

袁群,毛欣,王能,等. 亚健康状态动物模型的构建与评价研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(10): 136-142.

Yuan Q, Mao X, Wang N, et al. Research progress in the establishment and evaluation of sub-health state animal model [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(10): 136-142.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2021.10.021

亚健康状态动物模型的构建与评价研究进展

袁群¹,毛欣¹,王能¹,胡海林¹,曹淼¹,何清湖^{1,2*}

(1.湖南中医药大学,长沙 410208;2.湖南医药学院,湖南怀化 418000)

【摘要】 本文从理论依据、动物选择、造模应激源、造模时间、评价指标等方面对亚健康动物实验研究的现状及存在的问题进行了阐述,提出加强亚健康动物模型的理论依据及模型考评指标的研究,注重多指标的综合分析,努力筛选出理想的、成熟的、公认的亚健康动物模型。

【关键词】 亚健康;动物模型;评价指标

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 10-0136-07

Research progress in the establishment and evaluation of sub-health state animal model

YUAN Qun¹, MAO Xin¹, WANG Neng¹, HU Hailin¹, CAO Miao¹, HE Qinghu^{1,2*}

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China. 2. Hunan University of Medicine, Huaihua 418000)

【Abstract】 In this paper, the theoretical basis, animal selection, modeling stress source, modeling time, and evaluation of indexes of sub-health animal models were summarized. Research on the theoretical basis and evaluation indexes of sub-health animal models is important and comprehensive analysis of multiple indexes should be conducted to identify ideal, mature, and recognized sub-health animal models.

【Keywords】 sub-health; animal experiment; evaluation index

“亚健康”这一概念最早由前苏联学者布赫曼(N.Berhman)提出,是指介于健康与疾病之间的一种低质状态。随着经济的发展、生活水平的提高以及各种压力的增加,亚健康已经成为困扰全球的一个社会问题^[1]。据世界卫生组织最新一项调查结果表明全球75%人处于亚健康状态,健康人群仅占5%^[2]。其实早在两千多年前,《黄帝内经》一书中就有提到“圣人不治已病治未病”,虽然中医学中的“未病”不等同亚健康,但是其包括现代医学所提出的“亚健康状态”^[3],且有大量的研究采用中医“治未病”的理论来指导亚健康的中医干预,并取得较

好的效果。随着对亚健康研究的深入,由于临床研究的局限性和伦理学的限制,动物实验为亚健康本质的研究开辟了新方向,但目前对于亚健康动物模型的构建尚无统一标准或推广模型。

1 亚健康状态动物模型构建的理论依据

大量的研究证实亚健康的发生发展与不良的生活习惯、心理因素刺激、精神紧张、环境污染、个性特征和遗传因素等有关。因此,目前亚健康动物模型构建的理论依据多建立在其发生发展的躯体、心理和环境等因素上。

【基金项目】 浙江寿仙谷医药有限公司横向课题(5001/0156);湖南中医药大学护理学一级学科开放基金(2020HLX07)。

【作者简介】 袁群(1983—),女,在读博士研究生,主要从事中医亚健康临床及动物实验研究。E-mail: 181584768@qq.com

【通信作者】 何清湖(1965—),男,教授,博士生导师,主要从事中医亚健康与中医药文化研究。E-mail: hqh19651111@163.com

中医学对亚健康认识也是不断在完善。有学者认为亚健康的易感因素主要是外感和内伤两种,其主要病因是脏腑阴阳气血失调、七情内伤、气机紊乱,其次是饮食不节、劳逸损伤所致^[4-5]。但也有学者对当今亚健康的成因归纳为①与中医体质密切相关,先天不足与后天过用;②情志内伤、肝失疏泄;③饮食不节、损伤脾胃④气虚、气郁。总之离不开中医传统的“三因学说”^[6]。有研究表明亚健康患者体质以气虚质、阳虚质、湿热质多见^[7]。疲劳、失眠、记忆力减退和情绪问题是亚健康主症,因此有研究者认为亚健康状态与心、肝两脏关系最为密切。“心主神明,主血脉”,各种因素所致心血耗伤均可使得血液不能充盈于心,心神失养,从而出现记忆力减退、失眠、心悸等不良症状;而“肝主筋”,为“罢极之本”,说明疲劳的产生是以肝为核心;另“肝主藏血”,而睡眠的质量取决于阴血的盈亏,因此失眠也与肝相关;“肝主疏泄”,具备调畅情志的作用,各种精神情志症状也与肝密切相关。

以上述中医理论为依据,目前中医多从体质、五脏(尤以心、肝)入手进行亚健康动物模型的研制。

2 亚健康状态动物模型类型

目前,亚健康状态的主症变化多样,且其分类方法也未统一,因此亚健康的动物模型也多种多样。有根据常见主症模拟躯体疲劳、心理焦虑、抑郁来建立躯体亚健康、心理亚健康动物模型,也有根据应激源的来源建立心理性、疲劳性及睡眠性亚健康动物模型,但以疲劳和心理亚健康动物模型最为常见。在中医学中则多见根据中医证型来进行亚健康的分类。黄风等^[8]的调查研究发现亚健康患者中医证型以肝郁气滞、心脾两虚、肝肾阴虚、肝郁脾虚、脾肾阳虚、肺肾气虚等证型多见,张建峰等^[9]的调查发现亚健康证型以气虚型、痰湿型、肝郁型居多。因此在中医亚健康动物模型的构建中常见根据中医证型来建立亚健康动物模型,其中以肾阳虚^[10-11]、脾气虚^[12]、肝郁证^[13-14]、湿困脾胃等^[15]证型多见。

3 亚健康状态模型建立的动物选择

目前,在亚健康动物实验中,研究者们多选用大鼠、小鼠来构建动物模型。一方面是因为鼠类与人的机能、代谢、结构和疾病特点相似,尤其是大鼠

的神经系统与人类相似,另一方面是低等哺乳动物如啮齿类动物易繁殖、易饲养,麻醉及手术操作简单,维护费用较低。

4 亚健康状态造模方法

亚健康状态的产生与长期反复的社会、心理应激密切相关,因此在亚健康动物模型构建中,应激源多是模拟人类生活中的各种不良生活方式、行为习惯、社会精神压力等,有单独采用躯体、心理应激源造模,也有采用躯体心理复合应激源造模。

4.1 心理应激造模

4.1.1 单因素刺激

束缚应激(wrap restraint stress, WRS)方法在心理亚健康及疲劳型亚健康模型构建中多见,可单独也可与其他方法联合使用。研究人员^[16-19]通过使用 WRS 限制大鼠活动用以模拟人类存在的心理上的限制性因素,也有通过 WRS 后联合悬尾实验观察大鼠为克服不正常体位而进行挣扎的状况,来探讨应激对大鼠记忆能力、学习能力等的影响,造模方法中多采用每天 1 次的干预频次,连续造模 21 d。

4.1.2 非躯体复合因素

是目前心理亚健康动物模型常用造模方法,通过模拟人类生活中存在的各种不良心理应激,如孤独、昼夜节律失调、饮食不节、工作生活事件的不确定感等,在造模中常采用孤养、空瓶应激、昼夜紊乱、饮食不节、旁观电击应激等多种形式,且全部造模刺激采用随机表来安排,以使其与人类生活中所遇到的各种不良应激环境更贴近,造出的模型更具有代表性^[20-21]。

4.2 躯体应激造模

4.2.1 过度运动

构建疲劳亚健康模型时多采用此方法,且常采取无负重强制游泳^[22]、跑台训练、强迫水中站立^[23]等方法。但在造模过程中运动量和运动时间尚无统一的标准或计算公式,有研究采用每日同一运动强度、运动时间的方式,也有采取逐渐增大运动量或延长运动时间的方式来造模^[24]。造模时间也不统一,有连续造模 2 周,也有先采用无负重游泳 2 周,再采取递增负荷游泳 4 周的方式。尚未见到不同造模时间或不同运动方式造出的疲劳亚健康模型是否存在差异或优劣性的报道。

4.2.2 睡眠剥夺(sleep deprivation, SD)

该方法多见于睡眠障碍或疲劳型亚健康动物

模型构建,用以模拟人类在社会中因长期的睡眠不足所致亚健康状态。多采用持续照明和或改良水平台的方式^[25-27],采用水平台的原理在于,动物发生睡眠时其由于肌肉张力松弛机体处于失平衡状态则易掉入水中,大鼠只能爬上平台,这样反复多次从而达到 SD 的效果。大部分研究采取造模时间为 2 周,于造模结束后对大鼠采用鼠尾悬挂实验检测大鼠疲劳程度与体力状态,通过大鼠“绝望”时间、挣扎次数与静止时间等对模型进行评价。

4.2.3 饮食不节

饮食不节也是现在亚健康人群常常面临的一个问题,主要包括饮食不适度、饮食不合时宜、饮食无节律和饮食过杂。在亚健康动物模型构建中多模拟人类饮食时间的不规律、饥饱无常、高脂饮食等不良饮食习惯。王辉^[28]通过采取饮食不节的方法建立大鼠亚健康状态,实验通过给予不同类型饲料(全家颗粒饲料、普通饲料和高脂饲料)结合限时给食的方法,连续 6 d 完成造模,并对模型进行评价。

4.2.4 躯体复合因素刺激

在亚健康造模中常采取复合造模的方法,有研究者运用睡眠剥夺联合负重力竭游泳的方法来建立疲劳型亚健康模型,通过动态监测与评价最终确定每日睡眠剥夺 20 h 复合负重其体重 5% 力竭游泳的作用因素,连续 4 d 即造模成功^[29]。张玥莉等^[30]模拟现代人“起居无常、饮食失节”致生物钟紊乱现象,采用打破大鼠正常生活节律,给予大鼠长期 24 h/24 h 间歇 SD 联合饮食失节的方法造成亚健康状态,持续 10 周,进行亚健康动物模型的构建通过比较正常组与模型组大鼠行为学指标、血液学指标、心电图学差异,并观察模型可逆性来判断造模成功与否。杜旭等^[31]采取 WRS 结合游泳运动 21 d 来制备亚健康状态模型。复合因素刺激方式与现代人生活特点更为贴近,能更好的模拟人类的生存环境,用该类方法所研制出的动物模型更具代表性与说服力。

4.3 躯体兼心理复合因素

单因素造模法由于涉及因素单一而常出现模型症状不明显、效果不稳定、维持时间短等情况,具有一定的局限性。为了能更好的模拟人类亚健康的成因和症状,目前多采用躯体和心理应激源刺激相结合的复合造模法,且在中医证候相结合亚健康状态中常见。有选择性的结合强迫游泳、SD、夹尾

刺激、限制活动、饮食不节等躯体、心理压力的复合刺激来进行造模^[32-34],但对于每一种刺激给与方式、强度、持续时间、评判标准等尚未统一。这也说明亚健康动物模型标准化任重而道远。

4.4 中医分型

关于亚健康的研究中,中医多数采取分型来进行辩证治疗。现有针对亚健康中医证型进行造模,如肾阳虚、阴虚、脾气虚、心肾不交、肝郁证、湿困脾胃等,都体现中医辨证论治的特点,并且在具体的实验当中也充分运用了中医辩证治疗理念。

4.4.1 肾阳虚亚健康状态模型

付芸升^[11]通过给予大鼠灌服腺嘌呤(20 mL/(kg·d),浓度 1%),连续 10 d 来研制肾阳虚夜尿症大鼠模型,周海亮等^[35]通过给予雄性大鼠灌胃腺嘌呤(200 mg/(kg·d)),连续 21 d 来建立肾阳虚证不育模型。

4.4.2 阴虚亚健康状态模型

有研究通过给大鼠灌胃性味辛、热的附子(制乌头)、甘姜(根茎姜)和肉桂(肉桂)中药汤剂构建阴虚证亚健康状态^[36],吴柳花等^[37]根据“过劳伤阴”原理采用负荷递增游泳的方法建立阴虚内热模型,每天 1 次,每周 5 d,连续造模 8 周,游泳时间由每日 10 min 逐日增加至第 8 周的每日 180 min,水深 60 cm,水温 30℃ 来制备肾阴虚模型。

4.4.3 脾气虚与湿困脾胃亚健康状态模型

刘文俊等^[38]采取饮食不节加力竭游泳的方法构建大鼠脾气虚证模型,具体方法是 3 d 为一循环,先饱食 1 d,再禁食 2 d,自由饮水,每在 28℃~32℃ 水温中游泳至力竭,连续 15 d。冯玉华等^[12]通过采取措施使大鼠饥饱失常、饮食不节、负重游泳等法式使其疲劳过度联合夹尾刺激方法激惹大鼠造成情志失调复合因素的方法构建脾气虚慢性疲劳型亚健康大鼠模型。刘瑶等^[15]采用躯体联合心理的复合刺激进行亚健康湿困脾胃病证结合动物模型的构造,具体采取水中站立、饮食调控、被迫游泳与改造环境等方式模拟“情志不遂、饮食不节、饥饱失常、过劳耗气与久居湿地、外湿过盛”等具体措施。

4.4.4 心肾不交亚健康状态模型

赵鑫等^[39]采用 4℃ 冰水游泳、45℃ 热水游泳、潮湿垫料 24 h、无垫料、昼夜颠倒、夹尾、震动鼠笼、禁食和禁水,每天随机安排 1~2 种刺激,持续 14 d,避免大鼠对外界刺激产生适应性,之后采取大鼠腹腔注射浓度为对氯苯丙氨酸(PCPA)混悬液(浓度

45 g/L, 450 mg/kg), 每日 1 次, 连续 3 d, 黄运芳等^[40]直接采取对大鼠进行腹腔注射 PCPA 混悬液 (400 mg/(kg·d)), 连续 2 d 来进行模型心肾不交失眠模型的构建。

4.4.5 肝郁证亚健康状态模型

吴天浪等^[41]采用自洽颈部枷锁套在大鼠脖子上, 同时加用自制的脚镣束缚其双后足, 以限制大鼠活动, 连续 21 d, 建成亚健康状态(肝郁证)模型; 马作峰等^[42]早在 2008 年就提出亚健康从肝治的观念, 并且采取运动、睡眠剥夺、应激等符合因素进行亚健康状态模型建立, 并对其进行了评价。

5 亚健康动物模型评价

动物实验研究中, 科学合理的评价是动物模型具有可重复性的基础。目前对于亚健康的定义、诊断和分类等尚未形成统一的标准, 那该如何来评价亚健康状态动物模型的优劣? 根据亚健康产生与各种应激密不可分, 慢性应激时, 机体内稳态处于失衡状态, 可以引起动物行为学的改变, 也可通过应激引起一系列的神经生化改变, 进而影响到情绪变化, 机体免疫力下降等。因此, 对于亚健康动物模型的评价虽无统一标准, 但大多通过行为学、免疫学、神经递质等方面来进行研究与判断。

5.1 亚健康动物模型行为学改变

现有的亚健康动物模型中大多从行为学方面对模型动物进行了评价, 包括动物毛发、体重、食欲, 大便形态、活动量, 也有通过旷场实验、morris 水迷宫实验、穿梭主动回避实验等考察动物模型学习记忆能力和活动时间, 通过悬尾实验、游泳耐力实验等判断模型大鼠的绝望时间、活动耐力、情绪变化等^[32, 27]。囤秀秀^[22]建立心理亚健康大鼠模型后通过糖水偏爱、高架十字迷宫、明暗箱、旷场等行为学实验结合模型大鼠体质量和脏器指数未发生明显变化进行模型评价。

5.2 实验检测指标及脑中神经递质的变化

5.2.1 血液生化及肝肾功能相关指标的变化

目前对于亚健康状态的诊断和评估方法有许多种, 量化诊断法是其中一种常规的检查方式, 即体液微观筛查技术, 就是对血液代谢性指标、心肌酶谱等生化指标进行检测, 由于亚健康状态的诱因众多, 如疲劳、不良生活方式、工作压力等不同因素诱导产生的亚健康状态的临床症状与实验室检测指标均有所不同。

王德军等^[43]探讨多因素、热水游泳、睡眠不足和 WRS 所致亚健康大鼠模型结果发现不同因素诱导的亚健康状态大鼠的血液生化、血气电解质指标均出现了不同程度上的改变, 因此判定血液生化和血气电解质指标能有效评估亚健康状态机体血液微环境的改变。睡眠剥夺亚健康大鼠血清中丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST)、血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、丙二醛 (malonaldehyde, MDA) 水平明显升高, 而超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 水平则明显降低, 同时血液 pH 值降低, 出现酸中毒表现, 动脉血氧分压 (arterial oxygen partial pressure, PaO₂) 和氧饱和度 (oxygen saturation, SaO₂%) 均明显低于正常组^[27]; 强制游泳建立的小鼠疲劳型亚健康模型检测发现血浆中总 SOD 和乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LD) 活性降低, 代谢积累物 MDA 及 BUN 含量增加, 保持同等运动强度一周后, 小鼠疲劳状态未得到恢复, 证明 2 周的强制游泳时间可以建立较为稳定的疲劳模型^[22]。Sachdeva 等^[44]通过强迫游泳 28 d 建立的疲劳性亚健康大鼠模型中发现模型组大鼠除行为上有明显改变外, 氧化亚硝化应激和促炎性细胞因子如肿瘤坏死因子 (TNF- α) 都有所增强。WRS 所致大鼠亚健康状态模型中氧自由基方面模型大鼠血清中 SOD、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 活性明显降低, MDA、LD 含量明显升高, 提示亚健康状态下抗氧化能力下降^[13]。

5.2.2 免疫功能相关指标的变化

临床调查结果显示, 亚健康患者多以脾、肾虚弱者多见, 脾细胞抗体形成能力下降, 白细胞移动抑制指数升高, 体液和细胞免疫功能下降。徐孝平等^[45]采用不同应激源构建大鼠亚健康模型, 大鼠下丘脑-垂体-肾上腺 (hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA) 轴反应性失衡, 因皮质醇过度释放, 从而导致内分泌的紊乱, 降低淋巴细胞的功能从而出现明显的机体免疫抑制现象。但不同的应激源所致的相关指标变化不一致, 艾秀峰等^[16]从免疫功能方面对 WRS 所致亚健康大鼠模型进行了评价, 结果显示与正常对照组比较, 模型组大鼠 T 淋巴细胞增殖能力、自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK) 细胞活性, 白介素-2 (Interleukin-2, IL-2) 和干扰素- γ (Interferon-gamma, IFN- γ) 含量及胸腺指数均显著

下降,提示束缚应激致亚健康状态大鼠模型的免疫功能下降;何清湖等^[46]研究发现肾阳虚雄性亚健康大鼠血清 IgG、IgA、IgM、大鼠脾、胸腺重量指数较正常对照组均有明显降低。在评价过程中生化指标存在一定的变化,尚未达到疾病诊断标准,符合亚健康定义。还有研究通过自制应激、强迫运动和拥挤嘈杂的环境持续 4 周建立亚健康大鼠模型,也是除采取行为实验外并对其尿代谢产物进行了检测与分析,结果显示亚健康模型大鼠除一些能力物质的代谢紊乱外,还检测到类固醇技术生物合成和鞘脂代谢的改变过,其中鞘氨醇和 21-羟基孕烯醇酮可能是疲劳性亚健康大鼠的关键生物标志物,表明亚健康状态下大鼠存在免疫功能低下和 HPA 轴低活性等特点^[47]。

5.2.3 脑中神经递质的变化

亚健康状态的实质是心身问题,目前普遍认为亚健康的主要原因为社会心理因素导致的心理应激,而中枢神经系统在心理应激过程中又起着非常重要的作用。有研究表明束缚应激所致亚健康状态模型大鼠脑组织中乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, TChE) 活性和 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 含量明显升高^[17]。冯玉华等^[12]发现亚健康大鼠模型多巴胺 (dopamine, DA)、5-HT 出现先下降后升高的趋势。郝文丽等^[32]采用复合因素建立的亚健康小鼠模型下丘脑多巴胺含量及海马区谷氨酸受体 NR2A mRNA 表达水平均显著低于对照组,而 5-HT 含量明显高于对照组。王秀云等^[25]的研究亚健康状态下大鼠海马结构的一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) 活性和神经元型一氧化氮合酶 (neuronal nitric oxide synthase, nNOS) 蛋白表达减少,损害学习记忆等脑认知能力。贾临超等^[48]也进一步证实亚健康状态大鼠大脑皮质诱导型一氧化氮合成酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 表达的阳性面积和总光密度与正常对照组比较显著增加,平均光密度值显著减少,且病理表达图显示模型对照组大鼠大脑皮质的 iNOS 阳性表达量明显增加,大量的皮层细胞的细胞浆内出现棕黄色阳性表达。孟彦等^[20]研究发现亚健康状态大鼠出现明显的疲劳状态,海马 CA3 区锥体细胞数量减少,且形态不规则,包膜不完整,核膜不清,细胞核变形固缩,原位末端标记法 (TdT-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL) 观测海马细胞凋亡情况,阳性细胞散布于整个海马组织。从

上述众多的研究发现,亚健康大鼠或小鼠模型其行为上的一些表现与其神经递质的变化密不可分,也进一步证实亚健康状态不仅对行为学上有改变,而且对与机体的免疫力、认知水平、抗氧化能力等都有影响,使机体处于一种低质状态。Yasui 等^[49]采取持慢性持续应力载荷刺激,将大鼠孤养在装满水的笼子里(水深 1.5 cm),连续 6 d,来建立疲劳状态大鼠模型,结果发现,在造模第 2 天就观察到模型组大鼠腰椎背侧根神经节 (DRG) 神经元出现超过 50% 的 ATF3 阳性神经元,再后来在模型大鼠背角内侧可见大量小胶质聚集,且模型组大鼠比目鱼的肌电活动比对照组高 2~3 倍,这些结果都表明慢性本体感受器激活诱导神经元,沿序激活脊髓反射弧,神经元的激活进一步激活沿弧形的小胶质细胞,表明本体感受器诱导的小胶质细胞激活可能使启动关键因素,以及疲劳型患者异常疼痛的维持原因。

6 小结

目前亚健康动物模型的构建大多集中在中医证型相结合亚健康、疲劳型亚健康和心理亚健康模型,已有多个团队进行了亚健康造模的探讨,也得到了-定的认可,但仍为形成一个较为理想、成熟、公认的动物模型,造模应激源多种多样,造模时间长短不一,评价指标不统一、不典型,其实质在于人体本身是一个复杂的机体,且引起亚健康的原因又复杂多样,该从哪些方面去着手构建动物模型仍需不断研究探索。同时也需进一步挖掘与完善亚健康动物模型构建的理论依据。

参考文献:

- [1] 曲堂清. 亚健康状态与中医药治疗攻略 [J]. 亚太传统医药, 2006, 1: 14-17.
- [2] 谢雁鸣, 刘保延, 朴海垠, 等. 基于临床流行病学调查的亚健康人群一般特征的探析 [J]. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(7): 612-616.
- [3] 任用朋, 华琼, 刘彦妍. 中医“治未病”思想在防治肾病中的应用 [J]. 陕西中医, 2019, 40(8): 1101-1104.
- [4] 孟华, 曹勇, 黄进. 亚健康与中医心身相关理论的关系 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11(5): 159-160.
- [5] 马思佳, 刘佳其, 刘若彤, 等. 浅谈传统中医理论与亚健康状态的关系 [J]. 健康之路, 2017, 16(6): 228.
- [6] 朱方石, 王小宁. 基于古代文献对亚健康状态中医认识观的探讨 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(2): 411-412.

- [7] 陈莉莉,尹林,李红,等.基于治未病健康管理平台鹰演DDFAO技术在亚健康诊断中的应用及亚健康中医证型分布规律[J].世界最新医学信息文摘,2019,19(96):162-163.
- [8] 黄风,周亚平.725例亚健康患者中医证型临床初探[J].湖南中医杂志,2014,30(10):137-138.
- [9] 张建峰,许家伦,屠立平,等.1754例非疾病人群亚健康症状及中医证型分布特点研究[J].中国中西医结合杂志,2017,37(8):934-938.
- [10] 李天禹,何清湖,卢芳国,等.雄性“肾阳虚”亚健康大鼠模型的研究[J].湖南中医药大学学报,2011,31(1):22-24.
- [11] 符芸升.亚健康肾阳虚夜尿症大鼠模型的研究[D].遵义:遵义医科大学,2019.
- [12] 冯玉华,杨育同,王坤芳.脾气虚慢性疲劳型亚健康状态大鼠模型的构建及评估[J].山西中医学院学报,2015,16(3):21-23.
- [13] 王京京,孟宏,文娜,等.电针“四关”穴对慢性疲劳大鼠模型的行为学影响[J].针刺研究,2004,29(2):130-134.
- [14] 张科庄.亚健康状态(肝郁证)对SD大鼠精子、血清睾酮、间质细胞的影响[D].成都:成都中医药大学,2008.
- [15] 刘瑶,刘伟.藿香正气散对湿困脾胃型亚健康大鼠胃肠功能的影响[J].江苏中医药,2011,43(6):89-90.
- [16] 艾秀峰,冷晓霞,陈民利.束缚应激致亚健康状态大鼠的免疫功能改变与中药干预的影响[J].实验动物与比较医学,2010,30(2):117-120.
- [17] 肖慧,冷晓霞,陈民利,等.束缚应激致亚健康状态大鼠的行为学改变及中药的干预作用[J].实验动物与比较医学,2010,30(2):124-128.
- [18] 谢日青,冷晓霞,陈民利,等.束缚应激致亚健康状态大鼠氧自由基变化及中药干预作用[J].实验动物与比较医学,2010,30(2):121-123.
- [19] 韦小霞,雷龙鸣,邱石源.背部循经推拿手法对束缚应激所致亚健康模型大鼠海马神经元的影响[J].辽宁中医杂志,2019,46(3):639-641,674.
- [20] 孟彦,颜磊,王琦,等.心理亚健康实验模型大鼠肠道菌群变化及其规律[J].药学学报,2019,54(9):1597-1605.
- [21] 张潇,武嫣斐,高耀,等.心理亚健康大鼠模型的建立及评价[J].中草药,2016,47(4):610-616.
- [22] 囤秀秀.蓝莓浓缩汁对小鼠疲劳型亚健康的改善作用[D].大连:大连理工大学,2017.
- [23] 杨其波,陆炜高,屈庆群,等.牛大力对亚健康小鼠血常规影响的实验研究[J].河南中医,2016,36(7):234-236.
- [24] 岳肖华,李晏乐,曹继刚.补肝汤对亚健康疲劳状态大鼠肝脏及腓肠肌组织形态学的影响[J].中华中医药杂志,2016,31(2):685-687.
- [25] 王秀云,李积胜,刘公望,等.睡眠剥夺对亚健康形成的影响及相关机制[J].天津中医药,2006,23(2):108-111.
- [26] 潘波洋.保健推拿手法对疲劳型亚健康模型大鼠免疫器官组织结构及功能影响研究[D].南宁:广西中医药大学,2019.
- [27] 傅惠英,寿旗扬,李艳伟,等.中国被毛孢发酵物对睡眠剥夺亚健康大鼠的影响[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(6):59-62.
- [28] 王辉.饮食不节致亚健康状态大鼠模型的建立及其机制的研究[D].杭州:浙江中医药大学,2010.
- [29] 李晓勇.维康颗粒对疲劳型亚健康大鼠下丘脑蛋白谱的影响[D].广州:南方医科大学,2008.
- [30] 张玥莉,吕圭源,丁婷,等.长期起居饮食不节致亚健康状态大鼠模型的研究[J].中药药理与临床,2014,30(6):181-184.
- [31] 杜旭,刘娟,张容超,等.逆灸对亚健康状态大鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴-5-羟色胺通路的影响[J].中医学报,2020,35(8):1742-1746.
- [32] 郝文丽,陈志宝,赵蕊.复合因素建立亚健康小鼠模型[J].激光生物学报,2015,24(6):580-583,561.
- [33] 马作峰,姜瑞雪,张六通,等.复合刺激对亚健康大鼠模型耐疲劳能力及血清SOD、MDA的影响[J].云南中医中药杂志,2011,32(8):54-55.
- [34] Feng S, Liu W, Zuo S, et al. Impaired function of the intestinal barrier in a novel sub-health rat model [J]. Mol Med Rep, 2016, 13(4): 3459-3465.
- [35] 周海亮,周兴,李晴,等.雄蚕益肾方对肾虚大鼠睾丸抗氧化作用的影响[J].中国性科学,2020,29(12):110-113.
- [36] Yu Y, Yang S, Mao LG, et al. Identification of potential metabolic biomarkers in Yin deficiency syndrome using LC-MS [J]. Anat Rec (Hoboken), 2020, 303(8): 2121-2130.
- [37] 吴柳花,吕圭源,李波,等.黄精对长期超负荷游泳致阴虚内热模型大鼠的作用研究[J].中国中药杂志,2014,39(10):1886-1891.
- [38] 刘文俊,李振钰,许欣竹,等.脾气虚证大鼠股四头肌线粒体自噬水平及AMPK/ULK1途径变化的研究[J].北京中医药大学学报,2019,42(9):760-765.
- [39] 赵鑫,崔月莉,吴鹏,等.远志与炆远志对心肾不交失眠大鼠学习记忆,HPA轴功能及神经递质的调控作用[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(11):147-154.
- [40] 黄运芳,毕欣宁,郑伟,等.交泰丸对心肾不交型失眠大鼠中枢及外周神经递质的调控作用[J].中国中药杂志,2020,45(9):2172-2179.
- [41] 吴天浪,张培海,张科庄,等.亚健康状态(肝郁证)对SD大鼠生殖功能的影响[A].中国中西医结合学会男科专业委员会.第七次全国中西医结合男科学术会议及全国中西医结合男科提高班论文汇编及讲义[C].中国中西医结合学会男科

- 专业委员会: 中国中西医结合学会; 2011.
- [42] 马作峰, 张六通, 黄圣光, 等. 亚健康状态大鼠模型的研制 [J]. 湖北中医杂志, 2008, 30(6): 7-9.
- [43] 王德军, 陶涛, 朱科燕. 不同因素致亚健康大鼠血液生化、血气电解质指标的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(12): 54-59.
- [44] Sachdeva AK, Kuhad A, Chopra K. Epigallocatechin gallate ameliorates behavioral and biochemical deficits in rat model of load-induced chronic fatigue syndrome [J]. Brain Res Bull. 2011, 86(34): 165-172.
- [45] 徐孝平, 潘永明, 刘瑞敏, 等. 亚健康状态大鼠的神经-免疫-内分泌机制的研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(8): 33-39.
- [46] 何清湖, 杨华伟, 李天禹, 等. 天蚕壮阳散对肾虚雄性亚健康大鼠免疫功能的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(5): 1298-1301.
- [47] Shao C, Ren Y, Wang Z, et al. Detection of urine metabolites in a rat model of chronic fatigue syndrome before and after exercise [J]. Biomed Res Int. 2017, 8(18): 206-217.
- [48] 贾临超, 冷晓霞, 陈民利, 等. 束缚应激致亚健康状态大鼠脑组织 iNOS 的表达及其中药干预作用 [J]. 甘肃中医学院学报, 2011, 28(2): 1-4.
- [49] Yasui M, Menjyo Y, Tokizane K, et al. Hyperactivation of proprioceptors induces microglia-mediated long-lasting pain in a rat model of chronic fatigue syndrome [J]. Neuro inflammation, 2019, 16(1): 67.

〔收稿日期〕2020-12-21

(上接第 118 页)

- [32] Vidya MK, Kumar VG, Sejian V, et al. Toll-like receptors: Significance, ligands, signaling pathways, and functions in mammals [J]. Int Rev Immunol, 2018, 37(1): 20-36.
- [33] Chen CY, Kao CL, Liu CM, et al. The cancer prevention, anti-inflammatory and anti-oxidation of bioactive phytochemicals targeting the TLR4 signaling pathway [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(9): 2729.
- [34] 姜阳. 不同配穴对应激性胃溃疡大鼠氧化—抗氧化重构的影响 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2019.
- [35] Zhang M, Zhang X. The role of PI3K/AKT/FOXO signaling in psoriasis [J]. Arch Dermatol Res, 2019, 311(2): 83-91.
- [36] Park MK, Yao Y, Xia W, et al. PTEN self-regulates through USP11 via the PI3K-FOXO pathway to stabilize tumor suppression [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 636.
- [37] 黄攀. IGF-1/PTEN/Akt/FoxO 信号通路在大鼠水浸束缚应激中作用研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
- [38] Huang P, Zhou Z, Wang H, et al. Effect of the IGF-1/PTEN/Akt/FoxO signaling pathway on the development and healing of water immersion and restraint stress-induced gastric ulcers in rats [J]. Int J Mol Med, 2012, 30(3): 650-658.
- [39] Gyires K, Feher A. Stress, neuropeptides and gastric mucosa [J]. Curr Pharm Des, 2017, 23(27): 3928-3940.
- [40] 李志坤, 王福文. 药物治疗应激性胃溃疡的研究进展 [J]. 医学研究生学报, 2015, 28(1): 110-112.
- [41] Li J, Hu X, Liang F, et al. Therapeutic effects of moxibustion simultaneously targeting Nrf2 and NF- κ B in diabetic peripheral neuropathy [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2019, 189(4): 1167-1182.
- [42] Lai HC, Chang QY, Hsieh CL. Signal transduction pathways of acupuncture for treating some nervous system diseases [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019, 2019: 2909632.
- [43] Shi MJ, Li RY, Zhang YB. Progress in signaling pathways involved in the treatment of ulcerative colitis with traditional Chinese medicine [J]. Prog Pharm Sci, 2016, 40(8): 610-618.

〔收稿日期〕2020-11-19