

磷脂酰丝氨酸核桃肽复合物对记忆障碍的改善作用

王倩倩¹, 路子佳², 闵伟红¹, 冯凤琴³, 刘静^{2*}
(1. 浙江农林大学食品与健康学院, 浙江杭州 311300) (2. 北京东方红航天生物技术股份有限公司, 北京 100190)
(3. 浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 浙江杭州 310058)

摘要: 为了探究磷脂酰丝氨酸 (Phosphatidylserine, PS) - 核桃肽 (Walnut Peptide, WP) 复合物 (Phosphatidylserine-Walnut Peptide Complex, PSWP) 对东莨菪碱诱导的小鼠记忆障碍的改善作用, 采用行为学方法测定小鼠记忆功能、试剂盒检测乙酰胆碱 (Acetylcholine, ACh) 含量和乙酰胆碱酯酶 (Acetylcholinesterase, AChE) 活性、HE 染色观察海马组织结构以及 16S rRNA 测序分析肠道菌群组成变化。与模型组相比, PSWP 低剂量 (0.45 mg·g⁻¹)、中剂量 (0.90 mg·g⁻¹) 和高剂量 (1.35 mg·g⁻¹) 组的小鼠逃避潜伏期分别缩短 35.25%、60.05% 和 64.82%, 穿越平台次数分别增加 116.67%、345.83% 和 304.17%, 目标象限占比分别增加 21.73%、72.21% 和 30.91%, ACh 含量分别增加 12.41%、25.67% 和 19.86%, AChE 活性分别降低 20.43%、46.24% 和 40.32%。PSWP 改善记忆障碍小鼠大脑海马组织损伤。此外, PSWP 中剂量组增加记忆障碍小鼠的肠道菌群的多样性, *norank_f_Muribaculaceae*、*unclassified_f_Lachnospiraceae* 和 *Eubacterium_xylanophilum_group* 的相对丰度分别增加 184.74%、224.98% 和 822.32%, *Allobaculum* 和 *Ileibacterium* 分别降低 68.09% 和 96.18%, 且相关性分析表明 PSWP 对记忆障碍小鼠的改善作用与胆碱能系统和肠道菌群高度相关。综上所述, 磷脂酰丝氨酸核桃肽复合物能够改善小鼠记忆障碍功能, 可为 PSWP 改善记忆障碍功能提供理论基础。

关键词: 磷脂酰丝氨酸核桃肽复合物; 记忆障碍; 胆碱能; 肠道菌群

文章编号: 1673-9078(2026)05-46-54 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.5.0333

Effects of a Phosphatidylserine-walnut Peptide Complex on Memory Impairment

WANG Qianqian¹, LU Zijia², MIN Weihong¹, FENG Fengqin³, LIU Jing^{2*}
(1.College of Food and Health, Zhejiang A & F University, Hangzhou 311300, China)
(2.Beijing Dongfanghong Aerospace Biotech Co. Ltd., Beijing 100190, China)
(3.School of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: The effects of a phosphatidylserine-walnut peptide complex (PSWP) on scopolamine-induced memory impairment in mice were investigated. Cognitive performance was evaluated using behavioral tests, while acetylcholine (ACh) levels and acetylcholinesterase (AChE) activity were determined using ELISA kits. Histopathological changes in hippocampal tissue were assessed using hematoxylin-eosin (H&E) staining, and gut microbiota composition was analyzed using 16S rRNA gene sequencing. The results showed that, compared with the model group, PSWP significantly improved learning and memory performance. In the low-dose (0.45 mg·g⁻¹), medium-dose (0.90 mg·g⁻¹), and high-dose (1.35 mg·g⁻¹) groups, escape latency was reduced by 35.25%, 60.05%, and 64.82%, respectively; the number of platform crossings increased by 116.67%, 345.83%, and 304.17%, respectively; and the percentage of swimming distance in the target quadrant increased by 21.73%, 72.21%, and 30.91%, respectively. Meanwhile, ACh levels increased by 12.41%, 25.67%, and 19.86%, and AChE activity decreased by 20.43%, 46.24%, and 40.32%, respectively.

引文格式:
王倩倩,路子佳,闵伟红,等.磷脂酰丝氨酸核桃肽复合物对记忆障碍的改善作用[J].现代食品科技,2026,42(5):46-54.
WANG Qianqian, LU Zijia, MIN Weihong, et al. Effects of a phosphatidylserine-walnut peptide complex on memory impairment [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(5): 46-54.

收稿日期: 2025-03-10 ; 修回日期: 2025-05-22 ; 接受日期: 2025-05-29
作者简介: 王倩倩 (1990-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 功能食品, E-mail : w5982234537@163.com
通讯作者: 刘静 (1989-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 食品营养及慢性病健康管理, E-mail : liujing@edongfanghong.com

PSWP administration also alleviated hippocampal pathological damage in memory-impaired mice. Furthermore, medium-dose PSWP significantly increased gut microbiota diversity. The relative abundances of *norank_f_Muribaculaceae*, *unclassified_f_Lachnospiraceae*, and *Eubacterium_xylanophilum* increased by 184.74%, 224.98%, and 822.32%, respectively, whereas those of *Allobaculum* and *Ileibacterium* decreased by 68.09% and 96.18%, respectively. Correlation analysis revealed that the memory-improving effects of PSWP were closely associated with modulation of the cholinergic system and gut microbiota composition. Overall, PSWP effectively improved memory impairment in mice, providing a theoretical basis for its application as a functional ingredient targeting cognitive dysfunction.

Key words: phosphatidylserine-walnut peptide complex; memory impairment; cholinergic system; gut microbiota

随着全球老龄化的到来,越来越多的老年人受到神经退行性疾病引起的认知和记忆障碍的影响。这已经成为一个重大的社会、医疗和经济问题。因此,预防和改善认知和记忆障碍已成为研究热点。目前临床上主要依靠多奈哌齐、美金刚等药物进行干预,但其缓解效果有限且副作用明显。因此,寻找安全高效的功能因子进行膳食干预进而改善记忆障碍造成的危害具有重要意义。调查结果显示人们对改善记忆力保健品的需求程度为40%~60%,这就为其研制和开发提供了宽广的研发空间。

磷脂酰丝氨酸(Phosphatidylserine, PS)是磷脂家族的一员,通常是细胞膜内小叶的组成部分,约占人血浆和细胞内膜总磷脂质量的2%~20%^[1]。研究表明外源性PS可被人体有效吸收,穿过血脑屏障,改善神经病理过程,增强认知功能,抗神经退行性进展^[2]。2006年5月,PS被食品医药品安全厅批准为神经营养补剂,因为它能促进学习和记忆,改善阿尔茨海默病等记忆障碍。2010年10月,PS被国家批准为新资源食品^[3]。因此,PS在制药和功能食品领域具有广泛的应用,被称为“脑专一性营养物质”。PS主要是通过调节神经细胞膜功能、氧化应激、神经炎症、突触可塑性、神经营养因子、线粒体功能、淀粉样蛋白病理和胆碱能系统等方面发挥改善记忆功能^[4,5]。核桃,含有丰富的营养素,每百克含蛋白质15~20 g。中国人一直有吃核桃补脑的说法,认为核桃具有益智防记忆力衰退的功效。核桃肽(Walnut Peptide, WP)因其丰富的生物活性而受到人们的广泛关注。研究表明,核桃肽在东莨菪碱诱导的学习和记忆缺陷、D-半乳糖和氯化铝诱导的神经毒性和 β -淀粉样蛋白25-35诱导的记忆障碍中发挥保护作用^[6,7]。WP能够保护细胞免受谷氨酸诱导的凋亡^[8],并通过增加乙酰胆碱受体的数量来逆转胆碱能功能障碍^[9]。除此之外,研究人员还发现WP可以防止东莨菪碱诱导的认知和记忆缺陷^[10]。Wei等^[11]发现WP通过促进神经营养因子的表达和抑制氧化应激改善斑马鱼和大鼠记忆损伤。核桃肽主要

通过调节氧化应激、神经炎症、神经递质、突触可塑性、细胞和线粒体自噬、溶酶体稳态、兴奋性神经毒性以及微生物-肠-脑轴等方面改善学习记忆力^[6,12]。综上所述,磷脂酰丝氨酸和核桃肽对记忆损伤均有改善作用,两者的联合应用具有一定的互补性。然而,目前关于磷脂酰丝氨酸和核桃肽复配物对记忆障碍是否有改善的研究较少,基于肠道微生物群-脑轴的潜在机制也仍然未知。

本研究以小鼠为模式生物,通过腹腔注射东莨菪碱建立小鼠记忆障碍模型,观察磷脂酰丝氨酸核桃肽复合物(Phosphatidylserine-Walnut Peptide Complex, PSWP)对记忆障碍小鼠记忆行为学、乙酰胆碱系统和海马组织结构损伤的影响,同时测定肠道菌群,探究PSWP在辅助改善记忆障碍方面的作用以及基于肠道微生物群-脑轴的潜在机制。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

SPF级雄性C57BL/6小鼠,40只,体质量(20 $\pm$ 2)g左右,购自上海斯莱克公司,动物生产许可证号:SCXK(沪)2022-0004,饲养于浙江中医药大学动物实验研究中心,在12 h/12 h循环,室温(25 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C,湿度50%~55%的房间里,适应环境1周后开始试验(伦理编号20240311-25)。

磷脂酰丝氨酸核桃肽复合物(磷脂酰丝氨酸:核桃肽=9.5:1.0),北京东方红航天生物技术股份有限公司;东莨菪碱氢溴酸盐,上海麦克林生化科技股份有限公司;乙酰胆碱(Acetylcholine, ACh)测定试剂盒、乙酰胆碱酯酶(Acetylcholinesterase, AChE)测定试剂盒和BCA试剂盒,南京建成生物工程研究所;其余化学试剂,均为国产分析纯。

XR-XM101莫里斯水迷宫,上海欣软信息科技有限公司;KZ-II高速组织匀浆仪,武汉塞维爾生物科技有限公司;HC-3018R高速冷冻离心机,安徽中科中佳

科学仪器有限公司; Infinite M200 Pro 酶标仪, 瑞士帝肯集团公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组与给药

按照体重质量将小鼠随机分为4组($n=8$), 分别为空白(Normal Control, NC)组, 模型(Model Control, MC)组, 磷脂酰丝氨酸核桃肽复合物低剂量(Low Dose of PSWP, PSWP-L, $0.45 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)、中剂量(Medium Dose of PSWP, PSWP-M, $0.90 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)和高剂量(High Dose of PSWP, PSWP-H, $1.35 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)组。NC组和MC组均灌胃无菌水, 每日一次, 连续8周; 复合物低、中、高剂量组灌胃对应剂量的复合物, 每日一次, 连续8周。8周后, 每日灌胃结束后给与NC组小鼠腹腔注射无菌水, 同时MC组、PSWP-L、PSWP-M和PSWP-H组腹腔注射东莨菪碱氢溴酸盐溶液($3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 每日一次, 连续6 d。灌胃和腹腔注射体积均为 $0.01 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 。给药期间小鼠自由摄食和饮水。

1.2.2 记忆力行为学评价

灌胃实验结束后进行莫里斯水迷宫行为学实验^[13]。实验装置为一个圆形水箱, 由动物行为监测系统划分为四个象限。在其中一个象限下1 cm处放置隐蔽平台作为小鼠的逃避目标, 记录该象限为目标象限。前五天, 小鼠在有逃避平台的水迷宫中进行1 min的自由探索, 训练并引导未能成功到达平台的小鼠, 每个象限均训练一次。第6天, 移除逃避平台, 小鼠在无逃避平台的水迷宫中进行为期1 min的自由探索。记录1 min内小鼠在目标象限停留的时间、逃避潜伏期和穿越平台次数。

1.2.3 大脑组织收集

末次给药后禁食不禁水16 h, 随后实施脱颈操作, 收集大脑组织样品, 用冰生理盐水洗涤并吸干表面水分, 将其浸泡在多聚甲醛溶液(4 wt.%)中固定或储存于 -80°C 冰箱中备用。

1.2.4 海马组织病理学观察

将浸泡在多聚甲醛溶液(4 wt.%)中的大脑组织固定24 h。随后进行石蜡包埋并切片(约 $4 \mu\text{m}$), 再进行苏木精-伊红染色。在显微镜下观察海马的齿状回区(Dentated Gyrus, DG)以及海马角(Cornuammonis, CA)区域的CA1和CA3, 并拍摄图像。

1.2.5 小鼠ACh水平和AChE活性测定

按照1:9(m/m)的比例将海马组织置于冰生理

盐水中, 然后在冰水浴中进行均质得到悬浮液, 离心(4°C , $10\,000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 10 min)后收集上清液, 按照试剂盒说明书测定海马组织的ACh水平和AChE活性。

1.2.6 小鼠肠道菌群分析

实验结束时捡取小鼠粪便样品检测肠道菌群^[14,15]。将样品送至上海美吉生物有限公司进行检测, 并在其所在云分析平台(<https://cloud.majorbio.com/>)进行分析。

1.3 数据处理

本研究使用Graphpad Prism 9软件进行统计学差异性分析并绘图, 各项数据以平均值 $\pm$ 标准误差表示。采用单因素方差分析方法进行组间差异性比较, 与NC组相比, $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$; 与MC组相比, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$, $^{\#\#\#}P<0.001$ 。

2 结果与讨论

2.1 磷脂酰丝氨酸核桃肽复合物对小鼠记忆功能的影响

如图1所示, 与NC组相比, MC组的逃避潜伏期增加265.06%($P<0.001$)、穿越平台次数降低67.12%($P<0.05$)和目标象限占比降低37.10%($P<0.05$), 表明小鼠记忆障碍模型造模成功。由图1a~1c可知, 与MC组相比, PSWP-L、PSWP-M和PSWP-H组小鼠的逃避潜伏期分别缩短35.25%($P>0.05$)、60.05%($P<0.001$)和64.82%($P<0.001$); 穿越平台次数分别增加116.67%($P>0.05$)、345.83%($P<0.001$)和304.17%($P<0.001$); 目标象限占比分别增加21.73%($P>0.05$)、72.21%($P<0.01$)和30.91%($P>0.05$)。由图1d可知, MC组的小鼠运动方式呈现边缘式, PSWP-L组的呈现随机式, 而NC组、PSWP-M和PSWP-H组的则呈现趋向式。质量浓度为1、3和 $9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的PS对东莨菪碱所致斑马鱼记忆力和认知力的损伤具有一定的改善作用^[16]。PS乳剂提升小鼠空间记忆能力和学习能力^[17]。 $0.67 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 核桃肽通过调节胆碱能系统和缓解氧化应激来改善东莨菪碱引起的小鼠记忆缺陷(逃避潜伏期显著缩短40.08%和穿越平台次数显著增加124.68%)^[18]。在本研究中, PSWP中剂量和高剂量组的逃避潜伏期分别缩短60.05%和64.82%, 穿越平台次数分别增加345.83%和304.17%, 目标象限占比分别增加72.21%和30.91%。因此, PSWP中剂量和高剂量均可有效改善记忆障碍小鼠的学习记忆能力。

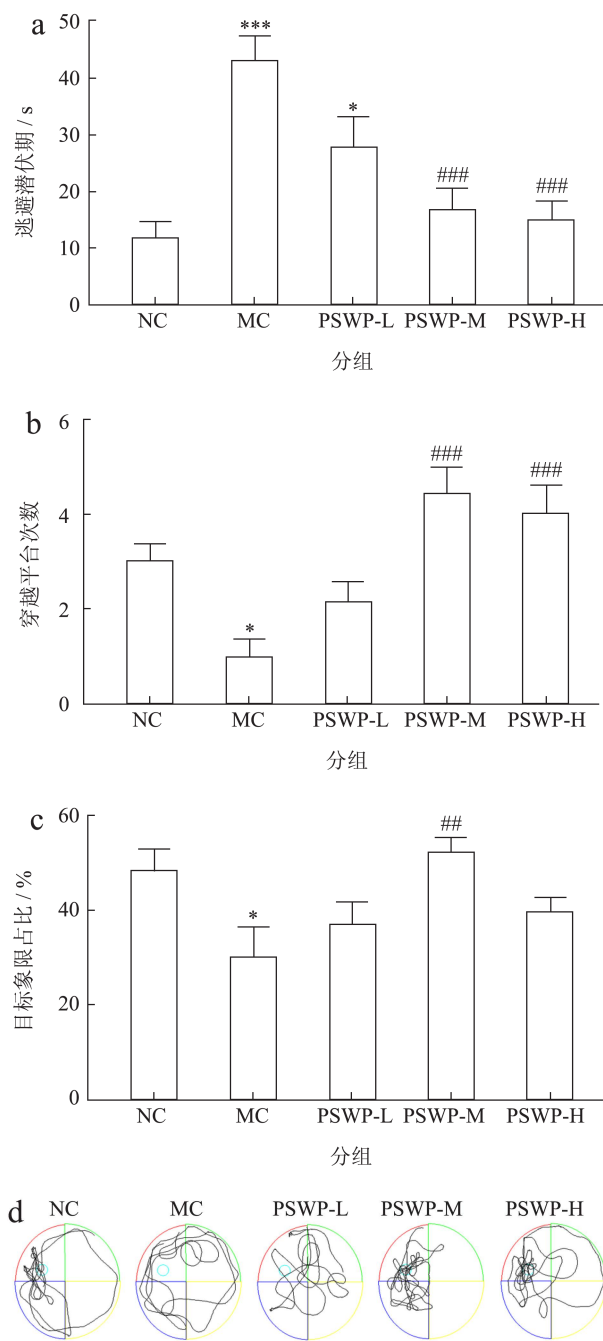


图 1 PSWP 对记忆障碍小鼠记忆行为学的影响

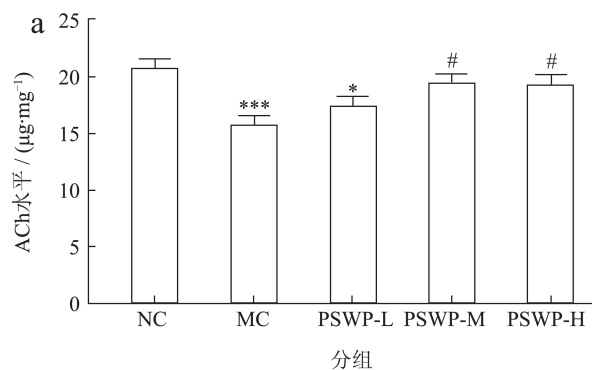
Fig.1 Effects of PSWP on memory behavior in mice with memory impairment

注: (a) 逃避潜伏期; (b) 穿越平台次数; (c) 目标象限占比; (d) 典型路径图。与 NC 组相比, * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$; 与 MC 组相比, ### $P < 0.01$, #### $P < 0.001$ 。

2.2 磷脂酰丝氨酸核桃肽复合物对小鼠胆碱能系统的影响

东莨菪碱是一种抗胆碱能药物, 可通过竞争性结合 ACh 受体, 阻断 ACh 的作用, 从而抑制神经信号

传递。在正常情况下, ACh 通过与神经突触后膜上的乙酰胆碱受体结合, 传递神经冲动和记忆信号^[19]。此外, ACh 含量与 AChE 活性密切相关, 若 AChE 过度降解 ACh, 则可能导致神经信号传导紊乱和记忆丧失^[20]。因此, 上调 ACh 水平和抑制 AChE 活性是维持胆碱能系统平衡的有效途径。由图 2a 可知, 与 NC 组相比, MC 组小鼠大脑组织中 ACh 含量显著降低 24.84% ($P < 0.001$), AChE 的活性增加 51.22% ($P < 0.01$)。与 MC 组相比, PSWP-L、PSWP-M 和 PSWP-H 组小鼠 ACh 的含量分别增加 12.41% ($P > 0.05$)、25.67% ($P < 0.001$) 和 19.86% ($P < 0.001$); AChE 活性分别降低 20.43% ($P > 0.05$)、46.24% ($P < 0.001$) 和 40.32% ($P < 0.001$)。静脉注射纯化 PS 第 8 天, 老龄大鼠顶叶皮层 ACh 释放减少, 这可能是由于为 ACh 合成提供了更多的胆碱所致^[21]。此外, Duan 等^[22]发现磷脂酰丝氨酸和 α -亚麻酸食品补充剂能够改善中国轻度认知障碍老年人的认知功能, 并提高血清 α -亚麻酸、二十二碳六烯酸、二十碳五烯酸、ACh、 γ -氨基丁酸和 5-羟色胺水平。核桃肽通过多通路多靶点效应包括脑组织胆碱能系统 (通过提高 ACh 和乙酰胆碱受体水平, 降低 AChE 活性来调节胆碱能系统)、氧化应激和神经营养相关通路缓解东莨菪碱诱导的记忆认知障碍^[23]。核桃肽和酪蛋白肽复合物 ($0.03 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 显著改善焦虑和记忆相关行为表现, 并恢复神经递质 5-羟色胺、 γ -氨基丁酸、多巴胺和 ACh 水平^[12]。以上结果表明, PSWP-M 和 PSWP-H 能够显著增加记忆障碍小鼠大脑组织 ACh 含量和抑制 AChE 的活性^[24]。综上, PSWP 可通过缓解东莨菪碱诱导的小鼠脑组织胆碱能系统损伤来发挥改善记忆功效。结合行为学和生化结果发现 PSWP-L 对小鼠记忆功能有一定的改善作用但未达到显著, 而 PSWP-M 和 PSWP-H 能够显著改善小鼠记忆功能, 且 PSWP-M 效果优于 PSWP-H, 因此后续研究主要集中在 PSWP-M。



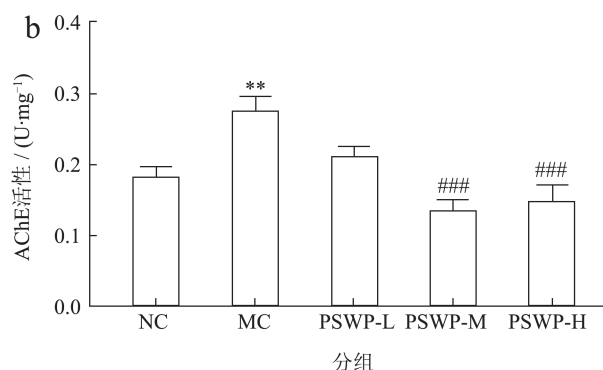


图2 PSWP 对记忆障碍小鼠胆碱能系统的影响

Fig.2 Effects of PSWP on ACh content and AChE activity in mice with memory impairment

注：与 NC 组相比，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ，*** $P<0.001$ ；与 MC 组相比，# $P<0.05$ ，### $P<0.001$ 。

2.3 磷脂酰丝氨酸核桃肽复合物对小鼠海马组织损伤的影响

海马体是记忆处理的关键区域，由几个子区域组成。其中，CA1 和 CA3 区域在认知和记忆的发生和发展中起着重要作用。记忆障碍通常伴随着进行性细胞损伤和身体机能下降。如图 3 所示，与 NC 组相比，MC 组小鼠海马组织 CA1 区域多数细胞形态改变、细胞分布松散且数量较少，表明东莨菪碱诱导会引发海马区结构异常。与 MC 组相比，PSWP-M 小鼠海马组织 CA1 区域细胞形态正常，细胞数量较多。但 CA3 和 DG 区域的细胞形态与 MC 组无明显区别。与东莨菪碱造模组相比，一些食物来源的神经保护肽在 C57BL/6 小鼠的 CA1、CA3 和 DG 区域表现出改善的海马细胞形态^[25]。结果表明，PSWP 可减轻记忆障碍模型小鼠大脑海马组织的损伤。

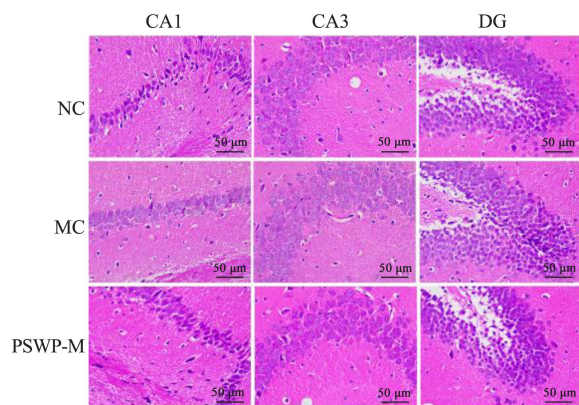


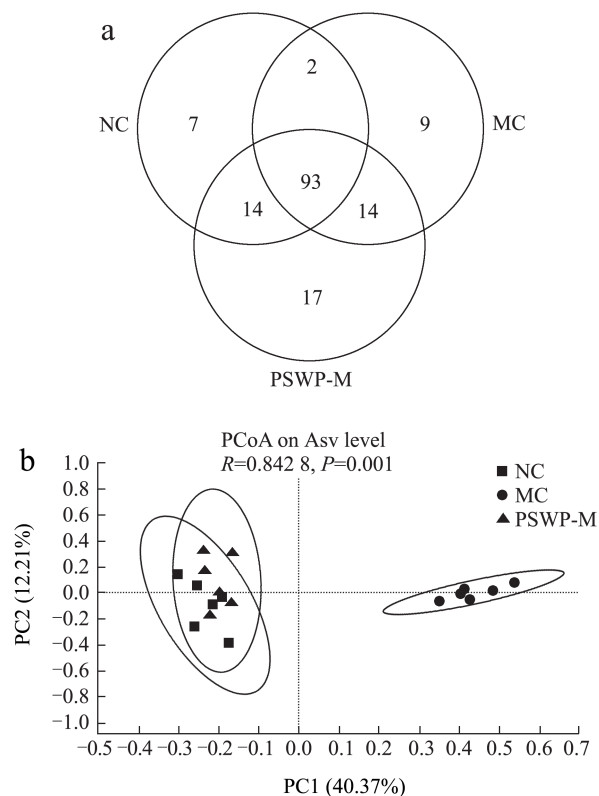
图3 PSWP 对记忆障碍小鼠海马组织损伤的影响

Fig.3 Effects of PSWP on hippocampus morphology of brain in mice with memory impairment

2.4 磷脂酰丝氨酸核桃肽复合物对小鼠肠道菌群的影响

2.4.1 复合物对小鼠肠道菌群多样性的影响

肠道菌群是肠道和大脑之间双向信号通路的关键调节剂，记忆损伤的改善作用与肠道微生物相关^[26,27]。由图 4a 所示，本次实验共检测到 156 个 OTU，其中 3 组共同拥有 93 个，各组独有的 OTU 个数分别是空白组 7 个，模型组 9 个，PSWP 组 17 个。 α -多样性指数用来反应样品内菌群的丰富度（Sobs 指数、Chao 指数和 Ace 指数）和多样性（Simpson 指数和 Shannon 指数），数值越大表明样品的物种丰富度越高。由图 4c 可知，与模型组相比，PSWP 组的 Ace 指数、Chao 指数和 Sobs 指数显著增加 43.57% ($P<0.01$)、67.49% ($P<0.01$) 和 68.64% ($P<0.01$)，而对 Shannon 指数和 Simpson 指数无显著影响 ($P>0.05$)。结果表明，PSWP 组可提高记忆障碍模型小鼠肠道菌群的 α 多样性。由图 4b 可知，空白组与模型组发生明显的分离，表明东莨菪碱影响小鼠肠道菌群的组成。通过比较 PSWP 组和模型组及比较中剂量组和空白组发现，各试验组的组内样品聚集，组间分离，相较于模型组，PSWP 组与空白组距离明显缩短、且聚类接近。综上可知，PSWP 在一定程度上提高记忆障碍小鼠肠道菌群的 β -多样性。



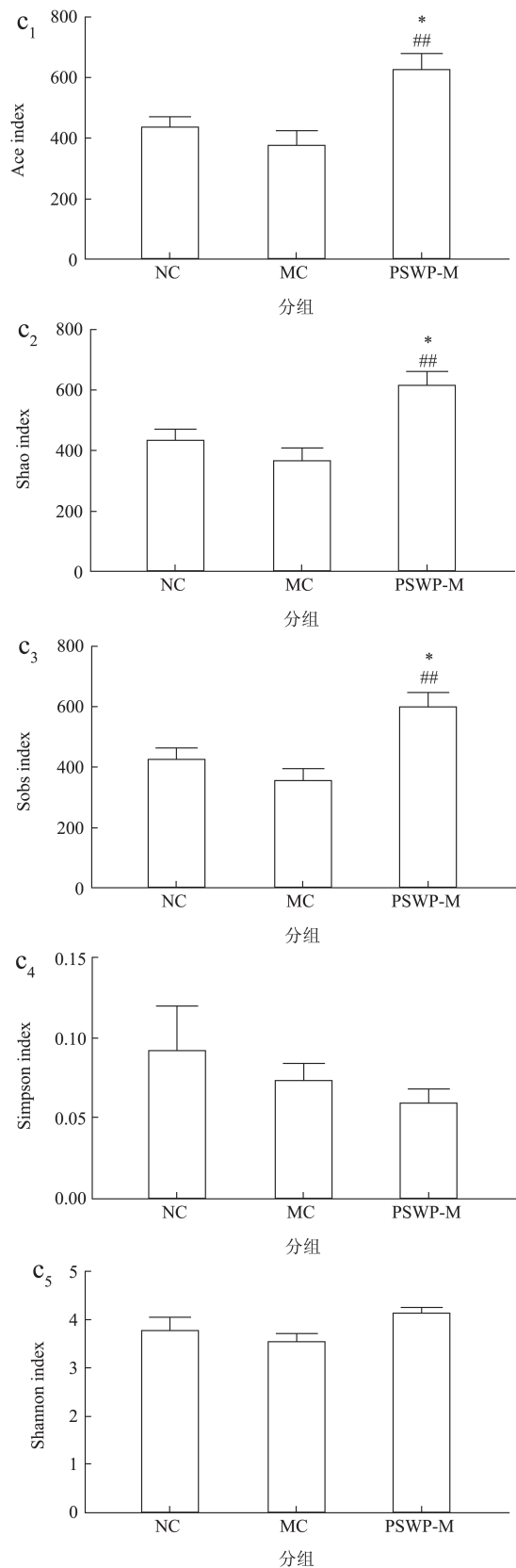


图4 PSWP对记忆障碍小鼠肠道菌群多样性的影响

Fig.4 Effects of PSWP on diversity of gut microbiota in mice with memory impairment

注：(a) OTU 组成；(b) β 多样性；(c) α 多样性。与 NC 组相比，* $P < 0.05$ ；与 MC 组相比，## $P < 0.01$ 。

2.4.2 复合物对小鼠肠道菌群组成的影响

根据物种注释结果，分别在门、科和属水平上分析磷脂酰丝氨酸核桃肽复合物中剂量对记忆障碍模型小鼠肠道菌群的影响。由图 5a 所示，在门水平上，小鼠的肠道菌群主要由厚壁菌门（Firmicutes）、拟杆菌门（Bacteroidota）、放线菌门（Actinobacteriota）、疣微菌门（Verrucomicrobiota）、脱硫杆菌门（Desulfobacterota）和髌骨细菌门（Patescibacteria）等组成。与 NC 组相比，MC 组厚壁菌门、脱硫杆菌门、疣微菌门的相对丰度增加，同时拟杆菌门、放线菌门的相对丰度降低；而 PSWP-M 组厚壁菌门、放线菌门和疣微菌门分别降低 26.35%、31.65% 和 80.28%，拟杆菌门、脱硫杆菌门和髌骨细菌门分别增加 122.13%、28.52% 和 16.49%。

由图 5b 所示，在科水平上，与 MC 组相比，PSWP 组 Muribaculaceae 科和毛螺菌科（Lachnospiraceae）的相对丰度分别增加 183.04%（ $P=0.092$ ）和 303.68%（ $P<0.05$ ），同时丹毒丝菌科（Erysipelotrichaceae）、普雷沃氏菌科（Prevotellaceae）和爱格氏菌科（Eggerthellaceae）的相对丰度分别降低 65.15%（ $P<0.001$ ）、59.28%（ $P=0.121$ ）和 62.43%（ $P=0.079$ ）。

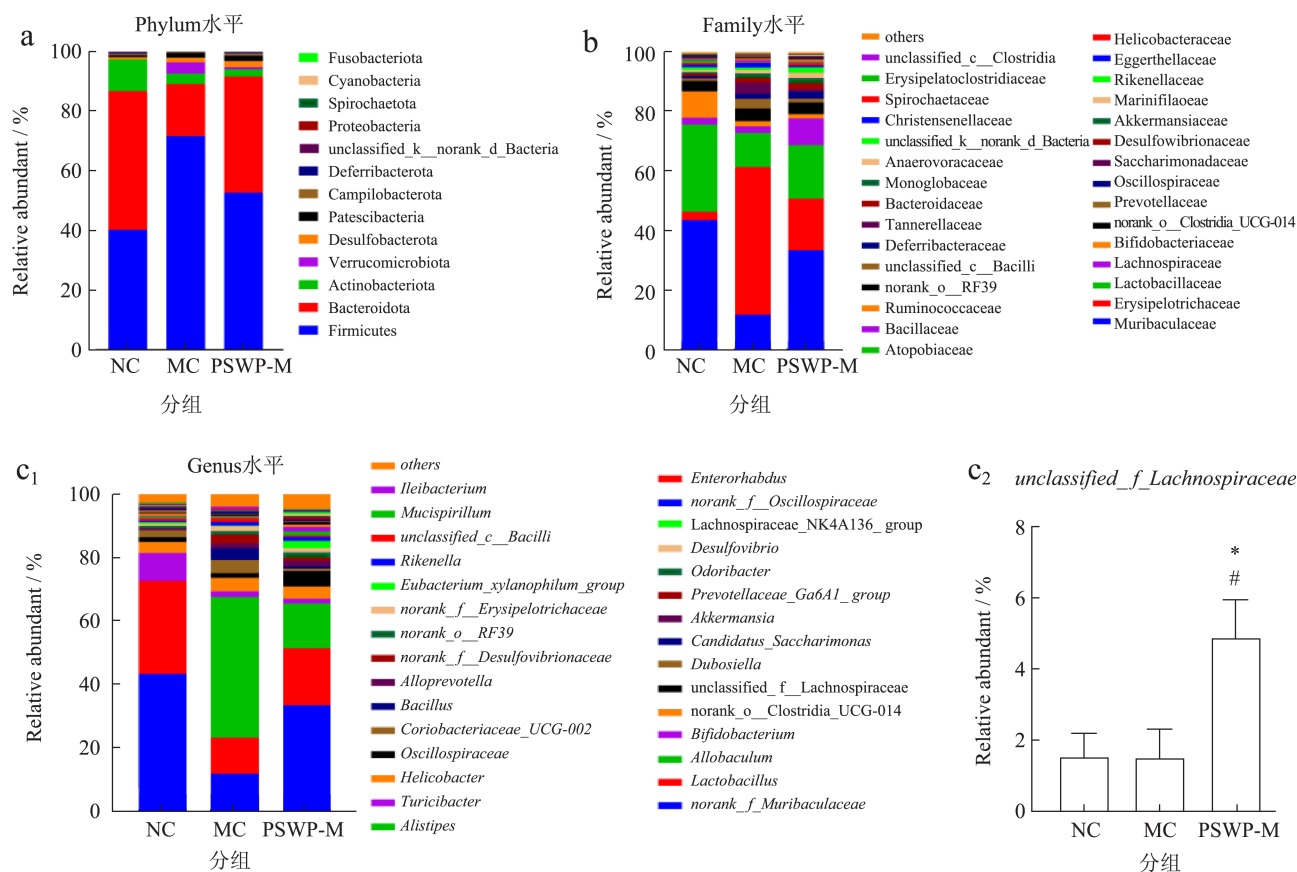
由图 5c 所示，在属水平上，PSWP 回调大部分的菌属的相对丰度，表明 PSWP 干预组与 NC 组物种相似度较高。与 MC 组相比，PSWP 组 *norank_f_Muribaculaceae*、毛螺菌属（*unclassified_f_Lachnospiraceae*）和 *Eubacterium_xylanophilum_group* 的相对丰度分别增加 184.74%（ $P=0.088$ ）、224.98%（ $P<0.05$ ）和 822.32%（ $P<0.01$ ），同时异杆菌属（*Allobaculum*）和回肠杆菌属（*Ileibacterium*）的相对丰度分别降低 68.09%（ $P<0.001$ ）和 96.18%（ $P<0.001$ ）。*norank_f_Muribaculaceae* 属于拟杆菌门，是一种有益菌。研究发现 APP/PS1 小鼠中 *Muribaculaceae* 丰度的显著减低伴随着认知功能障碍的发生^[28]。此外，陶海娃等^[29]发现发酵粘液乳杆菌 WMU003 可以显著增加 APP/PS1 小鼠 *Muribaculaceae* 的相对丰度。PSWP 组的 *norank_f_Muribaculaceae* 相对丰度高于模型组。毛螺菌属也属于厚壁菌门，是一种有益菌。研究表明与健康对照组相比，阿尔茨海默病患者的毛螺菌属减少，而且 *Lachnospira* 是唯一一个在轻度认知障碍患者中的丰度在统计学上显著低于健康对照组的属，表明该菌属的关键作用^[30]。此外，毛螺菌属与抑炎效应和神经保护相关。本研究发现 PSWP 组的毛螺菌属相对丰度高显著于模型组，PSWP 组的 *Eubacterium_xylanophilum_group* 相对丰度显著增加（ $P<0.01$ ）以及异杆菌属相对丰度显著降低（ $P<0.001$ ）。然而，陶海娃等^[29]发现

APP/PS1 小鼠的 *Eubacterium_xylanophilum_group* 丰度显著增加。此外,与野生型小鼠相比,阿尔茨海默症小鼠中的异杆菌属相对丰度显著降低^[31]。出现这种现象的原因可能是由于实验动物、饲喂物料和干预物等不同导致的。综上,PSWP 能够调节东莨菪碱诱导的小鼠肠道菌群紊乱。

2.5 差异菌群与记忆功能指标相关性分析

为了研究小鼠记忆障碍相关表型及生化与肠道菌群之间的关系,本研究选择行为学指标、生化指标与属水平上的差异菌群进行 Spearman 相关性分析。由图 6 所示, *norank_f_Muribaculaceae* 与逃避潜伏期和 AChE 活性呈显著负相关,与穿越平台次数、目标象限所占百分比和 ACh 含量呈显著正相关。拟普雷沃氏菌属 (*Alloprevotella*) 与逃避潜伏期和 AChE 活性呈显著负相关,与目标象限所占百分比呈显著正相关。在阿尔茨海默病模型小鼠粪便中丹毒丝菌科 (*norank_f_Erysipelotrichaceae*) 的丰度显著下降^[32]。丹毒丝菌科 (*norank_f_Erysipelotrichaceae*) 与逃避潜伏期呈

显著负相关,与穿越平台次数、目标象限所占百分比和 ACh 含量呈显著正相关。卢芳等^[33]研究发现燕窝通过提高 *Rikenella*、*Lactococcus* 等有益菌的比例,降低有害菌的比例来提高大鼠子代的学习记忆能力。*Rikenella* 与 ACh 含量呈显著正相关,而且与模型组相比其相对丰度有所增加。*Candidatus_Saccharimonas* 与逃避潜伏期呈显著正相关,与 ACh 含量呈显著负相关,表明该菌属与记忆功能呈负相关。类似地,通过相关性分析发现 *Mucispirillum* 和 *Candidatus_Saccharimonas* 均与认知功能呈显著负相关^[34]。*Allobaculum* 与逃避潜伏期、AChE 活性呈显著正相关,与 ACh 含量呈显著负相关。*Prevotellaceae_Ga6A1_group* 与逃避潜伏期呈显著正相关,与目标象限所占百分比呈显著负相关。*Ileibacterium* 与逃避潜伏期和 AChE 活性呈显著正相关,与穿越平台次数和 ACh 含量呈下显著负相关。综上可知,PSWP 对记忆障碍小鼠引起的肠道菌群分类组成的变化可能与其改善记忆障碍、抑制 AChE 活性、提高 ACh 含量的作用相关。



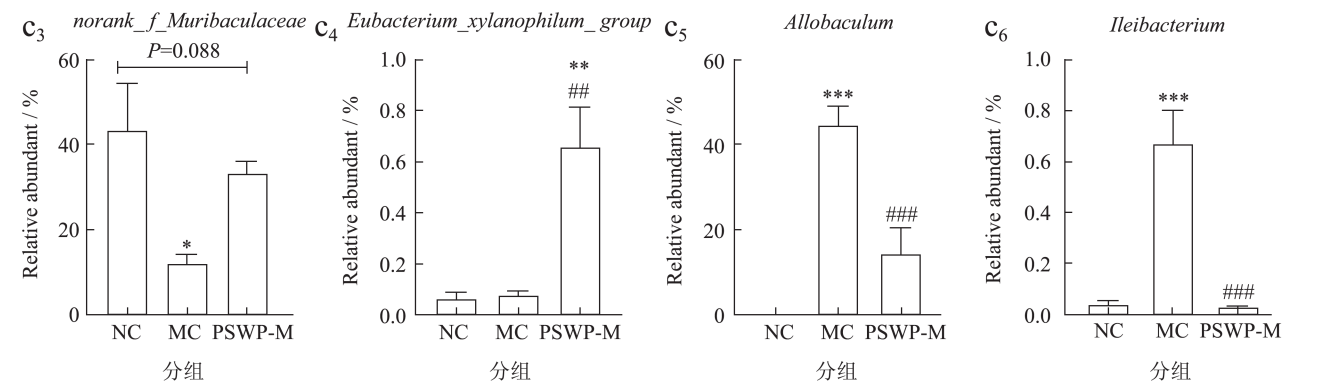


图 5 PSWP 对记忆障碍模型小鼠肠道菌群组成的影响

Fig.5 Effects of PSWP on gut microbiota at phylum, family, and genus level in mice with memory impairment

注：(a) 门水平；(b) 科水平；(c) 属水平。与 NC 组相比，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ，*** $P<0.001$ ；与 MC 组相比，### $P<0.001$ ，#### $P<0.001$ 。

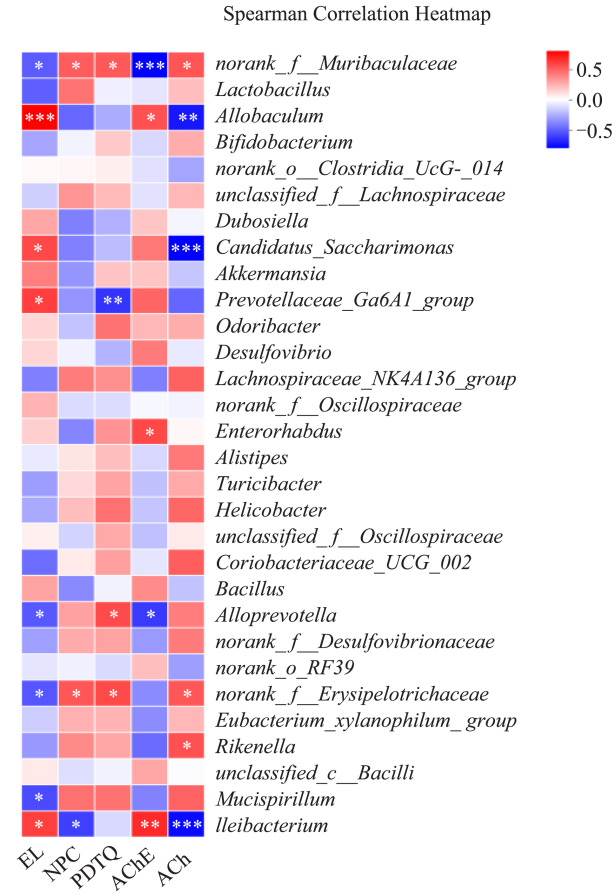


图 6 小鼠属水平上的差异菌群与记忆功能指标相关性分析

Fig.6 The correlation analysis between gut microbiota at genus level and parameters related with memory function

注：目标象限所占百分比（Percentage of Distance in the Target Quadrant, PDTQ）；逃避潜伏期（Escape Latency, EL）；穿越平台次数（Number of Platform Crossing, NPC）。

3 结论

本研究通过建立东莨菪碱诱导小鼠记忆障碍模

型来探究 PSWP 对记忆障碍的改善作用。结果发现，PSWP 中剂量和高剂量显著缩短记忆障碍小鼠逃避潜伏期、增加穿越平台次数和小鼠目标象限占比改善小鼠记忆障碍，提高 Ach 含量和降低 AchE 活性调节其胆碱能系统。同时，PSWP 减少记忆障碍小鼠大脑海马组织损伤。此外，PSWP 增加记忆障碍小鼠的肠道菌群的多样性，回调部分肠道菌群在门、科和属水平上的相对丰度，PSWP 对记忆障碍小鼠的改善作用与胆碱能系统和肠道菌群高度相关。综上，磷脂酰丝氨酸核桃肽复合物显著改善了小鼠记忆功能障碍，其机制可能与调节胆碱能系统和肠道菌群紊乱有关。

参考文献

[1] BURSTYN-COHEN T, MAIMON A. TAM receptors, phosphatidylserine, inflammation, and cancer [J]. Cell Communication and Signaling, 2019, 17 (1): 156.

[2] SUZUKI S, YAMATOYA H, SAKAI M, et al. Oral administration of soybean lecithin transphosphatidylated phosphatidylserine improves memory impairment in aged rats [J]. The Journal of Nutrition, 2001, 131 (11): 2951-2956.

[3] DONYO M, HOLLANDER D, ABRAMOVITCH Z, et al. Phosphatidylserine enhances IKBKAP transcription by activating the MAPK/ERK signaling pathway [J]. Human Molecular Genetics, 2016, 25 (7), 1307-1317.

[4] HUSSAIN M, KHAN I, CHAUDHARY MN, et al. Phosphatidylserine: A comprehensive overview of synthesis, metabolism, and nutrition [J]. Chemistry and Physics of Lipids, 2024, 264: 105422.

[5] GLADE MJ, SMITH K. Phosphatidylserine and the human brain [J]. Nutrition, 2015, 31(6): 781-786.

[6] LIU D, GUO Y, MA H. Production, bioactivities and bioavailability of bioactive peptides derived from walnut origin by-products: a review [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2023, 63(26): 8032-8047.

- [7] DAND Q, WU D, LI Y, et al. Walnut-derived peptides ameliorate d-galactose-induced memory impairments in a mouse model via inhibition of MMP-9-mediated blood-brain barrier disruption [J]. Food Research International, 2022, 162(Pt A): 112029.
- [8] WANG S, SU G, ZHANG Q, et al. Walnut (*Juglans regia*) peptides reverse sleep deprivation-induced memory impairment in rat via alleviating oxidative stress [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(40): 10617-10627.
- [9] FENG L, WANG X, PENG F, et al. Walnut protein hydrolysates play a protective role on neurotoxicity induced by d-galactose and aluminum chloride in mice [J]. Molecules, 2018, 23(9): 2308.
- [10] WANG S, SU G, FAN J, et al. Arginine-containing peptides derived from walnut protein against cognitive and memory impairment in scopolamine-induced zebrafish: design, release, and neuroprotection [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(37): 11579-11590.
- [11] WEI S, WU Q, WANG S, et al. Treatment with walnut peptide ameliorates memory impairment in zebrafish and rats: promoting the expression of neurotrophic factors and suppressing oxidative stress [J]. Food & Function, 2024, 15(15): 8043-8052.
- [12] QI Y, WANG X, ZHANG Y, et al. Walnut-derived peptide improves cognitive impairment in colitis mice induced by dextran sodium sulfate via the microbiota-gut-brain axis (MGBA) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(49): 19501-19515.
- [13] VORHEES C V, WILLIAMS M T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory [J]. Nature Protocols, 2006, 1(2): 848-858.
- [14] WANG Q, SHEN F, ZHANG J, et al. Consumption of wheat peptides improves functional constipation: A translational study in humans and mice [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2022, 66(19): e2200313.
- [15] WANG Q, ZHANG J, SHEN F, et al. Sea cucumber (*Acaudina leucoprocta*) peptides exhibit anti-aging effect in *Drosophila melanogaster* via regulation of microbiota dysbiosis and metabolic disorder [J]. Food Bioscience, 2024, 60: 104476.
- [16] 夏洪志. 基于斑马鱼模型评价磷脂酰丝氨酸对记忆力及认知力的改善作用[J]. 中国食品添加剂, 2024, 35(2): 145-152.
- [17] LIU B, ZHANG N, YANG J, et al. Preparation, characterization, evaluation of neuroprotective effect, and related mechanisms of phosphatidylserine emulsion in 5- and 12-week old mice [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(6): 1852-1864.
- [18] WANG S, SU G, ZHANG X, et al. Characterization and exploration of potential neuroprotective peptides in walnut (*Juglans regia*) protein hydrolysate against cholinergic system damage and oxidative stress in scopolamine-induced cognitive and memory impairment mice and zebrafish [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(9): 2773-2783.
- [19] SCHLIEBS R, ARENDT T. The significance of the cholinergic system in the brain during aging and in Alzheimer's disease [J]. Journal of Neural Transmission, 2006, 113(11): 1625-1644.
- [20] SINGH M, KAUR M, KUKREJA H, et al. Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: from nerve toxins to neuroprotection [J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2013, 70: 165-188.
- [21] KIM H Y, HUANG B X, SPECTOR A A. Phosphatidylserine in the brain: metabolism and function [J]. Progress in Lipid Research, 2014, 56: 1-18.
- [22] DUAN H, XU N, YANG T, et al. Effects of a food supplement containing phosphatidylserine on cognitive function in Chinese older adults with mild cognitive impairment: A randomized double-blind, placebo-controlled trial [J]. Journal of Affective Disorders, 2024, 369: 35-42.
- [23] 王曙光. 核桃肽的记忆改善功效及吸收代谢和作用机制研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2023.
- [24] LI Q, JIA X, ZHONG Q, et al. Combination of walnut peptide and casein peptide alleviates anxiety and improves memory in anxiety mice [J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 10: 1273531.
- [25] WU D, XU X, SUN N, et al. AGLPM and QMDDQ peptides exert a synergistic action on memory improvement against scopolamine-induced amnesiac mice [J]. Food & Function, 2020, 11(12): 10925-10935.
- [26] WANG M, AMAKYE W K, GUO L, et al. Walnut-derived peptide PW5 ameliorates cognitive impairments and alters gut microbiota in APP/PS1 transgenic mice [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2019, 63(18): 1900326.
- [27] LIU J, YE T, ZHANG Y, et al. Protective effect of ginkgolide B against cognitive impairment in mice via regulation of gut microbiota [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(41): 12230-12240.
- [28] HAN D Y, LI Z Q, LIU T T, et al. Prebiotics regulation of intestinal microbiota attenuates cognitive dysfunction induced by surgery stimulation in APP/PS1 mice [J]. Aging and Disease, 2020, 11(5): 1029-1045.
- [29] 陶海娃, 张雨荷, 陈默子, 等. 基于肠-脑轴探讨发酵粘液乳杆菌 WMU003对阿尔茨海默病模型小鼠认知障碍及神经元损伤的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2024, 36(06): 665-670.
- [30] CHEN W, BI Z, ZHU Q, et al. An analysis of the characteristics of the intestinal flora in patients with Parkinson's disease complicated with constipation [J]. American Journal of Translational Research, 2021, 13(12): 13710-13722.
- [31] HARACH T, MARUNGRUANG N, DUTHILLEUL N, et al. Reduction of Abeta amyloid pathology in APPPS1 transgenic mice in the absence of gut microbiota [J]. Scientific Reports, 2017, 7: 41802.
- [32] 顾欣如. 肠源性信号分子调控阿尔茨海默病神经炎症及黄连解毒汤干预机制研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2022.
- [33] 卢芳, 张冶, 邬天雨, 等. 燕窝对大鼠子代学习记忆能力的影响及基于肠道菌群结构的作用机制研究[J]. 中药药理与临床, 2021, 37(1): 110-116.
- [34] 刘军莉. 藏区酸奶对AD模型小鼠认知功能及肠道微生物的影响[D]. 青海: 青海大学, 2020.