

运动对细胞凋亡的影响(综述)

张 钧¹, 许豪文²

(1. 扬州大学 体育学院, 江苏 扬州 225002; 2. 华东师范大学 体育与健康学院, 上海 200062)

摘 要 细胞凋亡(apoptosis)是一种由基因控制的细胞自主性死亡过程,其性质为生理性细胞死亡。细胞凋亡的研究已成为生物医学领域中最热门的课题之一。然而在运动医学中的研究尚不多见,为此就运动对细胞凋亡影响的一些新的研究进展进行了综述。

关键词 细胞凋亡;运动;骨骼肌;免疫系统;心肌

中图分类号:G804.21 文献标识码:A 文章编号:1006-7116(2002)06-0045-04

Effects of exercise on apoptosis(A review)

ZHANG Jun¹, XU Hao-wen²

(1. Institute of Physical Education, Yangzhou University, Yangzhou 225002, China;

2. Institute of Physical Education and Health, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract Apoptosis is an initiative cell death process that is controlled by gene and it is a kind of physiological cell death. Apoptosis has become one of study warm points and forward positions in biology and medicine. But in sports medicine it is just beginning of the study about effects of exercise on apoptosis in recent years. This paper reviewed some new progress about effects of exercise on apoptosis.

Key words apoptosis; exercise; muscle; immune system; myocardium

细胞凋亡(Apoptosis)是由 Kerr 等人^[1]于 1972 年首次提出的。但这个概念当时并未引起注意。自 20 世纪 80 年代 Wyllie^[2]揭示了细胞凋亡独特的生物学特征,即 180~200 bp 单体或寡聚核小体 DNA 片段,其电泳谱为典型的“梯形带”(ladder pattern)以来,Apoptosis 的研究倍受世人关注且得到了蓬勃发展。近来对细胞凋亡分子机理研究显示,细胞凋亡是一个遗传性的程序性过程,是细胞在基因调控下有序死亡的形式^[3]。由于细胞凋亡的研究在很多方面已取得了重大的突破和进展,特别是在机体疾病发生发展中的重要作用及治疗上的潜在意义,细胞凋亡已成为生物医学领域研究的热点和前沿之一,在国家自然科学基金委员会临床医学基础学科发展战略调查报告中,多次强调了细胞凋亡研究的重要性,并将其列为肿瘤、心血管等重大疾病今后研究的方向之一^[4]。尽管目前细胞凋亡已成为医学、生物学研究中热门课题,但在运动医学中的研究尚不多见,而与运动训练有关的研究更少。本文就运动与细胞凋亡的一些新的研究进展作一综述。

1 细胞凋亡的概念

细胞凋亡是细胞在一定的生理和病理条件下,遵循自身

的程序,自己结束其生命的过程。是细胞接受某种信号后或受到某些因素刺激后一种主动的,由一些凋亡相关基因相互作用的细胞消亡过程。凋亡与坏死不同,其发生有积极的生物学意义。细胞凋亡与有丝分裂相互协调,共同调控胚胎发育、器官的发育与退化、免疫、造血等生理过程^[5]。

2 骨骼肌细胞凋亡的研究进展

2.1 骨骼肌细胞凋亡现象

近几年医学界对骨骼肌细胞凋亡开展了一些研究。哥本哈根大学的研究人员在电镜下观察到去神经比目鱼肌出现细胞皱缩、核固缩、核周池扩大、染色质浓缩等细胞凋亡的形态学特征,但未发现明显核碎片。原位缺口末端标记(in situ nick tailing, ISNT)未发现 DNA 裂解,认为这可能是一种无 DNA 降解的细胞凋亡,但这种凋亡在正常情况下是否发生还有待证明^[6]。Tews 等^[7]则比较肯定地认为失去神经支配后的肌肉存在细胞凋亡现象。他采用末端转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记法(TdT-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL)检测了切断神经的大鼠面肌,发现失去神经支配后大鼠面肌细胞出现 DNA 碎片。在另外一些动物实验中,在体的和离体的肌肉在经历各自不同的刺激后,表现出典型的

细胞凋亡的形态学、生物化学和分子生物学的特点^[8]。

有关运动导致的肌肉损伤是否与骨骼肌细胞凋亡有关,目前已有一些的证据证明运动性肌肉损伤与骨骼肌细胞凋亡有关。Sandri等^[9]发现经一夜自发齿轮运动后大鼠肌肉细胞被损伤,经末端标记和凝胶电泳发现DNA碎片,同时泛肽(ubiquitin)水平升高,认为此种运动后肌细胞中存在细胞凋亡现象。Podhorska-Okolow等^[10]用成年小鼠进行运动性肌纤维损伤实验来对骨骼肌细胞凋亡的时间进程进行分析,他们在小鼠进行一夜轮形笼自发跑步之后发现,在进行该自发跑步之前未经历运动的小鼠,在自发跑步后骨骼肌的凋亡细胞明显高于运动组,且在4d后减少。同时肌纤维中Bcl-2含量减少,但Bax、Fas、ICE和泛素随凋亡肌细胞核的变化而改变表达类型。凋亡的内皮细胞出现在跑后即刻,4d后增加2倍。未经运动的小鼠在自发跑后凋亡肌细胞核和凋亡的内皮细胞数量均增加。国内周末艾等^[11]在建立大鼠不同速度的跑台训练模型后,观察到股四头肌在训练后即刻就出现凋亡的肌细胞,且随着运动速度的增加,凋亡细胞数目也随之增加。王长青等^[12]用流式细胞仪和TUNEL法也观察到运动过程中骨骼肌细胞凋亡增加,且和运动时间有关。

2.2 骨骼肌细胞凋亡的基因调控

Bcl-2基因家族在肌细胞中的作用引起人们的注意。Eguchi等^[13]报道Bcl-2基因在不同组织中表达不同。在成年鸡骨骼肌中检测不到,而在胚胎期肌肉中Bcl-2基因表达水平较高。有人研究了人类Mcl-1基因发现Mcl-1多在高分化细胞的表层上皮中表达,而Bcl-2多见于低分化细胞基底膜的內面。Mcl-1的表达在骨骼肌和心肌中较高。Bcl-2和Mcl-1基因的表达均可抑制细胞凋亡。Tews^[7]发现大鼠面肌失去神经支配后凋亡相关蛋白Bcl-2、Bcl-XL、Bax表达处于高水平,恢复神经支配7周后Bcl-2表达增高,Bcl-XL、Bax表达下降。认为大鼠面肌失去神经支配后Bcl-2的高表达有助于维持肌细胞的存活,持续增加的Bcl-2的表达可以对抗Bax促进凋亡的作用。Tews^[14]还认为一氧化氮在失神经后氧化应激引起的肌细胞凋亡中发挥一定的作用。他进一步检测了一氧化氮合酶(NOS)在大鼠面肌失神经和复神经过程中的表达,发现在生理情况下,大鼠面肌中神经元型NOS(nNOS)有一定的表达,内皮型NOS(eNOS)表达较少,诱导型NOS(iNOS)无表达,失去神经支配后nNOS表达下降,恢复神经支配后nNOS表达逐渐上升,10周后恢复到正常水平,eNOS和iNOS表达无变化。

3 运动与免疫系统细胞凋亡的研究进展

早在20世纪90年代初,就有人对胸腺细胞等淋巴细胞在运动条件下发生细胞凋亡的情况进行了一些研究工作。Concoret等人^[15]对力竭运动的Wistar大鼠胸腺细胞的凋亡情况进行了研究,发现两次力竭运动后、一次力竭运动后以及中等强度(相当于一半力竭运动强度的一半)运动,其胸腺细胞都出现典型的凋亡特征型DNA梯形电泳条带。而且这种凋亡发生部分地受糖皮质激素受体的介导。Li等^[16]对连续两天以13.8 m/min × 60~90 min/d的强度运动后大

鼠的胸腺细胞进行了研究,观察到典型的DNA断裂等细胞凋亡特征,同时发现若运动前7d大鼠服用抗氧化剂BHA(2,3-二甲基-4-羟基茴香醚)可阻断运动诱发的DNA断裂,提示活性氧等自由基可能在运动诱发的胸腺细胞的细胞凋亡中扮演角色。Avula等^[17]用2月龄雄性小鼠饲喂添加质量分数为5%玉米油(CO)或5%鱼油(FO),同时在跑台上跑步12周,结果发现血浆和脾脏丙二醛(MDA)水平FO组比CO组增高,但运动并不能改变MDA水平。FO组的脾脏SOD、CAT和谷胱甘肽过氧化酶活性增加,运动也增加CO组SOD和过氧化物酶活性,提高FO组CAT、谷胱甘肽过氧化酶活性。用有或无地塞米松(Dex)的RPMI液孵育脾细胞,计量凋亡和坏死的细胞数后发现,FO组比CO组有更高的细胞凋亡和坏死发生。结果显示FO增加脾细胞的细胞凋亡和抗氧化酶活性,这可能是因为提高了脂质过氧化水平。Azenabor等^[18]检测了大鼠力竭运动(RTE)后即刻和24h的胸腺、脾脏中氧化应激后的生化指标,包括膜脂质过氧化物、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、尿酸(UA)、抗坏血酸(AA),发现力竭运动后即刻、力竭运动24h后大鼠胸腺和脾脏膜脂质过氧化物明显高于对照组大鼠,力竭运动后即刻胸腺和脾脏的SOD和CAT浓度却明显低于对照组大鼠和力竭运动后24h组大鼠。血UA和AA水平用来评价对RTE对外周抗氧化剂池的影响,力竭运动后24hUA无明显改变,而AA则明显减少,表明淋巴组织在RTE运动后发生氧化损伤,这种损伤可引起剧烈运动后淋巴细胞损伤和淋巴细胞凋亡。

4 运动与心肌细胞凋亡的研究进展

出生后的心肌细胞属终末分化细胞,是一种不具备增殖能力的成熟细胞。心肌细胞凋亡在维持心脏正常形态结构方面具有十分重要的意义。过去认为,细胞凋亡在不具备再生能力的细胞如成熟的心肌细胞、神经细胞中不再发生。但近些年的研究表明,细胞凋亡同样存在于心肌细胞中,并且在心脏的生理、病理发展过程中起重要作用^[19],被认为是心脏由代谢性变化向病理性变化发展的细胞生物学基础。心肌细胞凋亡的研究起步较晚,其原因主要有三:凋亡过程短暂不易发现(持续约1~3h);方法学限制,低估凋亡在心脏疾病中的作用。直到1989年,Nepomniashchikh等^[20]观察饥饿性心肌萎缩超微结构时发现,心肌细胞结构蛋白合成降低,细胞数减少,但不伴细胞核相应成比例的减少,由此初步提出饥饿性心肌萎缩是由细胞凋亡所致。心肌细胞凋亡是在一定的生理和病理条件下,通过一定的信号传导途径,激活细胞“自杀”程序,在一系列基因调控下进行的程序化细胞死亡方式。多细胞器官是通过细胞平衡增殖和死亡来维持细胞数量衡定的,而心肌细胞是不具备增殖能力的终末分化细胞,心肌细胞凋亡的不断积累,其结果使心肌细胞数目逐渐减少,造成心肌收缩成分减少,从而使心脏向心功能低下和心功能不全方向发展。业已证明,心肌细胞凋亡普遍存在于人类心脏疾病中,是心脏由生理代偿期向病理发展中的一个重要事件。1994年Gottlieb和Kawano等^[21,22]采用电镜结

合 DNA 凝胶电泳方法才取得了心肌细胞凋亡的直接证据。前者揭示再灌注损伤诱发兔心肌细胞凋亡,后者证实了心肌炎患者伴发心肌细胞凋亡。Tanaka 等^[23]在培养的乳鼠心肌细胞中,也证明了凋亡的存在。由于方法学的进步和凋亡研究的深入,已在多种心脏病中发现心肌细胞凋亡的病理作用。资料显示,自发性高血压小鼠(SHR)心脏损害与凋亡有关,晚期由肥厚心脏转向心力衰竭为心肌细胞凋亡所致,急性心肌梗塞除坏死外,梗塞早期和再灌注损伤也诱发凋亡;心肌细胞凋亡同样见于移植的心脏和右室发育不良性心脏病^[24]。

系统的运动训练可使心脏产生良好的适应,即运动心脏,这是心脏生理代偿变化的结果。运动心脏作为特有的高功能、高储备、大心脏,在竞技运动中的作用早已为人们所关注^[25]。随着大众体育的广泛开展,运动心脏的研究又延伸到高水平运动员以外的群体,并日夜受到重视。有关运动心脏的发生机制更是现代运动心脏科学研究的热点,随着细胞和分子生物学理论与技术的发展与应用,运动心脏的研究也越来越深入,尤其是心脏细胞凋亡的研究,对运动心脏结构和功能的发生、发展及转归又有了新的认识。在运动过程中,心脏存在着缺血、缺氧现象,在运动负荷适宜的情况下,由于心脏有自身的防御系统,适度的缺血、缺氧,对心脏不造成损伤。但在过度训练和超负荷运动中,由于心脏存在着较严重的缺血、缺氧状态,心脏自身的防御系统又不能有效的发挥作用,而导致心脏损伤。Dipak 等^[26,27]认为,心肌细胞对急性应激存在着三道防御系统的保护。第一道防御系统为细胞内各种抗氧化剂及抗氧化酶组成,它们包括谷胱甘肽、维生素 E、维生素 C、 β -胡萝卜素、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶等。在细胞受损之前,它们通过清除氧自由基来减轻或清除氧化应激。第二道防御系统为几种脂肪分解酶、蛋白分解酶、蛋白激酶和磷酸酶,当细胞内抗氧化物不足或氧化应激增加时,会引起细胞 DNA 裂解、蛋白质降解、脂质过氧化,它们能区别和清除损害的细胞成分。第三道防御系统为通过蛋白质的合成进行防御和修复,它涉及到在转录水平的基因机制,与专门的基因表达有关。有研究表明^[28-31],在过度训练和超负荷运动情况下,心肌细胞自由基产生增加,钙超载,并发生缺血、缺氧性损伤,心肌细胞与间质胶原间比例遭到破坏等,引起心肌细胞受损。在此过程中,心脏的容量负荷和压力负荷大大增加,大量研究已证实^[32],用心肌细胞受到牵张被拉长或受到机械应力作用模拟容量超负荷和压力超负荷时,可以导致心肌细胞凋亡。而且在高血压疾病和主动脉狭窄的容量负荷模型中,也得到了心肌细胞凋亡的直接证据。Carraro 等^[33]和袁海平^[34]及袁箭峰等的研究也表明,长期超负荷运动和力竭运动及过度训练都可引起心肌细胞凋亡增加,但其可能的机制尚未阐述。这提示心肌细胞凋亡有可能心脏实质细胞的丢失,说明心肌细胞凋亡参与由于运动超负荷而致的病理性失代偿心脏转变过程,并在此过程中起重要作用。

参考文献:

- [1] Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics[J]. Br J Cancer, 1972, 26: 239-257.
- [2] Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR. Cell death: the significance of apoptosis[J]. Int Rev Cytol, 1980, 68: 251-306.
- [3] Culotta E, Koshland JDE. Review[J]. Science, 1994, 266: 1926-1929.
- [4] Steven W, Hettis. To die or not to die: an overview of apoptosis and its role in disease[J]. JAMA, 1998, 279: 300-307.
- [5] 曾耀英. 细胞凋亡分子机制的研究进展[J]. 中国科学基金, 1999, 3: 137-144.
- [6] Rodrigues A de C, Schmalbruch. Satellite cell and myonuclei in long term denervated rat muscles[J]. Anat Rec, 1995, 243: 430-437.
- [7] Tews DS, Goebel HH, Schneider I, et al. DNA fragmentation and expression of apoptosis-related proteins in experimentally denervated and reinnervated rat facial muscle[J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 1997, 23: 141-149.
- [8] Fimia GM, Gottifredi V, Passanti C, et al. Double-stranded internucleosomal cleavage of apoptotic DNA is dependent on the degree of differentiation in muscle cells[J]. J Biol Chem, 1996, 271(26): 15575-15579.
- [9] Sandri M, Carraro U, Podhorska-Okolov M, et al. Apoptosis, DNA damage and ubiquitin expression in normal and mdx muscle fibers after exercise[J]. FEBS Lett, 1995, 373: 291-295.
- [10] Podhorska-Okolov M, Sandri M, Zampieri S, et al. Apoptosis of myofibers and satellite cells: exercise-induced damage in skeletal muscle of the mouse[J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 1998, 24(6): 518-531.
- [11] 周末艾, 吕丹云. 运动训练中细胞凋亡研究进展[J]. 中国运动医学杂志, 2001, 20(1): 65-68.
- [12] 王长青, 刘丽萍, 郑师陵, 等. 运动性疲劳时 Ca^{2+} 、线粒体膜电位的改变与细胞凋亡[J]. 体育科学, 2000, 20(3): 59-65.
- [13] Eguchi Y, Ewert DL, Tsujimoto Y, et al. Isolation and characterization of the chicken bcl-2 gene: expression in a variety of tissues including lymphoid and neuronal organs in adult and embryo[J]. Nucleic Acids Res, 1992, 20: 4187-4192.
- [14] Tews DS, Goebel HH, Schneider I, et al. Expression of different isoforms of nitric oxide synthase in experimentally denervated and reinnervated skeletal muscle[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 1997, 56: 1283-1289.
- [15] Concordet JP, Ferry A. Physiological programmed cell death in thymocytes is induced by physical stress(exercise)[J]. Am J Physiol, 1993, 265(Cell Physiol. 34): C626-C629.
- [16] Li YS, Kuo HL, Kuo CF, et al. Antioxidant administration inhibits exercise-induced thymocyte apoptosis in rats[J]. Med Sci Sports Exerc, 1999, 31(11): 1594-1598.
- [17] Avula CP, Fernandes G. Modulation of antioxidant enzymes

- and apoptosis in mice by dietary lipids and treadmill exercise[J]. *J Clin Immunol* , 1999 , 19(1) : 35 - 44.
- [18] Azenabor AA , Hoffman - Goetz L. Intrathymic and intrasplenic oxidative stress mediates thymocyte and splenocyte damage in acutely exercised mice[J]. *J Appl Physiol* , 1999 , 86(6) : 1823 - 1827.
- [19] Zhihe LI. Increased cardiomyocyte apoptosis during the transition to heart failure in the spontaneously hypertensive rat[J]. *Am J Physiol* , 1997 , 272 : H2313 - H2319.
- [20] 谢志泉 , 刘伊丽. 心血管疾病细胞凋亡研究的现状与意义[J]. *国外医学.(心血管疾病分册)* , 1999 , 26(1) : 3 - 5.
- [21] Gottlieb RA , Bureson KO , Kloner RA , et al. Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes[J]. *J Clin Invest* , 1994 , 94 : 1621 - 1628.
- [22] Kawano H , Ulrich W , Redtenbachers , et al. Kawan Bronchial brush/cell block technique. Facilitation of the routine diagnosis of bronchial neoplasms[J]. *Acta Cytol* , 1998 , 44(6) : 1409 - 1413.
- [23] Tanaka M , Ito H , Adachi S , et al. Hypoxia induces apoptosis with enhanced expression of Fas antigen messenger RNA in cultured neonatal rat cardiomyocytes[J]. *Circ Res* , 1994 , 75 : 426 - 433.
- [24] Kajstura J , Cheng W , Reiss k , et al. Apoptotic and necrotic myocyte cell death are independent contributing variables of infarct size in rat[J]. *Lab Invest* , 1996 , 74(1) : 86 - 107.
- [25] Rost R. Athlete 's heart - a review of its historical assessment and new aspects. *Int J Sports Med* , 1983 , 4 : 147.
- [26] 郑 澜 , 潘珊珊. 心肌细胞凋亡的研究现状与展望[J]. *中国运动医学杂志* , 2000 , 19(4) : 410 - 413.
- [27] Dipak K. Gene expression in acute myocardial stress. induction by hypoxia , ischemia , reperfusion , hyperthermia and oxidative stress[J]. *J Mol Cell Cardiol* , 1995 , 27 : 181 - 193.
- [28] 张 勇 , 张 蔚 , 时庆德. 急性运动心肌缺氧对大鼠心肌纤维和线粒体膜结构及功能的影响[J]. *天津体育学院学报* , 1997 , 12(1) : 18 - 22.
- [29] 张 钧 , 许豪文 , 郭勇力 , 等. 力竭运动对大鼠心肌线粒体游离钙及磷脂酶 A₂ 活性的影响[J]. *中国运动医学杂志* , 1998 , 17(1) : 52 - 53.
- [30] 朱 全 , 浦钧宗 , 张 敏. 大鼠过度训练时 RAS 的变化意义及 Captopril 的保护作用[J]. *中国运动医学杂志* , 1999 , 18(2) : 117 - 120.
- [31] 熊正英 , 田振军 , 郭 进. 运动超负荷与压力超负荷大鼠心肌胶原含量变化和左心室舒张功能改变的实验研究[J]. *体育科学* , 1996 , 16(6) : 48 - 53.
- [32] 田振军 , 熊正英. 运动超负荷和压力超负荷大鼠心肌局部 RAS - ALD 系统变化关系的研究[J]. *体育科学* , 1998 , 18(5) : 63 - 67.
- [33] Carraro U , Franceschi C. Apoptosis of skeletal and cardiac muscles and physical exercise[J]. *Aging Milano* , 1997 , 9(1 - 2) : 19 - 34.
- [34] 袁海平 , 刘 学 , 史仍飞. 大鼠不同强度运动对心肌细胞凋亡及其抗氧化能力的影响[J]. *体育科学* , 2002 , 22(1) : 107 - 109.

[编辑 李寿荣]