

运动疗法对 STZ 诱导的糖尿病大鼠病理损伤及骨骼肌 FOXO1、GLUT4 表达的影响

张新霞¹, 谢超², 王志强², 高泓¹

摘要 目的 探究运动疗法对链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病大鼠病理损伤及骨骼肌叉头框转录因子O亚族1(FOXO1)、葡萄糖转运子4(GLUT4)表达的影响。方法 选取75只雄性Wistar大鼠,随机选取60只制成糖尿病模型,并将其分为模型组、低强度运动组、中等强度运动组、高强度运动组,剩余15只作为健康对照组;使用HE染色观察其脾脏肌;使用蛋白质印记检测含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(Caspase-3)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-9(Caspase-9)、FOXO1及GLUT4蛋白表达情况;使用全自动生化分析仪检测血糖、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白-胆固醇(HDL)、低密度脂蛋白-胆固醇(LDL)水平;使用酶联免疫吸附法检测白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-10(IL-10)水平;使用生物化学方法测定主动脉血管组织匀浆中组织超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、乳酸脱氢酶(LDH)的活性水平;使用RT-PCR检测FOXO1、GLUT4 mRNA表达水平。结果 与健康对照组相比,模型组大鼠Caspase-3、Caspase-9、FOXO1蛋白表达、TC、TG、LDL、IL-6、TNF- α 、FOXO1 mRNA表达水平、LDH、MDA活性升高($P < 0.05$),GLUT4蛋白表达、HDL、IL-10、SOD及GLUT4 mRNA表达水平降低($P < 0.05$);与模型组相比,运动各组大鼠Caspase-3、Caspase-9、FOXO1蛋白表达、TC、TG、LDL、IL-6、TNF- α 、FOXO1 mRNA表达水平、乳酸脱氢酶(LDH)、MDA活性降低($P < 0.05$)且中等强度运动组上述指标最低,GLUT4蛋白表达、HDL、IL-10、SOD及GLUT4 mRNA表达水平升高($P < 0.05$)且中等强度运动组上述指标最高。结论 运动疗法可以通过升高骨骼肌GLUT4蛋白及mRNA表达水平、降低骨骼肌FOXO1蛋白及mRNA表达水平缓解糖尿病大鼠病理损伤,且中等运动强度效果最佳。

关键词 糖尿病; 骨骼肌; 运动疗法; FOXO1; GLUT4

中图分类号 R 587.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)07-1024-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.07.008

随着经济的发展,人们的饮食结构发生着巨大的变化,糖尿病(diabetes mellitus, DM)成为一种十分常见的疾病^[1]。目前我国大约有9500万DM患者^[2]。研究^[3]表明:每周进行1次以上的运动者糖尿病的发病率减少。运动可以调节内分泌代谢并且使得肌肉利用葡萄糖和游离脂肪酸,有效抑制餐后血糖的升高,实现调节血糖的作用。糖尿病患者多运动不仅可以增强其代谢能力,还可以降低血酮体^[4]。王宏^[5]的研究表明:运动还能增加体内的免疫功能,改善脑细胞的活性,增强机体对血糖的调节能力。该研究旨在探讨运动疗法对链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的糖尿病大鼠病理损伤及骨骼肌FOXO1、GLUT4表达的影响,以期了解运动疗法对STZ诱导的糖尿病大鼠病理损伤及骨骼肌FOXO1、GLUT4表达的影响作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 SPF级雄性Wistar大鼠75只,购自北京维通利华公司;动物许可证号SCXK(京)2017-0022,饲养于成都中医药大学附属医院动物中心实验室。

1.2 药物与试剂 链脲佐菌素(纯度>99.9%, CAS号:18883-66-4)购自上海翊圣生物科技有限公司;白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)试剂盒购自美国Sigma公司;超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)试剂盒均购自上海恒远生物科技有限公司;半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(Caspase-3)、半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-9(Caspase-9)抗体购自武汉华联科有限公司;甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白-胆固醇(low density lipoprotein, LDL)及高密度脂蛋白-胆固醇(high density lipoprotein, HDL)试剂盒均购自北京中生生物试剂公司;苏木精、伊红购自武汉博士得生物有限公

2020-04-22 接收

基金项目:四川省卫生健康委科研课题(编号:16PJ116)

作者单位:¹成都中医药大学附属医院内分泌科,成都 610075

²成都中医药大学研究生学院,成都 610075

作者简介:张新霞,女,博士,副教授,责任作者, E-mail: 916zxx@163.com

司; 中性福尔马林、酒精、二甲苯购自天津科密欧有限公司; TRIzol 试剂购自 Thermo Fisher 公司。

1.3 仪器 全自动生化分析仪(型号: Sysmex-chemix-480) 购自日本 Furuno Electric 公司; 蛋白电泳及转膜仪购自美国 Bio-Rad 公司; 电子天平(型号: BS-124s) 购自北京赛多斯仪器系统有限公司; 台式离心机(型号: TDL-5) 购自上海安亭科学仪器厂; 光学显微镜购自东莞市同创仪器有限公司; 切片机购自德国 Leica 公司; 低温离心机购自湖南恒诺离心机有限公司。

1.4 方法

1.4.1 建立模型 按照俞韩等^[6]研究方法。将所有大鼠适应性喂养 1 周后, 禁食 1 d。将链脲佐菌素(STZ) 溶解于柠檬酸的缓冲溶液中, 调节 pH 值, 使 pH 值保持在 4 左右, 将配置好的 STZ 溶液从大鼠的尾部静脉注射, 其注射量为 55 mg/kg, 若有死亡及时补充。36 h 后测空腹血糖(fasting blood-glucose, FBG), 当血糖含量 ≥ 16.7 mmol/L 时可以认为模型建立成功。

1.4.2 分组及干预 将 75 只大鼠采用随机数字表法分为: 健康对照组、模型组、低强度运动组、中等强度运动组和高强度运动组, 每组各 15 只。其中健康对照组不做任何处理, 正常饲养; 除了健康对照组以外的 60 只大鼠全部制成糖尿病模型; 其中模型组大鼠采用自由活动, 低强度运动组所有大鼠采用低强度运动, 中等强度运动组大鼠采用中等强度运动; 高强度运动组采用高强度运动, 所有大鼠每天运动 1 h, 每周 6 d, 连续干预 28 d。具体运动方式和运动程序参考 Fernando et al^[7] 方法: 采用跑台运动, 适应性训练 3 d, 休息 1 d 后正式训练。低强度运动组跑速 10 m/min(相当于 30% 最大耗氧量)、中强度普通运动组跑速 15 m/min(相当于 50% 最大耗氧量)、高强度运动组跑速 20 m/min(相当于 70% 最大耗氧量), 坡度均为 0。

1.4.3 检测项目

1.4.3.1 HE 染色观察大鼠腓肠肌 HE 染色观察各组大鼠腓肠肌, 使用二甲苯浸泡、不同梯度酒精脱水、苏木精浸泡、盐酸酒精分化、冲洗、伊红染色、酒精浸泡、二甲苯浸泡, 最后中性树胶封片、观察。

1.4.3.2 蛋白质印迹法检测蛋白表达水平 取大鼠大鼠腓肠肌, 使用剪刀剪碎后使用滤网过滤, 制成悬液, 使用 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳提取总蛋白, 半干法将蛋白转移到 PVDF 膜, 置于 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h 后加入各需要检测蛋白的一抗、二

抗, 孵育 2 h, TBS 洗净, 以 GAPDH 为内参蛋白, 采用显色液显色后行吸光度分析, 计算各蛋白相对表达量。

1.4.3.3 生化指标检测 严格按照全自动生化检测仪使用方法检测大鼠血清 TG、TC、LDL、HDL 含量变化。

1.4.3.4 ELISA 法检测大鼠炎症因子 从大鼠颈总动脉插管接取 0.5 ml 血液, 按照试剂盒说明书检测大鼠血清中的 IL-6、IL-10 及 TNF- α 含量。

1.4.3.5 生物化学方法测定 使用黄嘌呤氧化酶法测定大鼠骨骼肌组织中 SOD 的活性^[8]; 使用硫代巴比妥酸法检测大鼠病骨骼肌组织中 MAD 含量^[9]; 使用生化法检测大鼠病骨骼肌组织中 LDH 含量^[10]。

1.4.3.6 基因检测 用 TRIzol 试剂提取各组骨骼肌总 RNA, 测定 RNA 浓度和纯度后, 用反转录试剂盒合成 cDNA, 用 PCR 仪进行扩增, 用 SYBR PCR Master Mix 试剂盒对 FOXO1 和 GLUT4 表达水平进行检测, 以 GAPDH 为内参。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析, 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用方差分析(ANOVA), 两组之间比较采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HE 染色腓肠肌结果 健康对照组腓肠肌肌肉组织、肌外膜、肌纤维均正常; 模型组大鼠腓肠肌镜下部分肌纤维弯曲, 肌红蛋白溶解, 肌细胞核固缩、溶解, 肌束膜破裂; 低强度运动组大鼠腓肠肌少量肌纤维断裂溶解弯曲, 余未见异常; 中等强度运动组大鼠腓肠肌肌肉组织、肌外膜、肌纤维基本无显著异常, 较为完整, 肌纤维纵切面可见周期性横纹(明暗相间带); 高强度运动组大鼠腓肠肌少量肌纤维断裂溶解弯曲, 余未见异常。见图 1。

2.2 蛋白质印记检测大鼠骨骼肌相关凋亡因子水平结果 与健康对照组相比, 模型组大鼠骨骼肌中 Caspase-3、Caspase-9 蛋白表达水平升高($P < 0.05$); 与模型组相比, 低强度运动组大鼠骨骼肌中 Caspase-3、Caspase-9 蛋白表达水平降低($P < 0.05$); 与低强度运动组相比, 中等强度运动组大鼠骨骼肌中 Caspase-3、Caspase-9 蛋白表达水平降低($P < 0.05$); 与中等强度运动组相比, 高强度运动组大鼠骨骼肌中 Caspase-3、Caspase-9 蛋白表达水平升高($P < 0.05$)。见图 2、表 1。

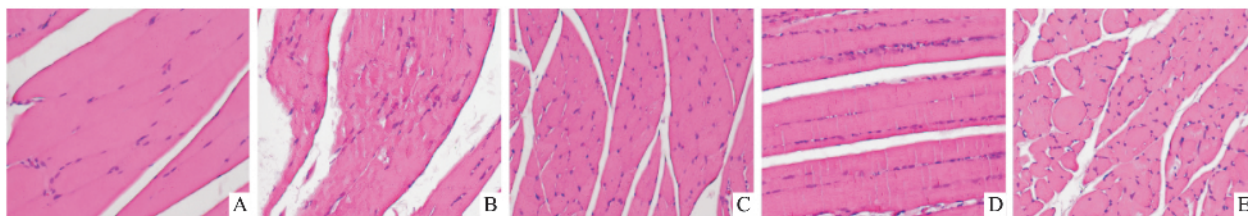


图1 HE染色腓肠肌观察结果 ×200

A: 健康对照组; B: 模型组; C: 低强度运动组; D: 中等强度运动组; E: 高强度运动组

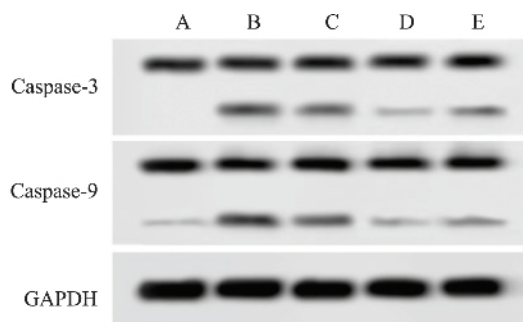


图2 蛋白质印记检测大鼠骨骼肌相关凋亡因子水平结果

A: 健康对照组; B: 模型组; C: 低强度运动组; D: 中等强度运动组; E: 高强度运动组

表1 骨骼肌相关凋亡因子水平($\bar{x} \pm s$)

组别	Caspase-3	Caspase-9
健康对照	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.00
模型	0.37 ± 0.08	0.36 ± 0.10
低强度运动	0.11 ± 0.06	0.21 ± 0.06
中强度运动	0.05 ± 0.01	0.03 ± 0.01
高强度运动	0.08 ± 0.01	0.06 ± 0.01
F 值	10.230	7.801
P 值	<0.001	<0.001

2.3 大鼠生化指标检测结果 与健康对照组相比,模型组大鼠血糖、TC、TG、LDL 升高、HDL 降低($P < 0.05$);与模型组相比,低强度运动组大鼠血糖、TC、TG、LDL 降低、HDL 升高($P < 0.05$);与低强度运动组相比,中等强度运动组大鼠血糖、TC、TG、LDL 降

低、HDL 升高($P < 0.05$);与中等强度运动组相比,高强度运动组大鼠血糖、TC、TG、LDL 升高、HDL 降低($P < 0.05$)。见表2。

2.4 ELISA 法检测大鼠炎症因子结果 由表3可以看出,与健康对照组相比,模型组大鼠 IL-6、TNF- α 水平升高,IL-10 水平降低($P < 0.05$);与模型组相比,低强度运动组大鼠 IL-6、TNF- α 水平降低,IL-10 水平升高($P < 0.05$);与低强度运动组相比,中等强度运动组大鼠 IL-6、TNF- α 水平降低,IL-10 水平升高($P < 0.05$);与中等强度运动组相比,高强度运动组大鼠 IL-6、TNF- α 水平升高,IL-10 水平降低($P < 0.05$)。

2.5 生物化学方法测定大鼠氧化应激反应相关物质活性 与健康对照组相比,模型组大鼠 SOD 水平降低,LDH、MAD 水平升高($P > 0.05$);与模型组相比,低强度运动组大鼠 SOD 水平升高,LDH、MAD 水平降低($P > 0.05$);与低强度运动组相比,中等强度运动组大鼠 SOD 水平升高,LDH、MAD 水平降低($P > 0.05$);与中等强度运动组相比,高强度运动组大鼠 SOD 水平降低,LDH、MAD 水平升高($P > 0.05$)。见表4。

2.6 大鼠骨骼肌 FOXO1、GLUT4 mRNA 和蛋白表达水平 与健康对照组相比,模型组大鼠骨骼肌中 FOXO1 mRNA 和蛋白表达水平升高、GLUT4 mRNA 和蛋白表达水平降低($P < 0.05$);与模型组

表2 大鼠生化指标检测结果(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	血糖	TC	TG	LDL	HDL
健康对照	4.50 ± 1.01	1.51 ± 0.42	0.25 ± 0.07	0.23 ± 0.06	1.29 ± 0.20
模型	14.36 ± 4.58	2.81 ± 0.31	1.05 ± 0.12	0.50 ± 0.11	0.45 ± 0.05
低强度运动	15.32 ± 4.00	2.13 ± 0.37	0.93 ± 0.10	0.41 ± 0.06	0.64 ± 0.07
中强度运动	7.80 ± 1.87	1.75 ± 0.23	0.36 ± 0.09	0.32 ± 0.06	1.02 ± 0.08
高强度运动	12.36 ± 2.14	2.11 ± 0.31	0.58 ± 0.07	0.40 ± 0.04	0.81 ± 0.06
F 值	2.277	2.168	14.356	2.116	9.318
P 值	0.070	0.082	<0.01	0.088	<0.01

表3 大鼠炎症因子结果 (pg/ml $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-6	TNF- α	IL-10
健康对照	18.33 $\pm$ 4.58	25.36 $\pm$ 12.32	12.50 $\pm$ 2.50
模型	80.32 $\pm$ 22.32	126.36 $\pm$ 21.24	3.01 $\pm$ 1.54
低强度运动	64.98 $\pm$ 15.36	84.36 $\pm$ 14.62	5.75 $\pm$ 3.65
中强度运动	37.32 $\pm$ 10.32	45.36 $\pm$ 12.32	11.56 $\pm$ 3.98
高强度运动	53.24 $\pm$ 9.36	66.45 $\pm$ 18.63	6.51 $\pm$ 2.21
F 值	3.024	5.691	1.905
P 值	0.023	<0.001	0.119

表4 氧化应激反应相关物检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	SOD(U/ml)	LDH(U/ml)	MDA(mmol/ml)
健康对照	10.21 $\pm$ 1.21	985.32 $\pm$ 200.14	2.12 $\pm$ 0.75
模型	3.01 $\pm$ 0.75	2231.21 $\pm$ 236.21	5.21 $\pm$ 0.61
低强度运动	5.21 $\pm$ 0.77	1750.32 $\pm$ 250.66	4.61 $\pm$ 0.54
中强度运动	8.47 $\pm$ 0.54	1105.32 $\pm$ 178.30	2.54 $\pm$ 0.43
高强度运动	6.12 $\pm$ 0.79	1632.11 $\pm$ 300.21	3.99 $\pm$ 0.75
F 值	11.166	4.576	4.455
P 值	<0.001	0.002	0.003

相比,低强度运动组大鼠骨骼肌中 FOXO1 mRNA 和蛋白表达水平降低、GLUT4 mRNA 和蛋白表达水平升高 ($P < 0.05$);与低强度运动组相比,中等强度运动组大鼠骨骼肌中 FOXO1 mRNA 和蛋白表达水平降低、GLUT4 mRNA 和蛋白表达水平升高 ($P < 0.05$);相比中等强度运动组,高强度运动组大鼠骨骼肌中 FOXO1 mRNA 和蛋白表达水平升高、GLUT4 mRNA 和蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$)。见图3、表5。

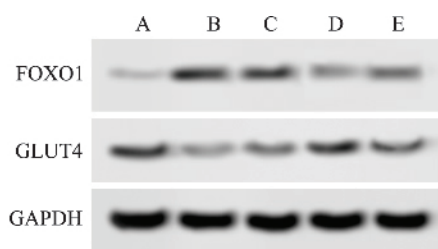


图3 大鼠骨骼肌 FOXO1、GLUT4 蛋白及 mRNA 表达水平

A: 健康对照组; B: 模型组; C: 低强度运动组; D: 中等强度运动组; E: 高强度运动组

表5 大鼠骨骼肌 FOXO1、GLUT4 蛋白及 mRNA 表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	FOXO1	GLUT4
健康对照	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.01
模型	3.52 $\pm$ 0.53	0.01 $\pm$ 0.01
低强度运动	2.81 $\pm$ 0.35	0.02 $\pm$ 0.01
中强度运动	1.20 $\pm$ 0.34	0.89 $\pm$ 0.01
高强度运动	2.21 $\pm$ 0.71	0.72 $\pm$ 0.01
F 值	5.548	2 292.700
P 值	<0.001	<0.001

3 讨论

骨骼肌损伤后肌细胞核会固缩、溶解,肌束膜破裂。本研究通过 HE 染色腓肠肌发现,使用运动疗法治疗后,大鼠腓肠肌肌外膜完整,可见血管及神经;肌束膜包裹肌纤维,肌纤维完整,肌细胞核大小形态未见异常。说明使用运动疗法后,大鼠骨骼肌的损伤得到了有效的缓解。

糖尿病是目前肾脏病主要原因之一,其原因和自由基有密切关系。这些自由基可以促进免疫反应和炎症反应使得患者体内相关炎症反应加剧。目前研究较多的促炎性细胞因子包括: TNF- α 、IL-1、IL-6 和 IL-8 等;抗炎性细胞因子则包括: IL-4、IL-10、白介素-1 等。同时也会使得糖尿病患者血清中的 TC、TG、LDL 增多,也会使血压升高,损伤到血管内皮,这也是糖尿病会恶性循环,不断加重病情的原因之一,所以抗氧化对于预防和延缓糖尿病的慢性并发症有重要作用。本研究显示,接受运动疗法后的大鼠体内相关炎症因子 IL-6、TNF- α 降低,抗炎因子升高。说明运动疗法可以有效降低大鼠体内的炎症反应,且中等强度的运动疗法效果最佳。朱雪丽等^[11]研究表明:运动疗法可有效地控制微炎症状态,与本研究得出的结论相一致。本研究表明接受运动疗法后的大鼠体内血糖、TC、TG、LDL 降低, HDL 升高。亢建国^[12]的研究表明:糖尿病大鼠血糖与脂代谢具有相关性,且两者相互影响,降低了血脂,糖尿病也得到了改善,与本研究得出的结论相一致。

细胞凋亡是一种在形态学上和坏死完全不同的细胞死亡类型。Caspase 家族基因是调控细胞凋亡的重要基因。Caspase 家族中主要调控凋亡的基因包括: Caspase-3 和 Caspase-9,其中 Caspase-9 可以裂解促进 proCaspase-3 产生有活性的 Caspase-3。剪切另外的 Caspase 底物,达到引起级联反应促进细胞凋亡。本实验显示,使用运动疗法后大鼠体内的 Caspase-3 和 Caspase-9 水平降低,说明大鼠骨骼肌细胞的凋亡受到了抑制,有效保护糖尿病大鼠的骨骼肌。谭小梅^[13]的研究表明:降低体内 Caspase-3 和 Caspase-9 的水平可以有效抑制体内细胞的凋亡,减少机体的损伤,本研究得出的结论与之相一致。

氧化应激是加重大鼠糖尿病的重要原因之一,其中 SOD 和 MAD 含量可反映氧化应激的程度。除了 SOD 和 MAD,LDH 的含量也可以反映氧化应激的程度,当细胞损伤 LDH 会由胞内释放到胞外。本

研究发现,使用运动疗法后 SOD 水平升高、LDH、MAD 水平降低,说明大鼠体内氧化受到了抑制,降低了细胞损伤的程度。鞠礼等^[14]研究表明:降低体内过氧化反应可以有效缓解糖尿病症状,本研究得出的结论与之相一致。

糖尿病患者 GLUT4 的囊泡向胞膜移动,使得患者血清内 GLUT4 含量水平会减少。本研究显示,使用运动疗法后大鼠 FOXO1 mRNA 和蛋白表达水平降低、GLUT4 mRNA 和蛋白表达水平升高,说明运动疗法可以调节大鼠血糖、血脂及炎症反应,降低大鼠体内炎症反应可以有效缓解大鼠糖尿病的进展。Armoni et al^[15]研究表明:降低 FOXO1 表达、升高 GLUT4 可以有效降低炎症反应,本研究得出的结论与之相一致。

综上,运动疗法可以通过升高骨骼肌 GLUT4 蛋白及 mRNA 表达水平、降低骨骼肌 FOXO1 蛋白及 mRNA 表达水平缓解糖尿病大鼠病理损伤,且中等运动强度效果最佳。

参考文献

- [1] 李长岭,张东铭,王崇贤,等. 2 型糖尿病周围神经病变相关因素分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(4): 274-7.
- [2] 王永胜,杨丽霞,程涛,等. 糖尿病肾病的炎症致病机制与中药防治[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(2): 200-7.
- [3] 王晨,魏玉梅,张晓明,等. 妊娠早期开始规律运动可有效降低肥胖和超重孕妇妊娠期糖尿病的发生率: 一项随机对照试验[J]. 中华围产医学杂志, 2017, 20(1): 75.
- [4] 韩莉莎,王琼,李丹,等. 普伐他汀联合美托洛尔对糖尿病合并冠心病患者心功能、糖脂代谢等相关指标的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(3): 224-8.
- [5] 王宏. 运动调节机体免疫微环境的研究进展[J]. 临床输血与检验, 2017, 19(3): 306-8.
- [6] 俞韩,何泽民. 链脲佐菌素联合高脂高糖饲料诱导糖尿病大鼠模型的建立[J]. 江苏医药, 2015, 41(4): 469-70.
- [7] Fernando P, Bonen A, Hoffman-Goetz L. Predicting submaximal oxygen consumption during treadmill running in mice[J]. Can J Physiol Pharmacol, 1993, 71(10-11): 854-7.
- [8] 徐东,赵建,黄汉昌,等. 改良的黄嘌呤氧化酶法测定动植物组织中 SOD 比活力[J]. 食品科学, 2011, 32(6): 237-41.
- [9] 刘晓文. 牛磺酸对染毒小鼠脑组织氧化损伤的拮抗作用[J]. 中国药物经济学, 2012, 3(6): 39-40.
- [10] 彭琪彦. 2 种生化分析系统对血清 CK、AS-T、LDH 检测结果的比对分析和偏倚评估[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 33(14): 21-5.
- [11] 朱雪丽,宁云凤,王霄一,等. 运动疗法对终末期糖尿病肾病患者营养状况的影响研究[J]. 浙江医学, 2017, 39(2): 130-2.
- [12] 亢建国. 运动结合灵芝多糖对糖尿病大鼠血糖及脂代谢的影响[D]. 兰州: 西北师范大学, 2010.
- [13] 谭小梅. 栀子苷通过抑制细胞凋亡保护糖尿病大鼠胰岛细胞[J]. 临床和实验医学杂志, 2017, 16(8): 741-3.
- [14] 鞠礼,张明宇. 血脂代谢紊乱对 2 型糖尿病患者氧化应激反应的影响[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2014, 48(3): 215-7.
- [15] Armoni M, Harel C, Karnieli E. Transcriptional regulation of the GLUT4 gene: from PPAR- γ and FOXO1 to FFA and inflammation[J]. Trends Endocrinol Metab, 2007, 18(3): 100-7.

Effects of exercise therapy on pathological injury and expression of skeletal muscle FOXO1 and GLUT4 of STZ-induced diabetes rats

Zhang Xinxia¹, Xie Chao², Wang Zhiqiang², et al

(¹Dept of Endocrinology, Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075;

²Graduate School, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075)

Abstract Objective To explore the effects of exercise therapy on pathological injury and expression of skeletal muscle forkhead box transcription factor O1(FOXO1) and glucose transporter 4 (GLUT4) in diabetes rats induced by streptozotocin (STZ). **Methods** A total of 75 male Wistar rats were enrolled and 60 cases of them were randomly selected and made into diabetes model, and they were divided into model group, low-intensity, middle-intensity and high-intensity exercise groups. The remaining 15 rats were enrolled as healthy control group. HE-staining was applied to observe gastrocnemius muscle. The expression of cysteinyl aspartate specific proteinase-3(Caspase-3), cysteinyl aspartate specific proteinase-9(Caspase-9), FOXO1 and GLUT4 proteins was detected by Western blot. The levels of blood glucose, total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein-cholesterol (HDL) and low density lipoprotein-cholesterol (LDL) were detected by automatic biochemical analyzer. The enzyme-linked immunosorbent assay was applied to detect levels of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α

网络出版时间: 2020 - 6 - 29 11: 26 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20200629.1110.009.html>

CXCL12 调控 PI3K/AKT 信号通路抑制肝癌细胞 hepG2 凋亡

汪丹丹 周伟杰 王 雯 蒋梦雅 杨 梅 陈镜宇 魏 伟

摘要 目的 探讨 CXCL12 对肝癌 hepG2 细胞凋亡的影响及其分子机制。方法 采用流式细胞术(FCM)检测 CXCL12 对 hepG2 细胞凋亡的影响,采用 Western blot 及激光共聚焦(LSCM)检测 CXCL12 对 hepG2 细胞凋亡蛋白的影响及 PI3K 抑制剂 LY294002 的作用;采用 Western blot 检测 CXCL12 对 PI3K/AKT 信号通路的影响及 PI3K 抑制剂 LY294002 的作用。结果 100 ng/ml CXCL12 可抑制 hepG2 细胞的凋亡,下调 Bax 蛋白表达,上调 Bcl-2 蛋白的表达;100 ng/ml CXCL12 不影响 p110 β 、p85 及 AKT 蛋白的总表达,增加 p-p85、p-AKT(ser473)蛋白的表达。PI3K 抑制剂 LY294002 可以阻断 CXCL12 抑制凋亡的作用,上调 Bax 蛋白表达,下调 Bcl-2 蛋白的表达;PI3K 抑制剂 LY294002 不影响 p110 β 、p85 及 AKT 蛋白的总表达,减少 CXCL12 诱导的 p-p85、p-AKT(ser473)蛋白的表达。结论 CXCL12 可以上

调 Bcl-2/Bax 比值、抑制 hepG2 细胞的凋亡,其作用机制可能与活化 PI3K/AKT 信号通路有关。

关键词 肝癌;凋亡;PI3K;CXCL12

中图分类号 R 364

文献标志码 A **文章编号** 1000 - 1492(2020)07 - 1029 - 06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2020.07.009

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的恶性肿瘤之一,死亡率仅次于肺癌和胃癌。在世界范围内,每年因 HCC 死亡的人数超过 74.5 万,而中国约占 5.5%^[1-3]。目前,HCC 最有效的治疗方法是手术治疗,但对于不能耐受手术、术后复发以及晚期有转移的患者,化疗仍是主要的治疗手段。细胞凋亡是正常机体细胞自主性、有序死亡的过程,而细胞的凋亡抵抗是导致肿瘤化疗效果差的主要原因。CXCL12 又被称为 SDF-1(stromal cell-derived factor 1),是可与 CXCR4(G 蛋白偶联受体)特异性结合的一种趋化因子,不仅可促进肿瘤细胞的迁移,还可以促进细胞存活,抑制细胞凋亡。在子宫内膜癌中,CXCL12 与 CXCR4 作用时可明显减少细胞的凋亡。PI3K β 属于 IA 型 PI3K,主要由催化亚基 p110 β 和调节亚基 p85 组成,与肿瘤发生密切相关。有文献表明 CXCL12 与 CXCR4 结合后可引起

2020 - 03 - 04 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号:81330081、81573443)

作者单位: 安徽医科大学临床药理研究所 抗炎免疫药物教育部重点实验室,抗炎免疫药物安徽省协同创新中心,合肥 230032

作者简介: 汪丹丹,女,硕士研究生;

魏 伟,男,博士,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: wwei@ahmu.edu.cn;

陈镜宇,女,博士,副教授,责任作者,E-mail: cjjyany@126.com

(TNF- α) and interleukin-10 (IL-10). The biochemical methods were applied to determine activity levels of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and lactate dehydrogenase (LDH) in tissue homogenate of aortic vessel. The expression levels of FOXO1 and GLUT4 mRNA were detected by RT-PCR. **Results** Compared with healthy control group, expression of Caspase-3, Caspase-9 and FOXO1 protein, expression levels of TC, TG, LDL, IL-6, TNF- α and FOXO1 mRNA, activity of LDH and MDA were increased in model group ($P < 0.05$), while expression of GLUT4 protein, expression levels of HDL, IL-10, SOD and GLUT4 mRNA were decreased ($P < 0.05$). Compared with model group, expression of Caspase-3, Caspase-9 and FOXO1 protein, expression levels of TC, TG, LDL, IL-6, TNF- α and FOXO1 mRNA, activity of LDH and MDA were decreased in all exercise groups ($P < 0.05$). And the above indexes were the lowest in medium-intensity exercise group, while GLUT4 protein expression, expression levels of HDL, IL-10, SOD and GLUT4 mRNA were increased ($P < 0.05$). And the above indexes were the highest in medium-intensity exercise group. **Conclusion** Exercise therapy can alleviate pathological injury of diabetes rats by increasing expression levels of skeletal muscle GLUT4 protein and mRNA, and decreasing expression levels of skeletal muscle FOXO1 protein and mRNA. The effect of middle-intensity exercise is the best.

Key words diabetes; skeletal muscle; exercise therapy; FOXO1; GLUT4