

社交应激动物模型的建立及其效果评价

吴 晓 吴金峰 董竞成

摘要 目的 建立一种用于模拟人类心理疾病的社交应激动物模型,为深入开展抑郁症的实验研究打下基础。**方法** 取 8 只 C57BL/6J 小鼠(简称“C₅₇小鼠”)作为应激组,连续给予社交失败应激刺激 10 天,另取 8 只 C₅₇小鼠作为正常对照组,不接受应激,后用 Noldus 动物行为学视频跟踪系统对 C₅₇小鼠进行行为学分析,主要包括两组小鼠在有或无攻击性 CD-1 小鼠存在时,在社交失败应激旷场中的运动轨迹及两组小鼠在社交应激失败旷场首次出现在社交区的时间、在社交区的持续停留时间和首次进入角落区的时间及在角落区中的持续停留时间,通过这些数据来分析 C₅₇小鼠行为学的变化,从而推断出 C₅₇小鼠的心理变化。**结果** 与正常对照组比较,应激组 C₅₇小鼠的行为学有明显改变,表现为在社交区域的轨迹明显减少,其运动轨迹主要分布在角落区及其周围较小范围内的区域,且在社交区停留时间缩短、首次出现在社交区的时间延长($P < 0.05$),在角落区停留时间延长、首次出现在角落区的时间缩短($P < 0.05$)。**结论** 通过社交失败应激可以建立一种与人类抑郁症相符的抑郁样动物模型。

关键词 社交失败;抑郁;动物模型

An Animal Model Establishment of Social Stress and Its Effect Evaluation WU Xiao, WU Jin-feng, and DONG Jing-cheng *Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai (200040), China*

ABSTRACT Objective To establish a social defeat stress model for simulating the human mental disease, thus laying a foundation for in-depth laboratory research on depression. **Methods** Eight C57BL/6J mice (abbreviated as C₅₇ mice) were recruited as the stress group. They were subject to psychological stress of social defeat for 10 successive days. Besides, another 8 C₅₇ mice were selected as the normal control group (receiving no stress). The Noldus Ethovision was used to evaluate the depressive behavior of mice. The date was acquired in the case of with or without aggressive CD-1 mice in the social defeat open field (SDOF), and it included the two groups of mice's trajectory in the SDOF and the first time of the two groups of mice's entry into the interactive area of the SDOF, the residence time of the two groups of mice in the interactive area of the SDOF, the first time of the two groups of mice's entry into the corner areas of the SDOF and the residence time of the two groups of mice in the corner areas of the SDOF. All data were used to analyze the changes in the behavior of the C₅₇ mice, thus inferring the psychological changes of C₅₇ mice. **Results** The mice in the social stress group showed significant behavioral differences when compared with the normal control group. Their trajectories in the interactive area of the SDOF were significantly reduced. The trajectories of the mice in the social stress group were mainly distributed in the corner areas of the SDOF and its surrounding area within the smaller range. The residence time of mice in the social stress group in the interactive area of the SDOF was shortened ($P < 0.05$). The first time for the mice in the social stress group to enter the interactive area of the SDOF was extended ($P < 0.05$). Their residence time in the corner areas of the SDOF was shortened ($P < 0.05$). The first time for mice in the social stress group to enter the corner areas of the SDOF was extended ($P < 0.05$). **Conclusion** An animal model of depressive behavior can be established by social defeat stress,

基金项目:国家“973”计划资助项目(No. 2009CB523001);国家自然科学基金面上项目(No. 81173390);上海市科委课题资助项目(No. 09XD1400700)

作者单位:复旦大学附属华山医院中西医结合科(上海 200040)

通讯作者:董竞成, Tel:021-52888301, E-mail:jcdong2004@126.com

which was consistent with human depression.

KEYWORDS social defeat; depression; animal model

随着人类文明的进步和生活节奏的加快,越来越多的人受到不良情绪带来的负面影响,据统计全球大约有 1/6 的人正受到情绪紊乱和抑郁症的影响,美国每年要花费超过 500 亿美元用于应对人们各种各样的情绪问题^[1]。建立用于研究抑郁症的动物模型是研究精神心理学问题的重要基础。在过去的几年里,研究人员通过各种慢性应激诱导实验动物建立与抑郁症有关的行为学模型^[2-4]。这些慢性应激模型包括慢性不可预见性应激模型、束缚应激模型、兴趣缺失动物模型(如糖水负荷试验)和绝望行为模型(例如强迫游泳实验和悬尾实验)等。这些模型多用于急性抗抑郁症治疗的研究,但这些动物模型建立的方式与人类抑郁症的发病存在很大的不同^[4,5],因此,建立一种更接近人类抑郁症病因学的动物模型具有重要的意义。有些人群长期处于社会压力的影响下会产生兴趣缺失、焦虑等行为学的改变^[6,7]。同样,小鼠多次暴露于外界压力中也会产生同样的行为学改变,如将小鼠重复地暴露在社交失败的压力下就会引起明显的以兴趣缺乏、焦虑和社交回避行为为特点的抑郁症样表现^[8-11]。

本研究试图通过在同一物种动物之间,建立社交失败的外界应激环境,给实验动物造成一种与人类的心理压力相似的应激,通过软件分析实验动物的运动轨迹、停留时间等行为学的变化,从而对其行为学变化进行评估,建立一种更好地模拟人类抑郁症状的抑郁动物模型,为研究人类抑郁症提供一个更好的动物实验平台。

材料与方法

1 动物和材料 C57 BL/6J 小鼠(简称“C₅₇小鼠”)34 只(由上海斯莱科公司提供,许可证编号:2008001622124),雄性,8~12 周龄,分笼饲养,每笼 4~5 只。CD-1 小鼠 10 只,雄性,4~6 月龄退役种鼠[由北京维通利华公司提供,许可证编号:SCXK(京)2011-0011],单笼饲养。室温 20~25℃,相对湿度为 50%~70%,光暗周期为 12 h,保持安静。自制带孔有机塑料隔板, Social defeat 社交失败旷场(42 cm×42 cm×42 cm,上海移数信息科技有限公司定制)。Noldus 动物行为学视频跟踪系统(Ethovision XT8.5,复旦大学上海医学院神经生物研究院提供)。

2 动物分组 将实验动物 16 只 C₅₇ 小鼠编号,通过 SPSS 16.0 软件运用随机数字法随机分为正常对照组和应激组,每组 8 只。攻击性 CD-1 小鼠与 C₅₇ 小鼠同样随机编号。

3 攻击性 CD-1 小鼠的筛选 将 10 只 8~12 周龄的筛选用 C₅₇ 小鼠放入单笼饲养 7 天的 CD-1 小鼠笼内,让 CD-1 小鼠攻击筛选用 C₅₇ 小鼠,3 min 后取出 C₅₇ 小鼠(避免外伤)。用不同的 C₅₇ 小鼠连续筛选,每天 1 次,连续 3 天。符合条件的攻击性 CD-1 小鼠需满足在 3 min 筛选过程中:(1)首次出现攻击行为的时间需小于 1 min;(2)整个筛选过程中至少发生两次攻击行为;(3)每次攻击行为的持续时间不少于 5 s。剔除非攻击性 CD-1 小鼠,挑选出 8 只攻击性 CD-1 小鼠。

4 慢性社交应激小鼠模型的建立 参考文献[12]:(1)将筛选出来的攻击性 CD-1 小鼠置于带孔透明隔板隔开的鼠笼的一侧,饲养 24 h。(2)将应激组 C₅₇ 小鼠按照编号顺序,放入同一鼠笼中攻击性 CD-1 小鼠一侧,刺激 5~10 min(避免外伤),然后将 C₅₇ 小鼠取出放入同一鼠笼中带孔透明隔板的另一侧(两侧以透明隔板相隔),使 C₅₇ 小鼠可以看到攻击性 CD-1 小鼠并闻到 CD-1 小鼠的气味,相处过夜 24 h。(3)实验过程中,不改变攻击性 CD-1 小鼠所处的鼠笼。每只 C₅₇ 小鼠连续应激 10 天,10 天内每天按编号将模型组不同的 C₅₇ 小鼠放入攻击性 CD-1 小鼠鼠笼中接受刺激,10 天之中避免相同编号的攻击性 CD-1 小鼠与 C₅₇ 小鼠再次接触。(4)正常对照组以 C₅₇ 小鼠替代攻击性 CD-1 小鼠,透明板隔开,按编号每天更换正常对照组 C₅₇ 小鼠。(5)建模最后一天结束后,将应激组和正常对照组 C₅₇ 小鼠分别单笼饲养 24 h,然后进行行为学测试。

5 模型检测

5.1 重复筛选 再次重复筛选攻击性较强的 CD-1 小鼠,用于行为学检测。

5.2 适应环境 将待检测应激组和正常对照组 C₅₇ 小鼠及 CD-1 小鼠,放于行为学检测实验室中,适应环境至少 1 h。

5.3 行为学检测 打开 Noldus 行为学视频跟踪系统和软件,记录 C₅₇ 小鼠行为学的时间为 2 个 150 s,第 1 个 150 s,监测 C₅₇ 小鼠在没有 CD-1 小鼠存在的环境中的行为;第 2 个 150 s,监测 C₅₇ 小鼠在

CD-1 小鼠存在的环境中的行为。在 2 个 150 s 的时间段中,CD-1 小鼠鼠笼和 C₅₇小鼠鼠笼都放于同一位置。

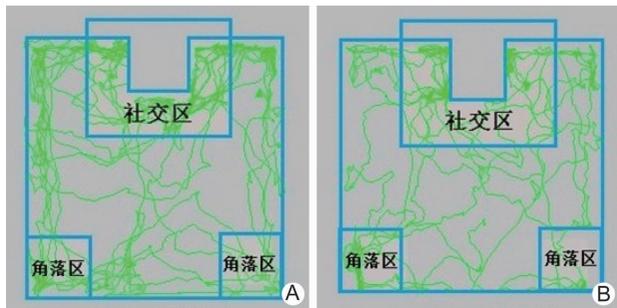
5.4 每次行为学测试完毕,清除 CD-1 小鼠及 C₅₇小鼠遗留下的粪便和尿液,减少对后续行为学测量的影响。

6 统计学方法 采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内比较采用配对 *t* 检验,组间比较采用成组 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 动物运动轨迹图 通过 Noldus 动物运动轨迹跟踪系统对 C₅₇小鼠在社交失败旷场中的运动轨迹进行记录和分析(图 1)。

1.1 无攻击性 CD-1 小鼠存在时正常对照组和应激组 C₅₇小鼠在社交失败旷场中的运动轨迹比较(图 1) 在没有攻击性 CD-1 小鼠存在的情况下,正常对照组和应激组 C₅₇小鼠的运动轨迹没有太大差异,二者的运动轨迹在整个社交应激失败旷场中都有均匀地分布。

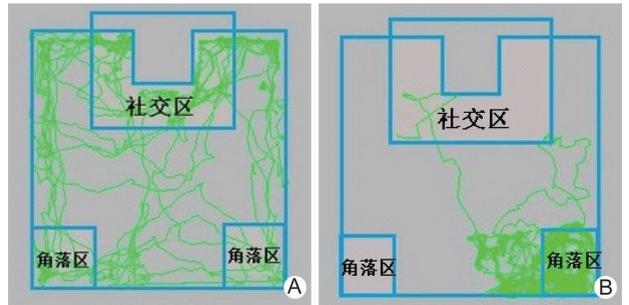


注:A 为正常对照组;B 为应激组

图 1 无攻击性 CD-1 小鼠存在时,各组 C₅₇小鼠在社交失败旷场中的运动轨迹

1.2 攻击性 CD-1 小鼠存在时正常对照组和应激组 C₅₇小鼠在社交失败旷场中的运动轨迹比较(图 2) 在攻击性 CD-1 小鼠存在时,正常对照组与应激组 C₅₇小鼠在社交失败旷场中的运动轨迹存在明显的差异,正常对照组 C₅₇小鼠在 CD-1 小鼠周围的社交区的运动轨迹明显增加,在角落区及其他区域的运动轨迹较 CD-1 小鼠未出现时有所减少;而应激组 C₅₇小鼠在社交区的轨迹明显减少,其运动轨迹主要分布在角落区及其周围较小范围内的区域。

2 社交失败应激对 C₅₇小鼠社交行为的影响(表 1) 使用 Noldus 动物运动轨迹跟踪系统对 C₅₇小鼠



注:A 为正常对照组;B 为应激组

图 2 攻击性 CD-1 小鼠存在时,各组 C₅₇小鼠在社交失败旷场中的运动轨迹

在社交失败旷场中的运动轨迹进行分析和检测,SPSS 16.0 软件对所得数据进行分析。各组小鼠在攻击性 CD-1 小鼠出现前后在不同区域内运动时间比较:社交失败旷场内无攻击性 CD-1 鼠存在时,未接受 CD-1 小鼠应激的正常对照组 C₅₇小鼠较接受 CD-1 小鼠应激的应激组 C₅₇小鼠在社交区停留时间长($P < 0.05$);而相对地在角落区停留的时间短($P > 0.05$);且正常对照组 C₅₇小鼠比应激组 C₅₇小鼠更早出现在社交区($P < 0.05$),同时应激组 C₅₇小鼠首次出现在角落区的时间较正常对照组 C₅₇小鼠晚($P < 0.05$)。攻击性 CD-1 小鼠出现在社交应激失败旷场中后,正常对照组 C₅₇小鼠在社交区停留时间较应激组 C₅₇明显延长($P < 0.05$),同时正常对照组 C₅₇小鼠在角落区停留时间较应激组 C₅₇小鼠短($P < 0.05$);正常对照组 C₅₇小鼠较应激组 C₅₇小鼠更早出现在社交区($P > 0.05$),而正常对照组 C₅₇小鼠较应激组 C₅₇小鼠更早出现在角落区($P < 0.05$)。组内自身比较,正常对照组 C₅₇小鼠在社交区停留时间较未出现攻击性 CD-1 小鼠时有所缩短,但差异无统计学意义($P > 0.05$),在社交区首次出现时间较未出现攻击性 CD-1 小鼠时有所延长($P < 0.05$);在角落区,CD-1 小鼠出现

表 1 各组小鼠在攻击性 CD-1 小鼠出现前后在不同区域内运动时间比较 (s, $\bar{x} \pm s$)

组别	区域	CD-1 小鼠	<i>n</i>	停留时间	首次出现时间
正常对照	社交区	Y	8	70.08 ± 5.03	26.54 ± 8.89*
		N	8	74.60 ± 2.78	9.28 ± 8.13
	角落区	Y	8	21.50 ± 3.16	15.10 ± 5.49 [△]
		N	8	18.26 ± 4.89	34.86 ± 11.69
应激	社交区	Y	8	22.62 ± 4.34*	41.00 ± 7.67*
		N	8	52.72 ± 10.54	22.72 ± 4.11
	角落区	Y	8	52.80 ± 7.84 [△]	26.32 ± 4.84 [△]
		N	8	24.04 ± 8.73	4.44 ± 1.22

注:与本组社交区未出现 CD-1 小鼠时比较,* $P < 0.05$;与本组角落区未出现 CD-1 小鼠时比较,[△] $P < 0.05$;Y 表示 CD-1 小鼠出现,N 表示 CD-1 小鼠未出现

后,正常对照组 C₅₇ 小鼠停留时间有所延长,但差异无统计学意义($P > 0.05$),而在角落区首次出现时间有所缩短($P < 0.05$)。CD-1 小鼠出现后,应激组 C₅₇ 小鼠在社交区停留时间明显缩短($P < 0.05$),首次出现时间有所延长($P < 0.05$),而在角落区的停留时间明显延长($P < 0.05$),在角落区首次出现时间有所延长($P < 0.05$)。

讨 论

抑郁症是一种以持续地情绪低落为主要症状的复杂的精神和神经系统的异质性疾病^[13],其具有多病因和“三高”(患病率高,复发率高,病死率高)的特点,据统计,至 2020 年抑郁症有可能成为自杀率最高的疾病,现已引起世界各国和世界卫生组织的高度关注和重视^[14, 15]。在我国,随着社会压力的增加,越来越多的人面对身心健康的问题,其中抑郁症的发病率也在逐年升高,现已成为我国疾病经济负担中的第二大疾病,严重危害着人们的身心健康。

动物模型是研究疾病发生、机制、治疗、预后以及新药的研发和药效评价的十分重要的工具。由于物种、机体组织结构及其对药物的反应性等方面的不同,实验动物模型并不能完全反映人体对于疾病的反应。尤其是人类精神和心理性疾病,我们无法真正了解实验动物的心理变化,只能通过模拟人类精神和心理性疾病的发病病因,通过对实验动物的行为学进行检测和分析,观察其行为学的改变,从而推断实验动物的心理变化。

研究人类精神和心理疾病的动物模型有很多,如足底电击模型、强迫游泳模型和悬尾模型等^[16],这些动物模型中的实验动物虽然表现出了与人类抑郁状态相同的症状表现,如体重下降、摄食减少、体重减轻、兴趣降低等^[17],但在发病诱因上却与人类有很大的不同。

本实验所介绍的社交应激动物模型是模拟人类在正常交往中遇到挫折并孤立无助的情景,让攻击性 CD-1 小鼠对 C₅₇ 小鼠进行短暂的攻击,并让 C₅₇ 小鼠长期处于攻击性 CD-1 小鼠的威胁和恐惧当中,给 C₅₇ 小鼠造成一种类似于人类的心理压力。然后通过 Noldus 动物运动轨迹跟踪系统对 C₅₇ 小鼠在社交失败动物行为学检测系统中的运动轨迹进行检测和分析,从而得出 C₅₇ 小鼠运动轨迹图、C₅₇ 小鼠在社交应激失败旷场中首次进入社交区的时间、在社交区的持续停留时间和首次进入角落区的时间以及在角落区中的持续停留时间,通过这些

数据来分析 C₅₇ 小鼠行为学的变化,从而推断 C₅₇ 小鼠的心理变化。

本实验社交应激动物模型的建立,在发病诱因上充分模拟人类精神和心理疾病病因,并对 C₅₇ 小鼠进行行为学检测和分析,得出与人类相似的行为学表现,所以与人类疾病具有较高的一致性,对于研究人类精神和心理疾病是一个比较理想的动物模型。

参 考 文 献

- [1] Greenberg PE, Kessler RC, Birnbaum HG, et al. The economic burden of depression in the United States: how did it change between 1990 and 2000[J]. *J Clin Psychiatry*, 2003, 64(12): 1465 - 1475.
- [2] Krishnan V, Nestler EJ. Linking molecules to mood: new insight into the biology of depression[J]. *Am J Psychiatry*, 2010, 167(11): 1305 - 1320.
- [3] Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression [J]. *Nature*, 2008, 455(7215): 894 - 902.
- [4] Nestler EJ, Hyman SE. Animal models of neuropsychiatric disorders [J]. *Nat Neurosci*, 2010, 13(10): 1161 - 1169.
- [5] Li N, Lee B, Liu RJ, et al. mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid anti-depressant effects of NMDA antagonists [J]. *Science*, 2010, 329(5994): 959 - 964.
- [6] Brain PF. Mammalian behavior and the adrenal cortex. A review [J]. *Behav Biol*, 1972, 7(4): 453 - 477.
- [7] Fuchs E, Flugge G. Social stress in tree shrews: effects on physiology, brain function, and behavior of subordinate individuals [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2002, 73(1): 247 - 258.
- [8] Kudryavtseva NN, Bakshantovskaya IV, Koryakina LA. Social model of depression in mice of C57BL/6J strain [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1991, 38(2): 315 - 320.
- [9] Rygula R, Abumaria N, Domenici E, et al. Effects of fluoxetine on behavioral deficits evoked by chronic social stress in rats [J]. *Behav Brain Res*, 2006, 174(1): 188 - 192.
- [10] Rygula R, Abumaria N, Flugge G, et al. Anhedonia and motivational deficits in rats: impact of chronic social stress [J]. *Behav Brain Res*, 2005, 162(1): 127 - 134.
- [11] Berton O, McClung CA, Dileone RJ, et al. Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine

- pathway in social defeat stress [J]. Science, 2006, 311(5762): 864-868.
- [12] Golden SA, Covington HE, Berton O, et al. A standardized protocol for repeated social defeat stress in mice [J]. Nat Protoc, 2011, 6(8): 1183-1191.
- [13] Balaratnasingam S, Janca A. Brain derived neurotrophic factor: a novel neurotrophin involved in psychiatric and neurological disorders [J]. Pharmacol Ther, 2012, 134(1): 116-124.
- [14] 王亚军, 张瑜, 田永萍, 等. 针药结合治疗对慢性应激抑郁模型大鼠行为学的影响 [J]. 中医研究, 2008, 21(11): 12-15.
- [15] Nestler EJ, Barrot M, Dileone RJ, et al. Neurobiology of depression [J]. Neuron, 2002, 34(1): 13-25.
- [16] Vollmayr B, Henn FA. Learned helplessness in the rat: improvements in validity and reliability [J]. Brain Res Brain Res Protoc, 2001, 8(1): 1-7.
- [17] Qi X, Lin W, Li J, et al. The depressive-like behaviors are correlated with decreased phosphorylation of mitogen-activated protein kinases in rat brain following chronic forced swim stress [J]. Behav Brain Res, 2006, 175(2): 233-240.

(收稿:2012-07-20 修回:2012-10-23)

2013 年全国危重病急救医学学术年会征文通知

2013 年全国危重病急救医学学术年会拟定于 2013 年 9 月在天津市召开,会议由中国中西医结合学会急救医学专业委员会主办,天津市第一中心医院承办。现将征文如下。

征文内容 (1) 中西医结合急救医学的基础、临床科研进展和技术交流;(2) 脓毒症的国内、国际研究成果交流、回顾和展望;(3) 交流中西医结合急救医学治疗的新技术、新进展,推广急救医学领域的临床治疗成果;(4) 老年多脏器功能不全的诊断与治疗。

征文范围 (1) 西医、中医、中西医结合的内科、外科、儿科、妇科、神经科、五官科、麻醉科、急诊科、ICU、血液净化、医学检验、医学影像、窥镜、创伤、中毒、烧伤、微创治疗、护理、心理、干细胞移植医学等专业的基础与临床研究论文;(2) 全身炎症反应综合征(SIRS)及脓毒症(Sepsis)、多脏器功能不全综合征(MODS)、危重病临床监测新技术、急救用药、急诊、ICU、干细胞移植医学质量控制标准、急救医疗行政管理和危重病急救医学领域的循证医学研究等方面的论文。

征文要求 全文在 3 000 字以内(须附 400 字中英文摘要,包括目的、方法、结果、结论)。要求标点符号准确,著者顺序排列。请自留底稿。投稿采用 word 文档格式,以电子邮件发出,并于发出后 72 小时内确认是否收到。请在电子邮件标题栏注明“会议征文”字样。

征稿日期 2013 年 7 月 20 日(以电子邮件发送时间为准)。

联系方式 天津市经济技术开发区第三大街 65 号(邮编 300457) 天津泰达医院;联系人:夏欣华,电话:13502001878, E-mail:tedahib@163.com;天津市南开区复康路 24 号(邮编 300192) 天津市第一中心医院中西医结合科,联系人:李志军,电话 13032279963, E-mail:doctorzhijun@yahoo.cn。