

吉琳,申琪,郭向东. 阳虚动物模型及检测指标的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(1): 138-145.

Ji L, Shen Q, Guo XD. Research progress in developing an animal model and detection index for yang deficiency [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(1): 138-145.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2021.01.021

阳虚动物模型及检测指标的研究进展

吉琳¹, 申琪^{2*}, 郭向东²

(1.河南中医药大学第一临床医学院, 郑州 450000; 2.河南中医药大学第一附属医院耳鼻喉科, 郑州 450000)

【摘要】 阳虚证是中医临床常见证候之一, 涉及许多疾病, 阳虚体质者也越来越多, 大多疾病的晚期均会不同程度地出现阳虚证。目前关于阳虚动物模型主要从模拟中医病因、西医病理、病证结合三方面建立, 集中在脾、肾二脏。关于阳虚的本质及物质基础的研究从生理生化和分子生物学两大方面的指标检测展开研究, 主要包括内分泌、免疫、血液流变学、能量代谢、自由基、微量元素和整体水平上的基因、蛋白质、代谢组学。通过对以上研究分析探讨, 有助于了解阳虚及其相关疾病的发病机制, 完善不同脏腑阳虚证的诊断标准, 为临床辨证论治的规范统一奠定基础。

【关键词】 阳虚; 模型; 生理生化; 分子生物

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2021) 01-0138-08

Research progress in developing an animal model and detection index for yang deficiency

Ji Lin¹, Shen Qi^{2*}, Guo Xiangdong²

(1. First Clinical Medical College of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China.

2. Otolaryngology, First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000)

【Abstract】 Yang deficiency is a common clinical syndrome in traditional Chinese medicine and is involved in many diseases, such as yang deficiency constitution, which is becoming more common. Furthermore, most late-stage disease will involve varying degrees of yang deficiency syndrome. Animal models of yang deficiency are mainly established according to three aspects: simulating the etiology of traditional Chinese medicine; western medicine pathology; and combining disease and syndrome, focusing on the spleen and kidney viscera. Studies of the essence and material basis of yang deficiency are performed according to two aspects: 1. physiological, biochemical, and molecular biology, including endocrine, immune, hemorheology, energy metabolism, free radicals, and trace elements; and 2. the level of genes, proteins, and metabolomics. These studies and method help us understand the pathogenesis of yang deficiency and its related diseases, perfect the diagnostic criteria of yang deficiency in different zang-fu viscera, and lay a foundation for the standardization of clinical treatment according to syndrome differentiation.

【Keywords】 yang deficiency; model; physiology and biochemistry; molecular biology

【基金项目】 河南省重点研发与推广专项项目(202102310174)。

【作者简介】 吉琳(1994—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中西医结合临床耳科疾病的防治与研究。E-mail: 846662485@qq.com

【通信作者】 申琪(1971—), 女, 博士, 副主任医师, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 耳病的中医防治研究。E-mail: 1543040814@qq.com

阳气的生长、充盛至衰竭的过程贯穿着人体的整个生命历程,阳气对维持人体各项生理机能发挥着不可或缺的重要作用。阳虚证是指人体阳气亏损,其温养、推动等功能减退,以畏寒肢冷为主要表现得虚寒证^[1]。为了更好的认识和了解阳虚本质,研究阳虚的病理生理机制、诊断、治疗等,复制稳定并与临床症状或机制相似的阳虚动物模型尤为重要。随着研究的不断进展,国内外学者尝试了多种有效的造模方法并制定了相应的检测指标。本文对当前阳虚动物模型的多种造模方法及检测指标进行归纳及综述,从不同角度揭示阳虚的发病机制,为今后寻求有效诊断方法,提高阳虚及阳虚相关疾病的诊治率,发展有效的临床治疗方案提供思路。

1 阳虚动物模型的建立

目前,建立阳虚实验动物模型的思路分别从模拟中医病因、西医病理、病证结合三个方面造模(见表 1)。

1.1 模拟中医病因

此类模型按照中医病因学说,使动物在人为制造的特定致病环境中出现相应的疾病,建立与临床上某种证型表现相似的模型^[2]。模拟中医病因建立阳虚模型的方法目前包括劳倦过度,房事不节;惊恐伤肾;苦寒泻下;寒湿困脾等。

模拟中医病因建立的阳虚动物模型多以脾肾两脏为主,并且多为复合因素建模。李震等^[3]将雄雌鼠同笼喂养,雄鼠每天游泳至无力下沉时捞出,用 4 周时间建立以“劳倦过度、房事不节”为病因的肾阳虚动物模型。杜维祥等^[4]通过猫吓鼠的方式建立肾阳虚模型,此法虽然遵循中医“恐伤肾”理论,但不符合实验动物伦理,且一般实验室猫、鼠共同饲养也较难实现,对实验资源有很大的浪费。对于这一局限性,有一项研究通过避水应激建立阳虚型肠易激综合征(IBS)动物模型,利用大鼠对水的天生恐惧感模拟“恐伤肾”病因,又可诱导 IBS 内脏高敏感^[5]。自然衰老也是造模的方法之一,但是此法虽然和人类阳虚发展过程最相似,但是造模时间至少 1 年以上,成本大,可操作性不高^[6]。苦寒泻下法多用于建立脾阳虚,或苦寒泻下和氢化可的松结合建立脾肾阳虚模型,大黄或番泻叶为常用药物。滕培颖等^[7]就是通过此方法每天按照 0.25 mL/100 g 肌注氢化可的松注射液,同时以 1 mL/100 g 灌胃大黄水煎液,连续

17 d 建立了脾肾阳虚动物模型。寒易伤阳,湿为阴邪,阻遏气机,损伤阳气,根据这一理论,章敏等^[8]的研究将大鼠放在温度区间(6 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度区间(90 ± 4)%的寒湿环境中,每天放置 8 h,持续 30 d,大鼠出现脾阳虚症状。

1.2 模拟西医病理

病理模型是运用现代实验技术在动物身上造成特定病理过程以模拟人的病理过程的一种模型。模拟西医病理建立阳虚模型的方法包括糖皮质激素如氢化可的松;抗甲状腺素药物如他巴唑、丙硫氧嘧啶;甲状腺切除;肩胛骨间棕色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)切除术;其他药物如腺嘌呤,羟基脲等以及衰老。

首先,下丘脑-垂体-靶腺轴功能紊乱是肾阳虚的病理机制之一,现代研究多通过干扰该轴的功能而建立肾阳虚动物模型。氢化可的松是糖皮质激素,可以使下丘脑-垂体-肾上腺功能减退,抑制促肾上腺皮质激素(ACTH)的释放,邝安堃等^[9]在 20 世纪 60 年代通过“氢化可的松”首次建立了肾阳虚动物模型,动物出现畏寒肢冷,腰膝酸软,精神不振,性功能低下,被毛疏松、失去光泽等“耗竭”现象,是最常用的肾阳虚动物模型。但有报道表明,糖皮质激素不同种类、剂量、制剂、给药方式所引起的造模结果是不同的,秦文艳等^[10]的研究采用灌胃、腹腔注射及皮下注射的方式给予小鼠不同剂量(12.5、25、50 mg/kg 体重)氢化可的松注射液 9 d,结果表明灌胃给药 25 mg/kg 剂量组成模率较其他组高,且各项指标均可呈现出肾阳虚的症状和体征,是比较可靠的肾阳虚造模方法。也有研究认为所谓的“耗竭现象”有可能是外源性糖皮质激素在体内蓄积造成机体代谢紊乱的毒性作用,所以氢化可的松等糖皮质激素具体的造模方法值得商榷。范景等^[11]利用使性腺轴功能紊乱的方法制造肾阳虚模型,对雄性小鼠按 0.1 mL/10 g 腹腔注射苯甲酸雌二醇(E2)大豆油稀释液,1 d1 次,连续 15 d。裴妙荣等^[12]和欧阳轶强等^[13]分别使用抗甲状腺药丙硫氧嘧啶和他巴唑制造甲状腺功能降低的大鼠肾阳虚模型。

通过手术方式也是建立阳虚模型的方法之一,如甲状腺切除术、BAT 切除术等。徐敏等^[14]通过手术切除甲状腺的方法复制“甲低”病理模型,发现实验大鼠存在与临床相同的病理改变及常见的证候表现,并且文章中首次报导阳虚主症畏寒喜暖的定

量检测装置,认为此检测方法比现在已有的耐冻实验和冰水游泳实验更能鉴别阳虚证型。BAT 通过产热维持体温,而动物切除肩胛间 BAT 后产热减少,利用这一原理韦祎等^[15]通过 BAT 切除术建立阳虚动物模型,结果显示动物模型效能产热温度峰值下降和产热体温曲线下面积减小,体重增长率降低,有能量代谢衰减的表现。

此外,还有通过破坏肾组织、影响肾组织能量代谢,抑制 DNA 合成以及诱导衰老达到造模目的的。有研究表明高浓度的腺嘌呤代谢产物沉积于肾小管,会因机械性阻塞肾小管和毒性作用,抑制肾组织中与物质代谢有关的酶活性,从而影响肾组织能量的代谢,造成肾功能衰竭^[16]。林海雄等^[17]选用雄性 SD 大鼠,皮下注射未提纯腺嘌呤,大鼠出现疲倦,饮水量减少,体重减轻等症状,以此建立大鼠阳虚模型。邵命海等^[18]比较腺嘌呤与氢化可的松两种造模方法,结果表明模型组睾酮(T)水平偏低,E2 水平偏高,前列腺腺体萎缩与精囊萎缩状态都更加明显,在体征与性激素指标方面更符合肾阳虚表现。且有研究表明,腺嘌呤模型较氢化可的松模型阳虚症状持续时间更长,且有肾损伤,更符合理想的阳虚动物模型,腺嘌呤浓度的控制是成功构建该模型的关键^[19]。羟基脲是核苷酸还原酶抑制剂,可以抑制 DNA 合成,刘福春等^[20]运用不同剂量的羟基脲喂雄性小鼠,通过观察出现“阳虚”症状及死亡率,得出每只 7.5 mg 的剂量最为合适。肖凌等^[21]建立 D-半乳糖诱导衰老动物模,结果表明其热休克蛋白 HSP70 表达下降,超氧化物歧化酶(SOD)活性下降,且与阳虚证的表现相符。

1.3 病证结合

病证结合动物模型以中医理论为指导,以西医复制疾病模型为基础,与某些致病因素相结合,建立具备西医疾病和中医证候的动物模型。西医疾病多采用阳虚证型为主的疾病,如肾病,慢性心衰,哮喘,骨质疏松(OP),便秘,腹泻型肠易激综合征(IBS-D)等。

中医认为脾肾阳虚是微小病变肾病之本,而阿霉素(ADR)肾病模型是此病典型的动物模型,鲁艳芳等^[22]仿照 Bertani 等^[23]方法,大鼠尾静脉一次性注射 ADR 5.5 mg/kg,结果表明模型组的病理改变与临床微小病变肾病相似,症状及微观指标也与阳虚表现相符。

ADR 不仅用于建立肾病模型,有研究表明 ADR 由于对心肌组织的亲和力高故其心脏毒性高于其他组织^[24],童妍等^[25]采用大鼠腹腔注射 ADR 4 mg/kg 的方法建立心阳虚型慢性心力衰竭模型,每周 1 次,共 6 周,此模型符合心阳虚的症候群,可能与 ADR 诱导氧化应激有关。除了通过药物建立阳虚型慢性心衰模型,还有通过手术结扎动脉的方式,如侯衍豹等^[26]利用冠脉结扎结合一氧化氮合酶抑制剂建模,杨喆等^[27]利用腹主动脉结扎结合寒冷刺激建模。

子病及母,肺肾为母子关系,故肾虚日久可累及于肺。陈博武等^[28]在已有哮喘大鼠肾阳虚病证结合模型基础上进行了改进^[29],以 1.5 mL/100 g 灌胃地塞米松混悬液联合 2% 卵蛋白雾化吸入建立哮喘肾阳虚模型,并通过大鼠四诊信息评价建模是否成功。

陈剑磨等^[30]等选用雌性 KM 小鼠,应用去卵巢法构建 OP 模型,按 25 mg/kg 的剂量皮下注射氢化可的松诱导肾阳虚模型,该研究耗时 8 周成功构建 OP 肾阳虚病证结合模型,但该法只模拟了绝经后女性人群,因而研究范围比较局限。

肾主一身阴阳,开窍于二阴,主司二便,肾中元阳对脾的运化及大肠的传导功能起着推动、温煦作用,胃肠疾病与阳虚关系密切,临床研究也表明阳虚患者易患消化系统疾病^[31]。岳奇等^[32]利用中医“味过于酸,脾气乃绝”理论,在以往建立阳虚便秘模型(食用白醋加活性炭冰水)文献的基础上进行了改进,即 4℃ 食用白醋加活性炭冰水再加止泻药物复方地芬诺酯,比未改进前病理变化更明显。韩博宇等^[33]在建立脾肾阳虚型 IBS-D 动物模型时,比较了三种 IBS-D 造模方法(母子分离、直肠扩张、避水应激^[34])联合番泻叶灌胃以及番泻叶灌胃剂量和观察周期的不同对造模结果的影响,实验结果显示,高剂量(10 g/(kg·d))组番泻叶灌胃 6 周联合直肠扩张组复制的病证结合模型最好,体现在体重、进食、握力、负重游泳时间、肛温;血清和尿液激素水平;代谢水平和粪便菌群的指标。

2 生理生化指标检测

目前关于阳虚的研究主要从内分泌、免疫、血液流变学、能量代谢、自由基、微量元素等方面着手,为阳虚的深入研究提供一定的参考依据。

表 1 常用肾阳虚动物模型建立方法
Table 1 Method of establishment of kidney-yang deficiency animal model

模型种类 Type of model	造模方法 Molding method	造模时间 Molding time
劳倦过度、房室不节型 Excessive fatigue, atrioventricular disjunction type	采用雄雌鼠比例 1:6 同笼喂养和雄鼠每日游泳至无力下沉时捞出 The ratio of male to female rats 1:6 were fed in the same cage and the male rats were fished out after swimming until they were unable to sink	28 d
自然衰老型 Natural aging type	大鼠自然饲养 Natural rearing of rats	1 年以上 More than 1 year
惊恐伤肾型 Panic attacks the kidneys type	将鼠均置于猫笼之下, 与猫仅隔笼网, 使得猫与鼠 24 h 共处而进行恐吓, 此外, 每天早晚各拿一只活鼠喂猫示众 The rats were placed under the cat cage and separated from the cat only by the cage net, so that the cat and the rat lived 24 hours a day to intimidate, in addition, every morning and evening a live rat to feed the cat to the public	7 d
氢化可的松型 Hydrocortisone type	以 25 mg/kg 体重灌胃给药 The drug was administered intragastrically with a body weight of 25 mg/kg	9 d
	以 25 mg/kg 体重肌注给药 The drug was injected intramuscularly with 25 mg/kg body weight	7 d、10 d、12 d
	以 30 mg/kg 体重肌注给药 The drug was injected intramuscularly with 30 mg/kg body weight	9 d、14 d
	以 10 mg/kg 体重腹腔注射给药 The drug was administered intraperitoneally with a body weight of 10 mg/kg	20 d
腺嘌呤型 Adenine type	以 25 mg/kg 体重皮下注射给药 The drug was administered subcutaneously with a body weight of 25 mg/kg	7 d
	2% 腺嘌呤混悬液 2 mL 灌胃给药 2 ml 2% adenine suspension was administered intragastrically	28 d
性激素型 Sex hormones type	苯甲酸雌二醇大豆油稀释液腹腔注射给药 Intraperitoneal injection of estradiol benzoate soybean oil diluent	15 d
抗甲状腺素型 Antithyroidin type	以 1 ml/100 g 体重 0.1% 灌胃给药丙基硫氧嘧啶 0.1% Propylthiouracil was intragastrically with a body weight of 1 ml/100 g	42 d
	灌胃他巴唑 30 mg/kg/周 Methimazole was intragastrically with a body weight of 30 mg/1kg/1week	21 d
羟基脲型 Hydroxyurea type	7.5 mg 羟基脲腹腔注射给药 Intraperitoneal injection of 7.5 mg hydroxyurea	7~15 d 不等, 以出现“阳虚”症状为度 Ranging from 7 to 15 days, in order to appear “Yang deficiency” symptoms for degrees
手术法 operation	甲状腺切除、卵巢切除、睾丸切除、肾上腺切除 Thyroidectomy, ovariectomy, orchiectomy, adrenalectomy	20 d 左右

2.1 阳虚与内分泌

上文中已经提到过, 邝安堃通过实验研究说明阳虚与内分泌功能密切相关。沈自尹^[35]在此基础上进行了临床验证, 结果表明肾阳虚患者 24 h 尿 17 羟皮质类固醇含量普遍低于正常值, 48 例肾阳虚患者中有 20 例丘脑-垂体-肾上腺皮质功能异常, 而 30 例正常人中仅 1 例。沈自尹^[35]认为肾阳虚患者存在垂体-肾上腺、甲状腺、性腺功能紊乱。这一结论得到了很多研究者的验证。戴冰等^[36]的研究结果显示, “氢化可的松”肾阳虚模型小鼠与对照组相比, 血清 ACTH、血清皮质醇(Cor.)、促甲状腺激素、三碘甲腺原氨酸(T₃)、甲状腺素(T₄)水平降低, 血清促卵泡素(FSH)、E₂、T 水平升高, 并认为 Cor. 的水平高低作为反映肾上腺皮质功能的重要指标, 可用于评价肾虚模型建立的成功与否, 尤其是对于采用糖皮质激素法建立的肾虚模型。杨宏杰等^[37]和凌昌全等^[38]的研究均认为, 阳虚患者肾上腺皮质功能低下是由于糖皮质激素受体数量或活性的下降。刘旭光等^[39]通过比较正常和“氢化可的松”阳虚大鼠血中 ACTH 与 Cor. 含量的昼夜变动情况, 发现正常大鼠血中 ACTH、Cor. 均有明显昼夜节律变化, 而阳虚大鼠此昼夜节律变化消失, 且振幅、中值减小。

以上研究以从现象到原因、从静态到动态的角度说明了阳虚患者内分泌功能低下。

2.2 阳虚与免疫系统

脾阳虚时免疫功能低下可体现在免疫细胞因子的变化, 韦祎等^[15]在比较通过 BAT 切除术及术后给予高脂饲料建立的脾阳虚动物模型组与对照组免疫功能的研究中, 发现模型组胸腺指数, 脾指数, 白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)均显著降低, 表明模型组大鼠免疫功能低下。

2.3 阳虚与血液流变学

阳虚证可由气虚发展而来, 故有“气虚者阳虚之渐, 阳虚者气虚之甚”的说法。气能生血, 又能行血, 气虚不仅能引起血液虚少, 虚者无不滞者, 还能因为气虚推动乏力导致血瘀, “阳虚则寒”, 寒则气血凝滞, 血流缓慢, 是造成血液流变异常的主要原因。李学玉等^[40]的研究表明, 阳虚患者全血粘度、血浆粘度、红细胞压积、纤维蛋白原明显高于对照组。也有研究表明, 阴虚、阳虚都存在血液流变学的异常。刘素蓉等^[41]的研究对比了阴虚、阳虚、正

常人血流变学方面的差异, 实验结果显示阴虚、阳虚两证与正常人相比均有血液粘度增高, 红细胞电泳时间延长, 血小板聚集率高的表现, 说明两证均表现出血液在血管内失去了“如水之流”的生理状态, 形成血瘀。

2.4 阳虚与能量代谢

阳虚与机体能量代谢关系密切, 阳虚的症状表现与基础代谢率低、能量代谢水平下降、产热不足的表现相似。唐汉庆^[42]的研究探讨了 BAT 切除术、(高脂饮食)和隔日寒冷环境刺激制备的脾阳虚大鼠与正常大鼠能量代谢的差异, 实验表明, 脾阳虚证大鼠能量代谢水平下降, 血糖和甘油三酯减少, 三磷酸腺苷减少, 体温下降。

Na⁺-K⁺-ATP 酶在人体正常代谢中具有非常重要的作用, 是存在于细胞膜上的一种特殊蛋白质, 通过分解 ATP 维持细胞内外液的渗透压, 酶活性升高, ATP 消耗也增加, 体内能量消耗和产热也增强, 反之则越低^[43]。滕培颖等^[7]对比了“氢化可的松”阳虚动物模型与正常动物多个脏器组织能量代谢水平, 结果表明模型组肝、心、肾、小肠组织的 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性均较正常组显著降低, 表明阳虚动物模型以上组织的能量代谢水平均降低。

2.5 阳虚与自由基

SOD 是存在于生物体内的一种抗氧化金属酶, 可延缓由于过量的自由基对细胞结构和功能产生的损害, 修复受损细胞。何晓红等^[44]观察“氢化可的松”大鼠模型组与对照组氧化相关指标含量的变化, 结果表明, 模型组红细胞 SOD 及血浆中谷胱甘肽过氧化物酶明显低于对照组, 而组织中的单胺氧化酶与过氧化脂质(LPO)高于对照组。王钰霞等^[45]在观察“氢化可的松”阳虚小鼠自由基代谢情况的研究中发现, 阳虚小鼠血中 SOD 活力下降, 丙二醛(MDA)含量升高。以上研究表明机体在阳虚时自由基产生与清除失衡, 过剩的自由基引起细胞膜的脂类过氧化, 膜脂过氧化的产物如 LPO、MDA 等明显升高, 导致组织细胞损伤。

2.6 阳虚与微量元素

锌、镁、铜等微量元素对于机体很多酶活性的发挥具有重要作用, 锌是核酸蛋白合成所必需的微量元素^[46], 阳虚症状与微量元素的代谢紊乱具有相关性。

吴瑞艳等^[47]研究表明, 30~60 岁肾阳虚伴夜尿

频多、尿急、尿失禁等排尿异常的患者体中的锌、镁、铜含量水平较正常人偏低,且补充锌、镁、铜后可改善患者排尿异常的症状。马威等^[48]对比了使用右归丸治疗“羟基脲”肾阳虚动物模型前后家兔血中微量元素的代谢情况,发现家兔模型全血铜、锌、铁含量与造模前相比显著降低,治疗后全血铜、锌、铁元素含量比治疗前显著升高,表明右归丸可以使“羟基脲”肾阳虚动物模型微量元素的含量恢复正常水平。以上研究说明,阳虚患者存在锌、铜、铁、镁等微量元素代谢紊乱。

3 分子生物学指标

从整体角度探析生物体内的动态变化的组学技术有蛋白组学、代谢组学、基因组学,与中医理论体系的“整体观”“动态观”相似,更深入地探讨阳虚证候的本质。

梁华等^[6]的研究以“自然衰老”的雄性小鼠为肾阳虚研究对象,比较与青年小鼠的相关差异蛋白的表达,并对比金匱肾气丸给药前后差异蛋白的表达,结果显示青年组与肾阳虚组、肾阳虚组与给药组分别鉴定出 995、674 个差异蛋白,79 个差异蛋白在金匱肾气丸给药后回调,研究表明金匱肾气丸可调整阳虚证相关的多个代谢通路中差异蛋白的变化,这些差异蛋白主要参与破骨细胞分化、糖脂代谢、细胞凋亡与自噬、氧化还原等生物功能,可初步推测肾阳虚证物质基础与此相关。詹正烜等^[49]的研究对比“甲状腺片混悬液”肾阴虚、“氢化可的松”肾阳虚模型大鼠股骨皮质骨差异蛋白的表达,结果表明,两证蛋白表达趋势相反的是 Colla I,肾阳虚组中主要与能量代谢有关的 Ltk、Pkm2、Atp5a 等蛋白表达下调,这可能是不同肾虚状态骨量下降程度差异的原因之一。

罗向霞等^[50]研究发现,代谢组指纹图谱的差异性在糖尿病视网膜病变(DR)阳虚患者与正常组之间显现,有机酸类和氨基酸类为两者潜在生物标记物,推断阳虚型 DR 病情进展与机体能量代谢相关。大量证据表明肾阳虚证与肠道菌群代谢紊乱有关,Chen 等^[51]的研究通过采用粪便代谢组学结合 16SrRNA 基因测序,分析正常组与“氢化可的松”肾阳虚组肠道菌群的差异,结果显示,肾阳虚证与三种肠道菌群和十一种相关代谢产物有关,这些代谢产物会介导代谢紊乱如氨基酸代谢、能量代谢、甲

胺代谢、胆汁酸代谢和尿素循环、短链脂肪酸代谢、神经、内分泌、免疫和消化系统、脂质代谢和碳水化合物代谢。

葛继荣等^[52]研究绝经后骨质疏松症肾阳虚证患者的基因表达谱,实验结果表明,与细胞信号传导有关的基因 *TRPC6*、*PRKG1*、*SDPR*、*CNKSR*、*DOK6*,与免疫功能有关的基因 *JAM3*、*TAL1*、*HPGD*、*IL5ra*,与钙离子活性有关的基因 *SLC24A3*、*ABLIM3*、*LTBP1*、*PCSK6*,与神经内分泌有关的基因 *SERPINE2*、*PTPRN*,这些基因均呈下调趋势。李震等^[3]对比了“劳倦过度、房室不节”型肾阳虚小鼠模型与对照组的差异表达基因,结果显示,差异表达基因主要与生长激素、泌乳素、促性腺激素、炎症/免疫、促细胞凋亡以及影响多巴胺生成的限速酶、影响凝血纤溶机制和精子发育代谢的相关基因有关。

4 问题与展望

目前,学者们已经从动物模型、生理生化指标检测、分子生物学指标检测等多方面对阳虚开展了大量研究,取得了很多进展。

关于阳虚动物模型的研究通过多方面、多手段、多技术不断发展,比较常用的是糖皮质激素造模法,但此法多偏重肾阳虚,且有些文献存在不同脏腑阳虚症状相互混淆的现象,用同一种药物或造模方式建立的阳虚模型所属脏腑却不同,且外观和行为表现并没有客观量化的检测方法,判断方法较为主观。目前对于阳虚模型建立是否成功,尚没有规范的统一判断标准,验证模型是否成功主要从以下三个方面入手:外观及行为表现;实验室指标;药物反证。且由于证在疾病过程中是逐步演变的,甚至会从单一的证型向复合证型演变,因此,阳虚造模要密切观察时间、剂量可能引起的证的变化,以及造模成功比较明确的剂量和时间,根据不同的实验目的选择接近实验要求的动物模型进行研究。

不管哪种造模方式都只是在某个方面模拟阳虚临床证候,并不能与临床阳虚症状全部吻合。关于阳虚本质及物质基础的研究虽然包括很多指标,不同的方面,但特异性不高,且多为实验研究,与临床的诊断与治疗仍存在距离。因此,未来的研究需要更多的关注临床与基础的结合,以临床为切入点,进行大量关于阳虚患者具有特异性的检测指

标,将阳虚这一基础证型通过脏腑辨证更细化和全面,完善和规范不同脏腑阳虚证的诊断标准,更有利于动物模型制作方法的统一,也更有利于对阳虚本质的深入理解,为更具体的辨证论治及临床治疗提供相应的依据和参考价值。

参考文献:

- [1] 李灿东, 吴承玉. 中医诊断学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012.
- [2] 任汝静, 杜成成, 李晓娟, 等. 中医证候模型的发展及意义 [J]. 中国中医药信息杂志, 2018, 25(12): 8-10.
- [3] 李震, 贾素菊, 王华云, 等. 应用诱导劳倦过度、房事不节法建立肾阳虚模型的研究 [J]. 山东中医学院学报, 1994, 18(6): 418-419.
- [4] 杜维祥, 沈世林, 马玉清. 金锁二仙饮对雄性肾虚小鼠雄激素的调节作用 [J]. 中国中医药科技, 2010, 17(5): 393-394.
- [5] 朱佳杰, 苏晓兰, 刘珊, 等. 病证结合复制大鼠脾肾阳虚腹泻型肠易激综合征模型的探讨 [J]. 上海中医药杂志, 2016, 50(9): 15-17, 35.
- [6] 梁华, 王燕, 朱明雪, 等. 基于方证相关探寻肾阳虚证物质基础的蛋白质组学研究 [J/OL]. 中华中医药学刊, [2020-06-16] (2020-07-07), <https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?dbcode=CAPJ&dbname=CAPJLAST&filename=ZYHS2020061302T&v=nl9q84yIAN7IWNokhx0ZfaPjr3CgJyHeMdD7TToVV95WH80IKcMm65arhP11VWz>.
- [7] 滕培颖, 赵瑞芝, 徐福平, 等. 附子半夏汤对阳虚模型大鼠不同脏器能量代谢的影响 [J]. 新中医, 2017, 74(2): 4-6.
- [8] 章敏, 陈刚, 王勇, 等. 外湿致病动物模型研制探讨 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(4): 748-750.
- [9] 邝安堃. 某些助阳药对于大剂量皮质素所致耗竭现象的影响 [J]. 中华内科杂志, 1963, 11(2): 113-116.
- [10] 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.
- [11] 范景, 吕圭源, 李恒辉, 等. 杜仲提取物对雌二醇致肾阳虚小鼠的影响 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2009, 19(1): 1-4.
- [12] 裴妙荣, 王晓英. 用甲状腺功能减退症大鼠确立脾肾阳虚证之病证结合模型的探讨 [J]. 世界中西医结合杂志, 2007, 2(5): 299-301.
- [13] 欧阳轶强, 邹移海, 张薇, 等. 对大鼠他巴唑肾阳虚证动物模型下丘脑-垂体-靶腺轴几项指标的考察 [J]. 中医药学刊, 2006, 24(9): 1658-1661.
- [14] 徐敏, 欧明, 丘和明, 等. 甲低“阳虚”兔模型畏寒主证的定量观测方法 [J]. 广州中医学院学报, 1988, 5(4): 219-222.
- [15] 韦祎, 唐汉庆, 李晓华, 等. 附子理中汤对脾阳虚证大鼠免疫细胞因子的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(21): 179-182.
- [16] 肖静, 王毅兴, 高建东, 等. 肾阳虚证的研究进展 [J]. 上海中医药大学学报, 2008, 22(2): 73-76.
- [17] 林海雄, 王晓彤, 张韧. 肾阳虚模型对甘氨酸受体 mRNA 表达的影响 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(6): 1518-1520.
- [18] 邵命海, 肖静, 王毅兴, 等. 从“肾主生殖”角度评价腺嘌呤与氢化可的松诱导的肾阳虚模型 [J]. 上海中医药杂志, 2008, 42(2): 57-59.
- [19] Ogirima T, Tano K, Kanehara M, et al. Sex difference in osteopenia induced by adenine in rats [J]. Tianjin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2005, 22(3): 249-252.
- [20] 刘福春, 张家庆, 李菊仙, 等. 羟基脲制造“阳虚”动物模型的研究 [J]. 吉林中医药, 1984, (5): 31-33.
- [21] 肖凌, 王静芝, 翁鑫宇, 等. 衰老阳虚大鼠生化指标及 HSP70 表达的研究 [J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(1): 101-103.
- [22] 鲁艳芳, 黄琼霞, 袁军, 等. 阿霉素肾病模型与中医阳虚关系的探讨 [J]. 中国中医药科技, 2004, 11(5): 259-260.
- [23] Bertani T, Poggi A, Pozzoni R, et al. Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats: sequence of pathologic events [J]. Lab Invest, 1982, 46(1): 16-23.
- [24] 余薇, 吴基良, 汪晖. 阿霉素心脏毒性防治研究进展 [J]. 咸宁学院学报(医学版), 2008, 22(4): 351-354.
- [25] 童妍. 温补心阳法治疗心阳虚型慢性心力衰竭大鼠的分子机制研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2012.
- [26] 侯衍豹, 尹翠翠, 高敏, 等. 基于呼吸代谢系统动态监测慢性心衰(心阳虚证)大鼠模型的建立及评价 [J]. 中国中医急症, 2015, 24(8): 1335-1338.
- [27] 杨喆, 柴洪佳, 王大伟. 阳虚型慢性心力衰竭 SD 大鼠模型的制备及指标判定 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 14(14): 1593-1596.
- [28] 陈博武, 贾茹, 钱晨, 等. 基于中医四诊方法对哮喘大鼠肾阳虚证模型建立的评价研究 [J]. 中国中医药科技, 2017, 24(5): 537-539, 543.
- [29] Yilmaz O, Karaman M, Bagriyanik HA, et al. Comparison of TNF antagonism by etanercept and dexamethasone on airway epithelium and remodeling in an experimental model of asthma [J]. Int Immunopharmacol, 2013, 17(3): 768-773.
- [30] 陈剑磨, 张胜军, 夏炳江. 骨质疏松肾阳虚病证结合模型构建的实验研究 [J]. 中国中医急症, 2015, 24(2): 201-203, 254.
- [31] Huang TG., Li QZ., Yin YQ, et al. Composition of intestinal microflora associated with Yang-deficiency [J]. J Tradit Chin Med Sci, 4(3): 254-260.
- [32] 岳奇, 刘聪, 王玉娥, 等. 阳虚便秘大鼠模型的建立及评价 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(45): 143-145, 153.
- [33] 韩博宇. 脾肾阳虚证 IBS-D 大鼠模型的建立与生物学基础的探索 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [34] Bradesi S, Schwetz I, Ennes HS, et al. Repeated exposure to water avoidance stress in rats: a new model for sustained visceral

- hyperalgesia [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005, 289(1): G42-G53.
- [35] 沈自尹. 肾阳虚证的定位研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 1997, 17(1): 50-52.
- [36] 戴冰, 张嘉妮, 杨梦琳, 等. 氢化可的松致肾虚证小鼠模型的建立及相关指标的评价 [J]. *中国实验动物学报*, 2017, 25(1): 70-73.
- [37] 杨宏杰, 郑敏. 阳虚患者糖皮质激素受体改变及意义 [J]. *中国病理生理杂志*, 2000, 16(10): 1081.
- [38] 凌昌全, 李敏, 朱德增, 等. 阴阳虚证与糖皮质激素受体关系的临床与实验研究 [J]. *浙江中西医结合杂志*, 2001, 11(9): 532-534.
- [39] 刘旭光, 宋开源, 余曙光, 等. 阴虚阳虚大鼠促肾上腺皮质激素及皮质酮昼夜节律的差异研究 [J]. *四川中医*, 2002, 20(1): 6-8.
- [40] 李学玉, 张子贵. 中医阳虚证血液流变学观察 [J]. *微循环技术杂志*, 1996, (2): 65, 103.
- [41] 刘素蓉, 杨世兴, 赵淑媛, 等. 阴虚阳虚证与血液流变学研究 [J]. *中国医药学报*, 1989, 42: 12-14.
- [42] 唐汉庆. 脾阳虚证大鼠能量代谢和神经内分泌改变的实验研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2010.
- [43] 潘承政, 韦袞政. $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性与阳虚证的内在联系探讨 [J]. *环球中医药*, 2013, 6(11): 851-853.
- [44] 何晓红, 韩信昌, 温富春, 等. 氢化考的松致大鼠“阳虚”动物模型 SOD、GSH-Px、MAO-B、LPO 的含量变化 [J]. *老年学杂志*, 1992, (2): 116-117.
- [45] 王钰霞, 陈魁敏, 郝伟, 等. 真武汤对阳虚小鼠作用的实验研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2001, 7(1): 48-49.
- [46] 毕慧玲, 刘锦宏. 微量元素锌、硒、铅及生殖激素与生殖健康的关系 [J]. *中国卫生标准管理*, 2017, 8(18): 29-31.
- [47] 吴瑞艳, 崔淑华, 张悦, 等. 肾阳虚证伴夜尿频多者微量元素中锌、铁、镁、铜值低于正常人水平 [J]. *系统医学*, 2018, 3(15): 148-151.
- [48] 马威, 薛莎, 汤学军, 等. 右归丸对肾阳虚动物模型血液微量元素含量的影响 [J]. *中国中医药科技*, 2000, 7(3): 168-169.
- [49] 詹正烜, 郑乃熙, 张英杰, 等. 肾阴虚、肾阳虚模型大鼠股骨皮质骨差异蛋白质表达的分析 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2017, 37(10): 1242-1247.
- [50] 罗向霞, 段俊国, 李响. 糖尿病视网膜病变阳虚病机的代谢组学物质基础 [J]. *中国中医眼科杂志*, 2013, 23(6): 394-397.
- [51] Chen R, Wang J, Zhan R, et al. Fecal metabonomics combined with 16S rRNA gene sequencing to analyze the changes of gut microbiota in rats with kidney-yang deficiency syndrome and the intervention effect of You-gui pill [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 244: 112139.
- [52] 葛继荣, 谢丽华, 陈可, 等. 绝经后骨质疏松症肾阳虚证差异表达基因分析 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2012, 18(2): 134-138.

[收稿日期] 2020-06-10