



干扰素调节因子7介导有氧运动调节衰老小鼠 脑学习记忆功能的机制研究*

郑闽燕** 黄晓涵** 魏昌玲 张媛婷 金 毓 李 雪***

(成都体育学院运动医学与健康学院, 成都 641418)

摘要 **目的** 探讨有氧运动通过干扰素调节因子7 (IRF7) 改善衰老小鼠海马神经炎症及学习记忆能力机制。**方法** 选用60只C57BL/6J雄性SPF级小鼠, 2月龄30只, 12月龄30只, 分别随机分为青年对照组(C组, $n=15$)、青年运动组(CE组, $n=15$)和衰老对照组(A组, $n=15$)、衰老运动组(AE组, $n=15$)。采用有氧运动干预8周。巴恩斯迷宫和Y迷宫评估小鼠学习记忆能力; 透射电子显微镜(TEM)观察海马突触超微结构; 蛋白质印迹法(Western blot)检测Janus激酶1(JAK1)、磷酸化Janus激酶1(p-JAK1)、信号转导与转录激活因子1(STAT1)、磷酸化信号转导与转录激活因子1(p-STAT1)及突触后致密蛋白95(PSD95)的蛋白质表达水平; 免疫荧光染色法检测离子钙结合衔接分子1(IBA1)荧光强度; 酶联免疫吸附分析(ELISA)检测干扰素- α (IFN- α)、干扰素- β (IFN- β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-1 β (IL-1 β)的表达水平; 实时荧光定量PCR(qRT-PCR)测定IRF7 mRNA的表达量; DNA甲基化检测分析IRF7基因甲基化水平。**结果** A组小鼠学习记忆能力显著降低($P<0.0001$), 海马突触结构受损, PSD95表达降低, JAK1、STAT1及其磷酸化水平升高($P<0.05$), IFN- α 、IFN- β 、TNF- α 、IL-1 β 显著升高($P<0.001$), IRF7 mRNA表达增加($P<0.0001$), IRF7启动子CpG甲基化率降低($P<0.05$), IBA1阳性表达增强。AE组上述指标较A组均有改善($P<0.05$), 学习记忆能力显著提升, 海马突触超微结构改善。**结论** 有氧运动可上调IRF7启动子区甲基化, 下调mRNA及蛋白质表达, 降低下游IFN-I/JAK1/STAT1通路的激活, 减轻神经炎症, 改善衰老小鼠学习记忆能力, 缓解脑衰老相关表型。

关键词 运动, 脑衰老, 干扰素调节因子7, 学习记忆

中图分类号 Q5, R180.5770

DOI: 10.3724/j.pibb.2026.0286

CSTR: 32369.14.pibb.20260286

当前人口老龄化进程正以前所未有的速度推进。2020年, 中国60岁以上人口占18%, 80岁以上人口占2.5%, 预计到2050年将分别升至39%和10%^[1]。脑衰老是老龄化进程中最突出的表现之一, 其中年龄相关的认知功能下降尤为显著, 以学习记忆障碍最为常见^[2], 严重损害老年人身心健康与生活质量, 成为亟待解决的公共卫生问题。海马是学习记忆功能的关键脑区, 海马结构与功能的增龄性改变, 主要表现为神经元损伤、树突分支及树突棘密度下降、突触数量减少, 伴随突触相关蛋白表达下调。而突触可塑性作为学习记忆的基本机制, 其增龄性下降是脑衰老引发认知障碍的核心病理基础^[3-4]。

随年龄增长, 基因组整体DNA甲基化水平呈下降趋势^[5]。神经炎症与DNA甲基化作为脑衰老

进程中的核心调控因素, 通过双向交互形成的恶性循环共同参与并推动脑衰老的发生发展^[6-7]。衰老大脑中存在以小胶质细胞(microglia, MG)持续活化、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)等促炎因子长期低水平释放为特征的慢性低度神经炎症, 可通过氧化应激耗竭甲基供体、干扰DNA甲基转移酶与去甲基化酶功能、重塑染色质结构等途径诱导基因组整体低甲基化与局部基因启动子异常甲基化的表观遗传失衡^[6, 8]。DNA甲基化异常一

* 运动医学四川省重点实验室项目(KYTD2605)资助。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

Tel: 028-85093745, E-mail: lixue2078@126.com

收稿日期: 2026-05-23, 接受日期: 2026-08-25

方面激活促炎基因、沉默抗炎基因,另一方面锁定小胶质细胞促炎表型,反向加重神经炎症。两者协同可直接损伤神经元,破坏突触可塑性与血脑屏障,并促进 β 淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)沉积和 τ 蛋白(tau protein)过度磷酸化,最终引发学习记忆功能下降,神经退行性疾病的发病风险会显著增加^[6, 9-10]。

干扰素调节因子7(interferon regulatory factor 7, IRF7)作为多功能转录因子,是I型干扰素(type I interferon, IFN-I)表达的关键调控因子,同时参与炎症及自身免疫性疾病进展,可调控IL-6、IL-33、TNF- α 等多种含干扰素刺激反应元件(interferon-stimulated response element, ISRE)序列的炎症细胞因子表达,促进炎症反应^[11-13]。在神经炎症相关疾病中,IRF7发挥重要调控作用。创伤性脑损伤小鼠模型中,IRF7表达升高可激活小胶质细胞,加剧神经炎症,而阻断IRF7通路可减轻炎症反应、改善认知功能^[14];IRF7敲除小鼠的IL-6及成纤维细胞促纤维化因子表达降低,炎症反应显著减轻^[15];同时,IRF7可促进巨噬细胞M1型极化,增强促炎反应,且小胶质细胞从M2型向M1型表型转化过程中IRF7表达显著升高^[16]。IFN-I作为多效性促炎细胞因子,是大脑老化的重要标记物,也是肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)、额颞叶痴呆(frontotemporal dementia, FTD)、阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)等神经退行性疾病的关键病理特征,其过度表达与年龄相关性神经炎症发展及认知功能下降密切相关^[17]。抑制IFN-I信号转导可降低老年脑中促炎细胞因子表达,增加脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)表达,缓解认知功能衰退^[18]。Janus激酶-信号转导和转录激活因子(JAK-STAT)通路是IFN-I信号转导的核心通路,其过度激活可诱导衰老细胞释放大量衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP),引发DNA损伤及组织微环境炎症,加速个体衰老及相关疾病发生,而阻断该通路可有效延缓衰老^[19-22]。IFN-I的产生依赖IRF7调控,IRF7可通过激活JAK-STAT通路驱动促炎反应,促进TNF- α 、IL-6、IL-1 β 等炎性细胞因子分泌^[23-24]。值得注意的是,IRF7在脑衰老中的意义不仅限于炎症通路启动,有研究证实,IRF7为运动调控网络

与帕金森病病理进程共享的线粒体相关核心基因^[25]。与此同时,IRF7异常活化还参与AD、急性脑损伤等多种中枢神经系统疾病的发生发展,在脑衰老进程的细胞稳态调控中发挥多重生物学作用^[26-27]。

运动作为一种安全、绿色、无不良反应的外源性干预方式,在中枢神经系统保护与脑衰老干预中具有独特优势。大量研究证实,规律有氧运动可显著抑制脑组织过度炎症应答、抑制小胶质细胞异常活化,降低TNF- α 、IL-6等促炎因子水平,缓解中枢神经炎症微环境损伤,同时可通过上调海马树突棘密度、增强突触结构稳定性、促进长时程增强(long-term potentiation, LTP)形成,有效改善海马突触的可塑性^[28-30]。衰老是持续发展的生理过程,规律运动可发挥良好的预防作用,有效放缓机体衰老节奏,进而改善老年个体学习记忆能力并预防神经退行性疾病发生。基于本课题组前期转录组测序发现,运动干预会影响小鼠海马IRF7变化,改善衰老小鼠学习记忆能力^[31-32]。然而,目前关于IRF7在运动干预改善脑衰老小鼠学习记忆能力中的具体作用机制尚不明确。本研究聚焦IRF7,探讨其在有氧运动干预下对衰老小鼠海马神经炎症和学习记忆能力的作用机制,并为运动延缓脑衰老、延缓认知功能衰退提供新的理论依据和潜在靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

本研究选择12月龄C57BL/6J小鼠作为衰老研究对象,该月龄对应人类约40~50岁^[33]。12月龄小鼠虽尚未进入老龄晚期,但已启动渐进性自然衰老进程,表现为海马组织衰老相关基因显著上调、小胶质细胞过度活化及轻度神经炎症,并伴有可检出的空间学习记忆衰退,呈现典型早期脑衰老表型^[34]。人脑认知功能在45岁后衰退速度明显加快^[35-36]。本研究聚焦于运动干预对认知衰退的延缓作用,若选用月龄过大的小鼠,其退行性病变已相对固化,难以有效评估运动干预对脑衰老的调控效应。因此,本研究选择在认知功能急剧衰退前实施干预。

选用60只C57BL/6J雄性无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级小鼠,2月龄30只,12月龄30只,购自成都达硕实验动物有限公司(生产许可证号:SCXK(川)2025-0030,成都,中国),饲养于成都体育学院运动医学SPF动

物实验室。动物适应性喂养1周后, 2月龄小鼠和12月龄小鼠分别随机分为: 青年对照组 (C组, $n=15$)、青年运动组 (CE组, $n=15$) 和衰老对照组 (A组, $n=15$)、衰老运动组 (AE组, $n=15$)。小鼠饲养条件为4只/笼, 12 h的亮/暗循环, 温度维持在22~26℃, 相对湿度控制在40%~60%之间, 自由摄取食物和饮水。本研究由成都体育学院实验动物伦理委员会审批 (成体伦理 [2025] 231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, 跑台坡度为0°, 共进行为期8周的运动训练。第1天以6 m/min, 30 min; 递增至第5天12 m/min, 60 min; 自第6天开始以12 m/min, 60 min的运动方案 (表1) 至第8周运动结束^[37]。

Table 1 Exercise intervention protocol for the exercise group of mice

Day	1	2	3	4	5	6		56
Speed/(m·min ⁻¹)	6	8	10	10	12	12		12
t/min	30	45	60	60	60	60		60

1.3 样本的采集与处理

行为学实验结束次日, 对所有小鼠腹腔注射1%戊巴比妥钠 (剂量50 mg/kg) 进行麻醉, 迅速断头取脑。每组随机取3只小鼠全脑置于多聚甲醛 (paraformaldehyde, PFA) 固定液中固定, 后续切片用于免疫荧光检测; 每组随机取3只小鼠全脑放入2.5%戊二醛溶液中留存, 以供透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 观察脑组织超微结构; 每组其余9只小鼠分离获得的海马组织分装至冻存管, 经液氮速冻后转入-80℃冰箱保存, 用于后续蛋白质印迹法 (Western blot)、酶联免疫吸附分析 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、实时荧光定量反转录-聚合酶链式反应 (quantitative real-time reverse transcription-polymerase chain reaction, qRT-PCR)、甲基化分子生物学相关检测。

1.4 学习记忆功能相关指标检测

1.4.1 行为学检测小鼠学习记忆能力

a. 巴恩斯迷宫实验

采用巴恩斯迷宫实验评估小鼠空间学习和记忆能力。包括4 d学习和1 d测试。在学习阶段, 将小鼠置于巴恩斯迷宫的中央区域, 并用深色盒子覆盖30 s, 随后移开盒子, 让小鼠在迷宫中自由探索180 s, 直至其找到暗箱; 若小鼠未能在规定时间

内定位暗箱, 需手动引导其进入暗箱并使其停留60 s以加强记忆, 若小鼠在停留期间离开暗箱, 需再次引导其返回暗箱, 直至完成60 s的停留时间。进行4次/d训练, 连续4 d记录各组小鼠找到暗箱所需的时间, 评估其空间学习与记忆能力的变化。第5天进入测试环节, 此时将暗箱堵住, 让小鼠在90 s内自由探索, 并记录小鼠找到暗箱所需的时间。

b. Y 迷宫实验

Y 迷宫由起始臂、新异臂、其他臂三个臂组成, 三个臂的夹角为120°。第一阶段训练10 min (关闭新异臂), 间隔1 h后进行5 min自由探索测试, 记录在新异臂的探索时间与路程。

1.4.2 TEM检测海马神经元突触超微结构

取小鼠脑组织样本, 于4℃下用2.5%戊二醛前固定过夜, 再用1%锇酸后固定2 h。经丙酮系列梯度脱水后, 用环氧树脂Epon812进行渗透与包埋。制备半薄切片 (1 μm), 甲苯胺蓝染色后于光镜下定位目标区域。在此基础上, 用超薄切片机切取60~90 nm超薄切片, 捞置于铜网上。切片经醋酸铀和柠檬酸铅双染色后, 于室温干燥。最后, 使用JEM-1400FLASH TEM进行观察并采集图像。

1.4.3 免疫荧光检测海马IBAI阳性小胶质细胞

石蜡切片经二甲苯及梯度酒精脱蜡至水。采用pH 6.0柠檬酸盐缓冲液进行微波热修复以暴露抗原。使用3% H₂O₂溶液室温孵育25 min以猝灭内源性过氧化物酶活性, PBS洗涤后, 以牛血清白蛋白室温封闭30 min。滴加离子钙结合衔接分子1 (ionized calcium-binding adapter molecule 1, IBA1) (Proteintech, 10904-1-AP, 1:200) 一抗工作液, 4℃湿盒内孵育过夜。PBS洗涤后, 滴加相应种属的荧光标记二抗 (Servicebio, 1:200), 37℃避光孵育30 min。再次PBS洗涤后, 以4',6-二脒基-2-苯基吲哚 (4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 染液室温孵育10 min对细胞核进行复染。PBS最终洗涤后, 使用抗荧光猝灭封片剂封片, 于荧光显微镜下观察并采集图像。

1.4.4 蛋白质印迹法检测IRF7/JAK1/STAT1通路及PSD95蛋白表达

取适量组织, 按质量体积加入RIPA裂解液, 冰上匀浆。裂解液于4℃静置30 min后, 12 000g离心15 min, 收集上清。采用BCA法测定总蛋白质浓度。使用SDS-PAGE凝胶电泳分离蛋白质, 上样量为20~40 μg。电泳条件为浓缩胶80 V恒压,

进入分离胶后改为120 V恒压。采用湿转法将蛋白质转移至PVDF膜, 200 mA恒流, 2 h。转膜完成后, 用5%脱脂牛奶室温封闭1 h。分别与下列一抗在4°C下孵育过夜: IRF7 (Proteintech, 22392-1-AP, 1:2 000)、JAK1 (Proteintech, 66466-1-Ig, 1:2 000)、STAT1 (Proteintech, 66545-1-Ig, 1:5 000)、P-JAK1 (Affinity, AF2012, 1:2 000)、P-STAT1 (Affinity, AF3299, 1:2 000)、GAPDH (Affinity, AF7021, 1:5 000)、 β -actin (Affinity, AF7018, 1:5 000)。含吐温-20的三羟甲基氨基甲烷缓冲盐水 (Tris-Buffered Saline with Tween-20, TBST) 漂洗后, 加入相应HRP标记的二抗 (anti-rabbit-Proteintech, RGAR001, 1:3 000、anti-mouse-HUABTO, HA1006, 1:20 000), 室温孵育1 h。经TBST充分洗涤, 使用ECL化学发光试剂显影曝光。以ImageJ软件分析目标条带灰度值, 以内参进行归一化处理, 计算目的蛋白质的相对表达量。

1.4.5 ELISA检测海马炎症因子水平

取组织样本, 按重量体积比1:9加入预冷的匀浆介质, 冰上研磨制备10%组织匀浆。匀浆液经3 000~4 000 r/min离心10 min后, 收集上清, 于4°C保存待测。严格按照试剂盒说明书进行操作: 于酶标板孔中分别加入100 μ l系列浓度标准品及待测样本, 37°C孵育90 min。弃去液体, 加入100 μ l/孔生物素化抗体工作液, 37°C继续孵育60 min。洗涤液清洗3次后, 加入100 μ l酶结合物工作液, 37°C孵育30 min。再次洗涤5次, 加入90 μ l/孔TMB底物溶液, 37°C避光显色15~30 min。最后加入50 μ l/孔终止液终止反应, 立即使用酶标仪在450 nm波长下测定各孔吸光度值。根据标准曲线计算样品中目标蛋白质的浓度。

1.4.6 qRT-PCR检测IRF7 mRNA表达水平

采用Trizol法提取组织总RNA, 通过核酸定量仪测定其浓度与纯度。使用gDNA去除试剂盒处理RNA以消除基因组DNA污染。随后, 利用逆转录试剂盒, 以1 μ g总RNA为模板合成cDNA。实时荧光定量PCR反应体系为20 μ l, 包含cDNA模板、SYBR Green Master Mix及特异性引物。反应程序为: 95°C预变性30 s; 95°C变性5 s, 55°C退火/延伸30 s, 共进行40个循环。以GAPDH为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因IRF7的相对表达量, 结果以GAPDH进行标准化。引物序列如下: IRF7: forward 5'-GAGCGAAGAGAGCGAAGA-

GG-3', reverse 5'-GGCCCACAGTAGATCCAA-GC-3'。

1.4.7 DNA甲基化检测

取25~50 mg海马组织, 经液氮研磨后, 使用DNA提取试剂盒获取基因组DNA。采用EZ DNA Methylation-Gold™ Kit进行亚硫酸氢盐转化处理: 将DNA与CT转换试剂于98°C 10 min、64°C 2.5 h条件下进行转化, 随后通过Zymo-Spin IC柱纯化回收转化后的DNA。针对IRF7基因启动子区CpG岛, 设计特异性亚硫酸氢盐测序PCR (bisulfite sequencing PCR, BSP) 引物进行PCR扩增。扩增产物纯化后, 送交测序。将所得序列文件导入在线分析工具QUMA, 以分析各CpG位点的甲基化状态及比例。

1.5 统计学分析

采用SPSS26.0统计软件进行数据分析, GraphPad Prism 9.0软件进行作图, 结果以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 行为学数据使用双因素重复测量方差分析, 其余数据使用单因素方差分析, 采用LSD法进行事后检验, $P<0.05$ 表示具有显著的统计学意义。

2 结 果

2.1 运动干预改善脑衰老小鼠的学习记忆能力

巴恩斯迷宫实验结果显示, 在连续4 d的学习阶段, 所有组小鼠的逃避潜伏期均随训练进展逐渐缩短 (图1)。与C组相比, 运动对照组 (CE组) 各时间点潜伏期均无显著差异 ($P>0.05$)。A组小鼠在第1~4天的潜伏期均显著长于C组 ($P<0.000 1$)。8周运动干预显著改善了模型小鼠的空间学习能力: 与A组相比, 运动干预组 (AE组) 小鼠的潜伏期在第1天即显著缩短 ($P<0.05$), 第2天差异进一步增大 ($P<0.01$), 至第3~4天时差异极为显著 ($P<0.000 1$)。在第5天的空间探索测试中, A组小鼠的潜伏期仍显著长于C组 ($P<0.000 1$), 而AE组小鼠的潜伏期较A组显著缩短 ($P<0.000 1$)。

Y迷宫实验测试显示, 相较于C组, CE组小鼠在新异臂的探索时间显著增加 ($P<0.05$)、新异臂探索路程无显著差异 ($P>0.05$), A组均显著降低 ($P<0.000 1$), 而运动干预后即AE组在新异臂的探索时间、探索路程均显著增加 ($P<0.000 1$) (图2)。

2.2 运动干预可改善衰老小鼠海马突触结构

TEM检测结果 (图3) 显示: C组小鼠海马区

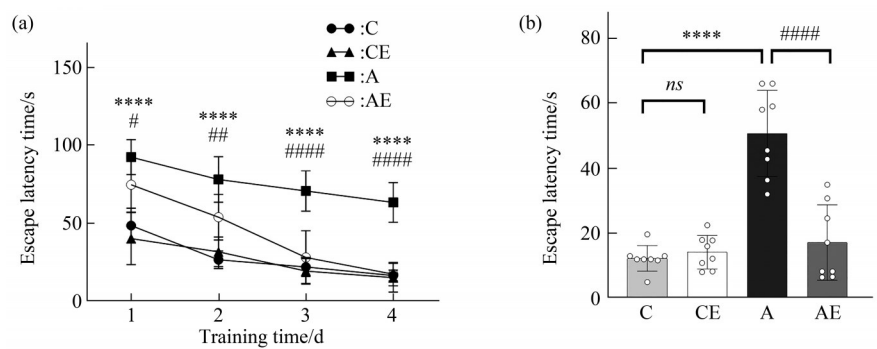


Fig. 1 Barnes maze test results

(a) Escape latency of mice in each group during the learning phase from day 1 to day 4;(b) escape latency of mice in each group during the probe test on day 5. Compared with group C, **** $P<0.0001$; compared with group A, # $P<0.05$, ## $P<0.01$, #### $P<0.0001$. ns: no significance. $n=8$.

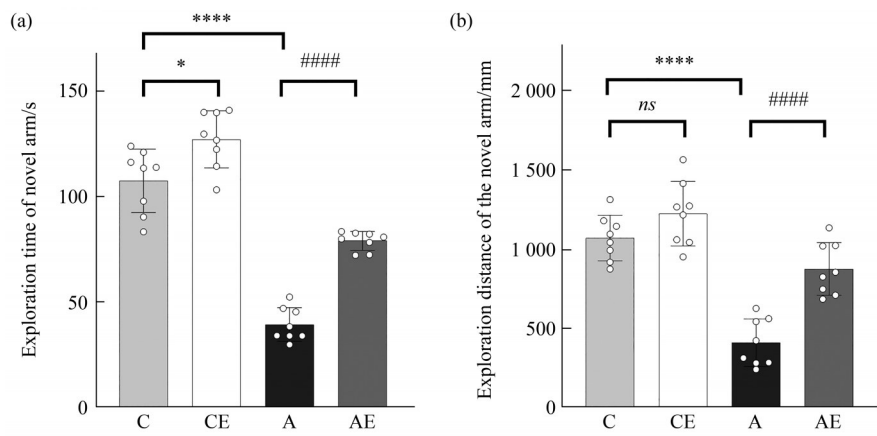


Fig. 2 Y-maze test results

(a) Exploration time in the novel arm of mice in each group; (b) exploration distance in the novel arm of mice in each group. Compared with group C, * $P<0.05$, **** $P<0.0001$; compared with group A, #### $P<0.0001$; ns: no significance. $n=8$.

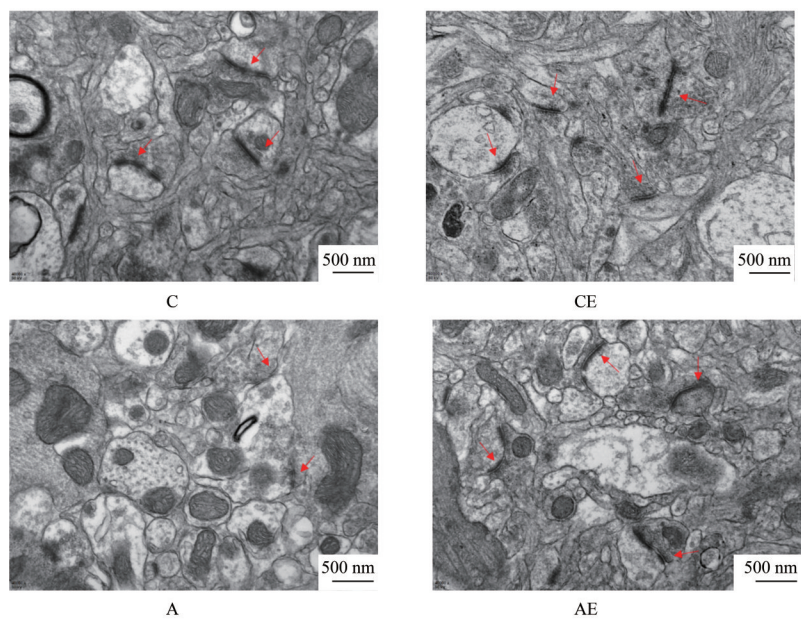


Fig. 3 Ultrastructure of hippocampal synapses in each group of mice

The red arrows indicate the morphological structures of the presynaptic membrane, postsynaptic membrane, synaptic cleft, and postsynaptic density.

突触间隙清晰, 突触结构完整, 膜有明显的致密物质分布, CE组小鼠的海马突触结构与C组相比无明显变化; A组小鼠的海马突触前膜与后膜界限模糊, 突触数量与突触后致密物质明显减少, 与之相比AE组小鼠的海马突触数量有所增加, 突触结构清晰且完整, 突触间隙基本恢复正常, 突触后致密物质增多。

2.3 运动干预调控 IRF7/JAK1/STAT1 通路及 PSD95 蛋白表达

Western blot 检测 (图4) 结果, 与C组比, CE组小鼠海马中 IRF7、JAK1、STAT1、p-JAK1、p-STAT1 及 PSD95 蛋白表达量无显著性差异 ($P>0.05$), A组 IRF7、JAK1、STAT1、p-JAK1、p-STAT1 蛋白表达量显著增加 ($P<0.05$, $P<0.05$,

$P<0.05$, $P<0.001$, $P<0.01$), PSD95 蛋白表达量显著减少 ($P<0.05$); 与A组相比, AE组 IRF7、JAK1、STAT1、p-JAK1、p-STAT1 蛋白表达量显著减少 ($P<0.05$, $P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.01$, $P<0.01$), PSD95 蛋白表达量显著增加 ($P<0.01$)。

2.4 运动干预显著降低衰老小鼠的神经炎症反应

免疫荧光技术检测小胶质细胞 (IBA1) 阳性细胞数及荧光强度 (图5, 6)。与C组相比, A组小鼠海马CA1区 IBA1 荧光强度显著增加, 具有统计学意义 ($P<0.05$), CE组小鼠海马CA1区 IBA1 荧光强度无明显变化, 不具有统计学意义 ($P>0.05$); 与A组相比, AE组小鼠海马CA1区 IBA1 荧光强度显著降低, 具有统计学意义 ($P<0.05$)。

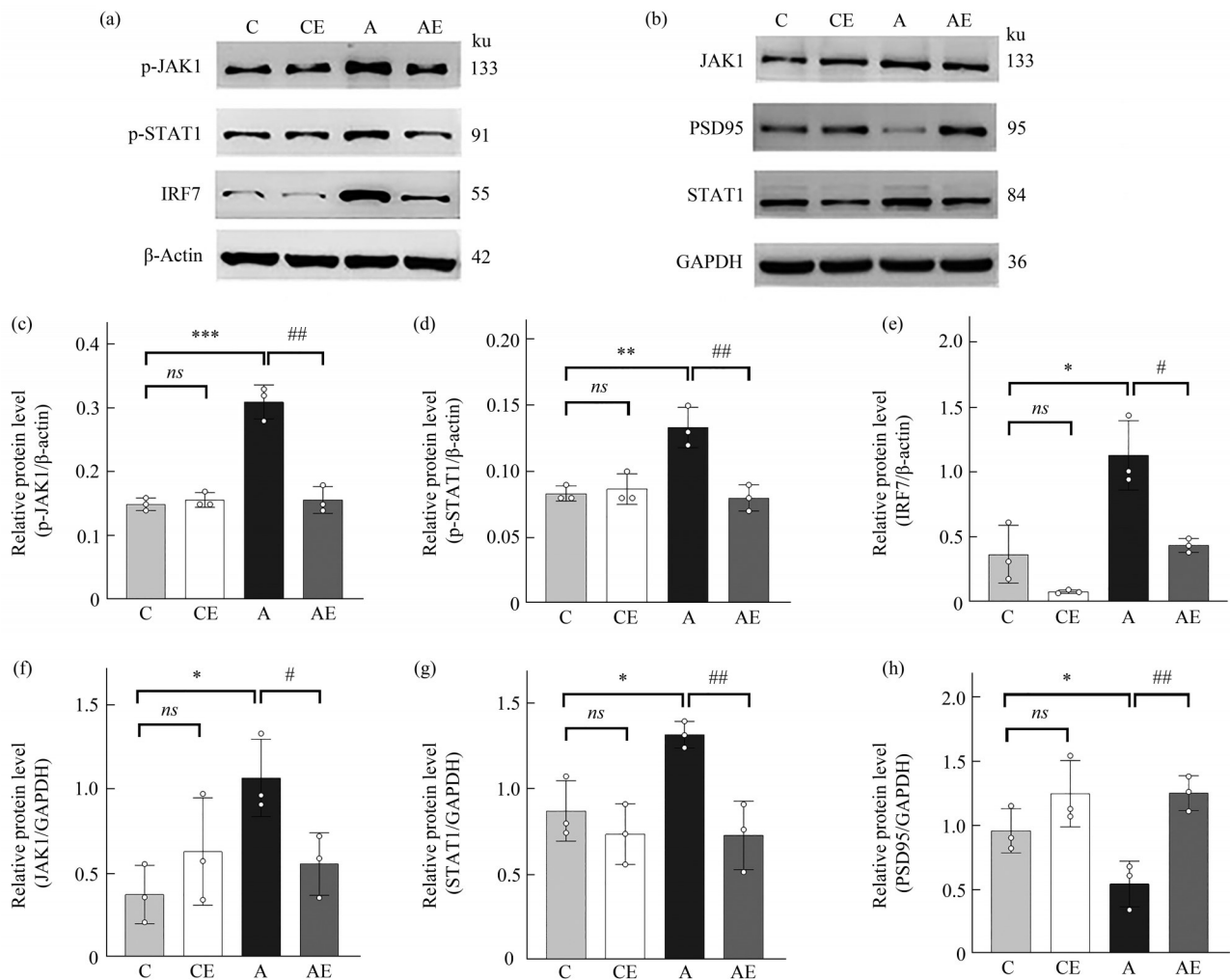


Fig. 4 Hippocampal Western blot results and quantitative analysis in each group

(a, b) Western blot bands; (c) relative expression of p-JAK1 protein; (d) relative expression of p-STAT1 protein; (e) relative expression of IRF7 protein; (f) relative expression of JAK1 protein; (g) relative expression of STAT1 protein; (h) relative expression of PSD95 protein. Compared with group C, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$; compared with group A, # $P<0.05$, ## $P<0.001$. ns: no significance. $n=3$.

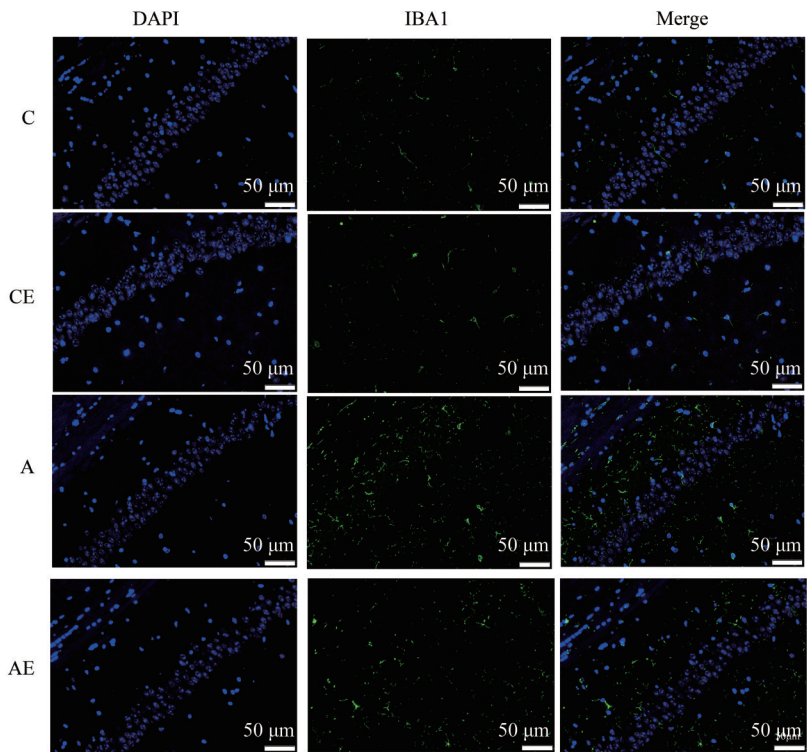


Fig. 5 IBA1 immunofluorescence images of the hippocampus in mice of each group

Images were acquired using a 20× objective (total magnification 200×), with a scale bar of 50 μm uniformly applied to all panels.

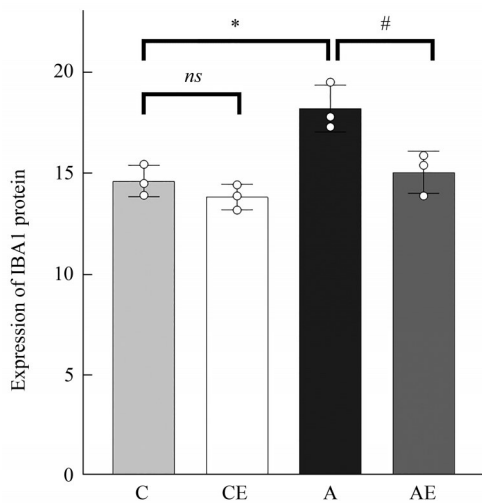


Fig. 6 Mean immunofluorescence intensity of IBA1 in the hippocampus of mice in each group

Compared with group C, * $P < 0.05$; compared with group A, # $P < 0.05$. ns: no significance. $n = 3$.

ELISA 检测各组小鼠海马 IFN- α 、IFN- β 、促炎细胞因子 (TNF- α 、IL-1 β) 的表达 (图 7)。与 C 组相比, CE 组小鼠 IFN- α 、IFN- β 、TNF- α 的表达均无显著性变化 ($P > 0.05$), CE 组小鼠 IL-1 β 的表

达显著减少 ($P < 0.001$), A 组小鼠 IFN- α 、IFN- β 、TNF- α 、IL-1 β 的表达显著增加 ($P < 0.001$, $P < 0.0001$, $P < 0.001$, $P < 0.0001$); 与 A 组相比, AE 组小鼠 IFN- α 、IFN- β 、TNF- α 、IL-1 β 的表达显著下降 ($P < 0.0001$, $P < 0.0001$, $P < 0.001$, $P < 0.0001$)。

2.5 运动干预对脑衰老小鼠海马 *IRF7* mRNA 表达的影响

RT-PCR 实验结果 (图 8) 显示: 与 C 组相比, CE 组小鼠海马 *IRF7* mRNA 表达无显著差异 ($P > 0.05$), A 组 *IRF7* mRNA 表达显著增加 ($P < 0.0001$); 经过 8 周有氧运动干预后, 与 A 组相比, AE 组 *IRF7* mRNA 表达显著减少 ($P < 0.0001$)。

2.6 运动干预显著提高脑衰老小鼠 *IRF7* 基因 DNA 甲基化水平

根据 *IRF7* 的 CpG 位点甲基化检测结果, 计算出甲基化率 (图 9, 10)。可与 C 组相比, CE 组 *IRF7* 的 CpG 位点甲基化率无显著变化 ($P > 0.05$), A 组 *IRF7* 的 CpG 位点甲基化率显著降低 ($P < 0.05$); 运动干预 8 周后, 与 A 组相比, AE 组 *IRF7* 的 CpG 位点 DNA 甲基化率显著升高 ($P < 0.05$)。图 10 为部

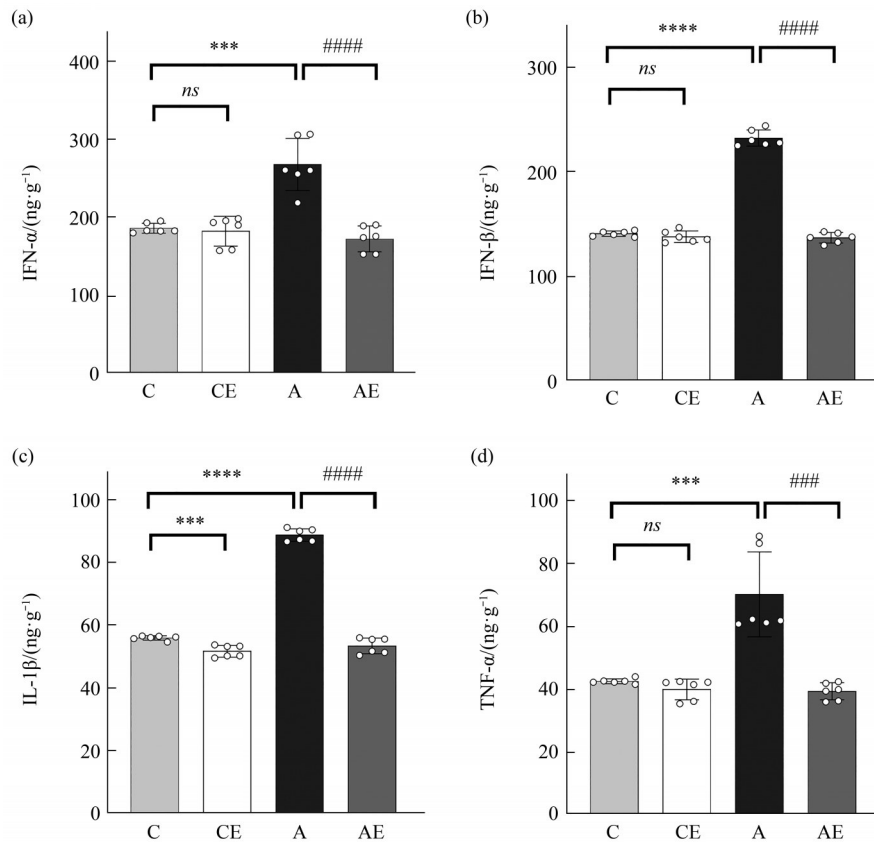


Fig. 7 ELISA test results of hippocampal inflammatory factors in mice of each group

(a) Hippocampal IFN- α level; (b) hippocampal IFN- β level; (c) hippocampal IL-1 β level; (d) hippocampal TNF- α level. Compared with group C, *** P <0.001, **** P <0.000 1; compared with group A, ### P <0.001, #### P <0.000 1. ns: no significance. n =6.

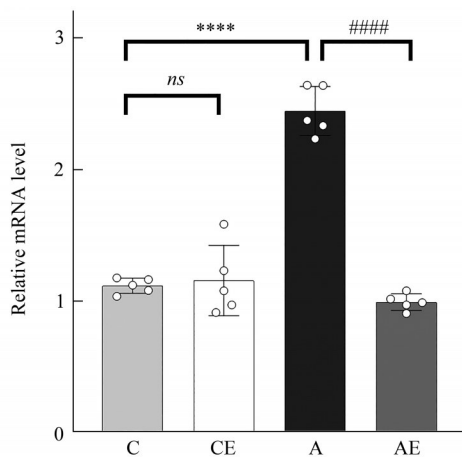


Fig. 8 Relative *IRF7* mRNA levels in the hippocampus of mice in each group

Compared with group C, **** P <0.000 1; compared with group A, #### P <0.000 1. ns: no significance. n =5.

CE组低, AE组IRF7的CpG位点DNA甲基化个数明显比A组高, 以上结果说明, 有氧运动干预可以上调IRF7基因DNA甲基化水平。

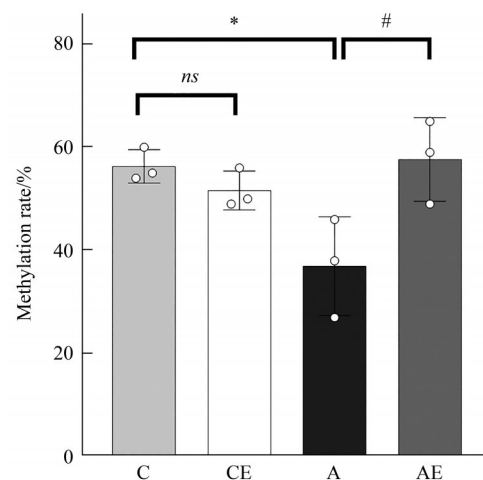


Fig. 9 CpG site methylation rate of IRF7

Compared with group C, * P <0.05; compared with group A, # P <0.05. ns: no significance. n =3.

分IRF7的CpG位点甲基化状态, 图中可以看出A组IRF7的CpG位点DNA甲基化个数明显比C组和

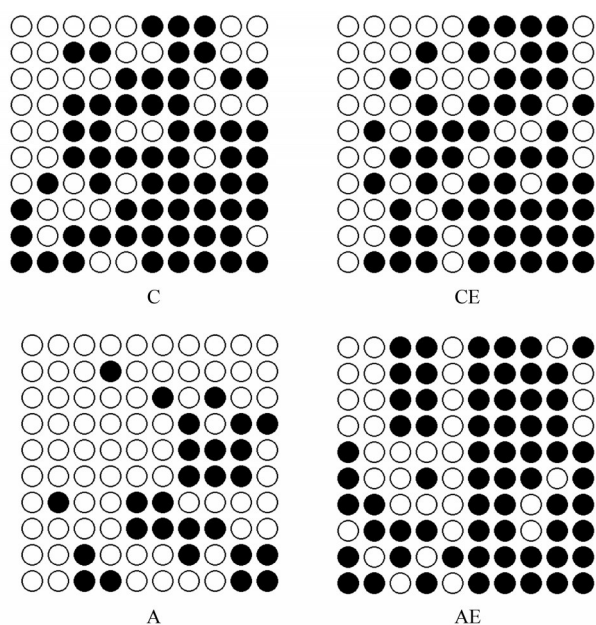


Fig. 10 Methylation status of partial CpG sites

3 讨 论

3.1 有氧运动对脑衰老小鼠学习记忆能力的影响

巴恩斯迷宫实验中, 各组小鼠进行4 d训练及1 d测试, 随训练天数增加, 4组小鼠平均逃避潜伏期均呈下降趋势。其中A组逃避潜伏期显著长于C组; 8周有氧运动干预后, AE组逃避潜伏期显著低于A组, 提示衰老导致小鼠学习记忆能力下降, 而有氧运动可改善其学习记忆能力。此外, CE组与C组逃避潜伏期无显著差异, 说明相同强度有氧运动对不同年龄小鼠影响不同, 对衰老小鼠的改善作用更显著。Y迷宫实验中, 与C组相比, CE组小鼠新异臂探索时间显著增加 ($P<0.05$), 探索路程无显著差异 ($P>0.05$), 而A组两者均显著降低 ($P<0.0001$); 8周有氧运动干预后, AE组新异臂探索时间、路程均显著增加 ($P<0.0001$), 进一步证实有氧运动可改善衰老小鼠空间学习记忆功能, 且对衰老小鼠的影响优于青年小鼠。为探究其机制, TEM及蛋白质印迹法实验显示, C组小鼠海马突触间隙清晰、突触致密物明显; A组突触前后膜界限不清、突触后致密物减少; AE组突触数量增加、结构恢复正常, CE组与C组无明显差异。蛋白质印迹法检测发现, A组PSD95蛋白表达显著下降 ($P<0.05$), AE组显著增加 ($P<0.01$), CE组与C组无显著差异。上述结果表明, 有氧运动与衰

老小鼠海马突触结构修复、突触可塑性增强及学习记忆功能改善存在密切关联, 提示有氧运动可能通过影响突触结构和可塑性来发挥其改善作用。

3.2 有氧运动对衰老小鼠海马神经炎症的影响

神经炎症与衰老密切相关, 小胶质细胞过度激活释放的促炎细胞因子会损害学习记忆功能, 有氧运动可通过抑制小胶质细胞激活、减轻神经炎症发挥作用^[38-39]。免疫荧光检测海马CA1区小胶质细胞标志物IBA1显示, 与C组相比, A组IBA1荧光强度显著升高 ($P<0.05$), CE组无明显变化 ($P>0.05$); AE组较A组显著降低 ($P<0.05$), 提示衰老加剧神经炎症, 8周有氧运动可抑制衰老小鼠小胶质细胞过度激活。ELISA检测海马TNF- α 、IL-1 β (标志性促炎细胞因子) 显示, A组两者表达较C组显著升高 ($P<0.001$), AE组较A组显著下降 ($P<0.001$); CE组TNF- α 无显著变化 ($P>0.05$), 但IL-1 β 显著减少 ($P<0.001$), 提示有氧运动可通过下调促炎细胞因子减轻衰老小鼠神经炎症, 且IL-1 β 对运动响应更敏感。

3.3 有氧运动对脑衰老小鼠IRF7及其分子机制的影响

神经炎症过度激活是脑衰老进程中最核心的病理特征之一, 也是介导认知功能损伤、加速脑功能衰退的关键诱因。IRF7是干扰素调节因子家族的核心转录因子, 可通过IFN-I及其下游信号级联反应, 主导神经炎症的发生与发展。IRF7可直接启动IFN- α 、IFN- β 等IFN-I因子的转录与分泌, 分泌的IFN-I进一步结合细胞膜表面IFNAR受体, 激活胞内JAK1-STAT1信号通路, 继而反向促进IRF7的表达上调, 形成IRF7-IFN-I正反馈调控回路。该回路的持续异常激活会大量诱导促炎细胞因子释放, 加剧小胶质细胞过度活化与中枢神经炎症浸润, 最终引发认知功能衰退。这一调控模式与既往研究中IRF7参与炎症相关疾病及神经退行性疾病的机制一致^[40-41]。本研究实验结果证实, 与青年组小鼠相比, 脑衰老小鼠海马组织中IRF7 mRNA及蛋白质表达显著升高, IFN- α 、IFN- β 含量明显增加, JAK1、STAT1及其磷酸化蛋白表达水平也显著上调。上述结果提示, 脑衰老状态下IRF7-IFN-I/JAK1-STAT1通路处于过度激活状态, 该通路的异常活化是衰老小鼠神经炎症加剧、学习记忆能力受损的重要分子机制。而经过8周有氧运动干预后, 衰老小鼠海马区IRF7的mRNA及蛋白质表达均显著降低, IFN- α 、IFN- β 水平同步下降,

JAK1、STAT1 及其磷酸化蛋白表达也明显下调,表明有氧运动可有效抑制 IRF7-IFN-I/JAK1-STAT1 通路活化,进而减轻神经炎症,这与转录组测序结果相互印证,提示 IRF7 可能是有氧运动干预脑衰老的潜在靶点之一。

DNA 甲基化作为经典表观遗传调控方式,其异常改变与脑衰老及基因表达调控密切相关,既往研究表明 IRF7 表达受甲基化水平调控,其启动子区低甲基化会显著促进自身表达^[42-44]。BSP 实验结果显示,衰老小鼠海马 IRF7 基因 CpG 位点甲基化率显著低于青年小鼠,与 IRF7 表达升高的结果一致,提示 IRF7 甲基化水平降低可能是脑衰老时其表达上调的重要原因;而 8 周有氧运动干预可显著提高衰老小鼠 IRF7 基因 CpG 位点甲基化率,进一步阐明了有氧运动可通过上调 IRF7 甲基化水平、抑制 IRF7 异常表达,进而发挥拮抗脑衰老、缓解神经炎症的保护作用。

3.4 研究局限

本研究所有数据均来自小鼠运动干预前后的表型与分子观测,未开展针对 IRF7 的基因功能干预实验,如海马区特异性敲低或过表达,或启动子 CpG 甲基化逆转操作。仅初步建立 IRF7-IFN-I/JAK1/STAT1 通路运动改善认知之间的关联性证据。未来可以通过更深入的研究以建立更严谨的因果证据链,明确当 IRF7 基因被抑制或者激活时,运动降低衰老小鼠海马神经炎症反应,改善学习记忆能力的有益作用是否仍存在。

4 结 论

有氧运动可降低衰老小鼠海马促炎细胞因子表达水平,减轻神经炎症反应,同时减少小胶质细胞的过度激活,从而改善衰老小鼠海马突触结构,提高衰老小鼠的空间学习记忆能力。有氧运动可伴随 IRF7 启动子区高甲基化及其 mRNA 和蛋白质表达下调,减少该基因对下游/JAK1/STAT1 通路的激活,这可能是有氧运动降低衰老小鼠神经炎症,改善衰老小鼠学习记忆能力,延缓脑衰老的机制之一。

数据可用性声明 本篇论文的关联数据 (DOI: 10.57760/sciencedb.00zyh; CSTR: 31253.11.sciencedb.00zyh) 可在科学数据银行 (Science Data Bank) 数据库通过以下永久标识符获取: <https://doi.org/10.57760/sciencedb.00zyh> 及 <https://cstr.cn/31253.11.sciencedb.00zyh>。

参 考 文 献

- [1] Fang E F, Fang Y, Chen G, *et al.* Adapting health, economic and social policies to address population aging in China. *Nat Aging*, 2025, **5**(11): 2176-2187
- [2] Lee J, Kim H J. Normal aging induces changes in the brain and neurodegeneration progress: review of the structural, biochemical, metabolic, cellular, and molecular changes. *Front Aging Neurosci*, 2022, **14**: 931536
- [3] Navakkode S, Kennedy B K. Neural ageing and synaptic plasticity: prioritizing brain health in healthy longevity. *Front Aging Neurosci*, 2024, **16**: 1428244
- [4] Navakkode S, Liu C, Soong T W. Altered function of neuronal L-type calcium channels in ageing and neuroinflammation: Implications in age-related synaptic dysfunction and cognitive decline. *Ageing Res Rev*, 2018, **42**: 86-99
- [5] Wang K, Liu H, Hu Q, *et al.* Epigenetic regulation of aging: implications for interventions of aging and diseases. *Sig Transduct Target Ther*, 2022, **7**(1): 374
- [6] Seddon A R, MacArthur C P, Hampton M B, *et al.* Inflammation and DNA methylation in Alzheimer's disease: mechanisms of epigenetic remodelling by immune cell oxidants in the ageing brain. *Redox Rep*, 2024, **29**(1): 2428152
- [7] Baechle J J, Chen N, Makhijani P, *et al.* Chronic inflammation and the hallmarks of aging. *Mol Metab*, 2023, **74**: 101755
- [8] Carrillo-Jimenez A, Deniz Ö, Niklison-Chirou M V, *et al.* TET2 regulates the neuroinflammatory response in microglia. *Cell Rep*, 2019, **29**(3): 697-713.e8
- [9] Ma Y, Wang W, Liu S, *et al.* Epigenetic regulation of neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Cells*, 2023, **13**(1): 79
- [10] Villa C, Combi R. Epigenetics in Alzheimer's disease: a critical overview. *Int J Mol Sci*, 2024, **25**(11): 5970
- [11] Sin W X, Yeong J P, Lim T J F, *et al.* IRF-7 mediates type I IFN responses in endotoxin-challenged mice. *Front Immunol*, 2020, **11**: 640
- [12] Sweeney S E. Targeting interferon regulatory factors to inhibit activation of the type I IFN response: implications for treatment of autoimmune disorders. *Cell Immunol*, 2011, **271**(2): 342-349
- [13] Sun L, Zhu Z, Cheng N, *et al.* Serum amyloid A induces interleukin-33 expression through an IRF7-dependent pathway. *Eur J Immunol*, 2014, **44**(7): 2153-2164
- [14] Somebang K, Rudolph J, Imhof I, *et al.* CCR2 deficiency alters activation of microglia subsets in traumatic brain injury. *Cell Rep*, 2021, **36**(12): 109727
- [15] Wu M, Skaug B, Bi X, *et al.* Interferon regulatory factor 7 (IRF7) represents a link between inflammation and fibrosis in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*, 2019, **78**(11): 1583-1591
- [16] Chen L, Dai M, Zuo W, *et al.* NF- κ B p65 and SETDB1 expedite lipopolysaccharide-induced intestinal inflammation in mice by inducing IRF7/NLR-dependent macrophage M1 polarization. *Int*

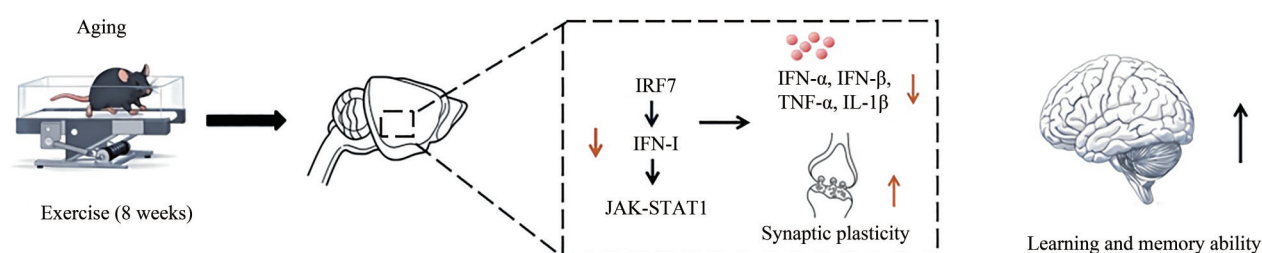
- Immunopharmacol, 2023, **115**: 109554
- [17] Deczkowska A, Matcovitch-Natan O, Tsitsou-Kampeli A, *et al.* Mef2C restrains microglial inflammatory response and is lost in brain ageing in an IFN-I-dependent manner. *Nat Commun*, 2017, **8**(1): 717
- [18] Baruch K, Deczkowska A, David E, *et al.* Aging. Aging-induced type I interferon response at the choroid plexus negatively affects brain function. *Science*, 2014, **346**(6205): 89-93
- [19] Dodington D W, Desai H R, Woo M. JAK/STAT-emerging players in metabolism. *Trends Endocrinol Metab*, 2018, **29**(1): 55-65
- [20] Johnson D E, O'Keefe R A, Grandis J R. Targeting the IL-6/JAK/STAT3 signalling axis in cancer. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, **15**(4): 234-248
- [21] Xu M, Tchkonina T, Kirkland J L. Perspective: targeting the JAK/STAT pathway to fight age-related dysfunction. *Pharmacol Res*, 2016, **111**: 152-154
- [22] 袁洋, 孙曼婷, 刘静. JAK-STAT 信号通路与衰老及衰老相关疾病. *中国细胞生物学学报*, 2021, **43**(2): 443-450
Yuan Y, Sun M T, Liu J. *Chin J Cell Biol*, 2021, **43**(2): 443-450
- [23] Honda K, Taniguchi T. IRFs: master regulators of signalling by Toll-like receptors and cytosolic pattern-recognition receptors. *Nat Rev Immunol*, 2006, **6**(9): 644-658
- [24] Platanitis E, Decker T. Regulatory networks involving STATs, IRFs, and NFκB in inflammation. *Front Immunol*, 2018, **9**: 2542
- [25] Hu X, Cai Z, Zhou F, *et al.* Identification of the mitochondria-related gene *IRF7* shared by physical exercise and Parkinson's disease and exploration of its potential molecular mechanisms. *PeerJ*, 2026, **14**: e20994
- [26] Fan X, Diao W, Wang H, *et al.* Interferon regulatory factors as a potential therapeutic target for neuroinflammation: a focus on Alzheimer's disease. *Int J Mol Sci*, 2025, **26**(7): 2906
- [27] Li Y, Chen R, Shen G P, *et al.* Delayed CO₂ postconditioning promotes neurological recovery after cryogenic traumatic brain injury by downregulating IRF7 expression. *CNS Neurosci Ther*, 2023, **29**(11): 3378-3390
- [28] Liu L, Tang J, Liang X, *et al.* Running exercise alleviates hippocampal neuroinflammation and shifts the balance of microglial M1/M2 polarization through adiponectin/AdipoR1 pathway activation in mice exposed to chronic unpredictable stress. *Mol Psychiatry*, 2024, **29**(7): 2031-2042
- [29] Lee J M, Sim T H, Kim S H, *et al.* Exercise-induced FNDC5/irisin ameliorates cognitive impairment in aged mice, associated with antioxidant and neurotrophic responses. *Antioxidants (Basel)*, 2025, **14**(10): 1239
- [30] Ribarič S. Physical exercise, a potential non-pharmacological intervention for attenuating neuroinflammation and cognitive decline in Alzheimer's disease patients. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(6): 3245
- [31] 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
- [32] 黄晓涵. 有氧运动通过调控 IRF7 改善衰老小鼠学习记忆能力的表观遗传机制研究[D]. 成都: 成都体育学院, 2025
Huang X H. *Epigenetic Mechanim of Aerobic Exercie Improving Learning and Memory Ablty in Aged Mice by Rgulating IRF7*[D]. Chengdu: Chengdu Sport University, 2025
- [33] Flurkey K, Mcurrer J, Harrison D. Mouse models in aging research//Fox J G. *The Mouse in Biomedical Research*. Amsterdam: Elsevier, 2007: 637-672
- [34] Liu P P, Liu X H, Ren M J, *et al.* Neuronal cathepsin S increases neuroinflammation and causes cognitive decline *via* CX3CL1-CX3CR1 axis and JAK2-STAT3 pathway in aging and Alzheimer's disease. *Aging Cell*, 2025, **24**(2): e14393
- [35] Strittmatter A, Sunde U, Zegners D. Life cycle patterns of cognitive performance over the long run. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, **117**(44): 27255-27261
- [36] Antal B B, van Nieuwenhuizen H, Chesebro A G, *et al.* Brain aging shows nonlinear transitions, suggesting a midlife "critical window" for metabolic intervention. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2025, **122**(10): e2416433122
- [37] Chen K, Zheng Y, Wei J A, *et al.* Exercise training improves motor skill learning *via* selective activation of mTOR. *Sci Adv*, 2019, **5**(7): eaaw1888
- [38] Mela V, Mota B C, Milner M, *et al.* Exercise-induced reprogramming of age-related metabolic changes in microglia is accompanied by a reduction in senescent cells. *Brain Behav Immun*, 2020, **87**: 413-428
- [39] Cheray M, Joseph B. Epigenetics control microglia plasticity. *Front Cell Neurosci*, 2018, **12**: 243
- [40] Qing F, Liu Z. Interferon regulatory factor 7 in inflammation, cancer and infection. *Front Immunol*, 2023, **14**: 1190841
- [41] Minter M R, Main B S, Brody K M, *et al.* Soluble amyloid triggers a myeloid differentiation factor 88 and interferon regulatory factor 7 dependent neuronal type-I interferon response *in vitro*. *J Neuroinflammation*, 2015, **12**: 71
- [42] Zhang Y, Yu Y, Ou C, *et al.* Alleviation of infectious-bursal-disease-virus-induced bursal injury by betaine is associated with DNA methylation in IL-6 and interferon regulatory factor 7 promoter. *Poult Sci*, 2019, **98**(10): 4457-4464
- [43] Rezaei R, Mahmoudi M, Gharibdoost F, *et al.* *IRF7* gene expression profile and methylation of its promoter region in patients with systemic sclerosis. *Int J Rheum Dis*, 2017, **20**(10): 1551-1561
- [44] Roulois D, Yau H L, de Carvalho D D. Pharmacological DNA demethylation: implications for cancer immunotherapy. *Oncoimmunology*, 2016, **5**(3): e1090077

Mechanistic Study on IRF7-mediated Regulation of Learning and Memory Function by Aerobic Exercise in Aged Mice*

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

(School of Sports Medicine and Health, Chengdu Sport University, Chengdu 641418, China)

Graphical abstract



Abstract Objective To explore the mechanism by which aerobic exercise improves hippocampal neuroinflammation and learning and memory ability in brain-aged mice *via* interferon regulatory factor 7 (IRF7). **Methods** A total of 60 male specific pathogen-free (SPF) C57BL/6J mice were enrolled in the experiment, including 30 young mice (2 months old) and 30 naturally aging mice (12 months old). Young mice and old mice were respectively randomly assigned to four groups: young control group (group C, $n=15$), young exercise group (group CE, $n=15$), and aging control group (group A, $n=15$), aging exercise group (group AE, $n=15$). Mice in the exercise groups received an 8-week continuous treadmill aerobic exercise intervention, while control mice were kept under routine feeding without exercise intervention. After the intervention, Barnes maze and Y-maze behavioral tests were performed to comprehensively assess the learning and memory abilities of each group of mice. Transmission electron microscopy was used to observe the ultrastructural morphological changes of hippocampal synapses. Western blot assay was utilized to detect the protein expression and phosphorylation levels of Janus kinase 1 (JAK1), signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1), as well as the expression of postsynaptic density protein 95 (PSD95). Immunofluorescence staining was applied to quantify the fluorescence intensity of ionized calcium-binding adapter molecule 1 (IBA1) in hippocampal tissues. The expression levels of inflammatory cytokines including interferon- α (IFN- α), interferon- β (IFN- β), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) was performed to detect the mRNA expression level of *IRF7*, and DNA

* This work was supported by a grant from Sichuan Key Laboratory of Sports Medicine (KYTD2605).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

Tel: 86-28-85093745, E-mail: lixue2078@126.com

Received: May 23, 2026 Accepted: August 25, 2026

methylation assay was further conducted to analyze the methylation level of the *IRF7* gene in mouse hippocampus. **Results** At the molecular level, compared with group C, the protein expression levels of JAK1, STAT1, p-JAK1, and p-STAT1 in group A were significantly increased ($P<0.05$), whereas PSD95 expression was decreased ($P<0.05$). ELISA assays showed that the levels of IFN- α , IFN- β , TNF- α , and IL-1 β were significantly elevated in group A ($P<0.001$). RT-PCR analysis revealed that, compared with group C, the mRNA expression of *IRF7* in group A was markedly upregulated ($P<0.0001$), while the CpG methylation rate of the *IRF7* promoter was significantly reduced ($P<0.05$). In contrast, all the above parameters in the AE group showed improvements relative to those in group A. Immunofluorescence staining indicated positive IBA1 expression in the brain tissues of group A mice. Exercise intervention reversed these abnormal changes. **Conclusion** In aged mice, aerobic exercise induces hypermethylation of the *IRF7* promoter region, suppresses *IRF7* expression and activation of the downstream IFN-I/JAK1/STAT1 signaling pathway, accompanied by alleviated neuroinflammation, improved learning and memory, and ameliorated brain aging-related phenotypes.

Key words exercise, brain aging, *IRF7*, learning and memory

DOI: 10.3724/j.pibb.2026.0286

CSTR: 32369.14.pibb.20260286