

张永龙,马唯刚,钱星羽,等. 脾虚证实验动物模型构建及评价方法的研究述评 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(3): 385-396.

ZHANG Y L, MA W G, QIAN X Y, et al. Construction of experimental animal models and evaluation of spleen deficiency syndrome: a review [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(3): 385-396.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.03.013

脾虚证实验动物模型构建及评价方法的研究述评

张永龙¹, 马唯刚¹, 钱星羽¹, 赵素红¹, 李姗姗¹, 郭永明^{1,2}, 徐枝芳^{1,2},
潘兴芳^{1,2}, 邱继文^{1,3}, 郭义^{1,4}, 李忠正^{1,2*}

(1. 天津中医药大学实验针灸学研究中心, 天津 301617; 2. 天津中医药大学针灸推拿学院, 天津 301617;
3. 天津中医药大学医学技术学院, 天津 301617; 4. 天津中医药大学, 天津 301617)

【摘要】 中医症候实验动物模型的构建在中医药作用机理研究方面起到重要支撑作用, 近年来脾虚证动物模型的构建和评价文献报道越来越多, 但是构建方法标准不一, 评价指标客观化不足, 本文将从动物选取、模型建立、宏观表征、行为学实验、脾虚的客观指标等方面总结脾虚动物模型的构建和评价方法, 以期脾虚证实验动物模型的构建提供理论指导, 为脾虚动物模型平台的选取提供文献参考。

【关键词】 脾虚证; 动物模型; 评价方法; 综述

【中图分类号】 Q95-33 【文献标志码】 A 【文章编号】 1005-4847 (2024) 03-0385-12

Construction of experimental animal models and evaluation of spleen deficiency syndrome: a review

ZHANG Yonglong¹, MA Weigang¹, QIAN Xingyu¹, ZHAO Suhong¹, LI Shanshan¹, GUO Yongming^{1,2},
XU Zhifang^{1,2}, PAN Xingfang^{1,2}, QIU Jiwen^{1,3}, GUO Yi^{1,4}, LI Zhongzheng^{1,2*}

(1. Experimental Acupuncture Research Center, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China; 2. School of Acupuncture and Tuina, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China; 3. School of Medical Technology, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China; 4. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)
Corresponding author: LI Zhongzheng. E-mail: lizhzh2008@163.com

【Abstract】 The construction of experimental animal models plays an important supporting role in research into the mechanisms of action of Chinese medicines. There have been increasing reports of the construction and evaluation of animal models of spleen deficiency; however, the construction method have involved different standards and there has been insufficient objectification of the evaluation indexes. In this review, we summarize the construction and evaluation method of animal models of spleen deficiency from the aspects of animal selection, model establishment, macroscopic characterization, behavioral experiments, and objective indexes of spleen deficiency, with a view to providing theoretical guidance for the construction of experimental animal models of spleen deficiency and references for the selection of animal model platforms for spleen deficiency.

【Keywords】 spleen deficiency; animal models; evaluation methods; review

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

【基金项目】国家自然科学基金面上项目(82174524)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China General Program (82174524).

【作者简介】张永龙,男,在读硕士研究生,研究方向:针灸推拿的作用机理研究。Email:1477037138@qq.com

【通信作者】李忠正,男,博士,副教授,硕士生导师,研究方向:针灸推拿的作用机理研究。Email:lizhzh2008@163.com

脾虚证是中医临床上常见的一类证候,包括脾气虚、脾阳虚等分型。脾虚一般表现为食欲不振、胃脘痛、胀气、神疲乏力、少气懒言、便溏等,也可出现机体物质代谢异常^[1-2]。现代生活水平的提升、生活节奏的加快以及精神压力增大等原因,使得脾虚证患者增加。目前临床上很多疾病存在脾虚证型,如功能性消化不良^[3]、溃疡性结肠炎^[4]、肠易激综合征^[5]、心脑血管疾病^[6]等。动物模型研究作为现代化实验手段广泛应用于中医药的研究,是分析中医基础理论和中医药疗效的重要方法。自从 20 世纪 70 年代末北京师范大学生物系消化生理科研组建立脾虚模型以来^[7],脾虚动物模型为中医基础实验提供了重要的平台支持。通过对中国知网、万方、维普三大中文数据库近年来的相关文献进行阅读,发现脾虚动物模型的实验研究工作取得了较丰富的经验,但缺乏系统的梳理和客观的评价,本文通过对脾虚动物实验的造模方法和评价标准进行分析,为客观评价脾虚证动物模型提供理论指导。

1 模型动物的选取

选择合适的实验动物是成功建立模型的基础,动物的种类、年龄、性别、性情特点等都需要考虑,本文对脾虚动物模型建立以来所选取的动物种类及造模方法进行汇总,并选取具有代表性的模型进

行总结(见表 1),共有 9 种动物用于建立脾虚模型:大鼠、小鼠、豚鼠、家兔、比格犬、巴马小型猪、恒河猴、驴、斑马鱼。

实验动物的选择是医学研究中首先要考虑的问题。因为实验动物选择的恰当与否关系到课题质量的高低、经费开支的多少、研究途径正确与否以及实验方法的简单与繁琐等问题,甚至会影响到课题的成败及研究结果的准确性。因此动物的选取应结合实验的经济性、可复制性及可操作性来综合考虑。

2 脾虚动物模型的建立

2.1 单因素模型

2.1.1 中药模型

《证治汇补·心痛选方》中:“服寒药过多,致脾胃虚弱,胃脘作痛。”因此多用番泻叶、大黄、小(大)承气汤等苦寒破气中药的水煎剂或浸泡剂来造成动物的脾虚模型。李婷婷等^[17]通过给小鼠灌胃大黄水煎液 0.02 mL/g,灌胃 7 d,以制备脾虚小鼠模型;肖怡等^[18]配置低、中、高 3 个浓度的大黄颗粒水溶液,每日给大鼠灌胃,连续 7 d,建立脾虚泄泻模型;刘岩等^[19]根据大黄苦寒泻下的特性,每日灌胃给予 2 g/mL 大黄水煎液,给药容积为 10 mL/kg,每天 2 次,连续灌胃给药 14 d,建立脾虚大鼠模型;

表 1 常用脾虚证模型实验动物种类

Table 1 Commonly used experimental animal species for the spleen deficiency syndrome model			
作者 Author	年份 Year	动物 Animals	造模方法 Modelling methods
严智强等 ^[8] YAN Z Q, et al ^[8]	1982	家兔 Rabbit	大黄泻下;饥饿法 Rhubarb diarrhea; starvation method
刘学松等 ^[9] LIU X S, et al ^[9]	1989	大鼠 Rat	利血平 Reserpine
王淑兰等 ^[10] WANG S L, et al ^[10]	1990	驴 Donkey	小承气汤 Xiao Chengqi Tang
王玉良等 ^[11] WANG Y L, et al ^[11]	1995	豚鼠 Guinea pig	番泻叶 Folium sennae
曲长江等 ^[12] QU C J, et al ^[12]	2001	小鼠 Mice	大黄泻下;劳倦过度;复合因素 Rhubarb diarrhea; overwork; compound factors
王士维 ^[13] WANG S W ^[13]	2013	恒河猴 Rhesus monkey	大黄泻下 Rhubarb diarrhea
王佳等 ^[14] WANG J, et al ^[14]	2019	巴马小型猪 Bama minipig	饮食不节加劳倦过度 Poor diet combined with overwork
冯士彬等 ^[15] FENG S B, et al ^[15]	2019	比格犬 Beagle canine	番泻叶 Folium sennae
吴家虞等 ^[16] WU J Y, et al ^[16]	2023	斑马鱼 Zebrafish	番泻叶 Folium sennae

肖春萍等^[20]每天 8:00、16:00 给大鼠灌胃 2 次,共造模 10 d。番泻叶同样具有苦寒泻下的作用,周轲等^[21]分别在 12:00 和 24:00 各灌胃 1 次番泻叶浸液(0.2 g/mL),按体重以 10 μ L/g 计算用量,造模成功后,仍按上法持续灌胃番泻叶浸液至第 18 天;曹琰等^[22]用番泻叶灌胃的方法制备脾虚模型来研究苍术特色炮制品对脾虚证大鼠的药效;曹护群等^[23]、冯士彬等^[15]每天早、晚 2 次给实验犬灌服番泻叶药液,连续 7 d,实验犬表现出大便溏泄、食少纳呆、消瘦、体重减轻、神态萎靡和毛色无光泽等症状,可判定实验犬中医脾虚模型复制成功;YI 等^[24]用番泻叶提取物灌胃大鼠,剂量 10 g/kg,连续 10 d,使大鼠出现脾虚症状。阚甸嘉等^[25]根据耗气破气理论,将大黄、枳实、厚朴,按比例用冷水浸泡再煮沸冷却后给 Wistar 大鼠灌胃,用来建立脾气虚动物模型;陈小野等^[26-27]则在耗气破气基础上创造性的提出加入广豆根、旋覆花、槟榔等来更好建立模型。《明医杂著》中“近世论治脾胃者……所用之药又皆辛温燥热,助火消阴之剂,遂致胃火益旺,脾阴愈伤”,多用温热燥湿类药物会损伤脾阴。赵思达^[28]则利用伤阴药物附子、肉桂、吴茱萸这三味大辛大热之品,来造成大鼠脾阴虚,并通过理脾阴正方反证说明脾阴虚动物模型的可靠性。

2.1.2 西药模型

利用西药构建脾虚模型,常用药物有利血平、硝酸钴、环磷酰胺等,以利血平最为常用。刘学松等^[9]发现应用适量利血平可造成兔和大鼠脾虚,出现中医脾虚证的各种主要症候。徐诗画等^[29]以利血平(0.1 mg/kg)皮下注射的方法造成小鼠脾虚;王颖芳^[30]、赵竞业等^[31]、刘佳等^[32]也使用利血平模型来制备脾虚动物模型。王小荣^[33]在研究中一次性给大鼠肌肉注射 1%硝酸钴盐液 5 mL/kg,大鼠 2 d 后出现眯眼、蜷卧、少动、喜扎堆、食量减少、被毛蓬松失去光泽等症状,3 d 后部分大鼠出现便稀、肛周粪污等脾虚症状。张晓杰^[34]利用利血平和硝酸钴两种药物分别建立脾虚大鼠模型并互相对比,认为内源性乙酰胆碱的变化可能是中医脾虚的本质。赵金鑫等^[35]采用硝酸钴注射来建立脾虚模型。费文婷等^[36]用腹腔注射环磷酰胺的方法来建立免疫抑制-脾虚模型。

2.1.3 劳倦内伤法

《景岳全书·杂证谟》中:“脾胃之伤于外者,唯劳倦最能伤脾……。”故劳倦过度也能致脾虚形成。

目前劳倦法多采用力竭游泳或者负重游泳的方式。曲长江等^[12]通过单因素(劳倦法/大黄泻下)造模对比发现,两者都可造成脾虚;胡琳琳等^[37]则在力竭游泳的基础上剥夺实验动物 1/3 的睡眠时间,以制备脾虚证动物模型。

2.1.4 饮食偏酸法

《素问·生气通天论》中:“味过于酸,肝气以津,脾气乃绝……。”所以饮食偏酸会导致脾气虚弱。据此,彭成等^[38]用食用醋(pH = 3)1 mL/100 g,灌胃来诱发大鼠产生脾气虚症状;邬燕文^[39]通过每日 1 次,每次 10 mL/kg,连续 10 d,食醋灌胃方法制备大鼠醋酸脾虚模型。

2.1.5 饥饱失常法

《景岳全书》中:“凡失饥伤饱,损及脾胃,多令人胸膈痞闷,不能消化,饮食少思,日中无味,或噎气吞酸,神体困倦,此皆脾气受伤,中虚而然”。《素问·痹论》中:“饮食自倍,肠胃乃伤”。根据祖国医学传统理论可知过饥过饱都会损伤脾的功能造成脾虚。王小荣^[33]在研究过程中运用饥饱失常法,隔日喂食,单数日给食,给食日不限量,双数日禁食,禁食日给水不给食,6 d 后大部分大鼠出现眯眼、蜷卧、少动、喜扎堆、被毛蓬松无光泽,8 d 后出现肛周粪污、便稀,符合脾虚的症状。严智强等^[8]的实验通过对比发现,服生大黄组和饥饿组家兔形成脾虚证的时间较长;李发荣等^[40]对小鼠模型组每日给予半量饲料,正常饮水,共 7 d,以造成脾虚模型。

2.2 双因素模型

基于疾病的复杂性,临床中脾虚证往往以兼证形式出现,比如肝郁脾虚证、脾虚湿盛证等,有研究人员认为双因素模型能够更好的实现病证结合,使得模型更加稳定。

2.2.1 苦寒类中药加慢性束缚法

刘娅薇等^[41]用番泻叶-束缚夹尾法建立小鼠肝郁脾虚模型;郭军雄等^[42-44]同样采用慢性束缚应激加番泻叶水煎剂灌服二因素法复制“肝郁脾虚证”大鼠模型;潘晓鸥等^[45]用宽胶带束缚小鼠两前肢,每天 1 h,持续 2 周,从第 2 周开始灌胃给予小鼠番泻叶药液(6.5 g/kg),持续 1 周,每天 1 次,观察饮食、粪便及精神状态,观察到小鼠出现饮食减少、精神萎靡、消瘦、毛发蓬乱、粪便稀薄如水样等症状,表明肝郁脾虚模型造模成功。

2.2.2 苦寒类中药加劳倦刺激法

ZHENG 等^[46]每日用大黄水煎液来灌服大鼠,

10 g/kg, 并且每 3 d 对大鼠进行 1 次 10 min 的负重游泳来建立脾虚模型; 张毅靖等^[47]采取冰番泻叶加力竭游泳的方式来复制脾虚模型, 具体为除对照组外其他各组大鼠每日 9:00 给予冰番泻叶水煎液灌胃 1 次 (10 mL/kg); 除正常对照组外各组大鼠在 19:00 置于水桶中游泳, 每日游泳 1 次至力竭, 力竭后停止, 力竭标志为大鼠不再挣扎游动, 鼻尖沉入水中 5 s, 无法浮出水面, 造模持续 14 d。

2.2.3 苦寒破气药加饥饱失常法

谢慧臣等^[48]取厚朴、枳实、大黄共 5 kg, 比例为 5:3:4, 加入 10 倍水, 煮取浓缩至 6 g/mL, 每日以生药 10 g/kg 灌服苦寒破气方 1 次, 隔日喂饲 1 次, 且喂饲量为常规量的一半, 自由饮水, 共计 21 d, 建立大鼠脾气虚模型; 曾益宏^[49]对模型组大鼠灌饲小承气汤煎剂, 20 mL/kg, 隔日半量进食自由饮水, 造模 15 d 结束; 黄文婷等^[50]使用饥饱失常法并灌饲小承气汤, 隔日灌胃 1 次, 每次喂饲常规量饲料的半量, 自由饮水, 造模同时记录家兔体重、进食量的变化, 观察临床表现及大便的异常, 连续 18 d, 造脾虚家兔模型。

2.2.4 饮食失节法加劳倦法

朱昊如^[51]则利用饮食失节加劳倦法, 每天上午让大鼠在温水中进行 10 min 游泳, 并采取隔天饲喂的方式, 持续 4 周建立脾虚模型; 李茹超等^[52]采用“饮食不节 + 游泳疲劳”法复制气虚大鼠模型, 具体为隔日禁食、隔日少量给食及每日在鼠尾缠绕体重 7% 的铁丝负重游泳, 游至口鼻没入水中 3 ~ 4 s 捞出记为游泳总时长, 连续 4 周; 王红伟等^[53]也采取相同的方法至第 8 周复制出脾虚大鼠模型; 雷萍等^[54]对饮食失节加劳倦过度的方法进行了改进, (1) 饮食失节: 单日喂饲小鼠甘蓝, 自由饮水, 双日灌胃猪油 (0.2 mL/10 g), 自由进食、饮水。(2) 劳倦过度: 在上述处理单日, 将小鼠放入 27 °C 水池中, 游泳至力竭, 连续 14 d。

2.2.5 冰水灌胃加饮食不节

罗佳等^[55]根据张徐雯等^[56]研究的方法建立脾虚食积模型, 第 1 天小鼠自由进食, 每 4 h 以 10 mL/kg 灌胃 4 °C 冰水 1 次; 第 2 天小鼠禁食不禁水, 每 4 h 以 10 mL/kg 灌胃 4 °C 冰水 1 次; 第 3 天小鼠以 4 °C 冰氢氧化钠 (浓度 0.3 mol/L) 灌胃, 每只 0.1 mL 进行模型复制, 造模后小鼠出现精神萎靡、体型消瘦、毛色无光泽、蜷缩聚堆、大便溏软等脾虚症状。

2.2.6 寒热刺激加劳倦法

冯珂等^[57]对“脾主为卫”进行了阐释, 即脾胃的运化功能正常, 则正气充盈, 可抵御外邪入侵。李青敏等^[58]运用疲劳寒热刺激法进行造模, 大鼠游泳 30 min 后, 将水擦干放入 50 °C 的恒温箱中 15 min, 最后放入 -20 °C 的冰柜里 25 min, 每日 1 次, 连续 7 d。大鼠出现蜷缩、扎堆、背毛凌乱、无光泽、汗出明显、咳嗽、反应迟钝、懒动等脾虚症状。

2.3 多因素模型

多因素模型是将 3 种及以上的方法相互配合来制备脾虚模型, 相比于单因素和双因素模型可能更符合脾虚证的多病因性和久病至虚的特点, 趋向于多因素造模和长时间造模。琚婉君等^[59]根据文献经验采用灌服大黄法、游泳力竭法和饥饿法复合因素复制脾虚胃肠动力障碍大鼠模型; 巩子汉等^[60]用综合因素法 (苦寒泻下、饮食失节、劳倦过度法) 制成脾气虚证模型。董佳梓等^[61]以苦寒破气法 (小承气汤)、游泳力竭法及饥饱失常法三因素复合法复制脾虚证模型; 姜宇珺等^[62]采取饮食失节、番泻叶灌胃、力竭游泳, 并辅以湿冷垫料造成的脾虚湿困模型; 化敏等^[63]使用饮食不节、过度劳倦 (每天游泳至力竭) 及灌胃大黄的方式来制备脾虚模型; 詹菊等^[64]根据文献研究采用大黄苦寒泻下、饮食失节、劳倦过度联合法制备小鼠脾虚动物模型; 闫志强等^[65]采用分阶段造模的方式来复制脾虚模型: 第 1 阶段, 采用饮食失节法, 饱食 1 d, 再禁食 2 d, 不禁水, 持续 6 d, 复制脾气虚证模型; 第 2 阶段, 第 7 天自由采食, 利用苦寒泻下法, 即按照 100 g 体重 1.0 mL 的剂量灌服番泻叶提取液, 每天 1 次, 连续 14 d 复制脾阳虚证模型。

3 建模成功评价方法

3.1 证候积分及主观评价法

证候量化积分评价就是在模型建立过程中对各个症状不同阶段的表现进行赋分评价, 一定程度上增强了脾虚模型量化的客观性和合理性, 对脾虚模型的评价有了一个标准。由于实验动物的差异性以及脾虚症状的统一性, 研究人员根据动物造模后的表现制定了相关的模型评分标准, 见表 2。

可以看出, 虽然评分标准不统一, 且各有侧重点, 但脾虚动物临床表现相对一致, 如食少、体重下降、倦怠懒动、扎堆、毛发不泽甚至枯槁、大便异常等宏观表征, 为制定对应的评分标准提供依据, 同

表 2 常用脾虚证模型评分方法

Table 2 Commonly used spleen deficiency syndrome model scoring methods

作者 Author	年份 Year	动物 Animal	评分标准及分值 Scoring criteria and marks
凌嘉阳等 ^[66] LING J Y, et al ^[66]	2024	大鼠 Rat	0 分:体毛柔顺光滑有光泽;游泳耐力活动敏捷;粪便呈坚硬椭圆形;体重缓慢增加;肛温正常。1 分:体毛蓬松晦暗轻度发黄;游泳耐力下降;粪便呈柔软椭圆形;体重平均下降 0 ~ 10 g;肛温平均下降 0 ~ 2 ℃。2 分:体毛暗淡发黄无光泽;游泳耐力明显下降;粪便呈溏稀状态;体重平均下降 10 ~ 20 g;肛温平均下降 2 ~ 5 ℃。 0 points: Body hair soft, smooth and shiny; swimming endurance activity agile; feces in hard oval shape; body weight slowly increasing; anal temperature normal. 1 points: Body hair was fluffy and dull and mildly yellowed; swimming endurance decreased; feces were soft and oval; body weight decreased by an average of 0 ~ 10 g; anal temperature decreased by an average of 0 ~ 2 ℃. 2 points: Body hair was dull and yellow without luster; swimming endurance decreased significantly; feces were loose; body weight decreased by 10 ~ 20 g on average; anal temperature decreased by 2 ~ 5 ℃ on average.
谢慧臣等 ^[48] XIE H C, et al ^[48]	2023	大鼠 Rat	1 分:蜷缩少动扎堆;弓背眯眼嗜睡萎靡不振,毛发枯涩;饮食饮水减少;肛温下降。2 分:体重增长偏慢或下降,同比消瘦;肛门欠清洁,便溏、稀溏;游泳耐力下降。 1 points: Curling up and moving less in piles; arching back and squinting lethargy and shriveling of hair; eating and drinking less; decrease in anal temperature. 2 points: Slow or declining body weight gain, year-over-year dissipation of soul; lack of anal cleansing, loose, loose stools; decreased swimming endurance.
刘明江等 ^[67] LIU M J, et al ^[67]	2022	小鼠 Mice	主证:精神沉郁、倦怠懒动。次证:食少纳呆、畏寒扎堆、腹胀、便溏、体瘦毛焦或体毛脱落。具备主症 1 项及次症 2 项以上者,造模成功。 Primary symptoms: depressed spirit, tiredness and laziness. Secondary symptoms: poor appetite and dullness, fear of cold, abdominal distension, loose stools, thin body with scorched hair or loss of body hair. If one of the primary symptoms and two or more of the secondary symptoms are present, the modeling is successful.
冯士彬等 ^[15] FENG S B, et al ^[15]	2019	比格犬 Beagle canine	精神萎靡、乏力倦怠、闭目、喜扎堆、纳呆、腹泻甚或水样粪便、毛发疏松少泽、体重下降。 Depressed, tired and lethargic, eyes closed, like to pile up, dull, diarrhoea or even watery faeces, loose hair and less luster, weight loss.
王士维 ^[13] WANG S W ^[13]	2013	恒河猴 Rhesus monkey	0 分:无。2 分:轻度改变:摄食情况(食量、食欲、进食速度);排便情况(大便性状、腹泻面积、腹泻次数);精神活动情况(活动度、刺激反应、精神状况);外观毛发。4 分:中度改变;同上。6 分:重度改变;同上。其他临床症状:按病情从无到重分别赋分 0、9、18、27 分。 0 points: None. 2 points: Mild alterations: ingestion (amount of food, appetite, rate of eating); defecation (stool consistency, area of diarrhea, frequency of diarrhea); mental activity (activity level, stimulus response, mental condition); appearance of hair. 4 points: moderate alterations; same as above. 6 points: Severe alteration; same as above. Other clinical symptoms; 0, 9, 18 and 27 points were assigned according to the condition from none to severe, respectively.
钟蕙文等 ^[68] ZHONG Y W, et al ^[68]	2023	大鼠 Rat	主症:腹泻便溏,饮食减少。次症:肢体倦怠,拉尾抵抗活动降低;消瘦,体重减轻;毛色枯槁。符合主症 2 项、次症 2 项,可诊断为脾虚湿困证。 Primary symptoms: loose diarrhea; reduced diet. Secondary symptoms: body fatigue, pulling the tail to reduce resistance activity; emaciation, reduced body weight; withered fur. If two of the main symptoms and two of the secondary symptoms are met, it can be diagnosed as spleen deficiency and dampness disease.

时方便观察和记录动物的一般状态,如精神状态、活动状态、被毛外观、食欲、粪便情况等就可以对模型做出理性评价,评分升高代表造模成功。

3.2 理化指标及客观评价法

3.2.1 D-木糖测定

木糖测定是对口服一定量的 D-木糖后测定血液及尿液中 D-木糖的浓度,用以评价小肠的吸收能力。中医认为脾主运化,即运化水湿和水谷精微,现代医学认为水谷精微代表的就是小肠的消化吸收能力。同时,脾虚会导致消化吸收功能减弱。血

清和尿液中 D-木糖含量与小肠的吸收功能有关,所以为脾虚诊断的客观指标^[18,69-70]。因此通过对灌服 D-木糖后的动物血清 D-木糖^[18,21,48]和尿液 D-木糖^[48,69,71-72]含量进行测定,从而推断小肠的吸收功能是否正常。一般情况下脾虚程度越严重,D-木糖吸收率越低。

3.2.2 唾液淀粉酶活性

脾开窍于口,在液为唾。唾液淀粉酶(salivary alpha-amylase,sAA)是唾液中最丰富的蛋白,张善^[73]基于“脾主涎”理论发现脾气虚证患者的 sAA

活性比值显著低于健康人,并研究发现 sAA 活性比值可以较客观地展示脾气虚证的部分特征,研究人员历经数十年的研究证明该指标的可靠性^[74-77],其成果有目共睹,目前已经成为较为公认的脾虚指标之一^[70,78]。

3.2.3 炎症因子测定

脾虚病证的发生发展与炎症因子关系密切,其中 IL-1、IL-6、IL-8、IL-12、TNF- α 、IFN 等促进炎症反应,为促炎细胞因子,而 IL-4、IL-6、IL-11、IL-13、TGF- β 等为抗炎细胞因子^[79]。研究发现与对照组相比,脾虚模型组动物血清中促炎因子 IL-2、IL-6、IL-12、IL-17、INF- γ 等升高, TNF- α 下降;抗炎因子 IL-10、TGF- β 等下降^[17-18,21,67]。

3.3 结肠组织病变

脾虚会导致腹泻引起结肠发生微观变化,因此通过苏木精-伊红(HE)染色法观察结肠组织病理学变化也是评价脾虚模型是否成功建立的另一重要方法。镜下显示脾虚模型动物结肠黏膜层有炎性细胞浸润,黏膜水肿、充血明显,粘膜层不规则,杯状细胞增多等现象^[17,44,67]。

3.4 脏器指数测定

“四季脾旺不受邪”,相反脾虚会导致机体感染邪气使免疫功能降低^[80]。脾和胸腺是两个重要的免疫器官,其脏器指数可在一定程度上反映机体免疫功能的强弱。按以下公式计算胸腺指数和脾指数,进而推测脾虚模型是否成功。胸腺指数(mg/g) = 胸腺质量(mg)/体重(g),脾指数(mg/g) = 脾质量(mg)/体重(g)。脾虚动物胸腺及脾指数会呈现显著下降^[17,21,67,81]。

3.5 以方测证

“以方测证”属于逆向评测方法,选用治疗脾虚的方药来对模型进行验证,若脾虚症状缓解或者治愈则证明所建立的模型为脾虚模型^[82]。脾虚证的经典方剂有四君子汤、补中益气汤、参苓白术散等。刘俊兰^[83]用饮食失节与劳倦过度的复合因素建立脾气虚证大鼠模型,并利用补中益气汤加减方来反证模型复制成功;王明珠等^[84]用参苓白术散来验证脾虚证关节炎小鼠模型,结果缓解了脾虚证小鼠关节炎症状,说明了脾虚证模型的复制成功;姜楠等^[85]用以方测证的方法使用六君子汤等经典方药来检测糖代谢异常模型中是否出现了脾虚等证型。

4 讨论

通过上述内容不难看出,自从 20 世纪 70 年代

末北京师范大学生物系消化生理科研组建立脾虚模型以来^[7],脾虚模型的塑造已经建立了多种动物模型,造模方法越来越多样化、多元化,由最初的大黄泻下法发展到现在十几种造模方法,并越来越趋向于模拟证病结合的多因素诱导,模型的评价也由最初的症状评价发展到现在的症状评分表与多种生理生化实验室指标结合,逐渐趋于客观准确,观测手段日益丰富。

脾虚的动物模型研究已积累了一定的经验,可以为后续的研究提供一定的参考和借鉴,但也存在局限性:就动物选择而言,中医讲究“四诊合参”来进行疾病的诊断,由于动物模型自身的局限性满足“四诊”的要求比较困难,比如获取动物的舌脉信息并与脾虚症状相对应;猪、犬、驴、兔等动物体型较大操作有难度且实验周期长、成本较高。因此,考虑到模型的经济性、可操作性以及实验周期的长短,建议应选取更容易观测体征表象、体型小、成模率和存活率更高的大小鼠来进行。在造模方法选择方面,经历了从单因素造模到双因素造模和多因素造模的发展变化,但各有优缺点:单因素造模如苦寒泻下、饮食不节、劳倦过度法等虽然相对具有针对性,但是症状不典型、模型维持时间短,具有一定局限性;多因素造模症状比较典型、模型维持时间较长,更符合临床,但多因素也造成模型的针对性差,不可控因素增多,进而影响研究目的。另外,不同的证型有相同的造模方式,比如脾阳虚与脾气虚都有相同的造模方法^[86-87],如何明确最后复制的模型是气虚型还是阳虚型,因此相同方法所形成的模型具有不确定性;利血平模型所造成的也不是纯粹的脾虚模型,利血平可导致阴虚证、肝郁脾虚证、偏头痛、阳虚证抑郁症等^[31,88-90],因此单一西药所形成的模型不具有证型的单一性。结合本团队前期的实验和临床经验,建议使用多因素模型来造成脾虚症状,这样形成的模型更加符合中医脾虚形成过程复杂性、长期性的特点。

最后,脾虚模型的评分至关重要,现阶段宏观表征的评分是将脾虚的临床症状与动物体征一一对应,该过程包括动物精神、生活、行为状态,体现了中医整体观念和辩证诊断的特点,但是评分过程主观性太强^[87],评分标准各有侧重不尽统一,所以亟需建立脾虚模型的专家共识和统一的评分标准,并在评分过程中尽量采用现代化的观测手段^[91],比如使用合适的影像设备来获取动物舌象信息,寻找

稳定的特异性指标。根据中医理论“脾主肌肉”,本团队前期研究中也采用了悬空拉尾实验来对脾虚进行评分,使得评价更完善^[92];D-木糖排泄率和唾液淀粉酶活性为现阶段公认的检测脾虚的金指标,也符合“脾主运化”的功能和“在液为唾”的特点,建议联合这三者来进行评判,并采用对应的反证方剂来对模型进行验证,以减少主观因素的影响,形成更加精准化、客观化、科学化、标准化的操作过程,增强实验结果的可信度和模型的可靠性。

综上,中医证后的复杂性,决定了相关研究的困难性,也制约了对脾虚证实质的全面揭示^[93]。本文从模型构建与模型评价角度对脾虚动物模型进行概述,期望为脾虚动物模型的完善提供一定的借鉴。因此,为进一步明确脾虚证的实质,阐明脾虚的致病机制,必须要深入动物模型研究,结合中西医研究的特点,严格把控实验条件,不断完善脾虚证候模型评价的客观指标,建立规范、统一的中医证候定量评价标准,从而促进中医现代化的发展。

参 考 文 献(References)

[1] ZHANG Z, YANG S, LIN X, et al. Metabolomics of spleen-yang deficiency syndrome and the therapeutic effect of Fuzi Lizhong pill on regulating endogenous metabolism [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 278: 114281.

[2] 胡齐, 孙莹, 宋雅芳, 等. 四君子汤对脾虚大鼠线粒体氧化损伤及能量代谢的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35 (8): 1972-1976.

HU Q, SUN Y, SONG Y F, et al. Effects of sijunzi decoction on mitochondrial oxidative damage and energy metabolism of spleen deficiency rats [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2017, 35 (8): 1972-1976.

[3] 陈亮, 余求祥, 刘泽洲, 等. 健脾 I 号治疗脾虚型功能性消化不良的临床效果 [J]. 中国医药科学, 2022, 12 (13): 10-13, 61.

CHEN L, YU Q X, LIU Z Z, et al. Clinical effect of Jianpi No I Decoction in the treatment of functional dyspepsia due to spleen deficiency [J]. Chin Med Pharm, 2022, 12 (13): 10-13, 61.

[4] 徐伟超, 刘建平, 杜艳茹, 等. 京津冀地区溃疡性结肠炎的中医证候特征: 一项基于国家中医临床研究基地信息系统的真实世界研究 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31 (10): 2439-2441.

XU W C, LIU J P, DU Y R, et al. Characteristics of TCM syndrome of ulcerative colitis in Beijing-Tianjin-Hebei Region: a real-world study based on information system of national clinical research base of traditional Chinese medicine [J]. Chin Ind Econ, 2020, 31 (10): 2439-2441.

[5] 思璎璇, 温红珠, 卞慧, 等. 舒肠方治疗肝郁脾虚证腹泻型肠易激综合征多中心随机双盲安慰剂对照研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2023, 43 (11): 1-10.

SI J L, WEN H Z, BIAN H, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter study of bowel relief formula for the treatment of diarrhea-type irritable bowel syndrome due to liver depression and spleen deficiency [J]. Chin J Integrat Med, 2023, 43 (11): 1-10.

[6] 崔利荣. 参苓益智颗粒治疗轻中度血管性痴呆心脾两虚证的临床研究 [D]. 济南: 山东中医药大学; 2020.

CUI L R. Clinical study of Shenling Yizhi Granule in the treatment of deficiency of both heart and spleen in patients with mild to moderate vascular dementia [D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine; 2020.

[7] 北京师范大学生物系消化生理科研组. 脾虚证动物模型的建立及其实质的探讨 [J]. 北京师范大学学报 (自然科学版), 1979, 15 (1): 113.

Scientific Research Group of Digestive Physiology, Department of Biology, Beijing Normal University. Establishment of an animal model of spleen deficiency and discussion of its essence [J]. J Beijing Norm Univ (Nat Sci), 1979, 15 (1): 113.

[8] 严智强, 于书庄, 李君华. 虚证动物模型体表冷光信息的研究 [J]. 中医杂志, 1982, 23 (1): 70-72.

YAN Z Q, YU S Z, LI J H. Study on luminescence information of animal model with deficiency syndrome [J]. J Tradit Chin Med, 1982, 23 (1): 70-72.

[9] 刘学松, 黄树明, 李织, 等. 利血平致动物脾虚模型机制的研究 [J]. 中国医药学报, 1989, 4 (5): 68-70.

LIU X S, HUANG S M, LI Z, et al. Study on the mechanism of spleen deficiency in animals caused by Lixueping [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 1989, 4 (5): 68-70.

[10] 王淑兰, 王安民, 杨畔农. 马属动物驴“脾气虚”证的实验研究 [J]. 中医杂志, 1990, 31 (3): 49-51.

WANG S L, WANG A M, YANG P N. Experimental study on the syndrome of “spleen deficiency” of Equus donkey [J]. J Tradit Chin Med, 1990, 31 (3): 49-51.

[11] 王玉良, 谢杰, 李显华, 等. 固本益肠片治疗实验性豚鼠脾虚型溃疡性结肠炎的研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 1995, 15 (2): 98-100.

WANG Y L, XIE J, LI X H, et al. Study of treating experimental ulcerative colitis of spleen deficiency type with “GubenYichang tablet” in Guinea pigs [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 1995, 15 (2): 98-100.

[12] 曲长江, 刘劲, 宫艳华, 等. 大黄泻下与劳倦过度单、复因素造模脾虚小鼠过氧化与抗氧化改变的比较研究 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2001, 9 (4): 213-215.

QU C J, LIU J, GONG Y H, et al. Comparative study on the change of peroxidation antioxidant in spleen deficiency mice modeled by rhubarb root laxation or over-exertion [J]. Chin J Integr Tradit West Med Gastro Spleen, 2001, 9 (4): 213-215.

[13] 王士维. 中国恒河猴脾虚证艾滋病动物模型先天免疫因子 MBL 和 α -防御素的研究 [D]. 广州: 广州中医药大学; 2013.

WANG S W. The research the status of changes in and correlation between Spleen-deficiency model innate immune factor Mannan-binding lectin (MBL) and α -defensin Chinese Rhesus

- Monkeys [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine; 2013.
- [14] 王佳, 贾连群, 宋国, 等. 健脾化痰祛瘀方对动脉粥样硬化巴马猪小肠线粒体呼吸链复合物及 ATP 活性的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(11): 2677-2681.
- WANG J, JIA L Q, SONG N, et al. Effect of invigorating spleen and removing phlegm and eliminating blood stasis recipe on changes of mitochondrial respiratory chain complex and ATP activity in small intestine of AS Bama pigs [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2019, 37(11): 2677-2681.
- [15] 冯士彬, 李成, 贺濛初, 等. 加味四君子汤对脾虚犬小肠紧密连接蛋白表达及 ERK/MAPK 通路的影响 [J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2019, 34(6): 971-979.
- FENG S B, LI C, HE M C, et al. Effect of supplementary sijunzi decoction on the small intestinal tight junction proteins expression and ERK/MAPK pathway in spleen deficiency canines [J]. J Yunnan Agric Univ (Nat Sci), 2019, 34(6): 971-979.
- [16] 吴家虞, 张艳荣, 左文明, 等. 基于斑马鱼模型和网络药理学探讨金露梅水提物改善脾虚的作用机制 [J]. 青海科技, 2023, 30(2): 75-87.
- WU J Y, ZHANG Y R, ZUO W M, et al. Mechanism of aqueous extracts of *Potentilla fruticosa* in improving spleen deficiency based on zebrafish model and network pharmacology [J]. Qinghai Sci Technol, 2023, 30(2): 75-87.
- [17] 李婷婷, 苏韞, 龚红霞, 等. 归芪白术汤对脾虚小鼠免疫因子及水通道蛋白表达的影响 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(4): 805-808.
- LI T T, SU Y, GONG H X, et al. Effect of guiqi Baizhu Decoction on the expression of immune factors and aquaporin in mice with spleen deficiency [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2021, 32(4): 805-808.
- [18] 肖怡, 邓向亮, 傅南琳, 等. 脾虚型功能性腹泻大鼠模型的建立 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(96): 219-221.
- XIAO Y, DENG X L, FU N L, et al. Establishment of rat model of functional diarrhea with spleen deficiency [J]. World Latest Med Inf, 2019, 19(96): 219-221.
- [19] 刘岩, 刘志洋, 王馨怡, 等. 木香顺气丸对脾虚胃溃疡模型大鼠能量代谢和物质代谢的影响 [J]. 中成药, 2019, 41(10): 2495-2499.
- LIU Y, LIU Z Y, WANG X Y, et al. Effect of Muxiang Shunqi pill on energy metabolism and substance metabolism in rats with spleen deficiency gastric ulcer model [J]. Chin Tradit Pat Med, 2019, 41(10): 2495-2499.
- [20] 肖春萍, 鞠艳娟, 孙金, 等. 基于肠道微生态的米泔水制苍术健脾止泻药效及其机制研究 [J]. 中药药理与临床, 2023, 39(2): 64-71.
- XIAO C P, JU Y J, SUN J, et al. Jianpizhixie effect and mechanism of *ATRACYLODIS RHIZOMA* processed with rice swill based on intestinal microecology [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2023, 39(2): 64-71.
- [21] 周轲, 牛淳, 刘文娟, 等. 电针百会穴对脾虚泄泻模型大鼠影响的研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2022, 53(3): 947-955.
- ZHOU K, NIU C, LIU W J, et al. Study on the effect of electric acupuncture at Baihui acupoint on rats with spleen-deficiency diarrhea [J]. Acta Vet Zootechnica Sin, 2022, 53(3): 947-955.
- [22] 曹琰, 刘产明, 朱月琴, 等. 孟河医派苍术特色炮制品对脾虚证大鼠的药效作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(9): 739.
- CAO Y, LIU C M, ZHU Y Q, et al. Pharmacodynamic effect of special processed products of *Atractylodes lancea* from Menghe medical school on rats with spleen deficiency syndrome [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2019, 33(9): 739.
- [23] 曹护群, 贺濛初, 舒迎霜, 等. 犬源复合益生菌对脾虚犬抗氧化及消化吸收功能的影响 [J]. 江西农业大学学报, 2019, 41(6): 1142-1151.
- CAO H Q, HE M C, SHU Y S, et al. Effects of canine-derived probiotics on anti-oxidant, digestive and absorptive functions of splenic Asthenia canines [J]. Acta Agric Univ Jiangxiensis, 2019, 41(6): 1142-1151.
- [24] YI Y L, LI Y, GUO S, et al. Elucidation of the reinforcing spleen effect of jujube fruits based on metabolomics and intestinal flora analysis [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 847828.
- [25] 阎闻嘉, 滕静茹, 傅湘琦, 等. 用耗气破气理论塑造脾气虚动物模型 [J]. 吉林中医药, 1990, 2: 32-34.
- KAN D J, TENG J R, FU X Q, et al. Animal modeling of spleen qi deficiency using the theory of qi depletion and qi destruction [J]. Jilin Chin Med, 1990, 2: 32-34.
- [26] 陈小野, 周永生, 樊雅莉, 等. 脾气虚证动物模型规范化的初步研究 [J]. 中国医药学报, 2001, 16(4): 52-58.
- CHEN X Y, ZHOU Y S, FAN Y L, et al. Preliminary study on standardization of animal model of spleen-qi deficiency syndrome [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2001, 16(4): 52-58.
- [27] 陈小野. 脾气虚证动物模型初步规范化的造模方法和思路 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2003, 9(1): 3-5.
- CHEN X Y. Method and thought on establishing primarily standardized animal model of the spleen qi deficiency syndrome [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med, 2003, 9(1): 3-5.
- [28] 赵思达. 基于 cAMP/PKA 通路探讨理脾滋阴法干预脾阴虚大鼠脾失健运机理研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学; 2019.
- ZHAO S D. Based on cAMP/PKA pathway, the mechanism of regulating spleen and nourishing Yin to intervene spleen deficiency in rats with spleen Yin deficiency is studied [D]. Shenyang: Liaoning University of Traditional Chinese Medicine; 2019.
- [29] 徐诗画, 罗浩轩, 项婷, 等. 脾虚内环境对诱导型肝癌小鼠胃组织中 oatp2a1、oatp2b1、oatp4a1、oatp1b2 表达的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 5(10): 2358-2362.
- XU S H, LUO H X, XIANG T, et al. Effect of internal environment of spleen deficiency on expressions of oatp2a1, oatp2b1, oatp4a1 and oatp1b2 in gastric tissues of mice with induced liver cancer [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2019, 5

- (10): 2358-2362.
- [30] 王颖芳. 慢性胃炎脾虚证患者基因差异表达图谱研究 [D]. 广州: 广州中医药大学; 2006.
- WANG Y F. Study on differential gene expression patterns of chronic gastritis patients with spleen deficiency syndrome [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine; 2006.
- [31] 赵竞业, 杨菁华, 张晓晨, 等. 肝郁脾虚外感小鼠模型的建立及评价 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(7): 3602-3607.
- ZHAO J Y, YANG J H, ZHANG X C, et al. Establishment and evaluation of mice model with liver stagnation and spleen deficiency infected by influenza virus [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2020, 35(7): 3602-3607.
- [32] 刘佳, 郭文峰, 任理, 等. 四君子汤对脾气虚证模型大鼠小肠葡萄糖吸收功能作用的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(10): 1389-1393.
- LIU J, GUO W F, REN L, et al. Effect of sijunzi decoction on the intestinal glucose absorption in model rats of pi-qi deficiency syndrome; an experimental research [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2013, 33(10): 1389-1393.
- [33] 王小荣. 脾虚证与胰岛 A 细胞变化相关性研究——硝酸钴法脾虚证动物模型的研制 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学; 2002.
- WANG X R. Study on correlation between spleen-Asthenia syndrome and islet a cells changes [D]. Harbin: Heilongjiang University of Chinese Medicine; 2002.
- [34] 张晓杰. 脾虚大鼠延脑网状核 VACHT 免疫组化研究 [J]. 医学研究通讯, 2003, 32(8): 39-40.
- ZHANG X J. The VACHT immunohistochemiscal study in nuclei reticulars of the vagus nerve of spleen defidence rats [J]. J Med Res, 2003, 32(8): 39-40.
- [35] 赵金鑫, 赵瑞波. 选择性地破坏胰腺 A 细胞大鼠海马中 VACHT 蛋白表达的研究 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2007, 28(1): 19-20.
- ZHAO J X, ZHAO R B. Study on expression of VACHT protein in hippocampal of rats having pancreatic A cells selectively destroyed [J]. J Qiqihar Med Coll, 2007, 28(1): 19-20.
- [36] 费文婷, 侯燕, 王玉杰, 等. 玛咖对免疫抑制-脾虚证小鼠能量代谢及免疫调节机制研究 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(5): 1874-1880.
- FEI W T, HOU Y, WANG Y J, et al. Energy metabolism and immune-enhancement effects and mechanisms of Maca on immunosuppression-spleen-deficiency mice [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2018, 33(5): 1874-1880.
- [37] 胡琳琳, 高云芳, 何志仙. 三种脾虚证模型小鼠消化吸收功能改变的比较研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(9): 813-816.
- HU L L, GAO Y F, HE Z X. Comparative study on changes of digestive and absorptive functions in three different models of pi-deficiency syndrome [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2005, 25(9): 813-816.
- [38] 彭成, 罗光宇. 脾气虚脾不统血证候动物模型的研究思路 [J]. 中医杂志, 1996, 37(4): 241-242.
- PENG C, LUO G Y. Research ideas on animal model of spleen-qi deficiency and spleen-qi failure to control blood syndrome [J]. J Tradit Chin Med, 1996, 37(4): 241-242.
- [39] 邹燕文. 醋酸脾虚证模型大鼠肠道菌群分析 [D]. 上海: 上海交通大学; 2009.
- WU Y W. Intestinal microflora analysis of pi-deficient rats induced by acetic acid [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University; 2009.
- [40] 李发荣, 宋建平, 徐文友, 等. 太白参对饥饿致“脾虚”小鼠的影响 [J]. 陕西中医, 2002, 23(2): 180-181.
- LI F R, SONG J P, XU W Y, et al. Effect of Taibai ginseng on “spleen deficiency” mice caused by hunger [J]. Shaanxi J Tradit Chin Med, 2002, 23(2): 180-181.
- [41] 刘娅薇, 吴仪, 惠华英, 等. 小鼠肝气乘脾泄泻模型的建立及痛泻要方的疗效 [J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(4): 1023-1027.
- LIU Y W, WU Y, HUI H Y, et al. Establishment of a mouse model of Ganqichengpi diarrhea and the efficacy of Tongxieyao prescription [J]. Chin J Appl Environ Biol, 2020, 26(4): 1023-1027.
- [42] 郭军雄, 汪斌, 马丽, 等. p38 MAPK 在腹泻型肠易激综合征大鼠中的变化及其免疫调控作用 [J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(6): 709-715.
- GUO J X, WANG B, MA L, et al. Immunoregulatory effects of the p38 MAPK-signaling pathway in rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(6): 709-715.
- [43] 郭军雄, 许小敏, 马丽, 等. 基于 p38 MAPK/MSK1/CREB 转导通路研究痛泻要方对肝郁脾虚型 D-IBS 大鼠痛觉敏化的干预作用 [J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(5): 508-514.
- GUO J X, XU X M, MA L, et al. Intervention effect of Tongxie Yaofang on pain sensitization in D-IBS rats with liver depression and spleen deficiency based on p38 MAPK/MSK1/CREB transduction pathway [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2020, 31(5): 508-514.
- [44] 郭军雄, 马丽, 康万荣, 等. 痛泻要方对肝郁脾虚型 D-IBS 大鼠结肠组织 p38 MAPK 信号通路相关蛋白及其靶基因表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(4): 1-8.
- GUO J X, MA L, KANG W R, et al. Effect of Tongxie Yaofang on p38 MAPK pathway associated protein and its target gene expression in colon tissues of D-IBS rats with liver-stagnation and spleen-deficiency [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2020, 26(4): 1-8.
- [45] 潘晓鸥, 赵燕, 赵远桥, 等. 石斛碱对肝郁脾虚型肠易激综合征小鼠 GFAP、NGF、BDNF 表达及内脏敏感性的影响 [J]. 中成药, 2021, 43(5): 1186-1190.
- PAN X O, ZHAO Y, ZHAO Y Q, et al. Effects of dendrobine on visceral sensitivity associated GFAP, NGF, BDNF expressions in mice with irritable bowel syndrome of liver Qi-Stagnation & Spleen-Deficiency Pattern [J]. Chin Tradit Pat Med, 2021, 43(5): 1186-1190.
- [46] 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.
- [47] 张毅靖, 甘剑峰, 王永福, 等. 健脾祛湿膏对脾虚腹泻大鼠结肠 P38 MAPK 信号通路相关蛋白及细胞因子的影响 [J]. 中药材, 2021, 44(1): 186-189.
- ZHANG Y J, GAN J F, WANG Y F, et al. Effects of Jianpi qushi ointment on P38 MAPK signal pathway related proteins and cytokines in colon of rats with spleen deficiency diarrhea [J]. J Chin Med Mater, 2021, 44(1): 186-189.
- [48] 谢慧臣, 冉云, 张云, 等. 生品与麸炒苍术对脾虚证大鼠小肠吸收转运相关蛋白载体的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(14): 47-56.
- XIE H C, RAN Y, ZHANG Y, et al. Effects of raw and bran-fried Cangzhu on protein carriers related to absorption and transportation in small intestine of rats with spleen deficiency [J]. Chin J Exper Form, 2023, 29(14): 47-56.
- [49] 曾益宏. 脾虚证与线粒体基因多态性及胃泌素和 ATP 酶的相关性研究 [D]. 广州: 广州中医药大学; 2007.
- ZENG Y H. Research on the relevant between spleenashenic syndrome and mitochondria gene polymorphism, gastrin, ATPase [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine; 2007.
- [50] 黄文婷, 王继红. 基于 MLCK 信号通路探讨一指禅推法对脾虚家兔胃肠传输功能的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2022, 49(6): 208-210.
- HUANG W T, WANG J H. Exploring effect of pushing manipulation with one finger on gastrointestinal transmission function in rabbits with spleen deficiency based on MLCK signal pathway [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2022, 49(6): 208-210.
- [51] 朱吴如. 基于衰老分子机制探讨脾虚证-补中益气汤相关的生物学基础 [D]. 北京: 北京中医药大学; 2020.
- ZHU H R. Exploring the biological basis of the spleen deficiency syndrome associated with tonifying Zhong Yi Qi Tang based on the molecular mechanism of aging [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine; 2020.
- [52] 李茹超, 魏楠楠, 路荣荣, 等. 基于 PI3K/AKT 通路探讨防己黄芪汤对气虚水负荷模型大鼠胃肠道水道蛋白的影响 [J]. 时珍国医国药, 2023, 34(4): 810-813.
- LI R C, WEI N N, LU R R, et al. Effects of Fangji Huangqi Tang on gastrointestinal water channel proteins based on PI3K/AKT pathway in rats modeled as qi deficiency and water loading [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2023, 34(4): 810-813.
- [53] 王红伟, 刘旺根, 丁瑞敏. 黄芪建中汤对脾虚大鼠血液成分及细胞免疫功能的影响 [J]. 河南中医药学刊, 2002, 17(6): 16-17.
- WANG H W, LIU W G, DING R M. Effect of Huangqi Jianzhong Decoction on blood components and cellular immune function in rats with spleen deficiency [J]. Henan J Traditi Chin Med Pharmacy, 2002, 17(6): 16-17.
- [54] 雷萍, 韩晓伟, 徐铭, 等. 灰树花多糖对白念珠菌肠道感染脾虚小鼠 TLR2/MyD88/NF- κ B 通路基因早期转录的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(12): 2933-2937.
- LEI P, HAN X W, XU M, et al. Effect of Grifola frondosa polysaccharide on early transcription of genes in TLR2/MyD88/NF- κ B pathway in spleen deficiency mice infected by *Candida albicans* transmitted through intestine [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2019, 37(12): 2933-2937.
- [55] 罗佳, 孙强, 马祖兵, 等. 红曲发酵炮制前后对脾虚食积证小鼠的胃肠调节作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(22): 108-114.
- LUO J, SUN Q, MA Z B, et al. Gastrointestinal regulation of red yeast rice on mice with syndrome of food retention due to spleen deficiency before and after fermentation [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2019, 25(22): 108-114.
- [56] 张徐雯, 周驰, 王晓彤, 等. 白术散加减对胃寒型功能性消化不良小鼠胃肠功能的影响 [J]. 中国医学科学院学报, 2015, 37(4): 435-439.
- ZHANG X W, ZHOU C, WANG X T, et al. Effect of modified Baizhu Powder on gastrointestinal functions in mouse models with stomach-cold functional dyspepsia [J]. Acta Acad Med Sin, 2015, 37(4): 435-439.
- [57] 冯珂, 纪立金. 浅谈“脾主为卫” [J]. 山东中医杂志, 2012, 31(9): 627-629, 695.
- FENG K, JI L J. Talking about “the spleen is the guardian” [J]. Shandong J Tradit Chin Med, 2012, 31(9): 627-629, 695.
- [58] 李青敏, 李忠正, 郭永明, 等. 不同次数推拿疗法对卫气虚大鼠免疫功能影响的实验研究 [J]. 江苏中医药, 2017, 49(9): 75-77.
- LI Q M, LI Z Z, GUO Y M, et al. Experimental study on the effect of different times of chiropractic therapy on immune function in rats with Wei-Qi deficiency [J]. Jiangsu J Tradit Chin Med, 2017, 49(9): 75-77.
- [59] 琚婉君, 郭蕾, 陈少丽, 等. 补中益气汤改善脾虚型胃肠动力障碍大鼠代谢组学研究 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(5): 69-73, 271-272.
- JU W J, GUO L, CHEN S L, et al. Metabolomics study of Buzhong Yiqi Decoction improving gastrointestinal motility disorder in rats with spleen deficiency [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2020, 38(5): 69-73, 271-272.
- [60] 巩子汉, 段永强, 杨晓轶, 等. 四君子汤对大鼠学习记忆能力的影响机制 [J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(10): 1333-1336.
- GONG Z H, DUAN Y Q, YANG X Y, et al. Influence mechanism of Sijunzi Decoction on learning and memory ability of rats [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2020, 36(10): 1333-1336.
- [61] 董桂梓, 薛亚楠, 魏云涛, 等. 电针“足三里”对脾虚大鼠心肌细胞 AMPK-线粒体通路的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2020, 43(6): 522-528.
- DONG J Z, XUE Y N, WEI Y T, et al. Effects of electroacupuncture at Zusanli on AMPK-mitochondria pathway in cardiac cells of rats with spleen deficiency [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2020, 43(6): 522-528.
- [62] 姜宇璐, 张北雪, 马善鹏, 等. 4 种不同来源的苍术和白术对偏于实证的脾虚大鼠药效学比较研究 [J]. 中华中医药学

刊, 2020, 38(8): 142–146.

JIANG Y J, ZHANG B X, MA S P, et al. Pharmacodynamic comparison of four different sources of Cangzhu (*Atractylodes rhizome*) and baizhu *Atractylodes macrocephala* on spleen deficiency syndrome [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2020, 38(8): 142–146.

[63] 化敏, 耿雪, 刘月程, 等. 炙甘草干预脾虚大鼠的血清代谢组学研究 [J]. 中成药, 2023, 45(5): 1710–1716.

HUA M, GENG X, LIU Y C, et al. Serum metabonomics study on the intervention of *Radix glycyrrhizae* preparata on rats with spleen deficiency [J]. Chin Tradit Pat Med, 2023, 45(5): 1710–1716.

[64] 詹菊, 杨忠兰, 王远敏, 等. 黔产苗药土党参趁鲜蒸制炮制工艺研究及炮制前后对小鼠脾虚动物模型的影响 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2023, 25(4): 1398–1407.

ZHAN J, YANG Z L, WANG Y M, et al. Study on the processing technology of fresh steaming of miao medicine campanumoea javanica in Guizhou and its effect on spleen deficiency animal model in mice before and after processing [J]. World Sci Tech Modern Tradit Chin Med, 2023, 25(4): 1398–1407.

[65] 闫志强, 翟少钦, 张邑帆, 等. 女黄扶正发酵物对脾虚大鼠肠道结构及免疫的影响 [J]. 云南农业大学学报 (自然科学), 2022, 37(1): 120–125.

YAN Z Q, ZHAI S Q, ZHANG Y F, et al. Effects of fermented nyuhuang fuzheng on the intestinal structure and immunity of rats with spleen deficiency [J]. J Yunnan Agric Univ (Nat Sci), 2022, 37(1): 120–125.

[66] 凌嘉阳, 柏阳, 曲扬, 等. 基于药效学和代谢组学考察北苍术不同炮制品对脾虚大鼠的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(7): 179–188.

LING J Y, BO Y, QU Y, et al. Pharmacodynamic and metabolomics-based investigation of the effects of different concoctions of Bei Cangzhu on rats with spleen deficiency [J]. Chin J Exper Tradit Med Formul, 2024, 30(7): 179–188.

[67] 刘明江, 王惠文, 赵昕, 等. 冷热应激对番泻叶诱导脾虚小鼠临床症状及免疫力的影响 [J]. 动物医学进展, 2022, 43(11): 52–57.

LIU M J, WANG H W, ZHAO X, et al. Effects of cold and heat stresses on clinical symptoms and immunity of mice with spleen deficiency induced by folium sennae [J]. Prog Vet Med, 2022, 43(11): 52–57.

[68] 钟慧文, 张文彤, 陈雅茜, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 和粪便代谢组学探讨参苓白术散改善脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠的机制 [J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(2): 840–847.

ZHONG Y W, ZHANG W T, CHEN Y X, et al. Mechanism of Shenling Baizhu Powder on improving spleen deficiency with dampness retention-ulcerative colitis rats based on UPLC-Q-TOF/MS and fecal metabonomics [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2023, 38(2): 840–847.

[69] 毕克恩, 刘爱华, 蒋振英, 等. 尿中 D-木糖排泄率对小儿脾虚的诊断价值 [J]. 山东中医学院学报, 1983, 7(3): 68–69.

BI K E, LIU A H, JIANG Z Y, et al. Diagnostic value of urine D-xylose excretion rate in children with spleen deficiency [J]. J Shandong Univ Tradit Chin Med, 1983, 7(3): 68–69.

[70] 钟森杰, 李静, 李琳, 等. 脾气虚证的诊断标准及客观化研究述评 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(2): 421–423.

ZHONG S J, LI J, LI L, et al. A review of diagnostic criteria and objective study of spleen-qi deficiency syndrome [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2021, 32(2): 421–423.

[71] 李岚其, 郭丽娜, 陈肖家, 等. 四君子汤对脾虚大鼠骨骼肌细胞色素 c 氧化酶 I、IV mRNA 及蛋白表达的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2022, 39(4): 876–883.

LI L Q, GUO L N, CHEN X J, et al. Effect of sijunzi decoction on skeletal muscle cytochrome c oxidase I, IV mRNA and protein expression in rats with spleen deficiency [J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med, 2022, 39(4): 876–883.

[72] 陈丝, 宋囡, 崔馨月, 等. 香砂六君子汤对脾虚高脂血症模型大鼠胆固醇逆向转运的影响 [J]. 中医杂志, 2019, 60(17): 1493–1498.

CHEN S, SONG N, CUI X Y, et al. Effect of Xiangsha Liujunzi Decoction on reverse cholesterol transport of spleen deficiency and hyperlipidemia model rats [J]. J Tradit Chin Med, 2019, 60(17): 1493–1498.

[73] 张善. 脾虚患者唾液淀粉酶活性初步研究 [J]. 新中医, 1978, 10(3): 45–47.

ZHANG S. Preliminary study on salivary amylase activity in patients with spleen deficiency [J]. J New Tradit Chin Med, 1978, 10(3): 45–47.

[74] 周贤玲. 唾液淀粉酶活性与脾虚主要症状组合的关系研究 [D]. 广州: 广州中医药大学; 2014.

ZHOU X L. The study of the correlation of saliva amylase activity and main clinical symptom combination of spleen-asthenia patients [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine; 2014.

[75] 曾嘉. 脾气虚患者兼夹非脾虚症状对唾液淀粉酶活性比值的影响 [D]. 广州: 广州中医药大学; 2016.

ZENG J. Effect of spleen-qi deficiency combined with non-spleen deficiency symptoms on salivary amylase activity ratio [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine; 2016.

[76] 林传权. 基于“脾主涎”理论探索脾气虚证本质研究的启示 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(11): 5370–5374.

LIN C Q. Research revelation on exploring the essence of spleen qi deficiency syndrome based on the theory of “spleen controlling salivary secretion” [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2020, 35(11): 5370–5374.

[77] 谢海媚, 梁裕琪, 黄也, 等. 慢性非萎缩性胃炎及重症肌无力脾气虚证患者唾液淀粉酶活性比值上升的影响因素研究 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(6): 3648–3652.

XIE H M, LIANG Y Q, HUANG Y, et al. Study on the influencing factors of the increasing salivary amylase activity ratio in patients with chronic non-atrophic gastritis and myasthenia gravis syndrome with spleen-deficiency [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2021, 36(6): 3648–3652.

[78] 尚芳红, 阳勇, 宋旭红, 等. 正交设计结合药效学实验优选

- 四君子汤颗粒水提及精制工艺 [J]. 中草药, 2020, 51(16): 4191-4200.
- SHANG F H, YANG Y, SONG X H, et al. Optimization of water extracting and refining procession of Sijunzi Decoction Granules by orthogonal design and pharmacodynamics test [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(16): 4191-4200.
- [79] 刘婧, 乔波, 谭周进. 中医脾气虚证现代实质研究进展 [J]. 山东中医药大学, 2022, 30(16): 693-700.
- LIU J, QIAO B, TAN Z J. Progress in modern research on substance of spleen qi deficiency in Chinese medicine [J]. Shandong Univer Tradit Chin Med, 2022, 30(16): 693-700.
- [80] 刘俊, 宗晨旭, 葛涓菲, 等. 基于免疫机制从“脾虚生痰湿”论治多发性抽动症的研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2022, 24(11): 4286-4292.
- LIU J, ZONG C X, GE M F, et al. Study on the treatment of tourette syndrome based on immune mechanism from “spleen deficiency produces phlegm and dampness” [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2022, 24(11): 4286-4292.
- [81] 李家生, 徐志昌, 陈慧婷, 等. 脾虚症并发白念珠菌感染小鼠血常规及血浆细胞因子的变化及秋泻灵颗粒治疗对其影响 [J]. 时珍国医国药, 2022, 33(12): 3044-3048.
- LI J S, XU Z C, CHEN H T, et al. Changes of blood routine and plasma cytokines in mice with spleen deficiency complicated with *Candida albicans* infection and the effect of Qiuxieling Granule treatment on them [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2022, 33(12): 3044-3048.
- [82] 孟凡征, 李亚男, 赵金生, 等. “脾虚证”实质的现代研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30(12): 2975-2977.
- MENG F Z, LI Y N, ZHAO J S, et al. Modern research progress on essence of spleen deficiency syndrome [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2019, 30(12): 2975-2977.
- [83] 刘俊兰. 补脾益气法通过 cAMP/PKA 对脾气虚脾失健运大鼠胃肠激素的调控机理研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学; 2018.
- LIU J L. Study on the mechanism of regulating gastrointestinal hormones in rats with spleen deficiency and spleen deficiency through cAMP/PKA [D]. Shenyang: Liaoning University of Traditional Chinese Medicine; 2018.
- [84] 王明珠, 黄琳, 李海昌, 等. 冰水潮湿诱发的脾虚对 DBA/1 小鼠胶原诱导型关节炎的影响及参苓白术散的“以方测证” [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(11): 6781-6784.
- WANG M Z, HUANG L, LI H C, et al. Effects of drinking ice water and high humidity induced spleen deficiency on CIA disease in DBA/1 mice and the “counter evidence” of Shenling Baizhu Powder [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2022, 37(11): 6781-6784.
- [85] 姜楠, 蒲纪, 张冰冰, 等. 补益方剂反证糖代谢异常代谢综合征大鼠中医证型的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(12): 95-98.
- JIANG N, PU J, ZHANG B B, et al. Syndrome identification of abnormal glucose metabolism in metabolic syndrome rat based on syndrome detecting from recipe used [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2015, 21(12): 95-98.
- [86] 曾梅艳, 彭彩云, 宋厚盼, 等. 脾阳虚证动物模型构建及模型评价的研究概述 [J]. 中医导报, 2019, 25(16): 116-119.
- ZENG M Y, PENG C Y, SONG H P, et al. Research progress on animal model construction and model evaluation of spleen Yang deficiency syndrome [J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm, 2019, 25(16): 116-119.
- [87] 王楷, 侯雨君, 宋玮, 等. 泄泻中医证候动物模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(6): 823-829.
- WANG K, HOU Y J, SONG W, et al. Research progress on animal model construction and evaluation of different TCM syndromes of diarrhea [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(6): 823-829.
- [88] 温玉莹, 江涛, 陈艳芬, 等. 蒿甲虚热清颗粒对利血平和甲状腺素致阴虚模型小鼠的影响 [J]. 广东药科大学学报, 2018, 34(3): 320-324.
- WEN Y Y, JIANG T, CHEN Y F, et al. Influence of Haojia Xureqing Granules on the model of Yin-deficiency syndrome in mice [J]. J Guangdong Pharm Univ, 2018, 34(3): 320-324.
- [89] 王晶, 吴莎, 许永崧, 等. 芎附方对利血平致偏头痛模型小鼠的药效学研究 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(12): 2970-2973.
- WANG J, WU S, XU Y S, et al. Pharmacodynamics research of xiongfu formula on migraine mice induced by reserpine [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2019, 37(12): 2970-2973.
- [90] 刘志恒, 袁霞红, 刘林. 抑郁症动物模型及其在中医药研究运用进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(9): 109-114.
- LIU Z H, YUAN X H, LIU L. Progress on depressive animal models and their application in traditional Chinese medicine [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(9): 109-114.
- [91] 任志鑫, 王雨, 张冰, 等. 代谢性疾病病证结合动物模型的探讨与思考 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(7): 897-908.
- REN Z X, WANG Y, ZHANG B, et al. Animal models combining disease and syndromes related to metabolic diseases [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(7): 897-908.
- [92] 钱星羽. 捏脊疗法干预幼龄厌食大鼠及调控下丘脑摄食中枢的效应与机制研究 [D]. 天津: 天津中医药大学; 2023.
- QIAN X Y. Effects and mechanisms of chiropractic intervention in young anorexic rats and modulation of hypothalamic feeding centre [D]. Tianjin: Tianjin University of Traditional Chinese Medicine; 2023.
- [93] 王轩宇, 阙华发. “脾虚证”的现代研究进展 [J]. 江西中医药, 2022, 53(2): 69-72.
- WANG X Y, QUE H F. Modern research progress of “spleen deficiency syndrome” [J]. Jiangxi J Tradit Chin Med, 2022, 53(2): 69-72.