

# 性别差异对野生型C57小鼠条件性恐惧消退的影响

吴隆鑫<sup>1,2</sup>, 刘卓群<sup>1,2</sup>, 孙晓红<sup>1,2</sup>, 周岩<sup>1,2</sup>, 徐群渊<sup>1</sup>, 雷慧萌<sup>1,2</sup>

**摘要** 目的:探究雌性和雄性C57野生型小鼠在条件性恐惧消退实验中是否存在行为学上的差异,为在恐惧学习与消退相关研究中平等使用不同性别的小鼠提供参考。方法:通过声音介导的条件性恐惧学习、消退、检索实验,检测条件刺激呈现时的恐惧水平、僵直次数、单次僵直的恐惧水平以及运动能力等指标,比较不同性别小鼠之间的行为学差异。结果:在条件性恐惧学习和消退实验中,雌性和雄性小鼠在4个行为学指标上无显著差异;条件性恐惧检索实验中雌性小鼠在第1次条件刺激呈现时单次僵直恐惧水平更高,其余行为学指标无显著差异。结论:不同性别的C57野生型小鼠在条件性恐惧学习和消退实验中没有行为学差异,可平等地用于研究中;在对恐惧消退记忆的维持能力上雌性和雄性小鼠可能存在差异,在恐惧记忆研究中要谨慎使用。

**关键词** 恐惧消退;性别差异;条件性恐惧;消退检索;僵直;恐惧学习

中图分类号 R741;R741.02;R3 文献标识码 A DOI 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20241260

**Effects of Sex Differences on Conditioned Fear Extinction in Wild-Type C57 Mice** WU Longxin<sup>1,2</sup>, LIU Zhuoqun<sup>1,2</sup>, SUN Xiaohong<sup>1,2</sup>, ZHOU Yan<sup>1,2</sup>, XU Qunyuan<sup>1</sup>, LEI Huimeng<sup>1,2</sup>. 1. Department of Neurobiology, School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China; 2. Laboratory for Clinical Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China

**Abstract Objective:** To investigate whether behavioral differences exist between female and male wild-type C57 mice in conditioned fear extinction experiments, providing a reference for the equal use of both sexes in fear conditioning and extinction-related studies. **Methods:** Fear levels, freezing episodes, freezing level per episode, and locomotor activity during conditioned stimulus presentation were measured through auditory-cued fear conditioning, extinction, and retrieval experiments. Behavioral differences between sexes were compared. **Results:** In fear conditioning and extinction experiments, no significant differences were observed between female and male mice across the four behavioral metrics. During the fear extinction retrieval test, female mice exhibited a higher freezing level per episode upon the first conditioned stimulus presentation, while no significant differences were found in other metrics. **Conclusion:** Wild-type C57 mice of both sexes show no behavioral differences in fear conditioning and extinction experiments, supporting their equal use in such studies. However, potential sex-based differences in the ability to maintain extinction memory suggest caution when investigating fear memory retention.

**Keywords** fear extinction; sex differences; conditioned fear; extinction retrieval; freezing; fear conditioning

创伤后应激障碍 (posttraumatic stress disorder, PTSD) 是恐惧失调的疾病,患者在明显安全的情况下,表现出对创伤经历引起的恐惧记忆消退不足或缺失<sup>[1]</sup>。条件性恐惧的增强、消退和消退回忆的受损可能是导致 PTSD 的重要因素<sup>[1-3]</sup>。基于巴普洛夫条件反射衍生的条件性恐惧模型,研究者们建立了条件性恐惧消退实验范式,用于对恐惧消退的机制及治疗的基础与临床研究。该范式可快速使实验对象建立稳定恐惧反应,并通过便捷的方法对恐惧水平进行调控和量化<sup>[4-6]</sup>。它与目前治疗 PTSD 最有效的暴露疗法<sup>[7]</sup>在原理和程序上有很大的相似性<sup>[8]</sup>,具有很大的表面效度<sup>[9]</sup>。

性别是开发精神疾病动物模型时需要

考虑的重要变量,许多恐惧相关的精神疾病的易感性、发病率、表现和治疗上都存在性别差异<sup>[10-12]</sup>。PTSD 是性别差异最大的精神疾病之一,虽然康复率相似,但女性的患病率远高于男性<sup>[11-15]</sup>。虽然临床上存在这样的现状,但 PTSD 相关的大多数动物研究仅在雄性动物身上进行<sup>[11,12,16]</sup>。大量研究者因“生殖周期带来的激素变化会增加雌性动物的数据的变异性”的观点,而将雌性实验动物排除在研究外<sup>[17]</sup>。随着研究的深入,研究者们逐渐认识到性别偏见的合理性和雌性实验动物的重要性<sup>[17-19]</sup>,因而考虑将其重新纳入研究<sup>[11,20]</sup>。

本研究以雌性和雄性 C57BL/6J 野生型小鼠为实验对象,进行了典型的条件性恐惧

**作者单位**

1. 首都医科大学基础医学院神经生物学系

北京 100069

2. 首都医科大学儿童癫痫与认知发育基础临床联合实验室

北京 100069

**基金项目**

国家自然科学基金项目(眶额皮层三种 GABA 能中间神经元亚类在强迫症反转学习障碍中的不同作用及环路机制, No. 82271550; 眶额皮层-纹状体环路在强迫症反转学习障碍中的作用及机制, No. 31970949); 京市教育委员会科学研究计划项目(眶额皮层抑制性中间神经元亚类特异性功能异常导致强迫症认知灵活性减退的不同机制, No. KZ202210025029)

**稿件投审时间**

投稿时间

2024-11-12

修回时间

2024-12-14

录用时间

2025-02-07

**通讯作者**

雷慧萌

leihm@ccmu.edu.

cn

消退实验。通过比较雌雄小鼠在恐惧学习、消退、检索阶段条件刺激期间整体恐惧水平、僵直次数、单次僵直的恐惧水平及运动距离,判断二者是否在对阶段中存在行为学上的差异。从而进一步探究不同性别小鼠,特别是雌性小鼠用于条件性恐惧消退实验的可行性、可靠性,以及在不同侧重的研究中的适用情况。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂与材料

1.1.1 实验动物 SPF级C57BL/6J野生型小鼠28只(雌性、雄性各14只),体质量20~30g,2~3月龄,购自维通利华公司,单独饲养于首都医科大学实验动物部屏障系统。为了降低饲养环境(群居或单独饲养)导致的雌雄小鼠行为的变异性<sup>[21,22]</sup>,更好地比较性别差异,实验小鼠购得后,在屏障中单独饲养1个月后再进行实验。

所有动物实验均遵守《首都医科大学动物实验及实验动物管理规定》,实验动物使用许可证号为SYXK(京)2022-0049,伦理编号为AEEI-2023-164,受首都医科大学动物实验及实验动物福利委员会的监督。

1.1.2 实验设备 条件性恐惧实验系统、动物行为条件刺激控制器、VisuTrack啮齿动物行为分析系统购自上海欣软信息科技有限公司。

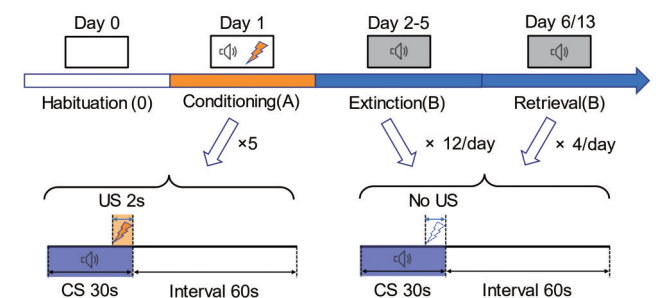
### 1.2 方法

本研究采用声音介导的条件性恐惧学习、消退、检索实验。

实验采用3种不同的场景。实验前适应在场景0中进行,场景0内环境为:无特殊气味,黑暗环境,无声音,金属栅栏底板,空白侧板;恐惧学习实验在场景A中进行,场景A内环境为:底板槽内放置盛有75%酒精的培养皿提供气味,200 lux灯光,无白噪音,金属栅栏底板,黑白相间的条纹侧板;恐惧消退与恐惧检索实验在场景B中进行,场景B内环境为:底板槽内放置盛有4%醋酸的培养皿提供气味,黑暗环境,15 dB白噪音,空白的磨砂塑料底板,空白侧板。

在实验正式开始前1天,将实验小鼠依次单独放入场景0中,适应10 min,消除其对进入新的实验环境的恐惧。实验第1天,进行声音介导的条件性恐惧学习实验:小鼠进入场景A中,自由探索13 min,而后呈现5次持续30 s的80 dB 8000 Hz的纯音(条件刺激),并在最后2 s配对给予小鼠0.7 mA的持续足底电击(非条件刺激),每次声音配对足底电击之间间隔1 min,使

小鼠逐步对条件刺激产生条件性恐惧。在第2~5天进行条件性恐惧消退实验:小鼠进入场景B中,每天呈现12次相同的条件刺激,但不配对进行足底电击,使小鼠逐渐消除对条件刺激的恐惧。条件性恐惧检索实验在第6天和第13天进行:小鼠进入场景B中,每天呈现4次不与足底电击配对的条件刺激,判断小鼠对恐惧的回忆情况,见图1。每只小鼠的恐惧学习实验开始前,用75%酒精清理恐惧箱,祛除气味;恐惧消退和恐惧检索实验开始前,用4%醋酸清理恐惧箱,祛除气味。实验过程中通过VisuTrack软件实时记录小鼠的状态。将小鼠静止、无任何动作超过1 s视为进入僵直状态。将小鼠每次实验中自由探索的最后3 min记作该次实验的基线期。分别计算3 min基线期内和每次条件刺激呈现期间,小鼠僵直时间占对应总时长的百分比,以判断小鼠的恐惧程度。



注:CS: conditioned stimulus(条件刺激);US: unconditioned stimulus(非条件刺激)

图1 声音介导的条件性恐惧学习、消退、检索实验流程示意图

### 1.3 统计学处理

采用GraphPad Prism 8软件处理数据。符合正态分布以及方差齐性的计量资料以均数±标准误(Mean±SEM)表示,多维度数据通过经Sidak's多重比较校正的双因素重复测量方差分析;计数资料间比较采用非参数K-S检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

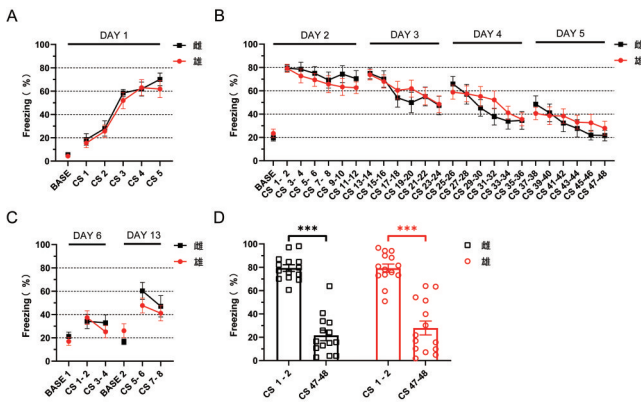
## 2 结果

### 2.1 性别对C57野生型小鼠在条件性恐惧学习、消退、检索实验中的恐惧水平无显著影响

恐惧学习阶段,随着条件刺激和足底电击的发放,不同性别小鼠对条件刺激的恐惧水平均逐渐提高( $F_{5,130}=55.12, P < 0.001$ ,见图2A),表明小鼠学会了对条件刺激的恐惧。恐惧消退阶段,随着条件刺激的单独发放,不同性别小鼠对条件刺激的恐惧水平均逐渐下降( $F_{24,624}=27.13, P < 0.001$ ,见图2B);且最终对条件刺激的恐惧水平均显著低于其最初的值( $F_{1,26}=184.9, P < 0.001$ ,见图2D),表明小鼠对条件刺激的恐惧产生

了显著消退。恐惧检索阶段,不同性别小鼠对条件刺激的恐惧水平有所恢复( $F_{5,130}=16.14, P<0.001$ , 见图2C)。

恐惧学习、消退、检索阶段,雌性和雄性小鼠对条件刺激的恐惧水平无显著差异(恐惧学习 $P>0.05$ , 见图2A; 恐惧消退 $P>0.05$ , 见图2B; 恐惧检索 $P>0.05$ , 见图2C)。性别维度对这3个阶段中小鼠的恐惧水平均无显著影响(恐惧学习 $F_{1,26}=0.689, P=0.414$ , 见图2A; 恐惧消退 $F_{1,26}=0.034, P=0.856$ , 见图2B; 恐惧检索 $F_{1,26}=0.274, P=0.623$ , 见图2C)。



注:(A)条件性恐惧学习阶段小鼠恐惧水平折线图,每个点代表1次条件刺激期间小鼠的恐惧水平;(B-C)条件性恐惧消退(B)、检索(C)阶段小鼠恐惧水平折线图,每个点代表2次条件刺激期间小鼠恐惧水平的均值;(D)条件性恐惧消退阶段小鼠,恐惧消退的最初与最终2次条件刺激期间的恐惧水平,每个点代表一只小鼠;\*\*\* $P<0.001$ ,BASE:基线期,CS:conditioned stimulus(条件刺激)。

图2 条件性恐惧学习、消退、检索实验中不同性别C57野生型小鼠的恐惧水平

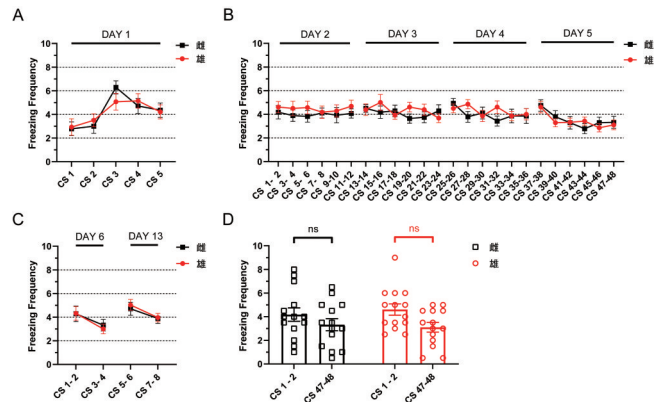
### 2.2 性别对C57野生型小鼠在条件性恐惧学习、消退、检索实验中的僵直次数无显著影响

恐惧学习、消退、检索阶段,不同性别小鼠条件刺激期间的僵直次数均没有显著差异(恐惧学习 $P>0.05$ , 见图3A; 恐惧消退 $P>0.05$ , 见图3B; 恐惧检索 $P>0.05$ , 见图3C)。性别维度对这3个阶段小鼠僵直次数均无显著影响(恐惧学习 $F_{1,26}=0.028, P=0.870$ , 见图3A; 恐惧消退 $F_{1,26}=0.485, P=0.492$ , 见图3B; 恐惧检索 $F_{1,26}=0.004, P=0.950$ , 见图3C)。

不同性别小鼠最终在条件刺激期间的僵直次数相较于其最初的值没有显著变化(雌性 $P=0.445$ , 雄性 $P=0.101$ , 见图3D),表明僵直次数并不是影响小鼠消退的因素。

### 2.3 性别对C57野生型小鼠在条件性恐惧学习、消退、检索实验中单次僵直的恐惧水平无显著影响

恐惧学习阶段,随着条件刺激和足底电击的发放,



注:(A)条件性恐惧学习阶段小鼠条件刺激期间僵直次数折线图,每个点代表1次条件刺激期间小鼠的僵直次数;(B-C)条件性恐惧消退(B)、检索(C)阶段小鼠条件刺激期间僵直次数折线图,每个点代表2次条件刺激期间小鼠僵直次数的均值;(D)条件性恐惧消退阶段小鼠恐惧消退的最初与最终2次条件刺激期间的僵直次数对比,每个点代表一只小鼠;ns表示差异无统计学意义。

图3 条件性恐惧学习、消退、检索实验中不同性别C57野生型小鼠条件刺激期间的僵直次数

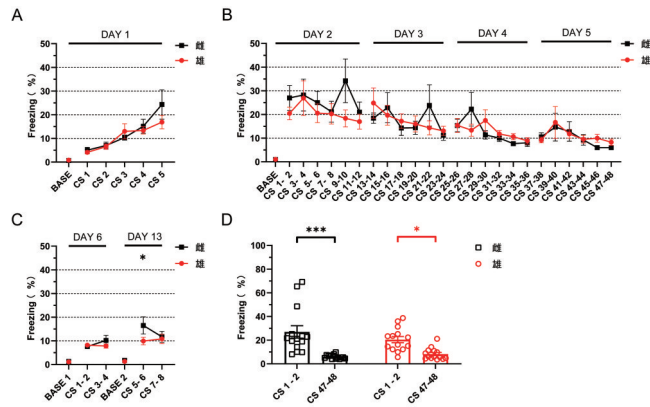
不同性别小鼠条件刺激期间单次僵直的恐惧水平逐渐提高( $F_{5,130}=18.10, P<0.001$ , 见图4A)。恐惧消退阶段,随着条件刺激的单独发放,不同性别小鼠条件刺激期间的单次僵直的恐惧水平均逐渐下降( $F_{24,624}=7.266, P<0.001$ , 见图4B);且雌性和雄性小鼠条件刺激期间单次僵直的恐惧水平最终的值均显著低于其最初的值( $F_{1,26}=30.39, P<0.001$ , 见图4D),表明小鼠对条件刺激的恐惧产生了显著消退。恐惧检索阶段,不同性别小鼠条件刺激期间的单次僵直的恐惧水平有所恢复( $F_{5,130}=24.92, P<0.001$ , 见图4C)。

恐惧学习、消退阶段,而雌性和雄性小鼠条件刺激期间单次僵直的恐惧水平没有显著差异(恐惧学习 $P>0.05$ , 见图4A; 恐惧消退 $P>0.05$ , 见图4B);恐惧检索阶段,除第5、6次条件刺激外,二者没有显著差异( $P>0.05$ , 见图4C)。性别维度对这3个阶段小鼠单次僵直的恐惧水平无显著影响(恐惧学习 $F_{1,26}=0.594, P=0.448$ , 见图4A; 恐惧消退 $F_{1,26}=0.107, P=0.746$ , 见图4B; 恐惧检索 $F_{1,26}=1.367, P=0.253$ , 见图4C)。

### 2.4 性别对C57野生型小鼠在条件性恐惧学习、消退、检索实验中运动能力无显著影响

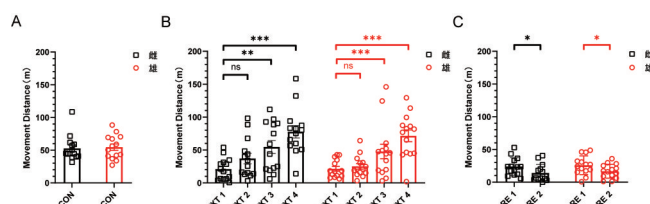
恐惧学习阶段,雌性和雄性小鼠条件刺激期间的运动距离没有显著差异( $P=0.90$ , 见图5A)。恐惧消退阶段,随着条件刺激的单独发放,不同性别小鼠条件刺激期间的运动距离均逐渐增加( $F_{3,78}=35.47, P<0.001$ , 见图5B);但雌性和雄性小鼠间无显著差异( $P>0.05$ , 见图5B)。恐惧检索阶段,不同性别小鼠第13天的条

件刺激期间的运动距离, 相较第6天均显著减少 ( $F_{1,26}=14.69, P<0.001$ , 见图 5C), 但雌性和雄性小鼠间差异无统计学意义 ( $P>0.05$ , 见图 5C)。性别维度对恐惧学习、消退、检索过程中小鼠运动距离没有显著影响 (恐惧消退  $F_{1,26}=0.479, P=0.495$ , 见图 5B; 恐惧检索  $F_{1,26}=0.313, P=0.581$ , 见图 5C)。



注: 单次僵直的恐惧水平=条件刺激期间整体恐惧水平/条件刺激期间僵直次数; (A) 条件性恐惧学习阶段小鼠单次僵直的恐惧水平折线图, 每个点代表 1 次条件刺激期间的单次僵直恐惧水平; (B-C) 条件性恐惧消退(B)、检索(C)阶段小鼠单次僵直的恐惧水平折线图, 每个点代表 2 次条件刺激期间单次僵直恐惧水平的均值; (D) 条件性恐惧消退阶段小鼠在恐惧消退的最初与最终 2 次条件刺激期间单次僵直的恐惧水平对比, 每个点代表 1 只小鼠; \* $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.001$ 。

图 4 条件性恐惧学习、消退、检索实验中不同性别 C57 野生型小鼠单次僵直的恐惧水平



注: 条件性恐惧学习(A)、消退(B)、检索(C)阶段小鼠条件刺激期间运动距离之和; ns 表示无显著差异, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ 。

图 5 条件性恐惧学习、消退、检索实验中不同性别 C57 野生型小鼠条件刺激期间的运动距离

### 3 讨论

精神疾病的神经生物学研究中, 大多数啮齿动物压力模型都是在雄性中设计和优化的, 后来才用于雌性<sup>[13,20,23]</sup>。雌性动物还常应“发情周期的激素影响会使行为变异性增加”的偏见, 而被排除在研究之外<sup>[17,20]</sup>。如此进行实验对象的选择, 可能导致从雄性研究中得到的结果无法有效地推广到雌性动物, 进而推广到对女性患者上。在雄性中开发的行为测试用于雌性时, 行为的相似性和效度都未经检验<sup>[20]</sup>, 也难以得出对雌

性和雄性动物行为差异的准确理解或明确结论<sup>[11]</sup>。条件性恐惧消退实验也是如此<sup>[12]</sup>。这使得动物模型并不能广泛反映 PTSD 的易感性<sup>[13]</sup>。因此, 重新评估雌性与雄性行为的相似性及其效度尤为重要。

条件刺激期间僵直行为的占比是目前领域内普遍用于衡量恐惧水平的指标<sup>[23]</sup>, 但仅对这一行为指标的比较, 并不能充分证明不同性别小鼠是否存在差异。因此, 本研究在此基础上, 比较了对小鼠条件刺激期间的僵直次数、单次僵直的恐惧水平以及运动距离, 从更细分的维度对小鼠的恐惧情况和运动能力进行评估, 以得到更可靠的结论。

研究结果显示, 在条件性恐惧学习和消退实验中, 雌性和雄性 C57 野生型小鼠在条件刺激期间的整体恐惧水平、僵直次数、单次僵直的恐惧水平以及运动距离这 4 个行为学指标上均没有显著差异, 性别维度对这 4 个指标也没有显著影响。不同性别的 C57 野生型小鼠这 2 种行为上不存在差异。其他大小鼠研究也较一致地认为, 在恐惧学习过程中不存在性别差异<sup>[11,24-27]</sup>。而对条件性恐惧消退阶段, 大鼠研究中相对一致地认为, 雌性在消退中表现出更高的恐惧水平, 雌性则具有更高的消退效率<sup>[11,26,27]</sup>; 小鼠研究则认为雄性的消退效率更高, 但对哪个性别恐惧水平更高存在分歧<sup>[24,25]</sup>。本研究的结果显示, 雌性和雄性小鼠的恐惧水平和消退速度差异很小。这可能需要追溯到恐惧学习阶段, 虽然研究一致地认为这一阶段没有性别差异, 但不同研究中雌性和雄性小鼠恐惧水平的离散度有一定差异, 这种影响可能在后续的恐惧消退中进一步扩大。本研究中, 不同性别小鼠恐惧学习程度较为一致, 因而在消退过程中并没有表现出显著差异。未来在不针对特定性别的恐惧消退相关研究中建议同时使用雌雄小鼠。

恐惧消退并非逆转或消除了先前的恐惧记忆, 而是形成了新的抑制性记忆, 有效的消退后, 恐惧记忆仍有可能自发恢复、更新或重建<sup>[4,28]</sup>。因此, 本研究还评估了不同性别小鼠恐惧记忆是否存在差异。结果显示, 雌性和雄性小鼠在第 13 天的恐惧检索实验的第 1、2 次条件刺激期间单次僵直的恐惧水平上存在差异, 而其他行为指标均无差异。这表明在一定时间间隔后不同性别的小鼠可能对恐惧的回忆或恐惧消退记忆的维持上存在一定差异, 雌性小鼠更容易遗忘恐惧消退的记忆。Milad 等<sup>[29]</sup>在大鼠中得出了相似的结论—雌性大鼠消退记忆更不稳定, 而对 C57 小鼠的研究则认为雌雄小鼠在消退记忆方面没有性别差异<sup>[25]</sup>。但上述研究比较的是恐惧水平这一指标。本研究中, 雌雄小鼠

恐惧检索期间的恐惧水平同样无显著差异,但表现出差异的趋势,只在单次僵直的恐惧水平这一更细分的指标上,才表现出差异。说明雌性和雄性小鼠在消退记忆的维持能力上的确有差异,但不是非常大,在日后的恐惧记忆研究中需考虑性别差异的潜在影响。

值得关注的是, Milad 等<sup>[29]</sup>是在考虑雌性大鼠的发情周期的情况下,观察到消退记忆的性别差异;不考虑发情周期时,则没有这种差异。Matsuda 等<sup>[25]</sup>的研究也未区分小鼠的发情周期。这表明发情周期可能会影响雌性在条件性恐惧实验中行为。雌性啮齿动物在不同发情周期中,雌激素和孕酮可能存在高达4倍的差异<sup>[17]</sup>。雌二醇和孕酮可能通过影响杏仁核、海马和前额叶等恐惧相关脑区的活动和连接性,以及多巴胺、五羟色胺、内源性大麻素和脑源性神经营养因子等神经传递而影响雌性动物的恐惧消退及其记忆<sup>[14,30]</sup>。恐惧消退前注射雌激素和孕酮或阻断对应受体分别会促进或损害雌性大鼠巩固消退记忆<sup>[29,31]</sup>。人类研究也表明,激素水平或使用激素避孕药会影响女性的消退记忆<sup>[32,33]</sup>。但正如前所述,不能只关注激素水平对雌性的影响,而忽视雄性的睾酮同样是强效的神经调节激素,对恐惧消退记忆的调节起重要作用<sup>[14]</sup>。群居的雄性会建立统治等级(雌性则不会),可能使占主导地位的雄性体内的睾酮水平是从属雄性的5倍<sup>[34]</sup>。睾酮将通过影响杏仁核、眶额皮质和压力轴以及体内皮质醇水平来促进恐惧记忆的巩固<sup>[16,35]</sup>。因此,在性别差异的研究同时对不同性激素的准确控制,可能更有利于得出更严谨可靠的结论。

在未考虑性激素的影响的情况下, Prendergast 等和 Becker 等分别对300篇左右小鼠和大鼠的神经科学研究的 Meta 分析表明,雌性在行为、电生理、生理、细胞、激素等方面的数据变异性与雄性数据的相似<sup>[21,36]</sup>。对263篇文章的 Meta 分析综合了大鼠和小鼠的恐惧和焦虑行为数据,进一步支持上述观点<sup>[22]</sup>。Tsao 等<sup>[19]</sup>的研究也表明,C57BL/6小鼠的性别差异不会显著影响常用的行为实验(感觉、运动、焦虑、抑郁和认知等方面)。因此,若不能同时避免性激素对各自性别的影响,同时让其处在无人调控的自然状态下,以平衡各自变异性,或许是一种合适的策略。我们后续的研究也会在同时控制雌性和雄性激素方面做出努力,以得出更严谨可靠的结果。

另外,不同品系的雌雄小鼠在不同的情绪(恐惧、焦虑、抑郁)<sup>[37-39]</sup>或学习记忆<sup>[18,40]</sup>相关行为学中可能有差异性的表现和敏感度,但大部分品系只在特定的行为学中表现出性别差异。本研究的实验对象 C57BL/6J 小鼠

是神经生物学研究中使用最广泛的小鼠品系<sup>[18,19]</sup>,也是条件性恐惧研究的敏感品系,被广泛应用于恐惧相关研究中<sup>[41]</sup>。这使本研究的结论更具有代表性,但本研究的结论在其他品系的小鼠中仍应当审慎地使用。

综上所述,本研究证明不同性别的小鼠在条件性恐惧学习和消退过程中没有行为学上的差异,可在不针对性别的恐惧研究中平衡地使用;而在对恐惧消退记忆的维持能力上,不同性别小鼠可能存在一定差异,在相应研究中需考虑性别差异的潜在影响。

**【利益冲突】** 所有作者声明无利益冲突。

**【作者贡献】** 吴隆鑫负责研究设计、实验实施、数据统计分析、论文撰写修改;刘卓群负责实验实施、数据收集统计;孙晓红、周岩负责文献整理分析、技术支持;徐群渊、雷慧萌负责总体把关,审定论文。

## 参考文献

- [1] Wen Z, Seo J, Pace-Schott EF, et al. Abnormal dynamic functional connectivity during fear extinction learning in PTSD and anxiety disorders [J]. *Mol Psychiatry*, 2022, 27(4): 2216-2224.
- [2] Bienvenu, TCM, Dejean C, Jercog D, et al. The advent of fear conditioning as an animal model of post-traumatic stress disorder: Learning from the past to shape the future of PTSD research[J]. *Neuron*, 2021, 109(15): 2380-2397.
- [3] Yan Y, Aierken A, Wang C, et al. Neuronal Circuits Associated with Fear Memory: Potential Therapeutic Targets for Posttraumatic Stress Disorder[J]. *Neuroscientist*, 2023, 29(3): 332-351.
- [4] Bouton ME, Maren S, McNally GP. Behavioral and neurobiological mechanisms of pavlovian and instrumental extinction learning[J]. *Physiol Rev*, 2021, 101(2): 611-681.
- [5] Milad MR, Quirk GJ. Fear Extinction as a Model for Translational Neuroscience: Ten Years of Progress[J]. *Annu Rev Psychol*, 2012, 63: 129-151.
- [6] Dunsmoor JE, Niv Y, Daw N, et al. Rethinking Extinction[J]. *Neuron*, 2015, 88(1): 47-63.
- [7] Mclean CP, Levy HC, Miller ML, et al. Exposure therapy for PTSD: A meta-analysis[J]. *Clin Psychol Rev*, 2022, 91: 102115.
- [8] Foa EB, Mclean CP. The Efficacy of Exposure Therapy for Anxiety-Related Disorders and Its Underlying Mechanisms: The Case of OCD and PTSD[J]. *Annu Rev Clin Psychol*, 2016, 12: 1-28.
- [9] Myers KM, Davis M. Mechanisms of fear extinction[J]. *Mol Psychiatry*, 2007, 12(2): 120-150.
- [10] Palanza P, Parmigiani S. How does sex matter? Behavior, stress and animal models of neurobehavioral disorders[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2017, 76: 134-143.
- [11] Kocras N, Dalla C. Sex differences in animal models of psychiatric disorders[J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171(20): 4595-4619.
- [12] Bauer EP. Sex differences in fear responses: Neural circuits[J]. *Neuropharmacology*, 2023, 222: 109298.
- [13] Shansky RM. Sex differences in PTSD resilience and susceptibility: Challenges for animal models of fear learning[J]. *Neurobiol Stress*, 2015, 1: 60-65.
- [14] Velasco ER, Florido A, Milad MR, et al. Sex differences in fear extinction[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2019, 103: 81-108.
- [15] Shanazz K, Dixon-Melvin R, Nalloor R, et al. Sex Differences In Avoidance Extinction After Contextual Fear Conditioning: Anxiolytic Behavior In Female Rats[J]. *Neuroscience*, 2022, 497: 146-156.
- [16] Lebron-Milad K, Milad MR. Sex differences, gonadal hormones and the fear extinction network: implications for anxiety disorders[J]. *Biol*

- Mood Anxiety Disord, 2012, 2(1): 3.
- [17] Shansky RM. Are hormones a “female problem” for animal research [J]? *Science*, 2019, 364(6443): 825-826.
- [18] Marchette RCN, Bicca MA, Santos EC da S, et al. Distinctive stress sensitivity and anxiety-like behavior in female mice: Strain differences matter[J]. *Neurobiol Stress*, 2018, 9: 55-63.
- [19] Tsao CH, Wu KY, Su NC, et al. The influence of sex difference on behavior and adult hippocampal neurogenesis in C57BL/6 mice[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 17297.
- [20] Lopez J, Bagot RC. Defining Valid Chronic Stress Models for Depression With Female Rodents[J]. *Biol Psychiatry*, 2021, 90(4): 226-235.
- [21] Prendergast BJ, Onishi KG, Zucker I. Female mice liberated for inclusion in neuroscience and biomedical research[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2014, 40: 1-5.
- [22] Kaluve AM, Le JT, Graham BM. Female rodents are not more variable than male rodents: A meta-analysis of preclinical studies of fear and anxiety[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2022, 143: 104962.
- [23] Bangasser DA, Cuarenta A. Sex differences in anxiety and depression: circuits and mechanisms[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2021, 22(11): 674-684.
- [24] Clark JW, Drummond SPA, Hoyer D, et al. Sex differences in mouse models of fear inhibition: Fear extinction, safety learning, and fear – safety discrimination[J]. *Br J Pharmacol*, 2019, 176(21): 4149-4158.
- [25] Matsuda S, Matsuzawa D, Ishii D, et al. Sex differences in fear extinction and involvements of extracellular signal-regulated kinase (ERK) [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2015, 123: 117-124.
- [26] Daviu N, Andero R, Armario A, et al. Sex differences in the behavioural and hypothalamic – pituitary – adrenal response to contextual fear conditioning in rats[J]. *Horm Behav*, 2014, 66(5): 713-723.
- [27] Dalla C, Shors TJ. Sex differences in learning processes of classical and operant conditioning[J]. *Physiol Behav*, 2009, 97(2): 229-238.
- [28] Tovote P, Fadok JP, Lüthi A. Neuronal circuits for fear and anxiety [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2015, 16(6): 317-331.
- [29] Milad MR, Igoe SA, Lebron-Milad K, et al. Estrous cycle phase and gonadal hormones influence conditioned fear extinction[J]. *Neuroscience*, 2009, 164(3): 887-895.
- [30] Hsu CMK, Ney LJ, Honan C, et al. Gonadal steroid hormones and emotional memory consolidation: A systematic review and meta-analysis [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2021, 130: 529-542.
- [31] Maeng LY, Cover KK, Taha MB, et al. Estradiol shifts interactions between the infralimbic cortex and central amygdala to enhance fear extinction memory in female rats[J]. *J Neurosci Res*, 2017, 95(1-2): 163-175.
- [32] Milad MR, Zeidan MA, Contero A, et al. The influence of gonadal hormones on conditioned fear extinction in healthy humans[J]. *Neuroscience*, 2010, 168(3): 652-658.
- [33] Lonsdorf TB, Haaker J, Schumann D, et al. Sex differences in conditioned stimulus discrimination during context-dependent fear learning and its retrieval in humans: the role of biological sex, contraceptives and menstrual cycle phases[J]. *J Psychiatry Neurosci*, 2015, 40(6): 368-375.
- [34] Machida T, Yonezawa Y, Noumura T. Age-associated changes in plasma testosterone levels in male mice and their relation to social dominance or subordination[J]. *Horm Behav*, 1981, 15(3): 238-245.
- [35] Velasco ER, Florido A, Perez-Caballero L, et al. The Impacts of Sex Differences and Sex Hormones on Fear Extinction[J]. *Curr Top Behav Neurosci*, 2023, 64: 105-132.
- [36] Becker JB, Prendergast BJ, Liang JW. Female rats are not more variable than male rats: a meta-analysis of neuroscience studies[J]. *Biol Sex Differ*, 2016, 7(1): 34.
- [37] Bothe GWM, Bolivar VJ, Vedder MJ, et al. Behavioral Differences among Fourteen Inbred Mouse Strains Commonly Used as Disease Models [J]. *Comp Med*, 2005, 55(4): 326-334.
- [38] Pitzer C, Kurpiers B, Eltokhi A. Sex Differences in Depression-Like Behaviors in Adult Mice Depend on Endophenotype and Strain[J]. *Front Behav Neurosci*, 2022, 16: 838122.
- [39] Medina-Rodriguez EM, Rice KC, Jope RS, et al. Comparison of inflammatory and behavioral responses to chronic stress in female and male mice[J]. *Brain Behav Immun*, 2022, 106: 180-197.
- [40] Fritz AK, Amrein I, Wolfer DP. Similar reliability and equivalent performance of female and male mice in the open field and water-maze place navigation task[J]. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2017, 175(3): 380-391.
- [41] 薛瑞, 魏肇余, 张森品, 等. 小鼠条件性恐惧模型的建立和品系敏感性研究[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2020, 34(2): 119-124.

(本文编辑:唐颖馨)