

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2026.03.0236

论著

有氧运动经由泛素-蛋白酶体降解 HDAC4/5 改善骨骼肌能量代谢

熊薇¹, 王倩¹, 牛燕媚^{2,3}, 傅力^{1,2}, 邵珩¹

(1.天津医科大学基础医学院人体解剖学系,天津 300070;2.天津医科大学医学技术学院,天津 300203;3.天津医科大学总医院康复医学科,天津 300052)

摘要 目的:探究有氧运动是否通过泛素-蛋白酶体系统(UPS)介导组蛋白去乙酰化酶4/5(HDAC4/5)降解,从而改善骨骼肌细胞能量代谢。方法:采用随机数字表法将60只4周龄雄性C57BL/6小鼠分为安静对照组(C组)、安静+MG132组(C+M组)、运动组(E组)和运动+MG132组(E+M组),每组小鼠15只。E组和E+M组小鼠均进行6周75%最大摄氧量强度跑台运动。C+M和E+M组小鼠腹腔注射蛋白酶体抑制剂MG132[10 μg/(kg·d)]。小鼠经注射干预后检测体成分;采用Western印迹分别检测比目鱼肌和腓肠肌组织HDAC4/5、20S蛋白酶体、肌肉环指蛋白1(MuRF1)及有氧代谢标志物的表达;免疫共沉淀(Co-IP)检测HDAC4/5泛素化水平;实时PCR检测葡萄糖转运体4(*Glut4*)和肉毒碱棕榈酰转移酶1b(*Cpt1b*) mRNA表达。结果:与C组小鼠相比,E组体重、体脂显著降低($t=2.231, 2.097$,均 $P<0.05$),去脂体重显著增加($t=2.163, P<0.05$),在比目鱼肌中细胞色素C(Cyto C)表达升高($t=2.964, P<0.05$),HDAC4/5蛋白表达降低($t=7.055, 3.249$,均 $P<0.05$),*Glut4*和*Cpt1b* mRNA表达增加($t=2.639, 2.138$,均 $P<0.05$),HDAC4/5泛素化水平升高。与E组小鼠相比,E+M组上述运动效应被MG132部分逆转。上述变化在腓肠肌中均不显著。结论:有氧运动通过激活UPS,促进骨骼肌HDAC4/5的泛素化降解,以I型肌纤维尤为显著,从而解除其对下游*Glut4*和*Cpt1b*基因的转录抑制,改善骨骼肌能量代谢。

关键词 泛素-蛋白酶体系统;有氧运动;组蛋白去乙酰化酶;骨骼肌;能量代谢

中图分类号 R87

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2026)03-0236-06

Aerobic exercise improving skeletal muscle energy metabolism via ubiquitin-proteasome-mediated degradation of HDAC4/5

XIONG Wei¹, WANG Qian¹, NIU Yanmei^{2,3}, FU Li^{1,2}, SHAO Heng¹

(1. Department of Human Anatomy, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. School of Medical Technology, Tianjin Medical University, Tianjin 300203, China; 3. Department of Rehabilitation Medicine, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China)

Abstract Objective: To investigate whether aerobic exercise improves skeletal muscle energy metabolism by promoting the ubiquitin-proteasome system (UPS)-mediated degradation of histone deacetylase 4/5 (HDAC4/5). **Methods:** Sixty 4-week-old male C57BL/6 mice were assigned to sedentary control (C), sedentary+MG132 (C+M), exercise (E), and exercise+MG132 (E+M) groups according to the random number table method. Mice in E group and E+M group performed 6 weeks of treadmill running at 75% maximal oxygen uptake intensity. The C+M group and E+M group received intraperitoneal injections of the proteasome inhibitor MG132 [10 μg/(kg·d)]. After the intervention, body composition was analyzed. The protein expressions of HDAC4/5, 20S proteasome, muscle RING-finger protein-1 (MuRF1), and aerobic metabolism markers in soleus and gastrocnemius muscles were detected by Western blotting. The ubiquitination levels of HDAC4/5 were detected by co-immunoprecipitation (Co-IP). The mRNA expressions of glucose transporter type 4 (*Glut4*) and carnitine palmitoyltransferase 1b (*Cpt1b*) were measured by real-time PCR. **Results:** Compared with group C, group E showed significantly decreased body weight and fat mass ($t=2.231, 2.097$, both $P<0.05$), increased free fat mass ($t=2.163, P<0.05$), elevated cytochrome C (Cyto C) expression in soleus ($t=2.964, P<0.05$), decreased HDAC4/5 protein expression ($t=7.055, 3.249$, both $P<0.05$), increased *Glut4* and *Cpt1b* mRNA expressions ($t=2.639, 2.138$, both $P<0.05$), and enhanced HDAC4/5 ubiquitination levels. Compared with E group, these exercise-induced effects were partially reversed by MG132 in E+M group. No significant changes were observed in the gastrocnemius. **Conclusion:** Aerobic exercise activates the UPS to promote the ubiquitination and degradation of HDAC4/5 protein, primarily in type I oxidative muscle fibers, thereby relieving their transcriptional inhibition on downstream *Glut4* and *Cpt1b* genes and improving skeletal muscle energy metabolism.

Key words ubiquitin-proteasome system; aerobic exercise; histone deacetylase; skeletal muscle; energy metabolism

基金项目 国家自然科学基金资助项目(31671237)

作者简介 熊薇(2001-),女,硕士在读,研究方向:有氧运动改善骨骼肌能量代谢的机制研究;通信作者:邵珩,E-mail:shaoh@tmu.edu.cn。

骨骼肌作为机体能量代谢的核心场所,其功能状态直接决定全身代谢稳态^[1]。骨骼肌由 I 型和 II 型两类异质纤维组成: I 型肌纤维富含线粒体和毛细血管,主要依赖有氧代谢,具有高氧化能力和抗疲劳特性; II 型肌纤维偏向糖酵解供能,爆发力强但易疲劳,二者决定了整体的代谢表型^[2]。有氧运动能够显著提升骨骼肌的氧化能力,表现为线粒体生物合成、毛细血管密度增加以及底物利用效率提高,从而改善全身代谢能力^[3]。

II a 型组蛋白去乙酰化酶(HDAC) 4/5 在 II 型肌纤维中表达较高,在 I 型肌纤维中表达较低^[4-5]。它们通过抑制葡萄糖转运体 4(*Glut4*)和肉毒碱棕榈酰转移酶 1b(*Cpt1b*)等关键基因的转录,参与胰岛素抵抗的发生、发展^[6-7]。尽管不同纤维类型的 HDAC4/5 mRNA 水平相近,但蛋白水平差异提示存在转录后调控。笔者此前的研究显示,有氧运动显著降低小鼠骨骼肌中 HDAC4/5 的蛋白表达,提示其可能是运动改善代谢的重要机制^[8]。

本研究旨在验证有氧运动通过激活泛素-蛋白酶体系统(UPS),促进 HDAC4/5 的泛素化降解,从而解除其对 *Glut4* 和 *Cpt1b* 等代谢关键基因的转录抑制,最终改善骨骼肌能量代谢。本研究通过在有氧运动干预中联合使用特异性蛋白酶体抑制剂 MG132,深入探讨 UPS 在其中的作用,为理解运动改善代谢健康的机制提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 蛋白 Marker(Thermo Fisher, 美国);肌肉环指蛋白 1 (MuRF1)、 β -微管蛋白、细胞色素 C (Cyto C)、肌红蛋白 (Myo) 及肌钙蛋白 I (TNNI) 一抗、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 二抗 (Proteintech, 美国); HDAC4/5 一抗 (Epinek, 中国);泛素、20S 蛋白酶体一抗 (Abcam, 英国);ECL 化学发光底物 (Millipore, 美国); NP-40、DMSO、MG132 蛋白酶体抑制剂 (Sigma, 美国);蛋白酶抑制剂混合物 (Roche, 瑞士);Trizol、PBS (Invitrogen, 美国);丙烯酰胺、亚甲双丙烯酰胺 (Ameresco, 美国);异氟烷麻醉剂 (瑞沃德, 中国)。实验仪器包括组织研磨器 (天津志卓, 中国);垂直电泳仪、蛋白转印槽 (Bio-rad, 美国);恒温箱 (上海精宏, 中国);恒温振荡器 (国华, 中国);超低温冰箱 (三洋, 日本);超净工作台 (Thermo Scientific, 美国);动物跑台 (淮北正华, 中国);涡旋混合器 (Vortex, 美国);体成分分析仪 (ImpediVET, 澳大利亚);小鼠麻醉机 (瑞沃德, 中国);微量加样器、离心机 (Eppendorf, 德国);实时荧光定量 PCR 仪 (ABI, 美国);电子天平 (赛多利斯, 德国);制冰机 (松下, 日本)。上述试剂与仪

器均按生产商说明书操作,确保实验的可重复性与数据的可靠性。

1.2 方法

1.2.1 实验动物 实验选用 60 只雄性 C57BL/6 小鼠[4 周龄,北京华阜康生物科技股份有限公司,动物批次号:11001A,生产许可证号:SCXK(京)2019-0008]。适应性喂养 1 周后,采用随机数字表法将小鼠分为 4 组(每组 15 只):安静对照组(C 组,常规饲养不进行运动干预)、安静+MG132 组(C+M 组,常规饲养并腹腔注射蛋白酶体抑制剂 MG132)、运动组(E 组,进行有氧跑台运动训练)和运动+MG132 组(E+M 组,进行有氧跑台运动训练并腹腔注射 MG132)。所有小鼠均饲养于天津医科大学实验动物中心 SPF 级屏障环境,室内温度维持在 22~25℃,相对湿度 40%~60%,光/暗循环 12 h,小鼠可自由摄取饮水及标准维持饲料(北京华阜康公司)。本研究所有动物实验操作均经天津医科大学实验动物伦理委员会审查批准(批准号:TMU2021052)。

1.2.2 运动方案 采用中等强度有氧跑台训练方案。所有小鼠先进行为期 1 周的适应性训练,跑台速度从 8 m/min 开始,运动时间从 30 min/d 开始,逐日递增,至第 7 天达到正式训练强度。正式训练为期 6 周:以 12 m/min 的速度(约相当于 75%最大摄氧量强度)跑步,60 min/次,1 次/d、每周训练 5 d。

1.2.3 给药方案 C+M 组和 E+M 组小鼠按体重每日腹腔注射 MG132,给药剂量为 10 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$,1 次/d,每周 5 d、持续 6 周。C 组和 E 组小鼠则腹腔注射等体积的含相同浓度 DMSO 的 PBS 溶液,以排除溶剂本身对实验结果的影响。

1.2.4 体成分分析 6 周干预结束后,使用 ImpediVET™ 实验动物体成分分析仪检测小鼠的体成分。小鼠经异氟烷轻度麻醉后,仰卧位固定于检测板,剃除电极接触点毛发,连接电极。测量并输入小鼠体重和电极间距,由系统软件自动分析并输出体重、体重指数(BMI)、体脂含量和去脂体重等数据。

1.2.5 样本采集 体成分检测完成后,禁食不禁水 12 h。采用异氟烷吸入过量麻醉法处死小鼠。迅速分离双侧比目鱼肌和腓肠肌,用预冷的 PBS 冲洗干净后,立即投入液氮中快速冷冻,随后转移至 -80℃ 超低温冰箱中保存,用于后续蛋白和 RNA 提取。

1.2.6 Western 印迹检测 取约 50 mg 肌肉组织,加入预冷的 RIPA 裂解液,使用电动匀浆器冰上匀浆。4℃离心(12 000 r/min, 15 min)后取上清,采用 BCA 法测定蛋白浓度。取等量蛋白样品(30 μg)进行 SDS-PAGE 电泳,后转印至 PVDF 膜。5% 脱脂牛奶封闭后,加入相应一抗 Anti-HDAC4 (1:1 000)、Anti-

HDAC5 (1:1 000)、Anti-20S Proteasome (1:1 000)、Anti-MuRF1(1:1 000)、Anti-Myoglobin(1:1 000)、Anti-Troponin I (1:1 000)、Anti-Cytochrome C (1:1 000)、Anti- β -tubulin (1:5 000) 4℃ 孵育过夜。次日, TBST 洗涤后, 与相应 HRP 标记的二抗 (1:5 000) 室温孵育 1 h。使用 ECL 化学发光试剂盒显影, 在化学发光成像系统上采集图像, 并用 Image J 软件进行灰度值分析。

1.2.7 免疫共沉淀 取 200 μ g 比目鱼肌总蛋白, 加入 2 μ g HDAC4 或 HDAC5 抗体, 4℃ 缓慢摇动孵育过夜。次日加入预先用 PBS 清洗过的 Protein A/G 磁珠, 继续孵育 4 h。用预冷的细胞裂解液洗涤磁珠 5 次, 最后加入 2 \times SDS 上样缓冲液, 煮沸 10 min, 将结合在磁珠上的蛋白复合物洗脱下来。后续进行 Western 印迹检测, 用泛素抗体 (1:1 000) 检测 HDAC4/5 的泛素化水平。

1.2.8 实时 PCR 检测 使用 Trizol 法提取比目鱼肌总 RNA, 测定浓度和纯度。取 1 μ g 总 RNA 反转录合成 cDNA。以 cDNA 为模板进行扩增反应。引物序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列

Tab.1 PCR primer sequences

基因	产物大小	引物
Glu4	74 bp	上游 5'GACCCAATGCCAATGCTGTCCA 3'
		下游 5'CTGCAGGCAGGCCAGTACT 3'
Cpt1b (NM_009948.2)	181 bp	上游 5'CGTGCTGCTTTCTTTGTG 3'
		下游 5'AGTGTTCGGTGTGAGGC 3'
β -Actin	117 bp	上游 5'GTCCTCTCCCAAGTCCACAC 3'
		下游 5'GGGAGACCAAAAGCCTTCAT 3'

注: Glu4: 葡萄糖转运蛋白 4; Cpt1b: 肉碱棕榈酰转移酶 1b; β -Actin: β -肌动蛋白

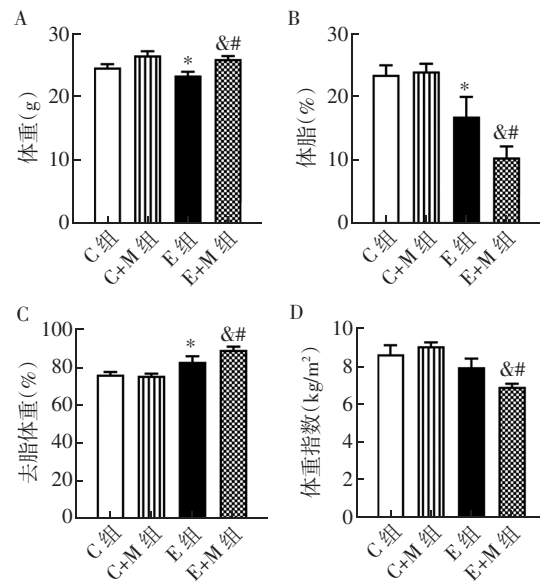
反应条件: 95℃ 30 s; 95℃ 5 s, 60℃ 30 s, 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因 mRNA 的相对表达量, 以 β -actin 作为内参基因。

1.3 统计学处理 所有数据均采用 GraphPad Prism 软件进行统计分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 组间两两比较采用 LSD-t 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 有氧运动及 UPS 对小鼠体成分的影响 6 周运动干预后体成分分析如图 1 所示。与 C 组小鼠相比, E 组体重、体脂显著降低 ($t=2.231, 2.097$, 均 $P < 0.05$), 去脂体重显著增加 ($t=2.163, P < 0.05$), BMI 无显著变化 ($t=1.38, P > 0.05$)。C+M 组各项指标与 C 组均无显著差异。与 C+M 组小鼠相比, E+M 组体重、体脂和 BMI 均显著降低 ($t=3.356, 5.756, 5.428$, 均 $P < 0.05$), 去脂体重显著增加 ($t=5.804, P < 0.05$)。值

得注意的是, 与 E 组小鼠相比, E+M 组体重和去脂体重均显著增加 ($t=2.639, 2.332$, 均 $P < 0.05$), 体脂和 BMI 均显著降低 ($t=2.364, 2.285$, 均 $P < 0.05$)。



注: UPS: 泛素-蛋白酶体系统; A: 小鼠体重变化; B: 体脂含量变化; C: 去脂体重变化; D: 体重指数变化; 与 C 组相比, * $P < 0.05$; 与 C+M 组相比, # $P < 0.05$; 与 E 组相比, # $P < 0.05$

图 1 有氧运动及 UPS 抑制对小鼠体成分的影响

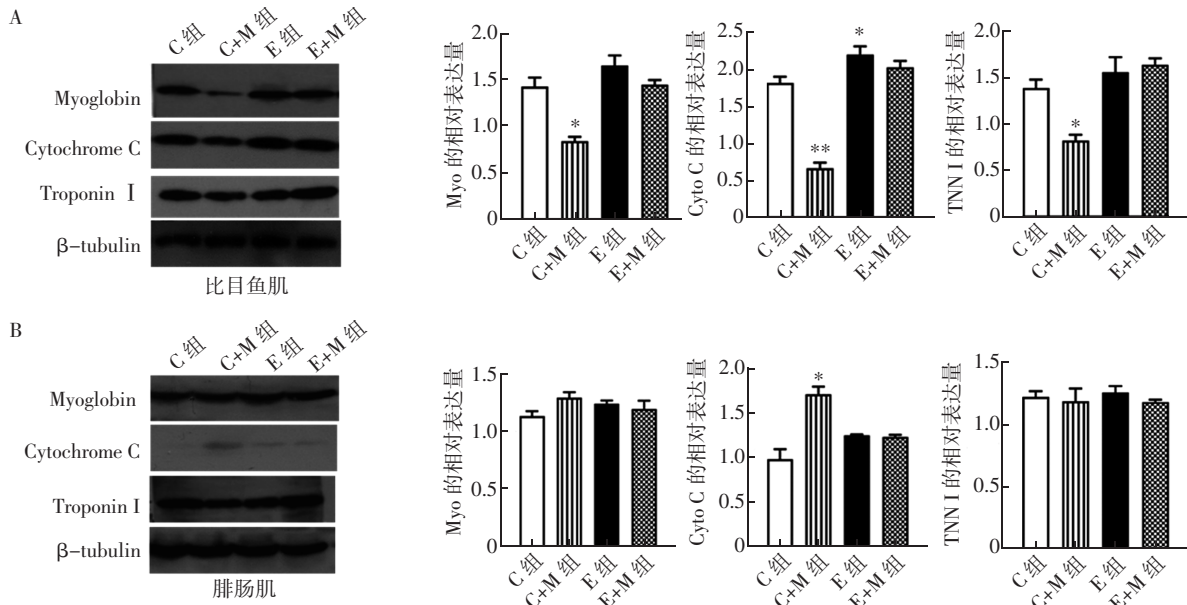
Fig.1 Effects of aerobic exercise and UPS inhibition on body composition in mice

2.2 有氧运动及 UPS 对骨骼肌有氧代谢标志物的影响 在比目鱼肌中, 与 C 组小鼠相比, E 组 Cyto C 显著升高 ($t=2.964, P < 0.05$), 而 Myo 和 TNNI 有升高趋势但无统计学意义; C+M 组各指标均显著下降 ($t=8.995, 5.075, 3.837$, 均 $P < 0.05$); E+M 组各指标与 E 组相比有下降趋势, 但无统计学差异。在腓肠肌中, E 组各指标仅呈上升趋势; C+M 组仅 Cyto C 表达显著上升 ($t=7.232, P < 0.05$); E+M 组与 E 组无显著差异 (图 2)。

2.3 有氧运动促进 HDAC4/5 降解 检测比目鱼肌中 20S 蛋白酶体的表达发现, 与 C 组相比, C+M 组表达显著降低 ($t=3.434, P < 0.01$), E 组表达显著升高 ($t=2.944, P < 0.05$); 而与 E 组相比, E+M 组的表达被 MG132 显著抑制 ($t=2.453, P < 0.05$), 见图 3A。

在比目鱼肌中, 与 C 组小鼠相比, E 组 HDAC4 和 HDAC5 蛋白表达均显著下降 ($t=7.055, 3.249$, 均 $P < 0.05$); C+M 组表达均显著增加 ($t=4.241, 8.079$, 均 $P < 0.05$); 与 E 组小鼠相比, E+M 组表达也显著增加 ($t=7.712, 8.418$, 均 $P < 0.05$), 见图 3B、3C。在腓肠肌中, 各组均无显著性变化。

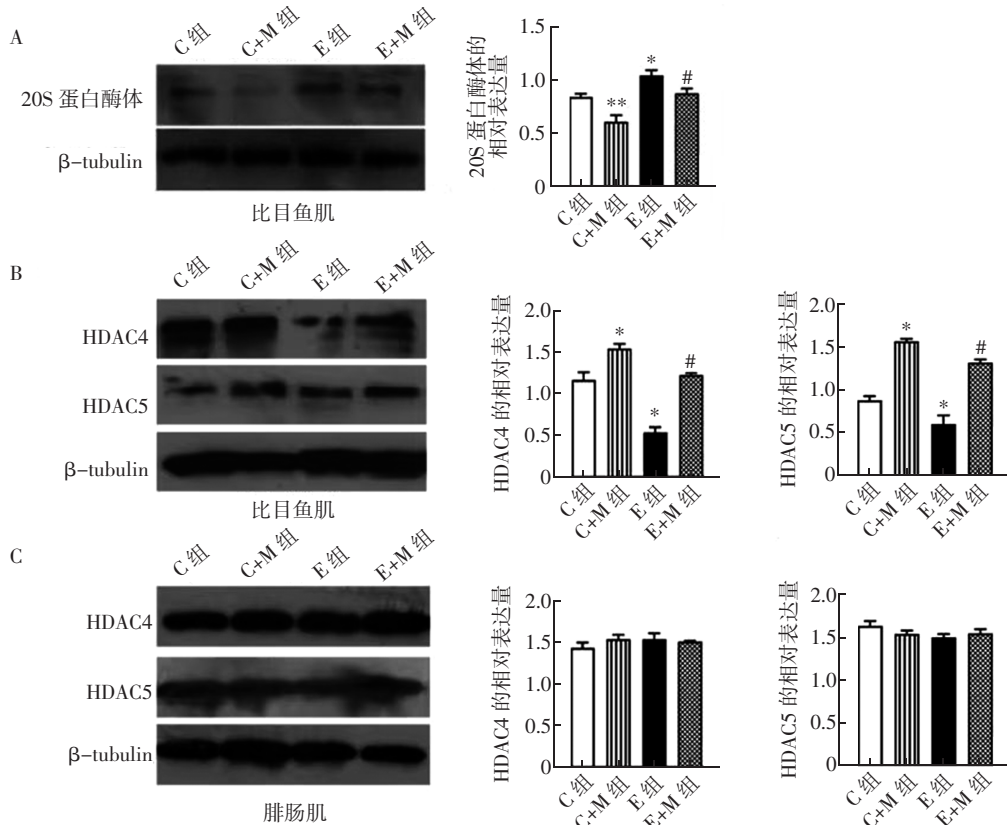
2.4 有氧运动促进 HDAC4/5 泛素化修饰 检测比目鱼肌中 MuRF1 的表达及 HDAC4/5 的泛素化水平发现, 与 C 组相比, C+M 组和 E 组的 MuRF1 表达均显著上调 ($t=3.15, 2.407$, 均 $P < 0.05$), 且 E+M 组的表达



注:UPS;泛素-蛋白酶体系统;Cyto C;细胞色素 C;Myo;肌红蛋白;TNNI;肌钙蛋白 I ;A:比目鱼肌 Cyto C、Myo 及 TNNI 蛋白表达;B:腓肠肌 Cyto C、Myo 及 TNNI 蛋白表达;与 C 组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$

图 2 有氧运动及 UPS 对骨骼肌有氧代谢标志物的影响

Fig.2 Effects of aerobic exercise and UPS modulation on aerobic metabolism markers in skeletal muscle



注:UPS;泛素-蛋白酶体系统;HDAC4/5;组蛋白去乙酰化酶 4/5;A:比目鱼肌 20S 蛋白酶体表达;B:比目鱼肌 HDAC4/5 蛋白表达;C:腓肠肌 HDAC4/5 蛋白表达;与 C 组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与 E 组相比,# $P<0.05$

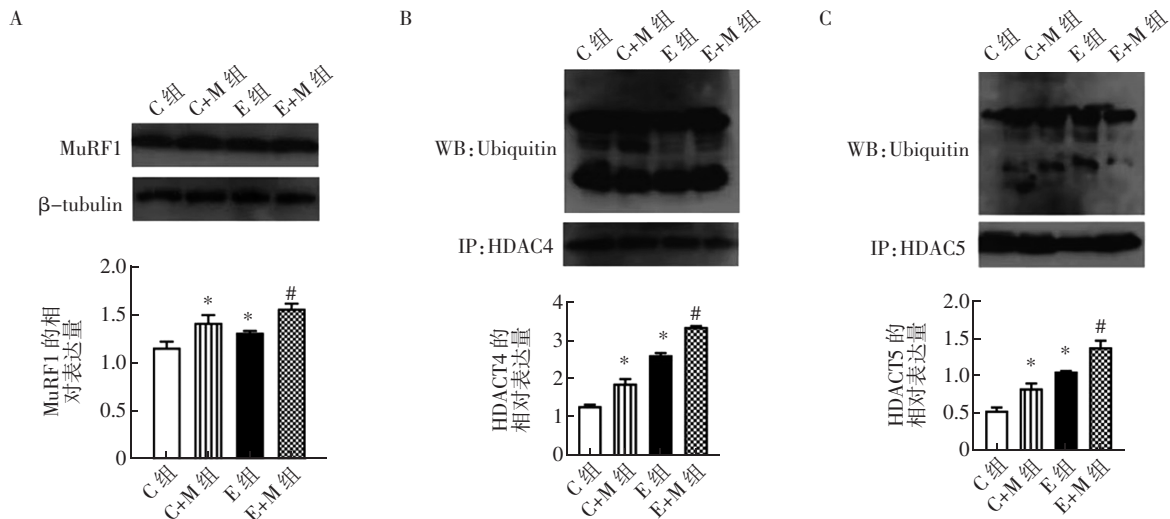
图 3 有氧运动促进 HDAC4/5 降解

Fig.3 Aerobic exercise promotes HDAC4/5 degradation

进一步高于 E 组 ($t=3.066, P<0.05$), 见图 4A~C。

通过 Co-IP 实验进一步检测 HDAC4/5 的泛素化修饰发现, E 组 HDAC4 和 HDAC5 泛素化水平较

C 组显著提升 ($t=13.43, 6.15$, 均 $P<0.05$); C+M 组亦显著高于 C 组 ($t=5.928, 6.51$, 均 $P<0.05$); 而 E+M 组的泛素化水平在 E 组基础上进一步显著升高 ($t=$



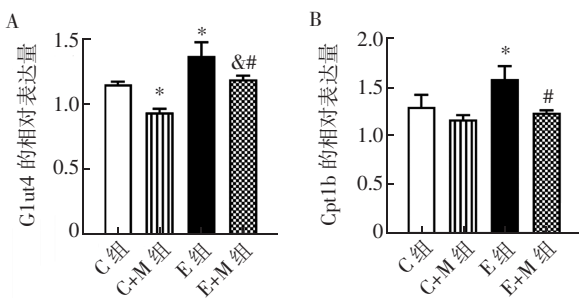
注:HDAC4/5:组蛋白去乙酰化酶 4/5;MuRF1:肌肉环指蛋白 1;A:比目鱼肌 MuRF1 蛋白表达;B:HDAC4 泛素化水平;C:HDAC5 泛素化水平;与 C 组相比,* $P<0.05$;与 E 组相比,# $P<0.05$

图 4 有氧运动促进 HDAC4/5 泛素化修饰

Fig.4 Aerobic exercise enhances HDAC4/5 ubiquitination

7.515、3.835,均 $P<0.05$)。

2.5 有氧运动增加下游 *Glut4/Cpt1b* 基因表达 如图 5A、5B 所示,有氧运动显著提升了比目鱼肌中 *Glut4* 和 *Cpt1b* 的基因表达 (E 组 vs. C 组, $t=2.639$ 、 2.138 ,均 $P<0.05$),而抑制蛋白酶体使 *Glut4* 基因表达显著降低 ($t=2.614$, $P<0.05$),*Cpt1b* 呈下降趋势。当运动与抑制剂共同作用时,*Glut4* 与 *Cpt1b* 表达均较 E 组显著降低 ($t=2.162$ 、 2.587 ,均 $P<0.05$)。



注:UPS:泛素-蛋白酶体系统;*Glut4*:葡萄糖转运体 4;*Cpt1b*:肉毒碱棕榈酰转移酶 1b;A:比目鱼肌 *Glut4* mRNA 表达;B:比目鱼肌 *Cpt1b* mRNA 表达;与 C 组相比,* $P<0.05$;与 C+M 组相比,# $P<0.05$;与 E 组相比,# $P<0.05$

图 5 有氧运动对 *Glut4/Cpt1b* 的调控作用

Fig.5 Regulatory effects of aerobic exercise on *Glut4* and *Cpt1b*

3 讨论

HDAC 对基因转录调节发挥重要作用。HDAC4 与 HDAC5 在骨骼肌中通过与转录因子 MEF2 结合,抑制 I 型肌纤维特异基因的表达,从而限制糖、脂代谢相关基因的转录^[9]。在小鼠中,HDAC4/5 的蛋白水平在 II 型肌纤维中显著高于 I 型肌纤维,这一肌纤维类型特异性已在多项转录组与免疫印迹实验中得到验证^[10-11]。Moresi 等^[11]在去神经模型中显示,HDAC4/5 双敲除显著上调 I 型肌纤维特异基因,导致肌纤维类型向 I 型肌纤维转变。

运动作为一种低成本、高效益的手段,已被广泛证实可改善机体代谢健康,其机制涉及多组织能量代谢稳态的优化与调控^[12]。因此,本实验对 C57BL/6 小鼠进行 6 周耐力跑步训练,结果显示,比目鱼肌中的 HDAC4 与 HDAC5 蛋白表达显著下降,而腓肠肌中并未出现明显变化。鉴于前期研究发现有氧训练能够显著提升 I 型肌纤维的比例^[13],说明有氧运动对 I 型肌纤维中 HDAC4/5 的降解更为敏感。

UPS 是真核细胞内蛋白质的主要降解通路,约 80% 的细胞内蛋白通过该系统被降解^[14]。早期研究表明,UPS 在骨骼肌蛋白质代谢中扮演关键角色,但其在运动诱导的 HDAC4/5 降解中的作用尚未明确。Bodine 等^[15]首次发现,MuRF1 在肌萎缩过程中,对于骨骼肌的蛋白降解起到了重要作用,为 UPS 在肌肉代谢中的作用提供了初步证据。MG132 是一种细胞可渗透的肽醛类蛋白酶体抑制剂,能够可逆地结合 20S/26S 蛋白酶体的活性位点,阻断其对泛素化底物的水解,从而“冻结”蛋白质的降解过程^[16]。为验证 UPS 是否参与 HDAC4/5 降解,实验中使用特异性蛋白酶体抑制剂 MG132,发现无论在安静还是运动状态下,UPS 的抑制使得 HDAC4/5 蛋白水平显著增加,其泛素化水平积累,说明 UPS 促进运动后 HDAC4/5 的降解。同样在 UPS 被抑制的条件下,MuRF1 的表达在安静和运动两种状态下均显著上调,且运动叠加 UPS 抑制,进一步加剧了 MuRF1 的表达上调。鉴于笔者实验室前期研究表明,高脂状态下,运动可诱导 MuRF1 与 HDAC5 的结合^[17],考虑到 HDAC4 与 HDAC5 在结构与功能上具有高度相似性,且运动促进 I 型肌纤维中 HDAC4/5 的降解。因此笔者推测,有氧运动可能通过 MuRF1 介导

HDAC4/5 的泛素化降解。

笔者前期研究发现,HDAC4/5 在调控骨骼肌糖、脂代谢过程中发挥重要作用。本研究发现,HDAC4/5 降解伴随糖、脂代谢基因 *Glut4* 与 *Cpt1b* 转录水平的同步上调,共同揭示了 HDAC4/5 负向调控骨骼肌糖、脂代谢基因的关键角色。MG132 处理后 *Glut4* 表达显著下降,证实了 HDAC4/5 对 *Glut4* 转录的抑制性调控是运动改善糖代谢的核心环节。*Cpt1b* 的表达仅在运动叠加蛋白酶体抑制剂组显著下降,表明除 HDAC4/5 外,运动还可能通过其他通路调控脂肪酸氧化。

在发现有氧运动可能通过 UPS 介导 HDAC4/5 降解这一核心基础上,笔者进一步观察该过程具有显著差异的肌纤维类型,发现这种特异性与 I 型肌纤维具有更高的基础代谢率和蛋白质周转速率密切相关^[10,18]。本研究结果显示,在比目鱼肌中,运动诱导的 HDAC4/5 降解伴随线粒体标志蛋白表达显著提升,而腓肠肌中这些指标未出现显著变化。说明 I 型肌纤维对 UPS 介导的代谢重塑更为敏感,从而更有效的响应有氧运动刺激。

本研究发现,UPS 的代谢调节表现出明显的运动依赖性特征。在运动状态下,MG132 通过阻断 UPS 降解,增强了体脂下降与 BMI 改善的效果;而在安静状态下对体脂、BMI 并无显著影响。该结果表明 UPS 的代谢调节需要运动作为前提。值得注意的是,安静状态下 MG132 处理导致比目鱼肌中 Myo、TNNI 及 Cyto C 表达下降,说明在缺乏运动时抑制 UPS 可能对线粒体功能产生负面影响,这从侧面印证了运动与 UPS 功能激活的密切关系。

先前研究多聚焦于肥胖或胰岛素抵抗模型探讨运动机制,而本研究创新性地选用健康生理模型,揭示有氧运动降低 HDAC4/5 表达。这与 Huang 等^[17]在高脂小鼠模型中的发现形成互补,表明 UPS-HDAC4/5 轴是运动改善代谢的普适性机制。

综上所述,6 周有氧运动训练通过激活 UPS,促进 HDAC4/5 的泛素化降解,该过程直接解除了其对下游代谢关键基因的转录抑制,进而提升 I 型肌纤维的代谢能力。该调控主要发生在以 I 型肌纤维为主的比目鱼肌中,体现了肌纤维类型的特异性响应。研究结果为阐明运动改善全身能量稳态的分子机制提供了新视角,也为通过靶向 UPS-HDAC4/5 轴来优化代谢功能提供了实验依据。后续研究应进一步明确 MuRF1 等 E3 连接酶的特异性、上游信号的激活模式以及在不同病理状态下的适用性,以推动该机制向临床转化。

参考文献:

[1] DING Y, WAN Q, LIU W. Effects of atmospherically relevant PM2.5 on skeletal muscle mitochondria: a review of damage mecha-

- nisms and potential of exercise interventions[J]. *Front Public Health*, 2025, 13: 1615363.
- [2] SHIN J, NUNOMIYA A, GONDA K, et al. Specification of skeletal muscle fiber-type is determined by the calcineurin/NFATc1 signaling pathway during muscle regeneration[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, 659: 20-28.
- [3] PHILIP A M, SANER N J, LAZAROU M, et al. The influence of aerobic exercise on mitochondrial quality control in skeletal muscle[J]. *J Physiol*, 2021, 599(14):3463-3476.
- [4] MOCHALOVA E P, BELOVA S P, KOSTROMINOVA T Y, et al. Differences in the role of HDACs 4 and 5 in the modulation of processes regulating MAFbx and MuRF1 expression during muscle unloading[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(13): 4815.
- [5] MA W, CAI Y, SHEN Y, et al. HDAC4 knockdown alleviates denervation-induced muscle atrophy by inhibiting myogenin-dependent atrogenes activation[J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15: 663384.
- [6] LIN Y, LI Y, KE C, et al. HDAC4: an emerging target in diabetes mellitus and diabetic complications[J]. *Eur J Med Res*, 2025, 30(1): 429.
- [7] LI Z, SONG Y, LI Z, et al. Role of protein lysine acetylation in the pathogenesis and treatment of obesity and metabolic syndrome[J]. *Curr Obes Rep*, 2025, 14(1): 24.
- [8] NIU Y, WANG T, LIU S, et al. Exercise-induced GLUT4 transcription via inactivation of HDAC4/5 in mouse skeletal muscle in an AMPK α 2-dependent manner[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(9): 2372-2381.
- [9] MARTINS D, CONNOR T, SANIGORSKI A, et al. Class IIa HDACs inhibit cell death pathways and protect muscle integrity in response to lipotoxicity[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(12): 787.
- [10] SCHIAFFINO S, CHEMELLO F, REGGIANI C. The diversity of skeletal muscle fiber types[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2025, 17(8):41477.
- [11] MORESI V, WILLIAMS A H, MEADOWS E, et al. Myogenin and class II HDACs control neurogenic muscle atrophy by inducing E3 ubiquitin ligases[J]. *Cell*, 2010, 143(1): 35-45.
- [12] MØLMEN K S, ALMQUIST N W, SKATTEBO Ø. Effects of exercise training on mitochondrial and capillary growth in human skeletal muscle: a systematic review and meta-regression[J]. *Sports Med*, 2025, 55(1):115-144.
- [13] LUNDBERG T R, FEUERBACHER J F, SÜNKELER M, et al. The effects of concurrent aerobic and strength training on muscle fiber hypertrophy: a systematic review and meta-analysis[J]. *Sports Med*, 2022, 52(10): 2391-2403.
- [14] LI Y, LI S, WU H. Ubiquitination-proteasome system (UPS) and autophagy two main protein degradation machineries in response to cell stress[J]. *Cells*, 2022, 11(5): 851.
- [15] 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.
- [16] GUO N, PENG Z. MG132, a proteasome inhibitor, induces apoptosis in tumor cells[J]. *Asia Pac J Clin Oncol*, 2013, 9(1):6-11.
- [17] HUANG S, ZHENG X, ZHANG X, et al. Exercise improves high-fat diet-induced metabolic disorder by promoting HDAC5 degradation through the ubiquitin-proteasome system in skeletal muscle[J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2022, 47(11): 1062-1074.
- [18] ZHANG Y, WU X, LI R, et al. Sodium danshensu modulates skeletal muscle fiber type formation and metabolism by inhibiting pyruvate kinase M1[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1467620.

(2025-10-27 收稿)