

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.05.012

## 不同方式的轻度跑步机锻炼对阿尔茨海默鼠认知功能的影响

宋文颖<sup>1</sup>, 张家薇<sup>2</sup>, 彭芳<sup>2</sup>, 刘俊保<sup>3△</sup>

(1. 河南应用技术职业学院护理学院, 郑州 450042; 2. 郑州澍青医学高等专科学校临床医学系, 郑州 450064; 3. 郑州大学人民医院中医科, 郑州 450003)

**[摘要]** **目的** 探讨不同方式的轻度跑步机锻炼对阿尔茨海默病(AD) APP 转基因小鼠认知功能的影响及可能的作用机制。**方法** 将 24 只 6 月龄 APP<sup>+</sup> 小鼠随机均分为 4 组: 对照组、有规律锻炼组(RE 组)、无规律不同时刻锻炼组(ITE 组)和无规律不同持续时间锻炼组(IDDE 组)。锻炼结束后, 比较各组小鼠的空间认知能力, 小鼠海马组织中可溶性及不溶性淀粉样蛋白(A $\beta$ )<sub>40</sub>、<sub>42</sub> 水平,  $\beta$  分泌酶与  $\gamma$  分泌酶活性, 小鼠海马组织中脑啡肽酶(NEP)、胰素降解酶(IDE)、基质金属蛋白酶 9(MMP-9) mRNA 水平; 以及小鼠海马存活神经元、脑源性神经营养因子(BDNF)、BDNF 酪氨酸激酶受体 B(TrkB)及磷酸化 TrkB(p-TrkB)蛋白水平。**结果** 与对照组比较, RE 组小鼠的空间认知能力明显提高( $P < 0.05$ ), 海马组织中可溶性与不溶性 A $\beta$ <sub>40</sub>、<sub>42</sub> 水平及  $\beta$  分泌酶与  $\gamma$  分泌酶活性均明显下降( $P < 0.05$ )。4 组小鼠海马组织中 NEP、IDE 及 MMP-9 mRNA 表达水平比较, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。与对照组比较, RE 组小鼠海马组织中存活神经元数量明显增加( $P < 0.05$ ), BDNF 与 p-TrkB 蛋白水平明显升高( $P < 0.05$ )。与 ITE 组、IDDE 组比较, RE 组小鼠的空间认知能力、海马组织中 A $\beta$ <sub>40</sub>、<sub>42</sub> 水平及存活神经元数量、BDNF 和 p-TrkB 蛋白水平差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 轻度有规律跑步机锻炼能有效提高 AD 鼠认知功能, 可能与调节 BDNF/TrkB 通路有关。

**[关键词]** 身体锻炼; 跑步机; 有规律; 阿尔茨海默病; 认知; 神经元存活; 脑源性神经营养因子

**[中图分类号]** R493 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)05-0614-04

### Effects of different modes of mild treadmill exercise on cognitive function of Alzheimer's disease mice

SONG Wenyi<sup>1</sup>, ZHANG Jiawei<sup>2</sup>, PENG Fang<sup>2</sup>, LIU Junbao<sup>3△</sup>

(1. School of Nursing, Henan Vocational College of Applied Technology, Zhengzhou, Henan 450042, China;

2. Department of Clinical Medicine, Zhengzhou Shuqing Medical College, Zhengzhou, Henan 450064, China;

3. Department of Traditional Chinese Medicine, People's Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450003, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effects and possible mechanisms of different modes of mild treadmill exercise on cognitive function in Alzheimer's disease(AD) APP transgenic mice. **Methods** Twenty-four 6-month-old APP<sup>+</sup> mice were randomly and equally divided into the four groups: control group(Con), regular exercise group(RE), irregular time-of-day exercise group(ITE) and irregular different duration exercise group(IDDE). After treadmill exercise, the spatial cognitive ability was tested. Soluble and insoluble A $\beta$ <sub>40</sub>、<sub>42</sub> levels, activity of  $\beta$ -secretase and  $\gamma$ -secretase in hippocampal tissue were compared among 4 groups. The mRNA levels of NEP, IDE and MMP-9 in the hippocampal tissue were detected. The number of hippocampal survival neurons and protein levels of BDNF, TrkB and p-TrkB were detected. **Results** Compared with the control group, the spatial cognitive ability in the RE group was significantly increased( $P < 0.05$ ), the levels of soluble and insoluble A $\beta$ <sub>40</sub>、<sub>42</sub> and activity of  $\beta$ -secretase and  $\gamma$ -secretase were significantly reduced in the hippocampal tissue of th RE group( $P < 0.05$ ). However, the mRNA levels of NEP, IDE and MMP-9 had no statistically significant difference among the four groups( $P > 0.05$ ). Compared with the control group, the number of survival neurons and protein levels of BDNF and p-TrkB in the hippocampal of the RE group tissue were significantly increased( $P < 0.05$ ). The cognitive function, levels of A $\beta$ <sub>40</sub>、<sub>42</sub>, BDNF and p-TrkB, number of survival neurons in the RE group had statistically significant differences when compared with the ITE and IDDE groups( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Mild and regular treadmill exercise can effectively increase the cognitive function of AD mice, which might be related with the regulation of BDNF/TrkB pathway.

**[Key words]** exercise movement techniques; treadmill; regular; Alzheimer's disease; cognition; survival neurons; brain-derived neurotrophic factor

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是老年痴呆中最常见的类型, 脑部以淀粉样蛋白( $\beta$ -amyloid, A $\beta$ )沉积形成的老年斑、因微管相关蛋白 Tau 蛋白过度磷酸化而形成神经原纤维缠结等为其主要病理特征, 主要临床表现为进行性认知功能障碍、行为学改变等, 病因十分复杂, 目前无特效治疗方法<sup>[1]</sup>。临床上仍以药物治疗为主, 但存在治疗效果不理想及药物不良反应等问题。有研究发现, 跑步机锻炼可明显提高 AD 患者及 AD 动物模型的空间认知能力<sup>[2-3]</sup>。但也有研究表明, 跑步机

锻炼是一种强迫型运动方式, 低强度的跑步机锻炼才更有益于改善 AD 认知及脑部病理, 高强度的跑步机锻炼会对 AD 鼠形成压力而导致相反的效果<sup>[4-5]</sup>。而是否任何形式的轻度跑步机锻炼都可以改善 AD 的认知及病理, 目前尚属未知。本研究采用 3 种不同形式的轻度跑步机锻炼方法干预 AD 小鼠模型, 旨在从行为功能学水平、组织学水平及生化与分子生物学水平等方面来观察有规律和无规律轻度跑步机锻炼对 AD 鼠认知功能的影响及其可能的作用机制。

1 材料与方 法

1.1 材料 仪器及试剂:六跑道动物跑步机装置购自北京硕 林苑科技有限公司, Aβ40、42 ELISA 检测试剂盒购自赛默飞 世尔公司, β-分泌酶与 γ-分泌酶 ELISA 检测试剂盒购自江苏 菲亚生物公司, 匀浆器、1,3-双(4-氨基苯氧基)苯(TPER)试剂 等购自北京鼎国昌盛生物公司, 尼氏染色液购自碧云天生物公 司, 低温切片机、倒置显微镜等购自莱卡公司, RIPA 和 PMSF 蛋白提取试剂、羊抗兔二抗、β-actin、脑源性神经营养因子(BD- NF)、络氨酸激酶受体 B(TrkB)、磷酸化 TrkB(p-TrkB)兔抗鼠 一抗、聚二氟乙烯(PVDF)膜、电泳液、转膜液、发光试剂等购 自上海生工生物公司, 垂直电泳槽、转膜仪、蛋白膜成像分析系 统等购自 BioRad 生物公司, Trizol、PrimeScript 反转录试剂 盒、SYBR Green 荧光定量试剂盒等购自 TAKARA 生物公司, β-actin、脑啡肽酶(NEP)、胰岛素降解酶(IDE)、基质金属蛋白 酶 9(MMP-9)定量 PCR 引物由上海生工合成。动物:清洁级 C57BL/6 APP 转基因 AD 模型小鼠购自中国协和医科大学动 物所, 合笼繁殖, 饲养于独立送风隔离笼具(IVC)。同时期出 生的 24 只雄性 6 月龄 APP<sup>+</sup>小鼠经 PCR 分子鉴定后用于本 实验。

1.2 方法

1.2.1 动物模型与分组 将 24 只雄性 6 月龄 APP<sup>+</sup>小鼠分 为 4 组, 对照组、有规律锻炼组(RE 组)、无规律不同时刻锻炼 组(ITE 组)和无规律不同持续时间锻炼组(IDDE 组), 每组 6 只。该小鼠模型在 5~6 月龄(发病早期)开始在脑部海马区出 现 Aβ, 在 8~9 月龄(发病期)出现明显的 Aβ 沉淀和认知能力 损害。

1.2.2 跑步机锻炼 RE 组、ITE 组和 IDDE 组小鼠接受为期 12 周的跑步机锻炼(速度为 10 m/min), 每周 5 天(周一至周 五)。RE 组小鼠:固定时间段, 每天上午 8:00~9:00 连续锻炼 1 h; ITE 组小鼠:不固定时间段, 每天任意连续锻炼 1 h; IDDE 组小鼠:不固定持续时间, 每天早晨 8:00 开始, 随机锻炼 0~1 h。各组小鼠正式锻炼前在跑步机上接受为期 3 d 的适应练习 (每天 1 h, 速度为 10 m/min)。在 RE 组小鼠进行锻炼的同 时, 将对对照组小鼠放置在另一静止的跑步机上 1 h。实验阶段 为小鼠 6~9 月龄。

1.2.3 Morris 水迷宫检测小鼠空间认知能力 经过 12 周的 跑步机锻炼, 采用 Morris 水迷宫实验检测小鼠空间认知能力 变化。小鼠专用 Morris 水迷宫参数:水池高度为 40 cm、直径 120 cm、分 4 个象限, 平台高度为 28 cm、直径为 15 cm, 水温控 制在(25±1)℃。将平台置于第 I 象限, 略低于水面。正式实 验前 1 周为适应练习阶段, 各组小鼠每天在固定的时间进行入 水练习, 每次 60 s。第 8 天开始正式测试。首先进行定位航行 实验, 每只小鼠从不同象限依次入水, 采集器记录小鼠运动轨 迹及逃避潜伏期、穿越平台次数。然后进行空间探索实验, 撤 去平台, 每只小鼠从不同象限依次入水, 记录上述参数。

1.2.4 尼氏染色检测海马存活神经元 水迷宫实验结束, 小 鼠经水合氯醛麻醉、0.9%生理盐水灌注、4%多聚甲醛固定液 灌注后分离脑组织, 经过 4℃、4%多聚甲醛过夜、30%蔗糖溶 液孵育 48 h, 石蜡包埋后采用低温切片机切取 10 μm 冠状切 片, 每个组织切 6 张。染色步骤参照试剂盒说明书进行。封片 后置于显微镜下观察, 参照文献[6]的方法计数海马区存活的 神经元, 存在清晰细胞体及明显细胞核的细胞作为完整存活的 神经元纳入计数。

1.2.5 ELISA 检测小鼠海马组织 Aβ40、42 水平及 β-分泌酶、 γ-分泌酶活性 水迷宫实验结束, 断颈处死小鼠, 立即分离海 马组织并称取质量, 在匀浆器中加入 TPER(含蛋白酶抑制剂) 制备脑组织匀浆。匀浆经 4℃、16 000 r/m 离心 1 h, 收集上清 液用于检测可溶性 Aβ40、42 水平及 β-分泌酶、γ 分泌酶活性; 沉淀物经 70%甲酸重悬, 4℃、16 000 r/m 离心 1 h 后收集上 清液用于检测不溶性 Aβ40、42 水平。实验方法参照 ELISA 检 测试剂盒说明书。

1.2.6 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测小鼠海马组织相 关基因 mRNA 水平 Trizol 法提取海马组织总 RNA, 经浓 度、纯度及完整性检测, 利用反转录试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA。采用 ABI 7500 实时定量 PCR 仪进行 qRT-PCR 反应, 检测 Aβ 降解相关基因 NEP、IDE 和 MMP-9 mRNA 相对表达 水平。每管 20 μL 反应体系。反应条件为:95℃预变性 30 s; 95℃变性 3 s, 60℃退火 30 s, 40 个循环。每个反应重复 3 次。 以 β-actin 作为内参基因, 基因相对表达量计算采用比较 Ct 法, 基因相对表达量倍数变化采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 进行计算。观察熔解 曲线以确认 PCR 反应产物单一性。引物序列如下, 见表 1。

1.2.7 Western blot 检测小鼠海马组织 BDNF、TrkB 与 p- TrkB 蛋白水平 分离小鼠海马组织, 提取总蛋白并测浓度, 每 个样本取适量总蛋白加入 Loading Buffer, 95℃水浴 10 min 使 蛋白变性, 置于-20℃保存。蛋白样品依次经十二烷基硫酸 钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE), 转 PVDF 膜, 封闭, 一 抗及二抗杂交, 加上发光试剂, PVDF 膜上的蛋白条带由伯乐 成像分析系统扫描并测灰度值。蛋白相对灰度值(%)=目的 蛋白条带灰度值/内参蛋白条带灰度值×100%。

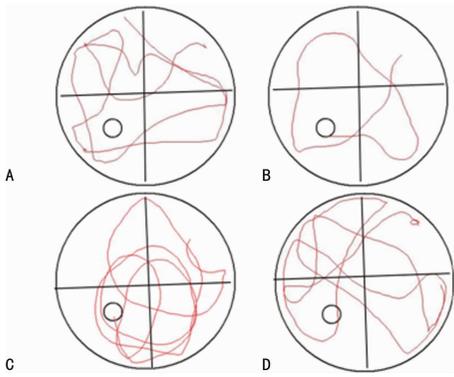
1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计分析数据。多组间数 据比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用 t 检验, 检验水 准 α=0.05, 以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组小鼠空间认知能力比较 与对照组小鼠比较, 锻炼 各组小鼠的逃避潜伏期缩短、穿越平台次数增加; RE 组逃避 潜伏期、穿越平台次数明显优于其他 3 组(P<0.05), IDDE 组 穿越平台次数多于对照组(P<0.05); 而对照组、ITE 组、IDDE 组组间逃避潜伏期比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 对 照组、ITE 组组间穿越平台次数比较, 差异无统计学意义(P> 0.05)。见图 1、表 2。

表 1 相关基因 qRT-PCR 引物序列(5'-3')

名称	上游	下游
β-actin	ACC ACA GTC CAG CCA TCA C	TCC ACC ACC CTG TTG CTG TA
NEP	GCC TCA GCC GAA CCT ACA AG	AAT TTG CAC AAC GTC CTC AAG TT
IDE	GCC GAA GCC TTG TCT CAA CT	CAA ATA GGC CAT GTT ACA GTG CAA
MMP-9	ACG CAC GAC GTC TTC CAG TA	CCA CCT GGT TCA ACT CAC TCC



A: 对照组; B: RE 组; C: ITE 组; D: IDDE 组

图 1 Morris 水迷宫实验结果

## 2.2 各组小鼠海马组织 A $\beta$ <sub>40</sub>、A $\beta$ <sub>42</sub> 水平及 $\beta$ -分泌酶、 $\gamma$ -分泌酶

表 3 各组小鼠海马组织 A $\beta$ <sub>40</sub>、A $\beta$ <sub>42</sub> 水平及  $\beta$ -分泌酶、 $\gamma$ -分泌酶活性比较 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

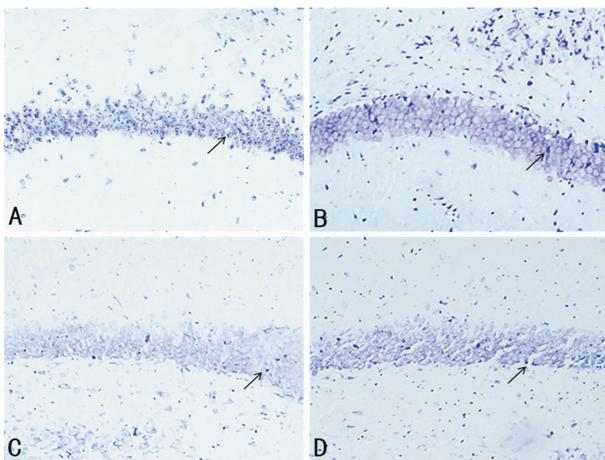
组别	可溶性 A $\beta$ <sub>40</sub> (ng/mg)	可溶性 A $\beta$ <sub>42</sub> (ng/mg)	不溶性 A $\beta$ <sub>40</sub> (ng/mg)	不溶性 A $\beta$ <sub>42</sub> (ng/mg)	$\beta$ -分泌酶活性 (U/mg)	$\gamma$ -分泌酶活性 (U/mg)
对照组	0.33 $\pm$ 0.04	0.71 $\pm$ 0.07	33.06 $\pm$ 5.59	44.35 $\pm$ 5.78	5.40 $\pm$ 0.44	6.32 $\pm$ 0.78
RE 组	0.21 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.46 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	23.14 $\pm$ 4.39 <sup>a</sup>	31.37 $\pm$ 5.33 <sup>a</sup>	3.81 $\pm$ 0.62 <sup>a</sup>	4.81 $\pm$ 0.62 <sup>a</sup>
ITE 组	0.28 $\pm$ 0.05	0.59 $\pm$ 0.06	29.91 $\pm$ 4.77	40.10 $\pm$ 4.39	5.06 $\pm$ 0.69	5.82 $\pm$ 0.86
IDDE 组	0.26 $\pm$ 0.04	0.57 $\pm$ 0.07	31.11 $\pm$ 5.92	40.07 $\pm$ 4.70	4.75 $\pm$ 0.98	5.73 $\pm$ 0.80

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较

2.3 各组小鼠海马组织 NEP、IDE 及 MMP-9 mRNA 水平比较 与对照组比较, 其他 3 组小鼠海马组织中 NEP、IDE 及 MMP-9 mRNA 表达水平有所升高; 但 4 组间各指标比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 4。

表 4 各组小鼠海马组织 NEP、IDE、MMP-9 的 qRT-PCR 检测结果 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

指标	NEP mRNA	IDE mRNA	MMP-9 mRNA
对照组	1.00 $\pm$ 0.15	1.00 $\pm$ 0.30	1.00 $\pm$ 0.28
RE 组	1.29 $\pm$ 0.34	1.36 $\pm$ 0.60	1.10 $\pm$ 0.18
ITE 组	1.09 $\pm$ 0.22	1.35 $\pm$ 0.55	1.16 $\pm$ 0.10
IDDE 组	1.23 $\pm$ 0.13	1.24 $\pm$ 0.28	0.98 $\pm$ 0.09



A: 对照组; B: RE 组; C: ITE 组; D: IDDE 组

图 2 小鼠海马 CA1 区尼氏染色结果 (比例尺 = 100  $\mu$ m)

## 2.4 各组小鼠海马存活神经元比较 对照组、RE 组、ITE 组、

活性比较 与对照组比较, 各锻炼组小鼠海马组织中可溶性与不溶性 A $\beta$ <sub>40</sub>、A $\beta$ <sub>42</sub> 水平及  $\beta$ -分泌酶、 $\gamma$ -分泌酶活性均有所下降; 只有 RE 组 A $\beta$ <sub>40</sub>、A $\beta$ <sub>42</sub> 水平及  $\beta$ -分泌酶、 $\gamma$ -分泌酶活性与对照组比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); ITE 组、IDDE 组与对照组比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 3。

表 2 各组小鼠逃避潜伏期及穿越平台次数比较 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	逃避潜伏期 (s)	穿越平台次数 (次)
对照组	57.06 $\pm$ 2.61 <sup>a</sup>	0.67 $\pm$ 0.52 <sup>a</sup>
RE 组	27.16 $\pm$ 9.59	1.83 $\pm$ 0.41
ITE 组	47.18 $\pm$ 7.13 <sup>a</sup>	1.01 $\pm$ 0.63 <sup>a</sup>
IDDE 组	45.65 $\pm$ 3.28 <sup>a</sup>	1.17 $\pm$ 0.75 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与 RE 组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较

IDDE 组小鼠海马存活神经元数量分别为 (96.00 $\pm$ 29.00)、(164.00 $\pm$ 43.00)、(98.00 $\pm$ 16.00)、(113.00 $\pm$ 11.00) 个。对照组、ITE 组和 IDDE 组小鼠均表现出明显的海马神经元损伤, 神经元结构不完整, 尼氏体明显减少; 而 RE 组小鼠海马锥体细胞层致密排列, 海马神经元数量明显增加, 与对照组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。而 ITE 组与 IDDE 组小鼠海马神经元数量均多于对照组, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 2。

2.5 各组小鼠海马组织 BDNF、TrkB 及 p-TrkB 蛋白水平比较 与对照组比较, RE 组小鼠海马组织中 BDNF、p-TrkB 蛋白水平均明显上调 ( $P < 0.05$ ), TrkB 蛋白水平无明显变化 ( $P > 0.05$ )。对照组、ITE 组、IDDE 组组间 BDNF、TrkB 及 p-TrkB 蛋白水平比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 3。

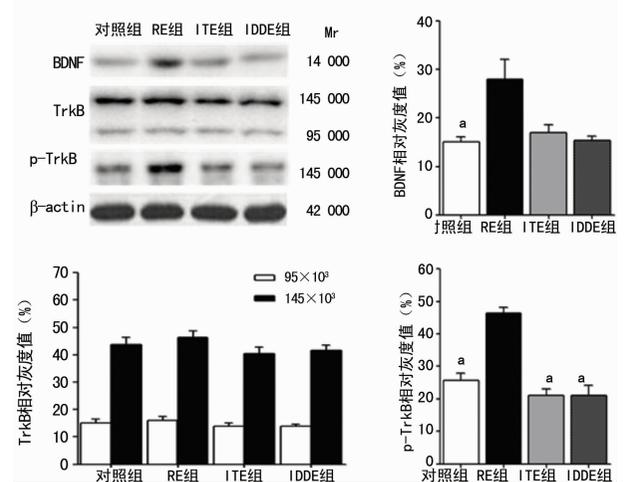
<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与 RE 组比较

图 3 小鼠海马组织 Western blot 检测结果

### 3 讨 论

近年来研究发现,跑步锻炼作为一种简单易行、经济实用的行为学方法可有效改善 AD 的认知功能。既往的动物实验研究中,常用的跑步锻炼方式有自由轮跑步锻炼和跑步机锻炼,前者已被证实可有效提高 AD 认知但临床应用受限,后者更易在临床上推广应用。但跑步机锻炼是一种强迫式被动性锻炼方式,其对 AD 的干预效果具有双重性,一方面因长期锻炼而提高认知能力,另一方面因对机体造成压力并影响体内平衡而损害认知<sup>[7]</sup>。目前研究表明,相比于高强度的跑步机锻炼,轻度的跑步机锻炼因对机体产生的压力较小而更有效地提高 AD 的认知能力<sup>[8-9]</sup>。本研究旨在观察不同形式的轻度跑步机锻炼方法对 AD 鼠的干预效果并探讨可能的作用机制。

机体生理节奏紊乱会影响代谢平衡进而损害认知<sup>[10]</sup>。本研究结果显示,长期的轻度跑步机锻炼可提高 AD 鼠认知能力,且只有 RE 组干预效果明显。表明相比无规律的跑步机锻炼,有规律的跑步机锻炼可有效改善 AD 的认知能力。关于 AD 的发病机制,目前被普遍认可的是 A $\beta$  理论,该理论认为,淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)经  $\beta$ -分泌酶与  $\gamma$ -分泌酶切割产生毒性强的 A $\beta$ 40 与 A $\beta$ 42,可溶性的 A $\beta$ 40、42 有效地削弱了突触的结构和功能,由其聚合形成的不溶性的 A $\beta$  则主要沉积在脑部海马区形成老年斑进而损伤神经元,导致认知功能逐渐减退等临床症状<sup>[11-12]</sup>。本研究发现,轻度有规律的跑步机锻炼有效降低了海马组织中可溶性或不溶性 A $\beta$ 40、42 水平及  $\beta$ -分泌酶与  $\gamma$ -分泌酶活性,而对 3 个降解 A $\beta$  相关基因 IDE、NEP 与 MMP-9 的 mRNA 表达水平并无明显影响。提示轻度有规律跑步机锻炼减少 A $\beta$ 40、42 是通过抑制 A $\beta$ 40、42 生成和聚合,而不是促进 A $\beta$  的降解。此外,本研究尼氏染色结果提示,轻度有规律跑步机锻炼相比于不规律锻炼方式对 AD 鼠海马神经元具有明显的保护作用。

BDNF/TrkB 信号通路与神经保护及突触功能密切相关,在突触可塑性及神经再生中发挥重要的作用<sup>[13-14]</sup>。本研究结果表明,RE 组 BDNF 和 p-TrkB 蛋白表达水平较其他 3 组均明显升高。提示轻度有规律跑步机锻炼对 AD 鼠的神经保护作用可能是通过调节 BDNF/TrkB 通路而实现。

综上所述,不同形式的轻度跑步机锻炼对 AD 的干预效果明显不同,轻度有规律跑步机锻炼可明显提高 AD 认知。改善 A $\beta$  病理及促进神经元保护可能是轻度有规律跑步机锻炼有效提高 AD 认知能力的作用机制。而无规律轻度跑步机锻炼对 AD 的干预作用不明显。该研究为临床采用跑步机锻炼来寻求防治 AD 的有效方法提供参考依据。

### 参 考 文 献

- [1] MUCKE L. Neuroscience: Alzheimer's disease [J]. Nature, 2009, 461(15): 895-897.
- [2] LIN T, SHIH Y, CHEN S, et al. Running exercise delays neurodegeneration in amygdala and hippocampus of Alzheimer's disease (APP/PS1) transgenic mice [J]. Neurobiol Learn Mem, 2015, 118(2): 189-197.
- [3] ARCOVERDE C, DESLANDES A, MORAES H, et al. Treadmill training as an augmentation treatment for Alzheimer's disease: a pilot randomized controlled study [J]. Arq Neurop-

- siquiatr, 2014, 72(3): 190-196.
- [4] MOORE K M, GIRENS R E, LARSON SK, et al. A spectrum of exercise training reduces soluble A $\beta$  in a dose-dependent manner in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. Neurobiol Dis, 2016, 85(2): 218-224.
- [5] DAO A T, ZAGAAR M A, ALKADHI K A. Moderate treadmill exercise protects synaptic plasticity of the dentate gyrus and related signaling cascade in a rat model of Alzheimer's disease [J]. Mol Neurobiol, 2015, 52(3): 1067-1076.
- [6] WANG H, LIAO Z, SUN X, et al. Intravenous administration of Honokiol provides neuroprotection and improves functional recovery after traumatic brain injury through cell cycle inhibition [J]. Neuropharmacology, 2014, 86(1): 9-21.
- [7] YUEDE C M, ZIMMERMAN S D, DONG H, et al. Effects of voluntary and forced exercise on plaque deposition, hippocampal volume, and behavior in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease [J]. Neurobiol Dis, 2009, 35(3): 426-432.
- [8] LIU H, ZHAO G, ZHANG H, et al. Long-term treadmill exercise inhibits the progression of Alzheimer's disease-like neuropathology in the hippocampus of APP/PS1 transgenic mice [J]. Behav Brain Res, 2013, 256(2): 261-272.
- [9] INOUE K, OKAMOTO M, SHIBATO J, et al. Long-term mild, rather than intense, exercise enhances adult hippocampal neurogenesis and greatly changes the transcriptional profile of the hippocampus [J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0128720.
- [10] COCHRANE A, ROBERTSON I H, COOGAN A N. Association between circadian rhythms, sleep and cognitive impairment in healthy older adults; an actigraphic study [J]. J Neural Transm (Vienna), 2012, 119(10): 1233-1239.
- [11] FEMANDEZ F P, DE M L, RINCON L D. Modeling the complex pathology of Alzheimer's disease in Drosophila [J]. Exp Neurol, 2015, 27(4): 58-71.
- [12] PUNG L, WANG X, LI M, et al. The role of APP in Alzheimer's disease [J]. Adv Alzheimer Dis, 2013, 2(2): 60-65.
- [13] LIU H, XUE X, SHI H, et al. Osteohole Upregulates BDNF to Enhance Adult Hippocampal Neurogenesis in APP/PS1 Transgenic Mice [J]. Biol Pharm Bull, 2015, 38(10): 1439-1449.
- [14] LIAO G, BOUYER K, KAMITAKAHARA A, et al. Brain-derived neurotrophic factor is required for axonal growth of selective groups of neurons in the arcuate nucleus [J]. Mol Metab, 2015, 4(6): 471-482.