

中医药病证结合动物模型的现代应用研究及思考

宋亚刚, 李 艳, 崔琳琳, 苗明三*

河南中医药大学, 河南 郑州 450046

摘 要: 中医药动物模型广泛应用于中医药研究领域, 病证结合模型成为当前中医药动物模型发展的趋势。通过查阅文献发现中医药动物模型制备尚存在: 所选动物与疾病人群体质不符, 部分疾病缺乏证候体现, 疾病与证候关联性不强, 缺乏病证结合动物模型评价体系等问题。模型应用存在: 忽视模型的周期性; 忽视环境对动物模型的影响的问题; 单以正常动物进行中医药毒理研究不符中医药本质。从 6 方面提出: 与发病人群相符体质的动物造模; 扩大病证结合动物模型使用范围; 运用中医药理论“五运六气”“子午流注”“七情”“六淫”气候箱, 并以“四诊信息”合参解决病证关联性不强问题; 采用“证候”指标+“病”指标, 从四诊信息、生化指标、分子生物学等方面完善模型评价标准; 在模型应用中重视模型周期性, 尤其重视环境对动物模型“证候”形成的影响; 毒理研究中考虑增设模型动物组, 以调整中药应用剂量, 提升中药药效。通过以上问题的改善, 以期为中医药动物模型的完善及正确应用提供相关参考。

关键词: 中医药; 病证结合动物模型; 证候; 模型评价标准; 存在问题

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)16-3971-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.16.033

Modern application and thinking of traditional Chinese medicine disease and syndrome combined with animal model

SONG Ya-gang, LI Yan, CUI Lin-lin, MIAO Ming-san

Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Traditional Chinese medicine animal models are widely used in the field of traditional Chinese medicine research. The combination of disease and syndrome models has become the trend of the development of traditional Chinese medicine animal models. In this paper, we find that model manufacturing still exists problems as following through literature review: the selected animals are not in conformity with the constitution of disease population; some diseases lack syndrome manifestation; the correlation between diseases and syndromes are not strong; the disease syndrome combined with animal model evaluation system is deficient and etc. The application of the model exists: ignore the periodicity of the model; ignore the impact of the environment on the animal model; toxicological research has the problem that normal animals are not suitable for TCM toxicology research. This paper proposes from six aspects: construct the animal model that conforms to the constitution of diseased population; expand the scope of use of the disease and syndrome combined animal model; use the theory of traditional Chinese medicine of “five transports and six qi”, “streamer midnight-midday ebb flow”, “seven emotions”, and “six kinky” climate box, and combined with “four diagnosis information” to solve the problem of weak correlation between diseases and syndromes; using “syndrome” index + “disease” indicators to improve the model evaluation criterion from four diagnostic information, biochemical indicators, molecular biology, and etc. Pay attention to the periodicity of the model, and pay particular attention to the influence of the environment on the formation of the animal model syndrome; In the toxicology research, the model animal should be used instead of the normal animal application, and the dosage of the traditional Chinese medicine should be adjusted to improve the efficacy of traditional Chinese medicine. Through the improvement of the above problems, it is expected to provide relevant reference for the improvement of the animal model of Chinese medicine and its correct application.

Key words: traditional Chinese medicine; disease and syndrome combined with animal model; syndrome; model evaluation criteria; existing problem

收稿日期: 2019-01-02

基金项目: 国家行业科研专项 (201507004-2); 国家国际合作基地 (2016-65)

作者简介: 宋亚刚, 男, 在读博士, 主要从事分子药理学研究。E-mail: songyagang1016@163.com

*通信作者 苗明三, 男, 教授, 博士, 主要从事中药药理教学与研究。E-mail: miaomingsan@163.com

中医药动物模型是根据中医药理论,利用特定的致病因素,在动物身上复制与人体疾病症状和病理改变相同或相似的疾病和证候的载体,是沟通中医临床与基础研究的桥梁,广泛应用于中医药研究领域^[1-2]。中医药动物模型研究应注重中医药辨证论治的思想,注重临床病和证特征信息在动物身上的模拟和体现。目前,中医药研究动物模型众多,其应用和模型本身存在较多问题,本文基于中医药动物模型及其应用中存在的问题,从中医药动物模型现状、动物模型的现代应用情况、模型存在问题、模型动物在毒理研究中的应用进展等方面出发,提出相应的完善思路,以期中医药动物模型的正确使用及评价标准的完善提供参考。

1 中医药动物模型研究现状

中医药动物模型大致可分为(1)基于现代医学理论复制的病理模型,如韩超等^[3]ip 5% D-半乳糖连续 2 周诱导大鼠衰老-动脉硬化-高黏血症病理模型;曲晓宇等^[4]采用大鼠中动脉栓塞法(MACO)建立大鼠局灶性脑缺血-再灌注损伤模型。(2)传统病因动物模型,如段永强等^[5]选用 Wistar 大鼠限制饮食摄入量喂养,建立气虚证动物模型;谭玮等^[6]采用放血加适当限食方法制备血虚证小鼠模型,又如长期激怒法制备大鼠肝肾阴虚模型、温燥伤阴法建立阴虚内燥模型、利水伤阴法建立阴虚模型等^[7]。(3)在现代医学理论疾病模型基础上根据中医药理论施加中医的干预因素复制证候模型,目前大部分中医药动物模型属该种建模方法,如孙园园等^[8]在 ip 链脲佐菌素(STZ)建立高血糖模型的基础上,施加过度劳倦、饥饱失常及恣啖肥甘的方法,模拟糖尿病脾

气虚证的大鼠模型;张明雪等^[9]在高脂饮食、sc 垂体后叶素基础上寒冷刺激造模,检测心电图、心脏彩超及心肌酶、血脂水平等,复制冠心病(心)阳虚血瘀证候模型;鲁湘鄂等^[10]在 ip 卵清蛋白(OVA)致敏基础上,将豚鼠置冰水中浸泡的方法建立寒饮蕴肺证哮喘豚鼠模型并获得成功;朱闻等^[11]在 Wistar 大鼠前列腺蛋白提纯液加免疫佐剂基础上附加高脂高糖饮食、白酒、湿热环境等因素,制备实验性自身免疫性前列腺炎(湿热证)小鼠模型并获得成功;李晓娟等^[12]通过文献整理研究发现,病证结合模型为中医药研究主要造模方法。据统计发现目前中医药证候动物模型 60 多类(600 多种),涉及 130 多种疾病^[13],可见中医药动物模型研究和应用已取得了较大进展。

2 中医药动物模型应用情况

为了解近年来中医药药效研究中动物模型的应用情况,笔者以“中医药+模型”为检索词,通过检索 CNKI、万方数据库,检索 2014—2018 年公开发表的文献,共检索到 4 219 篇文献,排除理论性研究文献、硕博毕业论文、一稿多投和综述性文献,避免同种疾病重复出现,筛选出 45 篇文献。从检索结果来看,所采用的动物模型多集中于大鼠 100~300 g,3~12 周龄,小鼠 18~22 g,6~8 周龄;病证结合模型 24 篇,约占 53.3%,传统病因型 8 篇,约占 17.8%,西医病理型 13 篇,约占 28.9%;复合因素造模共计 30 篇,约占 66.7%,单因素造模 15 篇,约占 33.3%。由表 1 可见,病证结合模型+复合因素造模法是现代中医药研究的发展趋势,成为探索中西医结合和中医证候本质研究中较理想的造模方法。

表 1 2014—2018 年中医药动物模型应用情况

Table 1 Application of animal model of traditional Chinese medicine from 2014 to 2018

病(证)名	动物	体质量/g	周龄	类型	造模方法
慢性萎缩性胃炎 ^[14]	Wistar 雄性大鼠	100~130	3~4	病证结合型	N-甲基-N'-硝基-亚硝基胍(MNNG)+水杨酸钠、雷尼替丁饲料+饥饱失常
寒凝血瘀型子宫内膜异位症 ^[15]	雌性 SD 大鼠	200±10	6	病证结合型	冰水浴+肾上腺素+手术子宫内膜异位
阿尔茨海默病 ^[16]	雄性 SD 大鼠	300±20	—	病证结合型	D-半乳糖+海马 CA1 区注射淀粉样蛋白(Aβ ₂₅₋₃₅)
自身免疫性前列腺炎 ^[17]	KM 小鼠	—	—	病证结合型	大鼠前列腺蛋白提纯液辅以免疫佐剂及高脂高糖饮食、白酒、湿热环境
神经胶质瘤 ^[18]	BALB/c 裸鼠	18~22	—	病因病理型	U87 细胞接种到裸鼠右侧腋窝
失眠症 ^[19]	SD 大鼠	200±10	—	病因病理型	一次性 ip 氯苯丙氨酸(PC-PA)建立失眠模型
动脉粥样硬化 ^[20]	载脂蛋白 E 基因敲除小鼠	—	—	病因病理型	载脂蛋白 E 基因敲除小鼠结合高脂饲料喂养
阳明病发热病 ^[21]	Wistar 雄性大鼠	200±20	—	病证结合型	附子、干姜、肉桂 ig 结合 ip 大肠杆菌内毒素
缺血再灌注损伤 ^[22]	SD 大鼠	300~320	—	病理病因型	线栓法

续表 1

病(证)名	动物	体质量/g	周龄	类型	造模方法
糖尿病骨质疏松 ^[23]	SD 大鼠	200±10	8	病理病因型	ip 60 mg/kg STZ
痰瘀互结冠心病 ^[24]	Wistar 雄性大鼠	200±20	—	病证结合型	高脂饲料+结扎冠状动脉左前降支
肾阳虚血瘀型子宫内膜异位 ^[25]	雌性 SD 大鼠	200±20	12	病证结合型	冰水浴+手术子宫内膜异位
急性肝损伤(肝郁脾虚证) ^[26]	Wistar 雄性大鼠	180~220	—	病证结合型	ip 猪血清+高脂低蛋白饲料(89.5%玉米粉、10%猪油、0.5%胆固醇)+10%食用乙醇
免疫性血小板减少症 ^[27]	BALB/c 小鼠	18~22	8	病证结合型	注射抗大鼠血小板血清(APS)被动性免疫造模
咳嗽变异性哮喘 ^[28]	SD 大鼠	100±10	4	病证结合型	卵蛋白氢氧化铝+烟熏或高脂饲料+夹尾法
肝郁脾虚性脂肪肝 ^[29]	Wistar 雄性大鼠	160~200	—	病证结合型	高脂低蛋白饲料+ig 不同浓度的乙醇
血瘀型肝纤维化 ^[30]	SD 大鼠	150~180	—	病证结合型	二甲基亚硝胺+小牛血清白蛋白+去甲肾上腺素注射+ig 乙醇+高脂低蛋白饲料喂养
肝郁肺虚型咳嗽、变异性哮喘 ^[31]	SD 大鼠	100±10	4	病证结合型	卵蛋白氢氧化铝致敏激发+烟熏或激怒法
食积胃肠积热 ^[32]	SD 大鼠	110±10	3	中医病因型	ig 高热饲料
脾肾阳虚型溃疡性结肠炎 ^[33]	SD 大鼠	180~220	—	中医病因型	ig 番泻叶煎剂+注射氢化可的松
脾虚高脂血症 ^[34]	SD 大鼠	310±10	—	病证结合型	饥饿失常加运动控制及结合高脂饲料喂饲
伤食泻 ^[35]	SD 大鼠	60~100	6	中医病因型	由肉松、豆粉、面粉、牛奶粉组成特制饲料喂养
气虚血瘀型 Corti 器毛细胞损伤 ^[36]	豚鼠	250~350	—	病证结合型	ig 破气苦降药+光化学反应法再复制耳蜗微循环障碍
免疫缺陷 ^[37]	KM 小鼠	20~24	6~8	病因型	ip 环孢菌素 A
肾阴虚型骨质疏松症 ^[38]	KM 小鼠	18~22	—	病证结合型	im 地塞米松
急性痛风性关节炎 ^[39]	KM 小鼠	—	—	西医病理型	ip 尿酸钠
便秘 ^[40]	KM 小鼠	20~30	—	病因型	ig 生大黄煎剂混悬液
过敏性紫癜 ^[41]	SD 大鼠	180~200	6	病证结合型	ig 干姜、萆薢、胡椒+ip 含鸡蛋蛋白+氢氧化铝凝胶+脂多糖(LPS)+伊文思蓝
H7N9 禽流感 ^[42]	雌性 BALB/c 小鼠	13~15	—	西医病理型	H7N9 禽流感病毒原液滴入小鼠鼻腔
过敏性紫癜性肾炎 ^[43]	SD 大鼠	150~180	6	病证结合型	ig 热性药物+ip 牛血清白蛋白(BSA)+LPS+四氯化碳(CCl ₄)
男性不育症 ^[44]	Wistar 雄性大鼠	—	6	西医病理型	ig 奥硝唑+0.5%羧甲基纤维素钠
高黏血症 ^[45]	SD 大鼠	—	2~13	病证结合型	高盐高脂饲料+饮酒 13 周+高分子右旋糖酐复合因素造模
神经根型颈椎病 ^[46]	SD 大鼠	200~250	6~8	西医病理型	手术法
糖尿病心肌病 ^[47]	SD 雄性大鼠	220~250	—	西医病理型	注射 STZ+高糖高脂饲料
乳腺增生 ^[48]	雌性 SD 大鼠	—	—	西医病理型	苯甲酸雌二醇+黄体酮连续注射 5 d
血管性痴呆 ^[49]	SD 雄性大鼠	180~220	—	西医病理型	四血管阻断法(4-VO)
抑郁症 ^[50]	雄性大鼠	230~270	6 月龄	病证结合型	禁食, 禁水, 通宵照明, 冰水游泳, 电击足底随机安排
尿酸排泄不良型高尿酸血症 ^[51]	SPF 级雄性 SD 大鼠	180~200	7~8	病证结合型	氧嗪酸钾分别与吡嗪酰胺、乙胺丁醇联合造模
慢性皮肤溃疡 ^[52]	雄性 SD 大鼠	280±20	—	西医病理型	“激素干预-皮肤缺损-细菌感染”复合因素叠加法制备慢性皮肤溃疡大鼠模型
肾病综合征 ^[53]	SPF 级 SD 雄性大鼠	180~220	—	西医病理型	尾静脉注射阿霉素
更年期综合征 ^[54]	SPF 级 SD 雄性大鼠	190~220	—	西医病理型	卵巢下输卵管(包括脂肪团)+用丝线结扎, 再摘除卵巢同法摘除另一侧卵巢
肾阳虚 ^[55]	SPF 级昆明种雄性小鼠	18~22	—	病证结合型	ig、ip 及 sc 的方式给予小鼠不同剂量氢化可的松注射液
肝郁证 ^[56]	Wistar 大鼠雄性	180~220	适龄	病证结合型	夹尾法, 四肢捆绑法和颈部带枷法
脾虚证 ^[57]	SD 大鼠	200~250	—	病证结合型	饥饿失常+劳倦+耗气破气法
血瘀证 ^[58]	Wistar 雄性大鼠	180~220	—	病证结合型	冰水浴+sc 盐酸肾上腺素

3 中医药动物模型应用存在问题及思考

3.1 动物模型存在问题

3.1.1 所选动物与疾病人群体质不符 由表 1 可见,在中医药动物模型中,慢性病动物模型采用低龄鼠,与临床慢性病高龄人群发病率不符,如慢性萎缩性胃炎,采用 3~4 周龄 Wistar 雄性大鼠,研究表明慢性萎缩性胃炎老年人高发,且随年龄增长发病率增高^[59],故动物选择应以老龄动物为主;子宫内膜异位症以 40~60 岁女性高发^[60],文献报道采用 6 周龄鼠造模欠妥,应以中老年动物为主;咳嗽变异性哮喘以儿童高发^[61],造模以幼龄动物为主;过敏性疾病、急性病应采用青年动物为主。

病证结合模型不仅要体现病证的特点,还应注重证候的好发人群,如气虚证、脾虚证以老年人多见,造模应以老龄鼠为主;肝郁证应以雌性动物为主。现今社会肥胖人群逐年增加,慢性病发病率也以肥胖人群为主,故应考虑肥胖动物在病症结合中的应用,如痰湿体质相关病理模型应以肥胖动物为主,肝郁脾虚性脂肪肝以 160~200 g Wistar 雄性大鼠造模欠妥,应以肥胖动物,同时注重肝郁(雌性动物)和脾虚(老龄动物)体质因素考虑,综合考虑选择相应体质的动物模型,不仅能够更好地模拟临床证型,还可能提升造模成功率,有望解决病证结合动物模型中病证关联性不强的问题。

3.1.2 部分疾病缺乏证候体现 目前中医药研究中部分病症尚缺乏中医药证型的体现,如目前脑缺血动物模型、心肌缺血动物模型的制备,仍以手术为主,虽能较好地模拟病理发展过程,但不能较好地体现中医证型。再如发热、皮炎、不孕症、白血病、前列腺增生等均是现代医学病理病因型造模方法,缺乏证候的体现,应考虑疾病的中医诊断证型,分主次证,以主证为主考虑在西医病理病因造模基础上施加证型因素,以便更好地模拟中医临床辨证论治的过程。

3.1.3 疾病与证候关联性不强 证候是发病原因的体现,目前的造模仍以西医病理病因造模方法为基础,施加以中医证候体现的干预因素,未能较好地体现疾病和证候之间的因果关联,进而导致病证结合模型无法体现中医临床治则。通过大量文献统计,找出该类疾病发生的主要证型,在证候模型基础上施加疾病发生的诱因可能成为解决该问题的主要途径。中医证候的体现成为目前中药药理研究的难点。近来“五运六气”和“子午流注”变化规律

的临床报道逐渐增多,“五运六气”和“子午流注”强调机体与自然界的密切关联,且具一定规律,如《黄帝内经》四气调神大论篇:“春三月,此谓发陈…”,此春气之应,逆之则伤肝;夏三月,此为蕃秀…”,逆之则伤心;秋三月,此谓容平…”,此秋气之应,养收之道也,逆之则伤肺;冬三月,此谓闭藏…”,此冬气之应,养藏之道也,逆之则伤肾”。在中医药动物模型建立中考虑“五运六气”和“子午流注”的变化规律,利用该种规律选择最佳造模时机,增加适宜干扰因素,进而体现中医证候。如根据气候变化,春季造肝病模型,夏季造心病模型,长夏造脾病相关模型,秋季造肺病模型,冬季造肾病相关模型。另可根据“子午流注”变化规律,寻找相应脏腑的流经时间,关联相应疾病,制造动物模型,这样更能模拟疾病的发生规律。综合上述论述提出:(1)根据“五运六气”和“子午流注”选择最佳造模时机;(2)结合“七情”相生相克原理,诱导动物情志变化;(3)以小型“六淫”气候箱,模拟“六淫”的致病规律。几种因素相结合能较好模拟中医发病过程,有望解决中医药研究中证候和疾病关联性不强的难题。

3.1.4 缺乏病证结合动物模型评价体系 目前病证结合动物模型研究的评价方面,西医以辨病为核心,中医以辨证为核心^[62]。西医的“病”和中医的“证”从不同角度阐述了对病的认识,是 2 个不同评价体系。因此,病证结合动物模型如何科学评价是目前中医药动物模型研究的难点。现代医学“病”的模型的诊断标准依据经典的实验室评价指标,比较客观;但中医“证”诊断标准存在较多争议,至今尚未形成完善的评价体系。病证结合模型评价标准应是“证候”评价指标+“病”评价指标相结合的结果。因此应考虑:(1)与中兽医合作,以动物特有的“四诊信息”结合现代技术手段(基因组学、代谢组学、蛋白组学等)收集病证结合动物模型“证候”和“疾病”的相关指标;(2)指标应从宏观的“四诊信息”到微观的“生化、分子生物学”指标等,以宏观指标为主,微观为次,分主次赋值评分进行评价;(3)运用经典方剂检测动物证候和疾病的成模情况。

3.2 模型应用中存在问题

3.2.1 忽视动物模型的周期性 动物实验中部分模型具有一定的周期性,尤其是化学诱导法制备的病理模型,如 STZ 诱导的糖尿病模型,诱导剂量的不

同,模型的成模周期存在差异。本实验室长期进行 1 型、2 型糖尿病方药研究,模型制作中发现,大鼠 ip 60 mg/kg STZ,1 周后血糖值大于 16.8 mmol/L,2 周略有升高趋势,3 周基本维持稳定;若低于该剂量 2 周后,血糖值有一定恢复趋势,可见动物模型具有一定的周期性。许晶晶等^[63]发现卡铂和放疗联合处理后 14 d 红细胞、血红蛋白、血小板均达到最低点,28 d 可基本恢复正常水平;而文献报道给药 10、20、30 d 的结果与模型周期不相符。此外,研究发现 1 次 ip 100、200、750 mg/kg 环磷酰胺制造小鼠血虚模型,白细胞 3 d 降至最低,5 d 后回升^[64],有 7 d 采集血液检测的结果文献报道,与该模型周期不符。因而实验中应重视实验动物模型的周期性,以增强实验结果的可靠性。

3.2.2 忽视环境对模型的影响 实验环境对动物模型的成模率、死亡率影响较大。动物饲养环境温度、湿度、光照时间、垫料的洁净度等对实验结果及成模率存在影响。本课题组在线栓法制造脑缺血再灌注动物模型时发现,造模后室温维持在 26℃ 左右动物死亡率最低。肝损伤模型中,污浊垫料可引起肝损伤动物模型肝脏指标变化。研究报道污浊垫料主要包含动物排泄物及过剩饲料等腐败物质所产生的氨气、硫化氢、甲基硫醇等,动物长期处于该环境下易诱发鼻炎、中耳炎、肺炎等疾病,甚至引起生化指标的变化^[65-66],进而影响实验结果。噪音会导致动物情绪紧张,抑郁症动物模型应更加注重噪音的影响;皮肤病动物模型注意光照对模型的影响;湿证相关疾病的动物模型注重对湿度的掌控等。可见环境对实验动物的影响,尤其是病证结合模型,不仅要重视环境对病指标的影响,还应考虑对证候的干扰。

3.2.3 中医药毒理研究应采用模型动物 中医认为人体气血阴阳平和为常,任意一方偏衰或偏盛则为病,应以具有偏性(寒、热、温、凉)药治之。如张景岳言:“药以治病,因毒为能,所谓毒者,以气味之有偏也……气味之偏者,药饵之属是也,所以去人邪气。其为故也,正以人之为病,病在阴阳偏胜耳,欲救其偏,则唯气味之偏者能之,正者不及也”^[67]。中药毒性即偏性,中药治病以偏纠偏。目前中药毒理研究仍沿用西药毒理研究模式,以正常动物为中药毒理研究载体尚有不妥。试想化学药研制,无可参考的毒性剂量,为保证安全用药,须以正常动物加以探寻。而中药则不然,沿用数千年,

用药史存在其用药剂量参考,如再以正常动物(阴阳平和)探讨其毒性,以具有偏性的中药作用于无偏性的正常动物(阴阳平和),毒性显而易见,以此得出的毒性剂量,无疑降低了中药正常使用量,以致临床出现药效降低或无效的现象。如《中国药典》2015 年版天南星仅外用,据徐伯平报道临床上重用生南星治疗各种恶性肿瘤 82 例,每剂 30~100 g,辨证配伍扶正祛邪药,每日 1 剂,持续治疗 60 d,癌肿减小 50% 以上;正常人盲目服用冬虫夏草以致出现脘腹胀满不适^[68];服用人参出现鼻息气促、面红潮热、胸闷腹胀难忍、周身燥热、烦躁不安、儿童性早熟等现象^[69-70]。综上中药毒理研究应考虑以模型动物为载体,甚至建立中医药毒理研究方法,研究中试设正常组、病证结合模型组、正常给药组,指标评价方面分为成模指标、潜毒性指标等进行对比分析,综合考虑得出中药毒性相关指标以供临床参考。

4 展望

中医药动物模型广泛应用中医药研究领域,病证结合模型成为当前中医药动物模型发展的趋势。但其模型制造尚存在:(1)所选动物与疾病人群体质不符;(2)部分疾病缺乏证候体现;(3)疾病与证候关联性不强;(4)缺乏病证结合动物模型评价体系等问题。因此应(1)注重模型动物体质与疾病好发人群的相符性,采用与发病人群相符体质的动物造模;(2)扩大病证结合动物模型使用范围;(3)证候是发病原因的体现,目前模型仍以西医病理病因造模方法主,施加以中医证候体现的干预因素,未能较好地体现疾病和证候之间的因果关联,通过大量文献统计,找出该类疾病发生的主要证型,在证候模型基础上施加疾病发生的诱因可能成为该问题解决的主要途径。故提出以下几点建议:(1)根据“五运六气”和“子午流注”选择最佳造模时机;(2)结合“七情”相生相克原理,诱导动物情志致病;(3)以小型“六淫”气候箱,模拟“六淫”的致病规律,几种因素相结合能较好地模拟中医发病过程,有望解决中医药研究中证候和疾病关联性不强的难题。如何科学评价病证结合模型成为难点,建议病证结合模型评价标准应是“证候”评价指标+“病”评价指标相结合的结果。因此应考虑:(1)与中兽医合作,以动物特有的“四诊信息”结合现代技术手段(基因组学、代谢组学、蛋白组学等)收集病证结合动物模型“证候”和“疾病”的相关指

标; (2) 指标应从宏观的“四诊信息”到微观的“生化、分子生物学”指标等, 以宏观指标为主, 微观为次, 分主次赋值评分评价。(3) 运用经典方剂检测动物证候和疾病的成模情况。通过上述几点建议有望解决病证结合模型评价的难题。模型应用尚存在: 忽视模型的周期性; 忽视环境对动物模型的影响, 因此应在模型应用中加以重视, 尤其重视环境对动物模型“证候”形成的影响; 毒理研究中应以增设模型动物组, 调整中药应用剂量, 提升中药药效。由此可见中医药动物模型有待进一步完善, 模型应用还应更加规范化。

病证结合动物模型的建立是一个系统的复杂工程, 鉴于动物与人存在较大差异性, 中医“四诊信息”在同一动物身上很难同时体现, 是否考虑同一证候的“四诊信息”以多种动物模型为载体, 或与兽医合作, 共同寻找中医“四诊信息”的替代表观指标。中医药动物模型的完善, 尚需多学科共同的参与, 如加强与兽医合作将有助于动物“四诊信息”的获得。此外, 重视对动物自然疾病的发病规律的观察, 可能有助于中医药证候动物模型的完善。

参考文献

- [1] 马程功, 马跃荣. 中医药证候动物模型的研究进展 [J]. 成都中医药大学学报, 2018, 41(1): 119-123.
- [2] 张会永, 庞琳琳, 张 哲, 等. 小型猪中医动物模型进展及在中医药研究中的应用 [J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(6): 1266-1269.
- [3] 韩 超, 潘竞铨, 肖柳英. 葛根素对 *D*-半乳糖致动脉硬化和高粘血症大鼠血浆内皮素-1 和一氧化氮水平的影响 [J]. 中国民族民间医药, 2009, 18(12): 8-9.
- [4] 曲晓宇, 张月明, 张四喜, 等. 醒脑静注射液保护大鼠脑缺血-再灌注损伤及血脑屏障的作用研究 [J]. 中药材, 2018, 41(9): 1944-1948.
- [5] 段永强, 程卫东, 杜 娟, 等. 四君子汤对脾气虚大鼠 SP/CCK 和 Mapk14 mRNA 表达水平的影响 [J]. 中药材, 2014, 37(04): 656-660.
- [6] 谭 玮, 宋崇顺, 谭洪玲, 等. 四物汤对综合放血法致小鼠血虚证造血功能的影响 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(12): 926-929.
- [7] 乔天阳, 王阿美, 刘文兰. 中医虚证动物模型的建立和评价 [J]. 浙江中医药大学学报, 2017, 41(11): 923-927.
- [8] 孙园园, 陈筱云. 健脾益气法改善 2 型糖尿病肥胖患者脾虚证候疗效观察 [J]. 山西中医, 2012, 28(4): 14-15.
- [9] 张明雪, 常艳鹏, 曹洪欣. 温阳活血中药复方调控冠心病 (心) 阳虚血瘀证大鼠血小板内受体、信号转导的作用机制研究 [J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(6): 494-497.
- [10] 鲁湘鄂, 关业枝, 刘 静, 等. 喘平滴丸对卵白蛋白诱发哮喘结合寒饮蕴肺证豚鼠的药效学初步研究 [J]. 北方药学, 2016, 13(1): 97-98.
- [11] 朱 闽, 徐 楠, 荀建宁, 等. 湿热消腰部热敷疗法对 EAP 模型前列腺 Th17 细胞相关因子表达的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(01): 198-202.
- [12] 李晓娟, 白晓晖, 陈家旭, 等. 中医动物模型研制方法及展望 [J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(7): 2263-2266.
- [13] 孙建宁, 董世芬. 中药研发和评价思路与方法探讨 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2017, 19(3): 444-449.
- [14] 于春月, 刘 婷, 刘凯歌, 等. 慢性萎缩性胃炎病证结合动物模型的建立与评价 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(5): 2140-2144.
- [15] 丛慧芳, 谷栩萌, 张天婵, 等. 寒凝血瘀型子宫内膜异位症大鼠模型的制备 [J]. 中医药学报, 2018, 46(1): 74-79.
- [16] 成金枝, 张俊龙, 郭 蕾, 等. 阿尔茨海默病肾虚证病证结合动物模型的制备及验证 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(3): 1063-1066.
- [17] 朱 闽, 徐 楠, 荀建宁, 等. 建立实验性自身免疫性前列腺炎湿热证病证结合小鼠模型探讨 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(3): 531-534.
- [18] 冯英楠, 张 鹏, 陈 菲, 等. 中药复方抗癌丸优化方对 U87 裸鼠移植瘤动物模型作用机制研究 [J]. 环球中医药, 2018, 11(10): 1515-1519.
- [19] 赵俊云, 杨晓敏, 胡秀华, 等. 失眠动物模型 HPA 轴和表观遗传修饰的变化及交泰丸的干预作用 [J]. 中医药学报, 2018, 46(4): 19-21.
- [20] 任宝琦, 李成辉, 金 政. 邓老冠心病方对 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化不稳定斑块 NOX4 的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2018, 35(6): 1065-1069.
- [21] 卢 丹, 张 萌, 张 岩, 等. 大黄-枳实-厚朴不同配比对阳明病发热大鼠的退热作用及机制研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2018, 35(6): 1047-1050.
- [22] 郑晓娇, 丁 涛, 刘 博, 等. 七叶通脉胶囊对大鼠脑缺血再灌注模型的影响 [J]. 长春中医药大学学报, 2018, 34(6): 1055-1058.
- [23] 赵恒侠, 周道成, 陈 叶. 从 Wnt/ β -catenin 通路研究滋肾降糖丸对糖尿病大鼠骨质疏松的防治作用 [J]. 广州中医药大学学报, 2018, 35(6): 1051-1057.
- [24] 王 朔, 梁 如, 许慧愚, 等. 高脂饲料联合结扎冠状动脉左前降支探讨冠心病痰瘀互结证大鼠模型的建立与评价 [J]. 天津中医药, 2018, 35(10): 727-731.
- [25] 贾云波, 杜惠兰, 姚颖玉. 肾阳虚血瘀证子宫内膜异位症大鼠造模方法的建立与评价 [J]. 河北中医药学报, 2017, 32(3): 9-12.
- [26] 黄娜娜, 孙晓倩, 杨 倩, 等. 大鼠急性肝损伤 (肝郁

- 脾虚证) 病证结合模型的研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(23): 4400-4407.
- [27] 郎海燕, 褚雨霖, 马 薇, 等. 免疫性血小板减少症病证结合动物模型研究 [J]. 中医药信息, 2017, 34(1): 39-43.
- [28] 王文丽, 李冬梅, 施 雷. 痰瘀同治法干预咳嗽变异性哮喘大鼠病症结合动物模型气道慢性炎症疗效的实验研究 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(1): 223-226.
- [29] 孙晓倩, 孙 蓉. 大鼠脂肪肝肝郁脾虚证的模型 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(10): 92-98.
- [30] 彭 岳, 韦燕飞, 赵铁建, 等. 复合多因素法对血瘀型肝纤维化大鼠模型的建立和评价 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2016, 18(1): 141-149.
- [31] 王文丽, 李冬梅, 施 雷. 咳嗽变异性哮喘肝郁肺虚病证结合动物模型的建立和评价 [J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(3): 667-671.
- [32] 白 辰, 郑子安, 徐竞男, 等. 食积胃肠积热动物模型的探索与评价 [J]. 湖南中医药大学学报, 2018, 38(2): 125-129.
- [33] 朱 丹, 张 怡, 王 毅, 等. 大鼠溃疡性结肠炎 (脾肾阳虚型) 模型实验研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 17(5): 120-123.
- [34] 李 静, 贾连群, 李 宁, 等. 一种新型小动物脾虚高脂血症模型的建立 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(2): 503-505.
- [35] 孙理想, 彭 玉. 伤食泻大鼠模型建立初探 [J]. 内蒙古中医药, 2015, 34(2): 107.
- [36] 彭桂原, 李松键, 杨 黎, 等. 气虚血瘀型Corti器毛细胞损伤动物模型的建立 [J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(49): 7384-7390.
- [37] 张予晋, 李 玲, 杨胜辉, 等. 不同剂量环孢菌素 A 制备免疫缺陷小鼠模型的研究 [J]. 湖南中医药大学学报, 2014, 34(11): 14-17.
- [38] 夏炳江, 童培建, 孙 燕, 等. 地塞米松致骨质疏松肾阴虚型病证结合模型构建与评价的实验研究 [J]. 中国骨伤, 2014, 27(8): 673-679.
- [39] 周忠光. 车前子配方颗粒抑制急性痛风性关节炎 IL-12 的实验研究 [A] // 全国第十二届中西医结合风湿病学术会议论文汇编 [C]. 天津: 中国中西医结合学会风湿病专业委员会, 中国中西医结合学会, 2014.
- [40] 刘丽莎, 张 微, 彭晓华, 等. 生大黄灌胃复制慢传输便秘动物模型的实验研究 [J]. 广西中医药, 2014, 37(4): 76-79.
- [41] 张晓强, 王 娟, 刘品莉. 基于中西医结合方法的大鼠过敏性紫癜模型的建立 [J]. 陕西中医, 2014, 35(8): 1093-1096.
- [42] 朱 华, 许黎黎, 鲍琳琳, 等. H7N9 禽流感病毒小鼠感染动物模型的建立 [J]. 中国实验动物学报, 2014, 22(1): 18-21.
- [43] 张奕星, 袁 斌, 周立华, 等. 过敏性紫癜性肾炎动物模型的探讨 [J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(2): 548-550.
- [44] 陈小均, 王思师, 贾玉森, 等. 男性不育症实验动物模型在中医药领域的应用概况 [J]. 北京中医药, 2018, 37(3): 282-287.
- [45] 潘丹丹, 高建莉, 陈素红, 等. 高盐高脂酒饮复合因素模拟“饮食不节”对大鼠血液黏度的影响 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(8): 1560-1564.
- [46] 吴大伟, 何 坚. 芍药甘草汤对急性期神经根型颈椎病大鼠炎症因子水平的影响 [J]. 亚太传统医药, 2018, 14(12): 9-13.
- [47] 符显昭, 冯雪萍, 黄文华, 等. 降糖舒心方对糖尿病心肌内质网应激 c-JNK 凋亡旁路的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(10): 2423-2427.
- [48] 毛 宁, 邱春丽, 王 茂, 等. 消乳散结胶囊对大鼠乳腺增生的疗效研究 [J]. 中国处方药, 2017, 15(4): 42-43.
- [49] 张 鑫, 曾小香, 万 婷, 等. 通督调神固本法对血管性痴呆大鼠学习记忆能力及海马区 mTOR、PTEN 表达的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(11): 2627-2631.
- [50] 秦中朋. 半夏厚朴汤对抑郁型大鼠的治疗作用研究 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2017, 15(5): 131-133.
- [51] 沈桂芹, 于世家. 尿酸排泄不良型高尿酸血症动物模型的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(8): 55-59.
- [52] 朱朝军, 张朝晖, 张 杨, 等. 基于药疮交互作用探讨假脓长肉法对大鼠慢性皮肤溃疡肉芽物质变化的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2017, 34(6): 877-881.
- [53] 邓丽娥, 李 强, 董明国, 等. 何氏养肾方对肾病综合征大鼠模型的抗炎作用 [J]. 广州中医药大学学报, 2017, 34(6): 888-892.
- [54] 杜妍妍, 经 媛, 刘艳艳, 等. 淫羊藿苷对更年期综合征模型大鼠的实验 [J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2017, 38(2): 127-130.
- [55] 秦文艳, 陈 贺, 朱竟赫, 等. 不同氢化可的松小鼠肾阳虚模型制备方法对比研究 [J]. 实验动物科学, 2017, 34(4): 11-14.
- [56] 石 亮, 孙佳惠, 孙蓉. 单一情绪刺激与复合情绪刺激对肝郁证动物模型作用的比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(4): 82-88.
- [57] 张 望, 张海燕, 黄穗平. 中医复合因素造模法塑造脾虚型大鼠模型的研究 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(4): 1022-1024.
- [58] 朱 凯, 杨永刚, 李 辉, 等. 牛蒡子萃取物对血瘀证动物模型血液流变学的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(12): 2854-2855.
- [59] 张碧文. 影响慢性萎缩性胃炎中医发病因素的探讨

- [D]. 南京: 南京中医药大学, 2018.
- [60] 巫旭珍. 深圳地区子宫内膜异位症发病及治疗情况调查研究 [J]. 中国妇幼卫生杂志, 2017, 8(6): 48-50.
- [61] 王东英. 小儿咳嗽变异性哮喘的流行病学调查 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2015.
- [62] 孙艳珍, 黄正团. 病证结合动物模型研究的现状及思考 [J]. 中医药导报, 2017, 23(23): 8-12.
- [63] 许晶晶, 刘兔弟, 朱依纯. 小鼠骨髓抑制模型的建立 [J]. 中国药理学通报, 2011, 27(7): 1027-1030.
- [64] 马增春, 高月, 刘永学, 等. 环磷酰胺所致血虚证小鼠骨髓 CD34⁺细胞的变化 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2001, 7(7): 42-44.
- [65] 刘云波, 孟金萍. 实验动物设施环境因子控制评述 [J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(5): 1-7.
- [66] 刘宗传, 杨俊杰. 环境因素对大、小鼠及其动物实验的影响 [J]. 动物科学与动物医学, 2000, 17(5): 36-38.
- [67] 田璐, 李炜弘, 李晗, 等. 从“三三制”探讨中药“毒”与“非毒” [J]. 临床合理用药杂志, 2017, 10(7): 180-181.
- [68] 柳鲁临. 冬虫夏草引起胃肠排空抑制 1 例 [J]. 山东中医杂志, 1992, 11(5): 23.
- [69] 苏春兰, 罗志胜, 覃兴乐. 滥用人参致不良反应 3 例 [J]. 药物流行病学杂志, 2004, 13(5): 279-280.
- [70] 张定棋, 马文翰, 梅志刚, 等. 基于文献的补益类中药临床应用不良反应分析 [J]. 中国中医药信息杂志, 2015, 22(6): 43-45.