



基于转录组学探究精英伊犁马 5 000 m 竞赛中心 脏对运动性能的影响

黄云江¹, 努尔古丽·胡安西¹, 迟杨凯文¹, 黄金龙¹, 王彤亮¹, 任万路^{1,2}, 孟 军^{1,2},
姚新奎^{1,2}, 王建文^{1,2}, 杨玉婷¹, 黄高齐¹, 曾亚琦^{1,2*}

(1. 新疆农业大学动物科学学院, 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆马繁育与运动生理重点实验室, 乌鲁木齐 830052)

摘 要: 旨在探究伊犁马 5 000 m 竞赛前后血液中基因差异表达及心脏指标与差异表达基因间的关联性。本试验选用参加国家级赛事 5 000 m 速度赛前 8 名中的 6 匹精英伊犁马为研究对象, 使用迈瑞 M6 兽用便携式彩色多普勒超声系统采集马匹 5 000 m 速度赛前静息状态下超声心动图以及竞赛前后马匹血液, 用于转录组测序。结果表明, 共筛选出 889 个差异表达基因, 其中有上调基因 751 个、下调基因 138 个。GO 和 KEGG 富集分析发现, 差异表达基因主要涉及细胞对刺激应答、免疫调控等生物过程, 以及参与细胞免疫反应和炎症的 MAPK、Jak-STAT 信号通路等。筛选出 *CCL3*、*CSF1*、*CSF3*、*IFNG*、*IL4*、*IL10* 为关键基因, 关键基因赛后表达量与心脏结构指标的相关性中, *CCL3* 与 PADs 极显著正相关 ($P < 0.01$)、与 LVIdd 显著正相关 ($P < 0.05$)、与 RWTd 显著负相关 ($P < 0.05$), *CSF1* 与 PADd 极显著正相关 ($P < 0.01$)、与 RWTd 显著负相关 ($P < 0.05$), *CSF3* 与 IVSd、EDV 显著负相关 ($P < 0.05$), *IFNG* 与 PADd 显著正相关 ($P < 0.05$)、与 IVSd、MWTd、RWTd 显著负相关 ($P < 0.05$), *IL10* 与 LVLD 极显著正相关 ($P < 0.01$)、与 MVD 显著正相关 ($P < 0.05$)、与 EDV 显著负相关 ($P < 0.05$); 关键基因赛后表达量与心脏功能指标的相关性中, *CSF3* 与 SV、SI、CI、VTI 呈显著负相关 ($P < 0.05$), *IFNG* 与 SI 呈显著负相关 ($P < 0.05$), *IL10* 与 CO、CI、VTI 呈显著负相关 ($P < 0.05$); 并且 *CSF1*、*IFNG* 赛后表达量与伊犁马 5 000 m 运动性能显著负相关 ($P < 0.05$)。心脏指标与 *CCL3*、*CSF3*、*IL4*、*IL10* 调控机制在伊犁马 5 000 m 竞赛中发挥重要作用, *CSF1*、*IFNG* 的表达水平可作为评估伊犁马运动性能的候选基因。

关键词: 伊犁马; 转录组测序; 心脏结构; 心脏功能

中图分类号: S821.2

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2026)02-0753-16

Transcriptomics-Based Exploration of Cardiac Effects on Racing Performance in Elite Yili Horses in 5 000 m Race

HUANG Yunjiang¹, HUANXI·Nuerguli¹, CHI Yangkaiwen¹, HUANG Jinlong¹, WANG Tongliang¹,
REN Wanlu^{1,2}, MENG Jun^{1,2}, YAO Xinkui^{1,2}, WANG Jianwen^{1,2}, YANG Yuting¹,
HUANG Gaoqi¹, ZENG Yaqi^{1,2*}

(1. College of Animal Science, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China;

2. Xinjiang Key Laboratory of Horse Breeding and Exercise Physiology, Urumqi 830052, China)

收稿日期: 2025-04-07

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(32202667); 新疆维吾尔自治区重大科技专项(2022A02013-1); 中央引导地方科技发展资金项目(ZYYD2025JD02); 新疆维吾尔自治区自然科学基金青年科学基金(2024D01B40); 新疆马繁育与运动生理重点实验室项目(XJMFY202401); 2024 年自治区级大学生创新项目(dx5cx2024207); 新疆农业大学 2024 年度校级大学生创新项目(dx5cx2024222)

作者简介: 黄云江, 硕士生, 主要从事动物生产学研究, E-mail: 1255232726@qq.com; 努尔古丽·胡安西, 本科生, 主要从事马业科学方向研究, E-mail: 3029786945@qq.com; 黄云江和努尔古丽·胡安西为同等贡献作者

* 通信作者: 曾亚琦, 主要从事马业科学方向研究, E-mail: zengyaqi@xjau.edu.cn

Abstract: The aim of this study was to investigate the differential expression of genes in the blood of Yili horses before and after the 5 000 m race, and the correlation between cardiac parameters and the differentially expressed genes. Six elite Yili horses, which were among the top 8 horses in the 5 000 m speed race at the national level, were selected for the study. Echocardiograms were collected from the resting state of the horses before the 5 000 m speed race and the blood of the horses before and after the race by using the Myriad M6 Veterinary Portable Color Doppler Ultrasound System, which was used for transcriptome sequencing. The results showed that: 1) A total of 889 differentially expressed genes were screened, including 751 up-regulated genes and 138 down-regulated genes. GO and KEGG enrichment analyses revealed that the differentially expressed genes were mainly involved in the biological processes of cellular response to stimuli and immune regulation, as well as the MAPK and Jak-STAT signaling pathways involved in cellular immune response and inflammation. 2) *CCL3*, *CSF1*, *CSF3*, *IFNG*, *IL4*, *IL10* were screened as key genes. In the correlation between the post-competition expression of key genes and cardiac structural indexes, *CCL3* was extremely significantly positively correlated with PADs ($P < 0.01$), significantly positively correlated with LVIDd ($P < 0.05$), and significantly negatively correlated with RWTd ($P < 0.05$), *CSF1* was extremely significantly positively correlated with PADd ($P < 0.01$), significantly negatively correlated with RWTd ($P < 0.05$), *CSF3* was significantly negatively correlated with IVSd and EDV ($P < 0.05$), *IFNG* was significantly positively correlated with PADd ($P < 0.05$), significantly negatively correlated with IVSd, MWTd, and RWTd ($P < 0.05$), *IL10* was extremely significantly positively correlated with LVLD ($P < 0.01$), significantly positively correlated with MVD ($P < 0.05$), and significantly negatively correlated with EDV ($P < 0.05$). In the correlation between the post-race expression of key genes and cardiac function indexes, *CSF3* was significantly negatively correlated with SV, SI, CI, and VTI ($P < 0.05$), *IFNG* was significantly negatively correlated with SI ($P < 0.05$), and *IL10* was significantly negatively correlated with CO, CI, and VTI ($P < 0.05$). Moreover, *CSF1* and *IFNG* post-race expression were significantly negatively correlated with the 5 000 m exercise performance of Yili horses ($P < 0.05$). Cardiac indexes and *CCL3*, *CSF3*, *IL4*, *IL10* regulatory mechanisms play important roles in the 5 000 m race of Yili horses, and the expression levels of *CSF1* and *IFNG* can be used as candidate genes to assess the athletic performance of Yili horses.

Keywords: Yili horse; transcriptome sequencing; heart structure; heart function

* **Corresponding author:** ZENG Yaqi, E-mail: zengyaqi@xjau.edu.cn

剧烈运动是马匹生理机能的核心应激来源,能够引发多层次的分子适应性反应,其机制涉及能量代谢重塑、免疫调控及氧化应激平衡等关键生物学过程^[1]。现今对伊犁马关于血液转录组的研究逐渐成熟^[2-3],转录组学技术能为伊犁马运动应激的分子机制提供全新视角,从而在整体层面揭示基因表达模式与功能通路的动态关联^[4-5]。尤其是RNA-Seq技术,能够精准识别与筛选运动前后关键调控基因,通过GO功能注释与KEGG通路富集解析其生物学意义,已成为非模式生物转录组研究的首选方

法^[6-9],为揭示伊犁马运动相关基因调控网络奠定了技术基础。

心脏作为运动适应的核心器官,在运动中通过增加心输出量、调节血液分布、提高氧气输送效率、促进心血管系统的适应性变化以及应对运动中的压力和负荷,确保机体能够在运动状态下正常运转。关于马匹心脏与运动的相关性研究取得了许多重要进展,如Chanda和Petchdee^[10]研究了不同类型运动对马匹心脏形态的影响,发现长时高强度运动会导致左心室扩张,而短时高强度运动会导致心

室壁增厚,结果表明马匹心脏形态和功能会随不同类型运动发生适应性变化。彭宣等^[11]研究 2 岁伊犁马心脏结构与运动性能的联系中发现,伊犁马舒张末期左室内径和左心室长轴径等心脏结构指标与运动性能正相关。在这些研究中,明确地表明了马匹心脏结构、功能与运动的关系,但马匹心脏与基因调控的联动机制尚未被充分阐明。

本试验以伊犁马为研究对象,采集 5 000 m 竞赛前后血液样本,通过高通量转录组测序筛选差异表达基因(differentially expressed genes,DEGs),并结合心脏结构与功能的多维度指标,旨在揭示伊犁马对 5 000 m 竞赛适应性调控的分子基础及其与心脏功能的潜在关联,为马匹运动生理学及心脏健康管理提供新视角。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验选取 2023 年 7 月在新疆伊犁哈萨克自治州昭苏天马文化园进行的国家级赛事中获得伊犁马 5 000 m 前 8 名中的 6 匹精英马,其中 3 匹公马,3 匹母马。

1.2 样本采集

赛前 24 h,在马匹静息状态下使用迈瑞 M6 兽用便携式彩色多普勒超声系统采取马匹超声心动图(2.5 MHz 两次在马匹右胸第三到第四或者第四到第五个肋骨之间进行二维(2D)和 M 型成像,最大成像深度为 30 cm,换能器的焦点被固定在 5 cm 处,最大扇形角为 110°。所有超声心动图检查均由同一操作者进行,只有心率低于 40 次·min⁻¹才会记录图像,总共测量 3 个不连续的心动周期,取平均值)。

在比赛前 1 d 静息状态以及赛后即刻使用 EDTA 抗凝管采集马匹颈静脉血液样本,随后按比例(1:3)混合血液与 Trizol 试剂,将样品分装入 5 mL 冻存管中,标记并用封口膜密封,每份样品分装 4 管,立刻投入液氮保存,后再转入 -80 °C 冰箱,用于提取试验马匹总 RNA,并进行后续转录组测序。

1.3 心脏参数处理

从右胸骨旁长轴、右胸骨旁短轴、M 模式右胸骨旁短轴图像中测量和计算获得关于心脏的 32 个指标,将其分为 20 个心脏结构指标:舒张末期左心室游离壁厚度(end-diastolic left ventricular free wall thickness, LVFWd)、收缩末期左心室游离壁厚度

(end-systolic left ventricular free wall thickness, LVFWs)、舒张末期左室内径(end-diastolic left ventricular diameter, LVIDd)、收缩末期左室内径(end-systolic left ventricular diameter, LVIDs)、舒张末期室间隔厚度(end-diastolic interventricular septal thickness, IVSd)、收缩末期室间隔厚度(end-systolic interventricular septal thickness, IVSs)、舒张末期右室内径(end-diastolic right ventricular diameter, RVDd)、收缩末期右室内径(end-systolic right ventricular diameter, RVDs)、舒张末期左心室容量(end-diastolic left ventricular volume, EDV)、收缩末期左心室容量(end-systolic left ventricular volume, ESV)、左心室长轴径(left ventricle long axis diameter, LVLD)、二尖瓣内径(mitral valve diameter, MVD)、舒张末期左房内径(end-diastolic left atrial diameter, LADd)、收缩末期左房内径(end-systolic left atrial diameter, LADs)、舒张末期主动脉根部内径(end-diastolic aortic root diameter, AODd)、收缩末期主动脉根部内径(end-systolic aortic root diameter, AODs)、舒张末期肺动脉内径(end-diastolic pulmonary artery diameter, PADd)、收缩末期肺动脉内径(end-systolic pulmonary artery diameter, PADs)、舒张末期平均左心室壁厚(end-diastolic mean left ventricular wall thickness, MWTD)、舒张末期相对舒张期壁厚(end-diastolic relative left ventricular wall thickness, RWTd), 12 个心脏功能指标:心率(heart rate, HR)、主动脉根部内径/左房内径(aortic root diameter/left atrial diameter, AOD/LAD)、左心室射血分数(ejection fraction, EF)、左心室射血时间(left ventricular ejection time, LVET)、每搏量(stroke volume, SV)、每搏量指数(stroke volume index, SI)、心输出量(cardiac output, CO)、心排量指数(cardiac output index, CI)、左心室短轴缩短分数(fractional shortening, FS)、左心室心肌质量(left ventricular myocardial mass, LVM)、心脏指数(velocity Time Integral, VTI)、左心室心肌质量指数(left ventricular myocardial mass index, LV MASS-I)。

1.4 转录组测序

1.4.1 RNA 提取、文库建立及测序 使用 TRIzol®试剂(magen)从血液样本中提取总 RNA。采用 Nanodrop ND-2000(thermo scientific, USA)检

测 RNA 样本的 $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 吸光度比, Agilent Bioanalyzer4150 (Agilent Technologies, CA, USA) 测定 RNA 的 RIN 值, 并且只有质检合格的 RNA 才能用于文库的构建。

样本检测合格后, 按照 ABclonal mRNA-seq Lib Prep Kit (ABclonal, China) 说明书制备 PE 文库。使用 oligo (dT) 磁珠从 1 μg 总 RNA 中纯化 mRNA, 然后在 ABclonal First Strand Synthesis Reaction Buffer 中进行 mRNA 片段化。随后, 以 mRNA 片段作为模板, 使用随机引物和逆转录酶 (RNase H) 合成 cDNA 的第一链, 然后使用 DNA 聚合酶 I、RNAseH、缓冲液和 dNTPs 合成 cDNA 的第二链。随后利用 AMPureXPbeads 纯化双链 cDNA, 纯化的双链 cDNA 再进行末端修复、加 A 尾并连接测序接头, 然后用 AMPureXPbeads 进行片段大小选择, 最后进行 PCR 富集得到最终的 cDNA 文库, 并使用 Agilent Bioanalyzer 4150 评估文库质量。最后, 使用 NovaSeq 6000 测序平台 PE150 读长进行测序。从 Illumina 平台生成的数据用于生物信息学分析, 所有分析均由上海中科新生命生物科技有限公司完成。

1.4.2 测序数据质控 fastq 格式的原始数据首先通过 perl 脚本进行处理, 去除接头序列, 过滤掉低质量 (低质量, 碱基质量值小于等于 25 的碱基数占整个 reads 60% 以上) 和 N (N 表示无法确定碱基信息) 比例大于 5% 的 reads, 获得可用于后续分析的 clean reads。

1.4.3 与参考基因组比对 将质控后的 Clean Reads 值比对到已知马的参考基因组 (https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/refseq/vertebrate_mammalian/Equus_caballus/latest_assembly_versions/GCF_002863925.1_EquCab3.0/GCF_002863925.1_EquCab3.0_genomic.fna.gz) 上。使用 HISAT2 软件将获得的 Clean Reads 与已知的马参考基因组进行比对, 获取 Reads 在基因组上的定位信息。

1.4.4 定量分析 根据测序数据与马参考基因组上位置信息的比对, 统计每个基因的 Reads 数, 分别过滤去除比对质量值低于 10 的 Reads、未成对的 Reads 以及比对位置在基因组多个区域的 Reads。随后利用 Subread 软件中的 Feature Counts 工具对数据进行定量分析。

1.4.5 差异基因分析 对于 12 个样本的基因表达定量测定完成后对其表达数据进行统计学分析,

使用 DESeq 筛选不同状态下表达水平显著差异的基因, 以 $|\log_2(\text{Fold Change})| > 1$ 且 $P < 0.05$ 为标准筛选差异表达基因。

1.4.6 差异表达基因聚类及富集分析 对差异基因的表达值进行聚类分析, 将赛前、赛后两组数据所得的差异基因进行聚类分析, 表达相近的基因聚在一起。根据 DEGs 分析得到基因表达量后, 使用 Cluster Profiler 软件对竞赛前、赛后伊犁马的差异基因集进行 GO 和 KEGG 富集分析。

1.4.7 实时荧光定量 PCR 从转录组测序结果中随机选取了 6 个与马匹心脏有关的 DEGs 进行实时荧光定量验证, 选取 *GAPDH* 作为内参基因, 基因引物根据 Primer-BLAST 设计, 具体验证引物信息如表 1 所示。结果用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算目标基因表达量, 进一步评判转录组测序数据的准确性和重复性。

1.4.8 数据分析 使用 Excel 2021 对测量所得的心脏结构、功能指标进行整理。以 $P < 0.05$ 且 $|\log_2(\text{Fold Change})| > 1$ 作为差异表达基因的筛选标准, 排除存在不表达的基因, 得到可靠的差异基因, 进行 GO 功能注释和 KEGG 通路注释。使用 SPSS 26.0 皮尔逊相关分析对心脏结构、功能指标数据与所筛选关键差异基因间的相关性进行分析, $P > 0.05$ 为无显著相关, $P < 0.05$ 为显著相关, $P < 0.01$ 为极显著相关, *表示 $P < 0.05$, **表示 $P < 0.01$ 。

2 结果

2.1 测序数据统计与分析

通过对 12 个样本提取 RNA、构建文库、上机测序后, 平均每个样本获得 46 269 521 条 raw read, 平均每个样本获得 clean read 45 880 398 条, 平均有效数据占比 99.15%。各样本的 GC 含量在 49.05%~50.96% 之间, $Q_{30} \geq 94.81\%$, 表明测序数据的质量较高, 可用于下一步的 DEGs 分析, 结果如表 2 所示。

2.2 DEGs 筛选及聚类分析

通过数据质控、基因组序列比对及基因定量后, 在伊犁马血液样本中鉴别出 23 581 个基因, 将 $|\log_2(\text{FoldChange})| > 1$ 且 $P < 0.05$ 作为筛选 DEGs 的标准。最终, 从伊犁马 5 000 m 竞赛前后的血液样本中鉴定出 889 个 DEGs, 相对于竞赛前组, 竞赛后组中有上调基因 751 个、下调基因 138 个, 如图 1A 所示。对 DEGs 进行层次聚类分析发现, 伊犁马

表 1 实时荧光定量引物

Table 1 Real-time fluorescent quantitative primers

基因 Gene	引物序列 Primer sequence	产物长度/bp Product size	退火温度/℃ Annealing temperature
<i>HSPA6</i>	AGCCCGGTTTGAGGAATTGT CCTTGGAATGCGGGTAGAG	140	60
<i>TMEM150C</i>	TCATGTCCCAAGGCATCCAC CTCGTAACGGTAATGCCGGA	113	60
<i>HSPA1B</i>	AGGCGGAGAAGTACAAAGCC TCCACTGCGCTCTTCATGTT	100	60
<i>CCDC117</i>	ACTACACAGGAGAGAGCCAGA AGCAGCTGTCTCCACACTAT	125	59
<i>LSMEM2</i>	GCCTGAGGAGACCAGAGAAG CACAGCGATGGTGGCAAGAT	207	60
<i>ABCA6</i>	CTGGCCAAGGTGTGATGAGT CCATGTCACTCAGAGCCTCC	192	59
<i>GAPDH</i>	ACCACTTTGGCATCGTGGAG GCCATCGCGCCACATCT	101	60

表 2 测序数据质量评估

Table 2 Sequencing data quality assessment

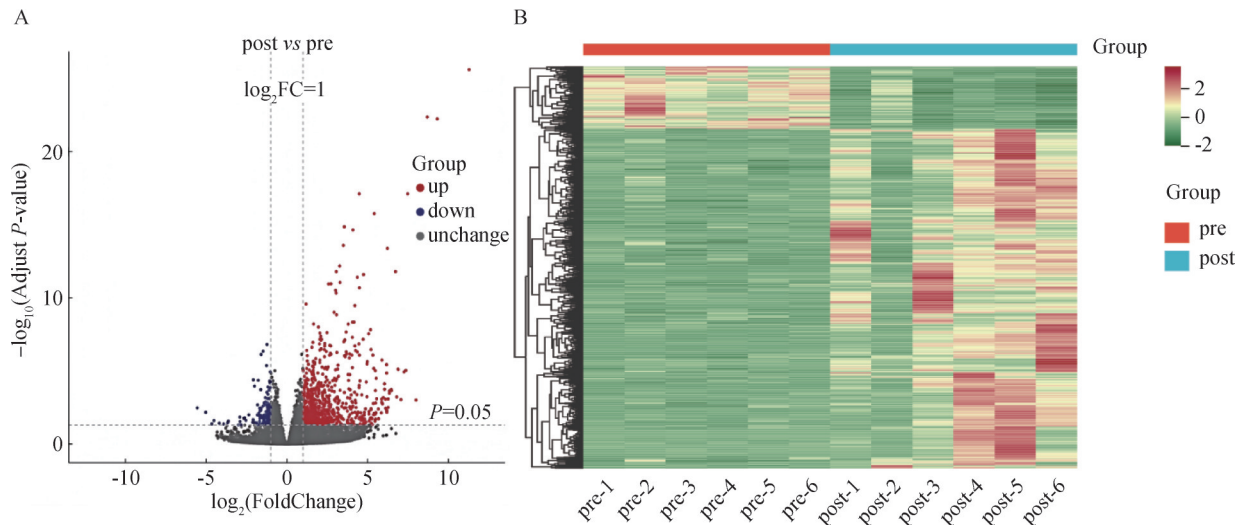
样本编号 Sample ID	原始数据/条 Raw reads	高质量数据/条 Clean reads	错误率/% Error	Q30/%	GC/%
post-1	41 817 280	41 501 952	0.01	94.99	49.05
post-2	39 175 094	38 810 410	0.01	94.84	50.36
post-3	42 153 256	41 759 112	0.01	94.99	50.36
post-4	47 757 550	47 378 840	0.01	95.12	50.87
post-5	48 628 054	48 229 232	0.01	95.03	49.63
post-6	41 245 032	40 937 134	0.01	95.36	50.96
pre-1	52 542 720	52 062 014	0.01	94.91	49.96
pre-2	48 850 700	48 486 766	0.01	95.16	49.38
pre-3	49 443 516	48 991 572	0.01	94.99	49.75
pre-4	37 463 198	37 162 120	0.01	95.06	49.38
pre-5	49 502 576	49 082 372	0.01	95.14	50.35
pre-6	56 655 278	56 163 258	0.01	94.81	50.05

5 000 m 竞赛前后对基因表达量影响差异较大,如图 1B 所示。

2.3 DEGs 的 GO 功能注释和富集分析

将伊犁马 5 000 m 竞赛前后 DEGs 进行 GO 功能注释,共有 1 264 个基因被注释到 2 058 条 GO 条目,其中被注释到的生物过程(BP)有 1 732 个条目上,细胞成分(CC)有 108 个条目,分子功能(MF)有 218 个条目,富集到这 3 个过程的前 10 个条目,如图 2 所示。DEGs 主要涉及多细胞生物过程

(multicellular organismal process)、细胞对外部刺激
的响应(cellular response to external stimulus)、发育
过程(developmental process)、细胞对外部刺激的响
应(cellular response to extracellular stimulus)等生物
过程;涉及分子功能调节因子(molecular function
regulator)、信号受体结合(signaling receptor
binding)、细胞因子活性(Cytokine activity)、有机羟
基化合物跨膜转运活性(organic hydroxy compound
transmembrane transporter activity)等分子功能(图 3)。



红色点表示显著上调的基因,蓝色点表示显著下调的基因,灰色点表示差异表达不显著的基因;横坐标表示样本中基因表达倍数的变化;纵坐标表示基因表达量变化的显著性(图A)。pre表示竞赛前,post表示竞赛后(图B),下图同

Red dots indicate significantly up-regulated genes, blue dots indicate significantly down-regulated genes, and gray dots indicate the differential expression of genes are not significant; horizontal coordinates indicate the change in gene expression folds in the sample; vertical coordinates indicate the significance of the change in gene expression (Figure A). The pre indicates pre-competition, post indicates post-competition (Figure B), the following pictures are the same

图1 差异表达基因火山图(A)和聚类热图(B)

Fig. 1 The volcano map (A) and clustered heat map (B) of differentially expressed genes

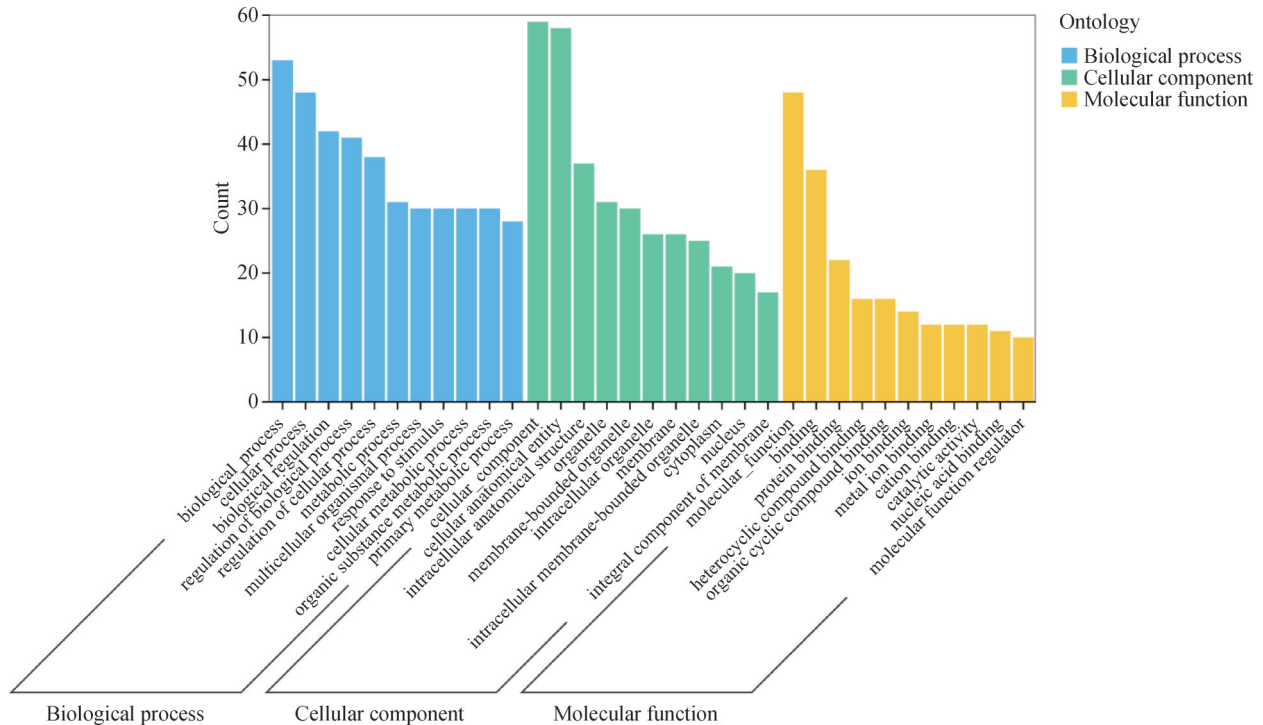


图2 BP、CC、MF前10条GO条目

Fig. 2 Top 10 GO terms for BP, CC and MF

2.4 差异表达基因 KEGG 富集分析

为进一步探究 5 000 m 竞赛前后伊犁马血液样

本中的 DEGs 的功能,对其进行 KEGG 富集分析,结果显示,DEGs 共富集于 196 条通路中,其中显著富

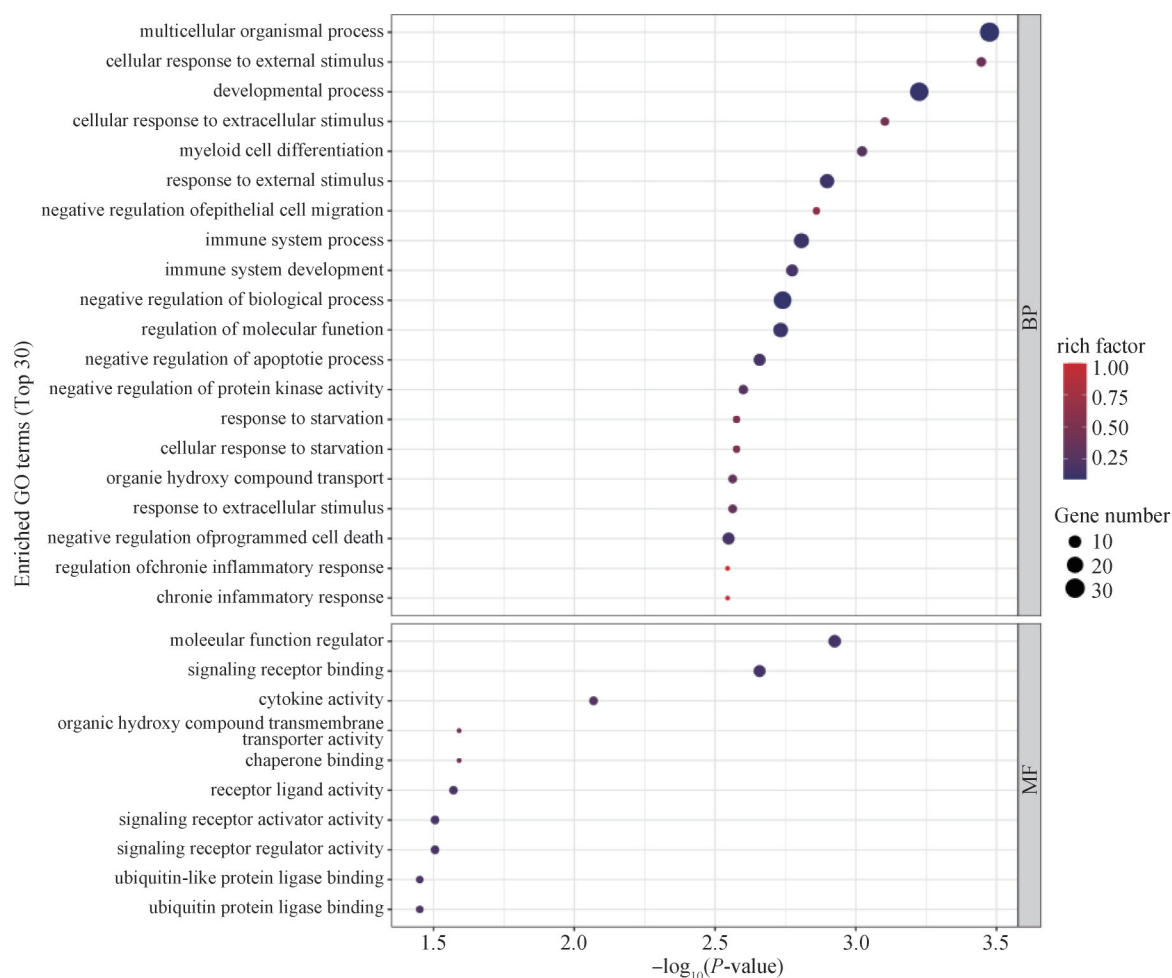


图3 差异表达基因GO富集气泡图

Fig. 3 Bubble map of GO enrichment of differentially expressed genes

集的通路有30条($P < 0.05$),图4为显著性最高的20条通路,包括:IL-17信号传导途径(IL-17 signaling pathway)、细胞因子-细胞因子受体的相互作用(cytokine-cytokine receptor interaction)、MAPK信号通路(MAPK signaling pathway)、Jak-STAT信号通路(Jak-STAT signaling pathway)等信号通路。

2.5 关键基因的筛选及表达趋势分析

2.5.1 筛选关键基因 筛选 $P < 0.01$ 且 $|\log_2(\text{foldchange})| > 1.2$ 的差异基因,将所筛选的差异基因利用STRING数据库获得与差异基因相对应蛋白质之间的相互作用关系网络图,把结果图导入Cytoscape3.9.1,使用软件中MCODE插件(筛选参数为Degree Cutoff为2,Node Score Cutoff为0.2,K-Core为2)进一步筛选差异表达基因,并绘制基因网络图,选取得分最高的基因网络图作为关键基因,结果如图5所示。

2.5.2 关键基因的表达趋势分析 用 P 值和 $\log_2(\text{FoldChange})$ 值($\log_2(\text{FoldChange}) > 1$ 表示上调, $\log_2(\text{FoldChange}) < 1$ 表示下调)对关键基因表达趋势进行分析, *CCL3*、*CSF1*、*CSF3*、*IFNG*、*IL4* 显著上调, *IL10* 显著下调,如表3所示。

2.6 实时荧光定量PCR验证转录组数据

为验证本试验转录组测序结果的准确性,随机选取6个与伊犁马心脏指标相关的基因,分别是 *HSPA6*、*HSPA1B*、*LSMEM2*、*TMEM150C*、*CCDC117*、*ABCA6*,试验所用荧光定量验证的RNA样品与RNA-seq建库测序所用的样品一致。以 *GAPDH* 为内参基因进行qRT-PCR验证。验证结果如图6所示,qRT-PCR中的6个验证基因在5000 m竞赛前后的表达水平及变化趋势与RNA-seq测序分析所得结果的表达趋势一致,表明本研究中RNA-seq数据分析结果具有可信度,可用于下一步研究。

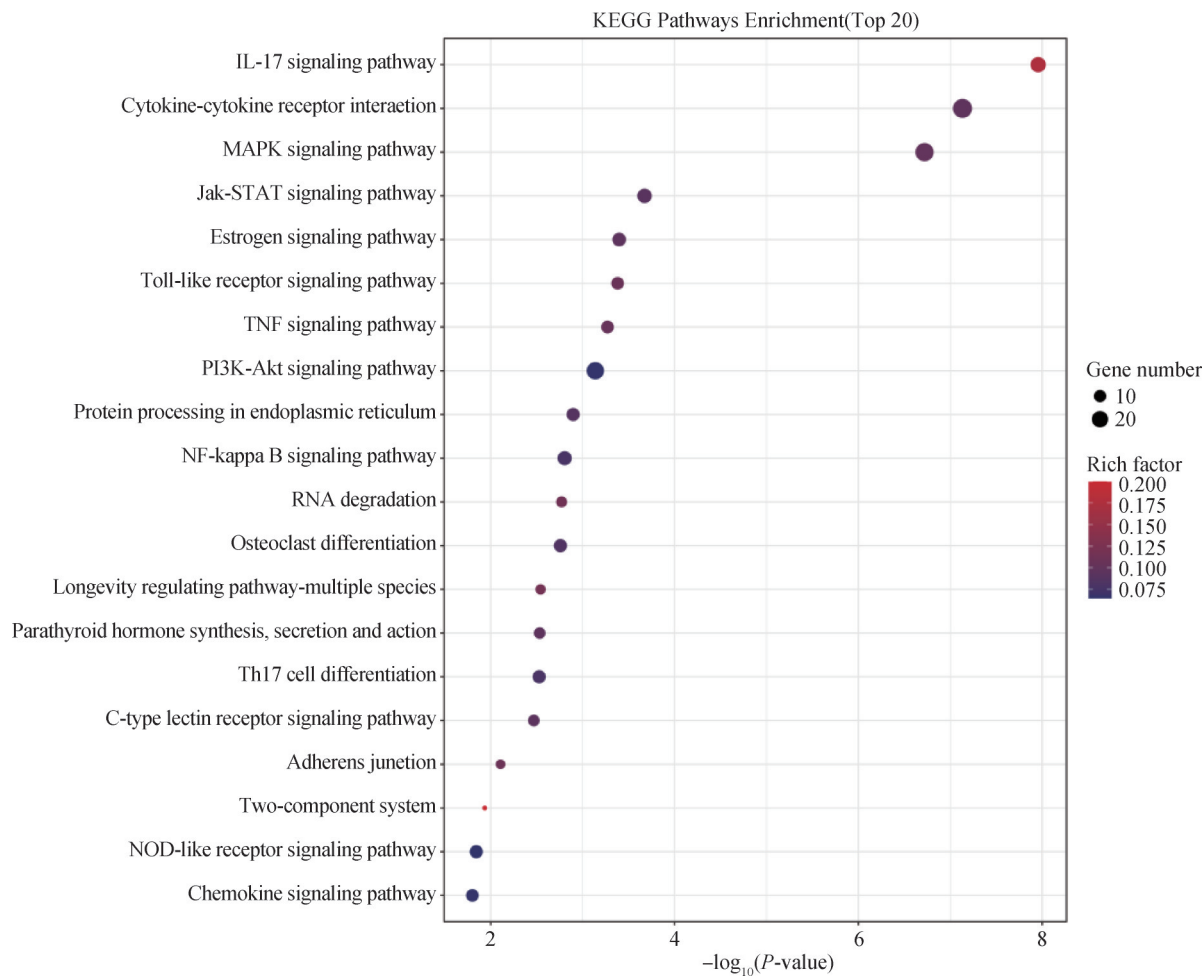


图4 差异表达基因 KEGG 富集气泡图
Fig. 4 Bubble map of KEGG enrichment of differentially expressed genes

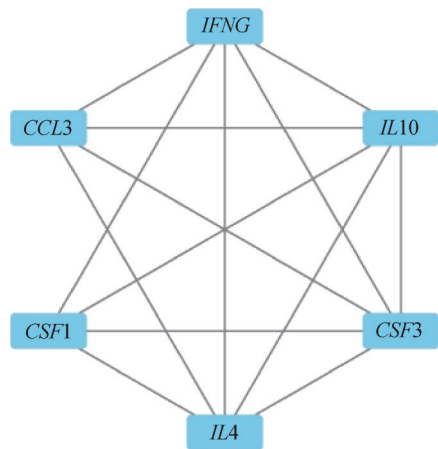


图5 关键基因网络图
Fig. 5 Key genes network diagram

2.7 关键基因与心脏指标相关性分析

2.7.1 关键基因赛前表达量与心脏指标相关性分析 通过对关键基因竞赛前表达量与伊犁马心脏结构指标做相关分析,结果如图 7A 所示,CSF3

表3 关键基因表达量趋势表

Table 3 Trends in expression of key genes				
基因 Gene	差异倍数 $\log_2(\text{FoldChange})$	P值 P-value	P值校正 P adj	趋势 Trend
CCL3	1.644 5	9.50E-09	2.57E-06	Up
CSF1	1.279 1	6.77E-06	5.44E-04	Up
IL4	1.831 3	2.72E-05	1.64E-03	Up
CSF3	1.218 8	2.05E-04	7.47E-03	Up
IFNG	1.847 9	2.64E-03	4.46E-02	Up
IL10	-1.289 3	8.23E-05	3.81E-03	Down

与LVFWs显著负相关($P<0.05$),IFNG与AODd显著正相关($P<0.05$),IL4与MVD极显著正相关($P<0.01$),与LVLD显著正相关($P<0.05$),IL10与RVDs显著正相关($P<0.05$)。关键基因竞赛前表达量与伊犁马心脏功能指标无显著差异($P>0.05$),如图 7B 所示。

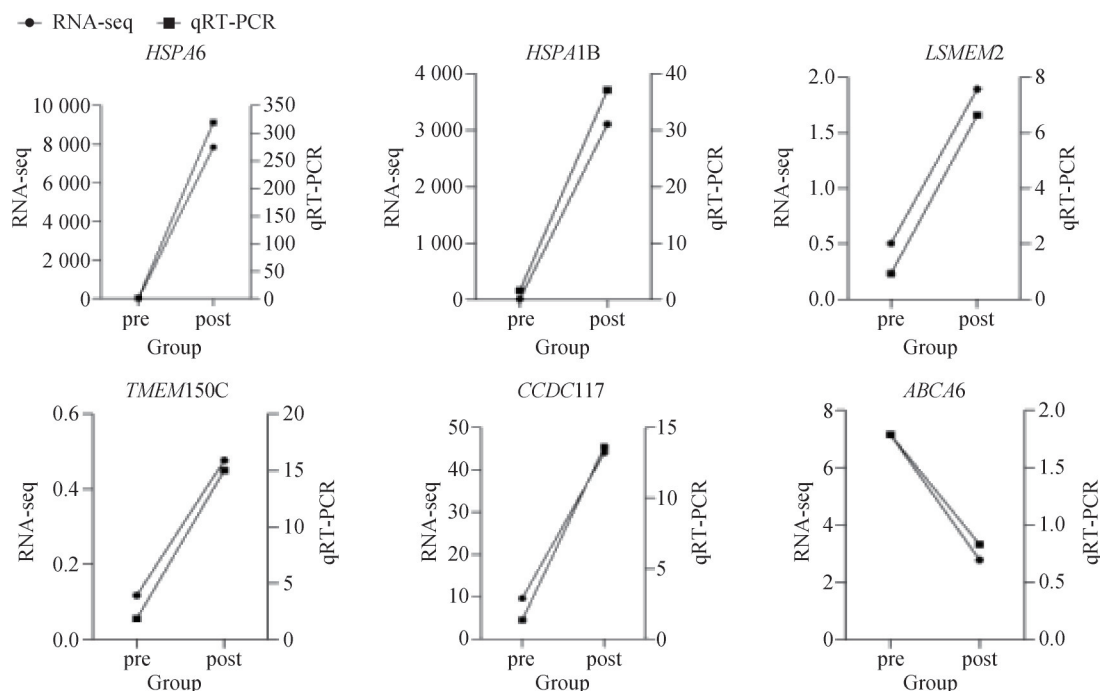
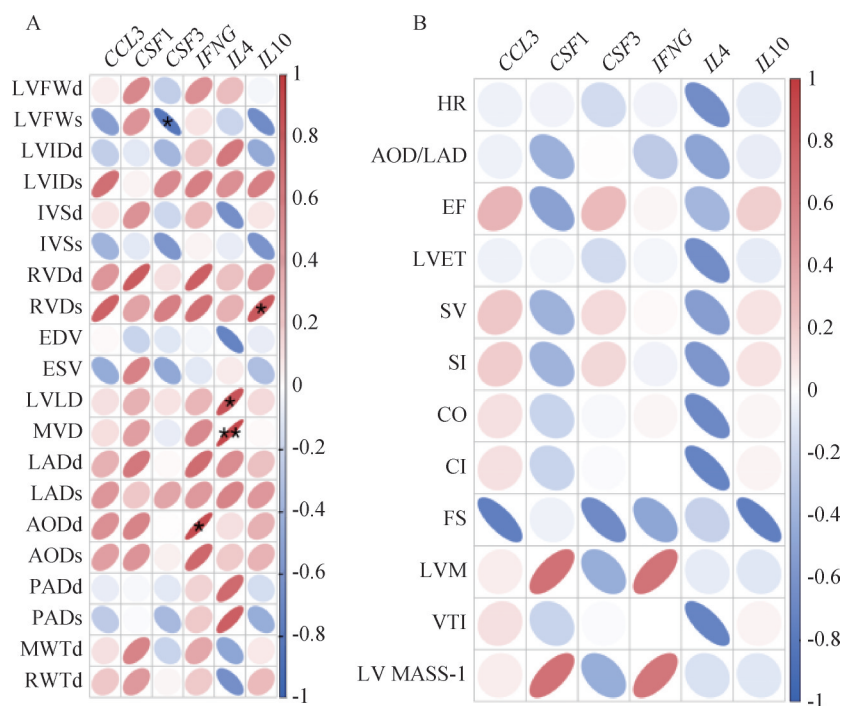


图6 差异表达基因表达趋势图

Fig. 6 Trend plot for differentially expressed genes expression



图中红色表示关键基因与心脏结构指标呈正相关关系,蓝色表示关键基因与心脏结构指标呈负相关关系,颜色深浅由 P -value 决定, P -value 越接近 0 颜色越浅,越接近 0.01 越深。下图同

The red in the figure indicates a positive correlation between key genes and cardiac structural indexes, while the blue indicates a negative correlation between key genes and cardiac structural indexes, and the color depth is determined by the P -value, the closer the P -value is to 0 the lighter the color is, and the closer the P -value is to 0.01 the darker the color is. The following figures are the same

图7 关键基因赛前表达量与心脏结构、功能指标相关性 corplot 图

Fig. 7 Corplot of the correlation between pre-competition expression of key genes and cardiac structural and functional indexes

2.7.2 关键基因赛后表达量与心脏结构指标相关性分析 通过对关键基因竞赛后表达量与伊犁马心脏结构指标做相关分析,结果如图 8A 所示,*CCL3*与PADs极显著正相关($P<0.01$),与LVIDd显著正相关($P<0.05$),与RWTd显著负相关($P<0.05$);*CSF1*与PADd极显著正相关($P<0.01$),与RWTd显著负相关($P<0.05$);*CSF3*与IVSd、EDV显著负相关($P<0.01$);*IFNG*与PADd显著正相关($P<0.05$),与IVS、MWTd、RWTd显著负相关

($P<0.05$);*IL10*与LVLD极显著正相关($P<0.01$)、与MVD显著正相关($P<0.05$)、与EDV显著负相关($P<0.05$)。

2.7.3 关键基因赛后表达量与心脏功能指标相关性分析 通过对关键基因竞赛后表达量与伊犁马心脏功能指标做相关分析,结果如图 8B 所示,*CSF3*与SV、SI、CI、VTI显著负相关($P<0.05$);*IFNG*与SI显著负相关($P<0.05$);*IL10*与CO、CI、VTI显著负相关($P<0.05$)。

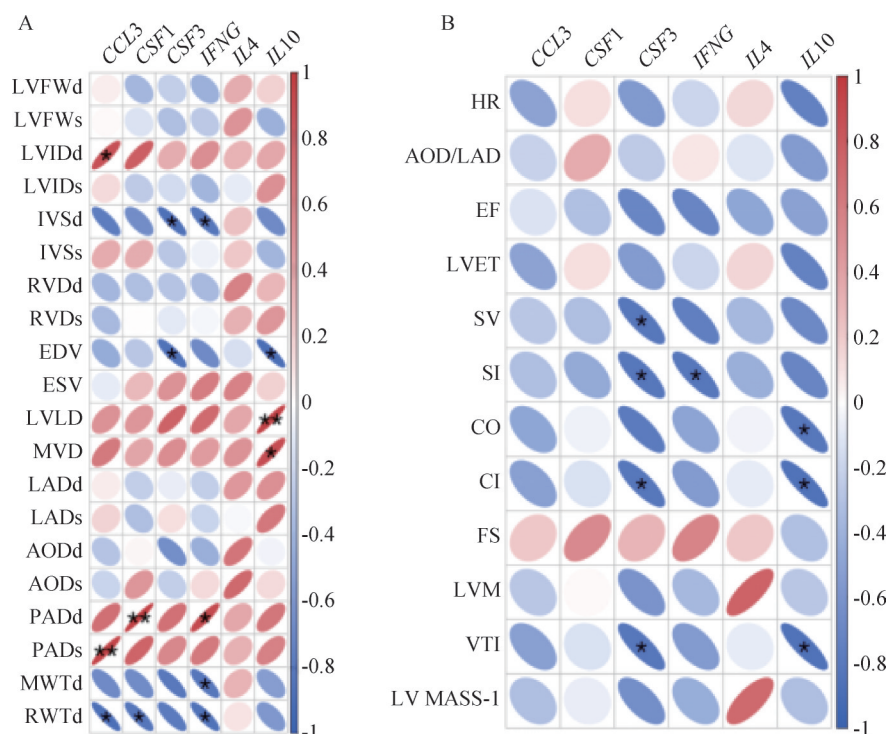


图 8 关键基因赛后表达量与心脏结构、功能指标相关性 corplot 图

Fig. 8 Corplot of correlation of key genes post-competition expression with cardiac structural and functional indexes

2.8 关键基因与运动性能指标相关性分析

通过对关键基因竞赛后表达量与伊犁马运动性能指标做相关分析,结果如图 9 所示,*CSF1*与马匹名次呈显著正相关($P<0.05$)、与赛事绩点呈极显著负相关($P<0.01$)、与奖金显著负相关($P<0.05$),*IFNG*与赛事绩点、奖金显著负相关($P<0.05$)。

3 讨 论

在剧烈运动过程中,机体会产生复杂的适应性应答反应,其中机体对剧烈运动的反应机制主要包括:机械应力和缺血^[12]、肌肉损伤和修复^[13]、免疫细胞的激活^[13]、氧化应激^[14]、炎症反应^[15]等。机体对剧烈运动所出现的适应性反应在人类中的研究较

为多,在一篇系统综述中探讨了单次运动对未受训练成年人免疫和炎症指标的急性影响,结果表明,运动后血液中白细胞计数和炎症标志物(如 C 反应蛋白、IL-6 等)水平显著升高,这反映了免疫系统的激活,帮助机体抵抗运动带来的不利影响^[16]。然而,关于伊犁马机体对剧烈运动的适应性应答反应的研究缺乏。因此,本试验通过解析伊犁马 5 000 m 竞赛前后血液转录组学挑选关键基因,将关键基因与伊犁马心脏结构、功能指标相结合分析,探究伊犁马心脏结构、功能与关键基因对伊犁马剧烈运动诱导的生理反应,为马运动调控机制和作用机理的深入研究提供理论技术和数据支撑。

利用转录组测序技术对伊犁马 5 000 m 竞赛前

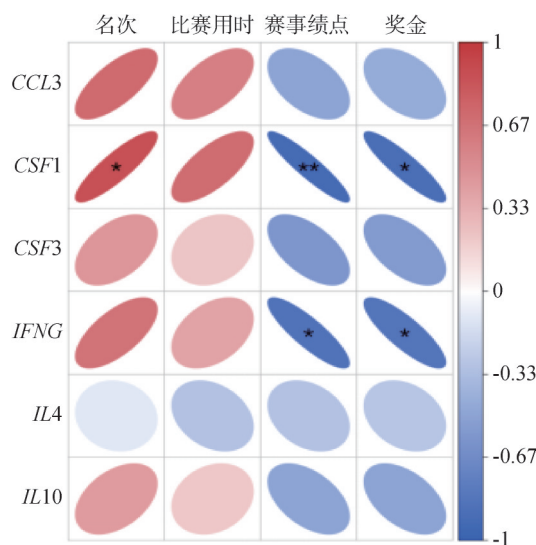


图9 关键基因与马匹运动性能相关性corplot图

Fig. 9 Corplot of correlation between key genes and equine athletic performance

后的血液样本进行DEGs筛选和功能富集分析,为了保证转录组测序数据的准确性,随机选取6个DEGs用于实时荧光定量PCR验证,发现实时荧光定量PCR与转录组所得基因表达的变化趋势一致,表明测序数据的准确性和可靠性较高。本研究共筛选到889个DEGs,上调基因751个、下调基因138个,其中关键上调基因有CCL3、CSF1、CSF3、IFNG、IL4,关键下调基因有IL10。GO功能注释表明,这些关键DEGs主要涉及细胞对刺激的应答反应和免疫调节等生物过程,该生物过程在运动中发挥多种关键作用,包括感知机械力、调节能量代谢、防御氧化应激、响应激素和细胞因子信号、调节线粒体功能和炎症反应,这些通路相互协调,使机体细胞能够适应运动带来的生理应激,促进运动后的修复和适应性变化^[17-20]。根据彭宣等^[11]对伊犁马的研究表明,LVIDd、LVIDs、LVLD、IVSd、EDV、ESV、MWTd、RWTd、SV、SI这10个关键心脏指标会影响伊犁马的运动性能,且在伊犁马中这些心脏指标越大运动性能越好,将关键基因与马匹运动性以及心脏指标联合分析关键基因在伊犁马运动中所发挥的作用。

3.1 CCL3在机体运动中的作用及其对心脏的影响

C基序趋化因子配体3(CCL3),也称为巨噬细胞炎症蛋白1 α ,是CC趋化因子家族中的一种细胞因子,主要由单核细胞、巨噬细胞、淋巴细胞等免疫

细胞产生,通过与其表面受体(如CCR1、CCR3和CCR5)结合发挥生物学效应,参与炎症反应和免疫细胞的趋化作用。CCL3在运动性炎症中可以通过双相调控机制协调炎症反应与组织修复。炎症启动阶段,高强度运动引起的骨骼肌微损伤激活巨噬细胞、中性粒细胞等免疫细胞分泌CCL3,其通过与CCR1/CCR5受体结合,募集更多炎症细胞(如单核细胞和M1型巨噬细胞)至损伤部位,清除坏死组织并释放IL-6、TNF- α 等促炎因子形成正反馈环路,这一过程与急性支气管炎模型中CCL3同步上调IL-6和TNF- α 的现象类似^[21-22],在修复阶段,CCL3通过调控巨噬细胞极化(M1向M2表型转换)促进抗炎因子(如IL-10)分泌,并激活VEGF、MMP-9等促修复分子,加速血管新生和细胞外基质重塑;在骨修复中,CCL3通过增强巨噬细胞向缺损部位迁移,间接促进成骨细胞活化和骨重塑^[23]。因此,运动中CCL3的动态变化既是炎症清除的“启动开关”,也是组织重塑的“调控枢纽”。关于机体产生炎症反应时,CCL3含量会显著上升的研究很多,在Mursalin等^[24]对小鼠眼内炎症的研究中,发现小鼠的眼内炎症严重程度与CCL2、CCL3的含量成正比。Gibaldi等^[25]对健康大鼠与患有心肌炎大鼠的研究中发现,在患有心肌炎大鼠的心脏组织中检测到CCL3的表达增加,CCL3的表达水平与心脏组织炎症的强度与急性相关,并且CCL3缺乏的小鼠心脏重量相对较小,左心室射血分数降低。本试验中,CCL3赛前表达量与各项心脏指标均无显著差异,而赛后CCL3表达量显著上升,与影响伊犁马运动性能的关键指标RWTd显著负相关,并且与SV、SI等心脏功能存在负相关关系,表明CCL3显著表达会对伊犁马的运动性能产生一定的负面影响,是因为CCL3作为一种炎症趋化因子,其表达水平能反映机体炎症及肌肉损伤程度。高强度运动会引起机体组织的微损伤导致局部炎症反应,在此过程中,CCL3会在炎症部位显著上调,而肌肉损伤会激活的局部免疫细胞(如巨噬细胞和中性粒细胞)也会分泌CCL3以招募更多的免疫细胞到达损伤部位,促进炎症反应和组织修复。因此,CCL3的上调可能是机体对高强度运动的一种保护性反应,但同时CCL3的上调代表机体存在炎症或肌肉损伤,导致了CCL3赛后表达量与马匹名次、比赛用时的正相关关系以及与赛事绩点、奖金的负相关关系。

3.2 CSF1和CSF3在机体运动中的作用及其对心脏的影响

巨噬细胞集落刺激因子(CSF1)和粒细胞集落刺激因子(CSF3)都属于集落刺激因子家族,不同的是CSF1基因编码的蛋白主要作用于巨噬细胞,是单核吞噬细胞存活、增殖、分化和功能的主要调节因子^[26];CSF3基因编码的蛋白核心作用靶点聚焦于粒细胞,主要通过与受体CSF3R结合,激活下游信号通路促进中性粒细胞的增殖、分化和存活^[27]。它们虽然作用于不同的白细胞,但是都在炎症反应中起到重要作用。

CSF1在运动性炎症中通过多维度机制动态平衡促炎与抗炎反应,其作用核心在于调控巨噬细胞表型转换及神经-免疫交互,CSF1通过调控巨噬细胞的增殖、分化与功能,在运动诱导的炎症中发挥双重作用,既参与急性期的促炎反应以清除损伤组织,又促进修复期的抗炎和组织稳态重建。在急性运动阶段,组织损伤释放的损伤相关分子模式(DAMPs)刺激单核细胞分泌CSF1,CSF1通过结合受体CSF1R激活下游信号通路(如Ras、PI3K、MAPK等),驱动巨噬细胞向促炎型M1极化,分泌IL-1 β 、IL-6等促炎因子以清除坏死组织碎片^[28-29],而在恢复期,CSF1促进M2型巨噬细胞极化,分泌IL-10、TGF- β 等抗炎因子,抑制过度炎症并促进组织修复和维持组织稳态^[30-31]。此外,运动还可能诱导的机械应力或神经损伤激活感觉神经元释放CSF1,通过脊髓运输募集并激活小胶质细胞(中枢巨噬细胞)参与痛觉过敏和炎症调控^[32-33]。本试验中,CSF1在伊犁马竞赛后表达显著上升,并且CSF1显著富集于MAPK和PI3K,表明CSF1在清除因伊犁马剧烈运动导致坏死的细胞组织方面起重要作用。此外,CSF1赛前表达量与各项心脏指标均无显著差异,而CSF1赛后表达量与伊犁马心脏指标RWTd显著负相关,与PADd显著正相关。CSF1上调幅度较小的马匹RWTd相对较大说明其马匹心脏室壁较厚,有助于增强心肌收缩功能提高心脏的泵血效率,PADd相对较小说明右心室的后负荷减小,提高心脏的耐久性和效率,运动能力更强。本研究中,CSF1与马匹名次显著正相关、与赛事绩点极显著负相关、与奖金显著负相关,表明CSF1上调对伊犁马运动性能产生负面影响,而运动性能与心脏结构较好的马匹,急性运动阶段机体组织细胞损伤可能较小,CSF1上调表达较小。

CSF3是控制骨髓祖细胞增殖和分化为中性粒细胞的主要造血细胞因子^[34],能够缩短中性粒细胞从骨髓祖细胞到成熟细胞的发育时间,从而快速补充外周血中的中性粒细胞,CSF3还可以通过与特异性受体CSF3R结合激活JAK-STAT、Ras等信号通路^[35],从而促进粒系细胞的增殖、分化与存活,CSF3通过调节中性粒细胞的活性,间接参与炎症反应的调控,Silva等^[36]对CSF3在水牛牛乳中表达谱的研究发现,在患有乳腺炎的水牛牛乳中CSF3的表达量极显著高于健康水牛,归因于CSF3刺激中性粒细胞杀菌活性、趋化性和吞噬作用,来减少和调节促炎细胞因子的释放来促进抗炎作用^[37]。CSF3还参与机体组织的修复,赵杰修等^[38]对大鼠长期递增负荷跑台运动的研究中发现,大鼠运动后血清中CSF3水平显著升高,可能与运动后中性粒细胞需求增加及组织修复相关。在另一项大鼠高强度间歇运动的研究中发现,CSF3联合高强度间歇运动能够激活JAK2/STAT3信号通路,抑制心肌细胞凋亡,并且能够有效动员骨髓中的干细胞归巢至损伤心肌部位,并促进其分化为心肌细胞或血管内皮细胞,从而减少心肌损伤从而加速心肌修复^[39],本试验中CSF3在赛后显著上调,CSF3显著富集于JAK-STAT,表明CSF3在伊犁马竞赛过程中起修复和抑制心肌细胞凋亡作用,CSF3竞赛后表达量与IVSd、EDV、SV、SI、CI、VTI均显著负相关,说明心脏功能和结构更优的运动马可能因运动能力更强、心肌耐受性增强、炎症调控更高效,在高强度运动后需要较少的CSF3表达来应对损伤。因此,根据CSF3的表达水平在一定程度上可以评估马匹运动性能。

3.3 IFNG在机体运动中的作用及其对心脏的影响

IFNG基因编码干扰素- γ (IFN- γ),是一种细胞因子,IFN- γ 除了调节炎症反应外,在细胞介导的免疫反应中也起着关键作用。在免疫层面,IFNG作为II型干扰素的核心细胞因子,由激活的T细胞、NK细胞等分泌,其上调可直接增强抗原呈递能力,并激活巨噬细胞向促炎的M1表型极化,促进炎症细胞因子释放以清除损伤细胞^[40],并且IFNG通过增强T细胞和NK细胞的细胞毒性活性可以加速对受损细胞的免疫监视^[41]。在运动调控骨骼肌细胞凋亡的研究中分析了多项对运动与骨骼肌细胞的研究,表明运动更容易引起细胞死亡^[42],在本试验

中, *IFNG* 显著富集于坏死凋亡(Necroptosis)这一通路,参与细胞坏死凋亡的过程,伊犁马 5 000 m 竞赛后 *IFNG* 表达显著升高,是因为伊犁马在 5 000 m 竞赛过程中存在细胞受损,需要基因 *IFNG* 编码的 *IFN- γ* 来清除损伤细胞,反映了 *IFNG* 在伊犁马运动后清除因机械应力或氧化损伤导致的坏死细胞中发挥关键作用以及机体对剧烈运动引发的组织微损伤和代谢压力的免疫应答强化。此外, *IFN- γ* 还会影响心脏的再生能力, Dolejsi 等^[43] 研究发现, *IFN- γ* 通过促进炎症单核细胞和巨噬细胞的浸润,加剧心肌损伤后的炎症反应,从而推动心脏纤维化, *IFN- γ* 还可能通过抑制心肌细胞的增殖,阻碍心脏的再生能力,而敲除小鼠的 *IFNG* 基因可以减少纤维化并恢复心脏的再生能力。本试验中, *IFNG* 赛前表达量与关键心脏指标均无显著差异,而 *IFNG* 赛后表达量与影响伊犁马运动性能的关键心脏指标 IVSs、MWTd、RWTd、SI 显著负相关, *IFNG* 上调加速组织坏死细胞的清理,同时抑制了心肌细胞的增殖,从而影响马匹心脏泵血功能。 *IFNG* 赛后表达量与赛事绩点、马匹获得奖金显著负相关,表明 *IFNG* 显著表达会对马匹运动性能产生负面影响,除了 *IFNG* 会影响马匹心脏泵血功能外,马匹在运动过程中细胞大量死亡,也可能对机体产生不良影响。 *IFNG* 表达水平与马匹心脏指标与运动性能的显著关系表明 *IFNG* 可以作为评估伊犁马速度赛运动性能的标志基因之一。

3.4 IL4 和 IL10 在机体运动中的作用及其对心脏的影响

IL4 基因编码的蛋白质是由活化的 T 细胞产生的多效性细胞因子,细胞因子主要由肥大细胞、T 细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞分泌,在调节抗体产生、造血和炎症以及效应 T 细胞反应的发展中发挥作用^[44]。 *IL4* 在平衡免疫反应和抑制过度炎症之间起着至关重要的作用。 *IL4* 可以通过诱导巨噬细胞向 M2 型极化, M2 型巨噬细胞能够分泌抗炎细胞因子,抑制促炎细胞因子的产生,从而减轻炎症发挥抗炎作用^[45];另外 *IL4* 在过敏性疾病等情况下也可能表现出促炎特性。有研究表明,炎症对伤口愈合至关重要,但不平衡的免疫反应会阻碍组织修复和再生^[46], *IL4* 对炎症的双向调节机制在组织再生和免疫调节之间起着至关重要的桥梁作用^[47-48]。 Allen^[49] 研究表明, *IL4* 通过促进先天免疫中的抗炎途径和驱动适应性免疫中 Th2 介导的反应,从而有

效调节组织再生和修复,从而塑造巨噬细胞、树突状细胞(DCs)和 T 细胞的免疫反应, *IL4* 的表达量在伊犁马竞赛后显著上升对调节炎症平衡以及组织再生和修复有重要意义。另外, Yang 等^[50] 研究发现嗜酸性粒细胞与 *IL4* 对心脏肥大存在作用,嗜酸性粒细胞缺陷的小鼠会诱导心脏肥大,而嗜酸性粒细胞分泌的 *IL4* 能够抑制心肌细胞的肥大和死亡,在异丙肾上腺素诱导的心肌细胞肥大模型中, *IL4* 显著抑制心肌细胞肥大标志物的表达,在嗜酸性粒细胞缺陷小鼠中,因缺少嗜酸性粒细胞分泌 *IL4*,导致心脏肥大加剧,表明 *IL4* 在心脏肥大中发挥着重要的保护作用。 *IL4* 赛前表达量与 LVLd 显著正相关,与 MVD 极显著正相关, *IL4* 赛后表达量与心脏指标均无显著差异,表明 *IL4* 在伊犁马赛前机体正常情况下,维持心脏稳定,而在赛后 *IL4* 通过细胞因子-细胞因子受体相互作用途径与其受体 *IL-4R* 结合,调节免疫细胞活性进而调节炎症反应以及促进组织的修复和再生。

IL10 基因编码的蛋白质主要由单核细胞产生,在较小程度上由淋巴细胞产生,与 *IL4* 基因编码的细胞因子同属于白细胞介素类,其在炎症与免疫方面有着相似的功能, *IL10* 细胞因子在炎症期间维持组织的基本功能稳态,通过限制过度的炎症反应、先天免疫的上调和促进组织修复^[51]。但不同的是, *IL10* 与 *IFNG* 具有一定拮抗作用, *IL10* 可以通过抑制抗原呈递细胞的功能,间接抑制 Th1 细胞的活化和 *IFN- γ* 的分泌^[52],而本研究中 *IFNG* 表达量在伊犁马竞赛后显著上升,所以 *IL10* 通过降低表达量减少对 *IFN- γ* 分泌的抑制作用,从而维持机体炎症反应及免疫反应的动态平衡。王建敏等^[53] 研究表明,上调 *IL10* 表达水平可以改善心脏功能,因此本试验中出现 *IL10* 赛前表达量与心脏功能均无显著差异,而赛后 *IL10* 表达量下调与心脏功能指标 CO、CI、VTI 显著负相关这一结果。

综上所述,关键基因 *CCL3*、*CSF1*、*CSF3*、*IFNG*、*IL4*、*IL10* 在马匹运动过程中对调节机体产生的运动性炎症有至关重要的作用。此外, *IFNG* 赛后表达量与评估马匹运动性能的赛事绩点、奖金呈显著负相关,其调控方向与心脏功能指标对运动性能的影响高度一致。 *CSF1* 与关键心脏指标 RWTd 显著负相关,还与评估马匹运动性能的名次显著正相关、赛事绩点极显著负相关、奖金显著负相关。表明 *IFNG*、*CSF1* 可以作为评估伊犁马速度

赛运动性能的标志基因。*CCL3*、*CSF3*、*IL4*、*IL10* 表达量虽与马匹运动性能指标无显著差异,但与马匹心脏指标存在显著联系,这些基因在伊犁马竞赛过程中对维持心脏稳态、调控免疫细胞浸润及促进组织修复有重要意义,因此可作为运动适应性评估的辅助指标。

4 结 论

本试验在伊犁马 5 000 m 竞赛前后血液样本中共鉴定到 889 个 DEGs,其中筛选出 *CCL3*、*CSF1*、*CSF3*、*IFNG*、*IL4*、*IL10* 作为关键基因, *CCL3*、*CSF1*、*CSF3*、*IFNG*、*IL4*、*IL10* 在调节机体炎症反应、组织修复等方面有重要作用。*CSF1* 赛后表达量与关键心脏指标 RWTd 显著负相关、与马匹名次显著正相关、与赛事绩点极显著负相关、与奖金显著负相关, *IFNG* 赛后表达量与关键心脏指标 IVSd、MWTd、RWTd、SI 显著负相关、与马匹赛事绩点、奖金显著负相关,这 2 个基因与心脏关键指标、马匹运动性能存在明显内在联系,此结果可为明确伊犁马运动诱导的生理反应,丰富伊犁马运动、分子遗传机制和调控机理的理论,为伊犁马运动调控机制和作用机理的深入研究提供理论技术和数据支撑。

参考文献(References):

- [1] 魏睿元. 内蒙古马匹耐力运动训练代谢组学的研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2020.
WEI R Y. Research on metabolomics of exercise training in Inner Mongolian horse endurance [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2020. (in Chinese)
- [2] YANG L P, LI P C, HUANG X X, et al. Effects of combined transcriptome and metabolome analysis training on athletic performance of 2-year-old trot-type Yili horses[J]. *Genes*, 2025, 16(2):197.
- [3] 李雪妍. 伊犁马训练前后血液转录组与运动性能关联性分析[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学,2022.
LI X Y. Correlation analysis of blood transcriptome and exercise performance in Yili horse before and after training [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2022. (in Chinese)
- [4] 崔凯, 吴伟伟, 刁其玉. 转录组测序技术的研究和应用进展[J]. 生物技术通报, 2019, 35(7):1-9.
CUI K, WU W W, DIAO Q Y. Application and research progress on transcriptomics [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2019, 35(7):1-9. (in Chinese)
- [5] 贾昌路, 张瑶, 朱玲, 等. 转录组测序技术在生物测序中的应用研究进展[J]. 分子植物育种, 2015, 13(10):2388-2394.
JIA C L, ZHANG Y, ZHU L, et al. Application progress of transcriptome sequencing technology in biological sequencing [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2015, 13(10):2388-2394. (in Chinese)
- [6] 刘红亮, 郑丽明, 刘青青, 等. 非模式生物转录组研究[J]. 遗传, 2013, 35(8):955-970.
LIU H L, ZHENG L M, LIU Q Q, et al. Studies on the transcriptomes of non-model organisms [J]. *Heredity*, 2013, 35(8):955-970. (in Chinese)
- [7] 刘冠, 赵婷婷, 杨欢欢, 等. 番茄转录组学研究进展[J]. 基因组学与应用生物学, 2016, 35(10):2802-2807.
LIU G, ZHAO T T, YANG H H, et al. Research progress on transcriptomics in tomato [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2016, 35(10):2802-2807. (in Chinese)
- [8] 黄娟, 邓娇, 陈庆富. 荞麦根的转录组学分析及黄酮合成基因的鉴定[J]. 中国农业科技导报, 2017, 19(2):9-19.
HUANG J, DENG J, CHEN Q F. Transcriptome analysis of fagopyrum root and identification of genes involved in flavonoid biosynthesis [J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2017, 19(2):9-19. (in Chinese)
- [9] 何思羽, 王清. 基于生物信息分析方法筛选多发性骨髓瘤差异表达基因[J]. 山东医药, 2019, 59(15):28-32.
HE S Y, WANG Q. Screening differentially expressed genes in multiple myeloma based on bioinformatic analysis [J]. *Shandong Medical Journal*, 2019, 59(15):28-32. (in Chinese)
- [10] CHANDA M, PETCHDEE S. Cardiac morphology changes in horses as a response to various types of sports[J]. *J Appl Anim Res*, 2022, 50(1):453-459.
- [11] 彭宣, 王彤亮, 孟军, 等. 2岁伊犁马心脏维度与运动性能的关联性分析[J]. 畜牧兽医学报, 2024, 55(7):2963-2972.
PENG X, WANG T L, MENG J, et al. Correlation analysis of cardiac dimensions and racing performance in 2 years old Yili horses [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2024, 55(7):2963-2972. (in Chinese)
- [12] LE GOFF C, GERGELÉ L, SEIDEL L, et al. Mountain ultra-marathon (UTMB) impact on usual and emerging cardiac biomarkers[J]. *Front Cardiovasc*

- Med*, 2022, 9: 856223.
- [13] LIAO P, HE Q, ZHOU X, et al. Repetitive bouts of exhaustive exercise induces a systemic inflammatory response and multi-organ damage in rats [J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 685.
- [14] DUAN F F, GUO Y, LI J W, et al. Antifatigue effect of luteolin-6-C-neohesperidoside on oxidative stress injury induced by forced swimming of rats through modulation of Nrf2/ARE signaling pathways [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 3159358.
- [15] OTOCKA-KMIECIK A, ORŁOWSKA-MAJDAK M, STAWSKI R, et al. Effect of exercise repetitions on arylesterase activity of PON1 in plasma of average-trained men: The dissociation between activity and concentration [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2023, 12(6): 1296.
- [16] BROWN W M, DAVISON G W, MCCLEAN C M, et al. A systematic review of the acute effects of exercise on immune and inflammatory indices in untrained adults [J]. *Sports Med Open*, 2015, 1(1): 35.
- [17] GRAHAME D, HARDIE A. AMP-activated protein kinase: an energy sensor that regulates all aspects of cell function [J]. *Genes Dev*, 2011, 25(18): 1895-1908.
- [18] SCOTT K, POWERS E E, TALBERT P J, et al. Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle [J]. *J Physiol*, 2011, 589(9): 2129-2138.
- [19] PEDERSEN B K, FEBBRAIO M A. Muscle as an endocrine organ: Focus on muscle-derived interleukin-6 [J]. *Physiol Rev*, 2008, 88(4): 1379-1406.
- [20] BOOTH F W, ROBERTS C K, LAYE M J. Lack of exercise is a major cause of chronic diseases [J]. *Physiol Rev*, 2002, 82(2): 439-473.
- [21] 袁颖, 高静琰, 薛明明, 等. 疏风解毒胶囊对于急性支气管炎大鼠模型的保护作用 [J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(1): 278-281.
- YUAN Y, GAO J Y, XUE M M, et al. Protective effects of Shufeng Jiedu capsule on rat model of acute bronchitis [J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2017, 32(1): 278-281. (in Chinese)
- [22] 刘丽敏, 郝现伟, 孙丽英, 等. 支气管哮喘患儿血清 CCL2、CCL3 表达水平及临床意义 [J]. *热带医学杂志*, 2019, 19(4): 459-462, 501.
- LIU L M, HAO X W, SUN L Y, et al. Relationships between serum CCL2 and CCL3 levels with airway inflammation and airflow limitation in children with bronchial asthma [J]. *Journal of Tropical Medicine*, 2019, 19(4): 459-462, 501. (in Chinese)
- [23] KAWAO N, TAMURA Y, HORIUCHI Y, et al. The tissue fibrinolytic system contributes to the induction of macrophage function and CCL3 during bone repair in mice [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0123982.
- [24] MURSALIN M H, ASTLEY R, COBURN P S, et al. Roles of CCL2 and CCL3 in intraocular inflammation during *Bacillus endophthalmitis* [J]. *Exp Eye Res*, 2022, 224: 109213.
- [25] GIBALDI D, VILAR-PEREIRA G, PEREIRA I R, et al. CCL3/Macrophage inflammatory protein-1 α is dually involved in parasite persistence and induction of a TNF- and IFN γ -enriched inflammatory milieu in trypanosoma cruzi-induced chronic cardiomyopathy [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 306.
- [26] CHITU V, STANLEY E R. Colony-stimulating factor-1 in immunity and inflammation [J]. *Curr Opin Immunol*, 2006, 18(1): 39-48.
- [27] LUCIDI C D A, TAKAHIRA R K. Granulocyte colony-stimulating factor use in neutropenias in dogs and cats [J]. *Cienc Rural*, 2007, 37(3): 915-920.
- [28] YAO C, YAO G Q, SUN B H, et al. The transcription factor T-box 3 regulates colony-stimulating factor 1-dependent Jun dimerization protein 2 expression and plays an important role in osteoclastogenesis [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(10): 6775-6790.
- [29] POTTORF T S, ROTTERMAN T M, MCCALLUM W M, et al. The role of microglia in neuroinflammation of the spinal cord after peripheral nerve injury [J]. *Cells*, 2022, 11(13): 2083.
- [30] 邱道静. CSF1R 抑制剂通过调节巨噬细胞极化促进瘢痕组织重塑的研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2020.
- QIU D J. Inhibiting CSF1R signaling accelerates scar tissue remodeling by modulating macrophage polarization [D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2020. (in Chinese)
- [31] YADAV S, PRIYA A, BORADE D R, et al. Macrophage subsets and their role: co-relation with colony-stimulating factor-1 receptor and clinical relevance [J]. *Immunol Res*, 2023, 71(2): 130-152.
- [32] GUAN Z, KUHN J A, WANG X, et al. Injured sensory neuron-derived CSF1 induces microglial proliferation and DAP12-dependent pain [J]. *Nat Neurosci*, 2016, 19(1): 94-101.
- [33] GUAN Z H, 陆颖. 受损感觉神经元来源的 CSF1 诱导小胶质细胞增殖和 DAP12 依赖性疼痛 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2016, 22(10): 734-736.
- GUAN Z H, LU Y. CSF1 derived from injured sensory neurons induces microglial proliferation and

- DAP12-dependent pain [J]. *Chinese Journal of Pain Medicine*, 2016, 22(10): 734-736. (in Chinese)
- [34] 梁梦婷, 于宏杰, 许建华. 粒细胞集落刺激因子影响肿瘤转移的研究进展[J]. *中国肿瘤临床*, 2019, 46(15): 790-794.
- LIANG M T, YU H J, XU J H. Research advances in the effect of G-CSF on tumor metastasis [J]. *Chinese Journal of Clinical Oncology*, 2019, 46(15): 790-794. (in Chinese)
- [35] 赵淑清, 李军民. 粒细胞集落刺激因子及其受体与血液相关疾病[J]. *中国实验血液学杂志*, 2015, 23(3): 871-877.
- ZHAO S Q, LI J M. G-CSF and its receptor in hematonosis-review [J]. *Journal of Experimental Hematology*, 2015, 23(3): 871-877. (in Chinese)
- [36] SILVA S A A, SIMIELLI F L F, JOVINO G D F, et al. Expression profile of the CSF3 and LPO genes in milk from buffalo (*Bubalus bubalis*) with and without mastitis[J]. *Mol Cell Probes*, 2018, 41: 39-42.
- [37] GOMES F R, MALUENDA A C, TÁPIAS J O, et al. Expression of recombinant human mutant granulocyte colony stimulating factor (Nartograstim) in *Escherichia coli* [J]. *World J Microbiol&Biotechnol*, 2012, 28(7): 2593-2600.
- [38] 赵杰修, 田野, 曹建民, 等. 长期递增负荷跑台运动和营养补充对大鼠血清造血生长因子的影响[J]. *中国运动医学杂志*, 2007, (4): 407-410.
- ZHAO J X, TIAN Y, CAO J M, et al. Effects of treadmill exercise and nutritional supplementation on the hemopoietic growth factors in rat [J]. *Chinese Journal of Sports Medicine*, 2007, (4): 407-410. (in Chinese)
- [39] 孙玉马, 马文超, 付常喜. 粒细胞集落刺激因子联合高强度间歇运动预处理改善急性心肌梗死大鼠心脏重塑[J]. *中国组织工程研究*, 2024, 28(31): 4987-4994.
- SUN Y M, MA W C, FU C X. Granulocyte colony-stimulating factor combined with high-intensity intermittent exercise preconditioning improved cardiac remodeling in rats with acute myocardial infarction[J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2024, 28(31): 4987-4994. (in Chinese)
- [40] ZAIDI M R. The interferon-gamma paradox in cancer [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2019, 39(1): 30-38.
- [41] MONTEIRO S, ROQUE S, MARQUES F, et al. Brain interference: Revisiting the role of IFN γ in the central nervous system [J]. *Prog Neurobiol*, 2017, 156: 149-163.
- [42] 张醒醒. 运动调控骨骼肌细胞凋亡水平的研究进展[J]. *文体用品与科技*, 2022, (18): 118-120.
- ZHANG X X. Research progress on exercise-regulated apoptosis in skeletal muscle cells [J]. *Sports Goods and Technology*, 2022, (18): 118-120. (in Chinese)
- [43] DOLEJSI T, DELGOBO M, SCHUETZ T, et al. Adult T-cells impair neonatal cardiac regeneration [J]. *Eur Heart J*, 2022, 43(28): 2698-2709.
- [44] YANG H L, ULGE U Y, QUIJANO-RUBIO A, et al. Design of cell-type-specific hyperstable IL-4 mimetics via modular de novo scaffolds [J]. *Nat Chem Biol*, 2023, 19(9): 1127-1137.
- [45] PAN K, LI Q, GUO Z K, et al. Healing action of Interleukin-4 (IL-4) in acute and chronic inflammatory conditions; Mechanisms and therapeutic strategies [J]. *Pharmacol Ther*, 2025, 265: 108760.
- [46] CHENG H, HUANG H, GUO Z, et al. Role of prostaglandin E2 in tissue repair and regeneration [J]. *Theranostics*, 2021, 11(18): 8836-8854.
- [47] CELIK M Ö, LABUZ D, KEYE J, et al. IL-4 induces M2 macrophages to produce sustained analgesia via opioids [J]. *JCI Insight*, 2020, 5(4): e133093.
- [48] SHENG J, YANG Y, CUI Y, et al. M2 macrophage-mediated interleukin-4 signalling induces myofibroblast phenotype during the progression of benign prostatic hyperplasia [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(7): 755.
- [49] ALLEN J E. IL-4 and IL-13: Regulators and effectors of wound repair [J]. *Annu Rev Immunol*, 2023, 41: 229-254.
- [50] YANG C, LI J, DENG Z, et al. Eosinophils protect pressure overload- and β -adrenoreceptor agonist-induced cardiac hypertrophy [J]. *Cardiovasc Res*, 2023, 119(1): 195-212.
- [51] OUYANG W J, O'GARRA A. IL-10 family cytokines IL-10 and IL-22: from basic science to clinical translation [J]. *Immunity*, 2019, 50(4): 871-891.
- [52] SARAIVA M, VIEIRA P, O'GARRA A. Biology and therapeutic potential of interleukin-10 [J]. *J Exp Med*, 2020, 217(1): e20190418.
- [53] 王建敏, 李图均, 卢少华, 等. 温阳益心汤对慢性心力衰竭患者血清 IL-6、IL-10、TNF- α 的影响 [J]. *湖北中医杂志*, 2013, 35(12): 4-5.
- WANG J M, LI T J, LU S H, et al. Wenyang Yixintang treatment of chronic heart failure patients with IL-6, IL-10, TNF- α effect [J]. *Hubei Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2013, 35(12): 4-5. (in Chinese)