

# 抑郁情绪模型大鼠旷场数据的聚合分析\*\*\*\*◆

苏云祥<sup>1,2</sup>, 魏盛<sup>1,2</sup>, 谭倩<sup>2</sup>, 柳新<sup>2</sup>, 杜希扬<sup>1,2</sup>

## Aggregate analysis of open field data in depression model rats

Su Yun-xiang<sup>1,2</sup>, Wei Sheng<sup>1,2</sup>, Tan Qian<sup>2</sup>, Liu Xin<sup>2</sup>, Du Xi-yang<sup>1,2</sup>

### 文章亮点:

首次将数据聚合分析法应用于造模后大鼠模型的行为学数据中, 结果说明恰当的立意聚合可以大幅提升抑郁情绪大鼠旷场数据的可信度与稳定性。

### Abstract

**BACKGROUND:** Repeated measurements of open field data and proper data aggregation based on additivity can significantly improve the stability and consistency of the open field test in normal rats. Is this method applicable to model rats?

**OBJECTIVE:** To explore the best aggregate measurement of ambulation score in the open-field test of the depression model rats.

**METHODS:** Depression models in rats were constructed using chronic mild stimulation method. The open-field behavior indicators were collected every two weeks during the model construction course of 4 weeks. Pairwise aggregation analysis (continuous aggregation, interval aggregation, judgmental aggregation) was used. Effects of different aggregation methods on reliability and correlation of model preparation were compared.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Consistency coefficient Kappa showed that good reliability and correlation were obtained using interval aggregation and judgmental aggregation ( $Kappa=0.611, P < 0.05$ ). The reliability gained using continuous aggregation was passable ( $Kappa=0.222$ ). Intraclass correlation coefficient ICC showed that an excellent reliability was gained using judgmental aggregation ( $ICC=0.835, P < 0.01$ ); the reliability gained using interval aggregation was good ( $ICC=0.792, P < 0.05$ ), and the reliability gained using continuous aggregation was poor ( $ICC=0.196$ ). It indicates that a proper judgment aggregation can significantly improve the reliability and correlation of the open-field data in depression model rats.

Su YX, Wei S, Tan Q, Liu X, Du XY. Aggregate analysis of open field data in depression model rats. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(28): 5170-5174. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

### 摘要

**背景:** 多次测量正常大鼠的旷场数据, 以加和方式进行数据聚合, 可显著提高旷场指标的稳定性与一致性, 此方法对造模后大鼠的旷场行为是否适用?

**目的:** 分析抑郁情绪模型大鼠旷场实验中活动量总得分的最佳聚合方式。

**方法:** 采用慢性温和刺激法复制抑郁情绪大鼠模型。在4周的造模过程中, 每隔1周采集1次旷场行为学指标。采用两两聚合的分析方法(连续聚合, 间隔聚合, 立意聚合)处理数据, 比对不同聚合手段对模型制备信度及相关性的影响。

**结果与结论:** ①一致性系数 Kappa 结果: 间隔聚合与立意聚合的聚合方式都能得到较好的可信度( $Kappa=0.611, P < 0.05$ ), 连续聚合方式可信度一般( $Kappa=0.222$ )。②组内相关系数 ICC 结果: 只有立意聚合的可信度极好( $ICC=0.835, P < 0.01$ ), 间隔聚合方式呈较好可信度( $ICC=0.792, P < 0.05$ ), 连续聚合方式可信度差( $ICC=0.196$ )。说明恰当的立意聚合可以大幅提升抑郁情绪大鼠旷场数据的可信度与稳定性。

**关键词:** 旷场实验; 抑郁情绪; 动物模型; 数据聚合; 可信度

苏云祥, 魏盛, 谭倩, 柳新, 杜希扬. 抑郁情绪模型大鼠旷场数据的聚合分析[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(28): 5170-5174. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

<sup>1</sup>Brain Behavior Laboratory, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, Shandong Province, China  
<sup>2</sup>Key Laboratory of Classical Theory for Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, Shandong Province, China

Su Yun-xiang★, Studying for master's degree, Brain Behavior Laboratory, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, Shandong Province, China; Key Laboratory of Classical Theory for Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, Shandong Province, China  
 suyunxiangben@hotmail.com

Corresponding author: Wei Sheng, Lecturer, Brain Behavior Laboratory, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, Shandong Province, China; Key Laboratory of Classical Theory for Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, Shandong Province, China

## 0 引言

旷场实验作为啮齿类动物自主活动度的一种重要检测手段<sup>[1]</sup>,主要通过受试动物活动量来了解动物对外界的认知能力、紧张度、兴趣度等<sup>[2]</sup>,是评价抑郁动物模型的重要行为学检测指标<sup>[3]</sup>。

指标中旷场实验活动量总得分是动物探索行为及兴奋性的总体反映<sup>[4]</sup>。对于正常大鼠旷场数据的稳定性与一致性考察,国外研究者认为,多次测量旷场数据,以加和的方式进行数据聚合,可显著提高旷场指标的稳定性与一致性<sup>[5]</sup>。但对造模后大鼠的旷场行为学指标,该法是否依然适用,国内外相关研究报道阙如,本课题以此为切入点展开研究。

本实验利用经典的慢性温和刺激法制备抑郁情绪大鼠模型<sup>[6]</sup>,行旷场试验评价其行为,采用数据聚合的方法,分析比对指标活动量总得分的组内相关系数(Intraclass correlation coefficient, ICC)<sup>[7]</sup>、一致性系数<sup>[8]</sup>(Agreement index, Kappa)两个统计学参数,对指标活动量总得分进行信度检验及参数相关性分析,考察该模型制备的稳定性及行为学指标的可靠性。

## 1 材料和方法

**设计:** 随机对照动物实验。

**时间及地点:** 于2010-11在山东中医药大学脑行为分析实验室完成。

**材料:**

**实验动物:** SPF级健康雄性Wistar大鼠30只,体质量180~220 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证编号为SCXK11-00-0008。

**实验装置:** 旷场实验敞箱(100 cm×100 cm×50 cm),木质,周壁及底面均为黑色,底面用白线划分为面积相等的25个方格(10 cm×10 cm)。在旷场的中心格正上方架设摄像系统。

**实验方法:**

慢性温和刺激法建立抑郁情绪实验动物模型<sup>[9]</sup>: 实验大鼠于室温(20±2) °C,光照自8:00至

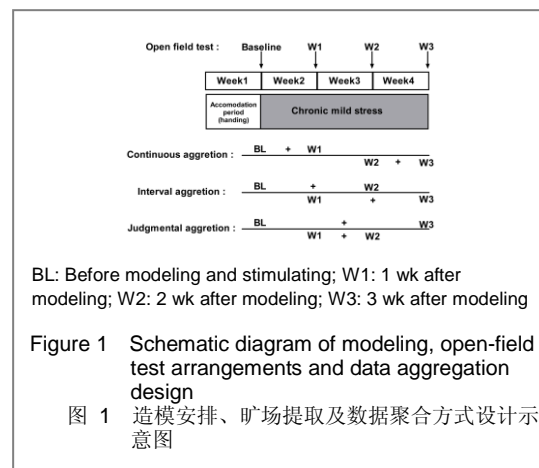
20:00,单笼饲养,自由进水饮食饲养;预适应环境1周后,筛选体质量(180±5) g,对刺激反应灵活机敏的14只大鼠进入正式实验,行旷场实验。根据实验基数分为正常对照组(未建立抑郁情绪模型)与造模组,每组7只。所有动物实验操作比照NIH颁布实验动物福利及试用指导原则进行。

造模持续3周,每日包含2到5种不同应激源予以刺激。应激源包括:剥夺饮食饮水;倾斜鼠笼;持续光照;弄脏鼠笼(100 mL水倾倒在垫料上);频闪光照刺激,100次/min;间断式白噪声刺激,85 dB;气味刺激;鼠笼内放置陌生物品;限制进食刺激(每日3片饲料);空瓶刺激;夹尾刺激。

**旷场实验<sup>[10]</sup>:** 两组于造模刺激开始前、造模1, 2, 3周后的相同时间行旷场实验,提取行为学指标。具体操作步骤为:操作者握住大鼠尾根部1/3处,小心放入旷场正中格,用摄像系统记录动物3 min的行为学指标。包括:①水平得分:动物穿越底面方块数为水平活动得分(四爪均进入的方格方可记数)。②垂直得分:直立次数为垂直活动得分(两前爪腾空或攀附墙壁)。③旷场实验总分:③=①+②。行为评定采用盲法。

**数据处理:** 将造模组大鼠4次旷场数据采用两两加和的方式处理<sup>[11]</sup>。包括:①连续聚合:(造模刺激开始前+造模1周后)/(造模2周后+造模3周后)。②间隔聚合:(造模刺激开始前+造模2周后)/(造模1周后+造模3周后)。③立意聚合:(造模刺激开始前+造模3周后)/(造模1周后+造模2周后)3种聚合方式。

具体造模时间安排、旷场指标提取及数据聚合方式,见图1。



Supported by: the National Basic Research Program of China, No. 2011CB505102\*; the Key Program of the National Natural Science Foundation of China, No. 30930110\*; the General Program of the National Natural Science Foundation of China, No. 30973688\*; the Science and Technology Development Program of Shandong Province, No. 2010GSF10290\*

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2012.28.009

Received: 2011-11-03  
Accepted: 2011-11-24

<sup>1</sup> 山东中医药大学脑行为分析实验室, 山东省济南市250355; <sup>2</sup> 山东中医药大学中医药经典理论教育部重点实验室, 山东省济南市250355

苏云祥★, 男, 1984年生, 山东省烟台市人, 汉族, 山东中医药大学在读硕士, 主要从事中药调肝方药药理研究。  
suyunxiangben@hotmail.com

通讯作者: 魏盛, 讲师, 山东中医药大学脑行为分析实验室, 山东省济南市250355  
waysaint@163.com

中图分类号: R318  
文献标识码: B  
文章编号: 2095-4344 (2012)28-05170-05

收稿日期: 2011-11-03  
修回日期: 2011-11-24 (20110826011/GW·LX)

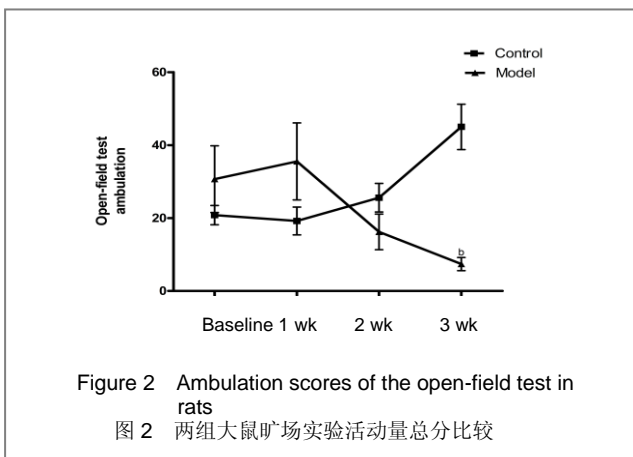
主要观察指标: 两组大鼠旷场实验结果。

统计学分析: 使用SPSS 17.0软件进行统计处理, 运用GraphPad Prism 5.0软件进行统计作图。Kappa参数由 Analyze→Descriptive statistics→Crosstabs statistics→Kappa过程完成得到; ICC参数由Analyze→Scale→Reliability Analysis过程完成得到。Kappa参数分析前, 先用分位数法将旷场实验活动量总分的数据分为以下四组: ①高分组(>75%分位数)。②偏高分组(75%分位数~中位数)。③偏低分组(中位数~25%分位数)。④低分组(<25%分位数)。当参数Kappa和ICC: ①<0, 认为一致性强度极差。②0.0~0.2, 差。③0.21~0.40, 一般。④0.41~0.60, 中等。⑤0.61~0.80, 较好。⑥0.81~1.00, 极好<sup>[12]</sup>。

## 2 结果

2.1 实验动物数量分析 14只大鼠均进入结果分析。

2.2 造模期间两组大鼠活动量总得分比较 见图2。



造模刺激3周后, 与正常对照组相比, 模型组活动量总得分显著性减少( $P < 0.01$ ), 说明抑郁情绪模型大鼠活动兴奋性及认知能力均显著性降低, 评价模型制备成功。

2.3 造模组活动量总得分分类(高、偏高、偏低、低)一致性检验Kappa结果 见表1, 2。

对活动量总得分分类数据聚合分析结果显示: 间隔聚合与立意聚合两种方式可得到较好的可信度(Kappa=0.611,  $P < 0.05$ ), 方式连续聚合可信度一般(Kappa=0.222)。

2.4 造模组活动量总得分一致性检验ICC结果 见表3、图3。

对活动量总得分数据一致性考察结果显示, 方式立意聚合具有极好的信度(ICC=0.835,  $P < 0.01$ ), 间隔聚

合较好(ICC=0.792,  $P < 0.05$ ), 连续聚合可信度差(ICC=0.196)。

表1 造模组旷场实验数据两两聚合后3种聚合方式Kappa值比较  
Table 1 Kappa value of open-field data in model group after pairwise aggregation for the three aggregation methods (n=7)

Aggregation methods	Data item	1 <sup>st</sup> Quantile	Median	3 <sup>rd</sup> Quantile	Kappa	Reliability
Continuous aggregation	ITEM I:(BL+W1)	26.67	69.00	92.17	0.222	fair
	ITEM II:(W2+W3)	6.84	31.67	34.17		
Interval aggregation	ITEM I:(BL+W2)	21.50	43.00	72.17	0.611 <sup>a</sup>	good
	ITEM II:(W1+W3)	22.84	38.67	53.83		
Judgmental aggregation	ITEM I:(BL+W3)	11.50	43.34	58.50	0.611 <sup>a</sup>	good
	ITEM II:(W1+W2)	33.17	37.67	72.50		

BL: Before modeling and stimulating; W1: 1 wk after modeling; W2: 2 wk after modeling; W3: 3 wk after modeling; <sup>a</sup> $P < 0.05$ , vs. continuous aggregation

表2 间隔聚合/立意聚合方式参数分组情况  
Table 2 Parameter distribution of interval aggregation/judgmental aggregation

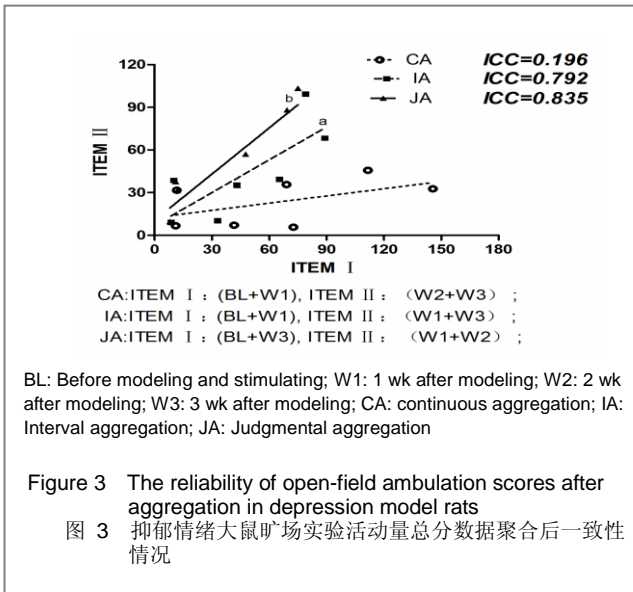
ITEM I	ITEM II				Total
	Lowest group	Lower group	Higher group	Highest group	
Lowest group	1	1	0	0	2
Lower group	1	1	0	0	2
Higher group	0	0	1	0	1
Highest group	0	0	0	2	2
Total	2	2	1	2	7

The number in gray cell represents the number of rats in the same group after aggregation; Kappa=0.611

表3 造模组旷场实验数据两两聚合后3种聚合方式ICC结果比较  
Table 3 ICC value of open-field data in model group after pairwise aggregation for three aggregation methods ( $\bar{x} \pm s$ , n=7)

Aggregation methods	Data item	$\bar{x} \pm s$	ICC	Reliability
Continuous aggregation	ITEM I:(BL+W1)	66.19±50.09	0.196	poor
	ITEM II:(W2+W3)	23.57±16.65		
Interval aggregation	ITEM I:(BL+W2)	46.86±32.08	0.792 <sup>a</sup>	good
	ITEM II:(W1+W3)	42.90±31.96		
Judgmental aggregation	ITEM I:(BL+W3)	38.05±28.22	0.835 <sup>b</sup>	excellent
	ITEM II:(W1+W2)	51.71±33.34		

BL: Before modeling and stimulating; W1: 1 wk after modeling; W2: 2 wk after modeling; W3: 3 wk after modeling; <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ , vs. continuous aggregation



### 3 讨论

抑郁情绪作为不良情绪的一种, 深深影响着现代人的正常生活, 其动物模型的制备与评价也日益成为国内外研究的热点。由 Katz 等<sup>[13]</sup>提出的慢性温和刺激法是目前成熟公认的抑郁情绪造模方法。Bekris 等<sup>[9]</sup>研究表明, 该法可诱发大鼠在行为学上表现出顽固性兴趣缺失或快乐感缺乏。相比正常对照组, 造模组大鼠活动量总分显著减少正是大鼠对于外界诱因兴趣减退的最好反映。慢性温和刺激法不但使大鼠在整个造模过程中完全暴露于一系列轻度的刺激中, 而且在应激刺激强度基本均衡的情况下, 以周为单位进行造模步骤上的反复<sup>[14]</sup>, 这都为数据聚合分析提供了必要前提与可能。

信度是指多次测量结果的一致性程度, 反映了一种测量方法或工具的稳定性或可靠性。常用的统计评价参数有: ICC 值和 Kappa 值<sup>[15]</sup>。ICC 系数常用于评价连续变量或等级变量的可信度大小; Kappa 系数常用于评价分类变量的可信度大小<sup>[16-17]</sup>。

实验结果显示: 经过降维处理, 3 种聚合方式的 Kappa 系数比较, 间隔聚合与立意聚合完全一致, 可信度较好(Kappa=0.611,  $P < 0.05$ ), 连续聚合的可信度一般。其 ICC 系数则更精确的提示, 立意聚合具有极好的可信度(Kappa=0.835,  $P < 0.01$ ) 间隔聚合较好(Kappa=0.792,  $P < 0.05$ ), 连续聚合可信度差。Ossenkopp 等<sup>[11]</sup>认为数据聚合提升结果一致性的原因是, 多次旷场测量值经过加和后, 每次检测中的误差得以均化消减, 从而暴露出数据间潜在关联, 作者同时提出方式间隔聚合是较为合适的聚合方式。本实验结果表

明, 适当的数据聚合方式亦可显著提高造模组大鼠旷场数据的一致性与可信度。方式连续聚合从根本上忽略了应激刺激的影响, 未将造模因素纳入分析范畴, 故其统计参数值均较低。方式间隔聚合可信度较高但并未达到极高, 这可能是大鼠连续测量旷场指标后耐受性增强与累计造模效应不均的综合作用结果(ITEM I 累计 2 周相对造模效应、ITEM II 累计 4 周相对造模效应)<sup>[18]</sup>。3 种聚合方式中唯有立意聚合法的 2 个统计学参数都显示出高度的可信性, 这正与连续累计造模效应相等(ITEM I 与 ITEM II 都累计 3 周相对造模效应)呼应, 提示对造模大鼠多次旷场数据的处理, 可以采用平衡累计造模效应的分类方式立意聚合数据, 以提高可信度。同时极高的可信度也反映出: 本实验在模型制备过程中的操作具有较高的稳定性与一致性。

综上所述, 多次测量旷场指标后, 适当的数据聚合可以显著提高造模大鼠旷场指标的可信度与稳定性。但该方法是否还适用于其他动物模型及具体聚合方式的确定都有待于进一步展开研究探讨。

致谢: 山东中医药大学脑行为分析实验室为实验提供了实验场所及设备, 在此表示感谢。

### 4 参考文献

- [1] Voikar V, Rauvala H, Ikonen E. Cognitive deficit and development of motor impairment in a mouse model of Niemann-Pick type C disease. *Behav Brain Res*. 2002; 132(1): 1-10.
- [2] Guo JY, Li CY, Ge WH. *Zhongguo Linchuang Kangfu*. 2004; 8(10): 1932-1933. 郭建友, 李昌煜, 葛卫红. 抑郁症动物模型研究进展[J]. 中国临床康复, 2004, 8(10): 1932-1933.
- [3] Zeng L, Zhang M, Bu BT. *Shenjing Sunshang yu Gongneng Chongjian*. 2008; 3(5): 352-356. 曾莉, 张旻, 卜碧涛. 实验啮齿类动物行为学评估[J]. 神经损伤与功能重建, 2008, 3(5): 352-356.
- [4] Chourbaji S, Gass P. Glucocorticoid receptor transgenic mice as models for depression. *Brain Res Rev*. 2008; 57(2): 554-560.
- [5] Tachibana T. Higher reliability and closer relationship between open-field test measures on aggregation data. *Anim Learn Behav*. 1985; 13(4): 345-348.
- [6] Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology (Berl)*. 1987; 93(3): 358-364.
- [7] Cai XY, Jin PQ. *Zhonghua Yufang Yixue Zazhi*. 1999; 33(3): 175-176. 蔡雪亚, 金丕炔. 用组内相关系数评价一致性的方法及其局限性[J]. 中华预防医学杂志, 1999, 33(3): 175-176.
- [8] Xia BS, Wu JH. *Zhonghua Jianyan Yixue Zazhi*. 2006; 29(1): 83-84. 夏邦世, 吴金华. Kappa 一致性检验在检验医学研究中的应用[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(1): 83-84.

- [9] Bekris S, Antoniou K, Daskas S, et al. Behavioural and neurochemical effects induced by chronic mild stress applied to two different rat strains. *Behav Brain Res.* 2005;161(1): 45-59.
- [10] Gould TD. *Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice.* U.S.: Humana, 2009.
- [11] Ossenkopp KP, Mazmanian D. The principle of aggregation in psychobiological correlational research: An example from the open-field test. *Anim Learn Behav.* 1985;13(4): 339-344.
- [12] Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.* 1977; 33(1): 159-174.
- [13] Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression. *Neurosci Biobehav Rev.* 1981;5(2): 247-251.
- [14] Guo XY, Jiang KD. *Guoji Jingshenbingxue Zazhi.* 2007;34(4): 216-217.  
郭晓云, 江开达. 慢性轻度应激抑郁动物模型研究进展[J]. 国际精神病学杂志, 2007, 34(4): 216-217.
- [15] Sun SG, Wang JJ, Li ZF, et al. *Zhonghua Xingwei Yixue yu Nao Kexue Zazhi.* 2010;19(12): 1093-1095.  
孙世光, 王婧婧, 李自发, 等. 旷场实验: 昆明小鼠行为学评价方法的重测信度检验[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2010, 19(12): 1093-1095.
- [16] Watkins MW, Pacheco M. Interobserver Agreement in Behavioral Research: Importance and Calculation. *J Behav Educ.* 2000;10(4): 205-212.
- [17] Berk RA. Generalizability of behavioral observations: a clarification of interobserver agreement and interobserver reliability. *Am J Ment Defic.* 1979;83(5): 460-472.
- [18] Rygula R, Abumaria N, Flugge G, et al. Anhedonia and motivational deficits in rats: impact of chronic social stress. *Behav Brain Res.* 2005;162(1): 127-134.

来自本文课题的更多信息--

**基金声明:** 国家重点基础研究发展计划(973 计划) 资助课题(2011CB505102); 国家自然科学基金重点项目(30930110); 国家自然科学基金面上项目(30973688); 山东省科技发展计划项目(2010GSF10290)。

**作者贡献:** 实验设计为魏盛、苏云祥, 实验实施为苏云祥、谭倩、柳新、杜希扬, 实验评估为魏盛, 资料收集为苏云祥, 苏云祥成文, 魏盛审核, 苏云祥对文章负责。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**文章概要:**

**文章要点:** 分析抑郁情绪模型大鼠旷场实验中活动量总得分的最佳聚合方式。

**关键信息:** 对于正常大鼠旷场数据的稳定性与一致性考察, 国外研究者认为, 多次测量旷场数据, 以加和的方式进行数据聚合, 可显著提高旷场指标的稳定性与一致性。但对造模后大鼠的旷场行为学指标, 该法是否依然适用, 国内外相关研究报道阙如, 本课题以此为切入点展开研究。

**本文创新性:** 实验首次将数据聚合分析法应用于造模后大鼠模型的行为学数据中, 有利于进一步客观地评价动物模型的各项行为学指标研究, 并为动物模型质量考核提供更可靠的方法学参考。

SCI 收录的 Journal of Pediatric Orthopaedics (《儿科矫形外科学》杂志)介绍

<p>英文刊名: Journal of Pediatric Orthopaedics 中文刊名: 《儿科矫形外科学》 ISSN: 0271-6798 影响因子: 1.156 出版周期: 8 期/年 出版数据: 178 篇/年 创刊年份: 1981 年 出版单位(或出版地): LIPPINCOTT WILLIAMS &amp; WILKINS 收录数据库: Science Citation Index Expanded Current Contents - Clinical Medicine 栏目: 研究原著, 病例报告等 期刊网址: <a href="http://journals.lww.com/pedorthopaedics/pages/aboutthejournal.aspx">http://journals.lww.com/pedorthopaedics/pages/aboutthejournal.aspx</a></p>	<p>英文简介: <i>Journal of Pediatric Orthopaedics</i> is a leading journal that focuses specifically on traumatic injuries to give you hands-on on coverage of a fast-growing field. You'll get articles that cover everything from the nature of injury to the effects of new drug therapies; everything from recommendations for more effective surgical approaches to the latest laboratory findings. <i>Journal of Pediatric Orthopaedics</i> is the official journal of the: Pediatric Orthopaedic Society of North America European Paediatric Orthopaedic Society 中文简介: 《儿科矫形外科学》涵盖从损伤的性质到的新药物的治疗, 及从建议到更有效的最新化验结果手术方法的各个方向的研究, 尤其侧重于创伤的研究。它是北美及欧洲儿科矫形外科学会的官方期刊。</p>
---	---