

• 基础医学 •

文章编号: 1002-0217(2019)01-0009-04

异性接触与隔离抑郁/焦虑症模型的雌雄大鼠同步造模法

沈天爱^{1,2} 吴霄汉^{1,2} 冯佳伟^{1,2} 张忠楠^{1,2} 汪萌芽¹

(皖南医学院 1.细胞电生理研究室;2.启明星小组 安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的:探索异性接触与隔离(OSCI)抑郁/焦虑症模型的雌雄鼠同步造模方法。方法:取雄性和雌性SD大鼠各37只,按性别均衡随机分为对照组($n=20$)和OSCI组($n=54$),OSCI组大鼠通过每天更改雌鼠与雄鼠相互直接接触与间接接触的时间,进行为期7d的造模,造模后进行糖水消耗实验、旷场实验检测。结果:①OSCI组的雄鼠和雌鼠($n=27$)分别对应地与对照组的雄鼠和雌鼠($n=10$)相比均呈现糖水偏爱百分比、旷场实验总路程均减少($P<0.01$)、垂直站立总时间缩短($P<0.05$)。②与对照组大鼠($n=20$)相比,OSCI组大鼠($n=54$)的糖水偏爱百分比、旷场实验总路程、垂直站立总时间均下降($P<0.01$),且跨格数减少($P<0.05$)。③OSCI组雌、雄鼠进行两组间对比,糖水偏爱百分比及旷场实验相关指标均相似($P>0.05$)。结论:异性接触与隔离造模方法可有效地同步制备雌雄鼠抑郁/焦虑症模型,且两种性别之间差异无统计学意义。

【关键词】抑郁症;焦虑症;动物模型;糖水消耗实验;旷场实验

【中图分类号】R-332; R 749.72 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2019.01.003

Opposite sex contact and isolation to simultaneously prepare female and male depression/anxiety model rats

SHEN Tianai, WU Xiaohan, FENG Jiawei, ZHANG Zhongnan, WANG Mengya

Cell Electrophysiology Laboratory, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

【Abstract】Objective: To develop an approach to simultaneously preparing female and male depression/anxiety model rats induced by opposite sex contact and isolation (OSCI). **Methods:** Thirty-seven male and 37 female SD rats were evenly randomized into control group ($n=20$) and OSCI group ($n=54$) by gender match. Model rats in OSCI group were induced by alternating the length of direct and indirect contact with individual for consecutive 7 days. Then the sucrose preference percentage was calculated, and open field test was conducted in all rats. **Results:** ① Either male or female rats in OSCI group had decreased sucrose preference percentage as well as total distance and total rearing duration in open field test compared to those in control group ($P<0.01$; $P<0.05$); ② Reduced sucrose preference percentage as well as total distance and total rearing duration in open field test and zone transition number was found in rats in OSCI group rats as compared with the rats in control group ($P<0.01$; $P<0.05$); ③ Sucrose preference percentage and parameters measured in the open field test remained insignificant within OSCI group between males and females ($P>0.05$). **Conclusion:** OSCI technique may be used to simultaneously prepare female and male depression/anxiety models, and the model rats can be analogous.

【Key words】 depression; anxiety; animal model; sucrose preference test; open-field test

抑郁症是以显著而持久的心境障碍为主要特征的一种疾病,也称抑郁发作。临床常表现为兴趣丧失、注意困难、有自杀观念等,还包括认知功能、行为等异常表现^[1]。长期以来,高校大学生群体抑郁症的发病率呈现上升趋势,由抑郁症导致的一系列自杀、伤害他人等行为的事件也在增加^[2],而且失恋引起抑郁症的临床病例报道也日益增多,表明失恋、

社交障碍等因素也是抑郁症的重要发病原因之一。“异性接触与隔离”(opposite sex contact and isolation, OSCI)是新近报道的一种抑郁/焦虑模型的造模方法,是模拟社交失败的压力与情感缺陷(如隔离、失恋等)等情绪障碍导致的抑郁/焦虑的动物模型^[3]。但该造模方法中,雌雄鼠能否同时造模成功以及对雌鼠是否有差别化影响尚未提及,本文旨在

基金项目:国家自然科学基金项目(31271155);国家级大学生创新创业训练计划(201610368001)

收稿日期:2018-02-25

作者简介:沈天爱(1996-),女,2014级临床医学专业本科生,(电话)18255389776,(电子信箱)hermitshen@gmail.com;

汪萌芽,男,教授,硕士生导师,(电子信箱)wangmy@wnmc.edu.cn,通信作者。

探索能否通过 OSCI 对雌雄鼠同时进行抑郁/焦虑症模型造模的方法。

1 材料与方法

1.1 动物 雄性 SD 大鼠 37 只,雌性 SD 大鼠 37 只,由南京青龙山动物中心提供。实验动物在适应性饲养 2 周后体质量为雄性(320±20)g,雌性(290±20)g,合格证号:SCXX(沪)2013-0006。

1.2 仪器 44 cm×44 cm×47cm 大鼠旷场反应箱及数据采集和处理系统,动物行为视频跟踪分析系统(Smart 系统, Panlab, USA)。

1.3 造模方法 大鼠置于恒温恒湿房间中,12 h 明亮 12 h 黑暗,自由饮食饮水,对照组同性别的两只大鼠一笼,模型组都是 1 个笼子放 1 只雌鼠 1 只雄鼠,中间有隔板(隔板上有 20 个直径为 0.5 cm 的洞)分为两边,前 6 d 雌雄鼠从直接接触(雌雄鼠在隔板同一边)到间接接触(雌雄鼠分开到隔板两边),第 7 天雌雄鼠完全隔离(雌雄鼠分为两个笼子即 1 个笼子 1 只)。第 1 天:直接接触 24 h;第 2 天:直接接触 6 h+间接接触 18 h;第 3 天:直接接触 1 h+间接接触 23 h;第 4 天:直接接触 0.5 h+间接接触 23.5 h;第 5 天:直接接触 10 min+间接接触 23.83 h;第 6 天:间接接触 24 h;第 7 天:完全隔离;第 8 天开始测试相关指标^[3]。

1.4 行为学测试

1.4.1 糖水消耗实验 OSCI 模型法造模 7 d 后的第 1 天即实验第 8 天,进行糖水消耗实验。参考文献[4]的方法并稍作修改。实验开始前对大鼠进行 2 d 适应性饮用 2% 浓度糖水的训练,每笼放置 2 个水瓶,首日两瓶均装 2% 浓度的蔗糖水,次日将其中 1 瓶改为纯水。此后,禁水 24 h。然后再进行糖水偏爱百分比测定,即每只大鼠同时放置定量好的

1 瓶 2% 浓度的蔗糖水和 1 瓶纯水。4 h 后,检测两瓶水的剩余量,并计算糖水偏爱百分比[糖水偏爱%=(糖水消耗量/总液体消耗量)×100%]。

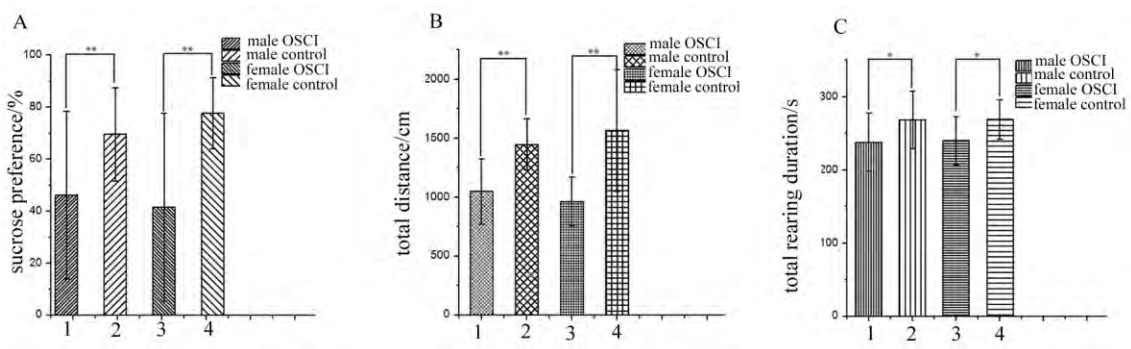
1.4.2 旷场实验 OSCI 模型法造模 7 d 后的第 1 天即实验第 8 天,进行旷场实验,分析大鼠的自发活动和探索能力是否因为造模产生变化。实验开始前 3 d,每天在旷场箱中抚摸大鼠 5 min,开始实验时,将 4 只大鼠(2 只雄鼠 2 只雌鼠)分别放入 44 cm×44 cm×47 cm 旷场箱的 4 个方格内,应用动物行为视频跟踪分析系统(Smart 系统)持续记录大鼠行踪 15 min,记录后取出大鼠,清理旷场箱内的排泄物,用 35% 浓度的酒精去除其残留的气味,雌雄组各组大鼠交替测试。实验结束后,分析每只大鼠的活动总路程、垂直站立总时间、跨格数 3 项指标。

1.5 统计分析 用 SPSS 18.0 软件进行数据的统计分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用独立样本 t 检验分析,其中 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 雄鼠造模结果 与对照组雄鼠(n=10)相比,OSCI 组雄鼠(n=27)的糖水偏爱百分比降低($t = 2.967, P < 0.01$),旷场实验总路程减少($t = 4.099, P < 0.01$),垂直站立总时间缩短($t = 2.067, P < 0.05$),提示 OSCI 方法使雄鼠呈现抑郁/焦虑症行为学特征(图 1)。

2.2 雌鼠造模结果 与对照组雌鼠(n=10)相比,OSCI 组雌鼠(n=27)的糖水偏爱百分比($t = 4.431, P < 0.01$)、旷场实验总路程均降低($t = 3.574, P < 0.01$),垂直站立总时间缩短($t = 2.497, P < 0.05$),提示 OSCI 方法也使雌鼠有抑郁/焦虑症行为学表现(图 1)。



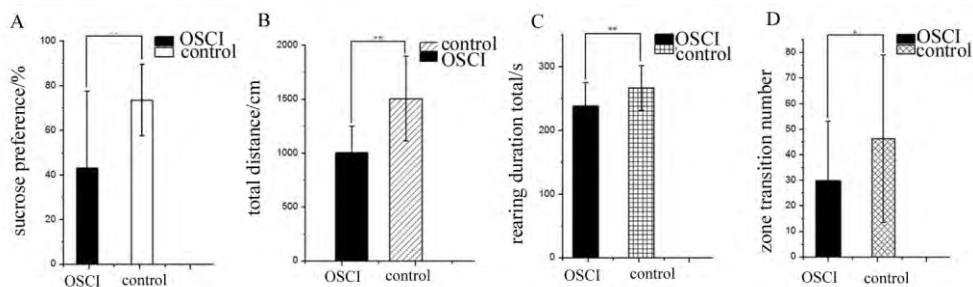
A: 糖水偏爱百分比(sucrose preference); B、C: 旷场实验总路程(total distance, B)、垂直站立总时间(total rearing duration, C)。1. male OSCI 组、3. female OSCI 组; n=27; 2. male control 组、4. female control 组; n=10。两组 t 检验: * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$ 。

图 1 异性接触与隔离抑郁/焦虑模型雄鼠(male OSCI)、雌鼠(female OSCI)的行为学表现

2.3 雌、雄鼠造模结果的合并分析 OSCI 造模后,与对照组(n=20)相比,OSCI 组大鼠(n=54)的糖水

偏爱百分比 ($t = 5.066, P < 0.01$)、旷场实验总路程 ($t = 6.561, P < 0.01$)、垂直站立总时间 ($t = 2.960, P < 0.$

01) 均降低,且跨格数也有减少 ($t = 2.399, P < 0.05$),亦提示 OSCI 造模方法有效(图 2)。

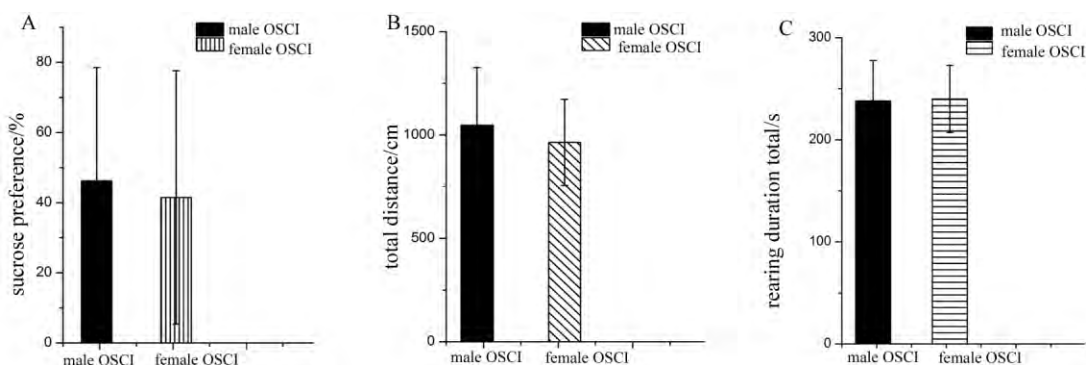


A: 糖水偏爱百分比(sucrose preference); B~D: 旷场实验总路程(total distance, B)、垂直站立总时间(total rearing duration, C)和跨格数(zone transition number, D)。OSCI 组: $n = 54$ control 组: $n = 20$ 。两组 t 检验: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 2 异性接触与隔离(OSCI)抑郁/焦虑模型大鼠与对照(control)大鼠的行为学表现比较

2.4 雌、雄模型鼠的比较 模型组雌鼠 ($n = 27$)与雄鼠 ($n = 27$)的两组间对比显示 糖水偏爱百分比 ($t = 0.333$)、旷场实验总路程 ($t = 1.138$)、垂直站立总

时间($t = 0.116$)、跨格数 ($t = 0.612$) 4 个相关指标均相似($P > 0.05$),提示 OSCI 造模方法对雌雄鼠的造模效果相似(图 3)。



A: 糖水偏爱百分比(sucrose preference); B~C: 旷场实验总路程(total distance, B)、垂直站立总时间(total rearing duration, C)。 $n = 27$; 两组 t 检验: 均 $P > 0.05$ 。

图 3 异性接触与隔离抑郁/焦虑模型雄鼠(male OSCI)与雌鼠(female OSCI)的行为学表现比较

3 讨论

本实验对同等数量的雌、雄 SD 大鼠进行 OSCI 抑郁/焦虑症模型造模,采用糖水消耗和旷场实验两项行为学测试,探索 OSCI 方法能否对雌雄鼠同时进行抑郁/焦虑症模型造模。检测造模后大鼠糖水偏爱百分比、旷场实验总路程、跨格数、垂直站立总时间共 4 项指标,结果表明,不仅雄性 SD 大鼠在 OSCI 造模 7 d 后,与雄性对照组相比 4 项指标均降低,与文献报道相似,显示造模的有效性^[3]。同时,参与造模的雌性大鼠、雌雄大鼠合并分析也显示了同样的结果。此外,模型组雄鼠与模型组雌鼠组间对比,4 项指标的组间差异均没有统计学意义。由此可见,OSCI 造模方法可有效地对雌雄鼠同时进行抑郁/焦虑症模型的造模。

负性生活事件是抑郁症发生的重要因素,多为失恋、离婚等事件。失恋性精神抑郁症患者,一般是指存在亲密关系的异性之间的矛盾而导致亲密关系

破裂,产生心理问题并对中枢神经系统产生强烈的刺激,使其发生功能紊乱而引起的一系列症候群。在一些案例中,求助者处于失恋状态,把不满的情绪投射到他人身上,导致一些生理、心理反应^[5]。OSCI 造模方法模拟了一种消极的奖赏剥夺(与异性接触的过程)^[2],而奖赏即是一种可引起愉悦情绪的情感体验^[6],如社会交流对群居动物而言是一种奖赏行为^[7]。有报道可通过引导雄性大鼠在与同性的社交障碍下产生抑郁/焦虑的造模方法^[8],而 OSCI 造模方法证明了不仅是同性,人们在与异性交流中产生社会交流障碍时也可引起抑郁/焦虑^[3]。OSCI 造模方法可能使雄、雌大鼠抑郁/焦虑的结果,提示异性情感接触出现障碍时,双方均可受到情感问题的影响。因此,在人类异性情感出现问题时,双方可能都需要得到关心和引导,调节自身心态,尽量避免产生抑郁。

(下转第 20 页)

度越高,DR 病变程度越轻,尤其是危及视力的重度 DR 发生率更低^[8]。提示近视度数高或眼轴长可能是 DR 的保护因素,已发现机制有:各种血管损伤因子和冲击损伤因血流量降低而减少,视网膜细胞透氧环境因巩膜变薄而得以改善,新生血管数量在玻璃体液化、后脱离后会降低^[9-10]。但目前具体机制的诠释尚未统一。此次研究中,糖尿病合并高度近视豚鼠视网膜中 OPN 和整合素 $\alpha v\beta 3$ 受体阳性表达率均比糖尿病组低($P < 0.05$),观察各组豚鼠视网膜形态,糖尿病组视网膜破坏也比糖尿病合并高度近视组明显。由此推测,OPN 与整合素 $\alpha v\beta 3$ 受体结合后的协同促进增生作用同新生血管增殖损伤具有相关性,降低视网膜组织破坏程度可通过抑制两者表达来实现。

通过本研究推测高度近视对糖尿病视网膜病变进展的阻滞可能是通过下调视网膜内 OPN 和整合素 $\alpha v\beta 3$ 受体的表达。但具体调节机制尚不清楚,有待进一步研究探讨。

【参考文献】

[1] NAKAJIMA M, COONEY MJ, ALEXANDER HT *et al.* Normalization of retinal vascular permeability in experimental diabetes with genistein [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001 42: 2110-2114.
 [2] 赵菊莲,王婵婵,毛新帮,等.高度近视与非对称性糖尿病视网

膜病变的关系[J].*中华眼底病杂志* 2012 28(3) : 286-287.
 [3] CHIDLOW G, WOOD JP, MANAVIS J, *et al.* Expression of osteopontin in the rat retina: effects of excitotoxic and ischemic injuries [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008 49(2) : 762-771.
 [4] TAKAGI H, SUZUMA K, OTANI A, *et al.* Role of vitronectin receptor type integrins and osteopontin in ischemia-induced retinal neovascularization [J]. *Jpn J Ophthalmol* 2002 46: 270-278.
 [5] FAN LIN, YUYUAN LI, JIE CAO, *et al.* Overexpression of osteopontin in hepatocellular carcinoma and its relationships with metastasis, invasion of tumor cells [J]. *Molecular Biology Reports*, 2011 38 (8) : 5205-5210.
 [6] SAIKA S, SUMIOKA T, OKADA Y, *et al.* Wakayama symposium: modulation of wound healing response in the corneal stroma by osteopontin and tenascin-C [J]. *The Ocular Surface* 2013 1(11) : 12-15.
 [7] KASE S, YOKOI M, SAITO W, *et al.* Increased osteopontin levels in the vitreous of patients with diabetic retinopathy [J]. *Ophthalmic Res* 2007 39: 143-147.
 [8] LIRA LS, LALNOUREUX E, SAW SM, *et al.* Are myopic eyes less likely to have diabetic retinopathy [J]? *Ophthalmology*, 2010, 117: 524-530.
 [9] 安建斌,韩瑶,张彤迪.糖尿病视网膜病变各期血流动力学研究[J].*眼科研究* 2005 23(1) : 79-82.
 [10] DUJIC M, MISAILOVIC K, NIKOTICL J, *et al.* Occurrence of changes in the eye in diabetic retinopathy with significant myopia [J]. *Srp Arh Celok Lek*, 1998, 126 (11-12) : 457-460.

(上接第 11 页)

本文结果显示 OSCI 造模方法可对雌雄鼠同时进行抑郁/焦虑症模型造模,不仅在实验方法学上有一定的价值,可被用于失恋导致的抑郁患者相关病情和治疗研究等。同时两性别模型鼠的相似行为学表现,对抑郁/焦虑症的性别差异研究也有一定的意义,如在其他类型的抑郁症(CCMD-3)的男女患者中,男性的病理异常更为严重^[9],提示抑郁/焦虑症中患者的性别差异及机制可能仍需进一步探索与讨论。

【参考文献】

[1] HAMET P, TREMBLAY J. Genetics and genomics of depression [J]. *Metabolism: Clinical & Experimental* 2005 54(1) : 10-15.
 [2] 曹晓燕,钟振环,潘丽敏.大学生抑郁症的临床表现及中医辅助治疗[J].*河北中医* 2007 29(1) : 33-35.

[3] YANG L, SHI LJ, TANG B, *et al.* Opposite sex contact and isolation: A novel depression/anxiety model [J]. *Neuroscience Bulletin*, 2016 32(1) : 92-98.
 [4] 付锦华.新型抗抑郁中药舒肝解郁胶囊对抑郁模型大鼠的作用机制研究[D].长沙:中南大学湘雅二医院,2014.
 [5] 符源才.一例失恋抑郁的心理咨询案例报告[J].*华人时刊*, 2013(10) : 292-293.
 [6] SCHULTZ W. Neural coding of basic reward terms of animal learning theory, game theory, microeconomics and behavioural ecology [J]. *Current Opinion in Neurobiology* 2004 14(2) : 139-147.
 [7] INSEL TR. Is social attachment an addictive disorder [J]? *Physiology & Behavior* 2003 79(3) : 351-357.
 [8] HODGES TE, MCCORMICK CM. Adolescent and adult male rats habituate to repeated isolation, but only adolescents sensitize to partner unfamiliarity [J]. *Hormones & Behavior*, 2015(69) : 16-30.
 [9] 陈建新,吕淑云,杨超.抑郁症患者临床特征的性别差异[J].*中国健康心理学杂志* 2008 16(10) : 1177-1178.