

蛋白質體學於運動科學之應用

王國慧／國立體育大學陸上運動技術學系

陳天文／淡江大學體育事務處

摘要

蛋白質體學技術可以全面性的比較生物樣本中的蛋白質表現，更可有效探討運動時肌肉蛋白質急性改變的反應，且可擴展用於運動訓練、營養、傷害及疾病之研究領域中，及發展出更多新穎的運動相關議題。於運動科學領研究之應用中，蛋白質體學被認定能成為更具有分析效益的研究方法，同時亦具有獨特的專業知識和技術功能，可以有助於解決許多科學及健康相關的問題，因此建議將蛋白質體學之專業知識和技術與運動科學整合，以探究運動產生的各種生理的反應與適應，並將運動生理學帶入更進階的層級及做為往後運動科學領域研究之參考。

關鍵詞：運動生理、基因體、分子生物學、生物標記

壹、前言

蛋白質體 (proteome) 第一次出現的時間是在 1994 年，其是用以描述基因體 (genome) 的所有蛋白質之表現 (protein expression) (Wilkins et al., 1996; Verrills, 2006)，主要是針對生物體的組織、體液、細胞甚至是胞器中的全體蛋白質作定義、定量及功能的分析 (張裕旺、陳淑華、陳玉如，2005)。

蛋白質體學 (proteomics) 已被許多研究證實是一個非常有效用的研究技術 (Daniel, Marais, Stein, & Russell, 2011; Elrick, Wanlgren, Mitchell, & Thompson, 2006; Guelfi, Casey, Giles, Fournier, & Arthur, 2006; Hody et al., 2011; Martín-Sánchez et al., 2011)，且在先端科技的研究時代，運用蛋白質體學來深入探討生物系統運作之功能是現今較為精確的分析手段。對運動科學來說，在一些文獻的推崇下 (Baldwin, 2000; Hittel, Hathout, & Hoffman, 2007; Ohlendieck, 2010, 2011; Petriz, Gomes, Rocha, Rezende, & Franco, 2012) 也開始

了蛋白質體學的研究，目前仍尚屬起步階段。

隨著現今系統生物學的研究方法的演進，著重於整體性的檢驗去將細胞、組織或器官之共同程序模型化的目標，運動科學研究亦應運用蛋白質體學探究運動產生的各種生理的反應與適應，並將運動生理學帶入更進階的層級 (Hittel et al., 2007)，因此，本文透過文獻探討提供蛋白質體學與運動科學之相關資訊，以作為未來研究方向之參考。

貳、蛋白質體學定義

蛋白質體學是繼基因體學 (genomics) 之後所發展出新的一個科學領域，也造就了分子生物學上的另一嶄新紀元，其主要是研究各物種的蛋白質體 (proteome)，也就是由生物體細胞及組織製造的所有蛋白質組合 (阮雪芬，2005)。

過去以基因為標的之相關研究已為人類在生物醫學領域開拓了極為廣泛且深入的新穎學科與知識，除了奠定分子生物學的重要根基外，更成

就了全球生物科技的熱潮。基因表現的型態可透過生物標誌的方式來進行測定，但若要更清楚地了解基因在生物體所表現出的功能，則須要透過蛋白質的領域來深入討論。從研究蛋白質的表現、結構或修飾等層面，也可提供不同基因表現方面的更多資訊，因此，近年來發展出的蛋白質體學技術便是在生物檢體中搜尋有用的生物標誌功能，並為病理學領域帶來極大的助益。在臨床應用方面，藉由蛋白質體學的研究，可能可以區分正常與疾病的生物標誌，作為早期的臨床診斷並及早治療 (周綠蘋, 2005)。

目前蛋白質體學技術之發展可分為兩大類，一是表現性的蛋白質體學 (expression proteomics)，主要探討蛋白質在表現上是否存在有差異性的問題；二是交互作用性的蛋白質體學 (interaction proteomics) 又稱功能性蛋白質體學 (functional proteomics)，主要探討細胞內蛋白質與蛋白質之間的作用對生理反應的影響 (周綠蘋, 2005)。而 Pandey 與 Mann (2000) 指出蛋白質體學的定義為大規模的蛋白質分析，協助我們了解後基因體時代基因功能的分析法，其研究可以分為三個主要方面：一、蛋白質微特徵 (protein micro-characterization)，是進行大規模的蛋白質鑑定和後轉譯修飾 (post-translational modifications, PTM)；二、蛋白質體學的差異顯示，於大範圍疾病領域中進行具有潛在應用性的蛋白質水準比較；三、使用如質譜分析法或酵母雙合成物系統之技術進行蛋白質-蛋白質交互作用的研究。此外，蛋白質體學在研究上亦可分為五項主要範疇：一、鑑定特定細胞、組織或生物體所製造的蛋白質；二、訂出蛋白質如何形成網路連結；三、描繪出蛋白質確實的三級結構；四、轉譯後蛋白質的修飾作用，以研究分子辨識及細胞內蛋白質的作用機制；五、建構蛋白質資料庫與預測蛋白質結構及蛋白質交互作用。

蛋白質體學涵蓋許多基因產物的功能分析或功能性基因體學 (functional genomics)，包括大型的識別或蛋白質的定位研究和利用酵母雙合成物系統的交互研究。隨著 DNA 序列在數據庫中大量

的積累，研究人員已經意識到，僅僅有完整的基因組序列是不足以闡明生物學之功能。此外，細胞的生存與運作通取決於多種代謝和調控途徑，而基因和細胞蛋白質體之間並無絕對的關係性，且蛋白質體學主要著重於基因的產物，故可以和基因體學互補，在大規模基因相關研究中提供了有力的分析功能 (Pandey & Mann, 2000)，所以蛋白質體學在未來各領域研究中將持續扮演著舉足輕重的角色。

參、運動科學領域之應用

蛋白質體學是用以研究大範圍的蛋白質屬性，並從生理反應過程中得到更全面性的檢視，於運動科學領域研究之應用，蛋白質體學亦能成為更具有分析效益的方法，但若要將蛋白質體學應用於運動科學中，運動科學家則必須先解決開發更廣泛的實驗室訓練計畫之重要問題，並透過整合分子生物學與系統生理學，將兩者結合成科學探究的範圍 (Baldwin, 2000)，以發展出更高層次的運動科學研究領域。

蛋白質體學技術可以大範圍的比較生物樣本中的蛋白質表現，且應用於探討運動時肌肉蛋白質急性改變的反應是有足夠的分析敏感度，相較於傳統研究法，蛋白質體學可擴展用於運動訓練、營養、傷害及疾病之研究領域中，並可發展出更多新的議題，尤其對運動領域上需要更多針對運動時及恢復後肌肉蛋白質體反應之研究，以得到運動刺激所產生的急性生理變化與適應之深入了解 (Guelfi et al., 2006)。在運動領域方面的蛋白質體學研究目前雖是處於剛起步的狀態，但可利用蛋白質體學精密的分析技術與謹慎的標準化來深入了解運動刺激所引起的複雜生理現象及運動的反應與適應狀況，並透過此方法連結在蛋白質表現和轉譯後修飾改變中的功能變化，此研究為進階運動生理學帶來莫大的前景 (Burniston et al., 2011)。

過去與運動領域的相關研究中，Gandra, Valente, Perales, Pacheco 與 Macedo (2012) 利用蛋白質體學分析大鼠單一次衰竭運動後骨骼肌肉的蛋白質表現，發現單次力竭運動後有少數蛋白質呈現顯著改變，包括：磷酸丙糖異構酶 1 (triosephosphate isomerase 1)、甘油醛-3-磷酸去氫酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)、 β 次單元體丙酮酸去氫酶 E1 (β subunit of pyruvate dehydrogenase E1)、肉鹼棕櫚醯基轉移酶 2 (carnitine palmitoyltransferase 2)、熱休克蛋白 70 (heat shock protein 70 kDa, HSP70)、 α -肌動蛋白 (α -actin)，從這些代謝相關蛋白的改變，證實單次衰竭性漸增運動可以改變細肌絲合成/降解率 (filaments synthesis/degradation rate) 和提高細胞及線粒體蛋白質的合成，此結果顯示運動可以改變基因轉譯和蛋白質轉錄的速率，讓許多蛋白質達到對運動刺激的適應，Rocha 等 (2012) 也證實大鼠在高強度運動後會提高肌肉中一些高分子群，如：肌原纖維蛋白質 (myofibrillar proteins)、 α -肌球蛋白重鏈 (α -myosin heavy chain) 與肌鈣蛋白的表現，若與中、低強度運動作比較，則高強度運動會顯著增加 MRS2 與 NADH 脫氫酶等蛋白質表現。由上述文獻發現，透過蛋白質體學可細步的了解不同強度的運動刺激會改變肌肉中蛋白質的表現情形，但至於這些蛋白質表現的差異性與高強度運動所產生細胞損傷的程度有無任何關係則需未來研究多方面的以蛋白質體分析法進一步釐清。

在運動訓練的適應狀況方面，Norheim 等 (2011) 指出人體骨骼肌在 11 週的肌力訓練後有 15 個分泌性肌肉蛋白顯著提高 mRNA 的表現，且發現透過在試管內的肌肉樣本所定義出的分泌性蛋白可促進發現肌力訓練的刺激後肌肉所產生的新的適應狀況。另一研究則發現短期耐力訓練對人體骨骼肌粒線體蛋白質體適應有其正面影響，並指出僅需 7 天的運動訓練時間便可擴大粒線體蛋白質的重建，進而提高 ATP 供應能力及再合成速率，改善抗氧化緩衝作用與傳遞氧氣至粒線體的速度，以及增加充足的蛋白質以調節粒線體中

蛋白質的合成與穩定性等正面的適應效益 (Egan et al., 2011)。Holloway 等 (2009) 在以從事休閒活動為受試者的研究結果中亦顯示 6 週的運動訓練可以提升有氧能力並改變代謝酶與運輸蛋白與熱衰竭蛋白 (heat shock protein, HSP) 的表現，其也提出當樣本量有限且難取得時，蛋白質體的技術仍可更有效進行分析，亦即只需少量的樣本就可以進行全面性的分析，並促進發現新的生物資訊以提供了解運動誘發適應的新證據。上述文獻顯示，透過蛋白質體學的分析可以得知不同的運動訓練模式皆可有效的提升肌肉內蛋白質的代謝能力，更可以少量樣本即能得到有益的資訊，與傳統研究方法相較下便凸顯出蛋白質體分析方法的優勢，也證實此方法對運動適應的研究具有精細的分析功能，應能於日後的相關研究中得到更新穎的發現。

在運動能力與健康方面的相關研究中，Burniston 等 (2011) 完成的動物實驗報告也指出低運動能力的生物體會伴隨著出現心臟能量代謝異常的情形且氧化壓力較高，而且整體活動性也會下降，此乃是高血壓及心臟功能失調的前兆。反觀，高運動能力的生物體則有較高的 β -氧化酶及 β -羥脂醯 CoA 脫氫酶 (β -hydroxyacyl-CoA dehydrogenase) 活性，故有較高的脂肪酸氧化能力和低的胰島素濃度，因此可以降低罹患心血管疾病的風險。而對改善肥胖問題的探討上，研究發現 2 週高強度漸歇訓練對過重及肥胖男性血液及脂肪組織之發炎作用與蛋白質體改變的影響，且僅需 2 週的高強度訓練時間即可改善過重及肥胖男性族群的脂肪組織蛋白質表現 (Leggate et al., 2012)，此結果提出了改善過重及肥胖狀況之新的資訊及建議。另在長期運動的效益方面，研究證實長期運動訓練可以增加腎臟皮質脂蛋白 A- I (apolipoprotein A- I) 的表現，且在運動訓練後透過脂蛋白 A- I 的向上調節提高對血管保護的效用 (de Moraes et al., 2008)，以降低心血管疾病的發生率。在文獻中看見利用蛋白質體學分析可明確的瞭解運動對健康的改善作用為何，更可找出透過運動改善健康效益的關鍵蛋白質，以作為後續相

關研究評估運動介入對健康狀況影響的變項指標，由此可說蛋白質體學法在運動科學領域中是一個值得未來研究使用的精確性分析工具，以更深入的探究運動對人體細胞中蛋白質的影響。

Martín-Sánchez 等 (2011) 的分析是目前第一篇以運動員為受試對象進行蛋白質體表現之研究，其比較職業與業餘足球選手在賽季前的血液蛋白質表現差異性，結果發現職業選手發炎反應相關的蛋白質濃度是低於業餘選手。由此顯示，透過蛋白質體學的評估分析將能夠更有效且深入的瞭解運動與高強度訓練對於發炎及氧化反應的影響，同時也讓運動科學研究人員進一步了解不同程度的運動員在蛋白質分佈上亦存有明顯之差異。

過去研究亦指出運動訓練的強度、時間及型式可能會刺激蛋白質代謝產生各種的反應，因此建議未來研究可利用蛋白質體學分析確認蛋白質代謝在受運動刺激後的初始及適應反應，以幫助闡明運動的生理反應與適應情形，而此方法亦可讓我們更深入的瞭解運動刺激誘發肌肉蛋白質的變化 (Tipton & Wolfe, 1998)，Hamilton 與 Booth (2000) 也認為運動生理學是透過全面性的觀點來探究人體及動物生理系統的運動效應，但若要更深入的其機制作用，則須要進入微層次 (micro level) 的分析功能，而從目前研究來看，運動領域對蛋白質體學分析的需求是日益增加，為更深入的探討運動生理適應的分子機制，此分析方法的分子研究功能在運動中有極高的重要性 (Petritz et al., 2012)。故，未來研究可將蛋白質體分析法做為運動生理研究之新的分析工具，相信應可得到更精確之數據及評估，因此，對於運動生理適應或運動訓練效益的蛋白質體表現之探討是有其進一步研究的必要性，以提供更新穎的運動生理相關資訊及論點。

結 語

綜合蛋白質體學與運動科學的文獻可知蛋白質體學分析方法在運動學術領域中的需求是日益

增加，而目前運動科學的蛋白質體學研究尚屬起步階段，對於其運用在運動的相關研究也尚未大量發表，但文獻皆指出蛋白質體學法可提供精密的分析技術與謹慎的標準化來深入了解運動刺激所引起的各種之複雜生理現象反應與適應狀況，並可將運動生理學帶入更進階的層級，因此未來研究利用此方法建立與運動相關之各項生物指標是有其必要性，以發展出更鉅細靡遺的運動生理研究議，並且更深入的釐清急性與慢性運動生理適應之相關機制。

引用文獻

- 阮雪芬 (2005)。蛋白質體學的介紹。《*化工*》，52(3)，14-22。
- 周綠蘋 (2005)。蛋白質體學之臨床與生物醫學之應用。《*臺灣醫學*》，9(5)，628-636。
- 張裕旺、陳淑華、陳玉如 (2005)。質譜技術於臨床蛋白質體學的應用。《*臺灣醫學*》，9(5)，637-649。
- Baldwin, K. M. (2000). Research in the exercise science: Where do we go from here? *Journal of Applied Physiology*, 88, 332-336.
- Burniston, J. G., Kenyani, J., Wastling, J. M., Burant, C. F., Qi, N. R., Koch, L. G., & Britton, S. L. (2011). Proteomic analysis reveals perturbed energy metabolism and elevated oxidative stress in hearts of rats with inborn low aerobic capacity. *Proteomics*, 11, 3369-3379.
- Daniels, W. M., Marais, L., Stein, D. J., & Russell, V. A. (2011). Exercise normalizes altered expression of proteins in the ventral hippocampus of rats subjected to maternal separation. *Experimental Physiology*, 97(2), 239-247.
- de Moraes, R., Valente, R. H., León, I. R., Trugilho, M. R. O., Nóbrega, A. C. L., Perales, J., & Tibiriçá, E. (2008). Chronic dynamic exercise increases apolipoprotein A-I expression in rabbit renal cortex as determined by proteomic technology. *British Journal of Sports Medicine*, 42, 386-388.
- Egan, B., Dowling, P., O'Connor, P. L., Henry, M., Meleady, P., Zierath, J. R., & O'Gorman, D. J. (2011). 2-D DIGE analysis of the mitochondrial proteome from human skeletal muscle reveals time course dependent remodelling in response

to 14 consecutive days of endurance exercise training. *Proteomics*, 11(8), 1413-1428.

- Elrick, M. M., Walgren, J. L., Mitchell, M. D., & Thompson, D. C. (2006). Proteomics: Recent applications and new technologies. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 98(5), 432-441.
- Gandra, P. G., Valente, R. H., Perales, J., Pacheco, A. G., & Macedo, D. V. (2012). Proteomic analysis of rat skeletal muscle submitted to one bout of incremental exercise. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, 22, 207-216.
- Guelfi, K. J., Casey, T. M., Giles, J. J., Fournier, P. A., & Arthur, P. G. (2006). A proteomic analysis of the acute effects of high-intensity exercise on skeletal muscle proteins in fasted rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 33, 952-957.
- Hamilton, M. T., & Booth, F. W. (2000). Skeletal muscle adaptation to exercise: A century of progress. *Journal of Applied Physiology*, 88, 327-331.
- Hittel, D. S., Hathout, Y., & Hoffman, E. P. (2007). Proteomics and systems biology in exercise and sport sciences research. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 35(1), 5-11.
- Hody, S., Leprince, P., Sergeant, K., Renaut, J., Croisier, J. L., Wang, F., & Rogister, B. (2011). Human muscle proteome modifications after acute or repeated eccentric exercises. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 43(12), 2281-2296.
- Holloway, K. V., O'Gorman, M., Woods, P., Morton, J., Evans, P., L., Cable, N. T., ... Burniston, J. G. (2009). Proteomic investigation of changes in human vastus lateralis muscle in response to interval-exercise training. *Proteomics*, 9, 5155-5174.
- Leggate, M., Carter, W. G., Evans, M. J. C., Vennard, R. A., Sribala-Sundaram, S., & Nimmo, M. A. (2012). Determination of inflammatory and prominent proteomic changes in plasma and adipose tissue after high-intensity intermittent training in overweight and obese males. *Journal of Applied Physiology*, 112(8), 1353-1360.
- Martín-Sánchez, F. J., Villalón, J. M., Zamorano-León, J. J., Rosas, L. F., Proietti, R., Mateos-Caceres, P. J., ... López-Farré, A. J. (2011). Functional status and inflammation after preseason training program in professional and recreational soccer players: A proteomic approach. *Journal of Sports Science and Medicine*, 10, 45-51.
- Norheim, F., Raastad, T., Thiede, B., Rustan, A. C., Drevon, C. A., & Haugen, F. (2011). Proteomic identification of secreted proteins from human skeletal muscle cells and expression in response to strength training. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 301(5), E1013-1021.
- Ohlndieck, K. (2010). Proteomics of skeletal muscle glycolysis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1804, 2089-2101.
- Ohlndieck, K. (2011). Skeletal muscle proteomics: Current approaches, technical challenges and emerging techniques. *Ohlndieck Skeletal Muscle*, 1(6), 1-15.
- Pandey, A., & Mann, M. (2000). Proteomics to study genes and genomes. *Nature*, 405, 837-846.
- Petriz, B. A., Gomes, C. P., Rocha, L. A., Rezende, T. M., & Franco, O. L. (2012). Proteomics applied to exercise physiology: A cutting-edge technology. *Journal of Cellular Physiology*, 227(3), 885-898.
- Rocha, L. A., Petriz, B., Borges, D. H., Oliveira, R. J., Andrade, R. V., Domondt, G., ... Franco, O. L. (2012). High molecular mass proteomics analyses of left ventricle from rats subjected to differential swimming training. *BMC Physiology*, 12(1), 11.
- Tipton, K. D., & Wolfe, R. R. (1998). Exercise-induced changes in protein metabolism. *Acta Physiologica Scandinavica*, 162, 377-387.
- Verrills, N. M. (2006). Clinical proteomics: Present and future prospects. *Clinical Biochemist Reviews*, 27(2), 99-116.
- Wilkins, M. R., Pasquali, C., Appel, R. D., Ou, K., Golaz, O., Sanchez, J. C., ... Hochstrasser, D. F. (1996). From proteins to proteomes: Large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. *Nature Biotechnology*, 14, 61-65.

Application of proteomics in the sports science

Kuo-Hui Wang¹ and Tien-Wen Chen²

¹Department of Sports Training Science-Athletics, National Taiwan Sport University,

²Office of Physical Education, Tamkang University

Abstract

Proteomic is the expression of all proteins, which is mainly to research the properties of a wide range of proteomic and obtains a more comprehensive view from physiological pathways. In the application of sports sciences research, proteomics can also become more methods benefit and in basic or applied sports science, proteomics has unique expertise and technical capabilities that can help solve many scientific and health-related problems, it is recommended that the expertise and technology with the integration of sports science of proteomics, to explore the movement generated by a reaction with a variety of physiological adaptation, and lead exercise physiology to a more advanced level, as well as provide a reference of future sports science research.

Key words: exercise physiology, genome, molecular biology, biomarker