

体育科学研究中实验动物“3R”原则的应用及进展

左 群, 于新凯*

(上海体育学院运动科学学院, 上海 200438)

【摘要】 体育科学研究中经常要开展动物实验,“3R”原则的应用不容忽视。本文论述了体育科学研究中开展动物实验中“3R”原则的应用现状,提出了体育科学研究中“3R”原则的应用要求和进展。

【关键词】 实验动物;实验动物福利;“3R”原则;运动

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 10-0122-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.10.021

Application and progress of the 3Rs' principle for laboratory animals in sports science research

ZUO Qun, YU Xinkai*

(School of Kinesiology, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China)

【Abstract】 Animal experiments have often been conducted in sports science research. Laboratory animal welfare should always be guaranteed in animal experiments. This paper discusses the status of the 3Rs' principle and proposes requirements and analyzes the progress of implementation of the 3Rs' principle in sports science research.

【Keywords】 laboratory animal; laboratory animal welfare; 3Rs' principle; exercise

体育科学研究中开展动物实验越来越普遍。开展动物实验必须遵循国际上实验动物福利的要求,其中“3R”原则是核心内容。但在体育科学研究中,存在对实验动物的福利问题关注度不高,对实验动物福利所要求的“3R”原则知晓率低等状况。实验动物的福利问题直接影响实验动物的身心健康,对实验结果的准确性产生重要影响。因此,在我国体育科学研究日趋国际化、交流日益频繁的今天,加强对实验动物“3R”原则在体育科学研究中的认识和应用就显得尤为重要和迫切。

1 实验动物的“3R”原则

实验动物是为了科学研究而专门培育或改造的一类动物,主要用于科学实验研究。作为一种生

命形式,和人类一样,实验动物同样具有自身生理和心理的各项需求。作为人类的替身,实验动物需要经受各种实验因素的处理,由此遭受生理或心理的痛苦^[1]。因此,在使用实验动物时应保障实验动物福利,遵循实验动物伦理要求,善待实验动物,尽量减少对实验动物的生理和心理伤害,确保实验动物的一切状态都有利于科学研究的正常进行,将对实验研究的背景性干扰降到最低,以最少的动物代价获得最大的科学效益。动物福利的首要原则是满足动物维持生命的需要、维持健康的需要及维持舒适的需要,这3个方面决定了动物的生活质量^[2]。解除动物痛苦,让动物在任何条件下享有“5大自由”是动物福利的基本原则,包括:(1)不受饥渴的自由;(2)生活舒适的自由;(3)不受痛苦、伤害

【基金项目】上海市人类运动能力开发与保障重点实验室(上海体育学院11DZ2261100)。

【作者简介】左群(1970—),女,副教授,硕士生导师,研究方向:运动人体科学。E-mail: zuo_qun@sus.edu.cn

【通信作者】于新凯,教授。E-mail: yuxinkai@sus.edu.cn

和疾病的自由;(4)生活无恐惧和悲伤感的自由;(5)表达天性的自由。生理健康、心理快乐、有益于科学研究是实验动物福利的完整内涵^[3]。

如何在开展动物实验过程中保障实验动物福利,“3R”原则是重要核心内容。“3R”原则由动物学家 Russell 和微生物学家 Burch 于 1959 年提出,指的是 Reduction(减少)、Replacement(替代)和 Refinement(优化)^[4]。减少指的是在动物实验研究中,为了减少动物所承受的痛苦总量,要尽量减少实验动物的使用数量。替代指的是尽量使用没有知觉的实验材料(体外方法)替代活体动物(体内方法),或使用低等动物替代高等动物进行实验,并获得相同实验效果的科学方法。优化指的是在符合科学原则的基础上,通过改善实验环境条件,善待动物,提高动物福利^[1]。2005 年,美国芝加哥的“伦理化研究国际基金会”还在“3R”的基础上提出了“4R”原则,增加了“Responsibility”(责任)作为第 4 个原则,要求人们在生物学实验中增强伦理观念,呼吁实验者对人类和动物都要有责任感^[5]。“3R”原则与实验动物福利有着密切的关联,“3R”技术和方法的应用为实现实验动物福利提供了有力的保障。

2 体育科学研究中动物实验的特点

体育科学研究中开展动物实验的领域相当广泛,通过动物实验研究者可以从分子、细胞、组织、器官、系统等水平深入探讨运动在提高运动能力、改善健康、预防疾病、延缓衰老等方面的作用机制,为运动在挖掘运动潜能、促进健康、提高生活质量等方面的作用提供大量实验数据。但体育科学中的动物实验不同于生物、医学等研究领域,在实验动物的选择、实验动物的干预和处理上具有自身的特点。

2.1 实验动物的选择

运动是体育科学研究中主要的干预手段,因此,实验动物能否进行运动、运动能力是否可控、运动效果能否量化评价是必须考虑的问题。此外,实验动物与人类的同源性或基因相似度如何,所得实验结果是否具有代表性,实验动物的成本和伦理要求等等也是选择实验动物的考量标准。综合以上要求,目前,在体育科学研究中啮齿类动物是使用最多的实验动物,其次,果蝇和斑马鱼的应用在体育科学研究中也开始崭露头角。

啮齿类动物大鼠和小鼠的基因组和人类有较

高的同源性,生理、生化和发育过程和人类相似,同时具有相对可控的运动能力,通过设定跑台的速度和运动时间、游泳运动的时间等可建立规律的运动训练方案。因此,啮齿类动物在体育科学研究中使用最多。根据实验目的和要求,可以选择不同品系、年龄、性别的实验动物。如大鼠的 Sprague-Dawley (SD)、Wistar、Lewis 品系^[6-7],小鼠中的 BALB/C、C57BL/6、ICR 品系都是体育科学研究中常用的实验动物^[8-10]。

作为低等生物,果蝇拥有许多与人类同源的基因,是衰老、神经生物学的研究中常用的模式生物。和哺乳动物相比,果蝇是唯一具有心脏的无脊椎动物,且心脏组织分化精细。加上果蝇生命周期短(平均寿命 60 天左右),表型易于观察。因此,果蝇是研究心脏遗传与发育基因调控的理想模式动物^[11-12]。近些年来果蝇在体育科学研究中的应用也开始得到关注^[13-14]。如郑澜等^[15]发现,果蝇攀爬指数随着年龄增加而下降,运动可增强果蝇运动能力,延缓因增龄而发生的运动能力下降和心脏功能衰退,改善生命周期。类似的研究见于 Piazza 等的报道^[16]。

作为硬骨鱼的代表之一,斑马鱼的基因和人类基因的相似度达到 87%,具有近似人的各种器官系统。斑马鱼具有红肌和白肌,混合型肌纤维含量极少,可以通过水流的速度来控制斑马鱼的运动强度,结合运动时间产生有氧或无氧运动效果,是研究运动训练适应性的理想模型^[17]。如有研究发现,经过 4 周无氧运动训练后,斑马鱼肌糖原含量显著增加,运动持久能力加强,无氧运动能力和无氧代谢能力均得以明显提升^[18],说明斑马鱼适合应用于体育科学研究中。

2.2 实验动物模型的选择

除了野生型实验动物,疾病模型、转基因、基因(或受体)敲除或基因过表达的实验动物在体育科学研究中的使用也越来越普遍。

在运动影响和改善相关疾病的研究中,通常采用动物造模的方式,获得相关疾病模型,同时结合运动,观察运动对相关疾病的影响。例如通过摘除大鼠卵巢造成骨质疏松模型后,观察不同运动以及补充维生素 D₃ 和尼古丁对骨质疏松大鼠骨丢失的影响^[19];饲喂高糖高脂膳食获得肥胖动物模型后,观察跑轮运动和热量限制对肥胖大鼠肥胖和下丘脑神经肽表达的影响^[20];固定悬吊动物后肢获得肌

肉废用模型后,观察有氧运动对骨密度和肌肉萎缩的影响^[21];在衰老研究中,通过 D-半乳糖诱导小鼠衰老后,观察运动对神经干细胞增殖和神经母细胞分化的影响^[22]等等。

为了深入了解运动影响疾病的代谢机制,转基因、基因(或受体)敲除、基因过表达实验动物的应用扩大了研究视角,使研究者得以在基因水平或相关信号通路上获得直接实验证据。如针对阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)建立 β -淀粉样前体蛋白/早老素 1 (β -amyloid precursor protein/presenilin-1, APP/PS1)转基因小鼠,观察运动对 APP/PS1 转基因小鼠学习和记忆的影响^[23];通过 hSI00B 转基因小鼠研究 SI00B 基因在帕金森病发病机制中的作用^[24];在脂代谢研究中,采用 ApoE 基因或 LDL 受体敲除小鼠来探讨运动改善机体脂代谢的分子机制^[25-26];构建 NAD 合成酶基因 CG9940 全身过表达并进行运动干预,研究 NAD 合成酶基因 CG9940 过表达对果蝇运动能力、心脏功能和寿命的影响^[11-12]等等都是转基因、基因(或受体)敲除、基因过表达实验动物的成功应用。随着分子生物学实验技术和手段的不断发展和完善,将 RNA 干扰技术应用于实验动物导致目的基因沉默^[27-28],借此观察运动对机体的影响机制是在基因水平认识运动影响机体代谢机制的又一举措。

2.3 实验动物的运动干预

从运动干预手段来看,啮齿类动物主要以跑台^[6]、游泳^[7]、转笼或跑轮^[20,29]运动或振动训练^[30],果蝇是攀爬运动^[31],斑马鱼则是游泳运动^[17-18];在运动形式上既有主动运动^[23],也有被动运动^[31];在运动强度上,有大强度、中等强度和低强度运动之分;在运动时间的安排上,既有短时间急性运动,也有长时间耐力运动;在运动类型上既有无氧运动,也有有氧运动;在运动环境上,既有常温常压环境,也有低氧低压^[32]、低温^[33]、高热^[34]环境下运动的研究。通过运动的干预,能够发现运动对机体的影响效果(正面或负面);通过对比不同运动方式、不同运动强度、不同运动时间、不同运动环境下产生的运动效果,发现适合不同年龄、性别、生理或疾病状况下的最佳运动模式。

运动是体育科学研究的特点,因此,在开展动物实验时要特别考虑到这些运动干预因素对实验动物福利的影响,“3R”原则同样适用于体育科学研究的动物实验中。

3 体育科学研究中“3R”原则的要求和应用

3.1 减少

在体育科学研究中,为了减少动物所承受的痛苦总量,要尽量减少实验动物的使用数量。

从绝对数量的减少上看,在确保实验结果不受影响的前提下,实验前,应根据实验目的,通过统计学计算所需要的实验动物样本数,不无故扩大样本量。实验前必须进行周密合理的实验设计,减少混杂因素对实验结果的影响,不进行无科学意义的实验。实验前的预实验非常重要,通过少量实验动物的预处理,了解实验方案的可行性,尽早发现问题,避免正式实验时大量实验动物的无效使用。另外,课题组之间可以共用实验动物模型,避免实验动物取材上的浪费。从相对数量的减少上看,取得实验数据后,要进行正确的统计学分析,充分利用已有的数据,以最少的实验动物数量获得最大化的实验结果。同时建立互信机制,共享实验数据,减少不必要的重复实验。

例如,王妹等^[35]从 GEO 数据库中下载 Lehti 等提交的小鼠骨骼肌基因芯片数据,运用生物信息学的方法对其中的差异表达基因做进一步的功能富集分析,从整体上分析运动对糖尿病小鼠骨骼肌基因的影响。米春娟^[36]从以质谱为基础的蛋白质组学研究入手,分析了不同类型运动对心脏蛋白质组的影响,同时用生物信息学方法分析来自于不同运动类型与动物模型间的数据。这些研究充分体现了“3R”原则中的“减少”,利用原作者没有深入挖掘的实验数据产生了新的研究结果,为后期的研究提供了数据基础,减少了不必要的重复动物实验。目前,基因组学、蛋白质学、代谢组学、免疫组学等等的研究为生物医学领域提供了大量的实验数据,而且数据规模还在不断增长。如何从这些海量数据中查找或挖掘所需要的信息,产生新的研究结果,跨越单一动物实验的局限性是体育科研工作者需要思考的问题。

此外,提高实验动物的质量,控制生物学变异也是实现相对数量减少的重要方法。在研究方法和手段上,充分利用现代生物技术进行分析(如核磁共振、CT、双能 X 射线),既可减少对实验动物的侵袭,又可进行持续观察,节约实验动物。

3.2 替代

目前,在体育科学研究中,“替代”研究成为一种新的趋势,包括细胞体外试验、低等动物替代高等动物进行实验等。

以骨骼肌的研究为例,在体实验通常以啮齿类动物为实验对象,运动干预后对实验动物进行取材,通过特异性标记物在体观察或检测运动对骨骼肌细胞形态或功能的影响,探讨运动影响骨骼肌的相关机制^[37-38]。除此之外,原代细胞培养不失为一种良好的选择,由于细胞刚刚从活体组织分离出来,故更接近于生物体内的生活状态。同时,选择小鼠成肌细胞系 C2C12 作为实验对象,通过电刺激使成肌细胞收缩产生运动效果,离体观察和研究模拟运动对肌细胞形态或功能的影响及机制也是一种重要选择^[39-40]。和在体实验相比,细胞离体实验可控性好,样本需要量少,能缩短实验周期,提高实验效率,具有动物实验所没有的优势。

作为一种成熟的模式生物,人类 75% 的疾病基因与果蝇具有功能同源^[41-42],而运动能促使果蝇产生行为和生理应答^[43]。果蝇运动能力较强,但其迁移运动表现为非定向的飞行或爬行,这种运动模式在实验条件下很难建立规律的运动训练方案。为此,国内有研究者利用果蝇的负趋地性,研制出果蝇运动平台装置,通过果蝇的抗重力攀爬来测量果蝇的运动能力^[43]。国外有研究者利用果蝇的负趋地性进一步开发出踏轮装置^[44]和旋转运动量化装置^[45],使得果蝇的运动训练趋于科学和完善,运动表现定量化,为果蝇在体育科学研究中的应用创造了条件。果蝇容易饲养、繁殖快、生命周期短、取材方便,遗传背景可控,和哺乳动物相比,研究成本和研究周期能得到极大节约,研究结果也非常具有代表性。因此,作为一种理想的动物模型,果蝇在体育科学研究中的应用应该得到大力推广。

和小鼠相比,斑马鱼的繁殖力强、发育迅速,容易饲养,目前在遗传发育、药物筛选、疾病模型、环境健康等研究领域得到广泛的应用^[46-47]。同时,随着年龄的增加斑马鱼整体功能下降,如线粒体功能下降、骨骼肌退化等,呈现出和人类以及其他哺乳动物相似的特点^[48]。随着年龄增加,斑马鱼的游泳能力也随之下降,运动训练能提高斑马鱼的游泳能力,其中青年和中年斑马鱼的训练效果显著好于老年斑马鱼,和人类的运动效果相似^[49],提示斑马鱼可望成为研究运动与衰老的良好模型^[50]。此外,斑马鱼的骨骼与人类相似,同样拥有骨细胞^[51]。研究

发现运动训练可以促进成年斑马鱼的骨形成,提高骨密度^[52]。在骨骼肌的研究中发现,游泳运动训练可以通过 mTOR-MEF2 和 AMPK 信号通路使得成年斑马鱼快肌纤维肥大,促进肌再生^[53],这些研究结果和哺乳动物的相似。目前,作为一种新型的实验动物模型,斑马鱼已经应用在运动与肌肉生长发育、骨骼代谢、神经生物学与衰老等研究领域中^[54-58]。和大小鼠模型相比,斑马鱼的模型建立成本低,取材方便,因此,可望在体育科学研究中得到开发和应用。迄今为止,斑马鱼在运动实践中的应用仅见国外的研究中,国内尚未见报道。因此,国内的体育科研工作者应该加快认识和开发斑马鱼在运动实践中的应用。

另外,充分利用人群资料来代替动物实验的资料,利用数学模型、电子图像分析、虚拟动物和虚拟人体来模拟相应的生理和代谢过程都是替代的良好手段和方式,在体育科学研究中应该大力推崇。

3.3 优化

优化包括动物实验的研究方法、技术手段和操作控制技术的优化。在动物实验过程中,通过改善实验环境、饲养条件,完善实验程序,改进实验技术,善待实验动物,由此提高动物福利。早在 2006 年我国科技部就颁布了《关于善待实验动物的指导性意见》,要求在饲养管理和使用实验动物过程中,要采取有效措施,善待实验动物,使实验动物免遭不必要的伤害和痛苦^[59]。

体育科学研究中通常要对实验动物施加运动刺激,善待实验动物的原则同样适用。以跑台运动为例,在实施力竭运动时,大鼠通常会因为体力不支,无法跟上设定的跑台速度,退缩到跑台末端。为了让动物继续运动以达到力竭,实验操作人员往往用电击或毛刷刺激大鼠尾部,驱使大鼠跑动。如果电击的强度适宜,尚不会使大鼠产生过大的应激;如果电击的强度过大,会使大鼠产生惊恐等恶性应激,导致生理和心理的双重刺激,无法确保实验结果的准确性。因此,不建议使用电击的方法。同时,跑台运动时有声、光、电的刺激,对于不运动的对照组,虽然不在跑台上运动,实验动物也应置于跑台上感受相同环境的刺激,确保研究背景的一致性,减少实验误差。另外,在高强度的跑台运动中,由于跑台设定的速度过快,大鼠一旦没有跟上皮带转动的速度,极易出现后肢及尾部夹伤;夹伤后如果没有及时予以药物处理,大鼠的后肢脚趾和

尾部会出现感染和溃疡,严重的导致死亡,这些行为都是属于违背实验动物福利的要求。应该给予实验动物及时的护理和治疗,善待实验动物。在游泳运动中,如果水温没有调节好,水温过高或过低对大鼠将造成热应激或冷应激,这些都要避免。游泳运动结束后,要及时擦干大鼠的毛发,防止受凉。

在进行运动干预时,根据大、小鼠昼伏夜动的生活习性,午夜活动比白天活跃,在运动时间的选择上要考虑到其生物节律,避免对实验动物的生理和心理造成负面影响。不同于啮齿类动物,斑马鱼的适宜水温为 28℃,白昼/夜晚的生物节律是 14 h / 10 h。对斑马鱼运动的测试通常采用安装在游泳池上方的红外摄像机拍摄其游泳记录,目的是减少斑马鱼游泳的视觉障碍^[50]。用于游泳的水池或水槽最好是内壁光滑,无任何凸起或设备,以防斑马鱼在游泳过程中咬住停止游动,影响运动效果。大鼠或小鼠在游泳训练时,往往会漂浮在水面不运动。这时不能采用打击的方式迫使其运动。另外,在负重或过度训练时,要防止实验动物由于疲劳沉溺造成死亡。

4 小结

实验动物为体育科学研究的发展做出了不可磨灭的贡献。实验动物的福利问题关系到实验动物的生理和心理健康,对实验结果会产生重要影响,“3R”原则是关系到实验动物福利的有利保障。体育科学研究中应该结合动物实验的特点,在实验动物的减少、替代和优化上,寻找和挖掘实现“3R”原则的手段和措施:(1)在“减少”方面重视数据共享,加强数据分析,充分利用现代生物分析技术;(2)在“替代”方面加强低等生物的应用,其中果蝇和斑马鱼的应用可望成为新的研究手段;(3)在“优化”方面加强实验操作的规范化,减少对实验动物的侵袭,减轻实验动物的痛苦。由此,确保体育科学研究中实验动物福利的实施,为获得真实可靠的实验数据提供切实保障。

参考文献:

[1] 周光兴. 医学实验动物学[M]. 上海: 复旦大学出版社, 2014.
[2] 唐道林, 肖献忠. 动物实验面临的伦理问题[J]. 中国医学伦理学, 2003, 16(5): 29-31.
[3] 宋伟. 中国法学界应当关注的话题: 动物福利法[J]. 上海实验动物科学, 2002, 22(4): 254-256.
[4] Russell WMS, Burch RL. The principles of humane experimental technique[M]. London, UK: Methuen Press, 1959.

[5] Baumans V. Science-based assessment of animal welfare: Laboratory animals[J]. Rev Sci Tech, 2005, 24(2): 503-513.
[6] Kochi C, Liu H, Zaidi S, et al. Prior treadmill exercise promotes resilience to vicarious trauma in rats [J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2017, 18;77:216-221.
[7] Kim CS, Park DH. Effects of chronic NH₄Cl dosage and swimming exercise on bone metabolic turnover in rats [J]. J Physiol Anthropol Appl Human Sci. 2005, 24(6): 595-600.
[8] Manio MC, Inoue K, Fujitani M, et al. Combined pharmacological activation of AMPK and PPAR δ potentiates the effects of exercise in trained mice [J]. Physiol Rep. 2016, 4(5). pii: e12625.
[9] Kim JS, Yoon DH, Kim HJ, et al. Resistance exercise reduced the expression of fibroblast growth factor-2 in skeletal muscle of aged mice [J]. Integr Med Res. 2016, 5(3): 230-235.
[10] Kim J, Park J, Kim B, et al. Effects of different doses of silk peptide on energy metabolism during exercise in mice [J]. J Exerc Nutrition Biochem. 2017, 31;21(1): 21-25.
[11] 文登台, 郑澜, 林丽容, 等. CG9940 基因过表达对中老龄果蝇心脏功能、运动能力及寿命的影响[J]. 北京体育大学学报, 2014, 37(7): 62-68.
[12] 文登台, 郑澜, 奉悦, 等. CG9940 基因过表达对幼龄和中龄果蝇心脏功能、攀爬能力运动应激敏感性的影响[J]. 上海体育学院学报, 2016, 40(3): 80-86.
[13] Sujkowski A, Bazzell B, Carpenter K, et al. Endurance exercise and selective breeding for longevity extend Drosophila health span by overlapping mechanisms [J]. Aging (Albany NY). 2015, 7(8): 535-552.
[14] Rakshit K, Wambua R, Giebultowicz TM, et al. Effects of exercise on circadian rhythms and mobility in aging Drosophila melanogaster [J]. Exp Gerontol. 2013, 48(11): 1260-1265.
[15] 郑澜, 王小月, 吴越, 等. 不同运动方案对果蝇运动能力、生命周期及心脏功能的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2012, 31(7): 607-612.
[16] Piazza N, Gosangi B, Devilla S, et al. Exercise-training in young Drosophila melanogaster reduces age-related decline in mobility and cardiac performance [J]. PLoS One. 2009, 4(6): e5886.
[17] 刘明镜, 于丽娟, 皇甫加清, 等. 无氧运动诱导的斑马鱼代谢及适应性变化 [J]. 水生生物学报, 2013, 37(6): 1153-1157.
[18] 刘明镜, 王志坚. 斑马鱼对无氧运动训练的适应性变化 [J]. 动物学研究, 2013, 34(3): 190-195.
[19] Park J, Omi N. The effects of different exercise modes for preventing endothelial dysfunction of arteries and bone loss in ovariectomized rats [J]. J Exerc Nutrition Biochem. 2014; 18(2): 133-139.
[20] Levin BE, Dunn-Meynell AA. Chronic exercise lowers the defended body weight gain and adiposity in diet-induced obese rats [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2004, 286(4): R771-778.
[21] Norman TL, Bradley-Popovich G, Clovis N, et al. Aerobic exercise as a countermeasure for microgravity-induced bone loss

- and muscle atrophy in a rat hindlimb suspension model [J]. *Aviat Space Environ Med.* 2000,71(6):593-598.
- [22] Nam SM, Kim JW, Yoo DY, et al. Physical exercise ameliorates the reduction of neural stem cell, cell proliferation and neuroblast differentiation in senescent mice induced by D-galactose [J]. *BMC Neurosci.* 2014,31(15):116.
- [23] 刘慧莉,赵刚,张合.小强度跑台运动对 APP/PS1 转基因小鼠海马齿状回神经元凋亡的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2014,29(4):348-350.
- [24] 刘嘉琳,郑芳,龙彦,等.脑组织特异表达 hSI00B 转基因小鼠帕金森样运动协调能力改变的初步分析[J]. *中国医学科学院学报*,2017,39(2):240-246.
- [25] Ramachandran S, Penumetcha M, Merchant NK, et al. Exercise reduces preexisting atherosclerotic lesions in LDL receptor knock out mice[J]. *Atherosclerosis.* 2005;178(1):33-8.
- [26] 张文亮,蔡颖,谢康玲,等.运动对 ApoE 基因敲除小鼠骨骼肌脂代谢及 PPAR- α mRNA 表达的影响[J]. *中华物理医学与康复医学杂志*,2104,36(12):897-901.
- [27] Tang H, Xie MH, Lei Y, et al. The roles of aerobic exercise training and suppression IL-6 gene expression by RNA interference in the development of insulin resistance [J]. *Cytokine.* 2013,61(2):394-405.
- [28] Mosler S, Relizani K, Mouisel E, et al. Combinatory effects of siRNA-induced myostatin inhibition and exercise on skeletal muscle homeostasis and body composition [J]. *Physiol Rep.* 2014,2(3):e00262.
- [29] 张楠,王莉智,杨桂姣,等.自主跑轮运动对阿尔兹海默病模型小鼠认知,情绪以及杏仁核炎性因子表达的影响[J]. *神经解剖学杂志*,2017,33(6):741-747.
- [30] Sun C, Zeng R, Cao G, et al. Vibration training triggers brown adipocyte relative protein expression in rat white adipose tissue [J]. *Biomed Res Int.* 2015;2015:919401.
- [31] 徐同毅,韩庆奇,张本等.长期被动跑轮运动诱导建立大鼠生理性心机肥厚模型[J]. *第二军医大学学报*,2014,35(7):697-702.
- [32] Sheppard RL, Swift JM, Hall A, et al. The influence of CO₂ and exercise on hypobaric hypoxia induced pulmonary edema in rats [J]. *Front Physiol.* 2018 Feb 28;9:130.
- [33] Sullo A, Brizzi G, Maffulli N. Deiodinating activity in the brown adipose tissue of rats following short cold exposure after strenuous exercise[J]. *Physiol Behav.* 2003,80(2-3):399-403.
- [34] Kim KB, Kim MH, Lee DJ. The effect of exercise in cool, control and hot environments on cardioprotective HSP70 induction [J]. *J Physiol Anthropol Appl Human Sci.* 2004,23(6):225-230.
- [35] 王妹,吴飞珍,王宜春,等.运动对糖尿病小鼠骨骼肌基因表达影响的生物信息学分析[J]. *中国运动医学杂志*,2009,28(6):670-674.
- [36] 米春娟.基于质谱与生物信息学的运动心脏蛋白质组学研究[J]. *中国体育科技*,2017,53(3):32-36.
- [37] Arias EB, Wang H, Cartee GD. Akt substrate of 160 kDa dephosphorylation rate is reduced in insulin-stimulated rat skeletal muscle after acute exercise[J]. *Physiol Res.* 2018,67(1):143-147.
- [38] Hortemo KH, Lunde PK, Anonsen JH, et al. Exercise training increases protein O-GlcNAcylation in rat skeletal muscle [J]. *Physiol Rep.* 2016,4(18): pii: e12896.
- [39] Manabe Y, Miyatake S, Takagi M, et al. Characterization of an acute muscle contraction model using cultured C2C12 myotubes [J]. *PLoS One.* 2012;7(12):e52592.
- [40] Miyatake S, Bilan PJ, Pillon NJ, et al. Contracting C2C12 myotubes release CCL₂ in an NF- κ B-dependent manner to induce monocyte chemoattraction[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2016;310(2):E160-70.
- [41] Pandey UB, Nichols CD. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery [J]. *Pharmacol Rev.* 2011,63(2):411-36.
- [42] Ugur B, Chen K, Bellen HJ. *Drosophila* tools and assays for the study of human diseases[J]. *Dis Model Mech.* 2016;9(3):235-44.
- [43] 吴越,郑澜.利用果蝇动物模型研究运动抗心脏衰老的分子机制[J]. *科教文汇*,2015,311:185-186.
- [44] Mendez S, Watanabe L, Hill R, et al. The tread wheel: a novel apparatus to measure genetic variation in response to gently induced exercise for *Drosophila* [J]. *PLoS One.* 2016, 11(10):e0164706.
- [45] Watanabe LP, Riddle NC. Characterization of the rotating exercise quantification system (REQS), a novel *Drosophila* exercise quantification apparatus [J]. *PLoS One.* 2017, 12(10):e0185090.
- [46] 颜慧,宫泽辉.利用斑马鱼建立成瘾性药物对运动机能及认知功能影响的评价模型[J]. *中国药理学通报*,2012,28(8):1173-1177.
- [47] 何雄,仲兆民,车轶.酸性环境下铝对斑马鱼运动行为和学习记忆能力的影响暨与阿尔海默茨症的相互关系[J]. *动物学研究*,2012,33(2):231-236.
- [48] Kishi S. Functional aging and gradual senescence in zebrafish [J]. *Ann NY Acad Sci.* 2004,1019(1):521-526.
- [49] Kumar V, Selby A, Rankin D, et al. Age-related differences in the dose-response relationship of muscle protein synthesis to resistance exercise in young and old men[J]. *Sci Signal*, 2009, 587(1):211-217.
- [50] Gilbert MJ, Zerulla TC, Tierney KB. Zebrafish (*Danio rerio*) as a model for the study of aging and exercise: physical ability and trainability decrease with age[J]. *Exp Gerontol.* 2014,50:106-13.
- [51] Witten PE, Huysseune A A. comparative view on mechanisms and functions of skeletal remodelling in teleost fish, with special emphasis on osteoclasts and their function[J]. *Biol Rev*, 2009, 84:315-346.
- [52] Suniaga S, Rolvien T, Vom Scheidt A, et al. Increased mechanical loading through controlled swimming exercise induces bone formation and mineralization in adult zebrafish [J]. *Sci Rep*,2018,8(1):3646.