

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2024.09.010

白介素-1 β 基因敲除对小鼠行为的影响

李子木, 梁维凤, 常晶晶, 胡 繁

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘 要:白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)是脑内一种常见的促炎因子,在生理水平下由小胶质细胞和神经元释放并维持在较低表达量。文章选用成年小鼠为实验对象,采用不同的行为学范式研究 IL-1 β 基因敲除对小鼠行为的影响。研究发现,IL-1 β 基因敲除不会影响小鼠的基本运动能力,但显著减少了小鼠进入 Y 迷宫新臂和新物体识别测试中嗅探新物体的时间和次数,增加了小鼠在悬尾以及强迫游泳测试中的静止时间。结果表明敲除 IL-1 β 基因降低了小鼠的学习记忆能力,同时诱导了小鼠的焦虑抑郁样行为。该研究证明了 IL-1 β 基因敲除会对小鼠的基本认知行为和情绪行为造成损害,为后续研究生理条件下炎症因子的正常表达对脑功能的作用提供了重要依据。

关键词:白介素-1 β (IL-1 β);空间记忆;工作记忆;焦虑;抑郁

中图分类号:R994.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1003-5060(2024)09-1224-08

Effect of interleukin-1 β gene knockout on the behavior of mice

LI Zimu, LIANG Weifeng, CHANG Jingjing, HU Fan

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: Interleukin-1 β (IL-1 β) is a common pro-inflammatory factor in the brain that is released by microglia and neurons at the physiological level and maintained at a low expression level. In this study, the effects of IL-1 β gene knockout on the behavior of adult mice were investigated by using different behavioral paradigms. The results found that IL-1 β gene knockout did not affect the basic motor ability of the mice, but significantly reduced the time and the frequency of the mice to enter the new arm of the Y maze and sniff new objects in the new object recognition test, and increased the immobility time of the mice in the tail suspension and forced swimming tests. These results indicated that the knockout of IL-1 β gene reduced the learning and memory ability of mice and induced anxiety-like and depression-like behaviors in mice. The study proved that IL-1 β gene knockout would damage the basic cognitive behavior and emotional behavior of mice, and provided an important basis for subsequent research on the effect of normal expression of inflammatory factors on brain function under physiological conditions.

Key words: interleukin-1 β (IL-1 β); spatial memory; working memory; anxiety; depression

0 引 言

免疫系统广泛参与大脑的生理和病理过程^[1]。炎症因子是机体免疫系统为抵抗感染而释

放的可溶性小分子蛋白,白介素 1(interleukin-1, IL-1)是生物体内主要的促炎细胞因子之一^[2]。它除了由外周免疫系统中的巨噬细胞分泌外,在健康的中枢神经系统中,小胶质细胞作为主要的

收稿日期:2022-01-14;修回日期:2022-03-04

基金项目:国家自然科学基金资助项目(21876041)

作者简介:李子木(1997—),男,安徽合肥人,合肥工业大学硕士生;

胡 繁(1982—),女,湖北襄阳人,博士,合肥工业大学副教授,硕士生导师,通信作者,E-mail:hufan@hfut.edu.cn.

内源性免疫细胞,也会释放较低水平的 IL-1^[3]。这种广泛分布的特性使其在免疫系统与神经系统的相互作用中起到重要作用。

IL-1 β 是 IL-1 的一种主要分泌形式,成熟的 IL-1 β 分子量为 17 kDa 左右。研究表明,在病理条件下,IL-1 β 的过度表达会损害学习记忆与神经可塑性^[4-5];但在生理水平上,IL-1 β 的正常表达对巩固学习记忆^[6]、维持长时程增强(long-term potentiation,LTP)^[7]起重要作用,阻断其受体或将受体敲除均会造成认知功能受损^[8-10]。IL-1 β 在压力条件下抑制前额叶皮层中 IL-6 的基础表达会造成大鼠的认知灵活性受损^[11];向小鼠侧脑室注射不同剂量的 IL-1 β 和 IL-1R1a(一种 IL-1 β 的拮抗剂),结果表明,任何偏离正常生理质量浓度范围的剂量都会导致小鼠海马依赖的记忆受损^[12]。实验室前期工作也证实了在发育关键时期暴露双酚 A(BPA)会对新生鼠的视觉感知造成损害,且伴随有初级视皮层(V1)IL-1 β 表达量的降低,而这种损害在往 V1 注射 IL-1 β 后得以恢复^[13]。研究结果表明,在基线条件下,大脑中低水平的炎症因子是不可或缺的。

本文利用动物行为学中若干经典的行为学范式,观察 IL-1 β 基因敲除对小鼠行为的影响,为后续研究炎症因子对神经系统保护效应的生理与分子机制提供了理论支持,对了解认知与情绪障碍相关疾病的发病机制提供了一定的参考。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

所用试剂有:2 \times Taq plus Master Mix(货号:BL547A)、DNA Marker(货号:BL101A)、蛋白酶 K(货号:BL104A)、核酸染料(货号:BS355A),均购于 Biosharp 公司。

所用仪器有:电子天平、旷场箱、Y 迷宫、强迫游泳箱、悬尾箱、十字高架。

1.2 实验方法

1.2.1 动物的处理

10 只 C57BL/6J 雄鼠(60 d)购于北京斯贝福实验动物科技有限公司,IL-1 β 基因敲除鼠使用同源重组的方式构建,以磷酸甘油激酶 1(PGK1)作为启动子,新霉素抗性基因(*neo*)为标记基因,并将 β -半乳糖苷酶基因(*lacZ*)插入 IL-1 β 基因中用以监测 IL-1 β 基因的表达。

最后在杂交获得纯合的缺陷鼠后进行雌雄合笼繁殖培养,所有小鼠统一饲养于中国科学技术

大学动物实验中心,动物房内每天保持 12 h 的光暗循环(8:00—20:00 开灯;20:00—次日 8:00 关灯),室温保持在(23 \pm 1) $^{\circ}$ C,湿度保持在 40%~60%。

1.2.2 基因型鉴定

剪取待鉴定敲除鼠与野生型小鼠脚趾若干放入 EP 管中,每管加入 100 μ L PBND 和 5 μ L 蛋白酶 K,55 $^{\circ}$ C 水浴过夜;次日取出后,将样品放入沸水中煮 5 min,开始配置扩增体系;取 0.2 mL EP 管,每管加入 12.5 μ L Taq,9.5 μ L 超纯水,1 μ L 上游引物和 1 μ L 下游引物,最后从离心管底部靠近脚趾处吸取 1 μ L 样品加入。其中对照组样本引物序列如下。

野生型小鼠上游引物为:

5'-cacatatccagcactctgctttcag-3',

野生型小鼠下游引物为:

5'-ggtcagtggtgggttccttacc-3';

基因敲除组的上游与下游引物为:

5'-gaggtgctgttctggtcttcacc-3'。

加样完成后即可将样品放入聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,PCR)仪中进行扩增,扩增体系如下:94 $^{\circ}$ C、2 min,94 $^{\circ}$ C、20 s,64 $^{\circ}$ C、30 s,72 $^{\circ}$ C、50 s,72 $^{\circ}$ C、10 min;除去首尾,中间 3 个秒级的过程每个分别重复 40 轮。扩增结束后,于锥形瓶中加入 1 g 琼脂糖和 50 mL 的 1 \times TAE,用锡箔纸封住瓶口,放入微波炉中进行间断性加热,直至琼脂糖完全溶解。用流动水冲洗锥形瓶底部进行降温,不烫手时加入 5 μ L 的核酸染料并摇匀,倒入制胶的槽内,赶走气泡,插入梳子,等胶凝固。待胶凝固后,小心拔下梳子,将胶条放入电泳槽内,其中胶条上样孔朝向电泳槽黑色负极端。倒入 1 \times TAE 至刚好浸没胶条,取 DNA Marker 与样本各 5 μ L 按顺序依次上样。加样完成后盖好盖子,设置电压 120 V,电泳 35 min。电泳结束后取出胶条,放入显影仪中进行紫外显影,观察条带结果。

1.2.3 Y 迷宫测试

Y 迷宫是用于检测小鼠空间记忆的装置。装置由白色亚克力板制成,包括 3 个相同且对称的臂(每个臂之间夹角为 120 $^{\circ}$),每个臂的长、宽、高分别为 50、20、25 cm。实验开始前随机指定 1 个起始臂(Home)、1 个熟悉臂(Familiar)、1 个新臂(Novel)。

实验分为 2 个阶段:第 1 阶段新臂处于关闭状态,每只小鼠从起始臂放入,让它自由探索

10 min;第 2 阶段,即第 1 阶段结束 1 h 后,将 3 个臂同时打开,每只小鼠从起始臂放入,在 3 个臂中自由探索 5 min。

每只小鼠放入箱子前用 75% 的酒精擦拭,以免前一只小鼠的气味对其造成干扰。用摄像头记录小鼠实验中的运动状态,并运用 EthoVision 8.5 软件分析小鼠测试期在 3 个臂中的运动时间及进入频率,并计算小鼠在各个臂中的运动及进入频率的百分比。

1.2.4 新物体识别测试

新物体识别实验是基于小鼠与生俱来的探索行为的记忆测试实验,它们对新奇物体具有更强的好奇心。物体识别的装置即旷场实验所用的亚克力箱子(长、宽、高均为 50 cm)。实验开始前,每只小鼠需在箱体内自由探索 5 min 熟悉环境。实验分为 2 个阶段:第 1 阶段(T1),在箱体中央区的左、右对侧 2 个顶点处对称放置 2 个相同的正方体物体(边长为 5 cm),将小鼠背对着物体放入,任其自由探索 10 min 后取出放回笼盒内,然后再放入下一只小鼠;第 2 阶段(T2)在 T1 阶段结束 1 h 后开始,将任意一侧的正方体换成圆柱体(直径 5 cm、高 5 cm),再按之前的顺序依次放入小鼠,进行 5 min 的自由探索。每换下一只小鼠前用 75% 酒精擦拭箱子以气味干扰,并用摄像头记录实验过程。实验结束后统计并计算各小鼠的新奇偏好指数,即在 T2 阶段小鼠探索新物体次数占探索新旧物体次数之和的比例,以此来反映其视觉工作记忆水平。小鼠的运动轨迹热度示意图由 MATLAB 绘制。

1.2.5 强迫游泳测试

强迫游泳装置为直径 15 cm、高 30 cm 的无盖玻璃圆柱体。实验开始前往装置中注水至 15 cm 深,且水温保持在 25 °C 左右。将小鼠单独放入水中游泳 6 min 并通过摄像机记录下来,后期使用双盲法统计小鼠在 5 min 内的总静止时间。每轮实验结束后需更换干净的水,以防前一只小鼠的排泄物、气味等对后续小鼠行为造成干扰。

1.2.6 悬尾测试

悬尾实验是利用小鼠尾巴被固定后企图挣脱但又无法逃脱,最后放弃挣扎静止不动的特点来评估小鼠的抑郁程度。在距离小鼠尾巴 2 cm 处使用医用胶带将尾巴悬挂在悬尾箱的钩子上(距离地面 25 cm),持续 6 min。实验全程由摄像机录制视频。后期使用双盲法统计小鼠在后 5 min 内小鼠的总静止时间。

1.2.7 十字高架测试

十字高架(elevated plus maze, EPM)是评价小鼠焦虑反应的实验方法。十字高架由开臂(open arms)和闭臂(closed arms)各 2 条组成,呈十字形交叉结构,其中交叉部分为中央区。臂宽 5 cm,臂长 35 cm,闭臂的高 15 cm。高架距地面有一定高度,其原理是由于面对新事物开臂小鼠会产生好奇心去探究,而它们有嗜暗的天性(闭臂),两者之间发生探究与回避的冲突行为,从而产生焦虑心理。整个迷宫距离地面的高度相当于人类站在悬崖边,易导致动物产生恐惧不安的心理。实验全程由摄像机录制视频。后期使用双盲法统计小鼠在 5 min 内小鼠在开臂内滞留的时间和进入开臂的次数来评价小鼠的焦虑程度。

1.3 数据分析

采用 Prism 5.0 对所有行为结果进行 t 检验分析,数据均以(平均值±标准差)表示,其中:*表示 $P < 0.05$; **表示 $P < 0.01$; ***表示 $P < 0.001$ 。

2 结果与分析

2.1 基因敲除鼠的基因型鉴定

所有用于后续行为学实验的 $IL-1\beta$ 全敲小鼠均事先经 PCR 鉴定无误。其中 $IL-1\beta$ 基因敲除小鼠扩增出约 560 bp 的 DNA 片段,野生型小鼠扩增出约 720 bp 的 DNA 片段。鉴定结果如图 1 所示。

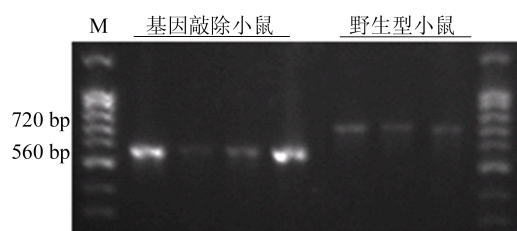


图 1 $IL-1\beta$ 基因敲除小鼠与对照组小鼠的基因型鉴定结果

2.2 基因敲除对小鼠 Y 迷宫行为的影响

Y 迷宫是用于检测动物空间记忆的行为学装置,其示意图如图 2 所示。小鼠在 Y 迷宫中的表现如图 3 所示。由图 3 可知: $IL-1\beta$ 基因敲除组小鼠进入新臂的总次数显著低于对照组($P = 0.0002, t = 4.699$); $IL-1\beta$ 基因敲除组小鼠进入新臂的总持续时间显著低于对照组($P = 0.0343, t = 2.291$),即 $IL-1\beta$ 基因敲除组小鼠对新臂的探索程度不高,表现出空间记忆受损;小鼠在 Y 迷

宫中的平均运动速率表明,两组小鼠之间没有差异($P=0.5062, t=0.6783$),即小鼠的基本运动状况正常。结果表明, $IL-1\beta$ 基因敲除会损害小鼠的空间记忆能力,且该损伤并不是由小鼠的运动差异导致的。

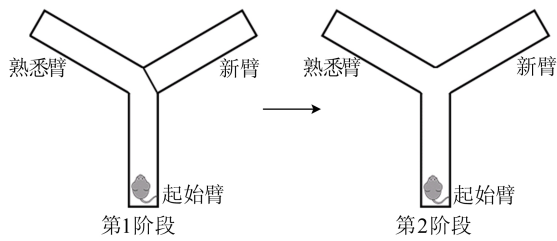
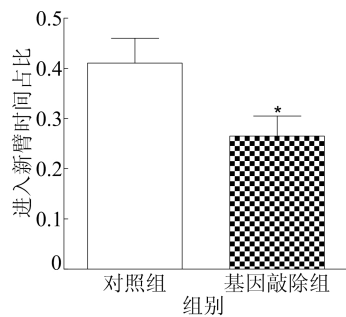
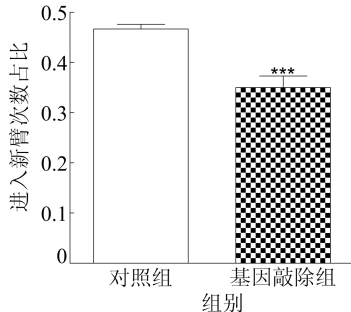


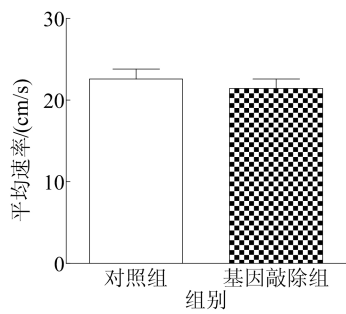
图 2 Y 迷宫测试示意图



(a) 小鼠进入新臂的时间占比



(b) 小鼠进入新臂的次数占比



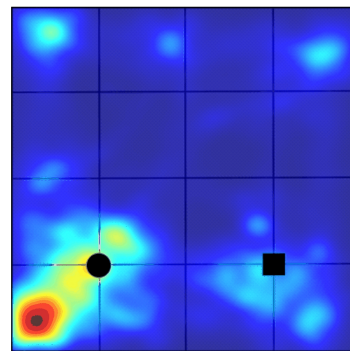
(c) 小鼠的平均速率

图 3 小鼠在 Y 迷宫测试期间的行为表现

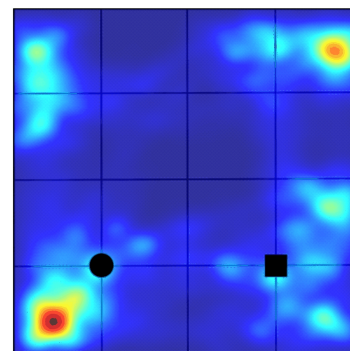
2.3 基因敲除对小鼠新物体识别行为的影响

新物体识别实验是利用小鼠对新事物具有更强好奇心和探索欲望的特性,实验借以观察动物嗅探新物体的次数占比来反映其短时视觉工作记

忆能力。对照组小鼠和 $IL-1\beta$ 基因敲除组小鼠在行为期间的运动轨迹热度示意图如图 4 所示,从图 4 可以看出,对照组小鼠在箱体内的运动轨迹更多集中在新物体附近,而这一偏好在基因敲除小鼠中明显减弱。



(a) 对照组



(b) 基因敲除组

图 4 小鼠运动轨迹热图

两组小鼠的新奇偏好指数对比如图 5 所示。行为结果表明, $IL-1\beta$ 基因敲除组小鼠探索新物体的频率占比要显著低于对照组小鼠($P=0.0012, t=3.840$),即 $IL-1\beta$ 基因敲除损害了小鼠的视觉工作记忆性能。

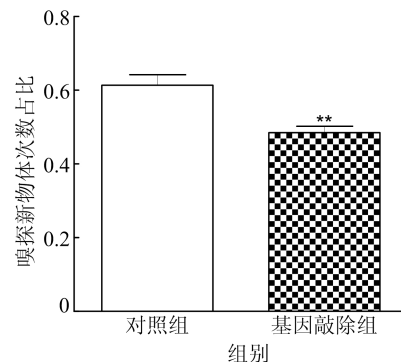


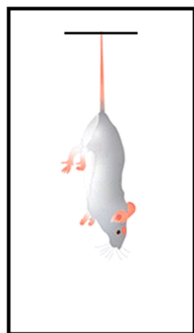
图 5 小鼠嗅探新物体次数占比

2.4 基因敲除对小鼠悬尾行为的影响

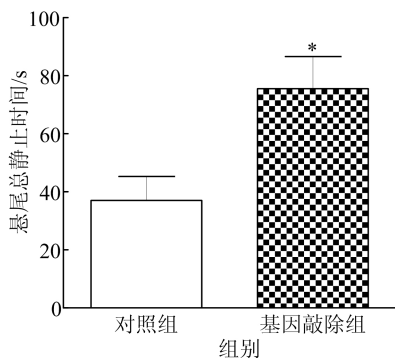
小鼠在悬尾测试期间的行为表现如图 6 所

示,它是基于小鼠处于困境下,想要逃脱而又无法逃脱从而可能放弃挣扎,进入一种抑郁不动的状态。

从图 6b 可以看出, $IL-1\beta$ 基因敲除显著增加小鼠在悬尾期间的静止时间 ($P = 0.0131$, $t = 2.789$)。



(a) 悬尾测试示意图

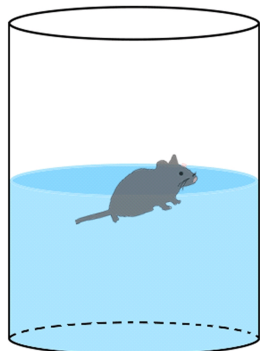


(b) 悬尾小鼠总静止时间

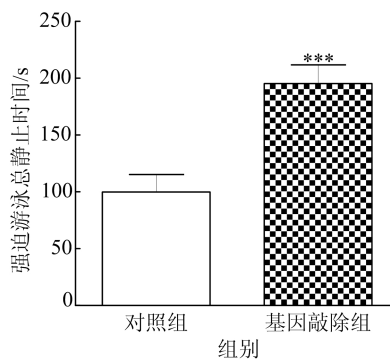
图 6 小鼠在悬尾测试期间的行为表现

2.5 基因敲除对小鼠强迫游泳行为的影响

强迫游泳测试的行为表现如图 7 所示,它的原理与悬尾测试的原理类似。由图 7b 可知, $IL-1\beta$ 基因敲除同样会增加小鼠在强迫游泳期间的总静止时间 ($P = 0.0005$, $t = 4.236$),这与悬尾的结果是一致的。因此,结果表明 $IL-1\beta$ 基因敲除会诱导小鼠的抑郁情绪。



(a) 强迫游泳示意图



(b) 强迫游泳小鼠总静止时间

图 7 小鼠在强迫游泳测试期间的行为表现

2.6 基因敲除对小鼠十字高架行为的影响

十字高架的示意图如图 8 所示,该行为是基于小鼠面对新事物开臂会产生好奇心去探究,但嗜暗的天性(闭臂)让其在开闭臂之间产生了探索与回避的冲突行为,从而产生焦虑心理。小鼠在十字高架测试期间的行为表现如图 9 所示。

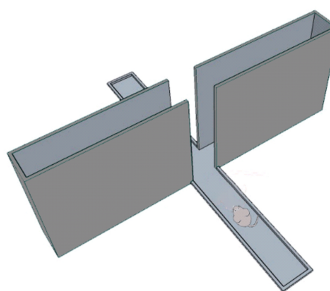
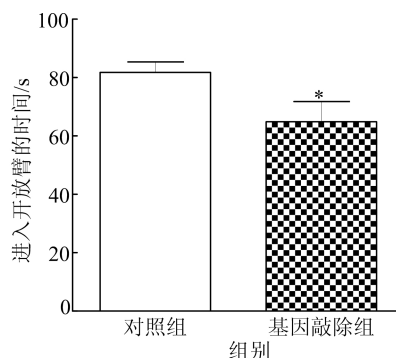
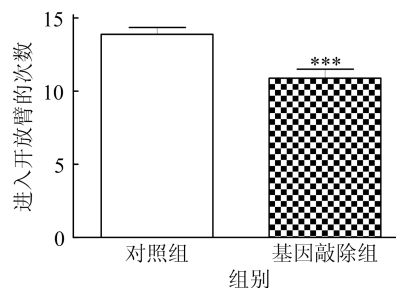


图 8 十字高架示意图



(a) 小鼠进入开放臂的持续时间



(b) 小鼠进入开放臂的次数

图 9 小鼠在十字高架测试期间的行为表现

由图9可知, *IL-1 β* 基因敲除组小鼠进入开放臂的时间($P=0.0426, t=2.182$)和次数($P=0.0009, t=3.954$)均要显著低于对照组小鼠。该行为表明 *IL-1 β* 基因敲除会诱导小鼠的焦虑情绪。

3 讨论

近年来,越来越多的研究表明焦虑抑郁与认知损伤同时存在。抑郁症患者往往伴随有认知功能障碍,如学习记忆变差、注意力下降等现象。*IL-1 β* 作为机体内主要的促炎因子之一,在大脑内的稳定正常表达对神经可塑性及学习记忆的巩固都起到重要作用。尽管文献报道了在病理条件下,一些神经炎症类疾病(如阿尔兹海默症^[14]、抑郁症^[15]和帕金森症^[16]等)的发生都伴随有脑内 *IL-1 β* 表达量的上升和脑内小胶质细胞的激活。但近期的多项研究表明,低剂量的促炎因子对认知过程的生理调控是必需的。因此,本文选用 *IL-1 β* 基因敲除小鼠作为研究对象,观察在生理水平 *IL-1 β* 表达缺失条件下小鼠的认知与情绪行为是否会受到影响。

本文首先分析了 *IL-1 β* 基因敲除小鼠在Y迷宫中的表现与野生型小鼠是否存在差异。Y迷宫利用小鼠对新环境具有好奇心和探索欲望的特性,通过比较进入新臂的偏好程度评估其空间记忆性能。行为结果显示,基因敲除组小鼠进入新臂的次数和持续时间都要显著低于对照组小鼠。然而在迷宫探索期间两组小鼠的平均运动速率并未发现显著差异。表明敲除 *IL-1 β* 基因不会影响小鼠的运动能力,但会对小鼠的空间记忆水平造成损害,且该损害并不是由于运动能力的差异所导致的。该结果与小鼠在经历了Y迷宫的自发空间识别后诱导 *IL-1 β* mRNA 的表达相一致^[17]。

本文使用新物体识别实验检测动物在短时间内的视觉工作记忆水平。行为结果同样显示 *IL-1 β* 基因敲除小鼠在第2阶段嗅探新物体的次数和时间占总嗅探次数和时间的比例较对照组小鼠显著下降。综合以上结果, *IL-1 β* 基因敲除对小鼠的学习记忆能力具有损伤作用,小鼠的空间记忆与视觉工作记忆均发生受损。

在观察发现小鼠的记忆能力下降后,本文探讨了 *IL-1 β* 基因敲除是否还会对小鼠的情绪相关行为造成影响。悬尾与强迫游泳是研究抑郁的经典行为学范式^[18],实验根据小鼠在行为期间静止不动的时间来评估其抑郁程度。2种行为结果均

显示, *IL-1 β* 基因敲除小鼠在处于困境下放弃挣扎、静止不动的时间要显著高于对照组小鼠,即 *IL-1 β* 基因敲除诱导小鼠产生抑郁样行为。十字高架是研究焦虑的经典行为学范式,小鼠进入开放臂的频率能够直接反映其焦虑程度。行为结果表明,敲除组小鼠进入开放臂的次数和时间均要显著低于对照组小鼠,即 *IL-1 β* 基因敲除也同样诱导了小鼠的焦虑样行为。

认知与情绪都是生物个体最基本和最重要的脑功能,它们的正常执行离不开多个脑区的协同作用。研究表明,学习记忆与焦虑抑郁等情绪的发生发展受前额叶、海马、杏仁核、丘脑等多个区域的联合调控。前额叶皮层是最高级别的联合皮层^[19],它与大脑其他皮层及皮层下核团之间建立了广泛的投射关系,使其与注意力、知觉、能动性、计划性、工作记忆等方面都有着重要联系,同时也是情绪中枢通路的重要环节之一^[20-21]。海马更多是用以记忆信息的存储,它是大脑边缘系统的一部分,在信息编码、短时记忆、长时记忆、空间导航等方面都发挥重要作用^[22-23]。杏仁核由基底核、外侧核与中央核共同组成,被认为是调节情绪的关键性脑区。在大脑执行社会认知以及情绪加工相关任务时具有十分重要的作用。多项研究表明,基底外侧杏仁核(BLA)接收来自前额叶和海马的输入,参与相关情绪的调节^[24-26]。下丘脑是大脑皮层下的高级中枢,不仅与体温调节、摄食、调节水平衡等生理功能有关,同时也与杏仁核和前额叶都存在投射关系,并分别用以调节情绪^[27]和工作记忆^[28]的相关行为。本文推测 *IL-1 β* 基因敲除造成的小鼠行为损伤可能是由于上述脑区功能失调导致的。

此外,小胶质细胞作为大脑的主要免疫细胞,其激活往往被视作判定神经炎症类疾病发生的重要依据,且伴随有数量上的增多及胞体变大、突起变多等形态学的改变。研究表明,在阿尔兹海默症(Alzheimer's disease, AD)^[29]与脑损伤致认知障碍^[30]的模型鼠中,小胶质细胞都发挥了重要的神经保护作用。本研究选用的模型鼠对 *IL-1 β* 基因的敲除是全身性的,表明胶质细胞不会释放该炎症因子;然而由于该缺陷鼠从出生起就缺乏 *IL-1 β* 的表达,推测其部分生物学效应可能会被其他发挥类似功能的炎症因子所代偿掉。在后续的工作中会寻找在敲除 *IL-1 β* 基因后大脑内可能存在的代偿机制,同时对胶质细胞在认知与情绪行为中的作用机理展开研究。

从分子水平来看 NMDAR 和 AMPAR 是 LTP 正常产生和维持的关键,同时也是学习记忆和情绪等高级认知活动的重要一环。它们的亚基 NR2A、NR2B、GluR1/2 等在认知或情绪中扮演重要角色^[31-34]。此外,细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)和脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)也广泛参与了 NMDAR 的相关信号通路,能够起到调节记忆处理、突触发育与重塑等作用,是调控突触可塑性的重要介质。研究表明, BDNF-ERK-CREB 信号通路在工作记忆的正确执行与抗抑郁中发挥重要作用,在往前额叶区注射 ERK 激酶抑制剂后大鼠的工作记忆会受到明显损害^[35];使用温和应激(CUMS)构建的抑郁症模型鼠血清中的 BDNF 含量及海马内的 p-ERK 与 p-CREB 的水平均要显著低于对照组^[36]。此外,在对过表达受体拮抗剂 IL-1ra 小鼠品系的研究中,小鼠的长期记忆受到损害,且伴随有 BDNF 和 p-ERK 表达的下调^[37]。因此推测敲除 *IL-1 β* 基因对小鼠诸多行为造成的负面影响很可能与上述在认知与情绪中起关键作用的分子蛋白和信号通路有关。后续本研究将围绕检测基因敲除鼠认知情绪相关脑区中关键分子蛋白的表达展开工作。

4 结 论

综上所述, *IL-1 β* 基因敲除不会影响小鼠的基本运动能力,但会降低小鼠的空间记忆与视觉工作记忆水平,同时诱导小鼠的焦虑、抑郁样行为。未来的工作将从前额叶、海马、杏仁核以及丘脑等认知情绪高度相关的脑区入手,对 *IL-1 β* 基因敲除损伤小鼠行为的生理与分子机制展开研究。本文也为后续研究认知与情绪障碍的发病机制提供了一定的参考。

[参 考 文 献]

- [1] PATTERSON S L. Immune dysregulation and cognitive vulnerability in the aging brain: interactions of microglia, IL-1 beta, BDNF and synaptic plasticity[J]. *Neuropharmacology*, 2015, 96: 11-18.
- [2] CAMPUZANO S, YANEZ-SEDENO P, PINGARRON J M. Revisiting electrochemical biosensing in the 21st Century society for inflammatory cytokines involved in autoimmune, neurodegenerative, cardiac, viral and cancer diseases [J]. *Sensors*, 2021, 21(1): 189.
- [3] WANG W Y, TAN M S, YU J T, et al. Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in Alzheimer's disease [J]. *Annals of Translational Medicine*, 2015, 3(10): 136.
- [4] MURRAY C A, LYNCH M A. Evidence that increased hippocampal expression of the cytokine interleukin-1 beta is a common trigger for age- and stress-induced impairments in long-term potentiation [J]. *The Journal of Neuroscience (the Official Journal of the Society for Neuroscience)*, 1998, 18(8): 2974-2981.
- [5] GONZALEZ P, MACHADO I, VILCAES A, et al. Molecular mechanisms involved in interleukin 1-beta (IL-1 beta)-induced memory impairment: modulation by alpha-melanocyte-stimulating hormone (alpha-MSH) [J]. *Brain Behavior and Immunity*, 2013, 34: 141-150.
- [6] DONZIS E J, TRONSON N C. Modulation of learning and memory by cytokines: signaling mechanisms and long term consequences [J]. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2014, 115: 68-77.
- [7] AVITAL A, GOSHEN I, KAMSLER A, et al. Impaired interleukin-1 signaling is associated with deficits in hippocampal memory processes and neural plasticity [J]. *Hippocampus*, 2003, 13(7): 826-834.
- [8] SPULBER S, BARTFAI T, SCHULTZBERG M. IL-1/IL-1ra balance in the brain revisited-evidence from transgenic mouse models [J]. *Brain Behavior and Immunity*, 2009, 23(5): 573-579.
- [9] TAKEMIYA T, FUMIZAWA K, YAMAGATA K, et al. Brain interleukin-1 facilitates learning of a water maze spatial memory task in young mice [J]. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 2017, 11: 202.
- [10] YIRMIYA R, WINOCUR G, GOSHEN I. Brain interleukin-1 is involved in spatial memory and passive avoidance conditioning [J]. *Neurobiology of Learning and Memory* 2002, 78(2): 379-389.
- [11] DONEGAN J J, GIROTTI M, WEINBERG M S, et al. A novel role for brain interleukin-6: facilitation of cognitive flexibility in rat orbitofrontal cortex [J]. *Journal of Neuroscience*, 2014, 34(3): 953-962.
- [12] GOSHEN I, KREISEL T, OUNALLAH-SAAD H, et al. A dual role for interleukin-1 in hippocampal-dependent memory processes [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2007, 32 (8/9/10): 1106-1115.
- [13] HU F, ZHANG L, LI T, et al. Bisphenol-a exposure during gestation and lactation causes visual perception deficits in rat pups following a decrease in interleukin 1 beta expression in the primary visual cortex [J]. *Neuroscience*, 2020, 434: 148-160.
- [14] APARICIO N, TERESA GRANDE M, DE MARTIN ESTEBAN S R, et al. Role of interleukin 1-beta in the inflammatory response in a fatty acid amide hydrolase-knockout mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Biochemical Pharmacology*, 2018, 157: 202-209.

- [15] GOSHEN I, KREISEL T, BEN-MENACHEM-ZIDON O, et al. Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression[J]. *Molecular Psychiatry*, 2008, 13(7): 717-728.
- [16] GOES A T R, SOUZA L C, FILHO C B, et al. Neuroprotective effects of swimming training in a mouse model of parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine[J]. *Neuroscience*, 2014, 256: 61-71.
- [17] LABROUSSE V F, COSTES L, AUBERT A, et al. Impaired interleukin-1 beta and c-fos expression in the hippocampus is associated with a spatial memory deficit in P2X₇ receptor-deficient mice[J]. *PLoS ONE*, 2009, 4(6): e6006.
- [18] CRYAN J F, MOMBÉREAU C. In search of a depressed mouse: utility of models for studying depression-related behavior in genetically modified mice[J]. *Molecular Psychiatry*, 2004, 9(4): 326-357.
- [19] KLUNE C B, JIN B, DENARDO L A. Linking mPFC circuit maturation to the developmental regulation of emotional memory and cognitive flexibility[J]. *eLife*, 2021, 10: 1-33.
- [20] LIU W Z, ZHANG W H, ZHENG Z H, et al. Identification of a prefrontal cortex-to-amygdala pathway for chronic stress-induced anxiety[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 2221.
- [21] CHEN P, LOU S, HUANG Z H, et al. Prefrontal cortex corticotropin-releasing factor neurons control behavioral style selection under challenging situations[J]. *Neuron*, 2020, 106(2): 301-315.
- [22] ABBAS A I, SUNDIANG M J M, HENOCH B, et al. Somatostatin interneurons facilitate hippocampal-prefrontal synchrony and prefrontal spatial encoding [J]. *Neuron*, 2018, 100(4): 926-939.
- [23] SASAKI T, PIATTI V C, HWAUN E, et al. Dentate network activity is necessary for spatial working memory by supporting CA3 sharp-wave ripple generation and prospective firing of CA3 neurons[J]. *Nat Neurosci*, 2018, 21: 258-269.
- [24] PITKÄNEN A, JOLKKONEN E, KEMPPAINEN S. Anatomic heterogeneity of the rat amygdaloid complex[J]. *Folia Morphologica*, 2000, 59(1): 1-23.
- [25] SENN V, WOLFF S E, HERRY C, et al. Long-range connectivity defines behavioral specificity of amygdala neurons[J]. *Neuron*, 2014, 81(2): 428-437.
- [26] NAMBURI P, BEYELER A, YOROZU S, et al. A circuit mechanism for differentiating positive and negative associations[J]. *Nature*, 2015, 520(7549): 675-678.
- [27] CALHOON G G, TYE K M. Resolving the neural circuits of anxiety[J]. *Nature Neuroscience*, 2015, 18(10): 1394.
- [28] BOLKAN S S, STUJENSKE J M, PARNAUD E A U S, et al. Thalamic projections sustain prefrontal activity during working memory maintenance[J]. *Nature Neuroscience*, 2017, 20: 987-996.
- [29] HUANG Y, HAPPONEN K E, BURROLA P G, et al. Microglia use TAM receptors to detect and engulf amyloid β plaques[J]. *Nat Immunol*, 2021, 22: 586-594.
- [30] WILLIS E F, MACDONALD K, QUAN H N, et al. Repopulating microglia promote brain repair in an IL-6-dependent manner[J]. *Cell*, 2020, 180(5): 833-846.
- [31] BANNERMAN D M, NIEWOEHNER B, LYON L, et al. NMDA receptor subunit NR2A is required for rapidly acquired spatial working memory but not incremental spatial reference memory [J]. *Journal of Neuroscience*, 2008, 28(14): 3623-3630.
- [32] MONACO S A, GULCHINA Y, GAO W J. NR2B subunit in the prefrontal cortex; a double-edged sword for working memory function and psychiatric disorders [J]. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2015: 127-138.
- [33] HU F, LIANG W F, ZHANG L K, et al. Hyperactivity of basolateral amygdala mediates behavioral deficits in mice following exposure to bisphenol A and its analogue alternative[J]. *Chemosphere*, 2022, 287(part1): 132044.
- [34] HU F, LI T T, GONG H R, et al. Bisphenol A impairs synaptic plasticity by both pre- and postsynaptic mechanisms[J]. *Advanced Science*, 2017, 4(8): 1600493.
- [35] 王景. 前额叶皮层 ERK-CREB 通路在长时程增强和工作记忆中的作用[D]. 上海: 复旦大学, 2008.
- [36] 施学丽, 曹智怡, 杜晓娜, 等. 对药酸枣仁-合欢花对抑郁模型大鼠学习记忆能力及 BDNF-MEK-ERK-CREB 细胞信号转导通路的影响[J]. *神经解剖学杂志*, 2019, 35(6): 617-622.
- [37] SPULBER S, MATEOS L, OPRICA M, et al. Impaired long term memory consolidation in transgenic mice overexpressing the human soluble form of IL-1ra in the brain [J]. *Journal of Neuroimmunology*, 2009, 208(1/2): 46-53.

(责任编辑 闫杏丽)