

姜宁,张亦文,姚彩虹,等. 大小鼠抑郁行为实验方法概述 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(6): 830-838.

Jiang N, Zhang YW, Yao CH, et al. Overview of animal behavioral tests of depression [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(6): 830-838.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.06.016

大小鼠抑郁行为实验方法概述

姜宁,张亦文,姚彩虹,黄红,刘新民*

(中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所,北京 100193)

【摘要】 抑郁症是一种常见的高患病率、高致残率、高复发率的心理疾病,发病机制复杂。实验动物(大小鼠)是研究抑郁症的最常用载体。由于动物的抑郁情绪难以用语言表达,行为实验是其主要的评价方法。目前大鼠和小鼠抑郁行为检测方法是基于兴趣缺失、心境低落、绝望和无价值感为主要特征而设计的,主要包括糖水偏爱、新奇环境摄食抑制、强迫游泳、悬尾、获得性无助等实验。在调研整理国内外关于大鼠和小鼠抑郁行为实验方法的基础上,对其检测原理、实验模式、测试时间和指标评价体系进行了分析总结,总结出可以操作的实验规范,同时对目前常见的抑郁症模型进行概述,有助于根据研究目的选择适当的行为学检测方法和动物模型,对抑郁症的深入研究具有重要意义。

【关键词】 抑郁症;行为实验方法;动物模型;大、小鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021) 06-0830-09

Overview of animal behavioral tests of depression

JIANG Ning, ZHANG Yiwen, YAO Caihong, HUANG Hong, LIU Xinmin*

(Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

Corresponding author: LIU Xinmin. E-mail: liuxinmin@hotmail.com

【Abstract】 Depression is a common mental disease with a high prevalence, disability rate and recurrence rate. The pathobiology of depression is multifactorial and not yet completely understood. Animal models and behavioral tests of depression have become essential for developing antidepressant drugs. The core symptoms of depression in depressive rodent models, including anhedonia and despair behaviors, are evaluated by different types of behavioral tests, such as the sucrose preference test, novelty-suppressed feeding test, tail suspension test, forced swim test and others. In this review, the principles and method of behavioral tests for depression that are currently used for antidepressant discovery are discussed and assessed. Moreover, the commonly used animal models of depression are summarized. This review provides valuable information for selecting the appropriate modeling method and behavioral tests according to the purpose of the study. This review aims to serve as a reference for researchers to select common behavioral tests and animal depression models, which may be of great significance for the in-depth study of depression.

【Keywords】 depression; behavioral test; animal model; rats/mice

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

【基金项目】 中国医学科学院创新工程(2021-I2M-1-034),国家重大研发计划(2018YFC1602105)。

Funded by CAMS Innovation Fund for Medical Sciences(CIFMS) Grant(2021-I2M-1-034), the National Key Research and Development Program of China(2018YFC1602105)。

【作者简介】 姜宁(1989—),女,博士,助理研究员,研究方向:动物行为学和神经精神药理研究。Email: jiangning0603@163.com

【通信作者】 刘新民(1962—),男,博士,教授,研究员,博士生导师,研究方向:动物行为学和神经精神药理研究。

Email: liuxinmin@hotmail.com

抑郁症是一种情感性精神障碍,以显著而持久的心境低落、快感缺失、绝望感和无价值感为主要特征,并伴有植物神经功能紊乱的综合征^[1]。世界卫生组织的统计数据表明抑郁症的全球发病率达 10% ~ 15%,抑郁症的高自杀和自残率严重危害患者的身心健康、工作学习生活及社会交往,同时产生极大的社会经济负担^[2-3]。抑郁症正成为继心脑血管疾病之后导致人类死亡和致残的第二大类疾病^[4]。

抑郁的产生涉及到大脑最复杂的高级思维活动。从分子、组织和器官水平研究情绪的发生机制无法反映数以百亿计的神经元以及神经突触组成的神经系统对外界刺激后经过复杂的生理、生化加工过程产生的综合性整体效应。鉴于动物与人类在进化上的高度保守性,利用实验动物在不同层次的行为响应特征与人类相比具有的相似性,建立模型推演,实现动物与人之间生物效应的等效性分析,是抑郁症发生机制研究及抗抑郁药物药效学评价的主要有效途径。而大鼠和小鼠等啮齿类动物是生命科学、药学和军事医学研究领域常用的实验动物^[5]。以 PubMed 和 CNKI 两种中英文文献库为重点进行查阅,分析整理以综述为重点的文献,总结各实验室有关大鼠和小鼠情绪行为实验技术和方法对抑郁动物模型的评价方法及常用的抑郁动物模型进行综述。

1 大小鼠抑郁行为评价方法概述

大鼠和小鼠抑郁行为检测方法是基于兴趣缺失、心境低落、绝望和无价值感为主要特征而设计的。科学家建立了多种行为实验方法用于检测动物的情绪行为改变。抑郁行为实验方法主要包括糖水偏爱、新奇环境摄食抑制、新奇物体探索、旷场、强迫游泳、悬尾、获得性无助等。

1.1 获得性无助实验(learned helplessness test)

获得性无助实验是指当大鼠接受连续无法控制或预知的厌恶性刺激(电击)后,将其放在可以逃避电击的环境中时,呈现出的逃避行为欠缺的现象,同时还伴有体重减轻、运动性活动减少、攻击性降低等行为改变^[6-7]。该实验是评价抑郁行为一种比较理想的实验方法^[8],可广泛应用于抑郁发病机制研究,以及新药、保健产品研发,在军事医学中也具有重要应用价值。

1.1.1 实验方法

本实验主要分为模型的建立期和条件性回避反应测试期^[9-15]:

(1)模型建立期:a:实验当天动物应放入测试箱(A室或B室)中,适应 5 min。b:动物应在电击箱内接受 30 ~ 60 个运行周期的循环电击。每个运行周期应包括无信号不可逃避的双室足底电击期和间歇期,电击时间应为 3 ~ 10 s,间歇期时间应为 3 ~ 10 s。电刺激频率宜为 5 ~ 15 Hz,刺激电流强度应为大鼠 0.65 ~ 1.80 mA,推荐 0.8 mA;小鼠 0.15 ~ 0.6 mA,推荐 0.25 mA。如采用电压,大鼠应为 65 ~ 70 V,小鼠 30 ~ 36 V。

(2)条件性回避反应测试期:a:模型建立结束后第 2 天应进行条件性回避反应测试。b:动物放入测试箱(A侧或B侧)中,适应 5 min 后,进行 15 ~ 30 个运行周期的实验。c:每个运行周期的总时间应为 30 s,包括 3 ~ 10 s 的条件刺激(灯光/声音)、3 ~ 10 s 的条件刺激+非条件刺激(电击条件同前)和 5 ~ 25 s 间歇期(不给以任何刺激)。d:重复上述步骤连续 2 ~ 3 d。

1.1.2 评价指标

(1)逃避失败次数(times of evasion failures):动物在设定的非条件刺激持续时间内未完成回避反应的总次数;逃避失败次数与动物的抑郁程度成正比。抑郁行为判断标准:30 次电击,动物逃避失败次数大于 25 次或者与对照组相比具有显著性增加($P < 0.05$)。

(2)逃避潜伏期(escape latency):实验开始后,动物第 1 次穿梭至对侧测试箱的时间;逃避潜伏期与动物的抑郁程度成正比。抑郁行为判断标准:逃避潜伏期大于 15 s 或者与对照组相比具有显著性增加($P < 0.05$)。

(3)其他:主动回避次数、安全区时间(无电区域)、运动总时间(实验期间动物处于运动状态的时间)、运动总路程(实验期间动物物理位移的总和)等实验指标亦作为抑郁行为辅助评价指标。这些指标值越少,表明动物抑郁程度越重。

1.2 强迫游泳实验(forced swim test)

Porsolt 等^[16-17]先后于 1977 年和 1978 年建立强迫游泳实验的方法。其原理主要是让动物被迫在一个局限且无法逃脱的空间游泳,由于啮齿类动物先天对水的厌恶,它们在水中会拼命挣扎游动,并试图逃离水环境,一段时间后,发现逃离无望时

动物停止挣扎表现出“行为绝望”状态(漂浮不动状态)。大、小鼠强迫游泳实验以游泳的不动时间为主要指标检测动物的绝望行为,是抗抑郁药物初筛以及检测模型动物是否出现“抑郁样”行为的常用检测实验^[18]。

1.2.1 实验方法

(1)实验前调节测试箱内水温,水温应为 23 ~ 25℃。水深应根据动物体重进行调整,动物尾巴与测试箱底面保持一定距离。

(2)如同时进行多只动物实验,每两只动物间应用不透明挡板隔开。

(3)大鼠强迫游泳实验^[19-21],应在实验前 1 d 预游,24 h 后进行强迫游泳实验。记录 5 min 内动物的不动时间、游泳时间及攀爬时间。

(4)小鼠强迫游泳实验^[22-23],应在检测当天进行,小鼠游泳时间应为 6 min,记录后 4 min 的游泳时间、不动时间及攀爬时间。

1.2.2 评价指标

评价指标应采用动物不动、攀爬、游泳三类动作的时间及次数进行判定。

(1)不动(immobility):动物在水中停止挣扎,呈漂浮状态,仅有轻微的肢体运动以保持头部浮在水面。不动时间越长表明抑郁程度越重。正常小鼠不动时间在检测时间的 40% ~ 80% 内;正常大鼠不动时间在检测时间的 30% ~ 70% 内;抑郁行为判断标准:不动时间与对照组相比显著性增加($P < 0.05$)。

(2)游泳(swimming):动物进行流畅、协调的运动,动物四肢始终在水面以下。游泳时间和游泳距离越少,表明抑郁程度越重。

(3)攀爬(climbing):动物四肢强有力伸出水面,并沿测试箱壁做剧烈的上下动作。5 min 检测期内,SD 大鼠攀爬时间 60 ~ 130 s。攀爬时间越少,表明动物抑郁程度越重。

1.3 悬尾实验(tail suspension test)

1985 年, Steru 等^[24]建立悬尾实验方法,其原理主要是:将小鼠尾巴悬挂,小鼠头部向下成倒悬体位,刚开始小鼠会剧烈挣扎试图逃脱这一不适的状态,但挣扎一段时间后发现逃跑无望会表现出不动状态,也被认为是一种“绝望”状态。悬尾实验以悬尾小鼠的不动时间为指标检测动物的绝望行为,是抗抑郁药物初筛以及检测模型动物是否出现“抑郁样”行为的常用检测实验^[25]。

1.3.1 实验方法

悬尾实验多采用小鼠,其操作方法如下^[26-29]:

(1)实验开始前,动物尾部悬吊使小鼠呈倒悬体位,头部应与悬尾箱底面保持一定距离。

(2)如同时进行多只动物实验时,每两只动物间应用不透明挡板隔开。

(3)记录检测期动物的不动时间。

(4)实验时间应为 6 min,记录后 4 min 内动物的不动时间。

1.3.2 评价指标

用不动、运动挣扎二类动作行为的时间进行判定。

(1)不动:动物停止挣扎,身体保持垂直倒悬状态,静止不动。动物的在悬尾实验中的不动时间越长表明抑郁程度越重。空白对照组 c57 小鼠不动时间较长,均值多大于 100 s;空白对照组 ICR 小鼠不动时间均值多小于 100 s;抑郁行为判断标准:不动时间与对照组相比有显著性增加($P < 0.05$)。

(2)运动挣扎:动物有明显可见的挣扎运动。运动挣扎时间越短,表明抑郁程度越重。

1.4 糖水偏爱实验(sucrose preference test)

糖水偏爱实验是检测抑郁症的一个典型症状—快感缺失的经典实验,是利用啮齿类动物对甜味的偏好而设计一种检测方法。动物禁食一段时间后,同时给予白水和低浓度蔗糖水,以动物对蔗糖水的偏好度(蔗糖偏爱度)为指标检测动物是否出现快感缺失这一抑郁症状^[30]。该实验在大鼠慢性应激模型中应用最广泛,大鼠慢性不可预知性应激模型的建立者 Katz 和大鼠慢性温和应激模型的建立者 Willner 分别于 1982 年和 1987 年首次采用糖水实验检测抑郁模型动物是否出现快感缺失症状^[31-32]。此外,该实验为抗抑郁药物起效速率研究的最主要的行为学检测方法之一。

1.4.1 实验方法

大、小鼠糖水偏爱实验的操作方法上略有不同,对其分别进行总结如下:

(1)大鼠糖水偏爱实验^[33-34]:训练期:动物应单笼饲养,进行 48 h 的蔗糖饮水训练。前 24 h 给予两瓶 1% ~ 2% 蔗糖水,后 24 h,一瓶给予 1% ~ 2% 蔗糖水,另一瓶给予饮用纯水(中途交换两个水瓶位置)。大鼠禁食禁水 14 ~ 23 h 后,进行糖水偏爱指数的测定:测定 1 h 内大鼠对两瓶水的饮用量(g)。

(2)小鼠糖水偏爱实验^[35-37]:操作流程同大鼠。

但在 48 h 饮水训练时,应全程给予 1% ~ 2% 蔗糖水和饮用水(中途交换两个水瓶位置)。训练期结束后,禁水(不禁食)9 ~ 16 h,测定 8 ~ 15 h 内(中间宜交换两瓶位置 1 次)小鼠对两瓶水的饮用量(g)。

1.4.2 评价指标

应采用蔗糖偏嗜度(sucrose preference)作为评价指标,蔗糖偏嗜度(%) = 蔗糖水饮用量 / (蔗糖水饮用量 + 饮用水饮用量) × 100%。

抑郁行为判断标准:蔗糖偏嗜度低于 0.4 或者与对照组相比有显著性减低($P < 0.05$)。

1.5 旷场实验(open field test)

旷场实验是经典的情绪相关行为学检测实验,最早由 Hall 设计^[38]。是用于检测动物在陌生环境中的行为表现,包括自发活动行为和探索行为,是评价动物在新异环境中自主行为、探究行为与紧张度的一种方法。检测指标为动物首次进入中央区的潜伏期、中央区停留时间和穿行次数;结合抑郁模型可检测动物的“抑郁样”行为和药物的抗抑郁作用,检测指标为动物的开场活动性,可人工计数动物的水平爬格次数和垂直站立次数作为行为指标,也可采用自动摄像记录动物运动轨迹,并采用行为学分析软件进行分析运动距离、运动速度、休息时间等行为指标。该实验亦可用于评价抗抑郁药物的起效速率。

1.5.1 实验方法

旷场实验操作简单,在用于抑郁行为学评价中,无适应阶段,操作步骤如下^[39-42]:

(1)实验前,动物应适应检测环境 30 ~ 60 min;
(2)动物放入测试箱后,即开始检测,检测时间宜为 5 ~ 10 min;
(3)每次实验时应从同一位置同一方向将动物放入测试箱中央。

1.5.2 评价指标

(1)总路程(total distance):动物在实验记录时间内产生的物理位移累积;
(2)速度(speed):动物在单位时间产生的物理位移。5 min 内正常动物总路程多为 1000 ~ 2500 cm,速度为 3 ~ 8 cm/s。动物出现抑郁行为时,速度减少;
(3)运动总时间(total move time):动物在实验记录时间内的产生物理位移时所需的时间累积。正常动物运动时间多大于检测时间的 30%;
抑郁行为判断标准:与对照组相比有显著性减低($P < 0.05$);
(4)站立次数(number of standing):动物在实验记录时间内的站立总次数。

10 min 检测时间,正常大鼠站立次数 20 ~ 50 次。10 min 检测时间,空白对照组小鼠站立次数 60 ~ 130 次;抑郁行为判断标准:与对照组相比显著减低($P < 0.05$)。

1.6 新奇事物探索实验(novel objective test)

新奇事物探索实验是一种较新的评价抑郁症的典型症状;兴趣缺失的行为学方法。其主要是研究动物对新奇事物的探索行为,是基于动物先天的寻求新奇的行为,并用此来评价抑郁症模型是否存在兴趣缺失症状的方法,一般情况下抑郁症模型动物在新奇事物实验中的探索行为减少^[43]。1998 年 Harris 等^[44]通过对慢性不可预测性应激模型大鼠研究第一次将动物对新奇物体的探索行为作为评价抑郁症动物模型兴趣缺失的评价指标。

1.6.1 实验方法

新奇事物探索实验分为适应期和测试期两个阶段,操作步骤如下^[45-48]:

(1)适应期:动物放入自发活动测试箱,适应 5 min 后,取出,放回原笼;

(2)测试期:在同一环境条件下引入一新物体(应放入中心位置),再将待测动物面壁放入测试箱,开始实验;

(3)检测时间应为 10 min。

1.6.2 评价指标

潜伏期(latency period):实验开始至动物首次主动探索(接触)物体的时间。如规定检测时间内,动物没有接触新物体,则潜伏期记录为检测时间。正常大鼠潜伏期多在 130 s 以内。抑郁行为判断标准:与对照组相比有显著性增加($P < 0.05$)。(注:动物对新物体的探索标准:动物口鼻在新奇物体 ≤ 2 cm 范围内,直指向新奇物体或直接接触物体。)

2 常用的抑郁症动物模型

抑郁动物模型可以模拟人类抑郁症的临床症状且这些症状可被有效的药物逆转,这对于抑郁症发病机制的研究及抗抑郁药物研发、临床疗效评价都有重要的应用价值。抑郁症的发病机制复杂,目前主要是单独或者复合利用化学、物理、生物因子建立各种抑郁障碍动物模型。一个恰当的人类抑郁症的动物模型应尽可能满足以下条件:强烈的现象学和病理生理学相似之处(表面效度),类似的病因(建构效度)和常见的治疗(预测效度)^[49]。

2.1 慢性轻度不可预测应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS)

Katz 等^[31]在 20 世纪 80 年代早期开始慢性应激模型的研究,连续三周给予动物一系列高强度刺激因素如电击、冰水游泳等,动物呈现抑郁状态。Willner 等^[32]在此基础上,降低了应激刺激的强度,延长应激时间,并将快感缺失测试作为该模型的主要评价方法,形成了慢性不可预测性温和应激模型。应激因子包括饲养笼倾斜、潮湿垫料、高温、噪音、束缚、电击、游泳、昼夜节律颠倒等不同刺激因子,且刺激因子安排为多变性和不可预测,可诱导性是模型制造成功的关键。该模型符合抑郁症的诱发因素(长期、慢性、低强度的压力刺激)的特征,具有良好的表现效度、构造效度和预测效度,是国内外最为公认的抑郁动物模型,广泛用于研究抑郁症神经生物学机制也是抗抑郁药物研发最常用的抑郁症动物模型^[50-52]。

2.2 睡眠干扰 (sleep interruption, SI)

睡眠干扰包括物理和化学两种因素诱导的睡眠干扰。化学药物包括咖啡因、去氧麻黄碱、可乐定口服或腹腔注射。物理睡眠干扰方法包括小平台水环境、滚筒、水平转盘、跑台、人工轻触刺激等方法。目前应用较多的睡眠干扰造模方法为滚筒法、水平转盘法和跑台法^[53-54]。SI 是一种可靠的新模型,具有睡眠障碍和抑郁症的双向关系的特点^[55-56],对于研究抑郁症发生机制和抗抑郁药物研发有着重要意义。

2.3 慢性束缚 (chronic restraint stress, CRS)

慢性束缚应激是一种非损伤性刺激,是一种常用的应激模型。造模方法是将啮齿类动物重复地置于束缚器内,限制其行动自由一段时间后,动物会表现出快感缺失、体重减轻、饮食减少等抑郁样症状,而这些抑郁样症状均可以被抗抑郁药所改善^[57-58]。CRS 属于不可逃避性或强制性心理的应激模型,能有效地引起典型的非特异性应激反应,且与人类身心性疾病的致病过程有很大的相似性,是目前应用最广泛的一种抑郁症动物模型,对于抑郁症的病理生理研究有着重要意义^[59-60]。

2.4 社会挫败应激 (social defeat stress)

社会挫败应激模型是一种社会性心理应激的抑郁模型,是以动物间的从属关系为基础的社会应激方式,它通过同种动物相同或不同品系个体间的挫败行为导致抑郁样及其他行为改变,能更好地模

拟人类社会活动中的社交困难,快感缺失等是人类抑郁症的核心症状^[61-62]。将动物反复多次的暴露于另一更强壮的有侵略性的同种动物之下从而导致实验动物出现快感缺失、情绪低落等症状^[63]。社会挫败应激模型具有准确的病因,预测,判别和面部有效性,是目前应用广泛的一种抑郁症动物模型^[64-65]。

2.5 嗅球摘除 (olfactory bulbectomy)

1978 年, Cairncross 等^[66]提出了大鼠嗅球切除致抑郁的动物模型,是一种脑损伤模型,嗅球切除模型大鼠的行为学表现和病理生理改变与抑郁症患者吻合,抗抑郁药物在该模型中敏感,且一般需要慢性给药才能发挥抗抑郁作用,与临床起效时程一致^[67]。啮齿类动物嗅球摘除后行为学发生明显改变,嗅球摘除抑郁大鼠模型在行为学、生理学、神经化学和免疫系统的改变均和人类非常相似,很多抗抑郁药物对该模型的行为表现有良好的纠正作用^[68-69],手术切除动物嗅球是一种经典的抑郁动物模型。

2.6 药物诱导 (drug introduce)

利血平模型是最早的药物诱导动物模型。1963 年, Askew^[70]发现首次发现三环类抗抑郁药(丙咪嗪)能够拮抗利血平引起的相关症状,证实了利血平拮抗实验是一种新型的抑郁模型。利血平拮抗模型的原理是通过耗竭脑组织中的单胺类神经递质(如 5-羟色胺,多巴胺,去甲肾上腺素)来抑制中枢神经系统。动物腹腔注射利血平后,会表现出运动不能、眼睑下垂、体温下降等症状^[71]。利血平模型简单、可靠,应用广泛,还可以区分起效慢、作用时间长的抗抑郁药和起效快、作用时间短的抗抑郁药^[72]。

此外还包括高剂量阿扑吗啡降温实验、5-羟色氨酸 (5-hydroxytryptophan, 5-HTP) 诱导甩头实验等。

2.7 基因工程动物 (genetically engineered animals)

基因工程动物模型多针对与抑郁病变相关的基因外源性转入或敲除、或诱导所形成的动物模型。目前主要有 WKY (Wistar Kyoto) 大鼠、5-羟色胺 1A 受体 (5-HT_{1A} Receptor, 5-HT_{1A}) 低敏感性 FSL (Flinder Resistant Line) 大鼠、5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 能突触突变性 FH (Fawn Hooded) 大鼠、多巴胺神经功能低下大鼠 (Swim

Low-active Model, SwLo)。

WKY 大鼠是抑郁和焦虑共病遗传模型。强迫游泳时间长,习得性无助行为显著,对应激敏感,游泳应激后,皮质酮水平显著升高。在旷场实验和高架十字迷宫中表现焦虑状态。同时,WKY 大鼠对 5-羟色胺重摄取抑制剂具有抗药性,因此可用于抗抑郁药物的抗药性研究^[73]。

FSL 大鼠对胆碱能受体激动剂敏感,5-HT1A 受体敏感性降低^[74]。食欲减少,快动眼睡眠潜伏期缩短,时间延长。免疫系统异常,但糖水偏爱实验未表现快感缺失。FSL 大鼠对抗抑郁药物敏感,可用于抗抑郁药物筛选。

FH 大鼠脑内 5-HT 能突触突变,喜好摄入大量乙醇,基础皮质酮水平高,常用于抗抑郁药物的筛选^[75]。

SwLo 大鼠多巴胺神经功能减弱,强迫游泳时间长,活动少^[76]。慢性而非急性抗抑郁治疗可以增加其在强迫游泳中的活动时间。

2.8 其它

前面常用情绪行为实验方法中,获得性无助、强迫游泳、悬尾等方法本身也可利用正常动物,模拟抑郁症动物模型进行研究。

3 小结与展望

大、小鼠与人类同源基因高达 85%,是最常用的实验动物,广泛用于抑郁症发生机制及药物防护的研究,其结果可以类推到人,避免了直接以人为对象进行研究的伦理问题^[77]。抑郁症发病机制复杂,临床症状多样,根据人类抑郁症的核心症状:兴趣缺失、心境低落、绝望和无价值感为特征,科学家设计并建立了多种用于检测动物的抑郁样行为改变的大小鼠行为实验方法,主要包括糖水偏爱实验(评价快感缺失)、新奇环境摄食抑制、新奇物体探索(兴趣缺乏)、旷场(活动度减少)、强迫游泳、悬尾和学习无助实验(绝望行为)等。常用的抑郁症动物模型包括应激模型、药物诱导模型、转基因模型及其他模型等。如何选择规范的行为学检测方法及合适的动物模型,对于抑郁症的发生发展机制研究,以及新药、保健食品功效评价具有十分重要的作用。结合本文的综述结果,一般来说,研究抑郁行为改变时,应至少采取上述抑郁行为实验方法中的 2 种,每种实验方法应重复 1 次,且全部行为检测方法中,应都呈现同向性改变或至少 1 次

应表现出统计学上的显著性差异;选择动物模型时,应选择两种或以上不同致病原理模拟的动物模型,且至少两种模型显示出改善作用并出现统计学意义。

目前的抑郁行为的评价方法主要是关注于动物的单一行为活动对其评价,是以提取动物的整体活动指标为主,如时间、次数、饮水量等指标,缺少对复杂行为学变化的评价的多维、精细、敏感的指标体系。近年来,随着计算机的出现,计算机、成像、传感、电子工程和信息等多种新兴学科的迅速发展和各种新技术向动物行为实验领域的交叉渗透融合^[78],给行为学实验中提取动物的三维空间运动情况、面部表情变化,声音辨识等指标提供了技术基础,也为行为学评价方法从评价动物单一部位、二维空间行为变化推进到多部位,三维精细活动信息全方位采集提供了可能。同时,随着一些能同时捕获多种行为信息的设备不断问世,单一个体的行为检测手段正向群体环境下交互行为研究方法转变,可以同时获得多只动物在群体的抑郁行为学数据动物抑郁行为特征。可以预测将多学科的技术融合于动物行为实验研究中,建立规范、稳定的更接近人类抑郁症临床表现的动物模型,构建更精准、系统的行为学评价方法,准确解读、全面诠释模型动物的行为学表型内涵,并与临床症状相匹配,提高动物模型的表观、预测、结构效度,是动物行为实验方法的发展方向。

参 考 文 献(References)

- [1] Xu P, Wang K, Lu C, et al. Effects of the chronic restraint stress induced depression on reward-related learning in rats [J]. Behav Brain Res, 2017, 321: 185-192.
- [2] Malhi GS, Mann JJ. Depression [J]. Lancet, 2018, 392(10161): 2299-2312.
- [3] Smith K. Mental health: a world of depression [J]. Nature, 2014, 515(7526): 180-181.
- [4] The burden of depression [J]. Nature, 2014, 515(7526): 163.
- [5] 方肇勤,潘志强,卢文丽,等.大鼠和小鼠辨证论治标准的建立和用途[J].中西医结合学报,2009,7(10):907-912. Fang ZQ, Pang ZQ, Lu WL, et al. Methodology and purposes of establishing mouse and rat models for syndrome differentiation and treatment [J]. Chin J Integr Med, 2009, 7(10): 907-912.
- [6] Seligman ME, Beagley G. Learned helplessness in the rat [J]. J Comp Physiol Psychol, 1975, 88(2): 534-541.
- [7] Sherman AD, Sacquitne JL, Petty F. Specificity of the learned helplessness model of depression [J]. Pharmacol Biochem Behav, 1982, 16(3): 449-454.
- [8] Takamori K, Yoshida S, Okuyama S. Availability of learned

- helplessness test as a model of depression compared to a forced swimming test in rats [J]. *Pharmacology*, 2001, 63(3): 147–153.
- [9] Vollmayr B, Henn FA. Stress models of depression [J]. *Clin Neurosci Res*, 2003, 3(4–5): 245–251.
- [10] Zazpe A, Artaiz I, Labeaga L, et al. Reversal of learned helplessness by selective serotonin reuptake inhibitors in rats is not dependent on 5-HT availability [J]. *Neuropharmacology*, 2007, 52(3): 975–984.
- [11] Kobayashi H, Iwata M, Mitani H, et al. VPA improves the tolerance for the stress in learned helplessness rats [J]. *Neurosci Res*, 2012, 71(4): 355–363.
- [12] 陈力, 薛瑞, 于能江, 等. 小补心汤总黄酮对获得性无助小鼠的抗抑郁作用及其对 HPA 轴功能的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(6): 815–821.
- Chen L, Xue R, Yu NJ, et al. Total flavonoids extracted from xiaobuxin-tang on hyperactivity of hypothalamic-pituitary-adrenal axis in mouse learned helplessness model [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2015, 31(6): 815–821.
- [13] Pryce CR, Azzinnari D, Sigrist H, et al. Establishing a learned-helplessness effect paradigm in C57BL/6 mice: behavioural evidence for emotional, motivational and cognitive effects of aversive uncontrollability perse [J]. *Neuropharmacology*, 2012, 62(1): 358–372.
- [14] Muneoka K, Shirayama Y, Horio M, et al. Differential levels of brain amino acids in rat models presenting learned helplessness or non-learned helplessness [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2013, 229(1): 63–71.
- [15] Yamada K, Kobayashi M, Shiozaki S, et al. Antidepressant activity of the adenosine A2A receptor antagonist, istradefylline (KW-6002) on learned helplessness in rats [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2014, 231(14): 2839–2849.
- [16] Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioural despair in mice: a primary screening test for antidepressants [J]. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1977, 229(2): 327–336.
- [17] Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. “Behavioural despair” in rats and mice: Strain differences and the effects of imipramine [J]. *Eur J Pharmacol*, 1978, 51(3): 291–294.
- [18] Hao Y, Ge H, Sun M, et al. Selecting an appropriate animal model of depression [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(19): 4827.
- [19] Detke MJ, Lucki I. Detection of serotonergic and noradrenergic antidepressants in the rat forced swimming test: the effects of water depth [J]. *Behav Brain Res*, 73(1–2): 43–46.
- [20] Xue R, Jin ZL, Chen HX, et al. Antidepressant-like effects of 071031B, a novel serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor [J]. *Eur Neuropsychopharm*, 2013, 23(7): 728–741.
- [21] Zhang LM, Zhao N, Guo WZ, et al. Antidepressant-like effects of YL-IPA08, a potent ligand for the translocator protein (18kDa) in chronically stressed rats [J]. *Neuropharmacology*, 2017, 113: 567–575.
- [22] 陈怡西, 王琼, 张永亮, 等. 模拟失重大鼠的抑郁样行为学表现 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(17): 141–145.
- Chen YX, Wang Q, Zhang YL, et al. Depressive behavioral on rats of simulated weightlessness [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2014, 17: 141–145.
- [23] 方玲, 杨莉莉. 人参皂苷 Rh2 对慢性不可预知应激所致抑郁小鼠的治疗作用及机制研究 [J]. *浙江医学*, 2019, 41(21): 2269–2273, 2352.
- Fang L, Yang LL. herapeutic effect and mechanism of ginsenoside Rh2 on mice with chronic unpredictable stress-induced depression [J]. *Zhejiang Med J*, 2019, 41(21): 2269–2273, 2352.
- [24] Steru L, Chermat R, Thierry B, et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 1985, 85(3): 367–370.
- [25] 孙秀萍, 张晓萌, 卢聪, 等. 悬尾实验实时检测分析处理系统的研制及初步应用 [J]. *中国比较医学杂志*, 2014, 24(5): 66–71.
- Sun XP, Zhang XM, Lu C, et al. Development and application of computer-auto-controlling and analysis system for tail suspension [J]. *Chin J Comp Med*, 2014, 24(5): 66–71.
- [26] Can A, Dao DT, Terrillion CE, et al. The tail suspension test [J]. *J Vis Exp*, 2012, 90(59): e3769.
- [27] 李腾飞, 孙秀萍, 石哲, 等. 不同品系小鼠在三种常见抑郁检测方法中的行为学表现 [J]. *中国比较医学杂志*, 2011, 21(8): 20–23.
- Li TF, Sun XP, Shi Z, et al. Different behavioral activities of different mouse strains detected by three common tests for depression [J]. *Chin J Comp Med*, 2011, 21(8): 20–23.
- [28] Chen HX, Jin ZL, Zhang LM, et al. Antidepressant-like activity of YL-0919: a novel combined selective serotonin reuptake inhibitor and 5-HT1A receptor agonist [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83271.
- [29] An L, Li J, Yu ST, et al. Effects of the total flavonoid extract of Xiaobuxin-Tang on depression-like behavior induced by lipopolysaccharide and proinflammatory cytokine levels in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 163: 83–87.
- [30] Matthews K, Forbes N, Reid IC. Sucrose consumption as an hedonic measure following chronic unpredictable mild stress [J]. *Physiol Behav*, 1995, 57(2): 241–248.
- [31] Katz RJ. Animal model of depression: pharmacological sensitivity of a hedonic deficit [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 16(6): 965–968.
- [32] 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.
- [33] Sun XP, Shi Z, Pan RL, et al. Antidepressant-like effects and mechanism of action of SYG in depression model in rats [J]. *Neuroendocrinol Lett*, 2014, 35(2): 129–136.
- [34] Ning J, Lv JW, Wang H, et al. Ginsenoside 20 (S)-protopanaxadiol attenuates depressive-like behaviour and neuroinflammation in chronic unpredictable mild stress-induced depressive rats [J]. *Behav Brain Res*, 2020, 393: 112710.

- [35] Sun XP, Shi Z, Li TF, et al. Antidepressant-like effects of total saikosaponins of *Bupleurum yinchowense* in mice [J]. *J Med Plants Res*, 2012, 6(26): 4308-4316.
- [36] Mutlu O, Ulak G, Laugeray A, et al. Effects of neuronal and inducible NOS inhibitor 1-[2-(trifluoromethyl) phenyl] imidazole (TRIM) in unpredictable chronic mild stress procedure in mice [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2009, 92(1): 82-87.
- [37] Liu MY, Yin CY, Zhu LJ, et al. Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice [J]. *Nat Protoc*, 2018, 13(7): 1686-1698.
- [38] Hall CS. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality [J]. *J Comp Physiol Psychol*, 1934, 18(3): 385-403.
- [39] Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: Implications for a model of depression [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 1981, 5(2): 247-251.
- [40] An L, Zhang YZ, Yu NJ, et al. Role for serotonin in the antidepressant-like effect of a flavonoid extract of *Xiaobuxin-Tang* [J]. *Pharmacol Biochem Be*, 2008, 89(4): 572-580.
- [41] 买文丽, 王琼, 刘新民, 等. 小鼠自主活动实验中的评价指标 [J]. *中国实验动物学报*, 2008, 16(3): 172-175, 244.
- Mai WL, Wang Q, Liu XM, et al. Significant parameters in evaluation of spontaneous activity in mice [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2008, 16(3): 172-175, 244.
- [42] 王琼, 买文丽, 李翔华, 等. 自主活动实时测试分析处理系统的建立与开心安神镇静作用验证 [J]. *中草药*, 2009, 40(11): 1773-1779.
- Wang Q, Mai WL, Li YH, et al. Establishment of computer-based image-processing system for animal's locomotor activity and sedative verification by Kaixin Powder [J]. *Chin Herb Med*, 2009, 40(11): 1773-1779.
- [43] 薛涛, 郭丽莎, 刘新民, 等. 抑郁症动物模型及评价方法研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2015, 23(3): 321-326.
- Xue T, Wu LS, Liu XM, et al. Research progress on animal models of depression and their evaluation methods [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2015, 23(3): 321-326.
- [44] Harris RB, Zhou J, Youngblood BD, et al. Failure to change exploration or saccharin preference in rats exposed to chronic mild stress [J]. *Physiol Behav*, 1998, 63(1): 91-100.
- [45] 何怡然, 马静遥, 陈铃铃, 等. DS-1226 对慢性限制活动大鼠的抗抑郁作用 [J]. *中国实验动物学报*, 2013, 21(3): 42-47.
- He YR, Ma JY, Chen LL, et al. Antidepressant-like effect of DS-1226 on chronic restraint rats [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2013, 21(3): 42-47.
- [46] Li Y, Zheng X, Liang J, et al. Coexistence of anhedonia and anxiety-independent increased novelty-seeking behavior in the chronic mild stress model of depression [J]. *Behav Process*, 2010, 83(3): 331-339.
- [47] Shoval G, Shbiro L, Hershkovitz L, et al. Prohedonic effect of cannabidiol in a rat model of depression [J]. *Neuropsychobiology*, 2015, 73(2): 123-129.
- [48] 张北月, 卢聪, 董黎明, 等. 不同时长的束缚应激致雌雄大鼠的抑郁样行为改变 [J]. *中国比较医学杂志*, 2016, 26(11): 18-23.
- Zhang BY, Lu C, Dong LM, et al. Depressive-like behavior of male and female rats induced by restraint stress with different restraint duration [J]. *Chin J Comp Med*, 2016, 26(11): 18-23.
- [49] Yan HC, Cao X, Das M, et al. Behavioral animal models of depression [J]. *Neurosci Bull*, 2010, 26(4): 327-337.
- [50] Wilhelm K, Parker G, Dewhurst-Savellis J, et al. Psychological predictors of single and recurrent major depressive episodes [J]. *J Affect Disorders*, 1999, 54(1-2): 139-147.
- [51] Giles DE, Jarrett RB, Biggs M, et al. Clinical predictors of recurrence in depression [J]. *Am J Psychiat*, 1989, 146(6): 764-767.
- [52] Dang H, Chen Y, Liu X, et al. Antidepressant effects of ginseng total saponins in the forced swimming test and chronic mild stress models of depression [J]. *Prog Neuro Psychoph*, 2009, 33(8): 1417-1424.
- [53] 武宏伟. 人参皂苷水解产物对慢性应激所致学习记忆功能减退的改善作用 [D]. 北京: 北京协和医学院; 2015.
- Wu HY. Ameliorative effects of hydrolyzates of ginsenosides on learning and memory dysfunction caused by chronic stress [D]. Beijing: Peking Union Medical College; 2015.
- [54] 高江晖, 卜兰兰, 石哲, 等. 不同时间睡眠干扰所致小鼠的类抑郁样行为 [J]. *中国实验动物学报*, 2011, 19(5): 405-409.
- Gao JH, Bu LL, Shi Z, et al. Depression-like behavior induced by 5-15 days sleep interruption in mice [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2011, 19(5): 405-409.
- [55] Tempesta D, Curcio G, De Gennaro L, et al. Long-term impact of earthquakes on sleep quality [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e55936.
- [56] Riemann D, Berger M, Voderholzer U. Sleep and depression—results from psychobiological studies: An overview [J]. *Biol Psychol*, 2001, 57(1-3): 67-103.
- [57] 唐已婷, 陈家旭. 慢性束缚应激动物模型的研究进展 [J]. *北京中医药大学学报*, 2002, 25(1): 25-28.
- Tang YT, Chen JX. Research progress on animal models of chronic restraint stress [J]. *J Beijing Univ TCM*, 2002, 25(1): 25-28.
- [58] Jiang N, Lv JW, Wang HX, et al. Antidepressant-like effects of ginsenoside Rg1 in the chronic restraint stress-induced rat model [J]. *Digital Chin Med*, 2019, 2(4): 207-218.
- [59] 迟强, 许鹏, 卢山, 等. 慢性束缚应激动物模型生物学特性及相关机制研究进展 [J]. *临床军医杂志*, 2013, 41(12): 1299-1301.
- Chi Q, Xu P, Lu S, et al. Research progress on biological characteristics and related mechanisms of chronic restraint stress animal models [J]. *Clin J Med Offic*, 2013, 41(12): 1299-1301.

- [60] Liu L, Zhou X, Zhang Y, et al. The identification of metabolic disturbances in the prefrontal cortex of the chronic restraint stress rat model of depression [J]. *Behav Brain Res*, 2016, 305: 148–156.
- [61] Abela HM, Réus GZ, Quevedo J. Animal models as tools to study the pathophysiology of depression [J]. *Braz J Psychiatry*, 2013, 35: S112-S120.
- [62] Toyoda A. Social defeat models in animal science: What we have learned from rodent models [J]. *Anim Sci J*, 2017, 88(7): 944–952.
- [63] Donahue RJ, Muschamp JW, Russo SJ, et al. Effects of striatal Δ FosB overexpression and ketamine on social defeat stress-induced anhedonia in mice [J]. *Biol Psychiatry*, 2014, 76(7): 550–558.
- [64] 张磊阳, 贺敏, 李玥, 等. 抑郁症动物模型的研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(9): 92–97.
Zhang LY, He M, Li Y, et al. Research progress on animal models of depression [J]. *Chin J Comp Med*, 2017, 27(9): 92–97.
- [65] Ito N, Hirose E, Ishida T, et al. Kososan, a Kampo medicine, prevents a social avoidance behavior and attenuates neuroinflammation in socially defeated mice [J]. *J Neuroinflamm*, 2017, 14(1): 98.
- [66] Cairncross KD, Cox B, Forster C, et al. A new model for the detection of antidepressant drugs: Olfactory bulbectomy in the rat compared with existing models [J]. *J Pharmacol Met*, 1978, 1(2): 131–143.
- [67] 周云丰, 陶雪, 王丽莎, 等. 嗅球切除动物模型的特点和应用研究进展 [J]. *药学报*, 2019, 54(7): 1157–1165.
Zhou YF, Tao X, Wang LS, et al. Progress in characteristics and application of olfactory bulbectomy animal model [J]. *Acta Pharm Sin*, 2019, 54(7): 1157–1165.
- [68] Yuan TF, Slotnick BM. Roles of olfactory system dysfunction in depression [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2014, 54: 26–30.
- [69] 苗茸茸, 曲显俊. 抑郁症动物模型的研究进展 [J]. *实验动物科学*, 2019, 36(3): 80–85.
Miao RR, Qu XJ. Research progress in animal models of depression [J]. *Lab Anim Sci*, 2019, 36(3): 80–85.
- [70] Askew BM. A simple screening procedure for imipramine-like antidepressant agents [J]. *Life Sci*, 1963, 2(10): 725–730.
- [71] 宗阳, 朱立静, 孙冰婷, 等. 利血平诱导的抑郁模型的研究进展 [J]. *中国药房*, 2016, 27(19): 2697–2699.
Zong Y, Zhu LJ, Sun BT, et al. Research progress of reserpine induced depression model [J]. *Chin Pharm*, 2016, 27(19): 2697–2699.
- [72] 叶娜, 郑卫英. 抑郁症动物模型建立及评价的研究进展 [J]. *数理医药学杂志*, 2015, 28(6): 902–904.
Ye N, Zheng WY. Research Progress on establishment and evaluation of depression animal model [J]. *J Math Med*, 2015, 28(6): 902–904.
- [73] Overstreet DH. Selective breeding for increased cholinergic function: Development of a new animal model of depression [J]. *Biol Psychiat*, 1986, 21(1): 49–58.
- [74] Kovacević T, Skelin I, Diksic M. Chronic fluoxetine treatment has a larger effect on the density of a serotonin transporter in the Flinders Sensitive Line (FSL) rat model of depression than in normal rats [J]. *Synapse*, 2010, 64(3): 231–240.
- [75] Paré WP. Stress ulcer susceptibility and depression in Wistar Kyoto (WKY) rats [J]. *Physiol Behav*, 1989, 46(6): 993–998.
- [76] Chen F, Lawrence AJ. 5-HT transporter sites and 5-HT_{1A} and 5-HT₃ receptors in fawn-hooded rats: a quantitative autoradiography study [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2000, 24(7): 1093–1102.
- [77] 蒋洋洋, 朱浩, 张海. 人类与小鼠同源 lncRNA 基因及其表观遗传调控靶基因分析 [J]. *南方医科大学学报*, 2018, 38(6): 731–735.
Jiang YY, Zhu H, Zhang H. Analysis of orthologous lncRNAs in humans and mice and their species-specific epigenetic target genes [J]. *J South Med Univ*, 2018, 38(6): 731–735.
- [78] 孙秀萍, 王琼, 石哲, 等. 动物行为实验方法学研究的回顾与展望 [J]. *中国比较医学杂志*, 2018, 28(3): 1–7.
Sun XP, Wang Q, Shi Z, et al. Review and prospect of experiment methodology on animal behavior [J]. *Chin J Comp Med*, 2018, 28(3): 1–7.

[收稿日期] 2021-04-22