

·基础研究·

跑转轮运动与限制性应激对小鼠恐惧记忆与焦虑样行为的影响*

褚昕宇¹ 王泽军^{2,3}

摘要

目的:探讨自愿跑转轮运动与长期限制性应激对小鼠恐惧记忆与焦虑样行为的影响与海马源性神经营养因子的关系。

方法:将10周龄雄性C57Bl/6J小鼠80只随机分为8组,每组10只。其中,对照组(C1、C2)小鼠不接受运动或应激等任何行为干预方式的刺激,运动组(R1、R2)小鼠笼内安装有跑转轮装置,应激组(S1、S2)小鼠接受长期限制性应激,应激-运动组(S-R1、S-R2)小鼠笼内安装有跑转轮装置,并且接受长期限制性应激。另外,用于行为测试的(C2、S2、R2、S-R2)小鼠依次进行条件恐惧测试和高架十字迷宫测试,用于生化实验的(C1、S1、R1、S-R1)小鼠使用免疫印迹法测定海马BDNF蛋白含量。

结果:在情境条件恐惧测试,应激组与应激-运动组小鼠较对照组的冰点行为时间百分比存在着显著性($P<0.05$)减少;但在线索条件恐惧测试中,各组小鼠的冰点行为时间百分比没有明显差异。应激-运动组小鼠较运动组在闭合臂以及开放臂的停留时间存在显著性($P<0.05$)差异,应激-运动组小鼠较运动组进入开放臂的次数出现显著性($P<0.05$)增加。各组小鼠海马BDNF蛋白含量之间没有明显差异,只有应激组小鼠较对照组表现出明显升高的趋势($P=0.070$)。

结论:应激损害了成年小鼠的情境恐惧记忆能力,但提高了海马BDNF蛋白水平。在条件恐惧测试后进行的高架十字迷宫实验中发现,应激-运动组小鼠的焦虑样行为明显少于运动组,认为先于条件恐惧测试进行的长期限制性应激似乎有助于维持6周跑转轮运动的抗焦虑作用。

关键词 运动;应激;焦虑;恐惧;脑源性神经营养因子

中图分类号:R338,R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2021)-04-0406-06

Influences of wheel running and restrict stress on fear memory and anxiety-like behavior in mice/CHU Xinyu, WANG Zejun//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2021, 36(4): 406—411

Abstract

Objective: To investigate the influence of voluntary running wheel and chronic restrict stress on fear memory and anxiety-like behavior in mice and its relationship with brain-derived neurotrophic factor in the hippocampus.

Method: Ten weeks-old male C57Bl/6J mice were randomly divided into eight groups, 10 mice in each group. C1 and C2 mice were not given any interventions such as stress or exercise, R1 and R2 mice were housed with running wheel equipment, S1 and S2 mice received chronic restraint stress, S-R1 and S-R2 mice were housed with running wheel equipment, as well as received chronic restraint stress. The mice received behavioral tests(C2, S2, R2, S-R2) including the fear conditioning, and next the elevated-plus maze test. Western Blot was also given to the mice(C1, S1, R1, S-R1) for quantitative analysis of the level of hippocampal BDNF protein.

Result: In the contextual fear conditioning, the percentage of freezing time of stress mice and the stress-exer-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2021.04.004

*基金项目:国家社会科学基金青年项目(17CTY019)

1 上海工程技术大学体育教学部,上海,201620; 2 同济大学国际足球学院; 3 通讯作者

第一作者简介:褚昕宇,女,硕士,副教授; 收稿日期:2019-04-13

cise mice was significantly reduced ($P<0.05$) compared with the control. However, there was no difference among each group about the percentage of freezing time in the cued fear conditioning test. There was significant difference ($P<0.05$) between the stress-exercise mice and the running mice in the time in closed arm and open arm during the elevated-plus maze test, and the stress-exercise mice exhibited significantly increased entries ($P<0.05$) to the open arm than the exercise mice. Although there is no difference in hippocampal BDNF protein levels among each group, the stress mice showed strong trends toward an increase ($P=0.070$).

Conclusion: Stress impairs contextual memory in adult mice, and increase hippocampal BDNF protein. In the elevated-plus maze test after fear conditioning, the stress-exercise mice showed significantly lower level of anxiety-like behavior than the running mice, suggesting that chronic restraint stress sustained the anxiolytic effect of exercise from footshock during fear conditioning training.

Author's address Shanghai University of Engineering Science, Shanghai, 201620

Key word exercise; stress; anxiety; fear; brain-derived neurotrophic factor

焦虑障碍(anxiety disorders)是严重威胁人类健康的一类精神疾病。每年由于焦虑障碍所造成的经济损失十分严重,而且会导致自杀等严重社会问题。因此,探索焦虑障碍的产生机制,寻求有效的治疗途径已经成为急需解决的课题。其中,应激(或压力)与焦虑、抑郁密切相关,大多数的焦虑和抑郁患者都曾经经历过严重的心理应激事件^[1]。相反,经常进行体育锻炼能够缓解抑郁症状^[2],特别是适宜运动有助于降低应激引起的脑结构及行为的不良反应^[3],促进心理健康^[4]。并且,脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)具有促进神经元分化与存活,突触发生和活动依赖的突触可塑性作用,广泛分布于海马等与情绪反应密切相关的大脑边缘系统区域。然而有关运动与应激对恐惧与焦虑样行为的具体作用,以及海马BDNF在运动与应激依赖的恐惧与焦虑样行为变化中的可能机制尚不明确。为此,本研究采取跑转轮运动和限制性应激这两种干预方式,对小鼠的恐惧与焦虑样行为以及海马BDNF蛋白表达的作用进行了初步的研究。

1 材料与方法

1.1 实验对象与分组

健康雄性SPF级C57Bl/6J小鼠80只,购于美国Jackson公司。小鼠5只一组饲养直到10周龄后随机分为8组,每组10只(见表1)。单笼饲养,自由饮食,光照时间6:00—18:00。其中,对照组(C1、C2)小鼠不接受运动或应激等任何行为干预方式的刺激;运动组(R1、R2)小鼠笼内安装有跑转轮装置;应

表1 动物实验分组情况

	对照组 (C)	应激组 (S)	运动组 (R)	应激-运动组 (S-R)
生化实验	C1	S1	R1	S-R1
行为测试	C2	S2	R2	S-R2

激组(S1、S2)小鼠接受长期限限制性应激;应激-运动组(S-R1、S-R2)小鼠笼内安装有跑转轮装置,同时接受长期限限制性应激。另外,用于行为测试的C2、S2、R2、S-R2小鼠依次进行条件恐惧测试和高架十字迷宫测试,用于生化实验的C1、S1、R1、S-R1小鼠使用免疫印记法测定海马BDNF蛋白含量。

1.2 运动与应激干预方案

运动方式为自主跑转轮运动^[5],共6周。运动组(R1、R2)与应激-运动组(S-R1、S-R2)小鼠允许在笼内的跑转轮装置上进行自主运动。应激方式为长期限限制性应激^[6],共3周。应激组(S1、S2)与应激-运动组(S-R1、S-R2)小鼠固定在50ml圆锥管内(将锥管前端去除使空气流入),随后放置入饲养笼内,每日2h(9:00 a.m.—11:00 a.m.)。应激或运动干预开始时间均为第1天。

1.3 行为学测试

1.3.1 条件恐惧测试:跑转轮运动的第35d,用于行为测试的C2、S2、R2、S-R2组小鼠开始条件恐惧(fear conditioning)测试。测试前,小鼠在测试房间进行3d适应训练,每日3h^[7]。测试的训练阶段,小鼠被置于测试房间(美国Med Associates公司),允许探索房间2min。随后给予三段音频刺激,即条件刺激(conditioned stimulus)以及足底电击,即非条件刺激(unconditioned stimulus)。在测试的120—150s、

180—210s、240—270s 分别给予三段音频刺激(5kHz, 70dB),每段音频刺激的最后2s从金属栅格底部给予一个0.5mA持续的足底电击。每个阶段的音频刺激间隔为30s。记录音频刺激过后冰点行为(freezing)时间的百分比作为测量非条件恐惧的指数。其中,条件恐惧模式依靠学习无害刺激与痛苦刺激之间的联系,构成冰点行为,即成对出现的一个特定的声音与一个温和电击导致动物的焦虑样防御行为表现,例如对随后出现的声音的冰点行为(注意静止期)或惊恐增加(对巨大、突然的噪音反应增强)。第二日,情境条件恐惧测试阶段,小鼠被转移回测试房间5min无任何电击。记录该阶段冰点行为时间的百分比作为情境记忆的指数。条件情境测试结束后3h进行线索条件恐惧测试,小鼠被转移到一个不同情境的测试房间(底部平滑,测试房间被2块塑料板隔开)。允许小鼠探索测试房间5min,无任何音频刺激。随后,给予5段30s的音频刺激,无任何足底电击,且每个刺激间隔30s。记录音频刺激过后冰点行为时间的百分比作为线索记忆的指数。并且整个测试过程中,每个测试之间使用酒精对各个测试房间进行常规清洁。

1.3.2 高架十字迷宫测试:高架十字迷宫(elevated plus-maze)离地面60cm,由两个25cm×5cm相反的开放臂,以及相同规格的、壁高30cm的闭合臂组成。同时,开放臂边缘有1cm高的有机玻璃用以防止小鼠跌落^[7]。跑转轮运动的第42d,用于行为测试的(C2、S2、R2、S-R2)组小鼠开始高架十字迷宫测试。测试开始时,将小鼠面向开放臂放入迷宫中心位置。5min测试结束后,小鼠被转移回笼内。小鼠对不同迷宫臂的偏好会自动被活动轨迹追踪软件记录下来(美国Anymaze Stoelting公司)。实验在1300Lx的光照强度下进行。

1.4 动物取材

跑转轮运动的第43d,用于生化实验的(C1、S1、R1、S-R1)小鼠吸入异氟醚麻醉,随后固定、打开腹腔、暴露心脏,从心脏左心室尖处灌注0.1M磷酸盐缓冲盐水。动物断头取脑,迅速分离海马组织置于干冰上,随后保存于-80℃冰箱内用于BDNF蛋白质测试。所有实验步骤均遵守美国国立卫生研究所动物保护和使用规则。

1.5 BDNF免疫印记

使用研磨棒和微离心管(美国ISC BioExpress公司)将各海马组织溶解于400μl的含有蛋白水解酶抑制剂(美国Complete Mini, Roche Diagnostics公司)的1XRIPA缓冲液中,随后超声粉碎10s(美国Ultrasonic Processor, Model GE70公司)。室温孵育10min后,将溶解的组织样本在室温下离心10min并收集上清液。使用Bradford法(美国Bio-Rad公司)测定蛋白质浓度。随后使用5XDTT在70℃下分解溶解物1h,以破坏BDNF强二硫键。随后使用溶解液和4X LDS NuPAGE样本缓冲液(美国Invitrogen公司)将组织样本稀释到最终浓度3μg/μl。电泳前,将样本90℃加热5min,迅速在冰上冷却1min,并在室温下摇匀10min。随后将样本添加到4%—12% NuPAGE Bis-Tris凝胶上。电泳在添加有抗氧化剂的1XMES缓冲液进行,用NuPAGE转移液(美国Invitrogen公司)将凝胶上的蛋白转移到Immobilon-FL PVDF膜上(美国Millipore公司)。使用BDNF多克隆兔抗体(美国Santa Cruz Biotechnology公司)以及红外线标记的山羊抗兔抗体(美国Li-Cor Biosciences公司)检测膜上BDNF蛋白含量。β-tubulin多克隆兔抗体(美国Li-Cor Biosciences公司)用作对照,同时使用人重组BDNF蛋白作另一对照。使用美国Li-Cor Odyssey公司红外线扫描仪检测膜上蛋白的含量,β-tubulin作为内参对BDNF蛋白条带强度进行标准化。

1.6 统计学分析

使用StatView统计软件(美国Abacus公司)、GraphPad Prism统计绘图软件以及Excel进行统计学分析。实验数据以均数±标准差来表示。 $P<0.05$ 表示具有显著性差异。 $P<0.01$ 表示具有极显著性差异。

2 结果

2.1 运动与应激对小鼠恐惧记忆的影响

条件情境或条件刺激诱导出的冰点行为时间越长,说明动物对于先前恐惧相关的记忆越为清晰。如图1,应激组(S2: 52.05 ± 10.73 , $P=0.024$)与应激-运动组(S-R2: 59.68 ± 16.22 , $P=0.046$)小鼠较对照组(C2: 98.05 ± 12.97)在情境条件恐惧测试的冰点行

为时间的百分比(%)分别存在着显著性差异。

如图2,应激组(S2)小鼠较对照组(C2)在情境条件恐惧测试的0—60s阶段(S2: 13.10 ± 4.38 , C2: 32.77 ± 6.28 , $P=0.016$)、60—120s阶段(S2: 17.98 ± 3.27 , C2: 37.83 ± 5.50 , $P=0.008$)与180—240s阶段(S2: 17.12 ± 3.67 , C2: 34.52 ± 4.88 , $P=0.038$)的冰点行为时间的百分比(%)分别存在着(极)显著性差异。此外,在情境条件恐惧测试的60—120s阶段,运动组(R2: 21.67 ± 2.52 , $P=0.018$)与应激-运动组(S-R2: 20.07 ± 6.63 , $P=0.013$),分别较对照组(C2)的冰点行为时间的百分比(%)存在着显著性差异(图3)。

但在条件恐惧测试的音频刺激前阶段(0—300s, C2: 9.01 ± 2.55 , S2: 10.84 ± 1.99 , R2: 17.73 ± 5.91 , S-R2: 9.47 ± 4.12)以及音频刺激阶段(300—600s, C2: 41.87 ± 4.43 , S2: 36.27 ± 7.65 , R2: 43.95 ± 5.78 , S-R2: 41.47 ± 3.91),各组小鼠冰点行为时间的百分比(%)并

没有出现明显差异。

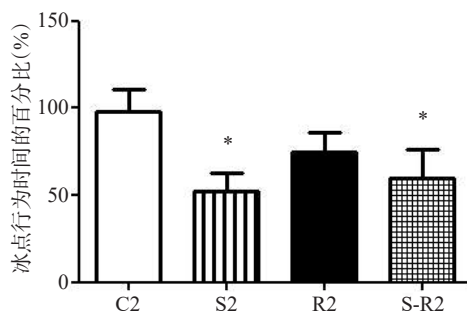
2.2 运动与应激对小鼠焦虑样行为的影响

由于高架十字迷宫的开放臂和外界相通,因此动物在产生探索好奇心的同时也会产生焦虑样反应。如果动物焦虑水平升高,会离开开放臂退缩到闭合臂中;反之会在开放臂停留更长的时间,对开放臂的探索次数也会增多。如图4所示,应激-运动组(S-R2)小鼠较运动组(R2)在闭合臂(S-R2: 43.60 ± 8.42 , R2: 84.15 ± 15.74 , $P=0.024$)和开放臂(S-R2: 161.81 ± 20.85 , R2: 87.01 , $P=0.011$)的停留时间存在显著性差异;同时,应激-运动组(S-R2)小鼠较运动组(R2)进入开放臂的次数(S-R2: 10.00 ± 0.82 , R2: 6.25 ± 1.31 , $P=0.037$)也存在显著性差异(图5)。

2.3 运动与应激对海马BDNF蛋白表达的影响

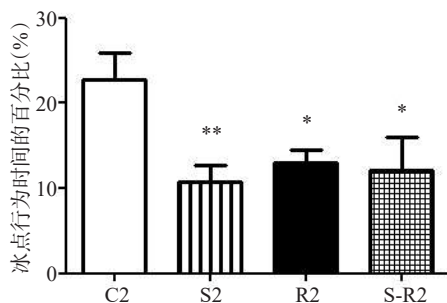
免疫印迹法是一种将高分辨率凝胶电泳和免疫化学分析技术相结合的杂交技术,具有分析容量大、

图1 各组小鼠情境条件恐惧测试总成绩的比较



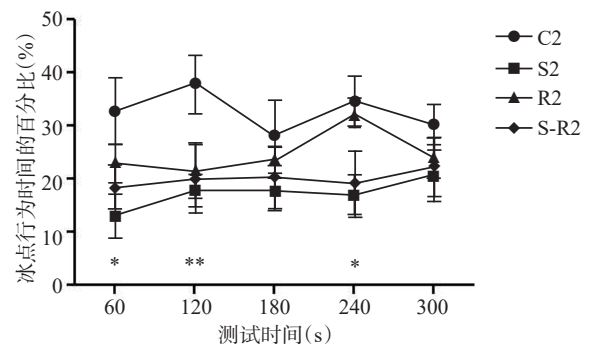
注:与C2组比较, * $P<0.05$

图3 各组小鼠情境条件恐惧测试60—120s阶段成绩的比较



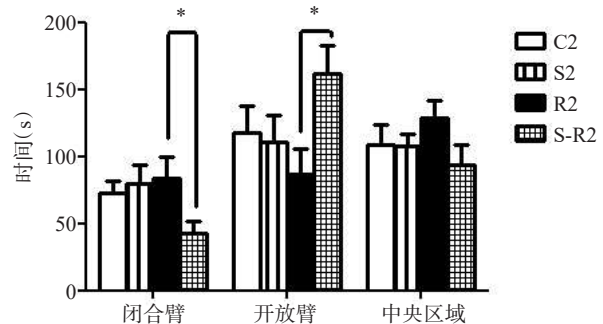
注:与C2组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

图2 各组小鼠情境条件恐惧测试成绩的分段比较



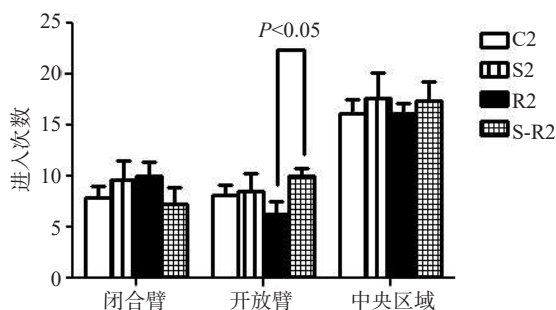
注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

图4 各组小鼠高架十字迷宫测试各区域停留时间的比较



注: * $P<0.05$

图5 各组小鼠高架十字迷宫测试各区域进入次数的比较



敏感度高、特异性强等优点,是检测蛋白质特性、表达与分布的一种最常用的方法。实验中使用 β -tubulin多克隆兔抗体作为内参对BDNF蛋白条带强度进行标准化。本研究中发现,各组小鼠海马BDNF蛋白的水平之间没有出现明显差异(C1: 0.08 ± 0.01 , S1: 0.12 ± 0.02 , R1: 0.11 ± 0.01 , S-R1: 0.11 ± 0.01),但应激组(S1)小鼠较对照组(C1)表现出明显升高的趋势($P=0.070$)。

3 讨论

应激和焦虑是密切相关的现象,大多数焦虑患者都曾经历严重的心理应激事件,因此应激事件被看作是焦虑的原因^[8]。动物模型具有资源相对易获得、操作性强、涉及的伦理道德问题相对较少,能够较好地模拟人类情绪障碍等优点^[1,9]。而焦虑模型就是将动物置于一系列应激性情境当中。随着焦虑障碍模型的发展与改进,恐惧与焦虑之间逐渐区别开来。通常认为,恐惧与特定刺激联系紧密,而焦虑与情境或环境有关。二者在焦虑障碍中也处于平行关系。此外,我们对于恐惧是如何在脑中形成过程的理解大多数是形成于巴甫洛夫条件恐惧实验的研究(1972),特别是它可以被用作创伤后应激综合征(post-traumatic stress disorder, PTSD)的一种模型^[10]。并且对于焦虑障碍相关的认知症状的研究是开发新动物模型的重要途径,而PTSD的关键特征则是创伤记忆^[11]。在典型的条件恐惧实验中,动物通常会利用海马形成一个环境的代表结构来习得情境刺激(电击发生位置),因此在同一动物身上会表现出海马依赖的条件情境,以及非海马依赖的条件

线索^[12-13]。

本研究发现,3周的限制性应激引起10周龄的雄性C57Bl/6J小鼠在情境条件恐惧实验中冰点行为的时间缩短,这也与先前的实验结果相一致^[14],表明3周的长期限制性应激损害了小鼠的情境恐惧记忆能力。同时,本研究还发现6周的跑转轮运动对小鼠的条件恐惧测试成绩没有明显影响,这也与先前的实验结果相一致^[14],提示跑转轮运动并不能够影响小鼠的条件恐惧测试成绩。但也有研究发现,30日的跑转轮运动能够提高4月龄的雄性C57Bl/6J小鼠在间隔1日的情境条件恐惧测试的成绩^[15]。上述实验结果的差异可能与实验动物的年龄或刺激模式的差异有关。另外,无论是3周的限制性应激,或是6周的跑转轮运动,对小鼠非海马依赖的条件恐惧测试的成绩均没有显著的影响。

有趣的是,在条件恐惧测试结束后进行的高架十字迷宫测试中发现,应激-运动组小鼠的焦虑样行为明显少于运动组,提示先于条件恐惧测试给予的限制性应激似乎有效地维持了跑转轮运动的抗焦虑作用。之前也有类似研究认为,如果在条件恐惧测试后进行6周的跑转轮运动对大鼠的情境恐惧记忆没有影响,相反,如果在条件恐惧测试前6周就开始跑转轮运动,可以显著提高间隔1日的情境恐惧记忆能力,以及提高大鼠的情境分辨能力和减少预暴露情境时间^[16]。而被认为是应激研究之父的Hans Selye(1976)使用“同型应激”(homotypic stress)来描述一直长期暴露于相同的应激源的反应变化,以及“异型应激”(heterotypic stress)来描述具有先前的应激经历的个体对一种新形式应激的反应变化^[17]。例如本研究中所采用的6周自愿跑转轮运动与随后条件恐惧测试中的电击刺激之间的关系就属于异型应激,但是3周的限制性应激与随后条件恐惧测试中的电击刺激之间的关系属于同型应激。这里可以将跑转轮运动看作是一种自愿的、可控的应激方式^[18]。而心理变量“可控制性”与“可预测性”会影响不良应激对个体的作用。由于上述两个变量可以减少应激反应对大脑以及身体的不良后果,当两个动物暴露于相同水平的电击时会表现出觉醒以及试图做出逃避反应,如果其中一个动物具有控制电击结束的经验,那么会产生明显不同的行为和生理效

应^[19-20]。相应的人体研究表明,具有控制不良压力的经验,可以对如何减轻压力感产生深远的影响^[21]。并且,应激的控制因素是可变化的,应激经验的程度以及个体易感性,最终决定了应激诱导的行为以及生理后遗症的发展。因此,不同类型应激之间的相互作用最终形成复杂的行为学测试结果。

另一方面,本研究中并未发现各组小鼠海马BDNF蛋白水平存在显著性差异,但是应激组小鼠海马BDNF蛋白水平较对照组有着较为明显的增高趋势。先前已有研究表明,急性与长期限制性应激会对海马BDNF mRNA与蛋白水平产生复杂的作用^[22-25]。例如,2周的限制性应激可以导致大鼠海马DG BDNF mRNA水平显著性降低,而3周的限制性应激对海马DG BDNF mRNA水平无明显作用^[22],表明应激作用的时间长短可能具有重要影响。也有研究采用强度更大的应激形式,发现4周的慢性应激对大鼠海马BDNF mRNA水平无显著作用^[23]。最近有研究发现,尽管3周的限制性应激能够升高大鼠海马BDNF水平,但在最后一次应激结束后即刻,海马BDNF却回到基础水平^[24]。最新的研究表明,慢性应激同样会导致大鼠海马BDNF mRNA水平升高^[25]。同时,本研究还发现6周的跑转轮运动并没有显著地改变小鼠海马BDNF蛋白水平。尽管先前有大量研究表明,运动能够有效提高海马BDNF mRNA与蛋白的水平,但也有许多研究发现,跑转轮运动可以诱导海马发生结构以及非BDNF依赖的可塑性变化^[26],例如血管内皮生长因子、胰岛素样生长因子等,这些与跑转轮运动可能更加密切相关的神经调控因子^[27]。

4 结论

3周的限制性应激损害了小鼠的情境恐惧记忆能力,却对海马BDNF蛋白水平有促进作用。此外,在条件恐惧测试后进行的高架十字迷宫实验中发现,应激-运动组小鼠的焦虑样行为显著少于运动组,认为先于条件恐惧测试进行的3周限制性应激似乎有助于维持6周跑转轮运动依赖的抗焦虑作用。并且,运动与应激联合对小鼠海马BDNF蛋白表达的影响并不明显,说明可能存在着其他机制影响恐惧与焦虑样行为。

参考文献

- [1] 亓晓丽, 林文娟. 焦虑和抑郁动物模型的研究方法和策略[J]. 心理科学进展, 2005, 13: 327—332.
- [2] Kvam S, Kleppe CL, Nordhus IH, et al. Exercise as a treatment for depression: A meta-analysis[J]. J Affect Disord, 2016, 202: 67—86.
- [3] Miller RM, Mariott D, Trotter J, et al. Running exercise mitigates the negative consequences of chronic stress on dorsal hippocampal long-term potentiation in male mice[J]. Neurobiol Learn Mem, 2018, 149: 28—38.
- [4] 季浏. 体育锻炼与心理健康[M]. 上海: 华东师范大学出版社, 2006.
- [5] van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, et al. Running enhances neurogenesis, learning and long-term potentiation in mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96: 13427—13431.
- [6] Snyder JS, Glover LR, Sanzone KM, et al. The effects of exercise and stress on the survival and maturation of adult-generated granule cells[J]. Hippocampus, 2009, 19: 898—906.
- [7] Okun E, Griffioen K, Barak B, et al. Toll-like receptor 3 inhibits memory retention and constrains adult hippocampal neurogenesis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107: 15625—15630.
- [8] de Kloet ER, Joels M, Holsboer F. Stress and the brain: From adaptation to disease[J]. Nat Rev Neurosci, 2005, 6: 463—475.
- [9] Cryan JF, Holmes A. The ascent of mouse advances in modelling human depression and anxiety[J]. Nat Rev Drug Discov, 2005, 4: 775—790.
- [10] Wehner JM, Radcliffe RA. Cued and contextual fear conditioning in mice[J]. Curr Protoc Neurosci, 2004, 8.5C.1—8.5C.14.
- [11] Lang PJ, Davis M, Ohman A. Fear and anxiety: animal models and human cognitive psychophysiology[J]. J Affect Disord, 2000, 61: 137—159.
- [12] Kim JJ, Fanselow MS. Modality-specific retrograde amnesia of fear[J]. Science, 1992, 256: 675—677.
- [13] Philips RG, LeDoux JE. Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning[J]. Behav Neurosci, 1992, 106: 274—285.
- [14] Wojtowicz JM, Askew ML, Winocur G. The effects of running and of inhibiting adult neurogenesis on learning and memory in rats[J]. Eur J Neurosci, 2008, 27: 1494—1502.
- [15] Kohman RA, Clark PJ, Deyoung EK, et al. Voluntary wheel running enhances contextual but not trace fear conditioning[J]. Behav Brain Res, 2012, 226: 1—7.
- [16] Greenwood BN, Strong PV, Foley TE, et al. A behavioral analysis of the impact of voluntary physical activity on hippocampus-dependent contextual conditioning[J]. Hippocampus, 2009, 19: 988—1001.
- [17] Seyle H. The stress of life[M]. New York: McGraw-Hill Press, 1976.
- [18] Stranahan AM, Lee K, Mattson MP. Central mechanisms

(下转第442页)