

神经病学

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.000463

跑步锻炼对 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠大脑白质及白质内有髓神经纤维的作用

周春妮, 蒋 林, 张 毅, 张 蕾, 晁凤蕾, 罗艳敏, 王飞飞, 谭川雪, 陈林木, 唐 勇
(重庆医科大学基础医学院组织胚胎教研室、干细胞与组织工程研究室, 重庆 400016)

【摘要】目的:运用新的体视学方法定量研究跑步锻炼对 APP/PS1 双转基因模型小鼠行为学、大脑白质及白质内有髓神经纤维的作用。**方法:**将 6 月龄雌性 APP/PS1 双转基因阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD) 模型小鼠分为对照组 ($n=7$) 和跑步组 ($n=12$), 跑步组给予 4 个月的跑步锻炼干预。跑步后运用 Morris 水迷宫实验检测小鼠的空间学习和记忆能力; 用精确的三维体视学方法来定量测定小鼠白质总体积、白质内有髓神经纤维总长度、白质内有髓纤维、髓鞘和轴突的总体积。**结果:**经过 4 个月的跑步锻炼后, 跑步组小鼠的定位航行实验显示其平均逃避潜伏期明显短于对照组 ($P=0.000$), 空间探索实验表明跑步组穿台次数和平台所在象限时间百分比明显大于对照组 ($P=0.000, P=0.009$)。与对照组小鼠比较, 跑步组小鼠白质总体积、白质内有髓纤维总体积和轴突的总体积明显增加 ($P=0.026, P=0.042, P=0.027$), 而白质内有髓神经纤维总长度和有髓神经纤维髓鞘总体积差异无统计学意义 ($P=0.259, P=0.901$)。**结论:**跑步锻炼对白质体积和有髓神经纤维的作用可能是跑步锻炼延缓 AD 学习和记忆力下降的重要结构基础之一。

【关键词】转基因阿尔兹海默病小鼠; 跑步锻炼; 白质; 有髓神经纤维; 体视学

【中图分类号】R749.4; R322.81; R329.4

【文献标志码】A

【收稿日期】2014-09-05

Effects of running exercise on the white matter and the myelinated fibers in the white matter of the APP/PS1 double transgenic mouse model of Alzheimer's disease

Zhou Chunni, Jiang Lin, Zhang Yi, Zhang Lei, Chao Fenglei, Luo Yanmin,
Wang Feifei, Tan Chuanxue, Chen Linmu, Tang Yong

(Teaching and Research Section of Histology and Embryology, Laboratory of Stem Cells and Tissue Engineering,
College of Basic Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the effects of running exercise on the white matter and the myelinated fibers in the white matter of the APP/PS1 double transgenic mouse. **Methods:** Six-month-old female APP/PS1 transgenic mice were divided into the control group ($n=7$) and the running group ($n=12$). The running group ran for four months. Seven mice were randomly selected from each group. After running exercise, Morris water maze test was used to detect the spatial learning and memory abilities of the mice in both groups. The white matter volume, the total length and total volume of the myelinated fibers in the white matter, the total volume of the myelin sheaths and the total volume of the axons in the white matter were investigated with the accurate three-dimensional quantitative stereological methods. **Results:** After four-month running exercise, the mean escape latency of positioning navigation test in the running group was significantly shortened when compared with that in control group ($P=0.000$), while the target zone frequency and the percentage of time in target quadrant of the running group in spatial probe test were significantly increased when compared with those in control group ($P=0.000, P=0.009$). When compared with those in control group, the white matter volume, the total volume of the myelinated fibers and the total volume of the axons in the white matter were significantly increased in the running group ($P=0.026, P=0.042, P=0.027$). The total length of myelinated fibers and the total volume of myelinated sheath in the white matter were not statistically different between the two groups ($P=0.259, P=0.901$). **Conclusion:** The effects of running exercise on the white matter and

the myelinated fibers in the white matter might be an important structural basis for understanding the mechanism for the fact that running exercise could delay Alzheimer's disease progress.

【Key words】transgenic mouse model of Alzheimer's disease; running exercise; white matter; myelinated fibers; stereology

作者介绍: 周春妮, Email: niuniu2007happy@sina.com,
研究方向: 神经生物学。

通信作者: 唐 勇, Email: ytang062@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 81470057); 重庆市首批“百名学术学科领军人才”培养计划资助项目 (2012)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150112.1722.028.html>

(2015-01-12)

阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种以进行性记忆丢失为特征的神经系统退行性疾病, 据估计全球有 3 千 6 百万 AD 患者, 到 2050 年将是现在的 3 倍^[1]。AD 死亡率高, 仅次于心血管疾病、脑血管疾病、癌症, 现在仍缺少有效治疗方式能预防、阻止或者逆转 AD。目前跑步锻炼作为一种预防或治疗 AD 的行为学手段受到广泛关注。有大量证据显示锻炼能延缓 AD 病人^[2]或者 AD 动物模型^[3-4]认知功能的下降, 而且能减缓痴呆的行为和精神症状相似的行为^[5]。锻炼作为一种影响范围较广的治疗手段, 关于它的机制研究也有很多。在对 3xTg-AD 转基因小鼠的研究中发现锻炼可以恢复 AD 海马内已经受损的新生神经元的形成能力^[6], 而且也能够增加新生神经元的数量^[7]。跑步锻炼还可以改善海马突触的可塑性^[8-9], 对海马齿状回突触的发生有影响^[10]。一些文献也尝试阐述了锻炼是通过恢复转基因小鼠中 N-甲基-D-天门冬氨酸 (N-methyl-D-aspartate, NMDA) 受体 NR2B 亚基蛋白表达水平的减少, 延缓了突触素和 PSD95 蛋白的丢失, 从而影响突触可塑性和认知功能的改变^[11]。也有研究指出跑步锻炼能减少氧化应激从而延缓 AD 的进程^[5]。

尽管上述关于 AD 的研究很多集中在大脑的皮质和海马, 但是, 影像学提示 AD 病人也存在大脑白质体积的下降^[12]。尸检中发现脑白质病理学改变与 AD 密切相关^[13]。AD 病人不仅在 AD 发生早期便已经出现大脑白质内轴突运输的显著性缺乏^[14], 同时也存在广泛的脱髓鞘改变^[15]。Bendlin 等^[16]发现 AD 患者大脑白质完整性与认知功能有着密切联系。已有研究表明, 锻炼能增加老年人脑体积^[17]。锻炼对大脑白质是否有作用? 如果锻炼对 AD 大脑白质有保护作用, 那么锻炼对 AD 大脑白质中有髓神经纤维及髓鞘等的结构是否具有保护作用? 这些问题, 国内、外未见研究报道。为回答这些问题本研究对 6 月龄 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠进行 4 个月跑步锻炼干预, 然后研究跑步锻炼对 AD 模型小鼠行为学、大脑白质和白质内有髓神经纤维的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

将 6 月龄雌性 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠分为对照组 ($n=7$) 和跑步组 ($n=12$), 跑步组给予 4 个月的跑步锻炼干预。动物饲养在温度为 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$, 24 h 周期明暗交替照

明, 动物自由进食及饮水的环境中。所有操作遵循重庆医科大学实验动物使用相关伦理要求。

1.2 跑步锻炼

跑步组小鼠从 6 月龄开始给予 4 个月的跑步训练, 第 1 周为适应期, 跑步速度为 5 m/min, 10 min/d。从第 2 周开始, 持续以 10 m/min 跑步, 20 min/d, 5 d/周^[9]。

1.3 Morris 水迷宫检测空间学习和记忆能力

Morris 水迷宫^[18-19]设备为一不锈钢圆形水池, 直径为 90 cm。平台用透明塑料制成, 直径 10 cm。整个实验中水用牛奶染色, 水温控制在 22°C ~ 25°C 。泳池被划分为 4 个象限。象限的分割线与桶壁的焦点为入水点。前面 1~6 d, 为定位航行实验: 将平台置于水面下 1 cm, 先将小鼠放在平台上 15 s, 然后将动物头朝池壁轻轻放入水中。每次随机选取入水点。如果 60 s 后小鼠没找到平台则把小鼠置于平台上 15 s 后, 再取出小鼠。第 7 天, 为空间探索实验: 将隐蔽平台取出, 将小鼠沿离平台最远的 2 个象限依次放入水中。使小鼠在水池内搜索平台 60 s, 观察小鼠穿过平台的次数和记录小鼠呆在平台所在象限的时间。整个实验过程中利用水池上的摄像机系统记录小鼠的运动的时间、路程。

1.4 实验取材和电镜标本的制备

1.4.1 实验取材 水迷宫测试后, 选取对照组和跑步组各 7 只。每只动物用 1% 戊巴比妥钠 (0.4 ml/100g) 腹腔注射麻醉。麻醉成功后先用生理盐水冲洗进行心脏灌注, 再用 2% 的多聚甲醛和 2.5% 的戊二醛混合液进行固定。固定后取出大脑, 沿着大脑纵裂将大脑分为 2 个半球。随机选取一侧半球用 6% 的琼脂包埋, 冷却后沿着冠状方向切成 1 mm 厚的连续脑组织切片, 每侧大脑半球可以切 8~10 张。用解剖显微镜拍照记录。

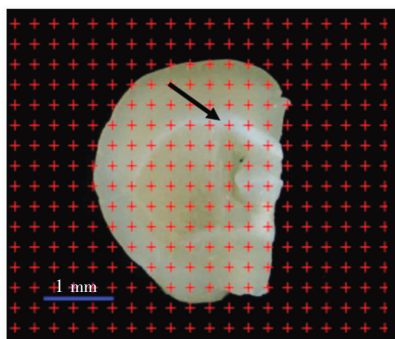
1.4.2 电镜标本的制备 从每只小鼠随机抽取一侧大脑半球, 在抽取的脑组织切片上随机叠加测试点, 将与测试点重叠处的白质组织块 (1 mm^3) 取出, 每只动物抽取 3、4 个标本。将组织块在 4°C 冰箱中用 4% 的戊二醛浸泡固定 2 h, 再用 0.1 mol/L PBS 冲洗 3 次后用锇酸在同样温度下染色 2 h。在 50%、70%、90% 乙醇, 90% 乙醇与 90% 丙酮混合物及 100% 丙酮溶液中逐级脱水后放入 100% 树脂中浸泡。将浸泡好的组织块先用“球切法” (isector)^[20]包埋成直径为 5 mm 的小球。再按常规电镜包埋方法包埋, 从包埋好的每个组织块上随机切取 1 张 60 nm 厚的超薄切片。在透射电子显微镜下, 每张超薄切片放大 8 000 倍后随机选取 10 个视野进行摄片。

1.5 体视学分析

1.5.1 白质总体积的计算 在解剖显微镜照片上随机叠加等距测试点, 计数落在白质上的点数 (图 1)。白质总体积 $V(w)$, 根据卡瓦列里原理^[21-22]计算出:

$$V(w) = t \times a(p) \times \sum P(w) \times 2 \quad (1)$$

$V(w)$ 代表整个小鼠大脑白质体积, t 代表切片的厚度, $a(p)$ 是每一测试点所对应的面积。 $\sum P(w)$ 是每只小鼠每侧大脑半球所有切片中与白质重叠的测点数的总和。



解剖显微镜放大 35 倍,计数与白质重叠的测点数,如箭头所示

图 1 显示计数落在白质上测点数的方法

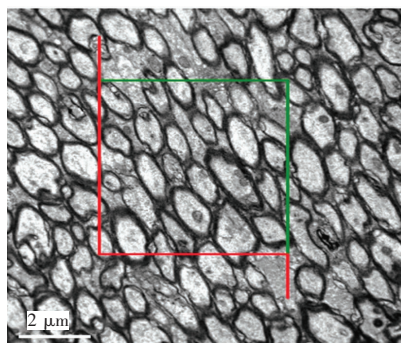
Fig.1 Illustration of the method for counting the number of points hitting the white matter

1.5.2 白质内有髓神经纤维长度密度和总长度的计算 在电镜照片上随机叠加无偏计数框,计数落在框内或上边和右边的纤维断面(图 2),落在框的左边和底部边或者是右边和左边线的延长线的断面不计数。计算白质内有髓神经纤维长度密度 $L_v(mf/w)$ 的公式为^[21-22]:

$$L(mf/w) = 2 \times \sum Q(mf) / [a(frame) \times \sum (frame)] \quad (2)$$

$\sum Q(mf)$ 是每只小鼠大脑白质的所有电镜照片上计数的有髓神经纤维断面数的总和, $a(frame)$ 代表置于电镜照片上的无偏计数框的面积, $\sum (frame)$ 是计数每只小鼠白质内有髓神经纤维断面数所使用的无偏计数框总数。计算白质内有髓神经纤维总长度的公式^[21-22]:

$$L(mf, w) = L(mf/w) \times V(w) \quad (3)$$



将无偏计数框随机叠放在电镜照片上 (8 000 ×)

图 2 显示计数白质内有髓神经纤维断面的方法

Fig.2 Illustration of the method for counting the myelinated fiber profiles in white matter

1.5.3 白质内有髓神经纤维、髓鞘、轴突的体积密度及总体积的计算 在电镜照片上随机叠加等距测试点,计数落在白质内有髓神经纤维、髓鞘、轴突上的测点数(图 3)。根据公式计算白质内有髓神经纤维、髓鞘、轴突的体积密度^[21-22]:

$$V_v(mf/w) = \sum P(mf) / \sum P(w) \quad (4)$$

$$V_v(ms/w) = \sum P(ms) / \sum P(w) \quad (5)$$

$$V_v(axon/w) = \sum P(axon) / \sum P(w) \quad (6)$$

$V_v(mf/w)$ 、 $V_v(ms/w)$ 、 $V_v(axon/w)$ 分别代表白质内有髓神经纤维、髓鞘、轴突的体积密度。 $\sum P(mf)$ 代表每只小鼠电镜照片上与白质内有髓神经纤维重叠的总点数, $\sum P(ms)$ 代表每只小鼠电镜照片上与白质内髓鞘重叠的总点数, $\sum P(axon)$ 代表每只小鼠电镜照片上与白质内轴突重叠的总点数。 $\sum P(w)$ 表示的是每只小鼠电镜照片上所有点数的总和。白质内有髓神经纤维、髓鞘、轴突的总体积的计算公式为^[21-22]:

$$V(mf, w) = V_v(mf/w) \times V(w) \quad (7)$$

$$V(ms, w) = V_v(ms/w) \times V(w) \quad (8)$$

$$V(axon, w) = V_v(axon/w) \times V(w) \quad (9)$$

$V(mf, w)$ 、 $V(ms, w)$ 、 $V(axon, w)$ 依次代表白质内有髓神经纤维、髓鞘、轴突的总体积。

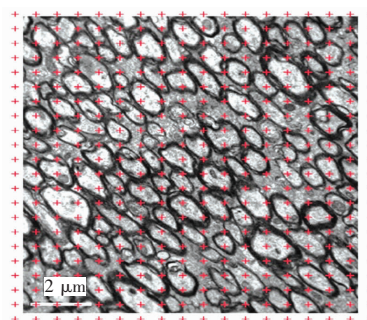


图 3 分别计数落在白质的测点数及落在白质内有髓神经纤维、髓鞘、轴突上的测点数

Fig.3 Separate counting of the number of the points hitting the myelinated fibers, myelin sheaths and axons in the white matter

1.6 统计数据处理

所有实验数据用 SPSS 19.0 软件进行分析,2 个组前 6 d 的 Morris 水迷宫数据用重复测量的方差分析进行检验;第 7 天的水迷宫数据用两独立样本 t 检验。经过正态分布检验后,跑步组和对照组的白质总体积和白质内有髓神经纤维、髓鞘、轴突的总体积用两独立样本 t 检验进行比较,而白质内有髓神经纤维总长度用非参数检验进行比较。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 跑步锻炼对 APP/PS1 双转基因小鼠行为学的影响

在前 6 d 的定位航行实验中跑步组的平均潜伏期明显短于对照组 ($P=0.000$, 图 4)。在第 7 天的空间探索实验中,跑步组穿台次数和平台所在象限时间百分比明显大于对照组 ($P=0.000$, $P=0.009$, 图 5)。

2.2 跑步锻炼对 APP/PS1 双转基因小鼠体视学各项参数的影响

2.2.1 白质总体积 经过 4 个月的跑步锻炼后,与对照组白质总体积 (10.59 ± 2.55) mm^3 相比,跑步组 APP/PS1 双转基因 AD 小鼠的大脑白质总体积 (13.23 ± 1.07) mm^3 明显增加 ($P=0.026$) (图 6)。

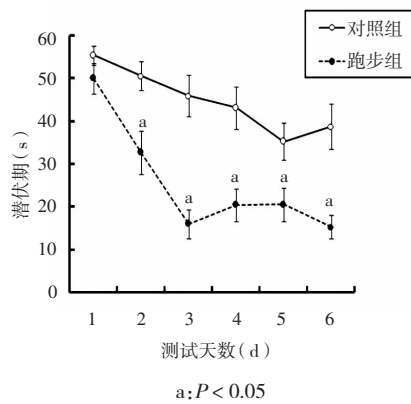
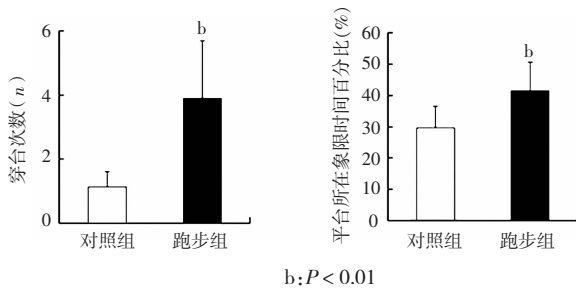


图 4 对照组和跑步组小鼠的 Morris 水迷宫潜伏期比较

Fig.4 Comparison of the mean escape latency of the Morris water maze between control group and running group



A. 对照组和跑步组小鼠的 Morris 水迷宫穿台次数比较

B. 对照组和跑步组小鼠的 Morris 水迷宫平台所在象限时间百分比比较

图 5 对照组和跑步组小鼠的 Morris 水迷宫空间探索实验结果比较
Fig.5 Comparisons of the spatial probe test results of the Morris water maze between control group and running group

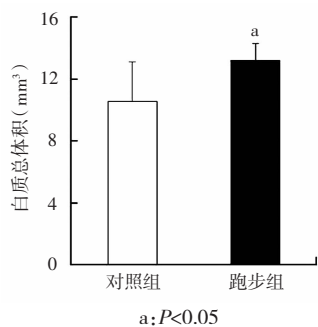
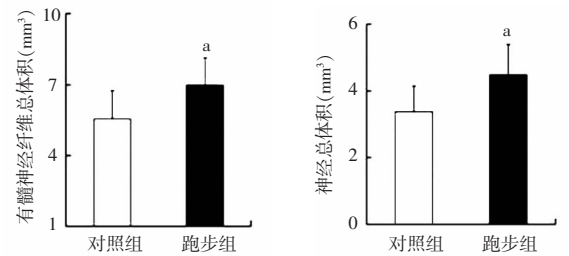


图 6 对照组和跑步组小鼠大脑白质总体积比较

Fig.6 Comparison of the total white matter volumes between control group and running group

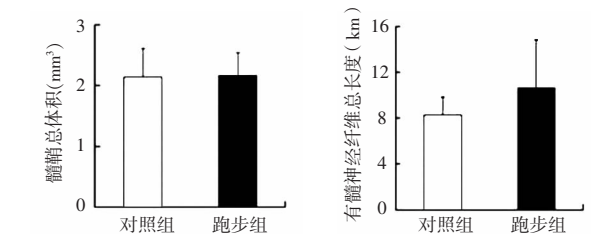
2.2.2 白质内有髓神经纤维总长度和总体积、髓鞘和轴突的总体积 经过 4 个月的跑步锻炼后,跑步组 APP/PS1 双转基因 AD 小鼠的大脑白质内有髓神经纤维总体积和轴突总体积 ($6.99 \pm 1.15, 4.49 \pm 0.89$) mm^3 均明显大于对照组小鼠的大脑白质内有髓神经纤维总体积和轴突总体积 ($5.56 \pm 1.20, 3.37 \pm 0.77$) mm^3 ($P=0.042, P=0.027$, 图 7A、B)。而跑步组和对

照组白质内有髓神经纤维总长度和有髓神经纤维髓鞘总体积无统计学差异 ($P=0.259, P=0.901$, 图 7C、D)。



A. 对照组和跑步组小鼠的大脑白质有髓神经纤维总体积比较

B. 对照组和跑步组小鼠的大脑白质有髓神经纤维轴突总体积比较



C. 对照组和跑步组小鼠的大脑白质有髓神经纤维髓鞘总体积比较

D. 对照组和跑步组小鼠的大脑白质有髓神经纤维总长度比较

Fig.7 对照组和跑步组有髓神经纤维各项体视学结果比较

图 7 Comparisons of the various stereological results of the myelinated fibers in the white matter between control group and running group

3 讨论

以前的研究表明早期 AD 病人的大脑并没有显著的皮质神经元死亡,而是神经细胞突起变短、变少或消失^[14,23-24]。影像学和超微结构水平的研究都观察到:AD 存在大脑白质和白质内神经纤维的改变^[12-15]。同时影像学也发现 AD 大脑白质的 FA 值异常与认知功能异常有密切联系^[16]。如果 AD 早期不存在神经元死亡,只存在神经元之间的连接障碍,就有希望通过药物和行为学手段修复连接障碍,使神经元间的连接重新建立起来,从而达到延缓 AD 进程的作用。

跑步锻炼作为一种简单易行且经济适用的行为学手段得到广泛关注。流行病学研究方面,Buchman 等^[25]第一次客观地将体育锻炼与降低 AD 风险联系起来,随后一系列的流行病学调查也证实了这个观点^[26-27]。同时在临床研究中,Yu 等^[28]发现锻炼可以改善 AD 认知能力和大脑功能。Pérez 和 Cancela Carral^[29]

也发现锻炼能延缓老年痴呆的发生及改善 AD 病人的相关症状。Heyn 和他同事^[29]运用 Meta 分析揭示患有认知障碍和痴呆的人参加锻炼后能改善认知功能、日常生活活动能力和改善老年痴呆症的心理和行为上的症状。在对转基因的 AD 小鼠所进行的研究中, Cotman 和 Berchtold^[3]发现锻炼能减弱痴呆症的一些认知障碍和病理生理学改变。同时对转基因 AD 小鼠早期给予跑步锻炼可以延缓认知功能下降的速度。Nichol 等^[30]发现对已经出现明显认知功能障碍和神经病理学改变的 Tg2576 小鼠给予跑步锻炼, 其认知功能也得到了显著增强。还有其他证据表明跑步锻炼能改善转基因 AD 小鼠的空间记忆能力^[31-32]。在运用自主滚轮跑步这一研究方法的动物模型中发现, 锻炼可以减少 AD 淀粉样沉积, 加快 β 淀粉样蛋白和斑块的主要成分清除速度。同时在运用被动跑台实验方法的动物模型中发现, 锻炼能改善磷酸化的 tau 蛋白累积, 而磷酸化的 tau 蛋白是 AD 神经元纤维缠结这一病理改变必不可少的组成部分^[33]。但是, Wolf 等^[34]却发现跑步锻炼并没有改善转基因 AD 小鼠的空间记忆功能。Forbes 等^[35]的 Meta 分析推论没有证据能够支持体育活动能对痴呆病人的认知功能、日常生活活动能力和老年痴呆症的心理和行为上的症状有改善作用。还有研究报道指出, 跑步锻炼对转基因 AD 小鼠的认知功能没有保护作用^[36-37]。那么出现这些矛盾结果的原因是什么? 有哪些因素可以解释这些不同的结论。总结前面的文献发现, 在众多的研究中, 转基因鼠模型的不统一, 实验过程中给予锻炼的时间不一致, 还有锻炼方法不一致都有可能造成研究结果出现矛盾。在本实验中, 使用 APP/PS1 小鼠模型。该模型小鼠稳定的表达了人类突变的淀粉样蛋白前体 (β -amyloid precursor protein, APP) 基因、早老素 (presenilin, PS1) 基因, 早期即能出现病理改变, 加速淀粉样蛋白的形成和沉淀^[37]。同时在早期即出现工作记忆的丢失, 晚期出现空间记忆的缺损^[40-41], 并且没有神经元的广泛丢失。APP/PS1 小鼠模型较好地模拟了 AD 的病理特征和渐进性改变, 是很受欢迎且常用的 AD 模型^[38, 40-42]。同时在运动方式上无论是自主滚轮跑步还是被动跑台锻炼都属于有氧运动, 而自主滚轮跑步因为受实验器材的影响, 必须单笼饲养。而有报道指出单笼饲养环境带给动物的压力会抑制跑步锻炼给大脑带来的好处^[42-43], 因此本次实验采用被

动跑台锻炼。而本课题组前期实验发现 APP/PS1 小鼠出现认知障碍的年龄是 10 月龄。此次实验主要是研究锻炼对 AD 的预防作用, 故给予未出现行为学变化的小鼠 (6 月龄) 4 个月的跑步锻炼干预。锻炼后 Morris 水迷宫的数据显示, 与对照组相比, 跑步组的平均潜伏期明显缩短。而且跑步组穿台次数和平台所在象限时间百分比明显大于对照组, 目前的研究结果进一步表明跑步锻炼能够延缓转基因 AD 小鼠空间学习和记忆能力。

人类的大脑运转是通过复杂的神经网络完成, 而各脑区的相互联系主要通过白质完成。Bugg 等^[44]通过量化 52 位老年人 (年龄在 55~79 岁之间) 过去 10 年间参与体育锻炼 (温和的运动, 如慢跑、慢跑和散步) 的情况并记录他们大脑各区的体积来分析锻炼与大脑老年性萎缩之间的关系, 研究发现大脑额叶, 尤其是大脑内侧额叶的体积与参与锻炼的多少有关。有氧运动是评价体育锻炼强度的客观指标, 大量研究显示, 有氧运动能够减少老年大脑内海马、额叶、顶叶和颞叶皮层体积的丢失^[17, 45-48]。例如 Colcombe 及其同事^[45]应用 voxel-based 图像测量技术研究有氧运动的参与量与老年大脑内脑组织密度下降程度之间的关系时发现, 适当的有氧运动有益于老年大脑组织密度和功能的维持, 在此基础上他们又应用 MRI 三维重建技术分别测量了久坐不动和经过 6 个月有氧运动老年人的大脑容量, 发现经过 6 个月有氧运动的老年人其大脑前额叶、颞叶以及白质的体积均较久坐不动的体积明显增大^[45]。然而, 以往的这些研究均是利用影像学技术方法进行的定性或半定量研究, 缺乏准确的定量研究, 尤其针对跑步锻炼对 AD 转基因动物模型大脑作用的定量研究更是缺乏。而本实验首次运用了新的体视学方法定量研究了锻炼对 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠白质的影响。发现经过 4 个月的跑步锻炼, 跑步组的白质总体积较对照组增加明显。定量的结果与影像学的结果一致, 这也支持了锻炼确实可以延缓 AD 大脑白质体积的下降。既然锻炼对 AD 大脑白质的体积是有作用的, 而白质主要是神经纤维构成的。那么锻炼对 AD 大脑白质内有髓神经纤维是否有影响? 锻炼对 AD 大脑白质内有髓神经纤维髓鞘的保护作用是否是锻炼改善 AD 大脑功能的重要结构基础? 影像学上弥散张量成像 (diffusion tensor imaging, DTI), 是核磁共振成像的特殊形式。作为一

种新的描述大脑结构的方法被用来研究 AD。一些针对 AD 大脑的 DTI 结果显示 AD 病人脑白质的完整性有损坏^[13,49-50]。同时也有研究表明无论是老年还是 AD 脑白质的改变都与认知功能有密切联系^[16,51]。但是,这些研究都是定性研究,不能观察到白质内有髓神经纤维超微结构准确的变化,易受其他因素干扰。因此利用体视学三维定量方法对 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠的白质内有髓神经纤维结构,以及锻炼对小鼠白质内有髓神经纤维结构进行深入研究。与对照组相比,跑步组小鼠白质内有髓神经纤维总体积和轴突总体积均明显增加,跑步组小鼠白质内有髓神经纤维总长度和有髓神经纤维髓鞘总体积有增加趋势,但结果无统计学差异。为什么本实验只使用雌性转基因 AD 小鼠? 如果使用雄性转基因 AD 小鼠,实验结果是否会有什么不同呢? 本课题组已研究跑步锻炼对雄性 APP/PS1 双转基因小鼠的作用,在前期研究工作发现,跑步组小鼠白质总体积、白质内有髓神经纤维总体积和轴突总体积均明显大于对照组^[52]。因此,结合本课题组以前的研究结果,认为跑步锻炼干预可以延缓 AD 脑白质体积的下降,延缓早期 AD 脑有髓神经纤维和轴突总体积的丢失。因此推测跑步锻炼可能是通过对 AD 脑白质内有髓神经的保护作用从而改善 AD 早期的学习和记忆能力。

本实验通过对 6 月龄的小鼠给予 4 个月的跑步锻炼,有力地证实了跑步锻炼能改善早期 AD 动物的学习记忆能力。为今后研究 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠的行为学干预提供了重要参考依据。体视学方法定量研究也显示了跑步锻炼后 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠脑白质体积、白质内有髓神经纤维总体积和轴突总体积明显增加,为寻找延缓 AD 认知功能下降的药物和行为学手段提供了科学依据,为今后防治 AD 的各种手段寻找更加合适的切入点。

参 考 文 献

- [1] Wimo A, Prince M. The global economic impact of dementia. Alzheimer's Disease International[R]. World Alzheimer Report, 2010; 1-56.
- [2] Pérez CA, Cancela Carral JM. Benefits of physical exercise for older adults with Alzheimer's disease[J]. Geriatr Nurs, 2008, 29(6): 384-391.
- [3] Cotman CW, Berchtold NC. Physical activity and the maintenance of cognition: learning from animal models[J]. Alzheimers Dement, 2007, 3

(2s): 30-37.

- [4] Hoveida R, Alaei H, Oryan S, et al. Treadmill running improves spatial memory in an animal model of Alzheimer's disease[J]. Behav Brain Res, 2011, 216(1): 270-274.
- [5] García-Mesa Y, López-Ramos JC, Giménez-Llort L, et al. Physical exercise protects against Alzheimer's disease in 3xTg-AD mice[J]. J Alzheimers Dis, 2011, 24(3): 421-454.
- [6] Rodríguez JJ, Noristani HN, Olabarria M, et al. Voluntary running and environmental enrichment restores impaired hippocampal neurogenesis in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease[J]. Curr Alzheimer Res, 2011, 8(7): 707-717.
- [7] Marlatt MW, Potter MC, Bayer TA, et al. Prolonged running, not fluoxetine treatment, increases neurogenesis, but does not alter neuropathology, in the 3xTg mouse model of Alzheimer's disease[J]. Curr Top Behav Neurosci, 2013(15): 313-340.
- [8] Ferreira AF, Real CC, Rodrigues AC, et al. Short-term, moderate exercise is capable of inducing structural, BDNF-independent hippocampal plasticity[J]. Brain Res, 2011(1425): 111-122.
- [9] Ding Q, Ying Z, Gómez-Pinilla F. Exercise influences hippocampal plasticity by modulating brain-derived neurotrophic factor processing[J]. Neuroscience, 2011(192): 773-780.
- [10] Ambrogini P, Lattanzi D, Ciuffoli S, et al. Physical exercise and environment exploration affect synaptogenesis in adult-generated neurons in the rat dentate gyrus: possible role of BDNF[J]. Brain Res, 2013(1534): 1-12.
- [11] Revilla S, Suñol CI, García-Mesa Y, et al. Physical exercise improves synaptic dysfunction and recovers the loss of survival factors in 3xTg-AD mouse brain[J]. Neuropharmacology, 2014(8): 55-63.
- [12] Duan JH, Wang HQ, Xu J, et al. White matter damage of patients with Alzheimer's disease correlated with the decreased cognitive function[J]. Surg Radiol Anat, 2006, 28(2): 150-156.
- [13] Bronge L, Bogdanovic N, Wahlund LO. Postmortem MRI and histopathology of white matter changes in Alzheimer brains[J]. Dement Geriatr Cogn Disord, 2002, 13(4): 205-212.
- [14] Zhu X, Moreira PI, Smith MA, et al. Alzheimer's disease: an intracellular movement disorder?[J]. Trends Mol Med, 2005, 11(9): 391-393.
- [15] Bartzokis G. Age-related myelin breakdown: a developmental model of cognitive decline and Alzheimer's disease[J]. Neurobiol Aging, 2004, 25(1): 5-18.
- [16] Bendlin BB, Fitzgerald ME, Ries ML, et al. White matter in aging and cognition: A cross-sectional study of microstructure in adults aged Eighteen to Eighty-Three[J]. Dev Neuropsychol, 2010, 35(3): 257-277.
- [17] Colcombe SJ, Erickson KI, Scalf PE, et al. Aerobic exercise training increases brain volume in aging humans[J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2006, 61(11): 1166-1170.
- [18] Chen G, Chen KS, Knox J, et al. A learning deficit related to age and beta-amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. Nature, 2008, 456(7215): 975-979.
- [19] Zhao YY, Shi XY, Qiu X, et al. Enriched environment increases the total number of CNPase positive cells in the corpus callosum of middle-aged rats[J]. Acta Neurobiol Exp (Wars), 2011, 71(3): 322-330.

- [20] Li C, Yang S, Zhang W, Lu W, et al. Demyelination induces the decline of the myelinated fiber length in aged rat white matter[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2009, 292(4): 528–535.
- [21] Yang S, Li C, Lu W, Zhang W, et al. The myelinated fiber changes in the white matter of aged female Long-Evans rats[J]. *J Neurosci Res*, 2009, 87(7): 1582–1590.
- [22] Qiu X, Huang CX, Lu W, et al. Effects of a 4 month enriched environment on the hippocampus and the myelinated fibers in the hippocampus of middle-aged rats[J]. *Brain Res*, 2012(1465): 26–33.
- [23] Regeur L, Jensen GB, Pakkenberg H, et al. No global neocortical nerve cell loss in brains from patients with senile dementia of Alzheimer's type[J]. *Neurobiol Aging*, 1994, 15(3): 347–352.
- [24] Perry G, Zhu X, Smith MA. Do neurons have a choice in death?[J]. *Am J Pathol*, 2001, 158(1): 1–2.
- [25] Buchman AS, Boyle PA, Yu L, et al. Total daily physical activity and the risk of AD and cognitive decline in older adults[J]. *Neurology*, 2012, 78(17): 1323–1329.
- [26] Larson EB, Wang L, Bowen JD, et al. Exercise is associated with reduced risk for incident dementia among persons 65 years of age and older[J]. *Ann Intern Med*, 2006, 144(2): 73–81.
- [27] Scarmeas N, Luchsinger JA, Schupf N, et al. Physical activity, diet, and risk of Alzheimer disease[J]. *JAMA*, 2009, 302(6): 627–637.
- [28] Yu F, Kolanowski AM, Strumpf NE, et al. Improving cognition and function through exercise intervention in Alzheimer's disease[J]. *J Nurs Scholarsh*, 2006, 38(4): 358–365.
- [29] Heyn P, Abreu BC, Ottenbacher KJ. The effects of exercise training on elderly persons with cognitive impairment and dementia: a meta-analysis[J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 2004, 85(10): 1694–1704.
- [30] Nichol KE, Parachikova AI, Cotman CW. Three weeks of running wheel exposure improves cognitive performance in the aged Tg2576 mouse[J]. *Behav Brain Res*, 2007, 184(2): 124–132.
- [31] Parachikova A, Nichol KE, Cotman CW. Short-term exercise in aged Tg2576 mice alters neuroinflammation and improves cognition[J]. *Neurobiol Dis*, 2008, 30(1): 121–129.
- [32] Nichol K, Deeny SP, Seif J, et al. Exercise improves cognition and hippocampal plasticity in APOE34 mice[J]. *Alzheimers Dement*, 2009, 5(4): 287–294.
- [33] Stranahan AM, Martin B, Maudsley S. Anti-inflammatory effects of physical activity in relationship to improved cognitive status in humans and mouse models of Alzheimer's disease[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2012, 9(1): 86–92.
- [34] Wolf SA, Kronenberg G, Lehmann K, et al. Cognitive and physical activity differently modulate disease progression in the amyloid precursor protein (APP)-23 model of Alzheimer's disease[J]. *Biol Psychiatry*, 2006, 60(12): 1314–1323.
- [35] Forbes D, Forbes S, Morgan DG, et al. Physical activity programs for persons with dementia[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2008, 16(3): CD006489.
- [36] Cracchiolo JR, Mori T, Nazian SJ, et al. Enhanced cognitive activity—over and above social or physical activity—is required to protect Alzheimer's mice against cognitive impairment, reduce Aβ deposition, and increase synaptic immunoreactivity[J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2007, 88(3): 277–294.
- [37] Richter H, Ambrée O, Lewejohann L, et al. Wheel-running in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: protection or symptom?[J]. *Behav Brain Res*, 2008, 190(1): 74–84.
- [38] 崔艳秋, 郑焱, 王晓民. APPswe/PS1dE9 双转基因鼠表型综述[J]. *生理科学进展*, 2012, 43(3): 211–215.
- [39] Lagadec S, Rotureau L, Hémar A, et al. Early temporal short-term memory deficits in double transgenic APP/PS1 mice[J]. *Neurobiol Aging*, 2012, 33(1): 203.e1–11.
- [40] Ferguson SA, Sarkar S, Schmued LC. Longitudinal behavioral changes in the APP/PS1 transgenic Alzheimer's disease model[J]. *Behav Brain Res*, 2013(242): 125–134.
- [41] Pugh PL, Richardson JC, Bate ST, et al. Non-cognitive behaviours in an APP/PS1 transgenic model of Alzheimer's disease[J]. *Behav Brain Res*, 2007, 178(1): 18–28.
- [42] Trushina E, Nemutlu E, Zhang S, et al. Defects in mitochondrial dynamics and metabolomic signatures of evolving energetic stress in mouse models of familial Alzheimer's disease[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e32737.
- [43] Choudhry F, Howlett DR, Richardson JC, et al. Pro-oxidant diet enhances β/γ secretase-mediated APP processing in APP/PS1 transgenic mice[J]. *Neurobiol Aging*, 2012, 33(5): 960–968.
- [44] Bugg JM, Head D. Exercise moderates age-related atrophy of the medial temporal lobe[J]. *Neurobiol Aging*, 2011, 32(3): 506–514.
- [45] Colcombe SJ, Erickson KI, Raz N, et al. Aerobic fitness reduces brain tissue loss in aging humans[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2003, 58(2): 176–180.
- [46] Erickson KI, Prakash RS, Voss MW, et al. Aerobic fitness is associated with hippocampal volume in elderly humans[J]. *Hippocampus*, 2009, 19(10): 1030–1039.
- [47] Honea RA, Thomas GP, Harsha A, et al. Cardiorespiratory fitness and preserved medial temporal lobe volume in Alzheimer disease[J]. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2009, 23(3): 188–197.
- [48] Erickson KI, Voss MW, Prakash RS, et al. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(7): 3017–3022.
- [49] Huang H, Fan X, Weiner M, et al. Distinctive disruption patterns of white matter tracts in Alzheimer's disease with full diffusion tensor characterization[J]. *Neurobiol Aging*, 2012, 33(9): 2029–2045.
- [50] Stebbins GT, Murphy CM. Diffusion tensor imaging in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment[J]. *Behav Neurol*, 2009, 21(1): 39–49.
- [51] Voyko Kavcic, Ni HY, Zhu T, et al. White matter integrity linked to functional impairments in aging and early Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2008, 4(6): 381–389.
- [52] Zhang L, Chao FL, Jiang L, et al. Exercise protects the cognitive function and the white matter in APP/PS1 transgenic AD mouse[J]. *Annals of Anatomy*, 2014(196s1): 96.

(责任编辑:冉明会)