

病毒性肺炎中医病证结合动物模型研究进展

乔璇^{1,2}, 翟慧婷^{1,3}, 李南熹¹, 杨磊¹, 孟志云¹, 刘曙晨¹, 孙云波¹, 甘慧¹, 吴卓娜¹, 窦桂芳^{1*}, 顾若兰^{1*}

1. 军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所, 北京 100850

2. 南华大学, 湖南 衡阳 421001

3. 河南大学, 河南 郑州 450001

摘要: 病毒性肺炎 (viral pneumonia, VP) 是一种严重危害人类健康的高发传染病。从中医角度看, VP 属“风温”和“温病”。中药对 VP 具有良好的治疗效果, 其作用机制可能与其对机体免疫平衡的调控、体内微生态的调控、炎症反应的抑制、肺纤维化的抑制、组织保护及直接抗病毒活性有关。动物模型是药物研发领域重要的实验手段。现有的 VP 动物模型多以西医为主, 缺乏对中医证候的研究, 不能反映中医辨证论治的特色。近年来, 研究者一直在努力探索建立 VP 病证结合动物模型, 使其能够更加准确地反映 VP 的不同中医证型和本质。通过对近年来中医疾病动物模型及相关肺炎病证模型进行分析, 对其常见的建模方法、证型分类、证候研究及评价指标等进行综述, 为建立符合中医辨证论治特点的 VP 动物模型提供参考。

关键词: 中医; 病毒性肺炎; 证候; 病证结合; 动物模型

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)12-4248-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.12.031

Research progress on combination of viral pneumonia traditional Chinese medicine syndrome animal models

QIAO Xuan^{1,2}, ZHAI Huiting^{1,3}, LI Nanxi¹, YANG Lei¹, MENG Zhiyun¹, LIU Shuchen¹, SUN Yunbo¹, GAN Hui¹, WU Zhuona¹, DOU Guifang¹, GU Ruolan¹

1. Institute of Radiation Medicine, Military Medical Research Institute, Academy of Military Sciences, Beijing 100850, China

2. University of South China, Hengyang 421001, China

3. Henan University, Zhengzhou 450001, China

Abstract: Viral pneumonia (VP) is a highly prevalent infectious disease that poses a serious risk to human health. From the perspective of traditional Chinese medicine (TCM), VP belongs to the categories of “wind temperature” and “warm disease”. Chinese medicines have good therapeutic effects on VP, and their mechanism of action may be related to their modulation of the body’s immune balance, regulation of microecology *in vivo*, suppression of inflammatory response, inhibition of pulmonary fibrosis, tissue protection and direct antiviral activity. Animal models are important experimental tools in the field of drug discovery and development. Existing animal models of VP are mostly based on Western medicine and lack research on TCM evidence, which cannot reflect the characteristics of TCM evidence-based treatment. In recent years, researchers have been trying to explore the establishment of an animal model for VP disease-evidence combination, so that it can more accurately reflect the different TCM patterns and nature of VP. By analysing the Chinese medicine disease animal models and related pneumonia evidence models in recent years, we reviewed their common modelling methods, evidence classification, evidence research and evaluation indexes, so as to provide reference for the establishment of VP animal models in line with the characteristics of TCM’s evidence-based treatment.

Key words: traditional Chinese medicine; viral pneumonia; evidence; disease-evidence combination; animal models

收稿日期: 2023-12-04

作者简介: 乔璇, 硕士研究生, 研究方向为中药抗病毒。E-mail: 15234444223@163.com

*通信作者: 顾若兰, 博士, 副研究员, 从事新药临床前药理研究。E-mail: gurl311@126.com

窦桂芳, 博士, 研究员, 从事新药临床前成药性研究。E-mail: dougf@bmi.ac.cn.

病毒性肺炎(viral pneumonia, VP)是由病毒入侵呼吸道上皮和肺泡上皮所致的肺间质和实质性急性炎症病变。全年都可发生,冬春季高发。易感人群多为 2 岁以下婴幼儿、65 岁以上老人及孕产妇等。临床常见的 VP 病原体包括流感性病毒、冠状病毒、麻疹病毒、呼吸道合胞病毒、腺病毒及鼻病毒等^[1-2]。腺病毒肺炎是常见的小儿 VP 之一^[3],主要表现为局灶或融合性肺坏死性浸润及支气管炎;呼吸道合胞病毒肺炎以肺间质及毛细支气管病变为主^[4],胸片上可见斑点状影,常伴有不同程度的肺气肿;流感病毒肺炎常可侵犯中枢神经系统或循环系统,以肺间质病变为主;甲型流感病毒肺炎较乙型流感病毒肺炎症状更严重,胸部 X 光片显示片状高密度影,扩散迅速,常有肺间质受累,多伴有胸腔少量积液,病灶吸收后可残留纤维灶^[5];冠状病毒肺炎以发热、干咳、乏力为主,可伴有消化道等症状或无症状^[6];麻疹病毒肺炎多表现为呼吸道卡他、持续发热等,并出现不同程度的疹退后脱屑、特征性皮疹、色素沉着、口腔科氏斑等临床表现^[7];鼻病毒主要感染气道上皮细胞,可引起普通感冒、肺炎、支气管炎和慢性呼吸道等多种疾病,是临床常见的呼吸道感染病原体^[8]。然而,VP 作为当前临床常见的一种社区获得性肺炎,在西医治疗方面一直缺乏特异性药物。相反,我国传统中医药在治疗 VP 过程中则拥有悠久的历史 and 成功经验。从中医角度看,VP 属“风温”和“温病”。根据临床资料发现,清肺排毒汤、麻杏石甘汤、化湿解毒方等是临床上最常用于治疗 VP 的中药汤剂,且疗效显著^[9]。其作用机制可能与其调控机体免疫平衡、调控体内微生态、抑制炎症反应、抑制肺纤维化、保护组织及直接抗病毒活性有关。

病证结合动物模型是一种重要的中医药疾病动物模型^[10-12],通过对证候发生发展的机制研究,可很好地展现中医“证”的不同发展阶段特征,体现疾病发展的中医病因病机,已成为中医证候研究动物模型的必然趋势,为中医基础向临床治疗的转变提供了理论依据,有利于中药筛选及方剂作用机制的深入研究,是中医药新药研发的重要途径。目前,病证结合动物模型在建模理念上已逐渐成熟,主要可划分为以下 3 种:(1)以中医理论为依据,中医病因病机为“证”,西医病因为“病”,构建同时具有“病”“证”2 个特征的模型动物,这是一种中西医结合多因素造模理念;(2)在西医病态模式基础

上观察中医病证,分别归纳疾病初期的证候发展特征及后期出现的典型中医证候,以此判断该疾病是否属于某种中医证型;(3)运用传统中医病因学方法对模式动物进行干预,通过一般状况观察、客观指标检测、常用方药反证等方法,初步建立动物证候模型,并寻找与之匹配的临床病证来进行验证,即在证候模型基础上探索西医疾病类型^[13]。

目前现有的 VP 动物模型多为西医模型,对中医证候模型的研究还较为薄弱,不能反映中医辨证论治的特色。因此,本文对现阶段中医疾病动物模型及相关 VP 病证模型的建模方法、证型分类、证候研究和评价指标的研究现状进行了梳理,为建立符合中医辨证论治特点的 VP 动物模型提供参考。

1 VP 病证结合动物模型的相关建模研究

1.1 实验动物选择

在选取实验动物时,要尽可能具有与人的相似性,并对各种治疗因子有较高的敏感性,以便能较好地模拟人类疾病症状。目前报道的 VP 造模动物包括 Balb/c 小鼠^[14]、昆明小鼠^[15]、美国癌症研究所 ICR 小鼠^[16]、豚鼠^[17]、叙利亚仓鼠^[18]、人类血管紧张素转换酶 II 小鼠^[19]、Wistar 大鼠^[20]、恒河猴^[21]、雪貂^[22]、树鼩^[23]等。虽然部分动物如恒河猴、雪貂、树鼩的病情与人类极为类似,但造模成本高、技术难度大,尚未得到推广应用。目前临床上最常使用的中医证候造模动物仍为小鼠和大鼠,主要是由于其成本低,并且人们对其生活习性和制作方式也较熟悉。

1.2 证候的造模方法

目前公认的中医证候建模方法主要有 3 种,分别为西医病因病机法、中医病因病机法和病证结合法^[24]。其中,病证结合法因稳定性、可操作性高、相对容易评价,且能够体现中医临床辨病与辨证相结合的特点,被认为是比较理想的造模方法^[25-26]。表 1 归纳了 3 种造模方法各自的应用现状(文献研究举例)、造模依据、干预方法及优缺点。

1.3 VP 中医证候学

中医大师根据中医辨证论治体系对 VP 的证候进行了论述,常见症状包括:发热、咳嗽、咳痰、精神乏力、鼻塞、头痛、流鼻涕、舌色红、苔黄、苔腻、脉滑、脉浮,这些是 VP 主要的舌象和脉象,可体现 VP 的中医证候特点,并且与《中医内科学》《温病学》中的相关描述基本相符。依据《中药新药临床研究指导原则(试行)》(2002 年)^[37]、《小儿

表 1 常用中医证候造模方法归纳及分析
Table 1 Generalization and analysis of commonly used traditional Chinese medicine evidence modeling methods

造模方法	造模依据	研究举例	优势	不足	文献
西医病化学因素	在“证”本质研究中,发现某	脾虚证模型	具有操作简单、稳定性	忽略了“证”(致因),不能体现中	27
因病刺激	证候与西医病因病理具有一		好、较成熟的特点	医对疾病的认识,故其临床应用	
机法生物因素	定的关联,因而可依据西医	肝郁脾虚小鼠		仍有很大争议	28
刺激	病因病理,施加特定的化学、	模型			
物理、机械	物理或生物等因素,复制类	γ -辐射急性肺			29-31
因素刺激	似于人类病证的动物模型	损伤炎症模型			
综合因素		温病营热阴伤			32
刺激		证模型			
中医病因病机法	模拟中医证候的形成原因,以	风寒、寒湿和	造模因素选取多依据中	传统病因病机理论不能直接建立	33-35
	六淫外感,劳逸失度,饮食	湿热证候小	医病因病机、证候、客	对应的病证动物模型,多数中医	
	失节为主要致病因子	鼠模型、脾气	观指标及用药规律特	致病因子都是非特异性,相同致	
		虚模型	点,因此,理论上更符	病因子可引起多个不同证型,多	
			合中医理论	个致病因子也可形成相同证候	
病证结合法	将现代医学中的“病”与中医	寒湿疫毒袭肺	避免“病”“证”的相互	中医证候是对特定时期的病因、病	36
	的“证”相结合,从而形成某	证病证结合小	独立,吸取中西医建模	位、病理的概括,若将西医的病	
	一特定病证模型	鼠肺炎模型	的经验,发挥了病因病	理因子与中医的致病因子强行相	
			机的特点,对中医辨证	加,可能导致模式证候与预期构	
			论治具有重要意义	建的阶段不相符	

病毒性肺炎中医诊疗指南》(2019)^[38]及相关文献^[39-40], VP 的中医辨证分型主要包括风寒郁肺、风热郁肺、痰热郁肺、毒热闭肺、阴虚肺热、肺脾气虚、心阳虚衰和邪陷厥阴等,对不同证型的造模方法归纳见表 2。

2 VP 病证结合动物模型相关评价指标的研究

病证结合动物模型研究近年来得到广泛关注和应 用,针对模型建模的系统评价指标是现在研究的主要方向。目前倾向于从 2 个层面展开研究:(1) 将宏观表象和微观指标相结合,建立人与动物四诊转换模式;(2) 强调结合有效经典方药进行反证。

2.1 宏观表征评价

中医辨证以望、闻、问、切为主要手段,以患者临床症状、体征为主要依据进行综合评价,而动物模型则需在动物宏观表象上寻找可供量化、判定的依据,如以模型动物体温上升为发热表现,耸毛或蜷卧为恶寒表现^[57]。在脾虚为主的湿热证动物模型研究中,周祎青等^[58]发现模型组小鼠表现出精神倦怠、不思饮食、反应迟钝、毛发黯淡等脾虚为主的湿热证症状,证实造模成功。此外,在情志研究中,动物的行为变化是重要评估指标。王梟宇等^[59]

通过评估多种经典的模型,如旷场实验、强迫游泳实验、悬尾实验等,发现行为学指标能够反映实验动物整体变化的特征,特别是能够反映动物心理情感变化。

需要注意的是,目前对动物模型的宏观判断标准多以人的证候为依据,人与动物在某些方面存在明显差异,同时某些主观因素如动物心理和情绪等变化,都会影响宏观表征结果的可靠性。

2.2 微观指标评价

微观指标能更直观、准确地反映动物机体状态,是判断 VP 病证结合是否成功的重要依据。

2.2.1 一般情况观察 观察动物情绪、活动、体毛、排泄、饮食、呼吸、体质量、肛温及死亡情况等。如将大鼠置于寒冷条件下连续 6 d 造模,表现出恶风寒、弓背毛松、打喷嚏、流鼻涕、食欲下降、饮水增加、体温升高、体质量下降及血压升高等明显风寒感冒症状。该症状符合中医的风寒表证^[41]。

2.2.2 肺脏指数的测定与肺脏损伤程度的判定 吴莎^[60]提出用肺指标、肺损伤程度来评价造模疗效,结果证实病毒感染后小鼠肺部炎症反应加剧且肺指数升高。刘珊宏等^[61]采用风扇吹风联合体表降

表 2 不同证型的造模方法
Table 2 Modeling methods for different evidence types

证型	证候特点	造模方法举例	代表性方药	文献
风寒郁肺	恶寒发热、头身痛、无汗、鼻塞流涕、咳嗽、痰稀白、易咳等	通过风扇与降温相结合或服用寒凉药物，模拟人体外感“风寒”	华盖散加减	41-42
风热郁肺	发热、恶寒、咳嗽、痰黏稠或黄	利用风热环境刺激+流感病毒或服用过量的温热药	银翘散合麻杏石甘汤加减	43-44
阴虚肺热	干咳少痰、咯痰带血、低热盗汗	用超负荷方法导致动物劳累	沙参麦冬汤加减	45-46
肺脾气虚	低热、自汗、久咳无力、痰稀白、易咳、乏力气喘	用风寒和二氧化硫综合刺激（肺气虚）；体制筛选、苦寒泻下加耗气破气降气法（脾气虚）	扶正通络法中药汤剂	47-49
痰热郁肺 ¹	高热不退、多汗、咳嗽、黄痰、气急、气喘、咽红肿		清金化痰汤合桑白皮汤、五虎汤加减	50-52
毒热闭肺 ²	高热炽盛、咳嗽喘憋、痰黄稠难咯或痰中带血、涕泪俱无		麻杏石甘汤、连花清瘟	53-54
心阳虚衰 ³	多汗、气短、四肢不温		真武汤	55
邪陷厥阴 ⁴	壮热不退、口唇紫绀、气促、喉间痰鸣		参附龙牡救逆汤或羚角钩藤汤合牛黄清心丸加减	56

1-关于 VP 痰热郁肺证动物模型的建立尚未报道，在细菌性肺炎造模中，可以利用风热刺激来构建证结合动物模型；2-迄今为止这一证候模型研究甚少，主要涉及支原体肺炎等；3-目前尚未发现 VP 心阳虚证型病证结合模型，这一证型目前多用于冠心病、心衰疾病中，这些疾病采取了复合因素造模，可对 VP 造模提供借鉴思路；4-目前尚未发现 VP 邪陷厥阴证证候造模方法报道，这一证型在其他疾病的动物模型研究中也尚未见报道，需进一步探索。

1-The establishment of an animal model for VP phlegm-heat evidence has not been reported. In bacterial pneumonia modelling, wind-heat stimulation can be used to construct an animal model of disease-evidence combination; 2-To date this evidence model has been poorly studied, mainly in relation to mycoplasma pneumonia and others; 3-At present, no VP cardiac yang deficiency type of disease and evidence combination model has been found, this type of evidence is currently used in coronary heart disease, heart failure disease, these diseases have taken the composite factor modelling, which can provide a reference to the VP modelling ideas; 4-No report has been found on the modelling method of the VP evil trapped syncopated yin syndrome, and this syndrome has not yet been reported in animal model studies of other diseases, which needs to be further explored.

温 7 d 的方法构建风寒犯表的太阳病小鼠动物模型，发现小鼠造模后体质量显著下降，肺指数显著升高，脾指数显著下降。同时肺部出现明显病变，表现为局部有代偿性空泡、局部出血、肺间质增生、血管壁增厚，嗜中性粒细胞浸润等。杨进等^[57]给小鼠滴鼻感染仙台病毒构建风热模型，发现感染病毒 8 h 内小鼠肺部指标无显著变化，8 h 后肺内可见轻度病灶，12 h 后肺泡壁厚度显著增加，大量单核细胞和淋巴细胞浸润，说明病证已经从表到里，证实仙台病毒在小鼠滴鼻后的 4~12 h 可视为类表热证阶段。

2.2.3 炎症因子 近年来关于病毒诱发细胞因子释放及对病毒感染的影响研究结果表明肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 是介导炎症反应的重要介质，可促进 TNF- α 分泌，加剧炎症发生^[62-63]。王晓萍^[64]采用人工气候箱、高脂饮食、甲型 H1N1 流感病毒滴鼻法等复制蒿芩清胆汤动物模型，发现病毒感染后 TNF- α 和 IL-6 均异常增高，同时死亡率、肺组织

病理改变等结果提示模型组气道炎症反应处于持续状态，经蒿芩清胆汤治疗后小鼠肺组织中炎症因子水平显著下降，且可显著降低肺炎的发生，提示蒿芩清胆汤可能通过多靶点调控机体促炎和抑炎平衡；刘珊宏等^[61]发现风寒犯表太阳病小鼠模型肺部炎症因子 TNF- α 、IL-6 及 IL-1 β 的表达显著增加；Wan 等^[65]发现寒冷造模后大鼠血清炎症因子 TNF- α 、L-1 β 、IL-6 水平显著增加。

2.2.4 免疫功能 呼吸道病毒感染及其发病机制与机体的免疫状态密切相关^[66]。白细胞分化抗原 4 阳性 (cluster of differentiation 4⁺, CD4⁺)/CD8⁺、辅助性 T 细胞 1 (T helper cell 1, Th1)/Th2 是人体内重要的免疫细胞^[67]，而在动物模型中存在细胞免疫水平显著降低、免疫失衡现象。CD4⁺/CD8⁺ T 细胞失衡反映了病毒感染导致的机体免疫损伤，Th1/Th2 (γ 干扰素/IL-4) 失衡反映了内、外环境因素和病毒感染综合因素共同作用下的机体应激状态。从微观上看，CD4⁺/CD8⁺ 的值倒置，Th1/Th2 细胞因子偏

向 Th1, 使细胞免疫成为优势而导致肺脏损伤, 加重疾病, 会对证候的发展方向产生影响。通过湿热环境+流感病毒构建流感病毒湿热证模型, 采用蒿芩清胆汤能逆转湿热环境和病毒感染综合作用引起的 $CD4^+/CD8^+$ 的值下降。蒿芩清胆汤治疗 6 d 后湿热证模型大鼠外周血 γ 干扰素/IL-4 水平显著高于对照组, 表明蒿芩清胆汤具有调节大鼠 T 淋巴细胞亚群、Th1/Th2 平衡、提高抗病毒能力的作用^[68]。综上, 蒿芩清胆汤抗病毒免疫损伤的机制可能是通过上调细胞免疫功能, 使 $CD4^+/CD8^+$ 和 Th1/Th2 重新平衡从而减轻应激状态^[69]。

2.2.5 水液代谢 水通道蛋白 (aquaporins, AQP) 是一种能特异性转运水分的蛋白。是人体对水液代谢调节的关键因素^[70]。迄今共发现 13 种 AQP 蛋白, 其中主要体现在肺部的以 AQP1、AQP5 为主。肺脏中 AQP1 表达下降可引起气道上皮细胞分泌增多, 促进黏蛋白 5ac 在肺脏中的表达, 从而导致气道炎症的加重, 而炎性介质分泌增多, 纤毛和杯状细胞比率失衡、肺部水分代谢失衡等进一步加重炎症性水肿^[71]。AQP5 在肺组织水代谢稳态中发挥重要作用, AQP5 功能失调是导致肺损伤的重要原因^[72-74]。AQP1、AQP5 的表达在造模后免疫组化数值和光密度均有明显提高。如在采用环境+膳食+诱发因素+生物感染因素复制湿热证病毒肺炎动物模型中, 模型组大鼠 AQP1、AQP5 免疫组化数值较对照组显著增高, 光密度增加。与模型组对比, 甘露消毒丹组 AQP1 蛋白表达显著降低, 说明甘露消毒丹治疗湿热证型病毒性肺炎的作用途径之一是通过影响炎性相关的 AQP1, 加快肺泡内液体的清除、减轻肺组织的水肿程度, 抑制湿热证病毒性肺炎模型的炎性反应来实现的^[75]。

2.2.6 血脂代谢 VP 发病的内因与患者的饮食习惯密切相关, 嗜食肥甘厚味, 酿生痰浊从而造成了脾胃的运化功能失调, 临床上血脂异常通常与其饮食密切相关, 因此, 湿邪与血脂异常间的关系亦受到广泛关注。有研究采用环境+膳食 (喂饲高脂肪食物)+诱发因素+生物感染性因素的方法建立湿热证病毒肺炎动物模型, 发现模型小鼠血清中的总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇显著增高, 高密度脂蛋白胆固醇显著下降, 且存在脂代谢异常, 证实了饮食失调是引起内湿的重要因素^[69,76]。

2.2.7 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 介导的信号通路 TLR 家族在细胞表面或细胞内表达, 以

模式识别形式与多种病原分子结合激活固有免疫应答, 是连接天然免疫与获得性免疫的桥梁, 在抵御病原体感染方面具有关键作用^[77-82]。

潘沅^[69]采用环境+高脂膳食+生物感染性因素的方法复制湿热证动物模型, 研究发现, TLR2 可以促进下游核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 的过度活化, 导致大量炎症因子和细胞因子的产生, 造成机体自身免疫损伤。而 ig 蒿芩清胆汤后, 小鼠腹腔巨噬细胞中的 TLR2 受体及其下游 NF- κ B 分子的表达显著降低, 表明蒿芩清胆汤可能通过干预 TLR2/NF- κ B 信号转导通路调控细胞因子的产生, 从而减少机体自身炎症因子造成的免疫损伤。

2.3 经典方药反向验证

中药配伍要遵循“方从法出、法随证立”的原则, 所选用的药和方药应与所用的证候密切相关。即在方剂学理论体系下, 所选药物或方剂与其主治的证要有较强的相关性。这样可以判断证候是否复制成功。当前, VP 病证结合动物模型反证方剂主要集中在中医经典名方和经验方, 有麻杏石膏汤、参附龙牡救逆汤、宣白承气汤、三仁汤、蒿芩清胆汤、甘露消毒丹、茵陈蒿汤和龙胆泻肝汤等加减方剂。这些反证方剂在治疗的原则上包含了疏风解表、清热解毒、清化痰热、宣肺开闭、补气养阴、清肺扶正等配伍特点。用一些代表方剂对动物模型进行干预后, 动物的临床症状和各项客观指标均得到了显著的改善。汤朝晖等^[43]以清热化湿 (蒿芩清胆汤)、辛凉透表 (银翘散)、益气固表 (玉屏风散) 为代表的 3 个治法对风热型流感 VP 小鼠模型进行干预, 均取得较好疗效, 提示造模成功。

3 结语与展望

病证结合动物模型是联系中医基础研究与临床应用的重要纽带。中医药基础理论是中华民族几千年同疾病抗争的结晶, 在防疫治疫方面积累了丰富的经验^[83], 近年来, 病毒性新发呼吸道传染病全球频发, 而中医药在治疗 VP 等疫情防控中发挥了显著优势和关键作用, VP 病证结合动物模型也开始受到越来越多的研究和探索, 近年来发展较快。但另一方面, 尽管 VP 动物模型研究在证候模型建模方法等方面已有很多创新, 但仍然存在一些难点问题需要和重点关注。

首先, 目前 VP 证候模型的造模方法还很不完善。如风寒郁肺^[41]、肺脾气虚模型^[52-53]中常使用病因建模, 但却在造模时未与病毒相结合, 如何使用

病毒来复制风寒郁肺、肺脾气虚模型可能是未来的研究方向；目前诸如痰热郁肺模型在细菌性肺炎中有较成熟的造模方法，心阳虚衰模型则多用于冠心病^[55]、心衰^[84]等，而尚未有关于痰热郁肺模型^[45]、毒热闭肺模型、心阳虚模型、邪陷厥阴模型在 VP 中的造模方法及应用报道，如何借鉴其他病证构建 VP 病证结合模型也是后续需要重点关注的难题；VP 阴虚肺热模型^[39]目前还常用单因素造模方式，而单因素的改变难以复制理想的病证结合模型，存在齐同性差的弊端；在西医造模基础上施加中医证候干预因素的造模方法，亦无法很好地反映病证间的因果关系，无法准确识别疾病主证类型，未来基于证候建模的疾病诱发因子的引入有望成为解决这一难题的重要思路。

其次，实验动物的选择和模型评估技术也是目前制约 VP 病证结合模型研究的主要难点。目前常用的大鼠、小鼠在某些结构、功能、代谢和疾病表征方面尚不能很好地模拟人类病证特点，同时模型评估指标尚无统一规范，且因动物和人类疾病的差异性，很多动物模型无法直接应用于人类证候表征，而微观指标由于存在“一证多方”及多个证候叠加等现象，均给评估带来了巨大困难。

中医证候研究是一个复杂的过程，建立病证结合动物模型要以中医药理论为指导，与现代医学的理论方法相结合，融合多学科知识，从基因组、蛋白质组学、代谢组学、生物信息学等多层次进行深入研究^[85-86]。虽然 VP 病证结合动物模型尚处于不断探索阶段，但随着新知识、新技术的不断融入和创新，相信不久的将来能够得到迅速发展和完善，更好地反映中医“证”的本质，为推动中医药现代化与国际化做出重要贡献。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Feng L Z, Li Z J, Zhao S W, *et al.* Viral etiologies of hospitalized acute lower respiratory infection patients in China, 2009-2013 [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99419.
- [2] 中华医学会呼吸病学分会. 医院获得性肺炎诊断和治疗指南(草案) [J]. 中华结核和呼吸杂志, 1999, 22(4): 201.
- [3] 刘秀云, 江载芳. 小儿重症社区获得性肺炎 31 例病原分析 [J]. 中国实用儿科杂志, 2005, 20(12): 749-750.
- [4] Whiley D M, Syrmis M W, MacKay I M, *et al.* Detection of human respiratory syncytial virus in respiratory samples by LightCycler reverse transcriptase PCR [J]. *J Clin Microbiol*, 2002, 40(12): 4418-4422.
- [5] 徐凯. 甲型 H1N1 流感病毒性肺炎的胸部 X 线和 CT 表现 [J]. 华西医学, 2010, 25(7): 1289-1291.
- [6] 佚名. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第八版) [J]. 中国病毒病杂志, 2020, 10(5): 321-328.
- [7] 何长华, 曹继琼. 麻疹病原学和流行特征及临床表现的变化 [J]. 预防医学情报杂志, 2014, 30(9): 788-793.
- [8] 侯梦珠, 王维, 翟佳, 等. 天津地区住院患儿鼻病毒感染流行病学和临床特征分析 [J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(4): 317-322.
- [9] 邹敏, 张云, 翟阳, 等. 中医药治疗病毒性肺炎的研究进展 [J]. 医学理论与实践, 2023, 36(21): 3630-3632.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] Shabir O, Moll T A, Matuszyk M M, *et al.* Preclinical models of disease and multimorbidity with focus upon cardiovascular disease and dementia [J]. *Mech Ageing Dev*, 2020, 192: 111361.
- [13] 王靖怡, 高嘉良, 王阶. 病证结合动物模型研究概述 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2020, 22(7): 2160-2164.
- [14] 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.
- [15] 赵宏霞. H5N1 高致病性禽流感病毒性肺炎动物模型建立及其发病机理相关研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2006.
- [16] 姚荣妹, 时瀚, 曲天歌, 等. 喘可治注射液对甲型 H1N1 流感病毒 FM1 株感染免疫低下小鼠肺炎的影响 [J]. 中国民族民间医药, 2019, 28(7): 11-14.
- [17] 杨婷, 屈波, 董晓斐. 咳嗽宁对哮喘豚鼠 IL-6、TNF- α 的调节作用研究 [J]. 湖南中医杂志, 2020, 36(7): 144-146.
- [18] Chan J F, Zhang A J, Yuan S F, *et al.* Simulation of the clinical and pathological manifestations of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in a golden Syrian Hamster model: Implications for disease pathogenesis and transmissibility [J]. *Clin Infect Dis*, 2020, 71(9): 2428-2446.
- [19] Bao L L, Deng W, Huang B Y, *et al.* The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice [J]. *Nature*, 2020, 583(7818): 830-833.
- [20] 曲百娜, 黄燕, 崔振泽, 等. RSV 感染幼龄大鼠肺组织 TSLP 与 Th2 反应的相关性分析 [J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(9): 1366-1370.
- [21] 黎东明, 赖天文, 邓少嫦, 等. 恒河猴 H5N1 禽流感病

- 病毒性肺炎模型建立及其发病机制 [J]. 中国人兽共患病学报, 2014, 30(8): 806-811.
- [22] 邓巍, 许黎黎, 鲍琳琳, 等. 雪貂感染 H7N9 禽流感病毒动物模型的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2014, 24(1): 68-71.
- [23] 赵阳. 人腺病毒对树鼯原代细胞感染性的初步研究 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2020.
- [24] 李思汉, 李书楠, 周福, 等. 关于中医证候动物模型研究的思考 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(8): 3357-3361.
- [25] 李磊, 刘建勋, 任钧国, 等. 中医药动物模型研究现状及展望 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(1): 104-110.
- [26] 赵慧辉, 王伟. 病证结合证候模型研究基本思路 [J]. 中华中医药杂志, 2006, 21(12): 762-764.
- [27] 贺志有, 张帆. 小鼠利血平法脾虚证模型的建立 [J]. 亚太传统医药, 2012, 8(3): 3-4.
- [28] 赵竞业. 肝郁脾虚外感小鼠模型建立及柴胡桂枝汤干预作用研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2019.
- [29] 周燕萍. 沙参麦冬汤对大鼠放射性肺炎的防治作用及机制研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2011.
- [30] 代琳, 舒静娜, 林胜友. 麻杏石甘汤对放射性肺炎急性期的干预作用 [J]. 河南中医, 2012, 32(1): 40-42.
- [31] 王苏. 养阴清肺方治疗放射性肺炎的临床观察与动物实验研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2012.
- [32] 翟玉祥, 卞慧敏, 马建, 等. 温病营热阴伤证动物模型的建立 [J]. 中国中医基础医学杂志, 1998, 4(4): 43-45.
- [33] 郭彩云, 高鹏, 李俊莲, 等. 人工模拟不同外环境对正常及免疫低下小鼠一般情况的影响 [J]. 中医杂志, 2011, 52(23): 2034-2036.
- [34] 张彩云, 肖满珊, 廖双叶, 等. 实验性大鼠脾气虚证模型的建立及指标检测 [J]. 广东药学院学报, 2015, 31(6): 808-810.
- [35] 王萍, 方晓艳, 白明, 等. 基于中西医临床病症特点的肺炎动物模型分析 [J]. 中药药理与临床, 2020, 36(5): 198-202.
- [36] 耿子涵, 鲍岩岩, 包蕾, 等. 葛根汤颗粒对人冠状病毒 229E 寒湿疫毒袭肺证病证结合小鼠肺炎模型的治疗作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(19): 34-41.
- [37] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002.
- [38] 汪受传, 陈争光, 徐珊. 小儿病毒性肺炎中医诊疗指南 [J]. 南京中医药大学学报, 2011, 27(4): 304-308.
- [39] 陆权, 王雪峰, 钱渊, 等. 儿童病毒性肺炎中西医结合诊治专家共识 (2019 年制定) [J]. 中国实用儿科杂志, 2019, 34(10): 801-807.
- [40] 余学庆, 李建生, 王至婉, 等. 肺炎证候诊断标准的初步建立 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(6): 1273-1277.
- [41] 杨士友, 孙备, 裴月梅, 等. 风寒表证和寒凝血瘀证动物模型的研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 1997, 3(1): 56-58.
- [42] 沈晓飞, 吴莉城, 李小红. 华盖散加减联合奥司他韦治疗小儿流感病毒性肺炎风寒闭肺证临床研究 [J]. 新中医, 2021, 53(12): 27-31.
- [43] 汤朝晖, 潘沉, 刘叶, 等. 3 种中医治法对甲型流感病毒性肺炎湿热证模型小鼠肺 AQP4 表达及炎症因子的影响 [J]. 江苏中医药, 2010, 42(8): 73-75.
- [44] 江友贤, 黄启建. 银翘散联合麻杏石甘汤加减治疗风热感冒临床观察 [J]. 北方药学, 2023, 20(5): 167-169.
- [45] 吴柳花, 吕圭源, 李波, 等. 黄精对长期超负荷游泳致阴虚内热模型大鼠的作用研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(10): 1886-1891.
- [46] 吕娅萍, 李春, 潘新有, 等. 补中益气汤合沙参麦冬汤加减联合化疗治疗非小细胞肺癌临床疗效观察 [J]. 现代诊断与治疗, 2017, 28(15): 2773-2775.
- [47] 徐锡鸿, 孔繁智, 虞小霞, 等. 大鼠肺气虚“证”模型的建立 [J]. 中医杂志, 1994, 35(4): 230-232.
- [48] 邹世洁, 周永生, 樊雅莉, 等. 脾气虚证动物模型规范化的初步研究: 宏观症征部分 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2001, 9(5): 264-267.
- [49] 黄治. 扶正通络法治疗新型冠状病毒肺炎恢复期 (脾胃气虚证) 临床疗效回顾性研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2021.
- [50] 张均田. 现代药理实验方法 [M]. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1998: 1420-1421.
- [51] 王永炎. 中医内科学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 54-74.
- [52] 王雪峰. 从肺毒热论治小儿肺炎本脏重证 [A] // 第 28 次全国中医儿科学术大会暨 2011 年名老中医治疗 (儿科) 疑难病临床经验高级专修班论文汇编 [C]. 宁波: 中华中医药学会, 2011: 504-508.
- [53] 周媛媛. 加味麻杏石甘汤佐治小儿重症肺炎喘嗽毒热闭肺证 49 例 [J]. 现代中医药, 2019, 39(1): 53-55.
- [54] 赵鹏飞, 浦明之. 上焦宣痹汤治疗痰热痹阻型成人支原体肺炎的临床观察 [J]. 中国中医药科技, 2022, 29(1): 83-85.
- [55] 徐立思, 孔祥亮, 何新慧. 仲景辨治心阳虚证特点探析 [J]. 辽宁中医杂志, 2015, 42(3): 490-493.
- [56] 刘良. 《中药单用/联合抗生素治疗儿童细菌性肺炎临床指南》的制定研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2022.
- [57] 杨进, 陆平成, 龚婕宁. 表证动物模型研制的思路与方法 [J]. 中国中医药科技, 1996, 3(1): 35-36.
- [58] 周祎青, 郑裕华, 陈颂, 等. 连翘对岭南湿热模型小鼠的作用及其肠道菌群变化的研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30(6): 678-685.
- [59] 王泉宇, 宁银霞, 高杰. 情志病证动物模型评价方法综述 [J]. 中医药导报, 2016, 22(9): 92-95.

- [60] 吴莎. 肠道菌群失调对流感病毒 FM1 感染小鼠肺部免疫细胞 TLR7 信号通路的影响 [D]. 广州: 暨南大学, 2013.
- [61] 刘珊宏, 夏玉英, 卢子滨, 等. 感冒清热颗粒对风寒表证小鼠的保护作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2021, 35(10): 790-791.
- [62] 卜永强, 汪珊. 柴胡提取物生物学功能及其在畜禽生产中的应用 [J]. 饲料研究, 2023, 46(15): 173-176.
- [63] 黄桢祥. 医学病毒学基础及实验技术 [M]. 北京: 科学出版社, 1990: 56-58.
- [64] 王晓萍. 蒿芩清胆汤对病毒性呼吸道感染湿热证的免疫炎症机制研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2009.
- [65] Wan X H, Wu W T, Zang Z Z, *et al.* Investigation of the potential curative effects of Gui-Zhi-Jia-Ge-Gen Decoction on wind-cold type of common cold using multidimensional analysis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 298: 115662.
- [66] 苏丽湘. 蒿芩清胆汤治疗上呼吸道感染病毒感染湿热证的疗效观察及机理研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2010.
- [67] 窦肇华. 免疫细胞学与疾病 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004: 863-864.
- [68] 苏丽贤, 汤朝晖, 刘叶, 等. 蒿芩清胆汤和玉屏风散对流感病毒感染湿热证小鼠 T 淋巴细胞亚群和血清 Th1/Th2 细胞因子变化的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(3): 544-546.
- [69] 潘沅. 蒿芩清胆汤抗流感病毒性肺炎湿热证及其信号转导通路的研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2009.
- [70] 张宁, 刘树民, 于栋华, 等. 水通道蛋白与中医学水液代谢的相关性探索 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28(5): 1170-1172.
- [71] 熊本强, 李翔, 李喜兵, 等. 水通道蛋白 1 对气道高反应大鼠粘液高分泌的影响 [J]. 湖南师范大学学报: 医学版, 2012, 9(1): 6-10.
- [72] 陈国兵, 吴谨淮, 连珠兰, 等. 脂多糖对大鼠肺损伤及肺组织中 AQP1 和 AQP5 表达的影响 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2016, 42(2): 250-254.
- [73] 孙燕妮, 杨洁, 承解静, 等. 脓毒症急性肺损伤大鼠肺组织 AQP-1、AQP-5 表达变化及意义 [J]. 山东医药, 2014, 54(12): 21-23.
- [74] Sun C Y, Zhao Y X, Zhong W, *et al.* The expression of aquaporins 1 and 5 in rat lung after thoracic irradiation [J]. *J Radiat Res*, 2014, 55(4): 683-689.
- [75] 毕倩宇, 张桂菊, 崔有利, 等. 甘露消毒丹对湿热证型病毒性肺炎小鼠模型的多靶点干预作用 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30(8): 1840-1844.
- [76] 李华锋, 林培政. 小鼠肝炎病毒温病湿热证模型的探讨 [J]. 辽宁中医杂志, 2011, 38(7): 1318-1321.
- [77] Trinchieri G, Sher A. Cooperation of Toll-like receptor signals in innate immune defence [J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(3): 179-190.
- [78] Miyake K. Innate immune sensing of pathogens and danger signals by cell surface Toll-like receptors [J]. *Semin Immunol*, 2007, 19(1): 3-10.
- [79] Kawai T, Akira S. TLR signaling [J]. *Semin Immunol*, 2007, 19(1): 24-32.
- [80] Moretta L, Bottino C, Pende D, *et al.* Surface NK receptors and their ligands on tumor cells [J]. *Semin Immunol*, 2006, 18(3): 151-158.
- [81] Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, *et al.* The dorsoventral regulatory gene cassette spätzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults [J]. *Cell*, 1996, 86(6): 973-983.
- [82] Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors [J]. *Annu Rev Immunol*, 2003, 21: 335-376.
- [83] 樊启猛, 潘雪, 贺玉婷, 等. 中药及其复方对病毒性肺炎的免疫调节作用研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(8): 2065-2074.
- [84] 白强. 加味保元汤对心力衰竭大鼠 ACE2-Ang(1-7)-MAS 轴及 miR-1 的干预作用 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2021.
- [85] 吴贞琳, 吴煜佳, 张悦瑶, 等. 流感病毒性肺炎线粒体相关生物标志物识别及银翘败毒散潜在作用机制 [J]. 中草药, 2024, 55(3): 882-894.
- [86] 吕东霞, 张帆, 秦佳琪, 等. 中草药相关肝损伤诊断的现状与进展 [J]. 中草药, 2024, 55(5): 1761-1769.

[责任编辑 赵慧亮]