

一次大强度耐力运动对大鼠骨骼肌蛋白质降解和 AMPK 活性变化的影响

马延超¹, 朱荣², 许寿生³, 王瑞元³

(1.洛阳师范学院 体育学院, 河南 洛阳 471022; 2.温州医学院, 浙江 温州 325035;
3.北京体育大学, 北京 100084)

摘 要: 为探讨一次大强度耐力运动过程中, AMPK 活性变化对骨骼肌蛋白质降解的作用。将 36 只 SD 大鼠进行一次跑台运动, 坡度 5%, 运动强度 25 m/min, 运动时间 60 min。取样为运动前、运动 0.5、1 h, 运动后 1、2、6 h 等 6 个点。使用高效液相色谱法测定 AMP、ATP 质量摩尔浓度; 采用同位素技术测定腓肠肌中 AMPK 活性的变化; 采用荧光定量 PCR 技术, 测定腓肠肌中 MuRF1、MAFbx 基因表达量的变化。结果发现: (1)运动 0.5 h 到运动后即刻, AMP 质量摩尔浓度及 AMP 与 ATP 质量摩尔浓度比值升高($P<0.05$), 运动后 1、2、6 h 组, 腓肠肌 AMP 质量摩尔浓度及 AMP、ATP 质量摩尔浓度比值与安静组比较差异没有显著性; ATP 质量摩尔浓度各组变化不大, 差异没有显著性。(2)AMPK 活性在运动 0.5 h 后开始升高, 运动后 2 h 达到最高, 运动后 6 h 开始下降但还高于对照组。(3)与安静组比较, 运动 0.5 h 组、运动 1 h 组 MuRF1 mRNA、MAFbx mRNA 表达量差异没有显著性; 运动后 1 h、2 h 组 MuRF1 mRNA、MAFbx mRNA 表达量与安静组比较升高, 差异有非常显著性($P<0.01$), 分别升高 1.98、3.57 和 1.95、2.55 倍; 运动后 6 h 组 MuRF1 mRNA、MAFbx mRNA 表达量与安静组比较升高, 差异有显著性($P<0.05$)。结果说明: 一次性大强度耐力运动后 1~6 h, 骨骼肌蛋白质降解可能增强, 其原因可能是 AMPK 活化, 促进 MAFbx mRNA、MuRF1 mRNA 基因表达, 促进骨骼肌蛋白质的降解。

关键词: 运动生物化学; 腺苷酸活化蛋白激酶; 泛素蛋白连接酶; 蛋白质降解; 大鼠; 腺苷一磷酸
中图分类号: G804.7 文献标识码: A 文章编号: 1006-7116(2011)02-0139-06

Effects of one time high intensity endurance exercising on the degradation of skeletal muscle protein and changes of AMPK activity in rats

MA Yan-chao¹, ZHU Rong², XU Shou-sheng³, WANG Rui-yuan³

(1.School of Physical Education, Luoyang normal University, Luoyang 471022, China; 2.Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China; 3.Beijing Sport University, Beijing 100084, China)

Abstract: The authors probed into functions played by changes of AMPK activity in the degradation of skeleton muscle protein during one time high intensity endurance exercising. Method: let 36 SD rats do a one time treadmill exercise at a slope of 5%, an exercise intensity of 25 m/min, and an exercise time of 60min. Sampling times were before exercising, after 0.5h and 1h of exercising, 1 h, 2 h and 6 h after exercising. The authors measured AMP and ATP molalities by using high efficiency liquid chromatography, changes of AMPK activity in gastrocnemius muscle by using isotope technology, and changes of MuRF1 and MAFbx gene expressions in gastrocnemius muscle by using fluorescence quantification PCR technology. Results: 1) from the moment after 0.5 h of exercising to the movement immediately after exercising, AMP molality and the ratio of AMP molality to ATP molality increased

收稿日期: 2010-10-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(30971411); 河南省科技厅项目(102102310324)。

作者简介: 马延超 (1969-), 男, 副教授, 博士, 研究方向: 骨骼肌蛋白质代谢。

($P < 0.05$); there was no significant difference in AMP molality and the ratio of AMP molality to ATP molality in gastrocnemius muscle between 1 h, 2 h and 6 h after exercising groups and the calm group; there was no significant change or difference in ATP molality between various groups; 2) AMPK activity started to increase after 1.5 h of exercising, reached its peak at 2 h after exercising, started to lower at 6 h after exercising but was still higher than that of rats in the control group; 3) there was no significant difference in MuRF1 mRNA and MAFbx mRNA expression volumes between after 0.5h and 1h of exercising groups and the calm group; compared with those of rats in the calm group, MuRF1 mRNA and MAFbx mRNA expression volumes of rats in 1h and 2 h after exercising groups increased by 1.98 times, 3.57 times and 1.95 times 2.55 times respectively, and the differences were very significant ($P < 0.01$); compared with those of rats in the calm group, MuRF1 mRNA and MAFbx mRNA expression volumes of rats in the 6h after exercising group increased, and the differences were significant ($P < 0.05$). The results indicate that in 1-6 h after one time high intensity endurance exercising, the degradation of skeletal muscle protein may be intensified, possibly by MAFbx mRNA and MuRF1 mRNA gene expressions promoted by AMPK activation.

Key words: exercise biochemistry; AMPK; MAFbx; MuRF1 mRNA; protein degradation; rat; AMP

泛素蛋白酶系统是一个主要的蛋白质降解系统,对动物的研究逐渐显示:在肌肉萎缩过程中,泛素蛋白酶系统促使蛋白质降解。Muscle Ring Finger 1(MuRF1)和 Atrophy F-box(MAFbx 也称为 Atrogin-1)均属于泛素蛋白连接酶,是目前发现的与骨骼肌蛋白质分解代谢关系最为密切的泛素蛋白连接酶。有报道在制动、去神经、后肢悬吊、饥饿以及病理情况(糖尿病、肿瘤、脓毒症)下,骨骼肌萎缩的模型中, MuRF1、MAFbx 表达量均明显增高^[1-3]。目前研究认为 MuRF1 和 MAFbx 是骨骼肌蛋白质降解的标志。测定其表达量的变化可反映骨骼肌蛋白质的降解情况。

腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)在真核细胞生物中广泛存在,属丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。骨骼肌中 AMP 含量升高是促进 AMPK 激活的主要因素。有报道机体在缺氧、缺血以及葡萄糖缺乏等情况下可激活哺乳动物细胞中的 AMPK,其原因也是由于提高了 AMP 含量、AMP 与 ATP 的比值,促进了 AMPK 的激活。关于运动对 AMP 含量的影响,有资料显示随着运动强度的增加,AMP 与 ATP 比值呈波动性上升趋势^[4]。

2005 年, Thomson^[5] 研究报道 AMPK 可能抑制骨骼肌蛋白质的合成,其采用老年大鼠和成年大鼠为实验对象,进行机械刺激促使大鼠肌肉肥大,观察到随着年龄增大,大鼠快肌肥大情况随之下降,快肌中 AMPK 活性反而增加;大鼠慢肌纤维随着年龄增大,肥大情况没有差异,慢肌中 AMPK 的活性也没有差异。研究者认为年龄造成 AMPK 活性的升高可能是造成快肌肥大程度减弱的原因。该研究观察到随着年龄增大大鼠快肌肥大情况随之下降,推测 AMPK 可能有抑制蛋白质的合成,或者有促进蛋白质降解的作用。

有报道在运动过程中,AMPK 活性显著升高,能

抑制蛋白质的合成^[6]。而关于 AMPK 活性升高促进骨骼肌蛋白质降解的研究较少,2007 年有报道用 5-氨基咪唑-4-甲酰胺核苷酸(5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside, AICAR)处理 C2C12 肌管,观察到基质中 3-甲基组氨酸(3-methylhistidine, 3-MH)含量升高和 MAFbx mRNA、MuRF1 mRNA 的表达。3-MH 是一种微量氨基酸,主要存在于骨骼肌的肌动蛋白和肌凝蛋白内(约 91.1%),是收缩蛋白质分解代谢释放的产物,测定 3-MH 的释放量可间接反映肌纤维蛋白的降解。因此,研究者认为 AMPK 活化刺激了 C2C12 肌管中肌纤维蛋白的降解^[7]。目前,还没有见到对一次大强度运动过程中,AMPK 活性的升高对骨骼肌蛋白质降解的研究。本研究拟采用大鼠进行一次性大强度耐力运动模型,探讨 AMPK 活性的变化,以及测定大鼠腓肠肌中 MuRF1、MAFbx 基因表达量的变化,探讨在一次大强度耐力运动过程中,AMPK 对骨骼肌蛋白质降解的作用。

1 材料

1.1 实验动物

雄性 Sprague-Dawley 大鼠(SPF 级),8 周龄,体重 190~220 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司。动物实验经北京体育大学动物福利伦理审查委员会同意,并严格按照北京体育大学动物实验室规定执行。屏障环境饲养,温度(23 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度(65 ± 5)%,昼夜明暗交替时间为 12 h。每笼 4 只,自由饮食与饮水。

1.2 动物分组

36 只大鼠分为 6 组,每组 6 只。安静饲养 3 d,以适应新环境。跑台运动适应 3 d(第 1 天 10 min, 10 m/min; 第 2 天 15 min, 10 m/min, 第 3 天 15 min, 15

m/min), 休息 1 d, 然后进行一次性大强度耐力运动(25 m/min, 5%坡度), 除安静组不运动, 运动 0.5 h 组运动时间为 0.5 h 外, 其它组运动时间为 1 h。根据动物运动时间和取材时间分组为: 安静(C)、运动 0.5 h(T₁)、运动 1 h(T₂)、运动后 1 h(T₃)、运动后 2 h(T₄)、运动后 6 h(T₅)。

1.3 样品制备

根据分组情况进行取材, 大鼠称重后, 用质量分数为 2% 戊巴比妥钠(注射剂量为 100 g 体重 0.25 mL)腹腔注射麻醉, 腹主动脉取血后, 迅速取等量的红、白腓肠肌, 放入液氮中速冻保存。取材完成后把标本转移至 -80 °C 冰箱保存, 待用。

2 方法

2.1 骨骼肌 AMP、ATP 质量摩尔浓度的测定

使用高效液相色谱法(High performance Liquid Chromatography, HPLC)测定 AMP、ATP 质量摩尔浓度。

样品前处理: 用电子天平称取肌组织 50 mg, 用眼科剪剪碎后, 加入 0.5 mL 质量分数 0.9% NaCl 溶液(内含 0.5 mmol/L EDTA-2Na)和 0.5 mL 体积分数 3% HClO₄ 溶液, 用电动匀浆器冰浴匀浆。匀浆后, 4 °C 下沉淀蛋白(静置时间不少于 10 min), 3 000 r/min, 4 °C, 离心 10 min。取上清液 0.5 mL, 加入质量分数 20% KOH 溶液 40 μL, 4 °C 静置 30 min, 11 000 r/min, 5 min 离心, 取上清 200 μL, -80 °C 保存待测。

分析条件: 高效液相色谱仪(Agilent 1100 series, 德国 Agilent 公司), 5 μm, 150 A 反相柱(4.6 mm × 150 mm) cat.NO: Vs951505-0。流动相为磷酸钾缓冲液(50

mmol/L KH₂PO₄)、甲醇和离子对试剂 A 的混合液(磷酸钾缓冲液和甲醇的体积比为 76:24, 混合液中离子对试剂 A 的浓度为 5 mmol/L, 最后调 pH 至 5.8), 等比洗脱, 流速为 1 mL/min, 检测波长 259 nm。柱温 20 °C, 进样量 20 μL。根据标准品浓度和其相应的积分面积绘制出标准曲线, 再根据标准曲线, 计算出各个样品的质量摩尔浓度。

2.2 AMPK 活性的测定方法

方法与参考文献[8]同。

2.3 用实时荧光定量 PCR 技术测定腓肠肌 MAFbx 和 MuRF1 基因表达

方法与参考文献[8]同。

2.4 统计学处理

数据以均数 ± 标准差表示, 采用 SPSS 统计软件包进行单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 表示差异有显著性水平, 以 $P < 0.01$ 表示差异有非常显著性。

3 结果与分析

3.1 一次大强度耐力运动各组 AMP 质量摩尔浓度及 AMP 与 ATP 质量摩尔浓度比值的变化

与安静组比较, 运动 0.5 h 组和运动 1 h 组大鼠腓肠肌 AMP 质量摩尔浓度及 AMP 与 ATP 质量摩尔浓度比值升高, 差异有显著性($P < 0.05$), 运动后 1、2、6 h 组, 腓肠肌 AMP 质量摩尔浓度及 AMP 与 ATP 质量摩尔浓度比值与安静组比较差异没有显著性; ATP 质量摩尔浓度各组差异没有显著性。AMP、ATP 质量摩尔浓度测定结果见表 1。

表 1 各组动物实验前后 AMP、ATP 质量摩尔浓度及 AMP 与 ATP 质量摩尔浓度比值 ($\bar{x} \pm s$) 的变化

组别	$b(\text{AMP})/(\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1})$	$b(\text{ATP})/(\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1})$	$b(\text{AMP})/b(\text{ATP})$
C	53.64 ± 5.91	252.76 ± 11.79	0.21 ± 0.05
T ₁	77.05 ± 9.57 ¹⁾	239.56 ± 11.63	0.32 ± 0.09 ¹⁾
T ₂	71.27 ± 2.23 ¹⁾	245.89 ± 38.80	0.29 ± 0.03 ¹⁾
T ₃	61.01 ± 14.30	261.09 ± 25.18	0.23 ± 0.03
T ₄	54.14 ± 4.57	308.09 ± 29.40	0.18 ± 0.05
T ₅	52.48 ± 11.38	301.33 ± 47.80	0.17 ± 0.07

1)与安静组比较, $P < 0.05$

3.2 一次大强度耐力运动各组 AMPK 活性的变化

与安静组 AMPK 活性(1.86 ± 0.27) $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 比较, 运动各组 AMPK 活性升高, 差异有显著性或非常显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且运动后 1 h 组达到最高, 运动后 6 h 组 AMPK 活性开始下降。运动 0.5 h、运动 1 h、运动后 1 h、运动后 2 h、运动后 5 h 的 AMPK 活性分别为(3.65 ± 0.22)、(5.19 ± 0.87)、(5.90 ± 0.62)、(5.84

± 0.60)、(5.24 ± 0.80) $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, 运动 0.5 h、运动 1 h、运动后 5 h 差异有显著性, 运动后 1、2 h 差异有非常显著性。

3.3 一次大强度耐力运动各组 MuRF1 mRNA 和 MAFbx mRNA 表达量的变化

与安静组相比, 运动 0.5 h、1 h 组 MuRF1 mRNA、MAFbx mRNA 表达量差异没有显著性; 运动后 2 h 组

MuRF1 mRNA、MAFbx mRNA 表达量与安静组比较, 差异有非常显著性($P<0.01$), 分别升高 1.89、3.57 和 1.95、2.55 倍; 运动后 6 h 组 MuRF1 mRNA、MAFbx

mRNA 表达量与安静组相比较, 差异有显著性($P<0.05$)(见图 1、2、3)。

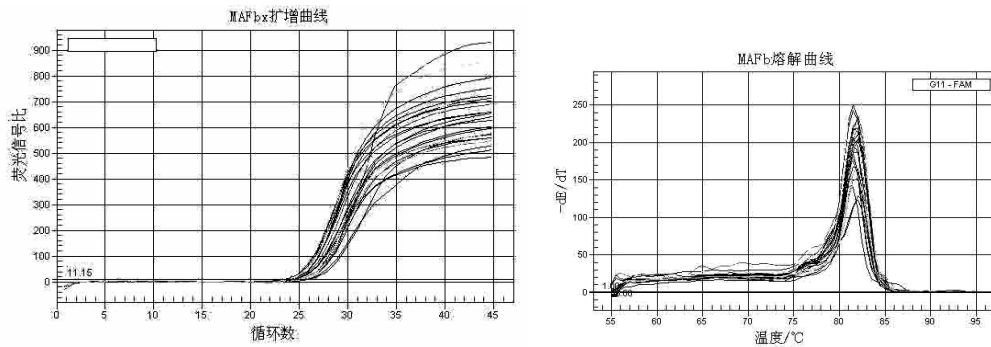


图 1 MAFbx 实时荧光定量 PCR 熔解、扩增曲线

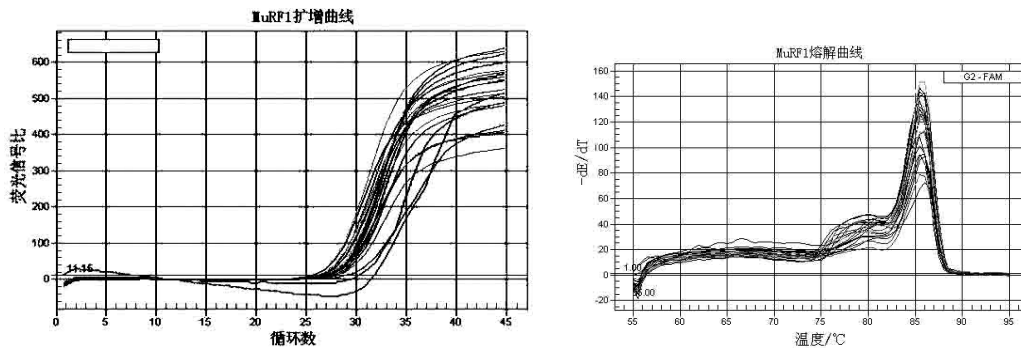


图 2 MuRF1 实时荧光定量 PCR 熔解、扩增曲线

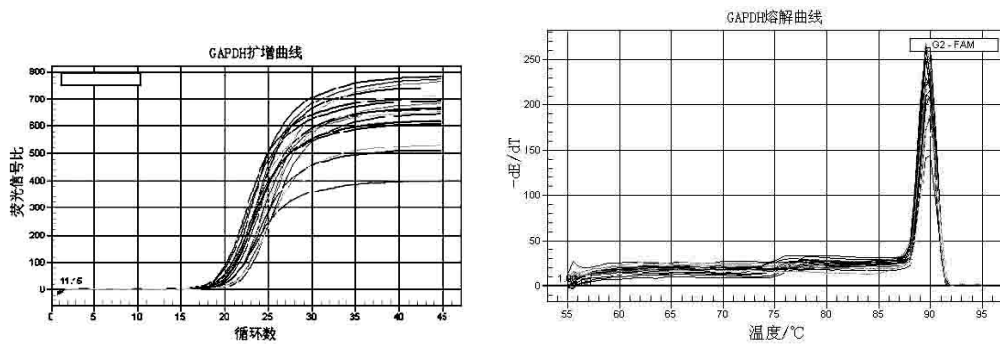


图 3 GAPDH 实时荧光定量 PCR 熔解、扩增曲线

4 讨论

4.1 一次大强度耐力运动各组 AMP 质量摩尔浓度、AMP 与 ATP 比值和 AMPK 活性的变化

骨骼肌收缩和运动时, ATP 被大量消耗, 相应地, AMP 大量产生, AMP 与 ATP 比值升高导致 AMPK 的激活。有资料显示随着运动强度的增加, AMP 与 ATP 比值呈波动性上升趋势^[4]。本研究采用一次性大强度耐力运动, 观察到运动 0.5 h 组和运动 1 h 组大鼠腓肠肌 AMP 质量摩尔浓度及 AMP 与 ATP 比值与安静组相比升高, 差异有显著性($P<0.05$), 运动后 1、2、6 h 组, 腓肠肌 AMP 质量摩尔浓度及 AMP 与 ATP 比值与安静

组比较差异没有显著性; ATP 质量摩尔浓度与安静组比较, 差异没有显著性(见表 1)。本研究观察到运动后各组与安静组比较, AMP 质量摩尔浓度及 AMP 与 ATP 比值差异没有显著, 说明运动后 AMP 消除较快。张国华^[6]报道大强度运动后即刻 AMP 含量, AMP 与 ATP 比值与安静组比较显著性升高, 运动后 1、6 h 组, AMP、AMP 与 ATP 比值与安静组比较差异没有显著性, 与本研究结果相一致, 支持本研究结果。

与安静组相比, 运动各组 AMPK 活性升高, 差异有显著性或非常显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 且运动后 1 h 组达到最高, 运动后 6 h 组 AMPK 活性开始下降。结

合本次测定的 AMP 质量摩尔浓度及 AMP 与 ATP 比值在运动中显著升高,本研究认为 AMP 质量摩尔浓度及 AMP 与 ATP 比值升高可能对促进 AMPK 激活具有重要作用。同时观察到 AMPK 的活性具有延迟性,当运动后 AMP 质量摩尔浓度及 AMP 与 ATP 比值降低时,AMPK 活性仍然处于较高水平,与 AMP 质量摩尔浓度及 AMP 与 ATP 比值变化不一致。本研究观察到运动后 6 h, AMPK 活性仍然高于安静组,该研究结果与张国华^[6]的结果不同,其研究观察到运动后即刻 AMPK 活性显著升高,运动后 1 h 恢复到安静水平。研究结果的不同可能与研究对象、运动强度不同有关,张的研究对象是腓肠肌的白肌,而本研究的对象是腓肠肌的红白肌各半。有报道运动能显著的升高慢肌比目鱼肌 AMPK 的磷酸化,而不能使快肌中 AMPK 的磷酸化升高^[9-10]。AMPK 磷酸化是反映 AMPK 活性的一个指标,AMPK 磷酸化增加,其活性增强。本研究取样用腓肠肌红白肌各半,样品中红腓肠肌含量升高,可能是 AMPK 活化持续时间延长的原因。其研究观察到 AMPK 活性在运动后即刻最高,在运动后 1 h 恢复到安静水平,也说明 AMPK 活性恢复较慢,与本研究观察到 AMPK 活性具有延迟性具有一致性。

4.2 一次大强度耐力运动各组 MAFbx mRNA、MuRF1 mRNA 表达量及 AMPK 活性的变化

MuRF1 和 MAFbx 均属于泛素蛋白连接酶,是目前发现的与骨骼肌蛋白质分解代谢关系最为密切的泛素蛋白连接酶。在制动、去神经、后肢悬吊、饥饿等多种骨骼肌萎缩模型中,这两种酶的表达均明显增高^[11-12]。有研究认为 MuRF1 和 MAFbx 可作为骨骼肌萎缩的早期标志物,帮助诊断肌肉萎缩方面的疾病。

运动对 MuRF1 mRNA、MAFbx mRNA 表达的影响报道不一。有报道抗阻运动后即刻到运动后 24 h 内, MuRF1 mRNA 表达量升高^[13-16];在抗阻运动后即刻或运动后 4 h 内 MAFbx mRNA 表达量升高^[13, 17],另有报道在进行抗阻运动后几小时内,这些基因或者降低,或者不变^[18-19]。但多数研究结果都认为 MuRF1 mRNA、MAFbx mRNA 表达量在运动后增加,在数小时内最高,到运动后 24 h 恢复到安静状态。而关于一次性耐力运动对 MuRF1 mRNA、MAFbx mRNA 基因表达的报道较少,有报道人进行跑步运动后 1~4 h 内 MuRF1 mRNA 增加 3.6 倍,MAFbx mRNA 增加 1.6 倍;而进行抗阻运动后 1~4 h 内, MuRF1 mRNA 增加 3.5 倍,MAFbx mRNA 表达不变化,认为跑步比抗阻运动更能诱导蛋白质分解相关基因的表达^[13]。

本研究采用大鼠一次性大强度耐力运动模型,观察到运动 0.5、1 h 组 MuRF1 mRNA、MAFbx mRNA 表

达量与安静组相比差异没有显著性;运动后 1、2 h 组 MuRF1 mRNA、MAFbx mRNA 表达量与安静组相比升高,差异有非常显著性($P<0.01$),分别升高 1.89、3.57 和 1.95、2.55 倍;运动后 6 h 组 MuRF1 mRNA、MAFbx mRNA 表达量与安静组相比升高,差异有显著性。这与多数报道抗阻运动后 MuRF1 mRNA、MAFbx mRNA 表达量升高的结果相一致,同时与 Louis E^[13]研究跑步运动后 MuRF1 mRNA、MAFbx mRNA 表达量升高的结果相一致。

关于探讨 AMPK 活性与骨骼肌蛋白质代谢的关系。2005 年 Thomson^[5]研究报道 AMPK 可能抑制骨骼肌蛋白质的合成,其采用老年大鼠和成年大鼠为实验对象,进行机械刺激促使大鼠肌肉肥大,观察到随着年龄增大大鼠快肌肥大情况随之下降,快肌中 AMPK 活性反而增加;大鼠慢肌纤维随着年龄增大肥大情况没有差异,慢肌中 AMPK 的活性也没有差异。研究者认为随着年龄增大,AMPK 活性升高可能是造成快肌肥大程度减弱的原因。2007 年有报道用 AMPK 激活剂 AICAR 处理 C2C12 肌管,观察到基质中 3-MH 的含量和 MAFbx mRNA、MuRF1 mRNA 的表达量升高,认为 AMPK 活化刺激了 C2C12 肌管中肌纤维蛋白质的降解^[7]。2010 年马廷超^[8]报道用 AICAR 注射大鼠后肢大腿提高骨骼肌中 AMPK 的活性,观察到大鼠骨骼肌中 MuRF1 mRNA 和 MAFbx mRNA 表达量升高,认为 AMPK 活性升高能促进骨骼肌蛋白质的降解。

本研究探讨一次大强度耐力运动过程中,AMPK 活性变化与 MuRF1 mRNA 和 MAFbx mRNA 表达量的关系,观察到在运动后 1、2、6 h 组,AMPK 的活性和 MuRF1 mRNA 和 MAFbx mRNA 表达量的变化成一致性,随着 AMPK 活性升高, MuRF1 mRNA 和 MAFbx mRNA 表达量升高。这与 Nakashima^[7]的研究结论相一致。而在运动过程中,即运动 0.5、1 h 组,AMPK 活性升高, MuRF1 mRNA 和 MAFbx mRNA 的表达量却没有变化,这与我们的假设一次大强度耐力运动过程中,AMPK 活性升高促进 MuRF1 mRNA 和 MAFbx mRNA 表达量升高的结论不一致。推测其原因可能有两方面:(1)可能是由于运动 0.5~1 h 过程中 AMPK 活性是逐渐升高,促进 MuRF1 mRNA 和 MAFbx mRNA 表达的作用可能不是很强,或者是由于 AMPK 作用具有一定的潜伏期,所以,在运动过程中,没有观察到 MuRF1 mRNA 和 MAFbx mRNA 表达量相应升高;(2)在运动中,机体为了持续的运动,可能通过其它途径,抵消了 AMPK 活性升高,促进 MuRF1 mRNA 和 MAFbx mRNA 表达的作用,抑制骨骼肌蛋白质的降解,而在运动后,机体的保护效应解除,AMPK 活性升高促进

MuRF1 mRNA 和 MAFbx mRNA 的表达, 促进了骨骼肌蛋白质的降解与重构。

总之, 本研究认为大鼠进行一次性大强度耐力运动, AMP 质量摩尔浓度及 AMP 与 ATP 比值在运动中显著升高, 在运动后迅速恢复。AMPK 活性在运动 0.5 h 后开始升高, 持续到运动后 6 h。在大强度耐力运动后, AMPK 活性升高可能对促进了 MAFbx mRNA 和 MuRF1 mRNA 的表达, 促进了骨骼肌蛋白质的降解具有一定的作用。

参考文献:

- [1] Bolster D R, Crozier S J, Kimball S R, et al. AMP-activated protein kinase suppresses protein synthesis in rat skeletal muscle through down-regulated mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(27): 23977-23980.
- [2] Wray C J, Mammen J M, Hershko D D, et al. Sepsis upregulates the gene expression of multiple ubiquitin ligases in skeletal muscle[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2003, 35(5): 698-705.
- [3] Dehoux M J, Van Beneden R P, Fernández-Celemín L, et al. Induction of MaFBx and Murf ubiquitin ligase mRNAs in rat skeletal muscle after LPS injection[J]. *FEBS Lett*, 2003, 544(1-3): 214-217.
- [4] 洪平, 赵鹏, 杨奎生. 不同强度运动时大鼠骨骼肌能量代谢产物的变化[J]. *中国运动医学杂志*, 2002, 21(3): 261-268.
- [5] Thomson D M, Gordon S E. Diminished overload-induced hypertrophy in aged fast-twitch skeletal muscle is associated with AMPK hyperphosphorylation[J]. *J Appl Physiol*, 2005, 98(2): 557-564.
- [6] 张国华. 不同运动骨骼肌 AMPK 的变化特点及对 mTOR 和下游信号的调控[D]. 北京: 北京体育大学, 2008.
- [7] Nakashima K, Yakabe Y. AMPK activation stimulates myofibrillar protein degradation and expression of atrophy-related ubiquitin ligases by increasing FOXO transcription factors in C2C12 myotubes[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2007, 71(7): 1650-1656.
- [8] 马廷超, 朱荣, 许寿生, 等. AMPK 活化对骨骼肌中 MAFbx mRNA、MuRF1 mRNA 的表达和 3-MH 含量的影响[J]. *体育学刊*, 2010, 17(8): 112-117.
- [9] Ai H, Ihlemann J, Hellsten Y, et al. Effect of fiber type and nutritional state on AICAR-and contraction-stimulated glucose transport in rat muscle[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002, 282(6): E1291-1300.
- [10] Balon T W, Jasman A P. Acute exposure to AICAR increases glucose transport in mouse EDL and soleus muscle[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 282(4): 1008-1011.
- [11] Gomes M D, Lecker S H, Jagoe R T, et al. Atrogin-1, a muscle-specific F-box protein highly expressed during muscle atrophy[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(25): 14440-14445.
- [12] Bodine S C, Latres E, Baumhueter S, et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy[J]. *Science*, 2001, 294(5547): 1704-1708.
- [13] Louis E, Raue U, Yang Y, et al. Time course of proteolytic, cytokine, and myostatin gene expression after acute exercise in human skeletal muscle[J]. *J Appl Physiol*, 2007, 103(5): 1744-1751.
- [14] Yang Y, Jemiolo B, Trappe S. Proteolytic mRNA expression in response to acute resistance exercise in human single skeletal muscle fibers[J]. *Appl Physiol*, 2006, 101(5): 1442-1450.
- [15] Raue U, Slivka D, Jemiolo B, et al. Proteolytic gene expression differs at rest and after resistance exercise between young and old women[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2007, 62(12): 1407-1412.
- [16] Mascher H, Tannerstedt J, Brink-Elfegoun T, et al. Repeated resistance exercise training induces different changes in mRNA expression of MAFbx and MuRF-1 in human skeletal muscle[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008, 294(1): E43-51.
- [17] Deldicque L, Atherton P, Patel R, et al. Effects of resistance exercise with and without creatine supplementation on gene expression and cell signaling in human skeletal muscle[J]. *J Appl Physiol*, 2008, (104): 371-378.
- [18] Coffey V G, Shield A, Canny B J, et al. Interaction of contractile activity and training history on mRNA abundance in skeletal muscle from trained athletes[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2006, 290(5): E849-855.
- [19] Kostek M C, Chen Y W, Cuthbertson D J, et al. Gene expression responses over 24 h to lengthening and shortening contractions in human muscle: major changes in CSR3, MUSTN1, SIX1, and FBXO32[J]. *Physiol Genomics*, 2007(31): 42-52.