



有氧运动通过降低循环谷氨酸增强胰岛素敏感性的作用和机制研究*

邢晓蕊¹⁾ 孙 钦²⁾ 王宸宇³⁾ 范若冰³⁾ 王 茹^{3)**}⁽¹⁾ 军事体育训练中心, 北京 100072; ⁽²⁾ 浙江师范大学体育与健康科学学院, 金华 321004; ⁽³⁾ 上海体育大学运动健康学院, 上海 200438)

摘要 **目的** 探讨循环谷氨酸在有氧运动增强胰岛素敏感性中的作用和潜在分子机制, 为精准运动防治代谢性疾病提供新思路。**方法** 首先, 为了探讨循环谷氨酸含量升高后机体胰岛素敏感性的变化和可能机制, 将18只6~8周龄雄性C57BL/6小鼠随机分为正常对照组(C)、500 mg/kg谷氨酸补充干预组(M)和1 000 mg/kg谷氨酸补充干预组(H)。干预组干预6 d/周, 12周后使用胰岛素耐量测试(ITT)和葡萄糖耐量测试(GTT)检测各组小鼠胰岛素敏感性和葡萄糖耐量、试剂盒检测循环谷氨酸含量、蛋白质印迹法(Western blot)检测骨骼肌InsR/IRS1/PI3K/AKT信号通路活性。在此基础上, 进一步探讨循环谷氨酸在有氧运动增强胰岛素敏感性中的作用和可能机制, 将30只6~8周龄雄性C57BL/6小鼠随机分为正常对照组(CS)、有氧运动干预组(ES)和有氧运动联合谷氨酸补充干预组(EG)。ES组小鼠进行跑台有氧运动干预; EG组小鼠在有氧运动干预的同时进行1 000 mg/kg谷氨酸补充干预。干预组干预6 d/周, 10周后操作同上。为了进一步探讨谷氨酸调节InsR/IRS1/PI3K/AKT信号通路活性的作用和机制, 首先对分化C2C12肌管细胞进行梯度谷氨酸干预(0、0.5、1、3、5、10 mmol/L), 筛选谷氨酸细胞干预的浓度。随后研究将分化C2C12肌管细胞分为对照组(C)、谷氨酸干预组(G)和谷氨酸联合MK801(谷氨酸受体NMDAR抑制剂)干预组(GK)。G组细胞进行5 mmol/L谷氨酸干预; GK组细胞在5 mmol/L谷氨酸干预的同时进行50 μ mol/L MK801干预。24 h干预结束后, 使用Western blot检测细胞InsR/IRS1/PI3K/AKT信号通路活性。**结果** 与C组小鼠相比, H组小鼠循环谷氨酸含量、ITT和GTT曲线下面积均显著升高(M组无显著变化), M组小鼠骨骼肌IRS1和p-AKT蛋白表达显著下调, H组小鼠骨骼肌p-InsR β 、IRS1、p-AKT和p-mTOR蛋白表达显著下调; 与CS组小鼠相比, ES组小鼠循环谷氨酸含量显著下降, ITT和GTT曲线下面积均显著降低, 骨骼肌p-InsR β 、IRS1、p-AKT和p-mTOR蛋白表达显著上调, EG组小鼠上述所测指标均无显著性变化; 与0 mmol/L谷氨酸干预组细胞相比, 5 mmol/L谷氨酸干预组细胞p-InsR β 、p-IRS1、p-PI3K、p-AKT蛋白表达显著下调; 与C组细胞相比, G组细胞p-InsR β 、p-IRS1、p-PI3K和p-AKT蛋白表达显著下调, GK组细胞各蛋白表达均无显著变化。**结论** 长期有氧运动可以通过降低循环谷氨酸含量增强胰岛素敏感性, 这可能与骨骼肌InsR/IRS1/AKT信号通路活性增强有关。同时, 谷氨酸作为一种信号分子可能通过与骨骼肌N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)结合, 抑制InsR/IRS1/PI3K/AKT信号通路活性。

关键词 谷氨酸, 有氧运动, 骨骼肌, 胰岛素敏感性, InsR/IRS1/PI3K/AKT

中图分类号 G804.2, Q493.9

DOI: 10.16476/j.pibb.2025.0189

CSTR: 32369.14.pibb.20250189

胰岛素是在机体血糖升高时胰岛 β 细胞分泌的一种肽类激素, 它通过与靶细胞上的胰岛素受体(insulin receptor, InsR)结合激活下游胰岛素受体底物(insulin receptor substrates, IRSs)/磷脂酰肌醇3激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)等信号通路调控机体代谢^[1]。当靶细胞对胰岛素的敏感性降低, 损害胰岛素调控代谢的功能时, 胰岛素抵抗

(insulin resistance, IR)发生^[1-2]。IR是肥胖和2型糖尿病(diabetes mellitus type 2, T2DM)等多种疾病的病理生理基础, 临床上常表现出高血糖、高胰岛素血症或高脂血症等^[3]。引起胰岛素敏感性降低的机制复杂, 涉及肝脏和骨骼肌中有毒脂质的

*上海市优秀学术带头人(21XD1403200)资助项目。

**通讯联系人。

Tel: 021-65507356, E-mail: wangru@sus.edu.cn

收稿日期: 2025-04-27, 接受日期: 2025-06-05

积累、肝脏内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 应激、骨骼肌线粒体氧化应激, 以及源自白色脂肪组织的炎症信号等^[1]。因此, 深入挖掘机体调控胰岛素敏感性的机制对于临床制定有效的防治措施至关重要。

谷氨酸, 一种多功能非必需氨基酸, 不仅参与机体近 200 个代谢反应, 而且还是重要的神经递质^[4-7]。因此, 谷氨酸在体内具有双重身份, 既是重要的代谢枢纽, 又是关键的信号分子。多项流行病学研究显示, 循环谷氨酸含量增加与机体胰岛素敏感性降低密切相关^[8-9]。同时, 越来越多的研究发现, 循环谷氨酸含量增加与未来肥胖和 T2DM 的发生风险增加也显著相关^[10-13]。此外, 谷氨酸钠 (monosodium glutamate, MSG), 谷氨酸的钠盐形式, 是日常生活中常用的食品增味剂味精^[14]。研究表明, MSG 摄入量增加可能会导致超重患病率增加 33%^[15]。相反, 谷氨酸受体 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR) 拮抗剂 (如美金刚和右美沙芬) 和谷氨酸代谢相关产物衍生的营养补充剂 (如谷氨酰胺和谷胱甘肽) 被证实具有增强胰岛素敏感性、缓解 IR 和促进葡萄糖稳态的能力^[16-19]。由此推断, 过量谷氨酸可以降低机体胰岛素敏感性, 诱发 IR。

有氧运动是公认增强胰岛素敏感性, 改善 IR 的有效手段^[2, 20-22]。然而, 这一现象背后的分子机制尚未完全阐明。近年来, 蓬勃发展的运动代谢组学研究表明, 运动会引起体内众多代谢物含量发生显著改变^[23]。这些运动响应代谢物 (exercise-responsive metabolites) 不仅可以为揭示运动有益健康背后的分子机制提供重要线索, 同时还为许多疾病的防治提供了潜在的干预靶点^[24-25]。2020 年, Contrepois 等^[26]在《细胞》(Cell) 发表的急性运动分子图谱中, 循环谷氨酸是运动后含量下降最显著的氨基酸。本课题组前期研究也发现, 4 周以有氧运动为主的运动干预可以显著降低肥胖儿童青少年循环谷氨酸含量^[27]。有研究显示谷氨酸是运动过程中肌肉摄取的主要氨基酸^[28-30]。因此, 运动降低循环谷氨酸含量的机制可能与循环谷氨酸的“去路”增加有关, 即运动可能通过增加肌肉组织对谷氨酸的摄取减少循环谷氨酸含量。

综上所述, 胰岛素敏感性降低是肥胖和 T2DM 等疾病的重要病理机制, 它的发生发展与循环谷氨酸含量升高相关, 而有氧运动可以增强胰岛素敏感

性, 降低循环谷氨酸含量, 有氧运动、循环谷氨酸、胰岛素敏感性三者之间关系密切。基于此, 本研究假设有氧运动可以通过降低循环谷氨酸含量增强机体胰岛素敏感性。为了验证上述假设, 本研究首先通过谷氨酸补充干预动物实验探讨循环谷氨酸含量升高后机体胰岛素敏感性的变化情况, 随后通过对有氧运动干预小鼠回补谷氨酸的方式来明确谷氨酸在有氧运动增强胰岛素敏感性中的作用, 并分析其对骨骼肌 InsR/IRS1/PI3K/AKT 信号通路活性的影响, 最后通过谷氨酸联合 NMDAR 抑制剂细胞干预实验探索谷氨酸/NMDAR 轴在调节 InsR/IRS1/PI3K/AKT 信号通路活性中发挥的作用。

1 材料与方法

1.1 实验分组

动物实验。以 6~8 周龄 C57BL/6 雄性小鼠 (购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司) 为实验对象。实验小鼠饲养于上海体育大学 SPF 级动物实验中心, 饲养室明/暗循环 12 h/12 h, 培养室温度 (23±1) °C。小鼠适应性喂养 1 周后开始正式实验。在谷氨酸补充干预实验中, 18 只小鼠随机分为正常对照组 (C)、500 mg/kg 谷氨酸补充干预组 (M) 和 1 000 mg/kg 谷氨酸补充干预组 (H), 每组 6 只。C 组小鼠正常饲养的同时灌胃等体积生理盐水, M 组和 H 组小鼠分别灌胃 500 mg/kg 和 1 000 mg/kg 剂量谷氨酸。在有氧运动回补谷氨酸实验中, 30 只小鼠随机分为正常对照组 (CS)、有氧运动干预组 (ES) 和有氧运动联合谷氨酸补充干预组 (EG), 每组 10 只。CS 组正常饲养的同时灌胃等体积生理盐水, ES 组运动干预的同时灌胃等体积生理盐水, EG 组运动干预的同时灌胃 1 000 mg/kg 剂量谷氨酸。所有涉及动物的实验均按照上海体育大学科学研究伦理委员会批准的伦理政策和程序进行, 伦理审批编号为 102772022DW023。

细胞实验。以 C2C12 成肌细胞为实验对象 (购自中国科学院细胞库), 将其分化为肌管细胞后进行后续实验。在谷氨酸干预实验中, 根据谷氨酸干预浓度将分化肌管细胞分为以下 6 组: 0 mmol/L 组、0.5 mmol/L 组、1 mmol/L 组、3 mmol/L 组、5 mmol/L 组、10 mmol/L 组。在谷氨酸受体 NMDAR 抑制剂干预实验中, 分化肌管细胞分为以下 3 组: 对照组 (C)、谷氨酸干预组 (G) 和谷氨酸联合 MK801 (谷氨酸受体 NMDAR 抑制剂) 干

预组 (GK)。C 组细胞无干预; G 组细胞接受 5 mmol/L 谷氨酸干预; GM 细胞在 5 mmol/L 谷氨酸干预的同时进行 50 μ mol/L MK801 干预。

1.2 有氧运动干预方案

本研究有氧跑台运动干预方案参照 Zhu 等^[31]的运动方案。在正式运动干预前, 进行 1 次/d、为期 3 d 的适应性运动。期间, 跑台无坡度, 每次的运动方案为 0 m/min 适应 5 min, 10 m/min 运动 10 min、14 m/min 运动 10 min。随后开始正式运动干预。正式运动干预起始跑速 12 m/min, 每 2 周跑速增加 2 m/min 直至 20 m/min。运动干预 1 次/d, 6 d/周, 共 10 周。

1.3 小鼠谷氨酸补充干预方案和细胞谷氨酸干预方案

在小鼠谷氨酸补充干预实验中, 鉴于谷氨酸在日常饮食中普遍存在, 以及其特有的增味效应, 补充手段选择灌胃方式。进一步通过文献资料确定成年人 (欧洲人口) 每日谷氨酸的摄入量为 88~126 mg/kg^[32]。同时在 Tabassum 等^[33]的研究当中, 大鼠谷氨酸的灌胃剂量为 103 mg/kg, 并表述该剂量是根据人类推荐补充剂量而计算的动物等效剂量。考虑到小鼠干预剂量高于人类和大鼠干预剂量, 以及谷氨酸溶解度低的问题, 本研究选择了 500 mg/kg、1 000 mg/kg 两个剂量开展小鼠谷氨酸补充研究。谷氨酸粉末溶于 0.9% 生理盐水中后混匀进行灌胃, 6 d/周, 共 10~12 周。

在细胞谷氨酸干预实验中, 谷氨酸的干预浓度参考前人在 C2C12 细胞中开展的研究基础上做适当调整^[34]。通过加入 40 mmol/L 谷氨酸母液, 使其终浓度变成 0.5、1、3、5、10 mmol/L, 干预 24 h。同样地, 本研究中 50 μ mol/L MK801 的干预浓度也是参考前人研究设定^[34-35]。

1.4 胰岛素敏感性和葡萄糖耐量测试

参考前人研究方案进行胰岛素耐量 (insulin tolerance test, ITT) 测试^[36-37]。测试前, 将待测试小鼠提前禁食 6 h。测试当日, 在安静的房间, 准备电子秤、小剪刀、棉花球、生理盐水配置的胰岛素溶液、75% 酒精、1 ml 无菌注射器、血糖仪及血糖试纸、马克笔、计时器、记录用纸笔和待测试小鼠。实验开始前称量小鼠体重, 按照 0.7 IU/kg 胰岛素注射剂量计算每只小鼠胰岛素的注射体积。使用马克笔在小鼠尾部进行标记, 从笼中依次轻柔抓

取小鼠, 使用蘸有酒精的棉球消毒小鼠尾部。干燥后, 小剪刀快速减去约 1 mm 的尾尖, 擦去第一滴血, 选取第二滴血进行基线的血糖测试并记录。待所有小鼠的基线血糖测试结束后, 按照同样的顺序腹腔注射胰岛素溶液。注意在第一只注射后立即开始计时, 随后按照同样的顺序和方法测试并记录第 15、30、60、120 min 4 个时间点时小鼠的血糖, 所有测试结束后, 将小鼠放回饲养笼, 添加饲料。

参考前人研究方案进行葡萄糖耐量 (glucose tolerance test, GTT) 测试^[37-38]。测试前, 待测试小鼠提前禁食 16 h。测试当日, 在安静的房间, 除准备生理盐水配置的葡萄糖溶液外, 其余实验用品和试剂同 ITT。实验开始前称量小鼠体重, 按照 1 g/kg 葡萄糖注射剂量计算每只小鼠葡萄糖的注射体积。小鼠标记方法和基线血糖测试流程同 ITT。待所有小鼠的基线血糖测试结束后, 按照同样的顺序腹腔注射葡萄糖溶液。后续操作同 ITT 测试。

1.5 血浆谷氨酸含量检测

按照试剂盒说明书 (生工生物工程 (上海) 股份有限公司, D799586) 在测试前配置各溶液。提前打开酶标仪, 预热 30 min 以上, 调节波长为 340 nm, 使用蒸馏水调零。按照说明书, 在 96 孔 UV 板各孔中依次加入各试剂, 混匀, 立即记录 340 nm 处 20 s 时的吸光度值 A_1 和 5 min 20 s 时的吸光度值 A_2 , 计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。以标准溶液浓度 (μ mol/L) 为 x 轴, 标准溶液对应 ΔA 为 y 轴, 绘制标准曲线 $y = kx + b$ 。将样本孔 ΔA 代入方程得到 x 值, 乘以稀释倍数即为样本中的谷氨酸含量。

1.6 蛋白质提取和蛋白质印迹法 (Western blot)

最后一次运动干预 24 h 后, 小鼠禁食 6 h, 随后通过腹腔注射 2 IU/kg 剂量胰岛素进行胰岛素信号通路激活^[36]。激活 10 min 后, 采用颈椎脱臼法处死小鼠, 剥离肌肉用于后续实验。称取 20 mg 骨骼肌加入 0.4 ml RIPA 工作液。匀浆机研磨, 4 $^{\circ}$ C, 35 Hz, 重复数次至肉眼观察不到组织碎片。冰上裂解, 间隔 15 min 混匀 1~2 s, 重复 2 次。4 $^{\circ}$ C, 12 000 r/min, 离心 15 min, 取上清液即为蛋白质原液。使用 BCA 试剂盒 (碧云天, P0010) 对总蛋白质行定量。细胞 24 h 干预结束后, 加入 10 μ mol/L 胰岛素母液使其终浓度变成 100 nmol/L, 以完成胰岛素信号通路的激活。以 6 孔细胞培养板为例 (每孔培养基 2 ml), 每孔加 20 μ l 胰岛素母液

(10 $\mu\text{mol/L}$)。激活 5 min 后去除培养基, 加入 1 $\times$ PBS 均匀晃动清洗 3 次。去除 1 $\times$ PBS, 加入 200 μl RIPA 工作液提取细胞蛋白质进行后续测试。蛋白质的提取过程均在冰上操作。

通过 10% SDS-PAGE 分离蛋白质后进行转膜。快速封闭液封闭后, 使用一抗溶液孵育过夜, 不同抗体孵育浓度: Tublin 1: 20 000 (Proteintec, 11224-1-AP)、GAPDH 1: 1 000 (Servicebio, GB12002)、InsR β 1: 1 000 (CST, 3020)、p-InsR β 1: 1 000 (CST, 3024)、IRS1 1: 1 000 (CST, 2382)、p-IRS1 1: 1 000 (CST, 2384)、PI3K p35 1: 1 000 (CST, 4257)、p-PI3K p35 1: 1 000 (CST, 4228)、AKT 1: 2 000 (CST, 4691)、p-AKT 1: 1 000 (CST, 4060)、mTOR 1: 1 000 (华安生物, ET1607-71)、p-mTOR 1: 1 000 (CST, 2971)、GLUT4 1: 1 000 (CST, 2213)。TBST 漂洗后孵育二抗, 再次洗涤后使用超敏 ECL 化学发光试剂盒, 于发光成像系统中曝光成像。使用 Image J 软件分析蛋白质条带灰度值。

1.7 统计学分析

使用 GraphPad Prism 软件进行实验数据的处理, 数据以平均数 $\pm$ 标准误表示。采用单因素方差分析比较 3 组及以上组间数据差异, 并进行 Dunnett's 事后检验。 $P<0.05$ 为差异具体统计学意义。*和 $^{\#}$ 表示 $P<0.05$, **和 $^{\#\#}$ 表示 $P<0.01$ 。

2 结 果

2.1 长期谷氨酸补充干预增加小鼠循环谷氨酸含量和降低其胰岛素敏感性

2.1.1 长期谷氨酸补充干预增加小鼠循环谷氨酸含量

12 周谷氨酸补充干预后, H 组小鼠循环谷氨酸含量显著升高 ($P<0.05$, 图 1), M 组小鼠循环谷氨酸含量没有显著升高 ($P>0.05$, 图 1)。

2.1.2 长期谷氨酸补充干预降低小鼠的胰岛素敏感性和葡萄糖耐量

12 周谷氨酸补充干预后, 通过 ITT 和 GTT 来评估小鼠的胰岛素敏感性和葡萄糖耐量 (图 2)。在 ITT 测试中, H 组小鼠 15 min ($P<0.01$, 图 2a)

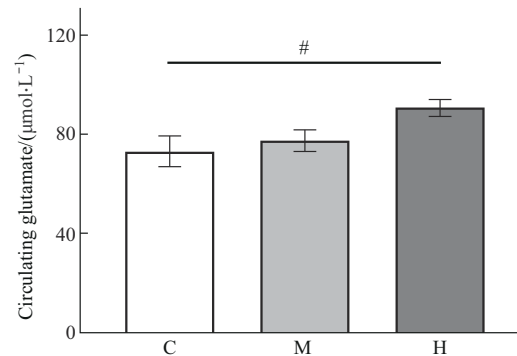


Fig. 1 Effect of glutamate supplementation on plasma glutamate

C vs H: $^{\#}P<0.05$, $n=6$. C: control group; M: 500 mg/kg glutamate intervention group; H: 1000 mg/kg glutamate intervention group.

和 30 min ($P<0.05$, 图 2a) 血糖值, 以及 ITT 曲线下面积显著高于 C 组小鼠 ($P<0.01$, 图 2b), M 组小鼠仅 15 min 血糖值显著高于 C 组小鼠 ($P<0.01$, 图 2a)。在 GTT 测试中, H 组小鼠 30 min 和 60 min 血糖值 ($P<0.01$, 图 2c), 以及 GTT 曲线下面积显著高于 C 组小鼠 ($P<0.01$, 图 2d), M 组小鼠相关指标无显著变化。

2.1.3 长期谷氨酸补充干预降低小鼠骨骼肌 InsR/IRS1/PI3K/AKT 信号通路活性

12 周谷氨酸补充干预后, 小鼠进行胰岛素信号通路激活, 随后取样检测骨骼肌 InsR/IRS1/PI3K/AKT 信号通路关键蛋白磷酸化水平来反映骨骼肌的胰岛素敏感性 (图 3)。与 C 组小鼠相比, H 组小鼠骨骼肌 p-InsR β ($P<0.01$)、IRS1 ($P<0.05$)、p-AKT ($P<0.01$) 和 p-mTOR ($P<0.01$) 蛋白表达显著下调, M 组小鼠 IRS1 ($P<0.01$) 和 p-AKT ($P<0.05$) 蛋白表达显著下调。

2.2 谷氨酸回补削弱有氧运动降低小鼠循环谷氨酸含量与增强胰岛素敏感性的效应

2.2.1 谷氨酸回补削弱有氧运动降低小鼠循环谷氨酸含量的效应

10 周干预后, 检测各组小鼠循环谷氨酸含量 (图 4)。与 CS 组小鼠相比, ES 组小鼠循环谷氨酸含量显著下降 ($P<0.05$), EG 组小鼠循环谷氨酸含量无显著变化 ($P>0.05$)。

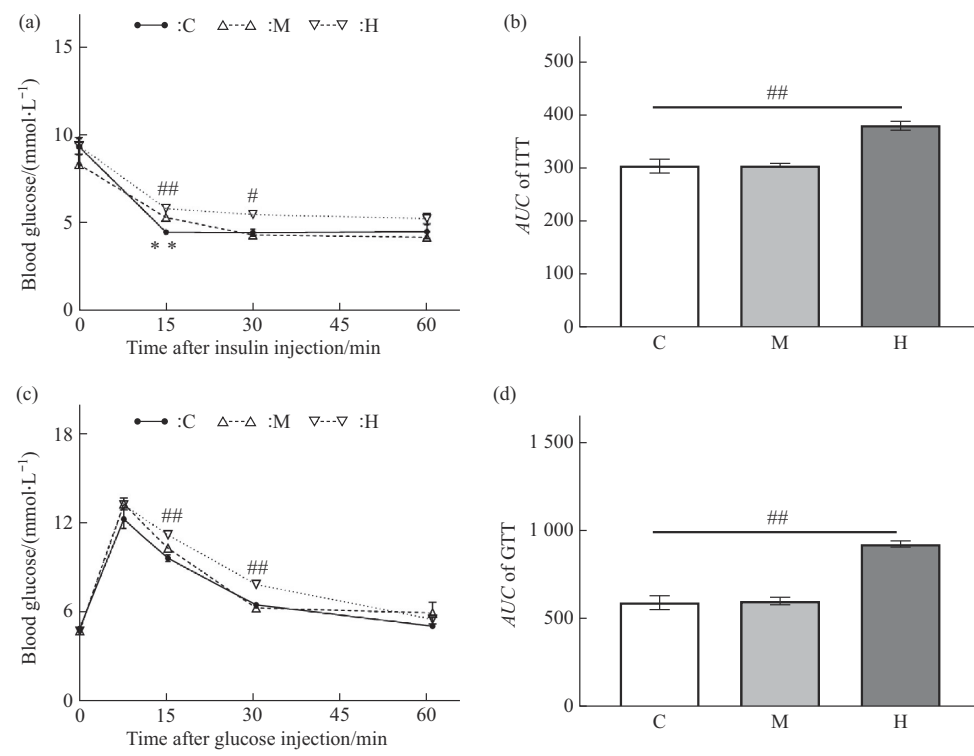


Fig. 2 Effect of glutamate supplementation on ITT and GTT

Blood glucose and *AUC* during the test of mice in each group after 12-week glutamate supplementation. (a, b) Blood glucose during the ITT and the *AUC* of ITT. (c, d) Blood glucose during the GTT and the *AUC* of GTT. C vs M: ***P*<0.01; C vs H: #*P*<0.05, ##*P*<0.01. *n*=6. C: control group; M: 500 mg/kg glutamate intervention group; H: 1 000 mg/kg glutamate intervention group. ITT: insulin tolerance test; GTT: glucose tolerance test. *AUC*: area under curve.

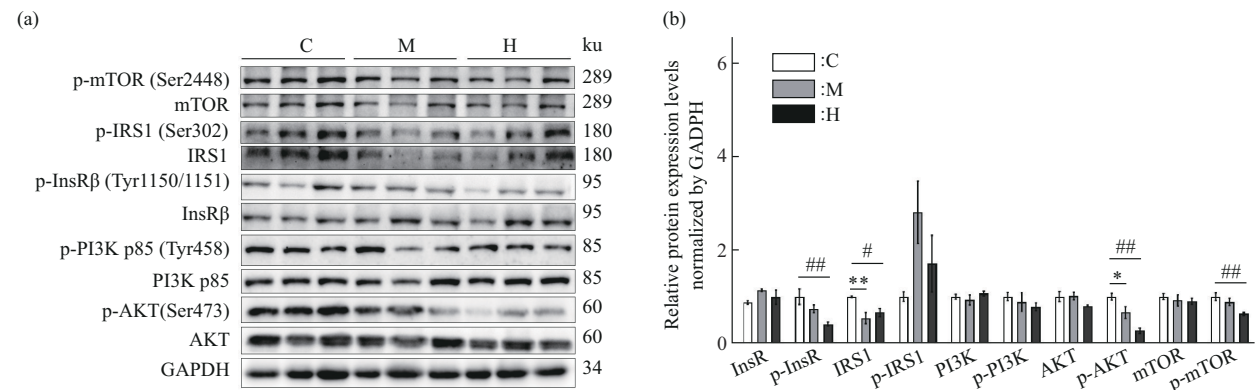


Fig. 3 Effect of glutamate supplementation on phosphorylation of InsR/IRS1/PI3K/AKT signaling components in the muscle. Representative Western blots (a) and summarized data (b) for InsR/IRS1/PI3K/AKT signaling components. C vs M: **P*<0.05, ***P*<0.01; C vs H: #*P*<0.05, ##*P*<0.01. *n*=6. C: control group; M: 500 mg/kg glutamate intervention group; H: 1 000 mg/kg glutamate intervention group.

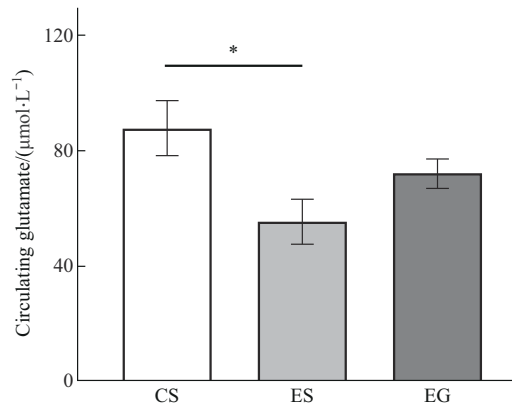


Fig. 4 Effect of aerobic exercise and glutamate supplementation on plasma glutamate

CS vs ES: * $P < 0.05$, $n = 6$. CS: control group; ES: exercise intervention group; EG: exercise combined with glutamate intervention group.

2.2.2 谷氨酸回补削弱有氧运动增强正常小鼠胰岛素敏感性和葡萄糖耐量的效应

10周干预后,通过ITT和GTT来评估小鼠的胰岛素敏感性和葡萄糖耐量(图5)。在ITT测试中,ES组小鼠30 min ($P < 0.01$,图5a)和60 min ($P < 0.05$,图5a)血糖值,以及ITT曲线下面积

($P < 0.05$,图5b)显著低于CS组小鼠,EG组小鼠ITT数据无显著变化。在GTT测试中,ES组小鼠30 min ($P < 0.05$,图5c)和60 min ($P < 0.05$,图5c)血糖值,以及GTT曲线下面积($P < 0.01$,图5d)显著低于CS组小鼠,EG组小鼠GTT数据无显著变化。

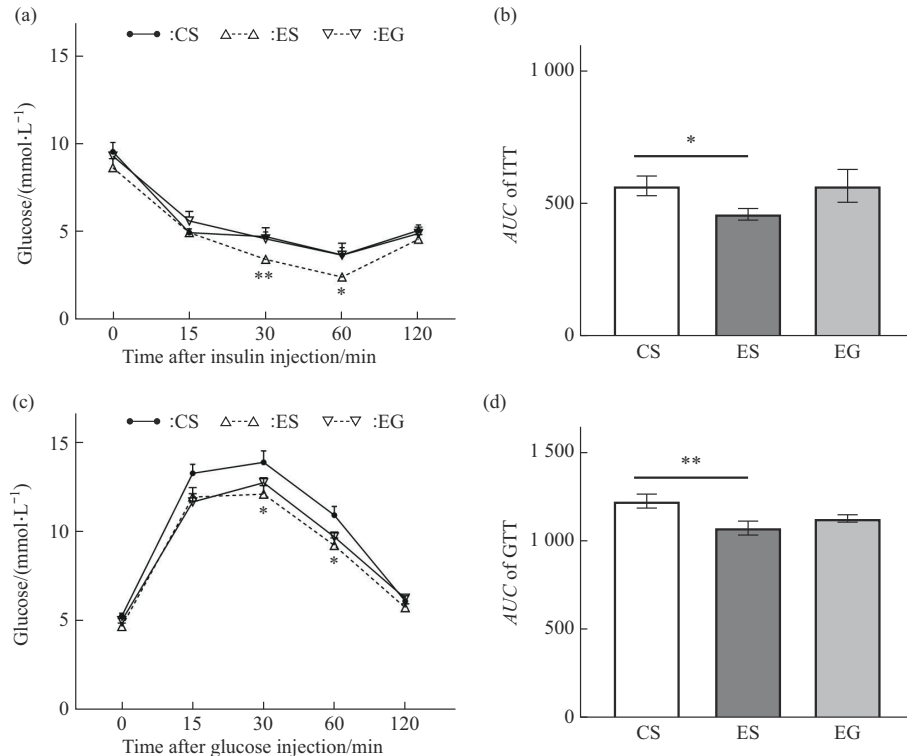


Fig. 5 Effect of aerobic exercise and glutamate supplementation on ITT and GTT

Blood glucose and AUC during the test of mice in each group after 10-week intervention. (a, b) Blood glucose during the ITT and the AUC of ITT. (c, d) Blood glucose during the GTT and the AUC of GTT. CS vs ES: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, $n = 8-10$. CS: control group; ES: exercise intervention group; EG: exercise combined with glutamate intervention group. ITT: insulin tolerance test; GTT: glucose tolerance test. AUC: area under curve.

2.2.3 谷氨酸回补削弱有氧运动增强正常小鼠骨骼肌InsR/IRS1/PI3K/AKT信号通路活性的效应

10周干预后,小鼠进行胰岛素信号通路激活,随后取样检测骨骼肌InsR/IRS1/PI3K/AKT信号通路关键蛋白磷酸化水平来反映骨骼肌的胰岛素敏感

性(图6)。与CS组小鼠相比,ES组小鼠骨骼肌p-InsRβ($P<0.01$)、IRS1($P<0.01$)、p-AKT($P<0.01$)和p-mTOR($P<0.05$)蛋白表达显著上调。与CS组小鼠相比,EG组小鼠骨骼肌所测蛋白质表达无显著变化。

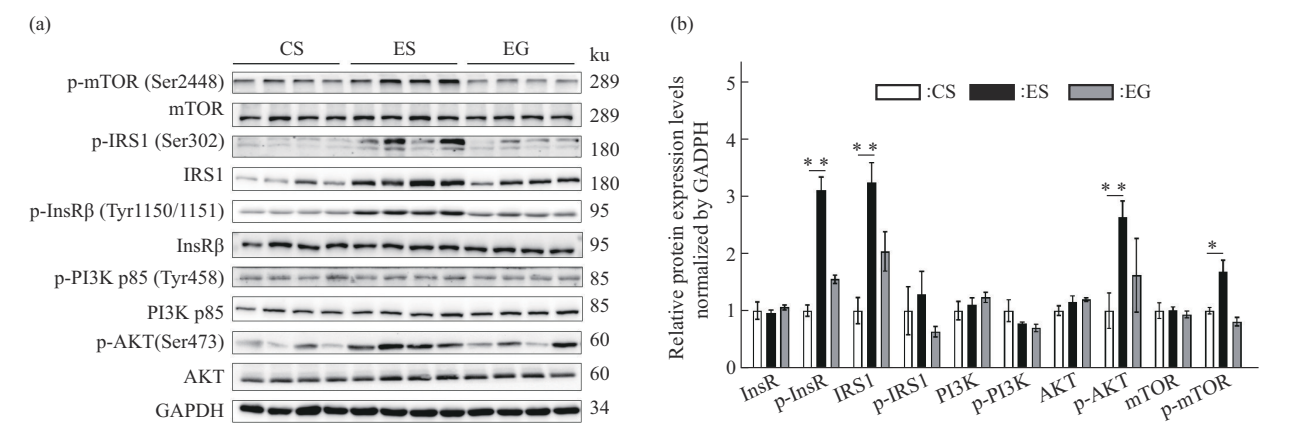


Fig. 6 Effect of aerobic exercise and glutamate supplementation on phosphorylation of InsR/IRS1/PI3K/AKT signaling components in the muscle

Representative Western blots (a) and summarized data (b) for InsR/IRS1/PI3K/AKT signaling components. CS vs ES: * $P<0.05$, ** $P<0.01$. $n=5$. CS: control group; ES: exercise intervention group; EG: exercise combined with glutamate intervention group.

2.3 NMDAR抑制剂削弱谷氨酸下调分化C2C12肌管细胞InsR/IRS1/PI3K/AKT通路活性的效应

2.3.1 谷氨酸干预剂量依赖性地下调分化C2C12肌管细胞InsR/IRS1/PI3K/AKT通路活性

谷氨酸干预24 h后,细胞进行胰岛素信号通路激活,随后取样检测InsR/IRS1/PI3K/AKT信号通路关键蛋白磷酸化水平来反映细胞的胰岛素敏感性(图7)。与0 mmol/L谷氨酸干预组相比:1 mmol/L、10 mmol/L谷氨酸干预24 h后,InsR总蛋白表达显著下调($P<0.05$),5 mmol/L谷氨酸干预24 h后,p-InsR蛋白表达显著下调($P<0.05$);10 mmol/L谷氨酸干预24 h后,IRS1总蛋白表达显著下调($P<0.05$),1、3、5、10 mmol/L谷氨酸干预24 h后,p-IRS1蛋白显著下调($P<0.01$);1 mmol/L谷氨酸干预24 h后,PI3K总蛋白表达显著下调($P<0.05$),10 mmol/L谷氨酸干预24 h后,PI3K总蛋白表达显著下调($P<0.01$),1、3、5、10 mmol/L

谷氨酸干预24 h后,p-PI3K蛋白显著下调($P<0.05$);3、10 mmol/L谷氨酸干预24 h后,p-AKT蛋白显著下调($P<0.05$),5 mmol/L谷氨酸干预24 h后,p-AKT蛋白显著下调($P<0.01$);10 mmol/L谷氨酸干预24 h后,mTOR总蛋白表达显著下调($P<0.05$);10 mmol/L谷氨酸干预24 h后,GLUT4蛋白表达显著下调($P<0.05$)。

2.3.2 NMDAR抑制剂削弱谷氨酸下调分化C2C12肌管细胞InsR/IRS1/PI3K/AKT通路活性的效应

干预24 h后,细胞进行胰岛素信号通路激活,随后取样检测InsR/IRS1/PI3K/AKT信号通路关键蛋白磷酸化水平来反映细胞的胰岛素敏感性(图8)。首先确定分化C2C12肌管细胞表达NMDAR(图8a)。与C组细胞相比,G组细胞p-InsRβ、p-IRS1、p-PI3K p85和p-AKT蛋白表达显著下调($P<0.05$),GK组细胞各蛋白表达均无显著变化($P>0.05$)。

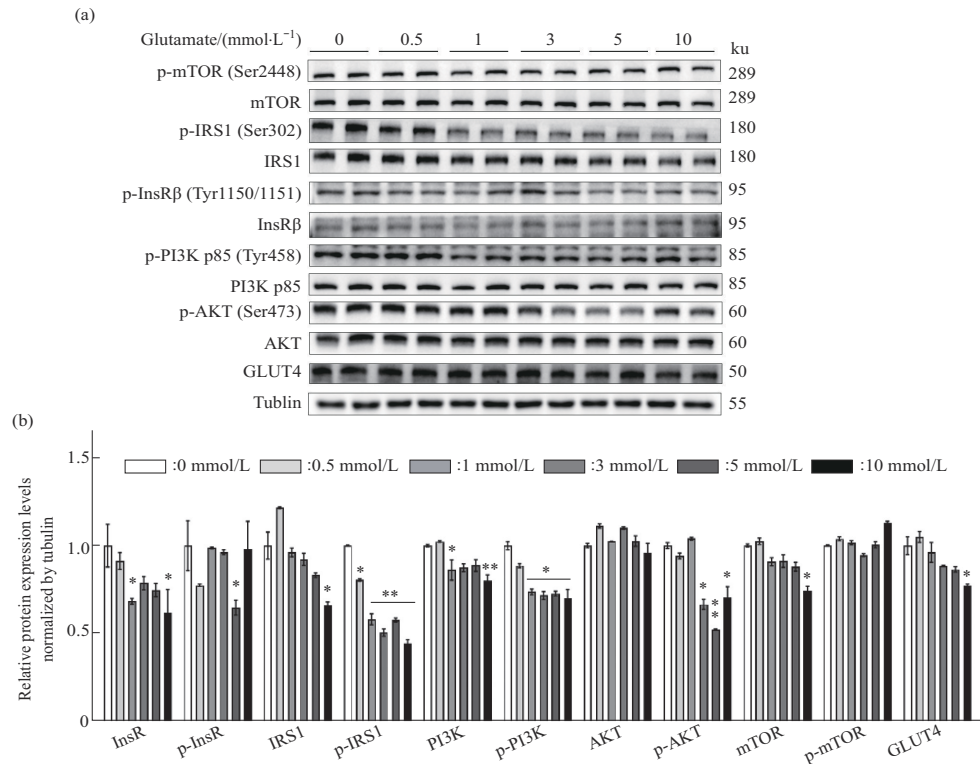


Fig. 7 Effect of glutamate intervention on phosphorylation of InsR/IRS1/PI3K/AKT signaling components of C2C12

Representative Western blots (a) and summarized data (b) for InsR/IRS1/PI3K/AKT signaling components. Comparison with group 0 mmol/L: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. $n=4$.

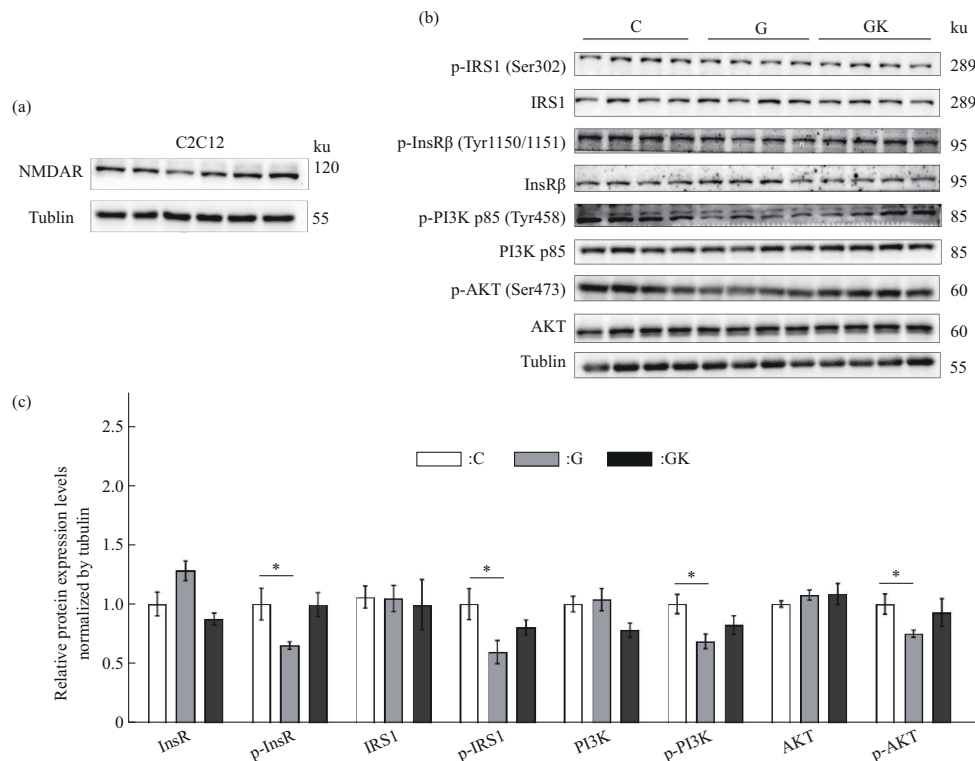


Fig. 8 Effect of glutamate and NMDAR inhibitor intervention on phosphorylation of InsR/IRS1/PI3K/AKT signaling components of C2C12

Representative Western blots (a, b) and summarized data (c) for InsR/IRS1/PI3K/AKT signaling components, and NMDAR of C2C12. Comparison with group C: * $P < 0.05$. $n=4$. C: control group; G: glutamate intervention group; GK: glutamate combined with MK801 intervention group.

3 讨 论

3.1 长期谷氨酸补充干预降低正常小鼠胰岛素敏感性

虽然众多研究证据显示循环谷氨酸升高与机体胰岛素敏感性降低之间存在密切关联,但是还未有相关在体研究直接证明过量谷氨酸降低机体胰岛素敏感性。目前最有力的证据来自MSG诱导的肥胖动物模型^[39]。然而,该模型在发育期早期造模的特点使其在很大程度上难以解释在儿童青少年^[8, 40]和成年^[41]群体中所发现的过量谷氨酸与IR的正向关联。因此,本研究以6~8周龄野生型C57BL/6小鼠为研究对象,通过外源性谷氨酸灌胃补充的干预方式研究循环谷氨酸含量升高后机体胰岛素敏感性和葡萄糖稳态的变化。本研究发现,长期谷氨酸灌胃对小鼠的体重、能量代谢、肝功能等相关指标无显著影响(数据未显示)。随后检测发现,长期谷氨酸(1 000 mg/kg)补充干预显著增加正常小鼠循环谷氨酸含量,同时显著降低正常小鼠的胰岛素敏感性和葡萄糖耐量。具体表现为谷氨酸灌胃组小鼠在ITT和GTT测试中部分时间点血糖水平,以及曲线下面积显著高于对照组。该部分研究同前人开展的氨基酸与IR关系的研究类似。Zhou等^[38]在研究过量苯丙氨酸与胰岛素敏感性之间的因果关系时,通过在小鼠饲料中添加苯丙氨酸,或饲喂小鼠可以在体内转化为苯丙氨酸的人工甜味剂阿斯巴甜的方式提高循环苯丙氨酸水平,随后发现干预组小鼠出现空腹血糖显著升高、胰岛素敏感性下降和葡萄糖耐量受损等典型IR特征。

已知InsR/IRSs/PI3K/AKT是控制胰岛素敏感性的关键信号通路,在骨骼肌中主要是InsR/IRS1/PI3K/AKT2信号轴响应胰岛素信号^[1]。InsR/IRS1/PI3K/AKT2信号通路活性降低会导致骨骼肌发生IR^[42]。当敲除该信号通路的关键作用蛋白后,相应基因编辑小鼠将出现IR特征^[43]。例如,骨骼肌特异性敲除InsR小鼠骨骼肌p-IRS1和p-PI3K p85蛋白表达下降,胰岛素刺激下的葡萄糖摄取减少^[44],IRS1敲除小鼠表现出明显的骨骼肌和肝脏IR^[45],AKT2基因敲除小鼠表现有胰岛素对肝脏和骨骼肌的作用缺陷,以及胰岛素降血糖的能力受损^[46]。在肥胖和T2DM等IR动物模型当中,骨骼肌InsR/IRS1/PI3K/AKT信号通路活性受损,表现有骨骼肌p-InsR、IRS1总蛋白和p-IRS1蛋白、AKT总蛋白和p-AKT蛋白表达显著下降等^[47-48]。

类似地,本研究结果表明,长期谷氨酸(1 000 mg/kg)补充干预显著下调胰岛素作用下骨骼肌p-InsR、p-AKT、p-PI3K、p-mTOR蛋白表达,以及IRS1和mTOR总蛋白的表达。因此,循环谷氨酸含量升高可能通过损害骨骼肌InsR/IRS1/PI3K/AKT信号通路活性进而降低机体的胰岛素敏感性。

3.2 谷氨酸在有氧运动增强胰岛素敏感性中的作用及机制

长期谷氨酸干预研究证实过量循环谷氨酸会减弱机体胰岛素敏感性。同时,本实验室及其他课题组的研究显示有氧运动可以降低循环谷氨酸含量^[26-27]。在此基础上,本研究进一步通过在有氧运动干预中回补谷氨酸的方式来探索谷氨酸在有氧运动增强胰岛素敏感性中发挥的作用。研究发现,10周有氧运动干预显著降低了循环谷氨酸含量,而在运动干预的同时回补谷氨酸可以削弱前述效应。该结果为后续探讨谷氨酸在有氧运动增强胰岛素敏感中的作用奠定了基础。随后,本研究发现10周有氧运动显著增强小鼠的胰岛素敏感性和葡萄糖稳态,具体表现为运动干预组小鼠在ITT和GTT测试中部分时间点血糖水平,以及曲线下面积显著低于对照组,而在运动干预的同时回补谷氨酸可以削弱前述效应,结果说明有氧运动可以部分通过降低循环谷氨酸含量来增强机体胰岛素敏感性。同时本研究发现10周有氧运动显著上调了小鼠股四头肌胰岛素作用下p-InsR、p-AKT、p-mTOR,以及IRS1蛋白的表达,而在运动干预的同时回补谷氨酸可以削弱前述效应。综上所述,有氧运动可以通过降低循环谷氨酸含量,增强胰岛素敏感,这可能与骨骼肌胰岛素刺激下InsR/IRS1/AKT信号通路活性增加有关。

3.3 谷氨酸降低InsR/IRS1/PI3K/AKT信号通路活性的作用及机制

谷氨酸作为一种信号分子可以通过与其受体结合发挥代谢调控作用^[49]。谷氨酸受体包括代谢型受体和离子型受体两大类^[50]。其中,NMDAR是一种离子型受体,前期研究证实NMDAR参与调控机体糖脂代谢^[16, 18]。饲喂正常饲料的C57BL/6小鼠从1月龄开始接受4 mg/(kg·d⁻¹)剂量的NMDA腹腔注射,6月龄时检测其代谢表型。结果发现,与腹腔注射生理盐水的对照组相比,NMDA注射组小鼠的空腹血糖显著上升,葡萄糖耐量和胰岛素耐量受损^[16]。而以海马神经元为实验对象的体外研究显示,抑制谷氨酸/NMDAR轴可上调胰岛素刺

激下 p-InsR 蛋白表达^[51]。基于上述实验证据,本研究首先以分化 C2C12 肌管细胞为研究对象,探究不同浓度谷氨酸干预(0、0.5、1、3、5、10 mmol/L)对 InsR/IRS1/PI3K/AKT 信号通路活性的影响,为后续细胞实验确定谷氨酸的干预浓度。与前人研究相似^[52],本研究发现,5 mmol/L 谷氨酸干预分化 C2C12 肌管细胞 24 h 显著降低胰岛素作用下 p-InsR、p-IRS1、p-PI3K 和 p-AKT 表达。已有研究证实 NMDAR 在骨骼肌中大量表达^[34]。本研究在进一步明确 NMDAR 在分化 C2C12 肌管细胞中表达的基础上,以分化 C2C12 肌管细胞为研究对象,在谷氨酸干预的同时在培养基中添加 NMDAR 抑制剂 MK801。结果显示,谷氨酸减弱胰岛素作用下 InsR/IRS1/PI3K/AKT 通路活性的效应被 MK801 抵消。上述结果提示,过量谷氨酸可能通过与 NMDAR 受体结合,发挥抑制 InsR/IRS1/PI3K/AKT 通路活性的作用。

4 结 论

长期有氧运动可以通过降低循环谷氨酸含量增强胰岛素敏感性,这可能与胰岛素刺激下骨骼肌 InsR/IRS1/AKT 信号通路活性上调有关。同时,谷氨酸作为一种信号分子可能通过与骨骼肌 NMDAR 结合,抑制 InsR/IRS1/PI3K/AKT 信号通路活性。

参 考 文 献

- [1] Petersen M C, Shulman G I. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiol Rev*, 2018, **98**(4): 2133-2223
- [2] James D E, Stöckli J, Birnbaum M J. The aetiology and molecular landscape of insulin resistance. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, **22**(11): 751-771
- [3] 苏青, 臧丽. 胰岛素抵抗的历史、机制和管理. *中华糖尿病杂志*, 2023, **15**(1): 6-13
Su Q, Zang L. Chin J Diabetes Mellit, 2023, **15**(1): 6-13
- [4] Walker M C, van der Donk W A. The many roles of glutamate in metabolism. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2016, **43**(2/3): 419-430
- [5] Takahashi H, Yokoi N, Seino S. Glutamate as intracellular and extracellular signals in pancreatic islet functions. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2019, **95**(6): 246-260
- [6] Du J, Li X H, Li Y J. Glutamate in peripheral organs: biology and pharmacology. *Eur J Pharmacol*, 2016, **784**: 42-48
- [7] Ghenni G, Ogura M, Iwasaki M, *et al.* Glutamate acts as a key signal linking glucose metabolism to incretin/cAMP action to amplify insulin secretion. *Cell Rep*, 2014, **9**(2): 661-673
- [8] Suzuki Y, Kido J, Matsumoto S, *et al.* Associations among amino acid, lipid, and glucose metabolic profiles in childhood obesity. *BMC Pediatr*, 2019, **19**(1): 273
- [9] Ikeda H. The effect of mild renal dysfunction on the assessment of plasma amino acid concentration and insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Res*, 2022, **2022**: 2048300
- [10] Davalli A M, Perego C, Folli F B. The potential role of glutamate in the current diabetes epidemic. *Acta Diabetol*, 2012, **49**(3): 167-183
- [11] Maltais-Payette I, Allam-Ndoul B, Pérusse L, *et al.* Circulating glutamate level as a potential biomarker for abdominal obesity and metabolic risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2019, **29**(12): 1353-1360
- [12] Wang S, Li M, Lin H, *et al.* Amino acids, microbiota-related metabolites, and the risk of incident diabetes among normoglycemic Chinese adults: findings from the 4C study. *Cell Rep Med*, 2022, **3**(9): 100727
- [13] Gunther S H, Khoo C M, Tai E S, *et al.* Serum acylcarnitines and amino acids and risk of type 2 diabetes in a multiethnic Asian population. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2020, **8**(1): e001315
- [14] Tapiero H, Mathé G, Couvreur P, *et al.* II. glutamine and glutamate. *Biomed Pharmacother*, 2002, **56**(9): 446-457
- [15] He K, Du S, Xun P, *et al.* Consumption of monosodium glutamate in relation to incidence of overweight in Chinese adults: China Health and Nutrition Survey (CHNS). *Am J Clin Nutr*, 2011, **93**(6): 1328-1336
- [16] Huang X T, Yang J X, Wang Z, *et al.* Activation of N-methyl-D-aspartate receptor regulates insulin sensitivity and lipid metabolism. *Theranostics*, 2021, **11**(5): 2247-2262
- [17] Søndergård S D, Cinti I, Kuhlman A B, *et al.* The effects of 3 weeks of oral glutathione supplementation on whole body insulin sensitivity in obese males with and without type 2 diabetes: a randomized trial. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2021, **46**(9): 1133-1142
- [18] Marquard J, Otter S, Welters A, *et al.* Characterization of pancreatic NMDA receptors as possible drug targets for diabetes treatment. *Nat Med*, 2015, **21**(4): 363-372
- [19] Dollet L, Kuefner M, Caria E, *et al.* Glutamine regulates skeletal muscle immunometabolism in type 2 diabetes. *Diabetes*, 2022, **71**(4): 624-636
- [20] Luan X, Tian X, Zhang H, *et al.* Exercise as a prescription for patients with various diseases. *J Sport Health Sci*, 2019, **8**(5): 422-441
- [21] Kanaley J A, Colberg S R, Corcoran M H, *et al.* Exercise/physical activity in individuals with type 2 diabetes: a consensus statement from the American college of sports medicine. *Med Sci Sports Exerc*, 2022, **54**(2): 353-368
- [22] Yao T, Wang H, Lin K, *et al.* Exercise-induced microbial changes in preventing type 2 diabetes. *Sci China Life Sci*, 2024, **67**(5): 892-899
- [23] Khoramipour K, Sandbakk Ø, Keshteli A H, *et al.* Metabolomics in exercise and sports: a systematic review. *Sports Med*, 2022, **52**(3): 547-583
- [24] Yuan Y, Xu P, Jiang Q, *et al.* Exercise-induced α -ketoglutaric acid stimulates muscle hypertrophy and fat loss through OXGR1-dependent adrenal activation. *EMBO J*, 2020, **39**(7): e103304

- [25] Li V L, He Y, Contrepois K, *et al.* An exercise-inducible metabolite that suppresses feeding and obesity. *Nature*, 2022, **606**(7915): 785-790
- [26] Contrepois K, Wu S, Moneghetti K J, *et al.* Molecular choreography of acute exercise. *Cell*, 2020, **181**(5): 1112-1130.e16
- [27] 马仁燕. 基于代谢组学探究运动对肥胖儿童青少年脂肪肝的作用[D]. 上海: 上海体育大学, 2022
- Ma R Y. The Efficacy of Exercise Based on Metabolomics for Obese Adolescents With Fatty Liver Disease[D]. Shanghai: Shanghai University of Sport, 2022
- [28] Katz A, Broberg S, Sahlin K, *et al.* Muscle ammonia and amino acid metabolism during dynamic exercise in man. *Clin Physiol*, 1986, **6**(4): 365-379
- [29] Graham T E, MacLean D A. Ammonia and amino acid metabolism in skeletal muscle: human, rodent and canine models. *Med Sci Sports Exerc*, 1998, **30**(1): 34-46
- [30] Mourtzakis M, Saltin B, Graham T, *et al.* Carbohydrate metabolism during prolonged exercise and recovery: interactions between pyruvate dehydrogenase, fatty acids, and amino acids. *J Appl Physiol* (1985), 2006, **100**(6): 1822-1830
- [31] Zhu J Y, Chen M, Mu W J, *et al.* Higd1a facilitates exercise-mediated alleviation of fatty liver in diet-induced obese mice. *Metabolism*, 2022, **134**: 155241
- [32] Tennant D R. Review of glutamate intake from both food additive and non-additive sources in the European union. *Ann Nutr Metab*, 2018, **73**(Suppl 5): 21-28
- [33] Tabassum S, Ahmad S, Madiha S, *et al.* Free L-glutamate-induced modulation in oxidative and neurochemical profile contributes to enhancement in locomotor and memory performance in male rats. *Sci Rep*, 2020, **10**(1): 11206
- [34] Lee K H, Park J Y, Kim K. NMDA receptor-mediated calcium influx plays an essential role in myoblast fusion. *FEBS Lett*, 2004, **578**(1/2): 47-52
- [35] Huang X T, Li C, Peng X P, *et al.* An excessive increase in glutamate contributes to glucose-toxicity in β -cells via activation of pancreatic NMDA receptors in rodent diabetes. *Sci Rep*, 2017, **7**: 44120
- [36] Zhou M, Shao J, Wu C Y, *et al.* Targeting BCAA catabolism to treat obesity-associated insulin resistance. *Diabetes*, 2019, **68**(9): 1730-1746
- [37] Chen M, Zhu J Y, Mu W J, *et al.* Cdo1-Camkk2-AMPK axis confers the protective effects of exercise against NAFLD in mice. *Nat Commun*, 2023, **14**(1): 8391
- [38] Zhou Q, Sun W W, Chen J C, *et al.* Phenylalanine impairs insulin signaling and inhibits glucose uptake through modification of IR β . *Nat Commun*, 2022, **13**(1): 4291
- [39] Hernández Bautista R J, Mahmoud A M, Königsberg M, *et al.* Obesity: pathophysiology, monosodium glutamate-induced model and anti-obesity medicinal plants. *Biomed Pharmacother*, 2019, **111**: 503-516
- [40] Short K R, Chadwick J Q, Teague A M, *et al.* Effect of obesity and exercise training on plasma amino acids and amino metabolites in American Indian adolescents. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019, **104**(8): 3249-3261
- [41] Cheng S, Rhee E P, Larson M G, *et al.* Metabolite profiling identifies pathways associated with metabolic risk in humans. *Circulation*, 2012, **125**(18): 2222-2231
- [42] 肖露露, 梁永林, 李钦, 等. IRS1/PI3K 信号通路在 T2DM 骨骼肌胰岛素抵抗中的相关研究进展. *实用中医内科杂志*, 2023, **37**(6): 71-75
- Xiao L L, Liang Y L, Li Q, *et al.* *J Pract Tradit Chin Intern Med*, 2023, **37**(6): 71-75
- [43] Nandi A, Kitamura Y, Kahn C R, *et al.* Mouse models of insulin resistance. *Physiol Rev*, 2004, **84**(2): 623-647
- [44] Lauro D, Kido Y, Castle A L, *et al.* Impaired glucose tolerance in mice with a targeted impairment of insulin action in muscle and adipose tissue. *Nat Genet*, 1998, **20**(3): 294-298
- [45] Kido Y, Burks D J, Withers D, *et al.* Tissue-specific insulin resistance in mice with mutations in the insulin receptor, IRS-1, and IRS-2. *J Clin Invest*, 2000, **105**(2): 199-205
- [46] Cho H, Mu J, Kim J K, *et al.* Insulin resistance and a diabetes mellitus-like syndrome in mice lacking the protein kinase Akt2 (PKB β). *Science*, 2001, **292**(5522): 1728-1731
- [47] 王艳军, 孙巍巍, 张丽霏, 等. 胰岛素抵抗大鼠肌肉中 IRS-1、P70S6K 的表达. *中国现代医学杂志*, 2009, **19**(11): 1617-1619, 1624
- Wang Y J, Sun W W, Zhang L F, *et al.* *China J Mod Med*, 2009, **19**(11): 1617-1619, 1624
- [48] 齐洁, 傅建, 张钧. TRIM72 在运动改善胰岛素信号途径 PI $_3$ -K/Akt 中的作用. *北京体育大学学报*, 2016, **39**(5): 45-51
- Qi J, Fu J, Zhang J. *J Beijing Sport Univ*, 2016, **39**(5): 45-51
- [49] Choi W M, Kim H H, Kim M H, *et al.* Glutamate signaling in hepatic stellate cells drives alcoholic steatosis. *Cell Metab*, 2019, **30**(5): 877-889.e7
- [50] Reiner A, Levitz J. Glutamatergic signaling in the central nervous system: ionotropic and metabotropic receptors in concert. *Neuron*, 2018, **98**(6): 1080-1098
- [51] Zhao W Q, De Felice F G, Fernandez S, *et al.* Amyloid beta oligomers induce impairment of neuronal insulin receptors. *FASEB J*, 2008, **22**(1): 246-260
- [52] Baldeón M E, Zertuche F, Flores N, *et al.* Free amino acid content in human milk is associated with infant gender and weight gain during the first four months of lactation. *Nutrients*, 2019, **11**(9): 2239

The Role and Mechanism of Aerobic Exercise in Enhancing Insulin Sensitivity by Reducing Circulating Glutamate*

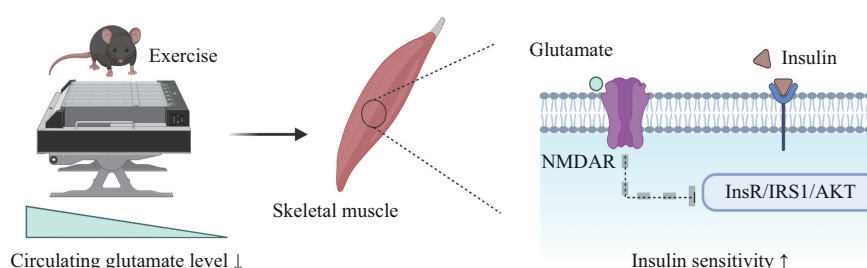
XING Xiao-Rui¹⁾, SUN Qin²⁾, WANG Huan-Yu³⁾, FAN Ruo-Bing³⁾, WANG Ru³⁾**

¹⁾Military Sports Training Center, Beijing 100072, China;

²⁾School of Sport and Health Science, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China;

³⁾School of Exercise and Health, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China)

Graphical abstract



Abstract Objective To explore the role and potential mechanism of circulating glutamate in enhancing insulin sensitivity by aerobic exercise. This research may provide a novel strategy for preventing metabolic diseases through precise exercise interventions. **Methods** To investigate the effects of elevated circulating glutamate on insulin sensitivity and its potential mechanisms, 18 male C57BL/6 mice aged 6 to 8 weeks were randomly divided into 3 groups: a control group (C), a group receiving 500 mg/kg glutamate supplementation (M), and a group receiving 1 000 mg/kg glutamate supplementation (H). The intervention lasted for 12 weeks, with treatments administered 6 d per week. Following the intervention, an insulin tolerance test (ITT) and a glucose tolerance test (GTT) were conducted. Circulating glutamate levels were measured using a commercial kit, and the activity of the skeletal muscle InsR/IRS1/PI3K/AKT signaling pathway was analyzed *via* Western blot. To further investigate the role of circulating glutamate in enhancing insulin sensitivity through aerobic exercise, 30 male C57BL/6 mice were randomly assigned to 3 groups: a control group (CS), an exercise intervention group (ES), and an exercise combined with glutamate supplementation group (EG). The ES group underwent treadmill-based aerobic exercise, while the EG group received glutamate supplementation at a dosage of 1 000 mg/kg in addition to aerobic exercise. The intervention lasted for 10 weeks, with sessions occurring 6 d per week, and the same procedures were followed afterward. To further elucidate the mechanism by which glutamate modulates the InsR/IRS1/PI3K/

* This work was supported by a grant from Program of Shanghai Academic Research Leader under the Science and Technology Innovation Action Plan (21XD1403200).

** Corresponding author.

Tel: 86-21-65507356, E-mail: wangru@sus.edu.cn

Received: April 27, 2025 Accepted: June 5, 2025

AKT signaling pathway, C2C12 myotubes were initially subjected to graded glutamate treatment (0, 0.5, 1, 3, 5, 10 mmol/L) to determine the optimal concentration for cellular intervention. Subsequently, the cells were divided into 3 groups: a control group (C), a glutamate intervention group (G), and a glutamate combined with MK801 (an NMDA receptor antagonist) intervention group (GK). The G group was treated with 5 mmol/L glutamate, while the GK group received 50 μ mol/L MK801 in addition to 5 mmol/L glutamate. After 24 h of intervention, the activity of the InsR/IRS1/PI3K/AKT signaling pathway was analyzed using Western blot. **Results** Compared to the mice in group C, the circulating glutamate levels, the area under curve (AUC) of ITT, and the AUC of GTT in the mice of group H were significantly increased. Additionally, the expression levels of p-InsR β , IRS1, p-AKT, and p-mTOR proteins in skeletal muscle were significantly downregulated. Compared to the mice in group CS, the circulating glutamate levels, the AUC of ITT, and the AUC of GTT in the mice of group ES were significantly reduced. Additionally, the expression levels of p-InsR β , IRS1, p-AKT, and p-mTOR proteins in skeletal muscle of group ES mice were significantly upregulated. There were no significant changes observed in the mice of group EG. Compared to the cells in group 0 mmol/L, the expression levels of p-InsR β , p-IRS1, p-PI3K, and p-AKT proteins in cells of group 5 mmol/L were significantly downregulated. Compared to the cells in group C, the expression levels of p-InsR β , p-IRS1, p-PI3K, and p-AKT proteins in the cells of group G were significantly downregulated. No significant changes were observed in the cells of group GK. **Conclusion** Long-term aerobic exercise can improve insulin sensitivity by lowering circulating levels of glutamate. This effect may be associated with the upregulation of the InsR/IRS1/AKT signaling pathway activity in skeletal muscle. Furthermore, glutamate can weaken the activity of the InsR/IRS1/PI3K/AKT signaling pathway in skeletal muscle, potentially by binding to NMDAR expressed in skeletal muscle.

Key words glutamate, aerobic exercise, skeletal muscle, insulin sensitivity, InsR/IRS1/PI3K/AKT

DOI: 10.16476/j.pibb.2025.0189

CSTR: 32369.14.pibb.20250189