



有氧运动通过调控色氨酸代谢延缓 衰老小鼠脑衰老的机制研究*

张德蔓 魏昌玲 张媛婷 金毓 黄晓涵 郑闽燕 李雪**

(成都体育学院运动医学与健康学院, 成都 610041)

摘要 目的 探究有氧运动通过调控色氨酸代谢通路改善海马神经元退行性变的分子机制。方法 将60只SPF级C57BL/6J雄性小鼠分为青年组(2月龄, $n=30$)和衰老组(12月龄, $n=30$), 2月龄小鼠随机分为青年对照组(C组, $n=15$)和青年运动组(CE组, $n=15$), 12月龄小鼠随机分为衰老对照组(A组, $n=15$)和衰老运动组(AE组, $n=15$)。采用有氧运动方案干预8周。通过Y迷宫评估学习记忆能力, 旷场实验检测焦虑抑郁样行为。采用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)测定海马色氨酸(Trp)水平。尼氏染色观察海马神经元数量及形态, 电镜检测突触超微结构。酶联免疫吸附分析(ELISA)检测海马Trp、5-羟色胺(5-HT)、犬尿氨酸(Kyn)、犬尿氨酸氨基转移酶(KATs)、犬尿酸(KYNA)、犬尿酸3-单加氧酶(KMO)、喹啉酸(QUIN)水平; 蛋白质印迹法(Western blot)分析色氨酸羟化酶2(TPH2)、吲哚胺2,3-双加氧酶1(IDO1)、色氨酸2,3-双加氧酶(TDO)酶活性。结果 A组小鼠学习记忆能力显著降低($P<0.05$), 焦虑抑郁行为增加($P<0.05$); AE组均显著改善($P<0.05$)。A组海马Trp水平降低($P<0.05$), AE组Trp水平升高($P<0.05$)。A组尼氏小体减少、突触结构退化($P<0.05$), AE组均显著改善($P<0.05$)。A组Trp、5-HT、KATs、KYNA水平降低($P<0.05$), Kyn、KMO、QUIN水平升高($P<0.05$); TPH2活性降低($P<0.05$), IDO1、TDO活性升高($P<0.05$)。AE组呈相反趋势。结论 衰老进程会显著降低小鼠的学习记忆能力, 增加其焦虑抑郁样行为, 并导致海马区尼氏小体数量减少及突触结构退行性改变, 而有氧运动不仅能有效提升衰老小鼠的空间学习记忆能力、缓解焦虑抑郁样行为, 还能改善海马区神经元形态结构, 其机制可能是通过调节色氨酸代谢通路实现。

关键词 运动, 衰老, 小鼠, 色氨酸代谢, 海马

中图分类号 Q4, Q189

DOI: 10.16476/j.pibb.2025.0175

CSTR: 32369.14.pibb.20250175

随着全球人口老龄化进程的加速, 衰老相关的神经退行性疾病以及认知功能衰退、情绪障碍等问题日益凸显^[1]。据统计, 到2050年, 全球60岁以上人口将超过20亿^[2], 部分老年人面临不同程度的认知功能减退或情绪调节异常的困扰^[3]。值得注意的是, 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)和帕金森病(Parkinson's disease, PD)等神经退行性疾病的发病率与年龄呈显著正相关^[4]。此类疾病不仅导致患者生活自理能力丧失、社会参与度降低, 还因长期护理需求和医疗资源消耗对社会经济系统造成持续性压力^[5]。中国老龄人口比例持续攀升, 如何在应对社会服务和医疗卫生挑战的同时实现健康老龄化, 已成为当前亟待解决的重要课题。

海马是大脑中负责学习和记忆的关键区域, 其

体积的增加与神经发生的增强密切相关^[6]。海马整体体积随年龄增长呈进行性萎缩, 并于60岁后萎缩速率显著增加^[5, 7], 该衰老进程由神经发生减少、突触完整性受损、代谢紊乱及炎症反应等多系统失调机制共同介导^[8-10]。色氨酸(tryptophan, Trp)作为人体必需氨基酸, 必须依赖膳食摄取获得。这一重要的氨基酸不仅是蛋白质生物合成的关键原料, 更是多种生物活性物质的前体分子^[11]。Trp在体内主要通过犬尿氨酸途径、血清素途径、吲哚途径三种代谢途径进行转化。超过95%的游

* 成都体育学院“十四五”科学研究创新团队项目(23CXTD02)和成都体育学院运动医学与健康学院/运动医学与健康研究所2024-2025年“卓越科研计划”项目(ZYRC240, ZYGH2404)资助。

** 通讯联系人。

Tel: 028-85052716, E-mail: lixue2078@126.com

收稿日期: 2025-04-21, 接受日期: 2025-05-22

离 Trp 通过犬尿氨酸途径降解为犬尿氨酸 (kynurenine, Kyn), 后者在大脑中进一步由犬尿氨酸氨基转移酶 (kynurenine aminotransferase, KATs) 或犬尿氨酸 3-单加氧酶 (Kynurenine 3-monooxygenase, KMO) 催化, 转化为具有神经活性或神经毒性的代谢物^[12]。与此同时, 少量 Trp 通过色氨酸羟化酶 2 (tryptophan hydroxylase 2, TPH2) 的作用生成 5-羟色氨酸 (5-hydroxy-L-tryptophan, 5-HTP)。这一限速反应产生的中间产物随后经芳香族 L-氨基酸脱羧酶 (aromatic L-amino acid decarboxylase, AADC) 的进一步催化, 最终转化为 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT)^[13]。衰老过程中, 大脑中吲哚胺 2,3-双加氧酶 1 (indoleamine 2,3-dioxygenase 1, IDO1) 的表达水平上升, 而 TPH2 的表达则显著减少^[14]。在癌症和神经退行性疾病中, 色氨酸 2,3-双加氧酶 (tryptophan 2,3-dioxygenase, TDO) 抑制剂已显示可减少 Kyn 生成并恢复免疫监测。类似策略可能适用于延缓衰老^[15-16]。Trp 是 5-HT 和 Kyn 途径的前体。血清素途径的产物 (如 5-HT) 对情绪调节和认知功能至关重要, 而犬尿氨酸途径的代谢物喹啉酸 (quinolinic acid, QUIN) 和犬尿酸 (kynurenic acid, KYNA) 可分别发挥神经毒性或神经保护作用^[17-18]。值得注意的是, 衰老相关的海马萎缩与认知障碍 (如轻度认知障碍和 AD) 密切相关, 而 Trp 代谢紊乱可能通过影响突触可塑性和神经发生加剧这一过程^[19-21]。

尽管当前大量的科研资源和投资都集中在药物开发领域, 但必须强调的是, 运动作为一种非药物干预手段, 已被证实是一种高效且经济的老年保护策略。在针对老年功能障碍的有效治疗方法尚未完全成熟的背景下, 运动是目前被广泛认可的干预措施, 能够显著降低老年相关疾病的发病率、提升老年人的生活质量^[22], 甚至在一定程度上延长人类的平均寿命和最长寿命^[23]。基于本课题组前期研究发现, 运动干预可诱导 Trp 水平变化^[24], 调控海马体的基因表达和功能, 改善神经元再生、突触功能和炎症状态, 从而延缓衰老小鼠的认知衰退^[25]。然而, 目前关于有氧运动能否通过调控 Trp 代谢改善衰老相关的认知功能障碍及抑郁情绪行为, 以及其具体作用机制尚不明确。本研究通过 8 周有氧运动干预, 系统探究运动对 Trp 代谢的影响及其与认知功能和情绪行为改善之间的关联, 旨在揭示有氧运动改善衰老相关神经功能退化的潜在分子机制,

为运动干预在延缓认知衰退和情绪障碍中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

60 只雄性 SPF 级 C57BL/6J 小鼠 (2 月龄 30 只, 12 月龄 30 只), 购买于成都达硕实验动物有限公司。适应性喂养 1 周后, 2 月龄小鼠随机分为青年对照组 (C 组, $n=15$) 和青年运动组 (CE 组, $n=15$), 12 月龄小鼠随机分为衰老对照组 (A 组, $n=15$) 和衰老运动组 (AE 组, $n=15$)。C 组和 A 组进行自然喂养 8 周, CE 组和 AE 组进行跑台运动干预 8 周。动物饲养及运动干预均在成都体育学院动物实验室进行, 无特殊条件下自然光照, 自由饮食、饮水 (国家标准啮齿类动物饲料喂养), 温度为 $(26\pm 3)^\circ\text{C}$, 相对湿度为 40%~60%。本实验经成都体育学院实验动物伦理委员会审核批准 (成体伦理 [2022] 1 号)。

1.2 运动干预方案

运动干预方式采用有氧无负重跑台运动, 共进行为期 8 周的运动训练。第 1 天以 6 m/min, 30 min; 第 2 天以 8 m/min, 45 min; 第 3~4 天以 10 m/min, 60 min; 自第 5 天开始以 12 m/min, 60 min 的运动方案直至第 8 周运动结束^[26]。

1.3 样本的采集与处理

行为学实验结束后次日, 每组取 3 只小鼠, 经戊巴比妥钠麻醉后开胸, 经心尖穿刺升主动脉, 剪开右心耳, 用 300 ml 预冷生理盐水快速灌注。每组中 3 例全脑置于 4% 中性多聚甲醛中固定, 用于环氧树脂包埋及尼氏染色, 3 例经 2.5% 戊二醛灌注后取全脑, 用于环氧树脂包埋及电镜观察, 剩余 9 例海马组织置于冻存管中, 液氮速冻后转移至 -80°C 保存, 用于分子生物学检测。

1.4 指标检测与方法

1.4.1 行为学检测

a. Y 迷宫

采用 Y 迷宫 (三臂等长, 呈 “Y” 形连接) 评估小鼠空间记忆。实验包括两次测试: 首次训练 (10 min) 允许小鼠自由探索起始臂和其他臂; 1 h 后进行保留测试 (5 min), 开放所有三臂。实验过程使用 Etho Vision 自动跟踪系统 (天花板 CCD 摄像机) 记录行为数据。

b. 旷场实验

采用 4 个 50 cm×50 cm 的正方形测试区, 内置

小球以刺激动物探索行为。实验前24 h将小鼠置于实验环境适应,并通过规律接触使其熟悉操作者。维持标准饲养条件,避免干扰以保障动物生理状态稳定。正式实验时,将小鼠置于测试区底部,录像记录5 min行为。每次测试后彻底清洁测试区以消除残留气味或排泄物影响。采用行为分析系统测定移动速度、停留时间、探索行为等指标,并进行数据可视化分析。

1.4.2 气相色谱-质谱联用技术 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 检测

Trp的检测主要采用GC-MS检测方法。

a. 样本制备。取样本加入含内标 (mix7) 的BHT-甲酸-乙腈提取液 (85%), 涡旋研磨后超声提取, 4°C 12 000 r/min离心取上清。质控样本 (QC) 样本混合各上清制备。

b. 色谱条件。流动相: A (0.2% 甲酸+10 mmol/L 甲酸铵水溶液) /B (同添加剂乙腈-水); 梯度: 0~2 min 100% B→2~3 min 0%~10% A→3~15 min 10%~15% A→15~18 min 15%~60% A→18~19 min 60% A→19~19.01 min 60%~0% A→19.01~20 min 0% A; 流速0.3 ml/min, 柱温40°C。

c. 质谱参数。离子源450°C, 喷雾电压±5 500/4 500 V; 气帘气35 psi, Gas1/Gas2 55 psi; 中等碰撞诱导解离。

1.4.3 尼氏染色

组织样本经固定后,采用全自动脱水机进行梯度脱水处理: 75%乙醇 (30 h) →85%乙醇 (4 h) →95%乙醇 (8 h) →无水乙醇 (2 h×2) →无水乙醇 (1 h×2) →二甲苯 (45 min×2) →石蜡 (5 h×3), 随后进行石蜡包埋制备蜡块。使用切片机获取4~5 μm连续切片,经3-氨丙基三乙氧基硅烷溶液 (APES) 溶液预处理后于60°C烘烤60 min以增强切片附着力。染色过程按标准流程进行: 脱蜡复水依次为二甲苯 (5~10 min×2) →无水乙醇 (5 min×2) →95%乙醇 (5 min) →85%乙醇 (5 min) →75%乙醇 (5 min) →超纯水 (5 min); 染色采用50°C 1%甲苯胺蓝溶液孵育并在56°C维持20 min; 分化脱水步骤包括蒸馏水冲洗→70%乙醇 (1 min) →95%乙醇 (镜控分化) →梯度乙醇脱水; 最后经二甲苯透明处理后以中性树胶封固。处理完成的切片在光学显微镜下观察并采集图像进行分析。

1.4.4 电镜检测

样本经3%戊二醛预固定和1%四氧化锇后固定处理后,采用30%~100%丙酮溶液进行梯度脱

水。随后使用树脂包埋。采用超薄切片机制备60~90 nm切片,展片后转移至200目铜网,经2%醋酸铀染色10~15 min和Reynolds柠檬酸铅染色1~2 min后,使用JEM-1400FLASH透射电镜在6 000倍放大倍数下进行初筛,选定目标区域观察并采集图像,重点分析样本的超微结构改变。

1.4.5 酶联免疫吸附分析 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测

组织样本经精确称重后,加入预冷磷酸盐缓冲液 (phosphate-buffered saline, PBS) 缓冲液 (pH7.4) 并液氮速冻保存。检测前解冻至2~8°C,加入等体积PBS缓冲液后经机械或手工匀浆处理,2 000~3 000 r/min离心20 min收集上清液,分装后部分立即检测,剩余保存于-20°C。最后,严格按照试剂盒测定方法测定海马Trp、5-HT、Kyn、KATs、KYNA、KMO、QUIN水平。

1.4.6 蛋白质印迹法 (Western blot) 检测

取海马组织,用冷PBS洗涤并剪碎,冰上匀浆后离心取上清液,采用二喹啉甲酸法测定蛋白质浓度。进行SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳 (110 V恒压),制胶后上样,溴酚蓝指示电泳终点。转膜前活化PVDF膜,按“海绵垫-滤纸-凝胶-膜-滤纸-海绵垫”顺序组装,200 mA转膜1~2 h。转膜后以5%牛血清白蛋白-Tris缓冲盐吐温溶液封闭1 h,一抗4°C孵育过夜, TBST洗涤后加二抗 (1:3 000) 室温孵育30 min。ECL发光显影,调整曝光条件后采图分析。

1.5 数据统计

所有数据统计学分析及作图均通过GraphPad Prism 9.0,结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示。对于符合正态分布的数据: 两组间比较采用独立样本 t 检验,3组及以上比较采用单因素方差分析; 对于不符合正态分布的数据: 两组间比较采用Mann-Whitney U检验,3组及以上比较采用Kruskal-Wallis检验。 $P<0.05$ 表示具有显著的统计学意义。

2 结 果

2.1 运动干预改善衰老小鼠空间探索能力

在Y迷宫测试 (图1) 中,与C组对比,A组衰老小鼠在新异臂的探索路程、探索时间显著降低 ($P<0.001$)。与A组相比,运动干预后AE组小鼠在新异臂的探索路程、探索时间显著增加 ($P<0.01$)。

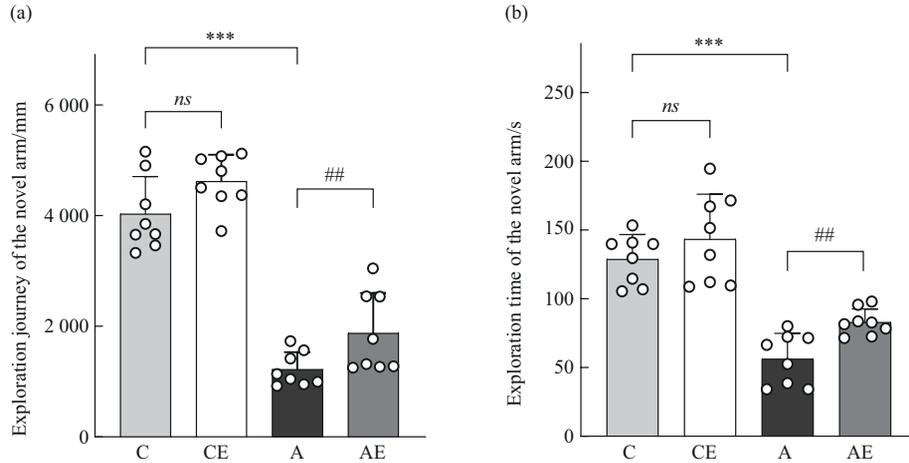


Fig. 1 Y-maze test results

(a) Distance traveled by mice exploring in the neoalternative arm; (b) time spent exploring in the neoalternative arm. Compared with group C, *** $P < 0.001$; compared with group A, ## $P < 0.01$; ns: no significance. $n=8$.

2.2 运动干预改善衰老小鼠的自主探索行为

在旷场实验测试中, 与C组对比, A组衰老小鼠中央活动路程 ($P < 0.01$, 图 2a)、时间 ($P < 0.01$, 图 2b) 和总路程 ($P < 0.01$, 图 2c) 皆有显著降低。

与A组相比, 运动干预后AE组小鼠中央活动路程 ($P < 0.01$, 图 2a)、时间 ($P < 0.01$, 图 2b) 和总路程 ($P < 0.05$, 图 2c) 都显著增加。

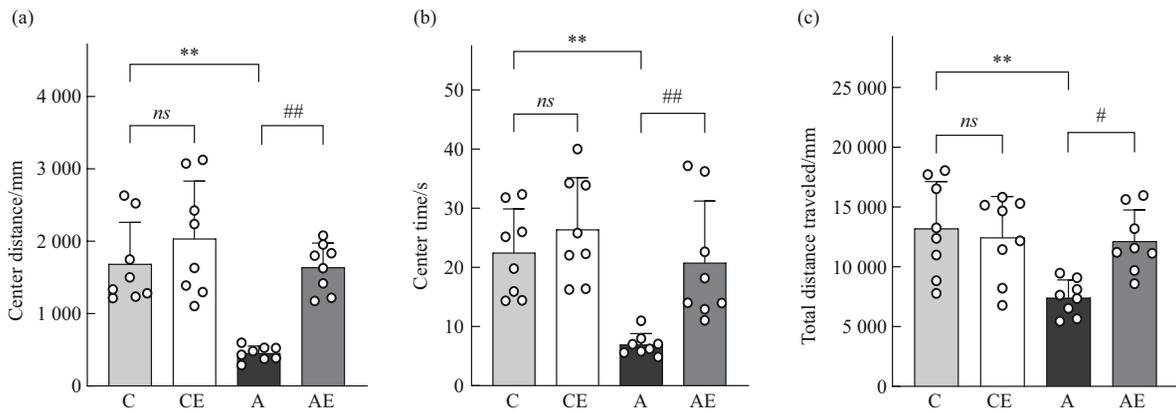


Fig. 2 Test results of open-field experiments

(a) Distance traveled by mice for central activity; (b) time for mice for central activity; (c) total distance traveled by mice for activity. Compared with group C, ** $P < 0.01$; compared with group A, ## $P < 0.01$, # $P < 0.05$; ns: no significance. $n=8$.

2.3 运动干预对衰老小鼠海马色氨酸水平的影响

本研究检测了运动前后衰老小鼠 Trp 水平的差异表达 (图 3)。与C组相比, CE组小鼠海马中 Trp 含量无显著变化, A组小鼠海马中 Trp 含量显著降低 ($P < 0.05$); 与A组相比, AE组小鼠海马的 Trp 含量显著升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$)。

2.4 运动干预对衰老小鼠海马神经元的保护效应

在尼氏染色检测 (图 4a) 中, C组和CE组小鼠海马神经元细胞排列紧密有序, 层次结构清晰, 细胞核呈规则圆形或椭圆形, 核仁明显, 尼氏小体

分布密集, 颗粒饱满。相比之下, A组海马神经元出现显著病理改变: 细胞排列紊乱稀疏, 形态异常呈三角形或多边形; 核仁结构模糊, 细胞核与周围组织界限不清; 胞质空泡化明显, 尼氏小体数量显著减少 ($P < 0.05$, 图 4b)。AE组较A组表现出明显改善: 神经元排列趋于规则, 层次结构恢复; 核仁清晰可辨; 尼氏小体数量增加且形态清晰 ($P < 0.05$, 图 4b)。这些结果提示运动干预对海马神经元具有保护作用。

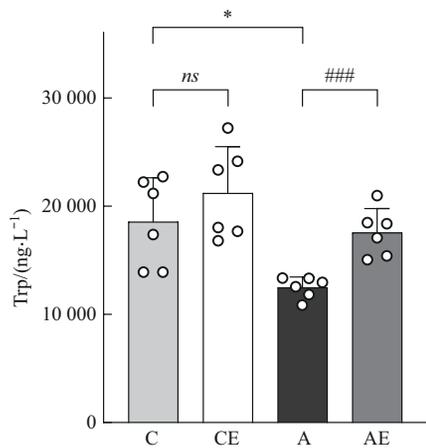


Fig. 3 Trp expression levels in the hippocampus

Compared with group C, * $P < 0.05$; compared with group A, ### $P < 0.001$; ns: no significance. $n = 6$.

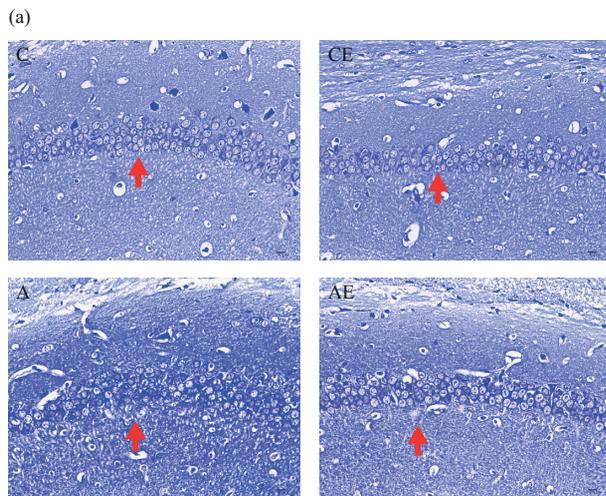


Fig. 4 Morphological and structural changes of the hippocampus in each group of mice

Nissl staining intercepts the hippocampal region for observation $\times 400$ field of view, and red arrows indicate the morphological structure of hippocampal neurons. Compared with group C, ** $P < 0.01$; compared with group A, # $P < 0.05$; ns: no significance.

2.5 运动干预显著改善衰老小鼠海马突触超微结构

在电镜检测 (图5) 中, C组小鼠海马突触前

后膜及间隙清晰, 结构完整, 与C组小鼠相比, 在透射电镜下, A组小鼠海马突触结构界限模糊不清, 囊泡分布少, 电子致密物密度较低, 与A组相比, AE组小鼠海马突触结构清晰。

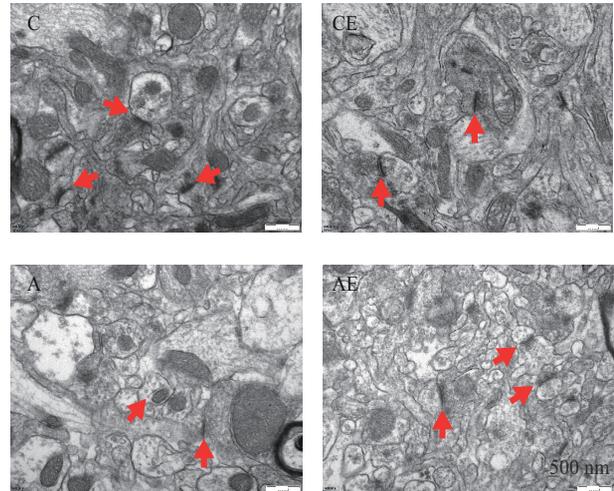


Fig. 5 Results of electron microscopy in various groups of mice

The red arrows in the figure indicate the morphological structures of the presynaptic and postsynaptic membranes, the synaptic gap, and the postsynaptic dense matter.

2.6 运动干预调节衰老小鼠海马色氨酸代谢通路关键分子表达

ELISA 检测各组小鼠海马中 Trp、Kyn、5-HT、KATs、KMO、KYNA、QUIN 水平的表达 (图6)。与C组相比, CE组小鼠海马中 Trp、Kyn、5-HT、KATs、KMO、KYNA、QUIN 水平含量无显著变化, A组小鼠海马中 Trp ($P < 0.001$, 图6a)、5-HT ($P < 0.001$, 图6c)、KATs ($P < 0.05$, 图6d)、KYNA ($P < 0.001$, 图6f) 含量显著降低, Kyn ($P < 0.001$, 图6b)、KMO ($P < 0.05$, 图6e)、QUIN ($P < 0.01$, 图6g) 含量显著升高; 与A组相比, AE组小鼠海马的 Trp ($P < 0.01$, 图6a)、5-HT ($P < 0.001$, 图6c)、KATs ($P < 0.01$, 图6d)、KYNA ($P < 0.001$, 图6f) 含量显著升高, 差异具有统计学意义, Kyn ($P < 0.001$, 图6b)、KMO ($P < 0.001$, 图6e)、QUIN ($P < 0.001$, 图6g) 含量显著降低。

2.7 运动干预调控衰老小鼠海马色氨酸代谢关键酶表达

Western blot 检测统计结果 (图7) 显示, 与C组相比, A组小鼠海马 TPH2 表达均显著降低 ($P < 0.001$, 图7d), 与A组相比, AE组小鼠海马 TPH2 表达显著升高 ($P < 0.001$, 图7d)。与C组相比,

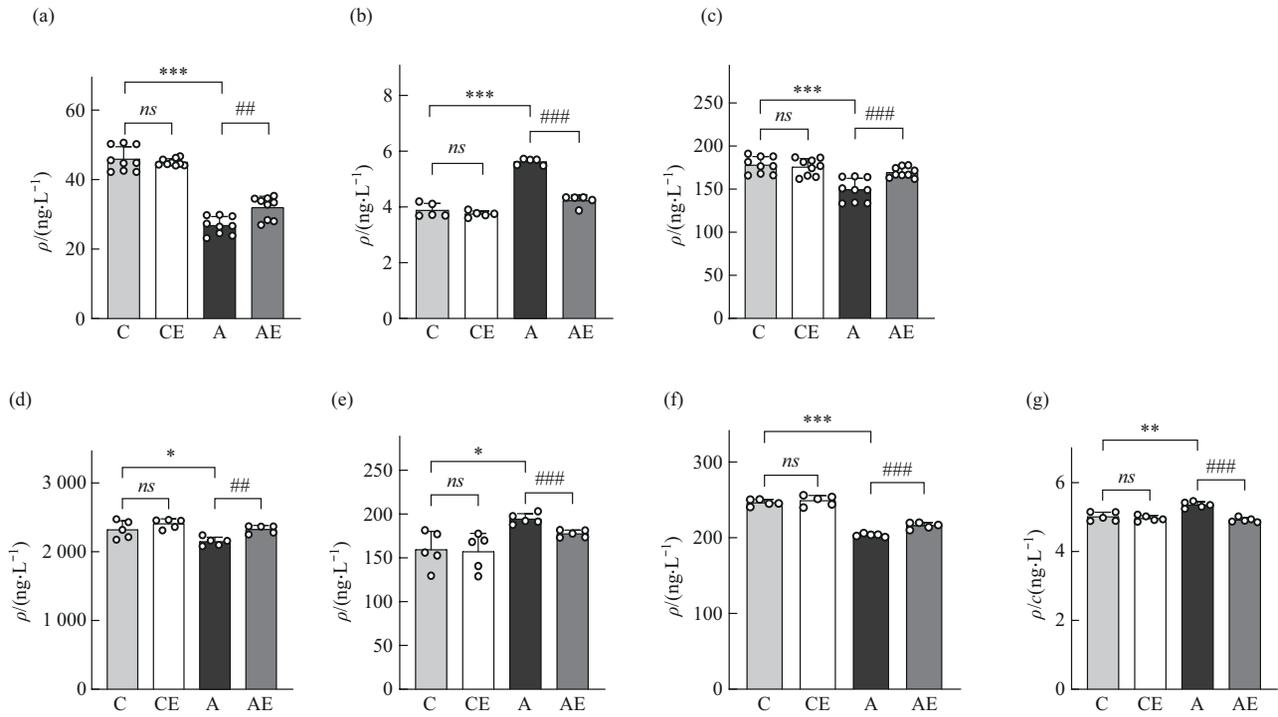


Fig. 6 ELISA test results

(a) Trp ($n=9$); (b) Kyn ($n=5$); (c) 5-HT ($n=9$); (d) KATs ($n=5$); (e) KMO ($n=5$); (f) KYNA ($n=5$); (g) QUIN ($n=5$). Compared with group C, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$; compared with group A, # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$; ns: no significance.

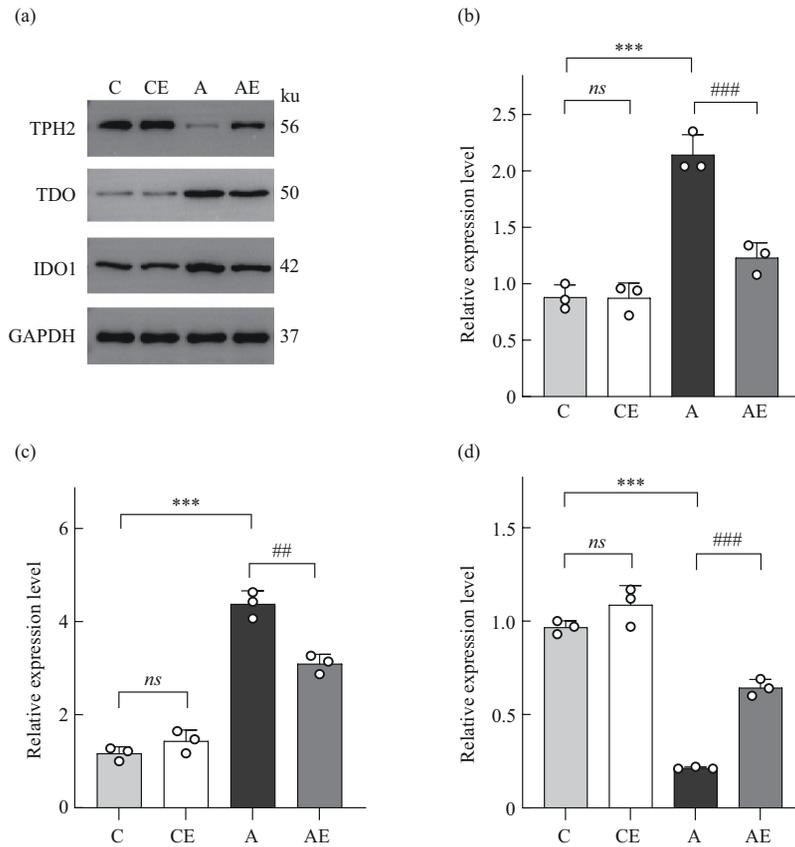


Fig. 7 Immunoblotting and analysis of mouse hippocampal TPH2, IDO1 and TDO proteins

(a) Immunoblot bands; (b) IDO1 protein expression; (c) TDO protein expression; (d) TPH2 protein expression. Compared with group C, *** $P<0.001$; compared with group A, # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$; ns: no significance. $n=3$.

A组小鼠海马IDO1 ($P<0.001$, 图7b)、TDO ($P<0.001$, 图7c)表达均显著升高,与A组相比,AE组小鼠海马IDO1 ($P<0.001$, 图7b)、TDO表达显著降低 ($P<0.01$, 图7c)。

3 讨 论

3.1 有氧运动对衰老小鼠行为学的影响

3.1.1 学习记忆能力的改善

在Y迷宫测试中,经过运动干预的AE组衰老小鼠的空间记忆表现均显著优于A组。具体而言,运动组小鼠在新异臂的探索时间和探索路程较对照组均分别延长 ($P<0.05$, 图1a, b),表明其空间探索能力和记忆保持能力得到了显著增强。这些数据一致表明,有氧运动能够显著提升衰老小鼠的空间学习和记忆能力。行为学测试结果证实了有氧运动对衰老相关认知功能障碍具有明确的改善作用。这一发现不仅为运动干预延缓认知衰退提供了实验依据,也为进一步研究运动改善认知功能的分子机制奠定了重要基础。未来研究可进一步探讨运动干预的最佳时长、强度及其对不同认知功能的影响。

3.1.2 焦虑抑郁行为症状的改善

旷场实验结果显示,有氧运动显著改善了衰老小鼠的焦虑抑郁样行为。与A组相比,AE组衰老小鼠在中心区域的活动时间显著增加 ($P<0.01$, 图2b),同时中心区域的活动路程也显著延长 ($P<0.01$, 图2a)。这些行为学指标的改善表明,有氧运动能够有效降低衰老小鼠的焦虑水平,支持了其积极调节作用。已有研究表明,12月龄小鼠会出现类似认知功能障碍、抑郁和焦虑样行为改变的表现。在12月龄和24月龄小鼠中,Y迷宫自发交替实验中自发交替百分比显著降低,这表明空间记忆会随着衰老而丢失。但是由于过度衰老,24月龄小鼠总进臂次数明显减少^[27]。从机制上看,有氧运动可能通过调节Trp代谢途径发挥其抗焦虑和抗抑郁作用。规律性运动可通过促进5-HT的合成与释放,显著增强其神经调节功能,从而改善情绪调节机制。此外,运动还可能通过增加脑源性神经生长因子(brain-derived growth factor, BDNF)的表达,进一步增强5-HT能神经元的活性和突触可塑性^[28]。这些发现不仅为有氧运动改善衰老相关情绪障碍提供了行为学证据,也提示Trp代谢途径和5-HT能系统可能在其中发挥关键作用。

3.2 有氧运动对Trp代谢途径的调控作用

3.2.1 Trp水平的变化

通过GC-MS对海马Trp水平的分析结果显示,衰老小鼠海马区Trp水平显著降低 ($P<0.05$, 图3),这一变化可能与衰老过程中Trp代谢途径的异常调控有关。Trp作为5-HT、Kyn合成的前体物质,其水平的降低可能直接影响5-HT、Kyn的合成和释放,进而导致情绪和认知功能的下降。然而,经过有氧运动干预后,衰老小鼠海马区Trp水平显著提高 ($P<0.001$, 图3),表明有氧运动能够有效改善衰老引起的Trp水平下降。这一结果提示,有氧运动可能通过调控Trp代谢途径,增加Trp的可用性,从而为5-HT、Kyn等下游代谢产物合成提供充足的底物。

3.2.2 Trp代谢产物水平的变化

有氧运动显著增加了5-HT、KATs和KYNA的水平,同时降低了Kyn、KMO和QUIN的水平。其中,5-HT和KYNA具有神经保护作用,而QUIN则具有神经毒性。5-HT作为一种重要的单胺类神经递质,不仅参与情绪调节,还具有显著的神经保护作用。研究表明,5-HT能够通过激活5-羟色胺1A受体(5-hydroxytryptamine receptor 1A, 5-HT1A)受体,抑制神经元凋亡,促进突触可塑性,并增强神经元的抗氧化能力^[29]。此外,KYNA作为犬尿氨酸途径(KP)的代谢产物,具有抗氧化、抗炎和神经保护作用。KYNA能够通过拮抗N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR),减少兴奋性毒性,从而保护神经元免受损伤^[30]。与5-HT和KYNA不同,QUIN是一种具有神经毒性的代谢产物。QUIN能够通过激活NMDAR,诱导氧化应激和线粒体功能障碍,从而导致神经元损伤和凋亡。此外,QUIN还能够促进神经炎症反应,进一步加剧神经元的损伤^[13]。有氧运动通过增加5-HT和KYNA的水平,同时降低QUIN的水平,可能有助于维持Trp代谢途径的平衡。这种平衡的调节不仅能够增强神经保护作用,还能够减少神经毒性作用,从而维持神经元的健康和功能。

3.2.3 Trp代谢途径的平衡

Western blot结果显示,有氧运动显著上调了TPH2的表达,同时下调了IDO1和TDO的表达。TPH2是5-HT合成的关键酶,而IDO1和TDO是Kyn途径的关键酶^[31]。运动通过调节这些酶的活性,可能促进了5-HT的合成,同时抑制了Kyn途

径的过度激活^[32-33]。具体而言,运动可能通过以下机制发挥作用:运动通过增加 Trp 的可用性和 TPH2 的活性,促进 5-HT 的合成和释放;提高 KATs 的活性,促进 Kyn 向 KYNA 的转化,从而增加 KYNA 的水平;降低 KMO 的活性,减少 Kyn 向 QUIN 的转化,从而降低 QUIN 的水平。有氧运动可能通过增加 5-HT 和 KYNA 的水平抗氧化、抗炎和神经营养作用保护神经元,减少 QUIN 的水平可能减轻神经炎症和氧化应激,从而发挥神经保护作用^[34]。这些发现不仅揭示了有氧运动对 Trp 代谢途径的调控作用,也为运动改善神经退行性疾病和情绪障碍提供了潜在的分子机制。

3.3 有氧运动对衰老小鼠海马神经元的影响

3.3.1 尼氏小体数量的变化

衰老并非老年期才出现的现象,而是从成年期就开始的持续性、单向性进程。这一过程涉及细胞、分子层面的渐进性变化,最终影响整个机体的功能^[35-36]。本研究选用 12 月龄小鼠对应的是早期衰老阶段,具有重要的干预窗口期意义。尼氏染色结果显示,衰老小鼠海马区神经元分布紊乱且稀疏,形态不规则,呈三角形或多边形,核仁模糊不清,细胞核与周围组织界限不明确,部分细胞呈现空泡状变性。此外,尼氏小体数量显著减少,提示衰老导致海马神经元结构损伤和功能退化。然而,有氧运动显著增加了衰老小鼠海马区尼氏小体的数量。尼氏小体作为神经元内蛋白质合成的关键场所^[37],其数量的增加表明神经元的代谢活动增强,反映了神经元功能的改善。这一结果提示,有氧运动对神经元形态和功能具有显著的积极影响。

3.3.2 突触结构的改善

电镜观察结果显示,衰老小鼠海马区突触结构界限模糊,突触囊泡分布显著减少,电子致密物密度明显降低。这些变化提示衰老导致海马突触结构损伤和功能退化。然而,有氧运动显著改善了衰老小鼠海马区的突触结构。运动组衰老小鼠的突触密度和突触后密度显著增加,表明突触可塑性得到增强。突触可塑性的改善是神经元功能恢复的重要标志^[38],提示有氧运动对海马区神经网络的修复和功能提升具有积极作用。

通过尼氏染色和电镜观察结果的综合分析,可以看出有氧运动对衰老小鼠海马神经元及其突触结构具有显著的改善作用。这一结果提示有氧运动可能通过调节 Trp 代谢途径,调控下游代谢物水平(如 5-HT 和 Kyn),从而促进神经元的存活和功能

恢复。

4 结 论

衰老进程会显著降低小鼠的学习记忆能力,同时增加其焦虑抑郁样行为,并导致海马区尼氏小体数量显著减少以及突触结构发生退行性改变。有氧运动能有效提升衰老小鼠的空间学习记忆能力,缓解其焦虑抑郁样行为,并对海马区神经元形态结构具有明显的改善作用。有氧运动可能通过调节 Trp 代谢通路,进而改善衰老小鼠海马区神经元的形态学结构。

参 考 文 献

- [1] Di Liberto V, Mudò G. Role of bioactive molecules on neuroprotection, oxidative stress, and neuroinflammation modulation. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(24): 15925
- [2] Aiello A, Farzaneh F, Candore G, *et al*. Immunosenescence and its hallmarks: how to oppose aging strategically a review of potential options for therapeutic intervention. *Front Immunol*, 2019, **10**: 2247
- [3] Yang F, Fu M, Hu Q, *et al*. The associations between cognitive function and depressive symptoms among older Chinese population: a cohort study. *Front Psychiatry*, 2023, **14**: 1081209
- [4] Wang H, Huber C C, Li X P. Mesenchymal and neural stem cell-derived exosomes in treating Alzheimer's disease. *Bioengineering (Basel)*, 2023, **10**(2): 253
- [5] Wang S, Jiang Y, Yang A, *et al*. The expanding burden of neurodegenerative diseases: an unmet medical and social need. *Aging Dis*, 2024. DOI: 10.14336/AD.2024.1071
- [6] Voss M W, Soto C, Yoo S, *et al*. Exercise and hippocampal memory systems. *Trends Cogn Sci*, 2019, **23**(4): 318-333
- [7] Keresztes A, Bankó É M, Báthori N, *et al*. Multi-night electroencephalography reveals positive association between sleep efficiency and hippocampal subfield and entorhinal cortex volumes in healthy aging. *Hum Brain Mapp*, 2024, **45**(18): e70090
- [8] Lu Y, Xu K, Lin D, *et al*. Multi-omics analysis reveals neuroinflammation, activated glial signaling, and dysregulated synaptic signaling and metabolism in the hippocampus of aged mice. *Front Aging Neurosci*, 2022, **14**: 964429
- [9] Giannos P, Prokopidis K. Gene expression profiles of the aging rat hippocampus imply altered immunoglobulin dynamics. *Front Neurosci*, 2022, **16**: 915907
- [10] Kong X, Liang H, Zhou K, *et al*. Deciphering the heterogeneity of the internal environment of hippocampal neurons during maturation by Raman spectroscopy. *ACS Omega*, 2022, **7**(34): 30571-30581
- [11] Gao J, Xu K, Liu H, *et al*. Impact of the gut microbiota on intestinal immunity mediated by tryptophan metabolism. *Front Cell Infect Microbiol*, 2018, **8**: 13

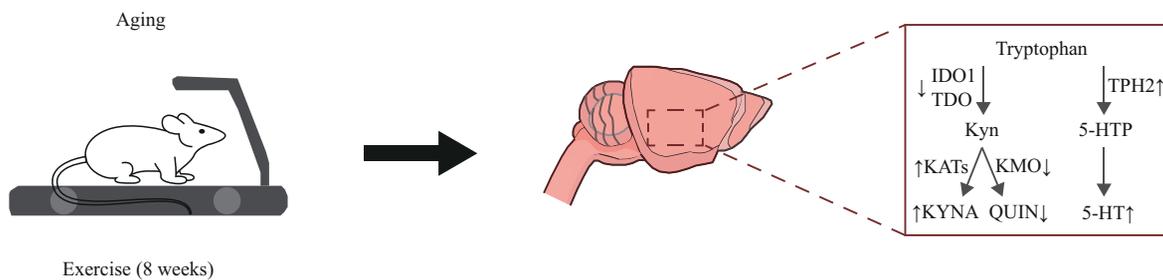
- [12] Platten M, Nollen EAA, Röhrig U F, *et al.* Tryptophan metabolism as a common therapeutic target in cancer, neurodegeneration and beyond. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, **18**(5): 379-401
- [13] Schwarcz R, Stone T W. The kynurenine pathway and the brain: challenges, controversies and promises. *Neuropharmacology*, 2017, **112**(Pt B): 237-247
- [14] van der Goot A T, Nollen E A A. Tryptophan metabolism: entering the field of aging and age-related pathologies. *Trends Mol Med*, 2013, **19**(6): 336-344
- [15] Yoshioka S, Ikeda T, Fukuchi S, *et al.* Identification and characterization of a novel dual inhibitor of indoleamine 2, 3-dioxygenase 1 and tryptophan 2, 3-dioxygenase. *Int J Tryptophan Res*, 2022, **15**: 11786469221138456
- [16] Gabrawy M M, Westbrook R, King A, *et al.* Dual treatment with kynurenine pathway inhibitors and NAD⁺ precursors synergistically extends life span in *Drosophila*. *Aging Cell*, 2024, **23**(4): e14102
- [17] Kibitkina A, Vasilevskaya E, Tolmacheva G, *et al.* Tryptophan-induced effects on the behavior and physiology of aging in tryptophan hydroxylase-2 heterozygous mice C57BL/6N. *Vet World*, 2025, **18**(2): 296-310
- [18] Tiwari S, Paramanik V. Role of probiotics in depression: connecting dots of gut-brain-axis through hypothalamic-pituitary adrenal axis and tryptophan/kynurenic pathway involving indoleamine-2, 3-dioxygenase. *Mol Neurobiol*, 2025, **62**(6): 7230-7241
- [19] Li Y, Wang H, Gao Y, *et al.* Circ-Vps41 positively modulates Syp and its overexpression improves memory ability in aging mice. *Front Mol Neurosci*, 2022, **15**: 1037912
- [20] Xiao Y, Hu Y, Huang K, *et al.* Atrophy of hippocampal subfields relates to memory decline during the pathological progression of Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci*, 2023, **15**: 1287122
- [21] Woodward M, Bennett D A, Rundek T, *et al.* The relationship between hippocampal changes in healthy aging and Alzheimer's disease: a systematic literature review. *Front Aging Neurosci*, 2024, **16**: 1390574
- [22] Chakravarty E F, Hubert H B, Lingala V B, *et al.* Reduced disability and mortality among aging runners: a 21-year longitudinal study. *Arch Intern Med*, 2008, **168**(15): 1638-1646
- [23] Moore S C, Patel A V, Matthews C E, *et al.* Leisure time physical activity of moderate to vigorous intensity and mortality: a large pooled cohort analysis. *PLoS Med*, 2012, **9**(11): e1001335
- [24] Li X, Wei C, Jin Y, *et al.* Time-resolved map of serum metabolome profiling in D-galactose-induced aging rats with exercise intervention. *iScience*, 2024, **27**(2): 108999
- [25] Jin Y, Wei C, Huang X, *et al.* Bioinformatics analysis and experimental verification of exercise for aging mice in different brain regions based on transcriptome sequencing. *Life (Basel)*, 2023, **13**(10): 1988
- [26] Tsai S F, Ku N W, Wang T F, *et al.* Long-term moderate exercise rescues age-related decline in hippocampal neuronal complexity and memory. *Gerontology*, 2018, **64**(6): 551-561
- [27] 李梦琦. 老年小鼠中认知功能、抑郁和焦虑样行为改变以及基因表达差异[D]. 郑州: 郑州大学, 2020
- Li M Q. Differentially Expressed Genes in Aging Mice With Cognitivealteration and Depression- and Anxiety-like Behaviors [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2020
- [28] Castrén E, Rantamäki T. The role of BDNF and its receptors in depression and antidepressant drug action: reactivation of developmental plasticity. *Dev Neurobiol*, 2010, **70**(5): 289-297
- [29] Celada P, Puig M, Amargós-Bosch M, *et al.* The therapeutic role of 5-HT1A and 5-HT2A receptors in depression. *J Psychiatry Neurosci*, 2004, **29**(4): 252-265
- [30] Pathak S, Nadar R, Kim S, *et al.* The influence of kynurenine metabolites on neurodegenerative pathologies. *Int J Mol Sci*, 2024, **25**(2): 853
- [31] Cheng S, Zhu Z, Li H, *et al.* Rifaximin ameliorates depression-like behaviour in chronic unpredictable mild stress rats by regulating intestinal microbiota and hippocampal tryptophan metabolism. *J Affect Disord*, 2023, **329**: 30-41
- [32] Warner A K, Iskander L, Allen K, *et al.* The effects of brain serotonin deficiency on the behavioral and neurogenesis-promoting effects of voluntary exercise in tryptophan hydroxylase 2 (R439H) knock-in mice. *Neuropharmacology*, 2024, **258**: 110082
- [33] Zhao L, Du M, Zhang R. The improvement effect of exercise on rats with chronic stress-induced depression-like behavior: a discussion based on the kynurenine pathway. *J Int Med Res*, 2024, **52**(7): 3000605241261986
- [34] Chen P, Geng X. Research progress on the kynurenine pathway in the prevention and treatment of Parkinson's disease. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2023, **38**(1): 2225800
- [35] Popravko A, MacKintosh L, Dzierzak E. A life-time of hematopoietic cell function: ascent, stability, and decline. *FEBS Lett*, 2024, **598**(22): 2755-2764
- [36] Tang X, Gonzalez-Latapi P, Marras C, *et al.* Epigenetic clock acceleration is linked to age at onset of Parkinson's disease. *Mov Disord*, 2022, **37**(9): 1831-1840
- [37] Bhati M, Thakre S, Anjankar A. Nissl granules, axonal regeneration, and regenerative therapeutics: a comprehensive review. *Cureus*, 2023, **15**(10): e47872
- [38] Chen A, Kang Y, Liu J, *et al.* Improvement of synaptic plasticity by nanoparticles and the related mechanisms: applications and prospects. *J Control Release*, 2022, **347**: 143-163

Mechanism of Aerobic Exercise in Delaying Brain Aging in Aging Mice by Regulating Tryptophan Metabolism*

ZHANG De-Man, WEI Chang-Ling, ZHANG Yuan-Ting, JIN Yu, HUANG Xiao-Han, ZHENG Min-Yan, LI Xue**

(College of Sports Medicine and Health, Chengdu Sport University, Chengdu 610041, China)

Graphical abstract



Abstract Objective To explore the molecular mechanism of aerobic exercise to improve hippocampal neuronal degeneration by regulating tryptophan metabolic pathway. **Methods** 60 SPF-grade C57BL/6J male mice were divided into a young group (2 months old, $n=30$) and a senile group (12 months old, $n=30$), and each group was further divided into a control group (C/A group, $n=15$) and an exercise group (CE/AE group, $n=15$). An aerobic exercise program was used for 8 weeks. Learning memory ability was assessed by Y-maze, and anxiety-depression-like behavior was detected by absent field experiment. Hippocampal Trp levels were measured by GC-MS. Nissl staining was used to observe the number and morphology of hippocampal neurons, and electron microscopy was used to detect synaptic ultrastructure. ELISA was used to detect the levels of hippocampal Trp, 5-HT, Kyn, KATs, KYNA, KMO, and QUIN; Western blot was used to analyze the activities of TPH2, IDO1, and TDO enzymes. **Results** Group A mice showed significant decrease in learning and memory ability ($P<0.05$) and increase in anxiety and depressive behaviors ($P<0.05$); all of AE group showed significant improvement ($P<0.05$). Hippocampal Trp levels decreased in group A ($P<0.05$) and increased in AE group ($P<0.05$). Nidus vesicles were reduced and synaptic structures were degraded in group A ($P<0.05$), and both were significantly improved in

* This work was supported by grants from Chengdu Institute of Physical Education and Sports "14th Five-Year Plan" Scientific Research Innovation Team Project (23CXTD02) and Chengdu Institute of Physical Education and Sports Medicine and Health/Sports Medicine and Health Research Institute 2024-2025 "Excellence in Scientific Research Program" Project (ZYRC240, ZYGH2404).

* Corresponding author.

Tel: 86-28-85052716, E-mail: lixue2078@126.com

Received: April 21, 2025 Accepted: May 22, 2025

group AE ($P<0.05$). The levels of Trp, 5-HT, KATs, and KYNA were decreased ($P<0.05$) and the levels of Kyn, KMO, and QUIN were increased ($P<0.05$) in group A. The activity of TPH2 was decreased ($P<0.05$), and the activities of IDO1 and TDO were increased ($P<0.05$). The AE group showed the opposite trend. **Conclusion** The aging process significantly reduces the learning memory ability and increases the anxiety-depression-like behavior of mice, and leads to the reduction of the number of nidus vesicles and degenerative changes of synaptic structure in the hippocampus, whereas aerobic exercise not only effectively enhances the spatial learning memory ability and alleviates the anxiety-depression-like behavior of aging mice, but also improves the morphology and structure of neurons in hippocampal area, which may be achieved by the mechanism of regulating the tryptophan metabolic pathway.

Key words exercise, aging, mice, tryptophan metabolism, hippocampus

DOI: 10.16476/j.pibb.2025.0175 **CSTR:** 32369.14.pibb.20250175