

慢性不可预知性温和应激致抑郁样大鼠模型的研究进展

赵 谦¹, 王安娜¹, 高雪松², 李 丽¹, 赵静洁¹

(1. 首都医科大学附属北京友谊医院中医科, 北京 100050;

2. 北京市隆福医院康复医学科北苑院区, 北京 100010)

[摘要] 抑郁症是一种以情感低落、思维迟缓和言语动作减少为典型症状的精神疾病, 严重时可引起自杀行为。慢性不可预知性温和应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS) 造模方法目前已被广泛应用于抑郁症研究, 该方法造模所引起的模型动物病理生理改变与人类抑郁症相似。本文综述了 CUMS 的造模方法、模型评价以及病理生理变化, 并对上述几方面进行了思考。

[关键词] 抑郁症; 慢性不可预知性温和应激; 模型; 大鼠

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2020)04-0344-10

抑郁症 (depression) 是一种伴随行为学改变、神经系统改变和其他生理病理变化的心身障碍性疾病, 其发病机制复杂, 症状表现多样, 严重影响患者的生存质量和社会功能。世界卫生组织报告指出, 到 2030 年, 抑郁症将成为最大的健康挑战^[1]。对抑郁症病理机制的研究和疗效确切的药物研发迫在眉睫。建立人类疾病动物模型对于认识疾病的发生、发展规律及防治措施意义深远, 是现代医学研究的重要方式。在模拟抑郁症的动物模型研究中, 有药物、手术及基因敲除等多种不同的方式, 而慢性不可预知性温和应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS) 模型是近年来广受关注的一种抑郁症研究模型, 其疾

病发生和表现形式更符合人类的发病原因, 可模拟人类的抑郁症状及一系列抑郁后生物化学改变, 符合模型三效度 (预测效度、结构效度、表面效度) 要求, 已被广泛应用于抑郁症研究领域。本文检索中英文数据库中关于 CUMS 模型的相关文献, 从造模方法、行为学特征和病理生理特征三个方面对其进行全面综合思考, 综述 CUMS 致抑郁样大鼠的生理病理变化, 以期对抑郁症研究动物模型的选择提供思路。

1 资料和方法

1.1 资料来源和检索策略

作者于 2019 年 1 月在中国知网 (CNKI)、万方数据知识服务平台、PubMed 数据库进行检索; 其中检索式为主题 (包含题目、关键词和摘要) 和关键词, 检索词为 CUMS、慢性不可预知性应激 (chronic unpredictable stress, CUS)、慢性应激 (chronic mild stress, CMS)、抑郁的 (depressive) 和大鼠 (rat), 共检索出 3 291 篇相关文献。

1.2 文献纳入标准和排除标准

纳入标准: (1) 以 CUMS、CUS、CMS

[收稿日期] 2019-09-26

[基金项目] 国家自然科学基金(81673737); 北京市市属医院科研培育计划(PZ2017024); 北京中医药科技发展基金(QN2018-33); 北京市自然科学基金(7204250)

[作者简介] 赵 谦(1995—), 女, 研究生, 研究方向: 中西医结合心身医学。E-mail: 985690375@qq.com

[通信作者] 赵静洁(1984—), 女, 主治医师, 研究方向: 中西医结合心身医学。E-mail: zhaojj@ccmu.edu.cn

作为造模方法,探讨模型动物病理变化的相关文献;(2)2010年12月至2019年8月公开发表的期刊文献;(3)同类文献选择研究设计合理、科学可信的文章或在权威杂志上发表的文章。

排除标准:(1)文献为个案报道或编辑意见文体;(2)文献存在研究方向重复、实验动物品系不明、造模流程缺失等问题;(3)非中英文研究文献。

1.3 质量评估与数据提取

本次综述最终纳入文献120篇,引用文献69篇。约2/3文献是近5年内的。如中英文观点一致,选择文献质量较高的纳入。纳入的文献着重阐述慢性应激对抑郁样大鼠病理改变机制的相关研究。因造模应激方法多,时间长短不一,不适合Meta分析,仅作定性描述。

2 文献研究情况

2.1 造模方法

动物模型作为精神类疾病的研究工具,通过模型操作导致动物行为改变,研究者将这些行为变化与精神疾病相对应,以此加深对人类精神疾病病理学的认识。1980年Katz等^[2]将大鼠暴露于各种应激中,建立了CMS模型。他们发现,抗抑郁药物可以逆转应激大鼠的行为学变化,并且使应激大鼠糖水消耗减少。尽管目前CMS模型已被广泛应用于抑郁症的研究中,但各个实验室对于这个模型的名称不尽相同,例如CMS、CUS和CUMS等。尽管名称不同,但对于应激压力来说,实际操作中并无较大差异;“不可预知unpredictable”则指的是随机使用应激操作^[3]。

2.1.1 动物品种选择 在本文所纳入的文献中,选用SD大鼠作为模型动物的文献占74.56%,选用Wistar大鼠作为模型动物的文献占25.44%,其中雄性大鼠占74.34%。所选用大鼠的体质量在150~300 g。

2.1.2 应激种类选择 研究者所选的应激种类主要有:禁水禁食、昼夜颠倒、持续光照、束缚、白噪音(声音中频率分量的功率在整个可听范围内都是均匀的)、倾斜鼠笼、冰水游泳、夹尾、足底电击、水平振荡、两笼合并、热应激、

湿笼、强光频闪、悬尾、陌生物品和异味应激等。CUMS的应激方法众多,各实验室选择的组合方式不尽相同。Antoniuk等^[4]在发表于2019年的Meta分析中共对408篇论文的应激规程进行了定量分析。他们发现,在大鼠的CUMS模型中,大多数应激规程中都包括禁食和禁水(分别为12.5%和12.2%)、昼夜颠倒(11%)、湿垫层(10.7%)、笼倾斜(10.2%)、社会压力(7.7%)、强迫游泳(6.5%)和束缚(4.4%)。本文对所纳入文献中涉及的应激出现的频率也做了统计,可供读者在选择CUMS应激种类时作参考(表1)。

表1 CUMS模型造模所使用应激方法的文献数量及频率统计

Figure 1 Statistical datum of literature quantity and frequency of stress methods used in CUMS

应激名称	所载文献数	占全部文献百分比/%
强光频闪	21/120	17.54
明暗循环 ^a	91/120	76.35
笼倾斜	84/120	70.17
湿垫层	73/120	61.40
束缚	48/120	40.33
禁食	105/120	87.81
禁水	105/120	87.81
白噪音	29/120	24.56
强迫游泳	93/120	78.07
振动旋转	52/120	43.86
夹尾	76/120	64.03
足震 ^b	34/120	28.94
异物/气味	19/120	15.78
悬尾	10/120	8.77

注:^a有的文献中称作“昼夜颠倒”,^b也称作“足底电击”。

2.1.3 应激的具体操作 实验者们多采用禁食禁水24 h、湿垫层24 h、笼倾45°、5℃冷水游泳10 min、40℃热水游泳10 min、夹尾1 min等进行应激操作,每日使用1种应激或多种应激,同种应激方法不能连续出现,使大鼠不能预知应激的发生,以避免产生适应。然而值得注意的是,在对应激时段的安排方面,有研究显示为9:00~11:00,也有文章认为大鼠需要相对安静和睡眠的时候予以应激会增加应激强度,使大鼠更易发生应激反应,大部分文章未描述具体

应激时段；每一种应激的具体操作也无统一标准。

2.1.4 造模时间 Antoniuk 等^[4]通过糖水偏好实验发现，实验动物对造模时间的敏感性存在差异。SD 大鼠对 6 周和 8 周的造模时间更敏感，造模 3 周、4 周、6 周的 Wistar 大鼠的糖水消耗值更低。本文所纳入的文献中，造模时间为 3 周的文献占 35%，5 周和 6 周的文献各占 9%，另有少量文献造模时间选用 2 周、11 周或 12 周。

2.2 模型评价

行为学实验广泛用于神经精神类疾病动物模型的评价，在啮齿类动物情绪测试中，可用于评估模型动物的抑郁、焦虑行为。20 世纪末，研究者对 CUMS 模型大鼠的行为学评价方法比较单一，主要应用糖水偏好实验说明奖赏系统受损可能是大鼠快乐体验能力缺乏的主要机制^[5]。此后模型评价方法逐渐丰富，旷场实验、高架十字迷宫实验和游泳不动实验等逐渐被应用于模型评价中。

2.2.1 糖水偏好实验 1981 年，Katz 等^[6]首次在抑郁大鼠造模过程中发现，应激后的大鼠蔗糖和糖精水的消耗减少达 50%，并进一步发现三环类抗抑郁药丙咪嗪可显著增加模型组大鼠糖水的消耗量，随后 Willner 等^[7]使用糖水偏好实验对 CUMS 大鼠进行评价，发现随着应激时间的延长和应激强度增加，模型大鼠的糖水消耗率明显下降，且该结果可被抗抑郁药物去甲丙咪嗪改善。他们的实验同时排除了大鼠糖水消耗减少是由于热量调节失调或应激后血糖升高引起糖水摄入量降低的猜想。此重要发现说明了内源性抑郁症的核心特征是奖励机制缺陷和快感缺乏。现代研究表明，作为中脑“奖励中心”的单胺核团，多巴胺系统边缘通路与奖赏机制有关^[8]；外侧缰核则是大脑的“反奖励中枢”，其簇状放电方式增强了对腹侧被盖区与中缝背核的抑制，进而导致了快感缺失与行为绝望，是抑郁症发生的充分条件^[9-10]。

研究者通过计算正常对照组大鼠与模型大鼠糖水总消耗量、糖水偏好率[糖水偏好率(%) = 糖水消耗 / 总液体消耗 × 100 %]的差别发现，模型大鼠糖水偏好率显著下降，即可认为其快感缺失，并进一步认为模型大鼠出现了抑郁表现。

2.2.2 旷场实验 旷场实验也称敞箱实验、户外

情景反应，是基于探索的行为学方法检测，它以观察活动量来说明大鼠在新奇环境中的启动、探究行为，以及紧张恐惧情绪和对新环境的警觉性。1934 年，Hall^[11]首先将该测试用于动物的情绪研究。利用啮齿类动物畏惧空旷场地而又会对新事物产生探索欲望的特性，在同一时间段、相同环境下比较不同组动物的活动状态，客观定量地反映活动量及自主活动功能：水平活动反映动物的运动活性；垂直运动反映动物对新鲜环境的好奇程度；水平移动格数及直立次数表示大鼠的探究行为；理毛时间和次数反映了大鼠对环境警觉性水平；中央格停留时间表示启动活动的潜伏期及回避陌生环境时间；排便量反映了动物在新环境中的紧张恐惧状态。基于抑郁症患者对社会的参与度下降，推测抑郁大鼠在旷场中的表现应为运动量减少及回避行为产生。Kennett 等^[12]的实验表明，抑郁大鼠在旷场中表现出水平移动减少、排泄增加、直立水平降低及停留旷场中央时间显著延长，出现蜷缩、僵硬等回避行为。

旷场实验目前用以评价动物自发活动以及焦虑状态，它贯穿于啮齿类动物的行为学研究，并推广到神经学及精神药理学的研究，在检测抗抑郁药物时具有良好的表面效度。

2.2.3 高架十字迷宫实验 该实验利用大鼠对新环境的探究特性和对高悬敞开臂的恐惧，形成矛盾冲突，评价动物是否处于抑郁焦虑状态。高架十字迷宫有一对开臂和一对闭臂。小鼠由于嗜暗性会倾向于在闭臂中活动，但出于好奇心和探究性又会在开臂中活动。在面对新奇应激时，动物同时产生探究的冲动与恐惧，这就造成了探究与回避的冲突行为。该实验以进入开放臂次数(open arm entry)、进入开放臂时间(open arm time)、进入封闭臂次数(close arm entry)、进入封闭臂时间(close arm time)、向下探究次数和封闭臂后腿直立次数等为主要检测指标。开放臂和中央平台区向下探究次数则反映大鼠的探索行为，代表动物对陌生环境的好奇探究或因恐惧而寻求逃避；进入开放臂和封闭臂总次数反映动物运动能力。众多研究表明，动物进入开臂次数及停留时间与焦虑情绪呈负相关，进入开臂次数越少、停留时间越短，说明动物的焦虑情绪

越严重。

2.2.4 强迫游泳实验 该实验是基于绝望的行为学检测方法,由法国学者 Porsolt 等^[13]在 1977 年发明,起初用于行为绝望 (behavioural despair) 抑郁模型的评价。实验将大鼠被迫困在局限性透明圆柱容器中游泳,初入水时大鼠游泳运动剧烈以对抗环境的不适,进而进入一种特征性的漂浮不动状态:身体微蜷,仅露出鼻孔维持呼吸,前爪停止刨水,后爪偶有划动。这种不动状态实际是动物不能脱离困境后放弃逃脱念想的行为,反映了大鼠的绝望状态,属于“行为绝望”。实验通过观察 CUMS 模型大鼠的强迫游泳的静止时间 (除维持其鼻子在水面上必要动作以外,没有任何其他动作)、挣扎时间 (大鼠前爪剧烈运动) 及游泳时间 (前后爪有规律的上下划动) 评价模型大鼠的绝望程度。研究表明,与对照组相比, CUMS 模型大鼠的游泳不动时间即静止时间更长,绝望状态更明显。

2.2.5 悬尾实验 与游泳不动实验相似,悬尾实验同样是基于绝望行为的检测方法。该实验主要以固定动物的尾端并将其倒悬,使其因不适体位产生以逃避为导向的剧烈挣扎,活动一段时间后不能摆脱困境,不动状态间歇性出现,此不动性被认为类似绝望行为^[14],不动时间越长,则绝望表现更明显。近两年在药理学^[15]和转基因动物检测^[16]方面的研究均表明,悬尾实验是针对抑郁动物模型可行、有效的行为学评价方法,同时也是抗抑郁药物活性筛查中非常灵敏的行为学检测方法^[17]。然而由于大鼠体质量相对较大,固定尾部环节较难实施,采用悬尾实验的研究相对较少。

2.3 病理生理特征

目前对于抑郁症发病机制尚未有统一的认识。众多研究结果表明,抑郁症可能是一种涉及多机制的疾病。目前对于抑郁症的发病机制较公认的有单胺类假说、受体假说、神经元营养/再生假说和基因易感性假说等。应激模型大鼠在造模后形成的一系列病理生理特征与人类抑郁症的发病机制较为符合,总结如下。

2.3.1 单胺类神经递质及受体失调 单胺是与人类情感精神情绪有关的神经递质,主要包括去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE)、五羟色胺 (5-

hydroxytryptamine, 5-HT)、多巴胺 (dopamine, DA)。1965 年, Schildkraut 等提出的经典“单胺假说”是第一个关于抑郁症的神经化学理论,该假说认为 NE 或 5-HT 相对或绝对不足是抑郁症发生的主要原因^[18]。基于该假说,早期抗抑郁药物通过抑制突触间隙中单胺类递质的降解 (单胺氧化酶抑制剂),抑制突触间隙单胺类递质的再摄取 (三环类抗抑郁药),提高突触间隙中单胺类递质的浓度,从而产生抗抑郁作用。目前三环类抗抑郁药、5-HT 去甲肾上腺素再摄取抑制剂 (SNRI)、选择性 5-HT 再摄取抑制剂 (SSRI) 仍然是最有效的抗抑郁药物^[19]。现代研究者们通过 CUMS 动物模型发现 CUMS 确实可以引起单胺类神经递质的失调,如: Alam 等^[20]和 Duo 等^[21]发现 CUMS 模型大鼠海马组织中 NE 含量下降;一些研究者^[21-23]发现模型大鼠海马、腹侧被盖区、苍白球以及腹侧苍白球中 DA 的含量下降; Natarajan 等^[24]发现 CUMS 模型大鼠内侧前额叶皮质和背中缝的 5-HT 含量均有所下降。

随着进一步探索,研究者们提出了“现代单胺假说”:单胺类递质自身受体的适应性调节与抑郁症治疗密切相关,传统抗抑郁药物作用的同时急性提高了单胺递质的水平,并诱导单胺系统产生长期的适应性改变,使抑制性自身受体失敏,从而使中枢系统单胺递质活性进一步升高,产生治疗效果。近些年对单胺类递质转运蛋白和受体的研究取得了许多进展,如: Le Francois 等^[25]测定了模型大鼠前额叶皮质和中脑 5-HT_{1A} 的 RNA 和蛋白水平,结果显示两个区域内二者含量均下降。吴帅等^[26]和王玉婷等^[27]发现模型大鼠眶额叶和纹状体内多巴胺 D₁ 受体的含量明显下降。费慧芝等^[28]测定模型大鼠海马去甲肾上腺素转运体 (noradrenaline transporter, NET) 基因的 mRNA 和蛋白表达量,发现海马内 NET mRNA 及蛋白的含量明显增多。

2.3.2 其他递质受体障碍 随着神经生物化学理论的发展,研究者发现更多种类的受体参与到抑郁症的病理生理过程,包括促离子型受体和促代谢型受体,主要为抑制性氨基酸类 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 及兴奋性氨基酸类谷氨酸和门冬氨酸。如 Zhu 等^[29]发现模型大鼠

伏隔核中 GABA 转运蛋白水平下降, GABA 能神经元兴奋性降低; 吴帅等^[26]、刘慧等^[30]和陈慧彬等^[31]发现模型大鼠海马内 N- 甲基天冬氨酸受体 NR2B 亚基含量显著上升。Cuccurazzu 等^[32]和 Liu 等^[33]分别测定模型大鼠 mGlu2 受体表达、谷氨酸受体亚基 GRIA3 的含量, 结果发现, 二者表达均下调。Li 等^[34]不仅发现 CUMS 模型大鼠细胞外谷氨酸积累, 还发现其所伴随的死亡相关蛋白激酶 1 (DA PK1) 和 N- 甲基-D- 天冬氨酸受体 (NMDAR) 的相互作用有所增加, DA PK1 和磷酸化 GluN2B 表达增多; 他们的研究表明 DA PK1 与 NMDAR GluN2B 亚基的相互作用是抑郁症病理生理学中的关键组分, 并且可能是抑郁症新的治疗靶点。此外, GABA 类受体 a 和 c 均为促离子型受体, GABA_B 作为促代谢型受体较新出现于 CUMS 模型大鼠研究中, 如 Gao 等^[35]发现模型大鼠下丘脑旁核中 GABA_B 受体的表达含量减少, 突触前 GABA_B 受体的含量增加。

2.3.3 神经营养/再生减少 目前, 许多研究者将目光聚焦于神经营养因子假说, 起初该假说的研究对象主要涉及脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、脑源性神经营养因子前体 (precursor of brain-derived neurotrophic factor, proBDNF) 及成熟型脑源性神经营养因子 (mature form of brain-derived neurotrophic factor, mBDNF) 等单独的神经因子。该假说认为抑郁症患者脑 BDNF 水平下降可能与神经营养因子的可塑性降低有关^[36]。研究显示, CUMS 模型大鼠脑内 BDNF 等神经营养因子含量均出现下降, 如: Dandekar 等^[37]和孙合亮等^[38]发现模型大鼠海马、脑脊液内 BDNF 含量显著下降; Bai 等^[39]发现模型大鼠海马内 proBDNF 的表达明显减少; Zhang 等^[40]研究发现, mBDNF 的亲性和受体 TrkB 激动剂可改善模型鼠的抑郁症状。因此推测抑郁症的发生可能与 BDNF、proBDNF 和 mBDNF 之间的动态平衡被打破有关, proBDNF 可能是抑郁症的危险因素, 而 mBDNF 可能是抑郁症的保护性因子。随着研究的深入, 研究者们发现组织型纤溶酶原激活剂 (tissue-type plasminogen activator, tPA) 可通过促使 proBDNF 向 mBDNF 转化而使抑郁症状得到

缓解, 纤溶酶原激活物抑制剂-1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1) 则可抑制 tPA 的表达^[41]。如 Zhang 等^[42]发现 CUMS 大鼠的海马 proBDNF / mBDNF 比值下调, 海马中 tPA 水平升高; Han 等^[43]发现模型大鼠 tPA、PAI-1 的 mRNA 表达均降低。因此研究者认为 tPA- 纤溶酶原系统通过调控 proBDNF 向 mBDNF 转变, 在抑郁症的病理生理过程中发挥重要作用。

近年来, 研究者们对 CUMS 模型大鼠神经细胞信号通路改变的探究也逐渐增多, 包括环磷酸腺苷反应原件蛋白 (CREB) -BDNF 信号通路、环磷酸腺苷 (cAMP) / 蛋白激酶 (PKA) -CREB-BDNF 通路和 BDNF- 细胞外信号调节激酶 (ERK) -CREB 通路。研究部位主要集中在杏仁核和海马。如 Yu 等^[44]发现了模型大鼠腹外侧杏仁核内 CREB-BDNF 信号通路改变, CREB 和 BDNF 含量均明显减少。Luo 等^[45]研究了模型大鼠海马神经元内 cAMP/PKA-CREB-BDNF 通路的变化, 他们发现该通路上 BDNF、PKA、CREB 以及磷酸化 CREB 的表达均显著减少。Xie 等^[46]发现 BDNF 和 NGF 的上游调节和信号通路中钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II (CaMK II) 表达下调, 及其两个亚基 CaMK II α 和 CaMK II β 的磷酸化水平上升。

2.3.4 细胞因子假说 随着人们对抑郁症发病机制认识的不断深入, 细胞因子学说发展迅速, 该学说也称免疫研究学说, 认为抑郁症的发生可能与外周、中枢免疫系统激活后免疫细胞合成或分泌的蛋白增多有关, 从而引起与抑郁症相关的各种行为、神经生物化学改变。目前, CUMS 模型研究主要集中于细胞因子假说中的白细胞介素 (interleukin, IL) 和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF), 研究部位多在海马、前额叶皮质、血清等。众多研究表明, IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等细胞因子可作用于大脑, 外周循环中细胞因子的水平也与抑郁密切相关, 如: Su 等^[47]、Gaugier 等^[48]和 Avolio 等^[49]分别测定了模型大鼠血清以及海马、杏仁核、前额叶皮质中 IL-1 β 的含量; Pan 等^[50]发现模型大鼠脑脊液和前额叶皮质中 IL-1 β 和 IL-1 β mRNA 的含量均有所增加; Jia 等^[51]和 Yazir 等^[52]发现模型大鼠血中 IL-6

的含量减少; Dandekar 等^[37]发现 CUMS 模型大鼠海马中 IL-2、IL-5、IL-7 和 IL-18 的含量明显增多。TNF 由巨噬细胞产生, 分为 TNF- α 和 TNF- β , 其中涉及 TNF- α 变化的研究较多。如 Yazir 等^[52]发现模型大鼠海马、大脑皮层以及细胞中 TNF- α 的含量有所上升。此外, 还有少量研究涉及 T 淋巴细胞的辅助细胞 Th 细胞 (CD4⁺) 和 T 淋巴细胞的毒性细胞 Tc 细胞 (CD8⁺)。如关素珍等^[53]测定了模型大鼠体内 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞的含量, 发现 CD4⁺ T 细胞的含量下降、CD8⁺ T 细胞的含量上升。

2.3.5 内分泌系统紊乱 神经内分泌假说是抑郁症发病机制中较公认的假说之一。它包括: 下丘脑-垂体-肾上腺素轴 (hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA)、下丘脑-垂体-甲状腺轴 (hypothalamus-pituitary-thyroid axis, HPT) 和下丘脑-垂体-性腺轴 (hypothalamus-pituitary-gonadal axis, HPG) 等负反馈失调。外界应激作用于感觉器官, 将应激信号传递给大脑, 再传递给中枢神经系统, 下丘脑室旁核分泌相应激素, 通过垂体门脉系统运送到脑垂体, 垂体继续释放相应激素, 最后作用于各腺体, 形成负反馈。

2.3.5.1 HPA轴 CUMS 会使得模型大鼠下丘脑释放促肾上腺皮质激素释放激素 (corticotropin releasing hormone, CRH)、垂体释放促肾上腺皮质激素 (adreno-cortico-tropic-hormone, ACTH) 以及肾上腺在 ACTH 的刺激下释放皮质酮 (corticosterone, CORT) 的含量均明显增多。如 Wang 等^[54]发现模型大鼠血清中 CRH 和 ACTH 的含量明显增多, Wu 等^[55]、Su 等^[47]和 Scorrano 等^[56]分别测定了模型大鼠血清、前额叶皮层、毛发中 CORT 的动态变化, 发现 CORT 的含量均明显升高。

2.3.5.2 HPT轴 CUMS 能使得下丘脑促甲状腺激素释放激素 (thyrotropin-releasing hormone, TRH) 释放增加, 促甲状腺激素 (thyroid stimulating hormone, TSH) 释放减少, 三碘甲状腺原氨酸 (thyroid, T3) 释放增加。如宋美卿等^[57]实验发现, 模型大鼠血清内 T3 和 TRH 的含量升高, TSH 含量减少。

2.3.5.3 HPG轴 研究发现, CUMS 模型大鼠下

丘脑分泌的促性腺激素释放激素 (gonadotropin(hormone)-releasing hormone, GnRH) 含量明显减少; CUMS 雌性大鼠垂体所分泌的促卵泡刺激素 (follicle stimulating hormone, FSH) 增多, 卵巢分泌的雌二醇 (estradiol, E₂) 减少。雄性模型大鼠睾丸分泌的睾酮 (testosterone, T) 减少, 如 Yazir 等^[52]发现, 模型大鼠血清中 T 含量明显减少。

2.3.6 其他 现有的各种病理机制仍不足以解释抑郁症这一多病因、异质性疾病。另有一些研究者试图通过针对抑郁症其他方面的病理机制研究为抗抑郁药物找到新的作用靶点^[58]。

肠道微生物组作为人体最大、最直接的外环境, 对人体健康起到了重要作用。代谢通路是调节肠道微生物的重要途径, 研究者们发现, CUMS 模型大鼠的肠道代谢出现了不同程度的异常。例如田俊生等^[59]发现模型大鼠粪便提取物中内源性代谢产物谷氨酰胺、乳酸和天冬氨酸含量明显增加, 尿嘧啶、酪氨酸和苯丙氨酸含量则明显降低。该课题组还测定了盲肠组织中代谢产物的变化规律, 发现丙氨酸、丝氨酸和谷氨酸等增多, 棕榈酸和硬脂酸减少。Li 等^[60]发现模型大鼠粪便代谢组中丁酸、直肠内丙酸钠出现失调。

微 RNA (microRNA, miR) 应用于抑郁症的研究近几年逐渐兴起, 其研究部位主要集中在杏仁核、前额叶皮质以及海马。例如 Yu 等^[44]和 Fan 等^[61]发现模型大鼠 miR-134 在腹外侧杏仁核表达减少, 在腹内侧前额叶皮质中表达增加。Zhou 等^[62]发现模型大鼠海马组织中 mircoRNA 的异常表达, miR-382-3P、miR-183-5P、miR-3575-5P、miR-202-3P 和 miR-493-3P 这五种 microRNA 的表达上调, 而 miR-370-3P 的表达下调。

对神经内分泌免疫网络的研究也涌现出了许多新方向, 如 Sekar 等^[63]发现 CUMS 模型大鼠体内胆碱及肌醇水平升高, 表明模型大鼠存在细胞膜代谢改变和炎症反应过程。Song 等^[64]发现模型大鼠海马 CA1 区中产生了促炎因子前列腺素 E₂ (PGE₂), 并因此使胶质细胞活化的环氧合酶 (COX)-2 的表达增加。此外, 他们发现 CA1 区中阻断 β 形式的钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II

型(β CaMK II)的含量在模型大鼠中显著上升。因此他们认为COX-2/PGE2途径活性的增强能较大程度上诱导大鼠产生抑郁样症状。

近年来,离子通道也逐渐成为热门抗抑郁研究的新方向^[65]。串联孔域弱内向整流钾通道1[tandem-pore-domain weakly inward rectifying potassium channel (TWIK)-related K⁺ channel 1, TREK1]为机械门控钾通道,对CUMS模型大鼠进行TREK1阻滞,可有效改善大鼠的抑郁表现^[66]。 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑受体(α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionate receptor, AMPAR)为离子型谷氨酸受体,属于配体门控性离子通道,研究发现,CUMS模型大鼠突触上的该受体显著减少^[67]。此外还有研究者发现抑郁症与铁离子转运之间存在联系。这些研究不仅作为抑郁症生理病理学的重要组成部分,也是新的潜在研究靶点。

3 讨论与展望

在应激导致抑郁症的动物模型中,常用的有CUMS模型、习得无助模型(learned helplessness, LH)、慢性社会挫败模型(chronic social defeat stress, CDCS)等等。CUMS模型所致的疾病发生和表现形式,更能模拟人类的抑郁症状及一系列人类抑郁后引起的生化改变。该模型动物的情绪表现与人类相应情绪表现相似;产生情绪障碍的生物学机制与人类相同;对于情绪障碍有效药物有明显的反应性,即符合情绪障碍动物模型表面效度、结构效度和预测效度的评价标准,因此在抑郁症研究领域被广泛使用。然而,CUMS模型本身的可靠性、可复制性问题已经到了不能忽视的地步。笔者认为,目前CUMS模型有以下几点需要进一步探讨。

第一,在实验动物品系的选择方面应充分考虑研究目的、实验环境与动物遗传异质性。Gururajan等^[68]认为,近交系和远交系动物模型在变异程度方面存在差异,近交系动物的变异程度更低。大鼠与小鼠均为神经系统研究常用动物模型,小鼠多为近交系动物;而SD、Wistar大鼠作为封闭群大鼠,虽可能较小鼠变异程度更大,但大鼠在神经药理学方面表现良好,与小鼠相

比,大鼠的体型更易进行侵入式研究。近年来,小鼠作为基因研究方向实验动物的优势较大鼠更为突出,因此不少研究者选用小鼠作为实验动物。实验中环境和模型动物本身遗传产生的变异可相互影响。因此笔者认为,在选择模型动物品系时应依据实际研究问题进行调整,因其异质性与抑郁程度相关,在动物品系的选择上应将环境与遗传本身的异质性考虑在内,使得模型更加稳定,避免出现较大的实验误差。

第二,目前CUMS的操作规程还未标准化。CUMS所涉及的应激种类较多,同时强调“随机”,各实验室的CUMS操作流程几乎都不相同,如何构建操作的标准流程成为模型发展的一个关键问题。通过总结造模方法可以发现,禁水禁食、昼夜颠倒、倾斜笼位、湿垫层和冷水游泳为高频选择项,持续光照、束缚、热应激和水平振荡为中频选择项。目前操作流程存在几方面问题:应激项目没有公认的选择方案,应激的操作顺序没有统一规范,各应激的刺激强度没有统一标准,各应激操作时间安排未作详细叙述等;另外,各文献所选组合方法不一,且未说明组合原因。笔者认为,未来CUMS模型的发展需要将上述几方面考虑在内,更严格规范CUMS操作规程,是保证模型稳定性和可复制性的重要前提。

第三,动物模型作为疾病机制探讨的辅助工具,其作用根本在于为药物的研发服务,因此模型有效性即转化价值显得尤为重要。1969年McKinney等^[69]以及1997年Willner^[70]发表的论文中都将动物模型结构和预测效度的定义进行了总结和发展。目前评价模型有效性的标准主要有:同源性有效性、病原性有效性、机制有效性、内部有效性和外部有效性等。此外,对于如何设计动物模型使其能对人体病情进行经验性预测,从而达到更高的模型有效性,笔者认为除了需关注疾病的核心行为和相关实验室分子表型,也应将现代神经科学技术方法包括行为表征技术、机制探讨技术、药物开发技术等应用于传统CUMS模型造模方法、模型评价等的革新中,以期对抑郁症模型选择提供思路,进而能更好服务于抗抑郁药物的开发。

参考文献:

- [1] Reddy KS. Global Burden of Disease Study 2015 provides GPS for global health 2030[J]. *Lancet*, 2016, 388(10053): 1448-1449.
- [2] Katz R, Hersch S. Amitriptyline and scopolamine in an animal model of depression[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 1981, 5(2):265-271.
- [3] Willner P. Reliability of the chronic mild stress model of depression: A user survey[J]. *Neurobiol Stress*, 2016, 6: 68-77.
- [4] Antoniuk S, Bijata M, Ponimaskin E, et al. Chronic unpredictable mild stress for modeling depression in rodents: Meta-analysis of model reliability[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2019, 99:101-116.
- [5] Nakase S, Kitayama I, Soya H, et al. Increased expression of magnocellular arginine vasopressin mRNA in paraventricular nucleus of stress-induced depression-model rats[J]. *Life Sci*, 1998, 63(1):23-31.
- [6] Katz RJ, Sibel M. Further analysis of the specificity of a novel animal model of depression-effects of an antihistaminic, antipsychotic and anxiolytic compound[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1982, 16(6):979-982.
- [7] Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 1987, 93(3):358-364.
- [8] Slattery DA, Cryan JF. Modelling depression in animals: at the interface of reward and stress pathways[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2017, 234(9/10):1451-1465.
- [9] Yang Y, Cui Y, Sang K, et al. Ketamine blocks bursting in the lateral habenula to rapidly relieve depression[J]. *Nature*, 2018, 554(7692):317-322.
- [10] Li K, Zhou T, Liao L, et al. β CaMK II in lateral Habenula mediates core symptoms of depression[J]. *Science*, 2013, 341(6149):1016-1020.
- [11] Hall CS. Drive and emotionality: factors associated with adjustment in the rat[J]. *J Comp Psychol*, 1934, 17(1):89.
- [12] Kennett GA, Chaouloff F, Marcou M, et al. Female rats are more vulnerable than males in an animal model of depression: the possible role of serotonin[J]. *Brain Res*, 1986, 382(2):416-421.
- [13] Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments[J]. *Nature*, 1977, 266(5604):730-732.
- [14] Can A, Dao DT, Terrillion CE, et al. The tail suspension Test[J]. *J Vis Exp*, 2011(58):3405.
- [15] Hufgard JR, Williams MT, Skelton MR, et al. Phosphodiesterase-1b (Pde1b) knockout mice are resistant to forced swim and tail suspension induced immobility and show upregulation of Pde10a[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2017, 234(12):1803-1813.
- [16] Nie L, Wei G, Peng S, et al. Melatonin ameliorates anxiety and depression-like behaviors and modulates proteomic changes in triple transgenic mice of Alzheimer's disease[J]. *Biofactors*, 2017, 43(4):593-611.
- [17] Hiraoka K, Motomura K, Yanagida S, et al. Pattern of c-Fos expression induced by tail suspension test in the mouse brain[J]. *Heliyon*, 2017, 3(6): e00360.
- [18] 陈乃宏. 神经递质与神经疾患[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2012:329.
- [19] Willner P, Scheel-Krüger J, Belzung C. The neurobiology of depression and antidepressant action[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2013, 37(10):2331-2371.
- [20] Alam M, Najmi AK, Ahmad I, et al. Formulation and evaluation of nano lipid formulation containing CNS acting drug: molecular docking, in-vitro assessment and bioactivity detail in rats[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(sup2):46-57.
- [21] Dou M, Gong A, Liang H, et al. Improvement of symptoms in a rat model of depression through combined zinc and folic acid administration via up-regulation of the Trk B and NMDA[J]. *Neurosci Lett*, 2018, 683:196-201.
- [22] Liu D, Tang QQ, Yin C, et al. Brain-derived neurotrophic factor-mediated projection-specific regulation of depressive-like and nociceptive behaviors in the mesolimbic reward circuitry[J]. *Pain*, 2018, 159(1):175.
- [23] Chang CH, Grace AA. Amygdala-ventral pallidum pathway decreases dopamine activity after chronic mild stress in rats[J]. *Biol Psychiatry*, 2014, 76(3):223-230.
- [24] Natarajan R, Forrester L, Chiaia NL, et al. Chronic-stress-induced behavioral changes associated with subregion-selective serotonin cell death in the Dorsal raphe[J]. *J Neurosci*, 2017, 37(26):6214-6223.
- [25] Le Francois B, Soo J, Millar AM, et al. Chronic mild stress and antidepressant treatment alter 5-HT1A receptor expression by modifying DNA methylation of a conserved Sp4 site[J]. *Neurobiol Dis*, 2015, 82:332-341.
- [26] 吴帅, 安书成, 陈慧彬等. 慢性应激性抑郁发生中大鼠眶额叶多巴胺 D1 受体对谷氨酸及其 NMDA 受体的调节[J]. *心理学报*, 2014, 46(1):69-78.
- [27] 王玉婷, 张逸, 白玫, 等. 慢性应激诱导的抑郁大鼠纹状体 DRD1 和 miR-504 的表达[J]. *中国临床心理学杂志*, 2014, 22(4):597-600, 614.
- [28] 费慧芝, 胡小娅, 邱红梅, 等. 丙戊酸钠抗抑郁作用涉及改善海马 NET 和 5-HTT 表达[J]. *中国药科大学学报*, 2016, 47(4):474-478.
- [29] Zhu Z, Wang G, Ma K, et al. GABAergic neurons in nucleus accumbens are correlated to resilience and vulnerability to chronic stress for major depression[J]. *Oncotarget*,

- 2017, 8(22):35933-35945.
- [30] 刘慧, 问黎敏, 乔卉, 等. 高半胱氨酸对慢性应激性抑郁大鼠海马谷氨酸及其受体的调节[J]. 生理学报, 2013, 65(1):61-71.
- [31] 陈慧彬, 李菲, 吴帅, 等. 应激性抑郁样行为发生中海马喹啉酸对谷氨酸及其受体的调节[J]. 生理学报, 2013, 65(6):577-585.
- [32] Cuccurazzu B, Bortolotto V, Valente MM, et al. Upregulation of mGlu2 receptors via NF- κ B p65 acetylation is involved in the proneurogenic and antidepressant effects of acetyl-L-carnitine[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2013, 38(11):2220-2230.
- [33] Liu Q, Sun NN, Wu ZZ, et al. Chaihu-Shugan-San exerts an antidepressive effect by downregulating miR-124 and releasing inhibition of the MAPK14 and Gria3 signaling pathways[J]. *Neural Regen Res*, 2018, 13(5):837.
- [34] Li SX, Han Y, Xu LZ, et al. Uncoupling DAPK1 from NMDA receptor GluN2B subunit exerts rapid antidepressant-like effects[J]. *Mol Psychiatry*, 2018, 23(3):597-608.
- [35] Gao Y, Zhou J, Zhu Y, et al. Neuroadaptations of presynaptic and postsynaptic GABAB receptor function in the paraventricular nucleus in response to chronic unpredictable stress[J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(17):2929-2940.
- [36] Brunoni R, Machado-Vieira R, Zarate CA, et al. Assessment of non-BDNF neurotrophins and GDNF levels after depression treatment with sertraline and transcranial direct current stimulation in a factorial, randomized, sham-controlled trial (SELECT-TDCS): An exploratory analysis[J]. *Prog Neuropsychopharmacology Biol Psychiatry*, 2015, 56:91-96.
- [37] Dandekar MP, Saxena A, Scaini G, et al. Medial forebrain bundle deep brain stimulation reverses anhedonic-like behavior in a chronic model of depression: importance of BDNF and inflammatory cytokines[J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56:4364-4380.
- [38] 孙合亮, 王星明, 居玲莎, 等. 海马脑源性神经营养因子 p11 信号通路参与氯胺酮抗抑郁作用[J]. 临床麻醉学杂志, 2015, 31(2):170-173.
- [39] Bai YY, Ruan CS, Yang CR, et al. ProBDNF signalling regulates depression-like behaviours in rodents under chronic stress[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2016, 41(12):2882-2892.
- [40] Zhang JC, Yao W, Hashimoto K. Brain-derived Neurotrophic factor (BDNF) -TrkB signaling in inflammation-related depression and potential therapeutic targets[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2016, 14(7):721-731.
- [41] Jiang H, Li X, Chen S, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 in depression: results from animal and clinical studies[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:30464.
- [42] Zhang F, Luo J, Zhu X. Ketamine ameliorates depressive-like behaviors by tPA-mediated conversion of proBDNF to mBDNF in the hippocampus of stressed rats[J]. *Psychiatry Res*, 2018, 269:646-651.
- [43] Han W, Dang R, Xu P, et al. Altered fibrinolytic system in rat models of depression and patients with first-episode depression[J]. *Neurobiol Stress*, 2019, 11:100188.
- [44] Yu H, Fan C, Yang L, et al. Ginsenoside Rg1 prevents chronic stress-Induced Depression-Like Behaviors and Neuronal Structural Plasticity in Rats[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(6):2470-2482.
- [45] Luo Y, Kuang S, Li H, et al. cAMP/PKA-CREB-BDNF signaling pathway in hippocampus mediates cyclooxygenase 2-induced learning/memory deficits of rats subjected to chronic unpredictable mild stress[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(22):35558-35572.
- [46] Xie W, Meng X, Zhai Y, et al. Antidepressant-like effects of the Guanxin Danshen formula via mediation of the CaMK II-CREB-BDNF signalling pathway in chronic unpredictable mild stress-induced depressive rats[J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(20):564.
- [47] Su WJ, Peng W, Gong H, et al. Antidiabetic drug glyburide modulates depressive-like behavior comorbid with insulin resistance[J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1):210.
- [48] Fanny G, Christine LF, Emilien S, et al. A model of chronic exposure to unpredictable mild socio-environmental stressors replicates some spaceflight-induced immunological changes[J]. *Front Physiol*, 2018, 9:514.
- [49] Avolio E, Fazzari G, Mele M, et al. Unpredictable chronic mild stress paradigm established effects of pro- and anti-inflammatory cytokine on neurodegeneration-linked depressive states in hamsters with brain endothelial damages [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(8):6446-6458.
- [50] Pan Y, Chen XY, Zhang QY, et al. Microglial NLRP3 inflammasome activation mediates IL-1 β -related inflammation in prefrontal cortex of depressive rats[J]. *Brain Behav Immun*, 2014, 41:90-100.
- [51] Jia KK, Ding H, Yu HW, et al. Huanglian-Wendan decoction inhibits NF- κ B/NLRP3 inflammasome activation in liver and brain of rats exposed to chronic unpredictable mild stress[J]. *Mediators Inflamm*, 2018, 2018:1-15.
- [52] Yazir Y, Şahin TD, Rençber SF, et al. Restorative effect of resveratrol on expression of endothelial and neuronal nitric oxide synthase in cavernous tissues of chronic unpredictable mild stress-exposed rats: an impact of inflammation[J]. *Int J Impot Res*, 2018, 30(6):318-326.
- [53] 关素珍, 刘继文, 连玉龙, 等. 慢性应激刺激致大鼠抑郁过程中红细胞免疫功能和T淋巴细胞亚群的变化[J]. 环境与职业医学, 2010, 27(8):468-471.
- [54] Wang C, Gan D, Wu J, et al. Honokiol exerts antidepressant effects in rats exposed to chronic unpredictable mild

- stress by regulating brain derived neurotrophic factor level and hypothalamus-pituitary-adrenal axis activity[J]. *Neurochem Res*, 2018, 43(8):1519-1528.
- [55] Wu C, Gong WG, Wang YJ, et al. Escitalopram alleviates stress-induced Alzheimer's disease-like tau pathologies and cognitive deficits by reducing hypothalamic-pituitary-adrenal axis reactivity and insulin/GSK-3 β signal pathway activity[J]. *Neurobiol Aging*, 2018, 67:137-147.
- [56] Scorrano F, Carrasco J, Pastor-Ciurana J, et al. Validation of the long-term assessment of hypothalamic-pituitary-adrenal activity in rats using hair corticosterone as a biomarker[J]. *FASEB J*, 2015, 29(3):859-867.
- [57] 宋美卿, 马澜, 贾力莉, 等. 对药香橼佛手对抑郁大鼠 HPT轴和HPA轴功能的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(10):4633-4636.
- [58] Taylor MJ, Sen S, Bhaqwaqar Z. Antidepressant response and the serotonin transporter gene-linked polymorphic region[J]. *Biol Psychiatry*, 2010, 68:536-543.
- [59] 田俊生, 史碧云, 冯光明, 等. 慢性温和和不可预知应激抑郁模型大鼠粪便¹H-NMR 代谢组学研究[J]. *中草药*, 2013, 44(22):3170-3176.
- [60] Li J, Hou L, Wang C, et al. Short term intrarectal administration of sodium propionate induces antidepressant-like effects in rats exposed to chronic unpredictable mild stress[J]. *Front Psychiatry*, 2018, 9:454.
- [61] Fan C, Zhu X, Song Q, et al. MiR-134 modulates chronic stress-induced structural plasticity and depression-like behaviors via downregulation of Limk1/cofilin signaling in rats[J]. *Neuropharmacology*, 2018, 131:364-376.
- [62] Zhou M, Wang M, Wang X, et al. Abnormal expression of microRNAs induced by chronic unpredictable mild stress in rat hippocampal tissues[J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(2): 917-935.
- [63] Sekar S, Grandjean J, Garnell JF, et al. Neuro-metabolite profiles of rodent models of psychiatric dysfunctions characterised by MR spectroscopy[J]. *Neuropharmacology*, 2019, 146:109-116.
- [64] Song Q, Fan C, Wang P, et al. Hippocampal CA1 β CaMKII mediates neuroinflammatory responses via COX-2/PGE2 signaling pathways in depression[J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1):338.
- [65] Lieve KVV, Wilde AAM. Inherited ion channel diseases: a brief review[J]. *Europace*, 2015, 17(Suppl 2):1-6.
- [66] Qi XY, Xu H, Wei LP, et al. Comparison of therapeutic effects of TREK1 blockers and fluoxetine on CUMS sensitive rats[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2018, 9(11):2824-2831.
- [67] Hou XY, Hu ZL, Zhang DZ, et al. Rapid antidepressant effect of hydrogen sulfide: evidence for activation of mTORC1-TrkB-AMPA receptor pathways[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2017, 27(8):472-488.
- [68] Gururajan A, Reif A, Cryan JF, et al. The future of rodent models in depression research[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2019, 20(11):686-701.
- [69] McKinney WT, Bunney WE. Animal model of depression. I. Review of evidence: implications for research[J]. *Arch Gen Psychiatry*, 1969, 21(2):240-248.
- [70] Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation[J]. *Psychopharmacologia (Berl)*, 1997, 134(4): 319-329.

Research Progress in Depression-like Rat Model Induced by Chronic Unpredictable Mild Stress

ZHAO Qian¹, WANG Anna¹, GAO Xuesong², LI Li¹, ZHAO Jingjie¹

(1. Traditional Chinese medicine department, Beijing Friendship hospital,

Capital Medical University, Beijing 100050, China ; 2. Beiyuan Hospital District,

Department of Rehabilitation Medicine, Beijing Longfu Hospital, Beijing 100010, China)

[Abstract] Depression is a kind of mental illness with typical symptoms of depression, slow thinking, and reduced speech and action, which can cause suicide behavior in serious cases. At present, chronic unpredictable mild stress (CUMS) has been widely used in depression research, and its physiological and pathological changes are similar to human depression. This paper reviewed the modeling methods, model evaluation and pathological changes of CUMS, and thought about the above aspects.

[Key words] Depression; Chronic unpredictable mild stress; Model; Rats