

# 间氯苯哌嗪诱导的小鼠明暗箱焦虑模型 ——一种新的经济简便抗焦虑药筛选模型

谭德讲<sup>1\*</sup>, 武永敬<sup>2</sup>, 小友进<sup>2</sup>

(1. 中国药品生物制品检定所, 北京 100050; 2. 日本大正制药株式会社综合研究所, 日本 330-8530)

**摘要:** 目的 建立经济简便的抗焦虑药模型。方法 用间氯苯哌嗪(*mCPP*)诱导产生焦虑, 观察 *ddy* 小鼠和 ICR 小鼠在明暗箱的行为表现。结果 *mCPP* 在  $sc\ 1\sim 4\ mg\cdot kg^{-1}$  的剂量下即可显著降低 *ddy* 小鼠在明箱的活动次数, 而对暗箱的活动次数影响不显著; *mCPP* 在  $sc\ 2\sim 10\ mg\cdot kg^{-1}$  的剂量下对 ICR 小鼠在明箱的活动次数影响不明显; 用地西洋对该模型进行验证, 发现只用较小的样本量即可得出显著结果。结论 *ddy* 小鼠可取代 Wistar 大鼠进行 *mCPP* 诱导焦虑的明暗箱模型, 且简便易得, 经济有效。

**关键词:** 间氯苯哌嗪; 地西洋; 焦虑模型; *ddy* 小鼠; ICR 小鼠

中图分类号: R965; R971.4 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2000)08-0580-03

临床上抗焦虑药主要是用于一些病理性的、较为恶化的焦虑症状的治疗, 因此, 建立一个处于病理性或重症型焦虑状态的动物模型来评价该类药物是合理和必要的。自 1987 年 Charney<sup>[1]</sup> 等发现间氯苯哌嗪(*mCPP*) 可致焦虑并引起人的广场恐怖和恐慌型恐怖症后, 许多学者<sup>[2-6]</sup> 对其中枢作用机理和动物行为等的影响进行了深入的研究。1998 年, Bilker-Gorzo 等<sup>[7]</sup> 在前人工作的基础上, 建立了大鼠 *mCPP* 诱导焦虑的明暗箱模型, 并对各种不同作用机理的抗焦虑药、抗精神病药和抗癫痫药等进行了验证, 从而证明该模型是一个很实用的筛选抗焦虑药物模型。但是, 使用大鼠并不经济, 且实验要求空间大, 工作量大。因此, 本工作主要探讨改用小鼠在该模型应用的可行性。

## 实验材料

**药品和试剂** 氯苯哌嗪(*m*-chlorophenylpiperazine, *mCPP*): Sigma 公司产品, Lot. 26H3422。使用时将本品溶于生理盐水中。地西洋(diazepam): 日本和光纯药工业株式会社产品(纯度 98%), Lot. ACR5003。用时加入 0.2% CMC 形成混悬液, 储存于棕色瓶中。

**动物** *ddy* 小鼠: 日本 SLC 公司繁育的 SPF 级

动物, 4 周龄, ♂。ICR 小鼠: 日本 SLC 公司繁育的 SPF 级动物, 4 周龄, ♂。实验环境 12L: 12D, 室温  $(25\pm 1)\ ^\circ C$ , 湿度  $55\% \pm 2\%$ , 环境亮度 300 lx。实验前 1 d 将动物放于工作环境适用, 动物可自由进食、进水。

**仪器** 动物活动记录器: MK-Animex; 型号: DSE; 购自日本室町机械株式会社。设置 A-15 uA, B-45 uA, Turing-30 uA。明暗箱: 由明箱和暗箱体积均为  $(20\ cm \times 20\ cm \times 14\ cm)$  以及连接明暗箱的过道  $(10\ cm \times 5\ cm \times 7\ cm)$ 。

## 方法和结果

### 1 *mCPP* 对 *ddy* 小鼠在明暗箱中活动性的影响

首先将 *ddy* 小鼠置于实验环境适应 12~24 h。实验操作在 10 am 到 3 pm。将动物随机分为 5 组, 每组 8 只, 然后分别 *sc*, *mCPP* 0.5, 1.0, 2.0 和 4.0  $mg\cdot kg^{-1}$ , 对照组 *sc* 生理盐水。20 min 后将动物分别放于明暗箱的明箱中央, 记录 5 min 内各组小鼠在明箱和暗箱中的活动次数。实验结果经 *t*-检验进行统计。结果见图 1。

从图 1 可见, *mCPP* 自  $1.0\ mg\cdot kg^{-1}$  可显著减少 *ddy* 小鼠在明箱的活动次数 ( $P < 0.01$ ); 剂量在  $1.0\sim 4.0\ mg\cdot kg^{-1}$ , 各剂量组之间在明箱内的活动次数无显著差异。*mCPP* 剂量在  $0.5\sim 4\ mg\cdot kg^{-1}$ , 对暗箱的活动次数影响不大。

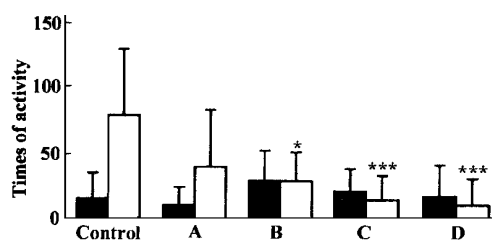


Fig 1 The effect of *m*-chlorophenylpiperazine (*m*CPP) on the activity of *ddy* mice in the light-dark box. The activity of mice was recorded for 5 min by MK-Anemex in a light-dark box 20 min after sc *m*CPP. The control group was treated with normal saline. ■ Activity in the dark box; □ Activity in the light box. A: *m*CPP 0.5 mg·kg<sup>-1</sup>; B: *m*CPP 1.0 mg·kg<sup>-1</sup>; C: *m*CPP 2.0 mg·kg<sup>-1</sup>; D: *m*CPP 4.0 mg·kg<sup>-1</sup>. *n* = 8, \* *P* < 0.01, \*\*\* *P* < 0.001 vs normal control in the light box

## 2 *m*CPP对ICR小鼠在明暗箱中活动性的影响

首先将ICR小鼠放于实验环境适应12~24 h。实验操作在10 am到3 pm。将动物随机分为4组,对照组(sc生理盐水, *n* = 10), *m*CPP 2.0 mg·kg<sup>-1</sup>组(*n* = 6), *m*CPP 5.0 mg·kg<sup>-1</sup>组(*n* = 10), *m*CPP 10.0 mg·kg<sup>-1</sup>组(*n* = 6)。 *m*CPP均为sc给药。20 min后将动物分别放于明暗箱的明箱中央,记录5 min内各组小鼠在明箱和暗箱中的活动次数。实验结果经*t*检验进行统计。结果见图2。

结果表明, *m*CPP各剂量组均可显著减少ICR小鼠在暗箱的活动次数,但对明箱的活动次数影响不大,只在10.0 mg·kg<sup>-1</sup>的剂量明显减少ICR小鼠在明箱内的活动次数(*P* < 0.05)。

## 3 地西洋对正常ddy小鼠和mCPP诱导焦虑的ddy小鼠的抗焦虑作用比较

实验操作条件同上。将动物随机分为4组,每组6只,即0.2% CMC组、地西洋1 mg·kg<sup>-1</sup>组、0.2% CMC + *m*CPP 1 mg·kg<sup>-1</sup>组和地西洋1 mg·kg<sup>-1</sup> + *m*CPP 1 mg·kg<sup>-1</sup>组; po 0.2% CMC或地西洋1 mg·kg<sup>-1</sup> 30 min后, sc *m*CPP 1 mg·kg<sup>-1</sup>或生理盐水。20 min后,将动物分别放于明暗箱的明箱中央,记录5 min内各组小鼠在明箱和暗箱中的活动次数。结果见图2。

由图2可见, *m*CPP 1.0 mg·kg<sup>-1</sup>组可显著减少正常 *ddy* 小鼠在明箱的活动次数(*P* < 0.01),对暗箱的活动次数影响不显著(*P* > 0.05)。正常 *ddy* 小鼠给于地西洋后,其在明箱的活动次数明显增加,但统计无显著差异,说明其抗焦虑作用在正常 *ddy*

小鼠中难以观测。当给于 *m*CPP 1.0 mg·kg<sup>-1</sup>造成焦虑后,地西洋的抗焦虑作用即可非常容易地从该模型中得到。由图中可见,在样本量较小的情况下地西洋即可显著增加 *ddy* 小鼠的活动次数(*P* < 0.05)。

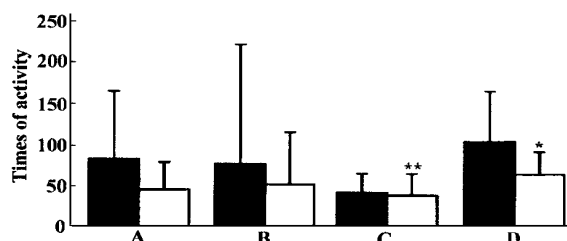


Fig 2 The mice were treated po with either CMC 0.2% or diazepam 1 mg·kg<sup>-1</sup> for 30 min, then was administered sc *m*CPP; 20 min later, the mice were put into light-dark box individually and the times of activity was recorded by MK-Anemex for 5 min. ■ Activity in the dark box; □ Activity in the light box. A: CMC 0.2%; B: Diazepam 1.0 mg·kg<sup>-1</sup>; C: CMC 0.2% + *m*CPP 1.0 mg·kg<sup>-1</sup>; D: Diazepam 1.0 mg·kg<sup>-1</sup> + *m*CPP 1.0 mg·kg<sup>-1</sup>. *n* = 6, \*\* *P* < 0.01 vs 0.2% CMC (carboxy methyl cellulose), \* *P* < 0.05 vs 0.2% CMC + *m*CPP 1 mg·kg<sup>-1</sup>

## 讨 论

以往实验研究中,所用的动物模型多用动物暂时性、生理性焦虑行为的改变来评价,该模型有一定偏差,且有的实验结果难以确定。如明暗箱法是用抗焦虑药的一个简便易行的方法,但实验时仅使用正常动物,即使强抗焦虑药地西洋也难以得出有效结果(大正公司综合研究所内部资料 and 我们的实验结果都可看到); Bilkei-Gorzo等在1998年改用 *m*CPP诱导焦虑的大鼠造成动物的脑内5-HT递质系统发生变化,是第一个部分模拟临床病理性焦虑的模型,并用各种已知抗焦虑药和非抗焦虑药进行验证,证明各种类型的抗焦虑药在此模型仍然有效,且能够与非抗焦虑药区分开,认为是一个非常好的筛选抗焦虑药的方法。我们改用小鼠后,首次证明 *m*CPP在 *ddy* 小鼠中效果非常明显,在1~2 mg·kg<sup>-1</sup>的剂量下即可致显著的焦虑症状,且有一定的量效关系。用抗焦虑药地西洋对该模型进行的实验显示,仅用较小的剂量即可观察到明显抗焦虑作用。

使用小鼠经济易得,此模型是一个评价抗焦虑

药有效可行的方法。

用实验用两种小鼠,实验可见该模型对动物有选择性。焦虑症状是通过对动物进入明箱的活动次数表现的。从该指标看,ddy 小鼠适于 mCPP 诱导焦虑的明暗箱模型,在  $0.5 \sim 4.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量下可显著减少动物在明箱的活动次数而不改变在暗箱的活动次数(与 Wistar 大鼠实验相似),但 ICR 小鼠在这种情况下难以建立起焦虑症状。这种种属差异在文献<sup>[8]</sup>中也有报道。但为什么 mCPP 致 ICR 小鼠在暗箱中活动次数减少,而对在明箱的活动次数影响较小,有待进一步研究。从行为表现推测可能与 ICR 小鼠敏感,活动较多有关。

总之,用小鼠替代大鼠的 mCPP 诱导焦虑模型,具备了简便易得、经济有效的特点,是一个可用于筛选和研制抗焦虑药的理想模型。

#### REFERENCES:

- [1] Charney DS, Woods SW, Goodwin WK, et al. Serotonin function in anxiety II. Effects of the serotonin agonist mCPP in panic disorder patients and healthy subjects [J]. *Psychopharmacology*, 1987, **92**(1): 14 - 24.
- [2] Fiorella D, Rabin RA, Winter JC. The role of the 5-HT<sub>2a</sub> and 5-HT<sub>2c</sub> receptors in the stimulus effects of m-

chlorophenylpiperazine [J]. *Psychopharmacology*, 1995, **119**(3): 222 - 230.

- [3] Conn PJ, Sanders-Bush E. Relative efficacies of piperazines at the phosphoinositide hydrolysis-linked serotonergic 5-HT<sub>1c</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptors [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1987, **242**(2): 552 - 557.
- [4] Kennett GA, Blackburn TP. Anxiogenic-like effects of mCPP and TFMP in animal models are opposed by 5-HT<sub>1c</sub> antagonists [J]. *Eur J Pharmacol*, 1989, **164**(3): 445 - 454.
- [5] Gribel G, Misslin R, Pawlowski M, et al. m-Chlorophenylpiperazine enhances neophobic and anxious behaviour in mice [J]. *Neuroreport*, 1991, **2**(3): 627 - 629.
- [6] Gibson EL, Barnfield AM, Curzon G. Evidence that mCPP-induced anxiety in the plus maze is mediated by postsynaptic 5-HT<sub>2c</sub> receptors but not by sympathomimetic effects [J]. *Neuropharmacology*, 1994, **33**(3-4): 457 - 465.
- [7] Bilkei-Gorzó A, Gyertyán I, Levay G. mCPP-induced anxiety in the light-dark box in rats—a new method for screening anxiolytic activity [J]. *Psychopharmacology*, 1998, **136**(3): 291 - 298.
- [8] Cao BJ, Rodgers RJ. Comparative effects of novel 5-HT<sub>1A</sub> receptor ligands LY293284 (full agonist), LY315712 (partial agonist), and LY297996, on Plus-maze anxiety in mice [J]. *Psychopharmacology*, 1998, **139**(3): 185 - 194.

## m CHLOROPHENYLPYPERAZINE INDUCED ANXIETY MODEL IN LIGHT-DARK BOX IN DDY MICE—A NEW ECONOMIC AND SIMPLE METHOD FOR SCREENING ANXIOLYTICS

TAN De-jiang<sup>1</sup>, Takaaki Takenaga<sup>2</sup>, Susumu Otomo<sup>2</sup>

(1. National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050, China;  
2. Taisho Pharmaceutical Co., LTD, Japan 330-8530)

**ABSTRACT:** **AIM** To develop a new economic and simple anxiety model that mimics clinical conditions for screening and studying anxiolytic agents. **METHODS** The behavior activity of ddy and ICR mice in light-dark box was observed after sc m-chlorophenylpiperazine (mCPP) to induce anxiety. **RESULTS** mCPP was shown to significantly decrease the activity of ddy mice in light box after sc  $1 \sim 4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , but the activity in dark box was not significantly changed. No significant difference was found in the light box between the  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  and the  $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  group. mCPP showed little effect on the activity of ICR mice in the light box, but it was shown to significantly decrease the activity in the dark box between  $2 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . It is easy to show the anxiolytic effect of diazepam only in a small sample by using ddy mice in this model. **CONCLUSION** It is easy to get effective result by using only a small sample in the light-dark box after mCPP-induced anxiety in ddy mice. It appears that this model is an economic and simple anxiety model that mimics clinical conditions for screening and studying anxiolytic agents.

**KEY WORDS:** m-chlorophenylpiperazine (mCPP); diazepam, anxiety model; ddy mice; ICR mice