

信号蛋白 3A 有望成为骨骼肌损伤修复的新靶点

<https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.3141>

李上^{1,2,3}, 黄骧^{1,2,3}, 陈铭^{1,2,3}, 雷明星^{2,3}, 程实⁴, 张里程^{2,3}, 尹鹏滨^{2,3}, 唐佩福^{2,3}

2095-4344.3141

投稿日期: 2020-06-10

送审日期: 2020-06-16

采用日期: 2020-07-29

在线日期: 2020-10-21

中图分类号:

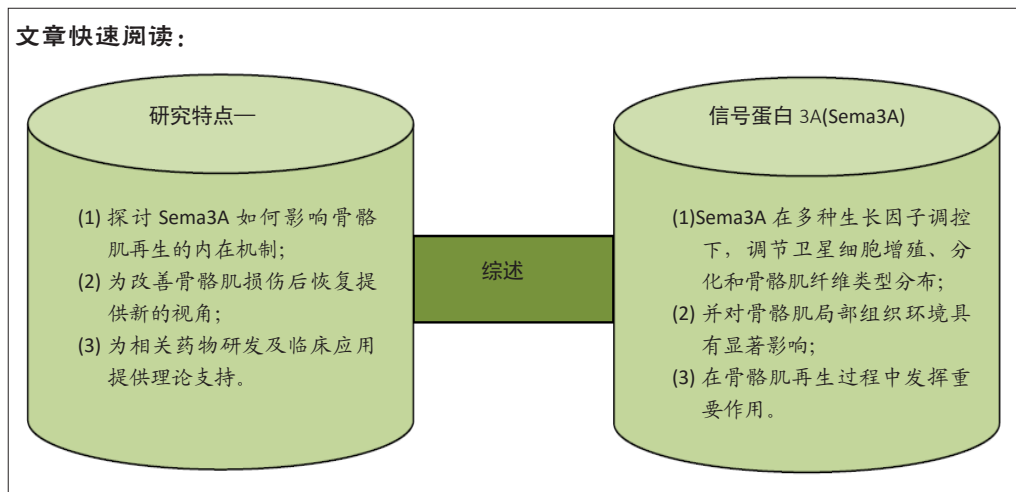
R446; R496; R318

文章编号:

2095-4344(2021)20-03232-07

文献标识码: A

文章快速阅读:



文题释义:

Sema3A: 即信号蛋白3A(Semaphorin3A), 是信号蛋白家族成员之一, 主要通过调控细胞功能和形态的调控发挥轴突导向作用, 同时是机体多个器官生长发育过程中不可或缺的关键因子, 且在许多疾病的发生及病程进展中发挥重要作用。

卫星细胞: 是位于肌纤维膜与基底膜之间具有自我更新能力的异质性干细胞群体, 具有增殖及分化潜能, 正常生理条件下多保持静息状态。当骨骼肌损伤等情况发生时, 卫星细胞被大量激活并开始增殖、分化, 并迁移至损伤部位, 使受损骨骼肌恢复结构和功能。

摘要

背景: 近期研究表明, 在骨骼肌损伤后信号蛋白3A表达显著升高, 可能是参与损伤修复过程的关键因子。

目的: 从信号蛋白3A的结构、骨骼肌再生机制及其损伤后信号蛋白3A的表达调控特征出发, 重点围绕信号蛋白3A对骨骼肌干细胞功能、肌纤维类型分布和局部生物环境再生的影响进行综述。

方法: 通过计算机以“信号蛋白3A, 骨骼肌损伤, 卫星细胞, 肌纤维类型; Sema3A, skeletal muscle injury, satellite cell, muscle fiber type”为关键词, 检索1989至2019年在PubMed数据库及CNKI数据库中发表的相关文献, 剔除不具有代表性及与纳入标准不相符的文献, 最终保留64篇文献进行综述。

结果与结论: 骨骼肌损伤后, 卫星细胞的信号蛋白3A表达显著上调, 在多种生长因子调控下参与再生过程中多个环节, 精密调节卫星细胞的增殖及分化, 趋化特定骨骼肌干细胞群体迁移, 并调控肌纤维类型构成; 与此同时, 信号蛋白3A可显著调节骨组织重建, 并以时间及空间特异性的方式调控神经纤维及血管的再生, 改变损伤局部的血管通透性, 协调促进受损骨骼肌功能的恢复。信号蛋白3A有望成为改善骨骼肌损伤后修复的新治疗靶点。

关键词: 骨骼肌; 卫星细胞; 骨骼肌损伤; 肌纤维类型; 细胞因子; 蛋白; 综述

缩略语: 信号蛋白3A: Semaphorin3A, Sema3A

Semaphorin 3A is expected to be a new target for the repair of skeletal muscle injury

Li Shang^{1,2,3}, Huang Xiang^{1,2,3}, Chen Ming^{1,2,3}, Lei Mingxing^{2,3}, Cheng Shi⁴, Zhang Licheng^{2,3}, Yin Pengbin^{2,3}, Tang Peifu^{2,3}

¹Medical College of Chinese PLA, Beijing 100853, China; ²Department of Orthopedics, First Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China; ³National Orthopedics and Sports Rehabilitation Clinical Research Center, Beijing 100853, China; ⁴Department of Orthopedics, Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Li Shang, Master candidate, Physician, Medical College of Chinese PLA, Beijing 100853, China; Department of Orthopedics, First Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China; National Orthopedics and Sports Rehabilitation Clinical Research Center, Beijing 100853, China

¹解放军医学院, 北京市 100853; ²中国人民解放军总医院第一医学中心骨科, 北京市 100853; ³国家骨科与运动康复临床医学研究中心, 北京市 100853; ⁴哈尔滨医科大学附属第二医院骨科, 黑龙江省哈尔滨市 150086

第一作者: 李上, 男, 1993年生, 河北省秦皇岛市人, 汉族, 解放军医学院在读硕士, 医师, 主要从事骨骼与骨骼肌损伤修复有关研究。

通讯作者: 唐佩福, 博士, 教授, 中国人民解放军总医院第一医学中心骨科, 北京市 100853; 国家骨科与运动康复临床医学研究中心, 北京市 100853

<https://orcid.org/0000-0002-8352-3469> (李上)

基金资助: 国家自然科学基金(81972102, 81772369), 项目负责人: 唐佩福; 国家自然科学基金(91972115), 项目负责人: 张里程

引用本文: 李上, 黄骧, 陈铭, 雷明星, 程实, 张里程, 尹鹏滨, 唐佩福. 信号蛋白 3A 有望成为骨骼肌损伤修复的新靶点[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(20):3232-3238.



Corresponding author: Tang Peifu, MD, Professor, Department of Orthopedics, First Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China; National Orthopedics and Sports Rehabilitation Clinical Research Center, Beijing 100853, China

Abstract

BACKGROUND: Recent studies have shown that the expression of Semaphorin 3A (Sema3A) has significantly up-regulated after skeletal muscle injury, which may be a key factor involved in the recovery process.

OBJECTIVE: To review the effect of Sema3A on skeletal muscle stem cell function, muscle fiber type distribution and regeneration in local biological environment, based on the structure of Sema3A, the mechanism of skeletal muscle regeneration and the characteristics of Sema3A regulation after skeletal muscle injury.

METHODS: A computer-based retrieval of PubMed and CNKI databases was conducted for the articles published from 1989 to 2019 using the search terms of “Sema3A, skeletal muscle injury, satellite cell, muscle fiber type” in Chinese and English, respectively. The unrepresentative and ineligible articles were excluded, and finally 64 eligible articles were included for analysis and summary.

RESULTS AND CONCLUSION: The expression of Sema3A is significantly up-regulated after skeletal muscle injury, and it is involved in multiple links of the regeneration process under the regulation of multiple growth factors. Sema3A can precisely regulate the proliferation and differentiation of satellite cells, act as a chemotaxis factor within the migration of specific muscle stem cell population, and regulate the composition of muscle fiber types. Meanwhile, Sema3A can significantly regulate bone remodeling, and regulate the regeneration of nerve fibers and blood vessels in a time- and space-specific manner, change the vascular permeability of the damaged area, and promote the regain of skeletal muscles contractile function. Thus Sema3A can be expected to be a new therapeutic target for the post-injury muscle recovery.

Key words: skeletal muscle; satellite cell; skeletal muscle injury; muscle fiber type; cytokine; protein; review

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81972102 and 81772369 (both to TPF) and No. 91972115 (to ZLC)

How to cite this article: LI S, HUANG X, CHEN M, LEI MX, CHENG S, ZHANG LC, YIN PB, TANG PF. Semaphorin 3A is expected to be a new target for the repair of skeletal muscle injury. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2021;25(20):3232-3238.

0 引言 Introduction

骨骼肌约占人体质量的40%，主要由肌纤维、神经纤维、血管组织和结缔组织构成，承担机体运动、呼吸和姿势维持等功能，是机体运动功能的最直接的发动器官，易受损伤^[1]。骨骼肌损伤后的修复主要依赖于骨骼肌干细胞，其中卫星细胞是骨骼肌组织中主要的肌源性前体细胞，其自我更新、增殖和分化在骨骼肌生长发育、损伤修复中发挥至关重要的作用^[2]。当骨骼肌发生损伤时，局部卫星细胞增殖并逐阶分化为成熟肌细胞，修复受损肌纤维，随着损伤后期肌内神经、血管等组织对骨骼肌的再支配建立，骨骼肌运动功能恢复。当骨骼肌再生障碍时，可发生骨骼肌纤维化、骨骼肌脂肪沉积和骨骼肌异位骨化等一系列病理改变，严重损害机体功能并降低患者生活质量，造成巨大的社会经济负担及劳动力损失^[3-4]。因此，明确骨骼肌损伤修复机制，改善骨骼肌的损伤后再生具有重要意义。

信号蛋白3A(Semaphorin3A, Sema3A)是受到研究者广泛关注的信号蛋白之一，其最初被发现可诱导细胞骨架的解聚，从而发挥对神经轴突生长的排斥作用^[5]。此后陆续有研究表明，Sema3A在机体生长发育、免疫调节及多种疾病的病程发展中扮演重要角色，遗传性Sema3A缺失的患者可发生多器官系统的发育障碍甚至存活能力下降^[6]。Sema3A可在机体众多组织中上调表达相应损伤信号，并调控损伤后修复过程^[7]；成肌细胞分泌的Sema3A在体外可抑制单核细胞增殖，还有研究显示Sema3A可提高局部组织的血管通透性，进而影响损伤组织的修复^[8-10]；作为骨保护因子，Sema3A可调控骨的自稳态，并在骨创伤后显著促进骨组织再生^[11]；Sema3A还可改善心肌梗死后梗死边缘区心肌的心电重构，减少心律失常的发生^[12]。

研究表明，卫星细胞的Sema3A表达及分泌水平在骨骼肌损伤后显著升高，调控卫星细胞再生及骨骼肌纤维类型分布，并对骨骼、血管、神经纤维等与骨骼肌功能密切相关组织具有调控作用^[13]，或有潜力成为促进骨骼肌再生、调节神

经肌电活动、改善肌骨运动系统损伤后功能恢复的重要干预靶点。文章对Sema3A与骨骼肌损伤修复之间的联系进行综述，旨在总结Sema3A调控骨骼肌损伤后结构及功能恢复的潜在机制，为进一步探究Sema3A与骨骼肌再生修复的基础研究与临床诊治提供参考。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 第一作者通过计算机以“信号蛋白3A，骨骼肌损伤，卫星细胞，肌纤维类型；Sema3A, skeletal muscle injury, satellite cell, muscle fiber type”为关键词，检索1989至2019年在PubMed数据库及CNKI数据库中发表的相关文献。

1.2 纳入标准 ①有关Sema3A结构、生理功能及其受体通路的文献；②有关骨骼肌再生机制的文献；③有关Sema3A与骨骼肌发育及再生的文献。

1.3 排除标准 ①研究内容与主题不符的文献；②重复性研究文献。

1.4 资料提取与文献质量评价 通过阅读文题和摘要进行初步筛选后通读全文，根据纳入标准和排除标准，最终纳入64篇文献进行综述。文献检索流程见图1。

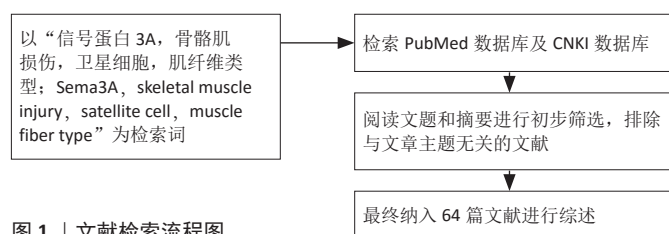


图1 | 文献检索流程图

2 结果 Results

2.1 Sema3A的结构及其受体 Sema3A是信号蛋白家族中的第三类成员之一，是脊椎动物特有的分泌型信号蛋白，其氨基末端均含有约500个氨基酸残基组成的发挥主要生物学功

能的胞外保守序列——SEMA 结构域^[14]。此外, Sema3A 还含有免疫球蛋白样 (immunoglobulin-like, Ig) 结构域, 富含半胱氨酸的丛状蛋白-信号蛋白-整联蛋白结构域及羧基末端等氨基酸序列等^[14]。

Sema3A 能够与神经纤毛蛋白 (neuropilin, Nrp) 和丛状蛋白组成的共刺激复合受体结合, 通过与不同的神经纤毛蛋白和丛状蛋白组合成的受体复合物结合, Sema3A 可介导多种不同的生理过程^[15]。神经纤毛蛋白家族包含神经纤毛蛋白 1、神经纤毛蛋白 2 两名成员, 两者具有相似的蛋白结构。神经纤毛蛋白的胞外区与跨膜区主要介导神经纤毛蛋白与 SEMA 结构域、血管内皮生长因子及丛状蛋白的结合, 并促进神经纤毛蛋白二聚体形成。胞内区连接胞外信号并通过其末端氨基酸残基构成的丝氨酸-谷氨酸-丙氨酸 (SEA) 序列转导胞内信号^[16]。丛状蛋白根据其结构特性分为 4 个亚组 (A, B, C, D), 其胞外氨基末端是与信号蛋白结合的 SEMA 结构域, 与之相邻的是 3 个丛状蛋白-信号蛋白-整联蛋白结构域和 3 个免疫球蛋白-丛状蛋白-转录因子结构域; 在其胞内结构中含有 2 个 GTP 酶激活蛋白结构域^[17]。

2.2 Sema3A 调控骨骼肌再生的作用机制 2009 年, TATSUMI 等^[18]发现成年大鼠下肢的卫星细胞在早期分化阶段上调 Sema3A 表达; HENNINGSSEN 等^[19]使用 C2C12 成肌细胞也观察到类似结果。骨骼肌在发生机械损伤后可见 Sema3A 表达显著升高^[18], 为降低骨骼肌内神经及血管等组织在相应受损后 Sema3A 表达改变对观察结果的影响, 有研究者使用蛇毒细胞毒素损伤小鼠下肢肌肉组织后同样观察到 Sema3A 在卫星细胞的表达显著上升^[20-21]。这些发现提示, Sema3A 与卫星细胞、骨骼肌损伤之间存在紧密联系。WOKKE 等^[22]在对人肋间外肌的研究中观察到, 卫星细胞计数在神经肌肉接头处升高约 20 倍; 另有文献表明, 超过 80% 的卫星细胞集中于毛细血管 21 μm 范围内^[23], 这提示卫星细胞与肌内神经、血管网络与之间存在密切联系, 近年来对 Sema3A 的研究进一步印证了这一观点。

2.2.1 Sema3A 对卫星细胞增殖与分化的调控 卫星细胞是具有自我更新能力的异质性干细胞群体, 正常生理条件下多保持静息状态, 仅维持必需的细胞自我更新。骨骼肌发生损伤时静息的卫星细胞被激活, 在多种调控机制的协调下增殖、迁移至损伤部位并进一步分化为成肌细胞。成肌细胞可与受损部位的肌细胞融合形成肌管进而组装为新的多核肌纤维^[24]。研究表明, 骨骼肌具有活跃的分泌功能并以自分泌、旁分泌及内分泌等形式调控机体许多生理过程^[25], 而卫星细胞位于肌纤维膜与基底膜之间, 其再生能力与贮存微环境的稳态受到骨骼肌分泌因子的直接调控^[26]。现今, 骨骼肌分泌因子对骨骼肌再生修复的影响, 特别是对卫星细胞的精细调控机制正受到广泛关注^[27], 明确 Sema3A 作为自分泌因子如何影响卫星细胞的生物学行为与功能具有重要意义。

Sema3A 可促进卫星细胞增殖。在卫星细胞来源的成肌细胞中使用 Sema3A-siRNA 转染以降低 Sema3A 表达后, 可观察

到细胞 Pax7 和 Myf5 的转录和分泌水平显著降低, 且细胞增殖水平显著低于对照组; 相应的, 成肌细胞过表达 Sema3A 则出现 Pax7、Myf5 的表达升高, 成肌细胞的增殖水平提高, 但肌细胞分化标记 MyoD 的表达和分泌水平在细胞进入分化阶段前未表现出统计学差异^[28]。有研究显示, Pax7 可通过与 Myf5 的启动子结合以激活其表达^[29], Sema3A 或在通过 Pax7 调节卫星细胞增殖能力的同时, 间接影响 Myf5 表达, 进而调控卫星细胞再生^[30]。

卫星细胞的自我更新、增殖和分化间的平衡对于骨骼肌再生同样至关重要, 卫星细胞若过度增殖而分化受到抑制将损害成熟肌纤维再生, 而反之则可造成卫星细胞池“枯竭”同样使修复受损^[31]。尚未激活的静息卫星细胞通常处于高度极化状态, 其在肌纤维侧与基底膜侧分别具有不同的蛋白表达模式^[32], 卫星细胞两侧的基底膜和肌纤维膜的分泌模式也有所不同, 从而进一步以极性微环境的形式参与形成卫星细胞内部的微环境^[33]。基于上述结构基础, 卫星细胞的分裂模式可在对称分裂或不对称分裂之间进行变化, 卫星细胞的自我更新与分化得以维持协调, 从而支持其完整的损伤修复功能^[34]。

Sema3A 对成肌细胞分化具有调控作用。成肌细胞转染 Sema3A-siRNA 后, 实验组内增殖细胞 (Pax7⁺/MyoD⁺) 显著少于对照组, 且分化细胞 (Pax7⁺/MyoD⁺) 出现早于对照组; 72 h 后成肌细胞逐渐融合, 实验组中分化细胞占比低于对照组, MyoD⁺ 细胞和肌球蛋白重链 (myosin heavy chain, MyHC) 表达均较对照组减少, 在 72 h 的观察中自我更新细胞 (Pax7⁺/MyoD⁻) 所占组分未见明显变化^[28]。依据上述实验结果, Sema3A 低表达削弱了成肌细胞分化能力, 但上述现象同样可能由于 Pax7 表达随 Sema3A 的下调而减少, 使卫星细胞自我更新及增殖受损, 成肌细胞提前进入分化阶段, 从而导致“卫星细胞池”存量不足, 最终表现为卫星细胞修复骨骼肌损伤能力下降。

卫星细胞在 Sema3A-siRNA 转染后的再生过程中出现大量胞核及胞质显著增大的 Pax7⁺/MyoD⁻ 细胞表型, 这在对照组中始终未曾出现^[28], 或与细胞衰老有关。既往研究提示, 处于衰老状态的细胞通常具有增大的细胞核和细胞质区域, 而“衰老细胞”较正常细胞的功能有显著差异^[35]; Sema3A 的表达及分泌随年龄增长而升高, 且这一增龄性改变已被发现与骨骼、中枢神经等组织的疾病病程中存在密切联系^[36-37]。Sema3A 的表达是否可以减少或逆转 Pax7⁺/MyoD⁻ 表型卫星细胞的出现, 此表型卫星细胞的细胞命运和表型特征及其与 Sema3A 之间的联系值得进一步探索。

2.2.2 Sema3A 对肌纤维类型的调控作用 骨骼肌纤维类型的构成与骨骼肌的收缩功能、代谢特征、抗疲劳等特性和疾病易感程度密切相关, 不同肌纤维类型的特化和其生理特性支持着其生物学功能的发挥^[38]。骨骼肌损伤后, 特定肌群再生的纤维类型分布是否与其承担的收缩及代谢等特性相适应, 对于骨骼肌功能恢复的程度至关重要^[13]。

研究表明, Sema3A 促进 I 型肌纤维合成, 并发挥抑制 II 型肌纤维合成作用。在体内实验中, 卫星细胞 Sema3A 特异性敲除的成年小鼠下肢骨骼肌被蛇毒细胞毒素损伤后, 于再生修复的腓肠肌中观察到 I 型肌纤维所占比例、I 型 MyHC 及肌红蛋白表达显著减少, II b 型肌纤维所占比例及 II b 型 MyHC 表达显著升高, 且肌管平均直径高于对照组, 再生的骨骼肌具有更大的最大收缩力, 但收缩耐受能力下降^[39]。体外细胞实验使用 Sema3A-siRNA 转染分化阶段的成肌细胞后观察到 MyHC 的表达总量及成肌细胞融合指数均未见显著差异, 但其中 I 型 MyHC 的表达下调并伴有融合指数下降, 相反 II a、II x 型 MyHC 表达增加并伴有融合指数上升, 肌管平均直径增加, II b 型 MyHC 未见显著差异^[39]。

肌细胞生成素是介导 Sema3A 调控肌纤维类型分布的重要下游因子。肌细胞生成素对于 I 型肌纤维的合成十分重要, 在体内、外实验中从比目鱼肌(以氧化型慢肌纤维为主)分离获取的卫星细胞比趾长伸肌(以酵解型快肌纤维为主)来源的卫星细胞具有更高的肌细胞生成素表达^[40-41]。对从趾长伸肌及比目鱼肌中获取的卫星细胞在早期分化阶段分别给予外源性成纤维细胞生长因子 2 或肝细胞生长因子处理后, 比目鱼肌来源的卫星细胞呈现更高的 Sema3A 表达及分泌水平^[42]。外源性给予 Sema3A 可上调卫星细胞肌细胞生成素表达, 而使用 Sema3A-siRNA 转染细胞后, 肌细胞生成素表达则随 Sema3A 减少而下降^[39, 42]。值得注意的是, 单独抑制肌细胞生成素表达只出现 I 型 MyHC 表达下降, 但并不伴有 II 型 MyHC 表达的上升, 这表明或存在其他通路介导 Sema3A 对肌纤维类型的调控。通过 siRNA 转染进一步分别明确了受体通路功能, 结果表明: 神经纤毛蛋白 2- 丛状蛋白 A3 受体通路主要介导了 Sema3A 对骨骼肌类型分布的主要调控功能, 而神经纤毛蛋白 1、丛状蛋白 A1、丛状蛋白 A2 或构成拮抗其主要功能的受体通路^[39]。

最新研究发现, Sema3A 可抑制扭曲蛋白 2 阳性(Twist²⁺, Tw2⁺)骨骼肌前体细胞与 I、II a 型肌纤维融合, 间接调控肌纤维类型的构成。不同于 Pax7⁺ 卫星细胞存贮于肌纤维膜与基底膜之间, Tw2⁺ 骨骼肌前体细胞常贮于肌纤维基底膜外间质, 是一类可与 II b、II x 型肌纤维融合的特异性前体细胞^[43]。Li 等^[44]发现相比于 Pax7⁺ 卫星细胞, 转录因子 Twist2 可提高 Sema3A 受体神经纤毛蛋白 1 的表达, 且 Sema3A 在 I、II a 型肌纤维具有较高表达。在条带迁移实验及多种转基因条件下的细胞融合实验中, Sema3A 作为排斥因子使 Tw2⁺ 骨骼肌前体细胞无法成为再生来源与 I、II a 型肌纤维相融合, 而由于 II b 型肌纤维缺少 Sema3A 表达故 Tw2⁺ 细胞可特异性补充至 II b 型肌纤维^[44]。以上现象的发现使 Sema3A 在骨骼肌再生过程中发挥了类似于其在神经系统中所为人熟知的排斥效应。这一趋化作用主要由 Sema3A-Nrp1 受体途径介导实现, 而在此过程中丛状蛋白等共受体如何参与这一生理现象目前尚未明确。既往研究表明, 成人比目鱼肌通常比胫骨

前肌或趾长伸肌贮有更多的卫星细胞数量, 且在同一肌肉中 I 型肌纤维常较 II 型肌纤维有更多附着的卫星细胞; 在机体衰老时骨骼肌的 II b 型纤维可发生特异性萎缩、I 型肌纤维所占比例增加^[22, 26]。这些差异反映了卫星细胞在不同肌纤维上的内在异质性, 这是否同 Sema3A 的增龄性变化及 Tw2⁺ 骨骼肌前体细胞针对特异性纤维类型的补充存在直接联系值得进一步探究。

2.2.3 Sema3A 对骨骼肌损伤局部组织环境再生的调控 骨骼肌损伤常伴随局部骨骼、神经纤维及血管的损伤, 其整体再生水平最终决定骨骼肌收缩及代谢等功能的恢复, 现已有许多研究通过组织工程学手段将神经及血管组织内组分与骨骼肌再生相结合进行探索^[45]。研究表明 Sema3A 对骨、血管及神经纤维等组织的功能和再生同样具有显著的调控能力。

骨骼肌附着于骨骼, 两者共同组成了机体运动系统的主要部分。骨组织存在由破骨细胞及成骨细胞维持的骨吸收与骨形成的之间动态平衡, 并藉此保持其质量和功能的稳定^[46]。Sema3A 可与破骨前体细胞膜上神经纤毛蛋白 1 结合, 抑制核因子 κ B 受体活化因子配体通路下游分子的激活, 进而抑制破骨细胞分化, 此外 Sema3A 与神经纤毛蛋白 1 结合可抑制巨噬细胞集落刺激因子对骨髓源性破骨前体细胞迁移的趋化作用, 减少骨质破坏^[47]。Sema3A 也可通过与成骨细胞神经纤毛蛋白 1 结合后上调 Rac1 的表达, 促进使 β 连环蛋白在胞核内聚集, 从而促进成骨细胞分化, 促进骨形成^[48]; 与此同时, Sema3A 可通过调节骨内感觉神经的分布间接影响骨质平衡, 发挥骨保护作用^[49]。Sema3A 表达在骨骼肌损伤早期的快速上调促进了骨组织重建, 这加强了骨骼肌再生的结构支撑, 从而促进机体运动功能的恢复。

骨骼肌内血管及神经纤维的结构与功能的完整对骨骼肌功能至关重要, 骨骼肌损伤后, Sema3A 以相似的模式调控神经纤维与肌内血管网络对再生骨骼肌的重新支配。运动神经末梢与再生肌纤维的突触后膜之间连接的重建在骨骼肌功能恢复中不可或缺, 卫星细胞的 Sema3A 分泌水平在损伤早期上调, 作为轴突排斥因子延迟神经纤维末端对损伤肌纤维的支配, 而在损伤修复后期转化生长因子 β 下调 Sema3A 的表达, 或可促使运动神经生长并诱导其重新附着至再生肌纤维^[13, 50]; 相似的是, Sema3A 可通过抑制血管内皮整合素活性、作用于血管内皮生长因子受体或抑制血管内皮生长因子 165 与神经纤毛蛋白 1 相结合等多种方式, 使血管内皮细胞增殖、迁移和存活受损, 抑制血管生成, 而当 Sema3A 表达下调时, 其对血管再生的抑制作用被解除^[51]。骨骼肌损伤后血管及神经纤维短暂的再生延迟可能削弱了早期修复阶段骨骼肌运动功能的恢复, 但或可在损伤局部带来潜在的“制动”效应, 从而降低了早期修复过程中局部能量消耗, 减少了结构恢复尚不完整时骨骼肌剧烈收缩可能造成的二次损伤。且另有研究表明, 在骨骼肌损伤早期给予血管内皮生长因子局部治疗可促进肌内血管重建, 但多为无法支持骨骼肌功能恢复的“随机血管”, 反而限制骨骼肌修复^[45]。在 Sema3A 表

达受调控的降低后,神经及血管组织对新生肌纤维的再支配可促进骨骼肌结构重建和代谢等功能的恢复。在骨骼肌修复过程中 Sema3A 以时间特异性方式精密调控局部血管与神经纤维的协调再支配,但机体内环境十分复杂, Sema3A 对骨骼肌损伤局部血管及神经再生的内在调节机制还需要进一步探索。

Sema3A 可通过上调血管内皮钙黏蛋白磷酸化以增加局部血管通透性^[9],从而协助炎细胞及循环祖细胞的募集^[45]。骨骼肌损伤后 M1、M2 型巨噬细胞和中性粒细胞等炎症细胞浸润损伤部位并贯穿骨骼肌再生全程,多种炎症细胞以时间特异性的方式参与坏死组织清除、卫星细胞的募集与激活并协调促进肌纤维再生^[52-53],但当前对于 Sema3A 如何调节骨骼肌损伤后炎细胞募集及巨噬细胞类型的转变尚不明确,对此的进一步探索可加深对 Sema3A 调控骨骼肌损伤后修复的理解。

2.3 Sema3A 表达受局部生长因子调控 骨骼肌中 Sema3A 的基础分泌使其具有协调肌内血管网络分布和骨骼肌神经支配的潜力,但在骨骼肌损伤后,卫星细胞的 Sema3A 表达水平在多种生长因子的调控下呈现时间特异性,这种特性对于骨骼肌损伤后的炎症反应、肌纤维再生、血管及神经网络再支配的协调具有重要作用。目前已经发现肝细胞生长因子、成纤维细胞生长因子 2 和转化生长因子 β 在骨骼肌损伤后再生过程中对 Sema3A 的表达发挥突出调控作用^[20]。

肝细胞生长因子由肝细胞、脾脏、巨噬细胞、卫星细胞等多种细胞分泌,在骨骼肌损伤后局部浓度显著升高。肝细胞生长因子可诱导静止的卫星细胞激活、促进卫星细胞增殖并抑制分化,对 C2C12 成肌细胞有趋化作用,是参与骨骼肌再生过程中的重要分子信号^[54]。研究发现,肝细胞生长因子以浓度依赖性和时间特异性的方式促进成肌细胞 Sema3A 表达和分泌,可达生理水平 8 倍;在卫星细胞培养中早期给予肝细胞生长因子处理并不影响 Sema3A 的表达,而在成肌细胞的早期分化阶段给予外源性肝细胞生长因子,可观察到 Sema3A 表达显著上调^[55-56]。

成纤维细胞生长因子 2 可促进骨骼肌增殖,现已广泛应用于肌细胞培养,研究发现成纤维细胞生长因子 2 在骨骼肌损伤后 2-8 d 分泌水平显著升高^[57]。成纤维细胞生长因子 2 上调卫星细胞的 Sema3A 表达和分泌也存在剂量与时间的依赖性,且与肝细胞生长因子处理得到的结果非常相似,但并未发现两者可协同促进 Sema3A 表达^[58]。目前研究显示,在卫星细胞培养中,除表皮生长因子可小幅提升 Sema3A 表达水平,胰岛素样生长因子 1、血小板衍生生长因子及转铁蛋白等对骨骼肌再生有促进作用的生长因子对 Sema3A 在卫星细胞的表达未见显著调节作用,这些结果更突出了肝细胞生长因子及成纤维细胞生长因子 2 在骨骼肌再生中的重要促进作用^[20]。

转化生长因子 $\beta 2$ 、转化生长因子 $\beta 3$ 可显著抑制 Sema3A 的表达。在模拟骨骼肌机械损伤的体内实验中,转化生长因子 $\beta 3$ 的分泌水平在骨骼肌损伤 12 d 后升高,并可下调

Sema3A 表达水平,进一步实验表明,在培养过程中分别加入转化生长因子 $\beta 2$ 、转化生长因子 $\beta 3$ 均可阻断肝细胞生长因子、成纤维细胞生长因子 2 对 Sema3A 表达的促进作用,对卫星细胞 Sema3A 表达具有强力抑制作用^[20]。上述生长因子在骨骼肌损伤后不同阶段的差异性表达,共同参与形成了 Sema3A 表达随时间变化的特征。

此外,体内实验表明骨骼肌损伤后 Sema3A 最高表达水平约为对照组的 16 倍,远高于肝细胞生长因子或成纤维细胞生长因子 2 处理组的升高水平(8 倍),这表明体内或有其他尚未发现的显著调节 Sema3A 表达的机制存在^[20, 59]。如前所述,血管内皮生长因子是一类可促进血管内皮细胞增殖及迁移等作用的生长因子,也是促进骨骼肌内血管生成的介导因子之一^[60],与 Sema3A 存在密切联系。现如今,骨骼肌微血管、血管内皮生长因子和卫星细胞间的密切联系正在不断被发现^[61],然而血管内皮生长因子对于卫星细胞 Sema3A 的表达是否存在调节,其是否作为竞争性配体与 Sema3A 共同协调骨骼肌发育及再生尚不明确。

3 总结与展望 Conclusions and prospects

骨骼肌广泛参与机体运动和能量代谢,其结构和功能的完整对机体功能至关重要。骨骼肌易受损伤,修复过程中肌纤维、骨骼、神经及血管的再生和炎细胞浸润等生理过程在时间和空间上存在精密协调,当骨骼肌再生障碍时将严重损害机体功能,降低患者生活质量。当前用于改善损伤骨骼肌再生的治疗手段多为物理治疗、非类固醇抗炎药物及外科手术治疗等,尚缺乏有效的分子治疗靶点^[62]。现有研究初步探索了骨骼肌再生过程中 Sema3A 的自分泌作用机制。骨骼肌损伤后, Sema3A 在多种生长因子调控下参与再生过程中多个环节,精密调节卫星细胞的增殖及分化,趋化特定骨骼肌干细胞群体迁移,并调控肌纤维类型构成;与此同时, Sema3A 可显著调节骨组织重建,并以时间及空间特异性的方式调控神经纤维及血管的再生,改变损伤局部的血管通透性,协调促进受损骨骼肌功能的恢复(图 2)。

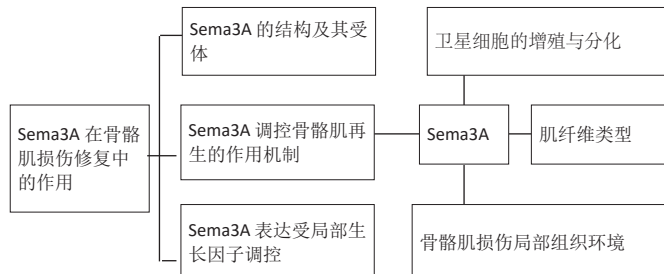


图 2 | Sema3A 在骨骼肌损伤修复中的作用机制

Sema3A 有望成为改善骨骼肌损伤后修复的新治疗靶点,当前针对 Sema3A 的临床药物设计正受到许多研究者的密切关注^[63]。进一步明确 Sema3A 及其受体在骨骼肌再生过程中的表达特征和对骨骼肌再生的调控机制,可为促进骨骼肌损伤后修复的药物研究及干细胞治疗等手段提供新的视角。值

得警惕的是, *Sema3A* 在许多肿瘤疾病的发生和侵袭中发挥复杂且重要的功能^[64], 因此进一步明确 *Sema3A* 与骨骼肌组织恶性疾病的发生及侵袭之间是否存在联系, 将为未来的药物安全性研究提供重要线索。

作者贡献: 文章设计为第一作者和通讯作者, 全体作者参与资料收集, 第一作者对资料进行归纳总结, 通讯作者审核。

经费支持: 该文章接受了“国家自然科学基金(81972102, 81772369, 91972115)”的资助。所有作者声明, 经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南: 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] TIELAND M, TROUWBORST I, CLARK BC. Skeletal muscle performance and ageing. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2018;9(1):3-19.
- [2] SCHMIDT M, SCHULER SC, HUTTNER SS, et al. Adult stem cells at work: regenerating skeletal muscle. *Cell Mol Life Sci*. 2019;76(13): 2559-2570.
- [3] DAVIES OG, YANG L, PLAYER DJ, et al. Defining the Balance between Regeneration and Pathological Ossification in Skeletal Muscle Following Traumatic Injury. *Front Physiol*. 2017;8:194.
- [4] QAZI TH, DUDA GN, ORT MJ, et al. Cell therapy to improve regeneration of skeletal muscle injuries. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2019;10(3):501-516.
- [5] YAMASHITA N. Retrograde signaling via axonal transport through signaling endosomes. *J Pharmacol Sci*. 2019;141(2):91-96.
- [6] HOFMANN K, ZWEIER M, STICHT H, et al. Biallelic SEMA3A defects cause a novel type of syndromic short stature. *Am J Med Genet A*. 2013;161A(11):2880-2889.
- [7] KANEMARU H, YAMADA Y, OHAZAMA A, et al. Semaphorin 3A Inhibits Nerve Regeneration During Early Stage after Inferior Alveolar Nerve Transection. *Sci Rep*. 2019;9(1):4245.
- [8] LIU LN, LI XM, YE DQ, et al. Emerging role of semaphorin-3A in autoimmune diseases. *Inflammopharmacology*. 2018;26(3):655-665.
- [9] ACEVEDO LM, BARRILLAS S, WEIS SM, et al. Semaphorin 3A suppresses VEGF-mediated angiogenesis yet acts as a vascular permeability factor. *Blood*. 2008;111(5):2674-2680.
- [10] LECOURT S, LEPELLETIER Y, VANNEAUX V, et al. Human Muscle Progenitor Cells Displayed Immunosuppressive Effect through Galectin-1 and Semaphorin-3A. *Stem Cells Int*. 2012;2012:412610.
- [11] HAYASHI M, NAKASHIMA T, TANIGUCHI M, et al. Osteoprotection by semaphorin 3A. *Nature*. 2012;485(7396):69-74.
- [12] WEN HZ, JIANG H, LI L, et al. Semaphorin 3A Attenuates Electrical Remodeling at Infarct Border Zones in Rats after Myocardial Infarction. *Tohoku J Exp Med*. 2011;225(1):51-57.
- [13] ANDERSON JE, DO MQ, DANESHVAR N, et al. The role of semaphorin3A in myogenic regeneration and the formation of functional neuromuscular junctions on new fibres. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2017;92(3):1389-1405.
- [14] JONGBLOETS BC, PASTERKAMP RJ. Semaphorin signalling during development. *Development*. 2014;141(17):3292-3297.
- [15] ROHM B, OTTEMEYER A, LOHRUM M, et al. Plexin/neuropilin complexes mediate repulsion by the axonal guidance signal semaphorin 3A. 2000;93(1):95-104.
- [16] GUO HF, VANDER KOOI CW. Neuropilin Functions as an Essential Cell Surface Receptor. *J Biol Chem*. 2015;290(49):29120-29126.
- [17] PASCOE HG, WANG Y, ZHANG X. Structural mechanisms of plexin signaling. *Prog Biophys Mol Biol*. 2015;118(3):161-168.
- [18] TATSUMI R, SANKODA Y, ANDERSON JE, et al. Possible implication of satellite cells in regenerative motoneuritogenesis: HGF upregulates neural chemorepellent Sema3A during myogenic differentiation. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2009;297(2):C238-252.
- [19] HENNINGSEN J, RIGBOLT K T, BLAGOEV B, et al. Dynamics of the skeletal muscle secretome during myoblast differentiation. *Mol Cell Proteomics*. 2010;9(11):2482-2496.
- [20] LEE AS, ANDERSON JE, JOYA JE, et al. Aged skeletal muscle retains the ability to fully regenerate functional architecture. *Bioarchitecture*. 2013;3(2):25-37.
- [21] SATO Y, DO MK, SUZUKI T, et al. Satellite cells produce neural chemorepellent semaphorin 3A upon muscle injury. *Anim Sci J*. 2013; 84(2):185-189.
- [22] WOKKE JH, VAN DEN OORD CJ, LEPPINK GJ, et al. Perisynaptic satellite cells in human external intercostal muscle: A quantitative and qualitative study. *Anat Rec*. 1989;223(2):174-180.
- [23] CHRISTOV C, CHRÉTIEN F, ABOU-KHALIL R, et al. Muscle satellite cells and endothelial cells: close neighbors and privileged partners. *Mol Biol Cell*. 2007;18(4):1397-1409.
- [24] WOSZCZYNA MN, RANDO TA. A Muscle Stem Cell Support Group: Coordinated Cellular Responses in Muscle Regeneration. *Developmental Cell*. 2018;46(2):135-143.
- [25] DAS DK, GRAHAM ZA, CARDOZO CP. Myokines in Skeletal Muscle Physiology and Metabolism: Recent Advances and Future Perspectives. *Acta Physiologica*. 2019;228(2):e13367.
- [26] YIN H, PRICE F, RUDNICKI MA. Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiol Rev*. 2013;93(1):23-67.
- [27] 张潜英. 调控骨骼肌干细胞功能的骨骼肌分泌因子的系统筛选 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2018.
- [28] QAHR M, TAKUMA Y, MIZUNOYA W, et al. Semaphorin 3A promotes activation of Pax7, Myf5, and MyoD through inhibition of eimerin expression in activated satellite cells. *FEBS Open Bio*. 2016;6(6): 529-539.
- [29] KAWABE Y, WANG YX, MCKINNELL IW, et al. *Carm1* regulates Pax7 transcriptional activity through MLL1/2 recruitment during asymmetric satellite stem cell divisions. *Cell Stem Cell*. 2012;11(3):333-345.
- [30] ASFOUR HA, ALLOUH MZ, SAID RS. Myogenic regulatory factors: The orchestrators of myogenesis after 30 years of discovery. *Exp Bio Med(Maywood)*. 2018;243(2):118-128.
- [31] SU Y, YU Y, LIU C, et al. Fate decision of satellite cell differentiation and self-renewal by miR-31-IL34 axis. *Cell Death Differ*. 2019;27(3):949-965.

Review

- [32] BENTZINGER CF, WANG YX, DUMONT NA, et al. Cellular dynamics in the muscle satellite cell niche. *EMBO Rep.* 2013;14(12):1062-1072.
- [33] KUANG S, GILLESPIE MA, RUDNICKI MA. Niche Regulation of Muscle Satellite Cell Self-Renewal and Differentiation. *Cell Stem Cell.* 2008;2(1):22-31.
- [34] KUANG S, KURODA K, LE GRAND F, et al. Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle. *Cell.* 2007;129(5):999-1010.
- [35] LEBRASSEUR NK, TCHKONIA T, KIRKLAND JL. Cellular Senescence and the Biology of Aging, Disease, and Frailty. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser.* 2015;83:11-18.
- [36] MIKIHITO, HAYASHI, TOMOKI, et al. Autoregulation of Osteocyte Sema3A Orchestrates Estrogen Action and Counteracts Bone Aging. *Cell Metab.* 2019;29(3):627-637.
- [37] KALINA V, ALEXANDER C, ZARINE K, et al. Semaphorin 3A Signaling Through Neuropilin-1 Is an Early Trigger for Distal Axonopathy in the SOD1G93A Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2014;73(7):702-713.
- [38] SCHIAFFINO S, REGGIANI C. Fiber Types in Mammalian Skeletal Muscles. *Physiological Reviews.* 2011;91(4):1447-1531.
- [39] TATSUMI R, SUZUKI T, DO MQ, et al. Slow-Myofiber Commitment by Semaphorin 3A Secreted from Myogenic Stem Cells. *Stem Cells.* 2017;35(7):1815-1834.
- [40] HUGHES SM, TAYLOR JM, TAPSCOTT SJ, et al. Selective accumulation of MyoD and Myogenin mRNA in fast and slow adult skeletal muscle is controlled by innervation and hormones. *Development.* 1993;118(4):1137-1147.
- [41] LAGORD C, SOULET L, BONAUAUD S, et al. Differential myogenicity of satellite cells isolated from extensor digitorum longus (EDL) and soleus rat muscles revealed in vitro. *Cell Tissue Res.* 1998;291(3):455-468.
- [42] SUZUKI T, DO MK, SATO Y, et al. Comparative analysis of semaphorin 3A in soleus and EDL muscle satellite cells in vitro toward understanding its role in modulating myogenin expression. *Int J Biochem Cell Biol.* 2013;45(2):476-482.
- [43] LIU N, GARRY GA, LI S, et al. A Twist2-dependent progenitor cell contributes to adult skeletal muscle. *Nature Cell Biology.* 2017;19(3):202-213.
- [44] LI S, KARRI D, SANCHEZ-ORTIZ E, et al. Sema3a-Nrp1 Signaling Mediates Fast-Twitch Myofiber Specificity of Tw2(+) Cells. *Dev Cell.* 2019;51(1):89-98 e4.
- [45] TURNER NJ, BADYLAK SF. Regeneration of skeletal muscle. *Cell Tissue Res.* 2012;347(3):759-774.
- [46] YIN P, LV H, ZHANG L, et al. Semaphorin 3A: A Potential Target for Low Back Pain. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr. Front Aging Neurosci.* 2015;7:216.
- [47] 尹鹏滨, 唐佩福, 张里程, 等. 信号素 3A 在骨自稳态与骨重塑中的作用 [J]. *解放军医学院学报*, 2014,35(12):1272-1274.
- [48] ZHANG L, ZHANG L, MAO Z, et al. Semaphorin 3A: an association between traumatic brain injury and enhanced osteogenesis. *Med Hypotheses.* 2013;81(4):713-714.
- [49] FUKUDA T, TAKEDA S, XU R, et al. Sema3A regulates bone-mass accrual through sensory innervations. *Nature.* 2013;497(7450):490-493.
- [50] MCLOON LK. A new role for satellite cells: control of reinnervation after muscle injury by semaphorin 3A. Focus on "Possible implication of satellite cells in regenerative motoneurogenesis: HGF upregulates neural chemorepellent Sema3A during myogenic differentiation". *Am J Physiol Cell Physiol.* 2009;297(2):C227-230.
- [51] WU JH, ZHOU YF, HONG CD, et al. Semaphorin-3A protects against neointimal hyperplasia after vascular injury. *EBioMedicine.* 2019;39:95-108.
- [52] CHEN B, SHAN T. The role of satellite and other functional cell types in muscle repair and regeneration. *J Muscle Res Cell Motil.* 2019;40(1):1-8.
- [53] YANG W, HU P. Skeletal muscle regeneration is modulated by inflammation. *J Orthop Translat.* 2018;13:25-32.
- [54] ANDERSON JE. Hepatocyte Growth Factor and Satellite Cell Activation. *Adv Exp Med Biol.* 2016;900:1-25.
- [55] SAKAGUCHI S, SHONO J, SUZUKI T, et al. Implication of anti-inflammatory macrophages in regenerative moto-neurogenesis: promotion of myoblast migration and neural chemorepellent semaphorin 3A expression in injured muscle. *Int J Biochem Cell Biol.* 2014;54:272-285.
- [56] SAWANO S, SUZUKI T, DO MK, et al. Supplementary immunocytochemistry of hepatocyte growth factor production in activated macrophages early in muscle regeneration. *Anim Sci J.* 2014;85(12):994-1000.
- [57] SYVERUD BC, VANDUSEN KW, LARKIN LM. Growth Factors for Skeletal Muscle Tissue Engineering. *Cells Tissues Organs.* 2016;202(3-4):169-179.
- [58] DO MK, SUZUKI T, GERELT B, et al. Time-coordinated prevalence of extracellular HGF, FGF2 and TGF-beta3 in crush-injured skeletal muscle. *Anim Sci J.* 2012;83(10):712-717.
- [59] DO MK, SATO Y, SHIMIZU N, et al. Growth factor regulation of neural chemorepellent Sema3A expression in satellite cell cultures. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2011;301(5):C1270-1279.
- [60] RP R, RM J, CR R, et al. Satellite cell-mediated angiogenesis in vitro coincides with a functional hypoxia-inducible factor pathway. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2009;296(6):C1321-1328.
- [61] VERMA M, ASAKURA Y, MURAKONDA BSR, et al. Muscle Satellite Cell Cross-Talk with a Vascular Niche Maintains Quiescence via VEGF and Notch Signaling. *Cell Stem Cell.* 2018;23(4):530-543 e9.
- [62] DUCHESNE E, DUFRESNE SS, DUMONT NA. Impact of Inflammation and Anti-inflammatory Modalities on Skeletal Muscle Healing: From Fundamental Research to the Clinic. *Phys Ther.* 2017;97(8):807-817.
- [63] MEYER LA, FRITZ J, PIERDANT-MANCERA M, et al. Current drug design to target the Semaphorin/Neuropilin/Plexin complexes. *Cell Adh Migr.* 2016;10(6):700-708.
- [64] NEUFELD G, MUMBLAT Y, SMOLKIN T, et al. The semaphorins and their receptors as modulators of tumor progression. *Drug Resist Updat.* 2016;29:1-12.

(责任编辑: WZH, ZN, TXY)