

啮齿类动物药物成瘾模型的构建方法及应用进展

王碧莹^{1,2}, 鲁家铄³, 咎桂影³, 陈若松³, 柴景蕊³, 刘景根⁴, 王瑜琚^{1,2,3}

[1. 烟台大学药学院, 烟台 264000; 2. 烟台新药创制山东省实验室, 中科环渤海(烟台)药物高等研究院, 烟台 264117; 3. 中国科学院上海药物研究所, 上海 200120; 4. 浙江中医药大学, 杭州 310000]

[摘要] 药物成瘾也被称为药物依赖或物质使用障碍, 是一种慢性复发性脑疾病, 其主要特征为强迫性地寻求和使用药物以及失去对用药的控制能力。长期摄入成瘾物质会导致生理和心理上的依赖, 一旦停止使用, 患者便会经历一系列强烈的不适反应, 如焦虑、失眠、恶心、呕吐等, 同时还会产生对药物的强烈渴求。药物依赖分为躯体依赖和精神依赖。躯体依赖也被称为生理依赖, 是指因反复使用成瘾性药物而导致的病理性适应状态, 其在停药后会产生严重的躯体症状, 即戒断综合征。精神依赖也被称作心理依赖, 是指使用者对成瘾性药物在心理层面的渴求, 以获取服药后的特殊快感, 并需要定期或持续使用以维持这种欣快感。成瘾机制复杂, 受到遗传、环境等多种因素的影响, 并涉及记忆、奖赏和决策等高级神经活动。目前在药物成瘾领域仍缺乏有效的治疗手段。面对复杂的成瘾问题, 实验动物研究是不可或缺的。合理运用动物行为模型来模拟人类药物成瘾的情况, 可以促进对成瘾机制和脑科学奥秘的深入探索与研究。本文以啮齿类动物为主, 介绍了与躯体依赖和精神依赖相关的多种动物实验模型, 包括躯体依赖模型、行为敏化模型、条件性位置偏爱模型、药物辨别模型和自身给药模型的构建原理、方法和流程, 同时对各实验模型的特点, 论述相关模型在揭示成瘾机制方面的适用条件, 旨在为成瘾机制的研究和治疗手段的开发提供支持。

[关键词] 药物成瘾; 啮齿类; 动物模型; 躯体依赖; 精神依赖

[中图分类号] R-332; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2025)02-0158-09



Establishment Methods and Application Progress of Rodent Models for Drug Addiction

WANG Biying^{1,2}, LU Jiashuo³, ZAN Guiying³, CHEN Ruosong³, CHAI Jingrui³, LIU Jinggen⁴, WANG Yujun^{1,2,3}

(1. School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264000, China; 2. Shandong Laboratory of Yantai Drug Discovery, Bohai Rim Advanced Research Institute for Drug Discovery, Yantai 264117, China; 3. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200120, China; 4. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310000, China)

Correspondence to: LIU Jinggen (ORCID: 0000-0002-2869-0029), E-mail: jgliu@simm.ac.cn;

WANG Yujun (ORCID: 0009-0001-9056-9692), E-mail: yjwang@simm.ac.cn

[ABSTRACT] Drug addiction, also referred to as drug dependence or substance use disorder, is a chronic and recurrent brain disease. Its main characteristics are compulsive drug-seeking behavior, continued use of drugs, and a loss of control over intake. Prolonged use of addictive substances can result in both physiological and psychological dependence. When usage is ceased, individuals may experience intense discomfort, including anxiety, insomnia, nausea, vomiting, and a strong craving for the substances. Drug dependence is classified into two types: physical dependence and psychological dependence. Physical dependence describes a pathological state of adaptation that results from the repeated use of addictive

[基金项目] 山东省重点研发计划“重大神经精神疾病关键机制解析及干预新策略研究”(2024CXPT029)

[第一作者] 王碧莹(2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 神经精神药理。E-mail: 18993138153@163.com

[通信作者] 刘景根(1958—), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 神经精神药理。E-mail: jgliu@simm.ac.cn。ORCID: 0000-0002-2869-0029;

王瑜琚(1981—), 女, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 神经精神药理。E-mail: yjwang@simm.ac.cn。ORCID: 0009-0001-9056-9692

substances, leading to severe withdrawal syndrome upon cessation. Psychological dependence involves a mental craving for addictive substances, which is needed to experience the specific euphoria that follows consumption. Regular or continuous use is required to sustain these euphoric effects. The mechanisms of addiction are complex and influenced by genetic, environmental, and various other factors. They involve higher-level neurological activities, such as memory, reward, and decision-making. Currently, effective treatment methods for drug addiction are insufficient. Due to the complexity of drug addiction, laboratory animal research is essential. Using animal behavioral models to simulate human drug addiction can enhance our understanding of the mechanisms of addiction. This research offers a comprehensive overview of various animal experimental models that explore both physical and psychological dependence. It includes detailed descriptions of the methods and procedures used to assess physical dependence, behavioral sensitization, conditioned place preference, drug discrimination, and self-administration experiments. Additionally, the characteristics of each experimental model are compared, and the relevance of these models is discussed, aiming to provide support for the research on addiction mechanisms and the development of therapeutic methods.

[Key words] Drug addiction; Rodents; Animal model; Physical dependence; Psychological dependence

药物成瘾, 即药物依赖是一种慢性复发性脑疾病, 其核心特征是对成瘾物质的强烈和持续的渴求以及不可控的使用行为^[1-2]。常见的成瘾性药物分为麻醉类药物和精神类药物两大类: 麻醉类药物包括阿片类、可卡因类、大麻类和氯胺酮等; 精神类药物则包括镇静催眠药、抗焦虑药物(如巴比妥类和苯二氮卓类)、中枢兴奋剂(如苯丙胺类)和致幻剂(如麦角二乙胺)等^[3]。药物依赖通常可以分为躯体依赖和精神依赖, 许多依赖性药物兼具这2种依赖, 例如阿片类药物^[4-6]。然而, 少数药物如致幻剂仅表现出精神依赖而无躯体依赖。常用的躯体依赖模型涉及对实验动物施用一定剂量的药物后进行急性戒断, 以观察其躯体戒断症状, 如跳跃、咀嚼和上睑下垂等。精神依赖的常用模型包括行为敏化、条件性位置偏爱、药物辨别和自身给药实验^[7-9]。本文以啮齿类动物特别是大鼠、小鼠为主, 详细介绍躯体依赖、行为敏化、条件位置偏爱、药物辨别和自身给药这5种药物成瘾模型构建方法及其评价指标, 论述成瘾背后的神经机制。

1 药物成瘾实验动物

在药物成瘾研究中, 常用的实验动物包括大鼠、小鼠、果蝇、豚鼠、斑马鱼及灵长类动物(如猕猴), 其中以大鼠、小鼠和猴最为常见^[7]。在实验动物的饲养环境和福利待遇方面, 所有实验程序和过程必须严格遵守中国《实验动物管理条例》。所有实验动物应被饲养在屏障设施动物房中, 以确保它们拥有充足且健康的食物、饮用水, 以及清洁、舒适的生活环境。在

其生存期间(包括运输过程中), 实验动物应享有基本权利, 免受饥渴、不适、惊恐、折磨、疾病和疼痛, 并确保其自然行为得以实现, 受到良好的管理与照料。在实验动物管理方面, 必须遵循科学合理的操作技术规程, 善待实验动物并尊重其生命。实验应尽可能采取减少痛苦的方法, 避免或减少动物的应激、痛苦和伤害。所有动物实验的方法和目的都应符合人类道德伦理标准和国内标准^[10]。

2 药物成瘾动物模型的分类

2.1 躯体依赖模型

2.1.1 造模原理

躯体依赖是指药物戒断后的1~3周内出现的躯体戒断症状, 这些症状可能在停药后8 h内就会出现。具体表现包括烦躁不安以及自主神经系统紊乱症状, 如多汗、流泪、流鼻涕和肢体颤抖等。在动物模型中, 通常通过递增剂量的吗啡给药后, 以单次注射阿片受体拮抗剂纳洛酮来诱发急性戒断症状, 从而模拟实验动物的急性躯体戒断反应^[11-12]。

2.1.2 造模方法

成年小鼠(以C57BL/6小鼠为例)被分为生理盐水对照组和吗啡戒断组。吗啡戒断组小鼠每天早晚各注射1次吗啡(9:00和17:00), 持续5 d, 并逐日递增剂量, 分别为20、40、60、80、100 mg/kg。第6天早上继续给予100 mg/kg的吗啡, 4 h后注射纳洛酮(10 mg/kg)以诱发戒断症状。随后, 快速将实验动物置于一个圆柱形透明隔离笼中(直径30 cm, 高70 cm)

进行观察,记录在30 min内出现的躯体依赖指标^[13]。

躯体依赖指标包括跳跃、体重减轻、爪颤、湿狗样颤抖、身体伸展、齿颤、体颤、上睑下垂、嗅闻、竖毛、腹泻和咀嚼。其中,跳跃、爪颤、湿狗样颤抖、身体伸展和嗅闻根据发生次数记录;其余指标(体重减轻、齿颤、体颤、上睑下垂、竖毛、腹泻和咀嚼)以每5 min为一个时段记录,若观察期间出现1次或以上记为1,未出现则记为0;在30 min的观察期内,每个指标最多记录6次。对照组在相同时间点以生理盐水代替吗啡和纳洛酮注射,其他实验步骤保持不变。

2.2 动物行为敏化模型

2.2.1 造模原理

大多数精神依赖性药物,如阿片类物质(吗啡、海洛因)、苯丙胺、甲基苯丙胺和可卡因等,均能够引发实验动物的行为敏化(behavioral sensitization),表现为实验动物行为增加和兴奋性增强^[14-17]。这种现象也被称为反向耐受现象^[8],即反复给予相同剂量的精神类药物,不仅没有导致实验动物产生耐药性,反而增强了药物的效应。研究表明精神类药物(如吗啡)引起的行为敏化与腹侧被盖区(ventral tegmental area, VTA)介导的多巴胺释放增加密切相关^[18]。

2.2.2 造模方法

造模通常分为3个阶段:形成期、转换期和表达期。在实验开始前,成年小鼠(体重为18~20 g)需提前在屏障设施内饲养1周以适应环境,从而避免实验过程中出现应激反应。形成期每天为小鼠皮下注射10 mg/kg的嗎啡,持续5~7 d;转换期停药3~7 d(若需可延长停药时间),以促进敏化行为的形成;表达期给予实验动物相应的应激刺激或药物,以激发行为敏化反应。

行为敏化的动物主要表现为在狭窄空间内的活跃度增加。整个实验过程使用自发活动模型进行测试,主要观察指标为动物自发活动的增加。同时,行为敏化的动物也可能表现出刻板行为,如齿颤、爪颤、摇头或咀嚼。因此,需要从不同方面综合判断,以确认行为敏化的程度和表现。

2.3 条件性位置偏爱模型

条件性位置偏爱(conditioned place preference, CPP)模型是一种经典的动物实验模型,用于评估药物的精神依赖性^[19]。尽管该模型在临床和药理学研究中缺乏直接的人类试验数据支持,并且在造模过程中存在动物只能被动接受药物强化,无法体现主动觅药

行为的特征,同时暴露出对药物剂量变化敏感性不足的缺陷,但因其试验周期短、操作简便且成本低廉等优势,自1980年以来,该模型仍在药物滥用研究领域得到了广泛应用。CPP模型不仅用于研究成瘾机制,还可用于戒毒药物的开发,并在初步探索神经精神疾病药物的成瘾风险方面发挥重要作用^[20-21]。

2.3.1 造模原理

CPP的基本原理基于巴甫洛夫条件反射理论,通过将药物奖赏刺激与一个原本不具奖赏特性的环境条件建立关联,在经过训练后,使模型动物即使在没有药物奖赏刺激的情况下,该环境条件仍能引发其对该环境的偏好^[22-23]。实验设备通常由2~3个箱体组成,有时也会使用更多箱体的模型^[24]。每个箱体的环境特征明显不同,如灯光颜色、墙壁颜色和地板材质等,以便动物将这些不同的环境线索与药物奖赏刺激条件联系起来。

2.3.2 造模方法

CPP模型常用双箱体设备进行造模。给药途径不受限制,可根据药物特性选择不同的给药方式,如腹腔注射、静脉注射、皮下注射或灌胃,使其与人类的给药方式一致。实验分为前测、训练和测试3个阶段。在实验开始前,实验动物需在屏障设施中饲养约1周,以适应环境,减少应激反应和实验误差^[25-26]。

前测阶段:移除两箱体之间的隔板,让成年小鼠在两个箱体间自由穿梭15 min,记录其在不同箱体中的停留时间。剔除在任一箱体中停留时间少于180 s的动物,并将停留时间在450~720 s的箱体定义为动物的“非伴药箱”,另一箱体则为“伴药箱”。前测阶段根据动物种类和时间不同,通常持续1~3 d,每日1次,每次10~15 min。

训练阶段:在两箱体间放置隔板,使动物只能在指定箱体中活动。动物经皮下注射吗啡后,将其置于伴药箱内停留40~50 min;之后,动物腹腔注射生理盐水,并被置于非伴药箱内停留相同时间。伴药箱和非伴药箱的训练可在同1 d进行,但需间隔5 h以上或隔天进行。训练通常持续4~8 d。

测试阶段:在训练阶段结束后24~48 h进行测试,移除两箱体之间的隔板,将经过训练的动物不加任何处理放入试验箱内,使其在两个箱体间自由穿梭15 min,记录动物在每个箱体的停留时间。通常测试仅进行1次。

观察指标:主要为动物在伴药箱的停留时间,即

伴药箱测试时间。如果伴药箱测试时间显著增加,表明受试药物具有奖赏作用,动物对其产生依赖。在前测阶段,动物在伴药箱的停留时间为伴药箱前测时间。条件性位置偏爱值为常用评价指标,反映训练前后动物在伴药箱内停留时间的变化,其计算公式为:条件性位置偏爱值(s)=伴药箱测试时间-伴药箱前测时间。

2.4 药物辨别模型

药物辨别实验(drug discrimination experiment)是一种行为药理学实验,用于评估测试药物的主观效应是否与已知的滥用药物(即训练药物)相似。通常选择具有已知依赖性 or 滥用倾向的药物(如可卡因、甲基苯丙胺)作为训练药物进行建模,然后用不同剂量的待测药物进行替代测试,以评价待测药物是否能引发与训练药物类似的行为反应。踏板反应百分比通常指的是动物在药物辨别实验中对特定踏板(或杠杆)的按压反应比例,用于评估动物对训练药物的辨别能力以及测试药物的药理学特性。根据美国食品药品监督管理局的指导原则,如果待测药物能够完全或部分替代(即按压待测药物对应踏板的百分比为20%~80%)训练药物,则该药物可能具有滥用潜力。然而,只有当正确踏板反应百分比达到或超过60%时,才能表明待测药物与训练药物具有相似的主观效应,可能属于同类药物。

2.4.1 造模原理

该模型基于动物辨别训练药物诱导的内感受线索是否存在的能力。内感受线索是指来自身体内部的生理信号或感觉,这些信号通过神经系统传递到大脑,并影响认知、情绪和行为。此模型通过根据动物的操作反应提供强化(通常是食物或水)来评估这种辨别能力。给药后,动物需要作出一种反应;而给予安慰剂后,动物则需要作出另一种反应。一旦动物学会这种辨别后,就可通过研究2种反应方式的反应分布差异,来检测其他药物引起的内感受线索的相似性。泛化是指从已知信息或经验中提取规律,并将其应用到新的、未见过的语境或数据中的能力。当动物按压与训练药物相关的踏板(或杠杆) $\geq 80\%$ 时,认为受试物与训练药物“完全泛化”;当动物按压与训练药物相关的踏板(或杠杆) $< 20\%$ 时,则为“无泛化”;二者之间为“部分泛化”。在这些泛化测试过程中,任何一种反应都不会得到强化,以提供公正的偏好测量。

2.4.2 造模方法

食物训练:在食物训练开始之前,将成年SD大鼠禁食约18 h,以提高动物的活动探究能力,从而提高食物训练的成功率。食物训练每天进行1次,每次实验持续30 min或获取50次食物奖励后结束。训练期间,实验箱内的左右踏板均为有效,大鼠踩踏左踏板或右踏板均可获得食物奖励。训练以固定比率(fixed-ratio, FR)1(FR1)开始。实验启动后,实验箱中的踏板伸出,左右踏板上方的刺激灯亮起,房灯熄灭,此时大鼠踩1次左踏板或右踏板即可获得1次食物奖励,同时刺激灯熄灭,房灯亮起,2 s后刺激灯再亮,房灯熄灭,进入下一轮奖励。如果大鼠能在连续2 d,每天的30 min内获取50次奖励,则FR值增加1(即获取1次食物奖励所需的踏板次数增加1)。每次实验结束后,记录FR值、总奖励次数、总有效踏板次数、左踏板次数和右踏板次数。如果在FR10(动物连续鼻触10次后获得药物)的条件下,动物能在连续2 d,每天的30 min内获取50次食物奖励,则视为食物训练成功。未成功的动物可以选择继续训练或淘汰,而成功的动物可选择继续强化训练。

辨别训练:食物训练成功的大鼠进入辨别训练,用于辨别可卡因(10 mg/kg)和生理盐水注射液。训练每天进行1次,训练开始前15 min,给大鼠腹腔注射可卡因(10 mg/kg)或生理盐水注射液,每次训练30 min或获得50次食物奖励后结束。辨别训练以6 d为1个训练周期,前2 d给予生理盐水注射液,接下来的2 d给予可卡因,然后再分别给予生理盐水和可卡因。设置当给予可卡因时左踏板为正确踏板,而给予生理盐水时右踏板为正确踏板。辨别训练从FR1开始,即给予可卡因或生理盐水后,大鼠踩1次正确踏板获得1次食物奖励。若大鼠在连续6 d中有5 d总正确踏板反应百分比 $\geq 80\%$,则FR值增加1。实验中发现90%的大鼠能达到这一标准,因此FR值按1、2、4、6、10的顺序递增。当大鼠在FR10条件下,连续10 d中有8 d满足以下标准,则辨别训练视为成功:(1)第1次食物奖励前的正确踏板反应百分比 $\geq 80\%$;(2)总正确踏板反应百分比 $\geq 80\%$;(3)总奖励次数 ≥ 35 。可卡因踏板反应百分比的计算公式为(正确踏板次数/总踏板次数) $\times 100$,反应率为总踏板次数除以所用时间。

替代测试:成功完成药物辨别训练的动物进入替代测试阶段,从低剂量到高剂量(0、0.1、0.5、1.25、2.5、5、10 mg/kg)的可卡因进行替代实验。即使用生

理盐水和可卡因各进行1 d的辨别训练,在达到辨别训练成功标准后进行某一剂量可卡因的替代。替代完成后,再进行1 d可卡因和1 d生理盐水的辨别训练,训练成功后进行下一个剂量的可卡因替代,如此循环直至全部剂量替代完成。实验以大鼠获得1次食物奖励或实验时间达到30 min为结束。未达到辨别训练成功标准的动物可以选择继续训练直到达到标准,或者当替代前2 d内有超过70%的动物满足标准时,所有动物进行替代测试(未满足标准的动物仍可参加替代但不计入该剂量的统计中)。1周内最多进行2次剂量替代实验。所有药物给药均在实验开始前15 min进行腹腔注射^[27-28]。

2.5 自身给药模型

2.5.1 造模原理

自身给药(drug self-administration, DSA)技术最早可追溯到1940年,当时Spragg利用黑猩猩研究吗啡的依赖性^[14]。随着1960年代自动静脉注射技术的发展,自身给药实验得到了广泛应用。这类实验本质上是操作性条件反射(操作式条件化),旨在建立动物的操作行为与享受奖赏物质或成瘾药物快感之间的联系^[29-30],从而很好地模拟人类的自发觅药和复吸行为^[31]。自1960年代以来,自身给药模型已成为研究药物依赖的应用最广泛的动物模型之一^[32]。在这些实验中,大鼠和猴通常被用作实验对象。

2.5.2 造模手术流程

SD大鼠颈动脉插管手术:术前准备足够的无菌手术器械,确保工具始终无菌。为实验动物使用适量麻醉药和镇痛药,剃除大鼠背部和右颈部毛发并彻底消毒。在右颈部剪开约0.5 cm的纵向切口,末端接近锁骨中线,分离右颈静脉并用缝合线结扎远端。在大鼠背部肩胛骨中心皮肤剪开约2 cm切口,通过镊子将导管从背部皮下引至颈部切口处,将导管插入右颈静脉并缝合固定。缝合皮肤切口,并再次消毒。术后需连续3 d用导管注射抗生素以防感染,伤口需7 d恢复。从术后第2天起至实验结束,每天通过导管给予0.2 mL无菌肝素钠(2 mg/mL),检查导管,保持导管通畅以确保其正常使用。

2.5.3 造模实验设备

大鼠的自身给药行为训练在经典的操作式训练箱中进行。训练箱为一立方体(30 cm×30 cm×30 cm),地板由间距1 cm的金属横杆组成。右侧箱体上方设有蓝色房间灯,右侧底部有两个鼻触孔。药物通过恒速注射泵输送至箱体内部。箱体的数据采集卡通过数据

线连接至计算机控制软件。在两个鼻触孔中,左鼻触孔为有效鼻触孔,内设橙色线索灯;当动物接触该孔时,线索灯亮起持续20 s,同时蓝色房间灯熄灭20 s,且注射泵伴随线索声完成1次药物注射,此过程由软件记录。鼻触有效孔后,系统进入20 s不应期,此期间再触有效孔不会触发光声变化,也无法进行药物注射,但行为仍被记录。右鼻触孔为无效孔,触碰此孔既不会引发灯光变化,也无法获得药物注射,但行为将被软件记录。

2.5.4 造模训练模式与训练程序

自身给药实验采用颈静脉给药法^[29]。实验大鼠在屏障设施中饲养,并提前3 d进行环境适应,以减少实验过程中应激反应对结果的影响。自身给药操作主要包括鼻触和按压杠杆2种模式。鼻触模式通常包括2种训练程序:FR和累进比率(progressive-ratio, PR)。FR模式:在此模式中,鼻触次数与给药次数比率恒定。只要动物完成预定次数操作,即可获得药物^[30]。PR模式:在此模式中,操作次数随每次给药而增加。第 n 次药物注射所需鼻触次数计算公式为: $5e^{0.2n}-5$ ^[31-32],式中, e 表示自然对数的底数。

FR1程序:在训练箱中采用FR1模式进行自身给药行为训练,以建立海洛因自身给药模型^[30]。在此模型中,实验动物每次鼻触有效孔即可获得1次药物注射,且两次注射间有20 s不应期。整个训练持续12 d,前6 d每次注射剂量为100 mg/kg,后6 d减少至50 mg/kg,动物表现出显著的剂量依赖性,鼻触次数和给药次数明显增多。当药物注射次数达30次或训练时间达3 h,训练结束。在每次训练前,通过静脉给药抗生素以防感染,并检查插管通畅性,排除插管损坏的动物。每次训练结束后,通过导管给予动物0.2 mL肝素钠(2 mg/mL),防止插管堵塞。

PR程序:训练分为3个阶段。第1阶段采用FR1程序连续训练3 d,每天3 h,然后调整为FR2(动物连续鼻触2次后获得药物)程序,再次连续3 d训练,每天3 h。第2阶段使用FR5(动物连续鼻触5次后获得药物)程序训练,直至动物每日给药次数稳定3 d内波动小于10%,每次训练持续3 h。第3阶段采用PR程序训练,鼻触次数计算公式为 $NP(n)=5e^{0.2n}-5$,式中, $NP(n)$ 表示鼻触次数, n 代表实验次数, e 表示自然对数的底数,训练直至每日给药次数稳定(3 d内波动小于2次)。当动物连续1 h未获得下次药物注射,或训练时间达5 h,此时的给药次数即为断点值(break point),用以反映动物的觅药动机水平^[30-33]。

3 不同成瘾动物模型的特点及应用

躯体依赖模型主要用于评估药物是否会导致依赖性,即在长期反复用药后,突然停药是否会出现戒断症状。这类评估可以整合在重复给药毒性试验中进行,也可以单独进行。该模型的特点是实验周期短、操作简单且经济实惠。不同药理性质的药物通常会产生不同的戒断症状,通过该模型的行为学指标可以准确地反映戒断症状。

行为敏化模型反映了药物奖赏效应引起的神经系统发生一系列适应性改变后,对药物及相关刺激的反应性增强。这是一种逐渐增强并持久的行为反应过程。该模型不仅能从行为学角度提供支持,还是评估精神活性物质滥用与依赖潜力的重要工具。该模型的特点是操作简便、实验周期短,尤其是单次给药的行为敏化动物模型,实验数据的离散程度较小,结果稳定且可重复性高。与其他成瘾模型相比,行为敏化最显著的特点是其长期存在性。

CPP是评估药物精神依赖性的常用实验动物方法之一,为临床研究提供了丰富的指导性数据。在该实验中,实验动物对某一箱体的自发偏好在解释实验结果时具有关键作用。动物对药物偏好的分数代表了药物精神依赖性潜力的大小,也反映了动物对该药物成瘾的可能性。此方法多用于研究药物的奖赏效应及潜在成瘾性,同时有助于探索涉及奖赏的神经回路。这些研究结果有助于揭示药物成瘾过程中条件性刺激、环境记忆和奖赏系统间的相互作用。该模型设备简便,实验周期短,动物不受操作和运动方式的影响,不会因药物测试后干扰运动机能而影响结果,其最大优点在于既能测出药物的奖赏效应,也能检测其厌恶效应。

药物辨别模型广泛用于理解滥用药物潜在主观特性的机制,即能否导致机体辨别或区分2种或多种药物的差异感受,从而产生不同的行为反应。该模型在药理学上具有较强选择性,表现出良好的类别特异性,用于研究具有辨别刺激效应的药物在多个药理学问题上的应用,如不同给药途径的效应、剂量效应、药效持续时间、药物相似度及立体结构、结构活性关系、代谢物活性等。此外,还可用于筛选与训练药物具有相似机制的药物,或排除具有滥用潜力的药物。

自身给药模型模拟的是实验动物的寻药行为,因为该行为在该模型中是自发性的,故其被认为可以更好地模拟人类的成瘾渴求行为。通过该实验,研究者

不仅可以评估药物的精神依赖性,还能揭示其神经依赖机制,建立复吸模型,为临床戒毒提供科学依据。自身给药模型涵盖了药物成瘾的全过程,即形成阶段(偶然用药、规律用药和强迫用药)、戒断和消退阶段、复吸阶段。许多成瘾性药物均能诱导动物建立自身给药行为,模拟成瘾者主动觅药和用药行为。实验中的动物复吸行为可以很好地模拟成瘾者在长期戒断后,受条件性线索或熟悉环境诱导重新用药的情形。该模型符合以下3项:预测效度,能够预测成瘾剂量和相关特征(如渴求程度、戒断症状等);表观效度,用药及觅药行为与人类相似;结构效度,动物成瘾原因及病程进展情况与人类相似。该模型的显著特点是实验动物可通过特定的自主行为操作(如压杆或鼻触)自主获取药物。

除上述核心模型外,还有其他模型如跑道模型和颅内自刺激模型等^[34]。这些模型可从不同角度评估成瘾性药物对动物的影响。研究者可结合具体实验要求进行选择,并根据实际情况调整实验参数或使用多种动物模型,以达到客观评价的目的。

4 动物模型用于药物成瘾机制研究进展

成瘾模型揭示了成瘾行为的规律,而药物成瘾作为一种典型的成瘾形式,其机制更为复杂。多巴胺(dopamine)和成瘾密切相关。成瘾性物质通过激活中脑边缘多巴胺系统大量释放多巴胺,使大脑的奖赏机制异常活跃,从而导致人产生欲望和快感最终导致成瘾^[35]。目前公认的奖赏通路由中脑-边缘-皮质多巴胺系统构成,这一通路起始于中脑VTA的多巴胺神经元,其神经纤维通过内侧前脑束投射至伏隔核(nucleus accumbens, NAc)、海马内侧前额叶皮层(hippocampal-medial prefrontal cortex)和杏仁核(amygdala)等脑区,是调节奖赏效应的重要通道。研究表明,各类成瘾性物质都能直接或间接激活这些奖赏中枢,诱导多巴胺浓度升高,产生奖赏效应。伏隔核是产生欣快感的核心,其多巴胺浓度上升与奖赏直接相关。通过VTA到伏隔核的途径可以增加多巴胺的传递,介导药物滥用的急性奖赏效应及与奖赏相关的慢性变化^[36-38]。同时,海马与伴随欣快感的时间及环境空间记忆密切相关。此外,内侧前额叶皮层到背侧中脑导水管周围灰质(dorsal periaqueductal gray matter)的途径在强迫性用药行为中发挥重要作用^[39];杏仁核通过与纹状体核(bed nucleus of stria terminalis)的互作,参与成瘾记忆

和应激诱导的复吸,在不同药物类别的应激诱导的药物渴求中扮演重要角色^[40];外侧缰核(lateral habenula)则在药物戒断后的负性情绪中起关键作用^[41]。这些脑核团均接受来自VTA的多巴胺投射,当VTA的多巴胺神经元被激活时,这些脑区的多巴胺浓度便会上升,从而进一步形成与药物奖赏相关的关联性记忆,最终导致强迫性用药行为和成瘾的形成。

近年来新的成瘾机制和相关神经环路的发现不断揭示出成瘾行为的复杂性和多样性。这些发现强调了不同脑区和神经递质在成瘾过程中的协同作用。例如,丘脑室旁核(thalamic paraventricular nucleus)通过投射到杏仁核中央核(central nucleus of amygdala, CeA)和NAc,协调阿片类药物相关记忆的获取和维持^[42]。伏隔核核心(NAc core)与腹侧海马CA1区(ventral hippocampal CA1 region, vCA1)回路在可卡因的CPP中发挥重要作用。可卡因复吸需要CA1-伏隔核核心通路的参与,可卡因能够改变vCA1与NAc核心记忆痕迹细胞的神经可塑性,强化其间的兴奋性突触连接^[43]。该研究从全新的角度揭示了一条特殊的CA1-伏隔核核心印迹细胞神经环路,其中CA1编码不同情景相关的记忆,而伏隔核核心则储存可卡因奖赏相关的记忆。CA1印迹细胞与伏隔核核心表达多巴胺D1型受体(D1)的印迹神经元形成特定的加强连接,这种突触后连接的加强对于记忆提取至关重要。

此外,5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)对可卡因成瘾的强迫性具有调控作用,5-HT信号通过眶额叶皮质(orbitofrontal cortex, OFC)-纹状体(corpus striatum)通路调控可卡因成瘾^[44],在这项研究中揭示了一种可卡因在大脑中特有的作用机制,这种机制的特殊性在于,除了引发所有毒品摄入都会增加的多巴胺外,还会引发5-HT的大量增加。事实上,5-HT对多巴胺引起的奖励系统的过度兴奋起着内在的制动作用。

5 总结与展望

药物成瘾作为慢性复发性的神经精神类疾病,与肿瘤、心血管等疾病不同,其发病机制和诊疗方法具有特殊性^[45]。因此,研究并建立具有高临床特征稳定可靠的动物模型,已成为探索此类疾病的关键环节。由于单一的成瘾模型只能反映成瘾过程中的某个特定阶段的特征,因此药物成瘾需要在多种模型中进行相互验证,才能全面、系统地揭示其行为药理学和神经

生物学基础。未来,完善药物成瘾的临床前动物模型不应仅限于药物强化或神经生物学适应性研究,还需包括通过反复接触成瘾性药物(长时间用药)以模拟成瘾患者的强迫性用药特质,这是各类诊断体系标准所强调的关键特征。唯有多管齐下,优势互补,才能深入理解成瘾的病因和病理生理学,并提供新见解。此外,研究者应根据具体实验情况调整实验参数,以更客观地评估药物的成瘾特性。多方位的方法和研究为理解和克服成瘾行为提供了重要的科学基础。

近年来,神经影像学技术的飞速发展使在动物活体内进行无创、连续的动态研究成为可能。这一发展使得从整体、细胞、分子乃至功能等不同层面深入研究参与成瘾的特定脑区和核团成为可能。将成瘾模型与脑影像学结合,研究者可以最大限度地模拟并观察成瘾、戒断、复吸全过程中大脑结构和功能的变化^[46],这已成为当代成瘾研究的热点之一。目前,神经影像技术常用的方法包括单光子发射计算机断层显像(single photon emission computed tomography)、正电子发射断层显像(positron emission tomography)和功能磁共振成像(functional magnetic resonance imaging)等^[47]。这些方法主要用于分析脑的解剖结构、脑内神经递质水平的变化、受体数量及其亲和力的变化,以及相应脑区的激活状态(如血流量或新陈代谢情况)。随着神经影像技术的发展和分辨率的提高,成瘾模型的脑影像研究必将在成瘾治疗方法、药物开发及机制研究中发挥更为重要的作用。

[作者贡献 Author Contribution]

王碧莹负责调查研究、提供资源、写作初稿;
鲁家铄、曾桂影、陈若松、柴景蕊负责调查研究、提供资源;
刘景根负责策划方案、审核写作内容;
王瑜珺负责策划方案、获取项目资助、审改写作初稿。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] WISE R A, ROBBLE M A. Dopamine and addiction[J]. *Annu Rev Psychol*, 2020, 71: 79-106. DOI: 10.1146/annurev-psych-010418-103337.
- [2] American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, fifth edition, text revision (DSM-5-TR™) [M]. Washington DC: American Psychiatric Association Publishing, 2022.
- [3] 韩济生. 神经科学[M]. 3版. 北京:北京大学医学出版社, 2009.
HAN J S. Neuroscience[M]. 3rd ed. Beijing: Peking University

- Medical Press, 2009.
- [4] KIRK-PROVENCHER K T, HAKIMI R H, ANDEREAS K, et al. Neural response to threat and reward among young adults at risk for alcohol use disorder[J]. *Addict Biol*, 2024, 29(2): e13378. DOI:10.1111/adb.13378.
- [5] NADAL-GRATACÓS N, PAZOS M D, PUBILL D, et al. Structure-activity relationship of synthetic cathinones: an updated review[J]. *ACS Pharmacol Transl Sci*, 2024, 7(9): 2588-2603. DOI:10.1021/acsptsci.4c00299.
- [6] WANG S C, CHEN Y C, LEE C H, et al. Opioid addiction, genetic susceptibility, and medical treatments: a review[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(17):4294. DOI:10.3390/ijms20174294.
- [7] SUN T H, WANG C C, LIU T Y, et al. Utility of polygenic scores across diverse diseases in a hospital cohort for predictive modeling[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 3168. DOI: 10.1038/s41467-024-47472-5.
- [8] POHOŘALÁ V, ENKEL T, BARTSCH D, et al. Sign- and goal-tracking score does not correlate with addiction-like behavior following prolonged cocaine self-administration[J]. *Psychopharmacology*, 2021, 238(8): 2335-2346. DOI: 10.1007/s00213-021-05858-z.
- [9] MURLANOVA K, JOUROUKHIN Y, NOVOTOTSKAYA-VLASOVA K, et al. Loss of astrocytic μ opioid receptors exacerbates aversion associated with morphine withdrawal in mice: role of mitochondrial respiration[J]. *Cells*, 2023, 12(10): 1412. DOI:10.3390/cells12101412.
- [10] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 实验动物 动物实验通用要求: GB/T 35823—2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of China, Standardization Administration of China. Laboratory animals—General requirements for animal: GB/T 35823-2018[S]. Beijing: Standards press of China, 2018.
- [11] DOWNS A M, MCELLIGOTT Z A. Noradrenergic circuits and signaling in substance use disorders[J]. *Neuropharmacology*, 2022, 208: 108997. DOI:10.1016/j.neuropharm.2022.108997.
- [12] MONROE S C, RADKE A K. Opioid withdrawal: role in addiction and neural mechanisms[J]. *Psychopharmacology*, 2023, 240(7): 1417-1433. DOI:10.1007/s00213-023-06370-2.
- [13] ZHANG L, KIBALY C, WANG Y J, et al. Src-dependent phosphorylation of μ -opioid receptor at Tyr³³⁶ modulates opiate withdrawal[J]. *EMBO Mol Med*, 2017, 9(11): 1521-1536. DOI:10.15252/emmm.201607324.
- [14] SPRAGG S D S. Morphine addiction in chimpanzees[J]. *Comp Psychol Monogr*, 1940, 15:1-132.
- [15] BALSTER R L, LUKAS S E. Review of self-administration[J]. *Drug Alcohol Depend*, 1985, 14(3-4):249-261. DOI:10.1016/0376-8716(85)90060-2.
- [16] FATTORE L, FADDA P, ZANDA M T, et al. Analysis of opioid-seeking behavior through the intravenous self-administration reinstatement model in rats[J]. *Methods Mol Biol*, 2021, 2201:231-245. DOI:10.1007/978-1-0716-0884-5_21.
- [17] XIAO K B, GRENNELL E, NGOY A, et al. Cannabis self-administration in the human laboratory: a scoping review of ad libitum studies[J]. *Psychopharmacology*, 2023, 240(7):1393-1415. DOI:10.1007/s00213-023-06360-4.
- [18] ELHADJI K, DAIWILE A P, CADET J L. Modeling methamphetamine use disorder and relapse in animals: short- and long-term epigenetic, transcriptional, and biochemical consequences in the rat brain[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2023, 155: 105440. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2023.105440.
- [19] 侯媛媛, 刘志强, 张星星, 等. 条件位置偏爱实验和自身给药实验及其比较[J]. *现代生物医学进展*, 2011, 11(S2):5140-5143. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2011.s2.006.
- HOU Y Y, LIU Z Q, ZHANG X X, et al. The introduction and comparison of conditioned place preference and self-administration[J]. *Prog Mod Biomed*, 2011, 11(S2): 5140-5143. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2011.s2.006.
- [20] HUSTON J P, SILVA M A, TOPIC B, et al. What's conditioned in conditioned place preference? [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2013, 34(3):162-166. DOI:10.1016/j.tips.2013.01.004.
- [21] AGOITIA A, CRUZ-SANCHEZ A, BALDERAS I, et al. The anterior *Insula* and its projection to amygdala nuclei modulate the abstinence-exacerbated expression of conditioned place preference[J]. *Psychopharmacology*, 2024, 241(3): 445-459. DOI:10.1007/s00213-023-06499-0.
- [22] SIMKEVICH M J, CAMPBELL R R, WHITE A O. Examining cocaine conditioning place preference in mice[J]. *Bio Protoc*, 2020, 10(8): e3595. DOI:10.21769/BioProtoc.3595.
- [23] YE J, GAO S Q, LIU Z C, et al. The HMGB1-RAGE axis in nucleus accumbens facilitates cocaine-induced conditioned place preference via modulating microglial activation[J]. *Brain Behav*, 2024, 14(3): e3457. DOI:10.1002/brb3.3457.
- [24] HEYNS I M, FAUNCE A F, MUMBA M N, et al. Nanotechnology-enhanced naloxone and alternative treatments for opioid addiction[J]. *ACS Pharmacol Transl Sci*, 2024, 7(8):2237-2250. DOI:10.1021/acsptsci.4c00158.
- [25] WEI Y Y, MA Y, YAO S Y, et al. Novel selective κ agonists SLL-039 and SLL-1206 produce potent antinociception with fewer sedation and aversion[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2022, 43(6): 1372-1382. DOI:10.1038/s41401-021-00761-x.
- [26] ZHOU Y M, ZHU H W, LIU Z Y, et al. A ventral CA1 to nucleus accumbens core engram circuit mediates conditioned place preference for cocaine[J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22(12): 1986-1999. DOI:10.1038/s41593-019-0524-y.
- [27] VANN R E, WISE L E, VARVEL S A, et al. Route of administration influences substitution patterns in rats trained to discriminate methadone vs. vehicle[J]. *Drug Alcohol Depend*, 2009, 103(3): 124-130. DOI:10.1016/j.drugalcdep.2009.02.015.
- [28] GAUVIN D V, MCCOMB M, CODE R, et al. Abuse liability assessment of hydrocodone under current draft regulatory guidelines[J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2015, 75:118-129. DOI:10.1016/j.vascn.2015.05.003.
- [29] CHEN Z G, WANG Y J, CHEN R S, et al. Ube2b-dependent degradation of DNMT3a relieves a transcriptional brake on opiate-induced synaptic and behavioral plasticity[J]. *Mol*

- Psychiatry, 2021, 26(4): 1162-1177. DOI: 10.1038/s41380-019-0533-y.
- [30] MCGOVERN D J, POLTER A M, PRÉVOST E D, et al. Ventral tegmental area glutamate neurons establish a mu-opioid receptor gated circuit to mesolimbic dopamine neurons and regulate opioid-seeking behavior[J]. Neuropsychopharmacology, 2023, 48(13): 1889-1900. DOI: 10.1038/s41386-023-01637-w.
- [31] CIESLIK-STARKIEWICZ A, NOWORYTA K, SOLICH J, et al. Trait sensitivity to positive feedback is a predisposing factor for several aspects of compulsive alcohol drinking in male rats: behavioural, physiological, and molecular correlates[J]. Psychopharmacology, 2024, 241(1): 33-47. DOI:10.1007/s00213-023-06460-1.
- [32] LI N, HE S, PARRISH C, et al. Differences in morphine and cocaine reinforcement under fixed and progressive ratio schedules; effects of extinction, reacquisition and schedule design[J]. Behav Pharmacol, 2003, 14(8):619-630. DOI:10.1097/00008877-200312000-00006.
- [33] JACOBS D S, HITCHCOCK L N, WILLIAMS R G, et al. Effects of a cue associated with cocaine or food reinforcers on extinction and postextinction return of behavior[J]. Behav Neurosci, 2022, 136(4): 307-317. DOI:10.1037/bne0000519.
- [34] 李佩云, 景漫毅, 吴宁, 等. 成瘾的行为学动物模型研究[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2021, 27(2):118-124. DOI: 10.15900/j.cnki.zylf1995.2021.02.010.
- LI P Y, JING M Y, WU N, et al. Behavioral animal models of addiction[J]. Chin J Drug Abuse Prev Treat, 2021, 27(2): 118-124. DOI: 10.15900/j.cnki.zylf1995.2021.02.010.
- [35] WISE R A, ROBBLE M A. Dopamine and addiction[J]. Annu Rev Psychol, 2020, 71: 79-106. DOI: 10.1146/annurev-psych-010418-103337.
- [36] WISE R A, JORDAN C J. Dopamine, behavior, and addiction [J]. J Biomed Sci, 2021, 28(1): 83. DOI: 10.1186/s12929-021-00779-7.
- [37] MAGNARD R, CHENG Y F, ZHOU J, et al. Sequence termination cues drive habits *via* dopamine-mediated credit assignment[J]. bioRxiv, 2025: 2024.10.16.618735. DOI: 10.1101/2024.10.16.618735.
- [38] BAUER M R, MCVEY M M, BOEHM S L II. Drinking history dependent functionality of the dorsolateral striatum on gating alcohol and quinine-adulterated alcohol front-loading and binge drinking[J]. Alcohol, 2022, 105: 43-51. DOI:10.1016/j.alcohol.2022.09.005.
- [39] ZHOU Y M, YAN E H, CHENG D Q, et al. The projection from ventral CA1, not prefrontal cortex, to nucleus accumbens core mediates recent memory retrieval of cocaine-conditioned place preference[J]. Front Behav Neurosci, 2020, 14: 558074. DOI:10.3389/fnbeh.2020.558074.
- [40] GREENWALD M K, WOODCOCK E A, MOSES T E H, et al. Basal cortisol level modulates stress-induced opioid-seeking behavior[J]. Neurobiol Stress, 2024, 33:100684. DOI:10.1016/j.ynstr.2024.100684.
- [41] HU H L, CUI Y H, YANG Y. Circuits and functions of the lateral habenula in health and in disease[J]. Nat Rev Neurosci, 2020, 21(5):277-295. DOI:10.1038/s41583-020-0292-4.
- [42] KEYES P C, ADAMS E L, CHEN Z J, et al. Orchestrating opiate-associated memories in thalamic circuits[J]. Neuron, 2020, 107(6):1113-1123.e4. DOI:10.1016/j.neuron.2020.06.028.
- [43] ZHOU Y M, YAN E H, CHENG D Q, et al. The projection from ventral CA1, not prefrontal cortex, to nucleus accumbens core mediates recent memory retrieval of cocaine-conditioned place preference[J]. Front Behav Neurosci, 2020, 14: 558074. DOI:10.3389/fnbeh.2020.558074.
- [44] LI Y, SIMMLER L D, VAN ZESSEN R, et al. Synaptic mechanism underlying serotonin modulation of transition to cocaine addiction[J]. Science, 2021, 373(6560): 1252-1256. DOI: 10.1126/science.abi9086.
- [45] HOWELL L L, MURNANE K S. Nonhuman primate positron emission tomography neuroimaging in drug abuse research [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2011, 337(2):324-334. DOI:10.1124/jpet.108.136689.
- [46] DOUGLAS BREMNER J, GAZI A H, LAMBERT T P, et al. Noninvasive vagal nerve stimulation for opioid use disorder [J]. Ann Depress Anxiety, 2023, 10(1):1117.
- [47] 郝伟, 赵敏, 李锦. 成瘾医学: 理论与实践[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2016.
- HAO W, ZHAO M, LI J. Addiction Medicine: Theory and Practice[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2016.
- (收稿日期: 2024-06-03 修回日期: 2025-02-06)
(本文责任编辑: 丁宇菁)

[引用本文]

王碧莹, 鲁家铄, 咎桂影, 等. 啮齿类动物药物成瘾模型的构建方法和应用进展[J]. 实验动物与比较医学, 2025, 45(2): 158-166. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024.080.

WANG B Y, LU J S, ZAN G Y, et al. Establishment methods and application progress of rodent models for drug addiction[J]. Lab Anim Comp Med, 2025, 45(2): 158-166. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024.080.