

有氧运动促进老年前期小鼠快缩型骨骼肌蛋白质合成代谢的研究*

熊伟平¹ 夏志^{2,3}

摘要

目的:探讨中等强度有氧运动对老年前期小鼠快缩型骨骼肌蛋白质合成代谢的保护作用及其可能性机制。

方法:20只13月龄雄性CD-1小鼠根据体重随机纳入对照组(C组)与有氧运动干预组(E组),运动组以自体重3%的负荷进行8周游泳训练,每日训练1次,每次45min,每周训练6天。末次运动后24h处死小鼠(禁食17h),采用便携式血糖仪检测血糖,氨基酸分析仪检测血浆游离氨基酸谱,酶联免疫法检测血清胰岛素,BCA法进行蛋白定量,免疫印迹法检测mTOR^{Ser2448}、4E-BP1^{Thr37/46}与p70S6K^{Thr389}磷酸化表达以及MHC II蛋白表达。

结果:与对照组(C组)小鼠相比,有氧运动干预组(E组)小鼠血浆游离氨基酸水平表现出下降趋势,其中亮氨酸、谷氨酸与甘氨酸含量下降显著($P<0.01$)。腓肠白肌蛋白质总量、mTOR^{Ser2448}、4E-BP1^{Thr37/46}、p70S6K^{Thr389}磷酸化表达与MHC II蛋白表达均明显升高,有显著性意义($P<0.01$)。

结论:中等强度有氧运动可以促进老年前期小鼠快缩型骨骼肌蛋白质合成,可能具有削弱衰老性肌肉萎缩发生发展的潜力,其作用机制可能涉及肌细胞内mTOR/p70S6K信号通路的活化。

关键词 有氧运动;衰老;快缩型骨骼肌;蛋白质合成

中图分类号:R493,R685 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2016)-12-1311-007

Aerobic exercise promotes protein synthesis in fast-twitch skeletal muscle of pre-senile mice/XIONG Weiping, XIA Zhi//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2016, 31(12): 1311—1317

Abstract

Objective: To investigate the protective effect and possible mechanism of moderate intensity aerobic exercise on protein synthesis in fast-twitch skeletal muscle of pre-senile mice.

Method: Twenty thirteen-month-old male CD-1 mice were randomly divided into normal control group and aerobic exercise group by body weight. Mice received 8 weeks moderate swimming exercise training with 3% body weight workload, 45min/day, +6 days/w. Twenty four hours after the final exercise bout (17 h fasting), mice were all sacrificed. The amino acids analyzer was used to determine the profile of plasma free amino acids. The blood glucose was determined by the blood glucose meter. The serum insulin content was detected by enzyme linked immunosorbent assay. The total protein content in white gastrocnemius muscles was detected by BCA protein assay. And at the same time, the phosphorylation rate of mTOR^{Ser2448}, 4E-BP1^{Thr37/46}, p70S6K^{Thr389} and the expression of MHC II protein were determined by using the Western blotting method.

Result: When compared with mice in control group, mice received swimming exercise training showed a declining trend of plasma free amino acids and the content of leucine, glutamic acid and glycine decreased significantly($P<0.01$), while the total protein, phosphorylation rate of mTOR^{Ser2448}, 4E-BP1^{Thr37/46}, p70S6K^{Thr389} and the protein expression of MHC II were all elevated with statistical significance ($P<0.01$).

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2016.12.004

*基金项目:云南省教育厅科学研究基金(2012Y259);江西省自然科学基金青年项目(20142BAB215048)

1 保山学院体育学院,云南保山,678000; 2 井冈山大学体育学院; 3 通讯作者

作者简介:熊伟平,男,副教授; 收稿日期:2015-11-03

Conclusion: Moderate aerobic exercise promotes protein synthesis in white gastrocnemius muscles of pre-senile mice, and the mTOR/p70S6K pathway may contribute to this effect. These results suggest that moderate aerobic exercise may play a potential role in attenuating the occurrence and development of sarcopenia.

Author's address Baoshan Collage Sports Institute, Baoshan, Yunnan, 678000

Key word aerobic exercise; aging; fast-twitch skeletal muscle; protein synthesis

随着衰老过程的发展,体成分的变化对生理机能将产生重大影响,而人体骨骼肌质量与力量的下降则是其中的重要标志之一。骨骼肌占体重比例约为40%—50%,由25岁至70岁过程中肌力下降30%而肌肉质量减少则可达40%^[1-2],从而显著影响机体活动能力甚至生存质量^[3-4]。因此,随衰老过程而发生的渐进性骨骼肌萎缩可能在机体功能下降过程中具有重要作用^[4]。衰老性骨骼肌萎缩(Sarcopenia)通常发生于快缩型骨骼肌(Ⅱ型骨骼肌纤维为主)^[5],随着衰老进程的继续将导致肌力的显著下降^[6],而蛋白质合成代谢的减弱则是导致其发生发展的主要原因^[3-4]。

运动训练(有氧、抗阻或联合运动方案)被广泛应用于多种慢性疾病的二级预防或干预,如冠心病^[7-9]、糖尿病^[10-11]和恶病质^[12-14]等。众所周知,抗阻运动可通过促进骨骼肌合成代谢并抑制分解代谢而导致一系列有益的机能变化^[15-16],而有氧运动则主要通过增进心血管健康^[17]和抑制促炎细胞因子^[18]而产生良好的结果。因此,抗阻运动似乎更适于作为削弱衰老性肌肉萎缩的干预手段。但近期多项研究发现,有氧运动同样可以在癌性恶病质^[12-13,19]、心源性恶病质^[19]或糖尿病^[10-11]等多种慢性疾病条件下削弱骨骼肌萎缩,且这些作用可能是通过改善蛋白质代谢平衡紊乱而实现的。与进行抗阻运动所需的专用设备相比,有氧运动处方的操作性更为灵活,且更加经济、易于执行。但是,有氧运动究竟能否削弱衰老性肌肉萎缩的发生发展,仍需进一步研究明确。基于上述考虑,本研究拟对老年前期小鼠施加规律有氧运动干预,从调节骨骼肌蛋白质合成关键信号通路哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)/p70核糖体蛋白S6激酶(p70 ribosomal protein S6 kinase, p70S6K)的角度探讨其对快缩骨骼肌蛋白质合成的可能性保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

13月龄CD-1雄性SPF级小鼠20只(47—49g),购于成都达硕生物科技公司。所有小鼠均单笼饲养于成都体育学院实验动物中心。小鼠自由摄食饮水,每日固定时间称量体重。每周更换3次垫料,饮水瓶每日清洗消毒,光暗周期控制为12h/12h,温度为22±1.5℃。

1.2 试剂与仪器

蛋白提取试剂与BCA法蛋白定量盒均购自Thermo公司(美国,货号分别为78510与23235);蛋白表达总体或磷酸化—抗mTOR、Phospho-mTOR(Ser2448)、p70S6K、Phospho-p70S6K(Thr389)、4E结合蛋白1(4E binding protein, 4EBP1)和Phospho-4E-BP1(Thr37/46)购自赛信通公司(美国),货号分别为3358P、2983P、5536P、2708P、2855P、9644P、2855P;快缩型肌球蛋白重链(Fast Myosin Skeletal Heavy chain, MHCⅡ)—抗购自Abcam公司(英国),货号为Ab51263;HRP-标记二抗购自Jackson公司(美国),货号分别为111-035-003和115-035-003;蛋白marker购自Fermentas公司(立陶宛),货号SM6210、ECL Plus购于Millipore公司(美国),货号为WBKLS0010。全自动氨基酸分析仪(日本Hitachi L8800);MultiSkan3型酶标仪购自Thermo公司(美国);强生稳豪型ONETOUCH Ultra血糖仪购自强生公司(美国);电泳仪购自Bio-Rad公司(美国);Mini P-4电泳槽由北京凯元公司生产。

1.3 研究方案

小鼠据体重随机分配至空白对照组(C)和有氧训练组(E),每组10只。适应性饲养一周后,E组小鼠在体积为100cm×70cm×60cm的玻璃泳缸中接受中等强度游泳训练,水温30±2℃,水深40—45cm,以确保小鼠无法通过尾尖支撑缸底而进行休息^[20]。运动方案共计执行8周,每周训练6天(周日休息),每日训练45min,负重相当于小鼠自体重3%比例的铅皮,运动强度相当于10—12月龄小鼠80%无氧阈强

度水平^[21]。铅皮绑缚于尾根处,以不影响局部血供和游泳时尾部的摆动为度,每日训练前根据小鼠体重对铅皮重量进行调整。小鼠训练时专人负责监控其游泳情况,以避免小鼠出现漂浮和“集团游泳”现象。一旦观察到出现上述消极运动表现,监控者即用玻璃杆进行驱赶,迫使其继续进行游泳训练。前期预实验中,在小鼠游泳过程中和游泳结束后即刻采尾尖血进行血乳酸分析,检测结果均介于2.9—3.7mmol/L范围内,提示本研究所采用运动模式为典型有氧运动。实验过程中小鼠若出现因打斗所造成的严重外伤,为避免组织修复期对蛋白质代谢造成混杂影响,则不将被试小鼠纳入研究统计。

末次运动后24h(含禁食17h),所有小鼠以80mg/kg.bw剂量接受苯巴比妥钠腹腔注射麻醉。

1.4 指标检验

1.4.1 游离氨基酸含量分析:小鼠麻醉后经腹主动脉取血,接入抗凝管后4℃条件下以3000r/min离心10min制备血浆。取0.5ml血浆样品,加入1.5ml去离子水混匀,再加入1.5ml浓度为8%的磺基水杨酸混匀,静置10min后5000r/min离心10min,沉淀蛋白并全量转移上清。在上清液中加入5ml无水乙醇后摇匀,静置5min后再次5000r/min离心10min以沉淀糖与胶质,此后移取全量上清液至玻管中。60℃水浴去除乙醇,干燥箱中60℃真空挥干。用0.02mol/L盐酸定容至2ml后过0.22μm滤膜并进样分析。分析仪色谱条件为:色谱柱:4.6mm×60mm,阳离子树脂,Hitachi 2622SC;检测波长:570nm,440nm;洗脱液流量:0.4ml/min;反应液流量:0.35ml/min;柱温:57℃;反应温度:135℃^[22]。

1.4.2 Western blotting:取100mg腓肠肌外侧头白肌加入哺乳动物组织蛋白提取试剂500μl,用眼科剪将肌肉组织剪成碎粒后匀浆。此后吸出混悬液在4℃条件下12000r/min离心20min后取上清。BCA法蛋白定量,以每次上样120μg的标准进行蛋白分装,用PBS将上清体积补足20μl,加入5×蛋白上样缓冲液5μl后封管,煮沸变性10min。配置15%分离胶与5%浓缩胶,浓缩胶恒压80V约30—40min,分离胶恒压120V,溴酚蓝至板底后停止电泳。转膜时先用无水甲醇将0.22/0.45μm PVDF膜激活后300mA恒流条件下MHC II与mTOR转膜150min,

p70S6K为60min,4E-BP1为30min。封闭后分别进行一抗(mTOR 1:1000、4E-BP1 1:1000、p70S6K 1:2000、MHC 1:3000、GAPDH 1:5000)和二抗(1:50000-1:200000)孵育。此后用ECL plus使目的条带发出荧光并压片检测二抗信号。据预染蛋白marker位置判断蛋白位置,若在目的条带大小位置附近仅出现一条条带,即认定为目的条带。

1.5 统计学分析

各指标的组间比较采用独立样本t检验,据方差齐性选择相应P值判断。当P<0.05时,认为差异具有显著性意义。

2 结果

2.1 有氧运动对血浆游离氨基酸的影响

如表1所示,8周规律有氧运动仅导致亮氨酸($t(18)=8.034, P<0.01$)、谷氨酸($t(18)=7.252, P<0.01$)与甘氨酸($t(18)=5.859, P<0.01$)血浆游离含量产生具有显著性意义的组间差异,其他14种氨基酸并无显著变化,但亦表现出下降趋势。

2.2 有氧运动对血糖、胰岛素与腓肠肌外侧头白肌蛋白总量的影响

如表2所示,经8周运动干预后E组小鼠血糖、血清胰岛素值与C组相比,差异未见显著性意义。但E组小鼠腓肠肌外侧头白肌蛋白含量高于C组,

表1 各组小鼠血浆游离氨基酸含量的比较 ($\bar{x}\pm s, \mu\text{mol/L}$)

	对照组(n=10)	有氧训练组(n=10)
必需氨基酸		
亮氨酸	125.4±6.2	98.3±5.2 ^①
精氨酸	74.8±3.5	71.5±2.5
组氨酸	278.0±11.2	276.2±8.1
异亮氨酸	72.4±7.5	70.7±3.8
赖氨酸	128.9±10.6	121.8±9.5
蛋氨酸	251.2±18.2	243.8±15.4
苯丙氨酸	53.7±4.9	48.2±8.1
苏氨酸	257.4±18.5	248.6±11.3
缬氨酸	143.6±9.2	141.6±12.7
非必需氨基酸		
丙氨酸	315.3±28.6	305.7±27.4
天门冬氨酸	142.6±12.8	135.3±8.9
半胱氨酸	46.4±6.3	40.2±8.6
谷氨酸	485.6±19.9	418.2±21.6 ^①
甘氨酸	382.1±25.3	328.7±13.8 ^①
脯氨酸	96.5±5.3	88.8±6.7
丝氨酸	197.4±11.5	195.8±16.3
酪氨酸	105.6±8.1	97.3±7.0

①与对照组比较P<0.01

表2 各组小鼠骨骼肌蛋白总量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	蛋白含量(mg/g)
空白对照组(C组)	10	71.86±5.26
有氧训练组(E组)	10	81.13±7.62 ^①

注:① $P < 0.01$ vs C group

且差异具有显著性意义($t(18) = -3.168, P < 0.01$)。

2.3 有氧运动对腓肠白肌促蛋白质合成信号通路蛋白表达的影响

如图1所示, E组 mTOR^{Ser2448} 磷酸化率较C组表现为升高, 由于经检验不满足方差齐性条件, 故采用自动校正后的结果: $df=4.000, t=-6.988, P < 0.01$, 认为组间差异具有显著性意义。如图2, E组 p70S6K^{Thr389} 蛋白磷酸化率较C组升高, 且具有显著性意义($df=4.000, t=-7.842, P < 0.01$)。如图3所示, E组 4E-BP1^{Thr37/46} 蛋白磷酸化水平较C组同样增高, 变化同样具有显著性意义($df=4.000, t=-6.773, P < 0.01$)。

2.4 有氧运动对腓肠白肌MHC II蛋白表达的影响

如图4所示, E组 MHC II 蛋白表达较C组上调, 由于经检验不满足方差齐性条件, 故采用自动校正后的结果: $df=4.000, t=-5.690, P < 0.01$, 认为组间差异具有显著性意义。

3 讨论

运动对血浆氨基酸含量影响的相关报道结果并不一致, 即便是选择相同的运动方式, 其结果也可能因运动强度、运动量的不同而有所差异。Dohm等^[23]早期的研究显示, 短期的大强度运动导致了丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸等多种氨基酸水平的下降, 而Scriver^[24]与Blomstrand^[25]研究结果比较则间接说明耐力训练可以导致多种空腹血浆氨基酸水平的上升, Einspahr等^[26]和Henriksson^[27]的实验则更为直接的表明经过耐力训练会导致更高的血浆氨基酸水平。Takeshita等^[28]近期的研究中让小鼠进行了为期6个月的自主转轮运动, 结果也发现运动组与安静对照组小鼠相比, 除色氨酸之外其他所有氨基酸的空腹血浆水平均表现出上升的趋势。至于发生这一血浆游离氨基酸升高现象的机制, 目前仍不清楚。作为长期运动的适应结果其必然是为了满足机体代谢的需求而发生的现象, 从合成与分解代谢的角度考虑, 一方面可能跟肥大肌肉中的合成与释放增多

图1 腓肠白肌mTOR^{Ser2448}蛋白磷酸化表达的比较

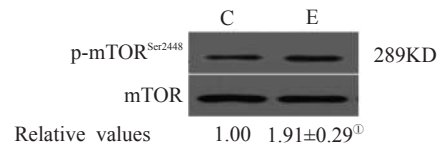


图2 腓肠白肌p70S6K^{Thr389}蛋白磷酸化表达的比较

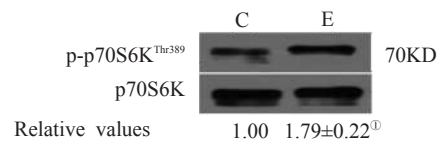


图3 腓肠白肌4E-BP1^{Thr37/46}蛋白磷酸化表达的比较

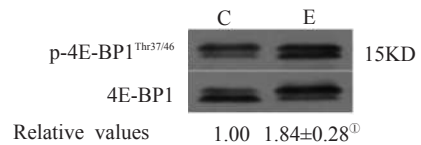
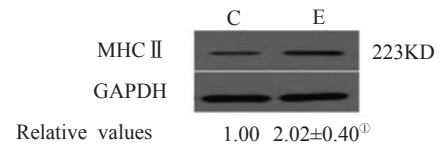


图4 腓肠白肌MHC II蛋白表达量的比较



有关, 另一方面也可能与长期运动促进的氧化代谢以及某些氨基酸降解相关的特异酶的表达上调存在联系。此外, 因为骨骼肌细胞中氨基酸浓度本身即较大, 因此也有可能是通过类似于异化扩散的方式顺浓度梯度进入血浆之中, 而运动过程中发生的骨骼肌细胞膜损伤恰好有助于这一扩散过程的完成。笔者推测认为, 高强度和/或大运动量的有氧运动通常被认为具有促进蛋白质分解的作用, 前述报告可能是由于运动强度与运动量较大而导致肌肉蛋白质分解代谢加强, 从而使得血浆游离氨基酸水平增加, 但其确切的调节机制仍有待进一步的研究探讨。本研究中观察到, 8周中等强度有氧运动导致老年前期小鼠血浆游离亮氨酸、谷氨酸与甘氨酸含量的显著下降, 其他各种氨基酸含量变化并不明显但亦表现出了下降的趋势。本研究所采用的研究对象与前述研究均不相同, 13月龄小鼠可能已经出现了“合

成抵抗”现象,因此尽管大强度和/或大运动量有氧运动对于健康成年被试而言具有促进骨骼肌蛋白质分解代谢的潜力,但中等强度运动对于衰老前期动物而言则可能具有促进合成代谢的作用,血浆游离氨基酸水平的下降提示了机体蛋白质分解代谢的削弱,也间接佐证了对蛋白质合成的保护作用。究其机制,笔者推测可能与氨基酸转运蛋白活性增强,游离氨基酸转运进入骨骼肌细胞内的总量增加有关。前人研究业已证实^[29-30],运动可促进氨基酸转运蛋白表达的上调,将血浆游离氨基酸跨膜转运进入骨骼肌细胞内,增大了骨骼肌细胞内蛋白质合成底物氨基酸的可利用性,并进一步维持了肌细胞内外已建立的稳态。

骨骼肌是响应体力活动和适应运动刺激最为重要的机体组织器官之一^[31]。骨骼肌纤维类型与收缩性能主要为MHC亚型所决定,就成年哺乳动物骨骼肌纤维的收缩表型而言,则主要为MHC亚型I、II a和II x的相对表达所决定^[32]。体力活动、运动均能够改变MHC的亚型与其含量,且一般认为运动对MHC II的作用是积极的。本研究的结果同样显示,8周有氧训练显著的增加了腓肠白肌MHC II的表达。如前所述,随着衰老进程的发展骨骼肌的主要表现即为II型肌纤维的减少,从MHC II表达的增多以及腓肠白肌蛋白总量与前述血浆游离氨基酸谱的变化综合考虑,有氧训练对衰老机体的骨骼肌蛋白质合成有着积极的促进作用。

mTOR是近年来最炙手可热的研究靶点之一,其介导的信号转导通路能够控制翻译起始与延伸,从而在蛋白质合成的调节机制中具有重要作用^[33-35]。研究表明,特异性阻断mTOR将会阻断95%的适应性肌肉肥大效应^[34]。而作为mTOR的下游靶蛋白,p70S6K与4E-BP1在蛋白质合成调节中同样具有重要作用。p70S6K激活之后将进一步磷酸化核糖体S6蛋白,而核糖体S6蛋白控制着5'端含有末端寡聚嘧啶的一类mRNAs的翻译效率。4E-BP1被mTOR磷酸化后,从真核细胞翻译起始因子4E解离使其能够与真核细胞翻译起始因子4G与4A这两种蛋白质结合,形成真核细胞翻译起始因子4F复合物,这一复合物的装配对于帽依赖性翻译的起始而言是至关重要的。

关于运动对于mTOR信号通路的影响,目前的研究结果较为一致,一般均认为运动能够上调这一通路的活性且主要集中在探讨了抗阻运动对其相关通路蛋白的影响。种种研究表明一次性和长期抗阻运动均能够通过上调mTOR信号转导通路相关关键蛋白的表达而促进骨骼肌等组织的蛋白质合成^[36-38],但关于有氧运动对mTOR信号通路的调节却并不多见。Reynolds^[39]的报道显示,20—22月龄大鼠经过3个月的自主转轮运动后,与安静组大鼠相比腓肠肌蛋白激酶B与mTOR表达均上调,mTOR表达水平比对照组高65%。Fujita^[40]的研究观察到,老年被试进行45min强度为70%的跑台运动可以显著储存胰岛素对mTOR^{Ser2448}、4E-BP1^{Thr37/46}和p70S6K^{Thr389}的磷酸化表达。曹师承^[41]的实验也表明,7月龄SD大鼠第一周每日游泳20—40 min,运动5天,从第二周开始固定1.5h运动时间,运动频率不变,末次运动后24和48h取材得到了与Fujita相同的结果。

Mascher^[42]的急性单腿踏车耐力运动同样发现,以65%—70% VO_{2max}强度进行运动后,mTOR磷酸化表达增强60%,p70S6K也上调达30%。但是,牛燕媚等^[43]的研究则显示,以12m/min(相当于75% VO_{2max})的速度,每天训练60min,一周训练5天,训练6周后高脂膳食造模的胰岛素抵抗小鼠出现了mTOR和p70S6K mRNA与蛋白表达的显著下降,而正常组小鼠变化却无明显变化。从理论上而言,老年动物与成年或青年动物比较,因为响应合成代谢刺激的能力下降,骨骼肌中mTOR相关通路蛋白的表达更加难以产生适应性变化,也确实有部分研究观察到相同的刺激也会使老年和青年被试表现出不同的响应。上述研究中如Reynolds、Fujita的研究分别采用了老年大鼠和人体被试进行探讨,虽然采用了不同的有氧运动方案,但最终均观察到mTOR与p70S6K表达的上调,且在各自的研究中通过稳定同位素示踪所检测到的蛋白质合成速率亦表现为增大,两相印证则说明有氧运动可能具有促进mTOR通路活化并进一步诱导蛋白质合成的能力。至于牛燕媚等^[43]所观察到的结果,所用的动物为青年小鼠,正常组经7周有氧训练后亦未观察到mTOR与p70S6K的明显变化,这一结果令人费解,推测很可能是由于其采用的运动强度12m/min较低

所造成的。本研究所观察到的结果与 Reynolds 和 Fujita 一致,所施加的 8 周运动方案导致了小鼠腓肠白肌 mTOR^{Ser2448}、4E-BP1^{Thr37/46} 与 p70S6K^{Thr389} 磷酸化水平的上调,间接的表明了快缩骨骼肌内蛋白质合成的增强。而结合前述血浆游离氨基酸水平的下降以及肌肉蛋白质总量与 MHC II 表达量的增加,则提示以中等强度进行规律有氧运动可以对老年机体快缩型骨骼肌蛋白质合成产生保护作用。

4 小结

中等强度规律有氧训练具有促进衰老机体快缩型骨骼肌蛋白质合成的作用,从而可能在预防和延缓 Sarcopenia 的临床手段中具有重要潜力。有氧训练不仅可以降低血浆游离氨基酸水平,而且可以提高快缩型骨骼肌内蛋白质总量,上调骨骼肌内 MHC II 表达,这一调节作用可能由 mTOR/p70S6K 通路发挥作用。但调节过程中运动是否促使氨基酸跨膜转运蛋白活性上调,转运大量氨基酸进入骨骼肌细胞内作为蛋白质合成底物? 有氧训练究竟经过何种途径激活 mTOR/p70S6K 通路? 目前仍不清楚,尚需进一步研究明确。

参考文献

[1] Rogers MA, Hagberg JM, Martin WH 3rd, et al. Decline in VO_2max with aging in master athletes and sedentary men [J]. *J Appl Physiol* (1985), 1990, 68(5):2195—2199.

[2] Short KR, Bigelow ML, Kahl J, et al. Decline in skeletal muscle mitochondrial function with aging in humans[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(15):5618—5623.

[3] Morley JE, Abbatecola AM, Argiles JM, et al. Sarcopenia with limited mobility: an international consensus[J]. *J Am Med Dir Assoc*, 2011, 12(6):403—409.

[4] Melton LJ, 3rd, Khosla S, Crowson CS, et al. Epidemiology of sarcopenia[J]. *J Am Geriatr Soc*, 2000, 48(6):625—630.

[5] Nilwik R, Snijders T, Leenders M, et al. The decline in skeletal muscle mass with aging is mainly attributed to a reduction in type II muscle fiber size[J]. *Exp Gerontol*, 2013, 48(5):492—498.

[6] Foldvari M, Clark M, Laviolette LC, et al. Association of muscle power with functional status in community-dwelling elderly women[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2000, 55(4):M192—199.

[7] Mameletzi D, Kouidi E, Koutlianos N, et al. Effects of long-term exercise training on cardiac baroreflex sensitivity in patients with coronary artery disease: a randomized controlled trial[J]. *Clin Rehabil*, 2011, 25(3):217—227.

[8] Swift DL, Lavie CJ, Johannsen NM, et al. Physical activity, cardiorespiratory fitness, and exercise training in primary and secondary coronary prevention[J]. *Circ J*, 2013, 77(2): 281—292.

[9] Wienbergen H, Hambrecht R. Physical exercise and its effects on coronary artery disease[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2013, 13(2):218—225.

[10] O'Hagan C, De Vito G, Boreham CA. Exercise prescription in the treatment of type 2 diabetes mellitus: current practices, existing guidelines and future directions [J]. *Sports Med*, 2013, 43(1):39—49.

[11] Mohajeri S, Riddell MC. Advances in exercise, physical activity, and diabetes mellitus[J]. *Diabetes Technol Ther*, 2015, 17 (Suppl 1):S88—S95.

[12] Battaglini CL, Hackney AC, Goodwin ML. Cancer cachexia: muscle physiology and exercise training[J]. *Cancers (Basel)*, 2012, 4(4):1247—1251.

[13] Lira FS, Neto JC, Seelaender M. Exercise training as treatment in cancer cachexia[J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2014, 39(6):679—686.

[14] Kasikcioglu E. The Achilles point of cardiac cachexia: to exercise or not to exercise[J]. *Int J Cardiol*, 2006, 110(3): 421—422.

[15] Marcotte GR, West DW, Baar K. The molecular basis for load-induced skeletal muscle hypertrophy [J]. *Calcif Tissue Int*, 2015, 96(3):196—210.

[16] Murton AJ, Greenhaff PL. Resistance exercise and the mechanisms of muscle mass regulation in humans: acute effects on muscle protein turnover and the gaps in our understanding of chronic resistance exercise training adaptation [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(10):2209—2214.

[17] Chang YK, Chu CH, Wang CC, et al. Effect of acute exercise and cardiovascular fitness on cognitive function: an event-related cortical desynchronization study[J]. *Psychophysiology*, 2015, 52(3):342—351.

[18] Santos RV, Viana VA, Boscolo RA, et al. Moderate exercise training modulates cytokine profile and sleep in elderly people[J]. *Cytokine*, 2012, 60(3):731—735.

[19] Alves CR, da Cunha TF, da Paixao NA, et al. Aerobic exercise training as therapy for cardiac and cancer cachexia [J]. *Life Sci*, 2015, 125:9—14.

[20] Gobatto CA, Mello MA, Souza CT, et al. The monosodium glutamate (MSG) obese rat as a model for the study

- of exercise in obesity[J]. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 2002, 111(1-4):89—101.
- [21] Almeida WS, Lima LC, Cunha VN, et al. Assessment of aerobic capacity during swimming exercise in ob/ob mice [J]. *Cell Biochem Funct*, 2011, 29(8):666—672.
- [22] Noguchi Y, Zhang QW, Sugimoto T, et al. Network analysis of plasma and tissue amino acids and the generation of an amino index for potential diagnostic use[J]. *Am J Clin Nutr*, 2006, 83(2):513S—519S.
- [23] Dohm GL, Beecher GR, Warren RQ, et al. Influence of exercise on free amino acid concentrations in rat tissues[J]. *J Appl Physiol*, 1981, 50(1):41—44.
- [24] Scriver CR, Gregory DM, Sovetts D, et al. Normal plasma free amino acid values in adults: the influence of some common physiological variables[J]. *Metabolism*, 1985, 34(9):868—873.
- [25] Blomstrand E, Ek S, Newsholme EA. Influence of ingesting a solution of branched-chain amino acids on plasma and muscle concentrations of amino acids during prolonged submaximal exercise[J]. *Nutrition*, 1996, 12(7—8):485—490.
- [26] Einspahr KJ, Tharp G. Influence of endurance training on plasma amino acid concentrations in humans at rest and after intense exercise[J]. *Int J Sports Med*, 1989, 10(4):233—236.
- [27] Henriksson J. Effect of exercise on amino acid concentrations in skeletal muscle and plasma[J]. *J Exp Biol*, 1991, 160:149—165.
- [28] Takeshita H, Horiuchi M, Izumo K, et al. Long-term voluntary exercise, representing habitual exercise, lowers visceral fat and alters plasma amino acid levels in mice[J]. *Environ Health Prev Med*, 2012, 17(4):275—284.
- [29] Drummond MJ, Fry CS, Glynn EL, et al. Skeletal muscle amino acid transporter expression is increased in young and older adults following resistance exercise[J]. *J Appl Physiol* (1985), 2011, 111(1):135—142.
- [30] Dickinson JM, Drummond MJ, Coben JR, et al. Aging differentially affects human skeletal muscle amino acid transporter expression when essential amino acids are ingested after exercise[J]. *Clin Nutr*, 2013, 32(2):273—280.
- [31] Pette D. Training effects on the contractile apparatus[J]. *Acta Physiol Scand*, 1998, 162(3):367—376.
- [32] Bottinelli R. Functional heterogeneity of mammalian single muscle fibres: do myosin isoforms tell the whole story?[J]. *Pflugers Arch*, 2001, 443(1):6—17.
- [33] Anthony JC, Yoshizawa F, Anthony TG, et al. Leucine stimulates translation initiation in skeletal muscle of postabsorptive rats via a rapamycin-sensitive pathway[J]. *J Nutr*, 2000, 130(10):2413—2419.
- [34] Bodine SC, Stitt TN, Gonzalez M, et al. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo[J]. *Nat Cell Biol*, 2001, 3(11):1014—1019.
- [35] Liu Z, Jahn LA, Wei L, et al. Amino acids stimulate translation initiation and protein synthesis through an Akt-independent pathway in human skeletal muscle[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(12):5553—5558.
- [36] Burd NA, Holwerda AM, Selby KC, et al. Resistance exercise volume affects myofibrillar protein synthesis and anabolic signalling molecule phosphorylation in young men[J]. *J Physiol*, 2010, 588(Pt 16):3119—3130.
- [37] Etheridge T, Atherton PJ, Wilkinson D, et al. Effects of hypoxia on muscle protein synthesis and anabolic signaling at rest and in response to acute resistance exercise[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2011, 301(4):E697—E702.
- [38] Li M, Verdijk LB, Sakamoto K, et al. Reduced AMPK-ACC and mTOR signaling in muscle from older men, and effect of resistance exercise[J]. *Mech Ageing Dev*, 2012, 133(11-12):655—664.
- [39] Reynolds TH 4th, Reid P, Larkin LM, et al. Effects of aerobic exercise training on the protein kinase B (PKB)/mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway in aged skeletal muscle[J]. *Exp Gerontol*, 2004, 39(3):379—385.
- [40] Fujita S, Rasmussen BB, Cadenas JG, et al. Aerobic exercise overcomes the age-related insulin resistance of muscle protein metabolism by improving endothelial function and Akt/mammalian target of rapamycin signaling[J]. *Diabetes*, 2007, 56(6):1615—1622.
- [41] 曹师承, 孙黎光, 赵刚, 等. 有氧运动对大鼠骨骼肌mTOR活性与蛋白表达的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2008, 23(1):34—36.
- [42] Mascher H, Ekblom B, Rooyackers O, et al. Enhanced rates of muscle protein synthesis and elevated mTOR signalling following endurance exercise in human subjects[J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2011, 202(2):175—184.
- [43] 牛燕媚, 苑红, 张宁, 等. mTOR/S6K 信号通路与胰岛素抵抗的关系及有氧运动对其影响的研究[J]. *中国应用生理学杂志*, 2010, 26(4):399—403.