MyoD激活, 促进肌肉干细胞分化。与其他bHLH转录因子一样, MRFs可以与E蛋白或其他co-factor形成异源二聚体, 激活肌肉干细胞增殖和分化相关基因的转录, 调控骨骼肌干细胞的分化。

MyoD与Myf5能够激活下游Myogenin等关键转录因子的表达, 促进肌肉干/祖细胞的分化。Myogenin与MRF4在早期分化阶段起始表达, 这其中还会伴随MEF2(myocyte enhancer binding factor-2)家族转录因子的表达^[21,51-52]。这些转录因子会进一步激活肌球蛋白等肌肉特异性基因的表达, 促进肌肉细胞的终末分化。在终末分化的肌肉细胞中, 成肌细胞彼此融合形成肌管细胞。肌管细胞通过有序排列形成肌纤维, 组成肌肉组织, 在体内行使一系列功能^[12]。

3 骨骼肌再生的微环境

骨骼肌的再生受到一系列因素的精细调控, 包括细胞内在转录因子、信号通路和外界的微环境。骨骼肌发生损伤后, 多种细胞和因子调控骨骼肌干细胞的激活、增殖与分化, 成为骨骼肌干细胞的微环境。

3.1 炎症与再生(包括血管细胞)

肌肉损伤和病变除了会引起骨骼肌干细胞的激活、增殖与分化外,还会在损伤部位诱发一系列炎症反应。在正常肌肉组织中仅存在少量的巨噬细胞^[53],一旦肌肉组织发生损伤或病变,大量免疫细胞会浸润到损伤部位,其数量可以超过100 000个炎症细胞/mm³损伤肌肉,参与肌肉再生过程^[54]。

损伤或病变情况下的肌肉组织中的炎症反应是一个较为复杂的过程,该过程由于损伤和病变的情况和程度的不同而存在一定的差异,目前我们了解较多的是急性损伤后的炎症反应。急性损伤后的炎症反应由Ly6C⁺/F4/80⁻中性粒细胞起始,其数量在肌肉损伤2小时内急剧上升,6~24小时达到顶峰,之后再迅速下降。随后,M1巨噬细胞,即吞噬型巨噬细胞开始浸润肌肉组织,并在24小时达到峰值,至损伤后第3天开始迅速减少^[55-60]。一般认为,M1巨噬细胞的主要作用为清除由肌肉损伤产生的细胞残骸,从而促进肌肉的损伤修复^[61-62]。然而也有研究表明中性粒细胞和M1巨噬细胞产生的自由基和NO会促进肌肉细胞膜的破裂,从而加剧肌纤维的损伤^[63-64]。之后,M2巨噬细胞,即非吞噬型巨噬细胞,开始浸润损伤的肌肉组织。替换型激活的M2型巨噬细胞则能通过分泌大量的抗炎症因子如IL-4、IL-10和IL-13,促进M1巨噬细胞转变为M2巨噬细胞。M2巨噬细胞能够下调炎症反应的程度,以避免过度的组织损伤^[65-67]。

除了天然免疫细胞以外,适应性免疫细胞也参与了肌肉再生过程。在细胞介导的免疫反应中发挥主要作用的是T细胞。T细胞可以在外周血或次生淋巴器官中增殖,并可根据其特异的分子标记分为辅助T细胞和杀伤T细胞两类。在肌肉损伤过程中,CD8⁺T细胞被巨噬细胞招募并浸润到损伤位点^[68],并在整个再生过程中持续存在^[69]。T细胞还可以分泌大量的生长因子和细胞因子,如TNF- α 、IFN- γ 、IL-4等,进而影响骨骼肌干细胞的增殖及其分化^[70-71]。我们最近的研究工作发现,IL-1 α 、IL-13、TNF- α 和IFN- γ 是支持骨骼肌干细胞在体外增殖的最小细胞因子组合^[72]。骨骼肌干细胞在含有上述四种细胞因子培养基中能够在体外长期传代,解决了成体干细胞在体外难以扩增的难题。应用这种方法培养的骨骼肌干细胞,在长期培养后保持完整干性,在移植入小鼠体内之后能够高效修复肌肉损伤,并正确归巢。

归巢后的移植细胞还可以修复后续的多次损伤^[72]。这一工作为应用骨骼肌干细胞治疗肌肉退行性疾病奠定了基础。另外,调节T细胞在急性肌肉损伤发生后被募集到损伤部位,调节对肌肉再生过程尤其重要的浸润到损伤位点的髓系细胞的活动。有研究表明,将Treg细胞与骨骼肌干细胞共培养可以在体外促进骨骼肌干细胞的分化,从而调控肌肉再生^[73]。

肌肉急性损伤后,血管也随之受到损害。血管形成和血管再生是肌肉再生的重要阶段。血管损伤后,血管内皮细胞将会分泌多种因子,如血管内皮生长因子、血小板源生长因子、肝细胞生长因子等^[74],这些因子不仅可以促进血管的再生,也可以促进骨骼肌干细胞的活化和增殖^[75-77]。肌肉修复后,修复的血管还可以释放信号促进骨骼肌干细胞重新回到静息状态^[78]。

3.2 代谢微环境与再生

成体干细胞通常存在于特定的微环境中。基于干细胞微环境的概念,组织特异性干细胞的行为由来自周围微环境的物理结构和化学因素决定^[79]。成体干细胞处在狭小的微环境中,使得细胞外的代谢产物富集在成体干细胞的周围形成特定的代谢微环境。骨骼肌干细胞黏附在肌纤维上、位于骨骼肌纤维膜和基底膜之间,并且早期的研究表明,位于不同代谢类型肌纤维上的骨骼肌干细胞的数量、特性和功能不同^[80-81],提示不同代谢类型的骨骼肌纤维可能分泌不同的代谢产物和分泌因子为骨骼肌干细胞提供了独特的代谢微环境。李虎等^[82]最近的研究表明,酵解型肌纤维上富含更能多的Pax7^{Hi}亚群的细胞。酵解型肌纤维中,糖酵解代谢通过转录因子MyoD调控分泌因子G-CSF的表达,使得富集在糖酵解型肌纤维中的G-CSF水平更高,进而G-CSF通过促进骨骼肌成体干细胞的不对称分裂富集Pax7^{Hi}亚群的细胞。锻炼增强骨骼肌的糖酵解代谢可以显著提高G-CSF的水平,并且增加老年小鼠中Pax7^{Hi}亚群的比例。这一研究结果提示,可以通过干预代谢微环境治疗与老年相关的肌肉减少和肌肉萎缩症。

另外,在许多成体干细胞的微环境中,氧气水平通常远低于环境空气中甚至成体组织中的氧气水平^[83]。例如,间充质干细胞、造血干细胞和神经干细胞的氧气水平分别为2%~8%、1%~6%和1%~8%^[84-86]。低氧应激,也称为缺氧,是多种成体干

细胞保持其干细胞的关键, 并且缺氧的微环境对成体干细胞的自我更新和增殖发挥重要的调控作用。最近的研究还表明, 肿瘤干细胞位于低氧微环境中, 缺氧的程度与肿瘤的未分化状态密切相关^[87-88]。同样骨骼肌干细胞与其微环境之间的动态相互作用调节骨骼肌干细胞静息态维持、自我更新、增殖和分化。然而, 目前对代谢微环境如何调节骨骼肌干细胞的功能还了解比较少。有研究表明, 氧分压也调节着骨骼肌干细胞的命运决定。在缺氧条件下培养的成肌细胞表现出增加的Notch信号, 进而促进Pax7的高水平表达^[88]。因此, 在缺氧条件下培养的成肌细胞的分化能力显著降低, 但增强了自我更新潜力, 提高了移植效率^[88]。然而, 也有研究表明静息的骨骼肌干细胞与毛细血管紧密结合^[89]。具有更多毛细血管的氧化型纤维上具有更多的骨骼肌成体干细胞^[89], 提示骨骼肌干细胞有较强的氧气需求。静息的骨骼肌干细胞的局部氧分压仍不清楚。

3.3 胞外基质与再生

骨骼肌干细胞与细胞外基质有着密切的联系。静息状态下的骨骼肌干细胞表达多种细胞外基质组份蛋白, 包括versican、fibrillin-2、glypicans等^[90], 这些蛋白可以拮抗HGF等细胞因子, 从而起到维持骨骼肌干细胞静息状态的作用。当肌肉受到损伤时, 细胞外基质遭到破坏, 骨骼肌干细胞进而得到激活。

Syndecans是一类跨膜的硫酸乙酰肝素蛋白多糖 (heparin sulfate proteoglycan, HSPG), 其中Syndecan-3和Syndecan-4特异性地在骨骼肌干细胞上表达^[91]。Syndecan-4敲除小鼠表现出骨骼肌干细胞的激活和增殖的抑制, 机制主要为抑制MAPK信号通路以及和Frizzled-7协同作用的Wnt7信号通路^[92-93]。而Syndecan-3敲除小鼠中, 骨骼肌干细胞的激活反而加强, 停滞在S期无法增殖^[93]。以上结果预示了Syndecan-3和Syndecan-4可能协同作用, 共同调控了骨骼肌干细胞的激活和增殖。

目前有研究者根据细胞外基质的特性设计不同的培养基和培养基质, 用于培养骨骼肌干细胞。如Gilbert实验室^[45]发现, 细胞培养基底合适的弹性系数有利于骨骼肌干细胞维持干性并增殖, Cosgrove等^[45]和Gilbert等^[94]发展出有利于骨骼肌干细胞增殖的hydrogel, 结合化学小分子使衰老的骨骼肌干细胞重新年轻化。Xu等^[95]从斑马鱼胚胎培养系统中鉴定出Foskolin可以促进骨骼肌干细胞的增殖。

4 骨骼肌再生的分子机制

4.1 骨骼肌再生过程中的转录与表观遗传调控

骨骼肌干细胞的活化和增殖受到多种因素的调控, 包括转录因子、信号通路、表观遗传、非编码RNA等等。

4.1.1 转录调控 骨骼肌干细胞的功能受到肌肉特异性的转录因子的调控, 最主要的包括Pax7、Myf5、MyoD、Myogenin、MRF4等。自2000年Seale等^[5,18,96-97]首次提出, Pax7是骨骼肌干细胞的基因标记, 大量的实验都证明, Pax7在肌肉形成和再生过程中发挥重要作用。静息状态和活化后的骨骼肌干细胞均高表达Pax7, 分化为myoblast后表达降低, 是目前公认的骨骼肌干细胞的基因标记。Pax7基因敲除小鼠具有严重的肌肉发育和再生缺陷^[18,96]。Myf5也是骨骼肌干细胞的基因标记, 有的观点认为骨骼肌干细胞只有在活化后才表达Myf5^[18]。但也有证据表明, 体内静息状态的骨骼肌干细胞也表达Myf5, 并且90%的骨骼肌干细胞都表达Myf5^[23,43]。MyoD最早被鉴定为肌肉特异性转录因子, 在Fibroblast中过表达MyoD可以诱导其向肌肉方向分化^[98]。MyoD只有在骨骼肌干细胞活化后才开始表达, 并持续到分化起始^[99-100]。由于MRF家族的基因补偿效应, MyoD缺失导致肌肉仍能正常分化^[99,101], 但神经肌肉接头和骨骼肌干细胞分化均存在缺陷^[102-103]。Myogenin是分化早期的基因标记^[99,104], 而MHC、Mrf4、Ckm等是肌肉细胞终末分化的基因标记^[105-109]。

4.1.2 组蛋白、核酸修饰与染色质结构 表观遗传修饰主要包括组蛋白修饰和DNA修饰, 在骨骼肌干细胞增殖和分化过程中都发挥了重要作用。组蛋白修饰又包括甲基化修饰和乙酰化修饰。甲基转移酶Ezh2催化Pax7基因调控区的转录激活型的H3K-4me3修饰向转录抑制型的H3K27me3修饰的转换, 从而促进骨骼肌干细胞的激活^[110]。另外Pax7可以招募组蛋白甲基转移酶HMT诱导Myf5的H3K4me3修饰, 进而激活Myf5的表达^[97]。去乙酰化酶Sirt1通过调控MyoD和MEF2D的去乙酰化程度及与Notch信号通路的相互作用进而调控骨骼肌干细胞的活化和增殖^[111-113]。这种组蛋白修饰的转变还广泛存在于大量细胞周期相关的基因中, 控制了骨骼肌干细胞的激活和增殖过程。另外, Notch-1启动子区域的高甲基化导致骨骼肌干细胞的自我更新和增殖能力的降低^[114]。而骨骼肌干细胞体外培养系统中添

加DNA甲基转移酶的抑制剂sulforaphane, 可以抑制MSTN信号通路, 从而促进骨骼肌干细胞的增殖和分化^[115]。

4.1.3 非编码RNA 除了各种转录因子等蛋白质之外, 非编码RNA也调控骨骼肌再生。其中, 微小RNA(microRNA, miR)和长非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)都在骨骼肌再生中发挥重要的调控作用。

在骨骼肌中发现了多种骨骼肌组织特异性的miRs, 包括miR-1、miR-133、miR-206、miR-499及miR-208家族, 统称为myomiRs^[116-117]。这些骨骼肌特异性的myomiRs在进化上高度保守。其中miR-1-1/miR-133a-1、miR-1-2/miR133a-2、miR206/miR133b定位于同一染色体上的3个microRNA基因簇中, 这一定位特征从小鼠到人也高度保守^[118]。MyoD、MEF2等转录因子能够调控myomiRs的转录^[119-120]。转录因子YY1同样能够直接调控这些myomiRs的表达, 同时, miR-1可以靶向YY1, 抑制其表达, 从而形成负反馈环路^[121]。miR-1靶向抑制组蛋白去乙酰化酶4(HDAC4)促进骨骼肌干细胞分化^[122], miR-133则靶向抑制血清调控因子(serum response factor, SRF), 促进骨骼肌干细胞增殖^[122]。miR-206能够靶向Pax7的3'UTR, 降低Pax7的表达水平, 促进骨骼肌干细胞的分化^[123]。

武日茂等^[124-125]发现, miR-431和miR-127几乎在骨骼肌组织特异表达(脑组织有少量表达)。进一步分析发现, miR-431基因的表达受MSTN信号通路负调控^[126]。静息态的骨骼肌干细胞miR-431表达水平低, 激活以后miR-431表达水平上调。采用转基因小鼠和遗传追踪系统, 揭示了miR-431通过靶向Pax7调控静息态骨骼肌干细胞异质性, 过表达miR-431的小鼠肌肉组织中, Pax7^{Lo}亚群的骨骼肌干细胞比例显著增多, 促进骨骼肌组织损伤再生^[124]。翟丽丽等^[125]的研究工作表明, miR-127通过靶向1-磷酸鞘氨醇受体促进骨骼肌干细胞分化和骨骼肌损伤再生。miR-431和miR-127转基因小鼠与肌营养不良小鼠(MDX)杂交, 显著缓解MDX小鼠的肌营养不良病理表型, 提示miR-431和miR-127可能在治疗肌营养不良疾病中具有潜在的应用价值^[124-125]。

除了骨骼肌特异性miR, 一些在多组织细胞类型中表达的miR也可能参与调节骨骼肌损伤再生。研究表明, miR-24、-26、-29、-37、-181、-214、-101、

-148、-221、-222、-155、-669等调控骨骼肌细胞的增殖或分化, 提示这些miRs在体水平(*in vivo*)可能调节骨骼肌发育或再生^[116]。

除了miR外, lncRNA也在骨骼肌再生中发挥重要的调控作用。在骨骼肌中发现的lncRNAs定位于细胞质或细胞核。定位于细胞核中的lncRNA通过调控基因表达发挥功能, 例如, Yam1能够激活邻近的miR-715基因表达, 进而调控Wnt7a信号通路, 促进成肌细胞的增殖^[127]。定位于细胞质中的lncRNA可以作为吸附miRNA的“海绵”, 解除miRNA对靶基因的抑制作用, 例如, Linc-MD1能够解除miR-133对靶基因的调控, 进而抑制骨骼肌干细胞的增殖, 促进骨骼肌干细胞分化^[128]。

一些lncRNAs受到MRFs的调控, 同时反馈调节MRFs的转录活性, 从而实现对骨骼肌再生的精细调节。例如, 于潇华等^[129]利用MyoD-ChIP-seq和RNA-seq数据联合分析, 鉴定了一个受MyoD调控的长非编码RNA——Linc-RAM, 在骨骼肌组织特异表达显著促进骨骼肌干细胞分化。Linc-RAM基因敲除小鼠骨骼肌干细胞分化延迟、损伤修复功能减弱。尽管有研究表明, Linc-RAM可能编码一个小肽MLN(myoregulin)^[130], 她们通过移码突变和截短突变体实验表明, Linc-RAM促进细胞分化的功能不依赖于编码的小肽MLN^[129]。分子机制研究发现, Linc-RAM通过直接结合MyoD调节染色质重塑复合物Baf60c/Brg1组装, 正反馈调节MyoD的转录活性、促进骨骼肌干细胞分化^[129]。

除了Linc-RAM, MyoD也能够激活lncMyoD的转录^[131]。MyoD通过与H19相互作用, 进而提高自身的转录活性, 促进骨骼肌干细胞分化^[132]。MyoD还可以激活Dum的转录, 促进成肌细胞分化^[133]。Linc-mg、Malat1、MUNC、Sirt-1、linc-31等lncRNA也参与调节骨骼肌干细胞功能或骨骼肌再生^[134]。

最近的研究表明, 一些lncRNA可能具有双重功能。一方面, 作为非编码RNA发挥作用; 另一方面, 可能具有编码小肽的功能。骨骼肌特异表达的Linc-RAM存在一个短的开放读码框(open reading frame, ORF), 可能编码含有46个氨基酸的小肽MLN调控内质网Ca²⁺水平, 提示MLN可能调控骨骼肌损伤修复中的Ca²⁺信号通路^[130]。在骨骼肌中高表达的lncRNA LINC00116也能够编码56个氨基酸的小肽Mtlm(mitotregulin), 定位于线粒体内膜。Mtlm与磷脂

Cardiolipin相互作用促进线粒体的呼吸功能、降低ROS、促进骨骼肌干细胞分化^[135-136]。LncRNA-Six1也能够编码小肽,增强Six1的活性,促进成肌细胞的增殖^[137]。

虽然已经有相当多的非编码RNA在骨骼肌中的功能被发现,非编码RNA在骨骼肌再生中的功能还有待于进一步深入研究。

4.2 骨骼肌再生过程中的关键信号通路

4.2.1 Wnt信号通路对骨骼肌损伤再生的调控作用

成熟骨骼肌主要表达Wnt5a、Wnt5b、Wnt7a、Wnt4这几种Wnt分子^[41],在骨骼肌损伤再生过程中,骨骼肌干细胞会进行增殖分化,自我更新一系列的活动来维持骨骼肌的损伤修复。而Wnt信号通路可以调控骨骼肌干细胞的分化以及自我更新。在损伤再生的早期,会出现Wnt5a、Wnt5b、Wnt7a的上调以及Wnt4的下调,Wnt7b和Wnt3a则主要参与损伤再生晚期的调控^[41-42]。Wnt7a与骨骼肌干细胞表面受体Fzd7结合之后可以刺激骨骼肌干细胞的对称分裂,这对于骨骼肌损伤再生的修复非常重要。有研究表明,Wnt7a缺陷的小鼠,当骨骼肌受到损伤时,骨骼肌中骨骼肌干细胞数目相对WT小鼠减少,损伤修复相对迟缓。而在骨骼肌损伤再生的过程中过表达Wnt7a则可以促进损伤再生的进程^[43],这就提示着Wnt7a信号通路对于骨骼肌损伤再生起到非常重要的作用。研究表明,经典的Wnt信号通路对于启动骨骼肌干细胞的分化程序是非常重要的^[42],经典的Wnt信号通路的激活可以促进骨骼肌干细胞的分化^[41,138]。而在损伤修复的过程中如果诱导经典的Wnt信号通路的激活,会引起骨骼肌干细胞过度分化从而导致骨骼肌干细胞库中骨骼肌干细胞的数目减少而影响骨骼肌损伤修复进程。

4.2.2 MAPK信号通路对骨骼肌损伤再生的调控作用

骨骼肌干细胞中AMPK的缺失会抑制损伤再生的进程,AMPK α 1敲除的小鼠表现为骨骼肌损伤修复的进程减慢^[139]。骨骼肌干细胞中AMPK α 1特异性敲除的小鼠也变为骨骼肌损伤修复的能力减弱。AMPK上游的LKB1对于成肌细胞的分化以及骨骼肌损伤再生也有一定的调控作用。骨骼肌干细胞中LKB1的缺失可以促进骨骼肌干细胞的增殖和自我更新,但会抑制肌细胞的分化^[140-141]。

4.2.3 IL-6和LIF信号通路对骨骼肌损伤再生的调控作用

IL-6和LIF可以促进骨骼肌损伤再生^[142-143]。

IL-6和LIF由微环境中的不同的细胞类型分泌,包括巨噬细胞、中性粒细胞、FAP细胞等^[144]。同时,骨骼肌干细胞还可以自分泌IL-6和LIF^[145-146]。IL-6对于骨骼肌干细胞的调控是多方面的,IL-6不仅可以刺激骨骼肌干细胞的增殖,同时还可以促进骨骼肌干细胞的分化以及融合^[147]。IL-6发挥调控功能是通过激活JAK/STAT1/STAT3信号通路实现的^[148-151]。而LIF对于骨骼肌干细胞的调控则主要是通过激活MEK/ERK信号通路减少caspase 3从而促进骨骼肌干细胞的增殖^[152]。从肌肉细胞膜脂成分中代谢产生的S1P信号通路也参与了骨骼肌损伤再生修复,S1P可以刺激骨骼肌干细胞进入细胞周期,进行扩增,当S1P的产生被抑制,骨骼肌的损伤再生修复进程也会被抑制^[153-154]。骨骼肌中可以表达五类S1P受体,可以推测S1P通过结合其受体及下游信号通路调控骨骼肌干细胞的功能。

4.2.4 钙离子通道对骨骼肌损伤再生的调控作用

钙离子通道在骨骼肌损伤修复过程中也发挥着非常重要的作用,在骨骼肌损伤修复过程中如果干扰钙离子通道释放钙离子,早期的损伤修复会受到影响,因为钙离子对于骨骼肌干细胞的激活和增殖是必需的^[155]。另外,有研究表明,骨骼肌干细胞中血管紧张素II/AT2R/MEK/ERK1/2信号通路的激活可以加速骨骼肌损伤修复过程中^[156]。

4.2.5 AKT信号通路对骨骼肌损伤再生的调控作用

Sonic Hedgehog/AKT/mTOR/p70S6K信号通路可以保护骨骼肌的灌注损伤^[157]。AKT信号通路的激活也可以缓解肌营养不良MDX小鼠的骨骼肌再生修复,从而改善肌营养不良的表型^[158]。

5 未来发展趋势

在肌肉损伤或病变的情况下,由于骨骼肌干细胞是肌肉再生修复的主要贡献者,其适时且适量的分化与增殖对良好的再生修复是极其重要的。在此过程中,细胞内信号和胞外微环境都对骨骼肌干细胞的功能和肌肉再生起到关键作用。同时,有研究表明,间充质干细胞可在特定培养条件下分化为有收缩能力的肌纤维细胞^[159],预示了非骨骼肌细胞分化为肌肉的潜能,可能成为除骨骼肌干细胞外促进肌肉再生的细胞来源。对骨骼肌细胞和具有骨骼肌分化潜能的非骨骼肌细胞的机制探索将帮助我们理解肌肉再生过程,并为肌肉再生医学的发展奠定坚

实的基础。近年来,随着细胞治疗技术和与基因治疗技术的发展,应用骨骼肌干细胞和非肌肉细胞,并有效地结合基因治疗技术是今后治疗肌肉疾病的发展趋势。此外,骨骼肌的代谢功能与再生之间的关系也是值得深入探索的领域。

参考文献 (References)

- 1 Bentzinger CF, Wang YX, Rudnicki MA. Building muscle: molecular regulation of myogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2012; doi: 10.1101/cshperspect.a008342.
- 2 Parker MH, Seale P, Rudnicki MA. Looking back to the embryo: defining transcriptional networks in adult myogenesis. *Nat Rev Genet* 2003; 4(7): 497-507.
- 3 Sambasivan R, Tajbakhsh S. Skeletal muscle stem cell birth and properties. *Semin Cell Dev Biol* 2007; 18(6): 870-82.
- 4 Harel I, Nathan E, Tirosch-Finkel L, Zigdon H, Guimaraes-Camboa N, Evans SM, *et al.* Distinct origins and genetic programs of head muscle satellite cells. *Dev Cell* 2009; 16(6): 822-32.
- 5 Relaix F, Rocancourt D, Mansouri A, Buckingham M. A Pax3/Pax7-dependent population of skeletal muscle progenitor cells. *Nature* 2005; 435(7044): 948-53.
- 6 Gros J, Manceau M, Thome V, Marcelle C. A common somitic origin for embryonic muscle progenitors and satellite cells. *Nature* 2005; 435(7044): 954-8.
- 7 Hutcheson DA, Zhao J, Merrell A, Haldar M, Kardon G. Embryonic and fetal limb myogenic cells are derived from developmentally distinct progenitors and have different requirements for beta-catenin. *Genes Dev* 2009; 23(8): 997-1013.
- 8 Relaix F, Marcelle C. Muscle stem cells. *Curr Opin Cell Biol* 2009; 21(6): 748-53.
- 9 Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J Biophys Biochem Cytol* 1961; 9: 493-5.
- 10 Webster MT, Manor U, Lippincott-Schwartz J, Fan CM. Intravital imaging reveals ghost fibers as architectural units guiding myogenic progenitors during regeneration. *Cell Stem Cell* 2016; 18(2): 243-52.
- 11 Sandoval-Guzman T, Wang H, Khattak S, Schuez M, Roensch K, Nacu E, *et al.* Fundamental differences in dedifferentiation and stem cell recruitment during skeletal muscle regeneration in two salamander species. *Cell Stem Cell* 2014; 14(2): 174-87.
- 12 Odelberg SJ, Kollhoff A, Keating MT. Dedifferentiation of mammalian myotubes induced by *msx1*. *Cell* 2000; 103(7): 1099-109.
- 13 Schienda J, Engleka KA, Jun S, Hansen MS, Epstein JA, Tabin CJ, *et al.* Somitic origin of limb muscle satellite and side population cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(4): 945-50.
- 14 Lepper C, Fan CM. Inducible lineage tracing of Pax7-descendant cells reveals embryonic origin of adult satellite cells. *Genesis* 2010; 48(7): 424-36.
- 15 Lindstrom M, Thornell LE. New multiple labelling method for improved satellite cell identification in human muscle: application to a cohort of power-lifters and sedentary men. *Histochem Cell Biol* 2009; 132(2): 141-57.
- 16 Schmalbruch H, Hellhammer U. The number of satellite cells in normal human muscle. *Anat Rec* 1976; 185(3): 279-87.
- 17 Alfaro LA, Dick SA, Siegel AL, Anonuevo AS, McNagny KM, Megency LA, *et al.* CD34 promotes satellite cell motility and entry into proliferation to facilitate efficient skeletal muscle regeneration. *Stem Cells* 2011; 29(12): 2030-41.
- 18 Seale P, Sabourin LA, Girgis-Gabardo A, Mansouri A, Gruss P, Rudnicki MA. Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells. *Cell* 2000; 102(6): 777-86.
- 19 Kuang S, Charge SB, Seale P, Huh M, Rudnicki MA. Distinct roles for Pax7 and Pax3 in adult regenerative myogenesis. *J Cell Biol* 2006; 172(1): 103-13.
- 20 Zammit PS, Golding JP, Nagata Y, Hudon V, Partridge TA, Beauchamp JR. Muscle satellite cells adopt divergent fates: a mechanism for self-renewal? *J Cell Biol* 2004; 166(3): 347-57.
- 21 Cornelison DD, Wold BJ. Single-cell analysis of regulatory gene expression in quiescent and activated mouse skeletal muscle satellite cells. *Dev Biol* 1997; 191(2): 270-83.
- 22 Gayraud-Morel B, Chretien F, Jory A, Sambasivan R, Negroni E, Flamant P, *et al.* Myf5 haploinsufficiency reveals distinct cell fate potentials for adult skeletal muscle stem cells. *J Cell Sci* 2012; 125(Pt 7): 1738-49.
- 23 Crist CG, Montarras D, Buckingham M. Muscle satellite cells are primed for myogenesis but maintain quiescence with sequestration of Myf5 mRNA targeted by microRNA-31 in mRNP granules. *Cell Stem Cell* 2012; 11(1): 118-26.
- 24 Bentzinger CF, Wang YX, Dumont NA, Rudnicki MA. Cellular dynamics in the muscle satellite cell niche. *EMBO Rep* 2013; 14(12): 1062-72.
- 25 Blanco-Bose WE, Blau HM. Laminin-induced change in conformation of preexisting alpha7beta1 integrin signals secondary myofiber formation. *Dev Biol* 2001; 233(1): 148-60.
- 26 Cohn RD, Henry MD, Michele DE, Barresi R, Saito F, Moore SA, *et al.* Disruption of DAG1 in differentiated skeletal muscle reveals a role for dystroglycan in muscle regeneration. *Cell* 2002; 110(5): 639-48.
- 27 Charge SB, Rudnicki MA. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiol Rev* 2004; 84(1): 209-38.
- 28 Dumont NA, Wang YX, von Maltzahn J, Pasut A, Bentzinger CF, Brun CE, *et al.* Dystrophin expression in muscle stem cells regulates their polarity and asymmetric division. *Nat Med* 2015; 21(12): 1455-63.
- 29 Shinin V, Gayraud-Morel B, Gomes D, Tajbakhsh S. Asymmetric division and cosegregation of template DNA strands in adult muscle satellite cells. *Nat Cell Biol* 2006; 8(7): 677-87.
- 30 Kuang S, Kuroda K, Le Grand F, Rudnicki MA. Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle. *Cell* 2007; 129(5): 999-1010.
- 31 Wang YX, Rudnicki MA. Satellite cells, the engines of muscle repair. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011; 13(2): 127-33.
- 32 Tierney MT, Stec MJ, Rulands S, Simons BD, Sacco A. Muscle stem cells exhibit distinct clonal dynamics in response to tissue repair and homeostatic aging. *Cell Stem Cell* 2018; 22(1): 119-27, e3.
- 33 Webster MT, Harvey T, Fan CM. Quantitative 3D time lapse imaging of muscle progenitors in skeletal muscle of live mice. *Bio Protoc* 2016; doi: 10.21769/BioProtoc.2066.
- 34 Gurevich DB, Nguyen PD, Siegel AL, Ehrlich OV, Sonntag C, Phan JM, *et al.* Asymmetric division of clonal muscle stem cells coordinates muscle regeneration *in vivo*. *Science* 2016;

- 353(6295): aad9969.
- 35 Nguyen PD, Gurevich DB, Sonntag C, Hersey L, Alaei S, Nim HT, *et al.* Muscle stem cells undergo extensive clonal drift during tissue growth via Meox1-mediated induction of G₂ cell-cycle arrest. *Cell Stem Cell* 2017; 21(1): 107-19.e6.
- 36 Pisconti A, Cornelison DD, Olguin HC, Antwine TL, Olwin BB. Syndecan-3 and Notch cooperate in regulating adult myogenesis. *J Cell Biol* 2010; 190(3): 427-41.
- 37 Zhao W, Su YH, Su RJ, Ba CF, Zeng RX, Song HJ. The full length cloning of a novel porcine gene CFL2b and its influence on the MyHC expression. *Mol Biol Rep* 2009; 36(8): 2191-9.
- 38 Martelly I, Soulet L, Bonnavaud S, Cebrian J, Gautron J, Barritault D. Differential expression of FGF receptors and of myogenic regulatory factors in primary cultures of satellite cells originating from fast (EDL) and slow (Soleus) twitch rat muscles. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2000; 46(7): 1239-48.
- 39 Dusterhoft S, Putman CT, Pette D. Changes in FGF and FGF receptor expression in low-frequency-stimulated rat muscles and rat satellite cell cultures. *Differentiation* 1999; 65(4): 203-8.
- 40 Yin H, Price F, Rudnicki MA. Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiol Rev* 2013; 93(1): 23-67.
- 41 Poleskaya A, Seale P, Rudnicki MA. Wnt signaling induces the myogenic specification of resident CD45⁺ adult stem cells during muscle regeneration. *Cell* 2003; 113(7): 841-52.
- 42 Brack AS, Conboy IM, Conboy MJ, Shen J, Rando TA. A temporal switch from notch to Wnt signaling in muscle stem cells is necessary for normal adult myogenesis. *Cell Stem Cell* 2008; 2(1): 50-9.
- 43 Le Grand F, Jones AE, Seale V, Scime A, Rudnicki MA. Wnt7a activates the planar cell polarity pathway to drive the symmetric expansion of satellite stem cells. *Cell Stem Cell* 2009; 4(6): 535-47.
- 44 Bernet JD, Doles JD, Hall JK, Kelly Tanaka K, Carter TA, Olwin BB. p38 MAPK signaling underlies a cell-autonomous loss of stem cell self-renewal in skeletal muscle of aged mice. *Nat Med* 2014; 20(3): 265-71.
- 45 Cosgrove BD, Gilbert PM, Porpiglia E, Mourkioti F, Lee SP, Corbel SY, *et al.* Rejuvenation of the muscle stem cell population restores strength to injured aged muscles. *Nat Med* 2014; 20(3): 255-64.
- 46 Troy A, Cadwallader AB, Fedorov Y, Tyner K, Tanaka KK, Olwin BB. Coordination of satellite cell activation and self-renewal by Par-complex-dependent asymmetric activation of p38alpha/beta MAPK. *Cell Stem Cell* 2012; 11(4): 541-53.
- 47 Feng X, Wang Z, Wang F, Lu T, Xu J, Ma X, *et al.* Dual function of VGLL4 in muscle regeneration. *EMBO J* 2019; e101051.
- 48 Le Grand F, Rudnicki MA. Skeletal muscle satellite cells and adult myogenesis. *Curr Opin Cell Biol* 2007; 19(6): 628-33.
- 49 Lluís F, Perdiguero E, Nebreda AR, Muñoz-Canoves P. Regulation of skeletal muscle gene expression by p38 MAPK kinases. *Trends Cell Biol* 2006; 16(1): 36-44.
- 50 Tidball JG, Villalta SA. Regulatory interactions between muscle and the immune system during muscle regeneration. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; 298(5): R1173-87.
- 51 Cornelison DD, Olwin BB, Rudnicki MA, Wold BJ. MyoD^{-/-} satellite cells in single-fiber culture are differentiation defective and MRF4 deficient. *Dev Biol* 2000; 224(2): 122-37.
- 52 Fuchtbauer EM, Westphal H. MyoD and myogenin are coexpressed in regenerating skeletal muscle of the mouse. *Dev Dyn* 1992; 193(1): 34-9.
- 53 Abood EA, Jones MM. Macrophages in developing mammalian skeletal muscle: evidence for muscle fibre death as a normal developmental event. *Acta Anat (Basel)* 1991; 140(3): 201-12.
- 54 Wehling M, Spencer MJ, Tidball JG. A nitric oxide synthase transgene ameliorates muscular dystrophy in mdx mice. *J Cell Biol* 2001; 155(1): 123-31.
- 55 Tidball JG, Berchenko E, Frenette J. Macrophage invasion does not contribute to muscle membrane injury during inflammation. *J Leukoc Biol* 1999; 65(4): 492-8.
- 56 St Pierre BA, Tidball JG. Differential response of macrophage subpopulations to soleus muscle reloading after rat hindlimb suspension. *J Appl Physiol* (1985) 1994; 77(1): 290-7.
- 57 Selva-O'Callaghan A, Labrador-Horrillo M, Gallardo E, Herruzo A, Grau-Junyent JM, Vilardell-Tarres M. Muscle inflammation, autoimmune Addison's disease and sarcoidosis in a patient with dysferlin deficiency. *Neuromuscul Disord* 2006; 16(3): 208-9.
- 58 Frenette J, Cai B, Tidball JG. Complement activation promotes muscle inflammation during modified muscle use. *Am J Pathol* 2000; 156(6): 2103-10.
- 59 Contreras-Shannon V, Ochoa O, Reyes-Reyna SM, Sun D, Michalek JE, Kuziel WA, *et al.* Fat accumulation with altered inflammation and regeneration in skeletal muscle of CCR2^{-/-} mice following ischemic injury. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007; 292(2): C953-67.
- 60 Bondesen BA, Mills ST, Pavlath GK. The COX-2 pathway regulates growth of atrophied muscle via multiple mechanisms. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 290(6): C1651-9.
- 61 Teixeira CF, Zamuner SR, Zuliani JP, Fernandes CM, Cruz-Hofling MA, Fernandes I, *et al.* Neutrophils do not contribute to local tissue damage, but play a key role in skeletal muscle regeneration, in mice injected with *Bothrops asper* snake venom. *Muscle Nerve* 2003; 28(4): 449-59.
- 62 Arnold L, Henry A, Poron F, Baba-Amer Y, van Rooijen N, Plonquet A, *et al.* Inflammatory monocytes recruited after skeletal muscle injury switch into antiinflammatory macrophages to support myogenesis. *J Exp Med* 2007; 204(5): 1057-69.
- 63 Warren GL, Hulderman T, Jensen N, McKinstry M, Mishra M, Luster MI, *et al.* Physiological role of tumor necrosis factor alpha in traumatic muscle injury. *FASEB J* 2002; 16(12): 1630-2.
- 64 Brickson S, Ji LL, Schell K, Olabisi R, St Pierre Schneider B, Best TM. M1/70 attenuates blood-borne neutrophil oxidants, activation, and myofiber damage following stretch injury. *J Appl Physiol* 2003; 95(3): 969-76.
- 65 Serhan CN, Savill J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat Immunol* 2005; 6(12): 1191-7.
- 66 Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature* 2002; 420(6917): 846-52.
- 67 Biswas SK, Gangi L, Paul S, Schioppa T, Sacconi A, Sironi M, *et al.* A distinct and unique transcriptional program expressed by tumor-associated macrophages (defective NF-kappaB and enhanced IRF-3/STAT1 activation). *Blood* 2006; 107(5): 2112-22.
- 68 Jang YN, Lee IJ, Park MC, Baik EJ. Role of JAK3 in myogenic differentiation. *Cell Signal* 2012; 24(3): 742-9.

- 69 Mourkioti F, Rosenthal N. IGF-1, inflammation and stem cells: interactions during muscle regeneration. *Trends Immunol* 2005; 26(10): 535-42.
- 70 De Rosa SC, Lu FX, Yu J, Perfetto SP, Falloon J, Moser S, *et al.* Vaccination in humans generates broad T cell cytokine responses. *J Immunol* 2004; 173(9): 5372-80.
- 71 Blotnick S, Peoples GE, Freeman MR, Eberlein TJ, Klagsbrun M. T lymphocytes synthesize and export heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor and basic fibroblast growth factor, mitogens for vascular cells and fibroblasts: differential production and release by CD4⁺ and CD8⁺ T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91(8): 2890-4.
- 72 Fu X, Xiao J, Wei Y, Li S, Liu Y, Yin J, *et al.* Combination of inflammation-related cytokines promotes long-term muscle stem cell expansion. *Cell Res* 2015; 25(6): 655-73.
- 73 Castiglioni A, Corna G, Rigamonti E, Basso V, Vezzoli M, Monno A, *et al.* FOXP3⁺ T cells recruited to sites of sterile skeletal muscle injury regulate the fate of satellite cells and guide effective tissue regeneration. *PLoS One* 2015; 10(6): e0128094.
- 74 Ceafalan LC, Popescu BO, Hinescu ME. Cellular players in skeletal muscle regeneration. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 957014.
- 75 Montarras D, L'Honore A, Buckingham M. Lying low but ready for action: the quiescent muscle satellite cell. *FEBS J* 2013; 280(17): 4036-50.
- 76 Anderson JE, Wozniak AC. Satellite cell activation on fibers: modeling events *in vivo*: an invited review. *Can J Physiol Pharmacol* 2004; 82(5): 300-10.
- 77 Ziche M, Morbidelli L. Nitric oxide and angiogenesis. *J Neurooncol* 2000; 50(1/2): 139-48.
- 78 Abou-Khalil R, Le Grand F, Pallafacchina G, Valable S, Authier FJ, Rudnicki MA, *et al.* Autocrine and paracrine angiopoietin 1/Tie-2 signaling promotes muscle satellite cell self-renewal. *Cell Stem Cell* 2009; 5(3): 298-309.
- 79 Ohlstein B, Kai T, Decotto E, Spradling A. The stem cell niche: theme and variations. *Curr Opin Cell Biol* 2004; 16(6): 693-9.
- 80 Collins CA, Olsen I, Zammit PS, Heslop L, Petrie A, Partridge TA, *et al.* Stem cell function, self-renewal, and behavioral heterogeneity of cells from the adult muscle satellite cell niche. *Cell* 2005; 122(2): 289-301.
- 81 Barjot C, Cotten ML, Goblet C, Whalen RG, Bacou F. Expression of myosin heavy chain and of myogenic regulatory factor genes in fast or slow rabbit muscle satellite cell cultures. *J Muscle Res Cell Motil* 1995; 16(6): 619-28.
- 82 <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/488874v2>.
- 83 Simon MC, Keith B. The role of oxygen availability in embryonic development and stem cell function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9(4): 285-96.
- 84 Clarke L, van der Kooy D. Low oxygen enhances primitive and definitive neural stem cell colony formation by inhibiting distinct cell death pathways. *Stem Cells* 2009; 27(8): 1879-86.
- 85 Eliasson P, Jonsson JI. The hematopoietic stem cell niche: low in oxygen but a nice place to be. *J Cell Physiol* 2010; 222(1): 17-22.
- 86 Krinner A, Zscharnack M, Bader A, Drasdo D, Galle J. Impact of oxygen environment on mesenchymal stem cell expansion and chondrogenic differentiation. *Cell Prolif* 2009; 42(4): 471-84.
- 87 Das S, Bonaguidi M, Muro K, Kessler JA. Generation of embryonic stem cells: limitations of and alternatives to inner cell mass harvest. *Neurosurg Focus* 2008; 24(3/4): E4.
- 88 Sahlgren C, Gustafsson MV, Jin S, Poellinger L, Lendahl U. Notch signaling mediates hypoxia-induced tumor cell migration and invasion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(17): 6392-7.
- 89 Christov C, Chretien F, Abou-Khalil R, Bassez G, Vallet G, Authier FJ, *et al.* Muscle satellite cells and endothelial cells: close neighbors and privileged partners. *Mol Biol Cell* 2007; 18(4): 1397-409.
- 90 Thomas K, Engler AJ, Meyer GA. Extracellular matrix regulation in the muscle satellite cell niche. *Connect Tissue Res* 2015; 56(1): 1-8.
- 91 Cornelison DD, Filla MS, Stanley HM, Rapraeger AC, Olwin BB. Syndecan-3 and syndecan-4 specifically mark skeletal muscle satellite cells and are implicated in satellite cell maintenance and muscle regeneration. *Dev Biol* 2001; 239(1): 79-94.
- 92 Bentzinger CF, Wang YX, von Maltzahn J, Soleimani VD, Yin H, Rudnicki MA. Fibronectin regulates Wnt7a signaling and satellite cell expansion. *Cell Stem Cell* 2013; 12(1): 75-87.
- 93 Cornelison DD, Wilcox-Adelman SA, Goetinck PF, Rauvala H, Rapraeger AC, Olwin BB. Essential and separable roles for Syndecan-3 and Syndecan-4 in skeletal muscle development and regeneration. *Genes Dev* 2004; 18(18): 2231-6.
- 94 Gilbert PM, Havenstrite KL, Magnusson KE, Sacco A, Leonardi NA, Kraft P, *et al.* Substrate elasticity regulates skeletal muscle stem cell self-renewal in culture. *Science* 2010; 329(5995): 1078-81.
- 95 Xu C, Tabebordbar M, Iovino S, Ciarlo C, Liu J, Castiglioni A, *et al.* A zebrafish embryo culture system defines factors that promote vertebrate myogenesis across species. *Cell* 2013; 155(4): 909-21.
- 96 von Maltzahn J, Jones AE, Parks RJ, Rudnicki MA. Pax7 is critical for the normal function of satellite cells in adult skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(41): 16474-9.
- 97 McKinnell IW, Ishibashi J, Le Grand F, Punch VG, Addicks GC, Greenblatt JF, *et al.* Pax7 activates myogenic genes by recruitment of a histone methyltransferase complex. *Nat Cell Biol* 2008; 10(1): 77-84.
- 98 Lattanzi L, Salvatori G, Coletta M, Sonnino C, Cusella De Angelis MG, Gioglio L, *et al.* High efficiency myogenic conversion of human fibroblasts by adenoviral vector-mediated MyoD gene transfer. An alternative strategy for *ex vivo* gene therapy of primary myopathies. *J Clin Invest* 1998; 101(10): 2119-28.
- 99 Creuzet S, Lescaudron L, Li Z, Fontaine-Perus J. MyoD, myogenin, and desmin-nls-lacZ transgene emphasize the distinct patterns of satellite cell activation in growth and regeneration. *Exp Cell Res* 1998; 243(2): 241-53.
- 100 Cooper RN, Tajbakhsh S, Mouly V, Cossu G, Buckingham M, Butler-Browne GS. *In vivo* satellite cell activation via Myf5 and MyoD in regenerating mouse skeletal muscle. *J Cell Sci* 1999; 112(Pt 17): 2895-901.
- 101 Kassar-Duchossoy L, Gayraud-Morel B, Gomes D, Rocancourt D, Buckingham M, Shinin V, *et al.* Mrf4 determines skeletal muscle identity in Myf5: MyoD double-mutant mice. *Nature* 2004; 431(7007): 466-71.
- 102 Wang ZZ, Washabaugh CH, Yao Y, Wang JM, Zhang L, Ontell MP, *et al.* Aberrant development of motor axons and neuromus-

- cular synapses in MyoD-null mice. *J Neurosci* 2003; 23(12): 5161-9.
- 103 Macharia R, Otto A, Valasek P, Patel K. Neuromuscular junction morphology, fiber-type proportions, and satellite-cell proliferation rates are altered in MyoD^{-/-} mice. *Muscle Nerve* 2010; 42(1): 38-52.
- 104 Lindstrom M, Pedrosa-Domellof F, Thornell LE. Satellite cell heterogeneity with respect to expression of MyoD, myogenin, Dlk1 and c-Met in human skeletal muscle: application to a cohort of power lifters and sedentary men. *Histochem Cell Biol* 2010; 134(4): 371-85.
- 105 Geissler EK, Wang J, Fechner JH, Jr., Burlingham WJ, Knechtle SJ. Immunity to MHC class I antigen after direct DNA transfer into skeletal muscle. *J Immunol* 1994; 152(2): 413-21.
- 106 Zhang M, Liu YL, Fu CY, Wang J, Chen SY, Yao J, *et al.* Expression of MyHC genes, composition of muscle fiber type and their association with intramuscular fat, tenderness in skeletal muscle of Simmental hybrids. *Mol Biol Rep* 2014; 41(2): 833-40.
- 107 Rhodes SJ, Konieczny SF. Identification of MRF4: a new member of the muscle regulatory factor gene family. *Genes Dev* 1989; 3(12B): 2050-61.
- 108 Jin X, Kim JG, Oh MJ, Oh HY, Sohn YW, Pian X, *et al.* Opposite roles of MRF4 and MyoD in cell proliferation and myogenic differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 364(3): 476-82.
- 109 Cifuentes-Diaz C, Delaporte C, Dautreux B, Charron D, Fardeau M. Class II MHC antigens in normal human skeletal muscle. *Muscle Nerve* 1992; 15(3): 295-302.
- 110 Palacios D, Mozzetta C, Consalvi S, Caretti G, Saccone V, Proserpio V, *et al.* TNF/p38alpha/polycomb signaling to Pax7 locus in satellite cells links inflammation to the epigenetic control of muscle regeneration. *Cell Stem Cell* 2010; 7(4): 455-69.
- 111 Laule S, Bornemann A. Ultrastructural findings at the satellite cell-myofiber border in normal and diseased human muscle biopsy specimens. *Acta Neuropathol* 2001; 101(5): 435-9.
- 112 Malmgren LT, Jones CE, Bookman LM. Muscle fiber and satellite cell apoptosis in the aging human thyroarytenoid muscle: a stereological study with confocal laser scanning microscopy. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 125(1): 34-9.
- 113 Bianchi-Frias D, Orian A, Delrow JJ, Vazquez J, Rosales-Nieves AE, Parkhurst SM. Hairy transcriptional repression targets and cofactor recruitment in Drosophila. *PLoS Biol* 2004; 2(7): E178.
- 114 Acharyya S, Sharma SM, Cheng AS, Ladner KJ, He W, Kline W, *et al.* TNF inhibits Notch-1 in skeletal muscle cells by Ezh2 and DNA methylation mediated repression: implications in duchenne muscular dystrophy. *PLoS One* 2010; 5(8): e12479.
- 115 Fan H, Zhang R, Tesfaye D, Tholen E, Looft C, Holker M, *et al.* Sulforaphane causes a major epigenetic repression of myostatin in porcine satellite cells. *Epigenetics* 2012; 7(12): 1379-90.
- 116 Wang J, Yang LZ, Zhang JS, Gong JX, Wang YH, Zhang CL, *et al.* Effects of microRNAs on skeletal muscle development. *Gene* 2018; 668: 107-13.
- 117 Mok GF, Lozano-Velasco E, Munsterberg A. microRNAs in skeletal muscle development. *Semin Cell Dev Biol* 2017; 72: 67-76.
- 118 Sweetman D, Goljanek K, Rathjen T, Oustanina S, Braun T, Dalmy T, *et al.* Specific requirements of MRFs for the expression of muscle specific microRNAs, miR-1, miR-206 and miR-133. *Dev Biol* 2008; 321(2): 491-9.
- 119 Hirai H, Verma M, Watanabe S, Tastad C, Asakura Y, Asakura A. MyoD regulates apoptosis of myoblasts through microRNA-mediated down-regulation of Pax3. *J Cell Biol* 2010; 191(2): 347-65.
- 120 Liu N, Williams AH, Kim Y, McAnally J, Bezprozvannaya S, Sutherland LB, *et al.* An intragenic MEF2-dependent enhancer directs muscle-specific expression of microRNAs 1 and 133. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(52): 20844-9.
- 121 Dmitriev P, Barat A, Poleskaya A, O'Connell MJ, Robert T, Dessen P, *et al.* Simultaneous miRNA and mRNA transcriptome profiling of human myoblasts reveals a novel set of myogenic differentiation-associated miRNAs and their target genes. *BMC Genomics* 2013; 14: 265.
- 122 Chen JF, Mandel EM, Thomson JM, Wu Q, Callis TE, Hammond SM, *et al.* The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nat Genet* 2006; 38(2): 228-33.
- 123 Kim HK, Lee YS, Sivaprasad U, Malhotra A, Dutta A. Muscle-specific microRNA miR-206 promotes muscle differentiation. *J Cell Biol* 2006; 174(5): 677-87.
- 124 Wu R, Li H, Zhai L, Zou X, Meng J, Zhong R, *et al.* MicroRNA-431 accelerates muscle regeneration and ameliorates muscular dystrophy by targeting Pax7 in mice. *Nat Commun* 2015; 6: 7713.
- 125 Zhai L, Wu R, Han W, Zhang Y, Zhu D. miR-127 enhances myogenic cell differentiation by targeting S1PR3. *Cell Death Dis* 2017; 8(3): e2707.
- 126 Wu R, Li H, Li T, Zhang Y, Zhu D. Myostatin regulates miR-431 expression via the Ras-Mek-Erk signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 461(2): 224-9.
- 127 Lu L, Sun K, Chen X, Zhao Y, Wang L, Zhou L, *et al.* Genome-wide survey by ChIP-seq reveals YY1 regulation of lincRNAs in skeletal myogenesis. *Embo J* 2013; 32(19): 2575-88.
- 128 Cesana M, Cacchiarelli D, Legnini I, Santini T, Sthandier O, Chinappi M, *et al.* A long noncoding RNA controls muscle differentiation by functioning as a competing endogenous RNA. *Cell* 2011; 147(2): 358-69.
- 129 Yu X, Zhang Y, Li T, Ma Z, Jia H, Chen Q, *et al.* Long non-coding RNA Linc-RAM enhances myogenic differentiation by interacting with MyoD. *Nat Commun* 2017; 8: 14016.
- 130 Anderson DM, Anderson KM, Chang CL, Makarewich CA, Nelson BR, McAnally JR, *et al.* A micropeptide encoded by a putative long noncoding RNA regulates muscle performance. *Cell* 2015; 160(4): 595-606.
- 131 Gong C, Li Z, Ramanujan K, Clay I, Zhang Y, Lemire-Brachat S, *et al.* A long non-coding RNA, LncMyoD, regulates skeletal muscle differentiation by blocking IMP2-mediated mRNA translation. *Dev Cell* 2015; 34(2): 181-91.
- 132 Dey BK, Pfeifer K, Dutta A. The H19 long noncoding RNA gives rise to microRNAs miR-675-3p and miR-675-5p to promote skeletal muscle differentiation and regeneration. *Gen Dev* 2014; 28(5): 491-501.
- 133 Wang L, Zhao Y, Bao X, Zhu X, Kwok YK, Sun K, *et al.* LncRNA Dum interacts with Dnmts to regulate Dppa2 expression during myogenic differentiation and muscle regeneration. *Cell*

- Res 2015; 25(3): 335-50.
- 134 Li Y, Chen X, Sun H, Wang H. Long non-coding RNAs in the regulation of skeletal myogenesis and muscle diseases. *Cancer Lett* 2018; 417: 58-64.
- 135 Stein CS, Jadiya P, Zhang X, McLendon JM, Abouassaly GM, Witmer NH, *et al.* Mitoregulin: A lncRNA-encoded microprotein that supports mitochondrial supercomplexes and respiratory efficiency. *Cell Rep* 2018; 23(13): 3710-20, e8.
- 136 Makarewich CA, Baskin KK, Munir AZ, Bezprozvannaya S, Sharma G, Khemtong C, *et al.* MOXI is a mitochondrial micropeptide that enhances fatty acid beta-oxidation. *Cell Rep* 2018; 23(13): 3701-9.
- 137 Cai B, Li Z, Ma M, Wang Z, Han P, Abdalla BA, *et al.* LncRNA-six1 encodes a micropeptide to activate six1 in *Cis* and is involved in cell proliferation and muscle growth. *Front Physiol* 2017; 8: 230.
- 138 Rochat A, Fernandez A, Vandromme M, Moles JP, Bouschet T, Carnac G, *et al.* Insulin and Wnt1 pathways cooperate to induce reserve cell activation in differentiation and myotube hypertrophy. *Mol Biol Cell* 2004; 15(10): 4544-55.
- 139 Fu X, Zhu M, Zhang S, Foretz M, Viollet B, Du M. Obesity impairs skeletal muscle regeneration through inhibition of AMPK. *Diabetes* 2016; 65(1): 188-200.
- 140 Shan T, Zhang P, Xiong Y, Wang Y, Kuang S. Lkb1 deletion up-regulates Pax7 expression through activating Notch signaling pathway in myoblasts. *Int J Biochem Cell Biol* 2016; 76: 31-8.
- 141 Shan T, Zhang P, Liang X, Bi P, Yue F, Kuang S. Lkb1 is indispensable for skeletal muscle development, regeneration, and satellite cell homeostasis. *Stem Cells* 2014; 32(11): 2893-907.
- 142 Kurek JB, Bower JJ, Romanella M, Koentgen F, Murphy M, Austin L. The role of leukemia inhibitory factor in skeletal muscle regeneration. *Muscle Nerve* 1997; 20(7): 815-22.
- 143 Barnard W, Bower J, Brown MA, Murphy M, Austin L. Leukemia inhibitory factor (LIF) infusion stimulates skeletal muscle regeneration after injury: injured muscle expresses LIF mRNA. *J Neurol Sci* 1994; 123(1/2): 108-13.
- 144 Joe AW, Yi L, Natarajan A, Le Grand F, So L, Wang J, *et al.* Muscle injury activates resident fibro/adipogenic progenitors that facilitate myogenesis. *Nat Cell Biol* 2010; 12(2): 153-63.
- 145 Kami K, Senba E. *In vivo* activation of STAT3 signaling in satellite cells and myofibers in regenerating rat skeletal muscles. *J Histochem Cytochem* 2002; 50(12): 1579-89.
- 146 Kami K, Senba E. Localization of leukemia inhibitory factor and interleukin-6 messenger ribonucleic acids in regenerating rat skeletal muscle. *Muscle Nerve* 1998; 21(6): 819-22.
- 147 Yang Y, Xu Y, Li W, Wang G, Song Y, Yang G, *et al.* STAT3 induces muscle stem cell differentiation by interaction with myoD. *Cytokine* 2009; 46(1): 137-41.
- 148 Sun L, Ma K, Wang H, Xiao F, Gao Y, Zhang W, *et al.* JAK1-STAT1-STAT3, a key pathway promoting proliferation and preventing premature differentiation of myoblasts. *J Cell Biol* 2007; 179(1): 129-38.
- 149 Wang K, Wang C, Xiao F, Wang H, Wu Z. JAK2/STAT2/STAT3 are required for myogenic differentiation. *J Biol Chem* 2008; 283(49): 34029-36.
- 150 Diao Y, Wang X, Wu Z. SOCS1, SOCS3, and PIAS1 promote myogenic differentiation by inhibiting the leukemia inhibitory factor-induced JAK1/STAT1/STAT3 pathway. *Mol Cell Biol* 2009; 29(18): 5084-93.
- 151 Xiao F, Wang H, Fu X, Li Y, Ma K, Sun L, *et al.* Oncostatin M inhibits myoblast differentiation and regulates muscle regeneration. *Cell Res* 2011; 21(2): 350-64.
- 152 Fernando P, Kelly JF, Balazsi K, Slack RS, Megency LA. Caspase 3 activity is required for skeletal muscle differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(17): 11025-30.
- 153 Megency LA, Kablar B, Garrett K, Anderson JE, Rudnicki MA. MyoD is required for myogenic stem cell function in adult skeletal muscle. *Genes Dev* 1996; 10(10): 1173-83.
154. Spangenburg EE, Booth FW. Multiple signaling pathways mediate LIF-induced skeletal muscle satellite cell proliferation. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 283(1): C204-11.
155. Tu MK, Levin JB, Hamilton AM, Borodinsky LN. Calcium signaling in skeletal muscle development, maintenance and regeneration. *Cell Calcium* 2016; 59(2/3): 91-7.
156. Yoshida T, Huq TS, Delafontaine P. Angiotensin type 2 receptor signaling in satellite cells potentiates skeletal muscle regeneration. *J Biol Chem* 2014; 289(38): 26239-48.
- 157 Zeng Q, Fu Q, Wang X, Zhao Y, Liu H, Li Z, *et al.* Protective effects of sonic hedgehog against ischemia/reperfusion injury in mouse skeletal muscle via AKT/mTOR/p70S6K signaling. *Cell Physiol Biochem* 2017; 43(5): 1813-28.
- 158 Kim MH, Kay DI, Rudra RT, Chen BM, Hsu N, Izumiya Y, *et al.* Myogenic Akt signaling attenuates muscular degeneration, promotes myofiber regeneration and improves muscle function in dystrophin-deficient mdx mice. *Hum Mol Genet* 2011; 20(7): 1324-38.
- 159 Lecarpentier Y, Schussler O, Sakic A, Rincon-Garriz JM, Soulie P, Bochaton-Piallat ML, *et al.* Human bone marrow contains mesenchymal stromal stem cells that differentiate *in vitro* into contractile myofibroblasts controlling T lymphocyte proliferation. *Stem Cells Int* 2018; 2018: 6134787.