

吕振, 龚志刚. 酒精使用障碍动物模型构建的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(3): 382-389.
Lyu Z, Gong ZG. Advances in establishment of alcohol use disorder models [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(3): 382-389.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.03.013

酒精使用障碍动物模型构建的研究进展

吕振^{1,2}, 龚志刚^{1,2*}

(1. 江西师范大学国家体育总局水上项目训练监控与干预重点实验室, 南昌 330022;
2. 江西师范大学 体育学院, 南昌 330022)

【摘要】 酒精使用障碍(alcohol use disorder, AUD)是一种与行为学、社会心理学和神经生物学等方面相关的神经精神疾病,也定义为酗酒和酒精依赖。由于 AUD 的诊断主要依赖于行为标准的判断,诊断具有复杂性,难以建立包含所有 AUD 特征的动物模型。本文对国内外相关文献总结归纳,将 AUD 模型分为强迫给药模型和自身给药模型,比较了两种模型所包含的酒精唯一饮用方法、酒精灌胃方法、酒精流食方法、慢性间歇性酒精蒸气暴露方法、两瓶选择方法、操作性自身给药方法的优缺点,从表观效度、预测效度和结构效度三方面对造模方法进行探究,以期 AUD 研究者在动物造模方法的选择上提供有益参考。

【关键词】 酒精使用障碍;动物模型;酒精使用障碍模型;酒精

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2023) 03-0382-08

Advances in establishment of alcohol use disorder models

LYU Zhen^{1,2}, GONG Zhigang^{1,2*}

(1. Key Lab of Aquatic Sports Training Monitoring and Intervention of General Administration of Sport of China, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China. 2. Faculty of Physical Education, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022)
Corresponding author: GONG Zhigang. E-mail: gongzhigang@jxnu.edu.cn

【Abstract】 Alcohol use disorder (AUD) is a neuropsychiatric disorder associated with behavior, psychosociology, and neurobiology. AUD is mainly diagnosed by judgment of behavioral criteria. The animal model of AUD is the basis of research. However, because of the complexity of AUD diagnosis, it is too difficult to establish an animal model that includes all characteristics of AUD. This review summarizes the relevant literature and divides the AUD model into forced administration and self-administration models. The advantages and disadvantages of alcohol-only drinking, alcohol gavage, an alcohol liquid diet, chronic intermittent ethanol exposure, two-bottle choice, and alcohol self-administration included in both models are described and compared. Additionally, the modeling method were explored by face, predictive, and construct validities to provide a theoretical basis and reference for researchers to choose AUD models.

【Keywords】 alcohol use disorder; animal models; alcohol use disorder models; ethanol

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

酒精使用障碍(alcohol use disorder, AUD)是以反复的酒精中毒和戒断为特征,进行螺旋式发展的疾病,会导致一系列神经适应和行为变化^[1]。其是与行为学、社会心理学和神经生物学等方面相关的神经性疾病^[2],多定义为酗酒(alcohol abuse)和酒精依赖(alcohol dependence)^[3]。AUD 的判定多依

【基金项目】 江西省教育厅研究生创新基金(YC2021-S276);江西省教育厅科学技术研究项目(GJ2200337)。
Funded by Graduate Innovation Fund of Jiangxi Provincial Education Department of China (YC2021-S276), Science and Technology Research Project of Jiangxi Provincial Education Department of China (GJ2200337).
【作者简介】 吕振(1995—),男,硕士,研究方向:运动干预酒精使用障碍相关研究。Email: 15954811987@163.com
【通信作者】 龚志刚,男,副教授,硕士生导师,研究方向:运动营养研究。Email: gongzhigang@jxnu.edu.cn

赖于行为学标准,诊断相对复杂,难以建立包含所有 AUD 特征的实验动物模型^[4]。近年来,根据研究目的的不同,AUD 动物造模从自身给药模型发展到更复杂的行为模型^[2]。然而少有文献对不同 AUD 动物的造模方法进行系统分析。本文对常见的 AUD 动物模型进行归纳分析,并比较不同造模方法的优缺点,以期 AUD 研究者在动物造模方法的选择上提供有益参考。

1 AUD 动物模型研究进展

在酒精使用障碍的研究中,多以实验动物为研究对象,然而大部分动物,尤其是啮齿类动物,既厌恶高浓度酒精引起口咽部的不适,又厌恶其产生的醉倒状态^[5],这对 AUD 建模产生了很大的挑战。此外,除一些未经训练就能大量饮酒的啮齿类动物种系外^[6-8],大部分动物均需预先接触酒精或长期进行特殊的给药训练,才能达到稳定的酒精摄入^[9]。因此,为应对挑战,产生了许多给药训练方法。本研究根据对实验动物的给药方法不同,将模型分为强迫给药模型和自身给药模型。

1.1 强迫给药模型

强迫给药模型是指实验动物非自愿摄入酒精而产生的模型,目前建模方法主要有酒精溶液唯一饮用方法、酒精灌胃方法、酒精流食方法、慢性间歇性酒精蒸汽暴露方法。

1.1.1 酒精溶液唯一饮用方法

酒精溶液唯一饮用方法是指提供一定浓度的酒精溶液替代饮用水,从而强迫实验动物饮酒的建模方法。此方法简单、可控,符合人的摄入酒精的方式,并且用此方法进行中、长期低浓度酒干预不会影响大鼠进食^[10-11]。Lucchi 等^[12]用 6% (V/V) 乙醇溶液替代 SD 大鼠的饮用水,进行 3 周建模。而李菁等^[10]则将饮用时间从 3 周变为 4 周,通过观察酒精戒断反应特征,证实可以稳定地建立酒精依赖动物模型。但 Lieber 等^[13]表明该方法不足以产生很高的血液酒精浓度,并且 Crabbe^[4]表示该引起酒精成瘾的方法基本上已经停用,大多采用酒精蒸气暴露和酒精流食的方法。

1.1.2 酒精灌胃方法

灌胃是一种常见的动物实验的方法,包括口入式插管灌液和手术式入胃输液两种灌胃技术。其中口入式插管灌液是指将插管从口入经食道后抵达胃,并由注射器直接将液体注入胃中,而手术式

入胃输液是指通过外科手术直接将导管固定于实验动物胃中输液。酒精灌胃方法的优点在于保证了动物间酒精摄入量的一致性,并减少酒精对啮齿类动物味觉和嗅觉的刺激。缺点在于技术要求较高,容易伤害到动物,并且酒精一次性快速入胃与人的饮酒方式不同,以及在造模过程中具有潜在应激性和侵入性^[14]。此外,Rogers 等^[5]发现即使每天 6 次灌胃,也不会维持血液酒精水平 (blood alcohol levels, BALS) 长时间平稳。虽然 Deutsch 等^[15]通过不断向胃内泵送乙醇,维持了血液酒精水平,但其可能会限制大鼠的正常进食。与此同时,Rogers 等^[5]还表示食物的摄入量会随 BALS 的增加而减少,而因食物摄入减少导致的胃承载量 (gastric load) 缩小又会增加血液中乙醇的反应。因此,设计灌胃次数和浓度的时候需考虑这种相互影响因素,避免引发恶性循环,导致老鼠迅速减重、昏迷和死亡。

Gomez 等^[16]在每天 1 次的连续酒精灌胃实验中,酒精大鼠的体重增加较对照组的大鼠体重少,然而 Hansen 等^[17]发现采用在每天 2 次的灌胃方法 (9:00 和 14:00),每次以 20% (V/V) 酒精溶液按 2 g/kg 体重进行灌胃,更容易让大鼠习惯,减少慢性压力,使酒精大鼠的体重不受影响。因此,1 d 进行多次的灌胃方法可能对大鼠的影响较小。

1.1.3 酒精流食方法

酒精流食方法是指使用含有酒精的流质饲料喂养动物的建模方法。该方法的优点在于酒精流食可以克服动物对酒精的厌恶,与酒精唯一饮用方法相比增加了酒精的摄入量,同时可以控制和测量各种营养元素的摄入量,避免营养不良引起的副作用,并且容易改变饮食成分^[13]。该方法的另一优点是在造模过程中对实验动物造成的压力低^[18]。然而酒精流食的方法具有一定的局限性,Rogers 等^[5]表示使用流质饮食与标准固体饲料分别喂养动物,它们的生长曲线可能存在不一致,因此需考虑不同饮食喂养下的生长状态。同时,该方法也显著地改变了动物饮食的昼夜节律,并且在酒精流食暴露期的酒精血液浓度水平是波动的^[5,19]。

酒精流食的营养成分会根据具体情况有所不同,大部分实验中酒精流食中乙醇浓度会保持在 7% (V/V) 左右^[20-21],有些研究也会略有调整,如将流食中乙醇浓度调整到 10% (V/V)^[22]。该方法常采用循环范式和递增范式,循环范式是指进行多次

摄入酒精和戒酒的周期循环,如每周使用酒精流食饲养 5 d,共进行 3 周^[23]。递增范式是指流质饲料中的乙醇浓度随着天数逐级递增,如 Uzbay^[20]前 7 d 给予 Wistar 大鼠不含乙醇的流质饲料,然后给予 3 d 2.4%乙醇饲料,4 d 4.8%乙醇饲料,最后 21 d 给予 7.2%乙醇浓度的流质饲料。

1.1.4 慢性间歇性酒精蒸汽暴露方法

慢性间歇性酒精蒸汽(chronic intermittent ethanol vapor, CIEV)暴露方法是指实验动物在特殊的酒精蒸汽装置中通过吸入酒精蒸气而建模的方法。其有以下 4 个优点:第一, CIEV 暴露方法可以减少乙醇引起实验动物的各种不适问题,保证正常活动、进食和体重的正常增长,并且不会产生昏迷状态^[5]。第二,该方法可以由实验者精确控制酒精蒸汽的剂量、持续时间和血液酒精水平^[24]。第三,大量研究表明 CIEV 暴露程序能够稳定地使啮齿类动物对酒精产生依赖,并且增加自愿饮酒量^[25-26]。第四, CIEV 暴露方法既可以进行神经行为的研究,又可以研究慢性酒精诱导的疾病,如肝、肺和心血管系统的病理和生理变化^[27]。该方法缺点在于摄入方式为被动吸入酒精蒸汽,而口服是人类摄入酒精的典型途径,与人的摄入习惯不符。并且酒精蒸汽虽会进入体内,但主要流经途径不是胃肠道,可能不会影响肠道菌群^[23],因此在单一的 CIEV 暴露程序中需要考虑肠道菌群的变化。

早期,研究多采用慢性持续性酒精蒸汽暴露的方法进行造模^[5],即实验动物在酒精蒸汽小室持续多日摄入酒精。目前,研究多采用 CIEV 暴露的方法,其所产生的酒精剥夺效应(alcohol deprivation effect, ADE)在小鼠、大鼠、猴子中均有发现^[28],其中 ADE 多描述为强迫短期(≤ 24 h)或长期(≥ 7 d)酒精剥夺后自愿饮酒量的显著增加^[29]。最常用的 CIEV 暴露程序是实验动物每天吸入酒精蒸汽 14 ~ 16 h,持续几周几个月,并且进行多次酒精蒸汽摄入和酒精戒断的循环^[25-26]。

1.2 自身给药模型

自身给药模型是指该模型的实验动物能够自愿摄入酒精,包括两瓶选择方法和操作性自身给药方法。

1.2.1 两瓶选择方法

两瓶选择(2-bottle choice, 2BC)方法是指将两瓶及以上溶液放入笼中(1 瓶装有水,其余多瓶装有不同浓度的乙醇),供实验动物进行自愿选择饮用

的造模方法。2BC 方法包括持续性和间断性两种方式,其中持续性两瓶选择饮酒方法是指给实验动物持续提供乙醇和水进行自愿选择饮用的方法,而间歇性两瓶选择饮酒方法(intermittent access to ethanol in 2-bottle choice, IA2BC)与前者不同之处在于它是由饮酒和戒酒的反复循环组成。2BC 方法通常将蔗糖渐褪(sucrose fade)、食物和水剥夺等作为启动程序训练动物自愿饮酒,以克服啮齿类动物对乙醇的厌恶。在移除启动程序后,持续性饮酒训练的大鼠很少能保持高乙醇摄入量^[30],而长期间歇饮酒大鼠的乙醇摄入量明显高于前者^[31],并且能改变大鼠的行为表现^[32],故研究常采用 IA2BC 的方法。

IA2BC 的优点:第一,其能够诱导动物自愿饮酒,并能够使经过训练的不同品系大鼠产生类似于人类从适度社交饮酒发展到过度饮酒的行为^[33]。第二,有助于研究酒精摄入的升级、维持和剥夺这三个阶段。第三,有助于研究随时间的推移而导致的高酒精摄入引起的神经化学和行为变化^[30]。IA2BC 的缺点:第一,动物过度饮酒的持续时间较短,限制了对酒精剥夺效应神经回路的研究^[29]。第二,动物可能不会出现酒精戒断综合征^[34-36]。第三,此方法通常需要测量动物对乙醇溶液和水的摄入量,故需要单笼饲养,众多动物的清洁、水瓶中溶液的灌装和水瓶的给予、回收等给实验室研究人员带来很大的工作负担。第四,该程序通常只有 50% ~ 80% 的大鼠(取决于品系、品种和实验室)发展为过度饮酒,限制了该模型的实用性^[37]。

IA2BC 程序常采用 0.5% ~ 20%(V/V)乙醇溶液和水让啮齿类动物进行 24 h 自由选择,每周 3 次,相邻自由选择期间戒酒 1 d^[38],或进行多次持续几天自由选择与几天戒酒的周期循环^[39]。在 IA2BC 程序中,自愿饮酒通常需要启动程序的诱导,但也有研究表明不需要启动程序也可以进行自愿饮酒^[37]。

1.2.2 操作性自身给药方法

操作性自身给药方法(operant self-administration, OSA)是指在特殊的自身给药装置中使用特定的操作程序训练实验动物摄入酒精的建模方法,可以使动物经历从成瘾形成到戒断和消退,最后到复饮的 3 个阶段。在自身给药装置中,动物常通过压杆或鼻触的自主操作行为摄入酒精,该方法包括口服^[40]、静脉注射^[41]和颅内微量注射^[42]

三种途径。研究多采用与人类饮酒相似的口服给药途径,但通常需启动程序诱导酒精摄入^[43-44],并且乙醇摄入的个体差异(如舔酒的速率和摄入量)、乙醇的药代动力学和对乙醇的非药理效应(如味道、气味和能量值等)的敏感性会混淆对乙醇本身药理作用解释^[45]。静脉注射和颅内微量注射都可以为实验动物提供精确和标准化剂量的乙醇,并且能够消除动物因口咽部不适而产生的影响。前者直接将乙醇输送到血液中,从而迅速到达大脑,避免了肝脏的新陈代谢,后者则是将乙醇局部注入脑内。但通过静脉注射和颅内微量注射的研究并不普遍,前者可能是由于其有限的药代动力学导致累积乙醇摄入量低^[41],后者可能是由于手术复杂,需要相应的设备,并且只适用于乙醇在 OSA 中对脑的特定部位的研究。

固定比率(fixed ratio, FR)和累进比率(progressive ratio, PR)是自身给药中应用最广泛的两种给药程序,并且是多种给药程序的基础^[46-47]。FR 是指每完成一定次数的操作行为(压杆或触鼻)就会得到一次药物(FR1,每压杆 1 次就可获得药物 1 次;FR2,每压杆 2 次就可获得药物 1 次,以此类推)。PR 在给药形式上与 FR 较为相似,但在训练过程中,操作行为与给药次数的比例是累进增加的,即获得一次药物所需要的压杆或触鼻次数是逐渐增加的^[48]。这些程序多用于研究酒精成瘾的行为学和治疗 AUD 的药物开发中涉及的神经生物学机制^[45]。但单一的 FR 和 PR 训练仅凸显酒精的正性强化作用,不能反映负强化作用(即在无酒可饮的状态下,自身对酒精的强烈渴求状态以及强迫性寻觅行为)。有研究表明,缺水的猴子能够进行自身的盐水注射行为^[49],然而盐水为非成瘾物质,因此单一的 FR 和 PR 训练存在一定的局限性,而双链选择程序和二级强化程序^[50]弥补了这一局限性,并被广泛应用于研究。

(1) 双链选择程序

双链选择程序(two-link schedules of choice, TSC)是以自发反应(operant)或者斯金纳条件反射为基础进行的学习程序^[51]。TSC 程序设置两个压杆(或两个触鼻装置),动物按下“主动”压杆可以获得自身给药,而按下“非主动”压杆,不会产生结果或者会获得水。TSC 包括两部分:首先在 FR1 程序的基础上,单一的“主动”压杆与启动程序结合共同训练动物形成稳定的自身给药行为。其次,同时提

供“主动”和“非主动”压杆,让动物对压杆进行选择,训练动物形成稳定的酒精摄入基线,在此过程中每天对压杆的位置进行交替变换以避免位置偏好。如果动物在 TSC 程序中能将学习操作行为与自身给药相关联,那么它的行为就认为是被强化,并且酒精就是强化剂^[51]。该程序常作为多方法联用模型(比如 TSC 和 CIEV 联用^[52],TSC 和酒精流食联用^[53]等)中酒精摄入的测试,并且可以确定实验动物的酒精稳定摄入基线(base-line)。

(2) 二级强化程序

二级强化程序(second-order schedule of reinforcement, SSR)是指在酒精成瘾过程中加入二级强化物(即条件性线索),通过二级强化物来研究成瘾后对酒精的真正渴求状态(即不是因为饮酒而产生的酒精直接药理作用而出现的渴求)的程序。由于啮齿动物对酒精的渴求状态通常是在无酒精的条件下进行评估的,并由其非强化寻找酒的行为程度来定义^[54-55]。因此,只有将与酒精相关的条件性线索和酒精奖赏影响产生稳定的联系的时候,才可能对酒精的渴求进行评估。虽然渴求导致复饮的因果作用一直备受争议^[56],但有研究表明在可控的实验条件下,对特定的触发渴求程度的评估能够可靠地预测后面几个月复饮的风险^[57]。因此,二级强化程序常用于评估酒精的渴求状态,从而进一步研究酒精复饮行为。

SSR 与 TSC 在形式上是相似的,二者都是以“主动”和“非主动”压杆对实验动物进行训练,但前者比后者在实验的过程中添加了条件性线索因素。SSR 常以启动程序诱导动物酒精的摄入,随后采用 FR 或者固定时间间隔(fixed interval, FI)诱导实验动物建立稳定的自身给药行为,在这个过程中条件性线索(如声音、灯光)与药物获得同时出现^[40,44]。

2 AUD 动物模型评价分析

本文从表观效度、预测效度和结构效度对 AUD 动物模型进行评价分析,其中表观效度为 AUD 临床特征与动物模型行为表现的相似性,预测效度为已验证过的治疗药物对 AUD 动物模型的有效性,结构效度为已知的 AUD 病理生理学与动物模型中行为表现的神经生物学基础的一致性。由于间歇性方式较持续性方式 AUD 造模效果好,且为近年来常用造模方式,故下文主要围绕各模型中的间歇性造模方式展开讨论。

从表观效度来看,由于对 AUD 患者的诊断标准较为复杂,一个动物模型不足概括全部的 AUD 特征,但各种动物模型均模拟人类 AUD 患者的部分行为表现,故均具有一定的表观效度。根据《精神障碍诊断与统计手册》第 5 版(DSM-5)中 AUD 的行为诊断标准^[58],对各种动物模型模拟的不同 AUD 特征进行归纳评价:第一,酒精戒断综合征(alcohol withdrawal syndrome, AWS)是 AUD 的一个典型特征,持续过量饮酒导致的酒精依赖在停止或大幅度减少饮酒会产生 AWS^[59],而酒精溶液唯一饮用和酒精灌胃方法均能产生 AWS。第二,有研究表明 CIEV 暴露方法可以使小鼠的饮酒量增大^[27],与酒精耐受性增加的 AUD 特征相符。第三,IA2BC 方法能够将大鼠从适度饮酒发展到过度饮酒^[33],与过度饮酒特征相符。第四,TSC 程序通过动物对双压杆的自由选择,研究从随意饮酒到强制饮酒过程中所伴随的饮酒动机增加^[60];SSR 程序通过线索提示对双压杆自由选择进行影响,研究酒精摄入由目标导向转变为自动的、线索驱动的行为,这两种自身给药模型均与对酒精的极其渴望的特征相符。第五,这七种不同的造模方法均表现大量时间用于摄入酒精和醒酒的 AUD 特征。综上所述,各种不同的动物模型均具有 AUD 的行为特征,故均具有表观效度。

从预测效度来看,现有美国食品药品监督管理局(FDA)或欧洲药品监督局(EMA)批准用于治疗 AUD 的药物(如纳曲酮、阿坎酸等)通常主要用于预防 AUD 复发及大量饮酒、控制过量饮酒和减少对酒精的渴求行为^[61]。在动物模型中,只有自身给药模型能够对饮酒量和对酒精的渴求行为进行实证的研究,单一的强迫给药模型不具备研究动物饮酒量和酒精渴求行为的条件。为获得这些表型指标,常采用多方法联用模型,如 TSC 与 CIEV 联用,IA2BC 与 CIEV 联用等。有研究表明,治疗 AUD 的药物可以分别抑制自身给药模型^[62-63]中动物酒精的摄入量。此外,Walker 等^[64]对多方法联用模型进行多种药物治疗,也发现动物的酒精摄入量减少。虽然苯二氮卓类药物(Benzodiazepine, BZDP)因有副作用,不属于 FDA 和 EMA 批准用于治疗 AUD 的药物,但从药效上看,BZDP 是预防和治疗酒精戒断综合征所有阶段的标准药物^[65]。BZDP 对灌胃方法中大鼠 AWS 的缓解,也可以说明灌胃方法的预测效度。由于酒精溶液唯一饮用模型的研究较少,其预测效

度暂不明确。综上所述,除酒精唯一饮用方法外,其余程序均具有预测效度。

从结构效度来看,AUD 的生理机制还未完全阐明,但有研究发现酒精会影响 γ -氨基丁酸、谷氨酸、去甲肾上腺素、5-羟色胺、大麻素和内源性阿片类物质等神经递质^[66]以及神经内分泌系统(如下丘脑-垂体-肾上腺轴)^[67]。目前,越来越多的研究表明这些模型均可研究酒精引起的神经适应和行为改变,例如:第一,大麻素信号分别在 CIEV 和酒精流食造模动物的动机性神经适应中起关键作用^[68]。第二,Marty 等^[69]通过酒精灌胃方法,研究酒精对下丘脑-垂体-肾上腺轴的影响及其相关机制。第三,在 SSR 程序中发现了腺苷 A_{2A} 与 mGlu5 受体间的相互作用和酒精渴求与条件性线索间的相互作用具有联系^[70]。第四,Skelly 等^[71]通过 2BC 方法发现中枢去甲肾上腺素信号抑制剂能够减少饮酒。第五,BALS 与酒精摄入量具有高度相关性,除酒精唯一饮用程序外,其余模型均可以到达较高的 BALS。综上所述,酒精唯一饮用方法结构效度相对差些,其余方法均具有良好的结构效度。

此外,在酒精摄入途径方面,口服的动物模型符合人类饮酒方式,其中自愿口服较强迫口服更符合人类的社交饮酒活动,而酒精流食更符合人在社交活动中酒精与食物共同摄入的习惯;在行为方面,灌胃方法主要应用于 AWS 的研究,多方联合用药(如自身给药和强迫给药联用方法)和单一的自身给药方法主要应用于研究饮酒量和对酒精的渴求行为;在饮酒方面,仅通过酒精的强迫摄入来诱导机体产生酒精依赖,可能不会使实验动物自愿饮酒,而自身给药方法让动物自由接触饮酒,了解缓解 AWS 的方法,从而诱导动物自愿饮酒;在技术方面,灌胃方法和部分操作性自身给药方法要求的技术较高;在实验装置方面,CIEV 方法和操作性自身给药方法所需的实验装置较为复杂。

3 结论和展望

本文综述了近几十年通过酒精诱导的 AUD 动物模型的研究进展,并比较了常用模型的优缺点。同时,从表观效度、预测效度和结构效度三方面对造模方法进行探究,为 AUD 研究者在动物模型的选择上提供了理论依据和参考。酒精唯一饮用方法虽然简单、可控,但与其他方法相比预测效度和结构效度欠缺。此外,由于造模方法种类较多,各个

方法的优缺点也不相同,研究人员需根据研究目的和实际条件选用造模方法。本文局限性在于没有将基因模型进行分析,其原因是本文主要研究由酒精直接诱导的 AUD 模型。此外,由于啮齿类动物为最常用的实验动物,故本实验主要对啮齿类动物的 AUD 模型进行探讨。

由于 AUD 具有复杂性,在相同动物模型上观察到酒精诱导的损害程度会有差异,其可能是由剂量、接触和戒断酒精的时间长短、动物接触酒精的年龄和动物性别共同影响的^[72]。目前主要的挑战在于没有能够为每个模型建立标准化的步骤,从而减少因不同因素的干扰导致的结果差异。此外,随着研究的深入,仅包含单一 AUD 特征或单一表观效度的 AUD 动物模型已经不能满足研究的需求。因此,目前联合建模的方法凭其较为稳定的造模率和研究的多样性,正逐渐成为主流。随着现在数字化时代的发展,通过数字化监控可能有助于对 AUD 行为诊断进行量化,有助于对 AUD 动物模型进行开发。可以预测将各种技术手段与模型相融合,有助于开发新的标准化 AUD 动物模型,且其与人类临床症状更为相似。

参 考 文 献(References)

[1] Avegno EM, Gilpin NW. Inducing alcohol dependence in rats using chronic intermittent exposure to alcohol vapor [J]. *Bio Protoc*, 2019, 9(9): e3222.

[2] Goltseker K, Hopf FW, Barak S. Advances in behavioral animal models of alcohol use disorder [J]. *Alcohol*, 2019, 74: 73–82.

[3] Liang J, Olsen RW. Alcohol use disorders and current pharmacological therapies: the role of GABA(A) receptors [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2014, 35(8): 981–993.

[4] Crabbe JC. Use of animal models of alcohol-related behavior [J]. *Handb Clin Neurol*, 2014, 125: 71–86.

[5] Rogers J, Wiener SG, Bloom FE. Long-term ethanol administration methods for rats: advantages of inhalation over intubation or liquid diets [J]. *Behav Neural Biol*, 1979, 27(4): 466–486.

[6] Li TK, Lumeng L, McBride WJ, et al. Progress toward a voluntary oral consumption model of alcoholism [J]. *Drug Alcohol Depend*, 1979, 4(1/2): 45–60.

[7] Colombo G, Maccioni P, Acciaro C, et al. Binge drinking in alcohol-preferring sP rats at the end of the nocturnal period [J]. *Alcohol*, 2014, 48(3): 301–311.

[8] McBride WJ, Rodd ZA, Bell RL, et al. The alcohol-preferring (P) and high-alcohol-drinking (HAD) rats--animal models of alcoholism [J]. *Alcohol*, 2014, 48(3): 209–215.

[9] Simms JA, Bito-Onon JJ, Chatterjee S, et al. Long-Evans rats acquire operant self-administration of 20% ethanol without

sucrose fading [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2010, 35(7): 1453–1463.

[10] 李菁, 袁孝如, 李跃华, 等. 酒精依赖大鼠模型建立 [J]. *中国药物依赖性杂志*, 2006, 15(6): 433–436, 448.

Li J, Yuan XR, Li YH, et al. Establishment of rat alcohol dependent model [J]. *Chin J Drug Dependence*, 2006, 15(6): 433–436, 448.

[11] 崔海敏, 王薇, 王云鹏, 等. 大鼠酒精躯体依赖及动机行为研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2014, 14(9): 1622–1626.

Cui HM, Wang W, Wang YP, et al. To investigate the physical dependence on alcohol and motivation behavior of rat [J]. *Prog Mod Biomed*, 2014, 14(9): 1622–1626.

[12] Lucchi L, Rius RA, Uzunaki H, et al. Chronic ethanol changes opiate receptor function in rat striatum [J]. *Brain Res*, 1984, 293(2): 368–371.

[13] Lieber CS, DeCarli LM. The feeding of alcohol in liquid diets: two decades of applications and 1982 update [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 1982, 6(4): 523–531.

[14] Gil-Mohapel J, Boehme F, Kainer L, et al. Hippocampal cell loss and neurogenesis after fetal alcohol exposure: insights from different rodent models [J]. *Brain Res Rev*, 2010, 64(2): 283–303.

[15] Deutsch JA, Hardy WT. Ethanol tolerance in the rat measured by the untasted intake of alcohol [J]. *Behav Biol*, 1976, 17(3): 379–389.

[16] Gomez JL, Luine VN. Female rats exposed to stress and alcohol show impaired memory and increased depressive-like behaviors [J]. *Physiol Behav*, 2014, 123: 47–54.

[17] Hansen AW, Almeida FB, Bandiera S, et al. Taurine restores the exploratory behavior following alcohol withdrawal and decreases BDNF mRNA expression in the frontal cortex of chronic alcohol-treated rats [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2017, 161: 6–12.

[18] Lee DW, Kim SY, Lee T, et al. *Ex vivo* detection for chronic ethanol consumption-induced neurochemical changes in rats [J]. *Brain Res*, 2012, 1429: 134–144.

[19] Gilpin NW, Smith AD, Cole M, et al. Operant behavior and alcohol levels in blood and brain of alcohol-dependent rats [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2009, 33(12): 2113–2123.

[20] Uzbay TI. Atypical antipsychotic drugs and ethanol withdrawal syndrome: a review [J]. *Alcohol Alcohol*, 2012, 47(1): 33–41.

[21] Haque IM, Mishra A, Kalra BS, et al. Role of standardized plant extracts in controlling alcohol withdrawal syndrome-an experimental study [J]. *Brain Sci*, 2021, 11(7): 919.

[22] Bhutata P, Mundhada Y, Bansod K, et al. Berberine protects C57BL/6J mice against ethanol withdrawal-induced hyperexcitability [J]. *Phytother Res*, 2011, 25(2): 302–307.

[23] Bornebusch AB, Mason GF, Tonetto S, et al. Effects of ketogenic diet and ketone monoester supplement on acute alcohol withdrawal symptoms in male mice [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2021, 238(3): 833–844.

- [24] Gilpin NW, Richardson HN, Cole M, et al. Vapor inhalation of alcohol in rats [J]. *Curr Protoc Neurosci*, 2008, 44 (1): 9.29.1-9.29.19.
- [25] Becker HC, Lopez MF. Increased ethanol drinking after repeated chronic ethanol exposure and withdrawal experience in C57BL/6 mice [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2004, 28(12): 1829-1838.
- [26] Huitron-Resendiz S, Nadav T, Krause S, et al. Effects of withdrawal from chronic intermittent ethanol exposure on sleep characteristics of female and male mice [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2018, 42(3): 540-550.
- [27] Mouton AJ, Maxi JK, Souza-Smith F, et al. Alcohol vapor inhalation as a model of alcohol-induced organ disease [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2016, 40(8): 1671-1678.
- [28] Spanagel R. Alcoholism: a systems approach from molecular physiology to addictive behavior [J]. *Physiol Rev*, 2009, 89 (2): 649-705.
- [29] Meinhardt MW, Sommer WH. Postdependent state in rats as a model for medication development in alcoholism [J]. *Addict Biol*, 2015, 20(1): 1-21.
- [30] Simms JA, Steensland P, Medina B, et al. Intermittent access to 20% ethanol induces high ethanol consumption in Long-Evans and Wistar rats [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2008, 32(10): 1816-1823.
- [31] O'dell LE, Roberts AJ, Smith RT, et al. Enhanced alcohol self-administration after intermittent versus continuous alcohol vapor exposure [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2004, 28(11): 1676-1682.
- [32] Rimondini R, Sommer W, Heilig M. A temporal threshold for induction of persistent alcohol preference: behavioral evidence in a rat model of intermittent intoxication [J]. *J Stud Alcohol*, 2003, 64(4): 445-449.
- [33] Ahmadiantehrani S, Barak S, Ron D. GDNF is a novel ethanol-responsive gene in the VTA: implications for the development and persistence of excessive drinking [J]. *Addict Biol*, 2014, 19 (4): 623-633.
- [34] Heilig M, Egli M, Crabbe JC, et al. Acute withdrawal, protracted abstinence and negative affect in alcoholism: are they linked? [J]. *Addict Biol*, 2010, 15(2): 169-184.
- [35] George F, Koob, Ph D, et al. Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2001, 24 (2): 97-129.
- [36] Koob GF, Le Moal M. Addiction and the brain antireward system [J]. *Annu Rev Psychol*, 2008, 59: 29-53.
- [37] Sebastien C, Dorit R, Segev B. Intermittent ethanol access schedule in rats as a preclinical model of alcohol abuse [J]. *Alcohol*, 2014, 48(3): 243-252.
- [38] Li J, Bian W, Dave V, et al. Blockade of GABA(A) receptors in the paraventricular nucleus of the hypothalamus attenuates voluntary ethanol intake and activates the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis [J]. *Addict Biol*, 2011, 16(4): 600-614.
- [39] Müschen LH, Rhein M, Hoppe V, et al. Alcohol withdrawal and proopiomelanocortin neuropeptides in an animal model of alcohol dependence [J]. *Neuropsychobiology*, 2019, 78(3): 118-127.
- [40] Makhijani VH, Irukulapati P, van Voorhies K, et al. Central amygdala mineralocorticoid receptors modulate alcohol self-administration [J]. *Neuropharmacology*, 2020, 181: 108337.
- [41] Marcos A, Moreno M, Orihuel J, et al. The effects of combined intravenous cocaine and ethanol self-administration on the behavioral and amino acid profile of young adult rats [J]. *PLoS One*, 2020, 15(3): e0227044.
- [42] William JM, James MM, Satoshi I. Localization of brain reinforcement mechanisms: intracranial self-administration and intracranial place-conditioning studies [J]. *Behav Brain Res*, 1999, 101(2): 129-152.
- [43] Koob GF, Roberts AJ, Kieffer BL, et al. Animal models of motivation for drinking in rodents with a focus on opioid receptor neuropharmacology [J]. *Recent Dev Alcohol*, 2003, 16: 263-281.
- [44] Patrick AR, Robert TS, Joyce B. Sex differences in alcohol self-administration and relapse-like behavior in Long-Evans rats [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2017, 156: 1-9.
- [45] Vena AA, Zandy SL, Cofresí RU, et al. Behavioral, neurobiological, and neurochemical mechanisms of ethanol self-administration: a translational review [J]. *Pharmacol Ther*, 2020, 212: 107573.
- [46] Fitch TE, Roberts DC. The effects of dose and access restrictions on the periodicity of cocaine self-administration in the rat [J]. *Drug Alcohol Dependence*, 1993, 33(2): 119-128.
- [47] Ahmed SH, Koob GF. Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point [J]. *Science*, 1998, 282 (5387): 298-300.
- [48] Stafford D, LeSage MG, Glowa JR. Progressive-ratio schedules of drug delivery in the analysis of drug self-administration: a review [J]. *Psychopharmacology*, 1998, 139(3): 169-184.
- [49] Clark R, Schuster CR, Brady JV. Instrumental conditioning of jugular self-infusion in the rhesus monkey [J]. *Science*, 1961, 133(3467): 1829-1830.
- [50] Alderson HL, Robbins TW, Everitt BJ. Heroin self-administration under a second-order schedule of reinforcement: acquisition and maintenance of heroin-seeking behaviour in rats [J]. *Psychopharmacology*, 2000, 153(1): 120-133.
- [51] Domi E, Domi A, Adermark L, et al. Neurobiology of alcohol seeking behavior [J]. *J Neurochem*, 2021, 157(5): 1585-1614.
- [52] Roberts AJ, Cole M, Koob GF. Intra-amygdala muscimol decreases operant ethanol self-administration in dependent rats [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 1996, 20(7): 1289-1298.
- [53] Schulteis G, Hyttä P, Heinrichs SC, et al. Effects of chronic ethanol exposure on oral self-administration of ethanol or saccharin by Wistar rats [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 1996, 20 (1): 164-171.
- [54] Koob GF. Animal models of craving for ethanol [J]. *Addiction*, 2000, 95(2): S73-S81.
- [55] Marchant NJ, Li X, Shaham Y. Recent developments in animal

- models of drug relapse [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2013, 23(4): 675–683.
- [56] Tiffany ST. A cognitive model of drug urges and drug-use behavior; role of automatic and nonautomatic processes [J]. *Psychol Rev*, 1990, 97(2): 147–168.
- [57] Sinha R, Fox HC, Hong KI, et al. Effects of adrenal sensitivity, stress- and cue-induced craving, and anxiety on subsequent alcohol relapse and treatment outcomes [J]. *Arch Gen Psychiatry*, 2011, 68(9): 942–952.
- [58] American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed.). [M]. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2013.
- [59] Becker HC. Alcohol dependence, withdrawal, and relapse [J]. *Alcohol Res Health*, 2008, 31(4): 348–361.
- [60] Smeets JAS, Minnaard AM, Ramakers GMJ, et al. On the interrelation between alcohol addiction-like behaviors in rats [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2022, 239(4): 1115–1128.
- [61] Jonas DE, Amick HR, Feltner C, et al. Pharmacotherapy for adults with alcohol use disorders in outpatient settings: a systematic review and meta-analysis [J]. *JAMA*, 2014, 311(18): 1889–1900.
- [62] Froehlich JC, Harts J, Lumeng L, et al. Naloxone attenuates voluntary ethanol intake in rats selectively bred for high ethanol preference [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1990, 35(2): 385–390.
- [63] Nieto SJ, Quave CB, Kosten TA. Naltrexone alters alcohol self-administration behaviors and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in a sex-dependent manner in rats [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2018, 167: 50–59.
- [64] Walker BM, Koob GF. Pharmacological evidence for a motivational role of kappa-opioid systems in ethanol dependence [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2008, 33(3): 643–652.
- [65] Maldonado JR. Novel algorithms for the prophylaxis and management of alcohol withdrawal syndromes-beyond benzodiazepines [J]. *Crit Care Clin*, 2017, 33(3): 559–599.
- [66] Kranzler HR, Soyka M. Diagnosis and pharmacotherapy of alcohol use disorder: a review [J]. *JAMA*, 2018, 320(8): 815–824.
- [67] Hillemecher T, Leggio L, Heberlein A. Investigational therapies for the pharmacological treatment of alcoholism [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2015, 24(1): 17–30.
- [68] Serrano A, Pavon FJ, Buczynski MW, et al. Deficient endocannabinoid signaling in the central amygdala contributes to alcohol dependence-related anxiety-like behavior and excessive alcohol intake [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2018, 43(9): 1840–1850.
- [69] Marty VN, Mulpuri Y, Munier JJ, et al. Chronic alcohol disrupts hypothalamic responses to stress by modifying CRF and NMDA receptor function [J]. *Neuropharmacology*, 2020, 167: 107991.
- [70] Adams CL, Cowen MS, Short JL, et al. Combined antagonism of glutamate mGlu5 and adenosine A2A receptors interact to regulate alcohol-seeking in rats [J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2008, 11(2): 229–241.
- [71] Skelly MJ, Weiner JL. Chronic treatment with prazosin or duloxetine lessens concurrent anxiety-like behavior and alcohol intake: evidence of disrupted noradrenergic signaling in anxiety-related alcohol use [J]. *Brain Behav*, 2014, 4(4): 468–483.
- [72] Charlton AJ, Perry CJ. The effect of chronic alcohol on cognitive decline: do variations in methodology impact study outcome? an overview of research from the past 5 years [J]. *Front Neurosci*, 2022, 16: 836827.

[收稿日期] 2022-09-23