

岳小琪,李玉婷,姜森,等.慢性应激实验动物模型的应用与展望[J].中国比较医学杂志,2024,34(4):147-155.

Yue XQ, Li YT, Jiang M, et al. Application and research prospects of experimental animal models of chronic stress [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(4): 147-155.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.04.018

慢性应激实验动物模型的应用与展望

岳小琪^{1,2},李玉婷^{1,2},姜森^{2,3},赵自刚^{1,2},牛春雨^{1,2*}

(1.河北北方学院微循环研究所 & 基础医学院,河北 张家口 075000;2.河北省急危重症发病机制及干预重点实验室,河北 张家口 075000;3.河北医科大学基础医学院,石家庄 050017)

【摘要】慢性应激对人类心身疾病的作用与机制是应激研究领域的热点。建立动物模型模拟人类慢性应激状态,在应激反应原理、相关疾病发生机制、临床治疗和药物研发方面有重要意义。本文综述了国内外常用的慢性应激动物模型,总结了应激原分类、动物选择、模型建造、病理表现和评价指标,讨论了各种模型的优缺点及应用进展,期望为研究慢性应激反应的模型选择提供参考。

【关键词】慢性应激;动物模型;评价指标

【中图分类号】R-33 【文献标识码】A 【文章编号】1671-7856(2024)04-0147-09

Application and research prospects of experimental animal models of chronic stress

YUE Xiaoqi^{1,2}, LI Yuting^{1,2}, JIANG Miao^{2,3}, ZHAO Zigang^{1,2}, NIU Chunyu^{1,2*}

(1. Institute of Microcirculation & Basic Medical College, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China.

2. Hebei Key Laboratory of Acute and Severe Disease Pathogenesis and Intervention, Zhangjiakou, 075000.

3. Basic Medical College, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017)

【Abstract】The effect and mechanism of chronic stress on psychosomatic diseases are important topics in stress research. The establishment of animal models to simulate human chronic stress is of great significance to investigations of stress responses, the pathogenesis of related diseases, clinical treatment, and drug development. In this paper, animal models of chronic stress commonly used in China and abroad are reviewed; the classification of stressors, animal selection, model construction, pathological manifestations, and evaluation indexes are summarized; and the advantages and disadvantages and application of various models are discussed. The paper provides a reference for the study and selection of models of chronic stress response.

【Keywords】chronic stress; animal model; evaluation indices

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

应激是指在各种因素刺激下,机体为维持内环境稳态,发生的一系列适应性反应。根据应激反应的快慢,应激分为急性应激和慢性应激。急性应激

通常是诸多急性因素作用于机体引起的一次性应激事件,持续时间短,一般为数分钟至数小时。急性应激动物模型是指短时间内对动物施加应激,如

【基金项目】国家自然科学基金面上项目(82270524);河北省硕士在读研究生创新能力培养资助项目(CXZZSS2024128)。

【作者简介】岳小琪(2001—),女,硕士研究生,研究方向:微循环与休克研究。E-mail:1466284302@qq.com

【通信作者】牛春雨(1967—),男,博士,教授,博士生导师,研究方向:微循环与休克研究。E-mail:ncylxf@126.com

足底电击、噪声、冷水游泳和尾部悬挂等,主要用于研究机体对单次应激的即时反应和短期适应机制。相比之下,慢性应激是在一定强度范围内,接受较长时间的持续刺激,引起机体反应持续时间较长的应激形式^[1]。这些长期、慢性不良因素引发的慢性应激反应严重危害人类心理、身体健康。慢性应激虽然不是疾病的直接致病因素,但反复的慢性应激会通过神经内分泌反应,激发交感神经系统(sympathetic nervous system, SNS)和下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴^[2],促进肾上腺素、去甲肾上腺素和糖皮质激素等多种应激激素释放^[3],成为各种疾病的风险因素或促进因素。伴随着人们生活工作节奏的加快,长期慢性应激引起的身心疾病严重影响着人们的健康水平,防范慢性应激的不良作用成为促进健康中国建设的一个切入点。为了研究慢性应激对机体的不良作用和机制,探索慢性应激的防治策略,学者们将不同方式、强度、作用时间的刺激作用于实验动物,模拟人们日常生活中遇到的各种压力,使实验动物产生与人类相似的慢性应激状态,从而为研究慢性应激反应、相关疾病发病机制、药物研发和临床治疗提供重要的理论基础。本文综述目前国内外常用慢性应激动物模型的研究进展,期望为研究慢性应激反应的模型选择提供参考。

1 慢性应激动物模型的构建

1.1 应激原的选择

应激原的选择是造模成功的关键因素之一,文献记录的引起慢性应激反应的应激原有二十多种。目前常用的应激原有食物和水剥夺、昼夜颠倒、强迫游泳和束缚等。由于应激原分类角度的不同,许多应激原很难归因于一个类别,各种应激原具有多模态性。从生理性和心理性的角度来看,大多数应激原造成生理性应激的同时还伴随着心理性应激^[4],孤养、昼夜节律改变、噪声等应激原一般仅作为心理性应激原。从持续时间区分,应激原有长时性和短时性,长时性应激原有禁食禁水、拥挤、昼夜颠倒等,短时性应激原有夹尾、束缚、冷热刺激等。

在设计慢性应激动物模型时,要遵循简单、经济的原则,更要根据实验目的、实验条件以及实验操作的可行性等综合因素选择合适的应激原搭配组合以及刺激强度。在应激原数量的选择上,少部分文献选用单一应激原,大部分文献同时使用两种

及以上应激原交替刺激实验动物,以使模型更符合实际^[5]。即使选择同一种造模方式,不同实验室采用的周期也应根据所选择的应激种类结合具体实验环境后调整。从刺激强度上,应激刺激强度较小或造模时间较短时,会达不到要求的应激效果,而过于强烈的强度可能对实验动物造成严重的身体损伤甚至死亡,成为急性应激;如果发生上述两种情况,都会造成实验结果偏差。综上,应施加两种及以上中等强度且适宜持续时间的应激原交替刺激制作慢性应激动物模型。

1.2 实验动物的选择

选择合适的实验动物进行研究,能够使得到的结果更加精准。用于构建慢性应激模型的实验动物,包括鱼类、犬、绵羊、猪等哺乳类和恒河猴、猕猴、食蟹猴等非人灵长类动物。综合考虑伦理学、繁殖速度、成本等因素,目前慢性应激动物模型最常用的动物种类为啮齿类动物。在品种选择方面,大鼠多选用封闭群 SD、Wistar,小鼠则为 BALB/c、C57BL/6 和 ICR,小鼠比大鼠更常用。在性别选择角度,实验动物的性别会影响其对应激原刺激的反应和耐受程度,临床数据也显示不同性别人群因应激导致精神类疾病的患病率不同^[6],且男性和女性相关疾病引发的生理反应存在差异,因此目前更多研究人员在制备慢性应激动物模型时选用雄性动物。

1.3 模型周期的选择

慢性应激动物模型有间隔、连续进行两种造模方式:不同慢性应激模型造模周期差别较大,即使是同一慢性应激模型,不同实验室会根据实验目的、动物的种类及所研究的特定应激类型对造模周期调整,时长较短的有 7 d、14 d,长的可达 28 d、48 d 甚至数月^[7]。慢性社交挫败应激(chronic social defeat stress, CSDS)模型造模时间多为 10~14 d;慢性束缚应激(chronic restraint stress, CRS)模型造模时,需每日束缚动物 1~6 h,持续时间一般在 14~28 d^[8],少数至 30 d^[9]。慢性不可预知温和应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)模型持续时间为 2~8 周,最长可达 3 个月;慢性社会孤立应激(chronic social isolation stress, SIS)模型中,新生动物母亲分离或成年后进行社会隔离时间一般在数周至数月之间。综合考虑实验目的、实验周期和实验成本,更多的文献将实验周期集中在 28~42 d。

1.4 慢性应激动物模型评价

各种模型造模方式不同,但都可以用一定的判

定标准来确定是否造模成功。目前公认的方法是症状和行为学实验。慢性应激后,动物出现的病理状态有食欲下降、体重改变、自我梳理行为减少等。行为学实验常使用糖水偏好实验、旷场实验、社交回避实验、高架十字迷宫实验和新物体识别实验^[10]。各种行为学方法及优缺点见表 1。

一般来说,有效的慢性应激动物模型应满足以下 3 点:一是构造或病因有效,指施加慢性应激能够模拟所研究疾病的病因,并产生相一致的病理生理过程;二是面部有效,动物在经历慢性应激后,疾病症状与人类经历慢性应激后相同;三是预测有效,慢性应激动物模型可以用来检测药物或临床相关

表 1 行为学评估方法及优缺点比较
Table 1 Comparison of behavioral evaluation methods and their advantages and disadvantages

行为学评估 Behavioral evaluation	评价 Evaluation	测试结果 Test results	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
蔗糖偏好测试 Sucrose preference test (SPT)	快感缺乏 Lack of pleasure	糖水消耗率下降 Decrease in sugar water consumption rate	经济,操作简便,应用最广泛;用于简单的药物筛选实验 Economical, easy to operate, most widely used; Objective results; Used for simple drug screening experiments	耗费时间长;各个实验室测量标准不同;测量时受位置和其他多种干扰因素影响 Time-consuming; Measurement standards vary from laboratory to laboratory; Measurements are affected by location and a variety of other interfering factors
强迫游泳实验 Forced swimming test (FST)	绝望 Hopelessness	游泳不动时间延长 Prolonged time when swimming without moving	直接且快速;有效评估抗抑郁药物效果 Direct and fast rapid; Effective assessment of antidepressant drug effects	结果易受到水温、筒大小、水位高度因素影响;动物运动能力影响结果;易受主观因素影响 Results are susceptible to water temperature, cylinder size, and water height factors; Ability of animals to exercise will affect the results; Susceptible to subjective factors
悬尾实验 Tail suspension test (TST)	无助、绝望 Helplessness, despair	不动时间延长 Prolonged immobility	直接且快速;抗抑郁药物活性筛查中非常灵敏 Direct and fast; Very sensitive in screening for antidepressant activity	多在小鼠中使用;动物运动能力影响结果;易受主观因素影响 Mostly used in mice; Ability of animals to exercise will affect the results; Susceptible to subjective factors
旷场实验 Open field test (OFT)	自发活动、探索行为、焦虑状态 Spontaneous activity, exploratory behavior, anxious state	水平移动减少、直立水平降低、停留旷场中央时延长 Reduced horizontal movement, lower upright level, prolonged stay in the center of the open field	快速;用于神经学及精神药理机制的研究;抗抑郁药物筛选实验;具有良好的表面效度 Rapid; For neurological and psychopharmacological mechanisms; Antidepressant drug screening assay; Has good surface validity	需要专业的仪器设备,价格偏高 Requires specialized instrumentation at a high price
高架迷宫测试 Elevated plus-maze (EPM)	焦虑状态 Anxiety state	进入开臂次数减少、停留时间变短 Reduced number of entries into the open arm and shorter dwell times	焦虑评估的简单过程;结果直观;可重复性高 Simple process for anxiety assessment; Results are intuitive; Highly reproducible	只能测焦虑,需结合其他行为学测试全面评估;易受主观因素影响 Only measures anxiety, needs to be fully assessed in conjunction with other behavioral tests; Susceptible to subjective factors
社会互动测试 Social interaction (SI)	焦虑状态 Anxiety state	社交行为减少 Reduced social behavior	焦虑评估的简单过程;社交互动条件可控;动物无需经受训练 Simple process for anxiety assessment; Social interaction conditions can be controlled; Animals do not need to undergo training	局限于小范围实验,情景非自然状态 Limited to small-scale experiments, scenarios unnatural state

的治疗^[11]。

2 常见慢性应激动物模型

2.1 慢性社交挫败应激模型

社会冲突是一种长期的刺激,除了在人类社会不可避免,在动物中也普遍存在。CSDS 模型通过从生理和心理两方面模拟人际关系紧张或社会排斥导致人们在社会环境中产生不适感和挫败感。CSDS 具有持久的行为学和生物学变化,揭示了由于社会性压力引发的应激反应原理,符合人类慢性应激反应的发生过程,适应于相关机制的研究,这一特点得到广泛认可。

造模时,首先将实验雄性动物引入具有攻击性的同种雄性动物的领地,身体接触几分钟后,攻击者和入侵者通常会被一个带孔的塑料隔板隔开但是仍在同一笼内,这样在接下来的 24 h 内,攻击者小鼠可以通过穿孔隔板向入侵者小鼠提供持续的气味、声音、活动等压力感官信息,持续受到心理压力。经历 CSDS 后,实验动物通常表现出快感缺乏、运动和探索活动受到抑制、体重减轻,还出现了显著的社交回避现象。最新研究认为,CSDS 模型时伏隔核在控制压力对抑郁相关行为异常的影响方面起着重要作用^[12]。此外,CSDS 导致神经回路功能和结构变化,与前额叶皮质相比,腹侧海马和伏隔核更易受到影响^[13]。目前,这种持久的影响在单个圈养的动物中可以观察到,而在社会圈养的动物中观察不到^[14]。

雄性啮齿动物由于领地意识,会自发对同性发起攻击,然而雌性之间此类行为并不多见,故 CSDS 模型在动物使用的性别上存在一定的限制,故本实验更多集中在雄性啮齿动物身上,大多数临床和临床前研究也都集中在男性身上。近期有研究开始使用雌性实验动物研究慢性社交挫败应激的性别差异^[15]。改造模型使用过的方法包括将雄性身上的气味转移到雌性身上、雌性动物目击雄性动物之间的攻击和制造雌性之间争夺配偶的冲突。

为提高成功率,实施 CSDS 通常选用对社交挫败这一刺激较为敏感的 C57BL/6 小鼠作为实验动物,使用 CD1 作为入侵小鼠。完成社会挫败后,70% 的动物出现了抑郁样行为,30% 动物没有表现出明显的抑郁样行为,这表明面小部分动物面对挫折出现了适应^[16]。这种适应可能与其早期生活经历、环境条件和年龄等因素有关,可用于研究对应

激反应相关行为的个体间差异。也有研究显示,较高浓度的急性氯胺酮治疗可以逆转 CSDS 小鼠的社交回避现象,延长社会互动时间^[17]。这一结果说明 CSDS 模型可用于药物筛选。

除社交冲突外,社会等级差距也作为一种慢性、有效的社会心理应激原^[18],且可以自发形成。由于灵长类动物具有与人相似的严格社会等级结构,雌性恒河猴、猕猴、食蟹猴等非人灵长类动物常用于研究此类应激,以模拟社会等级较低的人类经历。正常成年雌性恒河猴、卵巢切除和卵巢切除后接受雌激素治疗,发现雌二醇、次级社会地位与动物大脑结构的区域特定变化相关,这也提供了成年女性在压力相关疾病比男性发病率高的证据^[19]。

2.2 慢性束缚应激模型

CRS 属于心理性应激,主要是限制动物自由活动,一种非损伤性刺激,不会对实验动物造成机体的物理损伤。CRS 模型模拟日常生活中受限制或局限的感觉,与人类心身性疾病的发生过程具有很高的相似性,是一种典型的引发非特异性应激反应的模型,广泛用于应激相关精神障碍研究。

CRS 模型常用的束缚器为有孔离心管、锥形管、小动物固定器,目的是通过限制动物自由运动来诱导动物生理反应^[20]。在实施过程中,需要统一造模工具,要最大限度地缩小空间,且要满足每只实验动物转身和活动四肢。造模成功后,动物出现体重减低、旷场活动行为减少、糖偏好降低、高架十字迷宫实验开放臂时间明显减少等^[21]。

CRS 构建方法相对简单、易于操作,不受动物品种限制,但不同品系之间存在着一定差别。大鼠对束缚应激的易感性高于小鼠;从生理和行为反应比较,BALB/c 小鼠比 C57BL/6J 更有利于用作 CRS 诱导模型动物^[22]。应当指出,CRS 模型仅使用了一种应激因子,动物易产生适应性,导致 HPA 反应减弱,下丘脑促肾上腺皮质激素释放激素的表达也不再增加,导致结果出现假阴性或假阳性。

2.3 慢性不可预知温和应激模型

CUMS 也被称为慢性不可预知性应激 (chronic unpredictable stress, CUS) 或慢性温和应激 (chronic mild stress, CMS)。CUMS 模型复制方法成熟可靠,造模时间偏长,应激原种类较多,模拟了更加复杂和真实的应激环境,动物在生理上和心理上难以适应,能够很好地贴合人们在工作、家庭等方面不断变化和突发的生活事件日益增多的情形。CUMS 长

期应激在动物身体中体内积累,与人类抑郁症患者的多种病因叠加的特点相似,如失眠、情绪低落、缺乏积极主动性和昼夜颠倒,在刺激强度方面符合人类日常经历的持续温和的物理刺激的特点,故 CUMS 模型成为目前研究抑郁症最常使用的动物模型,广泛应用于药物临床前的抗抑郁评估。

经典的 CUMS 模型是由 Katz 等^[23]建立的。他们在 21 d 内对实验动物实施一系列电击、固定、冷水游泳等不可预知的应激原刺激,导致动物血浆皮质类固醇水平增加、蔗糖偏好降低(这些指标被认为是快感缺失的标志)。Willner 等^[24]在此基础上改进了应激原和诱导时间,并将快感缺乏作为造模成功的标志。他们使用更温和的应激原,如夜间照明、新物体的存在、食物和水剥夺、笼子倾斜等,并让动物以不可预测的方式持续暴露在更加温和的应激原中。应激动物在实验后会呈现出体重降低、食欲下降、自发活动减少、学习和记忆力降低等行为异常表现,伴随糖水偏好与旷场活动的减低。由于每种应激原都有自己的神经化学和神经内分泌特征,在 CUMS 期间,搭配使用不同形式的应激原叠加产生的效果将取决于多种应激原复杂的相互作用。尽管 CUMS 与 CRS 都是相对慢性长期的过程,但与 CRS 模型相比,CUMS 克服了应激期间发生的 HPA 轴的压力习惯化。

Mineur 等^[25]的实验表明,性别差异和遗传背景对 CUMS 易感性有很强影响。慢性应激后,雄性啮齿动物更容易出现神经元损伤和行为学的改变,故雄性啮齿类动物更常用于 CUMS 抑郁模型。研究显示,CUMS 可导致雄性大鼠内侧前额叶皮层神经元形态发生深刻变化,树突末梢分支数量和长度减少,但使雌性大鼠树突末梢分支增加^[26]。雌性和雄性 SD 大鼠暴露于 CUMS 程序后,从行为学和单胺神经递质水平上明显看出雄性大鼠比雌性大鼠对压力的忍耐性更低^[27]。在长期压力刺激后,雄性动物表现出会学习和记忆受损,物体识别能力降低,但雌性动物学习和记忆力增强,物体识别能力没有明显变化^[28]。相比对照动物,卵巢切除增强了 CUMS 雌性小鼠的焦虑和抑郁样行为,这意味卵巢激素去除会增强 CUMS 的作用^[29]。这些研究均证实了雄性动物对 CUMS 的易感性更强,女性性腺激素在抑郁样行为发生中发挥作用。但是,性别差异对 CUMS 不同易感性的机制目前尚不完全清楚。因此,有必要增加女性在临床试验中的代表性,也有

必要深入研究性别差异在抑郁症和 HPA 功能变化中的病理生理机制,有助于开发具有抗抑郁特性的更有效药物。

从遗传背景来看,近交系动物在 CUMS 后变异程度方面相比远交系动物更低^[30]。从动物品系来看,研究者发现大鼠在 CUMS 神经药理学相关研究表现优点明显,而小鼠更合适于作为基因研究时使用^[31]。从对药物反应来看,抗抑郁药物氟西汀、去丙咪嗪和丙咪嗪都能够逆转该模型诱导的行为效应,体现了该模型极好的预测效度^[32]。值得注意的是,不同品系的小鼠对 CUMS 易感性不同,对抗抑郁药的反应也不同。BALB/c 和 C57BL/6 小鼠对 CUMS 最敏感,对抗抑郁药治疗最敏感。但是,氟西汀对 BALB/c 小鼠具有抗抑郁作用,而对 C57BL/6J 小鼠具有促抑郁作用^[33]。

2.4 慢性社会孤立应激模型

SIS 是一种较长时间连续应用压力源的范式,是现代社会慢性压力的常见来源,除了导致焦虑和抑郁外,还会增加介导恐惧和攻击性的不同大脑区域的神经元速激肽信号^[34],也会增加人类和动物 HPA 轴的激活^[35],并可增加实验动物肾上腺素和去甲肾上腺素的血浆浓度^[36],进而对随后的生活质量产生深远影响。

SIS 模型旨在模拟人类在社会环境中缺乏社会互动和支持的情况。SIS 造模过程分为两种,一种是从断奶后开始将实验动物隔离,另一种是从成年后进行隔离^[37]。SIS 可以隔绝同种动物的社会性互动。单笼小鼠在新奇喂养试验中,进食时间延长,焦虑样行为明显;在悬尾测试中,SIS 导致小鼠累积不动时长显著增加;与群体饲养小鼠相比,单笼小鼠的蔗糖偏好降低,表明社会孤立也引发了快感缺乏^[38]。长期社会孤立能够增加小鼠 2 型糖尿病的风险和大鼠自发性恶性乳腺肿瘤发展的风险^[39]。同样地,慢性社会孤立压力有性别差异,雄性小鼠表现出增强的攻击性,而雌性小鼠会出现抑郁样的社交退缩^[40]。

相比于啮齿类动物,非人灵长类动物在研究 SIS 时更具有优势,首先,灵长类动物大脑发育程度更高;此外,灵长类动物从基因、行为和生理特征的角度都与人相似度更高。将母婴分离施加在恒河猴身上,使用动物攻击性和繁殖活动出现持久性异常,即使恢复正常社会生活也无法弥补,故认为非人灵长类动物更适用于研究人类早期逆境^[41]。在

社会压力与抑郁关系的研究中,也认为抑郁行为在社会从属的猴子中更为常见,且应激与抑郁会相互促进^[42]。这些研究体现了非人灵长类动物的优势。

应当指出,SIS 模型可能不完全反映真实社会环境中的行为和生理反应,通常需要联合其他模型一起使用而非单独使用,同样单独 SIS 模型的实验结果也难以直接推广到自然情境或人类。

2.5 慢性应激动物模型的发展

在人和动物体中,慢性应激在疾病中扮演不同角色,有时作为并行因素,有时作为加剧因素,有时还是直接致病因素。为了更好地研究慢性应激的作用,众多学者在上述慢性应激动物模型基础上进一步做了诸多改进措施,这些模型有的与其他物理因素连用,有的与不同的疾病动物模型结合,还有的则是和药物联用。慢性应激与其他物理因素连用:慢性束缚应激复合夹尾造成实验动物肝郁化火症并建立大鼠失眠模型^[43]。慢性应激动物模型与其他疾病动物模型结合:咪喹莫特联合慢性不可预测应激构建斑秃小鼠模型^[44],慢性不可预测应激从中医理论上模拟肝郁脾虚的状态,能够加重斑秃小鼠毛发脱落,加速疾病发展。又有,心理压力是原发性高血压发生的重要因素,持久的心血管病变与长期暴露于压力事件密不可分^[45]。采用慢性不可预知温和和应激联合孤养自发性高血压大鼠,从生

理、心理两方面贴合高血压并发抑郁症患者的情况,在行为学指标、生化指标、神经病理学等多个水平上,证实了这个模型与临床高血压并发抑郁症之间的相似之处,从而为后续的研究奠定了现实的依据^[46];此外,还有研究人员在抑郁症方面将慢性应激两种不同方式的模型结合,新研究出 CUMS 配合 SIS 抑郁模型^[47]。慢性应激与药物联用:CUMS 联合脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)抑郁模型,通过腹腔注射 LPS 致使抑郁样行为表现更加明显^[48],该模型被用于研究抑郁症中炎症反应作为参与因素在抑郁症发展中作用。CUMS 和 LPS 联合应用,既模拟抑郁症的临床发病特点,又能更具可控性和可复制性的优势。

需要指出,上述复合模型并不构成一种新型独立的慢性应激动物模型,而是在现有慢性应激模型基础上的扩展,使用现有模型合并其他刺激来研究疾病发病机制的研究策略,使得研究模型贴近临床实际,能够更全面地了解疾病的复杂性和多因素性质,避免单一造模方式造成的假阳性结果,从而建立稳定的动物疾病模型。

3 展望

总之,慢性应激动物模型的造模方法多样,各有优劣,其种类及优缺点比较见表2。没有任何一

表 2 各种慢性应激动物模型的优缺点

动物模型 Animal models	模拟症状 Simulated symptoms	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
慢性不可预测温和和应激 CUMS	快感缺乏,奖励敏感性下降 Lack of pleasure, reward sensitivity decreased	应激种类多,持久稳定、具有高度有效性 High variety of stresses, long-lasting and stable, highly effective	耗时长、工作量大;可重复性差 Time-consuming, heavy workload; Poor repeatability
慢性社交挫败型应激 CSDS	社交障碍,焦虑,快感缺乏 Social difficulties, anxiety, lack of pleasure	实验前需要对动物进行特定筛选;表型稳定 Specific screening of animals required prior to experimentation; Stability of results	个体差异大;需要动物数量多;该模型只适用于成年雄性,对动物品系有一定要求 Individual variation is large; A large number of animals are required; Model is only applicable to adult males, and there are certain
慢性束缚应激 CRS	焦虑,抑郁 Anxiety, depression	操作简便快速;无动物品系要求 Simple and fast operation; No animal strain requirements	种类缺乏复杂性;结果具有可逆性;不同品种存在反应差异 Lack of variety complexity; Results are reversible; Different varieties have different responses
慢性社会孤立应激 SIS	焦虑,抑郁,社交行为改变 Anxiety, depression, social behavior changes	标准化程度高;可重复性强;实验结果长期稳定 High standardization; Strong repeatability; Long-term stability of the experimental results	应激种类单一,无法模拟所有因素;需要特殊处理和抚养动物幼崽 Single type of stress, unable to model all factors; Requires special handling and rearing of animal pups

种动物模型能完全符合某一特定疾病的标准,只能在研究某种疾病的特定方面时选择合适的模型。例如 CUMS 是目前使用最广泛的用于模仿抑郁症的有效啮齿类动物模型^[49],该模型对目前研究有关抑郁症发病机制的几种较为公认的假说有意义;CSDS 模型和 CRS 模型常被用于研究创伤后应激障碍,两者从神经生理和症状两方面进行模拟,允许评估行为学变化、神经生物学和表观遗传学的变化,也有助于新的生物标志物和治疗策略的发现^[50]。除了模型种类、动物品系选择的不同,实验动物个体之间差异也普遍存在,一些模型动物中产生了对压力有弹性的动物群体^[51]。因此,科研人员应对于造模是否成功及其稳定性实施检验,模型动物符合实验要求也需进行再次筛选。目前的慢性应激动物模型更多的集中在啮齿动物身上,而非人灵长类模型的文献数量较少,国内外的学者仍需不断加深对慢性应激动物模型领域的探索,相信未来可以创作出制作更加简便、方法更为标准且与人类慢性应激状态更加贴合的应激动物模型,为推进理解慢性应激基本原理、探讨相关疾病发生发展、寻找新药物治疗策略,进而为慢性应激相关疾病的临床治疗提供新的思路和方法。

参考文献:

[1] 师铭咸,李琳,范宏刚.慢性应激模型中脾脏的相关研究概况[J].动物医学进展,2021,42(12):121-125.
SHI M X, LI L, FAN H G. Research status of spleen in chronic stress model [J]. Prog Vet Med, 2021, 42(12): 121-125.

[2] POLSKY L R, RENTSCHER K E, CARROLL J E. Stress-induced biological aging: a review and guide for research priorities [J]. Brain Behav Immun, 2022, 104: 97-109.

[3] NOUSHAD S, AHMED S, ANSARI B, et al. Physiological biomarkers of chronic stress: a systematic review [J]. Int J Health Sci, 2021, 15(5): 46-59.

[4] YANG L, ZHAO Y, WANG Y, et al. The effects of psychological stress on depression [J]. Curr Neuropharmacol, 2015, 13(4): 494-504.

[5] STREKALOVA T, LIU Y, KISELEV D, et al. Chronic mild stress paradigm as a rat model of depression: facts, artifacts, and future perspectives [J]. Psychopharmacology, 2022, 239(3): 663-693.

[6] GOLBIDI S, FRISBEE J C, LAHER I. Chronic stress impacts the cardiovascular system: animal models and clinical outcomes [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2015, 308(12): H1476-H1498.

[7] SCHÖNER J, HEINZ A, ENDRES M, et al. Post-traumatic stress disorder and beyond: an overview of rodent stress models

[J]. J Cell Mol Med, 2017, 21(10): 2248-2256.

[8] 乔怡情,聂梦珂,李扬,等.慢性应激对肠道屏障及结直肠癌肝转移的影响[J].中华肿瘤防治杂志,2022,29(20): 1475-1483.
QIAO Y Q, NIE M K, LI Y, et al. Effect of chronic stress on intestinal barrier and liver metastasis of colorectal cancer [J]. Chin J Cancer Prev Treat, 2022, 29(20): 1475-1483.

[9] 王婷婷,羊璐,马菁昌,等.敲除 CD226 通过调节小鼠脾脏和肠道免疫细胞比例缓解小鼠的慢性束缚应激引起的抑郁样行为[J].细胞与分子免疫学杂志,2023,39(3): 242-248.
WANG T T, YANG L, MA J C, et al. Knockout of CD226 alleviates depression-like behavior induced by chronic restraint stress in mice by modulating the ratio of immune cells in spleen and intestine [J]. Chin J Cell Mol Immunol, 2023, 39(3): 242-248.

[10] DANG R, WANG M, LI X, et al. Edaravone ameliorates depressive and anxiety-like behaviors via Sirt1/Nrf2/HO-1/Gpx4 pathway [J]. J Neuroinflammation, 2022, 19(1): 41.

[11] KOO J W, CHAUDHURY D, HAN M H, et al. Role of mesolimbic brain-derived neurotrophic factor in depression [J]. Biol Psychiatry, 2019, 86(10): 738-748.

[12] FRANCIS T C, CHANDRA R, FRIEND D M, et al. Nucleus accumbens medium spiny neuron subtypes mediate depression-related outcomes to social defeat stress [J]. Biol Psychiatry, 2015, 77(3): 212-222.

[13] KRONMAN H, TORRES-BERRÍO A, SIDOLI S, et al. Long-term behavioral and cell-type-specific molecular effects of early life stress are mediated by H3K79me2 dynamics in medium spiny neurons [J]. Nat Neurosci, 2021, 24(5): 667-676.

[14] YAN H C, CAO X, DAS M, et al. Behavioral animal models of depression [J]. Neurosci Bull, 2010, 26(4): 327-337.

[15] NEWMAN E L, COVINGTON H E 3rd, SUH J, et al. Fighting females: neural and behavioral consequences of social defeat stress in female mice [J]. Biol Psychiatry, 2019, 86(9): 657-668.

[16] QIAO H, LI M X, XU C, et al. Dendritic spines in depression: what we learned from animal models [J]. Neural Plast, 2016, 2016: 8056370.

[17] RINCÓN-CORTÉS M, GRACE A A. Antidepressant effects of ketamine on depression-related phenotypes and dopamine dysfunction in rodent models of stress [J]. Behav Brain Res, 2020, 379: 112367.

[18] SHIVELY C A, LABER-LAIRD K, ANTON R F. Behavior and physiology of social stress and depression in female cynomolgus monkeys [J]. Biol Psychiatry, 1997, 41(8): 871-882.

[19] REDING K M, STYNER M M, WILSON M E, et al. Social subordination alters estradiol-induced changes in cortico-limbic brain volumes in adult female rhesus monkeys [J]. Psychoneuroendocrinology, 2020, 114: 104592.

[20] WANG Z, XIA T, JIN S, et al. Chronic restraint stress-induced

- muscle atrophy leads to fatigue in mice by inhibiting the AMPK signaling pathway [J]. *Biomedicines*, 2021, 9(10): 1321.
- [21] XU M, SUN J, WANG Q, et al. Chronic restraint stress induces excessive activation of primordial follicles in mice ovaries [J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0194894.
- [22] TSUCHIMINE S, MATSUNO H, O' HASHI K, et al. Comparison of physiological and behavioral responses to chronic restraint stress between C57BL/6J and BALB/c mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 525(1): 33–38.
- [23] KATZ R J. Animal model of depression: pharmacological sensitivity of a hedonic deficit [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1982, 16(6): 965–968.
- [24] WILLNER P. The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage [J]. *Neurobiol Stress*, 2017, 6: 78–93.
- [25] MINEUR Y S, BELZUNG C, CRUSIO W E. Effects of unpredictable chronic mild stress on anxiety and depression-like behavior in mice [J]. *Behav Brain Res*, 2006, 175(1): 43–50.
- [26] LIU L L, LI J M, SU W J, et al. Sex differences in depressive-like behaviour may relate to imbalance of microglia activation in the hippocampus [J]. *Brain Behav Immun*, 2019, 81: 188–197.
- [27] WANG L, WU X, MA Y, et al. Supplementation with soy isoflavones alleviates depression-like behaviour *via* reshaping the gut microbiota structure [J]. *Food Funct*, 2021, 12(11): 4995–5006.
- [28] WEI J, YUEN E Y, LIU W, et al. Estrogen protects against the detrimental effects of repeated stress on glutamatergic transmission and cognition [J]. *Mol Psychiatry*, 2014, 19(5): 588–598.
- [29] LAGUNAS N, CALMARZA-FONT I, DIZ-CHAVES Y, et al. Long-term ovariectomy enhances anxiety and depressive-like behaviors in mice submitted to chronic unpredictable stress [J]. *Horm Behav*, 2010, 58(5): 786–791.
- [30] 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.
- [31] 赵谦, 王安娜, 高雪松, 等. 慢性不可预知性温和应激致抑郁样大鼠模型的研究进展 [J]. *实验动物与比较医学*, 2020, 40(4): 344–353.
- ZHAO Q, WANG A N, GAO X S, et al. Research progress in depression-like rat model induced by chronic unpredictable mild stress [J]. *Lab Anim Comp Med*, 2020, 40(4): 344–353.
- [32] CAMPOS A C, FOGAÇA M V, AGUIAR D C, et al. Animal models of anxiety disorders and stress [J]. *Braz J Psychiatry*, 2013, 35(Suppl 2): S101–S111.
- [33] GOSSELIN T, LE GUIQUET A M, BRIZARD B, et al. Fluoxetine induces paradoxical effects in C57BL6/J mice: comparison with BALB/c mice [J]. *Behav Pharmacol*, 2017, 28(6): 466–476.
- [34] RODRIGUEZ-ROMAGUERA J, STUBER G D. Social isolation co-opts fear and aggression circuits [J]. *Cell*, 2018, 173(5): 1071–1072.
- [35] CACIOPPO J T, CACIOPPO S, CAPITANIO J P, et al. The neuroendocrinology of social isolation [J]. *Annu Rev Psychol*, 2015, 66: 733–767.
- [36] LI H, XIA N. The role of oxidative stress in cardiovascular disease caused by social isolation and loneliness [J]. *Redox Biol*, 2020, 37: 101585.
- [37] ZELIKOWSKY M, HUI M, KARIGO T, et al. The neuropeptide Tac2 controls a distributed brain state induced by chronic social isolation stress [J]. *Cell*, 2018, 173(5): 1265–1279.
- [38] SARGIN D, OLIVER D K, LAMBE E K. Chronic social isolation reduces 5-HT neuronal activity via upregulated SK3 calcium-activated potassium channels [J]. *eLife*, 2016, 5: e21416.
- [39] LEE C R, CHEN A, TYE K M. The neural circuitry of social homeostasis: Consequences of acute versus chronic social isolation [J]. *Cell*, 2021, 184(6): 1500–1516.
- [40] WANG Z J, SHWANI T, LIU J, et al. Molecular and cellular mechanisms for differential effects of chronic social isolation stress in males and females [J]. *Mol Psychiatry*, 2022, 27(7): 3056–3068.
- [41] FENG X, WANG L, YANG S, et al. Maternal separation produces lasting changes in cortisol and behavior in rhesus monkeys [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(34): 14312–14317.
- [42] SHIVELY C A, WILLARD S L. Behavioral and neurobiological characteristics of social stress versus depression in nonhuman Primates [J]. *Exp Neurol*, 2012, 233(1): 87–94.
- [43] 夏天吉, 闫明珠, 王智, 等. 大小鼠失眠模型和评价方法研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2022, 30(3): 428–435.
- XIA T J, YAN M Z, WANG Z, et al. Research progress on animal models of insomnia and evaluation methods [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2022, 30(3): 428–435.
- [44] 吕书影, 曲保全, 林文君, 等. 咪喹莫特联合慢性温和性不可预知应激建立斑秃样小鼠模型 [J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(7): 846–852.
- LYU S Y, QU B Q, LIN W J, et al. Imiquimod combined with chronic unpredictable mild stress to establish a mouse model of alopecia areata [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2023, 31(7): 846–852.
- [45] ELSAID N, SAIED A, KANDIL H, et al. Impact of stress and hypertension on the cerebrovasculature [J]. *Front Biosci*, 2021, 26(12): 1643–1652.
- [46] 陈蕾, 刘叶倩, 赵红霞, 等. 慢性应激联合孤养对自发性高血压大鼠行为学、血清中 5-HT 与海马区神经元的影响 [J]. *实验动物科学*, 2022, 39(5): 1–6.
- CHEN L, LIU Y Q, ZHAO H X, et al. Effects of chronic stress combined with solitary rearing on behavior, serum 5-HT and hippocampal neurons in spontaneously hypertensive rats [J]. *Lab Anim Sci*, 2022, 39(5): 1–6.
- [47] 曹姗, 范晓迪, 赵步长, 等. 银杏蜜环口服溶液对孤养结合慢性不可预知温和应激大鼠抑郁模型 P2RX7/NLRP3 信号通

路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(12): 33-39.

CAO S, FAN X D, ZHAO B C, et al. Effect of yinxiang mihuan oral solution on P2RX7/NLRP3 signaling pathway in depression model rats induced by isolation combined with chronic unpredictable mild stress [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2021, 27(12): 33-39.

[48] 张露文, 唐文娟, 李瑞瑞, 等. 慢性应激和脂多糖构建昆明种小鼠抑郁症动物模型 [J]. 沈阳药科大学学报, 2022, 39(1): 30-39.

ZHANG L W, TANG W J, LI R R, et al. Establishment of depression model induced by chronic stress and lipopolysaccharide in Kunming mice [J]. J Shenyang Pharm Univ, 2022, 39(1): 30-39.

[49] HILL M N, HELLEMANS K G, VERMA P, et al. Neurobiology of chronic mild stress: parallels to major depression [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2012, 36(9): 2085-2117.

[50] AL JOWF G I, AHMED Z T, REIJNDERS R A, et al. To predict, prevent, and manage post-traumatic stress disorder (PTSD): a review of pathophysiology, treatment, and biomarkers [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(6): 5238.

[51] DZIEDZICKA-WASYLEWSKA M, SOLICH J, KORLATOWICZ A, et al. What do the animal studies of stress resilience teach us? [J]. Cells, 2021, 10(7): 1630.

[收稿日期]2023-10-07

编者·读者·作者

《中国比较医学杂志》不接收使用水合氯醛进行动物麻醉文章的说明

本刊严格遵守我国实验动物相关法规和标准,为保障实验动物的福利权益,不断提升动物实验研究的水平并获得国际学术界同行的认可,根据国际和国内实验动物有关法规和标准,规定实验动物麻醉镇痛用药必须优先使用药用级麻醉剂,特别是当涉及存活手术的动物实验时。

鉴于水合氯醛属于镇静、催眠以及抗惊厥药物,其作为麻醉剂效果较差,只作用于中枢神经系统,无法阻断痛觉感受器达到镇痛效果,且刺激性强、毒副作用较大,存在干扰实验结果且有悖于实验动物伦理审查原则等问题,国际期刊普遍建议不再使用水合氯醛作为实验动物的麻醉剂。

本刊亦不接收使用水合氯醛作为实验动物麻醉剂的文章,特此告知广大作者及读者。

《中国比较医学杂志》编辑部