

# 有氧运动对2型糖尿病大鼠糖脂代谢、骨骼肌炎症和自噬的影响

王继<sup>1</sup>, 张敏<sup>2</sup>, 李文博<sup>3</sup>, 杨中亚<sup>1</sup>, 张龙<sup>1</sup>

https://doi.org/10.12307/2024.219

投稿日期: 2023-01-13

采用日期: 2023-02-24

修回日期: 2023-04-03

在线日期: 2023-04-19

中图分类号:

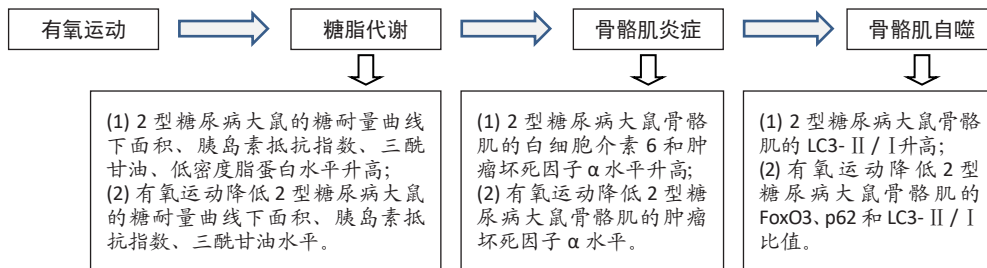
R459.9; R318; R587.1

文章编号:

2095-4344(2024)08-01200-06

文献标识码: B

文章快速阅读: 有氧运动改善2型糖尿病糖脂代谢、降低骨骼肌局部炎症并抑制骨骼肌自噬



文题释义:

自噬: 是细胞内的一种防御和应激调控机制, 自噬的发生过程可以选择性降解、清除受损的细胞和变性蛋白质与核酸等生物大分子, 以此为细胞的重建、再生和修复提供必须原料。

有氧运动: 是指主要以有氧代谢供能的运动方式, 有氧运动要求全身主要肌群参与, 具有运动持续时间长、能量消耗大、项目多样等特征。

摘要

背景: 肥胖及其导致的慢性低度炎症是诱发2型糖尿病的重要危险因素, 这种炎症反应还将进一步累及骨骼肌, 导致骨骼肌的分解代谢和自噬通量增加; 有氧运动作为防治2型糖尿病的主流运动方式, 对2型糖尿病骨骼肌也可能具有一定的保护作用。

目的: 探究有氧运动对2型糖尿病大鼠糖脂代谢、骨骼肌炎症和骨骼肌自噬的影响和调节机制。

方法: 通过8周高脂饲养联合链脲佐菌素注射建立2型糖尿病大鼠模型, 将实验大鼠分为普通对照组、普通运动组、糖尿病对照组和糖尿病运动组, 分别在4周有氧运动(跑速16 m/min, 60 min/d, 5 d/周)前后采用全自动生化分析仪检测各组大鼠血糖、血清高密度脂蛋白、低密度脂蛋白和三酰甘油水平, 酶联免疫吸附法检测血清胰岛素水平, 计算胰岛素抵抗指数和葡萄糖代谢曲线下面积; 在4周有氧运动后采用酶联免疫吸附法测定比目鱼肌中白细胞介素6和肿瘤坏死因子α水平, 免疫印迹法测定比目鱼肌中叉头框蛋白O3(forkhead box protein O3, FoxO3)、LC3和p62的蛋白表达水平。

结果与结论: ①与普通对照组相比, 糖尿病对照组大鼠的糖耐量曲线下面积和胰岛素抵抗指数均显著升高( $P < 0.001$ ,  $P=0.025$ ), 有氧运动能显著降低普通运动组( $P < 0.001$ ,  $P=0.038$ )和糖尿病运动组( $P < 0.001$ ,  $P=0.004$ )的糖耐量曲线下面积和胰岛素抵抗指数。②与普通对照组相比, 糖尿病对照组大鼠的血清高密度脂蛋白水平显著降低( $P=0.030$ )、低密度脂蛋白和三酰甘油水平显著升高( $P=0.027$ ,  $P=0.014$ ), 有氧运动能显著降低普通运动组的三酰甘油、低密度脂蛋白水平( $P=0.019$ ,  $P=0.008$ )以及糖尿病运动组的三酰甘油水平( $P=0.022$ )。③与普通对照组相比, 糖尿病对照组大鼠比目鱼肌的白细胞介素6和肿瘤坏死因子α水平均显著升高( $P < 0.001$ ,  $P=0.007$ ), 有氧运动能显著降低糖尿病运动组的肿瘤坏死因子α水平( $P=0.017$ )。④与普通对照组相比, 糖尿病对照组大鼠比目鱼肌的LC3-II/LC3-I比值显著升高, 有氧运动能显著提高普通运动组的LC3-II/LC3-I比值( $P < 0.001$ ), 降低糖尿病运动组的LC3-II/LC3-I比值、FoxO3和p62蛋白表达水平( $P=0.026$ ,  $P=0.050$ ,  $P=0.048$ )。⑤结果表明, 高脂饲养联合链脲佐菌素注射建立的2型糖尿病模型具有明显糖脂代谢障碍, 同时累及并导致骨骼肌炎症反应和自噬过度激活; 有氧运动可以改善2型糖尿病糖脂代谢, 降低骨骼肌局部炎症并抑制骨骼肌自噬, 从而对骨骼肌起到保护作用。

关键词: 2型糖尿病; 有氧运动; 糖脂代谢; 骨骼肌; 炎症; 自噬

## Effect of aerobic exercise on glycolipid metabolism, skeletal muscle inflammation and autophagy in type 2 diabetic rats

Wang Ji<sup>1</sup>, Zhang Min<sup>2</sup>, Li Wenbo<sup>3</sup>, Yang Zhongya<sup>1</sup>, Zhang Long<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Physical Education, Liupanshui Normal University, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China; <sup>2</sup>Liupanshui Preschool Education College, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China; <sup>3</sup>Department of Public Sports, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China  
Wang Ji, Master, Lecturer, College of Physical Education, Liupanshui Normal University, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China

Abstract

BACKGROUND: Obesity and its relevant chronic inflammation are important risk factors for inducing type 2 diabetes. This inflammatory response will further

<sup>1</sup>六盘水师范学院体育学院, 贵州省六盘水市 553000; <sup>2</sup>六盘水幼儿师范高等专科学校, 贵州省六盘水市 553000; <sup>3</sup>河北北方学院公共体育部, 河北省张家口市 075000

第一作者: 王继, 男, 1993年生, 湖南省邵东市人, 2018年北京体育大学毕业, 硕士, 讲师, 主要从事慢病与运动干预研究。

https://orcid.org/0000-0003-0979-7741 (王继)

基金资助: 贵州省教育厅青年科技人才成长项目(黔教合KY字[2020]113), 项目负责人: 王继

引用本文: 王继, 张敏, 李文博, 杨中亚, 张龙. 有氧运动对2型糖尿病大鼠糖脂代谢、骨骼肌炎症和自噬的影响[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(8):1200-1205.



involve skeletal muscle, leading to an increase in catabolic and autophagic fluxes in skeletal muscle. Aerobic exercise is the mainstream mode of exercise in the prevention and treatment of type 2 diabetes, and may also has a certain protective effect on skeletal muscle.

**OBJECTIVE:** To explore the effects and regulatory mechanisms of aerobic exercise on glycolipid metabolism, skeletal muscle inflammation and autophagy in type 2 diabetic rats.

**METHODS:** Animal models of type 2 diabetes were established in rats by 8-week high-fat feeding combined with streptozotocin injection, and the experimental rats were then divided into normal control group, normal exercise group, diabetic control group and diabetic exercise group. The exercise group performed 4 weeks of aerobic exercise (16 m/min, 60 min/d, 5 d/wk). The levels of blood glucose, high-density lipoprotein, low-density lipoprotein and triglyceride in serum were measured by an automated biochemical analyzer. Serum insulin level was determined using enzyme-linked immunosorbent assay and the insulin resistance index and area under the glucose metabolism curve were calculated. The levels of interleukin 6 and tumor necrosis factor  $\alpha$  in skeletal muscle were measured by enzyme-linked immunosorbent assay after 4 weeks of aerobic exercise, and the expression levels of forkhead box protein O3 (FoxO3), LC3 and p62 in skeletal muscle were measured by western blot assay.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The area under the glucose tolerance curve and insulin resistance index both increased significantly in type 2 diabetic rats ( $P < 0.001$ ,  $P=0.025$ ), and aerobic exercise significantly reduced the area under the glucose tolerance curve and insulin resistance index in the normal exercise group ( $P < 0.001$ ,  $P=0.038$ ) and diabetic exercise group ( $P < 0.001$ ,  $P=0.004$ ). Serum high-density lipoprotein significantly decreased ( $P=0.030$ ), and low-density lipoprotein and triglyceride ( $P=0.027$ ,  $P=0.014$ ) levels significantly increased in the diabetic control group compared with the normal control group. Aerobic exercise significantly reduced triglyceride and low-density lipoprotein levels in the normal exercise group ( $P=0.019$ ,  $P=0.008$ ) as well as triglyceride levels in the diabetic exercise group ( $P=0.022$ ). Both interleukin-6 and tumor necrosis factor  $\alpha$  levels were significantly increased in the skeletal muscle of type 2 diabetic rats compared with the normal control group ( $P < 0.001$ ,  $P=0.007$ ), and aerobic exercise significantly reduced tumor necrosis factor  $\alpha$  levels in the diabetic exercise group ( $P=0.017$ ). The LC3-II/LC3-I was significantly increased in the skeletal muscle of type 2 diabetic rats compared with the normal control group. Aerobic exercise significantly increased the LC3-II/LC3-I in the normal exercise group ( $P < 0.001$ ) and decreased the LC3-II/LC3-I, FoxO3 and p62 protein expression levels in the diabetic exercise group ( $P=0.026$ ,  $P=0.050$ ,  $P=0.048$ ). To conclusion, type 2 diabetes model established by high-fat feeding combined with streptozotocin injection has obvious glycolipid metabolism disorder, and leads to inflammatory response and excessive activation of autophagy in skeletal muscle. Aerobic exercise can improve glycolipid metabolism, reduce local inflammation in skeletal muscle and inhibit autophagy, and finally play a protective role in skeletal muscle.

**Key words:** type 2 diabetes; aerobic exercise; glycolipid metabolism, skeletal muscle; inflammation; autophagy

**Funding:** Young Science and Technology Talent Growth Project of Guizhou Provincial Department of Education, No. KY [2020]113 (to WJ)

**How to cite this article:** WANG J, ZHANG M, LI WB, YANG ZY, ZHANG L. Effect of aerobic exercise on glycolipid metabolism, skeletal muscle inflammation and autophagy in type 2 diabetic rats. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2024;28(8):1200-1205.

## 0 引言 Introduction

近几十年来,全球糖尿病患病率迅速上升。据估计,全球2019年约有4.63亿糖尿病患者,预计到2045年将达到7亿<sup>[1]</sup>。在2型糖尿病的发展进程中常伴随以内脏脂肪组织积累为特征的腹部肥胖,内脏脂肪因异常而释放的细胞因子和脂肪因子等将加剧全身低度炎症、增加心血管风险并累及骨骼肌功能<sup>[2]</sup>。骨骼肌作为外周代谢葡萄糖的主要器官,也是2型糖尿病炎症反应的高发部位。白细胞介素6、肿瘤坏死因子 $\alpha$ 等炎症因子在骨骼肌中的高表达不仅抑制了胰岛素介导的葡萄糖跨膜转运,同时还降低了骨骼肌的质量和功能<sup>[3]</sup>。研究显示,注射链脲佐菌素糖尿病小鼠的肌肉质量和肌纤维面积减少了20%–30%,主要原因是泛素蛋白酶降解和自噬通量明显增加,而在肌肉特异性FoxO1/3/4三重敲除的糖尿病小鼠模型中,肌肉降解和自噬增加标志物则被完全抑制<sup>[4]</sup>。在2型糖尿病中持续增高的炎症还将增加骨骼肌组织叉头框蛋白O3(forkhead box protein O3, FoxO3)家族的蛋白表达和去磷酸化,进而过度激活自噬相关基因转录来诱导骨骼肌自噬<sup>[5-6]</sup>。作者之前的研究已经显示了有氧运动对2型糖尿病大鼠骨骼肌泛素蛋白酶系统和骨骼肌质量的积极作用<sup>[7]</sup>,在此基础上该研究继续探究有氧运动对2型糖尿病大鼠糖脂代谢、骨骼肌炎症及自噬的影响。

## 1 材料和方法 Materials and methods

**1.1 设计** 随机分组对照动物实验,组间数据对比采用单因素方差分析。

**1.2 时间及地点** 实验建模和运动干预于2017–2018年在北京体育大学动物房内完成,实验数据检测于2019年在天德悦(北京)生物科技实验室内完成。

## 1.3 材料

**1.3.1 实验动物** 6周龄雄性SPF级SD大鼠39只,体质量(214.1 $\pm$ 7.7)g,由北京维通利华实验动物技术有限公司(许可证编号:SCXK/京2012-0001)提供。饲养和训练均于北京体育大学实验动物房内进行。饲养环境:环境温度为20–24℃,环境湿度相对值范围45%–55%,实行12 h/12 h循环的昼夜照明。

实验通过北京体育大学运动科学实验伦理委员会批准(动物伦理批准号:2017014),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。

**1.3.2 饲料** 高脂饲料(H10045)和普通维持饲料(1022)均由北京华阜康生物科技股份有限公司提供,高脂饲料能量比:脂肪45%、碳水化合物35%、蛋白质20%。普通饲料营养成分保证值:水分 $\leq$ 10.0%,粗蛋白 $\geq$ 18.0%,粗脂肪 $\geq$ 4.0%,粗纤维 $\leq$ 5.0%。

**1.3.3 试剂** 大鼠胰岛素酶联免疫(ELISA)试剂盒(10-1250-01, Mercodia公司,瑞典);大鼠白细胞介素6酶联免疫(ELISA)试剂盒(ab234570, abcam公司,英国);大鼠肿瘤坏死因子 $\alpha$ 酶联免疫(ELISA)试剂盒(ab236712, abcam公司,英国);链脲佐菌素(S0130, Sigma公司,德国);FOXO3抗体(GTX100277, GeneTex公司,美国);LC3A/B抗体(12741, CST公司,美国);p62抗体(ab91526, abcam公司,英国); $\beta$ -actin抗体(YM3028, Immunoway公司,美国);预染蛋白Marker(26616, Thermo Scientific公司,美国);羊抗兔IgG(bs-0295G, 北京博奥森生物科技有限公司);羊抗小鼠IgG(bs-0296G, 北京博奥森生物科技有限公司)。

## 1.4 实验方法

**1.4.1 2型糖尿病模型建立** 对39只SD大鼠进行数字编号抽样,随机选取15只为普通饲料组,采用普通饲料饲养9周;另外24只为高脂饲料组,采用高脂饲料饲养9周。高脂饲料组在9周饲养后给予2次链脲佐菌素腹腔注射(25 mg/kg),2次注射间隔3 d;普通饲料组在9周饲养后给予相同剂量2次枸橼酸钠缓冲液注射。建模1周空腹血糖 $\geq 11.1$  mmol/L为2型糖尿病建模成功标准,共成功建模得到2型糖尿病大鼠20只。研究设计分为4组,分别为普通对照组(NC,  $n=6$ )、普通运动组(NE,  $n=9$ )、糖尿病对照组(DC,  $n=8$ )和糖尿病运动组(DE,  $n=12$ )。

### 组织工程实验动物造模过程中的相关问题:

造模目的	建立2型糖尿病模型,研究有氧运动对2型糖尿病大鼠糖脂代谢、骨骼肌炎症和自噬的影响
选择动物的条件	SPF级,雄性,6周龄,体质量206.3-221.7 g
模型与所研究疾病的关系	高糖/高脂饲养联合链脲佐菌素注射是快速建立2型糖尿病实验动物模型的经典方法
动物来源及品系	SD大鼠购于北京维通利华实验动物技术有限公司
造模技术描述	高脂饲料饲养9周后给予2次链脲佐菌素腹腔注射(25 mg/kg),2次注射间隔3 d,1周后尾静脉采血测定空腹血糖,空腹血糖 $\geq 11.1$ mmol/L为2型糖尿病大鼠建模成功标准
造模主要诱导用药	链脲佐菌素
动物数量及分组方法	研究设计分为4组,分别为普通对照组(NC, $n=6$ )、普通运动组(NE, $n=9$ )、糖尿病对照组(DC, $n=8$ )和糖尿病运动组(DE, $n=12$ )
造模后实验观察指标	各组大鼠葡萄糖代谢曲线下面积(AUC <sub>0-6</sub> )、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、三酰甘油、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白水平;各组大鼠比目鱼肌中白细胞介素6、肿瘤坏死因子 $\alpha$ 水平以及FoxO3、p62、LC3 II、LC3 I的蛋白表达
造模后动物处理	糖耐量和胰岛素抵抗指数测试后,腹腔注射2%戊巴比妥钠麻醉下腹主动脉取血处死,分离比目鱼肌
伦理委员会批准	北京体育大学运动科学实验伦理委员会批准(动物伦理批准号:2017014)

**1.4.2 运动方案** 从建模后第2周开始,普通运动组和糖尿病运动组分别进行为期4周的跑台持续有氧运动。方案包含3 d适应性训练和4周正式的跑台持续有氧训练。正式训练方案为:运动速度16 m/min,单次持续运动时间60 min/d,运动频率5 d/周。每周周一至周五训练,周六周日休息,每天16:00-17:00进行正式训练。

**1.4.3 样本采集** 在链脲佐菌素注射后1周和最后1次运动后实验大鼠禁食12 h,采集尾静脉血,检测血糖水平,离心血清检测胰岛素和血脂代谢指标。在最后一次运动后24 h,分离各组大鼠比目鱼肌,肌腹切块,锡纸包裹后置于液氮中储存用于炎症因子和蛋白检测。

**1.4.4 腹腔注射葡萄糖耐量试验(IPGTT)** 在实验前后分别将实验大鼠禁食12 h后采尾静脉血测空腹血糖,再以2 g/kg剂量腹腔注射50%葡萄糖溶液,在注射后的30, 60, 120 min分别采尾静脉血测血糖,计算葡萄糖代谢曲线下面积(AUC<sub>0-6</sub>)。

**1.4.5 胰岛素抵抗测试** 在实验前后通过酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清胰岛素(fasting serum insulin, FINS)浓度,血糖仪检测空腹血糖浓度(fasting blood glucose, FBG),计算

胰岛素抵抗指数  $HOMA-IR = FINS(IU/L) \times FBG(mmol/L) / 22.5$ 。

**1.4.6 血脂代谢分析** 在实验前后分别采用全自动生化仪检测血清中三酰甘油、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白水平。

**1.4.7 炎症因子水平检测** 将比目鱼肌组织剪碎、匀浆、裂解、离心取上清液后通过酶联免疫吸附法(ELISA)检测比目鱼肌中炎症因子白细胞介素6和肿瘤坏死因子 $\alpha$ 水平。

**1.4.8 蛋白免疫印迹检测** 将比目鱼肌组织剪碎、匀浆、裂解、离心后取上清液,行BCA蛋白定量,将准备好的样品液上样行SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,将分离后的蛋白转至硝酸纤维素膜,将膜放入含5%BSA的封闭液中常温封闭2 h,再分别加入一抗稀释液4℃孵育12 h(FoxO3, 1 : 1 000; LC3A/B, 1 : 1 000; p62, 1 : 1 000;  $\beta$ -actin, 1 : 5 000), TBST室温摇洗,二抗稀释液室温孵育2 h(1 : 5 000), TBST室温摇洗后行ECL显影成像。最终以目的蛋白条带灰度值/ $\beta$ -actin内参条带灰度值计算得到目的蛋白相对表达量。

**1.5 主要观察指标** 各组大鼠葡萄糖代谢曲线下面积(AUC<sub>0-6</sub>)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、三酰甘油、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白水平;各组大鼠比目鱼肌中白细胞介素6、肿瘤坏死因子 $\alpha$ 水平以及FoxO3、p62、LC3 II、LC3 I的蛋白表达。

**1.6 统计学分析** 采用SPSS 19.0软件对数据进行统计分析。组间差异性采用单因素方差分析,组间多重比较采用LSD法,  $P < 0.05$ 为差异有显著性意义,  $P < 0.01$ 为差异有非常显著性意义。文章统计学方法已经通过六盘水师范学院生物统计学专家审核。

## 2 结果 Results

**2.1 实验动物数量分析** 实验选择SD大鼠39只,造模失败4只,最终普通对照组6只、普通运动组9只、糖尿病对照组8只、糖尿病运动组12只纳入结果分析。

**2.2 有氧运动对2型糖尿病大鼠糖代谢的影响** 与普通对照组相比(实验前),糖尿病对照组的AUC<sub>0-6</sub>和HOMA-IR均显著升高( $P < 0.001$ ,  $P=0.025$ )。在4周运动干预后进一步比较实验前后各组AUC<sub>0-6</sub>和HOMA-IR的变化幅值:与普通对照组相比,普通运动组的AUC<sub>0-6</sub>和HOMA-IR变化幅值显著降低( $P < 0.001$ ,  $P=0.038$ );与糖尿病对照组相比,糖尿病运动组的AUC<sub>0-6</sub>和HOMA-IR变化幅值非常显著降低( $P < 0.001$ ,  $P=0.004$ ),见表1。

**2.3 有氧运动对2型糖尿病大鼠脂代谢的影响** 与普通对照组相比(实验前),糖尿病对照组的高密度脂蛋白水平显著降低( $P=0.030$ ),低密度脂蛋白和三酰甘油水平显著升高( $P=0.027$ ,  $P=0.014$ )。在4周运动干预后,分析实验前后各组血脂代谢指标变化幅值:与普通对照组相比,普通运动组的三酰甘油和低密度脂蛋白变化幅值均显著降低( $P=0.019$ ,  $P=0.008$ ),而高密度脂蛋白变化幅值无显著差异( $P=0.288$ );与糖尿病对照组相比,糖尿病运动组的三酰甘油变化幅值显著降低( $P=0.022$ ),低密度脂蛋白和高密度脂蛋白无显著差异( $P=0.092$ ,  $P=0.101$ ),见表2。

表 1 | 有氧运动对 2 型糖尿病大鼠糖代谢的影响 (x̄±s)  
Table 1 | Effect of aerobic exercise on glucose metabolism in rats with type 2 diabetes mellitus

指标	普通对照组 (n=6)	普通运动组 (n=9)	糖尿病对照组 (n=8)	糖尿病运动组 (n=12)
AUC <sub>0-6g</sub>				
实验前	1 065.0±154.6	1 284.8±172.2	3 005.9±355.6 <sup>b</sup>	2 899.0±405.5
实验后	1 079.4±215.5	1 173.6±216.4	3 075.0±292.6	2 572.5±418.1
变化幅值	14.4±8.2	-111.2±20.6 <sup>b</sup>	70.0±15.4	-326.5±45.2 <sup>c</sup>
HOMA-IR				
实验前	2.13±0.87	2.01±0.46	4.31±0.74 <sup>a</sup>	4.62±0.98
实验后	2.97±0.66	1.59±0.27	4.93±0.59	3.23±0.51
变化幅值	0.87±0.32	-0.42±0.14 <sup>a</sup>	0.62±0.17	-1.39±0.35 <sup>c</sup>

表注: 与普通对照组相比, <sup>a</sup>P < 0.05, <sup>b</sup>P < 0.01; 与糖尿病对照组相比, <sup>c</sup>P < 0.01。  
AUC<sub>0-6g</sub>: 葡萄糖代谢曲线下面积; HOMA-IR: 胰岛素抵抗指数

表 2 | 有氧运动对 2 型糖尿病大鼠脂代谢的影响 (x̄±s, mmol/L)  
Table 2 | Effect of aerobic exercise on lipid metabolism in rats with type 2 diabetes mellitus

指标	普通对照组 (n=6)	普通运动组 (n=9)	糖尿病对照组 (n=8)	糖尿病运动组 (n=12)
高密度脂蛋白				
实验前	1.47±0.28	1.52±0.22	1.19±0.12 <sup>a</sup>	1.26±0.30
实验后	1.52±0.19	1.63±0.23	0.79±0.21	0.58±0.28
变化幅值	0.07±0.02	0.11±0.02	-0.49±0.04	-0.68±0.12
低密度脂蛋白				
实验前	0.99±0.25	1.00±0.31	1.69±0.13 <sup>a</sup>	1.85±0.19
实验后	1.16±0.07	0.61±0.12	1.47±0.04	1.36±0.10
变化幅值	0.17±0.05	-0.39±0.08 <sup>b</sup>	-0.22±0.02	-0.49±0.06
三酰甘油				
实验前	0.51±0.16	0.63±0.08	1.20±0.34 <sup>a</sup>	1.42±0.29
实验后	0.61±0.14	0.31±0.05	0.96±0.27	0.70±0.12
变化幅值	0.10±0.03	-0.32±0.04 <sup>a</sup>	-0.24±0.07	-0.72±0.11 <sup>c</sup>

表注: 与普通对照组相比, <sup>a</sup>P < 0.05, <sup>b</sup>P < 0.01; 与糖尿病对照组相比, <sup>c</sup>P < 0.05

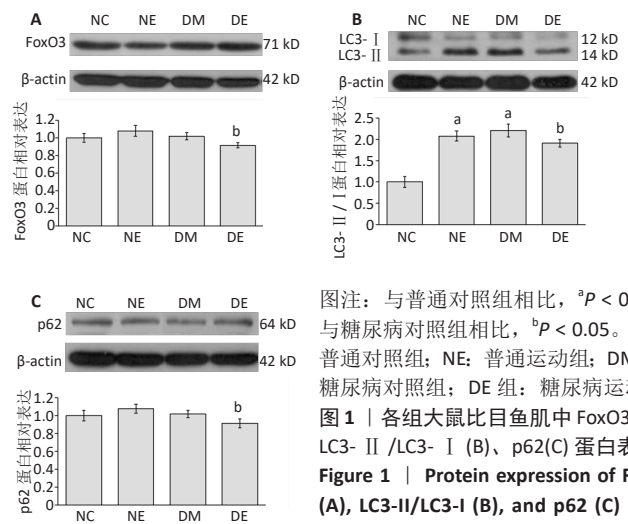
2.4 有氧运动对 2 型糖尿病大鼠骨骼肌炎症的影响 在 4 周运动干预后, 对大鼠比目鱼肌中白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 水平分析显示: 普通运动组与普通对照组的白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 水平无显著差异 (P=0.179, P=0.792); 糖尿病对照组的白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 水平非常显著高于普通对照组 (P < 0.001, P=0.007); 糖尿病运动组的肿瘤坏死因子 α 水平显著低于糖尿病对照组 (P=0.017), 但白细胞介素 6 水平无显著差异 (P=0.145), 见表 3。

表 3 | 有氧运动对 2 型糖尿病大鼠骨骼肌炎症因子的影响 (x̄±s, ng/L)  
Table 3 | Effect of aerobic exercise on inflammatory factors in the skeletal muscle of type 2 diabetic rats

组别	n	白细胞介素 6	肿瘤坏死因子 α
普通对照组	6	2.39±0.68	3.14±0.73
普通运动组	9	2.79±1.07	3.19±1.05
糖尿病对照组	8	4.31±0.64 <sup>a</sup>	4.79±1.06 <sup>a</sup>
糖尿病运动组	12	4.50±0.87	3.00±0.84 <sup>b</sup>

表注: 与普通对照组相比, <sup>a</sup>P < 0.01; 与糖尿病对照组相比, <sup>b</sup>P < 0.05

2.5 有氧运动对 2 型糖尿病大鼠骨骼肌自噬相关蛋白的影响 在 4 周运动干预后, 对大鼠骨骼肌中自噬相关因子 FoxO3、LC3- II、LC3- I、p62 蛋白水平分析显示: 普通运动组的 LC3- II / LC3- I 比值非常显著高于普通对照组 (P < 0.001), 而 FoxO3 和 p62 蛋白水平无显著差异 (P=0.086, P=0.092); 糖尿病对照组的 LC3- II / LC3- I 比值非常显著高于普通对照组 (P < 0.001), 而 FoxO3 和 p62 蛋白水平无显著差异 (P=0.372, P=0.401); 糖尿病运动组的 LC3- II / LC3- I 比值和 FoxO3、p62 蛋白水平均显著低于糖尿病对照组 (P=0.026, P=0.050, P=0.048), 见图 1。



图注: 与普通对照组相比, <sup>a</sup>P < 0.01; 与糖尿病对照组相比, <sup>b</sup>P < 0.05。NC: 普通对照组; NE: 普通运动组; DM 组: 糖尿病对照组; DE 组: 糖尿病运动组  
Figure 1 | Protein expression of FoxO3 (A), LC3-II/LC3-I (B), and p62 (C) in rat soleus muscle

### 3 讨论 Discussion

体力活动减少和过量能量摄入是导致肥胖和肥胖相关疾病增加的主要原因<sup>[8]</sup>。长期以来, 运动一直被认为是治疗和预防肥胖及 2 型糖尿病的一种重要方法。在生活中有氧运动因项目多样便捷、趣味性强和患者依从性高等特点而具有广泛的开展基础, 在临床上有氧运动可以有效减少全身和内脏脂肪, 通过增强脂代谢而改善胰岛素抵抗。因此, 《中国 2 型糖尿病防治指南 (2020 版)》将每周至少坚持 150 min 中等强度的有氧运动作为 2 型糖尿病首选的运动疗法<sup>[9]</sup>。

3.1 有氧运动对 2 型糖尿病糖脂代谢的影响 研究表明, 有氧运动可以使 2 型糖尿病患者获得较抗阻运动更多的收益, 主要表现在可以更好地促进能量代谢、控制基础血糖和糖化血红蛋白水平、改善血脂代谢并降低慢性炎症反应<sup>[10]</sup>。在该研究中, 规律的有氧运动干预显著降低了 2 型糖尿病大鼠的胰岛素抵抗水平和葡萄糖代谢曲线下面积, 提高糖代谢效率。尽管胰岛素抵抗将导致 2 型糖尿病患者骨骼肌中胰岛素刺激葡萄糖摄取的能力显著降低, 但骨骼肌对于运动刺激的葡萄糖摄取能力并未出现明显下降<sup>[11]</sup>, 这主要是由于骨骼肌中葡萄糖转运的关键蛋白葡萄糖转运蛋白 4 受到多条信号传导通路的调控。在胰岛素刺激下, 骨骼肌细胞主要是通过胰岛素 (insulin)/ 胰岛素受体底物 (insulin receptor substrate, IRS)/ 磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K) 通路来调节葡萄糖转运蛋白 4 的转位和葡萄糖转运<sup>[12]</sup>; 而在运动刺激下, 骨骼肌内葡萄糖的转运则主要和腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 通路的激活以及和细胞内 Ca<sup>2+</sup> 浓度的增加有关<sup>[13-14]</sup>。

最新的研究还发现, 无论是增加日常生活中的非闲暇体力活动还是闲暇体力活动均可以直接增加 2 型糖尿病患者的能量消耗、提高胰岛素敏感性和糖代谢水平<sup>[8]</sup>, 这提示有氧运动的负荷可能并不是最值得关注的, 因为目前国内外针对日常体力活动和中低强度有氧运动的研究都表明了有氧运动干预 2 型糖尿病糖代谢可发挥有效的作用<sup>[8, 15]</sup>。而如何改变 2 型糖尿病患者静坐少动的生活方式, 增加其日常体力活动/

体育锻炼的总量，才是运动疗法实施过程中最值得思考的问题。

现代人普遍存在的能量过剩也是内脏脂肪积累并诱发 2 型糖尿病的主要因素<sup>[16-17]</sup>。一方面，肥胖导致的血液中游离脂肪酸持续增加，使脂肪组织和肝脏组织的胰岛素信号通路转导障碍，进而形成胰岛素抵抗<sup>[18]</sup>；另一方面，肥胖导致的脂肪组织增加将引起大量炎症免疫细胞浸润、脂肪因子和炎症因子释放增加，使机体长期处于慢性低炎症状态，进而阻断骨骼肌内胰岛素信号转导，降低骨骼肌对葡萄糖的摄取和利用<sup>[19]</sup>。在该研究中，高脂联合链脲佐菌素建立的 2 型糖尿病模型存在明显的脂代谢障碍，表现为低密度脂蛋白和三酰甘油显著升高，高密度脂蛋白显著降低；而有氧运动干预可以有效改善正常模型和 2 型糖尿病模型大鼠的脂代谢状况，降低其血清低密度脂蛋白和三酰甘油水平。这与前人的研究结论一致<sup>[14, 20]</sup>，提示规律的有氧运动可以有效改善 2 型糖尿病脂代谢障碍。

**3.2 有氧运动对 2 型糖尿病大鼠骨骼肌炎症的影响** 2 型糖尿病的发生与慢性炎症密切相关，大量研究已经证实了 2 型糖尿病发生时机体循环系统的炎症反应明显升高，循环系统中炎症因子白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子  $\alpha$  是血糖控制失衡、血脂代谢异常和胰岛素抵抗的重要炎症递质，可直接导致肥胖和 2 型糖尿病患者的代谢紊乱<sup>[21-23]</sup>。而规律的有氧运动则可降低循环系统中 C-反应蛋白、白细胞介素 6、肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、白细胞介素 18 等炎症标志物的水平，促进白细胞介素 10、白细胞介素 12 等抗炎因子的产生<sup>[24-26]</sup>。

关于 2 型糖尿病骨骼肌中炎症因子的变化情况则鲜有报道<sup>[27]</sup>。在该研究中，2 型糖尿病大鼠骨骼肌的白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子  $\alpha$  水平均非常显著高于普通大鼠。这与 YADAV 等<sup>[28]</sup>的研究基本一致，其研究显示，高脂饲养联合链脲佐菌素注射建立的 2 型糖尿病模型骨骼肌中白细胞介素 6、肿瘤坏死因子  $\alpha$  和骨骼肌自噬水平均显著升高，而为期 4 周的木兰花碱治疗可以有效抑制骨骼肌中过度升高的炎症因子。与慢性炎症导致的白细胞介素 6 升高不同的是，肌肉收缩刺激产生的白细胞介素 6 不仅可以促进脂肪分解，还可以抑制肿瘤坏死因子  $\alpha$  和白细胞介素 1 $\beta$  的信号传导，改变局部炎症环境进而介导运动抗炎过程，因此白细胞介素 6 也被认为具有抗炎和促炎的双重作用<sup>[29]</sup>。

正如 PILLON 等<sup>[27]</sup>的研究结果显示一样，急性运动可以引发白细胞介素 6 的升高并伴随着免疫细胞的浸润，而这些炎症效果在 2 型糖尿病中表现得更为明显，但运动和 2 型糖尿病对血浆炎症标志物水平却没有相互作用，提示 2 型糖尿病的骨骼肌局部炎症反应并不同于全身炎症状态。从该研究结果来看，有氧运动具有明显的抗炎作用，主要通过降低 2 型糖尿病大鼠骨骼肌中的炎症因子肿瘤坏死因子  $\alpha$  水平发挥作用，但对 2 型糖尿病大鼠骨骼肌组织中的白细胞介素 6 水平并未表现出明显的影响，原因可能是 2 型糖尿病大鼠骨骼肌中的白细胞介素 6 水平受到了骨骼肌收缩和循环系统的双

重影响，而肌肉来源的白细胞介素 6 似乎具有直接的抗炎作用，并作为一种改善葡萄糖耐量的机制。

**3.3 运动疗法对 2 型糖尿病大鼠骨骼肌自噬的影响** 在该研究中，高脂饲养联合链脲佐菌素注射建立的 2 型糖尿病模型骨骼肌的自噬系统关键蛋白表达显著升高。骨骼肌是胰岛素介导葡萄糖摄取的重要器官，胰岛素缺乏将引起骨骼肌细胞内线粒体的 ATP 生成率显著降低，伴随着 2 型糖尿病的低营养和高炎症状态将进一步激活 FoxOs 家族，并通过广泛控制骨骼肌萎缩的相关基因（如 Atrogin-1 和 MuRF-1）表达以及自噬小体的形成而加速骨骼肌流失<sup>[30-33]</sup>；而自噬的激活可以加速骨骼肌蛋白质的整体降解，并通过三羧酸循环产生氨基酸补充 ATP 生产燃料，以维持体内的能量代谢平衡<sup>[34]</sup>。

O'NEILL 等<sup>[4]</sup>的研究显示，由于泛素-蛋白酶体降解和自噬通量的增加，2 型糖尿病小鼠模型的肌肉质量和肌纤维面积减少了 20%-30%，其主要特征表现为含 LC3 的囊泡增加、ULK1 磷酸化增加以及 FoxOs 家族关键蛋白和 LC3- II 水平升高。LC3 简称于 MAP1LC3(microtubule associated proteins light chain3)，当其羧基端被 Atg4(autophagy-related gene 4) 剪切后暴露出甘氨酸残基而生成胞浆 LC3- I，LC3- I 在自噬过程中通过 Atg7 和 Atg3(分别对应 E1 和 E2 样酶)参与泛素样反应，最终与磷脂酰乙醇胺(phosphatidyl ethanolamine, PE) 偶联脂质化形式 LC3- II，而 p62 则参与多泛素化蛋白质聚合体的形成，因此 LC3- II /LC3- I 比值的升高以及 p62 表达的下降均可被当做自噬激活的标志物<sup>[35]</sup>。CAI 等<sup>[36]</sup>进一步通过电镜观察也证实，在 2 型糖尿病小鼠萎缩的肌肉中确实存在大量的自噬空泡，并伴随腓肠肌中自噬相关蛋白的过表达（包括 FoxO3、LC3- II 等），提示 FoxOs 调控的基因在胰岛素缺乏型糖尿病的蛋白质降解和肌肉萎缩中发挥了重要的限速作用。

该研究显示，有氧运动干预能显著提高普通大鼠的 LC3- II / LC3- I 比值，激活骨骼肌自噬；但在已经存在自噬过度激活的 2 型糖尿病大鼠中，有氧运动反而能降低 LC3- II /LC3- I 比值和 FoxO3、p62 蛋白水平，适度抑制过度激活的自噬状态，这与 LEE 等<sup>[37]</sup>和 YANG 等<sup>[38]</sup>的研究结论基本一致，其研究同样显示了有氧运动疗法有效降低了糖尿病啮齿动物模型中骨骼肌自噬小体标志物 LC3- II 的水平，通过抑制自噬改变或逆转糖尿病动物模型的骨骼肌萎缩。这些研究共同揭示了有氧运动疗法对抑制自噬的关键作用，也提示了 FoxOs 信号通路介导的骨骼肌自噬也可能是代谢性疾病和退行性疾病中骨骼肌萎缩的潜在治疗靶点。

**结论：**高脂饲养联合链脲佐菌素注射建立的 2 型糖尿病模型具有明显糖脂代谢障碍，而这种代谢障碍还将累及骨骼肌组织，导致骨骼肌中炎症反应和自噬的过度激活；通过规律的有氧运动干预可以有效改善 2 型糖尿病糖脂代谢，并通过降低骨骼肌组织的局部炎症水平、抑制骨骼肌自噬，从而对骨骼肌起到保护作用。

**不足：**该研究设计分析了有氧运动对 2 型糖尿病糖脂代谢、骨骼肌局部炎症和骨骼肌自噬的影响，但对三者之间的

分子调控机制未进行深入验证;此外,该研究也通过 p62 的表达量变化监测自噬的变化,但自噬并不是降解 p62 的唯一途径,故单纯通过检测细胞 p62 蛋白表达水平判断机体自噬状态存在一定的不足。

**致谢:**感谢为该研究共同努力和付出的全体成员,感谢为该实验实验提供场地的北京体育大学运动与体质健康教育部重点实验室。

**作者贡献:**王继负责研究设计与文章撰写,张敏负责文章校对与翻译,李文博参与项目实施,杨中亚和张龙参与文献收集。

**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。

**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。

**版权转让:**文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

**出版规范:**该文章撰写遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。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。

#### 4 参考文献 References

- [1] HARDING JL, PAVKOV ME, MAGLIANO DJ, et al. Global trends in diabetes complications: a review of current evidence. *Diabetologia*. 2019;62(1):3-16.
- [2] HE F, CHEN W, XU W, et al. Safety and efficacy of liraglutide on reducing visceral and ectopic fat in adults with or without type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Obes Metab*. 2023;25(3):664-674.
- [3] AKBARI M, HASSAN-ZADEH V. IL-6 signalling pathways and the development of type 2 diabetes. *Inflammopharmacology*. 2018;26(3):685-698.
- [4] O'NEILL BT, BHARDWAJ G, PENNIMAN CM, et al. FoxO Transcription Factors Are Critical Regulators of Diabetes-Related Muscle Atrophy. *Diabetes*. 2019;68(3):556-570.
- [5] PENNIMAN CM, BHARDWAJ G, NOWERS CJ, et al. Loss of FoxOs in muscle increases strength and mitochondrial function during aging. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2023;14(1):243-259.
- [6] MARCHELEK-MYSLIWIEC M, NALEWAJSKA M, TURON-SKRZYPIŃSKA A, et al. The Role of Forkhead Box O in Pathogenesis and Therapy of Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci*. 2022;23(19):11611.
- [7] 王继,杨中亚,张龙,等.AMPK/PGC-1 $\alpha$ 在有氧运动改善 2 型糖尿病大鼠骨骼肌萎缩中的作用[J].中国组织工程研究,2020,24(20):3180-3185.
- [8] 王继,张敏,杨中亚,等.体力活动干预 2 型糖尿病肌少症的研究现状[J].中国组织工程研究,2023,27(8):1272-1277.
- [9] 中华医学会糖尿病学分会.中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)[J].中华糖尿病杂志,2021,13(4):315-409.
- [10] YANG Z, SCOTT CA, MAO C, et al. Resistance exercise versus aerobic exercise for type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Sports Med*. 2014;44(4):487-499.
- [11] MARTIN IK, KATZ A, WAHREN J. Splanchnic and muscle metabolism during exercise in NIDDM patients. *Am J Physiol*. 1995;269(3 Pt 1):E583-E590.
- [12] GUAN DY, SUN HW, WANG JT, et al. Rosiglitazone promotes glucose metabolism of GIFT tilapia based on the PI3K/Akt signaling pathway. *Physiol Rep*. 2021;9(5):e14765.
- [13] ZHANG Y, LIU Y, LIU X, et al. Exercise and Metformin Intervention Prevents Lipotoxicity-Induced Hepatocyte Apoptosis by Alleviating Oxidative and ER Stress and Activating the AMPK/Nrf2/HO-1 Signaling Pathway in db/db Mice. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:2297268.
- [14] WANG G. Aerobic exercise ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury and thrombosis of diabetic rats via activation of AMPK/Sirt1/PGC-1 $\alpha$  pathway. *Gen Physiol Biophys*. 2022;41(4):319-328.
- [15] 李颖,林文毅,翁锡全.不同运动强度干预 2 型糖尿病模型大鼠的内脂素及糖代谢变化[J].中国组织工程研究,2020,24(26):4196-4200.
- [16] PIMENTEL JL, VANDER WYST KB, SOLTERO EG, et al. Organ fat in Latino youth at risk for type 2 diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2022;23(3):286-290.
- [17] HIGGINS S, ZEMEL BS, KHOURY PR, et al. Visceral fat and arterial stiffness in youth with healthy weight, obesity, and type 2 diabetes. *Pediatr Obes*. 2022;17(4):e12865.
- [18] AHMED B, SULTANA R, GREENE MW. Adipose tissue and insulin resistance in obese. *Biomed Pharmacother*. 2021;137:111315.
- [19] CAO C, SU M. Effects of berberine on glucose-lipid metabolism, inflammatory factors and insulin resistance in patients with metabolic syndrome. *Exp Ther Med*. 2019;17(4):3009-3014.
- [20] SHAKIL-UR-REHMAN S, KARIMI H, GILLANI SA, et al. Response to a Supervised Structured Aerobic Exercise Training Program in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus- Does Gender Make a Difference? A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Natl Med Assoc*. 2018;110(5):431-439.
- [21] XING H, LU J, YOONG SQ, et al. Effect of Aerobic and Resistant Exercise Intervention on Inflammation of Type 2 Diabetes Mellitus in Middle-Aged and Older Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Med Dir Assoc*. 2022;23(5):823-830.e13.
- [22] NEMATOLLAHI S, PISHDAD GR, ZAKERKISH M, et al. The effect of berberine and fenugreek seed co-supplementation on inflammatory factor, lipid and glycemic profile in patients with type 2 diabetes mellitus: a double-blind controlled randomized clinical trial. *Diabetol Metab Syndr*. 2022;14(1):120.
- [23] YANG K, ZHANG S, GENG Y, et al. Anti-Inflammatory Properties In Vitro and Hypoglycaemic Effects of Phenolics from Cultivated Fruit Body of *Phellinus baumii* in Type 2 Diabetic Mice. *Molecules*. 2021;26(8):2285.
- [24] COBBOLD C. Type 2 diabetes mellitus risk and exercise: is resistin involved? *J Sports Med Phys Fitness*. 2019;59(2):290-297.
- [25] MELO LC, DATIVO-MEDEIROS J, MENEZES-SILVA CE, et al. Physical Exercise on Inflammatory Markers in Type 2 Diabetes Patients: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:8523728.
- [26] HEJAZI K, MOHAMMAD RAHIMI GR, ROSENKRANZ SK. Effects of Exercise Training on Inflammatory and Cardiometabolic Risk Biomarkers in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Biol Res Nurs*. 2022;10998004221132841. doi: 10.1177/10998004221132841.
- [27] PILLON NJ, SMITH JAB, ALM PS, et al. Distinctive exercise-induced inflammatory response and exerkinase induction in skeletal muscle of people with type 2 diabetes. *Sci Adv*. 2022;8(36):eabo3192.
- [28] YADAV A, SINGH A, PHOGAT J, et al. Magnoflorine prevent the skeletal muscle atrophy via Akt/mTOR/FoxO signal pathway and increase slow-MyHC production in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 2021;267:113510.
- [29] ABD EL-KADER S, GARI A, SALAH EL-DEN A. Impact of moderate versus mild aerobic exercise training on inflammatory cytokines in obese type 2 diabetic patients: a randomized clinical trial. *Afr Health Sci*. 2013;13(4):857-863.
- [30] CHOI S, JEONG HJ, KIM H, et al. Skeletal muscle-specific Prmt1 deletion causes muscle atrophy via deregulation of the PRMT6-FOXO3 axis. *Autophagy*. 2019;15(6):1069-1081.
- [31] KIM KW, BAEK MO, CHOI JY, et al. Analysis of the Molecular Signaling Signatures of Muscle Protein Wasting Between the Intercostal Muscles and the Gastrocnemius Muscles in db/db Mice. *Int J Mol Sci*. 2019;20(23):6062.
- [32] ROCCHI A, HE C. Regulation of Exercise-Induced Autophagy in Skeletal Muscle. *Curr Pathobiol Rep*. 2017;5(2):177-186.
- [33] SANCHEZ AM, CANDAU RB, BERNARDI H. FoxO transcription factors: their roles in the maintenance of skeletal muscle homeostasis. *Cell Mol Life Sci*. 2014;71(9):1657-1671.
- [34] DESHMUKH AS. Insulin-stimulated glucose uptake in healthy and insulin-resistant skeletal muscle. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2016;26(1):13-24.
- [35] KITADA M, KOYA D. Autophagy in metabolic disease and ageing. *Nat Rev Endocrinol*. 2021;17(11):647-661.
- [36] CAI Y, ZHAN H, WENG W, et al. Niclosamide ethanolamine ameliorates diabetes-related muscle wasting by inhibiting autophagy. *Skelet Muscle*. 2021;11(1):15.
- [37] LEE Y, KIM JH, HONG Y, et al. Prophylactic effects of swimming exercise on autophagy-induced muscle atrophy in diabetic rats. *Lab Anim Res*. 2012;28(3):171-179.
- [38] YANG L, LIN H, LIN W, et al. Exercise Ameliorates Insulin Resistance of Type 2 Diabetes through Motivating Short-Chain Fatty Acid-Mediated Skeletal Muscle Cell Autophagy. *Biology (Basel)*. 2020;9(8):203.

(责任编辑: MZH, ZN, WL, LCH)