

·基础研究·

丰富环境对阿尔茨海默病模型 SAMP8 小鼠海马 CA1 区炎症反应的影响*

李建忠¹ 郝兴华² 吴海平¹ 李 苗³ 史常赛³ 李 明¹ 肖以栋³ 刘学敏¹ 李富德¹ 武志兵^{1,4}

摘要

目的:研究丰富环境对阿尔茨海默病模型 SAMP8 小鼠海马 CA1 区炎症反应的影响。

方法:将 20 只 5 月龄雄性 SPF 级 SAMP8 小鼠随机均分为 P8+标准环境(SE)组和 P8+丰富环境(EE)组两组,分别在 SE 和 EE 下喂养 60d,将 10 只 5 月龄雄性 SPF 级 SAMR1 小鼠作为对照组,于 SE 下饲养 60d,称为 R1+SE 组。通过免疫组织化学染色检测各组小鼠海马 CA1 区胶质纤维酸性蛋白(GFAP)和促炎细胞因子,包括白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的表达。

结果:P8+EE 组小鼠海马 CA1 区 GFAP、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的平均吸光度明显少于 P8+SE 组小鼠($P < 0.01$),但仍显著高于 R1+SE 组($P < 0.01$)。

结论:丰富环境干预可抑制阿尔茨海默病模型 SAMP8 小鼠海马 CA1 区星形胶质细胞(AST)的活化、增生,降低促炎细胞因子释放,减轻炎症反应,这可能是丰富环境改善阿尔茨海默病脑功能的作用机制之一。

关键词 丰富环境;炎症;胶质纤维酸性蛋白;白细胞介素 1 β ;白细胞介素 6;肿瘤坏死因子 α

中图分类号:R749.1, R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2018)-03-0274-06

Effects of enriched environment on inflammatory reaction in hippocampal CA1 region prone/8 with Alzheimer's disease/LI Jianzhong, HAO Xinghua, WU Haiping, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2018, 33(3): 274—279

Abstract

Objective: To investigate effects of enriched environment on inflammatory reaction in hippocampal CA1 region in senescence accelerated mouse prone/8 with Alzheimer's disease.

Method: A total of 20 5-month-old male SPF SAMP8 were randomly divided into P8+SE group and P8+EE group with 10 in each group. Mice in the two groups were respectively subjected to standard environment and enriched environment for 60 days. A total of 10 5-month-old male SPF SAMR1 mice were selected as control group (referred to as R1+SE group) and were subjected to the standard environment for 60 days. The expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP) and proinflammatory cytokines, such as inter leukin-1 beta (IL-1 β), inter leukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in hippocampal CA1 of mice in each group were determined by immunohistochemical staining.

Result: The average absorbance of GFAP, IL-1 β , IL-6 and TNF- α in P8+EE group were obviously less than those in P8+SE group ($P < 0.01$), but they were still significantly higher than those in R1+SE group ($P < 0.01$).

Conclusion: Enriched environment could inhibit the activation and proliferation of astrocytes (AST), reduce the release of proinflammatory cytokines and inflammation in hippocampal CA1 region in senescence accelerated

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2018.03.005

*基金项目:山西省卫生计生委科研课题(2015158);2016年度长治医学院科技启动基金项目(普及项目)(QDZ201634);2016年山西省高等学校大学生创新创业训练项目(2016297;2016305)

1 长治医学院人体解剖学教研室,长治,046000; 2 长治医学院附属和平医院临床心理科; 3 长治医学院临床医学专业; 4 通讯作者
作者简介:李建忠,男,副教授; 收稿日期:2017-02-20

mouse prone/8 with Alzheimer's disease, which may be one of the mechanism that enriched environment improve brain function of Alzheimer's disease.

Author's address Changzhi Medical College, Changzhi, 046000

Key word enriched environment; inflammation; glial fibrillary acidic protein; inter leukin-1 beta; inter leukin-6; tumor necrosis factor alpha

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是痴呆最常见的类型,患病率随年龄增长显著增高^[1],随着世界人口老龄化进程的逐步加快,特别是高龄人群的日益增多,到2050年,全球AD患者预计达到1.4亿之多^[2]。而其病因和发病机制的多样性和不确定性导致目前临床上尚未研发出能够根治此病的药物。因此,有效预防AD发生或缓解AD进程就显得尤为重要。

研究发现,神经炎症反应在AD发生发展中扮演着非常重要的角色,参与AD发生发展的各个阶段^[3-5]。胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)是星形胶质细胞(astrocyte, AST)的特异性标记物,其表达强弱可反映AST的功能状况,AST活化后,可促使促炎细胞因子,如白细胞介素1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β)、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α)等表达,导致神经炎症反应,造成神经退行性变。丰富环境(enriched environment, EE)干预作为一种行为疗法,现已证实能提高包括AD、帕金森病(Parkinson's disease, PD)等在内的多种神经退行性疾病模型动物的神经系统功能和认知表现^[6]。大量基础实验表明,快速老化小鼠(senescence accelerated mouse, SAM)是研究散发型AD的经典模型^[7],赵燕等^[8]研究发现,SAMP8小鼠暴露于EE后其认知功能得到明显改善,我们前期工作也证实EE干预可通过减少海马CA1区 β 淀粉样蛋白沉积,降低神经元凋亡,改善神经元突触可塑性从而提高认知功能^[9-11],那么EE干预是否可通过减轻海马区神经炎症反应从而达到改善脑部病理变化和认知功能,基于此,本实验我们以此小鼠为研究对象,通过免疫组织化学染色观察海马CA1区GFAP、IL-1 β 、IL-6和TNF- α 的表达情况,明确EE改善SAMP8小鼠脑功能,提高学习记忆能力可能部分是通过减轻神经炎症反应实现,为临床应用EE康复治疗AD提供更全面的生物学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

采用随机数字法将20只5月龄SPF级雄性SAMP8小鼠均分为P8+标准环境(standard environment, SE)组和P8+EE组两组,分别在SE和EE下喂养60d,选取同月龄SPF级雄性SAMR1小鼠10只作为正常对照组,在SE下喂养60d,简称R1+SE组。所有小鼠喂养于室温为18—22℃,相对湿度为65%—70%的房间内,允许自由摄食和饮水,动物由天津中医药大学第一附属医院实验动物中心提供,动物体质量差异无显著性意义[P8+SE组:(29.53 $\pm$ 1.68)g, P8+EE组:(29.01 $\pm$ 1.42)g, R1+SE组:(29.85 $\pm$ 1.15)g, $P > 0.05$]。

1.2 方法

1.2.1 环境制作:根据参考文献^[9],标准环境为长 $\times$ 宽 $\times$ 高为(30 $\times$ 20 $\times$ 15)cm³的标准鼠笼,5只/笼,笼内仅放置木屑。丰富环境为长 $\times$ 宽 $\times$ 高为(40 $\times$ 25 $\times$ 30)cm³的特殊鼠笼,5只/笼,笼内除木屑外,还摆有跑笼、秋千、滑梯、隧道和数个色彩、形状各异的玩具,每日固定时间清洁鼠笼并重新摆放内部物品1次,且给予12h:12h光明/黑暗(7:00开始光照)循环灯光照射。

1.2.2 组织切片制备和染色:①组织切片制备:所有小鼠常规取脑,制备蜡块、冠状位切片,厚度5 μ m,间隔25 μ m连续取片4张分别用于抗GFAP、抗IL-1 β 、抗IL-6和抗TNF- α 免疫组织化学染色。②免疫组织化学染色:按照SP免疫组化试剂盒(北京中杉金桥)说明书进行抗GFAP(Abcam公司,1:3000)、抗IL-1 β (北京博奥森,1:100)、抗IL-6(北京博奥森,1:100)和抗TNF- α (北京博奥森,1:100)免疫组织化学染色。用缓冲液代替一抗作阴性对照。每张切片于400倍光镜下任意摄取海马CA1区不同视野3个,利用图像分析系统计算每个视野的吸光度,求其均值,记为平均吸光度。

1.3 统计学分析

用SPSS 17.0软件对GFAP、IL-1 β 、IL-6和TNF-

α 平均吸光度进行单因素方差分析,差异显著时,两两间再行 SNK-q 检验,数据用均数 $\pm$ 标准差表示,以 $P<0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 抗 GFAP 免疫组化染色结果

AST 即抗 GFAP 阳性细胞,呈棕黄色,形如蜘蛛,胞体向四周发出众多突起,不同环境下饲养的小鼠,AST 数量、胞体大小、突起多少和长短均不相同,其中 P8+SE 组小鼠 AST 数量最多,其胞体大,突起粗而长,有的较单一,向一个方向伸出,有的呈放射状向四周伸出;P8+EE 组小鼠与 P8+SE 组小鼠相比,AST 数量明显减少,胞体变小,突起变细变短;R1+SE 组小鼠 AST 数量稀少,胞体小,突起稀疏,并且短而细。对各组小鼠平均吸光度进行统计学分析,结果发现:P8+EE 组和 P8+SE 组小鼠比较,平均吸光度明显减少,差异有显著性意义 ($P<0.01$);P8+EE 组小鼠平均吸光度仍显著高于 R1+SE 组小鼠 ($P<0.01$)。见表 1,图 1。

2.2 抗 IL-1 β 免疫组化染色结果

与 P8+SE 组小鼠比较,P8+EE 组小鼠海马 CA1 区阳性细胞数量减少,染色减弱;与 R1+SE 组小鼠比较,P8+EE 组小鼠海马 CA1 区阳性细胞数量仍较

多,染色较强。对各组小鼠平均吸光度进行统计学分析,结果发现:P8+EE 组小鼠海马 CA1 区免疫反应产物平均吸光度明显少于 P8+SE 组小鼠 ($P<0.01$),但仍显著高于 R1+SE 组小鼠 ($P<0.01$)。见表 1,图 2。

2.3 抗 IL-6 免疫组化染色结果

其中 P8+SE 组小鼠阳性细胞数量最多,P8+EE 组小鼠次之,R1+SE 组小鼠最少。对各组小鼠平均吸光度进行统计学分析,结果发现:P8+EE 组和 P8+SE 组小鼠比较,平均吸光度明显减少,差异有显著性意义 ($P<0.01$);P8+EE 组和 R1+SE 组小鼠比较,平均吸光度差异同样也具有显著性意义 ($P<0.01$)。见表 1,图 3。

2.4 抗 TNF- α 免疫组化染色结果

其中 R1+SE 组小鼠免疫反应产物表达最少,P8+EE 组小鼠较多,P8+SE 组小鼠表达最多。对各组小鼠平均吸光度进行统计学分析,结果发现:P8+EE 组和 P8+SE 组、R1+SE 组小鼠比较,平均吸光度差异都具有显著性意义 ($P<0.01$)。见表 1,图 4。

3 讨论

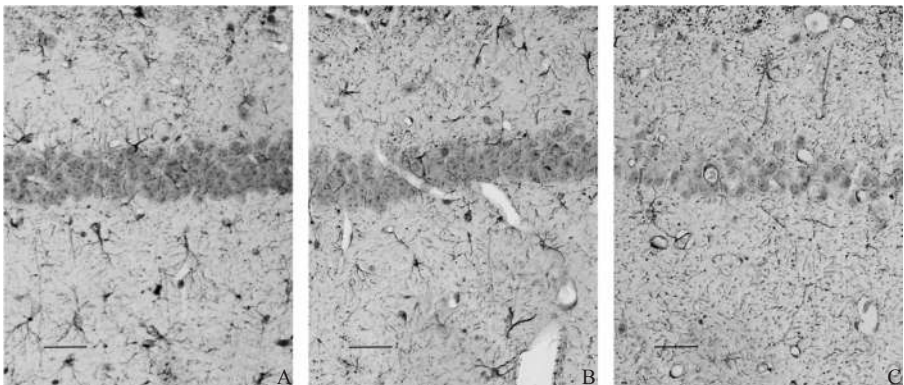
本实验通过免疫组织化学检测了不同组别小鼠海马 CA1 区 GFAP 和促炎细胞因子 IL-1 β 、IL-6、

表 1 各组小鼠海马 CA1 区 GFAP、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 平均吸光度的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	GFAP	IL-1 β	IL-6	TNF- α
P8+SE 组	10	0.322 $\pm$ 0.032	0.284 $\pm$ 0.043	0.245 $\pm$ 0.039	0.292 $\pm$ 0.025
P8+EE 组	10	0.256 $\pm$ 0.028 ^{①②}	0.186 $\pm$ 0.020 ^{①②}	0.198 $\pm$ 0.030 ^{①②}	0.201 $\pm$ 0.024 ^{①②}
R1+SE 组	10	0.086 $\pm$ 0.020	0.066 $\pm$ 0.022	0.094 $\pm$ 0.019	0.075 $\pm$ 0.020

与 P8+SE 组相比:① $P<0.01$;与 R1+SE 组相比:② $P<0.01$

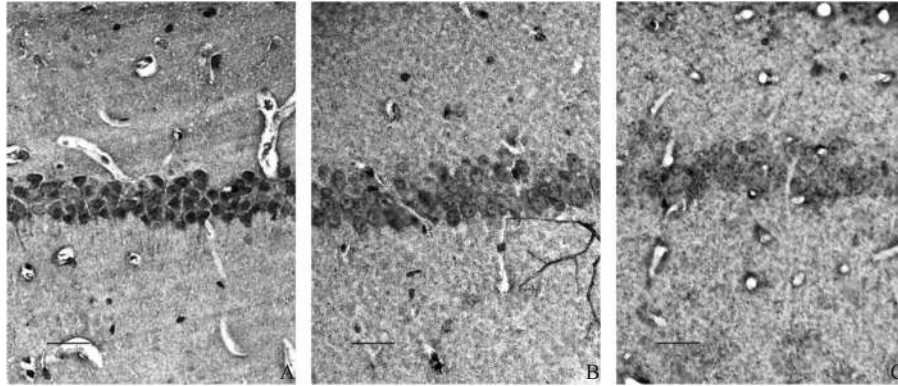
图 1 各组小鼠海马 CA1 区抗 GFAP 免疫组化染色 (免疫组化染色,10 $\times$ 40)



注:A:P8+SE 组小鼠;B:P8+EE 组小鼠;C:R1+SE 组小鼠(标尺=100 μ m)

图2 各组小鼠海马CA1区抗IL-1 β 免疫组化染色

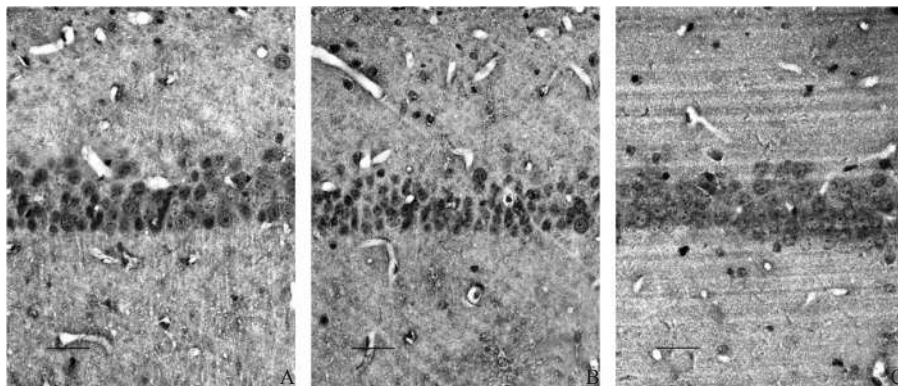
(免疫组化染色,10 $\times$ 40)



注:A:P8+SE组小鼠;B:P8+EE组小鼠;C:R1+SE组小鼠(标尺=100 μ m)

图3 各组小鼠海马CA1区抗IL-6免疫组化染色

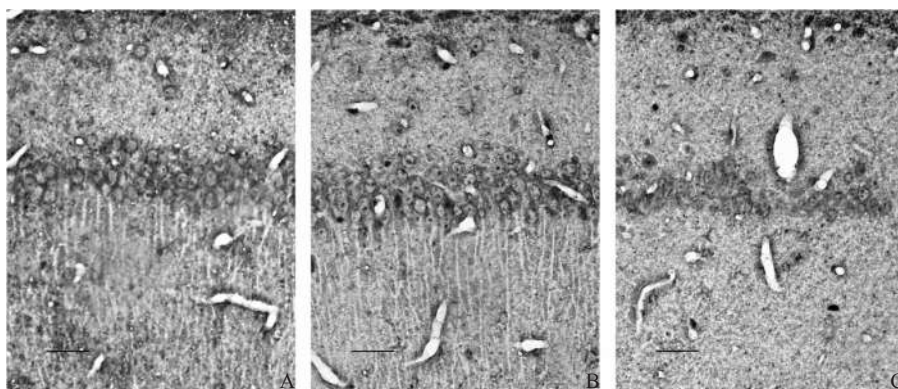
(免疫组化染色,10 $\times$ 40)



注:A:P8+SE组小鼠;B:P8+EE组小鼠;C:R1+SE组小鼠(标尺=100 μ m)

图4 各组小鼠海马CA1区抗TNF- α 免疫组化染色

(免疫组化染色,10 $\times$ 40)



注:A:P8+SE组小鼠;B:P8+EE组小鼠;C:R1+SE组小鼠(标尺=100 μ m)

TNF- α 的表达,运用图像分析系统检测吸光度,经统计分析发现,与标准环境下饲养的SAMP8小鼠比较,丰富环境下饲养的SAMP8小鼠海马CA1区

GFAP和促炎细胞因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 平均吸光度明显减少,但仍显著高于标准环境下饲养的SAMR1小鼠。

关于AD发病机制研究较多,目前慢性神经炎症反应成为大家广泛关注的焦点。研究表明,炎症反应在AD发生发展中扮演了非常重要的角色,参与AD发生发展的各个阶段^[3-5],其中促炎细胞因子IL-1 β 、IL-6和TNF- α 等与学习记忆障碍关系密切^[12]。Lee等^[13]研究发现,与正常健康人群比较,AD患者血浆细胞因子,包括IL-1、IL-4、IL-6、IL-10、IL-12、IL-16、IL-18、TNF、TGF- β 、MCP和IL-8含量失调。Holmes等^[14]的研究同样证实细胞因子失衡在AD和认知功能减退过程中发挥作用。Wu等^[12]通过体内实验均证实麻醉剂异氟烷通过增加促炎细胞因子IL-1 β 、IL-6和TNF- α 水平,导致神经炎症反应,促进AD的发病。AST是中枢神经系统分布最广、体积最大的一种胶质细胞,正常情况下,AST具有引导神经元迁移、促进神经元生长、成熟和维持神经元存活的作用^[15];病理情况下,AST被激活,发挥双刃作用^[16],一方面分泌神经营养因子保护神经元,另一方面介导神经炎症反应,促使大量促炎细胞因子,如IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等表达,当这些促炎细胞因子与细胞表面的特异性受体结合后,既可以直接引起神经元死亡和突触损害,又可以反过来激活胶质细胞,加剧神经元的损伤^[17]。通过对AD患者的尸检发现^[18],在老年斑核心和周围存在大量活化的AST和炎症反应产物,提示活化的AST通过释放促炎细胞因子对AD起毒性作用,造成神经元的进行性退行性变。

大量基础实验表明,SAMP8随衰老脑区出现与AD相似的病理改变,是研究散发型AD的经典模型^[7]。GFAP是AST的特异性标记物,位于胞体和突起,其表达强弱可反映AST的功能状况。刘菲等^[19]在对SAMP8小鼠的研究中发现,与空白组比较,模型组海马CA1区GFAP阳性细胞数目明显增多。Wang等^[20]研究发现,与9月龄SAMR1小鼠比较,同月龄SAMP8小鼠血浆IL-1 β 、IL-2、IL-6、IL-23、GM-CSF、TNF- α 和TNF- β 等细胞因子含量显著增加,且SAMP8小鼠空间学习记忆能力与这些血浆细胞因子的含量呈显著负相关。在本实验中,我们通过免疫组化实验发现,SE下饲养的SAMP8小鼠与SAMR1小鼠相比,海马CA1区GFAP、IL-1 β 、IL-6和TNF- α 的表达显著增多,提示SAMP8小鼠海马区

AST大量活化、增生,促使促炎细胞因子释放,导致炎症反应是SAMP8小鼠神经发生退行性变的原因之一。

丰富环境作为一种行为疗法,由国外学者Hebb^[21]提出后,经过多年不断地探索、实践和改进,现已证实,既能降低老年认知功能减退的发生率^[22],又能提高包括AD、PD等在内的多种神经退行性疾病模型动物和患者的神经系统功能和认知表现^[6,23]。在前期研究中,我们发现EE干预能减少SAMP8小鼠海马CA1区 β 淀粉样蛋白沉积,从而降低神经元凋亡,改善神经元突触可塑性,提高认知功能。在本实验中,我们又发现EE下饲养的P8小鼠与SE下饲养的P8比较,海马CA1区GFAP、IL-1 β 、IL-6和TNF- α 的表达明显减少,提示EE干预可以抑制AST的活化、增生,减少促炎细胞因子的产生,减轻炎症反应。文献报道,活化的AST促进促炎细胞因子的释放,损害了AD细胞模型突触和神经元的健康^[24],影响了突触构建与神经纤维传导^[25],McAfoose等^[26]认为促炎细胞因子如IL-1 β 、IL-6和TNF- α 等通过从分子水平调节突触可塑性、神经再生等进而影响AD认知过程。结合前期研究工作,我们推测丰富环境干预亦可通过抑制AST的活化,降低促炎细胞因子表达,减轻海马区慢性炎症反应,进而发挥抑制神经元凋亡、调节神经元突触可塑性,改善认知缺损的作用,下一步我们将进行深入探讨。关于丰富环境干预减轻神经炎症反应的作用机制,我们分析可能与内部环境的设置有关,丰富环境鼠笼内设有众多增加自愿运动的器械,通过运动可提高小鼠的睡眠质量^[27]、心肺功能^[28-30]等,增强小鼠免疫力,降低炎症反应^[31];丰富环境鼠笼内摆放有各种形状、色彩的玩具,这些物品提高了小鼠的“社会福利”改善了小鼠的神经-内分泌功能和免疫功能^[32-33]。

参考文献

- [1] Alzheimer's Association. 2015 Alzheimer's disease facts and figures[J]. *Alzheimers Dement*, 2015, 11(3):332—384.
- [2] Ribarić S. The rationale for insulin therapy in Alzheimer's disease[J]. *Molecules*, 2016, 21(6):E689.
- [3] Serpente M, Bonsi R, Scarpini E, et al. Innate immune system and inflammation in Alzheimer's disease: from pathogenesis to treatment[J]. *Neuroimmunomodulation*, 2014, 21(2—3):79—87.

- [4] Wyss-Coray T, Rogers J. Inflammation in Alzheimer disease—a brief review of the basic science and clinical literature[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012, 2(1):a006346.
- [5] Obulesu M, Jhansilakshmi M. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: an understanding of physiology and pathology [J]. Int J Neurosci, 2014, 124(4):227—235.
- [6] Meng FT, Zhao J, Ni RJ, et al. Beneficial effects of enriched environment on behaviors were correlated with decreased estrogen and increased BDNF in the hippocampus of male mice[J]. Neuro Endocrinol Lett, 2015, 36(5):490—497.
- [7] Wang J, Ye F, Cheng X, et al. The effects of LW-AFC on intestinal microbiome in senescence-accelerated mouse prone 8 strain, a mouse model of Alzheimer's disease[J]. J Alzheimers Dis, 2016, 53(3):907—919.
- [8] 赵燕,胡洁,康林,等.丰富环境及居住方式对快速老化小鼠认知功能和海马CA1区N-甲基-D-天门冬氨酸受体1的影响[J].中国康复医学杂志,2015,30(4):329—333,343.
- [9] 李建忠,郝兴华,崔慧先,等.丰富环境对快速老化小鼠SAMP8轻度认知功能障碍阶段认知状况的影响[J].中华行为医学与脑科学杂志,2015,24(11):974—977.
- [10] 李建忠,郝兴华,崔慧先,等.丰富环境对快速老化小鼠海马CA1区突触可塑性的影响[J].中华行为医学与脑科学杂志,2015,24(2):113—116.
- [11] 李建忠,郝兴华,崔慧先,等.丰富环境对快速老化小鼠海马CA1区神经元凋亡的影响[J].中华行为医学与脑科学杂志,2015,24(1):16—19.
- [12] Wu X, Lu Y, Dong Y, et al. The inhalation anesthetic isoflurane increases levels of proinflammatory TNF- α , IL-6, and IL-1 β [J]. Neurobiol Aging, 2012, 33(7):1364—1378.
- [13] Lee KS, Chung JH, Choi TK, et al. Peripheral cytokines and chemokines in Alzheimer's disease[J]. Dement Geriatr Cogn Disord, 2009, 28(4):281—287.
- [14] Holmes C, El-Okli M, Williams AL, et al. Systemic infection, interleukin 1 β , and cognitive decline in Alzheimer's disease[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2003, 74(6):788—789.
- [15] 蔡志友,吴芳,晏勇.星形胶质细胞与阿尔茨海默病[J].重庆医学,2009,38(6):733—735.
- [16] 刘畅,国海东,康湘萍,等.星形胶质细胞产生的趋化因子在阿尔茨海默病发生发展中的作用[J].生理科学进展,2014,45(2):125—128.
- [17] 甄瑾,李润今,王梅玲.淫羊藿苷对阿尔茨海默病模型大鼠记忆能力及其海马内GFAP、TNF- α 、IL-6表达的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2013,11(2):192—194.
- [18] Passos GF, Figueiredo CP, Prediger RD, et al. Involvement of phosphoinositide 3-kinase gamma in the neuro-inflammatory response and cognitive impairments induced by beta-amyloid 1-40 peptide in mice[J]. Brain Behav Immun, 2010, 24(3):493—501.
- [19] 刘菲,杜文芳,郭明星,等.孔圣枕中丹对SAMP8鼠海马CA1区PAS染色阳性颗粒状结构及星形胶质细胞纤维酸性蛋白的影响[J].脑与神经疾病杂志,2015,23(6):458—461.
- [20] Wang JH, Cheng XR, Zhang XR, et al. Neuroendocrine immunomodulation network dysfunction in SAMP8 mice and PrP-hA β PPswe/PS1 Δ E9 mice: potential mechanism underlying cognitive impairment[J]. Oncotarget, 2016, 7(17):22988—23005.
- [21] Hebb DO. The effects of early experience on problem solving at maturity[J]. Am Psychologist, 1947, 2:306—307.
- [22] Then FS, Luck T, Luppa M, et al. Differential effects of enriched environment at work on cognitive decline in old age[J]. Neurology, 2015, 84(21):2169—2176.
- [23] 高洁.应用丰富环境理论方法缓解老年痴呆的心理咨询个案[J].中国健康心理学杂志,2016,24(2):317—320,封3.
- [24] Phillips EC, Croft CL, Kurbatskaya K, et al. Astrocytes and neuroinflammation in Alzheimer's disease[J]. Biochem Soc Trans, 2014, 42(5):1321—1325.
- [25] 孟凡超,王运良,尹红蕾,等.姜黄素对A β 诱导的老年痴呆大鼠海马胶质纤维酸性蛋白表达的影响[J].中国老年学杂志,2012,32(10):2119—2121.
- [26] McAfosse J, Baune BT. Evidence for a cytokine model of cognitive function[J]. Neurosci Biobehav Rev, 2009, 33(3):355—366.
- [27] Dzierzewski JM, Buman MP, Giacobbi PR Jr, et al. Exercise and sleep in community-dwelling older adults: evidence for a reciprocal relationship[J]. J Sleep Res, 2014, 23(1):61—68.
- [28] Benedict C, Cedernaes J, Giedraitis V, et al. Acute sleep deprivation increases serum levels of neuron-specific enolase (NSE) and S100 calcium binding protein B (S-100B) in healthy young men[J]. Sleep, 2014, 37(1):195—198.
- [29] Defina LF, Willis BL, Radford NB, et al. The association between midlife cardiorespiratory fitness levels and later-life dementia: a cohort study[J]. Ann Intern Med, 2013, 158(3):162—168.
- [30] Di Meco A, Joshi YB, Praticò D. Sleep deprivation impairs memory, tau metabolism, and synaptic integrity of a mouse model of Alzheimer's disease with plaques and tangles[J]. Neurobiol Aging, 2014, 35(8):1813—1820.
- [31] Rasmussen P, Vedel JC, Olesen J, et al. In humans IL-6 is released from the brain during and after exercise and paralleled by enhanced IL-6 mRNA expression in the hippocampus of mice[J]. Acta Physiol (Oxf), 2011, 201(4):475—482.
- [32] Baumans V. Environmental enrichment for laboratory rodents and rabbits: requirements of rodents, rabbits, and research[J]. ILAR J, 2005, 46(2):162—170.
- [33] 胡樱,许兰文,杨斐,等.音乐、色彩干预对制动小鼠福利的影响[J].实验动物与比较医学,2007,27(2):71—76.