

不同品系小鼠在三种常见抑郁检测方法中的行为学表现

李腾飞^{1,2} 孙秀萍^{2,3} 石哲² 高江晖² 刘新民² 刘华钢¹

(1. 广西医科大学, 广西南宁 530021; 2. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193;
3. 山东中医药大学, 山东济南 250355)

【摘要】 目的 探讨4种不同品系小鼠在3种实验(空场实验、悬尾实验及强迫游泳实验)中的行为学差异,为抗抑郁新药研究中的实验动物选择提供参考。方法 利用空场实验检测C57BL/6、BALB/c、ICR和昆明小鼠的自主活动能力和对新奇环境的探索能力;利用悬尾实验和强迫游泳实验检测它们在应激刺激下的行为绝望状态。结果 在空场实验中,BALB/c、ICR和昆明小鼠的运动总路程、运动速度和运动时间明显高于C57BL/6小鼠($P < 0.05$),ICR和昆明小鼠的直立次数也明显高于C57BL/6小鼠($P < 0.05$);悬尾实验C57BL/6小鼠的不动时间显著长于其他3种品系小鼠($P < 0.05$),但是4种品系小鼠在强迫游泳实验中的不动时间差异无显著性。结论 C57BL/6小鼠自发活动量低,对新奇环境的探索能力差,并且在急性应激刺激下容易造成行为绝望,因此C57BL/6小鼠可能适合作为急性应激抑郁模型动物。

【关键词】 ICR; BAL/BC; C57BL/6; 昆明小鼠; 空场实验; 悬尾实验; 强迫游泳实验; 抑郁

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2011)08-0020-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2011.08.005

Different Behavioral Activities of Different Mouse Strains Detected by Three Common Tests for Depression

LI Teng-fei^{1,2}, SUN Xiu-ping^{2,3}, SHI Zhe², GAO Jiang-hui², LIU Xin-min², LIU Hua-gang¹

(1. Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;
2. Chinese Academy Of Medical Sciences, Peking Union Medical College Institute of Medicinal Plant Development, Beijing 100193; 3. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355)

【Abstract】 Objective To investigate different behavioral activities among four species of mice in three trials (open field test, tail suspension test and forced swimming test), and provide a reference in the research on new antidepressant. **Methods** Different locomotion activity and exploration in a novel environment of C57BL/6, BALB/c, ICR, and KM mice were investigated by open field with an automated video detecting system, and tail suspension test and forced swimming test were performed to determine their state of "behavioral despair". **Results** In the open field test, the total duration of movement, speed and movement distance of BALB/c, ICR and KM mice were significantly higher than that of C57BL/6 mice ($P < 0.05$), and their number of rearing also was significantly more than that of C57BL/6 mice ($P < 0.05$); the immobility time of C57BL/6 mice was significantly longer than that of the other three species of mice measured by tail suspension test ($P < 0.05$), but the fixed time of the four species of mice in the forced swimming test were not

[基金项目] 国家科技重大专项(2009ZX09103-334; "重大新药创制"科技重大专项(2009ZX09502-014)。

[作者简介] 李腾飞(1987-),男,硕士,研究方向:中药神经药理。Email: xiaolongzhanshen@163.com。

[通讯作者] 刘新民,博士生导师,Email: liuxinmin@hotmail.com; 刘华钢,博士生导师,Email: hgliu@263.net

significantly different. **Conclusions** The results of this study demonstrate that among the four mice strains tested, C57BL/6 strain displays less spontaneous activity and less exploration in a novel environment. They are likely to cause behavioral despair under acute stress stimulation. Therefore, the C57BL/6 mice may be probably the strain of choice as an acute stress animal model for studies of depression.

【Key words】 ICR mouse; BALB/c mouse; C57BL/6 mouse; Kunming (KM) mouse; Open field test; Tail suspension test; Forced swimming test; Depression

本实验选用常用的 4 种品系小鼠 (C57BL/6、BALB/c、ICR 和昆明) 进行了三种行为学检测, 以期急性应激抑郁模型的品系选择提供参考依据。

1 材料

1.1 实验仪器

空场计算机图像实时检测分析系统、悬尾计算机实时检测分析系统均由中国航天员训练中心和中国医学科学院药用植物研究所联合研制开发。

1.2 实验动物

C57BL/6、BALB/c、ICR 和昆明小鼠各 12 只, SPF 级, 由军事医学科学院实验动物中心提供【SCXK(军)2007-004】。4 种小鼠均为雄性, 健康, 体重 20~24 g, 在塑料笼中分笼饲养。饲养房间(24~26)℃, 采用 12 h 明, 12 h 暗循环照明, 室内环境安静, 小鼠自由获得水和食物。动物适应性饲养 7 d 后进行以下实验(本实验遵循实验动物伦理原则)。

2 实验方法

2.1 空场实验

用空场实验(open field test)^[1]观察小鼠进入新环境的自发活动特点, 本实验利用空场计算机图像实时检测分析系统进行测试。该空场测试箱为 4 个相同大小的具有一定斜度的桶组成, 桶底面直径 30 cm, 上口直径 34 cm, 高 40 cm。将 4 个圆桶置于封闭的空场实验测试箱(80 × 80 × 150) cm 中, 测试箱内部顶端安置两组照明灯, 内部的光照强度为 120 Lux, 并且在测试箱顶部有内置摄像头, 监测动物的活动状态并将动物的行为信息采集输送至计算机系统^[2]。实验步骤如下: 将小鼠放入空场活动测试箱的 4 个圆桶(桶内中央半径为 7.5 cm 的区域划分为中央区)中, 选择空场实验计算机图像实时检测分析系统中的抗抑郁模式, 完成实验参数设置, 将实验时间设置为 30 min, 进行亮度、几何和照度标定后, 选择文件存贮路径以保存实验参数和实验结果, 键入开始命令后开始进行实验。计算机自动记录运动总路程、运动时间、平均速度、中央区的

路程比率和时间比率等 6 个指标。同时人工记录小鼠刚放进测试箱中 5 min 内的直立次数(动物双前肢同时离地, 或者双前肢放在桶壁上算作直立一次)。

2.2 小鼠悬尾实验

悬尾实验基于 Steru 等^[3]建立的方法。将实验动物尾部固定, 使其头部向下悬挂, 动物在该环境中拼命挣扎, 企图摆脱困境, 在经过努力仍不能摆脱后, 出现间断性不动, 显示“行为绝望”状态。该实验采用悬尾计算机实时检测分析处理系统进行测试。悬尾箱(72 × 36 × 16) cm 采取四周封闭, 顶面开放的形式, 被分割成 8 个单元(18 × 18 × 16) cm, 可以同时检测 8 只动物。悬尾杆上固定着张力传感器, 其高度可通过与其相连的主杆旋钮进行调节, 满足实验操作需求。实验步骤如下: 打开悬尾采集分析软件, 完成实验参数设置, 将实验时间设置于 6 min, 选择文件存贮路径以保存实验参数; 用胶布分别将 8 只小鼠尾端(约 1 cm 处)和特制小钩对折粘在一起(小鼠呈倒悬体位且头部距离箱底约 5 cm), 同时挂在悬尾箱上各自的张力传感器上, 立即键入开始命令后进行实验, 计算机自动记录 6 min 内小鼠的累计不动时间。

2.3 小鼠强迫游泳实验

此实验在 Porsolt 等人^[4]建立的方法上做了一些改进。将动物单独地放在柱状塑料桶中(水深 15 cm, 直径 20 cm), 水温(25 ± 1)℃。强迫游泳 6 min, 用秒表记录后 4 min 内小鼠的累积不动时间。(不动即“小鼠停止挣扎或呈漂浮状态, 四肢有轻微动作以保持头部在水面”)。

2.4 统计学方法

采用 SPSS13.0 统计软件进行统计学分析。实验数据以均值 ± 标准差的形式表示, 各组间数据用 *t* 检验和单因素方差分析判断其统计学意义。

3 实验结果

3.1 空场实验

实验结果显示: 与 C57BL/6 小鼠相比较,

表 1 四种不同品系小鼠自主活动的结果
Tab. 1 Results of open field test in the four species of mice

指标 (Index)	C57BL/6	BALB/c	ICR	KM
运动总路程 (cm) Total distance of movement	2964.54 ± 894.37 [#]	4265.41 ± 1261.73 [*]	5610.74 ± 1567.73 ^{***}	5522.92 ± 1508.50 ^{***}
运动总时间 (s) Total duration of movement	228.92 ± 18.59 ^{##}	317.10 ± 15.40 [*]	394.54 ± 29.06 ^{***}	386.42 ± 23.33 ^{***}
平均速度 (cm/s) Mean velocity	1.65 ± 0.50 [#]	2.37 ± 0.70 [*]	3.12 ± 0.87 ^{***}	3.07 ± 0.84 ^{***}
中央区运动路程 (cm) Movement distance in central area	582.17 ± 212.76 ^{##}	1220.98 ± 366.94 ^{**}	1423.48 ± 530.53 ^{**}	1678.05 ± 561.77 ^{***}
中央区路程比率 (%) Distance ratio in central area	19.64 ± 3.53 ^{##}	28.69 ± 4.13 ^{**}	25.67 ± 7.08 [*]	30.62 ± 6.87 ^{**}
中央区时间比率 (%) Time ratio in central area	7.64 ± 5.46 [#]	12.77 ± 5.45 [*]	14.42 ± 8.59 [*]	17.92 ± 8.63 ^{**}

注: 与 C57BL/6 比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 BALB/c 比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。
Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with C57BL/6 mice; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ compared with BALB/c mice.

BALB/c、ICR 和昆明小鼠的运动总路程、运动总时间、平均速度、直立次数、中央区的路程比率和时间比率这 5 个指标均表现出显著性差异 ($P < 0.05$)。BALB/c、ICR 和昆明小鼠的运动总路程、运动总时间、平均速度和直立次数显著性高于 C57BL/6 小鼠。C57BL/6 小鼠在中央区的运动路程、路程比率和时间比率也低于其他 3 种品系, 并且与其他 3 种品系小鼠相比表现出差异显著性 ($P < 0.05$)。ICR 和昆明小鼠在运动总路程、运动总时间、平均速度和直立次数这 4 个指标上也明显高于 BALB/c 小鼠 ($P < 0.05$), 但是 ICR 和昆明小鼠的运动总路程、运动总时间、平均速度和直立次数这四个指标却无统计学差异 (表 1 和图 1)。

3.2 悬尾实验

C57BL/6 小鼠的悬尾不动时间明显高于

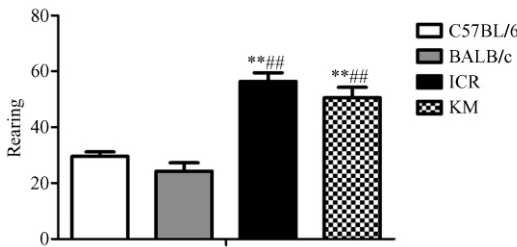


图 1 四种不同品系小鼠的直立次数

注: 与 C57BL/6 比较, $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;
与 BALB/c 比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

Fig. 1 Number of rearing in the four species of mice

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with C57BL/6 mice;
$P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with BALB/c mice.

BALB/c、ICR 和昆明小鼠 ($P < 0.05$), 在与其他 3 种品系小鼠相比悬尾不动时间表现出统计学差异。BALB/c、ICR 和昆明小鼠之间的悬尾不动时间差异无显著性 (图 2)。

3.3 强迫游泳实验

与小鼠悬尾实验结果不同的是 4 种品系小鼠在强迫游泳实验中的不动时间在统计学上无差异。但是 C57BL/6 小鼠不动时间的标准差比其他 3 种品系小鼠小, 同时它的强迫游泳不动时间也略高于其他 3 种品系小鼠 (图 3)。

4 讨论

实验小鼠在人类漫长的培育过程中已分化为多个品系如 Swiss、ICR、DBA/2、BALB/c、C57BL/6^[5]。其中 C57BL/6 和 BALB/c 小鼠是科学研究

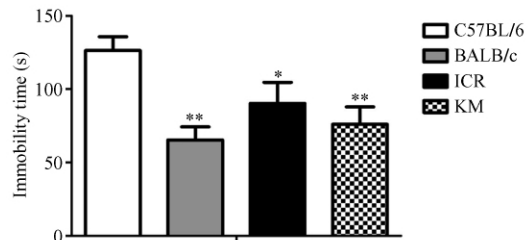


图 2 四种不同品系小鼠的悬尾实验结果

注: 与 C57BL/6 比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 BALB/c 比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

Fig. 2 Results of tail suspension test in the four species of mice

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with C57BL/6 mice;
$P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with BALB/c mice.

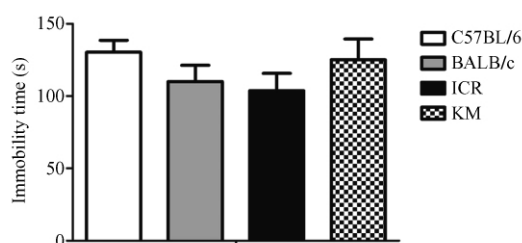


图3 四种不同品系小鼠的强迫游泳实验结果

Fig. 3 Results of forced swimming tests in the four species of mice

中常用而遗传背景差异较大的两个近交系^[6]; ICR 小鼠是国际著名的远交群品系,其群体内个体差异和在某些位点上的多态性非常符合远交群实验动物的特点;而昆明小鼠一直是我国特有的并且使用量最大的远交群小鼠^[7]。本实验选用三种国际上常用的抑郁检测方法对这四种品系小鼠进行行为学比较研究,以探讨各自的行为特征。

空场实验是在固定的区域内对动物的自发活动指标进行观察记录,相对于操作性条件反射和急性应激刺激,空场实验对动物的影响最小,通常用于判断动物的兴奋或抑郁状态,在镇静、抑郁和焦虑等神经精神药理研究领域内广泛运用^[1]。本实验采用计算机图像实时分析检测技术,动态分析动物在空场中的活动轨迹,可以提取客观定量数据,摆脱了主观的人工观察方法,使实验结果更加准确可靠^[2]。实验结果表明,C57BL/6 小鼠在空场实验中水平运动(运动路程、运动速度、运动时间)显著低于其他3种品系的小鼠,水平运动少反映了动物的自发活动量低。由于啮齿类动物有喜好靠边活动的特性,中央区域属于不偏爱的区域,中央区域活动频率可以评价小鼠的探究行为^[8]。在本实验中 C57BL/6 小鼠在中央区的路程比率和时间比率均低于其他三种品系小鼠;另外,Edsbagge 等^[9]曾经将直立行为也作为评价小鼠探索行为的指标,C57BL/6 小鼠的直立次数显著低于 ICR 和昆明小鼠($P < 0.01$),但是略高于 BALB/c 小鼠。鉴于此,为了避免单一指标的局限,本实验将中央区域活动频率和直立行为进行综合分析,从而说明 C57BL/6 小鼠对新奇环境的探索能力差。

小鼠悬尾和强迫游泳实验是通过对动物施以无法逃避的应激刺激造成动物的行为绝望 (behavioral despair) 而模拟人类的抑郁症状^[10],

在行为药理实验中常用于抗抑郁药物的快速筛选。在这两种实验中,小鼠最初表现为挣扎、试图逃脱,一段时间过后小鼠放弃挣扎呈显不动状态,这反应了小鼠“无助”的症状。实验结果显示,在这4种品系中 C57BL/6 小鼠的悬尾不动时间最长,与 BALB/c、ICR 和昆明小鼠相比差异表现出显著性 ($P < 0.05$),但是在强迫游泳实验中四种品系小鼠的不动时间差异无显著性,对上述结果综合分析表明了 C57BL/6 小鼠在无法逃避的应激刺激下易于造成行为绝望,其病理和生理机制有待于进一步深入研究。

综上所述,在本实验中近交系 C57BL/6 小鼠的自发活动量低,对新奇环境的探索能力差,在急性应激刺激下容易造成行为绝望,因此 C57BL/6 小鼠可能更适合用于急性应激抑郁模型。

参考文献:

- [1] Walsh RN, Cummins RA. The open field test: a critical review [J]. Psychol Bull, 1976, 83: 482 - 504.
- [2] 王琼,刘新民,买文丽,等. 自主活动实时测试分析处理系统的建立与开心散安神镇静作用验证 [J]. 中草药, 2009, 40(11): 1773 - 1779.
- [3] Steru L, Chermat R, Thierry B, et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice [J]. Psychopharmacology (Berlin), 1985, 85: 367.
- [4] Porsolt RD, Anton G, Blavet N, et al. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments [J]. Eur J Pharmacol, 1978, 47: 379.
- [5] Joan S. Standardized Nomenclature for Inbred Strains of Mice: Eight Listing. Cancer Res, 1985, 45: 945 - 977.
- [6] Nomura T, Esaki K, Tomita T. CLASM annual for Genetic Monitoring of Inbred Mice [M]. University of Tokyo Press, 1984: 26 - 35.
- [7] 章根木,姚甘火. 中国昆明小鼠(KM鼠)遗传背景资料调查 [J]. 中国实验动物学杂志, 1997, 4: 246 - 251.
- [8] Paulus M, Dulawa S, Ralph R, et al. Behavioral organization is independent of locomotor activity in 129 and C57 mouse strains [J]. Brain Res, 1999, 835 (1): 27 - 36.
- [9] Edsbagge J, Zhu S, Xiao MY, et al. Expression of dominant negative cadherin in the adult mouse brain modifies rearing behavior [J]. Mol Cell Neurosci, 2004, 25(3): 524 - 535.
- [10] Borsini F, Voltera G, Meli A. Does the behavioral “despair” test measure “despair”? [J]. Physiol Behav, 2003, 38 (3): 385.

(修回日期)2011-02-20