

7,8-二羟基黄酮对精神分裂症模型大鼠空间认知及海马突触结构的影响*

占瑾琼,余斌,康光宇,闫琨,杨远坚

(江西省精神病院、南昌大学附属精神病医院实验中心,南昌 330029)

摘要 **目的** 探讨特异性 TrkB 受体激动剂 7,8-二羟基黄酮(7,8-DHF)对精神分裂症模型大鼠空间认知及海马突触结构的影响。**方法** 按随机数字表法将出生后 6 天 SD 幼鼠分成正常对照组和模型组。第 7~11 天,正常对照组皮下注射 0.9%氯化钠溶液 $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,模型组则皮下注射地佐环平 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,每天 2 次。出生后第 60 天,模型组大鼠随机分成 7,8-DHF 组和模型对照组,分别给予 7,8-DHF($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)和二甲基亚砜(DMSO)腹腔注射,每天 1 次,连续 14 d。正常对照组大鼠注射等容积 DMSO。利用水迷宫实验检测大鼠空间认知能力,高尔基染色检测海马神经元树突棘密度,Western blotting 检测海马组织蛋白表达及活性。**结果** 旷场实验结果,正常对照组 5 min 内总运动距离(12.20 ± 1.62) m,模型对照组为(11.73 ± 1.36) m,7,8-DHF 组为(12.94 ± 1.09) m。模型对照组大鼠逃避潜伏期和运动距离均显著大于正常对照组($P < 0.05$),与模型对照组比较,7,8-DHF 组模型大鼠逃避潜伏期和运动距离显著缩短($P < 0.05$);3 组大鼠在训练期间游泳速度差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。正常对照组大鼠海马神经元树突棘密度(14.2 ± 2.3)/ $10 \mu\text{m}$,模型对照组为(8.0 ± 1.9)/ $10 \mu\text{m}$ ($P < 0.05$),7,8-DHF 组为(13.5 ± 1.7)/ $10 \mu\text{m}$ ($P < 0.05$);正常对照组 GluR1 蛋白磷酸化水平为(100.0 ± 5.0),模型对照组为(47.9 ± 10.8)($P < 0.05$),7,8-DHF 组为(97.5 ± 9.3)($P < 0.05$)。**结论** 7,8-DHF 可有效改善精神分裂症模型大鼠空间认知能力,可能与其上调海马神经元的树突棘密度和 GluR1 蛋白功能有关。

关键词 7,8-二羟基黄酮;精神分裂症;认知功能;海马突触结构

中图分类号 R971.41;R965

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2017)10-1153-05

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.10.015

Effects of 7,8-Dihydroxyflavone on Spatial Cognitive Function and Synaptic Structure in Schizophrenia Rat Model

ZHAN Jinqiong, YU Bin, KANG Guangyu, YAN Kun, YANG Yuanjian (Experimental Center, Jiangxi Mental Hospital, Mental Hospital Affiliated to Nanchang University, Nanchang 330029, China)

ABSTRACT **Objective** To investigate the effects of specific TrkB receptor agonist 7,8-dihydroxyflavone (7,8-DHF) on spatial cognitive function and synaptic structure in schizophrenia rat model. **Methods** SD infant rats were divided into normal control group and model group according to the random number table method on the 6th day after birth. During the postnatal day 7 to 11, rats in the normal control group received subcutaneous injection of 0.9% sodium chloride solution ($1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) twice daily, and the rats in the model group were injected with dizocilpine ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Beginning on the postnatal day 60, model rats were randomly divided into 7,8-DHF group and model control group, which were given intraperitoneal injection of 7,8-DHF ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and DMSO once daily for 14 consecutive days, respectively. The rats of normal control group were given equal volume injections of DMSO. Morris water maze task, Golgi staining and Western blotting were adopted to examine spatial cognitive function, hippocampal dendritic spine density, protein expression and activity, respectively. **Results** The result in the open field test showed that the total travelled distance within 5 min was (12.20 ± 1.62) m in the normal control group, (11.73 ± 1.36) m in the model control group and (12.94 ± 1.09) m in the 7,8-DHF group. The escape latency and travelled distance in the model control group were significantly higher than those in the normal control group ($P < 0.05$), and the escape latency and travelled distance in rats of 7,8-DHF group were significantly shortened as compared with those in the model control group ($P < 0.05$). There was no significant difference in the swimming speed among the three groups ($P > 0.05$). The hippocampal dendritic spine density was (14.2 ± 2.3)/ $10 \mu\text{m}$ in the normal control group, (8.0 ± 1.9)/ $10 \mu\text{m}$ in the model control group, and (13.5 ± 1.7)/ $10 \mu\text{m}$ in the 7,8-DHF group, the differences between the three groups were significant (all $P < 0.05$); the phosphorylation level of GluR1 protein was (100.0 ± 5.0) in the normal control group, (47.9 ± 10.8) in the model control group, and (97.5 ± 9.3) in the 7,8-DHF group, and the differences among the three groups were significant (all $P < 0.05$). **Conclusion** 7,8-DHF treatment could improve the spatial cognitive function in rat model of schizophrenia and the mechanisms might be related with the increases of hippocampal dendritic spine density and phosphorylated levels of GluR1.

KEY WORDS 7,8-Dihydroxyflavone; Schizophrenia; Cognitive function; Synaptic structure

认知功能损害是精神分裂症的核心症状,但目前尚缺乏有效治疗手段。研究显示,脑源性神经营养因

子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)与其酪氨酸激酶受体 B(tyrosine kinase receptor B, TrkB)功能异

常与精神分裂症认知损害密切相关^[1]。如精神分裂症患者和模型动物脑组织 BDNF 及 TrkB 含量显著降低,与认知损害严重程度存在关联^[2];增加体内 BDNF 水平可改善精神分裂症患者认知功能^[3]。7,8-二羟基黄酮(7,8-dihydroxyflavone,7,8-DHF)是新型特异性 TrkB 受体激动剂,研究显示它可透过血-脑屏障产生 BDNF 样认知增强作用^[4]。*N*-甲基-*D*-天冬氨酸(*N*-methyl-*D*-aspartate,NMDA)受体功能下调可引起精神分裂症相关认知功能损害^[5-6]。笔者在本研究通过 7,8-DHF 对 NMDA 受体功能下调所致大鼠空间认知及海马突触结构的影响,探讨 7,8-DHF 作为精神分裂症认知障碍治疗药物的潜能,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 清洁级 SD 幼鼠,雄性,体质量 60~70 g,购自于江西中医药大学动物实验中心,实验动物生产许可证号:SCXK(赣)2014-0008。动物饲养室温度维持在(22±2)℃,自然光照节律,食物和水供充足。

1.1.2 试药 地佐环平(Sigma 公司,批号:77086-22-7)。二甲亚砜(DMSO,Sigma 公司,批号:67-68-5)。7,8-DHF(Tocris 公司,批号:3826,含量>98%)。GluR1 抗体(Santa Cruz 公司,批号:sc-55509)。磷酸化 GluR1(pGluR1)抗体(Santa Cruz 公司,批号:sc-16313)。

1.1.3 仪器 ANY-maze 动物行为分析系统(Stoeling 公司)。蛋白凝胶电泳仪(北京六一仪器厂生产,型号:DYCZ-25E 型 P4 垂直电泳仪)。生物显微镜(奥林巴斯公司生产,型号:BX53)。

1.2 实验动物分组及处理 按随机数字表法将出生后 6 d 的 SD 幼鼠分成正常对照组($n=12$)和模型组($n=24$)。第 7~11 天,正常对照组皮下注射 0.9%氯化钠溶液 1 mL·kg⁻¹,模型组皮下注射地佐环平 0.1 mg·kg⁻¹,每天 2 次(9:00 和 16:00)^[5]。注射时幼鼠放置在 37℃ 加热垫上。幼鼠于出生后第 20 天断奶并分笼,每笼饲养 3 或 4 只。出生后第 60 天,模型

组大鼠随机分成 7,8-DHF 组和模型对照组,每组 12 只,分别给予 7,8-DHF(5 mg·kg⁻¹)或 DMSO 腹腔注射,每天 1 次,连续 14 d。正常对照组大鼠注射等容积 DMSO。所有动物实验操作遵循国际实验动物护理和使用指南(欧盟指令 2010/63/EU^[7]),并经江西省精神病院伦理委员会审批和批准。本研究起止时间为 2015 年 10 月—2016 年 7 月。

1.3 旷场实验 实验在透明有机玻璃箱内进行,利用摄像头及软件系统追踪和记录动物在场箱内的位置及活动情况,并进行数据分析。实验时将动物背朝操作员轻放于箱中央,使其自由探索 5 min 后放回笼内,记录大鼠的总运动距离,以反映其自发活动水平^[8]。

1.4 Morris 水迷宫实验 从 4 个不同象限将大鼠面向池壁放入池内,若大鼠在 120 s 内能找到隐藏在水中的平台,则让其在平台上停留 20 s;若在规定时间内没有找到平台,则引导其至平台适应 20 s。实验结束后,将大鼠擦拭干净并放回笼中。连续训练 5 d,每天 4 次,每次需从不同象限放入,间隔时间为 1 h。利用实验软件记录并分析大鼠逃避潜伏期、运动距离及游泳速度^[9]。

1.5 高尔基染色实验 将麻醉大鼠固定于手术台,用 10%甲醛氯化钠溶液进行心脏灌注。灌注结束后取出脑组织,切成厚 5 mm 的组织小块,置于媒染液浸泡 3 d,再用 1%硝酸银浸泡 3 d。利用 Leica 振荡切片机切割脑组织块,厚度 50 μm,用 2%重铬酸钾漂洗切片 10 min,后将切片置于烘干载玻片上晾干。利用奥林巴斯 BX53 生物显微镜在 100×油镜下观察大鼠海马 CA1 区神经元的树突棘情况,拍照统计其密度^[10]。

1.6 免疫印迹(Western blotting)实验 分离大鼠海马组织,加入组织裂解液(含 50 mmol·L⁻¹Tris-base,pH 值 7.4,100 mmol·L⁻¹氯化钠,1% NP-40,10 mmol·L⁻¹ EDTA,20 mmol·L⁻¹氟化钠,1 mmol·L⁻¹ PMSF,3 mmol·L⁻¹ Na₃VO₄,蛋白酶抑制剂混合物)并用匀浆器将组织研磨。随后在冰上静置 30 min,12 000×g 离心 15 min,取上清液用 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白样品加入上样缓冲液后煮沸 5 min,冻存于-80℃冰箱备用。制备 SDS-PAGE 凝胶,加入蛋白样品,电泳 1.5 h 后,利用湿转膜装置将蛋白质从 SDS-PAGE 凝胶转移至硝酸纤维(NC)膜。NC 膜经无脂牛奶封闭,1 h 后使用一抗(GluR1 抗体 1:1 000、p-GluR1 抗体 1:500 和 β-actin 抗体 1:2 000)孵育过夜。NC 膜经 TBST 漂洗 3 次后,加入二抗(1:3 000)常温孵育 1 h。加入电致化学发光(electrochemiluminescence,ECL)显色液反应 5 min,终止显色,并将胶片放在 NC 膜上,在暗室里曝光,将胶片

收稿日期 2016-10-21 修回日期 2016-11-25

基金项目 *国家自然科学基金资助项目(81560232);江西省科技计划项目(20151BBG70110)

作者简介 占瑾琼(1984-),女,江西九江人,初级技师,硕士,主要从事精神疾病病理与治疗学研究。电话:0791-88121297,E-mail:jqion@163.com。

通信作者 杨远坚(1983-),男,广西贵港人,副主任医师,博士,专业方向:精神疾病基础与临床。电话:0791-88330161,E-mail:yuanjimyang@yeah.net。

进行冲洗。目的条带用 IPP 6.0 软件分析系统进行灰度值分析。目的蛋白条带与 β -actin 条带吸光度的比值表示蛋白表达量^[8]。

1.7 统计学方法 采用 SPSS 18.0 版统计软件进行分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。水迷宫实验数据采用重复测量资料方差分析(组别为组间因素,训练天数为组内因素);旷场实验、高尔基染色和 Western blotting 数据使用单因素方差分析,并用 LSD 检验进行两两比较。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对大鼠自发活动的影响 旷场实验结果显示,正常对照组 5 min 内总运动距离为(12.20 \pm 1.62) m,模型对照组为(11.73 \pm 1.36) m,7,8-DHF 组为(12.94 \pm 1.09) m。与正常对照组比较,模型对照组大鼠在 5 min 内总运动距离差异无统计学意义($P>0.05$),7,8-DHF 组与正常对照组大鼠相近,表明地佐环平和 7,8-DHF 处理对大鼠运动功能没有影响。

2.2 对空间认知功能的影响 大鼠在训练期间爬上平台的逃避潜伏期和运动距离结果见表 1。从训练第 2 天开始,模型对照组大鼠逃避潜伏期和运动距离均显著大于正常对照组($P<0.05$),与模型对照组比较,7,8-DHF 组模型大鼠的逃避潜伏期和运动距离显著缩

短($P<0.05$),其水平与正常对照组类似。对逃跑潜伏期的双因素方差分析结果显示,组别因素 $F_{(2,33)}=38.678, P<0.05$;时间因素 $F_{(2,33)}=34.119, P<0.05$ 。对运动距离的数据分析显示,组别因素 $F_{(4,31)}=32.365, P<0.05$;时间因素 $F_{(4,31)}=38.516, P<0.05$ 。表 2 显示 3 组大鼠在训练期间的游泳速度差异无统计学意义(均 $P>0.05$),提示 3 组大鼠逃避潜伏期和运动距离的差异与运动能力无关。

2.3 大鼠海马神经元树突棘密度 神经元树突棘密度与学习记忆能力呈正相关。结果显示,与正常对照组大鼠海马神经元的树突棘密度(14.2 \pm 2.3)/10 μm 比较,模型对照组大鼠海马神经元的树突棘密度(8.0 \pm 1.9)/10 μm 明显降低($P<0.05$);与模型对照组比较,7,8-DHF 组大鼠海马神经元树突棘密度(13.5 \pm 1.7)/10 μm 显著增加($P<0.05$),与正常对照组相似。见图 1。

2.4 上调大鼠海马组织 GluR1 蛋白磷酸化水平 AMPA 受体 GluR1 亚基是 BDNF/TrkB 信号的关键作用靶点,p-GluR1 与 GluR1 条带的吸光度比值表示为 GluR1 蛋白磷酸化水平,其磷酸化水平与认知功能有关。正常对照组、模型对照组和 7,8-DHF 组 GluR1 蛋白磷酸化水平分别为(100.0 \pm 5.0),(47.9 \pm 10.8),(97.5 \pm 9.3)。Western blotting 结果显示,模型对照组大鼠海马组织 GluR1 总蛋白表达与正常对照组比较差

表 1 3 组大鼠 Morris 水迷宫实验结果
Tab.1 Results of Morris water maze test in three groups of rats $\bar{x}\pm s, n=12$

组别	逃避潜伏期/s				
	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
正常对照组	35.36 \pm 3.66	22.30 \pm 3.66	18.02 \pm 3.00	11.93 \pm 1.62	10.89 \pm 3.34
模型对照组	44.57 \pm 3.37	37.74 \pm 4.04 ^{*1}	28.91 \pm 4.25 ^{*1}	24.19 \pm 5.45 ^{*1}	25.24 \pm 3.77 ^{*1}
7,8-DHF 组	37.93 \pm 4.33	24.17 \pm 4.26 ^{*2}	15.17 \pm 3.15 ^{*2}	12.82 \pm 3.94 ^{*2}	11.51 \pm 3.05 ^{*2}
组别	运动距离/cm				
	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
正常对照组	661.12 \pm 65.68	420.12 \pm 75.95	264.38 \pm 83.81	210.43 \pm 62.78	228.00 \pm 57.55
模型对照组	887.31 \pm 82.45	726.70 \pm 95.34 ^{*1}	527.62 \pm 87.05 ^{*1}	453.28 \pm 67.07 ^{*1}	441.77 \pm 55.41 ^{*1}
7,8-DHF 组	695.94 \pm 77.76	405.70 \pm 96.84 ^{*2}	300.78 \pm 64.64 ^{*2}	265.88 \pm 49.85 ^{*2}	213.35 \pm 68.37 ^{*2}

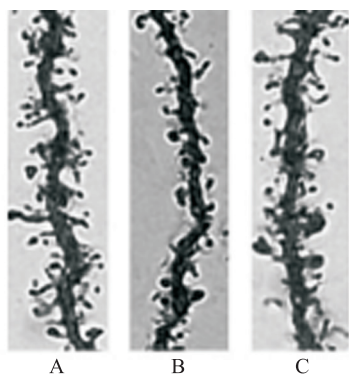
与正常对照组比较,^{*1} $P<0.05$;与模型对照组比较,^{*2} $P<0.05$

Compared with normal control group, ^{*1} $P<0.05$; Compared with model control group, ^{*2} $P<0.05$

表 2 3 组大鼠游泳速率
Tab.2 Swimming speed of three groups of rats $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}, \bar{x}\pm s, n=12$

组别	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
正常对照组	19.23 \pm 1.20	19.55 \pm 1.05	18.35 \pm 1.85	18.10 \pm 0.55	18.44 \pm 1.01
模型对照组	17.93 \pm 1.07	18.32 \pm 1.46	19.67 \pm 1.79	18.87 \pm 1.27	18.45 \pm 1.41
7,8-DHF 组	18.53 \pm 1.27	18.92 \pm 1.40	18.89 \pm 1.41	19.36 \pm 1.29	19.14 \pm 1.18

异无统计学意义,但 p-GluR1 则显著减少($P<0.05$);慢性腹腔注射 7,8-DHF 可逆转模型大鼠海马组织的 p-GluR1 改变,见图 2。

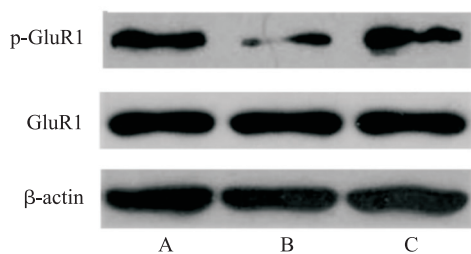


A. 正常对照组; B. 模型对照组; C. 7,8-DHF 组

图 1 3 组大鼠海马神经元树突棘高尔基染色情况($\times 2\ 000$)

A. normal control group; B. model control group; C. 7, 8-DHF group

Fig.1 Golgi staining on hippocampal neuron in three groups of rats($\times 2\ 000$)



A. 正常对照组; B. 模型对照组; C. 7,8-DHF 组

图 2 Western blotting 检测 3 组大鼠海马组织 GluR1、p-GluR1 和 β -actin 蛋白

A. normal control group; B. model control group; C. 7, 8-DHF group

Fig.2 Western blotting analysis on GluR1, p-GluR1 and β -actin in hippocampal tissues from three groups of rats

3 讨论

NMDA 受体在神经系统发育成熟过程中发挥重要作用,它能调节神经元活性,参与树突轴突结构发育及突触可塑性形成,是学习记忆过程中的关键受体^[11]。STEFANI 等^[5]报道,在发育早期阻断 NMDA 受体功能会导致动物成年后出现类似于精神分裂症的行为学表现,如认知缺陷、性格改变和行为紊乱等。本研究结果发现在大鼠神经发育的关键时期(出生后第 7~11 天)皮下注射 NMDA 受体拮抗剂药地佐环平可导致其在

成年期出现空间认知损害,体现为较差的寻找迷宫平台能力,表明精神分裂症认知损害的大鼠模型构建成功,与文献^[9]报道一致。而模型大鼠自发活动水平、游泳速度与正常对照组大鼠差异无统计学意义,排除模型大鼠空间认知缺陷是由运动障碍导致的可能性。

认知损害是精神分裂症第三大核心症状,新型抗精神病药物虽对认知功能有一定的改善作用,但是效果并不确切,且有些抗精神病药甚至还因严重的药物不良反应(如锥体外系反应、过度镇静等)而不同程度地影响患者认知功能^[12],因此精神分裂症认知障碍的治疗已成为研究的热点。BDNF 是神经营养素家族的重要成员,对神经系统生长发育尤其是突触可塑性形成具有至关重要作用,其生物学效应主要通过 TrkB 受体结合产生。研究显示,BDNF/TrkB 功能异常可能是精神分裂症认知损害的关键病理基础^[1]。7,8-DHF 是特异性 TrkB 受体激动剂,对正常和病理情况下动物的认知功能均具有正性调节作用^[4],如增强正常大鼠学习能力、阻断应激束缚所致大鼠记忆损伤、逆转老年痴呆小鼠记忆障碍等。本研究发现,慢性腹腔注射 7,8-DHF 可显著改善精神分裂症模型大鼠空间认知功能,不仅提示 7,8-DHF 具有治疗精神分裂症认知障碍的潜能,还为精神分裂症存在大脑 BDNF/TrkB 功能异常理论提供实验依据。

树突棘是神经元形成突触的部位,其数量与突触传递效能密切相关^[13]。神经电生理研究发现,精神分裂症患者或模型动物的皮层和海马区突触传递效能存在异常,表现为突触传递的长时程增强现象显著抑制^[9-14],而长时程增强被认为是学习记忆的分子学基础。与正常对照组大鼠比较,模型对照组大鼠海马神经元的树突棘密度显著降低,该结果从突触可塑性层面证实精神分裂症模型动物存在认知功能损害;而慢性 7,8-DHF 给药可使模型大鼠海马神经元树突棘密度恢复正常,表明 7,8-DHF 通过逆转海马神经元的突触结构进而改善模型动物的认知能力。

AMPA 受体是中枢神经系统重要的兴奋性谷氨酸受体,其功能状态与多种认知和行为紧密相关^[15]。NMDA 受体激活引起钙离子内流可通过激活钙调蛋白激酶,影响 AMPA 受体的磷酸化水平,调节其突触膜转运,进而参与突触可塑性和学习记忆形成过程^[5]。GluR1 亚基是构成 AMPA 受体的基本亚单位,其磷酸化水平与认知功能正性相关^[15]。ZHANG 等^[16]研究发现,奥氮平改善精神分裂症模型大鼠认知功能与海马组织 GluR1 亚基的磷酸化水平上调有关。本研究发现,模型对照组大鼠海马神经元 GluR1 亚基的磷酸化

水平显著降低,而给予 7,8-DHF 可上调 GluR1 蛋白磷酸化至正常对照组水平,表明 GluR1 磷酸化调节是 7,8-DHF 改善模型动物认知损害的重要机制。

综上所述,本研究发现 TrkB 受体激动剂 7,8-DHF 可显著改善 NMDA 受体功能下调所致大鼠认知功能损害,其机制与上调海马神经元树突棘密度及 GluR1 蛋白磷酸化水平有关。基于 7,8-DHF 具有良好的血-脑屏障通透能力^[4],本研究提示 7,8-DHF 可能是精神分裂症认知障碍治疗的潜在药物。笔者在本研究只探讨 7,8-DHF 对 NMDA 受体功能下调所致大鼠空间认知缺陷的改善作用,其是否也可改善其他方面的认知如情绪记忆、新物体认知等则尚不清楚;同时 7,8-DHF 发挥药理学作用的剂量范围也尚不明确。在以后的研究中,将进一步研究 7,8-DHF 对其他方面认知功能的影响并探讨其最佳的剂量。

参考文献

- [1] PILLAI A. Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling in the pathogenesis and novel pharmacotherapy of schizophrenia [J]. *Neurosignals*, 2008, 16(2/3): 183-193.
- [2] DURANY N, MICHEL T, ZOCHLING R, et al. Brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin 3 in schizophrenic psychoses [J]. *Schizophr Res*, 2001, 52(1/2): 79-86.
- [3] EHRENREICH H, HINZE-SELCH D, STAWICKI S, et al. Improvement of cognitive functions in chronic schizophrenic patients by recombinant human erythropoietin [J]. *Mol Psychiatry*, 2007, 12(2): 206-220.
- [4] DU X, HILL R A. 7,8-Dihydroxyflavone as a proneurotrophic treatment for neurodevelopmental disorders [J]. *Neurochem Int*, 2015, 89: 170-180.
- [5] STEFANI M R, MOGHADDAM B. Transient *N*-methyl-*D*-aspartate receptor blockade in early development causes lasting cognitive deficits relevant to schizophrenia [J]. *Biol Psychiatry*, 2005, 57(4): 433-436.
- [6] 王绍礼, 翁永振, 黄淑贞. 氯氮平治疗精神分裂症的机制与谷氨酸假说 [J]. *医药导报*, 2002, 21(10): 638-639.

- [7] CHLEBUS M, GUILLEN J, PRINS J B. Directive 2010/63/EU: facilitating full and correct implementation [J]. *Lab Anim*, 2016, 50(2): 151.
- [8] WANG C M, YANG Y J, ZHANG J T, et al. Regulation of emotional memory by hydrogen sulfide: role of GluN2B-containing NMDA receptor in the amygdala [J]. *J Neurochem*, 2015, 132(1): 124-134.
- [9] LIU Y, CHEN J, SONG T, et al. Contribution of K^+-Cl^- cotransporter 2 in MK-801-induced impairment of long term potentiation [J]. *Behav Brain Res*, 2009, 201(2): 300-304.
- [10] CHEN T, YANG Y J, LI Y K, et al. Chronic administration tetrahydroxystilbene glucoside promotes hippocampal memory and synaptic plasticity and activates ERKs, CaMKII and SIRT1/miR-134 *in vivo* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 190: 74-82.
- [11] HARRIS L W, SHARP T, GARTLON J, et al. Long-term behavioural, molecular and morphological effects of neonatal NMDA receptor antagonism [J]. *Eur J Neurosci*, 2003, 18(6): 1706-1710.
- [12] HARVEY P D, KEEFE R S. Studies of cognitive change in patients with schizophrenia following novel antipsychotic treatment [J]. *Am J Psychiatry*, 2001, 158(2): 176-184.
- [13] 王玉珠, 张均田. 认知功能和神经可塑性——调节神经可塑性是人参皂苷 Rg1 改善认知功能的基本机制 [J]. *医药导报*, 2007, 26(7): 702-708.
- [14] FRANTSEVA M V, FITZGERALD P B, CHEN R, et al. Evidence for impaired long-term potentiation in schizophrenia and its relationship to motor skill learning [J]. *Cereb Cortex*, 2008, 18(5): 990-996.
- [15] SANDERSON D J, GOOD M A, SEEBURG P H, et al. The role of the GluR-A (GluR1) AMPA receptor subunit in learning and memory [J]. *Prog Brain Res*, 2008, 169: 159-178.
- [16] ZHANG C, FANG Y, XU L. Glutamate receptor 1 phosphorylation at serine 845 contributes to the therapeutic effect of olanzapine on schizophrenia-like cognitive impairments [J]. *Schizophr Res*, 2014, 159(2/3): 376-384.