

高强度间歇训练和中等强度持续训练对高脂膳食雌性小鼠肝脏巨噬细胞浸润的影响

王蕊^{1,2},何玉秀²

(1.河南师范大学 体育学院,河南 新乡 453007;2.河北师范大学 体育学院,石家庄 050024)

摘要:为比较高强度间歇训练和中等强度持续训练对高脂膳食雌性小鼠肝脏巨噬细胞浸润的差别,采用3 周龄雌性 C57BL/6J 小鼠分组进行高脂或普通膳食喂养,15 周后从高脂膳食组筛选出超重小鼠,随机分为高脂对照组(HFD),中等强度持续训练组(MICT)和高强度间歇训练组(HIIT),继续高脂喂养,其中 MICT 和 HIIT 组小鼠进行 12 周跑台干预,坡度 25°,5 次/周.运动方案:MICT 组采用 50%~70% $V_{O_{2peak}}$ 的运动强度,持续 45 min;HIIT 组进行 1 min 高强(90%~100% $V_{O_{2peak}}$) + 2 min 低强(50%~70% $V_{O_{2peak}}$),每次跑动距离与 MICT 组相等.与 HFD 组相比,MICT 和 HIIT 均能降低高脂膳食雌性小鼠肝组织 TG 含量,减少肝组织内空泡和脂滴,改善肝组织损伤,抑制肝组织内 M1 型巨噬细胞相关基因和蛋白表达,促进 M2 型巨噬细胞相关基因和蛋白表达,但 HIIT 组优于 MICT 组.运动距离相同情况下,HIIT 比 MICT 更能改善高脂膳食雌性小鼠肝细胞脂肪变性,降低肝组织炎症状态,这可能与肝内巨噬细胞从 M1 极化为 M2 型有关.

关键词:高强度间歇训练;中等强度持续训练;雌性小鼠;肝脏;巨噬细胞

中图分类号:R87

文献标志码:A

肥胖是一个重要的公共卫生问题,与人们饮食类型的改变和缺乏体育锻炼有关^[1].2006 至 2015 年 4 次《中国健康与营养调查》结果显示,成人总体上超重率男性高于女性,肥胖率则是女性高于男性^[2].女性作为母亲的社会角色,其健康状况关系到家庭和谐幸福及社会整体的健康水平^[3].从中国居民健康代际传递作用的程度看,女性也高于男性^[4].母体高脂膳食可通过改变代谢表型影响子代^[5],也可通过子宫内炎症影响子代肝脏脂肪代谢^[6],增加子代脂肪肝病的患病风险,因此解决女性健康问题有利于提高我国的全民健康水平.

能量过剩会使过量脂肪异位沉积于肝脏等非脂肪组织,从而导致肝脏脂肪变性.脂肪肝通常被认为是一种良性病变,但可发展为脂肪性肝炎.这是肝硬化等严重肝脏疾病的先兆^[7].肝脏内除肝细胞外还含有大量的巨噬细胞,据估计健康的啮齿小鼠体内每 100 个肝细胞中就有 20~40 个巨噬细胞^[8],因此,巨噬细胞在肝脏炎症转变的过程中发挥着关键作用^[9].

体育锻炼能有效改善肝脏脂肪变性,从而预防和改善脂肪肝的发展^[10-11],但家庭照料会明显影响女性参与运动的行为^[12].高强度间歇训练(high intensity interval training, HIIT)指在“短时间高强度训练之间穿插低强度训练或休息”,能提高机体心血管适能、增加胰岛素敏感性和降体脂^[13-15],且在节省时间和某些效果方面优于传统的中等强度持续训练(moderate intensity continuous training, MICT)^[16-18].因此,本文观测小鼠肝脏组织形态学和炎症状态的变化,比较 HIIT 和 MICT 两种运动方式对肝脏巨噬细胞影响的差异,为脂肪肝患者运动处方的制订提供可参考的依据.

收稿日期:2022-01-10;修回日期:2022-03-16.

基金项目:河南省科技攻关项目(202102310324);河南师范大学博士基金(XJ2021003501).

作者简介(通信作者):王蕊(1980—),女,河南镇平人,河南师范大学讲师,博士,研究方向为健身理论与实践, E-mail: wang_rui0402@126.com.

1 材料与方法

1.1 动物与分组

采用3周龄雌性C57BL/6J小鼠,体质量(9.62 ± 1.04)g,购自北京维通利华公司.自然光照,自由饮水,饲养温度(26 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度45%~55%.根据饮食方式随机分为高脂膳食组(90只)和普通膳食组(CON,10只),膳食饲料脂肪供能比,普通饲料约14%,高脂饲料约38%.

15周后,从高脂膳食组筛选出体质量超过CON组均值10%的小鼠30只,随机分为高脂对照组(HFD),中等强度持续训练组(MICT)和高强度间歇训练组(HIIT),每组10只,继续高脂喂养.但MICT和HIIT组小鼠进行运动干预,5次/周,共12周.

1.2 运动干预方案

运动干预前,每只小鼠均进行3d适应性运动.随后每2周进行一次跑台速度测试,确定跑速后推测最大摄氧量($V_{O_{2peak}}$)^[19].初始速度为7 m/min,上坡25°,每2 min为一级,以每级2 m的速度递增,直到小鼠在驱赶下不能完成测试为止.以测试速度的前一级速度作为HIIT组高强度运动速度(约90%~100% $V_{O_{2peak}}$),以此速度对应的60% $V_{O_{2peak}}$ 计算中等强度运动速度,详见表1.HFD:无运动干预,安静对照,自由活动.MICT:运动强度约60% $V_{O_{2peak}}$,每次持续45 min,5次/周.HIIT:1 min高强(90%~100% $V_{O_{2peak}}$)+2 min低强度(60% $V_{O_{2peak}}$),每次运动距离与MICT相同,5次/周.

表1 小鼠12周内HIIT和MICT组小鼠运动速度

Tab. 1 The speed of mice in HIIT and MICT groups within 12 weeks

| 组别 | 第1~2周 | 第3~4周 | 第5~6周 | 第7~8周 | 第9~10周 | 第11~12周 |
|------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
| MICT | 13 | 15 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| HIIT | 23 +13 | 26 +15 | 27 +17 | 29 +17 | 30 +17 | 29 +17 |

1.3 样本采集及测试指标

MICT和HIIT组小鼠最后一次运动48 h后,与HFD和CON组一起取材.取材前禁食12 h,称体质量、麻醉、测体长,内眦取血.用DEPC处理水注入左心室进行灌流,待肝脏变苍白后,取肝脏尾状叶做形态学检测,其他部位液氮冷冻后 -80°C 保存待用.

1)形态学观察:肝脏尾状叶部分用石蜡包埋做HE染色,部分冰冻切片做油红O染色.

2)生化指标测定:称取适量肝组织匀浆后,按照试剂盒说明书(南京建成)进行甘油三酯(triglyceride, TG),总胆固醇(total cholesterol, TC),谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT),谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)活力检测,采用BCA蛋白质量浓度测试小鼠肝脏蛋白质量浓度.

3)实时荧光定量PCR和蛋白表达:在NCBI数据库进行目的基因全序列查找目的基因序列或基因ID,通过Primer Bank查找相应引物序列,引物信息如下表2. Trizol提取肝组织总RNA,按照TaKaRa-RNA定量和反转录试剂盒说明书进行操作,在LightCycler[®]96实时荧光定量PCR仪上,按程序进行扩增和荧光定量检测,数据处理以 β -actin为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 方法分析目的基因的相对表达量.

取肝组织约50 mg,液氮研磨,放入预先加好RIPA裂解液和蛋白酶抑制剂的EP管中,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱静置120 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 低温离心机12 000 r/min 10 min取上清.用BCA试剂盒测定样品蛋白浓度,并根据每样1.5 g/L稀释分装,加上样缓冲液制成样品,放沸水煮5 min后 -20°C 保存.SDS-PAGE凝胶电泳(先80 V,40 min,再120 V,1 h),采用PVDF转膜(300 mA,1.5 h),封闭(5%脱脂奶粉液,1 h),一抗孵育(摇床20 min后4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜).次日,洗膜,二抗孵育(室温2 h),再次洗膜,显影(ECL化学发光工作液),成像(FUSION FX系统),用Image-J软件进行分析,计算目的蛋白相对表达量.

实验用到的一抗抗体为TNF- α (tumor necrosis factor- α)(Abcam ab6671,25~35 ku,1:2 000),IL-10(Affinity DF6894,20~35 ku,1:2 000), β -actin(Bioworld bs6007m,40~45 ku,1:5 000).

1.4 统计学分析

采用SPSS统计软件进行分析.实验数据用均值 \pm 标准差表示,普通膳食组(CON)和高脂膳食组(HFD)

采用独立样本 T 检验;高脂膳食组(HFD),MICT,HIIT 采用单因素方差分析后进行组间比较。

表 2 基因引物序列

Tab. 2 Gene primer sequence

| Genes | Sequence(5'-3') | Primer Bank ID | Genes | Sequence(5'-3') | Primer Bank ID |
|--------------|---------------------------|----------------|---------------------------------|----------------------------|----------------|
| <i>Arg1</i> | F:CTCCAAGCCAAAGTCCTTAGAG | 7106255a1 | <i>TNF-α</i> | F:AGGAGGAGTCTGCGAAGAAGA | 6678375a1 |
| | R:AGGAGCTGTCATTAGGGACATC | | | R:GGCAGTGGACCATCTAACTCG | |
| <i>IL-10</i> | F:GCTCTTACTGACTGGCATGAG | 6754318a1 | <i>IL-6</i> | F:TAGTCCTTCCCTACCCCAATTTCC | 13624311a1 |
| | R:CGCAGCTCTAGGAGCATGTG | | | R:TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC | |
| <i>YMI</i> | F:CAGGTCTGGCAATTCTTCTGAA | 6753416a1 | <i>β-actin</i> | F:GGCTGTATCCCCTCCATCG | 6671509a1 |
| | R:GTCTTGCTCATGTGTGTAAGTGA | | | R:CCAGTTGGTAACAATGCCATGT | |
| <i>iNOS</i> | F:GCTCAAGGAGTATCGGGTCAT | 6679337a1 | | | |
| | R:GTAGGGCTCATTACCAGGA | | | | |

2 结果

2.1 体质量变化

经过 15 周膳食和 12 周运动干预后,HFD 组小鼠体质量明显高于 CON 组,MICT 和 HIIT 运动干预均降低小鼠体质量,但两组间无显著性差异,见图 1。

2.2 肝脏内脂质含量变化

肝组织内脂质含量指单位质量蛋白质含有脂质的物质的量(表 3)。与 CON 组相比,HFD 组小鼠肝脏 TG 含量明显增加($P < 0.01$)。与 HFD 组相比,MICT 和 HIIT 运动干预均降低小鼠肝组织 TG 含量,但只有 HIIT 组有统计学意义($P < 0.05$)。肝组织 TC 含量在各组间无显著性差异。

肝组织形态学(20×10)观察,HE 染色显示:

CON 组肝细胞核呈蓝色,大而圆,肝小叶形态完整;HFD 组肝组织内有空泡,细胞呈气球样变,提示肝细胞脂肪变性;两个运动组肝组织内空泡减少,HIIT 组比 MICT 组明显。油红 O 染色显示:肝组织内红色脂滴,HFD 组明显多于 CON 组,MICT 和 HIIT 运动均能减少肝内脂滴,HIIT 组优于 MICT 组。

2.3 肝损伤指标

肝脏内 ALT 与 AST 含量丰富,是参与糖和蛋白质代谢的必需酶,可作为诊断肝组织损伤及程度的重要指标。与 CON 组相比,HFD 组小鼠肝脏组织 ALT,AST 活力明显增加($P < 0.01$),提示肝组织有损伤。与 HFD 组相比,MICT 组和 HIIT 组小鼠因运动干预肝组织内 ALT,AST 活力降低,且 HIIT 优于 MICT,见表 4。

2.4 肝组织巨噬细胞表型变化

肝脏巨噬细胞通常认为有 M1 和 M2 表型,M1 型发挥促炎作用,M2 型具有抗炎修复作用,两者在功能、基因表达谱和代谢方面有区别。M1 常用的标记物为 $TNF-\alpha$, $iNOS$ (inducible nitric oxide synthase)和 $IL-6$ (interleukin-6),M2 的标记物为 $Ym1$ (chitinase 3-like 3), $Arg1$ (Arginase1)和 $IL-10$ (Interleukin-10)。由表 5 可知,与 CON 组相比,HFD 组小鼠肝组织内 M1 巨噬细胞相关基因($IL-6$, $INOS$, $TNF-\alpha$)相对表达量非常显著增加($P < 0.01$),M2 巨噬细胞相关基因($Arg1$, $YM1$, $IL-10$)相对表达量下降非常显著($P < 0.01$)。高脂膳食小鼠结合 HIIT 和 MICT 运动干预后,肝组织 M1 巨噬细胞相关基因($IL-6$, $INOS$, $TNF-\alpha$)相对表达量显著下降,但只有 $TNF-\alpha$ 表达量在两组间有显著性差异($P < 0.05$);M2 巨噬细胞相关基因($Arg1$, $YM1$, $IL-10$)表达明显增高,HIIT 组优于 MICT 组。以上结果提示:HIIT 和 MICT 使高脂膳食小鼠肝组织巨噬细胞 M1 表型减少,M2 表型增加,HIIT 效果更好。

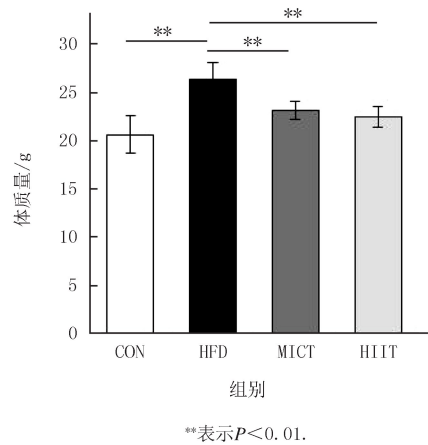


图1 不同组别小鼠体质量变化

Fig.1 Mass of mice changes in different groups

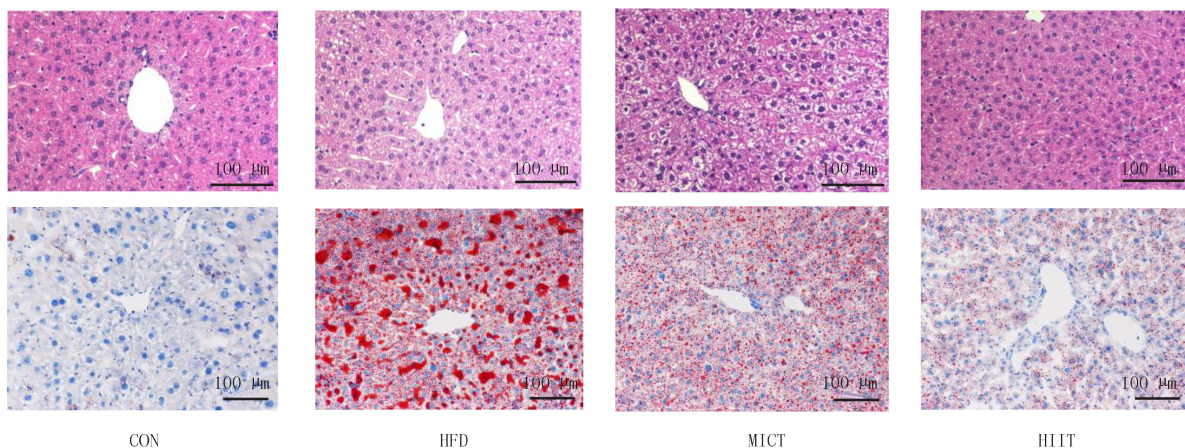


图2 小鼠肝组织HE和油红O染色(在线彩图)

Fig.2 Light microscopy for liver tissue from mice(colour online)

表 3 肝脏组织脂质含量(n = 8)

Tab. 3 Lipid content of liver tissue(n = 8) mmol/g

| 脂质 | CON | HFD | MICT | HIIT |
|----|-----------|-------------|-----------|------------|
| TG | 1.60±0.30 | 3.49±1.01** | 2.92±0.49 | 2.38±0.41# |
| TC | 2.85±0.56 | 2.93±0.74 | 3.30±0.48 | 2.75±0.68 |

表 4 肝脏组织酶活力(n = 8)

Tab. 4 Enzyme activity of liver(n = 8) U/g

| 酶 | CON | HFD | MICT | HIIT |
|-----|-------------|----------------|--------------|---------------|
| ALT | 137.60±9.65 | 236.25±13.64** | 195.36±9.46# | 152.75±8.75#& |
| AST | 39.53±4.52 | 89.35±5.73** | 63.25±6.25 | 48.88±4.79# |

注:与 CON 相比,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$;与 HFD 相比,#表示 $P < 0.05$,##表示 $P < 0.01$;与 MICT 相比,&表示 $P < 0.05$,&&表示 $P < 0.01$.下同.

表 5 巨噬细胞不同表型基因表达变化

Tab. 5 Gene expression changes of different macrophages phenotypes

| 组别 | M1 表型 | | | M2 表型 | | |
|------|-------------|-------------|---------------|--------------|--------------|---------------|
| | INOS | IL-6 | TNF- α | Arg1 | YMI | IL-10 |
| CON | 0.99±0.14 | 0.99±0.21 | 0.99±0.13 | 1.04±0.21 | 0.99±0.23 | 0.99±0.16 |
| HFD | 1.87±0.33** | 2.23±0.30** | 2.20±0.19** | 0.61±0.12** | 0.33±0.16** | 0.39±0.06** |
| MICT | 0.94±0.07## | 1.53±0.19# | 1.10±0.18## | 0.58±0.05 | 0.74±0.19# | 0.69±0.12# |
| HIIT | 1.17±0.17## | 0.92±0.14## | 0.61±0.07##& | 1.14±0.14#&& | 1.16±0.14##& | 1.06±0.14##&& |

2.5 肝组织炎症 TNF- α 和 IL-10 蛋白表达的变化

与 CON 组相比,HFD 组小鼠肝组织内 TNF- α 蛋白表达水平显著增高($P < 0.01$),IL-10 蛋白相对表达水平显著下降($P < 0.01$).与 HFD 组相比,高脂膳食小鼠结合 HIIT 和 MICT 运动干预后肝组织 TNF- α 蛋白表达水平显著下降,HIIT 组优于 MICT 组($P < 0.05$);肝组织 IL-10 蛋白表达水平在 MICT 组具有显著上升($P < 0.05$),在 HIIT 组具有非常显著水平($P < 0.01$),但 MICT 和 HIIT 组无显著性差异,见表 6 和图 3.

表 6 肝脏 TNF- α ,IL-10 蛋白表达变化

Tab. 6 Changes of liver TNF- α ,IL-10 protein expression

| 蛋白 | CON | HFD | MICT | HIIT |
|---------------|------|-------------|------------|--------------|
| TNF- α | 1.00 | 1.52±0.18** | 1.32±0.20# | 1.11±0.22#&& |
| IL-10 | 1.00 | 0.78±0.14** | 1.11±0.26# | 1.29±0.24## |

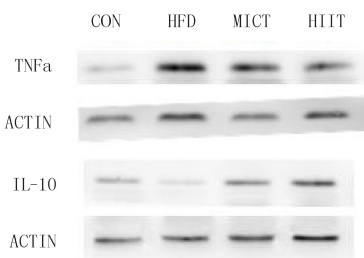


图3 Western blot检测肝脏TNF α , IL-10蛋白表达
Fig.3 Western blot detection liver TNF α , IL-10 protein expression

3 讨 论

长期高脂膳食促使体内脂肪含量增加,其不仅储存在脂肪细胞内^[20],也可沉积于非脂肪细胞.肝脏是脂质代谢的重要脏器,肝细胞内过量脂肪堆积会导致脂肪变性和肝组织炎症状态.钟立等^[21]认为 C57BL/6J 小鼠在 42% 的高脂膳食喂养下,4 月后开始出现肝细胞气球样变和肝小叶内炎症状态,8 月后进入明确的非酒精脂肪肝炎阶段.本研究对照组雌性小鼠为单纯高脂膳食喂养,27 周后体质量增加,肝内 TG 聚积,肝组织切面脂滴量增加,肝细胞发生脂肪变性,同时肝组织损伤标志物 ALT 与 AST 上升.

有氧运动即使在未改变体质量的情况下也能减少肝内脂质含量^[22],但运动量和强度对肝脏脂质的最佳益处缺乏共识.KEATING 等^[23]将超重/肥胖成年人随机分为 3 组进行运动干预 8 周,即中低强度高运动量组(50% $V_{O_{2peak}}$, 60 min, 4 d/周)、高强度低运动量组(70% $V_{O_{2peak}}$, 45 min, 3 d/周)、中低强度低运动量组(50% $V_{O_{2peak}}$, 45 min, 3 d/周),结果显示 3 组运动均减少肝脏脂肪,但有氧运动的量和强度对肝内脂肪减少的效果没有差异.而 NATH^[24]认为 6 个月的中等强度(3.6 METs)比低强度(2.1 METs)运动,更能改善非酒精性脂肪肝病(Non-alcohol Fatty Liver Disease, NAFLD)患者肝脏脂肪变性.WINN 等^[25]将 18 名肥胖成年人随机分为 HIIT 组(4 min, 80% $V_{O_{2peak}}$ + 3 min, 50% $V_{O_{2peak}}$)和 MICT 组(50% $V_{O_{2peak}}$, 60 min),两组运动中能量消耗相同,4 周干预后 HIIT 和 MICT 均减少肝内脂质,两者无显著性差异.CHO^[26]用高脂饲料喂养 C57BL/6 小鼠 8 周后,再结合 8 周的 MICT(45 min, 10 m/min)或 HIIT(12 组(1 min, 17 m/min) + (2 min, 10 m/min)).两组小鼠每次运动距离相同.结果显示 HIIT 在减轻肝脏脂肪变性方面优于 MICT.本研究雌性小鼠在高脂喂养 15 周后,膳食不变情况下进行 12 周的 MICT 或 HIIT 运动,小鼠体质量和肝组织 TG 含量下降明显,与 MICT 相比,HIIT 能明显降低肝组织 TG 含量、改善肝损伤,并且 HIIT 组每次运动时间减少为 MICT 组的 20%(36 min v.s. 45 min),HIIT 量效关系更优.综上推测,对于长期高脂膳食的人群或 NAFLD 患者进行个体化运动处方制定时,运动强度可作为考虑的重要因素.

在 NAFLD 的发展过程中,巨噬细胞起核心作用^[27],肝细胞内过多的脂肪堆积导致细胞死亡,释放损伤相关分子模式(DAMPs),触发巨噬细胞活化,促使组织产生炎症^[28].HUANG^[29]在高脂饮食的 C57BL/6J 小鼠肝脏内检测到 T 辅助细胞 1 和 M1 巨噬细胞增加,如果用氯膦酸脂质体去除巨噬细胞可保护小鼠免于脂肪变性的发生.本研究雌性小鼠高脂膳食喂养后,肝组织巨噬细胞相关基因的表达结果显示 M1 表型增加,M2 表型降低.其机制可能是巨噬细胞 p38 丝裂原活化蛋白诱导 M1 巨噬细胞极化和促炎因子分泌^[30],也可能是过载脂肪的肝细胞或巨噬细胞释放超微小泡可活化 NLRP3 炎症小体造成肝组织炎症的发生^[31].

运动能减少机体组织的巨噬细胞浸润状态.就脂肪组织而言,KAWANISHI 在 2010—2015 年间发现运动可以减少高脂膳食的雄性 C57BL/6J 小鼠附睾周围脂肪组织内 M1 巨噬细胞浸润^[32-34].贺强等^[35]发现 db/db 小鼠 4 周游泳训练(60 min/d, 5 d/周)后附睾周围脂肪组织内 M1 巨噬细胞数量下降,M2 巨噬细胞数量上升.关于持续运动和间歇运动对巨噬细胞的影响差异,KOLAHDOUZI 等^[36]将高脂膳食的雄性 Wistar 大鼠,分为持续运动组和有氧间歇组,间歇运动组的高强度 $\geq 85\% V_{O_{2peak}}$,两组每次运动距离相等,5 次/周,10 周干预后,有氧间歇运动减少腹膜内脂肪组织炎症 M1 巨噬细胞和增加 M2 巨噬细胞的效果更明显.运动对肝脏组织内巨噬细胞的影响,AI^[37]采用 8 周的下坡跑离心运动(-5°, 1 h/d, 6 d/周)与限制热量饮食相结合,可以明显抑制高脂膳食小鼠肝脏 M1 巨噬细胞生成并促进 M2 巨噬细胞表型形成,从而改善 NAFLD.因此,本研究 HIIT 与 MICT 相比,能明显减低肝组织 TG 含量和改善肝损伤,可能与 HIIT 运动时高强度达到 90%~100% $V_{O_{2peak}}$,小鼠肝脏巨噬细胞的表型变化有关,即 M1 表型明显减少,M2 表型明显增加.

巨噬细胞通常分为 M1 和 M2 两种表型,M1 表型产生 TNF- α , iNOS 和 IL-6 等细胞因子^[38],能引起组织胰岛素抵抗和炎症;M2 表型产生 Arg1, IL-10 等细胞因子^[39],可发挥清除炎症和组织修复功能.M1 型巨噬细胞产生的炎症因子 TNF- α 等在促进肝脏炎症和纤维化过程中发挥重要作用,TNF- α 水平与脂肪变性程度、肝硬化和 NAFLD 肝纤维化评分显著相关^[40],肥胖诱导产生的 TNF 可导致肝脏炎症和致癌转录因子 STAT3 的激活^[41].POTOUPNI 等^[42]用 Meta 分析纳入 56 篇文献,共有 1 634 名对照组和 4 214 名 NAFLD 患者,发现 NAFLD 患者血清 TNF- α 水平高于对照组,且水平高低与病情严重程度正相关.TNF- α 介导的肝

损伤主要通过 TNF-受体-1(TNFR1)信号发生,WANDRER 等^[43]用 HFD 喂养 TNFR1 基因敲入小鼠 32 周,然后进行 8 周的抗 TNFR1 抗体和对照抗体治疗,结果表明抑制 TNFR1 后能明显改善肝脏脂肪变性、降低 TG 含量和 ALT 水平.在 NAFLD 发病前期,促炎 M1 型巨噬细胞发挥主要作用,随着时间的延长,抗炎 M2 型巨噬细胞在促进肝脏组织修复中起主要作用^[44],主要产生 Arg1,IL-10 等细胞因子.WAN 等^[45]表明 IL-10 表达增加对高脂膳食诱导的小鼠肝损伤和脂肪变性起到保护作用,AMORAS 等^[46]认为肝组织 IL-10mRNA 表达增加,有助于降低组织内炎症浸润,限制丙型肝炎病毒患者肝脏纤维化反应.艾磊等^[47]对 C57BL/6N 雄性小鼠喂养高脂膳食 12 周,复制伴有 NAFLD 的胰岛素抵抗模型小鼠,随后进行中等强度下坡跑运动(-5°,45% 的最大运动强度,6 d/周),8 周后小鼠肝脏内巨噬细胞 M2 表型相关 IL-10,Arg-1 的蛋白表达显著增加,改善 NAFLD 的发生发展.

综上,本研究认为,与 MICT 相比,HIIT 能明显改善高脂膳食对雌性小鼠肝脏组织的影响,原因可能与高强度运动明显增加肝脏组织内 IL-10 蛋白表达,降低 TNF- α 蛋白表达有关.有资料显示 4 周有氧运动结合饮食控制可以降低肥胖青年的体脂和血脂,且男性优于女性^[48],确切机制不详,HIIT 是否通过巨噬细胞极化改善高脂膳食对雌性小鼠肝脏的影响,有待后续进一步证实.

4 结 论

同等运动距离情况下,高强度间歇训练比中等强度持续训练更能改善高脂膳食雌性小鼠肝细胞脂肪变性,降低肝组织炎症状态,这可能与肝内巨噬细胞从 M1 极化为 M2 表型有关.

参 考 文 献

- [1] PAN X F, WANG L M, PAN A. Epidemiology and determinants of obesity in China[J]. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 2021, 9(6): 373-392.
- [2] 王玥,孟楠.基于 Joinpoint 回归分析我国成人超重、肥胖流行趋势的性别差异[J]. *中国卫生统计*, 2021, 38(04): 546-548.
WANG Y, MENG N. Gender differences in the prevalence trend of overweight and obesity among adults in China based on joinpoint regression analysis[J]. *Chinese Journal of Health Statistics*, 2021, 38(4): 546-548.
- [3] 李慧.性别秩序下女性参与休闲体育活动对健康中国建设的重要性[J]. *武汉体育学院学报*, 2018, 52(11): 18-22.
LI H. Importance of women's participation in recreational sports in building healthy China seen from gender order[J]. *Journal of Wuhan Institute of Physical Education*, 2018, 52(11): 18-22.
- [4] 李长安,杨智姣,薛畅.健康代际传递与机制分析[J]. *中国人口科学*, 2021(6): 68-80.
LI C A, YANG Z J, XUE C. Analysis of the scale and contribution of healthy intergenerational transmission[J]. *Chinese Journal of Population Science*, 2021(6): 68-80.
- [5] PENG H, XU H T, WU J, et al. Maternal high-fat diet disrupted one-carbon metabolism in offspring, contributing to nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Liver International*, 2021, 41(6): 1305-1319.
- [6] CAO B G, LIU C X, ZHANG Q R, et al. Maternal high-fat diet leads to non-alcoholic fatty liver disease through upregulating hepatic SCD1 expression in neonate rats[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2020, 7: 581723.
- [7] LIAN C Y, ZHAI Z Z, LI Z F, et al. High fat diet-triggered non-alcoholic fatty liver disease: a review of proposed mechanisms[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2020, 330: 109199.
- [8] KRENKEL O, TACKE F. Liver macrophages in tissue homeostasis and disease[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2017, 17(5): 306-321.
- [9] MAHER J J, LEON P, RYAN J C. Beyond insulin resistance: innate immunity in nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Hepatology*, 2008, 48(2): 670-678.
- [10] 甄志平,罗超,李湘平,等.运动干预非酒精性脂肪肝病的研究进展[J]. *中国预防医学杂志*, 2019, 20(1): 73-77.
ZHEN Z P, LUO C, LI X P, et al. Research Advances in Effect of exercise on non-alcoholic fatty-liver disease[J]. *Chinese Preventive Medicine*, 2019, (01): 73-77.
- [11] 徐嘉宝,吴卫东.有氧运动通过脂联素/p38MAPK 延缓高脂膳食大鼠肝脏炎症[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2022, 50(1): 139-143.
XU J B, WU W D. Aerobic exercise retarded liver inflammation by adiponectin/p38MAPK in rats with high fat diet[J]. *Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition)*, 2022, 50(1): 139-143.
- [12] 张勇.城市居民运动健身行为社会学约束因素研究[J]. *北京体育大学学报*, 2019, 42(7): 85-94.
ZHANG Y. Sociology constraints for sports and fitness behavior in urban resident[J]. *Journal of Beijing Sport University*, 2019, 42(7): 85-94.
- [13] RAMOS J S, DALLECK L C, TJONNA A E, et al. The impact of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on vascular function: a systematic review and meta-analysis[J]. *Sports Medicine*, 2015, 45(5): 679-692.

- [14] JELLEYMAN C, YATES T, O'DONOVAN G, et al. The effects of high-intensity interval training on glucose regulation and insulin resistance: a meta-analysis[J]. *Obesity Reviews*, 2015, 16(11): 942-961.
- [15] CASSIDY S, THOMA C, HOUGHTON D, et al. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardio-metabolic health[J]. *Diabetologia*, 2017, 60(1): 7-23.
- [16] MAILLARD F, ROUSSET S, PEREIRA B, et al. High-intensity interval training reduces abdominal fat mass in postmenopausal women with type 2 diabetes[J]. *Diabetes & Metabolism*, 2016, 42(6): 433-441.
- [17] 高思垚, 吕万刚. 高强度间歇训练与中强度持续训练对中国超重或肥胖人群干预效果比较的 Meta 分析[J]. *武汉体育学院学报*, 2019, 53(2): 66-73.
- GAO S Y, LYU W G. Comparison of intervention effect of high-intensity interval training vs moderate-intensity continuous training in overweight and obese Chinese adults: a meta-analysis[J]. *Journal of Wuhan Institute of Physical Education*, 2019, 53(2): 66-73.
- [18] 曹蕊, 庄洁, 全明辉, 等. 高强度间歇训练和中等强度持续训练对健康成人心肺适能影响的 Meta 分析[J]. *中国体育科技*, 2018, 54(4): 62-68.
- CAO M, ZHUANG J, QUAN M H, et al. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training for cardio-respiratory fitness improvements in healthy young adults[J]. *China Sport Science and Technology*, 2018, 54(4): 62-68.
- [19] HØYDAL M A, WISLØFF U, KEMI O J, et al. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training[J]. *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation*, 2007, 14(6): 753-760.
- [20] 苏坤霞. 运动训练联合奥利司他对肥胖小鼠减肥及运动能力的影响[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2018, 46(2): 89-94.
- SU K X. Effects of exercise training and orlistat on the weight loss and exercise capacity of obese mice[J]. *Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition)*, 2018, 46(2): 89-94.
- [21] 钟立, 徐可树, 邓亮. 巨噬细胞在高脂饮食诱导的小鼠非酒精性脂肪性肝病进展中的浸润状态研究[J]. *中华肝脏病杂志*, 2020, 28(12): 1042-1047.
- ZHONG L, XU K S, DENG L. Study on the state of macrophage infiltration in the progression of non-alcoholic fatty liver disease induced by high-fat diet in mice[J]. *Chinese Journal of Hepatology*, 2020, 28(12): 1042-1047.
- [22] LOOMBA R, CORTEZ-PINTO H. Exercise and improvement of NAFLD: practical recommendations[J]. *Journal of Hepatology*, 2015, 63(1): 10-12.
- [23] KEATING S E, HACKETT D A, PARKER H M, et al. Effect of aerobic exercise training dose on liver fat and visceral adiposity[J]. *Journal of Hepatology*, 2015, 63(1): 174-182.
- [24] NATH P, PANIGRAHI M K, SAHU M K, et al. Effect of exercise on NAFLD and its risk factors: comparison of moderate versus low intensity exercise[J]. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 2020, 8(2): 120-126.
- [25] WINN N C, LIU Y, RECTOR R S, et al. Energy-matched moderate and high intensity exercise training improves nonalcoholic fatty liver disease risk independent of changes in body mass or abdominal adiposity: a randomized trial[J]. *Metabolism*, 2018, 78: 128-140.
- [26] CHO J, KIM S, LEE S, et al. Effect of training intensity on nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 2015, 47(8): 1624-1634.
- [27] KAZANKOV K, JØRGENSEN S M D, THOMSEN K L, et al. The role of macrophages in nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2019, 16(3): 145-159.
- [28] TILG H, MOSCHEN A R, SZABO G. Interleukin-1 and inflammasomes in alcoholic liver disease/acute alcoholic hepatitis and nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Hepatology*, 2016, 64(3): 955-965.
- [29] HUANG W, METLAKUNTA A, DEDOUSIS N, et al. Depletion of liver Kupffer cells prevents the development of diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance[J]. *Diabetes*, 2010, 59(2): 347-357.
- [30] ZHANG X, FAN L N, WU J F, et al. Macrophage p38 α promotes nutritional steatohepatitis through M1 polarization[J]. *Journal of Hepatology*, 2019, 71(1): 163-174.
- [31] CANNITO S, MORELLO E, BOCCA C, et al. Microvesicles released from fat-laden cells promote activation of hepatocellular NLRP3 inflammasome: a pro-inflammatory link between lipotoxicity and non-alcoholic steatohepatitis[J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0172575.
- [32] KAWANISHI N, YANO H, YOKOGAWA Y, et al. Exercise training inhibits inflammation in adipose tissue via both suppression of macrophage infiltration and acceleration of phenotypic switching from M1 to M2 macrophages in high-fat-diet-induced obese mice[J]. *Exercise Immunology Review*, 2010, 16: 105-118.
- [33] KAWANISHI N, MIZOKAMI T, YANO H, et al. Exercise attenuates M1 macrophages and CD8⁺ T cells in the adipose tissue of obese mice[J]. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 2013, 45(9): 1684-1693.
- [34] KAWANISHI N, NIIHARA H, MIZOKAMI T, et al. Exercise training attenuates neutrophil infiltration and elastase expression in adipose tissue of high-fat-diet-induced obese mice[J]. *Physiological Reports*, 2015, 3(9): e12534.
- [35] 贺强, 季浏. 4周游泳训练对 db/db 小鼠脂肪组织巨噬细胞介导炎症的影响[J]. *体育学刊*, 2015, 22(5): 133-138.
- HE Q, JI L. Effects of 4-week swimming training on fat tissue inflammation mediated by macrophages in db/db mice[J]. *Journal of Physical Education*, 2015, 22(5): 133-138.
- [36] KOLAHDOUZI S, TALEBI-GARAKANI E, HAMIDIAN G, et al. Exercise training prevents high-fat diet-induced adipose tissue remode-

- ling by promoting capillary density and macrophage polarization[J].Life Sciences,2019,220:32-43.
- [37] AI L, LUO W, YUAN P, et al. Liver macrophages mediate effects of downhill running and caloric restriction on nonalcoholic fatty liver disease of high fat diet-fed mice[J].Life Sciences,2020,256:117978.
- [38] LUMENG C N, BODZIN J L, SALTIEL A R. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization[J].The Journal of Clinical Investigation,2007,117(1):175-184.
- [39] LUMENG C N, DELPROPOSTO J B, WESTCOTT D J, et al. Phenotypic switching of adipose tissue macrophages with obesity is generated by spatiotemporal differences in macrophage subtypes[J].Diabetes,2008,57(12):3239-3246.
- [40] SCHWABE R F, BRENNER D A. Mechanisms of Liver Injury. I. TNF- α -induced liver injury: role of IKK, JNK, and ROS pathways [J].American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology,2006,290(4):G583-G589.
- [41] PARK E J, LEE J H, YU G Y, et al. Dietary and genetic obesity promote liver inflammation and tumorigenesis by enhancing IL-6 and TNF expression[J].Cell,2010,140(2):197-208.
- [42] POTOUPNI V, GEORGIADOU M, CHATZIGRIVA E, et al. Circulating tumor necrosis factor- α levels in non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and a meta-analysis[J].Journal of Gastroenterology and Hepatology,2021,36(11):3002-3014.
- [43] WANDRER F, LIEBIG S, MARHENKE S, et al. TNF-Receptor-1 inhibition reduces liver steatosis, hepatocellular injury and fibrosis in NAFLD mice[J].Cell Death & Disease,2020,11(3):212.
- [44] 罗雨欣, 郭金波, 张晓岚. 巨噬细胞在非酒精性脂肪性肝病中的作用[J].临床肝胆病杂志,2020,36(3):680-683.
LUO Y X, GUO J B, ZHANG X L. Research advances in the role of macrophages in nonalcoholic fatty liver disease[J].Journal of Clinical Hepatology,2020,36(3):680-683.
- [45] WAN X Y, ZHU X D, WANG H, et al. PGC1 α protects against hepatic steatosis and insulin resistance via enhancing IL10-mediated anti-inflammatory response[J].The FASEB Journal,2020,34(8):10751-10761.
- [46] DA SILVA GRAÇA AMORAS E, MONTEIRO GOMES S T, FREITAS QUEIROZ M A, et al. Intrahepatic interleukin 10 expression modulates fibrinogenesis during chronic HCV infection[J].PLoS One,2020,15(10):e0241199.
- [47] 艾磊, 罗维, 袁鹏, 等. 下坡跑对胰岛素抵抗小鼠非酒精性脂肪性肝病的改善及巨噬细胞极化的调节作用[J].北京体育大学学报,2020,43(10):92-103.
AI L, LUO W, YUAN P, et al. The effects of moderate intensity downhill running on non-alcoholic fatty liver disease in insulin resistant mice and the regulatory effect of liver macrophage polarization[J].Journal of Beijing Sport University,2020,43(10):92-103.
- [48] 曲静, 王业玲, 林小晶, 等. 4周有氧运动结合饮食控制降低肥胖青年的心血管疾病风险及其影响因素[J].现代预防医学,2021,48(12):2243-2248.
QU J, WANG Y L, LIN X J, et al. Decrease of cardiovascular diseases risk in obese youth through 4-week aerobic exercise plus dieting and its influencing factors[J].Modern Preventive Medicine,2021,48(12):2243-2248.

Comparable effects of high-intensity interval and moderate-intensity continuous training on hepatic macrophage infiltration in diet-induced obesity mice

Wang Rui^{1,2}, He Yuxiu²

(1. College of Physical Education, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China;

2. College of Physical Education, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, China)

Abstract: The purpose of this study was to investigate the effects of high-intensity interval training(HIIT) and moderate-intensity continuous training(MICT) on liver macrophage infiltration in high-fat diet female mice. Female C57BL/6J (3 weeks old) mice were fed with a high-fat diet or ordinary diet. Overweight mice were screened from the high-fat diet group after 15 weeks and randomly allocated into: high-fat control group (HFD), moderate-intensity continuous training group (MICT) and high-intensity interval training group (HIIT), continued to receive high fat feeding. Exercise protocols: mice in MICT and HIIT groups run on the treadmill with a slope of 25°, 5 times per week for 12 weeks. MICT adopted 50%–70% $V_{O_{2peak}}$ for 45 min; HIIT adopted 1 min(90%–100% $V_{O_{2peak}}$) + 2 min(50%–70% $V_{O_{2peak}}$), the running distance was the same as MICT. Compared with HFD, MICT and HIIT reduced the content of TG, vacuoles and lipid droplets in liver tissue of mice with high-fat diet, which lessened injury of hepatic tissue; MICT and HIIT potently repressed mRNA and protein expression of M1 macrophage-related genes, while they potently promoted mRNA and protein expression of M2 macrophage-related genes. Furthermore, we found HIIT group was superior to MICT group. Under the same running distance, HIIT improve hepatocyte steatosis and reduce liver inflammation in high-fat diet female mice better than MICT, which may be related to the polarization from M1 to M2 of intrahepatic macrophages.

Keywords: HIIT; MICT; female mice; liver; macrophage

[责任编辑 杨浦 刘洋]