基础研究 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000860

老年雄性 APP/PS1 模型小鼠大脑海马齿状回内有髓神经纤维结构的体视学研究

朱殷青,蒋 林,张 毅,周春妮,晁风蕾,张 蕾,唐 静,梁 芯,綦英强,张 杨,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 16 月龄雄性 APP/PS1 双转基因小鼠海马齿状回有髓神经纤维的结构改变,以期深入了解阿尔茨海默病海马的形态学改变。**方法**:Morris 水迷宫方法测试 16 月龄雄性野生型小鼠和 16 月龄雄性 APP/PS1 双转基因模型小鼠的空间学习记忆能力,透射电子显微镜技术和现代体视学方法定量研究模型小鼠和野生型小鼠海马齿状回内有髓神经纤维长度、有髓神经纤维及其轴突和髓鞘体积等参数。**结果**:Morris 水迷宫结果显示在前六天的隐蔽站台试验中模型组小鼠逃避潜伏期明显长于野生型小鼠(分组效应:F=9.952,P=0.008;时间效应:F=3.082,P=0.023;时间分组交互作用:F=0.312,P=0.873),在第七天的空间探索试验中模型小鼠穿台次数明显少于野生型小鼠(F=2.961,P=0.011),原平台所在象限停留时间百分比明显小于野生型小鼠(F=0.090,P=0.002)。虽然两组小鼠海马体积没有统计学差异,但是 DG 区内有髓神经纤维的超微结构均存在退行性改变,体视学定量分析结果显示在 0.7~1.2 μm 直径段模型组小鼠海马 DG 内有髓神经纤维长度较野生型组明显降低(P=0.022)。**结论**:16 月龄时 APP/PS1 模型小鼠空间学习记忆能力明显减退,且海马 DG 内 0.7~1.2 μm 直径段有髓神经纤维明显丢失可能是 APP/PS1 模型小鼠空间学习记忆能力进行性减退的结构基础之一。

【关键词】APP/PS1 模型小鼠;齿状回;有髓神经纤维;透射电子显微镜;体视学
【中图分类号】R749.1+6;R322.81;R329.4 【文献标志码】A 【收稿日期】2015-11-04

Stereological study of the structure of the myelinated nerve fibers in the dentate gyrus of the aged APP/PS1 transgenetic mice

Zhu Yinqing, Jiang Lin, Zhang Yi, Zhou Chunni, Chao Fenglei, Zhang Lei, Tang Jing, Liang Xin, Qi Yingqiang, Zhang Yang, Tang Yong
(*Teaching and Research Section of Histology and Embryology, Laboratory of Stem Cell and Tissue Engineering, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To investigate the changes of the myelinated nerve fibers in the dent-ate gyrus(DG) of the 16-month-old male APP/PS1 transgenetic model mice using the unbiased s-tereological methods in order to further understand the morphological changes in the hippoca-mpus of the Alzheimer's disease. ***Methods***: The spatial learning and memory abilities of the 16month-old male APP/PS1 model and wild-type mice were investigated using the Morris Water Maze test. The total length of the myelinated fibers, the total volumes of the myelinated fibers, the axons of the myelinated fibers and the myelin sheaths of the myelinated fibers, the inner diameter and outer diameter of the myelinated fibers in the DG of the mice in two groups were investigated by the transmission electron microscope and the unbiased stereological methods. ***Results***: Morris Water Maze results showed that the escape latency of the model mice was signi-ficantly higher than that of the wild-type mice(group effect: F=9.952, P=0.008; time effect: F=3.082, P=0.023; time group interaction: F=0.312, P=0.873). The target zone frequency in the probe trial task of the model mice was significantly decreased compared with that of the wild-type(F=2.961, P=0.011), so was the percentage of time in target quadrant zone(F=0.090, P=0.002). The hippocampal volume and the dentate gyrus volume were not significantly different between the model mice and the wild-type mice. However, the myelin sheaths of the myelinated fibers in the DG of both group mice existed degenerative changes. Moreover, the stereological results showed that the total length of the myelinated fibers with the diameter range from 0.7 to 1.2 μm in the DG of the model mice was significantly decreased

作者介绍:朱殷青,Email:403241936@qq.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.20160118.2221.017.html (2016-01-18)

when compared with that of wild-type mice (P=0.022). ***Conclusion***: The spatial learning and memory abilities of the 16-month-old male APP/PS1 model mice were decreased significantly. The significant loss of myelinated fibers with the diameter range from 0.7 to 1.2 μm in the DG of the APP/PS1 model mice might be one of the structural bases for the memory and learning deficits of the old APP/PS1 model mice.

【Key words】APP/PS1 transgenetic mice; dentate gyrus; myelinated nerve fibers; transmission electron microscope; stereology

阿尔茨海默病（Alzheimer's Disease，AD），是一种伴随有学习记忆能力下降的老年性疾病。众多流行病学研究发现，截止到 2010 年全世界 AD 患者估计达到 3 600 万[1]。其中，中国的 AD 人数将近 920 万[2]，约占世界患病人数的 1/4，而且随着中国人口老龄化的加剧，这一人数必然会有上升趋势。据估计，平均每位 AD 患者一生中用于治疗该病的费用已高达 174 000 美元，加上 AD 患者平时生活上不能自理，需要长期的看护，这无疑给每个家庭和整个社会都带来了沉重的“负担”。

大多数研究表明，AD 患者主要存在以下病理改变：Aβ 淀粉样斑块和神经原纤维缠结，以及基于以上原因造成的皮质和海马区域大量神经元和突触的损伤、丢失、功能异常等，进而造成学习记忆下降或认知功能缺损等[3-5]。

众所周知，海马结构是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。从结构上来说，海马体主要包括 CA1、CA2、CA3 和（Dentate Gyrus）DG 4 个亚区，各亚区间通过错综复杂的神经纤维网络，尤其是有髓神经纤维进行高速的信息传导，这在一定程度上保证了海马正常功能的发挥。但是，目前国内外鲜有关于 AD 大脑海马内有髓神经纤维改变的报道，已有的报道也仅是关于 AD 早期的半定量或者中晚期的定性研究：Desai 等[6]发现 6 月龄 3xTg-AD 模型小鼠海马 CA1 亚区有髓神经纤维数量显著性减少。Schmued 等[7]在 16 月龄 APP/PS1 模型小鼠海马 DG 亚区也观察到了有髓神经纤维的缺失。然而，针对 AD 晚期海马 DG 内有髓神经纤维改变的三维定量研究尚未被报道。鉴于 DG 作为海马结构信息传导通路的门户，在维持海马学习记忆功能方面发挥着举足轻重的作用，本实验将选取 16 月龄雄性 APP/PS1 模型小鼠和同窝生野生型小鼠各 5 只，在透射电子显微镜技术的基础上，运用现代体视学方法定量计算 DG 内有髓神经纤维的相关超微结构参数，以此来准确了解 AD 晚期大脑海马 DG 内有髓神经纤维的病理改变，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

16 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）和同窝生雄性野生型小鼠各 7 只，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。

1.2 Morris 水迷宫测试

为检测空间学习、记忆能力，2 组小鼠均采用 Morris 水迷宫先进行 6 d 的隐蔽站台试验，接着在第 7 天进行空间探索试验[8-9]。

1.3 标本取材与固定

每只小鼠先按 0.004 mL/g 的剂量从腹腔注射 1%水合氯醛进行麻醉，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，然后再刺破右心耳，接着用生理盐水以 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。然后剖出大脑，从大脑纵沟处将大脑分离成左右半脑，分别用 6%琼脂包埋，待琼脂凝固后沿冠状方向切成 0.5 mm 厚的连续脑切片，每侧大脑半球可切 5~7 张含有海马组织的等距离组织片。

1.4 大脑海马及 DG 体积的计算

从每组随机选出 5 只小鼠，每只小鼠等距随机抽取一侧大脑半球含有海马结构的切片，在解剖显微镜下拍照，覆盖等距测试点。由于海马各区边界不清，所以计数落在海马结构上的总点数，并利用下列公式计算海马体积 Vhp：

$$Vhp=\sum n \times m \times t \times 2 \quad (1)$$

式中 $\sum n$ 为计数的总点数，m 为每个点所代表的面积，t 为切片距离[10]。

接着利用冰冻切片机在每一张脑片的表面切下 20 μm 厚的冰冻切片并用苏木素染色，然后在体视学显微镜下画DG

边界，拍照，并在表面叠加等距测试点，求出落在 DG 上的点数和海马结构上的点数之比，即 DG 与海马体积之比。利用前面算出的海马体积 Vhp 乘以该比值，即可算出 DG 体积 VDG。

1.5 电镜切片制备

从上述每只小鼠包含海马结构的 0.5 mm 切片中随机抽取 3 张切片，再从每张切片 DG 区取 1 个组织块，在 4 ℃环境下将组织块做如下处理：用 2.5%的戊二醛固定 2 h，接着 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液（ph 7.2）洗 3 次，然后用 1%四氧化锇（OsO_4）再固定 2 h，紧接着在 50%、70%、90%乙醇和 90%二甲基酮混合物及 100%二甲基酮中梯度脱水，然后浸泡于环氧树脂中。为保证各方向有均等概率被切到，将经过电镜染色的标本按“球切法”处理：将泡好的组织块先用树脂包埋成直径为 5 mm 大小的球，再按正常电镜包埋步骤继续包埋，然后按照随机原则切取 1 张 60 nm 厚的切片，分别在透射电子显微镜下放大 8 000 倍和 20 000 倍，从每个倍数下再分别等距随机抽取取 20 个视野进行拍照。

1.6 体视学分析

1.6.1 DG 内有髓神经纤维的长度密度和总长度的计算 将无偏计数框随机叠加在 8000 倍的电镜照片上，计数满足禁止线法则的有髓神经纤维断面数，按照下列公式计算单位体积内有髓神经纤维的长度密度 Lv(MF/DG)：

$$Lv(MF/DG)=2\times\sum N(MF)/[S(frame)\times\sum frame] \quad (2)$$

其中，$\sum N(MF)$ 为计数的有髓神经纤维断面总数，S(frame)为无偏计数框的面积，$\sum frame$ 为使用的所有计数框的总数。

用之前计算得到的大脑海马齿状回体积 VDG 乘以单位体积内有髓神经纤维的长度密度就得到了海马齿状回内有髓神经纤维的总长度 L(MF,DG)：

$$L(MF,DG)=Lv(MF/DG)\times V_{DG} \quad (3)$$

将一系列等距测试点随机覆盖在 8000 倍电镜照片上，分别计数落在所有照片上以及照片上有髓神经纤维及其髓鞘、轴突上的总点数。根据下面公式分别计算有髓神经纤维及其髓鞘、轴突的体积密度：

$$Vv(MF/DG)=\sum I(MF)/\sum I_{DG} \quad (4)$$

$$Vv(MS/DG)=\sum I(MS)/\sum I_{DG} \quad (5)$$

$$Vv(Axon/DG)=\sum I(Axon)/\sum I_{DG} \quad (6)$$

其中，$\sum I(MF)$ 为落在有髓神经纤维上的点数，$\sum I(MS)$ 落在有髓神经纤维髓鞘上的点数，$\sum I(Axon)$ 为落在有髓神经纤维轴突上的点数，$\sum IDG$ 为叠加在照片上的总点数，Vv(MF/DG)、Vv(MS/DG)、Vv(Axon/DG)分别为有髓神经纤维及其髓鞘、轴突的体积密度。

用海马 DG 体积 VDG 分别与单位体积内有髓神经纤维的体积密度 Vv(MF/DG)、有髓神经纤维髓鞘的体积密度 Vv(MS/DG)和有髓神经纤维轴突的体积密度 Vv(Axon/DG)相乘，即可得到海马齿状回内有髓神经纤维的总体积 V(MF,DG)、有髓神经纤维髓鞘的总体积 V(MS,DG)、有髓神经纤维轴突的总体积 V(Axon,DG)[10]：

$$V(MF,DG)=Vv(MF/DG)\times V_{DG} \quad (7)$$

$$V(MS,DG)=Vv(MS/DG)\times V_{DG} \quad (8)$$

$$V(Axon,DG)=Vv(Axon/DG)\times V_{DG} \quad (9)$$

1.6.2 有髓神经纤维的外直径和内直径的计算 计算被计数框抽中的有髓神经纤维的外直径和内直径。首先找到有髓神经纤维断面的最长轴并作与最长轴相垂直的最长的线段，那么该线段即为有髓神经纤维的外直径，同理可获得有髓神经纤维内直径，即有髓神经纤维轴突直径[11]。

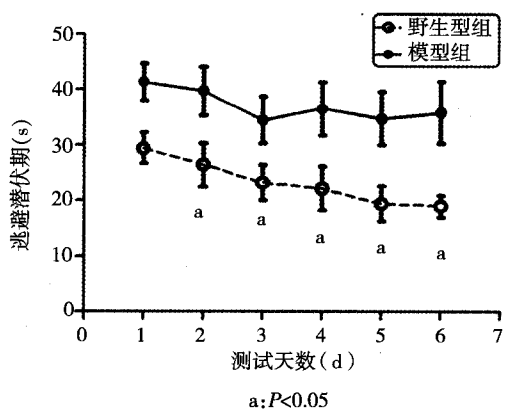
1.7 统计学分析

使用 SPSS 22.0 统计软件进行统计学分析。首先行正态分布检验，以确定数据是否服从正态分布；采用重复测量的方差分析对 Morris 水迷宫第 1~6 天隐蔽站台试验数据进行检验；第 7 天空间探索试验数据和相关体视学参数采用两独立样本 t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$。

2 结 果

2.1 Morris 水迷宫结果

在前 6 d 的隐蔽站台试验中，对 2 组小鼠前 6 d 的逃避潜伏期作一般线性模型重复测量发现模型组小鼠逃避潜伏期明显长于野生型小鼠（分组效应：$F=9.952$，$P=0.008$；时间效应：$F=3.082$，$P=0.023$；时间分组交互作用：$F=0.312$，$P=0.873$）（如图 1）。在第 7 天的空间探索试验中，分别对 2 组小鼠穿台次数和在原平台所在象限停留时间百分比作两独立样本 t 检验分析发现，模型小鼠穿台次数明显少于野生型小鼠（$F=2.961$，$P=0.011$），原平台所在象限停留时间明显小于野生型小鼠（$F=0.090$，$P=0.002$）（如图 2），均具有统计学意义。

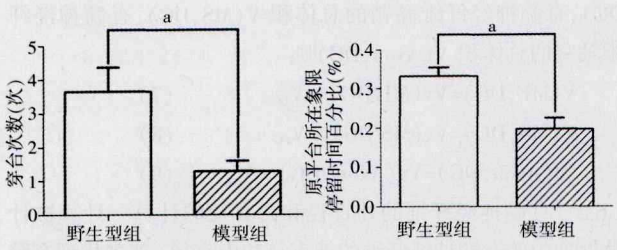


a：$P<0.05$

每个点代表每组小鼠每天 4 次测试潜伏期的平均值（$\bar{x}\pm s$）；模型组小鼠逃避潜伏期明显长于野生型小鼠

图 1 野生型小鼠和模型小鼠（各 7 只）逃避潜伏期比较

Fig.1 Comparasion on the escape latency of the wild type mice and model mice (each group includes seven mice)



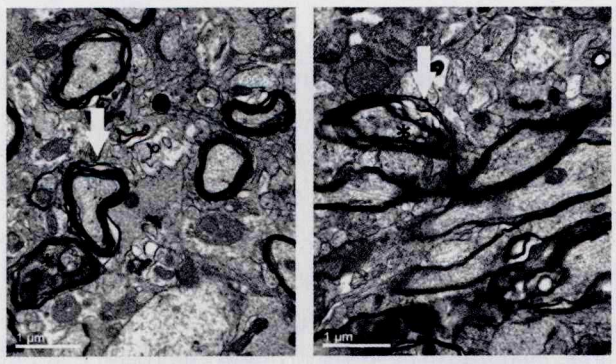
注：模型组小鼠穿台次数和原平台所在象限逗留时间百分比明显低于野生型小鼠；a：$P<0.05$

图 2　野生型小鼠和模型小鼠(各 7 只)穿台次数和原平台所在象限逗留时间百分比的比较($\bar{x}\pm s$)

Fig.2　Comparison on the target zone frequency and the percentage of time in target quadrant zone of the wild type mice and model mice (each group includes seven mice)

2.2　有髓神经纤维结构改变的观察

对 2 组有髓神经纤维 20000X 电镜图片进行比较，发现均存在不同程度的退行性改变，主要包括：髓鞘分层、轴突沃勒样变性(如图 3)。



A. 野生型组　　B. 模型组

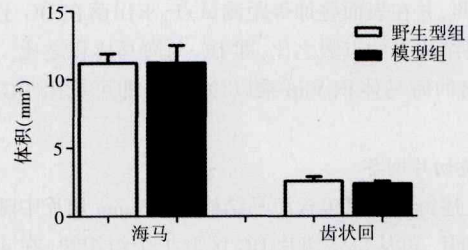
注：白色箭头指示髓鞘分层，黑色星号指示有髓神经纤维轴突沃勒氏退行性变；比例尺刻度为 1 μm

图 3　野生型组和模型组小鼠(各 5 只)大脑 DG 内有髓神经纤维超微病理结构改变对比(20 000×)

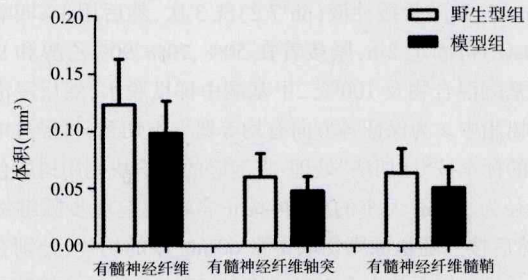
Fig.3　Comparisons on the pathological changes in the ultrastructures of the myelinated fibers in the dentate gyrus between the wild type and model mice (each group includes five mice) (20 000×)

2.3　体视学定量结果

模型组海马体积、DG 体积、DG 内有髓神经纤维及其轴突、髓鞘体积相对于野生型小鼠来说，无明显改变($P=0.979$、$P=0.262$、$P=0.257$、$P=0.276$、$P=0.309$)(如图 4)。模型组海马 DG 内有髓神经纤维外直径、内直径均较对照组有所减少，但差异没有显著性($P=0.098$、$P=0.059$)。虽然模型组有髓神经纤维总长度较野生型组也没有明显改变($P=0.408$)，但模型组小鼠海马 DG 内 0.7~1.2 μm 直径段有髓神经纤维长度较野生型组明显缩短($P=0.022$)(如图 5)。



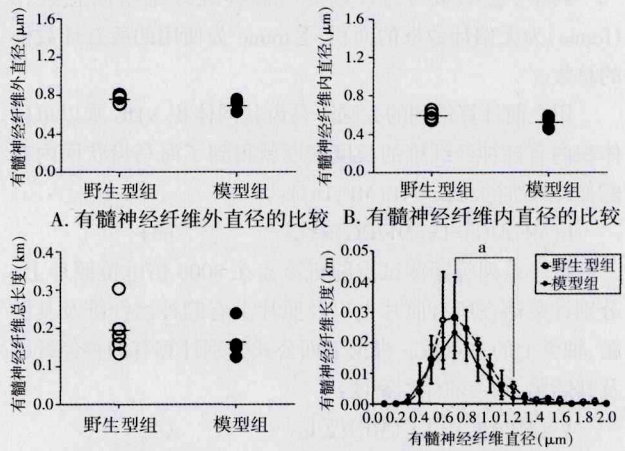
A. 海马体积和 DG 体积比较



B. DG 内有髓神经纤维体积、有髓神经纤维轴突体积以及髓鞘体积的比较

图 4　野生型与模型组小鼠(各 5 只)大脑海马体积、DG 体积、DG 内有髓神经纤维及其轴突体积、髓鞘体积比较($\bar{x}\pm s$)

Fig.4　Comparison on the hippocampus volume, the dentate gyrus volume, the myelinated fiber volume, the related axon volume and myelin sheath volume in the wild type group mice and model group mice (each group includes five mice) ($\bar{x}\pm s$)



A. 有髓神经纤维外直径的比较　B. 有髓神经纤维内直径的比较

C. 有髓神经纤维长度的比较　D. 有髓神经纤维直径－长度分布的比较

-代表对应参数均值，a：$P<0.05$

图 5　野生型与模型组小鼠(各 5 只)海马 DG 内有髓神经纤维及其内轴突直径、有髓神经纤维总长度、直径－长度分布的比较($\bar{x}\pm s$)

Fig.5　Comparisons on the diameters of the myelinated nerve fibers and their axons, the total length of the myelinated nerve fibers, the thickness of the myelin sheathes, absolute size distributions on a log-scale of the myelinated fiber diameters in wild type group and model group (each group includes five mice) ($\bar{x}\pm s$)

3 讨 论

已有研究证实，AD 是一种伴随学习、记忆能力下降的老年神经系统退行性疾病。APP/PS1 模型小鼠是能够表达人类突变 APP 与 PS1 的双转基因 AD 小鼠，可以很好地模拟 AD 部分病理改变，是公认的研究 AD 的理想模型。因此，选用该模型进行研究。在本实验中，利用 Morris 水迷宫对 16 月龄模型小鼠和同月龄野生型小鼠的空间学习记忆能力进行探测发现：在前 6 d 的隐蔽站台实验中，模型组小鼠逃避潜伏期明显高于野生型；在第7 天的空间探索实验中，模型组小鼠穿台次数和原平台所在象限逗留时间百分比均明显小于野生型，这与 Malm 等[12]的结果基本一致。在 Malm 等的研究中，他们同样选用 16 月龄APP/PS1 模型小鼠进行水迷宫测试：虽然他们只进行了 5 d 的测试，但是在前 4 d 的隐蔽站台实验中，模型组小鼠逃避潜伏期明显大于野生型小鼠；在第 5 d 的空间探索实验中，模型组小鼠在原平台所在象限逗留时间明显小于野生型小鼠。因此，本研究认为雄性 APP/PS1 模型小鼠在 16 月龄时其空间学习、记忆功能已发生障碍。那么，到底是什么原因造成了如此改变呢？

众所周知，海马是大脑学习记忆功能的重要载体。有大量的研究证实海马是 AD 最早发生病变的脑区：在 AD 的早期甚至在表现临床症状以前就已出现海马体积的萎缩[13-14]，说明海马在 AD 发病过程中可能发挥着至关重要的作用。海马在结构上主要包括 CA1、CA2、CA3、DG 4 个亚区，而 DG 区作为海马结构信息传导通路的始发站，在维持海马学习记忆功能方面发挥着无可替代的作用。在本实验中，运用无偏定量体视学方法分别对 16 月龄 APP/PS1 模型小鼠和野生型小鼠大脑海马、DG 体积进行研究发现：两者均不存在统计学差异（P=0.979、P=0.266）。这分别与 van de Pol 等[15]和 Schmitz 等[16]的发现基本一致。在 van de Pol 等的研究[15]中，他们采用 MRI 技术分别对 103 名 AD 患者和 73 名正常人大脑海马体积进行研究发现：老年 AD 患者和正常老年大脑海马体积无统计学差异。Schmitz 等[16]运用体视学方法分别对 17 月龄雌性 APP/PS1 小鼠和同月龄雌性野生型小鼠大脑海马内 DG 体积进行测量发现：2 组无统计学差异。以上两者，虽然选用的研究对象与本研究不同：前者选用的是老年 AD 患者和正常老年的比较，后者选用的是 17 月龄雌性模型小鼠和野生型小鼠的比较，但是与本实验所用动物一样，均属于老年阶段。在本团队前期的一些工作中，卢伟等[17]发现正常老年大鼠大脑海马体积发生明显萎缩。因此，本研究推测野生型小鼠在 16 月龄时大脑海马体积可能已经出现萎缩，因此造成模型组小鼠和野生型小鼠海马体积、DG 体积均无统计学差异。模型组小鼠大脑海马体积、DG 体积与野生型相比没有显著改变，但是空间学习记忆却发生了障碍，这又是为何呢？莫非是海马、DG 内一些神经细微结构发生了改变？

大多数的研究表明，AD 病理进程中 Aβ 的不断沉积和 Tau 蛋白的持续过度磷酸化会导致海马内一些神经元、突触的损伤或者丢失，进而造成学习、记忆功能障碍。有学者研究发现，3xTg-AD 小鼠大脑海马有髓神经纤维在 6 月龄时就已出现髓鞘的缺失，且早于 Aβ 沉积和 Tau 蛋白的改变[18]，提示海马内有髓神经纤维结构的损伤或缺失在 AD 发病过程中可能发挥着重要作用。因此，研究 AD 大脑海马内有髓神经纤维的改变对于我们正确认识 AD 的病理进程至关重要。鉴于 DG 作为海马结构信息传导通路的门户，是维持海马学习记忆功能必不可少的，故在本实验中，运用准确的三维定量体视学方法分别对 16 月龄雄性 APP/PS1 模型小鼠和野生型小鼠海马 DG 内有髓神经纤维各项超微结构参数进行测量。结果发现：虽然模型小鼠海马体积、DG 体积、DG 内有髓神经纤维及其轴突、髓鞘体积、有髓神经纤维外直径、内直径、总长度与野生小鼠相比均没有显著性改变（P=0.979、P=0.266、P=0.257、P=0.276，P=0.309、P=0.098、P=0.059、P=0.408），但是模型组小鼠大脑海马 DG 内 0.7~1.2 μm 直径段有髓神经纤维长度显著性下降（P=0.022）。这一发现与卢伟[19]的研究结果略有差别：在卢伟的研究中，他们发现 10 月龄雄性 Tg2576 小鼠与同月龄雄性野生型小鼠相比，其大脑海马 DG 内有髓神经纤维及其髓鞘体积无显著性差异，但是有髓神经纤维长度明显短于野生型小鼠，提示有髓神经纤维大量丢失，且可能主要是小直径段纤维的丢失。然而，在本研究中，发现模型组大脑海马 DG 内有髓神经纤维总长度与野生型相比无明显变化，但是中等到大直径段的有髓神经纤维显著丢失。那么，为什么会有如此差别呢？卢

伟所用 10 月龄小鼠处于中老年期，而本研究所用16月龄小鼠处于老年期，Marner 等[20]运用体视学方法对不同年龄段正常人大脑白质有髓神经纤维进行研究发现：老年大脑白质有髓神经纤维明显缩短，且主要存在于小直径段有髓神经纤维。卢伟等[17]运用同样的方法对不同年龄段的雄性 Long-Evans 大鼠大脑海马内有髓神经纤维进行研究发现：正常老年雄性 Long-Evans 大鼠大脑海马内有髓神经纤维长度显著性短于中老年大鼠。因此，推测正常小鼠在16月龄时其大脑海马 DG 内有髓神经纤维可能已经明显缩短，且主要是细小直径有髓神经纤维，而 16月龄雄性 APP/PS1 模型小鼠大脑海马 DG 内有髓神经纤维可能细小直径、中等直径和大直径段均有丢失，但与同月龄野生型相比的话只显示中等直径和大直径段(0.7~1.2 μm)有显著性丢失。另外发现 16月龄雄性 APP/PS1 模型小鼠大脑海马 DG 内有髓神经纤维及其轴突、髓鞘体积较同月龄野生型小鼠均无统计学差异，与卢伟[19]在雄性 Tg2576 在10 月龄时的发现相同，本研究推测这可能是因为16 月龄雄性 APP/PS1 模型小鼠大脑海马 DG 内仅仅 0.7~1.2 μm 直径段的有髓神经纤维的明显缺失并不足以引起有髓神经纤维及其轴突、髓鞘总体积的改变。

综上所述，本研究认为 16 月龄时 AD 模型小鼠空间学习记忆能力明显减退，且海马 DG 内中等直径段有髓神经纤维明显丢失，这可能是老年 AD模型小鼠空间学习记忆能力进行性下降的结构基础之一。

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] Prince M J. Dementia in China:east-west collaboration bears fruit [J]. Lancet.2013,381(9882):1967-1968.

[3] Castellani RJ,Zhu X,Lee H,et al. Molecular pathogenesis of Alzheimer's disease:reductionist versus expansionist approaches[J]. Int J Mol Sci,2009,10(3):1386-1406.

[4] Gomez-Isla T,Price JL,Mckeel DWJ,et al. Profound loss of layer Ⅱ entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease [J]. The Journal of Neuroscience ,1996,16(14):4491-4500.

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

[6] Desai MK,Mastrangelo MA,Ryan DA,et al. Early oligodendrocyte/myelin pathology in Alzheimer's disease mice constitutes a novel therapeutic target[J]. Am J Pathol,2010,177(3):1422-1435.

[7] Schmued LC,Raymick J,Paule MG,et al. Characterization of myelin pathology in the hippocampal complex of a transgenic mouse model of Alzheimer's disease[J]. Current Alzheimer Research,2013,10(1):30-37.

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

[9] Schrott LM,Yi P,Johnson GS,et al. Acute oral Bryostatin-1 treatment improves Morris water maze acquisition in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease[J]. The FASEB Journal,2012,26(Meeting Abstracts):b516.

[10] Yang S,Li C,Zhang W,et al. Application of stereological method to study the white matter and myelinated fibers there in of rat brain[J]. Image Anal Stereol,2008,27:125-132.

[11] Nyengaard JR,Gundersen HJG. The isector:a simple and direct method for generating isotropic,uniform random sections from small specimens[J]. Journal of Microscopy,1992,165(3):427-431.

[12] Malm TM,Iivonen H,Goldsteins G,et al. Pyrrolidine dithiocarbamate activates Akt and improves spatial learning in APP/PS1 mice without affecting β-amyloid burden [J]. The Journal of Neuroscience, 2007,27(14):3712-3721.

[13] Fox NC,Warrington EK,Stevens JM,et al. Atrophy of the hippocampal formation in early familial Alzheimer's disease[J]. Annals of the New York Academy of Sciences,1996,777(1):226-232.

[14] Fox NC,Warrington EK,Freeborough PA,et al. Presymptomatic hippocampal atrophy in Alzheimer's disease[J]. Brain,1996,119(6): 2001-2007.

[15] van de Pol LA,Hensel A,Barkhof F,et al. Hippocampal atrophy in Alzheimer disease:age matters[J]. Neurology,2006,66(2):236-238.

[16] Schmitz C,Rutten BPF,Pielen A,et al. Hippocampal neuron loss exceeds amyloid plaque load in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease[J]. Am J Pathology,2004,164(4):1495-1502.

[17] 卢 伟,杨 姝,李 琛,等. 大鼠海马结构内有髓神经纤维老年性改变的体视学研究[J]. 解剖学报,2009,40(6):851-856.

[18] Desai MK,Sudol KL,Janelsins MC,et al. Triple-transgenic Alzheimer's disease mice exhibit region-specific abnormalities in brain myelination patterns prior to appearance of amyloid and tau pathology [J]. Glia,2009,57(1):54-65.

[19] 卢 伟. 正常老年大鼠和转基因老年痴呆小鼠海马有髓神经纤维改变的研究[D].重庆医科大学,2012.

[20] Marner L,Nyengaard JR,Tang Y,et al. Marked loss of myelinated nerve fibers in the human brain with age[J]. Journal of Comparative Neurology,2003,462(2):144-152.

（责任编辑：张辉洁）