

[文章编号] 1000-2200(2010)02-0206-03

· 综述 ·

## 慢性心理应激大鼠模型的建立及评价研究进展

王寅 综述,王洪巨 审校

[关键词] 应激,心理学;动物模型;大鼠;综述

[中国图书资料分类法分类号] R 395 [文献标识码] A

随着社会环境和生活方式的改变,工作压力增加,生活节奏加快,心理应激因素参与疾病的发生、发展得到广泛重视。心理应激触发机体产生的生理学效应包括急性自主神经功能不全、神经内分泌激活、血流动力学改变和引发炎症反应过程。因此,研究心理因素在疾病发生、发展和康复过程中的作用,具有重要的意义。慢性心理应激动物模型在医学研究领域发挥着越来越重要的作用,大量用于临床药物的筛选和评价,并且通过这些慢性心理应激动物模型了解临床疾病的病理生理机制,发生、发展以及对疾病的预后评估都有不可替代的作用。目前对于心理应激模型还没有统一的标准,现将主要的几类心理应激动物模型及其评价方法作一综述。

## 1 慢性抑郁型动物模型

抑郁是一种以情绪低落,思维迟钝,行为迟缓为主要症状的精神疾病,同时可伴有睡眠减少,体重降低等躯体症状。

## 1.1 模型制作

1.1.1 慢性温和的不可预知性应激(chronic mild stress, CMS) 由Katz等<sup>[1]</sup>于1981年创立,但缺点较多,如过强的应激刺激常导致动物死亡。由Willner等<sup>[2-3]</sup>对其进行改进,是目前应用和研究较多的一种抑郁症模型。让大鼠在2~4周内每天经历一种不愉快的轻度应激,包括冷水游泳(4℃,5 min),电击(电流强度1.0 mA,频率1次/分),热环境(45℃,5 min),日夜颠倒,闪光刺激(频率3次/分),禁食,禁水,夹尾(1 min)等刺激。每种刺激形式不连续2天出现,形成一种CMS,避免动物对同一种刺激产生适应。

1.1.2 束缚应激模型 慢性束缚模型<sup>[4-5]</sup>是将动物限制在一个狭小的容器内(直径5 cm,长20 cm),使动物产生无助或抑郁,每次刺激时间约1 h。

1.1.3 行为绝望(behavioural despair, BD)模型 亦称之为“强迫游泳模型”(forced swimming test, FST),由Porsolt等1977年建立,被Renard等<sup>[6-7]</sup>应用,是将大鼠(或小鼠)置入盛水的环形玻璃缸内强迫游泳。动物最初在水中拼命游动、挣扎,试图逃脱,随之感到逃脱是不可能的,便不再挣扎和游动,仅将头部露出水面,肢体漂浮,维持一种不动状态,称之为“BD”。由此衍生出小鼠的悬尾模型(tail suspension test, TST),是将小鼠尾部悬挂,悬尾小鼠为克服不正常体位而挣

扎活动,但活动一定时间后,出现间断性不动,显示“绝望”状态<sup>[7-8]</sup>。

1.1.4 其他类型 如药物诱发的抑郁模型<sup>[9]</sup>,孤养模型<sup>[10]</sup>等抑郁模型。

1.2 模型行为评分 目前尚无公认的经典测量抑郁情绪的测验,在各种抑郁模型动物中主要通过以下试验测量抑郁水平:多用敞箱试验<sup>[1]</sup>进行行为测评,表现为大鼠自发性探究行为明显减弱,运动能力降低。体重减轻,性行为减少、血浆中糖皮质激素升高,睡眠周期紊乱。同时发现老鼠天生偏好糖水的兴趣下降,运用糖水消耗试验测定24 h饮用1%蔗糖溶液的量,若糖水消耗显著降低,表示抑郁模型造模成功<sup>[2]</sup>。

1.3 模型评价 上述抑郁模型可用于抗抑郁药物的筛选及抑郁病理生理机制的研究,因其采用的刺激因子类似人在生活中经历的应激事件强度,较好地模拟了人类快感缺乏、兴趣降低这一核心症状,并且模型稳定持久,作为抑郁应激模型是理想的。

## 2 焦虑动物模型

焦虑是事先知道但又不可避免的、即将发生的应激性事件引起的一种预期反应,以恐惧、担心、紧张等精神症状为主要表现,同时伴心悸、多汗、手脚发冷等植物神经功能紊乱,其核心症状为担忧。

## 2.1 模型制作

2.1.1 间氯苯哌嗪(mCPP)诱导焦虑的明暗箱模型 1998年Bilkei-Gorzó等<sup>[11]</sup>建立了Wistar大鼠mCPP(2.5 mg/kg)诱导焦虑的明暗模型,焦虑症状是通过动物进入明箱的次数明显减少表现的。谭德讲等<sup>[12]</sup>用ddy小鼠取代Wistar大鼠建立mCPP诱导焦虑的明暗箱模型,是一个简便易行,经济有效的焦虑模型。

2.1.2 Vogel饮水冲突试验和条件性电击 饮水冲突是将动物的饮水行为和不确定性的电击结合起来,动物如果想满足饮水的需要就可能受到电击的创伤,由此造成动物在饮水和避免电击之间的冲突,产生焦虑反应<sup>[13]</sup>。而条件性电击模型中,将某种信号和电击随机结合起来,信号出现后可能会出现电击,也可能不出现电击,动物处于期待性焦虑反应<sup>[14]</sup>。

2.1.3 社会行为模型 该类模型包括天敌暴露<sup>[15]</sup>、社会隔离、母爱剥夺<sup>[16]</sup>等。天敌暴露模型是将动物暴露于对其生命有强烈威胁的另一动物面前,天敌就会进行猛烈的进攻,而造成其焦虑水平的提高。但这一模型往往会对试验动物造成创伤,故多采用可视天敌暴露和天敌气味暴露等模型。

2.2 模型行为评分标准 经典的测量动物焦虑反应的方法是高架十字迷宫试验<sup>[17]</sup>和敞箱试验。高架十字迷宫试验是

[收稿日期] 2009-03-17

[基金项目] 安徽省教育厅自然科学研究资助项目(KJ2008B318)

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 心内科, 233004

[作者简介] 王寅(1981-),男,硕士研究生,住院医师。

一个评价大鼠焦虑效果的模型,利用新异的环境激发动物的探究性防御反应,通过探究行为来反映动物的焦虑水平。将动物置于迷宫的中央区,然后在一定的时间里观察动物分别进入开臂和闭臂的时间和次数,如焦虑水平高,则动物离开开臂退缩到闭臂中,反之则在开臂停留的时间更多,对开臂的探究次数也增多。另外还有 Y-迷宫和 Morris 水迷宫<sup>[18-19]</sup>用来评价动物记忆力和学习能力。敞箱试验中,中心区域对动物来说是潜在的威胁环境,而外周区则相对安全,因此焦虑水平高的动物倾向于停留在外周区,反之,对中央区探究次数及时间增加。

2.3 模型评价 焦虑模型主要反映动物对外界事物的好奇行为及对周围环境变化的敏感性,在模拟人类的焦虑反应、预测抗焦虑药物方面是有效的,但其中对心理应激中躯体应激比例增加,有一定的缺陷。

### 3 愤怒及恐惧动物模型

3.1 模型制作 刘晓伟等<sup>[20]</sup>通过领地入侵和光电刺激,将躯体刺激减少到极小。愤怒实验组(实验主鼠)单独饲养于不锈钢笼中(50 cm × 30 cm × 20 cm),自由饮食饮水。制造昼夜颠倒环境,每晚 24 时开灯,中午 12 时关灯。连续孤独饲养 10 天,第 11 天 13 时 30 分至 15 时 30 分进行实验,每只模型组大鼠笼内放进 1 只入侵激惹鼠(实验客鼠),开始计时、摄像,前 5 min 为双方适应期,观察记录第 6 ~ 20 min 内大鼠行为变化。恐惧实验组置于电击笼(30 cm × 40 cm × 40 cm)中,第 1 天放入笼中后首先给动物 3 min 适应环境,而后开始给予电击(1 mA × 1 s)和光照(10 W 日光灯)1 s,时间间隔为 1 min,刺激 30 min;第 2、3 天刺激程序与第 1 天相同;第 4 天将动物置于电击笼中后,先给其 10 min 适应环境,而后 30 min 按照原来的时间间隔单纯给予光照,同时记录动物处于冻结状态的时间(注意除外呼吸运动)。怒、恐应激出现的不同行为变化,与文献<sup>[21]</sup>报道一致。

3.2 行为评分标准 应激后敞箱行为学检测记录动物 3 min 的行为,以穿越底面的格子数为水平活动得分,以直立的次数为垂直活动得分。旷场实验得分分为两者之和。同时记录中央格停留时间(指大鼠被放入旷场正中格至其三爪跨离中央格的时间),修饰(指大鼠前肢向上抬举、抓痒、洗脸、舔足等动作)次数,修饰时间,粪便粒数。行为评定采用盲法,由 3 名观察者观看录像后评分,取其平均值<sup>[1]</sup>。恐惧模型大鼠在闪光照射后出现冻结姿势<sup>[22]</sup>:静止、呆滞、蜷缩、蹲伏等,期间仅有呼吸和轻微摇摆运动。其总时间称为冻结时间,即恐惧模型大鼠行为得分。行为评定采用盲法,由 3 名观察者观看录像后评分,取其平均值。

3.3 模型评价 本实验制订的模型评定方法稳定性较好,具有良好的信度,基本符合心理测量学的要求。同时 Wistar 大鼠种系的垂体-肾上腺系统功能发达,对应激反应灵敏;且雄性鼠攻击性强,孤独饲养后易激惹,故此模型选择成年雄性 Wistar 大鼠进行实验,制造模型的成功率(100%)高。

从上述动物模型可以看出,设计心理应激动物模型时,最困难的技术问题,就是要把引起大鼠产生应激的诸因素和躯体因素完全分离,至少部分分离。目前有效的动物模型多

采用限制应激、不可控制的电应激等,但仍不可避免地包含了躯体应激的成分,容易引起直接的生理反应,混淆心理应激和生理应激的反应模式。因此,进一步分离心理和躯体刺激等因素,尽量避免掺杂物理(躯体)性应激成分,建立起一种相对“纯粹”的心理应激模型,仍将是今后需要认真解决的问题。其次,衡量指标分散,特异性较差。实验研究致病因素的作用时间、强度等难以控制。理化指标的选择带有主观性,部分指标与临床实验观测值矛盾,甚至脱节,无法应用于临床。建议后续筛选特异性高、代表性强、生理作用突出的指标开展研究。再者,大多数动物模型都选择雄性动物而忽略了动物的性别差异,面对相同的应激状态,性别之间的行为表现和药物反应存在着较大差异。因此,有必要建立雌性动物的情绪应激模型,深入地研究其产生机制,并探讨两种性别动物应激机制不同的原因。随着心理学和精神病学研究的不断深入,必将建立和发展起来一些更好更具特色的动物模型,对进行综合、立体、多系统的医药学研究具有重要的指导意义。

### [ 参 考 文 献 ]

- [1] 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.
- [2] Willner P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS [J]. *Neuropsychobiology*, 2005, 52(2): 90 - 110.
- [3] Nirmal J, Babu CS, Harisudahan T, et al. Evaluation of behavioural and antioxidant activity of *Cytisus scoparius* Link in rats exposed to chronic unpredictable mild stress [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2008, 8: 15.
- [4] Ejchel-Cohen TF, Wood GE, Wang JF, et al. Chronic restraint stress decreases the expression of glutathione S-transferase p12 in the mouse hippocampus [J]. *Brain Res*, 2006, 1090(1): 156 - 162.
- [5] Jiang P, Chang L, Pan CS, et al. Protective role of metallothionein in stress-induced gastric ulcer in rats [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(18): 2739 - 2743.
- [6] Renard CE, Dailly E, David DJ, et al. Monoamine metabolism changes following the mouse forced swimming test but not the tail suspension test [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2003, 17(4): 449 - 455.
- [7] Contreras CM, Chacón L, Rodríguez-Landa JF, et al. Spontaneous firing rate of lateral septal neurons decreases after forced swimming test in Wistar rat [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2004, 28(2): 343 - 348.
- [8] Cryan JF, Mombereau C, Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2005, 29(4/5): 571 - 625.
- [9] McArthur R, Borsini F. Animal models of depression in drug discovery: a historical perspective [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2006, 84(3): 436 - 452.
- [10] Malkesman O, Maayan R, Weizman A, et al. Aggressive behavior and HPA axis hormones after social isolation in adult rats of two

- different genetic animal models for depression [J]. *Behav Brain Res*, 2006, 175(2):408-414.
- [11] Bilkei-Gorzó A, Gyertyán I, Lévy G. mCPP-induced anxiety in the light-dark box in rats—a new method for screening anxiolytic activity [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 1998, 136(3):291-298.
- [12] 谭德讲,武永敬明,小友进,等. ddy 小鼠替代大鼠的经济简便的抗焦虑药筛选改进模型——间氯苯哌嗪诱导的小鼠明暗箱焦虑模型[J]. *实验动物科学与管理*, 2003, 20(21):65-69.
- [13] Vogel JR, Beer B, Clody DE. A simple and reliable conflict procedure for testing anti-anxiety agents [J]. *Psychopharmacologia*, 1971, 21(1):1-7.
- [14] Thorsell A, Michalkiewicz M, Dumont Y. Behavioral insensitivity to restraint stress, absent fear suppression of behavior and impaired spatial learning in transgenic rats with hippocampal neuropeptide Y overexpression [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(23):12852-12857.
- [15] D'Amato FR, Rizzi R, Moles A. A model of social stress in dominant mice: effects on sociosexual behavior [J]. *Physiol Behav*, 2001, 73(3):421-426.
- [16] Post RM, Leverich GS, Xing G, et al. Developmental vulnerabilities to the onset and course of bipolar disorder [J]. *Dev Psychopathol*, 2001, 13(3):581-598.
- [17] Fernández Espejo E. Structure of the mouse behaviour on the elevated plus-maze test of anxiety [J]. *Behav Brain Res*, 1997, 86(1):105-112.
- [18] Sun CY, Qi SS, Lou XF, et al. Changes of learning, memory and levels of CaMK II, CaM mRNA, CREB mRNA in the hippocampus of chronic multiple-stressed rats [J]. *Chin Med J*, 2006, 119(2):140-147.
- [19] Conrad CD, Grote KA, Hobbs RJ, et al. Sex differences in spatial and non-spatial Y-maze performance after chronic stress [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2003, 79(1):32-40.
- [20] 刘晓伟,曲宏达,张红梅,等. 怒恐伤气大鼠血浆 ACTH CORT IL-2 IL-8 变化的比较研究 [J]. *辽宁中医杂志*, 2006, 33(2):239-240.
- [21] Takeuchi T, Iwanaga M, Harada E. Possible regulatory mechanism of DHA-induced anti-stress reaction in rats [J]. *Brain Res*, 2003, 964(1):136-143.
- [22] Conrad CD, Mauldin-Jourdain ML, Hobbs RJ. Metyrapone reveals that previous phronic stress differentially impairs hippocampal-dependent memory [J]. *Stress*, 2001, 4(4):305-318.

[文章编号] 1000-2200(2010)02-0208-03

· 综述 ·

## 细胞因子与急性肺损伤的关系

段立彬 综述,何先弟 审校

[关键词] 呼吸窘迫综合征;急性肺损伤;细胞因子;综述

[中国图书资料分类法分类号]

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是多种原因引起的、以进行性呼吸困难和难以纠正的低氧血症为主要表现的肺部继发性损伤,是肺组织失控性炎症反应的结果。目前,严重的 ALI 即急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)的病残率仍高达 40% 以上<sup>[1]</sup>。ALI 时肺部炎症反应的特征性标志是多形核中性粒细胞(polymorphonuclear neutrophil, PMN)的大量聚集和凋亡延迟,细胞因子(cytokine, CK)在此过程中起着至关重要的作用。近年来的研究<sup>[2]</sup>证实,促炎性和抗炎性 CK 网络失衡在 ALI/ARDS 的发病过程中起关键作用<sup>[2]</sup>,而如何调控炎症性 CK 的过度释放,使促炎和抗炎性 CK 网络恢复平衡状态也已成为研究热点<sup>[3]</sup>。本文就促炎和抗炎性 CK 之间的平衡与 ALI 的关系作一综述。

### 1 CK 及其分类

CK 是由免疫细胞和某些非免疫细胞经刺激而合成、分泌的一类具有广泛生物学活性的小分子蛋白质,作为细胞间信号的传递分子,主要参与调节免疫应答、免疫细胞分化发育、介导炎症反应刺激造血功能、组织修复等。根据 CK 在炎

性反应中的作用不同可分为促炎性 CK 和抗炎 CK<sup>[4]</sup>。促炎性 CK 主要有:肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素 1(interleukin-1, IL-1)、IL-6、IL-8、 $\gamma$  干扰素(interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )等,与炎症的发生、发展关系密切。抗炎性 CK 主要有:IL-4、IL-10、IL-13 等,其有拮抗炎性介质,抑制炎症发展的作用。也可以据 CK 的生物学功能分类,主要可分为 IL、IFN、集落刺激因子(colony stimulating factor, CSF)、TNF、生长因子、转化生长因子、化学趋化因子等<sup>[5]</sup>。

### 2 ALI 中各种 CK 的变化

2.1 核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) NF- $\kappa$ B 是由 Sen 和 Baltimore 于 1986 年首先在成熟 B 细胞核提取物中发现的一种与免疫球蛋白  $\kappa$  轻链基因增强子中特定 DNA 位点结合的蛋白。它不仅存在于 B 淋巴细胞,而且几乎存在于所有细胞中,且与炎症和免疫反应关系密切的很多 CK、黏附分子等的基因启动部位都含有  $\kappa$ B 位点。因此, NF- $\kappa$ B 能够和许多 CK、黏附分子、炎症介质等启动子区域的固定核苷酸序列相结合从而启动其基因转录,在机体的炎症反应、免疫应答及细胞的生长、分化、黏附、凋亡中起着重要的调节作用<sup>[6]</sup>。NF- $\kappa$ B 是由多肽链 p50 和 p65 两个亚基组成的二聚体。在静息状态下, NF- $\kappa$ B 家族蛋白以同源或异二聚体的形式与家族抑制蛋白 I $\kappa$ B(NF-I $\kappa$ B)结合,并以非活性形式存在于细胞质中,非活性 NF- $\kappa$ B 复合物和有活性 NF- $\kappa$ B 在细胞

[收稿日期] 2009-06-05

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 ICU,安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 段立彬(1981-),男,硕士研究生。