桂飞,宋丹丹,汪海燕,等. APP/PS1 转基因鼠中阿尔茨海默病对听功能的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(4): 65-72.
Gui F, Song DD, Wang HY, et al. Effect of Alzheimer's disease on auditory function in APP/PS1 transgenic mice [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(4): 65-72.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.04.008

APP/PS1 转基因鼠中阿尔茨海默病对听功能的影响

桂 飞[1,2],宋丹丹[3],汪海燕[2],孙筱品[2],杨 磊[1,3*]

(1.石河子大学动物科技学院,新疆 石河子 832000;2.杭州师范大学实验动物中心,杭州 311121;
3.杭州师范大学公共卫生学院,杭州 311121)

【摘要】 目的 探究在阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD)进程中 APP/PS1 转基因鼠的听力和耳蜗组织形态学变化情况,判断 AD 发生发展是否会影响其听功能。**方法** 选择 4、8 和 12 月龄的 APP/PS1 转基因鼠和同窝野生型小鼠,通过免疫荧光染色法以及听性脑干反应(ABR)等方法检测,比较分析不同月龄 APP/PS1 转基因鼠的听功能变化情况。**结果** 与对照组相比,4、8 和 12 月龄 APP/PS1 转基因鼠海马中 Aβ 斑块显著增多,且随着年龄的增加 APP/PS1 转基因鼠海马组织中 β 淀粉样蛋白斑块沉积显著增加,表明随年龄的增加 APP/PS1 转基因鼠 AD 呈加重趋势;在 4、8 和 12 月龄,与同窝野生型小鼠相比 APP/PS1 转基因鼠的各频率听力阈值均未见显著差异。耳蜗组织形态学检测结果显示,两种小鼠耳蜗毛细胞、螺旋神经节等内耳关键细胞均无显著差异。APP/PS1 转基因鼠和同窝野生型小鼠 ABR 检测结果显示,随着年龄增长两种小鼠的听力阈值均显著上升,均表现为年龄相关性听力损失。**结论** APP/PS1 转基因鼠的发病进程中存在年龄相关性听力损失,但 AD 发生发展几乎不会对 APP/PS1 转基因鼠的听功能产生影响。

【关键词】 阿尔茨海默病;听力损失;APP/PS1 转基因鼠
【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 04-0065-08

Effect of Alzheimer's disease on auditory function in APP/PS1 transgenic mice

GUI Fei[1,2], SONG Dandan[3], WANG Haiyan[2], SUN Xiaopin[2], YANG Lei[1,3*]
(1. College of Animal Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832000, China.
2. Laboratory Animal Center, Hangzhou Normal University, Hangzhou 311121. 3. School of Public Health, Hangzhou Normal University, Hangzhou 311121)

【Abstract】 Objective To explore the hearing and cochlear histomorphological changes in APP/PS1 transgenic mice during the process of AD and to determine whether the occurrence and development of AD affect their hearing function. **Methods** APP/PS1 transgenic mice and wild type littermates were selected at the ages of 4, 8 and 12 months. Changes to the auditory function of APP/PS1 transgenic mice over time were detected by immunofluorescence staining and auditory brainstem response (ABR) test. **Results** Compared with the control group, the 4-month-old APP/PS1 transgenic mice had a significantly increased number of Aβ plaques in the hippocampus, indicating that AD symptoms were already present at this time. At the ages of 4, 8 and 12 months, there was no significant difference in the hearing threshold between

[基金项目]浙江省自然科学基金(LTGD24C040002);2023 年兵团研究生科研创新项目。
[作者简介]桂飞(1990—),男,博士研究生,研究方向:动物生产与疾病控制。E-mail:565170629@qq.com
[通信作者]杨磊(1962—),男,教授,研究方向:环境与基因相关研究。E-mail:yanglei62@hznu.edu.cn

APP/PS1 transgenic mice and wild type mice. Histomorphological examination of the cochlea showed no significant difference in key cells of the inner ear, such as cochlear hair cells and spiral ganglion, between the two groups of mice. An ABR test showed that the hearing threshold of both APP/PS1 transgenic mice and wild type littermates increased significantly with age, and both groups showed age-related hearing loss. **Conclusions** There was age-related hearing loss in APP/PS1 transgenic mice, but the occurrence and development of AD had little effect on their auditory functions.

【**Keywords**】 Alzheimer's disease; hearing loss; APP/PS1 transgenic mice

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

目前研究表明年龄相关性听力损失(age-related hearing loss,ARHL)与阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD)存在相关性[1-2]。年龄相关性听力损失和阿尔茨海默病均是老年人最普遍的神经性疾病,已经达到流行规模。听力障碍已被证明会导致认知功能下降和老年痴呆[3-4]。因此,探明 AD 与 ARHL 之间的关系是一项重要的公共卫生问题。然而,鲜少有关于 AD 发展进程中听功能状况的报道,AD 发生发展是否会导致听力损失尚未可知。

本研究旨在利用不同月龄的 APP/PS1 转基因鼠和同窝野生型小鼠,通过对小鼠海马中 β 淀粉样蛋白(β-amyloid,Aβ)、听功能及耳蜗组织形态学检测分析,明确 APP/PS1 转基因鼠与 ARHL 的相关性,探究 AD 对听力的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

本实验选取 4、8、12 月龄 SPF 级 APP/PS1 转基因鼠(APP/PS1)和同窝野生型小鼠(WT),共 24 只,雌雄各半,每只体重约为 25~35 g。来源于杭州师范大学实验动物中心[SCXK(浙)2020-0004],饲养和实验检测均在杭州师范大学实验动物中心屏障系统中[SYXK(浙)2020-0026],环境保持在 20~26 ℃的温度范围内,相对湿度保持在 40%~70%之间,每天采用 12 h/12 h 明暗交替的光照条件,动物可以自由进食和饮水。本研究已经获得了杭州师范大学实验动物福利伦理委员会的批准(HSD20231101),在实验过程中,我们遵循了实验动物 3R 原则并提供了人道的关怀,确保所有动物实验符合实验动物福利伦理要求。

1.2 主要试剂与仪器

Genomic DNA Kit 血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒(DP304)来源于天根生化科技(北京)有限公司;所有引物均有上海捷瑞生物工程有限公司合成;β-amyloid(批号:8243 S)来源于 Cell Signaling Technology 公司;Myo7a(批号:ab150386)、Tuj1(批号:ab18207)一抗及 DAPI(批号:ab104139)来源于 Abcam 公司;山羊抗鼠 Alex Fluro 568(A-11004)和山羊抗兔 Alex Fluro 488(A-11008)二抗来源于 Invitrogen 公司。听觉电生理工作站(型号:RZ6,美国 Tucker-Davis Technologies 公司);解剖显微镜(型号:Stemi 508,德国卡尔蔡司公司);冰冻切片机(型号:HM550,美国 Thermo 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 小鼠基因型鉴定

按照小鼠编号收集脚趾样本,依次置于 1.5 mL 无菌 EP 管中,按照 DNA 提取试剂盒说明书操作,提取 DNA。APP 上游引物为 5'-GACTGACCACTCGACCAGGTTCTG-3',下游引物为 5'-CTTGTAAGTTGGATTCTCATATCCG-3';PS1 上游引物为 5'-AATAGAGAACGGCAGGAGCA-3',下游引物为 5'-GCCATGAGGGCACTAATCAT-3';β-actin 上游引物为 5'-CCAGTATGTGCACACGGTCT-3',下游引物为 5'-CAGGAGAGTGTTTCCTCGTCC-3'。反应体系如下:Mix 12.5 μL,DNA Polymerase(5 U/μL)0.2 μL,上下游引物各 1 μL,DNA 模板小于 1 μg,补水至 25 μL。PCR 反应条件为:变性 95 ℃,5 min,95 ℃,30 s,退火 65 ℃,30 s,延伸 72 ℃,40 s,72 ℃,5 min,35 个循环。随后使用 1.2%的琼脂糖进行凝胶电泳。

1.3.2 小鼠脑组织切片

小鼠麻醉后,固定在操作台上,沿胸腔剪开暴露心脏,用血管钳固定心脏后,将灌注针由心尖插入左心室,剪开右心耳后快速灌注 0.9%生理盐水,直至小鼠四肢、舌头变白后,使用 4%多聚甲醛继续灌流 20 min 进行固定。剪开头部皮肤,完整地剖离白色的脑组织并浸泡在 4%多聚甲醛中,于 4 ℃固定 12 h。随后使用 15%和 30%蔗糖梯度脱水,OCT 胶包埋,待切片。切片厚度为 12 μm,放入-80 ℃冰箱保存备用。

1.3.3 听功能检测

本研究采用听觉脑干反应(auditory brainstem

response, ABR)检测小鼠听力水平。待测小鼠采用戊巴比妥钠(80 mg/kg)和痛立定(0.1 mL/kg)联用进行麻醉和镇痛,使用加热垫以维持小鼠体温。然后将电极依次插入小鼠相应部位(头顶为记录电极、对侧耳乳突下为接地电极)。耳声发射器放置在距离待测耳外耳道大约 10 cm 位置。调试使得阻抗<3 kΩ 后,方可打开 TDT RZ6 系统软件进行检测。利用 click/tone burst 刺激,以每秒 20 次的频率,10 ms 的扫描时间,100~3000 Hz 的滤波范围,1024 次叠加次数进行检测,分别记录频率为 8 kHz、16 kHz 和 32 kHz 的结果。刺激声强从 90 dB SPL 逐渐降低,至特征性脑电波消失、结束检测。为保证检测结果可靠性,ABR 检测在标准隔音室中进行。

1.3.4　耳蜗样本的制备

实验完成后,对每组小鼠实施安乐死,然后迅速取出耳蜗。在显微镜下清除剩余的组织,并在蜗尖位置钻孔,注入 1~2 mL 多聚甲醛(浓度 4%, pH=7.4)。并置于 4 ℃冰箱处理过夜,然后使用 EDTA-Na2(0.5 mol/L, pH=7.0)进行脱钙处理 3~4 d,脱钙结束后,分离小鼠耳蜗基底膜、铺片染色,以用于检测耳蜗毛细胞。此外,部分耳蜗组织将在经过蔗糖的梯度脱水(15%和 30%)后,使用 OTC 胶固定包埋。然后以 10 μm 的切片厚度对小鼠耳蜗组织进行冰冻切片,并使用载玻片收集切片,然后将其保存在-80 ℃的冰箱中以备检测。

1.3.5　免疫荧光染色

取脑/耳蜗切片样本后,先用 1×PBS 清洗 3 次(每次 15 min),随后进行封闭(10%马血清和 0.03%皂苷)处理 1 h。然后将 Aβ/Myo7a/Tuj1 抗体添加至样品中,然后放置在 4 ℃的冰箱中过夜。第二天,用 0.1% PBST 清洗四次(每次 2 h)。随后常温孵育二抗(山羊抗兔 Alex Fluro 488 和山羊抗鼠 Alex Fluro 568)2 h,结束后去除二抗,再使用 1×PBS 清洗 3 次(每次 15 min)。最后使用封片剂将片子封装固定。

1.4　统计学方法

数据经过 SPSS statistics 22.0 及 Graphpad Prism 9.0 软件分析和处理,检测结果用平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用配对样本 t 检测,来评估各组数据之间的差异,$P<0.05$ 为具有显著性差异。

2　结果

2.1　APP/PS1 转基因鼠的鉴定

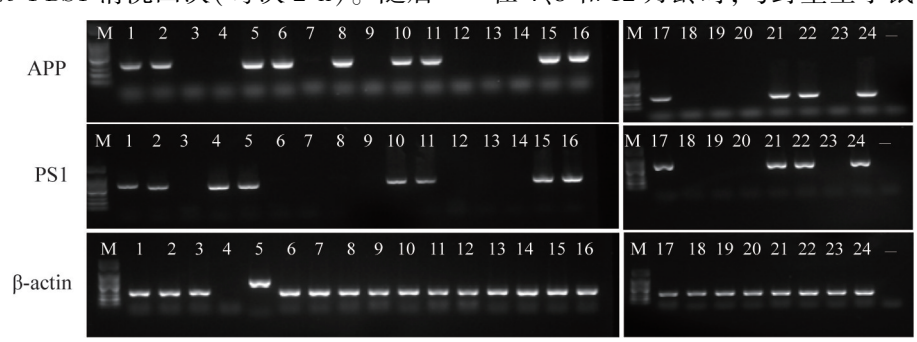
本研究选用 APP/PS1 转基因鼠为 APP 和 PS1 双转基因,繁育 APP/PS1 转基因鼠,经过基因型鉴定结果显示 APP/PS1 转基因阳性小鼠共 11 只(1、2、5、10、11、15、16、17、21、22 和 24 号);APP 转基因阳性小鼠 2 只(6 和 8 号),PS1 转基因阳性小鼠 1 只(4 号),剩余均为野生型小鼠,共 10 只,见图 1。

2.2　小鼠海马组织 β 淀粉样蛋白检测

免疫荧光检测 4、8 和 12 月龄 APP/PS1 转基因阳性小鼠和野生型小鼠海马组织 β 淀粉样蛋白,与野生型小鼠相比,APP/PS1 转基因鼠海马组织中 β 淀粉样蛋白斑块沉积(绿色部分)显著增加,且随着年龄的增加 APP/PS1 转基因鼠 β 淀粉样蛋白斑块沉积显著增加,表明随着年龄增加 APP/PS1 转基因鼠 AD 呈现加重趋势,如图 2 所示。

2.3　APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠听功能比较分析

综合比较不同月龄 APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠 ABR 听功能检测数据,Click 检测结果显示,在 4、8 和 12 月龄时,与野生型小鼠(听力阈值依次



注:"M"为 DNA marker, 1~24 为动物脚号,"-"为阴性对照。

图 1　APP/PS1 转基因鼠基因型鉴定结果

Note. "M" is the DNA marker, 1~24 is the animal foot number, and "-" is the negative control.

Figure 1　Results of genotype identification of APP/PS1 transgenic mice

为(20.00±5.00)dB SPL、(37.00±8.37)dB SPL 和(45.00±5.00)dB SPL)相比,APP/PS1 转基因鼠听力阈值均未见显著性差异(听力阈值依次为(19.00±2.24)dB SPL、(30.00±00.00)dB SPL 和(47.50±10.41)dB SPL)。Tone 检测结果显示,在 4、8 和 12 月龄时,与野生型小鼠相比 APP/PS1 转基因鼠 8 kHz、16 kHz 和 32 kHz 频率下听力阈值也均未见显著性差异,见表 1,图 3。

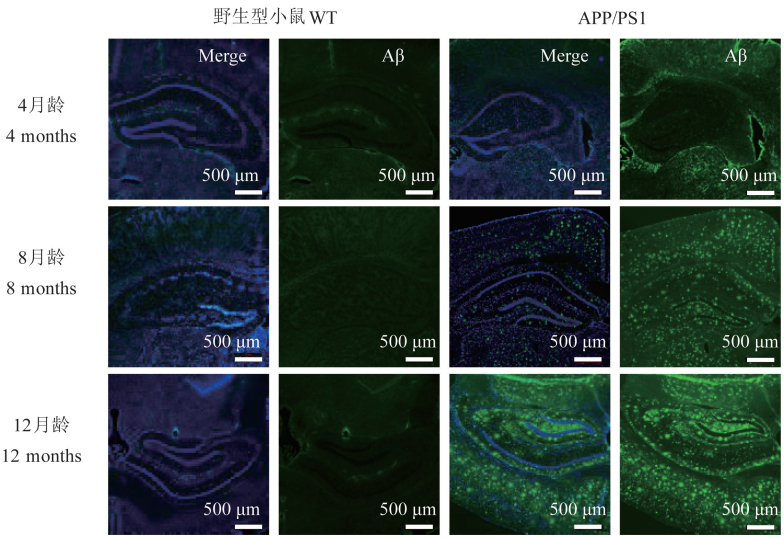


图 2 APP/PS1 转基因小鼠海马组织 β 淀粉样蛋白检测

Figure 2 Detection of hippocampal β-amyloid in APP/PS1 transgenic mice

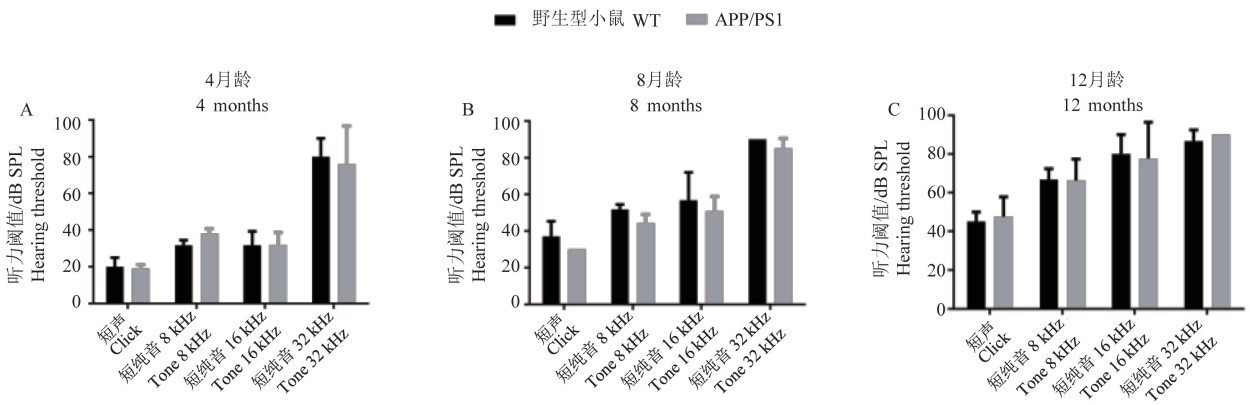


图 3 APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠听功能比较分析结果

Figure 3 Comparison of auditory function between APP/PS1 transgenic mice and wild type mice

表 1 4、8 和 12 月龄 APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠 ABR 检测结果($\bar{x}\pm s$)

Table 1 ABR results of APP/PS1 transgenic mice and wild-type mice at 4, 8, and 12 months of age

听力阈值/dB SPL Hearing threshold	短声 Click		短纯音 8 kHz Tone 8 kHz		短纯音 16 kHz Tone 16 kHz		短纯音 32 kHz Tone 32 kHz	
	野生型小鼠 WT	APP/PS1	野生型小鼠 WT	APP/PS1	野生型小鼠 WT	APP/PS1	野生型小鼠 WT	APP/PS1
4 月龄 4 months	20.00±5.00	19.00±2.24	31.67±2.89	38.00±2.74	31.67±7.64	32.00±6.71	80.00±10.00	76.00±20.74
8 月龄 8 months	37.00±8.37*	30.00±00.00	51.67±2.89**	44.17±4.92	56.67±12.28***	50.83±8.01**	90.00±00.00	85.00±5.48
12 月龄 12 months	45.00±5.00	47.50±10.41$^{\#}$	66.67±5.78$^{\#}$	66.25±11.09$^{\#\#}$	80.00±10.00$^{\#\#}$	77.50±18.93$^{\#\#\#}$	86.67±5.77	90.00±00.00

注:与 4 月龄组相比,$^{*}P<0.05$,$^{**}P<0.01$,$^{***}P<0.001$;与 8 月龄组相比,$^{\#}P<0.05$,$^{\#\#}P<0.01$,$^{\#\#\#}P<0.001$。

Note. Compared with 4 months group, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$. Compared with 8 months group, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$, $^{\#\#\#}P<0.001$.

2.4　不同月龄 APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠听功能比较分析

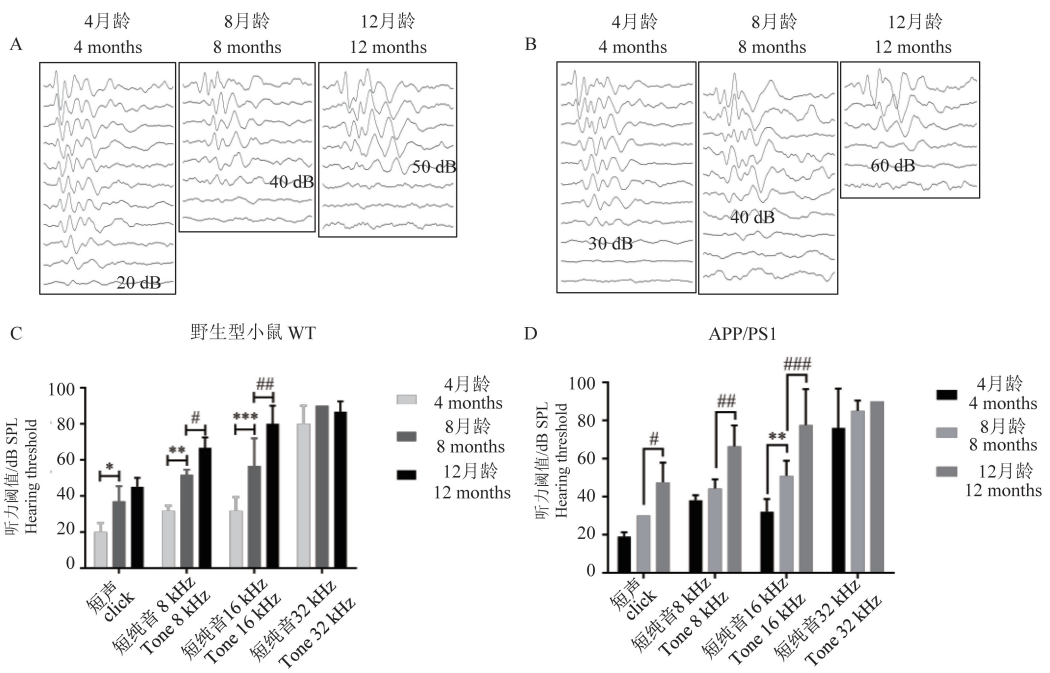
从小鼠 Click 检测波形图可以看出，APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠随年龄的增加听力阈值均呈现上升的趋势（图 4A、4B）。野生型小鼠 4 月龄时，Click 检测听力阈值为（20.00±5.00）dB SPL，8 月龄时显著上升（（37.00±8.37）dB SPL，$P<0.05$）。Tone 检测结果显示相较于 4 月龄小鼠，8 月龄小鼠 8 kHz 和 16 kHz 频率下听力阈值均显著上升，分别为（51.67±2.89）dB SPL（$P<0.01$）和（56.67±12.28）dB SPL（$P<0.001$）；12 月龄时 8 kHz 和 16 kHz 频率下听力阈值，相较于 8 月龄显著上升，分别为（66.67±5.78）dB SPL（$P<0.05$）和（80.00±10.00）dB SPL（$P<0.01$），见图 4C，表 1。

APP/PS1 转基因鼠 4 月龄时，Click 检测听力阈值为（19.00±2.24）dB SPL，8 月龄时上升至（30.00±00.00）dB SPL，12 月龄时显著上升至（47.50±10.41）dB SPL（$P<0.05$）。Tone 检测结果显示相较于 4 月龄小鼠，8 月龄小鼠 8 kHz 频率下听力阈值有一定的上升趋势，16 kHz 频率（（50.83±8.01）dB SPL）下听力阈值均显著上升（$P<0.01$）；相较于 8 月龄小鼠，12 月龄时小鼠 8 kHz 和 16 kHz 频率下听力阈值进一步显著上升，分别为（66.25±11.09）dB SPL（$P<0.01$）和（77.50±18.93）dB SPL（$P<0.0001$），见图 4D，表 1。

综上，APP/PS1 转基因鼠和野生型小鼠 ABR 检测结果显示，随着年龄增长两种小鼠的听力阈值均显著上升，都呈现年龄相关性听力损失。

2.5　不同月龄 APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠耳蜗组织形态学分析

如图 5、图 6 所示，ABR 听功能检测结束后，分别对各组小鼠耳蜗中的关键细胞耳蜗毛细胞（hair cells，HCs）及螺旋神经节细胞（spiral ganglion neurons，SGNs）进行检测分析。首先，分别取 8 和 12

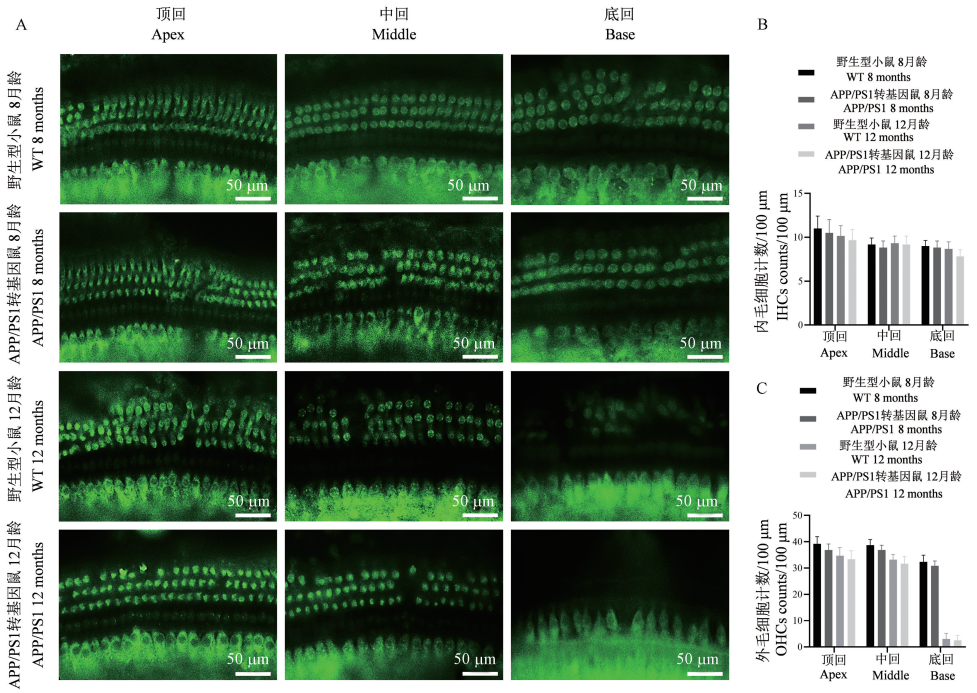


注：A：野生型小鼠不同月龄 click 检测波形图；B：APP/PS1 转基因鼠不同月龄 click 检测波形图；C：野生型小鼠不同月龄听力阈值检测结果；D：APP/PS1 转基因鼠不同月龄听力阈值检测结果。与 4 月龄组相比，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$；与 8 月龄组相比，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$，$^{\#\#\#}P<0.001$。

图 4　不同月龄 APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠听功能检测结果

Note. A, Waveforms of click detection in wild type mice at different months of age. B, Waveforms of click detection in APP/PS1 transgenic mice at different months of age. C, Hearing thresholds of wild type mice at different months of age. D, Hearing thresholds of APP/PS1 transgenic mice at different months of age. Compared with 4 months group, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$. Compared with 8 months group, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$, $^{\#\#\#}P<0.001$.

Figure 4　Auditory function test results of APP/PS1 transgenic mice and wild type mice at different months of age

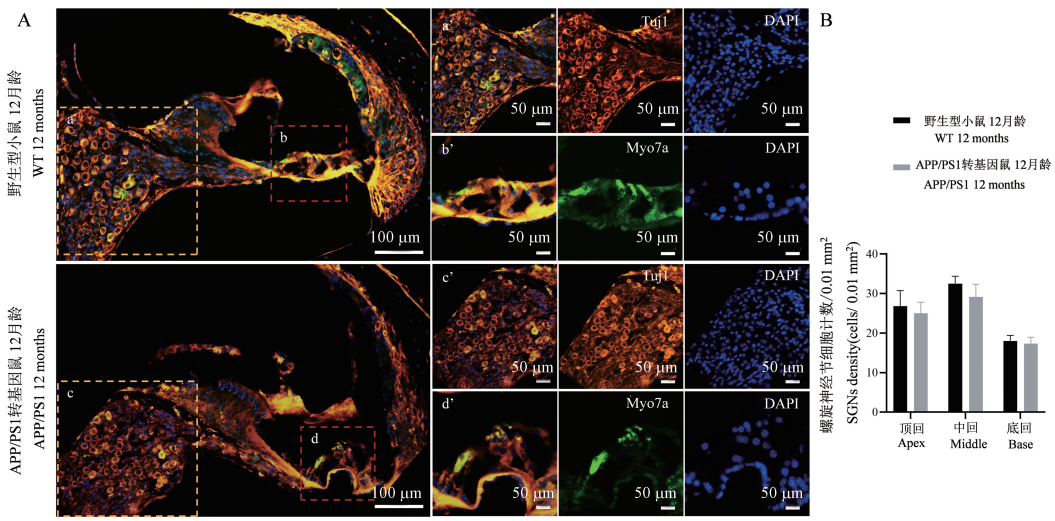


注:A:各组毛细胞免疫荧光检测结果;B:各组 IHCs 数量统计结果;C:各组 OHCs 数量统计结果。

图 5 不同月龄 APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠耳蜗毛细胞检测结果

Note. A, Results of hair cell immunofluorescence in each group were detected. B, Statistical results of IHCs in each group. C, Statistical results of OHCs in each group.

Figure 5 Results of cochlear hair cells of APP/PS1 transgenic mice and wild type mice at different months



注:A:12 月龄 APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠耳蜗螺旋神经节细胞免疫荧光检测结果,其中 a,c 为螺旋神经节细胞所在区域,a'、c'为对应的局部放大图;b,d 为 corit 区域,即毛细胞所在区域,b'、d'为对应局部放大图;Tuj1(红色)为螺旋神经节细胞特异性标记,Myo7a(绿色)为毛细胞特异性标记,DAPI(蓝色)为细胞核;B:为螺旋神经节细胞量化结果。

图 6 12 月龄 APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠耳蜗螺旋神经节细胞免疫荧光检测

Note. A, Immunofluorescence was used to detect the SGNs in the cochlea of APP/PS1 transgenic mice and wild-type mice at the age of 12 months. a and c are the regions where SGNs are located, and a' and c' are the corresponding local magnifications. b and d are the corti area, that is, the area where hair cells are located, and b' and d' are the corresponding local magnifications. Tuj1 (red) is a marker specific for SGNs, Myo7a (green) is a marker specific for HCs, and DAPI (blue) is the nucleus. B, Results of quantification of SGNs.

Figure 6 Immunofluorescence was used to detect the SGNs in the cochlea of APP/PS1 transgenic mice and wild-type mice at the age of 12 months

月龄 APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠耳蜗基底膜组织,免疫荧光染色结果显示,8 月龄 APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠耳蜗顶回内毛细胞(inner hair cells,IHCs)和外毛细胞(outer hair cells,OHCs)均未见显著丢失,中、底回 OHCs 出现少量缺失;12 月龄 APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠耳蜗顶、中 OHCs 均出现少量丢失,底回 IHCs 少量缺失,OHCs 出现大量丢失。两种小鼠均随着年龄的增加各回毛细胞数量发生不同程度的缺失,且与 ABR 听功能检测结果相一致。但是,相同月龄 APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠耳蜗毛细胞量化结果显示未见显著性差异。

随后,对 12 月龄 APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠耳蜗组织冰冻切片进行免疫荧光检测结果显示,APP/PS1 转基因鼠及野生型小鼠耳蜗螺旋神经节细胞数量也均未见显著性差异。

3 讨论

年龄相关性听力损失和阿尔茨海默病通常均会影响老年人群。目前研究表明年龄相关性听力损失与阿尔茨海默病存在相关性,但很少有关于 AD 发生发展中听力状况的报道。本研究利用 APP/PS1 转基因鼠进行探究 AD 发病进程对听功能的影响。

本研究选用的 APP/PS1 转基因鼠为双转基因小鼠,其中由 APP 编码的 APP 蛋白经过加工水解可产生 Aβ。PS1 基因产生的 PS 蛋白是 γ 分泌酶的关键组成部分,在 Aβ 生成过程中扮演着重要角色。APP 和 PS1 基因突变是导致家族性阿尔茨海默病的主要因素之一[5]。既往研究表明 APP/PS1 转基因鼠 5 月龄左右开始形成 Aβ 斑块沉积[6],到 9 月龄时海马和皮层有大量斑块,斑块持续增加直至约 12 月龄。在 4 月龄时,小鼠海马区的突触素、突触结合蛋白等存在丢失[7];8 月龄开始出现神经丢失[8];APP/PS1 转基因小鼠行为学表现,Morris 水迷宫实验发现 4 月龄以上 APP/PS1 转基因小鼠学习记忆能力与同月龄野生型小鼠相比显著降低[9]。本研究显示 APP/PS1 转基因鼠在 4 月龄时已经出现表现出 AD 病理特征,故选用 4、8、12 月龄的 APP/PS1 转基因鼠和同窝野生型小鼠观察 AD 早期、中期、晚期的听力变化情况。

对比分析 APP/PS1 转基因鼠 AD 早期、中期、晚期的听力阈值情况,结果表明在 4、8 和 12 月龄时较同窝野生型小鼠相比均无显著性差异,表明 AD 病理进程中 APP/PS1 转基因鼠几乎不会对听功能产生影响。流行病学研究显示 Aβ 蛋白和 p-tau 水平与任何客观听觉测量之间没有统计学上的显著相关性[10]。本研究利用 APP/PS1 转基因小鼠进一步证实听力损失与大脑中 Aβ 沉积无关。然而,另有研究显示,在 6 月龄和 9 月龄时,与 C57BL/6J 小鼠相比,APP 小鼠在 8 kHz 和 16 kHz 频率下听力阈值显著上升[11]。表明不同转基因小鼠对听功能的影响可能也存在一定的差异。

此外关于 ARHL 的研究,早发性 ARHL 动物模型 C57BL/6J 和迟发性 ARHL 动物模型 CBA 是听力研究中最广泛的两种近交系[12-13]。研究表明早发性 ARHL 动物模型 C57BL/6J 在 3~6 月龄时表现出高频听力损失,在 15 月龄时表现出严重听力损失[14-16]。然而,迟发性 ARHL 动物模型 CBA 小鼠具备良好的听力控制能力,在 15 月龄或更大对 ARHL 具有抵抗力,听力阈值上升不显著[17-18]。表明不同品系小鼠可能对 ARHL 敏感性存在一定的差异。

本文所研究的 APP/PS1 转基因鼠和同窝野生型小鼠(B6C3H),在 4 月龄时仅高频 32 kHz 频率下听力阈值显著上升,表现出高频听力损失;8 月龄时 8 kHz、16 kHz 和 32 kHz 频率下听力阈值均显著上升,听力损失进一步加重;12 月龄时,表现出重度听力损失。这两种小鼠均呈现年龄相关性听力损失,即随着年龄的增长而发生进行性听力下降,主要表现为高频听力下降,并逐渐至中低频听力下降。因此,APP/PS1 转基因鼠和同窝野生型小鼠均呈现出年龄相关性听力损失。且此背景品系小鼠 B6C3H 年龄相关性听力损失的相关研究未见报道。

综上可知,APP/PS1 转基因鼠和同窝野生型小鼠(B6C3H)均呈现出年龄相关性听力损失,但 AD 发生发展几乎不会对 APP/PS1 转基因鼠的听力产生影响。

参考文献:

[1] FÖRSTER C Y, SHITYAKOV S, SCHEPER V, et al. Linking cerebrovascular dysfunction to age-related hearing loss and Alzheimer's disease-are systemic approaches for diagnosis and therapy required? [J]. Biomolecules, 2022, 12(11): 1717.

[2] TARAWNEH H Y, JAYAKODY D M P, SOHRABI H R, et al. Understanding the relationship between age-related hearing loss and Alzheimer's disease: a narrative review [J]. J Alzheimers Dis Rep, 2022, 6(1): 539-556.

[3] GREGORY S, BILLINGS J, WILSON D, et al. Experiences of hearing aid use among patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease dementia: a qualitative study [J]. SAGE Open Med, 2020, 8: 2050312120904572.

[4] POWELL F, TOSUN D, RAJ A, et al. Network-constrained technique to characterize pathology progression rate in Alzheimer's disease [J]. Brain Commun, 2021, 3(3): fcab144.

[5] HENEKA M T, KUMMER M P, STUTZ A, et al. NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice [J]. Nature, 2013, 493(7434): 674-678.

[6] JANKOWSKY J L, SLUNT H H, GONZALES V, et al. APP processing and amyloid deposition in mice haplo-insufficient for presenilin 1 [J]. Neurobiol Aging, 2004, 25(7): 885-892.

[7] HONG S, BEJA-GLASSER V F, NFONOYIM B M, et al. Complement and microglia mediate early synapse loss in Alzheimer mouse models [J]. Science, 2016, 352(6286): 712-716.

[8] RUPP N J, WEGENAST-BRAUN B M, RADDE R, et al. Early onset amyloid lesions lead to severe neuritic abnormalities and local, but not global neuron loss in APPPS1 transgenic mice [J]. Neurobiol Aging, 2011, 32(12): 2324. e1-2324. e6.

[9] SONG D, LI G, HONG Y, et al. MiR-199a decreases Neuritin expression involved inthedevelopment of Alzheimer's disease in APP/PS1 mice [J]. Int J Mol Med, 2020, 46(1): 384-396.

[10] MARTÍNEZ-DUBARBIE F, LOBO D, ROLLÁN-MARTÍNEZ-HERRERA M, et al. Age-related hearing loss is not linked to cerebrospinal fluid levels of β-amyloid or p-tau181 [J]. Neurol Sci, 2024, 45(4): 1471-1480.

[11] JAFARI Z, AFRASHTEH N, KOLB B E, et al. Hearing loss and impaired short-term memory in an Alzheimer's disease mouse model of amyloid-beta pathology [J]. Exp Neurol, 2023, 365: 114413.

[12] LIU H, LI G, LU J, et al. Cellular differences in the cochlea of CBA and B6 mice may underlie their difference in susceptibility to hearing loss [J]. Front Cell Neurosci, 2019, 13: 60.

[13] DEBACKER J R, HARRISON R T, BIELEFELD E C. Cisplatin-induced threshold shift in the CBA/CaJ, C57BL/6J, BALB/cJ mouse models of hearing loss [J]. Hear Res, 2020, 387: 107878.

[14] HEQUEMBOURG S, LIBERMAN M C. Spiral ligament pathology: a major aspect of age-related cochlear degeneration in C57BL/6 mice [J]. J Assoc Res Otolaryngol, 2001, 2(2): 118-129.

[15] JOHNSON K R, GAGNON L H, LONGO-GUESS C, et al. Association of a citrate synthase missense mutation with age-related hearing loss in A/J mice [J]. Neurobiol Aging, 2012, 33(8): 1720-1729.

[16] KANE K L, LONGO-GUESS C M, GAGNON L H, et al. Genetic background effects on age-related hearing loss associated with Cdh23 variants in mice [J]. Hear Res, 2012, 283(1/2): 80-88.

[17] FRISINA R D, ZHU X. Auditory sensitivity and the outer hair cell system in the CBA mouse model of age-related hearing loss [J]. Open Access Anim Physiol, 2010, 2: 9-16.

[18] WANG Y, REN C. Effects of repeated "benign" noise exposures in young CBA mice: shedding light on age-related hearing loss [J]. J Assoc Res Otolaryngol, 2012, 13(4): 505-515.

〔收稿日期〕2023-12-22