

·基础研究·

运动对高脂饲养大鼠白色脂肪组织血管内皮生成相关因子的影响*

朱文阁¹ 宋 鸽¹ 邓懿敏¹ 陈君颖¹ 严 翊^{1,2}

摘要

目的:观察8周中等强度有氧运动干预以及高脂饮食对雄性大鼠血管内皮生成相关因子的影响。

方法:40只3周龄SPF级雄性SD大鼠适应性喂养3天后,随机分为标准安静组(CS)、标准运动组(CE)、高脂安静组(HS)、高脂运动组(HE)。标准组大鼠喂饲普通饲料(D12450B),高脂组大鼠喂饲高脂饲料(D12451),所有大鼠均自由饮食、饮水,CE、HE组大鼠进行8周运动干预(60%—70%VO₂max, 1h/次, 5次/周,每次训练内容包括5min热身, 50min跑台训练, 5min恢复)。均在8周干预后取材(皮下脂肪组织、睾周脂肪组织和肾周脂肪组织)。采用荧光定量PCR(RT-qPCR)法测血管内皮生成相关因子VEGF、VEGFR2、CD31的mRNA相对表达量。Western Blot检测皮下及睾周白色脂肪组织中解偶联蛋白-1(UCP-1)蛋白表达水平。

结果:①与CS组相比,HS组大鼠皮下脂肪组织中VEGFR2、CD31 mRNA的相对表达量降低($P<0.05$),UCP-1蛋白表达量显著降低($P<0.01$),睾周脂肪组织中CD31 mRNA的相对表达量显著性升高($P<0.01$),UCP-1蛋白表达水平显著降低($P<0.01$),肾周脂肪组织中VEGF、VEGFR2、CD31 mRNA的相对表达量显著性升高($P<0.01$);②与HS组相比,HE组大鼠皮下脂肪组织中VEGFR2 mRNA的相对表达量显著性升高($P<0.01$),UCP-1蛋白表达量显著性降低($P<0.01$),睾周脂肪组织中VEGF、VEGFR2、CD31 mRNA的相对表达量均显著性降低($P<0.01$),UCP-1蛋白表达水平也显著降低($P<0.01$),肾周脂肪组织中VEGF、VEGFR2、CD31 mRNA的相对表达量均显著性升高。

结论:8周高脂饮食及运动干预对大鼠白色脂肪组织血管生成相关因子mRNA表达量的影响具有组织差异性,其作用机制有待于进一步探究。

关键词 运动干预;高脂饲养;白色脂肪组织;棕色脂肪组织;血管内皮生成相关因子;白色脂肪组织棕色化

中图分类号:R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2021)-04-0398-08

Effects of exercise on vascular endothelial growth related factors in white adipose tissue of high-fat fed rats/ZHU Wenge, SONG Ge, DENG Yimin, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2021, 36 (4): 398—405

Abstract

Objective:To observe the effects of 8-week moderate-intensity aerobic exercise and high-fat diet on vascular endothelial growth-related factors of male rats.

Method:After adjustable fed for 3 days, forty three-week-old SPF male SD rats were randomly divided into standard quiet group (CS), standard exercise group (CE), high-fat quiet group (HS), and high-fat exercise group (HE). Rats in the standard group were fed with normal diet feed (D12450B), while high-fat diet feed (D12451) in the high-fat group. All rats were free to eat and drink, and rats in the CE and HE groups underwent exercise intervention for 8 weeks (60%—70% VO₂max, 1h/time, 5 times/week, each training includes 5min warm-up, 50min treadmill training, 5min recovery). All materials were taken after 8 weeks of interven-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2021.04.003

*基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2018PT015,2019PT011);国家自然科学基金资助项目(32071173)

1 北京体育大学运动人体科学学院,北京市,100084; 2 通讯作者

第一作者简介:朱文阁,女,硕士研究生;收稿日期:2020-05-17

tion (inguinal adipose tissue, epididymal white adipose tissue and perirenal white adipose tissue). The relative expression levels of VEGF, VEGFR2, and CD31 mRNA were measured by RT-qPCR. Western Blot was used to detect the expression of uncoupling protein 1 (UCP-1) in inguinal adipose tissue and epididymal white adipose tissue.

Result: ① Compared with the CS group, the relative expressions of VEGFR2 and CD31 mRNA in the inguinal adipose tissue of the HS group were significantly reduced ($P < 0.05$), and the UCP-1 protein expression was also significantly reduced ($P < 0.01$). The relative expression of CD31 mRNA in epididymal white adipose tissue were significantly increased ($P < 0.01$), the expression level of UCP-1 protein was significantly reduced ($P < 0.01$). The relative expressions of VEGF, VEGFR2, and CD31 mRNA in perirenal white adipose tissue were significantly increased ($P < 0.01$). ② Compared with the HS group, the relative expression of VEGFR2 mRNA in the inguinal adipose tissue of the HE group was significantly increased ($P < 0.01$), the protein expression of UCP-1 was significantly reduced ($P < 0.01$). The relative expressions of VEGF, VEGFR2, and CD31 mRNA in epididymal white adipose tissue were significantly reduced ($P < 0.01$), and UCP-1 protein expression was also significantly reduced ($P < 0.01$). The relative expression levels of VEGF, VEGFR2, and CD31 mRNA in the perirenal white adipose tissue were significantly increased ($P < 0.01$).

Conclusion: The effects of 8-week high-fat diet and exercise on the mRNA expression levels of angiogenesis related factors in different white adipose tissue of rats were different, and the mechanism of action remained to be further explored.

Author's address Beijing Sport University, 100084

Key word exercise training; high fat feeding; white adipose tissue; brown adipose tissue; vascular endothelial growth-related factors; browning of white adipose tissue

近年来肥胖问题日益严重,2017年有研究指出,全世界近19亿人超重,其中约三分之一的人肥胖,肥胖已经逐渐威胁到全球人民健康^[1]。大量研究证明,适当运动可以通过改变体脂含量,影响胰岛素作用和其他内分泌,来达到减肥的目的^[2]。近年来,有研究报道称运动促进白色脂肪组织棕色化可能是运动调节能量平衡防治肥胖的途径之一,但其作用机制尚不明确。

在机体能量状态改变时,脂肪组织中各种间质血管细胞发生数量和/或功能的改变是脂肪组织重塑的方式之一^[3]。有研究证实,活化后的血小板衍生生长因子 C (platelet-derived growth factor C, PDGF-C) 参与调控米色脂肪产热机制,且该产热机制与米色脂肪的血管生成相关^[4]。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 是血小板衍生性生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF) 家族的成员,在促进血管内皮细胞分裂和增值,增加微静脉、小静脉的通透性,诱导血管生成等过程中发挥着重要的作用。在已知的 VEGF 家族成员中,VEGF-A 是发现最早,在组织和细胞中含

量最丰富,功能最强的^[5]。它主要通过血管内皮生长因子受体 2 (vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2) 结合来刺激血管生成标志蛋白 CD31 水平增加,实现内皮细胞增殖、增加血管通透性和新生血管生成。Seki 等^[6]观察到,在抗血管内皮生长因子受体 1 (vascular endothelial growth factor receptor 1, VEGFR1) 处理小鼠的皮下白色脂肪组织中血管生成增多,CD31 的信号增加,且解偶联蛋白 1 (uncoupling protein 1, UCP-1) 的 mRNA 和蛋白质表达水平显著增加。在寒冷刺激和 β 3-肾上腺素受体激动剂诱导时,VEGF 的变化会影响脂肪组织产热,小鼠棕色和白色脂肪组织中表现出 CD31 含量明显增加,血管生成增多和 UCP-1 依赖性产热增加^[7-8]。有研究指出,脂肪细胞中 VEGF 的局部上调可改善血管形成并引起白色脂肪组织的“褐变”,进而促进白色脂肪的产热作用^[9]。

研究发现,运动干预可使高脂饮食诱导的肥胖大鼠的白色脂肪细胞中表达棕色脂肪细胞的特异性蛋白 UCP-1,并形成具有产热功能的米色脂肪细胞^[10-11],但其作用是否与 VEGF 参与调节的脂肪组织

血管生成有关,目前尚无研究报道。因此,本研究拟在观察运动对高脂饮食下大鼠白色脂肪组织中血管内皮生成相关因子表达水平的影响的基础上,探讨 VEGF 等在运动调控高脂饮食大鼠白色脂肪棕色化中是否发挥一定作用,为进一步了解运动促进白色脂肪组织棕色化的相关机制提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

40 只 3 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠(购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证编号:SKXK(京)2018-0011)适应性喂养 3 天后,随机分为标准安静组(CS)、标准运动组(CE)、高脂安静组(HS)、高脂运动组(HE),每组各 10 只。大鼠标准笼饲养,将实验室内饲养大鼠的环境温度控制在 $20\pm 3^{\circ}\text{C}$,相对湿度设置为 50%—60%,昼夜时间为 12h,标准组大鼠喂饲普通饲料(D12450B),高脂组大鼠喂饲高脂饲料(D12451),所有大鼠均自由饮食、饮水。动物实验符合北京体育大学动物伦理委员会要求(批准号:2018013A)。

1.2 运动干预方案

使用动物跑台进行大鼠运动干预。CE、HE 组大鼠在正式实验前进行 3 天适应性跑台训练,速度为 10m/min,每天训练 60min。适应性训练后进行大鼠 VO_2max 测试以确定 60%—70% VO_2max 的跑台速度,之后每 2 周测试一次 VO_2max ,并调整跑台速度(见表 1)^[12]。正式训练期间,大鼠进行每周 5 天,每天 60min 的运动训练,具体运动方案见表 2。运动时使用声音、棍子等刺激大鼠以保证运动量。所有训练均在每天相同时段进行。

表 1 训练期间运动组大鼠 60%—70% VO_2max 的跑台速度 (m/min)

组别	1—2 周	3—4 周	5—6 周	7—8 周
标准运动组	12	16	17	19
高脂运动组	12	15	16	17

表 2 大鼠运动方案

阶段	时间 (min)	强度
热身期	5	10m/min, 坡度 10°
训练期	50	60%—70% VO_2max , 坡度 10°
调整期	5	10m/min, 坡度 10°

标准安静组和高脂安静组在此期间正常饮食且不进行任何运动干预。

1.3 最大摄氧量测试

参照 Leandro^[13]的大鼠最大摄氧量测试模型,对大鼠进行跑台递增负荷测试,测试仪器选用 columbus instruments (Model: Sample Pump, Serial: 130693-2-WO)。测试坡度固定为 10° ,测试起始速度为 5m/min,逐级递增,最大速度为 50m/min。第 1 级持续时间为 4min,从第 2 级开始每级持续时间为 3min。测试温度: $20\text{—}24^{\circ}\text{C}$,湿度: 40%—60%。具体测试方案见表 3。在测试过程中,若大鼠在受到电刺激的情况下仍不能继续在跑台上运动或者两级之间的 VO_2 相差小于 5%,则判定大鼠已达最大摄氧量状态。

表 3 大鼠最大摄氧量测试方案

阶段	坡度	速度 (m/min)	持续时间 (min)
1	10°	5	4
2	10°	10	3
3	10°	15	3
4	10°	20	3
5	10°	25	3
6	10°	30	3
7	10°	35	3
8	10°	40	3
9	10°	45	3
10	10°	50	3

1.4 取材

运动结束后 48h,各组大鼠经 2%戊巴比妥钠麻醉后,测量体重与体长,并迅速分离皮下白色脂肪、睾周白色脂肪、肾周白色脂肪。将三种脂肪组织切成小块后用锡箔纸编号、包好,置于液氮中冷却,然后放入 -80°C 超低温冰箱保存。

1.5 皮下、睾周和肾周白色脂肪组织中血管生成相关因子的 mRNA 表达量的测定

VEGF、VEGFR2、CD31mRNA 引物序列分别如表 4 所示。

使用 TIANGEN 动物组织总 RNA 提取试剂盒(离心柱型)提取上述脂肪组织的总 RNA,并使用 Thermo NANODrop 2000 测定浓度及纯度。后使用 PCR 扩增仪 MyGeneTM Series Peltier Thermal Cycler MG96+对提取的总 RNA 进行逆转录。使用紫外分光光度计 Thermo NANODrop2000 及其配套

表4 荧光定量PCR引物一览表

基因	上游引物序列	下游引物序列
VEGF	CCTGGCTTTACTGCTGTACCT	GCTGGTAGACGTCCATGAACT
VEGFR2	AACCATTGGTGAGACCATCGA	GGTTCCGGTTCCCGTCTT
CD31	CAGAGCCAGCATTGTGACCAGTC	CAAGGCGGCAATGACCACTCC

软件测定总RNA溶液浓度及纯度。剔除不合格样品。最后采用RT-qPCR法测血管内皮生成相关因子VEGF、VEGFR2、CD31的mRNA相对表达量。

1.6 皮下及睾周白色脂肪组织中UCP-1蛋白表达量的测定

取适量组织,液氮研磨,加入RIPA Buffer(含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂);冰上放置10min,超声30s,4℃ 15300r/min(3K15,sigma)离心30min;取上清(即总蛋白提取物)放入预冷的1.5ml离心管;加入丙酮沉淀;将准备好的样品液和预染蛋白marker分别上样,标准加进第一个孔中,电泳分离蛋白;转膜:蛋白质转移到PVDF膜,按Bio-Rad蛋白转移装置说明组装滤纸凝胶纤维素夹层,300mA恒流条件下,2h。Fast Protein-free Block Buffer室温孵育3—5min封闭膜上的非特异结合,封闭过的膜加入一抗室温孵育1.5h或者4℃过夜,抗原抗体结合,加入HRP标记的二抗体以结合一抗,室温孵育膜1h。最后Western Blot结果通过化学发光法检测,膜与化学发光底物孵育,经X胶片曝光显影。胶片扫描保存为jpg文件,并进行灰度分析。

1.7 统计学分析

所有测试结果均采用均数±标准差表示,实验结果数据采用SPSS 25.0软件进行统计分析。多组间比较使用双因素方差分析(two-way ANOVA)检验统计数据差异,两组间指标比较使用独立样本 t 检验统计数据差异,体重数据使用重复测量方差分析进行统计, $P<0.05$ 时认为差异具有显著性意义。

2 结果

2.1 高脂膳食和运动干预下各组大鼠体重变化

各组初始体重无差异,高脂饲

料饲喂8周后,高脂膳食各组体重显著高于普通膳食组,8周时高脂安静组比标准安静组体重增加了18%。运动干预第2周起,高脂运动组体重较高脂安静组均显著下调($P<0.05$,见图1),8周时降低了16.7%。

2.2 高脂饮食和运动对UCP-1蛋白表达量的影响

如图2所示,在皮下白色脂肪组织中,与CS组相比,CE组、HS组UCP-1蛋白表达量显著降低($P<0.01$),与HS组相比,HE组UCP-1蛋白表达量显著

图1 各组大鼠的体重变化趋势图

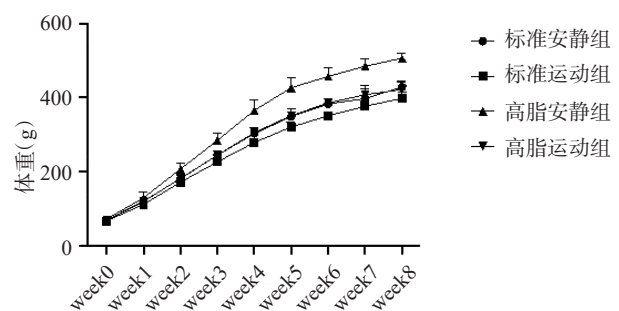
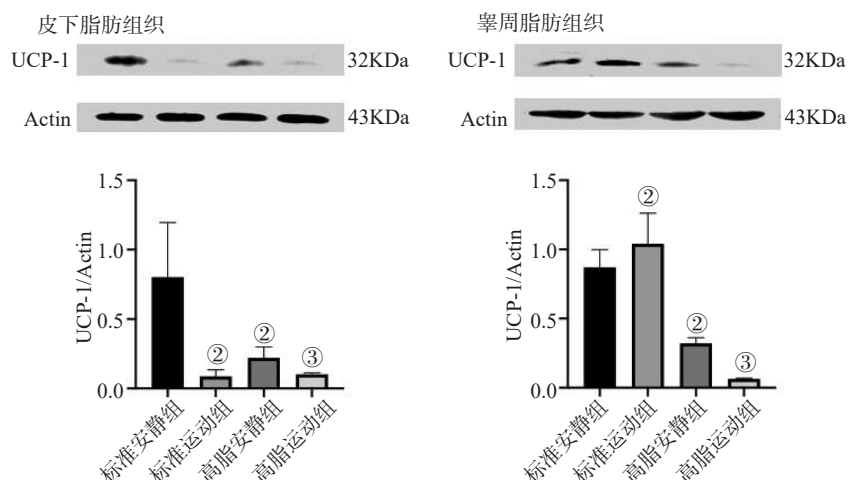


图2 皮下白色脂肪组织和睾周白色脂肪组织中UCP-1蛋白的表达



注:与CS组相比,① $P<0.05$,② $P<0.01$;与HS组相比,③ $P<0.01$

降低($P<0.01$);在睾周白色脂肪组织中,与CS组相比,CE组蛋白表达量显著增多($P<0.01$),HS组蛋白表达量显著降低($P<0.01$),HE组蛋白表达量显著低于HS组($P<0.01$)。

2.3 高脂膳食和运动对脂肪组织血管生成相关因子mRNA相对表达量的影响

2.3.1 高脂膳食和运动对 VEGF mRNA 相对表达量的影响:如图3所示,在皮下白色脂肪组织中,与CS组相比,CE组相对表达量显著性升高($P<0.05$);睾周白色脂肪组织中,HE组的相对表达量显著低于HS组($P<0.01$);肾周白色脂肪组织中,CE组的相对表达量显著高于CS组($P<0.01$),HE组的相对表达量显著高于HS组($P<0.01$)。

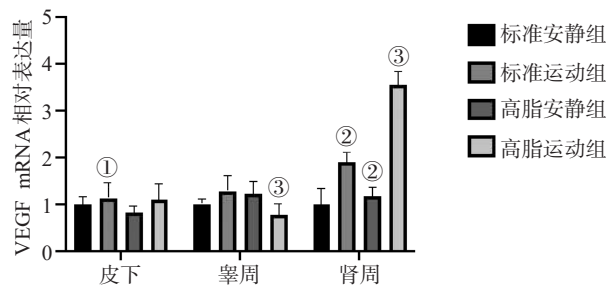
2.3.2 高脂膳食和运动对脂肪组织 VEGFR2 mRNA 相对表达量的影响:如图4所示,皮下白色脂肪组织中,HS组的相对表达量显著低于CS组($P<0.05$),HE组的相对表达量显著高于HS组($P<0.01$);睾周白色脂肪组织中,HE组的相对表达量显著低于HS组($P<0.01$);肾周白色脂肪组织中,HS组的相对表达量显著高于CS组,HE组的相对表达量显著高于HS组($P<0.01$)。

2.3.3 高脂膳食和运动对 CD31 mRNA 相对表达量的影响:如图5所示:皮下白色脂肪组织中,HS组的相对表达量显著低于CS组($P<0.05$);睾周白色脂肪组织中,CE组的相对表达量显著高于CS组($P<0.01$),HS组的相对表达量显著高于CS组($P<0.01$),HE组的相对表达量显著低于HS组($P<0.01$);肾周白色脂肪组织中,HE组的相对表达量显著高于HS组($P<0.01$)。

3 讨论

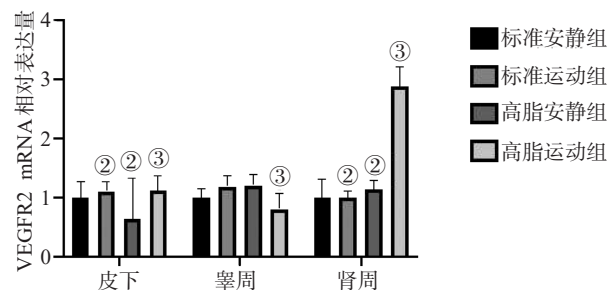
白色脂肪棕色化,作为近年来防治肥胖的新靶点备受关注。课题组前期研究观察到运动作为防治肥胖的有效手段,对白色脂肪组织棕色化的作用存在组织差异性,且其机制尚不明确。有研究指出白色脂肪细胞中 VEGF 的局部上调可改善血管形成并引起白色脂肪组织的“褐变”,且增调 UCP-1 和 PGC1- α 的表达,原因可能是 VEGF 在白色脂肪组织中的大量表达,促进了新生血管生成,使脂肪组织对氧气的需求量升高,因此产生更多热量^[9]。本研究

图3 VEGF mRNA 在各个组织中的相对表达量 (Re)



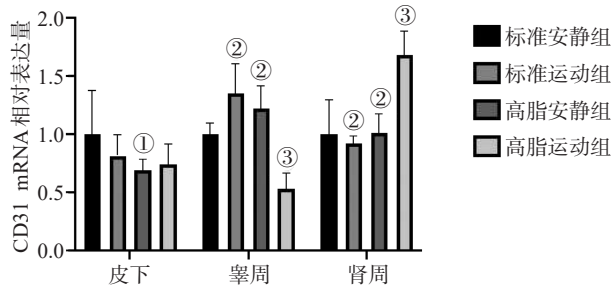
注:与CS组相比,① $P<0.05$,② $P<0.01$;与HS组相比,③ $P<0.01$ 。

图4 VEGFR2 mRNA 在各个组织中的相对表达量 (Re)



注:与CS组相比,① $P<0.05$,② $P<0.01$;与HS组相比,③ $P<0.01$ 。

图5 CD31 mRNA 在各个组织中的相对表达量 (Re)



注:与CS组相比,① $P<0.05$,② $P<0.01$;与HS组相比,③ $P<0.01$ 。

观察到高脂干预下对大鼠皮下脂肪组织的血管生成相关因子和 UCP-1 的表达有抑制作用,对肾周白色脂肪组织的血管生成相关因子的表达有促进作用,而在睾周白色脂肪组织中血管生成相关因子在组织内的表达没有明显变化,对 UCP-1 的表达有抑制作用。8 周中等强度有氧运动(60%—70% VO_{2max})能够促使大鼠皮下及睾周脂肪组织中的血管生成相关因子 mRNA 表达量升高,使肾周白色脂肪组织中血

管生成相关因子 mRNA 表达量降低,而对高脂饲养大鼠皮下及睾周脂肪组织中 UCP-1 的表达起抑制作用。

3.1 高脂对大鼠白色脂肪组织中血管内皮生成相关因子的影响

血管内皮生长因子 VEGF,作为一种高度特异性的血管内皮细胞生长因子,主要有 VEGFR1 和 VEGFR2 两个受体发挥作用,且二者之间存在竞争性,有研究表明通过阻断 VEGF 与 VEGFR1 结合,小鼠体内 CD31 信号增加,脂肪组织血管生成增多,脂肪组织趋于血管化^[6]。因此 VEGF 主要是与受体 VEGFR2 的结合,发挥促进血管形成和增殖、血管通透性增加、血管内皮细胞迁移等重要作用。本研究结果显示高脂饮食抑制腹股沟皮下白色脂肪组织中 VEGFR2 mRNA 表达,相似变化趋势也在人体实验发现,超重/肥胖受试者腹部皮下白色脂肪组织中具有较低的 VEGF mRNA 水平^[14],较高 BMI 的肥胖受试者内脏和腹部皮下白色脂肪组织中 VEGF 释放水平更低^[15]。同样的情况在小鼠实验中发现,在肥胖小鼠脂肪组织中发现了毛细血管脱落现象,原因是血管生成因子表达水平不高导致毛细血管的密度较低^[16-17]。相反,Disanzo 等^[18]的研究结果显示肥胖大鼠腹股沟皮下脂肪组织和附睾周围的脂肪组织中的 VEGF 水平显著升高,另有研究也证实了饮食诱导的肥胖会增加附睾脂肪组织中的 VEGF mRNA 水平^[19],即肥胖会对机体脂肪组织中 VEGF 水平起到促进作用。本研究同时观察到高脂饮食可引起大鼠皮下白色脂肪组织中 VEGFR2 mRNA 表达量降低,肾周白色脂肪组织中 VEGF、VEGFR2 mRNA 表达量增加,但对睾周脂肪组织中 VEGF 以及 VEGFR2 mRNA 水平没有明显的作用。由此可见,高脂饮食对大鼠不同部位白色脂肪组织中 VEGF、VEGFR2 mRNA 表达量的影响存在组织差异性,其原因可能与不同部位脂肪组织的功能差异有关。有关不同部位脂肪组织功能差异的研究在小鼠中已有文献提出,有关白色脂肪组织棕色化的基因在肾周脂肪组织中的表达高于腹股沟皮下、附睾旁脂肪组织,而成脂功能标志基因在皮下白色脂肪组织中表达能力最强,提示在肾周脂肪组织中更容易出现白色脂肪棕色化相关进程^[20]。

CD31 作为一种粘附和信号受体,生成于血管中,在内皮细胞和造血细胞上表达,对血管通透性和细胞反应性调节起重要作用。CD31 作为内皮标志物常被用来检测微血管密度,可通过测量 CD31 的表达量来判定血管生成情况。本研究中结果显示,在高脂饮食干预下,大鼠腹股沟皮下白色脂肪组织中 CD31 mRNA 表达量降低,提示血管生成没有增多。有研究提出在 VEGF 过度表达时,血管生成和 M2 抗炎巨噬细胞数量得以增加,可保护转基因小鼠免受高脂饮食诱导的肥胖^[21],同时白色脂肪组织中还可能出现类似于棕色脂肪样细胞的结构,促进白色脂肪棕色化^[22]。但在本研究中高脂饮食干预下大鼠腹股沟皮下白色脂肪组织中血管生成相关因子 mRNA 表达水平下降,同时 UCP-1 蛋白表达量也降低,提示高脂饮食诱导的肥胖大鼠体内可能并未发生白色脂肪棕色化。在睾周白色脂肪组织中,CD31 mRNA 表达量增加而 UCP-1 蛋白表达量下降,在肾周白色脂肪组织中,CD31 mRNA 表达量也增加,上述结果提示高脂饮食对大鼠睾周和肾周白色脂肪组织的血管内皮生成相关因子的表达有促进作用;血管内皮生成相关因子在调控不同部位白色脂肪组织棕色化中的作用有待于进一步探讨。

3.2 运动对大鼠白色脂肪组织中血管内皮生成相关因子的影响

VEGF 能适应重复运动,并响应缺氧和炎症信号而增加组织毛细血管密度^[23]。Czarkowska 等^[24]报道了经过 6 周耐力训练的大鼠的皮下脂肪组织中 VEGF mRNA 表达量显著高于无训练经历的大鼠,而 VEGF 蛋白质表达水平却无明显差异,表明长时间运动训练能够增加 mRNA 表达,但不会增加蛋白质表达。其原因可能是,运动训练诱导增加脂肪组织中 VEGF mRNA 表达的信号,与此同时也会诱导复杂的转录后调节,最终导致生长因子蛋白水平不变。在本研究结果中也显示 8 周 60%—70%VO₂max 的有氧运动可促进大鼠皮下白色脂肪组织中 VEGF、VEGFR2 mRNA 表达,但是 CD31 的 mRNA 表达量并没有增加,其原因可能与上述研究相同。在人体实验中,Van Pelt 等^[25]研究发现有运动习惯的超重至肥胖成年人的腹部皮下脂肪组织中 CD31 的 mRNA 表达量显著高于静坐少动的超重至肥胖

成年人,提示运动能够促进超重肥胖者的皮下脂肪组织中血管生成和毛细血管化的增加。

有证据表明,脂肪组织中血管生长因子 VEGF 表达的增加可诱导血管生成的改善,缺氧,纤维化和炎症状况也有所缓解,但在 Darren R 等^[26]的研究结果中并未发现运动剂量与 VEGF 水平之间的相关性。在 Hatano D 等^[27]研究报道中,9 周的运动训练增加了大鼠附睾脂肪组织中 VEGF、VEGFR2 的表达和内皮细胞密度,本研究结果显示 8 周中等强度有氧运动对标准饲养大鼠睾周白色脂肪组织的 VEGF、VEGFR2 mRNA 表达量没有影响的同时,但 CD31 mRNA 表达量和 UCP-1 的蛋白显著升高。Disanzo 等^[18]通过观察 8 周跑台运动对肥胖和偏瘦大鼠的影响,提出运动训练可以显著增加肥胖大鼠睾周脂肪组织 VEGF 含量。众所周知,规律的运动训练可对白色脂肪组织的生成以及分布产生重要的影响,如减少脂肪细胞数量、降低脂质含量等等^[28]。近几年有研究表明,运动可以诱导白色脂肪组织棕色化,即白色脂肪组织中出现可诱导的米色脂肪细胞。在皮下白色脂肪组织中的研究相对来说更加成熟。在 Cao^[29]、Bostrom 等^[30]的研究中,将小鼠置于带有跑轮的环境中饲养几周,然后取皮下白色脂肪组织,测得其 UCP-1 等基因的表达显著增加。同样 De Matteis 等^[31]发现持续 1 周的跑台实验(强度 60% VO₂max, 5 次/周, 60min/次)就可引起内脏白色脂肪组织 UCP-1 表达显著增加。而本研究中高脂饲养大鼠经过 8 周有氧运动,睾周白色脂肪组织的 VEGF、VEGFR2、CD31 mRNA 表达量以及 UCP-1 的蛋白均显著降低。提示长时间中等强度有氧运动抑制大鼠睾周白色脂肪血管生成相关因子的表达,血管生成相关因子在睾周白色脂肪棕色化中所发挥的作用有待进一步研究。

运动对脂肪组织血管生成相关因子的研究多集中在皮下和睾周白色脂肪组织,结论也不完全一致,且在肾周脂肪组织中的研究极少。本研究结果 8 周中等强度有氧运动对标准饲养大鼠肾周白色脂肪组织的 VEGFR2、CD31 mRNA 表达起抑制作用,而高脂饲养大鼠经过 8 周有氧运动肾周脂肪组织中 VEGF、VEGFR2、CD31 mRNA 的表达量显著增加,提示长时间中等强度有氧运动对大鼠肾周白色脂肪

组织中血管生成与机体本身能量状况有关,不足之处是在本研究中没有对 UCP-1 的蛋白表达量进行检测。肾周血管生成相关因子变化的生物学功能有待进一步探究。

综上所述,运动对不同饲养条件下皮下、睾周以及肾周白色脂肪组织中血管生成相关因子影响作用不同,提示运动对白色脂肪组织的血管内皮生成作用效果与机体能量状态有关,且存在组织差异性。同时各因子之间的变化趋势与 UCP-1 的变化趋势并没有完全同步,其机制有待进一步研究。

4 结论

8 周高脂饮食及运动干预对大鼠白色脂肪组织血管生成相关因子 mRNA 表达量的影响具有组织差异性,血管内皮生成相关因子在调控不同部位白色脂肪棕色化中的作用有待于进一步探究。

参考文献

- [1] 秘迎君. 中国九省成人超重、肥胖的患病率及其与全死因死亡风险的关联研究[D]. 河北医科大学, 2017.
- [2] 陈云群. 浅析运动与减肥[J]. 科技视界, 2016, (2): 104+121.
- [3] Choe SS, Huh JY, Hwang IJ, et al. Adipose tissue remodeling: its role in energy metabolism and metabolic disorders [J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2016, 7:30.
- [4] Seki T, Hosaka K, Lim S, et al. Endothelial PDGF-CC regulates angiogenesis-dependent thermogenesis in beige fat[J]. *Nat Commun*, 7:12152.
- [5] 蔡源源, 李光早. 血管内皮生长因子的调控及其作用研究进展[J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2011, 7(01): 51—54.
- [6] Seki T, Hosaka K, Fischer C, et al. Ablation of endothelial VEGFR1 improves metabolic dysfunction by inducing adipose tissue browning[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 2018, 215(2): 611—626.
- [7] Lim S, Honek J, Xue Y, et al. Cold-induced activation of brown adipose tissue and adipose angiogenesis in mice[J]. *Nat Protoc*, 2012, 7(3): 606—615.
- [8] Wu J, Cohen P, Spiegelman BM. Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown?[J]. *Genes Dev*, 2013, 27: 234—250.
- [9] Sun K, Asterholm IW, Kusminski CM, et al. Dichotomous effects of VEGF-A on adipose tissue dysfunction[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, 109(15): 5874—5879.
- [10] Gesta S, Tseng YH, Kahn CR. Developmental origin of

- fat; tracking obesity to its source[J]. *Cell*, 2007, 131(2): 242—256.
- [11] 黄涛,李效凯.运动与脂肪组织棕色化研究进展[J].*体育科学*, 2016,36(07):71—78.
- [12] 曹友祥. 8周中等强度运动对肥胖大鼠白色脂肪自噬的影响[D].北京体育大学,2016.
- [13] Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, et al. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption[J]. *J Strength Cond Res*, 2007, 21(3):751—756.
- [14] Pasarica M, Sereda OR, Redman LM, et al. Reduced adipose tissue oxygenation in human obesity: evidence for rarefaction, macrophage chemotaxis, and inflammation without an angiogenic response[J]. *Diabetes*, 2009, 58:718—725.
- [15] Fain JN, Madan AK, Hiler ML, et al. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissue of obese humans[J]. *Endocrinology*, 2004, 145: 2273—2282.
- [16] Hausman GJ, Richardson RL. Adipose tissue angiogenesis[J]. *Animal Sci*, 2004, 82:925—934.
- [17] Lijnen HR, Christiaens V, Scroyen I, et al. Impaired adipose tissue development in mice with inactivation of placental growth factor function[J]. *Diabetes*, 2006, 55: 2698—2704.
- [18] Disanzo BL, You T. Effects of exercise training on indicators of adipose tissue angiogenesis and hypoxia in obese rats[J]. *Metabolism*, 2014, 63: 452—455.
- [19] Ye J, Gao Z, Yin J, et al. Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice[J]. *Physiol Endocrinol Metab*, 2007, 293:E1118—1128.
- [20] 吕伊凡,刘娟,俞静,等. 雄性C57BL/6J小鼠不同部位脂肪组织功能的差异[J].*南京医科大学学报(自然科学版)*, 2015, 35(07):918—923.
- [21] Elias I, Franckhauser S, Ferré T, et al. Adipose tissue overexpression of vascular endothelial growth factor protects against diet-induced obesity and insulin resistance[J]. *Diabetes*, 2012, 61:1801—1813.
- [22] 金红红. VEGFA和VEGFB调节脂肪组织分化、基因表达和生物学功能的平衡[D].东北师范大学,2018.
- [23] Wagner PD. The critical role of VEGF in skeletal muscle angiogenesis and blood flow[J]. *Biochem Soc Trans*, 2011, 39:1556.
- [24] Czarkowska-Paczek B, Zendzian-Piotrowska M, Bartłomiejczyk I, et al. The influence of physical exercise on the generation of TGF- β 1, PDGF-AA, and VEGF-A in adipose tissue[J]. *Eur J Appl Physiol*, 2011, 111: 875—881.
- [25] Van Pelt DW, Guth LM, Horowitz JF. Aerobic exercise elevates markers of angiogenesis and macrophage IL-6 gene expression in the subcutaneous adipose tissue of overweight-to-obese adults[J]. *Appl Physiol*, 2017, 123: 1150—1159.
- [26] Darren R Brenner, Yibing Ruan, Scott C Adams, et al. The impact of exercise on growth factors (VEGF and FGF2): results from a 12-month randomized intervention trial[J]. *European Review of Aging and Physical Activity*, 2019, 16:8.
- [27] Hatano D, Ogasawara J, Endoh S, et al. Effect of exercise training on the density of endothelial cells in the white adipose tissue of rats[J]. *Scand Med Sci Sports*, 2011, 21:e115—121.
- [28] Gollisch KS, Brandauer J, Jessen N, et al. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2009, 297(2):E495—504.
- [29] Cao L, Choi EY, Liu X, et al. White to brown fat phenotypic switch induced by genetic and environmental activation of a hypothalamic-adipocyte axis[J]. *Cel Metab*, 2011, 14(3): 324—338.
- [30] Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis[J]. *Nature*, 2012, 481(7382):463—468.
- [31] De Matteis R, Lucertini F, Guescini M, et al. Exercise as a new physiological stimulus for brown adipose tissue activity[J]. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases*, 2013, 23(6):582—590.