

DOI: 10.14188/j.1671-8852.2026.0476

文章编号 1671-8852(2026)09-1197-05

重复经颅磁刺激改善阿尔茨海默病模型小鼠的突触超微结构

邹春宇 毛善平

武汉大学人民医院神经内科 湖北 武汉 430060

摘要 目的:探讨重复经颅磁刺激(rTMS)对阿尔茨海默病(AD)模型小鼠的突触及突触超微结构的影响。方法:将P301S小鼠随机分为假干预组(P301S-sham组)和干预组(P301S-rTMS组),进行为期8周的rTMS干预。rTMS干预结束后,采用Western Blot检测小鼠脑组织突触后致密蛋白95(PSD95)表达水平;透射电子显微镜检测突触数量、突触后膜致密度(PSD)宽度及突触间隙宽度;高尔基染色检测树突棘数量,并采用Sholl分析评估神经元树突分支复杂性。结果:与P301S-sham组小鼠比较,P301S-rTMS组小鼠脑组织PSD95表达水平上调,突触和树突棘数量增加,PSD宽度增宽,突触间隙缩短,而树突分支复杂性未见明显改变。结论:rTMS可增加AD模型小鼠突触及树突棘数量,优化突触超微结构,增强突触可塑性,发挥神经保护作用。

关键词 重复经颅磁刺激;阿尔茨海默病;突触超微结构;突触可塑性;P301S小鼠

中图分类号 R741.02

文献标志码 A

Repetitive transcranial magnetic stimulation improves synaptic ultrastructure in a mouse model of Alzheimer's disease

ZOU Chunyu, MAO Shanping

Department of Neurology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei, China

Abstract

Objective: To investigate the effects of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) on synapses and synaptic ultrastructure in a mouse model of Alzheimer's disease (AD). **Methods:** P301S mice were randomly divided into a sham intervention group (P301S-sham group) and an intervention group (P301S-rTMS group). Mice received rTMS intervention for 8 weeks. After the intervention, the expression level of postsynaptic density protein 95 (PSD95) in mouse brain tissue was detected by Western Blot. The number of synapses, the width of postsynaptic density (PSD), and the width of the synaptic cleft were examined by transmission electron microscopy. The number of dendritic spines was detected by Golgi staining, and Sholl analysis was used to assess the complexity of neuronal dendritic arborization. **Results:** Compared with mice in the P301S-sham group, the expression level of PSD95 was upregulated, the numbers of synapses and dendritic spines were increased, the width of PSD was widened, and the width of the synaptic cleft was decreased in mice in the P301S-rTMS group. However, there was no significant difference in dendritic branching complexity between the P301S-sham group and the P301S-rTMS group. **Conclusion:** rTMS increased the numbers of synapses and dendritic spines, optimized synaptic ultrastructure, and enhanced synaptic plasticity,

课题来源:湖北省重点研发计划专项(编号:2022BCA029)。

作者简介:邹春宇,女,2001—,医学硕士生,主要从事神经退行性疾病相关研究,E-mail:Zouchunyu0225@163.com。

通信作者:毛善平,E-mail:mspy@163.com。

thereby exerting neuroprotective effects in AD model mice.

Key Words Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation; Alzheimer's Disease; Synaptic Ultrastructure; Synaptic Plasticity; P301S Mouse

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种以认知障碍和行为损害为临床特征的进行性的神经退行性疾病^[1]。AD 特征性病理改变包括 β -淀粉样蛋白(amyloid- β , A β)斑块沉积和病理性 tau 蛋白聚集^[2]。tau 蛋白过度磷酸化破坏微管稳定性,可引起突触功能障碍等病理改变,从而导致进行性认知功能减退,严重影响患者及照顾者的生活质量^[3]。

重复经颅磁刺激(repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS)是一种无创、安全性高的神经调控技术,利用快速变化的磁场刺激大脑某一区域,可调节受刺激脑区及相关联脑区的神经元活动和兴奋性变化,目前已广泛应用于多种神经精神疾病的研究和治疗^[4-7]。近年来, rTMS 在 AD 中的应用展现出广阔的前景。大量临床和动物研究^[8-12]表明, rTMS 可以改善 AD 患者及模型小鼠的认知功能,并减轻包括 A β 负荷、神经炎症、突触损伤、神经元丢失等病理改变。然而, rTMS 对突触超微结构的影响并未完全明确。

因此,本研究采用表达突变人源 tau 蛋白的 P301S 转基因小鼠,探讨 rTMS 对突触及突触超微结构的影响,为 rTMS 在 AD 临床治疗中的应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 本研究采用 3 月龄雄性 P301S 转基因小鼠,购自江苏华创信诺医药科技有限公司。小鼠饲养于无特定病原体环境中,室温(22 ± 2) °C,可自由获取食物和水,接受 12 h 光照/12 h 黑暗循环。所有动物实验操作均获得武汉大学人民医院伦理委员会的批准(批准号:S2456)。

1.2 rTMS rTMS 采用专为啮齿类动物设计的磁刺激仪(CCY-II, 武汉依瑞德医疗设备有限公司,湖北武汉),配有圆形线圈(直径:6.4 cm)。P301S 小鼠于清醒状态下接受磁刺激,圆形线圈置于小鼠头部上方,线圈中心与小鼠眼间线中点对齐。本研究采用间歇性 θ 爆发式磁刺激,是 rTMS 的一种特殊刺激模式。刺激方案由 20 个序列组成,每个序列持续 2 s,包含 10 组爆发式脉冲,每组爆发脉冲内含

3 个 50 Hz 的单脉冲,各组爆发脉冲之间以 5 Hz 频率重复,每组序列间隔 8 s。P301S-rTMS 组 rTMS 干预每天 1 次,每周 5 次,持续 8 周,共刺激 40 次。假干预组(P301S-sham 组)小鼠的处理方式与干预组小鼠相同,只听见点击声但并未接受磁刺激。

1.3 蛋白免疫印迹实验(Western Blot) 行为学实验结束后,提取小鼠的脑组织进行后续病理指标检测。小鼠脑组织中加入 RIPA 裂解液提取总蛋白,以 BCA 法测定蛋白浓度,使用 SDS-PAGE 凝胶依次进行电泳、转膜,将蛋白转移至硝酸纤维素膜,5% BSA 室温封闭 1 h,4 °C 孵育一抗(anti-PSD95, 1:1 000; anti-GAPDH, 1:5 000)过夜;于次日洗涤后室温孵育对应种属的二抗(1:4 000) 1 h,再次洗涤后置于 ECL 曝光液中于化学发光成像仪中进行显影。

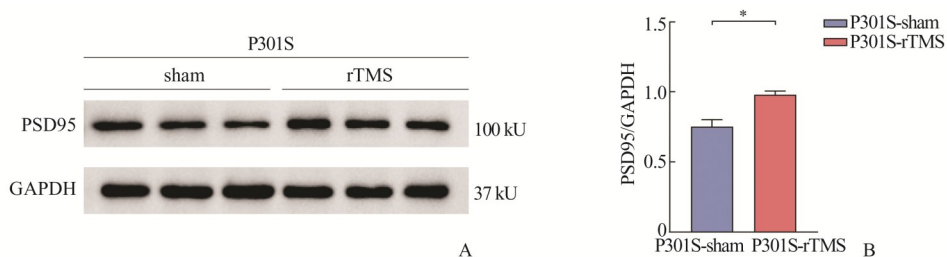
1.4 透射电子显微镜 小鼠脑组织经过 2.5% 戊二醛固定、1% 锇酸后固定后,置于梯度乙醇溶液中脱水,环氧树脂包埋,用超薄切片机 60~80 nm 超薄切片,150 目方华膜铜网捞片。铜网依次经过 2% 醋酸铀饱和乙醇溶液避光染色、2.6% 枸橼酸铅溶液避二氧化碳染色,清洗后使用透射电子显微镜观察并采集图像。

1.5 高尔基染色 将小鼠脑组织完全浸泡至高尔基染液中避光处理 14 d,再置于组织处理液中 4 °C 避光处理 3 d,用振荡切片机切片 60 μ m,滴加高尔基显影液 30 min 显影后水洗,封片后于显微镜下观察并采集图像。

1.6 统计学分析 所有数据分析均采用 SPSS 26.0 进行统计分析。两组间比较采用 *t* 检验,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 rTMS 增加 P301S 小鼠脑组织 PSD95 表达水平 突触后致密蛋白 95(postsynaptic density protein 95, PSD95)是突触后蛋白,通过 Western Blot 检测 rTMS 对 PSD95 表达水平的影响(图 1A)。结果表明, rTMS 干预后, P301S 小鼠脑组织的 PSD95 表达水平显著增加(图 1B)。

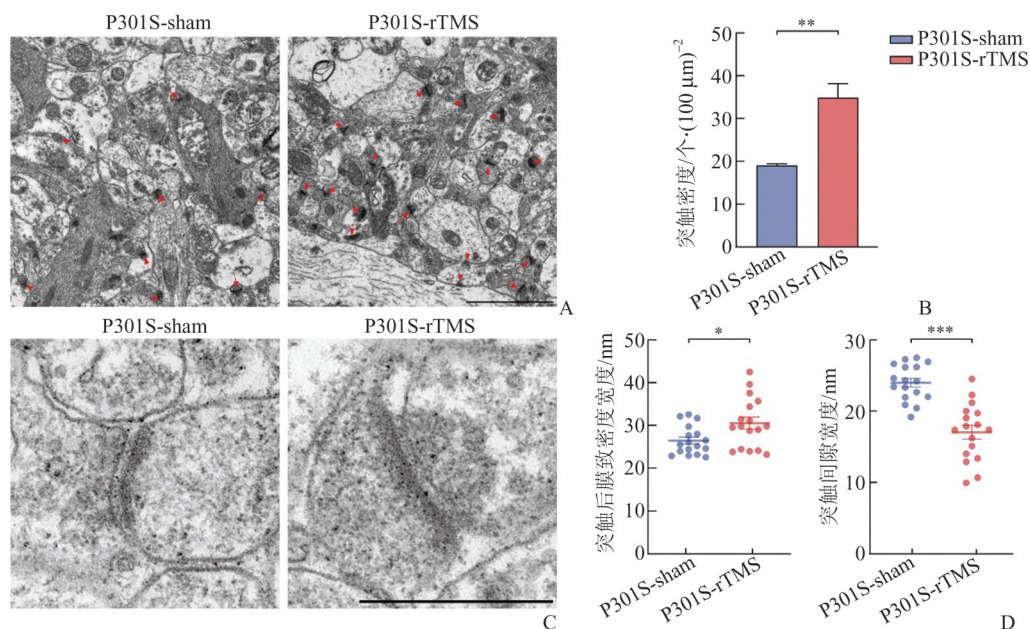


A. 采用 Western Blot 检测小鼠脑组织中 PSD95 蛋白的表达水平;B. PSD95 蛋白定量分析。n=3, *P<0.05。

图1 PSD95 表达水平检测与定量分析

2.2 rTMS 对 P301S 小鼠脑组织突触的影响 通过透射电子显微镜观察 rTMS 对突触数量(图 2A、2B)及突触超微结构(图 2C、2D)的影响。结果显

示, rTMS 干预后, P301S 小鼠的突触数量增多, 突触后膜致密度(postsynaptic density, PSD)宽度显著增宽, 突触间隙明显缩短(图 2B、2D)。

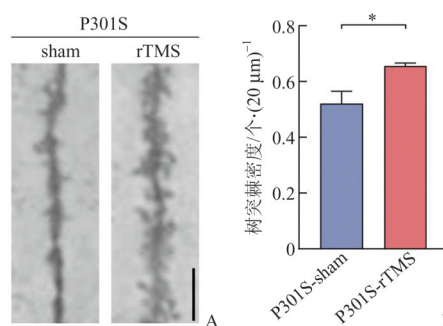


A. 小鼠脑组织的突触透射电子显微镜代表图, 图中箭头所指即为突触, 比例尺: 2 μm; B. 小鼠脑组织突触密度的定量分析, 每组取 2 只小鼠, 共分析 3 张组织切片; C. 小鼠脑组织突触超微结构的透射电镜代表图, 可显示突触间隙、突触后膜致密度(PSD)等超微结构, 比例尺: 500 nm; D. 小鼠脑组织 PSD 宽度及突触间隙宽度的定量分析, 每组取 2 只小鼠, 共分析 17 个突触的超微结构。*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001。

图2 rTMS对突触数量及突触超微结构的影响

2.3 rTMS 增加 P301S 小鼠脑组织树突棘密度 通过高尔基染色观察 rTMS 对神经元树突棘的影响(图 3A)。结果显示, 与 P301S-sham 组小鼠相比, P301S-rTMS 组小鼠的神经元树突棘数量显著增加(图 3B)。

2.4 rTMS 不改变 P301S 小鼠脑组织树突分支复杂性 通过 Sholl 分析检测神经元树突分支随离胞体距离变化的交点个数, 以反映神经元的复杂性^[13]。结果显示, rTMS 干预后, P301S 小鼠脑组织的神经元树突分支在距离胞体不同距离的交点个数未见明显改变(图 4A、4B)。



A. 小鼠脑组织树突棘的高尔基染色代表图, 比例尺: 5 μm; B. 小鼠脑组织树突棘密度的定量分析, 每组取 2 只小鼠, 共分析 5 张组织切片。*P<0.05。

图3 rTMS对树突棘数量的影响

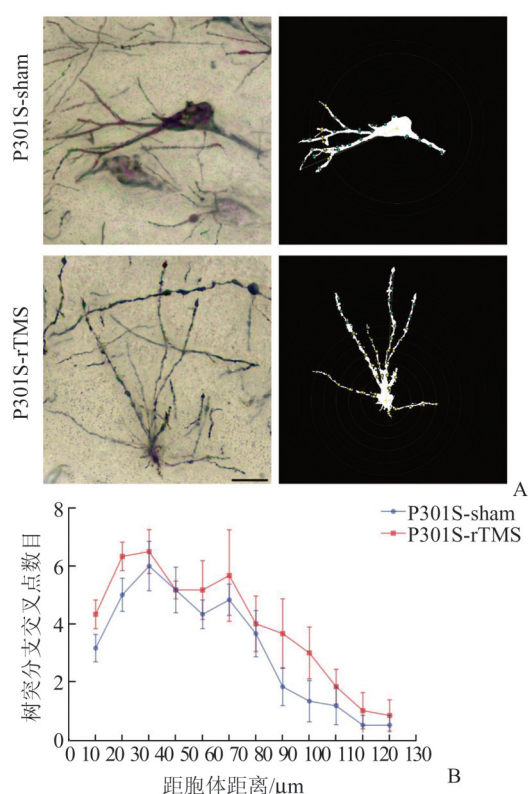


图4 神经元树突分支复杂性的 Sholl 分析

3 讨论

在 P301S 转基因小鼠中,突触丢失和突触功能损伤比 tau 蛋白纤维缠结更早出现,且与认知功能的下降密切相关^[14]。本研究聚焦于 rTMS 对 P301S 小鼠突触及突触超微结构的影响,发现 rTMS 可通过增加突触及树突棘数量,增宽 PSD 宽度,缩短突触间隙等多种途径优化突触超微结构,从而发挥神经保护作用。

突触是神经元间信息传递的结构基础,其超微结构的完整性直接影响突触传递效率。突触丢失和功能障碍是 AD 的核心病理改变之一,并可导致行为和认知损害^[3]。突触的基本结构由突触前膜、突触间隙和突触后膜组成,携带神经递质的突触囊泡从突触前膜中释放,经突触间隙扩散至突触后膜,与膜表面受体结合,产生一系列生化级联反应,完成神经信息的传递。通常认为,适宜的突触间隙宽度和较宽的 PSD 宽度有利于提高突触传递效率^[15]。PSD95 是突触后膜致密区最主要的支架蛋白,通过与谷氨酸受体、黏附分子等相互作用,维持

突触结构与功能的稳定性,被认为是突触后结构完整性的标志物^[16]。本研究发现 rTMS 干预后 P301S 小鼠脑组织内的 PSD95 蛋白表达升高,同时伴有 PSD 宽度增宽及突触间隙缩短。这些结果与既往研究^[17-18]结果一致,表明 rTMS 可优化突触超微结构,改善突触可塑性,发挥神经保护作用。

树突棘同样是突触后结构的重要组成部分,其密度增加可增强突触前信号的接收与整合能力,从而提高突触传递效率^[19]。此外,树突棘形态结构也呈现高度的动态适应性,其可塑性变化已被认为是突触可塑性的关键机制之一^[20]。本研究发现 rTMS 刺激后 P301S 小鼠脑组织的树突棘密度增加,提示突触可塑性的增强。但 Sholl 分析结果显示 rTMS 不改变 P301S 小鼠脑组织树突分支复杂性,提示 rTMS 的作用靶点可能更趋向于改善突触超微结构及功能,而非神经元整体形态的改变。这需要进一步的研究来验证。

综上,本研究发现 rTMS 干预可增加突触和树突棘数量,优化突触超微结构,增强突触可塑性,发挥神经保护作用。



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

参考文献

- [1] SCHELTENS P, DE STROOPER B, KIVIPELTO M, et al. Alzheimer's disease[J]. Lancet, 2021, 397 (10284): 1577-1590.
- [2] 2024 Alzheimer's disease facts and figures[J]. Alzheimers Dement, 2024, 20(5): 3708-3821.
- [3] GRIFFITHS J, GRANT S G N. Synapse pathology in Alzheimer's disease[J]. Semin Cell Dev Biol, 2023, 139: 13-23.
- [4] WANG S, XU H, LIU G, et al. Non-pharmacological treatment of Alzheimer's disease: An update[J]. Front Aging Neurosci, 2025, 17: 1527242.
- [5] XING Y, ZHANG Y, LI C, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation of the brain after ischemic stroke: Mechanisms from animal models[J]. Cell Mol Neurobiol, 2023, 43(4): 1487-1497.
- [6] XIE F, SHEN B, LUO Y, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation alleviates motor impairment in Parkinson's disease: Association with peripheral inflammatory regulatory T-cells and SYT6[J]. Mol Neurodegener, 2024, 19(1): 80.
- [7] SHE X, QI W, NIX K C, et al. Repetitive transcranial

- magnetic stimulation modulates brain connectivity in children with self-limited epilepsy with centrotemporal spikes[J]. *Brain Stimul*, 2025, 18(2): 287-297.
- [8] KOCH G, CASULA E P, BONNÌ S, et al. Effects of 52 weeks of precuneus rTMS in Alzheimer's disease patients: A randomized trial[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2025, 17(1): 69.
- [9] KOCH G, CASULA E P, BONNÌ S, et al. Precuneus magnetic stimulation for Alzheimer's disease: A randomized, sham-controlled trial[J]. *Brain*, 2022, 145(11): 3776-3786.
- [10] CAO H, ZUO C, GU Z, et al. High frequency repetitive transcranial magnetic stimulation alleviates cognitive deficits in 3xTg-AD mice by modulating the PI3K/Akt/GLT-1 axis[J]. *Redox Biol*, 2022, 54: 102354.
- [11] CHEN X, DONG G, WANG L. High-frequency transcranial magnetic stimulation protects APP/PS1 mice against Alzheimer's disease progress by reducing APOE and enhancing autophagy[J]. *Brain Behav*, 2020, 10(8): e01740.
- [12] LIN Y, JIN J, LV R, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation increases the brain's drainage efficiency in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2021, 9(1): 102.
- [13] DU H, CHEN X, ZHANG L, et al. Experimental autoimmune prostatitis induces learning-memory impairment and structural neuroplastic changes in mice[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2020, 40(1): 99-111.
- [14] YOSHIYAMA Y, HIGUCHI M, ZHANG B, et al. Synapse loss and microglial activation precede tangles in a P301S tauopathy mouse model[J]. *Neuron*, 2007, 53(3): 337-351.
- [15] MESA M H, MCCABE K J, RANGAMANI P. Synaptic cleft geometry modulates NMDAR opening probability by tuning neurotransmitter residence time[J]. *Biophys J*, 2025, 124(7): 1058-1072.
- [16] 玛娜璐璐,梁丽丽,张庆,等.地黄饮子通过NDRG2调节突触可塑性改善APP/PSI双转基因小鼠认知功能的作用[J]. *中医药学报*, 2026, 54(3):15-23.
- MANA L L, LIANG L L, ZHANG Q, et al. Effects of Dihuang Yinzi on improving the cognitive function of APP/PSI double transgenic mice by regulating synaptic plasticity via NDRG2[J]. *Acta Chinese Medicine and Pharmacology*, 2026, 54(3):15-23.
- [17] QIAN F F, HE Y H, DU X H, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation promotes neurological functional recovery in rats with traumatic brain injury by upregulating synaptic plasticity-related proteins[J]. *Neural Regen Res*, 2022, 18(2): 368-374.
- [18] MA J, ZHANG Z, KANG L, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) influences spatial cognition and modulates hippocampal structural synaptic plasticity in aging mice[J]. *Exp Gerontol*, 2014, 58: 256-268.
- [19] DONG J, WEI R, ZONG F, et al. Phosphodiesterase 7 inhibitor reduces stress-induced behavioral and cytoarchitectural changes in C57BL/6J mice by activating the BDNF/TrkB pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1411652.
- [20] 马贺,孙宏宇,崔海良,等.树突棘与阿尔茨海默病病理特征的相关性[J]. *中国老年学杂志*, 2025, 45(21): 5360-5366.
- MA H, SUN H Y, CUI H L, et al. Correlation between dendritic spines and pathological features of Alzheimer's disease[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2025, 45(21): 5360-5366.

(2026-03-25 收稿)

编辑 孙孝云