

阿尔茨海默病转基因小鼠极早期嗅觉工作记忆的损害特征

张记春¹, 黄庚娣¹, 孟雪¹, 田永路², 于欣¹, 张晨^{3*}, 王华丽^{1*}

(1. 北京大学第六医院, 北京大学精神卫生研究所, 国家精神心理疾病临床医学研究中心, 痴呆诊治转化医学研究北京市重点实验室, 北京 100191; 2. 北京大学前沿交叉学科研究院生命科学联合中心, 北京 100871; 3. 北京大学大学生命科学学院, 北京 100871)

【摘要】 目的 探讨阿尔茨海默病转基因小鼠极早期嗅觉工作记忆损害特征。**方法** 选用5周龄雄性5XFAD转基因及野生型小鼠各9只, 9周龄雄性5XFAD转基因与野生型小鼠各8只, 采用嗅觉广度测验进行测试, 以嗅觉广度、气味辨别错误数和准确率评估嗅觉工作记忆能力。**结果** 与同龄野生型小鼠相比, 9周龄转基因小鼠嗅觉广度明显降低($P < 0.05$), 错误次数明显增高($P < 0.05$), 气味辨别准确率显著降低($P < 0.05$)。此外, 与5周龄转基因小鼠相比, 9周龄转基因小鼠嗅觉广度明显降低($P < 0.05$)。而5周龄5XFAD小鼠的嗅觉广度、错误次数以及气味辨别准确率与野生型之间差异无显著性($P > 0.05$)。**结论** 9周龄5XFAD转基因小鼠出现显著嗅觉工作记忆损害, 提示嗅觉工作记忆损害可能是AD小鼠模型极早期认知损害的敏感指标。

【关键词】 阿尔茨海默病; 嗅觉广度; 转基因小鼠; 工作记忆

【中图分类号】 Q95-33

【文献标识码】 A

【文章编号】 1005-4847(2018) 04-0437-07

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2018.04.005

Olfactory working memory impairment in the transgenic mice at very early stage of Alzheimer's disease

ZHANG Jichun¹, HUANG Gengdi¹, MENG Xue¹, TIAN Yonglu², YU Xin¹, ZHANG Chen^{3*}, WANG Huali^{1*}

(1. Peking University Sixth Hospital, Peking University Institute of Mental Health, National Clinical Research Center for Mental Disorders, Beijing Dementia Key Lab, Beijing 100191, China. 2. Center for Life Sciences, Academy for Advanced Interdisciplinary Studies, Peking University, Beijing 100871. 3. School of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871)

Corresponding author: WANG Huali. Email: huali_wang@bjmu.edu.cn;

ZHANG Chen. Email: ch.zhang@pku.edu.cn

【Abstract】 Objective To explore the characteristic impairments of olfactory working memory in the transgenic mice at very early stage of Alzheimer's disease (AD). **Methods** Nine pairs of 5-week-old male 5XFAD mice and their wild-type littermates, and 8 pairs of 9-week-old male 5XFAD mice and their wild-type littermates were used. The study animals underwent the odor span test after extensive training. The odor span length, the number of errors and the accuracy rate of odor discrimination were used to evaluate the olfactory working memory. **Results** Compared with the wild-type group, the 9-week-old transgenic mice presented significantly shorter odor span length ($P < 0.05$), more errors ($P < 0.05$) and lower accuracy ($P < 0.05$) of odor discrimination. Besides, the 9-week-old transgenic mice exhibited

【基金项目】 北京市科学技术委员会脑医学研究重点专项(No. Z161100002616021); 国家重点研发计划项目(No. 2017YFC1311100)。Funded by Key Brain Project of Beijing Municipal Science and Technology Commission (No. Z161100002616021) and National Key Research and Development Project (No. 2017YFC1311100)。

【作者简介】 张记春(1991—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 阿尔茨海默病神经生物学机制。Email: zhangjichun@pku.edu.cn

【通信作者】 王华丽(1972—), 女, 教授, 博士生导师。Email: huali_wang@bjmu.edu.cn;

张晨(1976—), 男, 研究员, 博士生导师。Email: ch.zhang@pku.edu.cn

significantly shorter odor span length than the 5-week-old transgenic mice ($P < 0.05$). However, there were no significant differences in the odor span length, the number of errors and the accuracy between the 5-week-old transgenic and wild-type mice ($P > 0.05$). **Conclusions** Olfactory working memory is impaired in the 9-week-old transgenic 5XFAD mice. It suggests that the olfactory working memory impairment might be considered as a sensitive indicator of very early cognitive impairment in the 5XFAD mice.

【Key words】 Alzheimer's disease; odor span length; transgenic mice; working memory

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种进行性神经退行性疾病,主要表现为记忆力减退、认知功能障碍和人格改变等症状^[1-2],疾病进程大致分为临床前阶段^[3-5]、轻度认知障碍阶段 (mild cognitive impairment, MCI)^[6]、痴呆阶段^[7]。目前尚无有效治疗手段,因此,AD 临床前阶段的早期识别与干预具有重要意义,其中,探索 AD 动物模型极早期认知行为特征可望有助于推进早期干预技术的研发效果评价。

Gilbert 等^[8]与 Devanand 等^[9]报道,嗅觉辨别和气味识别记忆障碍是 AD 最早的症状之一,且伴有嗅觉识别障碍的 MCI 患者很可能在 2 年内进展为 AD。Young 等^[10]采用 AD 的 Tg2576 转基因小鼠模型进行研究,发现 4 月龄转基因小鼠嗅觉工作记忆已明显下降,早于其空间辨别及学习与记忆能力损害,后者仅见于 9 月龄。既往研究发现,5XFAD 小鼠早在 6 周龄时即可检测到脑内 A β 生成,8 周龄时可检测到淀粉样斑块形成,采用水迷宫测验等行为学实验最早仅能在 4 ~ 5 月龄时检测出小鼠在学习与记忆等认知领域的认知损害^[11-12],远远滞后于脑内神经病理改变的形成。因此,我们推测,5XFAD 转基因小鼠淀粉样斑块形成初期即可导致嗅觉工作记忆损伤。因此,本研究旨在通过嗅觉广度行为学实验,探索 AD 转基因小鼠极早期嗅觉工作记忆损害特征。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

野生型小鼠及 5XFAD 小鼠 (品系编号:34840; 全称: B6SJL-Tg (APP^{SwFLon}, PSEN1 * M146 L * L286 V) 6799Vas/Mmjax) 均购自美国杰克逊实验室。5XFAD 小鼠繁殖采用 C57BL/6 小鼠与 SJL 品系小鼠杂交得到的 F1 代野生型雌鼠与杂合转基因雄鼠交配得到。新生鼠出生 21 d 后进行剪尾,利用 PCR 进行基因型鉴定,分笼饲养,每笼饲养小鼠 1

只。本研究选用 5 周龄转基因与野生型小鼠各 9 只,9 周龄转基因与野生型小鼠各 8 只开展实验。

所有实验动物均饲养于北京大学金光生命科学大楼地下一层实验动物中心 C 区标准化动物设施内【SYXK(京)2014-0028】,温度 (22 ± 2) °C,湿度 55% ~ 75%,照明采用 12 h 明暗交替 (7:00 ~ 19:00)。本课题经北京大学实验动物管理使用委员会批准 (IACUC) (审批编号: LSC-ZhangC-1),实验操作均按照《实验动物照顾和使用手册》的规定执行。

1.1.2 试剂与仪器

本研究通过动物活动箱 (44.5 cm $\times$ 19 cm $\times$ 22 cm, 3 mm 厚度,有机玻璃材质;购自北京大祥) 和嗅觉广度测试平台 (61 cm $\times$ 61 cm, 5 mm 厚度, PVC 材质,距离地面 76 cm,类似桌面;购自北京大祥) 进行行为学实验。

用于嗅觉广度测试的 24 种气味香料分别购自上海味好美 (肉豆蔻粉、莳萝草、玉桂粉、咖仁辣椒粉、百里香粉、洋葱粉、迷迭香粉、孜然粉、五香粉、丁香粉、罗勒叶)、南京浦味利 (八角粉)、上海典洋 (杏仁粉)、上海今良 (薄荷粉、芥末粉、菠菜粉)、杭州艺福堂 (抹茶粉)、上海康赢 (咖喱粉)、上海枫味 (可可粉)、北京吉得利 (生姜粉、白胡椒粉)、徐州大自然 (香菜粉、芹菜粉)、上海威铭 (咖啡粉),根据 Young 等^[13]的相关研究,排除了小鼠厌恶的大蒜等气味。

1.2 方法

1.2.1 嗅觉工作记忆行为学实验

嗅觉工作记忆行为学实验包括环境适应阶段、嗅觉探索训练阶段 (包括无味木屑探索、食渣木屑探索、气味辨别训练) 以及嗅觉广度测验阶段等三个阶段。

环境适应阶段 (1 ~ 3 d): 该阶段主要目的是使动物适应环境,消除动物对陌生环境的焦虑和恐惧。具体方法如下: 将实验小鼠放入实验平台上居中放置的动物箱内进行适应。适应结束后进行限

食,以增加后续行为学实验中的探索动力。

嗅觉探索训练阶段(4 ~ 11 d):该阶段包括无味木屑探索、食渣木屑探索以及气味辨别训练。经过训练,确保小鼠接触到所有要研究的 24 种气味,直至所有实验小鼠均能在 8 min 内找到 10 颗奖赏食物并吃掉,则表明嗅觉探索训练合格,并进入后续嗅觉广度测试。

嗅觉广度测试阶段(12 ~ 18 d):该阶段实验在活动平台上进行。平台背景色为白色,平台上共标注 24 个位置,分别是 1 ~ 24 号(图 1)。平台四个角落处的编号为 1、7、13、19。角落编号之间均匀分布 5 个数字编号。实验开始时,随机选择一个带有奖赏食物的气味碗 A+,放置到平台的随机编号位置。然后从平台中间释放小鼠,小鼠头部朝向 16 号位置,释放小鼠的瞬间开始计时。待其挖掘气味碗并成功找到食物时停止计时,并给予时间吃完食物。待其吃完食物后,取出小鼠放置到动物活动箱内,然后再随机加入新的气味碗 B+,此新加入的气味碗与挖掘过的气味碗 A-再次随机摆放位置,放入小鼠,开始计时。此时根据训练规则,小鼠应当挖掘藏有奖赏食物的新气味碗 B+而非 A-,如果小鼠挖掘了 B+碗,则停止计时并待其吃完食物后取出小鼠放置到活动箱内,再加入新的气味碗 C+并以此类推,直到完成所有 24 个气味。如若小鼠挖掘了气味碗 A-或 B-,则根据规则判定此行为错误,应该立即停止计时并取出小鼠,再次将两气味碗随机摆放位置再次进行实验直至小鼠挖掘正确的气味碗。如果小鼠单次实验时间超过 8 min 或者连续错误 10 次,则立即中止实验。此外,在每次实验开始前使用 75% 乙醇擦拭平台,以去除任何可能残留在平台表面的气味。在实验过程中,小鼠被轻微的限食以保持探索动力,限食操作并未造成小鼠体重低于初始体重的 85%。在该阶段实验结束后,小鼠被给予充分的食物和水继续饲养以进行接下来的实验。

在此实验中,记录小鼠在未犯错前所能准确辨别的气味碗数量即为嗅觉广度,同时记录小鼠探索过程所需平均时间、正确完成气味数、错误次数、正确率等。气味探索时间为小鼠完成每个气味探索所需时间的平均值。正确完成数是指小鼠未犯错一次探索完成的气味个数,错误数为小鼠在训练探索过程中累计错误次数。气味辨别正确率 = 正确完成气味个数 / (正确完成气味个数 + 错误次数)。

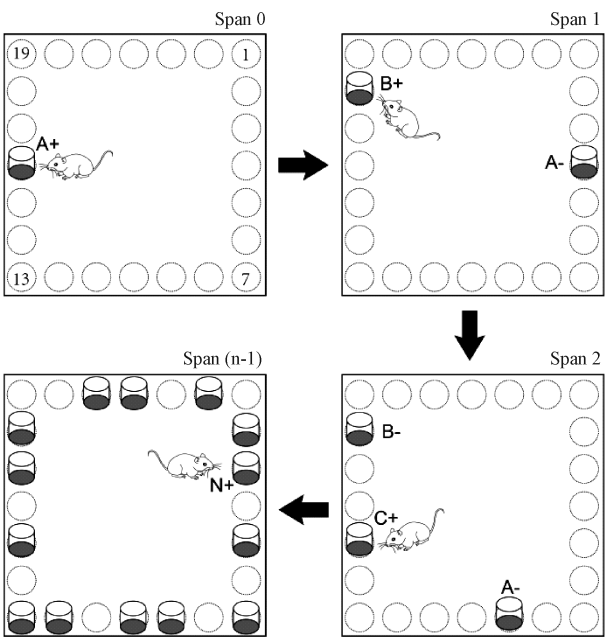


图 1 嗅觉广度测试示意图

Figure 1 Schematic diagram of mouse odor span task

1.2.2 硫磺素染色

取 5 周龄和 9 周龄小鼠,采用腹腔注射 1% 戊巴比妥钠溶液对小鼠进行麻醉。使用 4% 的多聚甲醛溶液进行灌流处理,将获取的脑组织再置于 4% 的多聚甲醛溶液中浸泡后固定,静置于 4℃ 冰箱中过夜。次日,将固定好的脑组织依次放置于 10%, 20%, 30% 蔗糖溶液中进行脱水处理。将冰冻包埋剂处理后的组织进行切片,厚度 10 μm。取制备好的脑组织切片进行硫磺素染色。具体方法:使用 1 × PBS 溶液洗 3 遍,每次 5 min;去除 1 × PBS 溶液后,滴加 200 μL 0.05% KMnO₄ 溶液,持续 20 min;用 1 × PBS 溶液清洗 1 遍,持续 5 min;滴加 200 μL 0.2% K₂S₂O₈ 和 0.2% 草酸混合液,持续 3 min;用 1 × PBS 溶液洗 1 遍,持续 5 min;滴加 200 μL 0.0125% 硫磺素溶液,持续 5 min,避光处理;滴加 200 μL 50% 乙醇溶液,持续 5 min;用 1 × PBS 溶液清洗 1 遍,持续 5 min;加入 10 ~ 20 μL 封片剂,进行封片处理。常温静置 1 h 后,使用蔡司 Axio Scan. Z1 全自动数字玻片扫描系统进行成像。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 进行统计分析。所有计量资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 进行描述,实验组与对照组组间比较用 *t* 检验。统计学显著性水平 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 嗅觉广度

如图 2 所示,在为期 7 d 的嗅觉广度测试中,5 周龄和 9 周龄转基因小鼠与野生型小鼠嗅觉广度均逐渐提高,其中,5 周龄组间差异无显著性 ($P >$

0.05,图 2a);在测试第 6 天和第 7 天,9 周龄转基因小鼠嗅觉广度显著低于野生型小鼠 ($P < 0.05$,图 2b)。如图 3 所示,在测试第 7 天,与 5 周龄转基因小鼠相比,9 周龄转基因小鼠嗅觉广度也显著降低 ($t = 2.614, P < 0.05$,图 3)。

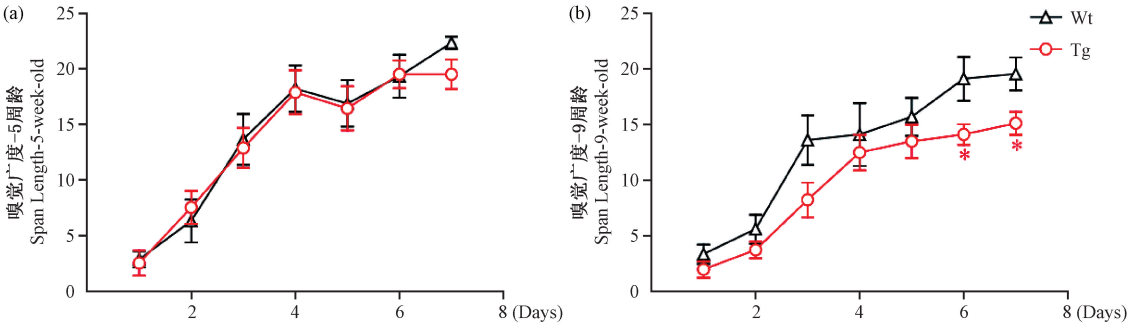


图 2 实验期间 5 周龄(a)和 9 周龄(b)转基因小鼠(Tg)与野生型小鼠(Wt)嗅觉广度

Figure 2 The odor span in the 5-week-old(a) and the 9-week-old(b) transgenic (Tg) and the wild-type mice (Wt) during the experimental period

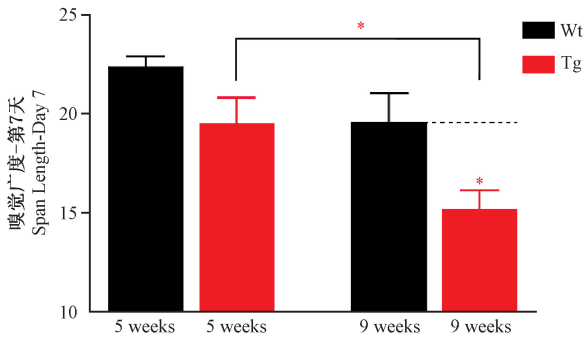


图 3 嗅觉广度测试第 7 天 9 周龄转基因小鼠嗅觉广度显著低于 5 周龄转基因小鼠

Figure 3 The 9-week-old transgenic mice had lower odor span than the 5-week-old transgenic mice at day 7 in the experiment of odor span task

2.2 错误次数

如图 4 所示,5 周龄和 9 周龄转基因小鼠和野生型小鼠在测试期间,前 3 d 错误次数均呈逐渐减少趋势,第 4 ~ 7 天错误次数趋于平稳。其中,5 周龄小鼠除实验第 3 天外 ($t = 2.868, P < 0.05$),其余时间同日错误次数组间差异均无显著性 ($P > 0.05$,图 4a)。而 9 周龄小鼠除实验第 2 天和第 5 天外,其余 5 d 转基因小鼠错误次数均显著高于野生型小鼠 ($P < 0.05$,图 4b)。

2.3 气味辨别正确率

5 周龄转基因小鼠与野生型小鼠正确率如图 5a 所示,除第 3 天外,转基因小鼠正确率显著高于野生型小鼠 ($t = 2.894, P < 0.05$),第 4 ~ 7 天两组正确率差异无显著。9 周龄转基因小鼠与野生型小鼠总

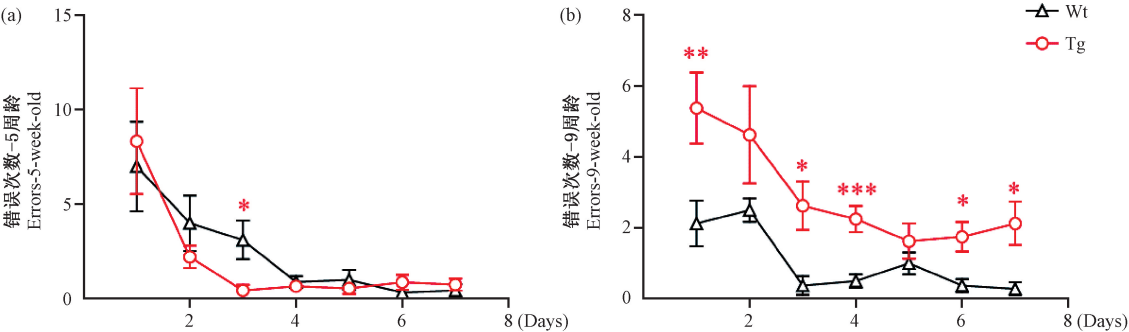


图 4 嗅觉广度实验期间 5 周龄(a)和 9 周龄(b)转基因小鼠(Tg)与野生型小鼠(Wt)探索错误次数

Figure 4 The number of errors during the odor span task in the 5-week-old (a) and the 9-week-old(b) transgenic (Tg) and wild-type (Wt) mice during the experimental period

体正确率差异有显著性,除第 2 天外,其余 6 d 9 周龄转基因小鼠正确率均显著低于野生型小鼠($P < 0.05$,图 5b)。在嗅觉广度测试第 7 天,9 周龄转基因

小鼠正确率显著低于 5 周龄转基因小鼠($t = 2.492, P < 0.05$,图 6)。

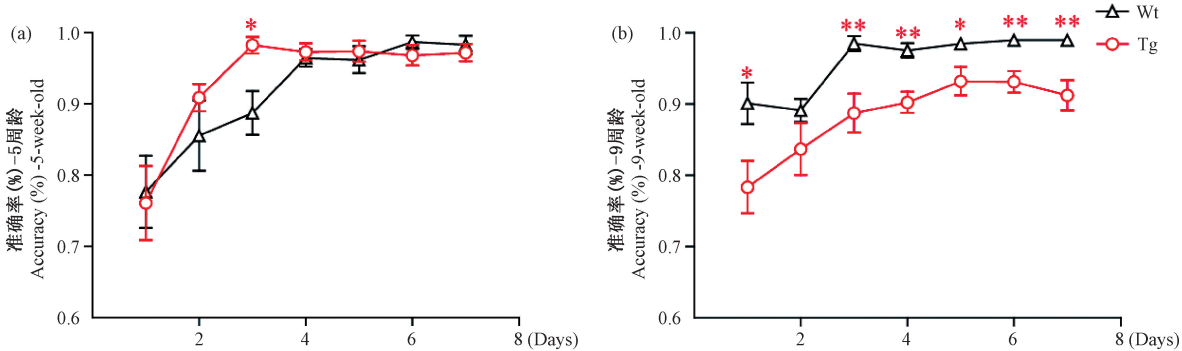


图 5 嗅觉广度测试期间 5 周龄(a) 和 9 周龄(b)转基因小鼠(Tg)与野生型小鼠(Wt)气味辨别正确率

Figure 5 The accuracy of odor discrimination in the 5-week-old (a) and the 9-week-old (b) transgenic (Tg) and wild-type (Wt) mice

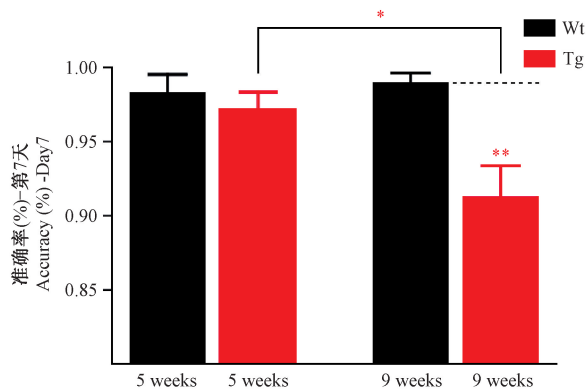


图 6 嗅觉广度测试第 7 天 5 周龄与 9 周龄转基因小鼠气味辨别正确率比较

Figure 6 Comparison of the accuracy of odor discrimination between 5-week-old and 9-week-old transgenic and wild-type mice at day 7 in the experiment of odor span task

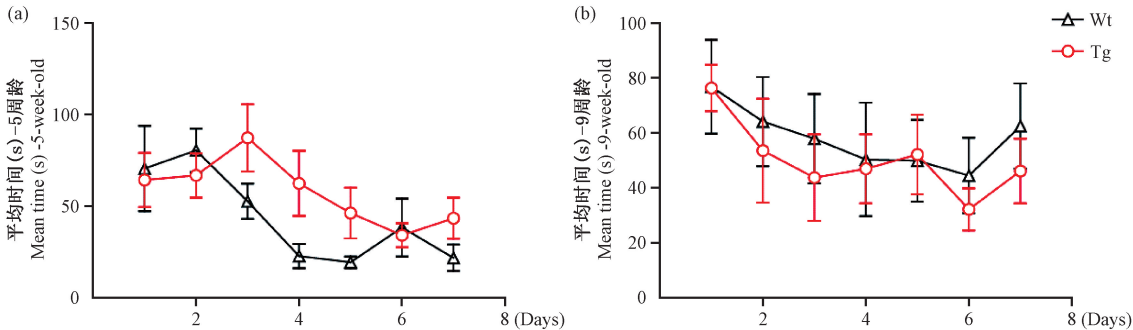


图 7 5 周龄(a) 和 9 周龄(b)转基因小鼠(Tg)与野生型小鼠(Wt)探索每种气味平均所需时间

Figure 7 The mean time of exploring each odor required in the odor span task in the 5-week-old(a) and the 9-week-old(b) transgenic (Tg) and wild-type (Wt) mice

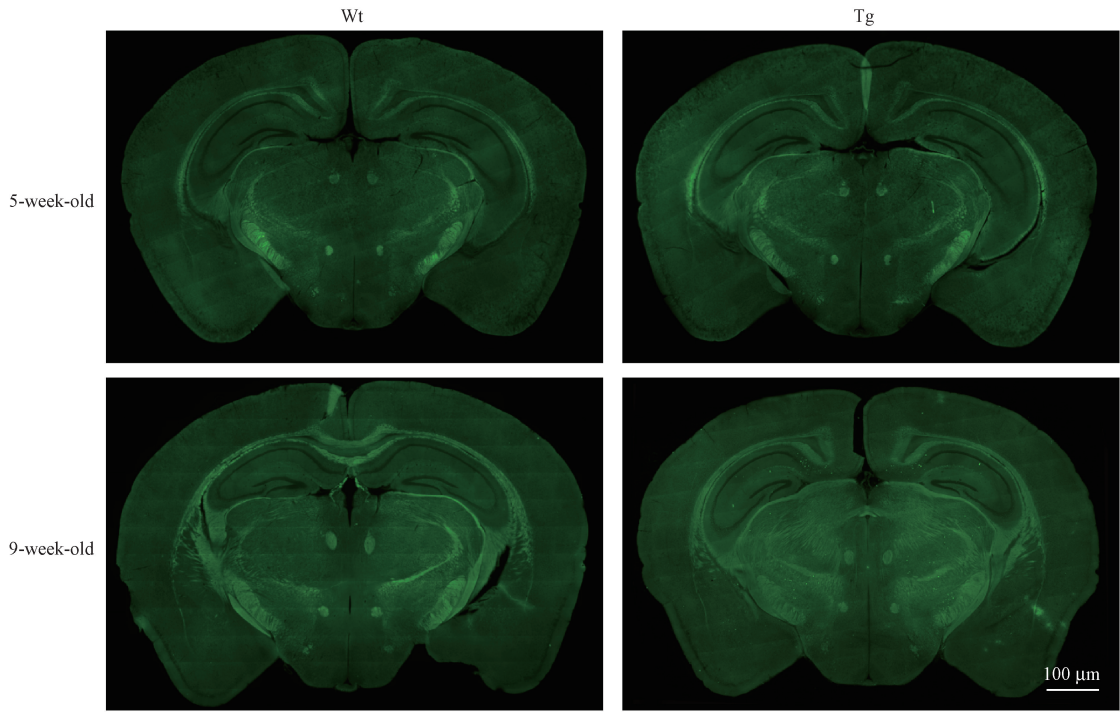


图 8 5 周龄和 9 周龄野生型小鼠(Wt)与转基因小鼠(Tg)β-淀粉样蛋白硫磺素染色

Figure 8 Results of Aβ thioflavin-S staining in the 5-week-old and 9-week-old transgenic (Tg) and wild-type (Wt) mice

的 Aβ 硫磺素染色结果表明,在嗅觉工作记忆尚未明显受损,即 5 周龄时,转基因小鼠与野生型小鼠脑内均未发现 Aβ 沉积。在嗅觉工作记忆损伤出现后,即 9 周龄时,转基因小鼠脑内已经出现 Aβ 沉积,而野生型小鼠脑内未发现 Aβ 沉积,这提示我们在疾病极早期,Aβ 的沉积已经对嗅觉工作记忆能力造成了影响。

嗅觉工作记忆任务是一种典型的非空间嗅觉工作记忆任务^[13-14],利用啮齿类动物的首选感觉形式——嗅觉,通过在转基因动物与其野生型同窝动物之间使用行为相关的刺激^[15],用来评估啮齿类动物对气味的工作记忆容量^[16]。已经有实验证明,通过嗅觉工作记忆任务测得的啮齿类嗅觉工作记忆容量,对胆碱能损伤较敏感。因此,嗅觉工作记忆任务可以提供足够的灵敏度来检测可能与 Aβ 沉积相关的认知表现中的细微差异^[10]。

Aβ 在最初可溶性单体聚集成为不可溶性淀粉样斑块的过程中可能发挥了神经毒性作用,导致突触效能降低、神经元钙稳态失衡、神经元功能障碍、神经元丢失等一系列瀑布级联反应^[17-19]。此外,Aβ 沉积在渐形成斑块的过程中,神经毒性会导致神经元的树突结构分支数量减少^[20-22],可抑制长时程增强,并破坏学习和记忆能力^[23-25],因此神经毒性不仅影响神经元结构完整性,而且造成神经元功

能损伤,势必造成认知功能下降。嗅觉广度与小鼠的嗅觉记忆容量有关,而气味辨别正确率和错误次数则涉及其工作记忆能力。本研究发现,9 周龄 5XFAD 转基因小鼠即已出现工作记忆下降,提示在其脑内出现淀粉样斑块形成初期,小鼠的认知功能即已出现相应损害。这与 Young 等^[10]在 Tg2576 转基因小鼠中的研究发现相似。

尽管 5XFAD 小鼠 9 周龄已出现脑内 Aβ 沉积,然而 Ohno 等^[12]的研究仅在 4 ~ 5 月龄时才发现转基因小鼠学习与记忆能力受损。本研究发现采用嗅觉相关的工作记忆任务,即可更早发现转基因小鼠存在的轻度认知下降,这为建立 AD 早期干预提供了较为敏感的神经认知行为学评价方法。而在人体中,有研究发现伴有嗅觉缺陷的 MCI 患者很可能在 2 年内进展为 AD^[8-9]。这也进一步提示未来可采用嗅觉工作记忆进行 AD 临床前阶段的评估,为早期干预提供最适“治疗窗”^[26]。

本研究建立的嗅觉工作记忆评价技术在国内尚属首次应用。然而,研究也存在一定不足。本研究仅从行为学层面揭示 5XFAD 极早期的认知改变,但对 Aβ 沉积所造成嗅觉工作记忆损伤的神经生物学机制还尚不明确,值得进一步研究。

总之,本研究发现 AD 转基因小鼠极早期存在嗅觉工作记忆受损,为揭示 AD 早期神经认知行为

的病理机制提供了一定科学依据。后期值得将嗅觉工作记忆与同时期神经病理特征之间进行更加深入的关联性研究,以进一步解释神经病理改变对认知功能的影响机制,为 AD 极早期行为学评价提供系统的评价。

参 考 文 献(References)

- [1] 贾建平. 中国痴呆与认知障碍诊治指南 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2016.
Jia JP. Chinese guidelines for diagnosis and management of cognitive impairment and dementia [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2016.
- [2] Koch G. Neurophysiological features of early cortical dysfunction in Alzheimer's disease [J]. Brain Stimulation, 2017, 10(2): 434.
- [3] Frota N, Nitrini R, Damasceno BP, et al. Criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: Recommendations of the Scientific Department of Cognitive Neurology and Aging of the Brazilian Academy of Neurology [J]. Dementia E Neuropsychol, 2011, 5(3): 146–152.
- [4] Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease [J]. Alzheimer's & Dementia, 2011, 7(3): 280–292.
- [5] Pietrzak RH, Lim YY, Neumeister A, et al. Amyloid- β , anxiety, and cognitive decline in preclinical Alzheimer disease: a multicenter, prospective cohort study [J]. JAMA Psychiatry, 2015, 72(3): 284–291.
- [6] Petersen RC, Lopez O, Armstrong MJ, et al. Practice guideline update summary: Mild cognitive impairment: Report of the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology [J]. Neurology, 2018, 90(3): 126–135.
- [7] Jack CR Jr, Knopman DS, Jagust WJ, et al. Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers [J]. Lancet Neurol, 2013, 12(2): 207–216.
- [8] Gilbert PE, Barr PJ, Murphy C. Differences in olfactory and visual memory in patients with pathologically confirmed Alzheimer's disease and the Lewy body variant of Alzheimer's disease [J]. J Int Neuropsychol Soc, 2004, 10(6): 835–842.
- [9] Devanand DP. Impaired identification of specific odors and cognition in older adults [J]. Am J Geriatr Psychiatry, 2018, pii: S1064–7481(18)30269–0.
- [10] Young JW, Sharkey J, Finlayson K. Progressive impairment in olfactory working memory in a mouse model of mild cognitive impairment [J]. Neurobiol Aging, 2009, 30(9): 1430–1443.
- [11] Oakley H, Cole SL, Logan S, et al. Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation [J]. J Neurosci, 2006, 26(40): 10129–10140.
- [12] Ohno M, Chang L, Tseng W, et al. Temporal memory deficits in Alzheimer's mouse models: rescue by genetic deletion of BACE1 [J]. Eur J Neurosci, 2010, 23(1): 251–260.
- [13] Young JW, Kerr LE, Kelly JS, et al. The odour span task: a novel paradigm for assessing working memory in mice [J]. Neuropharmacology, 2007, 52(2): 634–645.
- [14] Young JW, Crawford N, Kelly JS, et al. Impaired attention is central to the cognitive deficits observed in alpha 7 deficient mice [J]. Eur Neuropsychopharmacol, 2007, 17(2): 145–155.
- [15] Chouinard-Thuly L, Gierszewski S, Rosenthal GG, et al. Technical and conceptual considerations for using animated stimuli in studies of animal behavior [J]. Curr Zool, 2017, 63(1): 5–19.
- [16] Yao ZG, Hua F, Zhang HZ, et al. Olfactory dysfunction in the APP/PS1 transgenic mouse model of Alzheimer's disease: Morphological evaluations from the nose to the brain [J]. Neuropathology, 2017, 37(6): 485–494.
- [17] Busche MA, Konnerth A. Neuronal hyperactivity – A key defect in Alzheimer's disease? [J]. BioEssays, 2015, 37(6): 624–632.
- [18] Herrup K. The case for rejecting the amyloid cascade hypothesis [J]. Nature Neurosci, 2015, 18(6): 794–799.
- [19] Sáezorellana F, Fuentesfuentes MC, Godoy PA, et al. P2X receptor overexpression induced by soluble oligomers of amyloid beta peptide potentiates synaptic failure and neuronal dyshomeostasis in cellular models of Alzheimer's disease [J]. Neuropharmacology, 2018, 128: 366–378.
- [20] Šišková Z, Justus D, Kaneko H, et al. Dendritic structural degeneration is functionally linked to cellular hyperexcitability in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. Neuron, 2014, 84(5): 1023–1033.
- [21] Kommaddi RP, Das D, Karunakaran S, et al. A β mediates F-actin disassembly in dendritic spines leading to cognitive deficits in Alzheimer's disease [J]. J Neurosci, 2018, 38(5): 1085–1099.
- [22] Bate C, Williams A. Monomeric amyloid- β reduced amyloid- β oligomer-induced synapse damage in neuronal cultures [J]. Neurobiol Dis, 2018, 111: 48–58.
- [23] Freund RK, Gibson ES, Potter H, et al. Inhibition of the motor protein Eg5/Kinesin-5 in amyloid beta-mediated impairment of hippocampal long-term potentiation and dendritic spine loss [J]. Mol Pharmacol, 2016, 89(5): 552–559.
- [24] Shemer I, Holmgren C, Min R, et al. Non-fibrillar beta-amyloid abates spike-timing-dependent synaptic potentiation at excitatory synapses in layer 2/3 of the neocortex by targeting postsynaptic AMPA receptors [J]. Eur J Neurosci, 2006, 23(8): 2035–2047.
- [25] Lindner MD, Hogan JB, Krause RG, et al. Soluble A β and cognitive function in aged F-344 rats and Tg2576 mice [J]. Behav Brain Res, 2006, 173(1): 62–75.
- [26] Villemagne VL, Burnham S, Bourgeat P, et al. Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: A prospective cohort study [J]. Lancet Neurol, 2013, 12(4): 357–367.