

# 復旦大學

## 本科毕业论文



论文题目： 多动症模型小鼠在复杂任务下的行为学表现

姓 名： 周筱涵 学 号： 20307110429

院 系： 生命科学学院

专 业： 生物科学（强基计划）

指导教师： 肖 晓 职 称： 青年研究员

单 位： 类脑智能科学与技术研究院

完成日期： 2024 年 5 月 21 日

# 多动症模型小鼠在复杂任务下的行为学表现

完成人

周筱涵

指导小组成员

肖 晓 研究员

# 目 录

|                           |    |
|---------------------------|----|
| 摘要 .....                  | I  |
| Abstract .....            | II |
| 一、前 言 .....               | 1  |
| 1.1 研究背景 .....            | 1  |
| 1.1.1 注意力缺陷多动障碍 .....     | 1  |
| 1.1.2 注意力缺陷多动障碍动物模型 ..... | 1  |
| 1.1.3 动物行为学实验 .....       | 2  |
| 1.2 主要研究内容 .....          | 4  |
| 二、材料与方法 .....             | 5  |
| 2.1 实验材料 .....            | 5  |
| 2.1.1 实验动物与分组 .....       | 5  |
| 2.1.2 实验设备 .....          | 5  |
| 2.1.3 实验软件 .....          | 5  |
| 2.2 实验试剂 .....            | 5  |
| 2.3 实验方法 .....            | 6  |
| 2.3.1 旷场实验 .....          | 6  |
| 2.3.2 反转学习实验 .....        | 7  |
| 2.3.3 虚拟现实空间导航实验.....     | 10 |

|                                                         |    |
|---------------------------------------------------------|----|
| 三、研究结果                                                  | 12 |
| 3.1 <i>NEX-<math>\alpha 3^{-/-}</math></i> 小鼠在旷场实验中表现   | 12 |
| 3.2 <i>NEX-<math>\alpha 3^{-/-}</math></i> 小鼠在反转学习范式中表现 | 13 |
| 3.2.1 简单空间反转学习表现                                        | 14 |
| 3.2.2 条件匹配反转学习表现                                        | 18 |
| 3.3 <i>NEX-<math>\alpha 3^{-/-}</math></i> 小鼠在虚拟现实训练下表现 | 20 |
| 3.3.1 空间导航范式适应情况                                        | 20 |
| 3.3.2 空间导航范式任务效果                                        | 20 |
| 四、讨 论                                                   | 22 |
| 4.1 研究意义                                                | 22 |
| 4.2 存在问题                                                | 22 |
| 4.3 研究展望                                                | 24 |
| 参考文献                                                    | 25 |
| 致谢                                                      | 27 |

# 摘 要

注意力缺陷多动障碍（ADHD）是一类常见的持续性神经发育障碍，其核心症状为多动、冲动以及注意力不集中，影响全球 5% 的青少年儿童及 2.5% 的成年人。然而，ADHD 的发病机制尚不清楚，临床治疗药物较少。ADHD 的病因复杂，相关的模型动物较少，其致病机制和候选治疗药物的研究面临较大的挑战。本研究利用实验室中具有 ADHD 样症状的 Integrin  $\alpha 3$  条件敲除小鼠（*NEX- $\alpha 3^{-/-}$* ）作为模型小鼠，对其进行行为学研究，通过反转学习范式以及虚拟现实下空间导航范式，观察多动症模型小鼠在复杂任务下的行为学表现。通过反转学习实验，我们的结果表明 *NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  小鼠的认知灵活性较差；通过空间导航范式，我们初步得到 *NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  小鼠在虚拟现实条件下的行为学异于野生型小鼠。对多动症模型小鼠的行为学研究对理解致病机制有一定意义，且可配合进行治疗手段的研究。而多动症模型小鼠的虚拟现实行为学表现特征也可作为后续利用虚拟现实系统研究疾病模型小鼠的行为学参考。

**关键词：** 注意力缺陷多动障碍，多动症，小鼠模型，反转学习，虚拟现实

# Abstract

Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) is a common and persistent neurodevelopmental disorder with core symptoms of hyperactivity, impulsivity, and inattention, affecting 5% of young children and 2.5% of adults worldwide. However, the pathogenesis of ADHD is unclear and there are few clinical therapeutic agents. The complex etiology of ADHD and the scarcity of relevant model animals make the study of its pathogenesis and candidate therapeutic agents a major challenge. In this study, we utilized Integrin  $\alpha 3$  conditional knockout mice (*NEX- $\alpha 3^{-/-}$* ) with ADHD-like symptoms in the laboratory as model mice, and conducted behavioral studies on them, observing the behavioral performance of ADHD model mice under complex tasks through an inverse learning paradigm as well as a spatial navigation paradigm under virtual reality. Through the inverse learning experiment, our results indicate that *NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  mice have poor cognitive flexibility; through the spatial navigation paradigm, we preliminarily obtain that *NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  mice have behavioral dissimilarities to wild-type mice under virtual reality conditions. Behavioral studies on ADHD model mice are meaningful for understanding the pathogenic mechanism and can be used in conjunction with research on therapeutic means. The virtual reality behavioral characteristics of ADHD model mice can also be used as a reference for subsequent behavioral studies of disease model mice using virtual reality systems.

**Key words:** Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder, ADHD, mouse model, reversal learning, virtual reality

# 一、前言

## 1.1 研究背景

### 1.1.1 注意力缺陷多动障碍

注意力缺陷多动障碍（Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder, ADHD）俗称多动症，是一类常见的持续性神经发育障碍，影响全球 5% 的青少年儿童及 2.5% 的成年人<sup>[1]</sup>。2013 年美国精神病学协会出版的《精神疾病诊断与统计手册》第五版（DSM-5）将 ADHD 定义为具有注意力不集中或多动与冲动症状或两者兼有之<sup>[2]</sup>，并将第四版（DSM-4）中主要是注意力不集中、主要是多动症和联合型三种临床亚型调整为三种临床表现，以强调症状会随着患者的成长而发生变化<sup>[3]</sup>。ADHD 通常被认为是一种会随着年龄增长而改善的儿童疾病，但 ADHD 存在从儿童期向成年期持续的情况，且亦有在儿童期后才出现症状的成年患者<sup>[4]</sup>。

ADHD 被认为是遗传和环境因素协同作用的产物，大多数情况下，多个风险因素共同作用，导致 ADHD 易感性提升。研究表明 ADHD 有着较高的遗传性，在 37 项 ADHD 双胞胎研究中，平均遗传率为 74%。而遗传率估计值低于 100% 也说明 ADHD 的病因也存在环境因素的作用。基因与环境的相互作用可解释 ADHD 大部分病因，环境因素可能通过表观遗传机制发挥作用<sup>[5]</sup>。

ADHD 与一系列认知缺陷有关。早期 ADHD 病理生理学模型仅基于有限大脑区域的功能障碍（基底神经节与额叶皮层）<sup>[6]</sup>，而近期的研究已经从单个大脑区域的改变转变到大脑网络功能的障碍，目前认为 ADHD 特征的注意力不集中是由于任务积极网络（Task Positive Network, TPN）活动中默认模式网络（Default mode network, DMN）的不当侵入造成的<sup>[7]</sup>。神经认知研究为我们对 ADHD 的理解做出了相当大的贡献。近年来，该领域已从 ADHD 的线性单因模型转向多通路模型，该模型强调 ADHD 固有的异质性，并在大脑水平的个体差异和临床表现之间建立联系<sup>[8]</sup>。

### 1.1.2 注意力缺陷多动障碍动物模型

由于人类疾病的发展十分复杂，以人作为实验对象研究疾病发生机制推进困难，且许多实验在伦理与方法上也受到限制，人类疾病的动物模型便应用于生理、

病理与治疗的研究。ADHD 动物模型应具有与人类疾病表现类似的 ADHD 的基本行为特征（表面效度），具有类似的病理生理机制（结构效度），并可用于预测对 ADHD 治疗的药物在行为、分子机制和神经元功能方面的反应（预测效度）。与灵长类动物相比，ADHD 的啮齿动物模型具有遗传背景更单一，维护成本更低，神经生物学特征更显著的优势，是研究 ADHD 病理学与药理学的宝贵工具<sup>[9]</sup>。

ADHD 的复杂性使得开发临床前模型具有挑战性，现有的 ADHD 啮齿动物模型主要为遗传模型，也有部分药理模型、神经损毁模型等。由于 ADHD 是多基因的，因此 ADHD 的单一啮齿动物模型不可能概括人类所有的 ADHD 症状。每个模型都有优点和缺点，但都为理解多动症的各个方面做出了贡献<sup>[10]</sup>。本实验室尚未发表的研究内容表明 Integrin  $\alpha 3$  条件敲除小鼠（*NEX- $\alpha 3^{-/-}$* ）具有多动、冲动以及注意力缺陷等多动症的行为表现。

### 1.1.3 动物行为学实验

动物行为学实验被广泛应用于神经科学的各个领域，是神经生物学研究中的重要手段，特别是在神经精神疾病的评估与生理机制研究。通过动物行为学实验，我们得以探究动物的学习记忆能力、焦虑情况、恐惧情况、运动能力等，从而进一步探索认知、情绪等复杂的生命现象。目前对于啮齿动物，已经有了一系列行为学实验，如旷场实验、明暗箱实验等等，用于评估不同认知障碍相关的疾病模型<sup>[11][12]</sup>。

多动症患者在认知功能上表现异常。基于奖励敏感性改变的反转学习缺陷是 ADHD 的标志之一<sup>[13]</sup>。此外，在 ADHD 中，多感官整合与注意力之间存在双向影响<sup>[14]</sup>。ADHD 作为一种常见的神经发育障碍，存在感觉处理异常，不同感官之间的时间整合异常可能导致 ADHD 中注意力分散的增加<sup>[15]</sup>。虚拟现实系统可以对视觉信息进行人为控制，从而探究视觉光流信息与体感信息之间的整合对认知障碍疾病异常表现的影响。

#### 1.1.3.1 反转学习范式

反转学习范式是使用最广泛的认知灵活性测试之一。认知灵活性指的是在面对不断变化的环境时，能够适当调整思想和行为进行适应的能力。认知灵活性在许多精神和神经系统疾病中被损坏，因此，确定认知灵活性的神经基础对于了解疾病相关的病理生理学和潜在的治疗方法有重要意义<sup>[16]</sup>。

为了研究啮齿动物、非人灵长类动物和人类认知灵活性的神经基础，研究人员经常使用一组统称为反转学习的范式。反转学习范式主要通过评估在面对不断改变的“刺激——结果”或“反应——结果”匹配时的适应能力来评估认知灵活性<sup>[17]</sup>。最常见的反转学习范式为触摸屏任务，在任务中，受试者被训练在两个图像之间进行选择，其中一个图像对应奖励，当受试者的选择正确率达到一定标准（通常为 85% 正确率），图像与奖励之间的对应关系将进行反转，反转前有奖励的图像变为不正确的，而反转前没有奖励的图像现在在触摸后将提供奖励<sup>[18]</sup>。关于反转学习的神经机制在啮齿动物、非人类灵长类动物和人类受试者中有着许多相似的发现。不同物种之间测试的方法略有差异，存在差异的一个原因是学习的感官方式：啮齿动物更擅长涉及气味的学习，而视觉辨别范式在灵长类动物中更容易学习<sup>[17]</sup>。对于啮齿动物的反转学习任务，除了触摸屏，迷宫也常用于测试空间辨别和反转，使用迷宫的情况下，可以仅使用有关空间位置的信息或结合使用视觉或听觉线索进行反转学习任务<sup>[19][20]</sup>。

目前，反转学习范式已被用于表征许多神经精神疾病中认知过程的改变，包括药物滥用、强迫症、帕金森病、精神分裂症，并用于评估某些发育时期（如青春期）的认知能力水平。综合来看，反转学习范式可以用于评估以下能力：（1）从不同的选择对应获得的奖励（以及未获得奖励的失败）中学习的能力；（2）对发生反转的可能性的估计；（3）对任务以及选项的理解<sup>[17]</sup>。

### 1.1.3.2 虚拟现实实验

在基础的动物行为学实验研究的基础上，虚拟现实系统可以通过模拟生物体一个或多个感觉的真实输入，同时测量受试者的行为并对感觉刺激进行更新以响应该行为<sup>[21]</sup>。虚拟现实技术提供了更优秀的测试条件：更少的人与动物之间的互动，使用更广泛的实验参数，以及对被测试动物的感知的更精确的测量<sup>[22]</sup>。

对于啮齿动物，动物从环绕其 270 度视野的屏幕接收视觉信息。动物的运动控制着视觉流，从而复制了现实世界的感觉—运动耦合<sup>[21]</sup>。在虚拟现实环境中通常会将啮齿动物的头部固定来限制头部运动，方便进一步的神经活动测量，这允许对清醒状态下的动物进行神经活动的精确测量，并与运动动作相关联，帮助在时间上建立行为与神经元活动更加精确的匹配。虚拟现实技术在考虑到啮齿动物

的广角视觉系统后,已被证实可以运用于对其进行虚拟环境内的实验训练<sup>[23]</sup>,且仅虚拟现实系统提供的视觉信息就可以指导小鼠完成运动<sup>[24]</sup>。

目前,虚拟现实技术在小鼠上已有较多的研究运用,研究内容集中于分析正常小鼠的行为决策<sup>[25]</sup>或实时记录视觉刺激及运动过程中脑区内神经元活动<sup>[26][27]</sup>。近期,也有研究利用虚拟现实实验对象清醒且头部固定的特点,利用功能性磁共振成像(fMRI)对自闭症谱系障碍(ASD)自主行为期间的皮层动力学进行研究<sup>[28]</sup>。虚拟现实技术突破了神经精神疾病研究中,对运动过程及自主行动相关异常的神经活动研究的限制,使得在互动环境中和自主运动期间测量皮层活动和功能连接成为可能。与此同时,虚拟现实技术也是一种备受期待的心理评估与治疗的措施,可以提供重复度更高,更加便捷,并且精准实施的治疗策略<sup>[29]</sup>,这使得通过虚拟现实技术研究神经精神疾病具有临床意义。

## 1.2 主要研究内容

本课题组在饲养和繁育  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠时,发现其表现得更加活跃,并通过一系列行为学实验,发现  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠表现出冲动与多动,并且存在注意力缺陷,具有 ADHD 样行为,同时存在认知灵活性受损的现象,可作为 ADHD 的实验动物模型。

在基本的行为学研究的基础上,我们希望进一步获得  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠在反转学习中的表现,探究多动症模型小鼠在认知灵活性上发生的改变,进一步理解多动症模型小鼠的疾病机制。同时,通过多动症模型小鼠,我们希望探究多模态的信息异常整合与多动症发病之间的关系。

对以上探究目标,本研究利用日字迷宫对  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠进行空间上反转学习范式的训练,并利用虚拟现实实验系统,构建直线路径虚拟现实空间,给予不同视觉刺激,观察  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠在虚拟现实下的表现,以获得该多动症模型小鼠在复杂任务下的行为学表现。

## 二、材料与方法

### 2.1 实验材料

#### 2.1.1 实验动物与分组

本研究所使用的小鼠模型均为 SPF 级雄性 129Sv/J×C57BL/6 品系小鼠（上海灵畅生物科技有限公司提供）。integrin- $\alpha 3$ （整合素）基因兴奋性神经元条件敲除小鼠（*NEX- $\alpha 3^{-/-}$* ）采用 Cre-loxp 系统技术，对 integrin- $\alpha 3$  基因实施特定细胞类型敲除进行构建。实验小鼠饲养在  $21 \pm 1$  °C 环境下，通过灯光模拟 24h 内 12h 的明周期与 12h 的暗周期。每笼中小鼠数量少于 5 只，保证小鼠拥有适宜的生存环境。本研究中所有实验动物操作过程均符合动物实验伦理规范要求。

实验选取 *NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  条件敲除小鼠繁殖所得子代纯合子 *NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  以及野生型小鼠进行实验。所有实验小鼠均选择雄性。在行为学实验前，实验动物将提前于实验房间中适应实验环境 30 分钟以上后进行行为学实验。

#### 2.1.2 实验设备

- （1）4 度冷藏冰箱，中国美菱公司；
- （2）小动物全自动感觉行为记录系统，上海梵碧智能科技有限公司；
- （3）JetBall-TFT，德国 PhenoSys 公司；
- （4）电子天平，法国 Sartorius 公司。

#### 2.1.3 实验软件

- （1）小动物行为分析系统(EthoVisionXT)，中国上海诺达思公司；
- （2）Tracing Master，上海梵碧智能科技有限公司；
- （3）虚拟现实测试系统，德国 PhenoSys 公司。

### 2.2 实验试剂

#### 2.2.1 0.5%水凝胶

单次配置 500 ml 水凝胶储存于 4°C 冰箱，用于饲喂限水小鼠。取 2.5 g 琼脂糖，加入 500 ml 水，于烧杯中加热完全溶解后分装于 50 ml 离心管中，冷藏保存。

## 2.3 实验方法

### 2.3.1 旷场实验

旷场实验是评价动物的自发活动行为、自主探索行为与焦虑情绪的经典行为学实验。其原理基于啮齿动物活动的趋避性与对新环境探索的好奇心<sup>[30]</sup>。旷场实验主要的评估指标包括：动物在中心区域的活动时间，动物进出中心区域的次数，动物在箱中的运动速度以及运动时间占比，以运动速度与运动时间评估小鼠的运动性，以中心区域的停留与进出评估小鼠的焦虑水平。

#### 2.3.1.1 旷场实验装置

旷场装置由旷场箱与数据采集分析系统两部分组成。旷场箱为白色无盖塑料箱，底面为边长 40 cm 的正方形，箱高 30 cm。实验过程中旷场箱放置于暗光隔音箱中（图 1 中未画出），顶部安装有红外摄像机，采集影像传输至计算机进行轨迹处理分析。小鼠行为轨迹采用 Noldus EthovisionXT 软件分析，将旷场箱中心 20 cm 见方的区域设定为旷场的中心区域（Center）。

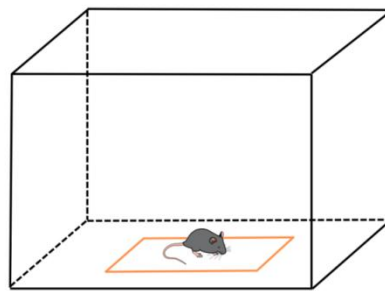


图 1. 旷场实验装置示意图

#### 2.3.1.2 旷场实验步骤

实验开始前，将实验房间内灯光调暗（光强低于 50 Lux），保证环境安静，将鼠笼放置于房间中，让小鼠适应环境 30 分钟以上，降低环境因素对实验结果的影响。

将实验装置放置于隔音箱中，调节箱内光强至低于 50 Lux。将小鼠轻柔放置于旷场箱中心区域后，关闭隔音箱箱门，实验人员立刻离开实验房间，在房间外操作系统点击开始记录，系统自动摄制小鼠 10 分钟内的自由活动并分析运动轨迹。在整个实验过程中，实验室环境保持安静无异味。每只小鼠测试之间，清洁旷场箱，清理去小鼠的尿液与粪便，用酒精喷于纸巾擦拭箱体内部，待气味散去后进行下一只小鼠的记录，以减少箱内残留气味对小鼠行为的影响。

### 2.3.2 反转学习实验

本研究利用迷宫，对小鼠进行空间上的反转学习范式训练。范式分为无视觉信息的简单空间反转学习与有视觉信息的条件匹配反转学习两种，以反转后学会新规则所需的探索次数与学会前的错误次数等评估小鼠的认知灵活性水平。

#### 2.3.2.1 反转学习实验装置

本实验所使用的反转学习实验装置为横向 80 cm，纵向 52 cm，高 20 cm 的日字形迷宫，其中反转学习决策区域为横 80 cm 纵 40 cm 的“T”型迷宫区域，迷宫过道宽 6 cm。迷宫内有 6 个自动升降门（其中 1 个在本实验中未使用，未在示意图中标出），3 处给水奖励处。给水处设有感应装置，检测到小鼠探头进入给水处后，泵水给予小鼠奖励。



图 2. 反转学习装置

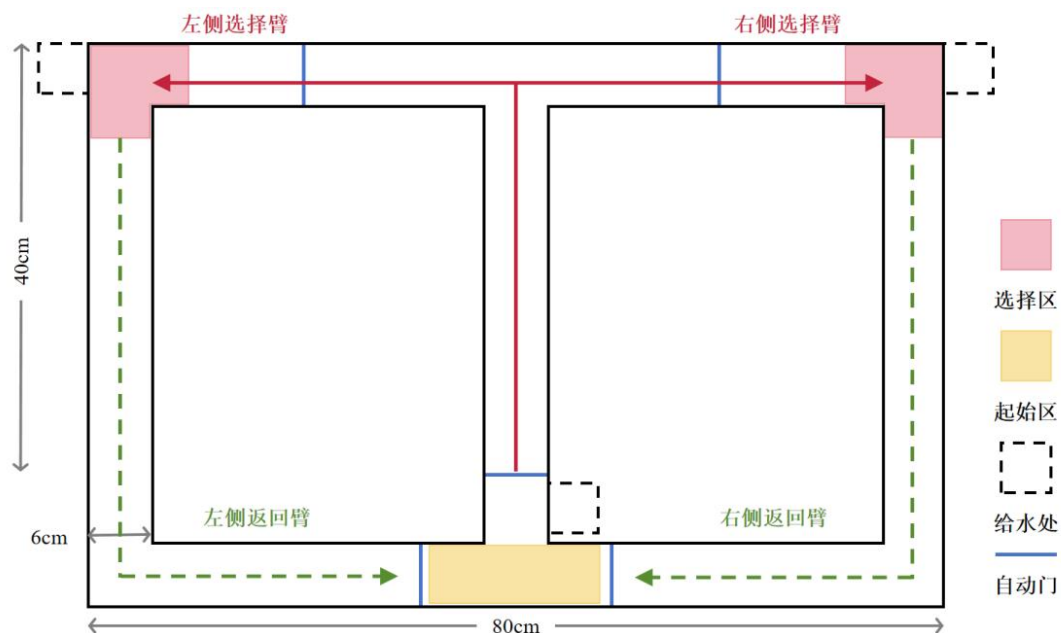


图 3. 反转学习装置示意图（俯视图）

### 2.3.2.2 反转学习实验程序基本流程

小鼠以起始区作为起点，从起始区出发至进入某侧选择区作为一次探索，返回到起始区为一次完整的试验。单天训练开始时，小鼠被放置于起始区，小鼠至起始区旁给水处获得 2  $\mu\text{L}$  水奖励后，起始区前方自动门开启。小鼠进入“T”字迷宫垂直臂后，通向起始区自动门关闭，小鼠进入选择阶段，左右侧选择臂上自动门均开启。当小鼠自由探索至某侧选择区后，认为小鼠完成该次选择，对应一侧选择臂上自动门关闭，避免小鼠返回，同时对应一侧返回臂上自动门开启。此时，若小鼠选择正确，并在选择臂上给水处探头，将获得 8  $\mu\text{L}$  水作为奖励。小鼠经由返回臂回到起始区后，返回臂上自动门关闭，小鼠重新开始新一轮探索。

### 2.3.2.3 反转学习实验步骤

实验均选择雄性小鼠，在实验开始前，先给予 48 小时禁水处理，并在训练期间限水，保持小鼠渴的状态，在后续实验设计的任务中以泵水作为奖励。每日给每只小鼠提供 1 g 左右 0.5% 水凝胶作为水分摄入的补充。限水期间密切关注小鼠体重，若小鼠体重低于禁水前体重的 80%，需暂停训练并额外补充水凝胶。

在正式反转学习开始之前，先让小鼠在迷宫中进行 1-2 天的设备适应。在适应阶段，迷宫左右两侧的给水处在小鼠探头后均会给予 8  $\mu\text{L}$  水奖励。在小鼠学会顺利从起始区出发，从选择臂回到起始处以及在选择臂上给水处探头获得奖励后，开始第一阶段的学习。

本实验中采用两种反转学习范式：一种为简单的空间反转学习，另一种为视觉条件匹配反转学习。空间反转学习在第一阶段，仅在左侧选择臂有奖励；条件匹配反转学习会在选择臂外侧的显示屏上提供横竖条纹的视觉线索，当显示横条纹时，小鼠前往左侧将获得奖励，当显示竖条纹时，小鼠需前往右侧。反转后，空间反转学习范式奖励反转为右侧臂，条件匹配反转学习横竖条纹对应奖励侧反转。小鼠连续 8 次获得奖励后，视为掌握该阶段的规则。

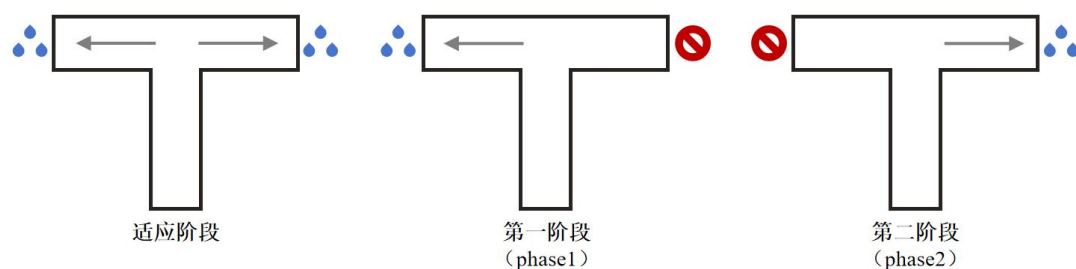


图 4. 空间反转学习范式示意图

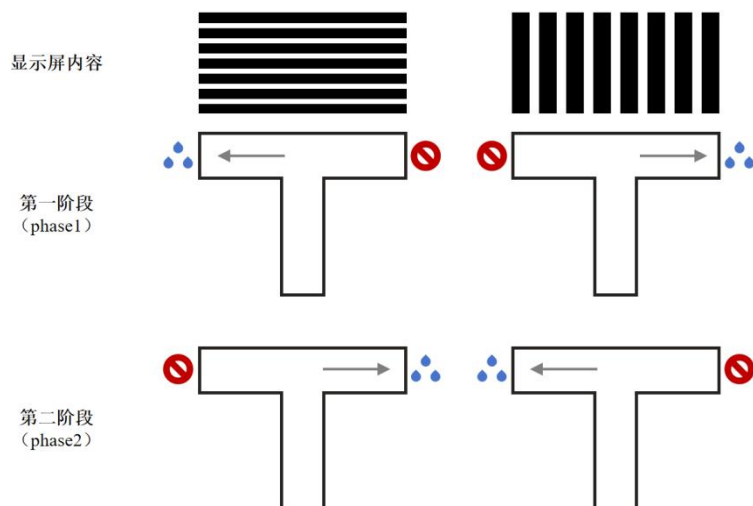


图 5. 条件匹配反转学习范式示意图

训练过程中，迷宫用遮光布与外界隔离，提供给小鼠暗光的探索环境，小鼠探索期间实验房间内保持安静。每只小鼠测试之间，用酒精清洁迷宫内部，减少气味对小鼠的影响。

训练阶段，小鼠每天在迷宫中进行 30 分钟的探索，记录其每次探索的选择。若小鼠当天训练正确率达到 70%以上或当天已经完成连对 8 次，次日进入反转过程。反转过程当天，先进行原先阶段的训练，当实时记录到小鼠连对 8 次后，停止该阶段训练，将程序调整为下一阶段后，继续训练 30 分钟。若反转阶段当日未完成连续正确 8 次，则当日不进入下一阶段的训练，次日继续进行反转阶段，直到顺利反转。对每次反转，均记录达到掌握规则标准时完成的探索次数，与达到标准前的错误次数。

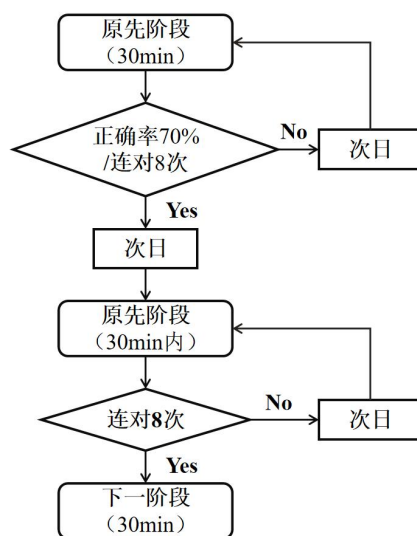


图 6. 反转过程操作示意图

### 2.3.3 虚拟现实空间导航实验

本实验在虚拟现实迷宫中构建直线空间，人为操作小鼠所能接收到的视觉信息，训练小鼠学习判别自身在空间中的位置，完成舔水任务。在虚拟现实操作系统上的运动情况可以用于分析小鼠的运动能力，在任务中的表现可以分析小鼠的学习能力与空间判别能力。

#### 2.3.3.1 虚拟现实实验装置

虚拟现实测试系统分为喷气球装置模块与控制模块。喷气球装置模块包括 270° 环绕显示器，直径 20 cm 的泡沫塑料跑球，喷气悬浮球底座及其配置的操作设备。操作设备中包含液体奖励系统，吹气系统，刹车系统，胡须刺激器与检测跑球在 XY 方向上旋转距离的感应器。操作设备与感应器均与控制模块连接，控制模块的主体为计算机，当控制模块上的程序执行对应步骤，操作设备将对小鼠进行对应操作，如给小鼠泵水、向小鼠胡须吹气等等。

因本实验使用虚拟现实空间仅让小鼠运动在直线方向上运动，跑球未使用原本喷气方式悬浮，而使用滚轴固定使其只在前后方向上滚动，不与底座接触。同时，为固定小鼠在跑球上运动，使用夹持装置连接头部固定装置保持小鼠位置。

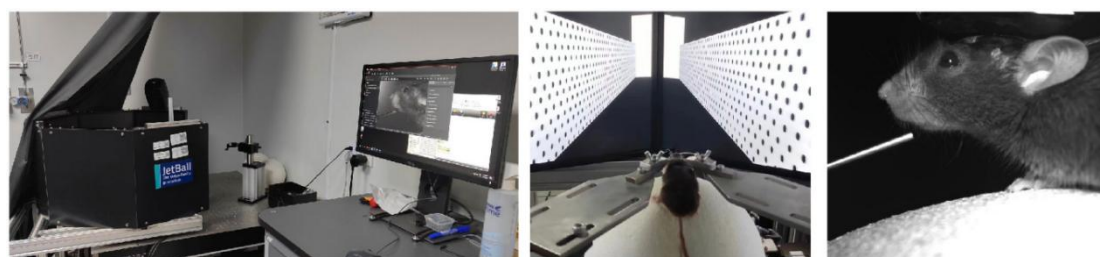


图 7. 虚拟现实实验装置

#### 2.3.3.2 虚拟现实实验步骤

选取 8 周大小的 *NEX- $\alpha$ 3<sup>-/-</sup>* 小鼠与相同背景的野生型对照小鼠，通过手术进行头部固定装置埋植，一周后对小鼠限水。限水操作同反转学习实验。

在正式实验开始之前，先使小鼠适应在跑轮上自主运动，让小鼠处在提供不间断的基础图像的虚拟现实空间环境中运动，每运动 500 单位给予约 3-4  $\mu$ L 舔水奖励。在小鼠适应在虚拟现实装置上运动后，进行空间导航范式的训练。

在空间导航范式下，针对视觉信息与体感信息的整合，实验通过虚拟现实构建直线空间，随机给予三种不同视觉刺激，分别为在奖励点有特殊视觉信息地标，仅有环境信息和全黑环境三种，并在固定距离提供奖励。对空间导航学习范式，

小鼠也将先进行适应性学习，学习过程中在对应奖励点由程序主动泵水提供奖励，在完成学习后，任务转变为需要小鼠在正确位置舔舐泵水口，在舔舐后获得奖励。虚拟现实系统中行为学数据由虚拟现实系统直接记录，包括任务中时刻对应应在虚拟空间中的位置，小鼠对泵水装置的舔舐与程序执行的命令。

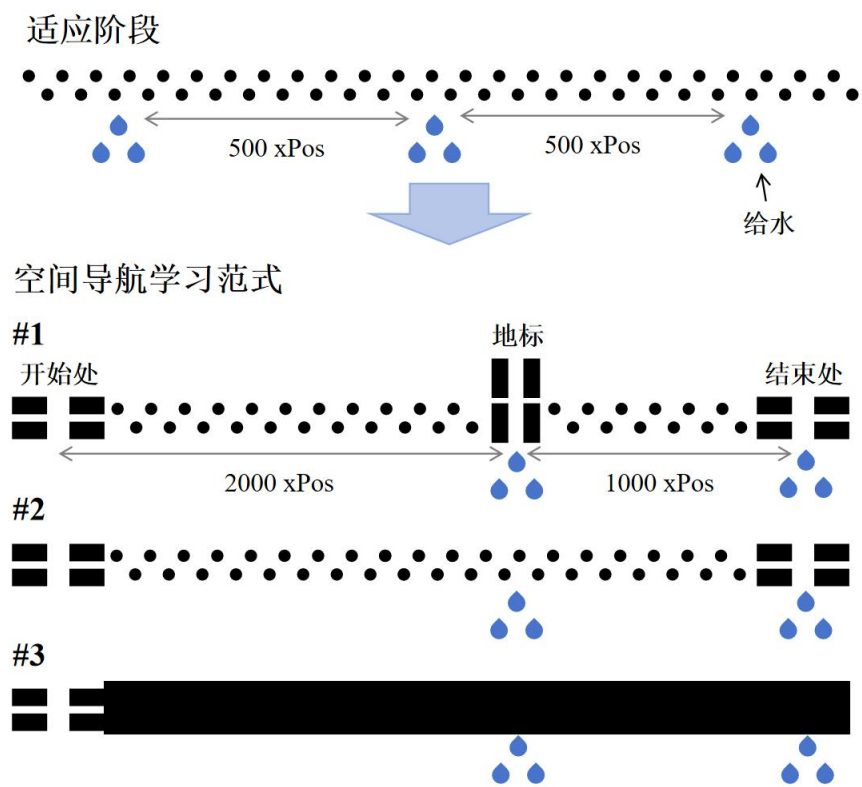


图 8. 虚拟现实空间示意图

### 三、研究结果

#### 3.1 $NEX-\alpha 3^{-/-}$ 小鼠在旷场实验中表现

在进行反转学习实验前，先对小鼠进行旷场实验，检验  $NEX-\alpha 3^{-/-}$  小鼠运动性是否与野生型小鼠具有差异。在 10 分钟的旷场自由探索时间的记录中，通过小鼠在旷场中的运动速度、运动时间占比评估小鼠的运动情况，我们观察到  $NEX-\alpha 3^{-/-}$  小鼠比野生型小鼠运动性更强，具体表现为运动速度显著增加（图 10 A），运动时间占比更高（图 10 B），与实验室前期研究结果一致。

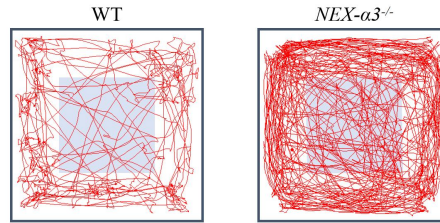


图 9. 旷场实验运动轨迹代表图

野生型（左）和  $NEX-\alpha 3^{-/-}$ （右）小鼠在旷场中的运动轨迹示例。其中红色线条为小鼠运动轨迹，方框内为旷场记录区域，蓝色区域为中心区域

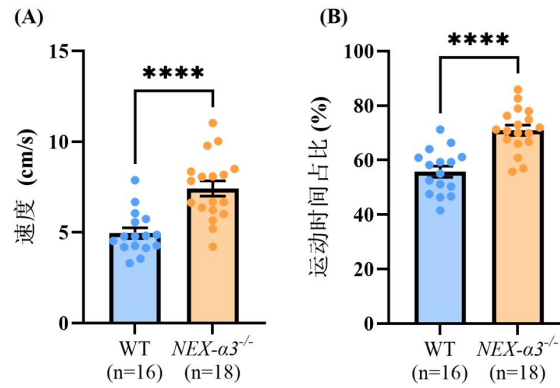


图 10. 旷场实验小鼠运动性结果

（A）小鼠在旷场中平均速度统计比较；（B）小鼠在旷场中运动时间占比的统计比较；其中，计算运动时间占比时，以小鼠运动速度大于 2 cm/s 时判定小鼠在运动；柱状图由平均值±标准误表示，使用非配对 t 检验，\*\*\*\* $p < 0.0001$

进一步，我们对  $NEX-\alpha 3^{-/-}$  小鼠的焦虑水平进行评估，分析其在旷场中心区域的停留时间和进入次数。结果表明  $NEX-\alpha 3^{-/-}$  小鼠与野生型小鼠在中心区域的时长并无明显区别（图 11 A）。与此同时， $NEX-\alpha 3^{-/-}$  小鼠进入中心区频率相较野生型小鼠有一定增加（图 11 B），符合其运动性更强的特点，同时在焦虑水平上未表现出明显差异。

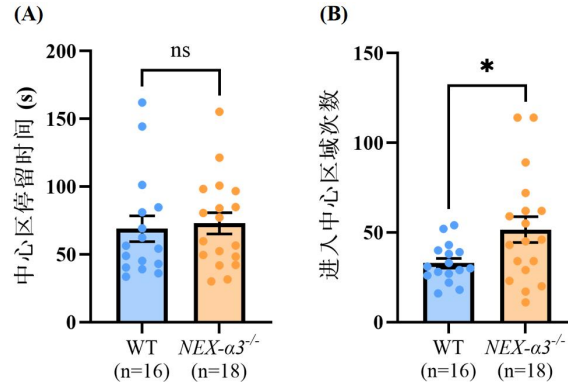


图 11. 旷场实验小鼠焦虑水平结果

(A) 小鼠在旷场中心区域停留时间的统计比较；(B) 小鼠在旷场中进入中心区域次数的统计比较；柱状图由平均值±标准误表示，使用非配对 t 检验，\* $p < 0.05$

### 3.2 *NEX-α3*<sup>-/-</sup>小鼠在反转学习范式中表现

为检测 *NEX-α3*<sup>-/-</sup>小鼠的认知灵活性，对其进行了反转学习实验。在每天训练前，对小鼠体重进行记录。以限水前体重 80%为警戒线，低于警戒线需停止训练，并且根据小鼠体重变化趋势适当调整每日水凝胶补给量。同时密切关注小鼠生理状况，包括毛发情况，眼周状态等等，保证小鼠在训练期间保有良好状态。

将记录的所有小鼠的体重与限水前体重做比值，随天数持续关注小鼠体重变化。可以发现在限水饲养阶段，即每天提供 1 g 水凝胶的情况下，*NEX-α3*<sup>-/-</sup>小鼠体重下降的程度低于野生型小鼠（图 12 A），但在最初 48 小时的禁水后，野生型小鼠与 *NEX-α3*<sup>-/-</sup>小鼠体重的下降程度没有明显差异（图 12 B）。这种现象的原因暂时不清楚，本文未做进一步分析。在饲养过程中，当小鼠出现持续的体重下降时，应及时关注小鼠的生理状态，调整饲养。

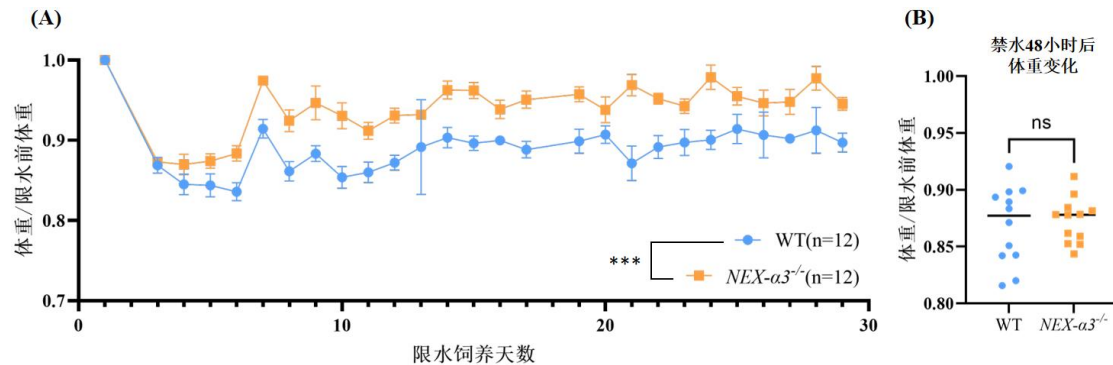


图 12. 反转学习实验期间小鼠体重记录

(A) 小鼠体重与限水前体重的比值随饲养天数的变化，数据点由平均值±标准误表示，双因素方差分析，\*\*\* $p < 0.001$ ；(B) 野生型小鼠与 *NEX-α3*<sup>-/-</sup>小鼠禁水 48 小时后体重与限水前体重比值的统计比较，散点图中标注平均值，使用非配对 t 检验

### 3.2.1 简单空间反转学习表现

对小鼠进行空间反转学习训练,在学习期间,部分小鼠表现出在迷宫中探索情况不佳,考虑到实验流程时长与连续性,将连续3次在30分钟训练中完成探索次数小于5次以及连续5次在30分钟训练中探索次数小于15次的小鼠剔除(野生型小鼠剔除3只, $NEX-\alpha 3^{-/-}$ 小鼠剔除4只)。剩余野生型组与 $NEX-\alpha 3^{-/-}$ 组各9只小鼠均完成3次反转,即经历了2次第一阶段与2次第二阶段的学习。

对小鼠的反转学习过程,分析其达到掌握该阶段规则所需的探索次数(以连续选对8次或在10次中正确9次作为达到掌握规则的标准)。比较 $NEX-\alpha 3^{-/-}$ 小鼠与野生型小鼠在初次学习以及后续3次反转学习所需次数,虽然在趋势上表现出,随反转次数增加, $NEX-\alpha 3^{-/-}$ 小鼠学习新的反转规则所需的次数高于野生型小鼠的程度逐渐增加(图13A),但在统计学上,无论是初次学习达标所需探索次数还是后续3次反转学习所需次数,均未表现出显著性(图13B)。

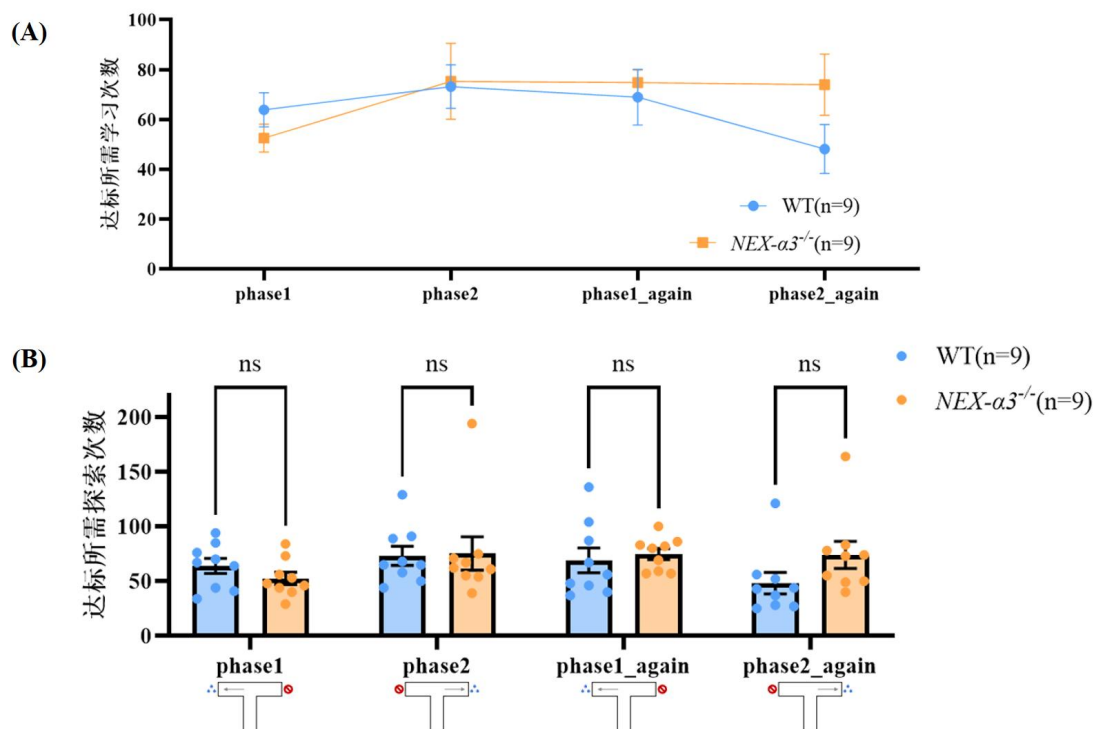


图 13. 空间反转学习达标次数

(A) 小鼠在初次学习及后续3次反转学习中达到掌握规则所需的探索次数在各阶段之间变化的趋势,数据点由平均值 $\pm$ 标准误表示;(B) 小鼠在初次学习及后续3次反转学习中达到掌握规则所需的探索次数的统计比较;柱状图由平均值 $\pm$ 标准误表示,使用非配对t检验

对小鼠反转过程进行分析,发现不同批次所训练小鼠之间表现存在差异,小鼠完成3次反转所需整体训练次数差异较大,导致小鼠进行实验的总时间跨度之

间存在差异。并且，部分小鼠在反转过程中出现前一日的训练过程中已经达到反转要求，但在次日的训练中正确率有所下降，导致无法顺利反转的情况。

在进行反转的过程中，观察到已经达到反转前标准的野生型小鼠在反转当天再次进行与前一日相同的阶段的测试时，需要更多的探索次数达到连对 8 次进入下一个阶段的学习。对该现象进行统计分析，选取每次反转均满足前一日达到反转前标准（正确率 70%以上或连对 8 次）且次日顺利反转的小鼠，对其反转当天在前一阶段的测试中连对 8 次前所需的探索次数进行比较，发现  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠相比于野生型小鼠确有在连对 8 次前所需探索次数显著性更少的情况（图 14）。这表明  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠相较于野生型小鼠更容易记住过往已经学习过的任务。

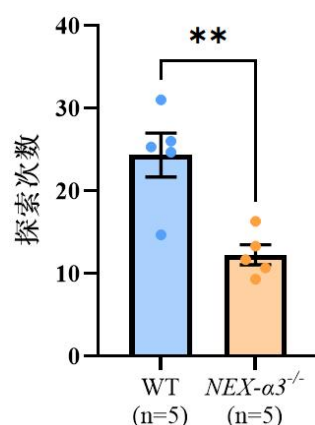


图 14. 反转前阶段达到连对 8 次所需探索次数

对在执行反转流程的小鼠，对小鼠 3 次反转过程中在反转前进行前一阶段的测试过程中达到连对 8 次的次数取平均值，在野生型小鼠与  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠之间进行统计比较；柱状图由平均值±标准误表示，使用非配对 t 检验，\*\* $p < 0.01$

由于  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠和野生型小鼠表现出的在记忆力上的差异，筛选出总训练次数在 10 次且训练天数跨度在 12 天以下的小鼠进行进一步分析（野生型组与  $NEX-\alpha3^{-/-}$  组各 5 只）。

同样分析其达到掌握该阶段规则所需的探索次数。 $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠与野生型小鼠在多次反转后所需学习次数之间的差异趋势更加明显（图 15 A），比较各阶段所需学习次数，虽然在初次学习（phase1）和第 1 次反转（phase2）中野生型小鼠与  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠未表现出显著性差异，但在第 2 次和第 3 次反转中，野生型小鼠达标所需学习次数显著少于  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠（图 15 B），说明野生型小鼠在理解达标后将进行反转这一规则上的能力优于  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠。

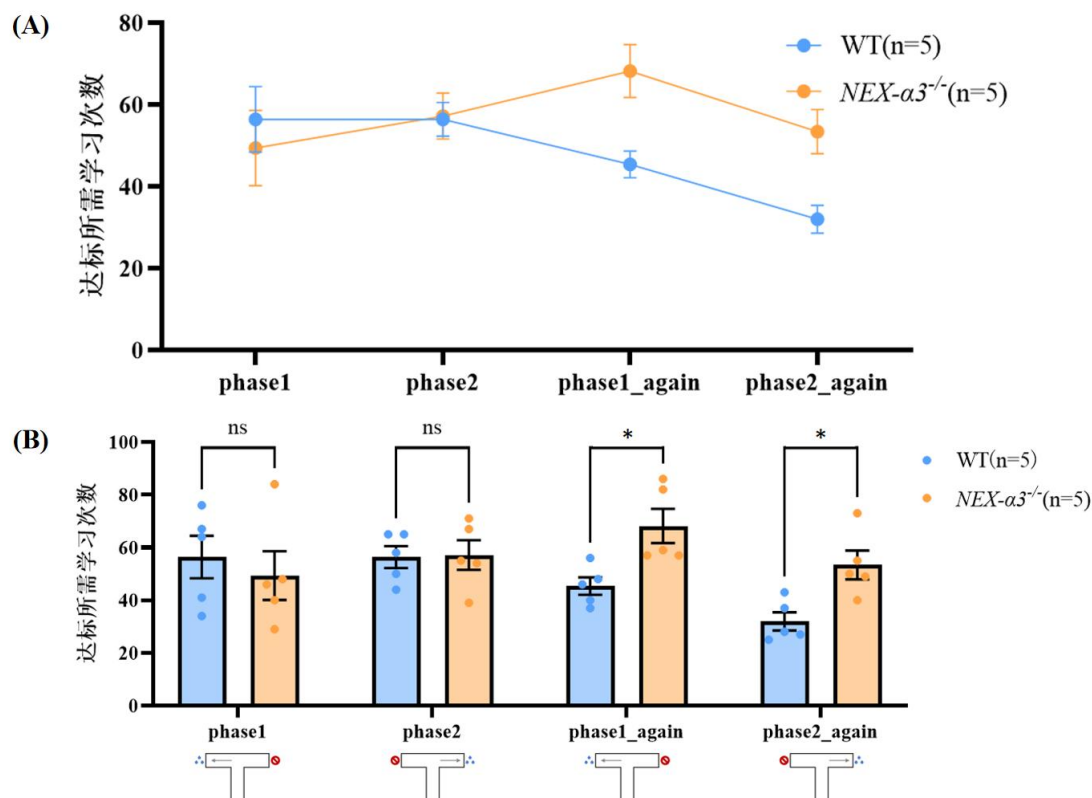


图 15. 筛选后空间反转学习达标前所需探索次数

(A) 筛选后的小鼠在初次学习及后续 3 次反转学习中达到掌握规则所需的探索次数在各阶段之间变化的趋势，数据点由平均值±标准误表示；(B) 筛选后的小鼠在初次学习及后续 3 次反转学习中达到掌握规则所需的探索次数的统计比较；柱状图由平均值±标准误表示，使用非配对 t 检验，\*p < 0.05

除此之外，对反转学习各阶段，分析其达到反转标准前所犯的错误的次数。分析发现，在第一阶段的学习和第一次反转过程中，NEX-α3<sup>-/-</sup>小鼠与野生型小鼠在达标前错误选择的次数未表现出差异的显著性，但在第二次和第三次反转学习的过程中，NEX-α3<sup>-/-</sup>小鼠所犯错误的次数显著多于野生型小鼠（图 16）。该结果与各阶段学习次数表现出的结果一致。

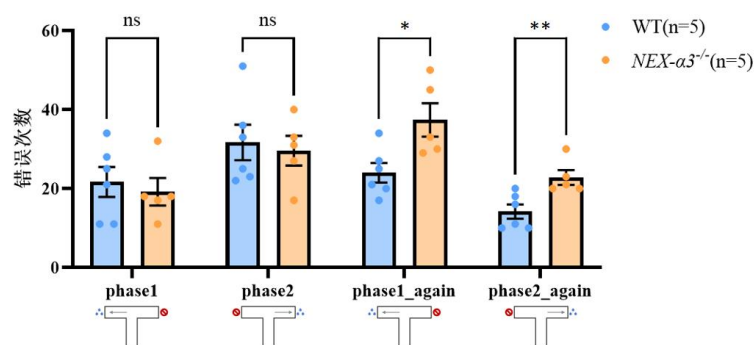


图 16. 空间反转学习达标前错误选择次数

小鼠在各阶段学习中达到掌握规则前错误选择的次数的统计比较；柱状图由平均值±标准误表示，使用非配对 t 检验，\*p < 0.05，\*\*p < 0.01

进一步动态分析小鼠各阶段学习过程,分析随探索次数增加小鼠即时正确率变化情况。在第一阶段的学习过程前期,野生型小鼠的正确率上升快于 *NEX- $\alpha$ 3<sup>-/-</sup>* 小鼠,但后续正确率变化趋势接近(图 17 A)。在第二次和第三次反转后学习过程中,可见野生型小鼠较 *NEX- $\alpha$ 3<sup>-/-</sup>* 小鼠正确率更快上升到较高水平(图 17 C, D),野生型小鼠在多次反转学习中表现出比 *NEX- $\alpha$ 3<sup>-/-</sup>* 小鼠更容易适应新的反转规则。

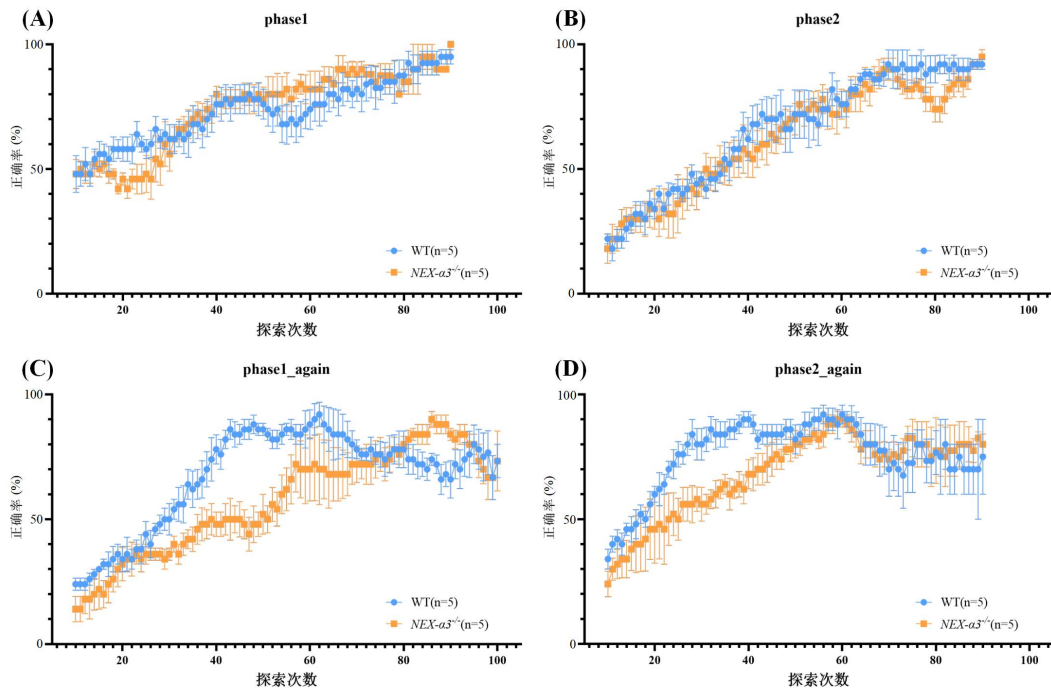


图 17. 空间反转学习各阶段正确率变化趋势

(A) 初始学习阶段小鼠正确率变化趋势;(B) 第一次反转学习小鼠正确率变化趋势;(C) 第二次反转学习小鼠正确率变化趋势;(D) 第三次反转学习小鼠正确率变化趋势;各数据点由即时正确率平均值 $\pm$ 标准误表示,即时正确率以当前探索次数前 10 次作为计算区间,计算区间内正确率水平

同时,对各阶段分析累计正确率,以每阶段第 10 次探索开始计算累计正确率,在 *NEX- $\alpha$ 3<sup>-/-</sup>* 小鼠与野生型小鼠之间进行比较。在初次学习过程中的前 40 次探索中,野生型小鼠表现出累计正确率高于 *NEX- $\alpha$ 3<sup>-/-</sup>* 小鼠,说明其前期错误次数较少,但后期趋势较为接近,整体学习情况接近(图 18 A)。在第一次反转中两组小鼠表现无显著性差异(图 18 B),但在第二次和第三次反转后的学习过程中,野生型小鼠累计正确率显著高于 *NEX- $\alpha$ 3<sup>-/-</sup>* 小鼠(图 18 C, D),说明其在多次反转的学习中可在较少的错误次数中掌握新的反转规则。

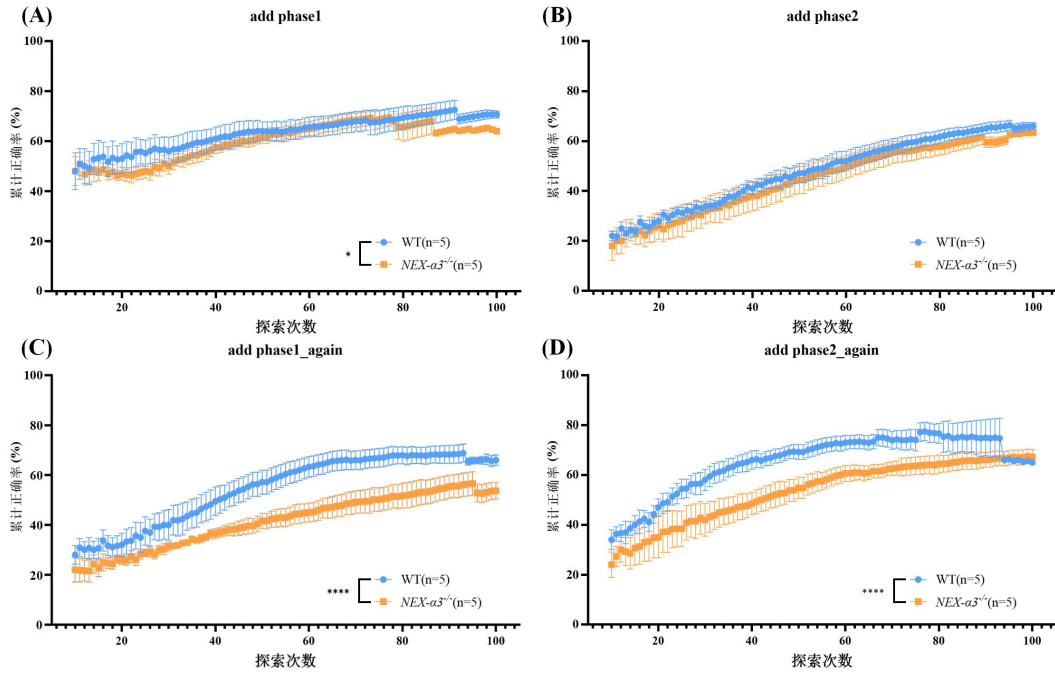


图 18. 空间反转学习各阶段累计正确率变化趋势

(A) 初始学习阶段小鼠累计正确率变化趋势；(B) 第一次反转学习小鼠累计正确率变化趋势；(C) 第二次反转学习小鼠累计正确率变化趋势；(D) 第三次反转学习小鼠累计正确率变化趋势；各数据点由累计正确率平均值±标准误表示，累计正确率为当天探索次数前所有探索次数总体的正确率；使用 Kolmogorov-Smirnov test, \* $p < 0.05$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$

### 3.2.2 条件匹配反转学习表现

除简单空间反转学习外，对小鼠还进行了更为复杂的条件匹配反转学习的训练。在条件匹配反转学习中， $NEX-\alpha3^{-/-}$ 小鼠可以顺利达到反转标准而野生型小鼠在初始学习阶段始终无法掌握最初规则（图 19）。分析原因，一方面条件匹配反转学习有强制学习阶段，在对应条纹出现时只有对应侧自动门开启使小鼠一定得到奖励， $NEX-\alpha3^{-/-}$ 小鼠在该阶段探索次数更多，学习更充分；另一方面，可能由于  $NEX-\alpha3^{-/-}$ 小鼠对视觉信息更敏感，而野生型小鼠在探索中更依赖于空间信息。

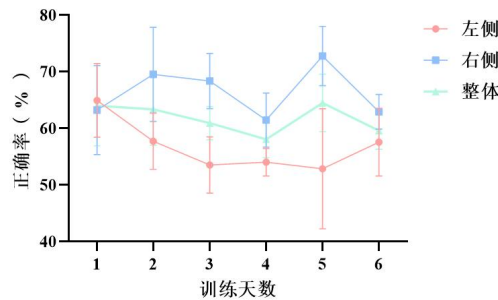


图 19. 野生型小鼠条件匹配反转学习初始阶段学习情况

野生型小鼠在初始学习条件匹配规则时随训练天数的正确率变化；数据点由平均值±标准误表示， $n=4$

但  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠在顺利进入反转后阶段的学习后，出现异常表现，小鼠在迷宫中的左右选择次数出现显著差异（图 20 A），左右两侧正确率差异明显（图 20 B），而回顾同批次  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠在最初迷宫自由探索（即左右均可获得奖励阶段）的左右选择，未发现小鼠有明显的左右偏好（图 20 C）。小鼠的左右偏好为在反转学习阶段逐渐形成的选择策略。推测  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠可能改变了学习策略，由判断横竖条纹对应奖励左右方位逐渐变为仅向单侧探索，靠快速运动提高探索次数获得大量给水奖励。

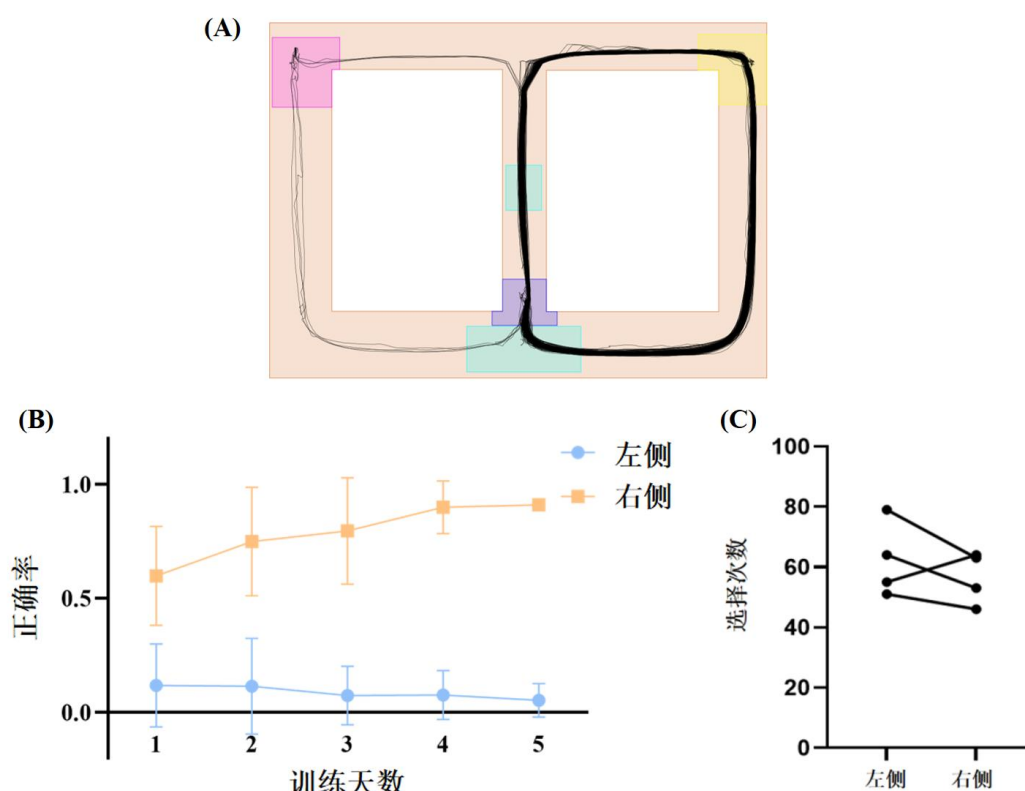


图 20.  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠条件匹配反转学习反转后情况 (n=4)

(A)  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠迷宫中异常选择轨迹示意图，橙色区域为迷宫记录区域，黑色为小鼠运动轨迹；(B) 第一次反转学习小鼠累计正确率变化趋势，数据点由平均值 $\pm$ 标准误表示，n=4；(C) 自由探索阶段  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠左右侧选择次数

但该批次野生型小鼠在第一阶段的学习中正确率始终未达到反转要求，暂未进行反转，目前无法得知演变为单侧探索的策略是否为  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠的特点，但在初始学习阶段野生型小鼠也未表现出明显的左右偏好（图 19）。

对  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠与野生型小鼠的反转学习结果进行整体分析，部分结果表明  $NEX-\alpha3^{-/-}$  小鼠在认知灵活性上可能出现了一定的损害，但仍然缺乏一定显著性的结果作为支撑。

### 3.3 $NEX-\alpha3^{-/-}$ 小鼠在虚拟现实训练下的表现

#### 3.3.1 空间导航范式适应情况

在空间导航范式学习的过程中,  $NEX-\alpha3^{-/-}$ 小鼠与野生型小鼠之间表现出对虚拟现实系统的适应能力有差别。在让小鼠初步适应虚拟现实系统后, 开始空间导航范式的训练。分析空间导航范式训练过程中每天相同的训练时间内小鼠在虚拟现实系统上的运动距离,  $NEX-\alpha3^{-/-}$ 小鼠运动表现相比于野生型小鼠较差(图 21)。该情况与  $NEX-\alpha3^{-/-}$ 小鼠作为 ADHD 模型表现出的运动性提升不符。在虚拟现实系统中, 小鼠需要在头部固定的状态下在跑球上跑动, 该运动方式对于小鼠来说需要学习与适应。但随训练天数增加, 小鼠表现并无明显进步, 可能是因为  $NEX-\alpha3^{-/-}$ 小鼠对于这种限制性较大的运动难以适应, 或在虚拟现实系统上的运动协调能力存在缺陷, 也可能是由于  $NEX-\alpha3^{-/-}$ 小鼠在虚拟现实系统上运动意愿较弱。

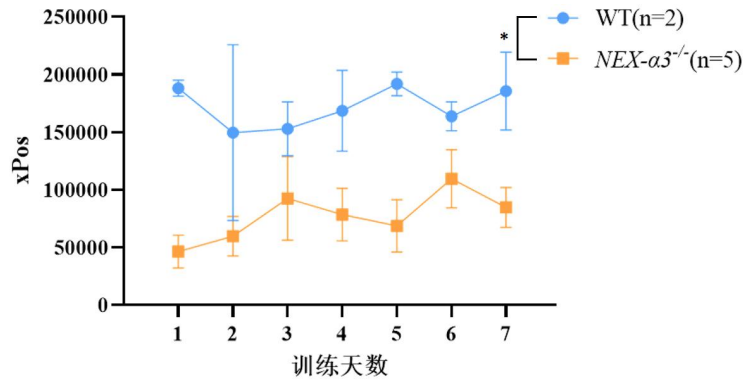


图 21. 空间导航范式学习过程中表现差异

小鼠在学习虚拟现实下空间导航范式时, 每天训练前 30 分钟内可在虚拟现实系统上运动的距离比较, 数据点由平均值 $\pm$ 标准误表示, 双因素方差分析, \* $p<0.05$

#### 3.3.2 空间导航范式任务效果

当小鼠在空间导航范式学习程序中表现稳定后, 将奖励模式由原本在对应位置由程序直接泵水更改为小鼠在正确位置舔舐后才能获得泵水奖励, 进行空间导航范式任务测试。对任务执行过程分析其运动情况。

对小鼠在任务中的运动, 计算其运动速度, 对应至空间导航范式虚拟空间位置, 对每段虚拟空间内速度绘制折线图, 得到其运动速度情况(图 22 B,C)。此部分小鼠数据较少, 仅作示例展示, 未进行统计分析。在任务测试阶段, 野生型小鼠运动速度仍快于  $NEX-\alpha3^{-/-}$ 小鼠, 且表现出更为稳定的运动状态。在空间中有地标的情况下, 野生型与  $NEX-\alpha3^{-/-}$ 小鼠都能较为准确判断给水奖励的位置进行减

速，但在无地标以及纯黑环境中，野生型小鼠的运动未出现对奖励所在区域做出反应的特征，而 *NEX- $\alpha$ 3*<sup>-/-</sup>小鼠在无地标和黑暗环境下在给水奖励前后有一定的减速行为出现。

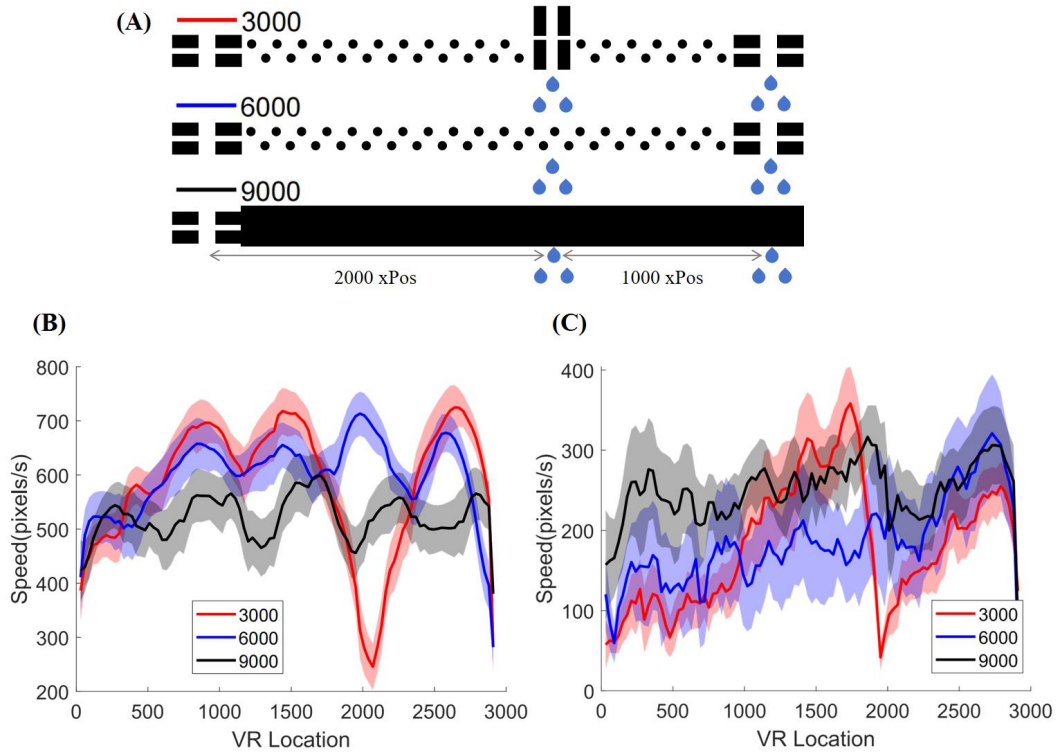


图 22. 空间导航范式任务中运动情况差异

(A) 3000, 6000 与 9000 所对应的空间导航范式虚拟空间；(B) 野生型小鼠空间导航范式下运动情况示意图，实线为空间中坐标对应平均速度，半透明区域表示标准误差；(C) *NEX- $\alpha$ 3*<sup>-/-</sup>小鼠空间导航范式下运动情况示意图，图示同 B；

## 四、讨 论

### 4.1 研究意义

ADHD 的发病机制尚在研究过程中，本研究对 *NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  小鼠的反转学习表现探索可以进一步了解该 ADHD 模型的认知灵活性受损情况，并在此基础上，进一步探究多动症患者在比较复杂的操作性学习（如反转学习）中表现异常的原因，对了解致病机制有一定意义。

而记录多动症模型小鼠在虚拟现实条件下的行为学表现数据，与正常小鼠行为表现进行比较，可获得疾病模型小鼠的虚拟现实行为学表现特征。该特征可作为后续利用虚拟现实系统研究疾病模型小鼠的行为学参考，用于进一步研究视觉光流信息与运动信息整合异常对认知障碍相关疾病发生及异常行为表现的影响。

### 4.2 存在问题

#### 4.2.1 实验结果重复数问题

由于本研究中使用行为学范式训练周期长，且测试设备同时只能测试一只实验动物，囿于本科生毕业论文实验周期，本研究部分结果对于动物行为学实验而言重复数量较少，部分结果缺少统计学显著性，同时部分结果准确性一定程度上存疑。

#### 4.2.2 小鼠批次间差异问题

由于设备限制，反转学习所得结果实际上包含 3 批小鼠的结果。但在数据分析的过程中发现，各批次之间小鼠表现存在较大差异。差异出现的原因可能为各批次小鼠之间存在一定年龄差异，且训练者本人的训练熟练度在初期较低，对训练设备存在的问题应对能力不足，导致靠前批次小鼠训练横跨时间较长。批次间的差异也导致部分数据被排除，也导致实验结果重复数不足的问题。

#### 4.2.3 ADHD 模型小鼠年龄问题

在本实验室其他对 *NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  小鼠的研究中，发现该 ADHD 模型小鼠的 ADHD 样表现随小鼠年龄的增长会有所改变。而本研究中所使用的小鼠在进行

实验时年龄存在一定差异，且整体实验时间跨度长。后续再利用 *NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  小鼠进行反转学习实验时，应该注意选取实验小鼠的年龄，并注意控制训练天数。

#### 4.2.4 小鼠记忆力差异问题

在反转过程当天达到连对 8 次所需探索次数的差异提示我们在 *NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  小鼠与野生型小鼠之间可能存在记忆力的差异。除此之外，在条件匹配反转学习的训练过程中有过一段较长时间的间隔期，但在间隔期后，*NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  小鼠仍能对条件匹配反转学习的第一阶段保持较高的正确率，但野生型小鼠则表现较差，说明两组小鼠之间对于间隔期前的学习记忆保持程度可能存在一定差异。

*NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  小鼠与野生型小鼠之间是否存在记忆能力上的区别也值得我们进行进一步探索，而在记忆力上可能存在的差别也提示我们，在进行实验时，训练的总天数的跨度可能对结果有一定影响，在实验中应该注意控制天数跨度并且保持训练的连续性。

#### 4.2.5 笼内霸凌问题

在饲养的过程中，野生型 C57BL/6 小鼠表现出较为激烈的笼内争斗与霸凌，同时笼内过度理毛情况常见。但在 *NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  小鼠中则表现出较弱的笼内斗争，且未见过度理毛情况。

考虑到笼内霸凌对小鼠状态的影响，在实验后期，当笼内出现明显的霸凌现象，会将霸凌者单独隔笼饲养。尤其对于 *NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  小鼠，其对霸凌带来的压力可能更为敏感。但在行为学实验期间，应当使生活条件相近，条件允许的情况下尽量保证单只单笼饲养。

而在笼内社交表现上的差别也可能可以作为 *NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  小鼠的特征，一方面可以考虑其与 ADHD 表现之间的关联，另一方面可以进一步探究 *integrin- $\alpha 3$*  基因的作用。

#### 4.2.6 小鼠异常状态

在实验过程中，部分 *NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  小鼠出现类似癫痫的症状，表现为从迷宫放回笼中时异常地僵直，不自然地上下点头以及发出叫声。该现象仅在 4 个月以上 *NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  小鼠中出现，目前暂不确定是否是由于 *integrin- $\alpha 3$*  基因兴奋性神经元条件敲除带来的影响。但这提醒我们在饲养 *NEX- $\alpha 3^{-/-}$*  小鼠的过程中对其健康状况应该更加关注。

#### 4.2.7 虚拟现实小鼠适应问题

但本课题的完成情况仍存在不足：较多小鼠难以完成初期对虚拟现实实验系统的训练，导致后期实际能够进行行为学训练的小鼠数量有限。且在小鼠饲养过程中，由于限水以及小鼠自身状况，部分小鼠未能完成完整的训练。综合因素导致课题大多数结果重复数小，结果可靠性存疑。

### 4.3 研究展望

#### 4.3.1 后续可行调整

对于现有空间反转学习，可在尽可能保证小鼠年龄与初始状态的前提下，进行进一步实验测试，以期获得更准确的实验结果。对条件匹配反转学习，也可以扩大实验样本量，确定是否野生型小鼠在迷宫中对视觉信息不敏感，导致难以学会视觉信息指导的规则，若后续野生型小鼠可进行反转，其表现也可以与 *NEX- $\alpha$ 3<sup>-/-</sup>* 小鼠进一步比较。

#### 4.3.2 未来展望

*NEX- $\alpha$ 3<sup>-/-</sup>* 小鼠在反转学习中的表现可以进一步药理实验等探究治疗方案及认知灵活性出现改变的可能机制等。而 *NEX- $\alpha$ 3<sup>-/-</sup>* 小鼠在实验过程中发现的一些其他的特别表现，如在规则的初次学习上更好的表现，在同笼饲养中表现出更弱的笼内斗争，在记忆能力上表现出的差异等等，一方面可以探究其与多动症发生之间的关系，另一方面也可探究 *NEX- $\alpha$ 3<sup>-/-</sup>* 小鼠中兴奋性神经元条件敲除 *integrin- $\alpha$ 3* 基因在精神发育疾病中的影响。

虚拟现实实验系统可以进一步配合双光子钙成像、在体多通道记录等技术，将运动过程中表现出来的特征与脑区活动关联分析。另一方面，还可以利用虚拟现实实验系统，将旷场实验、Y 迷宫实验等迁移经典行为学实验方法于虚拟现实环境中，在虚拟现实下探究更多疾病模型的行为学表现特征。

## 参考文献

1. Faraone SV, Asherson P, Banaschewski T, et al. Attention-deficit/hyperactivity disorder[J]. Nat Rev Dis Primers, 2015, 1:15020.
2. Posner J, Polanczyk GV, Sonuga-Barke E. Attention-deficit hyperactivity disorder[J]. Lancet, 2020,395(10222):450-462.
3. Lahey BB, Pelham WE, Loney J, et al. Instability of the DSM-IV Subtypes of ADHD from preschool through elementary school[J]. Arch Gen Psychiatry, 2005,62(8):896-902.
4. Magnin E, Maurs C. Attention-deficit/hyperactivity disorder during adulthood[J]. Rev Neurol (Paris), 2017,173(7-8):506-515.
5. Faraone SV, Larsson H. Genetics of attention deficit hyperactivity disorder[J]. Mol Psychiatry, 2019,24(4):562-575.
6. Castellanos FX. Toward a pathophysiology of attention-deficit/hyperactivity disorder[J]. Clin Pediatr (Phila), 1997,36(7):381-393.
7. Cortese S, Kelly C, Chabernaud C, et al. Toward systems neuroscience of ADHD: a meta-analysis of 55 fMRI studies[J]. Am J Psychiatry, 2012,169(10):1038-1055.
8. Cortese S, Coghill D. Twenty years of research on attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): looking back, looking forward[J]. Evid Based Ment Health, 2018,21(4):173-176.
9. Leo D, Gainetdinov RR. Transgenic mouse models for ADHD[J]. Cell Tissue Res, 2013,354(1):259-71.
10. Regan SL, Williams MT, Vorhees CV. Review of rodent models of attention deficit hyperactivity disorder[J]. Neurosci Biobehav Rev, 2022,132:621-637.
11. Takumi T, Tamada K, Hatanaka F, et al. Behavioral neuroscience of autism[J]. Neurosci Biobehav Rev, 2020,110:60-76.
12. Himanshu, Dharmila, Sarkar D, et al. A Review of Behavioral Tests to Evaluate Different Types of Anxiety and Anti-anxiety Effects[J]. Clin Psychopharmacol Neurosci, 2020,18(3):341-351.
13. Blair RJ, Leibenluft E, Pine DS. Conduct disorder and callous-unemotional traits in youth[J]. N Engl J Med. 2014;371(23):2207-2216.
14. Dionne-Dostie E, Paquette N, Lassonde M, et al. Multisensory integration and child neurodevelopment[J]. Brain Sci, 2015,5(1):32-57.
15. Panagiotidi M, Overton PG, Stafford T. Multisensory integration and ADHD-like traits: Evidence for an abnormal temporal integration window in ADHD[J]. Acta Psychol (Amst), 2017,181:10-17.
16. Uddin LQ. Cognitive and behavioural flexibility: neural mechanisms and clinical considerations[J]. Nat Rev Neurosci, 2021,22(3):167-179.
17. Izquierdo A, Brigman JL, Radke AK, et al. The neural basis of reversal learning: An updated perspective[J]. Neuroscience, 2017,345:12-26.
18. Bissonette GB, Powell EM. Reversal learning and attentional set-shifting in mice[J]. Neuropharmacology, 2012,62(3):1168-74.

19. Boulougouris V, Dalley JW, Robbins TW. Effects of orbitofrontal, infralimbic and prelimbic cortical lesions on serial spatial reversal learning in the rat[J]. *Behav Brain Res*, 2007,179(2):219-28.
20. Neill JC, Sarkisian MR, Wang Y, et al. Enhanced auditory reversal learning by genetic activation of protein kinase C in small groups of rat hippocampal neurons[J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 2001,93(2):127-36.
21. Minderer M, Harvey CD, Donato F, et al. Neuroscience: Virtual reality explored[J]. *Nature*, 2016,533(7603):324-325.
22. Young BK, Brennan JN, Wang P, et al. Virtual reality method to analyze visual recognition in mice[J]. *PLoS One*, 2018,13(5):e0196563.
23. Hölscher C, Schnee A, Dahmen H, et al. Rats are able to navigate in virtual environments[J]. *J Exp Biol*, 2005,208(Pt 3):561-9.
24. Youngstrom IA, Strowbridge BW. Visual landmarks facilitate rodent spatial navigation in virtual reality environments[J]. *Learn Mem*, 2012,19(3):84-90.
25. Pinto L, Koay SA, Engelhard B, et al. An Accumulation-of-Evidence Task Using Visual Pulses for Mice Navigating in Virtual Reality[J]. *Front Behav Neurosci*, 2018,12:36.
26. Harvey CD, Collman F, Dombeck DA, et al. Intracellular dynamics of hippocampal place cells during virtual navigation[J]. *Nature*, 2009, 461(7266):941-6.
27. Robinson NTM, Descamps LAL, Russell LE, et al. Targeted Activation of Hippocampal Place Cells Drives Memory-Guided Spatial Behavior[J]. *Cell*, 2020,183(6):1586-1599.
28. Nakai N, Sato M, Yamashita O, et al. Virtual reality-based real-time imaging reveals abnormal cortical dynamics during behavioral transitions in a mouse model of autism[J]. *Cell Rep*, 2023,42(4):112258.
29. Freeman D, Reeve S, Robinson A, et al. Virtual reality in the assessment, understanding, and treatment of mental health disorders[J]. *Psychol Med*, 2017,47(14):2393-2400.
30. 王维刚, 刘震泽, 吴文婷, 等. 小鼠动物实验方法系列专题(七)旷场实验在小鼠行为分析中的应用[J]. *中国细胞生物学学报*, 2011, 33(11):1191-1196.

## 致 谢

毕业论文对于我的本科四年来说，应该是收束与高潮的压轴大戏。不同于初中与高中，本科生活并不以一场轰轰烈烈的考试作为一锤定音的评判。相较于一个确切的结尾，本科四年的结尾更加开放，当走到最后的时刻，一切也已经书写成了一本回忆册。想想这一路，一定是四年前的我没有预料到的充满坎坷起伏失去与收获的旅程。毕业论文的致谢，也算是我在本科四年这场大戏上的谢幕词，在这里，我想对带给过我收获的一切献上我最诚挚的谢意。

作为论文的致谢，我首先要感谢在完成这篇毕业论文过程中给予我帮助的人们。首先是我的论文指导老师肖晓老师。肖晓老师在我眼中是一位非常优秀的科研工作者，虽然因为我过于的内向和过度的敬畏，让我和肖晓老师之间的交流并不算很多，但肖晓老师是第一位与我有长时间接触的科研指导者，除了课题的指导，我也将肖晓老师作为我的榜样在学习，学习一名优秀的科研工作者应该拥有什么样的素质。严谨对待工作，全身心投入，广泛交流学习，始终保持热情。希望在这么一段时间的接触中，也能让我“近朱者赤”一下。第二个要感谢的是带领我开展实验的吴启文师兄，在跟随师兄学习的过程中发生过很多有趣的故事，一起面对过实验过程中各种各样的意外事件，除了在实验操作上的教导，师兄在科研生涯上也给了我很多启发，师兄对细节规范的严谨态度和在实验室交流中的积极也是我想要努力学习的地方。当然，实验室里各位老师与学长学姐也都是我成长路上学习的对象。

对于我的毕业论文，我还想感谢参与到我的实验里的每一只小鼠，进行虚拟现实实验的 I8、I9、I11、I88、I89、I90、I309、I311、002、003、005、006、007、117、118、119 和 132；进行条件匹配反转学习实验的 181、182、183、184、361、362、363 和 364；进行简单反转学习实验的 188、189、190、191、401、402、403、404、185、186、187、405、406、407、408、1、2、3、4、5、6、521、522、523、524 和 525。虽然你们在论文中只是某一个数据点或者某个  $1/n$ （甚至部分小鼠连数据都未被记入），但是你们每一个个体都是我的实验的参与者，感谢你们的奉献，让不成器的我有所成长。

在我本科四年的学习成长中，指引我前进的“引路人”。感谢俞洪波老师，俞老师对我的鼓励让我从一个内向的不敢开口的人，变得敢于表达与交流，而在与俞老师的交流中让我对神经科学这一领域燃起兴趣。感谢蔡亮老师，在蔡老师的课上，我真正走进了科研，感受到了科研的辛苦与有趣，也看到了科研背后需要的灵光一闪与那剩下 99%所需的努力。还有每一位与我交流过的老师，在学生工作上带领我的前辈与朋辈，各种各样的学习的过程，也是我不断向外探索自我，将我塑造成今日的我的过程。

还有作为我可靠精神支柱的家人与朋友们，靠着美好的回忆与期盼，我才得以从一个个独自落泪的深夜走来。感谢我的爸爸妈妈，感谢你们给予我优渥的生活条件，也感谢你们从小便鼓励我作为一个独立的人，尊重我，让我拥有一颗一直跳动的心；感谢世界上最最好的小狗周奶酪，感谢你温暖的身躯与温暖的心，感谢你永远无条件的爱，你让我永远保留有一块柔软。感谢与我拥有同样名字读音的“世界上的另一个我”，无论我是什么样的都会坚定的肯定我，让我知道会有人一直认可我的存在，让我可以相信自己；感谢“大学生活要大学生死”群里的大家，虽然我们如同流水四散流往各处，但潮汐又总将我们带回一处，我们一起创造了太多美好的珍贵的回忆。感谢拥有过许许多多不同前缀的 4011 寝室，虽然我们性格各异，爱好也不同，但感谢你们包容我的别扭与怪脾气，陪伴我一起做了很多如果是我独自一人肯定无法做到的事情，我们一起度过了无数个充满笑声的夜晚，让我不再总担忧明天的到来，感谢你们成为我会向所有人炫耀的存在。在我无数个，在这被定义的世界无声质问寻找的时候，感谢你们成为了我的答案。

除此之外，我还想感谢一些乱七八糟的事物：感谢好奇心，因为人类拥有无尽的好奇心，我们才得以在世界中探索，去寻找真理的存在；而小鼠也是因为有着好奇的天性，才得以配合我完成我的实验。感谢失败，虽然我曾经非常痛恨你们，但从失败中，我收获了更多的经验，也有了在无尽的自我否定中还能继续磕磕绊绊前行的勇气。感谢意外，即使你也和你的孪生兄弟失败一样，总打破我的计划与预期，让我咬牙切齿，但也有更多灵活变通的灵光。感谢阳光，感谢你永远平等地温柔地照在每一个人身上，让地球上的一切有着能量的来源，也让我能看见生活中的美好，感受到活着的温度。感谢实验室走廊尽头门上的小窗，在

我疲惫于实验的时候，你所展示的一小方天光，让我得以感知时间的流逝，也让我还能想到更多更远的美好。

在感谢过这么多与我相遇过的人事物后，我想把最后一个感谢的名额留给我自己。感谢你的每个决定与努力，感谢你的坚持与倔强，感谢你咽下的每一滴泪水，感谢你成为你，成为这个，不完美的，总有无尽心事的，但也值得爱的你。

最后想用一句很喜欢的歌词作为结尾：

いざ踏み出せ 来吧，该迈步了

自慢の武器など一つもないけれど 虽然没有一件引以为傲的武器

幼い心を明日に運ぶのさ 带着稚气的心迈向明天吧