

一种可控的压力应对小鼠行为学模型的建立

赵新园^{1,2} 文茹懿^{1,2} 付朵^{1,2} 李玥^{1,2Δ}

(¹复旦大学脑科学研究院-脑功能与脑疾病全国重点实验室 上海 200032; ²复旦大学脑科学前沿科学中心 上海 200032)

【摘要】 目的 建立一种新型操作性行为学模型——可控压力应对测试(controllable stress-coping test, CSCT),以量化小鼠主动终止压力源的行为特征,实现其对主动与被动应对表型的客观区分,从而为压力应对决策的神经机制研究提供可靠的行为学范式。**方法** 采用0.25 mA的足底电刺激作为可控压力源,小鼠可通过主动压杆提前终止电刺激,或选择被动等待至40 s后电刺激自动结束。基于120个试次的行为表现,使用无监督聚类方法对小鼠进行客观分类。进一步的痛阈测试和高架十字迷宫实验验证两组在先天的痛觉敏感性和焦虑水平;条件恐惧学习与操作性奖赏学习测试验证两组在学习和执行能力水平。**结果** 聚类分析明确区分出主动应对与被动应对两组:主动应对组表现出稳定的操作性终止行为,而被动应对组则采取耐受等待策略。行为结果证明两组在先天的痛觉敏感性和焦虑水平、学习和执行能力上均无显著差异。**结论** 成功构建了一种能够特异性区分可控应激源诱导压力应对策略的小鼠行为学范式,为深入揭示压力相关情绪障碍与决策行为的神经机制提供了有效的实验工具。

【关键词】 压力应对; 行为学范式; 电刺激; 痛阈测试; 神经机制; 小鼠

【中图分类号】 R-332 **【文献标志码】** A **doi:**10.3969/j.issn.1672-8467.2026.04.002

Development of a controllable stress-coping mouse behavioral model

ZHAO Xin-yuan^{1,2}, WEN Ru-yi^{1,2}, FU Duo^{1,2}, LI Yue^{1,2Δ}

(¹Institutes of Brain Science-State Key Laboratory of Brain Function and Disorders, Fudan University, Shanghai 200032, China; ²Frontiers Center for Brain Science, Fudan University, Shanghai 200032, China)

【Abstract】 Objective To establish a novel operant behavioral model, the controllable stress coping test (CSCT), to quantitatively characterize the active termination of an aversive stimulus in mice, thereby enabling objective differentiation between active and passive coping phenotypes and providing a validated behavioral model for investigating the neural substrates of stress-coping decision-making. **Methods** A mild foot-shock (0.25 mA) served as a controllable aversive stimulus. Mice were given the option to actively press a lever to prematurely terminate the shock or to passively endure the shock until its automatic cessation at 40 s. Behavioral performance was analyzed across 120 trials, and unsupervised clustering was applied to classify subjects based on their response patterns. **Results** Cluster analysis distinctly segregated mice into active and passive coping groups. The active coping group demonstrated consistent operant shock-termination behavior, whereas the passive coping group exhibited a tolerance-based waiting strategy. Further assessments of pain threshold and the elevated plus maze test revealed no significant inter-group differences in either baseline pain sensitivity or innate anxiety-like behavior. Furthermore, conditioned fear learning and operant reward learning assays indicated comparable learning capacity and task execution between groups. **Conclusion** We have developed and validated a novel behavioral paradigm that effectively discriminates between distinct stress-coping strategies in mice. This model

上海市“科技创新行动计划”启明星项目(A类,24QA2701500)

^ΔCorresponding author E-mail: yue_li@fudan.edu.cn

网络首发时间:2026-06-26 15:38:57 网络首发地址:https://link.cnki.net/urlid/31.1885.R.20260626.1047.006

provides a robust experimental tool for elucidating the neural mechanisms underlying stress-related psychopathologies and adaptive decision-making.

【Key words】 stress-coping; behavioral paradigm; electric shock; pain threshold test; neural mechanism; mouse

* This work was supported by the Shanghai Science and Technology Innovation Action Plan Rising Star Program (Cals A, 24QA2701500).

压力应对是个体在面对威胁身心健康的内外环境压力源时,为维持稳态而采取的认知、情感及行为调节策略^[1]。基于行为反应特征,压力应对策略可分为两类:主动应对和被动应对^[2]。主动应对表现为采取积极行动以终止或缓解压力源,尽管能够缩短应激暴露时间,但通常伴随较高的能量消耗;被动应对则表现为对压力的耐受行为,等待压力自然消退,在多数可承受压力情境中更具生理经济性。压力应对功能失调与人类抑郁、焦虑和创伤后应激障碍等精神障碍有关^[3-4],了解压力应对背后的神经机制对于阐明生理压力反应和这些疾病的病理基础至关重要。

目前常用的压力应对模型主要包括急性应激测试和慢性社交挫败(chronic social defeated stress, CSDS)范式。急性应激测试通过将动物放置于不可逃避的应激环境中,量化其行为反应,强迫游泳实验(forced swimming test, FST)和悬尾实验(tail suspension test, TST)是其经典范式。在FST中,主动应对表现为剧烈游泳与攀爬行为,被动应对则以静止漂浮时间为指征^[5];TST则通过测量挣扎与静止悬挂两种行为来分别反映主动和被动压力应对模式^[6]。CSDS范式采用长期的社交压力作为应激源,通过持续的社会冲突诱导应激状态。在此范式中,主动应对表现为持续的社交探索行为,被动应对则体现为社交回避^[7]。然而,现有压力应对范式存在明显局限性:压力不可逃避,迫使动物最终转向被动应对模式;应激强度高,难以真实反映自然中低强度压力下的应对决策;难以有效区分压力应对策略与情绪反应^[8]。

针对上述问题,本研究提出并验证一种基于操作性条件化的可控压力应对测试(controllable stress-coping test, CSCT)行为学范式,其核心在于引入主动压杆作为可控应激的应对选项。本研究利用该范式实现压力应对表型的稳定区分,并进一步明确主动与被动应对行为在决策面的本质差异,从而为后续研究压力适应的神经机制提供可靠的范式基础,为解析压力应对机制提供更适宜的研究工具。

资料和方法

实验动物 野生型小鼠(C57BL/6J)购自北京维通利华实验室动物技术有限公司,实验小鼠群养(25~30 g, 2~3月龄, 3~5只/笼),昼夜节律为12 h黑暗/12 h光照(7:00—19:00为暗周期)。动物饲养温度为(22±2)℃,湿度为40%~60%。所有动物自由摄食、饮水。所有动物实验均通过复旦大学基础医学院实验动物伦理委员会伦理审查(批准号:20240903-002),按照复旦大学动物保护和使用委员会的指导原则进行。

可控的压力应对测试(CSCT) 压力应对装置(Med-307A-B1,美国Med Associated公司)箱体尺寸为15.24 cm×13.34 cm×12.7 cm(长×宽×高),配备可拆卸电击板和可伸缩压杆。

前期准备工作 提前1周将小鼠合笼(4只/笼)并放入饲养房间适应昼夜节律、噪音和温度等环境因素。

行为箱体适应(2天) 每天将小鼠置于行为箱内自由活动30 min,共2天。适应结束后,用75%酒精擦拭箱体消除气味。

可控的电击测试(2天) 测试开始后,首先允许小鼠自由探索箱体30 s,接着开始60次电击,电击时长为40 s,电击间隔(inter trial interval, ITI)时长为20 s,电击强度为0.25 mA。每次电击开始前有1 s的箱体灯亮作为预示电击的提示线索,灯灭1 s后箱体左右杆伸出,随机定义一侧杆为有效按压杆,每只鼠的有效按压杆在2天中保持一致。

如果在电击期间小鼠按压有效杆,则电击结束并进入20 s ITI。电击期间按压无效杆或不压杆,电击进行40 s后自动结束,随后进入20 s ITI。ITI期间任何操作无影响,又称不应期。ITI结束后开始下一次电击试次。根据按压有效杆的潜伏期不同,将潜伏期小于15 s的电击试次定义为NP(normal pattern);潜伏期大于15 s小于40 s的电击

试次定义为DP(deficit pattern);40 s内无压杆的电击试次定义为FP(failure pattern)。实验结束后用75%酒精擦拭箱体消除气味。

聚类分析 电击测试结束后,根据每只实验小鼠的行为指标(NP、DP、FP、在电击期间以及ITI期间的有效、无效压杆次数)进行k-means聚类分析,从而对所有实验动物进行无监督分类。

电击阈值测试 在CSCT测试前10天,进行小鼠电击疼痛阈值测试。首先将小鼠放置于实验箱体[IDSA,安来科学仪器(宁波)有限公司,20 cm×24 cm×18 cm]内适应5 min;随后每只小鼠接受3次2 s的电击,每次电击间隔10 s,电流强度从0 mA增加到0.5 mA。直到听到同一强度下3次电击中超过2次小鼠发声,该电击强度作为电击疼痛阈值。

冯弗雷测试(Von Frey test)

适应 先将小鼠放到测试架上适应半小时(金属网上用透明罩子罩起来,一只鼠一个小隔间),以减少其应激反应。随后用Von Frey纤维丝垂直于后足中部进行刺激,包括0.16 g、0.4 g、0.6 g、1.0 g、2.0 g共5根不同力度的纤维丝,从0.16 g开始刺激。纤维丝弯曲成“C”形并维持2 s,观察到动物有缩爪、舔爪、甩爪的行为判定为阳性反应,并记录为“x”,无反应记为“o”。无反应时给予大一级力度的纤维丝,有反应时则用小一级力度的纤维丝。每根纤维丝刺激之间至少间隔2 min。

结果计算 用Dixon up-down方法,根据记录到的反应结果转换为缩爪反应阈值,该指标反应小鼠机械痛阈值。

热板测试(Hotplate test)

适应 每只小鼠在测试前2 h适应实验环境10 min(恒温加热板上用透明罩子罩起来)。热板加热至53度,将小鼠放置到热板表面并立刻开始计时,观察小鼠首次出现缩爪、舔爪、甩爪、张爪、跳跃的阳性反应时停止计时,并取出小鼠放回原笼。用酒精清理热板后进行下一只小鼠的测定。20 min后测第2遍,如果同一只小鼠两次测试时间差小于3 s则停止实验,如果时间差大于3 s则30 min后测第3遍。

结果计算 选取时间差小于3 s的两次结果取平均值作为热板反应潜伏期,该指标反应小鼠热痛阈值。

高架十字测试(elevated plus test, EPM) 采用十字形迷宫装置,由封闭臂(30 cm×5 cm×15 cm,长×宽×围壁高)和开放臂(30 cm×5 cm,边缘设置0.5 cm防滑栏)垂直交叉构成,通过中央平台(5 cm×5 cm)相连,整体架设于地面60 cm高处。实验时,将小鼠置于中央平台,允许其在10 min内自由探索迷宫各区域。采用工业摄像系统全程记录小鼠行为,通过Tracking Master行为分析软件(上海梵碧智能科技有限公司)量化分析以下参数:开放臂与封闭臂停留时间比、各区域进入次数及运动轨迹分布。每只小鼠测试结束后,使用75%酒精彻底清洁迷宫各部位,消除气味干扰后再进行下一只小鼠的测试。

强迫游泳测试(FST) 实验装置为高度30 cm、直径20 cm的透明圆柱体,注入23℃~25℃的洁净自来水,水深维持在20 cm(确保小鼠后爪不能触及底部)。测试期间小鼠放入水中自由活动6 min,动物行为由工业摄像头记录,通过Tracking Master行为分析软件识别小鼠的四肢及躯体运动幅度来自动计算小鼠保持不动状态的时间,游泳和攀爬行为为人工识别计算。测试结束取出小鼠擦干并放回原笼,清洁并更换装置内的水,进行下一批次测试。

厌恶性学习能力测试 在完成CSCT 1周后,采用条件性恐惧范式评估小鼠的厌恶学习能力。实验系统由Med Associated恐惧条件反射装置(型号307A-B1,美国Med Associated公司)和Tracking Master行为分析系统组成。

声音和箱体适应(第1天) 将小鼠置于行为箱体中,暴露于间隔120 s、持续10 s的声音刺激(conditioned stimulus, CS)(4 kHz, 75 dB)中5次。

条件恐惧学习(第2天) 使用与适应阶段相同的测试箱体,小鼠接受5次与第一天相同的CS。每次CS结束后立即给予1 s、0.6 mA的足底电击(unconditioned stimulus, US)。采用工业摄像头记录小鼠行为,通过Tracking Master行为分析软件自动识别并计算在10 s CS期间小鼠的冻结时间。冻结比率为冻结时间占提示音时长的百分比。

恐惧记忆提取(第3天) 将小鼠置于新环境测试箱(直径8 cm,高12 cm的圆柱体)中,给予3次相同的CS,但不伴随US。使用相同的摄像系统和软件记录并分析小鼠在CS期间的冻结行为。

操作性奖赏学习能力测试 在CSCT前1周,

利用操作性糖水自我摄取实验评估小鼠的奖赏学习能力。测试前1天将小鼠放置于实验箱体[IDSA,安来科学仪器(宁波)有限公司,20 cm×24 cm×18 cm]内适应30 min;测试前小鼠禁水12 h。测试当日的测试时间为60 min。小鼠进入箱体一侧6 cm×6 cm触发区域并停留满3 s后,箱体提示灯亮1 s、对侧出水口泵出0.05 mL 10%蔗糖溶液(*w/v*)。随后进入10 s的不应期,在此期间再次满足触发条件不会获得奖励。采用工业摄像头全程记录小鼠行为,通过Tracking Master行为分析系统自动识别并统计测试期间小鼠的糖水获取次数以及在触发区停留达到3 s及以上的有效触发次数。

统计学分析 所有统计分析均采用GraphPad Prism 9.0软件完成。对于两组间比较,首先进行正态性检验(Shapiro-Wilk检验)和方差齐性检验(*F*检验)。若数据符合正态分布且方差齐,则采用非配对*t*检验;若方差齐性不成立,则选用Welch校正*t*检验。当数据不符合正态分布时,采用非参数Mann-Whitney *U*检验。对于涉及两个独立分类变量的实验设计,采用双因素方差分析(two-way ANOVA),若交互作用显著,则进一步进行多重比较检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

CSCT 范式区分两种应对模式 CSCT 范式采用可终止的微弱电击作为压力源,使动物能够通过压杆行为主动终止压力(主动应对)或选择被动等待压力自动结束(被动应对)(图1A、1B)。基于行为特征的无监督聚类分析将实验小鼠明确分为两类:主动应对组表现为高频次、短潜伏期的有效压杆行为;被动应对组则表现出低反应性和长潜伏期特征(图1C)。不同性别中CSCT主动/被动应对的比例及行为指标无差异(图1D~1I),证明该模型的性别普适性。后续实验均用雄鼠。

CSCT中,主动/被动应对组小鼠在初始5次测试中表现相似(压杆潜伏期20~30 s),但随着测试推进,主动应对组压杆潜伏期逐渐缩短并在第2天测试中保持稳定,表明成功发展出主动回避策略;而被动应对组潜伏期基本维持在40 s上限,提示其采取耐受策略,两组产生了应对行为上的显著分化[$F(119, 3\ 720)=2.625, P<0.000\ 1$,图1E]。进一步

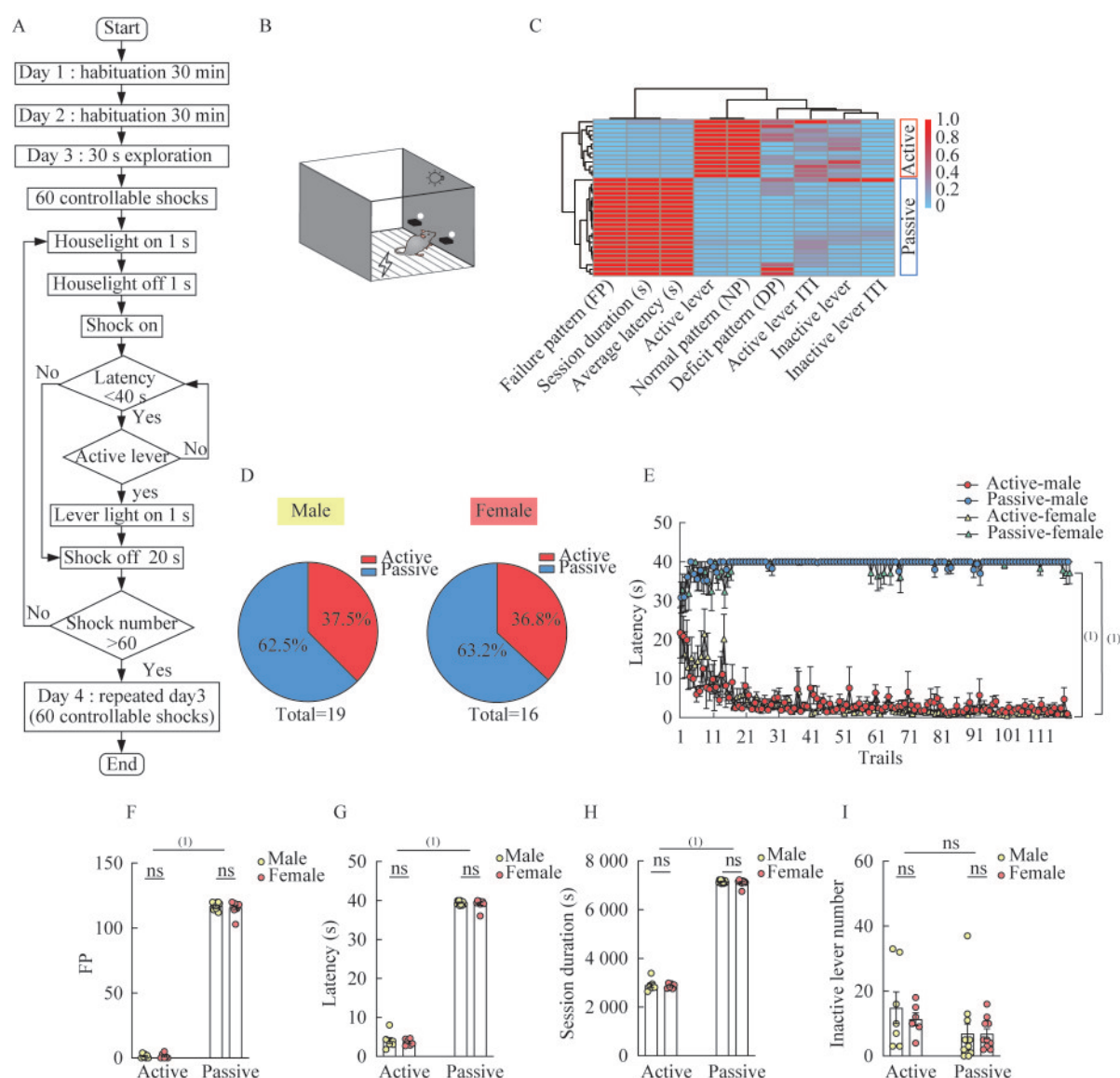
行为结果显示,主动应对组在FP次数[$F(1, 31)=10\ 047, P<0.000\ 1$,图1F]、平均压杆潜伏期[$F(1, 31)=7\ 735, P<0.000\ 1$,图1G]及总测试时长[$F(1, 31)=7\ 720, P<0.000\ 1$,图1H]等指标上均显著低于被动应对组。而主动/被动应对组的无效压杆次数不存在显著差异[$F(1, 31)=3.372, P=0.075\ 9$,图1I],提示主动压杆特异于电击逃避行为。这些结果证实,CSCT范式能有效区分两种截然不同的压力应对模式:主动应对个体通过操作性行为积极回避压力,而被动应对个体则表现出被动耐受和行为抑制倾向。

两组小鼠的痛阈比较 为探究主动/被动应对组在CSCT的行为差异是否与小鼠痛阈差异有关,我们进行了电击阈值测试、热板测试及冯弗雷测试,分别检测小鼠的电击痛阈、热痛阈和机械痛阈。在最后一次测试结束1周后利用CSCT测试区分主动/被动应对小鼠(图2A)。

电击阈值测试中,两组小鼠对电击刺激产生发声反应的阈值无显著差异($U=57.5, P>0.99$,图2B),表明其电击痛阈基本一致。热板实验中,两组小鼠的缩爪潜伏期亦未见统计学差异[$t_{(22)}=0.463, P=0.647\ 9$,图2C],说明其热痛阈相近。冯弗雷测试进一步显示,两组小鼠在机械刺激诱发的缩爪反应阈值上无显著区别($U=56.0, P=0.802\ 0$,图2D),提示其机械痛阈相当。上述结果表明,在CSCT行为范式中观察到的主动与被动应对策略的个体差异,并非由小鼠本身痛阈的不同所导致。

CSCT后两组小鼠焦虑水平比较 为了探究不同应对策略小鼠的情绪状态差异,在CSCT后的2天内,采用EPM和FST测试对两组小鼠的情绪相关行为进行了评估,在CSCT前1周进行了基础焦虑水平EPM测试,以排除基础焦虑水平差异对后续的CSCT及其后EPM结果的潜在影响,为了表示区分,将CSCT前的EPM定义为EPM-pre,CSCT后的EPM定义为EPM-post(图3A)。

EPM-pre结果显示,主动/被动应对组在开放臂[$t_{(22)}=0.584\ 8, P=0.564\ 9$,图3B]和闭合臂[$t_{(12,49)}=0.500\ 1, P=0.625\ 7$,图3C]的停留时间无显著差异,说明两组不存在基础焦虑水平的差异。而在EPM-post测试结果显示,与被动应对组相比,主动应对组表现出更低的焦虑样行为。具体表现为:主动应对组在开放臂的停留时间更长[$t_{(40)}=2.638, P=0.043\ 7$,



A: Schematic overview of the controllable stress-coping behavioral paradigm. B: Detailed illustration of the operant chamber setup. C: Unsupervised clustering analysis of behavioral parameters revealed two distinct subpopulations: the active coping group and the passive coping group. ITI: Inter-trial interval. D: Population distribution showing 37.5% active coping ($n=7$) versus 62.5% passive coping ($n=12$) in males and 36.8% active coping ($n=6$) versus 63.2% passive coping ($n=10$) in females. E: Trial-by-trial evolution of response latencies across 120 trials, demonstrating progressive behavioral divergence between groups (two-way ANOVA). F: Between-group-comparison of FP trials counts (two-way ANOVA). G: Between-group-comparison of mean response latency (two-way ANOVA). H: Between-group-comparison of total task completion time (two-way ANOVA). I: Inactive lever press count (two-way ANOVA). ⁽¹⁾ $P<0.0001$. ns: Not significant.

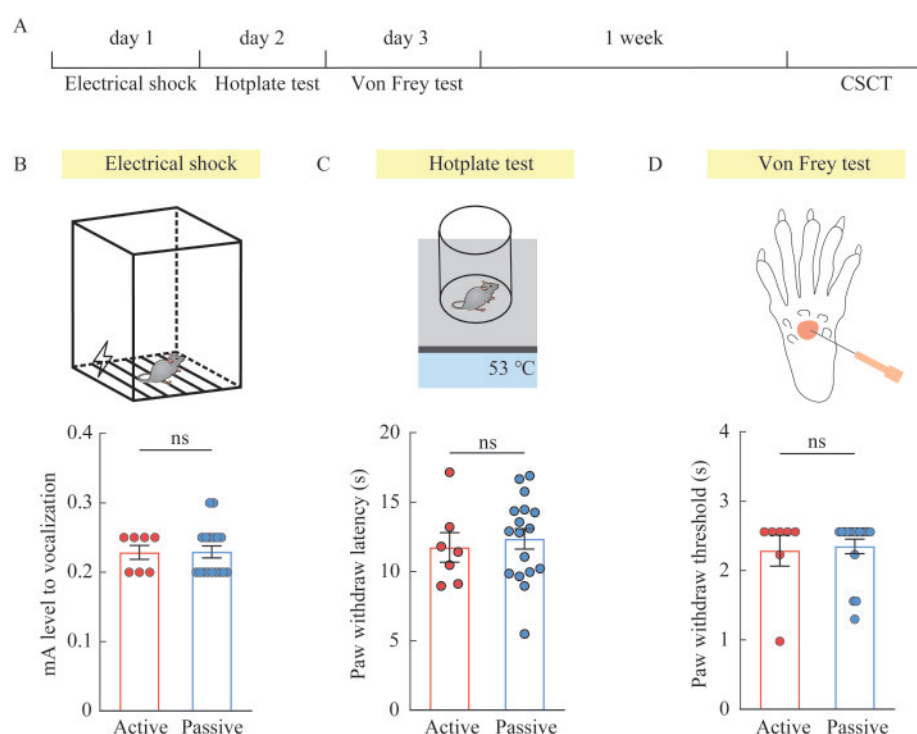
图1 可控的压力应对小鼠行为学范式

Fig 1 The controllable stress-coping behavioral paradigm in mice

图3D],而在闭合臂的停留时间更短 [$t_{(27.48)}=2.697$, $P=0.0118$,图3E]。这一行为模式差异可能与主动应对组在压力测试中遭受的实际电击持续时间较短有关。

FST结果表明,两组小鼠在抑郁样行为指标上无显著差异。将小鼠在FST中的行为分为3类:不动(行为绝望、被动应对)、攀爬和游泳(主动应对)

(图3F)。统计结果显示,两组在不动时间 [$t_{(40)}=0.308$, $P=0.7595$]、攀爬时间 ($U=57.5$, $P=0.5649$)和游泳时间 [$t_{(40)}=0.379$, $P=0.7065$]上均无统计学差异(图3G)。这一方面表明在不可控、高应激状态下,个体差异性的应对策略趋于一致;另一方面也说明CSCT范式中更长时间的电击压力不会引起抑郁样表型的增多。



A: The experimental timeline of the electrical shock, hotplate test, and Von Frey test. B: Currents required to elicit vocalization (Mann-Whitney test; active: $n=7$; passive: $n=17$). C: Paw withdrawal latency in hotplate test (unpaired t -test). D: Paw withdrawal threshold in Von Frey test (Mann-Whitney test). ns: Not significant.

图2 主动/被动应对组小鼠的痛阈测试

Fig 2 Pain threshold tests in active and passive coping mice

两组小鼠的厌恶性学习能力比较 为了排除实验动物学习能力差异对压力应对策略的潜在影响,在CSCT 1周后,通过条件恐惧实验系统评估动物的厌恶性学习能力(图4A、4B)。在恐惧习得阶段,两组小鼠均表现出相似的恐惧学习模式,具体表现为CS期间的冻结比率随着试次增加而逐渐升高并最终趋于稳定,两组间冻结比率无显著差异[$F(4, 48)=0.5439, P=0.7043$,图4C]。在随后的恐惧记忆提取测试中,两组小鼠在前3次CS期间的整体冻结比率同样未表现出统计学差异[$t_{(12)}=0.073, P=0.9427$,图4D]。这些结果一致表明,两组小鼠厌恶性学习能力无差异,从而排除了厌恶学习能力差异对压力应对策略分化的潜在影响。

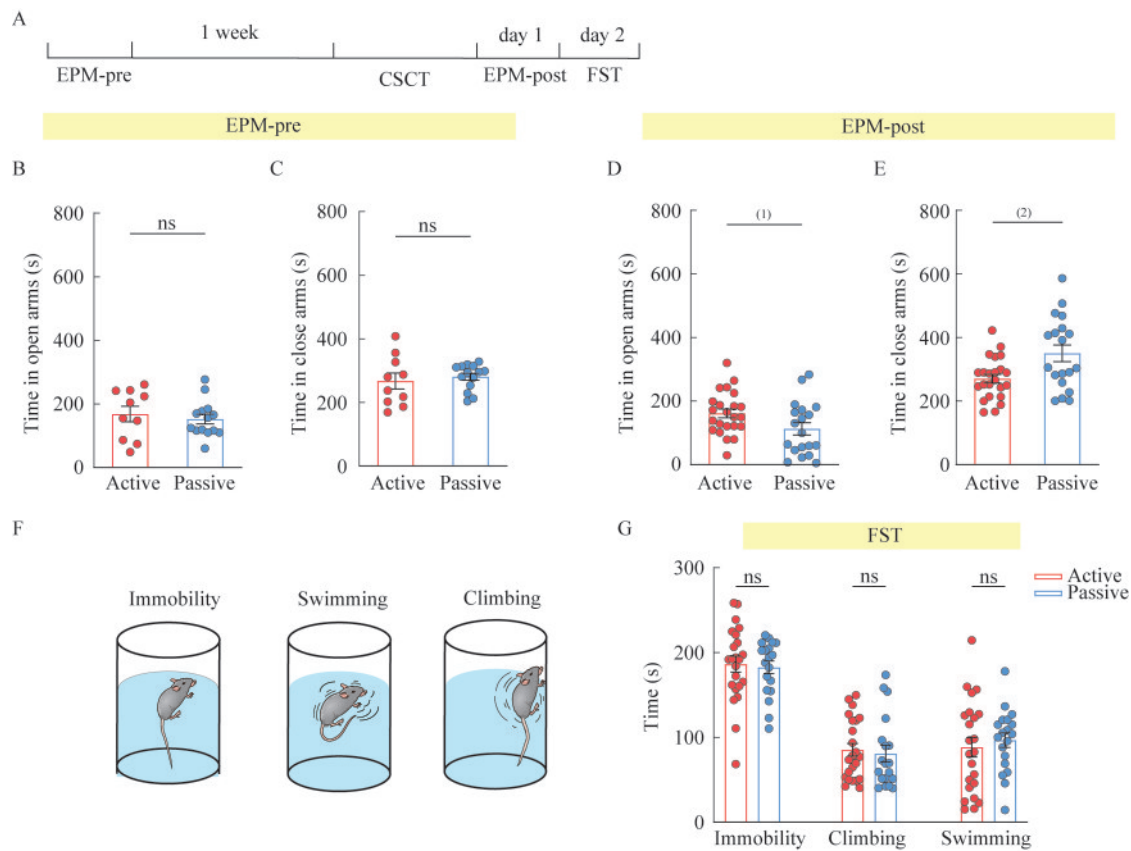
两组小鼠的操作性学习能力比较 为了进一步探究奖赏学习能力对压力应对策略的影响,进行了操作性糖水自我摄取实验以评估小鼠的操作性奖赏学习能力(图5A、5B),随后进行CSCT以区分主/被动压力应对表型。

在CSCT中,动物表现出显著的行为分化:主动应对组在连续60次电击训练中显示出明确的学

习曲线,其终止电击的潜伏期随训练试次逐渐缩短;被动应对组电击结束的潜伏期则维持在40 s左右[$F(59, 826)=4.803, P<0.0001$,图5C],表明该组小鼠几乎不进行压杆操作。重要的是,在糖水自我摄取测试中,两组小鼠获得糖水的次数[$t_{(14)}=1.506, P=0.1542$,图5D]和有效触发区域停留次数[$t_{(14)}=1.683, P=0.1145$,图5E]均无显著差异。这些结果表明两组小鼠具有相当的操作性奖赏学习能力,证明不同压力应对策略的形成与操作性学习能力无关。

讨 论

本研究开发了一种新型可控的压力应对行为学范式CSCT,能够稳定地将实验动物区分为主动应对组和被动应对组,主动应对个体倾向于通过特异性地操作有效压杆这一积极行为来回避压力刺激,而被动应对个体则更多表现出对压力的被动耐受及行为抑制倾向。分析关键验证实验表明:(1)两组动物在条件性恐惧记忆形成和操作性奖赏学



A: The experimental timeline of EPM-pre, EPM-post, and FST. B: Time spent in open arms in EPM-pre (unpaired *t*-test; active: *n*=10, passive: *n*=14). C: Time spent in close arms in EPM-pre (Welch's *t*-test). D: Time spent in open arms in EPM-post (unpaired *t*-test, active: *n*=23, passive: *n*=19). E: Time spent in closed arms in EPM-post (Welch's *t*-test). F: Behavioral classification in FST (immobility, climbing, and swimming). G: Duration of immobility (unpaired *t*-test; active: *n*=23, passive: *n*=19), climbing (Mann-Whitney test), and swimming (unpaired *t*-test). ⁽¹⁾*P*<0.05, ⁽²⁾*P*<0.01; ns: Not significant.

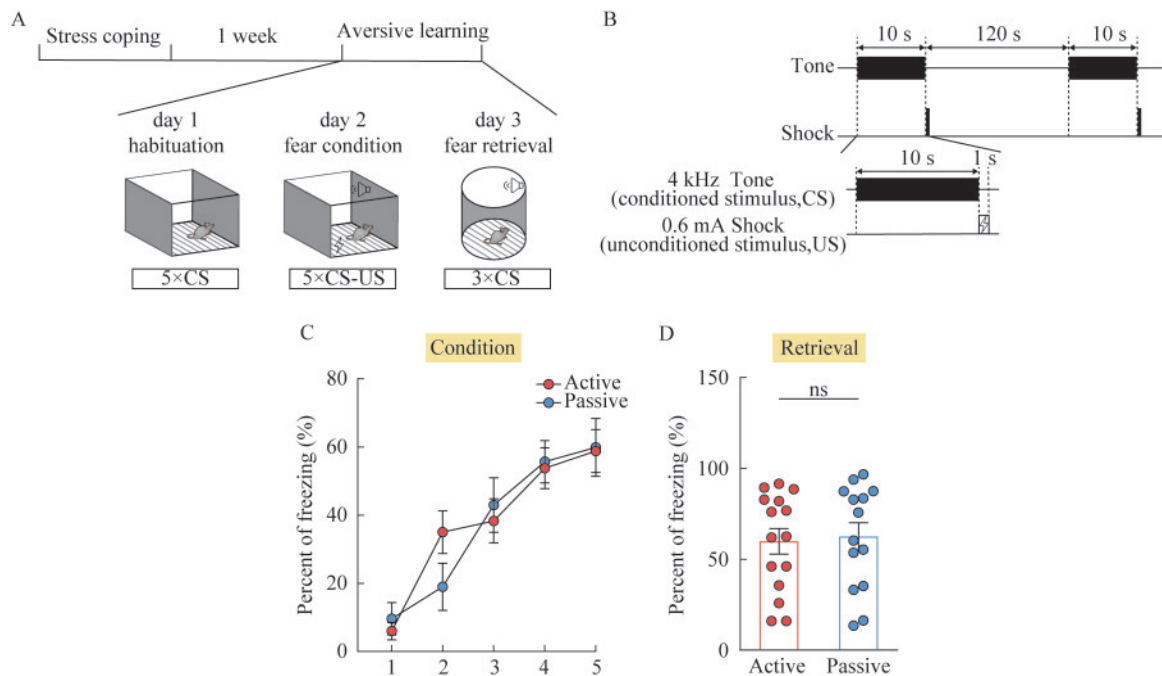
图3 主/被动压力应对组小鼠在高架十字迷宫和强迫游泳测试中的行为表现

Fig 3 Behavioral performance of active/passive coping mice in EPM and FST

习中表现相似,排除了学习能力差异的影响;(2)虽然主动应对组在高架十字迷宫中表现出更低的焦虑样行为,但两组在强迫游泳测试中未显示抑郁样行为差异,证实该范式特异性反映应对策略分化而非情绪障碍模型。

在压力应对研究领域,经典行为学方法如FST、TST及CSDS^[9]等已被广泛采用。然而,这些范式主要记录动物在无法控制的应激条件下的被动适应性反应(如行为抑制),另一方面,此类模型往往依赖高强度或持续性的应激暴露方式,与人类实际经历中常见的轻度、持续且具调控可能的压力环境存在差异。更为关键的是,上述范式所诱导的行为输出(如静止状态)表征的是个体应对风格的差异,抑或是抑郁样情绪状态的直接行为投射,在现有研究中仍缺乏明确的实验分离,其解释框架尚存争议^[10-11]。针对上述局限,本研究建立的CSCT

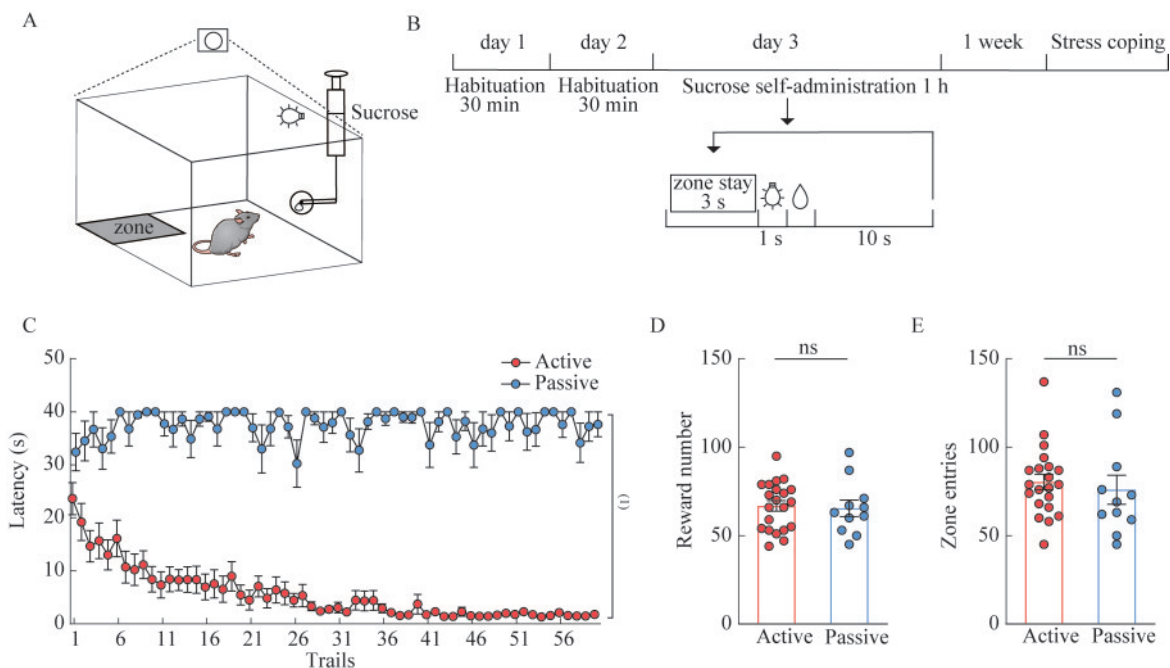
范式在设计上实现了3方面关键突破:(1)从被动反应到主动选择的范式转型。CSCT通过赋予动物在微弱足底电击过程中主动压杆终止刺激的能力,在小鼠模型中实现了对操作性应对行为的量化。这能够直接观察并区分动物是采取主动控制策略还是被动耐受策略。(2)从高强度急性应激到低水平可控应激的情境模拟。CSCT采用0.25 mA的低强度电击,并在每个试次中允许动物通过行为调控刺激持续时间,更贴近自然环境中持续存在但可调控的低水平压力源。(3)从单一定义应对到客观聚类的表型区分方法。传统范式多依赖单一行为指标(如不动时间)进行分组,易受主观阈值设定影响。CSCT基于多试次行为数据(如压杆数量、压杆潜伏期),采用无监督聚类方法实现表型的客观、数据驱动的分类,增强了结果的可重复性与科学性。因此,CSCT不仅弥补了传统模型在主动应对行为观



A: Schematic of the aversive learning behavioral paradigm. B: Configuration of conditioned stimulus (CS) and unconditioned stimulus (US) presentations. C: Freezing ratio during CS presentation in fear conditioning (two-way ANOVA; active: $n=6$, passive: $n=8$). D: Average freezing levels across three tone presentations during fear memory retrieval (unpaired t -test). ns: Not significant.

图4 主/被动压力应对组小鼠在厌恶性学习范式中的行为表现

Fig 4 Behavioral performance of active/passive coping groups in the aversive learning paradigm



A: Schematic diagram of the operant conditioning chamber. B: Experimental timeline of the operant reward learning task. C: Trial-by-trial changes in lever-press latency during the 60-trial stress-coping task (two-way ANOVA, active: $n=10$, passive: $n=6$). D: Number of rewards earned during the reward learning task (unpaired t -test). E: Number of valid trigger zone entries (dwell time ≥ 3 s) during the reward learning task (unpaired t -test). $^{(1)}P < 0.0001$, ns: Not significant.

图5 主/被动压力应对组小鼠在操作性奖赏学习测试中的表现

Fig 5 Behavioral performance of active/passive coping mice in the operant reward learning task

测方面的缺失,更通过可控、低强度、可操作的设计,为研究压力应对决策的认知与神经机制提供了更精细、更具生态效度的行为学工具。

大量研究表明,多种应激范式——包括慢性轻度应激、急性足底电击及社交挫败等——均可有效诱发实验动物的焦虑样行为,具体表现为高架EPM中开放臂探索活动的显著减少^[12-14]。在CSCT前的EPM测试排除了基线焦虑水平差异,而在CSCT范式后,被动应对组小鼠在EPM测试中表现出更为明显的焦虑样行为,这可能是由于其承受更长时间电击应激导致的,即焦虑状态为应激的结果而非压力应对策略分化的原因。而在FST这一应激强烈的测试中,主动应对组和被动应对组并未表现出行为差异。这些结果提示:(1)CSCT范式的应激强度处于诱发焦虑但不引起抑郁的适宜范围;(2)CSCT范式能敏感区分轻微压力下的应对策略差异,而这种差异在高强度应激下趋于一致。

CSCT范式通过压杆终止电击的负性强化学习过程,成功诱导出明显的压力应对策略分化。主动与被动应对组在条件恐惧学习和操作性糖水自我摄取等任务中表现相当,证实两组动物的学习能力不存在显著差异。这一关键发现排除了学习能力差异在压力应对策略分化中的潜在影响,表明本研究中所观察到的行为表型分化实质上反映了动物的适应性决策差异,而非学习能力的区别。另外,尽管主动应对组更多地按压有效杆以结束电击,但两组无效压杆数无显著差异,证明主动按压有效杆这一行为特异于电击逃避。介导此类决策差异的神经机制尚未完全阐明,现有研究表明中缝背核五羟色胺系统依据压力强度动态调控主动与被动应对决策,是压力适应性决策的关键调节因素^[15];而外侧缰核自噬系统参与应对反应的稳态调控,其失衡与压力应对失调密切相关^[16];此外也有研究表明,在经历恐惧压力后,饮食中高盐摄入可以促进主动应对行为^[17]。

本研究建立的CSCT范式为揭示压力应对决策的个体差异及其神经机制提供了重要研究工具。该范式通过模拟自然状态下的低强度压力,成功实现了对主动与被动应对表型的客观区分,并证实这种行为分化源于适应性决策过程而非学习能力差异。基于CSCT范式,可进一步开展神经机制研究:(1)应用体电生理记录技术动态解析不同脑区在压力应对决策中的时空编码特征;(2)整合单细胞转录组学和表观遗传学分析,系统阐明不同应对表型的分子

调控网络;(3)通过靶向神经环路调控实现对压力应对决策的精准操纵。这些深入研究不仅将推动对压力应对决策个体差异机制的认识,也将为抑郁症、焦虑症等压力相关情绪障碍的精准诊疗提供重要科学依据。

作者贡献声明 赵新园 实验实施,数据采集和整理,论文撰写。文茹懿,付朵 部分行为学测试。李玥 研究构思和设计,论文修订。

利益冲突声明 所有作者均声明不存在利益冲突。

参 考 文 献

- [1] Lu S, Wei F, Li G. The evolution of the concept of stress and the framework of the stress system [J]. *Cell Stress*, 2021, 5(6): 76-85.
- [2] Muroi Y, Ishii T. Neuronal stress-coping mechanisms in postpartum females [J]. *Neurosci Res*, 2025, 216: 104885.
- [3] Trousselard M. Neurophysiology of adaptative and maladaptive stress: relations with psychology of stress [J]. *Neurophysiol Clin*, 2025, 55(2): 103036.
- [4] Cardoner N, Andero R, Cano M, et al. Impact of stress on brain morphology: insights into structural biomarkers of stress-related disorders [J]. *Curr Neuropsychopharmacol*, 2024, 22(5): 935-962.
- [5] Pignatelli M, Tejeda HA, Barker DJ, et al. Cooperative synaptic and intrinsic plasticity in a disinhibitory limbic circuit drive stress-induced anhedonia and passive coping in mice [J]. *Mol Psychiatry*, 2021, 26(6): 1860-1879.
- [6] Yoon SH, Song WS, Chung G, et al. Activity in the dorsal hippocampus-mPFC circuit modulates stress-coping strategies during inescapable stress [J]. *Exp Mol Med*, 2024, 56(9): 1921-1935.
- [7] Diez-solinska A, de Miguel Z, Azkona G, et al. Behavioral coping with chronic defeat stress in mice: a systematic review of current protocols [J]. *Neurobiol Stress*, 2024, 33: 100689.
- [8] Li C, Sun T, Zhang Y, et al. A neural circuit for regulating a behavioral switch in response to prolonged uncontrollability in mice [J]. *Neuron*, 2023, 111(17): 2727-2741.e7.
- [9] Nakamura A, Muroi Y, Ishii T. Locus coeruleus-noradrenergic neurons regulate stress coping during subchronic exposure to social threats: a characteristic feature in postpartum female mice [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2023, 43(5): 2359-2376.

(下转第523页)