

[文章编号] 1000-4718(2019)02-0326-06

虫草素对 MPTP 诱导的帕金森病小鼠运动与认知能力的影响*

刘丽, 罗广轩, 林健琳, 关燕清, 刘文晓, 肖鹏, 李楚华[△]

(华南师范大学生命科学学院, 广东 广州 510631)

[摘要] 目的: 探索虫草素(cordycepin)对1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)诱导的帕金森病小鼠运动与认知能力的影响。方法: 将C57BL/6小鼠每天腹腔注射MPTP(30 mg/kg), 连续8 d, 以建立帕金森病小鼠模型。HE染色检测虫草素对MPTP诱导小鼠黑质致密部(substantia nigra pars compacta, SNpc)细胞数目的影响; Western blot检测黑质(substantia nigra, SN)内酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)表达量的变化; 采用旷场实验(open-field test, OFT)、自发交替行为(spontaneous alternation behavior, SAB)及水迷宫实验(water maze test, WMT)分别检测虫草素对帕金森病小鼠自发活动、情绪变化和认知行为的影响。结果: HE染色结果表明, 虫草素显著抑制由MPTP引起的小鼠SNpc细胞数目减少($P < 0.05$); Western blot结果表明MPTP显著降低SN内TH的表达量($P < 0.05$), 而虫草素可以逆转这种变化($P < 0.05$); 虫草素可提高小鼠在OFT中的平均速度($P < 0.05$), 并增加小鼠在SAB中的总进臂次数, 提高正确率($P < 0.05$), 但对WMT潜伏期并没有明显的影响。结论: 虫草素能够减轻MPTP诱导的帕金森病小鼠早期的运动障碍和探索能力降低, 但对其记忆障碍并没有明显的影响。

[关键词] 虫草素; 帕金森病; 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶; 黑质致密部; 酪氨酸羟化酶

[中图分类号] R742.5; R285.5

[文献标志码] A doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2019.02.022

Effects of cordycepin on motor and cognition in Parkinson disease mice induced by MPTP

LIU Li, LUO Guang-xuan, LIN Jian-lin, GUAN Yan-qing, LIU Wen-xiao, XIAO Peng, LI Chu-hua

(School of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China. E-mail: lich@sncu.edu.cn)

[ABSTRACT] **AIM:** To investigate the effects of cordycepin on the motor and cognition in Parkinson disease mice induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). **METHODS:** C57BL/6 mice were intraperitoneally injected with MPTP at a dose of 30 mg/kg daily for consecutive 8 d to establish the model of Parkinson disease. HE staining was used to observe the cell number in the substantia nigra pars compacta (SNpc) from the mice. Western blot was used to detect the protein level of tyrosine hydroxylase (TH) in substantia nigra (SN). The effects of cordycepin on the motor, emotional change and cognitive behavior of the Parkinson disease mice were examined by open-field test (OFT), spontaneous alternating behavior (SAB) and water maze test (WMT), respectively. **RESULTS:** Cordycepin significantly reduced the apoptosis of cells in SNpc and reversed the decrease in the expression of TH in SN induced by MPTP ($P < 0.05$). Furthermore, cordycepin was able to improve the average speed in OFT ($P < 0.05$), and increased the total number of arm entry and the accuracy in SAB ($P < 0.05$), but had no obvious effect on the latency in WMT. **CONCLUSION:** Cordycepin is capable of attenuating the impairments of motor and explorative ability in the early stage of Parkinson disease mice, but does not alter the cognitive dysfunction.

[KEY WORDS] Cordycepin; Parkinson disease; 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine; Substantia nigra pars compacta; Tyrosine hydroxylase

帕金森病(Parkinson disease, PD)是一种常见的神经系统退行性变性疾病,为世界第二大神经性疾病^[1-2]。目前,全球大约有0.3%的人口患有PD,在我国,65岁以上人群中PD发病率高达2%,占全球

[收稿日期] 2018-03-28 [修回日期] 2018-06-07

* [基金项目] 广州市科技计划项目(No. 201510010171); 华南师范大学研究生创新计划项目

[△]通讯作者 Tel: 020-85211372; E-mail: lich@sncu.edu.cn

患者总数 40% 以上^[3,4]。PD 主要的病理特征是黑质 (substantia nigra, SN) 内多巴胺 (dopamine, DA) 能神经元变性和凋亡, 导致 DA 释放不足, 最终造成 PD 的多种功能障碍^[2, 4-6]。目前, PD 的发病机制并不明确, 主流的学说认为 PD 是由神经炎症、氧化应激、兴奋性毒性损害和线粒体功能障碍等导致的, 也可能是多种因素的综合作用^[7-9]。众所周知, PD 主要的临床表现为动作迟缓、姿势不稳及震颤等运动性功能障碍^[2, 10], 随着病情的不断发展, PD 一些非运动功能障碍, 如睡眠障碍、焦虑、抑郁以及认知障碍等也日益凸显^[2, 11-12]。

虫草素 (cordycepin) 又称 3'-脱氧腺苷, 为冬虫夏草及人工蛹虫草的活性成分, 具有抗炎、抗氧化和抗肿瘤等功效^[13-14]。在 PD 的细胞模型中, 虫草素通过增强细胞的抗氧化能力, 从而起到保护细胞的作用^[15]。另外, 在对于 PD 的新药研究中发现, 拮抗腺苷 A_{2A} 受体 (adenosine A_{2A} receptor, A_{2A}R) 可以缓解 PD 的症状, A_{2A}R 的选择性拮抗剂结合左旋多巴的治疗方案已进入临床试验的第 3 阶段^[16]。在动物模型中, A_{2A}R 拮抗剂不仅减轻模型动物运动障碍, 还可以逆转认知功能障碍^[17-19]。作为一种腺苷类似物, 虫草素在体外及体内的研究均表现具有调节 A_{2A}R 表达的作用^[19-20]。因而本文希望通过探究虫草素对 PD 小鼠运动、情绪和认知等行为的影响为 PD 的治疗提供一种新的思路。

材 料 和 方 法

1 动物

8 周龄 SPF 级健康雄性 C57BL/6 小鼠, 购于中山医科大学动物实验中心, 合格证编号: SCXK(粤) 2016-0029。饲养温度 (24 ± 2) °C, 自然光照, 给予充足的饮水和食物, 进行 1 周的适应性饲养。

2 主要试剂

虫草素由华南师范大学生命科学学院植物化学研究室提供, 纯度 ≥ 98%^[21]; 1-甲基-4-苯基-1, 2, 3, 6-四氢吡啶 (1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine, MPTP) 购自 Sigma; 抗酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH) 抗体购自 Abcam; 其它化学试剂均购自碧云天生物公司。

3 主要方法

3.1 帕金森小鼠模型的建立及分组处理 将小鼠随机分为正常对照 (control) 组、模型 (MPTP) 组及虫草素 (cordycepin) 组, 每组 20 只。Cordycepin 组提前 7 d 给予口服虫草素溶液 (20 mg/kg, 共 15 d); control 组和 MPTP 组每天以同体积的生理盐水灌胃。自灌胃的第 8 天起, MPTP 组和 cordycepin 组开始腹腔注射 MPTP 溶液 (30 mg/kg, 连续 8 d), 建立 PD 小鼠模

型, control 组每天腹腔注射同体积的生理盐水。

3.2 HE 染色 将动物麻醉之后, 快速打开胸腔并剪开心包, 自心尖部插入针头, 使其进入升主动脉, 剪开右心耳, 生理盐水进行灌流 20 min, 待肝脏变白后, 缓慢灌注 4% 多聚甲醛固定 30 min。固定完毕后, 开颅取脑浸泡于新配制的 4% 多聚甲醛中固定 24 h。常规脱水、透明、进蜡, 石蜡包埋制作脑组织蜡块标本。石蜡切片, 每张蜡膜的厚度为 5 μm, 进行 HE 染色, 光镜下观察黑质致密部 (substantia nigra pars compacta, SNpc) 细胞神态和数目变化^[22]。

3.3 Western blot 小鼠迅速断头取出脑组织, 利用脑模具分离出 SN 组织, 加入强 RIPA 细胞裂解液和蛋白酶抑制剂进行裂解, 4 °C、12 000 rpm 离心 10 min 后, 提取总蛋白, 并采用 BCA 法进行蛋白定量。用 12% SDS-PAGE 分离蛋白并转印至硝酸纤维素膜后, 5% 的牛奶封闭液室温封闭 90 min, 加入抗 TH 抗体 (1:2 500, Abcam) 和抗 α-tubulin 抗体 (1:1 000, 碧云天) 4 °C 孵育过夜。次日, 反复洗膜 3 次后, 辣根过氧化物酶偶联的 II 抗 (1:1 000) 室温孵育 1.5 h, 化学发光法显影, 扫描。用图像处理系统对条带灰度进行分析, 以 α-tubulin 作为内参照。

3.4 旷场实验 (open-field test, OFT) 旷场实验测试前, 小鼠放置在原鼠笼中, 在旷场实验箱所在的室内适应环境 30 min。正式记录前, 用 75% 乙醇清洁测试区域, 待气味散去, 每只小鼠放置在独立旷场测试区 (40 cm × 40 cm × 37 cm) 进行测试, 录像 15 min, 记录小鼠运动轨迹, 并利用分析软件分析中间区域活动时间和时间路程、速度以及总路程等实验数据。

3.5 自发交替行为 (spontaneous alternation behavior, SAB) 自发交替行为测试全程保持黑暗, 利用 Y-maze 装置进行自发交替评估探索和空间记忆能力。小鼠在原鼠笼进行 30 min 的暗适应后进行实验。明确标记 Y-maze 外侧三臂为“ I ”“ II ”和“ III ”后, 将小鼠放进 Y-maze 的任一臂中, 闭合各臂上方挡板, 开始观察并记录小鼠在 Y-maze 中的活动情况。每只鼠测试 1 次, 每次进行 10 min, 记录小鼠进入不同臂的顺序, 统计小鼠总进臂次数及正确率。

3.6 水迷宫实验 (water maze test, WMT) 水迷宫测试是用于测试实验动物对空间位置感和空间定位的学习记忆能力。定位航行试验历时 5 d, 每天将小鼠面向池壁分别从 4 个不同的入水点放入水中各 1 次, 记录其寻找到隐藏在水面下平台的时间, 记为潜伏期。在每日的测试中, 每次的入水位置都是随机的, 若小鼠在 60 s 内未找到平台, 实验者需引导其至平台并停留 15 s, 并记其潜伏期为 60 s。

4 统计学处理

采用 SPSS 17.0 对实验数据进行统计分析,数据以均数 ± 标准误(mean ± SEM)表示。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Bonferroni 校正的 *t* 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 虫草素增加 PD 小鼠黑质致密部细胞数目

HE 染色结果示,control 组小鼠的 SNpc 细胞形态正常,细胞数目明显多于 MPTP 组 (*P* < 0.05);而 MPTP 组小鼠 SNpc 内细胞胞体小,核变大,轮廓模糊;虫草素可以明显增多细胞数目 (*P* < 0.05),说明虫草素可以阻止由 MPTP 所造成的 SNpc 细胞数目减少,见图 1。

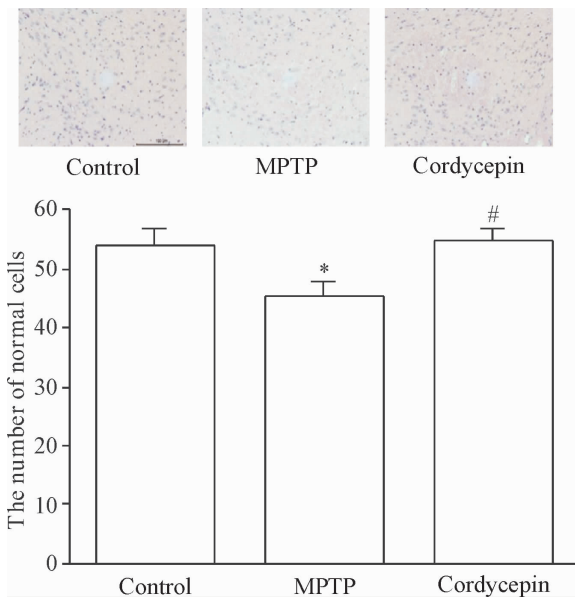


Figure 1. Cordycepin increased the number of cells in the SNpc in PD mice (HE staining, × 200). Mean ± SEM. *n* = 10. * *P* < 0.05 vs control group; # *P* < 0.05 vs MPTP group.

图 1 虫草素增加 PD 小鼠黑质致密部细胞数目

2 虫草素提高 PD 小鼠黑质内 TH 的表达量

MPTP 导致小鼠 SN 内 TH 的表达量明显减少 (*P* < 0.05),而虫草素可以明显逆转 TH 表达量减少的趋势 (*P* < 0.05),见图 2,说明虫草素对 SN 内的多巴胺能神经元有保护作用,减少 MPTP 的毒害。

3 虫草素减轻 PD 小鼠的运动迟缓

与 control 组相比,MPTP 组小鼠的平均速度明显降低 (*P* < 0.05),中央区域路程减少,但并没有显著差异,说明 MPTP 导致小鼠出现运动迟缓,但并不引起焦虑行为;而虫草素显著提高小鼠的运动速度 (*P* < 0.05),但并不影响小鼠在中央区域路程,说明虫草素可以改善短期 PD 小鼠的运动异常,见图 3。

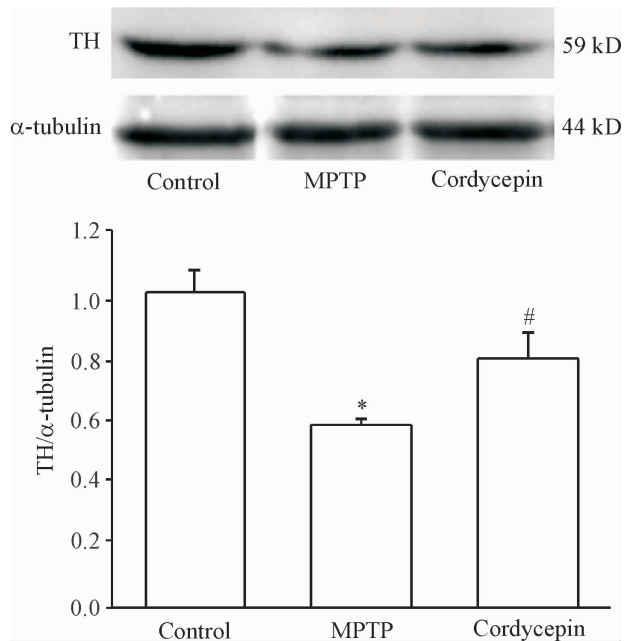


Figure 2. Cordycepin increased the expression of TH in SN in PD mice. Mean ± SEM. *n* = 3. * *P* < 0.05 vs control group; # *P* < 0.05 vs MPTP group.

图 2 虫草素提高 PD 小鼠黑质内 TH 蛋白表达量

4 虫草素提高 PD 小鼠探索 and 空间记忆能力

与 control 组相比,MPTP 导致小鼠总进臂次数和正确率都明显减少 (*P* < 0.05),说明 MPTP 导致小鼠的探索能力和空间记忆能力出现障碍;虫草素能够增加小鼠的总进臂次数并提高正确率 (*P* < 0.05),说明虫草素改善 PD 小鼠的探索 and 空间记忆能力障碍,见图 4。

5 虫草素不影响 PD 小鼠学习记忆行为

与 control 组相比,MPTP 组小鼠的潜伏期有延长,但没有显著差异;虫草素可以缩短由 MPTP 引起的潜伏期延长,但也没有显著差异;说明本研究所模拟的 PD 小鼠模型更适用于研究 PD 早期的症状,并没有出现学习记忆能力的障碍,见图 5。

讨 论

PD 最明显的特征是 SN 内多巴胺能神经元的坏死,TH 是儿茶酚胺合成过程中的限速酶,SN 中 TH 阳性神经元大多是多巴胺能的,因此 TH 可以看作是 SN 中多巴胺能神经元的标志物,SN 内 TH 表达含量成为检测 PD 模型的一大指标^[23]。Deguil 等^[24]使用 30 mg/kg MPTP 连续腹腔注射 5 d,发现小鼠 SN 内的 TH 阳性神经元急剧减少。在本研究中,采用 30 mg/kg 的 MPTP 连续注射 8 d,HE 染色结果显示,MPTP 导致小鼠 SNpc 内细胞数目明显减少,Western blot 结果也显示 SN 内 TH 表达量明显降低,表明 MPTP 导致小鼠出现 PD 样的病理特征。

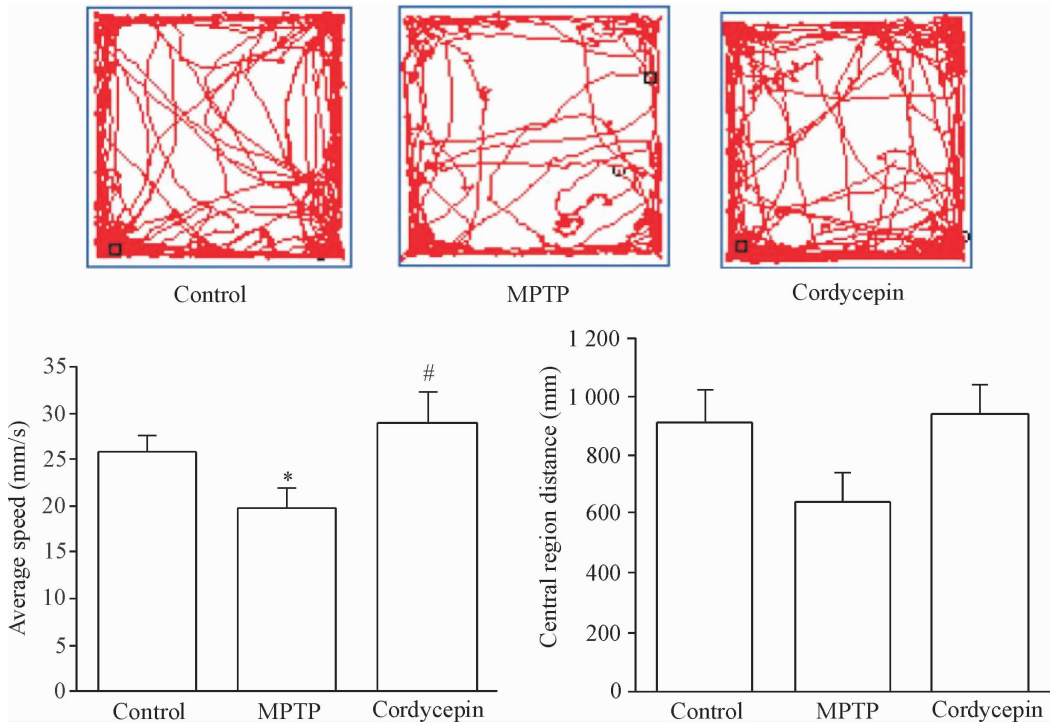


Figure 3. Cordycepin attenuated bradykinesia in PD mice. Mean \pm SEM. $n = 20$. * $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs MPTP group.

图3 虫草素减轻PD小鼠的运动迟缓

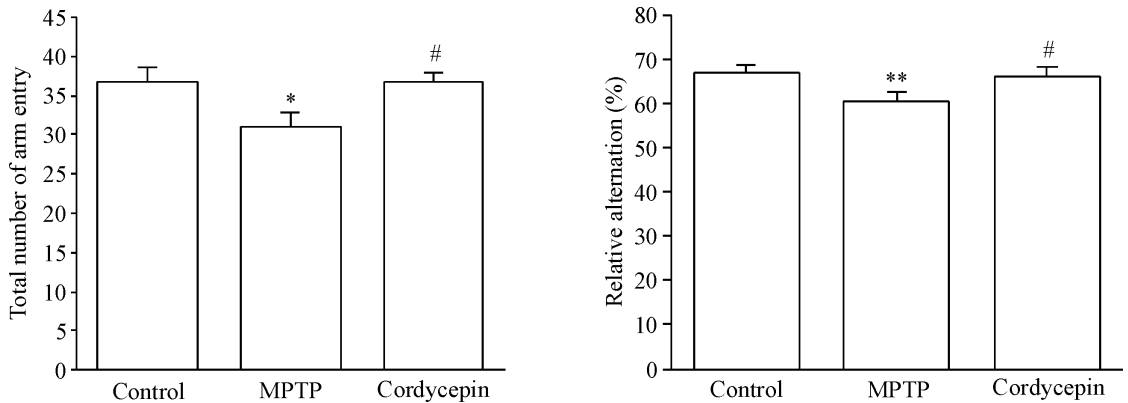


Figure 4. Cordycepin improved the explorative ability in PD mice. Mean \pm SEM. $n = 20$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ vs MPTP group.

图4 虫草素改善PD小鼠的探索及空间记忆能力

在PD的细胞模型中,虫草素通过提高细胞内氧化酶的活性有效抑制由6-OH多巴胺引起的细胞凋亡,发挥保护细胞的作用^[15]。陈琴等^[25]也发现,虫草素可以显著抑制鱼藤酮诱导的细胞凋亡。另外,虫草素对鱼藤酮引起的PD大鼠多巴胺能神经元凋亡具有抑制作用^[26]。在本实验中,虫草素同样逆转了MPTP引起的SNpc内的细胞数目减少和SN内TH表达量降低的现象,表明虫草素可以减少MPTP对SN内多巴胺能神经元的损伤,在PD小鼠中发挥神经保护作用。

PD患者最明显的临床表现为出现严重的运动功能障碍,并随着病情的加剧,萎靡不振、焦虑以及

认知障碍等非运动功能障碍越加明显^[11-12]。虫草素对PD小鼠具有神经保护作用,那能否在行为上表现出来?OFT是用于评价小鼠自发行为以及焦虑状态的经典行为学实验^[27]。本实验结果显示虫草素改善由MPTP引起的平均速度减慢,总路程减少,但小鼠并没有出现焦虑现象,表明虫草素可以改善PD小鼠的运动迟缓症状。SAB实验检测小鼠对新异环境的探索能力以及空间记忆能力^[28],虫草素增加小鼠的总进臂次数,并提高其正确率,表明虫草素可以增强PD小鼠的探索和空间记忆能力。WMT检测实验动物对空间位置感和方向感的学习记忆能力^[29-30]。本实验结果显示,MPTP虽使小鼠的潜伏期增加,但是

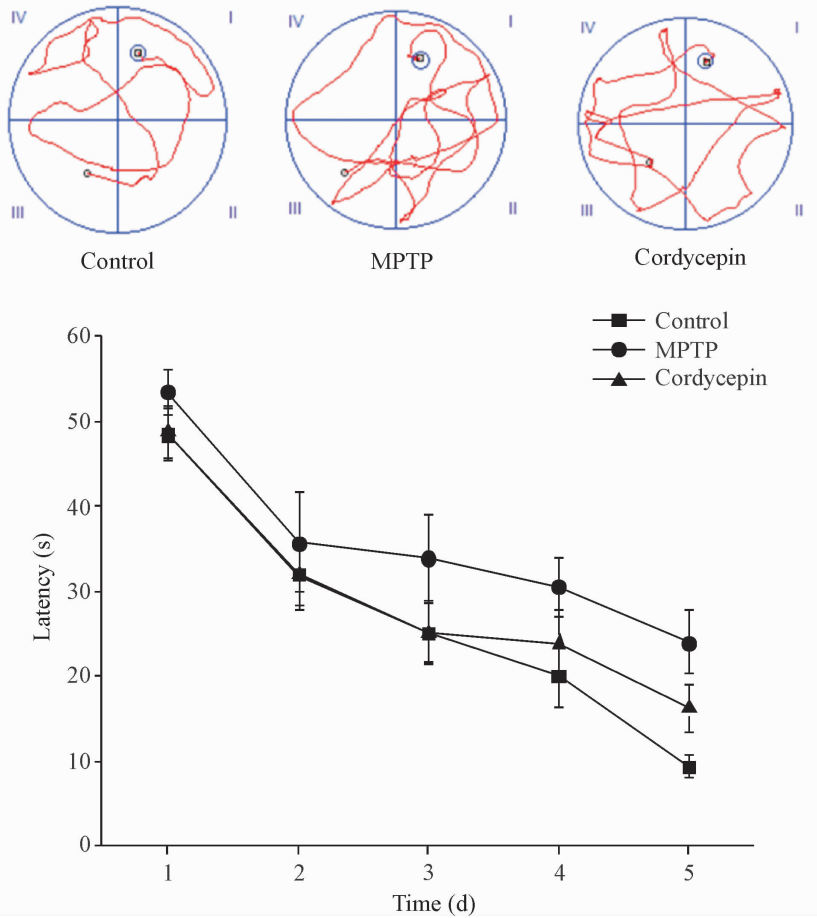


Figure 5. Cordycepin had no effect on the ability of learning and memory in PD mice. Mean \pm SEM. $n = 12$.

图5 虫草素不影响PD小鼠的学习记忆能力

并没有显著差异,虫草素虽有一定的改善作用,但也并不明显。此结果表明,本实验所模拟的PD小鼠模型可能更多地接近PD患者的早期症状,表现出运动和探索能力下降,但并没有出现焦虑和学习记忆能力的缺陷,说明此模型并不适用于研究PD患者后期的各种非运动障碍,例如焦虑和记忆障碍等。

综上所述,我们发现MPTP处理导致小鼠SN内多巴胺能神经元丢失,并表现出PD早期的运动障碍和探索能力下降,而虫草素处理后,可以明显减轻这种症状,说明虫草素对PD小鼠具有神经保护作用,并能在运动和探索能力上显现出来。

[参 考 文 献]

[1] Jackson-Lewis V, Przedborski S. Protocol for the MPTP mouse model of Parkinson's disease [J]. *Nat Protoc*, 2007, 2(1):141-151.

[2] Lim CK, Fernandez-Gomez FJ, Braidy N, et al. Involvement of the kynurenine pathway in the pathogenesis of Parkinson's disease[J]. *Prog Neurobiol*, 2017, 155:76-95.

[3] 赵 焱, 卢祖龙. 光甘草定对MPTP致帕金森病小鼠海马区ERK信号通路的影响[J]. *中华医学杂志*,

2017, 97(16):2050-2054.

[4] Liu L, Peritore C, Ginsberg J, et al. Protective role of SIRT5 against motor deficit and dopaminergic degeneration in MPTP-induced mice model of Parkinson's disease [J]. *Behav Brain Res*, 2015, 281:215-221.

[5] Binukumar BK, Shukla V, Amin ND, et al. Peptide TFP5/TP5 derived from Cdk5 activator P35 provides neuroprotection in the MPTP model of Parkinson's disease [J]. *Mol Biol Cell*, 2015, 26(24):4478-4491.

[6] L'Episcopo F, Tirolo C, Testa N, et al. Plasticity of sub-ventricular zone neuroprogenitors in MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) mouse model of Parkinson's disease involves cross talk between inflammatory and Wnt/ β -catenin signaling pathways: functional consequences for neuroprotection and repair [J]. *J Neurosci*, 2012, 32(6):2062-2085.

[7] Martin HL, Santoro M, Mustafa S, et al. Evidence for a role of adaptive immune response in the disease pathogenesis of the MPTP mouse model of Parkinson's disease [J]. *Glia*, 2016, 64(3):386-395.

[8] Dias V, Junn E, Mouradian MM. The role of oxidative stress in Parkinson's disease [J]. *J Parkinsons Dis*, 2013, 3(4):461-491.

- [9] Goswami P, Joshi N, Singh S. Neurodegenerative signaling factors and mechanisms in Parkinson's pathology[J]. *Toxicol in Vitro*, 2017, 43:104-112.
- [10] Muthian G, Mackey V, King J, et al. Modeling a sensitization stage and a precipitation stage for Parkinson's disease using prenatal and postnatal 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine administration[J]. *Neuroscience*, 2010, 169(3):1085-1093.
- [11] Wishart S, Macphee GJ. Evaluation and management of the non-motor features of Parkinson's disease[J]. *Ther Adv Chronic Dis*, 2011, 2(2):69-85.
- [12] Gratwicke J, Jahanshahi M, Foltynie T. Parkinson's disease dementia: a neural networks perspective[J]. *Brain*, 2015, 138(6):1454-1476.
- [13] Gao J, Lian ZQ, Zhu P, et al. Lipid-lowering effect of cordycepin (3'-deoxyadenosine) from *Cordyceps militaris* on hyperlipidemic hamsters and rats[J]. *Yao Xue Xue Bao*, 2011, 46(6):669-676.
- [14] Choi YH, Kim GY, Lee HH. Anti-inflammatory effects of cordycepin in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages through Toll-like receptor 4-mediated suppression of mitogen-activated protein kinases and NF- κ B signaling pathways[J]. *Drug Des Dev Ther*, 2014, 8:1941-1953.
- [15] Olatunji OJ, Feng Y, Olatunji OO, et al. Cordycepin protects PC12 cells against 6-hydroxydopamine induced neurotoxicity via its antioxidant properties[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 81:7-14.
- [16] Armentero MT, Pinna A, Ferré S, et al. Past, present and future of A_{2A} adenosine receptor antagonists in the therapy of Parkinson's disease [J]. *Pharmacol Ther*, 2011, 132(3):280-299.
- [17] Kadowaki Horita T, Kobayashi M, Mori A, et al. Effects of the adenosine A_{2A} antagonist istradefylline on cognitive performance in rats with a 6-OHDA lesion in prefrontal cortex[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2013, 230(3):345-352.
- [18] Leu SF, Poon SL, Pao HY, et al. The *in vivo* and *in vitro* stimulatory effects of cordycepin on mouse leydig cell steroidogenesis[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2011, 75(4):723-731.
- [19] Cao ZP, Dai D, Wei PJ, et al. Effects of cordycepin on spontaneous alternation behavior and adenosine receptors expression in hippocampus [J]. *Physiol Behav*, 2018, 184:135-142.
- [20] Hu Z, Lee CI, Shah VK, et al. Cordycepin increases non-rapid eye movement sleep via adenosine receptors in rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013:840134.
- [21] Ni H, Zhou XH, Li HH, et al. Column chromatographic extraction and preparation of cordycepin from cordyceps militaris waster medium[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2009, 877(22):2135-2141.
- [22] 李霞, 李树清. JAK2-STAT3 信号通路在鼠脑缺血后适应中的作用机制[J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(12):2121-2127.
- [23] 张毅敏, 连辉, 宋海岩, 等. 6-羟多巴损伤黑质导致弓状核离子钙接头蛋白 1 和阿片-促黑素皮质素原表达的变化[J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(6):975-980.
- [24] Deguil J, Chavant F, Lafay-Chebassier C, et al. Neuroprotective effect of PACAP on translational control alteration and cognitive decline in MPTP Parkinsonian mice[J]. *Neurotox Res*, 2010, 17(2):142-155.
- [25] 陈琴, 姜新, 顾新霞, 等. 虫草素对鱼藤酮诱导 PC12 细胞凋亡的保护作用[J]. *中国药理学通报*, 2016, 25(8):938-943.
- [26] 姜新, 张鑫, 顾新霞, 等. 虫草素抑制帕金森病细胞凋亡的 caspase 激活途径研究[J]. *沈阳药科大学学报*, 2017, 34(10):899-904.
- [27] Chen L, Xie Z, Turkson S, et al. A53T human α -synuclein overexpression in transgenic mice induces pervasive mitochondria macroautophagy defects preceding dopamine neuron degeneration[J]. *J Neurosci*, 2015, 35(3):890-905.
- [28] Miedel CJ, Patton JM, Miedel AN, et al. Assessment of spontaneous alternation, novel object recognition and limb clasping in transgenic mouse models of amyloid- β and tau neuropathology[J]. *J Vis Exp*, 2017(123):e55523.
- [29] 王晓彤, 李健玲, 徐卉, 等. 中药 Q0409 改善小鼠学习记忆障碍有效组方的筛选与验证[J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(6):981-987.
- [30] Walsh CM, Booth V, Poe GR. Spatial and reversal learning in the Morris water maze are largely resistant to six hours of REM sleep deprivation following training [J]. *Learn Mem*, 2011, 18(7):422-434.

(责任编辑: 林白霜, 罗森)