基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003559

自主跑步运动对APP/PS1小鼠内侧前额叶皮质少突胶质细胞的作用

熊　瑶[1]，周春妮[1]，蒋　林[2]，张钐钐[3]，朱　琳[4]，郭一静[5]，周宇宁[1]，黄杜娟[1]，李　静[1]，祝佩林[1]，刘　梅[6]，唐　勇[1]
（1.重庆医科大学基础医学院组织学与胚胎教研室，重庆　400016；2.重庆医科大学实验教学管理中心，重庆　400016；
3.陆军军医大学第二附属医院麻醉科，重庆　400037；4.北京老年医院老年健康与医养结合研究室，北京　100095；
5.日照市中医医院病理科，日照　276800；6.重庆市永川区妇幼保健院妇产科，重庆　402160）

【摘　要】目的：研究自主跑步运动对APP/PS1双转基因AD（Alzheimer's disease，AD）模型小鼠内侧前额叶皮质（medial prefrontal cortex，mPFC）内少突胶质细胞数量，少突胶质细胞分化、成熟以及髓鞘形成的作用。**方法：**将10月龄雄性转基因AD模型小鼠随机分为AD组和AD跑步（AD+RUN）组，另外将同月龄同窝生野生型小鼠随机分为正常（WT）组和正常跑步（WT+RUN）组。其中跑步组于跑步笼内给予3个月自主跑步锻炼，AD组和WT组不做处理。跑步锻炼结束后4组小鼠同时给予行为学测试，用Morris水迷宫检测小鼠空间学习、记忆能力；用Y迷宫检测小鼠工作记忆能力；用新物体识别实验检测小鼠的认知记忆功能；利用无偏体视学技术和免疫组化技术相结合精确定量小鼠大脑mPFC内成熟少突胶质细胞（$CC1^+$）总数量；同时分析小鼠mPFC内边缘皮层、Ⅱ、Ⅲ、Ⅵ、Ⅵ层成熟少突胶质细胞密度；利用免疫荧光和激光共聚焦显微镜分析小鼠mPFC内未成熟少突胶质细胞（$PDGF\alpha^+/Olig2^+$）密度、髓鞘标志物髓鞘碱性蛋白（myelin basic protein，MBP）荧光强度。**结果：**AD+RUN组和WT组在Morris水迷宫、Y迷宫以及新物体识别实验中的表现优于AD组，AD组mPFC内MBP荧光强度明显低于WT组（$P<0.05$），而AD+RUN组mPFC内MBP荧光强度明显大于AD组（$P<0.001$）。AD+RUN组mPFC内$CC1^+$细胞总数较AD组明显增加（$P<0.05$）。AD+RUN组mPFC内第Ⅲ层和第Ⅴ层$CC1^+$细胞密度较AD组明显增高（$P<0.05$），AD组mPFC内第Ⅴ层和第Ⅵ层$CC1^+$细胞密度较WT组明显降低（$P<0.05$）。AD组mPFC内$PDGF\alpha^+/Olig2^+$细胞密度明显大于WT组，而AD+RUN组mPFC内$PDGF\alpha^+/Olig2^+$细胞密度明显小于AD组（$P<0.05$）。**结论：**自主跑步运动能促进AD小鼠少突胶质细胞分化和髓鞘形成，这可能与运动能改善APP/PS1转基因AD小鼠的学习记忆能力有关。

【关键词】阿尔茨海默病；自主跑步运动；内侧前额叶皮质；少突胶质细胞；髓鞘
【中图分类号】R361.2　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2023-10-30

Effect of voluntary running exercise on oligodendrocytes in the medial prefrontal cortex of APP/PS1 mice

Xiong Yao[1], Zhou Chunni[1], Jiang Lin[2], Zhang Shanshan[3], Zhu Lin[4], Guo Yijing[5], Zhou Yuning[1], Huang Dujuan[1], Li Jing[1], Zhu Peilin[1], Liu Mei[6], Tang Yong[1]
(1. Teaching and Research Section of Histology and Embryology, School of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University; 2. Lab Teaching & Management Center, Chongqing Medical University; 3. Department of Anesthesiology, The Second Affiliated Hospital of Army Medical University; 4. Beijing Geriatric Hospital, Research Laboratory of Geriatric Health and Medical Care Integration; 5. Department of Pathology, Rizhao Hospital of Traditional Chinese Medicine; 6. Department of Obstetrics and Gynecology, Yongchuan Maternal and Child Health Hospital)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effect of voluntary running exercise on the number, differentiation, maturation, and myelination of oligodendrocytes in the medial prefrontal cortex (mPFC) of APP/PS1 double transgenic mice with Alzheimer's disease (AD). ***Methods*:** Male transgenic mice with AD, aged 10 months, were randomly divided into AD group and AD+running group (AD+RUN group), and in addition, wild-type littermates with the same age were randomly divided into normal group (WT group) and normal+running group (WT+RUN group). The mice in the two running groups were given voluntary running exercise in running cage for 3 months, while those in the AD group and the WT group were not given any treatment. After running exercise, behavioral tests were performed for the mice of all four groups at the same time; the Morris water maze test was used to observe the spatial learning and memory abilities of mice, and Y maze was used to observe the working memory abilities of mice; the novel object recognition test was used to assess

作者介绍：熊　瑶，Email：Xiong1139@outlook.com，研究方向：老年痴呆。
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：82171522）；重庆市教育委员会科学技术研究资助项目（编号：KJQN202200447、KJQN202100458）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.r.20240819.0906.014（2024-08-19）

the cognitive and memory functions of mice; the unbiased stereological method and immunohistochemistry were used for accurate quantification of the total number of mature oligodendrocytes ($CC1^+$) in mPFC, as well as the density of mature oligodendrocytes in limbic cortex and Ⅱ, Ⅲ, V, and Ⅵ layers of mPFC; immunofluorescence assay and a laser scanning confocal microscope were used to observe the density of immature oligodendrocytes ($PDGF\alpha^+/Olig2^+$) and the fluorescence intensity of myelin basic protein (MBP) as a myelin marker. ***Results***: Compared with the AD group, the AD+RUN group and the WT group had significantly better performance in the Morris water maze, the Y maze test, and the novel object recognition test, and the AD group had a significantly lower fluorescence intensity of MBP in mPFC than the WT group ($P<0.05$), while the AD+RUN group had a significantly higher fluorescence intensity of MBP in mPFC than the AD group ($P<0.001$). The AD+RUN group had a significant increase in the total number of $CC1^+$ cells in mPFC compared with the AD group ($P<0.05$). Compared with the AD group, the AD+RUN group had a significant increase in the density of $CC1^+$ cells in Ⅲ and V layers of mPFC ($P<0.05$), and compared with the WT group, the AD group had a significant reduction in the density of $CC1^+$ cells in V and Ⅵ layers of mPFC ($P<0.05$). Compared with the WT group, the AD group had a significantly higher density of $PDGF\alpha^+/Olig2^+$ cells in mPFC, and compared with the AD group, the AD+RUN group had a significantly lower density of $PDGF\alpha^+/Olig2^+$ cells in mPFC ($P<0.05$). ***Conclusion***: Voluntary running exercise can promote oligodendrocyte differentiation and myelination in AD mice, which might be related to the result that exercise can improve the learning and memory abilities of APP/PS1 transgenic AD mice.
【Key words】Alzheimer's disease; voluntary running exercise; medial prefrontal cortex; oligodendrocyte; myelin

阿尔茨海默病（Alzheimer's disease, AD）是老年痴呆最主要的发病类型之一[1-2]，目前全世界发病人数多达5 000万[3]，而其中约三分之一病例发生在中国[4]。自1906年德国精神病学家阿洛伊斯·阿尔茨海默发现AD患者以来，多年来科学家围绕AD发病机制提出了多种学说，目前普遍认为与AD患者脑内存在Aβ沉积和异常的磷酸化Tau蛋白、神经炎症等有关[5-7]。但AD病理变化复杂多变，围绕这些学说所研发的药物还未取得明显治疗效果[8-9]。因此找到AD有效的治疗靶点仍迫在眉睫。深入探究AD的发病机制并以对AD认知功能有改善的非药物干预手段为切入点寻找新靶点，是行之有效的方法。

近年来，跑步运动作为一种非药物干预手段改善AD症状受到广泛关注。本课题组前期研究发现跑步运动对转基因AD小鼠的空间学习记忆能力具有积极的改善作用[10-12]。但由于跑步运动作用广泛，其改善AD认知功能的作用靶点至今仍未完全阐明。

目前，少突胶质细胞（oligodendrocyte, OL）和髓鞘的可塑性在AD发病机制逐渐受到重视[13-15]。研究表明，OL减少和髓鞘异常早于Aβ和Tau的病理改变[16]，OL的可塑性障碍会影响小鼠记忆的巩固[17]。OL是中枢神经系统（central nervous system, CNS）形成髓鞘的特有细胞，其增殖、分化及转化为髓鞘的过程对损伤髓鞘的再生和可塑性具有至关重要的影响[18-19]。2020年，Wang F等[20]发现促进OL分化和髓鞘的形成后，能够恢复小鼠空间记忆能力。研究报道也显示跑步运动则能够有效改善AD小鼠海马内有髓神经纤维及髓鞘的丢失[10,12]。而跑步运动对AD小鼠脑内少突胶质增殖、分化是否有作用目前还未见报道。

内侧前额叶皮质（medial prefrontal cortex, mPFC）作为最高阶认知功能的中心，其神经纤维广泛投射于与认知功能密切相关的脑区（丘脑、杏仁核和海马），也是AD患者大脑病理改变的主要受累区域之一[21-23]。影像学发现在AD的早期阶段，mPFC与其他脑区连接就已经出现异常，其连接改变与认知障碍密切相关[24]。AD患者尸检结果及AD动物模型研究也发现显著的前额叶皮质萎缩，以及明显的执行功能障碍[21-23]。2019年Mathys H等[13]在*Nature*发表的针对44例AD患者前额叶皮质单细胞测序的文章发现，髓鞘形成相关过程在多种细胞类型中反复受到干扰，这表明前额叶皮质内髓鞘形成在AD病理生理学中具有关键作用。单核和单细胞转录组分析显示：与正常大脑相比，AD前额叶皮质中成熟少突胶质细胞减少[24]。那么跑步运动对AD小鼠mPFC区内OL是否有作用，作用是什么，目前仍不清楚。

因此，本研究选取10月龄APP/PS1转基因小鼠，跑步组给予3个月的自主跑步运动干预，行为学结束后运用体视学、免疫组化、免疫荧光等方法综合研究跑步锻炼对AD小鼠mPFC的OL的作用，为寻找干预AD的新手段提供新的靶点和切入点。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 从南京大学模式动物研究所购买AD（B6C3-Tg [$APPswe^+$, $PSEN1dE9^+$]85Dbo/NJU）小鼠，于重庆医科大学动物实验中心自行繁殖，经过鉴定，选取APP和PS1基因均为阳性的雄性小鼠40只，同窝野生型（$APPswe^-$, $PSEN1dE9^-$）小鼠40只。本研究符合作者所在单位实验动物伦理委员会所制定的伦理学标准。

1.1.2 主要试剂和仪器 兔抗髓磷脂碱性蛋白单克隆抗体（rabbit monoclonal [ab218011] to myelin basic protein，MBP），小鼠抗 APC 单克隆抗体（mouse monoclonal [ab109186] to anti-adenomatous polyposis coli clone，CC1），兔抗少突胶质细胞转录因子 2 单克隆抗体（rabbit monoclonal [ab109186] to oligodendrocyte transcription factor 2，Olig2），均来自英国 Abcam 公司，羊抗血小板衍生生长因子抗体（platelet-derived growth factor receptor α[AF1062]，PDGFα）购自美国 R&D systems 公司，DyLight 488 驴抗羊 IgG（HRP Donkey Anti-Goat IgG [A24231]），DyLight 488 驴抗兔 lgG（HRP Goat Anti-Rabbit IgG[A24221]），DyLight 549 羊抗兔 lgG（HRP Goat Anti-Rabbit IgG[A23320]）均购自中国 Abbkine 公司，DAB 显色液、SP-9002 试剂盒、免疫组化专用 PBS（0.01 mol/L）和枸橼酸钠粉来自中国北京中杉金桥生物技术有限公司；TritonX-100，Tween-20 均购于美国 Sigma 公司；十二水合磷酸氢二钠（$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$）、蔗糖、多聚甲醛粉脂购于中国成都市科龙化工试剂厂；二甲苯以及 75% 乙醇购自中国重庆川东化工有限公司化学试剂厂；苏木素染液、抗荧光淬灭剂购自中国武汉博士德生物工程有限公司；0.9% 氯化钠注射液来自中国太极西南药业股份有限公司；戊巴比妥钠由德国进口；ANY-maze Morris 水迷宫分析系统来自美国 Stoelting，ChemiDoc Touch 成像系统来自美国 Bio-rad；金属浴购自中国杭州奥盛仪器有限公司；微量移液器来自德国 Eppendorf 公司；荧光显微器来自日本 Nikon instrument；体视学分析软件购自美国 MBF；超低温冰箱采购于美国 Thermo scientific。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组 将 40 只 APP/PS1 转基因小鼠随机分为 AD 组（AD，n=20）和 AD 跑步组（AD+RUN，n=20），40 只同窝野生型小鼠随机分为正常组（WT，n=20）和正常跑步组（WT+RUN，n=20）。所有小鼠均在重庆医科大学动物实验中心独立通气笼（individually ventilated cage，IVC）系统实验动物房包间饲养。

1.2.2 动物干预措施 AD+RUN 和 WT+RUN 组给予自主跑步运动干预，小鼠单独饲养于带有跑轮的鼠笼内，每周定时记录 1 次跑步路程，淘汰极端值小鼠。AD 和 WT 组老鼠在普通鼠笼单独饲养，不做任何干预。各组小鼠饲养在同一环境 3 个月，期间自由进食饮水。

1.2.3 Morris 水迷宫 Morris 水迷宫用于评估空间学习和记忆能力[25]。剔除体弱和跑步量异常小鼠。在 1 个装有混有白色钛白粉自来水的圆桶（直径 1.5 m，高 0.5 m）中，将桶壁分为 4 个象限，在每个象限随机选取一个黑色图案（★、●、■、✚）贴纸作为标记。第 1 天为可见平台将平台高于水面 0.5~1.0 cm。将小鼠单独放置于平台学习 15 s 后，选取离平台最远的两个象限分别从桶壁放入水中，1 min 之内小鼠若未找到平台则放置平台上学习 15 s 后放入鼠笼。第 2~6 天为隐藏平台期，将平台置于水平面下 0.5~1.0 cm 左右，在这 5 d 中每天随机安排 4 个象限顺序将小鼠放入水中进行实验。自小鼠入水到找到平台并停留 3 s 的时间记录下来作为逃避潜伏期，第 7 天为空间探索实验，撤掉平台，选取离目标平台最远的 2 个象限检测小鼠 1 min 内经过目标平台所在位置次数和目标象限内的游泳时间比。用以评价小鼠的空间学习、记忆能力[25]。

1.2.4 Y 迷宫 Y 迷宫用于评估小鼠工作和参考记忆[26]。Y 迷宫是一种以自发交替的模式测试小鼠工作和参考记忆的行为学手段，在实验开始前 3 d 控制小鼠饮食和体质量。Y 迷宫包括 3 个夹角均为 120° 的长窄臂（30 cm × 10 cm × 15 cm）中，固定一端为起始臂。前 4 d 实验，每天开始前将小鼠背对通道从起始臂尾端放入 Y 迷宫中自由探索 5 min 以适应环境，然后交替在其他两臂尾端放置少量食物并贴上黑色壁纸。记录小鼠从进入起始臂后首次进入正确臂的时间、进入正确臂的次数和进入正确臂花费总时间，循环 5 次。最后一天则移除食物，在目标臂贴上黑色壁纸，进行 2 次自发交替实验。记录小鼠 5 min 内探索正确臂的时间和次数[26]。

1.2.5 新物体识别实验（novel object recognition，NOR） 通过记录小鼠对新旧物体探索时间长短的行为学方法评价动物的认知记忆能力。在竭力排除光、声音、气味影响的前提下，小鼠在适应白色塑料箱 10 min 后，箱内对角线固定两个相同形状颜色的物体 A，物体距离墙壁约 10 cm。小鼠于箱体中间放入箱中，使其熟悉物体 A 10 min。然后用 30%~40% 乙醇擦拭箱壁，消除小鼠粪便和尿液的味道，再放入下 1 只小鼠继续适应环境和物体。1 h 后，将箱内其中 1 个物体 A 换成与其颜色形状完全不同的物体 B，开始正式测试。用摄像头和软件记录小鼠 5 min 内探索行为。记下小鼠对新旧物体探索的时间和次数。并根据公式计算小鼠认知指数（recognition index，RI）：RI=新物体/（新物体+旧物体）×100%。

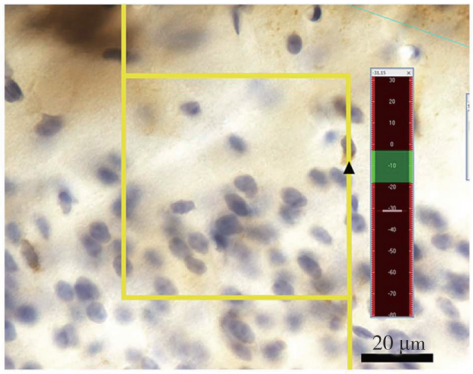
1.2.6 脑组织取材和标本制备 每组随机选取 5 只小鼠，记录每只小鼠的耳标号和体质量，用 1% 现配的戊巴比妥麻醉剂腹腔给药，麻醉后暴露小鼠心脏，依次用生理盐水和 4% 多聚甲醛灌注后，于颅骨中剥离大脑，在 4% 多聚甲醛中浸泡至少 24 h，蔗糖梯度（10%、20%、30%）依次脱水后，随机选取一侧大脑用冰冻切片机以 50 μm 或 30 μm 厚度进行连续切片，然后等距抽样。分别可得 5 组和 8 组组织切片，随后浸泡于 75% 乙醇中，保存在 −20 ℃冰箱以供取用。

1.2.7 免疫组化染色 每只小鼠选取 1 组 50 μm 的脑组织切片。PBS（0.01 mol/L）漂洗（10 min × 3）后用 PBS+T（0.3%Triton+0.1%Tween+PBS 溶液配制而成）漂洗（15 min × 3），随后将脑片在室温避光条件下浸泡于 H_2O_2 20 min 中。PBS+T 漂洗（5 min × 2），其后浸泡在枸橼酸盐溶液中热水浴 30 min 进行组织修复；脑片恢复室温后于 PBS+T 中漂洗（5 min × 2），再用 0.1% 山羊血清和 PBS+T 溶液配置的封闭液封闭切片，于 37 ℃水浴锅中封闭 2 h。然后将切片置于小鼠来源 CC1 单克隆抗体（1∶1 000）4 ℃环境中孵育 72 h，其间随时摇晃切片防止贴壁；随后将切片于 PBS+T 漂洗（10 min × 6），浸于羊抗小鼠 lgG（SP-9002）（1∶10）溶液中，37 ℃水浴 3 h，后于 PBS+T 漂洗（10 min × 6），然后辣根过氧化酶在 37 ℃水浴锅孵育 2 h，PBS 漂洗（10 min × 6），后于 DAB 避光显色 1~2 min。用大量去离子水洗净（5 min × 6）后，再用 PBS 漂洗（10 min × 6），贴片，苏木素核染（2 min），PBS 洗净，饱和 Na_2HPO_4 返蓝 30 s，PBS 洗净，梯度酒精脱水，二甲苯 10 min × 3；中性树脂封片过夜。

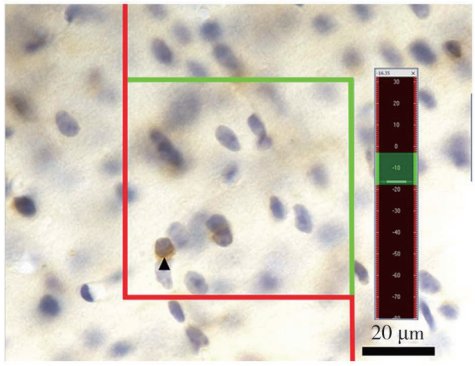
1.2.8 定量成熟少突胶质细胞 在 10 倍物镜下描绘 mPFC 边界，于 100 倍油镜下进行切片厚度测量、抽样，并按照体视学中体视框的禁线法则（图 1）对 $CC1^+$ 细胞进行计数。根据光学分合法公式得到 $CC1^+$ 细胞总数[27]：

$$N=\sum Q^{-}\times\frac{1}{ssf}\times\frac{1}{asf}\times\frac{1}{tsf}\times 2$$

上式中N为目标区域CC1$^+$细胞总数；$\sum Q^-$为体视学计数所得CC1$^+$细胞总数；ssf为组织切片抽样分数1/4；asf为面积抽样分数1/5；tsf为抽样高度（15 μm）与所测得脑片染色实际厚度之比；2代表两侧大脑内侧前额叶皮质阳性细胞总数。



A. 保护区高度内的体视框(框内CC1$^+$细胞不计数)



B. 抽样高度内的体视框(▲所指的CC1$^+$细胞被计数)

注：▲代表CC1$^+$细胞，标尺=20 μm

图1　体视学目标细胞计数原则

1.2.9　mPFC分区和CC1$^+$细胞密度统计　在光学显微镜10倍物镜下描绘mPFC分界，并描绘出mPFC各层的细胞带分层（边缘皮层、Ⅱ层、Ⅲ层、Ⅴ层、Ⅵ层）。然后在100倍镜下每层随机挑选3~5个视野，选取细胞核最清晰的高度进行拍照。分别计算mPFC各层CC1$^+$细胞密度。

1.2.10　免疫荧光染色并计数少突胶质细胞前体细胞（oligodendrocyte precursor cell，OPC）　每只小鼠选取1组30 μm的脑组织切片。将脑片于PBS（0.01 mol/L）漂洗（10 min×3）；然后置于PBS+T溶液中漂洗（15 min×3）；其后将脑片放入枸橼酸盐溶液中加热30 min修复组织；待组织恢复室温后PBS+T漂洗（5 min×2）；用驴血清、牛血清，以及PBS+T溶液（1∶200∶1 000）配置的封闭液封闭切片，使用37 ℃水浴锅封闭2 h。然后浸在羊抗PDGFα单克隆抗体溶液中于4 ℃环境中孵育48 h，其间随时摇晃切片防止贴壁；PBS+T漂洗（10 min×6）；驴抗羊（绿）和PBS+T（1∶200）配置溶液，在37 ℃的水浴锅中孵育2 h，此步骤及以后所有步骤均需避光；羊抗小鼠IgG（SP-9002）和PBS+T（1∶10）配置溶液，在37 ℃的水浴锅中孵育2 h；在Olig2和PBS+T（1∶200）配置的溶液中，置于4 ℃环境中孵育48 h，其间随时摇晃切片防止贴壁；PBS+T漂洗6次（10 min×6）；羊抗兔（红）和PBS+T（1∶200）配置溶液，在37 ℃的水浴锅中孵育2 h；PBS+T漂洗（10 min×6）；含DAPI抗荧光淬灭剂封片，4 ℃冰箱避光保存留待观察。在激光共聚焦显微镜下拍摄mPFC区大图，利用imagej软件画框计数，计算mPFC内PDGFα$^+$/Olig2$^+$细胞和Olig2$^+$细胞密度。

1.2.11　免疫荧光染色和MBP荧光强度　实验步骤同上，其中一抗为兔抗MBP和PBS+T（1∶5 000）配制而成；二抗为羊抗兔（绿）和PBS+T（1∶200）配制而成。在激光共聚焦显微镜下拍摄mPFC区大图，利用imagej软件分析MBP荧光强度值。

1.3　统计学方法

使用Stata17软件进行统计学分析。数据均用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，其中4组小鼠逃避潜伏期组间差异采用重复测量方差分析，其余的数据经过正态性检验且满足方差齐后使用单因素方差分析，满足正态分布但方差不齐用Welch's ANOVA检验分析。不满足正态分布的数据进行Box-Cox转换数据后满足正态分布且满足方差齐则采用单因素方差分析，转换后仍不满足正态分布则采用非参数检验分析。检验水准α=0.05。

2　结　果

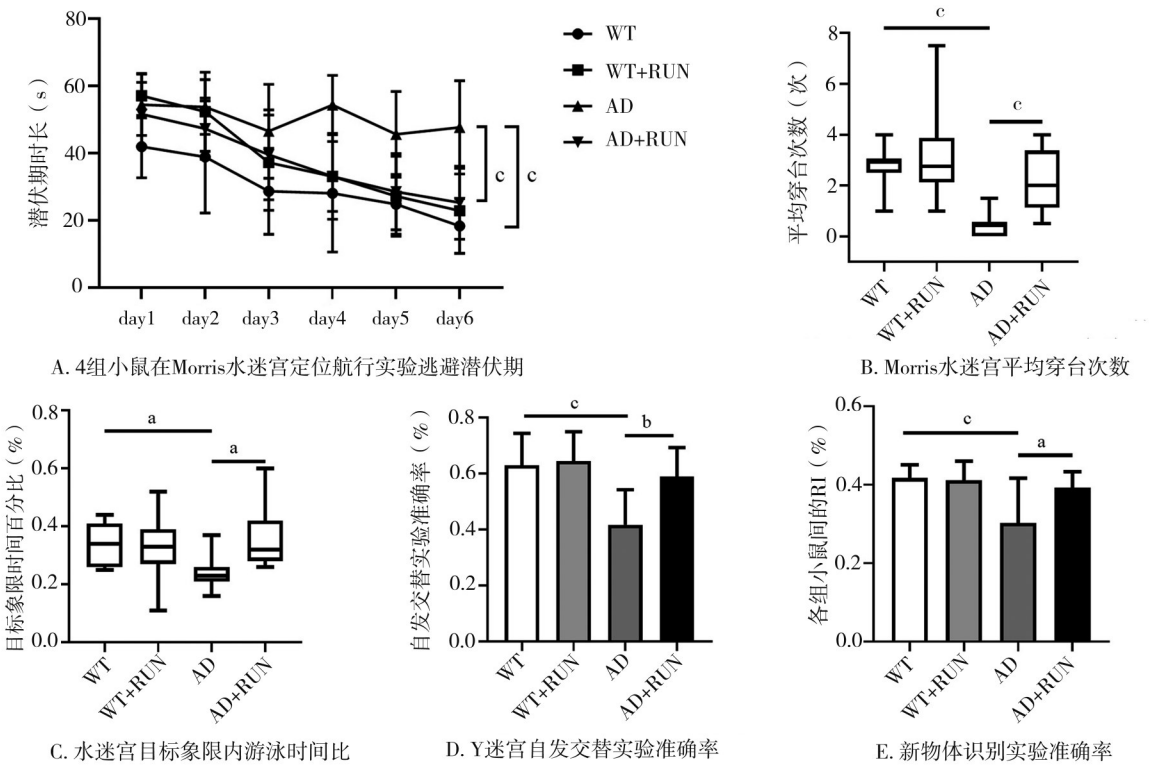
2.1　自主跑步运动显著改善AD小鼠的认知功能

2.1.1　Morris水迷宫结果　AD组（50.565±12.162）小鼠水迷宫逃避潜伏期显著长于WT组（32.625±16.324）（F=20.800，P=0.000；图2A），为期3个月的自主跑步运动之后，AD+RUN组（38.735±13.906）小鼠水迷宫逃避潜伏期相较于AD组明显缩短（P=0.000；图2A）。AD组（0.455±0.472）的平均穿台次数相较于WT组（2.773±0.754）明显减少，而AD+RUN组穿台次数（2.364±1.164）相较于AD组显著增多（F=13.910，P=0.000；图2B）。AD组小鼠（0.239±0.052）在水迷宫探索目标象限游泳时间比显著低于WT组（0.346±0.072），AD+RUN组（0.351±0.102）的目标象限游泳时间比显著高于AD组（F=4.080，P=0.023；图2C）。水迷宫结果显示经过3个月的自主跑步运动之后，APP/PS1模型小鼠的空间学习和记忆能力得到了显著的改善。

2.1.2　Y迷宫实验结果　WT组（0.630±0.114）自发交替实验准确率明显大于AD组（0.417±0.125）（F=9.590，P=0.000；图2D），AD组小鼠自发交替实验进入正确臂的准确率相较于AD+RUN组（0.590±0.103）明显减小（P=0.005，图2D）。Y迷宫结果显示经过3个月的自主跑步运动之后，APP/PS1模型小鼠的工作记忆和学习能力得到了显著的改善。

2.1.3　NOR结果　WT组M（0.42）RI相较于AD组Md（0.34）显著增高（χ^2=13.925，P=0.000；图2E）；AD组小鼠的RI指数相较于AD+RUN组M_d（0.38）明显降低（P=0.014，图2E）。NOR结果显示经过3个月的自主跑步运动之后，APP/PS1模型小鼠的认知记忆能力得到了改善。

行为学结果表明为期3个月自主跑步运动有助于改善APP/PS1小鼠的认知功能。



A. 4组小鼠在Morris水迷宫定位航行实验逃避潜伏期　B. Morris水迷宫平均穿台次数

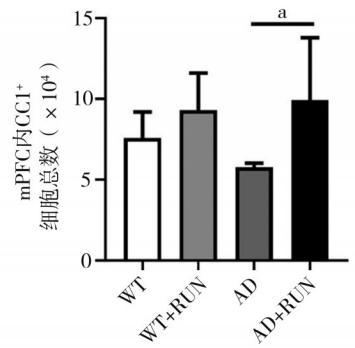
C. 水迷宫目标象限内游泳时间比　D. Y迷宫自发交替实验准确率　E. 新物体识别实验准确率

注：a，P<0.05；b，P<0.01；c，P<0.001；A~D；$\bar{x} \pm s$，n=11；E，Kruskal-Wallis H 检验，n=11

图2　长期自主跑步锻炼改善APP/PS1小鼠认知功能

2.2　自主跑步运动增加AD小鼠mPFC内CC1$^+$细胞总数，主要增加mPFC内第Ⅲ、Ⅴ层CC1$^+$细胞密度

2.2.1　CC1$^+$细胞体视学结果　对4组小鼠mPFC采用体视学方法定量确定统计CC1$^+$细胞总数后发现：与AD组（0.851 ± 1.032×10^{-7}）相比，AD+RUN组（0.851 ± 4.013×10^{-7}）CC1$^+$细胞总数明显增加（F=5.390，P=0.025；图3）；但与WT组（0.851 ± 4.601×10^{-7}）相比，AD组CC1$^+$细胞总数差异无统计学意义（P=0.341，图3）。



注：a，与AD组比较，P<0.05

图3　mPFC内CC1$^+$细胞总数（$\bar{x} \pm s$，n=4）

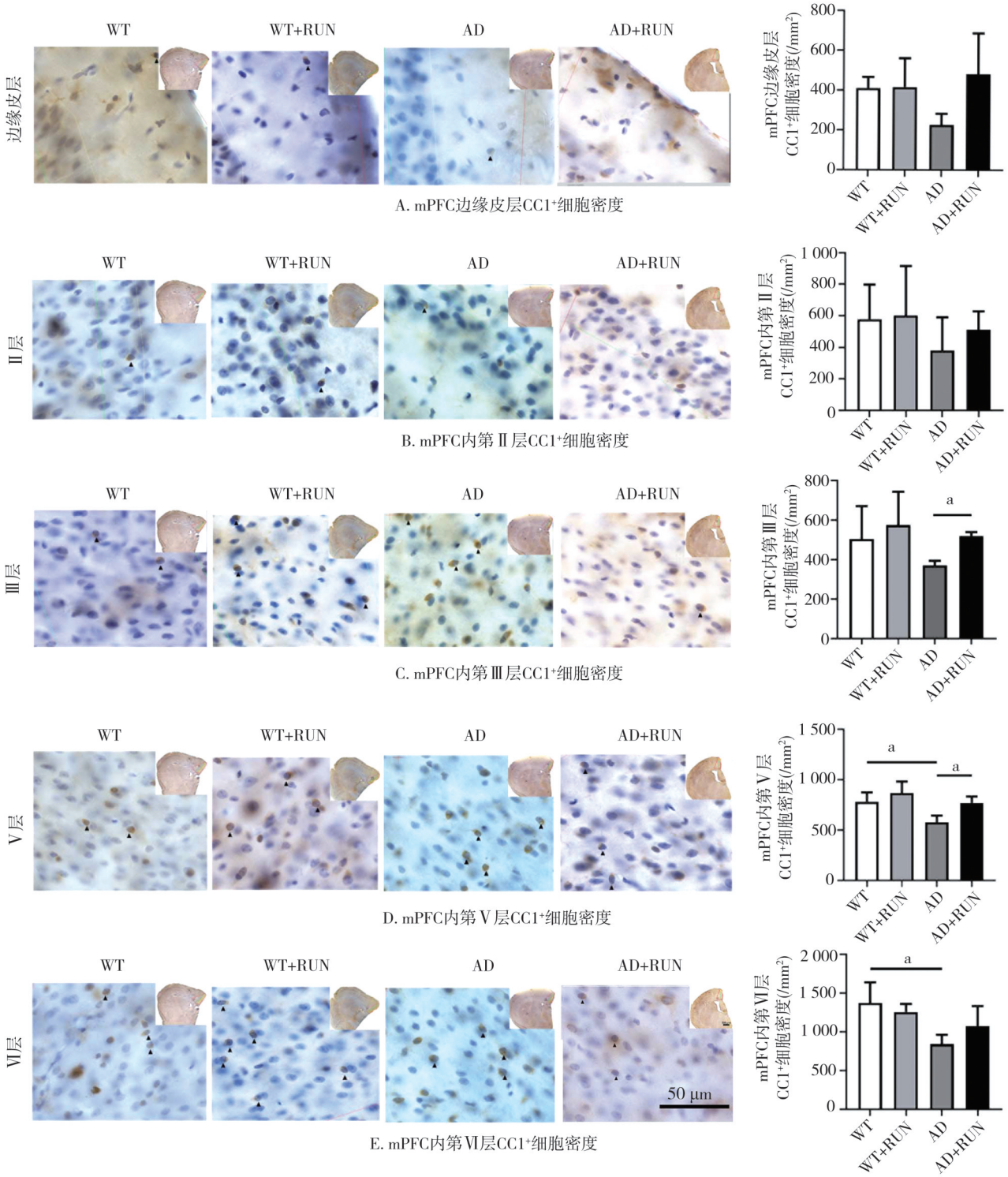
2.2.2　mPFC各层CC1$^+$细胞密度结果　4组小鼠mPFC分层后，mPFC边缘皮层和第Ⅱ层内CC1$^+$细胞密度分析，AD组（22.652 ± 5.648，22.651 ± 5.648）与WT组（34.323 ± 6.499，34.323 ± 6.499）相比，mPFC边缘皮层和第Ⅱ层内CC1$^+$细胞密度无明显差异（F=1.253，P=0.400；F=0.363，P=0.500；图4A、B），AD组与AD+RUN组（48.078 ± 20.698，48.078 ± 20.698）相比，mPFC边缘皮层和第Ⅱ层内CC1$^+$细胞密度差异无统计学意义（P=0.089、P=0.461，图4A、B）。

mPFC第Ⅲ层内CC1$^+$细胞密度分析结果：AD组（37.069 ± 2.375）与WT组（41.512 ± 1.035）之间CC1$^+$细胞密度差异无统计学意义（F=4.562，P=0.365；图4C），AD+RUN组（52.066 ± 1.876）CC1$^+$细胞密度相较于AD组明显增高（P=0.012，图4C）。

mPFC第Ⅴ层内CC1$^+$细胞密度分析，AD组（57.765 ± 6.648）CC1$^+$细胞密度与WT组（77.336 ± 9.189）相比明显降低（F=3.689，P=0.028；图4D），AD组CC1$^+$细胞平均密度相较于AD+RUN组（76.902 ± 6.402）明显降低（P=0.030，图4D）。

对mPFC第Ⅵ层内CC1$^+$细胞密度分析，AD组（84.248 ± 11.987）CC1$^+$细胞密度与WT组（115.610 ± 1.852）相比明显降低（F=2.379，P=0.041；图4E），AD组CC1$^+$细胞密度相较于AD+RUN组（107.118 ± 26.067）差异无统计学意义（P=0.114，图4E）。

以上结果提示与WT组相比，AD组小鼠mPFC内总的成熟少突胶质细胞数量没有改变。而自主跑步运动可显著增加APP/PS1小鼠mPFC内成熟少突胶质细胞数量。对mPFC分层进行CC1$^+$细胞密度统计后，本课题组发现与WT组相比，AD组小鼠mPFC内Ⅴ、Ⅵ层成熟少突胶质细胞密度明显降低，而3个月的自主跑步运动可以明显增加APP/PS1小鼠mPFC内第Ⅲ层和第Ⅴ层成熟少突胶质细胞密度。



注：免疫组化示意图，▲代表CC1+细胞，标尺=50 μm；右上选区示意图，标尺=500 μm；a，$P<0.05$

图4　各组小鼠mPFC分层示意图及各层CC1+细胞密度分析（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

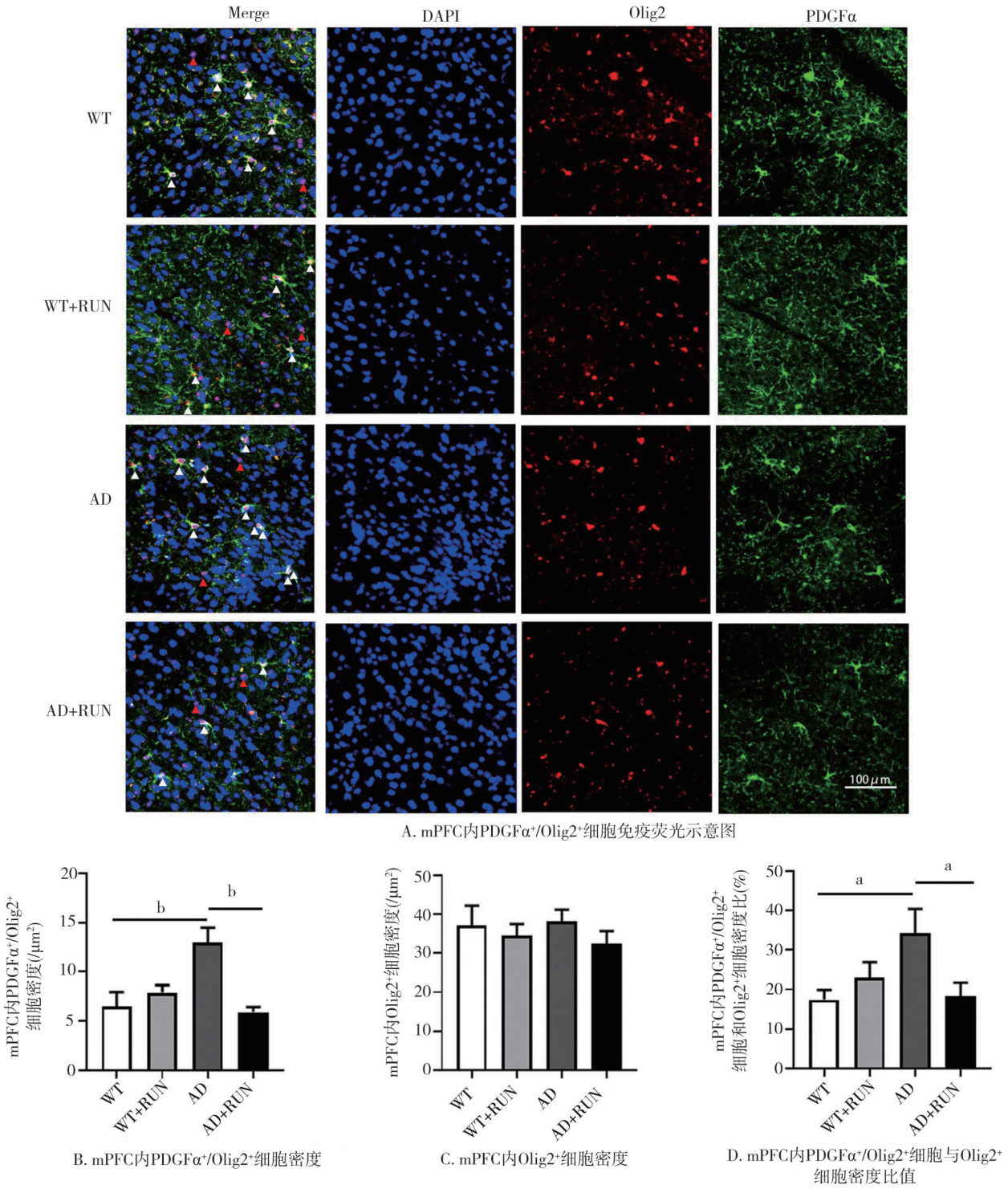
2.3　自主跑步运动对mPFC内PDGFα+和Olig2+细胞密度的影响

对4组小鼠mPFC脑区PDGFα和Olig2的免疫荧光染色（图5A）并计算mPFC内PDGFα+/Olig2+细胞和Olig2+细胞密度，本研究发现：AD组（12.968 ± 1.501）相较于WT组（6.477 ± 1.453）mPFC内PDGFα+/Olig2+细胞密度明显上升（$F=15.800$，$P=0.005$；图5B），AD组mPFC内PDGFα+/Olig2+细胞密度相较于AD+RUN组（5.886 ± 0.537）明显升高（$P=0.003$，图5B）。AD组（38.250 ± 2.969）小鼠对比WT组（37.149 ± 5.060）和AD+RUN组（32.476 ± 3.248）小鼠mPFC中Olig2+细胞密度均无明显差异（$F=1.940$，$P=1.000$，$P=0.547$；图5C）。AD组（0.342 ± 0.062）小鼠mPFC内PDGFα+/Olig2+细胞与Olig2+细

胞密度比值明显高于WT组（0.174 ± 0.025）（F=8.030，P=0.023；图5D）和AD+RUN组（0.184 ± 0.034）（P=0.032，图5D）。

2.4 自主跑步运动明显增加mPFC内MBP荧光强度

对4组小鼠mPFC进行MBP免疫荧光染色（图6A），结合Image J软件定量分析结果显示：AD组（15.010 ± 3.795）相较于WT组（36.100 ± 11.618），mPFC内MBP荧光强度值明显降低（F=6.860，P=0.015；图6B），并且AD组mPFC内MBP荧光强度值明显低于AD+RUN组（31.611 ± 9.412）（P=0.042，图6B）。以上结果表明：AD组小鼠与WT组相比较，mPFC内MBP表达量呈明显降低，表明AD小鼠mPFC区存在髓鞘的丢失，而自主跑步运动可明显延缓AD小鼠大脑mPFC区髓鞘的丢失。



A. mPFC内PDGFα⁺/Olig2⁺细胞免疫荧光示意图

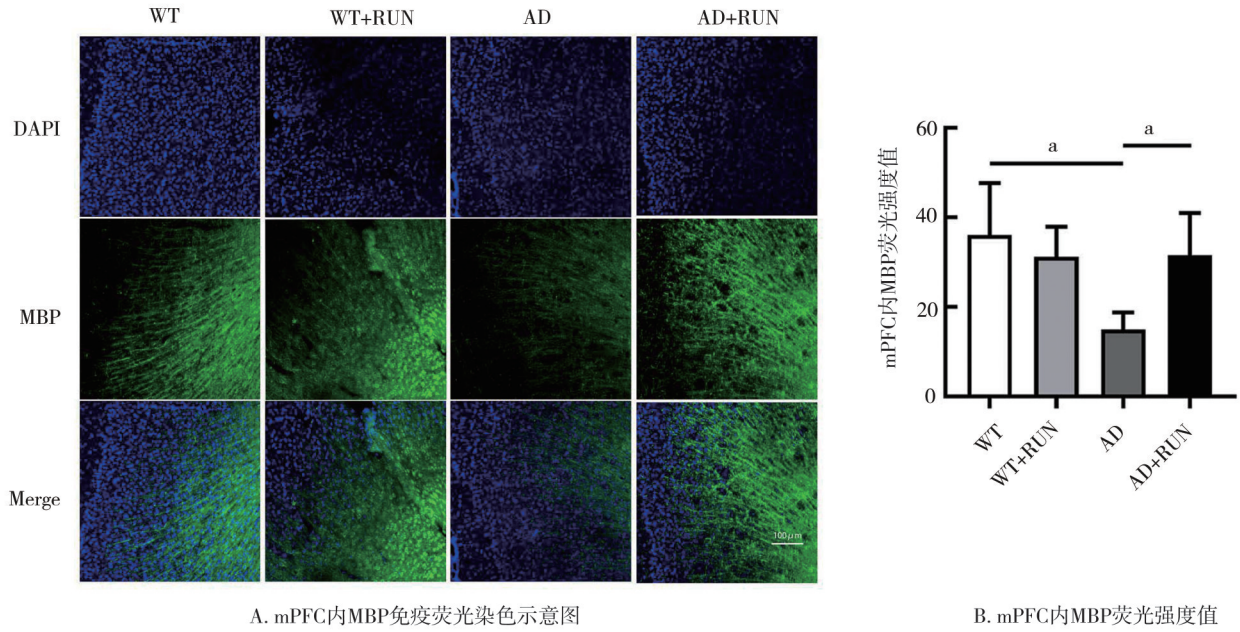
B. mPFC内PDGFα⁺/Olig2⁺细胞密度

C. mPFC内Olig2⁺细胞密度

D. mPFC内PDGFα⁺/Olig2⁺细胞与Olig2⁺细胞密度比值

注：DAPI（蓝色），Olig2（红色），PDGFα（绿色）；▲代表Olig2⁺细胞，△代表PDGFα⁺/Olig2⁺细胞；标尺=100 μm；a，P<0.05，b，P<0.01

图5 mPFC内PDGFα⁺/Olig2⁺细胞免疫荧光示意图及PDGFα⁺/Olig2⁺细胞密度分析（$\bar{x} \pm s$，n=3）



A. mPFC内MBP免疫荧光染色示意图　　B. mPFC内MBP荧光强度值

注：DAPI（蓝色），MBP（绿色），标尺=100 μm，a，$P<0.05$

图6　各组小鼠mPFC内MBP免疫荧光示意图和荧光强度分析（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

3　讨　论

AD作为一种随着年龄增加而患病风险直线上升的神经退行性疾病，其发病率呈现逐年上升趋势。据世界卫生组织统计，世界上平均每3 s就会有1人被诊断为痴呆症[1,3]。研究显示目前痴呆症已经超过肿瘤，成为全球第5大死因[1,3,5]，因此作为痴呆症的主要类型的AD，不仅能带走人们的记忆，还是一位致命“杀手”。然而世界卫生组织在《降低认知衰退和痴呆症风险指南》也指出保持身体活动与大脑健康有关，通过运动、步行、骑车、做家务等方式可以降低认知衰退风险。跑步运动多为一种简便易行的运动方式。研究证实了通过跑步锻炼对AD患者和AD模型小鼠的认知功能均具有改善作用[10-12]，因此提出跑步锻炼是改善AD认知功能障碍的一种有效治疗或者预防手段。而在目前研究中，跑步锻炼模式上主要是被动跑台运动和自主转轮跑步运动[27-28]。而有研究认为自主转轮跑步运动因为需要受实验方式影响，小鼠必须在带有转轮的笼子里单独饲养，这种独居的饲养模式会给动物造成压力和焦虑感，从而影响跑步运动对大脑的保护作用[29-31]。但是也有研究发现被动跑台运动是利用跑步机对小鼠人为地进行强迫跑步运动，其间部分可能还会伴随电击，也会给动物造成压力，从而影响实验结果的准确性[31]。然而在自然界的野生小鼠中有研究观察到其会使用跑轮自发奔跑[32]。由此有研究认为小鼠自主转轮跑步锻炼方式较被动跑台锻炼更接近于自然跑步模式[33]。鉴于此，本研究采用了自主转轮跑步运动对10月龄的APP/PS1小鼠进行了为期3个月的跑步干预，在Morris水迷宫实验中本研究发现自主跑步运动确实改善了AD小鼠的学习和记忆能力，甚至在检测工作记忆的Y迷宫中，自主跑步运动对AD小鼠也有很明显的改善作用。因此，本研究进一步表明长期的自主跑步运动确实对AD小鼠认知功能具有积极的改善作用。

目前尚不清楚自主跑步运动对AD小鼠认知功能的改善作用的机制是什么。多项研究表明学习和记忆的形成需要髓鞘的形成[14,20,34-35]。Wang F等[20]还发现在针对老年小鼠认知能力下降的研究中，脱髓鞘和髓鞘的更新减少与空间学习和记忆密切相关，使用氯马斯汀治疗促进小鼠髓鞘的形成可以改善衰老小鼠的记忆功能。而AD患者和AD动物模型小鼠脑内均存在广泛的髓鞘丢失[36]，由于脱髓鞘也会破坏神经元传导，甚至导致功能性大脑区域的破坏和随之而来的神经元的变性丢失[37]。因此AD大脑内的髓鞘丢失在AD认知功能的改变中具有重要作用。mPFC作为调控认知功能、注意力、情绪等功能的高级脑区，在记忆的巩固和检索中具有重要作用[38]。mPFC脑区内的神经纤维广泛投射于与认知功能密切的脑区（丘脑、杏仁核和海马），因此其信息传输障碍或者链接中断也会导致认知功

能下降[23,38]。那么AD小鼠mPFC中髓鞘是否发生了改变还鲜少有研究。在本研究中，本课题组利用MBP对髓鞘进行免疫荧光染色，观察mPFC内髓鞘的变化。结果发现在出现认知功能改变的APP/PS1小鼠的mPFC脑区内MBP表达量显著降低。这与Wang Z等[39]之前发现的研究相似。而先前的研究表明促进AD模型小鼠海马和皮层内髓鞘形成能够改善AD模型小鼠的认知功能[36]。Chao FL等[40]和Zhang L等[41]利用体视学对APP/PS1小鼠的海马和白质区域的有髓神经纤维进行定量分析，发现4个月的跑步运动干预延缓了AD认知功能下降，并增强了AD模型小鼠海马和白质内有髓神经纤维的体积。然而目前尚没有证据表明跑步运动对AD模型小鼠mPFC区域内髓鞘的影响。本研究发现3个月的自主跑步运动显著增强AD小鼠mPFC中髓鞘相关蛋白MBP免疫荧光的强度，这提示跑步运动可能促进AD小鼠mPFC内髓鞘的形成。因此，本课题组推测跑步运动对mPFC髓鞘形成的有益作用可能是其延缓AD小鼠认知功能衰退的重要基础之一。

那么是什么原因导致APP/PS1小鼠mPFC髓鞘受损，而跑步运动改善其髓鞘形成的原因是什么呢？成熟少突胶质细胞是CNS的髓鞘形成细胞，对损伤髓鞘的可塑性和修复具有重要意义[42]。研究表明OL特别容易受到Aβ的影响从而死亡[43]。本研究通过免疫组化（$CC1^+$）和体视学相结合的方式定量了成熟少突胶质细胞的总数量，本研究发现AD组对比WT组小鼠，mPFC区域成熟少突胶质细胞总数没有改变。本研究的结果与Lau SF等[24]的结果不同。根据AD患者前额叶皮质区域的单核转录组数据，发现了该区域内成熟少突胶质细胞的减少。而前额叶皮质包括mPFC、眶额皮层（orbitofrontal cortex，OFC）、背外侧前额叶皮层（dorsolateral prefrontal cortex，dlPFC）、腹外侧前额叶皮质（ventrolateral prefrontal cortex，vlPFC）以及腹侧前额叶皮层（ventral medial prefrontal cortex，vmPFC）5个亚区，每个亚区分别行使不同的功能[44-45]，因此整体的区域水平从某种层面来说并不能反映各部分变化的不同。虽然Wu YL等[46]对APP/PS1海马内成熟少突胶质细胞数量定量分析显示其数量显著减少，但是所用动物月龄不一致，区域不一样，或许导致实验结果也不一致。在随后的实验中，本课题组对mPFC区域进行分层测量，发现该区域内AD组第Ⅴ、Ⅵ层成熟少突胶质细胞密度显著低于WT组。这提示mPFC成熟少突胶质细胞的丢失可能主要集中在mPFC的第Ⅴ、Ⅵ层细胞带。由于前额叶皮质区域每一层的神经元组成类型不同，功能也可能是不同[47]。有研究发现前额叶皮质的认知功能与其边缘下区（infralimbic prefrontal cortex，IL）第Ⅲ层椎体神经元和杏仁核的耦合密不可分[48-49]，此外，前额叶皮质区域也会接受一些其他核团的投射。海马区域投射范围限制较大，而mPFC作为接受其投射的重要脑区之一，来自海马的纤维投射也主要终止于Ⅲ层，从而影响记忆的加工处理[50]。前额叶皮层第Ⅵ层是丘脑密集反馈投射的起源，Ⅵ层表达烟碱受体的神经元在注意力方面起着至关重要的作用从而影响执行功能的改变[51]。总之，mPFC内不同层次的区域对认知的影响并不相同。因此，推测在不同的疾病模型中，mPFC每一层OL的改变是不一致的。例如针对精神分裂症患者的尸检研究表明，前额叶皮质第Ⅴ层OL密度相较于其他皮层明显降低[52]。而文献也指出大脑中的OL对运动高度敏感，4周自主转轮运动会促进青年人前额叶皮质内OL的生成[53]。Lou YM等[54]发现跑步运动可以显著增加慢性不可预测应激大鼠模型中mPFC内OL的数量。在本研究中，发现3个月的跑步运动增加了APP/PS1小鼠mPFC内总的成熟少突胶质细胞数量，尤其是显著增加该模型mPFC区域第Ⅲ层和第Ⅴ层成熟少突胶质细胞数量。因此，推测自主跑步运动可增加APP/PS1小鼠mPFC中成熟少突胶质细胞的数量，并且这种改变具有区域异质性，主要体现在自主跑步运动作用于mPFC区域第Ⅲ层和第Ⅴ层的OL。

此外，OPC作为CNS成熟少突胶质细胞的前体细胞，在整个生物的生命过程中持续增殖并分化成熟少突胶质细胞[55]，从而促进髓鞘的形成[55-56]。研究表明AD患者大脑内的髓鞘碎片，可以通过刺激OPCs的增殖、促进OPCs向成熟少突胶质细胞分化，从而进行髓鞘的再生及修复[57-59]。本研究使用免疫荧光双标发现，与WT组相比，AD组小鼠mPFC内$PDGF\alpha^+/Olig2^+$细胞密度、$PDGF\alpha^+/Olig2^+$细胞和$Olig2^+$细胞密度的比值显著增加。这表明AD小鼠mPFC内的OPCs或许存在增殖。本研究的结果与Behrendt G等[57]和Ferreira S等[58]的结果相似，有研究发现APP/PS1小鼠海马内中存在OPCs的增殖[59-63]。成人脑内OPCs数量通常情况下会保持一定的稳态，当出现髓鞘损伤则会刺激OPCs进一步增殖、分化，从而修复髓鞘。因此本研究推测AD小鼠mPFC脑区内同样存在普遍的OPCs增殖现象。与此同时，本研究先前的结果表明虽然OPC增多，但是AD组小鼠mPFC髓鞘并没有得到修复，结合OPC到髓鞘的再生过程时间并不长[60-61]，因此本研究推测AD

小鼠从 OPC 到成熟的少突胶质细胞的分化出现了障碍。本研究同样也发现经过 3 个月的自主跑步运动，AD+RUN 组小鼠 mPFC 内在少突胶质细胞系细胞总数没改变的情况下，OPCs 密度显著降低，而成熟少突胶质细胞显著增加。因此本研究推测自主跑步运动有可能会促进 AD 小鼠 mPFC 内 OPCs 向成熟少突胶质细胞的分化。

综上所述，本研究结果表明，为期 3 个月的自主跑步运动可能通过促进 AD 小鼠 mPFC 内 OPCs 向成熟少突胶质细胞分化，进一步促进该区域内髓鞘的形成，从而改善 APP/PS1 转基因小鼠的认知功能。本课题组目前的研究结果，为 AD 病理进程中 mPFC 的 OL 和髓鞘的病理变化提供了进一步证据，为跑步运动改善 AD 认知功能提供了结构基础，有望为将来开发 AD 新的治疗方法提供新靶点和新思路。

参 考 文 献

[1] Association A. 2012 Alzheimer's disease facts and figures[J]. Alzheimers Dement, 2012, 8(2): 131-168.

[2] Silva MVF, Loures CMG, Alves LCV, et al. Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures[J]. J Biomed Sci, 2019, 26(1): 33.

[3] Serge G, Claire W, Stijn S, et al. World Alzheimer Report 2022: Life after diagnosis: Navigating treatment, care and support[M]. London, England: Alzheimer's Disease International, 2022.

[4] Ren RJ, Qi JL, Lin SH, et al. The China alzheimer report 2022[J]. Gen Psychiatr, 2022, 35(1): e100751.

[5] Thies W, Bleiler L. 2021 Alzheimer's disease facts and figures[J]. Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association, 2021, 17(3): 327-406.

[6] Tiwari S, Atluri V, Kaushik A, et al. Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics[J]. Int J Nanomedicine, 2019, 14: 5541-5554.

[7] Calsolaro V, Edison P. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: current evidence and futuredirections[J]. Alzheimers Dement, 2016, 12(6): 719-732.

[8] van Dyck CH, Swanson CJ, Aisen P, et al. Lecanemab in early Alzheimer's disease[J]. N Engl J Med, 2023, 388(1): 9-21.

[9] Dhillon S. Aducanumab: first approval[J]. Drugs, 2021, 81(12): 1437-1443.

[10] Zhang L, Tang W, Chao FL, et al. Four-month treadmill exercise prevents the decline in spatial learning and memory abilities and the loss of spinophilin-immunoreactive puncta in the hippocampus of APP/PS1 transgenic mice[J]. Neurobiol Dis, 2020, 136: 104723.

[11] Zhu L, Fan JH, Chao FL, et al. Running exercise protects spinophilin-immunoreactive puncta and neurons in the medial prefrontal cortex of APP/PS1 transgenic mice[J]. J Comp Neurol, 2022, 530(6): 858-870.

[12] 朱颖琼. 老年 APP/PS1 转基因小鼠牙周带髓神经纤维和少突胶质细胞变化的体视学研究以及跑步运动对其的影响[D]. 重庆：重庆医科大学，2016.
Zhu YQ. Stereological study of the changes of the myelinated nerve fibers and the oligodendrocytes in the dentate gyrus of the Aged APP/PS1 transgenetic mice and the effects of running exercise on them[D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2016.

[13] Mathys H, Davila-Velderrain J, Peng ZY, et al. Single-cell transcriptomic analysis of Alzheimer's disease[J]. Nature, 2019, 570(7761): 332-337.

[14] Blanchard JW, Akay LA, Davila-Velderrain J, et al. APOE4 impairs myelination via cholesterol dysregulation in oligodendrocytes[J]. Nature, 2022, 611(7937): 769-779.

[15] Chen WT, Lu A, Craessaerts K, et al. Spatial transcriptomics and in situ sequencing to study Alzheimer's disease[J]. Cell, 2020, 182(4): 976-991.

[16] 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.

[17] Steadman PE, Xia F, Ahmed M, et al. Disruption of oligodendrogenesis impairs memory consolidation in adult mice[J]. Neuron, 2020, 105(1): 150-164.

[18] Monje M. Myelin plasticity and nervous system function[J]. Annu Rev Neurosci, 2018, 41: 61-76.

[19] Stadelmann C, Timmler S, Barrantes-Freer A, et al. Myelin in the central nervous system: structure, function, and pathology[J]. Physiol Rev, 2019, 99(3): 1381-1431.

[20] Wang F, Ren SY, Chen JF, et al. Myelin degeneration and diminished myelin renewal contribute to age-related deficits in memory[J]. Nat Neurosci, 2020, 23(4): 481-486.

[21] Igarashi M, Ma KZ, Gao F, et al. Disturbed choline plasmalogen and phospholipid fatty acid concentrations in Alzheimer's disease prefrontal cortex[J]. J Alzheimers Dis, 2011, 24(3): 507-517.

[22] Woodward MC, Rowe CC, Jones G, et al. Differentiating the frontal presentation of Alzheimer's disease with FDG-PET[J]. J Alzheimers Dis, 2015, 44(1): 233-242.

[23] Jobson DD, Hase Y, Clarkson AN, et al. The role of the medial prefrontal cortex in cognition, ageing and dementia[J]. Brain Commun, 2021, 3(3): fcab125.

[24] Lau SF, Cao H, Fu AKY, et al. Single-nucleus transcriptome analysis reveals dysregulation of angiogenic endothelial cells and neuroprotective glia in Alzheimer's disease[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020, 117(41): 25800-25809.

[25] Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory[J]. Nat Protoc, 2006, 1(2): 848-858.

[26] Kraeuter AK, Guest PC, Sarnyai Z. et al. The Y-maze for assessment of spatial working and reference memory in mice[J]. Methods Mol Biol, 2019, 1916: 105-111.

[27] De Miguel Z, Khoury N, Betley MJ. et al. Exercise plasma boosts memory and dampens brain inflammation via clusterin[J]. Nature, 2021, 600(7889): 494-499.

[28] Feng S, Wu, CY, Zou P, et al. High-intensity interval training ameliorates Alzheimer's disease-like pathology by regulating astrocyte phenotype-associated AQP4 polarization[J]. Theranostics, 2023, 13(10): 3434-3450.

[29] Svensson M, Andersson E, Manouchehrian O, et al. Voluntary running does not reduce neuroinflammation or improve non-cognitive behavior in the 5xFAD mouse model of Alzheimer's disease[J]. Scientific reports, 2020, 10(1): 1346.

[30] Wierczeiko A, Gammel L, Radyushkin K. et al. Voluntary wheel running did not alter gene expression in 5xfad mice, but in wild-type animals exclusively after one-day of physical activity[J]. Cells, 2021, 10(3): 693.

[31] Guo SS, Huang YR, Zhang Y, et al. Impacts of exercise interventions on different diseases and organ functions in mice[J]. J Sport Health Sci, 2020, 9(1): 53-73.

[32] Meijer JH, Robbers Y. Wheel running in the wild[J]. Proc Biol Sci, 2014, 281(1786): 20140210.

[33] De Bono JP, Adlam D, Paterson DJ, et al. Novel quantitative phenotypes of exercise training in mouse models[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2006, 290(4): 926-934.

[34] Pan S, Mayoral SR, Choi HS, et al. Preservation of a remote fear memory requires new myelin formation[J]. Nat Neurosci, 2020, 23(4): 487-499.

[35] Bonetto G, Belin D, Káradóttir RT. Myelin: a gatekeeper of activity-dependent circuit plasticity? [J]. Science, 2021, 374(6569): eaba6905.

[36] Chen JF, Liu K, Hu B, et al. Enhancing myelin renewal reverses cognitive dysfunction in a murine model of Alzheimer's disease[J]. Neuron, 2021, 109(14): 2292-2307.

[37] Lee Y, Morrison BM, Li Y, et al. Oligodendroglia metabolically support axons and contribute to neurodegeneration[J]. Nature, 2012, 487: 443-448.

[38] Euston DR, Gruber AJ, McNaughton BL. The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making[J]. Neuron, 2012, 76(6): 1057-1070.

[39] Wang Z, Zhang YL, Feng WX, et al. Miconazole promotes cooperative ability of a mouse model of alzheimer disease[J]. Int J Neuropsychopharmacol, 2022, 25(11): 951-967.

[40] Chao FL, Zhang L, Zhang Y, et al. Running exercise protects against myelin breakdown in the absence of neurogenesis in the hippocampus of AD mice[J]. Brain Res, 2018, 1684: 50-59.

[41] Zhang L, Chao FL, Luo YM, et al. Exercise prevents cognitive function decline and demyelination in the white matter of APP/PS1 transgenic AD mice[J]. Curr Alzheimer Res, 2017, 14(6): 645-655.

[42] Duncan ID, Radcliff AB, Heidari M, et al. The adult oligodendrocyte can participate in remyelination[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2018, 115(50): 11807-11816.

[43] 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.

[44] Gao L, Liu S, Gou LF, et al. Single-neuron projectome of mouse prefrontal cortex[J]. Nat Neurosci, 2022, 25(4): 515-529.

[45] Dixon ML, Thiruchselvam R, Todd R, et al. Emotion and the prefrontal cortex: an integrative review[J]. Psychol Bull, 2017, 143(10): 1033-1081.

[46] Wu YL, Zhang Y, Chao FL, et al. The changes of oligodendrocytes in the hippocampus of APP/PS1 transgenic mice: a stereological study[J]. Chin J Neuroanat, 2020, 36(1): 1-8.

[47] Song CH, Jr Moyer JR. Layer- and subregion-specific differences in the neurophysiological properties of rat medial prefrontal cortex pyramidal neurons[J]. J Neurophysiol, 2018, 119(1): 177-191.

[48] Murray EA, Fellows LK. Prefrontal cortex interactions with the amygdala in primates[J]. Neuropsychopharmacology, 2022, 47(1): 163-179.

[49] Manoocheri K, Carter AG. Rostral and caudal basolateral amygdala engage distinct circuits in the prelimbic and infralimbic prefrontal cortex[J]. Elife, 2022, 11: e82688.

[50] Aggleton JP, Wright NF, Rosene DL, et al. Complementary patterns of direct amygdala and hippocampal projections to the macaque prefrontal cortex[J]. Cereb Cortex, 2015, 25(11): 4351-4373.

[51] Proulx E, Piva M, Tian MK, et al. Nicotinic acetylcholine receptors in attention circuitry: the role of layer Ⅵ neurons of prefrontal cortex [J]. Cell Mol Life Sci, 2014, 71(7): 1225-1244.

[52] Kolomeets NS, Uranova NA. Reduced number of satellite oligodendrocytes of pyramidal neurons in layer 5 of the prefrontal cortex in schizophrenia[J]. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci, 2022, 272(6): 947-955.

[53] Tomlinson L, Huang PH, Colognato H. Prefrontal cortex NG2 glia undergo a developmental switch in their responsiveness to exercise[J]. Dev Neurobiol, 2018, 78(7): 687-700.

[54] Luo YM, Xiao Q, Wang J, et al. Running exercise protects oligodendrocytes in the medial prefrontal cortex in chronic unpredictable stress rat model[J]. Transl Psychiatry, 2019, 9(1): 322.

[55] Trotter J, Karram K, Nishiyama A. NG2 cells: properties, progeny and origin[J]. Brain Res Rev, 2010, 63(1/2): 72-82.

[56] Hill RA, Li AM, Grutzendler J. Lifelong cortical myelin plasticity and age-related degeneration in the live mammalian brain[J]. Nat Neurosci, 2018, 21(5): 683-695.

[57] Behrendt G, Baer K, Buffo A, et al. Dynamic changes in myelin aberrations and oligodendrocyte generation in chronic amyloidosis in mice and men[J]. Glia, 2013, 61(2): 273-286.

[58] Ferreira S, Pitman KA, Wang SW, et al. Amyloidosis is associated with thicker myelin and increased oligodendrogenesis in the adult mouse brain[J]. J Neurosci Res, 2020, 98(10): 1905-1932.

[59] Hughes EG, Kang SH, Fukaya M, et al. Oligodendrocyte progenitors balance growth with self-repulsion to achieve homeostasis in the adult brain[J]. Nat Neurosci, 2013, 16(6): 668-676.

[60] Ettle B, Reiprich S, Deusser J, et al. Intracellular alpha-synuclein affects early maturation of primary oligodendrocyte progenitor cells[J]. Mol Cell Neurosci, 2014, 62: 68-78.

[61] Kuhn S, Gritti L, Crooks D, et al. Oligodendrocytes in development, myelin generation and beyond[J]. Cells, 2019, 8(11): 1424.

[62] Xu JH, Zhang LY, Li MY, et al. TREM2 mediates physical exercise-promoted neural functional recovery in rats with ischemic stroke via microglia-promoted white matter repair[J]. J Neuroinflammation, 2023, 20(1): 50.

[63] Zheng J, Sun X, Ma CL, et al. Voluntary wheel running promotes myelination in the motor cortex through Wnt signaling in mice[J]. Mol Brain, 2019, 12(1): 85.

（责任编辑：周一青）