

·基础研究·

喹吡罗诱导的慢性强迫症小鼠模型的改进

罗宇翀, 韦淳仁, 陈晓, 李沫演, 温盛霖
(中山大学附属第五医院精神心理科, 广东 珠海 519000)

摘要:【目的】为了获得造模时间更短且症状维持时间更长的慢性强迫症小鼠模型,我们尝试对已有的喹吡罗诱导的慢性强迫症小鼠模型的造模方式进行优化。【方法】将22只小鼠随机分成实验组($n=11$)和对照组($n=11$),分别在其颈后皮下注射0.75 mg/kg的喹吡罗溶液或等量的生理盐水后放入强迫行为训练装置中训练,连续重复19 d,并记录两组小鼠训练期间的饮水行为及饮水量,评估喹吡罗对小鼠行为的影响。训练结束后通过进行旷场实验、高架十字迷宫实验、新物体识别等行为学实验,评估小鼠的焦虑状态和认知能力。此外对训练后小鼠进行免疫荧光实验,探究引起小鼠行为改变的神经机制。【结果】连续19 d喹吡罗注射结合行为训练能够有效地诱导小鼠表现不伴有焦虑和认知功能下降的类强迫检查行为($P<0.001$),该强迫检查行为在训练结束后能够维持28 d以上。该模型小鼠的皮层-纹状体-丘脑-皮层环路上的多个脑区存在激活的现象($P<0.0001$)。【结论】慢性喹吡罗给药并结合强迫行为训练,能有效构建出表型明显且稳定的强迫症小鼠模型,并有效缩短造模所需时长。

关键词:喹吡罗;强迫症;强迫症模型;小鼠

中图分类号:R749

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2022)03-0412-10

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2022.0309

Improvement of the Mouse Model of Chronic Obsessive-compulsive Disorder Induced by Quinpirole

LUO Yu-chong, WEI Chun-ren, CHEN Xiao, LI Mo-yan, WEN Sheng-lin

(Department of Psychiatry, The Fifth Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Zhuhai 519000, China)

Correspondence to: WEN Sheng-lin; E-mail: wenshl@mail.sysu.edu.cn

Abstract: 【Objective】 To obtain a mouse model of chronic obsessive-compulsive disorder with a shorter modeling time and longer symptom duration, we improved an existing method to obtain a simple and stable mouse model of chronic obsessive-compulsive disorder. 【Methods】 22 mice were randomly divided into experimental group ($n=11$) and control group ($n=11$). The mice were injected subcutaneously with 0.75 mg/kg quinpirole solution or the same amount of saline in the neck for 19 consecutive days and were put into the compulsive behavior training device. The drinking behavior and drinking volume of the two groups were recorded during training, and the effects of quinpirole on the behavior of mice were evaluated. After training, behavioral studies such as open field test, elevated plus maze test and new object recognition test were conducted to evaluate the anxiety state and cognitive ability of the mice after modeling. In addition, immunofluorescence experiments were performed to explore the neural mechanism of behavioral changes in mice. 【Results】 Quinpirole injection combined with behavioral training for 19 days could effectively induce compulsive checking behavior without anxiety or cognitive decline in mice ($P<0.001$), and this behavior lasted more than 28 days after training. In this model, several brain regions on the cortical-striatum-thalamic-cortical circuit were activated ($P<0.0001$). 【Conclusion】 Chronic quinpirole administration combined with behavior training can effectively construct a mouse model of OCD with an obvious and stable phenotype, and effectively shorten the time required for modeling.

Key words: Quinpirole; obsessive-compulsive disorder; obsessive-compulsive model; mouse

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2022, 43(3): 412-421]

收稿日期:2022-02-22

基金项目:广东省自然科学基金(2019A1515011308)

作者简介:罗宇翀,硕士生,研究方向:强迫症的发病机制,E-mail:519139987@qq.com;温盛霖,通信作者,教授,E-mail:wenshl@mail.sysu.edu.cn

强迫症(obsessive-compulsive disorder, OCD)是一种以过度的强迫思维和/或不可抗拒的冲动行为为主要症状的精神疾病,严重影响患者的生活质量^[1]。强迫症在人群中的发病率高达2%~3%,加上其高致残率,因此被世界卫生组织列为十种最严重的疾病之一^[2-3]。目前针对强迫症的治疗主要有3个方面:①以选择性五羟色胺再摄取抑制剂(selective serotonin reuptake inhibitors, SSRIs)为一线药物的药物治疗;②以基于暴露与反应预防(exposure and response prevention, ERP)相结合的认知行为疗法为首选的心理治疗^[4];③副作用较大的手术治疗,包括前扣带回切开术等^[5]。其中最为有效的SSRI药物治疗也仅对40%~60%的患者有效,且通常不会达到症状的完全缓解^[6-8]。治疗手段有限及效果不理想的原因在于人们对强迫症的了解有限,尽管以往有多个学者对强迫症的发生和发展进行研究,但强迫症的病因及发病机制尚不明确。对于疾病的研究,尤其是精神疾病的研究,动物模型扮演着不可或缺的角色,尤其是小鼠疾病模型,因其饲养成本低,繁殖周期短,能够完成许多无法在人体进行的实验,使其成为科学研究的重要工具。经过多年的发展,科学家们已经开发了数种强迫症小鼠模型,涵盖了基因模型^[9]、光遗传诱导模型^[10]和药理诱导模型^[11]等。其中药理诱导强迫症模型是指通过对小鼠使用药物,诱导其产生强迫样行为。药理诱导模型有着操作简单且效果稳定的优点,但其效应常与所用药物的药理学相关,药物所引起的强迫行为常随着药物代谢体内药物水平下降而消失。而强迫症作为一种慢性疾病,根据ICD-10,当强迫症状至少持续两周才能被诊断为强迫症^[12]。现有大部分药理模型难以满足这个条件。喹吡罗(quinpirole, QNP)是一种多巴胺受体激动剂,根据已有的报道,喹吡罗能够在大鼠身上诱导出稳定的强迫样检查行为^[13]。近年来更是有科学家研究出一种由喹吡罗诱导的慢性强迫症小鼠模型,但其造模时间长达38 d,其科学研究时间的成本较大^[14]。在本研究中,我们通过对喹吡罗诱导的强迫症小鼠模型的训练方法进行了优化,缩短了造模的时间,优化了分析的方法,并得到了一种更加稳定、强迫行为维持时间更长的慢性模型。

1 材料与方法

1.1 实验动物及其分组

所有实验均按照国家颁布的《医学实验动物管理实施细则》进行,实验方案已由中山大学动物关爱与使用委员会批准。为避免雌性小鼠雌激素变化对行为结果的影响,本研究只选用雄性C57BJ6小鼠(8~10周龄)。所有实验小鼠均为无特定病原体级(SPF),并在标准实验室条件下饲养,包括人为控制的12 h光暗周期,24 h可自由取用食物和水,温度22℃,湿度60%,笼子里覆盖着玉米芯碎屑。在所有实验之前,小鼠被饲养了至少一周,以熟悉环境,并在实验前随机分为对照组和实验组。

在行为学实验中,为了避免声音、亮度、操作者的气味等环境因素可能影响行为结果,我们在实验开始前的一周,操作者每天通过抚摸的方式让小鼠熟悉气味;在实验过程中,尽可能保证每组小鼠的实验环境相同,包括相同的光照强度,相对安静的环境等。

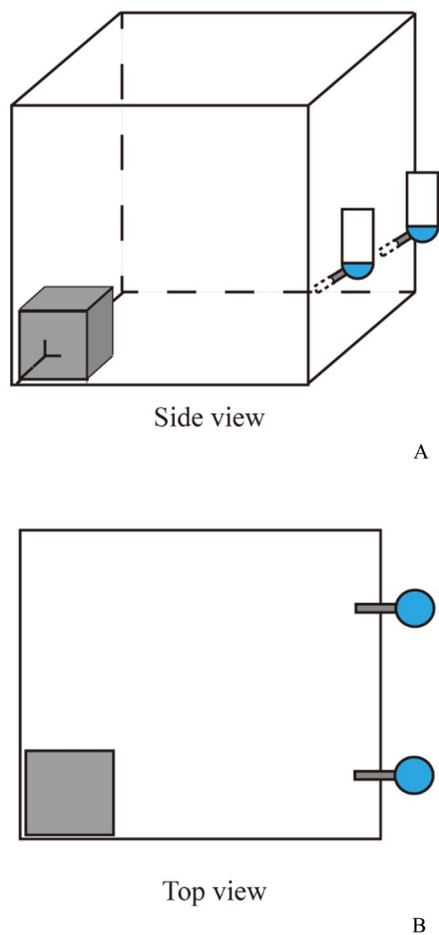
1.2 实验用主要装置与试剂

旷场实验装置、高架十字迷宫实验装置、新物体识别实验装置、强迫行为训练装置【自制,包括一个不透明箱体(长×宽×高:37 cm×26 cm×34 cm),一个黑色不透明盒子(长×宽×高:8 cm×7 cm×7 cm,其中一面无挡板)作为小鼠栖息处,两个密闭性良好的饮水瓶(图1)以及动物行为学拍摄系统(上海欣软信息科技有限公司)。TopScan 3.0软件用于分析旷场实验、高架十字迷宫实验和新物体识别实验的数据。

喹吡罗(Sigma, 017M4615V)使用前溶于无菌生理盐水中,给药剂量为0.75 mg/kg。蔗糖配成10%的糖水使用。免疫荧光实验主要试剂:三溴乙醇(Sigma, TA8402-5G),磷酸盐缓冲液(Biosharp, 240486),40 g/L多聚甲醛(Boster Biological Technology, AR1068),抗c-fos抗体(Cell Signaling Technology, #2250),驴抗兔抗体Alexa Fluor 488(Invitrogen, A21206),DAPI(Sigma, D9542)。

1.3 强迫检查行为的训练及分析方法

训练过程参考原强迫检查行为的训练方法(图2A)^[14]。原训练方法如下:训练前5 d(每天1 h)将小鼠放置于训练装置内以熟悉训练装置,接着以两天一次的频率进行19次的训练,训练时长为38 d。



Side view (A) and top view (B) of training apparatus.

图1 强迫检查行为的训练装置

Fig. 1 A training device for compulsive checking behavior

训练前准备好训练时的水瓶,其中一个水瓶装清水,一个水瓶装10%的蔗糖水,并分别称量两个水瓶的质量。训练时将小鼠随机分成实验组和对照组,分别接受颈后皮下注射70 μ L生理盐水和等量的喹吡罗溶液。注射后将小鼠放入实验装置中训练2.5 h。训练结束后将小鼠放回饲养笼内,并再次称量水瓶的质量以计算训练过程中糖水或清水的消耗量。在行为分析部分,原方法统一分析训练过程中的第2个60 min小鼠往返栖息处与水或糖水饮水点的饮用次数。

在原有的训练方法下,我们对训练的频率、时长以及行为分析所选取的时间段进行了一些优化(图2B),具体过程如下:训练开始前的适应阶段如上所述。适应后进行为期19 d,每天一次的行为训练。药物的注射及实验前后水瓶的称重如上所述。训练过程的优化体现在实验组小鼠训练时间的延

长以及行为分析时间段的选择与原方法不同:由于喹吡罗对实验动物的运动具有抑制作用^[15],在现有的研究下,表明运动抑制的时间约为60 min^[16]。我们通过提前60 min为实验组小鼠注射喹吡罗溶液,以保证两组小鼠在训练装置中的训练时间大致相同,即同为2.5 h。训练过程中使用动物行为学记录系统采集训练过程中的影像。而在分析动物行为时,我们根据小鼠的活动状态选择不同时间段的行为进行匹配分析,即分别分析对照组和对照的第1、2个60 min的行为。单位时间内小鼠往返栖息处与不同水瓶位置间的饮用水或糖水的次数由人工计数。

1.4 训练后强迫检查行为检测实验

在连续训练19 d后第1天,我们把小鼠放进训练装置中,记录2 h的小鼠饮水行为。接着在第2天,我们先将两个水瓶的位置交换,再将小鼠放入训练装置中,记录2 h的饮水行为。

1.5 旷场实验

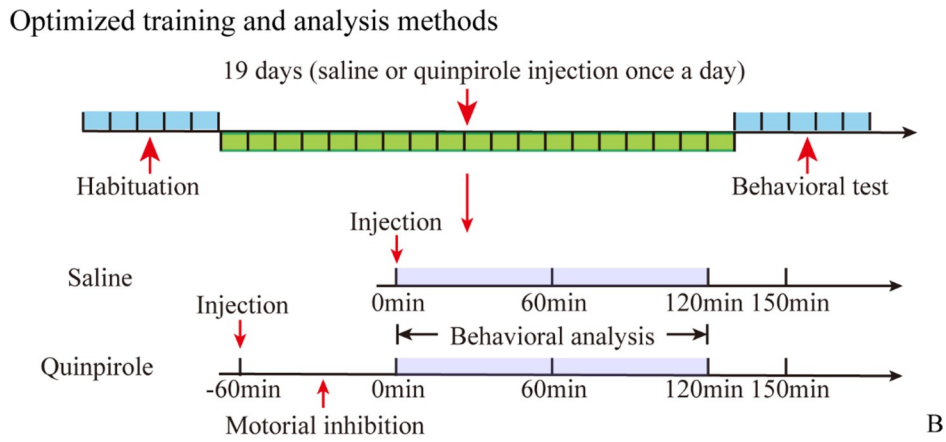
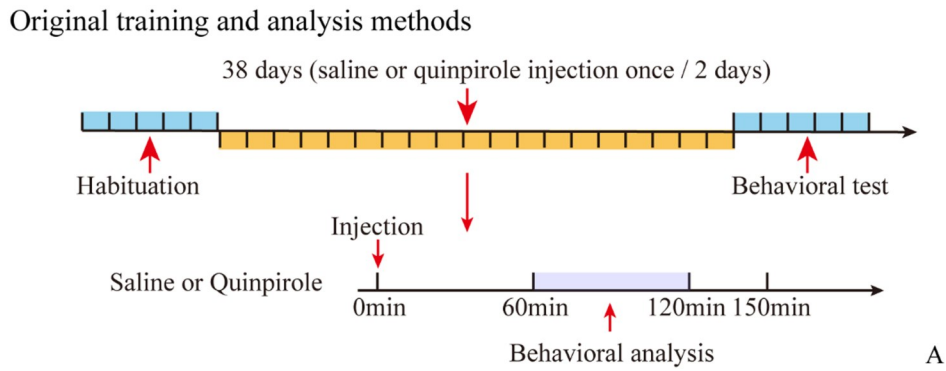
我们使用一个开阔的场地来评估焦虑行为^[17],我们制作了一个具有开阔空间的装置,该装置由一个边长35 cm、高25 cm的无孔不透明塑料盒组成。将实验动物放置在开阔场地的中心,测定10 min内小鼠行为。用Topscan软件测量小鼠进入中心区域的次数、在中心区域(面积为实验装置面积的50%的正方形区域)的停留总时间、运动的总距离。

1.6 高架十字迷宫实验

使用高架十字迷宫(长30 cm、宽5 cm、高50 cm)评估焦虑行为^[18]。闭合的臂被10 cm高的挡板包围。每只小鼠被放置在迷宫的中心区域时面对其中一个张开的臂,随后任其进行10 min的自由探索。用Topscan软件测量了小鼠进入开臂的次数和时间。

1.7 新物体识别实验

根据以往的研究,新物体识别实验分为三个阶段^[19]。第一阶段:熟悉阶段,将小鼠放入无物体的实验装置中自由活动以熟悉实验装置。第二阶段:习惯化(24 h)后,将小鼠的头部朝向两个相似的物体(乐高积木塔)放入在实验装置中,自由活动10 min。第三阶段:24 h后,使用一个新的物体(组织培养瓶)取代其中一个乐高积木。再把小鼠放入实验装置内活动5 min。用Topscan软件测量第三阶段小鼠用鼻子朝向物体且在物体2 cm范围内的嗅探时间。接着通过计算辨别指数以衡量小鼠对



A: Original training and analysis methods; B: Optimized training and analysis methods.

图2 强迫检查行为的原有的及改进的训练及分析方法

Fig. 2 Original and optimized methods of training and analysis of compulsive checking behavior

新物体的偏好程度。

$$\text{辨别指数} = \frac{\text{新物体嗅探时间}}{\text{新物体嗅探时间} + \text{旧物体嗅探时间}} \quad (1)$$

1.8 免疫荧光实验

我们在训练完成后的第1天,将两组小鼠分别放入训练装置中让其自由探索。实验结束后立即对小鼠进行灌注处理:用三溴乙醇(20 mg/kg)充分麻醉小鼠后,先用0.01mol/L磷酸盐缓冲液灌注,再用40 g/L多聚甲醛进行预固定。而后取出脑组织,用40 g/L多聚甲醛后固定24 h。接着用300 g/L蔗糖溶液脱水2 d。脱水完成后使用冰冻包埋脑组织,并通过冷冻切片沿大脑冠状面将其切成40 μm的切片。收集切片并置于磷酸盐缓冲液中清洗3次,接着进行通透和封闭。完成后用抗c-fos抗体孵育20 h。一抗孵育结束后用磷酸盐缓冲液清洗3次。然后,孵育荧光二抗(Alexa Fluor 488 偶联的驴抗兔抗体)约2 h。完成后用磷酸盐缓冲液清洗3次。最后用DAPI染细胞核约5 min。再次用

磷酸盐缓冲液清洗脑片,并贴于载玻片上。封片后进行成像并分析。

1.9 统计分析

采用 Graphpad 8.0 进行数据分析处理,数据均以均值±标准误(Mean ± SEM)表示。在适当的情况下,对数据进行t检验(带 Welch 校正的非配对t检验或配对t检验)或ANOVA分析。P值≤0.05时,被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 喹吡罗诱导小鼠表现出强迫检查行为

如图2所示,我们将小鼠的行为以60 min为单位分为训练的第1小时和第2小时进行分析。通过双因素方差分析,在训练的第1小时,药物因素对小鼠饮用糖水次数影响的差异无统计学意义($F_{1,14} = 0.023, P > 0.05$),而后我们通过多重比较发现,在训练的第17天开始,喹吡罗处理的小鼠往返栖息

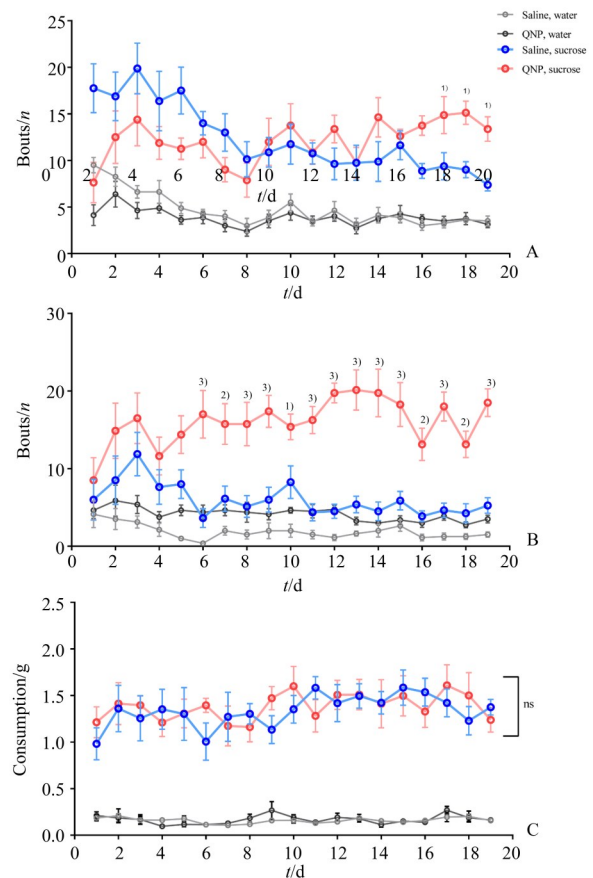
处和糖水饮水点饮用糖水的次数显著高于对照(图3A)。而在训练的第2小时内,生理盐水和喹吡罗对小鼠饮用糖水次数造成的影响存在明显的差异($F_{1,14}=45.320, P=0.000$),且在第6次注射后,喹吡罗组小鼠饮用糖水的次数显著高于生理盐水组小鼠(图3B)。接着我们对小鼠在训练过程中所消耗的糖水和水的量进行分析,结果显示,两组小鼠在训练过程消耗水和糖水的量的差异无统计学意义($F_{1,14}=0.120, P>0.05$;图3C)。

2.2 训练结束后,交换水和糖水水瓶的位置后,喹吡罗组小鼠频繁地往返于栖身处和饮用清水的位置间

训练结束后,我们通过交换两个水瓶的位置,检测小鼠的强迫行为。通过配对 t 检验,我们发现,在行为检测实验的第1小时,与交换水瓶位置前相比,交换水瓶位置后喹吡罗组小鼠饮用水的次数显著增加($t_7=3.390, P=0.012$,并且显著高于对照组交换水瓶后饮用水的次数(6.13 ± 1.70 vs. $24.50\pm 4.08, t_{14}=4.159, P=0.001$;图4A)。同样地,我们在行为检测实验的第2小时,也发现了相似的结果($t_7=3.641, P=0.008<0.01$; 3.00 ± 1.20 vs. $15.00\pm 2.16, t_{14}=4.856, P=0.000$;图4B)。

2.3 喹吡罗诱导的强迫检查行为并不是由焦虑和认知障碍引起的

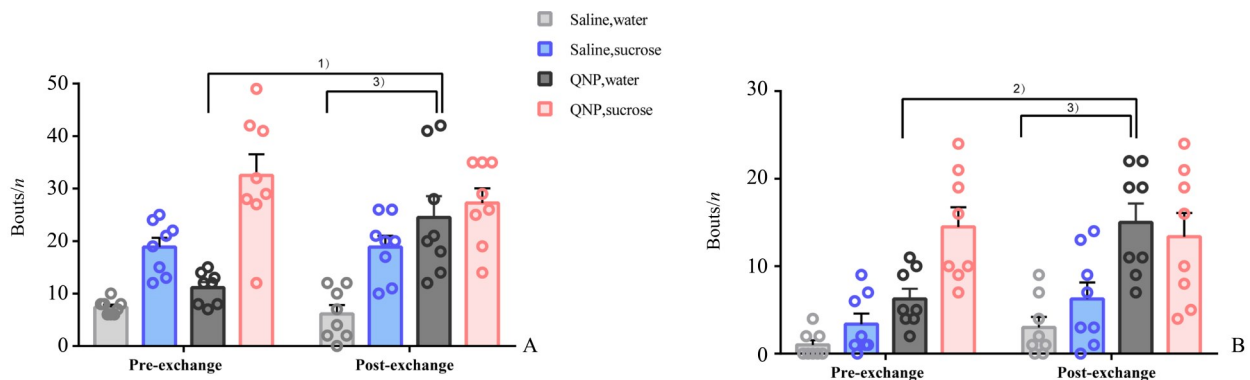
我们在造模结束后,通过几种常用的行为学实验检测小鼠的焦虑水平和认知功能。在旷场实验中,两组小鼠进入中心区域的次数(40.88 ± 4.79 vs. $35.13\pm 3.03, t_{14}=1.014, P>0.05$)和时间



A-B: During training, the number of drinking water and sucrose solution in the first hour (A) and the second hour (B) of mice in both groups. C: During training, the amount of water and sucrose consumed by mice in both groups. Data are presented as means \pm SEM ($n=8$ /group). ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.001$, ³⁾ $P<0.0001$; ns stands for no significance.

图3 喹吡罗诱导小鼠表现出强迫检查行为

Fig. 3 The mice showed obsessive-compulsive disorder-like checking behavior induced by quinpirole



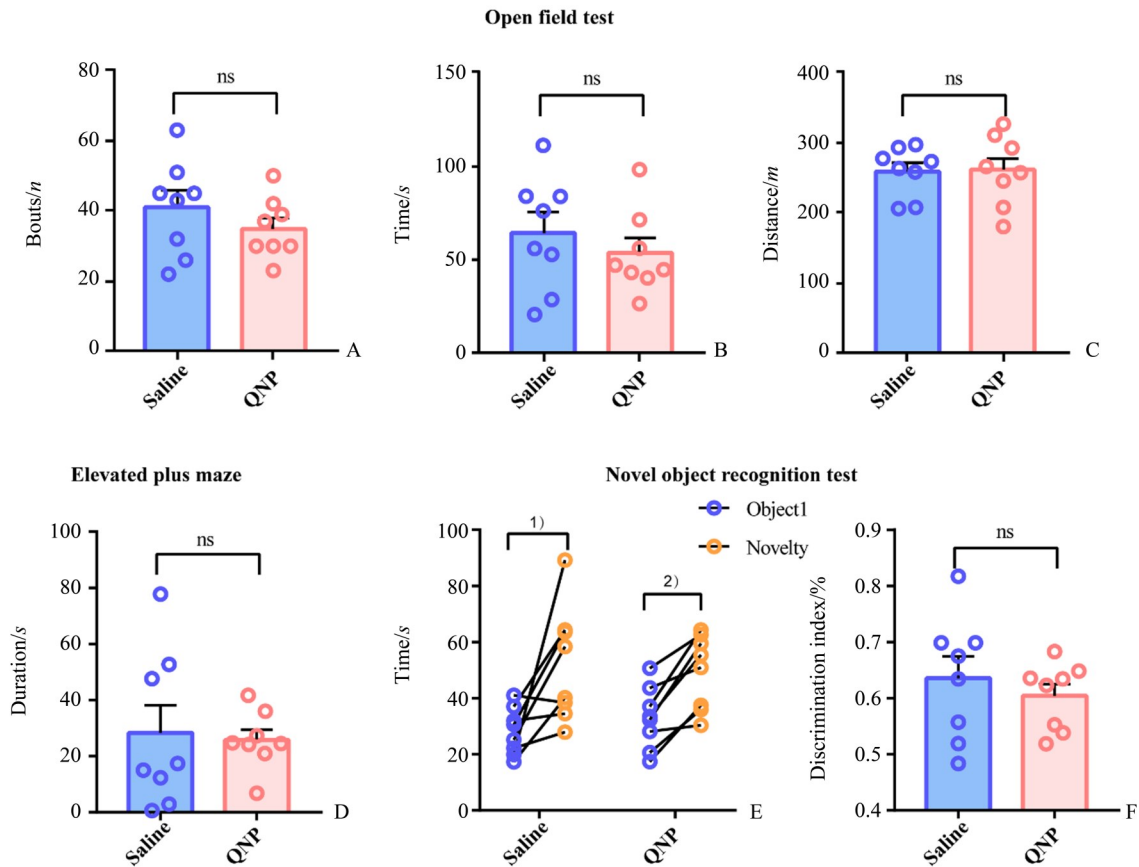
A-B: After exchanging the positions of sucrose solution and water, the frequency of drinking water was increased in quinpirole mice relative to saline mice in the first hour (A) and the second hour (B). Data are presented as means \pm SEM ($n=8$ /group). ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$.

图4 喹吡罗组小鼠强迫检查行为并不会因蔗糖水瓶位置改变而减少

Fig. 4 The obsessive-compulsive disorder-like checking behavior in the quinpirole group did not decrease with the change of sucrose bottle positions

(64.10 ± 10.75 vs. 53.37 ± 7.84 , $t_{14} = 0.806$, $P > 0.05$)以及在开阔场地运动的总路程(259.50 ± 12.40 vs. 260.90 ± 17.62 , $t_{14} = 0.064$, $P > 0.05$)的差异皆无统计学意义(图5A,B,C)。在高架十字迷宫中,两组小鼠进入开臂的时间(28.31 ± 9.80 vs. 25.77 ± 3.66 , $t_{14} = 0.242$, $P > 0.05$)的差异无统计学意义(图5D)。而

在新物体识别中,通过配对 t 检验分析发现生理盐水组和喹吡罗组小鼠探索新物体的时间都显著多于旧物体(saline: $t_7 = 2.929$, $P = 0.022$; QNP: $t_7 = 5.154$, $P = 0.001$),而两组间的辨别指数的差异无统计学意义(0.64 ± 0.04 vs. 0.60 ± 0.02 , $P > 0.05$; 图5E,F)。



A–C: The number (A) and time (B) of entry into the central area and the total distance (C) in OFT. D: Time to enter open arm in EPM. E and F: The exploration time (E) and the discrimination index (F) in the NOR test. Data are presented as means \pm SEM ($n=8$ /group). ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; ns stands for no significance.

图5 喹吡罗模型的小鼠无焦虑行为以及认知功能障碍

Fig. 5 The quinpirole mice had no anxiety behavior or cognitive dysfunction

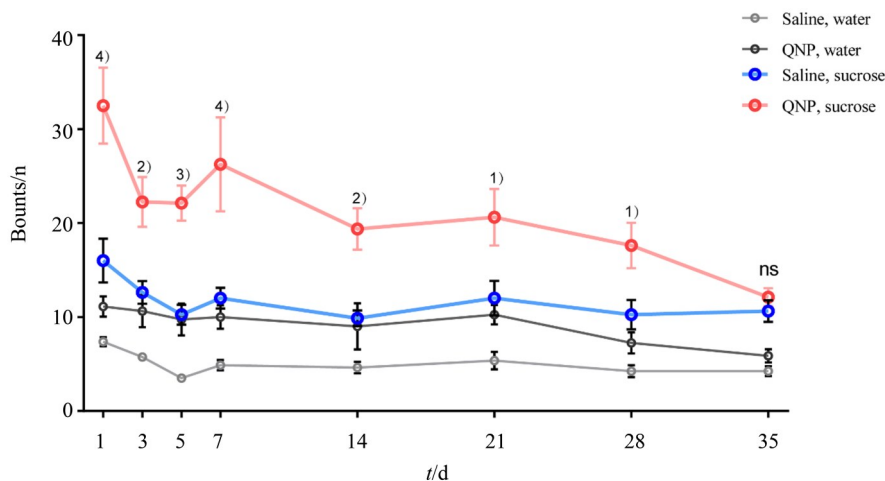
2.4 喹吡罗诱导的强迫检查行为可以维持4周以上

在训练结束后的28 d里,我们仍然用该训练装置检测小鼠的强迫检查行为,然后通过双因素方差分析的方式对数据进行统计分析,结果发现,训练结束后的28 d,实验组饮用糖水的次数仍显著高于对照组($F_{1,14} = 20.860$, $P = 0.000$; 图6)。

2.5 喹吡罗诱导的慢性强迫症模型小鼠存在多个脑区神经元活性增加的现象

在上述的行为学实验中,我们发现喹吡罗可以

诱导小鼠表现慢性强迫检查行为。我们希望进一步了解引起这种行为发生背后的神经机制。因此我们进行了c-fos的免疫荧光实验。c-fos基因的表达是神经元细胞活性的生物指标,当某个脑区的c-fos表达增加时,能够反应相应的脑区产生了明显的活动^[20]。在这个实验中,我们发现模型组小鼠的c-fos在前边缘皮层(prelimbic cortex, PrL; $t_{14} = 5.554$, $P = 0.000$)、眶额叶皮层[包括外侧眶皮质(lateral orbital cortex, LO)、腹侧眶皮质(ventral orbital cortex, VO; LO+VO: $t_{14} = 6.384$, $P = 0.000$)和内



After training, the number of drinking water and sucrose solution in both groups. Data are presented as means \pm SEM ($n=8/\text{group}$). ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$, ⁴⁾ $P < 0.0001$; ns stands for no significance.

图6 喹吡罗诱导的强迫检查行为可以持续28 d以上

Fig. 6 Quinpirole-induced compulsive checking behavior could last more than 28 days

侧眶皮质 (medial orbital cortex, MO; $t_{14}=8.341$, $P=0.000$)、前额叶皮层 [包括扣带皮质 1 区 (cingulate cortex, area 1, Cg1; $t_{14}=9.935$, $P=0.000$) 和扣带皮 2 区 (cingulate cortex, area 2, Cg2, $t_{14}=9.815$, $P=0.000$]、纹状体 (corpus striatum, CPu; $t_{14}=5.554$, $P=0.000$) 以及下丘脑 (hypothalamus; $t_{14}=8.426$, $P=0.000$) 的表达水平较对照组小鼠而言显著升高 (图 7A, B)。

3 讨论

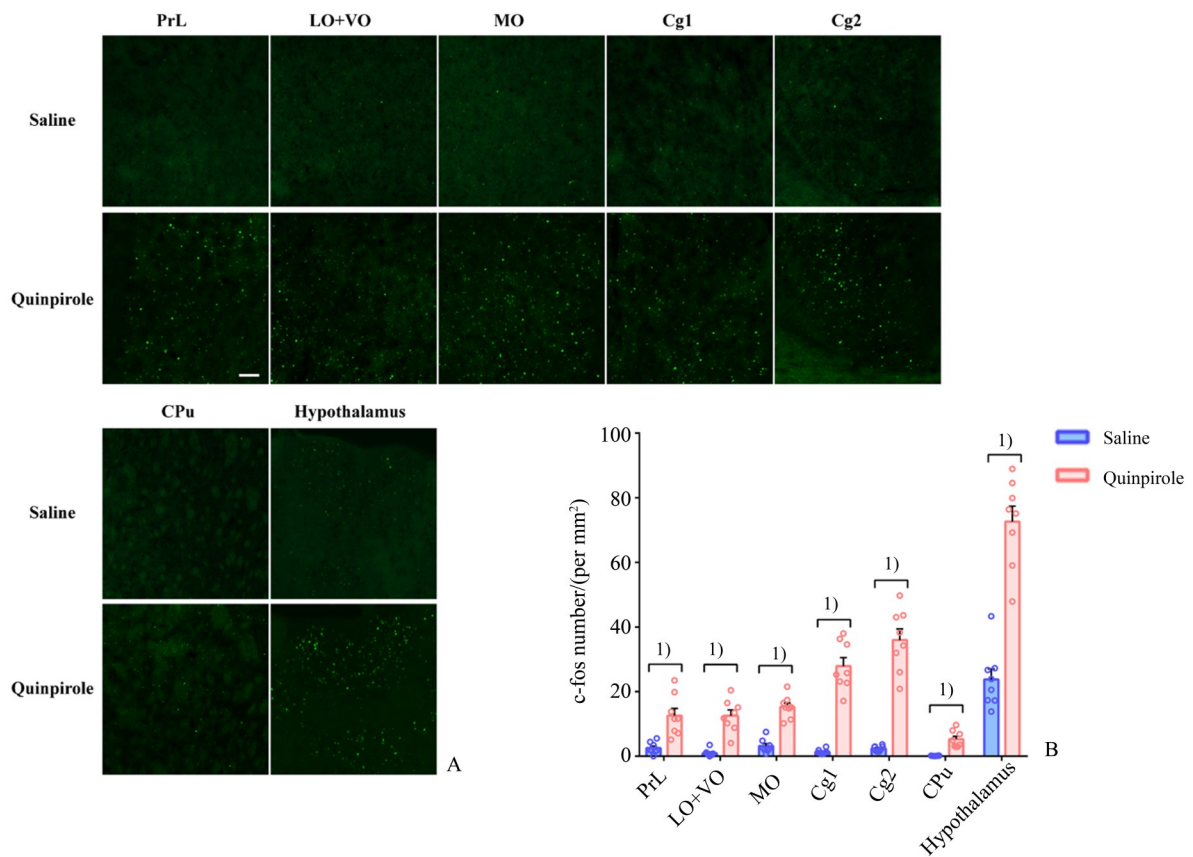
强迫症是一种以强迫思维和强迫行为为主要症状的常见的精神疾病,其中强迫检查是强迫症患者中最常见的强迫行为^[21-23]。喹吡罗能够诱导大鼠进行有规律的运动,并与正常大鼠相比,更倾向于进入固定的盒子中^[13],这样的行为与人类的强迫检查症状相似,因此喹吡罗大鼠模型作为一种经典的药理模型出现在强迫症的相关研究中。但在科学研究中,与大鼠相比,小鼠是一种更加简单易得、饲养成本更低的实验动物,因此使用喹吡罗在小鼠身上诱导出稳定的强迫样行为,对强迫症的研究来说,无疑是非常有益的。

由喹吡罗诱导的小鼠强迫检查模型的构建是一个很大的进步^[14],但是 38 d 的造模时间过长。本研究,我们通过优化造模方法,即调整了给药和训练的频率,发现连续 19 d 应用喹吡罗后进行行为训练,能有效诱导出强迫样检查行为,并且该模型在

训练结束后,其强迫检查行为能够持续 28 d 以上。我们为小鼠提供了一个相对它们体型来说较为宽敞的训练场地,以便更好地观察小鼠的行为。通过提前为实验组小鼠注射药物,以确保两组小鼠在装置中的训练时间大致相同。在这样的训练方式下,实验组小鼠在训练阶段的第 6 天即可表现出明显的强迫样行为,对我们将进行的强迫症发生、发展的研究有很大的帮助。

通过双因素方差分析,我们发现,在训练的第 1 个小时,药物因素对两组小鼠饮用糖水的次数影响的差异无统计学意义,我们考虑是由于小鼠自身对糖水的渴望引起的。对照组小鼠在训练的第 1 小时里摄取了足够的糖水后,第 2 小时进入活动较低的状态。而实验组小鼠,尽管在第 1 小时摄取了足够的糖水,但由于强迫症状的存在,它仍然进行大量的摄水行为。

强迫症患者常伴有不同程度的焦虑^[24-25],但在我们的模型中,通过 OFT 和 EPM 两个实验都没有观察到实验组小鼠有异于对照组小鼠的焦虑行为。我们认为,这个模型的小鼠可能存在环境相关性焦虑,与“广场恐惧症”等疾病相似,焦虑的情绪会在特定的地点发生^[26]。在训练过程中,我们常常发现实验组小鼠会产生更多的粪便 (数据未收集),而小鼠在紧张焦虑时往往有更多的粪便产生^[27-28]。随后,我们在 NOR 实验中验证了喹吡罗模型并未出现认知功能的下降,说明实验组小鼠在强迫行为检测阶段,水瓶位置进行交换后仍然频繁地到访原来



A: Representative image of c-fos in different brain regions. Scale bar: 100 μ m. B: Compared with the control group, the expression of c-fos in PrL, OFC, ACC, CPu, hypothalamus of experimental mice was significantly increased. Data are presented as means \pm SEM ($n=3$ /group, 2 or 3 brain slices per mice). ¹⁾ $P<0.0001$.

图7 喹吡罗模型小鼠多个脑区的c-fos表达增加

Fig. 7 C-fos expression increased in several brain regions of quinpirole model mice

糖水位置的行为不是记忆障碍所引起的。此后我们对小鼠的强迫行为的持续时间进行了实验。在我们对小鼠训练的方法进行了改进后,并不削弱小鼠强迫行为的发生,反而能使小鼠的强迫行为持续更长的时间,也有利于我们完成更长时间的观察。

最后我们用c-fos的表达来衡量神经元的活动,因为重复动作电位的发生常常伴随着神经元c-fos的表达增加^[20]。当某个脑区c-fos表达增加时能够反应相应的脑区产生了明显的活动,即其神经元活性明显增加。我们发现,实验组小鼠的OFC、PrL、ACC、CPu、和下丘脑中的c-fos表达显著高于对照组小鼠。上述脑区的功能在以往的研究证明它们的功能与强迫症密切相关。以往的研究结果提示,OFC和ACC参与调节大脑中许多重要的神经功能,如决策、计划、反应抑制和错误监测,而这些功能受损也常见于强迫症^[1]。PrL作为内侧前额皮质的组成部分,参与工作记忆、注意力和决策功能

的调节^[29];CPu被认为具有调节学习、记忆、行为选择和目标导向行动等功能^[30]。有趣的是,在我们研究中发现喹吡罗小鼠显著激活的脑区与强迫症神经环路假说中的皮层-纹状体-丘脑-皮层环路(cortical-striatum-thalamic-cortical circuit, CSTC)中的脑区高度相关,即喹吡罗诱导的强迫检查行为的发生与CSTC环路的异常存在密切的关系,因此我们可以借助此模型进一步探讨强迫症的发生机制。

我们对现有的三种由喹吡罗诱导的慢性模型进行了比较,与大鼠模型相比,小鼠模型在训练中有以下几个优点:①动物饲养成本低;②训练所需空间小;③造模时间短;④症状维持时间长。但在小鼠模型上,我们暂时未观测到仪式性行为的发生。此外,在小鼠模型中,通过我们改进后的训练方式,不仅进一步缩短了喹吡罗模型的造模周期,而且延长了强迫检查行为持续的时间(表1)。

表1 现有喹吡罗诱导的强迫症模型的比较

Table 1 Comparison of existing quinpirole-induced obsessive-compulsive disorder models

Species	Dosage (mg/kg)	Dimensions of training device (cm ³)	Training frequency	Training cycle	Duration of symptoms	Ritualistic behavior
Rat	0.50	160×160×60	Twice a week	10 weeks	-	+
Mouse	0.75	25×16×19	Once two days	38 days	21 days	-
Mouse	0.75	37×26×34	Once a day	19 days	More than 28 days	-

当然,在我们的模型仍然存在不足的地方。首先,小鼠饮水行为的统计暂时没有很好的方法去代替,需要大量的人力去完成。其次,强迫症作为一种慢性疾病,我们优化了造模方法缩短了造模所需的时间,但缩短“疾病”的发生过程,对其本身是否有影响需要进一步讨论。再者,由药物诱导的模型仍有许多未知的问题需要我们深入探究,进一步优

化喹吡罗模型仍有较大的空间。最后,本研究采用小鼠作为研究对象,与大多数动物研究相似,未来如何由动物实验向临床转化仍存在巨大的挑战。

综上所述,在我们的研究中,我们建立了一种造模时间短、强迫症状出现早、症状维持时间长的慢性强迫症小鼠模型,为进一步研究强迫症的发病机制提供了一种优质的实验工具。

参考文献

- [1] Robbins TW, Vaghi MM, Banca P. Obsessive-compulsive disorder: puzzles and prospects [J]. *Neuron*, 2019, 102(1): 27-47.
- [2] Mahjani B, Klei L, Hultman CM, et al. Maternal effects as causes of risk for obsessive-compulsive disorder[J]. *Biological Psychiatry*, 2020, 87(12): 1045-1051.
- [3] Goodman WK, Storch EA, Sheth SA. Harmonizing the neurobiology and treatment of obsessive-compulsive disorder[J]. *Am J Psychiatry*, 2021, 178(1):17-29.
- [4] Szechtman H, Harvey BH, Woody EZ, et al. The psychopharmacology of obsessive-compulsive disorder: a preclinical roadmap [J]. *Behav Neurosci*, 2019, 72(1):80-151.
- [5] Shephard E, Stern ER, van den Heuvel OA, et al. Toward a neurocircuit-based taxonomy to guide treatment of obsessive-compulsive disorder[J]. *Mol Psychiatry*, 2021, 26(9):4583-4604.
- [6] Dell'Osso B, Altamura AC, Mundo E, et al. Diagnosis and treatment of obsessive-compulsive disorder and related disorders [J]. *Int J Clin Pract*, 2007, 61(1): 98-104.
- [7] Fineberg NA, Brown A, Reghunandan S, et al. Evidence-based pharmacotherapy of obsessive-compulsive disorder [J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2012, 15(8):1173-1191.
- [8] Fineberg NA, Gale TM. Evidence-based pharmacotherapy of obsessive-compulsive disorder [J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2005, 8(1):107-129.
- [9] Parvopassu A, Oggiano M, Festucci F, et al. Altering the development of the dopaminergic system through social play in rats: Implications for anxiety, depression, hyperactivity, and compulsivity [J]. *Neurosci Lett*, 2021, 760:136090.
- [10] Corbit VL, Manning EE, Gittis AH, et al. Strengthened inputs from secondary motor cortex to striatum in a mouse model of compulsive behavior [J]. *J Neurosci*, 2019, 39(15):2965-2975.
- [11] Reilly KCO, Connor M, Pierson J, et al. Serotonin 5-HT1B receptor-mediated behavior and binding in mice with the overactive and dysregulated serotonin transporter Ala56 variant [J]. *Psychopharmacology*, 2021, 238(4):1111-1120.
- [12] Stein DJ, Costa D, Lochner C, et al. Obsessive-compulsive disorder[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1):52.
- [13] Szechtman H, Sulis W, Eilam D. Quinpirole induces compulsive checking behavior in rats: a potential ani-

- mal model of obsessive-compulsive disorder (OCD) [J]. *Behav Neurosci*, 1998, 112(6):1475-1485.
- [14] Sun T, Song Z, Tian Y, et al. Basolateral amygdala input to the medial prefrontal cortex controls obsessive-compulsive disorder-like checking behavior [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2019, 116(9):3799-3804.
- [15] Eilam D, Szechtman H. Biphasic effect of D-2 agonist quinpirole on locomotion and movements [J]. *Eur J Pharmacol*, 1989, 161(2-3):151-157.
- [16] 田文博. 小鼠强迫样行为的模型建立和神经环路机制探究[D]. 合肥:中国科学技术大学, 2016.
Tian WB. Establishment of a mouse model of OCD-like behavior and discovery of its neural circuit mechanisms[D]. He fei: University of Science and Technology of China, 2016.
- [17] Savi FF, de Oliveira A, de Medeiros GF, et al. What animal models can tell us about long-term cognitive dysfunction following sepsis: a systematic review [J]. *Neurosci Biobehav R*, 2021, 124:386-404.
- [18] Rodgers RJ, Dalvi A. Anxiety, defence and the elevated plus-maze [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 1997, 21(6):801-810.
- [19] Leger M, Quiedeville A, Bouet V, et al. Object recognition test in mice [J]. *Nat Protoc*, 2013, 8(12):2531-2537.
- [20] Zhang D, Liu J, Zhu T, et al. Identifying c-fos expression as a strategy to investigate the actions of general anesthetics on the central nervous system [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2022, 20(1):55-71.
- [21] Ruscio AM, Stein DJ, Chiu WT, et al. The epidemiology of obsessive-compulsive disorder in the National Comorbidity Survey Replication [J]. *Mol Psychiatry*, 2010, 15(1):53-63.
- [22] Strauss AY, Fradkin I, McNally RJ, et al. Why check? a meta-analysis of checking in obsessive-compulsive disorder: threat vs. distrust of senses [J]. *Clin Psychol R*, 2020, 75:101807.
- [23] 王渊,王佩,许婷婷,等.强迫症状维度与强迫信念的相关性研究[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2019, 45(1):11-14.
Wang Y, Wang P, Xu TT, et al. The relationship between obsessive-compulsive symptom dimension and obsessional beliefs in Obsessive-Compulsive Disorder [J]. *Chin J Nerv Ment Dis*, 2019, 45(1):11-14.
- [24] Villadsen A, Thorgaard MV, Hybel KA, et al. Health anxiety symptoms in children and adolescents diagnosed with OCD [J]. *Eur Child Adolesc Psychiatry*, 2017, 26(2):241-251.
- [25] Wright KD, Asmundson GJ. Health anxiety in children: development and psychometric properties of the Childhood Illness Attitude Scales [J]. *Cogn Behav Ther*, 2003, 32(4):194-202.
- [26] Asmundson GJ, Taylor S, Smits JA. Panic disorder and agoraphobia: an overview and commentary on DSM-5 changes [J]. *Depress Anxiety*, 2014, 31(6):480-486.
- [27] Espejo EF. Effects of weekly or daily exposure to the elevated plus-maze in male mice [J]. *Behav Brain Res*, 1997, 87(2):233-238.
- [28] Mares P, Ticha K, Mikulecka A. Anticonvulsant and behavioral effects of GABA(B) receptor positive modulator CGP7930 in immature rats [J]. *Epilepsy Behav*, 2013, 28(1):113-120.
- [29] Logue SF, Gould TJ. The neural and genetic basis of executive function: attention, cognitive flexibility, and response inhibition [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2014, 123:45-54.
- [30] Richter P, Ramos RT. Obsessive-compulsive disorder [J]. *Continuum (Minneapolis)*, 2018, 24(3, Behav Neurol and Psychiatry):828-844

(编辑 孙慧兰)