

•运动人体科学•

有氧耐力可训练性差异与运动适应性循环 microRNA 表达谱特征的关联性

薛源¹, 李岩², 徐思³

(1.四川师范大学 体育学院, 四川 成都 610101; 2.鲁东大学 体育学院, 山东 烟台 264025;
3.四川省医学科学院 四川省人民医院, 四川 成都 610031)

摘 要: miRNA 调控机体对训练应激的适应能力, 其调控模式影响有氧耐力可训练性。循环 miRNA(c-miRNA)与 miRNA 密切相关, 分析不同有氧耐力可训练性水平群体的运动适应性 c-miRNA 表达变化差异, 可获得与训练敏感性相关的 c-miRNA 表达谱特征。结果显示: 高可训练性表型在有氧训练应激诱导下差异表达 17 条 c-miRNA, 其中 11 条上调, 6 条下调或平稳, 其调控功能主要涉及低氧适应通路和脂肪酸 β 氧化代谢的关键基因表达。提示: 有氧耐力可训练性差异与机体低氧适应能力和脂肪酸 β 氧化供能能力, 对有氧训练应激诱导作用的反应性密切相关。miRNA 调控并整合机体应激适应性基因表达。c-miRNA 差异表达谱可用来评估有氧耐力可训练性, 预测有氧能力发展潜力。

关 键 词: 运动生物化学; 有氧耐力; 可训练性; 循环微核苷酸; 最大摄氧量; 关联模型; 运动性适应

中图分类号: G804.7 文献标志码: A 文章编号: 1006-7116(2015)04-0139-06

Correlation between aerobic endurance trainability difference and the expression spectrum characteristics of sport adaptive circulating microRNA

XUE Yuan¹, LI Yan², XU Si³

(1.School of Physical Education, Sichuan Normal University, Chengdu 610101, China;

2.School of Physical Education, Ludong University, Yantai 264025, China;

3.Sichuan Academy of Medical Science, Sichuan Provincial Hospital, Chengdu 610031, China)

Abstract: miRNA regulates the body's ability to adapt to training stress; its regulating pattern affects aerobic endurance trainability. Circulating miRNA (c-miRNA) is closely related to miRNA; by analyzing differences in the changing of sport adaptive c-miRNA expression of groups of people at different aerobic endurance trainability levels, the authors can acquire the expression spectrum characteristics of c-miRNA sensitively correlative with training. Results: induced by aerobic training stress, the phenotype with high trainability differentially expressed 17 c-miRNAs, 11 of which were up-regulated, 6 of which were down-regulated or steady, its regulating function mainly involved with hypoxia adaptation pathway and the key gene expression of fatty acid β -oxidation metabolism. Hint: aerobic endurance trainability difference is close related to the reactivity of the body's hypoxia adaptation ability and fatty acid β -oxidation energy supply ability to the induction function of aerobic training. miRNA regulates and integrates the body's stress adaptive gene expression. C-miRNA differential expression spectrum can be used to evaluate aerobic endurance trainability, and to predict aerobic ability development potential.

收稿日期: 2014-08-28

基金项目: 科技部科技奥运专项“提高体能类项目优秀运动员竞技能力关键技术的研究”(2005BA904); 四川省教育厅项目“运动训练过程中 NKT 细胞机能水平与运动疲劳程度的相关性研究”(11SA055)。

作者简介: 薛源(1984-), 男, 讲师, 硕士, 研究方向: 运动训练及分子生物学机制。E-mail: xueyuan1980@yeah.net

Key words: sports biochemistry; aerobic endurance; trainability; c-miRNAs; maximum oxygen uptake; correlation model; sports adaption

杰出运动能力的形成与运动天赋和长期刻苦训练密不可分。运动性适应能力好的运动员的可训练性更强,成绩提高更快,训练效果更好^[1]。表观遗传学机制调控营养、训练等环境应激因素诱导的适应过程的基因选择性表达,其基因调控模式具有个体差别并可稳定遗传^[2],可能是产生运动能力及可训练性个体差异的原因。目前对于表观遗传学基因调控模式与运动能力的可训练性的具体关联所知甚少,因而无法将其作为指标应用于运动员选材和个性化训练。

microRNA 基因表达调控作用是环境应激适应性基因表达的主要表观遗传学调控方式^[3],其调控模式与环境应激适应能力的个体差异有关,应激适应过程中的 microRNA 表达谱反映了其调控模式和强度^[4]。研究表明, microRNA 分子(以下简称 miRNA)参与了运动性适应基本生理过程的调控,如肌组织肥大和心肌/骨骼肌收缩力增强^[5]、血管增生^[6]、线粒体合成与酶活性提高^[7]等。组织内 miRNA 分泌进入血液循环成为循环 miRNAs(circulating miRNAs, 以下简称 c-miRNA),二者在表达谱上具有稳定关联^[8]。c-miRNA 可能是运动应激诱导机体应答过程中整合多系统适应性反应的关键因子^[9],其表达谱特征与运动训练方式和训练效果存在关联,在运动性适应的不同状态下,c-miRNAs 表达谱发生特征性改变^[10],因此推测:运动适应性 c-miRNAs 表达谱可以作为反映运动能力的可训练性的“分子指纹”,在选材阶段准确预估运动能力的发展潜力,或用来评估训练效果/竞技状态,作为制订个性化训练方案的依据。

有氧耐力水平是决定运动能力的主要因素之一,不同个体的有氧耐力训练效果存在显著差异^[11]。本研究以最大摄氧量(VO_{2max})为主要指标评估有氧耐力训练效果和训练敏感性,同步检测运动适应性 c-miRNA 表达谱,提取和分析有氧耐力训练的高敏感表型个体的运动性适应 c-miRNA 表达谱特征,建立运动性适应 c-miRNA 表达谱与有氧运动能力训练敏感性的关联模型,作为早期预测和评估有氧运动能力发展潜力和适应特点的指标应用于运动员选材和个性化训练方案制订。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

四川省某文武学校初中部学员 92 人,男性,平均年龄(13.6 ± 0.5)岁;身高(171.85 ± 6.28)cm;体重(59.60

± 4.55) kg。既往健康,无伤病史,参加试验前未受过系统的有氧运动能力训练。

1.2 有氧耐力训练方案

参加实验学员进行为期 15 周的系统性有氧运动能力训练。每周三、五下午 16:00-17:30 进行 5 000 m 长跑训练,负荷强度:1~3 周 65%个人最大心率 ± 3 次/min;4~10 周 70%个人最大心率 ± 3 次/min;11~15 周 75%个人最大心率 ± 3 次/min。以 polar 表(瑞典产)监控靶心率维持速度。训练方案由教练监督执行。

1.3 有氧运动能力相关指标检测

所有指标在 15 周有氧耐力训练前后各检测 1 次,分别记为基础值(baseline)和训练值(post-ex)。

1)最大摄氧量相对值($R-VO_{2max}$)测试采用 12 min 跑步法^[12],在 400 m 标准跑道上进行,受试者佩戴 polar 表,按指令起跑,尽最大努力跑完 12 min,读取跑动距离 s 并换算成英里,按以下公式折算成 $R-VO_{2max}$:

$$R-VO_{2max}(\text{mL}/(\text{min} \cdot \text{kg}))=(s-0.318)/0.0278 \quad \textcircled{1}$$

2)个体乳酸阈(ILT)测定采用递增负荷法^[13],功率自行车(瑞典产 Monark894E、839E)起始负荷为 50 W,每 2 min 递增 40 W,转速维持在 50 r/min,直至力竭(力竭标准:连续 2 次不能维持规定转速)。取中指指尖血 20 μL ,采用 YSI1500 便携式血乳酸自动分析仪测定血乳酸值。分别采取安静状态下、每级负荷后即刻及恢复期第 2、5、8、10、15 min 血样。测试结果记录在表中,采用 Stegmann 方法判定 ILT^[14]。

1.4 c-miRNA 表达谱检测和实时荧光定量 PCR 法验证

1)c-miRNAs 表达值测定。

15 周有氧耐力训练开始前清晨空腹安静状态下肘静脉取血 5 mL 检测 c-miRNAs 表达值,记为基线表达值。完成 VO_{2max} 基础值测试后分别于 1 h 内、恢复 24 和 48 h 肘静脉取血 5 mL 检测 c-miRNAs 表达值,记为测试后 0、恢复 24 h、恢复 48 h 表达值。

2)血浆总 RNA 提取。

TRIZOL 法提取血浆总 RNA, RNase-free ddH₂O 溶解提取的总 RNA 分子。紫外分光光度仪测定 RNA 纯度和浓度, OD 260/280>1.9 说明总 RNA 纯度较好,②甲醛变性琼脂糖电泳检测总 RNA 完整性较好,未发生降解。

3)microarray 检测 c-miRNA 差异表达谱。

总 RNA 按照 Ambion's miRNA Isolation Kit 说明书分离 miRNA。使用 miRCURYTM Array Labelling kit(Ambion)进行 miRNA 标记操作。microRNA 芯片杂交按照 miRCURY™ Array microarray kit (Exiqon)说明书

进行。Genepix 4000B 双通道激光图像扫描仪(Molecular Devices 公司)以 635 nm 单波长进行扫描, Genepix Pro 6.0 软件分析数据。数据预处理以后, 根据各张芯片的 global mean 进行片间校正, 用 SAM (significance analysis of microarrays, SAM .version2.1)筛选差异表达 miRNAs。筛选条件: FDR (false discovery rate)<5%, Fold change>2 或<0.5。

4)实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)验证差异表达 c-miRNA 相对表达量。

(1)c-miRNA 茎环反转录合成 cDNA: 根据 mirBASE 提供的 miRNA 种子区序列, 设计茎环反转录引物(北京六合华大基因公司合成), 20 μ L 反应体系(5 \times First Strand synthesis Buffer, 4 μ L; dNTPmi 1 μ L; RNase Inhibitor, 40units; Reverse Transcriptase(M-MLV), 1 μ L; Stem-loop RT Primer, 1 μ L; Total RNA 500 ng; RNase-free ddH₂O), 反应条件: 65 $^{\circ}$ C 加热 5 min, 放入冰中 2 min。然后放入 PCR 仪 16 $^{\circ}$ C 热激 30 min, 42 $^{\circ}$ C 60 min, 85 $^{\circ}$ C, 5 min 停止反转录。

(2)qRT-PCR 检测 c-miRNA 表达水平: miRNA 定量引物(北京六合华大基因公司)。反应体系按照 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II (Perfect Real Time)说明书进行配置。使用 Bio-Rad iCycler PCR System 进行 Real Time PCR 反应, 程序: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C 10 s; 60 $^{\circ}$ C 30 s, 40cycle。以上循环结束后进行 65~95 $^{\circ}$ C 的融解曲线分析。每个样品平行 3 次, 溶解曲线为单一峰。按照 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算样品的相对表达丰度。

1.5 c-miRNA 差异表达谱的获得及其与有氧耐力指标的相关性

1)计算训练前后 R-VO_{2max} 变化率 $\eta(R-VO_{2max})$ 并采用 K-means 法进行聚类分析, 根据聚类分析结果将学员分为对有氧训练的高敏感表型组(High Response genotype Group, 简称 HR 组)和普通敏感表型组(Common Response genotype Group, 简称 CR 组)。比较两组 c-miRNA 表达水平, 参照 Davidsen 标准^[10]提取 HR 组 c-miRNA 差异表达谱。

2)计算 HR 组差异表达的 c-miRNAs 在基线值-0 h 阶段(以下简称为阶段 I)和 0~24 h 阶段(以下简称为阶段 II)的表达量变化率 $\eta(c-miRNA)$:

$$\eta(c-miRNA) = \frac{\text{阶段终点表达量} - \text{阶段起点表达量}}{\text{阶段起点表达量}} \times 100\%$$

3)计算 $\eta(c-miRNA)$ 与 $\eta(R-VO_{2max})$ 和 $\eta(ILT)$ 之间的 Pearson 相关系数, 分析其相关性。

1.6 数据处理与分析

采用 SPSS 17.0 软件对结果进行处理。各项指标数据均采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示。有氧耐力训练前后各项指标的

变化率 $\eta(X) = \frac{\text{训练值} - \text{基础值}}{\text{基础值}} \times 100\%$ 。均数间比较采用两独立样本的 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示两组间的差异有统计学意义。聚类分析采用 k-means 法。采用 Bivariate 过程进行两组数据之间的相关性分析, 计算 Pearson 相关系数并用 *r* 表示。

2 研究结果及分析

2.1 训练前后 R-VO_{2max} 与 ILT 变化率及其相关性

参训学员的 R-VO_{2max} 和 ILT 水平在训练后均发生不同程度的变化。R-VO_{2max} 的基础值为 (39.80 ± 2.92) (mL/(kg · min)), 训练值为 (41.22 ± 2.63) (mL/(kg · min)), $\eta(R-VO_{2max}) = (2.6 \pm 2.8)\%$; ILT 的基础值为 (1.957 ± 0.130) mmol/L, 训练值为 (2.273 ± 0.291) mmol/L, $\eta(ILT) = (0.141 \pm 0.140)$ 。 $\eta(R-VO_{2max})$ 和 $\eta(ILT)$ 的相关性系数为 0.724 ($P < 0.05$) (见图 1)。

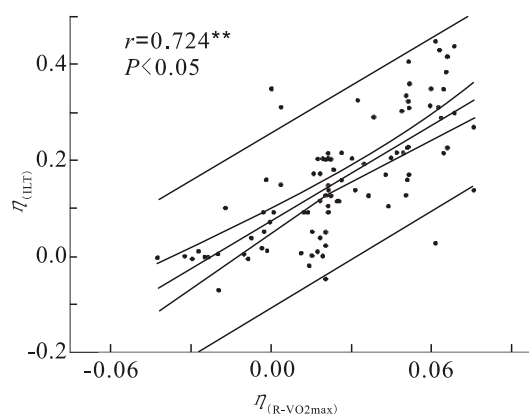


图 1 训练前后 $\eta(R-VO_{2max})$ 和 $\eta(ILT)$ 之间的相关性

2.2 对 $\eta(R-VO_{2max})$ 进行聚类分析结果

k-means 法对参训学员 15 周训练前后 $\eta(R-VO_{2max})$ 进行聚类分析, 将实验对象分为 HR 组和 CR 组。HR 组有 16 人, $\eta(R-VO_{2max}) = 0.065 \pm 0.005$, CR 组 76 人, $\eta(R-VO_{2max}) = 0.018 \pm 0.024$, HR 组 $\eta(R-VO_{2max})$ 显著高于 CR 组 ($P < 0.05$)。聚类分析散点图见图 2。

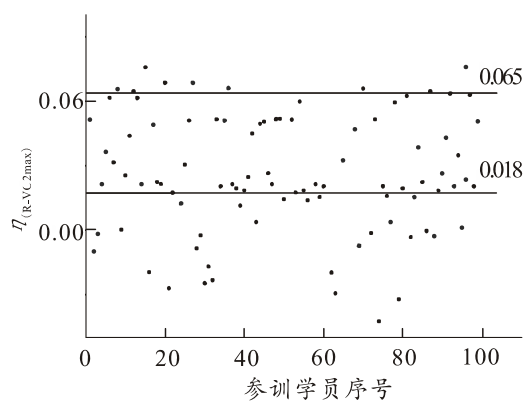


图 2 k-mean 法对参训学员 15 周训练前后 $\eta(R-VO_{2max})$ 聚类分析结果散点图(聚类中心分别为 0.065 和 0.018)

2.3 HR 组 miRNA 特征性表达谱

以相对于静息值表达量变化超过 2 倍为显著性标准,相对于 CR 组,HR 组差异表达的 c-miRNAs 为 17 条,其中 11 条以上调为主要特征,6 条以平稳或下调为主要特征。

HR 组显著上调的 c-miRNA 及表达特征为:c-miR210、c-miR21、c-miR423-5p、c-miR26a、c-miR146a、c-miR206、c-miR24、c-miR141 表现为训练后 0 h 显著上调,24 h 开始回调,48 h 继续回调或趋向平稳;c-miR15a、c-miR451、c-miR181 从 0 h 至 48 h 持续上调。而 CR 组上述 c-miRNA 表达水平均在静息值左右波动,无显著性改变。

CR 组 c-miR9、c-miR155、c-miR183、c-miR126、c-miR29b 表现为训练后 0 h 显著上调,24 h 开始回调,48 h 继续回调,趋向平稳;c-miR133 表现为训练后 0 h 显著上调,24 h 小幅回调,48 h 维持 2 倍以上。相对于 CR 组,HR 组上述 c-miRNA 保持平稳。

2.4 $\eta_{(c-miRNA)}$ 与 $\eta_{(R-VO_{2max})}$ 和 $\eta_{(ILT)}$ 的相关性

分别检测阶段 I 和阶段 II 差异表达 c-miRNAs 的 $\eta_{(c-miRNA)}$ 与 $\eta_{(R-VO_{2max})}$ 和 $\eta_{(ILT)}$ 之间的 Pearson 相关系数,分析其相关性。结果表明:

1) $\eta_{(c-miRNA)}$ 与 $\eta_{(R-VO_{2max})}$ 呈显著的负相关关系 ($P < 0.05$) 的 c-miRNA 及相关系数分别为:阶段 I, c-miR155 ($r = -0.760$)、c-miR183 ($r = -0.741$)、c-miR126 ($r = -0.687$)、c-miR133 ($r = -0.719$); 阶段 II, Δ c-miR210 ($r = -0.710$)、c-miR423-5p ($r = -0.764$)、c-miR146a ($r = -0.750$)。

2) $\eta_{(c-miRNA)}$ 与 $\eta_{(R-VO_{2max})}$ 呈显著的正相关关系 ($P < 0.05$) 的 c-miRNA 及相关系数分别为:阶段 II, c-miR15a ($r = 0.786$)、c-miR451 ($r = 0.646$)、c-miR141 ($r = 0.702$)。

3) $\eta_{(c-miR183)}$ 与 $\eta_{(ILT)}$ 在阶段 I 呈显著的负相关关系, $r = -0.605$ ($P < 0.05$)。

4) $\eta_{(c-miRNA)}$ 与 $\eta_{(ILT)}$ 呈显著的正相关关系 ($P < 0.05$) 的 c-miRNA 及相关系数分别为:c-miR15a ($r = 0.763$)、c-miR451 ($r = 0.629$)、c-miR141 ($r = 0.648$)。

3 讨论

本研究探讨了运动适应性 c-miRNA 表达谱与有氧耐力的可训练性之间的关联,结果发现: $\eta_{(R-VO_{2max})}$ 显著高于普通水平的表型个体有 17 个 c-miRNA 差异表达,其功能主要富集于低氧适应通路和脂肪酸 β 氧化代谢途径,调控毛细血管增生、血红素生成、糖酵解相关酶功能、线粒体脂肪酸 β 氧化功能及骨骼肌重

塑等适应性生理反应的关键基因表达,影响机体对训练应激的适应性。其作用特点为协同性调控多系统对耐力训练的应激适应。本研究结果提示:运动能力及其可训练性与 miRNA 调控基因选择性表达的模式有关。运动应激诱导的特征性 c-miRNA 表达谱与杰出运动能力表型存在关联,可以用来预测运动能力的发展潜力,将具有相关运动天赋的运动员早期选拔出来加以系统培养,或用以评估运动员的训练适应状态/竞技状态,制订个性化训练方案。

遗传选材的一个主要问题是如何评估个体的运动能力可训练性,预测其运动能力发展潜力^[15]。杰出运动能力是遗传优势和营养、训练等环境因素共同作用下的积累效应。机体对训练应激的适应能力有条件地影响遗传优势的表型化程度,决定了运动能力的可训练性。应激诱导 miRNA 表达,调控基因表达强度,产生适应性的个体差异^[17]。比较分析不同可训练性群体的适应性 miRNA 表达谱差异,不仅可以建立高可训练性群体的 c-miRNA 表达特征关联模型,还提供了训练应激与机体相互作用影响运动能力的有价值的信息。

最大摄氧量是评价有氧耐力的主要指标。个体 VO_{2max} 主要受遗传影响,耐力训练可以在一定程度上改变 VO_{2max} 水平,相同训练条件下 VO_{2max} 变化率反映了心肺有氧机能可训练性的个体差异^[18]。本研究采用 VO_{2max} 变化率作为区别有氧能力可训练性的指标分析运动应激诱导的 c-miRNA 表达差异,采用 Targetscan、miRanda 和 mirBASE 联合分析差异表达的 miRNA 的靶基因,并进行 GO 分析和 KEGG pathway 分析,结合靶基因主要生理机能和代谢通路的共性特征研究 HR 组 c-miRNA 表达谱的调控特征。结果显示:差异表达的 17 条 miRNA 的靶基因主要富集于低氧适应通路和 PPAR 信号通路,HR 组 miRNA 表达模式促进相关代谢通路的应激适应能力,并显示出多靶整合效应特征。

低氧应激激活 HIF 信号通路适应是获得有氧耐力训练效果的重要途径^[19]。常氧分压条件下,有氧耐力训练引起的低氧应激主要发生在心肌/骨骼肌等组织内^[20]。有氧工作引起耗氧量增加,组织内氧分压显著降低,抑制 HIF-1 α 降解,上调 HIF-1 α 活性,调控下游 EPO、VEGF 等低氧适应基因表达水平上调,产生心肌和骨骼肌纤维毛细血管密度增加、Mb 及血红蛋白水平提高等适应效应,改善心肌和骨骼肌供血供氧,提高心脏和骨骼肌有氧工作能力。

运动应激诱导 PPAR δ 和 PPAR α 基因表达上调促进心肌骨骼肌脂肪酸 β 氧化对有氧运动能力具有重要作用。线粒体脂肪酸 β 氧化供能是心肌有氧代谢的主要供能方式,占心肌耗能的 70% 以上,对于维持心

泵功能具有重要作用^[21]。PPAR δ 调节 PPAR α 促进心肌细胞脂肪酸 β 氧化, 提高心泵功能^[22]。进行有氧耐力训练或在骨骼肌细胞过表达 PPAR δ 都可以使 PPAR δ 蛋白含量增加并获得相似的表型改变和骨骼肌重塑: 慢肌纤维收缩蛋白基因和脂肪酸 β 氧化相关基因表达上调, 氧化型肌纤维增多, 氧化代谢效率提高, 有氧耐力水平提高。阻断 PPAR δ 的作用, 则不会产生上述改变^[23]。

HR 组差异表达的 miRNA 的功能主要是调控 HIF-1 α 信号通路和 PPAR 信号通路对有氧训练应激的敏感性和响应强度, 其综合适应效应与其运动适应表型特征是一致的。上调 HIF-1 α 信号通路对低氧应激的敏感性可以使循环系统携氧能力和心肌/骨骼肌的供氧水平提高更显著。PPAR δ 和 PPAR α 对运动应激诱导作用的反应性更好, 可以更显著上调心肌/骨骼肌脂肪酸 β 氧化代谢能力, 心肌/骨骼肌有氧工作能力提高更明显。心泵功能增强提高心输出量, 骨骼肌有氧代谢效率提高, 可以增加提高动静脉氧分压差。VO_{2max} 水平取决于心输出量和动静脉氧分压差^[12], 因此上调 HIF-1 α 信号通路和 PPAR 信号通路都可以使 VO_{2max} 的可训练性更好。同时, 骨骼肌氧化型肌纤维增多, 脂代谢供能比例增加还可以提高 ILT 水平^[24], 这与 HR 组具有较高的 $\eta_{(ILT)}$ 是一致的。

HR 组 miRNA 差异表达谱特征显示出对多个应激适应通路的整合作用。差异表达的 17 条 miRNA 中, 除 miR210、miR423-5p 和 miR126 专性调控低氧应激适应外, 其余 14 条 miRNA 均同时作用于低氧应激适应通路和 PPAR 信号通路, 在调控特点上显示出整合效应。本研究结果显示 VO_{2max} 与 ILT 具有高度相关性, 一方面证明了骨骼肌有氧代谢能力提高对 VO_{2max} 的可训练性具有重要的影响^[18], 同时也提示我们 miRNA 对多种应激适应途径的整合作用可能是有氧耐力的心肺机能和骨骼肌代谢的协调一致的重要调节机制。

分阶段分析 $\eta_{(c-miRNA)}$ 与 $\eta_{(R-VO_{2max})}$ 和 $\eta_{(ILT)}$ 相关性结果表明: 运动应激诱导的脂肪酸 β 氧化供能能力的提高对有氧耐力的可训练性十分重要。在阶段 I, $\eta_{(miR183)}$ 与 $\eta_{(R-VO_{2max})}$ 和 $\eta_{(ILT)}$ 均呈显著负相关, miR183^[25] 负性调节 HIF-3 α ^[20] 和 CROT^[23] 基因表达, 促进 HIF-1 α 的功能, 同时抑制线粒体脂肪酸 β 氧化, 研究表明: 低氧应激提高糖酵解供能水平, 抑制脂肪酸 β 氧化^[19]。该结果提示: 训练过程中低氧应激对脂肪酸 β 氧化代谢功能的抑制作用不利于有氧耐力可训练性的提高。在阶段 II, $\eta_{(miR141)}$ 和 $\eta_{(miR15a)}$ 均与 $\eta_{(R-VO_{2max})}$ 和 $\eta_{(ILT)}$ 正相关。研究表明: 低氧应激诱导的 HIF-2 α ^[19] 的高表达在应激结束后仍持续抑制 PPAR α 和 CPT1 的表达和功能, 损害线

粒体脂肪酸 β 氧化能力^[23], miR141^[26] 和 miR15a^[27] 均可上调 PPAR α 的表达, PPAR α 又上调 CPT1 的表达, 该结果提示: 抑制低氧应激对脂肪酸 β 氧化能力的损害有助于提高 VO_{2max} 和 ILT 的可训练性。

此外, 本研究结果还提示: 机体抗损伤能力对于有氧耐力可训练性也有重要的影响。在阶段 I, $\eta_{(R-VO_{2max})}$ 和 $\eta_{(c-miR133)}$ 呈负相关关系。miR133 是肌肉特异性 microRNA, 运动过程中肌肉损伤漏出是其血浆水平升高主要原因^[28], 该结果提示: 骨骼肌抗运动损伤能力越强, 训练效果越好。

综上所述, 本研究发现: 在典型有氧训练周期的运动性适应过程中, 17 条 c-miRNAs 的表达特征与有氧耐力的可训练性之间存在密切的联系并初步建立了关联模型, 同时也提出了一种采用表观遗传学指标进行运动员选材和指导训练的方法, 以 c-miRNAs 表达特征作为生物标记评估运动能力的发展潜力和训练适应状态。进一步的研究将对 c-miRNAs 特征表达谱在运动员选材、训练效果/竞技状态评估等方面的应用价值做出更为全面和深入的探索。

注释:

① 该公式是根据同一受试者的 R-VO_{2max} 直接测量值与 12 min 跑距离数值之间配对归纳得出的数值推算公式, 反映的是 R-VO_{2max} 与 12 min 跑距离之间的数值换算关系, 如果采用公制单位该公式可以写成

$$R-VO_{2max}(mL/(kg \cdot min)) = (s/1609.34 - 0.318)/0.0278$$

由于原始文献和相关文献中引用该公式时 12 min 跑距离数值均采用英制, 所以本研究也采用相同的表述方式。该公式是数值推算公式, 仅表示 R-VO_{2max} 与 12 min 跑距离之间的数值换算关系, 不能从公式中得出单位。

② “OD260/280 值”是提取核酸后检验其纯度和完整性的指标, 利用紫外分光光度计在 260 nm 和 280 nm 处的光密度比值判断核酸提取物的纯度和完整性, 一般以 OD260/280 值在 1.9~2.0 范围内表示提取物的纯度和完整性较好, 过高说明杂蛋白含量较高, 过低说明 RNA 降解明显。

参考文献:

- [1] 马力宏. 人类体质与运动能力的遗传学基础[J]. 天津体育学院学报, 2001, 16(4): 1-5.
- [2] 于红. 表观遗传学: 生物细胞非编码 RNA 调控的研究进展[J]. 遗传, 2009, 31(11): 1077-1086.
- [3] 郑永霞, 焦炳华. miRNA 的生物形成及调控基因表达机制[J]. 生命的化学, 2010, 30(6): 821-826.

- [4] Leung A K L, Sharp P A. MicroRNA functions in stress responses[J]. *Molecular Cell*, 2010, 40(2): 205-215.
- [5] Williams A H, Liu N, Van Rooij E, et al. MicroRNA control of muscle development and disease[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21(4): 461-469.
- [6] Zhang C. MicroRNAs in vascular biology and vascular disease[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2010, 3(3): 235-240.
- [7] Dang C V. Re-thinking the Warburg effect with Myc-micromating glutamine metabolism[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(5): 859-862.
- [8] Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis[J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(10): 2087-2092.
- [9] Baggish A L, Hale A, Weiner R B, et al. Dynamic regulation of circulating microRNA during acute exhaustive exercise and sustained aerobic exercise training[J]. *J Physiol*, 2011, 589(16): 3983-3994.
- [10] Davidsen P K, Gallagher I J, Hartman J W, et al. High responders to resistance exercise training demonstrate differential regulation of skeletal muscle microRNA expression[J]. *J Appl Physiol*, 2011, 110(2): 309-317.
- [11] 李义志, 骆军保, 汤长发. HSP1A1 基因+190G>C 多态与有氧运动能力表型指标的关联性研究[J]. *天津体育学院学报*, 2013, 28(2): 180-184.
- [12] 李俊勇, 任晋军, 曹峰锐. 最大摄氧量、无氧阈和最大摄氧量平台同高校男生 12 min 跑和 1 000 m 跑的相关性分析[J]. *北京体育大学学报*, 2010, 33(08): 65-67.
- [13] 林文弢, 郑选梅, 徐国琴, 等. 不同氧浓度环境下个体乳酸阈的比较[J]. *广州体育学院学报*, 2012, 32(6): 81-84.
- [14] Stegman H, Kindermann W, Schnabel A. Lactate kinetics and individual anaerobic threshold[J]. *International Journal of Sports Medicine*, 1981, 2(3): 160-165.
- [15] 杨若愚, 王予彬, 沈勋章, 等. 基因多态性与杰出运动能力[J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(7): 1121-1128.
- [16] 李江华, 王智慧, 朱小娟. 代谢组学运动选材与传统生化选材方法的比较[J]. *体育学刊*, 2013, 20(1): 123-128.
- [17] Joshua T. Mendell Eric N. Olson. MicroRNAs in stress signaling and human disease[J]. *Cell*, 2012, 48(6): 1172-1187.
- [18] 王国军, 温含, 武雅琼. 跑节省化、最大摄氧量评价普通人有氧耐力的效果比较[J]. *中国组织工程研究*, 2013, 17(7): 1265-1272.
- [19] Mounier R, Pialoux V, Schmitt L, et al. Effects of acute hypoxia tests on blood markers in high-level endurance athletes[J]. *Eur J Appl Physiol*, 2009, 106(5): 713-720.
- [20] 赵琛, 谭斐. 低氧诱导因子-1 激活的调节[J]. *生命科学*, 2013, 25(1): 40-46.
- [21] Cheng L, Ding G, Qin Q, et al. Cardiomyocyte-restricted peroxisome proliferator-activated receptor-delta deletion perturbs myocardial fatty acid oxidation and leads to cardiomyopathy[J]. *Nat Med*, 2004, 10(11): 1245-1250.
- [22] Barger P M, Brandt J M, Leone T C, et al. Deactivation of peroxisome proliferator-activated receptor α during cardiac hypertrophic growth[J]. *J Clin Invest*, 2000, 105(12): 1723-1730.
- [23] 胡琴, 李隆贵. 心肌脂肪酸氧化酶的基因调控机制及 PPAR α 的作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2002, 18(12): 1552-1555.
- [24] 刘昭强, 朱寄天. 心肌乳酸代谢及乳酸对心脏功能的影响[J]. *成都体育学院学报*, 1999, 25(3): 11-16.
- [25] Vohwinkel C U, Lecuona E, Sun H, et al. Elevated CO₂ levels cause mitochondrial dysfunction and impair cell proliferation[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(43): 37067-37076.
- [26] Mangala L S, Zhang Y, He Z, et al. Effects of simulated microgravity on expression profile of microRNA in human lymphoblastoid cells[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(37): 32483-32490.
- [27] Sun L L, Jiang B G, LI W T, et al. MicroRNA-15a positively regulates insulin synthesis by inhibiting uncoupling protein-2 expression[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011, 91(1): 94-100.
- [28] Chen J F, Mandel E M, Thomson J M, et al. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation[J]. *Nat Genet*, 2006, 38(2): 228-233.