

吴永叶, 杨丽萍, 张振强, 等. 五行音乐对孕期恐应激子代社交行为的影响及机制研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(4): 28-34.

Wu YY, Yang LP, Zhang ZQ, et al. Effects and mechanism of five-element music on social behavior of offspring of stress-injured pregnant mice [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(4): 28-34.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.04.004

五行音乐对孕期恐应激子代社交行为的影响 及机制研究

吴永叶¹, 杨丽萍^{1*}, 张振强^{2*}, 赵佳佳¹, 宋琦¹, 侯俊林¹, 王耀辉¹,
李笑琳¹, 关徐涛³

(1. 河南中医药大学中医学院, 郑州 450046; 2. 河南中医药大学中医药科学院, 郑州 450046;

3. 河南中医药大学第一附属医院, 郑州 450046)

【摘要】 目的 探究五行音乐对孕期恐应激子代社交行为的影响和机制, 为临床胎源性情志疾病的早期防治提供依据。**方法** 将 45 只孕鼠随机分为空白组、模型组和五行音乐组。其中, 模型组、五行音乐组均采用旁观电击法造模, 五行音乐组在孕期的每天 17:00~19:00 播放五行音乐中的宫调。孕第 19 天对各组孕鼠采用 ELISA 法检测血清中促肾上腺皮质激素 (adrenocorticotrophic hormone, ACTH) 和皮质醇 (corticosterone, CORT) 的含量进行造模评价。仔鼠延续母鼠的分组, 于 8 周龄时进行三箱社交实验观察社交行为; 免疫荧光双标法检测仔鼠内侧前额叶皮层 (medial prefrontal cortex, mPFC) 谷氨酸能神经元活性的表达; 高效液相色谱法检测仔鼠 mPFC 区谷氨酸 (glutamate, Glu) 总含量; 高尔基染色观察仔鼠 mPFC 区神经元树突棘的变化。**结果** 与空白组相比, 模型组孕鼠血清中 ACTH、CORT 含量显著上升, 模型组仔鼠社交交互时间和社会新奇偏好指数显著降低, 谷氨酸能神经元活性、谷氨酸含量及神经元树突棘显著下降。与模型组相比, 五行音乐组孕鼠血清中 ACTH、CORT 的含量降低及仔鼠社交行为、谷氨酸能神经元活性、谷氨酸含量及神经元树突棘的状态得到改善。**结论** 五行音乐干预能够有效改善孕期恐应激所致子代的社交行为障碍, 其机制可能与增强 mPFC 区谷氨酸能神经元的活性有关。

【关键词】 五行音乐; 孕期恐应激; 子代; 社交行为; 谷氨酸能神经元

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 04-0028-07

Effects and mechanism of five-element music on social behavior of offspring of stress-injured pregnant mice

WU Yongye¹, YANG Liping^{1*}, ZHANG Zhenqiang^{2*}, ZHAO Jiajia¹, SONG Qi¹, HOU Junlin¹, WANG Yaohui¹,
LI Xiaolin¹, GUAN Xutao³

(1. Traditional Chinese Medicine School, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China.

2. College of Traditional Chinese Medicine, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046.

3. the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046)

【Abstract】 Objective To investigate the effects and mechanisms of five-element music on the social behavior of the children of mothers with fear stress during pregnancy and provide a basis for the early prevention and treatment of clinical fetogenic affective disorders. **Methods** Forty-five pregnant mice were randomly divided into three groups: a

【基金项目】 国家自然科学基金 (81973596); 河南省大学生创新创业训练计划项目 (202210471004)。

【作者简介】 吴永叶 (1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 儿童情志疾病的中医药防治。E-mail: wuygye@163.com

【通信作者】 杨丽萍 (1966—), 女, 博士, 教授, 研究方向: 情志疾病的中医药防治。E-mail: bioly@126.com

张振强 (1971—), 男, 博士, 教授, 研究方向: 中西医结合防治脑病。E-mail: zhang_zhenqiang@126.com * 共同通信作者

control group, model group, and five-element music group. The model and five-element music group models were established using the bystander electric shock method. Additionally, the five-element music group was exposed to Palace Tune five-element music daily from 17:00 to 19:00 during pregnancy. On the 19th day of pregnancy, ELISA was employed to assess the levels of adrenocorticotropin (ACTH) and cortisol (CORT) in the serum of pregnant mice in each group for modeling evaluation. The offspring were subsequently grouped with their mother and underwent an 8-week-old three-box social experiment to observe their social behavior. We used the immunofluorescence double-labeling method to detect glutamatergic neuron activity in the medial prefrontal cortex (mPFC) of the offspring. High-performance liquid chromatography was employed to measure the total glutamate (Glu) content in the mPFC, while Gorky staining was used to observe changes in the dendritic spines of mPFC neurons in the offspring. **Results** Compared to those in the blank group, pregnant mice in the model group exhibited a significant increase in the levels of ACTH and CORT in their serum, and there was a significant decrease in the social interaction time and social novelty preference index of their offspring. There was also a significant decrease in glutamate neuron activity, glutamate content, and neuronal dendritic spine density. In contrast, compared with those in the model group, pregnant mice in the five-element music group demonstrated a reduction in the levels of ACTH and CORT in the serum, and there were improvements in the social behavior, glutamate neuron activity, glutamate content, and condition of neuronal dendritic spines in the offspring. **Conclusions** Intervention with five-element music effectively ameliorated the offspring's social behavior disorder result ing from prenatal fear stress; the mechanism was potentially linked to enhanced glutamate neuron activity in the mPFC region.

【Keywords】 five-element music; fear stress during pregnancy; offspring; social interaction behavior; glutamatergic neurons

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

孕期应激是孕期中高发不良情绪反应,对子代的危害愈发引起社会关注^[1]。流行病学研究表明,相比正常生产儿童,母亲孕期应激导致子代罹患神经和情绪行为障碍的风险高 1.03~1.78 倍^[2]。因此,明确其发生机制,探寻合适的治疗手段对于孕妇及其子代的健康都至关重要。既往研究已经明确孕期应激不但会影响自身情绪,还会导致子代的近远期情绪异常,如焦虑、抑郁等^[3-5];但对子代的社交行为是否有影响尚未见报道。孕期用药的合理性和安全性仍是一项难题,因此,寻找安全有效的干预措施是我国优生优育工作的一项重要任务。

音乐对情绪有深远的影响,可直接作用于大脑影响神经递质和激素的分泌,起到调节情绪、认知以及行为的作用^[6-7]。五行音乐作为我国传统音乐疗法,对生理和心理具有双重调节效应,五音应五脏,五行之间相互制化,从而克制消极情绪,调节脏腑功能,减轻不良情绪应激^[8]。然而,目前孕期音乐治疗对后代的影响缺乏充分的实验研究,需要更多研究来深入探讨音乐各种因素的效应。故本研究以五行音乐为孕期应激干预方式,探讨其对子代社交行为的影响及其机制,以期为临床孕期应激所致的胎源性情志疾病的早期防治提供依据及安全有效的措施。

1 材料和方法

1.1 实验动物

8 周龄 SPF 级 C57BL/6J 小鼠,由济南朋悦实验动物繁育有限公司提供[SCXK(豫)2021-0015],雌鼠 45 只,雄鼠 23 只,体重 18~22 g,饲养于河南中医药大学实验动物中心[SYXK(豫)2021-0015],环境维持在温度(23±2)℃和湿度 45%~55%之间,小鼠可随意饮水,且在 12 h/12 h 光照与黑暗交替中生活。本实验研究严格遵循 3R 原则,并获得河南中医药大学实验动物伦理委员会批准(DWLL201903027)。

1.2 主要试剂与仪器

促肾上腺皮质激素 (ACTH)、皮质酮/肾上腺酮 (CORT)酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒 (江苏酶免有限公司,MM-0054M1、0061M1);Anti-CaMKII 兔单克隆抗体 (abcma, ab134041);Anti-c-FOS (Servicebio, GB12069);CY3 标记山羊抗兔 IgG (Servicebio,GB21303);Alexa Fluor 488 标记山羊抗小鼠 IgG (Servicebio,GB25301);高尔基染色试剂盒 (Servicebio,G1069)。

电击箱(自制);旷场实验箱、三箱社交箱(江苏赛昂斯生物科技有限公司);酶标分析仪(美国 Rayto RT-6100);病理切片机(上海徕卡仪器有限公

司 RM2016); 正置光学显微镜(广州明美, FM-43M); 超高效液相色谱仪(美国 Thermo, Vanquish Flex)。

1.3 实验方法

1.3.1 分组、造模

按照雌雄 2:1 比例进行合笼受孕, 将 45 只孕鼠按随机数字表法分为空白组、模型组和五行音乐组, 每组 15 只。模型组、五行音乐组采用课题组前期构建的改良旁观电击法造模和评价^[4]; 模型制备时间为孕 1~19 d, 每天 1 次, 每次约 30 min。具体操作包括 15 个循环, 每个循环 2 min, 静置 60 s 后播放防空警报 60 s, 防空警报鸣响期间予 1 mA 的瞬时电刺激 10 次。整个造模过程在 9 宫格的箱体中进行。9 宫格的箱体分为 9 个 15 cm×15 cm×30 cm 的透明小室, 每个小室侧壁上有小孔互通气味、声音。造模时, 电击鼠位于中间 3 个小室, 旁观鼠位于两侧 6 个小室。箱体底部有通电铁丝, 旁观室侧壁有铁丝架以引导旁观鼠快速躲避电击。当通电时, 电击鼠受到电击时会发出惊叫、颤抖、逃逸、二便失常, 以此作为危险信号传递至旁观室, 旁观鼠通过视觉、听觉、嗅觉感受到电击室传递来的恐惧信息, 从而产生较为单纯的恐惧心理。

1.3.2 音乐曲目选取及干预方式

五行音乐组根据五行相互制化, 五音应五脏、五脏对五志为原则进行辩证施乐, 针对孕期恐应激以思胜恐、以情胜情为原则, 给予《中国传统五行音乐(正调式)》中的宫调音乐。从孕期第 1~19 天, 于每天 17:00~19:00 播放音乐 2 h, 55~65 dB, 每天 1 次。

1.3.3 ELISA 试剂盒评价孕鼠造模情况

孕第 19 天造模及音乐干预结束后, 每组随机取 6 只孕鼠眼眶静脉取血, 置于 EP 管常温静置 1 h 后离心(3000 r/min, 15 min), 取上清液, 采用 ELISA 试剂盒检测孕鼠血清内 ACTH、CORT 含量, 遵循试剂盒说明书, 严格进行操作, 以模型组观察指标明显高于空白组($P<0.05$)为造模成功。去除假孕及流产, 每组保留 6 只孕鼠自然分娩, 仔鼠延续母鼠分组, 每窝随机选取两只雄性小鼠用于后续研究。

1.3.4 旷场试验

将 8 周龄仔鼠依次从正中间放入旷场中(50 cm×50 cm×45 cm 黑色塑料箱), 记录小鼠在旷场区域内的运动总距离, 测试时间为 5 min。

1.3.5 三箱社交评价仔鼠社交交互行为

在仔鼠 8 周龄进行三箱社交行为测试实验。实

验装置由一个三室装置组成, 其中左右两室内各含有一个完全相同的笼子。实验分为两个阶段, 每个阶段的测试时间为 10 min。阶段一, 在其中一个笼子放入一只与实验鼠陌生的同性别小鼠(S1), 另一个笼子为空笼子, 记录实验小鼠与 S1 小鼠、空笼子的接触时间。阶段二, 在笼子中小鼠(S1)保持不变, 空笼子中引入与实验鼠陌生的同性别小鼠(S2), 记录实验小鼠与 S1 小鼠、S2 小鼠的接触时间。社会新奇偏好指数=(S2-S1)/(S2+S1)。每只小鼠测试结束后清理实验装置并使用 75% 乙醇去除残留气味。

1.3.6 取材后固定

行为学结束 90 min 进行取材, 1% 戊巴比妥钠按照 10 mg/kg 剂量麻醉小鼠, 每组取 6 只采用灌注法取出全脑, 快速置于多聚甲醛溶液中 24 h, 并使用 15% 和 30% 蔗糖进行梯度脱水, 分别用于免疫荧光染色和高尔基染色; 每组取 6 只断头取脑, 冰上快速分离前额叶皮质, 生理盐水冲洗后液氮速冻, -80℃ 保存, 用于高效液相检测。

1.3.7 免疫荧光实验评价 mPFC 谷氨酸能神经元活性

制备石蜡切片, 脱蜡, PBS 洗片, 微波抗原修复, 3% 胎牛血清 37℃ 封闭 1 h, 加入 I 抗 4℃ 孵育过夜; 兔源 CaMKII 单克隆抗体(1:500), 鼠源 c-Fos 单克隆抗体(1:300)。根据 I 抗种属分别滴加 Cy3 标记的羊抗兔 IgG(1:300) 或 AlexaFluor488 标记的羊抗鼠 IgG(1:400), 37℃ 避光孵育 1 h, DAPI 染核, 封片观察。

1.3.8 高效液相检测 mPFC 中的谷氨酸含量

用高效液相色谱法检测 mPFC 区 Glu 含量, 取 mPFC 组织样品称重, 按照 1 g:10 mL 的比例加入 0.2 mol/L 高氯酸, 低温离心 2 次, 过滤后待测。色谱条件: ThermoFisherC18 色谱柱, 缓冲盐为 20 mmol/L 乙酸钠溶液, pH=7.2。流动相 A 为缓冲盐-甲醇-四氢呋喃, 流动相 B 为缓冲盐-甲醇。流速 0.8 mL/min, 柱温 35℃, 荧光检测器波长为 340 nm 和 455 nm, 进样温度 4℃。制备 3200 ng/mL、1600 ng/mL、800 ng/mL、400 ng/mL、200 ng/mL 和 100 ng/mL 的标准品溶液, 色谱分析后绘制标准曲线。

1.3.9 高尔基染色评价仔鼠 mPFC 神经元的形态及功能变化

将小鼠的脑组织切成 2~3 mm 厚的组织块, 并将其放置在高尔基染色液中, 置于阴凉通风处避光

处理 14 d(浸泡 48 h 后,换 1 次新染液,之后每隔 3 d 换 1 次新染液,共计 14 d);随后将组织块浸洗 3 次,然后倒入 80%的冰醋酸中浸泡,过夜。使用振荡切片机将组织切成 100 μm 的厚度,并将切片贴在明胶玻片上,然后避光晾干。将晾干后的组织玻片以浓氨水处理 15 min,蒸馏水洗 1 min,酸性坚膜定影液处理 15 min,蒸馏水洗 3 min,晾干,甘油明胶封片观察。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析,所有数据以平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组比较采用 One-Way ANOVA 检验, $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 恐应激孕鼠模型评价

与空白组相比,模型组孕鼠血清内 ACTH、CORT 含量显著升高($P<0.01$),与模型组相比,五

行音乐组孕鼠血清内 ACTH、CORT 含量均降低($P<0.05$)。具体见表 1。

2.2 孕期恐应激对 8 周龄仔鼠社交行为的影响

与空白组相比,模型组、五行音乐组仔鼠在旷场实验箱 5 min 内的总距离无显著差异($P>0.05$),与模型组相比,五行音乐组仔鼠在旷场实验箱 5 min 内的总距离无显著差异($P>0.05$),见图 1A。与空白组相比,模型组与 S1 小鼠社交交互时间、社会新奇偏好指数显著降低($P<0.01, P<0.001$);与模型组相比,五行音乐组社交交互时间及社会新奇偏好指数明显增加($P<0.05$),见图 1B、1C。

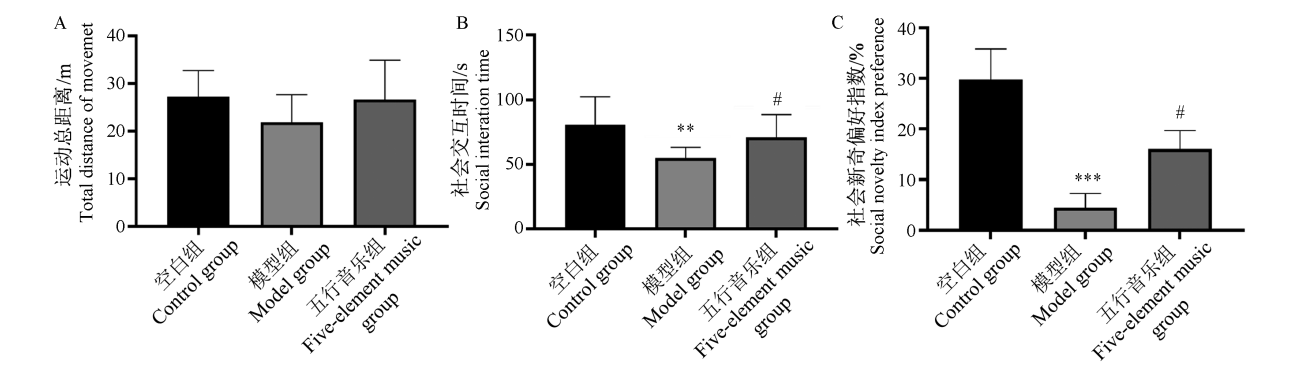
2.3 五行音乐干预对 8 周龄仔鼠谷氨酸神经元活性的影响

如图 2 所示,与空白组相比,模型组仔鼠 mPFC 区 c-Fos(绿)与 CaMKII(红)共表达阳性细胞数显著降低($P<0.001$);与模型组相比,五行音乐组仔鼠 c-Fos(绿)与 CaMKII(红)共表达阳性细胞数显著升高($P<0.01$)。

表 1 三组孕鼠血清内 ACTH、CORT 含量($\bar{x}\pm s, n=6$)
Table 1 Serum levels of ACTH and CORT in three groups of pregnant mice

组别 Groups	ACTH/(ng/mL)	CORT/(ng/mL)
空白组 Control group	43.55±4.79	87.79±6.38
模型组 Model group	64.83±8.84**	110.40±8.59**
五行音乐组 Five-element music group	50.35±7.15 [#]	95.17±7.71 [#]

注:与空白组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,[#] $P<0.05$ 。
Note. Compared with Control group, ** $P<0.01$. Compared with Model group, [#] $P<0.05$.

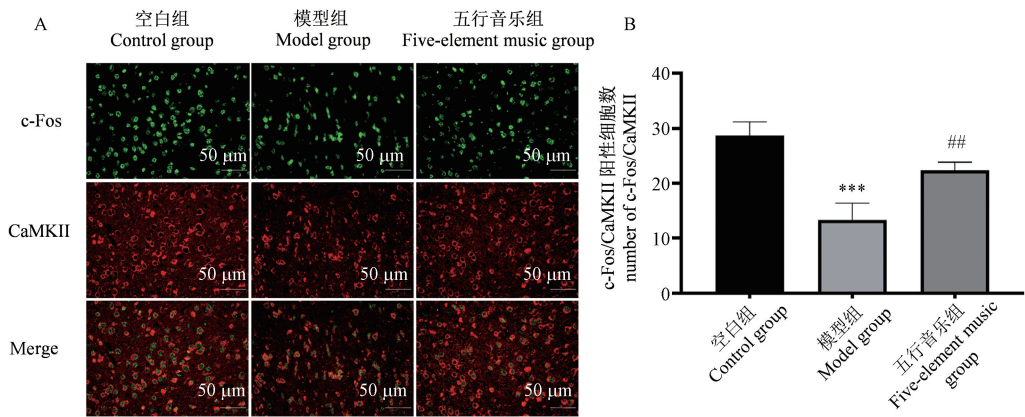


注:A:对运动总距离的影响;B:对社会交互时间的影响;C:对社会新奇偏好指数的影响。与空白组相比,** $P<0.01$,*** $P<0.001$;与模型组相比,[#] $P<0.05$ 。

图 1 音乐干预对各组仔鼠行为学的影响($\bar{x}\pm s, n=12$)

Note. A, Impact on the total distance of movement. B, Impact on social interaction time. C, Impact on the social novelty preference index. Compared with Control group, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$. Compared with Model group, [#] $P<0.05$.

Figure 1 Effect of music intervention on the behaviors of offspring mice in each group



注:A:各组仔鼠 mPFC 区 c-Fos、CaMKII 免疫荧光染色图;B:各组仔鼠 mPFC c-Fos+CaMKII 阳性细胞数。与空白组相比, *** $P < 0.001$;与模型组相比, ## $P < 0.01$ 。

图 2 音乐干预对各组仔鼠 mPFC c-Fos 和 CaMKII 阳性细胞数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Note. A, Immunofluorescence staining of mPFC c-Fos and CaMKII in each group of offspring mice. B, Number of mPFC c-Fos+CaMKII positive cells in each group of offspring mice. Compared with Control group, *** $P < 0.001$. Compared with Model group, ## $P < 0.01$.

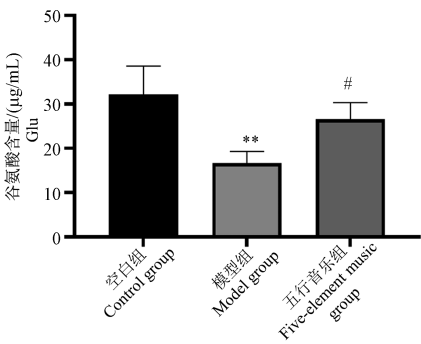
Figure 2 Effect of music intervention on the positive cell numbers of mPFC c-Fos and CaMKII in each group of offspring mice

2.4 五行音乐干预对 8 周龄仔鼠谷氨酸神经递质的影响

与空白组相比,模型组仔鼠 mPFC 区的 Glu 含量显著下降 ($P < 0.01$);与模型组仔鼠相比,五行音乐仔鼠组前额叶皮层的 Glu 含量显著上升 ($P < 0.05$),见图 3。

2.5 五行音乐干预对 8 周龄仔鼠神经元树突棘的影响

与空白组相比,模型组仔鼠前额叶皮层神经元树突棘数目显著降低 ($P < 0.01$),与模型组相比,五行音乐仔鼠组神经元树突棘数目显著升高 ($P < 0.05$),见图 4A、4B。

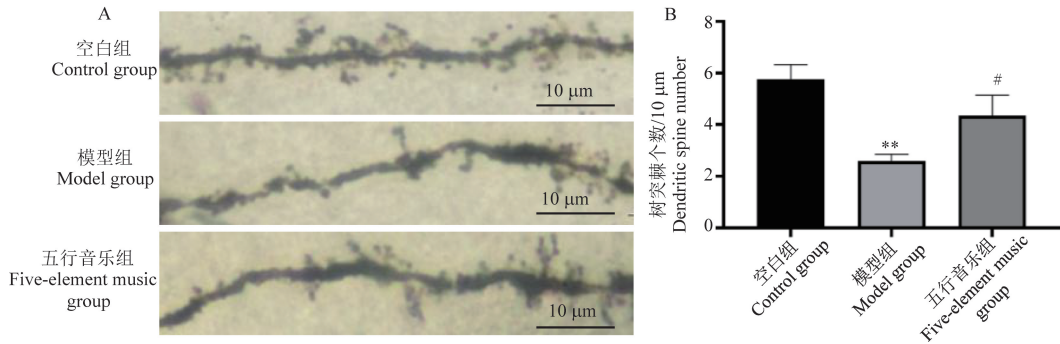


注:与空白组相比, ** $P < 0.01$;与模型组相比, # $P < 0.05$ 。

图 3 音乐干预各组仔鼠 mPFC 区谷氨酸影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Note. Compared with Control group, ** $P < 0.01$. Compared with Model group, # $P < 0.05$.

Figure 3 Effect of music intervention on glutamate in the mPFC region of offspring mice in each group



注:A:各组仔鼠 mPFC 神经元高尔基染色图;B:各组仔鼠神经元树突棘个数。与空白组相比, ** $P < 0.01$;与模型组相比, # $P < 0.05$ 。

图 4 音乐干预对各组仔鼠 mPFC 区神经元树突棘的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Note. A, Golgi staining of mPFC neurons in each group of offspring mice. B, Number of dendritic spines of neurons in each group of offspring mice. Compared with Control group, ** $P < 0.01$. Compared with Model group, # $P < 0.05$.

Figure 4 Effect of music intervention on dendritic spines of mPFC neurons in each group of offspring mice

3 讨论

现代研究表明孕期应激是儿童情绪及大脑发育异常的重要因素^[9-11],探究其在子代社交行为中的影响机制,对儿童社交行为缺陷的形成及恢复具有重要意义。本研究发现孕期恐应激可致模型组 8 周龄仔鼠在三箱社交第一阶段与陌生小鼠交互时间减少,第二阶段与新陌生小鼠交互时间减少,社交新奇偏好指数降低,且神经元结构(树突棘减少)和功能出现异常,而在旷场实验中,我们并未观察到孕期恐应激对 8 周龄仔鼠的运动功能产生显著影响。这提示仔鼠的社交行为缺陷仅与孕期恐应激引起的异常神经发育有关,而与运动系统无关。音乐刺激可以显著改善孕期女性的压力、焦虑和抑郁水平,并对子代的神经发育具有积极影响^[8-9]。研究发现,音乐干预可以提高丙戊酸暴露自闭症模型中大鼠的社交能力,并且促进子代大鼠的大脑神经发生^[12-13]。中医五行音乐治疗由来已久,《黄帝内经》将中国传统医学阴阳五行与音乐结合,以五音应五脏、五脏对五志作为辩证施乐的基础,在情志病的治疗中具有其独特优势^[14]。五行之间可以相互制化,如《素问》所言:“恐伤肾,思胜恐”,思虑情志可以克制恐惧情绪,宫调音乐可以克制恐惧情绪,使之趋向平和。这种根据五脏的生理节律及特性选择音乐的中国传统音乐疗法,能够更精准地调节患者的气血津液和脏腑功能,从而对子代神经行为发育产生积极影响^[8]。因此,针对孕期恐应激从以思胜恐汲取灵感,以情胜情,利用宫调音乐调节母鼠的恐惧情绪,改善母鼠恐应激带来的子代不良行为。程虹毓等^[15]发现五音疗法能显著改善小鼠的抑郁样行为。此外,临床研究表明针灸推拿结合五行音乐疗法可明显改善患儿的自闭症状,提高患儿的社交能力和言语能力^[16]。本研究在母代孕期恐应激的同时给予中国传统音乐(宫调式)干预,发现其可改善孕期恐应激子代的社交交互行为及社会新奇行为,表现为音乐干预后的仔鼠在第一阶段 S1 小鼠互动时间更长和第二阶段社会新奇偏好指数增加。孕期音乐干预对子代神经发育产生积极影响,这与相关研究结果一致^[17-18],由此表明,孕期五行音乐干预可能是防治孕期恐应激致子代社交行为异常的潜在策略。

mPFC 在社会交互行为中起着重要作用,参与调控许多复杂的社会行为,如社交恐惧、社交记忆、

社会交互^[19]。谷氨酸能神经元作为中枢神经系统中最重要的兴奋性神经元,可以释放兴奋性递质 Glu 到突触间隙,参与调控社交交互及社交新奇行为^[20-21]。Kin 等^[22]研究表明孕期应激所致的产后社交行为缺陷与谷氨酸能神经元密切相关。本研究结果发现,孕期恐应激会降低仔鼠 mPFC 区 Glu 含量和 c-Fos、CaMKII 阳性细胞数表达,神经元树突棘减少,对子代谷氨酸能神经元的结构、功能均产生不良影响。孕期音乐干预可以增加子代 mPFC 区 Glu 含量和 c-Fos、CaMKII 阳性细胞数表达,减少子代脑部损伤。这表明,孕期应激可影响子代 mPFC 区谷氨酸能神经元在社交行为中的活性,导致 Glu 含量降低,而五行音乐干预可提高谷氨酸能神经元在社交行为中的活性,增加 Glu 神经递质的释放。

综上所述,五行音乐干预对孕期恐应激子代的社交交互及社会新奇行为具有改善作用,其可能机制为五行音乐能够显著改善孕期恐应激,从而增加子代 mPFC 区谷氨酸能神经元的活性,促进更多的兴奋性神经递质谷氨酸的释放以及减轻神经元损伤。本研究揭示了谷氨酸能神经元在孕期应激致子代社交行为缺陷中的重要作用,提供了潜在的药物靶点和新的干预措施,有助于深入理解社交行为缺陷的发生机制,为相关孕期应激导致的子代胎源性精神类疾病的临床治疗提供新的思路和目标。由于学者们研究发现社交行为障碍主要在男性群体中发生^[23-24],本研究仅针对雄性子代的社交行为进行了探究,而孕期应激对雌性小鼠是否有影响及这种影响是否存在性别差异都值得进一步探究。

参考文献:

[1] ABBASI H, PUUSEPP-BENAZZOZ H. Pregnancy stress, anxiety, and depression sequela on neonatal brain development [J]. JAMA Pediatr, 2020, 174(9): 908.

[2] 林雪梅, 杨建辉, 陈佩珊, 等. 母亲孕期或产后抑郁情绪对子代情绪和行为的影响: Meta 分析 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2022, 37(4): 284-289.

LIN X M, YANG J H, CHEN P S, et al. Effect of maternal depressed mood during pregnancy or postpartum on emotional or behavioral disorders of offspring: Meta-analysis [J]. Chin J Appl Clin Pediatr, 2022, 37(4): 284-289.

[3] 侯俊林, 杨丽萍, 朱江慧, 等. 孕期恐应激对孕鼠及其子代近远期海马 NMDAR1、NR2B 表达的影响 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(2): 479-481.

HOU J L, YANG L P, ZHU J H, et al. Effect of fear stress during pregnancy on the expression of NMDAR1 and NR2B in hippocampus of pregnant rats and their offspring in the near and

- long term [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2020, 31(2): 479–481.
- [4] 李新民, 杨丽萍, 万海娇, 等. 恐伤孕鼠所产 80 日龄仔鼠认知发育与海马区多巴胺、二羟苯乙酸的相关性 [J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(11): 10–14.
- LI X M, YANG L P, WAN H J, et al. Correlation between cognitive development and levels of dopamine and 3, 4-dihydroxyphenylacetic acid in the hippocampus in 80-day-old neonatal rats born of fear-impaired pregnant rats [J]. *Chin J Comp Med*, 2017, 27(11): 10–14.
- [5] 杨丽萍, 李改, 万海娇, 等. 恐伤孕鼠对其 21 日龄子代情绪的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(1): 62–64.
- YANG L P, LI G, WAN H J, et al. Effects of terror stress of the pregnant rats on emotional changes of 21-day-old neonatal offspring [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2018, 33(1): 62–64.
- [6] GERETSEGGER M, FUSAR-POLI L, ELEFANT C, et al. Music therapy for autistic people [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2022, 5(5): CD004381.
- [7] RABINOWITCH T C. Musical engagement as a duet of tight synchrony and loose interpretability [J]. *Phys Life Rev*, 2023, 44: 122–136.
- [8] 潘佳琪, 王晨宇, 林法财. 五行音乐疗法在治未病实践中的运用 [J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(3): 1263–1266.
- PAN J Q, WANG C Y, LIN F C. Application of five-element music therapy in the practice of preventive treatment of disease [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2022, 37(3): 1263–1266.
- [9] NOLVI S, MERZ E C, KATAJA E L, et al. Prenatal stress and the developing brain: postnatal environments promoting resilience [J]. *Biol Psychiatry*, 2023, 93(10): 942–952.
- [10] 张桐, 侯俊林, 江煜, 等. 菟丝子对恐伤孕鼠子代学习记忆及海马 m^6A 修饰的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(2): 104–112.
- ZHANG T, HOU J L, JIANG Y, et al. Effect of cuscuteae *Semen* on learning and memory and N6-methyladenosine modification in hippocampus of offspring of Fear-damaged pregnant rats [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae*, 2023, 29(2): 104–112.
- [11] XU X, ZHOU H, WU H, et al. Tet2 acts in the lateral habenula to regulate social preference in mice [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(7): 112695.
- [12] MODRAN H A, CHAMUNORWA T, URSUȚIU D, et al. Using deep learning to recognize therapeutic effects of music based on emotions [J]. *Sensors*, 2023, 23(2): 986.
- [13] 范尧, 潘国强, 雷迅, 等. 音乐刺激孕鼠对子代鼠大脑功能影响的系统评价 [J]. *中国实验动物学报*, 2017, 25(2): 190–193, 206.
- FAN Y, PAN G Q, LEI X, et al. Evaluation of the effect of music given to pregnant rats on the development of brain functions in offspring rats [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2017, 25(2): 190–193, 206.
- [14] 李江波, 耿少辉, 包宇, 等. 我国传统音乐疗法的追本溯源 [J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(6): 2644–2647.
- LI J B, GENG S H, BAO Y, et al. Tracing to the source of Chinese traditional music therapy [J]. *China Ind Econ*, 2019, 34(6): 2644–2647.
- [15] 程虹毓, 熊浩仲, 朱继孝, 等. 中医五行音乐对抑郁模型小鼠行为及脑内 5-羟色胺和去甲肾上腺素影响的研究 [J]. *中国康复医学杂志*, 2015, 30(7): 712–714.
- CHENG H Y, XIONG H Z, ZHU J X, et al. Effects of five elements music of Chinese medicine on behavior and 5-hydroxytryptamine and norepinephrine in brain of depression model mice [J]. *Chin J Rehabil Med*, 2015, 30(7): 712–714.
- [16] 王冠. 针灸推拿配合中医五行对自闭症患儿康复的干预研究 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2016, 11(7): 968–971.
- WANG G. Intervention on the rehabilitation of children autism treated with acupuncture, Tuina and TCM five-element theory [J]. *World J Integr Tradit West Med*, 2016, 11(7): 968–971.
- [17] HASLBECK F B, MUELLER K, KAREN T, et al. Musical and vocal interventions to improve neurodevelopmental outcomes for preterm infants [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2023, 9(9): CD013472.
- [18] ESTRELLA-JUAREZ F, REQUENA-MULLOR M, GARCIA-GONZALEZ J, et al. Effect of virtual reality and music therapy on the physiologic parameters of pregnant women and fetuses and on anxiety levels: a randomized controlled trial [J]. *J Midwifery Womens Health*, 2023, 68(1): 35–43.
- [19] BICKS L K, KOIKE H, AKBARIAN S, et al. Prefrontal cortex and social cognition in mouse and man [J]. *Front Psychol*, 2015, 6: 1805.
- [20] LIU W, LI J, LI L, et al. Enhanced medial prefrontal cortex and hippocampal activity improves memory generalization in APP/PS1 mice: a multimodal animal MRI study [J]. *Front Cell Neurosci*, 2022, 16: 848967.
- [21] JI C, TANG Y, ZHANG Y, et al. Glutaminase 1 deficiency confined in forebrain neurons causes autism spectrum disorder-like behaviors [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(7): 112712.
- [22] KIN K, FRANCIS-OLIVEIRA J, KANO S I, et al. Adolescent stress impairs postpartum social behavior via anterior insula-prelimbic pathway in mice [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 2975.
- [23] BARON-COHEN S, LOMBARDO M V, AUYEUNG B, et al. Why are autism spectrum conditions more prevalent in males? [J]. *PLoS Biol*, 2011, 9(6): e1001081.
- [24] LOOMES R, HULL L, MANDY W P L. What is the male-to-female ratio in autism spectrum disorder? A systematic review and meta-analysis [J]. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2017, 56(6): 466–474.