

综述

m⁶A修饰在骨骼肌生成中的作用及骨骼肌损伤再生的中医疗法

郝羚伦, 彭梦薇, 陈玉龙, 刘燕, 吴耀松*

(河南中医药大学中医科学院, 河南省中医方证信号传导重点实验室/河南省

中医方证信号传导国际联合重点实验室, 郑州 450046)

摘要: 骨骼肌是人体运动系统的主要器官, 骨骼肌受损会降低生活质量、加重疾病恶化, 探究骨骼肌再生和修复对恢复和维持肌肉功能至关重要。N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine, m⁶A)修饰是真核生物中重要的mRNA甲基化修饰, 其在调控骨骼肌生成中的作用与中医药健脾补肾法滋养肌肉生长相契合。本文总结了m⁶A甲基化修饰相关同源因子甲基转移酶、去甲基化酶和识别蛋白在骨骼肌生成中的作用, 并探讨了其与中医理论的相关性, 以及中医药疗法在骨骼肌生成中的应用, 为深入研究骨骼肌修复与再生的相关分子机制及中医药介导m⁶A修饰调控骨骼肌生成提供理论依据和研究思路。

关键词: m⁶A甲基化; 甲基转移酶; 去甲基化酶; 识别蛋白; 骨骼肌; 成肌细胞

The role of m⁶A modification in skeletal muscle myogenesis and traditional Chinese medicine method for skeletal muscle injury regeneration

HAO Linglun, PENG Mengwei, CHEN Yulong, LIU Yan, WU Yaosong*

(Henan Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Syndrome and Prescription Signaling, Henan International

Joint Laboratory of Traditional Chinese Medicine Syndrome and Prescription in Signaling, Academy of

Chinese Medical Sciences, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

Abstract: Skeletal muscle is the main organ of the human motor system, and damage to skeletal muscle can reduce quality of life and worsen disease. Exploring skeletal muscle regeneration and repair is essential to restore and maintain muscle function. N6-methyladenosine modification is an important mRNA methylation modification in eukaryotes, and its role in regulating skeletal muscle production is compatible with the traditional Chinese medicine invigorating the spleen and tonifying the kidney to nourish muscle growth. This paper summarizes the roles of m⁶A methylation modification-related homologous factors methyltransferases, demethylases and recognition proteins in myogenesis, and discusses their correlation with traditional Chinese medicine theory and the application of traditional Chinese medicine therapy in myogenesis, which provides theoretical basis and research ideas for in-depth study of the molecular mechanism of skeletal muscle repair and regeneration and traditional Chinese medicine regulates myogenesis through m⁶A modification.

Key Words: m⁶A methylation; methyltransferases; demethylases; recognition proteins; skeletal muscle; myoblast

收稿日期: 2023-03-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(82074313); 河南省科技攻关项目(192102310160); 河南省高等学校重点科研项目(23A360024)

第一作者: E-mail: 1558054282@qq.com

*通信作者: E-mail: linawys@163.com

骨骼肌组织占人体体重的40%以上,是机体主要的运动及能量代谢器官,具有维持机体稳态和代谢平衡的重要作用。因此,探究与骨骼肌生长相关的机制及疗法对于改善因衰老或其他疾病所致的进行性肌肉萎缩、创伤性肌肉损失,及开展骨骼肌病理生理学研究颇为重要。近年来,随着对N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine, m⁶A)甲基化修饰研究的深入,其在一系列疾病及发育中的机制和功能已被揭示。RNA m⁶A甲基化修饰的发生主要依赖于甲基转移酶、去甲基化酶和识别蛋白。后者通过参与m⁶A甲基化修饰在骨骼肌的再生发育中表现出关键作用,如甲基转移酶样蛋白3(methyltransferase-like 3, METTL3)可通过催化下游mRNA发生m⁶A甲基化修饰,促进小鼠的原代成肌细胞分化^[1];去甲基化酶脂肪量与肥胖相关蛋白(fat mass and obesity-associated protein, FTO)能使m⁶A去甲基化从而正向调控哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)/过氧化物酶体增殖物受体 γ 辅助激活因子1- α (peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1- α , PGC1- α)信号通路参与线粒体合成促进肌肉生成^[2]。因此,挖掘与m⁶A甲基化修饰相关的肌生成分子机制对于改善肌肉性能、促进肌肉生成具有重要意义,并为研究骨骼肌再生和防治肌肉萎缩提供理论依据,也为从RNA甲基化这一表观遗传修饰角度研究骨骼肌生成提供支持。另外,从中医理论出发,骨骼肌生成与脾肾关系密切,结合现代医学研究发现, RNA发生m⁶A甲基化修饰的物质基础也依赖于包含先天遗传信息的RNA链和后天饮食中获得的S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)。越来越多研究结果表明,中药组方、针刺等中医药疗法能促进肌细胞的增殖分化,加速骨骼肌生成,且中医药疗法改善骨骼肌质量和性能是有效避免口服西药副作用并提高疗效的重要途径。但目前有关中医药介导m⁶A修饰调控肌肉生长的作用机制研究鲜见报道,基于此,从中医角度探究m⁶A修饰调控骨骼肌生长的相关分子机制,对研究中医药对骨骼肌生长发育规律的调控有关键意义,亦将为未来多种生理或病理性骨骼肌研究提供新的策略和思路。

1 骨骼肌生成中的m⁶A修饰

骨骼肌是具有较高异质性的代谢器官,负责人体的能量稳态、新陈代谢和运动,其由成束状排列的肌细胞构成,对各种刺激都很敏感,衰老、疾病、药物等会激活或抑制与肌细胞增殖、分化相关的信号通路或影响因子,改变骨骼肌形态和功能。因此,探究参与骨骼肌生长发育的调控机制,对于骨骼肌生成并维持正常生理功能具有重要意义。m⁶A甲基化修饰是真核生物中重要的mRNA甲基化修饰方式,其发挥作用主要依赖于三种m⁶A甲基化修饰相关蛋白:甲基转移酶、去甲基化酶和识别蛋白。研究显示,m⁶A甲基化修饰在骨骼肌细胞增殖、肌管形成、维持肌肉质量等过程中表现出关键作用,参与调控骨骼肌生成^[3]。

1.1 m⁶A甲基转移酶参与骨骼肌生成

METTL3是首个被鉴定的m⁶A甲基转移酶,与S-腺苷蛋氨酸结合发挥催化功能,是m⁶A甲基化的催化核心^[4]。METTL3是维持肌肉质量所必需的。研究显示,m⁶A的重塑和增加伴随着骨骼肌生成,并且METTL3的表达随之升高,提示骨骼肌生成过程中METTL3-m⁶A轴的整体增强^[5]。成肌分化抗原(myogenic differentiation antigen, MyoD)在骨骼肌发生损伤后快速表达以维持骨骼肌的分化潜能^[6]。研究发现,Mettl3敲低与Myod mRNA特异性下调呈正相关^[1]。Notch信号通路具有调节肌干细胞及肌肉再生的关键作用,而Mettl3能够在翻译水平上影响Notch信号通路m⁶A甲基化修饰水平参与肌肉再生,Mettl3敲低后,C2C12成肌细胞的增殖能力明显降低^[7]。相反,小鼠成肌细胞体外实验发现,随着肌细胞分化,m⁶A甲基化的程度降低,而m⁶A水平的下调是由核心甲基化酶METTL3的下调引起的,提示METTL3的表达下调是刺激骨骼肌发育所必需的^[8],m⁶A修饰可能在骨骼肌发育的负调节中起潜在作用。

甲基转移酶样蛋白14(methyltransferase-like 14, METTL14)并不直接催化m⁶A甲基化,是通过与METTL3形成稳定的异二聚体甲基转移酶,加强METTL3的催化能力,使m⁶A加速沉积^[4,9]。与METTL3相同,METTL14也调节成肌细胞的分化及肌母细胞增殖。有研究表明,METTL3/14调节

肌肉功能是通过由YTH N6-甲基腺苷RNA结合蛋白1(YTH N6-methyladenosine RNA-binding protein 1, YTHDF1)介导的m⁶A修饰调节丝裂原活化蛋白激酶相互作用激酶2(mitogen-activated protein kinase-interacting kinase 2, MNK2)表达实现的, 并且在肌肉损伤再生早期, METTL3/14和MNK2表达升高, 加速骨骼肌成体干细胞的更新、增殖, 促进肌肉再生^[8]。敲低的METTL14能明显抑制成肌细胞分化, 降低多核肌管融合指数, 抑制肌管形成, 并降低了分化标记基因肌球蛋白重链(myosin heavy chains, MYHC)、MyoD和肌细胞生成素(myogenin, MyoG)的mRNA及蛋白质表达。此外, 研究也发现, METTL14的下调能促进肌母细胞的增殖^[10,11]。这些发现表明, m⁶A通过调节肌母细胞增殖和分化在肌发生中起重要作用。

另一种重要的m⁶A甲基转移酶是成肾细胞瘤1-结合蛋白(wilms' tumor 1-associating protein, WTAP), 为METTL3与METTL14结合发挥催化活性所必需, 一旦敲除WTAP则表现出METTL3的RNA结合能力降低, 且分布异常。因此推测, WTAP可能是通过招募METTL3-METTL14调控m⁶A水平^[12,13], 影响骨骼肌生成。研究显示, WTAP在胚胎期鸡肌肉中的表达较胚胎后期及出壳后高^[14]; 同样也有实验发现, 在成年牛的骨骼肌中WTAP表达也比新生牛较低^[15]。此外, WTAP还可以通过干预B细胞淋巴瘤-2、细胞周期素依赖性激酶2、细胞周期蛋白A2的基因表达调控血管平滑肌细胞的增殖及凋亡^[16-18]。

1.2 m⁶A去甲基化酶参与骨骼肌生成

目前发现的去甲基化酶以FTO和AlkB同源蛋白5(AlkB Homolog 5, ALKBH5)为主^[13]。PGC1- α 是表达于骨骼肌细胞膜的“能量感受器”, 正向调节肌肉组织生长和能量代谢, 缓解多种形式的肌肉萎缩。研究显示, 去甲基化酶FTO能通过mTOR-PGC1- α 途径调节线粒体的生物发生, 增加肌管分化, 减少肌肉萎缩^[2]。此外, 还发现FTO通过降低生长停滞和DNA损伤诱导蛋白 β 的mRNA m⁶A修饰水平而提高mRNA稳定性及表达, 并激活p38丝裂原活化蛋白激酶通路, 促进山羊骨骼肌肌源性分化^[19]。

骨骼肌纤维的形成主要取决于成肌细胞的融合

并形成新的肌管。研究证实, ALKBH5的敲低抑制牛肌母细胞增殖, 但显著促进了成肌细胞肌管融合和生成, 促进牛肌母细胞分化^[11]。而在小鼠的胫骨前肌中过表达Alkbh5, 则显著抑制m⁶A修饰, 降低了肌肉湿重、肌纤维横截面积及肌肉中MyHC的水平, 加速肌肉质量损失, 可能与增强叉头框蛋白O3的表达和活性有关^[20]。

1.3 m⁶A识别蛋白参与骨骼肌生成

m⁶A识别蛋白主要包括YTH结构域蛋白、胰岛素样生长因子2 mRNA结合蛋白(insulin-like growth factor 2 mRNA-binding proteins, IGF2BPs)和异质核糖核蛋白家族等^[21]。在缺失肌细胞增强因子2C(myocyte enhancer factor 2C, Mef2c)的小鼠中, 肌管可正常生成, 但很快因肌节的破坏而迅速恶化, 肯定了Mef2c对骨骼肌发育的重要作用^[22]。相关研究显示, 牛骨骼肌中YTHDF1通过识别m⁶A修饰位点直接与MEF2C mRNA结合, 并在翻译水平上促进MEF2C表达, 而在YTHDF1表达被敲低后, 成肌细胞肌管形成明显受到抑制^[23]。另外, YTHDF1的敲低降低了包括MyHC、MyoD和MyoG在内的生肌调节因子的mRNA翻译, 削弱了METTL3过表达对肌源分化的促进, 而敲低YTH N6-甲基腺苷RNA结合蛋白2(YTH N6-methyladenosine RNA-binding protein 2, YTHDF2)则削弱了METTL3过表达对肌母细胞增殖的促进^[24]。YTH N6-甲基腺苷RNA结合蛋白3(YTH N6-methyladenosine RNA-binding protein 3, YTHDF3)主要在RNA的特异性结合中表现出重要作用, YTHDF3缺失会降低YTHDF1和YTHDF2与其靶标转录本的结合, 影响骨骼肌发育。YTHDF1/2/3在细胞质发挥调控m⁶A修饰基因的降解或翻译功能, 而YTH N6-甲基腺苷RNA结合蛋白C1(YTH N6-methyladenosine RNA binding protein C1, YTHDC1)在细胞核调控前体mRNA的可变剪切和m⁶A修饰基因的出核, YTH N6-甲基腺苷RNA结合蛋白C2(YTH N6-methyladenosine RNA binding protein C2, YTHDC2)则位于细胞质, 参与m⁶A修饰基因稳定和翻译的识别调控^[25-27]。YTHDC1/2的定位与YTHDF1/2/3不同, 暗示其可能与YTHDF1/2/3识别蛋白具有不同的调控功能, 并以其独有的调控方式修饰与其结合的RNA。目前暂未发现

YTHDC1/2直接或间接参与调控骨骼肌发育,但其有可能通过识别m⁶A甲基化修饰或去甲基化修饰影响骨骼肌发育,有待进一步研究。

已有文献证实,在人的HeLa细胞中,YTHDF1与IGF2BPs约有50%的共同靶基因,因此,推测YTHDF1与IGF2BPs可能共同参与识别骨骼肌生成关键基因的翻译^[13]。敲低C2C12成肌细胞中的胰岛素样生长因子2 mRNA结合蛋白1(insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 1, IGF2BP1)能够显著抑制MyoD、MyHC和MyoG的基因表达^[10,13]。在骨骼肌发育过程中,特异性蛋白1(specificity protein 1, SP1)靶向多个直接参与肌肉组织发育的基因,而胰岛素样生长因子2 mRNA结合蛋白3(insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 3, IGF2BP3)和SP1的表达水平显著正相关^[28]。这些发现暗示IGF2BP3对于骨骼肌生成的重要性。

综上所述,m⁶A甲基化酶、去甲基化酶及识别蛋白在骨骼肌生成中以其特有的方式调控肌细胞的增殖与分化,表明m⁶A修饰的重要性,为研究肌肉再生、防治肌肉萎缩提供了理论依据和研究思路。

2 中医疗法促进骨骼肌生成

骨骼肌生成依赖于人体气血充实,与脾肾关系密切,结合现代医学研究发现,m⁶A修饰调控肌肉生成亦需要脾肾的共同参与。具有健脾补肾效果的中医相关疗法对于促进骨骼肌生成和加速骨骼肌受损后修复有明显的疗效,且避免了药物的毒副作用,具有较好的前景。

2.1 中医理论与m⁶A修饰调控骨骼肌生成的相关性

中医学理论认为“脾主肌肉”,脾运化水谷精微以充养肌肉,则肌肉壮实丰满。医家黄元御提出:“肌肉者,脾土之所生也,脾气盛则肌肉丰满而充实”。若脾气虚衰则肌肉失养,出现肌肉痿废不用,四肢功能障碍,《素问》言:“脾病者,身重,善肌肉痿,足不收行”。表明脾胃功能正常与肌肉功能状态密切相关。肾为先天之本,人体生长发育依赖于肾精的充沛、濡养。

《素问·上古天真论》记载:“丈夫八岁肾气

实,发长齿更……四八筋骨隆盛,肌肉满壮”,明确描述了肾中精气对生长发育过程中肌肉充实的重要性。肾为先天之本,脾为后天之本,肾阳温煦脾阳,肾阴滋养脾脏,脾脏运化产生的后天之精又能充养肾中先天之精。可见,人体肌肉丰满壮实是先天之精和后天之精共同滋养的结果。

与脾肾之精滋养肌肉生成类似,m⁶A修饰参与肌肉生成同样是先天和后天共同作用的结果^[29]。m⁶A修饰发生于RNA链,而RNA链是由模板DNA链转录而来,并携带遗传信息。随着对中医藏相实质研究的深入,染色体被认为与中医的“肾”相当,其中的遗传信息即是肾中“先天之精”^[30,31]。m⁶A RNA甲基转移酶的RNA识别和甲基转移机制依赖SAM作为供体^[32]。SAM由人体内必需氨基酸甲硫氨酸合成,而甲硫氨酸是人体从鱼、肉、豆类等食物中获取。另外,食物经肠道菌群作用合成的叶酸,通过催化形成的5-甲基四氢叶酸也是生成SAM所必需的。因此,SAM水平受后天饮食和肠道微生物群的影响,参与调控表观遗传^[33,34],这与食物经脾胃腐熟运化产生水谷精微的过程有相合之处,即SAM是m⁶A修饰所需的“后天之精”。

可见,m⁶A修饰调控骨骼肌生成也需要“先天之精”即遗传信息和“后天之精”SAM共同作用,与肾脾之先、后天之精滋养肌肉类似。基于此,中医药调控肌肉再生可能是通过调节脾肾等脏腑功能并促进从饮食中获取合成m⁶A修饰供体所需物质来实现的,这为中医药干预m⁶A修饰调控骨骼肌再生提供了研究思路。

2.2 中医疗法参与调控骨骼肌生成

基于以上骨骼肌生成中m⁶A修饰与脾肾的密切相关性,结合现阶段中医药疗法调控骨骼肌生成的研究现状,具有健脾益气的中药组方及中药单体能激活肌卫星细胞,促进成肌细胞的增殖分化,改善肌肉萎缩;针刺能刺激受伤肌肉局部的血管及肌纤维再生,并上调肌纤维生成的相关因子表达,加速骨骼肌生成,这为研究中医药疗法参与m⁶A修饰调控骨骼肌生成提供了基础。

2.2.1 中药在调控骨骼肌生成中的应用

中药在临床上广泛应用于骨骼肌损伤后的再生,且效果确切。研究表明,中药能减轻肌肉受

损后的炎症反应, 并促进肌肉纤维的生长与成熟, 缓解结缔组织的增生^[35,36]。有研究者从形态学的角度观察了中药自拟方(五加皮、煅自然铜、骨碎补等)对骨骼肌损伤后再生的影响, 发现肌卫星细胞被激活, 且成肌细胞的增殖分化及肌管融合都较快, 明显促进了受损骨骼肌的修复^[37]。雷孝文^[38]采用健脾益气法中药组方(黄芪、白术、党参等)干预出现肌膜皱缩且肌纤维紊乱的大鼠, 观察到治疗后大鼠肌纤维呈现Z线整齐排列, 肌肉接头处褶皱恢复正常。此外, 健脾和胃法代表方六君子汤对于改善肌肉萎缩, 促进肌肉再生也有较好的效果。张艳等^[39]的动物实验结果显示, 六君子汤能明显增加肺癌恶病质小鼠的腓肠肌横截面积, 缓解肌肉质量丢失, 其机制可能与抑制信号转导和转录激活因子3/泛素蛋白酶体途径的相关基因和蛋白质的表达有关。

中药单体是在中药饮片的基础上经过分离、纯化等手段获得的中药有效活性成分, 保留多种药用特性, 具有更高的稳定性, 在参与骨骼肌生成中表现出明显的优势。当归多糖是中药当归的水溶性成分, 当归多糖能够在肿瘤坏死因子- α 诱导C2C12细胞建立的骨骼肌萎缩模型中显著提高C2C12细胞肌管横径, 并降低肌肉萎缩盒F、肌肉环指蛋白1的mRNA及蛋白质表达^[40], 促进骨骼肌蛋白合成。藁本内酯是当归中另一种有效活性成分, 能通过增多成肌细胞数量, 抑制其分化促进成肌细胞增殖^[41,42]。芒柄花素是中药黄芪的活性成分之一, 有体内实验证实, 芒柄花素有效改善了慢性肾疾病模型大鼠的体重及肌纤维横截面积, 同时上调MyoD和MyoG的mRNA和蛋白质水平, 促进模型大鼠的骨骼肌发育。体外实验发现, 芒柄花素处理增加了C2C12细胞中多核肌管的形成, 并促进了C2C12细胞与多核肌管的融合^[43]。中药丹参的提取物丹参素对促进骨骼肌生成也有明显的积极作用, 丹参素能提高受损肌肉中辅肌动蛋白、MyoD、MyoG及肌卫星细胞标志物配对盒蛋白7(paired box 7, Pax7)的水平, 促进肌细胞增殖和分化, 加速肌肉再生^[44]。另外, 穿心莲内酯能促进肌分化基因转录, 调控小鼠的骨骼肌再生^[45]。

2.2.2 针刺在骨骼肌生成中的应用

针刺在临床上也广泛应用于骨骼肌损伤的治

疗, 实验研究也证实针刺能促进骨骼肌受损后的再生^[46]和肌肉功能的恢复^[47]。于战歌^[48]采用针刺足三里和阿是穴治疗急性腓肠肌钝器伤的家兔, 发现新生肌纤维数量明显增多, 且再生的肌纤维直径较大。这可能与刺激足三里能促进血管再生^[49]和细胞的增殖分化有关^[50]。Pax7和MyoD是促进骨骼肌再生的关键生肌因子^[51], 同时表达于肌卫星细胞的增殖时期^[52]。陈玉佩^[53]研究了针刺委中穴对肌肉再生修复的作用, 治疗前观察到大鼠腰多裂肌受损后MyoD的蛋白质表达升高, 而Pax7的蛋白质表达水平降低; 针刺干预后, Pax7、MyoD蛋白质水平均升高, 表明针刺委中穴刺激了肌卫星细胞的增殖, 促进了多裂肌损伤后的再生修复。碱性成纤维生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)能促进肌卫星细胞的增殖^[54], 并具有较好的抗损伤和促修复作用^[55]。陈欢等^[56]研究了电针阿是穴治疗大鼠骨骼肌损伤后再生的可能机制, 发现针刺受伤组织局部阿是穴上调了bFGF的表达, 促进了肌卫星细胞的增殖和成肌分化, 使组织再生和修复过程缩短。

3 总结

骨骼肌质量是正常机体功能的保障, 临床上多种疾病如瘫痪、肿瘤等慢性疾病都会引起肌肉组织代谢异常并出现不同程度的肌肉萎缩, 运动康复、营养支持、口服药物等常用疗法疗效有限, 且副作用是不可避免的, 阻碍了及时有效的治疗。本文总结了m⁶A RNA甲基化修饰在骨骼肌生成中的相关作用机制, 并结合现代医学研究探讨了中医理论与m⁶A修饰参与骨骼肌生成的相关性, 但目前尚未发现有关中医药介导m⁶A修饰调控肌肉生长的作用机制研究, 在中医药发展的大趋势下, 揭示中医药疗法通过介导m⁶A修饰调控骨骼肌生长的药物和治疗靶点研究及相应临床药物的开发有重要意义和价值, 将会为未来多种生理或病理性骨骼肌萎缩的治疗提供新的策略。

参考文献

- [1] Kudou K, Komatsu T, Nogami J, et al. The requirement of Mettl3-promoted MyoD mRNA maintenance in proliferative myoblasts for skeletal muscle differentiation. [Open](#)

- Biol, 2017, 7(9): 170119
- [2] Wang X, Huang N, Yang M, et al. FTO is required for myogenesis by positively regulating mTOR-PGC-1 α pathway-mediated mitochondria biogenesis. *Cell Death Dis*, 2017, 8(3): e2702
- [3] 杨昕冉. mRNA m⁶A修饰对秦川肉牛骨骼肌成肌细胞增殖分化的作用机制研究[D]. 西安: 西北农林科技大学, 2022
- [4] Wang X, Feng J, Xue Y, et al. Structural basis of N6-adenosine methylation by the METTL3-METTL14 complex. *Nature*, 2016, 534(7608): 575-578
- [5] Petrosino JM, Hinger SA, Golubeva VA, et al. The m6A methyltransferase METTL3 regulates muscle maintenance and growth in mice. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 168
- [6] 黄增浩. EIMD大鼠骨骼肌MyoD与时钟基因BMAL1时效性变化[D]. 成都: 成都体育学院, 2021
- [7] Liang Y, Han H, Xiong Q, et al. METTL3-mediated m6A methylation regulates muscle stem cells and muscle regeneration by Notch signaling pathway. *Stem Cells Int*, 2021, 2021: 9955691
- [8] Xie SJ, Lei H, Yang B, et al. Dynamic m6A mRNA methylation reveals the role of METTL3/14-m6A-MNK2-ERK signaling axis in skeletal muscle differentiation and regeneration. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 744171
- [9] Liu J, Yue Y, Han D, et al. A METTL3-METTL14 complex mediates mammalian nuclear RNA N6-adenosine methylation. *Nat Chem Biol*, 2014, 10(2): 93-95
- [10] Zhang X, Yao Y, Han J, et al. Longitudinal epitranscriptome profiling reveals the crucial role of N6-methyladenosine methylation in porcine prenatal skeletal muscle development. *J Genet Genomics*, 2020, 47(8): 466-476
- [11] Yang X, Mei C, Ma X, et al. m6A methylases regulate myoblast proliferation, apoptosis and differentiation. *Animals*, 2022, 12(6): 773
- [12] Ping XL, Sun BF, Wang L, et al. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N6-methyladenosine methyltransferase. *Cell Res*, 2014, 24(2): 177-189
- [13] 张鑫鑫. m⁶A在猪胚胎期和出生后骨骼肌发育过程中的调控作用研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2020
- [14] 丁浩, 林月月, 张涛, 等. m6A甲基化在鸡肌肉生长发育中的表达研究. *中国畜牧兽医*, 2021, 48(5): 1525-1534
- [15] 杨昕冉, 马鑫浩, 杜嘉伟, 等. m6A甲基化酶相关基因在牛骨骼肌生成中的表达. *北京: 中国农业科学*, 2023, 56(1): 165-178
- [16] Small TW, Bolender Z, Bueno C, et al. Wilms' tumor 1-associating protein regulates the proliferation of vascular smooth muscle cells. *Circ Res*, 2006, 99(12): 1338-1346
- [17] Horiuchi K, Umetani M, Minami T, et al. Wilms' tumor 1-associating protein regulates G₂/M transition through stabilization of cyclin A2 mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(46): 17278-17283
- [18] Kong Y, Wu R, Zhang S, et al. Wilms' tumor 1-associating protein contributes to psoriasis by promoting keratinocytes proliferation via regulating cyclinA2 and CDK2. *Int Immunopharmacol*, 2020, 88: 106918
- [19] Deng K, Fan Y, Liang Y, et al. FTO-mediated demethylation of GADD45B promotes myogenesis through the activation of p38 MAPK pathway. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 26: 34-48
- [20] Liu Y, Zhou T, Wang Q, et al. m⁶A demethylase ALKBH5 drives denervation-induced muscle atrophy by targeting HDAC4 to activate FoxO3 signalling. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2022, 13(2): 1210-1223
- [21] 蒋秀林, 刘柏杨, 陈勇彬, 等. m6A修饰在系统发育及肿瘤发展中的功能与机制[C]. 2021年中国肿瘤标志物学术大会暨第十五届肿瘤标志物青年科学家论坛论文集, 2021: 84
- [22] Potthoff MJ, Arnold MA, McAnally J, et al. Regulation of skeletal muscle sarcomere integrity and postnatal muscle function by Mef2c. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(23): 8143-8151
- [23] Yang X, Ning Y, Abbas Raza SH, et al. MEF2C expression is regulated by the post-transcriptional activation of the METTL3-m6A-YTHDF1 axis in myoblast differentiation. *Front Vet Sci*, 2022, 9: 900924
- [24] Zhao T, Zhao R, Yi X, et al. METTL3 promotes proliferation and myogenic differentiation through m6A RNA methylation/YTHDF1/2 signaling axis in myoblasts. *Life Sci*, 2022, 298: 120496
- [25] Roundtree IA, Luo GZ, Zhang Z, et al. YTHDC1 mediates nuclear export of N6-methyladenosine methylated mRNAs. *ELife*, 2017, 6: e31311
- [26] Huang H, Weng H, Sun W, et al. Recognition of RNA N6-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(3): 285-295
- [27] Liu S, Li G, Li Q, et al. The roles and mechanisms of YTH domain-containing proteins in cancer development and progression. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(4): 1068-1084
- [28] Yang Y, Fan X, Yan J, et al. A comprehensive epigenome atlas reveals DNA methylation regulating skeletal muscle development. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(3): 1313-1329
- [29] 骆守真, 常诚, 陈兆耀. RNA甲基化修饰与中医肾精学说. *浙江中医药大学学报*, 2022, 46(4): 353-359
- [30] 郑敏麟, 阮诗玮. 中医藏象实质细胞生物学假说之二——“肾”与染色体. *中国中医基础医学杂志*, 2003(11): 60-63
- [31] 雷航, 温泉, 田瑞敏, 等. 细胞之精. *新中医*, 2016, 48(10): 11-13

- [32] Meynier V, Iannazzo L, Catala M, et al. Synthesis of RNA-cofactor conjugates and structural exploration of RNA recognition by an m6A RNA methyltransferase. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(10): 5793-5806
- [33] Wu J, Zhao Y, Wang X, et al. Dietary nutrients shape gut microbes and intestinal mucosa via epigenetic modifications. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2022, 62(3): 783-797
- [34] Krautkramer KA, Kreznar JH, Romano KA, et al. Diet-microbiota interactions mediate global epigenetic programming in multiple host tissues. *Mol Cell*, 2016, 64(5): 982-992
- [35] Wang M, Liu JX, Yao MJ, et al. Advances in research on pharmacological and neuroprotective effects of traditional chinese medicine after cerebral ischemia. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 2020, 45(3): 513-517
- [36] Zhi N, Mo Q, Yang S, et al. Treatment of pulmonary fibrosis in one convalescent patient with corona virus disease 2019 by oral traditional Chinese medicine decoction: A case report. *J Integr Med*, 2021, 19(2): 185-190
- [37] 张建国, 孙强, 朱建军, 等. 中药对小白鼠骨骼肌切伤后再生影响的组织学观察. *中国骨伤*, 2002(7): 26-28
- [38] 雷孝文. 健脾益气法对EAMG大鼠骨骼肌线粒体融合分裂的影响[D]. 广州: 广州中医药大学, 2017
- [39] 张艳, 桑亚洲, 彭梦薇, 等. 六君子汤调控STAT3/泛素蛋白酶体途径防治肺癌恶病质小鼠肌肉萎缩的机制. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(5): 8-15
- [40] 伍晓辉. 当归多糖改善TNF- α 诱导的C2C12骨骼肌细胞损伤的作用及机制研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2020
- [41] Su YW, Chiou WF, Chao SH, et al. Ligustilide prevents LPS-induced iNOS expression in RAW 264.7 macrophages by preventing ROS production and down-regulating the MAPK, NF- κ B and AP-1 signaling pathways. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11(9): 1166-1172
- [42] 石莹. 藁本内酯抑制C2C12细胞分化过程中由TNF- α 导致的凋亡[D]. 广州: 南方医科大学, 2014
- [43] Soundharajan I, Kim DH, Kuppusamy P, et al. Modulation of osteogenic and myogenic differentiation by a phytoestrogen formononetin via p38MAPK-dependent JAK-STAT and Smad-1/5/8 signaling pathways in mouse myogenic progenitor cells. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 9307
- [44] 孙睿. 丹参素促进骨骼肌损伤后修复再生作用的研究[D]. 晋中: 山西农业大学, 2021
- [45] 吴梓强. 穿心莲内酯上调组蛋白H3K4甲基化促进骨骼肌再生机制研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2021
- [46] Wang R, Luo D, Xiao C, et al. The time course effects of electroacupuncture on promoting skeletal muscle regeneration and inhibiting excessive fibrosis after contusion in rabbits. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 869398
- [47] Liu S, Wang R, Luo D, et al. Effects of electroacupuncture on recovery of the electrophysiological properties of the rabbit gastrocnemius after contusion: an *in vivo* animal study. *BMC Complement Altern Med*, 2015, 15(1): 69
- [48] 于战歌. 足三里和阿是穴在电针促进神经肌肉接头再生中的作用及其机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2016
- [49] Luo J, Zhou H, Wu J, et al. Electroacupuncture at Zusanli (ST36) accelerates intracerebral hemorrhage-induced angiogenesis in rats. *Chin J Integr Med*, 2013, 19(5): 367-373
- [50] Hwang IK, Chung JY, Yoo DY, et al. Comparing the effects of acupuncture and electroacupuncture at zusanli and baihui on cell proliferation and neuroblast differentiation in the rat hippocampus. *J Vet Med Sci*, 2010, 72(3): 279-284
- [51] Comai G, Tajbakhsh S. Molecular and cellular regulation of skeletal myogenesis. *Curr Top Dev Biol*, 2014, 110: 1-73
- [52] 熊慧, 浦亚斌, 马月辉, 等. 骨骼肌卫星细胞自我更新的分子调节. *生物医学工程学杂志*, 2014, 31(5): 1168-1171
- [53] 陈玉佩. 电针“委中”对大鼠腰多裂肌细胞外基质重塑和卫星细胞增殖的影响[D]. 北京: 北京中医药大学, 2019
- [54] Riuzzi F, Sorci G, Beccafico S, et al. S100B engages RAGE or bFGF/FGFR1 in myoblasts depending on its own concentration and myoblast density. Implications for muscle regeneration. *PLoS One*, 2012, 7(1): e28700
- [55] Malecki J, Wesche J, Skjerpen CS, et al. Translocation of FGF-1 and FGF-2 across vesicular membranes occurs during G₁-Phase by a common mechanism. *Mol Biol Cell*, 2004, 15(2): 801-814
- [56] 陈欢, 张莉, 崔强, 等. 电针阿是穴对骨骼肌损伤大鼠肌肉再生及碱性成纤维细胞生长因子表达的影响. *中国康复理论与实践*, 2013, 19(4): 334-340