

肠道菌群介导支链氨基酸升高与肥胖相关认知障碍的关系

刘锐, 刘奕彤, 孙乐妍, 郭洋

(江汉大学医学部 认知与情感障碍湖北省重点实验室 湖北省医学实验教学示范中心 武汉 430056)

摘要 目的: 高脂饮食是认知功能障碍的危险因素, 然而其潜在的生物学机制尚未明晰。方法: 将 24 只雄性 3 月龄 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组和高脂组, 对照组给予正常饲料, 高脂组给予高脂饲料(脂肪供能比 46%)。喂养 12 周, 采用葡萄糖耐量试验(GTT)评价小鼠胰岛素敏感性, Morris 水迷宫评估小鼠的认知功能。实验结束后处死小鼠, 收集血清、结肠内容物和脑组织。检测血清胰岛素、葡萄糖浓度, 计算胰岛素抵抗指数。观察海马齿状回神经元核抗原(NeuN)蛋白表达, 检测血清 3 种支链氨基酸(BCAAs)水平, 分析小鼠肠道菌群变化, 并将差异细菌与血清 BCAAs 进行关联分析。结果: 喂养 12 周, 与对照组小鼠相比, 高脂组小鼠体质量(31.6 g vs 37.5 g, $P < 0.001$)、体脂率(3.2% vs 5.8%, $P < 0.001$)、GTT 血糖曲线下面积显著增加(1 440 mmol/L·min vs 1 841 mmol/L·min, $P < 0.05$), 血清异亮氨酸(高脂组为对照组的 1.27 倍, $P < 0.05$)及总 BCAAs (高脂组为对照组的 1.16 倍, $P < 0.05$)水平显著升高; 高脂组小鼠海马齿状回 NeuN 阳性反应区荧光强度显著降低(27 vs 12, $P < 0.01$); 高脂组小鼠 Morris 水迷宫空间探索实验中, 穿越平台和目标象限次数显著降低, 并且与血清异亮氨酸和总 BCAAs 水平呈负相关。此外, 高脂组小鼠肠道菌群组成与对照组显著不同; 小鼠肠道菌群代谢功能预测分析显示, 与对照组相比, 高脂组 BCAAs 生物降解相关微生物通路显著增加。Spearman 相关分析表明, 微小杆菌属与异亮氨酸水平呈负相关($P = 0.01$), 布劳特氏菌属和厌氧杆状菌属与异亮氨酸水平呈正相关(P 值分别为 0.00 和 0.03)。结论: 高脂饮食诱导认知功能障碍, 可能与其介导肠道菌群紊乱引起 BCAAs 水平升高有关。

关键词 肠道菌群; 支链氨基酸; 肥胖; 认知功能障碍; 高脂饮食

文章编号 1009-7848(2026)01-0121-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2026.01.011

肥胖的发病率逐年增加, 已成为全球主要公共卫生问题之一。肥胖不仅会增加 2 型糖尿病、心血管疾病、部分癌症等慢性非传染性疾病的发病风险, 而且, 来自动物和人类研究的证据表明, 肥胖与认知能力呈负相关, 会增加认知障碍和痴呆的风险^[1-3]。目前肥胖影响认知功能的机制尚未阐明。

长期高脂饮食是导致肥胖的常见及重要的危险因素。大量研究结果显示, 长期高脂饮食可能通过诱导肠道菌群紊乱参与认知功能障碍^[4-5]。通过深入研究发现, 这些影响可能部分由肠道菌群衍生的化合物介导^[6]。其中, 肠道菌群是影响体内支链氨基酸(Branched-chain amino acids, BCAAs)稳态的重要因素^[7]。

支链氨基酸(Branched-chain amino acids, BCAAs)包括亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸, 是人体

必需氨基酸。近年来, BCAAs 在代谢性疾病中的作用受到广泛关注。BCAAs 作为重要的营养信号分子, 参与调节体重、体脂和糖、脂代谢等。大量流行病学研究显示, 在肥胖及相关代谢性疾病患者循环中, BCAAs 水平显著升高^[8-9]。循环 BCAAs 水平也是影响肥胖及相关代谢性疾病干预效果的重要预后指标^[10]。脑是 BCAAs 发挥效应的重要靶器官, 循环中 BCAAs 可穿过血脑屏障进入大脑, 参与信号转导, 神经递质的合成, 氮稳态, 能量代谢等重要生理过程^[11]。高浓度的 BCAAs 及其代谢产物可通过增加脑氧化应激水平, 干扰能量代谢等导致神经功能损伤^[12-13]。近来研究发现, BCAAs 水平紊乱与阿尔茨海默病、帕金森等神经退行性疾病有关^[14-15]。而肥胖个体的 BCAAs 水平升高是否与其认知功能降低有关的研究较少。最新研究报道, 通过对高脂诱导的肥胖小鼠进行膳食亮氨酸或异亮氨酸限制, 可改善其认知功能障碍^[16-17]。这些研究间接提示肥胖个体的 BCAAs 水平升高可能与其认知功能降低有关。

本研究通过高脂膳食喂养建立肥胖动物模

收稿日期: 2024-12-10

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(82003463)

第一作者: 刘锐, 女, 博士, 讲师

E-mail: LiuR@jhun.edu.cn

型,检测血清 BCAAs 水平,评价认知功能以及两者间的关系。此外,观察肠道菌群的变化及其与 BCAAs 稳态改变之间的关系,为阐明高脂饮食诱导认知功能障碍的机制提供新证据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与amp;试剂

血糖、总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白和低密度脂蛋白检测试剂盒,南京建成生物工程研究所;胰岛素 ELISA 试剂盒,武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;氨基酸标准品(HPLC \geq 98%),美国 Sigma 公司;神经元核抗原抗体,美国 CST 公司;正常饲料和高脂饲料,江苏协同生物有限公司。

1.2 仪器与amp;设备

血糖仪,上海罗氏诊断产品有限公司;液相色谱仪、Xevo TQ-S 质谱仪,美国 Waters 公司;Morris 水迷宫视频分析系统,上海吉量软件科技有限公司;NovaSeq 6000 测序仪,美国 Illumina 公司。

1.3 实验动物、amp;模型建立、amp;分组及amp;干预

24 只 SPF 级雄性 3 月龄 C57BL/6J 小鼠,购于北京华阜康生物有限公司,饲养于江汉大学实验动物中心,环境温度(23 \pm 2) $^{\circ}$ C,相对湿度(50 \pm 10)%,明暗交替周期为 12 h,小鼠自由饮水和进食。适应性喂养 1 周后,将小鼠按体质量随机分为对照组(Normal diet,ND)和高脂组(High-fat diet,HFD),分别给予普通饲料和高脂饲料。普通饲料和高脂饲料分别参照 Research Diet 公司 D12450B 和 D12451 配方配制,所有饲料均由江苏协同生物有限公司合成(饲料配方见表 1)。喂养期间每日记录小鼠进食量,每周监测并记录小鼠体质量变化。喂养 12 周后,葡萄糖耐量试验评价胰岛素敏感性,Morris 水迷宫评估小鼠认知能力。实验结束后,各组小鼠禁食、不禁水 12 h,处死后留取血清、脑组织,超净台内收集结肠内容物,经液氮速冻后,-80 $^{\circ}$ C 保存,用于后续指标检测。

1.4 主要检测指标

1.4.1 葡萄糖耐量试验 (Glucose tolerance test, GTT) 小鼠禁食 10 h,尾静脉穿刺取血,丢弃第 1 滴血后,血糖仪检测血糖。1 g/kg bw 葡萄糖溶液(0.5 g/mL)灌胃,分别测定并记录灌胃后 30,60,

表 1 高脂组和对照组饲料配方

Table 1 Composition of the experimental diets		
成分	ND	HFD
蛋白质/(g/100 g)	17.2	21.3
碳水化合物/(g/100 g)	68.4	42.3
脂肪/(g/100 g)	4.3	24.1
膳食纤维/(g/100 g)	4.8	5.9
矿物质/(g/100 g)	5.1	6.2
能量/(kJ/100 g)	1 594.5	1 972.9
脂肪/(energy %)	10.2	46.0
蛋白质/(energy%)	18.1	18.1
碳水化合物/(energy%)	71.7	35.9
亮氨酸/(g/100 g)	1.5	1.9
异亮氨酸/(g/100 g)	0.7	0.9
缬氨酸/(g/100 g)	0.9	1.1
丙氨酸/(g/100 g)	0.5	0.6
天冬氨酸/(g/100 g)	1.2	1.4
甘氨酸/(g/100 g)	0.3	0.4
苏氨酸/(g/100 g)	0.7	0.9
谷氨酸/(g/100 g)	3.7	4.5
酪氨酸/(g/100 g)	0.9	1.1
苯丙氨酸/(g/100 g)	0.8	1.0
赖氨酸/(g/100 g)	1.3	1.6
组氨酸/(g/100 g)	0.4	0.5
脯氨酸/(g/100 g)	1.7	2.1
精氨酸/(g/100 g)	0.6	0.7
蛋氨酸/(g/100 g)	0.5	0.6
丝氨酸/(g/100 g)	1.0	1.2
胱氨酸/(g/100 g)	0.4	0.5
色氨酸/(g/100 g)	0.2	0.2

90,120 min 的血糖值,微积分法计算血糖曲线下面积。

1.4.2 血清葡萄糖、胰岛素水平检测 葡萄糖氧化酶法检测血清葡萄糖,ELISA 法测定血清胰岛素。计算胰岛素抵抗指数(Homeostasis model assessment-insulin resistance,HOMA-IR)。

$$\text{HOMA-IR} = \text{空腹血糖}(\text{mmol/L}) \times \text{空腹血胰岛素}(\text{mIU/L}) / 22.5 \quad (1)$$

1.4.3 血清氨基酸水平检测 每只小鼠各取 40 μ L 血清于离心管中,加入 160 μ L 内标溶液。涡旋混匀后 10 000 r/min 离心 10 min,取 100 μ L 上清液转移至另一离心管,随后加入 100 μ L 含有

0.1%甲酸的超纯水并涡旋混匀,0.22 μm 滤膜过滤后,转入进样小瓶,液相色谱串联质谱检测浓度^[18]。

1.4.4 Morris 水迷宫测试【Morris water maze (MWM) test】高脂喂养 12 周后,Morris 水迷宫检测小鼠定位航行和空间探索能力。第 1~5 天进行定位航行实验,记录其在限定时间内(60 s)找到平台所用的时间(逃避潜伏期);第 6 天撤除平台,将小鼠从目标象限的对侧象限放入水中,进行空间探索实验,记录小鼠 60 s 内穿越平台次数、目标平台象限停留时间、游泳路径和距离等指标。

1.4.5 海马组织中 NeuN 蛋白表达 脑组织石蜡切片依次经过脱蜡至水、抗原修复和自发荧光猝灭后,5%BSA 溶液室温封闭 30 min,加入 NeuN 一抗(1:100)于湿盒内,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。PBS 清洗 3 次,加入荧光二抗室温孵育 50 min,结束后 PBS 洗涤 3 次。加入 DAPI 染液复染细胞核,避光室温孵育 10 min。PBS 洗涤 3 次后,封片,荧光显微镜拍照。

1.4.6 肠道微生物检测 采用十六烷基三甲基溴化铵法提取各组小鼠结肠内容物基因组 DNA,琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 纯度和浓度。取适量样本 DNA 于离心管中,稀释浓度至 1 ng/ μL 。以稀释后的基因组 DNA 为模板,根据扩增区域选择带 barcode 的特异引物和高效高保真酶进行 PCR 扩增。2%浓度的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,合格的 PCR 产物进行磁珠纯化,酶标仪定量,根据 PCR

产物浓度进行等量混样,充分混匀后 2%琼脂糖凝胶电泳纯化 PCR 产物,胶回收试剂盒回收产物。使用 TruSeq[®] DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 文库试剂盒进行文库构建,构建好的文库使用安捷伦 5400 进行检测和 Q-PCR 定量,文库合格后,使用 NovaSeq 6000 上机测序。

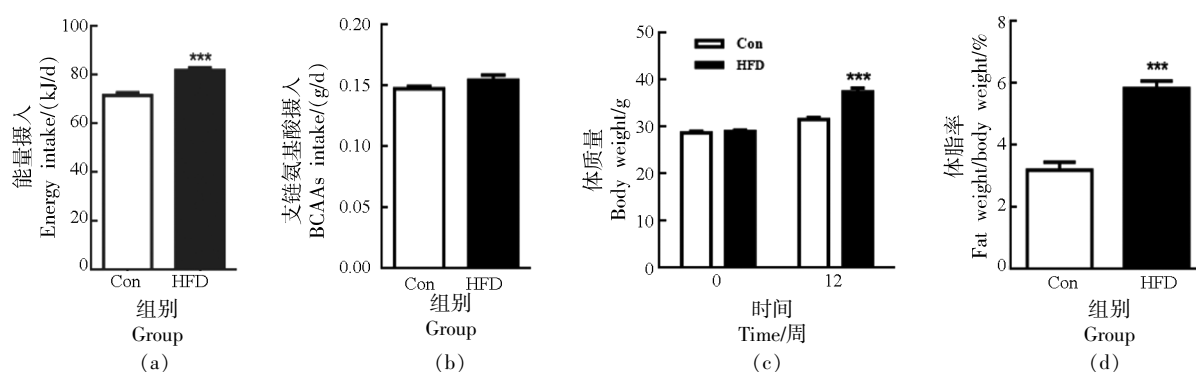
1.5 统计学分析

采用 SPSS 24.0 进行数据分析。正态分布的计量资料采用“均数 \pm 标准误”表示,两组间均数比较采用两独立样本均数比较的 t 检验。非正态分布的计量资料两组间比较采用 Mean-Whitney U 检验,水迷宫定位航行实验潜伏期和 GTT 试验不同时间点血糖的比较采用重复测量资料的方差分析。血清 BCAAs 浓度与 Morris 水迷宫差异指标的相关性采用 Pearson 相关分析,采用 Spearman 秩相关分析组间差异菌群相对丰度与血清差异 BCAAs 的相关性, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 体质量和进食量

如图 1 所示,高脂组每日平均能量摄入量显著高于对照组 ($P<0.001$) (图 1a), 两组小鼠 BCAAs 每日平均摄入量无显著差异(图 1b)。喂养 12 周后,高脂组小鼠的体质量、体脂率显著高于对照组 ($P<0.001$) (图 1c 和 1d)。



注:数据以“均数 \pm 标准误”表示,与对照组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$,下同。

图 1 各组小鼠进食量和体质量的比较

Fig.1 Calorie intake and body weight of mice in each group

2.2 胰岛素敏感性

高脂组空腹胰岛素(图 2a)、血糖(图 2b)和 HOMA-IR 指数(图 2c)与对照组相比有升高的趋

势,而差异不显著。GTT 试验结果显示,高脂组 0, 30, 60, 90, 120 min 血糖值(图 2d)及血糖曲线下面积均显著高于对照组 ($P<0.05$) (图 2e)。

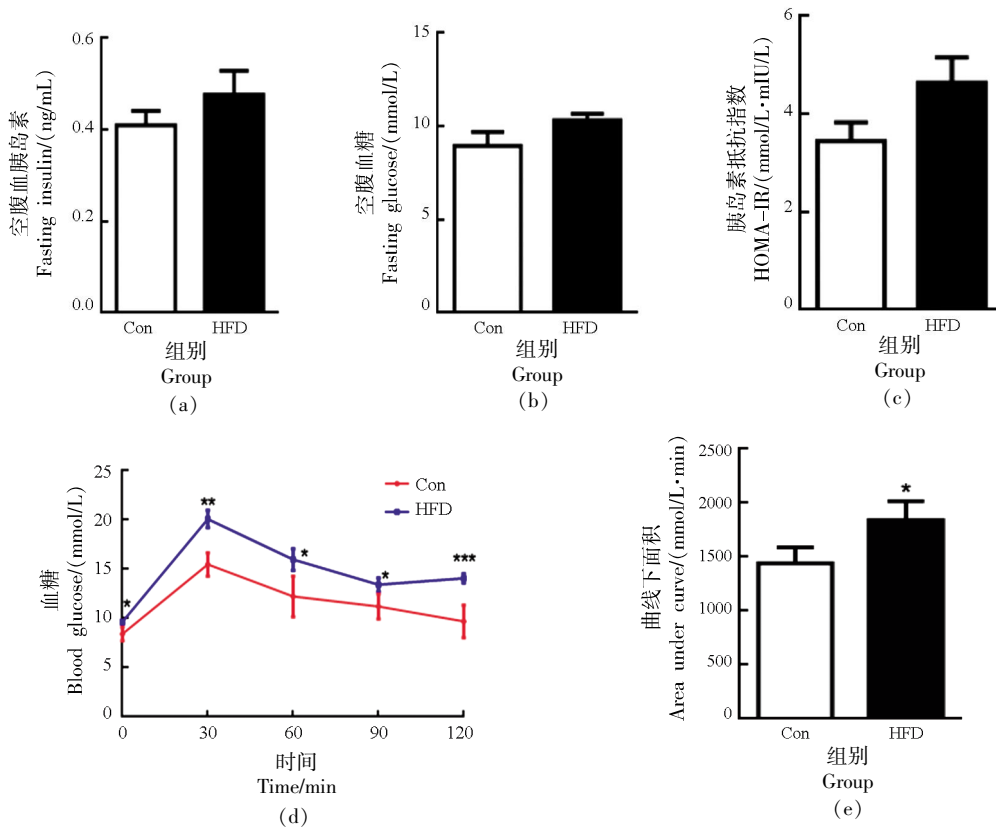


图2 胰岛素敏感性比较

Fig.2 Comparison of insulin sensitivity between two groups

2.3 行为学影响

如图3所示,在5 d的定位航行试验中,两组小鼠的逃避潜伏期未见明显差异(图3a)。第6天进行空间探索试验,各组游泳速度无明显差异(图

3b);与对照组相比,高脂组小鼠穿越平台次数及目标象限次数均显著减少($P < 0.05$)(图3c和3d),表明高脂组小鼠出现认知功能降低。

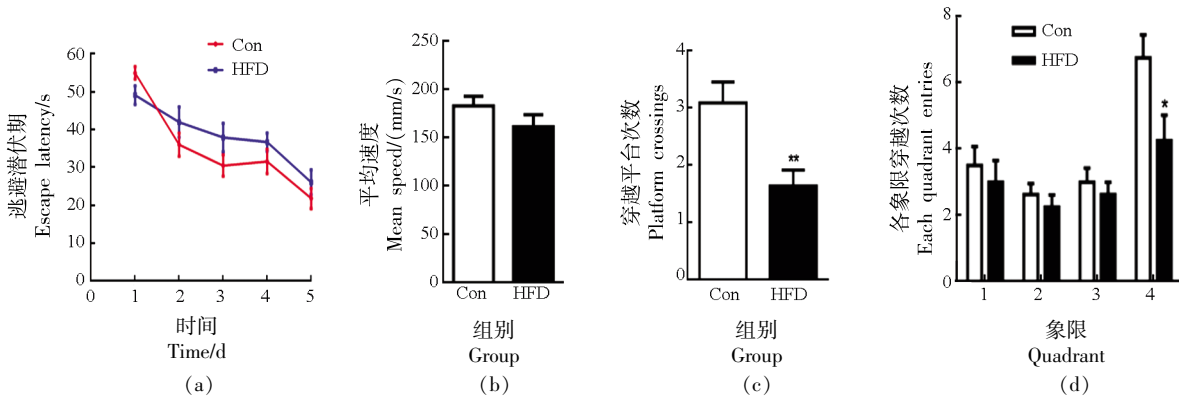


图3 各组小鼠水迷宫试验结果比较

Fig.3 Comparison of Morris water maze test results between two groups

2.4 NeuN 蛋白表达的影响

如图4所示,通过 NeuN 免疫荧光染色分析海马齿状回神经元数量,与对照组相比,高脂组海

马齿状回 NeuN 的表达显著降低(图4a和4b),表明高脂组小鼠海马齿状回神经元数量较少。

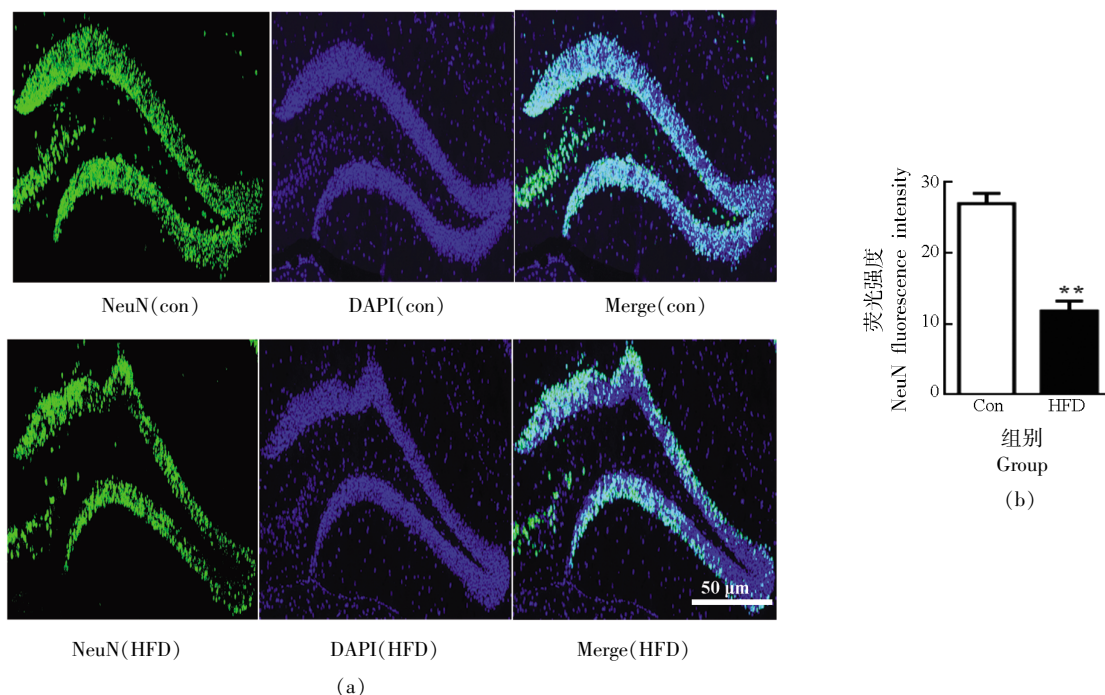


图 4 高脂饮食对海马齿状回 NeuN 蛋白表达的影响

Fig.4 Effect of HFD on NeuN expression in hippocampal dentate gyrus of mice

2.5 血清氨基酸水平变化

如表 2 所示, 喂养 12 周, HFD 组血清亮氨酸和缬氨酸水平与 ND 组相比有升高的趋势, 然而

差异无统计学意义; 异亮氨酸和总 BCAAs 水平显著高于 ND 组 ($P < 0.05$), 其它氨基酸水平两组之间也无显著差异。

表 2 血清氨基酸水平

Table 2 Amino acids profiles

氨基酸	HFD	氨基酸	HFD
缬氨酸	1.14 (0.92, 1.35)	天门冬酰胺	1.21 (0.99, 1.42)
异亮氨酸	1.28 (1.20, 1.35)**	天门冬氨酸	1.14 (0.80, 1.48)
亮氨酸	1.12 (1.00, 1.26)	谷氨酰胺	1.34 (0.97, 1.71)
总支链氨基酸	1.16 (1.05, 1.27)*	赖氨酸	1.00 (0.92, 1.09)
蛋氨酸	1.03 (0.82, 1.24)	组氨酸	1.16 (0.94, 1.38)
谷氨酸	1.26 (0.90, 1.63)	苯丙氨酸	1.09 (0.88, 1.30)
丙氨酸	1.21 (0.98, 1.44)	精氨酸	1.01 (0.80, 1.22)
丝氨酸	1.10 (0.85, 1.34)	酪氨酸	1.19 (0.80, 1.58)
脯氨酸	1.28 (0.93, 1.64)	色氨酸	0.94 (0.78, 1.10)
苏氨酸	1.13 (0.83, 1.43)		

注: 数据表示为 HFD 小鼠相对于对照组的平均倍数(95%置信区间), 与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.6 血清 BCAAs 水平与认知功能的相关性分析

如图 5 所示, 为了探索高脂引起的认知功能

改变与血清 BCAAs 水平的改变是否有关, 将 Morris 水迷宫测试差异指标与血清差异 BCAAs

水平进行 Pearson 相关性分析。结果显示,血清异亮氨酸和总 BCAAs 水平与小鼠穿越平台和目标

象限次数呈显著负相关($P < 0.05$)。

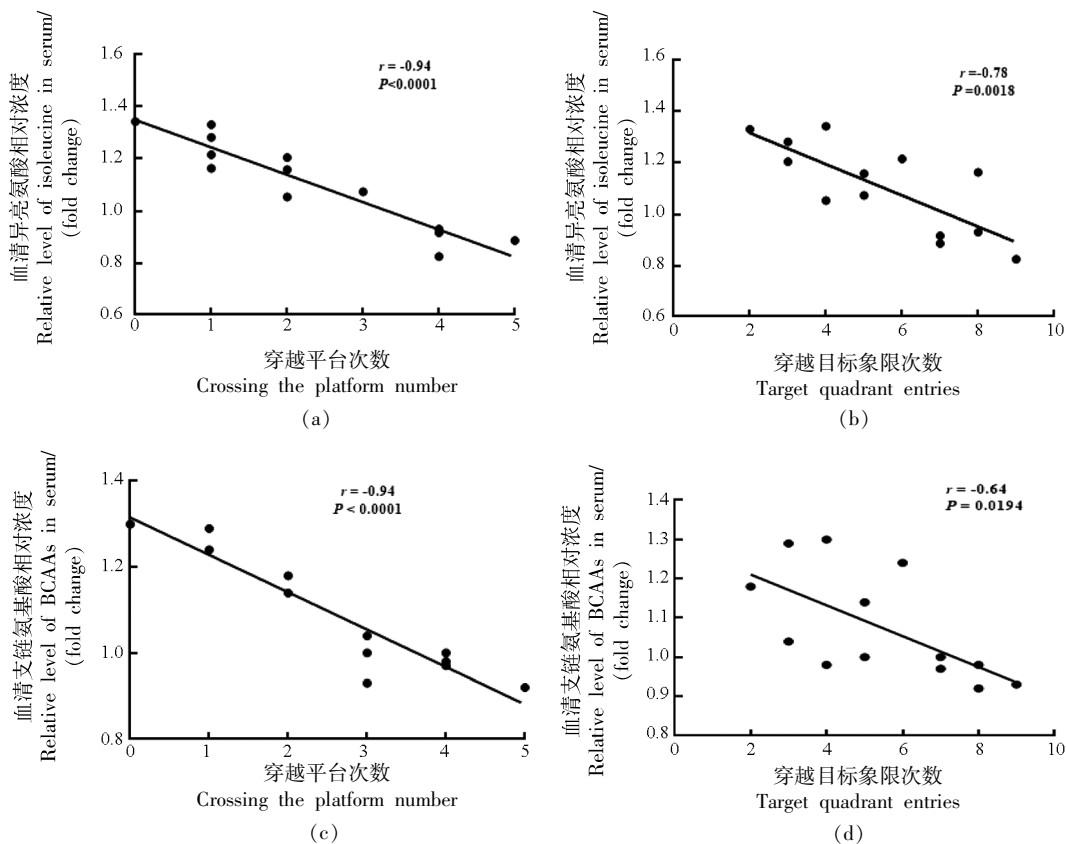


图5 MWM 测试中认知表现与空腹血清异亮氨酸和总 BCAAs 水平的 Pearson 相关分析

Fig.5 Pearson's correlation analysis between cognitive performance in the MWM test and the fasting serum isoleucine and BCAA levels

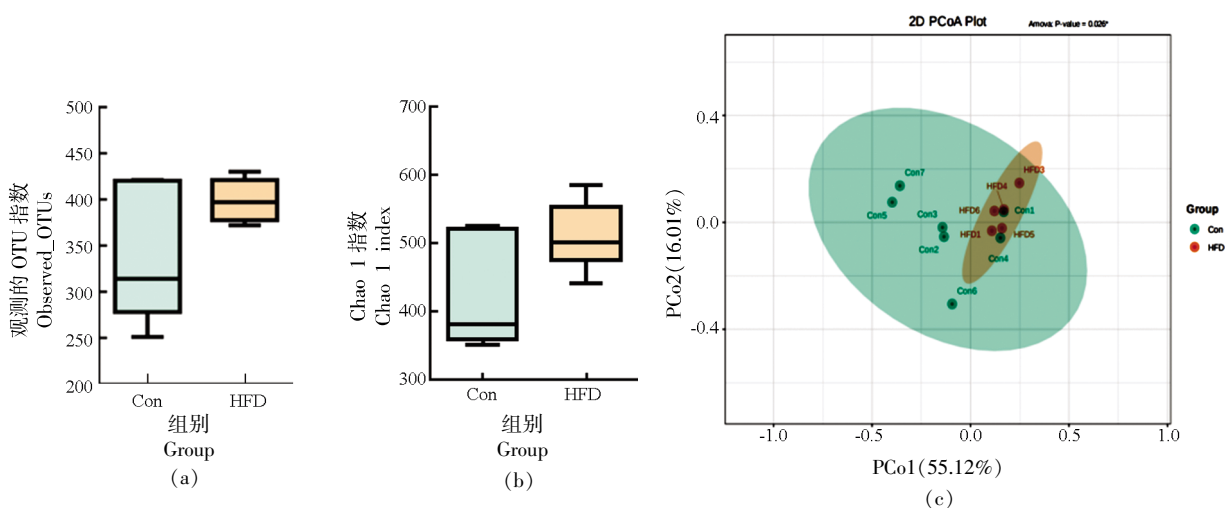
2.7 肠道菌群的影响

2.7.1 肠道菌群 α 和 β 多样性分析 如图 6 所示, α 多样性指数反映群落内物种数量及其相对丰度。 α 多样性指标——Observed_OTUs 和 Chao 1 指数差异分析, 与对照组相比, 高脂组 Observed_OTUs 和 Chao 1 指数有升高趋势, 而差异无统计学意义(图 6a 和 6b)。 β 多样性分析是对不同组间物种构成进行比较分析的方法。主坐标分析(Principal coordinate analysis, PCoA)是一种非约束性的数据降维分析方法, 用来研究样本群落组成的相似性或差异性。结果显示, 与 ND 组相比, HFD 喂养对肠道微生物组成有显著影响 ($P = 0.025$)(图 6c)。

2.7.2 组间肠道菌群组成的差异分析 通过 LEfSe(LDA effect size)分析对两组间 LDA score

大于 4 的差异菌群进行统计, 结果表明, 在纲水平, 梭菌纲(Clostridia); 在目水平, 未鉴定的梭菌目(unidentified_Clostridia); 科水平, 消化链球菌科(Peptostreptococcaceae) 和毛螺菌科(Lachnospiraceae); 属水平, 隆布茨氏菌属(*Romboutsia*) 和布劳特氏菌属(*Blautia*); 种水平, 产酸拟杆菌(*Bacteroides_acidifaciens*)、毛螺菌科细菌_28_4(*Lachnospiraceae_bacterium_28_4*) 和隆布茨氏菌(*Romboutsia_ileallis*) 是 HFD 小鼠结肠的优势菌群(图 7a)。

2.7.3 肠道微生物群的细菌基因功能预测分析 根据 16S 测序数据进行基于 KEGG 数据库的肠道菌群功能预测分析, 结果显示两组小鼠肠道菌群氨基酸代谢基因(在 KEGG 水平 II)的表达有显著差异(图 7b)。并且, 在 KEGG 水平 III, 高脂组



注:数据以中位数±四分位数间距表示。

图 6 HFD 对肠道菌群多样性的影响

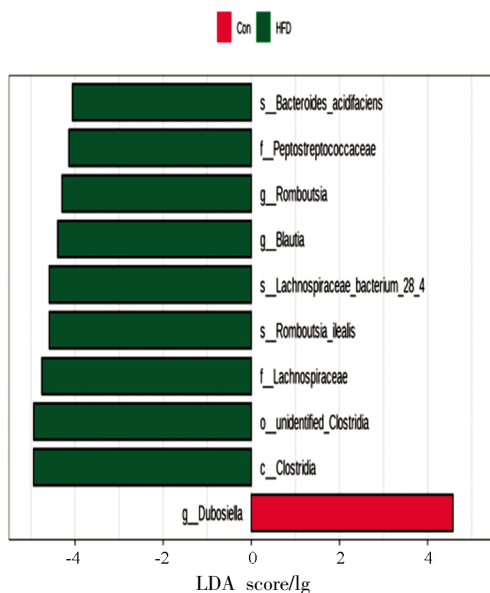
Fig.6 Effect of HFD on gut bacteria diversity

BCAAs 生物降解相关基因表达与对照组相比显著降低(图 7c)。

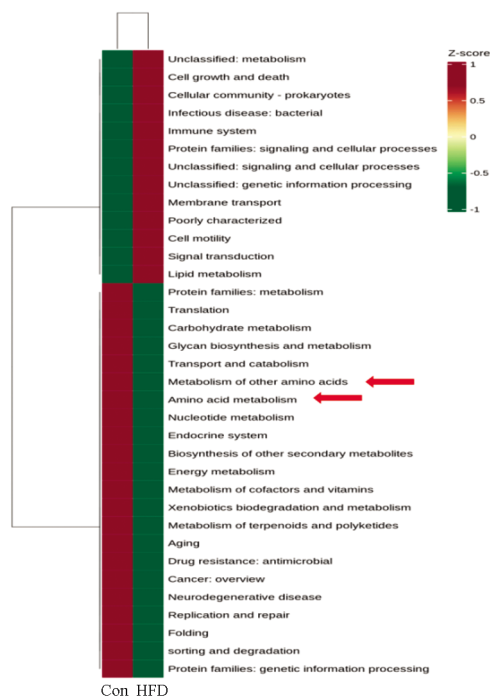
2.8 肠道菌群与血清 BCAAs 相关性分析

为了进一步确定血清异亮氨酸水平改变是否与肠道菌群改变有关,对两者进行 Spearman 相关性分析。如表 3 所示,结果显示属水平,布劳特氏菌

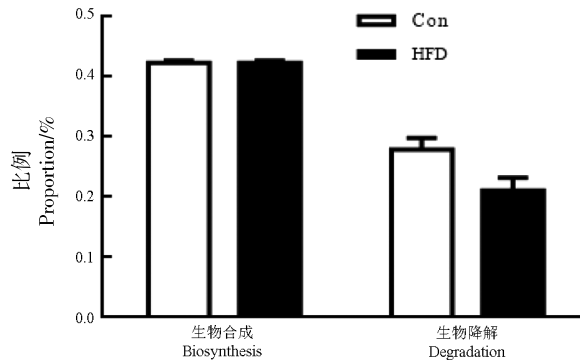
属(*Blautia*)、厌氧截短菌属(*Anaerotruncus*)与血清异亮氨酸水平呈正相关,微小杆菌属(*Parvibacter*)与异亮氨酸水平呈负相关。结果表明,高脂组小鼠血清异亮氨酸水平的改变与肠道菌群的改变有关。



(a) 两组之间独特的菌群特征



(b) 基于 PICRUSt 分析的 KEGG 水平 II 的前 35 位预测代谢途径



(c)KEGG 水平Ⅲ缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成和降解相关的功能基因预测

图7 HFD对肠道菌群组成的影响

Fig.7 Effect of HFD on gut microbiota composition

表3 与血清异亮氨酸水平相关的肠道菌群

Table 3 The correlation between differential microbial communities and isoleucine

分类	菌群名称	相关系数	P 值
纲	梭菌纲(Clostridia)	0.69	0.01
科	毛螺菌科(Lachnospiraceae)	0.66	0.01
	颤螺菌科(Oscillospiraceae)	0.68	0.01
	瘤胃球菌科(Ruminococcaceae)	0.70	0.01
	肠杆菌科(Enterobacteriaceae)	0.62	0.02
属	微小杆菌属(<i>Parvibacter</i>)	-0.67	0.01
	布劳特氏菌属(<i>Blautia</i>)	0.75	0.00
	厌氧截短菌属(<i>Anaerotruncus</i>)	0.59	0.03
目	未鉴定梭菌目(unidentified_Clostridia)	0.69	0.01
	肠杆菌目(Enterobacterales)	0.62	0.02
种	盲肠阿德勒克罗伊茨氏菌(<i>Adlercreutzia_caecicola</i>)	-0.67	0.01
	黏液螺菌属菌株 69(<i>Mucispirillum_sp_69</i>)	0.57	0.04
	毛螺菌科细菌 28_4(Lachnospiraceae_bacterium_28_4)	0.66	0.01
	毛螺菌科细菌 610(Lachnospiraceae_bacterium_610)	0.74	0.00
	小鼠肠道宏基因组来源菌(Mouse_gut_metagenome)	0.83	0.00
	鼠锐杆菌(<i>Acutalibacter_muris</i>)	0.62	0.03
	梭菌属培养菌株 13(<i>Clostridium_sp_Culture_Jar_13</i>)	0.59	0.03

3 结论与讨论

大量研究表明,肥胖是认知功能障碍的危险因素^[1-3]。本研究以 C57BL/6J 小鼠为研究对象,采用广泛使用的高脂膳食喂养建立肥胖动物模型。喂养 12 周后,与正常饲料喂养小鼠相比,高脂组小鼠体重及体脂率显著增加,葡萄糖耐量降低,海马齿状回 NeuN 表达显著降低,并且在水迷宫空间探索实验中,表现出穿越平台和目标象限的次数显著降低,该结果表明高脂喂养 12 周诱导小鼠肥胖并伴有认知功能的损伤。

早在 1969 年, Felig 等^[19]发现,与年龄和性别相同的瘦的个体相比,肥胖个体循环中 BCAAs 水平显著升高。随着代谢组学的发展,大量流行病学研究均重复观察到肥胖及相关代谢性疾病患者伴有 BCAAs 水平升高,并且 BCAAs 水平与代谢健康密切相关^[8,9,20]。在本研究中,高脂组小鼠血清异亮氨酸及总的 BCAAs 水平均显著高于对照组。鉴于 BCAAs 稳态平衡在维持正常神经功能中的重要作用,推测肥胖介导的 BCAAs 水平升高可能与肥胖相关认知功能障碍有关。因此,进一步对血清

BCAAs 水平和认知功能指标进行关联分析。研究结果显示,血清异亮氨酸和总 BCAAs 水平与 Morris 水迷宫空间探索实验中小鼠穿越平台和目标象限次数呈显著负相关。上述结果表明,高脂诱导的肥胖相关认知功能障碍可能与循环 BCAAs 水平的升高有关。本研究的不足是未能检测脑组织中 BCAAs 含量。

BCAAs 是人体必需氨基酸,只能通过饮食摄入或细菌代谢获得^[21]。结合小鼠进食量和膳食 BCAAs 含量分析,两组小鼠平均每天膳食 BCAAs 摄入水平并无明显差异。近年来研究发现,肠道特定菌群通过参与 BCAAs 合成、降解和转运影响体内 BCAAs 水平^[22]。多项研究先后报道人和动物肥胖模型中 BCAAs 生物合成/降解的肠道菌群组成或功能改变^[23-25]。本研究通过 16S rDNA 扩增子测序对两组小鼠肠道菌群进行分析,结果显示,两组小鼠肠道菌群组成有显著差异。并且,对肠道菌群功能预测分析显示,高脂组小鼠肠道菌群 BCAAs 生物降解相关基因表达与对照组相比显著降低。目前,与肥胖模型循环 BCAAs 水平升高相关的菌群研究结果并不完全一致^[7]。其中,有研究报道布劳特氏菌属(*Blautia*)及其隶属的毛螺菌科(Lachnospiraceae)与循环 BCAAs 水平呈正相关^[26-27],在本研究中也得到了相似结果。

综上所述,高脂喂养 12 周,高脂组小鼠出现肥胖、胰岛素抵抗并伴有血 BCAAs 水平升高和认知功能降低。BCAAs 水平升高与高脂喂养导致的肠道菌群组成及功能改变有关,并且 BCAAs 水平升高与肥胖小鼠的认知功能降低有关。这些结果表明,肠道菌群紊乱介导的 BCAAs 水平升高可能与肥胖相关认知功能障碍有关,而肠道菌群紊乱介导的 BCAAs 水平升高是否在肥胖相关认知功能障碍中具有病因学作用,以及具体作用机制有待深入研究。

参 考 文 献

- [1] O'BRIEN P D, HINDER L M, CALLAGHAN B C, et al. Neurological consequences of obesity[J]. *The Lancet Neurology*, 2017, 16(6): 465-477.
- [2] BOCARSLY M E, FASOLINO M, KANE G A, et al. Obesity diminishes synaptic markers, alters microglial morphology, and impairs cognitive function[J]. *Proceedings of the national Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(51): 15731-15736.
- [3] TANG X Y, ZHAO W, LU M, et al. Relationship between central obesity and the incidence of cognitive impairment and dementia from cohort studies involving 5,060,687 participants[J]. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2021, 130: 301-313.
- [4] BRUCE-KELLER A J, SALBAUM J M, LUO M, et al. Obese-type gut microbiota induce neurobehavioral changes in the absence of obesity[J]. *Biological Psychiatry*, 2015, 77(7): 607-615.
- [5] WU H C, ZHANG W X, HUANG M Y, et al. Prolonged high-fat diet consumption throughout adulthood in mice induced neurobehavioral deterioration via gut-brain axis[J]. *Nutrients*, 2023, 15(2): 392.
- [6] VALLIANOU N, STRATIGOU T, CHRISTODOULATOS G S, et al. Understanding the role of the gut microbiome and microbial metabolites in obesity and obesity-associated metabolic disorders: Current evidence and perspectives[J]. *Current Obesity Reports*, 2019, 8(3): 317-332.
- [7] GOJDA J, CAHOVA M. Gut microbiota as the link between elevated BCAA serum levels and insulin resistance[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(10): 1414.
- [8] WÜRTZ P, SOININEN P, KANGAS A J, et al. Branched-chain and aromatic amino acids are predictors of insulin resistance in young adults[J]. *Diabetes Care*, 2013, 36(3): 648-655.
- [9] MCCORMACK S E, SHAHAM O, MCCARTHY M A, et al. Circulating branched-chain amino acid concentrations are associated with obesity and future insulin resistance in children and adolescents[J]. *Pediatric Obesity*, 2013, 8(1): 52-61.
- [10] JACHTHUBER TRUB C, BALIKCIOGLU M, FREEMARK M, et al. Impact of lifestyle intervention on branched-chain amino acid catabolism and insulin sensitivity in adolescents with obesity[J]. *Endocrinol Diabetes Metab*, 2021, 4(3): e00250.
- [11] YOO H S, SHANMUGALINGAM U, SMITH P D. Potential roles of branched-chain amino acids in neurodegeneration[J]. *Nutrition*, 2022, 103-104: 111762.
- [12] JOUVET P, RUSTIN P, TAYLOR D L, et al.

- Branched chain amino acids induce apoptosis in neural cells without mitochondrial membrane depolarization or cytochrome c release: Implications for neurological impairment associated with maple syrup urine disease[J]. *Mol Biol Cell*, 2000, 11(5): 1919–1932.
- [13] JAMARAL A U, LEIPNITZ G, FERNANDES C G, et al. Alpha-ketoisocaproic acid and leucine provoke mitochondrial bioenergetic dysfunction in rat brain[J]. *Brain Res*, 2010, 1324: 75–84.
- [14] ZHANG Y, HE X Q, QIAN Y W, et al. Plasma branched-chain and aromatic amino acids correlate with the gut microbiota and severity of Parkinson's disease[J]. *NPJ Parkinsons Dis*, 2022, 8(1): 48.
- [15] SIDDIK M A B, MULLINS C A, KRAMER A, et al. Branched-chain amino acids are linked with Alzheimer's disease-related pathology and cognitive deficits[J]. *Cells*, 2022, 11(21): 3523.
- [16] WANG Y L, RONG X, GUAN H, et al. The potential effects of isoleucine restricted diet on cognitive impairment in high-fat-induced obese mice via gut microbiota-brain axis[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2023, 67(20): e2200767.
- [17] WANG D N, WANG L Y, HAN L Y, et al. Leucine-restricted diet ameliorates obesity-linked cognitive deficits: Involvement of the microbiota-gut-brain axis[J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71(24): 9404–9418.
- [18] CHOI M S, REHMAN S U, KIM I S, et al. Development of a mixed-mode chromatography with tandem mass spectrometry method for the quantitative analysis of 23 underivatized amino acids in human serum[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 145: 52–58.
- [19] FELIG P, MARLISS E, CAHILL JR G F. Plasma amino acid levels and insulin secretion in obesity[J]. *N Engl J Med*, 1969, 281(15): 811–816.
- [20] ARANY Z, NEINAST M. Branched chain amino acids in metabolic disease[J]. *Curr Diab Rep*, 2018, 18(10): 76.
- [21] LIU R X, HONG J, XU X Q, et al. Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention [J]. *Nat Med*, 2017, 23(7): 859–868.
- [22] NEIS E P, DEJONG C H, RENSEN S S. The role of microbial amino acid metabolism in host metabolism[J]. *Nutrients*, 2015, 7(4): 2930–2946.
- [23] PEDERSEN H K, GUDMUNSDOTTIR V, NIELSEN H B, et al. Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity[J]. *Nature*, 2016, 535(7612): 376–381.
- [24] ZHANG L, YUE Y S, SHI M X, et al. Dietary *Luffa cylindrica* (L.) roem promotes branched-chain amino acid catabolism in the circulation system via gut microbiota in diet-induced obese mice[J]. *Food Chem*, 2020, 320: 126648.
- [25] CHEN Y M, JIANG S J, WANG H L, et al. The probiotic parabacteroides johnsonii ameliorates metabolic disorders through promoting BCAAs to BSCFAs conversion [J]. *Adv Sci*, 2025, 12(38): e02624.
- [26] ORG E, BLUM Y, KASELA S, et al. Relationships between gut microbiota, plasma metabolites, and metabolic syndrome traits in the METSIM cohort[J]. *Genome Biol*, 2017, 18(1): 70.
- [27] OTTOSSON F, BRUNKWALL L, ERICSON U, et al. Connection between BMI-related plasma metabolite profile and gut microbiota[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018, 103(4): 1491–1501.

The Relationship between Gut Microbiota-Mediated Elevation of Branched-Chain Amino Acids and Obesity-Associated Cognitive Decline

LIU Rui, LIU Yitong, SUN Leyan, GUO Yang

(Hubei Key Laboratory of Cognitive and Affective Disorders, Hubei Provincial Demonstration Centre for Experimental Medicine Education, School of Medicine, Jiangnan University, Wuhan 430056)

Abstract Objective: A high-fat diet is a risk factor for cognitive impairment, but its underlying biological mechanisms have not been elucidated. Methods: twenty-four male 3-month-old C57BL/6J mice were randomly divided into two

groups, and fed with normal chow diet (ND) and high-fat diet (HFD) for 12 weeks. At the end of the experiment, the glucose tolerance test (GTT) was performed. Cognitive function was evaluated with the Morris Water Maze (MWM) test. After overnight fast, the mice were sacrificed and serum and colon contents were collected. Serum insulin levels were detected by ELISA, serum glucose levels were determined by colorimetric method and HOMA-IR was calculated. Liquid chromatography tandem mass spectrometry was used to detect serum BCAA levels. 16S rDNA amplicon sequencing was used to detect gut microbiota alterations, and their correlation with serum BCAAs was performed by Spearman correlation. Results: After 12 weeks feeding, compared with the control mice, the HFD-fed mice showed significant increases in body weight (31.6 g vs 37.5 g, $P<0.001$), body fat rate (3.2% vs 5.8%, $P<0.001$), area under curve (AUC) of GTT (1 440 mmol/L·min vs 1 841 mmol/L·min, $P<0.05$), and fasting serum levels of isoleucine (1.27-fold of the control group, $P<0.05$) and total BCAAs (1.16-fold of the control group, $P<0.05$). Additionally, the fluorescence intensity of NeuN-positive immunoreactive regions in the dentate gyrus of the hippocampus was significantly decreased in the HFD group (27 vs 12, $P<0.01$). HFD-fed mice displayed a decrease in the number of platform and the target quadrant entries during the probe trial compared with the control group, and these indicators were negatively correlated with serum isoleucine and total BCAA levels. In addition, the composition of gut microbiota in HFD group was significantly different from that in the control group. At the genus level, *Romboutsia* and *Blautia* are the dominant microbiota in the colon of HFD-fed mice. Bacterial functionality prediction indicated that gut microbiota genes involved in BCAA degradation were significantly reduced in HFD group compared with the control group. The *Parvibacter* genus is negatively correlated with isoleucine levels ($P=0.01$), while the *Blautia* and *Anaerotruncus* genus are positively correlated with isoleucine levels (the P -value were 0.00 and 0.03, respectively). Conclusion: Gut microbiota may be the link between elevated serum BCAA levels and HFD-induced cognitive impairment.

Keywords gut microbiota; branched-chain amino acids; obesity; cognitive impairment; high-fat diet