

Talking about False Positive Reactions of Animal Models of Depression in the Current Research

Jie Li, Jinqi Li

Cheng Du University of Traditional Chinese Medicine, Si Chuan Provincial People's Hospital, Chengdu Sichuan
Email: 2531858336@qq.com

Received: May 15th, 2017; accepted: Jun. 4th, 2017; published: Jun. 7th, 2017

Abstract

Depression is the most common psychiatric disorder, by 2020, which is expected to rise to the world's second major disease. With the further research of Depression, animal models of depression are widely used in the preclinical pharmacodynamic evaluation and study on mechanism of drug action through the partial imitation to disease characteristics, behavioral signs, physiological, biochemical and pathological characteristics of the disease. However, reliability and accuracy, which are showed in clinical imitation, to some extent, are still needed improved. It's likely to be a false positive reaction during the research process caused by different reasons. The essay intended to introduce several common animal models that are easy to be false positive and some promoted solutions, in order to provide a conference for the antidepressant drugs' pharmacodynamic evaluation and study on mechanism of drug action.

Keywords

Depression, Animal Models, False Positive Reaction

易致假阳性的抑郁症动物模型研究现状

李 杰, 李晋奇

成都中医药大学, 四川省人民医院, 四川 成都
Email: 2531858336@qq.com

收稿日期: 2017年5月15日; 录用日期: 2017年6月4日; 发布日期: 2017年6月7日

摘 要

抑郁症是最常见的精神类疾病, 预计到2020年, 将上升为世界第二大疾病。随着对抑郁症研究的深入,

通过对疾病的发病特点、行为体征、生理生化、病理特点的部分或局部模拟, 抑郁症动物模型被广泛地应用于临床前抗抑郁药物的药效学评价和药效作用机制研究, 但抑郁症动物模型模拟临床的可靠性和准确性略差, 研究过程中各种因素干扰易呈现出的阳性反应。本文主要介绍了常见的易出现假阳性抑郁症动物模型及其改善措施, 为抗抑郁药物的药效学评价和药效作用机制研究提供参考。

关键词

抑郁症, 动物模型, 假阳性反应

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

抑郁症又称忧郁症, 是以情绪低落为主要外在表现的精神性疾病, 据不完全统计, 全球有 4.5 亿人正深受其影响[1]。因此, 抑郁症的研究是至关重要的, 同时建立合适的动物模型对抑郁症的研究具有深远影响。目前, 抑郁症的产生机制和药物作用效应的研究虽已有一定进展, 但仍有较大缺憾, 在一定程度上与难以建立合适的动物模型有着密切的关系。而较好的动物模型应具有以下特征: ① 行为学表现的模拟性; ② 合理的理论基础(造模方法与临床抑郁症之前的关系); ③ 动物模型体内病理生理学改变与人体有相似性; ④ 抗抑郁剂治疗有效。除此之外, 动物模型的行为学表现需保持一定时间, 以使得抗抑郁剂能长期应用[1] [2]。因而, 尽管已有 20 多种动物模型的建立方法, 大多数方法基本上却只符合其中的部分要求, 故而与临床所需效应产生较大差异。其中, 部分研究中模型的选择易致假阳性结果, 而当前并未有实际的方法能够解决此类干扰, 本文基于避免假阳性结果进行抑郁症动物模型现状的分析, 并就常见的易出现假阳性的动物模型分三类进行阐述, 分别是药物药效学易致假阳性的模型、疗效判断标准易致假阳性的模型、模型复制方法易致假阳性的模型, 最后提出相应的改善措施。

2. 药物药效学易致假阳性

2.1. 药物诱导所致的动物模型

2.1.1. 糖皮质激素模型

通过给大鼠持续注射 21 d 的糖皮质激素导致其体重减轻, 此模型是建立在应激理论上, 通过人为的增加机体的糖皮质激素水平, 模拟行为诱导的生物学变化, 大大缩短了造模的生物环节, 因而缩短造模周期[3], 但糖皮质激素可能会诱发或加重感染、导致消化系统及神经系统失调等不良反应, 其结果可能会对使用强迫游泳、敞箱测试造成干扰。

2.1.2. 利血平拮抗

这是自发现单胺氧化酶抑制剂和三环类抗抑郁药可以对抗利血平引起的动物异常行为后, 建立起的用于抗抑郁研究的最早的动物模型[4]。利血平是一种囊泡再摄取抑制剂, 作用于脑内单胺类递质诱发动物的综合症状, 主要包括眼睑下垂、体温下降和活动抑制。利血平能耗竭脑内单胺类递质, 尤其是 5-HT, 而续发 5-HT 受体敏感性改变, 从而诱发抑郁行为[5]。三环类抗抑郁药和单胺类氧化酶抑制剂均显示有相应预防和反转作用[6]。

2.1.3. 色氨酸模型

色氨酸耗竭试验是一种针对血清素系统的研究方法, 造模过程为进行禁水、禁食的大鼠或者小鼠, 用含色氨酸的胶原蛋白混合物灌胃两次, 随后进行糖水测试和敞箱实验, 而后进行心脏抽血和断头取脑。这是采用快速色氨酸耗竭方法模拟 5-羟色胺能系统紊乱导致大鼠呈现抑郁样的行为表现, 然而三环类药物对其缓解期作用并不明显[7]。

2.1.4. 精神兴奋剂撤药模型

反复注射精神兴奋剂如可卡因(cocaine, COC)、安非他明(amphetamine, AMPH), 会引起部分由药物导致的行为的逐渐增多, 这不是由运动中枢直接激发的简单运动, 而是由精神或心理因素诱发, 对环境刺激进行感知运动整合后产生的, 也被称为精神运动(psychomotor) [8]。此模型对抗抑郁剂较为敏感, 但抑郁症状持续时间较短暂约为 7 天, 且劳动耗费大, 模拟抑郁尚需更多的证实。

2.1.5. 增强苯丙胺行为活动

苯丙胺作为精神亢奋剂, 作用于脑内去甲肾上腺素的释放和阻断再摄取过程使动物产生兴奋性行为反应。三环类和 5-HT 受体激动剂可增强这种反应, 包括动物的活动增加, 体重下降, 自身脑刺激行为, 体温升高, 刻板样动作及回避性电击操作等[6]。

以上五种模型即: 糖皮质激素模型、注射利血平模型、色氨酸模型、精神兴奋剂撤药模型和增强苯丙胺效应模型均有较多的运用, 不过, 一些临床上并无抗抑郁作用的药物, 如 β -受体阻断药、抗组胺药、抗胆碱药、精神兴奋药、强安定药和局麻药等, 均对利血平、苯丙胺等药物所致动物模型产生假阳性作用[2], 如戊巴比妥对不动状态具有明显的对抗作用[3], 故而此类模型常用于抗抑郁药的初筛。

2.2. 改变环境诱发的动物模型

2.2.1. 攻击行为

此类模型是基于抑郁症神经通路的调控功能受损的原理, 该模型的特点是有很高的表面效度。用不含维生素 B₁ 的食物喂食大鼠, 或切除嗅束, 或使之经过长期隔离后, 耗竭脑内 5-HT 可明显增加大鼠攻击行为的发生率, 从而产生杀鼠行为, 其主要表现为应激性增强、狂躁等。实验表明三环类、单胺类氧化酶抑制剂或电休克处理可改善此类行为[6]。

2.2.2. 强迫游泳实验

将小鼠或大鼠放入透明玻璃缸中或树脂缸中, 小鼠(大鼠)会挣扎试图逃跑, 待到它不再挣扎而头浮在水面上时, 这种状态即为“绝望状态”。由于动物长期不能逃逸出恶劣环境, 以致行为绝望, 不动时间延长。类似人类抑郁症中慢性、低水平的应激原所导致的抑郁症的发生。大多数三环类、非典型抗抑郁药、电惊厥电击等均可减少小鼠(大鼠)处于不动状态的时间[5], 并且有报道称肾上腺酮可能对由于强迫游泳所致抑郁的成年老鼠无明显作用[9]。

2.2.3. 早年应激模型(分离模型)

使幼年灵长类动物或非灵长类动物与其母分开喂养, 数月之后, 动物表现出拍掌、平卧和探究性活动减少等绝望行为[6] [10]。幼仔大脑内的脑神经肽的含量显著降低, 极易引起情感变化, 产生抑郁的一些主要症状。这些现象可以通过新型抗抑郁药来改善, 而抗精神病药物和抗焦虑药物则无效[11]。同时, 此模型关于早期分离导致的精神改变机制尚不清楚。

此类模型是目前应用十分广泛的模型之一, 但其中仍不乏出现假阳性反应的模型, 如以上的杀鼠行为、强迫性游泳实验和分离模型[10]。某些药物如抗胆碱药、抗组胺药、安定等对异常反应均有改善作用,

产生假阳性反应, 故而其可信度需得到进一步研究的证明, 在实际中也常作为抑郁症模型的初步验证。

3. 疗效判断标准易致假阳性的模型

3.1. 强迫性游泳实验和悬尾实验

3.1.1. 强迫性游泳实验模型详见 2.2.2

将小鼠或大鼠放入透明玻璃缸中或树脂缸中, 小鼠(大鼠)会挣扎试图逃跑, 待到它不再挣扎而头浮在水面上时, 即可开始计时。

3.1.2. 悬尾实验

提起小鼠尾巴, 使之悬空, 一段时间后, 小鼠从间歇性不动到完全不动, 即会出现“绝望状态”。由于动物长期不能逃逸出恶劣环境, 以致行为绝望, 不动时间延长。类似人类抑郁症中慢性、低水平的应激原所导致的抑郁症的发生。多数抗抑郁药可明显缩短不动时间[12]。

这两种模型均以大鼠或小鼠不动状态和记录其不动时间作为评判依据, 具有简便、迅速和易于辨识的特点, 然而对于这种模型, 当其出现不动状态时很难区分动物究竟是因为疲劳而出现的不动状态还是由于绝望而导致的不动[4] [5] [13]。虽然 Cryan 等[14]证明了悬尾实验有一定的可行性, 但在具体操作中仍有是否是动物对应激作用的适应等疑惑。

3.2. 杀鼠行为

在 2.2.1 中已阐释过杀鼠行为因其作用易被抗胆碱药、强安定药等反转而出现假阳性反应, 除此之外, 杀鼠行为是否造模成功依据的是动物模型间出现杀鼠等异常作用, 然而, 各种属间杀鼠行为发生率差异很大, 这在一定程度上会出现选择性低、假阳性的现象。

4. 模型复制方法易致假阳性的模型

4.1. 行为绝望和药物干预所致模型

目前主要的行为绝望模型即为强迫性游泳实验和悬尾实验, 此类模型与药物干预所致模型如今在抑郁症研究中运用较多, 多数抗抑郁症药物均能有效反转其作用, 但是这两类造模方法均有造模时间短、症状持续时间短的特点, 更为重要的一点是与临床上抑郁症发病过程相去甚远。因此, 是否能真正广泛用于临床抑郁症动物的造模仍有不确定性。

4.2. 获得性无助模型——电击模型

先将动物束缚在无法逃脱的电击箱中, 然而给予间歇性的无法预测的足底电击, 再放于无束缚的电击测试箱中, 动物产生的症状与 DSM-III 的抑郁症诊断标准非常吻合[11]。但研究发现此类模型不能作为慢性给药药物的检测, 同时, 在终止刺激几天后, 动物即恢复正常。由此, 可以推测对动物的造成异常行为可能未达到人类的抑郁程度。

5. 改善措施

5.1. 药物联用

药物致郁是一种简便、快捷的造模方式, 然而其在对抗抑郁药物的筛选过程中有难以避免的假阳性问题, 同时目前尚未有针对性地解决方法。为降低假阳性干扰并以期达到一定的致郁效果, 笔者认为通过两者或两者以上的药物联用且同时作用于动物可能达到此效果。据研究表明, 利血平联合氢化可的松

注射是建立肝肾阴虚型抑郁症动物模型的可行方法[15]。该研究在另一方面也为药物致郁提供了新的思路,但仍需进行进一步的研究。

5.2. 新型评价手段

对于各类致郁的动物模型,已有不少评价造模是否成功的方式,比如空场试验、糖水实验、体重和食量的变化以及 HPA 轴等,不过,此类评测手段仍无法解决某些造模方式判断标准模糊的问题,诸如强迫性游泳试验和悬尾试验。并且,这些模型单独使用确有难以克服的假阳性反应[16]。随着对先进科技和生物分子学的研究进展,一种实用新型的抑郁症模型动物的观测装置[17]已因其对模型的复制和评价具有避免人为干扰等独特性特征获得了专利,除此之外,核磁共振代谢组学方法[18]、生物标志物的监控[19]等方法也有相应进展。通过减少人为因素对实验动物的干扰以及综合监控抑郁症的生物标志物等新型评价手段,或许能在改善判断标准模糊这一问题上有所突破。

5.3. 其他

5.3.1. 应用较为成熟的造模方法

目前公认的最为可信的抑郁症模型为慢性不可预测轻度或中度应激造模方法,这种方法早在 1981 年开始使用,因其有效性、可靠性和实用性强而得到广泛应用[20] [21] [22]。更有学者发现适当增加动物应激的时间可增加抑郁症造模成功的几率[23],并建议造模时间在 49 d 较为恰当。基于较为成熟的造模方式,笔者认为可以将强迫性游泳试验和悬尾试验作为模型组的行为学检测的辅助指标而非作为造模方式,可有效避免假阳性反应的发生。

5.3.2. 电击模型的改进

在封闭箱中对动物进行不可预测的足底电击刺激或许未能达到人类抑郁的程度,推测可能与电击到的穴位有关。有研究[24]表明使用不同频率的电针对足底穴位(依据《实验针灸学》[25])进行针刺刺激能成功得到致郁模型,并且在频率为 2 Hz 时造模效果最佳。

5.3.3. 针对性地选择动物模型

抑郁症的发病机制以及抗抑郁的作用机理复杂多样,探究特定药物的抗抑郁作用时选择特定的致郁模型在一定程度上能指明研究方向、研究思路。如应用反转 5-羟色氨酸诱发抑郁行为模型作为研究 5-HT 与抑郁症发生机理和评价药物对 5-HT 能神经元功能活动的影响、内源性抑郁症的研究可采用切除双侧嗅束的模型[26]。

6. 总结与展望

以上简要介绍了利血平模型、育亨宾模型、苯丙胺模型、杀鼠行为、悬尾实验、强迫游泳模型、分离模型、电击模型等易出现假阳性反应的抑郁症动物模型的建立方法和判断标准,但不可否认的是,每一种动物模型或多或少有不同的缺陷或不足之处,但均有一定的实验操作和机制研究的价值。不过,多数模型因其简易、敏感的特点,常用于临床上抗抑郁症药物的初筛[11]。

抑郁症的类型诸多,且发病机制不一,那么目前的模型所呈现出的客观指标是否可代表抑郁症的实质;现有的动物模型大部分未考虑性别和年龄对抗抑郁药作用的影响,或许对假阳性反应的出现有一定促进作用。所以,部分通过改变行为学造出的模型并不符合实际,同时在造模时应注意动物模型异质性以及种属问题[27]。

动物模型对于已有药物的检测、筛选与新药的发现意义重大,尽管到目前为止并没有一种模型可以完全模拟人类抑郁症的症状,但在筛选、改善药物和研究作用机制方面仍是起着不可或缺的作用。近些

年除了基因科学的发展外(比如环境基因交换影响模型[28]), Shabanov 等提出运用一些先进的技术和方法, 如分子生物学、神经影像学等, 进行抑郁症模型的制作[29]。相信在新思路、新技术的助力下, 抗抑郁症药物的研究与发展前景是极为可观的。

参考文献 (References)

- [1] Yan, H.C., Cao, X., Das, M., *et al.* (2010) Behavioral Animal Models of Depression. *Neuroscience Bulletin*, **26**, 327-337. <https://doi.org/10.1007/s12264-010-0323-7>
- [2] 叶娜, 郑卫英. 抑郁症动物模型建立及评价的研究进展[J]. 数理医药学杂志, 2015(6): 902-904.
- [3] 毛羽, 安书成. 应激抑郁症动物模型的神经机制及其评价[J]. 中华现代内科学杂志, 2005, 2(2).
- [4] 秦琴, 刘利学. 抑郁症动物模型概述及评价[J]. 实验动物科学, 2010, 27(1): 53-59.
- [5] 薛涛, 郭丽莎, 等. 抑郁症模型及评价方法研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2015(3): 321-326.
- [6] 吕俊华, 钟玲. 实验性抑郁症动物模型的评价[J]. 中国病理生理杂志, 2001, 17(9): 916-919.
- [7] 陈奕晨. 色氨酸耗竭模型大鼠的比较蛋白质组学研究[D]: [硕士学位论文]. 重庆: 重庆医科大学, 2012.
- [8] 李幼虹, 郑希耕. 吗啡和精神兴奋剂的行为敏感化及其神经生物机制[J]. 中国行为医学科学, 2006, 15(11): 1050-1052.
- [9] Brotto, L.A., Gorzalka, B.B. and Barr, A.M. (2001) Paradoxical Effects of Chronic Corticosterone on Forced Swim Behaviours in Aged Male and Female Rats. *European Journal of Pharmacology*, **424**, 203-209. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(01\)01148-7](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(01)01148-7)
- [10] 郑金灿, 林贤浩. 慢性应激动物模型研究进展[J]. 四川精神卫生, 2010, 23(2): 131-133.
- [11] 王雀良, 潘集阳, 刘亚军, 等. 抑郁症动物模型的回顾与展望[J]. 广东医学, 2011, 32(7): 932-935.
- [12] Steru, L., Chermay, R., Thiemy, B., *et al.* (1985) The Tail Suspension Test: A New Method for Screening Antidepressants in Mice. *Psychopharmacology*, **85**, 367. <https://doi.org/10.1007/BF00428203>
- [13] Poraoh, R.D., Bertin, A. and Jalfre, M. (1977) Behavioral Despair in Mice: A Primary Screening Test for Anti Depressants. *Archives Internationales De Pharmacodynamie Et De Therapie*, **229**, 327.
- [14] Cryan, J.F., Mombereau, C., Vassout, A.L. (2005) The Tail Suspension Test as a Model for Assessing Antidepressant Activity: Review of Pharmacological and Genetic Studies in Mice. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **29**, 571-625. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.03.009>
- [15] 包祖晓, 赵国平, 等. 肝肾阳虚性抑郁症大鼠模型的建立和评价[J]. 中华中医药学刊, 2015(1): 42-45.
- [16] 薛涛, 王琼, 等. 抑郁症动物模型及评价方法研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2015(3): 321-326.
- [17] 袁哲, 李少杰, 孙超, 魏巍, 崔潇. 一种抑郁症模型动物的观测装置[P]. 中国专利, CN 204582233U. 2015-08-26.
- [18] 余红, 修建军, 等. 基于核磁共振的代谢组学方法对 CUMS 动物模型的初步研究[J]. 医学影像学杂志, 2015, 25(12): 2240-2244.
- [19] 白晓宇, 杜冠华. 抑郁症动物模型的转换研究[J]. 中国比较医学杂志, 2011, 21(10-11): 121-126.
- [20] Lutgendorf, S.K. (2013) Non-Cancer Life Stressors Contribute to Impaired Quality of Life in Ovarian Cancer Patient. *Gynecologic Oncology*, **131**, 667-673.
- [21] Miller, A.H. (2008) Elucidating the Consequences of Chronic Stress on Immune Regulation and Behavior in Rheumatoid Arthritis. *Brain, Behavior, and Immunity*, **22**, 22-23.
- [22] Reiche, E.M., Nunes, S.O. and Morimoto, H.K. (2014) Stress, Depression, the Immune System, and Cancer. *The Lancet Oncology*, **5**, 617-625. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(04\)01597-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(04)01597-9)
- [23] 杨婵娟, 安瑞娣, 等. 造模时间对慢性不可预见性刺激致大鼠抑郁模型的影响[J]. 四川动物, 2015, 34(3): 383-388.
- [24] 王敏丹, 燕平. 不同频率电针对抑郁模型大鼠血清 BDNF 及 CRH 含量的影响[J]. 实验中医医学, 2015, 16(1): 21-23.
- [25] 应军, 肖百全, 等. 鸡血藤与阿胶升白细胞作用额比较研究[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(2): 175-177.
- [26] Richardmen, J.S. (1991) Animal Models of Depression Reflect Changing Views on the Essence and Etiology of Depressive Disorders in Humans. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, **15**, 199-404.
- [27] 孙晓龙. 肝郁证动物模型实验研究评述[J]. 中国学报, 2016, 31(3): 398-401.

-
- [28] Nishi, K. and Diksic, M. (2009) A Genetic Rat Model of Depression. Flinders Sensitive Line, Has a Lower Density of 5-HT(1A) Receptors, but a Higher Density of 5-HT(1B) Receptors, Compared to Control Rats. *Neurochemistry International*, **54**, 299-307.
- [29] Shabsnov, P.D. and Roik, R.O. (2005) Evaluation of Antidepressant Activity in a Model of Depression Like State Due to Social Isolation in Rats. *Ekspierimtal' naia I Klinicheskaia Farmakologija*, **68**, 11-15.

期刊投稿者将享受如下服务:

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: acm@hanspub.org