

不同年龄段 C57BL/6J 雌性小鼠的行为及空间记忆变化

杨振¹, 白红枚¹, 胡韦康¹, 李名聪³, 江小丽¹, 张朝阳², 王子涵¹, 周文静¹, 何清雅¹, 钟健¹, 张胜权¹

[¹ 安徽医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 合肥 230032; ² 安徽医科大学

科研实验中心, 合肥 230032; ³ 安徽医科大学附属合肥医院(合肥市第二人民医院), 合肥 230022]

摘要 **目的** 探究不同年龄段(青年、中年、老年) C57BL/6J 雌性小鼠行为和空间记忆的变化。**方法** C57BL/6J 雌性小鼠根据年龄进行分组, 分为雌性青年(YG)组、雌性中年(MG)组、雌性老年(OG)组。Morris 水迷宫实验测定空间记忆能力, 旷场和高架十字迷宫实验观察活动水平和焦虑程度。Western blot 测定各组雌鼠脑组织海马区 CREB、CaMKII(pan) 和 CaMKII(p) 蛋白表达。**结果** 相较于 YG 组小鼠, MG 组和 OG 组小鼠体重质量均显著增加($P < 0.01$, $P < 0.001$)。相较于 OG 组小鼠, YG 组和 MG 组小鼠第三象限逃避潜伏期、穿越次数均缩短, 差异无统计学意义。与 OG 组小鼠相比, YG 组小鼠旷场内的运动速度增加, 差异有统计学意义($P < 0.01$), MG 组小鼠旷场内的运动速度差异无统计学意义, MG 组小鼠进入中央区次数显著增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$), YG 组小鼠进入中央区次数差异无统计学意义。与 OG 组小鼠相比, YG 组小鼠高架十字迷宫内运动速度增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$), MG 组小鼠高架十字迷宫内运动速度差异无统计学意义, YG 组、MG 组小鼠闭臂进入次数均显著增加, 差异有统计学意义($P < 0.001$, $P < 0.01$)。与 YG 组小鼠相比, OG 组小鼠 CaMKII(pan) 相对表达水平上升, 差异有统计学意义($P < 0.05$), MG 组小鼠 CaMKII(pan) 相对表达水平差异无统计学意义。**结论** 随着年龄增加, C57BL/6J 雌鼠体重质量逐渐增加, 活动水平和探索欲望逐渐降低, 空间记忆能力也在不断衰退, 同时焦虑水平和焦虑样行为增加。

关键词 C57BL/6J 小鼠; 雌鼠; 空间记忆; 焦虑; CaMKII(p); 行为学

中图分类号 R 332

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)08-1410-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.08.007

大脑是体内中枢神经系统的重要组成部分, 调控着动物生命活动的绝大多数生理过程, 尤其在学习和记忆过程中^[1]。当部分脑区出现功能障碍, 会导致一系列神经退行性疾病, 例如阿尔兹海默症、帕金森病、亨廷顿病、抑郁症等^[2-4], 但这些疾病背后的分子机制尚未完全阐明。海马体是大脑中研究最彻底的结构之一^[5], 在记忆形成^[6]和将短期记忆转化为长期记忆中起关键作用^[7]。已有研究^[8]使用不同年龄段的雄性 C57BL/6J 小鼠研究与年龄相关的行为变化, 发现与年轻和中年雄鼠相比, 老年雄鼠的运动活动减少, 焦虑样行为增加。但该实验并未探讨年龄变化对雄鼠记忆能力的影响且对应的雌鼠实验结果未见报道。由于不同性别的 C57BL/6J 小

鼠行为学存在差异, 因此该实验通过不同年龄段的雌性 C57BL/6J 小鼠的行为学实验来探究年龄对雌鼠行为和空间记忆的影响, 同时检测相关蛋白表达水平, 有助于进一步揭示年龄对活动水平和认知功能的影响, 为老年女性认知和记忆衰退的研究提供有价值的参考, 同时为神经退行性疾病的研究和治疗提供新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 45 只 6 周龄 SPF 级雌性 C57BL/6J 小鼠(体质量 16.0 ~ 18.0 g)购自安徽医科大学实验动物中心, 10、24、36 周龄 SPF 级雌性 C57BL/6J 小鼠各 15 只(体质量 17.5 ~ 21.2 g、21.0 ~ 23.4 g、23.8 ~ 27.0 g), 均由 6 周龄 SPF 级雌性 C57BL/6J 小鼠购买后于 SPF 级动物实验室饲养获得, 分别为雌性青年(YG)组、雌性中年(MG)组、雌性老年(OG)组, 所有实验动物的饲养符合国标及安徽省实验动物中心管理饲养条例(批号: 20221208), 所有动物实验严格遵循安徽医科大学

2025-05-05 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金项目(编号: 2108085MH266); 安徽省高校科研重点项目(自然)(编号: 2022AH050651); 安徽医科大学校科研基金项目(编号: 2022xkj107); 蚌埠医学院科技项目自然科学基金重点项目(编号: 2022byzd196)

作者简介: 杨振, 男, 硕士研究生;

张胜权, 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 通信作者, E-mail:

zhangshengquan@ahmu.edu.cn

物医学伦理委员会基本要求。

1.1.2 主要试剂 Beta-actin 抗体(美国 proteintech 公司,试剂目录号:66009-1-1g),环磷腺苷效应原件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB)抗体、磷酸化钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II (calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, CaMKII) [CaMKII (phospho T286), CaMKII (p)] 抗体(美国 Abcam 公司,试剂目录号:ab32515、ab171095),泛钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II [calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (pan), CaMKII (pan)] 抗体(美国 cell signaling technology 公司),辣根酶标记山羊抗兔、山羊抗鼠 IgG(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.1.3 仪器 行为学图像采集及分析系统(上海欣软信息科技有限公司),DYY-6C 电泳仪(北京市六一仪器厂),全自动数码凝胶图像分析仪(上海勤翔科学仪器有限公司)。

1.2 行为学测试

1.2.1 Morris 水迷宫测试 ① 定位巡航实验:将直径 120 cm 的圆形水池按照十字分割为 4 个大小相等的象限,分别标为第 1 至第 4 象限,4 个象限的壁上分别贴上 4 种颜色形状各不相同的硬纸板作为标志物。水池内装约 2/3 体积的水,加入适量二氧化钛染色剂染成白色。在第 3 象限中心放置一个隐藏在水面下方约 2 cm 的透明逃生平台,平台入水后不可见,将平台区域命名为第 5 象限。将小鼠面朝水池壁分别从 4 个象限投入水中,每次计时 1 min,1 min 内找到逃生平台并待在平台上持续 3 s 即视为成功,结束当前象限实验;1 min 内未找到逃生平台则记为失败,用木棍引导至平台上并停留 15 s,结束当前象限实验。连续实验 4 d。② 空间探索实验:实验第 5 天,将透明逃生平台撤去,只从第 1 象限处将小鼠投入水中,记录 1 min 内小鼠穿越各个象限的次数、持续时间、轨迹以及首次穿越第 5 象限的潜伏期等来评估每组小鼠记忆能力的差别。

1.2.2 旷场实验 将小鼠置于一个规格为 72 cm × 72 cm × 36 cm 的黑色胶合箱子中,箱子底部为白色,按照九宫格平分为 9 个大小相等的区域,中间 1 格为中心区,其余 8 格统一为外周区。将小鼠从中央区正上方丢下,通过悬在箱子上方的摄像机对其运动轨迹进行记录,同时手动记录小鼠站立次数(两只前爪均抬起离开底面记为 1 次站立)。3 min

后将小鼠从旷场中撤出,清除排泄物并喷洒酒精消除气味,防止上一只小鼠留下的气味对后续小鼠的行为产生干扰。实验结束后导出数据分析小鼠首次离开中央区的潜伏期、进入中央区(24 cm × 24 cm)的次数和持续时间、总运动距离、站立次数、排泄物的数量等来评估每组小鼠活动水平和焦虑状态。

1.2.3 高架十字迷宫实验 高架十字迷宫是一个距离地面 70 cm 带有 4 臂(2 个开臂,2 个闭臂,均 62 cm × 8.5 cm)的装置。将小鼠置于开臂和闭臂的交界处后开始计时,允许自由探索 5 min,由悬于上方的摄像机捕捉其运动轨迹。自由探索结束后撤出装置,清除装置内残留排泄物并喷洒酒精消除气味,避免影响下一只小鼠行为。导出数据分析进入开臂和闭臂的次数、持续时间占比,评估每组小鼠焦虑状态。

1.3 Western blot 检测蛋白表达水平 取小鼠脑海马组织,加 RIPA 裂解液提取总蛋白,BCA 法测定总蛋白浓度并统一稀释至 3 μg/μL。配置 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳,上样电泳,60 V 跑 1 h,待蛋白进入分离胶改为 120 V 继续跑 1 h。电泳结束后将蛋白转移至 PVDF 膜上,5% 脱脂牛奶封闭 2 h,1 × TBST 洗膜 3 次,每次 5 min,一抗孵育过夜 [CaMKII(p)、CaMeKII(pan)、CREB]。1 × TBST 洗膜 3 次,每次 5 min,二抗(羊抗鼠,羊抗兔,1:500 000)室温孵育 2 h。1 × TBST 洗膜 3 次,每次 5 min,使用化学发光成像仪显影,ImageJ 软件灰度值分析,GraphPad Prism 软件作图。

1.4 统计学处理 采用 SPSS Statistics 统计软件对数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组均数的比较:检验正态性和方差齐性,正态和方差齐,采用 *t* 检验;非正态或方差不齐,采用非参数检验的曼-惠特尼测试。多组间两两比较:检验正态性和方差齐性,正态和方差齐,采用方差分析中的普通方差分析检验;正态不齐或方差不齐,采用非参数检验中的克鲁斯卡尔-沃利斯检验,在各个时间点分别进行检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 为显著性检验水准,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠行为学实验结果

2.1.1 各组小鼠体质量 各组小鼠体质量差异有统计学意义(图 1)。与 YG 组相比,MG 组和 OG 组

体质量均显著增加,差异有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.001$);与 MG 组相比,OG 组小鼠体质量显著增加,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

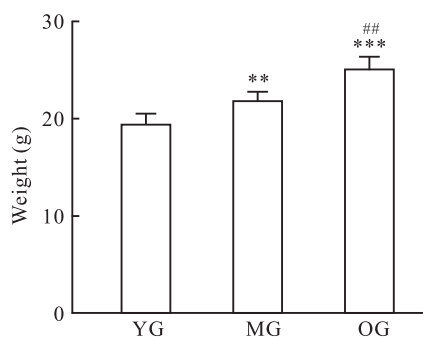


图1 各组雌鼠体质量

Fig.1 Body weight of mice in each group

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs YG group; ## $P < 0.001$ vs MG group.

2.1.2 Morris 水迷宫实验结果 各组小鼠第5天空间探索实验的游泳轨迹代表图见图2A。在训练阶段各组小鼠的游泳速度差异无统计学意义(图2B)。在定位巡航实验(第1天到第4天)中,各组小鼠前3天第1次实验的逃避潜伏期逐日缩短,且YG组相较于MG组和OG组逃避潜伏期缩短比例更高,第4天各组小鼠第1次实验的逃避潜伏期均增加,且MG组和OG组相较于YG组增加比例更高,但差异均无统计学意义(图2C)。定位巡航阶段3组小鼠每天后3次实验的平均逃避潜伏期波动均较小且趋于稳定,其中MG组和OG组小鼠的平均逃避潜伏期均低于YG组,但差异无统计学意义(图2D)。

在空间探索阶段,使用单因素方差分析对每组小鼠首次到达第5象限的潜伏期、穿越第5象限次数、第5象限内累计路程以及首次到达第3象限的潜伏期、穿越第3象限次数、第3象限内累计路程和各象限时间占比分别进行分析。YG组小鼠首次进入第5象限的潜伏期比MG组短,比OG组长,但各组间差异无统计学意义(图2E);YG组小鼠穿越第5象限的次数略多于MG组和OG组,MG组最少,但各组间差异无统计学意义(图2F);MG组和OG组小鼠在第5象限内的累计路程几乎相等,略多于YG组,各组间差异无统计学意义(见图2G);YG组小鼠在第3象限的累计时间占比最高,MG组最低,但各组间差异无统计学意义(图2H);YG组小鼠首次进入第3象限的潜伏期明显比MG组和OG组短,且潜伏前期随着年龄的增长逐渐增长,但各组间

差异无统计学意义(图2I);YG组小鼠穿越第3象限的次数明显多于MG组和OG组,且随着年龄的增长次数逐渐减少,但各组间差异无统计学意义(图2J);YG组小鼠第3象限的累计路程最多,MG组第3象限的累计路程最少,但各组间差异无统计学意义(图2K)。

2.1.3 旷场实验结果 各组小鼠旷场实验的运动轨迹代表图(图3A)。各组小鼠在旷场中的运动速度有差异,对每组小鼠在旷场中运动速度检测,统计结果显示,OG组小鼠运动速度慢于YG组,且差异有统计学意义($P < 0.05$),而YG组与MG组、MG组与OG组之间差异无统计学意义(图3B)。YG组和MG组小鼠进入中央区次数接近,差异无统计学意义,OG组的进入次数少于MG组,差异有统计学意义($P < 0.05$)(图3C)。将各组小鼠从中央区垂直放入旷场后,YG组小鼠中央区路程相较于MG组缩短,OG组最短,但各组间差异无统计学意义(图3D)。各组小鼠中央区的持续时间接近,OG组略长于YG组和MG组小鼠,各组间差异无统计学意义(图3E)。OG组小鼠的外周潜伏期也略高于YG组和MG组,YG组和MG组接近,各组间差异无统计学意义(图3F)。站立次数从YG组、MG组到OG组呈逐渐减少的趋势,但各组间差异无统计学意义(图3G)。

2.1.4 高架十字迷宫实验结果 每组小鼠高架十字迷宫实验的运动轨迹代表图(图2A)。对每组小鼠在旷场中运动速度检测,统计结果显示,OG组小鼠运动速度慢于YG组,差异有统计学意义($P < 0.05$),YG、OG组与MG组差异无统计学意义(图4B)。YG组和MG组小鼠闭臂进入次数均显著高于OG组小鼠,差异有统计学意义($P < 0.001$, $P < 0.01$),YG组和MG组小鼠之间差异无统计学意义(图4C)。MG组进入开臂次数最多,YG组和OG组略少,但各组间差异无统计学意义(图4D)。MG组小鼠闭臂持续时间最短,YG组和OG组略长,各组间差异无统计学意义(图4E)。YG组小鼠在开臂内的持续时间最短,MG组最长,各组间差异无统计学意义(图4F)。

2.2 各组小鼠脑组织海马区 CaMKII (pan)、CaMKII (p) 和 CREB 表达水平 使用 Western blot 检测小鼠脑组织海马区蛋白表达情况。OG组小鼠 CaMKII(pan)表达水平显著高于YG组,差异有统

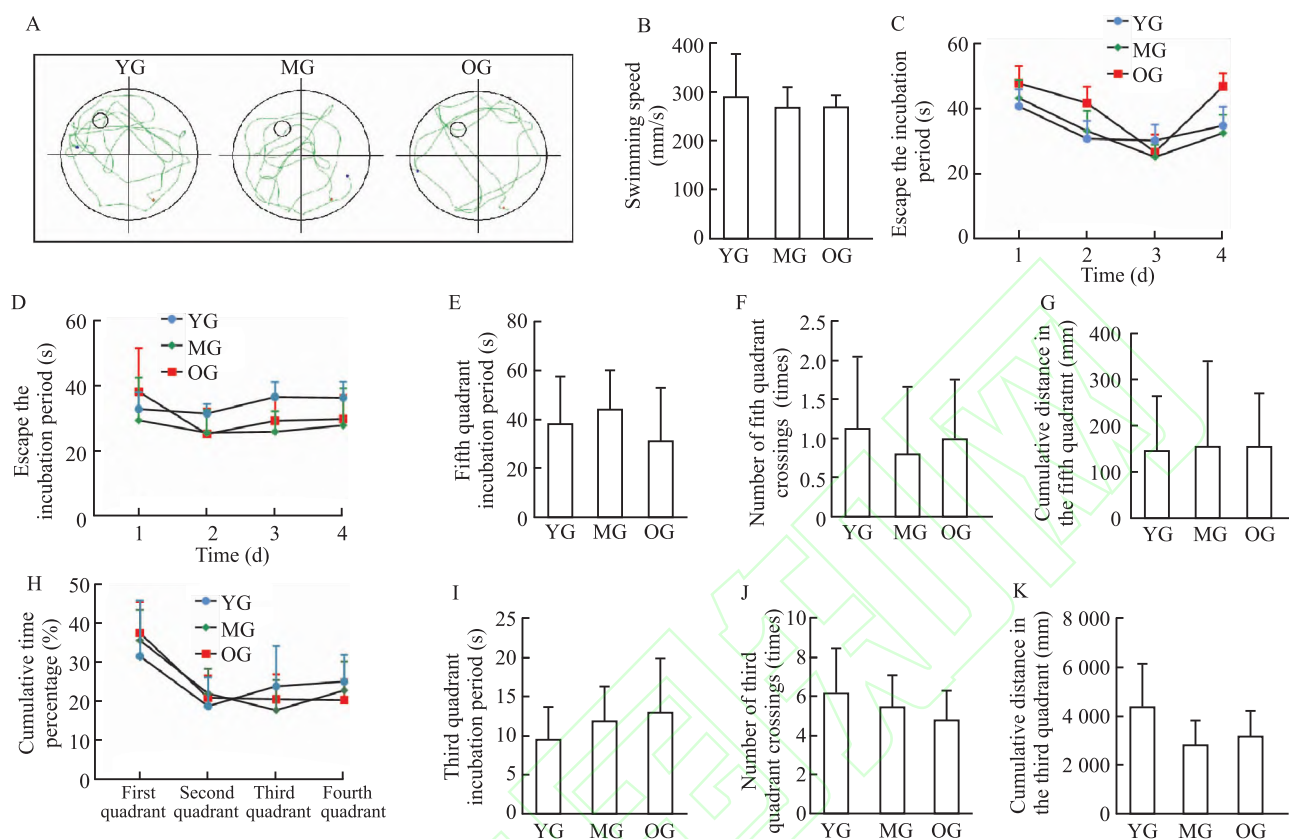


图2 各组小鼠 Morris 水迷宫实验结果图

Fig. 2 Results of Morris water maze experiment of mice in each group

A: Representative diagram of the swimming trajectory of the space exploration experiment on the fifth day of mice in each group; B: Swimming speed of mice in each group; C: The first experiment in each group of mice every day to escape the latency; D: The latent period of the mice in each group was escaped after three experiments per day; E: Mice in each group of the space exploration experiment reached the fifth quadrant latency for the first time; F: The number of times that the mice crossed the fifth quadrant in each group; G: Cumulative distance in the fifth quadrant of mice in each group; H: The mice in each group reached the third quadrant latency for the first time; I: The number of times the mice in each group crossed the third quadrant; J: Cumulative distance in the third quadrant of mice in each group; K: Proportion of cumulative time in each quadrant of mice in each group.

计学意义 ($P < 0.05$), YG、OG 组与 MG 组表达水平差异均无统计学意义。各组间 CaMKII (p) 表达水平差异均无统计学意义。总 CaMKII 蛋白中, OG 组磷酸化的 CaMKII 蛋白占比低于 YG 组和 MG 组, 但各组间差异无统计学意义。各组间 CREB 表达水平差异均无统计学意义。见图 5。

3 讨论

随着年龄的增长, 小鼠的体质量逐渐增加, 与之相对应的是包括空间记忆能力、活动水平、探索欲望等的衰退。Morris 水迷宫实验是评判空间记忆能力的经典实验之一^[9], 在定位巡航阶段, 小鼠每天第 1 次实验测得的逃避潜伏期反应了长期记忆能力, 后 3 次实验反应了短期记忆能力, 随着年龄的增长小

鼠的空间记忆维持的时间会逐渐缩短, 且老年阶段会遗忘得更快, 短期记忆无明显变化; 在空间探索阶段年轻老鼠表现出更好的空间记忆能力, 可以更快找到逃逸路径, 而中年和老年小鼠所需时间增多且错误次数增加, 这可能是由于海马体等脑区功能衰退导致突触可塑性降低, 从而影响空间记忆的形成和维持。上述差异无统计学意义, 可能是因为缺乏更多的样本来稀释个别极端值造成的影响。CaMKII 是一种介导 NMDA 受体信号通路的分子, 能够被 Ca^{2+} -CaM 急性激活和更持久的被自磷酸化激活^[10], 参与大脑突触可塑性的调节^[11]。Western blot 结果显示, 老年小鼠海马区磷酸化 CaMKII 蛋白在总 CaMKII 蛋白中的占比大幅度降低, 虽然各组间差异无统计学意义, 由于海马齿状回 (DG)-CA1-

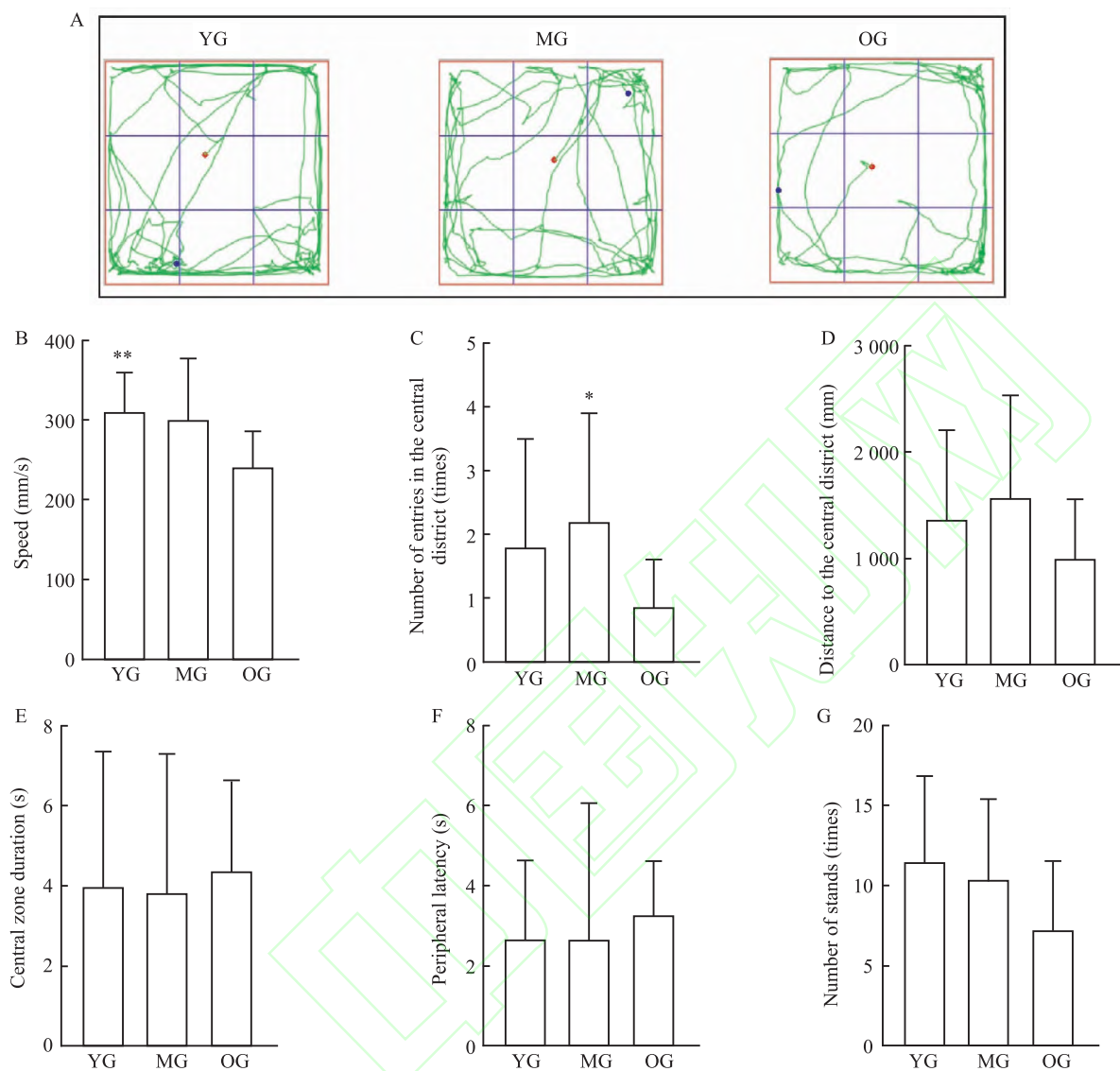


图3 各组小鼠旷场实验结果图

Fig.3 Results of open field experiments of mice in each group

A: Representative diagram of the movement trajectory of the mouse open field experiment in each group; B: Exercise speed of mice in each group; C: The number of entries in the central zone of mice in each group; D: Distance in the central region of mice in each group; E: Duration of the central zone of mice in each group; F: Peripheral latency of mice in each group; G: Number of mice standing in each group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs OG group.

CA3 神经环路的协同信息处理是记忆形成的关键区域^[12],提示可能随着年龄的增长,大脑海马区 CaMKII 的磷酸化水平逐渐降低,导致神经元突触可塑性异常进而造成空间记忆能力的衰退。

在旷场实验中,小鼠处于陌生环境下会表现出本能的探索倾向。小鼠的站立次数随着年龄的增长逐渐减少,表现出对新环境的探索欲望降低;同时运动速度也逐渐减小,反应活动水平的降低。由于对开阔环境的恐惧,小鼠会倾向于靠近墙壁并贴壁行

走,但 C57 小鼠的探究特性^[13]又会促使它前往中央区域活动,因此产生焦虑心理。结果表明,青年和中年小鼠进入中央区的次数和中央区内的累计路程相差不大,但老年小鼠两项指标均有所减少,提示老年小鼠有较高的焦虑倾向。小鼠处于焦虑状态下会表现出较少的活动,运动速度因此减小也证实了这一结论。

结合高架十字迷宫,在面对新事物-开臂区域, C57BL/6J 小鼠有强烈的探索欲望,又因为有嗜暗

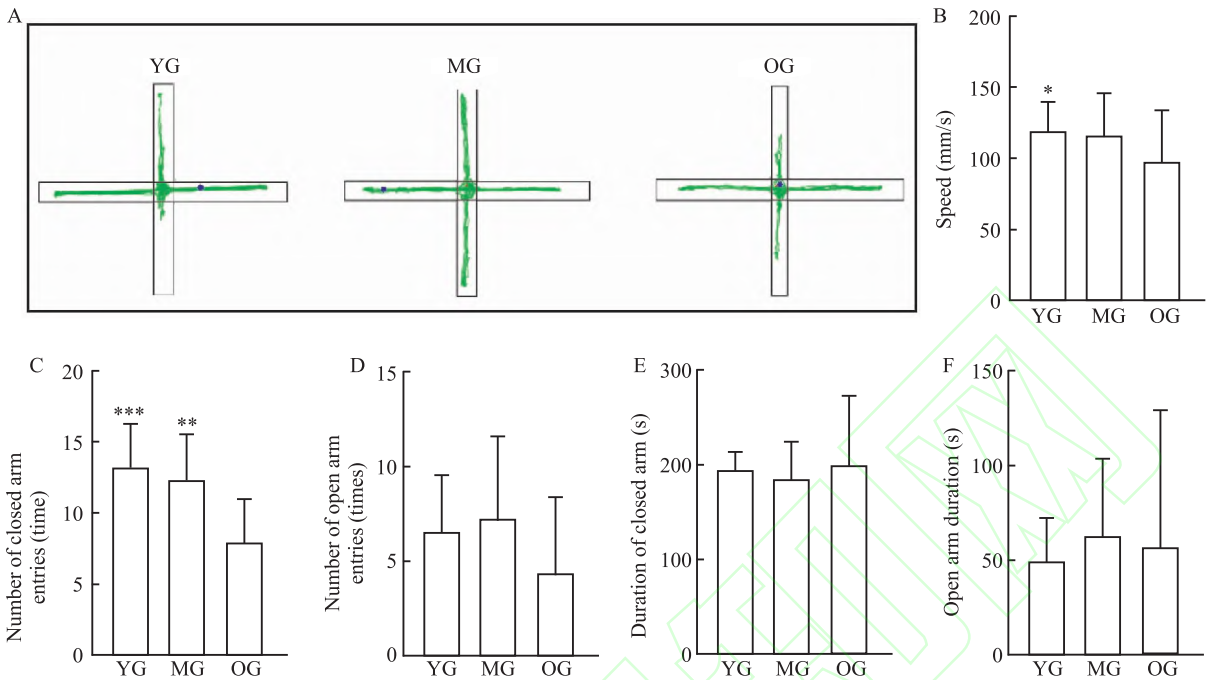


图 4 各组小鼠高架十字迷宫实验结果图

Fig. 4 Experimental results of elevated cross maze of mice in each group

A: Representative diagram of the movement trajectory of the elevated cross maze experiment of mice in each group; B: Exercise speed of mice in each group; C: The number of closed arm entries of mice in each group; D: The number of open arm entries of mice in each group; E: Duration of arm closure of mice in each group of mice; F: Duration of open arm of mice in each group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs OG group.

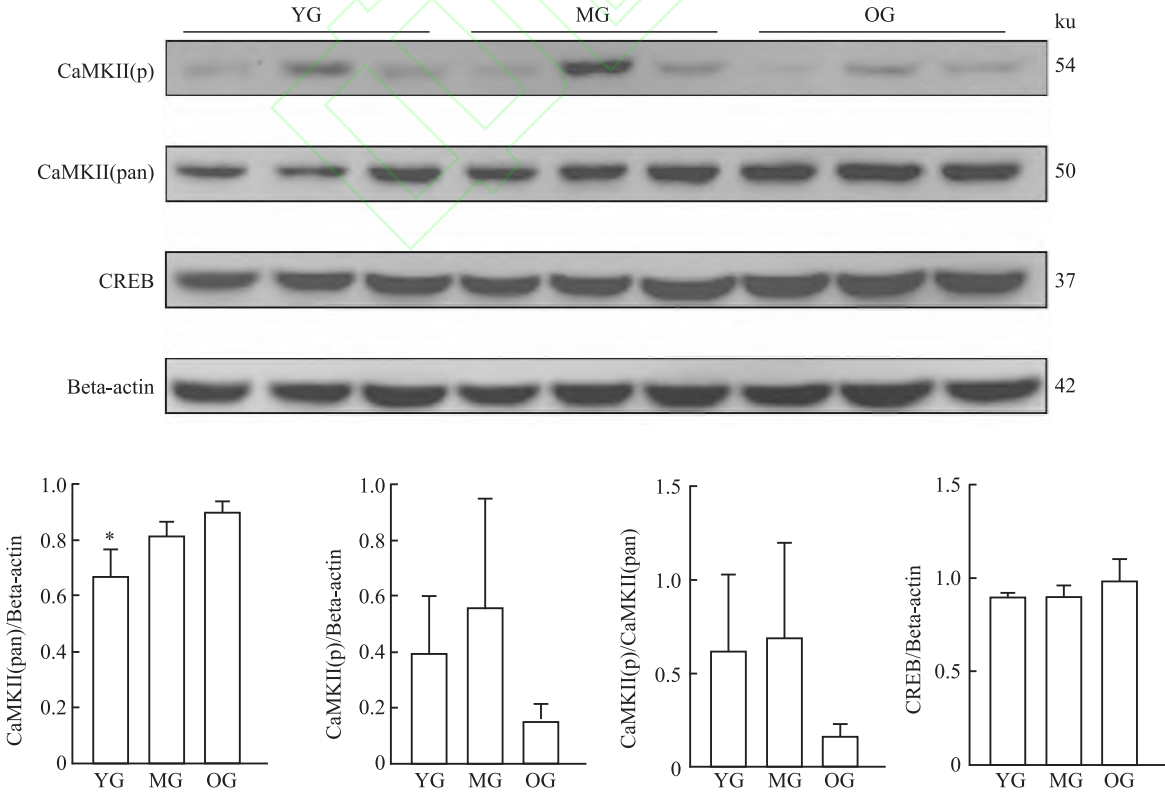


图 5 各组雌鼠 CREB、CaMKII (pan)、CaMKII (p) 蛋白表达的比较

Fig. 5 Comparison of CREB, CaMKII (pan) and CaMKII (p) protein expressions in female mice in each group

* $P < 0.05$ vs OG group.

的天性(即待在闭臂区域),两者之间发生探究与回避的冲突行为,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。对比小鼠在开臂和闭臂内的滞留时间和路程,课题组发现老年小鼠进入开臂的次数减少,开臂的持续时间也略微降低,由于3组小鼠的游泳速度在水迷宫实验中差异无统计学意义,而高架十字迷宫中老年小鼠的运动速度相比青年和中年小鼠慢,说明老年小鼠的焦虑程度更高。

此外,雌性小鼠的衰老过程与激素水平的动态变化密切相关,其中雌激素的持续性下降是核心特征,同时伴随促性腺激素(FSH/LH)、脱氢表雄酮(DHEA)及炎症相关因子的改变^[14-15]。这些变化通过多器官、多通路相互作用,驱动代谢紊乱、骨质流失、神经退行性变等衰老表型。有3种常见的生理性雌激素,其中雌二醇(E2)在绝经过渡期迅速下降。E2的下降与大脑的许多变化有关,包括认知变化、对睡眠的影响以及对情绪的影响^[16-17]。这些影响已经在啮齿动物和非人类的临床前模型中得到证实^[18],但关于E2如何影响情绪行为与认知功能的机制还不清楚。

综上所述,不同年龄段C57小鼠在行为记忆方面会表现出明显的差异。随着年龄的增长,小鼠的活动水平和探索欲望逐渐降低,空间记忆能力也在不断衰退,同时焦虑水平和焦虑样行为增加,这一研究有助于揭示年龄对雌性活动水平和认知功能的影响,为研究老年女性认知和记忆衰退提供参考。

参考文献

- [1] Schwabe L, Hermans E J, Joëls M, et al. Mechanisms of memory under stress[J]. *Neuron*, 2022, 110(9): 1450 - 67. doi:10.1016/j.neuron.2022.02.020.
- [2] Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, et al. Alzheimer's disease[J]. *Lancet*, 2021, 397(10284): 1577 - 90. doi:10.1016/S0140-6736(20)32205-4.
- [3] Morris H R, Spillantini M G, Sue C M, et al. The pathogenesis of Parkinson's disease[J]. *Lancet*, 2024, 403(10423): 293 - 304. doi:10.1016/S0140-6736(23)01478-2.
- [4] Ardanaz C G, Ramfrez M J, Solas M. Brain metabolic alterations in Alzheimer's disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(7): 3785. doi:10.3390/ijms23073785.
- [5] Meyer M A A, Radulovic J. Functional differentiation in the transverse plane of the hippocampus: an update on activity segregation within the DG and CA3 subfields[J]. *Brain Res Bull*, 2021, 171: 35 - 43. doi:10.1016/j.brainresbull.2021.03.003.
- [6] Slotnick S D. The hippocampus and long-term memory[J]. *Cogn Neurosci*, 2022, 13(3-4): 113 - 4. doi:10.1080/17588928.2022.2128736.
- [7] Cotton K, Ricker T J. Examining the relationship between working memory consolidation and long-term consolidation[J]. *Psychon Bull Rev*, 2022, 29(5): 1625 - 48. doi:10.3758/s13423-022-02084-2.
- [8] Shoji H, Miyakawa T. Age-related behavioral changes from young to old age in male mice of a C57BL/6J strain maintained under a genetic stability program[J]. *Neuropsychopharmacol Rep*, 2019, 39(2): 100 - 18. doi:10.1002/npr2.12052.
- [9] 屠心茹, 徐家雯, 刘锐, 等. 海马 CRHR1 调节慢性应激致老年前期小鼠学习记忆损伤的机制[J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59(1): 117 - 26. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.01.019.
- [9] Tu X R, Xu J W, Liu R, et al. Mechanism of hippocampal CRHR1 regulating chronic stress-induced learning and memory impairment in early aged mice[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2024, 59(1): 117 - 26. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.01.019.
- [10] Yasuda R, Hayashi Y, Hell J W. CaMKII: a central molecular organizer of synaptic plasticity, learning and memory[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2022, 23(11): 666 - 82. doi:10.1038/s41583-022-00624-2.
- [11] Nicoll R A, Schulman H. Synaptic memory and CaMKII[J]. *Physiol Rev*, 2023, 103(4): 2877 - 925. doi:10.1152/physrev.00034.2022.
- [12] Hainmueller T, Bartos M. Dentate gyrus circuits for encoding, retrieval and discrimination of episodic memories[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2020, 21(3): 153 - 68. doi:10.1038/s41583-019-0260-z.
- [13] 李祥磊, 孙秀萍. C57BL/6J、BALB/c、ICR 品系小鼠学习记忆能力的行为学差异[J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(8): 63 - 9. doi:10.3969/j.issn.1671-7856.2020.08.010.
- [13] Li X L, Sun X P. Evaluation of learning-memory ability in C57BL/6J, BALB/c, and ICR mice[J]. *Chin J Comp Med*, 2020, 30(8): 63 - 9. doi:10.3969/j.issn.1671-7856.2020.08.010.
- [14] Sochocka M, Karska J, Pszczółowska M, et al. Cognitive decline in early and premature menopause[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6566. doi:10.3390/ijms24076566.
- [15] Liu H, Huang Y, Yang J, et al. Involvement of estrogen receptor activation in kaempferol-3-O-glucoside's protection against aging-related cognition impairment and microglial inflammation[J]. *Exp Cell Res*, 2023, 433(2): 113849. doi:10.1016/j.yexcr.2023.113849.
- [16] Russell J K, Jones C K, Newhouse P A. The role of estrogen in brain and cognitive aging[J]. *Neurotherapeutics*, 2019, 16(3): 649 - 65. doi:10.1007/s13311-019-00766-9.
- [17] Lu Y, Sareddy G R, Wang J, et al. Neuron-derived estrogen regulates synaptic plasticity and memory[J]. *J Neurosci*, 2019, 39

(15): 2792–809. doi:10.1523/JNEUROSCI.1970–18.2019.

male and female rats[J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2020, 175:

[18] Marbouti L, Zahmatkesh M, Riahi E, et al. Inhibition of brain

107300. doi:10.1016/j.nlm.2020.107300.

17 β -estradiol synthesis by letrozole induces cognitive decline in

Changes in behavior and spatial memory of C57BL/6J mice of different ages

Yang Zhen¹, Bai Hongmei¹, Hu Weikang¹, Li Mingcong³, Jiang Xiaoli¹, Zhang Chaoyang²,

Wang Zihan¹, Zhou Wenjing¹, He Qingya¹, Zhong Jian¹, Zhang Shengquan¹

[¹*Dept of Biochemistry and Molecular Biology, Anhui Medical University, Hefei 230032*; ²*Center for Scientific Research, Anhui Medical University, Hefei 230032*; ³*Dept of Pathology, Anhui Medical University Affiliated Hefei Hospital (The Second People's Hospital of Hefei), Hefei 230022*]

Abstract Objective To explore the changes in behavior and spatial memory of C57BL/6J female mice of different ages (youth, middle-aged, and elderly). **Methods** C57BL/6J female mice were divided into female youth group (YG group), female middle-aged group (MG group) and female elderly group (OG group) according to age. The Morris water maze test measured spatial memory ability, and the open field and elevated cross maze test observed activity level and anxiety level. Western blot was used to determine the protein expressions of CREB, CaMKII(pan) and CaMKII(p) in the hippocampus of the brain tissues of female mice in each group. **Results** Compared with the YG group, the weight of the MG group and the OG group significantly increased ($P < 0.01$, $P < 0.001$). Compared with the OG group, the third quadrant escape latency and the number of crossings in the YG group and MG group were shortened, and the difference was not statistically significant. Compared with the OG group, there was a statistically significant difference in the exercise speed in the open field of the YG group ($P < 0.01$), there was no significant difference in the movement speed in the open field of the MG group, the number of entries into the central zone significantly increased in the MG group ($P < 0.05$), and there was no significant difference in the number of entries in the YG group ($P > 0.05$). Compared with the OG group, the YG group had a statistically significant difference in the elevated cross maze ($P < 0.05$), the MG group had no statistically significant difference in the elevated cross maze, and the number of closed arm entries in the YG group and MG group significantly increased ($P < 0.001$, $P < 0.01$). Compared with the YG group, the relative expression level of CaMKII(pan) in the OG group was statistically significant ($P < 0.05$), while the relative expression level of CaMKII(pan) in the MG group was not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusion** With the increase of age, the weight of C57BL/6J female mice gradually increased, the activity level and desire to explore gradually decreased, the spatial memory ability also declined, and the anxiety level and anxiety-like behavior increased. This study helps to reveal the effect of age on the activity level and cognitive function of females, and provides a reference for studying cognitive and memory decline in older females.

Key words C57BL/6J mice; female rats; spatial memory; anxiety; CaMKII(p); ethology

Fund programs Natural Science Foundation of Anhui Province (No. 2108085MH266); Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (Nature, Key Project) (No. 2022AH050651); Scientific Research Project of Anhui Medical University (No. 2022 xkj107); Natural Science Project of Bengbu Medical University (No. 2022 byzd196)

Corresponding author Zhang Shengquan, E-mail: zhangshengquan@ahmu.edu.cn