

# 有氧运动对小鼠骨骼肌结节性硬化复合物蛋白2基因表达及胰岛素受体底物1丝氨酸磷酸化的影响\*\*☆

杨风英<sup>1</sup>, 牛燕媚<sup>1</sup>, 刘彦辉<sup>2</sup>, 陈 霓<sup>1</sup>, 王家仲<sup>1</sup>, 傅 力<sup>1,2</sup>

## Effect of aerobic exercise on the expression of tuberous sclerosis complex-2 and insulin receptor substrate 1 serine phosphorylation of skeletal muscle in mice

Yang Feng-ying<sup>1</sup>, Niu Yan-mei<sup>1</sup>, Liu Yan-hui<sup>2</sup>, Chen Ni<sup>1</sup>, Wang Jia-zhong<sup>1</sup>, Fu Li<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Rehabilitation and Sports Medicine, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China;  
<sup>2</sup>Department of Health and Exercise Science, Tianjin Institute of Physical Education, Tianjin 300381, China

Yang Feng-ying☆, Studying for doctorate, Lecturer, Department of Rehabilitation and Sports Medicine, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China  
nini@tjmu.edu.cn

Correspondence to: Fu Li, Doctor, Doctoral supervisor, Professor, Department of Rehabilitation and Sports Medicine, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China;  
Department of Health and Exercise Science, Tianjin Institute of Physical Education, Tianjin 300381, China  
lif@tjmu.edu.cn

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 30871213\*; the Applied Basic Research and Leading Technology Projects, No. 09JCZDJC17400\*

Received: 2010-09-06  
Accepted: 2010-12-07

### Abstract

**BACKGROUND:** Studies demonstrated that, expressions of insulin receptor substrate 1 (IRS1) serine phosphorylation and tuberous sclerosis complex-2 (TSC2) and abnormality of mammalian target of rapamycin (mTOR)/S6K1 signaling pathway play an important role in the agitation of insulin resistance.

**OBJECTIVE:** To study the effects of aerobic exercise on TSC2 and IRS1 serine phosphorylation activity of skeletal muscle in mice.

**METHODS:** C57BL/6 mice were randomly divided into the control group and exercise group. Mice in the exercise group were acclimatized to the motorized treadmill by running at the intensity of 75%VO<sub>2max</sub>, for 6 weeks. No intervention was performed in the control group. The expression and location of TSC2, IRS1, IRS1-Ser<sup>307</sup> and IRS1-Ser<sup>636/639</sup> in mouse skeletal muscle were measured by RT-PCR, Western blot, and immunofluorescence.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The expression of TSC2 mRNA and protein of the exercise group were significantly increased compared with the control group ( $P < 0.05$ ). There were no significant difference between two groups in the expression of IRS1 mRNA and protein. And the expression of pIRS1-Ser<sup>307</sup> and pIRS1-Ser<sup>636/639</sup> protein was significantly decreased in the exercise group compared with the control group ( $P < 0.05$ ). The aerobic exercise probably agitate insulin pathway by enhancing the expression of TSC2 which attenuating the activity of IRS1-Ser<sup>307</sup> and IRS1-Ser<sup>636/639</sup> phosphorylation.

Yang FY, Niu YM, Liu YH, Chen N, Wang JZ, Fu L. Effect of aerobic exercise on the expression of tuberous sclerosis complex-2 and insulin receptor substrate 1 serine phosphorylation of skeletal muscle in mice. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(7): 1232-1236. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

### 摘要

**背景:** 研究表明, 胰岛素受体底物蛋白1(insulin receptor substrate 1, IRS1)的丝氨酸磷酸化和结节性硬化复合物蛋白2的表达及哺乳动物雷帕霉素靶蛋白/核糖体S6激酶1信号通路的异常可诱导机体产生胰岛素抵抗。

**目的:** 观察有氧运动对小鼠骨骼肌结节性硬化复合物蛋白2基因表达及IRS1丝氨酸磷酸化的影响。

**方法:** 将C57BL/6小鼠随机分为安静组和运动组, 运动组进行6周的75%VO<sub>2max</sub>强度的有氧跑台运动, 安静组不做任何干预。采用RT-PCR, Western blot和免疫荧光组织化学染色等方法检测各组小鼠骨骼肌结节性硬化复合物蛋白2, IRS1, pIRS1-Ser<sup>307</sup>和pIRS1-Ser<sup>636/639</sup>的表达和定位。

**结果与结论:** 运动组结节性硬化复合物蛋白2 mRNA及蛋白表达高于安静组( $P < 0.05$ ), 两组间胰岛素受体底物蛋白1 mRNA及蛋白表达差异无显著性意义。运动组胰岛素受体底物蛋白1的丝氨酸307和丝氨酸636/639位点的磷酸化明显低于安静组( $P < 0.05$ )。结果提示, 有氧运动可增强骨骼肌组织结节性硬化复合物蛋白2基因表达, 进而抑制胰岛素受体底物蛋白1的丝氨酸磷酸化。

**关键词:** 有氧运动; 结节性硬化复合物蛋白2; 胰岛素受体底物蛋白1; 磷酸化; 组织构建

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.07.020

杨风英, 牛燕媚, 刘彦辉, 陈霓, 王家仲, 傅力. 有氧运动对小鼠骨骼肌结节性硬化复合物蛋白2基因表达及胰岛素受体底物1丝氨酸磷酸化的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(7):1232-1236.

[http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

## 0 引言

研究证实, 有氧运动可增加机体的能量代谢, 增强骨骼肌细胞对胰岛素的敏感性, 具有预防和改善胰岛素抵抗的作用<sup>[1-2]</sup>。但这一过程涉及复杂的信号通路, 其分子机制是当今运动医学领域研究的热点。研究显示, 胰岛素受体底物蛋白1 (insulin receptor substrate 1, IRS1)上的Ser<sup>307</sup>和Ser<sup>636/639</sup>位点磷酸化活性增

强可阻碍胰岛素信号通路的传导, 诱导机体产生胰岛素抵抗<sup>[3-4]</sup>, 而结节性硬化复合物蛋白2 (tuberous sclerosis complex-2, TSC2)/Rheb (ras homolog enriched in brain)及哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)/核糖体S6激酶1(S6K1)信号通路在介导这一过程中发挥重要作用<sup>[4-5]</sup>。TSC2/Rheb/mTOR/S6K1信号通路对能量和运动信号敏感, 该通路的关键调节因子TSC2与一磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)关系

密切, 而 AMPK 对运动信号极为敏感<sup>[6]</sup>。

实验以此推测有氧运动可能通过激活 AMPK 而影响 TSC2/Rheb/mTOR/S6K1 信号通路, 进而引起 IRS1活性的改变, 从而对胰岛素信号的传导起到调节作用。实验以 C57BL/6 小鼠为模型, 对其施以期为 6 周、75%VO<sub>2max</sub> 的有氧跑台运动, 观察有氧运动对小鼠骨骼肌 TSC2、IRS1 基因表达及 IRS1-Ser<sup>307</sup>和 IRS1-Ser<sup>636/639</sup>位点磷酸化活性的影响。

## 1 材料和方法

**设计:** 随机对照动物实验。

**时间及地点:** 于2008-04/12在天津体育学院和天津医科大学运动医学实验室完成。

**材料:**

**实验动物:** 健康14周龄C57BL/6小鼠40只, 体质量(14.8±0.4) g, 均购自解放军总医院第二附属医院实验动物中心, 动物许可证号: SIXK 2007/012。均喂饲标准饲料6周, 其间自由进食饮水, 标准饲料由中国军事医学科学院实验动物研究所提供。实验过程中对动物的处理方法符合中华人民共和国科学技术部颁发的《关于善待实验动物的指导性意见》的规定<sup>[7]</sup>。

**试剂及仪器:**

试剂及仪器	来源
兔抗鼠 TSC2, IRS1, pIRS1-Ser <sup>307</sup> , pIRS1-Ser <sup>636/639</sup> 多克隆抗体	美国 CST 公司
SuperScriptTMIII 试剂盒	美国 Invitrogen 公司
全自动凝胶分析仪	美国 Bio-Rad 公司
DU800 型可见-紫外分光光度计	美国 Beckman 公司
研究级倒置荧光相差显微镜	日本 OLYMPUS 公司

**分组和建模:** 将小鼠40只随机分为安静组和运动组, 每组20只。安静组保持原来的饲养习惯不变, 运动组于标准饲料喂养的同时进行 6 周的有氧跑台运动。跑台适应性训练后, 进行为期6周, 跑速为12 m/min, 参照 Fernando等<sup>[8]</sup>制定的跑速与最大摄氧量对应表, 该强度相当于75%VO<sub>2max</sub>, 1次/d, 60 min/次, 5次/周。

**取材及组织准备:** 6周后, 将两组小鼠处死, 迅速分离提取小鼠股四头肌, 液氮速冻后, 保存于-80 °C 冰箱备用。

**RT-PCR 法检测骨骼肌TSC2和IRS1的mRNA 表达:** 用 Trizol 一步法提取总 RNA, 经紫外分光光度计检测吸光度值(A)及A<sub>260/280nm</sub>比值, 以

A<sub>260nm</sub>值计算RNA的浓度; 以总 RNA为模板, 用SuperScriptTMIII试剂盒进行RT-PCR反应。PCR 产物经1% 琼脂糖凝胶电泳, 经 DNA Marker鉴定目的片段大小<sup>[9-10]</sup>。将每个样品测得的目的蛋白含量与本样品的甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)含量相除, 得到每个样品目的蛋白的相对含量, 将安静组基因表达程度设为100%, 以运动组基因表达程度占安静组的百分比记录实验结果。

**PCR 引物信息:**

基因	引物序列 (5'-3')	产物大小 (bp)
TSC2 (NM_011647)	F: CTT GGC TGT GGT TCC CGT GC R: TTG TTT GGG GGC TCT GGC TAT C	577
IRS1 (NM_010570)	F: TCAAGG AGG TCT GGC AGG TTA TC R: GGC TGG GTG GAG GGT TGT TG	408

**免疫荧光组织化学染色:** 采用免疫荧光组织化学染色检测骨骼肌 TSC2, IRS1, pIRS1-Ser<sup>307</sup>和pIRS1-Ser<sup>636/639</sup>的表达和定位<sup>[11]</sup>, 将冰冻切片室温复温1 h, 封闭1 h, 一抗为兔抗鼠TSC2, IRS1, pIRS1-Ser<sup>307</sup>和pIRS1-Ser<sup>636/639</sup>多克隆抗体(1 : 2 000, 1 : 1 000, 1 : 1 000 和 1 : 1 000), 于 4 °C 一抗孵育过夜, 用1×PBS洗片3次; 加二抗羊抗兔IgG(1 : 1 000), 室温避光孵育1 h; 1×PBS 洗片3次后加入1×Hoechst, 室温避光孵育5 min, 封固, 荧光显微镜观察。骨骼肌组织中的TSC2, IRS1, pIRS1-Ser<sup>307</sup>和pIRS1-Ser<sup>636/639</sup>分别被染成绿色, 色彩越亮代表骨骼肌组织该基因表达越高, 骨骼肌细胞核被蓝染。

**Western blot 检测:** 用Western blot 测定骨骼肌 TSC2, IRS1, pIRS1-Ser<sup>307</sup>和pIRS1-Ser<sup>636/639</sup>蛋白表达, NP-40 法提取骨骼肌总蛋白, 紫外分光光度计测定所提蛋白质浓度。使用 Tris-甘氨酸SDS进行聚丙烯酰胺凝胶电泳(250 mmol/L甘氨酸, 25 mmol/L Tris-Base, 0.1% SDS; pH 8.3)分离后采用湿法电转印将蛋白转到 PVDF 膜上。用含有 5% BSA的抗体稀释液按比例(1 : 2 000, 1 : 1 000, 1 : 1 000 和 1 : 1 000 稀释) 稀释一抗为兔抗鼠TSC2, IRS1, pIRS1-Ser<sup>307</sup>和pIRS1-Ser<sup>636/639</sup>多克隆抗体, 4 °C 孵育过夜洗涤3次。用含有5%脱脂奶粉的抗体稀释液按照 1 : 10 000 的比例稀释二抗羊抗兔IgG, 室温孵育1 h后用1×TBST洗涤后, 使用ECL试剂盒发光底物, 于暗室曝光, 扫描

<sup>1</sup> 天津医科大学康复与运动医学系, 天津市 300070;  
<sup>2</sup> 天津体育学院健康与运动科学系, 天津市 300381

杨风英, 女, 1979 年生, 山东省人, 汉族, 天津医科大学在读博士, 讲师, 主要从事代谢性疾病的运动康复方面的研究工作。  
nini@tjmu.edu.cn

通讯作者: 傅力, 博士, 博士生导师, 教授, 天津医科大学康复与运动医学系, 天津市 300070; 天津体育学院健康与运动科学系, 天津市 300381  
lifufu@tjmu.edu.cn

中图分类号: R318  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225 (2011)07-01232-05

收稿日期: 2010-09-06  
修回日期: 2010-12-07  
(20100524012WJ-Z)

定量各条带的相对灰度值<sup>[12-13]</sup>。将每个样品测得的目的蛋白含量与本样品的β-Tubulin含量相除, 得到每个样品目的蛋白的相对含量, 将安静组灰度值设为100%, 以运动组灰度值占安静组的百分比记录并分析实验结果。

**设计、实施、评估者:** 实验设计由通讯作者指导所有作者协同完成, 实施和评估主要由第一、二、三作者完成, 均经过系统培训, 未使用盲法评估。

**主要观察指标:** ①TSC2 mRNA及蛋白表达的变化。②IRS1 mRNA及蛋白表达的变化。③pIRS1-Ser<sup>307</sup>, pIRS1-Ser<sup>636/639</sup>蛋白表达的变化。

**统计学分析:** 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS13.0 统计软件进行组间数据进行单因素方差分析, 采用 LSD-t 检验,  $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

## 2 结果

**2.1 实验动物数量分析** 共纳入40只小鼠, 均进入结果分析, 无脱落。

**2.2 小鼠体质量变化** 6周运动实验后, 运动组小鼠平均体质量(29.17±1.26)g, 与安静组(27.89±1.97)g比较差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。

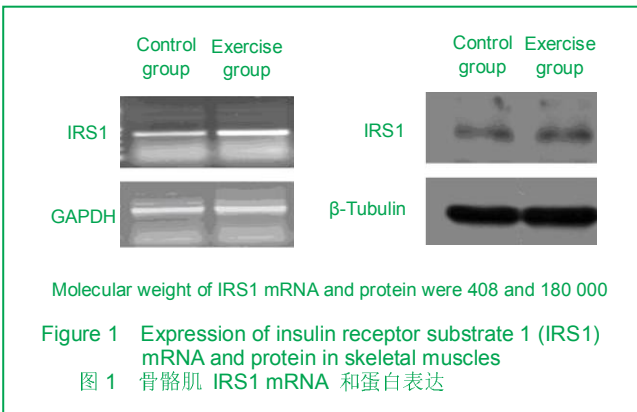
**2.3 骨骼肌 IRS1, pIRS1-Ser<sup>307</sup>和pIRS1-Ser<sup>636/639</sup>的表达** 表1及图1显示, 运动对IRS1 mRNA 及其蛋白表达无明显影响 ( $P > 0.05$ )。

表1 两组小鼠骨骼肌 IRS1, pIRS1-Ser<sup>307</sup> 和 pIRS1-Ser<sup>636/639</sup> 蛋白表达

Table 1 Expression of insulin receptor substrate 1 (IRS1), pIRS1-Ser<sup>307</sup>, pIRS1-Ser<sup>636/639</sup> protein in rats of two groups

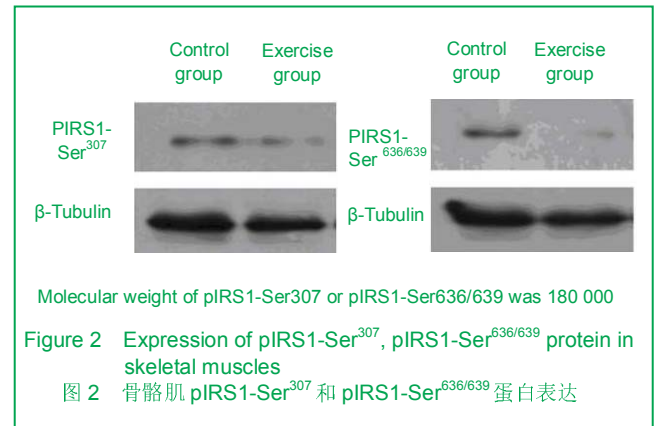
Group	IRS1	pIRS1-Ser <sup>307</sup>	pIRS1-Ser <sup>636/639</sup>
Control	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
Exercise	103.64±10.12	60.84±7.47 <sup>a</sup>	58.23±10.43 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.01$ , vs. control group

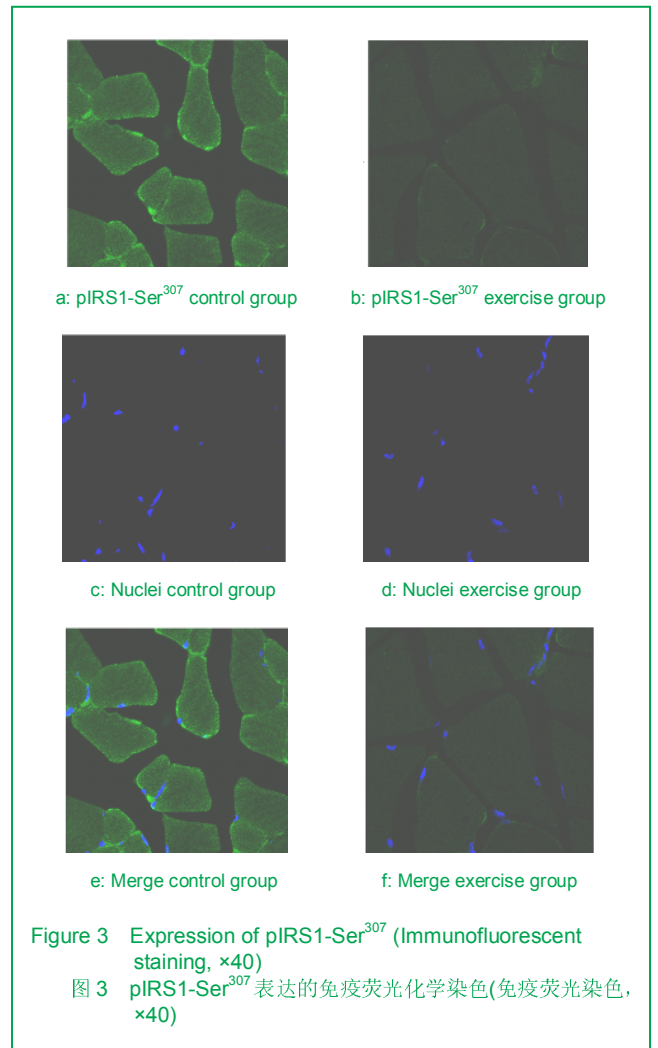


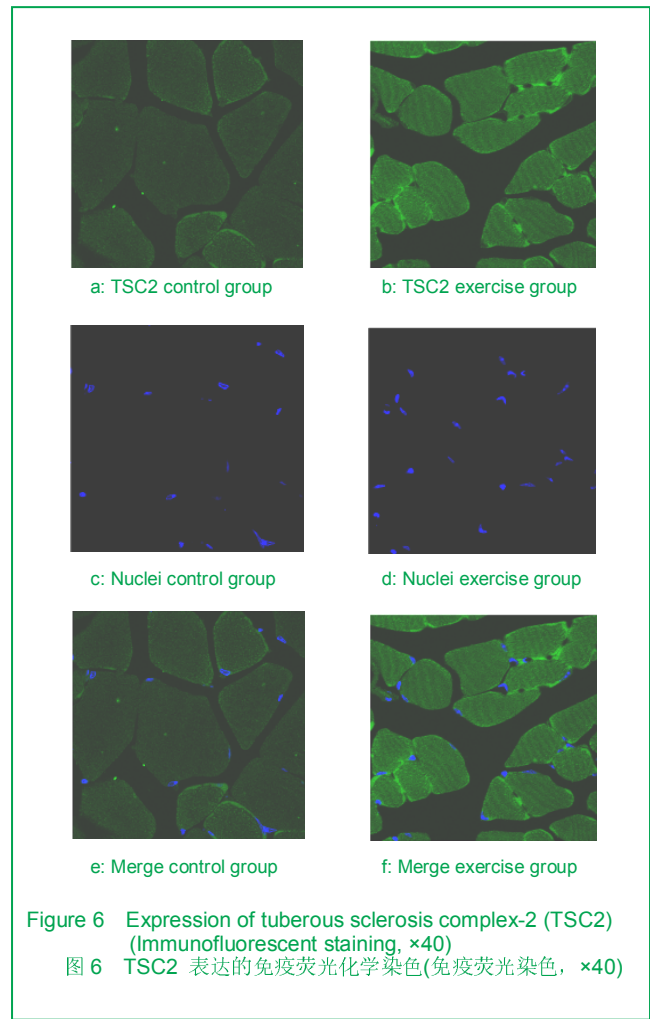
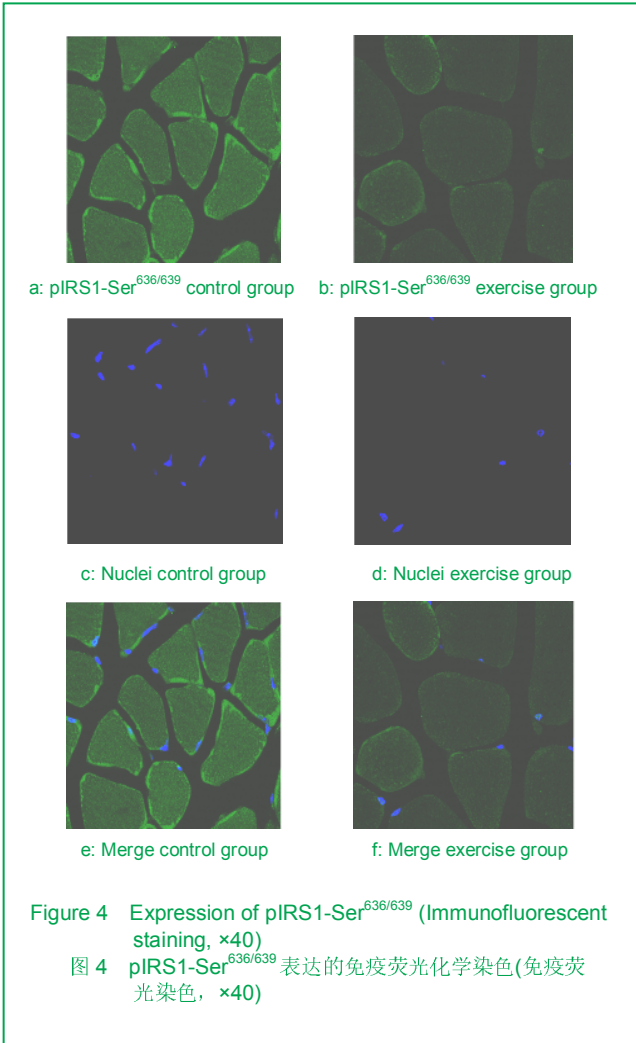
由表1及图2可见, 运动组骨骼肌 pIRS1-Ser<sup>307</sup>, pIRS1-Ser<sup>636/639</sup> 蛋白表达较安静组分别降低了

39.16%和41.77% ( $P < 0.01$ ), 表明有氧运动可以显著降低骨骼肌 pIRS1-Ser<sup>307</sup>, pIRS1-Ser<sup>636/639</sup>的蛋白表达水平。

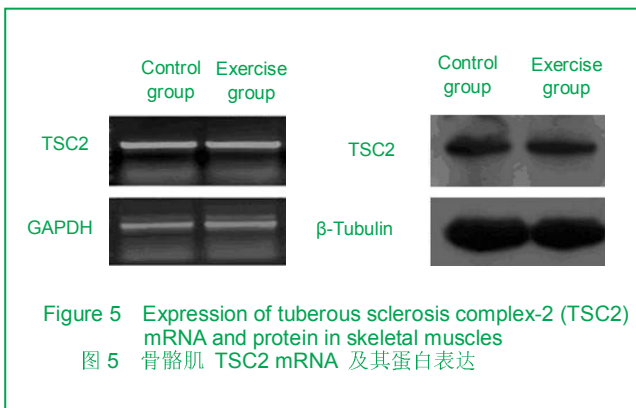


免疫荧光组织化学染色结果显示, 运动组小鼠骨骼肌组织pIRS1-Ser<sup>307</sup>, pIRS1-Ser<sup>636/639</sup> 绿染亮度明显低于安静组, 代表运动组小鼠骨骼肌TSC2基因表达降低, 免疫荧光组织化学染色结果进一步支持了Western blot 检测结果。见图3, 4。





2.4 骨骼肌TSC2的表达 6周运动实验后, 运动组骨骼肌TSC2 mRNA及蛋白表达较安静组分别增加12.84%和10.32% ( $P < 0.05$ )。提示有氧运动可以显著增加骨骼肌TSC2 mRNA及蛋白的表达, 见图5。



免疫荧光组织化学染色结果显示, 运动组小鼠骨骼肌TSC2绿染亮度明显高于安静组, 代表运动组小鼠骨骼肌TSC2基因表达增强, 见图6。

### 3 讨论

IRS1是胰岛素信号传导通路中的重要信号蛋白, 胰岛素与其受体结合后, 使 IRS 的酪氨酸磷酸化位点磷酸化, 然后激活磷脂酰肌醇3激酶 (Phosphoinositide 3-Kinase, PI3K), 导致了磷脂酰肌醇3磷酸 (Phosphatidylinositide-3, 4, 5-P3, PI3P) 的生成<sup>[14-16]</sup>, 进而激发胰岛素信号的传导。有研究认为IRS1-Ser<sup>307</sup>和IRS1-Ser<sup>636/639</sup>位点的磷酸化可阻断胰岛素受体与其底物之间的结合, 直接影响胰岛素信号通路的传导<sup>[4-5]</sup>。实验结果显示有氧运动对小鼠骨骼肌 IRS1基因及其蛋白表达无明显影响, 而使IRS1-Ser<sup>307</sup>和IRS1-Ser<sup>636/639</sup>位点磷酸化水平明显下降, 说明抑制IRS1-Ser<sup>307</sup>和IRS1-Ser<sup>636/639</sup>位点的磷酸化活性是有氧运动调节胰岛素信号传导的重要分子机制之一。有氧运动通过什么通路促进IRS1-Ser<sup>307</sup>和IRS1-Ser<sup>636/639</sup>位点的磷酸化需要实验进一步研究分析。

相关研究显示, 有氧运动时细胞内AMP/ATP比率升高可直接激活AMPK<sup>[2-6]</sup>, 同时可使小鼠骨骼肌AMPK基因表达增加, 进而促进胰岛素信号的传导<sup>[17-19]</sup>。TSC2

及其下游效应蛋白Rheb是AMPK下游的效应器之一,其在AMPK 调节能量平衡的过程中可能发挥重要作用。TSC2作为mTOR信号通路重要的负调节因子可以介导细胞内的能量反应,目前认为TSC2的功能障碍可通过其对mTOR/S6K1的抑制作用消失,从而增强了该通路对胰岛素信号传导的负反馈调节作用,抑制胰岛素信号的传导<sup>[20-21]</sup>。实验结果显示,运动组小鼠与安静组相比TSC2 mRNA及蛋白表达明显升高,提示6周的75% VO<sub>2max</sub>强度的有氧运动可能通过促进TSC2的表达,增加了其对mTOR/S6K1通路的抑制作用,进而促进了胰岛素信号的传导,增强机体对胰岛素的敏感性。Harrington等<sup>[22]</sup>研究发现:TSC2敲除的小鼠胚胎成纤维细胞,其IRS1上丝氨酸位点磷酸化程度增高,PI3K信号传导通路严重受损,表现出明显胰岛素抵抗;又有研究提出,mTOR的激活可引起S6K1上Thr<sup>421</sup>/Ser<sup>424</sup>位点磷酸化增加,进而提高IRS1-Ser<sup>636/639</sup>位点磷酸化水平<sup>[15]</sup>。上述研究结果与实验中运动引起TSC2基因表达增加的同时IRS1-Ser<sup>307</sup>和IRS1-Ser<sup>636/639</sup>位点的磷酸化程度降低相吻合。因此实验推测有氧运动通过激活 AMPK,进而引起 TSC2 蛋白表达的增加,而TSC2基因的上调通过增强TSC2对mTOR/S6K1通路的抑制作用,进而降低了IRS1-Ser<sup>307</sup>和IRS1-Ser<sup>636/639</sup>位点的磷酸化程度,从而促进胰岛素信号的传导,提高了小鼠对胰岛素的敏感性。

综上所述,有氧运动对胰岛素信号的调节作用主要是通过激活AMPK进而调节TSC2/Rheb/mTOR/S6K1通路实现的。TSC2和IRS1是有氧运动调节胰岛素信号传导的重要作用靶点,但每个步骤都涉及到复杂的分子机制并且是经多通路实现的。对运动调节胰岛素信号传导通路的更深入认识还有待进一步研究。

#### 4 参考文献

[1] Santos JM, Ribeiro SB, Gaya AR, et al. Skeletal muscle pathways of contraction-enhanced glucose uptake. *Int J Sports Med.* 2008; 29(10):785-794.

[2] Rockl KS, Witczak CA, Goodyear LJ. Signaling mechanisms in skeletal muscle: acute responses and chronic adaptations to exercise. *IUBMB Life.* 2008;60(3):145-153.

[3] Niu YM, Yuan H, Liu YH, et al. Zhongguo Yundong Yixue Zazhi. 2009;28(4):402-406. 牛燕媚,苑虹,刘彦辉,等.有氧运动和饮食干预对胰岛素抵抗小鼠骨骼肌脂联素-腺苷酸活化蛋白激酶信号系统的影响研究[J].中国运动医学杂志,2009,28(4):402-406.

[4] Um SH, Frigerio F, Watanabe M, et al. Absence of S6K1 protects against age- and diet-induced obesity while enhancing insulin sensitivity. *Nature.* 2004;431(7005):200-205.

[5] Düvel K, Yecies JL, Menon S, et al. Activation of a metabolic gene regulatory network downstream of mTOR complex 1. 2010; 20(5):372-379.

[6] Musi N, Yu H, Goodyear LJ. AMP-activated protein kinase regulation and action in skeletal muscle during exercise. *Biochem Soc Trans.* 2003;31(Pt 1):191-195.

[7] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance Suggestions for the Care and Use of Laboratory Animals. 2006-09-30.

[8] Fernando P, Bonen A, Hoffman-Goetz L. Predicting submaximal oxygen consumption during treadmill running in mice. *Can J Physiol Pharmacol.* 1993;71(10-11):854-857.

[9] Um SH, Alessio D, Thomas G. Nutrient overload, insulin resistance, and ribosomal protein S6 kinase 1, S6K1. *Cell.* 2006;126(6):393-402.

[10] Glynn EL, Lujan HL, Kramer VJ, et al. A chronic increase in physical activity inhibits fed-state mTOR/S6K1 signaling and reduces IRS-1 serine phosphorylation in rat skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2008;33(1):93-101.

[11] Williamson DL, Kubica N, Kimball SR, et al. Exercise-induced alterations in extracellular signal-regulated kinase 1/2 and mammalian target of rapamycin signaling to regulatory mechanisms of mRNA translation in mouse muscle. *J Physiol.* 2006;573(2):497-510.

[12] Frost RA, Huber D, Pruznak A, et al. Regulation of REDD1 by insulin-like growth factor-I in skeletal muscle and myotubes. *J Cell Biochem.* 2009;108(5):1192-1202.

[13] Cheng SW, Fryer LG, Carling D, et al. Thr2446 is a novel mammalian target of rapamycin (mTOR) phosphorylation site regulated by nutrient status. *J Biol Chem.* 2004;279(16):15719-15722.

[14] Roth RA, Liu F, Chin JE. Biochemical mechanisms of insulin resistance. *Horm Res.* 1994;41 Suppl 22:51-55.

[15] Kubrusly MS, Corrêa-Giannella ML, Bellodi-Privato M, et al. A role for mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway in non alcoholic steatohepatitis related-cirrhosis. *Histol Histopathol.* 2010; 25(9):1123-1131.

[16] Matsumoto K, Arao T, Tanaka K, et al. mTOR signal and hypoxia-inducible factor-1 alpha regulate CD133 expression in cancer cells. *Cancer Res.* 2009;69(18):7160-7164.

[17] Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF, et al. AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. *Mol Cell.* 2008;30(2):214-226.

[18] Atherton PJ, Babraj J, Smith K, et al. Selective activation of AMPK-PGC-1α or PKB-TSC2-mTOR signaling can explain specific adaptive responses to endurance or resistance exercise training-like electrical muscle stimulation. *FASEB J.* 2005;19(7):786-788.

[19] Inoki K, Zhu T, Guan KL. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell.* 2003;115(3):577-590.

[20] Pöllänen E, Ronkainen PH, Horttanainen M, et al. Effects of combined hormone replacement therapy or its effective agents on the IGF-1 pathway in skeletal muscle. *Growth Horm IGF Res.* 2010;20(5):372-379.

[21] Liu XL, Niu YM, Fu L. Zhongguo Yundongyixue Zazhi. 2010;29(1):118-121. 刘晓磊,牛燕媚,傅力.mTOR/S6K1信号通路研究进展[J].中国运动医学杂志,2010,29(1):118-121.

[22] Harrington LS, Findlay GM, Gray A, et al. The TSC1-2 tumor suppressor controls insulin-PI3K signaling via regulation of IRS proteins. *Cell.* 2004;116(2):313-223.

#### 来自本文课题的更多信息--

**基金资助:** 课题受国家自然科学基金(30871213)天津市应用基础及前沿技术重点研究计划资助项目(09JCZDJ17400)资助。

**作者贡献:** 傅力、刘彦辉进行实验设计,实验实施为牛燕媚、杨风英、陈霓,实验评估为傅力、牛燕媚、刘彦辉,资料收集为傅力、刘彦辉、王家仲,杨风英成文,傅力审核,傅力对文章负责。

**致谢:** 感谢苏照鹏和李慧阁同学在实验过程中给予的合作和付出的努力。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理批准:** 实验过程中对动物的处理方法符合中华人民共和国科学技术部颁发的《关于善待实验动物的指导性意见》的规定。

**本文创新性:** 实验采用 RT-PCR 及蛋白免疫印迹技术与免疫组化荧光技术多重检测 TSC2 基因表达及 IRS1 丝氨酸磷酸化,探讨有氧运动调节胰岛素信号传导通路的作用机制。