

龚丽景,付鹏宇,朱榕鑫,等. 低氧训练对肥胖小鼠 Ghrelin-GHSR 通路的影响[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(1): 66-72.
Gong LJ, Fu PY, Zhu RX, et al. Effect of hypoxic training on the Ghrelin-GHSR pathway in obese mice[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(1): 66-72.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.01.010

低氧训练对肥胖小鼠 Ghrelin-GHSR 通路的影响

龚丽景¹,付鹏宇²,朱榕鑫³,张一民^{1,4},许春艳^{2*}

(1. 北京体育大学中国运动与健康研究院,北京 100084; 2. 北京体育大学运动人体科学学院,北京 100084;
3. 上海体育科学研究所,上海 200030; 4. 运动与体质健康教育部重点实验室,北京 100084)

【摘要】 目的 对肥胖小鼠施加低氧训练,观察胃组织 Ghrelin 和下丘脑 GHSR 水平的变化,以探究低氧训练是否影响 Ghrelin-GHSR 通路改善肥胖体质。方法 雄性 C57BL/6J 小鼠,随机分为普通对照组(C, n=8)和高脂膳食组(H, n=52)。H 组建立肥胖模型后,随机分为肥胖对照组(HC)、肥胖常氧运动组(HE)、肥胖低氧暴露组(HH)和肥胖低氧运动组(HHE)。运动各组进行中等强度跑台训练,低氧各组进行间歇低氧暴露(11.2%氧气含量),记录每周体重和摄食量,共4周。测试血清 TC、TG、GLU 和总 Ghrelin 水平,RT-PCR 法检测下丘脑 GHSR 和胃 Ghrelin mRNA 表达水平,WB 检测下丘脑 GHSR 和 NPY 蛋白含量及胃组织 Ghrelin、Goat 和 HIF-2 α 蛋白含量。结果 (1)干预4周后,HE、HH 和 HHE 组体重较 HC 组显著降低;低氧干预的最初阶段,HH 和 HHE 组的摄食量出现下降,但随着干预时间的延长,肥胖各组的摄食量逐步趋近;(2)HC 组血液各指标显著高于 C 组,HH 组 TC 水平较 HC 组显著降低,HE、HH 和 HHE 组 GLU 水平较 HC 组显著下降;HH 和 HHE 组血清总 Ghrelin 水平较 HC 组显著降低;(3)HC 组下丘脑 GHSR mRNA 和胃 Ghrelin mRNA 水平较 C 组极显著下降,HH 和 HHE 组下丘脑 GHSR mRNA 及 HHE 组胃 Ghrelin mRNA 水平较 HC 组显著上升;(4)HE、HH 和 HHE 组下丘脑 GHSR 蛋白水平显著高于 HC 组;HE 组和 HHE 组 NPY 蛋白水平显著高于 HC 组;(5)HE、HH 和 HHE 组胃 Ghrelin 蛋白水平显著高于 HC 组;HE 组和 HHE 组 Goat 蛋白水平显著高于 HC 组;HH 组和 HHE 组 HIF-2 α 蛋白水平显著高于 HC 组。结论 低氧训练可通过调控 Ghrelin-GHSR 信号通路,影响糖脂代谢,从而降低肥胖小鼠的体重。

【关键词】 低氧训练;高脂膳食;胃组织;下丘脑;Ghrelin-GHSR 通路;小鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020)01-0066-07

Effect of hypoxic training on the Ghrelin-GHSR pathway in obese mice

GONG Lijing¹, FU Pengyu², ZHU Rongxin³, ZHANG Yimin^{1,4}, XU Chunyan^{2*}

(1. China Institute of Sport and Health Science of Beijing Sport University, Beijing 100084, China.
2. Sport Science College of Beijing Sport University, Beijing 100084.
3. Shanghai Research Institute of Sports Science, Shanghai 200030.
4. Key Laboratory of Physical Fitness and Exercise, Ministry of Education, Beijing 100084)
Corresponding author: XU Chunyan. E-mail: xiaoxu131@126.com

【Abstract】 **Objective** To explore the mechanism of the ghrelin-GHSR pathway to alleviate obesity in hypoxic-exercise mice by observing ghrelin level changes in the gastric tissue and GHSR levels in the hypothalamic tissue. **Methods** Male C57BL/6J mice were randomly divided into the control group (C, n=8) or high-fat diet group (H, n=52) to establish the obesity model. After 8 weeks, the H group was further divided into the obese control group (HC), obese

【基金项目】中央高校基本科研业务费专项资金资助课题(2019PT003)。

Funded by Fundamental Research Funds for the Central Universities of China (2019PT003)。

【作者简介】龚丽景(1981—),女,助理研究员,博士,主要研究方向为运动与脂肪代谢;低氧与胃肠道、骨骼肌萎缩。

Email:lijing.gong@bsu.edu.cn

【通信作者】许春艳(1978—),女,副教授,博士,主要研究方向为运动与脂肪代谢;运动处方。Email:xiaoxu131@126.com

exercise group (HE), obese hypoxic exposure group (HH) and obese hypoxic exercise group (HHE). The HE and HHE groups were intervened by mid-intensity treadmill training while under intermittent hypoxic exposure (11.2% oxygen). Weight and food intake were recorded weekly. Total cholesterol (TC), triglycerides (TG) and glucose levels in the serum were tested as well as the total ghrelin levels; the expression of GHSR mRNA in the hypothalamic tissue and ghrelin mRNA in the gastric tissue were detected via RT-PCR. GHSR and NPY in the hypothalamic tissue and the ghrelin, Goat and HIF-2 α protein expressions in the gastric tissue were detected via western blot after 4 weeks of intervention. **Results** (1) The HE, HH and HHE group weights were significantly lower than those of the HC group after intervention. In the initial stage of hypoxic intervention, the food intake decreased in the HH and HHE groups, and the food intake in the obese groups gradually became nearly the same as the intervention time increased. (2) The serum levels of the HC group were significantly higher than those of the C group; the TC level in the HH group significantly decreased, and the glucose levels in the HE, HH and HHE groups significantly decreased. The serum total ghrelin levels in the HH and HHE groups were significantly lower than those of the HC group. (3) Compared with the C group, the GHSR mRNA level in the hypothalamic tissue and the ghrelin mRNA level in the gastric tissue of the HC group were significantly decreased. The GHSR mRNA levels in the HH and HHE groups were significantly higher than those in the HC group. (4) In the hypothalamic tissue, the GHSR protein levels in the HE, HH and HHE groups and the NPY protein levels in the HE and HHE groups were significantly higher than those of the HC group. (5) In the gastric tissue, the ghrelin protein levels in the HE, HH and HHE groups, the Goat protein levels in the HE and HHE groups and the HIF-2 α protein levels in the HH and HHE groups were significantly higher than those in the HC group. **Conclusions** Hypoxic training affects glucose and lipid metabolism by regulating the ghrelin-GHSR signaling pathway in the gastric tissue to control weight in obese mice.

【Keywords】 hypoxic training; high-fat diet; gastric tissue; hypothalamus; ghrelin-GHSR pathway; mouse

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

低氧训练是指持续或间歇在低于正常氧气浓度的环境下(高原地区或人工模拟低氧舱)进行训练,利用低氧和训练的双重缺氧刺激以更多地调动机体潜能,是提高运动能力的有效训练方法^[1]。随着全民健身观念的普及,低氧训练也逐步被引入大众健康领域。多项研究证明低氧训练具有较好的糖脂代谢的调控功能,低氧环境会减弱食欲,降低消耗吸收功能,从而减少摄食量^[2],这些认知使低氧训练被认为是减肥的有效手段。

生长激素(growth hormone, GH)促分泌受体的内源性配体——胃促生长素/胃饥饿素(Ghrelin)发挥作用依赖于下丘脑分泌的生长激素促分泌素受体(growth hormone secretagogue receptor, GHSR)^[3]。Ghrelin在Ghrelin-O乙酰基转移酶(ghrelin O-acyltransferase, GOAT)的作用下酰基化是其与受体GHSR结合产生生物学效应的前提^[4]。Ghrelin及相关通路不仅可通过调节神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)发挥促食欲功效^[5],还调控能量平衡并参与调控中枢和外周的脂质代谢^[6]。低氧环境下低氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)被激活参与机体的适应性应答,其中HIF-2 α 与脂代谢密切相关^[7]。那么低氧训练发挥减脂控重的作用是否通过调控胃组织Ghrelin-GHSR通路发挥作用尚无研

究,因此本研究拟通过对肥胖小鼠施加低氧运动干预,观察胃组织Ghrelin-GHSR通路相关基因改变,以探究低氧训练发挥减肥作用的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

60只SPF级雄性C57BL/6J小鼠,3周龄,体重为(8.2 \pm 0.1)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,【SCXK(京)2015-0004】,饲养期间各组小鼠均自由摄食饮水;普通维持饲料由中国军事医学科学院实验动物中心【SCXK(军)2012-0004】提供;高脂饲料购于美国Research Diet(D12109C,含40% kcal脂肪)。小鼠于北京体育大学动物实验室【SYXK(京)2016-0033】饲养;昼夜12/12h,湿度恒定,温度控制在22~25 $^{\circ}$ C。本研究经北京体育大学运动科学实验伦理委员会批准(批准号:IACUC 2015021)。

1.1.2 实验试剂

Anti-GHSR(Abcam ab95250)、Anti-Ghrelin(Abcam ab129383)、Anti-GOAT(Abcam ab170690)、Anti-NPY(Santa Cruz, sc-14728-R)、HIF-2 α (Abcam ab109616)、anti-Tubulin(博奥森 bs-4511R),HRP标

记的山羊抗兔 IgG (Goat Anti-rabbit IgG/HRP, 博奥森 bs-0295G-HRP), SuperSignal™ West Femto Maximum Sensitivity Substrate (Thermo Scientific, 34095), Rat/mouse Ghrelin (Total) ELISA Kits (Merck EZRGRT-91 K), MiniBEST Universal RNA Extraction Kit (TaKaRa 9767), PrimeScript™ Master Mix (TaKaRa RR036A), SYBR Premix Ex Taq II (TaKaRa RR820A)。

1.1.3 仪器

实时荧光定量 PCR 仪 (ABI 7500, 美国), 动物跑台 (杭州段氏 DSPT-215, 中国), 制氮机 (北京创文, 中国), 空气压缩机 (英格索兰, 美国), 全自动生化分析仪 (日立 7020, 日本), 酶标仪 (Bio-Rad 680, 美国), 微量分光光度仪 (NanoDrop 2000, 美国), 蛋白转印仪 (Thermo Scientific iBlot 2, 美国), ChemiDoc™ XRS+成像系统 (Bio-Rad, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及实验干预

小鼠随机分为普通膳食对照组 (C, $n=8$, 饲喂普通维持饲料) 和高脂膳食组 (H, $n=52$, 饲喂高脂饲料)。8 周后, 选择 H 组大于 C 组平均体重的 20% 作为肥胖模型, 随机分为: 肥胖对照组 (HC, $n=8$)、肥胖常氧运动组 (HE, $n=8$)、肥胖低氧暴露组 (HH, $n=8$) 和肥胖低氧运动组 (HHE, $n=8$), 继续饲喂高脂饲料。HE 和 HHE 组进行跑台训练, 速度 12 m/min, 1 h/d。HH 和 HHE 组暴露在 11.2% 的低氧房中, 8 h/d; 其中 HHE 组每天固定时间在低氧环境中运动 1 h, 6 次/周。干预共 4 周。

1.2.2 形态指标测试及取材

每周记录体重和摄食量。完成训练后禁食 12 h, 腹腔麻醉 (1% 的戊巴比妥钠, 40 mg/kg 体重), 心脏取血, 收集血清, -20°C 保存。开腹取胃底部和开颅取下丘脑组织, 分别置于 RNA 保存液和 -80°C 保存, 分别用于 RNA 和蛋白含量的测试。

1.2.3 血液生化指标和总 Ghrelin 水平测试

采用全自动生化分析仪测试血液甘油三酯 (triglyceride, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC) 和血糖 (glucose, GLU) 水平。酶联免疫吸附法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 测试血清总 Ghrelin 水平。

1.2.4 下丘脑 GHSR 和胃组织 Ghrelin mRNA 相对含量测定

使用试剂盒提取胃和下丘脑总 RNA, 检测总

RNA 浓度, 逆转录获取 cDNA 后, 按说明书进行 PCR 反应。Ghrelin 和 GHSR 引物参考付鹏宇等^[8], 由生工生物工程(上海)有限公司合成。18S 为内参基因(德国 QIAGEN QT01036875)。采用比较阈值法 ($\Delta\Delta\text{Ct}$ 法) 对目的基因的相对表达进行分析。

1.2.5 下丘脑 GHSR、NPY 和胃组织 Ghrelin、Goat、HIF-2 α 蛋白水平测定

提取下丘脑和胃组织总蛋白质, BCA 法定量总蛋白质浓度, 用蛋白免疫印迹法 (Western Blot, WB) 检测各蛋白的表达情况。电泳分离蛋白, 转至 NC 膜, BSA 封闭 1 h, 分别 4°C 孵育一抗过夜, 洗去未结合的一抗, 室温孵育二抗 1 h, 洗去未结合的二抗, 滴加化学发光 HRP 底物, 立即用 ChemiDoc™ XRS+ 成像系统 (Bio-Rad) 曝光条带, 使用 Image Lab 软件进行相对定量分析。

1.3 统计学分析

所得数据用平均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。统计方法选用独立样本 t 检验 (HC 组与 N 组比较, HH 组与 HC 组比较)。 $P < 0.05$ 表示差异有显著性, $P < 0.01$ 表示差异具有极显著性。

2 结果

2.1 干预期间小鼠体重和摄食量变化

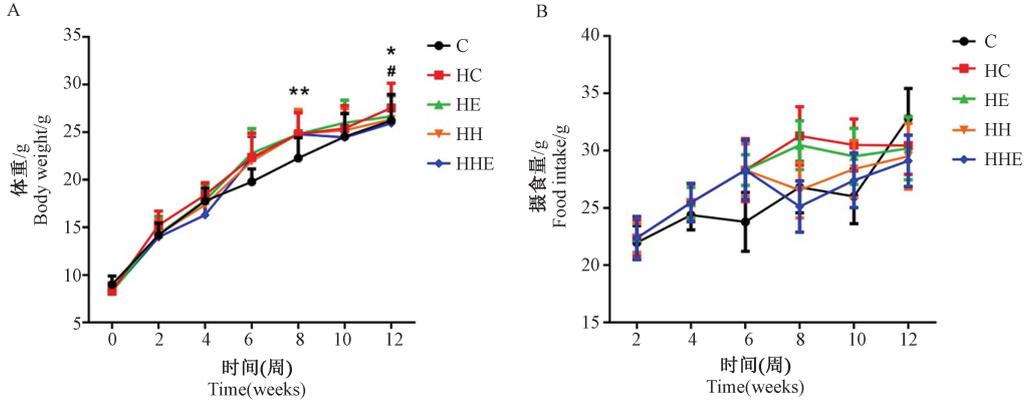
各组小鼠初始体重平均值为 (8.2 ± 0.1) g, 饲喂 8 周高脂饲料后, 将 H 组体重大于 C 组平均体重 20% 的小鼠随机分成 HC 组、HE 组、HH 组和 HHE 组, 未达标小鼠弃去。此时, HC 组、HE 组、HH 组和 HHE 组小鼠体重极显著高于 C 组 ($P < 0.01$); 干预 4 周 (饲喂 12 周), HC 组显著高于 C 组, HH、HE 和 HHE 组较 HC 组显著下降 ($P < 0.05$)。适应性喂养结束后, C 组饲喂普通维持饲料, H 组持续饲喂高脂饲料。建立肥胖模型期间 (8 周前), C 组小鼠摄食总量较 H 组少; 饲喂第 10 周时 (干预 2 周), C 组摄食量仍低于高脂膳食各组, HE、HH 和 HHE 组较 HC 组降低; 饲喂第 12 周时 (干预 4 周), C 组摄食量高于高脂膳食各组, HE、HH 和 HHE 组与 HC 组摄食量接近, 见图 1。

2.2 各组小鼠血清 TG、TC、GLU 和总 Ghrelin 水平

4 周干预完成后, HC 组各项血液指标均显著高于 C 组 ($P < 0.05$); 与 HC 组相比, HE 组血清 TG、TC 水平无显著性差异, 但 GLU 水平显著性降低

($P < 0.05$); HH 组血清 TC 和 GLU 水平显著低于 HC 组,且 TC 水平显著低于 HE 组($P < 0.05$); HHE 组血清 TG 水平较 HC 组无显著性差异,TC 水平显著低于 HE 组, GLU 水平显著低于 HC 和 HE 组($P < 0.05$)。HH 组和 HHE 组小鼠的各项指标无显著差

异。4 周干预后,HC 组血清总 Ghrelin 水平较 C 组无显著性差异; HE 组较 HC 组无显著性差异; HH 和 HHE 组小鼠血清总 Ghrelin 含量较 HC 组均出现显著性上升,且 HHE 组较 HE 组显著性上升($P < 0.05$),见表 1。



注: C, 普通膳食对照组; HC, 肥胖对照组; HE, 肥胖常氧运动组; HH, 肥胖低氧暴露组; HHE, 肥胖低氧运动组。下表/图同。与 C 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 HC 组相比, # $P < 0.05$ 。

图 1 小鼠体重和摄食量变化

Note. C, the control group. HC, obese control group. HE, obese exercise group. HH, obese hypoxic exposure group. HHE, obese hypoxic exercise group. The same in the following table and figures. Compared with C group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Compared with HC group, # $P < 0.05$.

Figure 1 Changes in body weight and food intake in mice

表 1 各组小鼠血清 TG、TC、GLU 和总 Ghrelin 水平($n=8$)

Table 1 Levels of serum TG, TC, GLU and total Ghrelin in each group of mice($n=8$)

组别 Groups	TG (mg/dL)	TC (mmol/L)	GLU (mmol/L)	Ghrelin (mmol/L)
C	0.29 ± 0.02	2.03 ± 0.09	8.50 ± 0.78	0.31 ± 0.09
HC	0.34 ± 0.03*	4.54 ± 0.03*	10.22 ± 1.77*	0.30 ± 0.06
HE	0.33 ± 0.04	4.66 ± 0.11	8.25 ± 1.33#	0.32 ± 0.11
HH	0.35 ± 0.07	3.98 ± 0.30# ^Δ	8.06 ± 1.29#	0.36 ± 0.15#
HHE	0.33 ± 0.08	4.24 ± 0.26 ^Δ	6.38 ± 1.72# ^Δ	0.40 ± 0.21# ^Δ

注:与 C 组相比, * $P < 0.05$; 与 HC 组相比, # $P < 0.05$; 与 HE 组相比, ^Δ $P < 0.05$ 。

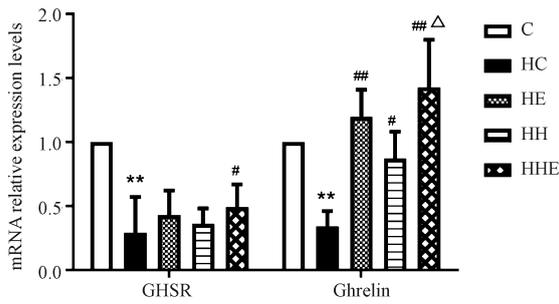
Note. Compared with C group, * $P < 0.05$. Compared with HC group, # $P < 0.05$. Compared with HE group, ^Δ $P < 0.05$.

2.3 下丘脑 GHSR 和胃组织 Ghrelin mRNA 的表达水平

与 C 组相比,12 周高脂喂养后,HC 组下丘脑 GHSR 和胃组织 Ghrelin mRNA 表达水平均极显著降低($P < 0.01$);4 周干预后,HE 和 HH 组下丘脑 GHSR mRNA 表达水平较 HC 组有增加趋势,但无显著差异,但 HE 和 HH 组胃组织 Ghrelin mRNA 表达水平较 HC 组显著性升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); HHE 组下丘脑 GHSR mRNA 表达水平较 HC 组显著上升,胃组织 Ghrelin mRNA 表达水平较 HC 组极显著性增加,较 HE 组也显著性增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),见图 2。

2.4 下丘脑和胃组织的蛋白表达水平

12 周高脂饲料喂养后,HC 组下丘脑 GHSR 和 NPY 的蛋白表达水平较 C 组无显著性差异; HE、HH 和 HHE 组下丘脑 GHSR 蛋白表达水平较 HC 组显著增加($P < 0.05$); HE 和 HHE 组下丘脑 NPY 蛋白表达水平较 HC 组显著上调($P < 0.05$) (见图 3 A, B)。高脂饲喂后,HC 组胃组织 Ghrelin、Goat 和 HIF-2 α 的蛋白表达水平与 C 组相比无显著差异; HE 组胃组织 Ghrelin、Goat 较 HC 组显著增加($P < 0.05$); HH 组胃组织 Ghrelin 和 HIF-2 α 的蛋白表达水平较 HC 组显著增加($P < 0.05$); HHE 组胃组织 Ghrelin、Goat 和 HIF-2 α 的蛋白表达水平较 HC 组显著增加,且 HIF-2 α 蛋白表达水平显著高于 HE 组($P < 0.05$) (见图 3C, D)。



注:与 C 组相比, ** $P < 0.01$; 与 HC 组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与 HE 组相比, $\Delta P < 0.05$ 。

图 2 小鼠下丘脑 GHSR 和胃组织 Ghrelin mRNA 表达水平

Note. Compared with C group, ** $P < 0.01$. Compared with HC group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$. Compared with HE group, $\Delta P < 0.05$.

Figure 2 GHSR mRNA expression in hypothalamic tissues and Ghrelin mRNA expression in gastric tissues of mice

3 讨论

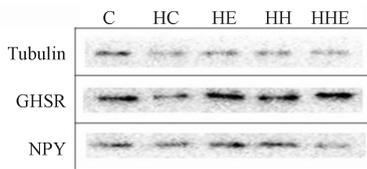
Ghrelin 是由胃底粘膜腺中的 X/A 样细胞合成和分泌的 28 个氨基酸的活性肽激素,是调节食欲的重要激素^[3]。近年来,Ghrelin 被认为具有对抗肥胖的潜能并开始引起广泛关注^[6]。

研究发现循环系统中 Ghrelin 含量与体重成反比^[9]。肥胖机体下丘脑和胃组织中的 Ghrelin 水平会出现下降^[10-11]。本研究结果发现肥胖小鼠胃组

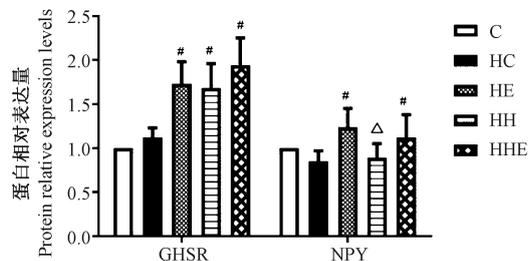
织 Ghrelin 和下丘脑 GHSR mRNA 水平出现显著性下降,血脂和血糖(TG、TC 和 GLU)水平上调。研究发现,Ghrelin 可依赖 GHSR 发挥调节脂代谢的作用,Ghrelin-GHSR 通路可通过促进 5'-磷酸腺苷蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)磷酸化,以激活 AMPK,使乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACC)磷酸化失活,减少丙二酰-CoA(malonyl-CoA)的积累,导致肉碱棕榈酰基转移酶 1(carnitine palmitoyl transferase 1, CPT1)活性增加以促进脂肪酸氧化^[12]。Ghrelin 刺激 NPY 神经元可阻断黑色素皮质激素受体 3 和 4(melanocortin receptor 3/4, MC3/4R),随后通过交感神经调节肝脏、白色脂肪组织、棕色脂肪组织和骨骼肌组织脂代谢相关基因表达以影响外周脂代谢水平^[13-14]。此外,Ghrelin 还是葡萄糖代谢的中介物,并可调节胰岛 β 细胞分泌胰岛素^[15]。推测 Ghrelin-GHSR 通路在调控糖脂代谢方面发挥着重要的作用,然而肥胖机体组织 Ghrelin-GHSR 通路表达下调,出现糖脂代谢紊乱,血糖血脂水平失调^[16],从而加剧对机体的危害^[17]。

低氧暴露下体重的丢失常被认为与摄食量下调所致^[2, 18]。本研究结果发现,低氧暴露的最初阶段,低氧组(HH 和 HHE 组)小鼠摄食量较常氧组(H 和 HE 组)均出现显著下降,但随着低氧暴露时

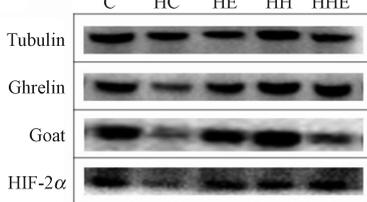
A



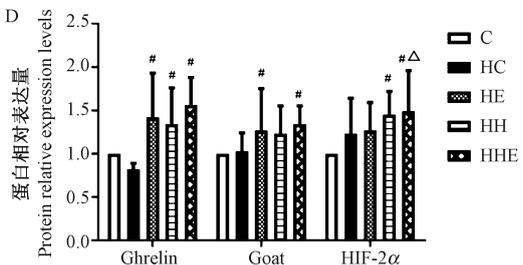
B



C



D



注:与 HC 组相比, # $P < 0.05$; 与 HE 组相比, $\Delta P < 0.05$ 。

图 3 下丘脑和胃组织相关蛋白 WB 条带灰度值(A, C)和相对含量(B, D)

Note. Compared with HC group, # $P < 0.05$. Compared with HE group, $\Delta P < 0.05$.

Figure 3 WB results (A, C) and relative amounts (B, D) of hypothalamic and gastric tissue-associated proteins of mice

间延长,低氧组小鼠摄食量逐渐回升,在 4 周干预结束时,与常氧组接近。机体摄食功能对长期低氧暴露的适应可能与 Ghrelin-GHSR 的调控有关。Ghrelin 发挥调节食欲的作用是通过生长激素促分泌受体 GHSR 所介导的,GHSR 高表达于下丘脑中调节摄食和体重平衡的细胞群中,如弓状核 NPY 神经元和腹内侧核的脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)神经元^[19]。而 NPY 神经元发挥调节食欲的作用由 Ghrelin 特异性介导的,其他促食欲激素如黑色素聚集激素(melanin-concentrating hormone, MCH)和前原食欲素(prepro-orexins)则无此作用^[5]。研究发现急性低氧暴露(12 h)会导致大鼠胃组织 Ghrelin mRNA 和蛋白水平极具下调,但随着暴露时间的延长(24 h 和 48 h),Ghrelin 水平逐渐回升,甚至超过常氧水平^[8]。本研究中,低氧训练组小鼠血清 Ghrelin 总量、胃组织中 Ghrelin 和 Goat 及下丘脑 GHSR 和 NPY 蛋白表达水平显著上升,这可能与 Ghrelin-GHSR 通路被激活以抵抗低氧的进一步损伤和参与前期胃组织损伤的修复有关^[20]。而常氧运动小鼠 Ghrelin 和 NPY 蛋白水平虽增加但其摄食量未明显改变,可能与运动后产热增加导致体温上升,从而抑制了食欲有关^[21]。

本研究中低氧训练干预后,肥胖小鼠血清 TC 和 GLU 水平显著下降,并伴随着血液总 Ghrelin 水平的上调和胃组织中 Ghrelin-GHSR 通路相关基因 mRNA 和蛋白水平表达的增加。这可能与运动训练对 Ghrelin-GHSR 通路的调控有关。由于 Ghrelin 和运动均可发挥促进能量代谢平衡的作用,因此两者间的相互影响作用引起了学者们的关注^[22]。研究发现,93 d 的骑行运动后,健康成年男性空腹血液 Ghrelin 水平增加 26%,且体重降低 6%^[23]。同时,胰岛素抵抗和高胰岛素血症程度与血液 Ghrelin 水平呈负相关,这可能是运动促进糖脂代谢平衡的重要机制^[24]。游泳训练可增加胃组织中 Ghrelin 表达,从而降低肥胖大鼠体重和内脏脂肪含量^[10]。此外,运动训练提高胃组织 Ghrelin 表达还具有促进胃的排空和肠道的推进力的作用^[25],从而有助于代谢废物的排出和营养物质的吸收^[26]。运动发挥促进 Ghrelin-GHSR 通路的表达可能与交感神经活动增强有关,运动激活交感神经和循环系统中肾上腺素和去甲肾上腺素(儿茶酚胺)的水平,同时胃组织中产生 Ghrelin 的细胞具有 $\alpha 1$ 和 $\beta 1$ 肾上腺素能受体,而肾上腺素和去甲肾上腺素可刺激 $\beta 1$ 以促进

胃组织分泌 Ghrelin^[27-28]。通过本研究结果还可观察到低氧运动调控肥胖机体糖脂代谢的作用优于常氧训练,这可能与低氧环境所激活的 HIF-2 α 调控作用有关。本研究结果中低氧训练后肥胖小鼠下丘脑 HIF-2 α 的蛋白表达水平显著增加。HIF 是机体缺氧条件下参与组织细胞低氧应答敏感性转录因子,它的表达是机体适应低氧的起始步骤和关键环节。其中 HIF-2 α 在脂代谢中发挥重要的作用,可参与脂滴的形成、脂肪酸的合成和 β -氧化及胆固醇代谢的调节^[7]。HIF-2 α 缺失会造成机体脂代谢的异常^[29]。低氧暴露所致的食欲下降仅发生在低氧暴露初期,随着低氧时间的延长,食欲逐渐恢复至常氧水平,但仍可达到降低体重的效果,这可能与长期低氧暴露通过刺激 HIF-2 α 以促进脂代谢有关。

本研究结果提示,低氧暴露和运动训练干预后肥胖小鼠的体重和血脂血糖水平下降,并伴随着 Ghrelin-GHSR 通路上调,但摄食量并未出现明显下降,提示低氧和运动通过 Ghrelin-GHSR 通路改善高脂膳食所致肥胖主要与胃肠功能增强和糖脂代谢机能促进有关。而低氧训练中,低氧和运动的双重刺激加速了肥胖机体的糖脂代谢能力,从而更有利于控制机体的血糖血脂水平及抵抗高脂膳食对体重的增加。

肥胖小鼠胃组织 Ghrelin 和下丘脑 GHSR 水平降低,伴随着血脂血糖水平的升高和体重的增加;低氧训练通过肥胖小鼠 Ghrelin-GHSR 通路影响糖脂代谢,改善肥胖机体体重和血脂血糖稳态。

参 考 文 献(References)

- [1] 张荷,周越,张一民,等. 低氧运动对肥胖大鼠胰岛素抵抗及血脂代谢的影响[J]. 北京体育大学学报, 2016, 39(9): 44-49.
Zhang H, Zhou Y, Zhang YM, et al. Effects of hypoxia and exercise on insulin resistance and blood lipid in obese rats[J]. J Beijing Sport Univ, 2016, 39(9): 44-49.
- [2] Kayser B, Verges S. Hypoxia, energy balance and obesity: from pathophysiological mechanisms to new treatment strategies[J]. Obes Rev, 2013, 14(7): 579-592.
- [3] Date Y. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach[J]. Nature, 1999, 402(6762): 656-660.
- [4] Yang J, Brown MS, Liang G, et al. Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone[J]. Cell, 2008, 132(3): 387-396.
- [5] Seoane LM, López M, Tovar S, et al. Agouti-related peptide, neuropeptide Y, and somatostatin-producing neurons are targets for ghrelin actions in the rat hypothalamus[J]. Endocrinology, 2003, 144(2): 544-551.

- [6] Varela L, Vázquez MJ, Cordido F, et al. Ghrelin and lipid metabolism: key partners in energy balance [J]. *J Mol Endocrinol*, 2011, 46(2): R43-63.
- [7] 赵晓丹. 缺氧诱导因子-2 α 对脂代谢的调节作用[J]. *胃肠病学*, 2013, 18(10): 629-632.
- Zhao XD. Regulatory effect of hypoxia-inducible factor-2 α on lipid metabolism[J]. *Chin J Gastroenterol*, 2013, 18(10): 629-632.
- [8] 付鹏宇, 龚丽景, 朱睿鑫, 等. Ghrelin-GHSR 通路在急性低氧暴露大鼠胃炎反应中的调节作用[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2018, 34(10): 74-81.
- Fu PY, Gong LJ, Zhu RX, et al. Regulatory effects of ghrelin-GHSR pathway on gastric inflammation in rats by acute hypoxic exposure[J]. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2018, 34(10): 74-81.
- [9] Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents[J]. *Nature*, 2000, 407(6806): 908-913.
- [10] 李硕硕, 张荷玲. 四周有氧运动结合节食对大鼠下丘脑 Ghrelin 的影响[J]. *体育科技文献通报*, 2018, 26(1): 161-162.
- Li SS, Zhang HL. The effect of four-week aerobic exercise combined with diet on ghrelin in the hypothalamus of rats[J]. *Bull Sport Sci Technol*, 2018, 26(1): 161-162.
- [11] 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): 184-187.
- Liu WQ, Zhang JG, Xie L, et al. The effects of exercise and food intake restriction-induced weight loss on the expression of ghrelin in plasma and stomach of obese rats[J]. *Chin J Sports Med*, 2010, 29(2): 184-187.
- [12] López M, Lage R, Saha AK, et al. Hypothalamic fatty acid metabolism mediates the orexigenic action of ghrelin[J]. *Cell Metab*, 2008, 7(5): 389-399.
- [13] Baatar D, Patel K, Taub DD. The effects of ghrelin on inflammation and the immune system[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2011, 340(1): 44-58.
- [14] Nogueiras R, López M, Diéguez C. Regulation of lipid metabolism by energy availability: a role for the central nervous system[J]. *Obes Rev*, 2010, 11(3): 185-201.
- [15] Heppner KM, Müller TD, Tong J, et al. Ghrelin in the control of energy, lipid, and glucose metabolism[J]. *Methods Enzymol*, 2012, 514: 249-260.
- [16] 刘蜜, 姜萍. 饮食诱导肥胖及肥胖抵抗与脂肪细胞因子[J]. *中国比较医学杂志*, 2009, 19(6): 62-65.
- Liu M, Jiang P. The relation of diet-induced obesity and diet-induced obesity resistance to adipokines[J]. *Chin J Comp Med*, 2009, 19(6): 62-65.
- [17] 王丽娟, 李晓蓉, 李宇航, 等. 高脂饲料对 C57BL/6J 小鼠血脂及转氨酶的动态影响[J]. *中国比较医学杂志*, 2007, 17(10): 572-575+623.
- Wang LJ, Li XR, Li YH, et al. Dynamic Observation of serum lipid and alt levels in C57BL/6J mouse models of hyperlipidemia induced by high-lipid diet[J]. *Chin J Comp Med*, 2007, 17(10): 572-575+623.
- [18] Westerterp KR, Kayser B. Body mass regulation at altitude[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2006, 18(1): 1-3.
- [19] Lage R, Vázquez MJ, Varela L, et al. Ghrelin effects on neuropeptides in the rat hypothalamus depend on fatty acid metabolism actions on BSX but not on gender[J]. *FASEB J*, 2010, 24(8): 2670-2679.
- [20] Pereira J, Da Silva FC, De Moraes-Vieira PMM. The impact of ghrelin in metabolic diseases: an immune perspective [J]. *J Diabetes Res*, 2017, 2017: 4527980.
- [21] Crabtree DR, Blannin AK. Effects of exercise in the cold on Ghrelin, PYY and food intake in overweight adults[J]. *Med Sci Sport Exer*, 2015, 47(1): 49-57.
- [22] King JA, Wasse LK, Stensel DJ, et al. Exercise and ghrelin. A narrative overview of research[J]. *Appetite*, 2013, 68(9): 83-91.
- [23] Ravussin E, Tschöp M, Morales S, et al. Plasma ghrelin concentration and energy balance: overfeeding and negative energy balance studies in twins[J]. *J Clin Endocr Metab*, 2001, 86(9): 4547-4551.
- [24] Garcia JM, Iyer D, Poston WS, et al. Rise of plasma ghrelin with weight loss is not sustained during weight maintenance [J]. *Obesity*, 2006, 14(10): 1716-1723.
- [25] 常保荣, 王小梅. 有氧运动对老年大鼠胃肠动力及血清中胃促生长素、瘦素水平的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2016, 32(4): 331-333.
- Chang BR, Wang XM. Effects of aerobic exercise on gastrointestinal motility and serum somatotropin and leptin levels in aged rats[J]. *Chin J Appl Physiol*, 2016, 32(4): 331-333.
- [26] Ohno T, Mochiki E, Kuwano H. The roles of motilin and ghrelin in gastrointestinal motility [J]. *Int J Pept*, 2010, 2010: pii: 820794.
- [27] Hazell TJ, Islam H, Townsend LK, et al. Effects of exercise intensity on plasma concentrations of appetite-regulating hormones: Potential mechanisms [J]. *Appetite*, 2016, 98: 80-88.
- [28] Iwakura H, Kangawa K, Nakao K. The regulation of circulating ghrelin-with recent updates from cell-based assays[J]. *Endocr J*, 2015, 62(2): 107-122.
- [29] Wiesener MS, Jürgensen JS, Rosenberger C, et al. Widespread hypoxia-inducible expression of HIF-2 α in distinct cell populations of different organs[J]. *FASEB J*, 2003, 17(2): 271-273.