论 著

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001184

跑步锻炼减少中老年 APP/PS1 双转基因 AD 小鼠海马齿状回内树突棘丢失

唐 炜,晁凤蕾,蒋 林,张 毅,周春妮,张 蕾,梁 芯,朱殷青,黄 维,李常琼,李 桃,赵振华,唐 勇
(重庆医科大学基础医学院人体解剖与组织胚胎学教研室、干细胞与组织工程研究室,重庆 400016)

【摘 要】**目的**:运用现代体视学方法定量研究跑步锻炼对 APP/PS1 双转基因模型小鼠海马齿状回树突棘的作用。**方法**:12 月龄 APP/PS1 双转基因阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD)模型小鼠随机分为跑步组和阳性对照组,同窝生野生型小鼠作为阴性对照组,每组各 15 只。跑步组小鼠进行 4 个月的跑步锻炼。运用 Morris 水迷宫方法测试 3 组小鼠的空间学习记忆能力,现代体视学方法定量研究 3 组小鼠海马齿状回树突棘密度和总数。**结果**:定位航行实验中跑步组小鼠逃避潜伏期[(25.0 ± 2.5) s]明显短于阳性对照组小鼠[(35.4 ± 2.5) s](*P*=0.016)。空间探索试验中跑步组小鼠穿台次数、目标象限游泳时间、目标象限游泳距离百分比[(3.2 ± 1.9)次、(21.5 ± 7.6) s、(0.31±0.12)%]明显多于阳性对照组小鼠[(1.3 ± 0.9)次、(14.0 ± 8.2) s、(0.23 ± 0.14)%](*P*=0.01,*P*=0.029,*P*=0.019);跑步组小鼠海马齿状回内树突棘密度、总数[(0.431 9 ± 0.044 8)/μm³、(4.546 6 ± 1.081 4)×10⁸]明显高于阳性对照组[(0.285 6 ± 0.013 3)/μm³、(2.667 9 ± 0.643 5)×10⁸](*P*<0.001,*P*=0.043)。**结论**:跑步锻炼对 AD 小鼠海马齿状回树突棘的作用可能是跑步锻炼改善 AD 小鼠空间学习能力的重要结构基础之一。

【关键词】树突棘;齿状回;APP/PS1 AD 小鼠;体视学
【中图分类号】R329.4 【文献标志码】A 【收稿日期】2016-10-26

Running exercise reduces dendritic spine loss in the dentate gyrusof the hippocampus in middle-aged APP/PS1 transgenic AD mice

Tang Wei, Chao Fenglei, Jiang Lin, Zhang Yi, Zhou Chunni, Zhang Lei, Liang Xin, Zhu Yinqing, Huang Wei, Li Changqiong, Li Tao, Zhao Zhenhua, Tang Yong
(*Teaching and Research Section of Histology and Embryology Laboratory of Stem Cell and Tissue Engineering, College of Basic Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To investigate the effect of running excise on dendritic spines in the dentate gyrus(DG) of the hippocampus in middle-aged male APP/PS1 transgenic Alzheimer's disease(AD) mice using the unbiased stereological methods. ***Methods***: Twelve-month-old male APP/PS1 transgenic AD mice were randomly assigned to a running group or a positive control group. Meanwhile, age-matched male wild-type mice were used as a negative control group(n=15 per group). The mice of the running group were placed on a treadmill to run for 4 months. The spatial learning and memory abilities were investigated using the Morris water maze test. The density and the total number of the dendritic spines in the DG of the mice in three groups were investigated using the unbiased stereological methods. ***Results***: In the hidden platform task, the escape latency of the running exercise group mice(25.0 ± 2.5) s was significantly shorter than that of the positive control group mice(35.4 ± 2.5)s (P=0.016). In the probe trial task, the times of platform location crosses, the time spending in the target quadrant(s) and swimming distance percentage in the target quadrant of running group[(3.2 ± 1.9), (21.5 ± 7.6) s, (0.31 ± 0.12)] were significantly more than positive control group[(1.3 ± 0.9), (14.0 ± 8.2) s, (0.23 ± 0.14)](P=0.01, P=0.029, P=0.019). The density and the total number of the dendritic spines in the running group [(0.431 9 ± 0.044 8)/μm³, (4.546 6 ± 1.081 4)×10⁸] were significantly increased compared to those of the positive control group [(0.2856 ± 0.013 3)/μm³, (2.667 9 ± 0.643 5)×10⁸](P<0.001, P=0.043). ***Conclusion***: The positive effects of running exercise on the spatial learning and memory abilitiesof APP/PS1 mice might be related to the protective effects ofrunning exercise on the dendritic spines in the DG.

【Key words】dendritic spine; dentate gyrus; APP/PS1 transgenic mice; stereology

作者介绍:唐 炜,Email:tangweifendou1314@qq.com,
研究方向:老年痴呆神经生物学
通信作者:唐 勇,Email:ytang062@163.com。

基金项目:国家自然科学基金面上资助项目(编号:81671259、81470057、81501101);重庆市首批"百名学术学科领军人才"培养计划资助项目(2012);2016 年重庆医科大学优秀博士论文资助项目;2016 年重庆市研究生科研创新资助项目。
优先出版:http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20170313.1058.022.html (2017-05-16)

阿尔茨海默氏病(Alzheimer's disease,AD)是导致老年痴呆的主要原因之一。截至 2010 年全球痴呆患者估计达 3600 万[1],这无疑给每个家庭和整个社会都带来了沉重的负担。目前仍缺乏有效的方式预防、治疗、逆转老年痴呆。因此,亟需对 AD 发病机制及治疗措施进行深入研究。

神经元之间通过突触建立联系,构成极端复杂的信息传递和加工的神经回路,突触的丢失将破坏神经回路结构的完整性,导致神经回路功能障碍,然而,突触具有很强的可塑性。那么就有希望通过某种干预将神经元之间丢失的突触连接重新建立起来,从而恢复神经回路的功能。Scheff 等[2]运用无偏体视学研究发现,AD 早期已经存在突触的丢失,并且突触丢失可能是认知功能受损的最主要因素。有研究表明,体育锻炼能够改善学习、记忆能力以及海马可塑性[3];可以抑制 AD 小鼠脑内神经元死亡[4]。Zhao 等[5]的研究发现,跑步锻炼通过增强突触可塑性而实现改善 AD 小鼠的空间学习和记忆能力。树突棘作为树突分枝上的棘状突起,是神经元间形成兴奋性突触的主要部位,树突棘形态上的改变对于突触的电信号和生化信号有深刻的影响,进而影响突触的信号传递[6-7]。海马结构作为学习和记忆功能的重要载体,同时也是 AD 最早发生病变的脑区之一[8]。从结构上来说,海马体主要包括 CA1、CA2、CA3 和齿状回(dentate gyrus,DG)等亚区,DG 作为海马结构信息传导通路[9],利用不同的细胞群参与新旧记忆的编码[10],可见 DG 区在海马学习记忆功能方面发挥着举足轻重的作用。而跑步锻炼对 AD 小鼠海马 DG 区内树突棘数量影响的定量研究,国内外尚未见报道。

因此,为了研究跑步锻炼对 DG 区树突棘数量的作用及其对空间学习和记忆能力的影响。本实验对 12 月龄雄性 APP/PS1 双转基因 AD 小鼠进行为期 4 个月的跑步锻炼,运用现代体视学方法定量研究小鼠海马 DG 内树突棘的密度和总数,为以后深入研究 AD 的病理形态改变提供重要参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

对同窝生 12 月龄雄性 APP/PS1 模型小鼠[B6C3-Tg(APPswe,PSEN1dE9)85Dbo/NJU 南京大学-南京生物医药研究,合格证号为 SCXK(苏)2010-0001]进行 APP 和 PS1 基因鉴定。基因鉴定 APP/PS1 基因为双阳性者为转基因成功 AD 小鼠,再随机分为阳性对照组和跑步组。基因鉴定 APP/PS1 基因为阴性者为野生型小鼠,作为阴性对照组。阴性对照组、阳性对照组和跑步组的体质量(g)分别为 34.8 ± 2.0、34.5 ± 4.4、34.0 ± 3.2。统计分析显示 3 组小鼠体质量无显著性差异(F=0.101,P=0.905)。每天给予足量的水和饲料,12 h 光照和 12 h 黑夜交替循环,室温保持在 22 ℃左右,湿度保持在 55% 左右,每周换 1 次新垫料。所有操作严格遵循重庆医科大学实验动物相关伦理要求。

1.2 跑步锻炼

使用六道动物跑台(SLY-RTML,硕林苑科技有限公司,中国)对跑步组小鼠进行跑步锻炼。初期 2 周内,跑步速度由 5 m/min 逐渐增加到 10 m/min,而后一直维持 10 m/min 的速度进行跑步锻炼,每天训练的时间在下午 5 点到 6 点,每天跑步 20 min,每周跑 5 d,休息 2 d,整个跑步训练持续 4 个月[11]。

1.3 Morris 水迷宫测试空间学习和记忆能力

Morris 水迷宫[12-13]实验设备包括 1 个直径 1 m,高 0.5 m 的白色水池,直径为 10 cm 高度可自由调节的白色平台和一台摄像机记录小鼠行为轨迹及电脑。圆桶被平均分为 4 个象限并随机设置 4 个入水点,然后将平台随机置于某一象限的中间(实验过程中保证固定不变)。整个实验过程中,桶内的水温维持在 22 ℃~25 ℃,用牛奶将实验用水染色,保证实验环境安静。

前 6 d 为定位航行实验:在实验第 1 天,进行可见平台试验(平台高于水面 1~2 cm),第 2~6 天进行隐藏平台试验(平台低于水面 1~2 cm),每天的 4 个入水点顺序均随机选择,每个入水点均需入水测试 1 次,先把小鼠置于平台上 10 s,让其熟悉环境,然后将小鼠面朝桶壁轻放入水,记录小鼠找到平台且在平台上停留超过 3 s 所用的时间,即逃避潜伏期。如果小鼠在 60 s 内未找到平台,则记录时间为 60 s,并将其再次置于平台上 10 s 让其熟悉周围环境。第 7 天为空间探索试验:将平台移除,选择 2 个远离平台所在象限的入水点进行测试,记录小鼠穿越平台所在位置的穿台次数以及在平台所在象限的游泳时间及游泳距离百分比。

1.4 免疫组化染色

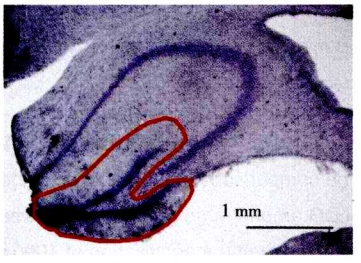
每只小鼠先按 0.004 mL/g 的剂量从腹腔注射 1%戊巴比妥钠进行麻醉,接着迅速剖开胸腔以暴露心脏,将灌注泵针头经心尖处缓缓插入左心室,并用止血钳固定,刺破右心耳,用生理盐水以 10 mL/min 的速度进行灌注,至内脏颜色变浅,再以同样速度用 4%多聚甲醛灌注固定至颈部变硬。剖出大脑,从大脑纵沟处将大脑分离成左右半脑,置于 4%多聚甲醛溶液中,4 ℃保存。

每只小鼠随机选取一侧大脑标本,在 10%、20%、30%的蔗糖溶液中梯度脱水,各 24 h。低温冰冻切片机中速冻大脑组织,沿冠状切面切取 50 μm 厚的连续切片,在含有海马结构的所有切片中,按照 1/6 的抽样分数进行抽样。切片用 0.01 mol/L 的 PBS 液漂洗 30 min、0.3% Tween-20(0.01 mol/L 的 PBS 配置)漂洗 5 min × 12 次;0.3% Tween-20、0.1%鱼明胶、5%山羊血清、1%胎牛血清 37 ℃封闭 3 h,加入 1:2 000抗 spinophilin 单克隆抗体(abcam,ab50184)37 ℃孵育 36 h。用 0.3%Tween-20 漂洗 5 min × 12 次,1:200 免疫胶体金试剂(Electron Microscopy Sciences)37 ℃恒温水浴 3 h。取出后用 0.3% Tween-20 和 0.01 mol/L 的 PBS 各漂洗 5 min × 6 次,

2%戊二醛避光固定 10 min，0.01 mol/L 的 PBS 和去离子水各漂洗 5 min × 6 次，银增强试剂盒（AURION R-Gent Silver Enhancement Kit，1:1，Electron Microscopy Sciences）避光显色 25 min，去离子水漂洗 10 min × 3 次，0.01 mol/L 的 PBS 液漂洗 10 min × 3 次，贴片、风干、复染、返蓝、脱水、透明、风干[14]。

1.5 大脑海马分区

DG 是由小颗粒细胞紧密排列组成的颗粒细胞层且颗粒细胞层内插入多形细胞层（PoDG），在 10 倍物镜下根据 DG 内神经元形态特点和排列方式，参考小鼠脑图谱画出海马 DG 区边界（图 1）。



图中红线为 DG 区边界，标尺示 1 mm

图 1 显微镜下定义海马 DG 区边界示意图

Fig.1 An illustration of the way to define the boundary of the hippocampcal DG with the light microscope is shown

1.6 体视学参数设定及树突棘的计数

每只小鼠随机抽取一套连续组织切片，进行免疫组织化学染色分区，在体视学系统中应用光学分合法计数 DG 区树突棘总数。在 1 000 倍时，统一设置切片面积抽样分数为 0.357%，测试框面积为 4.75 μm²，测试框计数高度为 15 μm，保护高度为 3 μm，随后对海马组织 DG 区树突棘进行抽样计数。将镜下视野第 1 次清晰聚焦树突棘时 Z 轴上的位置设为 0，将 Z 轴移动至保护高度以下，以树突棘清晰聚焦为标准，按照无偏计数框的计数原则进行计数。体视学无偏计数框的计数原则为：如果树突棘完全落在无偏计数框内或只与上线和右线相交，而不与左线及其延长线、下线和右线延长线相交时，则被计数（图 2）。

用公式（1）计算 DG 区内树突棘密度[15-16]：

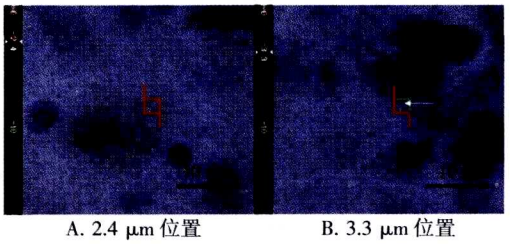
$$Nv=\Sigma Q—/\Sigma V' \quad (1)$$

式中，ΣQ—代表每只小鼠海马 DG 区内计数的所有树突棘数目；$\Sigma V'$代表计数树突棘时所使用的所有体视框的体积总和。

用公式（2）计算 DG 区内树突棘总数量[15-16]：

$$N(\text{total})=\Sigma Q— \times 1/\text{ssf} \times 1/\text{asf} \times 1/\text{tsf} \quad (2)$$

式中，ΣQ—代表每只小鼠海马 DG 区内计数的树突棘总数目；ssf 代表切片抽样分数；asf 代表面积抽样分数；tsf 代表高度抽样分数。



A. 2.4 μm 位置（保护高度内）　B. 3.3 μm 位置（保护高度以下）

↑示第一次清晰聚焦的树突棘，即被计数的树突棘；Spinophilin 免疫组化染色；标尺示 10 μm

图 2 光学体视框计数海马 DG 区树突棘数量的示意图。

Fig.2 An illustration of the way to count the number of the dendritic spines in the hippocampus DG with the optical disector technique is shown

1.7 统计学分析

首先使用 SPSS 19.0 统计软件进行正态分布检验，以确定数据是否服从正态分布，若数据服从正态分布，则直接进行统计分析，若数据不服从正态分布则进行数据转换后再进行统计分析。其中，Morris 水迷宫第 1~6 天隐蔽站台试验数据采用重复测量方差分析进行检验，之后再用 Turkey's 检验进行两两比较；第 7 天空间探索试验数据和相关体视学参数采用单因素方差分析进行统计处理，之后再用 Turkey's 检验进行两两比较，检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 Morris 水迷宫结果

水迷宫实验数据见表 1，在定位航行试验中，跑步组小鼠和阴性对照组小鼠能较顺利找到平台，而阳性对照组较难找到。空间探索实验中运动轨迹图显示，跑步组小鼠运动轨迹与阳性对照组相比，与阴性对照组更相似，运动象限多在原平台所在象限（图 3）。定位航行实验结果显示，3 组小鼠逃避潜伏期存在显著性差异（P=0.002）。其中，阳性对照组小鼠逃避潜伏期显著长于阴性对照组小鼠（P=0.002），跑步组小鼠逃避潜伏期显著短于阳性对照组（P=0.016）。在第 7 天的空间探索试验中，阴性对照组小鼠穿台次数、目标象限游泳时间、目标象限游泳距离百分比显著多于阳性对照组小鼠（P=0.000、P=0.025、P=0.040），跑步组小鼠穿台次数、目标象限游泳时间、目标象限游泳距离百分比与阳性对照组小鼠存

表 1 水迷宫数据

Tab.1 Morris water maze data

水迷宫数据	阴性对照组	阳性对照组	跑步组	统计量	P 值
逃避潜伏期（s）	22.40 ± 2.50	35.40 ± 2.50[b,c]	25.00 ± 2.50	9.778	0.000
穿台次数	4.40 ± 1.60	1.30 ± 0.90[b,c]	3.20 ± 1.90	12.230	0.000
目标象限游泳时间（s）	21.70 ± 3.80	14.00 ± 8.20[a,c]	21.50 ± 7.60	4.946	0.013
目标象限游泳距离百分比（%）	0.34 ± 0.09	0.23 ± 0.14[a,c]	0.31 ± 0.12	4.949	0.013

注：a，阳性对照组与阴性对照组相比，P<0.05；b：阳性对照组与阴性对照组相比，P<0.01；c：阳性对照组与跑步组相比，P<0.05

在统计学差异（P=0.010、P=0.029、P=0.019），跑步组小鼠与阴性对照组小鼠在穿台次数、目标象限游泳时间、目标象限游泳距离百分比均无统计学差异（P=0.207、P=0.997、P=0.949）（图 4）。

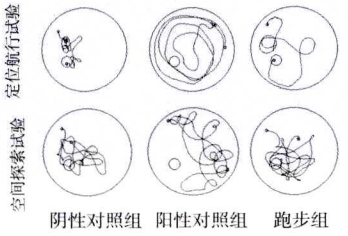
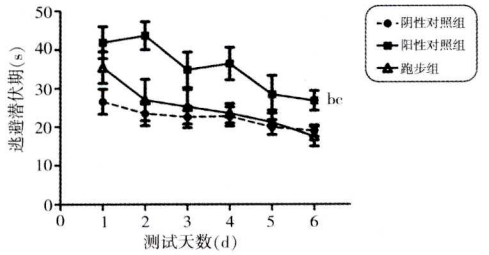
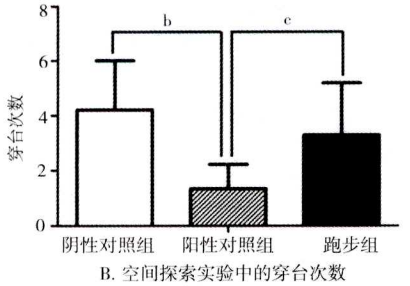


图 3　水迷宫试验中运动轨迹图

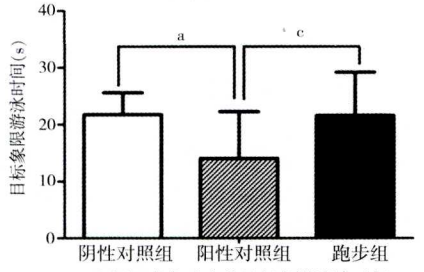
Fig.3　Swimming tracks in the Moriis water maze



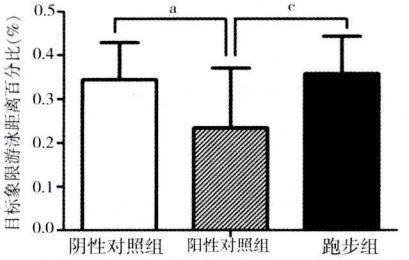
A. 3 组小鼠在隐蔽平台实验中的逃避潜伏期比较



B. 空间探索实验中的穿台次数



C. 空间探索实验中的目标象限游泳时间



D. 空间探索实验中的目标象限游泳距离百分比

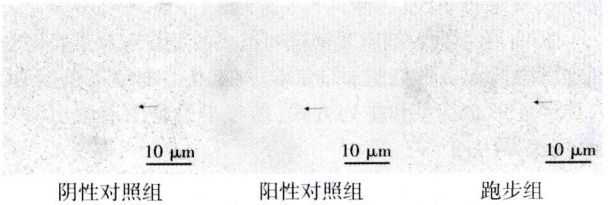
a：阳性对照组与阴性对照组相比，P<0.05；b：阳性对照组与阴性对照组相比，P<0.01；c：阳性对照组与跑步组相比，P<0.05

图 4　3 组小鼠的水迷宫实验结果比较

Fig.4　Comparison of the test results of the Morris water maze in three groups

2.2　体视学分析

2.2.1　DG 区树突棘密度　选取 3 组动物切片 DG 区相同部位在 1 000 倍下观察树突棘密度差异情况。阴性对照组和跑步组小鼠 DG 区树突棘分布密集，阳性对照组小鼠 DG 区树突棘分布稀疏（图 5）。

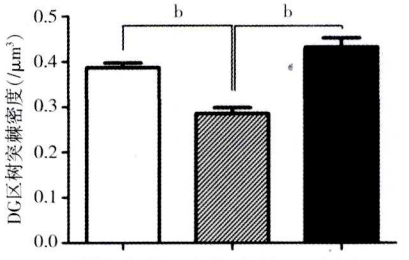


Spinophilin免疫组化染色，苏木素复染后进行观察；↑示清晰聚焦的树突棘；标尺示 10 μm

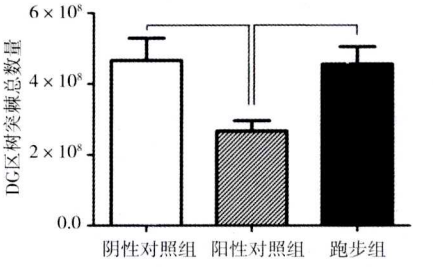
图 5　3 组小鼠树突棘在 1000 倍下进行观察

Fig.5　The comparisons of the dendritic spines of the hippocampal DG among three groups are shownunder a light microscope at a magnification of 1000×

运用现代体视学定量研究发现，阴性对照组小鼠海马 DG 区内树突棘密度为（0.387 4 ± 0.023 4）/μm³，阳性对照组小鼠海马 DG 区内树突棘密度为（0.285 6 ± 0.013 3）/μm³，跑步组小鼠海马 DG 区内树突棘密度为（0.431 9 ± 0.044 8）/μm³。3 组小鼠海马 DG 区树突棘密度统计分析结果显示为 F=24.550，P=0.000。阴性对照组小鼠树突棘密度显著多于阴性对照组（P=0.001），跑步组小鼠树突棘密度较阳性对照组明显增加（P<0.001），跑步组小鼠与阴性对照组相比无差异（P=0.136）（图 6）。



A. 3 组小鼠大脑海马 DG 区内树突棘密度比较



B. 3 组小鼠大脑海马 DG 区内树突棘总数量比较

a：P<0.05；b：P<0.01

图 6　3 组小鼠 DG 区内树突棘的密度和总数

Fig.6　Comparisons of the density and the number of dendritic spines in DG of hippocampus among three groups

2.2.2 DG 区树突棘总数量 阴性对照组小鼠海马 DG 区内树突棘总数为(4.657 8 ± 1.382 7)×10⁸，阳性对照组小鼠海马 DG 区内树突棘总数为(2.667 9 ± 0.643 5)×10⁸，跑步组小鼠海马 DG 区内树突棘总数为(4.546 6 ± 1.081 4)×10⁸。3 组小鼠海马 DG 区树突棘总数统计分析结果为 F=5.365，P=0.022。阴性对照组小鼠树突棘总数量比阴性对照组增加 42%(P=0.032)，跑步组小鼠树突棘总数较阳性对照组增加 41%(P=0.043)，跑步组小鼠与阴性对照组相比无差异(P=0.985)(图 6)。

3 讨 论

AD 是一种神经系统退行性疾病，主要病理改变包括 Aβ 淀粉样蛋白沉积、tau 蛋白过度磷酸化导致神经原纤维缠结以及广泛的神经元和突触丢失[17-18]。APP/PS1 双转基因小鼠[B6C3-Tg(APPswe,PSEN1de9)85Dbo/J]能够稳定表达人类突变型 APP 与 PS1 基因。其中，APP 代谢的异常会导致细胞外 Aβ 的沉积、突触及神经元的丢失等病理改变；PS1 的代谢异常会选择性地增加具有神经毒性的 Aβ42 的表达和 Aβ 的沉积[19]，是进行 AD 相关研究比较理想的动物模型，因此本实验采用的动物模型是 APP/PS1 双转基因 AD 小鼠。

跑步锻炼作为一种简单可行，经济便捷的方法受到越来越多的关注。以往大多数研究表明，主动和被动的锻炼都能对 AD 产生积极的影响[20-21]。因此在本实验中，我们根据以前的研究制定了本研究的跑步计划[11]。我们运用 Morris 水迷宫实验对 16 月龄的 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠的空间学习记忆能力进行检测，结果发现 4 个月的跑步锻炼可以显著缩短 16 月龄 APP/PS1 小鼠在隐蔽平台实验中逃避潜伏期时间，表明跑步锻炼可以改善 APP/PS1 小鼠的空间学习能力，这与以往的研究结果一致。在第 7 天的定位航行实验中，阳性对照组小鼠在穿台次数、目标象限游泳时间、目标象限游泳距离百分比与阴性对照组小鼠均存在统计学差异，说明 AD 小鼠存在学习记忆能力的减退；跑步组小鼠与阳性对照组小鼠在穿台次数、目标象限游泳时间、目标象限游泳距离百分比存在统计学差异，说明经过跑步锻炼之后，AD 小鼠的学习记忆能力得到改善，推测跑步锻炼对小鼠学习和记忆能力具有积极作用。

跑步锻炼如何影响老年 AD 小鼠空间学习能力的具体机制尚不明确。突触作为神经元间功能连接的单位，其结构的完整性对神经元间信息传递至关重要。相对于突触前结构，突触后结构被认为对于 AD 的发生至关重要[23]。树突棘作为神经元内部向外伸出的突起，其主要作用是接收从兴奋性突触传递来的信号，这也使树突棘成为退行性疾病发生初期最易受攻击的部位[24]。Spinophilin 又名 neurabin Ⅱ，是一种突触蛋白，表达于棘形成、不同类型树突棘的突触传递过程中以及兴奋和部分抑制的树突轴的突触后位点[25-26]。Allen 等的实验[27]证实，spinophilin 的免疫反应能够出现在鼠脑的绝大多数树突棘中，Hao 等的实验[14]证明，在恒河猴中 spinophilin 出现在 93%的海马树突棘中，而很少出现在其他组织中，这使得 spinophilin 成为一种极佳的树突棘标志物。因此，本研究采用树突棘特异性标记物 spinophilin[14,24-27]标记 16 月龄的 APP/PS1 转基因 AD 小鼠和相同月龄的野生型小鼠海马 DG 内的树突棘，并进行准确的三维定量，其结果显示 16 月龄的 APP/PS1 转基因 AD 小鼠海马 DG 内树突棘密度和数量较相同月龄的野生型小鼠显著性减少，提示中老年 AD 小鼠海马 DG 内树突棘显著性丢失。同时，4 个月跑步锻炼干预的 16 月龄 APP/PS1 小鼠 DG 区的树突棘密度和总数较未给予跑步干预的相同月龄 APP/PS1 小鼠显著性增加。树突棘作为神经元胞体的远距离突起，极易在神经退行性病变中受到损伤从而中断细胞信号传递和突触功能。突触活性的改变可以引起树突棘的形态变化，树突棘的改变也可以对突触电信号和化学信号产生影响，同时调节突触传递的功能。树突棘作为一种动态结构被认为是突触可塑性学习和记忆的位点。因此，树突棘对于维持突触正常功能和可塑性至关重要，进而影响细胞的信号传递、学习和记忆功能[28]。本实验结果表明，跑步锻炼能够延缓中老年 AD 小鼠海马 DG 内树突棘的丢失。跑步锻炼对 AD 小鼠海马齿状回树突棘的作用可能是跑步锻炼改善 AD 小鼠空间学习能力的重要结构基础之一。

然而这一结论却与 Xu 等的研究结论不一致。Xu 等[29]报道 6 周有氧运动结合氧化应激治疗不能改善中老年 APP/PS1 转基因 AD 小鼠的空间学习和记忆能力，也不能逆转海马内突触囊泡的丢失。本研究目前的研究结果与 Xu 等的研究结果不一致的原因不清楚，推测跑步干预持续时间的不同及不同突触部位标记物的使用等可能解释不一致的结果。本研究结果提示，海马内突触可能是延缓 AD 进程的重要结构靶点，跑步锻炼很可能是通过调节突触

的可塑性而延缓 AD 学习记忆能力下降的进程。

综上所述，16 月龄时 AD 模型小鼠空间学习记忆能力显著性减退，海马 DG 区内树突棘显著性丢失，跑步锻炼后 AD 小鼠的空间学习能力得到改善，海马 DG 区内树突棘数量丢失明显减少。推测跑步锻炼改善老年 AD 小鼠学习记忆能力有可能是通过减少树突棘的丢失实现的，跑步锻炼有可能成为延缓老年 AD 患者疾病进程的方法之一。

参 考 文 献

[1] Wortmann M. Dementia:a global health priority-highlights from an ADI and World Health Organization report[J]. Alzheimers Res Ther, 2012,4(5):40.

[2] Scheff SW,Price DA,Ansari MA,et al. Synaptic change in the posterior cingulate gyrus in the progression of Alzheimer's disease[J]. J Alzheimers Dis,2015,43(3):1073-1090.

[3] Nichol K,Deeny SP,Seif J,et al. Exercise improves cognition and hippocampal plasticity in APOE ε4 mice[J]. Alzheimers Dement,2009, 5(4):287-294.

[4] Um HS,Kang EB,Koo JH,et al. Treadmill exercise represses neuronal cell death in an aged transgenic mouse model of Alzheimer's disease[J]. Neurosci Res,2010,69(2):161-173.

[5] Zhao G,Liu HL,Zhang H,et al. Treadmill exercise enhances synaptic plasticity,but does not alter β-amyloid deposition in hippocampus of aged App/Ps1 transgenic mice[J]. Neuroscience,2015,298:357-366.

[6] *Dureahmad M,Imran M,Gul A. Calcium dynamics in dendritic spines:a link to structural plasticity*[J]. Math Biosci,2011,230(2):55-66.

[7] Spiga S,Mulas G,Piras F,et al.The "addicted" spine[J]. Front Neuroanat,2014,8:110.

[8] Barnes J,Fox NC. The search for early markers of AD:hippocampal atrophy and memory deficits[J]. Int Psychogeriatr,2014,26(7):1065-1066.

[9] Rolls ET. A computational theory of episodic memory formation in the hippocampus[J]. Behav Brain Res,2010,215(2):180-196.

[10] Deng W,Mayford M,Gage FH. Selection of distinct populations of dentate granule cells in response to inputs as a mechanism for pattern separation in mice[J]. Elife,2013,2:e00312.

[11] Yuede CM,Zimmerman SD,Dong H,et al. Effects of voluntary and forced exercise on plaque deposition,hippocampal volume,and behavior in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease[J]. Neurobiol Dis, 2009,35(3):426-432.

[12] Morris RG,Garrud P,Rawlins JN,et al. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions[J]. Nature,1982,297(5868):681-683.

[13] Tanila H. Wading pools,fading memories--place navigation in transgenic mouse models of Alzheimer's disease[J]. Front Aging Neurosci,2012,4:11.

[14] *Hao J,Janssen WG,Tang Y,et al.* Estrogen increases the number of spinophilin-immunoreactive spines in the hippocampus of young and aged female rhesus monkeys[J]. J Comp Neurol,2003,465(4):540-550.

[15] Padurariu M,Ciobica A,Mavroudis I,et al. Hippocampal neuronal loss in the CA1 and CA3 areas of Alzheimer's disease patients[J]. Psychiatr Danub,2012,24(2):152-158.

[16] 师晓燕，赵圆宇，卢 伟，等. 运用新的体视学方法定量研究大鼠海马结构神经元和突触数目[J]. 第三军医大学学报，2011，33(13)：1328-1332.

[17] Hof PR,Morrison JH. Quantitative analysis of a vulnerable subset of pyramidal neurons in Alzheimer's disease:II. Primary and secondary visual cortex[J]. J Comp Neurol,1990,301(1):55-64.

[18] Scheff SW,Price DA,Schmitt FA,et al. Hippocampal synaptic loss in early Alzheimer's disease and mild cognitive impairment[J]. Neurobiol Aging,2006,27(10):1372-1384.

[19] 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):1-11.

[20] Cotman CW,Berchtold NC. Exercise:a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity[J]. Trends Neurosci,2002,25(6): 295-301.

[21] Giménezllort L,García Y,Buccieri K,et al. Gender-specific neuroimmunoendocrine response to treadmill exercise in 3xTg-AD mice[J]. Int J Alzheimers Dis,2010,2010:128354.

[22] Arendash GW,King DL,Gordon MN,et al. Progressive,age-related behavioral impairments in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin-1 transgenes[J]. Brain Res, 2001,891(1-2):42-53.

[23] Spires TL,Meyer-Luehmann M,Stern EA,et al. Dendritic spine abnormalities in amyloid precursor protein transgenic mice demonstrated by gene transfer and intravital multiphoton microscopy[J]. J Neurosci, 2005,25(31):7278-7287.

[24] Harris KM. Structure,development,and plasticity of dendritic spines[J]. Curr Opin Neurobiol,1999,9(3):343-348.

[25] Muly EC,Allen P,Mazloom M,et al. Subcellular distribution of neurabin immunolabeling in primate prefrontal cortex:comparison with spinophilin[J]. Cereb Cortex,2004,14(12):1398-1407.

[26] Ouimet CC,Katona I,Allen P,et al. Cellular and subcellular distribution of spinophilin,a PP1 regulatory protein that bundles F-actin in dendritic spines[J]. J Comp Neurol,2004,479(4):374-388.

[27] Allen PB,Ouimet CC,Greengard P. Spinophilin,a novel protein phosphatase 1 binding protein localized to dendritic spines[J]. Proc Natl Acad Sci USA,1997,94(18):9956-9961.

[28] Akram A,Christoffel D,Rocher AB,et al. Stereologic estimates of total spinophilin-immunoreactive spine number in area 9 and the CA1 field:relationship with the progression of Alzheimer's disease[J]. Neurobiol Aging,2008,29(9):1296-1307.

[29] Xu ZQ,Zhang LQ,Wang Q,et al. Aerobic Exercise combined with antioxidative treatment does not counteract moderate-or mid-stage Alzheimer-like pathophysiology of APP/PS1 mice[J]. CNS Neurosci Ther, 2013,19(10):795-803.

（责任编辑：张辉洁）