不同方式有氧运动介导乙酰化修饰对小鼠肾肿瘤的 干预研究

毛海峰^{1,2} 陈嘉勤^{3*} 周雯艳² 朱敬生³ 陈薇薇³ 李文敏³ 周柏存³ ('宿迁学院体育学院, 宿迁 223800; ²宜春学院体育学院, 宜春 336000; ³湖南师范大学体育学院, 长沙 410012)

摘要 该文探讨不同方式有氧运动通过介导乙酰化修饰对小鼠肾肿瘤的干预效果及机制。 对40只健康雄性昆明(KM)小鼠进行癌细胞侵袭肾包膜模型构建,模型构建成功后将其随机分为模 型对照组(M)、跑台组(TM)、无负重游泳组(SW)、负重游泳组(HL)等4组,另取10只健康雄性KM小 鼠作为空白组(B)不进行癌细胞侵袭。将3个运动组按照运动方案进行有氧运动,运动结束后剥离出 肿瘤组织,称重,计算肿瘤抑制率;采用HE染色法光镜下对肿瘤及肾组织进行显微结构形态学观察; 免疫组织化学染色法检测P300、Tip60蛋白表达情况; qRT-PCR法检测HDAC2、HDAC3、HDAC8 mRNA表达情况。结果显示, 3个运动组肿瘤的生长均受到了抑制, 以无负重游泳组抑制率最高, 其 次为跑台组和负重游泳组;肾组织HE染色中模型对照组肾间质损伤程度最高,3个运动组的肾间质 损伤程度均出现不同程度降低,肿瘤组织HE染色中模型对照组肿瘤细胞受损程度最低,3个运动组 的肿瘤细胞受损程度均出现不同程度升高;P300蛋白表达量以负重游泳组为最高,并按模型对照组、 无负重游泳组、跑台组、空白组依次降低。Tip60蛋白表达量以负重游泳组为最低,并按模型对照组、 无负重游泳组、跑台组、空白组依次升高; HDAC2 mRNA的表达量以空白组最低, 并按跑台组、无 负重游泳组、模型对照组、负重游泳组依次增高;HDAC3mRNA的表达情况与HDAC2相似,但负重 游泳组的表达量低于模型对照组;各组HDAC8的表达量高低趋势同HDAC3。总之,中小强度跑台或 无负重游泳运动对肿瘤的发生发展具有一定的抑制作用,可通过组蛋白乙酰基转移酶及组蛋白去乙 酰化酶来调控组蛋白的乙酰化水平,进而影响肿瘤细胞的生成及抑制。

关键词 有氧运动;肾肿瘤;乙酰化;组蛋白乙酰转移酶;组蛋白去乙酰化酶

The Study on Intervention of Acetylated Modification Mediated by Different Forms of Aerobic Exercise on Renal Tumor in Mice

MAO Haifeng^{1,2}, CHEN Jiaqin^{3*}, ZHOU Wenyan², ZHU Jingsheng³, CHEN Weiwei³, LI Wenmin³, ZHOU Bocun³ (¹Department of Physical Education of Suqian University, Suqian 223800, China; ²Department of Physical Education of Yichun University, Yichun 336000, China; ³Department of Physical Education of Hunan Normal University, Changsha 410012, China)

Abstract This study aimed to explore the intervention effect and possible mechanism by different forms of aerobic exercise mediating acetylation modification on mouse kidney tumors. Forty healthy male KM mice were used to construct the model of cancer cell invasion into renal capsule. Then, they were randomly divided into four

收稿日期: 2024-09-30 接受日期: 2024-12-24

江西省教育厅科学技术研究项目(批准号: GJJ201626)、江西省卫生健康委科技计划(批准号: 202110128)和宿迁学院人才引进科研启动基金(批准号: 校 2022XRC056)资助的课题

^{*}通信作者。Tel: 13787262428, E-mail: chenjiaqin28@sina.com

Received: September 30, 2024 Accepted: December 24, 2024

This work was supported by the Science and Technology Research Project of Education Department of Jiangxi Province (Grant No.GJJ201626), the Science and Technology Plan of Health Commission of Jiangxi Province (Grant No.202110128), and the Talent Introduction Research Initiation Fund of Suqian University (Grant No.University 2022XRC056)

^{*}Corresponding author. Tel: +86-13787262428, E-mail: chenjiaqin28@sina.com

groups: model control group (M), treadmill group (TM), swimming group (SW), heavy load swimming group (HL), and another 10 healthy male KM mice were taken as blank group (B) without cancer cell invasion. According to the exercise program, three exercise groups took aerobic exercise. After the end of the exercise, tumor tissue were taken out, weighted, and the tumor inhibition rate was calculated. Tumor and renal tissue's microscopic morphology was observed under the light microscope by HE staining; expression of P300 and Tip60 proteins were detected by immunohistochemical staining; HDAC2, HDAC3 and HDAC8 mRNA expression was detected by qRT-PCR. The results showed that the tumor inhibition rate of group SW was the highest, followed by the group TM and the group HL; the degree of renal interstitial injury of group M was the highest, and the renal interstitial injury of three exercise groups were decreased in different degree; the tumor cells damage of group M was the lowest, and the tumor cells damage of three exercise groups were increased in different degrees; the P300 protein expression of group HL was the highest, followed by group M, group SW, group TM, group B; the Tip60 protein expression of group HL was the lowest, followed by group M, group SW, group TM, group B; the HDAC2 mRNA expression of group B was the lowest, followed by group TM, group SW, group M, group HL; the HDAC3 mRNA expression was similar to HDAC2, but the expression of group HL was lower than that of group M; the HDAC8 mRNA expression was the same as HDAC3. In conclusion, medium and small intensity treadmill or no load swimming exercise has a certain inhibitory effect on the tumor. The acetylation level of histones can be regulated by histone acetyltransferase and histone deacetylase, thereby affecting the generation and inhibition of tumor cells.

Keywords aerobic exercise; renal tumor; acetylation; histone acetyltransferase; histone deacetylase

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)是泌尿系统 常见的一种肾脏恶性肿瘤,约占所有肾癌的90%,局 部性RCC患者的5年生存率为20%~95%, 而转移性 RCC患者的5年生存率仅为0%~10%^[1]。RCC发病机 制复杂,且未被完全阐明,临床上常以手术治疗为主, 放化疗对RCC效果欠佳,免疫治疗与靶向治疗也存 在耐药性问题[2]。乙酰化调控作为一种表观遗传学 修饰,通过调节乙酰化和去乙酰化的动态平衡,参与 了多种恶性肿瘤的发生发展。研究显示,抑制上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT) 诱导转录因子Snail的乙酰化,能降低KRAS-LKB共突 变的癌细胞转移能力^[3]; 而 SCF-E3 泛素连接酶复合 体亚基FBXW2(F box and WD domain containing protein 2)引起的P300乙酰化介导了p65泛素化,从而通 过调节p65来抑制乳腺肿瘤的生长^[4]; N-乙酰基转移 酶10(N-acetyltransferase 10, NAT10)在结肠癌组织中 出现表达上调,在癌细胞系HT-29和LoVo中, NAT10 的敲除抑制了这些细胞的增殖、迁移及肿瘤的形成 和转移,而NAT10的过表达则促进了这些进程^[5]。

有氧运动指主要以有氧代谢提供运动中所需能量的运动方式,其在肿瘤防治方面的应用受到学者的关注。有研究显示,有规律的有氧运动有助于肾肿瘤患者避免陷入身体功能恶化的循环^[6];一项75万

余人的大规模前瞻性队列研究显示,每天运动1h,可 降低包括肾癌在内的7种癌症患病风险[7];而运动人 群的肾癌死亡率相比不运动人群低50%^[8]。然而流 行病学调查结果并未从机制上进一步阐明有氧运动 的效果,有氧运动对肾肿瘤的干预机制也鲜有报道。 运动在调节乙酰化改善疾病方面确多有报道,如运 动干预使组蛋白去乙酰化酶4(histone deacetylase 4, HDAC4)蛋白表达受抑制,进而调节骨骼肌萎缩相 关基因的转录^[9];运动可通过抑制HDACs的活性来 降低脑内去乙酰化水平,延缓阿尔茨海默病的病理 进程[10]; 有氧运动还可通过激活沉默信息调节因子 (Sirtuin 1, Srit1)调节动力相关蛋白1(dynamic-related protein 1, Drp1)乙酰化来缓解非酒精性脂肪肝及其线 粒体功能障碍[11]。然而有氧运动可否通过乙酰化调 节来影响肿瘤的生成及其机制仍不清楚。因此,本 实验从乙酰化修饰入手,探讨不同方式有氧运动对 肾肿瘤的干预作用及其潜在机制,旨在为肿瘤的防 治提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 癌细胞侵袭肾包膜模型构建

本研究经宿迁学院学术委员会审查同意(批准号: 2024KJLL01), 3周龄健康雄性昆明小鼠,体质量

为25g左右,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司[许可证号:SCXK(湘)2021-0002],小鼠适应性喂养5天后,于体适能与运动康复湖南省重点实验室进行模型构建,操作规程符合该实验室相关规定与要求。将1%戊巴比妥钠按50mg/kg剂量腹腔注射麻醉小鼠,于小鼠左侧背部进行消毒,剪开皮肤及肌肉,开1~1.5 cm的切口,用眼科镊小心夹取左肾并托出上提,将0.05mL预先制备的H22肿瘤细胞悬液(5×10³个/mL)用一次性无菌注射器接种于肾包膜内,将左肾放回体内,缝合切口并消毒,保暖。

1.2 实验动物及分组

模型构建8天后,将小鼠随机分为模型对照组(M, 进行癌细胞肾包膜侵袭)、空白组(B,开腹后即缝合, 不进行其他干预)、有氧运动跑台组(TM,癌细胞侵 袭肾包膜后进行跑台运动)、有氧运动无负重游泳组 (SW,癌细胞侵袭肾包膜后进行游泳运动)、有氧运动 负重游泳组(HL,癌细胞侵袭肾包膜后进行负重游泳 运动)等5组,每组10只。温度控制在26°C左右,湿度 为45%~65% RH,每3日换1次垫料,自由进食、饮水。

1.3 运动方案

1.3.1 有氧跑台运动 肾包膜侵袭模型成功构建 后,参考BEDFORD的跑台运动模型^[12],跑台组小鼠于 运动第1周内前3天进行适应性跑台训练,每天1次,每 次运动30 min,坡度为0度,跑速为7 m/min;第4~6天运 动时间每次递增10 min,跑速每次递增1 m/min,至第 6天运动时间达到60 min,跑速达到10 m/min,第7天休 息。从第2周开始每天跑台运动60 min,跑速10 m/min, 坡度为0度,每周6次,直至第5周结束。

1.3.2 有氧游泳运动 无负重游泳组小鼠进行无 负重游泳运动^[13],游泳桶直径50 cm,水深约30 cm,水 温30 ℃左右,第1周前3天进行适应性游泳30 min,第 4~6天运动时间每次递增10 min,至第6天达到60 min, 第7天休息。从第2周开始每天游泳运动60 min,每周 6次,直至第5周结束。负重游泳组小鼠尾部悬挂体 重2%的重物,其余同无负重游泳组。

1.4 组织取材与处理

运动结束后,所有实验小鼠禁食过夜,次日用 1%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,脱颈椎处死。剥离出 肿瘤组织,并切取小部分肿瘤组织保存于液氮中,用 于总RNA提取及qRT-PCR分析;其余部分置于4%多 聚甲醛溶液中室温下固定24 h,50%、70%、80%、 95%、100%、100%酒精梯度脱水、二甲苯透明、 石蜡包埋、组织切片,用于HE形态学观察及免疫组织化学染色分析。切取肿瘤-肾交界处的部分肾组织做上述相同处理。

1.5 肿瘤抑制率的计算

上述取材后,将剥离出的肿瘤组织称重,根据重量并计算肿瘤抑制率。计算公式:肿瘤抑制率=[(模型对照组左肾平均瘤重-各运动组左肾平均瘤重)/模型对照组左肾平均瘤重]×100%^[14]。

1.6 组织形态学HE染色

石蜡切片置于松节油中脱蜡,10 min×2次;后浸入95%酒精2 min×3次,流水冲洗10 min,过95%酒精;室温下用苏木素染色10 min,流水冲洗3 min;过2%盐酸水溶液约5 s后流水冲洗3 min;饱和碳酸锂溶液返蓝20 s,流水冲洗10 min;浸入伊红染液中10 s,流水冲洗10 min;95%酒精漂洗2 min×2次,100%酒精漂洗2 min;二甲苯透明,电吹风吹干,中性树胶封片。光学显微镜下观察组织形态学变化。

1.7 免疫组织化学分析

免疫组化染色采用 SABC法, 检测各组织中组 蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferase, HATs) P300、Tip60表达情况,切取5 µm石蜡切片,二甲 苯透明,100%、100%、90%、70%酒精复水及冲 洗后,进行柠檬酸抗原修复,滴加一抗(美国Santa Cruz公司, 1:400)室温下孵育1h, PBS冲洗3次, 二 抗室温下20 min(兔抗小鼠 IgG, 福州迈新生物技 术开发有限公司), PBS冲洗3次, DAB显色5 min, 苏木素复染5 min、2%盐酸分化2 s, 饱和碳酸锂 返蓝20 s, 流水冲洗, 70%、85%、90%、95%、 100%、100%酒精梯度脱水,二甲苯透明,中性树 胶封片, Olympus光学显微镜下观察拍照, PBS代 替一抗做阴性对照。应用 Simple PCI图像分析系 统(美国C-imaging公司)对免疫组化阳性产物的灰 度和面积进行处理分析,阳性产物的表达量用阳性 单位(PU值)来表示,公式为阳性产物表达量={(阳 性灰度-平均灰度)/[阴性面积/(阴性面积+阳性面 积)×256]}×100^[15]。

1.8 qRT-PCR检测

1.8.1 总RNA提取及反转录 取新鲜组织20 mg左 右,采用动物组织总RNA提取试剂盒[天根生化科技 (北京)有限公司]按操作过程进行总RNA提取。反转 录:用DEPC水将预先检测好浓度的各组总RNA均调 制成1 μg/μL。制备20 μL的总反应体系:其中10 μL模 板 RNA(1 μg/μL)、4 μL MgCl₂、2 μL 10× buffer、2 μL dNTP、1 μL Oligo(dt)、0.5 μL rRNasin、0.5 μL AMV RT(HC)。振荡混匀,于42 °C进行温浴1 h,之后70 °C终止反应5 min,加DEPC水稀释至100 μL, -20 °C保存。

1.8.2 qRT-PCR 试剂盒为TaKaRa SYBR[®] Premix Ex TaqTM试剂盒, 仪器为ABI 7900HT荧光定量PCR 仪, 总反应体系定为30 µL, 于0.2 mL PCR管中分别 加入15 µL Premix Ex Taq(2×)、1 µL各基因上游引 物、1 µL下游引物、5 µL相应的模板cDNA、0.6 µL ROX参比染料(50×)、7.4 µL ddH₂O, 混匀, 分成3份, 每孔10 µL于荧光定量PCR仪中。PCR反应条件如 下: 95 °C预变性30 s; 95 °C变性5 s, 60 °C退火与延 伸共 30 s, 40个循环。于Gene Bank核酸数据库中查 找*HDAC2、HDAC3、HDAC8*因子的cDNA序列, 由 生工生物工程(上海)股份有限公司设计并合成引物, 引物序列见表1。

1.9 统计学分析

运用SPSS 26.0统计软件包进行统计分析,各组数据以平均数±标准差(*x*±*s*)表示指标平均值及离散程度,均数的比较采用成组设计多样本均数比较的单因素方差分析。*P*<0.05为差异具有显著统计学意义,*P*<0.01为差异具有非常显著统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠行为学及生理状态观察

模型构建和运动干预过程中,实验动物出现少 部分死亡。空白组小鼠在饮食、饮水、正常活动、毛色、 反应程度等方面基本与健康小鼠无异;模型对照组小 鼠均出现反应下降、毛色枯槁散乱,身体灵活性下降、 饮食饮水量下降等特征,在取材前期均出现不同程度 的腹部肿胀,在肾侵袭模型构建后3~4周对其中4只生 命体征微弱、几无运动能力、不能自由进食、腹部 肿胀严重、即将死亡的小鼠提前进行了取材;无负重 游泳组、负重游泳组和跑台组小鼠在肾侵袭模型构 建4~5周后分别有2只、2只和1只小鼠出现生命体征 微弱、运动能力逐渐下降至难以完成运动方案、自 由进食困难等现象,对该5只小鼠提前进行了取材。3 个运动组小鼠有部分出现腹部肿胀, 主观上判断小鼠 反应能力、毛色顺滑程度、身体灵活性、饮食饮水 量等均好于模型对照组,但3个运动组相互之间在上 述主观特征判断上难以区别。

2.2 运动对小鼠肿瘤抑制率的影响

不同方式有氧运动对小鼠左肾移植瘤的抑制 情况见表2、图1。

各运动组与模型对照组比较瘤重均减小,其差

Table 1 Primer sequences			
基因名称	引物序列(5'→3')		
Gene name	Primer sequence $(5' \rightarrow 3')$		
HDAC2	Forward: ATA CAA CAG ATC GCG TGA TGA C		
	Reverse: GGA ACG TGA ACT GCT TAC CTT		
HDAC3	Forward: GTC AGG GCA AGA GAA AGT CAG T		
	Reverse: AGG ACA CAG TAG AGC GGA TTG T		
HDAC8	Forward: AGG ATG CGA GAG AAG GAT GA		
	Reverse: GAA ACA AAG AAT GGG TCT G		
GAPDH	Forward: GTT TCC TCG TCC CGT AGA CA		
	Reverse: AAT CTC CAC TTT GCC ACT GC		

表1 引物序列

表2 小鼠肾肿瘤重量比较

Table 2	Comparison	of weight of	mouse renal	tumors
---------	------------	--------------	-------------	--------

组别	小鼠数量	瘤重/g	抑制率/%	
Group	Mice number	Tumor weight /g	Inhibition rate /%	
M group	10	14.93±2.59	0	
TM group	10	12.79±2.04*	14.33	
SW group	10	12.52±1.56**	16.14	
HL group	10	13.11±1.01*	12.19	

*P<0.05, **P<0.01, 与模型对照组比较。

*P < 0.05, ** P < 0.01 compared with the M group.



P*<0.05, *P*<0.01.

图1 小鼠肾肿瘤重量比较 Fig.1 Comparison of weight of mouse renal tumors



图2 各组小鼠肾脏组织病理切片HE染色 Fig.2 HE staining of renal tissue pathological sections of mice in each group

异均具有显著统计学意义,其中无负重游泳组与模型对照组比较差异具有非常显著统计学意义,各运动组之间比较差异无显著统计学意义。

2.3 HE染色形态学观察

2.3.1 肾组织形态学观察 肾组织HE染色结果(图 2)显示:空白组肾组织各结构均无异常,肾小管间质 未发现炎性细胞浸润、间质水肿,未发现肾小球系膜 溶解、Bowman囊弥漫性黏连及灶性坏死、肾小球囊 性扩张等,小管腔中亦无透明管型等;模型对照组肾 小管间质等部分区域出现大量炎性细胞浸润,部分肾 小球呈囊性扩张及小叶间动脉与细动脉可见红细胞 碎片及血小板成分;跑台组肾小管间质部分区域出现 少量炎性细胞浸润,肾小球、Bowman囊形态正常,但 肾小管出现蛋白管型;无负重游泳组肾小管间质未出 现炎性细胞浸润,肾小管形态正常,但少量肾小球出 现明显的分叶结构。负重游泳组肾小管间质未出现 炎性细胞浸润,肾小管形态正常,但少量肾小球出现 明显的分叶结构及球性固缩,光镜下Bowman囊壁层



图3 各组小鼠肾肿瘤组织病理切片HE染色 Fig.3 HE staining of renal tumor tissue pathological sections of mice in each group

结构消失。

2.3.2 肾肿瘤组织形态学观察 肾肿瘤组织HE染 色结果(图3)显示:模型对照组可见肿瘤细胞间连接 紧密,呈立方、多角型,细胞质丰富,胞膜清楚,并可 见肿瘤细胞大量侵袭至肾组织;跑台组可见肿瘤细 胞间连接紧密,呈立方、多角型,细胞质丰富,胞膜清 楚,肿瘤与肾组织边界清晰可辨,但出现少量肿瘤细 胞空泡化,肿瘤细胞少量侵袭至肾组织;无负重游泳 组可见肿瘤细胞排列疏松且欠规整,细胞形状出现变 异,可见部分组织崩解,细胞空隙增多且明显,细胞核 染色质凝集,染色深,肿瘤细胞少量侵袭至肾组织;负 重游泳组可见肿瘤细胞排列疏松且欠规整,细胞形状 出现变异,细胞间出现空隙,细胞内可见空泡坏死区, 出现少量肿瘤细胞空泡化,肿瘤细胞少量侵袭至肾组 织,但侵袭处出现大量炎性细胞浸润。

2.4 肾组织P300、Tip60免疫组化检测

如图4所示,P300在胞质、组织间质、核中均有 表达,且随分组的不同而表现出表达差异。负重游泳 组中的P300主要于胞质及间质中且大量表达,肾小球 中P300表达不明显;模型对照组中的P300主要定位于 胞质中,以肾小球P300表达最为明显,胞膜和间质中 也有少量表达;无负重游泳组的P300主要位于胞质及 间质中且淡染,少数部位强染,肾小球中染色不明显; 跑台组的P300在胞质及间质中淡染,少数部位强染; 空白组中的P300主要位于胞质及间质中且淡染。

表3、图5显示,反映P300表达强弱的阳性单位 值(PU值)以负重游泳组为最高,并按模型对照组、 无负重游泳组、跑台组、空白组依次降低。其中与 模型对照组比较,无负重游泳组、跑台组、空白组 差异具有非常显著统计学意义(P<0.01),负重游泳 组差异具有显著统计学意义(P<0.05),值得关注的 是,负重游泳组PU值高于模型对照组,而这却与其 他3个组的下降趋势相反。与跑台组比较,无负重游 泳组差异没有显著统计学意义(P>0.05)。

如图6所示, Tip60在胞质、胞核中均有表达, 随分组的不同而表现出差异。负重游泳组少数部分 深染,大部分淡染;模型对照组均淡染,肾小球未见 表达;无负重游泳组视野下大部分区域出现深染;跑 台组在肾小球及肾小管膜上等多部位出现强表达, 深染;空白组视野下大部分区域出现深染。

表3、图7显示,反映Tip60表达强弱的阳性单位值(PU值)以负重游泳组为最低,并按模型对照组、 无负重游泳组、跑台组、空白组依次升高。其中与 模型对照组比较,无负重游泳组、跑台组、空白组 差异具有非常显著统计学意义(P<0.01),负重游泳 组差异没有显著统计学意义,值得关注的是,负重游 泳组PU值低于模型对照组,而这却与其他3个组的 上升趋势相反。



图4 各组小鼠肾脏组织P300免疫组织化学染色

Fig.4 P300 immunohistochemical staining of renal tissue in each group of mice

表3 名	S组小鼠;	免疫组化染色	色阳性单位	值比较
------	-------	--------	-------	-----

	Table 3 Comparison of positive unit value of immunohistochemistry staining in each group of mice			
组别	小鼠数量	P300阳性单位值	Tip60阳性单位值	
Group	Mice number	P300 positive unit	Tip60 positive unit	
HL group	10	72.80±5.82*	33.03±4.96	
M group	10	65.12±4.80	35.55±4.85	
SW group	10	49.01±6.03**	51.21±4.43**	
TM group	10	47.54±5.05**	59.19±5.04**	

34.09±5.83**

63.45±3.57**

B group 10

*P<0.05, **P<0.01, 与模型对照组比较。

*P<0.05, **P<0.01 compared with the M group.



P*<0.05, *P*<0.01.

图5 P300阳性单位值比较 Fig.5 Comparison of positive unit value of P300



图6 各组小鼠肾脏组织Tip60免疫组织化学染色 Fig.6 Tip60 immunohistochemical staining of renal tissue in each group of mice



**P<0.01.

图7 Tip60阳性单位值比较 Fig.7 Comparison of positive unit value of Tip60

2.5 qRT-PCR 测结果

表4、图8显示, HDAC2mRNA的表达量以空白组 最低,并按跑台组、无负重游泳组、模型对照组、负 重游泳组依次增高,其中与模型对照组比较,负重游 泳组、无负重游泳组、跑台组、空白组差异具有非 常显著统计学意义(P<0.01),但负重游泳组表达量却 是上调的,这与其他组的下调截然相反,且无负重游泳 组与跑台组相比差异不具有显著统计学意义(P>0.05); HDAC3mRNA的表达情况与HDAC2相似,空白组最 低,但负重游泳组的表达低于模型对照组,其中与模型 对照组比较,各组差异均具有非常显著的统计学意义 (P<0.01); HDAC8的各组表达量高低趋势同HDAC3,以 空白组最低,并按跑台组、无负重游泳组、负重游泳组、 模型对照组依次增高,其中与模型对照组比较,负重游 泳组差异无显著统计学意义(P>0.05),其余各组差异 具有非常显著统计学意义(P<0.01),与跑台组比较,无 负重游泳组差异无显著统计学意义(P>0.05)。

3 讨论

P300是HATs家族成员,因分子量为300 kDa,故被称为P300^[16],在多种肿瘤中P300可诱导多种形式的基因突变,提示P300具有调控基因转录的作用。如在胰腺癌的肝转移过程中P300作为通路之一发挥了较强的转录激活作用^[17];在前列腺癌治疗过程中,P300作为

	Table 4 qRT-PCR detection results of renal tissues in each group of mice			
组别	小鼠数量	HDAC2	HDAC3	HDAC8
Group	Mice number	IIDAC2		
M group	10	5.61±1.35	25.42±2.29	13.81±1.12
HL group	10	7.28±1.17**	18.42±2.09**	11.35±0.94
SW group	10	3.95±0.72**	16.60±1.54**	7.08±0.69**
TM group	10	3.52±0.66**	11.05±1.27**	6.71±0.62**
B group	10	2.36±0.54**	7.39±1.19**	4.28±0.46**

表4 各组小鼠肾脏组织qRT-PCR检测结果

**P<0.01, 与模型对照组比较。

**P<0.01 compared with the M group.



图8 各组小鼠肾脏组织qRT-PCR检测结果 Fig.8 qRT-PCR detection results of renal tissues in each group of mice

化疗耐药性的可能靶点,增强了前列腺癌治疗效果[18]; 在人乳腺癌组织中抑制P300乙酰化功能可降低LM3 癌细胞的计数和侵袭能力,减缓动物模型中肿瘤的恶 化[19]。而Tip60与P300同属于组蛋白乙酰转移酶家族, 与肿瘤生成密切相关,其可能对DNA修复蛋白直接进 行乙酰化修饰参与DNA的修复过程。如低Tip60表达 的乳腺癌中出现了P53的突变,即除P53的乙酰化之外, Tip60的缺失还增加了基因组的不稳定性,进而促进了 肿瘤生成^[20]; 而在子宫内膜腺癌组织中Tip60的低表达, 使得Tip60的检测有助于子宫内膜腺癌的诊断及预后 评估[21]。我们发现强度相对较小的有氧运动可降低 P300蛋白表达水平、提高Tip60蛋白表达水平,因此推 测两者通过共同作用使组蛋白乙酰化,进而阻断蛋白 产物生物学功能并抑制细胞增殖,诱导肿瘤细胞凋亡, 抑制肿瘤细胞增长,或通过增加基因组的稳定性来减 缓肿瘤生成。而在大强度的负重游泳运动中未发现 上述结果,其原因有待进一步探讨。

HDAC2、HDAC3和HDAC8是组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)家族第一类中的三种酶,这些酶与其他蛋白质形成复合物,此复合物在细

胞周期阻滞、细胞凋亡等方面发挥着重要的作用[22]。 HDAC3可在体内肺肿瘤中指导并增强癌症谱系转录 因子NKX2-1的转录作用,进而介导一组共同靶基因的 表达,是癌症临床治疗中的主要靶点之一[23]。而抑制 HDAC2、HDAC3活性,则显示出了相关抑制剂在宫 颈癌、T细胞淋巴瘤、脑癌和乳腺癌等癌症治疗方面 的良好效果^[24]。HDAC8可通过阻断IRF1介导的SUC-NR1抑制,从而抑制自噬,最终通过调节IRF1/SUCNR1 通路促进大肠癌细胞生长和肝转移[25]。我们发现小 强度的有氧运动下调了HDAC2、HDAC3、HDAC8 mRNA表达,推测有氧运动通过抑制相应蛋白的翻译 从而抑制肿瘤细胞生长,诱导肿瘤细胞凋亡,起到了类 似抑制剂的作用;而较大强度的负重游泳组HDAC2、 HDAC3、HDAC8mRNA的表达结果却不尽相同,推测 是HDAC2、HDAC3、HDAC8蛋白的翻译出现了量的 变化,进而使HDAC2、HDAC3、HDAC8蛋白与相应 蛋白结合形成复合物在量和/或质上出现变化,导致去 乙酰化的程度不一,这也从侧面佐证了负重游泳对肿 瘤生成的抑制有效果(表2和图1),但HE病理染色却显 现出更重的病理损害(图2和图3)。

同属HATs的P300和Tip60对组蛋白不同残基进行了乙酰化修饰^[26],而HDACs同HATs共同作用使乙酰化及去乙酰化状态达到平衡,当细胞出现转录异常时,这种选择性乙酰化修饰会影响基因转录,并通过翻译蛋白发挥其功能,这种乙酰化与去乙酰化协同作用可能是癌细胞抑制的潜在机制。

综上所述,中小强度跑台或无负重游泳运动可 减缓肿瘤生长,对肿瘤具有一定抑制作用,可通过组 蛋白乙酰基转移酶及组蛋白去乙酰化酶来调控组蛋 白的乙酰化水平,使相应通路靶基因的水平出现变 化,进而影响肿瘤细胞的生成及抑制。较大强度的 负重游泳对组蛋白乙酰化及去乙酰化的影响不一 致,其机制有待进一步的深入研究。

参考文献 (References)

- LINEHAN W M, SCHMIDT L S, CROOKS D R, et al. The metabolic basis of kidney cancer [J]. Cancer Discov, 2019, 9(8): 1006-21.
- [2] 陈雅婧. 芍药苷诱导肾癌细胞体内外凋亡及改善其肿瘤免疫 微环境的作用机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2023.
- [3] HAN J H, KIM Y K, KIM H, et al. Snail acetylation by autophagyderived acetyl-coenzyme A promotes invasion and metastasis of KRAS-LKB1 co-mutated lung cancer cells [J]. Cancer Commun, 2022, 42(8): 716-49.
- [4] REN C, HAN X, LU C, et al. Ubiquitination of NF-κB p65 by FBXW2 suppresses breast cancer stemness, tumorigenesis, and paclitaxel resistance [J]. Cell Death Differ, 2022, 29(2): 381-92.
- [5] ZHENG X, WANG Q, ZHOU Y, et al. N-acetyltransferase 10 promotes colon cancer progression by inhibiting ferroptosis through N4-acetylation and stabilization of ferroptosis suppressor protein 1 (FSP1) mRNA [J]. Cancer Commun, 2022, 42(12): 1347-66.
- [6] SPREAFICO F, TERENZIANI M, HEUVELI-EIBRINK M M V D, et al. Why should survivors of childhood renal tumor and others with only one kidney be denied the chance to play contact sports [J]? Expert Rev Anticancer Ther, 2014, 14(4): 363-6.
- [7] 刘晓荻, 王欣. 定期锻炼可降低 7种主要癌的概率[J]. 基础医 学与临床 (LIU X D, WANG X. Regular exercise can reduce the probability of 7 major cancers [J]. Basic and Clinical Medicine), 2020, 40(9): 1309.
- [8] LISS M, NATARAJAN L, HASAN A, et al. Physical activity decreases kidney cancer mortality [J]. Curr Urol, 2017, 10(4): 193-8.
- [9] 王丹妮,田家通,向珩,等. HDAC4在运动改善骨骼肌萎缩中的作用研究进展[J]. 中国运动医学杂志(WANG D N, TIAN J T, XIANG H, et al. Research progress on the role of HDAC4 in improving skeletal muscle atrophy through exercise [J]. Chinese Journal of Sports Medicine), 2024, 43(6): 484-8.
- [10] 汪紫微,梁艳,王运良,等.运动调节组蛋白去乙酰化改善阿 尔茨海默病的研究进展[J]. 生命的化学(WANG Z W, LIANG Y, WANG Y L, et al. Research progress in the improvement of motion-regulated histone deacetylation in Alzheimer's disease [J]. Chemistry of Life), 2024, 44(5): 786-94.
- [11] HU Z Q, ZHANG H Y, WANG Y T, et al. Exercise activates Sirt1-

mediated Drp1 acetylation and inhibits hepatocyte apoptosis to improve nonalcoholic fatty liver disease [J]. Lipids Health Dis, 2023, 22(1): 33.

- [12] BEDFORD T G, TIPTON C M, WILSON N C, et al. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures [J]. J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol, 1979, 47(6):1278-83.
- [13] 朱敬生,陈嘉勤,陈薇薇,等. 有氧运动联合雷氏蛛毒对小鼠H₂₂ 肝肿瘤的干预研究[J]. 武汉体育学院学报(ZHU J S, CHEN J Q, CHEN W W, et al. Intervention of aerobic exercise and macrothele raven venom in tumor-bearing mice [J]. Journal of Wuhan Institute of Physical Education), 2014, 48(1): 96-100.
- [14] 苏依拉其木格, 王朝阳, 托娅, 等. 抗癌活性肽对小鼠肝癌H22 移植瘤生长的抑制作用 [J].包头医学院学报 (SU Y L Q M G, WANG Z Y, TUO Y, et al. Inhibition effects of anti-cancer bioactive peptide on hepatocarcinoma H22 tumor-bearing mice [J]. Journal of Baotou Medical Collage), 2011, 27(2): 1-3.
- [15] 申洪. 免疫组织化学染色定量方法研究 (III)[J]. 中国组织化学 与细胞化学杂志 (SHEN H. Study on the quantitative method of immunohistochemistry (III) [J]. Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry), 1995, 4(1): 89-92.
- [16] CHRIVIA J C, KWOK R P, LAMB N, et al. Phosphorylated CREB binds specifically to the nuclear protein CBP [J]. Nature, 1993, 365(6449): 855-9.
- [17] WANG Y Y, CHENG Q, ZHAO B B, et al. EGR1 induces EMT in pancreatic cancer via a P300/SNAI2 pathway [J]. J Transl Med, 2023, 21(1): 201.
- [18] GRUBER M, FERRONE L, PUHR M, et al. p300 is upregulated by docetaxel and is a target in chemoresistant prostate cancer [J]. Endocr Relat Cancer, 2020, 27(3): 187-98.
- [19] FERMENTO M E, GANDINI N A, SALOMON D G, et al. Inhibition of p300 suppresses growth of breast cancer. Role of p300 subcellular localization [J]. Exp Mol Pathol, 2014, 97(3): 411-24.
- [20] BASSI C, LI Y T, KHU K, et al. The acetyltransferase Tip60 contributes to mammary tumorigenesis by modulating DNA repair [J]. Cell Death Differ, 2016, 23(7): 1198-208.
- [21] 文爱平, 罗乐, 孟志伟, 等. Tip60蛋白在子宫内膜腺癌组织中的 表达及其临床意义[J]. 吉林大学学报(医学版)(WEN A P, LUO L, MENG Z W, et al. Expression of Tip60 protein in endometrial adenocarcinoma tissue and its clinical significance [J]. Journal of Jilin University, Medicine Edition), 2021, 47(5): 1244-9.
- [22] HILDMANN C, RIESTER D, SCHWIENHORST A. Histone deacetylases: an important class of cellular regulators with a variety of functions [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2007, 75(3): 487-97.
- [23] EICHNER L J, CURTIS S D, BRUN S N, et al. HDAC3 is critical in tumor development and therapeutic resistance in Kras-mutant non-small cell lung cancer [J]. Sci Adv, 2023, 9(11): eadd3243.
- [24] PARVEEN R, HARIHAR D, CHATTERJI B P. Recent histone deacetylase inhibitors in cancer therapy [J]. Cancer, 2023, 129(21): 3372-80.
- [25] CHEN J, CAO L, MA J, et al. HDAC8 promotes liver metastasis of colorectal cancer via inhibition of IRF1 and upregulation of SUCNR1 [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 2815187.
- [26] FRANCISCO F G, GUILLERMO V, MEHEK N. Small-molecule TIP60 inhibitors enhance regulatory T cell induction through TIP60-P300 acetylation crosstalk [J]. iScience, 2023, 26(12): 108491.