

郭碧玉,杨惠栾,陈依凡,等. 模式生物斑马鱼作为抑郁模型的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(2): 275-287.

GUO B Y, YANG H L, CHEN Y F, et al. Progress of research into the zebrafish (*Danio rerio*) depression model [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(2): 275-287.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2025.02.013

模式生物斑马鱼作为抑郁模型的研究进展

郭碧玉¹, 杨惠栾¹, 陈依凡¹, 杨晓密¹, 姚政^{1,2*}, 毛羽^{1,2*}

(1. 云南中医药大学基础医学院, 昆明 650500;
2. 云南省中西医结合慢病防治重点实验室, 昆明 650500)

【摘要】 斑马鱼具有繁殖周期短、发育早期(胚)体呈透明、与人类遗传和生理高度同源性及养殖成本低等优点,对哺乳动物抑郁症模型的局限性具有一定的弥补作用,目前已成为研究精神类疾病的一种最有潜力的模式生物。由于斑马鱼独特的生物学特性和模型建立方法的多样性,利用斑马鱼建立抑郁症模型开展的研究正处于快速发展阶段。本文旨在从斑马鱼抑郁模型的造模方法、评价指标、优势与局限性等方面进行全面综述。

【关键词】 斑马鱼; 抑郁症; 疾病动物模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2025) 02-0275-13

Progress of research into the zebrafish (*Danio rerio*) depression model

GUO Biyu¹, YANG Huiluan¹, CHEN Yifan¹, YANG Xiaomi¹, YAO Zheng^{1,2*}, MAO Yu^{1,2*}

(1. Basic Medicine College, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China;
2. Yunnan Key Laboratory of Chronic Disease Prevention and Treatment of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Kunming 650500, China)

Corresponding author: MAO Yu. E-mail:47228684@qq.com; YAO Zheng. E-mail:yaozhmail@126.com

【Abstract】 The zebrafish is characterized by its rapid reproductive cycle, transparent embryonic body in the early developmental stages, high genetic and physiological homology with humans, and low breeding costs. These advantages make it a valuable tool that complements mammalian models of depression. The zebrafish has emerged as a promising model organism for studying mental illnesses owing to its unique biological characteristics and the diverse method available for establishing depression models using this species. This article aims to provide a comprehensive review of zebrafish depression model establishment method, evaluation criteria, advantages, and limitations.

【Keywords】 zebrafish; depression; animal model of disease

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

抑郁症是一种涉及遗传、心理、生物化学和社会环境等因素的精神疾病,具有高患病率、高疾病负担和高致残率等特点^[1]。其临床特征包

括情绪低落、兴趣减退、食欲紊乱、社交恐惧和认知能力低下等^[2]。据统计,全球患抑郁症人口约有3.5亿,发病率约为11%。世界卫生组织预测,

【基金项目】 云南省科技厅中医基础研究联合专项(202001AZ0001-040)。

Funded by Department of Science and Technology of Yunnan Province Joint Project of Basic Research of Traditional Chinese Medicine (202001AZ0001-040).

【作者简介】 郭碧玉,女,在读硕士研究生,研究方向:中西医结合防治疾病机制。Email:913193302@qq.com

【通信作者】 毛羽,女,博士,副教授,硕士生导师,研究方向:神经精神疾病的发病机制与治疗。Email:47228684@qq.com;

姚政,女,硕士,教授,硕士生导师,研究方向:中西医结合防治疾病机制。Email:yaozhmail@126.com

* 共同通信作者

到 2030 年抑郁症将成为全球疾病负担第一位的疾病^[3]。

抑郁症的发病机制复杂,发病假说众多,如下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal axis,HPA)功能失调假说、单胺假说、神经炎症假说、线粒体功能障碍假说等^[4],但其确切病因和发病机制尚未完全阐明。目前临床上治疗抑郁症的手段和方法主要有药物治疗、心理治疗和电休克治疗(electroconvulsive therapy,ECT)^[5]。在临床前研究中,实验动物模型一直是研究抑郁症发病机制的重要工具和手段。尽管,哺乳类动物(如大、小鼠和猕猴)是研究抑郁症的经典动物模型,但它们在用于药物的高通量筛选时存在着经济成本高、饲养实验周期长和样本量小等局限性。斑马鱼作为一种新兴的模式生物,弥补了上述局限性。与哺乳类动物比较,斑马鱼具有表型稳定、成本低廉、繁殖周期短和可进行高通量药物筛选等优点,是研究抑郁症的理想模式生物。本文就斑马鱼作为抑郁症动物模型的研究进展进行综述。

1 斑马鱼作为抑郁症动物模型的优势

1.1 斑马鱼与哺乳类动物的精神疾病动物模型比较

1.1.1 非人灵长类动物

非人灵长类动物的基因序列和亲缘关系与人类最为近似,与其他动物相比,非人灵长类动物具有更发达的中枢神经系统结构和更为高级的脑功能。因此,它们可以通过不断学习来提升认知能力和表达能力,逐渐实现社会化。在抑郁症行为和神经系统研究方面,有较为突出的优势,被视为理想的抑郁症模型动物^[6]。但非人灵长类动物获取成本高昂、生长和造模周期较长、喂养繁琐、死亡率高及配套系统要求苛刻等缺点限制了该动物模型的广泛应用。

1.1.2 啮齿类动物

啮齿类动物是精神疾病和药理学模型的主要模式动物,它们具有与人类高度相似的诊断参数,并且在研究疾病的发展、诊断和治疗方案方面已建立了标准化体系。然而,啮齿类动物与人类在饮食需求、生活方式以及行为复杂性等方面存在显著性差异,这使得研究人类精神疾病的发

病机制、大脑皮层的结构和功能变得更加复杂^[7]。因此也不能完全模拟抑郁症的发病机制和过程。

1.1.3 斑马鱼

斑马鱼是一种生活在热带地区的淡水鱼,体呈纺锤形,体长 3 ~ 5 cm,体型较小。因其获得成本低、样本量大、繁殖力快而被广泛应用于精神疾病、心血管疾病、肿瘤疾病、毒理学分析等领域^[8-10]。雌性斑马鱼单次产卵可达 200 ~ 300 枚,这些卵在体外孵化和生长发育,易于进行实验操作。在胚胎和幼鱼时期,其独特的透明特征,为通过荧光标记和钙成像等技术实现可视化和神经元活动跟踪,实时观察体内器官和大脑特定神经元的发育,同时为了解整个胚胎发育过程中大脑动力学、疾病进展和药物反应提供了巨大的优势。这一优势特点解决了哺乳动物模型中体内和体外研究之间差异的问题^[11]。在神经科学领域,幼鱼主要应用于识别新开发的中枢神经系统有效药物和具有中枢神经系统作用的药物再利用,且大多集中在焦虑和压力相关药物以及睡眠障碍药物^[12]。与幼鱼相比,成年斑马鱼主要应用在实验模型上。成鱼的大脑皮层与哺乳动物类似,由 4 个部分组成:内侧皮层和哺乳动物的海马回同源,背侧皮层同源于哺乳动物的同型皮质,腹侧和外侧皮层则分别同源于哺乳动物的杏仁核和梨状皮层^[13-17],这些结构都与抑郁症密切相关。发育成熟的斑马鱼具有更为复杂的行为模式、更发达的感觉、视觉和内分泌系统;对环境影响有着更高的敏感性和更复杂的神经行为表型^[18]。其次,作为日行性动物,成鱼对视觉刺激的反应方式和行为模式比啮齿类动物更接近于人类^[19]。因此,成鱼在研究一些精神疾病的特定表型时,更具有一定的可靠性和稳定性(图 1)。

1.2 斑马鱼与人类之间生物学特征的相似性

斑马鱼在遗传、结构、生理和行为等方面与人类存在较高的相似性,这使其成为研究人类疾病的理想模型。

在遗传方面,斑马鱼与人类基因序列具有高度同源性,超过 80% 的人类疾病相关基因存在于斑马鱼中^[20]。这意味着用斑马鱼所做的药物实验结果在多数情况下同样也适用于人类。斑马鱼有两个人类 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)的

直系同源物,即 Abcb4 和 Abcb5。Abcb4 蛋白在斑马鱼的血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB) 和肠组织中均有分布,而 Abcb5 蛋白仅在鳃、皮肤和卵巢等组织中表达,但在对人的 P-gp 底物高通量筛选的结果表明,斑马鱼的 Abcb4 蛋白在功能上与人的 P-gp 更为相似,而 P-gp 与药物的吸收、分布和排泄密切相关,可直接影响药物的生物利用度和药效。基于上述 Abcb4 蛋白的定位和特异性,斑马鱼可能是研究化合物的口服生物利用度和药物进入大脑吸收度最有价值的模型^[21]。此外, HuC 蛋白是最早发现的斑马鱼神经元前体细胞标记物之一,它与人类 HuC 蛋白同源度达 89%。HuC 蛋白是一种在神经系统中表达的 RNA 结合蛋白,参与了神经元细胞命运决定的基本机制,对神经元的发育和维持都具有重要作用,这表明该蛋白在斑马鱼神经系统中也具有相似的作用^[22-23](图 2)。

在神经系统结构和生理方面,斑马鱼和人类大脑在进化上具有高度的保守性。斑马鱼的神经系统在解剖学和生物化学通路上与人高度相似^[24-26],如斑马鱼的下丘脑-垂体-肾间轴 (hypothalamic-pituitary-renal axis, HPI) 功能与人的 HPA 轴功能类似,而在临床上 HPA 轴的过度活跃是与重度抑郁症最一致的内分泌参数。其次,斑马鱼和人类主要的糖皮质激素都是皮质醇 (cortisol, CORT),且 CORT 水平不仅会随着压力的增加而升高,还会表现出昼夜节律,与人类一样在白天达到峰值^[27]。除体内的 CORT 外,斑马鱼脑内所含有的兴奋性神经递质谷氨酸 (glutamic acid, Glu) 和抑制性神经递质 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 以及胆碱能受体 (acetylcholine receptor, AChR)、血清素 (5-hydroxytryptamine, 5-HT)、多巴胺 (dopamine, DA)、去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE) 和乙酰胆碱 (acetylcholine, ACh) 等神经递质及其受体都与人类相似^[28-30](图 2)。

在行为表现方面,斑马鱼可模拟人类表现出应激反应、学习记忆以及情感(焦虑、恐惧、痛苦、无助、求爱和社会互动)等相关行为表现^[31-36]。例如,当斑马鱼感到恐惧时,会表现出逃避、颤抖和呼吸加快等行为;感到痛苦时,会表现出游动减缓、食欲下降等症状。在研究这些行为时,研

究者还发现斑马鱼和人的下视丘分泌素/食欲素 (hypothalamic hypocretin/orexin, Hcrt) 神经元的表达模式和轴突投射之间存在很高的相似性^[37-38],而 Hcrt 神经元的作用主要是调节进食、压力、奖励、记忆和成瘾等行为。这为利用斑马鱼模型研究人类复杂的心理和行为提供了理论基础(图 2)。

除上述之外,成年斑马鱼的脊髓神经元形态、神经分化和脊髓网络发育也与高等脊椎动物相似^[15,39]。其体内的星形胶质细胞、小胶质细胞、少突胶质细胞、小脑浦肯野细胞、髓鞘和运动神经元等不同神经细胞类型均与人类相似^[40-41]。此外,斑马鱼大脑还拥有再生能力^[42],通过对斑马鱼神经系统的定向表达研究,可以了解新基因在神经元发育中的功能作用及神经自主修复过程,为斑马鱼在研究神经科学和疾病模型方面提供独特的优势。

1.3 斑马鱼作为抑郁模型存在的局限性和注意事项

尽管斑马鱼作为抑郁模型具有诸多优势,但抑郁症的临床症状较为复杂使得斑马鱼并不能完全模拟人类复杂的情绪和认知过程。如抑郁患者通常会出现内疚或自杀的念头,这些情绪是无法在斑马鱼身上评估到的。在目前的研究中,斑马鱼对压力应激源的行为反应也有些模糊,无法更精确地区分抑郁状态与焦虑、躁狂和精神分裂症之间的行为表现差异。其次,斑马鱼的行为学评价标准尚未完全统一,不同实验室之间的测试方法和结果可能存在差异,这对结果的解释和比较造成一定的困难^[43]。

除此之外,不同的品系和不同性别之间的斑马鱼也存在行为表现上的差异。如豹纹斑马品系、白化品系、WIK 品系与野生 AB 品系相比,更容易出现焦虑行为^[44]。在性别方面,雌鱼前脑的 DA 水平比雄鱼高,而 5-羟吲哚乙酸 (5-hydroxyindole acetic acid, 5-HIAA) 与 5-HT 的比例较低。与其他物种情况一致,在面对压力应激源时,雌鱼的 CORT 水平比雄鱼更高,这也表明雌鱼更易受压力源的影响^[45]。最后,与许多非灵长类动物模型一样,斑马鱼缺乏典型的海马体或大脑皮质^[14]。因此,在使用斑马鱼模型研究脑部疾病时,必须考虑其发育和形态以及遗传背景与人类的差异性。

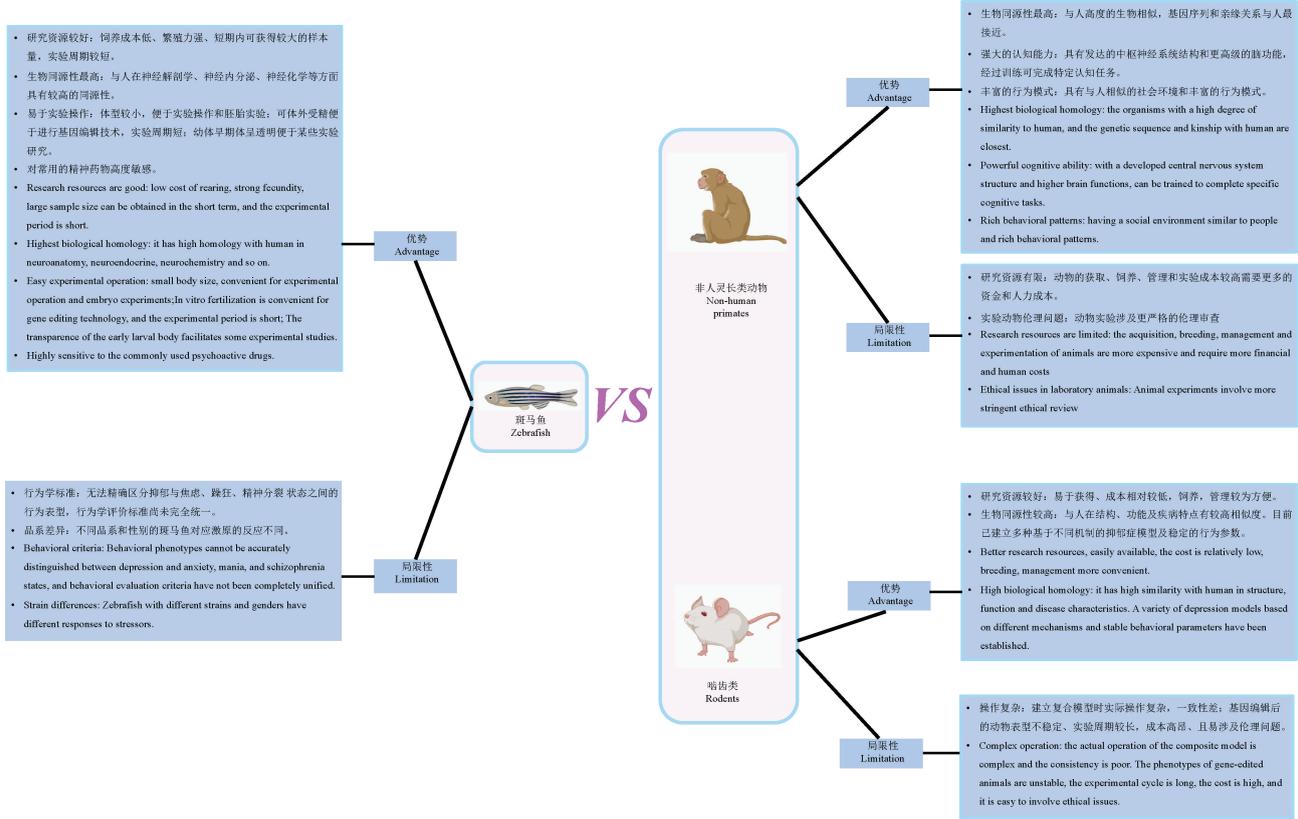


图 1 斑马鱼与哺乳类动物的精神疾病动物模型比较

Figure 1 Comparison of zebrafish and mammalian animal models for psychiatric disorders

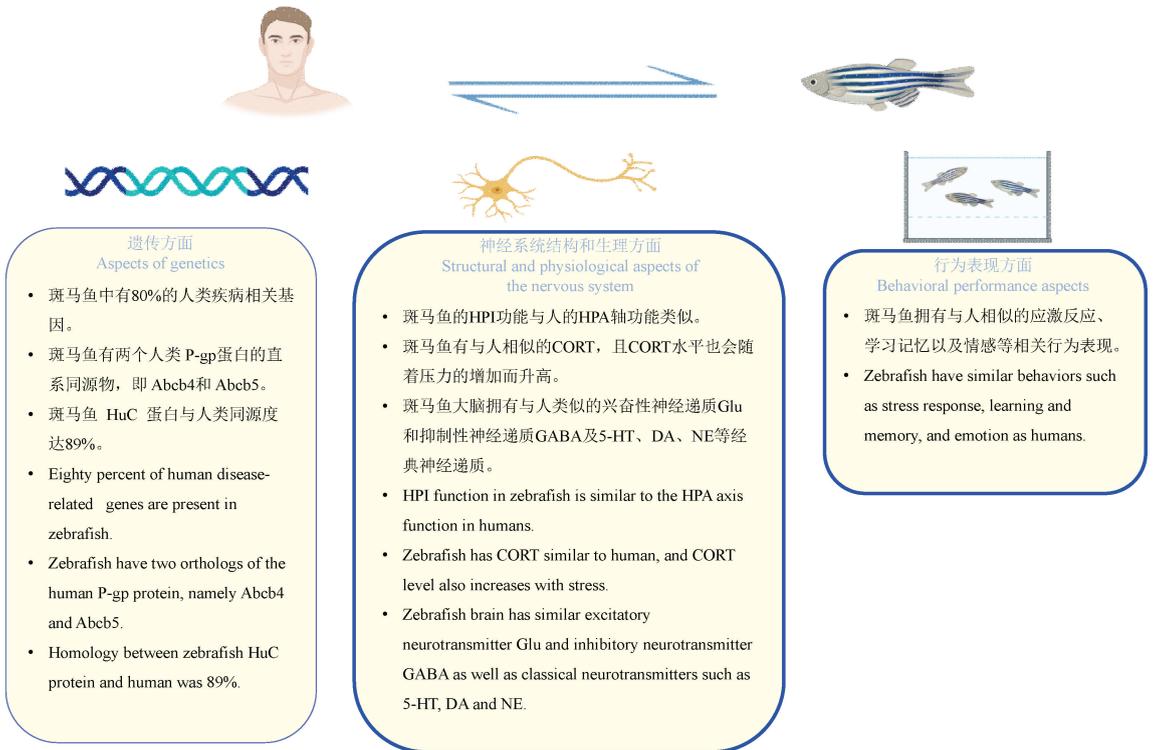


图 2 斑马鱼与人之间生物学特征的相似性

Figure 2 Biological similarities between zebrafish and humans

2 斑马鱼抑郁模型的评价指标

2.1 行为测试

2.1.1 新型水箱测试(novel tank test, NTT)

NTT 是评估斑马鱼焦虑和抑郁行为最常用的测试之一。该测试是将成年斑马鱼放置于一个 3 L 的水箱中,水箱被分成上、下两个相等的水平部分。当斑马鱼进入一个新环境时,最初的大部分时间都会停留在“安全区域”(即水箱的下部)。经环境适应后,斑马鱼开始表现出探索行为,即探索水箱上部。记录并分析 5 min 内斑马鱼游到水箱上部的潜伏期(s)、在水箱上部游动的总时间(s)、在水箱上部游动的总距离(m)、进入水箱上部的次数、游动的总距离(m)、冻结僵化持续时间(s)、冻结僵化次数、不规则游动的次数、游动速度(m/s)等^[46-47](图 3,表 1)。

使用 NTT 的优势之一是可以从三维角度分析动物的行为,即可通过自动化追踪分析斑马鱼三维角度的游泳速度(m/s)、转向角度(°)、距离(m)等,并且可通过其颜色变化反应速度快慢,从而提供更多相关数据丰富斑马鱼情感行为表型^[48-49]。

2.1.2 明/暗箱测试(light/dark box test, LDT)

LDT 是根据野生成年斑马鱼在黑暗区域躲避捕食者攻击的自然行为设计。与啮齿类动物相似,成年斑马鱼更倾向于避开光照区,而停留在黑暗区域。因此,当斑马鱼越焦虑时,躲在暗箱的时间就越长。

在 LDT 中,分析 5 min 内斑马鱼在明/暗箱的停留时间(s)、进入明箱的潜伏期(s)、穿梭次数和风险评估事件次数^[50](图 3,表 1)。

LDT 存在一定的局限性。斑马鱼对黑暗环境的偏好具有年龄依赖性^[51],这可能是黑色素细

胞成熟所致^[52]。在黑色素细胞没有发育成熟的幼鱼中,并不能观察到幼鱼对光照环境的偏好^[53]。因此该测试只适用于观察成年斑马鱼对黑暗环境的偏好^[54-55]。然而 LDT 设计的初衷并不是为了评估斑马鱼的抑郁行为,而是用于评估焦虑行为,常用于检测潜在抗焦虑或致焦虑药物的有效成分。该测试与斑马鱼的抑郁模型测试相配合,有助于检测具有抗抑郁潜力的药物是否含有其他抗焦虑或致焦虑的副作用以及区分焦虑与抑郁行为表现。

2.1.3 浅滩测试(shoaling test, ST)

在这些行为测试中要准确地地区分斑马鱼的焦虑和抑郁行为是比较有限的,但 ST 弥补这一缺点。斑马鱼是一种群居鱼类,它们倾向于形成紧密的鱼群^[56]。ST 则是用于评估一群斑马鱼的整体社会行为。当斑马鱼焦虑时,鱼群之间的距离就会缩短,显现出更强的凝聚力。反之,斑马鱼抑郁时,鱼群之间的平均距离则会增加,这种“社交退缩”表型,也是抑郁症的常见临床症状。在该测试中,斑马鱼的群体行为用视频记录 5 min 后,约每 15 s 获取一张视频截图,共截取约 20 张图片。将每个图片校准到与实际水箱的大小一致,然后测量该组中每条鱼之间的距离(m),取平均值进行分析^[57-58](表 1)。

2.1.4 社会偏好测试(social preference test, SPT)

社会偏好是指个体对生活在同类附近的偏好^[59]。斑马鱼在 2 周龄时,开始逐渐靠近彼此,形成社会群体^[60-61]。当其感受到威胁或者出于社会原因而聚集在一起时,它们会表现出以身体对齐、协调游动速度为特征的集体行为或模式。从进化角度分析,这种行为能更有效地躲避捕食者和提高游泳效率^[62]。斑马鱼这种社会行为是通过观察个体对社会刺激所作出的反应来评估的。

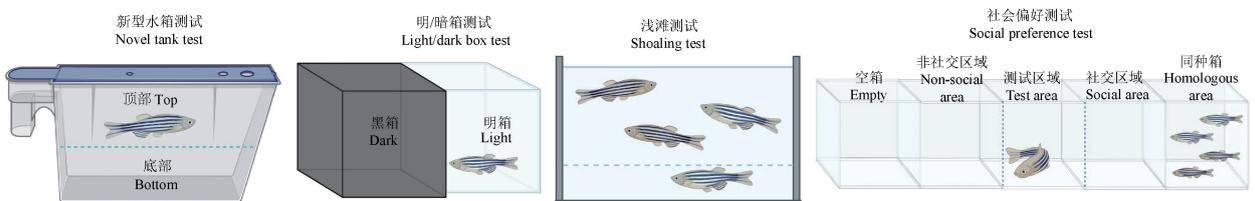


图 3 斑马鱼抑郁模型的行为学测试示意图

Figure 3 Behavioral test diagram of zebrafish depression model

在 SPT 中,水箱被分为 3 部分,左侧为空箱(不放任何动物),中间为测试箱(放入实验鱼),右侧为同种箱(放入同种鱼)。把实验鱼放入测试水箱中,会表现出对同种箱侧鱼的强烈趋向,

且更喜欢与同种鱼进行视觉互动。SPT 主要测量实验鱼在靠近社交区域即同种箱区域的停留时间(s)、社交区域的游动总距离(m)和首次进入社交区域的潜伏期(s)^[63](图 3,表 1)。

表 1 斑马鱼抑郁模型的行为学测试

Table 1 Behavioral tests for depression models in zebrafish

| 行为学测试 Behavioral test | 程序 Procedure | 观察指标 Observational index | 参考文献 References |
|--------------------------|--|---|--------------------|
| 新型水箱测试 NTT | <p>a、摄像机置于箱体(长 24 cm × 宽 8 cm × 高 20 cm)正前方;多个水箱测试时,每个水箱用不透明隔板隔开,保持背景和光源一致。</p> <p>b、用渔网轻柔的捞起斑马鱼(每网一尾鱼),然后将其放入新水箱中,记录其 5 min 内的行为。</p> <p>a、Camera is placed in front of the box (length 24 cm × width 8 cm × height 20 cm). For multiple tank testing, each tank was separated by an opaque partition to keep the background and light source consistent.</p> <p>b、Zebrafish were gently picked up with a net (one fish per net), then placed in a new tank and their behaviour was recorded for 5 min.</p> | <p>①游到水箱上部的潜伏期/s</p> <p>②在水箱上部游动的总时间/s</p> <p>③在水箱上部游动的总距离/m</p> <p>④进入水箱上部的次数</p> <p>⑤游动的总距离/m</p> <p>⑥冻结僵化持续时间/s</p> <p>⑦冻结僵化次数</p> <p>⑧不规则游动的次数</p> <p>⑨游动速度/(m/s)</p> <p>注:冻结僵化:除了鳃和眼以外,在 2 s 或更长时间内无运动。</p> <p>不规则游动:游动方向或速度的急剧变化以及重复的快速冲刺行为。</p> <p>①Latency to enter the top part/s</p> <p>②Total time spent swimming in the upper part of the tank/s</p> <p>③Total swimming distance above the tank/m</p> <p>④Number of entries to the top area</p> <p>⑤Total swimming distance/m</p> <p>⑥Duration of freezing/s</p> <p>⑦Time of freezing</p> <p>⑧Number of erratic movements</p> <p>⑨Speed of swimming/(m/s)</p> <p>Note. Freezing: there was no movement for 2 s or more, except for gills and eyes.</p> <p>Erratic movements: sharp changes in the direction or speed of swimming and repeated rapid sprinting behavior.</p> | [46-47] |
| 明/暗箱测试 LDT | <p>a、箱体(长 25 cm × 宽 15 cm × 高 15 cm)被一块黑色隔板划分为明箱和暗箱,隔板底部留有 2 cm 高的缝隙,便于斑马鱼在两箱之间自由游动;多个水箱测试时,保持明箱底部背景和顶部光源一致。</p> <p>b、摄像机置于明箱上方,记录其 5 min 内的行为。</p> <p>a、Chamber (length 25 cm × width 15 cm × height 15 cm) was divided into a light chamber and a dark chamber by a black partition. A gap of 2 cm high was left at the bottom of the partition, so that the zebrafish could swim freely between the two chambers. When testing multiple tanks, keep the bottom background and top light source consistent.</p> <p>b、A camera was placed above the light box to record its behavior for 5 min.</p> | <p>①明/暗箱的停留总时间/s</p> <p>②进入明箱的潜伏期/s</p> <p>③穿梭次数</p> <p>④风险评估事件次数</p> <p>注:穿梭次数:明/暗两箱之间的总穿梭次数。</p> <p>风险评估事件次数:从暗箱进入明箱后再次快速返回暗箱(鱼体部或部分进入均可)。</p> <p>①Total time spent in the light/dark box/s</p> <p>②Incubation period for entry into the light box/s</p> <p>③Number of shuttles</p> <p>④Number of risk assessment events</p> <p>Note. Shuttling times: total shuttling times between the light/dark bins.</p> <p>Number of risk assessment events: from the dark box into the open box and then quickly return to the dark box again (fish body or part of the entry can be).</p> | [50] |
| 浅滩测试 ST | <p>a、该箱体与 NTT 箱体相同。</p> <p>b、单缸需同时放入 4 尾鱼进行录像。记录该鱼群 5 min 内的行为。</p> <p>a、This box is the same as the NTT box.</p> <p>b、Single cylinder should be up to 4 fish tail into the video at the same time. Behavior of the shoal was recorded for 5 min.</p> | <p>约每 15 s 获取一张视频截图(确保鱼之间不会出现重叠为有效截图)共约 20 张,测量每张截图中每条鱼之间的距离/m。</p> <p>Take a video screenshot about every 15 s (ensure that there is no overlap between the fish is effective screenshot), a total of about 20, and measure the distance between each fish in each screenshot/m.</p> | [57-58] |

续表 1

| 行为学测试 Behavioral test | 程序 Procedure | 观察指标 Observational index | 参考文献 References |
|--------------------------|---|---|--------------------|
| 社会偏好 测试 SPT | <p>a、箱体(长 50 cm × 宽 15 cm × 高 15 cm)用隔板划分为左室(空箱)、中室(测试箱)、右室(同种箱)3 个箱室,左、右室各占总箱体的 1/5,中室占 3/5。如图虚线所示,将中室再划分为社交区域、测试区域和非社交区域共 3 个区域。</p> <p>b、同种箱室放入相同品种斑马鱼,测试箱放入待测试的鱼。摄像机置于水箱正前方,记录其 5 min 的内行为。</p> <p>a、Box body (length 50 cm × width 15 cm × height 15 cm) is divided into three chambers with partitions: the left chamber (empty chamber), the middle chamber (test chamber) and the right chamber (homologous chamber). The left and right chambers each account for 1/5 of the total box body, and the middle chamber accounts for 3/5. As shown by the dotted line in the figure, the middle chamber was subdivided into three areas: social area, test area and non-social area.</p> <p>b、Zebrafish were placed in the homologous chamber, while the fish to be tested were placed in the experimental chamber. The camera, positioned directly in front of the tank recorded their internal behavior for 5 min.</p> | <p>①首次进入社交区域的潜伏期/s</p> <p>②社交区域/非社交区域的停留总时间/s</p> <p>③社交区域/非社交区域的游动总距离/m</p> <p>①Latency to first social zone entry/s</p> <p>②Total time spent in the social/non-social area/s</p> <p>③Total swimming distance in social/non-social areas/m</p> | [63] |

2.2 生化指标检测

生化指标的检测也是验证动物模型是否成功的一个重要因素。由于斑马鱼的 HPI 轴与人类的 HPA 轴在结构和功能上具有相似性,因此 CORT 通常是检测人和斑马鱼的压力水平指标。研究表明,当斑马鱼暴露于攻击性鱼类、报警信息素、咖啡因等刺激因子时,斑马鱼体内的 CORT、促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)、促阿片-黑素细胞皮质素原(proopiomelanocortin, POMC)水平显著升高并伴随抑郁行为的出现^[64-65]。与哺乳动物一样,单胺类神经递质在调节斑马鱼的情感行为方面也发挥着重要作用。高水平的单胺类神经递质多与焦虑症和躁动症相关,而低水平的单胺类神经递质则与抑郁症相关。在慢性不可预知性轻度应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)构建的斑马鱼模型中 5-HT、DA 和 NE 等神经递质水平显著下降^[30,66]。另外,有研究表明,在给予斑马鱼慢性应激后其脑内抗增殖蛋白 2(prohibitin 2, PHB2)、溶质载体家族 25 α 成员 5 蛋白(solute carrier family 25 alpha member 5 protein, SLC25 α 5)、电压依赖性阴离子通道 3(voltage-dependent anion channel 3, VDAC3)、异柠檬酸脱氢酶 2(isocitrate dehydrogenase 2, IDH2)等 4 种线

粒体蛋白水平均显著升高,这提示线粒体功能障碍可能是斑马鱼抑郁和相关情绪障碍表型的基础^[67-68]。脑内脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)水平的下降也与其抑郁行为相关,BDNF 对脑回路中涉及情绪和认知功能神经元的生长、存活、可塑性以及调控信息传递的突触发育至关重要^[69-70]。近年来,炎性因子如 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的水平变化与抑郁症的症状相关^[71]。PETRY 等^[72]通过氟西汀和姜黄素预处理后发现,氟西汀和姜黄素可以改善接种嗜水气单胞菌疫苗的斑马鱼抑郁行为表现和 IL-1 β 和 IL-6 表达水平的增加(表 2)。

3 斑马鱼不同抑郁模型的建立方法

3.1 CUMS 模型

应激是建立抑郁模型的重要方法之一,采用 CUMS 建立的抑郁模型国际认可度较高。大量研究采用啮齿类动物建立 CUMS 模型,其可模拟现实生活中未知的、慢性的、轻度应激压力源。该模型操作简单、成功率高、能很好地模拟临床抑郁症状,现已广泛用于抗抑郁药物药效评估^[73]。

斑马鱼的 CUMS 模型近年来也被开发建立,其造模方法是对斑马鱼进行 3 ~ 5 周的慢性应激程序。慢性应激程序的应激源包括捕食者暴露、

表 2 斑马鱼抑郁生化指标的变化
Table 2 Zebrafish depression biochemical indicators of change

| 生化指标 Biochemical indicators | 变化 Change | 参考文献 Reference |
|--|--------------|-------------------|
| 皮质醇 CORT | ↑ | |
| 促肾上腺皮质激素 ACTH | ↑ | [64-65] |
| 促阿片-黑素细胞皮质激素原 POMC | ↑ | |
| 血清素 5HT | ↓ | |
| 多巴胺 DA | ↓ | [30,66] |
| 去甲肾上腺素 NE | ↓ | |
| 抗增殖蛋白 2 PHB2 | ↑ | |
| 溶质载体家族 25 α 成员 5 蛋白 SLC25 α 5 | ↑ | [67-68] |
| 电压依赖性阴离子通道 3 VDAC3 | ↑ | |
| 异柠檬酸脱氢酶 2 IDH2 | ↑ | |
| 脑源性神经营养因子 BDNF | ↓ | [69-70] |
| 白细胞介素 1 β IL-1 β | ↑ | |
| 白细胞介素 6 IL-6 | ↑ | [71-72] |
| 肿瘤坏死因子 α TNF- α | ↑ | |

渔网追赶、拥挤束缚、黑暗环境、强光刺激、冷热温度变换、禁食、报警信息素刺激、空气暴露、社交隔离、浅水应激等,每种应激因子每日随机出现一种或一种以上^[74]。

通过观察 CUMS 后斑马鱼运动活动(运动迟缓、冻结僵化)、社会偏好(社会快感缺乏、攻击性降低、群体凝聚力降低)、对新物体的探索(减少探索新异事物的行为)行为表现以及检测斑马鱼脑内 5-HT、DA 和 BDNF 等生化指标的变化来判断模型是否成功^[75]。胡国俊^[76]对斑马鱼采用 CUMS 持续 5 周后,发现其探索行为和鱼群凝聚力减少,冻结僵化行为时间和趋暗性增加;体内促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH)、ACTH 及 CORT 水平显著升高,脑内 5-HT 和 NE 含量显著降低。

MARCON 等^[77]通过 CUMS 持续 7 ~ 14 d 后发现斑马鱼冻结僵化行为的时间和次数增加、鱼群凝聚力下降、认知功能受损及神经递质水平明显下降,这些指标变化与抑郁症患者相关指标变化具有一致性。此外,应激后进行抗抑郁药(氟西汀、去甲替林)治疗,鱼的抑郁行为得以改善;同时,脑内炎症标志物及体内 CORT 水平均显著下降。郑淑怡等^[44]利用中药海马干预 CUMS 建立的抑郁模型,发现海马可有效降低斑马鱼的焦虑程度及抑郁行为表现,并降低 CORT、IL-6 和 IFN- γ 水平,增加单胺类神经递质水平及逆转 5-HT 能系统失调。MOCELIN 等^[78]采用 CUMS 持续应激 14 d,并于第 7 天进行 N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)干预处理,在行为学检测中发现 NAC 可提高斑马鱼在顶部区域的进入次数和停留时间,并逆转了活性氧(reactive oxygen species, ROS)、非蛋白硫醇(non-protein thiols, NPSH)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性水平降低。总之,CUMS 处理和药物干预作用从斑马鱼的探索行为、冻结僵化行为、鱼群凝聚力以及 CORT、5-HT、DA、NE 等生化指标变化方面,评估抑郁模型建立的有效性。

CUMS 模型的优势在于其能够克服单一重复的应激源引发的动物适应性反应,且这种模型可长期有效的刺激使动物产生抑郁样情绪。该模型的优势:(1)强度温和,不足以对动物造成持久的伤害;(2)缓慢发作,且应激源会持续数周,反复刺激;(3)不可预知,每个应激源所持续时间、方式均不同。而该模型所诱发的抑郁行为会持续 2 ~ 3 个月,且抗抑郁药物治疗可以逆转该行为。然而,CUMS 模型的局限性:(1)该模型造模时间长、工作量较大,且因其模拟的是慢性应激状态,并不能完全反映抑郁症的所有复杂特征;(2)各实验室在 CUMS 模型应激源的选择和应用上存在主观性,易造成实验结果的不一致性;(3)动物模型与人类在生物学和行为学上始终存在着差异,模型中观察到的结果并不完全适用于人类。

3.2 药物诱导模型

利血平是临床上应用最早的一种治疗精神疾病的药物,从 1950 年开始被应用于高血压的治疗,但长期使用会导致抑郁症状^[79]。因此,该药是较早开发用于诱导动物抑郁的工具药。利血

平主要通过耗竭单胺类神经递质导致抑郁,目前该方法已广泛用于诱导斑马鱼抑郁模型的建立。利血平诱导后的斑马鱼表现出运动迟缓、社交降低、全身 CORT 基线升高和 DA 水平下降等抑郁表型^[80-81]。然而药物诱导又可分为急性诱导和慢性诱导,急性诱导的成鱼抑郁模型,通常是在单次给药后的第 7 天出现抑郁表型。TANG 等^[82]研究发现文法辛拉联合褪黑素可以明显的改善利血平急性诱导的斑马鱼抑郁表型,增加其脑内 5-HT、NA、DA 等神经递质水平;ZHANG 等^[83]通过利血平急性诱导后,发现鱼的运动能力显著下降、认知功能受损、颜色偏好发生改变,表现出明显的抑郁行为;同时伴随 CORT 水平升高、单胺类神经递质水平下降,而这些变化在给予舍曲林和加味逍遥散治疗后得以改善。相对于急性诱导而言,慢性诱导则需要小剂量连续给药 7 d 后方可出现抑郁表型。LIU 等^[84]使用安神补心六片对慢性诱导的模型进行治疗后,发现其有效成分木香桉内酯(costunolide, COS)通过抑制利血平诱导的 5-HT 转运体和 NE 转运体的高表达,显著改善了斑马鱼的抑郁行为、神经损伤和 5-HT 和 NE 水平。除上述对成鱼诱导外,有研究还将斑马鱼胚胎(受精 6 h 后)与利血平进行共培养,行为学检测发现幼鱼运动速度降低、运动总量减少、对外界反应能力降低,体内的 5-HT 也显著降低,而上述表现均与临床抑郁症状一致^[85]。时瑞碟^[86]利用幼鱼建模后连续 7 d 给予天南星醇提取物治疗能改善斑马鱼的运动感知能力和学习记忆能力,同时减少脑内凋亡细胞数量和体内炎症细胞数量。郑涵文等^[87]也发现黄花菜醇对幼鱼抑郁模型指标具有明显的改善作用。

药物诱导模型的优势在于操作简单、周期较短、动物痛苦较轻,且结果可重复性强,实验条件相对可控,如药物种类、剂量、给药方式等均可标准化,这有助于减少实验误差并提高结果的可靠性。但药物诱导模型易忽略抑郁症发病的多因素和复杂性,可信度较低、动物死亡率高、模型病理过程与人类抑郁症的发病机制有显著性差异,因此无法广泛应用,只能用作抗抑郁药物药效成分的初步筛选测定。

3.3 基因突变模型

斑马鱼的基因突变模型也常被应用于抑郁

症的临床前研究中。ZIV 等^[88]在成年斑马鱼中发现了一种斑马鱼突变体,它是由于糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)的转录活性消失,导致应激反应的负反馈被破坏,即突变的 Grs357 斑马鱼的 GR 调节功能失调,并伴随体内 CORT 水平显著升高,从而表现出焦虑样和抑郁样行为。经氟西汀治疗后,其行为表现恢复正常,同时 CORT 水平也降低。Grs357 突变体是 HPI 轴功能失调的代表模型,模型中 HPI 衍生因子 CORT、ACTH 和 CRH 均异常升高,而这也是人类重度抑郁症的常见表型。随后 GRIFFITHS 等^[89]也发现突变的 Grs357 幼鱼自发性游动减少;经氟西汀治疗 24 h 后,抑郁行为得到显著改善。光感知在神经系统内分泌中发挥着重要的调节作用,它涉及对压力、睡眠和免疫等多种生理反应的调控。在斑马鱼中,GR 主要表达于视网膜的细胞中,广泛调控视网膜的靶基因,然而在光感知过程中神经递质 DA 起着重要作用。因此,糖皮质激素也参与调控 DA 信号传导基因。MUTO 等^[90]利用 Grs357 突变模型探讨 GR 活性如何参与斑马鱼视网膜的光适应时,发现 Grs357 突变体的 DA 受体的信号传导显著降低;通过调节外在的光感知环境,可以刺激其体内多巴胺和其他神经调节剂的分泌。

目前,基因突变模型已相对成熟,该模型的优点在于可以直接针对抑郁症的遗传机制进行研究,通过基因突变模拟人类抑郁症的遗传特征。基因突变模型通过转基因技术或敲除特定基因来改变神经递质、受体或转运蛋白来构建抑郁模型,该模型已被证明具有较好的有效性。然而,抑郁症是一种受多基因影响的疾病,基因与环境因素相互作用,故单一基因突变的抑郁症模型并不能完全阐释抑郁症的复杂病理机制,此外,该模型价格昂贵,建立时还可能存在基因功能冗余、基因编辑引起的非特异性效应,因此临床应用受限。

4 总结与展望

近些年,中国科学院证实了人类可能是由鱼类进化而来的^[91],提示在未来,鱼类作为人类疾病模式动物可信度会更高、疾病治疗的贡献度会更大。然而,就目前研究所示,任何疾病动物模

型均不能完全复制人的疾病^[92]。不同类型斑马鱼抑郁模型各具优势的同时也不可避免地存在各自的局限。如:CUMS 模型在应激刺激的选择和应用上存在主观性,易造成实验结果的不一致性;药物诱导模型易忽略抑郁症发病的多因素和复杂性;基因突变模型成本较高,建立模型时可能存在基因功能冗余、基因编辑引起的非特异性效应。

综上,未来在抑郁等精神疾病的研究中应尽可能利用好斑马鱼模型优势(如:与人类遗传、结构和生理功能的高相似度性、成本低、繁殖快和高通量等)结合最新研究成果不断改进、完善现有模型评价方法,使其更具可靠性、可重复性、稳定性、标准化和产业化。其次,利用斑马鱼胚胎期或幼鱼优势挖掘潜在新型抑郁评价手段或完善现有的模型方法,使其特色优势得以实现。最后,发挥好斑马鱼抑郁模型工具优势,为当前亟待解决的抑郁症相关问题如明确发病机理,完善疾病的预防、诊断和治疗方法、新药的评价和筛选等提供有价值的解决思路和策略。

参 考 文 献(References)

[1] GURURAJAN A, REIF A, CRYAN J F, et al. The future of rodent models in depression research [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2019, 20(11): 686–701.

[2] 李媛媛, 张碧涛, 范培健, 等. 类风湿关节炎伴发抑郁症模型大鼠制备与评价探讨 [J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(9): 1105–1113.

LI Y Y, ZHANG B T, FAN P J, et al. Establishment and evaluation of a rat model of rheumatoid arthritis with depression [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2023, 31(9): 1105–1113.

[3] COVID-19 Mental Disorders Collaborators. Global prevalence and burden of depressive and anxiety disorders in 204 countries and territories in 2020 due to the COVID-19 pandemic [J]. *Lancet*, 2021, 398(10312): 1700–1712.

[4] FRIES G R, SALDANA V A, FINNSTEIN J, et al. Molecular pathways of major depressive disorder converge on the synapse [J]. *Mol Psychiatry*, 2023, 28(1): 284–297.

[5] ZAKARIA F, AKHTAR M T, NORHAMIDAH W I W, et al. *Centella asiatica* (L.) Urb. Extract ameliorates branched-chain amino acid (BCAA) metabolism in acute reserpine-induced stress zebrafish model via ¹H Nuclear Magnetic Resonance (NMR)-based metabolomics approach [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2023, 264: 109501.

[6] 王文聪, 赵雅蔚, 何侃. 抑郁动物模型研究进展 [J]. *中*

国比较医学杂志, 2019, 29(7): 125–130.

WANG W C, ZHAO Y W, HE K. Recent progress in research on animal models of depression [J]. *Chin J Comp Med*, 2019, 29(7): 125–130.

[7] 韩晓蕾, 胡风云, 田峰, 等. 抑郁动物模型的研究进展及评价 [J]. *临床医药实践*, 2015, 24(7): 533–536.

HAN X L, HU F Y, TIAN F, et al. Research progress and evaluation of animal models of depression [J]. *Proceed Clin Med*, 2015, 24(7): 533–536.

[8] TAL T, YAGHOUBI B, LEIN P J. Translational toxicology in zebrafish [J]. *Curr Opin Toxicol*, 2020, 23/24: 56–66.

[9] JI C, TAO Y, LI X, et al. AHR-mediated m⁶A RNA methylation contributes to PM_{2.5}-induced cardiac malformations in zebrafish larvae [J]. *J Hazard Mater*, 2023, 457: 131749.

[10] 黄孔丽, 苏世杰, 王玉婷, 等. 模式生物斑马鱼在神经退行性疾病中的研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2023, 33(10): 121–131.

HUANG K L, SU S J, WANG Y T, et al. Research progress on the model organism zebrafish in neurodegenerative diseases [J]. *Chin J Comp Med*, 2023, 33(10): 121–131.

[11] D'AMORA M, GIORDANI S. The utility of zebrafish as a model for screening developmental neurotoxicity [J]. *Front Neurosci*, 2018, 12: 976.

[12] DASGUPTA S, SIMONICH M T, TANGUAY R L. Zebrafish behavioral assays in toxicology [J]. *Methods Mol Biol*, 2022, 2474: 109–122.

[13] AMO R, AIZAWA H, TAKAHOKO M, et al. Identification of the zebrafish ventral habenula as a homolog of the mammalian lateral habenula [J]. *J Neurosci*, 2010, 30(4): 1566–1574.

[14] CHENG R K, JESUTHASAN S J, PENNEY T B. Zebrafish forebrain and temporal conditioning [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2014, 369(1637): 20120462.

[15] JURISCH-YAKSI N, YAKSI E, KIZIL C. Radial glia in the zebrafish brain: functional, structural, and physiological comparison with the mammalian glia [J]. *Glia*, 2020, 68(12): 2451–2470.

[16] LIU W, GE T, LENG Y, et al. The role of neural plasticity in depression: from hippocampus to prefrontal cortex [J]. *Neural Plast*, 2017, 2017: 6871089.

[17] ASIM M, WANG H, WARIS A. Altered neurotransmission in stress-induced depressive disorders: the underlying role of the amygdala in depression [J]. *Neuropeptides*, 2023, 98: 102322.

[18] GENG Y, ZOU H, GUO Y, et al. Chronic exposure to cortisone induces thyroid endocrine disruption and retinal dysfunction in adult female zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Sci Total Environ*, 2023, 905: 167022.

[19] MESSINA A, POTRICH D, SCHIONA I, et al. Response to change in the number of visual stimuli in zebrafish: a

- behavioural and molecular study [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 5769.
- [20] HOWE K, CLARK M D, TORROJA C F, et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome [J]. *Nature*, 2013, 496(7446): 498–503.
- [21] ROBEY R W, ROBINSON A N, ALI-RAHMANI F, et al. Characterization and tissue localization of zebrafish homologs of the human ABCB1 multidrug transporter [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 24150.
- [22] KIM C H, UESHIMA E, MURAOKA O, et al. Zebrafish elav/HuC homologue as a very early neuronal marker [J]. *Neurosci Lett*, 1996, 216(2): 109–112.
- [23] ITOH M, KIM C H, PALARDY G, et al. Mind bomb is a ubiquitin ligase that is essential for efficient activation of Notch signaling by Delta [J]. *Dev Cell*, 2003, 4(1): 67–82.
- [24] MUELLER T, WULLIMANN M F. An evolutionary interpretation of teleostean forebrain anatomy [J]. *Brain Behav Evol*, 2009, 74(1): 30–42.
- [25] LÉGARÉ A, LEMIEUX M, DESROSIERS P, et al. Zebrafish brain atlases: a collective effort for a tiny vertebrate brain [J]. *Neurophotonics*, 2023, 10(4): 044409.
- [26] RINK E, WULLIMANN M F. Connections of the ventral telencephalon (subpallium) in the zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Brain Res*, 2004, 1011(2): 206–220.
- [27] LIGHTMAN S L, WILES C C, ATKINSON H C, et al. The significance of glucocorticoid pulsatility [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 583(2/3): 255–262.
- [28] WINTER M J, PINION J, TOCHWIN A, et al. Functional brain imaging in larval zebrafish for characterising the effects of seizurogenic compounds acting via a range of pharmacological mechanisms [J]. *Br J Pharmacol*, 2021, 178(13): 2671–2689.
- [29] VERMA R, RAJ CHOUDHARY P, KUMAR NIRMAL N, et al. Neurotransmitter systems in zebrafish model as a target for neurobehavioural studies [J]. *Mater Today Proc*, 2022, 69: 1565–1580.
- [30] EVSIUKOVA V S, BAZOVKINA D, BAZHENOVA E, et al. Tryptophan hydroxylase 2 deficiency modifies the effects of fluoxetine and pargyline on the behavior, 5-HT- and BDNF-systems in the brain of zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(23): 12851.
- [31] PINHO J S, CASTILHO M, SOLLARI J S, et al. Innate chemical, but not visual, threat cues have been co-opted as unconditioned stimulus for social fear learning in zebrafish [J]. *Genes Brain Behav*, 2020, 19(8): e12688.
- [32] SALAHINEJAD A, ATTARAN A, NADERI M, et al. Chronic exposure to bisphenol S induces oxidative stress, abnormal anxiety, and fear responses in adult zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Sci Total Environ*, 2021, 750: 141633.
- [33] SIVALINGAM M, OGAWA S, PARHAR I S. Habenula kisspeptin retrieves morphine impaired fear memory in zebrafish [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 19569.
- [34] BÜHLER A, CARL M. Zebrafish tools for deciphering habenular network-linked mental disorders [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(2): 324.
- [35] NAGPAL J, CRYAN J F. Microbiota-brain interactions: moving toward mechanisms in model organisms [J]. *Neuron*, 2021, 109(24): 3930–3953.
- [36] SANTACÀ M, DADDA M, DALLA VALLE L, et al. Learning and visual discrimination in newly hatched zebrafish [J]. *iScience*, 2022, 25(5): 104283.
- [37] ELBAZ I, LEVITAS-DJERBI T, APPELBAUM L. The hypocretin/orexin neuronal networks in zebrafish [J]. *Curr Top Behav Neurosci*, 2017, 33: 75–92.
- [38] KUKKONEN J P. Physiology of the orexinergic/hypocretinergic system: a revisit in 2012 [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2013, 304(1): C2-C32.
- [39] CHANG W, PEDRONI A, BERTUZZI M, et al. Locomotion dependent neuron-glia interactions control neurogenesis and regeneration in the adult zebrafish spinal cord [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 4857.
- [40] ZABEGALOV K N, WANG D, YANG L, et al. Decoding the role of zebrafish neuroglia in CNS disease modeling [J]. *Brain Res Bull*, 2021, 166: 44–53.
- [41] MAGNUS G, XING J, ZHANG Y, et al. Diversity of cellular physiology and morphology of purkinje cells in the adult zebrafish cerebellum [J]. *J Comp Neurol*, 2023, 531(3): 461–485.
- [42] SCHUSTER C J, KAO R M. Glial cell ecology in zebrafish development and regeneration [J]. *Heliyon*, 2020, 6(2): e03507.
- [43] SIREGAR P, JUNIARDI S, AUDIRA G, et al. Method standardization for conducting innate color preference studies in different zebrafish strains [J]. *Biomedicines*, 2020, 8(8): 271.
- [44] 邓淑怡, 王佳佳, 张永平, 等. 海马改善斑马鱼慢性应激所致抑郁样行为和病理变化的机制 [J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(3): 520–525.
- DENG S Y, WANG J J, ZHANG Y P, et al. Mechanism of seahorse ameliorating depression-like behavioral and pathological changes caused by chronic stress in zebrafish [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2023, 39(3): 520–525.
- [45] AUDIRA G, SIREGAR P, STRUNGARU S A, et al. Which zebrafish strains are more suitable to perform behavioral studies? a comprehensive comparison by phenomic approach [J]. *Biology*, 2020, 9(8): 200.
- [46] MESHALKINA D A, KYSIL E V, WARNICK J E, et al. Adult zebrafish in CNS disease modeling: a tank that's half-full, not half-empty, and still filling [J]. *Lab Anim (NY)*, 2017, 46(10): 378–387.
- [47] ARTHI B, CHELLATHAI D. Effects of vasicine in

- neuroinflammatory zebrafish model [J]. *Bioinformatics*, 2023, 19(5): 595–604.
- [48] MACRÌ S, NERI D, RUBERTO T, et al. Three-dimensional scoring of zebrafish behavior unveils biological phenomena hidden by two-dimensional analyses [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1962.
- [49] CACHAT J, STEWART A, UTTERBACK E, et al. Three-dimensional neurophenotyping of adult zebrafish behavior [J]. *PLoS One*, 2011, 6(3): e17597.
- [50] MAXIMINO C, ARAUJO J, LEÃO L K, et al. Possible role of serotonergic system in the neurobehavioral impairment induced by acute methylmercury exposure in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2011, 33(6): 727–734.
- [51] MIKLÓSI A, ANDREW R J. The zebrafish as a model for behavioral studies [J]. *Zebrafish*, 2006, 3(2): 227–234.
- [52] MCCLURE M. Development and evolution of melanophore patterns in fishes of the genus *Danio* (Teleostei: Cyprinidae) [J]. *J Morphol*, 1999, 241(1): 83–105.
- [53] WATKINS J, MIKLÓSI A, ANDREW R J. Early asymmetries in the behaviour of zebrafish larvae [J]. *Behav Brain Res*, 2004, 151(1/2): 177–183.
- [54] SERRA E L, MEDALHA C C, MATTIOLI R. Natural preference of zebrafish (*Danio rerio*) for a dark environment [J]. *Braz J Med Biol Res*, 1999, 32(12): 1551–1553.
- [55] FACCIOL A, TRAN S, GERLAI R. Re-examining the factors affecting choice in the light-dark preference test in zebrafish [J]. *Behav Brain Res*, 2017, 327: 21–28.
- [56] MILLER N, GERLAI R. Quantification of shoaling behaviour in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Behav Brain Res*, 2007, 184(2): 157–166.
- [57] GREEN J, COLLINS C, KYZAR E J, et al. Automated high-throughput neurophenotyping of zebrafish social behavior [J]. *J Neurosci Methods*, 2012, 210(2): 266–271.
- [58] GROSSMAN L, UTTERBACK E, STEWART A, et al. Characterization of behavioral and endocrine effects of LSD on zebrafish [J]. *Behav Brain Res*, 2010, 214(2): 277–284.
- [59] LIU X, ZHANG Y, LIN J, et al. Social preference deficits in juvenile zebrafish induced by early chronic exposure to sodium valproate [J]. *Front Behav Neurosci*, 2016, 10: 201.
- [60] SCERBINA T, CHATTERJEE D, GERLAI R. Dopamine receptor antagonism disrupts social preference in zebrafish: a strain comparison study [J]. *Amino Acids*, 2012, 43(5): 2059–2072.
- [61] NORTON W H J, MANCEAU L, REICHMANN F. The visually mediated social preference test: a novel technique to measure social behavior and behavioral disturbances in zebrafish [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 2011: 121–132.
- [62] ABAID N, PORFIRI M. Fish in a ring: spatio-temporal pattern formation in one-dimensional animal groups [J]. *J R Soc Interface*, 2010, 7(51): 1441–1453.
- [63] SAVERINO C, GERLAI R. The social zebrafish; behavioral responses to conspecific, heterospecific, and computer animated fish [J]. *Behav Brain Res*, 2008, 191(1): 77–87.
- [64] 陈贝贝, 彭志兰, 章超桦, 等. 牡蛎酶解物对慢性不可预知温和应激斑马鱼抑郁行为改善作用研究 [J]. *食品科学技术学报*, 2021, 39(4): 55–63.
- CHEN B B, PENG Z L, ZHANG C H, et al. Study on improving effect of oyster hydrolysate on depressive behavior of zebrafish under chronic unpredictable mild stress [J]. *J Food Sci Technol*, 2021, 39(4): 55–63.
- [65] XIN N, JIANG Y, LIU S, et al. Effects of prednisolone on behavior and hypothalamic-pituitary-interrenal axis activity in zebrafish [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2020, 75: 103325.
- [66] 龙妍, 石炎夏, 丘岳, 等. 褐藻寡糖对慢性不可预知温和应激诱导的斑马鱼抑郁样行为及肠道菌群的影响 [J]. *广西医科大学学报*, 2024, 41(7): 1025–1034.
- LONG Y, SHI Y X, QIU Y, et al. Effects of alginate oligosaccharides on depression-like behavior and gut microbiota in zebrafish induced by chronic unpredictable mild stress [J]. *J Guangxi Med Univ*, 2024, 41(7): 1025–1034.
- [67] CHAKRAVARTY S, REDDY B R, SUDHAKAR S R, et al. Chronic unpredictable stress (CUS)-induced anxiety and related mood disorders in a zebrafish model: altered brain proteome profile implicates mitochondrial dysfunction [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63302.
- [68] OTSUKA T, MATSUI H. Fish models for exploring mitochondrial dysfunction affecting neurodegenerative disorders [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(8): 7079.
- [69] RANA T, BEHL T, SEHGAL A, et al. Unfolding the role of BDNF as a biomarker for treatment of depression [J]. *J Mol Neurosci*, 2021, 71(10): 2008–2021.
- [70] LUCON-XICCATO T, TOMAIN M, D' ANIELLO S, et al. Bdnf loss affects activity, sociability, and anxiety-like behaviour in zebrafish [J]. *Behav Brain Res*, 2023, 436: 114115.
- [71] KIRSTEN K, POMPERMAIER A, KOAKOSKI G, et al. Acute and chronic stress differently alter the expression of cytokine and neuronal markers genes in zebrafish brain [J]. *Stress*, 2021, 24(1): 107–112.
- [72] PETRY F, OLTRAMARI A R, KUHN K Z, et al. Fluoxetine and curcumin prevent the alterations in locomotor and exploratory activities and social interaction elicited by immunoinflammatory activation in zebrafish: involvement of BDNF and proinflammatory cytokines [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2023, 14(3): 389–399.
- [73] 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.
- [74] SONG C, LIU B P, ZHANG Y P, et al. Modeling consequences of prolonged strong unpredictable stress in zebrafish: complex effects on behavior and physiology [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2018, 81: 384-394.
- [75] MANUEL R, GORISSEN M, ZETHOF J, et al. Unpredictable chronic stress decreases inhibitory avoidance learning in Tuebingen long-fin zebrafish: stronger effects in the resting phase than in the active phase [J]. *J Exp Biol*, 2014, 217(21): 3919-3928.
- [76] 胡国俊. 丙戊酸钠对慢性不可预知应激诱导斑马鱼抑郁模型的改善作用及机制研究 [D]. 重庆: 西南大学; 2022.
- HU G J. The improvement effect and mechanism of valproate sodium on chronic unpredictable stress-induced zebrafish depression model [D]. Chongqing: Southwest University; 2022.
- [77] MARCON M, HERRMANN A P, MOCELIN R, et al. Prevention of unpredictable chronic stress-related phenomena in zebrafish exposed to bromazepam, fluoxetine and nortriptyline [J]. *Psychopharmacology*, 2016, 233 (21/22): 3815-3824.
- [78] MOCELIN R, MARCON M, D'AMBROS S, et al. N-acetylcysteine reverses anxiety and oxidative damage induced by unpredictable chronic stress in zebrafish [J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(2): 1188-1195.
- [79] LEITH N J, BARRETT R J. Effects of chronic amphetamine or reserpine on self-stimulation responding: animal model of depression? [J]. *Psychopharmacology*, 1980, 72(1): 9-15.
- [80] KYZAR E, STEWART A M, LANDSMAN S, et al. Behavioral effects of bidirectional modulators of brain monoamines reserpine and d-amphetamine in zebrafish [J]. *Brain Res*, 2013, 1527: 108-116.
- [81] ZANG L, MADDISON L A, CHEN W. Zebrafish as a model for obesity and diabetes [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2018, 6: 91.
- [82] TANG Y Q, LI Z R, ZHANG S Z, et al. Venlafaxine plus melatonin ameliorate reserpine-induced depression-like behavior in zebrafish [J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2019, 76: 106835.
- [83] ZHANG S, LIU X, SUN M, et al. Reversal of reserpine-induced depression and cognitive disorder in zebrafish by sertraline and traditional Chinese medicine (TCM) [J]. *Behav Brain Funct*, 2018, 14(1): 13.
- [84] LIU J, SHANG Y, XIAO J, et al. Phenotype-based HPLC-Q-TOF-MS/MS coupled with zebrafish behavior trajectory analysis system for the identification of the antidepressant components in methanol extract of Anshen Buxin six pills [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 764388.
- [85] 关开宇. 利血平诱导的斑马鱼抑郁症模型构建 [A]. 2019 第四届之江精神医学交流会、浙江省医学会精神病学学术大会、浙江省医师协会精神科医师分会第十二届年会论文汇编 [C]; 2019.
- GUAN K Y. Construction of a zebrafish depression model induced by reserpine [A]. 2019 4th Zhijiang Psychiatric Exchange Conference, Zhejiang Medical Association Psychiatry Academic Conference, 12th Annual Meeting of Zhejiang Physicians Association Psychiatry Physicians Branch Proceedings [C]; 2019.
- [86] 时瑞碟. 天南星改善抑郁症的认知与行为障碍效果及机制研究 [D]. 唐山: 华北理工大学; 2023.
- SHI R D. Effectiveness and mechanism of improving cognitive and behavioral impairments in depression by rhizoma arisaematis [D]. Tangshan: North China University of Science and Technology; 2023.
- [87] 郑涵文, 王梓航, 刘昕玥, 等. 黄花菜醇提物对斑马鱼抑郁样行为的改善作用研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2024, 34(4): 20-27.
- ZHENG H W, WANG Z H, LIU X Y, et al. Improvement of depressive-like behavior in *Hemerocallis citrina* Baroni using a zebrafish model [J]. *Chin J Comp Med*, 2024, 34(4): 20-27.
- [88] ZIV L, MUTO A, SCHOONHEIM P J, et al. An affective disorder in zebrafish with mutation of the glucocorticoid receptor [J]. *Mol Psychiatry*, 2013, 18(6): 681-691.
- [89] GRIFFITHS B B, SCHOONHEIM P J, ZIV L, et al. A zebrafish model of glucocorticoid resistance shows serotonergic modulation of the stress response [J]. *Front Behav Neurosci*, 2012, 6: 68.
- [90] MUTO A, TAYLOR M R, SUZAWA M, et al. Glucocorticoid receptor activity regulates light adaptation in the zebrafish retina [J]. *Front Neural Circuits*, 2013, 7: 145.
- [91] ZHU Y A, LI Q, LU J, et al. The oldest complete jawed vertebrates from the early Silurian of China [J]. *Nature*, 2022, 609(7929): 954-958.
- [92] 王文聪, 赵雅蔚, 何侃. 抑郁动物模型研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(7): 125-130.
- WANG W C, ZHAO Y W, HE K. Recent progress in research on animal models of depression [J]. *Chin J Comp Med*, 2019, 29(7): 125-130.