

雄性費洛蒙對雌小鼠齒狀迴神經元新生的影響

吳相余 吳俊翰 林才甯 李明洋 王慈蔚*

國立臺灣師範大學生命科學系

(收稿日期: 2010.4.20, 接受日期: 2011.5.6)

摘要

費洛蒙是與交配和生殖有關的化學信號。陌生雄小鼠的費洛蒙會使懷孕前期的雌小鼠流產，該現象稱為布魯斯效應(Bruce effect)，這顯示雌鼠能夠記憶並且辨認不同雄鼠的費洛蒙。目前對於費洛蒙辨識和記憶的研究日漸增加，但對於海馬迴中齒狀迴在嗅覺記憶的形成，以及費洛蒙對神經元新生的調控仍尚未明瞭。因此本研究將雌鼠在施打溴化去氧尿苷(5-bromo-2'-deoxyuridine, BrdU)來標定新生細胞後，飼養在公鼠住過的籠中或與一公鼠共同居住七天，來觀察公鼠費洛蒙對神經元存活、分化和增生的影響。我們發現雄鼠費洛蒙可以促進雌鼠齒狀迴神經前驅細胞的增生以及新生神經元的存活。此研究成果不僅闡明雄鼠費洛蒙與神經元新生的關係，還暗示海馬迴可能參與費洛蒙記憶的形成。

關鍵詞：成年神經元新生、費洛蒙、海馬迴

緒言

對哺乳類而言，費洛蒙是與交配和生殖有關的化學信號(Brennan and Keverne, 2004; Dulac and Torello, 2003)。以小鼠為例，受孕前期的雌鼠在接觸到陌生的雄性費洛蒙時，會導致胚胎無法著床，而著床的胚胎則會被母體吸收或導致流產(Bruce, 1959; Storey and Snow, 1990)，此種現象稱為布魯斯效應(Bruce effect)。這代表雌鼠能夠記憶並且辨認不同雄鼠的費洛蒙。而研究也證實雌鼠能依賴嗅覺辨認不同個體的費洛蒙，並經由海馬迴形成記憶(Slotnick, 2001)。

嗅球(olfactory bulb)和海馬迴(hippocampus)的齒狀迴(dentate gyrus)是產生嗅覺辨認與記憶形成的主要構造(Slotnick, 2001; Davis, 2004)，而這兩個構造在成年的哺乳類腦中都存在著持續的神經元新生(neurogenesis)(Doetsch and Hen, 2005; Ming and Song, 2005)。以小鼠的嗅球來說，神經元新生的來源位於前腦的側腦室區(subventricular zone of the lateral ventricle, SVZ)。此區的神經母細胞會不斷增生，藉由rostral migratory stream (RMS)遷徙到嗅球，分化為中間神經元(interneuron) (Lois and Alvarez-Buylla, 1994)，並參與嗅覺分辨(Enwere *et al.*, 2004)和記憶(Rochefort *et al.*, 2002)。嗅球中的副嗅球(accessory olfactory bulb)是犁鼻系統

(vomeronasal system)的一部分，調控由費洛蒙所引起的內生性反應(Brennan and Keverne, 2004)。其前端被認為能分辨與生殖相關的費洛蒙訊息(Dudley and Moss, 1999; Dulac and Torello, 2003)。齒狀迴內側區(subgranular zone)則有神經前驅細胞，會增生並分化為顆粒細胞(granule cells)，參與學習和記憶功能(Meshi *et al.*, 2006; Shors *et al.*, 2001)。

目前已知神經滋養因子、腦傷、運動、學習以及動物的生活環境等可以調節出生後嗅球和海馬迴的神經元新生(Lichtenwalner and Parent, 2006)，但與動物生存息息相關的因素對成年神經元新生的研究依舊不多。少數研究證實當雌鼠暴露在雄鼠費洛蒙中，會促進嗅球和齒狀迴的神經元新生(Mak *et al.*, 2008)。但其影響的細胞層次仍尚未明瞭。因此，本研究將雌鼠飼養在不同的費洛蒙環境中，來觀察費洛蒙對齒狀迴神經元存活、分化和增生的影響。我們發現雄鼠費洛蒙會促進此區神經前驅細胞的增生，以及幫助新生神經元的存活。

材料與方法

動物

出生後6到8週，無性經驗的ICR品系雄鼠與雌鼠，每籠(189 mm × 297 mm × 128 mm)飼養

*通信作者：王慈蔚 (Tsu-Wei Wang)；FAX：886-2-29312904；E-mail：twwang@ntnu.edu.tw

5 到 6 隻同性別小鼠，飼料和給水採取任意採食 (*ad libitum*)，12 小時日夜循環，室溫 24°C。

BrdU 注射

劑量為腹腔注射 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU; 100 mg/kg 體重)，在分組 7 天前打入 2 次，每次間隔約 6 小時。

實驗設計

將雌鼠分為控制組、墊料組、雄雌同住組和兩雌同住組。控制組每籠飼養 1 隻雌鼠，每 2 天更換 1 次墊料；墊料組每籠飼養 1 隻雌鼠，每 2 天更換 1 次由 1 隻特定雄鼠使用過的墊料；雄雌同住組和兩雌同住組，每 2 天更換 1 次墊料。實驗持續 7 天。

組織切片

小鼠以 17 $\mu\text{L/g}$ 體重的 Avertin 腹腔注射深度麻醉後，先以 4°C 的 0.9% NaCl 溶液灌流心臟，再以 4°C 的 4% paraformaldehyde (PFA) 灌流以固定組織。灌流結束後將鼠腦取出，存放至 4°C 的 4% PFA 中進行後固定 24 小時。以 20% 蔗糖溶液脫水後，再以乾冰急速冷凍，最後以滑動式切片機 (Leica SM2010 R) 進行厚度為 40 μm 的冠狀切片。

免疫組織染色

將組織切片在室溫中以 Tris-buffered saline (TBS) 清洗 3 次，在室溫中以 blocking buffer (1% glycine, 0.4% TX-100, 3% bovine serum albumin (BSA), 10% normal goat serum (NGS), 0.1% Sodium azide 溶於 TBS 中) 浸洗 1 小時。若為 BrdU 免疫染色，則在 blocking buffer 前，於 37°C 中以 2N HCl 溶液浸洗 30 分鐘，再以 0.1 M sodium borate 於室溫中浸洗 10 分鐘中和。之後將組織置於 4°C 初級抗體 rat anti-BrdU (1:200; Accurate)、mouse anti-NeuN (1:1000; Millipore) 或 rabbit anti-Ki67 (1:250; NOVocastra) 浸泡 16~18 小時。以 TBS 在室溫中清洗 3 次後，將組織移入次級抗體 goat anti-mouse (1:200; Jackson Immuno Research)、goat anti-rat (1:200; Jackson Immuno Research) 和 goat anti-rabbit (1:200; Jackson Immuno Research) 中 2 小時。以 TBS 於室溫中清洗 3 次後，將組織安置在載玻片上，待其乾燥以 anti-fade reagent (Invitrogen) 黏上蓋玻片。待玻片乾燥以 Leica TCS SP2 Confocal Spectral Microscope Imaging System 觀察紀錄組織染色結果。

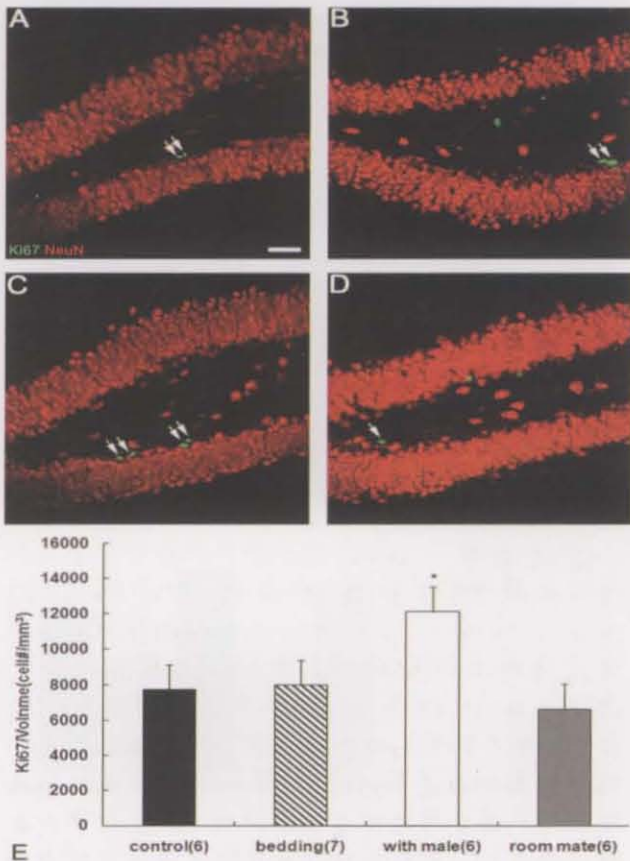
共軛焦顯微影像分析

每隻動物在海馬迴中段的部分取六片組織進行螢光免疫染色實驗，所有組織切片免疫染色結果由共軛焦顯微造影 (Leica TCS SP2 Confocal Spectral Microscope Imaging System)，並以 Photoshop 軟體輔助進行細胞密度計數，最後進行 Student's *t*-test 統計分析。

結果

首先，我們探討雄鼠費洛蒙是否影響齒狀迴下區中神經前驅細胞的增生。透過 Ki67 (Bullwinkel *et al.*, 2006) 染色來辨識增生中的神經前驅細胞，發現齒狀迴下區中被 Ki67 所標定的細胞數量，雄雌同住組 (12102.07 ± 2239.12 cells/mm³) 顯著大於控制組 (7735.37 ± 812.62 cells/mm³) (圖一； $p < .05$)，且雄雌同住組也有大於兩雌同住組 (6649.99 ± 1414.40 cells/mm³) 的趨勢。墊料組 (7985.91 ± 830.24 cells/mm³)、兩雌同住組與控制組間則無顯著差異。其中兩雌同住組為雄雌同住組籠中動物數目的控制組。由於雄雌同住組的母鼠往往都有懷孕現象，以上結果代表雄鼠費洛蒙、交配或懷孕會促進齒狀迴下區中神經前驅細胞的增生。

接下來，我們研究雄鼠費洛蒙是否影響齒狀迴下區中新生細胞的分化與存活。齒狀迴新生成的細胞大約需要 14 天才能在形態上達到成熟 (Zhao *et al.*, 2006)。為了能夠在其成熟之前觀察費洛蒙對其存活及分化的影響，在實驗開始前七天，以腹腔注射方式給予母鼠胸腺嘧啶 (thymidine) 的類似物 BrdU。在細胞週期中，BrdU 可取代胸腺嘧啶被嵌入 DNA，而藉此標定新生細胞。之後可以透過 BrdU 的免疫組織染色，來觀察特定時期新生細胞存活與分化的狀況。從 BrdU 免疫組織染色結果中，墊料組 (14375.31 ± 723.13 cells/mm³) 與雄雌同住組 (12862.99 ± 2053.57 cells/mm³) 新生成細胞的數目皆顯著大於控制組 (7424.00 ± 1705.42 cells/mm³) (圖三 A； $p < .01$ ； $p < .05$)，且雄雌同住組也有大於兩雌同住組 (10454.14 ± 1929.80 cells/mm³) 的趨勢。墊料組與雄雌同住組間，以及兩雌同住組與控制組間則無顯著差異 (圖二、三 A)。這代表費洛蒙會促進 7 天前新生細胞的存活，而與雄鼠的互動對新生細胞的存活並不會更加增進。與雌鼠同住不促進新生細胞的存活，代表雄雌同住組對新生細胞存活的影響並非同伴效應所致。以上結果更進一步支



圖一、費洛蒙促進齒狀迴神經前驅細胞的增生。為了探討雄鼠費洛蒙對雌鼠齒狀迴神經前驅細胞增生的影響，將雌鼠分為控制組(control, A)，墊料組(bedding, B)，雄雌同住組(with male, C)，或兩雌同住組(room mate, D)，實驗進行七天。實驗結束後，將雌鼠犧牲並進行細胞週期專一蛋白Ki67(綠色，箭號)和神經元專一蛋白NeuN(紅色)免疫螢光染色，來計數齒狀迴於細胞週期中細胞的數目。結果顯示雄雌同住組於細胞週期中的細胞顯著高於其他組別(C, E)。柱狀圖為細胞密度(平均±SE)。*表示與控制組比較， $p < .05$ (t -test)。比例尺：40 μ m。

Figure 1. Male pheromones increase cell proliferation in the dentate gyrus of female mice. To study whether male pheromones regulate cell proliferation in the dentate gyrus of female mice, individual adult female mouse was housed in either a brand new cage (control, A), a cage previously housed a male (bedding, B), housed with a male (with male, C) or with a female (room mate, D) for seven days. These females were then sacrificed and processed for Ki67 (cell cycle marker; green, arrows) and NeuN (neuronal marker, red) staining to quantify dividing cell number in the dentate gyrus. When a female mouse was housed with a male (with male group), Ki67-positive cells in the dentate gyrus were significantly increased (C, E). Data are presented as means \pm SE. * compared with the control group; * denotes $p < .05$ (t -test). Scale bar: 40 μ m.

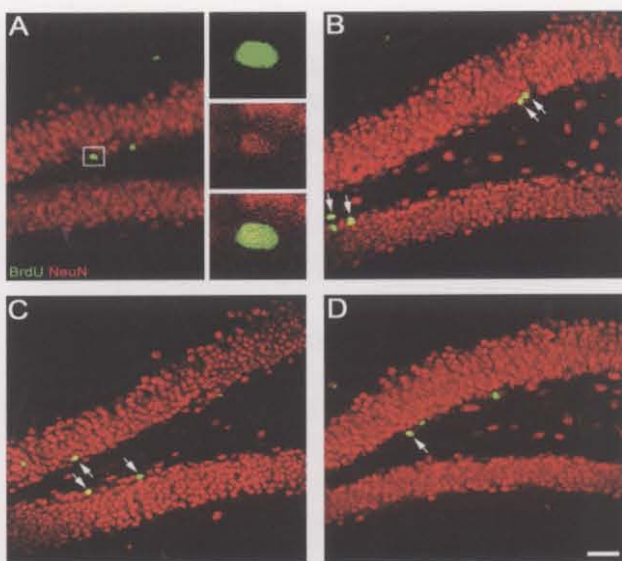
持促進新生成細胞存活的現象主要來自雄鼠費洛蒙。

我們也以BrdU與NeuN (Mullen *et al.*, 1992)共同染色來辨識新生的神經元。發現七成以上的新細胞都同時表現成熟神經元細胞的專一蛋白NeuN，代表在進行費洛蒙實驗前7天所新生的細胞在此時已分化為神經元(圖二、三 B)。且墊料組(11691.40±1268.25 cells/mm³)與雄雌同住組(11705.04±2048.13 cells/mm³)新生成神經元的數目皆顯著大於控制組(5965.13±1263.63 cells/mm³)(圖三 B; $p < .01$; $p < .05$)，且雄雌同住組也有大於兩雌同住組(7830.99±1863.97 cells/mm³)的趨勢。墊料組與雄雌同住組間，以及兩雌同住組與控制組間則無顯著差異(圖二、三 B)。代表費洛蒙會促進新生神經元的存活，而與雄鼠的互動對此並沒有加成效果。與雌鼠同住也不促進新生神經元的存活，代表雄雌同住組對新生神經元存活的影響並非同伴效應所致。若探討神經前驅細胞分化成神經元的比例，所有的實驗組與控制組間皆無顯著差異(圖三 C)。代表雄鼠費洛蒙並不會影響神經前驅細胞分化成神經元的能力。綜合以上結果，雄鼠費洛蒙主要的效果在於促進神經前驅細胞的增生與新生神經元的存活。

討論

本篇研究旨在探討雄性費洛蒙對雌鼠齒狀迴神經元新生的影響。我們發現雄性費洛蒙除了可以促進齒狀迴神經前驅細胞的增生之外，還能增進新生神經元細胞的存活。此成果不僅說明費洛蒙與成年齒狀迴神經元新生的關係，還進一步指出海馬迴可能參與費洛蒙記憶的形成和齧齒動物的生殖行為。

關於費洛蒙與成年神經元新生的關係，先前研究多著重在嗅球方面。有研究指出，雄鼠費洛蒙會增進成年雌鼠側腦室下區神經前驅細胞的增生，以及嗅球的神經元新生(Mak *et al.*, 2008; Larsen *et al.*, 2008)。雄鼠費洛蒙也會促進成年雌鼠副嗅球的神經元新生(Oboti *et al.*, 2009)。本篇研究進一步證實除了嗅球和副嗅球外，雄鼠費洛蒙還會增加增生中的齒狀迴神經前驅細胞數目，以及幫助新生神經元的存活。此結果，不僅與Mak等人(Mak *et al.*, 2008)以優勢雄鼠的費洛蒙當作實驗材料，來促進雌鼠齒狀迴神經元新生的結果一致，還更清楚闡明其細胞機制在於增進

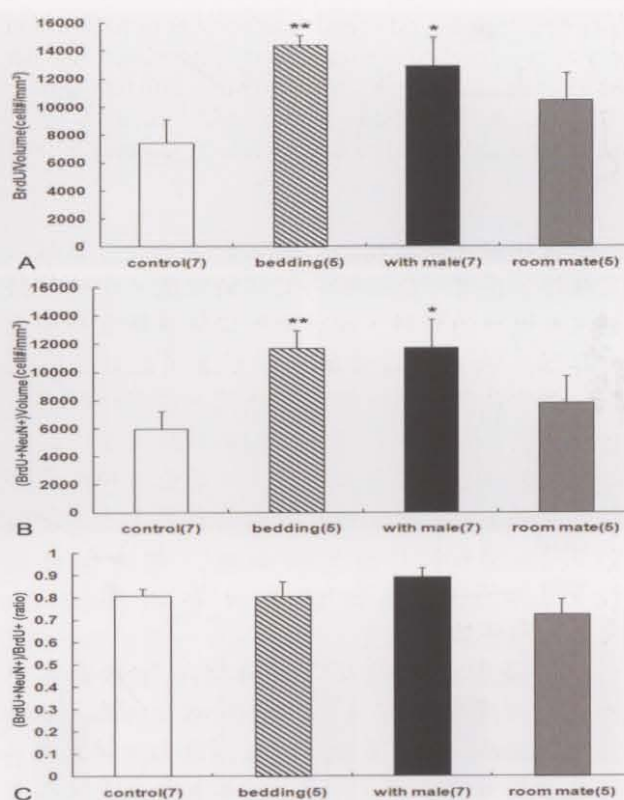


圖二、費洛蒙促進齒狀迴新生神經元存活的免疫螢光染色圖。為了探討雄鼠費洛蒙對雌鼠齒狀迴神經元新生的影響，實驗開始前七天，施予BrdU注射來標定新生細胞。之後，將雌鼠分為控制組(A)，墊料組(B)，雄雌同住組(C)，或兩雌同住組(D)，實驗進行七天。實驗結束後，將雌鼠犧牲並進行BrdU(綠色，標定新生細胞，箭號)和NeuN(紅色，標定神經元)免疫螢光染色，來計數齒狀迴中新生細胞和新生神經元的數目。圖A小圖為共軛焦顯微鏡確認同一細胞(大圖方塊內)共同表現BrdU和NeuN的放大圖。結果顯示墊料組和雄雌同住組新生細胞和新生神經元細胞數目多於其他組別。比例尺：40 μm 。

Figure 2. Immunofluorescence data of effects of male pheromones on adult neurogenesis in dentate gyrus of female mice. To study whether male pheromones regulate neurogenesis in the dentate gyrus of female mice, adult female mice were injected with BrdU to label newly generated cells. Seven days later, individual female was housed in either a brand new cage (A), a cage previously housed a male (B), housed with a male (C) or with a female (D) for seven days. These females were then sacrificed and processed for BrdU (green, arrows) and the neuronal marker NeuN (red) staining to quantify newborn cell and neuron number in the dentate gyrus. Insets in panel A show double labeled cells (Top: BrdU; Middle: NeuN; Bottom: Merged). Our result showed that both of the bedding group (B) and the with male group (C) had more BrdU-positive cells (ie new cells) and BrdU, NeuN double-positive cells (ie new neurons) in the dentate gyrus than the control group (A). Scale bar: 40 μm .

神經前驅細胞的增生和新生神經元的存活。

有研究指出，懷孕會促進成年雌鼠嗅球的神經元新生(Shingo *et al.*, 2003)。在雄雌同住組中，雌鼠大多有懷孕的情形。此組神經前驅細胞增生



圖三、費洛蒙促進齒狀迴新生神經元的存活。為了探討雄鼠費洛蒙對雌鼠齒狀迴神經元新生的影響，實驗開始前七天，施予BrdU注射來標定新生細胞。之後，將雌鼠分為控制組(control)，墊料組(bedding)，雄雌同住組(with male)，或兩雌同住組(room mate)，實驗進行七天。實驗結束後，將雌鼠犧牲並進行BrdU和NeuN免疫螢光染色，來計數齒狀迴中新生細胞和新生神經元的數目。結果顯示墊料組和雄雌同住組新生細胞細胞數目顯著多於其他組別(A)。墊料組和雄雌同住組新生神經元數目也顯著多於其他組別(B)。但神經元分化百分比，即新神經元數目(BrdU+, NeuN+)除以新細胞數目(BrdU+)，在不同組別之間則無顯著差異(C)。柱狀圖為細胞密度(A, B)和分化百分比(C)(平均 \pm SE)。*表示與控制組比較，*： $p < .05$ ；**： $p < .01$ (*t*-test)。

Figure 3. Male pheromones increase cell survival of newborn neurons in the dentate gyrus of female mice. To study whether male pheromones regulate neurogenesis in the dentate gyrus of female mice, adult female mice were injected with BrdU to label newly generated cells. Seven days later individual female was housed in either a brand new cage (control), a cage previously housed a male (bedding), housed with a male (with male) or with a female (room mate) for seven days. These females were then sacrificed and processed for BrdU and the neuronal marker NeuN staining to quantify newborn cell and neuron number in the dentate gyrus. Both of the bedding group and the with male group had more BrdU-positive cells (ie new cells, A) and BrdU, NeuN double-positive cells (ie new neurons, B) in the dentate gyrus than the

control group. No difference in neuronal differentiation (percentage of BrdU, NeuN double-positive cells per BrdU-positive cells) is found between different groups (C). Data are presented as means \pm SE. * compared with the control group; * denotes $p < .05$; ** denotes $p < .01$ (t -test).

和新生神經元存活增加的狀況，除了費洛蒙的效果之外，還有可能是因為懷孕的緣故。由於墊料組沒有懷孕的問題，卻還是可以促進新生神經元的存活，代表費洛蒙本身即可達到此效果。此外，與雄鼠同住的雌鼠也可能因為有同伴的存在而壓力較小，進而影響齒狀迴的神經新生。從與兩雌同住組的比較可以發現，不管是在神經前驅細胞的增生或是新生神經元的存活方面，同伴的存在並不會有任何增進效果(圖一；圖三 A, B)，代表雄雌同住組在這兩方面的增進效果並非單純來自同伴效應。

費洛蒙或懷孕會透過腦中泌乳激素的增加，來增進嗅球神經元新生(Mak *et al.*, 2008; Larsen *et al.*, 2008; Shingo *et al.*, 2003)。但費洛蒙是透過何種機制來促進成年海馬迴的神經元新生，則還不是十分明確。只知道費洛蒙並非透過泌乳激素來影響海馬迴的神經元新生，而有可能是由促黃體激素來當作媒介(Mak *et al.*, 2008)。我們接下來會繼續研究費洛蒙調控成年神經元新生的分子機制。對成年神經元新生調控機制的探討，不僅可以幫助瞭解其生理意義，更能為以神經幹細胞治療腦傷以及神經退化性疾病的方法嶄露曙光。

致 謝

本研究經費來自國家科學委員會計畫「成年嗅球神經元發生調控機制及其在母鼠生殖行為上功能的探討」(NSC 97-2320-B-003 -006-MY2)，以及國立台灣師範大學新任教師之專題研究費「The role and mechanism of adult olfactory neurogenesis in the female reproductive behavior」。影像攝取感謝國立臺灣師範大學生命科學系分子影像核心實驗室的協助。

參考文獻

- Brennan PA and Keverne EB. 2004. Something in the air? New insights into mammalian pheromones. *Curr. Biol.* 14: R81-R89.
- Bruce, HM. 1959. An exteroceptive block to pregnancy in the mouse. *Nature* 184: 105.
- Bullwinkel J, Baron-Lühr B, Lüdemann A, Wohlenberg C, Gerdes J and Scholzen T. 2006. Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells. *J. Cell Physiol.* 206: 624-635.
- Davis RL. 2004. Olfactory learning. *Neuron* 44: 31-48.
- Doetsch F and Hen R. 2005. Young and excitable: the function of new neurons in the adult mammalian brain. *Curr. Opin. Neurobiol.* 15: 121-128.
- Dudley CA and Moss RL. 1999. Activation of an anatomically distinct subpopulation of accessory olfactory bulb neurons by chemosensory stimulation. *Neuroscience* 91: 1549-1556.
- Dulac C and Torello AT. 2003. Molecular detection of pheromone signals in mammals: from genes to behavior. *Nat. Rev. Neurosci.* 4: 551-562.
- Enwere E, Shingo T, Gregg C, Fujikawa H, Ohta S and Weiss S. 2004. Aging results in reduced epidermal growth factor receptor signaling, diminished olfactory neurogenesis, and deficits in fine olfactory discrimination. *J. Neurosci.* 24: 8354-8365.
- Larsen CM, Kokay IC and Grattan DR. 2008. Male pheromones initiate prolactin-induced neurogenesis and advance maternal behavior in female mice. *Horm. Behav.* 53: 509-517.
- Lichtenwalner RJ and Parent JM. 2006. Adult neurogenesis and the ischemic forebrain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 26: 1-20.
- Lois C and Alvarez-Buylla A. 1994. Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science* 264: 1145-1148.
- Mak GK, Enwere EK, Gregg C, Pakarainen T, Poutanen M, Huhtaniemi I and Weiss S. 2007. Male pheromone-stimulated neurogenesis in the adult female brain: possible role in mating behavior. *Nat. Neurosci.* 10: 1003-1011.
- Meshi D, Drew MR, Saxe M, Ansorge MS, David D, Santarelli L, Malapani C, Moore H and Hen R. 2006. Hippocampal neurogenesis is not required for behavioral effects of environmental enrichment. *Nat. Neurosci.* 9: 729-731.
- Ming G.L and Song H. 2005. Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. *Annu. Rev. Neurosci.* 28: 223-250.

- Mullen RJ, Buck CR and Smith AM. 1992. NeuN, a neuronal specific nuclear protein in vertebrates. *Development* 116: 201-211.
- Oboti L, Savalli G, Giachino C, De Marchis S, Panzica GC, Fasolo A and Peretto P. 2009. Integration and sensory experience-dependent survival of newly-generated neurons in the accessory olfactory bulb of female mice. *Eur. J. Neurosci.* 29: 679-692.
- Rochefort C, Gheusi G, Vincent JD and Lledo PM. 2002. Enriched odor exposure increases the number of newborn neurons in the adult olfactory bulb and improves odor memory. *J. Neurosci.* 22: 2679-2689.
- Shingo T, Gregg C, Enwere E, Fujikawa H, Hassam R, Geary C, Cross JC and Weiss S. 2003. Pregnancy-stimulated neurogenesis in the adult female forebrain mediated by prolactin. *Science* 299: 117-120.
- Shors TJ, Miesegaes G, Beylin A, Zhao M, Rydel T and Gould E. 2001. Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories. *Nature* 410: 372-376.
- Slotnick B. 2001. Animal cognition and the rat olfactory system. *Trends Cogn. Sci.* 5: 216-222.
- Storey AE and Snow DT. 1990. Postimplantation pregnancy disruptions in meadow voles: Relationship to variation in male sexual and aggressive behavior. *Physiol. Behav.* 47: 19-25.
- Zhao C, Teng EM, Summers RG Jr, Ming GL and Gage FH. 2006. Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus. *J. Neurosci.* 26: 3-11.

Roles of Male Pheromones in Adult Neurogenesis in the Dentate Gyrus of Female Mice

Hsian-Yu Wu, Jyun-Han Wu, Tsai-Ning Lin, Ming-Yang Li, Tsu-Wei Wang*

Department of Life Science, National Taiwan Normal University
Taipei, Taiwan

(Received: 20 April 2011, accepted: 6 May 2011)

ABSTRACT

Pheromones are chemical signals critical for reproduction. Female mice can form an “olfactory memory” specifically to her partner’s pheromones so that she will not reenter the estrus cycle after mating and cause a miscarriage. This is known as the Bruce effect. The olfactory bulb and hippocampus, two adult neurogenic sites, are involved in the formation of pheromonal memory. Although the roles of pheromones in adult neurogenesis are emerging, whether they affect cell proliferation, neuronal differentiation or survival remains elusive. After labeling newborn cells with 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) in female mice, they were housed either in a cage previously occupied by a male or with a male for seven days. We found that male pheromones could promote cell proliferation and survival but not neuronal differentiation of newborn cells in the dentate gyrus of female mice. These results indicate that male pheromones regulate adult hippocampal neurogenesis and adult neurogenesis may play important roles in the formation of pheromonal memory.

Key words: adult neurogenesis, pheromone, hippocampus