

www.pibb.ac.cn



运动通过肠道菌群对孤独症样大鼠 行为及HPA轴的影响^{*}

陈雪梅¹⁾ 李银花^{1,2)} 钟救根³⁾ 杨朝名¹⁾ 侯晓晖^{1,2,4)**} (¹⁾广州体育学院广东省运动与健康重点实验室,广州 510500;²⁾上海体育学院运动科学学院,上海 200438; ³⁾ 绍兴文理学院医学院,绍兴 312000;⁴⁾广州体育学院,广东省人类运动表现科学重点实验室,广州 510500)

摘要 目的 探究自主跑轮运动通过肠道菌群对孤独症谱系障碍 (autism spectrum disorder, ASD) 样大鼠行为异常与下丘 脑-垂体-肾上腺(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴激活状态的影响。方法 选取 SD 母鼠,于孕期第12.5天分别腹腔 注射400 mg/kg丙戊酸盐(valproic acid, VPA)溶液或等量生理盐水,所产仔鼠分别为ASD模型组(PASD, n=35)和正常 对照组(PCON, n=16)。在仔鼠出生后第23天,采用三室社交、旷场、Morris水迷宫试验进行干预前行为学测试。行为学 测试结束后,从两组中各随机选取8只大鼠(PCON, PASD),采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清促肾上腺皮质激 素释放激素(corticotrophin-releasing hormone, CRH)、促肾上腺皮质激素(adrenocorticotropic hormone, ACTH)及皮质醇 (corticosterone, CORT)浓度,以评估HPA轴功能状态。在仔鼠出生后第28天,将剩余大鼠随机分为5组; CON对照组 (CON, n=8)、ASD 无干预组(ASD, n=6)、ASD 运动组(ASDE, n=8)、ASD 移植组(FMT, n=8)和ASD 假移植组 (sFMT, n=5)。其中,ASD组和CON组常规饲养,ASDE组从出生后第28天起,进行6周自主跑轮运动干预;FMT组从出 生后第42天起,每日灌胃运动2周后的ASDE组大鼠新鲜粪便悬液(1ml/100g),每周5d,持续4周; sFMT组则灌胃等量 生理盐水。干预结束后,检测各组行为学和HPA轴指标。结果 干预前,与正常对照组相比,ASD模型组的社交能力和社 交新颖性偏好、自发活动和探索兴趣、以及空间学习、记忆和导航能力均显著下降(P<0.05); PASD组血清中CRH、 ACTH和CORT浓度显著高于PCON组(P<0.05)。经6周自主跑轮运动干预后,与ASD组相比,ASDE组大鼠的社交能力 和社交新颖性偏好、自发活动和探索兴趣、以及空间学习、记忆和导航能力均显著改善(P<0.05),血清CORT浓度显著降 低(P<0.05),CRH及ACTH浓度呈下降趋势。在接受4周运动大鼠的粪菌移植干预后,与ASD组和sFMT组相比,FMT组 大鼠的社交能力和社交新颖性偏好、自发活动和探索兴趣、空间学习、记忆和导航能力均显著改善(P<0.05),血清 ACTH、CORT浓度显著降低(P<0.05), CRH浓度呈下降趋势。结论 运动可能通过抑制 HPA 轴激活改善 ASD 相关行为, 肠道菌群可能在这一过程中发挥关键作用。

关键词 孤独症谱系障碍,肠道菌群,下丘脑-垂体-肾上腺轴,运动,粪菌移植 中图分类号 R749.93,G804.5 **DOI**: 10.16476/j.pibb.2025.0141 **CSTR**: 32369.14.pibb.20250141

孤独症谱系障碍(autism spectrum disorder, ASD)是一种异质性神经发育障碍性疾病,其核 心症状包括社交障碍、兴趣和活动受限,以及重复 刻板行为^[1]。ASD常伴有多种并发症,如胃肠道 紊乱、运动缺陷、睡眠问题和智力障碍^[2]。流行 病学显示,ASD全球发病率为1%~2%^[34]。其中美 国 8 岁儿童的ASD患病率已达 1/36^[5],而我国 ASD患病率已上升至 0.7%^[6]。ASD病因极其复 杂,涉及基因突变、母体免疫激活和环境因素 等^[7],目前尚无特异性治疗手段,给患者、家庭 及社会带来沉重负担^[8]。因此,深入研究ASD的 病因机制并制定针对性治疗策略,仍是亟待解决的 重要问题。

研究显示,下丘脑-垂体-肾上腺轴

* 广东省省高校重点建设学科科研能力提升项目(2021ZDJS021) 资助。

Tel: 13822187866, E-mail: houxh@gzsport.edu.cn 收稿日期: 2025-03-31, 接受日期: 2025-05-30

^{**} 通讯联系人。

(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA) 在 ASD 发病机制中发挥关键作用^[9]。临床研究发现, ASD 儿童皮质醇水平升高, HPA 轴呈现过度激活 状态^[10]。据报道,HPA轴的长期激活与慢性炎症 状态相关,炎症因子可以参与调控大脑功能,包括 情绪和行为调节^[11-12]。在ASD患者中,体内炎症 因子水平的升高会刺激下丘脑分泌更多的促肾上腺 皮质激素释放激素 (corticotrophin-releasing hormone, CRH),进而促使垂体释放更多促肾上 腺皮质激素 (adrenocorticotropic hormone, ACTH), 导致肾上腺皮质酮 (corticosterone, CORT)的合成和分泌增多^[13]。研究发现,由肠道 菌群介导的HPA轴功能障碍与多种精神疾病的病 理生理学有关^[14]。例如,无菌小鼠的研究表明, 肠道菌群缺失可导致 HPA 轴对应激刺激的反应性 显著增强,引发焦虑和社交行为受损,进而介导 ASD的发病进程^[15]。此外,研究显示 ASD 模型动 物普遍存在肠道菌群失调,其可能破坏肠道屏障, 导致炎症加剧、HPA轴启动、神经递质和细菌代谢 物水平改变,最终导致ASD样行为异常^[16-17]。值 得注意的是, HPA轴的功能与社交行为密切相关, 抑制其活性可改善肠道菌群紊乱小鼠的异常社交行 为,激活则使正常小鼠出现社交缺陷^[11]。这提示 HPA轴可能是影响ASD行为异常的关键调控点。

近年来,运动被证实能够改善ASD 儿童的核 心症状及认知功能,同时调节肠道菌群的组成和多 样性^[18]。我们课题组前期研究发现,6周的有氧运 动可显著改善ASD患儿核心症状和胃肠道问题, 与其对肠道菌群的调节有关^[19]。此外,动物实验 表明,自主跑轮运动能改善ASD 大鼠的社交行为 及自主活动,且通过粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)进一步证实运动通过肠道菌 群影响中枢神经递质系统,从而改善ASD大鼠的 行为^[20]。其中, 粪菌移植作为一种调整肠道菌群 的治疗手段,已被证实对ASD 儿童的肠道及行为 症状有长期改善的作用^[21-22]。然而,运动是否通过 调节肠道菌群抑制HPA轴的过度激活进而改善 ASD行为症状,其具体机制尚不清楚。因此,本 研究基于前期成果,采用孤独症样大鼠模型,探究 自主跑轮运动对 ASD 行为及 HPA 轴的影响及肠道 菌群在其中的作用,旨在探讨运动改善ASD症状 的神经生物学机制,为ASD治疗提供新策略和科 学依据。

1 材料和方法

1.1 主要仪器和试剂

自主跑轮系统(XR-PL107,上海欣软信息科 技有限公司);行为学检测系统(上海欣软信息科 技有限公司);离心机(5424R,Eppendorf);酶标 仪(SYNERGY LX,BioTek);丙戊酸盐(货号 P4543,Sigma);三箱社交实验箱(RD1150-SIT, 上海移数信息科技有限公司);旷场实验箱 (RD1112-OF-G,上海移数信息科技有限公司);水 迷宫游泳池(RD1101-MWM-G,上海移数信息科 技有限公司)。皮质醇酶联免疫吸附试验(enzymelinked immunosorbent assay,ELISA)试剂盒(货 号:CSB-E07014r)、促肾上腺皮质激素ELISA试 剂盒(货号:CSB-E06875r)和促肾上腺皮质激素 释放激素ELISA试剂盒(货号:CSB-E08038r)均 购自武汉华美生物工程有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物

选取 8~9 周龄 SPF 级 Sprague-Dawley (SD) 大鼠(购自南方医科大学实验动物中心,许可证 号: SCXK(粤) 2016-0041) 雌、雄各数只,饲养 于同一 SPF 级动物房,环境温度(22±2)℃,相 对湿度为 35%~75%,光照周期为 12/12 h,自由饮 水和普通饲料饮食。大鼠被适应性喂养 2 周后, 雌、雄大鼠按照 1:2 的比例合笼,次日观察到雌 鼠阴栓并经阴道涂片确认有精子即表明交配成功, 记为孕第 1 天 (embryoic 1, E1),受孕大鼠进行单 笼喂养。所有动物处理严格遵守《关于善待实验动 物的指导性意见》,且本实验已得获广州体育学院 实验动物委员会批准(审批编号: 2021 DWLL-07)。

1.2.2 模型制备及分组

雌性SD大鼠于孕期第12.5天腹腔注射400 mg/ kg丙戊酸盐(valproic acid, VPA, 溶于0.9%生理 盐水配成250 g/L溶液),其子代作为ASD模型大 鼠(PASD, *n*=35)。同期选取SD孕鼠在相同孕期 腹腔注射等量生理盐水,其子代作为正常对照组 (PCON, *n*=16)。在仔鼠出生后第23天进行干预前 行为学测试后,从两组中各随机选取8只大鼠 (PCON, PASD),采用ELISA检测HPA轴相关指 标。在仔鼠出生后第28天,将两组剩余大鼠随机 分为5组:CON对照组(CON, *n*=8)、ASD无干 预组(ASD, *n*=6)、ASD运动组(ASDE, *n*=8)、

训的实验人员在固定时间段(9:00~16:00)完

成,测试前后均用75%乙醇清洁装置,全程采用

视频记录系统采集数据。 a. 三室社交试验。用于评估大鼠的社交能力和 社交新颖性偏好。实验设备为150 cm×50 cm×40 cm的三室偏好箱,包含左、中、右3个箱体。实 验开始前,让受试大鼠在中央箱自由探索5 min。 随后将一只同龄同性别的陌生大鼠(stranger1)放 人左箱铁笼中,记录受试大鼠10 min内在三箱的 活动情况。清洁笼具后,将另一只陌生大鼠 (stranger2)放入右箱铁笼,左箱的stranger1位置 不变,再次观察10 min。记录受试大鼠在各箱停留 时间、进入次数以及接近陌生大鼠的次数和时长。

b. 旷场试验。用于评估大鼠在新环境中的探索 行为、自发活动及焦虑反应。将大鼠放入100 cm× 100 cm的开放式试验箱中央,记录大鼠10 min内 的运动距离、速度、中央区域活动时间及持续时 间等。

c. Morris水迷宫试验。用于评估大鼠空间学 习、记忆及导航能力,主要包括定位航行实验和空 间探索实验。实验在直径120 cm的圆形水池中进 行,池内设有直径10 cm,位于水面下约1 cm处的 逃生平台,水温保持24℃。正式实验前1天,让受 试大鼠进行120 s适应性游泳训练。随后进行3 d (每天4次)的定位航行实验,将大鼠从随机象限 放入水池,计时120 s。大鼠找到平台后停留30 s, 若未找到,引导至平台并停留30 s,记录逃避潜伏 期(即寻找平台的时间)。第4天进行空间探索实 验,撤去平台,将大鼠从固定象限放入水池,记录 60 s内其在原平台象限游泳的路程、时间、平均速 度及穿越次数等。

1.2.6 酶联免疫吸附试验(ELISA)

行为学检测结束后,对各组大鼠进行麻醉,经 腹主动脉采血至预冷的1.5 ml离心管中。样本于 4℃、3 000 r/min 条件下离心10 min,收集上清液 (血清)转移至新管,保存于-80℃冰箱待测。采 用ELISA试剂盒检测血清中HPA轴相关激素浓度。 具体步骤如下:将血清样本及标准品按试剂盒说明 书稀释后加入酶标板,室温孵育2h;弃去孔内液 体,用洗涤液洗板5次,每次静置30s;加入生物 素化抗体工作液,室温孵育1h,重复洗板;随后 加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的亲和素工作 液,室温避光孵育30 min,再次洗板;最后加入显 色底物(TMB),37℃避光反应15 min,加入终止

ASD 移植组(FMT, *n*=8)和 ASD 假移植组(sFMT, *n*=5)。其中, ASD组和CON组常规饲养, ASDE组从出生后第28天起,进行6周自主跑轮运动干预;FMT组从出生后第42天起,每日灌胃运动2周后的ASDE组大鼠新鲜粪便悬液(1 ml/100g),每周5d,持续4周;sFMT组则灌胃等量生理盐水。干预结束后,检测各组行为学和HPA轴指标。

1.2.3 运动干预方案

本实验采用自主跑轮运动干预模式,运动开始 于行为学测试后第2天(即大鼠出生后第28天)。 运动组大鼠饲养笼内放置跑轮装置(直径36 cm, 跑道宽度10 cm,整体尺寸42 cm×26 cm×19 cm), 24 h供其自由活动。正式运动干预前,所有大鼠均 进行为期3 d的适应性训练,随后进行为期6周的 自主跑轮运动。运动参数,即运动量(跑步距离) 与运动时间的监测,由同一实验员每日18:00通 过电子计数系统进行记录。最终选择平均每天运动 量大于2 km的大鼠进行分析^[23]。

1.2.4 粪菌移植方案

为了探索运动改善孤独症的行为是否来自运动 对肠道菌群的修饰效应,进一步采用整体肠道菌群 移植方案。每天固定时间收集每日运动量大于2 km的运动组大鼠作为供体^[24],常规饲养的ASD大 鼠为受体组(即为移植组FMT),假移植组 (sFMT) 以生理盐水灌胃作为对照。粪菌移植从运 动组进行2周运动后,收集运动组大鼠的直肠粪 便。粪便经处理后以灌胃方式移植至常规饲养的 ASD 大鼠体内, 持续4周 (每周5d, 共20d)。灌 胃操作由同一实验员在相同时间和条件下执行。具 体步骤如下^[25]: a. 供体粪便收集: 每日8: 00~9: 00采集ASD运动组大鼠肛门的新鲜粪便,保存于 无菌冻存管; b. 稀释: 称取粪便, 按1:5比例加 入生理盐水,搅拌成混悬液; c. 过滤:采用医用纱 布过滤掉粪便中的食物纤维,获得二级混悬液;d. 将二级混悬液于4℃离心机中以6000 r/min、15 min进行离心,弃掉上清液,得到沉淀物; e. 将与 b步骤等量的无菌生理盐水加入沉淀物中,并混合 成悬液即粪菌滤液; f. 将所收集的滤液混合后, 按 1 ml/100 g体重进行灌胃。

1.2.5 行为学测试

所有行为学试验均在标准化的行为学实验室内 完成,该实验室具备隔音条件,能保持一致的适宜 光照强度、温度和湿度。所有测试均由经过统一培 液终止反应。使用酶标仪在450 nm 波长处测定各 孔光密度值(*A*),根据标准曲线计算CRH、ACTH 及CORT的浓度(单位: μg/L)。

1.2.7 统计学处理

采用GraphPad Prism 10.0进行统计学分析。所 有计量数据均以均数±标准误(mean±SEM)表示。 干预前两组间比较采用独立样本t检验,干预后多 组间比较采用单因素方差(one-way analysis of variance, ANOVA)分析。若数据不符合正态性和 方差齐性时,均采用非参数检验:两组间比较采用 Mann-Whitney test,多组间比较采用Kruskal-Wallis test,以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 孕期VPA暴露对子代大鼠行为、HPA轴的 影响

2.1.1 孕期VPA暴露对子代大鼠行为的影响

三室社交试验结果显示,在干预前,PASD大 鼠与stranger1的头部接触时间、所在空间停留时间 及接触次数较PCON组均显著减少(P<0.05),在 右箱放入stranger2后,PASD组与stranger2的头部 接触时间、所在空间停留时间及接触次数较PCON 组也均显著减少(P<0.05,图1)。表明ASD大鼠 存在社交能力下降及社交新颖性偏好能力缺陷。

旷场试验结果显示,PASD组大鼠自由活动的 总路程、平均速度、中心区域路程、中心平均速度 及穿过中心次数均显著低于PCON组(P<0.05,图 2)。表明ASD大鼠自发活动水平降低,且对新环 境的探索兴趣下降。

水迷宫试验结果显示,PASD组大鼠在平台象限区域的游泳路程、游泳时间及穿越次数显著低于 PCON组(P<0.05),且进入平台象限的潜伏期明显长于PCON组(P<0.05,图3)。表明ASD大鼠存在空间学习、记忆及导航能力的下降。

2.1.2 孕期VPA暴露对子代大鼠HPA轴的影响

血清检测结果显示,与PCON组相比,PASD 组大鼠血清中CRH、ACTH及CORT的浓度均显著 升高(P<0.05,图4)。表明ASD 大鼠的HPA 轴呈 现过度激活状态。

2.2 运动对ASD大鼠行为、HPA轴的影响

2.2.1 运动对ASD大鼠行为的影响

三室社交试验结果显示,干预后,与CON组相比,ASD组大鼠与stranger1的头部接触时间显著缩短(P<0.05),与stranger2的头部接触时间、

所在空间停留时间及接触次数均显著减少(P< 0.05);与ASD组相比,ASDE组大鼠与stranger1和stranger2的头部接触时间、所在空间停留时间及接触次数均显著增加(P<0.05,图5)。表明6周自主跑轮运动干预可显著改善ASD大鼠的社交能力及社交新颖性偏好能力。

旷场试验结果显示,与CON组相比,ASD组 大鼠自由活动的总路程、平均速度、中心区域路 程、时间及穿过中心次数均显著降低(P<0.05); 与ASD组相比,ASDE组大鼠自由活动的总路程、 平均速度、中心区域路程、时间及穿过中心次数均 显著增加(P<0.05,图6)。表明6周自主跑轮运动 可显著提升ASD大鼠的自发活动水平,并增强其 对新环境的探索兴趣。

水迷宫试验结果显示,与CON组相比,ASD 组大鼠在平台象限区域的游泳路程、游泳时间及穿 越次数均显著减少(P<0.05),且进入平台象限的 潜伏期显著延长(P<0.05);与ASD组比较, ASDE组大鼠在平台象限区域的游泳路程、游泳时 间及穿越次数均显著增加(P<0.05),且进入平台 象限的潜伏期显著缩短(P<0.05,图7)。表明6周 自主跑轮运动可显著改善ASD大鼠的空间学习、 记忆及导航能力。

2.2.2 运动对ASD大鼠HPA轴的影响

血清检测结果显示,与CON组相比,ASD组 大鼠血清中CRH、ACTH及CORT浓度均显著升高 (P<0.05);与ASD组相比,ASDE组大鼠血清中 CORT浓度显著降低(P<0.05,图8),ACTH及 CRH浓度呈下降趋势。表明6周自主跑轮运动可降 低ASD大鼠HPA轴的激活。

2.3 运动大鼠的粪菌移植对ASD大鼠行为、HPA 轴的影响

2.3.1 运动大鼠的粪菌移植对ASD大鼠行为的影响

三室社交试验结果显示,与ASD组相比, FMT组大鼠与stranger1的所在空间停留时间显著 延长(P<0.05),与stranger2的头部接触时间、所 在空间停留时间及接触次数均显著增加(P<0.05); 与sFMT组相比,FMT组大鼠与stranger1及 stranger2的头部接触时间、所在空间停留时间及接 触次数均显著增加(P<0.05);与sFMT组相比, ASDE组大鼠与stranger1的接触次数,与stranger2 的头部接触时间、所在空间停留时间及接触次数均 显著增加(P<0.05,图9)。表明移植运动大鼠的 粪菌可显著提高ASD大鼠的社交能力及社交新颖



Fig. 1 Influence of VPA exposure on the social behavior of rats

(a) Representative trajectories of rats in each group in the three-compartment social behavior test, S1 and S2 represent stranger rat 1 and stranger rat 2 respectively in the trajectories. (b, e) The head contact time of each group of rats with stranger rat 1 and stranger rat 2 respectively. (c, f) The time each group of rats stayed in the space where the stranger rat 1 and stranger rat 2 respectively. (d, g) The number of times each group of rats had head contact with stranger rat 1 and stranger rat 2 respectively. *P<0.05, **P<0.01 vs PCON group.

性偏好。

旷场试验结果显示,与ASD组和sFMT组相 比,FMT组大鼠自由活动的总路程、平均速度、 中心持续时间及穿过中心次数均显著增加(P< 0.05);与sFMT组相比,ASDE组大鼠自由活动的 总路程、平均速度、中心路程、中心持续时间及穿 过中心次数均显著增加(P<0.05,图10)。表明移 植运动大鼠的粪菌可显著提升ASD大鼠的自发活 动水平,并增强其对新环境的探索兴趣。 水迷宫试验结果显示,与ASD组相比,FMT 组大鼠在平台象限区域的游泳路程、游泳时间及穿 越次数均显著增加(P<0.05);与sFMT组相比, FMT组大鼠与ASDE组大鼠在平台象限区域的游 泳路程、游泳时间及穿越次数均显著增加(P< 0.05),进入平台象限的潜伏期均显著缩短(P< 0.05,图11)。表明移植运动大鼠的粪菌可显著改 善ASD大鼠的空间学习、记忆及导航能力。



Fig. 2 Influence of VPA exposure on the spontaneous activity of rats

(a) Representative trajectories of rats in each group in the open field test. (b) Total distance traveled in the open field. (c) Average speed in the open field. (d) Distance traveled in the center area of the open field. (e) Duration of staying in the center area of the open field. (f) Average speed in the center area of the open field. (g) Number of times crossing the center area of the open field. *P<0.05 vs PCON group.

2.3.2 运动大鼠的粪菌移植对ASD大鼠HPA轴的影响

血清检测结果显示,与ASD组相比,FMT组 大鼠血清中ACTH和CORT浓度均显著降低(P< 0.05),CRH浓度呈下降趋势;与sFMT组相比, FMT组和ASDE组大鼠血清中ACTH和CORT浓度 均显著降低(P<0.05,图12),CRH浓度也均呈下降趋势。可见移植组与运动组大鼠的HPA轴激活状态呈现相同活性降低的趋势。表明移植运动大鼠的粪菌可以降低ASD大鼠HPA轴的激活,尤其对ACTH和CORT浓度的降低作用更为显著。





(a) Representative trajectories of rats in each group in the Morris water maze test. (b) Distance swum in the platform quadrant area. (c) Residence time in the platform quadrant area. (d) The average swimming speed in the platform quadrant area. (e) Number of times of crossing the platform quadrant area. (f) Latency of entering the platform quadrant area. *P<0.05, **P<0.01 vs PCON group.





(a) The concentration of corticotropin-releasing hormone (CRH) of rats in each group. (b) The concentration of adrenocorticotropic hormone (ACTH). (c) The concentration of corticosterone (CORT). *P<0.05 vs PCON group.





(a) Representative trajectories of rats in each group in the three-compartment social behavior test, S1 and S2 represent Stranger rat 1 and Stranger rat 2 respectively in the trajectories; (b, e) The head contact time of each group of rats with the stranger rat 1 and stranger rat 2 respectively. (c, f) The time each group of rats stayed in the space where the stranger rat 1 and stranger rat 2 respectively. (d, g) The number of times each group of rats had head contact with stranger rat 1 and stranger rat 2 respectively. *P<0.05, **P<0.01 vs CON group; #P<0.05 vs ASD group.





(a) Representative trajectories of rats in each group in the open field test. (b) Total distance traveled in the open field. (c) Average speed in the open field. (d) Distance traveled in the center area of the open field. (e) Duration of staying in the center area of the open field. (f) Average speed in the center area of the open field. (g) Number of times crossing the center area of the open field. **P<0.01 vs CON group; #P<0.05, ##P<0.01 vs ASD group.





(a) Representative trajectories of rats in each group in the Morris water maze test. (b) Distance swum in the platform quadrant area. (c) Residence time in the platform quadrant area. (d) The average swimming speed in the platform quadrant area. (e) Number of times of crossing the platform quadrant area. (f) Latency of entering the platform quadrant area. *P<0.05 vs CON group; #P<0.05, #H<0.01 vs ASD group.





(a) The concentration of corticotropin-releasing hormone (CRH) of rats in each group.
 (b) The concentration of adrenocorticotropic hormone (ACTH).
 (c) The concentration of corticosterone (CORT). *P<0.05, **P<0.01 vs CON group; #P<0.05 vs ASD group.





(a) Representative trajectories of rats in each group in the three-compartment social behavior test. (b, e) The head contact time of each group of rats with the stranger rat 1 and stranger rat 2 respectively. (c, f) The time each group of rats stayed in the space where the stranger rat 1 and stranger rat 2 respectively. (d, g) The number of times each group of rats had head contact with the stranger rat 1 and stranger rat 2 respectively. $^*P<0.05 vs$ ASD group; $\triangle P<0.05 vs$ FMT group; #P<0.05 vs sFMT group.





(a) Representative trajectories of rats in each group in the open field test. (b) Total distance traveled in the open field. (c) Average speed in the open field. (d) Distance traveled in the center area of the open field. (e) Duration of staying in the center area of the open field. (f) Average speed in the center area of the open field. (g) Number of times crossing the center area of the open field. *P<0.05 vs ASD group; ΔP <0.05 vs FMT group; #P<0.05 vs sFMT group.



Fig. 11 Effect of fecal microbiota transplantation on the learning and memory abilities of ASD rats

(a) Representative trajectories of rats in each group in the Morris water maze test. (b) Distance swum in the platform quadrant area. (c) Residence time in the platform quadrant area. (d) The average swimming speed in the platform quadrant area. (e) Number of times of crossing the platform quadrant area. (f) Latency of entering the platform quadrant area. *P<0.05 vs ASD group; $\Delta P<0.05 vs$ FMT group; #P<0.05 vs sFMT group.





(a) The concentration of corticotropin-releasing hormone (CRH) of rats in each group. (b) The concentration of adrenocorticotropic hormone (ACTH). (c) The concentration of corticosterone (CORT). *P<0.05 vs ASD group; $\triangle P$ <0.05 vs FMT group; #P<0.05 vs sFMT group.

3 讨论

妊娠期和围产期是神经系统发育易受影响的关键时期^[26-27]。研究发现,孕鼠第12.5天腹腔注射 VPA可显著影响胎鼠脑部发育,导致脑组织异常, 其与孤独症患者临床病因、病理以及行为学症状等 具有明显的相似性^[28],是目前比较经典成熟的 ASD动物模型^[29-30]。一项研究发现孕鼠腹腔注射 VPA后,其子代在三箱社交检测等行为学实验中, 表现出社交行为减少和社交行为潜伏期增加,埋 珠、理毛等重复刻板动作增加^[31]。与前人结果一 致,本研究造模后三室社交、旷场和水迷宫行为学 试验结果显示,ASD大鼠社交能力和社交新颖性 偏好下降、自发活动和探索兴趣减少,以及空间学 习,记忆和导航能力减弱,表明ASD仔鼠模型构 建成功,后续实验具有可行性。

动物试验显示,产前应激刺激会诱导高反应性 HPA 轴应激反应^[32]。例如,孕期脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 干预可激活子代大鼠免 疫系统并引发相应炎症,而这些炎症反应不仅会影 响子代大鼠的大脑发育,还会作为重要的压力信号 分子直接激活 HPA 轴^[33]。本研究同样发现,孕鼠 VPA 暴露诱导的子代 ASD 大鼠血清中 CRH、 ACTH和CORT含量较对照组均显著增加,提示其 HPA 轴功能亢进。其中皮质醇是主要的 HPA 轴激 素,研究发现过多的皮质醇释放会激活小胶质细 胞,影响中枢神经系统的兴奋与抑制失衡,这可能 导致ASD的病理发展^[34]。本实验发现ASD大鼠血 清中皮质醇浓度显著高于对照组,这可能与皮质醇 参与应激反应的调控有关。研究显示,皮质醇在反 复约束期间下降,但在不可预测的压力下保持高水 平^[12]。此外,当机体受到压力应激时下丘脑会释 放CRH, 进而触发ACTH和CORT的合成和分泌增 加。值得注意的是, CRH的调节紊乱与多种疾病 密切相关,如抑郁症、焦虑症和炎症性肠病等^[35]。 本研究结果显示,CRH异常可能参与ASD的发病 机制, Tsilioni 等^[36] 针对 ASD 儿童的研究也进一步 验证了这一结论。可以推测, HPA 轴的激活在 ASD的病理机制中可能发挥着重要作用,但其具 体机制尚不清楚。

近年来,运动对改善孤独症的效果已得到广泛 证实^[37-38]。现有研究表明,适宜的运动可通过刺激 迷走神经调节 HPA 轴的神经内分泌活动,进而改 善肠道菌群结构及肠道功能^[39]。同时,运动能够 刺激下丘脑释放内啡肽等神经递质,抑制CRH释放,降低ACTH及CORT水平,减轻HPA轴亢进^[40]。本研究发现,经自主跑轮运动干预后,ASD大鼠的异常行为得到显著改善;CORT浓度显著下降,CRH及ACTH浓度也呈现下降趋势。动物研究表明,环境因素引起的HPA轴功能障碍可诱导孤独症样行为,而调节HPA轴可缓解孤独症样行为^[41]。因此,本研究结果提示,运动改善ASD大鼠异常行为的作用机制可能与HPA轴功能调节密切相关。

在微生物群调控领域,运动的作用机制正被深 入挖掘。研究表明,运动可通过重塑肠道微生物群 的组成与功能,发挥减少炎症反应、调节肠道神经 系统免疫及内分泌功能的效应^[42]。小鼠模型及人 体研究均发现,单纯依靠运动就可以改变肠道微生 物的组成^[43],其积极作用主要与转基因多样性的 改变以及有益菌与致病菌群落之间的平衡关系有 关^[44]。一项动物实验进一步验证了运动调节菌群 的健康效应:将运动小鼠和久坐小鼠的菌群移植至 无菌小鼠后,运动小鼠表现出显著的健康改善^[45]。 然而,目前运动通过调节肠道菌群改善ASD 核心 症状的研究仍较少^[46]。研究显示,许多ASD患者 肠道中异常菌群(如类杆菌)的相对丰度显著升 高,而运动干预可降低其相对丰度^[45, 47]。结合前 期课题组发现,经6周自主跑轮运动干预后,ASD 大鼠的乳杆菌属(Lactobacillus spp.)和黏乳杆菌 属(Limosilactobacillus spp.) 丰度显著升高,而异 杆菌属 (Allobaculum spp.)、 普 雷 沃 菌 属 (unidentified Prevotellaceae spp.) 和布劳特氏菌属 (Blautia spp.) 的丰度则显著降低^[20]。近期指出, 运动能够通过调节链球菌、双歧杆菌、梭菌、乳杆 菌属、和拟杆菌属等菌群的丰度,影响肠-脑轴改 善ASD症状^[48]。例如一项研究发现补充植物性的 乳杆菌4周可以改善ASD儿童的相关症状^[42]。本 实验将运动干预2周后的ASD大鼠肠道菌群移植至 未运动的ASD大鼠体内,持续4周后,移植组大鼠 表现出与运动组相似的行为学改善趋势。与此同 时,Li等^[49]研究证实,4周的FMT治疗能够有效 促进ASD 儿童肠道中供体微生物的定植。因此, 我们推测运动组大鼠的肠道菌群在移植后,可能通 过重塑受体大鼠的肠道菌群,进而发挥调节行为异 常的作用。

研究表明,肠道菌群可以通过多种途径影响 HPA轴的功能,在ASD的病理机制中发挥重要作 用^[15]。许多研究发现,肠道菌群及其衍生的益生 菌可恢复HPA 轴过度激活,并改善认知、焦虑及 社交行为^[39]。微生物可促进一系列神经递质及细 胞因子的分泌来调控HPA轴,反过来HPA轴的激 活也能作用于肠道活动性、通透性、屏障功能、免 疫功能和黏液分泌等维持肠道微生物的稳态^[50]。 此外,肠道菌群失调会导致 HPA 轴的过度激 活^[51-52]。一项研究发现,将来自SPF供体的肠道细 菌移植到无菌小鼠中,降低了其皮质酮并纠正了社 会活动^[11]。本研究选择运动后大鼠的肠道菌群作 为供体,移植至ASD大鼠后,发现移植后的ASD 大鼠 HPA 轴激活较对照组下降。此外,运动组和 移植组的HPA 轴指标无显著差异,我们推测肠道 菌群可能在其中发挥关键作用。同时值得注意的 是,移植组与运动组的HPA 轴抑制结果趋势并不 完全一致,运动大鼠的粪菌移植显著降低了ASD 大鼠ACTH和CORT浓度,提示可能是运动调节了 大鼠体内肠道菌群中有益菌属的结构,肠道菌群可 能通过肠-脑轴直接或间接调节垂体功能。同时课 题组前期发现,接受了运动大鼠的肠道菌群移植 后, ASD 组大鼠肠道中 Lactobacillus spp.、 Romboutsia spp. 的相对丰度增加^[20]。有学者发现 增加 Lactobacillus spp.、 双歧杆菌 (Bifidobacterium spp.) 等有益菌属的摄入可以减少 应激诱导的HPA反应,进而改善记忆和学习缺陷 以及焦虑和抑郁相关行为[53]。本研究在干预后行 为学检测结果也发现,移植后ASD大鼠的社交能 力和社交新颖性偏好、自发活动和探索兴趣,以及 空间学习,记忆和导航能力均显著改善。因此我们 推测,运动可能通过影响肠道菌群抑制 HPA 的激 活,进而发挥改善ASD大鼠行为能力的作用。

4 结论

VPA诱导的孤独症样大鼠存在社交能力、空间学习记忆等行为障碍及HPA轴异常激活。运动可能通过抑制HPA轴激活改善其孤独症样行为, 且肠道菌群可能在这一过程中发挥关键作用。然 而,值得注意的是,运动如何改变肠道菌群进而改 善孤独症的作用机制,以及如何有效利用运动充分 发挥肠-脑互动的作用仍将是今后可研究的重点。

参考文献

 First M B. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 5th edition, and clinical utility. J Nerv Ment Dis, 2013, 201(9): 727-729

- [2] Rylaarsdam L, Guemez-Gamboa A. Genetic causes and modifiers of autism spectrum disorder. Front Cell Neurosci, 2019, 13: 385
- [3] Lord C, Charman T, Havdahl A, et al. The Lancet Commission on the future of care and clinical research in autism. Lancet, 2022, 399 (10321): 271-334
- [4] Zeidan J, Fombonne E, Scorah J, *et al.* Global prevalence of autism: a systematic review update. Autism Res, 2022, 15(5): 778-790
- [5] Maenner M J, Warren Z, Williams A R, *et al.* Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2020. MMWR Surveill Summ, 2023, 72 (2): 1-14
- [6] Jiang X, Chen X, Su J, et al. Prevalence of autism spectrum disorder in mainland China over the past 6 years: a systematic review and meta-analysis. BMC Psychiatry, 2024, 24(1): 404
- [7] Wang L, Wang B, Wu C, et al. Autism spectrum disorder: neurodevelopmental risk factors, biological mechanism, and precision therapy. Int J Mol Sci, 2023, 24(3): 1819
- [8] Cakir J, Frye R E, Walker S J. The lifetime social cost of autism: 1990 - 2029. Res Autism Spectr Disord, 2020, 72: 101502
- [9] Gao J, Zou J, Yang L, *et al.* Alteration of peripheral cortisol and autism spectrum disorder: a meta-analysis. Front Psychiatry, 2022, 13: 928188
- [10] Hubstenberger A, Courel M, Bénard M, et al. P-body purification reveals the condensation of repressed mRNA regulons. Mol Cell, 2017, 68(1): 144-157.e5
- Wu W L, Adame M D, Liou C W, *et al.* Microbiota regulate social behaviour *via* stress response neurons in the brain. Nature, 2021, 595(7867): 409-414
- [12] Knezevic E, Nenic K, Milanovic V, et al. The role of Cortisol in chronic stress, neurodegenerative diseases, and psychological disorders. Cells, 2023, 12(23): 2726
- [13] Robinson-Agramonte MLA, Noris García E, Fraga Guerra J, et al. Immune dysregulation in autism spectrum disorder: what do we know about it?. Int J Mol Sci, 2022, 23(6): 3033
- [14] Butler M I, Cryan J F, Dinan T G. Man and the microbiome: a new theory of everything. Annu Rev Clin Psychol, 2019, 15: 371-398
- [15] De W C. Do bacteria shape our development? Crosstalk between intestinal microbiota and HPA axis. Neurosci Biobehav Rev, 2017, 83:458-471
- [16] Yousefi B, Kokhaei P, Mehranfar F, et al. The role of the host microbiome in autism and neurodegenerative disorders and effect of epigenetic procedures in the brain functions. Neurosci Biobchav Rev, 2022, 132: 998-1009
- [17] Su Q, Wong O W H, Lu W, et al. Multikingdom and functional gut microbiota markers for autism spectrum disorder. Nat Microbiol, 2024,9(9): 2344-2355
- [18] Kim D, Kang H. Exercise training modifies gut microbiota with attenuated host responses to sepsis in wild-type mice. FASEB J, 2019, 33(4): 5772-5781

 [19] 马哲明.有氧运动对自闭症儿童肠道菌群的影响[D].广州:广 州体育学院,2021
 Ma Z M. Effects Aerobic Exercise on Gut Microbiota of Children

WithAutism[D]. Guangzhou: Guangzhou Sport University, 2021
[20] 钟救根.运动经肠道菌群调控孤独症大鼠中枢神经递质的研究[D].上海:上海体育学院, 2024
Zhong J G. Study of Exercise Regulating the Central Neurotransmitters of Autistic Rats Through Gut Microbiota[D]. Shanghai: Shanghai University of Sport, 2024

- [21] Tweedie-Cullen R Y, Leong K, Wilson B C, et al. Protocol for the gut bugs in autism trial: a double-blind randomised placebocontrolled trial of faecal microbiome transfer for the treatment of gastrointestinal symptoms in autistic adolescents and adults. BMJ Open, 2024, 14(2): e074625
- [22] Wan L, Wang H, Liang Y, et al. Effect of oral faecal microbiota transplantation intervention for children with autism spectrum disorder: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Clin Transl Med, 2024, 14(9): e70006
- [23] Nokia M S, Lensu S, Ahtiainen J P, et al. Physical exercise increases adult hippocampal neurogenesis in male rats provided it is aerobic and sustained. J Physiol, 2016, 594(7): 1855-1873
- [24] Lambert J E, Myslicki J P, Bomhof M R, *et al*. Exercise training modifies gut microbiota in normal and diabetic mice. Appl Physiol Nutr Metab, 2015, **40**(7): 749-752
- [25] Sampson T R, Debelius J W, Thron T, et al. Gut microbiota regulate motor deficits and neuroinflammation in a model of Parkinson's disease. Cell, 2016, 167(6): 1469-1480.e12
- [26] Bilbo S D, Block C L, Bolton J L, et al. Beyond infection maternal immune activation by environmental factors, microglial development, and relevance for autism spectrum disorders. Exp Neurol, 2018, 299(PtA): 241-251
- [27] Pelch K E, Bolden A L, Kwiatkowski C F. Environmental chemicals and autism: a scoping review of the human and animal research. Environ Health Perspect, 2019, 127(4): 46001
- [28] Chaliha D, Albrecht M, Vaccarezza M, et al. A systematic review of the valproic-acid-induced rodent model of autism. Dev Neurosci, 2020, 42(1): 12-48
- [29] Li W K, Zhang S Q, Peng W L, et al. Whole-brain in vivo base editing reverses behavioral changes in Mef2c-mutant mice. Nat Neurosci, 2024, 27(1): 116-128
- [30] Christensen J, Grønborg T K, Sørensen M J, et al. Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism. JAMA, 2013, 309(16): 1696-1703
- [31] Fontes-Dutra M, Della-Flora Nunes G, Santos-Terra J, et al. Abnormal empathy-like pro-social behaviour in the valproic acid model of autism spectrum disorder. Behav Brain Res, 2019, 364: 11-18
- [32] Sharan P, Vellapandian C. Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis: unveiling the potential mechanisms involved in stressinduced Alzheimer's disease and depression. Cureus, 2024, 16(8): e67595
- [33] Agirman G, Yu K B, Hsiao E Y. Signaling inflammation across the

gut-brain axis. Science, 2021, 374(6571): 1087-1092

- [34] Cornell J, Salinas S, Huang H Y, *et al.* Microglia regulation of synaptic plasticity and learning and memory. Neural Regen Res, 2022, 17(4): 705-716
- [35] Laryea G, Arnett M G, Muglia L J. Behavioral studies and genetic alterations in corticotropin-releasing hormone (CRH) neurocircuitry: insights into human psychiatric disorders. Behav Sci (Basel), 2012, 2(2): 135-171
- [36] Tsilioni I, Dodman N, Petra A I, et al. Elevated serum neurotensin and CRH levels in children with autistic spectrum disorders and tail-chasing Bull Terriers with a phenotype similar to autism. Transl Psychiatry, 2014, 4(10): e466
- [37] Arnell S, Jerlinder K, Lundqvist L O. Parents' perceptions and concerns about physical activity participation among adolescents with autism spectrum disorder. Autism, 2020, 24(8): 2243-2255
- [38] Huang J, Du C, Liu J, et al. Meta-analysis on intervention effects of physical activities on children and adolescents with autism. Int J Environ Res Public Health, 2020, 17(6): 1950
- [39] Monda V, Villano I, Messina A, et al. Exercise modifies the gut microbiota with positive health effects. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017: 3831972
- [40] 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
- [41] Zhao X, Mohammed R, Tran H, et al. Poly (I: C)-induced maternal immune activation modifies ventral hippocampal regulation of stress reactivity: prevention by environmental enrichment. Brain Behav Immun, 2021, 95: 203-215
- [42] Koutouratsas T, Philippou A, Kolios G, et al. Role of exercise in preventing and restoring gut dysbiosis in patients with inflammatory bowel diseases: a review. World J Gastroenterol, 2021, 27(30): 5037-5046
- [43] 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
- [44] Allen J M, Berg Miller M E, Pence B D, et al. Voluntary and forced exercise differentially alters the gut microbiome in C57BL/6J mice. JAppl Physiol (1985), 2015, 118(8): 1059-1066
- [45] Zurita M F, Cárdenas P A, Sandoval M E, et al. Analysis of gut microbiome, nutrition and immune status in autism spectrum disorder: a case-control study in Ecuador. Gut Microbes, 2020, 11 (3):453-464
- [46] Plaza-Diaz J, Radar A M, Baig A T, et al. Physical activity, gut microbiota, and genetic background for children and adolescents with autism spectrum disorder. Children (Basel), 2022, 9(12): 1834
- [47] Dan Z, Mao X, Liu Q, *et al.* Altered gut microbial profile is associated with abnormal metabolism activity of autism spectrum disorder. Gut Microbes, 2020, 11(5): 1246-1267
- [48] Wang Y, Chen J, Ni Y, et al. Exercise-changed gut mycobiome as a potential contributor to metabolic benefits in diabetes prevention: an integrative multi-omics study. Gut Microbes, 2024, 16(1):

2416928

- [49] Li N, Chen H, Cheng Y, et al. Fecal microbiota transplantation relieves gastrointestinal and autism symptoms by improving the gut microbiota in an open-label study. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11: 759435
- [50] Lasheras I, Seral P, Latorre E, et al. Microbiota and gut-brain axis dysfunction in autism spectrum disorder: evidence for functional gastrointestinal disorders. Asian J Psychiatr, 2020, 47: 101874
- [51] Sudo N, Chida Y, Aiba Y, et al. Postnatal microbial colonization

programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. J Physiol, 2004, **558**(Pt 1): 263-275

- [52] Palamarchuk I S, Slavich G M, Vaillancourt T, et al. Stress-related cellular pathophysiology as a crosstalk risk factor for neurocognitive and psychiatric disorders. BMC Neurosci, 2023, 24(1):65
- [53] Dinan T G, Stilling R M, Stanton C, et al. Collective unconscious: how gut microbes shape human behavior. J Psychiatr Res, 2015, 63: 1-9

Effects of Exercise Training on The Behaviors and HPA Axis in Autism Spectrum Disorder Rats Through The Gut Microbiota^{*}

CHEN Xue-Mei¹, LI Yin-Hua^{1,2}, ZHONG Jiu-Gen³, YANG Zhao-Ming¹, HOU Xiao-Hui^{1,2,4)**}

(¹⁾Guangdong Provincial Key Laboratory of Physical Activity and Health Promotion, Guangzhou Sport University, Guangzhou 510500, China;

²⁾School of Exercise Science, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China;

³⁾Medical College of Shaoxing University, Shaoxing 312000, China;

⁴⁾Guangdong Key Laboratory of Human Sports Performance Science, Guangzhou Sport University, Guangzhou 510500, China)

Graphical abstract



Objective The study explores the influence of voluntary wheel running on the behavioral Abstract abnormalities and the activation state of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis in autism spectrum disorder (ASD) rats through gut microbiota. Methods SD female rats were selected and administered either 400 mg/kg of valproic acid (VPA) solution or an equivalent volume of saline via intraperitoneal injection on day 12.5 of pregnancy. The resulting offspring were divided into 2 groups: the ASD model group (PASD, n=35) and the normal control group (PCON, n=16). Behavioral assessments, including the three-chamber social test, open field test, and Morris water maze, were conducted on postnatal day 23. After behavioral testing, 8 rats from each group (PCON, PASD) were randomly selected for serum analysis using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to measure corticotropin-releasing hormone (CRH), adrenocorticotropic hormone (ACTH), and corticosterone (CORT) concentration, to evaluate the functional state of the HPA axis in rats. On postnatal day 28, the remaining rats in the ASD mode group and the normal control group were randomly divided into 5 groups: the control group (CON, n=8), the ASD no-intervention group (ASD, n=6), the ASD exercise group (ASDE, n=8), the ASD fecal microbiota transplantation group (FMT, n=8), and the ASD sham fecal microbiota transplantation group (sFMT, n=5). The rats in the ASD group and the CON group were kept under standard conditions, while the rats in the ASDE group performed 6 weeks of voluntary wheel running intervention starting on postnatal day 28. The rats in the FMT group were gavaged daily from postnatal day 42 with 1 ml/100 g fresh fecal suspension from ASDE rats

-

·19·

which had undergone exercise for 2 weeks, 5 d per week, continuing for 4 weeks. The sFMT group received an equivalent volume of saline. After the interventions were completed, behavioral assessments and HPA axis markers were measured for all groups. Results Before the intervention, the ASD model group exhibited significantly reduced social ability, social novelty preference, spontaneous activity, and exploratory interest, as well as impaired spatial learning, memory, and navigation abilities compared to the normal control group (P< 0.05). Serum concentration of corticotropin-releasing hormone (CRH), adrenocorticotropic hormone (ACTH), and corticosterone (CORT) in the PASD group were significantly higher than those in the PCON group (P < 0.05). Following 6 weeks of voluntary wheel running, the ASDE group showed significant improvements in social ability, social novelty preference, spontaneous activity, exploratory interest, spatial learning, memory, and navigation skills compared to the ASD group (P < 0.05), with a significant decrease in serum CORT concentration (P < 0.05), and a downward trend in CRH and ACTH concentration. After 4 weeks of fecal microbiota transplantation in the exercise group, the FMT group showed marked improvements in social ability, social novelty preference, spontaneous activity, exploratory interest, as well as spatial learning, memory, and navigation abilities compared to both the ASD and sFMT groups (P < 0.05). In addition, serum ACTH and CORT concentration were significantly reduced (P<0.05), and CRH concentration also showed a decreasing trend. Conclusion Exercise may improve ASD-related behaviors by suppressing the activation of the HPA axis, with the gut microbiota likely playing a crucial role in this process.

Key words autism spectrum disorder, microbiota, hypothalamic-pituitary-adrenal axis, exercise, fecal microbiota transplantation

DOI: 10.16476/j.pibb.2025.0141

CSTR: 32369.14.pibb.20250141

* This work was supported by a grant from Project for the Enhancement of Scientific Research Capability of Key Disciplines in Guangdong Provincial Universities (2021ZDJS021).

** Corresponding author.

Tel: 86-13822187866, E-mail: houxh@gzsport.edu.cn Received: March 31, 2025 Accepted: May 30, 2025