

长期有氧游泳运动对大鼠脂肪组织 TNF- α 含量和 PPAR γ 蛋白表达量的影响*

焦广发^{1,2} 何玉秀^{2,4} 陈玉娟^{2,3}

摘要 目的:观察长期有氧运动后大鼠脂肪组织中 TNF- α 和 PPAR γ 的变化,探讨运动对脂肪组织分化机制的影响。**方法:**SD 大鼠随机分为对照组和运动组,运动组大鼠进行 12 周的有氧游泳运动。用 ELISA 法检测大鼠内脏脂肪组织中 TNF- α 含量。流式细胞仪检测脂肪组织中 PPAR γ 蛋白表达量。**结果:**①实验后,运动组大鼠体重与对照组无差异,但脂体比显著低于对照组。②运动组大鼠与对照组大鼠相比,脂肪组织中 TNF- α 含量显著下降(运动组和对照组分别为 8.22 ± 2.62 pg/mg 和 25.50 ± 18.70 pg/mg, $P < 0.01$)。③运动组大鼠脂肪组织中 PPAR γ 蛋白表达量显著升高(运动组和对照组分别为 1.13 ± 0.13 和 0.93 ± 0.06 , $P < 0.05$)。**结论:**长期有氧运动后,脂肪组织中 TNF- α 含量下降而 PPAR γ 含量升高,这说明长期有氧运动后脂肪组织可能处于脂肪合成和脂肪细胞分化能力升高的生理状态。

关键词 有氧运动; 脂肪组织; 肿瘤坏死因子; 过氧化物酶体增殖物激活受体

中图分类号: R493 文献标识码: A 文章编号: 1001-1242(2007)-09-0779-03

Effect of long term aerobic swimming exercises on TNF- α and PPAR γ concentration in visceral adipose tissue of rats/JIAO Guangfa, HE Yuxiu, CHEN Yujuan//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2007, 22(9): 779—781

Abstract Objective: To analyze the effect of long term aerobic exercises on the changes of TNF- α and PPAR γ in adipose tissue and to explore the mechanism of adipose tissue differentiation. **Method:** Fourteen SD rats were divided into two groups, control group and exercises group. Exercise group rats performed 12 weeks aerobic swimming exercises. TNF- α concentration in visceral adipose tissue was tested by ELISA. PPAR γ content in visceral adipose tissue was tested by flow cytometry. **Result:** TNF- α concentration in visceral adipose tissue of exercises group was lower than control group (8.22 ± 2.62 and 25.50 ± 18.70 , $P < 0.01$), but PPAR γ content was higher than control group (1.13 ± 0.13 and 0.93 ± 0.06 , $P < 0.05$). **Conclusion:** TNF- α decreasing and PPAR γ increasing in adipose tissue suggest after long term aerobic exercises adipose tissue may be in the physiological condition of increasing potential of fat synthesis and adipocytes differentiation.

Author's address Bohai Petroleum Vocational College, Renqiu, Hebei, 062552

Key words aerobic exercises; adipose tissue; tumor necrosis factor- α ; peroxisome proliferator-activated receptors

研究发现,脂肪组织不仅是能量贮存的器官,而且还具有内分泌的功能。肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor alpha, TNF- α)就是脂肪组织分泌的多种细胞因子之一,它具有促进脂肪细胞凋亡,抑制脂肪细胞分化的作用,还可以促进脂肪分解,抑制脂肪的合成。TNF- α 通过促进脂肪细胞的凋亡和脂肪组织的分解,降低脂肪组织的体积和脂肪组织中脂肪细胞的数量^[1]。PPAR γ 是过氧化物酶体增殖物激活受体家族(peroxisome proliferators-activated receptors, PPAR)中的一员,PPAR γ 是目前所知唯一在脂肪组织中高水平表达的转录因子,它介导特异性脂肪基因的表达,激活脂肪细胞分化的程序并促进脂肪的贮存^[2]。有氧运动时机体动员脂肪组织中的甘油三酯水解供能,长期的有氧运动通过增加机体内脂肪的消耗从而降低体脂含量,但长期有氧运动

后脂肪组织中脂肪细胞的分化情况尚不清楚。本实验主要通过观察长期有氧运动后脂肪组织中 TNF- α 和 PPAR γ 变化,探讨有氧运动对脂肪组织分化机制的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物和运动方案

SD 纯系雄性大鼠 14 只,清洁级,河北省动物实验中心提供。适应性饲养 1 周后,将大鼠随机分为运

* 基金项目:河北省自然科学基金项目(C2005000156)

1 渤海石油职业学院,河北任丘,062552

2 河北师范大学体育学院

3 石家庄学院

4 通讯作者:何玉秀(河北师范大学体育学院,石家庄,050016)

作者简介:焦广发,男,硕士,助教

收稿日期:2007-01-16

动组 8 只和对照组 6 只,分笼饲养。室温 $20\pm 2^{\circ}\text{C}$,每日自然光照,自由饮水摄食。运动组大鼠于每日上午 8—9 时进行无负重游泳运动,水温 $30\pm 2^{\circ}\text{C}$,每周 5 次。第 1 周每次 30min,第 2 周每次 60min,第 3 周每次 90min,此运动量保持到第 12 周^[3-4]。对照组大鼠浸水后捞出,实验期间运动组大鼠死亡 1 只。

1.2 取材

第 12 周运动结束后取材。取材前运动组大鼠停止运动 48h,各组大鼠禁食 8h。用 0.5%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(50mg/kg),心脏取血,制配血清,-20℃保存备用。取附睾和肾周脂肪垫称重,速冻于液氮中,-80℃保存备用,待测 TNF- α 含量。取少量脂肪组织称重后用 70%乙醇固定,4℃保存备用。

1.3 脂体比计算^[5]

脂体比=[附睾脂肪垫重量(g)+肾周脂肪垫重量(g)]/体重(g) $\times 100\%$

1.4 脂肪组织 TNF- α 含量测定

1.4.1 脂肪组织样本制备^[6]:取 500mg 左右脂肪组织,按 1:2 比例加生理盐水(预冷到 0℃),在冰浴下匀浆。4℃,12000r/min 离心 15min,吸取上清液,-20℃保存。

1.4.2 TNF- α 含量测定:采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法测定脂肪组织 TNF- α 含量,试剂盒购于美国 R&D 公司,芬兰 DENLEY DRAGON Wellscan MK2 全自动酶标仪进行读数。TNF- α 含量用 pg/mg prot 表示。组织总蛋白浓度采用考马斯亮蓝法测定,试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

1.5 脂肪组织 PPAR γ 蛋白表达量测定

1.5.1 脂肪组织样本制备^[7]:取适量固定组织放在 120 目不锈钢网上,下置一平皿,用眼科剪刀将组织剪碎,用镊子轻轻搓组织块,边搓边用 PBS 液冲洗,直至将组织搓完为止。将平皿中的混悬液用 300 目铜网过滤去除细胞团块,收集细胞悬液,以 1500r/min 离心沉淀 5min,离心后去上清。

1.5.2 测试仪器和试剂:采用美国 Beckman Coulter 公司生产的 Epics-XL II 型流式细胞仪,激发光源为 15mW 氩离子激光器,激发波长为 488nm,采用 Muticycle AV 分析软件对 DNA 细胞周期拟合分析。检测前以鸡血红细胞作为标准样品调整仪器 CV 值在 5%之内。兔抗鼠 PPAR γ 单克隆抗体和羊抗兔 FITC-IgG 二抗工作液购于美国 Santa Cruze 公司。

1.5.3 PPAR γ 蛋白表达量的检测:取单细胞悬液 1×10^6 个/ml,加入兔抗鼠 PPAR γ 单克隆抗体工作液 0.1ml,室温孵育 30min,加入 PBS10ml 洗涤 1 次,弃上清,加入羊抗兔 FITC-IgG 二抗工作液 100 μl ,避

光室温孵育 30min,加入 PBS 10ml 离心同上,弃上清以除去未结合的荧光二抗,上机检测前加入 PBS 0.1ml 经 500 目铜网过滤后上机检测。在对蛋白免疫荧光标记物测定时,设 PBS 代替一抗和二抗的阴性对照,以及只加入一抗或二抗的阳性对照。测出的值为相对值,无单位。

1.6 统计学分析

实验数据采用平均值 \pm 标准差表示,两组间差异比较用 *t* 检验。统计软件包为 SPSS11.0, $P<0.05$ 为差异具有显著性。

2 结果

2.1 大鼠实验前后体重及体脂含量的变化

实验前和实验后运动组与对照组大鼠体重比较,差异无显著性,实验后运动组大鼠脂体比显著低于对照组差异有非常显著性($P<0.01$),见表 1。从实验后运动组大鼠的体重和脂体比变化可以看到,实验安排的运动方案没有影响大鼠的正常生长,但可以显著降低大鼠的体脂含量。

2.2 运动对大鼠脂肪组织 TNF- α 含量和 PPAR γ 蛋白表达量的影响

实验后运动组大鼠脂肪组织中 TNF- α 含量显著低于对照组差异有非常显著性 ($P<0.01$),但 PPAR γ 蛋白表达量显著高于对照组,差异有显著性 ($P<0.05$),见表 2。

表 1 大鼠实验前后体重及体脂含量变化 ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	体重(g)		脂体比(%)
		实验前	实验后	
对照组	6	223.31 \pm 16.32	440.33 \pm 22.29	2.23 \pm 0.47
运动组	7	227.16 \pm 12.54	441.16 \pm 33.02	1.27 \pm 0.27 ^①

①与对照组比较 $P<0.01$

表 2 运动对大鼠脂肪组织中 TNF- α 含量和 PPAR γ 蛋白表达量的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	脂肪组织 TNF- α	PPAR γ 蛋白表达量
		(pg/mg prot)	
对照组	6	25.50 \pm 18.70	0.93 \pm 0.06
运动组	7	8.22 \pm 2.62 ^②	1.13 \pm 0.13 ^①

与对照组比较:① $P<0.05$,② $P<0.01$

3 讨论

长期有氧运动后观察到大鼠体内脂肪含量显著下降,这与有氧运动过程中机体动员脂肪组织水解供能,机体内脂肪消耗增加有着密切关系。然而,运动并不是单纯影响机体内的能量代谢,其对机体内激素分泌和组织细胞分化生长也有着复杂的影响。脂肪组织可以分泌多种激素和细胞因子,主要参与到脂肪组织局部的代谢调节^[8]。TNF- α 和 PPAR γ 就是脂肪组织分泌的两种细胞因子。脂肪组织中的 TNF- α 和 PPAR γ 可以分别代表脂肪组织中抑制分

化和促进分化两种能力的水平。

脂肪细胞分化是一个非常复杂的过程, 目前对运动和脂肪细胞分化的研究还很少。一般认为, 肥胖的基础是脂肪细胞分化, 而运动可以预防肥胖, 由此推测运动降低脂肪细胞分化的能力, 但这种推论缺乏实验支持, 通过运动对脂肪细胞分化过程中的调控因子的影响, 可以间接推测运动对脂肪细胞分化的促进或抑制作用。

TNF- α 是肿瘤坏死因子家族中重要的一员, 它是在多种细胞活动中起着重要作用的一种细胞因子, 其主要功能是激活其他细胞因子和调节细胞的分化、增殖、坏死和凋亡。1993年发现该细胞因子对脂肪代谢也有重要的作用^[9]。脂肪细胞分泌的 TNF- α 主要以自分泌和旁分泌的方式调节脂肪细胞局部的功能, 对脂肪细胞的分化也产生重要的影响。本实验中运动组大鼠脂肪组织中 TNF- α 蛋白含量显著下降, 这可能是由于 TNF- α 具有促进脂肪分解的作用, 长期有氧运动过程中 TNF- α 消耗增多, 而造成脂肪组织中 TNF- α 含量下降。而运动组中脂肪组织中 TNF- α 蛋白含量的下降, 这说明脂肪组织中促进脂肪细胞凋亡的能力减弱, 更有利于脂肪细胞的分化。

PPAR γ 是一种核转录受体, 属于 PPAR 家族 (PPARs), 主要存在于脂肪细胞中。PPAR γ 主要在前脂肪细胞和脂肪细胞分化过程中发挥重要的调控作用, 同时也通过参与脂代谢相关基因的表达调控来参与脂肪酸代谢的调节。运动可能会通过 PPAR γ 影响机体脂肪细胞分化。人体实验发现, 每天 60min 共 9 天的运动与一次急性运动相比, 股外侧肌中的 PPAR γ mRNA 表达无差异^[10]。总的来说, 一次性运动对脂肪组织 PPAR γ 影响不大; 长期耐力运动后, 骨骼肌中 PPAR γ 表达增加, 但脂肪组织中 PPAR γ 无明显变化^[11-12]。运动对脂肪组织中的 PPAR γ 是否有影响尚有争议。由于脂肪细胞的分化需要有 PPAR γ 的存在, 本实验中运动组大鼠脂肪组织中 PPAR γ 蛋白含量显著高于对照组, 这提示长期的有氧运动后脂肪组织中脂肪细胞的分化能力增加。

综合分析, 长期有氧运动后大鼠脂肪组织中的抑制分化的能力下降, 而促进分化的能力增加。由于长期有氧运动, 使大鼠体内脂肪含量下降, 机体通过降低脂肪分解的能力, 增加脂肪组织合成脂肪的能力, 以及促进脂肪细胞增殖分化, 来调节机体的能量

平衡状态。因此, 机体在长期的有氧运动适应后脂肪组织处于脂肪合成和脂肪细胞分化能力升高的生理状态。

4 结论

长期有氧运动后, 机体内脂肪含量虽然降低, 但脂肪组织中出现 TNF- α 含量下降和 PPAR γ 含量升高的现象, 这说明有氧运动后脂肪组织可能处于脂肪合成和脂肪细胞分化能力升高的生理状态。提示, 长期有氧运动后, 如果机体摄入能量充足, 脂肪组织更容易发生数量和体积的增大。

参考文献

- [1] Prins JB, Niesler CU, Winterford CM, et al. Tumor necrosis factor -alpha induces apoptosis of human adipose cells [J]. *Diabetes*, 1997, 46(12):1939-1944.
- [2] 陈玉娟, 何玉秀, 李立. PPAR 在脂肪细胞分化中的作用及对运动的反应相关研究[J]. *中国运动医学杂志*, 2006, 25(2):254-256.
- [3] Ploug T, Stallknecht BM, Pedersen O, et al. Effect of endurance training on glucose transport capacity and glucose transporter expression in rat skeletal muscle [J]. *Am J Physiol*, 1990, 259: E778-786.
- [4] 朱全, 浦钧宗. 大鼠游泳训练在运动实验中的应用方法 [J]. *中国运动医学杂志*, 1996, 15(2):125-129.
- [5] 赵丽军, 孙长颖, 张晓红, 等. 膳食铁对饮食诱导肥胖大鼠代谢影响 [J]. *中国公共卫生*, 2006, 22(1):74-76.
- [6] 郝艳华, 卢明俊. 饮食诱导肥胖大鼠 TNF- α 与胰岛素抵抗的关系 [J]. *中国公共卫生*, 2003, 19(8):950-951.
- [7] 代雪枫, 陈东风. 大鼠非酒精性脂肪肝病形成过程中肝细胞增殖的变化 [J]. *第三军医大学学报*, 2005, 27(9):8710-874.
- [8] Gema Frühbeck, R Nutr, Javier Salvador. Role of adipocytokines in metabolism and disease [J]. *Nutrition Research*, 2004, 24: 803-826.
- [9] Hotamisligil GS, Shargil N, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α direct role in obesity-linked insulin resistance [J]. *Science*, 1993, 259:87-91.
- [10] Goto M, Terada S, Kato M, et al. cDNA cloning and mRNA analysis of PGC-1 in epitrochlearis muscle in swimming-exercised rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 274:350-354.
- [11] Yasutomi Kamei, Hiroshi Ohizumi, Yasushi Fujitani, et al. PPAR γ coactivator 1 β /ERR ligand 1 is an ERR protein ligand, whose expression induces a high-energy expenditure and antagonizes obesity [J]. *PNAS*, 2003(100):12378-12383.
- [12] Kahara T, Takamura T, Hayakawa T, et al. PPAR γ gene polymorphism is associated with exercise-mediated changes of insulin resistance in healthy men [J]. *Metabolism*, 2003 (2): 209-212.