

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2024.14.007

中医湿证动物模型宏观评价工具的研制

黎创^{1,2}, 徐鹏^{1,2}, 田瑞敏^{1,2}, 曹肇睿^{1,3}, 刘铭家^{1,3}, 张蕾^{1,2},
卢钊宇^{1,2}, 蓝涛华^{1,2}, 王晓婉^{1,2}, 毛炜^{1,2}✉



1. 广州中医药大学第二附属医院省部共建中医湿证国家重点实验室, 广东省广州市越秀区大德路111号, 510120; 2. 广东省中医院; 3. 广州中医药大学第二临床医学院

[摘要] **目的** 构建中医湿证动物模型宏观评价工具, 为中医湿证的实验研究提供依据。**方法** 明确中医湿证动物模型相关研究涉及的概念及其内涵, 构建理论框架, 建立中医湿证动物模型评价的维度。检索中国知网 (CNKI)、万方数据知识服务平台、维普中文科技期刊全文数据库 (VIP) 及中国生物医学文献数据库建库至 2023 年 6 月 30 日纳入的动物实验类文献, 构建湿证动物模型评价宏观条目池, 筛选并提取核心条目进行因子分析、聚类分析。基于文献研究结果形成专家重要性评分问卷, 分析各条目得分的重要程度分布、重要性均值、变异系数、肯德尔和谐系数, 综合文献分析、专家重要性评分及专家具体意见, 删除不能满足“重要性评分均值 ≥ 2.04 ”“变异系数 $\leq 30\%$ ”“文献评价中出现频率 $\geq 2\%$ ”三个条件中至少一个的条目, 初步构建中医湿证动物模型宏观评价工具。**结果** 以神态形态、自主活动状态、体表特征、饮食、二便、舌象、运动行为学评估作为中医湿证动物模型宏观评价的 7 个维度。经过筛选共纳入文献 348 篇, 形成包含 72 个条目的饱和条目池, 筛选优化后获得 38 个核心条目, 因子分析抽取 16 个公因子, 进一步聚类分析成 2 类, 分别命名为“湿从热化证”和“湿从寒化证”。专家重要性评分结果表明, 肯德尔和谐系数为 0.359 ($P < 0.05$), 提示专家整体意见趋于一致, 协调程度高, 结果可靠。其中, 至少 50% 专家认为“非常重要”的条目为舌苔厚腻、肛周污秽、大便溏薄、懒动、大便不成形、神态萎靡 6 条, 所有条目重要性评分均值的中位数为 2.04 (1.73, 2.37) 分。变异系数范围为 19.73%~53.38%。经过专家评价, 最终形成了包含 33 个条目的中医湿证动物模型宏观评价工具及相应的评判湿证成模标准。**结论** 中医湿证动物模型宏观评价工具具有较强的科学性、可信度及可操作性, 经实测数据考评其特性后可供湿证动物实验过程中评估使用。

[关键词] 湿证; 动物模型; 模型评价工具; 专家重要性评分

动物模型是现代医学中用于研究机体内部疾病发生发展和 (或) 药物效应机制的载体。在中医湿证的现代研究中, 各种湿证动物模型是探索证候实质及中医药疗效的重要工具。通过文献检索发现, 目前对于湿证动物模型的评价通常采用典型外在表现、微观指标检测、药物反证等方式中的一种或几种方式结合的方法进行评估^[1-2]。这些评价方法符合中医学对湿证的传统认识, 有助于理解湿证的内涵。然而, 既往的评估手段存在主观性较强、欠缺

公认标准等问题, 给湿证的深入研究以及相关成果的临床应用造成一定障碍。因此, 我们进行了中医湿证动物模型宏观评价工具构建的研究工作, 通过系统文献分析结合专家咨询, 初步完成“中医湿证动物模型宏观评价工具”的研制, 并将其进行电子化、嵌入量化分析。本文将研制过程报告如下, 以为中医湿证的现代科学研究提供依据。

1 资料与方法

1.1 核心工作小组的组建

由中医湿证研究、中医量表研发和中医动物实验研究领域专家组成核心工作小组, 主要负责明确本研究中涉及的概念及其内涵、构建理论框架、形成条目池、优化筛选条目、组织专家咨询等工作。

基金项目: 国家自然科学基金 (82374388); 广东省自然科学基金 (2022A1515012051); 省部共建中医湿证国家重点实验室项目 (SZ2021ZZ1001, SZ2021ZZ50); 广州市科技计划项目 (2024A03J0719)

✉ 通讯作者: maowei@gzucm.edu.cn, (020)81887233-35956

核心工作小组由本研究所依托课题的负责人召集组建,包括组长1名、组员7名。所有小组成员均为省部共建中医湿证国家重点实验室的固定研究人员,且从事相关领域工作超过5年。

1.2 概念、框架及维度的构建

通过核心工作小组讨论,明确研究中相关概念,拆解其具体的内涵层次,并使之转化为可操作的指标^[3]。首先,明确中医湿证及中医湿证动物模型的概念及内涵,在此基础上确定中医湿证动物模型宏观评价的理论框架。然后,立足于该理论框架,从使用者的需求(用于观察、测量、评估动物的体表特征及动态变化)出发确立中医湿证动物模型宏观评价工具的维度。

1.3 文献检索与条目池构建

根据以上概念及其内涵,明确工作流程,按照制定检索策略、文献检索、条目收集及筛选、条目优化、构建条目池五个步骤进行。

1.3.1 检索策略 文献检索以中国知网(CNKI)、万方数据知识服务平台、维普中文科技期刊全文数据库(VIP)及中国生物医学文献数据库作为检索平台,以主题词包括“湿证”,且全文包含“大鼠”或“小鼠”或“动物”作为检索式,检索时间为各数据库建库至2023年6月30日。

1.3.2 文献纳入标准 中医湿证的动物实验相关研究;对模型构建方法及模型的症状体征有明确描述;重复发表的文献,仅纳入其中造模方法及模型特征描述最详细的一篇。

1.3.3 文献排除标准 无法获取全文的文献。

1.3.4 条目收集及条目池形成 汇总所有文献进行初筛,再分别由两名研究者提取湿证动物的宏观条目,即可肉眼观测或直接测量的外在表现或体征的相关描述,将其对应放置于各维度中。两名研究者独立筛选提取,互相核对补缺,若出现问题则交由核心工作小组共同讨论解决。最终汇集形成条目池。

1.3.5 条目筛选与优化 组织中医动物实验研究专家及中医湿证研究专家对各条目进行筛选与优化。参照中医术语规范化的研究方法^[4],对一形多义(一个表述具有多重含义)的条目进行拆分,对一义多形(相同含义具有不同表述形式)的条目进行归纳与合并,同时参考世界卫生组织中医药国际术语标准^[5]进行标准化,尽量确保每个条目描述准确,定义清晰,易于理解,不产生歧义。由于某些文献涉及病证结合的动物模型,对于仅在某篇文献中出现过1次的孤立条目,或者明确代表疾病状

态而非湿证表现的条目,则排除于湿证核心条目池之外。对于采用了人类主观感受进行表述的湿证表现相关条目,如小组工作会议中超过半数的专家认为无法在动物身上对该条目进行客观评价,则通过文献分析及小组讨论,对该条目进行明确定义,继而引入可测量的指标对这一主观感受造成的可能结果进行评价,作为该条目的替代或补充。

1.3.6 统计学分析 采用SPSS 22.0统计软件,对规范后的条目进行频率分析、因子分析和聚类分析。进行因子分析前进行KMO检验及Bartlett球形检验。采用主成分分析法抽取特征值>1的因子,最大方差法进行旋转,提取每个公因子旋转后载荷系数绝对值 ≥ 0.3 的核心条目^[6]作为支撑该公因子成立的关键变量。对提取到的公因子进行聚类分析,结合树状图分析湿证动物模型具体表型的分类并提取相应症状。

1.4 专家咨询

1.4.1 调查问卷 基于条目筛选优化结果,制定中医湿证动物模型宏观评价系统专家评价问卷。每一条目的专家重要性评分均参照Likert法^[7],设置为具有三个选项的单选题,根据非常重要、一般、非常不重要分别赋值3分、2分、1分。除固定条目外,另设置2个开放问题,即“其他有意义的宏观指标,请填写”以及“对于本调查问卷的意见及建议”,供专家自由填写,问卷回收后梳理该部分内容,作为中医湿证动物模型宏观评价工具原有条目的信息补充或修订依据。

1.4.2 调查内容及方式 本研究组在国内优先遴选从事中医药相关领域工作10年以上,具有高级职称或研究生学历,且在中医湿证研究领域具有丰富经验的专家,采用邮寄或线上方式发送中医湿证动物模型宏观评价工具专家评价问卷并邀请其对各条目进行重要性评分。对回收的评价问卷进行判断甄别以剔除无效反馈^[8]。

1.4.3 评价指标与统计学方法 评价指标包括专家积极系数,即回收率=回收份数/总份数 $\times 100\%$ ^[9];专家意见集中程度,以每个条目的重要性评分均值表示,即重要性评分均值=重要性评分总和/回收份数,均值越高代表该指标越重要^[10];专家意见协调程度,以每个条目的重要性评分变异系数以及肯德尔和谐系数(Kendall's W)表示。变异系数=标准差/均值 $\times 100\%$,变异系数越小提示专家对该条目的重要性评价的一致性越高^[11]。肯德尔和谐系数反映专家对全部指标的协调程度,系数越大代表

专家协调程度越高^[12]。采用 SPSS 22.0 统计软件分析,以 $P < 0.05$ 作为显著性差异的界值。

1.5 量表条目确定

综合文献分析及专家重要性评分结果,以重要性评分均值中位数、文献评价中出现频率和变异系数三个指标作为标准,删除不能满足“重要性评分均值 $\geq$ 中位数”“文献评价中出现频率 $\geq$ 中位数”或“变异系数 $\leq 30\%$ ”^[11]三个条件中至少一个的条目。对于专家在调查问卷中填写的“其他有意义的宏观指标”,考虑到此类指标具有专家证据的特性^[13],故将其纳入本评价工具当中。进一步结合专家意见,确定湿证动物宏观评价的模型制备成功标准。

2 结果

2.1 概念、内涵及维度构建

中医湿证属于中医学证候名词,在本研究中应当明确为中医学之湿邪所引起的疾病或直接导致原有疾病加重的病理状态^[14-15]。这一概念的内涵有三:一是立足于人体;二是病因分内外,病位分表里,病性分虚实寒热;三是具有湿邪的重浊和黏滞的病理表现,由于湿邪持续存在,还可能出现气机失常、阳气受损等继发性症状表现^[16-17 (4-5)]。

综合各家论述,中医湿证动物模型是指中医学研究中建立的具有人类湿证模拟表现的动物实验对象和相关材料^[18-19],这一概念强调了模拟人类湿证表现。结合中医湿证以及中医湿证动物模型两者的概念与内涵,参考中医诊断学的四诊内容中对人体症状、体征进行观察、测量和评估的纲要及归类模式,经过核心工作小组讨论,最终明确以神态形态、自主活动状态、体表特征、饮食、二便、舌象、运动行为学评估 7 个维度作为评估中医湿证动物模型的基本框架(见附图 1,请扫描本文二维码获取)。

2.2 文献检索及条目池的形成

共检索中医湿证的动物实验文献 672 篇,其中 324 篇存在造模方法或模型特征缺失,最终纳入分析文献为 348 篇。实验动物以大鼠(254 篇, 72.99%)和小鼠(77 篇, 22.13%)为主,其他涉及的动物包括豚鼠(5 篇, 1.44%)、兔(5 篇, 1.44%)、鸡(3 篇, 0.86%)、鹌鹑(2 篇, 0.57%)、小型猪(1 篇, 0.29%)、食蟹猴(1 篇, 0.29%)。提取湿证动物模型的宏观条目 2838 条,拆分一形多义条目,如“蜷缩聚堆”拆分为“蜷缩”和“扎堆”;归并一义多形条目,如“肥胖”“体质量增加”归为“体重增加”。经过优化形成一个饱和条

目池,即从不断发表的最新文献中提取出的条目均与条目池已有条目完全重复,没有新的条目加入条目池中,则视为条目池饱和^[20]。条目池包含初始条目共 72 个,其中神态形态维度 14 个、自主活动状态维度 14 个、体表特征维度 19 个、饮食维度 4 个、二便维度 11 个、舌象维度 9 个、运动行为学评估维度 1 个。

2.3 条目筛选优化

研究相关专家讨论后进一步筛选优化,去掉孤立条目以及体现疾病而非湿证特征的条目(例如咳嗽、舌瘀点瘀斑)共 34 个,获得 38 个核心条目的数据,包括神态形态维度 3 个、自主活动状态维度 8 个、体表特征维度 12 个、饮食维度 4 个、二便维度 8 个、舌象维度 2 个、运动行为学评估维度 1 个。38 个核心条目共出现 2300 次,条目出现频率的中位数为 2%,出现频率 $\geq 2\%$ 的核心条目共 16 条,分别为大便溏薄(244 次, 10.61%)、日摄食量减少(241 次, 10.48%)、毛发少光(208 次, 9.04%)、懒动(175 次, 7.61%)、神态萎靡(169 次, 7.35%)、体重减轻(147 次, 6.39%)、毛发杂乱(138 次, 6.00%)、日饮水量减少(137 次, 5.96%)、活动量减少(92 次, 4.00%)、反应迟钝(71 次, 3.09%)、扎堆(66 次, 2.87%)、肛周污秽(63 次, 2.74%)、尿色深黄(58 次, 2.52%)、蜷缩(58 次, 2.52%)、体温(肛温)升高(57 次, 2.48%)、大便不成形(48 次, 2.09%)。

2.4 核心条目的因子分析

由于每一篇文献代表一个独立的湿证动物实验,湿证动物实验从造模的方式来看又分为湿证+疾病造模实验、湿证联合其他兼证造模实验、湿证寒热性质对比实验等,条目间异质性较大。为进一步探索不同实验之间湿证动物的共性宏观特征(变量)及变量之间的潜在相互关联,对 348 篇文献中提取的核心条目数据进行因子分析。Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) 值为 0.576, Bartlett 球形检验的 $P < 0.001$,说明变量间具有潜在关联,适合进行因子分析。共抽取 16 个公因子,按照顺序记为 F1-F16。各公因子的核心条目及旋转后载荷系数见表 1。

2.5 核心条目的聚类分析

聚类分析结果表明,16 个公因子共 38 个核心条目分成 2 类,一类是以 F1、F9、F2 公因子组合而成的系列核心条目,命名为“湿从热化证”;其他 13 个公因子聚为一类,命名为“湿从寒化证”,见图 1。

表 1 中医湿证动物模型宏观评价工具 16 个公因子的核心条目及旋转后载荷系数

Table 1 Core items and loading coefficients after rotation of 16 common factors in macro-evaluation of dampness syndrome animal model in TCM

公因子	核心条目 (旋转后载荷系数)
F1	日饮水量减少 (0.814), 日摄食量增多 (0.674), 毛发杂乱 (0.307)
F2	懒动 (0.694), 神态萎靡 (0.688), 尿色深黄 (0.410), 活动量减少 (0.331), 大便溏薄 (0.381)
F3	关节肿大 (0.808), 走路歪斜 (0.710), 皮肤溃烂 (0.689)
F4	体温 (肛温) 降低 (0.777), 蜷缩 (0.686), 扎堆 (0.488), 毛发杂乱 (0.338)
F5	舌苔厚腻 (0.717), 毛发少光 (0.603), 体重减轻 (0.391), 舌淡 (0.306), 尿量减少 (0.300)
F6	毛发稀疏 (0.678), 强迫游泳实验异常 (0.697), 尿色深黄 (0.375)
F7	皮肤水肿 (0.831), 尿量减少 (0.591), 尿赤 (0.552)
F8	日摄食量减少 (0.627), 爪耳色淡 (0.749), 舌淡 (0.341)
F9	体温 (肛温) 升高 (0.733), 大便不成形 (0.462), 大便溏薄 (0.440), 体重增加 (0.350)
F10	大便燥细 (0.741), 日饮水量增多 (0.708), 易激惹 (0.367)
F11	毛色晦暗 (0.806), 扎堆 (0.540)
F12	步态迟缓 (0.584), 反应迟钝 (0.514), 体重减轻 (0.419), 尿色深黄 (0.373)
F13	舌淡 (0.605), 体重增加 (0.529), 易激惹 (0.522), 肛周污秽 (0.435)
F14	肛门扩张或脱肛 (0.863), 肛周污秽 (0.325), 蜷缩 (0.301)
F15	面部分泌物多 (0.831), 毛发杂乱 (0.346)
F16	关节变形 (0.768), 走路歪斜 (0.380), 皮肤溃烂 (0.324)

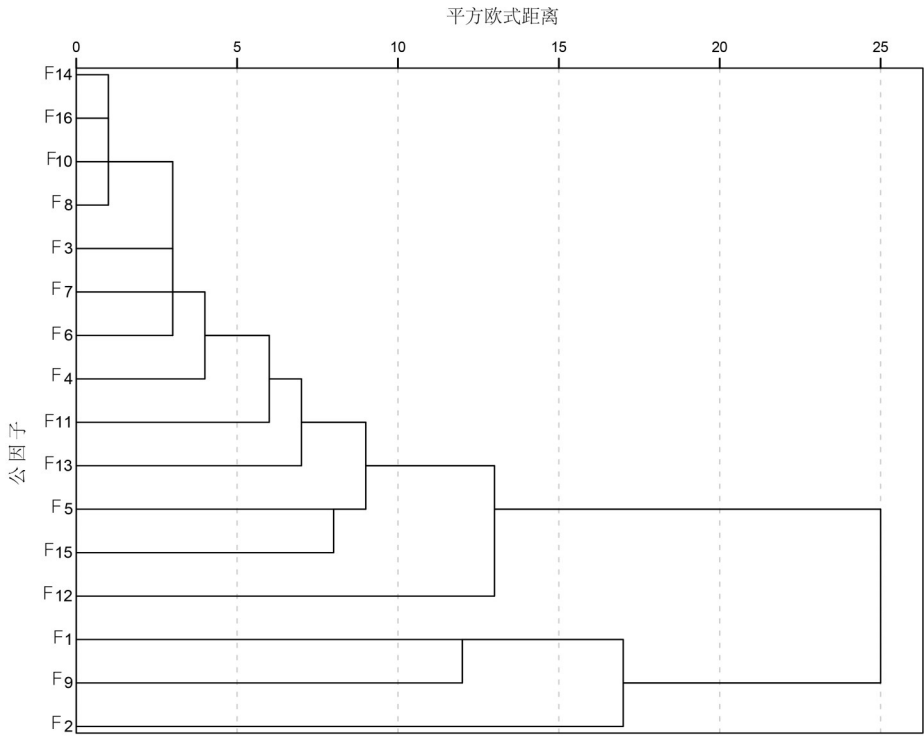


图 1 中医湿证动物模型宏观评价工具 16 个公因子的聚类分析树状图

Figure 1 Cluster analysis dendrogram of 16 common factors in macro-evaluation of dampness syndrome animal model in TCM

2.6 专家重要性评分问卷的构建

经过对上述结果讨论后,认为应增加条目的可测量性、减少主观程度,因此以现代行为学实验相关的参数,分别是跑步距离、跑步持续时间、蔗糖偏好 3 个条目替代反应迟钝条目。最终获得条目如

下: 1) 体重减轻; 2) 体重增加; 3) 神态萎靡; 4) 步态迟缓; 5) 走路歪斜; 6) 懒动; 7) 蜷缩; 8) 活动量减少; 9) 易激惹; 10) 毛色晦暗; 11) 毛发杂乱; 12) 毛发稀疏; 13) 毛发少光; 14) 皮肤水肿; 15) 皮肤溃烂; 16) 体温 (肛温) 升高; 17) 体

温（肛温）降低；18）面部分泌物多；19）爪耳色淡；20）扎堆；21）关节肿大；22）关节变形；23）日摄食量减少；24）日摄食量增多；25）日饮水量减少；26）日饮水量增多；27）尿量减少；28）尿色深黄；29）尿赤；30）大便溏薄；31）大便不成形；32）大便燥细；33）肛周污秽；34）肛门扩张或脱肛；35）舌淡；36）舌苔厚腻；37）跑步距离下降；38）跑步持续时间下降；39）蔗糖偏好实验异常；40）强迫游泳实验异常。以上 40 个条目用于制备专家重要性评分问卷。

2.7 专家评价结果

2.7.1 一般情况 向 24 位专家发放问卷。24 位专家分别来自 11 个省、直辖市、特别行政区，专家工作年限均值为 21.96 年，全部为高级技术职称，

均为博士研究生学历，均从事中医内科学、中药学、实验方剂学专业研究。

2.7.2 专家积极系数 发放问卷 24 份，回收问卷 24 份，专家积极系数 100%，说明专家对本问卷的积极性很高。

2.7.3 专家意见集中程度 各条目专家重要性评分的重要程度分布情况见图 2。至少 50% 专家认为非常重要的条目为舌苔厚腻、肛周污秽、大便溏薄、懒动、大便不成形、神态萎靡 6 条，而至少 50% 专家认为尿赤、日摄食量增多、易激惹、走路歪斜、体重减轻、爪耳色淡 6 条不重要。

在专家重要性评分方面，尿赤和大便燥细评分均值为 1.35，评分最低，大便不成形评分均值为 2.57，评分最高。可见，专家意见认为大便不成形

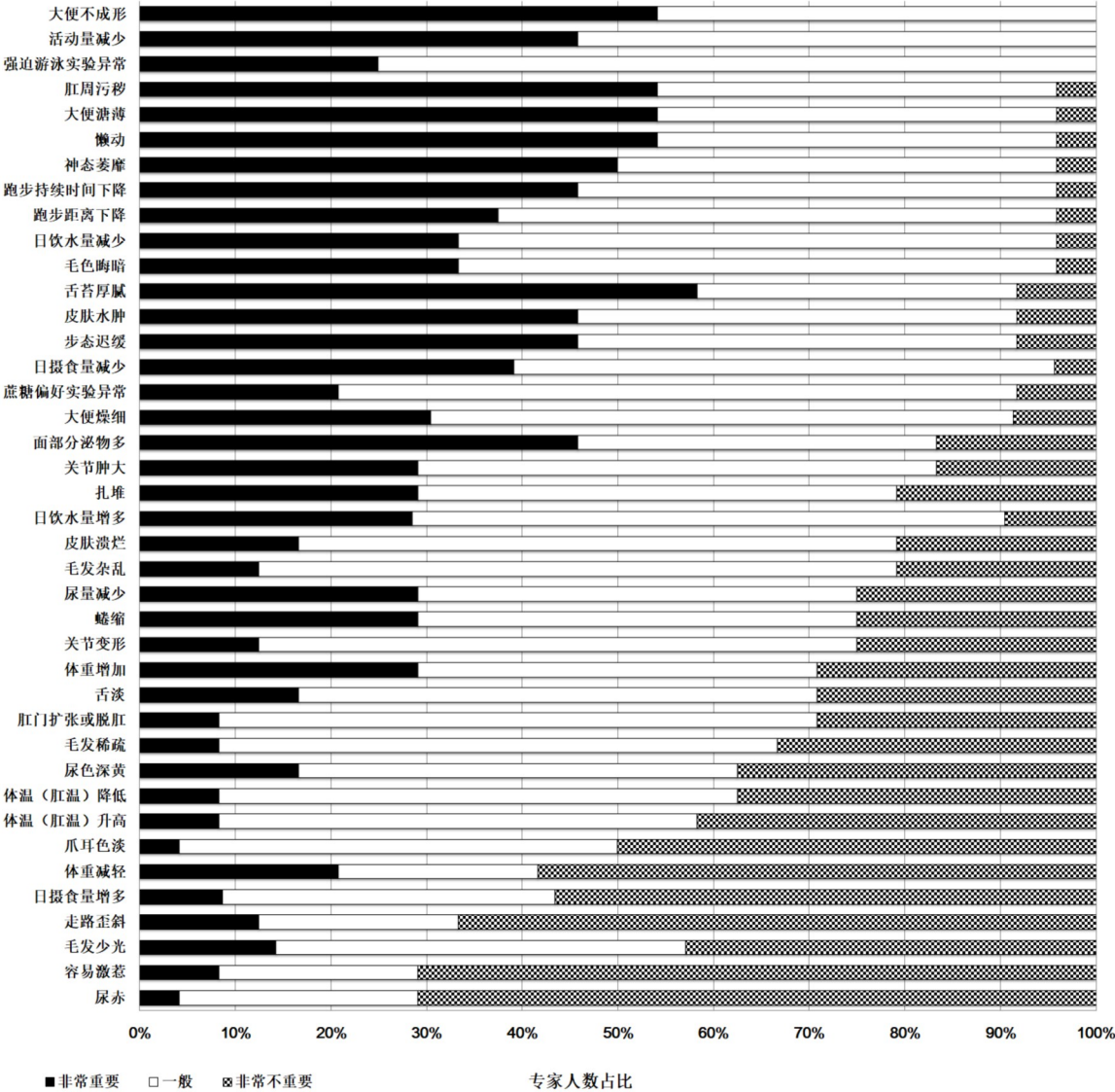


图 2 中医湿证动物模型宏观评价工具 40 个条目的专家重要性评分重要程度分布图
Figure 2 Expert importance scoring results of 40 items in macro-evaluation of dampness syndrome animal model in TCM

对于湿证动物模型的评价非常重要，而认为尿赤和大便燥细不重要。所有条目平均分的中位数（上四分位数，下四分位数）为 [2.04(1.73, 2.37)] 分，考虑 <2.04 分的条目对于评价湿证动物模型来说可能不太重要。

2.7.4 专家意见协调程度 变异系数最小值为 19.73%，为大便不成形，最大值为 53.38%，为日饮水量增多。可见专家对大便不成形能够作为湿证动物模型判别标准的评价趋于一致，而对日饮水量增多作为评价条目的争议较大。对于变异系数 ≤ 30% 的条目，考虑专家对该条目的重要性评分较为一致^[8]，见表 2。所有条目的肯德尔和谐系数为 0.359 ($\chi^2=338.946$, $P<0.05$)，说明专家对条目重要性的整体意见趋于一致，专家协调程度高，结果可靠。

2.7.5 条目进一步优化 综合文献分析及专家重要性评分结果，删除不能满足“重要性评分均值 ≥ 2.04”“变异系数 ≤ 30%”“文献评价中出现频率 ≥ 2%”三个条件中至少一个的条目，分别为爪耳色淡、日摄食量增多、日饮水量增多、易激惹、大便燥细、尿赤、体温（肛温）降低、走路歪斜、毛发

稀疏、肛门扩张或脱肛、舌淡、关节变形、体重增加、皮肤溃烂，共 14 个。

2.7.6 基于专家意见的条目考评结果 专家自主填写的“湿证评估条目的建议”方面，最终的修改补充如下：1) 补充腹围测量、球结膜水肿、口腔分泌物、小便浑浊、舌胖大、大便量少 6 个条目；2) 对于体重、日摄食量、日饮水量、尿量、体温（肛温）条目，调整为开放性问题，测量后记录上述各条目的具体数值，与空白组的数值比较有统计学差异者即可认为具有该条目描述的征象；3) 专家建议增加湿阻气机的测量评估，除了原有条目蔗糖偏好实验异常能够一定程度上反映湿阻气机致肝气郁结的情况外，额外补充旷场实验作为评估条目；4) 在语言表述方面，为便于理解，且避免条目之间含义重叠，将毛色晦暗改为毛发污秽；5) 对于 14 个不满足“重要性评分 ≥ 2.04”“变异系数 ≤ 30%”和“文献评价中出现频率 ≥ 2%”三个条件中至少一个的条目，在下一步工作中应设计动物实验进行全面考评。

经过修订考评，最后确定 33 个条目的中医湿证动物模型宏观评价工具（见附表 1，请扫描本文

表 2 中医湿证动物模型宏观评价工具核心条目的专家重要性评分及变异系数
Table 2 Expert importance scoring results and coefficient of variation of core items in macros-evaluation of dampness syndrome animal models in TCM

条 目	专家重要性 评分均值	专家重要性 评分标准差	变异系数 /%	条 目	专家重要性 评分均值	专家重要性 评分标准差	变异系数 /%
大便不成形	2.57	0.507	19.73	尿量减少	2.04	0.767	37.60
懒动	2.52	0.593	23.53	皮肤溃烂	2.00	0.603	30.15
大便溏薄	2.52	0.593	23.53	体重增加	1.96	0.767	39.13
肛周污秽	2.52	0.593	23.53	毛发杂乱	1.91	0.596	31.20
舌苔厚腻	2.52	0.665	26.39	关节变形	1.91	0.596	31.20
神态萎靡	2.48	0.593	23.91	舌淡	1.87	0.694	37.11
活动量减少	2.48	0.511	20.60	毛发少光	1.83	0.576	31.48
跑步持续时间下降	2.43	0.590	24.28	肛门扩张或脱肛	1.83	0.576	31.48
步态迟缓	2.39	0.656	27.45	尿色深黄	1.78	0.736	41.35
皮肤水肿	2.39	0.656	27.45	毛发稀疏	1.74	0.619	35.57
日摄食量减少	2.36	0.581	24.62	体温（肛温）升高	1.70	0.635	37.35
跑步距离下降	2.35	0.573	24.38	体温（肛温）降低	1.70	0.635	37.35
面部分泌物多	2.35	0.714	30.38	体重减轻	1.57	0.788	50.19
毛色晦暗	2.30	0.559	24.30	爪耳色淡	1.57	0.590	37.58
日饮水量减少	2.30	0.559	24.30	日摄食量增多	1.55	0.671	43.29
强迫游泳实验异常	2.26	0.449	19.87	走路歪斜	1.48	0.730	49.32
关节肿大	2.13	0.694	32.58	日饮水量增多	1.48	0.790	53.38
蔗糖偏好实验异常	2.13	0.548	25.73	易激惹	1.39	0.656	47.19
扎堆	2.08	0.717	34.47	尿赤	1.35	0.573	42.44
蜷缩	2.04	0.767	37.60	大便燥细	1.35	0.647	47.93

二维码获取), 其中体重、腹围、体温(肛温)、日摄食量、日饮水量、尿量 6 个定量条目登记实际测量值, 进行组间比较, 与空白组的数值比较差异有统计学意义, 且符合中医湿证动物模型宏观评价工具使用手册中制定的条目评定标准, 则该条目评价为“是”, 反之为“否”。其他 27 个定性条目由研究者直接评价“是”或“否”。

结合专家意见, 同时参照中华中医药学会《湿证诊断标准》^[21], 确定以下湿证动物模型宏观评价的成模标准:

1) 对于专家重要性评分高且变异系数低的条目, 考虑为湿证典型宏观条目, 只要满足其中 1 条, 则代表造模成功。湿证典型宏观条目包括以下 10 条: 神态萎靡、懒动、活动量减少、大便不成形、大便溏薄、大便量少、肛周污秽、舌苔厚腻、跑步距离下降、跑步持续时间下降。

2) 对于本评价工具中重要性评分与变异系数处于中等水平的条目, 考虑为湿证非典型宏观条目, 很有可能是湿证发展至某一特殊阶段的表现, 需要同时出现 3 个或以上, 相互支撑佐证方能判断为湿证造模成功。湿证非典型宏观条目包括 13 条: 体重减轻、腹围增大、步态迟缓、蜷缩、毛发污秽、面部分泌物多、口腔分泌物多、日摄食量减少、日饮水量减少、舌胖大、蔗糖偏好实验异常、强迫游泳实验异常、旷场实验异常。

3) 对于本评价工具中重要性评分均值偏低、变异系数较高的条目, 考虑条目的特异性不高, 可能是湿证的表现, 也有可能是某些特定疾病或非湿证的证候在进展过程中出现的湿证类似宏观条目。若同时出现 6 个或以上, 则认为造模可能成功。此类条目包括 10 条: 扎堆、体温(肛温)升高、毛发杂乱、毛发少光、皮肤水肿、球结膜水肿、关节肿大、尿量减少、尿色深黄、小便浑浊。

2.8 湿证动物模型宏观评价工具的电子化

为进一步在湿证动物实验中考评该评价工具的适用性与信度效度, 我们完成了该评价工具及成模标准的电子化。采用微信小程序搭建中医湿证动物模型宏观评价工具的框架, 通过实时、多时点采集录入数据, 形成一份实验档案。该程序采用决策树分类算法, 能自动识别动物是否成模。目前该小程序已经构建完成, 并已在省部共建中医湿证实验室内部投入使用, 见附图 2 (请扫描本文二维码获取)。

3 讨论

中医湿证动物模型构建是基于湿邪致病的机理, 结合中医对人体湿证的症状体征的归纳、总结, 通过模拟“湿邪”施加于实验动物, 并反复调整模拟湿邪的各项参数, 如运用人工气候箱设置不同湿度、不同干预时间模拟不同强度的外湿, 采用阶梯浓度的高糖溶液、调整高脂饲料配比模拟不同强度的内湿, 从而在实验动物中获得与临床湿证类似的宏观表现与病理特征, 最终形成的一系列固定或大致固定操作方案的研究过程。中医湿证动物模型构建的方法属于病因造模的实验范式, 符合中医机理, 具有逻辑性^[22]。因此, 对于湿证动物模型的评价, 也应按照病因评估结合宏观评价的思路进行。在病因评估方面, 可以根据施加因素的中医特性, 大致分为外湿病因、内湿病因、不内外湿病因三类, 分别对应人体中的外湿侵袭、内伤湿邪、不内外湿三类湿证致病的病因^[23]。其中, 不内外湿病因概念参照《三因极一病证方论》中的“虎狼毒虫, 金疮痿折……有悖常理, 为不内外因”, 对应于现代医学中的药毒(医源性湿证)以及各种生物毒素如蛇毒、虫毒、破伤风毒素等具有不内外湿性质的病因所引发的病证^{[17] 57-64}。在宏观评价方面, 我们借鉴了中医诊断学的方法, 并结合常用实验动物大鼠、小鼠的生理特征, 将湿证动物模型宏观评价划分为神态形态、自主活动状态、体表特征、饮食、二便、舌象、运动行为学评估 7 个维度。与宏观评价的角度不同, 微观评价是以各项检测指标(标志物)或组织病理来识别病证的一种评价手段。微观评价虽然有助于我们深入理解与精准鉴定湿证^[24-25], 但相关研究仍处于探索阶段, 尚未获得大规模验证及业内公认。因此, 病因评估结合宏观评价的模式仍然是目前较为准确、实用性强的一种评价手段。

参考 ARRIVE 指南^[26], 从动物模型性能评估的角度, 中医湿证动物模型的评价还应立足于该模型的成模性、稳定性、可重复性及适用性的评估。成模性是指该动物模型是否契合中医湿证在人体中的表征表象、是否体现了中医湿证致病的过程; 稳定性是指该动物模型从制备到模型成熟的周期是否稳定, 同一实验、同一种群中不同个体的关键湿证宏观表现是否稳定; 可重复性是指该动物模型及构建方法在不同实验室、不同研究中能否复现; 适用性是评估不同的湿证动物模型(不同的造模方案)

在哪些疾病或哪一类机制研究中更为实用。本研究所构建的湿证动物模型评价工具重点在于动物成模性的评估,而其他三大性能的评估则应该结合评估的时间节点(纵向比较)以及不同设计方案,在具体数据分析及结果阐述中得到体现。

在湿证动物模型制备的相关文献分析中发现,虽然不同研究中宏观评价指标重合度较高,但仍缺乏系统化、量化标准^[19]。因此,我们在湿证动物模型宏观评价工具研制的过程中,采取了3个手段以期克服这一关键问题:1)引入了现代医学中动物行为学评价指标;2)登记实际测量值并与空白组比较,进行统计学分析;3)在中医湿证动物模型宏观评价工具的使用手册中对一些主观条目作出完善定义及简明操作方法的介绍。为了使操作便利,我们将这一评价工具电子化,使操作者能够快速确认实验动物模型构建是否成功,保证了该评价工具具有较强的可操作性。

关于条目保留与删除的标准,目前参照通用量表的研制方式^[27],基于文献研究结合专家重要性评分,采用3种不同的统计学方法筛选,删除代表性不佳、专家意见不协调且认为不重要的条目,确保了本评价工具的科学性及可信度。专家主要提出基于湿证的定位(脾、肺、皮肤、神志)、性质(内、外)、转归转化(寒、热)等对条目进一步划分。通过本研究的因子分析与聚类分析后发现,湿证核心条目可以聚类为“湿从寒化”与“湿从热化”两大类,为进一步构建湿证动物模型寒热转归的评估工具提供了依据。在下一步工作中,我们将根据专家意见,对湿邪来源、湿证寒热等病因、性质进行分类,以进一步构建适用于某一类或某几类湿证的评价量表。

综上所述,本研究参照通用量表的研发方式,在中医理论的指导下,对中医湿证动物模型进行了解析,构建了理论框架及中医湿证动物模型宏观评价工具的维度,运用文献分析与专家咨询结合的方法,通过因子分析、聚类分析等统计方法,最终完成了该评价工具的初步构建。本评价工具涵盖神态形态、自主活动状态、体表特征、饮食、二便、舌象、运动行为学评估7个维度,共33个评价条目,具有较强的科学性、可信度及可操作性。由于来源于文献的运动行为学评估维度的条目较少,因此该维度主要根据专家重要性评分及专家意见完成构建,可能存在一定的局限性。究其原因,可能与运动行为学评估操作较为繁琐,数据不易取得,导致

相关研究报道数量较少有关。下一步我们将开展动物实验,一方面,验证运动行为学评估维度对于湿证动物模型评价的适用性;另一方面,对不同湿证造模方法的动物进行多时点的调查实测,并基于不同批次、不同实验室或研究组之间的数据,考察本评价工具的信度及效度,以促进本评价工具的推广使用。

参考文献

- [1]王常松,吴同玉,陈学习,等.寒湿困脾证动物模型的建立和评价[J].上海中医药大学学报,2011,25(5):75-78.
- [2]樊新荣,黄贵华,朱文锋,等.太阴病脾虚寒湿证大鼠模型的建立与机理探讨[J].中华中医药学刊,2008,26(1):58-60.
- [3]吴大嵘,赖世隆.中医学健康概念及其测量操作化探讨[J].中国中西医结合杂志,2007,27(2):174-177.
- [4]张淑娜,陈丽云,严世芸.中医术语标准化刍议[J].中国中医基础医学杂志,2022,28(12):1980-1985.
- [5]World Health Organization. WHO international standard terminologies on traditional Chinese medicine [EB/OL]. (2022-03-03) [2024-01-01]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240042322>.
- [6]吴明隆.SPSS统计应用实务:问卷分析与应用统计[M].北京:科学出版社,2003:199-206.
- [7]JEBB AT, NG V, TAY L. A review of key likert scale development advances: 1995-2019 [J]. Front Psychol, 2021,12: 637547. doi: 10.3389/fpsyg.2021.637547.
- [8]张冬,张明妍,郑文科,等.中医药临床试验核心指标集构建及德尔菲法实施规范[J].中医杂志,2017,58(1):20-22.
- [9]何雯青,冯贞贞,春柳,等.慢性阻塞性肺疾病急性加重期证候疗效评价要素研究:基于文献研究结合专家咨询[J].中医杂志,2022,63(5):481-487.
- [10]王明航,李建生,李素云,等.基于专家问卷调查的慢性阻塞性肺疾病急性加重期疗效评价指标体系的建立[J].中华中医药杂志,2014,29(7):2120-2124.
- [11]郭秀花.实用医学调查分析技术[M].北京:人民军医出版社,2005:35-38.
- [12]庞湃,王斌,吴深涛,等.2型糖尿病浊毒内蕴证中医诊断量表的研制及验证[J].中医杂志,2024,65(2):159-170.
- [13]高一城,王建新,孙媛媛,等.专家证据在中医药临床实践指南中的应用思考及建议[J].中国循证医学杂志,2023,23(11):1360-1364.
- [14]陈家旭.中医诊断学[M].北京:中国中医药出版社,2015:130-132.
- [15]李经纬.中医大辞典[M].北京:人民卫生出版社,2005:1090-1092.
- [16]王彦辉.中医湿病学[M].北京:人民卫生出版社,1997:1-2.

- [17]路志正. 中医湿病证治学[M]. 2版. 北京:科学出版社, 2010.
- [18]郭金龙, 颜正华. 湿阻证病理造型的实验研究[J]. 中医杂志, 1988(8):59-61.
- [19]陈佳美, 朱青, 朴胜华, 等. 湿热证动物模型造模方法的文献挖掘研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(9):1399-1404.
- [20]王小雨, 贾玉晟, 张金穗, 等. 居民就医障碍量表编制及信效度分析[J]. 中国卫生经济, 2023, 42(10):4-9.
- [21]中华中医药学会. 湿证诊断标准[S]. 北京:中国标准出版社, 2023.
- [22]钟森杰, 李琳, 胡思远, 等. 中医病因型证候模型建立的思考[J]. 中国中医基础医学杂志, 2022, 28(2):310-314.
- [23]方肇勤. 大鼠小鼠辨证论治实验方法学[M]. 北京:科学出版社, 2009:45-50.
- [24]陈雪吟, 康福琴, 杨丽虹, 等. 中医湿证与微炎症状态的相关性探讨[J]. 中医杂志, 2021, 62(21):1841-1845, 1854.
- [25]卢月, 吴晶晶, 黎莉, 等. 基于肠道菌群探讨中医湿证的生物学基础[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(10):2469-2471.
- [26]KILKENNY C, BROWNE WJ, CUTHILL IC, et al. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research [J]. PLoS Bio, 2010, 8(6):e1000412.
- [27]路桃影, 谢倩文, 蔡坚雄, 等. 中医湿证评估量表的构建及初步优化[J]. 中医杂志, 2021, 62(19):1677-1683.

Construction of A Macro-evaluation Tool for Dampness Syndrome Animal Model in Traditional Chinese Medicine

LI Chuang^{1,2}, XU Peng^{1,2}, TIAN Ruimin^{1,2}, Cao Zhaorui^{1,3}, LIU Mingjia^{1,3}, ZHANG Lei^{1,2}, LU Zhaoyu^{1,2}, LAN Taohua^{1,2}, WANG Xiaowan^{1,2}, MAO Wei^{1,2}

1. State Key Laboratory of Dampness Syndrome of Chinese Medicine, The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, 510120; 2. Guangdong Province Traditional Chinese Medical Hospital; 3. The Second Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine

ABSTRACT Objective To construct a macro-evaluation tool for dampness syndrome (DS) animal model, which will provide a basis for experimental research on dampness syndrome in traditional Chinese medicine (TCM). **Methods** Conceptual framework of this study was clarified through discussions within the core working group, and dimensions of the evaluation of the animal model of DS were identified according to TCM principles. We searched CNKI, Wanfang, VIP and SinoMed databases from the inception to June 30th, 2023, on experiments involving dampness syndrome animals to create a pool of items about DS animal models. The core items were selected and extracted for factor analysis and cluster analysis. An expert importance rating questionnaire was developed based on the results of the literature review, analyzing the distribution of item scores, importance averages, and coefficient of variation. Through a comprehensive analysis of literature, expert importance scoring, and specific expert opinions, items that did not meet anyone of the criteria of average importance rating ≥ 2.04 , coefficient of variation $\leq 30\%$, or literature evaluation frequency $\geq 2\%$ were removed, thereafter, the macro-evaluation tool for DS animal model was preliminarily constructed. **Results** Spirit and body state, autonomic activity state, body surface characteristics, diet, urination and defecation, tongue manifestation, and motor behavior assessment were constructed as the seven dimensions in the evaluation of DS animal model. A total of 348 papers about animal experiments were included and analyzed, resulting in a saturated pool of 72 items, which was refined to 38 core items of DS animal models. Factor analysis obtained 16 common factors, which were further clustered into two categories, named dampness transforming from heat syndrome and dampness transforming from cold syndrome. The expert importance scoring showed that the Kendall harmony coefficient was 0.359 ($P < 0.05$) indicating a high level of agreement, coordination and reliability among the experts. Notably, 50% or more of the experts considered the items thick and greasy tongue coating, unclean perianal area, loose stools, lethargy, unformed stools, and listless expression as very important. The median scores for all items were 2.04 (1.73, 2.37), with a coefficient of variation ranging from 19.73% to 53.38%. After expert evaluation, the macro-evaluation tool for DS animal model in TCM with 33 items and corresponding criteria for assessing the formation of DS models was finally constructed. **Conclusion** The Macro-evaluation tool for DS animal model in TCM is highly scientific, credible, and operable, and can be utilized in DS animal experiments after its characteristics are actually evaluated.

Keywords dampness syndrome; animal model; model evaluation tool; expert importance rating

(收稿日期: 2024-01-18; 修回日期: 2024-05-03)

[编辑: 焦 爽]