

• 药理与临床 •

心理亚健康大鼠模型的建立及评价

张 潇^{1,2}, 武嫣斐³, 高 耀¹, 秦雪梅¹, 田俊生^{1*}

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 山西大学化学化工学院, 山西 太原 030006

3. 山西医科大学第一医院 山西 太原 030001

摘要: **目的** 建立心理亚健康大鼠模型, 并采用行为学、代谢组学、因子分析等方法对模型进行综合评价。**方法** 模拟人在竞争激烈的社会环境中因饮食不节、作息不规律、精神压力过大、社交失败所致的心理亚健康状态, 采用非躯体复合因素即空瓶应激、旁观电击应激、饮食不节应激、昼夜不分应激、社交失败应激等建立心理亚健康大鼠模型。进行糖水偏爱、高架十字迷宫、明暗箱、旷场等行为学实验, 观察大鼠体质量和脏器指数, 同时采用基于行为学的因子分析和代谢组学对模型进行评价。**结果** 大鼠体质量和脏器指数未发生明显变化; 但糖水偏爱率显著降低 ($P < 0.05$), 在高架十字臂中的开臂次数比例和开臂时间比例明显减少 ($P < 0.05$), 在避暗实验中错误次数及暗箱停留时间显著增加 ($P < 0.05, 0.01$)。因子分析从宏观的行为学数据中挖掘出3个公因子: 抑郁焦虑因子、记忆因子和其他因子。代谢组学分析显示, PLS-DA图中模型组和对照组沿t[1]轴明显分开, 并确认高密度脂蛋白、醋酸、谷氨酸、肌酸、胆碱、甜菜碱和苏氨酸7种差异代谢产物。**结论** 建立的心理亚健康大鼠模型能够在一定程度上反映人类的心理亚健康状态, 所用的评价方法科学合理、稳定可靠、可行性较好, 可为其机制研究及相关药物作用机制研究提供依据。

关键词: 心理亚健康; 动物模型; 行为学; 因子分析; 代谢组学

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)04-0610-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.04.014

Establishment and evaluation of rat model with psychological sub-health

ZHANG Xiao^{1,2}, WU Yan-fei³, GAO Yao¹, QIN Xue-mei¹, TIAN Jun-sheng¹

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

3. First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Abstract: Objective To establish the animal model of rat with psychological sub-health and carry out the comprehensive evaluation by the methods of behavior, metabonomics, and factor analysis. **Methods** Simulating human to cause the psychological sub-health state in the fierce competitive social environment due to improper diet, irregular work and rest, overload mental stress, and social failure. Modeling procedures by using composite and non-somatic stimuli factors including stimulation of empty bottle stress, on the sidelines of shock stress, improper diet stress, round-the-clock stress, and social failure stress. The following behavioral experiments were conducted such as sucrose preference rate, high plus maze, light/dark box, and open field test. Body mass and organ index were observed in rats. The factor analysis was used based on behavioral and metabolomic evaluate model. **Results** The body weight and organ index of rats did not change significantly; But sucrose preference rate decreased significantly ($P < 0.05$), the number of open arms entries and the proportion of time in the open arms decreased significantly ($P < 0.01$); Error count and the time into black box increased significantly ($P < 0.01$). Factor analysis dug up three common factors from the macroscopic behaviors, namely depression and anxiety, memory, and other factors. Metabolomic analysis showed that the control group and model group clearly separated in the PLS-DA plot, and identified seven biomarkers: high density lipoprotein, acetic acid, glutamic acid, creatine, choline, betaine, and

收稿日期: 2015-07-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81441096); 山西省科技创新重点团队(2013131015)

作者简介: 张 潇(1990—), 男, 硕士在读, 研究方向为中药神经药理。Tel: 15735158321 E-mail: zhang3348@126.com

*通信作者 田俊生, 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药药理与新药研发。Tel: (0351)7019297 E-mail: jstian@sxu.edu.cn

threonine. **Conclusion** The establishment of the rat model with psychological sub-health can reflect the state of psychological sub-health of human being. And the evaluation method of model possesses scientific rationality, feasibility, and reliability. It can provide the reference for further study on its mechanism and the related drugs action.

Key words: psychological sub-health; animal model; behavior; factor analysis; metabonomics

亚健康状态^[1]作为 WHO 提出的国际医药界的一种新思维,是机体无器质性病变情况下在身心、情感方面处于健康与疾病之间的“灰色状态”,主要分为躯体亚健康、心理亚健康和社会亚健康。心理亚健康作为亚健康的一种分型,是处于心理健康和心理疾病之间的一个中间状态,核心症状为抑郁、焦虑、失眠、记忆力下降、恐社交、易疲劳等^[2]。现代疾病的两重性以及生物-心理-社会医学模式的提出使得心理亚健康的问题越来越受到重视。国外对其报道主要有“医学难以解释的症状”^[3]“慢性疲劳综合征”^[4]“阈下抑郁”^[5]等,虽然这种状态并未达到各种精神心理疾病的诊断标准,但确会影响个人生活质量、工作和学习效率,如不加干预任由其发展,会自发地转变为抑郁症、焦虑症、精神分裂症等精神心理疾病,严重危害人类的身心健康。因此开展心理亚健康的研究具有重要意义。

中药独到的“治未病”思想和整体调节机制,在防治疾病、养生保健、延年益寿、提高生活质量、改善心理亚健康状态方面具有丰富的临床经验,如百合地黄汤是缓解焦虑抑郁情绪、改善心理亚健康状态的经典方剂,临床上亦有用中药复方干预并调节和改善心理亚健康状态的报道^[6]。但由于临床研究的局限性以及伦理学的限制,动物模型成为医药领域研究的重要手段^[7],人类对于疾病及药物作用的认知往往需要借助动物模型才能实现。现有文献报道多为躯体和心理复合型亚健康动物模型:冷晓霞等^[8]采用限制大鼠活动 3 h、连续 21 d 模拟人类心理应激建立亚健康状态大鼠模型;雷龙鸣^[9]在借鉴常规采用睡眠剥夺的方法建立脑力疲劳动物模型或失眠动物模型的基础上,采用快速眼动的方法建立亚健康脑力疲劳大鼠模型。马作峰等^[10]采用过度运动、睡眠剥夺建立疲劳性亚健康大鼠模型。然而上述有关心理亚健康动物模型的研究尚处于探索阶段,其造模方法主要涉及躯体应激因素,并未按照心理亚健康状态发生原因建立,结构效度不好。随着人们对心理亚健康状态及其机制研究的逐渐重视,迫切需要建立一个简便、有效、合适的心理亚健康动物模型。

本研究拟采用非躯体的复合因素造模,并应用于行为学数据挖掘的因子分析和代谢组学技术对

模型进行评价,为进一步研究心理亚健康机制及相关中药作用机制提供一种可靠的模型。

1 材料

1.1 仪器

Bruker 600 MHz AVANCE III 核磁共振检测仪(德国布鲁克公司);CENTRIFUGE TDL-5 型离心机(上海安亭科学仪器厂);高架十字迷宫(上海欣软信息科技有限公司);大鼠明暗箱(成都泰盟软件有限公司)。

1.2 动物

健康雌性 SD 大鼠 27 只,体质量 180~220 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号 SCKX-2014-0001。动物饲养条件:温度(24±1)℃、湿度(60±5)%、12 h/12 h 明暗交替周期。

2 方法

2.1 模型的建立及动物分组

整个造模程序分为适应期 7 d、空瓶饮水训练 7 d、造模 21 d 3 个阶段。采用复合因素造模^[11-12],应激因素为非躯体性应激,即空瓶应激、旁观电击应激、饮食不节应激、昼夜不分应激、社交失败应激。为保证其不可预知性,全部造模刺激的程序采用随机表安排。大鼠随机分为对照组 7 只、模型组 10 只、电击组 10 只。

2.1.1 空瓶应激 参照 Shao 等^[13]设计的空瓶应激程序并改进:适应期 7 d 后,进行 7 d 的空瓶饮水训练。仅在每天 9:00 时和 21:00 时给予大鼠 10 min 定时饮水,并每次给水前给予大鼠水瓶相互撞击 3 声的提示。造模开始后,模型组每次定时饮水开始前给予水瓶相互敲击 3 声的提示,并在每天 2 次定时饮水的时间内随机给予空瓶应激。为了排除缺水的影响,对照组在模型组接受空瓶刺激时自由饮水。

2.1.2 旁观电击应激^[14] 电击组大鼠被电击(电压 36 V, 5 s 电击, 25 s 间歇,持续 30 min)惊叫、惊跳,模型组大鼠不受电击,旁观电击组大鼠遭受电击的过程,通过视觉、听觉、嗅觉等产生心理刺激。利用大鼠明暗箱操作,模型组大鼠在 21 d 内随机选 7 d (2、3、5、9、11、18、21 d) 接受旁观电击刺激,对照组不接受此刺激。

2.1.3 饮食不节、昼夜不分应激 模拟现代生活节

奏过快、饮食不规律、起居无常导致身心俱疲的亚健康症状^[15]，模型组大鼠在 21 d 内随机选 7 d (3、6、8、12、15、16、21 d) 禁食 1 d，次日给予足量食物；在 21 d 随机选 7 d (1、5、8、10、13、18、20 d) 给予昼夜不分刺激，即随机给予 3 次 24 h 照明，4 次 24 h 黑暗。对照组大鼠自由饮食，昼夜正常。

2.1.4 社交失败应激 鼠类先天属群居动物，长期孤养可导致大鼠脑发育和神经递质功能异常以及持久的抑郁、焦虑等多种神经行为障碍。模拟人类因长期隔离社会导致的抑郁、焦虑和社交恐惧等症状，模型组大鼠长期孤养，仅在第 4、8、12、16、21 天中给予 30 min 群居生活。对照组大鼠正常群居饲养。

2.2 行为学模型评价

2.2.1 糖水偏爱实验 对照组和模型组在适应期第 5、6 天进行 2 次 2 h 的糖水摄入训练。在 22:00 时至次日 10:00 时禁水不禁食后，分别在适应期第 7 天、造模程序结束即第 22 天 10:00 时测定大鼠的糖水偏爱率：每个鼠笼放置事先定量的 1 瓶纯水和 1 瓶 1% 蔗糖水，饮水 2 h 后撤除。以大鼠糖水偏爱率作为快感缺乏抑郁指数的评价指标。

糖水偏爱率 = 1% 糖水消耗量 / 总液体消耗量

2.2.2 高架十字迷宫实验 以下各项行为学检测均在造模 21 d 后进行。利用大鼠高架十字迷宫设备进行实验，开始前设置好开臂、闭臂区域。将大鼠从中央广场面向开放臂方向放入迷宫，每次 1 只大鼠，电脑记录 5 min 内大鼠的活动情况，并记录大鼠进入开放臂次数以及在开放臂的停留时间。每只大鼠实验结束后需清除排泄物并用酒精擦拭以消除气味，再进行下一次实验。

2.2.3 明暗箱实验 主要参数设置：电压 2 档，实验时间 20 min。明箱有强光，暗箱黑暗且底部栅栏可以通电，实验开始前适应环境 5 min，之后分别放入大鼠进行实验，自动记录 20 min 内大鼠的错误次数和暗箱停留时间。

2.2.4 旷场实验 将大鼠放入自制旷场箱（长 100 cm、宽 100 cm、高 70 cm 的无顶部长方体，内部四壁及底面涂成黑色，并且底部用白线划出 25 个边长为 20 cm 的正方形小格）的中心位置，适应 2 min 后，观察后 4 min 内大鼠的中央格停留时间、穿越格数、直立次数和理毛时间。

2.3 脏器指数

行为学指标检测完毕后，称大鼠体质量，ip 20% 乌拉坦 7.5 mL/kg 麻醉大鼠后处死并解剖，取出心、

肝、脾、肺、肾等脏器，生理盐水清洗后称质量，计算脏器指数。

2.4 因子分析评价

为考察所构想的造模程序与评价理论模型测定结果的吻合程度，将以上行为学检测指标：糖水偏爱率 (x_1)、开臂时间比例 (x_2)、进入开臂次数 (x_3)、错误次数 (x_4)、暗箱活动时间 (x_5)、体质量 (x_6)、中央格停留时间 (x_7)、直立次数 (x_8)、理毛时间 (x_9)、穿越格数 (x_{10}) 作为因子，采用因子分析找出以上众多变量中隐藏的对模型贡献最大的具有代表性的变量，并将相同本质的变量归入一个公因子^[16-17]，发现变量之间的相互关系，进而评价造模程序的结构效度。

2.5 基于代谢组学模型评价

2.5.1 血清样本采集 所有大鼠用 20% 乌拉坦 ip 麻醉后，腹主动脉采血，于 4 °C 下 3 000 r/min 离心 15 min 后，取上清液储存于 -80 °C 冰箱中，待测。

2.5.2 核磁共振 (NMR) 预处理^[18] 解冻样品，摇匀，取血清样本 450 μ L，加入 200 μ L 重水，涡旋混合，于 4 °C 下 13 000 r/min 离心 20 min，取上清液 600 μ L 于核磁管中，进行 ¹H-NMR 分析。

2.5.3 ¹H-NMR 谱图采集 血清在 Bruker 600 MHz AVANCE III NMR 仪上测定。采用 cpmgpr1d 脉冲序列，扫描次数 64，谱宽 12 019.2 Hz，脉冲时间 14 μ s，采样时间 2.73 s，采样数据点 65 536，弛豫延迟 1.0 s。

2.5.4 代谢组学数据处理 采用 MestReNova 核磁处理软件对所有 ¹H-NMR 谱图进行傅里叶转换并进行相位、基线调整，以肌酐 δ 3.03 为标准进行化学位移校正；以 δ 0.02 为单位，对 δ 0.7~5.4 区域的谱图进行等宽度分割。对所有谱图进行分段积分，将积分数据归一化处理，导入到 Simca-p 13.0 软件，进行偏最小二乘法-判别分析 (PLS-DA)。

3 结果

3.1 宏观体征观察

在造模过程中，对照组大鼠眼睛明亮、鼻唇洁净潮润、腰背平直、被毛密而有光泽、尾圆色粉、行动敏捷、脾气温和；模型组大鼠在造模过程中表现神疲乏力、精神萎靡、易惊恐且攻击力强、行动迟缓、团缩弓腰、毛发蓬乱且无光泽。

3.2 行为学评价

3.2.1 糖水偏爱实验 抑郁症的核心指标为快感缺乏，经典的慢性不可预知温和应激 (CUMS) 抑郁模型中的糖水偏爱指标能反映大鼠的快感缺乏症状，体质量直接反映大鼠饮食和消化情况。与对照组比较，

模型组大鼠糖水偏爱率明显下降 ($P<0.05$), 表明造模程序可能抑制了大鼠的奖赏反应, 引起快感缺乏, 造成抑郁情绪产生; 体质量无明显差异, 表明造模并未影响大鼠的饮食消化。结果见图 1。

3.2.2 高架十字迷宫实验 高架十字迷宫是一种经典的利用动物对新异环境的探究特性和对高悬敞开臂的恐惧心理, 形成动物的矛盾冲突来考察动物的焦虑状态^[19]。与对照组比较, 模型组大鼠进入开臂时间比例和开臂次数都明显减少 ($P<0.05$), 表明造模导致大鼠产生明显焦虑情绪。结果见图 2。

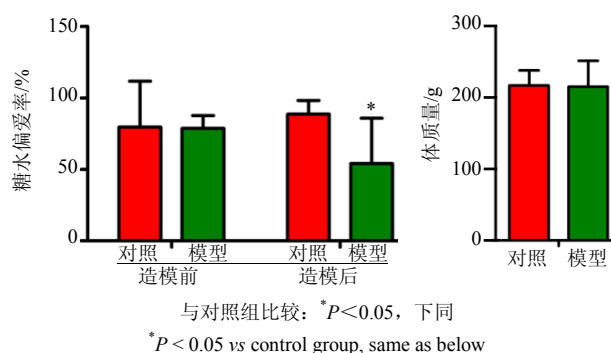


图 1 大鼠糖水偏爱率和体质量的变化 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 1 Changes of sucrose preference and body weight in rats ($\bar{x} \pm s$)

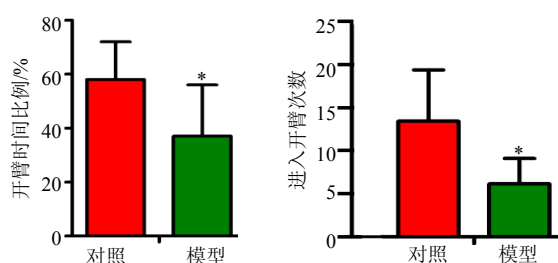


图 2 造模对大鼠在高架十字迷宫实验中的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 2 Influence of modeling program on elevated plus maze experiment in rats ($\bar{x} \pm s$)

表 1 造模对大鼠在旷场实验中的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Influence of modeling program on open field experiment ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	中央格停留时间/s	直立次数	理毛时间/s	穿越格数
模型	10	1.3±1.1	9.7±7.4	47.5±55.1	63.5±57.6
对照	7	0.5±0.2	13.0±13.4	44.9±16.9	32.6±41.4

表 2 造模对大鼠脏器指数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Influence of modeling program on viscera index of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/只	脏器指数/%				
		心	肝	脾	肺	肾
对照	10	0.43±0.06	3.70±0.30	0.21±0.04	1.1±0.3	0.74±0.06
模型	7	0.47±0.11	3.50±0.30	0.25±0.03*	1.2±0.4	0.72±0.08

3.2.3 明暗箱实验 本实验利用大鼠喜暗避光的天性观察其短时对电击足底恐惧的记忆^[20], 与对照组比较, 模型组大鼠错误次数和进入暗箱时间都显著增多 ($P<0.05$ 、 0.01), 推测造模影响了大鼠短时对电击足底恐惧的记忆。结果见图 3。

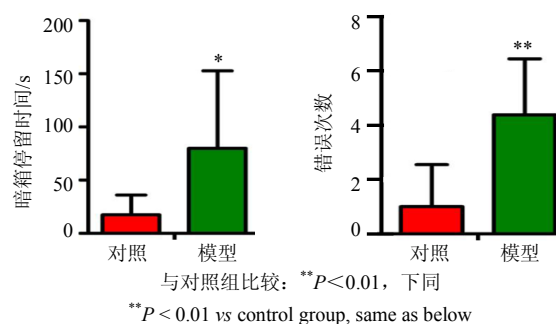


图 3 造模对大鼠在明暗箱实验中的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 3 Influence of modeling program on light/dark box experiment in rats ($\bar{x} \pm s$)

3.2.4 旷场实验 结果显示旷场各项指标虽有改变趋势, 但差异不显著, 即模型组大鼠经过造模后在新异环境中的启动和探究行为、紧张恐惧状态和对新环境的警觉性并无显著改变。结果见表 1。

3.3 脏器指数

脏器指数可在宏观上反映造模程序对动物的机体是否有损伤作用。模型组与对照组比较, 脾指数差异显著 ($P<0.05$), 心、肝、肺、肾指数并无明显差异, 表明该造模程序并没有引起大鼠明显器官性病变。结果见表 2。

3.4 因子分析评价

图 4 为因子分析碎石图, 共提取出特征值大于 1 的 3 个公共因子。结合图 5 因子分析载荷图可看出: 因子 1 与 x_1 (糖水偏爱率)、 x_2 (开臂时间比例)、 x_3 (进入开臂次数) 相关性最好; 其次为因子 2 与

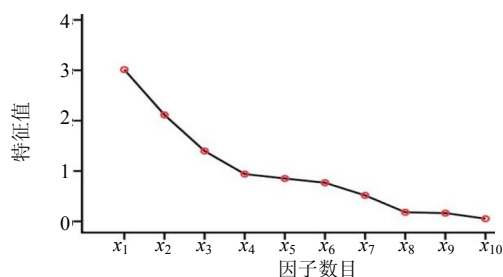


图 4 大鼠行为学的因子分析碎石图

Fig. 4 Scree plot derived from behavior of rats

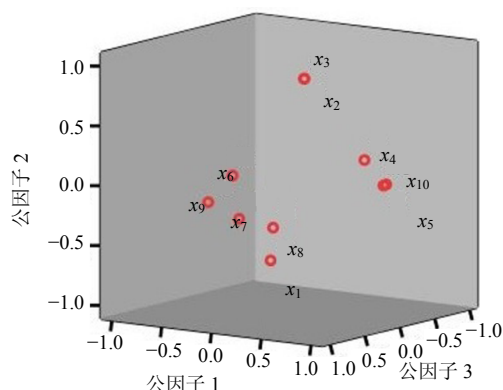


图 5 大鼠行为学的因子分析载荷图

Fig. 5 Factor analysis load chart in rotated space of behavior of rats

x_4 (错误次数)、 x_5 (暗箱活动时间)、 x_{10} (穿越格数) 以及因子 3 与 x_6 (体质量)、 x_7 (中央停留时间)、 x_8 (直立次数)、 x_9 (理毛时间) 相关性较好。因此, 可以称因子 1 为抑郁焦虑因子, 因子 2 为记忆因子, 因子 3 为其他因子。因子分析结果显示提取的公因子包含的内容与所设想模型结构具有连带逻辑关系, 即造模程序和测定结果的吻合程度较高。

3.5 代谢组学评价

图 6-A 为对照组与模型组血清中代谢物的 PLS-DA 散点图, 对照组与模型组沿 $t[1]$ 轴明显分开, 表明经过 21 d 造模后, 模型组大鼠体内代谢产物水平发生明显变化, 佐证本实验造模成功。其中, $R_x^2=0.443$ 、 $R_y^2=0.973$ 、 $Q^2=0.619$, 表明模型的拟合程度、解释率和预测能力均较好。依据图 6-B 载荷图中离原点越远的点 VIP 值越大, 对分组贡献越大的原则, 得到 $VIP>1$ 的代谢产物。同时对 $VIP>1$ 的代谢产物的相对峰面积进行独立样本 t 检验, 满足 $P<0.05$ 共鉴定出 7 种差异代谢产物, 分别为高密度脂蛋白、醋酸、谷氨酸、肌酸、胆碱、甜菜碱和苏氨酸, 其水平变化见图 6-C。

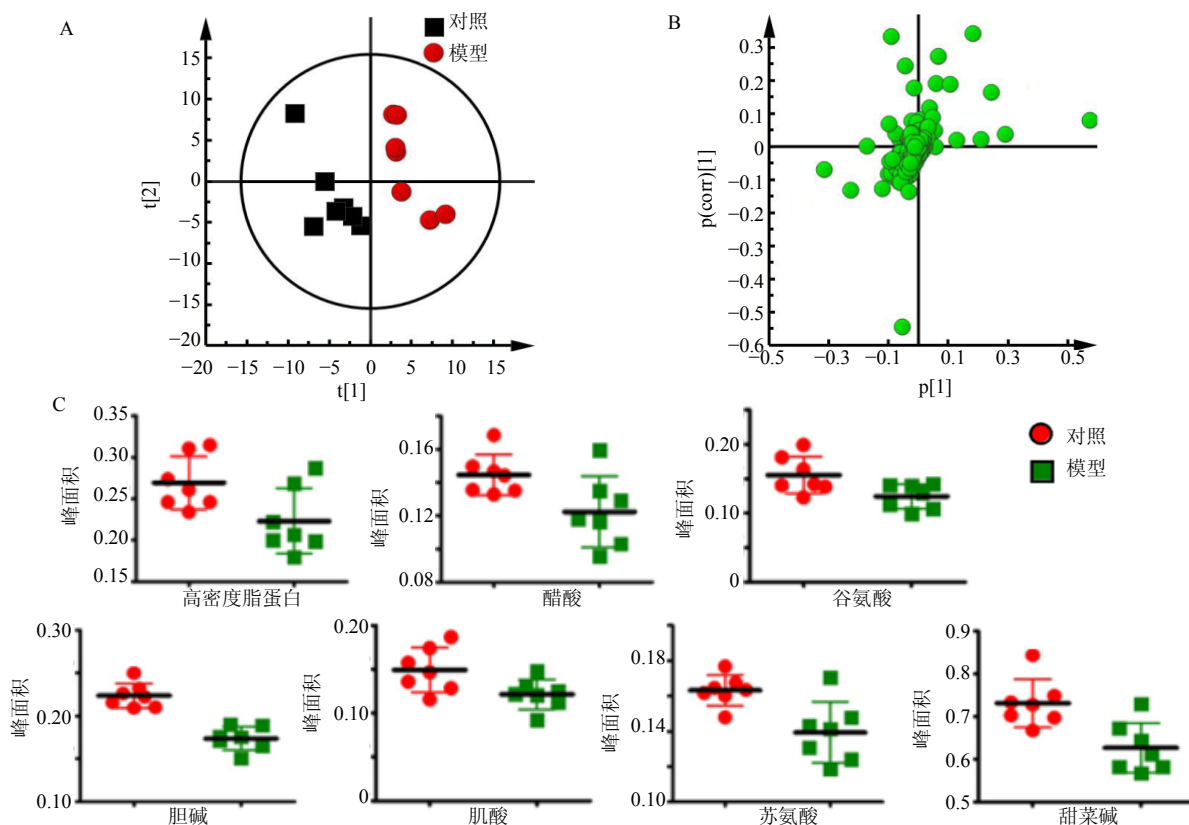


图 6 大鼠血清 PLS-DA 得分图 (A)、载荷图 (B) 和差异代谢物的水平变化 (C)

Fig. 6 PLS-DA scores plots (A), loading plots (B), and change tendency of endogenous metabolites (C) in serum of rats

4 讨论

作为精神类疾病的潜临床或病前状态—心理亚健康状态,至今对其研究仍主要集中于流行病学、心理学和卫生统计学方面^[21-23],在医药领域尚处于起始阶段。随着传统的医学模式逐渐被生物-心理-社会医学模式所取代,人类对健康的不断追求以及对多维健康理念认识的不断发展,人们在注重身体健康的同时,开始有越来越多的研究把注意力放在心理健康与疾病之间的灰色领域,即心理亚健康状态。

为了在动物实验水平研究心理亚健康状态,成功建立可靠的心理亚健康动物模型显得尤为重要。然而,由于概念的模糊性和不普及性^[24],至今尚未有确切的心理亚健康动物模型。相关动物模型大多为躯体复合心理型、疲劳型、睡眠型,以及不同中医症型亚健康动物模型,如湿困脾胃症^[25]、肝郁症^[26]、肾虚虚症^[27]等。

由于大鼠与人类的机能、代谢、结构及疾病特点具有相似性,尤其是大鼠的神经系统与人类高度相似,而相比男性来说,女性更容易产生心理亚健康状态^[28],因此本实验中选用雌性大鼠。造模程序采用非躯体的复合因素造模,即空瓶应激、旁观电击应激、饮食不节应激、昼夜不分应激、社交失败应激,旨在模拟人在竞争激烈的社会环境中因饮食不节、作息不规律、精神压力过大、社交失败所致的心理亚健康状态。此方法不采用躯体应激因素,拟尽可能的以最大程度凸现出大鼠的抑郁、焦虑情绪以及记忆能力的变化,又采用复合因素造模,较好地模拟了人类在复杂的社会上经历的种种事情。造模后大鼠糖水偏爱率为 $(54.0 \pm 31.7)\%$,对照组糖水偏爱率为 $(78.6 \pm 8.9)\%$,在高架十字迷宫中的开臂时间比例为 $(37.8 \pm 19.1)\%$ 。通过文献调研发现抑郁大鼠糖水偏爱率小于 50%且相对对照组下降大于 30%,焦虑大鼠在高架十字迷宫中的开臂时间比例小于 20%,因此在抑郁焦虑指标上可视本模型并未达到抑郁焦虑模型程度,只是具有抑郁焦虑情绪。从病理学角度来讲,脏器指数可在宏观上反映大鼠是否发生器质性病变,当脏器出现肿胀、出血、萎缩等病理变化时,脏器指数会发生明显变化^[29]。心、肝、肺、肾等脏器指数没有显著性差异,表明造模中的各种应激并未造成大鼠器质性上的病变,而模型组中脾指数有所下降的原因可能是因为脾脏是人体中多功能的最大免疫器官,是机体免疫-神经-内分泌网络调节中心的一个重要组成部分^[30],对外界应

激相对敏感,导致机体防御型的免疫应答增强。此外,临床上心理亚健康患者也经常表现出脾虚型症状^[31]。

在评价模型上,现在仅仅利用体征、生化指标和行为学等方式对模型进行评价时,往往只是反映疾病本身的表象,而忽略了整体的结合的去反映机体的状态。在疾病发生的早期,机体内外往往都伴随着代谢物的微小改变,而采用高分辨率、高灵敏度的代谢组学技术,有可能捕捉到这些微小改变,有助于发现特异性的生物标记物,因此引入代谢组学技术评价此模型。代谢组学可系统的研究模型动物发病过程中内源性代谢产物的变化去评价疾病的发生和发展情况,进一步通过确定生物标志物和代谢途径可以追溯更深层次的发病机制,可为进一步阐明疾病的发病机制提供依据。因子分析可以挖掘宏观的行为学数据,找出具有代表性的对模型贡献最大的变量,并将相同本质的变量整合,提取出共因子,减少变量数目,反映这些变量之间的相互关系。因此,与传统评价方法不同,本研究采用基于行为学的因子分析评价和代谢组学评价相互结合,一内一外,一宏观一微观的去反映生物体在面对应激时其行为学和内源性代谢产物的变化,可全面准确地反映模型动物的整体性系统性变化。最终因子分析从行为学数据中挖掘出 3 个公因子(抑郁焦虑因子、记忆因子、其他因子)显示各行为学指标检测结果与所计划的造模结构以及理论模型测定结果吻合程度一致,表明该模型具有较好的结构效度^[32]。代谢组学分析结果也显示,造模后模型组大鼠代谢产物发生显著变化,模型拟合能力以及预测能力较好,表明模型建立成功,且稳定可靠。本课题组已初步考察了百合地黄汤对大鼠心理亚健康模型中各指标的改善作用,为深入研究心理亚健康的机制及药物干预作用机理奠定了基础。

参考文献

- [1] 王琦. 调治亚健康状态是中医在 21 世纪对人类的新贡献 [J]. 北京中医药大学学报, 2001, 24(2): 1-4.
- [2] 王兮, 武嫣斐. 百合地黄汤治疗阴虚型心理亚健康 50 例 [J]. 光明中医, 2014, 29(12): 2558-2559.
- [3] Olde H T, Borghuis M S, Lucassen P L, et al. Medically unexplained symptoms, somatisation disorder and hypochondriasis: course and prognosis. A systematic review [J]. *J Psychosom Res*, 2009, 66(5): 363-377.
- [4] Blackwood S K, MacHale S M, Power M J, et al. Effects of exercise on cognitive and motor function in chronic fatigue syndrome and depression [J]. *J Neurol Neurosur*

- Ps, 1998, 65(4): 541-546.
- [5] Judd L L, Rapaport M H, Paulus M P, *et al.* Subsyndromal symptomatic depression: a new mood disorder. [J]. *J Clin Psychiat*, 1994, 55(Suppl): 18-28.
- [6] 王 兮. 百合地黄汤对阴虚型心理亚健康人群的临床干预研究 [D]. 太原: 山西医科大学, 2014.
- [7] 黄 山, 许 畅, 邹旭辉. 实验动物伦理研究进展 [J]. 医学综述, 2015, 21(1): 66-68.
- [8] 冷晓霞, 朱科燕, 周卫民, 等. 心理应激致亚健康状态大鼠的血气、电解质代谢及中药的干预效应 [J]. 浙江中医药大学学报, 2009, 33(6): 754-755.
- [9] 雷龙鸣. 艾灸对亚健康脑力疲劳模型大鼠学习记忆能力与海马神经元的影响 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2011.
- [10] 马作峰, 姜瑞雪, 张六通, 等. 补肝方对亚健康大鼠模型下丘脑单胺类神经递质含量及海马脑区谷氨酸受体基因表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15): 221-224.
- [11] 田俊生, 史碧云, 冯光明, 等. 慢性温和不可预测应激抑郁模型大鼠粪便 $^1\text{H-NMR}$ 代谢组学研究 [J]. 中草药, 2013, 44(22): 3170-3176.
- [12] Tian J S, Shi B Y, Xiang H, *et al.* $^1\text{H-NMR}$ -based metabonomic studies on the anti-depressant effect of genipin in the chronic unpredictable mild stress rat model [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e75721.
- [13] Shao F, Lin W, Wang W, *et al.* The effect of emotional stress on the primary humoral immunity of rats [J]. *J Psychopharmacol*, 2003, 17(2): 179-83.
- [14] Endo Y, Yamauchi K, Fueta Y, *et al.* Changes of body temperature and plasma corticosterone level in rats during psychological stress induced by the communication box [J]. *Med Sci Monit*, 2001, 7(6): 1161-1165.
- [15] 张玥莉, 吕圭源, 丁 婷, 等. 长期起居饮食不节致亚健康状态大鼠模型的研究 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(6): 181-184.
- [16] 林海明. 因子分析模型的改进与应用 [J]. 数理统计与管理, 2009, 28(6): 1000-1012.
- [17] 熊旺平, 周 娴, 杜建强, 等. 因子分析在中医方药量效关系研究中的应用 [J]. 中草药, 2014, 45(19): 2820-2823.
- [18] Zheng X F, Tian J S, Liu P, *et al.* Analysis of the restorative effect of Bu-zhong-yi-qi-tang in the spleen-qi deficiency rat model using $^1\text{H-NMR}$ -based metabonomics [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(2): 912-920.
- [19] 赵宏波, 白晓晖, 李晓娟, 等. 逍遥散治疗慢性束缚应激焦虑模型大鼠行为学评价 [J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(5): 1669-1673.
- [20] 邹宇晓, 廖森泰, 吴娱明, 等. 金针菇多糖提取物对记忆障碍模型大鼠小鼠学习记忆能力的影响 [J]. 中国食品学报, 2010, 10(1): 26-30.
- [21] 高艳杰, 毛富强, 陈玉辉, 等. 短程内观认知疗法对心理亚健康状态的治疗效果 [J]. 中国健康心理学杂志, 2010, 18(4): 402-404.
- [22] 马 寰. 亚健康状态中医证候流行病学调查 [D]. 天津: 天津中医学院, 2004.
- [23] 袁修睿. 大中学生心理亚健康状况及其相关影响因素的研究 [D]. 南京: 南京师范大学, 2013.
- [24] 谢东北, 林 玲. 心理亚健康-概念的廓清和诊断标准的选择 [J]. 现代预防医学, 2008, 35(1): 8-9.
- [25] 刘 瑶, 刘 伟. 藿香正气散对湿困脾胃型亚健康大鼠胃肠功能的影响 [J]. 江苏中医药, 2011, 43(6): 89-90.
- [26] 黄学宽. 电针对抑郁模型大鼠肝主疏泄功能影响的实验研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2008.
- [27] 何清湖, 杨华伟, 李天禹, 等. 天蚕壮阳散对肾虚雄性亚健康大鼠免疫功能的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(5): 1298-1301.
- [28] 周 雯, 徐瑞好, 李 艳, 等. 亚健康状态人群中心理亚健康类型的特征分析 [J]. 广东医学, 2011, 32(10): 1326-1330.
- [29] 孙建新, 安 娟, 连 军. 影响实验动物脏器重量及脏器系数因素分析 [J]. 实验动物科学, 2009, 26(1): 49-51.
- [30] 李宗芳, 张 澍. 脾脏的基础研究进展与展望 [J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2008, 29(1): 1-6.
- [31] 崔海珍, 陈家旭. 亚健康脾虚证的尿液代谢组学研究 [J]. 山东中医杂志, 2011, 30(7): 468-470.
- [32] Hays R D, Anderson R, Revicki D. Psychometric considerations in evaluating health-related quality of life measures [J]. *Qual Life Res*, 1993, 2(6): 441-449.