· 实验研究 ·

茶多酚通过改善肌肉脂肪浸润延缓衰老 T2DM 模型大鼠肌肉衰减机制

张骋[1]，李晨阳[2]，薛璐珊[1]，陈爽直[1]，王希[1]，赵海峰[1,3]

1. 山西医科大学公共卫生学院营养与食品卫生学教研室 / 营养与食品科学研究所，太原 030001；
2. 山西医科大学第二临床医学院，太原 030001；
3. 煤炭环境致病与防治教育部重点实验室，太原 030001
通信作者：赵海峰，E-mail：haifengzhao75@sxmu.edu.cn

【摘　要】目的 基于 Wnt/β-catenin 通路探讨茶多酚（Tea polyphenols, TP）通过改善肌肉脂肪浸润减缓衰老 T2DM 模型大鼠腓肠肌肌肉衰减的机制。**方法** 30 只 8 w 龄 SD 大鼠，按体重分为对照组和造模组。利用高糖高脂饲养及注射 STZ 诱导 T2DM，腹腔注射 D–半乳糖诱导衰老，从而构建衰老 T2DM 大鼠模型。空腹血糖（FBG）≥16.7 mmol/L 以及腓肠肌 P53 蛋白表达明显高于对照组分别作为糖尿病和衰老发生的判定标准。实验中对照组、衰老 T2DM 组及 TP 干预组（7w 造模成功后，300 mg/kg TP 连续干预 8w）进行比较分析。大鼠腓肠肌相对湿重、HE 染色观察并半定量分析肌间脂肪组织的面积，Western blot 法检测腓肠肌 Wnt10b、β-catenin、PPAR-γ、CEBPB 等蛋白的表达。**结果** 与模型组相比，TP 干预组大鼠 FBG 水平在干预结束时降低（P<0.05）、腓肠肌相对湿重平均提高约 38.10%（P<0.05）、肌间脂肪浸润平均减少约 18.60%（P<0.05）。此外，TP 干预后胰腺组织结构在形状、面积及胰岛细胞的胞浆疏松或空泡化程度较模型组有较明显改善。腓肠肌 Wnt10b 和 β-catenin 蛋白表达水平上调，PPARγ 和 CEBPB 蛋白表达水平下降（均 P<0.05）。**结论** TP 干预可以改善肌肉质量，减少腓肠肌脂肪浸润，其部分作用机理可能与激活 Wnt/β-catenin 信号通路调控下游脂肪细胞的分化有关。

【关键词】 茶多酚；衰老 T2DM；肌肉衰减；肌肉脂肪浸润；Wnt/β-catenin 通路

Mechanism of tea polyphenols delaying sarcopenia in the rat model of aged T2DM by ameliorating muscle fat infiltration

ZHANG Cheng[1], LI Chenyang[2], XUE Lushan[1], CHEN Shuangzhi[1], WANG Xi[1], ZHAO Haifeng[1,3]
(*1. Department of Nutrition and Food Hygiene*, *School of Public Health / Nutritional and Food Sciences Research Institute*, *Shanxi Medical University*, *Taiyuan* 030001, *China*; *2. The Second Clinical Medical School*, *Shanxi Medical University*, *Taiyuan* 030001, *China*; *3. Key Laboratory of Coal Environmental Pathogenicity and Prevention*, *Ministry of Education*, *Taiyuan* 030001, *China*)
Corresponding author: ZHAO Haifeng, E-mail: haifengzhao75@sxmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the effect of tea polyphenols (TP) on sarcopenia in the rat model of type 2 diabetes mellitus (T2DM) by regulating the Wnt/β-catenin pathway. **Methods** Thirty 8-week-old SD rats were assigned into a control group (n=10) and a modeling group (n=20) according to body weight. The aged T2DM model was induced by a high-sugar and high-fat diet combined with injection of D-galactose and streptozotocin (STZ). Fasting blood glucose (FBG) ⩾16.7 mmol/L and elevated P53 protein expression mark the occurrence of diabetes and aging. The relative wet weight of gastrocnemius muscle was compared among the control, model, and TP intervention (administration with TP at 300 mg/kg for 8 consecutive weeks after modeling for 7 weeks) groups. The area of intermuscular adipose tissue was observed via hematoxylin-eosin staining and semi-quantitatively analyzed. The expression levels of proteins including Wnt10b, β-catenin, PPAR-γ, and CEBPB in the gastrocnemius muscle were determined by Western blot. **Results** The TP intervention group had lower FBG, higher relative wet weight of gastrocnemius muscle, and lower intermuscular fat infiltration (a decrease of 18.60%) at the end of the intervention than the model group (all P<0.05). TP intervention improved the pancreatic tissue structure in shape and area and alleviated the vacuolation of islet cells compared with the model group. In addition, TP intervention up-regulated the expression of Wnt10b and β-catenin while down-regulating the expression of PPARγ and CEBPB (all P<0.05). **Conclusions** TP intervention may improve muscle mass and reduce fat infiltration in the gastrocnemius muscle by activating the Wnt/β-catenin signaling pathway that regulates the differentiation of adipocytes.

【Keywords】 tea polyphenols; aged T2DM; sarcopenia; muscle fat infiltration; Wnt/β-catenin pathway

开放获取：CC BY-NC-ND 4.0 DOI：10.11847/zgggws1146335
基金项目：中央引导地方科技发展资金（YDZJSX20231A056）；国家自然科学基金（81973047）；山西省回国留学人员科研资助项目（2023-103）
第一作者：张骋（2001—），硕士在读，研究方向：营养与疾病。
收稿日期：2024-11-04　修回日期：2025-07-08　录用日期：2026-01-19
利益冲突：不存在　伦理审查：已获取　出版授权：全体作者已与编辑部签署作者贡献声明及版权转让协议

肌肉减少症，也称肌少症，是一种年龄增长导致的肌肉功能衰退、质量减少的疾病，常与 2 型糖尿病（type 2 diabetes mellitus, T2DM）合并发生[1]。糖尿病导致的胰岛素抵抗和血糖升高，使肌肉蛋白质分解增加，合成减少，进而引起骨骼肌的糖脂代谢异常，加重胰岛素抵抗的恶性循环[2]。糖尿病合并肌少症的发病机制尚未完全阐明。2019 欧洲防治肌少症专家共识中对于肌少症的定义为肌肉质量降低和肌肉脂肪浸润等机制导致的肌肉功能衰退[3]。Wnt/β-catenin 是在生物体中具有调节细胞分化功能的重要信号通路。正常情况下，β–连环蛋白（β-catenin）处于静默状态，但当肌肉发生脂肪浸润并超过其自身调控能力时，则触发 β-catenin 信号传导，减少其在细胞内的降解并使其稳定，抑制下游因子的活性，限制脂肪过度分化。活化的 Wnt 通路可以下调下游脂肪细胞分化的关键转录因子 PPARγ（Peroxisome Proliferators Activated Receptors-gamma）和 CEBPB（CCAAT Enhancer Binding Protein Beta）的表达，抑制脂肪细胞分化[4]。茶多酚（Tea polyphenols, TP）作为茶叶中主要发挥作用的物质，很多研究关注到了 TP 对于肌肉衰减的影响[5–6]。本研究采用课题组前期通过腹腔注射 D–半乳糖诱导衰老，以及高糖高脂饲养及注射链脲佐菌素（streptozotocin, STZ）诱导 T2DM 构建衰老 T2DM 大鼠模型[7]。观察 TP 通过减缓肌肉脂肪浸润改善衰老 T2DM 模型大鼠合并肌肉衰减，以期为老年 T2DM 合并肌少症的防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与材料　链脲佐菌素（Streptozotocin, STZ, 美国 Sigma-Aldrich Trading Co.）；D–半乳糖（Amresco, Inc. 美国）；TP（纯度≥ 98%, 西安霖草生物工程有限公司）。Wnt10b（Wnt Family Member 10B）抗体（武汉爱博泰克生物科技有限公司），β-catenin、PPARγ、CEBPB 抗体（武汉三鹰生物技术有限公司），GAPDH（Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase）抗体（武汉赛维尔生物科技有限公司），二抗：辣根过氧化物酶标记羊抗兔 IgG（Immunoglobulin G）抗体（武汉博士德生物工程有限公司）。

1.2 动物分组及干预　中国食品药品检定研究院购买 30 只 8 w 龄雄性 SD 大鼠，许可证号 SCXK（京）2022–0002。动物实验计划通过山西省肿瘤医院动物实验伦理审查委员会审查（伦理备案号：2022002）。在 1 w 适应性饲养后，将各组依据体重分为对照组 10 只，造模组 20 只。对照组喂饲维持饲料；造模组喂饲高脂饲料（含 20% 猪油、10% 蔗糖、1% 胆酸钠、2.5% 胆固醇、66.5% 基础饲料），并每日注射 50 mg/kg D–半乳糖，4 w 后禁食 12 h，30 mg/kg STZ 溶液一次性腹腔注射。STZ 注射后的第 3，7，14 天进行空腹血糖值（fasting blood glucose, FBG）测定，当血糖值均≥ 16.7 mmol/L 时，即判定 T2DM 模型成功诱导。后将造模组大鼠随机分成模型组与 TP 干预组各 10 只。两组均以高脂饲料喂养 8 w，并每日给予 50 mg/kg D–半乳糖诱发衰老，其间干预组每日 300 mg/kg TP 灌胃。每周称量大鼠体重。干预结束后，腓肠肌 P53 蛋白表达作为本实验的衰老标志。

1.3 实验方法

1.3.1 电化学法测量 FBG 及观察胰腺病理改变　大鼠禁食 8 h，尾尖处采血后使用血糖仪测量 FBG 水平。胰腺组织固定在 4% 多聚甲醛后经梯度酒精脱水、石蜡包埋、连续切片 3 张、脱蜡、HE 染色封片后，在光学显微镜（200×）下拍照观察胰腺组织形态和病理变化。

1.3.2 大鼠腓肠肌相对湿重　干预结束后，20% 乌拉坦麻醉大鼠，分别取各组大鼠两侧后肢腓肠肌组织并测量其湿重。肌肉相对湿重：腓肠肌重量（g）/体重（g）×100%。其中每组随机选择 3 只大鼠并将其腓肠肌进行石蜡包埋，连续切片 3 张、脱蜡、HE 染色封片后，在光学显微镜（100×）下拍照观察腓肠肌形态和病理变化。最后计算腓肠肌组织切片中肌间脂肪面积比例，肌间脂肪面积：肌间脂肪面积（%）/总体面积（%）×100%。使用 Image J 软件进行半定量分析。

1.3.3 Westernblot 法检测 GAPDH、Wnt10b、CEBPB、β-catenin、PPAR-γ 以及 P53 表达　取腓肠肌组织，加入 RIPA 裂解液裂解后匀浆，BCA 定量蛋白。每个孔内加入 10 μl 总蛋白样品进行电泳后转膜，再用封闭液封闭 2 h，加入稀释比例为 1:1 000 的 GAPDH、Wnt10b、CEBPB、β-catenin、P53 以及稀释比例为 1:2 000 的 PPAR-γ 抗体，4℃ 过夜。TBST 清洗 3 遍，二抗（1:5 000）室温孵育 1 h，再清洗 3 遍，加入显影液显影，最后用 Image J 软件分析条带灰度值。

1.4 统计分析　数据处理采用 SPSS 26.0 软件进行，结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。通过 Shapiro-Wilk 正态性检验后，使用 One-way ANOVA 法分析总体差异，方差齐者组间两两比较以 LSD 法进行分析，方差不齐者以 Dunnett 法进行分析，检验水准 α=0.05（双侧）。采用 GraphPad Prism 10.0 软件进行数据可视化。

2 结　果

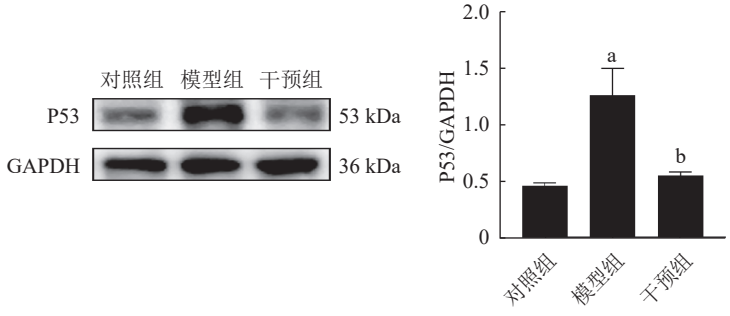
2.1　TP 干预对衰老 T2DM 大鼠 FBG 的影响(表 1)　实验前 3 组大鼠 FBG 水平无统计学差异(F=1.163，P>0.05)，注射 STZ 2 w 后，各组大鼠 FBG 水平差异具有统计学意义(F=116.387，P<0.05)，TP 干预 8 w 后，各组大鼠 FBG 水平差异同样具有统计学意义(F=266.130，P<0.05)，但干预组大鼠的 FBG 水平较模型组明显下降(P<0.05)。

表 1　各组大鼠血清不同时间节点 FBG 水平比较($\bar{x}\pm s$，n=10，mmol/L)
Table 1　FBG levels in rats of each group at different time points ($\bar{x}\pm s$, n=10, mmol/L)

组别	适应性喂养1w后	注射STZ 2 w后	TP干预8 w后
对照组	6.49 ± 0.97	6.05 ± 0.55	6.10 ± 0.57
模型组	6.85 ± 0.84	26.06 ± 4.29[a]	27.21 ± 3.40[a]
干预组	7.03 ± 0.56	20.10 ± 2.92[a]	20.44 ± 1.10[ab]
F值	1.163	116.387	266.130

注：a 与对照组比较P<0.05，b 与模型组比较P<0.05。

2.2　TP 干预对衰老 T2DM 大鼠腓肠肌组织 P53 蛋白表达的影响(图 1)　干预后各组大鼠腓肠肌 P53 表达具有统计学差异(F=29.243，P<0.05)。模型组大鼠腓肠肌 P53 蛋白表达明显高于对照组(P<0.05)，干预组相较于模型组 P53 表达明显下调(P<0.05)。

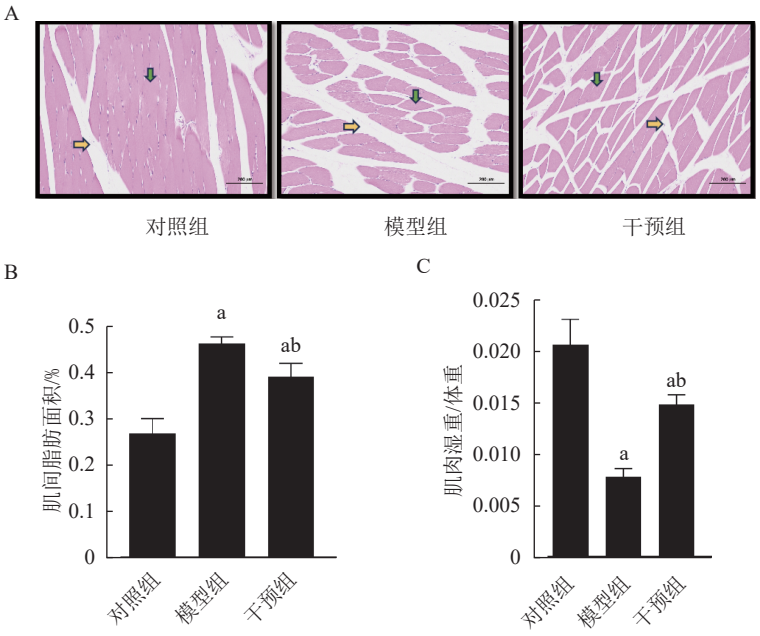


注：a 与对照组比较 P<0.05，b 与模型组比较 P<0.05。
图 1　不同组别大鼠腓肠肌 P53 蛋白表达量(n=3)
Fig. 1　Expression of P53 protein in gastrocnemius muscle of rats in each group (n=3)

2.3　TP 干预对衰老 T2DM 大鼠腓肠肌结构及腓肠肌相对湿重的影响　如图 2(A)所示，HE 染色结果显示，与对照组相比，模型组肌纤维面积减少，肌纤维排列紊乱，结构分散，肌束内及肌束间质脂肪面积明显增大。TP 干预组肌纤维面积有所恢复，肌间脂肪面积小于模型组。如图 2(B)所示，各组大鼠腓肠肌肌间脂肪面积总体差异具有统计学意义(F=42.887，P<0.05)。与对照组比较，模型组肌间脂肪面积均值增加约 72.96%(P<0.05)。TP 干预组相较于模型组脂肪面积降低约 18.60%(P<0.05)。如图 2(C)所示，各组大鼠腓肠肌肌肉湿重比总体差异具有统计学意义(F=121.036，P<0.05)。与对照组相比，模型组的相对湿重显著降低约 56.21%(P<0.05)，干预组腓肠肌相对湿重相对于模型组明显上升约 38.10%(P<0.05)。

2.4　TP 干预对衰老 T2DM 大鼠胰腺组织的影响(图 3)　对照组胰腺组织胰岛形态规整，边缘光滑，组织内可见较多的细胞，位于细胞中央的细胞核较大且呈圆形。模型组胰腺组织中胰岛形状不规则，胰岛面积显著增大且与周围组织界限模糊，部分细胞的胞浆疏松或出现空泡化现象。干预组的胰岛形状及胰岛细胞的胞浆疏松或空泡化程度均有明显改善，胰岛面积较模型组有所减小。

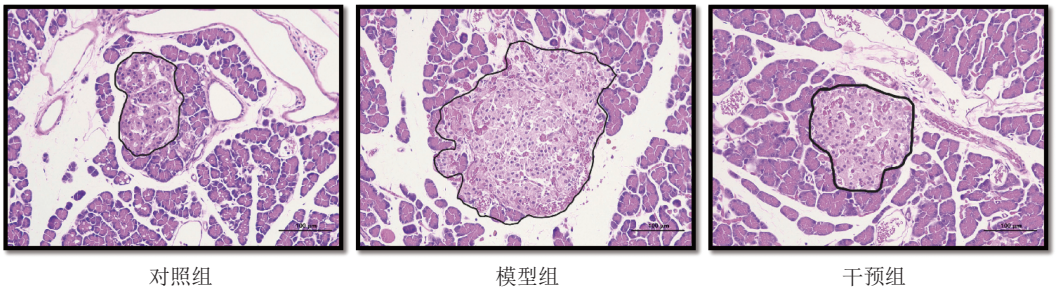
2.5　TP 干预对衰老 T2DM 大鼠腓肠肌脂肪分化蛋白 Wnt10b、β-catenin、PPARγ 和 CEBPB 的影响(图 4)　如图 4 所示，各组大鼠腓肠肌 Wnt10b、β-catenin、PPAR-γ、CEBPB 蛋白表达量总体差异具有统计学意义(F=7.101，F=9.891，F=18.990，F=11.545，均P<0.05)。如图 4(B，C)所示，TP 干预 8 w 后，模型组大鼠腓肠肌 Wnt10b、β-catenin 表达水平较对照组明显降低(P<0.05)。而 TP 干预组大鼠 Wnt10b、β-catenin 蛋白在腓肠肌中的表达明显升高(P<0.05)。如图 4(D，E)所示，模型组大鼠 PPAR-γ、CEBPB 的表达相较于对照组显著提高(P<0.05)，而干预组 PPAR-γ、CEBPB 的表达与模型组相比明显降低(P<0.05)。蛋白条带结果如图 4(A)所示。



注：绿色纵向箭头示意为肌纤维面积，黄色横向箭头示意为肌间脂肪面积如图（A）；Bar=200 μm. 肌间脂肪半定量分析如图（B）；腓肠肌湿重比如图（C）；a 与对照组比较 $P<0.05$，b 与模型组比较 $P<0.05$。

图 2　不同组别大鼠腓肠肌 HE 染色（100×）、肌间脂肪半定量分析及相对湿重（n=3）

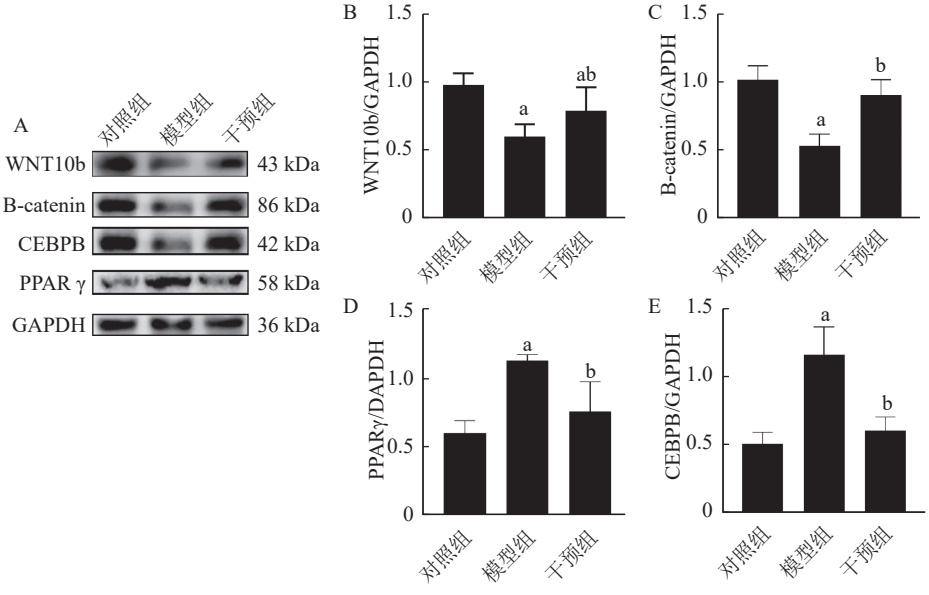
Fig. 2　HE staining (100×), semi-quantitative analysis of intermuscular fat area, and relative wet weight of gastrocnemius muscle in each group of rats (n=3)



注：黑色圈出部分为胰岛；Bar=100 μm。

图 3　各组大鼠胰腺组织 HE 染色（100×）

Fig. 3　HE staining in pancreatic tissue of rats in each group (100×)



注：a 与对照组比较 $P<0.05$，b 与模型组比较 $P<0.05$。

图 4　各组大鼠腓肠肌 WNT10b、β-catenin、PPARγ、CEBPB 蛋白的表达（n=3）

Fig. 4　Expression of Wnt10b, β-catenin, PPARγ, and CEBPB in gastrocnemius muscle of rats in each group (n=3)

3 讨 论

根据《IDF 全球糖尿病地图(第十一版)》统计，我国糖尿患者数已超过 1.4 亿，位居全球第一[8]。而老年人是糖尿病高发人群，所以积极探索老年糖尿病及其并发症的防治尤为重要。本实验采用高糖高脂饲料喂养，结合腹腔注射 STZ 来诱导 T2DM[7]。D–半乳糖经半乳糖氧化酶作用会转化为过氧化氢和醛糖，能较好地模拟自然衰老的过程，P53 作为细胞周期调节分子，能激活细胞周期相关激酶抑制剂，导致细胞周期停滞，是衰老的标志物[9]。本研究中，在腹腔注射 STZ 后的 2 w 内，造模组的大鼠 FBG 均达到或超过 16.7 mmol/L，而且实验结束后，造模组大鼠 P53 的表达显著高于对照组，表明衰老 T2DM 大鼠模型建立成功。在进行了 8 w 的 TP 干预后，与模型组相比，干预组的大鼠 FBG 以及腓肠肌中 P53 的表达显著降低。结果表明，TP 对衰老 T2DM 模型大鼠的 FBG 水平以及衰老均表现出了一定的积极作用。

临床上常采取骨骼肌质量指数作为肌肉衰减症的主要评价指标，且有研究采取骨骼肌相对湿重作为动物肌肉衰减症模型评判标准[10, 11]。本实验中，模型组相较于对照组肌肉相对湿重明显降低，提示衰老 T2DM 会出现明显的肌肉衰减。此外，也观察到肌间脂肪浸润明显增加。TP 灌胃干预 8 w 后，干预组大鼠与模型组相比，肌肉相对湿重有所升高且肌间脂肪浸润明显减少，提示 TP 在一定程度上可以改善衰老 T2DM 模型大鼠合并肌肉衰减的症状。

以往对于肌少症防治的研究主要聚焦在肌肉量变化，大量研究专注于肌纤维本身的降解而引起的力量衰减现象[12]。而近年来肌肉脂肪浸润机制越来越受到科学界的关注，多项研究表明，当 Wnt 通路被适当活化时，可通过稳定 β-catenin 及增加 Wnt10b，下调脂肪细胞分化关键转录因子 PPARγ 与 CEBPB 的表达，抑制下游脂肪合成相关因子的表达，从而降低肌内脂肪沉积，但此环节被抑制后，脂肪细胞分化显著增强[13]。在本研究中，观察到相对于模型组，干预组大鼠腓肠肌组织中 Wnt10b 及 β-catenin 的表达上调，而 PPARγ 和 CEBPB 的表达显著降低。因此，本研究认为这可能是因为 TP 通过减少 β-catenin 的异常降解，并上调 Wnt10b 的表达，从而共同阻断下游脂肪分化基因的传导，减少肌肉脂质沉积，恢复肌纤维数量，改善肌肉质量，减缓骨骼肌衰减。

综上所述，TP 可改善衰老 T2DM 大鼠合并肌肉衰减。其部分机制与减缓肌肉脂肪浸润有关。但要进一步明确该通路改变与 TP 改善衰老 T2DM 大鼠合并肌肉衰减的因果关系，今后需要进行激动剂或抑制剂的在体验证。

数据可用性声明 本研究中所有的原始数据均已在论文中得以全面展示。

参考文献

[1] Russo M P, Grande-Ratti M F, Burgos M A, et al. Prevalence of diabetes, epidemiological characteristics and vascular complications[J]. Archivos de Cardiología de México, 2023, 93(1): 30-36.

[2] 张宁, 刘晓红, 康琳, 等. 肌少症对住院老年 2 型糖尿病患者远期预后的影响: 前瞻性队列研究 [J]. 协和医学杂志, 2024, 15(6): 1348-1355.

[3] Cruz-Jentoft A J, Bahat G, Bauer J, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis[J]. Age and Ageing, 2019, 48(1): 16-31.

[4] Reggio A, Rosina M, Palma A, et al. Adipogenesis of skeletal muscle fibro/adipogenic progenitors is affected by the WNT5a/GSK3/β-catenin axis[J]. Cell Death and Differentiation, 2020, 27(10): 2921-2941.

[5] Azman K F, Zakaria R. $_D$-Galactose-induced accelerated aging model: an overview[J]. Biogerontology, 2019, 20(6): 763-782.

[6] Nikawa T, Ulla A, Sakakibara I. Polyphenols and their effects on muscle atrophy and muscle health[J]. Molecules, 2021, 26(16): 4887.

[7] 寇婕, 石梦茜, 吕晨慧, 等. 茶多酚通过抑制线粒体凋亡改善糖尿病肾病大鼠肾功能的研究 [J]. 营养学报, 2023, 45(1): 70-75.

[8] International Diabetes Federation. IDF diabetes atlas 11th ed[EB/OL]. [2025-04-07]. https://diabetesatlas.org/atlas/diabetes-and-kidney-disease/.

[9] Pagano A F, Brioche T, Arc-Chagnaud C, et al. Short-term disuse promotes fatty acid infiltration into skeletal muscle[J]. Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle, 2018, 9(2): 335-347.

[10] Ou H L, Schumacher B. DNA damage responses and p53 in the aging process[J]. Blood, 2018, 131(5): 488-495.

[11] 赵博雅, 赵芬, 刘新旗, 等. 大豆多肽营养干预对预防和治疗尾吊模拟失重大鼠肌肉萎缩的作用 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(16): 266-273.

[12] 马雷雷, 李继安, 徐文轩, 等. 基于 PI3K/Akt 通路探讨黄芪总皂苷对 2 型糖尿病大鼠肌少症的影响 [J]. 中成药, 2024, 46(11): 3612-3619.

[13] Guo J Q, Qian L L, Ji J J, et al. Serpina3c regulates adipose differentiation via the Wnt/β-catenin-PPARγ pathway[J]. Cellular Signalling, 2022, 93: 110299.