

神经元型一氧化氮合酶在快速衰老小鼠海马中的增龄性改变

张立红^{1,2}, 任天华², 方马荣², 姚大卫², 王铭维^{1,3}(1. 河北医科大学第一医院神经内科, 河北石家庄 050031; 2. 香港中文大学医学院解剖学系, 香港沙田;
3. 河北省脑老化与认知神经科学实验室, 河北石家庄 050031)

摘要: 【目的】通过观察快速衰老小鼠(SAM)在衰老过程中海马中 nNOS 的分布和表达变化, 探讨 NO/nNOS 在中枢神经系统衰老中的作用。【方法】采用雄性快速衰老亚系 8 小鼠(SAMP8)及抗快速衰老亚系 1 小鼠(SAMR1)为研究对象, 其中 SAMP8 为实验组, SAMR1 为对照组, 每组动物再分为青年组(2月龄)和老年组(10月龄)两组, 每个年龄组随机分配 6 只动物。用免疫组织化学法标记 SAM 海马中 nNOS 神经元, 观察海马 CA1, CA2 和 CA3 区 nNOS 神经元的形态和分布, 并计数 nNOS 神经元的数量; 用 RT-PCR 法检测海马中 nNOS mRNA 表达水平(用平均灰度值表示)。【结果】老龄 SAMP8 海马中阳性神经元的形态与其它组比较无明显差别, 但 CA1 和 CA2 区阳性神经元密度明显减低, CA3 区阳性神经元密度无明显改变。SAMP8 老年组与青年组相比, 海马 CA1 和 CA2 区 nNOS 阳性细胞的数量显著减少(73 ± 14 vs 144 ± 38 , $P < 0.01$; 71 ± 30 vs 126 ± 39 , $P < 0.05$), CA3 区阳性神经元数量无显著差别; SAMP8 与 SAMR1 比较, 青年组海马 nNOS 阳性细胞的数量无显著差别, 老年组海马 CA1 和 CA2 区阳性细胞的数量显著减少(73 ± 14 vs 139 ± 24 , $P < 0.01$; 71 ± 30 vs 120 ± 37 , $P < 0.05$)。SAMP8 老年组海马 nNOS mRNA 水平明显低于青年组(0.43 ± 0.17 vs 0.92 ± 0.15 , $P < 0.01$), 且低于相应月龄 SAMR1(0.43 ± 0.17 vs 0.86 ± 0.13 , $P < 0.01$)。【结论】海马中 nNOS 催化产生不足量 NO 可能加速 SAMP8 衰老, 致使学习记忆能力下降, 为通过调节 NO 产量来延缓衰老及衰老相关学习记忆能力下降提供了理论依据。

关键词: 神经元型一氧化氮合酶; 一氧化氮; 衰老; 快速衰老小鼠; 海马

中图分类号: R32

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2007)03-0258-05

Aging Patterns of Neuronal Nitric Oxide Synthase in Hippocampus of Senescence Accelerated Mouse

ZHANG Li-hong^{1,2}, REN Tian-hua², FANG Ma-rong², YEW David², WANG Ming-wei^{1,3}(1. Department of Neurology, The First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031, China;
2. Department of Anatomy, The Chinese University of Hong Kong, Shatin, HongKong. 3. Brain Ageing and
Cognitive Neuroscience Laboratory of Hebei Province, Shijiazhuang 050031, China)

Abstract: 【Objective】To observe the changes of neuronal nitric oxide synthase (nNOS) distribution and expression in the hippocampus of the senescence accelerated mouse (SAM) in the aging process and to investigate the role of nNOS in the aging central nervous system of SAM. 【Method】SAM/prone8 (SAMP8) and SAM/resistant1 (SAMR1) were selected as the subjects with SAMP8 as experimental group and SAMR1 as control group. Both groups were divided into young (2 months) and aged (10 months) groups. Immunohistochemical methods were used to stain nNOS positive neurons in the hippocampus of SAM. The distribution, morphology, and number of nNOS positive neurons in CA1, CA2, and CA3 regions of the hippocampus were detected. The nNOS mRNA expression levels in the hippocampus were measured by RT-PCR analysis. 【Results】There was no significant difference in the morphology of nNOS positive neurons in the hippocampus of aged SAMP8 compared to other groups. However, the density of nNOS positive neurons decreased in CA1 and CA2 regions but no significant alterations were seen in the

收稿日期: 2007-01-15

基金项目: 河北省科技攻关计划项目(062761820)

作者简介: 张立红(1973-), 男, 河北隆尧人, 医学硕士, 主治医师, 主要从事老年神经系统疾病和衰老的临床与基础研究, E-mail: lihongzhang1973@yahoo.com.cn; 王铭维, 教授, 主任医师, 博士生导师, 通讯作者; 任天华, 主治医师, 现在浙江大学医学院附属邵逸夫医院内科工作; 方马荣, 副教授, 现在浙江大学医学院解剖学教研室和细胞生物学研究所工作

CA3 regions of the hippocampus. The number of nNOS positive neurons decreased in CA1 and CA2 regions of the hippocampus (73 ± 14 vs 144 ± 38 , $P < 0.01$; 71 ± 30 vs 126 ± 39 , $P < 0.05$) but there was no significant difference in CA3 regions of aged SAMP8 compared to young SAMP8. Compared with age matched SAMR1, aged SAMP8 had significantly decreased nNOS positive neurons in CA1 and CA2 regions of hippocampus (73 ± 14 vs 139 ± 24 , $P < 0.01$; 71 ± 30 vs 120 ± 37 , $P < 0.05$) and young SAMP8 had no significant alterations of the number of nNOS positive neurons in the hippocampus. The expression of nNOS mRNA levels in the hippocampus of aged SAMP8 was significantly lower than that of young SAMP8 (0.43 ± 0.17 vs 0.92 ± 0.15 , $P < 0.01$) and also significantly lower than that of age-matched controls (0.43 ± 0.17 vs 0.86 ± 0.13 , $P < 0.01$). 【Conclusion】 The downregulations of nNOS expression possibly resulted in inadequate production of NO normally catalyzed in the hippocampus, which might accelerate the aging process of SAMP8 and lead to impaired capability of learning and memory. These results may provide a theoretical base for delaying age and age-related impaired capability of learning and memory through the regulation of NO production.

Key words: neuronal nitric oxide synthase (nNOS); nitric oxide (NO); aging; senescence accelerated mouse (SAM); hippocampus

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2007, 28(3):258-262]

一氧化氮 (nitric oxide, NO) 在中枢神经系统中是一种兼具细胞间、细胞内信使和神经递质作用的信息分子, 在机体内发挥着极其重要的生理和病理作用^[1]。随着对NO不断深入的研究, 发现其与中枢神经系统衰老关系密切, 已成为神经病学和神经生物学研究的热点之一^[2]。一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) 是 NO 生物合成的关键酶^[3], 不同的 NOS 催化合成的 NO 在不同的组织细胞中发挥着不同的生物学效应, 神经元型 NOS (neuronal NOS, nNOS) 产生的 NO 在学习记忆机制中起重要作用^[4]。海马是与学习记忆功能最密切的脑区之一^[5]。由于 NO 的半衰期很短, 高度活跃, 极不稳定, 直接检测尚存在技术上的困难, 因此多采用检测 NOS 的间接方法来反映组织细胞中的 NO 含量。目前, 该领域的研究多采用正常衰老的动物为研究对象, 而且研究结果不一致。快速衰老亚系 8 小鼠 (senescence accelerated mouse/prone 8, SAMP8)^[6] 是目前研究衰老及衰老相关学习记忆功能障碍的良好的哺乳类动物模型, 但是, 有关 nNOS 在 SAMP8 海马中增龄性改变的研究, 在国内外尚未见报道。本实验通过观察 SAMP8 在衰老过程中海马中 nNOS 的分布和表达变化, 探讨 NO/nNOS 在中枢神经系统衰老以及衰老相关学习记忆障碍中的作用及意义。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

采用雄性 SAMP8 和抗快速衰老亚系 1 小鼠

(senescence accelerated mouse/resistance 1, SAMR1) 为研究对象(由香港中文大学实验动物中心提供), 其中 SAMP8 为实验组, SAMR1 为对照组, 每组动物再分为青年组 (2 月龄) 和老年组 (10 月龄) 两组, 每个年龄组随机分配 6 只动物。饲养环境: 动物饲养于无特异病原菌房间, 昼夜循环周期为 12 h 12 h (6:00 开灯, 18:00 关灯), 自由饮水饮食, 温度 (20 ± 1)。

1.2 实验试剂与器材

nNOS 多克隆抗体 (一抗) 购自 Santa Cruz 公司; 驴抗兔 FITC 荧光抗体, 激发光波长为 488 nm (二抗) 购自 Molecular probes 公司; Trizol, cDNA 合成试剂盒、PCR 试剂盒、10 × 上样缓冲液、100 bp DNA ladder 等试剂均购自 Invitrogen 公司; 氯仿、异丙醇、乙醇等均购自 Sigma 公司。As620E 恒温冷冻切片仪由美国 Shandon 公司制造; MRC1024 激光共聚焦显微镜和 mini-sub cell GT 电泳仪由 BIO-RAD 公司制造; Axiophot2 荧光显微镜由 Zeiss 公司制造; Biophotometer 分光光度仪由 Eppendorf 公司制造; GeneAmp2400 PCR 仪由美国 Perkin Elmer 公司制造; 凝胶成像系统及 Fluorchem 1.02a 分析软件由美国 ALPHA Innotech 公司制造。

1.3 免疫组织化学法检测 nNOS 在 SAMP8 和 SAMR1 海马中的分布和表达

SAM 经腹腔注射 70 g/L 水合氯醛 (350 mg/kg) 麻醉后, 再经升主动脉快速灌注 8.5 g/L 生理盐水约 50 mL, 继之灌注 40 g/L 多聚甲醛磷酸缓冲液 (0.1 mol/L, pH=7.4) 约 200 mL。将脑取出, 后固定于 40 g/L 多聚甲醛磷酸缓冲液中, 4 h, 4 h,

然后将组织移入含 100 g/L 蔗糖 0.1 mol/L 磷酸缓冲液 1 h (pH=7.4, 4), 再入 250 g/L 蔗糖磷酸缓冲液中约 24~48 h, 至组织下沉, OCT 复合物包埋, 放入液氮冷却的异戊烷中冷冻。冷冻包块在海马部位作冰冻连续冠状切片, 核团定位参照 George Paxinos 等的图谱^[7]。切片厚 40 μm , 间隔 3 片取 2 片, 用免疫荧光标记法进行漂染, 步骤如下: (1) 孵育切片于包含 3 mL/L TritonX-100 和 50 mL/L 正常驴血清的 PBS 缓冲液中, 30 min, 去除上述阻断液(不要漂洗); (2) 孵育切片于一抗溶液中(稀释度为 1:500) 室温下过夜; (3) 孵育切片于二抗溶液中(稀释度为 1:600) 室温下 2 h; (4) 以上各步骤间均用 0.01 mol/L 的 PBS 缓冲液漂洗 3 次, 每次 5 min; (5) 常规裱片, 封片; (6) 在普通荧光显微镜下观察(激发光为 470 nm, 释放光为 520 nm, 黄绿色荧光), 人工计数阳性细胞数, 激光共聚焦显微镜拍照, 所有分析由一个对实验分组不知情者完成。阴性对照用 PBS 缓冲液代替一抗。

1.4 RT-PCR 法检测海马 nNOS mRNA 的水平

小鼠经颈椎脱位处死后, 立即打开颅骨充分暴露脑部, 将两侧海马完整取出, 冷冻于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。按 Trizol 法提取总 mRNA, 然后逆转录合成 cDNA: 即 50 $\mu\text{mol/L}$ oligo (dT) 12~18 1.0 μL , 10 mmol/L dNTP mix 1.0 μL , RNA 2.0 μg , 总体积 13.0 μL , 将此溶液在 65 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 5 min 后立即置冰上冷却至少 1 min, 然后分别加入以下溶液: 5 \times first strand buffer 4.0 μL , 0.1 mol/L DTT 1.0 μL , RNA 酶抑制剂 1.0 μL , SuperScript 逆转录酶 (200 U/ μL) 1.0 μL , 将以上成分混匀, 50 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 60 min, 然后 70 $^{\circ}\text{C}$ 加热 15 min 终止反应。最后进行 PCR 反应: 10 \times PCR buffer 2.5 μL , 50 mmol/L MgCl 0.75 μL , 10 mmol/L dNTP 0.5 μL , 待测基因的上下游引物均为 0.5 μL , DEPC H₂O 19.05 μL , cDNA 1.0 μL , Taq DNA 聚合酶 (5 U/ μL) 0.2 μL , 总体积 25.0 μL 。反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$, 5 min, 然后 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 30 个循环, 全部周期结束后于 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。每个样本重复至少 2 次。PCR 反应后, 取 10 μL PCR 产物在 2% 琼脂糖凝胶上电泳(含 EB, 终浓度 0.5 $\mu\text{g/mL}$) 30 min, 电压 100 V, 用凝胶成像系统拍照观察, 用 Fluorchem 1.02a 软件对条带的灰度进行分析。将实验组和对照组条带的平均灰度值与相应的 β -actin 条带的平均灰度值的比值进行比较。从

基因库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 中查出小鼠 nNOS 及 β -actin 的 cDNA 全序列, 用 Primer3 引物设计软件设计其特异性 PCR 引物, 由 Invitrogen 公司合成。nNOS 上游引物 5'-CCA GCT CTT CCC TCT AGC-3', 下游引物 5'-CTT TGT TGG TGG CGT ACT-3', 产物大小为 302 bp。

1.5 统计学分析

数据用均数 \pm 标准 ($\bar{x} \pm s$) 差表示, 采用方差分析进行统计比较, $P < 0.05$ 被认为差异有统计学意义, 应用 SPSS11.0 软件完成。

2 结 果

2.1 海马内 nNOS 阳性神经元的形态和分布变化
多形细胞层和分子层有少量阳性神经元散在分布, 锥体细胞层多数神经元呈阳性标记。阳性细胞大小不等, 着色深浅不一, 大多为卵圆形或圆形。老年组 SAMP8 的 CA1 和 CA2 区阳性神经元的形态与其它组比较无明显差别, 但分布密度和强度明显减低(图 1、2, 见封 2); CA3 区阳性神经元的形态和分布与其它组比较均无明显差别。

2.2 海马内 nNOS 免疫阳性神经元的数目变化

SAMP8 老年组(10 月龄)与青年组(2 月龄)相比, 海马 CA1 区阳性细胞的数量减少非常显著, 海马 CA2 区阳性细胞的数量显著减少; CA3 区阳性神经元数量无显著差别; SAMP8 与 SAMR1 比较, 青年组海马 CA1 和 CA2 区阳性细胞的数量无显著差别, 老年组阳性细胞的数量显著减少, CA3 区两组阳性细胞的数量均无显著差别(表 1)。

表 1 nNOS 阳性神经元在海马 CA1、CA2 和 CA3 区的数目变化

Table 1 The number of nNOS immunoreactive neurons in CA1, CA2, and CA3 regions of hippocampus ($\bar{x} \pm s$, n=6)

Group	Age	CA1	CA2	CA3
SAMP8	Young	144 \pm 38	126 \pm 39	184 \pm 43
	Aged	73 \pm 14 ^{1),2)}	71 \pm 30 ^{3),4)}	153 \pm 41
SAMR1	Young	130 \pm 31	134 \pm 49	158 \pm 51
	Aged	139 \pm 24	120 \pm 37	169 \pm 46

1), 3) Compared with young SAMP8 group, $P < 0.01$, $P < 0.05$;
2), 4) Compared with aged SAMR1 group, $P < 0.01$, $P < 0.05$

2.3 SAMP8 海马中 nNOS mRNA 表达水平

老年 SAMP8 海马 nNOS mRNA 水平 (用平均

灰度值表示)明显低于青年组 SAMP8,且低于相应月龄对照组 SAMR1(图3,表2)。

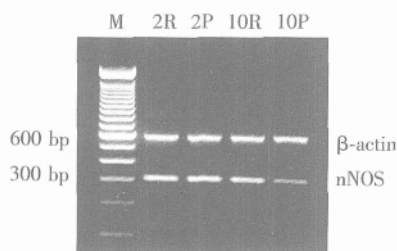


图3 nNOSmRNA 在海马中的表达

Fig.3 The expression of nNOS mRNA in hippocampus

M: marker; 2R: young SAMR1 group; 2P: young SAMP8 group; 10R: aged SAMR1 group; 10P: aged SAMP8 group.

表2 nNOS mRNA 在海马中的表达

Table 2 Expression of nNOS mRNA in hippocampus
($\bar{x} \pm s$, n=6, gray scale value)

Groups	Young group	Aged group
SAMP8	0.92 \pm 0.15	0.43 \pm 0.17 ^{1,2)}
SAMR1	0.82 \pm 0.16	0.86 \pm 0.13

1) Compared with young SAMP8 group, P< 0.01; 2) Compared with aged SAMR1 group, P< 0.01

3 讨论

3.1 目前对于衰老动物模型的研究现状

目前在衰老的研究中,多以正常老化动物为模型,其缺点不仅有饲养时间长、价格昂贵等不足,而且正常衰老的动物多不伴有典型的病理特征,因此作为研究衰老相关性疾病的模型具有一定的局限性。SAM是目前研究快速衰老的良好的哺乳类动物模型^[6],分为SAMP及SAMR亚系,每一亚系又根据病理改变不同分为不同表现型,SAMP8^[8]主要以学习记忆功能呈增龄性加速衰退、中枢神经系统如皮层、海马等部位发生与人类相似的病理学改变为主。此外,小鼠遗传信息非常丰富,与人类遗传学特征非常相似。SAMP8在2月龄就开始出现学习记忆功能衰退,并随增龄而加重,表现为空间学习记忆能力下降。因此,SAMP8为探讨中枢神经系统衰老及衰老相关学习记忆功能障碍的发生机制提供了良好的动物模型。有关nNOS在SAMP8海马中增龄性改变的研究,在国内外尚未见报道。

3.2 本实验 nNOS 在 SAMP8 和 SAMR1 海马中增龄性改变及相关研究结果

本实验运用免疫组化法研究了SAMP8海马nNOS阳性神经元的分布及其变化,发现这种阳性细胞在海马各亚区均有分布;在CA1和CA2区,SAMP8老年组的nNOS阳性神经元数量较青年组SAMP8明显减少,而且少于相应年龄段的对照组。在CA3区,SAMP8 nNOS阳性神经元数量不随月龄增加发生改变,与青年组比较亦无明显差别。RT-PCR结果发现SAMP8老年组海马中的nNOS mRNA水平较青年组SAMP8明显减少,而且低于相应年龄段的对照组。以往研究发现:老年大鼠海马中nNOS阳性神经元数目、NOS活性、nNOS的表达水平较青年组大鼠减低^[9-11]。尸检发现,Alzheimer病患者海马中nNOS阳性神经元数目和nNOS mRNA水平较正常衰老者明显减少^[12]。本实验结果与这些以往研究结果基本一致。

3.3 NO/nNOS在中枢神经系统中的作用

NO在机体内是以L-精氨酸(L-Arg)为底物,在关键酶NOS的催化作用下合成的^[3]。不同的NOS存在于机体的不同组织细胞中,催化合成的NO也发挥着不同的生物学效应,nNOS主要存在于中枢神经系统的大脑皮质、海马、小脑、下丘脑、脑干等部位的神经细胞内^[13]。在正常生理情况下nNOS催化产生的NO作为中枢神经系统细胞间信使分子,在学习记忆机制中具有重要作用^[4]。

目前认为,NO在中枢神经系统的主要作用包括^[14-16]:介导神经元对兴奋性氨基酸的反应;作为一种逆向信息传递物质参与海马的长时程突触传递增强,以及小脑的长时程突触传递抑制过程,即记忆的长时程增强(LTP)和长时程抑制(LTD);神经毒性作用。

3.4 NO/nNOS对学习记忆功能的调节机制

NO对学习记忆的作用主要是以调节长时程效应而实现的。LTP是研究学习记忆机制的一种模式,被认为是记忆形成的神经基础。NO从突触后释放通过扩散作用于突触前膜,增加突触前谷氨酸的释放,使突触前突触后共同参与形成LTP^[17]。

当NOS缺乏时,NO产生不足,即会影响LTP的形成,从而影响正常的学习记忆功能。海马是学习记忆的重要区域,在衰老过程中海马的功能和结构异常是学习记忆能力减低的最重要的原因^[5]。

NO/nNOS在学习记忆中的作用在功能和形态上已得到了较多的实验证明。给大鼠注射 NOS 抑制剂 N-硝基精氨酸能阻断大鼠海马 LTP 的形成,同时使动物的空间学习记忆能力受损^[18];在学习记忆能力受损的大鼠海马内 nNOS 的数量显著减低^[19],以上说明衰老时海马内 nNOS 的改变与学习记忆功能密切相关。

本实验结果说明 SAMP8 在衰老过程中,海马的 nNOS 阳性神经元数目和 mRNA 表达水平减低,提示海马中 NO 产生不足,可能影响 LTP 的形成,致使学习记忆能力下降,从而可能参与 SAMP8 衰老时学习记忆能力下降的发生机制,为通过调节 NO 产量来延缓衰老及相关功能障碍提供了理论依据。但是,NO/nNOS 在衰老时的具体变化机制仍不清楚,NO/nNOS 的变化对衰老调节是否起作用及其作用程度方面,均有待进一步研究和探索。

(本文图 1、2 见封 2 Figure 1 and 2 are on inside front cover)

参考文献:

- [1] PEPICELLI O, RAITERI M, FEDELE E. The NOS/sGC pathway in the rat central nervous system: a microdialysis overview [J]. *Neurochem Int*, 2004, 45(6): 787-797.
- [2] MCCANN S M, LICINIO J, WONG M L, et al. The nitric oxide hypothesis of aging [J]. *Exp Gerontol*, 1998, 33(7-8): 813-826.
- [3] STUEHR D J. Enzymes of the L-arginine to nitric oxide pathway [J]. *J Nutr*, 2004, 134(10 Suppl):2748S-2751S.
- [4] WEITZDOERFER R, HOEGER H, ENGI DAWORK E, et al. Neuronal nitric oxide synthase knock-out mice show impaired cognitive performance [J]. *Nitric Oxide*, 2004, 10(3):130-140.
- [5] 刘美娜, 庄思齐, 车丽洪. 高压氧对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠的远期影响 [J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2005, 26(6):664-668.
- [6] 聂伟, 张永祥. 快速老化小鼠—研究衰老及衰老相关疾病的动物模型 [J]. *中国药理学通报*, 2000, 16(2): 132-137.
- [7] PAXINOS G, FRANKLIN K B. The mouse brain in stereotaxic coordinates [M]. 2nd ed. Sydney: Elsevier Academic Press, 2001: 39-71.
- [8] BRANDEWIEDE J, SCHACHNER M, MORELLINI F. Ethological analysis of the senescence-accelerated P/8 mouse [J]. *Behav Brain Res*, 2005, 158(1): 109-121.
- [9] JESKO H, CHALIMONIUK M, STROSZNAJDER J B. Activation of constitutive nitric oxide synthase (s) and absence of inducible isoform in aged rat brain [J]. *Neurochem Int*, 2003, 42(4): 315-322.
- [10] LAW A, O DONNEL J, GAUTHIER S, et al. Neuronal and inducible nitric oxide synthase expressions and activities in the hippocampi and cortices of young adult, aged cognitively unimpaired, and impaired Long-Evans rats [J]. *Neuroscience*, 2002, 112(2): 267-275.
- [11] LIU P, SMITH P F, APPLETON I, et al. Nitric oxide synthase and arginase in the rat hippocampus and the entorhinal, perirhinal, postrhinal, and temporal cortices: regional variations and age-related changes [J]. *Hippocampus*, 2003, 13(7):859-867.
- [12] NORRIS P J, FAULL R L, EMSON P C. Neuronal nitric oxide synthase (nNOS) mRNA expression and NADPH-diaphorase staining in the frontal cortex, visual cortex and hippocampus of control and Alzheimer's disease brains [J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 1996, 41(1-2): 36-49.
- [13] DREYER J, SCHLEICHER M, TAPPE A, et al. Nitric oxide synthase (NOS)-interacting protein interacts with neuronal NOS and regulates its distribution and activity [J]. *J Neurosci*, 2004, 24(46):10454-10465.
- [14] KOESLING D, RUSSWURM M, MERDIA E, et al. Nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase: structure and regulation [J]. *Neurochem Int*, 2004, 45(6): 813-819.
- [15] LEDO A, FRADE J, BARBOSA R M, et al. Nitric oxide in brain: diffusion, targets and concentration dynamics in hippocampal subregions [J]. *Mol Aspects Med*, 2004, 25(1-2):75-89.
- [16] KEYNES R G, GARTHWAITE J. Nitric oxide and its role in ischaemic brain injury [J]. *Curr Mol Med*, 2004, 4(2): 179-191.
- [17] HAWKINS R D, SON H, ARANCIO O. Nitric oxide as a retrograde messenger during long-term potentiation in hippocampus [J]. *Prog Brain Res*, 1998, 118: 155-172.
- [18] BOHME G A, BON C, LEMAIRE M, et al. Altered synaptic plasticity and memory formation in nitric oxide synthase inhibitor-treated rats [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(19): 9191-9194.
- [19] 郭开华, 徐杰, 袁群芳, 等. 植物雌激素对去卵巢大鼠海马 NOS 阳性神经元及学习记忆的影响 [J]. *解剖学杂志*, 2004, 27(4):404-407.

(编辑 刘清海)

神经元型一氧化氮合酶在快速衰老小鼠海马中的增龄性改变

(正文见第 258 页)

Aging Patterns of Neuronal Nitric Oxide Synthase in Hippocampus of Senescence Accelerated Mouse

(Text in page 258)

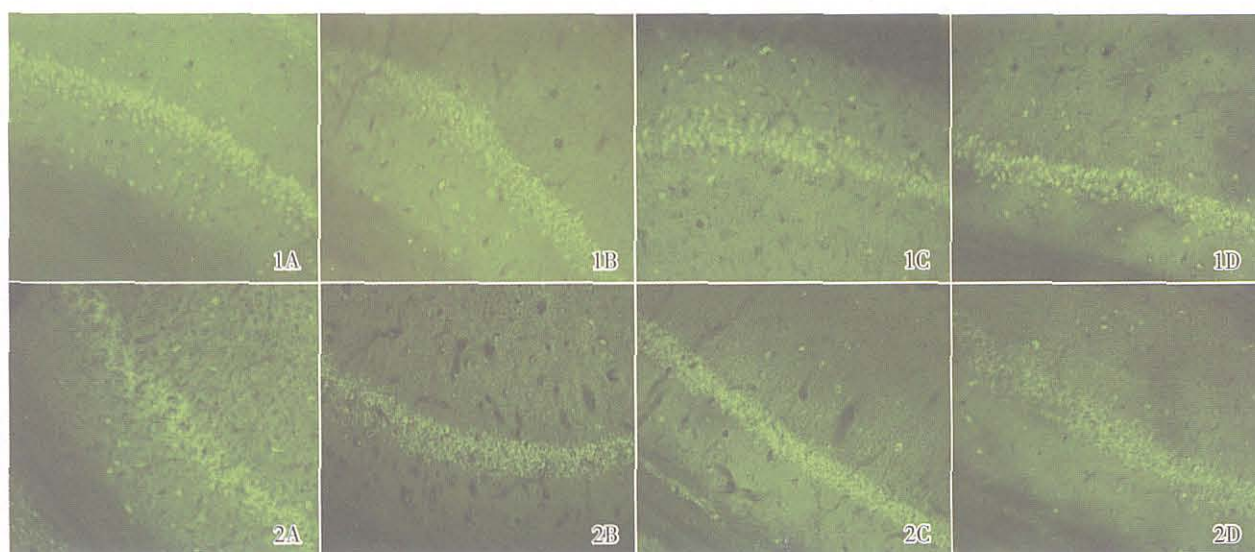


图 1 nNOS 阳性神经元在海马 CA1 区的形态和分布

图 2 nNOS 阳性神经元在海马 CA2 区的形态和分布

Fig.1 The morphology and location of nNOS immunoreactive neurons in CA1 regions of hippocampus

1A: young SAMP8 group; 1B: aged SAMP8 group; 1C: young SAMR1 group; 1D: aged SAMR1 group; 200x

Fig.2 The morphology and location of nNOS immunoreactive neurons in CA2 regions of hippocampus

2A: young SAMP8 group; 2B: aged SAMP8 group; 2C: young SAMR1 group; 2D: aged SAMR1 group; 200x