

自噬凋亡双效调节: 有氧运动改善APP/PS1小鼠 认知功能的机制初探

范从先^{1#} 宋贺贺^{2#} 姜旭³ 张猛⁴ 汤杰¹ 高乾飞¹ 刘涛^{2*}

¹安徽职业技术大学体育健康学院, 合肥 230000; ²西安体育学院运动与健康科学学院, 西安 710068;

³枣庄应用技术职业学院中医健康学院, 枣庄 277000; ⁴上海体育大学运动健康学院, 上海 200438)

摘要 该文旨在探讨8周有氧运动对阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)模型小鼠认知功能的影响, 并分析其潜在机制是否涉及AMPK/ULK1与PI3K/AKT/mTOR信号通路对自噬和凋亡的调控。研究使用雄性C57BL/6小鼠和APP/PS1转基因小鼠各24只(共48只)。将每种基因型的小鼠随机分为运动组和静止对照组, 即对照组(Control group, Control)、对照运动组(Control+exercise group, Control+Ex)、模型对照组(APP/PS1 group, APP/PS1)和模型运动组(APP/PS1+exercise group, APP/PS1+Ex)。Control+Ex与APP/PS1+Ex组进行8周跑台训练。采用Morris水迷宫评估小鼠的认知功能; 透射电镜观察自噬体形态与数量; HE染色与Nissl染色评估神经元形态; 免疫荧光技术检测自噬相关蛋白LC3-II与Beclin1的表达与定位; TUNEL染色分析细胞凋亡水平; ELISA法测定A β 40与A β 42的沉积水平; Western blot技术定量分析AMPK/ULK1与PI3K/AKT/mTOR信号通路中关键蛋白的表达情况。与Control组相比, APP/PS1组逃避潜伏期延长($P<0.01$), 目标象限停留时间缩短($P<0.01$), 穿越原平台次数减少($P<0.05$), 神经元结构异常及自噬结构减少, LC3-II与Beclin1荧光减弱($P<0.05$), AMPK、ULK1、PI3K、AKT和mTOR蛋白表达水平均下降($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。APP/PS1+Ex组较APP/PS1组上述指标均显著改善($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 自噬体与溶酶体增多, Beclin1($P<0.05$)荧光增强, 各通路相关蛋白表达均显著上调($P<0.05$)。该研究初步表明, 8周有氧运动能有效改善APP/PS1小鼠的认知功能。其机制可能与运动协同调控海马神经元中AMPK/ULK1与PI3K/AKT/mTOR信号通路有关: 运动一方面通过激活AMPK/ULK1通路增强自噬、促进A β 清除; 另一方面维持PI3K/AKT/mTOR通路活性, 抑制凋亡并可能避免自噬过度激活所致的神经损伤。这种“自噬增强-凋亡抑制”的双效调节模式, 为运动干预AD提供了不同于单纯自噬激活剂的协同性神经保护途径, 从而共同改善了AD病理并促进了神经元存活。

关键词 阿尔茨海默病; 有氧运动; 自噬; 凋亡; 认知康复

Dual Regulatory Effects on Autophagy and Apoptosis: a Preliminary Exploration into the Mechanisms by Which Aerobic Exercise Improves Cognitive Function in APP/PS1 Mice

收稿日期: 2025-12-02

接受日期: 2026-02-09

安徽省高校科学研究重点项目(批准号: 2023AH051425)、陕西省重点研发计划(批准号: 2024SF-YBXM-680)和运动促进健康陕西省高等学校重点实验室资助项目资助的课题

*共同第一作者

*通信作者。Tel: 029-88409024, E-mail: liutaoid123@163.com

Received: December 2, 2025

Accepted: February 9, 2026

This work was supported by the Key Research Project of Universities in Anhui Province (Grant No.2023AH051425), the Key Research and Development Plan of Shaanxi Province (Grant No.2024SF-YBXM-680), and the Funding Project of the Key Laboratory of Sports and Health in Shaanxi Universities

*These authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel: +86-29-88409024, E-mail: liutaoid123@163.com

FAN Congxian^{1#}, SONG Hehe^{2#}, JIANG Xu³, ZHANG Meng⁴, TANG Jie¹, GAO Qianfei¹, LIU Tao^{2*}

¹College of Physical Education and Health, Anhui University of Applied Technology, Hefei 230000, China;

²College of Sports and Health Sciences, Xi'an Physical Education University, Xi'an 710068, China; ³Department of Traditional Chinese Medicine Health, Zaozhuang Vocational College of Applied Technology, Zaozhuang 277000, China;

⁴School of Exercise and Health, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China)

Abstract This study aims to investigate the effects of 8-week aerobic exercise on cognitive function in a mouse model of AD (Alzheimer's disease) and analyze whether the underlying mechanisms involve the regulation of autophagy and apoptosis via the AMPK/ULK1 and PI3K/AKT/mTOR signaling pathways. A total of 48 mice were used in this study, including 24 male C57BL/6 mice and 24 APP/PS1 transgenic mice. Mice of each type (C57BL/6 and APP/PS1) were randomly assigned to either an exercise group or a sedentary control group, resulting in four experimental groups: the control group (Control), the control+exercise group (Control+Ex), the APP/PS1 model control group (APP/PS1), and the APP/PS1+exercise group (APP/PS1+Ex). The Control+Ex and APP/PS1+Ex groups underwent eight weeks of treadmill training. Cognitive function was assessed using the Morris water maze; autophagosome morphology and quantity were observed via transmission electron microscopy; neuronal morphology was evaluated by HE staining and Nissl staining; the expression and localization of autophagy-related proteins LC3-II and Beclin1 were detected by immunofluorescence; apoptotic levels were analyzed with TUNEL staining; the deposition levels of A β 40 and A β 42 were determined by ELISA; and the expression of key proteins in the AMPK/ULK1 and PI3K/AKT/mTOR signaling pathways was quantitatively analyzed by Western blot. Compared with the Control group, the APP/PS1 group showed prolonged escape latency ($P<0.01$), decreased time spent in the target quadrant ($P<0.01$) and fewer platform crossings ($P<0.05$), abnormal neuronal structure, reduced autophagic structures, weakened fluorescence intensity of Beclin1 ($P<0.05$), and decreased protein expression of AMPK, ULK1, PI3K, AKT, and mTOR ($P<0.01$ or $P<0.05$). Compared with the APP/PS1 group, the APP/PS1+Ex group showed significant improvement in all the aforementioned indicators ($P<0.05$ or $P<0.01$), increased autophagosomes and lysosomes, enhanced fluorescence intensity of LC3-II and Beclin1 ($P<0.05$), and significantly upregulated expression of all pathway-associated proteins ($P<0.05$). This study preliminarily demonstrates that eight weeks of aerobic exercise can effectively improve cognitive function in APP/PS1 mice. The underlying mechanism may be related to the exercise-induced coordinated modulation of the AMPK/ULK1 and PI3K/AKT/mTOR signaling pathways in hippocampal neurons: on one hand, by activating the AMPK/ULK1 pathway to enhance autophagy and promote A β clearance; on the other hand, by maintaining PI3K/AKT/mTOR pathway activity to inhibit apoptosis and potentially prevent neuronal damage caused by excessive autophagy. This dual-effect regulatory mode of "enhanced autophagy-inhibited apoptosis" provides a synergistic neuroprotective approach for exercise intervention in AD, distinct from simple autophagy activators, thereby collectively ameliorating AD pathology and promoting neuronal survival.

Keywords Alzheimer's disease; aerobic exercise; autophagy; apoptosis; cognitive rehabilitation

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种起病隐匿、与年龄相关的中枢神经系统疾病,以大脑进行性、不可逆性功能恶化为主要特征,临床表现为记忆衰退和认知功能障碍,是目前最常见的痴呆类型^[1]。据统计,中国现有AD患者约1 700万例,占全球患者总数的29.8%,相当于每十万人中有900人患病,这一比例显著高于世界平均水平^[2]。AD的

病理机制复杂,在神经病理层面,AD的典型病变包括神经元的广泛丢失、 β -淀粉样蛋白(amyloid-beta protein, A β)在细胞外沉积形成淀粉样斑块,以及过度磷酸化的Tau蛋白在细胞内聚集形成神经元纤维缠结^[3]。这些异常蛋白的累积与神经元的大量丢失,共同构成了AD认知缺陷的病理基础。在细胞层面,自噬作为清除异常蛋白和受损细胞器的关键过程,

其功能增强有助于减少A β 等病理蛋白的沉积^[4];而细胞凋亡的异常激活则是导致神经元丢失的关键因素^[5-6]。自噬与凋亡作为细胞内两个相互依存的过程,其功能失衡共同参与了AD中神经元的变性机制。

腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)/UNC-51样自噬激活激酶1(UNC-51-like autophagy activating kinase 1, ULK1)和磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路是调控细胞自噬与凋亡的核心通路。研究表明,AMPK/ULK1信号通路的激活可促进细胞自噬,而PI3K/AKT/mTOR信号通路通常抑制细胞凋亡和过度自噬,促进细胞存活^[7-8]。此外,这两条信号通路同时也是能量调节的关键通路,与运动密切相关。有氧运动可通过调节机体代谢状态、促进鸢尾素和脑源性神经营养因子等因子的释放,进而调控AMPK/ULK1和PI3K/AKT/mTOR信号通路的活性^[9-10]。近年来,运动干预作为非药物干预手段在AD的防治中备受关注。既往研究表明,长期的有氧运动可有效改善AD患者的认知功能^[11-13],但其具体机制尚未被完全阐明。然而,有氧运动是否通过协同调控AMPK/ULK1与PI3K/AKT/mTOR信号通路,进而影响自噬-凋亡平衡,尚缺乏足够证据。因此,本研究以淀粉样前体蛋白/早老素1(amyloid precursor protein/presenilin 1, APP/PS1)转基因小鼠为模型,实施8周的跑台运动干预,通过检测AMPK/ULK1和PI3K/AKT/mTOR信号通路活性变化、微管相关蛋白轻链3-II(microtubule-associated protein light chain 3-II, LC3-II)和Bcl-2相互作用蛋白(Bcl-2 interacting coiled-coil protein, Beclin1)表达、神经元自噬与凋亡水平以及海马区A β 含量的变化,探讨有氧运动改善AD认知功能的潜在作用机制,为理解有氧运动在延缓AD病程进展中的作用提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 本研究选用24只6月龄健康雄性C57BL/6小鼠和24只APP/PS1小鼠,共计48只,所有动物均购自至善(北京)健康医学研究院有限公司[生产许可证号:SCXK(浙)2024-0004]。实验动物饲养于西安体育学院动物饲养室,实行标准化管理:自由

摄食和饮水,每日12 h光照/黑暗循环,饲养室温度维持在22~24 °C,相对湿度保持在40%~60%。实验动物饲养、处理以及组织取材均经西安体育学院伦理委员会审核(批准号: XAIPE2025006),符合国家实验动物管理与保护相关法规要求。

1.1.2 主要药品及试剂 鼠抗AKT(货号: 60203-2-Ig)、mTOR(货号: 66888-1-Ig)、PI3K(货号: 60225-1-Ig)单克隆抗体,鼠抗AMPK多克隆抗体(货号: 10929-2-AP),以及兔抗LC3-II(货号: 14600-1-AP)、Beclin1(货号: 11306-1-AP)多克隆抗体均购自武汉三鹰生物技术有限公司;兔抗ULK1单克隆抗体(货号: 29005-1-AP)购自美国Cell Signaling Technology公司;鼠抗 β -actin单克隆抗体(货号: AFW9842)购自湖南艾方生物科技有限公司;小鼠A β 40及A β 42 ELISA检测试剂盒(货号: MM-0461M2、MM-0220M2)购自江苏酶免实业有限公司;BCA蛋白定量试剂盒(货号: BCA02)购自北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司;ECL发光试剂盒(货号: G2014-100ML)购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.1.3 主要仪器设备 实验动物跑台(SA101)购自江苏赛昂斯生物科技有限公司;Morris水迷宫系统(ZS-001)购自北京众实迪创科技发展有限公司;透射电子显微镜(HT7800)购自日本Hitachi公司;病理切片机、动物组织脱水机购自武汉俊杰电子有限公司;超薄切片机(LeicaUC7)购自德国Leica公司;正置光学显微镜(NIKON ECLIPSE E100)、成像系统(NIKON DS-U3)购自日本Nikon公司;多功能酶标仪(Spark)购自瑞士Tecan Group AG公司;高速冷冻离心机(SIGMA 3-18k)购自德国Sigma公司;-80 °C超低温冰箱购自美国ThermoFisher Scientific公司。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物分组 24只雄性C57BL/6小鼠与24只雄性APP/PS1转基因模型小鼠,按基因型随机分为运动组与静止对照组。具体分组如下:对照组(Control group, Control),无运动干预;对照运动组(Control+exercise group, Control+Ex),接受跑台运动训练;模型对照组(APP/PS1 group, APP/PS1),无运动干预;模型运动组(APP/PS1+exercise group, APP/PS1+Ex),接受跑台运动训练。每组均包含12只小鼠。

1.2.2 运动方案 运动干预为期8周,每周训练5天,于每日下午5:00固定进行。实验前所有小鼠接受6

天适应性训练, 每日15 min, 速度依次递增: 前2天5 m/min, 中间2天8 m/min, 最后2天12 m/min(约相当于C57BL/6小鼠75%最大摄氧量的运动强度)^[4]。正式训练分为两个阶段: 第1~4周, 每日共45 min, 依次以5 m/min(5 min)、8 m/min(5 min)、12 m/min(30 min)、5 m/min(5 min)分段进行; 第5~8周维持总运动时长不变, 将主体强度提升至13 m/min(30 min), 前后运动强度不变。该方案通过阶梯提速实现运动负荷的渐进递增。

1.2.3 Morris水迷宫检测小鼠认知能力 8周跑台运动干预结束后, 次日进行为期7天的Morris水迷宫行为学测试。实验前向水池中灌入高度约为30 cm的清水, 通过恒温加热装置将水温维持在25 °C左右, 然后向水池中倒入二氧化钛白色染料充分搅拌, 使池水呈现乳白色, 以增强与实验动物的毛色颜色反差, 便于精准追踪记录小鼠运动轨迹。在水池边缘上方非接触水面处, 按东(E)南(S)西(W)北(N)方位粘贴方位标识物, 为小鼠提供空间导航参照。第1天进行适应性训练, 帮助小鼠熟悉水迷宫环境, 减少应激反应。第2~6天进行定位巡航实验, 通过连续多日的重复训练, 评估小鼠的空间学习能力。第7天进行空间探索实验, 撤除平台后, 记录小鼠在目标象限的搜索行为, 重点评估其记忆保持与空间定位能力。

1.2.4 样本采集 小鼠禁食过夜, 次日腹腔注射10%的水合氯醛麻醉剂(按3 mL/kg计算)并迅速断头取脑, 确保组织活性与完整性。为满足不同检测需求, 脑组织按下列流程处理。每组随机选取3只小鼠的完整大脑, 立即浸入足量4%多聚甲醛溶液中, 于4 °C环境固定过夜, 用于后续HE染色、Nissl染色、TUNEL凋亡检测以及免疫荧光实验, 以评估神经元形态、细胞存活状态及特定蛋白表达分布。每组另取3只小鼠海马组织, 修剪为1 mm×1 mm×1 mm小块浸入电镜固定液, 4 °C保存以备通过透射电镜观察自噬小体和溶酶体。剩余小鼠大脑剥离海马组织, 每组选取6例样本, 于冰上分装后迅速于-80 °C保存, 用于后续Western blot检测通路相关蛋白及ELISA测定A β 含量。

1.2.5 免疫荧光染色检测Beclin1和LC3-II的表达情况 将获取的小鼠完整大脑用4%多聚甲醛于4 °C环境固定36 h后, 依次进行组织修块、梯度乙醇脱水(95%、85%、75%乙醇中各5 min)、二甲苯透明、石蜡包埋以及切片制备。切片经60 °C烘烤1 h后, 取出

进行脱蜡与复水、抗原修复; 随后进行封闭(3%过氧化氢室温处理15 min, PBST浸洗3次(每次5 min), 山羊血清室温处理30 min)、分别加入特异性一抗(Beclin1, 1:1 000; LC3-II, 1:500)于4 °C孵育过夜, 次日以TSA-520荧光染料标记显色。重复抗原修复与封闭, 进行第二轮Beclin1/LC3-II抗体孵育与TSA-520荧光染料标记。最后进行DAPI染液标记细胞核、抗荧光淬灭封片剂封片, 并通过多光谱成像系统采集荧光信号, 分析自噬相关蛋白的表达与分布情况。

1.2.6 HE染色和Nissl染色观察神经元形态 HE染色: 切片经二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化后, 浸入苏木精染液进行核染色(室温、3~5 min), 随后通过分化步骤精准去除细胞质中非特异性结合的苏木精染液, 经反蓝处理增强核对比度, 再浸入伊红染液进行胞质染色(室温、5 min)。完成染色后, 切片经梯度乙醇脱水(85%、95%乙醇中各5 min)、二甲苯透明, 最终用中性树胶封片。通过显微镜观察, 可清晰评估小鼠大脑神经元的形态完整性、细胞核结构特征及组织病理变化。

Nissl染色: 切片脱蜡水化后, 采用甲苯胺蓝等染料进行染色, 通过分化步骤选择性去除背景染色, 突出神经元内尼氏体的紫蓝色颗粒状结构。经脱水、透明及封片处理后, 显微镜观察以直观呈现神经元的分布密度、尼氏体形态特征及神经元存活状态, 为评估神经元功能活性及病理损伤提供形态学依据。

1.2.7 透射电镜观察神经元自噬情况 海马组织自电镜固定液取出后, 按标准电镜制样流程操作: 首先以0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH7.4)漂洗, 随后使用1%锇酸固定2 h以增强亚细胞结构的对比度。依次经30%、50%、70%、80%、95%、100%乙醇梯度脱水(每级20 min), 再经100%丙酮处理2次(每次15 min)。脱水后样品通过树脂渗透包埋与60 °C聚合固化形成树脂包埋块; 利用半薄切片定位海马CA1区后, 制备70~90 nm超薄切片, 用2%醋酸铀饱和酒精溶液避光染色8 min, 再用70%酒精及超纯水清洗后, 以2.6%的枸橼酸铅溶液(避CO₂)室温染色8 min, 随后经超纯水清洗, 室温干燥过夜; 最终通过透射电镜在80~120 kV加速电压下观察小鼠海马中自噬小体、线粒体、细胞核及溶酶体的形态并统计其数量。

1.2.8 TUNEL染色观察神经元凋亡情况 切片经

二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化(无水乙醇 I、II各 5 min, 85%酒精 5 min, 75%酒精 5 min)后, 进行高温抗原修复以暴露凋亡相关抗原表位; 滴加 TUNEL 反应液(含末端脱氧核苷酸转移酶及荧光素标记 dUTP), 37 °C 孵育 1 h 标记 DNA 断裂位点; 随后加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:1 000), 37 °C 孵育 30 min 实现信号放大; 经 DAB 显色与苏木素复染后, 对切片进行梯度脱水与置换[75%乙醇 5 min、85%乙醇 5 min、无水乙醇(两次, 各 5 min)及正丁醇 5 min], 再经二甲苯透明 5 min, 晾干后进行中性树胶封片。通过显微镜观察, 定量分析小鼠大脑海马区神经元的凋亡情况。

1.2.9 ELISA 检测 A β 水平 取海马组织匀浆上清, 经 BCA 法定量并调整至相同浓度后, 采用特异性 ELISA 试剂盒检测 A β 40 及 A β 42 含量。具体步骤包括: 向 96 孔版中分别加入标准品和样本于 37 °C 孵育 30 min, 洗涤后加入生物素标记检测抗体工作液于 37 °C 孵育 30 min, 再次洗涤后加入 HRP 链霉亲和素于 37 °C 孵育 30 min, 洗涤后加入显色剂振荡混匀并于 37 °C 避光显色 10 min, 加入终止液终止反应后于 450 nm 波长处测定吸光度 (*D*) 值。绘制标准曲线并计算蛋白含量。

1.2.10 Western blot 检测 AMPK、ULK1、PI3K、AKT、mTOR、Beclin1 和 LC3-II 的蛋白表达情况 在冰浴环境下用消毒剪刀裁剪海马组织, 按组织质量(mg):裂解液(μ L):蛋白酶抑制剂(μ L)=1:10:1 的比例加入预冷的 RIPA 裂解液及 PMSF(phenylmethylsulfonyl fluoride)蛋白酶抑制剂, 经匀浆器充分研磨后, 4 °C 静置 30 min 以充分裂解。4 °C 条件下 12 000 r/min 高速离心 15 min, 吸取上清液; 采用 BCA 法测定蛋白浓度并绘制标准曲线, 以最低浓度样本为基准, 将其他样本稀释至等浓度后, 分装等体积蛋白样本, 于 -80 °C 保存。制备 12% SDS-PAGE 凝胶进行蛋白分离, 通过湿转法将蛋白转移至 PVDF 膜; 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h 以阻断非特异性结合。加入一抗(AMPK 1:2 000、ULK1 1:1 000、PI3K 1:5 000、AKT 1:5 000、mTOR 1:5 000、Beclin1 1:5 000、LC3-II 1:2 000、 β -actin 1:10 000)于 4 °C 孵育过夜, 次日洗涤后加入二抗(1:5 000)室温孵育 1 h; ECL 化学发光法显影, 通过凝胶成像系统采集条带信号。分析样本中 AMPK、ULK1、PI3K、AKT、mTOR、Beclin1 和 LC3-II 的蛋白表达情况。

1.3 数据统计

所有数据均以平均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)形式表示。

采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。多组间比较采用双因素方差分析, 涉及重复测量的数据采用重复测量方差分析。以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 为差异具有统计学意义。采用 GraphPad Prism 10.0 软件完成所有统计图形的绘制, 包括柱状图、折线图等, 以直观呈现各实验组间差异趋势。

2 结果

2.1 有氧运动对于 AD 模型小鼠学习和记忆能力的影响

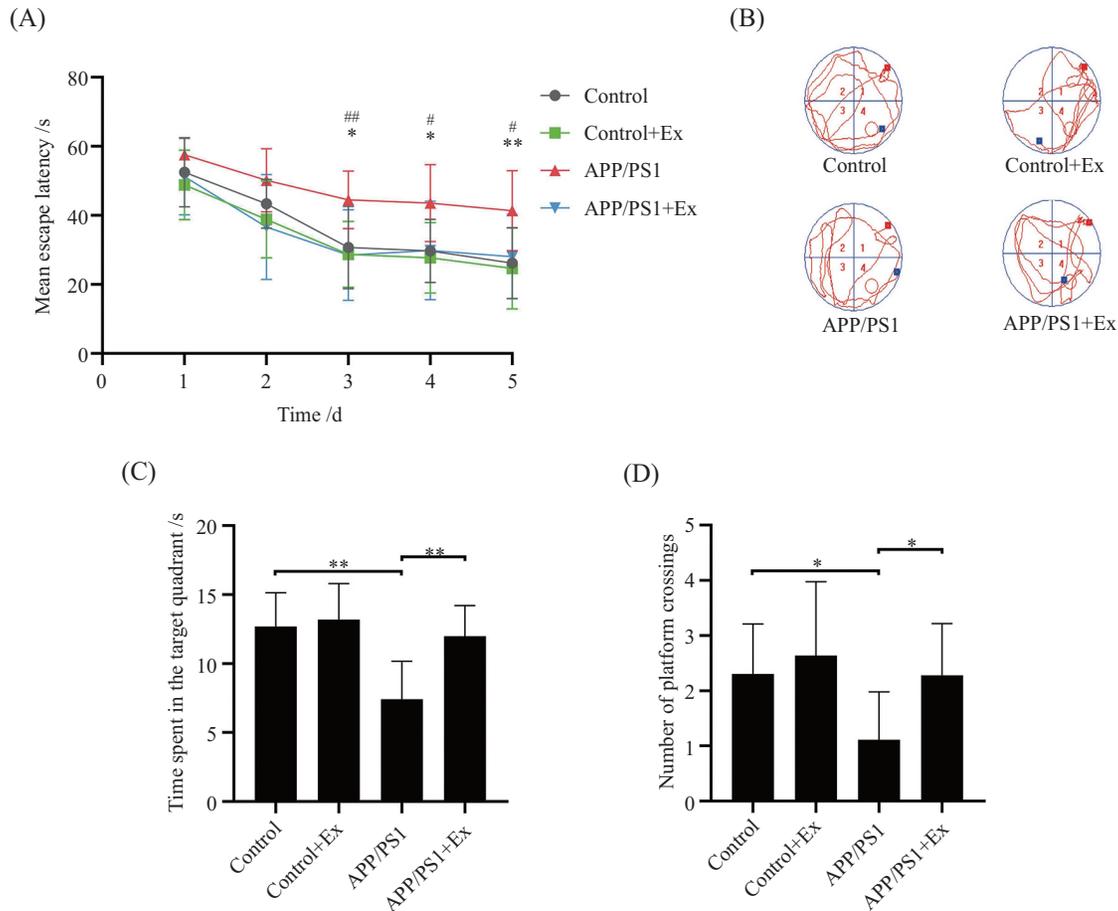
Morris 水迷宫定位航行结果显示, 各组小鼠平均逃避潜伏期随训练天数增加均逐渐缩短(图 1)。其中, Control+Ex 组与 Control 组表现出较强的学习能力, 于第 2~3 天表现出最大幅度的潜伏期缩短, 至第 5 天达到最优水平; 而 APP/PS1+Ex 组和 APP/PS1 组分别在第 3 天和第 4 天进入平台期, 潜伏期趋于稳定。组间比较显示: Control 组和 Control+Ex 组在整个定位航行阶段的逃避潜伏期无显著差异; APP/PS1 组自第 3 天起潜伏期显著长于 Control 组(第 3~4 天 $P<0.05$, 第 5 天 $P<0.01$), 同时也显著长于 APP/PS1+Ex 组(第 3 天 $P<0.01$, 第 4~5 天 $P<0.05$); APP/PS1+Ex 组与 Control 组在各个时间点均无明显差异。

空间探索阶段组间比较显示: APP/PS1 组穿越原平台次数显著少于 Control 组($P<0.05$), 且目标象限停留时间显著缩短($P<0.01$); APP/PS1+Ex 组与 APP/PS1 组相比, 在穿越原平台次数($P<0.05$)和目标象限停留时间($P<0.01$)方面均有显著改善; Control+Ex 组与 Control 组组间无明显差异; APP/PS1+Ex 组与 Control 组相比, 穿越原平台次数有减少趋势, 目标象限停留时间有缩短趋势, 但均不具有显著性。

2.2 有氧运动对于 AD 模型小鼠海马 CA1 区病理改变的影响

在各组小鼠海马 CA1 区 HE 染色可见: Control 和 Control+Ex 组海马结构层次分明, 神经元排列紧密且细胞边界清晰, 仅见轻度神经元皱缩变形; APP/PS1 组呈现典型的 AD 病理改变, 表现为广泛的神经元水肿、细胞体积缩小、核质界限模糊以及核染色质固缩聚集; APP/PS1+Ex 组神经元水肿程度较 APP/PS1 组显著减轻, 仅见散在的固缩神经元, 细胞边界清晰, 整体形态完整性优于 APP/PS1 组且接近 Control 组水平(图 2A)。

各组小鼠海马 CA1 区 Nissl 染色可见, Control



A: 运动干预对各组小鼠水迷宫逃避潜伏期的影响; B: 各组小鼠水迷宫空间探索阶段的探索示意图; C: 各组小鼠空间探索阶段目标象限停留时间; D: 各组小鼠空间探索阶段穿越原平台次数。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与Control组相比; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与APP/PS1组相比。n=12。

A: effect of exercise intervention on escape latency in the Morris water maze across groups; B: schematic diagram of exploration during the spatial probe phase in the Morris water maze for each group; C: time spent in the target quadrant during the spatial probe phase for each group; D: number of crossings over the platform location during the spatial probe phase for each group. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with Control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ compared with APP/PS1 group. n=12.

图1 Morris水迷宫实验结果

Fig.1 Morris water maze performance

和Control+Ex组尼氏体的体积大、分布均匀,核仁清晰;APP/PS1组尼氏体体积缩小,神经元排列较混乱并伴有皱缩;而APP/PS1+Ex组较APP/PS1组有明显改善,尼氏体数量增多、形态趋于正常,神经元排列趋近有序,核仁结构清晰(图2B)。

2.3 有氧运动对AD模型小鼠海马CA1区A β 水平的影响

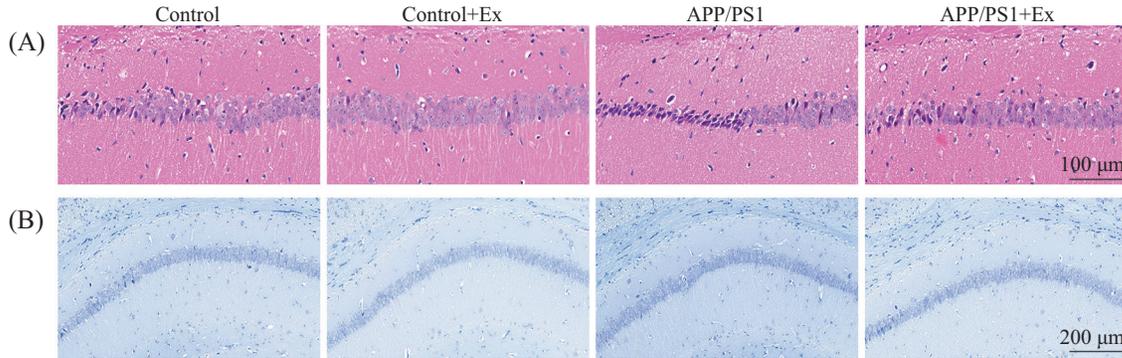
通过ELISA法检测各组小鼠海马CA1区A β 40和A β 42水平的结果如图3所示:APP/PS1组相较于Control组,A β 40及A β 42水平均显著升高($P < 0.01$);经运动干预后,APP/PS1+Ex组两种A β 亚型水平较APP/PS1组显著降低($P < 0.05$),但仍高于Control组($P < 0.01$);Control+Ex与Control组间A β 水平无统计学差异。

2.4 有氧运动对AD模型小鼠海马CA1区Beclin1、LC3-II的影响

小鼠海马CA1区免疫荧光定量分析结果(图4)显示:与Control组相比,APP/PS1组Beclin1与LC3-II的荧光信号强度均显著减弱($P < 0.05$);APP/PS1+Ex组与APP/PS1组相比,Beclin1荧光信号强度显著增强($P < 0.05$),而LC3-II的信号强度虽高于APP/PS1组,但差异未达到统计学显著水平;APP/PS1+Ex组与Control组比较,两种蛋白的荧光强度均无明显差异,Control+Ex组Beclin1荧光信号显著强于Control组($P < 0.05$)。

2.5 有氧运动对AD模型小鼠海马超微结构的影响

通过透射电子显微镜($\times 10\ 000$ 放大)观察各组小鼠神经元超微结构及自噬相关细胞器特征,结果显示:Control和Control+Ex组海马CA1区神经元超微结

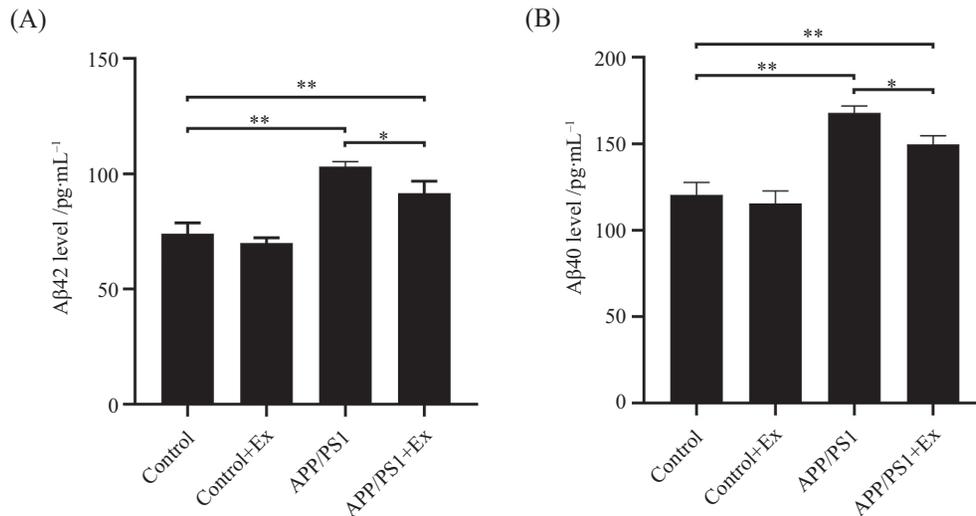


A: 各组小鼠海马CA1区HE染色代表性图像; B: 各组小鼠海马CA1区Nissl染色代表性图像。n=3。

A: representative images of HE staining in the hippocampal CA1 region of mice from each group; B: representative images of Nissl staining in the hippocampal CA1 region of mice from each group. n=3.

图2 各组小鼠海马组织形态比较

Fig.2 Comparison of hippocampal morphology among groups



A: 各组小鼠海马CA1区Aβ42定量分析; B: 各组小鼠海马CA1区Aβ40定量分析。*P<0.05, **P<0.01。n=3。

A: quantitative analysis of Aβ42 in the hippocampal CA1 region of mice from each group; B: quantitative analysis of Aβ40 in the hippocampal CA1 region of mice from each group. *P<0.05, **P<0.01. n=3.

图3 Aβ蛋白检测结果

Fig.3 Detection results of Aβ protein

构完整清晰,自噬体(红色箭头)与自噬溶酶体(蓝色箭头)数量较多且形态规则,核膜光滑致密、核仁轮廓分明,线粒体结构完整,细胞器排列规则;APP/PS1组自噬体及溶酶体数量显著减少,且内部存在未降解细胞成分,核膜出现内陷变形,线粒体肿胀,细胞器结构缺损,呈现典型的AD超微结构病变;APP/PS1+Ex组与APP/PS1组相比,自噬体数量显著增加,线粒体轻微肿胀,核膜与细胞膜结构基本完整,细胞器损伤明显减轻,整体超微结构接近Control组水平(图5)。

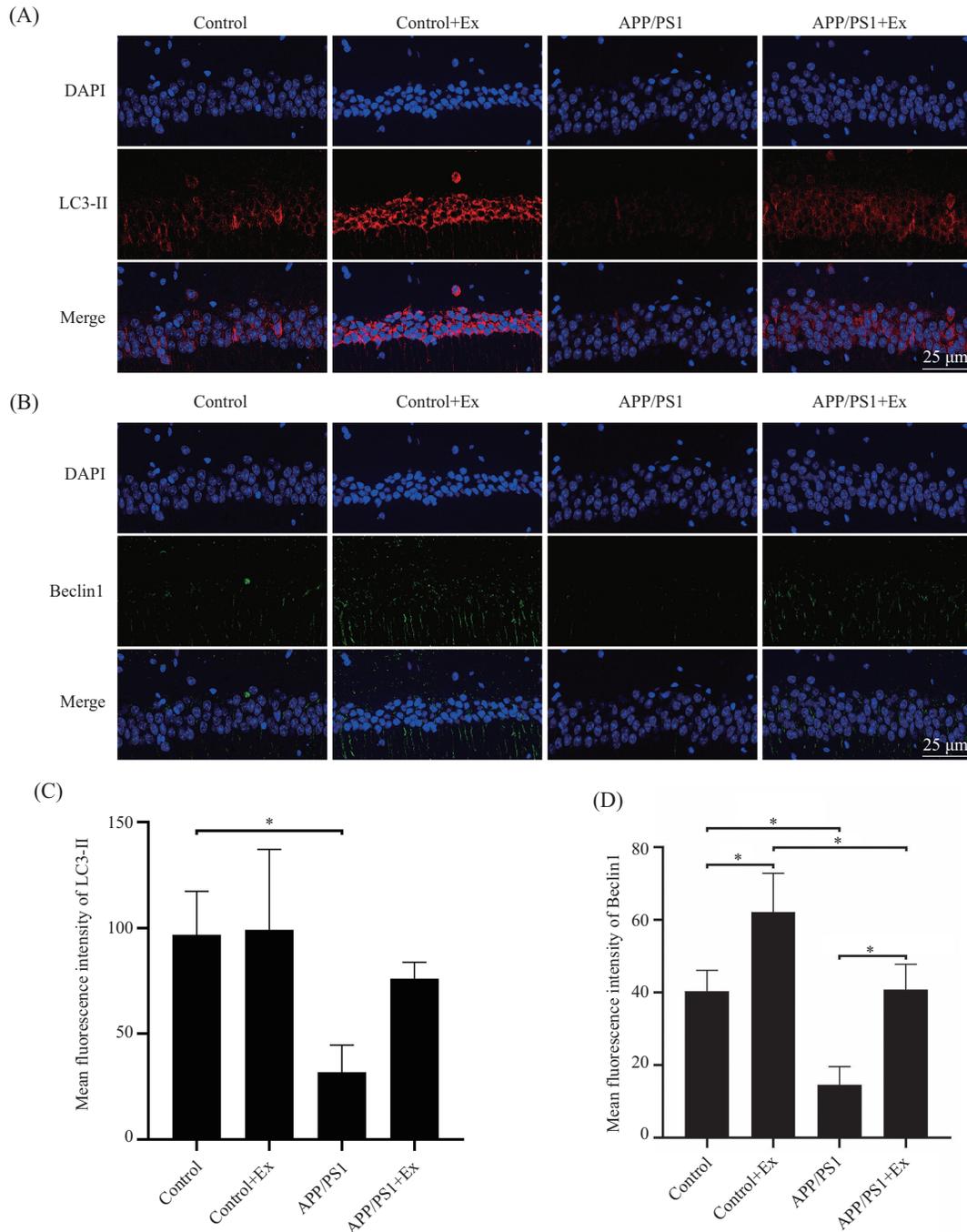
2.6 有氧运动对AD模型小鼠神经元凋亡的影响

TUNEL染色结果(图6)显示:Control组与

Control+Ex组小鼠海马CA1区仅见少量浅染的凋亡细胞,而APP/PS1组则可见大量棕色深染的TUNEL阳性细胞。进一步定量分析结果发现(表1),与Control组相比,APP/PS1组TUNEL阳性细胞数量显著增加($P<0.05$);而与APP/PS1组相比,APP/PS1+Ex组阳性细胞数则显著减少($P<0.05$);APP/PS1+Ex组及Control+Ex组分别与Control组比较,均无明显差异。

2.7 有氧运动对AD模型小鼠海马组织AMPK、ULK1、PI3K、AKT、mTOR、Beclin1和LC3-II蛋白表达的影响

通过Western blot定量检测AMPK/ULK1和



A: 各组小鼠海马CA1区LC3-II免疫荧光染色代表性图像; B: 各组小鼠海马CA1区Beclin1免疫荧光染色代表性图像; C: LC3-II免疫荧光染色定量分析; D: Beclin1免疫荧光染色定量分析。* $P < 0.05$ 。n=3。

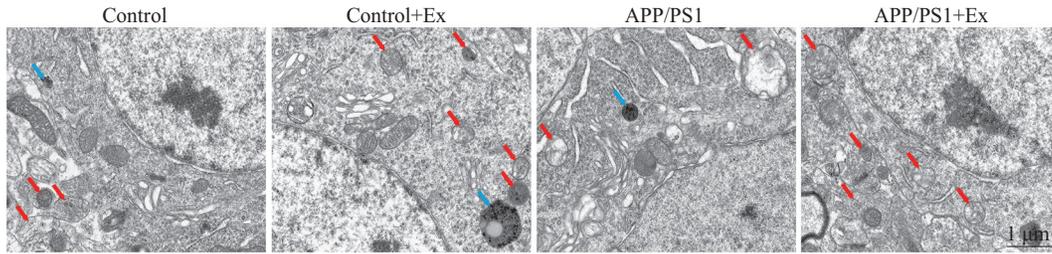
A: representative immunofluorescence staining images of LC3-II in the hippocampal CA1 region of mice from each group; B: representative immunofluorescence staining images of Beclin1 in the hippocampal CA1 region of mice from each group; C: quantitative analysis of LC3-II immunofluorescence staining; D: quantitative analysis of Beclin1 immunofluorescence staining. * $P < 0.05$. n=3.

图4 小鼠自噬相关蛋白LC3-II、Beclin1的表达情况

Fig.4 Expression of autophagy-related proteins LC3-II and Beclin1 in mice

PI3K/AKT/mTOR信号通路相关蛋白及自噬标志物的表达水平, 结果(图7)显示: APP/PS1组与Control组相比, AMPK($P < 0.01$)、ULK1($P < 0.05$)、PI3K($P < 0.05$)、AKT($P < 0.05$)和mTOR($P < 0.01$)

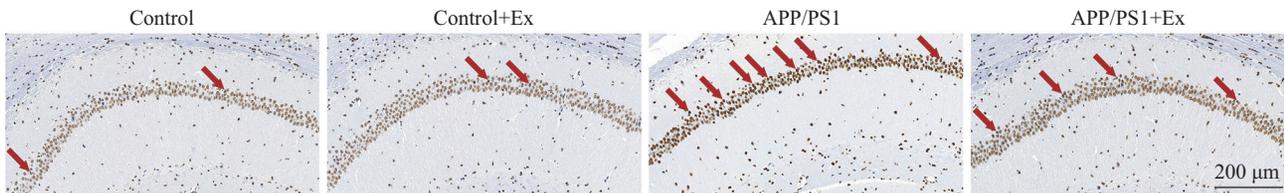
的表达水平显著降低, 同时Beclin1($P < 0.01$)和LC3-II($P < 0.05$)的表达水平也显著降低; 与APP/PS1组相比, APP/PS1+Ex组AMPK($P < 0.05$)、mTOR($P < 0.05$)、ULK1($P < 0.05$)、PI3K($P < 0.05$)、



图中红色箭头表示自噬体, 蓝色箭头表示溶酶体。n=3。

Red arrows indicate autophagosomes; blue arrows indicate lysosomes. n=3.

图5 海马组织电镜检测结果
Fig.5 Results of electron microscopy of hippocampal tissue



图中红色箭头表示TUNEL阳性凋亡细胞。

Red arrows indicate TUNEL-positive apoptotic cells.

图6 小鼠海马CA1区TUNEL染色图
Fig.6 TUNEL staining in the mouse hippocampal CA1 region

表1 TUNEL阳性细胞计数
Table 1 TUNEL-positive cell count

组别 Group	阳性细胞计数百分比/% Percentage of positive cells /%
Control	18.20±29.11
Control+Ex	7.49±7.78
APP/PS1	55.96±10.44*
APP/PS1+Ex	22.18±12.06 [#]

* $P < 0.05$, 与Control组相比; [#] $P < 0.05$, 与APP/PS1组相比。n=3, $\bar{x} \pm s$ 。

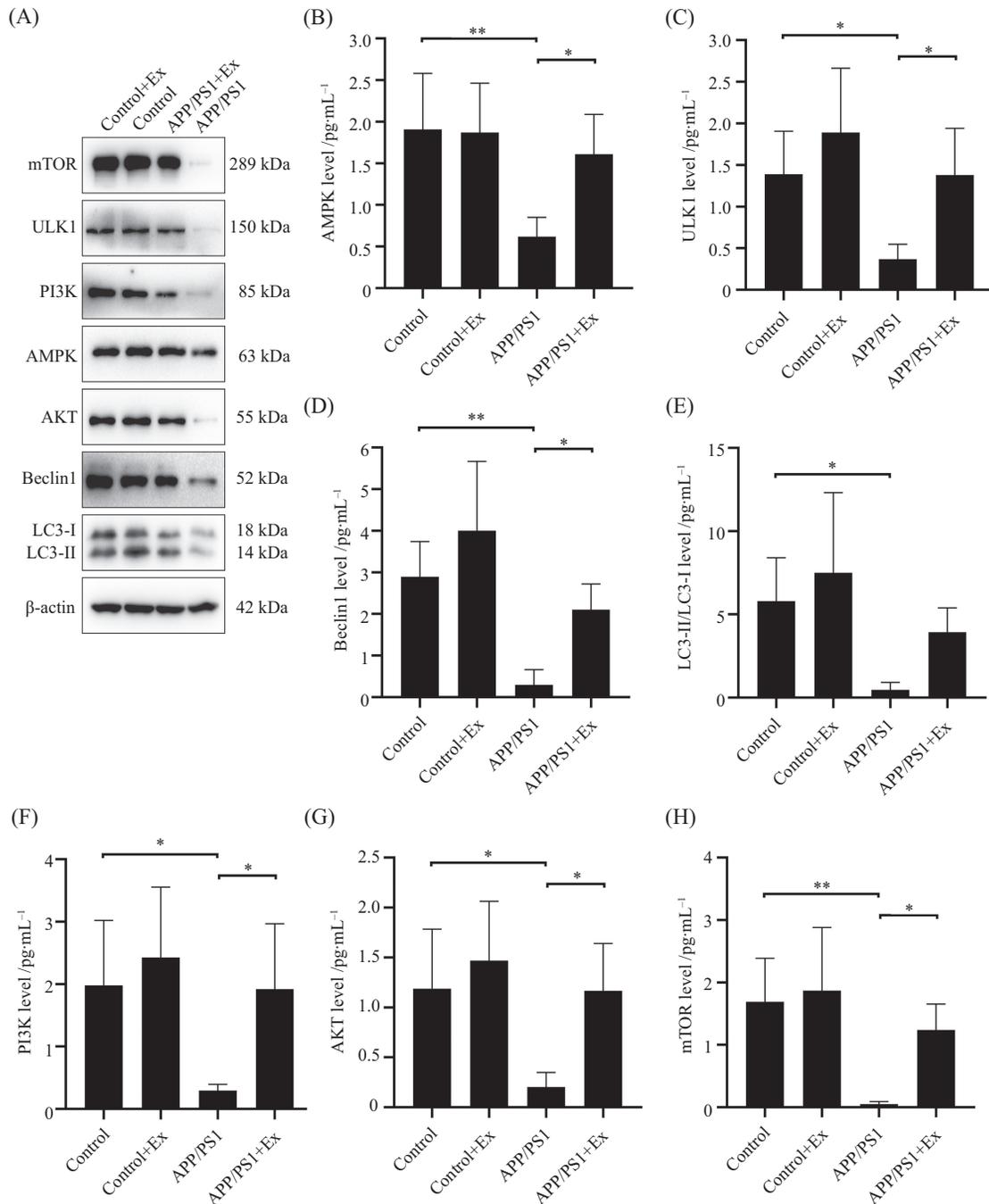
* $P < 0.05$ compared with Control group; [#] $P < 0.05$ compared with APP/PS1 group. n=3, $\bar{x} \pm s$.

AKT($P < 0.05$)和Beclin1($P < 0.05$)表达水平显著升高。APP/PS1+Ex组与Control组相比, 各蛋白表达水平虽有下降趋势, 但无明显差异。Control+Ex组与Control组组间各蛋白表达水平均无明显差异。

3 讨论

A β 产生和清除失衡是AD中神经元变性和痴呆发生的关键始动病理机制, 其可触发Tau蛋白过度磷酸化、炎症反应、神经元凋亡等一系列下游病理过程。A β 作为机体正常代谢产物, 由 β -分泌酶和 γ -分泌酶协同水解APP生成, 在生理状态下其产生和清除维持动态平衡。然而在AD进程中, 衰老等因素导致APP代谢异常, A β 清除能力下降, 引发A β 异常

沉积并形成具有神经毒性的聚集体。A β 存在A β 40和A β 42两种主要亚型: 传统观点认为A β 42因疏水性更强, 更容易聚集形成老年斑, 毒性较高; 近年研究表明, A β 40聚集形成的可溶性寡聚体同样具有强大的神经毒性, 能够诱导细胞凋亡, 导致神经元大量死亡^[15-16]。多项干预研究提示, 调控相关信号通路可能影响A β 代谢与认知功能。房国梁等^[11]发现, 8月龄APP/PS1转基因小鼠经8周跑台有氧运动后, 其脑内A β 40和A β 42蛋白含量显著降低, 其机制可能与PI3K/AKT信号通路激活相关。在MARY等^[17]的实验中, 使用二甲双胍处理3xTgAD模型小鼠可降低A β 水平, 同时伴随AMPK/ULK1信号通路的活性增强以及自噬活性提升。此外, SONG等^[18]、LLOYD



A: 各组小鼠海马区AMPK/ULK1、PI3K/AKT/mTOR通路相关蛋白以及Beclin1、LC3-II蛋白条带图; B: AMPK表达定量分析; C: ULK1表达定量分析; D: Beclin1表达定量分析; E: LC3-II表达定量分析; F: PI3K表达定量分析; G: AKT表达定量分析; H: mTOR表达定量分析。* $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。n=6。
A: Western blot bands of AMPK/ULK1 and PI3K/AKT/mTOR pathways-associated proteins, Beclin1 and LC3-II proteins in the hippocampal region of mice from each group; B: quantitative analysis of AMPK expression; C: quantitative analysis of ULK1 expression; D: quantitative analysis of Beclin1 expression; E: quantitative analysis of LC3-II expression; F: quantitative analysis of PI3K expression; G: quantitative analysis of AKT expression; H: quantitative analysis of mTOR expression. * $P<0.05$, ** $P<0.01$. n=6.

图7 小鼠海马区AMPK/ULK1和PI3K/AKT/mTOR通路相关蛋白以及Beclin1、LC3-II蛋白的表达情况

Fig. 7 Expression of AMPK/ULK1 and PI3K/AKT/mTOR pathways-associated proteins, Beclin1 and LC3-II proteins in the mouse hippocampus

等^[9]研究也表明, 运动干预或天然化合物可通过激活海马区中的PI3K/AKT/mTOR信号通路改善模型小鼠的认知功能。上述研究证据表明, AMPK/ULK1

和PI3K/AKT/mTOR信号通路可能参与了有氧运动的神经保护作用。那么, 有氧运动改善AD认知功能障碍是否通过协同激活这两条通路实现?

APP/PS1转基因小鼠是研究AD病理机制与干预策略的常用动物模型。该模型通过共表达突变的人源PS1基因与人鼠嵌合APP基因,可诱导早发性AD样病理,且在6~7月龄即可检测到A β 蛋白的异常表达。本研究以此模型为对象进行实验。模型对照组小鼠在第3~5天的逃避潜伏期显著长于正常对照组,表明模型小鼠在6月龄时已经出现了空间学习能力的障碍,这与既往研究一致^[20]。本研究还发现,模型运动组在整个实验过程中的逃避潜伏期与正常对照组无显著差异,且从第3天起显著短于模型对照组,这表明8周的有氧运动干预有效逆转了模型小鼠空间学习能力的下降。行为学表现改变与内在的神经病理改变具有一致性,HE和Nissl染色显示,模型对照组小鼠海马神经元表现出典型的神经退行性病变,神经元数量减少、排列松散、尼氏体萎缩、神经元水肿、核染色质固缩等,这些病理改变是模型小鼠海马区功能受损的直接证据。A β 蛋白的生成和清除失衡是AD发病的核心环节,A β 聚集体的毒性作用导致突触功能障碍和神经元死亡^[21]。自噬作为细胞内保守的分解代谢途径,通过巨自噬、分子伴侣介导的自噬和微自噬三种形式共同清除异常蛋白聚集体,以维持细胞稳态^[22]。在AD进程中,自噬功能失调会加剧A β 沉积^[23],而运动等干预手段则可通过激活自噬减少A β 蛋白聚集^[12,24]。本研究发现,6月龄APP/PS1小鼠海马CA1区自噬体和溶酶体数量减少,LC3-II(自噬标志物^[25])与Beclin1(自噬体形成关键蛋白^[26])表达水平亦显著下降,提示其自噬功能受损。JIAN等^[27]的研究发现,12周有氧运动干预可通过改善小鼠的自噬功能,促进A β 清除,缓解AD样病变。在本研究中,8周有氧运动干预后,上述变化得到一定程度逆转,表现为自噬相关结构的数量增加,LC3-II与Beclin1表达上调,自噬活性增强。

本研究还探索了自噬激活的相关通路,之前的研究表明AMPK/ULK1通路的激活可通过磷酸化ULK1直接启动自噬,清除受损细胞器与蛋白聚集体以维持代谢平衡^[28-29]。本研究显示,运动干预后的自噬水平升高,并伴随AMPK/ULK1信号通路的激活,这与既往研究一致。YANG等^[30]和WANG等^[31]报道,某些天然产物可通过抑制PI3K/AKT/mTOR信号通路以激活自噬,延缓AD的病程。然而,在本研究中自噬功能的增强却伴随着PI3K/AKT/mTOR信号通路表达的上调,提示该信号通路对自噬的调控可能受AMPK/ULK1信号

通路的影响。我们推测,mTOR通过磷酸化ULK1(如Ser757位点)抑制其活性以阻止自噬的启动,而AMPK则通过竞争性磷酸化ULK1以调节自噬的活性。我们的结果表明,在APP/PS1模型小鼠中LC3-II的表达水平显著下降,而8周有氧运动能够上调其表达,由于AMPK/ULK1和PI3K/AKT/mTOR信号通路同时被激活,LC3-II的表达水平虽有上调,但并未达到显著的趋势。这说明,运动对于自噬的激活可能存在一定的上限,以抑制其过度激活。

自噬与凋亡共同调控细胞内稳态,在正常情况下自噬可抑制凋亡启动,而凋亡相关蛋白也会限制自噬过程^[32]。但在特殊情况下,过度自噬与自噬相关蛋白表达的上调可能促进细胞凋亡,甚至引发自噬性细胞死亡^[33-34]。在许多情况下,自噬是细胞适应和应对应激的途径。各种因素对细胞产生的影响会先刺激自噬,这是细胞为抵御轻度应激而启动的一种适应性反应。在AD早期,适度自噬有利于清除病理蛋白,延缓疾病进展。然而,当自噬的强度或持续时间超过某一阈值时,则可激活凋亡程序^[35]。XU等^[36]研究表明,激活PI3K/AKT/mTOR信号通路可抑制神经元凋亡,发挥神经保护作用。与此一致的是,本研究中TUNEL染色结果显示,8周有氧运动激活的PI3K/AKT/mTOR信号通路可在一定程度上抑制凋亡。诱导自噬的传统策略(如抑制PI3K/AKT/mTOR信号通路)虽可促进A β 清除,但也可能因同时激活凋亡而对神经元造成额外损伤。本研究进一步揭示,运动干预的独特优势在于调节AMPK/ULK1通路增强自噬的同时仍维持mTOR信号通路的基础活性,从而避免了传统自噬激活剂(如mTOR抑制剂)因过度抑制mTOR信号通路引发的认知损害与神经元死亡风险。这种“自噬激活和凋亡抑制”的双效应机制,使得运动成为更具安全性的AD治疗策略,兼具A β 清除与存活促进双重功能。

综上所述,有氧运动通过调控APP/PS1小鼠海马CA1区内的AMPK/ULK1与PI3K/AKT/mTOR两大信号通路,激活了自噬级联反应,显著减少了病理性的A β 蛋白沉积,同时促进了神经元细胞的存活与功能恢复,最终有效提升了模型小鼠的认知功能表现。有氧运动在AD防治中展现出显著的神经保护作用,通过自噬激活与抗凋亡的双重机制,为延缓AD病理进程提供了科学的非药物干预策略。然而,本研究仍存在一些局限性。首先,本研究仅为观察性研究,虽然发现运动后AMPK/ULK1与PI3K/AKT/mTOR

信号通路相关蛋白表达上调, 但并未通过基因敲除或者通路特异性抑制剂干预以验证这两条通路在运动改善认知过程中的必要性, 因此无法确定它们是否为运动改善认知的关键调控轴。其次, 未深入探究两条通路之间的交互机制, 具体的协同和拮抗机制不明。此外, 运动干预是否通过上游分子(如鸢尾素)调控这两条通路, 亦有待进一步验证。未来研究可通过通路特异性干预, 结合转录组、蛋白组等多组学方法, 提供更加明确的运动干预AD的实验证据。

参考文献 (References)

- [1] DUBOIS B, VILLAIN N, FRISONI G B, et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: recommendations of the International Working Group [J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20(6): 484-96.
- [2] 王刚, 齐金蕾, 刘馨雅, 等. 中国阿尔茨海默病报告2024[J]. 诊断学理论与实践(WANG G, QI J L, LIU X Y, et al. China Alzheimer report 2024 [J]. *Journal of Diagnostics Concepts & Practice*), 2024, 23: 219-56.
- [3] GRAFF-RADFORD J, YONG K X X, APOSTOLOVA L G, et al. New insights into atypical Alzheimer's disease in the era of biomarkers [J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20(3): 222-34.
- [4] 周冰原, 朱才丰, 陈晓宇, 等. 基于lncRNA-RP4介导的Wnt/ β -catenin通路探讨艾灸督脉调控自噬抗阿尔茨海默病机制研究[J]. 中国针灸(ZHOU B Y, ZHU C F, CHEN X Y, et al. Based on the lncRNA-RP4-mediated Wnt/ β -catenin pathway, to investigate the mechanism of moxibustion on the governor vessel in regulating autophagy against Alzheimer's disease [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*), 2025, doi: 10.13703/j.0255-2930.20250309-k0001.
- [5] PAQUET C, NICOLL J A, LOVE S, et al. Downregulated apoptosis and autophagy after anti-A β immunotherapy in Alzheimer's disease [J]. *Brain Pathol*, 2018, 28(5): 603-10.
- [6] KUMARI S, DHAPOLA R, REDDY D H. Apoptosis in Alzheimer's disease: insight into the signaling pathways and therapeutic avenues [J]. *Apoptosis*, 2023, 28(7/8): 943-57.
- [7] LI C, XU H, CHEN X, et al. Aqueous extract of clove inhibits tumor growth by inducing autophagy through AMPK/ULK pathway [J]. *Phytother Res*, 2019, 33(7): 1794-804.
- [8] KOU X, CHEN D, CHEN N. Physical activity alleviates cognitive dysfunction of Alzheimer's disease through regulating the mTOR signaling pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(7): 1591.
- [9] HAO Z, LIU K, ZHOU L, et al. Precious but convenient means of prevention and treatment: physiological molecular mechanisms of interaction between exercise and motor factors and Alzheimer's disease [J]. *Front Physiol*, 2023, 14: 1193031.
- [10] 雷森林, 陈平, 谌晓安. 运动调控BDNF表达改善阿尔茨海默病的潜在作用机制研究进展[J]. 中国细胞生物学学报(LEI S L, CHEN P, CHEN X A. Research progress on the potential mechanisms of exercise regulating BDNF expression to improve Alzheimer's disease [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*), 2024, 46(6): 1303-16.
- [11] 房国梁, 赵杰修, 张滴, 等. 有氧运动通过增强PI3K/Akt信号通路活性抑制阿尔茨海默症小鼠大脑皮质和海马组织老年斑的形成[J]. 中国体育科技(FANG G L, ZHAO J X, ZHANG L, et al. Aerobic exercise inhibits the formation of senile plaques by enhancing the activity of PI3K/Akt signaling pathway in the cortex and hippocampus of Alzheimer's disease mice [J]. *China Sport Science and Technology*), 2019, 55(1): 22-7,74.
- [12] 牟连伟, 韩鹏, 杨运杰. 运动干预调控海马神经元自噬改善阿尔茨海默病模型小鼠学习记忆障碍[J]. 解剖学报(MOU L W, HAN P, YANG Y J. Exercise intervention alleviating learning and memory dysfunction of Alzheimer's disease model mice through modulating autophagy of hippocampal neurons [J]. *Acta Anatomica Sinica*), 2024, 55(5): 533-40.
- [13] 王春晓, 姚远, 李丽, 等. 基于转录组学与代谢组学的有氧运动改善大鼠阿尔茨海默病作用机制研究[J]. 中国康复医学杂志(WANG C X, YAO Y, LI L, et al. Mechanistic study on the improvement of aerobic exercise on Alzheimer's disease in rats based on transcriptomics and metabolomics [J]. *Chinese Journal of Rehabilitation Medicine*), 2025, 40(8): 1129-36.
- [14] 夏杰, 赵娜, 王璟, 等. 有氧运动对APP/PS1小鼠海马内质网应激-细胞自噬偶联的影响[J]. 体育科学(XIA J, ZHAO N, WANG J, et al. Effects of aerobic exercise on endoplasmic reticulum stress and autophagy coupling in hippocampus of APP/PS1 mice [J]. *China Sport Science*), 2022, 42(8): 55-65.
- [15] CIOFFI F, ADAM R H I, BROERSEN K. Molecular mechanisms and genetics of oxidative stress in Alzheimer's disease [J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2019, 72(4): 981-1017.
- [16] MULLANE K, WILLIAMS M. Alzheimer's disease beyond amyloid: can the repetitive failures of amyloid-targeted therapeutics inform future approaches to dementia drug discovery [J]? *Biochem Pharmacol*, 2020, 177: 113945.
- [17] MARY A, BARALE S, EYSERT F, et al. Hampered AMPK-ULK1 cascade in Alzheimer's disease (AD) instigates mitochondria dysfunctions and AD-related alterations which are alleviated by metformin [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2025, 17(1): 127.
- [18] SONG L, YAO L, ZHANG L, et al. Schizandrol A protects against A β ₁₋₄₂-induced autophagy via activation of PI3K/AKT/mTOR pathway in SH-SY5Y cells and primary hippocampal neurons [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2020, 393(9): 1739-52.
- [19] LLOYD B A, HAKE H S, ISHIWATA T, et al. Exercise increases mTOR signaling in brain regions involved in cognition and emotional behavior [J]. *Behav Brain Res*, 2017, 323: 56-67.
- [20] LOK K, ZHAO H, SHEN H, et al. Characterization of the APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease in senescence accelerated background [J]. *Neurosci Lett*, 2013, 557 Pt B: 84-9.
- [21] HAASS C, SELKOE D J. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(2): 101-12.
- [22] ZHANG Z, YANG X, SONG Y Q, et al. Autophagy in Alzheimer's disease pathogenesis: therapeutic potential and future perspectives [J]. *Ageing Res Rev*, 2021, 72: 101464.
- [23] LEE J H, YANG D S, GOULBOURNE C N, et al. Faulty autolysosome acidification in Alzheimer's disease mouse models induces autophagic build-up of A β in neurons, yielding senile plaques [J]. *Nat Neurosci*, 2022, 25(6): 688-701.
- [24] SHEN K, LIU X, CHEN D, et al. Voluntary wheel-running exercise attenuates brain aging of rats through activating miR-130a-mediated autophagy [J]. *Brain Res Bull*, 2021, 172: 203-11.
- [25] HE C, BASSIK M C, MORESI V, et al. Exercise-induced BCL2-

- regulated autophagy is required for muscle glucose homeostasis [J]. *Nature*, 2012, 481(7382): 511-5.
- [26] EL-SAYED N E T, BADR ELDIN N M, ELRAHMAN SWEILAM M A, et al. The role of autophagy-related markers Beclin-1, LC3, and P62 in the pathogenesis of immune thrombocytopenia in children [J]. *J Thromb Haemost*, 2025, 23(10): 3362-9.
- [27] JIAN Y, YUAN S, YANG J, et al. Aerobic exercise alleviates abnormal autophagy in brain cells of APP/PS1 mice by upregulating AdipoR1 levels [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(17): 9921.
- [28] BACKER J M. The intricate regulation and complex functions of the class III phosphoinositide 3-kinase Vps34 [J]. *Biochem J*, 2016, 473(15): 2251-71.
- [29] YANG Y, KLIONSKY D J. An AMPK-ULK1-PIKFYVE signaling axis for PtdIns5P-dependent autophagy regulation upon glucose starvation [J]. *Autophagy*, 2021, 17(10): 2663-4.
- [30] YANG C Z, WANG S H, ZHANG R H, et al. Neuroprotective effect of astragaloside via activating PI3K/Akt-mTOR-mediated autophagy on APP/PS1 mice [J]. *Cell Death Discov*, 2023, 9(1): 15.
- [31] WANG C, ZHANG X, TENG Z, et al. Downregulation of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in curcumin-induced autophagy in APP/PS1 double transgenic mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 740: 312-20.
- [32] MARIÑO G, NISO-SANTANO M, BAEHRECKE E H, et al. Self-consumption: the interplay of autophagy and apoptosis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(2): 81-94.
- [33] DENTON D, NICOLSON S, KUMAR S. Cell death by autophagy: facts and apparent artefacts [J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19(1): 87-95.
- [34] YUAN J, KROEMER G. Alternative cell death mechanisms in development and beyond [J]. *Genes Dev*, 2010, 24(23): 2592-602.
- [35] GALLUZZI L, AARONSON S A, ABRAMS J, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes [J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(8): 1093-107.
- [36] XU Z H, LI Y, PI P L, et al. *B. glomerulata* promotes neuroprotection against ischemic stroke by inhibiting apoptosis through the activation of PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. *Phytomedicine*, 2024, 132: 155817.