

## 中年 CD-1 小鼠情景样记忆能力下降

何燕<sup>1</sup>, 陶飞<sup>1</sup>, 王芳<sup>1</sup>, 杨启纲<sup>1</sup>, 陈勇平<sup>2</sup>, 陈贵海<sup>1\*</sup>

(1. 安徽医科大学第一附属医院神经内科, 合肥 230022;

2. Department of Biomedical Engineering, Johns Hopkins University, Baltimore, MD21212)

**摘要:** 利用 3 次物体探索任务检测 13 月龄和 5 月龄 CD-1 小鼠的情景样记忆能力。结果表明, 13 月龄 CD-1 小鼠探索移动过的旧物体优先指数显著低于 5 月龄小鼠 ( $P < 0.05$ ), 但两组间对 2 个旧物体的优先指数及总探索时间均无显著性差异, 性别及年龄与性别的交互作用对这些指标均无显著性影响 ( $P_s > 0.05$ )。结果提示中年 CD-1 小鼠已存在情景样记忆能力减退, 且主要源自于“地点”要素。

**关键词:** 衰老; 情景样记忆; 小鼠

中图分类号: S865.13; R339.38; R338.64

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2012)01-0019-03

### Decline of episodic-like memory in the middle-aged CD-1 mice

HE Yan<sup>1</sup>, TAO Fei<sup>1</sup>, WANG Fang<sup>1</sup>, YANG Qi-gang<sup>1</sup>, CHEN Yong-ping<sup>2</sup>, CHEN Gui-hai<sup>1</sup>

(1. Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022;

2. Department of Biomedical Engineering, Johns Hopkins University, Baltimore, MD21212)

**Abstract:** In the present study, the abilities of episodic-like memory in 13- and 5-month-old CD-1 mice were explored using a three-trial object exploration task. The results showed that the 13-month-old mice had significantly lower preference index for exploring the spatially displaced “old familiar” object relative to the 5-month-old mice ( $P < 0.05$ ). However, there were no significant inter-group differences in the preference index exploring both “old familiar” objects and the total time exploring all of the four objects ( $P_s > 0.05$ ). Furthermore, neither of the sex and the interaction of age  $\times$  sex significantly affected these preference indexes and the total time ( $P_s > 0.05$ ). Our results indicated that the middle-aged CD-1 mice had declined episodic-like memory, which might be attributable to the component of “where” in the episodic-like memory task.

**Key words:** aging; episodic-like memory; mouse

衰老是生物体随时间推移而自发的维持细胞稳态的能力逐渐降低直至死亡的过程<sup>[1]</sup>。人口老龄化的加速使得年龄相关性学习记忆能力改变倍受关注, 衰老替代模型也得到深入研究。CD-1 小鼠为封闭群远交系鼠, 其遗传背景复杂, 与人类基因有很大同源性, 可以较好地模拟人类正常衰老时的认知情况<sup>[2]</sup>。人类和啮齿类动物正常衰老时通常出现学习记忆能力减退<sup>[3]</sup>, 而情景记忆减退在早期即可出现<sup>[4]</sup>。情景记忆指记住过去某个时间、地点的特定事件, 包括时间、地点及发生的事件三要素<sup>[5]</sup>, 在非语言动物中称为情景样记忆<sup>[6]</sup>。以往研究表明中

年 CD-1 小鼠已存在空间学习记忆的损害<sup>[7-8]</sup>。但是目前尚未发现全面评估中年 CD-1 鼠情景样记忆能力改变的报道。因此我们利用可同时反映情景记忆三要素的任务装置即 3 次物体探索任务, 探讨中年 CD-1 小鼠是否出现情景样记忆能力的改变。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物和一般程序

清洁级 CD-1 小鼠购于北京维通利华实验动物公司。在 1 月龄时转运到本实验室的饲养室, 普通环境下喂养。小鼠群养 (同性别小鼠 3~4 只·笼<sup>-1</sup>,

收稿日期: 2011-10-08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30872730) 和安徽省自然科学基金 (09020103001) 资助。

作者简介: 何燕, 女, 硕士研究生。

\* 通讯作者: 陈贵海, 男, 博士, 教授, 博士生导师。E-mail: chenguihai1964@163.com

雄鼠2月龄时单养)于垫锯木屑的塑料笼(25.5 cm × 15 cm × 14 cm)中。所有小鼠接受标准啮齿类食物,并自由进水。喂养环境的明暗周期为12 h(7:00开灯,19:00关灯),室温恒定于(21±1)℃,湿度为(55±5)%。入组小鼠要经过预选,剔除有明显缺陷(运动障碍、脱毛、体表可见明显肿块及大肚等)的小鼠。试验任务在亮周期内完成。每天至少提尾抚摸小鼠1次。试验开始1 h前动物被带进实验场地,以保持其对环境的适应。试验结束后最终纳入统计分析的小鼠数量为5月龄鼠13只(7雄、6雌)和13月龄鼠12只(6雄、6雌)。

## 1.2 情景样记忆检测

实验装置及程序参照文献<sup>[9]</sup>。将30 cm × 30 cm × 40 cm大小的敞口金属盒子内壁漆黑,围以黑色布帘。一白炽灯悬挂于装置中央1.8 m处以提供均匀光线(约3.0 lx)。一个连接电脑的摄像头位于装置上方以监测记录小鼠活动。试验程序如图1。熟悉期共12 d,各小鼠前7 d在无物体的装置内自由探索1 min,8~10 d自由探索5 min,11~12 d探索10 min·次<sup>-1</sup> × 3次(装置内有2个相同的物体A1和A2,每次间隔30 min)以使小鼠充分熟悉物体A。采样期(1 d)装置内4个相同的新物体(B1、B2、B3和B4)构成三角形(北面中间位置NC、南面中间SC、西南SW和东南角SE各一),小鼠自由探索10 min(采样期1)。50 min后移去物体B,4个相同的新物体C(C1、C2、C3和C4)置于四角(NW、NE、SW和SE),小鼠自由探索10 min(采样期2)。50 min后进入测试期。此时NW和SE位置上的物体C不变,而NE和SW位置上的物体C被物体B替换,小鼠自由探索10 min。每只小鼠探索后对装置和实验物体进行彻底清洗,先用90%的酒精擦洗,然后用流水冲洗,一次性毛巾擦干后备用。探索定义为小鼠鼻子正对着物体距离小于2 cm而且积极探索物体,绕圈子或坐在物体上不属探索行为。试

验过程中电脑和摄像头视频采集。通过视频和计时软件来分别记录小鼠探索物体B和C的时间。总探索时间小于15 s的3只小鼠予以淘汰。统计指标是优先指数(preferential index, PI)。探索旧物体B的 $PI_O = 2$ 个物体B时间/探索总时间。探索改变了位置的物体B的 $PI_{OD} =$ 位置改变物体B时间/物体B总时间。

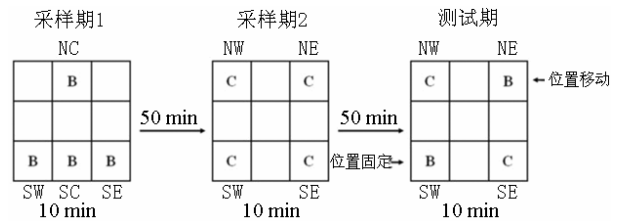


图1 情景记忆试验模式图

Figure 1 Schematic drawing of the episodic-like memory task

## 1.3 统计学分析

正态分布资料以均数±标准差表示,使用单变量方差分析(Univariate ANOVA)法进行独立样本统计学检验。差异的显著性水平定为 $P < 0.05$ 。分析由SPSS 17.0 for Windows软件完成。

## 2 结果与分析

方差分析表明年龄( $F_{(1,23)} = 3.100, P = 0.093$ )、性别( $F_{(1,23)} = 0.054, P = 0.819$ )及年龄与性别交互作用( $F_{(1,23)} = 0.114, P = 0.739$ )对总探索时间均无显著性影响,对 $PI_O$ 也是如此( $F_{(1,23)} = 0.381, 0.000, 1.765; P = 0.544, 0.986, 0.198$ )。但是,中年组小鼠的 $PI_{OD}$ 值显著低于青年组( $F_{(1,23)} = 4.472, P = 0.047$ ),不过性别及年龄与性别的交互作用对 $PI_{OD}$ 值也无显著性影响( $F_{(1,23)} = 0.119, 0.002; P = 0.733, 0.963$ )。详细结果见表1。

表1 青年及中年CD-1小鼠在情景记忆任务中的成绩

Table 1 Performance of the CD-1 mice at the young and middle-aged in the episodic-like memory task

指标 Index	5月龄 5-month-old			13月龄 13-month-old		
	总体 Total (n=13)	雄鼠 Males (n=7)	雌鼠 Females (n=6)	总体 Total (n=12)	雄鼠 Males (n=6)	雌鼠 Females (n=6)
TT (s)	22.8±4.8	22.4±3.5	23.3±6.3	20.1±2.4	20.2±2.4	20.0±2.5
$PI_O$	0.56±0.16	0.52±0.16	0.61±0.17	0.61±0.16	0.65±0.17	0.56±0.14
$PI_{OD}$	0.52±0.12	0.56±0.09	0.58±0.09	0.47±0.13 <sup>a</sup>	0.47±0.12	0.48±0.15

TT: 物体探索总时间;  $PI_O$ : 旧物体探索优先指数;  $PI_{OD}$ : 位置移动旧物体探索的优先指数。与5月龄组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

TT: total exploration time;  $PI_O$ : preference index exploring both "old familiar" objects;  $PI_{OD}$ : preference index exploring the displaced "old familiar" object. Compared to the 5-month mice, <sup>a</sup> $P < 0.05$ .

### 3 讨论

情景记忆是区别于语义记忆的海马依赖性的学习记忆任务<sup>[2]</sup>。在人类可直接通过语言描述来反映情景记忆能力, 在动物只能借助多次大量训练来达到检测目的, 但大量重复训练难免形成语义记忆。因此, Dere 等学者设计了 3 次物体探索任务, 用来测试动物模型能否同时编码并记住情景样记忆的三要素<sup>[9]</sup>。该任务包括物体再认、物体位置再认和物体在不同时间点出现的短暂顺序记忆<sup>[2]</sup>, 且能较好地适用于成年 C57BL/6 小鼠<sup>[9]</sup>、APPswe 转基因小鼠<sup>[10]</sup>、白化体 Swiss 小鼠<sup>[11]</sup> 及 Wistar 大鼠<sup>[12]</sup>。但在远交系啮齿类中尚无报道。本研究发现大多数 CD-1 小鼠总探索时间大于 15 s, 说明 CD-1 小鼠在该任务中探索活性较高, 且青年和中年小鼠间的探索活性无显著性差异。这提示该任务可能适用于 CD-1 小鼠情景样记忆能力检测并评估其衰老效应。

CD-1 小鼠平均寿命约为 18 个月, 其 13 月龄相当于人类中年。已有证据提示灵长类和啮齿类生物至中年期已进入以学习记忆能力减退为突出表现的衰老过程。这种衰老相关性学习记忆能力的减退通常最先体现在海马相关性学习记忆如情景记忆能力上。但 13 月龄 CD-1 小鼠是否已有情景样记忆能力减退尚未见报道。本研究中, 13 月龄小鼠在 3 次物体探索任务中的  $PI_{OD}$  值显著低于 5 月龄小鼠, 但是两年龄段小鼠间的  $PI_O$  值并无显著性差异且  $PI_O$  值均大于 0.5。这些结果提示中年 CD-1 小鼠有与青年小鼠类似的物体再认记忆, 但情景样记忆能力减退, 即对探索过的物体(事件)、物体的位置(地点)及物体出现顺序(时间)的记忆能力下降。该结果也提示中年 CD-1 小鼠情景样记忆能力的减退主要源自位置移动的旧物体(地点-时间-事件要素)而非位置没有变动的旧物体(时间-事件要素), 即“地点”记忆受损可能是衰老相关性情景样记忆减退的决定因素。情景记忆反映事件的是时空特征记忆的整合<sup>[4]</sup>。已有研究证明在“事件-地点-时间”为结构的记忆中, “地点”是联系“事件”和“时间”的关键<sup>[5]</sup>。作者以往的研究也证实衰老过程中空间记忆(地点-事件)优先受损<sup>[3]</sup>, 这是因为以“地点”为主的记忆是海马依赖性的。海马本身在区分熟悉事物的不同中并非必须, 但是如果在记忆判断中需要整合不同特征时则必不可少<sup>[13]</sup>, 即海马在时间、地点和事件三要素的整合中起关键作用<sup>[14]</sup>。这是否提示小鼠情景样记忆检测对于评估衰老效应与位置

再认记忆检测仅有同等价值? 这尚需更多研究证明。

### 参考文献:

- [1] Kowald A. Lifespan does not measure ageing[J]. *Bio-gerontology*, 2002, 3: 187-190.
- [2] Benjamin A, Thomas F, Stephen C. Altered performance characteristics in cognitive tasks: comparison of the albino ICR and CD1 mouse strains[J]. *Behav Brain Res*, 2002, 133: 351-361.
- [3] 陈贵海. 正确认识年龄损害记忆—动物学研究[J]. *安徽农业大学学报*, 2007, 34: 369-372.
- [4] Palmer A, Good M. Hippocampal synaptic activity, pattern separation and episodic-like memory: implications for mouse models of Alzheimer's disease pathology[J]. *Biochem Soc Trans*. 2011, 39: 902-909.
- [5] Clayton N S, Griffiths D P, Emery N J, et al. Elements of episodic-like memory in animals[J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2001, 356: 1483-1491.
- [6] Dere E, Silva M A, Huston J P. Higher order memories for objects encountered in different spatio-temporal contexts in mice: evidence for episodic memory[J]. *Rev Neurosci*, 2004, 15: 231-240.
- [7] Ennaceur A, Michalikova S, van Rensburg R, et al. Detailed analysis of the behavior and memory performance of middle-aged male and female CD-1 mice in a 3D maze[J]. *Behav Brain Res*, 2008, 187: 312-326.
- [8] Wang F, Xu W H, Wang C, et al. Can outbred mice be used as a mouse model of mild cognitive impairment?[J]. *NRR*, 2010, 5: 1650-1656.
- [9] Dere E, Huston J P, De Souza Silva M A. Episodic-like memory in mice: simultaneous assessment of object, place and temporal order memory[J]. *Brain Res Protoc*, 2005, 16: 10-19.
- [10] Good M A, Hale G, Staal V. Impaired “episodic-like” object memory in adult APPswe transgenic mice[J]. *Behav Neurosci*, 2007, 121: 443-448.
- [11] Prediger R D, Franco J L, Pandolfo P, et al. Differential susceptibility following  $\beta$ -amyloid peptide-(1-40) administration in C57BL/6 and Swiss albino mice: evidence for a dissociation between cognitive deficits and the glutathione system response[J]. *Behav Brain Res*, 2007, 177: 205-213.
- [12] Kart-Teke E, De Souza Silva M A, et al. Wistar rats show episodic-like memory for unique experiences[J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2006, 85: 173-182.
- [13] Komorowski R W, Manns J R, Eichenbaum H. Robust conjunctive item-place coding by hippocampal neurons parallels learning what happens where[J]. *J Neurosci*, 2009, 29: 9918-9929.
- [14] DeVito L M, Eichenbaum H. Distinct contributions of the hippocampus and medial prefrontal cortex to the “what-where-when” components of episodic-like memory in mice[J]. *Behav Brain Res*, 2010, 215: 318-325.