



APP/PS1 双转基因小鼠认知功能和实时步态行为的相关性

张胜威¹,董世芬¹,武汀¹,靳洪涛²,孙建宁¹

(1. 北京中医药大学中药药理系,北京 100102;
2. 中国医学科学院北京协和医学院药物研究所新药安全评价研究中心,北京 100050)

【摘要】 目的 初步探讨 APP/PS1 双转基因小鼠认知功能和实时步态行为学改变的相关性。方法 3 月龄 APP/PS1 转基因小鼠 16 只随机分成模型组和石杉碱甲片组,正常对照组选用同龄 C57/BL6J 小鼠 14 只。连续治疗 150 d, Morris 水迷宫(MWM)检测学习记忆能力,大小鼠步态分析仪(GAS-2)检测实时步态行为,并比较两种行为学的相关性。结果 与正常对照相比,模型组小鼠有学习记忆能力的显著降低,逃避潜伏期均显著延长($P < 0.05$),在目标象限停留时间、游泳路程显著降低($P < 0.05$),第一次穿越平台的时间显著延长($P < 0.05$),穿台次数显著减少($P < 0.05$);在步态行为实验中,模型组小鼠平均步行速度显著降低($P < 0.05$),平均步行周期、绝对值平均体转角和侧向移动均显著升高($P < 0.05$),在一个步行周期中左后足(left foot, LF)、右后足(right foot, RF)支撑时相显著延长($P < 0.05$),摆动时相显著缩短($P < 0.05$),左前足(left hand, LH)、右前足(right hand, RH)、右后足推进指数均显著增加($P < 0.05$),制动指数显著降低($P < 0.05$)。石杉碱甲片能显著改善认知功能,并能在一定程度上纠正步态行为的变化。比较两种行为学的相关性,得出学习记忆能力与双前足的制动指数相关性较高(相关系数分别为 -0.433 、 -0.379 , P 值分别为 0.039 、 0.079),其他方面的相关性不大。结论 APP/PS1 转基因小鼠在 8 月龄时有显著的学习记忆能力障碍和步态行为的改变,并且两种行为学存在一定的相关性。

【关键词】 APP/PS1 小鼠;认知功能;实时步态行为;相关性

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 05-0019-07

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.005.005

To explore the relationship between the gait behavior changes and cognitive function in APP/PS1 transgenic mice

ZHANG Sheng-wei¹, DONG Shi-fen¹, WU Ting¹, JIN Hong-tao², SUN Jian-ning¹

(1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;
2. Department of Evaluation of Drug Safety, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

【Abstract】 **Objective** To explore the relationship between the gait behavior changes and cognitive function in APP/PS1 transgenic mice. **Methods** 16 APP/PS1 transgenic mice were divided into model group and Huperzine A group, C57/BL6J mice with the same age were chosen as control group. After a 150 days consecutive treatment, Morris water maze(MWM) was used to detect the learning and memory ability and Gait analysis system (GAS-2) was used to

[基金项目]北京优博项目(YB20101002601);校级自主课题(532/0100604287)。

[作者简介]张胜威(1986-),男,博士生,研究方向为中药防治心脑血管疾病研究, E-mail: zuihou1799@163.com。

[通讯作者]孙建宁(1952-),女,教授,博士生导师,从事中药防治重大疾病创新药物研究, E-mail: jn_sun@sina.com。

detect the gait behavior after the treatment when the mice were 8-month-old. **Results** The escape latency of the model group was significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$), the time spent in the target quadrant, swimming distance in the target quadrant significantly lower than that of the control group ($P < 0.05$), the first time passing through the platform prolonged significantly than the control group ($P < 0.05$), and the number of passing through the platform reduced significantly than the control group ($P < 0.05$). In the gait behavior experiments, compared with the control group, the average walking speed of the model group reduced significantly ($P < 0.05$), the average walking cycle, the absolute average body angle and lateral movement increased significantly ($P < 0.05$); The percentage of support time in a walking cycle of the left and right foot increased significantly ($P < 0.05$). Accordingly, the percentage of swing time in a walking cycle of the left and right foot reduced significantly ($P < 0.05$). The propulsion index of the left hand, right hand, right foot increased significantly ($P < 0.05$), and then the braking index of the above three feet decreased significantly ($P < 0.05$). Huperzine A can improve the cognitive function, rectify the changes in the gait behavior. The two behavioral relevance shows that cognitive function and the front two feet braking, propulsion index have a high correlation index (correlation coefficients were -0.433 , -0.379 , P values were $0.039, 0.079$), the others were not. **Conclusion** APP/PS1 transgenic mice of 8-months-old have a remarkable impairment of learning and memory ability and disorder of gait behavior, and these two behaviors have a correlation in some extent.

【Key words】 APP/PS1 transgenic mice; Cognitive function; Gait behavior; Correlation

随着老年人口数量的逐年上升,老年性痴呆的发病率也呈现出逐年升高的趋势。据不完全统计,2013 年我国老年痴呆 (alzheimer's disease, AD) 患者数量大约在 500 万,并且在 65 岁以上的老人中,每增加 5 岁,患病率将增加一倍。老年痴呆患者主要表现为学习记忆能力的减退,到晚期还可能有性格的改变。但是除了这些主要的症状外,人们很少注意到老年痴呆的患者还有其他的行为学改变,如走路不稳,步幅不均一,摔倒的概率是非老年痴呆患者的 2 倍^[1]。究其原因还不清楚,可能与痴呆患者神经功能的退化,支配运动的神经元功能减退有关。已有学者提出这样的假设:之所以认知功能的障碍和步态的改变经常同时出现,是因为支配这两种行为的神经基础是一样的。也就是说支配步态行为的神经功能损伤了,就会出现认知功能的障碍^[1]。但是在临床前研究药物时,如何检测动物这种行为改变的方法也是受限的。寻找一种能够精确检测动物的这种行为学改变的仪器设备是首要的。目前我们有了 GAS-2 大小鼠步态分析仪,这是一种专门检测大小鼠步态行为的仪器,这样就能够检测到一些肉眼无法观测到的结果^[2]。

目前关于临床上 AD 患者的步态异常有很多报道^[3-4],但是在动物模型上关于 AD 步态行为的改变还未见报道。APP/PS1 双转基因小鼠是目前与人类 AD 发病机制最为接近的模型动物,下面我们就 APP/PS1 小鼠的步态行为学改变做一下初步探索,以及两种行为学的改变有无相关性。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物:健康 SPF 级 APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠 16 只,购自北京华阜康生物科技股份有限公司(SCXK(京)2009-0004)。正常对照组选用 C57/BL6J 小鼠,14 只,雌雄各半,3 月龄,体重 20~22 g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司(SCXK(京)2009-0007)。饲养于北京中医药大学屏障环境实验动物室,许可证号:SYXK(京)2011-0024,12 h 明暗交替。

1.1.2 主要药品:石杉碱甲片(双益平),白色片剂,上海复旦复华药业有限公司生产,批号 121001,成人用量是每天 6 片($50 \mu\text{g}/\text{片}$),实验用量是 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ (相当于 60 kg 成人用量的 10 倍),用前以去离子水配成所需浓度。

1.1.3 主要仪器:Morris 水迷宫(MWM),中国医学科学院药物研究所提供。GAS-2 大小鼠步态分析系统,由北京鑫海华仪科技有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及给药

APP/PS1 双转基因 AD 模型小鼠 16 只,雌雄各半,分到模型(model)组、石杉碱甲片(Huperzine A)组,每组 8 只。C57/BL6J 小鼠 14 只放入正常对照(control)组。在小鼠 3 月龄时开始给药,连续给药 150 d。给药剂量为 $1 \text{ mL}/100\text{g}$ 体重。模型组和正常对照组分别给予相应体积的生理盐水。给药结束后,进行水迷宫和步态行为学检测。

1.2.2 水迷宫检测方法

首先将平台放入第一象限中间,平台离池壁大约 22 cm。向池中加入水,水深大概淹没平台 1 cm。再将 20 g 钛白粉加入到水中,充分混匀,使池中水的颜色成白色,与动物有明显的对比。水温 22 ± 0.5 °C,实验室温度保持 25 °C。训练期间环境安静,迷宫外参照物保持不变。

试验包括:(1)定位航行试验:实验历时 4 d。受试动物每天分别从除第一象限外的三个象限入水,依次进行训练,将小鼠面向池壁放入水中,记录找到平台的时间,并在台上停留 5 s,记为逃避潜伏期。测试时限定为 90 s,超过 90 s 者,逃避潜伏期以 90 s 计。并将动物引导至平台,在台上停留 30 s。检测小鼠对平台空间位置记忆的保持能力。(2)空间探索实验:检测小鼠对平台空间位置记忆的保持能力。行为测试第五天撤除平台,由第三象限入水点将小鼠面向池壁放入水中,记录其首次穿越平台的次数及在平台所在象限的游泳时间和距离。

1.2.3 小鼠步态检测方法

水迷宫检测结束后的第二天进行步态行为的测试。分为两个阶段:(1)训练:训练方法:准备一空鼠盒,先将动物转移该鼠盒内,将饲养小鼠的鼠盒置于步态仪后端的鼠盒托架中,以建立一个熟悉的环境。将小鼠置于步态仪前端的采样跑道上,并且从动物后方给相应刺激直至动物跑完全程,并进入分析仪后端暗箱中,并且堵上暗箱入口,让该动物在其中适应 30 s,如果动物适应完暗箱环境后没有从暗箱的出口跳入下方的饲养鼠盒内,可以人为将动物置于该鼠盒中,适应 1 min,这样算是完成一次训练。取出鼠盒,准备下一只。按照此种方法完成所有动物的训练,完成一轮训练。第一天训练时,大概每只动物需要 3 min 时间,以后会逐渐加快。每只动物每天训练 3 次,连续训练 7 d,直至所有的动物在没有刺激的情况下可以不停顿地完成在跑道上的行走。(2)检测:训练结束后,进行 3 次实时步态行为录像,合格的录像要求为此次录像中必须包含有 3 个连续的脚步信息,而且中间没有停顿。之后用专用分析软件分析,取各个指标均值。本次实验中取了速度体态指标、支撑摆动时相指标、制动推进指数指标,各个指标的物理参数的意义见讨论部分。

1.2.4 统计学方法

组件数据采用 SPSS 13.0 统计软件单因素方差分析(one-way ANOVA)统计,LSD 检验比较两组间差异,结果均以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示;相关性分析采用 pearson 分析,计算相关系数。

2 结果

2.1 APP/PS1 双转基因小鼠学习记忆能力的改变

从测试第 1 天开始,模型组动物的逃避潜伏期就明显高于正常对照组($P < 0.05$),一直持续到第 4 天;经过治疗,石杉碱甲在第 3 天的时候能够明显减少逃避潜伏期,一直到实验结束($P < 0.05$)。其中 $n = 14$ 代表正常组有 14 只动物, $n = 8$ 代表模型组和石杉碱甲组各有 8 只动物(表 1)。

空间探索实验中,模型组动物在目标象限停留时间、游泳路程显著低于正常对照组($P < 0.05$),第一次穿越平台的时间比模型组显著增加($P < 0.05$),穿台次数显著减少($P < 0.05$);经过治疗,石杉碱甲能够增加目标象限时间、减少第一次穿台时间、增加穿台次数($P < 0.05$)(表 2)。

2.2 APP/PS1 双转基因小鼠实时步态行为的改变

2.2.1 APP/PS1 转基因小鼠步态中速度体态指标的改变

与正常对照组相比,模型组小鼠平均步行速度显著降低($P < 0.05$),平均步行周期、绝对值平均体转角和侧向移动均显著升高($P < 0.05$)。石杉碱甲能显著提高平均步行速度,($P < 0.05$),能降低平均步行周期和减少侧向移动,但没有达到统计学差异($P > 0.05$)(表 3)。

2.2.2 APP/PS1 转基因小鼠步态中四足支撑时相的改变

与正常对照组相比,模型组小鼠在一个步行周期中左后足、右后足支撑时相显著延长($P < 0.05$),石杉碱甲能显著缩短左后足、支撑时相($P < 0.05$),降低右后足支撑时相,但是没有统计学差异($P > 0.05$)(表 4)。

2.2.3 APP/PS1 转基因小鼠步态中四足摆动时相的改变

与正常对照组相比,模型组小鼠在一个步行周期中左后足、右后足摆动时相显著缩短($P < 0.05$),石杉碱甲能显著延长左后足支撑时相($P < 0.05$),能降低右后足支撑时相,但没有统计学差异($P > 0.05$)(表 5)。

表 1 APP/PS1 小鼠水迷宫逃避潜伏期的改变
Tab. 1 Changes on the escape latency in APP/PS1 transgenic mice

组别 Group	第一天 Escape latency of 1 st day	第二天 Escape latency of 2 nd day	第三天 Escape latency of 3 rd day	第四天 Escape latency of 4 th day
正常对照组 Control	57.21 ± 18.52 **	50.05 ± 32.52 *	45.72 ± 23.91 **	36.18 ± 24.55 **
模型组 Model	85.78 ± 6.81	69.47 ± 27.36	72.48 ± 26.82	73.25 ± 20.54
石杉碱甲片组 Huperzine A	77.55 ± 13.48	70.71 ± 18.74	60.34 ± 27.42 *	53.03 ± 24.56 *

注:模型组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 2 APP/PS1 转基因小鼠水迷宫空间探索实验结果的改变
Tab. 2 Changes on space exploration experiment in APP/PS1 transgenic mice

组别 Group	第一象限时间(s) Time spend in the target quadrant (s)	第一象限路程(cm) Distance swimming in the target quadrant (cm)	第一次穿台时间 First time passing though the platform	穿台次数 Number passing though the platform
正常对照组 Control	28.43 ± 11.97 *	189.62 ± 82.12 *	35.85 ± 29.36 *	2.84 ± 1.33 *
模型组 Model	23.31 ± 8.94	127.55 ± 96.03	69.33 ± 31.23	1.28 ± 2.21
石杉碱甲片组 Huperzine A	26.79 ± 10.47 *	159.47 ± 81.69	48.03 ± 39.22 *	2.83 ± 2.22 *

注:模型组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 3 APP/PS1 转基因小鼠步态中速度体态指标的改变
Tab. 3 Changes on speed and posture in APP/PS1 transgenic mice

组别 Group	平均速度 Average speed	平均步行周期 Average walking cycle	绝对值平均体转角 The absolute average body angle	侧向移动 Lateral movement
正常对照组 Control	167.74 ± 59.02 **	0.35 ± 0.06 *	2.21 ± 1.12 *	1.34 ± 0.63 *
模型组 Model	111.35 ± 37.52	0.50 ± 0.18	3.34 ± 2.39	1.93 ± 0.62
石杉碱甲片组 Huperzine A	206.03 ± 94.65 *	0.41 ± 0.12	3.44 ± 2.84	1.62 ± 0.51

注:模型组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 4 APP/PS1 转基因小鼠步态中四足支撑时相的改变
Tab. 4 Changes on support time in APP/PS1 transgenic mice

组别 Group	左前足支撑时相 Support time-LH	左后足支撑时相 Support time-LF	右前足支撑时相 Support time-RH	右后足支撑时相 Support time-RF
正常对照组 Control	0.53 ± 0.07	0.55 ± 0.12 *	0.50 ± 0.05	0.54 ± 0.07 *
模型组 Model	0.51 ± 0.13	0.67 ± 0.13	0.49 ± 0.14	0.61 ± 0.10
石杉碱甲片组 Huperzine A	0.53 ± 0.11	0.60 ± 0.08 *	0.52 ± 0.07	0.57 ± 0.18

注:模型组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 5 APP/PS1 转基因小鼠步态中四足摆动时相的改变
Tab. 5 Changes on swing time in APP/PS1 transgenic mice

组别 Group	左前足摆动时相 Swing time-LH	左后足摆动时相 Swing time-LF	右前足摆动时相 Swing time-RH	右后足摆动时相 Swing time-RF
正常对照组 Control	0.46 ± 0.07	0.44 ± 0.12 *	0.49 ± 0.05	0.45 ± 0.07 *
模型组 Model	0.49 ± 0.13	0.32 ± 0.13	0.50 ± 0.14	0.38 ± 0.10
石杉碱甲片组 Huperzine A	0.46 ± 0.11	0.39 ± 0.08 *	0.47 ± 0.07	0.42 ± 0.18

注:模型组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

2.2.4 APP/PS1 转基因小鼠步态中四足推进指数的改变

与正常对照组相比,模型组小鼠左前足、右前足、右后足推进指数均显著增加($P < 0.05$),石杉碱甲能显著降低左前足推进指数($P < 0.05$),降低

右前足。右后足推进指数,但没有统计学差异($P > 0.05$)(表 6)

2.2.5 APP/PS1 转基因小鼠步态中四足制动指数的改变

与正常对照组相比,模型组小鼠左前足、右前

足右后足制动指数均显著降低 ($P < 0.05$), 石杉碱甲能显著升高左前足制动指数 ($P < 0.05$), 升高右前足、右后足制动指数, 但是没有统计学差异 ($P > 0.05$)。

2.3 两种行为学的相关性分析

通过相关性分析得出, 最后一天动物认知功能的第一次穿台时间与双侧前足的制动指数相关度较高 (r 值分别为 -0.433 、 -0.379 , P 值分别为 0.039 和 0.079), 其余步态分析指标与认知功能相关指标关系都不大 (表 8、9、10)

表 6 APP/PS1 转基因小鼠步态中四足推进指数的改变
Tab.6 Changes on propulsion index in APP/PS1 transgenic mice

组别 Group	左前足推进指数 Propulsion index-LH	左后足推进指数 Propulsion index-LF	右前足推进指数 Propulsion index-RH	右后足推进指数 Propulsion index-RF
正常对照组 Control	0.51 ± 0.21 *	0.64 ± 0.09	0.54 ± 0.18 *	0.62 ± 0.11 *
模型组 Model	0.73 ± 0.10	0.63 ± 0.15	0.69 ± 0.10	0.70 ± 0.14
石杉碱甲片组 Huperzine A	0.58 ± 0.09 *	0.68 ± 0.07	0.61 ± 0.03	0.67 ± 0.14

注: 模型组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 7 APP/PS1 转基因小鼠步态中四足制动指数的改变
Tab.7 Changes on braking index in APP/PS1 transgenic mice

组别 Group	左前足制动指数 Braking index-LH	左后足制动指数 Braking index-LF	右前足制动指数 Braking index-RH	右后足制动指数 Braking index-RF
正常对照组 Control	0.48 ± 0.21 *	0.35 ± 0.09	0.46 ± 0.18 *	0.37 ± 0.11 *
模型组 Model	0.26 ± 0.10	0.36 ± 0.15	0.30 ± 0.10	0.29 ± 0.14
石杉碱甲片组 Huperzine A	0.41 ± 0.09 *	0.31 ± 0.07	0.38 ± 0.03	0.32 ± 0.14

注: 模型组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 8 认知功能与速度体态指标的关系
Tab.8 Relationship between cognitive function and speed and posture

		平均速度 Average speed	平均步行周期 Average walking cycle	绝对值平均体转角 The absolute average body angle	侧向移动 Lateral movement
第一象限时间 Time in the quadrant	r 值	-0.219	0.391	0.031	-0.054
	P 值	0.327	0.065	0.887	0.808
第一象限路程 Distance	r 值	-0.053	0.111	0.111	-0.077
	P 值	0.813	0.613	0.613	0.728
第一次穿台时间 First time	r 值	0.013	-0.041	-0.041	0.344
	P 值	0.955	0.854	0.854	0.108
穿台次数 passing number	r 值	0.01	0.052	0.052	-0.306
	P 值	0.964	0.812	0.812	0.156

表 9 认知功能与支撑时相指标的关系
Tab.9 Relationship between cognitive function and support time

		左前足支撑时相 Support time-LH	左后足支撑时相 Support time-LF	右前足支撑时相 Support time-RH	右后足支撑时相 Support time-RF
第一象限时间 Time in the quadrant	r 值	-0.065	0.372	-0.024	0.12
	P 值	0.767	0.081	0.913	0.586
第一象限路程 Distance	r 值	0.06	0.258	-0.192	0.022
	P 值	0.787	0.234	0.38	0.919
第一次穿台时间 First time	r 值	0.057	-0.261	-0.022	0.023
	P 值	0.797	0.229	0.92	0.917
穿台次数 passing number	r 值	-0.016	0.201	-0.006	0.02
	P 值	0.943	0.357	0.978	0.929

表 10 认知功能与制动指数指标的关系
Tab. 10 Relationship between cognitive function and braking index

		左前足制动指数 Braking index-LH	左后足制动指数 Braking index-LF	右前足制动指数 Braking index-RH	右后足制动指数 Braking index-RF
第一象限时间 Time in the quadrant	r 值	0.115	0.185	0.102	-0.093
	P 值	0.6	0.398	0.644	0.671
第一象限路程 Distance	r 值	0.271	0.028	0.184	-0.009
	P 值	0.211	0.898	0.401	0.966
第一次穿台时间 First time	r 值	-0.433	-0.035	-0.374	-0.102
	P 值	0.039	0.872	0.079	0.642
穿台次数 Passing number	r 值	0.301	0.048	0.115	0.178
	P 值	0.163	0.827	0.602	0.417

3 讨论

老年痴呆 (alzheimer's disease, AD) 是临床上发病率最高的痴呆类型, 临床表现主要是学习记忆能力的减退, 到了后期可能还有一些性格的改变, 生活无法自理, 给家庭和社会带来沉重的经济负担。寻找一种能够治疗 AD 的药物一直是医学工作者研究的目标。APP/PS1 双转基因小鼠是目前与临床上 AD 患者发病机制最为接近的模型动物。可能由于是转基因小鼠品系的不同, 老年斑出现的时间不一致。但是学习记忆能力减退出现时间的出入不大, 大概在 3~4 月龄时^[5]。本实验在 3 月龄时开始给予药物治疗, 在这一时期可能已经出现了学习记忆能力的减退。直到给药结束时, 动物 8 月龄, 学习记忆能力有明显的减退, 表现为逃避潜伏期增加, 在目标象限的停留时间和游泳路径减少等。石杉碱甲 (Huperzine A) 是从石杉属 (*Huperzia Bernh.*) 植物蛇足石杉 (*Huperzia serrata*, 又名千层塔) 中提取的一种石松生物碱, 前期研究表明 Huperzine A 是一种高效的、高选择性的可逆性胆碱酯酶抑制剂。可以与乙酰胆碱酯酶可逆性地结合, 抑制其活性, 从而提高中枢乙酰胆碱的水平, 并且对外周的作用不明显^[6]。还有其他的一些药理实验表明, Huperzine A 还具有抗氧化应激^[7]和抗凋亡^[8]的作用。是一个潜在的治疗 AD 的药物。通过 150 d 的连续给予石杉碱甲的治疗, 模型动物的逃避潜伏期明显缩短, 在目标象限停留时间和目标象限的游泳距离也增加, 说明石杉碱甲能够提高 APP/PS1 转基因小鼠的学习记忆能力。

学习记忆能力的减退固然是 AD 患者的最主要的临床表现, 但是 AD 患者其他功能的改变还未曾引起人们足够的认识。早在 1983 年, Visser H^[9]就已经注意到 AD 患者摔倒的概率要明显高于非痴呆患者。并且进行更进一步的观察, 发现 AD 患者步

长减少, 步速降低, 步频减少, 连续走步时的稳定性降低, 双足站立时间延长, 摆动幅度增加。但是观察到的这些只能证明 AD 患者的移动速度减慢, 并不能说明这些改变就能说明与摔倒概率增加有必然的联系。之后又有学者对有认知功能障碍, 并且在最近一年内有摔倒的患者进行更为细致的检测分析得出这样的结论: 摔倒的患者的步行周期和步幅的稳定性都没有一年内无摔倒病史的老年人要高。线性回归分析显示步行周期的不稳定也就预示着摔倒, 这个不行周期的不稳定与步幅、平行、步行速度, 甚至和心情都有一定的关系^[10]。以上均说明 AD 的患者出现步态行为的改变是很常见的。本次实验结果也显示 APP/PS1 模型鼠也有很多步态行为与正常对照组有差异。除了步行速度降低、步行周期延长与临床 AD 患者的症状相似外, 还得到了一些更为精细的参数: 摆动时相、支撑时相, 推进指数、制动指数等。摆动时相是指在一个步行周期中, 一只脚离地到紧接着的下一个步行周期开始时着地之间的时间与该足步行周期的比值, 支撑时相是指一只脚从着地开始到离开地面之间的时间与该足步行周期的比值, 支撑时相和摆动时相是成完全负相关的 ($r = -1$); 制动指数是指在一个步行周期中的支撑时相范围内, 一只足从着地时间算起到对地面的压强最大的时间止, 这段时间与该支撑时长的比值, 推进指数则是指从压强最大时间起到压强为零止, 这段时间与该支撑时长的比值, 推进指数和制动指数也是成完全负相关的 ($r = -1$)^[2]。本实验的数据显示: 随着的步行周期的延长, 后足支撑时相显著高于对照组, 这个与临床报道相一致。模型组动物的除左后足之外的其余三足的推进指数均显著高于正常对照组。正常对照组动物的两侧前足的推进指数与制动指数均在 50% 左右, 后足的推进要比前足的大, 这个我考虑为正常对照

(上转第 9 页)

0.05),但是骨髓长期造血干细胞及胸腺 T 细胞则没有显著变化($P > 0.05$)。这说明 Apo E 基因可能通过免疫调节作用影响 B220⁺、CD4⁺、CD8⁺ 淋巴细胞。Apo E 基因对骨髓造血干细胞的自我更新及分化功能是否有影响,尚需应用竞争性骨髓移植、体外克隆形成实验等进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Reue KL, Quon DH, O'Donnell KA, et al. Cloning and regulation of messenger RNA for mouse apolipoprotein E. *The Journal of biological chemistry* [J]. 1984, 259 (4): 2100 - 2107.
- [2] Ali K, Middleton M, Pure E, et al. Apolipoprotein E suppresses the type I inflammatory response in vivo. *Circulation research* [J]. 2005, 97(9): 922 - 927.

- [3] Murphy AJ, Akhtari M, Tolani S, et al. ApoE regulates hematopoietic stem cell proliferation, monocytosis, and monocyte accumulation in atherosclerotic lesions in mice. *The Journal of clinical investigation* [J]. 2011, 121: 4138 - 4149.
- [4] Kobayashi M, Srour EF. Regulation of murine hematopoietic stem cell quiescence by Dmtf1. *Blood* [J]. 2011, 118: 6562 - 6571.
- [5] Pietras EM, Warr MR, Passegue E. Cell cycle regulation in hematopoietic stem cells. *The Journal of cell biology* [J]. 2011, 195: 709 - 720.
- [6] Laskowitz DT, Lee DM, Schmechel D, et al. Altered immune responses in apolipoprotein E-deficient mice. *Journal of lipid research* [J]. 2000, 41: 613 - 620.

[修回日期] 2014-03-31

(下接第 25 页)

组的前足是用来控制方向的,而后足是用来驱动肢体前行的,分工比较明确。而模型组动物除左后足之外的三足的推进指数均远高于 50%,可能说明动物支配四足的神经功能不够健全,或者是有损伤,使得三足均驱动肢体前行。经过相关性分析,第一次穿台时间与双侧前足的制动指数是呈负相关的($r = -0.433, -0.374$),且与左前足相关性显著($P < 0.05$),这个可能是与临床上 AD 患者摔倒的概率增加有关。

由于本次实验的样本量较小,想完全从动物身上探索步态的确切改变,还需加大样本量,做进一步的研究。

参考文献:

- [1] Tinetti M E, Speechley M, Ginter S F. Risk factors for falls among elderly persons living in the community [J]. *New England journal of medicine*, 1988, 319(26): 1701 - 1707.
- [2] Li S D, Shi Z, Zhang H, et al. Assessing gait impairment after permanent middle cerebral artery occlusion in rats using an automated computer-aided control system [J]. *Behavioural brain research*, 2013(250): 174 - 191
- [3] VISSER H. Gait and balance in senile dementia of Alzheimer's type [J]. *Age and ageing*, 1983, 12(4): 296 - 301.
- [4] Alexander N B, Mollo J M, Giordani B, et al. Maintenance of balance, gait patterns, and obstacle clearance in Alzheimer's disease [J]. *Neurology*, 1995, 45(5): 908 - 914.

- [5] Garcia-Alloza M, Robbins E M, Zhang-Nunes S X, et al. Characterization of amyloid deposition in the APP^{swE}/PS1^{dE9} mouse model of Alzheimer disease [J]. *Neurobiology of disease*, 2006, 24(3): 516 - 524.
- [6] Tang X C, Han Y F. Pharmacological profile of huperzine A, a novel acetylcholinesterase inhibitor from Chinese herb [J]. *CNS Drug Reviews*, 1999, 5(3): 281 - 300.
- [7] Ved H S, Koenig M L, Dave J R, et al. Huperzine A, a potential therapeutic agent for dementia, reduces neuronal cell death caused by glutamate [J]. *Neuroreport*, 1997, 8(4): 963 - 967.
- [8] Xiao X Q, Zhang H Y, Tang X C. Huperzine A attenuates amyloid β -peptide fragment 25 - 35 - induced apoptosis in rat cortical neurons via inhibiting reactive oxygen species formation and caspase - 3 activation [J]. *Journal of neuroscience research*, 2002, 67(1): 30 - 36.
- [9] Visser H. Gait and balance in senile dementia of Alzheimer's type [J]. *Age and ageing*, 1983, 12(4): 296 - 301.
- [10] Hausdorff J M, Rios D A, Edelberg H K. Gait variability and fall risk in community-living older adults: a 1 - year prospective study [J]. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, 2001, 82(8): 1050 - 1056.
- [11] Holtzer R, Verghese J, Xue X, et al. Cognitive processes related to gait velocity: results from the Einstein Aging Study [J]. *Neuropsychology*, 2006, 20(2): 215.

[修回日期] 2014-03-03