

许佳玲,刘坤,邢影,等. 啮齿类动物实验性经前烦躁症模型研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(9): 90-98.

Xu JL, Liu K, Xing Y, et al. Research progress of experimental premenstrual dysphoria models in rodents [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(9): 90-98.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.09.011

## 啮齿类动物实验性经前烦躁症模型研究进展

许佳玲<sup>1</sup>, 刘坤<sup>2</sup>, 邢影<sup>2</sup>, 胡明会<sup>3</sup>, 张浩<sup>3</sup>, 李自发<sup>3</sup>, 耿希文<sup>3\*</sup>, 魏盛<sup>3\*</sup>

(1. 山东中医药大学中医药创新研究院, 济南 250355; 2. 山东中医药大学中医学院, 济南 250355;  
3. 山东中医药大学实验中心, 济南 250355)

**【摘要】** 经前烦躁症 (premenstrual dysphoric disorder, PMDD) 是经前期综合征的一种亚型, 该病症在育龄女性中具有高患病率, 病症包含乳房胀痛、头痛等身体症状以及严重的焦虑、抑郁、易怒等情绪症状。目前 PMDD 已危及全球女性患者的生命健康, 在第五版国际精神障碍诊断与统计手册 (the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder, Fifth edition ed. DSM-5) 中将 PMDD 判定为抑郁症五种类型之一。目前 PMDD 的病理机制研究主要集中于激素及受体表达方面, 这也是目前动物模型构建的理论基础。而动物模型是联系基础研究与临床研究非常重要的一环, 造就能够模拟临床症状的动物模型对于疾病发病机制的探索以及对症药物的研发都至关重要。目前, 多种 PMDD 动物模型虽已被用于实验研究, 但仍存在许多局限性, 这在一定程度上阻碍了 PMDD 深层机制的研究。为此本文旨在通过梳理目前已知 PMDD 的发病机制, 探讨现有用于研究的 PMDD 动物模型, 以期对 PMDD 相关机制研究及药物研发提供参考。

**【关键词】** 经前烦躁症; 动物模型; 行为学检测; 动情周期; 激素调控

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 09-0090-09

## Research progress of experimental premenstrual dysphoria models in rodents

XU Jialing<sup>1</sup>, LIU Kun<sup>2</sup>, XING Ying<sup>2</sup>, HU Minghui<sup>3</sup>, ZHANG Hao<sup>3</sup>, LI Zifa<sup>3</sup>, GENG Xiwen<sup>3\*</sup>, WEI Sheng<sup>3\*</sup>

(1. Innovative Institute of Chinese Medicine and Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China. 2. School of Traditional Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355. 3. Experimental Center, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355)

**【Abstract】** Premenstrual dysphoric disorder (PMDD) is a subtype of premenstrual syndrome with high prevalence in women during their reproductive life. It has physical symptoms such as breast tenderness and headache as well as serious emotional symptoms such as anxiety, depression, and irritability. These symptoms are specific to the menstrual cycle. They appear before menstruation and disappear within a week after its completion. PMDD is a health threat for females. In the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder (Fifth edition ed. DSM-5), PMDD is one of the five types of depression. Current studies on the pathological mechanism of PMDD mainly focus on hormone and receptor expression,

**【基金项目】** 国家自然科学基金面上项目 (81974553, 82274383); 山东省自然科学基金重大基础研究项目 (ZR2020ZD17); 山东中医药大学中医药与脑科学青年科研创新团队 (22202101); 泰山学者工程专项 (tsqn202211137)。

**【作者简介】** 许佳玲 (1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中医情志病症的脑环路基础和中医药干预机制。

E-mail: xujialing1021@163.com

**【通信作者】** 魏盛 (1980—), 男, 教授, 博士, 研究方向: 中医情志病症的脑环路基础和中医药干预机制。E-mail: weisheng@sdutcm.edu.cn

耿希文 (1990—), 女, 副教授, 博士, 研究方向: 情志病证的神经生物学机制。E-mail: xwgeng@sdutcm.edu.cn

\* 共同通信作者

which is the theoretical basis of animal model establishment. Animal models that recapitulate the clinical symptoms of humans are very important to connect basic research to clinical research, which is also crucial to explore the pathogenesis and develop appropriate drugs. Although many kinds of animal models of PMDD have been used in various studies, many limitations result in a barrier to further investigate PMDD. Therefore, this review collates the pathogenesis research of PMDD and discusses the existing animal models of PMDD to provide a reference for PMDD-related mechanism research and drug development.

**【Keywords】** PMDD; animal model; behavioral test; estrous cycle; hormone regulation

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

Hantsoo 等<sup>[1]</sup>在 2015 年的一项研究经前烦躁症 (premenstrual dysphoric disorder, PMDD) 与工作表现联系的结果表明, PMDD 患者普遍伴随较差的工作-生活平衡、较低水平的心理承受能力和较低工作效率等情况。而随着病情加重, 患者会表现出工作能力差、有效工作时间下降等, 病情严重的甚至会无法工作。此外, PMDD 患者还多伴随大量饮酒、睡眠质量差以及情绪焦虑、抑郁等症状, 这表明了 PMDD 对女性的工作与生活造成了重大影响。目前 PMDD 发病机制的研究主要集中在如孕酮 (progesterone, P)<sup>[2-5]</sup> 及其代谢产物四氢孕酮 (allopregnanolone, ALLO)<sup>[6-8]</sup> 调控的激素分泌以及  $\gamma$ -氨基丁酸 ( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)<sup>[9-12]</sup> 等受体表达量改变方面, 但目前其病理机制尚未明确。动物模型是研究 PMDD 病机的重要载体, 因此构建能够准确模拟临床病理症状的动物模型十分关键。为此本文将对目前 PMDD 的病理机制研究及啮齿动物的造模方法等内容进行梳理, 总结现有动物模型对于 PMDD 的研究的贡献及局限性, 以期对相关研究人员提供较为全面的建模参考及更精准的动物模型选择方案, 为推进 PMDD 的病理机制研究及治疗方案研发提供更多可能性。

## 1 PMDD 疾病定义和诊断标准

PMDD 被第五版国际精神障碍诊断与统计手册 (the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder, Fifth edition ed. DSM-5) 认定为抑郁症的五种类型之一<sup>[12]</sup>, 是一种涉及多种身体及情绪症状的严重经前综合征亚型。据文献报道, 80% 的女性在育龄期间会出现轻微的经前期综合征症状, 其中出现中度到重度症状的比例高达 1/4, 最严重的症状即 PMDD, 患者占比为 3%~8%<sup>[13-14]</sup>。PMDD 患者会周期性出现多种躯体及精神症状, 这不仅危及患者的身体健康, 还会严重影响其日常生活和人际关系。

DSM-5 的诊断标准中认定: 必须连续两个月经周期出现 11 个相关症状中的 5 个症状才能被诊断为 PMDD (相关症状见表 1), 并且 4 个严重症状 (抑郁、焦虑/紧张、易怒/愤怒、情绪不稳定) 必须出现一种<sup>[14-15]</sup>。PMDD 的这些症状并不会因为患有其他精神疾病而加重, 因为 PMDD 的一些症状 (如 4 个严重症状) 具有月经周期性, 只在黄体期出现, 并在月经结束后的 1 周内会消失。这种月经周期性也是诊断 PMDD 的必要条件<sup>[13]</sup>。

表 1 PMDD 的诊断标准

Table 1 Diagnostic criteria of PMDD

DSM-5 中 PMDD 的 11 个相关症状 11 associated symptoms of PMDD in DSM-5
I. 情绪抑郁 I. Feeling depressed
II. 焦虑、紧张 II. Anxiety, nervousness
III. 情绪不稳定 III. Emotional instability
IV. 愤怒、易怒 IV. Anger, irritability
V. 对日常活动的兴趣降低 V. Reduced interest in daily activities
VI. 难以集中注意力 VI. Difficulty concentrating
VII. 嗜睡、疲劳 VII. Drowsiness, fatigue
VIII. 食欲改变、渴望食物 VIII. Appetite change, craving for food
IX. 睡眠模式改变 IX. Sleep patterns are shifting
X. 不知所措、失控 X. Unconscious and out of control
XI. 身体不适 (乳房压痛、关节痛、头痛、腹胀) XI. Physical discomfort (breast tenderness, arthralgia, headache, abdominal distension)

注: 既往 12 个月中, 大多数周期中应该经历 11 个症状中的 5 个, 前 4 种症状至少包含 1 种。

Note: Five of the 11 symptoms should be experienced during most cycles over the past 12 months. At least one the first four symptoms should be present.

## 2 PMDD 的发病机制

PMDD 的病因复杂,众多内部和外部因素如:激素变化、遗传、营养不良、饮食偏好、环境改变、早期的社会生活环境、神经递质和免疫系统的改变等<sup>[15-16]</sup>都能导致症状出现。其中研究最多的是下丘脑-垂体-卵巢(hypothalamus-pituitary ovarian, HPO)轴和下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamus-pituitary adrenal, HPA)轴相关的激素分泌,其他的研究对象还包括 GABA 能系统、5-羟色胺(serotonin, 5-HT)系统及基因多态性等,都被认为与 PMDD 的病理机制相关。

### 2.1 PMDD 与激素分泌

目前研究人员对 PMDD 研究最为广泛的是与其症状一同周期性出现及消失的卵巢激素波动。孕酮被报道为 PMDD“严重程度每日报告(daily record severity problems, DRSP)”的预测因子,二者可能有较强的相关性<sup>[17]</sup>。另有研究表明情绪改善(低程度的攻击性、易怒和疲劳)与高孕酮水平正相关<sup>[18]</sup>。孕酮的快速下降会诱发 PMDD 易感患者出现症状,而其缓慢下降则可以避免症状出现<sup>[2-4]</sup>。

孕酮及其代谢产物 ALLO 会随着月经周期发生自然的波动,其浓度从卵泡期到黄体期不断增加,而在黄体中晚期,血清中 ALLO 与孕酮的比例较低。有研究报道称有抑郁症病史的 PMDD 患者这个比例与正常女性不同<sup>[6-7]</sup>。这个可能说明,先前的条件应激可能会以某种特定酶为靶点,影响 PMDD 患者体内孕酮转化为其代谢物。同样的,另一项研究也认同这个观点:在月经周期中阻断孕酮转化成 ALLO,即黄体期 ALLO 减少,将会引起焦虑、易怒和悲伤情绪症状<sup>[8]</sup>。因此研究者认为月经周期中 ALLO 下降可能是 5 $\alpha$  还原酶的表达量的变化导致,从而诱发 PMDD 症状。

此外,通过对比 PMDD 患者与健康女性的基础状态,研究人员发现 PMDD 患者体内 ALLO 和孕酮相较呈高水平,且该患者对皮质醇的敏感性低,并在应激状态下 PMDD 患者体内 ALLO 水平没有波动<sup>[19-20]</sup>,这表明她们体内 HPA 轴负反馈功能失调<sup>[19]</sup>。另一项研究也表明,PMDD 患者经历长时间应激会出现 HPA 轴反应减弱现象<sup>[21-22]</sup>。而在 PMDD 患者中经历过身体、情感或性虐待的比例显著高于对照组女性<sup>[23-24]</sup>,这些女性表现严重精神症状的同时也同样存在应激状态下 HPA 轴反应迟钝

的现象。这些研究结果都表明,患者早年应激导致 HPA 轴的损伤可能与 PMDD 出现相关。

### 2.2 PMDD 与 GABA<sub>A</sub> 受体表达

GABA<sub>A</sub> 受体是一个由两个  $\alpha$ 、两个  $\beta$  和一个  $\gamma$  或  $\delta$  亚基组成,中心为 Cl<sup>-</sup> 渗透通道的五聚体复合物<sup>[9,25-26]</sup>。GABA<sub>A</sub> 受体上有两个不同的 ALLO 和其他神经活性类固醇的识别位点<sup>[23]</sup>,所以 GABA<sub>A</sub> 受体对压力和激素环境很敏感<sup>[25-26]</sup>。大脑中  $\alpha/\beta/\delta$  三种亚型组合而成的 GABA<sub>A</sub> 受体对 ALLO 及神经类固醇具有高度敏感<sup>[26]</sup>。有报道称,人为诱导动情周期的动物模型,运用孕酮撤退模拟黄体期孕酮快速下降会导致海马(hippocampus, Hip)<sup>[10]</sup>和杏仁核(amygdala, Amy)脑区<sup>[11-12]</sup>中 GABA 门控总电流的减少和 GABA<sub>A</sub> 受体  $\alpha 4$  亚基增加<sup>[10]</sup>。

因 GABA<sub>A</sub> 受体对压力环境敏感,所以长期处于应激状态会使 GABA<sub>A</sub> 受体特定亚基的表达发生变化。例如,在强迫游泳(forced swimming test, FST)、慢性轻度压力、长期社会压力或社交隔离情况下,雄性小鼠前额叶皮质(prefrontal cortex, PFC)和 Hip 中,  $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ 、 $\delta$  亚基的表达量明显上升,而  $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\gamma 2$  的表达则显著降低<sup>[27]</sup>。这些亚基表达量的改变会导致 GABA<sub>A</sub> 受体对神经活性类固醇的敏感性发生变化。所以经历长期压力可能导致 GABA<sub>A</sub> 受体亚基组成的改变从而参与了 PMDD 患者焦虑和抑郁表型的产生。另外来自动物模型的一致证据表明,脱氧皮质酮(deoxycorticosterone)、脱氢表雄酮(dehydroepiandrosterone)、孕酮的 3 $\alpha$ -、5 $\alpha$ -和 5 $\beta$ -的还原代谢物是 GABA 受体的正向调节因子<sup>[28]</sup>。这些化合物在应激时通过激活 Hip、Amy 和 PFC 及其他脑区中的 GABA<sub>A</sub> 受体从而抑制 HPA 轴的激活<sup>[29-30]</sup>。

### 2.3 PMDD 其他发病机制研究

标记的 PMDD 遗传候选基因包括 5-HT 转运体(serotonin transporter, 5HTTLPR)和脑源性神经因子(brain-derived nerve factor, BDNF)66 位基因序列上缬氨酸突变为蛋氨酸(valine66 Methionine, Val66 Met)的多态性基因<sup>[31]</sup>。选择性 5-HT 再摄取抑制剂(selective serotonin reuptake inhibitors, SSRIs)的快速给药可以减少 Wistar 雌鼠动情周期依赖性埋珠行为和攻击行为<sup>[32]</sup>,这表明 5-HT 系统或许参与这些行为之中。

而 BDNF Val66 Met 的 PMDD 患者对比携带蛋氨酸(methionine, Met)等位基因的对照组,携带

Val66 Met 基因患者在月经黄体期表现出额扣带回皮质较低程度的激活<sup>[31]</sup>。有报道表明一种与 PMDD 特异性相关的神经过敏症的患者血清中 BDNF 含量下降<sup>[32]</sup>, 这说明 PMDD 可能与 BDNF Met 等位基因突变相关。

### 3 动物模型

以转化医学为重点, 从动物研究返回到人类临床研究必须加强基础研究和临床研究之间的联系, 研究者必须综合考虑动物模型的效度标准, 而效度标准包含内部和外部效度。简单来说, 内部效度包括实验的可重复性、观察者的可靠性、实验的随机性以及设计中的质控。而外部效度则涉及到样本研究的适用性, 以确保建立类似病理学动物模型<sup>[33]</sup>。主要外部效度标准包括: 同源效度、病理效度、机制效度、表面效度和预测效度等<sup>[34-35]</sup>, 因此, 在建立实际动物模型时, 应综合考虑众多因素, 尽可能达到多项效度标准从而制备可靠的实验动物模型。

造模效度标准是判定动物模型是否达到实验研究标准的指征。如因动情周期性激素波动, 动情间期晚(late diestrus, D2/LD)期孕酮的快速下降会导致模型动物出现如焦虑、攻击和抑郁样行为。同时, 药物干预使得模型动物体内两种激素(P/E<sub>2</sub>)的水平都达到相应内分泌标准, 能有效预防或改善病理行为特征, 这说明造模方法达到了表面效度。氟西汀作为抗抑郁药在临床试验中有效地改善了 PMDD 症状, 也有效改善动物模型的内分泌及行为特征, 达成了预测效度标准。而基于孕酮或 ALLO 含量变化在 PMDD 疾病中的内分泌病机, 在 LD 时期或因孕酮停用显示一定程度病理表型的动物模型, 显示达成病理效度。另外, 有研究表明使用居住入侵者测试(resident-intruder test, RIT)等方法造就的易怒/攻击性(焦虑样行为指标之一)和抑郁样表型的动物模型出现 GABA<sub>A</sub> 受体亚基组成的改变<sup>[9]</sup>, 这在某种程度上可能达到了机制效度。

#### 3.1 造模动物的动情周期

从 PMDD 患者的临床症状可以得出动物模型的核心表型, 如月经周期的黄体期呈现焦虑、抑郁以及攻击性/易怒增加, 或在一段时间的激素抑制后, 可以在动物模型中观察到表 1 中的症状。由于 PMDD 复杂的发病机制以及其表型在特定生理周期出现及消失, 为了验证 PMDD 动物模型的表面效

度, 构建动物模型时明确动情周期尤其重要。

月经周期的计算以本次月经的第一天开始到在下一次月经来潮前 1 d 计算, 人类女性平均月经周期为 29.3 d<sup>[36]</sup>。除妊娠期外, 女性的月经周期从月经初潮开始会持续到更年期绝经结束<sup>[14]</sup>。女性月经周期分为两个阶段: (1) 卵泡期: 从月经结束日开始至排卵日结束。该时期特点是孕酮水平低且持续不变, E<sub>2</sub> 水平在接近轻度卵泡期持续增加, 在排卵日水平达到最高。(2) 黄体期: 从排卵后 1 d 开始, 在月经来潮前 1 d 结束。在这个阶段, E<sub>2</sub> 最初下降, 但几天后, 它略有增加, 在月经前再次下降<sup>[14]</sup>。相比之下, 孕酮在黄体初期开始上升, 在黄体期中期达到峰值, 并在后期快速下降。正是此时 PMDD 症状出现。

啮齿类动物的卵巢周期(也称为动情周期)是生殖和内分泌系统的一系列组织学和生理周期性变化的循环时长, 根据其激素波动水平判定, 一般约为 4~5 d<sup>[14]</sup>。以大鼠为例, 其动情周期可大致分为 1~2 d 的接受期(receptive phase, R 期)和约 3 d 的非接受期(nonreceptive phase, NR 期)。R 期包括动情前期(proestrus, P 期)和动情期(estrus, E 期); NR 期包括动情间期早期(metestrus, D1/M 期)和 LD 期。啮齿动物的 R 期和 NR 期分别对应人类女性月经周期的卵泡期和黄体期(经前期)。

#### 3.2 造模方法

过去关于 PMDD 的神经生物学研究都证实了其病理复杂性。在基础研究中, 既可以通过给予动物一些应激条件以重现 PMDD 主要症状, 进而对啮齿类动物进行类似抑郁、易怒、攻击性和焦虑症状的行为特征分析, 也可以通过激素操纵的方式获得稳定动情周期的实验动物进而研究其特定的受体表达量及功能的变化。因此目前 PMDD 动物模型的动情周期分为自然动情周期与人工诱导的动情周期。以下根据实验动物具备的动情周期类型分别进行造模方法介绍。

##### 3.2.1 自然动情周期实验动物的造模方法

###### (1) 情绪刺激(emotional stimulation, ES)

ES 造模主要依赖于情绪干扰, 通常包含多种外部因素。苏云祥<sup>[37]</sup>将大鼠连续 5 d 置于可调噪声和脉冲电刺激的笼内进行造模, 每日进行阴道涂片检测大鼠的动情周期, 并进行行为学及生物学检测, 结果发现模型大鼠在 LD 时期出现 PMDD 症状, 且下丘脑(hypothalamus, HT)和 PFC 中去甲肾上腺

素(norepinephrine, NE)含量增加, Hip、HT 中多巴胺含量增加, Hip、HT 和外周血血清中 5-HT 含量降低。这说明这种造模方法是通过引起模型动物激素变化而诱导出 PMDD 症状, 符合上述机制效度和表面效度标准, 表明该造模方法可造就 PMDD 病理模型亚型。

#### (2) 慢性束缚应激(chronic restraint stress, CRS)

CRS 是一种常见的诱导抑郁模型的应激方法, 它具有可操作性及可重复性, 并能完整地模拟快感缺失状态。侯金良<sup>[38]</sup>通过观察大鼠阴道涂片细胞形态监测大鼠动情周期, 并连续 4 个 NR 期对大鼠 CRS 处理进行 PMDD 造模后续使用氟西汀胶囊进行治疗, 并在用药前后进行旷场、高架十字迷宫和 FST 等行为学测试及 NE、5-HT 等生物学检指标测, 这种造模方法使大鼠在 LD 时期出现 PMDD 类似症状, 行为学及生物学结果一致证实 CRS 造模法达到表面效度、机制效度以及预测效度。

#### (3) 大理石球埋藏(marble burying, MB)

Schneider 等<sup>[39]</sup>依据大鼠对明亮物体规避惊惧的生理特点, 对雌性大鼠进行适应性饲养, 结束后每只大鼠单笼进行造模, 首先向其所在的鼠笼投放 9(3×3)个直径为 2.3 cm 的明亮大理石球, 再给予红光及噪声应激 10 min, 诱导其产生埋藏行为后给予不同类别的抗抑郁药(氟西汀、地西帕明、诺米芬辛)及地西洋和孕酮治疗。结果显示该造模方法可以在动物中模拟 PMDD 样症状, 并且药物治疗可以减少发情周期依赖的大理石掩埋行为。这表明 MB 造模法可以达成表面效度、病理效度及预测效度。该造模方法配合电刺激衍生的电击探针埋藏测试(shock-probe burying test)<sup>[40]</sup>同样是一项广泛用于焦虑样精神疾病的造模方法。

#### (4) 强迫游泳(FST)

FST 会导致老鼠感到“行为绝望”, 从而诱发类似抑郁的情绪。强迫游泳测试后对比 NR 期和 R 期的差值进行 PMDD 模型的选取。通过比较动情周期中 NR 期(类似于黄体期)和 R 期(类似于卵泡期)的静止时间和静止次数, 并选择 NR 期明显高于 R 期的大鼠(类似于经前期的抑郁状态和经后期的抑郁样情绪的改善)作为 PMDD 模型<sup>[41]</sup>。目前已有多项研究表明对自然动情周期的大鼠进行 3 次 FST, 可以诱导大鼠出现 PMDD 样症状<sup>[42-44]</sup>, 并且生物学检测结果显示, 造模大鼠出现 ALLO<sup>[42]</sup>、GABA 受体亚基<sup>[42]</sup>及特定脑区蛋白<sup>[43-44]</sup>等表达量改变。

我们之前的研究结果也发现 FST 会导致大鼠在动情周期的 NR 期抑郁样行为加剧, 而该症状会在 R 期缓解<sup>[45]</sup>。这一系列表面效度、病理效度及机制效度都说明 FST 是一项有效的 PMDD 造模方法。

#### (5) 居住入侵(RIT)

为了寻找一种 PMDD 的自然动物模型, 研究者常选择给予实验动物一些社交应激, 后分析其在不同动情周期阶段中的攻击性行为筛选出模型动物。RIT 是一种重要的社交应激类型, 这种造模方法是将大鼠单笼饲养进行社交隔离, 这样大鼠会对居住地产生一种天然的领地占有感, 当有外来大鼠进入笼子时, 它会出现本能的攻击行为<sup>[46]</sup>, 大鼠这种由本能攻击性诱发的愤怒情绪可以模拟人类焦虑、抑郁、攻击性等精神障碍症状, 其优势在于可以减少因人为干预造成的大鼠伤害<sup>[47]</sup>。并且研究发现使用该方法造就的 PMDD 大鼠在 NR 期出现 PMDD 样症状, 并且与对照组相比其血清中孕酮、ALLO 及 GABA 含量下降<sup>[48]</sup>。这说明这种造模方法具备表面效度及病理效度。

### 3.2.2 人工诱导动情周期实验动物的造模方法

人工诱导 PMDD 模型的手段主要是对实验动物进行卵巢摘除后, 人为定期给予激素注射使其模拟 PMDD 患者月经周期性激素变化, 从而诱发动物在 LD 时期出现 PMDD 样症状。人为激素诱导可以精准地操控动物的动情周期, 从而实现快速有效地动情周期监控进行病理研究。

#### (1) 孕酮撤退(progesterone withdrawal, PW)模型

PMDD 症状开始于黄体后期, 并在月经结束不久后消失, 大鼠体内孕酮含量会在黄体萎缩后下降, 该过程称为 PW。PW 会导致子宫内膜收缩, 黄体细胞凋亡和解体, 导致子宫内膜出血、脱落以及月经的发生。由于 PMDD 症状在围经期出现及结束, 最初有人提出性腺激素(P 和 E<sub>2</sub>)参与其病理生理过程<sup>[17]</sup>, 血清中孕酮水平在黄体末期快速下降<sup>[2-4]</sup>, 而研究证明情绪症状与这种快速的 PW 相关, 利用促性腺激素抑制排卵及孕酮波动可以防止一些 PMDD 负面情绪的发生<sup>[49]</sup>。研究人员发现给予大鼠长期人工注射孕酮突然停止注射后, 也会表现出典型的焦虑样行为<sup>[10]</sup>。同样的结果在 Wang<sup>[50]</sup>的研究结果也被发现: 他们对大鼠连续 4~5 d 孕酮注射, 并在最后一次孕酮注射 24 h 后进行防御性埋珠行为测试, 结果大鼠表现出焦虑样行为

增加。这样的结果在植入孕酮缓释栓剂移除后也被观察到。相反,孕酮的缓慢减少并没有诱发类似的焦虑样行为<sup>[51]</sup>。随后,不同的研究人员通过埋珠测试<sup>[52]</sup>及其他如明暗穿梭箱<sup>[51,53]</sup>和高架十字迷宫<sup>[52,54]</sup>、旷场实验<sup>[53]</sup>等焦虑行为测试都报道了PW的致焦虑作用。此外,研究人员还使用PW模型进行FST、社交偏好测试和糖水偏好测试来研究抑郁样行为<sup>[55-56]</sup>。结果一致表明这种激素操纵能诱发相似的焦虑、抑郁样行为,这表明PW造模可以达成病理效率、机制效率及表面效率。

(2) 四氢孕酮 (3 $\alpha$ , 5 $\alpha$ -tetrahydroprogesterone, THP) 撤退模型

消炎痛(吲哚美辛)是一种3 $\alpha$ -羟基类固醇氧化还原酶阻滞剂,具有防止孕酮转化为ALLO的作用。Li等<sup>[57]</sup>发现服用消炎痛可以预防孕酮撤退引起的焦虑特性。同样的,由于GABA<sub>A</sub>受体 $\delta$ 亚基对

THP的调控具有高度敏感性,Smith等<sup>[58]</sup>设计了一个敲除GABA<sub>A</sub>受体 $\delta$ 亚基的小鼠模型,建立了THP的小鼠模型,经高架十字迷宫测试发现THP对野生型雌性小鼠有致焦虑作用,且小鼠海马体1(CA1)区中GABA<sub>A</sub>受体 $\alpha$ 4亚基的表达增加,但 $\delta$ 亚基敲除鼠并未产生焦虑样表型。这说明ALLO可通过调节GABA<sub>A</sub>受体产生焦虑样行为表型。这种表面效率和机制效率表明,THP撤退可能是PMDD动物造模的方法之一。

不同造模方法对拥有自然及人工诱导稳定动情周期的动物造模诱导效率不同,模型侧重也不尽相同,不同模型具有不同的优劣势(具体见表2)。但这也为PMDD疾病研究提供了更多的可能性,特别是中医“辨证论治”治则中针对PMDD的不同病证进行对症治疗提供了思路。

表2 不同PMDD动物造模方法的差异与优缺点

Table 2 Differences, advantages and disadvantages of different PMDD animal models

动情周期类型 Types of estrous cycle	特点 Characteristics	造模方法 Methods of modeling	造模优势 Advantages	造模劣势 Disadvantages
自然动情周期 Natural estrous cycle	可以高度模拟自然情况人类女性PMDD病理发展,但动情周期不稳定,且诱导的模型心理侧重较单一 Natural estrous cycle can highly simulate the pathological development of PMDD, but it is unstable, and the models with natural estrous cycle always have single psychological performance.	ES	无生理性伤害,诱导焦虑样表型 No physiological harmful effects, inducing anxiety like phenotype	
		CRS	模拟人类快感缺失诱导抑郁样模型 Inducing depression like phenotypes through simulating the performance of human pleasure loss	可能产生生理性伤害,需要时间进行状态恢复 Physiological damage may occur and need time for recovery
		MB	无生理性伤害,通过产生恐惧心理诱导焦虑样表型 No physiological harmful effects, inducing anxiety like phenotypes through generation of fear	
		FST	通过产生绝望心理诱导抑郁样表型 Inducing depression like phenotypes through generation of despair	可能产生生理性伤害,需要时间进行状态恢复 Physiological damage may occur and need time for recovery
		RIT	通过社交应激产生愤怒情绪以诱导抑郁样表型 Inducing depression like phenotypes through generation of anger psychology which is generated by social stress stimulation	
人工诱导动情周期 Artificially induced estrous cycle	通过模拟激素变化造模,动情周期稳定,但只具备生理特性,无心理特性 Estrous cycle is stable by simulating female hormone changes, it has physiological characteristics, but no psychological characteristics	PW	动情周期稳定,易于操控 Estrous cycle is stable, and easy to manipulating	只具备生理特性 Only having physiological characteristics
		THP	动情周期稳定 Estrous cycle is stable	机制不完全明确,应用不广泛 Mechanism is not fully clear and has not been widely used

#### 4 总结与展望

PMDD 作为一种严重的围经期情绪障碍疾病,对于女性患者的生活、工作及人际交往等多方面造成了巨大的影响。目前对于该疾病的深层病理机制并不完全清楚,借助动物模型可以更好地帮助我们临床转化以研究其病理机制。虽然目前尚未开发出一种能完整模拟人类 PMDD 女性患者表型、达到完整造模效度的动物模型,但已有许多研究证实动物模型有助于研究 PMDD 在内的精神疾病。所以研究者研究中有必要综合考虑其复杂病因及不同亚型从而选用最合适的造模方法,同时根据基础及临床研究结果,进行不断完善从而建立更能模拟人类女性 PMDD 病症的动物模型。我们之前的研究内容中关于 PMDD 的造模方法在 RIT<sup>[59]</sup> 和 FST<sup>[45]</sup> 范式做了改良与优化,能更好地模拟啮齿类动物动情周期依赖性的疾病特征,这可能为 PMDD 研究动物造模提供一些参考。

PMDD 的病因涉及众多内部和外部因素,并且目前研究表明其神经生物学机制错综复杂。梳理相关文献证据,我们认为女性 PMDD 发病的直接原因是生理时期性甾体激素及其代谢产物波动,继而影响相应受体的敏感性及表达量发生改变,导致中枢神经系统内该类受体的作用递质如 GABA、5-HT 等神经递质的异常,引发多脑区以及相关神经环路的功能紊乱最终导致相应精神行为症状。在我们之前的研究中也证实了在 PMDD 大鼠模型中 GABA<sub>A</sub> 受体的  $\alpha 4$  亚基表达量明显增多<sup>[45]</sup>。因此,后续关于 PMDD 机制探索工作中,可以更多关注特定生理时期因性甾体激素、代谢产物发生波动变化引发的受体及神经递质的功能改变,以及分析 HPA 轴激素的改变是如何诱导 GABA<sub>A</sub> 受体亚基组成、GABA 能和谷氨酸能系统及 5-HT 能系统功能发生改变,另外深入探究分子信号通路或特定脑区神经元活性改变也能为阐释 PMDD 深层病理机制以及开发新的治疗方法提供更广的思路。

此外,GABA<sub>A</sub> 受体对于 ALLO 等神经类固醇的高敏感性以及其特殊的药理性质,说明了 GABA<sub>A</sub> 受体与 PMDD 病理机制可能密切相关,未来使用特定 GABA 亚基(如  $\alpha 4$ 、 $\delta$  亚基等)转基因敲除鼠进行造模及实验研究或许对病理机制阐明有重要帮助。另外,猕猴等非人灵长类动物与人类同属灵长类动物,其基因与人类有高度相似,有较为一致的遗传

学特性,并且其身体结构与人类相似,面部皮肤裸露,易于观察其面部表情变化。这些特征在 PMDD 表型中观察情绪反应及疼痛部位方面占巨大优势,或许未来应 PMDD 疾病深入研究的需求,灵长类动物模型会是新的研究发展对象。未来继续拓展动物病理模型及优化造模方法对于病理研究是必要的,相信未来我们能够找到研究 PMDD 更好的方案,为 PMDD 的针对性治疗和药物的开发带来希望。

#### 参考文献:

- [1] Hantsoo L, Epperson CN. Premenstrual dysphoric disorder: epidemiology and treatment [J]. *Curr Psychiatry Rep*, 2015, 17(11): 87.
- [2] Lovick TA, Guapo VG, Anselmo-Franci JA, et al. A specific profile of luteal phase progesterone is associated with the development of premenstrual symptoms [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2017, 75: 83-90.
- [3] Schmidt PJ, Martinez PE, Nieman LK, et al. Premenstrual dysphoric disorder symptoms following ovarian suppression: triggered by change in ovarian steroid levels but not continuous stable levels [J]. *Am J Psychiatry*, 2017, 174(10): 980-989.
- [4] Segebladh B, Borgström A, Nyberg S, et al. Evaluation of different add-back estradiol and progesterone treatments to gonadotropin-releasing hormone agonist treatment in patients with premenstrual dysphoric disorder [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2009, 201(2): 139.e1-139.e8.
- [5] Schmalenberger KM, Tauseef HA, Barone JC, et al. How to study the menstrual cycle: practical tools and recommendations [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2021, 123: 104895.
- [6] Kimball A, Dichtel LE, Nyer MB, et al. The allopregnanolone to progesterone ratio across the menstrual cycle and in menopause [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2020, 112: 104512.
- [7] Martinez PE, Rubinow DR, Nieman LK, et al. 5 $\alpha$ -reductase inhibition prevents the luteal phase increase in plasma allopregnanolone levels and mitigates symptoms in women with premenstrual dysphoric disorder [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2016, 41(4): 1093-1102.
- [8] Locci A, Pinna G. Neurosteroid biosynthesis down-regulation and changes in GABA<sub>A</sub> receptor subunit composition: a biomarker axis in stress-induced cognitive and emotional impairment [J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(19): 3226-3241.
- [9] Smith SS. Withdrawal properties of a neuroactive steroid: implications for GABA<sub>A</sub> receptor gene regulation in the brain and anxiety behavior [J]. *Steroids*, 2002, 67(6): 519-528.
- [10] Smith SS, Gong QH, Hsu FC, et al. GABA<sub>A</sub> receptor  $\alpha 4$  subunit suppression prevents withdrawal properties of an endogenous steroid [J]. *Nature*, 1998, 392(6679): 926-929.
- [11] Iba H, Watanabe T, Motomura S, et al. A Japanese herbal

- medicine attenuates anxiety-like behavior through GABA<sub>A</sub> receptor and brain-derived neurotrophic factor expression in a rat model of premenstrual syndrome [J]. *J Pharmacol Sci*, 2021, 145(1): 140–149.
- [12] First MB. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 5th edition, and clinical utility [J]. *J Nerv Ment Dis*, 2013, 201(9): 727–729.
- [13] Kadian S, O'Brien S. Classification of premenstrual disorders as proposed by the International Society for Premenstrual Disorders [J]. *Menopause Int*, 2012, 18(2): 43–47.
- [14] Reid RL, Soares CN. Premenstrual dysphoric disorder; contemporary diagnosis and management [J]. *J Obstet Gynaecol Can*, 2018, 40(2): 215–223.
- [15] Hardy C, Hunter MS. Premenstrual symptoms and work; exploring female staff experiences and recommendations for workplaces [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2021, 18(7): 3647.
- [16] Abu Alwafa R, Badrasawi M, Haj Hamad R. Prevalence of premenstrual syndrome and its association with psychosocial and lifestyle variables; a cross-sectional study from Palestine [J]. *BMC Womens Health*, 2021, 21(1): 233.
- [17] Roomruangwong C, Carvalho AF, Comhaire F, et al. Lowered plasma steady-state levels of progesterone combined with declining progesterone levels during the luteal phase predict perimenstrual syndrome and its major subdomains [J]. *Front Psychol*, 2019, 10: 2446.
- [18] Ziomkiewicz A, Pawlowski B, Ellison PT, et al. Higher luteal progesterone is associated with low levels of premenstrual aggressive behavior and fatigue [J]. *Biol Psychol*, 2012, 91(3): 376–382.
- [19] Girdler SS, Straneva PA, Light KC, et al. Allopregnanolone levels and reactivity to mental stress in premenstrual dysphoric disorder [J]. *Biol Psychiatry*, 2001, 49(9): 788–797.
- [20] Segebladh B, Bannbers E, Moby L, et al. Allopregnanolone serum concentrations and diurnal cortisol secretion in women with premenstrual dysphoric disorder [J]. *Arch Womens Ment Health*, 2013, 16(2): 131–137.
- [21] Beddig T, Reinhard I, Kuehner C. Stress, mood, and cortisol during daily life in women with Premenstrual Dysphoric Disorder ( PMDD ) [ J ]. *Psychoneuroendocrinology*, 2019, 109: 104372.
- [22] Roca CA, Schmidt PJ, Altemus M, et al. Differential menstrual cycle regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis in women with premenstrual syndrome and controls [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(7): 3057–3063.
- [23] Bertone-Johnson ER, Whitcomb BW, Missmer SA, et al. Early life emotional, physical, and sexual abuse and the development of premenstrual syndrome; a longitudinal study [J]. *J Womens Health*, 2014, 23(9): 729–739.
- [24] Pilver CE, Levy BR, Libby DJ, et al. Posttraumatic stress disorder and trauma characteristics are correlates of premenstrual dysphoric disorder [J]. *Arch Womens Ment Health*, 2011, 14(5): 383–393.
- [25] Fogaça MV, Duman RS. Cortical GABAergic dysfunction in stress and depression; new insights for therapeutic interventions [J]. *Front Cell Neurosci*, 2019, 13: 87.
- [26] Lovick TA. Plasticity of GABA<sub>A</sub> receptor subunit expression during the oestrous cycle of the rat; implications for premenstrual syndrome in women [J]. *Exp Physiol*, 2006, 91(4): 655–660.
- [27] Nusser Z, Mody I. Selective modulation of tonic and phasic inhibitions in dentate gyrus granule cells [J]. *J Neurophysiol*, 2002, 87(5): 2624–2628.
- [28] Sze Y, Gill AC, Brunton PJ. Sex-dependent changes in neuroactive steroid concentrations in the rat brain following acute swim stress [J]. *J Neuroendocrinol*, 2018, 30(11): e12644.
- [29] Caruso D, Pesaresi M, Abbiati F, et al. Comparison of plasma and cerebrospinal fluid levels of neuroactive steroids with their brain, spinal cord and peripheral nerve levels in male and female rats [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2013, 38(10): 2278–2290.
- [30] Girdler SS, Lindgren M, Porcu P, et al. A history of depression in women is associated with an altered GABAergic neuroactive steroid profile [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2012, 37(4): 543–553.
- [31] Comasco E, Hahn A, Ganger S, et al. Emotional fronto-cingulate cortex activation and brain derived neurotrophic factor polymorphism in premenstrual dysphoric disorder [J]. *Hum Brain Mapp*, 2014, 35(9): 4450–4458.
- [32] Gingnell M, Comasco E, Oreland L, et al. Neuroticism-related personality traits are related to symptom severity in patients with premenstrual dysphoric disorder and to the serotonin transporter gene-linked polymorphism 5-HTTLPR [J]. *Arch Womens Ment Health*, 2010, 13(5): 417–423.
- [33] Belzung C, Lemoine M. Criteria of validity for animal models of psychiatric disorders: focus on anxiety disorders and depression [J]. *Biol Mood Anxiety Disord*, 2011, 1(1): 9.
- [34] Erika EC, López-Rubalcava C. Can animal models resemble a premenstrual dysphoric condition? [J]. *Front Neuroendocrinol*, 2022, 66: 101007.
- [35] Kumar V, Bhat ZA, Kumar D. Animal models of anxiety: a comprehensive review [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2013, 68(2): 175–183.
- [36] Bull JR, Rowland SP, Scherwitzl EB, et al. Real-world menstrual cycle characteristics of more than 600, 000 menstrual cycles [J]. *NPJ Digit Med*, 2019, 2: 83.
- [37] 苏云祥. 经前期综合征(重度, PMDD)肝气逆证大鼠模型标准化及其评价方法的建立 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2012.
- [38] 侯金良. 择时慢性束缚应激诱导 PMDD 肝气郁证大鼠模型效度估计及舒郁胶囊干预机制初探 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2013.
- [39] Schneider T, Popik P. An animal model of premenstrual dysphoric disorder sensitive to antidepressants [J]. *Curr Protoc*



- Neurosci, 2009, 9: Unit 9. 31.
- [40] Tao CS, Dhamija P, Booij L, et al. Adversity in early adolescence promotes an enduring anxious phenotype and increases serotonergic innervation of the infralimbic medial prefrontal cortex [J]. Neuroscience, 2017, 364: 15-27.
- [41] 朱德豪. 强迫游泳应激诱导经前烦躁障碍 (PMDD) 肝气郁证大鼠模型的制备以及模型大鼠神经递质及其受体的变化 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2016.
- [42] 李倩. 肝疏泄失常深层机制—从 ALLO 和 GABA<sub>A</sub>R4 $\alpha$  亚基基因及蛋白表达变化探讨 PMDD 肝气郁证发病机制 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2017.
- [43] 牟翔宇. 肝疏泄不及病理与疏肝药理—PMDD 肝气郁证大鼠主要病理变化与柴芍皂苷主要药效机理研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2019.
- [44] 李艺杰, 王美艳, 薛玲, 等. 舒郁胶囊对 PMDD 肝气郁证模型大鼠 Cav1.2 介导的 CaM/CaMK II 信号通路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(10): 130-136.
- [45] Wei S, Geng X, Li Z, et al. A forced swim-based rat model of premenstrual depression; effects of hormonal changes and drug intervention [J]. Aging, 2020, 12(23): 24357-24370.
- [46] Vidal JD. The impact of age on the female reproductive system [J]. Toxicol Pathol, 2017, 45(1): 206-215.
- [47] Ho HP, Olsson M, Westberg L, et al. The serotonin reuptake inhibitor fluoxetine reduces sex steroid-related aggression in female rats; an animal model of premenstrual irritability? [J]. Neuropsychopharmacology, 2001, 24(5): 502-510.
- [48] 王帅, 郜彦鑫, 张洪, 等. 白香丹胶囊对 PMDD 肝气逆证模型大鼠血清抗焦虑样作用机制研究 [J]. 医学研究杂志, 2019, 48(9): 66-70.
- [49] Ko CH, Long CY, Yen CF, et al. Gonadotrophic hormone and reinforcement sensitivity systems in women with premenstrual dysphoric disorder [J]. Psychiatry Clin Neurosci, 2014, 68(11): 785-794.
- [50] Wang M. Relationship between symptom severity and steroid variation in women with premenstrual syndrome; study on serum pregnenolone, pregnenolone sulfate, 5 $\alpha$ -pregnane-3, 20-dione and 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-20-one [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1996, 81(3): 1076-1082.
- [51] Gallo MA, Smith SS. Progesterone withdrawal decreases latency to and increases duration of electrified prod burial; a possible rat model of PMS anxiety [J]. Pharmacol Biochem Behav, 1993, 46(4): 897-904.
- [52] Islas-Preciado D, Ugalde-Fuentes G, Sollozo-Dupont I, et al. Anxiety-like behavior and GABAAR/BDZ binding site response to progesterone withdrawal in a stress-vulnerable strain, the wistar Kyoto rats [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(13): 7259.
- [53] Islas-Preciado D, López-Rubalcava C, González-Olvera J, et al. Environmental enrichment prevents anxiety-like behavior induced by progesterone withdrawal in two strains of rats [J]. Neuroscience, 2016, 336: 123-132.
- [54] Zhang H, Geng X, Li Z, et al. Paeonol at certain doses alleviates aggressive and anxiety-like behaviours in two premenstrual dysphoric disorder rat models [J]. Front Psychiatry, 2020, 11: 295.
- [55] Estrada-Camarena E, Sollozo-Dupont I, Islas-Preciado D, et al. Anxiolytic- and anxiogenic-like effects of *Montanoa tomentosa* (Asteraceae): dependence on the endocrine condition [J]. J Ethnopharmacol, 2019, 241: 112006.
- [56] Gobinath AR, Richardson RJ, Chow C, et al. Voluntary running influences the efficacy of fluoxetine in a model of postpartum depression [J]. Neuropharmacology, 2018, 128: 106-118.
- [57] Li Y, Pehrson AL, Budac DP, et al. A rodent model of premenstrual dysphoria: Progesterone withdrawal induces depression-like behavior that is differentially sensitive to classes of antidepressants [J]. Behav Brain Res, 2012, 234(2): 238-247.
- [58] Smith SS, Ruderman Y, Frye C, et al. Steroid withdrawal in the mouse results in anxiogenic effects of 3 $\alpha$ , 5 $\beta$ -THP: a possible model of premenstrual dysphoric disorder [J]. Psychopharmacology, 2006, 186(3): 323-333.
- [59] Wei S, Ji XW, Wu CL, et al. Resident intruder paradigm-induced aggression relieves depressive-like behaviors in male rats subjected to chronic mild stress [J]. Med Sci Monit, 2014, 20: 945-952.

[收稿日期]2023-02-10