

综 述

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2015.11.020

脾虚证动物模型造模方法述评

吴天石¹, 张会永², 张 哲², 杨关林^{1*}

(1. 辽宁中医药大学第一临床学院, 辽宁省沈阳市皇姑区崇山东路 79 号, 110032; 2. 辽宁中医药大学附属医院)

摘要 动物模型的正确复制是实验成功的前提和基础。目前中医脾虚证单因素造模方法有苦寒泻下法、饮食不节法、劳倦过度法、外湿困脾法、现代医学法; 复合因素造模方法有劳倦过度合并饮食失节法、苦寒泻下合并饮食失节法、苦寒泻下合并劳倦过度法、外湿困脾合并饮食失节法、劳倦过度合并外湿困脾。虽然造模方法多样, 但存在诸多问题, 如造模方法分类不确切、每种造模方法所表现出症状的侧重点不同、复合因素造模方法所选用单因素的随机性大、动物种属不同所出现的症状不同、同一种属动物给予造模药物剂量差异大、给药持续时间差异大以及利用相同的造模方法国内外造出模型存在差异性。

关键词 脾虚证; 动物模型; 模型制备方法

中医证候动物模型是利用动物的某些生物体表征来模拟人体证候特征的一类生物表征模型^[1], 动物模型的正确复制是还原疾病发生发展规律的重要保障, 也是一个实验成功的前提和基础。“脾为后天之本”表明“脾”在中医藏象学说中的重要地位, “脾主运化”是脾的生理功能, 反映出脾为“气血生化之源”这一生理特点, 而脾运化失常常表现为脾气虚。脾气虚证是指气虚脾失健运, 以食少、腹胀、大便溏薄、神疲、肢体倦怠、舌淡脉弱等为常见症的证候^[2]。现今脾虚证造模方法较为繁杂, 本质却多属于脾气虚。本文就脾气虚证动物模型造模方法和模型评价进行总结与分析, 为今后脾虚证动物模型制备提供参考。

1 单因素造模方法

1.1 苦寒泻下法

该造模方法最早见于北京师范大学生物系消化生理教研组^[3], 研究者根据“大忌苦寒之药损其脾胃”, 采用大黄煎剂 1 g/ml 每天灌胃昆明种健康小鼠, 连续 8 天后小鼠出现便溏、体重减轻、消瘦、倦怠、少动、四肢无力、脱肛、毛发枯涩等症状, 后以四君子汤进行治疗, 上述症状均明显好

转。陈小野等^[4]用 200% 的生大黄煎剂 6 ml 每天 1 次给 Wistar 大鼠灌胃, 持续 12 天, 大鼠出现便溏、体重增长缓慢、食欲减退等症状, 并出现胸腺湿重与胸腺指数降低、cAMP 与 cGMP 降低趋势、cAMP/cGMP 升高趋势等理化指标的改变。其他同样采用大黄水煎剂灌胃给大鼠制造脾气虚模型的实验中, 还有大鼠表现行动迟缓、拱背、毛色失泽等症状, 个别大鼠甚至出现脱肛现象, 并出现淋巴细胞转化率降低、血清木糖吸收率下降、血浆胃泌素含量下降等理化指标的改变, 后分别予以补中益气汤、白术茯苓汤、四君子汤反证治疗以确认模型成功^[5-7]。除大黄外, 苦寒泻下常用药物还有番泻叶, 如于船等^[8]采用 0.3 g/ml 番泻叶药液给小鼠灌胃, 每次 1 ml, 每天 1 次, 持续 5 天小鼠便出现便溏、体重减轻、被毛失泽、肛门肿胀等症状, 个别小鼠有脱肛现象, 并出现消化道推进速度增快的理化指标改变, 后以四君子汤进行反证治疗; 刘汶等^[9]用 20 ml/kg 番泻叶煎剂给 Wistar 大鼠灌胃, 每天 2 次, 20 天后大鼠出现纳呆、萎靡不振、反应迟钝、嗜睡等症状。

应用苦寒泻下法获得的动物模型存在一些问题, 如王学庆等^[10]用 50% 的大黄水煎剂对家兔按体重的 20% 灌胃, 持续 10 天后模型动物不仅表现出脾气虚的症状如食量减少、便溏、体重减轻, 还出现了畏寒蜷卧这一脾阳虚症状。出现脾阳虚症状

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)(2013CB531704)

* 通讯作者: yangguanlin945@163.com

所用的药物浓度和给药量均与脾气虚证造模时基本相同,只是造模时间略长,反映出气虚日久伤阳这一特点。另外一些文献将应用小承气汤加减变化而来的造模方法称为耗气破气法,例如阚甸嘉等^[1]将大黄、厚朴、枳实以 1:1:1 比例配成 2 g/ml 的药液给 Wistar 大鼠灌胃,6 周后大鼠出现体重增长减慢、倦怠懒动、拱背消瘦、毛色粗糙等症状,出现血清免疫球蛋白 G (IgG)、超氧化物歧化酶 (SOD) 含量降低等改变,并予以四君子汤反证治疗。但我们并不赞同将该法称为“耗气破气法”,因该种造模方法为小承气汤变化而来,所以我们认为其仍属于苦寒泻下法范畴。

1.2 饮食不节法

该种造模方法最早见于 1983 年黄柄山等^[2]所做的研究中,研究者根据中医“饮食自倍,肠胃乃伤”理论,给小鼠喂饲甘兰并每 2 天加喂猪脂 1 次,喂养 9 天后小鼠出现体重减轻、体温下降、纳呆、萎靡不振、毛色枯槁等症状,之后以自拟健脾中药反证治疗。严智强等^[3]根据“人以水谷为本,故人绝水谷则死”理论采用饥饿法制备家兔脾虚模型,停食停水连续 7 天后家兔出现精神萎靡、体重减轻、行动迟缓、毛杂乱无光泽等症状及耳部发光强度降低等理化指标改变。罗光宇等^[4]对 Wistar 大鼠第 1 天用 50°白酒 2 ml 灌胃,第 2 天以后每天用食醋 2 ml 灌胃持续 9 天,大鼠出现腹泻、体重减轻、体温下降、活动减少、蜷卧嗜睡等症状,并有血浆甲状腺素总量 (TT4) 浓度降低、红细胞 C3b 受体花环率降低等理化指标改变,后予四君子汤加以反证。另有文献报道应用类似造模方法,造模后动物亦出现先便干后便溏、拱背、皮毛枯槁等症状及红细胞 C3b 受体黏附长环率降低、血浆甲状腺素 (T4) 浓度降低^[5-10]。因该造模方法给大鼠用醋灌胃,故认为该种造模方法所模拟的病因不十分贴切现代人的饮食、生活习惯。

1.3 劳倦过度法

《黄帝内经》云:“人饮食劳倦即伤脾”,所以劳倦过度也是导致脾虚的一个致病因素。陈小野等^[4]将 Wistar 大鼠置于 22℃ 的水中,使大鼠游泳至连续“冒泡”5 次终止,每天 2 次,间隔 5 h,连续 12 天后大鼠出现体重增长缓慢、体温升高、精神倦怠、懒动、毛色枯黄等症状,出现血木糖吸收率降低、胸腺湿重与胸腺指数降低等改变。曲长江等^[11]使大鼠游泳 2~5 min,以身体下沉为度,每天 1 次,持续 7 天,大鼠除上一研究症状外还出

现便溏、反应迟钝等症状,并有红细胞 C3b 受体花环率降低、IgG 含量降低。胡琳琳等^[12]应用劳形与劳神造出劳倦过度脾气虚模型,具体方法为使小鼠每天游泳至力竭,同时剥夺睡眠时间 5 h,连续 12 天,小鼠出现腹泻、体重减轻、精神萎靡、倦怠、少动、眯眼、反应迟钝等症状及尿木糖排泄率降低、消化道推进速度增快等理化指标的变化。

1.4 外湿困脾法

外湿作为一种致病因素,若其过盛,脾被湿困,脾失健运,即为脾虚湿困证。脾虚湿困证是指脾气虚弱,湿浊内停,以食少、腹胀、便溏、身体困重或有微肿、舌淡胖、苔白润或腻、脉濡缓等为常见证的证候^[13]。张六通等^[14]在研究外湿致病机理时,模拟湿邪致病因素,将大鼠放入温度 18~25℃、湿度 >90% 的造模箱中,每天 12 h,持续 108 天后,大鼠表现出便溏、体重增长缓慢、消瘦、饮水量减少、精神萎靡、毛发粗糙无光泽,并有胃泌素分泌减少、巨噬细胞吞噬功能降低等指标的改变。章敏等^[15]将大鼠置于温度为 (21±2)℃、相对湿度为 (90±4)% 的环境中,每天刺激 8 h,持续 30 天,大鼠除上述症状外还出现食量减少、嗜卧懒动。我们认为,利用此种造模方法所致的模型并不是单纯的脾气虚模型,存在湿邪为患,故脾气虚症状不十分典型。

1.5 现代医学法

利用现代医学方法所造动物模型出现腹泻、便溏、消瘦、倦怠乏力等症状与中医脾虚证候较为相似,但其所根据的原理尚无法用中医学理论揭示,而且现代医学中以慢性肠炎为代表的、与脾虚证有相似症状的疾病并不完全等于中医学的脾虚证,故仅将其称为类脾虚模型以供参考。

利用现代医学方法所致的类脾虚模型造模方法主要有利血平法、秋水仙碱法、X 线照射法三种。利血平法^[21-27]主要是通过动物皮下、腹腔内或者肌肉注射利血平;秋水仙碱法^[28]造模的动物目前只见于大鼠,方法是用秋水仙碱灌胃;X 线照射法^[29]的模型动物也只见于大鼠,方法是对大鼠用 X 线照射腹部。三种方法在各自的干预因素下持续一段时间后,模型动物均可出现便溏、消瘦、倦怠乏力、体重减轻等类脾虚症状,理化指标方面则表现为消化道推进速度增快、尿木糖排泄率降低,并且采用这三种方法造模的研究多在造模后予以了四君子汤、理中丸等方剂加以反证。此外,有文献报道利用利血平造模,模型动物会出现脾阳虚的症状

即体温低下、耐寒力差^[30-32]。利用利血平导致脾阳虚症状的模型和类脾气虚模型的利血平剂量及注射部位均无明显差别,但出现的症状却有差异,说明利用现代医学方法造模并不成熟,我们认为这也是运用现代医学方法造模的局限性之一。

2 复合因素法

随着对脾虚证认识的不断加深,复合因素造模法已经成为复制脾虚模型的主要方法,其造模原理更加贴近临床,模型稳定程度也较高。

2.1 劳倦过度合并饮食失节法

谢仰洲等^[33]对 Wistar 大鼠采用过劳合并饮食失节法,使大鼠隔天在跑步机上跑步 30min,使大鼠过劳;单日用猪油灌胃每天 2 次、每次 3 ml,双日喂不限量大白菜,使动物饮食失节,连续 3 周,大鼠出现体重下降、体温降低、倦怠乏力、毛色枯焦无光泽等症状,并出现肝细胞线粒体的磷/氧比值(ADP/O)降低、血浆皮质酮含量下降,造模后用四君子汤治疗加以反证。应用此种方法造模的同类文献报道,模型动物多出现便溏、纳差、体重减轻、倦怠乏力、毛色焦枯无光泽等症状,并出现胸腺指数及脾脏指数等指标的降低^[34-35]。

2.2 苦寒泻下合并饮食失节法

陈小野等^[36]将厚朴、枳实、大黄以 3:3:2 比例制成 100% 煎剂对大鼠隔日 1 次灌胃,4 ml (雄性)或 3 ml (雌性),同时隔日喂食,连续 26 周,大鼠表现出便溏、体重减轻、蜷缩、拱背、精神萎靡、毛枯黄,理化指标检测则显示胸腺指数及脾脏指数降低、外周血 T 细胞比率降低。我们认为该造模方法应用小承气汤加减变化,仍属于苦寒泻下法范畴,饥饱失常属于饮食失节的范畴,故将此种方法概括为苦寒泻下合并饮食失节法。

2.3 苦寒泻下合并劳倦过度

曲长江等^[37]使大鼠游泳 2~5 min,以身体下沉为度,并予 100% 的番泻叶煎剂灌胃,持续 7 天,大鼠出现便溏、懒动、被毛散乱无光泽,并有红细胞 C3b 受体花环率降低、IgG 与免疫球蛋白 M 含量降低。此种方法较单一应用劳倦过度法所复制模型的症状更明显。

2.4 外湿困脾合并饮食失节法

郭金龙等^[37]在研究湿阻证造模时将大鼠置于高温、高湿的环境中,并每天给大鼠 20% 的蜂蜜饮料,及猪脂灌胃,5 天后大鼠出现体重减少、体温降低、纳呆、饮水量减少、精神萎靡、嗜卧懒

动,后以不换金正气散治疗加以反证模型成功。其他文献报道应用此种造模方法,还表现出血清胃泌素浓度降低、小肠 D-木糖吸收率下降等理化指标的改变,采用反证的方剂为藿朴夏苓汤^[38]。我们认为上述症状涵盖脾气虚证的表现,并同时具有湿阻中焦的特点,符合脾虚湿困证的表现,故认为其所造模型可作为脾虚湿困证模型。

2.5 劳倦过度合并外湿困脾

邱赛红等^[39]在研究芳香化湿药作用机理时,将大鼠放入水深 20 cm、水温 25~27℃ 的水槽中,游泳 15 min,游泳完毕后立即予 4℃ 的冷水 20 ml/kg 灌胃,然后将动物置于笼底积有 4 mm 水的饲养笼中,5 天后大鼠有便溏、体重减轻、活动减少、饮水量减少、血清胃泌素降低、胃肠推进迟缓等脾虚湿困证的表现。上述症状符合脾虚湿困证的表现,故亦将其归属为脾虚湿困证模型。

3 模型评价

关于脾虚模型的评价种类繁多,我们通过宏观表征、理化指标以及所用反证方剂分别加以总结。

3.1 宏观表征

《中医临床诊疗术语》^[2]指出,脾气虚证是指气虚脾失健运,以食少、腹胀、大便溏薄、神疲、肢体倦怠、舌淡脉弱等为常见症的证候。《中药治疗脾虚证的临床研究指导原则》^[40]指出,脾气虚证的主症为胃纳减少或食欲差、大便不正常(溏、烂、先硬后溏、时溏时硬)、食后腹胀或下午腹胀。国内学者^[41-42]认为,脾气虚证应该出现大便不正常(时软、时溏、时干)、食欲减退、消瘦、体倦乏力、神疲懒言、肛温及阴囊温度正常或下降不明显等症状。我们综合以上观点作为模型评价标准对上述脾气虚模型进行评价。

苦寒泻下法所致的脾气虚模型以便溏、脱肛、消瘦、食量减少、皮毛枯槁、蜷缩、精神萎靡、拱背等症状较为常见,体重减轻、少动、四肢无力等症状出现的次数较少,腹胀、久泻不止、肛门肿胀等为特有症状。饮食不节法所致的脾气虚模型常见体重减轻、少动、皮毛枯槁、体温降低、蜷缩、拱背、嗜睡、肛周污秽等症状,偶见腹泻、便溏或便干、精神萎靡、行动缓慢、四肢无力等症状,便干、闭目无神为特有症状。劳倦过度法所致的脾气虚模型以精神萎靡、倦怠、懒动、扎堆、皮毛枯槁、眯眼、抓取时挣扎无力等症状较为常见,较少出现的有腹泻、便溏、体重减轻、嗜卧、脱毛等症

状。外湿困脾法所致的脾气虚模型以便溏、体重增长缓慢、精神萎靡、嗜卧、懒动、皮毛枯槁等症状较为常见，偶见消瘦、食量减少等症状，湿邪为患以饮水量减少为突出表现。

四种造模方法虽然均是脾气虚模型但主要症状有所不同，表明脾气虚模型存在着差异。此外，不同研究由于动物种属的不同，其脾气虚所表现的症状也有所不同，小鼠的脾气虚常表现为便溏、脱肛、皮毛枯槁、纳呆、体重减轻、少动、四肢无力、精神萎靡、眯眼、体温降低等症状；大鼠的脾气虚常表现为便溏、皮毛枯槁、消瘦、食量减少、体重增长缓慢、精神萎靡、蜷缩、嗜睡、懒动、拱背等症状；家兔的脾气虚常表现为便溏、食量减少、腹胀、体重减轻、消瘦、皮毛枯槁、少动、拱背、蜷缩、体温降低等症状。其中体重减轻、体重增长缓慢相当于人类的消瘦，少动、四肢无力、蜷缩、拱背、眯眼相当于人类的体倦乏力。

3.2 理化指标

脾气虚动物模型的理化指标呈现出多系统、多层次的特点。在消化系统中脾气虚模型的理化指标体现在消化道推进速度增快、胃泌素分泌减少等方面；在免疫系统中脾气虚模型的理化指标体现在胸腺湿重与胸腺指数降低、淋巴细胞转化率降低、IgG 含量降低等方面；在内分泌系统脾气虚模型的理化指标体现在肾上腺指数升高、醛固酮分泌增加等方面。在器官层次上脾气虚模型常表现为脾脏指数降低、肝脏湿重降低；在组织层次上脾气虚模型可见到胃肠黏膜水肿或糜烂、胃肠黏膜点状或片状出血等变化；在细胞层次上脾气虚模型会出现淋巴细胞转化率降低、T 淋巴细胞百分数降低、肺巨噬细胞吞噬百分数降低等改变；在分子层次上脾气虚模型会出现 cAMP 降低或降低趋势、cGMP 降低趋势、cAMP/cGMP 降低或升高趋势等表现。

上述理化指标仅为脾气虚动物模型的部分改变，因脾气虚证所涉及的系统、器官、组织以及细胞较为复杂，不能用以上几种理化指标加以涵盖，故仅列举较常见的理化指标：1) 血木糖含量及吸收率下降，尿木糖排泄率降低；2) 胃泌素含量及胃酸分泌量降低；3) 巨噬细胞吞噬百分比和吞噬指数下降；4) SOD 含量及活性降低；5) 红细胞 C3b 受体花环率降低；6) 消化道推进速度增快。

3.3 反证方剂

脾气虚模型的反证运用较多的方剂有四君子汤、理中丸、补中益气汤、白术茯苓汤、不换金正

气散、藿朴夏苓汤。反证方剂的不同说明了各种模型的侧重点有所不同。以藿朴夏苓汤为例，主要针对湿温初起所致的口不渴或渴不欲饮、大便溏泄等症状，治疗主证是湿温壅滞中焦脾胃所致的脾失健运，而并非脾气虚证，说明所造模型并非典型的脾气虚模型。但从另一面也体现了造模方法不同、脾气虚表现出的主要症状不同、治疗方剂也存在差异性这一中医学所独有的特征。

4 讨论

就造模方法而言，脾气虚模型所采用的造模方法多是模拟病因，利用苦寒泻下、饮食不节、劳倦过度、外湿困脾以及复合因素对模型动物进行干预，其存在问题如下：1) 应用苦寒泻下的方法进行造模时，对同一种动物采取不同给药剂量、不同给药持续时间，均得到了脾气虚模型，这是否说明药物剂量、给药持续时间与模型复制成功无明确关系；而应用耗气破气来复制脾气虚模型的造模方法，其主要应用的是小承气汤的加减变化，但小承气汤中不止有耗气破气的厚朴、枳实，还有苦寒泻下的大黄，若只将其归纳为耗气破气法并不合适，这也说明了研究者将造模方法归类时主观性较强，缺乏客观的标准。2) 饮食不节的造模方法主要包括饥饱失常、过食肥甘、饮食偏嗜，这些方法较为符合现代人饮食不规律、暴饮暴食的生活习惯，但未模拟现代人过食生冷这一饮食习惯，所以过食生冷对脾气虚的影响还有待探讨。3) 劳倦过度法中应用劳形与劳神同时作用于模型动物，现实社会人处于较快的生活节奏中，要面对来自工作、学习等方面的压力，二者有一定相似性。然而过劳和过逸均可致脾气虚，上述造模方法仅强调过劳而忽视过逸，今后应在脾气虚模型研究中加以尝试。4) 外湿困脾所致的脾气虚模型其干预时间为 108 天，与将外湿困脾与饮食不节相结合所致脾气虚的造模时间 5 天相比，造模时间差异较大，所以增加饮食不节这一病因是否可以较大幅度地缩短脾气虚造模时间还应进一步探究。5) 对于复合因素模型，造模方法应该是两种或两种以上的单因素造模方法的组合所形成的，然而复合因素造模方法的种类要比单因素造模方法随机组合所形成的造模方法种类少，其原因之一可能是所施加的干预因素的随意性较大，这可能会影响到模型的稳定性。故在造模标准化的实施中应尽量选出脾气虚症状较明显、停止干预因素后症状持续时间较长的造模方法进行造模，

使模型的稳定性得以提高。此外,国外有文献运用上述脾虚造模方法造出抑郁症^[43]及口面运动障碍^[44]模型,这些造模方法均与脾虚造模方法相同,在给药剂量与给药时间上虽存在差异,但得到的模型却不是脾虚模型,因此利用现代方法来复制中医证候模型是否合适值得进一步探讨。

就模型评价而言,应该将模型动物的宏观表征、理化指标及所运用的反证方剂综合起来加以讨论。1) 宏观表征是中医证候模型的外在表现,收集分析宏观表征的过程就相当于中医辨证的过程,故对于宏观表征不仅要收集模型动物显而易见的一些改变,同时应该收集一些中医特色的信息例如舌象与脉象,尽管这些信息收集比较困难,但为了探究中医的本质,这些中医特色的信息是必不可少的。现有文献对模型动物宏观表征的描述尚存在描述不尽详细、清楚等问题,如一些文献将活动能力下降作为脾气虚模型动物懒动的一个标志,但未描述应用何种指标作为判断活动能力改变的依据;又如一些文献在描述动物粪便时仅以便干来形容粪便质地,并未描述其是否成球状、是否易碎等方面的性质,这对不能言的动物来说,必将对模型的评价带来未知的影响因素。2) 脾气虚模型的理化指标除木糖含量及吸收率排泄率、胃泌素含量及胃酸分泌量变化较为常见外,其余指标均较混乱。例如 SOD 含量及活性的降低不仅出现在脾气虚模型中,在肾虚模型中也类似表现^[45],这说明了就理化指标而言,脾气虚模型尚无特异性较强的理化指标,不能根据某一理化指标的改变来诊断脾气虚证。3) 模型在反证方剂上除了较为一致的四君子汤外,还有补中益气汤和理中丸等,这说明不同造模方法所致脾气虚的主症有所不同。有一些反证方剂与脾气虚证相关性较差,如不换金正气散、藿朴夏苓汤。另外一些模型造模成功后并未用反证方剂加以佐证造模成功,这并不能很好体现中医学理法方药环环相扣这一特点,故建议今后研究在造模成功后应给予反证方剂加以佐证。

另外,现有的文献存在采用相同造模方法的前提下,在不同的时间点以及应用不同的评价指标对模型进行评价这一问题,这对模型的稳定性会产生影响。现有文献中仅有少部分描述了症状的持续时间及自然恢复时间,但尚未有文献将其作为评价模型成功与否及模型质量的指标加以论述。同时,目前造模所选用的动物主要集中于小鼠、大鼠、家兔等小型动物,而对大型动物模型涉及较少,这与相

同证候模型研究当中小型动物造模存在体积小、费用少、便于管理等优势有关,也与研究的疾病有一定的关系。但同时也存在问题,如收集这些小型动物的舌象、脉象等资料有一定的难度,而这一问题在使用大型动物制备中医证候模型时可以得到解决。小型猪具有生理生化指标与人类相似、便于收集四诊指标等优点^[46],可克服灵长类动物带来的伦理、烈性病毒传染病等问题,而且由于动物保护等因素,小型猪的应用数量逐年大幅度递增,有望取代实验猴、犬成为被大量使用的新型实验动物^[47],所以建议今后脾虚模型的动物选择上应考虑应用小型猪进行研究。

参考文献

- [1] 田金洲,王永炎,时晶,等. 证候模型研究的思路 [J]. 北京中医药大学学报,2005,28(6):18-21.
- [2] 国家技术监督局. 中医临床诊疗术语 [S]. 北京:中国标准出版社,1997:23-24.
- [3] 北京师范大学生物系消化生理教研组. 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(1):113.
- [4] 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.
- [5] 樊慧杰,柴智,闫润红,等. 补中益气汤对脾气虚证模型大鼠手术切口肌肉组织炎症反应和肉芽组织增生的影响 [J]. 中医杂志,2014,55(3):238-241.
- [6] 贾波,李晓红,梁煜,等. 白术茯苓汤对脾虚大鼠胃肠激素的影响 [J]. 成都中医药大学学报,2001,24(4):47-48.
- [7] 魏彦明. 四君子汤对家兔脾虚证调整作用的实验研究 [J]. 甘肃农业大学学报,1997,32(3):67-72.
- [8] 于船,陆钢,齐彦辉,等. 小鼠脾虚证动物模型的实验观察 [J]. 中国兽医杂志,1986,12(5):39-41.
- [9] 刘汶,张敦义. 番泻叶致脾虚证动物模型的造型方法 [J]. 中国中西医结合脾胃杂志,1998,6(4):231-232.
- [10] 王学庆,李德新. 脾阳虚家兔模型血清胆碱酯酶和胃肠推进运动的实验研究 [J]. 辽宁中医杂志,1991,18(7):41-44.
- [11] 阎甸嘉,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,1990,12(2):32-34.
- [12] 黄柄山,毛翼楷,范隆昌,等. 饮食失节所致的脾虚动物模型及中药治疗观察 [J]. 中西医结合杂志,1983,3(5):295-296.
- [13] 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.
- [14] 罗光宇,黄秀凤,杨明均,等. 偏食法塑造大鼠脾气虚

- 证模型研究 [J]. 中医杂志, 1990, 31(4): 49-51.
- [5] 彭成, 罗亮. 过食酸味所致脾虚机理的实验研究 [J]. 山东中医学院学报, 1989, 13(6): 13-14.
- [6] 彭成, 罗光宇, 欧芳春, 等. 偏食苦味所至脾气虚证动物模型研究 [J]. 四川中医, 1990, 8(12): 16-17.
- [7] 曲长江, 刘劲, 夏淑杰, 等. 番泻叶泻下与劳倦过度单、复因素脾虚模型的免疫学研究 [J]. 中国中西医结合脾胃杂志, 1999, 7(4): 212-213.
- [8] 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.
- [9] 张六通, 梅家俊, 黄志红, 等. 外湿致病机理的实验研究 [J]. 中医杂志, 1999, 40(8): 496-498.
- [10] 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.
- [11] 陈祥贵, 赵子厚. 四君子汤对利血平化小鼠体内某些机能变化的影响 [J]. 北京医学, 1981, 3(5): 293-296.
- [12] 王肃, 陈小野, 邹世洁, 等. 利血平脾虚证模型大鼠皮层基因表达谱变化的初步研究 [J]. 中医药学刊, 2003, 21(9): 1512-1515.
- [13] 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.
- [14] 赵宁, 张皖东, 贾红伟, 等. 四君子汤对利血平所致脾虚大鼠肠道黏膜 TGF- β 和 TNF- α 表达的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2007, 13(1): 44-46.
- [15] 郭文峰, 高小玲, 李茹柳, 等. 利血平致大鼠脾虚模型尿 D-木糖排泄率与肠黏膜三磷酸腺苷水平的研究 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2008, 16(4): 211-214.
- [16] 郭延生, 吴玉泓, 华永丽, 等. 胃肠宁对利血平所致大鼠脾虚模型的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2011, 19(3): 242-245, 282.
- [17] 赵宁, 贾红伟, 张皖东, 等. 利血平所致脾虚大鼠脾阳虚证和脾气虚证的证候属性 [J]. 中医杂志, 2008, 49(5): 449-452.
- [18] 刘士敬, 朱倩. 大鼠胃饲秋水仙碱脾气虚模型研究 [J]. 中医杂志, 1997, 38(5): 300-302.
- [19] 刘士敬, 朱倩. X 射线照射大鼠腹部塑造脾气虚模型的研究 [J]. 辽宁中医杂志, 1997, 24(7): 43-45.
- [20] 李织, 冯涛, 刘承德. 利用利血平制造以肠功能紊乱为主的脾虚模型 (简报) [J]. 中医药信息, 1985(1): 33-34.
- [21] 张京英, 刘农虞, 张蕊, 等. 不同灸质、灸量对实验性阳虚大鼠中枢及外周 5-HT 代谢的影响 [J]. 中医杂志, 1996, 37(2): 111-112.
- [22] 顾训杰, 肖元春. 不同隔物灸对类脾阳虚小鼠脾脏组织中 ATP 酶的影响 [J]. 中医研究, 2001, 14(1): 59-61.
- [23] 谢仰洲, 陈琦涛, 谢宗岑, 等. 用过劳和饮食失节法塑造大白鼠脾气虚证模型的研究: 生化免疫病理和超微结构观察 [J]. 中医杂志, 1987, 28(5): 57-60.
- [24] 刘健, 刘春丽, 方朝晖, 等. 脾虚大鼠心肌细胞超微结构动态变化的实验研究 [J]. 中医研究, 1996, 9(6): 12-13.
- [25] 潘爱珍, 易伟民, 余晓娟, 等. 人参总皂苷对脾虚模型大鼠的保护作用研究 [J]. 中国药房, 2013, 24(39): 3682-3684.
- [26] 陈小野, 邹世洁, 张智, 等. 大鼠长期脾虚造模的实验研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 1995, 1(1): 37-41.
- [27] 郭金龙, 颜正华. 湿阻证病理造型的实验研究 [J]. 中医杂志, 1988, 29(8): 59-61.
- [28] 姜学连, 李慧吉, 陈拯民, 等. 湿邪致病机理的初步实验研究 [J]. 滨州医学院学报, 1992, 15(4): 306-308, 383.
- [29] 邱赛红, 陈立峰, 柳克铃, 等. 芳香化湿药开胃作用机理的实验研究 II: 对湿困动物模型的影响 [J]. 中药药理与临床, 1997, 13(2): 2-5.
- [30] 中华人民共和国卫生部药政司. 中药治疗脾虚证的临床研究指导原则 [J]. 中国医药学报, 1988, 8(5): 71-72.
- [31] 沈自尹, 王文健. 中医虚证辨证参考标准 [J]. 中西医结合杂志, 1986, 6(10): 598.
- [32] 王晓明, 易杰, 廖世新, 等. 脾虚证动物模型的客观评估 [J]. 中华中医药杂志, 2006, 21(7): 406-408.
- [33] Khadrawy YA, El-Shamy KA, Mohamed SI. Nicotine restores monoamine neurotransmitter changes in the cortex and hippocampus of reserpinized rats as a model of depression [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2011, 15(8): 863-870.
- [34] Teixeira AM, Reckziegel P, Muller L, et al. Intense exercise potentiates oxidative stress in striatum of reserpine-treated animals [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2009, 92(2): 231-235.
- [35] 郭伟星, 于杰. 益肾降压颗粒对肾虚模型小鼠体内自由基代谢的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(5): 871-873.
- [36] 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.
- [37] 袁进, 顾为望. 小型猪作为人类疾病动物模型在生物医学研究中的应用 [J]. 动物医学进展, 2011, 32(2): 108-111.

(收稿日期: 2014-10-13; 修回日期: 2014-11-16)

编辑: 崔京艳