

·基础研究·

跑台运动训练对脊髓损伤后大鼠肺功能的影响*

潘 晓¹ 杨香莲¹ 王先斌¹ 陈 彦¹ 胡寿星² 孙思杰² 吴 霜^{1,2,3}

摘要

目的:研究跑台运动训练对脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)后肺损伤的保护作用及其潜在机制。

方法:本研究通过建立SCI大鼠模型,分组进行不同干预处理。实验组大鼠接受跑台运动训练,对照组大鼠则未进行运动干预。通过检测肺组织中炎症因子TNF- α , IL-6的表达、PI3K/AKT/mTOR信号通路的表达及肺部自噬水平,评估运动训练对SCI后肺损伤的影响。

结果:与对照组相比,跑台运动训练显著降低了SCI后肺部炎症因子的表达,激活了PI3K/AKT/mTOR信号通路,并促进了肺部自噬。

结论:跑台运动训练通过激活PI3K/AKT/mTOR信号通路并促进肺部自噬减轻SCI后的肺损伤。

关键词 脊髓损伤;肺损伤;跑台运动训练;自噬;PI3K/AKT/mTOR信号通路

中图分类号:R493,R651.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2026)-07-1028-09

The protective effects of treadmill exercise training on lung injury following spinal cord injury/PAN Xiao, YANG Xianglian, WANG Xianbin, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2026, 41 (7):1028—1036

Abstract

Objective: To investigate the protective effects of treadmill exercise training on lung injury following spinal cord injury (SCI) and its potential underlying mechanisms.

Method: A rat model of SCI was established and randomly divided into different intervention groups. The experimental group underwent treadmill exercise training, while the control group received no exercise intervention. Lung tissue was analyzed for the expression of inflammatory factors TNF- α and IL-6, the activity of the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin(PI3K/AKT/mTOR) signaling pathway, and the level of autophagy. These measures were used to assess the impact of exercise training on lung injury post-SCI.

Result: Compared to the control group, treadmill exercise training significantly reduced the expression of inflammatory factors in the lungs post-SCI, activated the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway, and promoted lung autophagy in lung tissue.

Conclusion: Treadmill exercise training can mitigate lung injury after SCI by activating the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway and promoting autophagy in lung tissue.

Author's address The Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou, 550001

Key word spinal cord injury;lung injury;treadmill exercise training;autophagy;PI3K/AKT/mTOR signaling pathway

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)往往导致 降等^[1]。SCI患者死于呼吸系统并发症的可能性是
损伤节段以下的肢体瘫痪、呼吸衰竭、心血管功能下 普通人群的37倍^[2]。高位脊髓损伤累及呼吸肌,降

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2026.07.003

*基金项目:国家自然科学基金委员会地区项目(82060419,82260452);贵州省科学技术基金项目(黔科合基础-ZK[2022]重点045);贵州省科学技术基金项目(黔科合基础-ZK[2022]一般438)

1 贵州医科大学附属医院康复医学科,贵州省贵阳市,550001; 2 贵州医科大学; 3 通讯作者

第一作者简介:潘晓,女,硕士研究生,住院医师; 收稿日期:2024-06-25

低呼吸功能,从而增加呼吸系统并发症的风险^[3-4]。然而,在呼吸主要肌群功能完好的低位脊髓损伤,肺组织同样出现水肿、出血、炎性细胞渗出等病理改变^[5]。因此,阐明脊髓损伤后肺损伤的分子和细胞机制可能有助于确定新的治疗靶点。

在临床研究中,脊髓损伤患者进行呼吸肌康复训练可显著改善患者潮气量、用力肺活量、呼气峰流量等肺功能指标和耐力^[6-7]。同时,运动训练对脊髓损伤患者肺功能的改善与炎症减少有关^[8]。在基础研究中,跑台运动训练可使中性粒细胞浸润减少、中性粒细胞外陷阱减少和促炎极化降低从而减轻急性肺损伤^[9-10]。综上,运动训练可改善脊髓损伤后肺损伤,然而,其具体作用机制尚不明确。

有研究发现,通过抑制脂多糖诱导的急性肺损伤小鼠PI3K/AKT/mTOR途径抑制自噬可减轻肺损伤^[11]。但也有研究显示,通过上调PI3K/AKT/mTOR轴,可改善LPS诱导的急性肺损伤^[12]。PI3K/AKT/mTOR信号通路在肺损伤中的作用机制尚有争议。因此,本研究的目的是评价运动训练是否能改善脊髓损伤后肺损伤情况,以及其作用机制是否与调节PI3K/AKT/mTOR信号通路有关。

1 材料与方法

1.1 动物

72只健康雌性SPF级Sprague-Dawley(SD)大鼠,体重220—250g,购自辽宁长生生物技术股份有限公司,许可证:SCXK(Liao)2020-0001,动物饲养于室温22—26℃,相对湿度40%—60%,昼夜周期12/12h环境中,予以充足的水和食物自由摄取。动物维护和实验方案符合NIH实验室动物护理和使用指南。适应性喂养7天后,采用随机数字表法将大鼠分为假手术组(Sham组, n=24)、SCI组(SCI组, n=24)和SCI后跑台运动训练组(SCI+TT组, n=24)。

1.2 脊髓损伤模型的建立

采用改良Allen's法在T10脊髓段损伤脊髓,从2.5cm的高度通过快速落下的钝头冲击针(重量:10g,直径:2mm)快速诱导SCI,大鼠的尾巴摆动或弯曲、后肢抽搐为造模成功^[13];假手术组仅暴露脊髓,不伤及脊髓。各组大鼠局部止血后逐层缝合。

术后给大鼠注射生理盐水1ml补充失血量,青霉素(200000U/kg)以预防感染,连续3天。术后每日2次按摩大鼠膀胱辅助排尿。未见不良事件发生。

1.3 大鼠跑台运动训练

术后两周进行适应性跑台运动训练,脊髓损伤后运动训练组(SCI+TT组, n=24)大鼠于术后开始运动训练,大鼠在小动物跑步机(ZS-PT, Zhongshi Technology, 北京)进行跑台运动训练,每日两次,每次训练30min(每训练10min,休息5min),速度5m/min。脊髓损伤组(SCI组, n=24)于饲养于笼内自由摄取水和食物。分别于第3天、第7天采集所需样本。

1.4 肺水肿检测

每组6只大鼠经1%戊巴比妥钠(30mg/kg, ip)麻醉后,打开胸腔,取出完整两侧肺叶用于评估肺水肿。肺样本清除肺外组织,立即称重以获得湿重,然后在60℃烘干48h,使组织保持恒重再次称重以获得干重。计算湿重/干重比值,分析肺水肿程度。

1.5 动脉血气分析

每组6只大鼠麻醉后,分别于运动或制动第3天、第7天采血针经腹主动脉抽取动脉血样。立即使用血气分析仪(Nova Biochemical, Waltham, 美国)测量血样中的pH值、氧分压(PaO₂)和二氧化碳分压(PaCO₂)。

1.6 肺组织学评估

每组6只大鼠经麻醉后用冷生理盐水和4%多聚甲醛经心脏灌注后取肺叶,多聚甲醛室温下固定,经梯度酒精脱水后用石蜡包埋,常温保存。石蜡切片(4μm)脱蜡后进行苏木精-伊红染色。用普通光学显微镜观察肺病理生理变化,并高倍镜下(400×)进行肺损伤病理评分。

1.7 免疫组化染色

石蜡切片(4μm)经脱蜡、水化、EDTA抗原修复后用3%过氧化氢阻断内源性过氧化物酶,10%山羊血清溶液封闭。切片与TBST稀释的anti-IL-6和anti-PI3K P110α(1:500, Proteintech, 武汉, 中国), anti-Beclin-1和anti-P62(1:100, Proteintech, 武汉, 中国)等一抗孵育过夜,二抗(1:300, Proteintech, 武汉, 中国)孵育2h,用DAB显色,光学显微镜下见阳性表达终止显色。苏木精(Hematoxy-

lin)复染后,切片经逐级脱水,用中性树脂封片。阳性率的计算采用阳性着色细胞计数法。在光学显微镜下(400×, Leica, 德国),随机选择不重叠的10个视野。

阳性率=(阳性细胞数/细胞总数)×100%。

1.8 免疫荧光染色

石蜡切片(4μm厚)经脱蜡后,用0.01 M柠檬酸缓冲液对切片进行抗原提取,10%山羊血清封闭。用anti-p-mTOR 和 anti-LC3B(1:100, Proteintech, 武汉, 中国)等一抗标记,然后用相应的第二抗体(1:300, Proteintech, 武汉, 中国)结合一抗,采用DAPI(1:100, Abcam, Cambridge, 英国)染色鉴别细胞核,阳性染色由荧光绿点表示。在荧光显微镜(1000×, Leica, 德国)下拍摄荧光图像,随机选择不重叠的10个视野,由两名实验员人工计数阳性着色细胞和视野内的总细胞数,每组6张不同动物组织切片,取被检各切片之均值。

阳性率=(阳性细胞数/细胞总数)×100%。

1.9 Western Blot

取出各组肺组织。超声破碎组织后,用RIPALysate (Solarbio, 北京, 中国)提取蛋白。根据BCA kit(Solarbio, 北京, 中国)说明书检测蛋白浓度后,加入5×loading buffer在100℃温度下高温变性,采用SDS-PAGE凝胶电泳分离蛋白,每孔上样50μg总蛋白,将蛋白转移至PVDF膜上。PVDF膜经5%脱脂奶封闭后,分别于anti-PI3K, anti-p-AKT, anti-IL-6, anti-P62, anti-LC3B (1:1000, Proteintech, 武汉, 中国)和 anti-AKT, anti-p-mTOR Ser2448, anti-mTOR, anti-TNFα(1:1000, Abcam, Cambridge, 英国)等一抗于4℃孵育过夜, TBST洗涤后,再结合辣根过氧化物酶(HRP)偶联的二抗(1:5000, Proteintech, 武汉, 中国),通

过ECL法进行可视化,并用GAPDH作为参照,以便进行定量。实验重复了3次。

1.10 qRT-PCR

取出 - 80℃冷冻保存的肺组织,经超声破碎后,用TRIzol reagent (Ambion)提取总RNA。用Prime Script RT reagent kit with gDNA Eraser (Takara, Otsu, Shiga, 日本)将mRNA逆转录为cDNA,各目的基因引物序列见表1。采用TB Green premix Ex TaqII kit (Takara, Otsu, Shiga, 日本)对样本进行qRT-PCR检测。采用2^{-ΔΔCt}法计算经GAPDH归一化后PI3K, AKT, mTOR, TNFα, IL-6, P62 and LC3B mRNA的相对表达量。每组设3个重复,每个实验重复3次。

1.11 统计学分析

使用GraphPad Prism 8.00进行统计学分析,计量资料采用均数±标准差表示,数据若满足正态性且方差齐性,采用单因素方差分析(one way ANOVA),组间比较采用LSD检验;若数据不符合正态分布或方差不齐,则使用非参数检验,组间比较采用Kruskal-Wallis检验。以P<0.05为具有显著性差异。

2 结果

2.1 跑台运动训练显著缓解脊髓损伤后肺水肿、肺功能障碍和肺部炎症反应

用BBB评分评估术后大鼠SCI模型的建立情况。如图1所示,T10节段性SCI模型成功建立。肺组织湿/干重比测量用于评估肺水肿。与假手术组相比,SCI组和SCI+TT组在第3天肺组织湿/干重比显著增加(P<0.05),且SCI组在第3天和第7天的肺组织湿/干重比显著高于SCI+TT组(P<0.05)。通过动脉血气分析测量大鼠腹主动脉的PaO₂、PaCO₂和pH以研究SCI后的肺功能。与Sham组相比,SCI组

表1 基因引物序列

gene	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
PI3K	CACCTCCGCAACCAATCCTGAC	AGCTCGAACTCTGTCTCCTTCTGG
AKT	CCACGACCGCCTCTGCTTTG	GACACAATCTCCGCACCGTAGAAG
mTOR	TGGTATAAGGCTTGCCACGCATG	GGCAGTGGTGGTGGCATTGG
TNFα	ATGGGCTCCCTCTCATCAGTTCC	GCTCCTCCGCTTGGTGGTTTG
IL-6	TCTGCTCTGGTCTTCTGGAGTTCC	GCATTGGAAGTTGGGGTAGGAAGG
P62	TTCATATGCAGAACAGAGCTACGAAGG	CCATTCCAGTCATCTTGTCATAGGC
LC3B	GAGCGATACAAGGGTGAGAAGCAG	AGGAAGAAGGCTTGGTTAGCATTGAG
GAPDH	TCATGGATGACCTTGGCCAG	GTCTTCACTACCATGGAGAAGG

在第3天的pH和PaO₂显著降低($P<0.05$),PaCO₂显著升高($P<0.05$);与SCI组相比,SCI+TT组在第3天和第7天表现出pH和PaO₂升高和PaCO₂降低(均为 $P<0.05$)。见表2。

此外,采用HE染色观察肺组织损伤的病理变化并进行病理评分。SCI后,肺组织显示出显著的炎性细胞浸润、水肿、充血和肺泡内出血。与Sham组相比,SCI组在第3天的肺损伤病理评分显著升高($P<0.05$);与SCI组相比,SCI+TT组在第3天和第7天的肺损伤病理评分显著降低($P<0.05$)。

采用Western Blot和qRT-PCR检测炎症因子TNF α 和IL-6的表达。两者结果均(图1E)显示,与Sham组相比,SCI组在第3天的TNF α 和IL-6表达显著升高($P<0.05$);然而,与SCI组相比,SCI+TT组在第3天和第7天的表达显著降低($P<0.05$)。见表3。

2.2 跑台运动训练可激活脊髓损伤后肺组织中的PI3K/AKT/mTOR信号通路

为进一步探究其中的作用机制,我们通过免疫组织化学染色、免疫荧光染色、Western Blot和qRT-PCR检测PI3K、AKT、mTOR的表达水平,以了解SCI和跑台运动训练后PI3K/AKT/mTOR通路在肺组织中的变化。对肺组织中的PI3K、p-AKT、p-mTOR进行免疫组织化学染色并计数阳性细胞(图2)。结果显示,SCI组第3天PI3K、p-AKT、p-mTOR阳性细胞率均明显高于Sham组($P<0.05$),而SCI+TT组在第3天和第7天的PI3K阳性细胞率低于SCI组($P<0.05$)。见表4—6。

2.3 跑台运动训练可促进脊髓损伤后肺组织自噬

通过免疫组织化学染色、免疫荧光染色、Western Blot和qRT-PCR检测了肺组织中自噬相关蛋白Beclin-1、P62和LC3的表达变化,免疫组织化学染色结果显示,与sham组相比,SCI组第3天肺组织中Beclin-1和LC3阳性细胞率显著降低($P<0.05$)。与SCI组相比,SCI+TT组第3天和第7天肺组织中Beclin-1和LC3阳性细胞率显著升高($P<0.05$)。而肺组织中P62免疫荧光染色结果显示。与Sham组相比,SCI组第3天P62阳性细胞率升高($P<0.05$),SCI+TT组第3天和第7天P62阳性细胞率低于SCI组($P<0.05$),见图3A—C。此外,肺组织中Beclin-1、P62和LC3的Western Blot检测结果(图3D)显示,与Sham

组相比,SCI组大鼠第3天的Beclin-1和LC3II/I表达水平显著降低($P<0.05$),而SCI+TT组在第3天的表达水平显著升高($P<0.05$)。与Sham组相比,SCI组第3天的P62表达显著升高($P<0.05$),而SCI+TT组在第3天和第7天的P62表达低于SCI组($P<0.05$)。肺组织中P62 mRNA、Beclin-1 mRNA和LC3 mRNA的检测结果显示,SCI组第3天的P62 mRNA表达显著升高($P<0.05$),而SCI+TT组在第3天和第7天的P62 mRNA表达低于SCI组($P<0.05$)。与Sham组相比,SCI组第3天的Beclin-1 mRNA和LC3 mRNA表达水平显著降低($P<0.05$),而SCI+TT组在第3天的表达水平显著升高($P<0.05$)。见表7—8。

3 讨论

本研究发现,脊髓损伤后出现肺损伤表现,包括肺水肿、肺功能障碍、肺组织病理改变及炎症因子增加等,跑台运动训练可显著改善脊髓损伤后肺损伤情况,对脊髓损伤大鼠肺组织起保护作用;其机制可能是通过正向调控PI3K/AKT/mTOR通路,进而促进自噬,从而降低炎症反应,起到改善肺损伤的作用。

高位SCI引起的呼吸肌麻痹导致呼吸肌完全或不完全麻痹、通气不足、咳嗽能力和气道廓清能力下降,是SCI继发性呼吸系统并发症的主要原因

表2 各组各项指标统计分析结果 ($\bar{x}\pm s$)		
组别	时间点	
	3d	7d
肺组织湿/干重比		
Sham组	4.19±0.58	4.38±0.33
SCI组	7.93±0.24	6.28±0.56
SCI+TT组	6.88±0.38	4.79±0.38
PaO ₂ (mmHg)		
Sham组	93.73±0.79	93.98±0.81
SCI组	68.64±2.01	83.70±3.26
SCI+TT组	71.89±2.50	88.89±3.36
PaCO ₂ (mmHg)		
Sham组	39.03±1.23	39.16±0.86
SCI组	61.49±1.89	51.46±2.70
SCI+TT组	58.01±1.27	44.00±1.85
pH值		
Sham组	7.39±0.02	7.39±0.03
SCI组	7.21±0.02	7.31±0.02
SCI+TT组	7.27±0.03	7.38±0.03
肺组织病理评分		
Sham组	0.67±0.52	0.60±0.55
SCI组	9.67±1.21	6.13±0.77
SCI+TT组	7.50±0.73	2.00±0.71

表3 各组肺组织中各项指标蛋白及mRNA表达水平 $(\bar{x}\pm s)$

组别	蛋白(时间点)		mRNA(时间点)	
	3d	7d	3d	7d
TNF- α	Sham组	1.00 $\pm$ 0.10	1.00 $\pm$ 0.10	1.00 $\pm$ 0.03
	SCI组	2.24 $\pm$ 0.10	1.93 $\pm$ 0.07	1.94 $\pm$ 0.06
	SCI+TT组	1.98 $\pm$ 0.14	1.19 $\pm$ 0.08	1.65 $\pm$ 0.03
IL-6	Sham组	1.00 $\pm$ 0.10	1.00 $\pm$ 0.10	1.00 $\pm$ 0.02
	SCI组	4.13 $\pm$ 0.28	2.00 $\pm$ 0.27	2.09 $\pm$ 0.10
	SCI+TT组	3.55 $\pm$ 0.27	1.11 $\pm$ 0.20	1.64 $\pm$ 0.10

表4 各组肺组织中各项指标阳性细胞率 $(\bar{x}\pm s, \%)$

组别	时间点	
	3d	7d
PI3K	Sham组	17.33 $\pm$ 0.91
	SCI组	74.83 $\pm$ 1.04
	SCI+TT组	69.07 $\pm$ 1.10
p-AKT	Sham组	20.33 $\pm$ 1.53
	SCI组	68.33 $\pm$ 3.06
	SCI+TT组	63.67 $\pm$ 2.08
p-mTOR	Sham组	23.30 $\pm$ 1.47
	SCI组	67.77 $\pm$ 2.30
	SCI+TT组	61.17 $\pm$ 1.61

表6 各组肺组织中各项指标mRNA表达水平 $(\bar{x}\pm s)$

组别	时间点	
	3d	7d
PI3K	Sham组	1.00 $\pm$ 0.04
	SCI组	1.83 $\pm$ 0.06
	SCI+TT组	1.68 $\pm$ 0.06
AKT	Sham组	1.00 $\pm$ 0.04
	SCI组	2.04 $\pm$ 0.09
	SCI+TT组	1.71 $\pm$ 0.10
mTOR	Sham组	1.00 $\pm$ 0.05
	SCI组	1.64 $\pm$ 0.03
	SCI+TT组	1.42 $\pm$ 0.04

表5 各组肺组织中各项指标蛋白表达水平 $(\bar{x}\pm s)$

组别	时间点	
	3d	7d
PI3K	Sham组	1.00 $\pm$ 0.01
	SCI组	1.92 $\pm$ 0.07
	SCI+TT组	1.70 $\pm$ 0.05
p-AKT/AKT	Sham组	1.00 $\pm$ 0.05
	SCI组	1.46 $\pm$ 0.06
	SCI+TT组	1.32 $\pm$ 0.02
p-mTOR/mTOR	Sham组	1.00 $\pm$ 0.05
	SCI组	1.49 $\pm$ 0.06
	SCI+TT组	1.27 $\pm$ 0.05

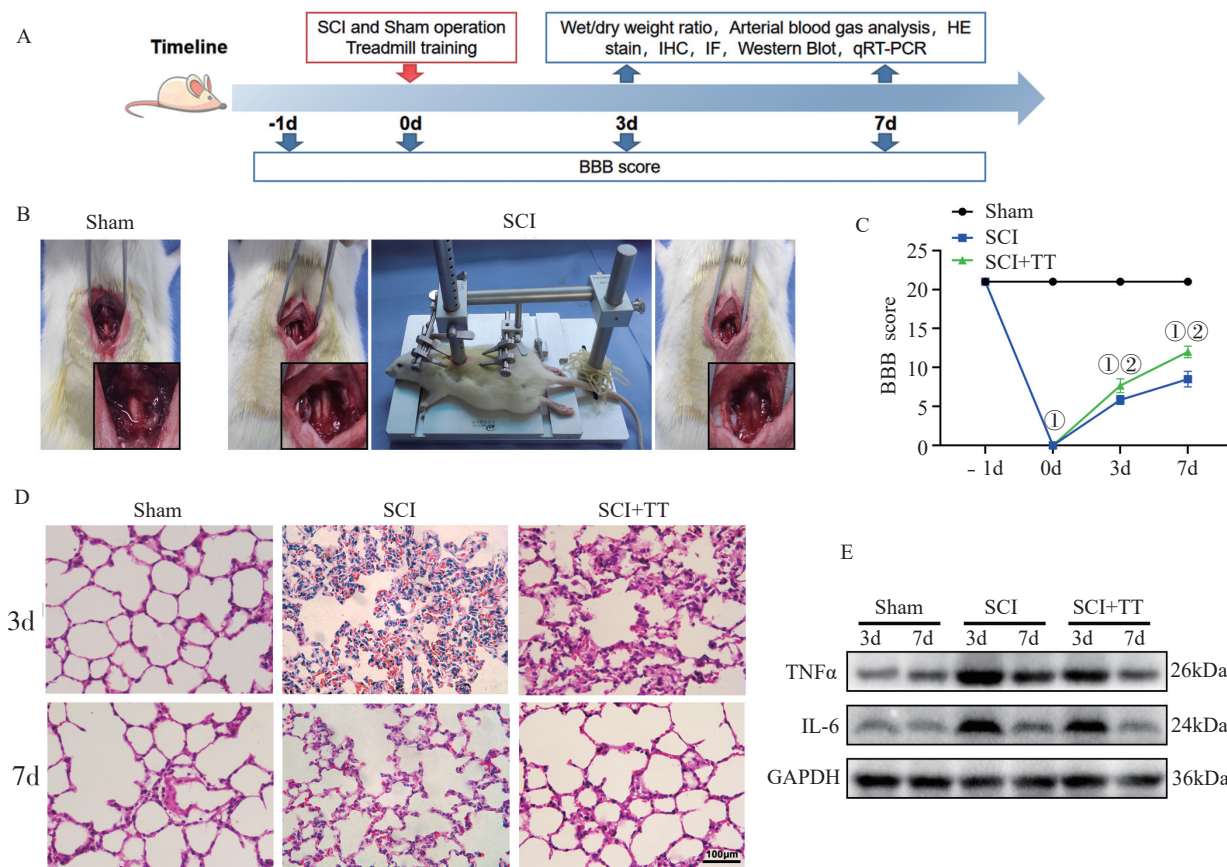
表7 各组肺组织中各项指标蛋白表达水平 $(\bar{x}\pm s)$

组别	时间点	
	3d	7d
Beclin-1	Sham组	1.00 $\pm$ 0.03
	SCI组	0.50 $\pm$ 0.05
	SCI+TT组	0.75 $\pm$ 0.05
P62	Sham组	1.00 $\pm$ 0.05
	SCI组	3.58 $\pm$ 0.14
	SCI+TT组	2.60 $\pm$ 0.13
LC3 II/LC3 I	Sham组	1.00 $\pm$ 0.03
	SCI组	0.48 $\pm$ 0.06
	SCI+TT组	0.72 $\pm$ 0.02

表8 各组肺组织中各项指标阳性细胞率及mRNA表达水平

组别	阳性细胞率(%)		mRNA表达水平 $(\bar{x}\pm s)$	
	3d	7d	3d	7d
Beclin-1	Sham组	71.50 $\pm$ 1.32	1.00 $\pm$ 0.04	1.00 $\pm$ 0.04
	SCI组	25.33 $\pm$ 1.53	0.33 $\pm$ 0.06	0.79 $\pm$ 0.05
	SCI+TT组	44.67 $\pm$ 2.08	0.66 $\pm$ 0.03	0.93 $\pm$ 0.07
P62	Sham组	14.67 $\pm$ 1.53	1.00 $\pm$ 0.02	1.00 $\pm$ 0.06
	SCI组	55.33 $\pm$ 1.53	0.43 $\pm$ 0.03	0.76 $\pm$ 0.05
	SCI+TT组	30.33 $\pm$ 1.53	0.60 $\pm$ 0.04	0.88 $\pm$ 0.03
LC3	Sham组	82.00 $\pm$ 1.00	1.00 $\pm$ 0.07	1.00 $\pm$ 0.05
	SCI组	24.33 $\pm$ 1.53	2.07 $\pm$ 0.11	1.40 $\pm$ 0.04
	SCI+TT组	41.33 $\pm$ 1.53	1.72 $\pm$ 0.04	1.18 $\pm$ 0.11

图1 跑台训练对脊髓损伤后肺功能的影响



注:(A)BBB评分评估术后大鼠SCI模型建立情况。(B)假手术组与脊髓损伤组。(C)脊髓损伤后大鼠的BBB评分。(D)肺组织的HE染色和肺损伤病理评分。比例尺=100μm。(E)大鼠肺组织中TNF-α和IL-6的Western Blot结果,以GAPDH为内参。BBB评分:Basso, Beattie, Bresnahan评分;SCI:脊髓损伤,TT:跑台运动训练。①SCI组 vs Sham组;②SCI+TT组 vs SCI组

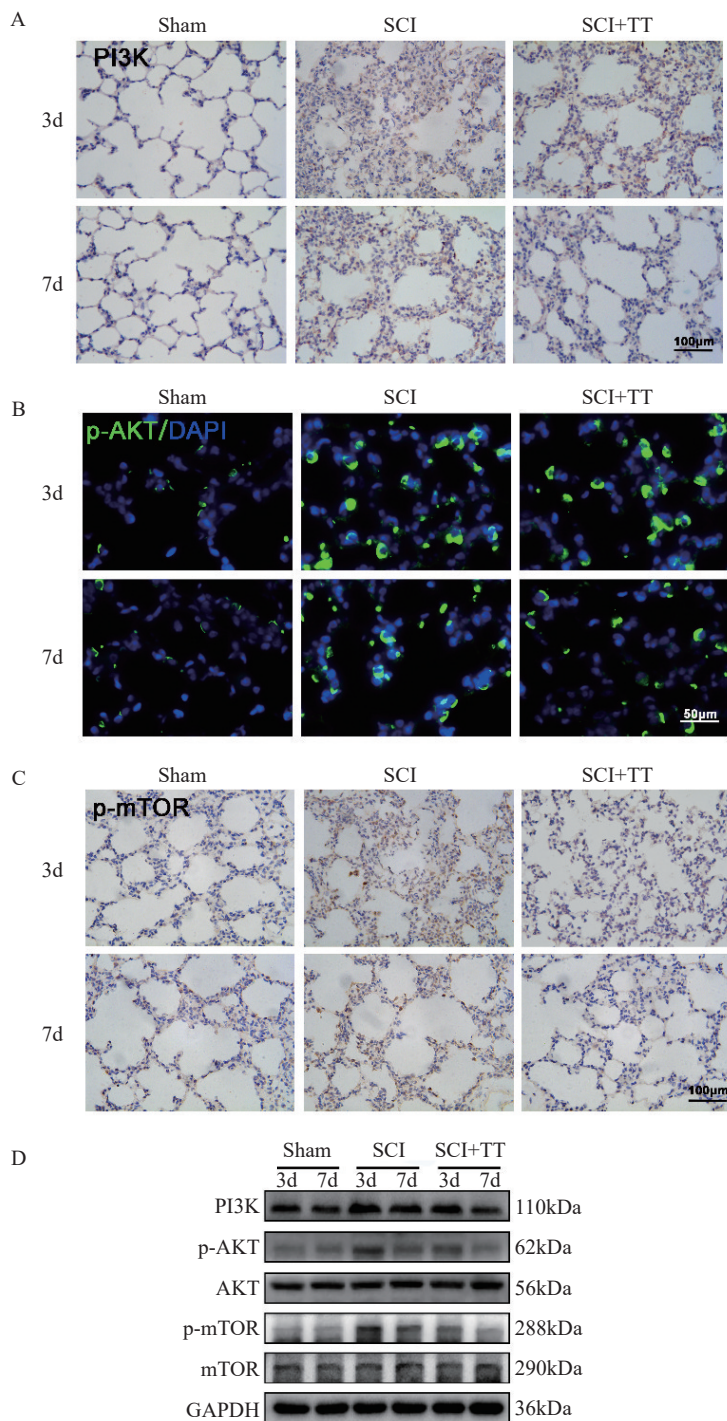
因^[14-15]。有研究显示,通过呼吸肌训练可显著改善高位脊髓损伤患者肺功能、生存质量^[4]。此外,通过被动腿部骑行运动方式同样可改善颈椎SCI患者心肺功能^[16]。定期进行运动训练被认为对截瘫和四肢瘫痪患者的肺功能均有益处^[17]。

近年来的研究表明,低位SCI同样会继发肺损伤,其可能的机制主要有全身炎症反应综合征和神经源性肺水肿,如T12段SCI后会激活循环中性粒细胞,然后在损伤后2—24h内侵入肺,增加过氧化物酶活性(POD)、环氧合酶-2(COX2)的表达,这些可能是呼吸功能障碍的基础^[18]。本研究显示,SCI后大鼠的肺湿干重比升高,提示肺水肿的出现,而跑台运动训练后肺水肿程度减轻,第7天接近正常水

平。此外,SCI后大鼠动脉血pH值和PaO₂下降,PaCO₂升高,表明肺气体交换功能障碍,而跑台运动训练后这些障碍得到显著改善。肺组织病理变化显示,跑台运动训练减轻了SCI后肺组织的炎症细胞浸润、水肿、充血和肺泡内出血。TNFα和IL-6在炎症中起重要作用^[19],因此,我们通过检测TNFα和IL-6的表达水平来观察炎症的严重程度。研究发现,SCI后肺部炎症因子的表达增加,跑台运动训练降低了这些炎症因子的表达,提示跑台运动训练减轻了肺组织的炎症。并且研究还发现,SCI组和SCI+TT组在第7天的肺组织变化均较第3天减轻,提示SCI后大鼠肺损伤可能具有自限性。

运动训练不仅通过增强神经和肌肉的功能来改

图2 跑台运动训练可激活脊髓损伤后肺组织中的PI3K/AKT/mTOR信号通路

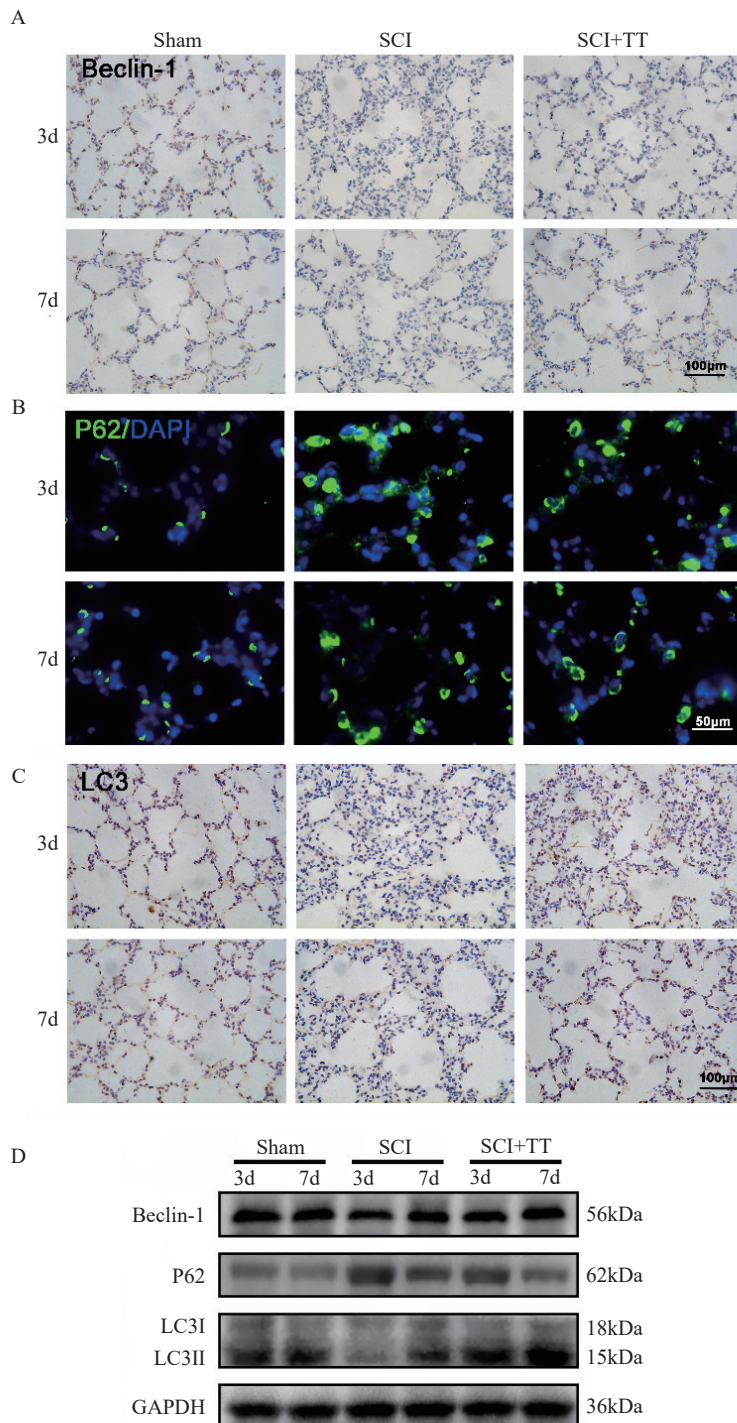


注:(A)PI3K免疫组化染色和肺组织阳性细胞率。棕色为特异性抗体识别后的染色部分,蓝色为苏木精染色的细胞核。比例尺=100μm。(B)p-AKT免疫荧光染色和肺组织阳性细胞率。绿色荧光为特异性抗体识别后的染色部分,蓝色为DAPI染色的细胞核。(C)p-mTOR免疫组化染色和肺组织阳性细胞率。棕色为特异性抗体识别后的染色部分,蓝色为苏木精染色的细胞核。比例尺=100μm。(D)通过Western Blot检测肺组织中PI3K、p-AKT和p-mTOR的水平,PI3K以GAPDH为内参,p-AKT以AKT为内参,p-mTOR以mTOR为内参。SCI:脊髓损伤,TT:跑台运动训练。

善SCI,还可诱导神经再生与功能恢复,重塑骨骼肌结构和类型,促进神经血管耦合^[20-21]。有研究报道,在SCI患者中,呼吸肌训练增强了呼吸肌肉力量,改善了肺活量和运动能力^[22]。跑台运动训练还减少了SCI大鼠病变腔的大小和巨噬细胞数量,增加大脑运动皮质的DNA甲基化,促进SCI的功能恢复^[23]。本实验结果显示,经过7天跑台训练的SCI+TT组大鼠各项肺功能指标均显著优于SCI组,我们推测跑台运动训练可促进大鼠脊髓损伤后肺损伤的恢复。

PI3K/AKT/mTOR信号通路在调节细胞增殖、凋亡、新陈代谢等方面发挥着重要作用^[24-25],PI3K的p110催化亚单位被激活后催化PIP3形成,进而磷酸化AKT使其活化,激活mTOR,形成mTORC1,在自噬中有重要调控作用^[26-27]。研究表明,通过抑制PI3K/AKT/mTOR通路,抑制过度自噬,减轻急性肺损伤^[11,28]。然而也有研究显示,上调PI3K/AKT/mTOR通路可对肺损伤起保护作用,抑制凋亡和炎性介质产生^[29]。在SCI后的肺损伤研究中,发现SCI后肺组织自噬被抑制,且mTOR可以通过上调自噬预防急性SCI后的肺损伤^[30]。本研究表明,大鼠脊髓损伤后肺组织PI3K/AKT/mTOR通路被抑制,自噬溶酶体标志物Beclin-1和LC3表达减少、自噬底物P62表达增加,自噬处于抑制状态,这与之前的研究结果一致。而跑台训练后激活PI3K/AKT/mTOR通路的表达,并促进自噬,从而抑制了肺组织的病理性损伤,起到改善呼吸功能的作用。

图3 跑台运动训练可促进脊髓损伤后肺组织的自噬作用



注:(A)Beclin-1在肺组织中的免疫组化染色和阳性细胞率。棕色为特异性抗体识别后的染色部分,蓝色为苏木精染色的细胞核。比例尺=100μm。(B)大鼠肺组织中P62的免疫荧光染色和阳性细胞率。绿色荧光为特异性抗体识别后的染色部分,蓝色为DAPI染色的细胞核。比例尺=50μm。(C)LC3在肺组织中的免疫组化染色和阳性细胞率。棕色为特异性抗体识别后的染色部分,蓝色为苏木精染色的细胞核。比例尺=100μm。(D)通过Western Blot检测肺组织匀浆中Beclin-1、P62和LC3II/I的水平,以GAPDH为内参。SCI:脊髓损伤,TT:跑台运动训练。

4 结论

跑步机训练可以改善SCI后肺损伤,如减轻肺水肿、肺功能障碍、肺组织病理变化和炎症,进而保护SCI大鼠的肺组织。可能是通过激活肺PI3K/AKT/mTOR通路,从而促进肺的自噬。

参考文献

- [1] Lorach H, Galvez A, Spagnolo V, et al. Walking naturally after spinal cord injury using a brain-spine interface[J]. *Nature*, 2023, 618 (7963): 126—133.
- [2] DeVivo M, Black K, Stover S. Causes of death during the first 12 years after spinal cord injury[J]. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 1993, 74 (3): 248—254.
- [3] Wang Z, Zou P, Yang J, et al. Epidemiological characteristics of spinal cord injury in Northwest China: a single hospital-based study[J]. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 2020, 15 (1): 214.
- [4] Boswell-Ruys CL, Lewis CRH, Wijeyasuriya NS, et al. Impact of respiratory muscle training on respiratory muscle strength, respiratory function and quality of life in individuals with tetraplegia: a randomised clinical trial[J]. *Thorax*, 2020, 75 (3): 279—288.
- [5] Tang D, Wang X, Chen Y, et al. Treadmill training improves respiratory function in rats after spinal cord injury by inhibiting the HMGB1/TLR-4/NF-κB signaling pathway[J]. *Neurosci Lett*, 2022, 782:136686.
- [6] Wang H, Lin Y, Huang C, et al. Effects of respiratory muscle training on baroreflex sensitivity, respiratory function, and serum oxidative stress in acute cervical spinal cord injury[J]. *Journal of Personalized Medicine*, 2021, 11 (5).
- [7] Shin J, Han E, Cho K, et al. Improvement in pulmonary function with short-term rehabilitation treatment in

- spinal cord injury patients[J]. *Sci Rep*, 2019, 9 (1): 17091.
- [8] Yates BA, Brown R, Picard G, et al. Improved pulmonary function is associated with reduced inflammation after hybrid whole-body exercise training in persons with spinal cord injury[J]. *Exp Physiol*, 2023, 108 (3): 353—360.
- [9] Shi Y, Liu T, Nieman D, et al. Aerobic exercise attenuates acute lung injury through NET inhibition[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11:409.
- [10] Nemmar A, Al-Salam S, Yuvaraju P, et al. Exercise training mitigates water pipe smoke exposure-induced pulmonary impairment via inhibiting NF- κ B and activating Nrf2 signalling pathways[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 2018:7459612.
- [11] Xu X, Li H, Gong Y, et al. Hydrogen sulfide ameliorated lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting autophagy through PI3K/Akt/mTOR pathway in mice [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, 507:514—518.
- [12] Shi QQ, Huang YH, Li YF, et al. PEBP4 deficiency aggravates LPS-induced acute lung injury and alveolar fluid clearance impairment via modulating PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2024, 81 (1): 133.
- [13] Ying X, Xie Q, Li S, et al. Water treadmill training attenuates blood-spinal cord barrier disruption in rats by promoting angiogenesis and inhibiting matrix metalloproteinase-2/9 expression following spinal cord injury[J]. *Fluids and Barriers of the CNS*, 2020, 17 (1): 70.
- [14] Warren P, Kissane R, Egginton S, et al. Oxygen transport kinetics underpin rapid and robust diaphragm recovery following chronic spinal cord injury[J]. *The Journal of Physiology*, 2021, 599 (4): 1199—1224.
- [15] Hirota R, Terashima Y, Ohnishi H, et al. Prognostic impact of respiratory dysfunction in elderly patients with cervical spinal cord injury and/or fractures; a multicenter survey[J]. *Eur Spine J*, 2023, 32 (10): 3522—3532.
- [16] Soriano JE, Romac R, Squair JW, et al. Passive leg cycling increases activity of the cardiorespiratory system in people with tetraplegia[J]. *Applied Physiology Nutrition and Metabolism*, 2022, 47 (3): 269—277.
- [17] Vik LC, Lannem AM, Rak BM, et al. Health status of regularly physically active persons with spinal cord injury [J]. *Spinal Cord Series and Cases*, 2017, 3:17099.
- [18] Bao F, Brown A, Dekaban GA, et al. CD11d integrin blockade reduces the systemic inflammatory response syndrome after spinal cord injury[J]. *Exp Neurol*, 2011, 231 (2): 272—283.
- [19] Qian ZY, Kong RY, Zhang S, et al. Ruxolitinib attenuates secondary injury after traumatic spinal cord injury[J]. *Neural Regeneration Research*, 2022, 17 (9): 2029—2035.
- [20] Ozturk E, Lapointe M, Kim D, et al. Effect of 6-month exercise training on neurovascular function in spinal cord injury[J]. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 2021, 53 (1): 38—46.
- [21] Sun X, Huang LY, Pan HX, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells and exercise restore motor function following spinal cord injury by activating PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. *Neural Regeneration Research*, 2023, 18 (5): 1067—1075.
- [22] Gee C, Williams A, Sheel A, et al. Respiratory muscle training in athletes with cervical spinal cord injury: effects on cardiopulmonary function and exercise capacity[J]. *The Journal of Physiology*, 2019, 597 (14): 3673—3685.
- [23] Davaa G, Hong J, Kim T, et al. Exercise ameliorates spinal cord injury by changing DNA methylation[J]. *Cells*, 2021, 10 (1):143.
- [24] Xu F, Na L, Li Y, et al. Roles of the PI3K/AKT/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours[J]. *Cell & Bioscience*, 2020, 10:54.
- [25] Tang Z, Zhang K, Lv S, et al. LncRNA MEG3 suppresses PI3K/AKT/mTOR signalling pathway to enhance autophagy and inhibit inflammation in TNF- α -treated keratinocytes and psoriatic mice[J]. *Cytokine*, 2021, 148:155657.
- [26] Deleyto-Seldas N, Efeyan A. The mTOR-autophagy axis and the control of metabolism[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2021, 9:655731.
- [27] Yang H, Wen Y, Zhang M, et al. MTORC1 coordinates the autophagy and apoptosis signaling in articular chondrocytes in osteoarthritic temporomandibular joint[J]. *Autophagy*, 2020, 16 (2): 271—288.
- [28] Vishnupriya S, Priya Dharshini L, Sakthivel K, et al. Autophagy markers as mediators of lung injury-implication for therapeutic intervention[J]. *Life sciences*, 2020, 260: 118308.
- [29] Zhang E, Wang J, Chen Q, et al. Artesunate ameliorates sepsis-induced acute lung injury by activating the mTOR/AKT/PI3K axis[J]. *Gene*, 2020, 759:144969.
- [30] Chu R, Wang N, Bi Y, et al. Rapamycin prevents lung injury related to acute spinal cord injury in rats[J]. *Sci Rep*, 2023, 13 (1): 10674.