

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2017.12.009

论著 · 实验研究

瘦素对早产儿脑白质损伤模型大鼠 远期空间记忆能力的影响

凤尔翠^{1,2} 蒋犁²

(1. 东南大学生物科学与医学工程学院, 江苏 南京 210018;
2. 东南大学附属中大医院儿科, 江苏 南京 210009)

[摘要] **目的** 通过观察瘦素对早产儿脑白质损伤模型大鼠空间记忆的影响, 探索其神经保护作用。
方法 将 80 只新生大鼠随机分为假手术组 ($n=27$)、模型组 ($n=27$) 和瘦素干预组 ($n=26$), 模型组和瘦素干预组大鼠制备早产儿脑白质损伤模型, 瘦素干预组于造模后立即给予生理盐水稀释的瘦素 ($100 \mu\text{g/kg}$), 连续 4 d。观察各组大鼠存活情况并监测体重变化, 21 日龄后通过 Morris 水迷宫实验观察各组大鼠空间记忆能力。
结果 各组新生大鼠存活率比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。至生后 10 d 内, 瘦素干预组大鼠体重接近假手术组, 但低于模型组 ($P<0.05$); 10 d 后瘦素干预组生长速度加快, 体重超过模型组和假手术组, 但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。定位航行训练结果显示: 实验第 2 天开始, 各组平台潜伏期比较差异有统计学意义 ($P<0.05$); 从第 4 天开始, 瘦素干预组平台潜伏期接近假手术组, 短于模型组 ($P<0.05$)。空间搜索实验结果显示: 与假手术组比较, 模型组穿越平台次数减少, 平台潜伏期延长 ($P<0.05$); 与模型组比较, 瘦素干预组穿越平台次数增加, 平台潜伏期缩短 ($P<0.05$), 且与假手术组比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。
结论 瘦素干预可以减轻早产儿脑白质损伤的空间记忆障碍, 对早产儿脑损伤具有神经保护作用, 值得进一步研究。

[中国当代儿科杂志, 2017, 19(12): 1267-1271]

[关键词] 瘦素; 脑白质损伤; 空间记忆; 大鼠

Effect of leptin on long-term spatial memory of rats with white matter damage in developing brain

FENG Er-Cui, JIANG Li. School of Biological Science & Medical Engineering, Southeast University, Nanjing 210018, China (Jiang L, Email: jiangli77777@126.com)

Abstract: Objective To investigate the neuroprotective effect of leptin by observing its effect on spatial memory of rats with white matter damage in developing brain. **Methods** A total of 80 neonatal rats were randomly divided into 3 groups: sham-operation ($n=27$), model ($n=27$) and leptin intervention ($n=27$). The rats in the model and leptin intervention groups were used to prepare a model of white matter damage in developing brain, and the rats in the leptin intervention group were given leptin ($100 \mu\text{g/kg}$) diluted with normal saline immediately after modelling for 4 consecutive days. The survival rate of the rats was observed and the change in body weight was monitored. When the rats reached the age of 21 days, the Morris water maze test was used to evaluate spatial memory. **Results** There was no significant difference in the survival rate of rats between the three groups ($P>0.05$). Within 10 days after birth, the leptin intervention group had similar body weight as the sham-operation group and significantly lower body weight than the model group ($P<0.05$); more than 10 days after birth, the leptin intervention group had rapid growth with higher body weight than the model and sham-operation groups ($P>0.05$). The results of place navigation showed that from the second day of experiment, there was a significant difference in the latency period between the three groups ($P<0.05$); from the fourth day of experiment, the leptin intervention group had a similar latency period as the sham-operation and a significantly shorter latency period than the model group ($P<0.05$). The results of space search experiment showed that compared with the sham-operation group, the model group had a significant reduction in the number of platform

[收稿日期] 2017-06-07; [接受日期] 2017-11-02

[基金项目] 国家自然科学基金 (81771628)。

[作者简介] 凤尔翠, 女, 博士研究生, 主治医师。

[通信作者] 蒋犁, 女, 主任医师。

crossings and a significantly longer latency period ($P<0.05$); compared with the model group, the leptin intervention group had a significantly increased number of platform crossings and a significantly shortened latency period ($P<0.05$), while there was no significant difference between the leptin intervention and sham-operation groups. **Conclusions** Leptin can alleviate spatial memory impairment of rats with white matter damage in developing brain. It thus exerts a neuroprotective effect, and is worthy of further research. [Chin J Contemp Pediatr, 2017, 19(12): 1267-1271]

Key words: Leptin; White matter injury; Spatial memory; Rats

全世界婴儿出生的5%~18%为早产儿,每年估计有1500万早产婴儿出生,由于经济和医疗技术的发展,这一数字正在持续上升,早产并发症是5岁以下儿童死亡首位原因,其中2015年死亡100万,约有3/4的早产儿可以存活,但许多幸存者面临终身残疾,包括学习障碍、视觉及听力问题^[1]。据美国疾病预防控制中心统计,32周以下极早早产儿占16%^[1]。有报道称在所有胎龄<32周、出生体重<1500 g早产儿中,约10%有运动缺陷,60%有神经认知功能残疾和/或行为问题^[2-3]。研究表明早产儿脑损伤的主要病理特点是脑白质损伤,胎龄24~32周为这一病理改变的高峰期^[4],发生率超过50%^[5-6],目前早产儿脑白质损伤机制尚不完全清楚,治疗上也没有明确、可靠安全的方法,所以寻找和探索临床安全有效的治疗方法是目前亟待解决的热点和难点。目前虽有亚低温和干细胞等相关治疗研究的报道,但均不适用于早产儿的治疗。近年来开始出现瘦素在下丘脑以外脑区的生物学效应的研究报道,提出瘦素具有促进学习记忆和认知功能,以及神经保护作用,故本研究试图通过观察瘦素对早产儿脑白质损伤模型大鼠空间记忆的影响,探讨瘦素对早产儿脑损伤的神经保护作用,为早产儿脑白质损伤的治疗提供基础理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组

选取6只Sprague-Dawley (SD) 孕鼠(东南大学医学院实验动物中心提供),将其分娩的80只仔鼠随机分为假手术组($n=27$)、模型组($n=27$)和瘦素干预组($n=26$)。该研究经过东南大学实验动物伦理学委员会批准。

1.2 早产儿脑白质损伤模型制备

早产儿脑白质损伤模型制备参照文献^[4]:将模型组和瘦素干预组SD大鼠经异氟烷吸入麻醉1~2 min后仰卧、固定于手术台上,取正中切口,

游离右侧颈总动脉并用5-0线结扎,缝合皮肤,返笼恢复2~3 h后放置在2000 mL密闭容器中,置37℃恒温水浴箱,以2 L/min的速度输入6%O₂、94%N₂混合气体,持续2 h,取出后返笼饲养。假手术组仅游离右侧颈总动脉后缝合皮肤,不行结扎及低氧处理。

1.3 分组处理及给药方法

瘦素干预组于通气结束后立即给予生理盐水稀释的瘦素(recombinant murine leptin, 英国Pepro Tech EC公司),连续4 d。其他组给予等体积的生理盐水。剂量参考Oomura等^[7]对成年大鼠的干预研究,按100 μg/kg进行腹腔注射。

1.4 Morris水迷宫实验

待大鼠21~28日龄时,利用Morris水迷宫实验检测各组大鼠空间记忆学习能力。实验程序包括:(1)定位航行实验,用于测量大鼠对水迷宫学习和记忆的获取能力;每日固定时间定位航行训练4次,共计5 d。(2)空间探索实验,用于测量大鼠学会寻找平台后,对平台空间位置记忆的保持能力;定位航行实验结束后,即实验第6天撤去平台,从同一个入水点放入水中,测其第1次到达原平台位置的时间、穿越原平台的次数。

1.5 统计学分析

运用SPSS 19.0统计软件对数据进行统计学分析,计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用SNK- q 法;计数资料采用百分率(%)表示,多组间比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况分析

实验过程中观察发现,所有新生大鼠未做手术前肤色红润,全身无背毛,尚不能睁眼,活动自然、对称,呼吸均匀。模型组和瘦素干预组新生大鼠在手术结扎右侧颈总动脉后出现活动减少,

皮肤黏膜发绀,呼吸频率减慢,呼吸深大。放置在母鼠身边恢复 2 h 后,呼吸渐平稳,自主活动逐渐增多。缺氧过程中,新生大鼠缺氧 1 h 时出现躁动不安、呼吸加快加深、活动度明显增多,随后活动逐渐减少转入抑制,活动基本停止呈深睡眠状态,伴呼吸减慢、张口呼吸以及皮肤苍白;缺氧 2 h 时停止缺氧,仔鼠普遍全身苍白、呼吸浅慢、四肢松软无力、自主活动度少、对外界刺激反应迟钝,回笼后恢复 4~6 h,症状逐渐消失,可自行吃奶,但较假手术组仍存在活动减少,喂养困难等表现。模型组大鼠较对照组睁眼时间明显延后,后期仍表现有明显损伤侧睁眼不完全,两侧眼裂大小不一等情况,有明显未损伤侧肢体活动偏好,喜向右侧爬行或向左侧翻滚;瘦素干预组大鼠睁眼时间、眼裂大小以及肢体使用偏好较模型组有明显改善。

各组新生大鼠生后 21 d 时存活情况:模型组 27 只,存活 12 只,存活率为 44%;瘦素干预组 26 只,

存活 12 只,存活率为 46%;假手术组 27 只,存活 18 只,存活率为 67%。三组死亡率比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),造模和造模后瘦素干预均没有明显增加大鼠死亡率。见表 1。

各组新生大鼠生后 21 d 内体重变化情况:各组新生大鼠在实验开始前(即生后 0 d)体重比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),实验开始后至生后 10 d 内瘦素干预组大鼠体重接近假手术组,但低于模型组 ($P<0.05$),生后 10~21 d 瘦素干预组生长速度加快,体重超过模型组和假手术组,但是差异无统计学意义 ($P>0.05$),见表 2。

表 1 各组新生大鼠 21 d 存活情况 [n (%)]

组别	n	死亡	存活
假手术组	27	9(33)	18(67)
模型组	27	15(56)	12(44)
瘦素干预组	26	14(54)	12(46)
χ^2 值		3.295	
P 值		0.192	

表 2 各组新生大鼠生后 21 d 内体重变化比较 ($\bar{x} \pm s$, g)

组别	n	0 d	2 d	3 d	4 d	5 d	7 d	10 d	14 d	17 d	21 d
假手术组	18	6.6 ± 0.4	7.6 ± 0.5	7.8 ± 0.6	8.6 ± 1.2	8.8 ± 1.6	11.8 ± 2.5	18.3 ± 4.5	26.4 ± 5.2	31.8 ± 5.7	39.6 ± 6.4
模型组	12	6.6 ± 0.4	7.6 ± 0.7	9.4 ± 0.7 ^a	10.1 ± 0.9 ^a	11.8 ± 1.3 ^a	16.0 ± 2.5 ^a	22.3 ± 5.0	25.3 ± 6.3	32.8 ± 7.4	42.9 ± 12.0
瘦素干预组	12	6.4 ± 0.5	7.6 ± 0.8	8.1 ± 1.0 ^b	8.7 ± 1.1 ^b	9.3 ± 1.9 ^b	14.1 ± 3.3 ^b	21.2 ± 5.7	28.3 ± 7.2	37.2 ± 7.5	51.5 ± 9.9
F 值		0.779	0.033	16.491	7.326	13.400	8.501	2.598	0.702	2.356	5.082
P 值		0.466	0.968	<0.001	0.002	<0.001	0.001	0.087	0.502	0.108	0.051

注: a 示与假手术组比较, $P<0.05$; b 示与模型组比较, $P<0.05$ 。

2.2 Morris 水迷宫实验

历时 5 d 的定位航行训练结果显示,实验第 2 天开始,各组平台潜伏期比较差异有统计学意义 ($P<0.05$);从第 4 天开始,瘦素干预组平台潜伏期接近假手术组,短于模型组 ($P<0.05$),见表 3。

定位航行训练 5 d 后撤去平台进行空间探索实

验结果显示,与假手术组比较,模型组穿越平台次数减少,平台潜伏期延长 ($P<0.05$);与模型组比较,瘦素干预组穿越平台次数增加,平台潜伏期缩短 ($P<0.05$),且与假手术组比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 4。

表 3 各组大鼠定位航行训练平台潜伏期比较 ($\bar{x} \pm s$, s)

组别	n	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
假手术组	9	47.1 ± 5.7	31.3 ± 4.4	21.1 ± 3.7	15.5 ± 2.2	10.9 ± 2.4
模型组	9	61.2 ± 5.0	50.1 ± 5.7 ^a	36.8 ± 5.0 ^a	45.5 ± 5.4 ^a	36.6 ± 4.6 ^a
瘦素干预组	9	59.6 ± 5.7	41.3 ± 5.8	24.6 ± 4.5	28.8 ± 4.8 ^b	18.3 ± 2.4 ^b
F 值		1.997	3.114	3.440	12.576	15.738
P 值		0.141	0.049	0.036	<0.001	0.001

注: a 示与假手术组比较, $P<0.05$; b 示与模型组比较, $P<0.05$ 。

表 4 各组大鼠空间探索实验测试结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	穿越平台次数	平台潜伏期 (s)
假手术组	9	4.33 ± 0.44	5.67 ± 0.09
模型组	9	1.22 ± 0.32 ^a	58.00 ± 8.26 ^a
瘦素干预组	9	3.22 ± 0.22 ^b	12.91 ± 2.66 ^b
F 值		21.381	32.024
P 值		<0.05	<0.05

注: a 示与假手术组比较, $P < 0.05$; b 示与模型组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

针对早产儿脑白质损伤的缺氧和炎症反应两大重要因素, 目前通常有两种早产儿脑白质损伤模型制作方法, 一种是模拟缺血缺氧过程, 另外一种一种是模拟感染过程。本课题组长期进行缺血缺氧性脑损伤的研究, 对缺血缺氧模型制作有一定的把握度, 而且前期多次研究从病理形态和行为学等方面均说明了低日龄新生幼鼠缺血缺氧模型都成功模拟了早产儿脑白质损伤过程^[8], 所以本实验选用缺血缺氧性脑白质损伤模型。

瘦素是由肥胖基因编码和表达, 脂肪细胞分泌的蛋白质类激素, 主要由白色脂肪组织产生。目前集中在研究它作用于下丘脑的代谢调节中枢, 发挥抑制食欲, 减少能量摄取, 增加能量消耗, 抑制脂肪合成的作用, 但越来越多的证据表明, 下丘脑并不是瘦素作用的唯一靶点, 它是一种多效性的激素, 影响着许多大脑区域, 控制食物摄入、动机、学习、记忆、认知功能、神经保护、繁殖、生长、代谢, 能量消耗等等。这种功能的多样性也意味着瘦素分泌和信号传导失调可以产生深远的影响。

在非下丘脑区域的研究集中在成人或成年动物的神经认知系统疾病和精神疾病, 目前关于瘦素促进学习记忆等认知功能和神经保护作用的研究主要有以下几个方面, 如从分子和细胞层次上阐述其对神经元存活、突触的功能、神经元结构和可塑性的影响, 并对其在退行性疾病、成年缺血缺氧脑损伤动物模型, 以及在瘦素缺乏症中的神经保护作用做了推断。在成人的神经认知系统疾病和精神疾病方面的文献也逐渐出现, 例如, 血瘦素水平与认知、阿尔茨海默病等有关: 低瘦素血症病人认知灵活性和视空能力低于健康对照

组^[9-11]。早期阿尔茨海默病或轻度认识功能障碍患者血浆瘦素水平低^[12]。

瘦素通过多种信号通路调节非下丘脑区的神经元。瘦素可促进新生大鼠海马突触数量的增加和 CA3 区 GABA 能突触传递的发展^[13], 突触功能和活动的瘦素依赖性作用与 PI3K 信号通路的瘦素依赖性激活有关。PI3K 通路与瘦素依赖的 LTP 和 LTD, 门冬氨酸受体, 肌动蛋白细胞骨架相关集群 BK 通道的调节有关^[14-17]。当然也涉及其他信号系统, 包括 MAPK 和 Src 信号的瘦素活化作用^[15-19]。瘦素可能直接调节海马和皮层等脑区神经元信号传导和突触活动, 这些信号功能可能与瘦素对认知和行为影响的作用机制有关。

尽管海马区、皮层和其他与认知有关脑区的神经元的结构和功能调控的文献在增加, 但迄今为止, 瘦素信号研究主要集中在下丘脑, 关于非下丘脑区瘦素信号和瘦素抵抗作用的研究相对较少。而对新生儿脑损伤以及早产儿脑白质损伤的神经保护作用则更为鲜见。

而另外一方面 90% 以上胎儿体脂是在妊娠后 10 周存储的, 早产儿脂肪组织发育落后于足月儿, 所以早产儿, 尤其是极早早产儿可能存在瘦素缺乏。据 Nagasaki 等^[20]报道早产儿血瘦素水平为 2.3 (1.0~3.9) ng/mL, 据 Veselá 等^[21]报道早产儿脐带血瘦素水平为 3.07 μg/L, 胎龄 32~33 周早产儿血瘦素水平为 2.89 μg/L, 低于胎龄 34~36 周早产儿血瘦素水平 (3.13 μg/L), 虽然标本来源和测量法存在不一致, 但是可以辅证早产儿、尤其是极早早产儿存在瘦素缺乏现象。Okuma 等^[22]报道瘦素水平与极低体重婴儿发生认知社会功能障碍相关。动物实验表明瘦素处理可以扭转母婴分离模型鼠的海马区和前额皮层变化^[23]。这些科研证据似乎表明补充瘦素可能对早产儿脑损伤具有保护作用。故该研究通过建立早产儿脑白质损伤模型, 使用瘦素作为干预手段, 观察其 21 日龄断乳后的空间记忆能力, 探索瘦素对早产儿脑白质损伤的神经保护作用。

该研究中使用瘦素干预并没有增加早产儿脑白质损伤模型大鼠的死亡率。各组新生大鼠生后 21 d 内体重变化情况显示: 处理后至生后 10 d 内瘦素干预组大鼠体重接近于假手术组, 低于模型组, 10 d 后其生长速度加快, 并于 10~14 d 发生交

叉现象,干预组体重超过其他各组,但是差异没有统计意义,可以看到瘦素对代谢的调节和控制体重的作用,瘦素干预停止后出现加速生长现象,对体重的中远期发育没有不良影响。历时5日的定位航行训练中,第2天以后各组大鼠到达平台的潜伏期逐渐产生差异并具有统计学意义,瘦素干预组平台潜伏期接近假手术组,短于模型组。水迷宫实验测试结果表明造模后瘦素干预组不论是穿越平台的次数还是首次到达平台需要的时间,其测试的成绩均优于模型组,且接近假手术组。可以认为瘦素干预能够保护早产儿脑白质损伤SD大鼠的空间记忆功能,研究中选用21日龄大鼠进行空间记忆能力测试,此时为大鼠断乳期,相当于人类的婴幼儿期,为神经系统发育后期,此时是否仍可以通过康复训练,在成年后接近正常水平?瘦素对早产儿脑损伤的神经保护作用是否与成熟脑具有不同的作用机制?这些都值得进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] World Health Organization. Preterm birth Fact sheet no 363. WHO[EB/OL]. (2017-11). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363/en/>.
- [2] Burns YR, Danks M, O'Callaghan MJ, et al. Motor coordination difficulties and physical fitness of extremely-low-birthweight children[J]. *Dev Med Child Neurol*, 2009, 51(2): 136-142.
- [3] Woodward LJ, Edgin JO, Thompson D, et al. Object working memory deficits predicted by early brain injury and development in the preterm infant[J]. *Brain*, 2005, 128(Pt 11): 2578-2587.
- [4] Back SA, Han BH, Luo NL, et al. Selective vulnerability of late oligodendrocyte progenitors to hypoxia-ischemia[J]. *J Neurosci*, 2002, 22(2): 455-463.
- [5] Volpe JJ. Brain injury in premature infants: a complex amalgam of destructive and developmental disturbances[J]. *Lancet Neurol*, 2009, 8(1): 110-124.
- [6] du Plessis AJ. Neurology of the newborn infant. Preface[J]. *Clin Perinatol*, 2009, 36(4): xi-xiii.
- [7] Oomura Y, Hori N, Shiraishi T, et al. Leptin facilitates learning and memory performance and enhances hippocampal CA1 long-term potentiation and CaMK II phosphorylation in rats[J]. *Peptides*, 2006, 27(11): 2738-2749.
- [8] 朱丽华, 蒋犁, 张志华, 等. 缺氧缺血致低龄大鼠脑白质损伤和神经功能障碍的实验研究[J]. *临床儿科杂志*, 2007, 25(9): 784-787.
- [9] Favaro A, Santonastaso P, Manara R, et al. Disruption of visuospatial and somatosensory functional connectivity in anorexia nervosa[J]. *Biol Psychiatry*, 2012, 72(10): 864-870.
- [10] Koyama KI, Asakawa A, Nakahara T, et al. Intelligence quotient and cognitive functions in severe restricting-type anorexia nervosa before and after weight gain[J]. *Nutrition*, 2012, 28(11-12): 1132-1136.
- [11] Sternheim L, Startup H, Pretorius N, et al. An experimental exploration of social problem solving and its associated processes in anorexia nervosa[J]. *Psychiatry Res*, 2012, 200(2-3): 524-529.
- [12] Johnston JM, Hu WT, Fardo DW, et al. Low plasma leptin in cognitively impaired ADNI subjects: gender differences and diagnostic and therapeutic potential[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2014, 11(2): 165-174.
- [13] Guimond D, Diabira D, Porcher C, et al. Leptin potentiates GABAergic synaptic transmission in the developing rodent hippocampus[J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 235.
- [14] Durakoglugil M, Irving AJ, Harvey J. Leptin induces a novel form of NMDA receptor-dependent long-term depression[J]. *J Neurochem*, 2005, 95(2): 396-405.
- [15] Shanley LJ, Irving AJ, Harvey J. Leptin enhances NMDA receptor function and modulates hippocampal synaptic plasticity[J]. *J Neurosci*, 2001, 21(24): RC186.
- [16] Shanley LJ, Irving AJ, Rae MG, et al. Leptin inhibits rat hippocampal neurons via activation of large conductance calcium-activated K⁺ channels[J]. *Nat Neurosci*, 2002, 5(4): 299-300.
- [17] O'Malley D, Irving AJ, Harvey J. Leptin-induced dynamic alterations in the actin cytoskeleton mediate the activation and synaptic clustering of BK channels[J]. *FASEB J*, 2005, 19(13): 1917-1919.
- [18] Walker CD, Long H, Williams S, et al. Long-lasting effects of elevated neonatal leptin on rat hippocampal function, synaptic proteins and NMDA receptor subunits[J]. *J Neurosci Res*, 2007, 85(4): 816-828.
- [19] Irving AJ, Wallace L, Durakoglugil D, et al. Leptin enhances NR2B-mediated N-methyl-D-aspartate responses via a mitogen-activated protein kinase-dependent process in cerebellar granule cells[J]. *Neuroscience*, 2006, 138(4): 1137-1148.
- [20] Nagasaki H, Ohta T. Extra-uterine growth and adipocytokines in appropriate-for-gestational-age preterm infants[J]. *Pediatr Int*, 2015, 58(7): 584-588.
- [21] Veselá PK, Kaniok R, Bayer M. Markers of bone metabolism, serum leptin levels and bone mineral density in preterm babies[J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2016, 29(1): 27-32.
- [22] Okuma C, Hernández MI, Rodríguez P, et al. Microstructural brain and multivoxel spectroscopy in very low birth weight infants related to insulin-like growth factor concentration and early growth[J]. *Horm Res Paediatr*, 2013, 79(4): 197-207.
- [23] Mela V, Díaz F, Borcel E, et al. Long term hippocampal and cortical changes induced by maternal deprivation and neonatal leptin treatment in male and female rats[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0137283.

(本文编辑: 万静)