文章编号:1000-5404(2013)08-0717-05

论著

双环己酮草酰二腙诱导的精神分裂症样小鼠大脑皮质体积及有髓神经纤维的体视学观测

彭 超[1,2],程国华[1,2],王 芸[1,2],李永德[1,2],陈 林[1,2],卢 伟[1,2],孔吉明[3],肖 岚[4],唐 勇[1,2] (400016 重庆,重庆医科大学:基础医学院人体解剖与组织胚胎教研室[1],干细胞与组织工程研究室[2];加拿大,加拿大曼尼托巴大学人体解剖与细胞科学系[3];400038 重庆,第三军医大学基础医学部组织学与胚胎学教研室,重庆市神经科学研究所[4])

[摘要] **目的** 探讨双环己酮草酰二腙(cuprizone,CPZ)诱导的精神分裂症样小鼠大脑皮质体积及其内有髓神经纤维的改变。**方法** 将6周龄的雄性C57BL/6小鼠分为CPZ组和对照组,CPZ组小鼠用含0.2% CPZ混合饲料饲育,对照组小鼠用标准的实验室饲料饲育。6周后进行行为学实验以证实精神分裂症样动物模型造模成功。然后运用透射电镜技术和体视学方法对小鼠大脑皮质体积和大脑皮质内有髓神经纤维进行定量研究。**结果** 行为学实验中CPZ组小鼠出现精神分裂症样表现,体视学定量研究中CPZ组与对照组小鼠相比大脑皮质总体积没有显著性改变($P>0.05$)。与对照组小鼠相比,CPZ组小鼠大脑皮质有髓神经纤维长度密度和总长度分别显著性降低了64.3%和68.9%($P<0.01$),有髓神经纤维平均直径显著性增加了17.8%($P<0.01$)。直径为0.2~<0.4 μm、0.4~<0.6 μm和0.6~<0.8 μm的大脑皮质有髓神经纤维总长度与对照组小鼠相比分别显著性减少了4.317、3.313 km和0.940 km($P<0.01$),CPZ组小鼠其他直径段大脑皮质有髓神经纤维总长度与对照组小鼠相比无显著性差异($P>0.05$)。**结论** CPZ组小鼠存在大脑皮质有髓神经纤维总长度的降低和平均直径的增加,有髓神经纤维总长度的降低主要是由小直径纤维丢失造成的。

[关键词] 双环己酮草酰二腙;小鼠;行为学;大脑皮质;有髓神经纤维;体视学
[中图法分类号] R-332;R322.85;R749.3 [文献标志码] A

Stereological observation of cerebral cortex volume and myelinated fibers in cerebral cortices of cuprizone-induced schizophrenia-like mice

Peng Chao[1,2], Cheng Guohua[1,2], Wang Yun[1,2], Li Yongde[1,2], Chen Lin[1,2], Lu Wei[1,2], Kong Jiming[3], Xiao Lan[4], Tang Yong[1,2] ([1]Department of Histology and Embryology, [2]Laboratory of Stem Cell and Tissue Engineering, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China; [3]Department of Human Anatomy and Cell Science, University of Manitoba, Winnipeg, MB, Canada; [4]Department of Histology and Embryology, College of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the changes of cerebral cortex volume and myelinated fibers in the cerebral cortices of cuprizone (CPZ)-induced schizophrenia-like mice. **Methods** Six-week old male C57BL/6 mice were divided into a CPZ group and a control group. The mice in the CPZ group were fed with mixed standard rodent chow containing 0.2% CPZ, while those in the control group were fed with standard lab chow. After six weeks, behavioral tests were performed to confirm the success of schizophrenia-like animal model. Then the cerebral cortex volume and myelinated fibers in the cerebral cortices were determined with transmission electron microscopy and stereological methods. **Results** Mice in the CPZ group showed schizophrenia-like performance. Stereological results showed that there was no significant change in the volume of the cerebral cortex between CPZ group and control group ($P>0.05$). Compared with the control group, the length density and total length of myelinated fibers in the cerebral cortices of the CPZ group significantly decreased by 64.3% and 68.9%, respectively ($P<0.01$). Compared with the control group, the mean diameter of myelinated fibers in the CPZ group significantly increased by 17.8% ($P<0.01$), and the total length of the myelinated fibers with diameters of 0.2 to less than 0.4 μm, 0.4 to less than 0.6 μm and 0.6 to less than 0.8 μm significantly decreased by 4.317, 3.313 and 0.940 km, respectively ($P<0.01$). There was no

[基金项目] 国家自然科学基金(30973155,811171238);重庆市"百名学术学科领军人才"培养计划(2012)
[通信作者] 唐 勇,E-mail: ytang062@yahoo.com.cn
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130115.1728.011.html(2013-01-15)

significant difference in the total length of other myelinated fibers between the two groups. **Conclusion** In CPZ group, the total length of myelinated fibers in cerebral cortex decreases but the mean diameter of the myelinated fibers increases, which is due to the loss of small-diameter myelinated fibers.

[**Key words**] cuprizone; mouse; behavior; cerebral cortex; myelinated fibers; stereology

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30973155, 811171238) and the Training Foundation for "100 Academic and Discipline Talent Leaders" of Chongqing (2012). Corresponding author: Tang Yong, Tel: 86-23-68485633, E-mail: ytang062@yahoo.com.cn

精神分裂症是一种严重的慢性精神疾病,影响着全世界大约1%的人口。精神分裂症临床症状分为阳性症状(如幻觉、妄想、思维或言语混乱),阴性症状(如情感淡漠、社交退缩)以及认知功能障碍(如注意力、执行功能以及记忆功能障碍)[1]。

精神分裂症的病因和基本的病理生理机制不清楚,一些研究者认为精神分裂症功能紊乱可能起源于大脑各个区域连接功能的降低。前额叶皮质作为大脑皮质的重要组成部分,在工作记忆、行为计划、社会表现等功能中扮演着重要角色[2],前额叶皮质及其与周围区域的连接减少被认为与精神分裂症症状相关[3]。一些研究者发现精神分裂症患者与前额叶皮质相关的许多功能都受到了损害[4]。

在探讨精神分裂症大脑皮质结构的改变中,一些研究者利用磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)技术研究发现精神分裂症患者存在区域性的大脑皮质变薄[5],但是对于精神分裂症大脑皮质体积的研究却未能得出一致的结论[6-9]。另一些研究者利用弥散张量成像(diffusion tensor imaging, DTI)技术对精神分裂症患者的研究发现,精神分裂症大脑皮质存在各向异性(fractional anisotropy, FA)值的降低[10],这一结果提示精神分裂症大脑皮质各个脑区存在有髓神经纤维完整性的破坏,同时一些尸检结果亦表明前额叶皮质、前扣带皮质等脑区髓鞘形成相关基因表达失调以及少突胶质细胞异常[11-12]。髓鞘包绕在轴突表面,能够加速神经冲动的传导,髓鞘的异常能够导致有髓神经纤维信号传导速度的降低,影响到神经元协调刺激能力,进而引起相应神经症状的发生。但是有髓神经纤维信号传导速度不仅与髓鞘有关,还与神经纤维直径等因素相关,目前对于精神分裂症大脑皮质有髓神经纤维的三维准确定量研究,国内外尚少见研究报道。本实验采用公认的CPZ动物模型对大脑皮质体积及其内有髓神经纤维进行准确的三维定量研究。

1 材料与方法

1.1 实验动物

6周龄雄性C57BL/6小鼠(重庆医科大学实验动物中心提供),分为CPZ组和对照组,CPZ组9只,用含0.2% CPZ的饲料饲养6周,对照组10只,用正常饲料饲养6周。动物置于(22±1)℃的环境,并处于12 h交替的白昼/黑夜循环。

1.2 模型的建立

CPZ组和对照组小鼠在第6周进行行为学实验,具体行为学实验内容和方法参考文献[13],行为学实验结束后进行统计分析,以CPZ组小鼠出现类似精神分裂症样症状作为模型建立成功的标准。

1.3 标本固定与取材

行为学实验结束后,小鼠用4%的水合氯醛腹腔麻醉。接着用恒流泵经心脏灌流固定,先以8 mL/min的速度灌注生理盐水30 mL,将血液冲洗干净,之后再以原速度灌4%的多聚甲醛溶液60 mL进行固定,完整的取出大脑。随机选择5只小鼠大脑,用6%琼脂分别包埋左、右大脑半球,冷却后以冠状方向作1 mm厚度的连续脑组织切片,每侧大脑半球7~9片。从每只小鼠随机抽取一侧大脑半球,在抽取的大脑切片上叠加等距的透明测点框,将与测点重叠的大脑皮质组织块取出送电镜标本,每只动物抽取5块组织块。

1.4 电镜标本的制作

将抽取的大脑皮质组织块在4 ℃条件下用4%的戊二醛浸泡固定2 h,经0.1 mol/L PBS(pH 7.2)冲洗3次后用锇酸(OsO_4)在4 ℃条件下染色2 h。经50%、70%、90%的乙醇,90%乙醇与90%丙酮混合物及100%丙酮溶液中逐渐脱水浸透后在100%树脂中孵育。将孵育好的组织块先用"球切法"(isector)包埋成直径5 mm的小球,以保证大脑皮质内的神经纤维能够被各向同性均匀随机切取[14]。之后按常规电镜包埋方法包埋大脑皮质组织块,从每个包埋好的组织块随机切取1张60 nm超薄切片,在透射电子显微镜下,每张超薄切片放大6 000倍后随机选取10个视野拍照(第1个视野在左上部随机选择,之后成"弓"字形等距选择视野),每只动物拍得50张6 000倍的大脑皮质有髓神经纤维电镜照片。之后换到17 500倍,观察大脑皮质有髓神经纤维超微结构。

1.5 体视学定量研究

1.5.1 大脑皮质总体积 将透明的等距测点框随机地叠放到每张1 mm厚的脑组织切片上,在解剖显微镜下,计数每只动物所有的脑组织切片上落在大脑皮质上的测点数(图1),然后利用卡瓦列里原理公式计算大脑皮质总体积[15]。

$$V_{cortex} = t \times a(p) \times \Sigma P_{cortex} \quad (1)$$

公式(1)中V_{cortex}代表大脑皮质总体积;t为脑组织切片厚度(1 mm);a(p)为每一测点所代表的面积(0.15 mm^2);ΣP_{cortex}为落在大脑皮质上的测点数。这样根据公式就可以计算出大脑皮质总体积。

1.5.2 大脑皮质内有髓神经纤维长度密度和总长度 在所得到的6 000倍电镜照片上随机叠加无偏计数框,按照无偏计

数框原则,对完全落在计数框内或者部分落在计数框内仅与计数线(绿色虚线)相交的有髓神经纤维断面进行计数,对任何与禁止线(红色实线)相交的有髓神经纤维断面均不进行计数(图 2)。依据公式[14-15]计算大脑皮质内有髓神经纤维的长度密度:

$$Lv(nf/cortex) = 2 \times \Sigma Q(nf)/\Sigma A \quad (2)$$

公式(2)中 Lv(nf/cortex)为大脑皮质内有髓神经纤维的长度密度;ΣQ(nf)为计数的每只动物大脑皮质内的有髓神经纤维断面数;ΣA 为所使用的无偏计数框的总面积。

大脑皮质内有髓神经纤维的总长度计算公式为:

$$L(nf,cortex) = Lv(nf/cortex) \times V_{cortex} \quad (3)$$

公式(3)中 L(nf,cortex)为大脑皮质内有髓神经纤维的总长度;Lv(nf/cortex)为大脑皮质内有髓神经纤维的长度密度;V_{cortex}为大脑皮质总体积。

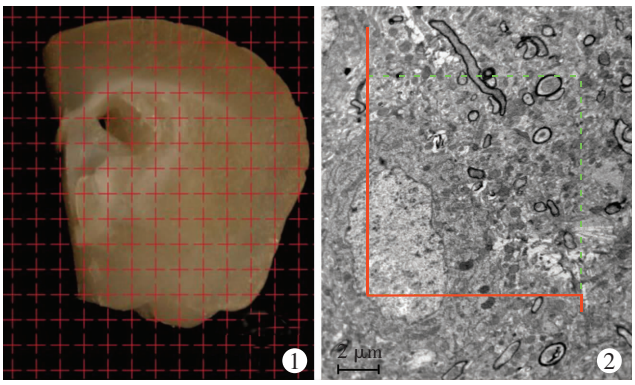


图 1　大脑皮质总体积的测定

图 2　大脑皮质有髓神经纤维断面数的计数

1.5.3　大脑皮质内有髓神经纤维的直径　测量所有被无偏计数框计数的有髓神经纤维的直径。首先确定有髓神经纤维断面的最长轴,与此最长轴垂直的有髓神经纤维的横径中最长的横径即为有髓神经纤维直径。

将直径分为 <0.2 μm,0.2 ~ <0.4 μm,0.4 ~ <0.6 μm,0.6 ~ <0.8 μm……1.6 ~ <1.8 μm,1.8 ~ <2.0 μm,根据直径段的不同分别计数大脑皮质有髓神经纤维断面数,每一直径段纤维的断面数除以该只动物计数的所有有髓神经纤维断面数,就得到了这一直径段有髓神经纤维总长度与此动物大脑皮质有髓神经纤维总长度的比值。计算出的比值乘以大脑皮质有髓神经纤维总长度便得到了每一直径段有髓神经纤维总长度。

1.6　统计学分析

使用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,数据经过正态分布检验后,对所测得的各体视学参数采用 t 检验进行比较。

2　结果

2.1　行为学实验结果

见文献[13]。

2.2　电镜观察结果

CPZ 组与对照组小鼠大脑皮质有髓神经纤维超微结构见图 3。与对照组相比,CPZ 组小鼠大脑皮质有髓神经纤维存在明显的脱髓鞘改变,可见明显的髓鞘板层分离现象、髓鞘与轴突分离现象以及空泡样改变。

2.3　体视学研究结果

2.3.1　大脑皮质总体积研究结果　CPZ 组小鼠大脑皮质总体积比对照组小鼠减少了 8.42 mm^3,但是没有达到显著性差异($P>0.05$)。见表 1。

表 1　2 组小鼠大脑皮质体积及其内有髓神经纤维的体视学研究结果

($n=5$, $\bar{x} \pm s$)

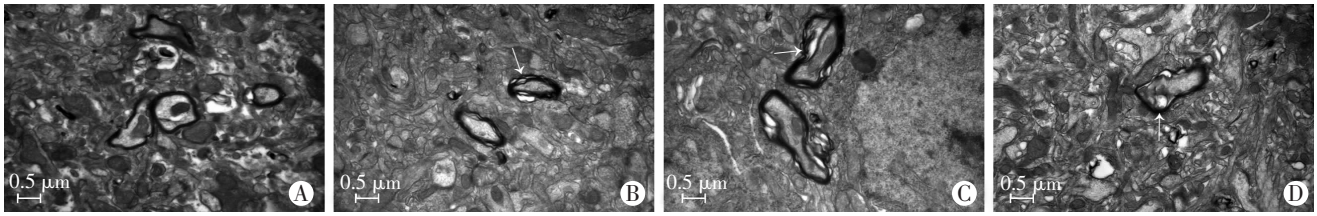
组别	总体积 (mm^3)	有髓神经纤维长度密度 (km/mm^3)	有髓神经纤维总长度(km)	有髓神经纤维直径(μm)
对照组	97.34 ± 9.58	0.14 ± 0.02	13.29 ± 2.63	0.45 ± 0.04
CPZ 组	88.92 ± 6.71	0.05 ± 0.01[a]	4.13 ± 0.62[a]	0.53 ± 0.03[a]

a:$P<0.01$,与对照组比较

2.3.2　大脑皮质有髓神经纤维长度密度和总长度研究结果　CPZ 组小鼠大脑皮质有髓神经纤维长度密度比对照组小鼠显著性降低了 64.3%($P<0.01$),有髓神经纤维总长度比对照组小鼠显著性减少了 9.16 km($P<0.01$)。见表 1。

2.3.3　大脑皮质有髓神经纤维直径研究结果　CPZ 组小鼠大脑皮质有髓神经纤维直径比对照组小鼠显著性增加了 0.08 μm ($P<0.01$)。见表 1。

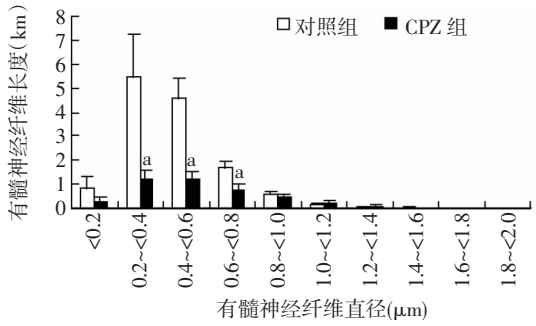
2.3.4　大脑皮质有髓神经纤维总长度的分布、不同直径段的纤维总长度的改变　小鼠大脑皮质有髓神经纤维直径分布范围为 0 < ~ <2.0 μm(图 4),对照组小鼠 0.2 ~ <0.4、0.4 ~ <0.6 μm 直径段的纤维长度分别为(5.488 ± 1.743)、(4.582 ± 0.815) km,分别占到了总纤维长度的 41.3%、34.5%,0.6 ~ <0.8 μm直径段的纤维长度为(1.703 ± 0.274) km,占了总纤维长度的 12.8%,CPZ 组小鼠 0.2 ~ <0.4、0.4 ~ <0.6 μm 以及 0.6 ~ <0.8 μm 直径段的纤维长度分别为(1.171 ± 0.392)、(1.269 ± 0.314)、(0.763 ± 0.259) km。



A:对照组小鼠大脑皮质有髓神经纤维断面;B:CPZ 组小鼠大脑皮质有髓神经纤维断面,箭头示髓鞘板层分离;C:CPZ 组小鼠大脑皮质有髓神经纤维断面,箭头示髓鞘与轴突分离;D:CPZ 组小鼠大脑皮质有髓神经纤维断面,箭头示空泡样改变

图 3　CPZ 组和对照组小鼠大脑皮质有髓神经纤维电镜观察　(TEM)

与对照组小鼠相比,CPZ组小鼠在1 μm以下直径段的有髓神经纤维总长度都有所降低(图4),直径段为0.2 ~ <0.4、0.4 ~ <0.6 μm和0.6 ~ <0.8 μm的有髓神经纤维总长度CPZ组小鼠比对照组小鼠分别显著性降低了4.317、3.313 km和0.940 km($P<0.01$),0.2 ~ <0.6 μm直径段的纤维长度的丢失量占到了总纤维长度减少量的83.3%。其余1 μm以下直径段的有髓神经纤维总长度的降低没有达到显著性($P>0.05$)。



a: $P<0.01$,与同直径段对照组小鼠比较

图4 CPZ组和对照组小鼠大脑皮质内有髓神经纤维总长度的分布

3 讨论

大脑皮质是调节人体生理活动的最高级活动中枢,在人类的思维、情感以及认知等功能中起着重要作用,精神分裂症的临床症状可能与大脑皮质结构的改变相关。Kuperberg等[5]利用MRI技术对精神分裂症大脑皮质结构进行了研究,发现精神分裂症大脑皮质存在区域性的皮质变薄,Rimol等[16]的研究则进一步认为大脑皮质的变薄导致了精神分裂症皮质体积的降低。但是对于精神分裂症大脑结构改变的研究并不一致,一些研究者认为精神分裂症颞叶体积发生了显著性降低[6],而另一些研究者的研究却未发现颞叶体积的丢失[7]。即使是对被公认的发生了功能改变的前额叶皮质体积的研究中,不同的研究者亦得出了不同的结论,Hirayasu等[8]认为首发精神分裂症患者前额叶灰质体积降低了,而Molina等[9]的研究则否认了这一观点,认为精神分裂症前额叶灰质体积减少主要存在于慢性患者,而并非首发精神分裂症患者。造成这些研究结果存在差异的原因有:①MRI图像是根据灰度的不同而区分灰质和白质,在划定皮质边界上存在困难,得出的结论带有一定的主观性;②采用的测量方法的不同;③研究对象之间存在差异,受种族、地域等多种因素的影响;④受药物等因素的影响以及进行性并发的其他神经系统疾病的干扰。在动物实验中,由于物种来源、生存条件以及饲养条件的统一,使得研究结果具有了可比性。Lutkenhoff等[17]利用MRI探讨了dysbindin-1编码基因缺失小鼠大脑结构的改变,发现小鼠的皮质结构改变中以听觉皮质的缺失为主。在本次实验中,两组小鼠大脑皮质总体积没有明显改变,但是我们的结果并不排除大脑皮质各个脑区体积改变的可能性。

在过去的研究中,研究者通过体视学方法对精神分裂症大脑皮质和前额叶皮质神经元进行计数,并未发现神经元数量的丢失[18-19],因此排除了精神分裂症存在神经元死亡这一假说,另一些研究者认为大脑各个区域有髓神经纤维的连接减少可能是精神分裂症发病的主要原因[3]。影像学[10]和基因组学[11-12]的证据间接证明了精神分裂症大脑皮质有髓神经纤维完整性的破坏,电镜结果亦观察到前额叶皮质存在少突胶质细胞和有髓神经纤维的病理改变[20]。在动物模型中,Zhang等[21]对大鼠的研究结果表明前额叶皮质存在髓鞘损伤,并认为髓鞘在精神分裂症发病机制中起着重要作用。在CPZ诱导的小鼠身上,研究者亦观察到了有髓神经纤维的脱髓鞘改变,并认识到小鼠的脱髓鞘改变存在区域特异性[22],在CPZ喂养小鼠4.5 ~5周胼胝体有髓神经纤维脱髓鞘改变达到最大,而大脑皮质的完全性脱髓鞘改变则发生在第6周。但是这些研究都是关于髓鞘的定性或者半定量的研究,对于大脑皮质有髓神经纤维的改变却无法得知。因此本实验选择CPZ喂养小鼠6周这个时间点,利用体视学方法对小鼠大脑皮质有髓神经纤维进行定量研究,结果显示CPZ组小鼠大脑皮质有髓神经纤维长度密度比对照组小鼠显著性降低了64.3%,有髓神经纤维总长度比对照组显著性降低了9.16 km,有髓神经纤维总长度的减少可能是由纤维的脱髓鞘或者是轴突变性引起的。在之前的报道中,CPZ饲育小鼠6周大脑皮质发生广泛性的脱髓鞘改变[22],而轴突仅有较小的损伤[23],因此我们猜测大脑皮质纤维总长度的减少主要是有髓神经纤维脱髓鞘改变造成的。

为了进一步了解不同直径大小有髓神经纤维长度的改变,我们对大脑皮质内的不同直径范围有髓神经纤维进行了分段研究。发现直径在1 μm以下的纤维总长度都有所下降,在0.2 ~ <0.8 μm直径段,CPZ组小鼠大脑皮质有髓神经纤维总长度的减少量(8.57 km)占到了所有直径段纤维长度减少总量(9.16 km)的93.6%,其中0.2 ~ <0.4 μm、0.4 ~ <0.6 μm直径段的纤维长度的减少量分别占到了纤维减少总量的47.1%和36.2%,而0.6 ~ <0.8 μm直径段的纤维总长度仅

占到了纤维减少总量的10.3%,因此我们认为CPZ组小鼠大脑皮质有髓神经纤维的减少主要集中在0.2~<0.6 μm直径段,结合CPZ组纤维平均直径的增加,我们猜测减少的纤维直径大小应该以0.45 μm直径以下为主,小鼠的纤维直径分布范围为0~<2.0 μm,这些减少的纤维属于小直径纤维,因此有髓神经纤维总长度的减少主要是由小直径纤维的丢失所致。

综上所述,本次实验运用透射电镜技术和体视学方法对CPZ诱导的精神分裂症样模型小鼠大脑皮质体积及其内有髓神经纤维进行了定量研究,得到了CPZ组和对照组小鼠大脑皮质的各体视学参数,同时本研究发现在CPZ诱导的精神分裂症样模型小鼠大脑皮质中存在有髓神经纤维总长度的降低和平均直径的增加,纤维长度的降低以小直径纤维为主,这将为今后运用该动物模型进行的其他研究提供重要的参考依据。

参考文献:

[1] Andreasen N C. Symptoms, signs, and diagnosis of schizophrenia[J]. Lancet, 1995, 346(8973): 477-481.

[2] Ridderinkhof K R, van-den-Wildenberg W P, Segalowitz S J, *et al*. Neurocognitive mechanisms of cognitive control: the role of prefrontal cortex in action selection, response inhibition, performance monitoring, and reward-based learning[J]. Brain Cogn, 2004, 56(2): 129-140.

[3] Selemon L D, Goldman-Rakic P S. The reduced neuropil hypothesis: a circuit based model of schizophrenia[J]. Biol Psychiatry, 1999, 45(1): 17-25.

[4] Barch D M. The cognitive neuroscience of schizophrenia[J]. Annu Rev Clin Psychol, 2005, 1: 321-353.

[5] Kuperberg G R, Broome M R, McGuire P K, *et al*. Regionally localized thinning of the cerebral cortex in schizophrenia[J]. Arch Gen Psychiatry, 2003, 60(9): 878-888.

[6] Jacobsen L K, Giedd J N, Castellanos F X, *et al*. Progressive reduction of temporal lobe structures in childhood-onset schizophrenia[J]. Am J Psychiatry, 1998, 155(5): 678-685.

[7] Vita A, De-Peri L, Silenzi C, *et al*. Brain morphology in first-episode schizophrenia: a meta-analysis of quantitative magnetic resonance imaging studies[J]. Schizophr Res, 2006, 82(1): 75-88.

[8] Hirayasu Y, Tanaka S, Shenton M E, *et al*. Prefrontal gray matter volume reduction in first episode schizophrenia[J]. Cereb Cortex, 2001, 11(4): 374-381.

[9] Molina V, Sanz J, Sarramea F, *et al*. Lower prefrontal gray matter volume in schizophrenia in chronic but not in first episode schizophrenia patients[J]. Psychiatry Res, 2004, 131(1): 45-56.

[10] Phillips O R, Nuechterlein K H, Asarnow R F, *et al*. Mapping corticocortical structural integrity in schizophrenia and effects of genetic liability[J]. Biol Psychiatry, 2011, 70(7): 680-689.

[11] McCullumsmith R E, Gupta D, Beneyto M, *et al*. Expression of transcripts for myelination-related genes in the anterior cingulate cortex in schizophrenia[J]. Schizophr Res, 2007, 90(1/3): 15-27.

[12] Hof P R, Haroutunian V, Copland C, *et al*. Molecular and cellular evidence for an oligodendrocyte abnormality in schizophrenia[J]. Neurochem Res, 2002, 27(10): 1193-1200.

[13] 程国华, 彭超, 李永德, 等. 双环己酮草酰二腙诱导精神分裂症小鼠模型胼胝体有髓神经纤维脱髓鞘的定量观测[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(7): 598-603.

[14] Tang Y, Nyengaard J R. A stereological method for estimating the total length and size of myelin fibers in human brain white matter[J]. J Neurosci Methods, 1997, 73(2): 193-200.

[15] Zhang W, Yang S, Li C, *et al*. Stereological investigation of age-related changes of myelinated fibers in the rat cortex[J]. J Neurosci Res, 2009, 87(13): 2872-2880.

[16] Rimol L M, Nesvag R, Hagler D J Jr, *et al*. Cortical volume, surface area, and thickness in schizophrenia and bipolar disorder[J]. Biol Psychiatry, 2012, 71(6): 552-560.

[17] Lutkenhoff E, Karlsgodt K H, Gutman B, *et al*. Structural and functional neuroimaging phenotypes in dysbindin mutant mice[J]. Neuroimage, 2012, 62(1): 120-129.

[18] Pakkenberg B. Total nerve cell number in neocortex in chronic schizophrenics and controls estimated using optical disectors[J]. Biol Psychiatry, 1993, 34(11): 768-772.

[19] Thune J J, Uylings H B, Pakkenberg B. No deficit in total number of neurons in the prefrontal cortex in schizophrenics[J]. J Psychiatr Res, 2001, 35(1): 15-21.

[20] Uranova N A, Vikhreva O V, Rachmanova V I, *et al*. Ultrastructural alterations of myelinated fibers and oligodendrocytes in the prefrontal cortex in schizophrenia: a postmortem morphometric study[J]. Schizophr Res Treatment, 2011, 2011: 325789.

[21] Zhang R, He J, Zhu S, *et al*. Myelination deficit in a phencyclidine-induced neurodevelopmental model of schizophrenia[J]. Brain Res, 2012, 1469: 136-143.

[22] Gudi V, Moharregh-Khiabani D, Skripuletz T, *et al*. Regional differences between grey and white matter in cuprizone induced demyelination[J]. Brain Res, 2009, 1283: 127-138.

[23] Lindner M, Fokuhl J, Linsmeier F, *et al*. Chronic toxic demyelination in the central nervous system leads to axonal damage despite remyelination[J]. Neurosci Lett, 2009, 453(2): 120-125.

(**收稿**:2012-10-11;**修回**:2013-01-06)

(编辑 王小寒)