

## 消化系统病证结合动物模型的研究进展及中医药靶点干预

胥文娟<sup>1,2</sup>, 汪龙德<sup>3\*</sup>, 牛媛媛<sup>1</sup>, 毛兰芳<sup>3</sup>, 杜晓娟<sup>1</sup>, 张萍<sup>1</sup>  
(1. 甘肃中医药大学, 兰州 730000; 2. 甘肃省中医院, 兰州 730050;  
3. 甘肃中医药大学附属医院, 兰州 730020)

**[摘要]** 反流性食管炎(肝胃不和证、痰气交阻证、气滞血瘀证、浊毒内蕴证)、非酒精性脂肪性肝病(肝郁脾虚证、痰瘀互结证、湿热内蕴证、痰湿内阻证)及功能性消化不良(肝郁脾虚证、肝胃不和证、脾胃虚寒证、寒热错杂证)是消化系统的常见病与多发病,病程迁延且患病率较高。病证结合动物模型的成功建立是探索中医药效应机制的前提及新型制剂开发的基础,同时掌握“病-证-方”三者之间的复杂关系网络是治疗获效的先决条件。当不同疾病间出现相同证候时,中医学“异病同治”理念提示可针对部分证候模型短缺情况进行方法互参。中医药干预消化系统疾病具有多途径、多靶点、多维度、多层次等特点。因此,该文通过文献梳理,总结反流性食管炎、非酒精性脂肪性肝病及功能性消化不良等疾病的常见病证结合模型的操作方法及中医药干预机制,以期为消化系统疾病不同证型的客观化研究提供理论依据,并为传统中医药方剂的基础研究及成果转化提供方法学指导。

**[关键词]** 病证结合; 动物模型; 反流性食管炎; 非酒精性脂肪性肝病; 功能性消化不良

**[中图分类号]** R2-0;R33;G353.11;R318.14 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)19-0258-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20221845

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220726.0909.001.html>

**[网络出版日期]** 2022-07-26 13:10

### Research Progress of Digestive System Disease and Syndrome Combined Animal Model and Traditional Chinese Medicine Target Intervention: A Review

XU Wenjuan<sup>1,2</sup>, WANG Longde<sup>3\*</sup>, NIU Yuanyuan<sup>1</sup>, MAO Lanfang<sup>3</sup>, DU Xiaojuan<sup>1</sup>, ZHANG Ping<sup>1</sup>  
(1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Lanzhou 730000, China;  
2. Gansu Hospital of TCM, Lanzhou 730050, China;  
3. Affiliated Hospital of Gansu University of TCM, Lanzhou 730020, China)

**[Abstract]** Reflux esophagitis (liver-stomach disharmony, Spittoon-Qi interties, Qi and blood stasis syndrome, turbid poison intrinsic) and nonalcoholic fatty liver disease (liver depression, spleen deficiency, phlegm and blood stasis syndrome, hot and humid embodiment, phlegmy wet resistance) and functional dyspepsia (liver depression syndrome, liver stomach with spleen deficient, spleen deficiency cold syndrome, in a word, fever) is a common disease and frequently encountered disease of digestive system. The course of disease is prolonged and the prevalence is high. The successful establishment of animal model combining disease and syndrome is the premise of exploring the mechanism of traditional Chinese medicine(TCM) effect and the foundation of the development of new preparations. At the same time, mastering the complex relationship network among disease, syndrome and prescription is the prerequisite of effective treatment. When the same syndrome occurs between different diseases, the concept of "treating different diseases with the same treatment"

**[收稿日期]** 2022-04-14

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(82160883);甘肃省科技厅自然科学基金项目(21JR11RA210);敦煌医学与转化教育部重点实验室开放课题(DHYX18-27);兰州市科技局项目(2018-3-42)

**[第一作者]** 胥文娟,在读博士,主治医师,从事消化系统疾病的中医药防治研究,E-mail:602508133@qq.com

**[通信作者]** \*汪龙德,主任医师,博士生导师,从事中西医结合防治消化系统疾病研究,E-mail:wwl1dd666@163.com

in TCM suggests that methods can be cross-referenced for the shortage of some syndrome models. TCM intervention of digestive diseases has the characteristics of multi-path, multi-target, multi-dimension and multi-level. Therefore, this article through the literature review, summarizes the reflux esophagitis, nonalcoholic fatty liver disease and functional dyspepsia is a common disease such as the combined operation method of the model and the intervention mechanism of TCM, so as to diseases of the digestive system of different syndrome types provides the theory basis for the objective of research, and the basic research of TCM prescription and achievements provide methodological guidance.

**[Keywords]** combination of disease and syndrome; animal model; reflux esophagitis; nonalcoholic fatty liver disease; functional dyspepsia

反流性食管炎(RE)、非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)及功能性消化不良(FD)是消化系统的常见病与多发病,致病因素繁杂且临床表现多样,长期慢性发展可形成食管癌、肝硬化肠上皮化生等病理恶变,严重影响患者的生活质量及预后,因此,深入探索消化系统疾病的病理生理机制并注重特异性制剂的开发成为亟待解决的问题之一。

“辨证论治”与“整体观念”是中医学的特色理论体系,且在中医学“病-证”物质研究及精准论治方面强调“方证相应-有是证用是方,用是方治是证”原则,而掌握“病-证-方”三者之间的复杂关系网络是治疗获效的先决条件,此外“方证对应”的遣方用药对于中药复方制剂、单体成分、中药提取物药效机制的揭示及新型药品的开发与转化均具有举足轻重的作用,进一步可为相关疾病的诊疗论治提供新策略与新方向。

病证结合动物模型是指在中医学特色理论指导下,模型西医辨病与中医辨证的临床思辨过程,具体而言是指在现代医学举措干预造成的病理损伤基础上叠加中医学病因刺激,使实验模型同时具备疾病与证候特征<sup>[1]</sup>。其作为现代医学研究的重要手段已得到阶段性成果,并不断受到中医药领域学者的广泛关注与探索。因此,本文通过文献梳理,总结反流性食管炎、非酒精性脂肪性肝病及功能性

消化不良常见病证结合模型的操作方法及中医药干预机理,以期对消化系统疾病不同证型的客观化研究提供理论依据,并为传统中医药方剂的基础研究及成果转化提供方法学指导。

### 1 反流性食管炎

胃食管交界处抗反流屏障功能障碍引发胃食管反流病(GERD),可归属于中医学“吐酸”“食管瘕”等疾病范畴,其作为消化系统的常见病之一,症状多样、病情反复且伴随着全球经济负担的逐步增加<sup>[2-3]</sup>。GERD相关性食管炎导致的食管狭窄及巴雷特食管是食管腺癌的前驱征兆,提示防治RE可有效阻断或遏制疾病恶变态势,这使得RE的基础研究成为亟待解决的关注热点之一<sup>[4]</sup>。

男性、肥胖是目前已知的重度食管炎的独立危险因素<sup>[5]</sup>,故目前不同证型(肝胃不和型、痰气交阻型、气滞血瘀型、浊毒内蕴型)RE动物模型的研究多选用雄性SD或Wistar大鼠,造模周期多集中在14~21 d,造模手段多采用传统手术+慢性应激刺激(如常见夹尾刺激),模型评价多以一般生存状况、血液内环境改变、食管黏膜病理损伤为准。中医药(疏降饮、桔梗枳壳汤加味、活血通降方、化浊解毒方)多途径、多靶点干预RE模型大鼠的作用机理多体现在黏膜组织修复、炎症反应抑制、胃食管动力增加及氧化应激协调等多个方面(见表1)。

表1 “病+证”结合RE动物模型的操作方法与药物干预

Table 1 Operation method and drug intervention of "disease+syndrome" combined with RE animal model

疾病	证型	病机概括	操作方法	中医药
胃食管反流	肝胃不和型	肝郁气滞,胃气上逆	前胃结扎联合不全幽门梗阻术或食管十二指肠侧侧吻合术+夹尾刺激	疏降饮 <sup>[6-7]</sup>
	痰气交阻型	脾胃失和,痰气交阻	食管十二指肠侧侧吻合术+夹尾刺激	桔梗枳壳汤 <sup>[9-10]</sup>
	气滞血瘀型	气机不畅,瘀血阻络	贲门肌切开+外置幽门缝扎术+慢性应激刺激+高脂饮食	活血通降方 <sup>[11-13]</sup>
	浊毒内蕴型	湿热互结,酿生浊毒	不全幽门结扎+贲门肌切开术+高热潮湿环境下高糖高脂饮食(10%蜂蜜+10%白糖+80%普通饲料)	化浊解毒方 <sup>[14-15]</sup>

1.1 肝胃不和型 操作方法为前胃结扎联合不全幽门梗阻术+夹尾刺激2周或食管十二指肠侧侧吻

合术+夹尾刺激(术后15 d开始),步骤细化为雄性SD大鼠术前10%水合氯醛腹腔注射麻醉,于上腹

部中线作大约1.5 cm切口,采用2-0不可吸收缝线结扎前胃,特制尼龙环结扎部分幽门(直径范围约为0~4.2 mm),术后每日夹尾(后1/3处)刺激30~45 min/次,1次/日可成功复制肝胃不和型反流性食管炎大鼠模型,较好的模拟了反流性食管炎患者“肝郁气滞、胃气上逆”的病因病机。陈朝元教授自拟疏降饮可通过减轻食管炎症损伤、收缩食道下括约肌、促进胃肠道动力、抑制血浆中血管活性肽(VIP)分泌及增加胃动力素(MTL)分泌等途径发挥治疗作用<sup>[6-8]</sup>。

**1.2 痰气交阻型** 采用食管十二指肠侧侧吻合术式+夹尾刺激15 d<sup>[9]</sup>,具体步骤为SD雄性大鼠术前24 h禁食不禁水,采用10%水合氯醛腹腔注射麻醉,切口定于腹正中线,15 mm金属针探测入胃辅助幽门结扎,后于食管胃底交接部位纵行切开食管下括约肌大约0.5 cm,充分暴露黏膜层。术后每日夹尾(后1/3处)刺激45 min/次,1次/日,以术后7 d大鼠存活,饮食水正常判定为模型制备成功。与吗丁啉联合奥美拉唑相比较,沈舒文教授经验方桔梗枳壳汤加味可明显改善RE患者口苦咽干、胸骨后或胃脘部灼烧感等症状并可通过影响胃肠激素分泌调节痰气交阻型RE模型大鼠的胃肠动力<sup>[10]</sup>。

**1.3 气滞血瘀型** 选择贲门肌切开+外置幽门缝扎术+慢性应激刺激+高脂饮食3周<sup>[11]</sup>,Wistar雄性大鼠在贲门肌切开+外置幽门缝扎术后第8 d叠加昼夜颠倒法、噪声刺激及夹尾刺激等慢性应激干扰,同时配合高脂饮食14 d,以大鼠生存状况、食管下黏膜血流改变及病理损伤等评价气滞血瘀型RE模型大鼠的成功制备。活血通降方<sup>[12]</sup>可明显改善瘀血阻络证RE患者情志抑郁状态、加速黏膜损伤修复、调节胃食管肌电活动及电节律紊乱。此外,其可通过激活SCF/c-kit信号通路与降低血清中白细胞介素-8(IL-8)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )浓度等方式来改善食管下括约肌炎症反应并可不同程度促进胃食管动力<sup>[13]</sup>。

**1.4 浊毒内蕴型** 选用不全幽门结扎+贲门肌切开术+高热潮湿环境下高糖高脂饮食3周<sup>[14]</sup>,具体操作为Wistar雄性大鼠适应性喂养1周后,3.5%水合氯醛麻醉,腹中正中线作大约3 cm切口,充分暴露手术视野,于胃-食管交界处结扎胃左动脉后纵行切开贲门肌0.5 cm,再缝扎部分幽门,最后将术后大鼠置于高热潮湿环境下配合高糖高脂饮食喂养21 d成功复制浊毒内蕴型RE模型大鼠。化浊解毒方<sup>[15]</sup>可通过调节超氧化物歧化酶(SOD)活性、抑制丙二醛

(MDA)含量及升高血清胃泌素(GAS)来改善大鼠胃食管黏膜的病理损伤。

## 2 非酒精性脂肪性肝病

NAFLD是全球常见的慢性肝病,范围包括肝脏脂肪良性变性—非酒精性脂肪性肝炎—肝纤维化—肝硬化—肝癌的过渡与转化,可见NAFLD研究对于防治急慢性肝病具有重要意义<sup>[16]</sup>。中医学“鼓胀”“胁痛”相关证候分布规律分析中提到湿热内蕴证、肝郁脾虚证、痰湿内阻证、痰瘀互结证、湿浊内停证为其常见证型<sup>[17]</sup>。因此,在缺少特异性制剂的情况下,病证结合实验动物的开展使得中医药治疗NAFLD的作用机制不断被揭示,同时又显现出良好的应用前景。研究方法多采用高脂饮食诱导大鼠(或小鼠)肥胖及胰岛素抵抗12周,后在此基础上叠加中医学特色干预手段(如情志刺激、环境调整)来复制不同证型NAFLD模型。

临床NAFLD患者不同证型见的症状表现差异较易鉴别,而NAFLD动物模型尚缺乏统一有效的量化指标与客观评价。但值得注意的是,血清瘦素(LEP)水平与NAFLD患者中医证型舌像分布具有相关性,舌质黯常见血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、LEP指标水平上升,此外湿浊内停证与肝郁脾虚证多伴有体质指数(BMI)明显升高,而痰瘀互结型则侧重于肝功能损伤与LEP抵抗,提示血清生化指标、BMI、LEP可为NAFLD的辨证论治提供客观化依据<sup>[18]</sup>。据此笔者推测,可将上述指标变化灵活应用于NAFLD不同证型的动物实验,可辅助进行实验模型中医学舌像的精准化评价。许磊磊等<sup>[19]</sup>研究发现不同证型的NAFLD患者CT影像学改变亦存在差异,如肝郁脾虚证组病理分期为轻度脂肪肝占比88.9%,而肝肾不足证组病理分期为重度脂肪肝的占比是85.7%,符合中医学“久病及肾、入血入络”理论。此外有研究指出<sup>[20]</sup>,痰瘀互结证NAFLD患者体内尿酸(UA)水平高于肝郁脾虚证、湿热内蕴证及湿浊内停证,提示检测大鼠血清UA表达或可成为区分NAFLD不同证型的客观指标与理论依据。湿热证NAFLD模型肠黏膜通透性增加(紧密连接蛋白ZO-1、Occludin表达降低及细胞黏附分子CLMP水平下降)、肠道微生态失衡、相关炎症途径激活可诱发肝功能损伤加重<sup>[21]</sup>,提示基于“肠-肝轴”理论的NAFLD论治可有效指导临床。由此可见,体内部分指标的特异性改变可为不同证型NAFLD动物模型提供参考,而中医药(柴苓术芍饮、逍遥丸、祛痰

活血方、二陈汤+血府逐瘀汤、连朴饮、健脾调脂饮、葱白提取物)干预NAFLD的作用机制主要体现在

氨基酸代谢、脂质合成及胰岛素调节等方面,值得进一步系统化研究。见表2。

表2 “病+证”结合NAFLD动物模型的操作方法与药物干预

Table 2 Operation methods and drug intervention of "disease+syndrome" combined with NAFLD animal model

疾病	证型	病机概括	操作方法	中医药
非酒精性脂肪性肝病	肝郁脾虚证	肝气郁结, 脾虚血弱	高脂高胆固醇饲料(脂肪功能比37%、蔗糖20%、猪油15%、胆固醇1.2%、胆酸钠0.2%、基础饲料26.2%)+饥饿失常法+夹尾刺激法+慢性束缚应急刺激	柴苓术芍饮 <sup>[22]</sup>
			高糖高脂饮食(68.6%基础饲料、20%猪油、10%蔗糖、1%胆固醇、0.2%胆酸钠、0.2%丙硫氧嘧啶)+饮食不节+束缚慢性刺激	逍遥丸 <sup>[23]</sup>
	痰瘀互结证	脾虚湿阻, 痰瘀互结	伤湿法+外界刺激+高脂饮食 载脂蛋白E敲除(ApoE <sup>-/-</sup> )小鼠+高脂饮食	祛痰活血方 <sup>[25]</sup> 二陈汤+血府逐瘀汤 <sup>[26]</sup>
	湿热内蕴证	肝脾不调, 湿热内生	人工气候箱[湿度90%、时长12h(8:00~20:00)、温度(32±2)°C]+高脂乳剂(猪油50%、胆固醇10%、胆盐2%、丙二醇20%、纯净水12%)	连朴饮 <sup>[24]</sup>
	痰湿内阻证	脾虚不运, 痰湿内阻	高脂饲料(基础饲料88%、猪油10%、胆固醇1.4%、胆盐0.6%)+特殊环境条件 高脂饲料(64.5%基础饲料、10%猪油、5%酪蛋白、10%蛋黄粉、8%全脂奶粉、2%胆固醇、0.5%胆酸钠)	健脾调脂饮 <sup>[29]</sup> 葱白提取物 <sup>[30]</sup>

2.1 肝郁脾虚证 雄性SD大鼠适应性喂养1周后,采用高脂高胆固醇饲料+饥饿失常法+夹尾刺激法+慢性束缚应急刺激,可成功复制肝郁脾虚证NAFLD大鼠模型,而柴苓术芍饮治疗NAFLD大鼠的作用机制与调节血脂异常、降低肝脏酶学指标水平及改善肝组织病理程度有关<sup>[22]</sup>。此外,郭继龙等<sup>[23]</sup>以高糖高脂饮食+饮食不节+束缚慢性刺激干预10周复制肝郁脾虚证NAFLD大鼠模型,而后基于核磁共振氢谱(<sup>1</sup>H-NMR)发现逍遥丸作为调和肝脾的经典方剂,可明显回调NAFLD模型大鼠血清中内源性代谢产物、降低氧化应激并不同程度影响缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸合成及脂质代谢。同类研究证实,逍遥散干预NAFLD大鼠模型所涉及的通路有氨基苯甲酸盐降解、植物激素的生物合成、半胱氨酸与蛋氨酸代谢、甲苯降解等,差异代谢物主要体现在替利索洛、甘草次酸、甲哌唑、2-(6-羟基-1H-吡啶-3-基)、乙酰胺、十二硫酸盐、3-羟-5'-脱氧腺苷等<sup>[24]</sup>。

2.2 痰瘀互结证 朱晓宁等<sup>[25]</sup>采用伤湿法+慢性应激刺激1次/7d+高脂饲料持续造模10周后,大鼠表现为形体肥胖、慵懒少动、舌暗且舌下脉络青紫、脂肪肝严重变性、血流动力学改变,提示痰瘀互结证NAFLD大鼠模型复制成功。“以方测证”来明确痰瘀互结证NAFLD大鼠模型的证候特性,研究发现祛痰活血方可明显改善大鼠舌像评分并不同程度回调血液流变学指标水平变化。此外,郭宏雅等<sup>[26]</sup>选用载脂蛋白E敲除(ApoE<sup>-/-</sup>)小鼠叠加高脂饮食诱导痰瘀互结证NAFLD模型4周,结果表明模型组小

鼠总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)水平增高,高密度脂蛋白(HDL)水平降低且AST、ALT显著升高;病理组织学观察到肝细胞结构异常并伴见脂滴空泡,提示模型复制成功。加味二陈汤与血府逐瘀汤干预痰瘀互结证NAFLD小鼠8周后出现疗效差异,其中化湿祛痰之加味二陈汤在改善血脂水平、肝功异常及病理损伤等方面优于后者,印证了中医学“百病皆由痰作祟”及“由痰致瘀”的科学内涵。

2.3 湿热内蕴证 刘西洋<sup>[27]</sup>选择雄性SD大鼠适应性喂养1周后,将造模组大鼠放置于人工气候箱中较好地模拟中医学湿热环境,配合高脂乳剂灌胃造模8周后,与空白组比较,发现湿热内蕴证NAFLD证大鼠倦怠、饮食减少但饮水增加、血清生化指标异常且油红O染色见肝细胞内大量红色脂滴堆积,表明模型复制成功。连朴饮具有清热化湿、理气和中之功,已被相关研究证实可明显改善湿热内蕴证NAFLD模型大鼠的湿热证表现,其作用机制的发挥离不开维生素B<sub>6</sub>代谢、组氨酸代谢、异喹啉生物碱、氰胺酸代谢等多条代谢途径的参与<sup>[24]</sup>。此外,刘畅等<sup>[28]</sup>基于代谢组学研究发现,NAFLD、慢性乙型肝炎(HBV)、慢性肾小球肾炎出现典型湿热证表现时,与健康组比较,三者体内存在肌苷、尿苷、天门冬氨酸、油酸甘油酯、乳酸盐等共性物质,提示血清生化指标改变或可成为湿热内蕴证NAFLD模型大鼠客观评价指标,也在一定程度上丰富了传统医学“异病同治”的物质内涵。

2.4 痰湿内阻证 雄性SD大鼠适应性喂养1周

后,喂食高脂饲料+设置环境条件造模12周可成功模拟NAFLD中医学“脾虚痰伏”的基本病机。针对高脂饮食成功诱导的NAFLD大鼠模型,健脾调脂饮可显著改善肝内脂质蓄积,其作用的发挥与激活胆汁酸受体(FXR)有关。具体而言健脾调脂饮可一定程度抑制固醇调节元件结合蛋白(SREBP-1c)表达减少脂肪合成;同时激活过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR) $\alpha$ ,促进脂肪酸氧化,共同改善肝脂质沉积<sup>[29]</sup>。刘云<sup>[30]</sup>同样采用高脂饲料12周复制NAFLD大鼠模型,充分强调“阳气不同、浊阴凝聚”致病的重要条件,而中药葱白,性辛发散,能解肌通阳气,其提取物可明显改善NAFLD模型大鼠肝脏胰岛素抵抗,减少糖异生和脂肪酸合成,这一机制的发挥与其激活PPAR $\gamma$ ,抑制TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B通路及缓解肝组织炎症反应有关。

由此可见,痰湿内阻证NAFLD大鼠模型的复制研究尚有待进一步深入探索,现多采用单纯长时间高脂饲料喂养模式,一定程度上可体现出NAFLD“脾虚不运、痰湿(痰浊)内停”的病机内涵,这与现代医学所言肝内脂肪蓄积的“一次打击”学说相类似。此外,相关研究已明确NAFLD与肥胖及糖尿病的高度相关性,而传统医学强调“肥人多痰湿”的科学立论,提示祛湿化痰法将有助于评价痰湿内阻证NAFLD大鼠模型的效应机制。

### 3 功能性消化不良

胃与十二指肠生理功能的紊乱引发以上腹部疼痛、灼烧感、恶心、餐后腹胀等为主证的FD具有高患病率(世界范围内5%~11%且成年人患病率高达20.8%)与高复发率,严重影响患者的工作学习并伴随沉重的医疗负担<sup>[31-32]</sup>。FD的发病机制繁杂且尚未取得获批的疗效明确的特异性药物制剂,可见FD的动物模型研究将继续在药物筛选及病理揭示方面发挥关键作用。

中医药复方制剂或单体成分论治FD的独特优势已被明确,但其微观药效机制的阐明需要依赖病证结合动物模型的成功制备。参考FD中医诊疗专家共识意见(2017),将其证型主要归纳为脾虚气滞证、肝胃不和证、脾胃湿热证、脾胃虚寒(弱)证、寒热错杂证,但具体哪一证型的实验动物模型能较为精准地模拟FD患者临床生理病理特征尚未明确<sup>[33-34]</sup>。此外,除观察一般情况外(舌像、爪趾、鼻唇、毛发、体质量、进食、活动度等),各不同证型FD动物实验中客观指标的鉴别与差异对于模型评价显得尤为重要,如邢文文等<sup>[35]</sup>在FD与情志因素相

关性分析中提到,边缘系统是脑-肠互动结构网络中的核心组成部分,而其所包含的下丘脑、扣带回、脑岛等相关脑区的结构功能及代谢的改变可能是不同证型FD患者脑功能活动的主要差异脑区。付丽鹤等<sup>[36]</sup>研究发现脾虚气滞型FD患者的焦虑状态评分及抑郁状态评分高于脾虚湿阻型,提示焦虑与抑郁状态的分值改变可为区别上述两种证型提供参考依据,但如何将这一症状评分应用到FD实验动物模型仍有待进一步研究。李珍<sup>[37]</sup>指出胃电活动(主频率、正常慢波百分比-N%、反应面积、餐后/餐前功率比-PR)在不同证型(脾胃虚寒证、肝胃不和证、脾虚气滞证、寒热错杂证、脾胃湿热证)FD患者中扮演重要角色,其中胃体的胃电改变在寒热错杂证组N%最高,而胃窦部脾胃虚寒证的PR最低,提示检测胃肠电节律活动的变化或可帮助鉴别不同证型的FD动物模型评价。

综上所述,针对FD的危险因素及病理生理障碍(胃排空延迟、胃肠动力障碍、内脏高敏感性、脑-肠互动异常、社会心理因素、神经-内分泌失调)<sup>[38]</sup>,中医药(胃痛消痞方、香砂六君子汤、疏肝和胃汤、黄芪建中汤、姜枣暖九味颗粒等)可多途径、多靶点调控情绪反应、降低胃残留率、恢复胃肠动力障碍、调节胃肠激素分泌及影响氨基酸与嘌呤代谢等来发挥FD特色诊疗优势,见表3。

**3.1 肝郁脾虚证** 研究表明,精神心理因素与不良情绪刺激可通过影响脑肠肽分泌、内脏敏感性及胃肠激素水平等途径来调控胃肠运动及感觉<sup>[39]</sup>。中医学认为情志失调首责于肝,气病为多,郁而不畅,影响脾胃气机升降,故从“怒伤肝、久则郁”角度考虑,采用郭氏夹尾刺激法+张氏不规则喂养21 d可最大程度复制肝郁脾虚型FD大鼠模型<sup>[40-41]</sup>。胃痛消痞方具有疏肝理气、健脾和胃之功效,可明显改善肝郁脾虚证FD大鼠一般情况、降低胃内残留率、升高小肠推进率并增加胃窦及下丘脑组织中调控情绪反应、胃肠运动、感觉及分泌功能的5-HT<sub>3a</sub>R蛋白表达<sup>[42]</sup>。

碘乙酰胺是常用FD模型制备试剂之一,具有刺激黏膜损伤、细胞缺氧、焦虑和抑郁等作用,可基本模拟消化系统疾病如功能性消化不良的病理生理机制<sup>[43]</sup>。李娟娟等<sup>[44]</sup>采用碘乙酰胺灌胃+小平台站立连续14 d,观察可见造模组大鼠一般情况较差、进食量与体质量下降、抓力及胃排空速率减缓,符合FD脾虚证(纳呆、倦怠乏力、四肢痿软)的临床表现。此外,促肾上腺皮质激素释放因子(CRF)可能

表3 “病+证”结合FD动物模型的操作方法与药物干预

Table 3 "Disease + syndrome" combined with FD animal model operation method and drug intervention

疾病	证型	病机概括	操作方法	中医药
功能性消化不良	肝郁脾虚证	肝郁气滞, 乘犯脾土	郭氏夹尾刺激法(钳夹大鼠尾部后1/3处, 30 min/次, 12 h/间隔)+张氏不规则喂养(双日禁食)	胃痛消痞方 <sup>[42]</sup>
			碘乙酰胺灌胃(0.1%蔗糖碘乙酰胺溶液)+小平台站立(控制小平台水箱内水面达小平台表面下2.0 cm, 水温22.0~24.0 °C)	香砂六君子汤 <sup>[44]</sup>
肝胃不和证	肝失疏泄, 木郁戕土	孤养(单独饲养)+慢性心理应激(不规则喂食24 h断食水、1 min夹尾刺激、5 min 10 °C冰水游泳、昼夜颠倒及10次足电击)	三联一复合应激法(慢性束缚6 h/次+疲劳游泳3 min/次且水温设置15 °C+电击5 min/次+慢性不可能预知性温和应激如湿笼饲养、提尾旋转及鼠笼倾斜等)	疏肝和胃汤 <sup>[48]</sup>
			“苦寒泻下(1 g·mL <sup>-1</sup> 番泻叶水煎剂灌胃)+劳倦过度”(温自来水中强迫游泳)联合“乙醇(无水乙醇5 mL·kg <sup>-1</sup> 灌胃)+阿司匹林”(1 h后叠加200 mg·kg <sup>-1</sup> )	和胃理气方 <sup>[50]</sup>
脾胃虚寒证	素体虚弱, 脾胃虚寒	夹尾刺激+饥饱失常+冷热水喂养法(水温设置为40 °C与4 °C)	4 °C食醋10 mL·kg <sup>-1</sup> 灌胃、1次/d	黄芪建中汤 <sup>[51]</sup> 姜枣暖九味颗粒 <sup>[52]</sup>
寒热错杂证	脾胃失调, 寒热互结	8%干辣椒粉与60%乙醇混悬液灌胃+4 °C冰NaOH溶液灌胃(0.3 mol·L <sup>-1</sup> 、15 mL·kg <sup>-1</sup> 、1次/d、持续7 d)+4 °C冰水灌胃(10 mL·kg <sup>-1</sup> 、1次/d、持续7 d)		黄连配伍吴茱萸 <sup>[53]</sup> 大黄黄连泻心汤-胃热证, 理中丸-胃寒证 <sup>[54]</sup>

通过调节细胞因子水平、影响肥大细胞浸润、MAPK信号转导和肠-脑轴来促进FD低级别炎症的发生<sup>[45]</sup>。香砂六君子汤温而不燥、补而不滞,为临床脾虚证FD治疗的推荐选方,实验研究已证实香砂六君子汤具有胃黏膜保护及胃肠内分泌调节作用,可显著降低FD脾虚证大鼠胃窦神经内分泌肽-胃排空抑制蛋白(CRF)的表达水平,从而改善CRF介导的胃动力障碍并通过调节CRF-UCN2这一矛盾的主次平衡来实现<sup>[34,44,46]</sup>。

**3.2 肝胃不和证** FD的发生发展与抑郁、焦虑等情绪变化存在相关性,而肝胃不和证FD与抑郁状态的关联尤为密切<sup>[47]</sup>,这与中医学“肝气郁结、木不疏土”的病机特点具有高度契合性,故从制备抑郁症动物模型角度出发,来探索肝胃不和证FD病理机制具有一定创新性。如邢颖<sup>[48]</sup>选用Wistar大鼠(雌雄各半)120只适应性喂养1周后,实施孤养+慢性心理应激联合实施4周复制抑郁症大鼠模型,结果表明造模第3周模型组大鼠出现体质量明显下降、进食水减少、糖水消耗量降低等一般情况与胃肠激素(CAS、MTL、VIP及SP)改变,提示孤养+慢性应激方式制备抑郁动物模型存在胃肠变化,这与中医“肝郁”影响及“胃”所致的肝胃不和证模型相类似,而疏肝和胃汤对肝胃不和证的干预机制与胃肠激素水平的调节有关。类似研究发现,将昆明种小鼠适应性喂养1周后,采取三联一复合应激法<sup>[49]</sup>造模30 d后,小鼠出现精神萎靡、活动度差、毛发晦暗失泽、粪质稀溏等,同时伴随胃残留率上升及胃

动素、P物质及5-羟色胺水平下降,提示三联一复合应激法可成功复制肝胃不和证FD动物模型且基本符合本病的一般临床表现特征。和胃理气方<sup>[50]</sup>具有疏肝理气、和胃消痞之功效,可通过调控血管活性肠肽(VIP)与降钙素基因相关肽(CGRP)的表达水平及相关受体的水平变化来降低肝胃不和证模型大鼠的胃内残留率及缓解胃肠功能障碍。

**3.3 脾胃虚寒证** 脾胃虚寒证是消化系统疾病如FD、慢性胃炎及胃溃疡的常见证型,临床研究广泛,但脾胃虚寒证FD动物模型复制尚不充分,虽存在个别研究报道,但后期研究的可重复性及使用率较低,多处于理论可行层面,缺少客观模型评价标准与操作指南。当不同疾病间出现相同证候时,中医学“异病同治”理念提示可针对部分证候模型短缺情况进行方法互参。因此,借鉴宋厚盼等<sup>[51]</sup>“苦寒泻下+劳倦过度持续7 d”法复制“脾胃虚寒证”模型联合“乙醇(无水乙醇5 mL·kg<sup>-1</sup>灌胃)+阿司匹林(1 h后叠加200 mg·kg<sup>-1</sup>剂量灌胃)”5 d制备“胃溃疡病”模型。结果表明模型大鼠出现精神萎靡、倦怠扎堆、眯眼、大便溏泄、舌暗青紫、耳廓淡白,脉络收缩,爪趾不收,活动无力,肛温显著下降等“虚寒性表象”而温中散寒之代表方剂黄芪建中汤可显著改善上述症状及病理损伤。此外随着科学技术的进步与发展,梁琦等<sup>[52]</sup>借鉴超高液相色谱-四级杆飞行时间质谱联用(UH-PLC-QTOP-MS)血清非靶标代谢组学检测技术,将48只雄性Balb/c小鼠适应性喂养1周后,采用经典4 °C食醋10 mL·kg<sup>-1</sup>灌胃,连续

10 d复制脾胃虚寒证小鼠模型,经检测发现模型组小鼠色氨酸代谢异常与嘌呤代谢异常,推测其为除胃排空与小肠推进比率下降、胃动素减少及胃泌素增加外的另一脾胃虚寒证的重要物质内涵。温脾暖胃之姜枣暖九味颗粒干预脾胃虚寒证小鼠模型的作用机制主要是通过影响D-谷氨酰胺和D-谷氨酸代谢及嘌呤代谢途径实现。

**3.4 寒热错杂证** 由于寒热刺激性质相反,单一造模手段可行(寒凉刺激或温热刺激)但同时叠加两种复合因素容易出现效用抵消且造模时间延长,故寒热错杂证的相关动物模型研究较少,故考虑借鉴类似疾病同一证型的操作方法或通过分次序、隔时段等方式来整合两种单因素干预手段。如廖志成<sup>[53]</sup>将造模组大鼠适应性喂养3 d后,采取夹尾打斗+饥饱失常+冷热水喂养法造模14 d后可成功复制寒热错杂证FD动物模型。辛开苦降法之经典药对配伍-黄连与吴茱萸(1:3)可较好地促进大鼠胃排空,进一步研究明确其作用机制的发挥与回调乙酰胆碱、乙酰胆碱脂酶和乙酰胆碱转移酶的含量有关。

此外,张可欣<sup>[54]</sup>研究发现,各类物理、化学及中医学特殊病因刺激可帮助复制胃寒热证胃溃疡大鼠模型,具体操作方法为8%干辣椒粉与60%乙醇混悬液灌胃(10 mL·kg<sup>-1</sup>、2次/d、持续7 d)模拟胃热证+4℃冰NaOH溶液灌胃(0.3 mol·L<sup>-1</sup>、15 mL·kg<sup>-1</sup>、1次/d、持续7 d)+4℃冰水灌胃(10 mL·kg<sup>-1</sup>、1次/d、持续7 d)模拟胃寒证。经典方剂大黄黄连泻心汤(胃热证)与理中丸(胃寒证)可分别对模型大鼠的一般情况、胃黏膜损伤、神经内分泌失衡、胃肠激素水平及炎症反应起到调节改善作用,同时“以方测证”验证了胃寒热证模型的可行性与科学性,值得推广应用。

#### 4 小结与展望

病证结合动物模型融合动物体质、疾病特征与中医证候于一体,充分体现中医学“辨证论治”的核心地位。目前,RE、NAFLD及FD的相关病证结合模型已取得部分阶段性成果,并将继续深入指导着中医药领域的前进与发展,但是中医药现代化发展如何进行不同证型实验动物造模仍有部分问题尚未阐明:①临床思辨过程中主观性及经验性较强,同时从患者身上较易获取的中医学四诊合参(望、闻、问、切)资料在动物实验模型中较难准确获取且缺乏客观量化指标;②不同证型间细胞分子生物指标变化的特异性不明确,同时部分疾病不同程度的

存在证型判定模糊且统一标准淡化;③虽然在实验动物模型的制备过程中已最大可能地模拟真实世界的疾病病理生理特性,但其与人类疾病相似度的距离问题尚未获得一致认可仍需进一步深入研究与探索;④目前中医药研究中所用到的模型存在“重病轻证”现象,缺少中医特色的相关证候体现或是仅部分模拟单个或片面症状,缺少对疾病全过程的把握;⑤部分证型的实验模型数量太少且各不同证候的造模方法的合理性与科学性很难定义;⑥证候客观化的物质基础研究不足,缺少每一种病证模型复制成功的标志性指标。

因此,明确疾病间不同证型的兼夹与差异,并结合细胞分子生物学、蛋白组学、代谢组学等相关技术从微观物质层面为不同证型的客观化研究提供理论指导,将有助于明确“辨证论治”理论指导下“方证相应”的特定药物论治相关疾病的科学内涵、促进新配伍、新剂型药品开发并可在一定程度上丰富中医药文化的传承与发展。

#### [参考文献]

- [1] 殷惠军,黄焯. 病证结合动物模型的研究进展[J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(1): 8-10.
- [2] EI-SERAG H B, SWEET S, WINCHESTER C C, et al. Update on the epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: A systematic review[J]. Gut, 2014, 63(6): 871-80.
- [3] KATZKA D A, PANDOLFINO J E, KAHRILAS P J. Phenotypes of gastroesophageal reflux disease: Where rome, lyon, and montreal meet[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2020, 18(4): 767-776.
- [4] HAGHIGHAT S, PARK C, HORWICH B, et al. Gender-specific risk factors for reflux esophagitis in a predominantly hispanic population of a large safety-net hospital[J]. Dig Dis Sci, 2021, 66(6): 1940-1948.
- [5] EI-SERAG H B, JOHANSON J F. Risk factors for the severity of erosive esophagitis in Helicobacter pylori-negative patients with gastroesophageal reflux disease[J]. Scand J Gastroenterol, 2002, 37(8): 899-904.
- [6] 唐杜鹏,陈朝元. 疏降饮对肝胃不和型反流性食管炎大鼠食管黏膜炎症的影响[J]. 医学理论与实践, 2020, 33(14): 2241-2243.
- [7] 吴晖,陈朝元,何顺勇. 疏降饮对肝胃不和型反流性食管炎的血VIP、MTL的影响[J]. 浙江中医药大学学报, 2011, 35(4): 498-500, 503.
- [8] 张娇,程正义,唐旭东,等. 反流性食管炎混合反流病证结合大鼠模型的建立与评价[J]. 中华中医药杂

- 志, 2017, 32(3): 1021-1025.
- [9] 张锋利. 沈舒文桔梗枳壳汤加味对反流性食管炎痰气交阻症模型大鼠胃肠动力的作用机制[J]. 临床研究与实践, 2020, 5(7): 113-114.
- [10] 胡亚莉, 沈舒文. 桔梗枳壳汤加味方治疗反流性食管炎临床观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2012, 21(23): 2546-2547.
- [11] 李雷, 唐艳萍. 大鼠酸相关RE气滞血瘀型病证结合模型的建立与中药干预[C]//第三十届全国中西医结合消化系统疾病学术会议论文集. 中国中西医结合学会, 2018: 228-230.
- [12] 弓艳霞, 唐艳萍, 李淑红, 等. 活血通降方对瘀血阻络证反流性食管炎患者胃电图的影响[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2020, 26(3): 495-501.
- [13] 刘琰, 唐艳萍, 刘磊, 等. 活血通降方对反流性食管炎模型大鼠食管动力、血清炎症因子及食管下括约肌SCF/c-kit信号通路的影响[J]. 中医杂志, 2022, 63(3): 269-275.
- [14] 赵艳, 霍永利, 冯玉彦, 等. 化浊解毒方对浊毒内蕴型反流性食管炎大鼠超氧化物歧化酶及丙二醛的影响[J]. 河北中医, 2015, 37(9): 1360-1362, 1365.
- [15] 赵艳, 霍永利, 冯玉彦. 化浊解毒方对浊毒内蕴型反流性食管炎大鼠的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(20): 182-185.
- [16] NAKAMURA A, TERAUCHI Y. Lessons from mouse models of high-fat diet-induced NAFLD[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(11): 21240-21257.
- [17] 覃映霖, 胡振斌, 陈彩凤, 等. 非酒精性脂肪肝证候分布规律探析[J]. 中国中医药现代远程教育, 2021, 19(17): 45-48.
- [18] 魏君雄, 方敏凤, 马冠华, 等. 血清瘦素水平与非酒精性脂肪肝患者中医证型舌象的相关性研究[J]. 浙江中医杂志, 2020, 55(5): 331-332.
- [19] 许磊磊, 许冠英, 江凯, 等. 不同中医辨证分型NAFLD患者CT影像学特点分析[J]. 实用肝脏病杂志, 2021, 24(2): 216-219.
- [20] 刘炜. 非酒精性脂肪性肝病中医辨证分型与尿酸的相关性研究[J]. 江苏中医药, 2012, 44(2): 22-23.
- [21] GILES D A, MORENO-FERNANDEZ M E, STANKIEWICZ T E, et al. Thermoneutral housing exacerbates nonalcoholic fatty liver disease in mice and allows for sex-independent disease modeling[J]. *Nat Med*, 2017, 23(7): 829-838.
- [22] 冯丽辉, 郑忠蕊, 万雪峰, 等. 柴苓术芍饮对肝郁脾虚型非酒精性脂肪性肝病模型大鼠血脂及肝脏病理变化的影响[J]. 中国中医药科技, 2022, 29(1): 18-21.
- [23] 郭继龙, 李若瑜, 关伟, 等. 基于血清代谢组学探究逍遥丸干预肝郁脾虚非酒精性脂肪肝的作用机制[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(11): 5446-5450.
- [24] 董伯钰. 经典方药干预NAFLD大鼠模型的代谢组学研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2020.
- [25] 朱晓宁, 汪静, 郑丁, 等. 非酒精性脂肪性肝病痰瘀互结证大鼠模型的构建及评价[J]. 中医杂志, 2017, 58(22): 1953-1956.
- [26] 郭宏雅, 付远飞, 刘惠婷, 等. 血府逐瘀汤与加味二陈汤对小鼠非酒精性脂肪肝的作用比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(12): 71-77.
- [27] 刘西洋. 基于“肠-肝”轴探讨非酒精性脂肪性肝病湿热证的发病机制[D]. 成都: 成都中医药大学, 2020.
- [28] 刘畅, 苟小军, 黄迪, 等. 基于代谢组学方法的湿热证“异病同证”研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2017, 19(3): 392-407.
- [29] 孙玉莉. 基于FXR探讨健脾调脂治疗非酒精性脂肪性肝病机制研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2021.
- [30] 刘云. NAFLD中医组方规律分析和中医证候特征调查及葱白提取物治疗NAFLD大鼠的机制研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2021.
- [31] YE Y, WANG X R, ZHENG Y, et al. Choosing an animal model for the study of functional dyspepsia[J]. *Can J Gastroenterol Hepatol*, 2018, 12: 1531958.
- [32] FORD A C, MARWAHA A, SOOD R, et al. Global prevalence of, and risk factors for, uninvestigated dyspepsia: A meta-analysis[J]. *Gut*, 2015, 64(7): 1049-1057.
- [33] CAMILLERI M, BUENO L, ANDRESEN V, et al. Pharmacological, pharmacokinetic, and pharmacogenomic aspects of functional gastrointestinal disorders[J]. *Gastroenterology*, 2016, doi:10.1053/j.gastro.2016.02.029.
- [34] 张声生, 赵鲁卿. 功能性消化不良中医诊疗专家共识意见(2017)[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(6): 2595-2598.
- [35] 邢文文, 王相东, 谭从娥, 等. 功能性消化不良与情志因素的相关性[J]. 中医学报, 2022, 37(4): 735-741.
- [36] 付丽鹤, 时昭红, 黄亮亮. 不同证型功能性消化不良与焦虑抑郁状态的相关性[J]. 安徽医药, 2019, 23(8): 1529-1532.
- [37] 李珍. 功能性消化不良的中医证型分布及其与胃电相关性的研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2015.
- [38] TALLEY N J, FORD A C. Functional dyspepsia[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(19): 1853-1863.
- [39] 李小微, 毛浩萍. 功能性消化不良的临床研究进展[J]. 中医药学报, 2022, 50(2): 82-87.
- [40] 郭海军, 林洁, 李国成, 等. 功能性消化不良的动物模型研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2001, 9(3):

- 141-142.
- [41] 石敬依,周滔,蔡文君,等. 基于中医证型的功能性消化不良动物模型的研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(17): 1923-1928.
- [42] 范梦男,张博,陈苏宁. 胃痛消痞方对肝郁脾虚型功能性消化不良大鼠胃肠动力及5-HT<sub>3aR</sub>表达影响的实验研究[J]. 实用药物与临床, 2020, 23(6): 503-505.
- [43] WU Y Y, ZHONG Z S, YE Z H, et al. *D*-galacturonic acid ameliorates the intestinal mucosal permeability and inflammation of functional dyspepsia in rats [J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(1): 538-548.
- [44] 李娟娟,王凤云,吕林,等. 香砂六君子汤对功能性消化不良脾虚证大鼠胃动力及CRF,UCN2表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(3): 1-7.
- [45] HAGIWARA S I, KAUSHAL E, ARUTHIYIL S, et al. Gastric corticotropin-releasing factor influences mast cell infiltration in a rat model of functional dyspepsia [J]. *PLoS One*, 2018, 13(9): e0203704.
- [46] 杨森林,黄福斌. 香砂六君子汤药理研究及临床应用进展[J]. 国际中医中药杂志, 2016, 38(5): 467-469.
- [47] 岳滢滢,刘松林,邢颖,等. 从抑郁致功能性消化不良进行肝胃不和证研究的思路分析[J]. 辽宁中医杂志, 2015, 42(5): 1136-1139.
- [48] 邢颖. 抑郁模型大鼠行为学和胃肠激素变化及疏肝和胃汤干预作用的实验研究[D]. 武汉:湖北中医药大学, 2012.
- [49] 龚彦溶,梁晓霞,王术玲. 肝胃不和型功能性消化不良小鼠模型的建立[J]. 中药药理与临床, 2020, 36(1): 218-222.
- [50] 王宇,陈海铭,李惠平,等. 和胃理气方对肝胃不和型功能性消化不良大鼠VIP与CGRP水平及相关受体影响研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(12): 42-46.
- [51] 宋厚盼,曾梅艳,陈小娟,等. 脾胃虚寒型胃溃疡病证结合大鼠实验模型的建立及评价研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2020, 26(4): 468-473.
- [52] 梁琦,张卫,梁瑜,等. 脾胃虚寒证代谢谱特征及姜枣暖九味颗粒作用机制研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2020, 28(4): 243-250.
- [53] 廖志成. 黄连吴茱萸不同比例配伍对寒热错杂型功能性消化不良大鼠胆碱能神经系统的影响机制研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2013.
- [54] 张可欣. 半夏泻心汤治疗Hp相关性慢性萎缩性胃炎(寒热错杂证)的临床观察与实验研究[D]. 天津:天津中医药大学, 2020.

[责任编辑 孙丛丛]