

张燕,曲波,丁海丽. 有氧和抗阻运动对 SAMP8 小鼠免疫机能的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(3): 319-326.
Zhang Y, Qu B, Ding HL. Effects of aerobic and resistance exercise on immune functions in SAMP8 mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(3): 319-326.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.03.006

有氧和抗阻运动对 SAMP8 小鼠免疫机能的影响

张燕¹, 曲波¹, 丁海丽^{2*}

(1. 成都体育学院运动医学与健康学院, 成都 610041; 2. 成都体育学院运动医学与健康研究所, 成都 610041)

【摘要】 目的 探讨有氧运动和抗阻运动两种运动方式对快速衰老小鼠(SAMP8 小鼠)免疫机能的影响。**方法** 24 只 28 周龄雄性 SAMP8 小鼠分为模型组、有氧运动组、抗阻运动组, 每组 8 只; 另设 8 只同龄正常老化 SAMR1 小鼠作对照组。有氧运动组经匀速水平运动跑台训练 8 周, 有氧运动组经递增负重爬梯运动训练 8 周。每两周测定相对抓力、转棒测试时间。测定免疫器官指数, 观察免疫器官组织形态学, ELISA 法检测血清 IL2 浓度, 免疫组织化学观测脾 IL2R α 蛋白表达, RT-qPCR 法检测脾 IL2、IL2R α 、IL2R β 、IL2R γ 基因表达水平。**结果** 与对照组相比, 模型组相对抓力、转棒测试时间均显著下降($P < 0.0001$); 胸腺指数、脾指数均显著下降($P < 0.001$); 免疫器官衰老明显; 血清 IL2 浓度显著降低($P < 0.0001$); 脾 IL2R α 蛋白阳性率显著降低($P < 0.001$); 脾 IL2、IL2R α 、IL2R β 、IL2R γ 基因表达显著下降($P < 0.01$)。经 8 周有氧运动和抗阻运动干预后, 与模型组相比, 有氧运动组和抗阻运动组相对抓力、转棒测试时间均显著升高($P < 0.05$), 抗阻运动组相对抓力较有氧运动组升高($P < 0.05$); 有氧运动组和抗阻运动组胸腺指数、脾指数显著增高($P < 0.05$); 免疫器官衰老延缓; 有氧运动组和抗阻运动组血清 IL2 浓度显著升高($P < 0.01$); 有氧运动组和抗阻运动组脾 IL2R α 蛋白阳性率显著升高($P < 0.05$); 有氧运动组和抗阻运动组脾 IL2、IL2R α 、IL2R β 、IL2R γ 基因表达显著升高($P < 0.05$)。**结论** 有氧运动和抗阻运动均能延缓快速衰老小鼠免疫功能的增龄性下降, 运动上调的 IL2、IL2R 表达可能是其作用靶点。

【关键词】 免疫衰老; 有氧运动; 抗阻运动; 免疫机能

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 03-0319-08

Effects of aerobic and resistance exercise on immune functions in SAMP8 mice

ZHANG Yan¹, QU Bo¹, DING Haili^{2*}

(1. School of Sports Medicine and Health, Chengdu Sport University, Chengdu 610041, China. 2. Institute of Sports Medicine and Health, Chengdu Sport University, Chengdu 610041)
Corresponding author: DING Haili. E-mail: dinghaili@cdsu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the effect of aerobic and resistance exercise on immune functions in SAMP8 mice. **Methods** Twenty-eight-week-old male SAMP8 mice were divided into a model group, aerobic exercise group and resistance exercise group, with eight mice in each group. Another eight SAMR1 mice of the same age were used as the control group. The aerobic exercise group received 8 weeks of uniform horizontal exercise running platform training, and the resistance exercise group received 8 weeks of increasing weight climbing exercise training. The relative grip strength and

【基金项目】 国家自然科学基金资助项目(81904318), 成都体育学院运动医学与健康研究所/郑怀贤骨伤研究所 2021-2022 年创新课题(CX21C03)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China(81904318), 2021-2022 Innovation Project, Institute of Sports Medicine and Health, Chengdu University of Physical Education/Zheng Huaixian Bone Injury Research Institute(CX21C03).

【作者简介】 张燕(1990—), 女, 在读博士研究生, 研究方向: 运动与免疫。Email: 787765465@qq.com

【通信作者】 丁海丽(1983—) 女, 教授, 博士, 研究方向: 运动生理; 运动与骨骼肌重塑。Email: dinghaili@cdsu.edu.cn

rotarod test were performed every 2 weeks. The index of immune organs was measured. The histomorphology of immune organs was observed, and the serum IL2 concentration was measured by an ELISA. Immunohistochemistry was used to detect expression of IL2R α protein in the spleen. RT-qPCR was used to detect gene expression of *IL2*, *IL2R α* , *IL2R β* , and *IL2R γ* in the spleen. **Results** Compared with the control group, the relative grip strength and rotarod test time of model group were decreased significantly ($P < 0.0001$). Thymus and spleen indexes were decreased significantly ($P < 0.001$). Aging of immune organs was observed. The serum IL2 concentration was decreased significantly ($P < 0.0001$). The positive rate of IL2R α protein in the spleen was decreased significantly ($P < 0.001$). Gene expression of *IL2*, *IL2R α* , *IL2R β* and *IL2R γ* in the spleen was decreased significantly ($P < 0.01$). After 8 weeks of aerobic and resistance exercise, compared with model group, the relative grasping strength and the rotarod test time of aerobic exercise and resistance exercise groups were increased significantly ($P < 0.05$). Compared with aerobic exercise group, the relative grasping strength of resistance exercise group was increased significantly ($P < 0.05$). Thymus and spleen indexes of aerobic exercise and resistance exercise groups were increased significantly ($P < 0.05$). Delays in aging of immune organs were observed. The serum IL2 concentration in aerobic exercise and resistance exercise groups was increased significantly ($P < 0.01$). The positive rate IL2R α protein in the spleen in aerobic exercise and resistance exercise groups was increased significantly ($P < 0.05$). Gene expression of *IL2*, *IL2R α* , *IL2R β* , and *IL2R γ* the in spleen in aerobic exercise and resistance exercise groups was increased significantly ($P < 0.05$). **Conclusions** Aerobic and resistance exercise delays age-related decline of immune functions in SAMP8 mice, and the expression of IL2/IL2R upregulated by exercise may be its target.

【**Keywords**】 immunosenescence; aerobic exercise; resistance exercise; immune functions

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

免疫功能随年龄增长的下降,称为免疫衰老,会致使机体脏器衰老^[1]。免疫衰老与多种疾病密切相关,导致心血管疾病、代谢性疾病、神经退行性疾病、感染性疾病、恶性肿瘤等疾病的发病率和死亡率增加^[2],疫苗接种的有效性也受限制^[3]。免疫衰老是复杂的、异质的、渐进的、多因素的过程,出现免疫系统的成分失调和功能下降^[4]。免疫衰老的特点是进行性的免疫功能障碍和自身免疫性的增强,其中 T 细胞衰老是免疫衰老的主要特征之一^[5]。胸腺是 T 细胞发育的主要部位,随着年龄的增长,胸腺产生原始 T 细胞的数量减少,T 细胞多样性丧失^[6]。脾是主要的淋巴器官,含有丰富的免疫细胞,也是机体进行免疫反应的重要部位。因此,研究胸腺和脾的结构和功能改变可反映机体的免疫状态。

国内外研究表明,规律的适宜运动可提高机体免疫力,影响衰老过程,延长寿命,限制或延缓增龄性的免疫系统衰老^[7-10]。运动可通过影响免疫器官结构和功能从而干预增龄性免疫抑制,但其调控途径和作用机制有待进一步阐明。本研究借助 SAMP8 小鼠构建衰老小鼠模型,予以匀速水平运动跑台训练 8 周或递增负重爬梯运动训练 8 周两种经典运动方式建立有氧运动和抗阻运动模型,以胸腺和脾的结构和功能作为主要观察点,探讨有氧运动

和抗阻运动对 SAMP8 小鼠免疫机能的影响及可能的作用靶点。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

24 只 SAMP8 小鼠和 8 只 SAMR 小鼠,12 周龄,雄性,体重(20 $\pm$ 2)g,SPF 级,均购自北京大学医学部(实验运动科学部)【SCXK(京)2021-0013】。动物饲养和运动干预均于成都体育学院动物实验中心【SYXK(川)2018-0211】完成,每笼饲养 1 只小鼠,自由进食和饮水。饲养环境:相对湿度 40% ~ 60%,室温 20 ~ 25 $^{\circ}$ C,12 h/12 h 光照/熄灯模拟昼夜交替。研究严格遵守《实验动物的护理和使用指南》的指导原则,已通过成都体育学院伦理委员会的批准(成体伦理(2021)39 号),并按照实验动物福利伦理原则进行实验。每周记录各组小鼠体重。

1.1.2 主要试剂与仪器

HE 染料(武汉赛维尔生物科技有限公司);小鼠白介素 2(IL2)ELISA 试剂盒(Elabscience);重组 Anti-IL2 Receptor α 抗体(abcam);RNA TRIzol Reagent(合肥博美生物科技有限公司);Real PCR EasyTMMix-SYBR(宝日医生物技术有限公司);RT-qPCR 引物(上海生工生物工程技术服务有限公

司)。小动物跑台(杭州段氏制作公司);小动物抗阻负重爬梯(成都体育学院);小鼠抓力测定仪(YLS-13A);小鼠转棒仪(Ugo Basile 数字转棒仪 47750);多功能酶标检测仪(Varioskan Lux);实时荧光定量仪(Thermo Fisher);数码三目摄像显微镜(麦克奥迪);光学显微镜(Olympus)。

1.2 方法

1.2.1 实验分组

SAMP8 小鼠饲养至 28 周龄,随机分为模型组、有氧运动组、抗阻运动组,每组 8 只。另设 8 只同龄 SAMR1 小鼠作为对照组。

1.2.2 运动方案

有氧运动组采用动物实验跑台进行有氧运动。根据 Bedford 等^[11]的有氧运动模型,适应性运动 3 d,每天训练 10 min,速度 9 m/min,休息 2 d。正式训练为每周 5 d,每天 1 次,共计 8 周。跑台跑速为:第 1~2 周 12 m/min,30 min;第 3 周 15 m/min,30 min;第 4 周 15 m/min,45 min;第 5~8 周,15 m/min,60 min。跑台坡度为 0°,每周一至周五训练,休息 2 d。抗阻运动组采用负重爬梯进行抗阻运动。采用自主研发爬梯(倾斜 85°,梯高 1 m,阶梯间隔 2 cm,专利号 ZL201821692962.8)。负重由体重的 50%开始,适应性训练 3 d,休息 2 d。正式训练的第 1、2 周负重为体重 50%,第三周开始每周增加 15%,直至增加到 100%,锻炼至第 8 周。4 次为 1 组,每天 3 组,每周一、周三、周五进行,每次训练时间为 40~50 min。每次爬到梯顶休息 1 min,组间休息 2 min。每次实验后需检查动物是否健康,训练期间每周称量并记录小鼠体重。

1.2.3 行为学指标监测

运动干预过程中观察各组小鼠的一般生活状态,每周监测并记录体重。抓力测试:每两周 1 次,采用小鼠抓力测定仪测试各组小鼠抓力,测量 3 次,取平均值,并计算相对抓力(平均抓力/体重)。转棒测试:每两周 1 次,采用小鼠转棒仪,参数设置为:300 s,从 4 r/min 升至 40 r/min 记录小鼠转棒测试直至掉落的时间。

1.2.4 取材

末次运动干预后,禁食 24 h(自由进水)后,小鼠腹腔注射 1%戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉,采血,全血 3000 r/min 离心 10 min,取上清液分装置于-80℃冰箱保存,用于检测血清 IL2 浓度。取胸腺和部分脾置于 10%中性甲醛固定 24 h,以备 HE

染色和免疫组织化学切片的制作及观察;另取部分脾置于-80℃冰箱保存,用于检测 IL2、IL2R 基因表达量。

1.2.5 测定免疫器官指数

取材时称小鼠体重(g),分别取胸腺和脾称其湿重(mg),测定胸腺指数(胸腺指数=胸腺湿重/体重)和脾指数(脾指数=脾湿重/体重)。

1.2.6 HE 染色观察免疫器官组织形态学

取固定的胸腺和脾组织,常规梯度乙醇脱水、透明、包埋,切片后进行 HE 染色,光镜下观察组织形态学并采集图像。

1.2.7 ELISA 法检测血清 IL2 浓度

取小鼠血清组织,按照 IL2 测定试剂盒说明书进行操作。

1.2.8 免疫组织化学观测脾 IL2Ra 表达

将固定的脾切片进行抗原修复;滴加山羊血清封闭液 20 min,然后滴加一抗,4℃过夜;PBS 洗 3 次,每次 5 min;再滴加二抗,37℃ 30 min;PBS 洗 3 次,每次 5 min;使用新鲜的 DAB 显色液对组织显色;苏木素复染 3 min,清水返蓝后流水冲洗;脱水,封片。用显微摄像系统进行图像采集,先于 100 倍下观察全部组织,再采集 400 倍显微图像,共采集 3 张,使用 Halo 数据分析系统计算每张图像 IL2Ra 阳性面积占比。

1.2.9 RT-qPCR 法检测 IL2、IL2R 基因表达水平

用 TRIzol 法提取脾组织总 RNA,逆转录合成 cDNA,再以 cDNA 为模板,合成目的片段。逆转录反应体系为:10 μL Real PCR Easy™ Mix-SYBR (2×),0.8 μL PCR 上游引物(10 μmol/L),0.8 μL PCR 下游引物(10 μmol/L),2 μL cDNA 模板,6.4 μL RNase-free H₂O。PCR 扩增程序:95℃预变性 30 s;95℃ 5 s 变性,55℃ 30 s 退火,72℃ 30 s 延展,循环 45 次;添加溶解曲线。以 β-actin 为内参照,使用 Thermo Scientific PikoReal 软件(Thermo 公司)分析 PCR 过程各检测样本的 CT(Threshold cycle)值,通过 2^{-ΔΔCT}法对各目的基因的相对表达量进行分析。相应引物序列见表 1。

1.3 统计学分析

使用 SPSS 22.0 软件和 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计学分析。计量数据用平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Tukey's 事后检验进行比较。以 $P < 0.05$ 为差异具有显著性。

表 1 RT-qPCR 引物序列

Table 1 RT-qPCR primer sequence

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence
β-actin	F:5'-CTACCTCATGAAGATCCTGACC-3'
	R:5'-CACAGCTTCTCTTTGATGTCAC-3'
IL2	F:5'-TGAGCAGGATGGAGAATTACAG-3'
	R:5'-CAGAGGTCCAAGTTCATCTTCT-3'
IL2Rα	F:5'-AGAGGTTTCCGAAGACTAAAGG-3'
	R:5'-TTCAAGTTGAGCTGTAACCTGTC-3'
IL2Rβ	F:5'-CTTACCAACCAGGCTACTTCTTC-3'
	R:5'-CTCCTCCACCTCTCTCCACAC-3'
IL2Rγ	F:5'-CAGTGCGAATGAAGACATCAAA-3'
	R:5'-GGAGAACAAATAGTACTGCAC-3'

2 结果

2.1 运动对行为学影响

在运动干预后期,与对照组相比,模型组小鼠

表现出明显的衰老体征:进食减少,自主活动减少,毛发干枯无光泽,脱毛严重,抓取时易激惹;经过运动干预的有氧运动组和抗阻运动组与模型组相比有明显改善,进食和自主活动增加,脱毛相对较轻。

相对抓力结果显示:进行干预前,和 SAMR1 小鼠相比, SAMP8 各组小鼠的相对抓力下降 ($P < 0.0001$), SAMP8 各组间无差异 ($P > 0.05$);随着衰老, SAMP8 各组小鼠相对抓力下降 ($P < 0.0001$), 与模型组相比, 有氧运动组相对抓力提高 ($P < 0.05$), 抗阻运动组相对抓力显著提高 ($P < 0.0001$), 抗阻运动组提高优于有氧运动组 ($P < 0.05$);对 8 周运动干预的相对抓力结果进行分析, 发现模型组小鼠相对抓力随时间进行性下降, 经过运动干预的抗阻运动组和有氧运动组相对抓力下降速度减缓, 抗阻运动组的表现更优(见表 2)。

表 2 运动对小鼠相对抓力的影响($n = 8$)

Table 2 Effect of exercise on relative grip strength in mice ($n = 8$)

组别 Groups	相对抓力(抓力/体重) Relative grip strength(Grip sthrength/weight)				
	28 周 28 weeks	30 周 30 weeks	32 周 32 weeks	34 周 34 weeks	36 周 36 weeks
对照组 Control group	22.54 ± 0.32	18.34 ± 0.36	18.10 ± 0.19	17.86 ± 0.48	17.04 ± 0.57
模型组 Model group	16.84 ± 0.72 ****	15.04 ± 0.26 ****	13.64 ± 0.25 ****	12.32 ± 0.31 ****	11.34 ± 0.59 ****
有氧运动组 Aerobic exercise group	16.66 ± 0.46 ****	14.64 ± 0.65 ****	14.06 ± 0.25 ****	13.52 ± 0.25 **** ###	12.40 ± 0.24 **** #
抗阻运动组 Resistance exercise group	15.94 ± 0.82 ****	14.88 ± 0.66 ****	13.84 ± 0.54 ****	13.92 ± 0.30 **** #####	13.46 ± 0.34 **** #####?

注:与对照组相比, **** $P < 0.0001$;与模型组相比, # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$;与有氧运动组相比, ? $P < 0.05$ 。(下图/表同)
Note. Compared with control group, **** $P < 0.0001$. Compared with model group, # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$. Compared with Aerobic exercise group, ? $P < 0.05$. (The same in the following figures and tables)

转棒测试结果显示:进行干预前,和 SAMR1 小鼠相比, SAMP8 各组小鼠的转棒测试时间下降 ($P < 0.0001$), SAMP8 各组间无差异 ($P > 0.05$);随着衰老, SAMP8 各组小鼠转棒时间下降 ($P < 0.0001$), 与模型组相比, 有氧运动组转棒测试时间显著提高 ($P < 0.0001$), 抗阻运动组显著提高 ($P < 0.001$), 抗阻运动组与有氧运动组间的差异无统计学意义 ($P > 0.05$);对 8 周运动干预的转棒测试时间结果进行分析, 发现模型组小鼠转棒测试时间明显下降, 经过运动干预的有氧运动组和抗阻运动组转棒测试时间下降速度减缓(见表 3)。

2.2 运动对免疫器官指数的影响

与对照组相比,模型组胸腺指数显著下降 ($P < 0.001$);与模型组相比, 有氧运动组胸腺指数显著

升高 ($P < 0.01$), 抗阻运动组胸腺指数显著升高 ($P < 0.01$)。与对照组相比, 模型组脾指数显著下降 ($P < 0.0001$);与模型组相比, 有氧运动组脾指数显著升高 ($P < 0.05$), 抗阻运动组脾指数显著升高 ($P < 0.01$)(见表 4)。

2.3 运动对免疫器官组织形态的影响

胸腺组织形态结构改变为:模型组被膜结缔组织呈片状伸入实质,将胸腺分为不完整的小叶,皮髓分界模糊,部分皮质变薄,淋巴细胞减少,细胞排列稀疏,部分淋巴细胞出现坏死;对照组见胸腺小叶结构正常,皮髓分界较清,皮质轻度变薄,局部淋巴细胞减少;有氧运动组胸腺小叶轻度萎缩,皮髓分界较清晰,皮质轻度变薄,淋巴细胞减少;抗阻运动组胸腺小叶结构正常,胸腺皮质和髓质分界较清

表 3 运动对小鼠转棒测试的影响($n = 8$)

Table 3 Effect of exercise on rotarod test in mice ($n = 8$)

组别 Groups	转棒时间(s) Rotarod test(s)				
	28 周 28 weeks	30 周 30 weeks	32 周 32 weeks	34 周 34 weeks	36 周 36 weeks
对照组 Control group	493.00 ± 10.95	403.60 ± 57.97	331.00 ± 20.79	315.80 ± 32.64	339.40 ± 32.35
模型组 Model group	200.00 ± 10.61 ****	102.20 ± 27.01 ****	114.20 ± 17.12 ****	114.20 ± 34.42 ****	107.00 ± 15.13 ****
有氧运动组 Aerobic exercise group	223.60 ± 45.81 ****	196.20 ± 10.43 **** ##	211.20 ± 26.55 **** ####	210.40 ± 11.59 *** ##	187.40 ± 19.98 **** ####
抗阻运动组 Resistance exercise group	191.20 ± 8.67 ****	192.20 ± 36.75 **** ##	196.20 ± 10.38 **** ####	182.40 ± 43.84 **** #	180.40 ± 8.08 **** ####

注:与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$;与模型组相比, ## $P < 0.01$ 。(下图/表同)
Note. Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. Compared with model group, ## $P < 0.01$. (The same in the following figures and tables)

表 4 运动对小鼠免疫器官指数的影响($n = 8$)

Table 4 Effect of exercise on immune organ index in mice ($n = 8$)		
组别 Groups	胸腺指数 Thymus index	脾指数 Spleen index
对照组 Control group	1.19 ± 0.30	3.05 ± 0.56
模型组 Model group	0.47 ± 0.10 ***	1.73 ± 0.25 ****
有氧运动组 Aerobic exercise group	0.98 ± 0.27 ##	2.27 ± 0.20 #
抗阻运动组 Resistance exercise group	1.03 ± 0.18 ##	2.46 ± 0.25 ##

晰,皮质淋巴细胞减少,细胞排列较稀疏,髓质局部淋巴细胞聚集,见图 1A。脾组织形态结构改变为:模型组白髓与红髓分界较清楚,白髓见胞质溶解,

细胞轮廓不清晰;对照组白髓与红髓分界清楚,被膜下红髓淋巴细胞减少;有氧运动组脾组织白髓与红髓分界较清楚,各类细胞未见明显增减;抗阻运动组脾组织白髓与红髓分界较清晰,白髓淋巴细胞增多,红髓内各类细胞未见明显增减,见图 1B。

2.4 运动对血清 IL2 浓度的影响

与对照组相比,模型组血清 IL2 浓度显著下降($P < 0.0001$);与模型组相比,有氧运动组血清 IL2 浓度显著升高($P < 0.001$),抗阻运动组血清 IL2 浓度显著升高($P < 0.01$),见表 5。

2.5 运动对脾 IL2Rα 蛋白表达的影响

与对照组相比,模型组脾 IL2Rα 阳性率显著下降($P < 0.001$);与模型组相比,有氧运动组脾细胞 IL2Rα 阳性率显著升高($P < 0.05$),抗阻运动组脾细胞 IL2Rα 阳性率显著升高($P < 0.05$),见图 2。

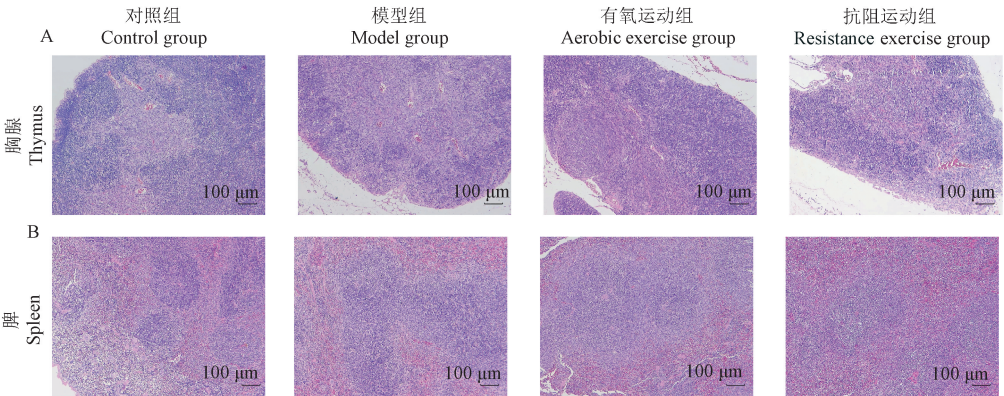


图 1 运动对小鼠免疫器官组织形态学的影响(HE 染色)

Figure 1 Effect of exercise on the morphological structure of immune organs in mice (HE staining)

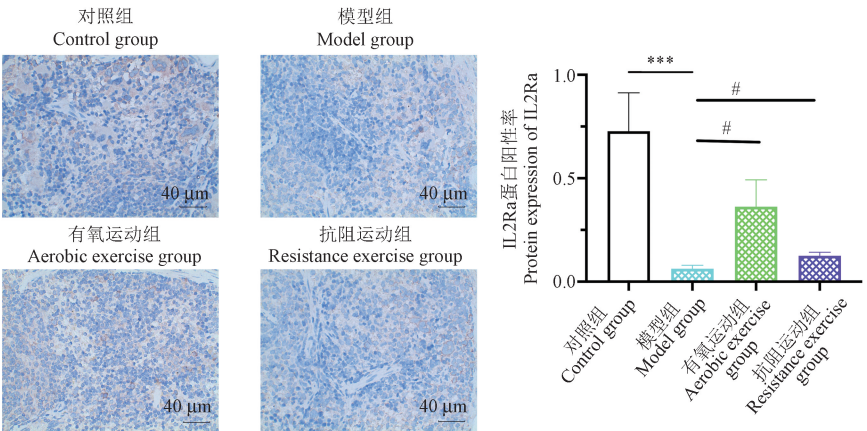


图 2 运动对小鼠脾 IL2Rα 蛋白表达的影响($n = 8$)

Figure 2 Effect of exercise on the protein expression of IL2Rα in mice spleen($n = 8$)

表 5 运动对小鼠血清 IL2 浓度的影响($n = 8$)

Table 5 Effect of exercise on the IL2 in the mice serum($n = 8$)

组别 Groups	血清 IL2 浓度 (ng/mL) Serum concentration of IL2 (ng/mL)
对照组 Control group	36.28 ± 1.88
模型组 Model group	16.73 ± 3.02 ****
有氧运动组 Aerobic exercise group	23.38 ± 2.37 **** ##
抗阻运动组 Resistance exercise group	21.53 ± 1.25 **** ##

2.6 运动对脾 IL2 和 IL2R 基因表达的影响

与对照组相比,模型组脾细胞 *IL2* 基因表达量显著下降 ($P < 0.0001$),与模型组相比,有氧运动组、抗阻运动组显著升高 ($P < 0.01$);与对照组相比,模型组脾细胞 *IL2Rα* 基因表达量显著下降 ($P < 0.0001$),与模型组相比,有氧运动组、抗阻运动组显著升高 ($P < 0.05$);与对照组相比,模型组脾细胞 *IL2Rβ* 基因表达量显著下降 ($P < 0.01$),与模型组相比,有氧运动组显著升高 ($P < 0.05$),抗阻运动组显著升高 ($P < 0.01$);与对照组相比,模型组脾细胞 *IL2Rγ* 基因表达量显著下降 ($P < 0.0001$),与模型组相比,有氧运动组显著升高 ($P < 0.05$),抗阻运动组显著升高 ($P < 0.01$)。见表 6。

表 6 运动对小鼠脾 IL2 和 IL2R 基因表达的影响($n = 8$)

Table 6 Effect of exercise on the relative mRNA expression of IL2 and IL2R in mice spleen($n = 8$)

组别 Groups	相对 mRNA 表达量 Relative mRNA expression			
	IL2	IL2Rα	IL2Rβ	IL2Rγ
对照组 Control group	2.59 ± 0.33	1.79 ± 0.23	2.83 ± 0.83	2.26 ± 0.28
模型组 Model group	1.02 ± 0.24 ****	1.00 ± 0.07 ****	1.03 ± 0.26 **	1.02 ± 0.18 ***
有氧运动组 Aerobic exercise group	1.73 ± 0.35 ** ##	1.42 ± 0.27 **	2.21 ± 0.43 #	1.57 ± 0.33 ** #
抗阻运动组 Resistance exercise group	1.86 ± 0.29 ** ##	1.39 ± 0.18 **	2.52 ± 0.80 ##	1.73 ± 0.20 * ##

3 讨论

我国是全球老年人口最多的国家。国务院印发的《“十四五”国家老龄事业发展和养老服务体系规划》指出,人口老龄化是人类社会发展的客观趋势,我国老年人口规模大,老龄速度快。通过研究

运动延缓免疫衰老的作用途径和可能靶点,可为运动应用于年龄相关疾病的预防和治疗提供依据,对老年群体的健康促进及生活质量提高有至关重要的意义。

本研究选择的衰老模型是 SAMP8 小鼠,SAM 小鼠是通过表型选择培育出的快速老化模型小鼠,

SAMP8 小鼠是易快速老化品系, SAMR1 小鼠是抗快速老化品系, 同龄的 SAMR1 小鼠与正常小鼠的生理指标相似, 常用于 SAMP8 小鼠的正常对照^[12]。该模型是研究阿尔兹海默症的经典模型^[13-14], 也是研究老年疾病和衰老的重要模型^[15]。SAMP8 小鼠在 16 周龄后开始出现全身多系统的快速老化, 免疫功能下降是特点之一。因此, 本研究选择 28 周龄 SAMP8 和 SAMR1 小鼠作为免疫衰老模型进行实验。本研究发现, 与同龄的 SAMR1 小鼠相比, SAMP8 小鼠进食减少, 自主活动减少, 毛发干枯无光泽, 脱毛严重, 其外形特征符合衰老小鼠的一般特点, 相对抓力、转棒测试时间均显著下降, 与既往研究一致。故本研究 SAMP8 小鼠衰老模型建模成功。

免疫衰老是年龄相关的免疫功能下降, 可出现一系列病理状况^[16-17]。既往研究显示, 衰老小鼠的免疫器官明显萎缩和免疫器官系数下降^[18-19]。本研究发现, 与同龄 SAMR1 小鼠相比, 36 周龄的 SAMP8 小鼠胸腺指数、脾指数均明显下降, 胸腺和脾出现结构老化。血清 IL2 水平在老年个体的血清中明显下降, 是重要的年龄相关的慢性炎症指标^[20-22]。IL2 是一种重要的 T 细胞生长调节剂, 主要由 T 细胞在接受抗原刺激后产生, 与其受体 IL2R 结合发挥作用, IL2R 包括 IL2R α 、IL2R β 、IL2R γ 三种多肽, 三个亚基的共表达才能使 IL2 与细胞具有高亲和力。IL2 和 IL2R 结合后通过 JAK/STAT5 通路调控促炎性 T 细胞和抗炎性 T 细胞的分化和稳态^[23], 对调节性 T 细胞 (Treg) 也有重要的调节作用^[24]。本研究发现, SAMP8 小鼠血清 IL2 水平明显下降, 脾 IL2R α 蛋白阳性率明显下降, 脾 IL2、IL2R α 、IL2R β 、IL2R γ 基因表达下降, 提示衰老小鼠出现衰老相关细胞因子的改变, 机体出现免疫系统的衰退可能与 IL2、IL2R 水平的下降有关。

规律运动能够调节免疫系统, 延迟免疫衰老的进程。定期参加锻炼的老年人免疫系统能维持更好的活性, 发生感染的风险更低^[25]。经过适度训练的个体, 接种流感疫苗后的抗体产生比例更高, 抗体反应更强, 抗体持续时间更长^[26]。适宜运动能改善免疫, 延缓胸腺老化^[27]。有氧运动和抗阻运动是两种老年群体常参加的规律适宜运动方式。30 名既往无体育锻炼习惯的 62 ~ 86 岁老年妇女接受为期两年的规律中强度体育活动, 发现老年运动组淋巴细胞内表达 IL2 的百分率高于老年久坐组, 表明

老年妇女的中强度长期体育活动可能会增加 IL2 的产生^[28]。在本研究中发现, 8 周的有氧运动和抗阻运动后, SAMP8 小鼠相对抓力和转棒测试时间大幅度提升, 胸腺指数、脾指数明显增高, 胸腺萎缩明显得到减缓, 脾的增龄性衰老也得到一定的减轻。说明 8 周的有氧运动和抗阻运动能有效延缓快速衰老小鼠免疫机能的增龄性衰退。运动改善免疫衰老的可能机制有: 增强疫苗效应, 减少耗尽或衰老的 T 细胞数量, 增加 T 细胞增殖能力, 降低炎症细胞因子, 增加中性粒细胞的吞噬活性, 降低对细菌攻击的炎症反应, 增加 NK 细胞细胞毒活性, 延长白细胞端粒长度^[29]。IL2 由 T 细胞产生, 又与 T 细胞的增殖分化密切相关, 可间接反映 T 细胞的功能。经过 8 周运动训练的大鼠, 产生 IL2 和 IL2R 显著增加^[30]。肾性高血压大鼠模型经过 9 周定期游泳锻炼, 血清 IL2 浓度较未经过运动训练组显著升高^[31]。本研究发现, 经过 8 周的有氧运动和抗阻运动, SAMP8 小鼠血清 IL2 浓度升高, 脾 IL2R α 蛋白阳性率增加, 脾 IL2、IL2R α 、IL2R β 、IL2R γ 基因表达水平均升高。表明 8 周有氧运动和抗阻运动均能有效提高 IL2 和 IL2R 表达水平, 运动上调 IL2、IL2R 水平是运动延缓免疫衰老的可能机制。

综上, 本研究发现, 8 周的有氧运动和抗阻运动均能有效提升 SAMP8 小鼠的相对抓力、转棒时间等身体机能指标, 延缓胸腺和脾的增龄性改变, 提高血清 IL2 水平, 脾 IL2R α 阳性表达率明显增高, 脾 IL2 和 IL2R 基因表达量增加, 表明有氧运动和抗阻运动可延缓免疫衰老, 改善 SAMP8 小鼠的免疫功能, 上调的 IL2、IL2R 可能是作用靶点。

参 考 文 献 (References)

- [1] Yousefzadeh MJ, Flores RR, Zhu Y, et al. An aged immune system drives senescence and ageing of solid organs [J]. Nature, 2021, 594(7861): 100-105.
- [2] Barbé-Tuana F, Funchal G, Schmitz CRR, et al. The interplay between immunosenescence and age-related diseases [J]. Semin Immunopathol, 2020, 42(5): 545-557.
- [3] Crooke SN, Ovsyannikova IG, Poland GA, et al. Immunosenescence: a systems-level overview of immune cell biology and strategies for improving vaccine responses [J]. Exp Gerontol, 2019, 124: 110632.
- [4] Feehan J, Tripodi N, Apostolopoulos V. The twilight of the immune system: the impact of immunosenescence in aging [J]. Maturitas, 2021, 147: 7-13.
- [5] Mittelbrunn M, Kroemer G. Hallmarks of T cell aging [J]. Nat Immunol, 2021, 22(6): 687-698.
- [6] Arnold CR, Wolf J, Brunner S, et al. Gain and loss of T cell

- subsets in old age--age-related reshaping of the T cell repertoire [J]. *J Clin Immunol*, 2011, 31(2): 137-146.
- [7] Tylutka A, Morawin B, Gramacki A, et al. Lifestyle exercise attenuates immunosenescence; flow cytometry analysis [J]. *BMC Geriatr*, 2021, 21(1): 200.
- [8] Weyh C, Krüger K, Barbara B. Physical activity and diet shape the immune system [J]. *Nutrients*, 2020, 12(3): 622.
- [9] 吴志建, 王竹影, 胡冰倩, 等. 运动锻炼对淋巴细胞及亚群、细胞因子影响的 meta 分析 [J]. *武汉体育学院学报*, 2018, 52(11): 70-76.
- Wu ZJ, Wang ZY, Hu BQ, et al. A meta-analysis of effects of exercise on lymphocytes, subsets, and cytokines [J]. *J Wuhan Inst Phys Educ*, 2018, 52(11): 70-76.
- [10] Bartlett DB, Willis LH, Slentz CA, et al. Ten weeks of high-intensity interval walk training is associated with reduced disease activity and improved innate immune function in older adults with rheumatoid arthritis: a pilot study [J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1): 127.
- [11] Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, et al. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures [J]. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*, 1979, 47(6): 1278-1283.
- [12] Takeda T, Matsushita T, Kurozumi M, et al. Pathobiology of the senescence-accelerated mouse (SAM) [J]. *Exp Gerontol*, 1997, 32(1/2): 117-127.
- [13] 曹育, 安玉兰, 张卓铭, 等. 针刺对阿尔茨海默症小鼠海马 CA1 区树突结构及认知功能影响的研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(10): 9-15.
- Cao Y, An YL, Zhang ZM, et al. Effect of acupuncture on the dendritic structure of the hippocampal CA1 area and cognitive functions in mice with Alzheimer's disease [J]. *Chin J Comp Med*, 2021, 31(10): 9-15.
- [14] Liu B, Liu J, Shi JS. SAMP8 mice as a model of age-related cognition decline with underlying mechanisms in Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2020, 75(2): 385-395.
- [15] Mori M, Higuchi K. The senescence-accelerated mouse as a model for geriatrics and aging biology [J]. *Nihon Yakurigaku Zasshi*, 2019, 153(4): 179-185.
- [16] Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. The role of myeloid-derived suppressor cells (MDSC) in the inflammaging process [J]. *Ageing Res Rev*, 2018, 48: 1-10.
- [17] Lewkiewicz S, Chuang YL, Chou T. A mathematical model of the effects of aging on naive T cell populations and diversity [J]. *Bull Math Biol*, 2019, 81(7): 2783-2817.
- [18] 管博文, 卢延华, 苏路路, 等. 老年和青年 C57BL/6J 小鼠外周血及免疫细胞分型测定分析 [J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(7): 24-28.
- Guan BW, Lu YH, Su LL, et al. Difference in changes of peripheral blood and immune cell phenotypes between aged and young C57BL/6J mice [J]. *Chin J Comp Med*, 2019, 29(7): 24-28.
- [19] El-Naseery NI, Mousa HSE, Noreldin AE, et al. Aging-associated immunosenescence via alterations in splenic immune cell populations in rat [J]. *Life Sci*, 2020, 241: 117168.
- [20] Sayed N, Huang Y, Nguyen K, et al. An inflammatory aging clock (iAge) based on deep learning tracks multimorbidity, immunosenescence, frailty and cardiovascular aging [J]. *Nat Aging*, 2021, 1: 598-615.
- [21] Fulop T, Larbi A, Douziech N, et al. Cytokine receptor signalling and aging [J]. *Mech Ageing Dev*, 2006, 127(6): 526-537.
- [22] Simioni PU, Costa EH, Tamashiro WM. Aging reduces the primary humoral response and the *in vitro* cytokine production in mice [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2007, 40(8): 1111-1120.
- [23] Ross SH, Cantrell DA. Signaling and function of interleukin-2 in T lymphocytes [J]. *Annu Rev Immunol*, 2018, 36: 411-433.
- [24] Hsieh EW, Hernandez JD. Clean up by aisle 2: roles for IL-2 receptors in host defense and tolerance [J]. *Curr Opin Immunol*, 2021, 72: 298-308.
- [25] Campbell JP, Turner JE. Debunking the myth of exercise-induced immune suppression: redefining the impact of exercise on immunological health across the lifespan [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 648.
- [26] de Araújo AL, Silva LC, Fernandes JR, et al. Elderly men with moderate and intense training lifestyle present sustained higher antibody responses to influenza vaccine [J]. *Age (Dordr)*, 2015, 37(6): 105.
- [27] Simpson RJ, Kunz H, Agha N, et al. Exercise and the regulation of immune functions [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2015, 135: 355-380.
- [28] Abd El-Kader SM, Al-Shreef FM. Inflammatory cytokines and immune system modulation by aerobic versus resisted exercise training for elderly [J]. *Afr Health Sci*, 2018, 18(1): 120-131.
- [29] Nieman DC, Wentz LM. The compelling link between physical activity and the body's defense system [J]. *J Sport Health Sci*, 2019, 8(3): 201-217.
- [30] Navarro F, Bacurau AVN, Pereira GB, et al. Moderate exercise increases the metabolism and immune function of lymphocytes in rats [J]. *Eur J Appl Physiol*, 2013, 113(5): 1343-1352.
- [31] Kumral ZN, Sener G, Ozgur S, et al. Regular exercise alleviates renovascular hypertension-induced cardiac/endothelial dysfunction and oxidative injury in rats [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2016, 67(1): 45-55.