

· 基础研究 ·

2 型糖尿病阴虚证病证结合动物模型的建立与评价

孙晓霞 任威铭 陈 宁 崔荣兴 翁泽斌 战丽彬[△]

摘要 **目的** 建立 2 型糖尿病阴虚证病证结合动物模型, 制定模型评价方法。**方法** SPF 级雄性 db/db 小鼠随机分为糖尿病组 (简称 D 组) 10 只和病证结合模型组 (简称 M 组) 40 只, 同窝 m/m 小鼠 10 只为正常组 (简称 C 组)。第 1~4 周为阴虚证造模阶段: M 组每日灌服伤阴药, 余组灌服等体积超纯水。阴虚证造模结束后, 将 M 组随机分为糖尿病阴虚证组 (简称 DY 组)、六味地黄汤低、中、高剂量组 (分别简称为 DY-L、DY-M、DY-H 组), 每组 10 只。第 5~8 周为六味地黄汤干预阶段: DY-L、DY-M、DY-H 组每日增加灌服相应剂量六味地黄汤 (0.1 mL/10 g), 余组灌服等体积超纯水。每周检测小鼠空腹血糖、体温、水量及唾液流率、皮肤含水量、粪便含水量、24 h 尿量、体质量、食量和拉力; 第 8 周末进行口服葡萄糖耐量实验 (OGTT)、胰岛素耐量实验 (ITT) 及旷场实验。**结果** 阴虚证造模 4 周后, 与 C 组比较, D 组与 M 组空腹血糖升高, D 组 OGTT 及 ITT 实验曲线下面积 (AUC) 增高 ($P<0.05$, $P<0.01$); 与 D 组比较, M 组小鼠四肢爪心温度、心前区温度及肛温、水量增加, 唾液流率、四肢及背部皮肤含水量、粪便含水量、24 h 尿量、体重、食量、拉力降低 ($P<0.05$, $P<0.01$); 六味地黄汤干预 4 周后, 与 D、DY 组比较, 给药各组小鼠旷场区运动总距离和速度、中央格穿格次数、四肢爪心温度、心前区温度及肛温、水量下降, 唾液流率、背部和右下肢皮肤含水量、粪便含水量、24 h 尿量、体重、拉力增加 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 自发性 2 型糖尿病模型结合耗伤阴液法可成功建立 2 型糖尿病阴虚证病证结合动物模型。动态检测宏观表征及客观指标, 结合以方测证是 2 型糖尿病阴虚证病证结合模型系统性评价的一种重要方法。

关键词 2 型糖尿病; 阴虚证; 病证结合动物模型; 中医

Establishment and Evaluation of Animal Model of Type 2 Diabetes with Yin-Deficiency Syndrome SUN Xiao-xia, REN Wei-ming, CHEN Ning, CUI Rong-xing, WENG Ze-bin, and ZHAN Li-bin *School of Traditional Chinese Medicine & School of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing (210023)*

ABSTRACT **Objective** To establish an animal model of type 2 diabetes combined with Yin-deficiency syndrome and develop a model evaluation method. **Methods** SPF male db/db mice were randomly divided into the diabetes group (10 mice, group D) and the combined disease and syndrome model group (40 mice, group M). Ten littermate m/m mice were in the control group (group C). The model-building stage of Yin-deficiency syndrome was week 1–4. Mice in group M were intragastrically administered with Yin-damaging drugs daily, and the remaining groups were intragastrically administered with an equal volume of ultrapure water. After the modeling of Yin-deficiency syndrome, group M was randomly divided into diabetes Yin-deficiency syndrome group (group DY), Liuwei Dihuang Decoction low, medium, and high dose groups (group DY-L, DY-M, DY-H) with 10 mice per group. The intervention phase of Liuwei Dihuang Decoction was Week 5–8. The DY-L, DY-M, and DY-H groups were given corresponding doses of Liuwei Dihuang Decoction daily (0.1 mL/10 g), and the remaining

基金项目: 国家重点研发计划资助项目 (No. 2018YFC1704400); 国家中医药领军人才岐黄学者支持项目 (No. 国中医药人教函 [2022]6 号); 江苏省研究生科研创新计划 (No. KYCX21_1700)

作者单位: 南京中医药大学中医学院·中西医结合学院 (南京 210023)

通讯作者: 战丽彬, Tel: 024-31207358, E-mail: zlbilin2021@163.com

[△] 现在辽宁中医药大学中药创新工程技术中心 (沈阳 110847)

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20221102.244

groups were given the same volume of ultrapure water. Weekly detection of fasting blood glucose, temperature and rectal temperature, water volume and saliva flow rate, skin water content, fecal water content, 24-hour urine volume, body weight, food volume, and tension in mice. At the end of the 8th week, oral glucose tolerance test (OGTT), insulin tolerance test (ITT) and open field test were performed. **Results** After 4 weeks of Yin-deficiency syndrome modeling, compared with group C, fasting blood glucose increased in group D and group M, and the AUC of OGTT and ITT increased in group D ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with group D, the temperature of claws centers, precordial temperature, rectal temperature and water volume of mice in group M increased, while the saliva flow rate, the skin water content of limbs and back, fecal water content, 24 h urine volume, body weight, food intake and pulling force decreased ($P<0.05$, $P<0.01$). After 4 weeks of intervention with Liuwei Dihuang Decoction, compared with group D and group DY, total distance and speed of movement in the open field, central area frequency, the temperature of paws centers, precordial temperature and rectal temperature, water volume decreased, saliva flow rate, back skin water content, right lower limb skin water content, and fecal water content, 24-hour urine volume, body weight, and pulling force increased ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusions** Spontaneous type 2 diabetes model combined with Yin-fluid consumption can successfully establish the animal model of type 2 diabetes with Yin-deficiency syndrome. Dynamic detection of macroscopic characterization and objective indicators, combined with measurement of syndrome by prescription is an important method for systematic evaluation of the model of type 2 diabetes with Yin-deficiency syndrome.

KEYWORDS type 2 diabetes; Yin-deficiency syndrome; combination of disease and syndrome animal model; Chinese medicine

病证结合动物模型在中医证候及中药药理研究中均具有重要意义,它是探索疾病发生机制与中药新药开发的关键途径^[1]。目前病证结合动物模型评判标准不一、缺乏规范性,是阻碍中西医结合医学研究发展的瓶颈^[2]。因此,建立既符合现代医学疾病诊断标准,又能充分体现中医证候特征的病证结合动物模型对于揭示疾病和证候本质、评估临床疗效具有重要意义^[3,4]。阴虚证是 2 型糖尿病的临床常见证型之一^[5,6]。本研究在自发性疾病模型的基础上结合中医病因法复制病证结合动物模型,以建立与临床疾病及证候特征相吻合的 2 型糖尿病阴虚证病证结合动物模型,同时结合宏观表征、客观指标及以方测证研制系统性模型评价新方法,规范 2 型糖尿病阴虚证病证结合动物模型评价体系。

材料与方法

1 动物 SPF 级 6 周龄雄性 db/db 小鼠(体重 32~45 g) 50 只及其同窝对照野生型 m/m 小鼠(体重 18~20 g) 10 只,购自常州卡文斯实验动物有限公司[许可证号: SCXK(苏) 2016-0010]。SPF 级环境饲养,温度(22±3)℃。本实验通过南京中医药大学动物伦理审查(No. 201910A033)。

2 药物 伤阴药由黑顺片(批号: 190425)、肉桂(批号: 190509)、吴茱萸(批号: 190514)按照 1:1:1 比例组成,常规水煎,浓缩至生药浓度

1 g/mL, 4℃ 保存备用。六味地黄汤组成: 熟地黄(批号: 190817) 24 g 酒萸肉(批号: 190829) 12 g 山药(批号: 190109) 12 g 泽泻(批号: 190718) 9 g 牡丹皮(批号: 190723) 9 g 茯苓(批号: 190217) 9 g。六味地黄汤低、中、高剂量组生药浓度分别为 0.565、1.13、2.26 g/mL。中药材均购自南通三越中药饮片有限公司。

3 试剂与仪器 葡萄糖注射液(湖北天圣,批号: 20170917)、胰岛素注射液(江苏万邦,批号: 21904204)、CareSens 血糖试纸条; ACS-D11 型三峰牌电子秤(上海乾峰电子仪器有限公司)、电子天平(赛多利斯 BSA224S-CW)、伯乐 CareSens 血糖测试仪(GM505B)、快速水分测定仪(vicometer VM-01S)、便携弹性水分油光皮肤测试仪(HKJ-SK03)、红外测温仪(DT-8838)、自发活动视频跟踪分析系统(北京吉安得尔)、大小鼠抓力测试仪 ZS-ZL(北京众实迪创)。

4 分组、造模及干预方法 适应性喂养 3 天后,尾尖取血检测小鼠随机血糖,判定是否符合 2 型糖尿病模型。检测 50 只 db/db 小鼠随机血糖≥16.7 mmol/L 后,采用随机数字表法,按照小鼠体重和随机血糖进行区组随机分组^[7]。根据统计学中样本量估算方法^[8],并结合预实验结果,通过 $n = \frac{2(\mu\alpha + \mu\beta)^2\sigma^2}{\delta^2}$ 确定每组小鼠数量。将 db/db 小鼠随机分为糖尿病

组(简称D组)10只和病证结合模型组(简称M组)40只,其同窝对照小鼠为正常组(简称C组)。根据“热盛伤阴”理论,建立阴虚证动物模型^[9]。阴虚证造模阶段(实验第1~4周):M组小鼠每日灌服伤阴药,灌胃量为0.1 mL/10 g,C组和D组灌服等体积超纯水为对照,连续4周。C组小鼠意外死亡1只,共9只。阴虚证造模结束后,采用Excel软件生成随机数字,根据小鼠空腹血糖进行区组随机分组,将M组分为糖尿病阴虚证组(简称DY组)、六味地黄汤低剂量组(简称DY-L组)、六味地黄汤中剂量组(简称DY-M组)和六味地黄汤高剂量组(简称DY-H组),每组10只。在前4周给药基础上,DY-L组、DY-M组和DY-H组每日增加灌服相应剂量六味地黄汤0.1 mL/10 g,余组灌服等量超纯水,连续4周。

5 模型评价

5.1 2型糖尿病模型评价

5.1.1 空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)检测 禁食不禁水6 h后,尾静脉采血测定小鼠FBG,每周1次。

5.1.2 口服葡萄糖耐量实验(oral glucose tolerance test, OGTT) 于实验第8周末进行OGTT。禁食12 h后,用50%葡萄糖溶液,按2 g/kg体重灌胃,在服糖前(0 min)、服糖后30、60、90、120 min时尾静脉取血,测定血糖水平,评价小鼠是否存在糖耐量异常。计算曲线下面积(area under the curve, AUC)。

5.1.3 胰岛素耐量实验(insulin tolerance test, ITT) 于实验第8周末进行ITT。小鼠禁食6 h,腹腔注射普通短效胰岛素(0.75 U/kg体重),于注射胰岛素前(0 min)及注射后15、30、60、90、120 min尾静脉取血,测定血糖水平,反映胰岛素抵抗情况。计算AUC。

5.2 阴虚证评价

5.2.1 旷场实验 于实验第8周末进行旷场实验。以视频追踪系统记录小鼠的探索行为,记录小鼠在5 min内活动情况,包括小鼠在正中格停留时间及次数、运动距离、运动速度^[10]。

5.2.2 体温测定 检测小鼠肛温、心前区温度、左上肢爪心温度、右上肢爪心温度、左下肢爪心温度、右下肢爪心温度,每周1次。

5.2.3 饮水量测定 检测小鼠每日平均饮水量。

5.2.4 唾液流率测定 将定性滤纸剪成半径约2 cm的等大扇形,用镊子夹持探入小鼠口中,在舌面停留5秒后取出,用电子天平称重,检测小鼠唾液

流率,每周1次。唾液流率(mg/s)=(滤纸湿重-滤纸干重)/5 s。

5.2.5 皮肤含水量测定 剔除小鼠背部区域约1 cm×1 cm毛发,为背部皮肤含水量检测区。使用便携弹性水分油光皮肤测试仪检测小鼠背部和四肢皮肤含水量,每周1次。

5.2.6 粪便含水量测定 收集小鼠刚排出的新鲜粪便2~3粒(约30 mg),立即放入快速卤素水分测定仪托盘中,选择自动模式105℃加热烘干,记录粪便含水量数值,每周1次。

5.2.7 24 h尿量检测 使用代谢笼收集尿量,禁食不禁水,测定24 h尿量,每周1次。

5.2.8 体重测定 检测每只小鼠体重(检测前不禁食水),每周1次。

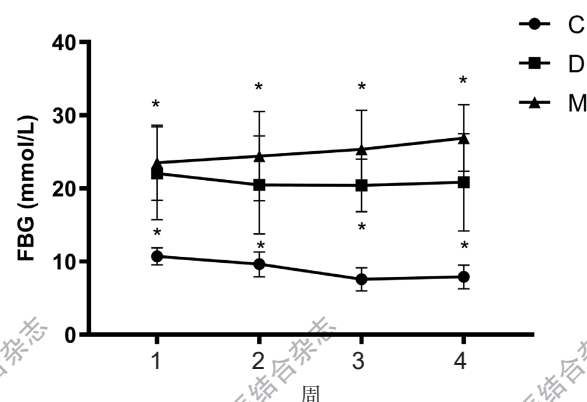
5.2.9 食量测定 检测小鼠每日平均食量。

5.2.10 拉力测定 于实验第4周和第8周进行拉力检测。将小鼠轻轻放置于抓力板上,轻轻向后牵拉鼠尾,待小鼠四肢抓牢抓力板后,均匀用力匀速后拉,直至小鼠四肢完全脱离抓力板,记录小鼠抓力。

6 统计学方法 采用GraphPad 8.0统计软件,测量结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间数据进行t检验,多组间数据进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组FBG比较(图1,表1) 阴虚证造模阶段:与C组比较,D组与M组在第1~4周FBG水平均升高($P < 0.01$)。六味地黄汤干预阶段:与C组比较,D、DY组在第5~8周FBG均上升($P < 0.01$);与D组比较,DY组5、8周时小鼠FBG水平升高($P < 0.01$);与DY组比较,DY-L、DY-H组5周时、



注:与C组比较,* $P < 0.01$

图1 阴虚证造模阶段各组FBG比较

表 1 六味地黄汤干预阶段各组 FBG 比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

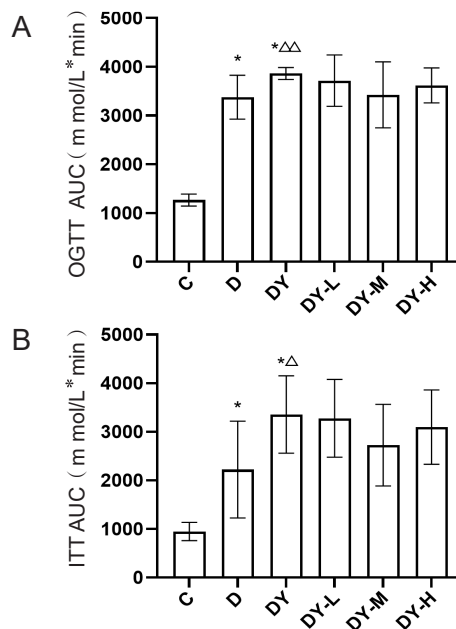
组别	n	第 5 周	第 6 周	第 7 周	第 8 周
C	9	7.27 ± 1.00	8.99 ± 1.04	8.91 ± 1.18	9.29 ± 1.52
D	10	25.67 ± 3.84*	27.55 ± 5.54*	28.41 ± 5.64*	25.53 ± 6.28*
DY	10	32.28 ± 2.41* [△]	29.97 ± 3.07*	31.49 ± 2.94*	31.20 ± 2.12* [△]
DY-L	10	26.32 ± 4.98 [▲]	25.72 ± 4.10	28.00 ± 4.86	25.49 ± 6.00 [▲]
DY-M	10	27.41 ± 8.73	29.33 ± 5.42	26.35 ± 7.65 [▲]	26.52 ± 3.72
DY-H	10	27.39 ± 4.54 [▲]	28.78 ± 3.50	28.72 ± 3.70	27.44 ± 4.47

注: 与 C 组同期比较, * $P < 0.01$; 与 D 组同期比较, [△] $P < 0.01$; DY 组同期比较, [▲] $P < 0.05$

DY-M 组 7 周时、DY-L 组 8 周时小鼠 FBG 水平下降 ($P < 0.05$)。

2 各组 OGTT、ITT 结果比较 (图 2, 表 2、3) 与 C 组比较, D、DY 组小鼠 OGTT 各时间点血糖值和 AUC 均升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与 D 组比较, DY 组 0、120 min 时血糖升高 ($P < 0.01$, $P < 0.05$) 且 DY 组 AUC 高于 D 组 ($P < 0.01$)。与 C 组比较, DY 组小鼠 ITT 各时间点血糖值及 AUC 均明显升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); D 组 0、15、30 min 时血糖及 AUC 高于 C 组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与 D 组比较, DY 组 0、30、60、90、120 min 时血糖升高 ($P < 0.01$), DY 组 AUC 升高 ($P < 0.05$)。与 DY 组比较, DY-H 组 0 min 血糖降低 ($P < 0.05$)。

3 各组旷场实验结果比较 (图 3) 与 C 组比较, D、DY 组小鼠中央格穿格次数、中央格停留时间百分比、旷场区运动总距离和速度均明显降低 ($P < 0.01$)。与 DY 组比较, DY-H 组中央格穿格次数减少 ($P < 0.05$), DY-L、DY-M 和 DY-H 组旷场区运



注: A 为 OGTT#AUC; B 为 ITT#AUC。与 C 组比较, * $P < 0.01$; 与 D 组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$

图 2 各组 OGTT 和 ITT 曲线下面积比较

表 2 各组 OGTT 结果比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
C	9	8.29 ± 0.83	12.84 ± 2.88	10.97 ± 1.73	9.80 ± 1.13	8.92 ± 1.28
D	10	17.88 ± 5.92*	32.39 ± 2.24**	31.26 ± 3.52**	27.49 ± 6.44**	24.89 ± 7.21**
DY	10	29.10 ± 3.87** ^{△△}	32.07 ± 2.13**	33.18 ± 0.38**	32.68 ± 1.33**	32.60 ± 2.21** [△]
DY-L	10	24.99 ± 7.07	33.29 ± 0.03	31.50 ± 4.76	31.29 ± 6.36	30.59 ± 6.91
DY-M	10	23.33 ± 8.51	31.20 ± 3.02	30.06 ± 6.22	27.09 ± 8.71	28.24 ± 8.25
DY-H	10	26.32 ± 4.75	31.62 ± 3.26	30.02 ± 5.96	31.18 ± 4.15	29.33 ± 5.44

注: 与 C 组同期比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 D 组同期比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$

表 3 各组 ITT 结果比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

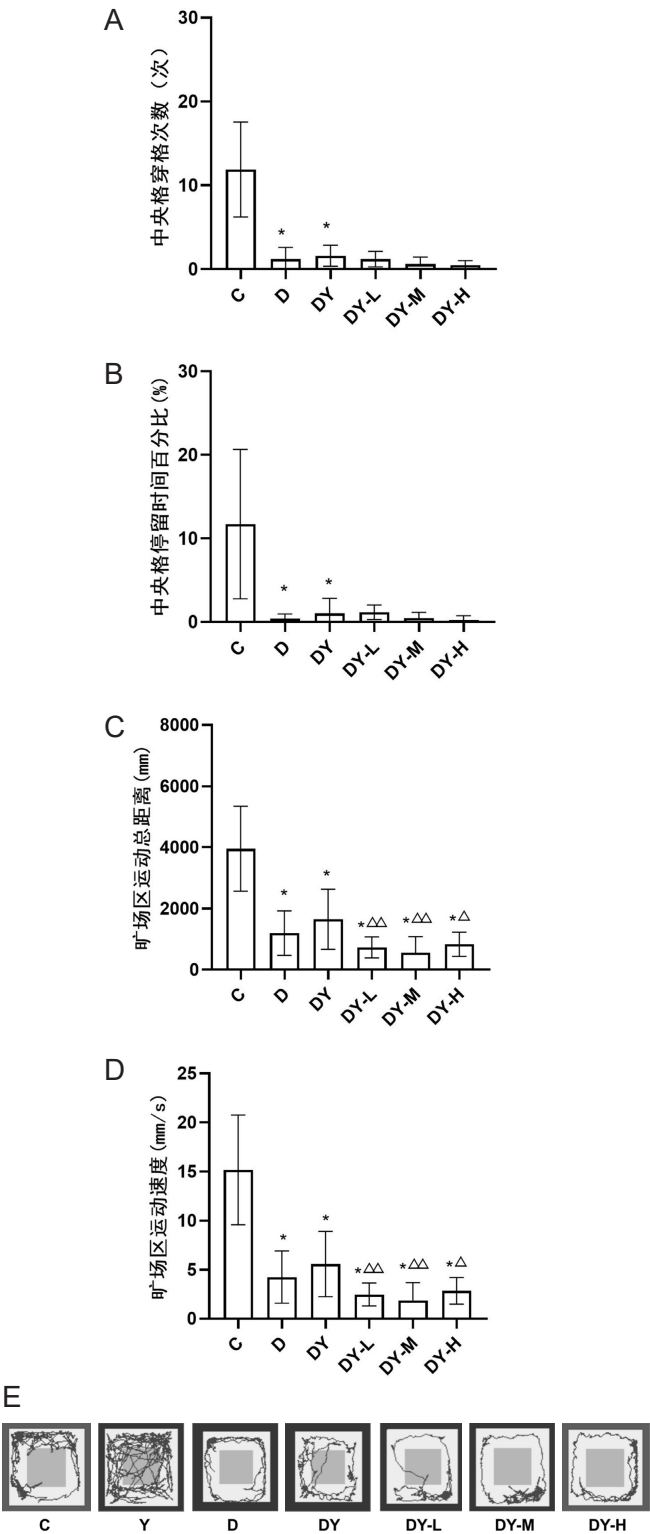
组别	n	0 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
C	9	9.83 ± 1.64	9.47 ± 1.75	4.08 ± 0.98	9.37 ± 4.16	7.64 ± 2.12	8.63 ± 3.70
D	10	18.99 ± 8.86*	25.74 ± 6.73**	21.26 ± 8.94**	15.92 ± 9.77	16.75 ± 8.86	15.73 ± 9.72
DY	10	29.68 ± 6.65** [△]	29.48 ± 4.55**	31.22 ± 5.79** [△]	26.35 ± 8.59** [△]	27.25 ± 8.94** [△]	25.38 ± 8.64** [△]
DY-L	10	26.74 ± 8.90	30.69 ± 4.84	30.69 ± 6.10	28.12 ± 7.68	24.27 ± 7.58	23.60 ± 7.61
DY-M	10	22.34 ± 10.46	27.23 ± 7.05	26.16 ± 8.15	20.04 ± 7.68	21.56 ± 7.68	20.83 ± 9.15
DY-H	10	25.57 ± 8.48 [▲]	31.21 ± 4.21	29.09 ± 5.69	24.44 ± 7.13	23.30 ± 7.79	23.33 ± 7.66

注: 与 C 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 D 组比较, [△] $P < 0.01$; 与 DY 组比较, [▲] $P < 0.05$

动总距离和速度均下降 ($P<0.01$, $P<0.05$)。各组小鼠旷场实验典型运动轨迹结果显示: C 组、D 组、

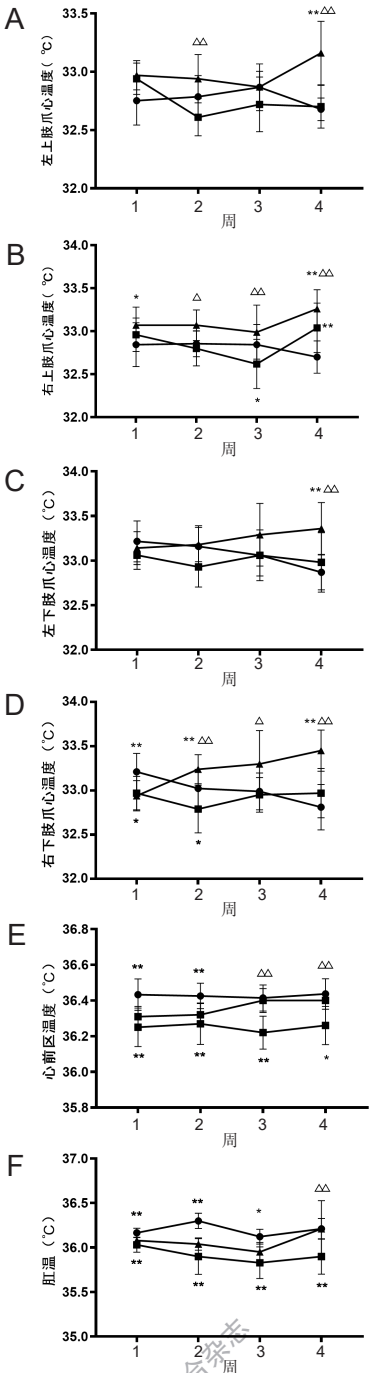
DY-L 组、DY-M 组与 DY-H 组小鼠活动区域为四周及角落为主, 中心区域活动较少; DY 组小鼠活动轨迹较为分散, 中心区域活动增加, 运动轨迹明显长于 D 组、DY-L 组、DY-M 组及 DY-H 组。

4 各组体温结果比较 (图 4, 表 4~6) 阴虚证造模阶段: 与 C 组比较, 4 周时 M 组左、右上肢爪心温度、左、右下肢爪心温度均升高 ($P<0.01$),



注: A 为中央格穿格次数; B 为中央格停留时间百分比; C 为旷场区运动总距离; D 为旷场区运动速度; E 为各组小鼠典型运动轨迹图。与 C 组比较, * $P<0.01$; 与 DY 组比较, ** $P<0.05$, $\Delta P<0.01$

图 3 各组小鼠在旷场中活动情况



注: A~F 分别为第 1~4 周各组小鼠左上肢爪心温度、右上肢爪心温度、左下肢爪心温度、右下肢爪心温度、胸前区温度和肛温变化。与 C 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与 D 组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

图 4 阴虚证造模阶段各组体温变化

D 组右上肢爪心温度、心前区温度及肛温上升 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与 D 组比较, M 组 4 周时小鼠左上肢爪心温度、右上肢爪心温度、左下肢爪心温度、右下肢爪心温度、心前区温度和肛温均明显上升 ($P<0.01$)。

六味地黄汤干预阶段: 与 C 组比较, D 组在实验 5~8 周肛温、心前区温度下降 ($P<0.01$, $P<0.05$), 左上肢、右上肢、左下肢及右下肢爪心温度 5、6 周差异不明显, 8 周时右下肢爪心温度降低 ($P<0.05$), DY 组 7 周时肛温及心前区温度升高 ($P<0.05$), 心前区温度 8 周时上升 ($P<0.05$), 左上肢爪心温度 5~8 周时增加 ($P<0.05$, $P<0.01$)、右上肢 6~8 周时增加 ($P<0.01$, $P<0.05$)、左右下肢爪心温度均在 5~7 周升高 ($P<0.01$), DY-L、DY-M、DY-H 组肛温在第 5、8 周时下降 ($P<0.01$), 心前区温度 5 周时下降

($P<0.01$), DY-L 组左上肢及右下肢 7 周时升高 ($P<0.05$)。与 D 组比较, 5~8 周时 DY 组肛温和左下肢爪心温度升高 ($P<0.01$, $P<0.05$)、心前区温度和左上肢爪心温度升高 ($P<0.01$), 右上肢爪心温度 5、7、8 周时上升 ($P<0.01$), 右下肢爪心温度在 7~8 周时均高于 D 组 ($P<0.01$)。与 DY 组比较, DY-L、DY-M、DY-H 组 5~8 周时肛温、心前区温度均下降 ($P<0.05$, $P<0.01$), DY-L 组左上肢爪心温度 5~8 周时降低 ($P<0.01$, $P<0.01$)、右上肢爪心温度 7、8 周时降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)、左右下肢爪心温度 5~8 周时降低 ($P<0.01$), DY-M 组左上肢爪心温度 5~8 周时降低 ($P<0.01$)、右上肢爪心温度 5、7、8 周时下降及左右下肢爪心温度 5~8 周时下降 ($P<0.05$, $P<0.01$), DY-H 组左上肢爪心温度 5~8 周时降低 ($P<0.01$, $P<0.05$)、右上肢爪心温度 5、

表 4 六味地黄汤干预阶段肛温和心前区温度变化 ($^{\circ}\text{C}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	第 5 周		第 6 周		第 7 周		第 8 周	
		肛温	心前区温度	肛温	心前区温度	肛温	心前区温度	肛温	心前区温度
C	9	36.20 $\pm$ 0.05	36.43 $\pm$ 0.07	36.16 $\pm$ 0.07	36.33 $\pm$ 0.09	36.06 $\pm$ 0.10	36.32 $\pm$ 0.12	36.20 $\pm$ 0.09	36.36 $\pm$ 0.07
D	10	35.94 $\pm$ 0.07**	36.32 $\pm$ 0.05*	36.05 $\pm$ 0.07**	36.33 $\pm$ 0.08*	36.02 $\pm$ 0.08**	36.32 $\pm$ 0.08*	36.03 $\pm$ 0.08**	36.36 $\pm$ 0.06**
DY	10	36.13 $\pm$ 0.07 $\Delta\Delta$	36.44 $\pm$ 0.05 $\Delta\Delta$	36.21 $\pm$ 0.10 $\Delta\Delta$	36.44 $\pm$ 0.07 $\Delta\Delta$	36.18 $\pm$ 0.12*	36.50 $\pm$ 0.05* $\Delta\Delta$	36.17 $\pm$ 0.08 Δ	36.47 $\pm$ 0.07* $\Delta\Delta$
DY-L	10	35.87 $\pm$ 0.12 $\Delta\Delta$	36.24 $\pm$ 0.06 $\Delta\Delta$	36.09 $\pm$ 0.06 Δ	36.33 $\pm$ 0.04 $\Delta\Delta$	36.01 $\pm$ 0.06 $\Delta\Delta$	36.35 $\pm$ 0.06 $\Delta\Delta$	36.07 $\pm$ 0.07 $\Delta\Delta$	36.31 $\pm$ 0.05 $\Delta\Delta$
DY-M	10	35.87 $\pm$ 0.11 $\Delta\Delta$	36.23 $\pm$ 0.07 $\Delta\Delta$	36.01 $\pm$ 0.17 Δ	36.34 $\pm$ 0.05 $\Delta\Delta$	35.92 $\pm$ 0.15 $\Delta\Delta$	36.23 $\pm$ 0.09 $\Delta\Delta$	36.01 $\pm$ 0.11 $\Delta\Delta$	36.30 $\pm$ 0.09 $\Delta\Delta$
DY-H	10	35.93 $\pm$ 0.11 $\Delta\Delta$	36.21 $\pm$ 0.10 $\Delta\Delta$	36.08 $\pm$ 0.04 Δ	36.29 $\pm$ 0.07 $\Delta\Delta$	35.95 $\pm$ 0.10 $\Delta\Delta$	36.25 $\pm$ 0.11 $\Delta\Delta$	36.05 $\pm$ 0.07 $\Delta\Delta$	36.30 $\pm$ 0.06 $\Delta\Delta$

注: 与 C 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与 D 组比较, Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$; 与 DY 组比较, Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$

表 5 六味地黄汤干预阶段左、右上肢爪心温度变化 ($^{\circ}\text{C}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	第 5 周		第 6 周		第 7 周		第 8 周	
		左上肢	右上肢	左上肢	右上肢	左上肢	右上肢	左上肢	右上肢
C	9	32.83 $\pm$ 0.17	32.83 $\pm$ 0.23	32.74 $\pm$ 0.09	32.74 $\pm$ 0.18	32.57 $\pm$ 0.17	32.72 $\pm$ 0.16	32.73 $\pm$ 0.19	32.79 $\pm$ 0.18
D	10	32.93 $\pm$ 0.26	32.80 $\pm$ 0.14	32.81 $\pm$ 0.20	32.95 $\pm$ 0.13*	32.74 $\pm$ 0.16	32.80 $\pm$ 0.28	32.75 $\pm$ 0.10	32.71 $\pm$ 0.21
DY	10	33.18 $\pm$ 0.23* Δ	33.26 $\pm$ 0.33 Δ	33.09 $\pm$ 0.09** $\Delta\Delta$	33.04 $\pm$ 0.14** $\Delta\Delta$	33.09 $\pm$ 0.18** $\Delta\Delta$	33.17 $\pm$ 0.18** $\Delta\Delta$	33.03 $\pm$ 0.14** $\Delta\Delta$	33.02 $\pm$ 0.10* $\Delta\Delta$
DY-L	10	32.80 $\pm$ 0.16 $\Delta\Delta$	32.93 $\pm$ 0.20	32.78 $\pm$ 0.12 $\Delta\Delta$	32.93 $\pm$ 0.06	32.82 $\pm$ 0.11* Δ	32.92 $\pm$ 0.27 Δ	32.72 $\pm$ 0.15 $\Delta\Delta$	32.74 $\pm$ 0.12 $\Delta\Delta$
DY-M	10	32.68 $\pm$ 0.27 $\Delta\Delta$	32.79 $\pm$ 0.22 Δ	32.84 $\pm$ 0.15 $\Delta\Delta$	32.93 $\pm$ 0.14	32.67 $\pm$ 0.16 $\Delta\Delta$	32.60 $\pm$ 0.14 $\Delta\Delta$	32.71 $\pm$ 0.11 $\Delta\Delta$	32.70 $\pm$ 0.16 $\Delta\Delta$
DY-H	10	32.75 $\pm$ 0.19 $\Delta\Delta$	32.81 $\pm$ 0.19 Δ	32.89 $\pm$ 0.21 Δ	32.96 $\pm$ 0.22	32.72 $\pm$ 0.11* $\Delta\Delta$	32.69 $\pm$ 0.17 $\Delta\Delta$	32.73 $\pm$ 0.18 $\Delta\Delta$	32.77 $\pm$ 0.14 $\Delta\Delta$

注: 与 C 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与 D 组比较, Δ $P<0.01$; 与 DY 组比较, Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$

表 6 六味地黄汤干预阶段左、右下肢爪心温度变化 ($^{\circ}\text{C}$, $\bar{x} \pm s$)

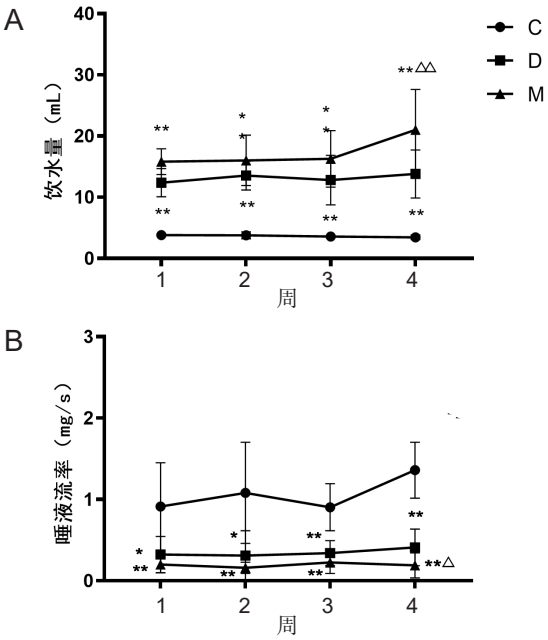
组别	n	第 5 周		第 6 周		第 7 周		第 8 周	
		左下肢	右下肢	左下肢	右下肢	左下肢	右下肢	左下肢	右下肢
C	9	32.96 $\pm$ 0.19	32.87 $\pm$ 0.14	32.73 $\pm$ 0.21	32.87 $\pm$ 0.14	32.68 $\pm$ 0.18	32.63 $\pm$ 0.16	32.73 $\pm$ 0.19	32.82 $\pm$ 0.14
D	10	32.99 $\pm$ 0.33	33.03 $\pm$ 0.23	32.81 $\pm$ 0.17	33.03 $\pm$ 0.23	32.87 $\pm$ 0.20	32.87 $\pm$ 0.20	32.76 $\pm$ 0.13	32.62 $\pm$ 0.17*
DY	10	33.32 $\pm$ 0.20** $\Delta\Delta$	33.26 $\pm$ 0.18**	33.23 $\pm$ 0.15** $\Delta\Delta$	33.26 $\pm$ 0.18**	33.19 $\pm$ 0.16** $\Delta\Delta$	33.24 $\pm$ 0.14** $\Delta\Delta$	32.98 $\pm$ 0.13 Δ	33.08 $\pm$ 0.23 $\Delta\Delta$
DY-L	10	32.86 $\pm$ 0.10 $\Delta\Delta$	32.91 $\pm$ 0.11 $\Delta\Delta$	32.91 $\pm$ 0.22 $\Delta\Delta$	32.91 $\pm$ 0.11 $\Delta\Delta$	32.83 $\pm$ 0.15 $\Delta\Delta$	32.80 $\pm$ 0.17 $\Delta\Delta$	32.68 $\pm$ 0.09 $\Delta\Delta$	32.76 $\pm$ 0.12 $\Delta\Delta$
DY-M	10	32.87 $\pm$ 0.27 $\Delta\Delta$	32.84 $\pm$ 0.24 $\Delta\Delta$	32.86 $\pm$ 0.24 Δ	32.84 $\pm$ 0.24 $\Delta\Delta$	32.69 $\pm$ 0.14 $\Delta\Delta$	32.74 $\pm$ 0.22 $\Delta\Delta$	32.68 $\pm$ 0.14 $\Delta\Delta$	32.70 $\pm$ 0.15 $\Delta\Delta$
DY-H	10	32.87 $\pm$ 0.18 $\Delta\Delta$	32.97 $\pm$ 0.14 $\Delta\Delta$	32.96 $\pm$ 0.16 $\Delta\Delta$	32.97 $\pm$ 0.14 $\Delta\Delta$	32.75 $\pm$ 0.15 $\Delta\Delta$	32.77 $\pm$ 0.16 $\Delta\Delta$	32.83 $\pm$ 0.13	32.79 $\pm$ 0.21 $\Delta\Delta$

注: 与 C 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与 D 组比较, Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$; 与 DY 组比较, Δ $P<0.05$, $\Delta\Delta$ $P<0.01$

7、8 周时下降 ($P<0.05$, $P<0.01$)、左下肢爪心温度 5~7 周时下降 ($P<0.01$)，右下肢爪心温度 5~8 周时降低 ($P<0.01$)。

5 各组饮水量、唾液流率结果比较 (图 5, 表 7、8) 与 C 组比较, 阴虚证造模阶段 D、M 组及六味地黄汤干预阶段 D、DY 组饮水量增加 ($P<0.01$), 唾液流率减少 ($P<0.05$)。与 D 组比较, 在阴虚证造模阶段, M 组 4 周时饮水量增加, 唾液流率减少 ($P<0.01$, $P<0.05$), 在六味地黄汤干预阶段, DY 组 5~8 周时饮水量增加, 唾液流率减少 ($P<0.01$, $P<0.05$)。与 DY 组比较, DY-L、DY-M 和 DY-H 组小鼠饮水量较 DY 组明显下降, 唾液流率上升 ($P<0.01$, $P<0.05$)。

6 各组皮肤含水量结果比较 (图 6, 表 9~11) 阴虚证造模阶段: 与 C 组比较, 实验第 1 周 D 组和 M 组左上肢、右上肢、左下肢及背部皮肤含水量均下降 ($P<0.01$, $P<0.05$), 第 2 周 D 组左上肢皮肤含水量及 M 组左上肢、右上肢、左下肢皮肤含水量下降 ($P<0.05$, $P<0.01$), 第 3 周 D 组右上肢皮肤含水量及 M 组左上肢、右上肢、左下肢皮肤含水量降低 ($P<0.01$, $P<0.05$), 至 4 周时 D 组右下肢皮肤含水量及 M 组四肢皮肤含水量减少 ($P<0.05$, $P<0.01$), 背部皮肤含水量差异未见统计学意义。与 D 组比较, M 组 1 周时差异不明显, 2 周时左下肢皮肤含水量降低 ($P<0.01$), 3 周时左上肢、左下肢皮肤含水量减少 ($P<0.01$, $P<0.05$), 至 4 周时四肢及背部皮肤含水量均下降 ($P<0.01$, $P<0.05$)。



注: A 为阴虚证造模阶段各组饮水量变化; B 为阴虚证造模阶段各组唾液流率变化。与 C 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与 D 组比较, Δ $P<0.05$, ΔΔ $P<0.01$

图 5 阴虚证造模阶段各组小鼠水量及唾液流率变化

六味地黄汤干预阶段: 与 C 组比较, 5 周时 DY 组右上肢及右下肢皮肤含水量减少 ($P<0.05$, $P<0.01$), 6 周时右上肢皮肤含水量减少 ($P<0.01$), 7 周时背部皮肤含水量下降 ($P<0.05$), 至 8 周时背部及左右下肢皮肤含水量减少 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与 D 组比较, DY 组 5 周时右下肢皮肤含水量、6 周时背部和右上肢皮肤含水量及 7 周时背部皮肤含水

表 7 六味地黄汤干预阶段各组饮水量变化 (mL, $\bar{x} \pm s$)

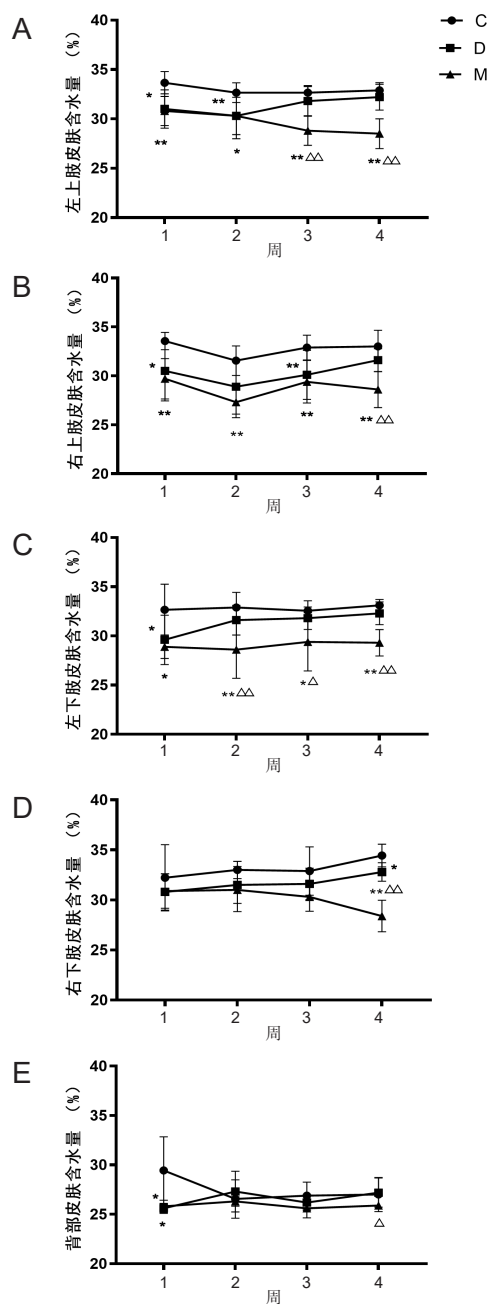
组别	n	第 5 周	第 6 周	第 7 周	第 8 周
C	9	3.23 ± 0.36	3.07 ± 0.04	2.96 ± 0.06	2.92 ± 0.07
D	10	16.43 ± 4.62*	15.31 ± 5.26*	16.13 ± 6.88*	15.73 ± 5.38*
DY	10	24.92 ± 6.05*Δ	27.16 ± 6.03*Δ	28.26 ± 6.71*Δ	30.19 ± 6.81*Δ
DY-L	10	21.95 ± 6.72^	20.63 ± 5.46^	21.53 ± 6.14^	22.57 ± 6.26^
DY-M	10	19.73 ± 7.39^	18.09 ± 5.02^	20.13 ± 8.91^	19.59 ± 8.19^
DY-H	10	16.43 ± 5.06^	16.62 ± 4.04^	19.44 ± 6.59^	21.78 ± 5.81^

注: 与 C 组比较, * $P<0.01$; 与 D 组比较, Δ $P<0.01$; 与 DY 组比较, ^ $P<0.01$

表 8 六味地黄汤干预阶段各组唾液流率变化 (mg/s, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	第 5 周	第 6 周	第 7 周	第 8 周
C	9	1.16 ± 0.44	1.09 ± 0.58	0.48 ± 0.20	0.86 ± 0.30
D	10	0.27 ± 0.14**	0.35 ± 0.16**	0.24 ± 0.15	0.27 ± 0.15**
DY	10	0.15 ± 0.05**Δ	0.18 ± 0.08**Δ	0.08 ± 0.03**Δ	0.15 ± 0.05**Δ
DY-L	10	0.45 ± 0.21^^	0.30 ± 0.12	0.22 ± 0.11^	0.30 ± 0.12^
DY-M	10	0.41 ± 0.12^^	0.31 ± 0.20^	0.24 ± 0.07^	0.31 ± 0.14^^
DY-H	10	0.41 ± 0.17^	0.35 ± 0.11	0.33 ± 0.14^	0.56 ± 0.54^^

注: 与 C 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与 D 组比较, Δ $P<0.05$, ΔΔ $P<0.01$; 与 DY 组比较, ^ $P<0.05$, ^^ $P<0.01$



注: A~E 分别为 1~4 周各组小鼠左上肢、右上肢、左下肢、右下肢和背部皮肤含水量情况。与 C 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与 D 组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

图 6 阴虚证造模阶段各组皮肤含水量变化

量均降低 ($P<0.01$), 8 周时左上肢、右下肢皮肤含水量下降 ($P<0.05$, $P<0.01$), 5 周时 DY-L 组右上肢皮肤含水量及 8 周时 DY-H 组右下肢皮肤含水量下降 ($P<0.05$), 6 周时 DY-L 组和 DY-M 左上肢皮肤含水量降低 ($P<0.01$, $P<0.05$)。与 DY 组比较, 5 周时 DY-M 组背部皮肤含水量、DY-L 组右上肢皮肤含水量及 DY-L、DY-M、DY-H 组右下肢皮肤含水量均增加 ($P<0.01$), 6 周时 DY-L、DY-M、DY-H 组右上肢皮肤含水量增加 ($P<0.01$), 至 8 周时, DY-M 组右下肢皮肤含水量及 DY-H 组背部皮肤含水量增加 ($P<0.01$)。

7 粪便含水量测定 (图 7, 表 12) 与 C 组比较, M 组 4 周时、DY 组 6、8 周时粪便含水量下降 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与 D 组比较, M 组 4 周时及 DY 组 6、8 周时粪便含水量降低 ($P<0.05$)。与 DY 组比较, DY-L 组 5、6、8 周时、DY-M 组 5、7、8 周时及 DY-H 组 5 周时粪便含水量增加 ($P<0.01$)。

8 各组 24 h 尿量结果比较 (图 8, 表 13) 阴虚证造模阶段: 与 C 组比较, D 组 1、3、4 周时和 M 组 1、3 周时 24 h 尿量增加 ($P<0.01$, $P<0.05$); 与 D 组比较, M 组 1、4 周时 24 h 尿量减少 ($P<0.05$)。六味地黄汤干预阶段: 与 C 组比较, D、DY 组在 5~8 周时 24h 尿量增加 ($P<0.05$, $P<0.01$); 与 D 组比较, DY-L 组 8 周时、DY-M 组 7 周时及 DY-H 组 5、7 周时 24h 尿量增加 ($P<0.05$, $P<0.01$); 与 DY 组比较, 至实验第 8 周时, DY-L、DY-M、DY-H 组 24 h 尿量均升高 ($P<0.01$)。

9 各组体重结果比较 (图 9, 表 14) 与 C 组比较, M 组 1~4 周、D 组 1~8 周、DY 组 5~8 周体重明显增加 ($P<0.01$); 与 D 组比较, DY 组 5~8 周时体重明显下降 ($P<0.01$); 与 DY 组比较, DY-H 组体重显著增加 ($P<0.01$)。

10 各组食量结果比较 (图 10, 表 15) 与 C 组比较, M 组 1~4 周、D 组 1~8 周、DY 组 5~8 周食量明显增加 ($P<0.01$); 与 D 组比较, M 组 2~4

表 9 六味地黄汤干预阶段各组背部皮肤含水量变化 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	n	第 5 周	第 6 周	第 7 周	第 8 周
C	9	27.22 ± 2.86	26.33 ± 1.94	32.00 ± 2.69	25.56 ± 0.53
D	10	25.60 ± 0.52	26.00 ± 0.47	30.50 ± 1.72	25.60 ± 0.97
DY	10	25.30 ± 0.48	25.30 ± 0.48 $\Delta\Delta$	27.10 ± 1.52** Δ	25.00 ± 0.00*
DY-L	10	28.80 ± 4.87	25.60 ± 0.52	29.50 ± 3.06	26.10 ± 2.47
DY-M	10	26.30 ± 0.67 Δ	25.70 ± 0.48	28.20 ± 2.66	26.80 ± 2.39
DY-H	10	25.90 ± 0.74	25.80 ± 0.42	27.90 ± 1.79	25.80 ± 0.42 $\Delta\Delta$

注: 与 C 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与 D 组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$; 与 DY 组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

表 10 六味地黄汤干预阶段各组左、右上肢皮肤含水量变化 (%, $\bar{x} \pm s$)

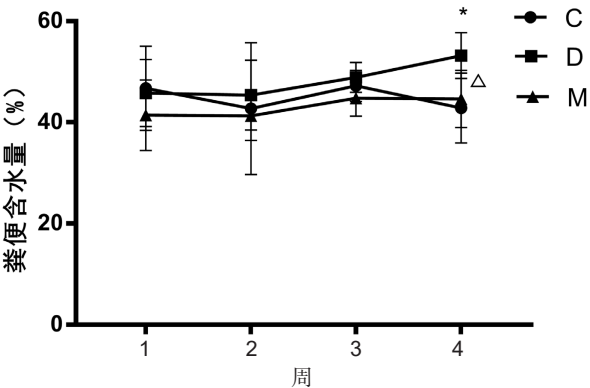
组别	n	第 5 周		第 6 周		第 7 周		第 8 周	
		左上肢	右上肢	左上肢	右上肢	左上肢	右上肢	左上肢	右上肢
C	9	33.00 ± 1.41	30.00 ± 2.96	31.67 ± 3.16	30.67 ± 2.78	25.67 ± 1.00	31.89 ± 2.52	33.22 ± 3.07	33.11 ± 1.76
D	10	31.50 ± 1.27	28.10 ± 1.97	30.60 ± 2.84	29.10 ± 2.28	25.70 ± 0.48	32.40 ± 2.72	33.30 ± 1.16	33.20 ± 0.42
DY	10	31.40 ± 1.71	26.90 ± 1.37*	31.90 ± 2.08	25.60 ± 0.52** $\Delta\Delta$	25.50 ± 0.53	31.60 ± 2.59	31.30 ± 2.63 Δ	31.30 ± 2.45
DY-L	10	31.40 ± 2.32	30.70 ± 1.64 Δ	33.60 ± 1.07 $\Delta\Delta$	31.50 ± 2.95 Δ	25.50 ± 0.53	32.70 ± 1.25	32.50 ± 1.18	32.80 ± 0.79
DY-M	10	31.20 ± 1.81	28.90 ± 2.28	32.40 ± 0.84 Δ	29.40 ± 2.63 Δ	25.60 ± 0.52	32.60 ± 1.43	32.60 ± 1.51	33.10 ± 1.37
DY-H	10	32.90 ± 0.57	28.30 ± 2.26	32.30 ± 2.41	28.80 ± 2.15 Δ	25.30 ± 0.48	32.40 ± 1.07	32.80 ± 1.32	32.30 ± 1.70

注:与 C 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 D 组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与 DY 组比较, $\Delta P < 0.01$

表 11 六味地黄汤干预阶段各组左、右下肢皮肤含水量变化 (%, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	第 5 周		第 6 周		第 7 周		第 8 周	
		左下肢	右下肢	左下肢	右下肢	左下肢	右下肢	左下肢	右下肢
C	9	31.44 ± 2.74	31.33 ± 2.40	32.11 ± 3.22	30.89 ± 3.06	32.78 ± 1.99	31.22 ± 3.07	31.67 ± 2.24	33.33 ± 1.32
D	10	32.30 ± 1.16	31.10 ± 2.02	31.90 ± 1.60	31.10 ± 1.97	31.10 ± 2.13	30.00 ± 2.49	30.80 ± 1.99	32.20 ± 1.40
DY	10	31.00 ± 3.23	26.70 ± 0.82** $\Delta\Delta$	32.40 ± 0.84	28.60 ± 1.35	31.00 ± 2.79	28.70 ± 2.06	28.60 ± 2.07*	28.50 ± 1.72** $\Delta\Delta$
DY-L	10	32.70 ± 0.67	29.50 ± 2.27* Δ	32.80 ± 1.03	29.80 ± 3.01	32.70 ± 0.67	29.90 ± 1.66	30.60 ± 1.96	30.40 ± 1.71
DY-M	10	31.80 ± 1.62	30.70 ± 2.00 Δ	32.50 ± 0.97	29.60 ± 1.84	32.80 ± 1.03	30.00 ± 3.02	30.70 ± 2.16	31.90 ± 2.33 Δ
DY-H	10	30.90 ± 2.38	30.20 ± 2.49 Δ	32.10 ± 1.97	28.80 ± 2.39	31.90 ± 1.45	29.40 ± 2.67	30.50 ± 2.27	29.60 ± 1.84

注:与 C 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 D 组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与 DY 组比较, $\Delta P < 0.01$



注:与 C 组比较, * $P < 0.01$;与 D 组比较, $\Delta P < 0.05$;与 DY 组比较, $\Delta P < 0.01$

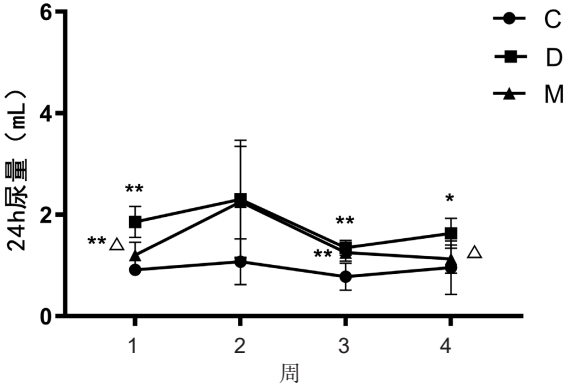
图 7 阴虚证造模阶段各组粪便含水量比较

表 12 六味地黄汤干预阶段粪便含水量变化 (%, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	第 5 周	第 6 周	第 7 周	第 8 周
C	9	47.4 ± 6.1	55.4 ± 3.1	51.6 ± 4.3	54.9 ± 5.3
D	10	47.3 ± 5.0	52.5 ± 5.4	52.3 ± 4.3	50.4 ± 2.5
DY	10	43.4 ± 4.2	45.7 ± 1.2* Δ	48.2 ± 7.0	47.7 ± 1.9* Δ
DY-L	10	49.7 ± 3.0 Δ	54.5 ± 4.1 Δ	51.7 ± 5.3	53.4 ± 3.8 Δ
DY-M	10	49.7 ± 3.1 Δ	50.1 ± 2.4	54.6 ± 4.4 Δ	54.8 ± 5.2 Δ
DY-H	10	49.7 ± 4.2 Δ	49.6 ± 3.4	50.9 ± 3.3	51.7 ± 4.1

注:与 C 组比较, * $P < 0.01$;与 D 组比较, $\Delta P < 0.05$;与 DY 组比较, $\Delta P < 0.01$

周食量下降 ($P < 0.01$), DY 组 7、8 周时食量增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$);与 DY 组比较, DY-H 组 5~7 周时食量减少 ($P < 0.01$)。



注:与 C 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 D 组比较, $\Delta P < 0.01$

图 8 阴虚证造模阶段各组 24 h 尿量比较

11 各组拉力结果比较 (图 11) 阴虚证造模阶段第 4 周:与 C 组比较, D、M 组拉力增加 ($P < 0.01$);与 D 组比较, M 组拉力下降 ($P < 0.05$)。六味地黄汤干预阶段第 8 周:与 C 组比较, D 组拉力增加 ($P < 0.05$);与 D 组比较, DY 组拉力下降 ($P < 0.05$);与 DY 组比较, DY-M 组拉力增加 ($P < 0.05$)。

讨 论

中医学以“辨证”为原则,西医以“辨病”为特点。病证结合动物模型兼备西医“病”与中医“证”的基本特征,将现代医学发病机制与中医病因学说密切结合,是开展中医证候生物学基础研究较为理想的

表 13 六味地黄汤干预阶段各组 24 h 尿量变化 (mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	第 5 周	第 6 周	第 7 周	第 8 周
C	9	1.00 ± 0.24	1.06 ± 0.05	1.06 ± 0.32	0.67 ± 0.32
D	10	1.62 ± 0.32*	1.74 ± 0.40**	1.96 ± 0.26**	1.72 ± 0.77*
DY	10	1.54 ± 0.26*	1.50 ± 0.23**	1.68 ± 0.27**	1.45 ± 0.60*
DY-L	10	1.65 ± 0.21	1.98 ± 0.33 [△]	1.57 ± 0.16	2.18 ± 0.25 ^{△△}
DY-M	10	1.95 ± 0.58 [△]	2.05 ± 0.44 ^{△△}	1.50 ± 0.00	1.97 ± 0.19 ^{△△}
DY-H	10	2.25 ± 0.20 ^{△△}	1.70 ± 0.49	1.30 ± 0.35	2.15 ± 0.36 ^{△△}

注: 与 C 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 DY 组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$ 表 14 六味地黄汤干预阶段各组体重变化 (g, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	第 5 周	第 6 周	第 7 周	第 8 周
C	9	21.88 ± 1.55	21.33 ± 1.60	21.37 ± 1.42	21.90 ± 1.48
D	10	45.95 ± 3.43*	46.97 ± 3.67*	48.43 ± 3.67*	49.88 ± 4.21*
DY	10	42.47 ± 3.23* [△]	42.63 ± 3.44* [△]	43.26 ± 3.56* [△]	43.72 ± 4.00* [△]
DY-L	10	41.66 ± 5.00	42.04 ± 5.41	42.82 ± 5.15	43.67 ± 4.95
DY-M	10	42.34 ± 6.26	42.14 ± 7.71	43.16 ± 7.99	44.53 ± 8.37
DY-H	10	45.78 ± 4.96 [△]	45.97 ± 4.76 [△]	45.83 ± 4.82 [△]	47.38 ± 6.00 [△]

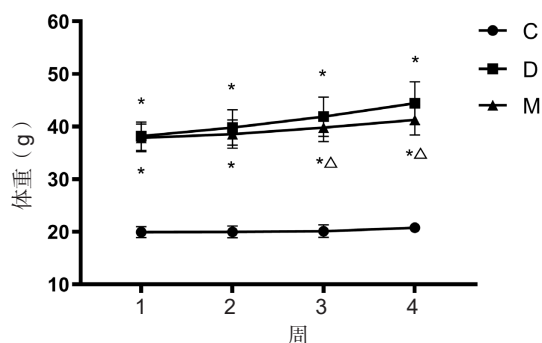
注: 与 C 组比较, * $P < 0.01$; 与 D 组比较, [△] $P < 0.01$; 与 DY 组比较, [△] $P < 0.01$ 注: 与 C 组比较, * $P < 0.01$; 与 D 组比较, [△] $P < 0.01$

图 9 各组小鼠体重变化

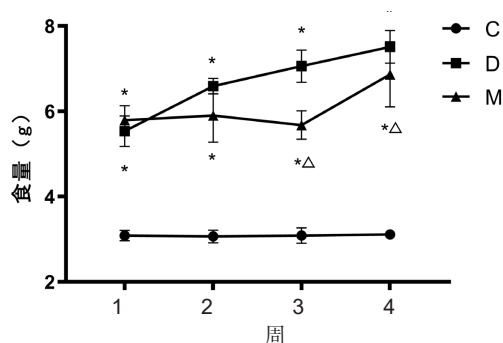
注: 与 C 组比较, * $P < 0.01$; 与 D 组比较, [△] $P < 0.01$

图 10 各组小鼠食量结果比较

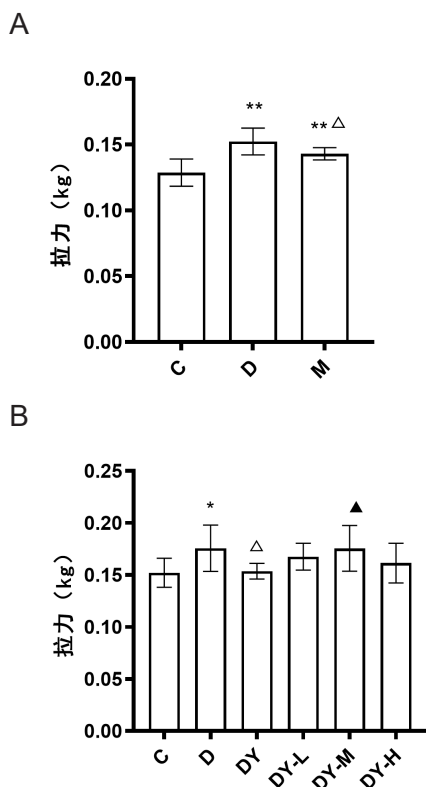
动物模型。阴虚证在中医临床疾病中分布较广, 以糖尿病最为常见^[11, 12]。其中, 2 型糖尿病患者占糖尿病患者总数的 90% 以上^[13]。因此, 建立标准化的 2 型糖尿病病证结合动物模型是探索中医证候本质和临床新药研发的重要基础。2 型糖尿病病证结合动物模型是在 2 型糖尿病模型基础上, 通过叠加其他作用因素, 如灌服中药、化学药物及物理刺激等方法进行造模^[14]。db/db 小鼠是由于瘦素受体基因缺陷导致的

先天性肥胖 2 型糖尿病小鼠, 其生理及行为特性与人类 2 型糖尿病表现高度相似, 且无人诱导因素干扰, 更为符合临床 2 型糖尿病发病规律, 是目前被广泛认可的一种自发性 2 型糖尿病动物模型^[15, 16]。2 型糖尿病属于中医学“消渴”范畴, 阴虚是该病的主要病理基础。正如《医宗金鉴·删补名医方论》所言: “大热则伤阴”, 过服温燥之品, 暗耗阴液是阴虚证的主要病因^[17]。耗伤阴液法是建立阴虚证模型常用的中

表 15 六味地黄汤干预阶段各组食量变化 (g, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	第 5 周	第 6 周	第 7 周	第 8 周
C	9	5.25 ± 0.08	3.42 ± 0.01	3.24 ± 0.23	3.58 ± 0.01
D	10	11.49 ± 1.00*	6.75 ± 0.77*	6.41 ± 0.29*	6.55 ± 0.77*
DY	10	11.79 ± 1.05*	7.20 ± 0.30*	7.20 ± 0.60* [△]	7.22 ± 0.31* [△]
DY-L	10	11.41 ± 1.11*	7.15 ± 1.18*	6.83 ± 0.30*	7.13 ± 0.55* [△]
DY-M	10	12.01 ± 1.46*	7.80 ± 1.15*	7.15 ± 0.99*	7.73 ± 0.86*
DY-H	10	10.87 ± 0.55* [△]	5.83 ± 0.61* [△]	6.58 ± 0.47* [△]	7.11 ± 0.54*

注: 与 C 组比较, * $P < 0.01$; 与 D 组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$; 与 DY 组比较, [△] $P < 0.01$



注: A 为阴虚证造模阶段各组小鼠拉力变化; B 为六味地黄汤干预阶段各组小鼠拉力变化。与 C 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 D 组比较, $\Delta P < 0.05$; 与 DY 组比较, $\Delta P < 0.05$

图 11 各组小鼠拉力结果比较

医病因造模方法之一^[18, 19]。前期研究表明, 采用经典复合因素造模法建立脾阴虚糖尿病大鼠调节葡萄糖机能受损, 存在胰岛素抵抗状态, 同时出现肛温升高、饮水量增加、体重下降等脾阴虚证表现^[20, 21]。在此基础上, 本研究结合阴虚证典型表现进行宏观表征及客观指标动态检测, 发现 2 型糖尿病模型小鼠 FBG 异常升高, 出现高血糖表现; OGTT 和 ITT 实验表明糖尿病模型小鼠葡萄糖耐量严重受损, 对胰岛素的反应性下降, 进一步证实糖尿病模型小鼠出现高血糖和胰岛素抵抗; 糖尿病阴虚证组小鼠相比于糖尿病组小鼠出现更为明显的五心烦热、口干、皮肤干燥、便干、尿少、消瘦、乏力的表现, 且糖耐量异常和胰岛素抵抗程度更为严重, 说明在自发性 2 型糖尿病模型基础上结合耗伤阴液法造模能够成功建立 2 型糖尿病阴虚证动物模型。

选择针对证型疗效明确的常用首选方剂, 反证模型的证候属性是衡量证候动物模型是否成功的一种可靠方法^[22]。六味地黄丸(汤)为中医滋阴法代表方剂, 源自宋·钱乙所著《小儿药证直诀·卷下诸方》, 原名“地黄丸”^[23]。全方由熟地黄 24 g, 山萸肉 12 g, 干山药 12 g, 泽泻 9 g, 牡丹皮 9 g, 茯苓

9 g 组成, 补中寓泻, 以泻助补, 共奏滋补肾阴之效。熟地黄滋阴填髓, 山萸肉、山药益气养阴、固脱涩精, 与熟地黄合补肝肾脾三阴; 丹皮清泄虚热, 茯苓淡渗脾湿, 与泽泻共泻肾浊, 助真阴得复其位^[24]。临床研究表明, 六味地黄丸可明显改善 2 型糖尿病阴虚证的中医证候, 相比于单纯使用西药, 联合六味地黄丸治疗 2 型糖尿病的降血糖效果更为显著^[25, 26]。此外, 六味地黄丸对于防治糖尿病并发症也具有一定作用^[27]。本研究选用六味地黄汤进行反证后发现, 六味地黄汤能够改善糖尿病阴虚证小鼠阴虚内热及五心温度升高、口干、局部皮肤干燥、大便干燥、尿少、消瘦及乏力的表现, 调节血糖, 改善其高血糖状态。旷场实验常用于评价小鼠的自发活动和类似烦躁的行为^[28]。通过观察小鼠在旷场中的活动情况, 笔者发现灌服六味地黄汤后小鼠中央格穿格次数、旷场区运动总距离和速度降低, 烦躁表现得以缓解, 进一步验证了 2 型糖尿病阴虚证模型造模成功。

综上所述, 本研究在建立 2 型糖尿病阴虚证病证结合模型的基础上, 结合阴虚证典型表现“五心烦热、口干、皮肤干燥、大便干燥、尿少、形体消瘦”等进行宏观表征和空腹血糖等客观指标的动态检测, 并通过以方测证对 2 型糖尿病阴虚证病证结合模型的评价方法进行了探索与创新, 客观性强, 且更为贴近临床实际, 对于日后开展病证结合动物模型研究具有重要的借鉴意义。

利益冲突: 无。

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] 李磊, 刘建勋, 任钧国, 等. 中医药动物模型研究现状及展望[J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(1): 104-110.
- [3] 周临娜, 李敏超, 陈堃, 等. 从发病学角度探讨 2 型糖尿病病证结合动物模型的研制方法[J]. 四川中医, 2017, 35(1): 20-23.
- [4] 王靖怡, 高嘉良, 王阶. 病证结合动物模型研究概述[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2020, 22(7): 2160-2164.
- [5] 邢颖, 皮敏, 张润顺, 等. 基于复杂网络社团发现算法的 2 型糖尿病证候演变及用药特点研究[J]. 中医杂志, 2021, 62(21): 1860-1868.

- [6] 赵灵燕, 毕力夫, 陈建新, 等. 2 型糖尿病中医证候要素诊断量表的研制及考评[J]. 北京中医药大学学报, 2018, 41 (10): 848-853.
- [7] 李志春, 桂立辉. 利用 Excel 实现对实验对象随机分组的应用[J]. 毒理学杂志, 2005, 19 (3): 235-236.
- [8] 方积乾主编. 生物医学研究的统计方法[M]. 北京: 高等教育出版社, 2007: 291.
- [9] 薛春苗, 曹俊岭, 薛润苗. 温热药造小鼠阴虚模型的建立及其对小鼠免疫方面的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2009, 4 (5): 318-320.
- [10] 孙晓霞, 任威铭, 崔荣兴, 等. 阴虚证动物模型的建立与评价[J]. 中医杂志, 2021, 62 (13): 1156-1163.
- [11] 郑绍勇, 丁成华. 阴虚证中医临床疾病分布的文献研究[J]. 中医临床研究, 2017, 9 (6): 88-90.
- [12] 龚敏, 刘蔚, 邹丽妍, 等. 知柏地黄丸对糖尿病前期阴虚燥热证人群干预的临床研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2017, 37 (11): 1297-1300.
- [13] Holman N, Young B, Gadsby R. Current prevalence of type 1 and type 2 diabetes in adults and children in the UK[J]. Diabet Med, 2015, 32 (9): 1119-1120.
- [14] 周方圆, 杨宇峰, 石岩. 2 型糖尿病病证结合动物模型研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 18 (8): 93-95.
- [15] 江爱娟, 申国明, 蔡标, 等. 益气活血通络方通过调控 NF- κ B 信号通路保护 db/db 小鼠坐骨神经作用机制研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38 (8): 985-990.
- [16] 王松月, 依香叫, 李金诚, 等. 自发性 2 型糖尿病模型 db/db 小鼠生物学特性研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2019, 25 (7): 909-912.
- [17] 清·吴谦著. 医宗金鉴上册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 29.
- [18] 孙晓霞, 战丽彬, 侯圣林, 等. 滋补脾阴方药对脾阴虚大鼠空肠葡萄糖转运蛋白 1、葡萄糖转运蛋白 5 表达的影响[J]. 世界科学技术 - 中医药现代化, 2018, 20 (5): 660-665.
- [19] 侯圣林, 战丽彬, 孙晓霞. 滋补脾阴方药对脾阴虚大鼠空肠组织黏蛋白表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2019, 26 (8): 51-53.
- [20] 梁丽娜, 战丽彬, 胡守玉, 等. 糖尿病脾阴虚大鼠下丘脑内质网应激及滋补脾阴方药调节作用研究[J]. 北京中医药大学学报, 2015, 38 (8): 519-523.
- [21] 梁丽娜, 胡守玉, 战丽彬, 等. 滋补脾阴方药对脾阴虚糖尿病大鼠海马胰岛素抵抗影响的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32 (3): 356-361.
- [22] 李玉波, 于眉, 李君玲, 等. 方剂反证在构建病证结合动物模型中的作用——以逍遥散反证抑郁症肝郁脾虚证为例[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27 (23): 44-50.
- [23] 宋·钱乙著. 小儿药证直诀[M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2015: 36.
- [24] 邓中甲主编. 方剂学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 171.
- [25] Pu R, Geng XN, Yu F, et al. Liuwei Dihuang Pills enhance the effect of Western medicine in treating type 2 diabetes: a Meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Chin J Integr Med, 2013, 19 (10): 783-791.
- [26] 王立霞, 王润丽. 六味地黄丸联合二甲双胍治疗 2 型糖尿病临床疗效研究[J]. 糖尿病新世界, 2022, 25 (3): 78-81.
- [27] 胡明财, 何建华, 刘剑, 等. 六味地黄丸对 2 型糖尿病伴胰岛素抵抗并发周围神经病变大鼠的抗氧化作用[J]. 中成药, 2014, 36 (4): 840-842.
- [28] Zhou L, Wu Z, Wang G, et al. Long-term maternal separation potentiates depressive-like behaviours and neuroinflammation in adult male C57/BL6J mice[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2020, 196: 172953.

(收稿: 2020-08-03 在线: 2023-01-10)

责任编辑: 汤 静