

小鼠骨骼肌细胞蛋白激酶 B 底物 160 在有氧运动促进葡萄糖转运体 4 转运中的作用*

李慧阁¹ 牛燕媚¹ 刘彦辉¹ 苏照鹏¹ 傅力^{1,2,3}

摘要

目的: 通过研究有氧运动对 C57BL/6 小鼠骨骼肌细胞蛋白激酶 B (PKB/Akt) 底物蛋白 160 (AS160) 和葡萄糖转运体 4 (GLUT4) 表达的影响,探讨 AS160 在调节细胞葡萄糖转运过程中的作用及有氧运动影响骨骼肌细胞葡萄糖代谢的生物学机制。

方法: 20 只 16 周龄、雄性 C57BL/6 小鼠,随机分为安静组 (NC, n=10) 和运动组 (NE, n=10);运动组进行为期 6 周、75% VO_{2max} 强度的有氧跑台训练。6 周训练结束后 24h,动物麻醉后取材。采用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR) 检测骨骼肌组织 AS160、GLUT4 基因表达;免疫印迹杂交 (Western blot) 和免疫荧光染色 (IF) 分别检测骨骼肌细胞 AS160、pAS160-Thr⁶⁴² 和 GLUT4 蛋白表达及定位。

结果: 与 NC 组相比,NE 组小鼠骨骼肌细胞 AS160 mRNA 和蛋白表达差异无显著性,但 pAS160-Thr⁶⁴² 表达显著增加;NE 组小鼠骨骼肌细胞 GLUT4 mRNA 和蛋白表达较 NC 组显著增加,GLUT4 向细胞膜迁移明显增加。

结论: 有氧运动显著增强骨骼肌细胞 pAS160-Thr⁶⁴² 的活性,增强 GLUT4 表达及促进 GLUT4 向细胞膜转移,促进骨骼肌细胞对葡萄糖的摄取和利用。

关键词 蛋白激酶 B 底物 160;有氧运动;葡萄糖转运体 4

中图分类号: R873, R493 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1242(2010)-06-0501-06

The potential role of protein kinaseB/Akt substrate 160 in the process of aerobic exercises improving glucose transporter 4 trafficking/LI Huige, NIU Yanmei, LIU Yanhui, et al//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2010, 25(6): 501—506

Abstract

Objective: To study the regulatory effect of AKt substrate160(AS160) in aerobic exercises improving skeletal muscle glucose transport, and to explore the expression of AS160 and glucose transporter4 (GLUT4) gene and protein in C57BL/6 mice skeletal muscle.

Method: Twenty male aged 16-week C57BL/6 mice were divided into control group (NC) and exercises group (NE) randomly. NE mice underwent 6-week treadmill training. Exercises training consisted of motorized treadmill running for 1h/d, 5 d/week at an intensity of 75% VO_{2max} ; reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot were applied to detect AS160 and GLUT4 gene and AS160, pAS160-Thr⁶⁴² and GLUT4 protein expressions in skeletal muscle. Immunofluorescence was used to detect the expressions and locations of AS160, pAS160-Thr⁶⁴² and GLUT4.

Result: The expressions of AS160 gene and protein had no difference between two groups, however there was significant increment in pAS160-Thr⁶⁴² expression in NE group compared to that in NC group; while the expressions of both GLUT4 mRNA and protein increased significantly in NE group compared to that in NC group. Moreover,

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2010.06.003

* 基金项目:国家自然科学基金(30871213);天津市应用基础和前沿技术重点项目(09JCZDJC17400);天津市重大攻关项目(05YFGDSF02100)

1 天津体育学院健康与运动科学系,300381; 2 天津医科大学康复与运动医学系; 3 通讯作者

作者简介:李慧阁,女,硕士; 收稿日期:2009-06-24

immunofluorescence staining further supported the Western blot results, and there is significant increase of GLUT4 translocating towards cell membrane.

Conclusion: Aerobic exercises can promote the activity of Akt/AS160 signaling pathway in mouse skeletal muscle by increasing the expression of pAS160-Thr⁶⁴², and then elevated the expressions of GLUT4 gene and protein, promote GLUT4 translocating towards cell membrane and skeleton muscle cells intaking and utilizing glucose.

Author's address Tianjin University of Sport,300381

Key words protein kinase B/Akt substrate160;aerobic exercises; glucose transporter 4

蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB/Akt) 的底物蛋白 AS160 (Akt Substrate 160) 属 Rab GTP 激活蛋白,可在多个丝氨酸/苏氨酸位点上被 Akt 磷酸化,参与葡萄糖转运体 4 (glucose transporter 4, GLUT 4) 转运和组织细胞对葡萄糖的摄取与利用,并且在胰岛素受体底物 (insulin receptor substrate-1, IRS-1) - 磷脂酰肌醇激酶 3 (PI3K)-PKB/Akt-AS160-GLUT4 信号途径调控细胞葡萄糖转运过程中起着重要作用^[1]。研究发现,除了受胰岛素影响之外,AS160 在参与调节细胞 GLUT4 的易位过程中还受到其他因素的影响,如腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK)、蛋白钙调素激酶 II (CAMK II)、蛋白激酶 C (PKC) 和骨骼肌离体收缩等,因此成为组织细胞信号通路中一个关键的信号汇聚点^[2-3],即 AS160 参与的细胞信号传导不仅是胰岛素信号敏感型通路,还与骨骼肌收缩/运动相关信号传导通路密切相关。然而,目前有关运动因素影响其磷酸化活性的研究结果尚存有争议。

骨骼肌是机体利用葡萄糖的最主要组织。骨骼肌细胞胰岛素信号功能紊乱是机体发生胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 的主要诱因。大量研究证实^[4-5],长期规律的有氧运动能够提高组织细胞能量代谢相关细胞核转录因子的活性、增强机体组织糖代谢和脂代谢能力,从而改善机体组织对胰岛素的敏感性。但其生物学机制目前仍不完全明确。本研究通过观察有氧运动对 C57BL/6 小鼠骨骼肌组织 AS160 和 GLUT4 基因和蛋白表达的影响,探讨有氧运动在改善骨骼肌组织葡萄糖代谢过程中的作用机制,以期能为有氧运动防治 IR 及相关代谢性疾病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

实验选用 20 只 16 周龄雄性 C57BL/6 小鼠,体重为 28.60 ± 0.75 g,由军事医学科学院实验动物中心提供。实验动物购入后饲以基础饲料,其间自由饮水,动物室温度保持在 23 ± 2 ,湿度为 30%—40%,光照 12h/d。动物适应性喂养 1 周后,随机分为正常饮食组 (NC, n=10) 和正常运动组 (NE, n=10),运动组动物进行为期 6 周跑台训练。

1.2 运动方案

运动组 (NE) 小鼠首次训练前进行为期 1 周的跑台适应性训练,控制跑台坡度为 0° ,速度为 10 m/min (运动强度相当于 50% VO_{2max}),时间为 20 min;随后逐渐递增跑台速度,直至达到 12m/min (运动强度相当于 75% VO_{2max})^[6]。一周适应性训练后,连续进行 1 次/d,60 min/次,5 次/周,为期 6 周的跑台训练。

1.3 检测指标

1.3.1 标本采集:6 周跑台训练结束后,将各组小鼠禁食 12h,麻醉后分离骨骼肌组织,置于液氮保存以备提取 RNA 和蛋白质。取部分小鼠腓肠肌以 4% 多聚甲醛溶液固定 2—3h,30% 蔗糖溶液 4℃ 脱水后以 OCT 包埋,于 -80°C 冰箱保存,以备制备组织冰冻切片。

1.3.2 采用逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测骨骼肌组织 AS160 和 GLUT4 mRNA 表达:采用 Trizol 法提取骨骼肌组织总 RNA,分光光度计测定 RNA 浓度和纯度。以提取的总 RNA 为模板,用 Fermentas 公司 Revert AidTM First Strand cDNA 合成试剂盒来合成 cDNA 第一链;然后以 cDNA 为模板,PCR 反应扩增模板 DNA。PCR 所采用引物序列见表 1。PCR 产物以 1% 琼脂糖凝胶电泳,在凝胶成像仪下观察目的片断,照相保存备用于统计分析。

1.3.3 采用 Western 印迹技术 (Western blot) 检测

表1 PCR引物

基因	产物	引物序列
AS160 (NM001081278)	498bp	5'ATGACAGCCTGCCCGAGAAG3' 5'TGGCGCACTGGAACACATAAC3'
GLUT4 (NMAB008453)	543bp	5'ACCGGCTGGGCTGATGTGTC3' 5'CCAGTTGGAGAAACCAGCGAC3'

骨骼肌组织 AS160、GLUT4 和 pAS160-Thr⁶⁴² 蛋白表达:采用 NP-40 法提取骨骼肌蛋白,蛋白经分光光度仪定量后在垂直电泳仪 (BIO-RAD) 上用等量蛋白质样品经 12% SDS-PAGE 分离后,转移于 PVDF 膜 (Millipore) 上 (30V,1h)。PVDF 膜经 10% 脱脂奶粉封闭 1h 后,用 5% 牛血清白蛋白 (BSA) 分别按 1:1000、1:1000 和 1:5000 稀释一抗 (Upstate,Rabbit anti mouse AS160;Upstate,Rabbit anti mouse pAS160-Thr⁶⁴²;CST,Monoclonal anti GLUT4),4℃ 孵育过夜。次日膜经 1×TBST 洗涤 3 次,每次 5 min,再用 5% 脱脂奶粉按照 1:10000 分别稀释二抗 (Invitrogen,HRP-conjugated Goat anti rabbit polyclone IgG; Invitrogen,HRP-conjugated Rabbit anti-mouse IgG),室温孵育 1h,1×TBST 充分洗涤后,使用 ECL Plus 试剂盒 (Millipore) 发光显影,胶片曝光,扫描定量各信号条带的相对灰度值。

1.3.4 采用免疫荧光染色 (IF) 测定骨骼肌 AS160、pAS160-Thr⁶⁴² 和 GLUT4 蛋白表达:从腓肠肌中段切取直径约 5mm 组织块,剔除肌膜,OCT 包埋。切片厚度为 8—10μm,置于-20℃ 保存。实验前切片经室温复温 1h,后用 100μl 封闭液封闭 1h。期间用抗体稀释液按 1:50 稀释一抗 (Upstate,Rabbit anti mouse AS160;Upstate,Rabbit anti mouse pAS160-Thr⁶⁴²;CST,Monoclonal anti GLUT4),4℃ 孵育过夜。次日 1×PBS 洗片 3 次,后用抗体稀释液按 1:2000 比例稀释二抗,加入稀释后的二抗 100μl (Alexa Fluor@488 Goat anti-rabbit IgG,Invitrogen; Alexa Fluor@555 Goat anti-mouse IgG,Invitrogen),室温避光孵育 1h。最后加入 1×Hoechst 孵育 5min,1×PBS 洗片 3 次,每次 5min,Fluoromount G 封片后于 ZEISS Confocal 显微镜下扫描摄像。

1.4 统计学分析

所有实验数据由 SPSS 11.5 统计软件处理,计算均值和标准差,数据采用单因素方差分析。显著性

水平定为 $P<0.05$ 。

2 结果

2.1 有氧运动对小鼠骨骼肌 AS160 基因和蛋白及 pAS160-Thr⁶⁴² 表达的影响

RT-PCR 检测结果显示,6 周有氧运动后 NE 组小鼠骨骼肌 AS160 mRNA 表达较 NC 组无显著性差异 (见表 2,图 1);Western blot 检测显示 NE 组骨骼肌 AS160 蛋白表达无显著变化 (见图 2)。免疫荧光染色结果 (见图 6) 显示与 Western blot 结果符合,运动组小鼠骨骼肌细胞 AS160 蛋白无显著性变化,但 pAS160 Thr⁶⁴² 表达显著高于 NC 组 (见图 3)。

2.2 骨骼肌 GLUT4 基因和蛋白表达

RT-PCR 和 Western blot 检测结果显示 (如表 3,图 4,5),有氧运动后,运动组小鼠骨骼肌细胞 GLUT4 基因和蛋白表达分别显著增加 26.25% ($P<0.01$) 和 12.82% ($P<0.05$),且从免疫荧光结果也可以看出 GLUT4 蛋白表达显著增强,且 GLUT4 有明显的从胞浆向细胞膜转移的现象 (见图 7)。

表2 骨骼肌 AS160 mRNA 和蛋白及 pAS160-Thr⁶⁴² 蛋白表达变化 (n=6)

组别	AS160 mRNA (对照的%)	AS160 蛋白 (对照的%)	pAS160-Thr ⁶⁴² 蛋白 (对照的%)
NC 组	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
NE 组	95.17±8.70	95.19±7.67	116.20±4.53 ^①

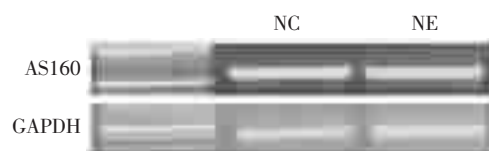
①两组相比 $P<0.05$

表3 骨骼肌中 GLUT4 mRNA 和蛋白表达变化 (n=6)

组别	GLUT4 mRNA (对照的%)	GLUT4 蛋白 (对照的%)
NC 组	100.00±0.00	100.00±0.00
NE 组	126.25±6.82 ^①	112.82±5.48 ^②

两组相比:① $P<0.01$,② $P<0.05$

图1 RT-PCR 检测骨骼肌 AS160 mRNA 表达



3 讨论

葡萄糖跨膜转运主要通过细胞膜上 GLUT4 来完成。在安静状态下,GLUT4 主要位于细胞浆和内

图 2 Western Blot 检测骨骼肌 AS160 蛋白表达

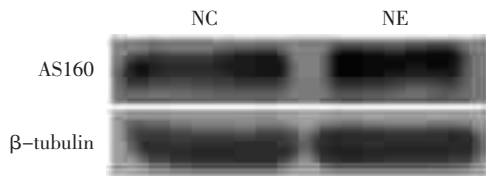


图 4 RT-PCR 检测骨骼肌 GLUT4 mRNA 表达

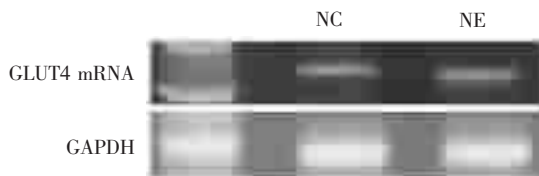


图 6 免疫荧光染色检测骨骼肌 AS160 和 GLUT4 蛋白表达

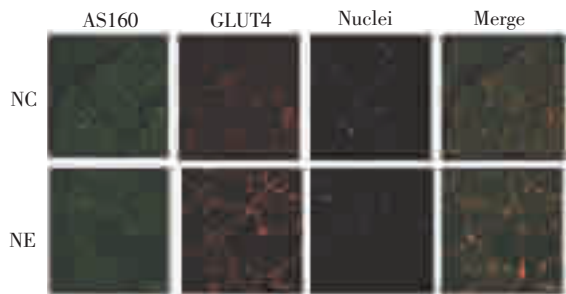


图 3 Western Blot 检测骨骼肌 pAS160-Thr⁶⁴²

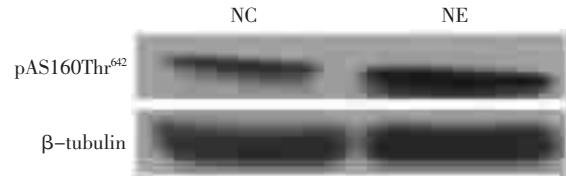


图 5 Western Blot 检测骨骼肌 GLUT4 蛋白表达

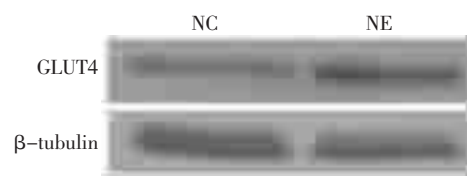
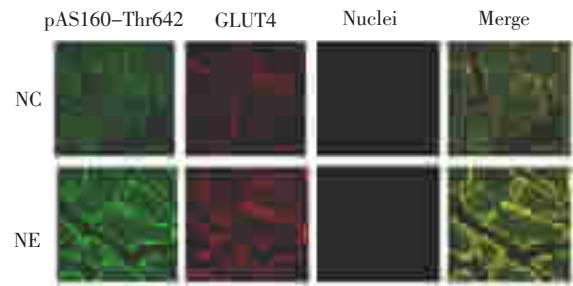


图 7 免疫荧光染色检测骨骼肌 pAS160 Thr⁶⁴² 和 GLUT4 蛋白表达



膜部位,只有大约 2% 存在于细胞外膜上。在胰岛素刺激下, GLUT4 由细胞内向细胞外膜转运, 以发挥其转运葡萄糖的作用^[5]。患有糖尿病的人或动物的骨骼肌细胞 GLUT4 基因表达水平下降, 细胞外膜及细胞内膜上 GLUT4 含量均减少, 最终导致骨骼肌细胞转运和摄取葡萄糖能力降低^[8-9]。

耐力性运动可导致由胰岛素介导的葡萄糖摄取增加, 部分原因是由于增加了胰岛素信号相关蛋白的表达和活性, 同时也增加了对胰岛素信号敏感的 GLUT4 的表达, 这种现象在骨骼肌细胞中表现的尤为明显^[28-31]。本研究结果显示, NE 组小鼠骨骼肌细胞 GLUT4 基因和蛋白表达较 NC 组均显著增加, 并且发现 GLUT4 在运动后的表达主要存在于细胞膜上(图 7), 这一现象提示 6 周有氧运动能够显著增加骨骼肌细胞的葡萄糖转运, 从而增强骨骼肌组织对葡萄糖的摄取和利用。有研究表明^[10-11], 在葡萄糖转运子囊泡的形成、移位和融合过程中, 每一阶段均

由某些特异性 Rab 蛋白参与完成。AS160 蛋白结构中 Rab GAP 区通过对一些特异性 Rab 蛋白进行调节, 参与完成胰岛素介导的葡萄糖转运过程。在安静状态下, 其结构中 GAP 活性区将一些协助 GLUT4 转运的特异性 Rab 蛋白固定在其周围, 从而把 GLUT4 固定在细胞间隙内; 在运动刺激或在特定条件下被磷酸化激活后, 其 GAP 区失活, 解除了对 Rab 蛋白的限制作用。被释放的 Rab 蛋白处于 GAPase 活化状态, 促进了 GLUT4 向细胞膜移位。AS160 发生磷酸化的同时也促进了胰岛素刺激 GLUT4 囊泡的胞吐作用^[10]。Hakan 等研究发现在 2 型糖尿病 (T2DM) 患者的骨骼肌组织, 由胰岛素介导的 AS160 磷酸化活性下降引发了葡萄糖代谢失调^[12]。

运动可以增强调节细胞代谢和转录过程中一系列信号蛋白的活性, 促进骨骼肌细胞对葡萄糖的摄取和利用。Sakamoto 等研究发现, 当正常受试者进

行不同强度的自行车运动后,其骨骼肌细胞 Akt-AS160-GLUT4 信号蛋白的活性随着运动强度的增加而显著上升^[13-15],提示 Akt-AS160 活性的增强可能是运动促进骨骼肌细胞 GLUT4 转运的一个重要因素。另有研究发现当分离大鼠骨骼肌进行离体收缩^[15-17]或对大鼠施以跑台运动刺激时,其骨骼肌细胞 Akt-AS160-GLUT4 信号传导活性均显著增加^[16-19]。相反,也有研究发现无论是进行耐力性运动还是抗阻训练后均未观察到 Akt 蛋白表达增加或 Akt 磷酸化活性的增强^[18,20-21]。综合上述研究结果可以推测,运动诱导 Akt-AS160 发生磷酸化在不同形式、强度和时间的运动刺激下可表现出不同表达状态^[2]。Hawley 等的研究发现当对肥胖或 IR 患者进行重复性运动训练后其骨骼肌细胞对胰岛素信号的敏感性持续增加,从而增强了骨骼肌细胞对葡萄糖的摄取和利用。同时长期的有氧运动还可以改变其他与细胞代谢相关蛋白如:AMPK,mTOR/S6K1,PPAR α 和 AS160 的活性从而提高细胞对胰岛素信号的敏感性^[22,32-34]。

鉴于目前有关运动对 Akt-AS160-GLUT4 信号通路影响研究的不确定性,本实验以正常 C57BL/6 小鼠为对象,对其施以为期 6 周、75% VO_{2max} 度的有氧跑台运动。我们的研究发现,与安静对照组相比,运动组骨骼肌细胞 GLUT4 和 pAS160-Thr⁶⁴² 蛋白表达显著提高(见图 3—5),提示该时间和强度的有氧运动可有效地促进骨骼肌细胞 AS160-GLUT4 蛋白表达和 GLUT4 的活性。Frosig 等采用正常受试者进行为期 3 周的耐力训练,研究发现其骨骼肌细胞 AS160 的磷酸化和 GLUT4 表达显著上调^[23]。因此,运动可能增强胰岛素信号通路中参与葡萄糖转运及代谢的一些信号蛋白的活性,从而促进机体细胞对葡萄糖的摄取和利用。进一步研究发现,AS160 的钙调素蛋白结合区激活后也可参与调控骨骼肌收缩介导的葡萄糖转运^[25]。AS160 可能是众多信号分子调控 GLUT4 转运的共同作用位点^[13,24,26]。越来越多的研究相继证实 AS160 同时受机体内其他几种激酶所调节,如 PKC、CaMK 等。但是这几种激酶在机体内的生理机制尚未完全确定^[13-14,22-23]。

本实验还发现 6 周有氧跑台训练后,AS160

mRNA 和蛋白表达略有降低,但这些变化均无显著性(见图 1—2)。虽然有氧运动对骨骼肌 AS160 mRNA 和蛋白表达无显著影响,但却显著增强了 pAS160-Thr⁶⁴²、GLUT4 的表达,提示有氧运动促进 GLUT4 蛋白表达和转运增加可能是通过增强 AS160 磷酸化活性来实现的。因此,有氧运动通过调节 GLUT4 的转运来增强机体对葡萄糖的摄取和利用,能够在一定程度上预防葡萄糖代谢异常和 IR 的发生。

4 结论

Rab 结合蛋白 AS160 作为一个新发现的调节 GLUT4 转运的因子,在参与 GLUT4 转运和机体葡萄糖摄取与利用过程中起着关键作用。该通路信号传导异常是引起糖代谢异常和 IR 发生发展的核心环节。有氧运动通过激活 AS160-GLUT4 信号通路,促进骨骼肌细胞对葡萄糖的摄取和利用,从而提高机体葡萄糖代谢水平,为将有氧运动作为临床预防 IR 和 T2DM 的辅助手段提供了理论依据。

参考文献

- [1] Kane S, Sano H, Liu SC, et al. A method to identify serine kinase substrates. Akt phosphorylates a novel adipocyte protein with a Rab GTPase-activating protein (GAP) domain[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277:22115—22111.
- [2] Apiradee S, Coletta DK, Estela W, et al. Effect of Acute Exercise on AMPK Signaling in Skeletal Muscle of Subjects With Type 2 Diabetes[J]. *Diabetes*, 2007, 56:836—848.
- [3] Sano H, Eiguez L, Teruel MN, et al. Rab10, a target of the AS160 Rab GAP, is required for insulin-stimulated translocation of GLUT4 to the adipocyte plasma membrane[J]. *Cell Metab*, 2008, 5: 293—303.
- [4] Michael PC, Stefania LF, Roger AF. Skeletal muscle lipid deposition and insulin resistance: effect of dietary fatty acids and exercise[J]. *Am J Clinical Nutrition*, 2007,85: 662—677.
- [5] Bente Kiens. Skeletal Muscle Lipid Metabolism in Exercise and Insulin Resistance[J]. *Physiol Rev*, 2006, 86: 205—243.
- [6] Fernando P, Bonen A, Hoffman-Goetz L. Predicting submaximal oxygen consumption during treadmill running in mice [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 1993, 71:854—857.
- [7] Dela F, Ploug T, Handberg A, et al. Physical Training Increases Muscle GLUT4 Protein and mRNA in Patients with NIDDM[J]. *Diabetes*, 1994, 43(11):862—866.
- [8] Marette A, Atgie C, Liu Z. Differential Regulation of GLUT1

- and GLUT4 Glucose Transporter Capacity in Skeletal Muscle of A New Model of Type Diabetes, the Obese SHR/Ncp Rat[J]. Diabetes, 1993, 42:1195—1200.
- [9] Kennedy JW, Hirshman MF, Gervino EV, et al. Acute Exercise Induces GLUT4 Translocation in Skeletal Muscle of Normal Human Subjects and Subjects with Type2 Diabetes[J]. Diabetes, 1999, 48(5):1192—1197.
- [10] Thong FS, Dugani CB, Klip A. Turning signals on and off: GLUT4 traffic in the insulin—signaling highway [J]. Physiology, 2005, 20:271—284.
- [11] Marino Zerial, Heidi McBride. RAB Proteins As Membrane Organizers[J]. Molecular Cell Biology, 2001, 2:107—109.
- [12] Leng Y, Karlsson HK, Zierath JR. Insulin signaling defects in type 2 diabetes [J]. Rev Endocr Metab Disord, 2004, 5:111—117.
- [13] Sakamoto K, Arnolds DEW, Ekberg I, et al. Exercise regulates Akt and glycogen synthase kinase 3 activities in human skeletal muscle[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 319: 419—425.
- [14] Deshmukh A, Coffey VG, Zhong ZH, et al. Exercise—induced phosphorylation of the novel Akt substrates AS160 and filamin A in human skeletal muscle [J]. Diabetes, 2006, 55:1776—1782.
- [15] Bruss MD, Arias EB, Lienhard GE, et al. Increased phosphorylation of Akt substrate of 160 kDa (AS160) in rat skeletal muscle in response to insulin or contractile activity [J]. Diabetes, 2005, 54, 41—50.
- [16] Sakamoto K, Hirshman MF, Aschenbach WG, et al. Contraction regulation of Akt in rat skeletal muscle [J]. J Biol Chem, 2002, 277:11910—11917.
- [17] Turinsky J, Damrau—Abney A. Akt kinases and 2—deoxyglucose uptake in rat skeletal muscles in vivo: study with insulin and exercise [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 1999, 276:R277—R282.
- [18] Nader GA, Esser KA. Intracellular signaling specificity in skeletal muscle in response to different modes of exercise[J]. J Appl Physiol, 2001, 90:1936—1942.
- [19] Sakamoto K, Aschenbach WG, Hirshman MF. Akt signaling in skeletal muscle: regulation by exercise and passive stretch[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2003, 285: E1081—E1088.
- [20] Krisan AD, Collins DE, Crain AM, et al. Resistance training enhances components of the insulin signaling cascade in normal and high—fat—fed rodent skeletal muscle [J]. J Appl Physiol, 2004, 96:1691—1700.
- [21] Lund S, Pryor PR, Ostergaard S, et al. Evidence against protein kinase B as a mediator of contraction—induced glucose transport and GLUT4 translocation in rat skeletal muscle[J]. FEBS, 1998, 425:472—474.
- [22] Hawley JA, Lessard SJ. Exercise training—induced improvements in insulin action[J]. Acta Physiol, 2008, 192:127—135.
- [23] Frosig C, Rose AJ, Treebak JT, et al. Effects of endurance exercise training on insulin signaling in human skeletal muscle—interactions at the level of PI3—K, Akt and AS160[J]. Diabetes, 2007, 56:2093—2102.
- [24] Nadeeja W, Thong SL, Antonescu CN, et al. Diverse signals regulate glucose uptake into skeletal muscle [J]. Canadian Journal of Diabetes, 2006, 30(1):80—88.
- [25] Kramer HF, Taylor EB, Witezak CA, et al. Calmodulin—Binding Domain of AS160 Regulates Contraction—but Not Insulin—Stimulated Glucose Uptake in Skeletal Muscle [J]. Diabetes, 2007, 56:2854—2862.
- [26] Thong FS, Bilan PJ, Klip A. The Rab GTPase—activating protein AS160 Integrates Akt, Protein Kinase C, and AMP—Activated Protein Kinase Signals Regulating GLUT4 Traffic[J]. Diabetes, 2007, 56:414—423.
- [27] Witezak CA, Fujii N, Hirshman MF, et al. Ca²⁺/calmodulin—dependent protein kinase kinase α regulates skeletal muscle glucose uptake independent of AMP—activated protein kinase and Akt activation[J]. Diabetes, 2007, 56:1403—1409.
- [28] Christy CY, Hunt D, Hancock J, et al. Exercise training improves muscle insulin resistance not insulin receptor signaling in obese Zucker rats [J]. J Appl Physiol, 2002, 92: 736—744.
- [29] Ezaki O, Higuchi M, Nakatsuka H, et al. Exercise training increases glucose transporter content in skeletal muscles more efficiently from aged obese rats than young lean rats [J]. Diabetes, 1992, 41:920—926.
- [30] Jessen N, Pold R, Buhl ES, et al. Effects of AICAR and exercise on insulin—stimulated glucose uptake, signaling, and GLUT—4 content in rat muscles [J]. J Appl Physiol, 2003, 94: 1373—1379.
- [31] Luciano E, Carneiro EM, Carvalho CRO, et al. Endurance training improves responsiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3—kinase/Akt pathway[J]. Eur J Endocrinol, 2002, 147: 149—157.
- [32] 苑红, 牛燕媚, 刘彦辉, 等. mTOR/S6K1 信号通路与有氧运动改善高脂饮食诱导胰岛素抵抗小鼠之间关系的研究 [J]. 中国康复医学杂志, 2009, 24(4): 297—302.
- [33] 张玥, 姜宁, 苏丽, 等. PPAR α 与运动改善脂质代谢的关系研究[J]. 中国康复医学杂志, 2008, 23(6): 495—498.
- [34] 曹师承, 孙黎光, 叶立平, 等. 耐力运动对大鼠骨骼肌 PKB 磷酸化与表达的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2009, 24(5): 416—418.