

大黄酸诱导的泻药性结肠大鼠模型气阴两虚 伴气滞血瘀证候分析

何友成^{1,2}, 蒋风茹¹, 吴月¹, 周淳宇¹, 刘二浩¹, 周鹏飞¹, 潘可怡¹, 蔡舒雨¹, 袁建业^{1*}

(1. 上海中医药大学附属龙华医院, 上海 200032;

2. 福建中医药大学附属第二人民医院, 福州 350003)

[摘要] 目的:评价并分析大黄酸诱导的泻药性结肠(CC)大鼠模型的气阴两虚伴气滞血瘀证候。方法:将24只大鼠分为正常组和模型组(CC组),分别饲以等体积的生理盐水和2%大黄酸混悬液,进行为期3个循环约118 d的造模:第一循环46 d, 12 mL·kg⁻¹·d⁻¹,隔日灌胃;第二循环37 d, 12 mL·kg⁻¹·d⁻¹,灌5 d停2 d;第三循环35 d, 16 mL·kg⁻¹·d⁻¹,灌5 d停2 d。每个循环以80%的大鼠稀便消失为每个循环结束标准。观测大鼠体质量、24 h进食量、皮毛及其红(R)、绿(G)、蓝(B)值,旷场实验(OFT)测量大鼠活动总路程,以评定气虚;观测大鼠体质量系数、24 h饮水量,以评定阴虚;糖水偏好实验(SPT)测定糖水偏好度(SPR),OFT测量大鼠平均速度,评定抑郁状态(肝郁气滞);观测舌象及其R、G、B值,全自动血液流变仪器测定全血黏度和血浆黏度,评定血瘀;碳墨推进实验测量肠道推进率(ITR),以评定疾病模型;苏木素-伊红(HE)染色观察大鼠结肠病理组织学情况;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测结肠组织瞬时受体电位锚蛋白1(TRPA1)和色氨酸羟化酶1(TPH1)的mRNA表达;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测结肠组织TRPA1、TPH1蛋白表达情况。结果:证候指标方面,与正常组比较,CC组体质量明显降低($P<0.05$);24 h进食量显著增加($P<0.01$),且被毛萎黄,凌乱欠华,被毛R、G、B值均显著降低($P<0.01$),OFT总路程显著减少($P<0.01$);体质量系数显著降低($P<0.01$),24 h饮水量明显增加($P<0.05$, $P<0.01$);SPR显著降低($P<0.01$),OFT平均速度显著减慢($P<0.01$);舌质暗红,舌象R、G、B值均显著降低($P<0.01$),全血黏度和血浆黏度显著升高($P<0.01$)。疾病指标方面,与正常组比较,CC组ITR减慢($P<0.01$)。病理组织学上,HE染色可见CC组结肠黏膜上皮细胞坏死、脱落,结肠黏膜连续性受到破坏,伴见固有层炎性细胞浸润;半定量结果显示HAI评分明显升高($P<0.05$)、炎性细胞计数及其面积占比明显增多($P<0.05$)。分子生物学指标上,与正常组比较,CC组结肠组织TRPA1、TPH1的mRNA和蛋白表达水平明显降低($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:大黄酸诱导的CC大鼠模型符合气阴两虚伴气滞血瘀的中医证候特征。

[关键词] 泻药性结肠; 动物模型; 中医证候; 气阴两虚; 气滞血瘀

[中图分类号] R656.9;R285;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)11-0185-11

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20250314

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20250217.1711.004>

[网络出版日期] 2025-02-18 10:06:13



Qi and Yin Deficiency with Qi Stagnation and Blood Stasis in Rat Model of Rhein-induced Cathartic Colon

HE Youcheng^{1,2}, JIANG Fengru¹, WU Yue¹, ZHOU Chunyu¹, LIU Erhao¹, ZHOU Pengfei¹, PAN Keyi¹,
CAI Shuyu¹, YUAN Jianye^{1*}

(1. Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Shanghai 200032, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Fujian University of TCM, Fuzhou 350003, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate and analyze the syndrome characteristics of Qi and Yin deficiency accompanied by Qi

[收稿日期] 2024-10-06

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81874391,82474457);上海市“科技创新行动计划”医学创新研究专项(21Y11922600);上海市进一步加快中医药传承创新发展三年行动计划项目[ZY(2021-2023)-0403]

[第一作者] 何友成,在读博士,从事中医药防治脾胃病的临床和基础研究,E-mail:heyoucheng1996@163.com

[通信作者] *袁建业,研究员,博士生导师,从事中医药防治脾胃病的临床和基础研究,E-mail:yuanjianye@hotmail.com

stagnation and blood stasis in a rhein-induced cathartic colon (CC) rat model. **Methods:** Twenty-four rats were divided into a normal group and a model group (CC group). The rats were administered equal volumes of physiological saline or 2% rhein suspension by gavage to establish the model over three cycles (approximately 118 days). The first cycle lasted 46 days, with a dosage of $12 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, administered every other day. The second cycle lasted 37 days, with a dosage of $12 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, administered for 5 consecutive days followed by 2 days of cessation. The third cycle lasted 35 days, with a dosage of $16 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, also administered for 5 consecutive days followed by 2 days of cessation. Each cycle ended when 80% of the rats no longer exhibited loose stools. Body mass, 24 h food intake, coat condition, and coat red (R), green (G), and blue (B) values were recorded. The open field test (OFT) was used to measure the total distance traveled to evaluate Qi deficiency. The body mass coefficient and 24 h water intake were recorded to assess Yin deficiency. The sucrose preference test (SPT) was used to determine the sucrose preference rate (SPR), and the average speed in OFT was measured to evaluate depressive status (liver depression and Qi stagnation). Tongue images and their R, G, and B values were recorded. Whole blood viscosity (WBV) and plasma viscosity (PV) were measured using an automatic hemorheological analyzer to evaluate blood stasis. A carbon ink propulsion test was performed to determine the intestinal transit rate (ITR) for disease model evaluation. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe histopathological changes in the colon. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) was used to detect the mRNA expression of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) and tryptophan hydroxylase 1 (TPH1) in colon tissue. Western blot was used to detect the protein expression of TRPA1 and TPH1. **Results:** In terms of syndrome indicators, compared with the normal group, the body mass of the CC group decreased ($P < 0.05$), while 24 h food intake increased ($P < 0.01$). The coats of the CC group appeared withered, disheveled, and dull, and the R, G, and B values of the coat decreased ($P < 0.01$). The total distance traveled in OFT decreased ($P < 0.01$). The body mass coefficient decreased ($P < 0.01$), while 24 h water intake increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The SPR decreased ($P < 0.01$), and the average speed in OFT slowed ($P < 0.01$). The tongue appeared dark red, and the R, G, and B values of tongue images decreased ($P < 0.01$). WBV and PV increased ($P < 0.01$). Regarding disease indicators, compared with the normal group, the ITR decreased in the CC group ($P < 0.01$). Pathologically, HE staining showed necrosis and shedding of colonic mucosal epithelial cells, disruption of mucosal continuity, and infiltration of inflammatory cells in the lamina propria in the CC group. Semi-quantitative analysis showed increased HAI scores ($P < 0.05$) and increased inflammatory cell counts and area proportion ($P < 0.05$). In terms of molecular biological indicators, compared with the normal group, the mRNA and protein expression levels of TRPA1 and TPH1 in colon tissue decreased in the CC group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** The rhein-induced CC rat model conforms to the traditional Chinese medicine syndrome characteristics of Qi and Yin deficiency accompanied by Qi stagnation and blood stasis.

[Keywords] cathartic colon; animal model; syndrome of traditional Chinese medicine; deficiency of Qi and Yin; Qi stagnation and blood stasis

泻药性结肠(CC)是消化系统的难治病之一,是一种依赖泻剂维持排便的特殊类型便秘^[1]。现代医学以各类泻剂、微生态制剂和促动力药治疗为主^[2],但临床疗效常不稳定且易复发。故本病常给患者造成躯体和精神上的困扰,不少患者甚至伴有不同程度的焦虑抑郁状态^[3-4]。

近年来,中医药在本病的治疗上逐渐显现出独特优势,有关CC动物模型的研究也日渐深入,但鲜有文献对CC动物模型进行中医证候评价研究。中医理论认为“汗、吐、下、亡血”是造成阴液流失、精气耗伤,形成气阴两虚证的关键原因;泻下日久,进一步发展必然影响血运,最终形成气阴两虚伴气滞血瘀的证候状态^[5]。CC患者长期服用接触性泻药,以致泻下太过,耗伤气阴,病久入络,这正符合气阴两虚伴血瘀证候状态^[3,6]。团队临床观察发现,气阴两虚伴气滞血瘀为CC的主要证候亚型,且患者常存在不同程度的焦虑抑郁状态^[3];前期文献调研亦发现大黄酸诱导的CC大鼠模型可能存在气阴两虚证^[7]。此外,广泛表达于结肠上皮细胞的瞬时受体

电位锚蛋白1(TRPA1)和色氨酸羟化酶1(TPH1),被证实参与结肠5-羟色胺(5-HT)的合成^[8-9],从而影响结肠动力。还有研究发现,结肠TRPA1和TPH1的蛋白表达水平可能与抑郁状态呈负相关^[10-11]。参考文献[12]相关疾病模型,对模型进行疾病评价分析;参考现行中医临床诊疗术语(证候)^[13]中“阴虚证”“气虚证”“气滞证”“血瘀证”的相关主要证候描述,评价并分析大黄酸诱导的CC动物模型气阴两虚伴气滞血瘀证候,以期为CC的机制研究和新药研发提供可靠的模型工具。

1 材料

1.1 动物 24只SPF级SD大鼠,雌雄各半,6~7周龄,体质量200~220 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号SCXK(京)2021-0006,合格证编号110011241100404985、110011241100405056。饲养于上海中医药大学动物实验中心,实验单位动物许可证号SYXK(沪)2020-0009,室温20~25℃,相对湿度50%~70%。

1.2 伦理 本实验经上海中医药大学实验动物伦

理委员会审批,实验动物伦理批号PZSHUTCM2312170002。

1.3 药物与试剂 98%大黄酸(上海麦克林生化科技股份有限公司,货号R817294);羧甲基纤维素钠(国药集团化学试剂有限公司,货号30036328);4%多聚甲醛固定液(安徽白鲨生物科技有限公司,货号BL539A);苏木素-伊红(HE)染液(上海亿欣生物科技有限公司,货号23455);无水乙醇、二甲苯(上海泰坦科技股份有限公司,货号分别为P1814991、P2035269);RNA提取试剂盒、反转录试剂盒、ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix(南京诺唯赞生物科技股份有限公司,货号分别为RC112、R333、Q711);蛋白定量法(BCA)试剂盒、速溶型上蛋白样缓冲液、增强化学发光法(ECL)基础发光液(上海雅酶生物医药科技有限公司,货号分别为ZJ102、LT101、SQ202);放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液(强)、苯甲基磺酰氟(PMSF)、牛血清白蛋白(BSA)、ECL超敏发光液(上海碧云天生物技术有限公司,货号分别为P0013B、ST506、ST023、P0018FM);TRPA1、TPH1和 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(美国ImmunoWay生物技术公司,货号分别为YN3017、YT4709、YT0099);兔二抗(杭州华安生物技术有限公司,货号HA1001)。

1.4 仪器 旷场实验(OFT)箱(尺寸100 cm×100 cm×50 cm);SA-6000型全自动血液流变测试仪(北京赛科希德公司);TP1020型自动脱水机、EG1150H型自动包埋机、RM2125型组织切片机(德国徕卡公司);DHG-9030A型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备公司);CX33型倒置显微镜(日本OLYMPUS公司);StepOne™型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪、Nano Drop One型核酸蛋白测定仪(赛默飞世尔上海科技有限公司);POWER PAC200型蛋白垂直电泳系统、转膜槽、凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司);KZ-5F-3D型组织研磨匀浆仪(武汉赛维尔生物科技有限公司);Centrifuge 5430 R型高速低温离心机(德国艾本德股份公司);Synergy H4型酶标仪(美国BioTek公司)。

2 方法

2.1 分组及造模 因对比各组体质量差异,根据体质量,采用区组随机的方法^[14]将24只大鼠分为正常组、模型(CC)组,每组各12只,雌雄各半。先适应性喂养3 d,根据文献^[12],采用2%大黄酸混悬液(2 g大黄酸溶解于100 mL的0.5%羧甲基纤维素钠

生理盐水)对大鼠进行灌胃,复制CC大鼠模型:第一循环46 d,12 mL·kg⁻¹·d⁻¹(即每天以每100 g体质量大鼠予1.2 mL大黄酸混悬液灌胃),隔日灌胃;第二循环37 d,12 mL·kg⁻¹·d⁻¹,灌5 d停2 d;第三循环35 d,16 mL·kg⁻¹·d⁻¹,灌5 d停2 d。每个循环以半数大鼠粪便变稀的剂量为维持剂量,出现80%的大鼠稀便消失为每个循环结束标准。正常组予以同等体积生理盐水。整个造模周期约118 d,第三循环结束后1周取材。整个造模过程中CC组3只大鼠死亡(雄性1只,雌性2只),均因灌胃时误入气道,窒息而死。通过碳墨推进实验测定肠道推进率(ITR)^[12],判断CC模型成功。

2.2 评价思路 参考现行中医临床诊疗术语(证候)“阴虚证”“气虚证”“气滞证”“血瘀证”的主要证候描述和相关动物模型中医证候研究,观测大鼠体质量^[15],24 h进食量^[16],皮毛及其红(R)、绿(G)、蓝(B)值^[17],旷场实验(OFT)测量大鼠活动总路程^[18],分别反映消瘦、纳差、皮毛色泽、乏力少动的程度,以评定气虚。观测大鼠体质量系数^[15]、24 h饮水量^[19],分别反映消瘦、口渴喜饮,以评定阴虚。糖水偏好实验(SPT)测定糖水偏好度(SPR)^[20],OFT测量大鼠平均速度^[18],反映抑郁状态的程度,以评定(肝郁)气滞。观测舌象及其R、G、B值^[21],全自动血液流变仪器测定全血黏度和血浆黏度^[22],反映舌色暗红和血液“黏”的程度,以评定血瘀^[23]。结合HE染色观察大鼠结肠黏膜组织学、Real-time PCR、蛋白免疫印迹法(Western blot)检测结肠组织TRPA1、TPH1的mRNA和蛋白表达情况,加以佐证。

2.3 评价方法

2.3.1 体质量及体质量系数 “体质量系数”,即每只动物体质量/正常组动物体质量均值,用以评估阴虚程度^[15]。每2周称取安静状态下大鼠的体质量。体质量系数>1.2为形丰,<0.85为阴虚,<0.7阴亏,<0.6为液脱。

2.3.2 24 h饮水量及进食量 “口渴喜饮”是阴虚证的主要表现之一,故饮水量可以判断大鼠是否存在阴虚证^[19]。每笼放置1个500 mL饮水瓶。24 h饮水量每4周测量1次,每次连续测量3 d,取均值;每天13:00称取装有纯净水的饮水瓶质量;24 h饮水量(mL/只)=(前1 d饮水瓶质量-当天饮水瓶质量)/每笼鼠数^[19]。

“纳差”是(脾)气虚证的主要表现之一,气虚证大鼠多表现为进食量减少,故评估大鼠进食量可以判断大鼠是否存在(脾)气虚证^[16]。24 h进食量于

第3循环期间连续测量9 d,取均值;24 h进食量(g/只)=(前1 d饲料质量-当天饲料质量)/每笼鼠数^[24]。

2.3.3 被毛及R值、G值、B值 毛发色泽是气血的外在表现,气血充足,则毛发有光泽。R、G、B值常用于评价物体色泽,一般被毛色泽越鲜艳、光亮,R、G、B值越高;被毛越萎黄、暗沉,R、G、B值越低^[17]。麻醉后,将大鼠平放于白纸上,同一水平面,保持数码相机参数固定、光源固定,拍摄并观察大鼠被毛。以大鼠背正中中线为纵线,两前肢、两后肢连线为横线将背正中中线三等分,并取三段中点作为固定观测点,后用Photoshop 2023软件获取大鼠固定3点R、G、B值,并求均值,作为每只大鼠被毛R、G、B值^[17]。

2.3.4 舌象及R值、G值、B值 舌象可反映气血状态的盈亏通滞,舌质暗红是血瘀证的关键征象。一般舌质越鲜红,R、G、B值越高;舌质越暗,R、G、B值越低^[21]。麻醉后,以棉签将大鼠舌头挑出,同一水平面,保持数码相机参数固定、光源固定,拍摄并观察大鼠舌象。以大鼠舌正中中线为纵线,“舌面三分法”作两条横线将舌正中中线三等分,并取三段中点作为固定观测点,后用Photoshop 2023软件获取大鼠舌面固定3点的R、G、B值,得出3点R值、G值、B值的均值,作为每只大鼠舌象R、G、B值。

2.3.5 SPT测量4 h SPR 肝郁气滞是抑郁状态或抑郁症的主要病机,动物实验中常用SPT评价抑郁大鼠,故可结合SPR评价大鼠是否存在抑郁状态,有无(肝郁)气滞证^[20]。一般大鼠处于抑郁状态时,SPR降低。造模成功1周后,两组大鼠置于配有2个相同水瓶的笼中单独饲养。参照文献[20,25]:第1天先予每只大鼠1%蔗糖水,自由饮用24 h;第2天给予1%蔗糖水和纯水,12 h后更换水瓶位置,自由饮用24 h;第3天,禁食禁水24 h;第4天,予每只大鼠1%蔗糖水和纯水各1瓶,自由饮用,2 h时更换水瓶位置,4 h后取走水瓶,并称取糖水和纯水的饮用量,全称水瓶使用同一规格水瓶。SPR=(糖水消耗量/液体总消耗量)×100%。

2.3.6 OFT记录大鼠运动总路程和平均速度 OFT不仅可反映大鼠情志状态,还可通过大鼠运动总路程观测大鼠的运动能力,评价大鼠“乏力少动”的程度^[18]。将大鼠放入旷场中适应3 min,随后自由运动5 min,摄像头记录动物及路径。实验结束后,用75%乙醇清理旷场上一只大鼠的排泄物,避免干扰下一只大鼠的运动。使用Noldus Ethovision XT软件记录大鼠在旷场中的运动总路程和平均运动

速度。

2.3.7 碳墨推进实验测量ITR 禁食不禁水24 h,2 mL印度墨水灌胃,30 min后,开腹取自贲门至盲肠的消化道,测量肠道全长及印度墨水在肠道内推进的长度。ITR=墨水推进长度/肠道长度×100%。

2.3.8 血液流变学评价 血液流变学是评价血液“黏”程度的指标和方法^[22]。大鼠麻醉后,腹主动脉取血4 mL,置于肝素钠抗凝采血管,全自动血流变分析仪测定全血黏度的低、中、高切变率;然后全血经25 °C、3 000 r·min⁻¹离心10 min(离心半径15 cm),制备血浆以测定血浆黏度^[22]。

2.3.9 HE染色观察结肠组织病理变化 2%戊巴比妥钠麻醉后,开腹,剪取靠近肛门侧的结肠组织,置于4%多聚甲醛固定液中24 h,后流水冲洗1 h,进行乙醇梯度脱水,石蜡包埋、切片,HE染色,中性树脂封片。常规光镜下观察(×200、×400)结肠组织的病理变化,并进行组织学活动指数(HAI)评分^[26]。HAI参照表1进行评分,计算上皮和浸润分数的总和,得出总HAI分数。用Image J软件对×400下的结肠组织的炎性细胞计数和面积占比进行半定量分析。

表1 HAI评分

Table 1 HAI Score

评分/分	上皮损伤	炎细胞浸润
0	正常	无
1	少量杯状细胞损失	围绕隐窝基部浸润
2	杯状细胞的大量损失	肌层黏膜浸润
3	隐窝的少量损失和杯状细胞的广泛损失	肌层黏膜广泛浸润、水肿
4	隐窝的广泛损失	黏膜下层浸润

2.3.10 Real-time PCR检测结肠组织TRPA1、TPH1的mRNA水平 根据说明书,使用RNA试剂盒提取结肠组织总RNA,用HiScript III All-in-one RT SuperMix for qPCR试剂盒进行逆转录合成cDNA。将cDNA与ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix混合后进行Real-time PCR扩增(反应条件:取cDNA 2 μL,加入上、下游引物各0.2 μL,95 °C预变性30 s;95 °C变性10 s,60 °C退火30 s,40个循环;72 °C延伸1 min,缓慢上升至95 °C,1个循环后结束),根据溶解曲线判断扩增结果是否准确,以β-actin为内参,采用相对定量2^{-ΔΔC_t}法进行分析。引物由上海闪晶分子生物科技有限公司设计并合成,序列见表2。

表2 引物序列

Table 2 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
TRPA1	上游GGTGCACACATCGACATGATG	138
	下游GCCATCGACTGCATTACCG	
TPH1	上游AGAGATTCCTGTGTCAGGGTTAGC	112
	下游CTAAGAGTTCGTGGCAGGTGTC	
β -actin	上游CCCATCTATGAGGGTTACGC	150
	下游TTTAATGTCACGCACGATTC	

2.3.11 Western blot 检测结肠组织 TRPA1、TPH1 蛋白表达水平 取大鼠结肠组织约 50 mg, 裂解, 匀浆, 离心, 取上清液, BCA 法蛋白定量。配制上样蛋白, 95 °C 变性, 冻存待用。蛋白电泳, 随后将其转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。5% BSA 封闭后, 以 TRPA1(1:1 000)、TPH1(1:1 000)和 β -actin(1:10 000)一抗 4 °C 下孵育过夜。经 1×TBST 清

洗, 加入兔二抗(1:5 000), 常温孵育后, 分别进行显影, 拍照。使用 Image J 软件计算目的蛋白的相对表达量。

2.4 统计学方法 采用 GraphPad Prism 8 对实验结果进行分析。对各组数据进行正态性检验和方差齐性分析。符合正态分布的资料, 采用 $\bar{x}\pm s$ 表示。其中, 两组单个时间点的数据采用两样本 *t* 检验; 多个观测时间点的数据采用重复测量方差分析(拟混合效应模型)。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 体质量及体质量系数 随着时间推移, 两组体质量均增加。与正常组比较, CC 组体质量增长缓慢, 平均体质量低于正常组, 自第 12 周开始, CC 组体质量均明显降低(*P*<0.05)。第 16 周时, 与正常组比较, CC 组体质量系数显著降低(*P*<0.01)。见表 3-表 5。

表3 大黄酸对大鼠体质量的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Effect of rhein in body weight of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	0周	2周	4周	6周	8周
正常组	12	225.42±9.75	306.50±44.60	368.17±72.78	411.00±93.94	432.33±106.88
CC组	9	226.33±6.96	258.22±28.29	296.33±42.41	327.33±53.24	354.22±61.80

组别	<i>n</i>	10周	12周	14周	16周
正常组	12	453.25±121.96	490.08±134.06	506.17±139.58	516.00±144.80
CC组	9	362.22±62.78	390.78±73.41 ¹⁾	402.22±77.19 ¹⁾	405.56±78.32 ¹⁾

注: 与正常组同时点比较¹⁾*P*<0.05, ²⁾*P*<0.01(表 5-表 15 同)

表4 CC组阴虚程度判定

Table 4 Determination of degree of Yin deficiency in model group

性别	模型体质量系数	阴虚程度判定
雄鼠	0.86	趋近阴虚
	0.76	阴虚
	0.69	阴亏
	0.68	阴亏
	0.67	阴亏
雌鼠	0.75	阴虚
	0.83	阴虚
	0.82	阴虚
	0.94	非阴虚

表5 大黄酸对大鼠体质量系数的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 5 Effect of rhein in weight coefficients of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	体质量系数
正常组	12	1.00±0.14
CC组	9	0.78±0.09 ²⁾

3.2 大黄酸对大鼠 24 h 进食量和 24 h 饮水量的影响 第 3 循环连续 9 d 称取两组大鼠 24 h 进食量, CC 组进食量显著高于正常组, 差异具有统计学意义(*P*<0.01)。此外, 随着时间推移, 两组饮水量均增加, 且在 4、8、12、16 周, CC 组饮水量均明显高于正常组, 差异具有统计学意义(*P*<0.05, *P*<0.01)。见表 6、表 7。

表6 大黄酸对大鼠第三循环 24 h 进食量的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 6 Effect of rhein in 24-hour food intake of rats in cycle 3 ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	24 h 进食量/g
正常组	12	4.35±1.06
CC组	9	6.18±0.60 ²⁾

3.3 大黄酸对大鼠被毛及 RGB 值的影响 正常组大鼠被毛色白, 柔顺光泽; CC 组大鼠被毛萎黄, 隐隐发红, 凌乱欠华。与正常组比较, CC 组 R、G、B 值均显著降低(*P*<0.01)。见表 8、图 1。

表7 大黄酸对大鼠24 h饮水量的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 7 Effect of rhein in 24-hour water intake of rats ($\bar{x}\pm s$)

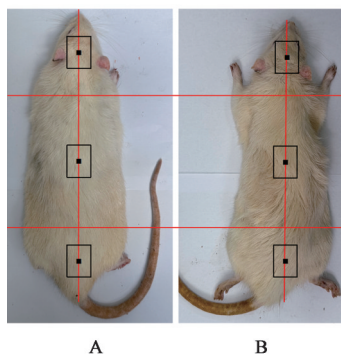
mL

组别	n	0周	4周	8周	12周	16周
正常组	12	30.73±7.92	38.04±1.45	39.35±0.12	41.04±2.07	40.46±0.50
CC组	9	27.80±3.79	46.14±2.29 ¹⁾	51.54±1.70 ²⁾	54.90±3.26 ²⁾	59.45±1.03 ²⁾

表8 大黄酸对大鼠被毛R值、G值、B值的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 8 Effect of Rhein in R-value, G-value and B-value of coat of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	被毛R值	被毛G值	被毛B值
正常组	12	172.90±11.46	164.70±11.11	139.10±10.84
CC组	9	133.90±6.63 ²⁾	115.90±6.75 ²⁾	87.34±8.02 ²⁾



注:A.正常组;B.CC组(图2-图6同)

图1 大黄酸对大鼠被毛色泽的影响

Fig. 1 Effect of rhein in coat color of rats

3.4 大黄酸对大鼠舌象和RGB值的影响 正常组大鼠舌淡红、苔薄白,CC组舌暗红、苔薄白。与正常组比较,CC组R、G、B值显著降低($P<0.01$)。见表9、图2。

表9 大黄酸对大鼠舌象R值、G值、B值的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 9 Effect of rhein in R-value, G-value and B-value of rat tongue image of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	舌面R值	舌面G值	舌面B值
正常组	12	130.00±16.71	88.23±14.28	94.02±16.24
CC组	9	100.40±19.12 ²⁾	65.22±11.22 ²⁾	67.52±13.09 ²⁾

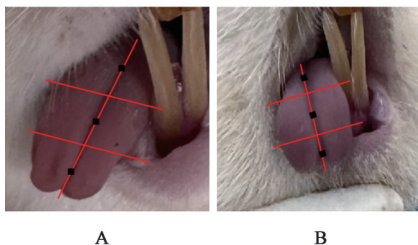


图2 大黄酸对大鼠舌象的影响

Fig. 2 Effect of rhein in rat tongue image

3.5 大黄酸对大鼠SPR和OFT的影响 与正常组比较,CC组SPR及大鼠旷场活动的总路程和平均

速度显著降低($P<0.01$)。见表10、图3。

表10 大黄酸对大鼠SPR、总路程、平均速度的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 10 Effect of Rhein in SPR, total distance, and average speed of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	SPR/%	OFT总路程/cm	OFT平均速度/ $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$
正常组	12	83.85±4.97	2 552.00±592.70	8.50±1.91
CC组	9	59.72±7.97 ²⁾	1 790.00±362.90 ²⁾	5.98±1.37 ²⁾

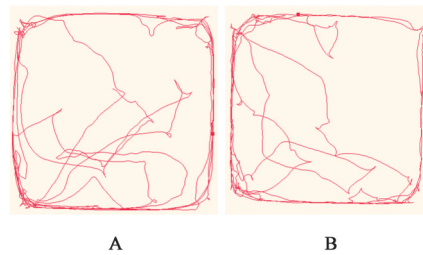


图3 大黄酸对大鼠OFT轨迹的影响

Fig. 3 Trajectory map of rats in OFT

3.6 大黄酸对大鼠ITR的影响 与正常组比较,CC组ITR显著减慢($P<0.01$)。见表11、图4。

表11 大黄酸对大鼠ITR的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 11 Effect of Rhein in ITR of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	ITR/%
正常组	12	82.66±4.40
CC组	9	64.26±7.59 ²⁾



图4 大黄酸对大鼠肠道碳墨推进长度的影响

Fig. 4 Carbon ink advancement length in rat intestine

3.7 大黄酸对大鼠血液流变学的影响 与正常组比较,CC组全血黏度(低、中、高切变率)和血浆黏度均显著升高($P<0.01$)。见表12。

3.8 结肠组织病理 正常组大鼠结肠黏膜组织黏膜层结构完整;CC组大鼠结肠黏膜上皮细胞坏死、脱落,结肠黏膜连续性受到破坏,固有层可见炎性细胞浸润现象。经半定量分析,与正常组比较,CC

表12 大黄酸对大鼠血液流变学的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 12 Effect of Rhein in hemorheology of rats ($\bar{x}\pm s$) mPa·s⁻¹

组别	n	全血黏度			血浆黏度
		全血低切	全血中切	全血高切	
正常组	12	9.36±0.74	4.86±0.23	4.09±0.12	1.37±0.08
CC组	9	12.17±0.79 ²⁾	6.13±0.46 ²⁾	5.01±0.39 ²⁾	1.52±0.12 ²⁾

组炎症细胞和面积占比明显增加($P<0.05$)。见表13、图5。

表13 大黄酸对大鼠结肠组织病理评分、有核细胞计数和占比的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 13 Effect of Rhein in inflammatory cells of colon tissues of rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	HAI	炎性细胞计数/个	炎性细胞面积占比/%
正常组	0.67±0.58	4 044.00±788.10	33.60±3.29
CC组	3.33±1.53 ¹⁾	6 120.00±892.50 ¹⁾	41.37±2.94 ¹⁾

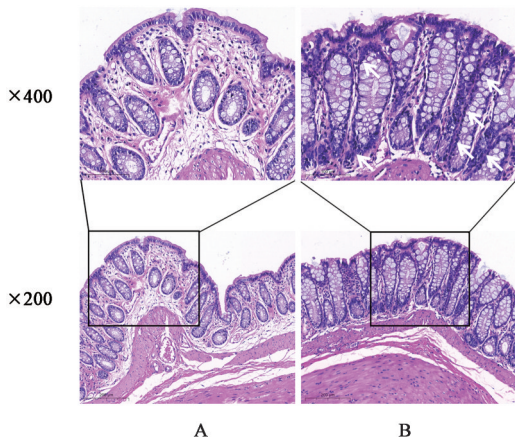


图5 大黄酸对大鼠结肠组织病理变化的影响(HE)

Fig. 5 Pathological changes of rat colon tissue (HE)

3.9 大黄酸对结肠组织TRPA1、TPH1 mRNA表达的影响 与正常组大鼠比较,CC组大鼠结肠TRPA1、TPH1 mRNA表达明显减低($P<0.05$)。见表14。

表14 大黄酸对大鼠结肠TRPA1和TPH1的mRNA水平的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 14 Effect of Rhein in mRNA levels of TRPA1 and TPH1 in colon tissue of rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	TRPA1	TPH1
正常组	1.00±0.23	1.00±0.37
CC组	0.44±0.12 ¹⁾	0.21±0.09 ¹⁾

3.10 大黄酸对结肠组织蛋白表达水平的影响 与正常组比较,CC组结肠TRPA1、TPH1表达水平明显降低($P<0.05, P<0.01$)。见表15、图6。

表15 大黄酸对大鼠结肠TRPA1和TPH1相对表达量的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 15 Effect of Rhein in relative expression levels of TRPA1 and TPH1 in colon tissue of rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	TRPA1/ β -actin	TPH1/ β -actin
正常组	1.00±0.05	1.00±0.06
CC组	0.81±0.06 ¹⁾	0.09±0.03 ²⁾

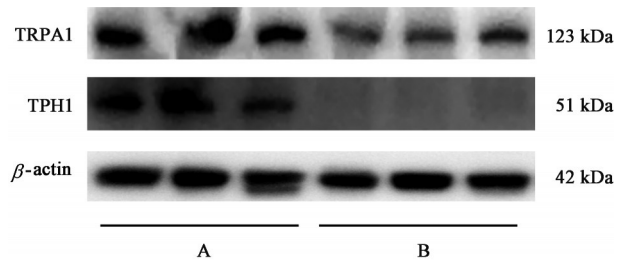


图6 大鼠结肠TRPA1、TPH1的蛋白表达电泳

Fig. 6 Electrophoresis of TRPA1 and TPH1 protein expression levels in rat colon

4 讨论

本团队通过长期的临床观察发现,CC患者常表现为排便费力或时间延长,伴有形体消瘦、神疲乏力、口干喜饮、唇舌色暗等气阴两虚伴血瘀的证候特征,予具有益气养阴、理气活血功效的中药复方可明显改善患者的临床症状,相关临床疗效研究也在进行中。此外,笔者在相关文献研究中发现大黄酸诱导的CC存在气阴两虚的中医证候特征。“吐下之余,定无完气”,长时间给予泻下药,首先直接造成津液耗伤,进而“津不载气”“气随液脱”,形成气阴两虚的病理状态;泻下伤津,久则累及血运,以致血瘀,故长期给予泻下药可能是诱导气阴两虚伴气滞血瘀证动物模型的潜在方法。

本研究结果显示,经大黄酸诱导的模型组大鼠,ITR降低,说明大鼠肠道推进不足,符合CC的基本疾病特征。已有研究证明,长期服用接触性泻剂导致肠神经系统、Cajal细胞、平滑肌细胞损伤是CC的关键机制之一^[27]。

进一步观察了CC动物模型的中医证候特征。毛发有色泽、肌肉状态是脾气充沛的外在表现。脾脏健运,气血充足,则毛发有光泽、肌肉丰实。R、G、B值常用于评价物体色泽,一般被毛色泽越鲜艳、光亮,R、G、B值越高;被毛越萎黄、暗沉,R、G、B值越低^[17]。接触性泻剂常用于诱导(脾)气虚证动物模型,恰如不少学者以番泻叶和大黄等诱导气(脾)虚证模型,均出现消瘦,被毛萎黄、凌乱欠华等表现^[28-30]。而大黄酸是大黄的主要有效活性成分之

一,属于接触性泻剂的一种。研究发现,CC组大鼠饲以大黄酸后,形体消瘦,被毛萎黄欠华,隐隐发红,凌乱竖立;半定量分析也证明,与正常组比较,CC组大鼠体质量降低、被毛的R、G、B值明显降低。这说明,长期使用接触性泻剂易致(脾)虚,气血化生乏源,毛发失养而萎黄欠华。《黄帝内经·素问·痿论》:“脾主身之肌肉”,张志聪注解《黄帝内经·素问·五脏生成》更是明确提出“脾主运化水谷之精,以生养肌肉,故主肉”。物质决定功能,形体消瘦者运动能力欠佳,即神疲乏力、少动。OFT结果显示,与正常组比较,CC组大鼠旷场活动总路程减少,这提示模型大鼠运动能力降低,这与气虚证“乏力少动”的典型症状相一致。因此,从体质量、被毛色泽、OFT总路程直接证实模型大鼠存在气虚证的病理表现。值得注意的是,CC组大鼠进食量较正常组增多,这与(脾)气虚证“纳差”的临床表现相悖,推测可能与长期较大剂量使用大黄酸,“泻下无度”,使得大鼠机体不得不增加进食量,弥补消耗有关。

除此之外,阴虚证的相关外候也是本研究观察重点,饮水量和体质量是衡量大鼠阴虚证的关键指标^[31-32,18]。基于体质量评估模型动物阴虚程度(本文简称为“体质量系数”)是方肇勤等^[15]基于中医“阳化气、阴成形”理论提出,其认为阴虚主要表现为形质的减少,消瘦是最为典型且易于评估的征象之一;阴虚易生内热,但伴有气虚时,热象往往不显著。这可能是CC大鼠舌象无明显热象的原因之一。饮水量增加是口渴喜饮的直接体现,阴虚证患者常需多饮水而滋阴,故饮水量是评价阴虚证的重要指标之一。本研究发现,与正常组比较,CC组大鼠体质量系数降低、饮水量增多,直接说明了久服大黄等接触性泻剂,耗伤阴液,致使CC大鼠体质量增长缓慢,较正常大鼠消瘦、口渴喜饮。因此,CC组大鼠体质量系数降低、饮水量增加,提示着大黄酸诱导的CC确实存在阴虚的病理状态。

肝郁气滞是抑郁状态的基本病机,动物实验中常用SPT和OFT评估大鼠的焦虑抑郁状态,故可结合SPR和OFT平均速度评价大鼠是否存在情志异常,即有无(肝郁)气滞证^[20]。一般大鼠处于抑郁状态时,SPR降低和OFT平均速度减慢。SPT和OFT均属于行为学实验,前者是基于动物好甜(奖赏机制)的特性,用于评估动物快感缺失症状和抑郁的程度^[33-34];后者则是根据啮齿类动物畏惧空旷场地(即活动具有趋避性)和对新事物的好奇性两种矛

盾心理(探索机制)而设计的,其本质是根据新环境带来的压力所引发的行为判断其精神与心理状态^[35-36],可评估啮齿类动物的焦虑抑郁状态。SPT和OFT结果显示,与正常组比较,CC组SPR和平均速度均降低,这反映了模型大鼠快感缺失和敏捷度降低,提示该模型大鼠存在抑郁状态,即中医“肝郁气滞证”。研究发现,慢性便秘患者存在着不同程度的焦虑抑郁状态,但既往尚无对CC患者情志状态的评估^[37-39]。本研究初步证实了大黄酸诱导CC动物模型存在焦虑抑郁状态,即中医“肝郁气滞”范畴,未来有望通过临床研究进一步证实。

舌象可反映气血状态的盈亏通滞,舌质暗红是血瘀证的关键征象,一般舌质越鲜红,R、G、B值越高,舌质越暗,R、G、B值越低^[21],而血液流变学是评价血液“黏”程度的指标和方法,是直接反映血瘀证的客观化指标^[22]。故结合舌象和血液流变学是判定血瘀证的重要判断标准之一^[23]。本研究发现,与正常组比较,模型组大鼠舌色暗红,舌面有隐隐瘀斑;半定量分析也显示,与正常组比较,CC组R、G、B值降低,提示模型组舌面色暗红,有血瘀征象。此外,血液流变学结果显示,与正常组比较,CC组大鼠的全血黏度和血浆黏度升高,说明模型大鼠的血液普遍具有血瘀证“黏”的特点。已有动物研究也显示,与正常组比较,大黄诱导的CC模型动物血清内皮素1和一氧化氮显著升高,结肠黏膜微循环灌注增加,这提示CC大鼠存在血瘀的征象^[40-41]。

HE染色可见结肠黏膜连续性受到破坏,固有层炎性细胞浸润,经半定量分析发现,与正常组比较,模型组炎性细胞明显增加,结肠病理HAI评分升高。由此可见,大黄酸诱导的CC大鼠存在结肠黏膜炎症。

TRP通道是一类通过改变细胞膜电位或细胞内Ca²⁺浓度来实现信号转导的阳离子通道,TRPA1是其中一种亚型^[42]。TRPA1和TPH1^[43]均广泛表达于肠嗜铬细胞(ECs)上。细胞实验发现,TRPA1在受到激动剂刺激下,使得胞外Ca²⁺内流,上调TPH1的表达,从而促进5-HT合成。TRPA1和TPH1已被证实参与慢性便秘的发生^[8,44]。有学者从细胞和组织层面证实了口服TRPA1激动剂(ASP7663)缓解洛哌丁胺诱导的便秘小鼠症状的机制,在于“TRPA1激活促进ECs释放5-HT”^[45]。还有学者证实了洛哌丁胺诱导的慢性便秘大鼠结肠TPH1表达减少,血清5-HT水平降低^[46]。有研究指出,TRPA1的异常表达是便秘与情绪异常共病发生的关键机

制之一^[10-11];结肠TPH1表达水平降低可能与抑郁症的发生呈负相关。本研究也发现,大黄酸诱导的CC大鼠不仅存在肠道推进率不足,其行为学实验也提示该模型存在抑郁倾向,这符合“肝郁气滞”的病机特征,推测与TRPA1和TPH1的mRNA和蛋白表达减少有关。因此,TRPA1/TPH1/5-HT信号通路有望成为未来进一步研究CC伴抑郁状态的新靶点。

综上所述,该模型在病因上模拟长期服用接触性泻药(大黄酸),病理改变上存在肠道推进减慢、结肠,符合CC的疾病特征,符合下法所致气阴两虚伴气滞血瘀的中医证候特征,初步证明长期饲以大黄酸可诱导气阴两虚伴气滞血瘀证CC动物模型。本研究也存在不足,时间点设置不足,未能观察并对比造模前后动物行为学差异、进食量变化;因目前尚无公认的治疗CC的益气养阴理气活血的中药复方,未能结合中药复方反证模型;模型尚不能代表CC的所有证候亚型;未能对比不同接触性泻剂诱导的CC模型的中医证候特征。团队后期将进一步完善研究设计和评价指标,根据“方证相应”理论筛选合适的中药复方反证模型,评价不同接触性泻剂诱导的CC模型的中医证候特征,并结合代谢组学、蛋白质组学等进一步探索模型的生物学基础。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] HUO M, ZHANG B, DING S, et al. Evaluation of therapeutic effect of Jichuanjian on cathartic colon[J]. Iran J Public Health, 2016, 45(4): 542-543.
- [2] 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组,功能性胃肠病协作组. 中国慢性便秘专家共识意见(2019,广州)[J]. 中华消化杂志, 2019, 39(9): 577-578.
- Neurogastroenterology and Motility Committee, Chinese Society of Gastroenterology. Chinese expert consensus on chronic constipation (2019, Guangzhou) [J]. Chin J Dig, 2019, 39(9): 577-578.
- [3] 何友成, 蒋风茹, 李思汉, 等. 基于络病理论探讨辛润通络法治疗泻剂结肠的理论内涵[J]. 上海中医药杂志, 2024, 58(3): 47-51.
- HE Y C, JIANG F R, LI S H, et al. Discussion on the theoretical connotation of Xinrun Tongluo method in treating cathartic colon based on the theory of collateral diseases[J]. Shanghai J Tradit Chin Med, 2024, 58(3): 47-51.
- [4] 李苗华, 陈懿榕, 葛冰景, 等. 十宝润肠方治疗泻药依赖性便秘的疗效及作用机制[J]. 西部中医药, 2021, 34(12): 95-98.
- LI M H, CHEN Y R, GE B J, et al. Probe into clinical effects of Shibao Runchang prescription in treating laxative-dependent constipation and its mechanism[J]. West J Tradit

- Chin Med, 2021, 34(12): 95-98.
- [5] 柴程芝, 寇俊萍, 王文萍, 等. 基于中医临床诊疗模式构建气阴两虚证动物模型的构想与初步探索[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2012, 14(3): 1590-1594.
- CHAI C Z, KOU J P, WANG W P, et al. Hypothesis and primary exploration on construction of animal model with qi-yin deficiency syndrome based on clinical diagnosis and treatment mode of traditional Chinese medicine[J]. World Sci Technol-Mod Tradit Chin Med, 2012, 14(3): 1590-1594.
- [6] 何友成, 杭露, 周淳宇, 等. 象思维视角下治水思想对泻剂结肠辨治的启发[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(10): 1715-1719.
- HE Y C, HANG L, ZHOU C Y, et al. Enlightenment of water governance on differentiated treatment of cathartic colon from the perspective of Xiang thinking[J]. J Hunan Univ Chin Med, 2022, 42(10): 1715-1719.
- [7] 何友成, 蒋风茹, 周盐, 等. 基于中西医病证特点的泻剂结肠动物模型的临床吻合度分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(22): 146-154.
- HE Y C, JIANG F R, ZHOU Y, et al. Fitting degrees of cathartic colon animal models with disease characteristics of western medicine and syndrome characteristics of traditional Chinese medicine[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2023, 29(22): 146-154.
- [8] NOZAWA K, KAWABATA-SHODA E, DOIHARA H, et al. TRPA1 regulates gastrointestinal motility through serotonin release from enterochromaffin cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(9): 3408-3413.
- [9] 梁勇, 葛斌, 石宇, 等. 基于5-HT信号通路探讨中医药治疗便秘的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(8): 271-279.
- LIANG Y, GE B, SHI Y, et al. Traditional Chinese medicine in treatment of constipation based on 5-HT signaling pathway: A review[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2024, 30(8): 271-279.
- [10] 何法, 刘畅, 吴艳艳, 等. 肠道运动疾病与情绪异常共病发生的TRP通道机制[J]. 生命科学, 2023, 35(5): 654-662.
- HE F, LIU C, WU Y Y, et al. TRP channel mechanisms in the co-morbid occurrence of gut motility disorders and emotional abnormalities[J]. Chin Bull Life Sci, 2023, 35(5): 654-662.
- [11] 苏钻君, 李灿焯, 曹金铭, 等. 血清、血浆和血小板5-HT作为抑郁症诊断和疗效评价的分子标记物可行性实验研究[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2023, 37(S1): 24.
- SU Z J, LI C Y, CAO J M, et al. Feasibility experimental study of serum, plasma and platelet 5-HT as molecular markers for the diagnosis and efficacy evaluation of depression[J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2023, 37(S1): 24.
- [12] 张波, 丁义江. 大黄酸建立“泻剂结肠”大鼠模型的研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(7): 1815-1816.
- ZHANG B, DING Y J. Study on the establishment of "cathartic colon" rat model by rhein[J]. Lishizhen Med Mater

- Med Res, 2012, 23(7): 1815-1816.
- [13] 上海中医药大学, 中国中医科学院中国医史文献研究所, 福建中医药大学, 等. 中医临床诊疗术语 第2部分: 证候[M]. 北京: 国家市场监督管理总局. 国家标准化管理委员会, 2021.
Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Institute of Chinese Medical History and Literature, China Academy of Chinese Medical Sciences, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, et al. TCM clinical diagnosis and treatment terms - Part 2: Syndromes[M]. Beijing: State Administration for Market Regulation; Standardization Administration of China, 2021.
- [14] 颜艳, 王彤. 医学统计学[M]. 5版. 北京: 人民卫生出版社, 2020: 60-63.
YAN Y, WANG T. Medical statistics [M]. 5th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2020: 60-63.
- [15] 方肇勤, 潘志强, 卢文丽, 等. 大鼠、小鼠常见证候计量化辨证方法的建立及其评价[J]. 中国中医基础医学杂志, 2007(7): 502-505.
FANG Z Q, PAN Z Q, LU W L, et al. Establishment and evaluation of quantitative differentiation methods for common syndromes in rats and mice[J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med, 2007(7): 502-505.
- [16] 李宗源, 郝莉雨, 孙建辉, 等. 三种气虚证动物模型的比较与评价[J]. 中医杂志, 2022, 63(18): 1773-1778.
LI Z Y, HAO L Y, SUN J H, et al. Comparison and evaluation of three animal models of Qi deficiency syndrome [J]. J Tradit Chin Med, 2022, 63(18): 1773-1778.
- [17] 李和平, 张芙蕊, 王庆海, 等. 引进芬兰驯鹿种群所繁衍鹿被毛色型多样性观测与分析[J]. 黑龙江动物繁殖, 2022, 30(1): 7-11.
LI H P, ZHANG F R, WANG Q H, et al. The diversity of pelage colour patterns in lactation-fawn population which were reproduced by the reindeer introduced into China from Finland [J]. Heilongjiang J Anim Reprod, 2022, 30(1): 7-11.
- [18] 崔子龙, 张碧涛, 范培健, 等. 基于 p38 MAPK/NF- κ B 炎症通路探讨逍遥散联合吡非尼酮对特发性肺纤维化合并抑郁大鼠的调节作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(20): 1-11.
CUI Z L, ZHANG B T, FAN P J, et al. Regulatory effect of Xiaoyaosan combined with pirfenidone on idiopathic pulmonary fibrosis and depression in rats based on p38 MAPK/NF- κ B inflammatory pathway[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2024, 30(20): 1-11.
- [19] 丁崧, 高长久, 卢芳, 等. 两种气阴两虚证小鼠模型制备方法比较[J]. 中医杂志, 2023, 64(4): 401-409.
DING S, GAO C J, LU F, et al. Two preparation methods of Qi and Yin deficiency syndrome mice models[J]. J Tradit Chin Med, 2023, 64(4): 401-409.
- [20] 霍军丽, 马学燕, 董秋锋, 等. 迷走神经刺激改善慢性不可预知性温和应激大鼠的抑郁样行为[J]. 神经解剖学杂志, 2023, 39(5): 551-555.
HUO J L, MA X Y, DONG Q F, et al. Vagus nerve stimulation improves depression-like behavior of rats with chronic unpredictability and mild stress [J]. Chin J Neuroanat, 2023, 39(5): 551-555.
- [21] 高云霄, 张秋艳, 彭菊琴, 等. 冠心病急性心肌梗死气阴两虚证动物模型的构建与评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(4): 134-142.
GAO Y X, ZHANG Q Y, PENG J Q, et al. Establishment and evaluation of animal model of acute myocardial infarction with syndrome of Qi and Yin deficiency[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2024, 30(4): 134-142.
- [22] 欧阳林旗, 蒋司晨, 陈镇, 等. 乌药挥发油对寒凝气滞血瘀证大鼠血液流变学及 NO-sGC-cGMP 信号通路的影响[J]. 中草药, 2022, 53(15): 4730-4737.
OUYANG L Q, JIANG S C, CHEN Z, et al. Effect of volatile oil from Linderae Radix on hemorheology and NO-sGC-cGMP signaling pathway in rats with Qi stagnation and blood stasis syndrome [J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 2022, 53(15): 4730-4737.
- [23] 世界中医药学会联合会. 国际血瘀证诊断指南(2021-12-16)[J]. 世界中医药, 2022, 17(1): 31-36.
World Federation of Chinese Medicine Societies. International guideline for the diagnosis of blood stasis syndrome (2021-12-16)[J]. World Chin Med, 2022, 17(1): 31-36.
- [24] 李丽, 范晓旭, 华娟安, 等. 基于 PI3K/AKT/mTOR 通路探讨白芍总苷对化学性肝损伤肝阴虚证大鼠的保护作用及机制[J]. 北京中医药大学学报, 2024, 47(3): 341-351.
LI L, FAN X X, HUA J A, et al. Exploration of the protective effect and mechanism of total glucosides of peony on rats with liver Yin deficiency syndrome of chemical liver injury based on PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. J Beijing Univ Tradit Chinese Med, 2024, 47(3): 341-351.
- [25] 陈蕾, 刘叶倩, 赵红霞, 等. 钩藤降压解郁方对高血压并发抑郁大鼠血压及抑郁样行为的改善作用[J]. 中成药, 2023, 45(6): 1831-1838.
CHEN L, LIU Y Q, ZHAO H X, et al. Gouteng Jiangya Jieyu recipe elicited improvement of blood pressure and depression-like behavior in hypertensive rats complicated with depression [J]. Chin Tradit Patent Med, 2023, 45(6): 1831-1838.
- [26] 吴本升, 周青, 何宗琦, 等. 温阳益气方通过上调 TMEM16A 和 c-Kit 表达改善小鼠慢传输型便秘的机制[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(17): 4164-4170.
WU B S, ZHOU Q, HE Z Q, et al. Mechanism of Wenyang Yiqi formula improving slow transit constipation in mice by upregulating TMEM16A and c-kit expressions [J]. Chin J Gerontol, 2024, 44(17): 4164-4170.
- [27] 黄伟, 张林. “泻剂结肠”的研究进展[J]. 西南军医, 2015, 17(2): 224-226.
HUANG W, ZHANG L. Cathartic colon: A review [J].

- J Mil Surg Southwest China, 2015, 17(2): 224-226.
- [28] 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.
- [29] 丁焕章,吴迪,杨勤军,等. 慢性阻塞性肺疾病脾肺气虚证大鼠模型的建立及评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2023,29(23): 47-55.
DING H Z, WU D, YANG Q J, et al. Establishment and evaluation of rat model for chronic obstructive pulmonary disease with lung-spleen Qi deficiency[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2023, 29(23): 47-55.
- [30] 张宇娟,夏旭婷,刘富林,等. 枳术丸对脾虚证慢传输型便秘小鼠肠道运动及产甲烷菌菌群多样性的影响[J]. 时珍国医国药,2023,34(1): 41-44.
ZHANG Y J, XIA X T, LIU F L, et al. Effect of Zhizhu pill on intestinal motility and methanogen flora diversity in mice with spleen deficiency syndrome and slow transit constipation [J]. Lishizhen Med and Mater Med Res, 2023, 34(1): 41-44.
- [31] 李灿东,方朝义. 中医诊断学[M]. 北京: 中国中医药出版社,2021: 256.
LI C D, FANG C Y. Diagnostics of traditional Chinese medicine [M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2021: 256.
- [32] 张声生,沈洪,张露,等. 便秘中医诊疗专家共识意见(2017)[J]. 中医杂志,2017,58(15): 1345-1350.
ZHANG S S, SHEN H, ZHANG L, et al. Expert Consensus on the diagnosis and treatment of constipation in traditional Chinese medicine (2017)[J]. J Tradit Chin Med, 2017, 58(15): 1345-1350.
- [33] KATZ R J, SIBEL M. Further analysis of the specificity of a novel animal model of depression-effects of an antihistaminic, antipsychotic and anxiolytic compound [J]. Pharmacol Biochem Behav, 1982, 16(6): 979-982.
- [34] WILLNER P. The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage [J]. Neurobiol Stress, 2017, 6: 78-93.
- [35] 王维刚,刘震泽,吴文婷,等. 小鼠动物实验方法系列专题(七)旷场实验在小鼠行为分析中的应用[J]. 中国细胞生物学学报,2011,33(11): 1191-1196.
WANG W G, LIU Z Z, WU W T, et al. The use of open field test in the behavior analysis of mice [J]. Chin J Cell Biol, 2011, 33(11): 1191-1196.
- [36] GROMER D, KISER D P, PAULI P. Thigmotaxis in a virtual human open field test[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 6670.
- [37] HOSSEINZADEH S T, POORSAADATI S, RADKANI B, et al. Psychological disorders in patients with chronic constipation [J]. Gastroenterol Hepatol Bed Bench, 2011, 4(3): 159-163.
- [38] 张丹,刘佳丽,周美玉,等. 基于静息态功能核磁共振观察天王补心丹加减方对功能性便秘伴情绪障碍的影响[J]. 南京中医药大学学报,2023,39(8): 775-782.
ZHANG D, LIU J L, ZHOU M Y, et al. Effect of modified Tianwang Buxin Dan on functional constipation with mood disorder based on resting state functional magnetic resonance imaging [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2023, 39(8): 775-782.
- [39] 高祥悦,姜亚,李飞,等. 自主神经功能与功能性便秘患者临床症状的相关性分析[J]. 南京医科大学学报:自然科学版,2023,43(4): 510-517.
GAO X Y, JIANG Y, LI F, et al. Correlation between autonomic nervous function and clinical manifestations of patients with functional constipation [J]. J Nanjing Med Univ: Nat Sci, 2023, 43(4): 510-517.
- [40] 姚秋园,于永铎,付原琰. 慢传输型便秘与血瘀的实验研究[J]. 吉林中医药,2017,37(2): 170-173.
YAO Q Y, YU Y D, FU Y Y. Experimental study on slow transit constipation and blood stasis [J]. Jilin J Tradit Chin Med, 2017, 37(2): 170-173.
- [41] 陈萌,于永铎,辛世勇. 化痰通便汤对慢传输型便秘大鼠结肠P物质和血管活性肽的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志,2017,25(2): 129-131.
CHEN M, YU Y D, XIN S Y. Effect of Huayu Tongbian decoction on slow transit constipation mice colon in substance P and vasoactive intestinal peptide [J]. Chin J Integr Tradit West Dig, 2017, 25(2): 129-131.
- [42] ZHAO J, LIN KING J V, PAULSEN C E, et al. Irritant-evoked activation and calcium modulation of the TRPA1 receptor [J]. Nature, 2020, 585(7823): 141-145.
- [43] JONES L A, SUN E W, MARTIN A M, et al. The ever-changing roles of serotonin [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2020, 125: 105776.
- [44] DOIHARA H, NOZAWA K, KOJIMA R, et al. QGP-1 cells release 5-HT via TRPA1 activation; a model of human enterochromaffin cells [J]. Mol Cell Biochem, 2009, 331(1/2): 239-245.
- [45] KOJIMA R, NOZAWA K, DOIHARA H, et al. Effects of novel TRPA1 receptor agonist ASP7663 in models of drug-induced constipation and visceral pain [J]. Eur J Pharmacol, 2014, 723: 288-293.
- [46] 刘启鸿,柯晓,骆云丰,等. 基于伪无菌实验与肠菌移植技术研究气滞证慢传输型便秘模型大鼠肠道菌群对肠道动力的影响[J]. 中医杂志,2024,65(9): 943-948.
LIU Q H, KE X, LUO Y F, et al. Study on the effect of intestinal flora on intestinal motility in rats with slow transit constipation of Qi stagnation pattern based on pseudo-sterile experiment and fecal microbiota transplantation [J]. J Tradit Chin Med, 2024, 65(9): 943-948.

[责任编辑 顾雪竹]