

环境对雄性快速老化小鼠 P8 血促肾上腺皮质激素、皮质醇与睾酮浓度的影响

乔会敏¹ 詹海燕¹ 吴冰洁¹ 董梅¹ 薛芳¹ 杨蕊²

¹河北医科大学第二医院东院区神经内科, 石家庄 050000; ²河北省人民医院康复科, 石家庄 050000

通信作者: 吴冰洁, Email: 490412920@qq.com

【摘要】目的 不同环境对雄性快速老化小鼠 P8 (SAMP8) 血促肾上腺皮质激素 (ACTH)、皮质醇和睾酮水平的影响。**方法** 将雄性 SAMP8 小鼠 30 只随机分为丰富环境组、贫瘠环境组和标准环境组, 每组 10 只, 均在对应环境中生活 8 周。8 周后采用放射免疫方法测定血 ACTH、皮质醇和睾酮水平。**结果** 饲养 8 周后, 贫瘠组、丰富组和标准组血 ACTH 浓度分别为 (60.54 ± 16.22) pg/ml、 (48.98 ± 15.30) pg/ml 和 (28.49 ± 8.24) pg/ml; 血皮质醇浓度分别为 (5.37 ± 0.81) ng/ml、 (4.09 ± 0.92) ng/ml、 (3.19 ± 0.88) ng/ml; 血睾酮浓度分别为 (2.35 ± 0.90) ng/ml、 (7.07 ± 1.57) ng/ml、 (3.16 ± 1.10) ng/ml。标准环境组小鼠的血 ACTH 水平和血皮质醇水平与贫瘠环境组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 标准环境组的血 ACTH 水平和血睾酮水平与丰富环境组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 丰富环境组小鼠的血皮质醇水平和血睾酮水平与贫瘠环境组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 贫瘠环境可促进 SAMP8 小鼠血 ACTH 分泌, 皮质醇增多, 并激活下丘脑-垂体-肾上腺 (HPA) 轴。丰富环境对 SAMP8 小鼠血 ACTH 的产生和血睾酮浓度的升高有促进作用, 但对皮质醇的促进作用不明显。

【关键词】 环境; 快速老化小鼠; 促肾上腺皮质激素; 皮质醇; 睾酮

基金项目: 河北省卫生健康委员会医学科学研究重点课题 (20120078)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.11.003

The effect of environment on the serum concentrations of adrenocorticotrophic hormone, cortisol and testosterone

Qiao Huimin¹, Zhan Haiyan¹, Wu Bingjie¹, Dong Mei¹, Xue Fan¹, Yang Rui²

¹Department of Neurology, The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China;

²Department of Rehabilitation, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050000, China

Corresponding author: Wu Bingjie, Email: 490412920@qq.com

【Abstract】Objective To investigate any effect of different environments on the levels of adrenocorticotrophic hormone (ACTH), cortisol and testosterone using SAMP8 senescence-accelerated mice. **Methods** Thirty SAMP8 mice were randomly divided into an enriched environment (EE) group, an impoverished environment (IE) group and a standard environment (SE) group, each of 10. The serum levels of ACTH, cortisol and testosterone were measured in all of the mice after they had lived in their respective environments for 8 weeks. **Results** The average ACTH concentrations of the IE, EE and SE groups were (60.54 ± 16.22) , (48.98 ± 15.30) and (28.49 ± 8.24) pg/ml respectively. The average cortisol concentrations were (5.37 ± 0.81) , (4.09 ± 0.92) and (3.19 ± 0.88) ng/ml. The average testosterone concentrations being (2.35 ± 0.90) , (7.07 ± 1.57) and (3.16 ± 1.10) ng/ml. The average ACTH and cortisol levels were significantly different between the SE and IE groups. The average ACTH and testosterone levels differed significantly between the SE and EE groups and between the EE and IE groups. **Conclusions** An impoverished environment can increase the secretion of ACTH and cortisol and activate the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, at least in SAMP8 mice. An enriched environment can promote the secretion of ACTH and testosterone, but not that of cortisol.

【Key words】 Environment; Adrenocorticotrophic hormone; Cortisol; Testosterone

Funding: A key medical science research subject of the Hebei Health Commission (20120078)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.11.003

研究显示,中国 65 岁及以上老年人群中痴呆患病率为 5.14%,阿尔兹海默病(Alzheimer's disease, AD)作为痴呆中最常见的类型之一,其患病率为 3.21%^[1]。研究表明,遗传和环境因素可共同影响 AD 病情进展,遗传与环境的相互作用可能因触发某些途径而加重退行性疾病^[2-3]。AD 患者一般表现为认知(学习、记忆、视空间、执行等)障碍、精神行为异常(焦虑、抑郁、幻想、妄想、睡眠紊乱等)、日常生活(基本和工具性)能力减退。快速老化小鼠 P8 (senescence-accelerated mouse/prone 8, SAMP8) 是一种非转基因小鼠模型,常被用于进行性认知减退和 AD 有关研究^[2-3]。

环境包括客观固有生活环境和动物间交流联系的社会环境。丰富环境可以增加对动物的认知刺激、活动刺激、多感官刺激和社会刺激,诱导动物对新奇事物进行探索。有研究表明,在丰富环境中生存的动物可表现出良好的神经解剖学效应,学习记忆能力显著提高,焦虑、抑郁水平亦显著降低^[4-7]。本研究旨在探讨环境对 SAMP8 雄性小鼠血促肾上腺皮质激素、皮质醇与睾酮浓度的影响,并进一步探讨相关的神经内分泌机制。

材料与方法

一、实验动物与分组

实验动物为 3 月龄 SAMP8 雄性小鼠 30 只(香港中文大学解剖系姚大卫教授赠送),饲养条件:①同一批饲料喂养,自由饮水;②标准温度 23 ℃~25 ℃;③光暗 12 h:12 h 的光照周期。本研究的实验程序经河北医科大学实验动物伦理委员会审查及批准,严格遵守实验动物应用和保护原则。小鼠在入组时经严格筛选,无明显缺陷(如外部肿瘤、运动能力受限),实验前体重为(25.24±0.28)g,实验过程中若出现死亡或不符合试验标准的小鼠,随即淘汰。

将 30 只 3 月龄 SAMP8 雄性小鼠按体重从低到高排号,采用随机数字表法随机分为 3 组,分别为标准环

境组、丰富环境组、贫瘠环境组,每组小鼠 10 只。

二、环境设置

标准环境组:生活于 30 cm×18 cm×25 cm(长×宽×高)的透明玻璃笼内,笼内有干净垫料,内置饮水设施,每 5 只小鼠共同住在一个玻璃笼。

丰富环境组:生活于 45 cm×28 cm×25 cm(长×宽×高)的透明玻璃笼内,垫料、饮水设置以及每笼小鼠只数与标准环境组相同。此环境中增加有助于小鼠进行运动、认知、丰富感官观察和社会交流活动的设施,设有直径 3 cm 白色 PVC 管道、金属制链条、小桥、斜架、木制积木和各种形状及颜色的塑料玩具(球、盒、铃铛等)。

贫瘠环境组:生活于 18 cm×6 cm×15 cm(长×宽×高)的透明玻璃笼,垫料、饮水装置与标准环境组相同,但每笼小鼠 1 只。每个笼子之间相距 4 cm,笼子间有纸板相隔,为达到小鼠之间不能相互交流的目的,孤养存在^[8-9]。

3 组小鼠在上述环境中饲养 8 周,标准环境与丰富环境中饲养的小鼠无死亡,贫瘠环境饲养小鼠 6 周时有 2 只死亡,3 组 SAMP8 雄性小鼠饲养环境见图 1。

三、血促肾上腺皮质激素、皮质醇和睾酮水平测定

采用放射免疫法测定,促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)、皮质醇以及睾酮的放射免疫分析药盒购自北京北方生物技术研究所,GC-1200γ 放射免疫计数器由科大创新股份有限公司中佳分公司生产。将 SAMP8 小鼠固定于实验台,用止血钳快速摘除眼球后取血,血样本分装于两个 EP 管中。3 组小鼠在同一时间进行采血。抗凝管采用 10% EDTA 二钠 30 μl 和抑肽酶 20 μl 抗凝。血样本混匀,在 4 ℃ 3000 rpm/min 设置下离心 10 min,取上清液(血浆或血清)分别置于做好标记的 EP 管中,-20 ℃ 冻存备用。放射免疫测定按试剂盒常规检测方法加样,离心,弃上清液,测各管沉淀的放射性计数率,根据公式计算结果。



注:a 为丰富环境,b 为贫瘠环境,c 为标准环境

图 1 3 组 SAMP8 雄性小鼠饲养环境

四、统计学分析

采用 SPSS 22.0 版统计学软件进行数据分析。实验中血 ACTH、皮质醇和睾酮的数据服从正态分布和方差齐。数据以($\bar{x} \pm s$)描述。组间比较采用单因素方差分析,检验水准 $\alpha = 0.05$;三组之间两两进行比较,采用 Bonferroni 检验,调整检验水平 $\alpha' = 0.05/3$ 。

结 果

一、血 ACTH 水平

饲养 8 周后,标准环境组小鼠的血 ACTH 水平与贫瘠环境组比较,差异有统计学意义($P < 0.001$);标准环境组与丰富环境组比较,差异有统计学意义($P = 0.004$);丰富环境组与贫瘠环境组比较,差异无统计学意义($P = 0.323$)。详见表 1。

二、血皮质醇水平

饲养 8 周后,标准环境组小鼠的血皮质醇水平与贫瘠环境组比较,差异有统计学意义($P < 0.001$);丰富环境组小鼠的血皮质醇水平与贫瘠环境组比较,差异无统计学意义($P = 0.022, P > 0.05/3$);标准环境组与丰富环境组比较,差异无统计学意义($P = 0.041$)。详见表 1。

三、血睾酮水平

饲养 8 周后,标准环境组的血睾酮水平与丰富环境组比较,差异有统计学意义($P < 0.001$);贫瘠环境组的血睾酮水平与丰富环境组比较,差异有统计学意义($P < 0.001$);标准环境组与贫瘠环境组比较,差异无统计学意义($P = 0.814$)。详见表 1。

表 1 不同环境组小鼠饲养 8 周后血 ACTH、皮质醇和睾酮浓度结果($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ACTH(pg/ml)	皮质醇(ng/ml)	睾酮(ng/ml)
标准环境组	10	28.49±8.24 ^{ab}	3.19±0.88 ^b	3.16±1.10 ^a
丰富环境组	10	48.98±15.30 ^c	4.09±0.92	7.07±1.57 ^{cb}
贫瘠环境组	8	60.54±16.22 ^c	5.37±0.81 ^c	2.35±0.90 ^a

注:与丰富环境组比较,^a $P < 0.05$;与贫瘠环境组比较,^b $P < 0.05$;与标准环境组比较,^c $P < 0.05$

讨 论

本课题组前期的研究观察了不同环境对雄性 SAMP8 焦虑抑郁情绪的影响,结果发现,丰富环境中生活的鼠群生活更为和谐,动物间活动和互动现象较多;贫瘠环境中生活的小鼠存在咬伤、死亡现象。丰富环境相对于标准环境组,SAMP8 小鼠的自主活动次数增加、开放臂停留时间延长,但组间差异无统计学意义($P > 0.05$);贫瘠环境组自主活动次数和开放臂停留时间显著减少^[8]。结合本研究结果,3 月龄的 SAMP8 雄性小鼠在 3 种不同环境中生存 8 周后,丰富环境和贫

瘠环境下血 ACTH 和皮质醇水平均有一定程度升高,提示丰富环境对血 ACTH 的产生有促进作用,但尚不能认为对糖皮质激素的产生有促进作用;贫瘠环境可激活 SAMP8 雄性小鼠的下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴,促进 ACTH 分泌和糖皮质激素的产生。不同环境中,小鼠的精神行为变化情况与 HPA 轴激活情况一致。本课题组前期通过 Morris 水迷宫和跳台试验测试发现,丰富环境能有效改善 SAMP8 小鼠的学习记忆能力,尤其记忆能力改善显著^[7]。结合本研究结果,考虑丰富环境组 SAMP8 雄性小鼠血睾酮浓度的升高与认知能力的改善有关。

丰富环境可给予动物各种刺激,这些刺激主要分为客观固有环境刺激和社会性刺激,两大类刺激相互作用才促成了丰富环境的有益影响。人类研究表明,社会排斥、缺乏社会活动、身体活动少和教育程度低是退行性疾病发生的危险因素^[10]。身体活动指数(physical activity index)与脑容量和海马体积之间呈线性相关,身体活动可降低痴呆发生风险^[4],对认知有适度的改善^[5]。音乐作为一种感官刺激,可降低应激水平,缓解抑郁和焦虑^[6],提高照顾者的生活质量。因此,丰富的环境刺激对痴呆有改善作用。贫瘠环境与标准环境比较起来,SAMP8 小鼠呈社会隔离状态,个体之间被动分离,在笼中无法与旁边小鼠进行语言、姿势交流。社会隔离对个人成长、健康有不利影响,贫瘠环境会使 AD 转基因小鼠病程的加速进展、加剧认知障碍、促进海马 β 淀粉样斑块积累、加重神经炎症反应、海马萎缩^[11]。这种个体隔离可以视为小鼠生活不良事件,产生负慢性应激。

HPA 轴在许多脑功能包括学习记忆、进食、情感等方面具有重要调节作用。主要涉及促肾上腺皮质激素释放激素、ACTH 和糖皮质激素(皮质醇和皮质酮)等。糖皮质激素在肾上腺皮质合成,作用广泛,参与能量代谢、生物节律调节、适应环境变化、应激反应,还与社会地位和社会行为有关^[12]。

本研究结果显示,贫瘠环境组 SAMP8 雄性小鼠的血 ACTH、血皮质醇水平较标准环境组高,且差异有统计学意义,与以往的实验结果一致^[9],考虑可能与应激反应有关。当动物暴露于负性压力事件时,产生心理性应激,HPA 轴被激活,ACTH 分泌增加,糖皮质激素产生增多,其浓度常被用作为应激反应的一个指标^[13]。糖皮质激素可诱导学习记忆障碍、神经细胞凋亡,上调淀粉样前体蛋白^[14]。

本研究结果显示,丰富环境组的 ACTH 浓度较标准环境组高,且差异有统计学意义;但是这 2 组的皮质醇浓度组间比较,差异无统计学意义。已有多项研究表明,动物暴露于丰富环境时,在基线或应激后 ACTH

和糖皮质激素浓度降低,HPA 轴活动性降低^[15-17]。但 Leal-Galicia 等^[18]和 Moncek 等^[19]的研究认为,丰富环境中的动物是处于慢性应激状态,这种状态可促进其基础糖皮质激素水平增加以及肾上腺的增大。本课题组认为,丰富环境对 SAMP8 小鼠 ACTH 的产生有促进作用,但未使 HPA 轴处于完全激活兴奋状态,相较于标准环境,对糖皮质激素的促进作用不明显。研究表明,丰富环境可抑制炎症反应(例如,下调 IL-6^[2]、IL-1 β 、TNF- α ^[20]的表达,上调 IL-10 表达^[21]),SAMP8 的 AD 样表现与神经炎有关^[22],糖皮质激素浓度升高,抑炎作用也随之增强。本课题组根据结果推测,丰富环境中 HPA 轴的低水平激活状态既可以防止应激刺激对机体造成伤害,还可以慢性抑制 AD 相关的炎症反应。

睾酮是一种雄激素,人体中在睾丸和肾上腺产生。Moffat 等^[23]的纵向前瞻性人类研究通过对 500 多人进行随访发现,老年痴呆症患者血清游离睾酮水平较低,可能较高的内源性游离睾酮是男性老年痴呆症患者的保护因素。雄激素及其代谢物在脑内发挥了多种有益的作用,与 A β 水平呈负相关,抑制 τ 磷酸化、增加突触可塑性、降低 A β 水平^[24]。本研究结果显示,丰富环境组睾酮浓度高于贫瘠环境组和标准环境组,且后 2 组的血睾酮水平组间差异无统计学意义。Kang 等^[25]发现,通过比较 SAMP8 小鼠与抗快速老化小鼠 R1 (senescence-accelerated mouse/resistant 1, SAMR1) 小鼠成长过程中睾酮水平发现,与年龄相关的睾酮水平的下降可能是 AD 的危险因素之一。对 SAMP8 小鼠进行雄激素治疗,可以延缓痴呆发生、改善认知状态^[25]。因此推测,丰富环境有助于促进 SAMP8 小鼠血睾酮浓度升高;贫瘠环境的孤立社会压力刺激对血睾酮浓度无影响。

本研究仍存在局限性。第一,本研究中丰富环境组的血皮质醇浓度测量的平均值介于另外两组之间,与其比较,差异均无统计学意义,提示本课题组需要进一步扩大样本数量。第二,取血方式,本课题组选择的是摘除眼球取血,这对动物来说本就是一种急性应激原,可能会对 HPA 轴产生影响。第三,此实验针对的研究对象是 SAMP8 雄性小鼠,而啮齿类动物与人类的生理病理存在种族差异性,因此本研究的结果无法直接推广到实际人类研究中。

综上所述,贫瘠环境中 SAMP8 雄性小鼠的 HPA 轴被激活,血 ACTH 分泌增加,糖皮质激素产生增多;丰富环境中生活的 SAMP8 雄性小鼠的 HPA 轴处于低水平未完全激活状态,且丰富环境对血 ACTH 的产生有促进作用,但对糖皮质激素的促进作用不明显。丰富环境可促进 SAMP8 小鼠血睾酮浓度升高,但还不能

确定贫瘠环境的孤立社会压力刺激是否可以影响血睾酮的浓度产生影响。

参 考 文 献

- [1] Jia J, Wang F, Wei C, et al. The prevalence of dementia in urban and rural areas of China [J]. *Alzheimers Dement*, 2014, 10 (1): 1-9. DOI: 10.1016/j.jalz.2013.01.012.
- [2] Griñan-Ferré C, Pérez-Cáceres D, Gutiérrez-Zetina SM, et al. Environmental enrichment improves behavior, cognition, and brain functional markers in young senescence-accelerated prone mice (SAMP8) [J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53 (4): 2435-2450. DOI: 10.1007/s12035-015-9210-6.
- [3] Griñan-Ferré C, Puigoriol-Illamola D, Palomera-Ávalos V, et al. Environmental enrichment modified epigenetic mechanisms in SAMP8 mouse hippocampus by reducing oxidative stress and inflammaging and achieving neuroprotection [J]. *Front Aging Neurosci*, 2016, 8: 241. DOI: 10.3389/fnagi.2016.00241.
- [4] Tan ZS, Spartano NL, Beiser AS, et al. Physical activity, brain volume, and dementia risk: the framingham study [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2017, 72 (6): 789-795. DOI: 10.1093/gerona/glw130.
- [5] Lautenschlager NT, Cox KL, Flicker L, et al. Effect of physical activity on cognitive function in older adults at risk for Alzheimer disease: a randomized trial [J]. *JAMA*, 2008, 300 (9): 1027-1037. DOI: 10.1001/jama.300.9.1027.
- [6] De la Rubia Ortí JE, García-Pardo MP, Iranzo CC, et al. Does music therapy improve anxiety and depression in Alzheimer's patients? [J]. *J Altern Complement Med*, 2018, 24 (1): 33-36. DOI: 10.1089/acm.2016.0346.
- [7] 吴冰洁,顾平,崔冬生,等.丰富环境对快速老化小鼠 SAMP8 学习记忆能力的影响 [J]. *第二军医大学学报*, 2007, 28 (9): 964-967. DOI: 10.3321/j.issn:0258-879x.2007.09.009.
- [8] 吴冰洁,董梅,李世平,等.不同环境对快速老化雄性小鼠抑郁与焦虑情绪的影响 [J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2018, 44 (8): 476-481. DOI: 10.3969/j.issn.1002-0152.2018.08.007.
- [9] Chida Y, Sudo N, Mori J, et al. Social isolation stress impairs passive avoidance learning in senescence-accelerated mouse (SAM) [J]. *Brain Res*, 2006, 1067 (1): 201-208. DOI: 10.1016/j.brainres.2005.10.042.
- [10] Isaev NK, Stelmashook EV, Genrikhs EE, et al. Alzheimer's disease: an exacerbation of senile phenoptosis [J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2015, 80 (12): 1578-1581. DOI: 10.1134/S0006297915120056.
- [11] Huang H, Wang L, Cao M, et al. Isolation housing exacerbates Alzheimer's disease-like pathophysiology in aged APP/PS1 mice [J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2015, 18 (7): pyu116. DOI: 10.1093/ijnp/pyu116.
- [12] Koren L, Gordon I. Beyond the social stereotypes of hormones [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2017, 84: 207-209. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2017.06.007.
- [13] Novak MA, Hamel AF, Kelly BJ, et al. Stress, the HPA axis, and nonhuman primate well-being: a review [J]. *Appl Anim Behav Sci*, 2013, 143 (2-4): 135-149. DOI: 10.1016/j.applanim.2012.10.012.
- [14] Li WZ, Li WP, Yao YY, et al. Glucocorticoids increase impairments in learning and memory due to elevated amyloid precursor protein expression and neuronal apoptosis in 12-month old mice [J]. *Eur J Phar*

- macol, 2010, 628(1-3):108-115. DOI: 10.1016/j.ejphar.2009.11.045.
- [15] Arranz L, De Castro NM, Baeza I, et al. Effect of environmental enrichment on the immunoendocrine aging of male and female triple-transgenic 3xTg-AD mice for Alzheimer's disease [J]. J Alzheimers Dis, 2011, 25(4):727-737. DOI: 10.3233/JAD-2011-110236.
- [16] Smith BL, Morano RL, Ulrich-Lai YM, et al. Adolescent environmental enrichment prevents behavioral and physiological sequelae of adolescent chronic stress in female (but not male) rats [J]. Stress, 2017, 22:1-10. DOI:10.1080/10253890.2017.1402883.
- [17] Marcon M, Mocelin R, Benvenuti R, et al. Environmental enrichment modulates the response to chronic stress in zebrafish [J]. J Exp Biol, 2018, 221(Pt 4). DOI: 10.1242/jeb.176735.
- [18] Leal-Galicia P, Saldívar-González A, Morimoto S, et al. Exposure to environmental enrichment elicits differential hippocampal cell proliferation: role of individual responsiveness to anxiety [J]. Dev Neurobiol, 2007, 67(4):395-405. DOI: 10.1002/dneu.20322.
- [19] Moncek F, Duncko R, Johansson BB, et al. Effect of environmental enrichment on stress related systems in rats [J]. J Neuroendocrinol, 2004, 16(5):423-431. DOI:10.1111/j.1365-2826.2004.01173.x.
- [20] Jurgens HA, Johnson RW. Environmental enrichment attenuates hippocampal neuroinflammation and improves cognitive function during influenza infection [J]. Brain Behav Immun, 2012, 26(6):1006-1016. DOI: 10.1016/j.bbi.2012.05.015.
- [21] Marashi V, Barnekow A, Ossendorf E, et al. Effects of different forms of environmental enrichment on behavioral, endocrinological, and immunological parameters in male mice [J]. Horm Behav, 2003, 43(2):281-292.
- [22] Griñan-Ferré C, Palomera-Ávalos V, Puigoriol-Illamola D, et al. Behaviour and cognitive changes correlated with hippocampal neuroinflammation and neuronal markers in female SAMP8, a model of accelerated senescence [J]. Exp Gerontol, 2016, 80:57-69. DOI: 10.1016/j.exger.2016.03.014.
- [23] Moffat SD, Zonderman AB, Metter EJ, et al. Free testosterone and risk for Alzheimer disease in older men [J]. Neurology, 2004, 62(2):188-193.
- [24] Rosario ER, Carroll JC, Pike CJ. Evaluation of the effects of testosterone and luteinizing hormone on regulation of β -amyloid in male 3xTg-AD mice [J]. Brain Res, 2012, 1466:137-145. DOI: 10.1016/j.brainres.2012.05.011.
- [25] Kang L, Li S, Xing Z, et al. Dihydrotestosterone treatment delays the conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease in SAMP8 mice [J]. Horm Behav, 2014, 65(5):505-515. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2014.03.017.

(修回日期:2020-10-12)

(本文编辑:阮仕衡)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对参考文献的有关要求

执行 GB/T 7714-2005《文后参考文献著录规则》。采用顺序编码制著录,依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字标出,并将序号置于方括号中,排列于文后。内部刊物、未发表资料(不包括已被接受的待发表资料)、个人通信等请勿作为文献引用。日文字符请按日文规定书写,勿与我国汉字及简化字混淆。同一文献作者不超过 3 人全部著录;超过 3 人只著录前 3 人,后依文种加表示“等”。作者姓名一律姓氏在前、名字在后,外国人的名字采用首字母缩写形式,缩写名后不加缩写点;不同作者姓名之间用“,”隔开,不用“和”、“and”等连词。题名后请标注文献类型标志。文献类型标志代码参照 GB 3469-1983《文献类型与文献载体代码》,如参考文献类型为杂志,请于参考文献末尾标注 DOI 号。中文期刊用全名。示例如下。

- [1] 陈登原.国史旧闻[M].北京:中华书局,2000:29.
- [2] 胡永善.运动功能评定//王茂斌.康复医学[M].2版.北京:人民卫生出版社,2002:67-78.
- [3] 刘欣,申阳,洪葵,等.心脏性猝死风险的遗传检测管理[J].中华心血管病杂志,2015,43(9):760-764. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2015.09.003.
- [4] Mahowald ML, Krug HE, Singh JA, et al. Intra-articular Botulinum Toxin Type A: a new approach to treat arthritis joint pain [J]. Toxicon, 2009, 54(5):658-667. DOI:10.1016/j.toxicon.2009.03.028.
- [5] 余建斌.我们的科技一直在追赶:访中国工程院院长周济[N/OL].人民日报,2013-01-12(2). [2013-03-20].http://paper.people.com.cn/rmrb/html/2013-01/12/nw.D110000renmrb_20130112_5-02.htm.