## 磁场对小鼠两种迷宫学习记忆的影响

王沧恺 宋进毅 王建红2,3 马原野2

(1 云南师范大学附属中学 昆明 650106 2 中国科学院昆明动物研究所 昆明 650223 3 中国科学院研究生院 北京)

摘要: 据发现, 磁场对生物体有一定作用, 但是磁场对于人类或实验动物的学习记忆是否有影响, 目前的报道结果很不一致。本实验采用实验小白鼠, 给予不同强度(65高斯/50Hz, 35高斯/25Hz)的低频磁场照 射, 每天1小时, 持续25天)。 磁场照射后, 采用旷场行为测试、Y- 迷宫和Morris 水迷宫, 检测小鼠的活动性、空间辨别、空间学习记忆和非空间学习记忆能力。结果表明: 65高斯/50Hz 磁场显著增高小鼠的活动性, 并损伤小鼠 Y- 迷宫的空间辨别能力, 但对 Morris 水迷宫的空间、非空间学习记忆无明显影响。35高斯/25Hz 磁场处理动物行为在三个指标上均接近对照组。提示: 长期的磁场照射可能会给动物, 甚至人类造成一些影响。

关键词: 磁场: 学习记忆: 旷场: Morris 水迷宫: Y- 迷宫

# Effects of low frequency magnetic field on mice learning and memory in Y- maze and Morris water maze

WANG Cang- kai, SONG Jin- yi, WANG Jian- hong, MA Yuan- ye

- 1. Affiliated Middle School of Yunnan Normal University, Kunming 650106, Yunnan, China
  - 2. Section of Primate Cognitive Brain Research, Kunming Institute of Zoology,

Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, Yunnan, China

3. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing, China

ABSTRACT Objective: The magnetic field affects the organisms in many aspects. However, previous studies showed that effects of the magnetic field on learning and memory in animals are conflicting. In this study, we examined whether two pulsed magnetic fields (65G/50Hz, 35G/25Hz) influenced memory and locomotor activity in ICR mice. Methods: The mice were exposed to different pulsed magnetic fields 1 hour per day for 25 days running, and then they were measured spatial discrimination memory, spatial and non-spatial memory and locomotor activity by using Y-maze, Morris water maze and open-field tests respectively. Results: When exposed to 65G/50Hz magnetic field, the locomotor activity increased and spatial discrimination memory impaired in Y-maze, however, showing no effect on performance in Morris water maze. Compared with control group, mice treated with the 35G/25Hz magnetic field had similar performance. Conclusion: Long time low pulsed magnetic field could influence the behavior in mice, even human behavior.

Key words: Magnetic field; Memory; Open- field; Morris water maze; Y- maze

## 1 引言

众所周知, 地球是一个大磁体, 其磁场约为 0.5 高斯 (Gauss, G)。所以说一个人的一生都是在磁场中度过的。而由于电流可以产生磁场, 人们在以电为基础之一的现代社会中, 更是时刻处于各种人造小磁场中(例如手机, 电子计算机以及核磁共振所产生的磁场)。其中许多磁场比地磁大很多

(如核磁共振中磁感应强度的数量级为  $10^4$  高斯)。而日常使用的电子产品产生的磁场较弱(如手机产生的场强约为 1.6 高斯)。

长期的磁场照射可能会带给生物体,包括昆虫、鱼、乌龟、小鼠等不良影响。据研究显示,大剂量的磁场对生物体来说是致命的,因为强烈的磁场会拉扯原子中的电子,使电子云的空间结构发生改变,从而使化学反应无法顺利进行,导致生物

通讯作者: 马原野: 中国科学院昆明动物研究所, 昆明, 教场东路 32 号, 650223

电话、传真: 0871- 5193083 Email: yuanma0716@vip. sina. com

王建红: 中国科学院昆明动物研究所, 昆明, 教场东路 32号, 650223

电话: 0871- 5194464 Email: wangjh@ mail. kiz.ac. cn wjh16@ yahoo. com

( 收稿日期: 2006-03-18 接受日期: 2006-04-06)

<sup>\*</sup> 国家自然科学基金项目资助(No. 30470553), (No. 30530270)

体的死亡。有调查显示,在手机信号中转站附近的部分居民 感到头晕,睡眠质量下降。而在某些城市中,位于电视台发射 塔附近的区域电磁辐射超标。

而较弱的磁场是否会对人类生命健康,尤其是学习记忆 造成危害一直是一个悬而未决的难题。但专家们对于磁场对 儿童及青少年的影响看法是一致的, 因为这些人群颅骨发育 未全,对辐射的抵挡能力较差。据此,一些西方国家已明文规 定禁止在学校楼顶安装信号中转站。

已经有资料表明,不同强度的磁场对大、小白鼠的学习记 忆产生了不同的影响,这些影响有好有坏。据研究人员发现: 采用脉冲频率 20Hz, 强度分别 0.25 T(1T=1万高斯,G)、0. 34T 和 0.64T 三种不同强度的脉冲磁对小鼠进行 40min 全身辐 照,用 Y-型电刺激迷宫实验观测其学习记忆行为。辐照强 度 0.25T 组与对照组的学习记忆能力无显著差别, 0.34T 强度 辐照组的小鼠学习记忆能力明显强于对照组[1]。 应用水迷宫 学习模型,发现30分钟磁场处理组与正常对照组比较,动物 到达水下平台的时间延长: 游程增加: 15 分钟磁场处理组与正 常对照组比较,动物到达水下平台的时间延长;游程和平均速 度与正常对照组相比无显著性差异。他们认为磁场处理30 分钟或 15 分钟损伤小鼠的空间学习记忆能力, 且以 30 分钟的 磁场处理作用较强[2]。 国外的一些研究报道表明, 低频磁场 对小鼠的学习记忆有提高、损伤或无影响[3,4]。

但以上实验中使用的学习记忆测试的模型都涉及到奖惩 效应,比如用食物奖励或以电刺激为惩罚。因此我们采用了 没有奖惩效应的 Y 迷宫。这种迷宫顺应了白鼠的自然偏好, 即对新异环境的天然探究。Y 迷宫有3个臂,实验分训练和重 测试阶段。训练时,将Y迷宫中的一个臂隔开,将小鼠置入另 外两个臂中适应 10 分钟。 重测试时, 再将隔板取走, 观察小 鼠对新旧臂的记忆能力。此外,我们还用经典的 Morris 水迷宫 测试小鼠的空间与非空间记忆。考虑到磁场可能对小鼠的活 动性产生影响,我们还做了旷场行为测试。

此外,由于目前大多数实验采用的是短时或一次性磁场 照射, 而人类却长期处于各种磁场的包围中, 所以在本实验 中, 我们给小白鼠进行长期磁场照射, 模拟人类的生活环境, 观察长期的磁场照射对小动物的学习记忆以及活动性的影 响。

#### 材料和方法 2

#### 2.1 动物

ICR 雄性小白鼠。购于昆明医学院动物房。体重: 30±2g 分组:每组8只,共3组。

1组(对照):对照组。

2组(35G): 弱磁场照射组, 第1-7天: 22高斯/25Hz, 第8 - 25 天: 35 高斯/25Hz。

3组(65G): 强磁场照射组, 第1-7天:50高斯/50Hz, 第8 - 25 天: 65 高斯/50Hz。

饲养条件: 自然光照(12:12 小时/昼:夜), 自由取水及食 物。每8只饲养于标准塑料饲养盒中,内铺垫木屑。

#### 2.2 试验器材及仪器

2.2.1 磁场发生装置 正弦波低频磁场发生装置(中科院电

工研究所制造)。见图 1。

2.2.2 Y- 迷宫 灰色 PVC 板制作, 共三个臂: 新异臂、起始 臂和其它臂, 各臂夹角 120 度。每臂尺寸 30cm×8cm×15cm (长×宽×高),在中央处各有一个可移动的隔板。迷宫内铺 垫木屑。迷宫上方 1.5 米处安置摄像镜头, 录像全过程。

2.2.3 Morris 水迷宫 直径为 1 米, 深 30 厘米的白铁皮制圆 柱形大盆,水深 10.5 厘米(空间记忆测试),或 8.5 厘米(非空 间记忆测试), 迷宫内平台高 9.5 厘米。水温 23 ±2℃。为避 免水面反光,影响软件跟踪,水表面铺一层棕色塑料颗粒。迷 宫被黑色布帘围罩,布帘内壁贴不同几何图形塑纸作为空间 图标。迷宫上方2米处安装摄像镜头,录像经采集卡输入电 脑, 软件(SmartLab) 自动记录并分析小鼠在迷宫 4 个象限中停 留时间、轨迹占总时间、轨迹的百分比。

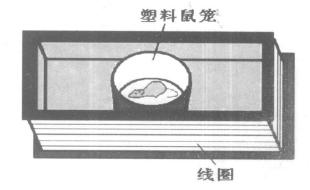


图 1 磁场发生装置 (摘自Lei YL, Liu TY, Wilson F, et al. 2005(5))

2.2.4 旷场行为测试箱 木制箱,尺寸: 42cm× 42cm× 36cm (长×宽×高),内衬黑色垫纸,底部为白色,并画有5×5正方 格。

#### 2.3 试验步骤和方法

2.3.1 磁场照射 将磁场处理小鼠连塑料饲养盒置入磁场 线圈中, 取走金属网盖, 水源及食物。用玻璃盖将饲养筐盖住 并留出少许空隙,防止小鼠从筐中爬出,并保证小鼠正常呼 吸。每天分别照射 22 高斯/25Hz,50 高斯/50Hz(第 1-7天), 35 高斯/25Hz,65 高斯/50Hz 磁场(第8-25天)1 小时,共照射 25天。

对照组小鼠做同样处理, 但不放入线圈中, 却放在线圈旁 边,每天1小时。

2.3.2 旷场行为测试 将小鼠从旷场行为测试箱的一个角 放入,在5分钟内记录下小鼠的爬格数(小鼠行走所经过的格 数), 直立次数, 粪便数。

2.3.3 Y- 迷宫测试 Y 迷宫实验分训练和重测试阶段。

训练时,将Y迷宫中的一个臂随机隔开,将小鼠从起始臂 置入,使之在两个臂中适应10分钟,然后取出。间隔1小时后 再放入迷宫做重测试。重测试时,将隔板取走,启动位于 Y 迷 宫上方的摄像头进行全过程录像,观察小鼠5分钟内在新旧 臂中待的时间和次数,以检验小鼠对新旧臂的记忆能力。

每只小鼠测试前后都要将锯末充分混合, 防止气味对小 鼠的选择产生干扰。

- 2.3.4 Morris 水迷宫测试 实验过程分三部分:
  - 2.3.4.1 空间记忆测试(第1天-第6天): 将水注入

水迷宫,水深10.5厘米。使平台于水下1厘米处。将迷宫分 为4个象限。每次试验时,平台置于其中一个象限,将小鼠依 次由各个象限小心放入,每天训练 4次。平台所在象限随机 分配,但对于每只小鼠,平台的位置固定。训练最长时间为1 分钟, 若小鼠1分钟之内不能上平台, 就人为引导其上平台。 在平台上停留 10 秒钟, 取出小鼠。软件监控小鼠在各个象限 的的运动轨迹、时间,以及找到平台所需的时间(潜伏期)。

- 2.3.4.2 探测检验(第7天) 将迷宫中的平台撤出,将小鼠 从平台的对角线处放入,记录小鼠第一次到达原先平台所在 位置的时间和1分钟内小鼠穿越平台位置的次数,及在各个 象限的时间和经过路程,和它们的百分比。
- 2.3.4.3 非空间记忆测试(第8天) 将平台露出水面1厘 米,平台上插一面红色小旗。每次小鼠从固定的象限出发,而 平台分别放置于 4 个象限。软件记录小鼠到达平台的时间及 路径。

所有行为测试均在安静环境内进行。

#### 2.4 数据分析

数据以平均值(秒) 生标准误差(SEM)或百分比表示,采用 方差重复检验和 t- 检验进行数据统计分析。P< 0.05 为显著 性差异, P< 0.01 为极显著性差异。

### 3 结果与分析

#### 3.1 一般行为观察

与对照组的小鼠对比, 经磁场照射过的小鼠攻击性增强, 较为烦躁、活跃, 毛色较差。35 高斯/25Hz 磁场处理组实验结

磁场处理小鼠在平台所在象限中的停留时间、轨迹,和占 总时间、总路径长度的百分比(图 6 A-B), 与对照组相比均无 明显差异。表明磁场处理不影响小鼠的空间学习记忆。

图 6 空间记忆测试结果(第 1-6天)。A 纵坐标表示小鼠在 平台所在象限的轨迹占在所有象限游泳轨迹的百分比, B 纵坐 标表示小鼠在平台所在象限的时间占在所有象 限游泳时 间的 百分比。在以上两个指标中,三组之间无显著差异。

各组小鼠每天寻找到平台的平均时间(潜伏期,秒士标准 误差)在 1-6 天均无差异(图7),同样说明该强度磁场对小鼠 的空间记忆无影响。

图 7 空间记忆测试结果(第1-6天)。三组小鼠每天寻 找到平台的平均时间(潜伏期,秒士标准误差),各组之间无差 异。

探测记忆(第7天):各组小鼠第一次到达平台的潜伏期 (图 8- A),和1分钟内穿越平台位置的次数(图 8- B),均无 差异。表明学习后,磁场小鼠对原平台位置的记忆未受影响。 图8 探测检验(第7天)结果。各组小鼠第一次到达平台的 潜伏期(A), 和1分钟内穿越平台位置的次数(B),均无差异。

非空间记忆(第8天): 小鼠到达平台的潜伏期在各组之 间无明显差异(图9)。可见,磁场对水迷宫的非空间记忆也无 影响。

图 9. 非空间记忆测试(第 8 天)结果。小鼠到达平台的潜伏期 在各组之间无明显差异。

東时死亡1只。

#### 3.2 旷场行为测试

65 高斯/50Hz组动物走格数明显高于对照组动物,经 t-检验, P= 0.05(见图 2-A), 说明磁场处理使动物活动性增高。 而直立次数(图 2 B) 和粪便数(图 2 C) 和对照组相比没有明显

35 高斯/ 25Hz 组动物 走格数、直立次数和粪便数与对照组 相比没有明显差异(见图 2A - C)。

#### 3.3 Y- 迷宫

结果见图 3 A- D。

65 高斯/50Hz 组动物对新异臂(陌生的臂)的空间辨别成 绩明显底于对照组,表现在进入新异臂次数的百分比低于对 照组, 而进入其它臂(熟悉的臂) 次数的百分比却高于对照组, (臂×组: F(4,42)=4.46,P=0.004),见图3-B。说明长期65 高斯/50Hz 磁场损伤动物的空间辨别能力。而 65 高斯/50Hz 组磁场处理的动物进入新异臂的次数(图 3-A),停留干新异 臂的时间(秒)(图 3-C)和占总时间的百分比(图 3-D),与对 照组相比均无差异。

35 高斯/ 25Hz 处理动物, 在各项指标中与对照组没有显著 差别。说明较弱的磁场对动物空间辨别能力无影响。

实验表明, 动物进入各个臂的时间及次数的差异是显著 的, F(2,42) = 4.14, P= 0.023。

#### 3.4 Morris 水迷宫

空间记忆(1-6天): 随着天数递增, 小鼠的成绩逐渐提 高。见图 4-5,表示小鼠学会前、后的游泳轨迹图。

## 4 讨论

本实验发现, 经 65 高斯/ 50Hz 磁场处理 25 天(每天 1 小 时)的动物在 Y- 迷宫中显示了较差的空间辨别能力,而经 35 高斯/25Hz 磁场处理组动物未显示损伤效应。Y- 迷宫是九十 年代初  $\operatorname{Dellu} F$  等发明的 $^{[6]}$ 。该迷宫具有常用的学习记忆测试 模型所没有的优点, 即避免了奖惩因素, 从而避免了奖惩因素 可能带来的紧张导致对学习记忆的干扰。据调查,还没有使 用该学习记忆模型, 研究磁场作用的报道。

小鼠在 Y- 迷宫的两个臂内适应 10 分钟后, 1 小时后再 次放入 Y- 迷宫,可根据小鼠是否能辨别从前阻挡的臂(新异 臂),来检测小鼠的空间辨别能力。本实验发现,经长期65高 斯/50Hz 磁场处理的小鼠对新异臂(陌生臂)的记忆较对照组 显著降低,相反,这组动物对其它臂(熟悉臂)访问次数和时间 增高,说明,该长期低频磁场损伤小鼠的空间辨别能力。

该结果与中科院昆明动物研究所以往的试验研究结果一 致, 他们发现低频磁场影响大鼠对吗啡成瘾条件化位置偏好 的建立[5], 而胚胎期给小鸡磁场照射也会造成小鸡的认知障 碍[7]。

在旷场行为测试中,长期 65 高斯/50Hz 磁场处理的小鼠 活动性明显高于正常小鼠,与 Y- 迷宫测试结果一致。经 65G/50Hz 磁场处理的小鼠进入 Y- 迷宫各个臂的次数多于对 照组(图 3- A),说明小鼠活动性增加。这与我们一般性的观 察结果也一致。我们观察到磁场处理的小鼠行为较为烦躁,

相互之间的攻击性增强。有报道, 磁场照射可影响动物的"下丘脑— 垂体— 肾上腺皮质"轴(生物体面临紧张或应激时所涉及的调节通路), 并改变动物血液中的皮质酮含量<sup>[8]</sup>。"下丘脑— 垂体— 肾上腺皮质"轴和皮质酮含量均与动物的应激、紧张相关, 并可影响动物的活动性和学习记忆。本实验中, 长期65 高斯/50Hz 磁场处理损伤 Y— 迷宫测试中的空间辨别能力,提高旷场行为的活动性可能与此机理相关。

但是统计结果显示,同样强度的磁场照射未导致水迷宫空间和非空间记忆的损伤,可能由于该水迷宫模型需要动物学会躲避溺水的威胁,且水造成了较强的应激,从而干扰了磁场对小鼠学习记忆的影响。

在本实验中, 我们发现, 低频磁场对小鼠的行为, 包括某些学习记忆和活动性是有影响的, 并且这种影响是依赖于磁场强度的。

据发现,小鼠头前部背侧中央处积聚了对磁场敏感的物质,给小鼠磁场处理后,其空间记忆会受到影响。

随着科技的迅速发展,人类使用电器的频率已经越来越高,使用的时间也越来越长。从而可能给人类带来一些负面影响,比如移动电话、计算机等电器产生的磁场也许会损伤人类的健康,并可能造成人类认知障碍,并对学习记忆产生不良影响。本实验较好的模拟了人类在日常生活中所受到的磁场照射,因而为我们探讨磁场是否影响人类健康(包括认知功能)这一争论不休的论题提供了一些实验数据。

进一步的工作将探讨低频磁场对小鼠行为的影响的机制,并寻找小鼠对磁场的敏感期,以助于我们探讨预防和治疗

磁场对人体的危害作用。

#### 致谢

感谢中国科学院昆明动物研究所灵长类神经生物学实验室孙华 英、王秀松博士及张华仙老师提供的帮助。

#### 参考文献

- [1] 席晓莉, 文峻. 极低频脉冲磁场对小鼠 学习记忆 能力的影响[J]. 第四军医大学学报, 1998, 19(2): 214-215
- [2] 郭红梅, 郭凤彩, 彭燕华, 等. 磁场作用对小鼠学习记忆的影响 [J]. 生物磁学, 2004, 4(3): 1-3
- [3] Reed L, Levine L, James K, et al. Magnetic field effects on spatial discrimination and melatonin levels in mice [J]. Physiology & Behavior, 1995, 58(3): 535-537
- [4] Sienkiewicz ZJ, Haylock RG, Bartrum R, et al. 50 Hz magnetic field effects on the performance of a spatial learning task by mice[J]. Bioeleetromagnetics, 1998, 19(8): 486–93
- [5] Lei YL, Liu TY, Wilson F, Zhou DM, et al. Effects of extremely low–frequency electromagnetic fields on morphine–induced conditioned place preferences in rats [J]. Neuroscience Letters, 2005, 390: 72–75
- [6] Dellu, F, Mayo, W, Cherkaoui, J, et al. A two-trial memory task with automated recording: study in young and aged rats [J]. Brain Res., 1992, 588: 132-139
- [7] 孙华英, 刘小粉, 车轶, 等. 出生前工频磁场暴露对新生小鸡学习记忆能力的影响[J]. 生物物理学报, 2005, 21卷(增刊): 38
- [8] Keck ME, Welt T, Post A, et al. Neuroendocrine and behavioral effects of repetitive transcranial magnetic stimulation in a psychopathological animal model are suggestive of antidepressant – like effects [J]. Neuropsychopharmacology, 2001,24:337–49

(图1-9请见封3)

#### (上接第10页)

此外,在急性毒性试验和对新西兰大白兔的毒性试验,本研究结果显示,累积剂量的60倍,未引起明显毒性反应,动物生存率、解剖检查、体重、血液生化和血液学等指标均无明显异常。个别血液学、血生化指标与对照组有差异,但未见有明显的剂量反应关系,且未见与之相对应的病理学改变,因此认为是偶发现象,与给药无关。这与国外其他裸 DNA 疫苗的安全性试验结果基本一致<sup>[4,9]</sup>。而且对新西兰大白兔给药6个月后肝,肾、脾等脏器的外观检查及切片检查,未发现会诱导体内抗原抗体复合物在这些脏器中沉积,也未发现核酸免疫对这些脏器产生明显的毒副作用,这为该核酸疫苗的安全使用进一步提供了实验依据。

#### 参考文献

- [1] Alaron JB, Waine GW, McManus DP. DNA Vaccines: technology and application as antiparsite and anti- microbialagents [J]. AdvParasitol, 1999, 42(4): 343-410
- [2] 刘景晶, 茅丹, 朱政, 吴洁, 曹荣月, 宗莉. 抗动脉粥样硬化核酸疫苗及制备方法[P]. 中国专利. CN1562349. 2005-01-12
- [3] 萨姆布鲁克 D. W. 拉塞尔著, 黄培堂等译. 分子克隆实验指南

[M]. 第三版. 北京: 科学技术出版社, 1999: 32-36

- [4] Kyung Koo, Kang Seul, Min Choi, et al. Safety Evaluation of GX- 12, a New HIV Therapeutic Vaccine: Investigation of Integration into the Host Genome and Expression in the Reproductive Organs[J]. Intervirology, 2003,46: 270- 276
- [5] 周立国. 药物毒理学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2003: 145-147
- [6] Chun S, Daheshia M, Lee S, et al. Distribution fate and mechanism of immune modulation following mucosalde livery of plasimid DNA encoding IL
  10 Jl. J. Immunol, 1999, 165(5): 2393–2402
- [7] Choi SM, Lee DS, et al. Safety evaluation of GX- 12: A new DNA vaecine for HIV infection in rodents[J]. Drug Chem Toxicol., 2003, 26 (4): 271- 284
- [8] Johnson LE, Frye TP, et al. Safety and immunological efficacy of a prostate cancer plasmid DNA vaccine encoding prostatic acid phosphatase (PAP) [J]. Vaccine, 2005, 8: 19–29
- [9] Coelho- Castelo A, Trombone A, Rosada R, et al. Tissue distribution of a plasmid DNA encoding Hsp65 gene is dependent on the dose administered through intramuscular delivery[J]. Genet Vaccines Ther, 2006, 30:4-11

# 磁场对小鼠两种迷宫学习记忆的影响

王沦恺 宋进毅 王建红 马原野

(1云南师范大学附属中学 昆明 650106 2中国科学昆明动物研究所 昆明 650223 3中国科学院研究生院 北京)

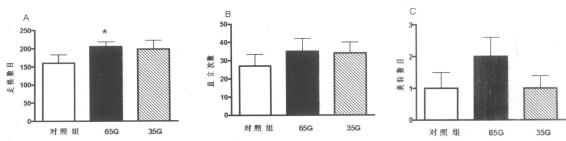


图 2. 旷场行为测试结果。纵坐标: A- 走格数目, B- 直立次数, C- 粪粒数目。65 高斯 /50Hz(65G)组动物的走格次数明显高于对照组(P<0.05)。

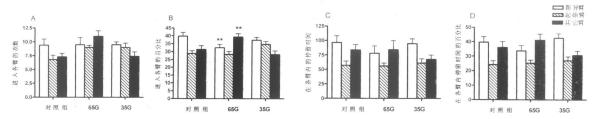


图 3.Y- 迷宫测试结果。A.B.C.D 分别示进人各臂的次数、百分比、在各臂内停留的时间及百分比。65 高斯 /50Hz (65G) 组小鼠进入新异臂的次数占总次数的百分比明显低于对照组,而进入其它臂的次数百分比明显高于对照组(P=0.004)。

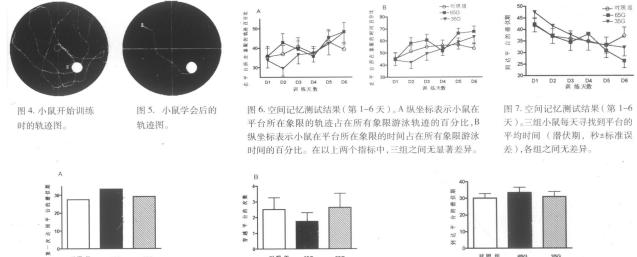


图 8. 探测检验(第7天)结果。各组小鼠第一次到达平台的潜伏期(A),和1分钟内穿越平台位置的次数(B),均无差异。