

[论著]

青少年期小鼠焦虑水平与酒精 CPP 的关系研究*

黄慧^{1,2} 张晓洁² 傅潇雅² 郝伟² 向小军^{2**}¹(华中科技大学同济医学院附属武汉精神卫生中心, 武汉 430012)²(中南大学湘雅二医院精神卫生研究所, 国家精神心理疾病临床研究中心, 精神疾病诊疗技术工程实验室, 湖南省精神病学与精神卫生重点实验室, 长沙 410000)

摘要 目的: 比较不同焦虑水平青少年期 C57BL/6 小鼠酒精条件性位置偏爱(CPP)形成及空间学习记忆能力的差异。方法: 四周龄小鼠在高架十字迷宫实验中根据开放臂时间比(OT%)被分为低、高焦虑组,再随机分为:低焦虑盐水及酒精组、高焦虑盐水及酒精组。酒精组行酒精 CPP 实验,盐水组做对照。另一批小鼠分为低、高焦虑组后,行水迷宫实验。结果:与盐水组相比,低、高焦虑酒精组均形成了酒精 CPP($P < 0.001$)。低焦虑酒精组 CPP 值显著高于高焦虑酒精组($P < 0.001$),CPP 值与 OT% 呈正相关($r = 0.628, P = 0.003$)。高、低焦虑组小鼠的空间学习记忆能力无显著差异($P > 0.05$)。结论:低焦虑青少年期小鼠比高焦虑小鼠对酒精的犒赏效应更敏感,酒精犒赏效应与焦虑水平呈负相关。

关键词 酒精使用障碍;焦虑;条件性位置偏爱;青少年期小鼠

doi: 10.13936/j.cnki.cjdd1992.2019.03.004

中图分类号 R749

Correlation between anxiety level and ethanol - induced CPP in adolescent mice

HUANG Hui^{1,2}, ZHANG Xiaojie², FU Xiaoya², HAO Wei², XIANG Xiaojun²¹(Affiliated Wuhan Mental Health Center, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430012)²(Mental Health Institute of the Second Xiangya Hospital, The China National Clinical Research Center for Mental Health Disorders, National Technology Institute of Psychiatry, Key Laboratory of Psychiatry and Mental Health of Hunan Province, Central South University, Changsha, 410000)

Abstract *Objective:* To compare ethanol - induced conditioned place preference (CPP) and learning ability in adolescent C57BL/6 mice with different anxiety levels. *Methods:* The anxiety levels of mice at 4 weeks of age were assessed using the elevated plus maze (EPM) test and were allocated into low - anxiety mouse (LAM) and high - anxiety mouse (HAM) groups based on the percentage of open arm time (OT%). Then, LAM and HAM groups were randomly allocated into four groups: LAM - Saline and Ethanol groups, and HAM - Saline and Ethanol groups. The alcohol reward was evaluated by the ethanol - induced CPP paradigm. The mice's ability to learn was measured with the Morris water maze task. *Results:* Both LAM - Ethanol ($P < 0.001$) and HAM - Ethanol ($P < 0.001$) groups developed a significant CPP. LAM - Ethanol showed a greater ethanol preference ($P < 0.001$), with no significant difference in learning ability ($P > 0.05$), than HAM - Ethanol group. Interestingly, the CPP score positively correlated with OT% ($r = 0.628, P = 0.003$). *Conclusion:* Alcohol reward negatively correlated with anxiety level in adolescent mice.

Keywords alcohol use disorder; anxiety; conditioned place preference; adolescent mice

* 国家自然科学基金项目(81571306);武汉市卫生健康科研基金(WX19Q05)

** 通信作者: xiangxiaojun2013@163.com

酒精使用障碍(Alcohol Use Disorder, AUD)是一种有问题的、导致显著的具有临床意义的损害或痛苦的酒精使用模式,给家庭和社会造成许多不良后果,目前已成为全球性严重的公共卫生和医学问题^[1-2]。焦虑障碍是一类以过度害怕和焦虑,及相关行为紊乱为特征的精神障碍^[1]。AUD常共病焦虑障碍,且焦虑障碍者发生AUD的风险更高^[3-7]。然而,临床研究不能证明焦虑障碍与AUD之间是否存在因果关系,因为二者均发展隐匿,很难判断先后^[8]。因此,需要在条件受控的实验室环境下,先测定动物的焦虑水平,再让动物接受酒精暴露,比较不同焦虑水平动物对酒精的偏好。然而,动物实验的研究结果不一致。与低焦虑品系大鼠相比,高焦虑品系大鼠的酒精消耗量更多^[9]或更少^[10-12]。与非亲酒性大鼠相比,亲酒性大鼠的焦虑水平更高^[13]或相似^[14]或更低^[13,15]。当在同一品系啮齿类动物中探讨焦虑水平与酒精犒赏的关系时,发现二者间存在正相关^[16-17]或无关联^[18-20]。重要的是,此前的研究主要以成年期啮齿类动物为实验对象,缺乏在青少年期动物中的研究。研究表明,青少年比成年人更易形成AUD,因为青少年更具冲动性,更容易冒险,自我管理能力较差^[21-23]。因此,有必要以青少年期小鼠为研究对象,探讨焦虑水平与酒精犒赏之间的关系,为青少年AUD的早期预防与干预提供科学依据。

本研究通过高架十字迷宫(Elevated plus maze, EPM)实验筛选出不同焦虑水平青少年期C57BL/6小鼠,通过酒精条件性位置偏爱(Conditioned place preference, CPP)模型评价酒精的犒赏效应,来探讨焦虑水平与酒精犒赏效应之间的关系。除酒精本身的作用,小鼠的空间学习记忆能力也会影响酒精CPP的形成,故本研究通过水迷宫实验比较不同焦虑水平小鼠空间学习记忆能力的差异。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康雄性四周龄C57BL/6小鼠,体重 16.0 ± 1.0 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。实验前分笼饲养一周,自由进食、饮水,12小时明暗节律(明:07:00-19:00;暗:19:00-07:00)。实验人员隔日用手抚触动物以降低应激对动物的影响。

1.1.2 主要试剂和仪器 分析纯酒精(96%)购自天津市富宇精细化工有限公司,用生理盐水将分析纯酒精稀释为20%酒精溶液备用,本研究所使用的酒

精浓度及剂量已被证实能够建立稳定的酒精CPP^[24-25]。食品添加剂钛白粉购自上海江沪钛白化工制品有限公司,按 $125 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度以温水融化以隐藏水迷宫实验中的平台。EPM及水迷宫分析系统购自上海移数信息科技有限公司, CPP分析系统购自上海吉量软件科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 EPM实验及分组 EPM装置由两条开放臂和两条闭合臂组成,呈“十”字交叉。上午8点小鼠被提前转运到行为学实验室专用临时笼架,适应环境30 min。之后,小鼠被放置于开放臂与闭合臂接合处(面朝开放臂),自由活动5 min。按照公式:开放臂时间/(开放臂时间+闭合臂时间)计算开放臂时间比(the percentage of time spent in the open arms, OT%)。根据OT%的第25百分位数(P25)及第75百分位数(P75)将小鼠分为低焦虑($OT\% \geq P75$)和高焦虑($OT\% \leq P25$)小鼠^[16]。在实验1中,通过随机数字法,低焦虑小鼠被随机分为盐水组和酒精组;高焦虑小鼠被随机分为盐水组和酒精组;每组9-10只。其余小鼠($P25 < OT\% < P75$)被淘汰。在实验2中,另一批小鼠经过EPM实验,被分为低焦虑和高焦虑小鼠,每组8-9只,分别行水迷宫实验。

1.2.2 CPP实验 CPP装置由两侧箱体及中间箱构成。一侧箱体为黑白横条纹及网格底板,另一侧箱体为黑白竖条纹及横杠底板。中间箱体积较小,可根据实验需要开启或关闭,主要用于投放小鼠。本实验采用有偏设计,将小鼠在预测试中自然偏好的一侧作为训练时的非伴药侧,另一侧作为伴药侧。简要流程如下:预适应(d1):将中间箱挡板取出,小鼠从中间箱放入,自由活动30 min。预测试(d2):将中间箱挡板取出,小鼠从中间箱放入,自由活动15 min,分别记录小鼠在两侧箱体中停留的时间,作为CPP基值。确定小鼠的自然偏爱倾向,并选择非自然偏爱侧作为伴药侧。低、高焦虑酒精组训练(d3-d10)如下:放入中间箱挡板,将中间箱与两侧箱体隔断。d3,上午8:00给小鼠腹腔注射20%酒精($2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, $12.5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$)放入伴药侧活动50 min。d4,上午8:00给小鼠腹腔注射等体积生理盐水($12.5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$)后放入非伴药侧活动50 min。d5、d7、d9的训练同d3; d6、d8、d10的训练同d4。低、高焦虑盐水组d4、d6、d8、d10的训练同酒精组, d3、d5、d7、d9用等体积盐水取代20%酒精。测试(d11):末次训练24 h后,将中间箱挡板取出,小鼠从中间箱放入,自由活动15 min,记录小鼠在伴药侧

停留的时间。CPP 值(单位: s)为测试时伴药侧时间与预测试时伴药侧时间之差。

1.2.3 Morris 水迷宫实验 水迷宫装置直径 120 cm、高 70 cm,池壁上标记有东、西、南、北四个入水点,将水池等分为四个象限,每个象限中心距离池面 10 cm 的壁上张贴三角形、五角星、圆形和方形卡片作为参照物。池内水深约为 51 cm,水温为 22-24℃。在东象限中心距离桶壁 20 cm 处放置一直径 9 cm、高 50 cm 白色圆形隐藏逃生平台,平台置于水面以下 0.8 cm 处。将食品添加剂钛白粉按 125 g/L 浓度以温水融化以隐藏平台并使其与小鼠颜色形成鲜明对比。实验开始前 24 h 将小鼠放入池内游泳 1 min,让其熟悉池内环境并淘汰不会游泳的小鼠,所有小鼠均会游泳,均未被淘汰。首先进行空间记忆采集实验,历时 5 d。上午 8:00 将小鼠置于水迷宫所在操作间适应环境 30 min,将小鼠轻轻放入水中。若小鼠在 60 s 内找到平台,则记录其搜寻平台所需时间,即潜伏期(单位: s)。若小鼠在 60 s 内未找到平台,则由实验者将其引导至平台,潜伏期记为 60 s。小鼠登上平台后,让其在平台上停留 30 s。每只小鼠每天训练 4 次,总计训练 20 次。空间探索实验历时 1 天,撤除平台,随机选择一个入水点,将小鼠放入水中,游泳 60 s,测量小鼠在目标象限停留时间占总时间的百分比及小鼠穿越平台的次数。

1.3 统计学处理

所有统计分析在 SPSS 20.0 软件中完成。计量资料以均数 ± 标准误表示。采用 *t* 检验、单因素方差分析比较组间差异;方差分析中利用 LSD 方法进行两两比较。*P* < 0.05 为差异有显著性。

2 结果

2.1 低焦虑 C57BL/6 小鼠更易形成酒精 CPP

低焦虑小鼠(*n* = 19)的 OT% 显著高于高焦虑

小鼠(*n* = 19) (46.3 ± 1.5 vs. 12.6 ± 1.6, *t* = 15.192, *P* < 0.001)。随机化分组后,低焦虑盐水组与低焦虑酒精组的 OT% 无统计学差异(*P* = 0.467),高焦虑盐水组与高焦虑酒精组的 OT% 无统计学差异(*P* = 0.406) (图 1a)。

经过酒精或盐水 CPP 实验后,低焦虑盐水组、低焦虑酒精组、高焦虑盐水组、高焦虑酒精组的 CPP 值依次为: 9.3 ± 4.4, 119.6 ± 11.3, 2.5 ± 5.3, 68.6 ± 11.9。方差分析显示四组有显著差异(*F* (3, 34) = 35.733, *P* < 0.001)。与低焦虑盐水组小鼠相比,低焦虑酒精组 CPP 值较高,差异有显著性(*P* < 0.001),提示低焦虑小鼠形成了酒精 CPP;与高焦虑盐水组小鼠相比,高焦虑酒精组 CPP 值较高,差异有显著性(*P* < 0.001),提示高焦虑酒精小鼠也形成了酒精 CPP。与高焦虑酒精组小鼠相比,低焦虑酒精组小鼠的 CPP 值更高,差异有显著性(*P* < 0.001),提示低焦虑小鼠对酒精 CPP 的易感性更高(图 1b)。而且,酒精 CPP 值与 OT% 呈正相关(*r* = 0.628, *P* = 0.003)。

2.2 低、高焦虑 C57BL/6 小鼠的空间学习记忆能力无差异

由于 CPP 受小鼠空间学习记忆能力的影响,因此通过水迷宫实验比较低、高焦虑组小鼠学习记忆能力是否存在差异。低焦虑小鼠(*n* = 8)的 OT% 显著高于高焦虑小鼠(*n* = 9) (*P* < 0.001) (图 2a)。空间探索实验中, d1 (*P* = 0.274)、d2 (*P* = 0.615)、d3 (*P* = 0.830)、d4 (*P* = 0.843)、d5 (*P* = 0.931) 低焦虑与高焦虑小鼠到达平台的潜伏期无统计学差异(图 2b)。在空间探索实验中,低焦虑与高焦虑小鼠目标象限停留时间百分比无统计学差异(32.6 ± 3.4 vs. 33.3 ± 4.7, *t* = 0.116, *P* = 0.909)、平台穿越次数无统计学差异(2.6 ± 0.7 vs. 2.2 ± 0.5, *t* = 0.485, *P* = 0.633)。

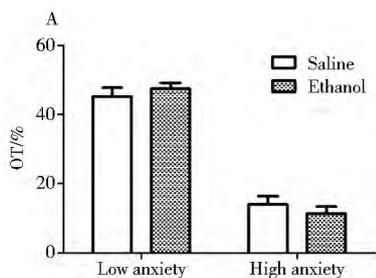


图 1a 低、高焦虑小鼠的开放臂的时间比

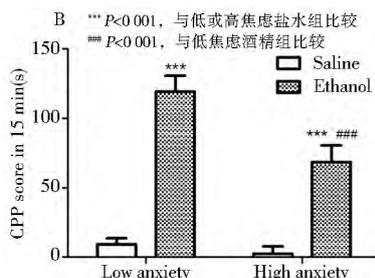


图 1b 低焦虑小鼠对酒精 CPP 更敏感

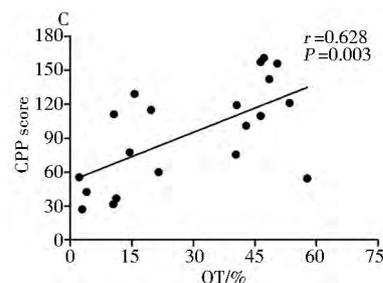


图 1c CPP 值与小鼠的开放臂时间比呈正相关

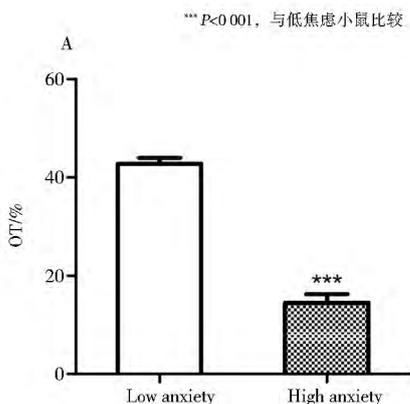


图 2a 低、高焦虑小鼠开放臂时间比

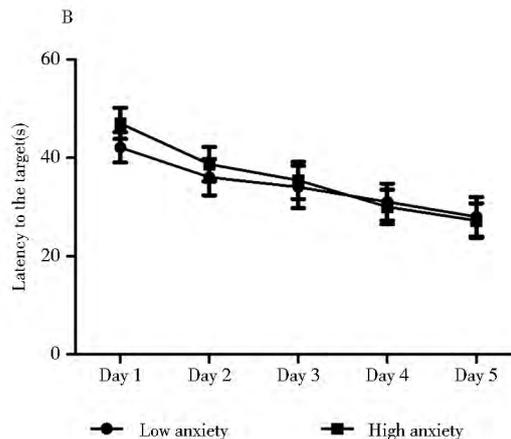


图 2b 低、高焦虑小鼠到达平台潜伏期的时间变化

3 讨论

本研究发现,与高焦虑青少年期小鼠相比,低焦虑青少年期 C57BL/6 小鼠更易形成酒精 CPP,而且 CPP 值与小鼠的开放臂时间比呈正相关,可认为 CPP 值与焦虑水平负相关。重要的是,低、高焦虑小鼠的空间学习记忆能力无差异,提示酒精 CPP 的差异不是由于 C57BL/6 小鼠的空间学习记忆能力的不同所致,低焦虑小鼠比高焦虑小鼠对酒精的犒赏效应更敏感。本研究是首次在青少年期小鼠中探讨焦虑水平与酒精犒赏的关系。

本研究结果与既往的部分研究结果相一致,这些研究均报告酒精的犒赏效应与焦虑水平呈负相关^[10-13,15]。本研究与“自我治疗”假说不相符,该假说认为,高焦虑水平个体通过饮酒来缓解焦虑,因此更容易增加饮酒量,进而发展成为 AUD^[26-27]。一个可能的解释是,“自我治疗”假说主要关注的是酒精的负性强化效应,个体通过饮酒来缓解焦虑这一不良情绪;但是酒精 CPP 则主要是酒精的正性强化效应,低焦虑小鼠比高低焦虑小鼠通过酒精得到的犒赏效应更强烈。而且,有研究证明,啮齿类动物对精神活性物质的易感性与精神活性物质本身的抗焦虑或致焦虑作用关系不显著^[28],或者可能取决于特定的实验条件^[18]。

然而,部分研究显示焦虑与酒精犒赏效应呈正相关^[9,16-17,29]或无显著相关^[18-20,30]。不一致可能是由于方法学的差异。首先,在既往的研究中,动物焦虑行为的测量方法多种多样,包括 EPM^[12,29](本研究使用的方法),旷场实验^[30],黑白箱实验^[18]及这些测量方法的各种组合^[16,20]。而且,低、高焦虑水平的划分标准在不同的研究中不尽相同,有的根据遗传背景^[9],有的根据 OT% 的中位数^[17],或者 OT% 的第 25 及第 75 百分位数^[16](本研究使用的方

法)等等。必须注意的是,通过以行为学为基础的动物模型而测定的焦虑水平会受到环境变量(光照条件、昼夜节律等)、实验流程、动物品系及动物基础生理状态等因素的影响^[31-32],而这些混杂因素可能会削弱不同实验室测得的动物焦虑行为的一致性。此外,上述提到的不同的焦虑测试方法可能只能评估焦虑的某一个方面^[33],因此可能会产生不一致的结果^[34]。因此,在将来的研究中需要通过不同焦虑测试方法的组合来评估啮齿类动物的焦虑水平,从而全面地理解动物的焦虑行为^[33,35]。其次,既往研究中评价酒精的犒赏效应的实验方案各异。在本实验中,我们通过酒精 CPP 模型来评价小鼠对酒精的偏好,是因为酒精的正性强化效应能够快速建立,并通过 CPP 值进行量化^[36];而且,在 CPP 的测试阶段,小鼠不接受酒精处理,从而能够避免酒精的急性作用可能产生的混杂^[37]。尽管很多研究采用酒精的自身给药模型^[16,19],但在实验的具体实施方案上存在较大差异。比如,酒精的供应是无限制^[18,20]或受到限制^[17];酒精溶液的浓度相差较大,从 2% 波动到 20%^[10-11,16]。有研究证实,与高浓度的酒精溶液相比,动物更偏爱较低浓度的酒精溶液;而且高焦虑水平老鼠对酒精的不良味觉刺激更敏感,而对酒精的强化效应相对不敏感^[12]。另外,不同实验室之间的差异^[38]或动物的饲养环境等因素^[19],都可能影响到焦虑和酒精犒赏之间的关联性。

本研究首次报道低焦虑青少年期小鼠比高焦虑小鼠对酒精的犒赏效应更敏感,提示我们在临床中需要对低焦虑青少年群体引起重视。该群体通过饮酒获得的快感可能比高焦虑青少年更强烈,可能较快发展成为 AUD 患者。本研究仅在行为学层面探讨了青少年期小鼠焦虑水平与酒精犒赏效应的关系,二者之间的分子生物学机制需在未来进一步研究。

4 参考文献

- [1] American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 5th Edition [M]. American Psychiatric Publishing, 2013: 189–490.
- [2] GBD 2015 Risk Factors Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 [J]. *Lancet*, 2016, 388(10053): 1659–1724.
- [3] Sartor C E, Jackson K M, McCutcheon V V, et al. Progression from first drink, first intoxication, and regular drinking to alcohol use disorder: A comparison of African American and European American youth [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2016, 40(7): 1515–1523.
- [4] Grant B F, Goldstein R B, Saha T D, et al. Epidemiology of DSM–5 Alcohol Use Disorder: Results From the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions III [J]. *JAMA Psychiatry*, 2015, 72(8): 757–766.
- [5] Boschloo L, Vogelzangs N, van den Brink W, et al. Depressive and anxiety disorders predicting first incidence of alcohol use disorders: results of the Netherlands Study of Depression and Anxiety (NESDA) [J]. *J Clin Psychiatry*, 2013, 74(12): 1233–1240.
- [6] Christie K A, Burke J J, Regier D A, et al. Epidemiologic evidence for early onset of mental disorders and higher risk of drug abuse in young adults [J]. *Am J Psychiatry*, 1988, 145(8): 971–975.
- [7] Hasin D S, Stinson F S, Ogburn E, et al. Prevalence, correlates, disability, and comorbidity of DSM–IV alcohol abuse and dependence in the United States: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions [J]. *Arch Gen Psychiatry*, 2007, 64(7): 830–842.
- [8] Mueser K T, Drake R E, Wallach M A. Dual diagnosis: a review of etiological theories [J]. *Addict Behav*, 1998, 23(6): 717–734.
- [9] Izidio G S, Ramos A. Positive association between ethanol consumption and anxiety-related behaviors in two selected rat lines [J]. *Alcohol*, 2007, 41(7): 517–524.
- [10] Da S G, Ramos A, Takahashi R N. Comparison of voluntary ethanol intake by two pairs of rat lines used as genetic models of anxiety [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2004, 37(10): 1511–1517.
- [11] Henniger M S, Spanagel R, Wigger A, et al. Alcohol self-administration in two rat lines selectively bred for extremes in anxiety-related behavior [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2002, 26(6): 729–736.
- [12] Langen B, Fink H. Anxiety as a predictor of alcohol preference in rats? [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2004, 28(6): 961–968.
- [13] Roman E, Stewart R B, Bertholomey M L, et al. Behavioral profiling of multiple pairs of rats selectively bred for high and low alcohol intake using the MCSF test [J]. *Addict Biol*, 2012, 17(1): 33–46.
- [14] Badia-Elder N E, Stewart R B, Powrozek T A, et al. Effects of neuropeptide Y on sucrose and ethanol intake and on anxiety-like behavior in high alcohol drinking (HAD) and low alcohol drinking (LAD) rats [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2003, 27(6): 894–899.
- [15] Acewicz A, Mierzejewski P, Jastrzebska A, et al. Anxiety- and depressive-like traits in Warsaw alcohol high-preferring (WHP) and Warsaw alcohol low-preferring (WLP) rats [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2014, 122: 261–265.
- [16] Bahi A. Individual differences in elevated plus-maze exploration predicted higher ethanol consumption and preference in outbred mice [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2013, 105: 83–88.
- [17] Hayton S J, Mahoney M K, Olmstead M C. Behavioral traits predicting alcohol drinking in outbred rats: an investigation of anxiety, novelty seeking, and cognitive flexibility [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2012, 36(4): 594–603.
- [18] Pelloux Y, Costentin J, Duterte-Boucher D. Differential involvement of anxiety and novelty preference levels on oral ethanol consumption in rats [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2015, 232(15): 2711–2721.
- [19] Correia D, Ribeiro A F, Brunialti G A, et al. Trait anxiety and ethanol: anxiolysis in high-anxiety mice and no relation to intake behavior in an addiction model [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2009, 33(5): 880–888.
- [20] Fee J R, Sparta D R, Knapp D J, et al. Predictors of high ethanol consumption in R11beta knock-out mice: assessment of anxiety and ethanol-induced sedation [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2004, 28(10): 1459–1468.
- [21] Reniers R L, Murphy L, Lin A, et al. Risk Perception and Risk-Taking Behaviour during Adolescence: The Influence of Personality and Gender [J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e153842.
- [22] Stanis J J, Andersen S L. Reducing substance use during adolescence: a translational framework for prevention [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2014, 231(8): 1437–1453.

- [23] Walker D M , Bell M R , Flores C , et al. Adolescence and Reward: Making Sense of Neural and Behavioral Changes Amid the Chaos [J]. *J Neurosci* , 2017 , 37(45) : 10855 – 10866.
- [24] Bhutada P , Mundhada Y , Ghodki Y , et al. Acquisition , expression , and reinstatement of ethanol – induced conditioned place preference in mice: effects of exposure to stress and modulation by mecamylamine [J]. *J Psychopharmacol* , 2012 , 26(2) : 315 – 323.
- [25] Sperling R E , Gomes S M , Sypek E I , et al. Endogenous kappa – opioid mediation of stress – induced potentiation of ethanol – conditioned place preference and self – administration [J]. *Psychopharmacology (Berl)* , 2010 , 210(2) : 199 – 209.
- [26] Boschloo L , van den Brink W , Penninx B W. Does self – medication predict the persistence or rather the recurrence of alcohol dependence? [J]. *JAMA Psychiatry* , 2014 , 71(2) : 205.
- [27] Crum R M , Mojtabai R , Lazareck S , et al. A prospective assessment of reports of drinking to self – medicate mood symptoms with the incidence and persistence of alcohol dependence [J]. *JAMA Psychiatry* , 2013 , 70(7) : 718 – 726.
- [28] Pelloux Y , Costentin J , Duterte – Boucher D. Anxiety increases the place conditioning induced by cocaine in rats [J]. *Behav Brain Res* , 2009 , 197(2) : 311 – 316.
- [29] Spanagel R , Montkowski A , Allingham K , et al. Anxiety: a potential predictor of vulnerability to the initiation of ethanol self – administration in rats [J]. *Psychopharmacology (Berl)* , 1995 , 122(4) : 369 – 373.
- [30] Karatayev O , Barson J R , Carr A J , et al. Predictors of ethanol consumption in adult Sprague – Dawley rats: relation to hypothalamic peptides that stimulate ethanol intake [J]. *Alcohol* , 2010 , 44(4) : 323 – 334.
- [31] Bouwknecht J A , Paylor R. Pitfalls in the interpretation of genetic and pharmacological effects on anxiety – like behaviour in rodents [J]. *Behav Pharmacol* , 2008 , 19(5 – 6) : 385 – 402.
- [32] Post A M , Weyers P , Holzer P , et al. Gene – environment interaction influences anxiety – like behavior in ethologically based mouse models [J]. *Behav Brain Res* , 2011 , 218(1) : 99 – 105.
- [33] Ramos A. Animal models of anxiety: do I need multiple tests? [J]. *Trends Pharmacol Sci* , 2008 , 29(10) : 493 – 498.
- [34] O’Leary T P , Gunn R K , Brown R E. What are we measuring when we test strain differences in anxiety in mice? [J]. *Behav Genet* , 2013 , 43(1) : 34 – 50.
- [35] Freudenberg F , O’Leary A , Aguiar D C , et al. Challenges with modelling anxiety disorders: a possible hindrance for drug discovery [J]. *Expert Opin Drug Discov* , 2018 , 13(4) : 279 – 281.
- [36] Tzschentke T M. Measuring reward with the conditioned place preference (CPP) paradigm: update of the last decade [J]. *Addict Biol* , 2007 , 12(3 – 4) : 227 – 462.
- [37] Sanchis – Segura C , Spanagel R. Behavioural assessment of drug reinforcement and addictive features in rodents: an overview [J]. *Addict Biol* , 2006 , 11(1) : 2 – 38.
- [38] Crabbe J C , Wahlsten D , Dudek B C. Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment [J]. *Science* , 1999 , 284(5420) : 1670 – 1672.

收稿日期: 2018 – 12 – 28

修回日期: 2019 – 02 – 28

(上接第 182 页)

- [49] Powell D , Pacula R L. Prescription Opiates and Opioid Abuse: Regulatory Efforts to Limit Diversion from Medical Markets to Black Markets in the United States [M]. *Dual Markets*. New York: ? Springer. 2017: 37 – 54.
- [50] Kelly S , Johnson G T , Harbison R D. “Pressured to prescribe” The impact of economic and regulatory factors on South – Eastern ED physicians when managing the drug seeking patient [J]. *J Emerg Trauma Shock* , 2016 , 9(2) : 58 – 63.
- [51] Borde M , Nizamie S H. Dependence on a common cough syrup [J]. *Lancet* , 1988 , 331(8588) : 760 – 761.
- [52] Xia Z. Cancer pain management in China: current status and practice implications based on the ACHEON survey [J]. *J Pain Res* , 2017 , 10: 1943 – 1952.
- [53] Ran M S , Xiao Y , Chui C H , et al. Duration of untreated psychosis (DUP) and outcome of people with schizophrenia in rural China: 14 – year follow – up study [J]. *Psychiatry Res* , 2018 , 267: 340 – 345.
- [54] 国务院办公厅. 国务院办公厅关于进一步改革完善药品生产流通使用政策的若干意见 [M]. 北京: 国务院办公厅. 2017.

收稿日期: 2018 – 12 – 21

修回日期: 2019 – 04 – 14