

JAK2/STAT4 信号通路在运动所致大鼠 Th1/Th2 失衡中的作用

赵广高¹, 苏全生², 周石³, 苏利强⁴, 张玮⁴

(1.南昌大学 体育系, 江西 南昌 330031; 2.成都体育学院, 四川 成都 610041; 3.南十字星大学 健康与人体科学学院, 澳大利亚 里斯莫尔 2480; 4.江西中医学院 体育部, 江西 南昌 330004)

摘 要: 通过游泳训练诱发大鼠 Th1/Th2 失衡, 观察和分析 JAK2/STAT4 通路及其上游因子在该失衡发展过程中的变化规律, 探讨大运动量训练导致 Th1/Th2 失衡的分子机制。将清洁级 16 周龄雄性 SD 大鼠随机分为安静对照组(C 组)、游泳训练组(T 组), 每组根据取材时间不同又随机分为 24 h 组与 7 d 组。训练采用 4 周递增负荷游泳训练方法。Western Blotting 法测定心脏血淋巴细胞 pJAK2、pSTAT4、JAK2、STAT4 的蛋白表达, ELISA 法检测心脏血血浆 IFN- γ 、IL-4、IL-12 值。结果发现: (1)T 组大鼠血浆 IFN- γ 、IFN- γ /IL-4 与 IL-12($P<0.01$)水平均显著低于 C 组($P<0.01$)、($P<0.05$)。C 组与 T 组大鼠血浆 IL-12 与 IFN- γ 的质量浓度显著相关($P<0.01$)。 (2)T 组大鼠血淋巴细胞 pJAK2、pSTAT4 蛋白表达均显著低于 C 组($P<0.05$)、($P<0.01$)。结果说明 4 周递增负荷训练可能通过减少 IL-12 的分泌, 抑制 JAK2/STAT4 信号通路中关键因子 JAK2、STAT4 的磷酸化过程, 降低 Th1 类细胞因子 IFN- γ 的合成, 诱发 Th1/Th2 失衡。

关 键 词: 运动生理学; Th1/Th2 平衡; Janus 激酶-2; 信号传导与转录激活因子-4; 白细胞介素-12; γ -干扰素; 白细胞介素-4

中图分类号: G804.2 文献标志码: A 文章编号: 1006-7116(2014)05-0139-06

Roles played by JAK2/ STAT4 signaling pathways in rat's Th1/Th2 imbalance induced by exercising

ZHAO Guang-gao¹, SU Quan-sheng², ZHOU Shi³, SU Li-qiang⁴, ZHANG Wei⁴

(1.Department of Physical Education, Nanchang University, Nanchang 330031, China;

2.Chengdu Sport University, Chengdu 610041, China; 3.School of Health and Human Sciences,

Southern Cross University, Lismore, NSW 2480, Australia; 4.Division of Physical Education,

Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

Abstract: By means of swimming training, the authors induced rat's Th1/Th2 imbalance, observed and analyzed the patterns of changing of JAK2/STAT4 pathways and their upstream cytokines in the process of development of such an imbalance, so as to probe into the molecular mechanism of intensive training inducing the Th1/Th2 imbalance. The authors randomly divided 16-week old male SD rats graded clean into a calm control group (group C) and a swimming training group (group T), then randomly divided each of these groups into a 24h group and a 7d group according to different sampling times, carried out the training by using the 4-week load progressively increased swimming training method, measured the protein expressions of pJAK2, pSTAT4, JAK2 and STAT4 in cardiac blood lymphocytes by using the western blotting method, measured the contents of IFN- γ , IL-4 and IL-12 in cardiac blood plasma by using the ELISA method, and revealed the following findings: 1) the levels of IFN- γ , IFN- γ /IL-4 and IL-12 in blood plasma of the rats in group T were all significantly lowered that those of the rats in group C ($P<0.01$, $P<0.05$, $P<0.01$); the contents of IL-12 and IFN- γ in blood plasma of the rats in groups C and T were sig-

收稿日期: 2014-01-12

基金项目: 江西省自然科学基金项目(2011ZBAB204028)。

作者简介: 赵广高(1982-), 男, 副教授, 博士, 研究方向: 运动生理学。E-mail: zhaogg2002@163.com

nificantly correlative ($P<0.01$); 2) the protein expressions of pJAK2 and pSTAT4 in blood lymphocytes of the rats in group T were all significantly lowered that those of the rats in group C ($P<0.05$, $P<0.01$). The said findings indicate that the 4-week load progressively increased training may induce the Th1/Th2 imbalance by reducing the secretion of IL-12, suppressing the process of phosphorylation of key cytokines JAK2 and STAT4 in JAK2/STAT4 signaling pathways, and reducing the synthesis of type Th1 cytokine IFN- γ .

Key words: sports physiology; Th1/Th2 balance; JAK2; STAT4; IL-12; IFN- γ ; IL-4

过量运动引起的免疫失衡及其分子机制是目前研究的热点问题^[1]。作为反映细胞免疫与体液免疫平衡关系的重要指标, Th1/Th2 平衡常用于评价运动中机体的免疫机能。现有的研究成果已基本阐明了 Th1/Th2 平衡在不同运动中的变化规律^[1], 其中大运动量训练对 Th1 反应的抑制作用也已由实验研究所证实^[2-4]。在此基础上, 研究者们参考了 Th1/Th2 平衡自身的调控因素, 来研究大运动量训练诱发 Th1/Th2 失衡过程中各种调节因素的作用^[5-7], 试图揭示该失衡发生的分子机制。

基础研究认为, 细胞因子介导的 Janus 激酶/信号传导与转录激活因子(JAK/STAT)信号通路在 Th1、Th2 的分化过程中起决定性作用^[8-10]。其中, 白细胞介素(IL)-12 介导的 JAK2/STAT4 通路诱导 Th1 分化, JAK2、STAT4 的磷酸化是该通路激活的重要标志^[11-12]。而大运动量训练后 Th1/Th2 平衡的变化是否与 JAK2/STAT4 信号通路的状态有关, 目前尚需实验予以证实。基于此, 本研究采用长时间递增负荷训练的方法建立大鼠 Th1 反应抑制模型, 探讨 JAK2/STAT4 通路及其上游细胞因子在训练中的变化特点及其与 Th1 反应的关系, 旨在为运动免疫学相关理论的建立提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

清洁级 16 周龄雄性 SD 大鼠 32 只, 体重(456 ± 38) g, 饲养环境温度 18~25℃, 相对湿度 40%~60%, 自然光照, 自由饮食饮水。将大鼠随机分为安静对照组(C 组, $n=16$ 只)、游泳训练组(T 组, $n=16$ 只)。T 组又随机分为末次训练后 24 h 组(T1)与末次训练后 7 d 组(T2); C 组也随机分为 C1、C2 组, 每小组各 8 只, 分别与 T1、T2 组同时间段取材。

1.2 运动模型

大鼠购回适应性饲养 3 d 后, T 组大鼠进行 4 周递增负荷游泳训练(第 1 周, 10~90 min 无负重; 第 2 周, 90~135 min 无负重; 第 3 周 60~105 min, 负重 1% 体重; 第 4 周, 105~180 min, 负重 1% 体重), 每周训练 5 d。前 2 周大鼠为无负重游泳, 逐日递增游泳时间, 用以训练大鼠的游泳水平, 并逐渐提高其耐力。后两周负重 1% 体重, 游泳时间仍逐渐增加, 时间增加的

幅度根据大鼠每天训练后的疲劳程度与第 2 天的活动状态而定。负重为串有一定重量螺丝帽的钥匙环, 通过小皮筋绑定于大鼠双上肢腋下。训练期间未完成规定运动时间就出现动作明显不协调、沉入水底后不能保持站立姿势的大鼠, 迅速捞起后用干毛巾擦干后休息 5 min 后, 再放入水中游泳, 并使之总游泳时间达到当日要求。

1.3 测试样本的采集与处理

T 组大鼠末次训练后 24 h、7 d 根据体重用质量分数为 10% 的水合氯醛(0.0003 mL/g)腹腔注射麻醉并取心脏血。C1、C2 组分别与 T1、T2 组同时间段取血。共取血 2 管, 每管 2.5 mL, 均置于 EDTA 抗凝剂真空管中。一管静置 30 min 后, 3 000 r/min 离心 5 min, 分离血浆用于检测 IFN- γ 、IL-4、IL-12 质量; 另一管分离淋巴细胞, 用于测定 pJAK2、pSTAT4、JAK2、STAT4 蛋白表达。

1.4 指标检测方法

1) 血浆 IFN- γ 、IL-4、IL-12 质量浓度。

血浆细胞因子 IFN- γ 、IL-4、IL-12 含量均采用 ABC-ELISA 检测。将抗大鼠细胞因子单抗包被在酶标板上, 使标准品与样品中的细胞因子和单抗结合, 之后加入生物素化的抗大鼠细胞因子, 形成免疫复合物连接于板上, 用辣根过氧化物酶标记的链酶亲和素与生物素结合, 加入底物工作液后显蓝色, 最后加终止液硫酸, 在 450 nm 处测光密度, 细胞因子浓度和光密度值成正比, 通过绘制标准曲线来求出标本中的细胞因子含量。所有检测药盒均由上海西唐生物科技有限公司提供。

2) 血淋巴细胞 pJAK2、pSTAT4、JAK2、STAT4 蛋白表达。

血淋巴细胞 pJAK2、pSTAT4、JAK2、STAT4 蛋白表达均采用 Western Blotting 法。提取后的淋巴细胞加入细胞裂解液, 匀浆、超声破碎并离心后取上清得总蛋白, 用 BCA 法测定蛋白浓度。加 5×SDS 上样缓冲液; 10% SDS-PAGE 分离蛋白样品, 恒流(30 mA)电泳, 待 Marker 开始分离, 转为恒流(40 mA)电泳; 将蛋白质分离转移到 NC 膜上; 90 V 恒压转膜, 90 min; 室温下将 NC 膜用 5% 脱脂牛奶(用 TBST 配制)封闭 1 h; 用兔抗 JAK2(1:800)、兔抗 pJAK2(1:500)、兔抗

STAT4(1:800)、兔抗 pSTAT4(1:500)或鼠抗 β -actin 抗体(1:5000) 4℃孵育过夜;辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 2 h。之后进行化学发光、显影、定影,并用凝胶图象处理系统分析光密度值。所有检测药盒均由 Cell Signaling 公司提供,试剂 β -actin-Mouse mAb 由 Sigma 公司提供。

1.5 数据处理

实验结果借助 SPSS 17.0 软件进行统计处理。组间比较采用单变量方差分析(Univariate Analysis of Variance),首先检测训练效应和时相效应两个主效应,之后对两种因素的交互作用进行检测(训练 \times 时相)。同时相不同组别与同组别不同时相间的差异水平用 Bonferroni 法进行多个比较的调整。两种不同测试指标间的相关系数通过 Pearson 相关性来检验。显著性差异水平设定为 $P<0.05$,非常显著性差异水平设定为 $P<0.01$ 。

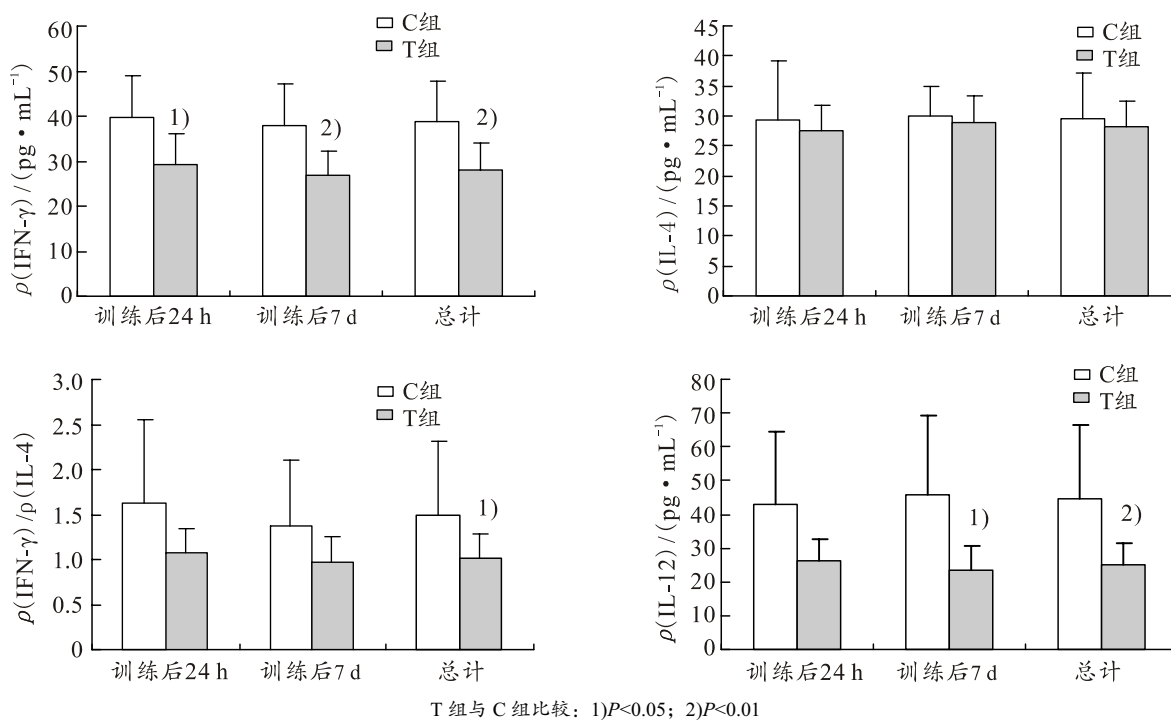


图 1 T 组与 C 组血浆 IFN- γ 、IL-4、IL-12 质量浓度及 IFN- γ /IL-4 值的比较

2.2 血浆 IL-12 与 IFN- γ 含量的相关性

从 Pearson 相关性检验结果来看,统计范围为全部大鼠的血浆 IL-12 与 IFN- γ 的质量浓度显著相关($r=0.907$, $P<0.01$),统计范围为两安静对照组大鼠的两指标质量浓度也显著相关($r=0.913$, $P<0.01$),统计范围为两训练组大鼠的两指标质量浓度同样呈显著相关($r=0.857$, $P<0.01$)。

2.3 大鼠血淋巴细胞 JAK2、pJAK2、STAT4、pSTAT4 水平的变化

从主体间效应的检验结果来看,训练可导致血淋

2 研究结果

2.1 血浆 IFN- γ 、IL-4、IFN- γ /IL-4 与 IL-12 水平的变化

主体间效应的检验显示,训练可导致大鼠血浆 IFN- γ 、IFN- γ /IL-4 与 IL-12 水平均显著低于 C 组($P<0.01$ 、 $P<0.05$ 、 $P<0.01$),对大鼠血浆 IL-4 含量无显著影响;4 指标不同时相间均无显著性变化(图 1)。此外,对 4 指标两主效应间交互作用的检验也均未见显著性差异。

从同时相不同组别间的比较来看,训练后 24 h 与 7 d 血浆 IFN- γ 、IL-4、IFN- γ /IL-4 与 IL-12 水平均分别低于安静对照组同时相,其中训练后 24 h、7 d 血浆 IFN- γ 质量浓度与训练后 7 d 血浆 IL-12 含量变化差异显著。同组别不同时相间,训练后 7 d 血浆 IFN- γ 、IL-4、IFN- γ /IL-4 与 IL-12 水平均低于训练后 24 h 时相($P>0.05$)(见图 1)。

巴细胞 pJAK2 与 pSTAT4 蛋白表达显著下调($P<0.05$ 、 $P<0.01$),对 JAK2 与 STAT4 无显著性影响;4 指标不同时相间均无显著性变化(见图 2)。此外,对 4 指标两主效应间交互作用的检验也均未见显著性差异。

在同时相不同组别间的比较上,训练后 24 h 与 7 d 血淋巴细胞 pJAK2 与 pSTAT4 蛋白表达均低于安静对照组同时相,其中训练后 7 d 血淋巴细胞 pSTAT4 表达变化差异显著。同组别不同时相间,训练后 7 d 血淋巴细胞 pJAK2 与 pSTAT4 蛋白表达水平低于训练后 24 h 时相,但未呈现显著性差异(见图 2)。

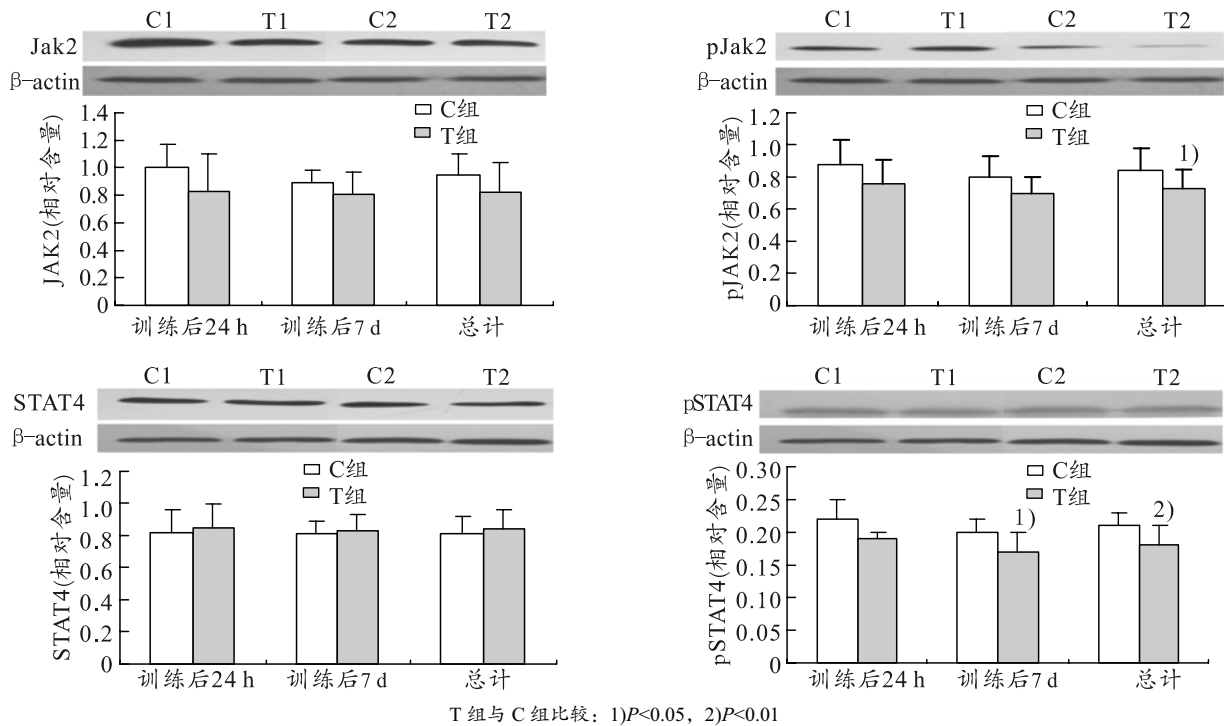


图 2 T 组与 C 组血淋巴细胞 JAK2、pJAK2、STAT4、pSTAT 蛋白表达的比较

3 讨论

3.1 训练对 Th1/Th2 平衡的影响

长周期、大运动量训练可导致受试机体脾脏或外周血淋巴细胞中 Th1 细胞数量、Th1 细胞分泌 IFN- γ 的水平或外周血 IFN- γ 含量显著降低,引起 Th1 反应抑制,诱发 Th1/Th2 失衡^[2-4]。在 Th1/Th2 平衡的评价方法中,外周血细胞因子 IFN- γ 、IL-4 含量也已被许多学者在运动科学研究中逐渐采用^[4, 13]。本研究结果显示,4 周递增负荷训练可引起大鼠血浆 IFN- γ 质量浓度显著降低($P < 0.01$) (见图 1),提示本实验训练方案可有效抑制 Th1 反应,导致细胞免疫功能低下。比较训练后两个取材时相的实验结果发现,训练后 7 d 血浆 IFN- γ 质量浓度低于训练后 24 h 时相,比安静对照组的抑制作用也更为显著,提示 Th1 反应的抑制作用在训练之后的一段时间内呈加重趋势,该实验结果与 Wang Ru 等^[3]的研究结果相一致。

为了更直观地反映运动过程中的 Th1/Th2 平衡,有学者将运动前后 Th1、Th2 细胞数量的比例或 IFN- γ 、IL-4 含量的比值(或 IFN- γ mRNA/IL-4 mRNA 值)作为 Th1/Th2 平衡的一个评价指标^[4, 14-15]。本研究测定了 4 周递增负荷训练后血浆 IFN- γ /IL-4 比值的变化情况,结果发现,训练可引起大鼠血浆 IFN- γ /IL-4 值显著降低($P < 0.05$),与苏利强等^[4]的研究结果相一致。而训练后 7 d IFN- γ /IL-4 值则低于训练后 24 h 时相(见图 1)。该结果进一步说明 4 周递增负荷训练可导致

Th1 型免疫反应抑制为主的 Th1/Th2 失衡,该失衡在训练后 24 h 至 7 d 阶段呈加重的趋势。

3.2 训练对 IL-12 介导的 JAK2/STAT4 通路的影响

在 Th 细胞分化的过程中,细胞因子启动的 JAK/STAT 信号通路的状态起关键作用。其中,IL-12 启动的 JAK2/STAT4 通路介导 Th1 细胞分化^[116]。IL-12 主要由抗原提呈细胞(APC)中的树突状细胞分泌,是启动 Th1 细胞分化过程的关键细胞因子^[17]。研究表明,当用抗 IL-12 的抗血清耗尽 IL-12 或基因敲除 IL-12 时,Th1 细胞的分化便受到抑制^[18]。JAK2/STAT4 信号通路属于非受体酪氨酸激酶信号通路,是细胞因子 IL-12 诱导 Th1 细胞分化过程中非常重要的传导途径。其中,JAK2 是一种胞质内的非受体型可溶性酪氨酸蛋白激酶,是 JAK 的家族成员之一。研究表明,JAK2 缺失细胞不能表达 Th1 类细胞因子 IFN- γ ^[19]。STAT4 归属于一种能与靶基因调控区 DNA 结合的胞浆蛋白家族——STAT。当 STAT4 基因被敲除时,小鼠会发生 Th1 细胞生成障碍与 Th1 细胞缺陷的临床表现^[20]。

目前,运动科学领域中对 IL-12 与 Th1/Th2 平衡关系的研究还不多见。西班牙学者 Giraldo 等^[21]发现,无论是在 55%VO_{2max} 强度下持续 45 min,还是在 70%VO_{2max} 强度下持续 1 h 的自行车运动后,健康女性外周血血清 IL-12 与 IFN- γ 的含量在运动后即刻与 24 h 的变化趋势均相一致。美国学者 Kohut 等^[22]发现,一次递增跑台速度至力竭的运动后,对实验小鼠施加

HSV-1 病毒感染, 病毒感染 2 d 后小鼠脾细胞分泌的 IL-12 与 IFN- γ 均显著降低; 感染 7 d 后 IL-12 仍显著低于对照组, 体现了它对 Th1 分化抑制的长效性, 但 IFN- γ 恢复至安静组水平, 其原因尚不清楚。此外, 日本学者 Suzuki 等^[23]测定了力竭运动后运动员血浆细胞因子含量的变化。结果发现, 作为 IL-12 的拮抗剂^[24], 血浆 IL-12p40 在运动后显著升高, 而 IFN- γ 活性下降, 但血浆 IL-12 的含量在实验中未检出。目前尚未见长时间运动训练干预机体 IL-12 的实验报道。

运动条件下 Th1/Th2 平衡与 JAK2/STAT4 信号通路关系方面, 目前未见到 JAK2 测定的相关实验报道。STAT4 方面, 研究者将分别诱导 Th1 和 Th2 应答的转录因子 STAT4 和 GATA3 作为一对指标, 用 PCR 实验技术探讨了 9 周递增负荷运动过程中大鼠外周血白细胞 STAT4 mRNA、GATA3 mRNA 表达量的变化情况^[7]。结果发现, 9 周训练后大鼠 STAT4/GATA3 显著低于对照组同时相, 而 1 周的中等强度运动后大鼠 STAT4/GATA3 高于对照组同时相, 且 STAT4/GATA3 与 IFN- γ /IL-4 的变化趋势相一致。然而, STAT4 mRNA 指标本身的变化情况文献并未报道。

本研究在测定血浆 IFN- γ 质量浓度的同时, 测定了同一血样血浆 IL-12 质量浓度与血淋巴细胞 pJAK2、pSTAT4 表达的变化情况。结果发现, 4 周递增负荷训练可导致大鼠血浆 IL-12 含量显著降低 ($P < 0.01$), 训练后 7 d 血浆 IL-12 质量浓度量低于训练后 24 h 时相(见图 1)。且各实验大鼠血浆 IL-12 与 IFN- γ 的质量浓度显著相关 ($r = 0.907$, $P < 0.01$)。此外, 训练还导致了血淋巴细胞 pJAK2 与 pSTAT4 蛋白表达显著下调, 而训练后 7 d 血淋巴细胞 pJAK2 与 pSTAT4 的蛋白表达水平均低于训练后 24 h 时相(图 2)。以上结果提示: 4 周递增负荷训练可能影响了 APC 细胞的分泌作用, 导致 IL-12 生成减少。在与 Th1 细胞细胞膜上 IL-12R 发生作用时, 不能提供充足的 p35 来结合 IL-12R β 2, 一定程度上抑制了 JAK2 相互聚集, 并通过交互自身磷酸化作用而活化的反应过程。同时, IL-12R 上的酪氨酸残基的磷酸化作用也减弱, 无法为 STAT4 提供足够的停泊位点。在这样的内环境中, STAT4 羟基酪氨酸磷酸化而激活为 pSTAT4 的作用受到抑制。由 pSTAT4 单体聚合形成的、用于穿越核膜识别其特异的 DNA 上的靶序列、启动 IFN- γ mRNA 转录的 pSTAT4 同源二聚体也生成减少(见图 3)。因此, Th1 细胞合成 IFN- γ 的能力相对降低, 分泌到血浆中的 IFN- γ 质量浓度也显著下降。训练对这一过程的抑制作用可以持续到末次训练后 7 d。需要指出的是, 本研究尽管为 JAK2/STAT4 通路及其上游因子在运动中

Th1/Th2 失衡的作用机制提供了实验依据, 但仍存在着不足之处: 如研究中缺乏 Th1 细胞功能抑制的直接证据——Th1 细胞分泌 IFN- γ 的水平与 IFN- γ mRNA 表达的变化指标, 这也将是我们下一步研究需要解决的问题之一。

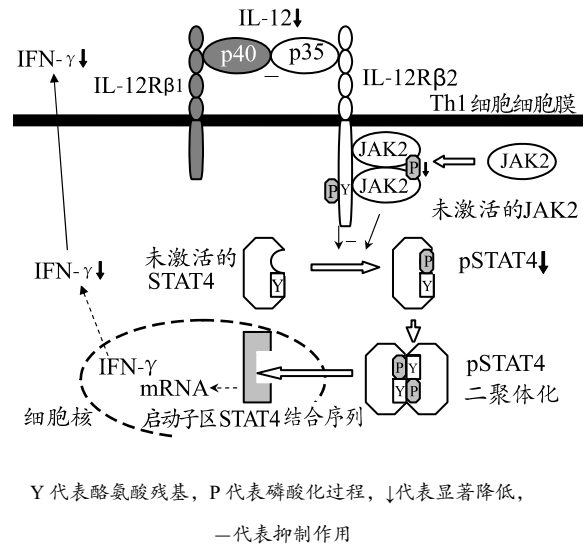


图 3 4 周递增负荷训练后 JAK2/STAT4 通路及上游细胞因子的变化

此外, 本研究还测定了各组大鼠血淋巴细胞 JAK2、STAT4 的表达情况。结果发现, 4 周递增负荷训练对血淋巴细胞 JAK2 与 STAT4 蛋白表达并无显著影响(见图 2)。由此可见, 训练对 JAK2 与 STAT4 的表达影响不大, 主要通过抑制其磷酸化过程, 来抑制 JAK2/STAT4 信号通路的作用。

4 周递增负荷训练可有效抑制大鼠 Th1 免疫反应, 诱发 Th1/Th2 平衡向 Th2 方向漂移, 导致免疫失衡。该失衡作用可在训练后维持一段时间。

4 周递增负荷训练可能通过减少大鼠 Th1 细胞启动因子 IL-12 的分泌, 抑制 JAK2/STAT4 信号通路中关键因子 JAK2、STAT4 的磷酸化过程, 降低 Th1 类细胞因子 IFN- γ 的合成。IL-12 介导的 JAK2/STAT4 通路的抑制可能是大运动量训练导致 Th1/Th2 失衡的分子机制之一。

参考文献:

- [1] Zhao G, Zhou S, Davie A, et al. Effects of moderate and high intensity exercise on T1/T2 balance[J]. Exerc Immunol Rev, 2012, 18: 98-114.
- [2] Lancaster G I, Halson S L, Khan Q, et al. Effects of acute exhaustive exercise and chronic exercise training on type 1 and type 2 T lymphocytes[J]. Exerc Immunol

- Rev, 2004, 10: 91-106.
- [3] Wang R, Chen P. Modulation of NKT cells and Th1/Th2 imbalance after alpha-GalCer treatment in progressive load-trained rats[J]. *Int J Biol Sci*, 2009, 5(4): 338-343.
- [4] 苏利强, 张玮, 赵广高, 等. PKC 在运动性免疫抑制发生过程中的作用[J]. *上海体育学院学报*, 2011, 35(3): 56-59.
- [5] Kohut M L, Martin A E, Senchina D S, et al. Glucocorticoids produced during exercise may be necessary for optimal virus-induced IL-2 and cell proliferation whereas both catecholamines and glucocorticoids may be required for adequate immune defense to viral infection [J]. *Brain Behav Immun*, 2005, 19(5): 423-435.
- [6] Yeh S H, Chuang H, Lin L W, et al. Regular Tai Chi Chuan exercise improves T cell helper function of patients with type 2 diabetes mellitus with an increase in T-bet transcription factor and IL-12 production[J]. *Br J Sports Med*, 2009, 43(11): 845-850.
- [7] 赵影, 陈佩杰, 王茹. 运动性免疫失衡过程中转录因子的变化[J]. *体育科学*, 2010, 30(3): 64-67.
- [8] Jia Y, Jing J, Bai Y, et al. Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis by plumbagin through down-regulation of JAK-STAT and NF- κ B signaling pathways [J]. *Plos One*, 2011, 6(10): e27006.
- [9] Kim S, Oh J, Choi J, et al. Identification of human thioredoxin as a novel IFN-gamma-induced factor: mechanism of induction and its role in cytokine production [J]. *BMC Immunol*, 2008, 9: 64.
- [10] Muthian G, Raikwar H P, Rajasingh J, et al. 1, 25 Dihydroxyvitamin-D3 modulates JAK-STAT pathway in IL-12/IFN γ axis leading to Th1 response in experimental allergic encephalomyelitis [J]. *J Neurosci Res*, 2006, 83(7): 1299-1309.
- [11] Kim H J, Chung D H, Kim M J, et al. Decreased phosphorylation of STAT-1, STAT-4 and cytokine release in MDR-TB patients with primary resistance[J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2008, 12(9): 1071-1076.
- [12] Noon-Song E N, Ahmed C M, Dabelic R, et al. Controlling nuclear JAKs and STATs for specific gene activation by IFN γ [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 410(3): 648-653.
- [13] Wang J S, Chen W L, Weng T P. Hypoxic exercise training reduces senescent t-lymphocyte subsets in blood [J]. *Brain Behav Immun*, 2011, 25(2): 270-278.
- [14] 何伟. 运动对人体免疫稳态的影响的研究[D]. 成都: 四川大学, 2006.
- [15] Ogawa K, Oka J, Yamakawa J, et al. Habitual exercise did not affect the balance of type 1 and type 2 cytokines in elderly people[J]. *Mech Ageing Dev*, 2003, 124(8-9): 951-956.
- [16] Kotanides H, Reich N C. Requirement of tyrosine phosphorylation for rapid activation of a DNA binding factor by IL-4 [J]. *Science*, 1993, 262(5137): 1265-1267.
- [17] Moser M, Murphy K M. Dendritic cell regulation of TH1-TH2 development[J]. *Nat Immunol*, 2000, 1(3): 199-205.
- [18] Magram J, Connaughton S E, Warriar R R, et al. IL-12-deficient mice are defective in IFN gamma production and type 1 cytokine responses[J]. *Immunity*, 1996, 4(5): 471-481.
- [19] Neubauer H, Cumano A, Müller M, et al. Jak2 deficiency defines an essential developmental checkpoint in definitive hematopoiesis[J]. *Cell*, 1998, 93(3): 397-409.
- [20] Kaplan M H, Wurster A L, Grusby M J. A signal transducer and activator of transcription (Stat) 4-independent pathway for the development of T helper type 1 cells[J]. *J Exp Med*, 1998, 188(6): 1191-1196.
- [21] Giraldo E, Garcia J J, Hinchado M D, et al. Exercise intensity-dependent changes in the inflammatory response in sedentary women: role of neuroendocrine parameters in the neutrophil phagocytic process and the pro-/anti-inflammatory cytokine balance[J]. *Neuroimmunomodulation*, 2009, 16(4): 237-244.
- [22] Kohut M L, Boehm G W, Moynihan J A. Prolonged exercise suppresses antigen-specific cytokine response to upper respiratory infection[J]. *J Appl Physiol*, 2001, 90(2): 678-684.
- [23] Suzuki K, Nakaji S, Kurakake S, et al. Exhaustive exercise and type-1/type-2 cytokine balance with special focus on interleukin-12 p40/p70[J]. *Exerc Immunol Rev*, 2003, 9: 48-57.
- [24] Gately M K, Carvajal D M, Connaughton S E, et al. Interleukin-12 antagonist activity of mouse interleukin-12 p40 homodimer in vitro and in vivo[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1996, 795: 1-12.