



有氧运动通过调控肠道菌群-代谢物网络改善衰老小鼠认知功能*

王安烽¹⁾ 吴桐¹⁾ 张虎¹⁾ 梁计陵²⁾ 陈宁^{1)**}

¹⁾ 武汉体育学院运动医学院, 运动训练监控湖北省重点实验室, 天久运动营养食品研发中心, 武汉 430079;

²⁾ 中南大学体育教研部, 长沙 410083)

摘要 **目的** 本研究旨在探讨有氧运动对衰老小鼠认知功能的影响, 并阐明有氧运动通过调节肠道菌群-代谢物网络改善认知衰退的分子机制。本研究拟为抗衰老策略及针对年龄相关认知功能障碍的个性化运动干预提供理论依据。**方法** 本研究以自然衰老的 C57BL/6 小鼠为实验模型, 采用 16S rRNA 测序与飞行时间质谱+多反应监测 (time of flight+multiple reaction monitoring, TOF+MRM, TM) 广靶代谢组学技术, 结合行为学评估、组织病理学检测等方法研究分析。共选取 18 只小鼠, 分为 3 组: 青年对照组 (YC, 4 月龄)、老年对照组 (OC, 21 月龄) 和老年有氧运动组 (OE, 21 月龄, 接受 12 周中等强度跑台训练), 系统性地研究了 12 周中等强度跑台运动对衰老小鼠肠道菌群结构、代谢产物谱及海马功能的协同调控作用。**结果** 行为学测试显示, 12 周的有氧运动显著改善了衰老小鼠的空间学习和记忆能力, Morris 水迷宫测试中逃逸潜伏期缩短, 目标区域探索和平台穿越次数增加。组织病理学分析表明, 运动缓解了海马区的年龄相关神经元损伤, 提高了神经元密度和形态。16S rRNA 测序显示, 运动增加了肠道菌群的 α 多样性, 丰富了双歧杆菌属、副拟杆菌属和理研菌属等有益菌群。代谢组学分析鉴定了 OC 和 OE 组之间的 32 种差异代谢物, 在 OE 组中 94 种上调, 30 种下调。这些代谢物主要涉及能量代谢重编程 (如 L-高瓜氨酸)、抗氧化防御 (如 L-左旋肌肽)、神经保护 (如石胆酸) 和 DNA 修复 (如 ADP-核糖)。网络分析进一步揭示了特定细菌和代谢物之间的强正相关性, 如副拟杆菌属与 ADP-核糖、双歧杆菌属与石胆酸, 暗示了肠道菌群-代谢物轴介导的潜在神经保护途径。**结论** 本研究系统性证明了有氧运动可能通过调节肠道菌群-代谢物网络, 对衰老小鼠的认知功能产生积极影响。研究结果揭示了 3 个关键机制: a. 有益肠道菌群的增殖增强了代谢重编程, 从而促进了 DNA 修复途径; b. 神经炎症抑制因子水平升高, 减少了神经退行性变化; c. 增强的抗氧化防御系统维持了神经元稳态。这些发现强调了“菌群-代谢物-脑”轴在介导有氧运动认知益处中的关键作用。本研究不仅加深了对衰老过程中肠-脑轴的理解, 而且为开发针对年龄相关认知衰退的个性化运动和益生菌干预措施提供了科学依据。未来研究应进一步在非人灵长类动物和人类临床试验中验证这些机制, 以确定运动诱导的肠道菌群-代谢物调节在对抗神经退行性疾病中的转化潜力。

关键词 有氧运动, 衰老, 认知功能, 肠-脑轴, 多组学整合分析

中图分类号 Q419, R339.4, R455

DOI: 10.16476/j.pibb.2025.0130

CSTR: 32369.14.pibb.2025130

衰老是一个复杂的生物学过程, 伴随着正常生理功能的衰退和罹患慢性疾病风险的增加, 学习记忆能力下降是衰老的显著特征之一。近年来, 肠道菌群与衰老之间的联系受到了广泛关注。研究表明, 肠道菌群的失调与衰老相关的代谢紊乱、免疫衰老及神经退行性疾病密切相关, 其机制可能涉及菌群代谢产物对宿主信号通路的调控^[1-3]。肠道菌群可通过肠-脑轴影响大脑功能和认知能力, 其代谢产物作为肠道菌群与宿主相互作用的重要介质,

其变化直接影响宿主的代谢状态和健康^[4-5]。因此, 探究衰老过程中肠道菌群和代谢产物的变化对于理解衰老机制和开发延缓衰老的策略具有重要意义。

* 国家自然科学基金 (31771318), “十四五”湖北省教育厅高等院校优势特色学科群“运动与脑科学”专项和武汉体育学院东湖领军人才启动项目资助。

** 通讯联系人。

Tel: 027-67846140, E-mail: nchen510@gmail.com

收稿日期: 2025-03-27, 接受日期: 2025-04-26

有氧运动作为一种非药物干预手段,已被证明能有效改善因衰老引起的多种退行性疾病,包括认知功能下降、肌肉萎缩和代谢紊乱等。研究表明,有氧运动不仅能改善宿主的代谢健康,还能调节肠道菌群的结构和功能^[6-9]。然而,现有研究多聚焦于单一组学分析,缺乏对菌群—代谢物动态网络的系统解析,且运动干预的跨组学调控路径仍待阐明。为此,本研究结合16S rRNA测序与广靶代谢组学技术,以衰老诱导的认知功能损伤的小鼠为模型,探讨有氧运动对肠道菌群结构、代谢产物谱及海马功能的协同调控作用,旨在揭示运动经肠—脑轴改善认知衰退的多维机制,为抗衰老策略的优化提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 动物分组干预

雄性C57BL/6小鼠饲养于SPF级小鼠饲养室内,每天光照和黑暗各12 h,室温(22 ± 2) °C,相对湿度50%~60%,标准维持粮喂食至21月龄,随机分为老年安静组(old control, OC)和老年有氧运动组(old+exercise, OE),每组6只小鼠;以6只4月龄同样环境下饲养的雄性C57BL/6小鼠作为青年对照组(youth control, YC)。OE组小鼠进行为期12周的跑台有氧运动训练, YC和OC组小鼠给予安静不运动。在有氧运动训练正式开始前,对小鼠进行5 d适应性训练,每次训练速度从4.2 m/min开始,每30 s增加1 m/min,至12 m/min后保持不变直到训练结束,适应性训练时长依次为每天10、20、30、40和50 min。在适应性跑台训练后,正式进行连续12周有氧运动训练(训练速度12 m/min,训练时长50 min),1周训练5次,并观察记录干预期间所有小鼠的健康状况。所有涉及动物的实验均按照武汉体育学院动物保护和使用委员会批准的伦理政策和程序进行,伦理审批编号为S0087-20220120-01。

1.2 小鼠粪便收集及预处理

运动干预结束后,将各组小鼠分别置于铺有无菌垫纸的干净无菌笼盒中,待小鼠排便后用灭菌过的镊子收集粪便至对应的无菌EP管中,置于-80 °C冷冻储存,用于后续微生物组学和代谢组学的测序分析。广靶代谢组技术预处理步骤如下:从-80 °C冰箱取出样本,在冰上解冻后,称取20 mg样本至离心管,加入400 μ l 70%甲醇水内标提取液,涡旋3 min,若样本不分散则加入钢珠继续涡旋3

min,再在冰水浴中超声10 min,取出后继续涡旋1 min,并在-20 °C冰箱中静置30 min,最后在4 °C环境下以12000 r/min离心10 min,取300 μ l上清液至另一离心管中,在相同条件下离心3 min,取200 μ l上清液至样瓶内衬管中用于分析。

1.3 Morris水迷宫 (Morris water maze, MWM) 测试

MWM用于评估小鼠学习记忆能力。MWM测试在一个直径120 cm、深50 cm的圆形白色水池中进行,水温维持在约22 °C。逃生平台是一个直径6 cm的亚克力圆盘,位于水池的第一象限中心,水面下0.5~1 cm处。MWM包括连续的空间学习训练日和一次探查试验日。空间学习训练日每天进行4次连续试验,共持续4 d,在此期间平台位置保持不变,并依次从4个象限边缘的中间放置小鼠进行实验,最后一次训练后24 h进行探查试验。使用视频跟踪软件 (Version 3.0, Labmaze) 来分析行为数据。

1.4 脑组织的收集与染色

MWM测试次日,按体重麻醉小鼠后分别使用生理盐水和4%多聚甲醛(pH 7.4)心脏灌注,取小鼠全脑,4%多聚甲醛固定过夜,石蜡包埋,冷冻切片机切5 μ m切片。石蜡切片后行苏木精-伊红(HE)和尼氏(Nissl)染色,用成像系统(Bullseye E100, Nikon, 日本)采集脑切片图像,用ImageJ Pro软件(NIH, Bethesda, MD, USA)进行统计。

1.5 肠道菌群和代谢产物数据采集与分析

采用16S rRNA基因测序技术,分析18只小鼠粪便样本中的肠道菌群组成。流程包括样品准备、DNA提取与检测、PCR扩增、产物纯化、文库制备及库检,最后进行NovaSeq上机测序。

采用TM广靶代谢组技术对18只小鼠粪便样本中的代谢产物进行定性和定量分析。数据采集仪器主要包括超高效液相色谱(Ultra-high performance liquid chromatography, UPLC)、四级杆飞行时间质谱(Quadrupole-time of flight, QTOF)和串联质谱(Tandem mass spectrometry, MS/MS)。液相色谱条件为:色谱柱ACQUITY HSS T3 (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8 μ m);流动相A为0.1%的甲酸/水,流动相B为0.1%的甲酸/乙腈;柱温40 °C,流速0.35 ml/min,进样量为非靶向检测5 μ l,广泛靶向检测2 μ l。质谱采集条件为:气帘气25,质谱电压5500 (ESI⁺)和4500 (ESI⁻),温度500 °C,离子

源气体1和气体2均为50, 去簇电压80 (ESI⁺) 和-80 (ESI⁻), 碰撞能30, 碰撞能速度15。

1.6 数据分析

对测序所得原始数据进行拼接、过滤, 得到有效数据。基于有效数据进行 OTUs (Operational taxonomic units) 聚类 and 物种分类分析。根据 OTUs 聚类结果, 对每个 OTU 的代表序列做物种注释, 得到对应的物种信息和基于物种的丰度分布情况。对 OTUs 进行丰度、Alpha 多样性分析、Venn 图 etc 分析, 以得到样本内物种丰富度和均匀度信息、不同样本或分组间的共有和特有 OTUs 信息等。对 OTUs 进行多序列比对, 通过 PCoA、PCA、NMDS 等降维分析, 以探究不同样本或组别间群落结构的差异。最后为进一步挖掘分组样本间的群落结构差异, 选用 t-test、MetaStat、LEfSe、Anosim 等统计分析方法对分组样本的物种组成和群落结构进行差异显著性检验。差异菌群/代谢物筛选标准为: $|\log_2 FC| \geq 1$ (FC: 差异倍数 (fold change)), $P < 0.05$, 变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) ≥ 1 (OPLS-DA 模型)。考虑到 16S rRNA 基因测序在种水平分类上的精确性受限, 本研究将重点放在属水平的物种分析上^[10-13]。所有结果采用 SPSS 25.0 和 R 语言 (4.0.5) 进行统计分析, 采用 GraphPad Prism 9.5.1 等软件绘制成图。

2 结果

2.1 有氧运动提高衰老小鼠学习记忆能力和海马神经元数量

为探究有氧运动对衰老小鼠脑功能的影响, 我们通过 MWM 行为学实验评估了小鼠学习记忆能力的变化, 脑切片进行了 HE 和 Nissl 染色分析。MWM 结果表明, 与 YC 小鼠相比, OC 组小鼠的潜伏期时长显著增加 ($P < 0.001$), 且在第 5 天的目标区域探索时间和穿越平台次数显著减少 ($P < 0.001$); 而 OE 组小鼠潜伏期时长较 OC 组小鼠显著缩短 ($P < 0.001$), 且在第 5 天的目标区域探索时间和穿越平台次数均有所回升 ($P < 0.001$) (图 1a~d), 显示了有氧运动对衰老小鼠认知功能和空间记忆能力均有一定的改善作用。

组织学分析显示, 与 YC 组相比, OC 组老年小鼠海马齿状回 (DG) 区域神经元呈现显著的衰老相关病理特征: 神经元排列松散紊乱 ($P = 0.0015$), 胞体萎缩, 核固缩现象明显, 且尼氏体染色强度显著降低, 提示神经元结构和功能退化; 而 OE

组老年小鼠经有氧运动干预后, DG 区神经元病理特征明显改善: 细胞排列密度显著高于 OC 组 ($P = 0.0195$), 胞体及细胞核形态接近 YC 组正常水平, 尼氏体染色强度亦显著恢复 (图 1e, f)。

上述结果表明, 有氧运动可通过维持神经元形态完整性、改善蛋白质合成代谢功能, 有效缓解衰老导致的海马神经发生抑制, 发挥神经保护作用。

2.2 有氧运动改善了老年小鼠肠道菌群结构

2.2.1 有氧运动提升老年小鼠肠道菌群多样性

通过 16S rRNA 测序, 本研究共获得 1 139 138 个原始读数, 经质控分析后筛选出 833 802 个有效读数, 最终获得 62 040 个独立序列。在 97% 一致性阈值下进行同源性聚类, 共获得 1 191 个 OTU。Alpha 多样性分析结果显示, 与 YC 组小鼠相比, OC 组小鼠肠道菌群丰度和多样性显著降低 ($P < 0.05$), 而通过有氧运动干预, OE 组小鼠肠道菌群多样性较 OC 组有提升的趋势 (表 1)。

OTU 分析显示, YC、OC 和 OE 组小鼠肠道菌群的 OTU 数量分别为 976、640 和 698。通过 Venn 图可以看出, 各组之间存在一定的 OTU 重叠, 但 OC 组小鼠肠道菌群的特有 OTU 数量显著减少 (图 2a)。PCA、PCoA 和 NMDS 三种多维统计分析方法的结果显示, OC 组与 OE 组和 YC 组小鼠的肠道菌群之间存在显著的菌群结构差异 (图 2b~d)。PCA 分析显示, OC 组与 OE 组和 YC 组小鼠的肠道菌群在 PC1 和 PC2 上的分布有明显差异 (图 2b)。NMDS 分析也显示, OC 组与 OE 组和 YC 组小鼠的肠道菌群在菌群结构上存在显著差异 (图 2d)。以上结果表明, 小鼠的自然衰老显著降低了其肠道菌群的丰度和多样性, 而有氧运动在一定程度上提高了肠道菌群的多样性, 虽未能达到与青年时期肠道菌群相同的水平。

2.2.2 有氧运动重塑老年小鼠肠道菌群结构组成并促进益生菌属富集

在各组小鼠肠道菌群水平分类层级的 Top10 物种丰度中, 拟杆菌门 (Bacteroidota) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 在门水平上占据着主导优势 (图 3a); 在属水平上, 黏附乳杆菌属 (*Ligilactobacillus*) 和杜氏菌属 (*Dubosiella*) 在 3 个组别中优势水平相当 (图 3b); YC 组中拟杆菌属 (*Bacteroides*) 和苏黎世杆菌属 (*Turicibacter*) 优势明显, OC 组中的双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*) 相对弱势, 乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 优势更明显, 而 OE 组中的黏细菌科 NK4A136 组 (*Lachnospiraceae*_NK4A136_

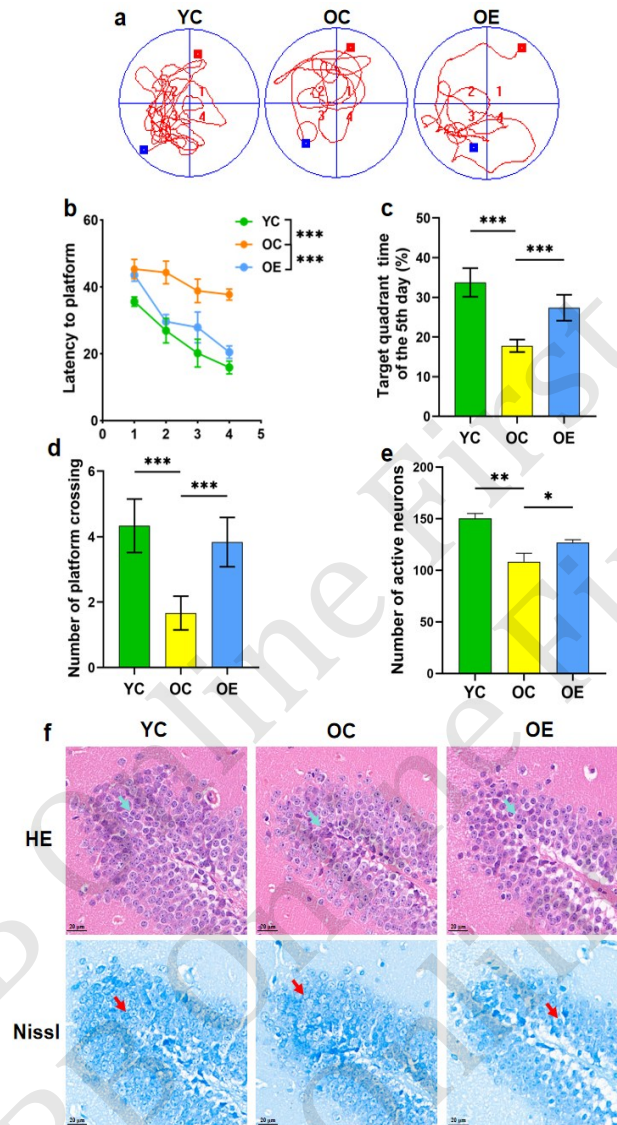


Fig. 1 Aerobic exercise enhances learning and cognitive capacity and alleviates neuronal damage of aging mice

(a) MWM pathway map of mice from three groups; (b) the latency changes of mice from three groups on the learning and training day; (c) the proportion of the length of staying in the target area for mice from three groups on the test day; (d) the number of crossing the platform of mice from 3 groups on the test day; (e) the number of active neurons in brain sections of mice from three groups; (f) HE and Nissl staining of the DG region of hippocampus in mice from three groups. Compared with OC group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$; $n=6$.

Table 1 Analysis of intestinal flora abundance and diversity of mice in each group

Group	n	Abundance		Diversity	
		Chao1	Observed_OTU	Shannon	Simpson
YC	6	577.2 (445.82, 633.448)	537 (432.75, 584)	6.079 (5.8985, 6.34375)	0.9635 (0.947, 0.97)
OC	6	414.375 (389, 421.25) *	373.5 (354.75, 389) *	4.874 (4.4595, 4.9425) *	0.894 (0.835, 0.925) *
OE	6	433.667 (413.636, 463.325)	390 (359.5, 436.5)	5.279 (4.591, 5.437)	0.9425 (0.87, 0.957)

Notes: Compared with YC group, * $P<0.05$. Non normal distribution measurement data indicate: $M (P_{25}, P_{75})$.

group)、回肠杆菌属 (*Ileibacterium*)、拟普雷沃氏菌属 (*Alloprevotella*) 和大肠埃希氏菌-志贺氏菌属 (*Escherichia-Shigella*) 优势相对更明显些 (图3b)。

在门和属水平上对前10种细菌的差异分析, 结果表明, 在门水平上, 与YC组相比, 厚壁菌门/拟杆菌门的比值 (Firmicutes/Bacteroidota, F/B)

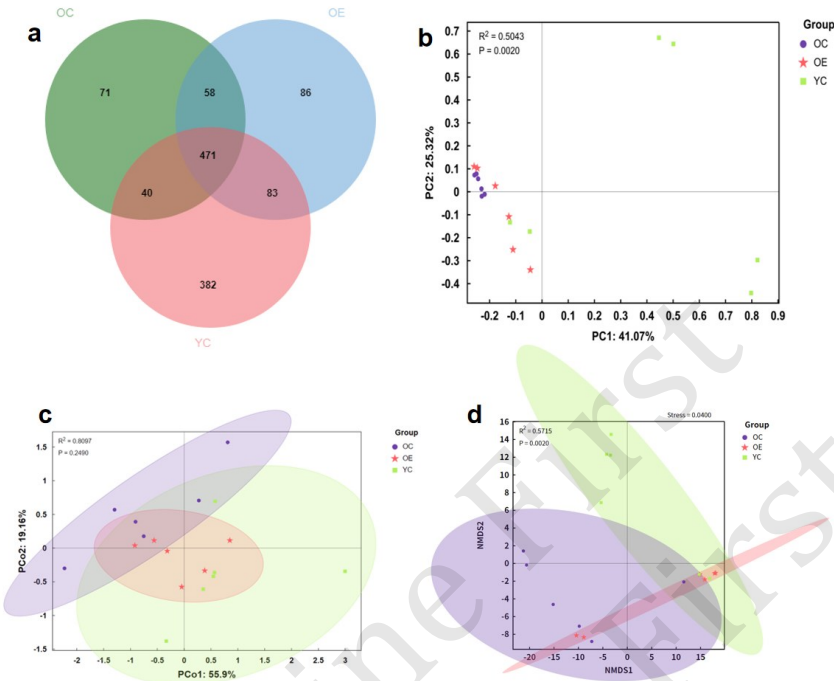


Fig. 2 Diversity analysis of intestinal flora

(a) Venn diagram of OTU number of intestinal flora in mice from three groups; (b) PCA analysis of intestinal flora in mice from three groups; (c) PCoA analysis of intestinal flora in mice from three groups; (d) NMDS analysis diagram of intestinal flora in mice from 3 groups; $n=6$.

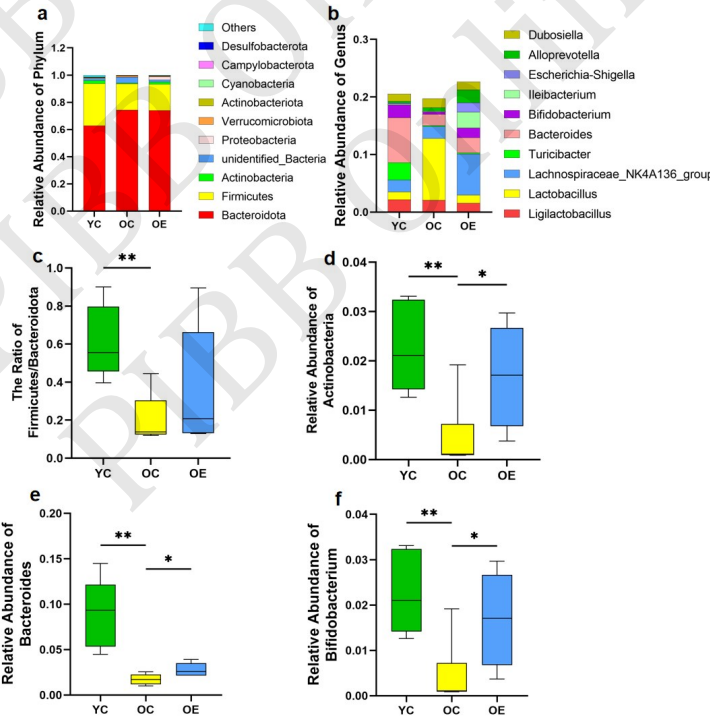


Fig. 3 Analysis of differences in intestinal flora structure

Gut microbiota abundance at phylum (a) and genus (b) levels; (c) the abundance ratio of Firmicutes to Bacteroidota in the intestinal flora of mice from 3 groups; (d) the relative abundance of *Actinobacteria* in the intestinal flora of mice from three groups; (e) the relative abundance of *Bacteroidetes* in the intestinal flora of mice from three groups; (f) the relative abundance of *Bifidobacterium* in the intestinal flora of mice from three groups. Compared with OC group, $*P<0.05$, $**P<0.01$; $n=6$.

和放线菌门 (Actinobacteria) 的数目在 OC 组中显著降低 ($P=0.0046$, $P=0.0029$), 经 OE 组运动干预后, F/B 值则略有上升, 但无显著差异, 放线菌门数目显著上升 ($P=0.0368$) (图 3c, d); 在属水平上, 与 YC 组相比, OC 组小鼠拟杆菌属 (*Bacteroides*) 和双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*) 的数目显著降低 ($P=0.0034$, $P=0.0029$), 有氧运动干预后, 两种菌属的显著性均有所回升 ($P=0.0357$, $P=0.0369$), 但并未完全恢复到 YC 组的水平 (图 3e, f)。

2.3 有氧运动重塑老年小鼠代谢产物谱

为进一步解析有氧运动对衰老小鼠代谢产物的调控作用, 本研究通过广靶代谢组学技术对 YC、OC 及 OE 组小鼠的粪便样本进行系统性分析, 并

将代谢产物分析结果结合差异菌群进行联合分析。

3.3.1 有氧运动干预可减轻衰老引起的代谢产物差异

OPLS-DA 模型分析结果 (图 4a, c) 表明, OC 组与 OE 组以及 YC 组与 OC 组小鼠在代谢物分布上呈现出明显的组间差异, 且这种差异具有统计学意义 (模型解释性: $R^2Y > 0.9$; 模型预测性: $Q^2 > 0.5$)。这表明, 年龄相关的生理衰退以及有氧运动干预均能够显著地改变小鼠的代谢产物谱。借助火山图进一步筛选出 124 种 OC 与 OE 组的差异代谢物 (94 种上调, 30 种下调) 及 253 种 OC 与 YC 组的差异代谢物 (147 种上调, 106 种下调) (图 4b, d)。Venn 图显示, 32 种代谢物受年龄和运动的共同调控 (图 4e), 提示其可能为衰老进程的关键调

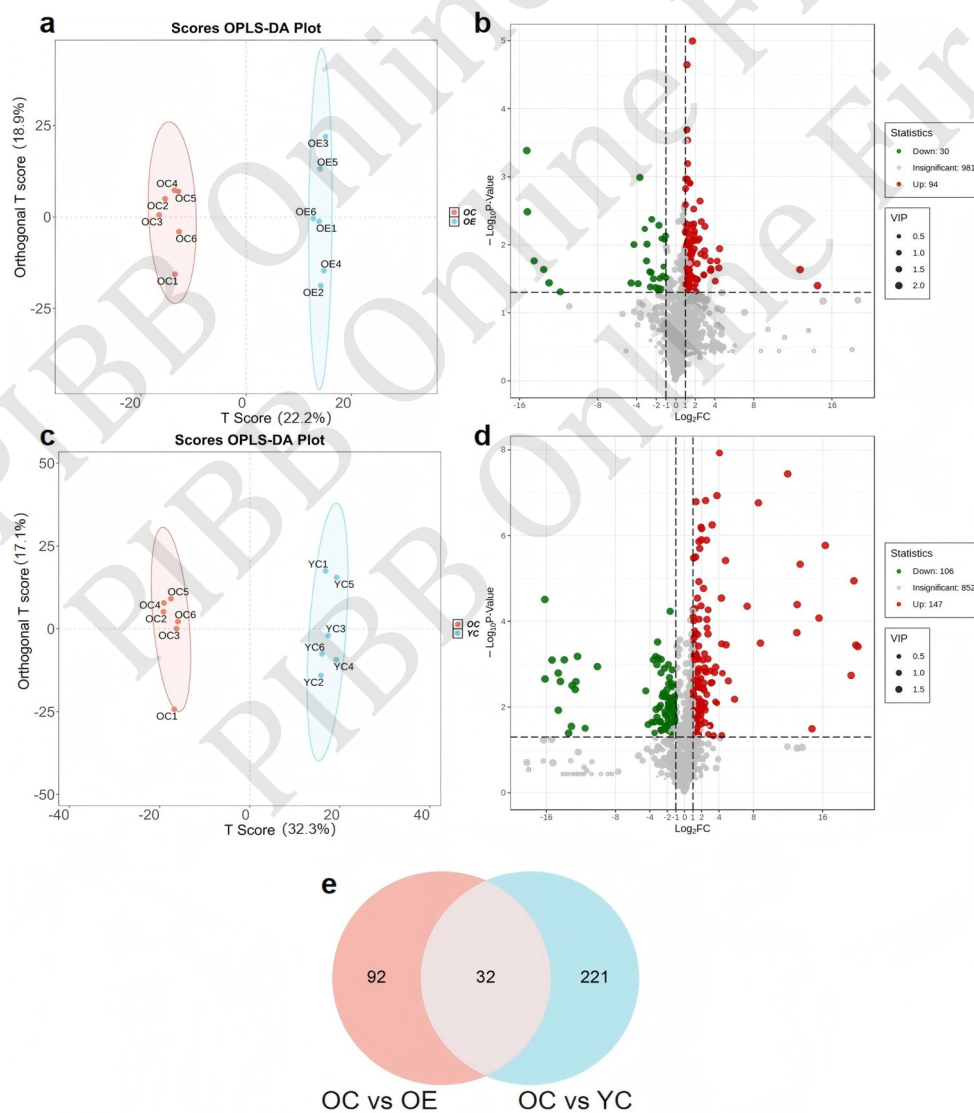


Fig. 4 Differential metabolite analysis of OC vs. OE and YC vs. OC

(a, b) OPLS-DA analysis of OC vs. OE and volcano diagram of differential metabolites; (c, d) OPLS-DA analysis and differential metabolite volcano map of YC vs. OC; (e) Venn diagram between two paired groups of OC vs. OE and YC vs. OC.

控靶点及运动干预的潜在效应分子。

2.3.2 有氧运动可以减少衰老诱发的毒性产物

差异代谢物京都基因和基因组数据库 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 分析表明, 32 种共调控代谢物主要富集于能量代谢、抗氧化防御、及神经保护相关通路 (表 2)。其中, 与能量代谢优化 (线粒体电子传递链活化) 相关的 L-高瓜氨酸 (L-homocitrulline), 与神经元抗氧化防御 (脂质过氧化抑制) 相关的左旋肌肽 (L-carnosine), 与胆汁酸代谢调节 (FXR/Nr1h4 受体激活) 相关的石胆酸 (Lithocholic acid), 与突触

可塑性 (磷脂酰肌醇信号增强) 相关的胞苷 (Cytidine) 产量显著增加; 与糖酵解通量提升磷酸果糖激酶 1 (phosphofructokinase-1, PFK-1) 活性调控相关的 D-果糖-1, 6-二磷酸三钠盐 (D-fructose-1, 6-biphosphate trisodium salt), 与基因组稳定性维持聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 (poly ADP-ribose polymerase, PARP) 介导的 DNA 修复相关的 ADP-核糖 (ADP-ribose) 等代谢物水平显著上升; 而与促炎介质生成核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 信号传导相关的四氢姜黄素 (tetrahydrocurcumin) 产量则呈现显著降低趋势。

Table 2 KEGG annotation of 32 differential metabolites

Compound	Type	KEGG No.	KEGG signal pathway number
Cytarabine	↑	C02961	—
10-Hydroxycamptothecin	↑	C17939	—
D-alanyl-D-alanine	↑	C00993	ko01100
Xanthosine-5'-monophosphate	↑	—	—
MG (18: 0/0: 0/0: 0)	↑	—	—
16-Dehydropregesterone	↑	C03207	—
B-pseudouridine	↑	C02067	ko00240, ko01100
Cytidine	↑	C00475	ko00240, ko01100, ko02010
Dodecanedioic acid	↑	C02678	—
FFA (18: 4)	↑	C16300	ko00592
Proscillaridin A	↑	C12816	—
Mebhydrolin	↑	D08161	—
3-Methoxyestra-1, 3, 5 (10) -triene- 16, 17-dione 16-oxime	↑	C15078	—
Sulpiride	↑	D01226	—
Pretilachlor	↑	C14517	—
Nateglinide	↑	C12508	—
6-Hydroxynicotinic acid	↑	C01020	ko00760, ko01100
Lithocholic acid	↑	C03990	ko04976
L-carnosine	↑	C00386	ko00340, ko00410, ko01100
L-homocitrulline	↑	C02427	—
Stigmatellin X	↑	C12149	—
Tetrazepam	↑	D07277	—
α-D-glucopyranoside-β-D-fructofuranosyl	↑	—	—
D-fructose-1, 6-biphosphate-trisodium salt	↑	—	—
Bufalin	↓	C16922	—
Diosmetin	↓	C10038	—
Cytochalasin B	↓	C19954	—
Piracetam	↓	D01914	—
Tetrahydrocurcumin	↓	—	—
Reticuline	↓	C02105	ko01100
Buflomedil	↓	D07176	—
2-Hydroxy-3, 5-dinitrobenzoic acid	↓	C11319	—

2.4 菌群—代谢物互作网络的运动依赖性调控

OC与OE组菌群与代谢组数据联合分析显示,差异代谢物与特定菌属存在显著相关性,并通过菌群—代谢物互作网络发挥神经保护作用(图5)。运动干预通过促进副拟杆菌属(*Parabacteroides*)的增殖,驱动其与ADP-核糖(核苷酸修复关键代谢物)和D-葡萄糖酸(D-gluconic acid,氧化还原稳态调节因子)的强正相关性($r=1$, $P<0.001$),提示该菌可能通过增强

DNA修复能力和抗氧化防御减轻神经元损伤。同时,运动诱导的双歧杆菌属丰度回升与石胆酸(次级胆汁酸,抑制神经炎症)水平正相关($r=0.829$, $P<0.05$),表明其可能通过调节胆汁酸代谢缓解脑内炎症。此外,理研菌属(*Rikenella*)与异黄蝶呤(isoxanthopterin,叶酸代谢中间体)的关联($r=0.986$, $P=0.0003$),进一步暗示运动可能通过叶酸途径维持神经递质合成稳态(表3)。

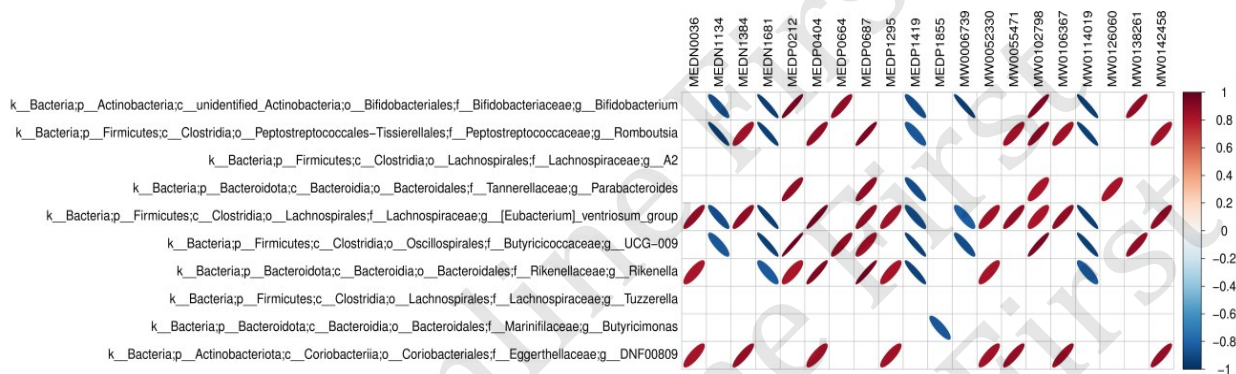


Fig. 5 Joint analysis of metabolome and flora data

Spearman heatmap of the Top 20 differential metabolites and genera of VIP in OC vs. OE group.

Table 3 Differential microorganisms and metabolites at the genus level between OC and OE groups

Compound	Gut microbiota	Relativity (r)	Significance (P)
ADP-ribose	<i>Parabacteroides</i>	1	0
D-gluconic acid	<i>Parabacteroides</i>	1	0
Isoxanthopterin	<i>Rikenella</i>	0.986	0.00031
L-homocitru-line	<i>Rikenella</i>	0.928	0.00767
Lithocholic acid	<i>Bifidobacterium</i>	0.829	0.04156
Cytidine	<i>Eggerthellaceae</i> DNF00809	0.828	0.04179
L-carnosine	<i>Eggerthellaceae</i> DNF00809	0.828	0.04179

3 讨论

本研究通过多组学整合分析,系统揭示了有氧运动经肠—脑轴改善衰老小鼠认知功能的分子网络。对有氧运动干预衰老小鼠脑功能的影响进行了初步探究,通过MWM实验发现,衰老小鼠的学习记忆能力显著下降,而有氧运动干预能够在一定程度上缓解此情况。脑组织形态学结果也进一步表

明,衰老小鼠脑内海马区神经元数量显著减少,而有氧运动实现了其逆转,这些发现与以前多项研究结果呈现一致性^[14-17]。

有研究表明,双歧杆菌属、副拟杆菌属和理研菌属等有益菌群在能量稳态和抗炎反应中起重要作用,其代谢功能与线粒体呼吸链调节、叶酸代谢等密切相关^[18-20]。L-高瓜氨酸和左旋肌肽等代谢物在改善微循环^[21-22]和减轻海马氧化损伤^[23-25]中起关键作用,其产量与一氧化氮合成、自由基清除等功能密切相关。肠道菌群—代谢产物网络中的石胆酸、胞苷等代谢物在神经保护中起重要作用,其与FXR受体激活^[26-27]、突触可塑性促进^[28]等功能密切相关。此外,D-果糖-1,6-二磷酸三钠盐和ADP-核糖等代谢物在糖酵解效率和DNA修复能力中起重要作用,其产量与糖酵解过程^[29]、DNA修复机制^[30]等密切相关;而四氢姜黄素在慢性炎症水平调控中起作用,与衰老相关的慢性炎症反应密切相关^[31-32]。

本研究结果表明,衰老会引起小鼠肠道菌群失调及代谢功能下降,如副拟杆菌属(丰度:0.000944, $P=0.0005$)和双歧杆菌属(丰度:0.004

402, $P=0.003\ 1$) 等有益菌群丰度显著下降, 相关代谢物如L-高瓜氨酸 (- 1.35 倍, $P=0.043\ 9$)、左旋肌肽 (- 1.13 倍, $P=0.000\ 5$)、石胆酸 (- 1.20 倍, $P=0.040\ 9$)、胞苷 (- 1.54 倍, $P=0.000\ 2$)、D-果糖-1, 6-二磷酸三钠盐 (- 1.65 倍, $P=0.000\ 4$) 等产量下降, 四氢姜黄素 (2.83 倍, $P=0.022\ 4$) 产量上升, 而有氧运动干预后, 显著富集了双歧杆菌属 (丰度: 0.016 830, $P=0.039\ 5$)、副拟杆菌属 (丰度: 0.001 914, $P=0.021\ 2$) 和理研菌属 (丰度: 0.000 257, $P=0.025\ 1$) 等有益菌群, 激活了与代谢相关的通路, 上调了L-高瓜氨酸 (1.30 倍, $P=0.043\ 0$) 和左旋肌肽 (1.42 倍, $P=0.023\ 3$) 等代谢物的产量, 改善了微循环和减轻了海马体的

氧化损伤, 通过调节石胆酸 (1.45 倍, $P=0.013\ 1$)、胞苷 (2.20 倍, $P=0.018\ 9$)、D-果糖-1, 6-二磷酸三钠盐 (1.15 倍, $P=0.022\ 0$)、ADP-核糖 (2.40 倍, $P=0.008\ 2$) 等代谢物的产量, 间接影响肠道屏障功能及神经炎症反应, 促进突触可塑性改善认知功能, 增强了糖酵解效率和DNA修复能力, 降低了四氢姜黄素 (- 2.65 倍, $P=0.024\ 8$) 的产量, 可能反映了运动干预降低了衰老相关的慢性炎症水平 (表4)。这提示了有氧运动有逆转衰老引起的肠道菌群失调、代谢功能下降、神经保护功能下降、糖酵解效率降低、DNA修复能力减弱及慢性炎症水平升高的潜力。

Table 4 The improvement of seven metabolites after exercise intervention and the related flora of metabolites regulated by exercise intervention

Metabolite	Changes in OC group compared with YC group				Changes in OE group compared with OC group				General trend	High related flora of exercise intervention	Relativity (r)
	Fold change	VIP	Significance (P)	Type	Fold change	VIP	Significance (P)	Type			
L-homocitrulline	- 1.352 97	1.148	0.043 89	↓	1.300 95	1.462	0.042 96	↑	↑	<i>Rikenella</i>	0.928
L-carnosine	- 1.128 10	1.353	0.000 47	↓	1.420 02	1.615	0.023 34	↑	↑	<i>Eggerthellaceae</i> DNF00809	0.828
Lithocholic acid	- 1.195 30	1.100	0.040 87	↓	1.445 12	1.483	0.013 10	↑	↑	<i>Romboutsia</i>	0.883
Cytidine	- 1.540 79	1.531	0.000 20	↓	2.200 61	1.789	0.018 93	↑	↑	<i>Eggerthellaceae</i> DNF00809	0.828
D-fructose-1, 6-biphosphate-tri-sodium salt	- 1.650 17	1.471	0.000 38	↓	1.147 07	1.486	0.022 09	↑	↑	—	—
Tetrahydrocurcumin	2.833 71	1.307	0.022 42	↑	- 2.653 48	1.564	0.024 78	↓	↓	—	—
ADP-ribose	- 0.672 99	0.296	0.330 80	—	2.402 64	1.732	0.008 16	↑	↑	<i>Parabacteroides</i>	1

此外, 有氧运动干预后, ADP-核糖与副拟杆菌属的强正相关关系 ($r=1$, $P<0.001$), 提示该菌可能通过核苷酸修复途径维持神经元基因组稳定性, 双歧杆菌属的增加与石胆酸水平正相关 ($r=0.829$, $P<0.05$), 表明其可能通过调节次级胆汁酸的代谢缓解神经炎症, 这与既往研究一致^[33-34]。这些结果提示了有氧运动有逆转衰老引起的神经元基因组稳定性下降、神经炎症加剧的潜力。

本研究发现, 有氧运动通过重塑肠道菌群-代谢物网络改善衰老小鼠认知功能, 与“精准运动”理念高度契合。精准运动强调基于个体遗传、分子和生理特征的定制化运动干预, 以最大化健康效

益^[35]。本研究多组学分析揭示了特定菌属 (如双歧杆菌属、副拟杆菌属) 与神经保护代谢物 (如ADP-核糖、石胆酸) 的协同调控网络, 为精准运动提供了分子层面的理论支持。既往研究发现, 有氧运动对肠道菌群多样性和功能有着积极的影响, 但高强度运动干预可能会因诱导肠道氧化应激而抵消部分益生效应。此外, 针对衰老相关疾病的防治, 高强度运动本身也可能会对衰老机体造成更高负担; 相比之下, 低强度运动又存在代谢激活不足的问题, 进而影响干预效果^[36-37]。基于此, 本研究着重聚焦 12 m/min 的中等强度有氧运动干预效果, 实验结果表明, 中等强度有氧运动在激活衰老

小鼠代谢重编程与避免氧化应激之间能达到较好平衡^[38-40]。未来研究也可通过设置强度梯度组,进一步系统的解析多种运动强度在调节“菌群-代谢物-脑”轴中的具体效果,为个性化运动处方的制定提供更精准的强度阈值参考。同时,也可进一步整合基因组学、表观遗传学等多组学技术,识别关键生物标志物如单核苷酸多态性分析(single nucleotide polymorphisms, SNPs)或代谢物谱,以优化运动干预的个体适应性。结合肠道菌群特征与宿主遗传变异,可能实现针对衰老相关代谢紊乱的精准运动处方以提升干预效果。

此外,本研究以小鼠为模式动物初步验证了“菌群-代谢物-脑”轴的理论框架,但啮齿类与灵长类在肠道微生物和肠-脑轴机制上仍存在一定的种属差异。有研究表明,包括小鼠在内的啮齿类动物肠道菌群中厚壁菌门的比例相对较高,而灵长类动物,比如人类肠道菌群中拟杆菌门占比更高,短链脂肪酸代谢通路也更为复杂^[41-43]。另外,灵长类血脑屏障通透性相对较低,故神经炎症反应机制与啮齿类也存在着显著差异,以上差异均可能影响运动干预效果的跨物种保守性^[44]。因此,未来需在非人灵长类或临床人群中验证本研究的核心结论,进一步明确有氧运动对“菌群-代谢物-脑”轴调控是否具有普适性,从而为抗衰老策略的临床转化提供更可靠的依据。本研究的代谢组学数据尚未涵盖短链脂肪酸等关键菌群代谢产物,后续实验可进一步通过结合靶向代谢组学开展更加深入验证,如通过菌群移植或代谢物干预实验进一步验证菌群差异及代谢产物影响脑内炎症、自噬或能量代谢的具体机制,并纳入临床人群数据联合分析,使研究结论更精准,为临床衰老相关疾病的运动干预治疗方案提供可靠理论支撑。

4 结论

综上所述,本研究揭示了有氧运动可能通过促进有益菌群(如副拟杆菌属、理研菌属、双歧杆菌属等)增殖,驱动特定代谢途径(如能量代谢、抗氧化防御等)的活性,进而改善宿主代谢健康^[45-48]。这一“菌群-代谢物”协同调控网络的构建,不仅为阐释运动经肠-脑轴延缓衰老的机制提供了关键分子证据,而且将“菌群驱动代谢重塑,代谢物反哺脑功能”的肠道菌群代谢调控网络确立为抗衰老干预的重要靶标。

基于此,未来研究可从以下几个方向深化探

索:首先从机制纵深上,结合单细胞测序与空间代谢组学技术,定位特定菌群代谢物(如石胆酸)在肠上皮-血脑屏障-神经元中的时空传递路径;其次从精准干预策略上,开发“菌群特征-代谢物谱-运动处方”三位一体的个性化干预模型,利用机器学习算法建立剂量-效应预测体系;在临床转化验证上,开展老年人群队列研究,通过多中心随机对照试验评估“运动-益生菌”的联合干预对认知衰退的协同效应;最后是通过跨物种机制对比,在非人灵长类模型中系统比较物种间菌群代谢网络差异,筛选具有跨物种保守性的关键调控节点。

本研究的突破性意义在于将传统运动生理学与前沿微生物代谢组学深度融合,为神经退行性疾病的防治提供了运动重塑“菌群-代谢物-脑”轴的新范式。随着合成生物学与类器官技术的发展,未来或可构建“菌群-代谢物-神经元”体外互作模型,实现靶向代谢通路的精准药物筛选,推动抗衰老研究从机制探索向临床应用的跨越式转化。

参考文献

- [1] Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nat Rev Microbiol*, 2021, **19**(1): 55-71
- [2] Jiang X, Zheng Y, Sun H, *et al*. Fecal microbiota transplantation improves cognitive function of a mouse model of Alzheimer's disease. *CNS Neurosci Ther*, 2025, **31**(2): e70259
- [3] Yang H, Wang T, Qian C, *et al*. Gut microbial-derived phenylacetylglutamine accelerates host cellular senescence. *Nat Aging*, 2025, **5**(3): 401-418
- [4] Abavisani M, Faraji N, Ebadpour N, *et al*. Beyond digestion: Exploring how the gut microbiota modulates human social behaviors. *Neuroscience*, 2025, **565**: 52-62
- [5] Doenys C, Clarke G, Cserjési R. Gut-brain axis and neuropsychiatric health: recent advances. *Sci Rep*, 2025, **15**(1): 3415
- [6] Liu Y, Wang Y, Ni Y, *et al*. Gut microbiome fermentation determines the efficacy of exercise for diabetes prevention. *Cell Metab*, 2020, **31**(1): 77-91.e5
- [7] 刘依依, 邱俊强. 运动与肠道菌群代谢产物: 短链脂肪酸在2型糖尿病中的代谢调控作用. *中国运动医学杂志*, 2023, **42**(10): 818-824
Liu YY, Qiu JQ. *Chin J Phys Med*, 2023, **42**(10): 818-824
- [8] 王丽, 张之豪, 李燕春. 代谢综合征与肠道菌群关系及有氧运动干预效果机制. *中国生物化学与分子生物学报*, 2024, **40**(11): 1504-1512
Wang L, Zhang Z H, Li Y C. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2024, **40**(11): 1504-1512
- [9] 刘阳, 赵纯, 李致潇. 运动训练通过改善肠道菌群防治代谢疾病的研究进展. *中国细胞生物学报*, 2024, **46**(7): 1468-

- 1476
- Liu Y, Zhao C C, Li Z X. *Chin J Cell Biol*, 2024, **46**(7): 1468-1476
- [10] Johnson J S, Spakowicz D J, Hong B Y, *et al.* Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 5029
- [11] 胡露楠, 刘启鸿, 柯晓, 等. 基于 16S 测序技术分析功能性便秘患者不同结肠传输动力肠道菌群的差异性研究. *中国中西医结合消化杂志*, 2024, **32**(10): 910-915, 921
- Hu L N, Liu Q H, Ke X, *et al.* *Chin J Integr Tradit West Med Dig*, 2024, **32**(10): 910-915, 921
- [12] 苏佳, 何锴, 连春盎, 等. 基于 16S rRNA 基因扩增子测序技术研究云南野生小型哺乳动物肠道菌群多样性. *北京大学学报: 自然科学版*, 2022, **58**(2): 326-336
- Su J, He K, Lian C A, *et al.* *Acta Sci Nat Univ Pekin*, 2022, **58**(2): 326-336
- [13] 董晓伟, 吴长亮, 王振常, 等. 基于 16S rDNA 测序分析酒精性脂肪肝进展中小鼠肠道菌群变化. *广西医科大学学报*, 2024, **41**(8): 1134-1140
- Dong X W, Wu C L, Wang Z C, *et al.* *J Guangxi Med Univ*, 2024, **41**(8): 1134-1140
- [14] 陈奕欢, 余琼. 肠-脑轴与阿尔茨海默病. *中国临床神经科学*, 2025, **33**(1): 114-120
- Chen Y H, Yu Q. *Chin J Clin Neurosci*, 2025, **33**(1): 114-120
- [15] 卜凡, 蒋欣, 吕佩源. 微生物-肠-脑轴对阿尔茨海默病患者认知功能影响的研究进展. *中国临床医生杂志*, 2025, **53**(1): 24-27
- Bu F, Jiang X, (Lü/Lv/Lu/Lyu) P Y. *Chin J Clin*, 2025, **53**(1): 24-27
- [16] 黄涛, 王坤, 程蜀琳. 肠道微生物-肠-脑轴在运动促进认知功能中的潜在作用. *中国运动医学杂志*, 2017, **36**(9): 823-828
- Huang T, Wang K, Cheng S L. *Chin J Phys Med*, 2017, **36**(9): 823-828
- [17] Trisal A, Singh I, Garg G, *et al.* Gut-brain axis and brain health: modulating neuroinflammation, cognitive decline, and neurodegeneration. *3 Biotech*, 2025, **15**(1): 25
- [18] Singh V, West G, Fiocchi C, *et al.* Clonal *Parabacteroides* from gut micro fistulous tracts as transmissible cytotoxic succinate-commensal model of Crohn's disease complications. *bioRxiv*, 2024: 2024.01.09.574896
- [19] Zhang L, Zou W, Hu Y, *et al.* Voluntary wheel running ameliorated the deleterious effects of high-fat diet on glucose metabolism, gut microbiota and microbial-associated metabolites. *Food Sci Hum Wellness*, 2024, **13**(3): 1672-1684
- [20] Peña-Durán E, García-Galindo J J, López-Murillo L D, *et al.* Microbiota and inflammatory markers: a review of their interplay, clinical implications, and metabolic disorders. *Int J Mol Sci*, 2025, **26**(4): 1773
- [21] Chen S, Wang H, Hu N. Long-term dietary *Lycium ruthenicum* Murr. anthocyanins intake alleviated oxidative stress-mediated aging-related liver injury and abnormal amino acid metabolism. *Foods*, 2022, **11**(21): 3377
- [22] Turunen S, Koivula M K, Nicholas A P, *et al.* Homocitrulline: an analog and confounder related to citrulline. In: Nicholas, A., Bhattacharya, S. (eds). *Protein Deimination in Human Health and Disease*. New York, NY: Springer New York, 2014: 367-376
- [23] Sureshkumar K, Durairaj M, Srinivasan K, *et al.* Effect of L-carnosine in patients with age-related diseases: a systematic review and meta-analysis. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2023, **28**(1): 18
- [24] Solana-Manrique C, Sanz F J, Martínez-Carrión G, *et al.* Antioxidant and neuroprotective effects of carnosine: therapeutic implications in neurodegenerative diseases. *Antioxidants (Basel)*, 2022, **11**(5): 848
- [25] Chmielewska K, Dzierzbicka K, Inkielewicz-Stepniak I, *et al.* Therapeutic potential of carnosine and its derivatives in the treatment of human diseases. *Chem Res Toxicol*, 2020, **33**(7): 1561-1578
- [26] Tong B, Ba Y, Li Z, *et al.* Targeting dysregulated lipid metabolism for the treatment of Alzheimer's disease and Parkinson's disease: current advancements and future prospects. *Neurobiol Dis*, 2024, **196**: 106505
- [27] Qu Q, Chen Y, Wang Y, *et al.* Lithocholic acid phenocopies anti-ageing effects of calorie restriction. *Nature*, 2024
- [28] Hamdy S M, Elsayed N A, Youness E R, *et al.* Effect of cytidine-5'-diphosphocholine alone, caffeine or their combination on oxidative stress and inflammatory response in an experimentally-induced Parkinson's disease. *J Complement Integr Med*, 2025
- [29] Snaebjornsson M T, Poeller P, Komkova D, *et al.* Targeting aldolase A in hepatocellular carcinoma leads to imbalanced glycolysis and energy stress due to uncontrolled FBP accumulation. *Nat Metab*, 2025, **7**(2): 348-366
- [30] Cardoso D, Guilbert S, Guigue P, *et al.* Inhibition of poly(ADP-Ribosylation) reduced vascular smooth muscle cells loss and improves aortic disease in a mouse model of human accelerated aging syndrome. *Cell Death Dis*, 2024, **15**: 723
- [31] 廖利, 华桦, 赵军宁. 四氢姜黄素的研究进展. *世界科学技术-中医药现代化*, 2014, **16**(12): 2708-2712
- Liao L, Hua H, Zhao J N. *Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol*, 2014, **16**(12): 2708-2712
- [32] 孙丛丛, 景永帅, 张丹参. 四氢姜黄素的神经保护作用研究进展. *中国药理学与毒理学杂志*, 2021, **35**(10): 796-797
- Sun L C, Jing Y S, Zhang D C/C/S. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2021, **35**(10): 796-797
- [33] Ruiz-Gonzalez C, Cardona D, Rueda-Ruzafa L, *et al.* Cognitive and emotional effect of a multi-species probiotic containing *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* in healthy older adults: a double-blind randomized placebo-controlled crossover trial. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2024
- [34] Cao J, Amakye W K, Qi C, *et al.* *Bifidobacterium lactis* Probio-M8 regulates gut microbiota to alleviate Alzheimer's disease in the APP/PS1 mouse model. *Eur J Nutr*, 2021, **60**(7): 3757-3769
- [35] Nasb M, Wei M, Lin B, *et al.* Unraveling precision exercise: a journey from efficacy to molecular insights. *Adv Exerc Health Sci*, 2024, **1**(1): 3-15
- [36] Mailing L J, Allen J M, Buford T W, *et al.* Exercise and the gut

- microbiome: a review of the evidence, potential mechanisms, and implications for human health. *Exerc Sport Sci Rev*, 2019, **47**(2): 75-85
- [37] Allen J M, Mailing L J, Cohrs J, *et al.* Exercise training-induced modification of the gut microbiota persists after microbiota colonization and attenuates the response to chemically-induced colitis in gnotobiotic mice. *Gut Microbes*, 2018, **9**(2): 115-130
- [38] 王明涵, 元宇, 宋昂芯, 等. 微生态调节剂对大负荷运动下肠道微生物群调节作用的研究进展. *生命科学*, 2023, **35**(12): 1639-1651
- Wang M H, Yuan Y, Song A X, *et al.* *Chin Bull Life Sci*, 2023, **35**(12): 1639-1651
- [39] 梁家琪, 刘恒旭, 阳金鑫, 等. 运动与肠道菌健康效益的关系. *中国组织工程研究*, 2023, **27**(8): 1292-1299
- Liang J Q, Liu H X, Yang J X, *et al.* *Chin J Tissue Eng Res*, 2023, **27**(8): 1292-1299
- [40] 宋刚, 廖帅雄. 运动与肠道菌群研究综述. *中国体育科技*, 2019, **55**(10): 56-61
- Song G, Liao S X. *China Sport Sci Technol*, 2019, **55**(10): 56-61
- [41] Mann E R, Lam Y K, Uhlig H H. Short-chain fatty acids: linking diet, the microbiome and immunity. *Nat Rev Immunol*, 2024, **24**(8): 577-595
- [42] Nagpal R, Wang S, Solberg Woods L C, *et al.* Comparative microbiome signatures and short-chain fatty acids in mouse, rat, non-human primate, and human feces. *Front Microbiol*, 2018, **9**: 2897
- [43] Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J*, 2017, **474**(11): 1823-1836
- [44] Mallott E K, Kuthyar S, Lee W, *et al.* The primate gut microbiota contributes to interspecific differences in host metabolism. *Microb Genom*, 2024, **10**(12): 001322
- [45] Aya V, Jimenez P, Muñoz E, *et al.* Effects of exercise and physical activity on gut microbiota composition and function in older adults: a systematic review. *BMC Geriatr*, 2023, **23**(1): 364
- [46] Wu C S, Muthyala S D V, Klemashevich C, *et al.* Age-dependent remodeling of gut microbiome and host serum metabolome in mice. *Aging (Albany NY)*, 2021, **13**(5): 6330-6345
- [47] Allen J M, Mailing L J, Niemiro G M, *et al.* Exercise alters gut microbiota composition and function in lean and obese humans. *Med Sci Sports Exerc*, 2018, **50**(4): 747-757
- [48] Zierer J, Jackson M A, Kastenmüller G, *et al.* The fecal metabolome as a functional readout of the gut microbiome. *Nat Genet*, 2018, **50**(6): 790-795

Aerobic Exercise Improves Cognitive Function of Aging Mice by Regulating Intestinal Flora-metabolite Network*

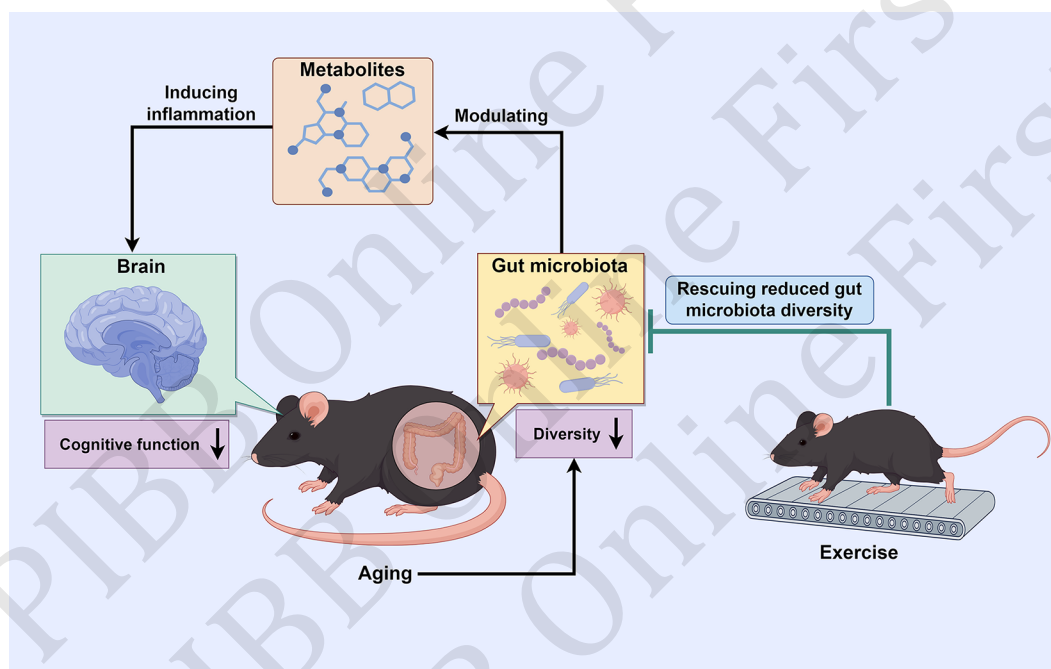
WANG An-Feng¹⁾, WU Tong¹⁾, ZHANG Hu¹⁾, LIANG Ji-ling²⁾, CHEN Ning^{1)**}

⁽¹⁾Tianjiu Research and Development Center for Exercise Nutrition and Foods, Hubei Key Laboratory of Exercise Training and Monitoring,

College of Sports Medicine, Wuhan Sports University, Wuhan 430079, China;

⁽²⁾Department of Physical Education, Central South University, Changsha 410083, China)

Graphical abstract



Abstract Objective This study aimed to explore the effects of aerobic exercise on cognitive function in aging mice and to elucidate the underlying molecular mechanisms by which aerobic exercise ameliorates cognitive decline through the regulation of gut microbiota-metabolite network. By providing novel insights into the interplay between exercise, gut microbiota, and cognitive health, this research seeks to offer a robust theoretical foundation for developing anti-aging strategies and personalized exercise interventions targeting aging-related cognitive dysfunction. **Methods** Using naturally aged C57BL/6 mice as the experimental model, this study employed a multi-omics approach combining 16S rRNA sequencing and wide-targeted metabolomics analysis. A total of 18 mice were divided into 3 groups: young control (YC, 4-month-old), old control (OC, 21-month-old), and old+exercise (OE, 21-month-old with 12 weeks of moderate-intensity treadmill training) groups. Behavioral assessments, including the Morris water maze (MWM) test, were conducted to evaluate cognitive function. Histopathological examinations of brain tissue sections provided morphological evidence of neuronal changes. Fecal samples were collected for gut microbiota and metabolite profiling *via* 16S rRNA sequencing and ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC-QTOF-MS). Data were analyzed using a combination of statistical and bioinformatics tools to identify differentially

abundant microbial taxa and metabolites and to construct interaction networks between them. **Results** Behavioral tests revealed that 12 weeks of aerobic exercise significantly improved spatial learning and memory capacity of aged mice, as evidenced by reduced escape latency and increased target area exploration and platform crossings in the MWM. Histopathological analysis demonstrated that exercise mitigated aging-related neuronal damage in the hippocampus, enhancing neuronal density and morphology. 16S rRNA sequencing indicated that exercise increased gut microbiota α -diversity and enriched beneficial bacterial genera, including *Bifidobacterium*, *Parabacteroides*, and *Rikenella*. Metabolomics analysis identified 32 differentially regulated metabolites between OC and OE groups, with 94 up-regulated and 30 down-regulated in the OE group when compared with OC group. These metabolites were primarily involved in energy metabolism reprogramming (*e. g.*, L-homocitrulline), antioxidant defense (*e. g.*, L-carnosine), neuroprotection (*e. g.*, lithocholic acid), and DNA repair (*e. g.*, ADP-ribose). Network analysis further revealed strong positive correlations between specific bacteria and metabolites, such as *Parabacteroides* with ADP-ribose and *Bifidobacterium* with lithocholic acid, suggesting potential neuroprotective pathways mediated by the gut microbiota-metabolite axis. **Conclusion** This study provides comprehensive evidence that aerobic exercise elicits cognitive benefits in aging mice by modulating the gut microbiota-metabolite network. These findings highlight three key mechanisms: (1) the proliferation of beneficial gut bacteria enhances metabolic reprogramming to boost DNA repair pathways; (2) elevated neuroinflammation-inhibiting factors reduce neurodegenerative changes; and (3) enhanced antioxidant defenses maintain neuronal homeostasis. These results underscore the critical role of the "microbiota-metabolite-brain" axis in mediating the cognitive benefits of aerobic exercise. This study not only advances our understanding of the gut-brain axis in aging but also offers a scientific basis for developing personalized exercise and probiotic-based interventions targeting aging-related cognitive decline. Future research should further validate these mechanisms in non-human primates and human clinical trials to establish the translational potential of exercise-induced gut microbiota-metabolite modulation for combating neurodegenerative diseases.

Key words aerobic exercise, aging, cognitive function, gut-brain axis, multi-omics integration analysis

DOI: 10.16476/j.pibb.20250130

** Corresponding author.

Tel: 86-27-67846140, E-mail: nchen510@gmail.com