

## 热量限制及其联合运动对肥胖大鼠减脂效果影响及鸢尾素的作用

<https://doi.org/10.12307/2021.293>卜建华<sup>1,2</sup>, 王祯<sup>2</sup>, 刘子铭<sup>3</sup>, 李琳<sup>4</sup>, 于亮<sup>2</sup>

投稿日期: 2021-01-30

送审日期: 2021-02-04

采用日期: 2021-03-09

在线日期: 2021-05-06

中图分类号:

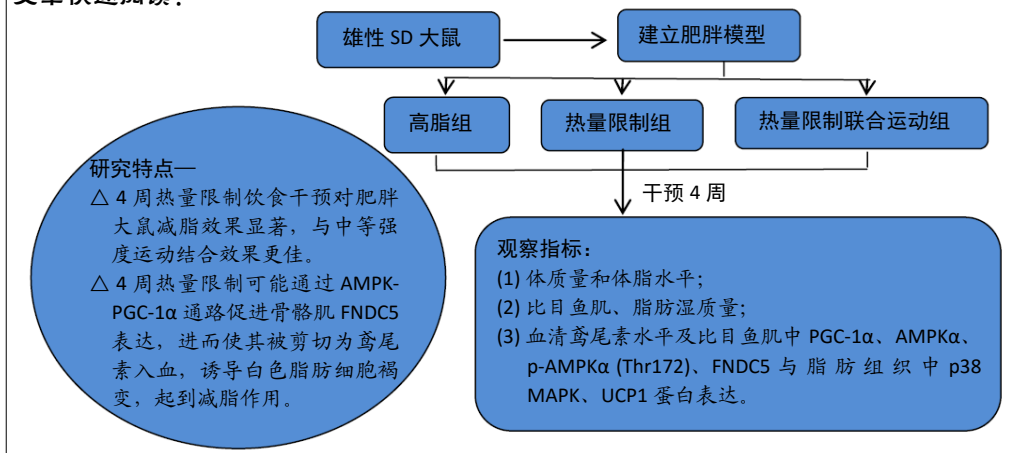
R446; R496; R318

文章编号:

2095-4344(2021)35-05638-06

文献标识码: B

## 文章快速阅读:



## 文题释义:

**热量限制(CR):** 饮食调控手段之一,指在机体未发生营养不良的前提下,减少每日热量摄入,一般认为减少25%左右即可达到热量限制。

**鸢尾素(Irisin):** 一种过氧化物酶体增殖物激活受体γ辅激活因子1α(PGC-1α)依赖性肌肉因子,由前体含III型纤连蛋白域蛋白5(FNDC5)剪切后产生,入血后可经循环系统作用于机体各组织、器官,鸢尾素在影响白色脂肪棕色化方面效果极佳,对于治疗肥胖等代谢疾病具有重要价值。

## 摘要

**背景:** 热量限制是非常有效的减脂减重手段,是否与鸢尾素有关尚不明确。

**目的:** 以热量限制及其联合运动为干预手段,建立高脂膳食肥胖大鼠模型,探究热量限制及其联合运动经AMPKα-PGC-1α-FNDC5通路的可能减脂机制。

**方法:** 雄性SD大鼠进行为期8周的高脂膳食建立肥胖模型,选取其中30只随机分组:高脂组(继续高脂膳食)、热量限制组(每日给予建模期间摄食量的70%)、热量限制联合运动组(饮食方案同热量限制组,并进行有氧跑台运动,1次/d,6 d/周),干预4周。记录体质量、体脂水平,称量比目鱼肌、脂肪湿质量,检测血清鸢尾素水平及比目鱼肌过氧化物酶体增殖物激活受体γ辅激活因子1α、AMPKα、p-AMPKα(Thr172)、含III型纤连蛋白域蛋白5与脂肪组织中p38 MAPK、解偶联蛋白1蛋白表达。实验方案经北京体育大学实验动物伦理委员会批准。

**结果与结论:** ①与高脂组比较,热量限制组、热量限制联合运动组大鼠的体质量、体脂及肾周、附睾、肩胛脂肪湿质量显著降低( $P < 0.05$ );各组比目鱼肌湿质量差异无显著性意义( $P > 0.05$ );②热量限制联合运动组血清鸢尾素水平高于高脂组( $P < 0.05$ ),热量限制组、热量限制联合运动组比目鱼肌中过氧化物酶体增殖物激活受体γ辅激活因子1α、AMPKα、p-AMPKα(Thr172)、含III型纤连蛋白域蛋白5蛋白表达及肾周处白色脂肪中p38 MAPK、解偶联蛋白1蛋白表达水平明显高于高脂组( $P < 0.05$ ),其中热量限制联合运动组蛋白表达更为显著;③结果说明,4周热量摄入限制减脂减重效果明显,与运动结合减脂程度更高;热量限制联合运动可能通过AMPKα-PGC-1α通路上调骨骼肌含III型纤连蛋白域蛋白5蛋白表达,后者被剪切为鸢尾素入血,经p38 MAPK-UCP1通路促使白色脂肪褐变,提高脂肪分解供能效率,降低机体脂肪水平。

**关键词:** 肥胖; 热量限制; 运动; 减脂; 鸢尾素

**缩略语:** 过氧化物酶体增殖物激活受体γ辅激活因子1α: peroxisomeproliferator-activated receptor gamma coactivated 1-alpha, PGC-1α; 含III型纤连蛋白域蛋白5: fibronectin type III domain containing protein 5, FNDC5; 腺苷酸活化蛋白激酶: adenosine 5-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK; 解偶联蛋白1: uncoupling protein 1, UCP1

## Effect of calorie restriction and its combined exercise on fat reduction and irisin expression in obese rats

Bu Jianhua<sup>1,2</sup>, Wang Zhen<sup>2</sup>, Liu Ziming<sup>3</sup>, Li Lin<sup>4</sup>, Yu Liang<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 齐齐哈尔大学体育学院,黑龙江省齐齐哈尔市 161006; <sup>2</sup> 北京体育大学,北京市 100084; <sup>3</sup> 国家体育总局网球运动管理中心,北京市 100763;

<sup>4</sup> 九州职业技术学院,江苏省徐州市 221116

**第一作者:** 卜建华,男,1977年生,黑龙江省齐齐哈尔市人,汉族,2018年北京体育大学毕业,硕士,讲师,主要从事运动对骨骼肌形态和机能影响的研究。

**通讯作者:** 于亮,博士,副教授,博士生导师,北京体育大学运动人体科学学院,北京市 100084

<https://orcid.org/0000-0001-6840-478X> (卜建华)

**基金资助:** 国家自然科学基金(31500964),项目负责人:于亮

**引用本文:** 卜建华,王祯,刘子铭,李琳,于亮.热量限制及其联合运动对肥胖大鼠减脂效果影响及鸢尾素的作用[J].中国组织工程研究,2021,25(35):5638-5643.



<sup>1</sup>School of Physical Education, Qiqihar University, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China; <sup>2</sup>Beijing Sport University, Beijing 100084, China; <sup>3</sup>Tennis Management Center of the General Administration of Sports of China, Beijing 100763, China; <sup>4</sup>Jiuzhou Polytechnic, Xuzhou 221116, Jiangsu Province, China

Bu Jianhua, Master, Lecturer, School of Physical Education, Qiqihar University, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China; Beijing Sport University, Beijing 100084, China

**Corresponding author:** Yu Liang, MD, Associate professor, Doctoral supervisor, Beijing Sport University, Beijing 100084, China

## Abstract

**BACKGROUND:** Calorie restriction is a very effective way to reduce fat and weight, but it is unclear whether it is related to irisin.

**OBJECTIVE:** Using calorie restriction and its combined exercise as an intervention method, to establish a high-fat diet obese rat model to explore the possible fat-reducing mechanism of calorie restriction and its combined exercise via AMPK $\alpha$ -PGC-1 $\alpha$ -FNDC5 pathway.

**METHODS:** Sixty male Sprague-Dawley rats underwent an 8-week high-fat diet to establish an obesity model, 30 of which were randomly divided into continued high-fat diet group, calorie restriction group (70% of food intake during the modeling period was given daily), calorie restriction combined exercise group (70% of food intake during the modeling period was given daily, and aerobic treadmill exercise was performed, once a day, 6 days per week). All interventions were given for 4 weeks. Body mass and body fat content were recorded weekly, soleus muscle and fat wet weight were weighed, serum irisin level and the expression levels of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivated 1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ), adenosine 5-monophosphate (AMP)-activated protein kinase  $\alpha$  (AMPK $\alpha$ ), p-AMPK $\alpha$  (Thr172), fibronectin type III domain containing protein 5 (FNDC5) in soleus muscle and p38 MAPK, and uncoupling protein 1 (UCP1) protein in adipose tissue were detected. An ethics approval was obtained from the Experimental Animal Ethics Committee of Beijing Sport University.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Compared with continued high-fat diet group, body mass, body fat and wet weight of perinephric, epididymis, and scapular fat were significantly reduced in calorie restriction group and calorie restriction combined exercise group ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in the wet weight of soleus muscle among groups ( $P > 0.05$ ). Serum irisin level in the calorie restriction combined exercise group was higher than that in the continued high-fat diet group ( $P < 0.05$ ). Compared with the continued high-fat diet group, the expression levels of PGC-1 $\alpha$ , AMPK $\alpha$ , p-AMPK $\alpha$  (Thr172), FNDC5 protein in soleus muscle and p38 MAPK, UCP1 in adipose tissue were significantly higher in the calorie restriction group and calorie restriction combined exercise group ( $P < 0.05$ ), especially in the calorie restriction combined exercise group. To conclude, a 4-week caloric restriction can effectively reduce body mass and body fat content; calorie restriction combined with exercise shows a better effect on fat reduction and upregulate the expression of FNDC5 in skeletal muscle via AMPK $\alpha$ -PGC-1 $\alpha$  pathway. FNDC5 is cut into irisin and released into the blood to promote the browning of white fat through the p38 MAPK-UCP1 pathway, which improves the efficiency of lipolysis and energy supply and reduce body fat level in the body.

**Key words:** obesity; calorie restriction; exercise; fat reduction; irisin

**Funding:** the National Natural Science Foundation of China, No. 31500964 (to YL)

**How to cite this article:** BU JH, WANG Z, LIU ZM, LI L, YU L. Effect of calorie restriction and its combined exercise on fat reduction and irisin expression in obese rats. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2021;25(35):5638-5643.

## 0 引言 Introduction

肥胖是导致心律不齐<sup>[1]</sup>、高血压<sup>[2]</sup>、血脂过高等多种慢性疾病的重要因素<sup>[3]</sup>。热量限制 (calorie restriction, CR) 是当前热门的减脂手段, 其通过降低食物摄取造成体内能量收支失衡, 提高脂肪供能比例, 进而达到减脂效果。

鸢尾素 (Irisin) 是过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  辅激活因子 1 $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivated 1-alpha, PGC-1 $\alpha$ ) 依赖性肌肉因子, 在生物体内主要起到促进白色脂肪组织褐变、增加身体的能量消耗的作用<sup>[4]</sup>。研究表明 PGC-1 $\alpha$  可以增加肌肉含 III 型纤连蛋白域蛋白 5 (fibronectin type III domain containing protein 5, FNDC5) 蛋白水平<sup>[5]</sup>。作为鸢尾素前体, FNDC5 在细胞外可被剪切为鸢尾素进入血液, 经循环系统作用于组织和器官, 研究发现鸢尾素可通过上调 WAT 中解偶联蛋白 1 (uncoupling protein 1, UCP1) 的表达来促进白色脂肪的褐变<sup>[5]</sup>。多数肌肉因子的 “cross-talk” 效应与能量代谢有关, 腺苷酸活化蛋白激酶 (adenosine 5-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK) 在这一过程中发挥重要作用, 研究表明抑制 AMPK 使 PGC-1 $\alpha$  与 FNDC5 表达降低<sup>[6]</sup>, 推测 AMPK 可作为 PGC-1 $\alpha$  上游参与调控 FNDC5 及后续过程。热量限制作为现如今热门的饮食调控手段, 其引起的能量稳态失衡能否激活 AMPK, 并经下游 PGC-1 $\alpha$ -FNDC5 产生减脂作用却尚未明确。因此, 此次研究建立高脂膳食致肥胖的动物模型, 观察 4 周热量限制和 / 或运动干预对大鼠骨骼肌组织 AMPK $\alpha$ -

PGC-1 $\alpha$ -FNDC5 通路及脂肪 p38 MAPK-UCP1 通路的影响, 初步探索热量限制过程中鸢尾素在体内的 “cross-talk” 效应及其在减脂过程中的可能调控机制。

## 1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照大鼠实验, 组间数据对比采用单因素方差分析 + LSD 法 (方差齐性) 和 Tamhane' T2 法 (方差不齐)。

1.2 时间及地点 实验于 2017 年 4 月至 2018 年 4 月在北京体育大学动物实验中心完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 60 只 5 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司, SCXK(京)2016-0011。随机分为对照组 (20 只) 与高脂组 (40 只), 饲养环境温度 20–24 °C, 相对湿度 45%–55%。

1.3.2 实验用主要试剂 Anti-PGC1- $\alpha$ 、Anti-UCP1、Anti-FNDC5、Anti-AMPK $\alpha$  (均为 Abcam, 美国); Anti-p-AMPK $\alpha$  (Cell Signaling Technology, 美国); Anti-p38 MAPK (上海沪峥生物科技有限公司, 中国)。

1.4 实验方法

1.4.1 建立动物模型 高脂组大鼠喂养高脂饲料 (北京华阜康生物科技股份有限公司, H10060, 主要成分: 蛋白 26%, 热量为 20%; 糖 26%, 热量为 20%; 脂肪 35%, 热量为 60%; 总热量 100%) 8 周。每周记录大鼠体质量及单日摄食量。8 周后称量大鼠体质量, 建模成功标准为超过普通组 1.2 倍。对

照组大鼠用普通饲料喂养 8 周，用于与造模后的肥胖大鼠做比较。

实验动物造模过程的相关问题

造模目的	以热量限制及其联合运动为干预手段，建立高脂膳食肥胖大鼠模型，探究热量限制及其联合运动经 AMPK $\alpha$ -PGC-1 $\alpha$ -FNDC5 通路的可能减脂机制
动物来源及品系	雄性 SD 大鼠购置北京维通利华实验动物技术有限公司
模型与所研究疾病的关系	观察 4 周热量限制和 / 或运动干预对大鼠骨骼肌组织 AMPK $\alpha$ -PGC-1 $\alpha$ -FNDC5 通路及脂肪 p38 MAPK-UCP1 通路的影响，初步探索热量限制过程中鸢尾素在体内的“cross-talk”效应及其在减脂过程中的可能调控机制
造模技术描述	大鼠喂养高脂饲料 8 周
动物数量及分组方法	大鼠随机被分为对照组 20 只和高脂组 40 只
造模成功评价指标	8 周后称量大鼠体质量，建模成功标准为超过普通组 1.2 倍
造模后实验观察指标	①体质量、体脂含量；②比目鱼肌、脂肪（肾脏、附睾、肩胛处）湿质量；③血清鸢尾素水平；④比目鱼肌 PGC-1 $\alpha$ 、AMPK $\alpha$ 、p-AMPK $\alpha$ 、FNDC5 蛋白表达；⑤肾周白色脂肪 p38 MAPK、UCP1 蛋白表达
造模后动物处理	干预周期末次运动后 12 h 麻醉大鼠，腹主动脉取血，分离比目鱼肌、双侧肾脏、附睾处白色脂肪组织及肩胛处棕色脂肪组织，称量湿质量后锡纸包裹投入液氮
伦理委员会批准	实验方案经北京体育大学实验动物伦理委员会批准

1.4.2 动物分组与干预方式 大鼠肥胖模型中随机选取 30 只分为继续高脂组（高脂组）、热量限制组、热量限制联合运动组，每组 10 只。高脂组继续喂养高脂饲料；在单笼饲养下，热量限制组每日给予建模期间摄食量的 70%，不限制饮水；热量限制联合运动组饮食方案同热量限制组，并进行 60%VO<sub>2max</sub> 强度的有氧跑台运动，60 min/次，1 次/d，6 d/周，坡度第 1 周为 0°，从第 2 周开始调整为 5°，干预周期为 4 周。

1.4.3 最大摄氧量测试 确定大鼠运动负荷，干预前 3 d 随机选取 10 只大鼠进行增量载荷跑步机实验，测试 VO<sub>2max</sub>。环境温度 22–24 °C，仪器为 Columbus Instruments。跑台初始角度 10°，速度 5 m/min，持续 4 min。后续每 3 min 增加速度 5 m/min。最大摄氧量评判标准为电刺激下大鼠仍拒绝运动，同时两级负荷间速度之差 < 5%。

1.4.4 取材 干预周期末次运动后 12 h 麻醉大鼠，腹主动脉取血，分离比目鱼肌、双侧肾脏、附睾处白色脂肪组织及肩胛处棕色脂肪组织，称量湿质量后锡纸包裹投入液氮，取材结束再移放 -80 °C 冰箱冻存。

1.4.5 体脂水平测定 DEXA 检测大鼠干预后第 2、4 周的体脂水平。测试前校准仪器，打开 enCORE 软件，大鼠麻醉后置于扫描床，输入身长、体质量后进行全身扫描，得出数据。

1.4.6 血清提取及鸢尾素测定 低温离心机 5 000 r/min 离心血液 5 min，吸取上层血清存于 -20 °C 待测。鸢尾素水平依照 Elisa 试剂盒说明测定。

1.4.7 免疫印迹法检测蛋白表达 称取 100 mg 组织（比目

鱼肌或肾周白色脂肪），在裂解液中剪碎并匀浆，冰浴静置 30 min。4 °C，12 000 r/min 离心 8 min，吸取上清，使用 BCA 试剂盒测定浓度，调浓度一致后放入 100 °C 水中煮 10 min，冷却后分装保存在 -40 °C 备用。

PGC1- $\alpha$ 、AMPK $\alpha$ 、p-AMPK $\alpha$  采用 10% 分离胶浓度，UCP1、p38 MAPK、FNDC5 采用 12% 分离胶浓度。加样后 80 V 电泳 30 min 后升至 120 V，而后 300 mA 转膜 1.5 h。使用 5% BSA 室温封闭 2 h，一抗 AMPK $\alpha$ （浓度 1 : 500）、p-AMPK $\alpha$ (Thr172)（浓度 1 : 500）、PGC-1 $\alpha$ （浓度 1 : 1 000）、FNDC5（浓度 1 : 1 000）、p38 MAPK（浓度 1 : 1 000）、UCP1（浓度 1 : 1 000）、GAPDH（浓度 1 : 2 000）4 °C 过夜。次日 TBST 洗膜 3 次，10 min/次，加二抗（二抗浓度：目的蛋白为 1 : 1 000，内参为 1 : 2 000）室温摇床 2 h，TBST 清洗，加 ECL 曝光。

1.5 主要观察指标 ①体质量、体脂含量；②比目鱼肌、脂肪（肾脏、附睾、肩胛处）湿质量；③血清鸢尾素水平；④比目鱼肌 PGC-1 $\alpha$ 、AMPK $\alpha$ 、p-AMPK $\alpha$ 、FNDC5 蛋白表达；⑤肾周白色脂肪 p38 MAPK、UCP1 蛋白表达。

1.6 统计学分析 SPSS 22.0 软件分析处理实验结果，所得数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示。单因素方差分析组间对比数据，方差齐时使用 LSD 法，不齐使用 Tamhane’s T 法， $P < 0.05$  为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验选用造模成功的大鼠 30 只，分为 3 组，全部进入结果分析。

2.2 热量限制 / 运动干预对肥胖大鼠体质量、体脂的影响 干预期间连续 4 周记录大鼠体质量，结果高脂组大鼠体质量逐周增加，热量限制组、热量限制联合运动组体质量逐周降低。干预第 2 周，热量限制组、热量限制联合运动组大鼠体质量明显低于高脂组 ( $P < 0.05$ )，趋势顺延，见表 1。在干预期的第 2、4 周测量体脂含量结果显示，高脂组体脂含量呈增长趋势，热量限制组、热量限制联合运动组则呈减少趋势，且较高脂组大幅降低 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 1 | 各组大鼠干预 4 周的体质量 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ , g)  
Table 1 | Body mass of rats undergoing 4-week intervention

时间	高脂组	热量限制组	热量限制联合运动组
干预第 1 周	605.96 $\pm$ 46.26	599.30 $\pm$ 37.42	595.51 $\pm$ 47.02
干预第 2 周	616.35 $\pm$ 44.31	558.70 $\pm$ 43.30 <sup>b</sup>	534.23 $\pm$ 16.94 <sup>b</sup>
干预第 3 周	621.98 $\pm$ 61.06	561.01 $\pm$ 29.40	527.46 $\pm$ 34.30 <sup>b</sup>
干预第 4 周	641.38 $\pm$ 64.47	541.43 $\pm$ 32.52 <sup>a</sup>	511.50 $\pm$ 34.09 <sup>b</sup>

表注：与高脂组相比，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ，<sup>b</sup> $P < 0.01$

表 2 | 各组大鼠干预 2 周和 4 周的体脂 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ , g)  
Table 2 | Body fat content of rats undergoing 2- and 4-week interventions

时间	高脂组	热量限制组	热量限制联合运动组
干预第 2 周	46.00 $\pm$ 1.13	41.05 $\pm$ 2.19 <sup>a</sup>	38.65 $\pm$ 1.20 <sup>a</sup>
干预第 4 周	59.55 $\pm$ 6.72	39.55 $\pm$ 3.32 <sup>a</sup>	31.45 $\pm$ 6.58 <sup>b</sup>

表注：与高脂组相比，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ，<sup>b</sup> $P < 0.01$

2.3 热量限制及其联合运动对肥胖大鼠脂肪和比目鱼肌湿质量的影响 见表3。

2.3.1 脂肪湿质量 取材时分离大鼠肾脏、附睾及肩胛处脂肪，并称量湿质量。结果显示，热量限制组、热量限制联合运动组大鼠肾脏、附睾周围白色脂肪及肩胛处棕色脂肪质量较高脂组显著降低 ( $P < 0.01$ )。

2.3.2 比目鱼肌湿质量 取材时分离大鼠比目鱼肌，并称量湿质量。结果显示，与高脂组比较，热量限制联合运动组略有增加，而热量限制组略有减少，但均差异无显著性意义 ( $P > 0.05$ )。

2.4 热量限制/联合运动干预对肥胖大鼠血清鸢尾素的影响 应用 Elisa 试剂盒测定大鼠血清鸢尾素质量浓度。结果显示，热量限制组、热量限制联合运动组均高于高脂组 [分别为  $(77.57 \pm 6.79)$ ,  $(82.01 \pm 9.55)$ ,  $(64.73 \pm 4.05)$   $\mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.05$ ]，但仅热量限制联合运动组差异有显著性意义 ( $P < 0.05$ )。

2.5 热量限制/运动干预对肥胖大鼠比目鱼肌相关蛋白表达的影响

2.5.1 大鼠比目鱼肌 PGC-1 $\alpha$  蛋白表达 与高脂组对比，热量限制组、热量限制联合运动组比目鱼肌 PGC-1 $\alpha$  蛋白表达显著增加 ( $P < 0.05$ )，见图1。

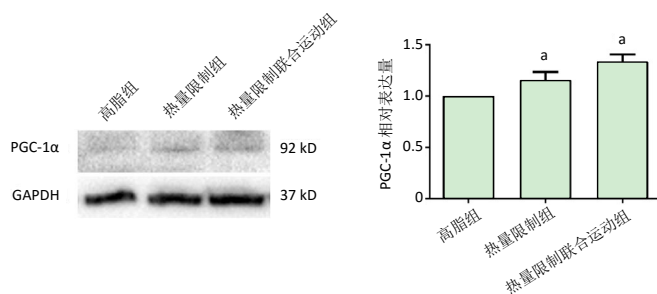
2.5.2 大鼠比目鱼肌 AMPK $\alpha$ 、p-AMPK $\alpha$  蛋白表达 与高脂组对比，热量限制组比目鱼肌 p-AMPK $\alpha$  及热量限制联合运动组 AMPK $\alpha$ 、p-AMPK $\alpha$ (Thr172) 蛋白表达显著增加 ( $P < 0.05$ )；热量限制组、热量限制联合运动组大鼠比目鱼肌 p-AMPK $\alpha$ /AMPK $\alpha$ (Thr172) 比值较高脂组呈增加趋势，仅热量限制组差异有显著性意义 ( $P < 0.05$ )，见图2。

2.5.3 大鼠比目鱼肌 FNDC5 蛋白表达 与高脂组对比，热量限制组、热量限制联合运动组比目鱼肌 FNDC5 蛋白表达量均显著升高 ( $P < 0.05$ )，见图3。

2.6 热量限制/运动干预对肥胖大鼠脂肪相关蛋白表达的影响

2.6.1 p38 MAPK 与高脂组对比，热量限制组、热量限制联合运动组肾周白色脂肪 p38 MAPK 蛋白表达升高 ( $P < 0.01$ )，见图4。

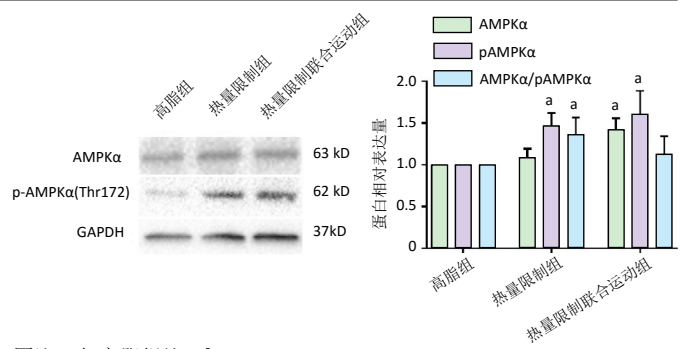
2.6.2 UCP1 与高脂组对比，热量限制组、热量限制联合运动组肾周白色脂肪中 UCP1 表达显著提高 ( $P < 0.05$ )，见图5。



图注：与高脂组比，<sup>a</sup> $P < 0.05$

图1 | 大鼠比目鱼肌过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 辅激活因子1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) 蛋白表达

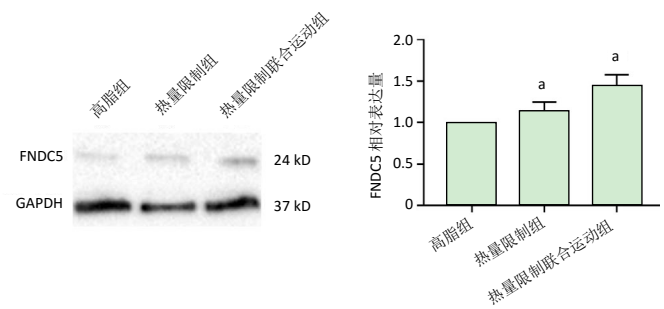
Figure 1 | Protein expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivated 1 $\alpha$  in rat soleus muscles



图注：与高脂组比，<sup>a</sup> $P < 0.05$

图2 | 大鼠比目鱼肌 AMPK $\alpha$ 、p-AMPK $\alpha$  蛋白表达

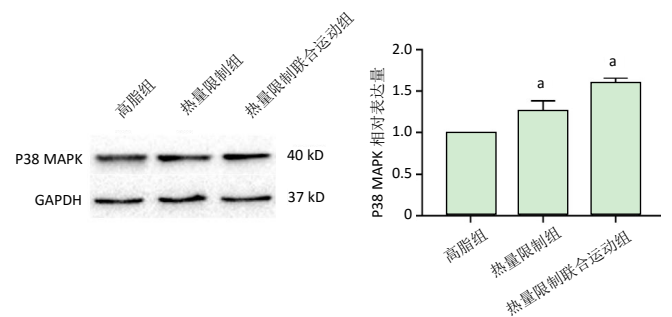
Figure 2 | Protein expression of adenosine 5-monophosphate-activated protein kinase  $\alpha$  (AMPK $\alpha$ ) and p-AMPK $\alpha$  in rat soleus muscles



图注：与高脂组比，<sup>a</sup> $P < 0.05$

图3 | 大鼠比目鱼肌含III型纤连蛋白域蛋白5(FNDC5) 蛋白表达

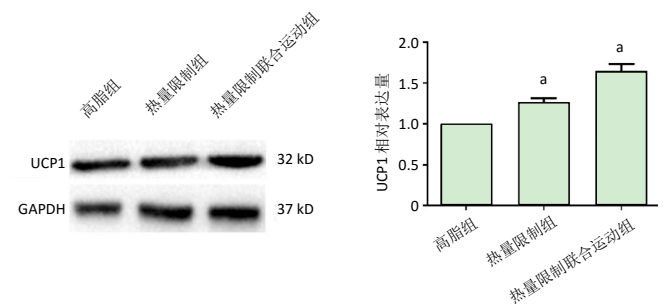
Figure 3 | Protein expression of fibronectin type III domain containing protein 5 in rat soleus muscles



图注：与高脂组比，<sup>a</sup> $P < 0.05$

图4 | 大鼠白色脂肪 p38 MAPK 蛋白表达

Figure 4 | p38 MAPK protein expression in rat white adipose



图注：与高脂组比，<sup>a</sup> $P < 0.05$

图5 | 大鼠白色脂肪解偶联蛋白1(UCP1) 蛋白表达

Figure 5 | Uncoupling protein 1 protein expression in rat white adipose

表3 | 大鼠脂肪和比目鱼肌湿质量 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ , g)

Table 3 | Rat fat and soleus muscle wet mass

部位	高脂组	热量限制组	热量限制联合运动组
脂肪			
肾周处	29.84±8.96	8.53±2.32 <sup>a</sup>	4.43±2.38 <sup>a</sup>
附睾处	19.70±6.19	9.72±1.83 <sup>a</sup>	6.04±2.66 <sup>a</sup>
肩胛处	0.63±0.15	0.22±0.06 <sup>a</sup>	0.25±0.06 <sup>a</sup>
比目鱼肌			
左腿	0.26±0.02	0.26±0.02	0.28±0.03
右腿	0.26±0.02	0.25±0.08	0.27±0.03

表注：与高脂组相比，<sup>a</sup> $P < 0.01$

### 3 讨论 Discussion

**3.1 热量限制联合运动干预的减脂作用** 肥胖是生物体能量平衡破坏所致的脂代谢紊乱疾病。目前国际公认的减脂方法有：①通过运动增加机体能量消耗<sup>[7]</sup>；②通过饮食干预降低机体能量摄入<sup>[8]</sup>。大量的动物实验证明，运动可通过提高机体热量消耗，促进脂肪供能，显著降低机体体质量及体脂。课题组前期研究也通过建立4周有氧跑台运动模型印证了该观点<sup>[9]</sup>。

饮食调控是目前减脂界的热门，其干预方法包括：热量限制、间歇性断食与饮食限制。作者所在课题组前期研究对正常大鼠进行2、4周间歇性断食与运动干预，发现隔日禁食或更低强度间歇性断食均能减缓大鼠体质量、体脂的增长速度，且效果优于中度运动<sup>[10-11]</sup>。但考虑到间歇性禁食对机体摄食时间要求严格，每次断食时间长，而热量摄入限制则是以不发生营养不良为前提，控制每日卡路里摄入，可能依从性更佳。人体与动物实验均发现，热量限制能有效降低体质量和体脂水平<sup>[12-13]</sup>。此次研究采用30%热量限制干预4周，可有效降低肥胖大鼠体质量、体脂水平及附睾、肾脏周围白色脂肪湿质量，且联合运动的干预方式效果更佳，与前人研究相同<sup>[14-15]</sup>。然而此次研究未观察到大鼠肩胛处棕色脂肪的增加，相反却呈现下降趋势，可能与减重过快有关。

**3.2 热量限制联合运动干预大鼠血清鸢尾素的变化** 血清鸢尾素的水平与机体瘦体质量<sup>[16-17]</sup>、新陈代谢正相关<sup>[18]</sup>，与体脂水平负相关<sup>[16]</sup>。此次研究数据显示肥胖大鼠在进行4周单纯限食后，其血清鸢尾素水平增加。此外有研究显示，抗阻运动与有氧运动均能提高循环血液中鸢尾素水平<sup>[19-20]</sup>。此次研究4周限食联合运动干预可明显增加肥胖大鼠血清鸢尾素水平，即两种干预联合对鸢尾素影响更大。

**3.3 热量限制联合运动干预大鼠比目鱼肌 FNDC5 相关蛋白变化** 机体能量过剩会造成脂肪堆积，引发肥胖，能量开关 AMPK 在平衡机体能量稳态方面意义重大。机体耗能会激活 AMPK 通路，通过提高分解代谢、降低合成代谢过程来保存 ATP<sup>[21]</sup>。位于 AMPK 下游的 PGC-1 $\alpha$  是高度保守的转录因子共激活因子，运动可激活肌肉组织中 AMPK 通路，活化 PGC-1 $\alpha$ ，从而协同调节机体能量平衡<sup>[22]</sup>。此外 PGC-1 $\alpha$  可以调节 FNDC5 表达，促使其水解生成鸢尾素释放入血，影响其他器官、组织的功能<sup>[23]</sup>。机体经 AMPK-PGC-1 $\alpha$ -FNDC5 通路进行能量代谢

调节已在 AMPK 特异性缺失的小鼠中得到证明<sup>[6]</sup>。此次研究结果显示，热量限制组比目鱼肌 AMPK $\alpha$ 、PGC-1 $\alpha$ 、FNDC5 水平以及 p-AMPK $\alpha$ /AMPK $\alpha$ (Thr172) 比值呈现明显的上升趋势，联合运动干预组表现出显著增加，说明热量摄入限制可能经 AMPK-PGC-1 $\alpha$  增加肌肉 FNDC5 蛋白表达，且与运动结合效果更为明显。

**3.4 热量限制联合运动干预后大鼠脂肪组织 UCP1 变化** 在机体新陈代谢中脂肪起重要作用，上游调控子 UCP1 是调节脂肪产热的重要分子，多表达于棕色脂肪，但在冷刺激和激素的催化下也可表达于白色脂肪<sup>[24]</sup>。因此，有学者认为白色脂肪组织中的 UCP1 可促使其褐变，从而增加机体能量消耗<sup>[25]</sup>。转录因子和辅助因子如过氧化物酶体增殖物激活受体 c 及其共激活因子 PGC-1 $\alpha$  介导 UCP1 转录激活<sup>[26]</sup>。BOSTROM 等<sup>[18]</sup>发现，运动通过增加肌肉 PGC-1 $\alpha$  水平，上调 FNDC5 的表达，经剪切后为鸢尾素入血，调控 UCP1。此次研究结果显示，4周热量限制联合运动干预显著上调肥胖大鼠白色脂肪 UCP1 蛋白表达，并降低体质量和体脂水平。综上，热量限制联合运动可减轻体质量、降低体脂含量，其可能机制为：经 AMPK-PGC-1 $\alpha$ -FNDC5 促进白色脂肪 UCP1 表达，诱导白色脂肪棕色化所致。

**结论：**①热量限制/运动干预均可降低肥胖大鼠体质量和体脂水平，而二者联合干预减脂效果更佳；②4周热量摄入限制及其联合运动可能经 AMPK $\alpha$ -PGC-1 $\alpha$  通路促进骨骼肌 FNDC5 表达，诱导鸢尾素释放入血，进而经 p38 MAPK-UCP1 通路促进白色脂肪褐变，起到减脂作用。

**作者贡献：**通讯作者设计实验研究，第一作者实施实验及成文，全体作者参与实验，通讯作者审核。

**经费支持：**该文章接受了“国家自然科学基金(31500964)”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。

**机构伦理问题：**实验方案经北京体育大学动物实验伦理委员会批准。实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。实验动物在麻醉下进行所有的手术，并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

**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。

**生物统计学声明：**文章统计学方法已经北京体育大学统计学专家审核。

**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] REZA A, MARIANNE Y, LUCY P, et al. Altered Left Ventricular Ion Channel Transcriptome in a High-Fat-Fed Rat Model of Obesity: Insight into Obesity-Induced Arrhythmogenesis. *J Obes.* 2016;90(5):1244-1251.
- [2] JOHN EH, JUSSARA MC, ALEXANDRE AS, et al. Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal mechanisms. *Circ Res.* 2015;116(6):991-1006.
- [3] EMMA HA, STEPHEN DH. Obesity and cancer: mechanistic insights from transdisciplinary studies. *Endocr Relat Cancer.* 2015;22(6):365-386.
- [4] JOHN W, SONS L. Irisin—a myokine potentially bridging muscle and fat tissue in cachexia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2015;6(4):396-397.
- [5] ZHANG Y, LI R, MENG Y, et al. Irisin stimulates browning of white adipocytes through mitogen-activated protein kinase p38 MAP kinase and ERK MAP kinase signaling. *Diabetes.* 2014;63(2):514-525.
- [6] SHAN T, LIANG X, BI P, et al. Myostatin knockout drives browning of white adipose tissue through activating the AMPK-PGC1alpha-Fndc5 pathway in muscle. *FASEB J.* 2013;27:1981-1989.
- [7] KAYSER B, VERGES S. Hypoxia, energy balance and obesity: from pathophysiological mechanisms to new treatment strategies. *Obes Rev.* 2013;14:579-592.
- [8] WEISS EP, RACETTE SB, VILLAREAL DT, et al. Improvements in glucose tolerance and insulin action induced by increasing energy expenditure or decreasing energy intake: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(5):1033-1042.
- [9] 史霄雨, 冯子洋, 刘子铭, 等. 高强度间歇训练肥胖大鼠减脂效果及鸢尾素的表达 [J]. *中国组织工程研究*, 2021,25(14):2137-2141.
- [10] 王祯, 于亮, 史霄雨. 4周间歇性禁食对大鼠骨骼肌质量及自噬的影响 [J]. *中国运动医学杂志*, 2017,36(8):680-686.
- [11] 王祯, 于亮, 付悦. 间歇性禁食与运动对骨骼肌自噬的激活及减脂效果的比较 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2020,36(4):289-295.
- [12] BROWNELL KD, GREENWOOD MR, STELLAR E, et al. The effects of repeated cycles of weight loss and regain in rats. *Physiol Behav.* 1986;38:459-464.
- [13] RODRÍGUEZ A, BECERRIL S, VALENTÍ V, et al. Short-term effects of sleeve gastrectomy and caloric restriction on blood pressure in diet-induced obese rats. *Obes Surg.* 2012;22:1481-1490.
- [14] OH M, KIM S, AN KY, et al. Effects of alternate day calorie restriction and exercise on cardiometabolic risk factors in overweight and obese adults: an exploratory randomized controlled study. *BMC Public Health.* 2018;18(1):1124.
- [15] 刘文倩, 张建刚, 谢岚, 等. 运动和限食减肥对肥胖大鼠血浆和胃组织 ghrelin 表达的影响 [J]. *中国运动医学杂志*, 2010,29(2):184-188.
- [16] PARDO M, CRUJEIRAS AB, AMIL M, et al. Association of Irisin with fat mass, resting energy expenditure, and daily activity in conditions of extreme body mass index. *Int J Endocrinol.* 2014;2014:857270.
- [17] 苏坤霞. 不同强度耐力运动影响高脂诱导肥胖模型小鼠血清 Irisin 含量、骨骼肌 PGC-1 $\alpha$ 、NFDC5、PPAR $\delta$  蛋白的表达 [J]. *中国组织工程研究*, 2019,23(3):427-434.
- [18] BOSTROM P, WU J, CHOWSKI MP, et al. A PGC1- $\alpha$ -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature.* 2012;481(7382):463-468.
- [19] KIM HJ, SO B, CHOI M, et al. Resistance exercise training increases the expression of irisin concomitant with improvement of muscle function in aging mice and humans. *Exp Gerontol.* 2015;70:11-17.
- [20] JEDRYCHOWSKI MP, WRANN CD, PAULO JA, et al. Detection and Quantitation of Circulating Human Irisin by Tandem Mass Spectrometry. *Cell Metab.* 2015;22(4):734-740.
- [21] LALLY JS, FORD RJ, JOHAR J, et al. Skeletal muscle AMPK is essential for the maintenance of FNDC5 expression. *Physiol Rep.* 2015;3(5):e12343.
- [22] O'NEILL HM, MAARBJERG SJ, CRANE JD, et al. AMP-activated protein kinase (AMPK) beta1beta2 muscle null mice reveal an essential role for AMPK in maintaining mitochondrial content and glucose uptake during exercise. *Natl Acad.* 2011;108:16092-16097.
- [23] MOHAMMAD JF, TIMOTHY M, KAMRAN G, et al. Does PGC1 $\alpha$ /FNDC5/BDNF Elicit the Beneficial Effects of Exercise on Neurodegenerative Disorders? . *Neuromolecular Med.* 2016;18(1):1-15.
- [24] COUSIN B, CINTI S, MORRONI M, et al. Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue: molecular and morphological characterization. *J Cell Sci.* 1992;103:931-942.
- [25] PETROVIC N, WALDEN TB, SHABALINA IG, et al. Chronic Peroxisome Proliferator-activated Receptor c (PPARc) Activation of Epididymally Derived White Adipocyte Cultures Reveals a Population of Thermogenically Competent, UCP1-containing Adipocytes Molecularly Distinct from Classic Brown Adipocytes. *J of Biol Chem.* 2010;285:7153-7164.
- [26] PUIGSERVER P, WU Z, PARK CW, et al. A Cold-Inducible Coactivator of Nuclear Receptors Linked to Adaptive Thermogenesis. *Cell.* 1998;92:829-839.

(责任编辑: WZH, ZN, SX)