

·实验研究·

有氧跑台运动调控外泌体 miRNA 改善 APP/PS1
小鼠学习记忆能力的机制研究杨磊^{1,2}, 黄明灿³, 刘信祺⁴, 陈珊妮⁴, 董晨璐³, 叶御威^{1,3*}

(1. 福建中医药大学康复产业研究院, 福建 福州 350122;

2. 福建中医药大学体育部, 福建 福州 350122;

3. 福建中医药大学康复医学院, 福建 福州 350122;

4. 福建中医药大学中西医结合学院 中西医结合研究院, 福建 福州 350122)

摘要: 目的 观察有氧跑台运动对淀粉样前体蛋白/早老素 1 (APP/PS1) 双转基因小鼠学习记忆能力及外泌体 miRNA 表达谱的影响, 探讨有氧运动调控外泌体 miRNA 改善学习记忆的可能作用机制。方法 将 16 只 4 月龄 APP/PS1 雄性小鼠按照随机数字表法分为模型组和运动组各 8 只, 另外取 8 只同月龄野生型 C57BL/6 雄性小鼠为野生组。运动组进行为期 13 周的有氧跑台运动。适应期 1 周: 第 1~2 天速度为 5 m/min, 第 3~4 天速度为 8 m/min, 第 5~6 天速度为 12 m/min, 每天运动 15 min, 第 7 天休息。训练期 12 周: 每天 45 min, 0~5 min 速度为 5 m/min, 6~10 min 速度为 8 m/min, 11~40 min 速度为 12 m/min, 41~45 min 速度为 5 m/min, 每周 5 次, 跑台坡度为 0°。模型组和野生组于同一时间在静止不动的跑台上自由活动。干预前后采用新物体识别实验评估学习记忆能力, 并对海马组织外泌体进行 miRNA 测序, 筛选差异外泌体 miRNA 及其靶基因, 并对其靶基因进行基因本体 (GO) 功能及京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。结果 ① 行为学结果显示, 干预前模型组与运动组 1 h 和 24 h 新物体识别率均低于野生组 ($P < 0.05$), 但运动组与模型组上述指标比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。干预后运动组 1 h 和 24 h 的新物体识别率均高于模型组 ($P < 0.05$), 且运动组 1 h 和 24 h 新物体识别率均较干预前显著升高 ($P < 0.05$)。② 外泌体 miRNA 测序结果显示, 模型组对比野生组得到 34 个差异表达 miRNA (上调 20 个、下调 14 个); 运动组对比模型组得到 23 个差异表达 miRNA (上调 14 个、下调 9 个)。取上述 2 个部分的差异表达 miRNA 进行交集分析得到 miR-5119, 其在模型组下调、运动后上调。后续基于 2 组差异 miRNA 的靶基因完成 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。GO 功能富集分析结果显示, 模型组与野生组差异表达外泌体 miRNA 预测靶基因在 BP 层面主要富集于 MAPK 活性的激活、神经元凋亡过程等; 在 CC 层面显著定位在突触、神经元树突棘、突触前活性区膜以及细胞骨架等结构; 在 MF 层面主要涉及泛素样蛋白连接酶结合、离子通道结合、电压门控钾离子通道活性, 以及谷氨酸受体活性等功能。KEGG 通路富集分析结果显示, 模型组与野生组差异表达外泌体 miRNA 预测靶基因显著富集于 8 条通路, 主要包括谷氨酸能突触、硫胺素代谢、MAPK 信号通路、癌症通路等。运动组与模型组差异表达外泌体 miRNA 预测靶基因的 GO 功能富集分析结果显示, 在 BP 层面显著富集于谷氨酸能突触传递的正调控、长时程突触增强的调控、突触可塑性的调控等; 在 CC 层面主要位于线粒体膜间隙、细胞骨架等结构; 在 MF 层面则富集于肌动蛋白依赖性 ATP 酶活性、离子型谷氨酸受体结合以及磷酸酶结合等功能。KEGG 通路富集分析结果显示, 运动组与模型组差异表达外泌体 miRNA 预测靶基因也显著富集于 8 条通路, 主要包括肌醇磷酸代谢、肌动蛋白细胞骨架的调控、错配修复、醚脂代谢、果糖和甘露糖代谢等。结论 有氧跑台运动可有效改善 APP/PS1 小鼠的学习记忆能力, 其机制可能与调控外泌体 miRNA 表达谱, 尤其是上调 miR-5119 有关。生物信息学分析提示, 运动干预主要影响突触可塑性及线粒体功能相关通路, 本研究为后续深入探讨 miR-5119 在运动改善 AD 中的分子机制提供了新的研究线索与候选靶点。

关键词: 阿尔茨海默病; 有氧运动; 外泌体 miRNA

阿尔茨海默病 (Alzheimer Disease, AD) 是一种与年龄相关的中枢神经系统退行性疾病, 临床主要表现为进行性记忆与认知功能损害^[1-2], 最终可导致患者独立生活能力丧失。AD 在中医学中属“健忘”“呆病”等范畴, 其发生、发展常与“髓海空虚”有关^[3], 阳气亏虚是重要病机之一^[4]。阳气为气血运行之动力, 阳气不足则无力推动气血上荣于脑, 致使脑失所养, 神机失用, 最终影响神志清明^[4]。有氧运动外动形体、内畅气机, 有“动而生阳”、温煦

升发之效, 契合 AD“阳虚髓空”病机的干预思路, 因此被认为是延缓认知功能衰退的有效非药物疗法^[4-6]。然而, 运动所产生的全身性调节效应如何转化为脑内神经保护作用, 其关键分子介质及具体调控机制仍有待进一步阐明。

外泌体 (exosomes, EXs) 是细胞释放的纳米级细胞外囊泡, 近年来被认为是神经系统中介导细胞间通信的关键角色^[7]。外泌体可携带包括 miRNA 在内的多种功能性分子, 并将其递送至受体细胞, 从而参与远程调控基因表达^[8-9]。既往研究表明, 外泌体 miRNA 在 AD 等神经退行性疾病中会发生动态改变, 具有作为潜在生物标志物的研究价值^[10]。

收稿日期: 2026-04-25; 接受日期: 2026-05-25

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2022J01377)

通信作者: 叶御威, E-mail: yuweiye1995@163.com

DOI: 10.13260/j.cnki.fjtc.2026.07003

此外,有氧运动作为一种系统性干预方式,已被证明能调控外泌体及其 miRNA 组成^[11-12]。鉴于此,有氧运动是否通过调控脑内外泌体 miRNA 参与 AD 相关病理进程及认知功能改善,仍是值得进一步探讨的科学问题。淀粉样前体蛋白/早老素 1 (amyloid precursor protein/presenilin 1, APP/PS1) 双转基因小鼠是国际上公认研究 AD 较为理想和经典的模型动物。鉴于 3 月龄 APP/PS1 小鼠脑内即开始出现 A β 沉积,6 月龄左右行为学可观察到明显的认知功能障碍^[13],故本研究选取 4 月龄 APP/PS1 转基因小鼠作为实验对象,观察有氧跑台运动对该模型小鼠学习记忆能力的影响,并通过生物信息学分析脑内外泌体 miRNA 的差异表达,以揭示其作为潜在生物标志物的价值及背后的关键神经保护机制,从而为运动干预 AD 提供实验依据。

1 实验材料

1.1 实验动物与分组 本研究共纳入 4 月龄雄性小鼠 24 只,其中 16 只 APP/PS1 转基因雌性小鼠[初始体质量 (26.09 ± 1.02) g],采用随机数字表法分为运动组和模型组,每组 8 只;另取 8 只同月龄野生型 C57BL/6 雄性小鼠作为野生组[初始体质量 (27.45 ± 1.15) g]。实验动物均购于上海菲诺克生物科技有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(沪)2023-0008,饲养于福建中医药大学动物实验中心,实验动物使用许可证号:SYXK(闽)2023-0004,所有动物适应性喂养 1 周,期间自由摄食饮水,给予标准普通维持饲料。饲养环境温度 22 °C,相对湿度 50%~70%,昼夜周期 12 h/12 h。本方案经过福建中医药大学实验动物伦理委员会批准(审批号:FJTCMIACUC 2024207)。

1.2 实验试剂 PBS[生工生物工程上海(股份)有限公司,货号:E607008];0.45 μ m 过滤膜(广州洁特生物过滤股份有限公司,货号:FPV403030);II 型胶原酶(美国 Sigma 公司,货号:C9407);FITC 标记抗小鼠 CD9 抗体(货号:124807)、FITC 标记抗小鼠 CD63 抗体(货号:143919)均购自美国 Biolegend 公司;[CD81 Monoclonal Antibody (Eat2), FITC](美国 Invitrogen 公司,货号:MA5-17939)

1.3 实验仪器 小动物跑台(型号:XR-PT-10B)和新物体识别测试系统(型号:XR-XX117)均购于上海欣软信息科技有限公司;小型冷冻离心机(美国 Beckman 公司,型号:Allegra X-30R);超速离心机(型号:CP100MX)和透射电镜(型号:HT-7700)均购于日本 Hitachi 公司;粒径分析仪(福建厦门 NanoFCM 公司,型号:N30E)。

2 实验方法

2.1 干预方案 有氧运动方案参考文献[14]制定。采用连续 13 周跑台运动干预。为减少昼夜节律对结果的影响,每日固定于下午 3 点开始训练。跑台训练分为适应期和训练期。适应期 1 周:第 1~2 天

速度为 5 m/min,第 3~4 天速度为 8 m/min,第 5~6 天速度为 12 m/min,每天运动 15 min,第 7 天休息。训练期 12 周:0~5 min 速度为 5 m/min,6~10 min 速度为 8 m/min,11~40 min 速度为 12 m/min,41~45 min 速度为 5 m/min,每天 45 min,每周 5 次,跑台坡度为 0°。模型组和野生组于同一时间在静止不动的跑台上自由活动。

2.2 行为学评估 参照文献[15]采用新物体识别实验评估小鼠干预前后学习记忆能力。实验在规格为 40 cm $\times$ 40 cm $\times$ 50 cm 的白色无盖木箱中进行,测试时间集中在上午 9—12 点,测试期间保持环境安静,每只小鼠测试后用 75% 乙醇擦拭以消除气味残留。刺激物为 3 个实心物体,包括一对相同物体 A1、A2 及一个外形相异的新物体 B。实验严格遵循适应、学习与测试 3 个阶段流程:适应阶段,小鼠于空箱内自由探索 5 min;学习阶段,小鼠同时接触并探索相同物体 A1 和 A2,共 10 min;测试阶段分别于学习阶段结束后 1 h(短期记忆)和 24 h(长期记忆)进行,将 A2 置换为新物体 B,记录小鼠在 5 min 测试期内对旧物体 A1 与新物体 B 的探索时间,从而评价其记忆功能。

新物体识别率 = 新物体头部探究时间 / (新物体头部探究时间 + 旧物体头部探究时间) $\times$ 100%

2.3 取材 组织样本采集在运动干预与行为评估结束 24 h 后进行。取材前所有小鼠禁食 12 h,自由饮水。随后,小鼠经异氟烷麻醉后处死,迅速取出全脑,在冰盘上分离海马脑组织,并去除小脑和下丘脑等其余部分,置于液氮中快速冷冻后,转移至 -80 °C 超低温冰箱中保存,所得海马脑组织用于外泌体 miRNA 测序。

2.4 外泌体分离与鉴定 取海马脑组织经 37 °C 解冻,经 PBS 清洗后,用眼科剪将组织样本剪成约 1 mm $\times$ 1 mm $\times$ 1 mm 大小的组织碎片,继而用特定酶解液于 37 °C 下以 70 r/min 震荡消化 2~3 h 至细胞悬液呈乳浊状,加入含 10% 无外泌体血清(exosome-depleted FBS)的 DMEM 培养基终止消化。消化液经 4 °C 下 2 000 $\times$ g 离心 5 min 后收集上清。外泌体分离采用超速离心法,将上述上清依次经 2 000 $\times$ g 离心 30 min、10 000 $\times$ g 离心 45 min 及 0.45 μ m 滤膜过滤后,对滤液进行超速离心(100 000 $\times$ g, 4 °C, 70 min)以沉淀外泌体。弃上清后,以预冷 PBS 重悬沉淀,再次于相同条件下超速离心以洗涤外泌体。然后加入 PBS 重悬沉淀,获得海马组织来源外泌体。除组织消化步骤外,其余离心、过滤和重悬操作均在 4 °C 条件下进行。外泌体鉴定分析包括透射电镜观察形态、粒径分析检测粒径分布,并通过荧光标记检测 CD9、CD63、CD81 等外泌体表面标志物表达。以上三者结合(电镜形态 + 粒径范围 + 标志物阳性)即可鉴定所提取的囊泡为外泌体。

2.5 外泌体 RNA 提取、文库构建和测序 取各组

外泌体样本,每组 6 只小鼠,每 2 只小鼠的外泌体合并为 1 个样本,每组 3 个生物学重复。采用 QIAGEN miRNeasy 试剂盒提取外泌体总 RNA。RNA 样品质量采用多平台联合检测:使用超微量紫外-可见分光光度计(NanoDrop™ OneC)检测 RNA 纯度,使用生物大分子分析仪(LabChip® GX Touch)分析 RNA 完整性,并使用荧光计(Qubit™ 3.0)及 miRNA 检测试剂盒测定 RNA 浓度。经检测,miRNA 总量≥10 ng,浓度≥2 ng/μL, $A_{260}/A_{280} \geq 1.0$,符合建库要求。符合建库标准的样品,按 QIAseq miRNA 建库试剂盒说明书构建 miRNA 文库,经 PCR 扩增、AMPure XP 磁珠纯化后获得测序文库。文库质控合格后,于 Nova-Seq X Plus 平台进行 PE150 测序。测序数据质控标准:原始测序数据使用 fastp 软件进行过滤,去除含接头、低质量($Q < 20$)及长度过短的读段。过滤后的清洁读段(clean reads)要求碱基质量 Q30 占比≥85%,GC 含量分布稳定且无明显偏差,读段长度分布峰值集中于 21~23 nt,符合成熟 miRNA 的典型长度特征。

2.6 外泌体 miRNA 差异表达分析 为探究有氧运动对 APP/PS1 小鼠海马脑组织外泌体 miRNA 表达谱的影响,本研究进行了 2 组独立的差异表达分析。首先,比较了模型组与野生组,以鉴定由 AD 疾病本身引起的外泌体 miRNA 紊乱。其次比较了运动组与模型组,以识别可被有氧运动调控与改善的特定外泌体 miRNA。上述均以 $\log_2(\text{fold change}) > 1.5$,且 $P < 0.05$ 作为显著性阈值。

2.7 差异外泌体 miRNA 靶基因 GO 功能和 KEGG 通路富集分析 对所有差异表达的外泌体 miRNA 进行靶基因预测。采用 RNAhybrid(2.1.2 版本)和 miRanda(3.3a 版本)软件预测差异表达 miRNA 的靶基因。基于小鼠 NCBI RefSeq 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>)中的 mRNA 3'UTR 序列为参考进行基因预测。筛选阈值:RNAhybrid 预测结合自由能≤-20 kcal/mol,且 $P < 0.05$,miRanda 预测结合自由能≤-20 kcal/mol,且得分≥140。为提高预测结果的稳健性,取 2 款软件预测结果的交集作为候选靶基因集合。随后,采用 R 软件中的 clusterProfiler 包对候选靶基因进行基因本体(GO)功能及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,GO 分析包括生物过程(BP)、细胞组分(CC)和分子功能(MF)3 个层面,KEGG 分析以小鼠为物种背景。富集结果以 P 值 < 0.05 作为显著富集标准。

2.8 统计学方法 采用 SPSS 27.0 软件分析行为学数据。符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组内干预前后比较采用配对样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- t ,方差不齐时采用 Games Howell 法;非正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组内干预前后比较采用 Wilcoxon 符号秩检验,多组间比较采用 Kruskal-Wal-

lis H 检验,组间两两比较采用 Dunn-Bonferroni 法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 3 组新物体识别率比较 见表 1。

表 1 3 组新物体识别率比较($\bar{x} \pm s$) %				
组别	例数	时间	1 h 新物体识别率	24 h 新物体识别率
野生组	8	干预前	54.77±7.45	55.30±8.16
		干预后	54.84±11.13	54.81±9.85
模型组	8	干预前	42.30±5.59 ¹⁾	42.67±6.17 ¹⁾
		干预后	40.38±3.17	39.67±5.97
运动组	8	干预前	41.33±5.20 ¹⁾	41.10±4.93 ¹⁾
		干预后	48.75±7.43 ²⁾³⁾	48.27±4.92 ²⁾³⁾

注:与野生组相比,1) $P < 0.05$;与同组干预前相比,2) $P < 0.05$;与模型组相比,3) $P < 0.05$ 。

3.2 外泌体鉴定结果 透射电镜结果显示,所分离颗粒呈茶托样膜性囊泡结构,边界较清晰,见图 1。粒径检测结果显示,颗粒粒径主要分布于 50~150 nm,见图 2。荧光标记检验结果显示,CD9、CD63 和 CD81 阳性事件比例分别为 4.2%、6.9%、11.7%,均高于空白对照的 1.5%,提示分离颗粒可检测到外泌体相关表面标志物表达,见图 3。综合透射电镜表征、粒径分布及表面标志物检测结果,提示本研究分离所得颗粒具有小细胞外囊泡(外泌体)的基本特征。

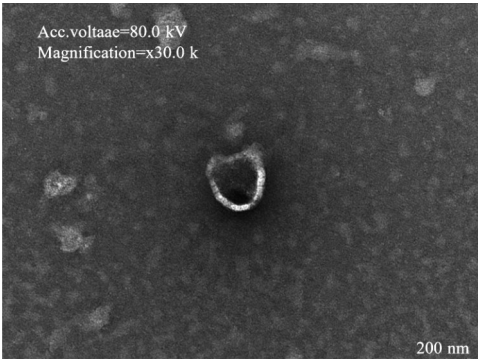


图 1 外泌体透射电镜结果

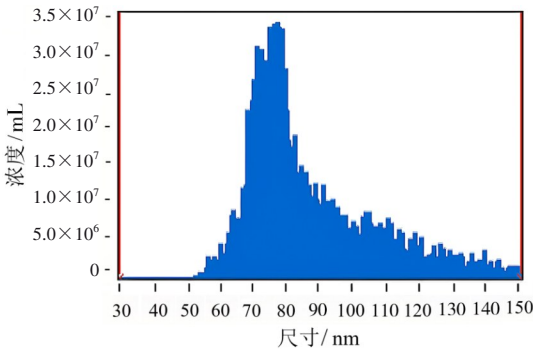


图 2 外泌体粒径分析结果

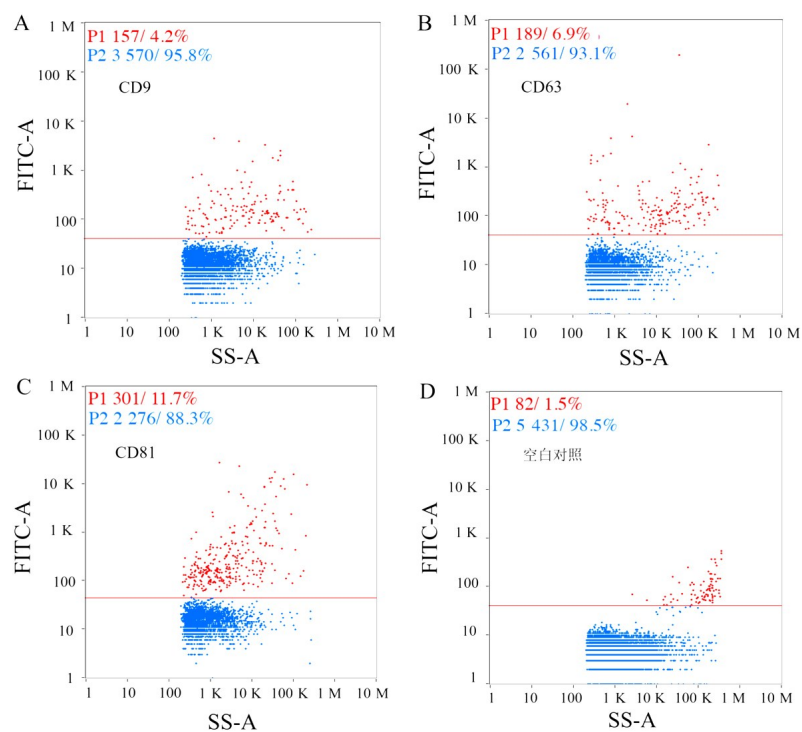


图3 外泌体荧光检测示意图

3.3 外泌体 miRNA 测序数据质控 各样本过滤后获得的清洁读段在 6 000~8 000 万条,有效数据率介于 90.5%~93.2%。各样本 Q30 及以上碱基比例均 $\geq 88\%$,GC 含量分布稳定,碱基质量分布未见明显异常。长度分布分析显示,清洁读段长度峰值集中于 21~23 nt,与成熟 miRNA 的典型长度范围一致,符合 miRNA 文库的片段分布特征。上述结果提示,本研究外泌体 miRNA 测序数据质量较好,可用于后续差异表达分析及功能预测。

3.4 APP/PS1 模型相关差异表达外泌体 miRNA 与野生组比较,模型组小鼠的海马脑组织外泌体中共筛选出 34 个显著差异表达 miRNA,其中,20 个 miRNA 表达上调,14 个 miRNA 表达下调,提示这些差异 miRNA 可能与 AD 病理进程相关。见表 2。

3.5 有氧运动干预相关的差异表达外泌体 miRNA 与模型组比较,运动组小鼠的海马脑组织外泌体中共筛选出 23 个差异表达 miRNA,其中 14 个 miRNA 表达上调,9 个 miRNA 表达下调,提示有氧运动干预可影响 APP/PS1 小鼠海马组织外泌体 miRNA 表达谱。见表 3。

为进一步筛选可能参与有氧运动改善 APP/PS1 小鼠 AD 病理状态的候选 miRNA,本研究将 APP/PS1 模型相关差异 miRNA 与有氧运动干预相关差异 miRNA 进行交集分析。结果显示,仅 miR-5119 同时存在于 2 组比较的差异 miRNA 集合中。见图 4。

表2 APP/PS1 模型相关差异外泌体 miRNA(排名前 10 位)

miRNA 名称	$\log_2(\text{fold change})$ 值	P 值	表达趋势
mmu-miR-669a-5p	6.962	0.002	上调
mmu-miR-7a-5p	5.459	0.026	上调
mmu-miR-6538	3.378	0.033	上调
mmu-miR-708-5p	3.155	0.045	上调
mmu-miR-344f-3p	1.968	0.022	上调
mmu-miR-5119	-3.650	0.014	下调
mmu-miR-505-5p	-3.569	0.013	下调
mmu-miR-19b-3p	-3.332	0.032	下调
mmu-miR-758-3p	-3.198	0.029	下调
mmu-miR-133a-3p	-3.023	0.037	下调

注:表内 miRNA 按照先上调后下调分组,组内按 $\log_2(\text{fold change})$ 差异大小从高到低排列。

表3 有氧运动干预相关差异外泌体 miRNA(排名前 10 位)

miRNA 名称	$\log_2(\text{fold change})$ 值	P 值	表达趋势
mmu-miR-154-3p	4.809	0.009	上调
mmu-miR-764-5p	4.566	0.008	上调
mmu-miR-5119	3.849	0.025	上调
mmu-miR-8114	3.585	0.021	上调
mmu-miR-539-5p	3.113	0.040	上调
mmu-miR-5113	-4.853	0.014	下调
mmu-miR-192-3p	-4.421	0.039	下调
mmu-let-7b-3p	-4.225	0.022	下调
mmu-miR-138-1-3p	-3.470	0.046	下调
mmu-miR-501-3p	-2.990	0.041	下调

注:表内 miRNA 按照先上调后下调分组,组内按 $\log_2(\text{fold change})$ 差异大小从高到低排列。

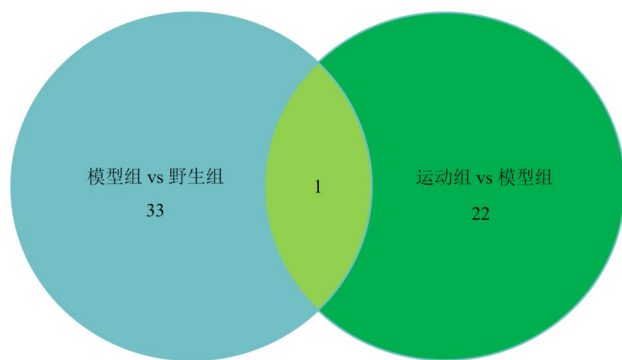


图4 外泌体 miRNA 差异表达韦恩图

3.6 差异表达外泌体 miRNA 靶基因的功能富集分析 为探究外泌体 miRNA 在 APP/PS1 模型中和有氧运动干预中的作用,分别提取“模型组 vs 野生组”的 34 个差异 miRNA (20 个上调、14 个下调)和“运动组 vs 模型组”的 23 个差异 miRNA (14 个上调、9 个下调),并对这 2 组 miRNA 所预测的靶基因分别进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。

3.6.1 APP/PS1 模型相关差异表达外泌体 miRNA 预测靶基因功能分析

3.6.1.1 GO 功能富集分析 结果显示,模型组与野生组差异表达外泌体 miRNA 预测靶基因在 BP 层面主要富集于 MAPK 活性的激活、神经元凋亡过程等;在 CC 层面显著定位在突触、神经元树突棘、突触前活性区膜以及细胞骨架等结构;在 MF 层面主要涉及泛素样蛋白连接酶结合、离子通道结合、电压门控钾离子通道活性以及谷氨酸受体活性等功能。见图 5。

3.6.1.2 KEGG 通路富集分析 结果显示,模型组与野生组差异表达外泌体 miRNA 预测靶基因显著富集于 8 条通路,主要包括谷氨酸能突触、硫胺素代谢、MAPK 信号通路、癌症通路等。见图 6。

3.6.2 有氧运动干预相关差异表达外泌体 miRNA 预测靶基因功能分析

3.6.2.1 GO 功能富集分析 结果显示,运动组与模型组差异表达外泌体 miRNA 预测靶基因在 BP 层面显著富集于谷氨酸能突触传递的正调控、长时程突触增强的调控、突触可塑性的调控等过程;在 CC 层面主要位于线粒体膜间隙、细胞骨架等结构;在 MF 层面则富集于肌动蛋白依赖性 ATP 酶活性、离子型谷氨酸受体结合以及磷酸酶结合等功能。见图 7。

3.6.2.2 KEGG 通路富集分析 结果显示,运动组与模型组差异表达外泌体 miRNA 预测靶基因显著富集于 8 条通路,主要包括肌醇磷酸代谢、肌动蛋白细胞骨架的调控、错配修复、醚脂代谢、果糖和甘露糖代谢等。见图 8。

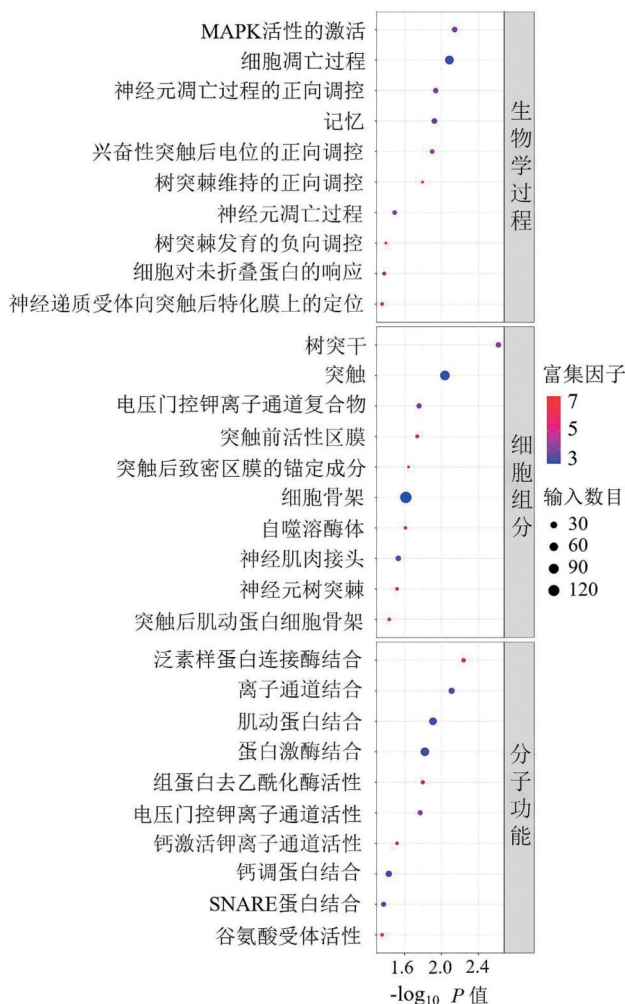


图5 APP/PS1 模型相关差异表达外泌体 miRNA 预测靶基因 GO 功能富集气泡图

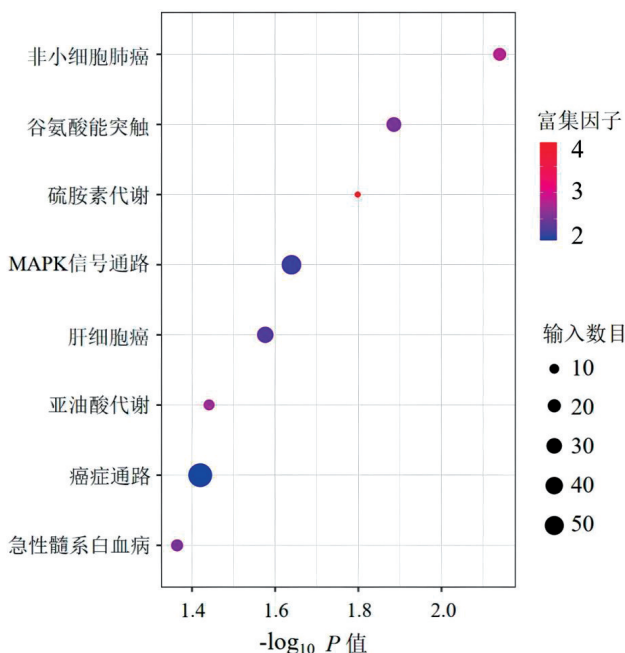


图6 APP/PS1 模型相关差异表达外泌体 miRNA 预测靶基因 KEGG 通路富集分析

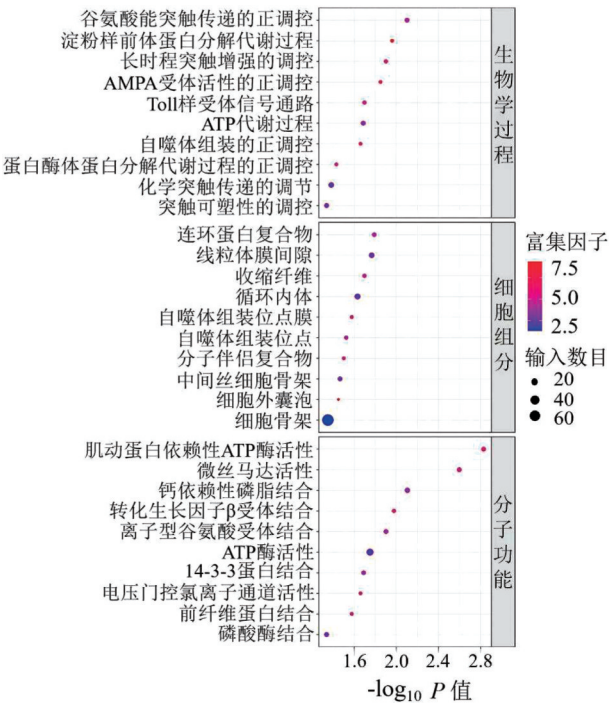


图7 有氧运动干预相关差异表达外泌体 miRNA 预测靶基因 GO 功能富集气泡图

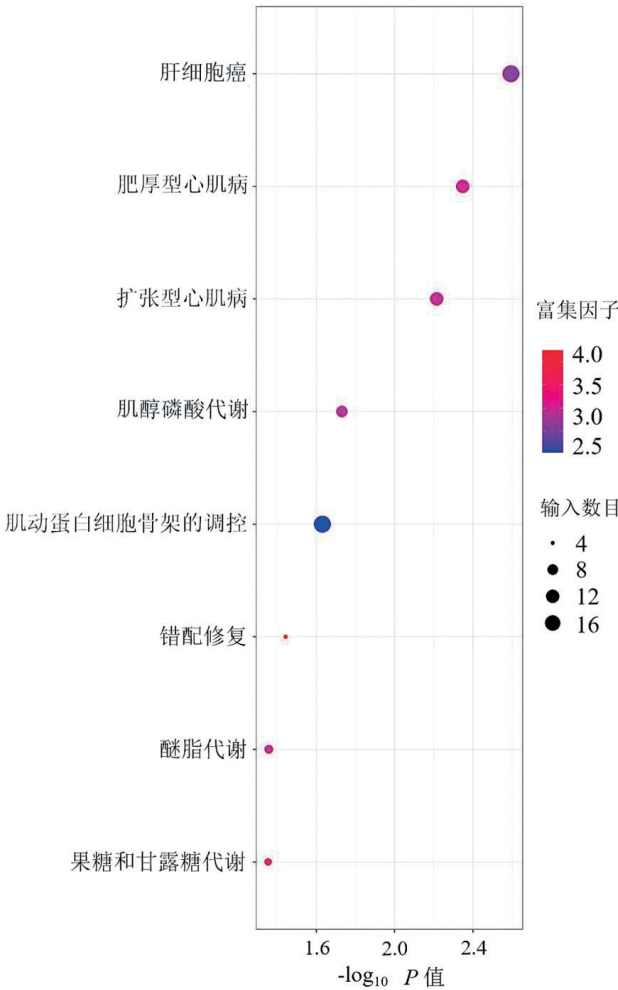


图8 有氧运动干预相关差异表达外泌体 miRNA 预测靶基因 KEGG 通路富集分析

4 讨论

中医学认为,脑为“髓海”,其功能有赖于阳气的温煦与推动。如《灵枢·海论》言:“髓海有余,则轻劲多力;髓海不足,则脑转耳鸣,胫酸眩冒。”^[16]本团队前期研究曾系统阐述“从阳论治”AD的学术思想,指出AD的核心病机可概括为“阳气亏虚,髓海空虚”,阳气不足既不能上奉于脑以滋养“髓海”,也无法抵御痰浊、瘀血等病理产物的侵袭,最终导致神机失用、认知衰退^[4]。基于此理论框架,提出“动而生阳”的康复策略,即通过主动运动促使阳气生发,达到“益气温阳、填精充髓”之效。

本研究新物体识别实验证实,APP/PS1小鼠存在显著学习记忆障碍。有氧运动干预后,运动组识别率显著高于模型组,验证了“动而生阳以益脑”理论的可靠性。而运动产生的宏观效应通过何种微观载体上达于脑尚未可知,有研究表明,外泌体可跨越血脑屏障,其携带的miRNA与神经退行性疾病密切相关^[10],并且有氧运动可调控外泌体及其miRNA表达^[11-12]。为此,本研究比较了野生组、模型组和运动组的外泌体miRNA谱。结果发现:与野生组相比,模型组20个miRNA上调、14个下调。与模型组相比,运动组14个上调、9个下调。取APP/PS1模型相关差异miRNA与有氧运动干预相关差异miRNA进行交集分析,获得唯一miRNA:miR-5119,提示其可能是运动改善AD的关键效应分子。

尽管miR-5119在AD中的直接功能未见报道,但近期不同疾病模型证据表明,该分子兼具调控免疫稳态与炎症信号的双重功能。一方面,程序性死亡受体-配体1(PD-L1)是维持免疫稳态的关键检查点。2项研究明确了miR-5119对PD-L1的靶向调控:ZHANG等^[17]发现PD-L1是miR-5119潜在靶基因;YANG等^[18]证明miR-5119可靶向抑制PD-L1缓解结肠炎。与此同时,c-Jun(AP-1转录因子核心组分)与NF- κ B(核因子 κ B)是炎症应答核心转录因子。LIU等^[19]在非酒精性脂肪性肝炎中发现miR-5119抑制NF- κ B和c-Jun信号通路。

值得注意的是,PD-L1与NF- κ B/c-Jun均与AD病理密切相关^[20-23]。研究证明,PD-L1免疫检查点阻断可清除脑内A β 斑块并改善认知^[21]。NF- κ B持续激活驱动小胶质细胞促炎极化^[22],JNK/c-Jun通路过度活化与A β 诱导突触损伤及神经元凋亡相关^[23]。结合本研究中miR-5119在模型组下调、运动组上调的动态变化,可以推测,AD病理状态下外泌体miR-5119减少,可能同时改变PD-L1表达与NF- κ B/c-Jun炎症轴激活状态,协同加剧神经炎症失衡。有氧运动可能通过分泌富含miR-5119的外泌体,一方面抑制NF- κ B/c-Jun炎症轴,另一方面下调PD-L1以解除免疫抑制,从而协同重

塑中枢免疫微环境,改善认知功能。此外,本研究中差异表达的 miR-19b-3p 和 miR-539-5p 均与 AD 病理相关。模型组下调的 miR-19b-3p 可靶向 BACE1 参与 A β 沉积^[24],运动组上调的 miR-539-5p 抑制 GSK-3 β 减轻 tau 蛋白磷酸化^[25]。这些变化与既往报道一致。

生物信息学分析显示,与野生组相比,模型组在生物学过程中富集于神经元凋亡过程、MAPK 活性的激活等,细胞组分富集突触、神经元树突棘、细胞骨架等神经元相关结构的改变,分子功能富集于谷氨酸受体活性、电压门控钾离子通道活性等。KEGG 通路富集于 MAPK 信号通路、谷氨酸能突触,与 AD 中兴奋性毒性及炎症协同损伤相关^[26-27]。

运动组与模型组比较,在生物学过程中富集于 AMPA 受体活性的正调控、突触可塑性及长时程突触增强的调控,细胞组分富集细胞骨架、线粒体膜间隙,分子功能富集肌动蛋白依赖性 ATP 酶活性、离子型谷氨酸受体结合等。KEGG 通路富集于肌动蛋白细胞骨架调控通路,提示运动通过维持细胞骨架与线粒体功能发挥保护作用^[28-30]。

本研究表明,有氧运动可有效改善 APP/PS1 小鼠的学习记忆能力,外泌体 miRNA 测序首次筛选出 miR-5119 作为关键候选分子。基于生物信息学预测的生信分析显示,AD 病理主要涉及突触结构损伤及谷氨酸受体功能异常,而运动干预则显著富集于突触可塑性与线粒体功能相关通路。结合文献报道,可推测 miR-5119 可能通过调控 PD-L1/NF- κ B/c-Jun 轴参与运动重塑 AD 神经免疫微环境,但此推测尚需实验验证。本研究局限性在于:miR-5119 靶基因尚未通过分子实验直接验证,且海马组织外泌体来源的细胞类型尚不明确。后续研究将聚焦:① 采用双荧光素酶报告基因验证 miR-5119 与下游靶基因的直接结合,结合 Western blot 明确蛋白表达变化,并进一步通过小胶质细胞-神经元共培养体系及通路特异性抑制剂,解析 miR-5119 介导的信号轴调控神经炎症的机制;② 利用细胞特异性表面标志物分离不同海马细胞亚群来源的外泌体,明确 miR-5119 功能性外泌体的关键来源细胞,以期运动干预神经退行性疾病提供更深入的实验依据。

参考文献

- LANE C A, HARDY J, SCHOTT J M. Alzheimer's disease [J]. Eur J Neurol, 2018, 25(1): 59-70.
- TESTO A A, ROUNDY G, DUMAS J A. Cognitive decline in Alzheimer's disease [J]. Curr Top Behav Neurosci, 2025, 69: 181-195.
- 张允岭. 国际中医临床实践指南 阿尔茨海默病(2019-10-11)[J]. 世界中医药, 2021, 16(8): 1181-1187.
- 范彬歆, 林丹红. 从阳论治老年性痴呆的中医康复思想[J]. 中医杂志, 2019, 60(2): 114-118, 130.
- BARANOWSKI B J, MARKO D M, FENECH R K, et al. Healthy brain, healthy life: a review of diet and exercise interventions to promote brain health and reduce Alzheimer's disease risk [J]. Appl Physiol Nutr Metab, 2020, 45(10): 1055-1065.
- LÓPEZ-ORTIZ S, LISTA S, VALENZUELA P L, et al. Effects of physical activity and exercise interventions on Alzheimer's disease: an umbrella review of existing meta-analyses [J]. J Neurol, 2023, 270(2): 711-725.
- COLOMBO M, RAPOSO G, THÉRY C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2014, 30: 255-289.
- FRENCH K C, ANTONYAK M A, CERIONE R A. Extracellular vesicle docking at the cellular port: extracellular vesicle binding and uptake [J]. Semin Cell Dev Biol, 2017, 67: 48-55.
- MATHIEU M, MARTIN-JAULAR L, LAVIEU G, et al. Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication [J]. Nat Cell Biol, 2019, 21(1): 9-17.
- LUGLI G, COHEN A M, BENNETT D A, et al. Plasma exosomal miRNAs in persons with and without Alzheimer disease: altered expression and prospects for biomarkers [J]. PLoS One, 2015, 10(10): e0139233.
- 邝程斌, 夏杰, 吴珊, 等. 外泌体介导运动干预阿尔茨海默病的研究进展[J]. 中国体育科技, 2020, 56(11): 38-47.
- D'SOUZA R F, WOODHEAD J S T, ZENG N N, et al. Circulatory exosomal miRNA following intense exercise is unrelated to muscle and plasma miRNA abundances [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2018, 315(4): E723-E733.
- ASO E, LOMOIO S, LÓPEZ-GONZÁLEZ I, et al. Amyloid generation and dysfunctional immunoproteasome activation with disease progression in animal model of familial Alzheimer's disease [J]. Brain Pathol, 2012, 22(5): 636-653.
- 赵娜, 张宪亮, 夏杰, 等. 12 周有氧跑台运动对 APP/PS1 小鼠海马细胞自噬活性的影响[J]. 体育科学, 2019, 39(12): 43-53.
- 王文举, 林华伟, 王思诺, 等. “形神共调”康复训练对认知衰弱小鼠脑区局部一致性的影响[J]. 康复学报, 2025, 35(5): 494-503.
- 灵枢经[M]. 田代华, 刘更生, 整理. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 92.
- ZHANG M, SHI Y M, ZHANG Y J, et al. miRNA-5119 regulates immune checkpoints in dendritic cells to enhance breast cancer immunotherapy [J]. Cancer Immunol Immunother, 2020, 69(6): 951-967.
- YANG Y, YANG L, YANG Y L, et al. *Bacteroides fragilis*-Derived outer membrane vesicles deliver miR-5119 and alleviate colitis by targeting PD-L1 to inhibit GSDMD-mediated neutrophil extracellular trap formation [J]. Adv Sci, 2025, 12(35): e00781.
- LIU B L, NGUYEN P L, YU H, et al. Honey vesicle-like nanoparticles protect aged liver from non-alcoholic steatohepatitis [J]. Acta Pharm Sin B, 2024, 14(8): 3661-3679.
- SALMINEN A. The role of inhibitory immune checkpoint receptors in the pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. J Mol Med (Berl), 2025, 103(1): 1-19.
- BARUCH K, DECZKOWSKA A, ROSENZWEIG N, et al. PD-1 immune checkpoint blockade reduces pathology and improves memory in mouse models of Alzheimer's disease [J]. Nat Med, 2016, 22(2): 135-137.

- [22] JEONG G W, LEE H H, LEE-KWON W, et al. Microglial TonEBP mediates LPS-induced inflammation and memory loss as transcriptional cofactor for NF- κ B and AP-1 [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1):372.
- [23] LI Y L, FAN H, NI M, et al. Etanercept reduces neuron injury and neuroinflammation *via* inactivating c-Jun N-terminal kinase and nuclear factor- κ B pathways in Alzheimer's disease: an *in vitro* and *in vivo* investigation [J]. *Neuroscience*, 2022, 484: 140-150.
- [24] RASADI A, TALESH SASANI S, AJAMIAN F. Elevated bace1 mRNA level is associated with lower miR-15a-5p and miR-19b-3p expressions in peripheral blood mononuclear cells of patients with late-onset Alzheimer's disease: wet lab results and bioinformatics analysis [J]. *Mol Neurobiol*, 2025, 62(10):13722-13735.
- [25] JIANG Y S, ZHANG Y, SU L. miR-539-5p decreases amyloid β -protein production, hyperphosphorylation of tau and memory impairment by regulating PI3K/Akt/GSK-3 β pathways in APP/PS1 double transgenic mice [J]. *Neurotox Res*, 2020, 38(2):524-535.
- [26] SRIVASTAVA I, GOIKOLEA J, AYBERK KAYA T, et al. Reactive astrocytes with reduced function of glutamate transporters in the App^{NL-G-F} knock-in mice [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2025, 16(11):2035-2047.
- [27] SAI K, NAKANISHI A, SCOFIELD K M, et al. Aberrantly activated TAK1 links neuroinflammation and neuronal loss in Alzheimer's disease mouse models [J]. *J Cell Sci*, 2023, 136(6): jcs260102.
- [28] YU L K, LI Y, LV Y Y, et al. Treadmill exercise facilitates synaptic plasticity in APP/PS1 mice by regulating hippocampal AMPAR activity [J]. *Cells*, 2024, 13(19):1608.
- [29] 龚云, 刘晓莉, 乔德才. 运动疲劳引发的大鼠纹状体神经元树突棘可塑性变化及其细胞骨架机制[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2022, 58(3):91-99.
- [30] FENG L L, LI B W, YONG S S, et al. The emerging role of exercise in Alzheimer's disease: focus on mitochondrial function [J]. *Ageing Res Rev*, 2024, 101:102486.

(上接第3页)

5.3 既病防变:阻断深入 痰气演变,由浅入深,由表入里,由轻转重。早期邪在肌表,急则祛邪,使邪从外解;中期痰阻经络,化痰通络,防其深入;后期痰伏脏腑,调体固本,缓消痰瘀。既病防变,贵在早识、早治、早阻断,避免痰气久留损伤脏腑形质。

5.4 瘥后调护:固本防复 病瘥之后,正气未复,体质未调,痰气易再生。当扶正固本,纠体质之偏颇:阳虚者温阳,阴虚者养阴,气虚者益气,气郁者疏肝。同时避除诱因,慎风寒,节饮食,调情志,使正气存内,降低复发之虞。

6 结 语

痰饮内生源于津液运化失司、气机郁滞不行,六淫外邪侵袭、脏腑气化失调是诱发痰气内生、推动病机转化的关键诱因。本文以“痰气从化”理论为核心,梳理外感六淫与内生痰气的内在关联,阐释六淫由表入里扰动肺、脾、肝、肾四脏气化,引导风、寒、暑、湿、燥、热六类痰气从化类型的病理转

化,并提出辨体、辨邪、辨痰、辨病程的辨、治要则,最后强调诊疗全程须动态察机,兼顾既病防变、瘥后调护,方能有效阻断“六淫诱发痰生,痰气胶着助邪”的病理循环,使痰气演变之势得控,外感缠绵之疾得解,为外感相关病证的临床辨证施治提供理论参考。

参考文献

- [1] 李书楠,李灿东,吴长汶.李灿东教授“痰气从化”理论溯源与核心概念解析[J].*福建中医药*,2026,57(1):1-3,8.
- [2] 李书楠,张傑屹,吕忠宽,等.“痰气从化”的时空演变规律及其与传统“传变”理论的异同[J].*福建中医药*,2026,57(2):1-3,15.
- [3] 李书楠,吴长汶,吕忠宽,等.“痰气从化”理论对传统病机学的继承与发展[J].*福建中医药*,2026,57(3):11-14.
- [4] 王冰.黄帝内经素问[M].校注本.北京:人民卫生出版社,1963:518.
- [5] 李湛,贾春华.“痰生百病”的隐喻分析[J].*中医杂志*,2022,63(8):701-705.
- [6] 严用和.济生方[M].影印本.北京:人民卫生出版社,1956:76.