



海南医学院学报

Journal of Hainan Medical University

ISSN 1007-1237, CN 46-1049/R

## 《海南医学院学报》网络首发论文

题目: 基于 AMPK/SIRT1/PGC-1  $\alpha$  信号通路探讨补中益气汤对 5-FU 诱导的肌少症的调节作用

作者: 王艺, 张月宇, 马贤德, 张思琦, 雷萍

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20250306.002

网络首发日期: 2025-03-06

引用格式: 王艺, 张月宇, 马贤德, 张思琦, 雷萍. 基于 AMPK/SIRT1/PGC-1  $\alpha$  信号通路探讨补中益气汤对 5-FU 诱导的肌少症的调节作用[J/OL]. 海南医学院学报. <https://doi.org/10.13210/j.cnki.jhmu.20250306.002>



**网络首发:** 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认:** 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

## 基于 AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$ 信号通路探讨补中益气汤对 5-FU 诱导的肌少症的调节作用

王艺<sup>1</sup>, 张月宇<sup>1</sup>, 马贤德<sup>2</sup>, 张思琦<sup>1</sup>, 雷萍<sup>1\*</sup>

(1.辽宁中医药大学中西医结合学院, 辽宁沈阳 110847; 2.辽宁中医药大学教学实验中心, 辽宁沈阳 110847)

**【摘要】目的** 探讨补中益气汤通过调控 AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  信号通路对 5-FU 诱导的肌少症的改善机制。**方法** 35 只雄性 SD 大鼠随机分为 5 组(空白对照组、模型组、补中益气汤低、中、高剂量组), 每组 7 只。各组大鼠分别灌胃不同剂量补中益气汤, 连续干预 15 天, 记录体质量、抓力、力竭游泳时间等生理指标。末次给药后取腓肠肌, 进行 HE 染色、IHC、ELISA、RT-qPCR 和 Western blot 检测。**结果** 与空白对照组相比, 模型组大鼠体重、抓力和力竭游泳时间显著降低( $P<0.01$ ), 腓肠肌组织病理学改变明显, AMP/ATP 比值升高, Atrogin-1 和 MuRF-1 表达上调( $P<0.01$ ), MyoD 和 Myogenin 表达下调( $P<0.01$ ), p-AMPK/AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  蛋白表达降低( $P<0.01$ )。补中益气汤各剂量组大鼠上述指标均有所改善, 其中中剂量组效果最为显著。**结论** 补中益气汤对 5-FU 诱导的肌少症具有显著改善作用, 其机制可能与激活 AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  信号通路有关。

**【关键词】** 化疗; 肌少症; 补中益气汤; 骨骼肌; AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  信号通路

### Investigating the Regulatory Effect of BuzhongYiqi Decoction on Sarcopenia Induced by 5-FU via AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$ Signaling Pathway

WANG Yi<sup>1</sup>, ZHANG Yueyu<sup>1</sup>, MA Xiande<sup>2</sup>, ZHANG Siqi<sup>1</sup>, LEI Ping<sup>1\*</sup>

(1.College of Integrated Chinese and Western Medicine of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China;

2.Teaching Experiment Center of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of BuzhongYiqi decoction on 5-FU-induced sarcopenia by regulating AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  signaling pathway. **Methods** Thirty-five male SD rats were randomly divided into 5 groups (blank control group, model group, low, medium and high dose BuzhongYiqi decoction groups), with 7 rats in each group. The rats in each group were treated with different doses of BuzhongYiqi decoction for 15 consecutive days. The body weight, grip strength, exhaustive swimming time and other physiological indexes were recorded. After the last administration, gastrocnemius muscles were harvested for HE staining, IHC, ELISA, RT-qPCR, and Western blot. **Results** Compared with the blank control group, the body weight, grip strength and exhaustive swimming time of the model group were significantly decreased ( $P<0.01$ ), the AMP/ATP ratio was increased, the expression of Atrogin-1 and MuRF-1 was up-regulated ( $P<0.01$ ), and the expression of MyoD and Myogenin was down-regulated ( $P<0.01$ ). The protein expressions of p-AMPK/AMPK, SIRT1 and PGC-1 $\alpha$  were significantly decreased ( $P<0.01$ ). Buzhongyiqi decoction improved the above indexes in rats of each dose group, and the medium-dose group had the most significant effect. **Conclusion** Buzhongyiqi decoction can significantly improve 5-FU-induced sarcopenia, and its mechanism may be related to the activation of AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  signaling pathway.

**Keywords:** Chemotherapy; Sarcopenia; BuzhongYiqi Decoction; Skeletal muscle; AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  signaling pathway

肌少症(sarcopenia)是一种渐进性、广泛性肌肉质量减少、肌肉强度下降、功能减退, 进而导致活动受限、甚至死亡的疾病<sup>[1]</sup>。当肌肉减少主要与年龄增长相关时, 可被定义为原

[基金项目]:国家自然科学基金面上项目(82374375);辽宁省科技厅自然科学基金计划指导项目(2019-ZD-0444);辽宁中医药大学中西医结合学院“岐济工程”项目

[第一作者]:王艺(1998-),男(汉族),陕西榆林人,辽宁中医药大学在读硕士研究生,主要从事虚证免疫机制研究及中医药调控工作, E-mail:waderozan@163.com

[通讯作者]:\*雷萍(1978-),女(汉族),山西太原人,辽宁中医药大学副教授,博士学位,硕士研究生导师,主要从事虚证免疫机制及中医药调节相关研究工作, E-mail:lphare1978@163.com

发性肌少症，又称为年龄相关性肌少症；由废用性萎缩、慢性疾病、营养不良、恶病质等多种非年龄相关因素引起的肌肉减少，则属于继发性肌少症的范畴<sup>[2]</sup>。5-氟尿嘧啶（5-FU）是一种广泛使用的化疗药物，它在多种癌症的治疗中发挥着重要作用。化疗会导致显著的骨骼肌质量损失<sup>[3]</sup>，即化疗肌少症，同时肌少症又可能影响化疗的效果和患者的耐受性，增加化疗相关并发症的风险<sup>[4,5]</sup>。

化疗肌少症的机制目前尚不清楚，许多研究表明，AMPK（腺苷酸激活的蛋白激酶）、SIRT1（沉默信息调节因子1）和PGC-1 $\alpha$ （过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 共激活因子1 $\alpha$ ）信号通路在肌肉生长和代谢调节中起着至关重要的作用<sup>[6,7]</sup>。作为细胞能量平衡的关键调节因子，AMPK被激活时能够促进脂肪酸氧化和糖酵解，抑制脂肪酸合成和蛋白质合成，进而促进肌肉萎缩<sup>[8]</sup>。SIRT1是一种去乙酰化酶，能够通过去乙酰化多种底物来促进线粒体生物发生，改善肌肉功能<sup>[9]</sup>。PGC-1 $\alpha$ 是SIRT1的下游靶点，是线粒体生物发生和功能的关键调节因子，能够促进线粒体的生成和功能，提高肌肉表现<sup>[10]</sup>。因此，选择AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$ 信号通路作为研究化疗肌少症的机制具有充分的理论依据。

中医理论中，脾脏被视为“后天之本”，在癌症放化疗过程中，脾运化功能失司，出现四肢消瘦、痿废等症。因此，可从脾论治肌少症。结合中医的“补脾益气”理念，对于癌症放化疗患者来说，重点在于强化脾的功能，从而提高骨骼肌的力量和功能。补中益气汤作为补脾益气的经典方剂，有望成为改善化疗肌少症的药物。因此本研究通过腹腔注射5-FU进行化疗肌少症模型的构建，从AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$ 信号通路入手研究化疗肌少症的机制，并用中医传统补益脾气方剂补中益气汤改善化疗肌少症。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

35只6~8周龄雄性SPF级SD大鼠，体质量范围在200 $\pm$ 20g之间。由辽宁长生生物技术股份有限公司提供，持有实验动物生产许可证编号SCXK（辽）2020-0001。本研究遵循了国际公认的动物福利和伦理准则，实验经辽宁中医药大学动物伦理委员会批准，伦理审批编号为21000042023173，于辽宁中医药大学实验动物中心进行饲养，等分昼夜节律，湿度60% $\pm$ 5%、温度（22 $\pm$ 2） $^{\circ}$ C适宜环境下饲养，摄食与饮水充分，适应性饲养1周后进行实验。

### 1.2 药物

根据第10版《方剂学》中补中益气汤药物组成和用量为：黄芪18g，炙甘草、白术各9g，陈皮、升麻、柴胡、人参各6g，当归3g。黄芪（批号2307238101）、炙甘草（批号2301708101）、白术（批号2207475101）、陈皮（批号2307157101）、升麻（批号2302093101）、柴胡（批号2304145101）、人参（批号2207047101）、当归（批号2309120101）；均购自辽宁中医药大学附属医院，药物水煎，常规煎煮2次，浓缩为终浓度含生药量2g $\cdot$ mL<sup>-1</sup>溶液，再分别稀释为1g $\cdot$ mL<sup>-1</sup>和0.5g $\cdot$ mL<sup>-1</sup>溶液，冷却后至4冰箱保存备用。

### 1.3 试剂

5-氟尿嘧啶（美国Sigma公司，批号F6627-1G）；苏木素伊红（HE）染色试剂盒（北京索莱宝生物公司，批号G1120）；Atrogin-1、MuRF-1抗体（武汉塞维尔生物有限公司，批号BD-PA0761、C48394；MyoD抗体（武汉三鹰生物公司，批号18943-1-AP）；Myogenin抗体（杭州华安生物技术有限公司，批号HA500492）；p-AMPK(Thr172)抗体（affinity公司，批号AF3423）；AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$ 、 $\beta$ -actin抗体（武汉三鹰生物技术有限公司，批号10929-2-AP、13161-1-AP、66369-1-IG、20536-1-AP）；HRP-linked Antibody（CST公司，批号7074s）；SIRT1抗体（武汉博士德生物工程有限公司，批号A00018-1）；Rat AMP

Elisa Kit、Rat ATP Elisa Kit(安迪华泰生物科技有限公司,批号 E-33122、E-200094);RNAisoPlus、Prime Script RT reagent Kit with gDNA Eraser、TBGreen Premix ExTaqII (Takara 公司,批号为 9109、RR047A、RR820A)。

## 1.4 仪器

大鼠抓力测定仪 YLS-13A 型(济南益延科技发展有限公司);Multiskan Spectrum 酶标仪(美国赛默飞公司);170-4405 电泳槽、170-4401 型转移电泳槽(美国伯乐公司);Tanon5200 型化学发光成像系统(上海天能科技有限公司);CFX Opus 96 实时荧光定量 PCR 系统(美国伯乐公司);Sorvall MX150 Plus Centrifuge 高速离心机(美国赛默飞公司);Arcadia 型组织包埋机;Biocut 型切片机;M8 数字切片扫描成像系统(PrecipointFM34F056)。

## 2 方法

### 2.1 实验动物分组、造模及灌胃方法

SPF 级雄性 SD 大鼠 35 只,将其随机分为空白对照组(Control Group,CG)、模型组(Model Group,MG)、低剂量补中益气汤组(Low-dose BuzhongYiqi Decoction Group,LBYD)、中剂量补中益气汤组(Middle-dose BuzhongYiqi Decoction Group,MBYD)、高剂量补中益气汤组(High-dose BuzhongYiqi Decoction Group,HBYPD),每组 7 只。参考文献方法<sup>[1]</sup>,并根据实验改良,CG 组除外,所有大鼠通过腹腔注射 5-氟尿嘧啶(5-FU),剂量设定为 28mg/kg,每天注射 1 次,持续 6 天。CG 组则作为对照组,接受相同体积的生理盐水注射。在构建模型同时,对于补中益气汤组的大鼠,根据剂量不同进行灌胃处理,其中 LBYD 组的剂量为 0.5g/mL,MBYD 组为 1g/mL,HBYPD 组为 2g/mL。与此同时,空白对照组接受相同体积的生理盐水灌胃,整个灌胃过程持续 15 天,并在此期间定期记录大鼠体重、握力和耐力游泳时间的变化。

### 2.2 样品制备

末次给药结束后禁食禁水,次日过量麻醉处死大鼠,采集其腓肠肌组织样本,部分组织于 4%多聚甲醛中固定,剩余分装于冻存管中置于-80℃冰箱保存,待检测。

### 2.3 大鼠一般情况及体质量、抓力、力竭游泳时间的测定

实验过程中,对所有组别大鼠的生长状况、饮食饮水行为、皮毛光泽度以及精神状态等健康状况进行监测。此外,每隔三天对大鼠的体重、握力和力竭游泳时间进行详细记录。

抓力测定:将大鼠放置于抓力仪上,允许动物前肢抓住抓力仪,同时被尾部轻轻地平行拉离杆,记录施加最大力量时的抓力计读数,每只大鼠测三次取平均值。

大鼠力竭游泳时间的测定:将大鼠尾部绑缚相当于其体重 8%的铅块,实验在温度维持在 25 至 30 摄氏度、水深为 30 厘米的特制水池中进行。大鼠在水中游泳力竭后头部没入水中 10 秒未上浮至水面,即被认定为力竭,记录时间。

### 2.4 苏木精-伊红(HE)染色观察腓肠肌形态学改变

将腓肠肌样本剪取并浸泡在 4%的多聚甲醛溶液中固定。固定完成后,组织样本经一系列梯度乙醇的脱水处理,随后通过二甲苯进行透明处理,使用石蜡进行包埋。包埋后的组织被切成薄片,并进行染色处理。染色完成后,样本被覆盖以保护染色层。最后,在显微镜下对各组大鼠的腓肠肌组织样本进行形态学变化的观察分析。使用 ImageJ 软件进行横截面积的计算。首先确认图片类型为 8-bit,设定标尺完成后设置阈值,以区分目标物和背景,在分析中设置输出面积选项,分析并输出结果。



2.5 免疫组化法(IHC)检测肌肉萎缩相关蛋白 Atrogin-1、MuRF-1;肌肉生长相关蛋白 MyoD、Myogenin 的表达情况

取切片脱水脱蜡, PBS 洗涤抗原修复, 冷却至室温, 5%山羊血清用于封闭处理, 30min。样本中加入一抗, 包括 Atrogin-1、MuRF-1、MyoD 和 Myogenin, 在 4℃条件下进行过夜孵育。次日室温加入二抗, 并孵育 1h。使用 PBS 洗涤后, 添加 DAB 显色液实现显色。用苏木素进行对比染色, 最后封片。在显微镜下观察并记录 Atrogin-1、MuRF-1、MyoD 和 Myogenin 的蛋白表达情况。采用 ImageJ 软件进行平均光密度值分析。

2.6 ELISA 法检测各组大鼠腓肠肌内 ATP (三磷酸腺苷) 和 AMP (单磷酸腺苷) 水平

将 100mg 的腓肠肌组织与 1ml 的 PBS 溶液混合, 进行匀浆处理。随后, 通过离心分离上清液, 并依据 ELISA 试剂盒说明对 ATP 和 AMP 进行定量分析。测量各孔的光密度(OD)值并构建标准曲线, X 轴代表标准品浓度, Y 轴代表对应的 OD 值。建立标准曲线方程并计算 ATP 与 AMP 浓度。

2.7 实时荧光定量 PCR 法(RT-qPCR)检测各组大鼠腓肠肌内的 Atrogin-1、MuRF-1、MyoD、Myogenin、AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  mRNA 表达情况

剪取 50mg 腓肠肌样本, 加入 1mlRNAisoPlus 溶液, 经过匀浆, 去除蛋白质和 DNA, 添加乙醇使 RNA 沉淀, 离心收集沉淀后洗涤和干燥, 溶解在适当的体积的 DEPC 处理水中。RNA 逆转录为 cDNA, 低温条件下配制 25 $\mu$ L 的反应混合液。PCR 扩增过程遵循以下步骤: 首先在 95℃进行 30s 的预变性, 1 次; 95℃进行 5s 变性; 60℃进行 30s 退火, 39 次; 最后熔解曲线分析。以  $\beta$ -actin 基因作为内参, 采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法来定量分析目标基因的表达水平。所用引物由生工生物工程(上海)公司负责合成。见表 1。

表 1 RT-qPCR 引物序列量  
Table1 Sequence quantity of primers for RT-qPCR

引物名称	序列(5'-3')	长度/bp
Atrogin-1	上游 CGGCGGACGGCTGGAAG	120
	下游 TCTTGGCTGCAACATCGTAGTTC	
MuRF-1	上游 GGTGCCTACTTGCTCCTTGTG	100
	下游 GCTCAGTTCAGTCTTCTGTCCTTG	
MyoD	上游 AATCCTTCAGATGGCGAACTTGTC	102
	下游 CTGTATCTTGCTGGTTTCCTCCTTG	
Myogenin	上游 GCAGTGCCATCCAGTACATTGAG	83
	下游 GCCTCGGTAGCGGAGATCG	
AMPK	上游 CTCGCAGTGGCTTATCATCTCATC	97
	下游 TGAAGGAACCCGTTGGAGGAC	
SIRT1	上游 ACGCCTTATCCTCTAGTTCCTGTG	136
	下游 GGTCTGTCAGCATCATCTTCCAAG	
PGC-1 $\alpha$	上游 TTCGCTGCTCTTGAGAATGGATATAC	127
	下游 ATCGTCTGAGTTTGAATCTAGGTCTG	
$\beta$ -actin	上游 CCTGGCACCCAGCACAAT	144
	下游 GGGCCGGACTCGTCATAC	

2.8 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠腓肠肌内 AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  信号通路相关

蛋白表达情况

取 100mg 大鼠腓肠肌组织置于冰上剪切，加入 RIPA 裂解液、PMSF，离心取上清，BCA 测定浓度。SDS-PAGE 电泳、转膜。室温 5%脱脂牛奶封闭，70min。孵一抗(p-AMPK、AMPK、SIRT1、PGC-1α: 1:1000; β -actin: 1:5000)，4℃过夜。次日，加二抗，室温孵育 1h。ECL 发光试剂盒发光显影，ImageJ 定量分析。

2.9 统计学分析

采用 SPSS27.0 进行统计，计量资料用均数±标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示，数据进行正态性与方差齐性检验，组与组之间若满足正态分布和方差齐性使用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 否则采用非参数秩和检验。 $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 补中益气汤对各组大鼠一般状态和体质量的影响

实验开始前，各组大鼠体质量无差异 ( $P>0.05$ )。第 6 天，模型组大鼠精神不振、倦怠懒动；粪便稀薄、肛周污秽；背毛凌乱、毛发疏松少泽，体质量较空白对照组显著降低 ( $P<0.01$ )。低、中剂量补中益气汤组体质量高于模型组 ( $P<0.05$ )。第 15 天，模型组大鼠体质量仍显著低于空白对照组 ( $P<0.01$ )，粪便如水样且严重脱毛。低、中、高剂量补中益气汤组体质量较模型组显著升高 ( $P<0.01$ )，但与空白对照组仍存在差异 ( $P<0.01$ )。见表 2、图 1。

表 2 干预前后各组大鼠体质量变化 ( $\bar{x}\pm s$ , n=7)

Table2 The changes in body weight of rats in each group before and after intervention( $\bar{x}\pm s$ ,n=7)

组别	剂量/g · mL	第 1 天	第 6 天	第 15 天
空白对照组	-	217.38±14.81	247±14.55	325.88±10.63
模型组	-	216.88±11.53	207.38±18.43 <sup>1)</sup>	215.125±17.86 <sup>1)</sup>
补中益气汤低剂量组	0.5	227.88±7.9	239.5±22.17 <sup>3)</sup>	276.87±18.78 <sup>3)</sup>
补中益气汤中剂量组	1	218.75±7.76	236.38±16.40 <sup>2)</sup>	285.12±16.9 <sup>3)</sup>
补中益气汤高剂量组	2	215±9.71	230.25±25.1	273.5±20.91 <sup>3)</sup>
F	-	1.789	4.686	41.67

注：与空白对照组相比，<sup>1)</sup> $P<0.01$ ；与模型组相比，<sup>2)</sup> $P<0.05$ ；<sup>3)</sup> $P<0.01$ ；

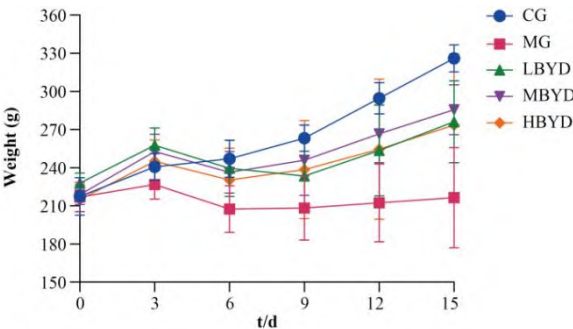


图 1 补中益气汤对各组大鼠体质量的影响

Fig.1 Influence of Buzhong Yiqi Decoction on the body weight of rats in each group

3.2 补中益气汤对各组大鼠抓力的影响

初始时, 各组大鼠抓力无差异 ( $P>0.05$ )。第 6 天, 模型组抓力较空白对照组显著降低 ( $P<0.01$ ), 低、中、高剂量补中益气汤组抓力有增长趋势, 但无统计学差异 ( $P>0.05$ )。第 15 天, 模型组抓力仍显著低于空白对照组 ( $P<0.01$ ), 低、中、高剂量补中益气汤组抓力较模型组显著升高 ( $P<0.01$ ), 但与空白对照组仍存在差异 ( $P<0.05$ )。见表 3、图 2。

表 3 干预前后各组大鼠抓力变化 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=7$ )

Table3 The changes in gripping power of rats in each group before and after intervention( $\bar{x}\pm s$ , $n=7$ )

组别	剂量/g · mL	第 1 天	第 6 天	第 15 天
空白对照组	-	1333.50±128.52	1630.50±90.90	1692.75±92.92
模型组	-	1334.00±113.29	1350.50±61.96 <sup>1)</sup>	1264.63±121.95 <sup>1)</sup>
补中益气汤低剂量组	0.5	1413.75±130.53	1429.75±106.14	1513.25±94.81 <sup>3)</sup>
补中益气汤中剂量组	1	1386.13±127.07	1430.25±40.20	1572.50±69.05 <sup>3)</sup>
补中益气汤高剂量组	2	1334.63±92.05	1389.13±77.79	1451.75±113.51 <sup>3)</sup>
F	-	0.787	15.11	20

注: 与空白对照组相比, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; 与模型组相比, <sup>3)</sup> $P<0.01$

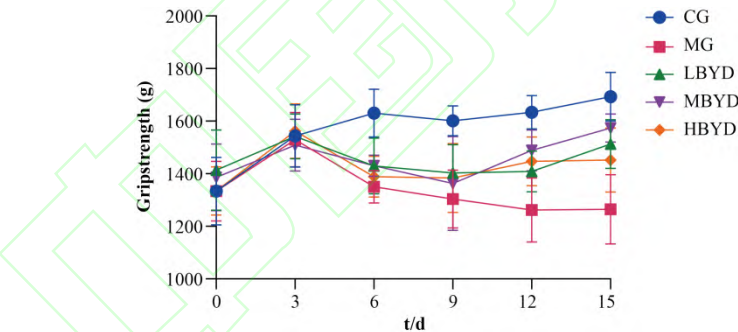


图 2 补中益气汤对各组大鼠抓力的影响

Fig.2 Influence of Buzhong Yiqi Decoction on the gripping power of rats in each group

3.3 补中益气汤对各组大鼠力竭游泳时间的影响

实验开始时, 各组大鼠力竭游泳时间无差异 ( $P>0.05$ )。第 6 天, 模型组力竭游泳时间较空白对照组显著降低 ( $P<0.05$ ), 低、中、高剂量补中益气汤组与空白对照组相比未出现显著下降 ( $P>0.05$ )。第 15 天, 模型组力竭游泳时间较空白对照组显著下降 ( $P<0.01$ ), 中、高剂量补中益气汤组显著高于模型组 ( $P<0.05$ )。见表 4、图 3。

表 4 干预前后各组大鼠力竭游泳时间变化 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=7$ )

Table4 The changes in exhaustion swimming time of rats in each group before and after intervention( $\bar{x}\pm s$ , $n=7$ )

组别	剂量/g · mL	第 1 天	第 6 天	第 15 天
----	-----------	-------	-------	--------

空白对照组	-	737.13±150.66	701.75±130.69	831.00±134.02
模型组	-	711.88±129.98	522.50±58.23 <sup>1)</sup>	422.43±158.67 <sup>2)</sup>
补中益气汤低剂量组	0.5	724.50±147.64	713.25±114.51 <sup>4)</sup>	527.29±98.29
补中益气汤中剂量组	1	671.13±46.50	682.29±49.01 <sup>3)</sup>	682.00±101.41 <sup>4)</sup>
补中益气汤高剂量组	2	651.88±125.88	622.86±165.02	599.14±80.97 <sup>3)</sup>
F	-	0.663	3.913	12.79

注：与空白对照组相比，<sup>1)</sup> $P<0.05$ ；<sup>2)</sup> $P<0.01$ ；与模型组相比，<sup>3)</sup> $P<0.05$ ；<sup>4)</sup> $P<0.01$ ；

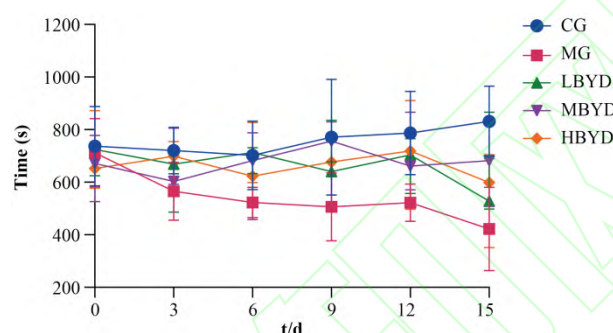


图3 补中益气汤对各组大鼠力竭游泳时间的影响

Fig.3 Effect of Buzhong Yiqi Decoction on exhaustion swimming time of rats in each group

### 3.4 补中益气汤对各组大鼠骨骼肌 AMP/ATP 的影响

与空白对照组比较，模型组大鼠腓肠肌 AMP/ATP 比值显著升高 ( $P<0.01$ )；与模型组相比，低、中和高剂量补中益气汤均可显著降低大鼠腓肠肌 AMP/ATP 比值 ( $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.05$ )。见表 5、图 4。

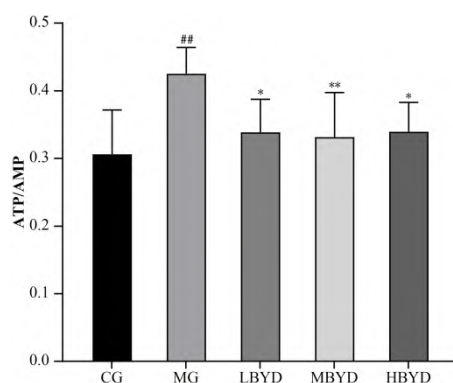
表 5 干预前后各组大鼠 AMP/ATP 比值变化 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=7$ )

Table5 The changes in AMP/ATP ratio in skeletal muscle of rats in each group( $\bar{x}\pm s,n=7$ )

组别	剂量/g · mL	AMP/ATP
空白对照组	-	0.3065±0.0602
模型组	-	0.4252±0.0360 <sup>1)</sup>
补中益气汤低剂量组	0.5	0.3388±0.0452 <sup>2)</sup>
补中益气汤中剂量组	1	0.3318±0.0607 <sup>3)</sup>
补中益气汤高剂量组	2	0.3396±0.0402 <sup>2)</sup>
F	-	4.947

注：与空白对照组相比，<sup>1)</sup> $P<0.01$ ；与模型组相比，<sup>2)</sup> $P<0.05$ ；<sup>3)</sup> $P<0.01$ ；





与空白对照组相比，## $P<0.01$ ；与模型组相比，\* $P<0.05$ ；\*\* $P<0.01$ ；

图4 补中益气汤对各组大鼠骨骼肌 AMP/ATP 比值水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=7$ )

Fig.4 Effect of Buzhong Yiqi Decoction on AMP/ATP ratio in skeletal muscle of rats in each group( $\bar{x} \pm s, n=7$ )

### 3.5 补中益气汤对各组大鼠腓肠肌组织病理学结构变化的影响

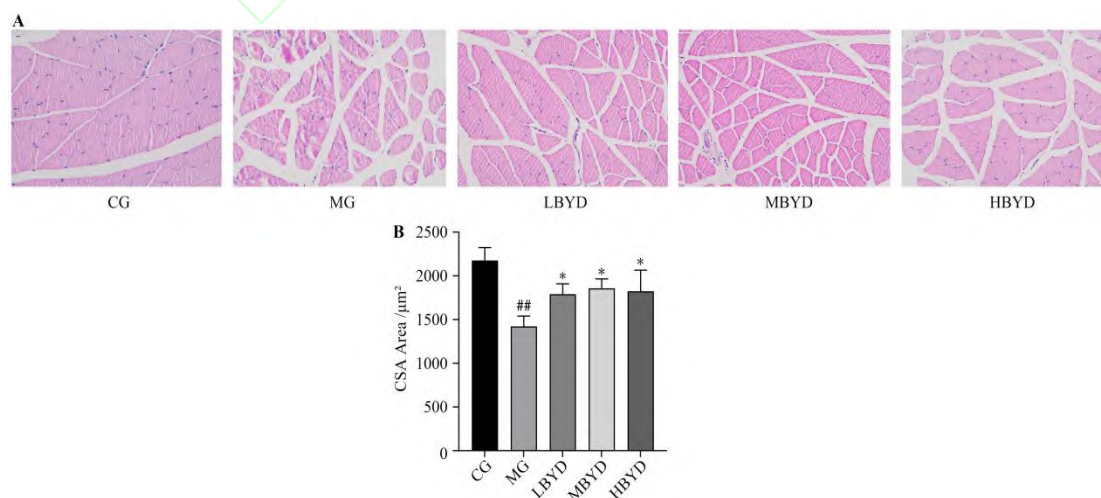
空白对照组大鼠腓肠肌肌纤维排列紧密且规律，模型组肌纤维间距增加，排列松散、紊乱。低、中、高剂量补中益气汤干预后，肌纤维间隔变小，排列较为整齐，见图 5A。模型组肌纤维横截面积显著缩小 ( $P<0.01$ )，低、中、高剂量补中益气汤组肌纤维横截面积较模型组显著增大 ( $P<0.05$ )。见表 6、图 5B。

表 6 干预前后各组大鼠腓肠肌肌纤维横截面积变化 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Table6 The changes in the cross-sectional area of gastrocnemius muscle fibers in each group( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	剂量/g · mL	CSA
空白对照组	-	2176.96 ± 119.93
模型组	-	1422.41 ± 95.79 <sup>1)</sup>
补中益气汤低剂量组	0.5	1790.19 ± 96.99 <sup>2)</sup>
补中益气汤中剂量组	1	1858 ± 88.49 <sup>2)</sup>
补中益气汤高剂量组	2	1824.48 ± 196.43 <sup>2)</sup>
F	-	9.06

注：与空白对照组相比，<sup>1)</sup> $P<0.01$ ；与模型组相比，<sup>2)</sup> $P<0.05$ ；



A.补中益气汤对各组大鼠腓肠肌组织的影响（HE 染色，200×）;B.补中益气汤对各组大鼠腓肠肌肌纤维横截面积的影响（ $\bar{x}\pm s$ ，n=3）;与空白对照组相比，<sup>##</sup> $P<0.01$ ；与模型组相比，<sup>\*</sup> $P<0.05$

图 5 补中益气汤对各组大鼠腓肠肌组织组织病理学结构变化

Fig.5Effect of Buzhong Yiqi decoction on histopathological structure of gastrocnemius tissue of rats in each group(HE staining,200×)

3.6 补中益气汤对大鼠腓肠肌组织中 Atrogin-1、MuRF-1、MyoD、Myogenin 蛋白表达水平的影响

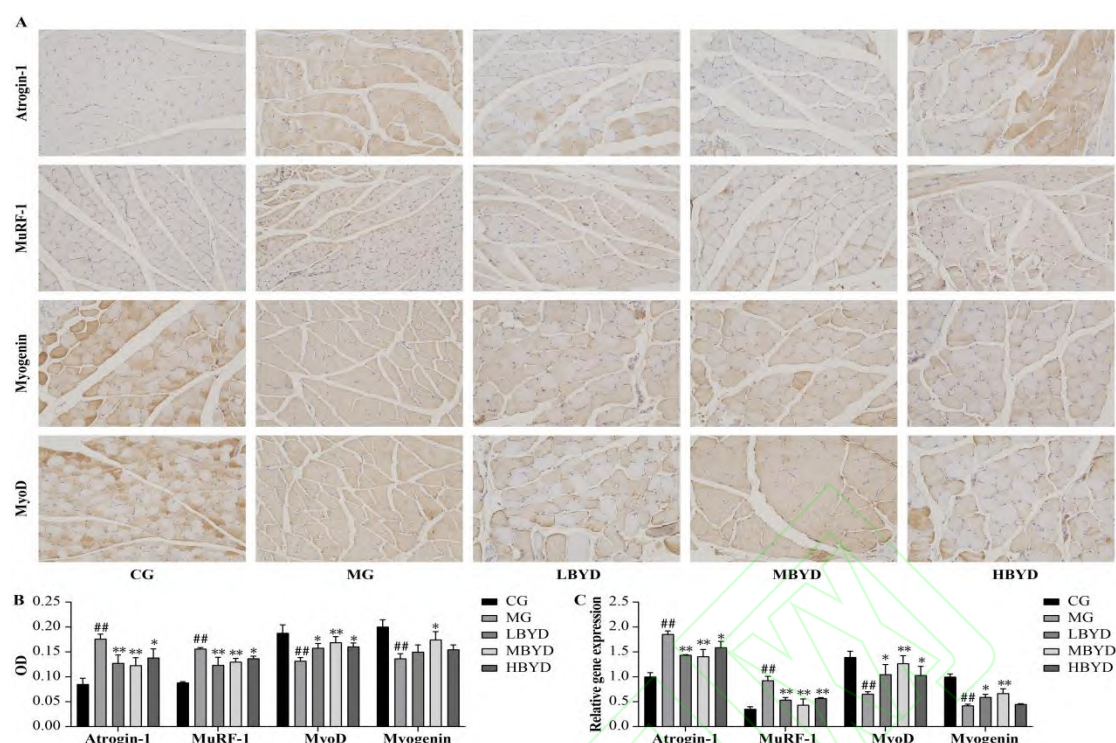
结果表明，模型组 Atrogin-1 和 MuRF-1 蛋白吸光度显著增加（ $P<0.01$ ），低、中、高剂量补中益气汤组吸光度显著下降（ $P<0.01$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.05$ ）。模型组 MyoD 和 Myogenin 蛋白吸光度显著下降（ $P<0.01$ ），低、中、高剂量补中益气汤组 MyoD 蛋白吸光度显著增加（ $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.05$ ），中剂量组 Myogenin 蛋白吸光度显著升高（ $P<0.05$ ）。见表 7、图 6A、6B、6C。

表 7 干预前后各组大鼠腓肠肌 Atrogin-1、MuRF-1、MyoD、Myogenin 蛋白表达水平变化（ $\bar{x}\pm s$ ，n=3）

Table7 Changes in the expression levels of Atrogin-1、MuRF-1、MyoD、Myogenin proteins in the gastrocnemius muscles of rats before and after intervention( $\bar{x}\pm s$ ,n=3)

组别	剂量 /g · mL	Atrogin-1	MuRF-1	MyoD	Myogenin
空白对 照组	-	0.0853±0.0118	0.0883±0.0021	0.188±0.0164	0.2005±0.0141
模型组	-	0.1763±0.0095 <sup>1)</sup>	0.1563±0.0023 <sup>1)</sup>	0.132±0.0066 <sup>1)</sup>	0.1368±0.0095 <sup>1)</sup>
补中益 气汤低 剂量组	0.5	0.1277±0.0163 <sup>3)</sup>	0.1237±0.0155 <sup>3)</sup>	0.158±0.009 <sup>2)</sup>	0.1501±0.0139
补中益 气汤中 剂量组	1	0.123±0.0155 <sup>3)</sup>	0.13±0.007 <sup>3)</sup>	0.169±0.0118 <sup>3)</sup>	0.1747±0.0160 <sup>2)</sup>
补中益 气汤高 剂量组	2	0.1383±0.0179 <sup>2)</sup>	0.137±0.0046 <sup>2)</sup>	0.1607±0.0074 <sup>2)</sup>	0.1548±0.0093
F	-	15.14	28.92	6.145	11.17

注：与空白对照组相比，<sup>1)</sup> $P<0.01$ ；与模型组相比，<sup>2)</sup> $P<0.05$ ；<sup>3)</sup> $P<0.01$ ；



A.补中益气汤对各组大鼠腓肠肌组织中 Atrogin-1、MuRF-1、MyoD、Myogenin 蛋白表达的影响（免疫组化，200×）；B.补中益气汤对各组大鼠腓肠肌组织中 Atrogin-1、MuRF-1、MyoD、Myogenin 蛋白表达水平的影响（ $\bar{x} \pm s$ , n=3）；C.补中益气汤对各组大鼠腓肠肌组织中 Atrogin-1、MuRF-1、MyoD、Myogenin mRNA 表达水平的影响（ $\bar{x} \pm s$ , n=3）；与空白对照组相比，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与模型组相比，<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ；<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ ；

图 6 补中益气汤对各组大鼠腓肠肌组织中相关基因与蛋白表达水平的影响

Fig.6 Effects of BuzhongYiqi decoction on the expression levels of related genes and proteins in gastrocnemius muscle tissue of rats in each group( $\bar{x} \pm s$ ,n=3)

### 3.7 补中益气汤对各组大鼠腓肠肌组织内 Atrogin-1、MuRF-1、MyoD、Myogenin mRNA 表达水平的影响

结果表明，模型组 Atrogin-1 和 MuRF-1 mRNA 表达水平显著上升（ $P < 0.01$ ），低、中、高剂量补中益气汤组表达量显著降低（ $P < 0.01$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.05$ ）。模型组 MyoD 和 Myogenin mRNA 表达水平显著减少（ $P < 0.01$ ），低、中剂量补中益气汤组表达量显著上升（ $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ ），高剂量组 Myogenin mRNA 表达量有所提高，但无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。见表 8、图 6C。

表 8 干预前后各组大鼠腓肠肌 Atrogin-1、MuRF-1、MyoD、Myogenin mRNA 表达水平变化（ $\bar{x} \pm s$ , n=3）

Table8 Changes in the expression levels of Atrogin-1、MuRF-1、MyoD、Myogenin mRNA in the gastrocnemius muscles of rats before and after intervention.( $\bar{x} \pm s$ ,n=3)

组别	剂量 /g · mL	Atrogin-1	MuRF-1	MyoD	Myogenin
空白对	-	1.0022±0.0817	0.356±0.042	1.394±0.1203	1.0011±0.0571

对照组					
模型组	-	1.8563±0.0658 <sup>1)</sup>	0.9288±0.0815 <sup>1)</sup>	0.6564±0.0448 <sup>1)</sup>	0.4241±0.0274 <sup>1)</sup>
补中益					
气汤低	0.5	1.4377±0.0074 <sup>3)</sup>	0.538±0.0453 <sup>3)</sup>	1.0499±0.1975 <sup>2)</sup>	0.5930±0.0554 <sup>2)</sup>
剂量组					
补中益					
气汤中	1	1.41±0.1386 <sup>3)</sup>	0.4374±0.1171 <sup>3)</sup>	1.2702±0.1544 <sup>3)</sup>	0.6689±0.0911 <sup>3)</sup>
剂量组					
补中益					
气汤高	2	1.5912±0.121 <sup>2)</sup>	0.5689±0.0135 <sup>3)</sup>	1.0318±0.1799 <sup>2)</sup>	0.4513±0.0097
剂量组					
F	-	32.3	29.73	10.66	52.08

注：与空白对照组相比，<sup>1)</sup> $P<0.01$ ；与模型组相比，<sup>2)</sup> $P<0.05$ ；<sup>3)</sup> $P<0.01$ ；

### 3.8 补中益气汤对各组大鼠 AMPK-SIRT1-PGC-1 $\alpha$ 信号通路基因与蛋白表达的影响

模型组 AMPK mRNA 表达水平显著增加 ( $P<0.01$ )，低、中剂量补中益气汤组表达水平显著下降 ( $P<0.05$ 、 $P<0.01$ )。模型组 SIRT1 和 PGC-1 $\alpha$  mRNA 表达水平显著降低 ( $P<0.01$ )，低、中剂量补中益气汤组表达水平显著上升 ( $P<0.05$ )。高剂量组 SIRT1 mRNA 表达水平显著上调 ( $P<0.05$ )，PGC-1 $\alpha$  mRNA 表达水平无统计学差异 ( $P>0.05$ )。见表 9、图 7A。

模型组 p-AMPK/AMPK 比值及 SIRT1 和 PGC-1 $\alpha$  蛋白表达水平显著下降 ( $P<0.01$ )，低、中、高剂量补中益气汤组比值及蛋白表达水平显著增加 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。见图 7B-C。

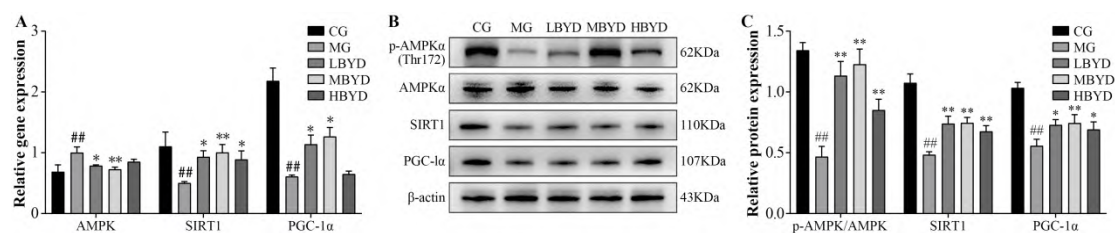
表 9 干预前后各组大鼠腓肠肌 AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  mRNA 表达水平变化 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

Table9 Changes in the expression levels of AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  mRNA in the gastrocnemius muscles of rats before and after intervention. ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量 /g · mL	AMPK	SIRT1	PGC-1 $\alpha$
空白对照组	-	0.69±0.1103	1.1053±0.2357	2.1845±0.2084
模型组	-	1.0028±0.0929 <sup>1)</sup>	0.5033±0.0229 <sup>1)</sup>	0.6105±0.0239 <sup>1)</sup>
补中益气汤				
低剂量组	0.5	0.7883±0.0134 <sup>2)</sup>	0.9347±0.0982 <sup>2)</sup>	1.1409±0.1512 <sup>2)</sup>
补中益气汤				
中剂量组	1	0.729±0.0355 <sup>3)</sup>	1.006±0.1299 <sup>3)</sup>	1.268±0.148 <sup>2)</sup>
补中益气汤				
高剂量组	2	0.8531±0.0418	0.8908±0.1392 <sup>2)</sup>	0.6523±0.0456
F	-	9.45	7.773	66.9

注：与空白对照组相比，<sup>1)</sup> $P<0.01$ ；与模型组相比，<sup>2)</sup> $P<0.05$ ；<sup>3)</sup> $P<0.01$ ；





A.补中益气汤对各组大鼠腓肠肌组织中 AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$ mRNA 表达水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , n=3);B-C.补中益气汤对各组大鼠腓肠肌组织中 p-AMPK /AMPK 比值、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  蛋白表达水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , n=3);与空白对照组相比, ## $P < 0.01$ ; 与模型组相比, \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ;

图 7 补中益气汤对各组大鼠 AMPK-SIRT1-PGC-1 $\alpha$  信号通路基因与蛋白表达的影响

Fig.7 Effect of Buzhong Yiqi Decoction on gene and protein expression of AMPK-SIRT1-PGC-1 $\alpha$  signaling pathway in rats of each group

#### 4 讨论

肌少症属于中医“痿证”范畴,《素问·脏气法时论》云:“脾主四肢”。《素问·脏经络篇》云:“脾虚则肌肉痿弱”。脾的运化功能一旦失调便会导致肌肉萎弱等症,补中益气汤作为补益脾气的经典方剂,许多文献证明其可以对骨骼肌损失发挥作用<sup>[12,13]</sup>。补中益气汤具有补益中焦之气、升阳举陷的功效。方中重用黄芪补中益气,固表止汗,升阳举陷,为君药;人参、炙甘草和白术共为臣药,协同君药益气健脾;血为气之母,故用当归养血和营;陈皮理气行滞,使补而不滞,行而不伤,共为佐药;少入柴胡、升麻升阳举陷,佐助君药以升提下陷之中气;炙甘草调和诸药,亦作使药。全方补气与升提并用,发挥资助正气、促进气血生化之功效。现代医学表明,补中益气汤内各药物有效成分包括多糖、皂苷、挥发油和黄酮等,均可表现出多个药理作用靶点,对肌肉萎缩具有良好疗效<sup>[14-16]</sup>。临床应用方面,文献表明补中益气汤可以对多种癌症化疗引起的不良反应具有良好改善作用<sup>[17]</sup>。补中益气汤通过其独特的配伍,能够有效调节机体的气血运行,增强脾胃功能,促进营养物质的吸收和利用,从而为肌肉的修复和生长提供必要的物质基础。然而,对于化疗引起的肌少症的相关研究较少,本研究旨在进一步探讨补中益气汤在这一领域的潜在作用和机制。

5-FU 类化疗药物可导致骨骼肌损伤,主要原因包括<sup>[18,19]</sup>: □化疗干扰患者饮食的正常摄入,进而导致维生素 D、蛋白质以及  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸等关键营养素的摄入不足。□化疗期间患者常感到疲劳,这种体力活动的减少可能会导致废用性萎缩的发生。□化疗药物可能直接作用于肌肉,干扰骨骼肌的正常代谢和调节。□化疗可能对肠道功能造成损害,影响肠道对营养的吸收能力。但 5-FU 对肌肉的直接作用还不甚清楚。在一项关于 5-FU 对大鼠骨骼肌影响的研究中,接受 5-FU 处理的大鼠体质量明显下降,同时伴随着肌肉功能和肌纤维尺寸的减少<sup>[20]</sup>,进一步促进了化疗后恶病质的进展。本研究采用腹腔注射 5-FU 的方法来建立化疗引起的肌肉减少症模型。在实验开始时,各组大鼠的体重、握力和力竭游泳时间均未显示出统计学上的显著差异。实验第 6 天,与空白对照组相比,模型组大鼠的体重、握力和力竭游泳时间均出现了显著降低。通过苏木精-伊红(HE)染色结果显示,模型组大鼠的肌纤维间隙增大、排列稀疏,肌纤维横截面积显著减少,表明模型构建成功。

研究表明,化疗引起的不良反应中最突出的特征之一是能量缺乏<sup>[21]</sup>,在放化疗期间,糖酵解、线粒体和三羧酸循环这些维持骨骼肌能量代谢平衡的正常循环被打破,导致骨骼肌能量代谢紊乱,进一步加剧放化疗后的肌肉萎缩和功能丧失<sup>[22]</sup>。AMPK 被称为“细胞能量感受器”,在细胞能量水平下降时被激活,其信号是 AMP/ATP 比值的增加<sup>[23]</sup>。AMPK 磷酸化可以影响线粒体内相关因子,促进合成效应<sup>[24]</sup>。SIRT1、PGC-1 $\alpha$  作为 AMPK 的众多下游靶



分子之一，在能量代谢和转录调控方面发挥重要作用。SIRT1 是一种 NAD<sup>+</sup>依赖的去乙酰化酶，可以靶向组蛋白、转录因子等，参与调节细胞增殖与分化。AMPK 的激活状态可以调节 SIRT1 的表达水平，同时 SIRT1 也参与了 AMPK 的磷酸化过程<sup>[25]</sup>。它们共同调节 PGC-1 $\alpha$  的转录活性，其中 AMPK 直接作为 PGC-1 $\alpha$  的上游调节因子，而 SIRT1 则通过去乙酰化 PGC-1 $\alpha$  来激活其功能，推动线粒体的生物合成<sup>[26]</sup>。PGC-1 $\alpha$  作为骨骼肌线粒体生物合成的关键调控因子，当 PGC-1 $\alpha$  被激活时，它能够进一步激活 TFAM，从而调控线粒体 DNA 的转录，引发线粒体蛋白的协调性表达，并增强线粒体的合成能力<sup>[27]</sup>。本实验结果表明，模型组大鼠 AMP/ATP 比值较空白对照组增高，提示大鼠机体内能量水平下降，进行补中益气汤干预后，骨骼肌中 AMPK、SIRT1、PGC-1 $\alpha$  mRNA 表达水平均明显上调。这表明补中益气汤通过激活 AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  信号通路，有效改善了骨骼肌的能量代谢，从而抵抗肌肉萎缩。随着大鼠骨骼肌中 p-AMPK 蛋白表达量提高，其下游 SIRT1、PGC-1 $\alpha$  蛋白表达量也相应提高，进而抑制能量消耗，改善运动能力，提高肌肉表现。PGC-1 $\alpha$  蛋白的高表达能够通过抑制 FoxO3 的活性，减少 FoxO3 与 Atrogin-1、MuRF-1 启动子的结合和转录来抵抗肌萎缩<sup>[28]</sup>。Atrogin-1 和 MuRF-1 作为泛素-蛋白酶体系统（UPS）中的 E3 连接酶，在多种骨骼肌萎缩模型中表达升高<sup>[29]</sup>。MyoD 和 Myogenin 都属于肌源性调节因子家族，二者在肌肉细胞分化过程中起着关键作用，能够启动肌组织特异性基因的表达及肌组织的分化。PGC-1 $\alpha$  与 MyoD、Myogenin 之间存在密切的调控关系，它们共同参与了肌肉细胞的分化、代谢和能量调节过程<sup>[30]</sup>。本研究组化结果提示，与模型组相比，大鼠腓肠肌组织内 Atrogin-1、MuRF-1 mRNA 和蛋白表达水平下调，MyoD 和 Myogenin mRNA 和蛋白表达上调，进一步表明补中益气汤对骨骼肌萎缩程度有一定改善，且有促进肌肉分化的作用。

综上所述，本实验为 5-FU 对肌肉的不良反应的机制研究提供实验依据，补中益气汤对于改善由 5-FU 化疗引起的肌少症大鼠的生理状况和骨骼肌的病理损伤具有积极作用，其机制可能与激活 AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  信号通路，维持能量稳态，进而抵抗骨骼肌萎缩有关。更深入的机制待进一步研究。

#### 作者贡献度说明：

王艺：实验设计和操作，数据整理与统计分析，论文撰写；

张月宇、张思琦：实验操作助手；

雷萍、马贤德：研究指导、论文修改、经费支持；

所有作者声明不存在利益冲突关系。

#### 参考文献：

- [1]Kirk B, Cawthon PM, Arai H, et al. The Conceptual Definition of Sarcopenia: Delphi Consensus from the Global Leadership Initiative in Sarcopenia (GLIS). *Age Ageing*. 2024;53(3):afae052.
- [2]Cheng F, Li N, Yang J, et al. The effect of resistance training on patients with secondary sarcopenia: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2024;14(1):28784.
- [3]VanderVeen BN, Sougiannis AT, Velazquez KT, Carson JA, Fan D, Murphy EA. The Acute Effects of 5 Fluorouracil on Skeletal Muscle Resident and Infiltrating Immune Cells in Mice. *Front Physiol*. 2020;11:593468.
- [4]Zhang FM, Wu HF, Shi HP, Yu Z, Zhuang CL. Sarcopenia and malignancies: epidemiology, clinical classification and implications. *Ageing Res Rev*. 2023;91:102057.
- [5]Sato R, Oikawa M, Kakita T, et al. Impact of Sarcopenia on Postoperative Complications in Obstructive Colorectal Cancer Patients Who Received Stenting as a Bridge to Curative Surgery. *J*

Anus Rectum Colon. 2022;6(1):40-51.

- [6]Kong S, Cai B, Nie Q. PGC-1 $\alpha$  affects skeletal muscle and adipose tissue development by regulating mitochondrial biogenesis. *Mol Genet Genomics*. 2022;297(3):621-633.
- [7]Wen W, Chen X, Huang Z, et al. miR-22-3p regulates muscle fiber-type conversion through inhibiting AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  pathway. *Anim Biotechnol*. 2021;32(2):254-261.
- [8]Penugurti V, Manne RK, Bai L, Kant R, Lin HK. AMPK: The energy sensor at the crossroads of aging and cancer. *Semin Cancer Biol*. 2024;106-107:15-27.
- [9]Yang L, Liu D, Jiang S, et al. SIRT1 signaling pathways in sarcopenia: Novel mechanisms and potential therapeutic targets. *Biomed Pharmacother*. 2024;177:116917.
- [10]Broome SC, Pham T, Braakhuis AJ, et al. MitoQ supplementation augments acute exercise-induced increases in muscle PGC1 $\alpha$  mRNA and improves training-induced increases in peak power independent of mitochondrial content and function in untrained middle-aged men. *Redox Biol*. 2022;53:102341.
- [11]Chen H, Xu C, Zhang F, Liu Y, Guo Y, Yao Q. The gut microbiota attenuates muscle wasting by regulating energy metabolism in chemotherapy-induced malnutrition rats. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2020;85(6):1049-1062.
- [12]彭娟,韦华妮,姜婷,等.补中益气汤通过 Adipor1/AMPK/PGC-1 $\alpha$  调节脂代谢治疗运动性疲劳[J].中国实验方剂学杂志,2024,30(12):24-30.
- Peng J, Wei H, Jiang T, et al. Bu Zhong Yi Qi Tang Regulates Lipid Metabolism through Adipor1/AMPK/PGC-1 $\alpha$  to Treat Exercise-Induced Fatigue[J]. *China Journal of Experimental Prescription*.2024,30(12):24-30.
- [13]Yakabe M, Hosoi T, Sasakawa H, Akishita M, Ogawa S. Kampo formula hochu-ekki-to (Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang, TJ-41) ameliorates muscle atrophy by modulating atrogenes and AMPK in vivo and in vitro. *BMC Complement Med Ther*. 2022;22(1):341.
- [14]Men X, Han X, La IJ, et al. Ameliorative Effects of Fermented Red Ginseng Extract on Muscle Atrophy in Dexamethasone-Induced C2C12 Cell And Hind Limb-Immobilized C57BL/6J Mice. *J Med Food*. 2024;27(10):951-960.
- [15]Pan Y, Song D, Zhou W, Lu X, Wang H, Li Z. Baicalin inhibits C2C12 myoblast apoptosis and prevents against skeletal muscle injury. *Mol Med Rep*. 2019;20(1):709-718.
- [16]Kim C, Hwang JK. Flavonoids: nutraceutical potential for counteracting muscle atrophy. *Food Sci Biotechnol*. 2020;29(12):1619-1640.
- [17]宁博彪,李宝花,郝淑兰,等.加味补中益气汤治疗非小细胞肺癌术后脾气虚弱型癌因性疲乏的临床研究[J].时珍国医国药,2020,31(11):2685-2688.
- Ning BB, Li BH, Hao SL, et al. Clinical Study on Modified Bu Zhong Yi Qi Tang for Postoperative Qi Deficiency Type Cancer-Related Fatigue in Non-Small Cell Lung Cancer[J]. *Shi Zhen National Medicine*.2020,31(11):2685-2688.
- [18]Okugawa Y, Kitajima T, Yamamoto A, et al. Clinical Relevance of Myopenia and Myosteatorsis in Colorectal Cancer. *J Clin Med*. 2022;11(9):2617.
- [19]Trejo-Avila M, Bozada-Gutiérrez K, Valenzuela-Salazar C, Herrera-Esquivel J, Moreno-Portillo M. Sarcopenia predicts worse postoperative outcomes and decreased survival rates in patients with colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Colorectal Dis*. 2021;36(6):1077-1096.
- [20]Chen H, Xu C, Zhang F, Liu Y, Guo Y, Yao Q. The gut microbiota attenuates muscle wasting by regulating energy metabolism in chemotherapy-induced malnutrition rats. *Cancer Chemother*

Pharmacol. 2020;85(6):1049-1062.

[21]Van Soom T, El Bakkali S, Gebruers N, Verbelen H, Tjalma W, van Breda E. The effects of chemotherapy on energy metabolic aspects in cancer patients: A systematic review. *Clin Nutr*. 2020;39(6):1863-1877.

[22]Mallard J, Hucteau E, Bender L, et al. A single chemotherapy administration induces muscle atrophy, mitochondrial alterations and apoptosis in breast cancer patients. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2024;15(1):292-305.

[23]Langer HT, Rohm M, Goncalves MD, Sylow L. AMPK as a mediator of tissue preservation: time for a shift in dogma?. *Nat Rev Endocrinol*. 2024;20(9):526-540.

[24]Zhu N, Han M. Roles of adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) in the kidney. *Chin Med J (Engl)*. 2022;135(4):488-490.

[25]Yang Q, Sun K, Gao T, et al. SIRT1 silencing promotes EMT and Crizotinib resistance by regulating autophagy through AMPK/mTOR/S6K signaling pathway in EML4-ALK L1196M and EML4-ALK G1202R mutant non-small cell lung cancer cells. *Mol Carcinog*. 2024;63(11):2133-2144.

[26]Majeed Y, Halabi N, Madani AY, et al. SIRT1 promotes lipid metabolism and mitochondrial biogenesis in adipocytes and coordinates adipogenesis by targeting key enzymatic pathways. *Sci Rep*. 2021;11(1):8177.

[27]Bruno G, Pietrafesa M, Crispo F, et al. TRAP1 modulates mitochondrial biogenesis via PGC-1 $\alpha$ /TFAM signalling pathway in colorectal cancer cells. *J Mol Med (Berl)*. 2024;102(10):1285-1296.

[28]Qian L, Zhu Y, Deng C, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 (PGC-1) family in physiological and pathophysiological process and diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2024;9(1):50.

[29]Olguín HC. The Gentle Side of the UPS: Ubiquitin-Proteasome System and the Regulation of the Myogenic Program. *Front Cell Dev Biol*. 2022;9:821839.

[30]Nakagawara K, Takeuchi C, Ishige K. 5'-CMP and 5'-UMP promote myogenic differentiation and mitochondrial biogenesis by activating myogenin and PGC-1 $\alpha$  in a mouse myoblast C2C12 cell line. *Biochem Biophys Rep*. 2022;31:101309.