邵芳冰,房军帆,王思思,等. 慢性炎性痛模型大鼠诱发焦虑抑郁样情绪行为观察[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(2): 167-174.
Shao FB, Fang JF, Wang SS, et al. Observation of the anxiety and depression-like behavior induced by chronic inflammatory pain in rats [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(2): 167-174.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.02.003

慢性炎性痛模型大鼠诱发焦虑抑郁样情绪行为观察

邵芳冰,房军帆,王思思,孙海榉,项璇儿,方剑乔*,杜俊英*

(浙江中医药大学第三临床医学院 针灸神经生物学实验室,浙江杭州 310053)

【摘要】 目的 动态观察弗氏完全佐剂(CFA)诱导慢性炎性痛模型大鼠痛情绪的改变情况,探索慢性炎性痛模型大鼠诱导焦虑、抑郁情绪的时间差异性。**方法** 所有实验大鼠随机分为空白对照组和模型对照组,模型对照组于足底注射 CFA 建立慢性炎性痛模型。动态观察各组大鼠造模前、造模后 1,3,7,18 和 26 d 机械缩足阈变化(PWTs);观察造模后 28 d 旷场实验(OF),29 d 高架 O 迷宫实验(EZM),30 d 新奇食物抑制实验(NSF),造模后 12,20 和 31 d 大理石掩埋实验(MBT),造模后 17,25 和 35 d 糖水偏爱度实验(SPT)中大鼠行为改变情况。**结果** 造模后 1 d,模型对照组大鼠 PWTs 显著降低($P < 0.01$),且在整个实验过程中均显著低于空白对照组($P < 0.01$)。模型对照组在 OF 中较空白对照组大鼠的中央区运动距离、中央区停留时间、中央区进入次数显著减少($P < 0.01$);在 EZM 中较空白对照组大鼠的开放臂运动距离,开放臂停留时间,开放臂进入次数显著减少($P < 0.05$);在 NSF 中较空白对照组大鼠摄食潜伏期明显增加($P < 0.05$),且食物消耗量无明显差异($P > 0.05$);而 MBT 仅模后 31 d,模型对照组较空白对照组大鼠大理石埋藏数量显著增加($P < 0.05$);SPT 中模后各时间点模型对照组与空白对照组大鼠比较均无明显差异($P > 0.05$)。**结论** CFA 诱发的慢性炎性痛模型大鼠在 4 周后可出现多种与焦虑样情绪相关的动物行为改变,但在 5 周内均并未观察到与抑郁样情绪相关的动物行为改变。

【关键词】 慢性炎性痛;焦虑;抑郁;痛情绪;行为学;大鼠
【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020) 02-0167-08

Observation of the anxiety and depression-like behavior induced by chronic inflammatory pain in rats

SHAO Fangbing, FANG Junfan, WANG Sisi, SUN Haiju, XIANG Xuaner, FANG Jianqiao*, DU Junying*

(Department of Neurobiology and Acupuncture Research, the Third Clinical Medical College, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

Corresponding author: FANG Jianqiao. E-mail: fangjianqiao7532@163.com; DU Junying. E-mail: dujunying0706@163.com

【Abstract】 Objective To dynamically observe the temporal differences of anxiety and depression-like behavior in rats with chronic inflammatory pain induced by complete Freund's adjuvant (CFA). **Methods** All rats were randomly divided into control and model groups. The model group rats was injected with CFA into the hind paws to establish the chronic inflammatory pain model. We dynamically observed the changes of paw withdrawal thresholds before modeling and at 1, 3, 7, 18, and 26 days after modeling. In addition, behavioral changes were observed in an open field test at 28 days, in

[基金项目]国家自然科学基金(81603690,81603692),浙江省自然科学基金项目(LY20H270006),浙江省科协育才工程(2017YCGC004)。
Funded by Natural Science Foundation of China (81603690, 81603692), Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China (LY20H270006), Zhejiang Association for Science and Technology Talent Education Project(2017YCGC004).
[作者简介]邵芳冰(1993—),女,硕士研究生,专业:针灸推拿学。Email:475073482@qq.com
[通信作者]方剑乔(1961—),男,教授,研究方向:针灸镇痛与免疫调节的相关性研究。Email:fangjianqiao7532@163.com;
杜俊英(1984—),女,副研究员,研究方向:针灸调控痛情绪的效应及机制研究。Email:dujunying0706@163.com。
* 共同通信作者

an elevated zero maze test at 29 days, in a novelty-suppressed feeding test at 29 days, and in a marble-burying test at 12, 20, and 31 days, as well as through a sucrose preference test after modeling at 17, 25, and 35 days. **Results** Compared with the control group, the paw withdrawal threshold of the model group significantly decreased after 1 day ($P< 0.01$) and was significantly lower than the control group throughout the experiment ($P< 0.01$). Compared with the control group, the distance in the central area, time in the central area, and number of central zone entries of the model group were significantly reduced in the open field ($P< 0.01$). Compared with the control group, the distance in open arm, time in open arm, and number of the open arm entries of the model group were significantly reduced in the elevated zero maze ($P< 0.05$). The latency of food of the model group was significantly increased ($P< 0.05$), and there was no significant difference in food consumption in the novelty-suppressed feeding ($P> 0.05$). In the marble-burying test, the number of buried marbles in the model group increased significantly compared with the control group ($P< 0.05$) 31 days after modeling. There was no significant difference between the control group and the model group at any time point in the sucrose preference test ($P> 0.05$). **Conclusions** Chronic inflammatory pain induced by CFA can lead to a variety of changes in the anxiety-like behavior of animals after 4 weeks, while no changes in the depression-like behaviors of animal was seen before 5 weeks.

【**Keywords**】 chronic inflammatory pain; anxiety; depression; pain affect; behavior; rat

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

慢性疼痛的患者不仅有痛苦的躯体感觉,还常出现抑郁和焦虑等不良情绪反应,这种高共病率极大的影响人们的身心健康和生活质量,已引起现代社会的广泛关注[1-2]。据流行病学研究报告显示慢性疼痛患者中,高达 54%的疼痛患者患有抑郁症以及高达 50%患者患有焦虑症[3],尽管这些疼痛相关症状经常在人类中被观察到,但迄今为止,研究慢性炎性痛和情绪障碍之间关系的动物研究十分有限且结果不统一[4-6],抑郁和焦虑样情绪和慢性疼痛之间的相互作用机制尚不清楚。

二十世纪以来,以动物疼痛行为测量为特征的实验研究变得越来越普遍,通过动物行为,实验动物可以对有害刺激做出直接的反应,并且通过行为表达自身的情绪感受,规避人为的主观性,客观可靠的得出实验结论[7]。

本研究旨在通过目前神经科学领域多种常用的动物行为检测方法,动态的观察弗氏完全佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA)诱导的慢性炎性痛大鼠模型不同时间点机械缩足阈变化以及其诱发的痛情绪改变情况,为进一步进行痛情绪的机制及干预研究,提供一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

清洁级健康雄性 SD 大鼠 16 只,体重(200 ± 20)g,购自中国科学院上海实验动物中心【SCXK(沪)2018-0006】,由浙江中医药大学动物实验研究中心饲养【SYXK(浙)2018-0012】。饲养期间大鼠给予啮齿类动物标准颗粒饲料(由实验动物中心提供),每 4 只大鼠饲养一笼[室温(23 ± 2)℃,湿度 40% ~ 60%],笼底铺满无菌玉米芯颗粒垫料,自由进水,饲养环境安静,有良好的通风和空气过滤系统,12 h:12 h 昼夜循环光照。本实验所有操作均符合中华人民共和国《实验动物管理条例》。

1.1.2 仪器与试剂

弗氏完全佐剂(CFA, Sigma 公司,美国),Von Frey 纤维丝(Thermo,美国),高架 O 迷宫(瑞沃德,中国),旷场(瑞沃德,中国),Smart 3.0 分析软件(Panlab,美国),蔗糖(源叶生物,中国)。

1.2 方法

1.2.1 分组及造模

分组:运用 Spass 软件将大鼠完全随机分为空白对照组($n=8$),模型对照组($n=8$)。

造模:参考本课题组以往造模方法[8],模型对照组于大鼠左侧足底皮下注射 CFA 0.1 mL,建立慢性炎性痛模型。空白对照组于相同部位注射等量无菌生理盐水。

1.2.2 机械缩足阈(paw withdrawal thresholds, PWTs)

在安静环境下,将大鼠置于铁丝网上透明有机玻璃箱内(20 cm × 20 cm × 15 cm),自由探索并适应环境 30 min,待大鼠安静后,采用 Chaplan 等[9]建立的 Von-Frey 纤维丝方法测量机械缩足阈,采用(0.4、0.6、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、15.0、26.0 g)纤维丝套组,强度从 4.0 g 开始,用纤维丝依次刺激大

鼠左后爪足底皮肤中央,避开足垫,用足够的力量,对脚掌造成轻微屈曲,维持 6 ~ 8 s。如果大鼠有明显的缩足、甩足、抬足及舔足反应时,认为是阳性反应,就更换到相邻小一号力量刺激丝;如果没有反应,就更换到相邻大一号力量刺激丝。记录结果:出现明显的躲避反应则记为“X”;若无反应则记为“O”,以出现第一对交叉符号作为起点,再连续测 4 次,得到一串以“O”或“X”组合的序列。用公式:机械缩足阈(g) = $(10^{[Xf+\kappa\delta]})/10000$,计算并记录。若连续 5 次刺激均为“O”则记为 26.0 g,反之若刺激均为“X”则记为 0.4 g。若计算得出 PWTs > 26.0 g 或 < 0.4 g,仍以 26.0 g 或 0.4 g 作为最大或最小值。

1.2.3　旷场实验(open field test, OF)

旷场实验参考温存等[10]的实验方法,保持实验室较暗的光线,避免直射光线,恒定温度[(23±2)℃左右],保持环境安静,测试前先将待测实验大鼠放入实验环境中 30 min 以适应环境。本实验在 100 cm × 100 cm × 50 cm 的无盖方箱中进行,用 Smart 3.0 软件将旷场划为 16 个格子,中间 4 格为中央区,其他 12 格为周围区。开始时将实验大鼠头部背对实验者轻缓放入旷场实验箱中央区中,实验人员远离高架 O 迷宫,进行摄像。大鼠在旷场中先适应 30 s,再记录 5 min 的活动情况,分析实验动物在旷场的中央区运动距离,中央区进入次数、中央区停留时间和总运动距离。为消除动物气味的嗅觉刺激,每次测量前均用 10%的酒精清洗迷宫平台,以消除上一次大鼠留下的信息(如气味,大小便等)。

1.2.4　高架 O 迷宫实验(elevated zero maze, EZM)

环境、适应条件及参考文献同旷场。本实验在直径 100 cm,高 50 cm 的圆形平台上进行,圆形平台由两个开放臂和闭合臂组成。测试前先将待测实验大鼠放入实验环境中 30 min 以适应环境。开始时将实验大鼠轻缓地放置于闭合臂和开放臂的交界,要求实验大鼠头面向开放臂,实验人员远离高架 O 迷宫,进行摄像。大鼠在 O 迷宫中先适应 30 s,再记录 5 min 的活动情况。用 Smart 3.0 软件进行数据析,观察并计算实验大鼠高架 O 迷宫开放臂运动距离、开放臂进入次数、开放臂停留时间和总运动距离。为消除动物气味的嗅觉刺激,每次测量前均用 10%的酒精清洗迷宫平台,以消除上一次大鼠留下的信息(如气味,大小便等)。

1.2.5　新奇食物抑制实验(novelty-suppressed feeding test, NSF)

新奇食物抑制实验在 Yalcin 等[11]的实验方法基础上加以改进。实验室需明亮,恒定温度[(23 ± 2)℃左右],环境安静。实验在 40 cm × 40 cm × 30 cm 黑色木箱中进行,箱底均匀覆盖 1 cm 厚度的玉米芯垫料。在箱底中央白纸上放置一颗食物。实验大鼠禁食不禁水 24 h,测试之前先将待测实验大鼠放入实验环境中 30 min 以适应环境,实验时从任意的箱角将大鼠放入箱内,通过摄像系统观察 5 min,记录大鼠第 1 次啃食食物所用的时间即摄食潜伏期。在大鼠开始啃食食物后,立即将大鼠单独转移至笼子中,将称重的食物放置 5 min 后,记录预先称重的食物的剩余重量,以排除食欲差异对进食时间的影响。若大鼠在 5 min 内未啃食食物,即记为 5 min,随后仍将大鼠单独转移至笼子中,进行食物消耗实验。

1.2.6　大理石埋藏实验(marble-burying test, MBT)

大理石埋藏实验在许笑笑等人的实验方法上稍作改进[12],环境及适应条件同 NSF。将大鼠单独放入(40 cm × 25 cm × 20 cm)的笼子中,在笼中铺上 5 cm 厚度的玉米芯垫料。笼内装有 9 个直径为 2.5 cm 的玻璃弹珠,以“3×3×3”形式排开。将大鼠单独依次放入笼中,记录大鼠 10 min 内掩埋玻璃弹珠颗数,其中玻璃弹珠 2/3 及以上体积被玉米芯垫料覆盖,则认为大理石被掩埋。

1.2.7　糖水偏爱实验(sucrose preference test, SPT)

糖水偏爱实验在肖婷等人实验方法上稍作修改[13]。实验前,每只大鼠均单笼饲养,预适应 2 d,预适应第 1 天两瓶 1%蔗糖水自由饮用,预适应第 2 天1%蔗糖水和纯水自由饮用。实验时,大鼠禁水 24 h,然后将事先称量好的等量 1%蔗糖水和纯水放入笼中,隔 12 h 后,调换糖水和纯水的位置,以避免位置偏爱所造成的干扰,24 h 后对糖水和纯水进行称重,记录每只大鼠的液体摄入量。计算公式为:糖水偏好度(%) = 糖水摄入量/(糖水摄入量+纯水摄入量)×100%。

1.2.8　实验设计

本研究通过在大鼠左侧足底注射 CFA 建立慢性炎性痛模型,通过多时间点检测 PWTs 改变情况;通过 OF、EZM、NSF、MBT 和 SPT 方法观察其焦虑抑郁样情绪行为变化,实验安排详见图 1。

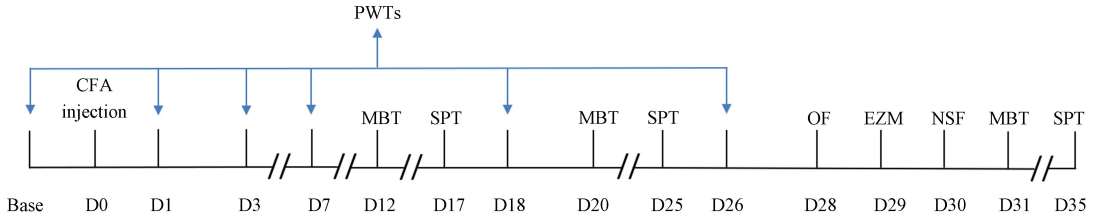


图 1 实验流程图

Figure 1 Experimental flow chart

1.3 统计学分析

实验数据以平均数±标准误($\bar{x}\pm s\bar{x}$)表示,采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。OF、EZM 均采用独立样本 t 检验,PWTs、NSF、MBT、SPT 采用单因素重复测量方差分析,组间两两比较,采用 LSD 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 慢性炎性痛模型大鼠不同时间点机械缩足阈改变情况

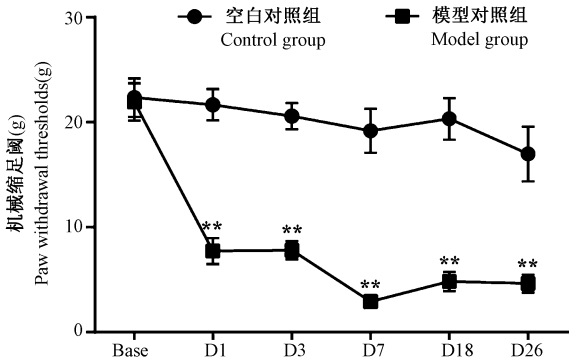
我们在造模前基础(base)和造模后 1,3,7,18 和 26 d,测量所有大鼠的 PWTs。由图 2 可见,两组大鼠造模前基础 PWTs 比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);造模后 1 d,与空白对照组相比,模型对照组大鼠患侧 PWTs 明显下降,差异具有统计学意义($P < 0.01$),提示 CFA 致炎性痛模型成功建立;造模后 1,3,7,18 和 26 d,模型对照组大鼠患侧 PWTs 均显著低于空白对照组大鼠,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。

2.2 慢性炎性痛模型大鼠旷场实验结果

我们在造模后 28 d 进行旷场实验,观察慢性炎性痛模型大鼠的焦虑样情绪。由图 3 可见,与空白对照组相比,模型对照组大鼠中央区运动距离、中央区停留时间和中央区进入次数显著减小,差异具有统计学意义($P < 0.01$),结果表明模型对照组大鼠较空白对照组大鼠焦虑行为增加,出现焦虑样情绪;两组大鼠旷场内总距离比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),结果表明模型对照组大鼠未出现运动能力的改变。

2.3 慢性炎性痛模型大鼠高架 O 迷宫实验结果

我们在造模后 29 d 进行高架 O 迷宫实验,观察慢性炎性痛模型大鼠的焦虑样情绪。由图 4 可见,与空白对照组相比,模型对照组大鼠开放臂运动距离、开放臂停留时间和开放臂进入次数显著减小,差异具有统计学意义($P < 0.05$),结果表明模型对照组大鼠较空白对照组大鼠焦虑行为增加,出现焦虑样情绪;两组大鼠高架 O 迷宫内总距离比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),结果表明模型对照组大鼠未出现运动能力的改变。



注:与空白对照组相比,** $P < 0.01$。

图 2 各组大鼠不同时间点机械缩足阈变化情况($\bar{x}\pm s\bar{x}$)

Note. Compared with the control group, ** $P < 0.01$.

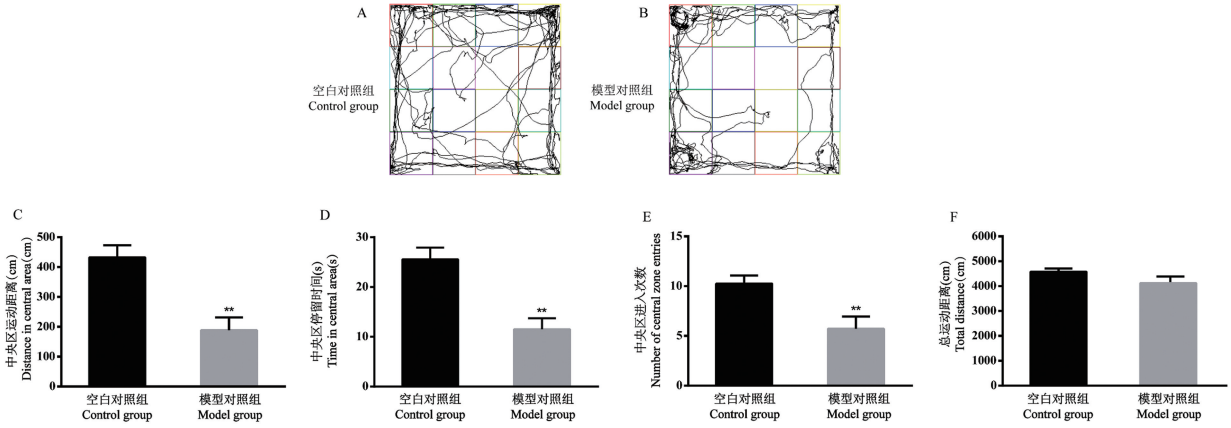
Figure 2 Changes of paw withdrawal thresholds at different time points in each group($\bar{x}\pm s\bar{x}$)

2.4 慢性炎性痛模型大鼠新奇食物抑制实验结果

我们在造模后 30 d 进行新奇食物抑制实验,观察慢性炎性痛模型大鼠的焦虑样情绪。由图 5 可见,与空白对照组相比,模型对照组大鼠摄食潜伏期显著增加,差异具有统计学意义($P < 0.05$),结果表明模型对照组大鼠较空白对照组大鼠焦虑行为增加,出现焦虑样情绪;模型对照组大鼠与空白对照组大鼠 5 min 食物消耗实验无统计学差异($P > 0.05$),表明两组大鼠无食欲差异。

2.5 慢性炎性痛模型大鼠大理石埋藏实验结果

我们在造模后 12,20 和 31 d 进行大理石埋藏实验,观察慢性炎性痛模型大鼠的焦虑样情绪。由图 6 可见,与空白对照组相比,在模后 12 和 20 d 进行大理石埋藏实验,模型对照组大鼠掩埋大理石颗数无明显增加,差异无统计学意义($P > 0.05$);模后 31 d,模型对照组大鼠较空白对照组大鼠掩埋大理石颗数明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$);结

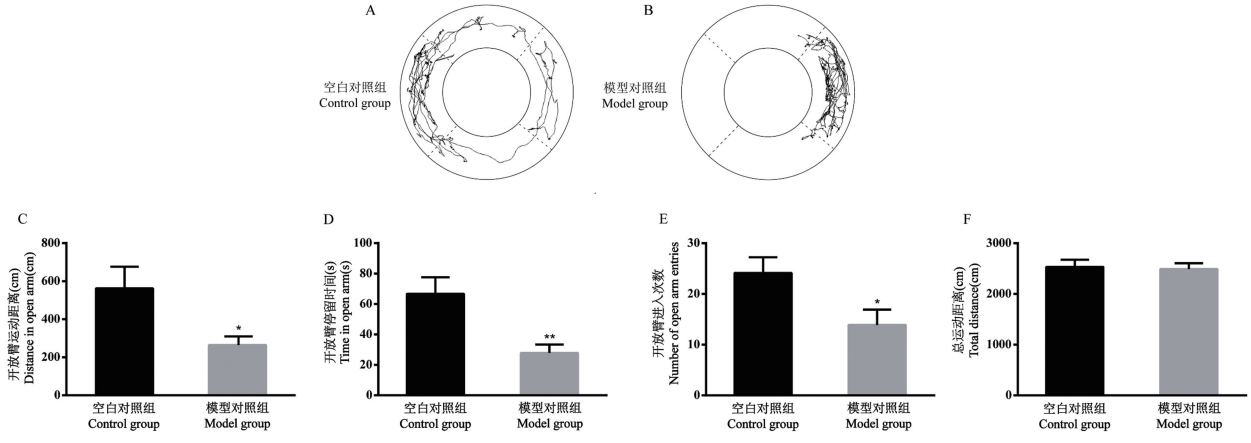


注：与空白对照组相比，** $P < 0.01$。

图 3　各组大鼠旷场行为学变化情况（$\bar{x}\pm s\bar{x}$）

Note. Compared with the control group, ** $P < 0.01$.

Figure 3　Behavioral changes of open field of rats in each group ($\bar{x}\pm s\bar{x}$)



注：与空白对照组相比，* $P < 0.05$，** $P < 0.01$。

图 4　各组大鼠高架 O 迷宫行为学变化情况（$\bar{x}\pm s\bar{x}$）

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 4　Behavioral changes of elevated zero maze of rats in each group ($\bar{x}\pm s\bar{x}$)

果表明在模后 31 d 模型对照组大鼠较空白对照组大鼠焦虑行为增加，出现焦虑样情绪。

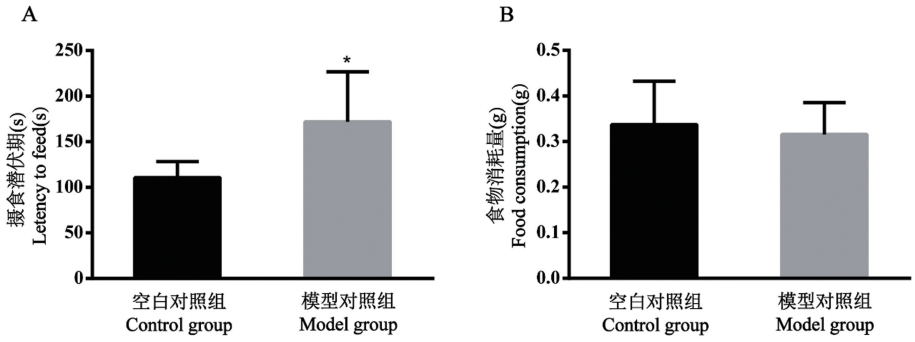
2.6　慢性炎性痛模型大鼠糖水偏爱实验结果

我们在模后 17，25 和 35 d 进行糖水偏爱实验，观察慢性炎性痛模型大鼠的抑郁样情绪。由图 7 可以可见，与空白对照组相比，在模后 17，25 和 35 d 模型组大鼠糖水偏爱度无明显降低，差异无统计学意义（$P > 0.05$）。结果表明，模型对照组大鼠未出现抑郁样情绪。

3　讨论

慢性疼痛的特点是持续的伤害性疼痛过敏，慢性疼痛患者多表现出焦虑、抑郁等不良的负性情绪，这些共病导致的后果远远超出了疼痛本身[14]。越来越多的学者已经认识到痛相关情绪反应在疼痛中的重要性，对解开疼痛和不良情绪共病之间的关系充满兴趣。大量研究通过疼痛患者和啮齿类动物疼痛模型的脑成像发现，大脑灰质体积、白质完整性甚至表观遗传变化都发生了变化[15]。目前共病的干预手段及机制研究正在迅速成为一大热点，但动物不同于人类，无法用言语直接表达自身的感受，故行为学是最可观且可靠表达情绪的检测方法，故有着不可忽视的重要性。

慢性炎性痛是由持续性或未解决的炎症引起的疼痛，CFA 诱导的慢性炎性痛模型具有制备简单、重复性强的优点，是一种被国内外广泛认可的

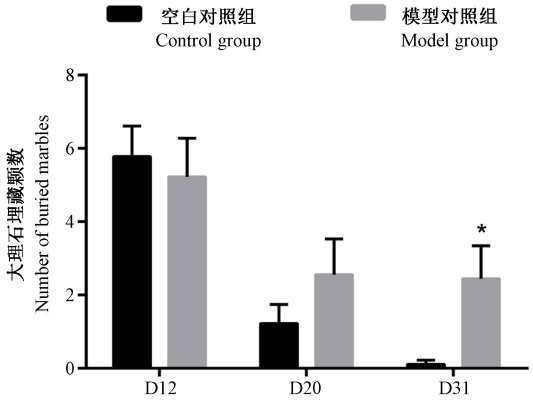


注:与空白对照组相比,$^{*}P < 0.05$。

图 5 各组大鼠新奇食物抑制实验行为学变化情况($\bar{x}\pm s\bar{x}$)

Note. Compared with the control group, $^{*}P < 0.05$.

Figure 5 Behavioral changes of novelty-suppressed feeding test of rats in each group ($\bar{x}\pm s\bar{x}$)



注:与空白对照组相比,$^{*}P < 0.05$。

图 6 各组大鼠大理石埋藏实验行为学变化情况($\bar{x}\pm s\bar{x}$)

Note. Compared with the control group, $^{*}P < 0.05$.

Figure 6 Behavioral changes of marble-burying test of rats in each group ($\bar{x}\pm s\bar{x}$)

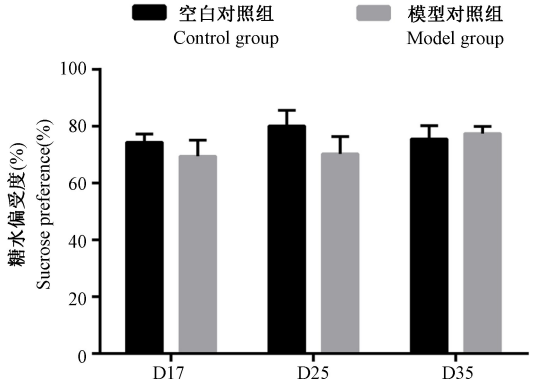


图 7 各组大鼠糖水偏爱实验行为学变化情况($\bar{x}\pm s\bar{x}$)

Figure 7 Behavioral changes of sucrose preference test of rats in each group ($\bar{x}\pm s\bar{x}$)

慢性炎性痛模型。CFA 注射后 1 d,大鼠足跖出现红、肿、热、痛,痛阈出现明显的降低,这种持续的痛觉过敏可维持 4 ~ 8 周[16]。本实验显示在大鼠左侧足底皮下注射 0.1 mL CFA,模后 1 d 大鼠 PWTs 显著降低,与空白对照组相比差异具有统计学意义,该结果与以往研究结果相一致[17]。由于神经病理痛相较于慢性炎性痛可维持的痛觉过敏时间更长,研究痛情绪的时间跨度更广,许多研究人员会偏爱神经病理痛模型[18-19],所以目前针对慢性炎性痛诱导的痛情绪研究相对十分有限并且存在结果不一致。

对于慢性炎性痛诱发的焦虑样情绪,Yue 等[20]的研究发现在 C57BL/6 小鼠右侧足底注射 10 μL CFA 7 d后,模型小鼠在旷场中央区停留时间和高架十字迷宫开放臂停留时间显著降低,出现了焦虑样情绪。Jiang 等[21]在 ChAT 小鼠左侧足底内注射 50 μL的 CFA,在模后 28 d 观察模型小鼠中央区距离和时间减少以及进入开放臂的次数和时间减少。Pitzer 等[22]人研究发现,在 C57BL/6N 小鼠右侧足底注射 20 μL CFA 后 14 d,雌性小鼠在开放臂停留时间减少,而雄性小鼠未发现该行为变化。另有研究对 SD 大鼠采用同样的造模方法,发现模型大鼠在 28 d 和 29 d 时,在旷场中,中央区距离,进入中央区次数以及停留时间明显减少,在高架 O 迷宫中进入开放臂次数和时间明显减少,出现了焦虑样情绪[23]。这些结果并不一致,而且往往很难比较,这些矛盾可能与动物的品系、性别、年龄、造模位置、药物剂量以及生存环境均相关。本实验在检测大鼠焦虑样情绪时选用 OF、EZM、NSF、MBT 这些经典行为学范式,除 MBT 可重复多时间测试外,其余均只进行一次,以避免形成空间记忆,影响实验结果。

考虑到大多数报告阳性结果的研究是在诱导慢性疼痛至少四周后进行[24],故只能观察一次的行为学在本实验中均从模后 28 d 开始进行。研究发现,在模后 28 d,OF 实验中模型对照组大鼠中央区运动距离、中央区停留时间和中央区进入次数显著减小;模后 29 d,EZM 实验中模型对照组大鼠开放臂运动距离、开放臂停留时间、开放臂进入次数显著减小;模后 30 d,NSF 实验中模型大鼠摄食潜伏期显著增加;模后 31 d,MBT 实验中模型大鼠埋球数量显著增加;这些结果均显示慢性炎性痛大鼠出现了焦虑样行为。而在模后 12 d 和 20 d,MBT 中模型大鼠较空白大鼠并未表现出明显的焦虑样行为。结果表明,本实验中 CFA 诱发的慢性炎性痛模型大鼠,在 2 ~ 3 周时并未表现出明显的焦虑样情绪,而在 4 周以后出现明显的焦虑样情绪。提示慢性炎性痛模型大鼠可能需要至少四周的时间才能诱发出与疼痛相关的不良情绪。

对于慢性疼痛诱发的抑郁样情绪, Yalcin 等[11]在神经病理痛小鼠上进行系统的研究,发现模后 6 ~ 9 周时模型大鼠出现抑郁样情绪。而 Grégoire 等[25]通过单侧跟骨关节内注射 50 μL 弗氏完全佐剂建立慢性炎性痛模型,发现在模后 21 d 模型大鼠糖精偏好度减少。故本实验在慢性炎性痛模型大鼠模后 17,25 和 35 d 多时间点进行糖水偏爱实验,发现相较于空白对照组大鼠,模型对照组大鼠糖水偏爱度并未出现明显下降,该结果显示 5 周的慢性炎性痛大鼠仍未能诱发出现抑郁样情绪。对该不一致结果,我们猜测有以下几种可能:(1)本研究中 1%的糖水不及糖精甜度高,未能引出明显的偏好差异。(2)本研究的造模方法引起的疼痛程度还不足以在 5 周时诱发抑郁样情绪。

综上,本实验通过一系列多种经典的行为学范式,研究发现 CFA 诱发的慢性炎性痛会引起大鼠情感功能的退化,产生一系列负性情绪,这些负性情绪会随着时间的推移而出现,其情绪改变至少需要 4 周的观察,且抑郁样情绪可能比焦虑样情绪更晚出现。同时本研究还为痛情绪的研究提供合适的动物模型,为痛情绪的进一步研究提供一定的参考价值。

参　考　文　献(References)

[1] Xie J, Bi Q, Li W, et al. Positive and negative relationship between anxiety and depression of patients in pain: a bifactor model analysis [J]. PLoS One, 2012, 7(10): e47577.

[2] Arango-Davila CA, Rincon-Hoyos HG. Depressive disorder, anxiety disorder and chronic pain: Multiple manifestations of a common clinical and pathophysiological core [J]. Rev Colomb Psiquiatr, 2018, 47(1): 46-55.

[3] Feingold D, Brill S, Goor-Aryeh I, et al. Depression and anxiety among chronic pain patients receiving prescription opioids and medical marijuana [J]. J Affect Disord, 2017, 218: 1-7.

[4] Burma NE, Leduc-Pessah H, Fan CY, et al. Animal models of chronic pain: Advances and challenges for clinical translation [J]. J Neurosci Res, 2017, 95(6): 1242-1256.

[5] Wu Y, Yao X, Jiang Y, et al. Pain aversion and anxiety-like behavior occur at different times during the course of chronic inflammatory pain in rats [J]. J Pain Res, 2017, 10: 2585-2593.

[6] Chen J, Song Y, Yang J, et al. The contribution of tnf-alpha in the amygdala to anxiety in mice with persistent inflammatory pain [J]. Neurosci Lett, 2013, 541: 275-280.

[7] Barrett JE. The pain of pain: Challenges of animal behavior models [J]. Eur J Pharmacol, 2015, 753: 183-190.

[8] 项璇儿, 杜俊英, 方剑乔, 等. 电针对 cfa 致炎性痛大鼠热痛和机械痛优效频率观察及机制初探[J]. 浙江中医药大学学报, 2016, 40(12): 891-897+922.
Xiang XE, Du JY, Fang JQ, et al. Frequency-dependent, analgesia effect of electroacupuncture on hyperalgesia and allodynia in a rat of inflammatory pain [J]. Jo Zhejiang Chin Med Univ, 2016, 40(12): 891-897+922.

[9] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw [J]. J Neurosci Methods, 1994, 53(1): 55-63.

[10] 温存, 杜俊英, 房军帆, 等. 电针干预慢性炎性痛大鼠痛情绪的前扣带皮层 pkcζ 调控机制 [J]. 浙江中医药大学学报, 2017, 41(1): 25-31+45.
Wen C, Du JY, Fang JF, et al. The regulated mechanism of electroacupuncture on emotional pain with PKCζ in anterior cingulated cortex of rats with CFA chronic inflammatory pain[J]. J Zhejiang Chin Med Univ, 2017, 41(1): 25-31+45.

[11] Yalcin I, Bohren Y, Waltisperger E, et al. A time-dependent history of mood disorders in a murine model of neuropathic pain [J]. Biol Psychiatry, 2011, 70(10): 946-953.

[12] 许笑笑, 吴飞燕, 费宁, 等. 抑郁焦虑情绪与肠道炎症潜在交互作用探讨 [J]. 温州医科大学学报, 2016, 46(5): 348-353+358.
Xu XX, Wu FY, Fei N, et al. Study on interaction of depression, anxiety and intestinal inflammation [J]. J Wenzhou Med Univ, 2016, 46(5): 348-353+358.

[13] 肖婷, 马天阳, 徐祥清, 等. 大鼠慢性不可预测温和应激与小鼠社会挫败抑郁症模型的建立与行为学评价 [J]. 神经药理学报, 2018, 8(1): 45-53.
Xiao T, Ma TY, Xu XQ, et al. Establishment and behavior evaluation of rat chronic unpredictable mild stress and mouse social defeat models [J]. Acta Neuropharmacol, 2018, 8(1): 45-53.

[14] Leite-Almeida H, Pinto-Ribeiro F, Almeida A. Animal models

for the study of comorbid pain and psychiatric disorders [J]. Mod Trends Pharmacopsychiatry, 2015, 30: 1-21.

[15] Descalzi G, Ikegami D, Ushijima T, et al. Epigenetic mechanisms of chronic pain [J]. Trends Neurosci, 2015, 38(4): 237-246.

[16] 刘盈君, 林小溪, 方芳, 等. Mas 相关 g 蛋白偶联受体 c 参与电针干预慢性炎性痛及其外周 δ-阿片受体机制 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(5): 1988-1993.
Liu YJ, Lin XX, Fang F, et al. Involvement of Mas-related G protein-coupled receptor C in intervention of electro-acupuncture on chronic inflammatory pain and mechanism of peripheric δ opioid receptor [J]. Chin J Trad Chin Med Pharm, 2017, 32(5): 1988-1993.

[17] 项璇儿, 杜俊英, 房军帆, 等. 不同病理痛早期电针镇痛频率优选及其脊髓背角 trpv1 活化机制研究[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(5): 1707-1712.
Xiang XE, Du JY, Fang JF, et al. Selection of optimal frequency on electroacupuncture analgesia and research of the mechanism of TRPV1 activation in the spinal cord dorsal horn at the early phase of different types of pathological pain [J]. Chin J Trad Chin Med Pharm, 2018, 33(5): 1707-1712.

[18] Caspani O, Reitz MC, Ceci A, et al. Tramadol reduces anxiety-related and depression-associated behaviors presumably induced by pain in the chronic constriction injury model of neuropathic pain in rats [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2014, 124: 290-296.

[19] 寿升芸, 邵晓梅, 沈醉, 等. 不同频率电针对神经病理性疼痛诱发焦虑大鼠 acc 区磷酸化 erk 水平的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2017, 37(7): 840-846.
Shou SY, Shao XM, Shen Z, et al. Effects of electroacupuncture with different frequencies on p-ERK levels in ACC of neuropathic pain induced anxiety rats [J]. Chin J Integr Trad Western Med, 2017, 37(7): 840-846.

[20] Yue J, Wang XS, Guo YY, et al. Anxiolytic effect of cpeb1 knockdown on the amygdala of a mouse model of inflammatory pain [J]. Brain Res Bull, 2018, 137: 156-165.

[21] Jiang YY, Zhang Y, Cui S, et al. Cholinergic neurons in medial septum maintain anxiety-like behaviors induced by chronic inflammatory pain [J]. Neurosci Lett, 2018, 671: 7-12.

[22] Pitzer C, La Porta C, Treede RD, et al. Inflammatory and neuropathic pain conditions do not primarily evoke anxiety-like behaviours in C57BL/6 mice [J]. Eur J Pain, 2019, 23(2): 285-306.

[23] Du J, Fang J, Wen C, et al. The effect of electroacupuncture on pkmzeta in the acc in regulating anxiety-like behaviors in rats experiencing chronic inflammatory pain [J]. Neural Plast, 2017, 2017: 3728752.

[24] Sang K, Bao C, Xin Y, et al. Plastic change of prefrontal cortex mediates anxiety-like behaviors associated with chronic pain in neuropathic rats [J]. Mol Pain, 2018, 14: 1744806918783931.

[25] Gregoire S, Wattiez AS, Etienne M, et al. Monoarthritis-induced emotional and cognitive impairments in rats are sensitive to low systemic doses or intra-amygdala injections of morphine [J]. Eur J Pharmacol, 2014, 735: 1-9.

[收稿日期] 2019-08-27