

抗阻训练通过 Akt-FoxO1 通路抑制低氧诱导的骨骼肌萎缩

于加倍, 胡扬*, 李燕春, 梅涛, 韩天雨, 白学成, 付鹏宇, 朱镕鑫, 车欣媛

(北京体育大学 运动人体科学学院 运动生化教研室, 北京 100084)

摘要 高原低氧环境会引起肌力下降和运动能力退化,而抗阻训练是刺激骨骼肌生长的重要手段,又头转录因子1(fork head box protein O1, FoxO1)在调控骨骼肌蛋白质分解通路中承担重要角色。为探究 Akt-FoxO1 通路是否参与抗阻训练抑制低氧诱导的骨骼肌萎缩,本研究构建低氧诱导骨骼肌萎缩的大鼠模型,并模拟海拔4 000 m 低氧环境下(12.4% O₂)进行抗阻训练,对比观察大鼠比目鱼肌和趾长伸肌湿重和横截面积,以及蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)、叉头转录因子1、泛素蛋白连接酶1(muscle ring finger 1, MuRF1)的表达差异等。结果表明,低氧暴露导致大鼠趾长伸肌湿重显著下降,苏木精-伊红染色组织切片分析肌纤维横截面积、低氧环境下比目鱼肌横截面积明显下降,而低氧抗阻训练后趾长伸肌横截面积明显高于安静组。实时荧光定量 PCR 和蛋白质免疫印迹结果显示,低氧暴露后 FoxO1 和 MuRF1 基因表达明显上调,低氧下抗阻训练后发现, Akt 基因表达明显上调而 FoxO1、MuRF 则明显下调。免疫荧光观察磷酸化 FoxO1 在细胞核内外表达情况,发现抗阻训练后 FoxO1 (S256)于细胞核外表达增强。上述结果表明,抗阻训练可以达到抑制低氧诱导骨骼肌萎缩的效果, Akt 促进 FoxO1 磷酸化从而减缓骨骼肌蛋白质分解过程是抗阻训练能够抑制骨骼肌萎缩的分子机制之一。

关键词 叉头转录因子1; 低氧抗阻训练; 骨骼肌萎缩; 大鼠

中图分类号 G804.7

Resistance Training Activated Akt-FoxO1 Pathway to Prevent Skeletal Muscle Atrophy Induced by Hypoxia

YU Jia-Bei, HU Yang*, LI Yan-Chun, MEI Tao, HAN Tian-Yu, BAI Xue-Cheng,

FU Peng-Yu, ZHU Rong-Xin, CHE Xin-Yuan

(Sports Biochemistry Teaching and Research Department of Human Sport Science, Beijing Sport University, Beijing 100084, China)

Abstract Skeletal muscle atrophy induced by hypoxia on the plateau will lead to the decrease of muscle strength and the degeneration of athletic ability. Resistance training is an important method to stimulate the growth of muscle and FoxO1 (Fork head box protein O1, FoxO1) plays a significant role in the regulation of skeletal muscle protein degradation pathway. However it is not clear how FoxO1 regulates skeletal muscle protein under the intervention of both hypoxia and resistance training. This study built a rat model that resistance training inhibited the skeletal muscle atrophy induced by hypoxia. Resistance training was carried out with simulated altitude of 4 000 m (12.4% O₂). Wet weight and cross sectional areas (CSA) of soleus and extensor digitorum longus (EDL) were measured and comparative observation of protein kinase B (Akt), FoxO1, Ubiquitin protein ligase (muscle ring finger, MuRF) was obtained. The results showed that exposure to hypoxia for 4 weeks led to a decrease of muscle wet weight and CSA but resistance training could prevent the atrophy. The results of real-time fluorescence quantitative PCR

收稿日期: 2018-06-26; 修回日期: 2018-08-06; 接受日期: 2018-09-04

国家自然科学基金面上项目(No. 31771317)

* 通讯作者 Tel: 010-62989208; E-mail: hyyrl@163.com

Supported by National Natural Science Foundation of China(No. 31771317)

Received: June 26, 2018; Advised: August 6, 2018; Accepted: September 4, 2018

* Corresponding author Tel: 010-62989208; E-mail: hyyrl@163.com

and Western blot showed that the expression of FoxO1 and MuRF of hypoxia group (H group) were significantly higher than control group. However, after the intervention of resistance training, the expression of Akt was significantly up-regulated and FoxO1, MuRF were significantly down-regulated. Immunofluorescence technique was used to observe the location of FoxO1 phosphorylation and the expression out of nucleus. The results revealed that FoxO1 phosphorylation out of nucleus was increased after resistance training. All the above results revealed that resistance training could inhibit skeletal muscle atrophy induced by hypoxia. Akt promoted FoxO1 phosphorylation may become the molecular mechanisms that resistance training can inhibit the atrophy of skeletal muscle induced by hypoxia.

Key words fork head box protein O 1 (FoxO1); resistance training in hypoxia; skeletal muscle atrophy; rat

高原训练具有提高运动员有氧代谢能力的效果已得到普遍认同,但高原特有的低氧环境是一柄双刃剑。调查表明,高原训练过程中运动员普遍出现骨骼肌萎缩现象,这不仅使运动员难以维持训练强度,还影响训练效果^[1,2]。不同形式的运动中,抗阻训练对骨骼肌的刺激最直接有效,并且已经作为非药物手段广泛应用于治疗之中,研究表明,抗阻训练具有抵抗Ⅱ型糖尿病^[3]引发的肌萎缩和脊髓型肌萎缩^[4]的作用。抗阻运动可诱导促合成类激素如生长素、IGF-1 (insulin-like growth factor-1)和雄激素的变化,这些激素的升高对于促进肌肉肥大至关重要,常作为评价抗阻练习效果的血液指标,而近年来研究多集中在蛋白质合成与分解平衡角度解释骨骼肌在抗阻训练中的变化。

骨骼肌萎缩主要表现为肌肉质量下降、肌纤维横截面积降低并伴随着骨骼肌蛋白质的分解代谢加强。泛素蛋白酶水解系统是主要的蛋白质降解系统,骨骼肌萎缩常伴随着泛素连接酶 MuRF1 和 Atrogin-1 的表达上调,二者受到多个信号通路调控, Akt/FoxO1 是其中之一。FoxO1 (fork head box protein O 1)是调控细胞凋亡^[5]、氧化应激^[6]、蛋白质代谢^[7]等重要生物过程的核转录因子,其活性受到磷酸化/脱磷酸化的调控。FoxO1 蛋白中有 3 个高度保守的 Akt 磷酸化位点,研究表明, FoxO1 磷酸化后进入胞质可下调 MuRF1 和 Atrogin-1 的表达, Akt 具有促进 FoxO1 磷酸化的作用,因此 Akt 可通

Table 1 Resistance training load

Group/ Time (day)	1	3	5	7	9	11	13	15	17 - 28
Load(weight%)	50%	60%	70%	80%	90%	100%	110%	120%	130%
R group load (g)	121	153	188	217	257	294	323	376	422 - 485
HR group load(g)	115	145	177	196	234	272	310	353	395 - 442

1.3 取材与组织处理

末次训练后恢复 1 天,断食 24 h 排空肠胃并消除末次训练影响,腹腔注射 3% 戊巴比妥钠(3 mL/

过这一途径调节蛋白质分解过程^[8-10]。目前关于 Akt/FoxO1 对低氧诱导骨骼肌萎缩的调控机制并不明确, Akt/FoxO1 通路是否是抗阻训练抵抗骨骼肌萎缩发生的机制还未见报道。本研究对大鼠进行低氧及爬梯抗阻训练的方式,探讨 Akt-FoxO1 通路对抗阻训练抑制低氧诱导的骨骼肌萎缩的调控作用。

1 材料与方法

1.1 动物及分组

SPF 级 8 周龄雄性 Sprague Dawley (SD) 大鼠 48 只,体重为 236.40 ± 10.69 g。自由饮水进食,动物饲养房、低氧室和训练室均保持温度在 22 ~ 25℃,湿度 50% ~ 80%,昼夜循环照明(光照时间 7:00 ~ 19:00),并按照动物使用原则给予人道关怀。将实验动物随机分为常氧安静组 (control group, C)、常氧抗阻训练组(resistance group, R)、低氧安静组 (hypoxia group, H) 和低氧抗阻训练组 (hypoxia resistance group, HR),每组各 12 只。

1.2 低氧及爬梯训练方案

低氧干预前进行 1 周的适应性训练,爬梯长度 1.2 m,与地面夹角 85°放置。大鼠每次有效攀爬高度为 1 m。隔天训练 1 次持续 4 周,每次训练进行 5 次×3 组,组间休息 1 min,具体负重见 Table 1。H 组和 HR 组进入模拟海拔高度为 4 000 m(氧浓度 12.4%)的低氧房。R 组在常氧环境下训练,HR 组在低氧中训练。

kg)进行麻醉。大鼠腹主动脉取血处死,迅速分离大鼠比目鱼肌(soleus)、趾长伸肌(extensor digitorum longus, EDL),剔除肌腱等结缔组织,用滤纸吸除多

余的组织液和血液,称量骨骼肌湿重并记录。部分组织浸泡在 4% 多聚甲醛固定液中,其余分别置于 RNA later 和液氮中保存。

1.4 组织切片 HE 染色

骨骼肌在固定液浸泡 24 h,流水冲洗 12 h,并用 4℃ PBS 冲洗 3 次。将组织修剪为长宽均为 5 mm 的组织块,放于标记好的包埋盒中。经过脱水和透明,苏木精-伊红染色法浸染切片,显微镜观察染色效果,中性树胶封片。每组的比目鱼肌、趾长伸肌选取 6 张切片,10 × 10 倍镜下拍照,选取清晰细胞完整视野,用 Image J 软件分析 50 个肌纤维细胞的横截面积值。

1.5 组织免疫荧光

先将组织石蜡切片脱蜡,切片置于抗原修复缓冲液 (pH8.0) 进行抗原修复,冷却后将切片置于 PBS 中晃动洗涤 3 次。切片稍甩干后用组化笔在组织周围画圈 (防止抗体流走),在圈内加入自发荧光淬灭剂 5 min,流水冲洗 10 min。在圈内滴加 BSA 孵育 30 min。轻轻甩掉封闭液,在切片上滴加 PBS 按比例配好的一抗,4℃ 孵育过夜。玻片置于 PBS (pH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次,每次 5 min。切片稍甩干后在圈内滴加与一抗相应种属的二抗覆盖组织,避光室温孵育 50 min,DAPI 复染细胞核。切片稍甩干后用抗荧光淬灭封片剂封片。切片于荧光显微镜下观察并采集图像。

1.6 实时荧光定量 PCR

各组比目鱼肌和趾长伸肌分别提取总 RNA,并反转录 cDNA,并定制 Akt、FoxO1、Atrogin-1 和 MuRF 的引物,以大鼠 RPS18 作为内源性参照,采用 TaKaRa SYBR Premix 试剂盒进行 RT-PCR 检测,对骨骼肌组织中上述基因 mRNA 进行定量分析。PCR 引物参数:

Table 2 RT-PCR primers sequences

Gene		Primer sequence(5'-3')
Akt	F	5'-TACTCATTCCAGACCCACGAC-3'
	R	5'-GGACACAATCTCCGCACCGTA-3'
FoxO1	F	5'-TTCATTTCACCGCCAAACAC-3'
	R	5'-CTCATGCTGGATTGGCCGTA-3'
Atrogin-1	F	5'-CCACTTCTCAGAGCGGCAGA-3'
	R	5'-CTTCTTGGGTAACATCGCACA-3'
MuRF	F	5'-CAGCACAACCTCTGCCGGA-3'
	R	5'-ATGCCGGTCCATGATCACT-3'

1.7 Western 印迹检测

称取 50 mg 骨骼肌组织和研磨珠置于研磨管

中,加入 500 μL RIPA 裂解液 (添加蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂),低温下充分匀浆,12 000 r/min 离心 5 min,提取上清液。采取 BCA 法测得蛋白质浓度,计算使每次上样为 20 μg 蛋白质所需体积,进行稀释。4% ~ 12% Bis-Tris 预制胶搭配 MES 缓冲液进行电泳,电泳后将胶内蛋白质转移至 PVDF 膜,丽春红染色后裁剪条带,BSA 封闭后 4℃ 孵育一抗过夜。次日孵育二抗,清洗后滴加显色液,Bio-Rad 成像系统显影。Western 印迹所用一抗抗体名称及稀释度见 Table 3。

Table 3 Dilution of antibodies

From	Antibody	Dilution
Abcam	Anti-pan-Akt	1:1 000
Abcam	Anti-FoxO1	1:500
Abcam	Anti-MuRF1	1:2 000
Abcam	Anti-Atrogin-1	1:500
Cell signaling technology	Anti-β-Actin	1:1 000

1.8 统计学方法

结果均以平均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,实验数据采用 SPSS19.0 软件进行分析统计,采用单因素方差分析对组间均数进行比较, $P < 0.05$ 表示具有显著性差异, $P < 0.01$ 表示具有非常显著性差异。

2 结果

2.1 抗阻训练抑制低氧诱导的骨骼肌萎缩

为观察 4 周低氧及抗阻训练对大鼠骨骼肌质量和肌纤维横截面积的影响,本研究在取材过程称量大鼠爬梯下肢主要发力骨骼肌 (比目鱼肌和趾长伸肌) 的湿重,并采用苏木精-伊红染色法浸染切片观察分析肌纤维横截面积 (Fig. 1)。结果如 Fig. 2 所示,低氧安静组的比目鱼肌和趾长伸肌湿重明显低于常氧安静组 ($P < 0.05$),而常氧抗阻训练组的比目鱼肌湿重显著高于常氧对照组 ($P < 0.01$)。Image J 分析 50 个肌纤维横截面积发现,低氧安静组的比目鱼肌和趾长伸肌肌纤维横截面积显著低于常氧对照组 ($P < 0.05$),常氧抗阻训练组的趾长伸肌横截面积显著高于常氧安静组 ($P < 0.01$),而低氧抗阻训练组的趾长伸肌的横截面积显著高于低氧安静组 ($P < 0.05$)。以上结果表明,常氧环境下抗阻训练能够有效提高骨骼肌质量和肌纤维横截面积,促进肌肉肥大。而在低氧环境下,抗阻训练具有抑制低氧诱导骨骼肌萎缩的作用。

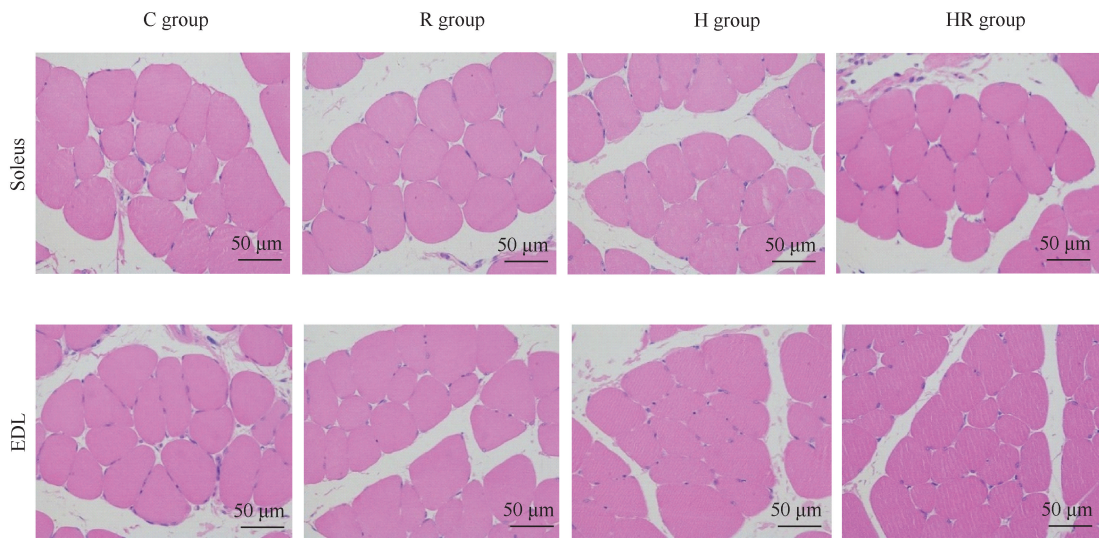


Fig. 1 Effects of hypoxia and resistance training on soleus and extensor digitorum longus (EDL) cross section area (Bar: 50 μm) Skeletal muscle samples were processed with Hematoxylin-eosin staining and the cross area of 50 fibers was analyzed by Image J

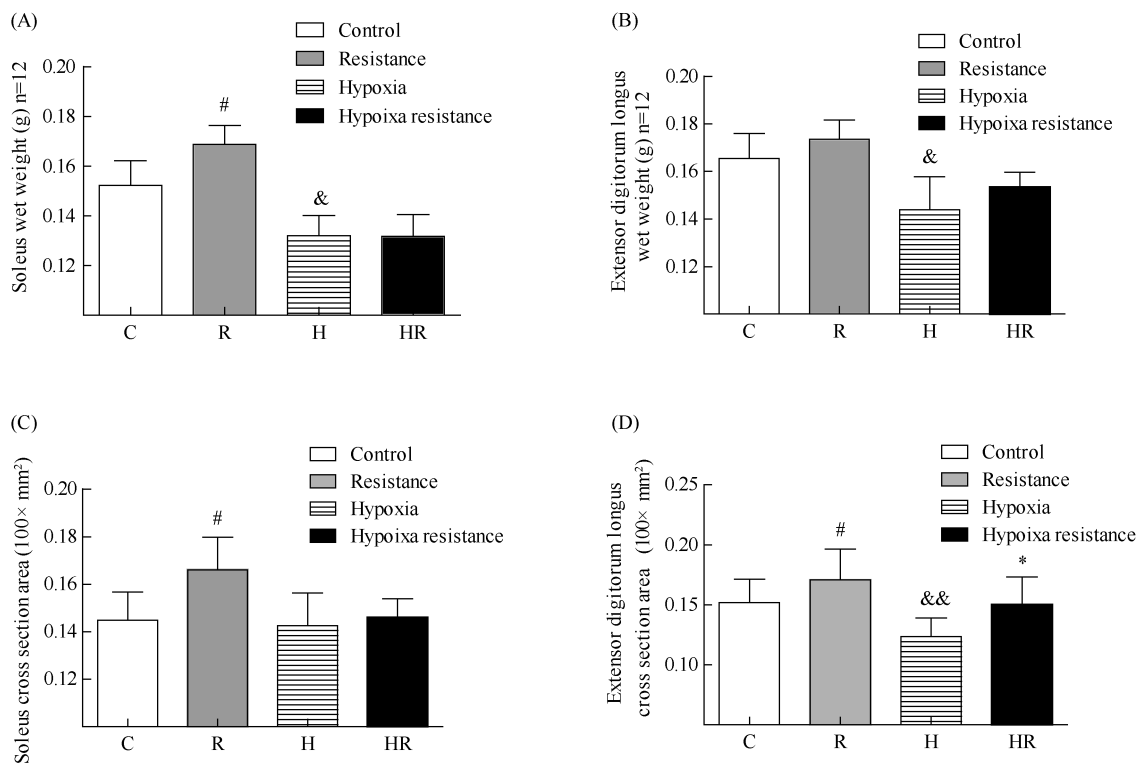


Fig. 2 The wet weight and cross section area of rats' skeletal muscle Muscle wet weight were measured when muscles were isolated at the end of the fourth week. HE paraffin sections of soleus and extensor digitorum longus (EDL) were magnified 100 times and cross section area was analyzed by Image J. Data represent mean \pm SD ($n = 12$). (A) and (B) showed the wet weight of soleus and EDL. (C) and (D) showed the fiber cross sectional area of soleus and EDL, HR group vs. H group, $^*P < 0.05$; H group vs. C group, $^{\&}P < 0.05$, $^{\&\&}P < 0.01$; R group vs. C group, $^{\#}P < 0.05$

2.2 抗阻训练引起磷酸化 FoxO1 在肌细胞中表达位置的差异

为观察低氧刺激及抗阻训练干预后比目鱼肌和趾长伸肌 FoxO1 的磷酸化情况,采用免疫荧光

化学技术,在荧光显微镜下观察切片。结合荧光抗体的 FoxO1 (S256) 呈红色,DAPI 复染细胞核呈蓝色,重叠后可观察到 FoxO1 (S256) 与细胞核的相对位置。结果如 Fig. 3,可以观察到低氧环境下

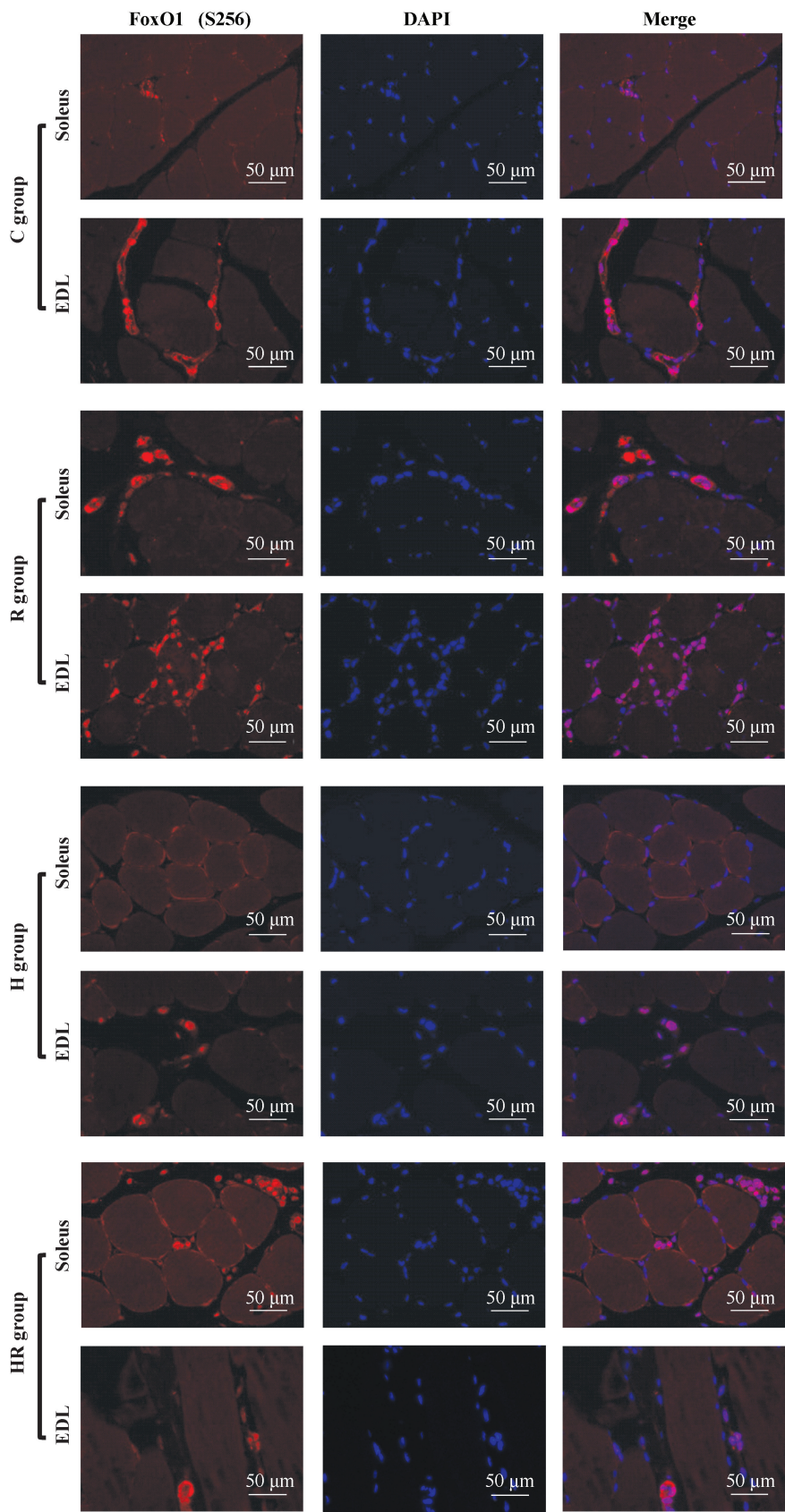


Fig. 3 Immunofluorescence histochemistry for FoxO1 (S256) expression and localization in soleus and EDL (Bar: 50 μm) H group and HR group were exposed to hypoxic condition (12.4%). R group and HR group received resistance training every two days

比目鱼肌和趾长伸肌中 FoxO1 (S256) 位于部分细胞核中,胞质中荧光强度不高。在低氧进行抗阻训练干预后,骨骼肌胞质和细胞核中 FoxO1 (S256) 的荧光强度均有提高,体现了进行抗阻训练能促进低氧条件下大鼠骨骼肌中 FoxO1 表达和磷酸化的活跃。

2.3 低氧诱导骨骼肌中 FoxO1、MuRF、Atrogin-1 表达上调

MuRF 和 Atrogin-1 是泛素蛋白酶水解系统中重要的 E3 连接酶,当骨骼肌中蛋白质分解作用加强时,伴随着 MuRF 和 Atrogin-1 的表达上调。为验证低氧诱导骨骼肌萎缩是否出现 FoxO1 以及 E3 连接酶的表达上调,采用了 RT-PCR 和 Western 印迹对肌肉中 mRNA 和蛋白质表达水平进行了检测。结果如 Fig. 5 和 Fig. 4 所示,低氧安静组的趾长伸肌中 Akt、FoxO1、MuRF、Atrogin-1 的 mRNA 显著高于常氧安静组 ($P < 0.05$),同时可以观察到低氧安静组的趾长伸肌中 Akt、FoxO1、Atrogin-1 的蛋白质表达显著提高 ($P < 0.05$)。在比目鱼肌中,可观察到低氧安静组 Atrogin-1 的 mRNA 和蛋白质表达水平明显提高 ($P < 0.05$)。

2.4 抗阻训练促进 Akt 表达上调,FoxO1、MuRF、Atrogin-1 表达下调

为探究低氧下进行抗阻训练干预对骨骼肌中 Akt、FoxO1、MuRF、Atrogin-1 的影响,采用了 RT-PCR 和 Western 印迹对肌肉中以上基因 mRNA 和蛋白质表达水平进行了检测。结果如 Fig. 5 和 Fig. 4 所示,低氧抗阻训练组 (HR) 趾长伸肌和比目鱼肌中 Akt 的 mRNA 水平显著高于 H 组 ($P < 0.05$),从蛋白质表达上可看到 HR 组的比目鱼肌中 Akt 表达水平高于 H 组,差异具有显著性差异 ($P < 0.05$)。HR 组的比目鱼肌 FoxO1 的 mRNA 水平显著低于 H 组 ($P < 0.05$),HR 组趾长伸肌的 FoxO1 蛋白水平显著低于 H 组 ($P < 0.01$)。HR 组比目鱼肌和趾长伸肌中 Atrogin-1 的 mRNA 水平均显著低于 H 组 ($P < 0.01$),并且 HR 组两种肌肉中 MuRF 的蛋白质表达水平均低于 H 组,差异具有显著性 ($P < 0.01$)。

3 讨论

本研究的主要发现有以下 3 点:低氧诱导的骨骼肌萎缩会伴随 FoxO1、Atrogin-1、MuRF 的表达上调。抗阻训练具有抑制低氧诱导骨骼肌萎缩的效

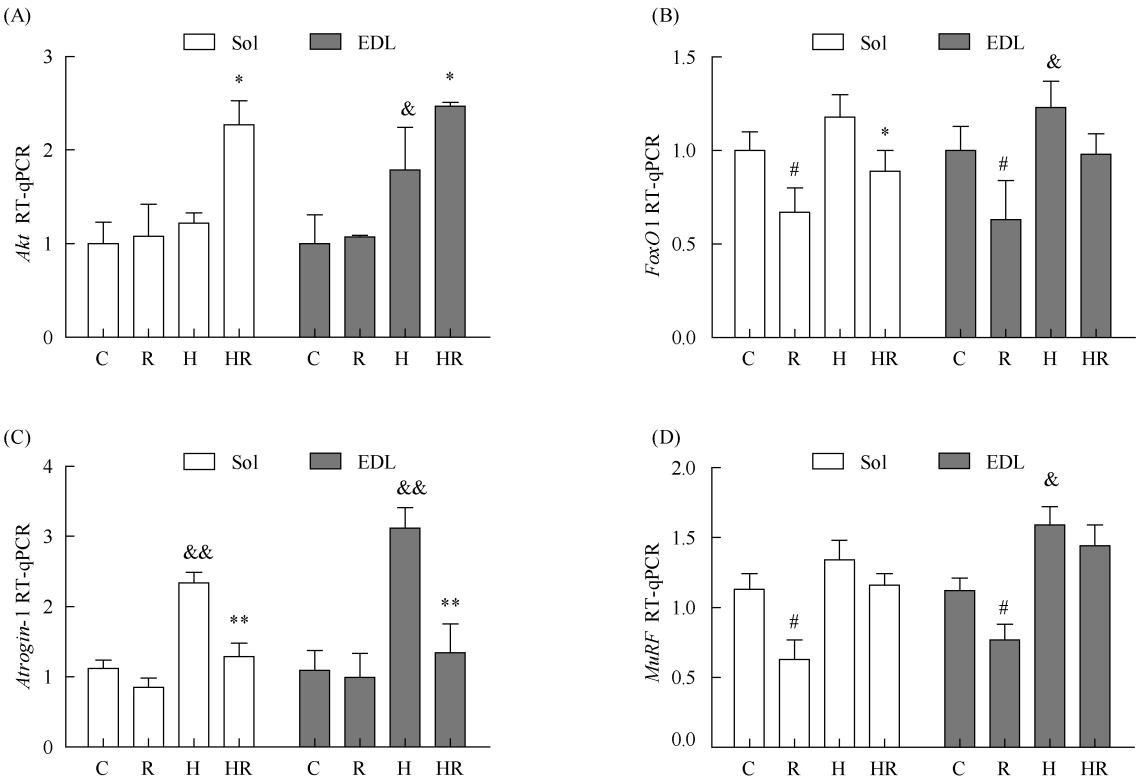


Fig. 4 The mRNA expression level of Akt, FoxO1, Atrogin-1 and Murf-1 in skeletal muscle RT-qPCR was used to detect the relative mRNA expression level of Akt (A), FoxO1 (B), Atrogin-1 (C) and MuRF (D) in skeletal muscle. Data represent mean \pm SD ($n = 12$). HR group vs. H group * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; H group vs. C group & $P < 0.05$, && $P < 0.01$; R group vs. C group # $P < 0.05$

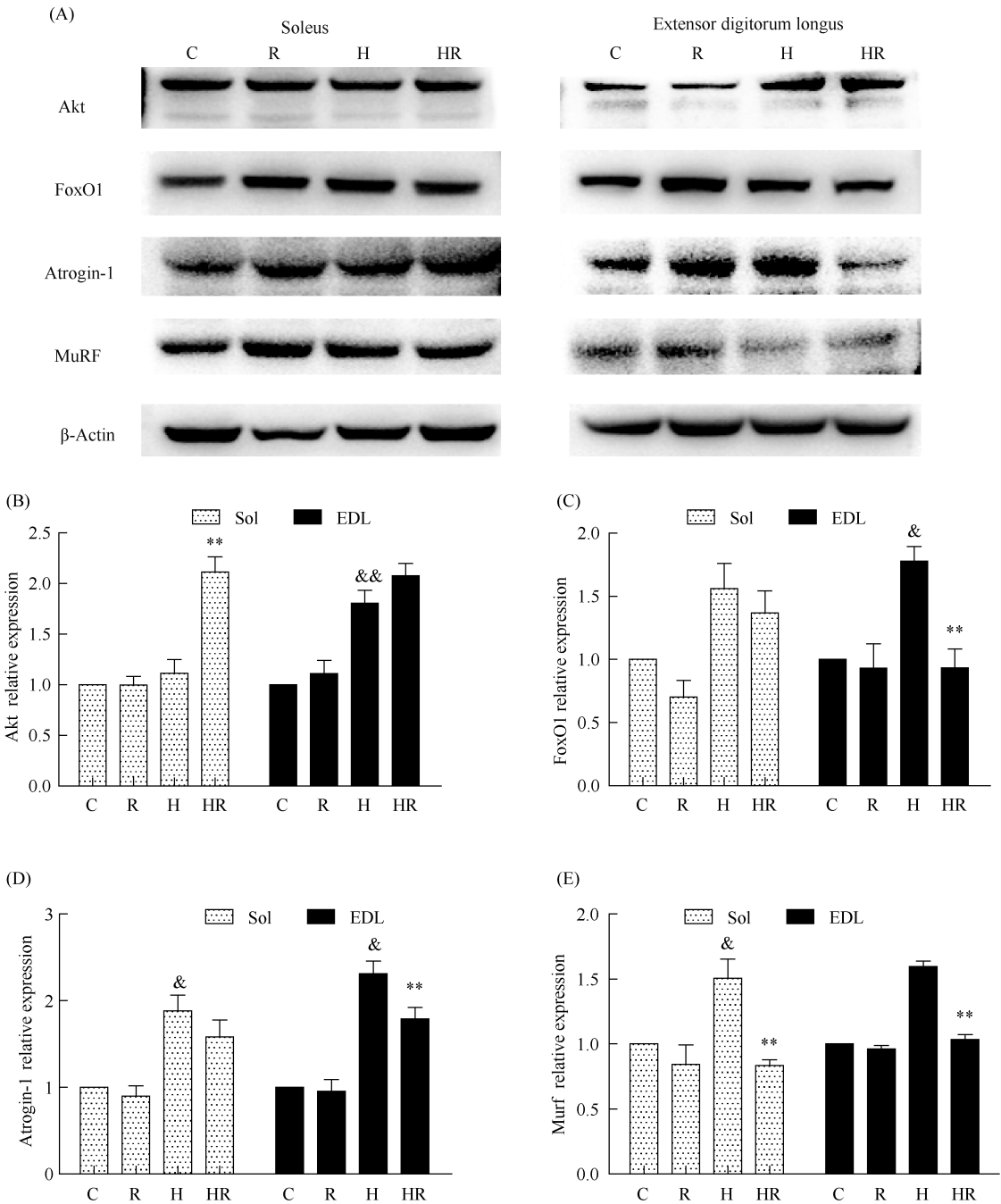


Fig. 5 Western blotting for Akt, FoxO1, Atrogin-1 and MuRF protein expression (A) The original images of protein expression by Western blotting. (B), (C), (D) and (E) present the relative protein expression of Akt, FoxO1, Atrogin-1 and MuRF in both soleus and extensor digitorum longus respectively. β -actin was used as the loading control. * represents Hypoxia Resistance group vs. Hypoxia group $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; & represents Hypoxia group vs. Control group $P < 0.05$, & $P < 0.01$

果。低氧下抗阻训练刺激骨骼肌中 Akt 的表达上调,促进 FoxO1 磷酸化以及 Atrogin-1 和 MuRF 的表达下调。

高原训练具有提升运动员有氧能力已得到普遍肯定,但高原训练实践过程中发现运动员力量丢失严重,其原因可能是低氧诱导的骨骼肌萎缩^[11, 12]。

早年关于登山探险的研究中提到,高原环境下人体力量下降、骨骼肌围度下降现象可能与低氧和营养不良相关^[13],而低氧刺激是造成骨骼肌萎缩的主要原因。Hoppeler 等报道^[14],在海拔 4 000 m 高原暴露 8 周会导致登山队员发生骨骼肌萎缩,肌力下降。研究表明,低氧环境造成骨骼肌质量下降,肌纤维横

断面积减少,而耐力性训练对于骨骼肌萎缩现象的缓解并不明显^[15]。近几年抗阻训练已成为健身爱好者的训练方式,抗阻训练能够有效促进骨骼肌肥厚,并抑制因衰老^[16]、疾病^[17]等引起的骨骼肌萎缩。

抗阻练习促进骨骼肌增长的机制研究主要集中在其诱发循环激素水平变化,以及通过细胞信号转导途径促进蛋白质合成这两个方面。FoxO1 是多条信号通路中重要的转录因子,近年来 FoxO1 作为能量代谢的一个新调节器和胰岛素信号靶目标而备受重视,其中 FoxO1 核定位和转录活性受到 IGF-1/PI3K/PKB 信号的调控^[18]。骨骼肌蛋白质降解的主要途径是泛素蛋白酶体系统,FoxO1 对 E3 泛素连接酶的表达具有调控作用。研究表明,FoxO1 脱磷酸化移入细胞核内,骨骼肌中的 MuRF1 和 Atrogin-1 表达上调,从而编码 E3 泛素连接酶加速蛋白质降解,引起骨骼肌萎缩^[19]。而 FoxO1 的表达受到抑制时,Atrogin-1 表达下降,减缓肌萎缩的发生^[20]。其活性受到磷酸化/去磷酸化的调控。FoxO1 蛋白中有 3 个高度保守的 PKB/Akt 磷酸化位点,分别为 Thr24、Ser256 和 Ser319^[21],其活性受到 Akt 磷酸化/去磷酸化的调控。Wagatsuma 等^[22]报道,成年或幼年小鼠相比衰老小鼠萎缩的腓肠肌,FoxO1 和 FoxO3 磷酸化的蛋白质表达较高。张凯等人研究不同训练方式下 FoxO1 蛋白表达变化对大鼠骨骼肌纤维类型的影响,发现抗阻训练组的腓肠肌、比目鱼肌湿重明显高于安静组,并伴随着磷酸化后 FoxO1 蛋白表达升高^[23]。也有研究发现,骨骼肌急性或长期的离心收缩,可导致大鼠股直肌中 FoxO1 mRNA 的表达改变^[24],运动可激活 AMPK 影响 FoxO 转录因子的表达。

在不同的肌萎缩模型中,MuRF1 和 Atrogin-1 的表达提高可以作为识别肌萎缩的现象,二者可编码 E3 泛素连接酶从而影响蛋白质泛素化效率。研究发现,慢性肺阻塞患者体内缺氧造成的骨骼肌萎缩会伴随 MuRF1 和 Atrogin-1 的表达增加^[25]。Zanchi 等对大鼠进行 3 个月抗阻训练后观察到骨骼肌的明显肥大,并且 MuRF1 和 Atrogin-1 分别下降了 41.64% 和 61.19%^[26],表明抗阻训练则有助于抑制二者的表达。本研究结果显示,4 周的模拟海拔 4 000 m 低氧环境适应后,大鼠比目鱼肌和趾长伸肌湿重下降,并且伴随着肌肉横截面积(cross sectional areas, CSA)的减小,而抗阻训练干预后趾长伸肌的横截面积明显高于低氧安静组,表明持续的低氧刺

激下进行抗阻训练有助于维持骨骼肌围度,同时可观察到骨骼肌细胞中 FoxO1 的细胞核外磷酸化增强,RT-PCR 和 Western 印迹结果则显示,低氧下进行抗阻训练抑制骨骼肌中 FoxO1、MuRF、Atrogin-1 的表达。

目前,各运动队高度重视高原训练中力量下降的问题,力图通过抗阻训练来抵抗力量的丢失,但由于对其发生机制了解甚少。在高原习服过程中,如何避免骨骼肌萎缩,不仅关系到运动员的训练效果,也涉及到普通人群正常体质的维持。运动抵抗低氧诱导骨骼肌萎缩的机制进行研究,不仅可探寻有效的训练方法,还将明确低氧造成骨骼肌萎缩的关键调控因子,为药物开发提供明确靶点。

参考文献 (References)

- [1] Bigard A X, Brunet A, Guezennec C Y, *et al.* Skeletal muscle changes after endurance training at high altitude [J]. *J Appl Physiol* (1985), 1991, **71** (6): 2114-2121
- [2] Geiser J, Vogt M, Billeter R, *et al.* Training high—living low: changes of aerobic performance and muscle structure with training at simulated altitude [J]. *Int J Sports Med*, 2001, **22** (8): 579-585
- [3] Perry B D, Caldow M K, Brennan-Speranza T C, *et al.* Muscle atrophy in patients with Type 2 Diabetes Mellitus; roles of inflammatory pathways, physical activity and exercise [J]. *Exerc Immunol Rev*, 2016, **22**: 94-109
- [4] Biondi O, Lopes P, Desseille C, *et al.* Physical exercise reduces cardiac defects in type 2 spinal muscular atrophy-like mice [J]. *Journal Physiol*, 2012, **590** (22): 7-25
- [5] Wang T, Zhao H, Gao H, *et al.* Expression and phosphorylation of FOXO1 influences cell proliferation and apoptosis in the gastrointestinal stromal tumor cell line GIST-T1 [J]. *Exp Ther Med*, 2018, **15** (4): 3197-3202
- [6] Awad H, Nolette N, Hinton M, *et al.* AMPK and FoxO1 regulate catalase expression in hypoxic pulmonary arterial smooth muscle [J]. *Pediatr Pulm*, 2014, **49** (9): 885-897
- [7] Liu Y, Wang X, Wu H, *et al.* Glycine enhances muscle protein mass associated with maintaining Akt-mTOR-FOXO1 signaling and suppressing TLR4 and NOD2 signaling in piglets challenged with LPS [J]. *Am J Physiol-Reg I*, 2016, **311** (2): R365-373
- [8] Kimura K, Cheng X W, Inoue A, *et al.* beta-Hydroxy-beta-methylbutyrate facilitates PI3K/Akt-dependent mammalian target of rapamycin and FoxO1/3a phosphorylations and alleviates tumor necrosis factor alpha/interferon gamma-induced MuRF-1 expression in C2C12 cells [J]. *Nutr Res*, 2014, **34** (4): 368-374
- [9] Su Y H, Su Z, Zhang K, *et al.* The changes of p-Akt/MuRF1/FoxO1 proteins expressions in the conditions of training and immobilization in rats' gastrocnemius muscle [J]. *Sheng li xue bao*, 2014, **66** (5): 589-596
- [10] Zhao W, Qin W, Pan J, *et al.* Dependence of dexamethasone-induced Akt/FOXO1 signaling, upregulation of MAFbx, and protein catabolism upon the glucocorticoid receptor [J]. *Bioche Bioph Res Co*, 2009, **378** (3): 668-672
- [11] Chapman R F, Laymon Stickford A S, Lundby C, *et al.* Timing of return from altitude training for optimal sea level performance [J]. *J Appl Physiol* (1985), 2014, **116** (7): 837-843
- [12] Chia M, Liao C A, Huang C Y, *et al.* Reducing body fat with altitude hypoxia training in swimmers: role of blood perfusion to skeletal muscles [J]. *Chinese J Physiol*, 2013, **56** (1): 18-25
- [13] Tanner D A, Stager J M. Partitioned weight loss and body composition changes during a mountaineering expedition: a field

study[J]. Wild Envir Med, 1998, **9**(3): 143-152

[14] Hoppeler H, Desplanches D. Muscle structural modifications in hypoxia[J]. Int Journal Sports Med, 1992, 13 Suppl 1 (S166-168)

[15] 胡扬. 关于高原训练中若干问题的思考[J]. 体育科研(Hu Y. Consideration on several problems in the plateau training[J]. Sport Sci Res), 2009, **30**(6): 865-868

[16] Guzzoni V, Ribeiro M B T, Lopes G N, *et al.* Effect of Resistance Training on Extracellular Matrix Adaptations in Skeletal Muscle of Older Rats [J]. Front Physiol, 2018, **9**: 374-385

[17] Russell R D, Hu D, Greenaway T, *et al.* Skeletal Muscle microvascular-Linked improvements in glycemic control from resistance training in individuals with type 2 diabetes [J]. Diabetes care, 2017, **40**(9): 1256-1263

[18] Clavel S, Siffroi-Fernandez S, Coldefy A S, *et al.* Regulation of the intracellular localization of Foxo3a by stress-activated protein kinase signaling pathways in skeletal muscle cells[J]. Mol Cell Bio, 2010, **30**(2): 470-480

[19] Lee D, Goldberg A L. SIRT1 protein, by blocking the activities of transcription factors FoxO1 and FoxO3, inhibits muscle atrophy and promotes muscle growth[J]. J Bio Chem, 2013, **288**(42): 515-526

[20] Kang J, Jeong M G, Oh S, *et al.* A FoxO1-dependent, but NRF2-independent induction of heme oxygenase-1 during muscle atrophy[J]. FEBS letters, 2014, **588**(1): 79-85

[21] Ha T S, Hong E J, Ahn E M, *et al.* Regulation of type IV collagen alpha chains of glomerular epithelial cells in diabetic conditions[J]. J Korean Med Sci, 2009, **24**(5): 837-843

[22] Wagatsuma A, Shiozuka M, Takayama Y, *et al.* Effects of ageing on expression of the muscle-specific E3 ubiquitin ligases and Akt-dependent regulation of Foxo transcription factors in skeletal muscle [J]. Mol Cell Biochem, 2016, **412**(1-2): 59-72

[23] 张凯. 不同运动形式 NFAT 和 FoxO1 的蛋白表达及骨骼肌纤维类型转换的研究[D]. 辽宁师范大学, 2013 (Zhang Kai. NFAT and FoxO1 expression changes and skeletal muscle fiber type conversion of the different forms of exercise [D]. Liaoning Normal University, 2013)

[24] Azad M, Khaledi N, Hedayati M. Effect of acute and chronic eccentric exercise on FOXO1 mRNA expression as fiber type transition factor in rat skeletal muscles[J]. Gene, 2016, **584**(2): 180-184

[25] Natanek S A, Riddoch-Contreras J, Marsh G S, *et al.* MuRF-1 and atrogin-1 protein expression and quadriceps fiber size and muscle mass in stable patients with COPD[J]. Copd, 2013, **10**(5): 618-624

[26] Zanchi N E, De Siqueira Filho M A, Lira F S, *et al.* Chronic resistance training decreases MuRF-1 and Atrogin-1 gene expression but does not modify Akt, GSK-3beta and p70S6K levels in rats[J]. Eur J Appl Physiol, 2009, **106**(3): 415-423

(上接 1044)

陈诗书先生 1955 年本科毕业于上海第二医学院, 1955 – 1959 年师从北京医学院生物化学老前辈刘思职教授从事生物化学研究, 刘思职教授为我国生物化学创始人吴宪先生的学生。陈先生是我国医学分子生物学研究的先驱, 他曾于八十年代初期留学美国, 在美国 Memorial Sloan Kettering 癌症中心, Rockefeller 大学及 Mount Sinai 医学中心交流学习。回国后即投入上海第二医科大学分子生物学学科和实验室建设。在国内成立了第一家"人类基因治疗研究中心", 建立了医学院校第一个分子生物学博士点。他以渊博的学识, 坚实的基础和丰富的研究经验, 在分子免疫学、肿瘤分子生物学、基因诊断、基因治疗等方面取得了一系列出色的研究成果, 并获得各种科技进步成果奖 20 多次, 发表论文 300 余篇, 曾主持国家 863 生物医药重点项目相关课题研究。

陈先生亦是一位优秀的学科发展倡导与推进者, 他在担任生化学会理事长期间, 积极推动分子生物学研究在国内的普及。他担任了相关专业杂志的编委, 如《生物化学与生物物理学报》、《中国生物化学与分子生物学报》、《生命的化学》、《中国肿瘤生物治疗杂志》等。此外, 他还编写了影响国内几代人的《医学细胞与分子生物学》和《医学生物化学》等教材, 为我国的分子生物学学科建设做出了积极的贡献。

作为一名老师, 陈先生为人低调, 倡导实事求是的科学精神和求真求实的作风, 他精深的学术造诣、严谨的治学作风和高尚的为人风范, 是学生们学习的好榜样。自古明师出高徒, 他培养出优秀学子 50 多名, 分布于世界各地, 多有建树。他于 1978 年荣获上海市先进科技工作者, 1989 年荣获全国优秀教师, 1990 年荣获上海市劳动模范, 1991 年荣获享受国务院政府特殊津贴, 是一位杰出的教育家。

鹤发银丝映日月, 桃李满园展笑颜! 最后, 衷心地祝福陈诗书老先生九十岁生日快乐, 健康长寿。