

有氧运动通过调控 miR-221-3p 介导的脂肪组织巨噬细胞极化改善小鼠胰岛素抵抗

李楠^{1,2}, 张亮³, 郭俏凤², 周越², 刘长江¹

¹西安交通大学体育学院, 陕西 西安 710049; ²北京体育大学²运动人体科学学院, ³体能训练学院, 北京 100084

摘要:目的 探讨微RNA 221-3p(miR-221-3p)在有氧运动改善高脂饮食诱导的脂肪组织巨噬细胞极化及胰岛素抵抗(IR)中的作用及潜在生理机制。方法 60只5周龄SPF级C57BL/6J雄性小鼠随机分为普通膳食组(20只)和高脂膳食组(40只)。在高脂膳食干预12周后,筛选出IR小鼠。经过造模和筛选,最终选取16只普通小鼠和16只IR小鼠进入后续实验。将小鼠随机分为4组($n=8$):正常安静组(CS组),正常运动组(CE组),高脂安静组(HS组)和高脂运动组(HE组)。运动组进行为期8周的跑台运动(坡度0°,跑速15~20 m/min,1 h/d,5 d/周)。同时对小鼠单核巨噬细胞进行miR-221-3p转染,进一步验证miR-221-3p对巨噬细胞极化的作用。实验干预结束后,检测小鼠体质量、体成分;ELISA和生化试剂盒检测小鼠空腹血糖、胰岛素及血脂4项水平;采用荧光定量PCR(qPCR)检测miR-221-3p、*Socs1*、*Tnf- α* 和*Arg-1*相对含量;双荧光素酶报告基因实验(Luciferase)验证miR-221-3p与细胞因子信号抑制蛋白1(SOCS1)的靶向关系Western blotting检测脂肪组织SOCS1、Janus激酶1(JAK1)、磷酸化信号转导子和转录激活子1和3(p-STAT1、p-STAT3)的蛋白表达水平。结果 有氧运动显著降低小鼠体质量、脂肪质量和体脂率,空腹血糖、胰岛素水平胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)水平显著降低($P<0.01$),瘦体质量显著升高($P<0.01$)。qPCR结果显示,与CS组相比,HS组小鼠血浆和脂肪组织miR-221-3p的相对表达量均显著升高($P<0.01$);有氧运动显著降低小鼠血浆和脂肪组织miR-221-3p的相对表达量($P<0.01$)。Western blotting结果显示,有氧运动显著降低了iNOS、JAK1和p-STAT1/STAT1的蛋白表达($P<0.01$),Arg-1、SOCS1和p-STAT3/STAT3的蛋白表达显著提高($P<0.05$, $P<0.05$, $P<0.01$)。体外实验结果显示过表达miR-221-3p可以显著降低*Socs1*、*Arg-1*的基因表达($P<0.01$),miR-221-3p抑制剂显著促进了M2型巨噬细胞极化状态。结论 有氧运动可能通过抑制miR-221-3p的表达,靶向激活SOCS1及下游JAK/STAT信号通路,抑制脂肪组织巨噬细胞M1极化,促进巨噬细胞M2极化,减轻脂肪组织炎症反应,从而提高组织胰岛素敏感性。

关键词: 有氧运动;胰岛素抵抗;微小RNA;巨噬细胞极化

Aerobic exercise regulates macrophage polarization and improves insulin resistance in mice: the mediating role of miR-221-3p

LI Nan^{1,2}, ZHANG Liang³, GUO Qiaofeng², ZHOU Yue², LIU Changjiang¹

¹Department of Physical Education, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, 710049, China; ²Department of Exercise Physiology; ³School of Strength and Conditioning Training, Beijing Sport University, Beijing 100084, China

Abstract: Objective To explore the role of miR-221-3p in mediating the positive effects of aerobic exercise on macrophage polarization in the adipose tissues and insulin resistance (IR). **Methods** Sixteen normal C57BL/6J mice and 16 mice with IR induced by high-fat diet (HFD) feeding for 12 weeks were both randomized into sedentary group and exercise group with aerobic exercise training on a treadmill (5 times per week for 8 consecutive weeks). All the mice were examined for changes in body weight, body composition, fasting blood glucose, blood lipid levels, insulin levels, miR-221-3p expression level, mRNA levels of *Socs1*, *Tnf- α* and *Arg-1*, and protein levels of SOCS1, JAK1, p-STAT1, and p-STAT3 in the adipose tissues, and the targeting relationship between miR-221-3p and SOCS1 was validated using dual-luciferase reporter gene assay. In RAW264.7 macrophages, the effects of transfection with miR-221-3p mimic or inhibitor on macrophage polarization were observed. **Results** In mice with normal feeding, aerobic exercise significantly decreased body weight, fat mass, fat percent, fasting blood glucose, serum insulin level, HOMA-IR, and TC and TG levels, and reduced miR-221-3p levels in both the plasma and the adipose tissues. The sedentary IR mice showed significantly increased miR-221-3p levels in both the plasma and adipose tissue, increased protein levels of iNOS, JAK1, and p-STAT1/STAT1, and decreased protein levels of Arg-1, SOCS1 and p-STAT3/STAT3, which were significantly reversed after aerobic exercise intervention. Dual-luciferase reporter gene assays validated the targeting relationship between miR-221-3p and SOCS1. In RAW264.7 macrophages, miR-221-3p overexpression significantly reduced *Socs1* and *Arg-1* mRNA expression, whereas miR-221-3p inhibition obviously promoted M2 polarization of the macrophages. **Conclusion** Aerobic exercise improves HFD-induced IR in mice possibly by inhibiting miR-221-3p to activate the SOCS1 and JAK/STAT signaling pathway, thereby promoting macrophage M2 polarization and alleviating chronic inflammation in the adipose tissue.

Keywords: aerobic exercise; insulin resistance; microRNA; macrophage polarization

收稿日期:2025-09-11

基金项目:陕西省级科技计划项目(2025JC-YBQN-321);陕西省社会科学基金项目(2025Q004);中央高校基本业务项目(xzy012025110)

作者简介:李楠,助理教授,E-mail:linan@xjtu.edu.cn

通信作者:周越,教授,博士生导师,E-mail:zhouy@bsu.edu.cn

随着经济的增长和生活方式的转变,我国成为全球糖尿病负担最重的国家之一。2型糖尿病(T2DM)及其相关并发症的高患病率问题尤为突出^[1]。肥胖引起的胰岛素抵抗(IR)是诱发2型糖尿病的主要病因之一。脂肪组织作为重要的代谢器官,不仅参与机体能量代

谢,还能通过分泌细胞因子,调节外周组织对胰岛素的敏感性^[2]。脂肪组织巨噬细胞(ATMs)是脂肪组织中最丰富的免疫细胞,在肥胖情况下,机体通常会发生ATMs浸润组织,产生慢性低度炎症,诱发胰岛素抵抗,最终发展为T₂DM^[3]。但肥胖相关的IR发病机制复杂,寻找治疗IR及预防T₂DM发展的方法及途径至关重要。

作为非药物干预的主要手段,规律性体育运动在慢性代谢性疾病的预防和治疗中占有重要的地位。研究发现运动干预可降低心血管疾病、糖尿病和癌症等疾病的患病风险^[4]。其中,有氧运动作为代谢性疾病的重要干预手段,可以通过增加外周胰岛素敏感性,改善葡萄糖和脂质代谢,进而防止慢性疾病的发生^[5,6]。我们前期研究证明,运动可以有效改善骨骼肌组织炎症及胰岛素抵抗^[7,8]。而有氧运动同时具备减脂、抗炎和改善全身胰岛素抵抗的效果,且更具长效性。但目前关于运动调节脂肪组织巨噬细胞极化的报道尚少,其相关机制尚未厘清。

microRNAs(miRNAs)是一类由21-25个核苷酸组成的非编码单链小RNA,靶向作用于mRNA,参与基因转录后的表达调控^[9]。来自胰岛素敏感器官的miRNAs失调与胰岛素抵抗、胰腺β细胞功能紊乱等糖尿病的发病密切相关^[10,11]。已有研究证实miR-221-3p在葡萄糖和脂质代谢中发挥重要作用,miR-221-3p的过度表达抑制PI3K/AKT信号通路激活,进而引起肝脏胰岛素抵抗^[12]。此外,细胞因子信号抑制蛋白1(SOCS1)作为miR-221-3p的靶向蛋白之一,在炎症发生和胰岛素抵抗的进程中均发挥着关键作用^[13]。Cai等^[14]研究证实miR-221-3p可以通过靶向SOCS1介导M1巨噬细胞极化,促进机体炎症水平,提示miR-221-3p通过下调SOCS1参与改善机体炎症和IR的病理进程。目前,现有研究主要集中在骨骼肌和肝脏的胰岛素抵抗^[12,15],对于脂肪组织中miR-221-3p/SOCS1轴在体内调控胰岛素抵抗的作用尚不清楚;同时,有氧运动改善IR的效应是否依赖于miR-221-3p介导的ATMs极化调控通路尚未阐明。基于此,本研究通过对高脂饮食诱导小鼠进行8周有氧运动干预,观察其对IR的改善效果,探讨有氧运动是否通过调节脂肪组织巨噬细胞极化和miR-221-3p/SOCS1轴发挥作用,为运动干预代谢性疾病的靶向治疗策略提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 动物

60只健康5周龄SPF级C57BL/6J雄性小鼠购于北京华阜康生物科技股份有限公司,许可证号:SCXK

(京)2020-0004。所有小鼠饲养在恒定温度为22~25℃,湿度为45%~55%和12h明暗循环条件的饲养室中,可以自由饮食和饮水。所有实验经北京体育大学运动科学实验伦理委员会批准进行(伦理批号:2022023A)。小鼠在适应性饲养5d后随机分为两组:普通膳食组(20只,标准膳食为脂肪供能占比为12.79%)和高脂膳食组(40只,脂肪供能占比为60%)。小鼠通过高脂饮食12周诱导胰岛素抵抗模型,造模期间每周记录小鼠体质量、空腹血糖及热量摄入,以葡萄糖耐量试验中小鼠AUC大于NC组1.2倍的筛选为胰岛素抵抗小鼠。过程中存活34只,最终造模成功率为70.59%(n=24)。第12周,NC组小鼠(4只)和IR小鼠(8只)被处死用于样本采集以验证模型成功。最终,选取16只NC小鼠和16只HFD小鼠进入后续实验,随机分为4组(n=8):正常安静组(CS组),正常运动组(CE组),高脂安静组(HS组)和高脂运动组(HE组)。

1.2 细胞培养及转染

小鼠单核巨噬细胞RAW264.7购于北京协和细胞库,在37℃、5%CO₂培养箱中进行培养,采用细胞培养液(10%FBS,90%DMEM配制)培养细胞。在转染前,将细胞接种于6孔板培养24h,待细胞密度达到70%~80%时,进行转染。未转染的细胞作为对照组(NC组)。转染时,将5μL 20μmol/L的miR-221-3p mimic(miR-221-3p mimic组)、inhibitor(miR-221-3p inhibitor组)或等体积的对照转染液(mimic NC组和inhibitor NC组)加入125μL Opti-MEM,另将7.5μL Lipofectamine3000加入125μL Opti-MEM,混匀后室温孵育15min。孵育后将细胞取出,每孔多位置滴加200μL混合液,轻轻摇动6孔板后,放置于细胞培养箱中孵育24h。细胞转染完成后,进行相关实验和检测。

1.3 运动干预方案

运动组进行为期8周的跑台运动,在正式开始运动训练前,运动组小鼠进行连续3d的适应性跑台训练,训练方案为第1天:跑速10~12m/min,坡度为0°,时间15~20min,第2天:跑速为15m/min,坡度为0°,时间30min。第3天:训练60min,热身5min,跑速10m/min,15m/min跑速维持50min。此后按Hoydal等^[16]的经典有氧运动方案进行为期8周的跑台运动,方案如下:坡度为0°,热身跑速为10m/min,5min。正式训练跑速为15~20m/min,训练时间为55min。每周训练5d。同时,安静组小鼠置于静置跑台相同时间。

1.4 体成分检测

8周有氧运动训练结束后,使用双能X线骨密度仪对小鼠进行体成分测试。末次训练24h后,小鼠禁食不禁水12h,后使用异氟烷进行吸入麻醉。完全麻醉后,

使用IDXA仪器,录入小鼠体质量、体长参数后进行扫描,测量小鼠体脂百分比、瘦体质量、脂肪总量、瘦体质量百分比等数据。

1.5 样本处理及生化指标检测

8周跑台运动结束后,小鼠通过12 h禁食不禁水,尾尖取血使用血糖仪检测小鼠空腹血糖。通过小鼠麻醉处死后从眼眶静脉丛取血,室温静置30 min后,通过低温离心机以3000 r/min离心15 min分离血清,检测胰岛素、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平,胰岛素水平使用ELISA试剂盒检测,所有指标严格按照试剂盒说明书进行检测。胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)

=空腹血糖×空腹胰岛素/22.5。

1.6 荧光定量PCR

按照RNA抽提试剂盒提取脂肪组织总RNA,使用酶标仪检测各组RNA浓度与纯度。采用miDETECT A Track miRNA qRT-PCR Starter Kit(RiboBio)进行反转录和qPCR反应,对小鼠血浆及脂肪组织中miR-221-3p含量进行检测,以U6为内参基因。使用反转录试剂盒合成cDNA,采用2×SG Fast qPCR Master Mix (Roche, B639271)进行荧光定量PCR,检测各组细胞中Tnf-α、Arg-1、Socs1和β-Actin的mRNA水平,根据公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算各样品目的基因的相对表达量。引物由生工生物有限公司合成(表1)。

表1 qRT-PCR引物序列
Tab.1 Primers sequences for RT-qPCR

Gene		Primer sequences (5'-3')
miR-221-3p	RT	CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGGAAACCCA
	F	ACACTCCAGCTGGGAGCTACATTGTCTGC
U6	F	CTCGCTTCGGCAGCACA
	R	AACGCTTCACGAATTTGCGT
Tnf-α	F	CCCTCACACTCAGATCATCTTCT
	R	GCTACGACGTGGGCTACAG
Arg-1	F	ACAGCAGAGGAGGTGAAGAGTAC
	R	AGTCAGTCCCTGGCTTATGGT
Socs1	F	CTGCGGCTTCTATTGGGGAC
	R	AAAAGGCAGTCGAAGGTCTCG
β-actin	F	GTGCTATGTTGCTCTAGACTTCG
	R	ATGCCACAGGATTCATACC

F: Forward primer; R: Reverse primer; RT: Reverse transcription.

1.7 双荧光素酶报告基因实验

通过NCBI数据库查询靶基因Socs1的3' UTR序列信息,TargetScan网站(https://www.targetscan.org/vert_80/)预测Socs1与miR-221-3p的结合位点,并由广州锐博生物科技有限公司构建报告基因载体。分m-Socs1-WT+mmu-miR-221-3p mimics、m-Socs1-WT+mmu-miR-221-3p NC、m-Socs1-MUT+mmu-miR-221-3p mimics、m-Socs1-MUT+mmu-miR-221-3p NC四组,使用Lipo6000转染试剂将不同样品共转染至293T细胞,按照试剂盒说明书使用荧光酶标仪测定荧光活性并计算荧光值,进行miR-221-3p靶基因验证。

1.8 Western blotting

称取冻存于-80 °C的小鼠附睾脂肪组织50 mg于研磨管,加入提前配置的裂解液进行匀浆,充分混合反

应后使用低温离心机4 °C 12 000 r/min离心15 min,取上清后使用BCA试剂盒进行蛋白定量。使用10% SDS-PAGE凝胶进行电泳、转印和封闭。一抗JAK1(1:2000)、STAT1(1:2000)、SOCS1(1:1000)、p-STAT1(1:1000)、p-STAT3(1:500)、β-actin(1:5000)孵育过夜。孵育完成室温复温15 min,TBST洗膜3min×5次。二抗(1:5000)室温孵育1 h,TBST洗膜3 min×5次后ECL发光显色,使用凝胶成像仪(BIO-RAD, ChemiDoc XRS)进行成像。使用Image-Pro Plus6.0软件分析进行灰度分析处理图像。

1.9 统计学分析

所有数据以均数±标准差表示,采用SPSS 26.0统计软件进行分析。各组实验均进行了独立重复3次(N=3,每次包含技术重复n=3~6)。采用双因素方差分析进

行各组间的比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。使用 GraphPad Prism 9 软件进行图表绘制。

2 结果

2.1 有氧运动改善 IR 小鼠高胰岛素水平和血脂代谢异常

8 周有氧运动干预后对各组小鼠的体质量进行

检测(图 1)。与 CS 组相比, HS 组小鼠体质量显著增加 ($P < 0.01$), 8 周有氧运动显著降低 HE 组体质量 ($P < 0.01$, 图 1A)。通过检测小鼠体成分, 发现 HS 组脂肪质量和体脂率均显著高于 CS 组 ($P < 0.01$)。8 周有氧运动干预后 HE 组脂肪质量、体脂率均显著低于 HS 组 ($P < 0.01$, 图 1B, D), 而瘦体质量显著高于 HS 组 ($P < 0.01$, 图 1C)。

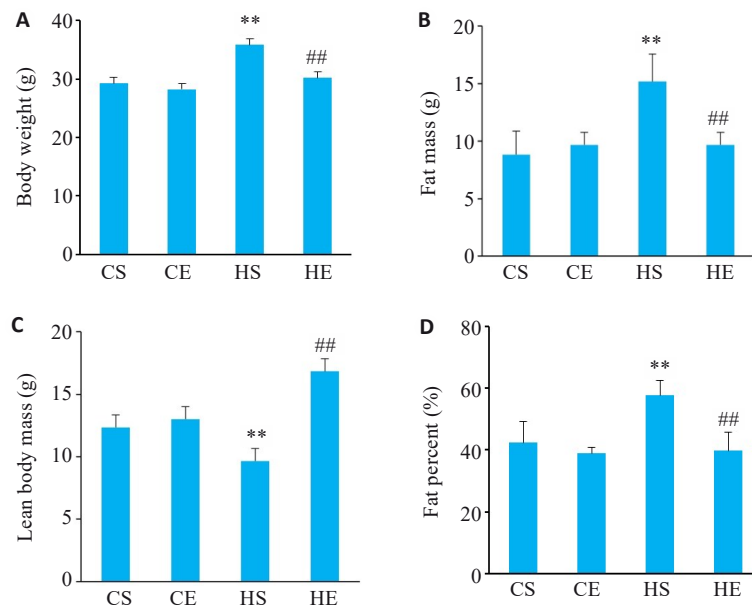


图 1 有氧运动干预后各组小鼠体质量变化

Fig.1 Changes in body weight of the mice in each group ($n=6$). **A:** Changes in body weight. **B:** Changes in fat mass. **C:** Changes in lean body mass. **D:** Changes in fat percent. CS: Normally fed sedentary group without exercise; CE: Normally fed sedentary group with aerobic exercise; HS: High-fat diet sedentary group; HE: High-fat diet group with aerobic exercise. ** $P < 0.01$ vs CS group, ## $P < 0.01$ vs HS group.

采用生化方法检测各组小鼠空腹血糖与血清胰岛素水平, 并计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。HS 组小鼠空腹血糖、血清胰岛素水平和 HOMA-IR 显著升高 ($P < 0.01$), 8 周有氧运动有效逆转这一现象 ($P < 0.01$)。

通过对各组小鼠血脂 4 项水平检测, 发现 HS 组小鼠 TC、TG、HDL 均显著升高 ($P < 0.01$), 8 周有氧运动可以显著降低 TC 和 TG 含量 ($P < 0.01$, 表 2)。

表 2 有氧运动干预后各组小鼠基础指标的变化

Tab.2 Changes in the indicators of the mice in each group

Parameter	CS	CE	HS	HE
Fasting blood glucose (mmol/L)	6.70±0.38	6.13±0.44	13.10±0.99**	7.56±0.69##
Insulin (μIU/mL)	7.74±0.62	8.27±2.70	24.73±2.41**	11.70±3.30***
HOMA-IR	2.32±0.22	2.24±0.72	14.46±2.27**	3.87±0.84***
TC (mmol/L)	3.08±0.13	3.02±0.53	4.67±0.40**	3.90±0.70***
TG (mmol/L)	0.59±0.07	0.60±0.09	0.88±0.19**	0.72±0.07##
HDL (mmol/L)	2.87±0.47	2.86±0.27	3.76±0.73**	3.56±0.23
LDL (mmol/L)	0.15±0.08	0.14±0.06	0.32±0.13	0.31±0.13

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs CS group, ## $P < 0.01$ vs HS group.

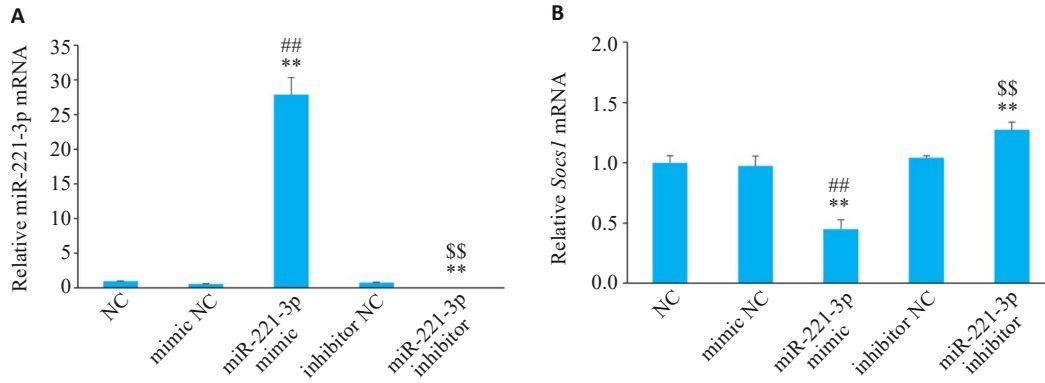


图4 细胞转染后各组 miR-221-3p 和 Soc1 的 mRNA 表达情况

Fig.4 Relative mRNA levels of miR-221-3p (A) and Soc1 (B) enriched in RAW 264.7 cells (n=3). **P<0.01 vs NC group, [#]P<0.01 vs mimic NC group, ^{\$\$}P<0.01 vs inhibitor NC group.

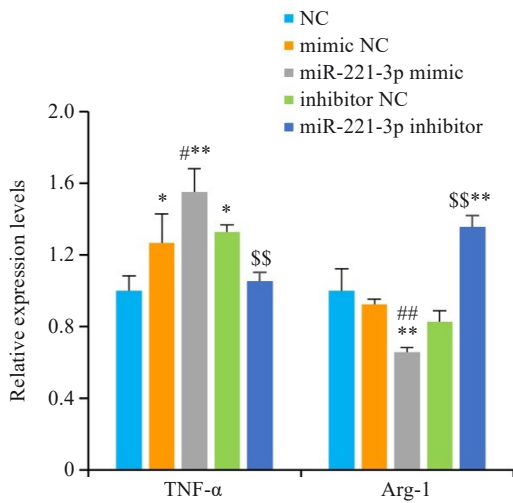


图5 细胞转染后各组炎症因子的 mRNA 表达

Fig.5 Relative mRNA levels of *Tnf-α* and *Arg-1* enriched in RAW 264.7 cells (n=3). *P<0.05, **P<0.01 vs NC group, [#]P<0.05, ^{##}P<0.01 vs mimic NC group, ^{\$\$}P<0.01 vs inhibitor NC group.

2.5 有氧运动对 IR 小鼠脂肪组织巨噬细胞极化的影响

HS 组小鼠脂肪组织中 iNOS 蛋白表达显著高于 CS 组 (P<0.01); Arg-1 的蛋白表达显著低于 CS 组 (P<0.01)。8 周有氧运动干预后,与 HS 组相比,HE 组 iNOS 的蛋白表达显著降低 (P<0.01),HE 组 Arg-1 的蛋白表达显著增高 (P<0.05,图 6)。

2.6 有氧运动对 IR 小鼠验证相关通路蛋白的影响

与 CS 组相比,HS 组的 SOCS1 和 p-STAT3/STAT3 的蛋白表达显著降低 (P<0.01), JAK1 和 p-STAT1/STAT1 的水平与 CS 组相比显著升高 (P<0.01)。而 8 周有氧运动干预后 HE 组的 SOCS1 和 p-STAT3/STAT3 的蛋白表达水平显著增高 (P<0.05, P<0.01); HE 组 JAK1 和 p-STAT1/STAT1 蛋白表达水平显著低于 HS 组 (P<0.01,图 7)。

3 讨论

肥胖是产生胰岛素抵抗的重要诱因,其发生发展与脂质异位沉积、脂肪组织功能紊乱及代谢稳态失衡有关^[17]。膳食脂肪摄入量的增加通常是导致肥胖的主要原因。研究发现,当饮食中脂肪含量高达 60% 左右时,小鼠能量摄入增加并导致肥胖的发生^[18]。本研究发现,采用脂肪供能比 60% 的高脂饲料持续喂养 12 周后,小鼠体质量显著增加,脂肪含量和体脂率也大幅增加。同时,研究表明肥胖与血清胰岛素水平升高及胰岛素抵抗有关^[19]。本研究与 Binwal 等^[20]的研究结果一致,发现高脂饮食干预导致小鼠 TC、TG 和 HDL 水平明显升高,肥胖状态下血清胰岛素水平异常升高, HOMA-IR 指数恶化。运动干预可以有效减少脂肪堆积和体质量的增加^[21]。本研究发现,通过 8 周的有氧运动干预 IR 小鼠体质量显著下降,脂肪组织重量及体脂率也显著减少,提示有氧运动可以有效降低 IR 小鼠体质量和脂肪的堆积。同时,有氧运动显著降低了 TC 和 TG 水平,空腹血糖,胰岛素水平和 HOMA-IR 也显著降低,运动干预改善了 IR 小鼠的血脂异常。与之前的报道一致^[22, 23],本研究发现有氧运动干预不仅能有效逆转 HFD 诱导的体质量增长和体脂蓄积,还改善空腹血糖、胰岛素敏感性及血脂异常,但其具体机制尚未完全阐明。

miRNA 作为一种非编码单链小 RNA,通过靶向作用于 mRNA 参与基因转录后的表达调控,在 IR 和 T2DM 及相关并发症中发挥重要作用^[24]。已有文献报道脂肪组织中 miRNA 的失调会引起与肥胖相关的炎症反应^[25, 26]。miR-221 位于 X 染色体 (Xp11.3) 上,在脊椎动物中高度保守^[27]。先前研究发现 miR-221-3p 的潜在靶基因包括 PTEN、HIF-1、SOCS1 等,其广泛参与了炎症、心血管、肿瘤^[28, 29]等疾病的调节。研究显示 miR-221 介导 M1 巨噬细胞表型极化,促进机体炎症水平,在葡萄糖和脂质代谢中也发挥重要作用^[30, 31]。有实验发现

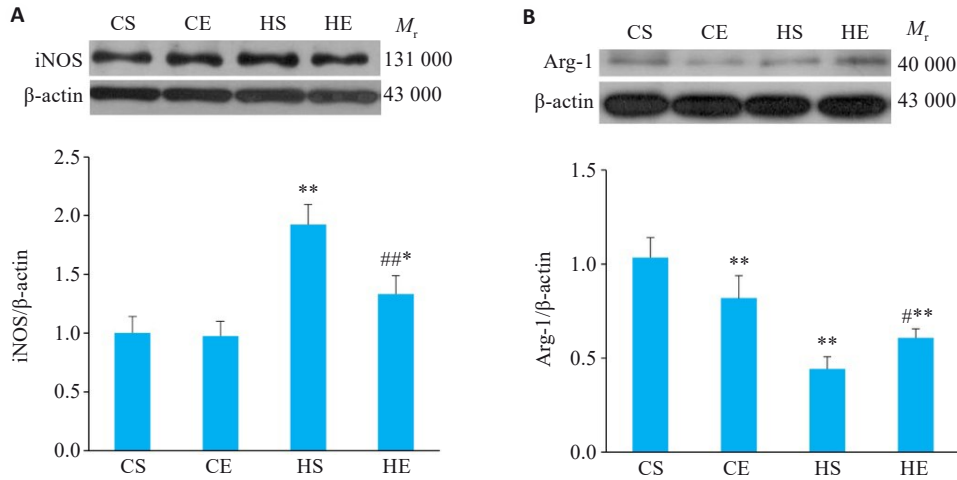


图6 有氧运动干预后小鼠脂肪组织巨噬细胞极化相关蛋白变化

Fig.6 Changes of macrophage polarization-related proteins in the adipose tissue of mice after aerobic exercise intervention. **A:** Expression of iNOS proteins in adipose tissue. **B:** Expression of Arg-1 proteins in adipose tissue. $n=6$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs CS group, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$ vs HS group.

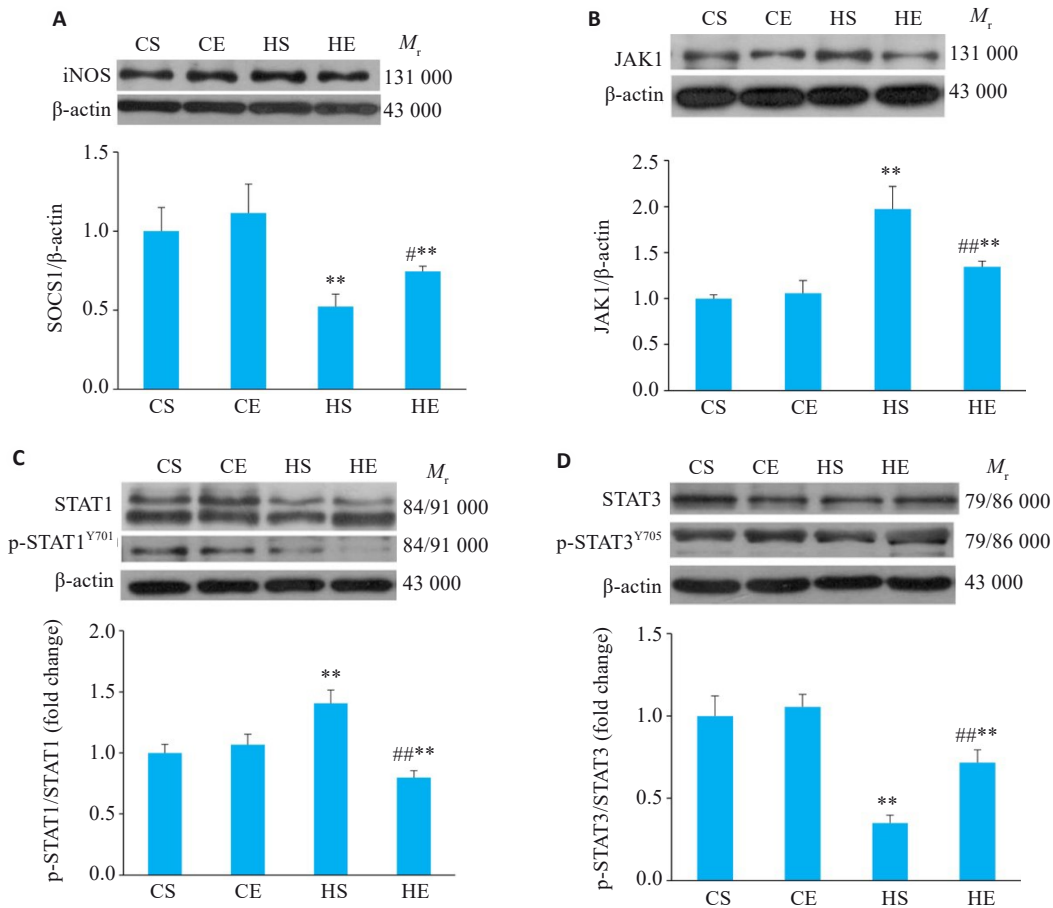


图7 各组小鼠脂肪组织JAK/STAT通路相关蛋白的表达

Fig.7 Comparison of the expression levels of JAK/STAT pathway proteins SOCS1 (A), JAK1 (B), p-STAT1/STAT1 (C), and p-STAT3/STAT3 (D) in the adipose tissue of the mice. $n=6$. ** $P<0.01$ vs CS group, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$ vs HS group.

miR-221-3p可能通过影响PPAR信号通路和直接靶向ADIPOR1导致胰岛素抵抗的发生^[32]。在本研究中,我们检测到IR小鼠体内miR-221-3p表达显著升高,8周有氧运动干预后小鼠体内miR-221-3p水平显著降低,

提示miR-221-3p可能是改善机体IR的新靶点。

脂肪组织中巨噬细胞作为脂肪组织中最丰富的免疫细胞,巨噬细胞极化在胰岛素抵抗发病机理中受到广泛关注^[33]。在高脂刺激下,脂肪细胞会分泌更多趋化因

子,诱导免疫细胞迁移。巨噬细胞浸润和表型变化是肥胖相关炎症的主要特征。SOCS1作为炎症信号通路的负调控因子,在炎症发生和巨噬细胞极化中发挥关键作用^[33]。已有文献报道miR-221-3p与潜在靶基因SOCS1的相互关系,研究显示,在急性肺损伤的肺组织中miR-221-3p显著增加,抑制miR-221-3p可以通过SOCS1/NF- κ B缓解急性肺损伤的炎症反应^[27]。此外,在人巨细胞病毒感染的神经前体细胞中发现miR-221-3p表达增强,其通过抑制SOCS1调节巨细胞病毒的感染和复制^[34]。在本研究中进一步证实了miR-221-3p与*Socs1*的靶向关系。Liau等^[35]研究发现SOCS1表达上调可以增加M2型巨噬细胞数量,而敲低SOCS1不仅降低了精氨酸酶1(Arg-1)的表达和活性,还上调了诱导型一氧化氮合酶(iNOS)的表达。本研究发现有氧运动对小鼠胰岛素敏感性的改善伴随着脂肪组织炎症的减少,巨噬细胞极化M1标志蛋白iNOS减少和M2极化标志蛋白Arg-1表达增加,提示有氧运动可能通过调节脂肪组织中巨噬细胞表型的变化,改善了脂肪组织炎症水平,进而改善IR。

为了进一步研究miR-221-3p与SOCS1在有氧运动调节巨噬细胞极化和IR中的作用,本研究检测了JAK/STAT信号通路中关键蛋白。JAK/STAT是炎症信号通路中的关键信号,过度活跃会促进促炎细胞因子的产生和免疫细胞的活化^[36]。本研究结果发现高脂膳食小鼠脂肪组织JAK1、p-STAT1蛋白水平显著提升,SOCS1、p-STAT3蛋白表达均显著下降,提示高脂膳食导致了小鼠脂肪组织巨噬细胞向M1表型极化,促进机体炎症水平升高,这与Cai等^[14]的研究结果一致。而8周的有氧运动显著降低了与巨噬细胞M1极化相关的蛋白JAK1与p-STAT1的水平,而SOCS1、p-STAT3蛋白水平显著上调,提示有氧运动可能通过抑制miR-221-3p激活JAK/STAT信号通路降低脂肪组织巨噬细胞极化发挥抗炎作用,进而改善胰岛素抵抗。

综上所述,8周有氧运动可以有效提高机体胰岛素敏感性,miR-221-3p在其中起重要作用,其机制可能是有氧运动抑制miR-221-3p的表达,靶向激活SOCS1及下游JAK/STAT信号通路,抑制脂肪组织巨噬细胞M1极化,促进巨噬细胞M2极化,发挥抗炎作用,进而改善胰岛素抵抗。然而,本研究仍存在一定的局限性,运动对miR-221-3p的调控作用及其对巨噬细胞极化和胰岛素抵抗的因果关系尚需进一步体内实验加以验证,以明确其具体分子机制,为运动改善代谢性疾病提供实验依据。

Declaration of interests: The authors declare no competing interests.

参考文献:

[1] Xu Y, Lu JL, Li M, et al. Diabetes in China part 1: epidemiology and risk factors[J]. *Lancet Public Health*, 2024, 9(12): e1089-97.

- [2] Wu H, Ballantyne CM. Metabolic inflammation and insulin resistance in obesity[J]. *Circ Res*, 2020, 126(11): 1549-64.
- [3] Feehan KT, Gilroy DW. Is resolution the end of inflammation[J]? *Trends Mol Med*, 2019, 25(3): 198-214.
- [4] Anderson E, Durstine JL. Physical activity, exercise, and chronic diseases: a brief review[J]. *Sports Med Health Sci*, 2019, 1(1): 3-10.
- [5] Yaribeygi H, Atkin SL, Simental-Mendía LE, et al. Molecular mechanisms by which aerobic exercise induces insulin sensitivity[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(8): 12385-92.
- [6] 王平, 李佳欣, 陈小龙, 等. 转录因子EB在有氧运动改善高脂饮食诱导小鼠骨骼肌胰岛素抵抗中的作用[J]. *中国运动医学杂志*, 2024, 43(3): 193-204.
- [7] 李楠, 史海燕, 周越. 运动介导microRNAs改善慢性炎症及骨骼肌胰岛素抵抗的研究进展[J]. *生命科学*, 2022, 34(3): 324-31.
- [8] Li N, Shi H, Guo Q, et al. Aerobic exercise prevents chronic inflammation and insulin resistance in skeletal muscle of high-fat diet mice[J]. *Nutrients*, 2022, 14(18): 3730.
- [9] Quah S, Subramanian G, Tan JSL, et al. microRNAs: a symphony orchestrating evolution and disease dynamics[J]. *Trends Mol Med*, 2025, 31(1): 21-35.
- [10] Agbu P, Carthew RW. microRNA-mediated regulation of glucose and lipid metabolism[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(6): 425-38.
- [11] Wang J, Li L, Zhang Z, et al. Extracellular vesicles mediate the communication of adipose tissue with brain and promote cognitive impairment associated with insulin resistance[J]. *Cell Metab*, 2022, 34(9): 1264-79.e8.
- [12] Huang F, Zhu P, Wang J, et al. Postnatal overfeeding induces hepatic microRNA-221 expression and impairs the PI3K/AKT pathway in adult male rats[J]. *Pediatr Res*, 2021, 89(1): 143-9.
- [13] Wilson HM. SOCS proteins in macrophage polarization and function[J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 357.
- [14] Cai MC, Shi Y, Zheng TH, et al. Mammary epithelial cell derived exosomal miR-221 mediates M1 macrophage polarization via SOCS1/STATs to promote inflammatory response[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 83: 106493.
- [15] Li N, Zhang L, Guo Q, et al. Aerobic exercise improves inflammation and insulin resistance in skeletal muscle by regulating miR-221-3p via JAK/STAT signaling pathway. *Front Physiol*. 2025; 16:1534911.
- [16] Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, et al. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training[J]. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, 2007, 14(6): 753-60.
- [17] Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models[J]. *Nutr Res Rev*, 2010, 23(2): 270-99.
- [18] Speakman JR. Use of high-fat diets to study rodent obesity as a model of human obesity[J]. *Int J Obes: Lond*, 2019, 43(8): 1491-2.
- [19] Lichtenstein AH, Schwab US. Relationship of dietary fat to glucose metabolism[J]. *Atherosclerosis*, 2000, 150(2): 227-43.
- [20] Binwal M, Babu V, Israr KM, et al. Taxoids-rich extract from *Taxus wallichiana* alleviates high-fat diet-induced insulin resistance in C57BL/6 mice through inhibition of low-grade inflammation[J]. *Inflammopharmacology*, 2023, 31(1): 451-64.
- [21] Villareal DT, Aguirre L, Gurney AB, et al. Aerobic or resistance exercise, or both, in dieting obese older adults[J]. *N Engl J Med*,

- 2017, 376(20): 1943-55.
- [22] Brouwers B, Schrauwen-Hinderling VB, Jelenik T, et al. Exercise training reduces intrahepatic lipid content in people with and people without nonalcoholic fatty liver[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2018, 314(2): E165-73.
- [23] Gopalan V, Yaligar J, Michael N, et al. A 12-week aerobic exercise intervention results in improved metabolic function and lower adipose tissue and ectopic fat in high-fat diet fed rats[J]. *Biosci Rep*, 2021, 41(1): BSR20201707.
- [24] Yao F, Yu Y, Feng LJ, et al. Adipogenic miR-27a in adipose tissue upregulates macrophage activation *via* inhibiting PPAR γ of insulin resistance induced by high-fat diet-associated obesity[J]. *Exp Cell Res*, 2017, 355(2): 105-12.
- [25] Kiran S, Kumar V, Kumar S, et al. Adipocyte, immune cells, and miRNA crosstalk: a novel regulator of metabolic dysfunction and obesity[J]. *Cells*, 2021, 10(5): 1004.
- [26] Ying W, Gao H, Dos Reis FCG, et al. miR-690, an exosomal-derived miRNA from M2-polarized macrophages, improves insulin sensitivity in obese mice[J]. *Cell Metab*, 2021, 33(4): 781-90.e5.
- [27] Galardi S, Mercatelli N, Giorda E, et al. miR-221 and miR-222 expression affects the proliferation potential of human prostate carcinoma cell lines by targeting p27Kip1[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(32): 23716-24.
- [28] Wang T, Jiang L, Wei X, et al. Inhibition of miR-221 alleviates LPS-induced acute lung injury *via* inactivation of SOCS1/NF- κ B signaling pathway[J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(16): 1893-907.
- [29] Li YY, Yan CH, Fan JH, et al. miR-221-3p targets Hif-1 α to inhibit angiogenesis in heart failure[J]. *Lab Invest*, 2021, 101(1): 104-15.
- [30] Wang N, Liang H, Zen K. Molecular mechanisms that influence the macrophage m1-m2 polarization balance[J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 614.
- [31] Liu W, Long Q, Zhang W, et al. miRNA-221-3p derived from M2-polarized tumor-associated macrophage exosomes aggravates the growth and metastasis of osteosarcoma through SOCS3/JAK2/STAT3 axis[J]. *Aging*: Albany NY, 2021, 13(15): 19760-75.
- [32] Meerson A, Traurig M, Ossowski V, et al. Human adipose microRNA-221 is upregulated in obesity and affects fat metabolism downstream of leptin and TNF- α [J]. *Diabetologia*, 2013, 56(9): 1971-9.
- [33] Olefsky JM, Glass CK. Macrophages, inflammation, and insulin resistance[J]. *Annu Rev Physiol*, 2010, 72: 219-46.
- [34] Yan B, Ma H, Jiang S, et al. microRNA-221 restricts human cytomegalovirus replication *via* promoting type I IFN production by targeting SOCS1/NF- κ B pathway[J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(22): 3072-84.
- [35] Liao NPD, Laktyushin A, Lucet IS, et al. The molecular basis of JAK/STAT inhibition by SOCS1[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1558.
- [36] Dodington DW, Desai HR, Woo M. JAK/STAT-emerging players in metabolism[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2018, 29(1): 55-65.

(编辑:余诗诗)