

# 不同频率音乐对小鼠空间学习记忆能力的影响

袁徐蕾<sup>1</sup>, 杨梅<sup>1</sup>, 韩文莉<sup>2</sup>, 谭冬梅<sup>2</sup>, 范尧<sup>1\*</sup>, 谭毅<sup>2\*</sup>

(1. 重庆医科大学公共卫生与管理学院, 重庆 400016; 2. 重庆医科大学实验动物中心, 重庆 400016)

**【摘要】** 目的 初步探究音乐对成年小鼠学习记忆能力是否产生影响。方法 80只C57小鼠随机分成10组, 每组雌雄各半。空白对照组: 不给予音乐刺激, 高频音乐3组、中频音乐3组、低频音乐3组, 分别用高频、中频、低频各3首进行音乐刺激, 每天5h, 连续6d。第7天进行水迷宫测试, 期间保持音乐刺激不变, 测试指标为潜伏期, 经过平台次数和平台象限停留时间。结果 音乐组与空白组相比, 小鼠逃避潜伏期明显缩短( $P < 0.05$ ), 经过平台次数和平台象限停留时间虽有增多, 但差异无显著性( $P > 0.05$ )。各音乐组之间检测指标差异无显著性( $P > 0.05$ )。结论 所选9首音乐能提高成年小鼠学习记忆能力, 而不同频率音乐之间产生的影响未发现显著性差异。推测音乐刺激对小鼠的影响与音乐分类的标准、刺激周期长短、刺激时间点选择等因素密切相关。

**【关键词】** 音乐; 频率; 学习记忆能力

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017) 09-0071-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.09.013

## Impact of music of different frequencies on the spatial learning and memory ability of mice

YUAN Xu-lei<sup>1</sup>, YANG Mei<sup>1</sup>, HAN Wen-li<sup>2</sup>, TAN Dong-mei<sup>2</sup>, FAN Yao<sup>1\*</sup>, TAN Yi<sup>2\*</sup>

(1. School of Public Health and Management, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;

2. Laboratory Animal Center, Chongqing Medical University, Chongqing 400016)

**【Abstract】 Objective** To explore the impact of music of different frequencies on the spatial learning and memory ability of mice. **Methods** A total of 80 healthy 6~8 weeks old C57 mice were randomly divided into 10 groups, half male and half female in each group. The mice in the control group were not stimulated by music. The mice of the 3 groups of high-frequency music, 3 groups of medium-frequency music and 3 groups of low-frequency music were stimulated by music in corresponding range of frequency, respectively, for 5 h each day. After 6 d, the ability of spatial learning and memory of the mice was tested in the Morris water maze, with the same stimulation of music during the test. The indicators of the test included the avoiding latency, the frequency of passing the platform and the time spent to pass the quadrant of the mice in each group. **Results** Compared with the control group, the avoiding latency of the mice in the groups with stimulation by music was significantly shorter ( $P < 0.05$ ). The frequency of passing the platform and the time spent to pass the quadrant were increased, yet the difference was not significant ( $P > 0.05$ ). Moreover, there was no significant difference between the indicators of the 9 groups receiving music stimulation ( $P > 0.05$ ). **Conclusions** The 9 pieces of music we have selected can improve the ability of spatial learning and memory in adult mice, however, the effects of the music of different frequencies did not show significant difference. It is hypothesized that the impact of music stimulation on mice may be related to the criteria

**【基金项目】** 重庆市科委社会民生项目(编号: cstc2017shmsA0007); 重庆医科大学大学生科学研究与创新实验项目(编号: 201663)。

**【作者简介】** 袁徐蕾(1996-), 女, 本科生, 专业: 口腔医学。E-mail: yuan.xulei@qq.com

**【通讯作者】** 范尧(1974-), 女, 副教授, 研究方向: 音乐治疗学, E-mail: fanyaofanyao@126.com;

谭毅(1966-), 男, 研究员, 研究方向: 实验动物模型, E-mail: tanyee66@126.com \* 共同通讯

for music classification, the duration of cycle of music stimulation and the selection of time points of stimulation.

**【Key words】** Music; Frequency; Learning and memory ability

学习和记忆能力的提高一直是人们关注的热点,其影响因素包括情绪、内分泌、运动、训练以及诸多环境因素。音乐作为一种艺术形式,具有特殊的治疗作用,能够对人的生理和心理产生积极影响,调节人的情绪、血压、心率以及应激水平等<sup>[1-2]</sup>。动物实验发现,音乐可以促进大鼠和小鼠的大脑发育,增强神经的可塑性,提高其空间的学习和记忆能力。听觉皮层 NMDA 受体(N-methyl-D-aspartate receptor)是包括人类在内的哺乳动物学习和记忆过程中一类至关重要的神经连接通路,2 周龄大鼠聆听莫扎特的《D 大调双钢琴奏鸣曲 K. 448》之后,听觉辨别学习能力增强,NMDA 的亚单位 NR2B 蛋白的表达显著增加<sup>[3]</sup>。小提琴协奏曲《梁祝》作为刺激音乐可以提高大鼠的空间记忆能力,记忆能力的提高依赖于音乐刺激时间的长短,并与海马结构中 NMDA 受体表达上调有关<sup>[4]</sup>。迄今的研究发现,不同音乐对大小鼠大脑发育的影响效果并不一致,《梁祝》能明显提高成年昆明小鼠的空间记忆能力,而《莫扎特 D 大调小提琴协奏曲》的效果却不明显<sup>[5]</sup>。莫扎特音乐和《梁祝》均能增强雄性老年 Wistar 大鼠的学习记忆能力,而摇滚音乐的效果不明显<sup>[6]</sup>。

音乐对大小鼠空间学习和记忆能力具有一定正性影响的初步试验结果提示,对音乐的治疗效果值得深入研究。研究方案中涉及许多因素的选择,包括音乐片段、音乐刺激时间、刺激方式、受试动物、评价模型等等。音乐是由频率、节奏、旋律、音色、音准等元素构成的复杂艺术形式<sup>[7]</sup>,在音乐治疗过程中,不同构成元素产生的效果存在差异<sup>[8]</sup>。人类的声频范围为 20 Hz ~ 20 000 Hz,最敏感的频率区间是 1000 Hz ~ 4000 Hz,低于 20 Hz 的声波叫次声波,高于 20 000 Hz 的声波叫超声波,都超出了人耳的听觉能力。啮齿类动物的声频范围为 200 Hz ~ 90 000 Hz<sup>[9]</sup>,对高频声波反应灵敏。目前已有研究在音乐选取方面较为单一,很少专门考虑所选音乐中的频率成分,本研究采用软件将音乐分析之后分为高频、中频、低频 3 个组,对 C57 小鼠进行短期刺激,通过 Morris 水迷宫的行为学评价,探究不同频率音乐对小鼠学习记忆能力的影响,为音乐在临床治疗的应用提供实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物

SPF 级 C57 小鼠 80 只,6 ~ 8 周龄,体重 20 ~ 25 g,雌雄各半,来源于重庆医科大学实验动物中心 [SCXK (渝) 2012 - 0001]。饲养观察于 IVC 笼架里 [SYXK (渝) 2012 - 0001]。

#### 1.1.2 实验仪器

山水 (Sansui) A38S 迷你插卡小音箱 (山水电子有限公司);众实 ZS-001 Morris 水迷宫 (成都泰盟科技有限公司);泰仕声量计 (台湾泰仕电子工业股份有限公司)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 音乐选取与分类

研究人员使用 Cool Edit Pro 软件对多首经典钢琴曲目进行分析,最终选出 9 首曲目用于实验,分为高频音乐组 (主要频率在 3000 ~ 4000 Hz) 3 首:《土耳其进行曲》(KV. 331) (莫扎特),《小狗圆舞曲》(Op. 64, No. 1) (肖邦),《春节序曲》(李焕之);中频音乐 (主要频率在 2000 ~ 3000 Hz) 3 首:《夜曲》(Op. 9, No. 1) (肖邦),《夜曲》(Op. 9, No. 2) (肖邦),《钢琴奏鸣曲》(KV. 457-II) (莫扎特);低频音乐 (主要频率在 2000 Hz 以下) 3 首:《葬礼进行曲》(Op. 35) (肖邦),《森林情景——恶名昭彰的地方》(Op. 82) (舒曼),《致野玫瑰》(Op. 51) (麦克道威尔),见图 1。

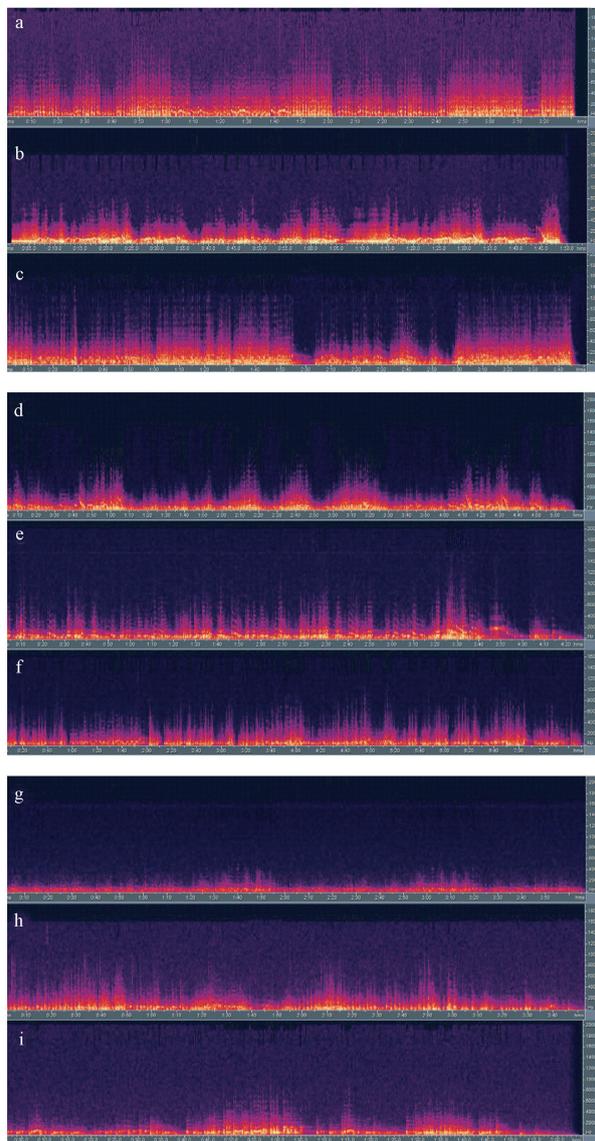
#### 1.2.2 分组

将 80 只小鼠随机分为 10 组,雌雄各半,分别为:空白对照组、高频音乐组 1、高频音乐组 2、高频音乐组 3、中频音乐组 1、中频音乐组 2、中频音乐组 3、低频音乐组 1、低频音乐组 2、低频音乐组 3。每组两笼,每笼 4 只,分别饲养于 IVC 鼠笼中,自由进水进食。

#### 1.2.3 干预措施

将小音箱用胶带固定在 IVC 笼盒的侧壁上,声量计测得音箱关闭时每个笼盒中的声响为 45 ~ 50 dB,笼盒外声响为 50 dB。音乐播放时笼盒内声响度为 60 ~ 70 dB,笼盒外环境噪声仍为 50 dB,各组小鼠接受音乐刺激时互不干扰。

每天上午 9:00 ~ 11:30,下午 15:00 ~ 17:30 各



注:a:《土耳其进行曲》;b:《小狗圆舞曲》;c:《春节序曲》;d:《夜曲》(Op. 9, No. 1);e:《夜曲》(Op. 9, No. 2);f:《钢琴奏鸣曲》;g:《葬礼进行曲》;h:《森林情景——恶名昭彰的地方》;i:《致野玫瑰》(Op. 51)。

图1 音乐频率分组图

Note. a: *Turkish March* (KV. 331); b: *Minute Waltz* (Op. 64, No. 1); c: *Spring Festival Overture*; d: *Nocturne* (Op. 9, No. 1); e: *Nocturne* (Op. 9, No. 2); f: *Piano Sonata* (KV. 457-II); g: *Funeral March* (Op. 35); h: *Forest Scenes* (Op. 82); i: *To a Wild Rose* (Op. 51).

Fig.1 Types of the music of high-, medium- and low-frequency

音乐组 IVC 鼠笼中的音箱分别播放相应音乐曲目,空白组放置相同音箱但保持关闭,持续 6 d,期间小鼠自由进食进水。

#### 1.2.4 Morris 水迷宫测试

测试期间保持音乐刺激不变。迷宫内加入清水和少量伊利纯牛奶,控制水温在 18℃ ~ 22℃,水

面高出平台约 1 cm,肉眼看不见平台。自动记录仪最大潜伏期设为 90 s。

定位航行实验:干预 6 d 后开始进行。第 7 ~ 10 天的每天早上 9:00 开始进行。分别从水池东南西北 4 个人水点将小鼠背向平台放入水池中,观察并记录小鼠找到并爬上平台所需时间,即逃避潜伏期。90 s 内找不到平台者,将其引上平台,并使其在平台上停留 10 s。连续测试 4 d。

空间探索实验:第 11 天进行。撤去平台,将小鼠从原平台相对的位置背向平台放入水池中,通过系统记录并分析小鼠在 90 s 内的游泳轨迹,计算小鼠经过平台所在位置的次数和在平台象限游泳的时间。

#### 1.3 统计学方法

各组实验数据用平均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,采用重复测量方差分析,SPSS 17.0 统计软件对数据进行分析,以  $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

定位航向实验中,各音乐组与空白组相比,第 1 ~ 4 天潜伏期明显缩短(除个别组  $P$  略大于 0.05 外,其它均为  $P < 0.05$ )。而各音乐组之间潜伏期差异无显著性( $P > 0.05$ )(表 1)。

空间探索实验中,经过平台次数和平台象限停留时间各组间差异无显著性( $P > 0.05$ ),但仍显示音乐组穿越平台次数和平台象限停留时间的值较空白组大(表 2)。

## 3 讨论

学习和记忆是一个由脑支配的复杂过程。已有研究表明,脑内多种成分参与了该过程,包括相关神经递质、蛋白质、神经肽以及 RNA 等<sup>[10]</sup>。音乐作为一种艺术形式,已不仅限于艺术欣赏和审美领域,而是逐步渗透到医疗、心理等领域<sup>[11]</sup>。国内外多项研究表明,出生后的早期音乐刺激,可增强大鼠 NMDA 受体介导的神经可塑性,增强其在听觉分辨学习任务中的能力<sup>[12]</sup>。围产期的音乐刺激,既有助于抵抗大鼠由于胫胝体离断术造成的空间记忆能力下降<sup>[13]</sup>,也可通过影响 BDNF/TrkB 细胞内信号传导通路,诱导小鼠学习记忆功能能力提升<sup>[14]</sup>。同时,成年小鼠在接受连续 30 d 的莫扎特 K 448 奏鸣曲刺激后,海马、大脑皮质基因表达受到显著影响,空间记忆能力和恐惧刺激记忆也得到提高<sup>[15]</sup>。

表 1 各组小鼠在 Morris 水迷宫的逃避潜伏期 ( $\bar{x} \pm s, n=8, s$ )

Tab. 1 The avoiding latency of mice in each group in the Morris water maze test

组别 Groups	第一天 1st day	第二天 2nd day	第三天 3rd day	第四天 4th day
空白组 Control group	83.98 ± 12.82	58.85 ± 21.52	46.82 ± 15.56	37.82 ± 11.75
低频音乐组 1 Group 1 of low-frequency music	68.04 ± 29.77 *	46.76 ± 29.56	30.34 ± 22.96 *	21.71 ± 19.07 *
低频音乐组 2 Group 2 of low-frequency music	65.81 ± 31.01 *	43.00 ± 22.18	35.61 ± 28.51	22.49 ± 19.18 *
低频音乐组 3 Group 3 of low-frequency music	65.46 ± 32.05 *	46.10 ± 21.24 *	33.37 ± 16.69 *	23.82 ± 12.17 *
中频音乐组 1 Group 1 of medium-frequency music	65.35 ± 32.59 *	44.93 ± 22.69 *	34.12 ± 27.85 *	23.92 ± 21.55 *
中频音乐组 2 Group 2 of medium-frequency music	67.59 ± 26.50 *	43.75 ± 28.39 *	34.62 ± 18.06	22.38 ± 19.64 *
中频音乐组 3 Group 3 of medium-frequency music	67.23 ± 29.34 *	43.48 ± 32.95 *	32.62 ± 27.38 *	23.97 ± 19.22 *
高频音乐组 1 Group 1 of high-frequency music	66.26 ± 34.04 *	42.62 ± 33.03 *	34.46 ± 20.41	22.81 ± 19.73 *
高频音乐组 2 Group 2 of high-frequency music	66.77 ± 30.10 *	45.08 ± 24.22 *	32.64 ± 17.61 *	24.22 ± 15.55 *
高频音乐组 3 Group 3 of high-frequency music	69.45 ± 27.43 *	43.42 ± 27.30 *	32.87 ± 20.75 *	24.14 ± 19.45 *

注:与空白组比较, \* $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the control group, \* $P < 0.05$ .

表 2 小鼠经过 Morris 水迷宫平台次数和平台象限时间 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Tab. 2 Frequency of passing the platform and time spent to pass the quadrant of mice in each group in the Morris water maze on the 5th day

组别 Groups	平台象限活动时间/s Time for passing the quadrant	虚拟平台穿越次数 Frequency of passing the platform
空白组 Control group	13.03 ± 2.69	3.00 ± 2.45
低频音乐组 1 Group 1 of low-frequency music	19.29 ± 6.84	4.25 ± 2.12
低频音乐组 2 Group 2 of low-frequency music	16.79 ± 7.58	3.75 ± 2.44
低频音乐组 3 Group 3 of low-frequency music	14.28 ± 5.91	4.25 ± 1.83
中频音乐组 1 Group 1 of medium-frequency music	18.13 ± 1.72	5.13 ± 2.90
中频音乐组 2 Group 2 of medium-frequency music	14.57 ± 2.46	3.88 ± 2.17
中频音乐组 3 Group 3 of medium-frequency music	14.54 ± 5.14	6.13 ± 3.40
高频音乐组 1 Group 1 of high-frequency music	17.59 ± 8.16	4.88 ± 3.48
高频音乐组 2 Group 2 of high-frequency music	14.29 ± 4.52	4.56 ± 3.50
高频音乐组 3 Group 3 of high-frequency music	16.56 ± 5.36	4.88 ± 2.03

音乐分类方式多种多样,不同风格的音乐刺激效果不同。有学者研究莫扎特 K. 250 的高、中、低频段对高血压大鼠的降压效果,发现高频段音乐降

压效果相对较好,认为高频段可能是莫扎特音乐对脑功能产生影响的基础<sup>[16]</sup>。张峰等<sup>[17]</sup>在研究不同频率音乐对肉鸡生产性能时,发现高频和低频音乐

组肉鸡采食量显著高于次声频率和中频组。本研究针对不同频率音乐进行分组,并进行探究。为排除不同乐器的音色可能造成的干扰,所选音乐皆为经典钢琴曲目。钢琴的声频范围为 27.5 ~ 4186 Hz<sup>[18]</sup>。实验结果表明,音乐组小鼠的空间学习记忆能力相比空白组得到了明显增强,说明音乐在一定程度上兴奋了脑内相关成分,进一步证实其在提高学习记忆能力方面的作用。但高频、中频、低频音乐组之间没有发现显著差异,这与其它研究结果存在一定差距。可能的原因有,小鼠的听阈范围为 200 ~ 90 000 Hz,远高于人类,实验所选不同频率音乐的频率间隔范围相对较小,可能均远低于其最适听阈;与其它实验相比,本研究给予小鼠的音乐刺激时长较短(5 h/d,持续 6 d),可能还不足以改变小鼠相应生理因素;9 首曲目除在频率上存在差异外,其它音乐元素也都不尽相同,《春节序曲》为中国民族音乐,其余为西方古典音乐,音乐风格不完全一致,从而造成各音乐组之间的差异不明显。

迄今为止,用于动物实验或临床试验的音乐没有统一、明确的分类标准,使用的音乐曲目数量较少,种类局限。鉴于动物听觉中枢神经元对于声音刺激的频率、时间、强度、空间信息等编码过程与人类的差异<sup>[19]</sup>,各音乐元素对动物和人类产生的具体作用还有待进一步研究。本研究选用正常人类音乐中不同频率范围的曲目,仅对频率这一音乐元素进行了初步探究,具有一定局限性。动物与人类在听阈范围存在较大差异,更高频率范围的音乐或者使用专业软件对已有音乐作品中的频率进行倍增之后的音乐值得在动物实验中继续尝试。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Grocke D, Bloch S, Castle D. The effect of group music therapy on quality of life for participants living with a severe and enduring mental illness [J]. *J Music Ther*, 2009, 46(2): 90 - 104.
- [ 2 ] Raglio A, Oasi O, Gianotti M, et al. Effects of music therapy on psychological symptoms and heart rate variability in patients with dementia. A pilot study [J]. *Curr Aging Sci*, 2010, 3(3): 242 - 246.
- [ 3 ] Kim H, Lee MH, Chang HK, et al. Influence of prenatal noise and music on the spatial memory and neurogenesis in the hippocampus of developing rats [J]. *Brain Dev*, 2006, 28(2): 109 - 114.
- [ 4 ] 王增贤, 王晓亚, 王怀经, 等. 音乐对大鼠学习和记忆以及海马 NMDA 受体表达的影响 [J]. *第四军医大学学报*, 2004, 25(24): 2237 - 2240.
- [ 5 ] 胡晶晶, 陆大祥, 戚仁斌, 等. 不同类型音乐对小鼠空间学习记忆能力及机制的初步研究 [J]. *暨南大学学报(医学版)*, 2007, 28(2): 132 - 135.
- [ 6 ] 何颖, 李冬梅, 陶文雁, 等. 不同类型音乐对老年大鼠学习记忆能力及免疫机能的影响 [J]. *中国免疫学杂志*, 2014, 30(2): 182 - 186.
- [ 7 ] 陆悦. 音乐因素、人格及情境对音乐情绪的影响 [D]. 西南大学, 2014.
- [ 8 ] Lemmer B. Effects of music composed by Mozart and Ligeti on blood pressure and heart rate circadian rhythms in normotensive and hypertensive rats [J]. *Chronobiol Int*, 2008, 25(6): 971 - 986.
- [ 9 ] Carden SE, Hofer MA. Effect of a social companion on the ultrasonic vocalizations and contact responses of 3-day-old rat pups. [J]. *Behav Neurosci*, 1992, 106(2): 421 - 426.
- [ 10 ] 张延光, 刘金叶, 靳琰蕾. 学习和记忆的生化机制 [J]. *卫生职业教育*, 2008, 26(10): 155 - 156.
- [ 11 ] 姜力, 韦莉萍. 音乐治疗与临床的研究进展 [J]. *护士进修杂志*, 2005, 20(9): 809 - 811.
- [ 12 ] Xu J, Yu L, Cai R, et al. Early auditory enrichment with music enhances auditory discrimination learning and alters NR2B protein expression in rat auditory cortex [J]. *Behav Brain Res*, 2009, 196(1): 49 - 54.
- [ 13 ] Amagdei A, Balteş FR, Avram J, et al. Perinatal exposure to music protects spatial memory against callosal lesions [J]. *Int J Dev Neurosci*, 2010, 28(1): 105 - 109.
- [ 14 ] Kim CH, Lee SC, Shin JW, et al. Exposure to music and noise during pregnancy influences neurogenesis and thickness in motor and somatosensory cortex of rat pups [J]. *Int Neurosci J*, 2013, 17(3): 107 - 113.
- [ 15 ] Meng B, Zhu S, Li S, et al. Global view of the mechanisms of improved learning and memory capability in mice with music-exposure by microarray [J]. *Brain Res Bull*, 2009, 80(1 - 2): 36 - 44.
- [ 16 ] Akiyama K, Sutoo D. Effect of different frequencies of music on blood pressure regulation in spontaneously hypertensive rats [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 487(1): 58 - 60.
- [ 17 ] 张峰, 刘晓丹, 姚昆, 等. 不同声音刺激对艾维肉鸡生产性能的影响 [J]. *中国家禽*, 2012, 34(3): 14 - 17.
- [ 18 ] 乐海, 石影彬. 流行、经典电子琴弹奏曲集: 五线谱、简谱对照 [M]. 北京: 同心出版社, 2015.
- [ 19 ] Alworth LC, Buerkle SC. The effects of music on animal physiology, behavior and welfare [J]. *Lab Anim (NY)*, 2013, 42(2): 54 - 61.