

刘美怡,钱深思,容蓉,等. 后天继发性免疫低下动物模型研究及其在中医证候模型的应用进展[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(5): 708-715.

Liu MY, Qian SS, Rong R, et al. Animal models of acquired secondary immunodeficiency and their application in traditional Chinese medicine syndrome models[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(5): 708-715.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.05.018

后天继发性免疫低下动物模型研究及在中医证候模型的应用进展

刘美怡¹,钱深思¹,容蓉^{1,2},杨勇^{1,2*}

(1. 山东中医药大学,济南 250355; 2. 山东中医药大学,中医药抗病毒协同创新中心,济南 250355)

【摘要】 免疫力低下状态使机体更容易受到内外致病因子的侵袭,使其成为多种疾病的易感和高危群体。为了更好地开展针对这类特殊群体的基础研究,现根据近十几年来国内外相关文献,对后天继发性免疫力低下模型涉及的实验动物、方法及评价指标进行整理、分析与归纳,并提出免疫力低下模型在今后中医药现代化研究中可整合的模式。

【关键词】 后天继发性免疫低下;动物模型;中医证候

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020) 05-0708-08

Animal models of acquired secondary immunodeficiency and their application in traditional Chinese medicine syndrome models

LIU Meiyi¹, QIAN Shensi¹, RONG Rong^{1,2}, YANG Yong^{1,2*}

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China. 2. Collaborative Innovation Center for Antiviral Traditional Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355)

Corresponding author: YANG Yong. Email: yy7204@163.com

【Abstract】 Impaired immunity makes the body more susceptible to internal and external pathogenic factors, making people more susceptible and at higher risk for various diseases. To better conduct basic research for this special group, based on relevant studies performed in China and elsewhere in the past 10 years, this paper analyzes and summarizes the experimental animals, methods and evaluation indexes involved in acquired secondary immunodeficiency models, and proposes that immunocompromised models can be integrated into future research on the modernization of traditional Chinese medicine.

【Keywords】 acquired secondary immunodeficiency; animal model; traditional Chinese medicine syndrome

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

免疫力是指机体在生存发展过程中所形成的识别“自我”与“非己”,并排斥“非己”而保护“自我”的能力,即机体自身的防御机制。免疫力低下包括因长期生活作息不规律或某些原发疾病等所致的机体免疫功能下降,还包括老年人的免疫系统功能性衰退而表现出的免疫低下状态。当免疫机

【基金项目】 国家自然科学基金(81873220,81774167),山东省重点研发计划(2018CXGC1307),山东省中医药科技发展计划(2015-013,2013-026)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (81873220, 81774167), Shandong Provincial Key Research and Development Plan (2018CXGC1307), Shandong Province Science and Technology Development Plan of Traditional Chinese Medicine (2015-013, 2013-026).

【作者简介】 刘美怡,女(1996—),硕士研究生,研究方向:中医药抗病毒的药效及机制研究。Email: liumeiyi698@163.com

【通信作者】 杨勇,男(1972—),博士,副教授,研究方向:中医药抗病毒的药效及机制研究。Email: yy7204@163.com

能下降,机体容易处于亚健康状态,更容易受到致病因子的侵袭,因此,建立能反映免疫低下特点并可重复、稳定的动物模型将对开展相关疾病的防控具有十分重要意义。本综述主要介绍免疫低下模型的实验动物、建模方法、评价指标及其在中医证候模型中的应用,为今后选择合适的免疫低下动物模型开展疾病发病机制、药物评价等研究提供参考。

1 免疫低下动物模型分类

免疫低下模型动物按照获得方式不同可分为先天性免疫低下和后天继发性免疫低下,前者为先天遗传性缺陷病所致,后者则主要是由恶性肿瘤、病毒、药物、营养不良等所致。

1.1 先天性免疫低下动物模型

先天遗传性免疫损伤常见于以下模型: BALB/c-nu、C3H-nu、C57BL/6-nu、NIH-nu 品系裸鼠以及 La-sat 品系等,是先天缺失一种或两种免疫器官的模型动物; CBA/N、Beige、SCID 及 B-NSG 品系等,是各类免疫细胞存在缺陷的小鼠模型; 裸大鼠; SHR 品系大鼠; 还有 C8 α t-r 缺损症、C4 缺损症、C5 缺损症及 C6 缺损症等补体缺损的免疫功能障碍动物模型^[1]。这些模型动物普遍个体差异小,动物用量少,且由于多是基因改变,免疫学特性比较稳定,免疫缺陷维持时间较长; 但缺点是由于先天免疫低下,有些品系小鼠生命周期仅维持在 8.5 个月左右,不利于长期跟踪实验,繁殖力差,且价格大多昂贵,不利于广泛开展使用。

1.2 后天继发性免疫低下动物模型

模型建立多用小鼠、大鼠、家兔、雪貂、比格犬等动物。目前常采用物理、化学及辐射的方法建立免疫低下动物模型,虽然此法造成的免疫损伤是暂时的,但在可获得性和经济性上,比先天免疫缺陷动物模型更具可操作性优势,本文将对此进行重点阐述。

2 后天继发性免疫低下动物模型的建立及评价

2.1 强电刺激法

电刺激法多选用大鼠,给予 10 min 的足底电击刺激(电流强度 1.0 mA,共 33 次,时间间隔为 15 s,每次持续 3 s),进行为期 14 d 的造模。足底电击可使其免疫受到抑制,IgG 抗体水平降低^[2]。此方法危险系数较高且不易操作,因此,现少有研究采用强电刺激法建立免疫低下动物模型。

2.2 辐射法

此法多采取 3-6 Gy 剂量的射线全身均匀照射小鼠或大鼠 24 h 来实现,应用最多的是⁶⁰Co- γ 射线和 X 射线。杨芳等^[3]提供的方法为: 40 cm $\times$ 40 cm 的照射视野,5 Gy 剂量的 X 射线进行一次性全身照射,源皮距为 100 cm。辐射法所致免疫低下模型多表现为体重下降、活动减少,脾和胸腺萎缩,T 淋巴细胞亚群值改变^[4],白细胞和淋巴细胞计数减少等^[5]。张蓉等^[6]认为辐射是一种毒邪,火热炽盛易耗气伤阴而气血亏虚,现也有不少人采用辐射法制备动物模型来研究中医证候。郭平等^[7]用⁶⁰Co- γ 射线建立血虚证小鼠模型,免疫学指标降低的同时,也出现了血虚证的表现。辐射法致免疫低下动物模型多应用于中医药抗辐射作用研究及保健食品对辐射损伤的辅助保护和免疫调节作用研究。此法对实验室的要求较高,并且通过辐射法造模的动物生命周期会缩短^[8],不适用于周期较长的实验研究。

2.3 应激法

应激所致的肝郁脾虚可使正常免疫功能受阻,由此将应激法用于构建免疫低下模型。马涛等^[9]对 Wistar 大鼠施加束缚夹尾 5 min、噪声 12 h、禁食禁水 12 h 等不可预见性刺激,进行 56 d 实验,通过慢性应激建立肝郁脾虚抑郁模型,发现大鼠出现了炎症反应,细胞因子 IL-1 β 含量增加,IFN- γ 、IL-2 等则减少,脾细胞免疫功能受损。黄晓峰等^[10]每天从 17:00-9:00 将 C57BL/6 小鼠(6 ~ 8 周龄,雌性)置于锥形管中束缚限制其活动,重复 5 d,通过慢性心理应激也能抑制免疫功能。

2.4 手术切除法

手术切除法是指通过切除免疫器官来实现免疫低下,如脾切除模型的建立,方法如下: 选择 6 周龄雄性大鼠,麻醉备皮,沿左上腹旁正中进腹剪开 1.5 ~ 2.0 cm 大小的切口,结扎血管和脾蒂,摘除脾后缝合切口。术后免疫细胞活性减弱,CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺均下降^[11]。脾切除所致免疫低下状态维持时间较长,适用范围较广。

2.5 免疫抑制剂法

2.5.1 环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX)

CTX 腹腔注射是常用的免疫低下动物模型诱导方法。ICR 小鼠、BALB/c 小鼠、昆明小鼠、A/J 小鼠、豚鼠和大鼠是常用的啮齿类模型动物,此外还有家兔等哺乳类动物。CTX 给药剂量和时间是有

效建立免疫低下模型重要的因素,文献报道没有统一的给药剂量和时间标准。相比较之下,小鼠模型多为 80 mg/kg 连续 3 d 和 40 mg/kg 连续 10 d 腹腔注射给药。有学者对比研究不同剂量 CTX 对 SD 大鼠的造模效果,通过综合存活率和白细胞计数两项指标得出:中剂量组(间隔 3 d,第 1 天 150 mg/kg,第 4 天 100 mg/kg)是最佳的诱导剂量^[12]。吴萌等^[13]采用 4 个月兔龄的新西兰大耳家兔,CTX 剂量为 28.75 mg/(kg·d),连续注射 10 d,胸腺和脾指数明显降低。

CTX 建模后,动物的体重、精神状况和自主活动量等表观指标可初步反映动物的免疫功能状况。进一步检测发现,脾和胸腺指数降低、白细胞减少、IL-2、IL-4 等细胞因子含量下降、IgG、IgM 血清抗体水平下降、脾淋巴细胞增殖能力下降、巨噬细胞吞噬功能减弱、CD4⁺ 和 CD8⁺ 及其比值均下降^[14-15]。碳廓清实验是评估免疫水平的方法之一,尾静脉注射墨水是碳廓清实验最常用的方式,王红梅等^[16]还推荐了内眦静脉注射墨水的方法。

近些年来,CTX 广泛应用于中药复方和成分免疫调节作用研究的前期模型构建,其引起的免疫抑制还可用于构建中医脾虚证^[17]和血虚证^[18]模型。

2.5.2 氢化可的松(hydrocortisone, HY)

HY 可减弱免疫功能,SD 大鼠或小鼠常作为此类方法的模型动物^[19]。通常采用 25 mg/(kg·d) 的剂量,连续 7 d 皮下注射 HY 来建模。HY 溶液一般现用现配,采用无水乙醇和生理盐水(1:5)溶解稀释^[20]。吕颖坚等^[21]证实造模后小鼠 NK 细胞活性降低、巨噬细胞吞噬能力减弱,整体免疫水平降低。血清 IL-6、TNF- α 、IFN- γ 、小肠 SIgA、IgG 及补体 C3 的含量也可用于评价 HY 是否造模成功^[20]。

钱宏梁等^[22]配置 0.0375 mg/mL 浓度的 HY 水溶液于饮水瓶供小鼠饮用,连续 14 d,建立虚证小鼠模型。研究认为 HY 诱导的多是与脾、肾二脏有关的虚证^[23-24],潘志强等^[23]认为 HY 用于构建虚证动物模型时,较之其构建免疫低下模型,应稍减给药剂量和延长造模时间。

2.5.3 环孢素 A(ciclosporin A, CsA)

CsA 能有效抑制辅助性 T 淋巴细胞活性,抑制 CD4⁺ T 细胞增殖,可用于构建 T 细胞功能障碍免疫低下模型。夏琦等^[25]采用 0.2 mg/g 剂量的 CsA 溶液,连续 5 d 腹腔注射,建立免疫低下小鼠模型。另有文献报道了连续 7 d 注射 30 mg/(kg·d) 剂量 CsA

的可行方法^[26]。由于艾滋病毒主要攻击 CD4⁺ T 细胞,所以环孢素 A 也用于免疫缺陷型动物模型的建立,且研究表明中剂量 25 mg/(kg·d) 为造模最佳剂量^[27]。此法一般采用小鼠作为模型动物,灌胃、腹腔注射及肌肉注射这三种给药途径均能建立起免疫低下动物模型^[26]。

2.5.4 其他免疫抑制剂

国外学者采用醋酸可的松(100 mg/kg)对 A/J 小鼠连续 3 d 皮下注射的方法^[28],以及地塞米松处理 BALB/c 小鼠的方法^[29],都成功建立了免疫低下模型。也有比格犬模型报道,通过连续 7 d 口服泼尼松龙(3.0 mg/kg)建立免疫低下模型^[30]。另有研究者将雪貂设做研究对象,采用口服免疫抑制剂混合物(20 mg/kg 霉酚酸酯,0.5 mg/kg 他克莫司和 8 mg/kg 泼尼松龙)的方法建模^[31-32]。由于雪貂呼吸道的受体分布和人类十分相似,且会出现和人一样的打喷嚏、流鼻涕等表现,这些是其他模型动物所不具备的特点,被普遍认为是研究流感病毒的优良模型。

2.6 其他药物方法

2.6.1 腺嘌呤

腺嘌呤可用于构建肾虚且免疫低下大鼠模型,需提前用 0.5% 的羧甲基纤维素钠溶液助悬,配置成 1.5% 的腺嘌呤混悬液,SD 大鼠经连续 56 d 灌胃腺嘌呤悬液(150 mg/kg)后, NK 细胞活性降低、肾形态异常、补体 C3 水平下降,脾淋巴细胞也受到影响^[33]。李卓恒等^[34]通过腺嘌呤成功复制了肾虚大鼠模型,用于肾精亏虚证和肾虚生殖功能损伤的研究。免疫低下与中医肾虚证相关联,因此可通过建立免疫低下动物模型来研究中医肾虚证,但腺嘌呤致肾虚证造模时间稍长。

2.6.2 利血平

利血平最初用于中医脾虚证、肝郁脾虚证的建模,但其会造成模型动物肠道吸收功能受阻,蛋白质合成不足,机体免疫功能下降,因此可用来构建免疫低下模型。可通过对小鼠进行连续 17 d 的背部皮下注射利血平(10^{-4} g/kg)来建模^[35]。研究表明腹腔注射利血平(4 mg/kg)可成功建立大鼠抑郁模型,悬尾实验、强迫游泳实验、旷场实验等可作为评价造模是否成功的判断依据。造模后,胸腺和脾指数下降,炎症因子 IL-1 β 和 TNF- α 水平升高^[36],利血平所致脾虚证可进一步用于构建免疫低下模型。

2. 6. 3 D-半乳糖 (D-galactose, D-gal)

D-gal 常作为致衰剂用于构建衰老模型^[37-38], 但机体的衰老机制与免疫功能的变化息息相关^[39], 也有少数人采用 D-gal 致衰来间接构建免疫低下模型。方法主要有两种: 小鼠采用 125 mg/kg 的剂量颈背部注射, 连续 45 d^[40]; 大鼠采用 350 mg/kg 的剂量颈背部注射, 连续 42 d^[41]。研究证实其可用于阳虚证和衰老肾虚模型的制备^[41-42]。此法造模周期较长, 文献报道在 6 ~ 8 周左右。

3 免疫低下动物模型与中医证候模型的关系

中医证候模型是研究疾病发生发展及中医药作用机制的有效工具, 是中医药现代化发展的重要环节。中医证候模型的建立无论是采用疾病模型、

病因模型、病证结合模型等都与现代医学的动物模型评价紧密相关。已有研究证实, 肝郁证、脾虚证、肝郁脾虚证和肾虚证候与现代医学的免疫低下有一定关系, 都不同程度地抑制了机体免疫^[43-46]。现将免疫低下模型和中医证候模型相关联, 主要包括: 肾虚证、肝郁脾虚证、血虚证等(表 1, 2)。

4 讨论

目前国内外建立免疫低下动物模型的方法有很多, 各有优缺点。但无论采用何种方法建模, 都很难保证实验中能同时抑制模型动物的所有免疫学指标, 仅能保证选择合适的方法、药物、剂量和时间点, 来影响模型动物的部分免疫学指标^[48]。常用到的动物有小鼠、大鼠、新西兰大耳家兔及雪貂等, 但实验选择中最常见的还是小鼠, 这与小鼠在可操

表 1 免疫低下模型与中医证候模型的关联

Table 1 Correlation between immunocompromised models and traditional Chinese medicine syndrome models		
造模方法 Modeling methods	免疫低下模型的造模参数 Modeling parameters of immunocompromised models	中医证候模型 Traditional Chinese medicine syndrome models
辐射法 Radiation	3 ~ 6 Gy 的射线照射剂量, 全身照射 24 h, 源皮距为 100 cm。 3-6 Gy whole body radiation for 24 h, 100 cm source skin distance.	血虚证 Blood deficiency syndrome
应激法 Stress	束缚并夹尾 (5 min)、冷水游泳 (4℃, 5 min)、禁食 (12 h)、禁水 (12 h)、倾斜鼠笼并禁水 (30℃, 12 h)、湿热环境 (30 ~ 32℃, 12 h)、湿垫料 (12 h)、高频闪光 (12 h)、噪声 (鼠声尖叫, 12 h)、黑暗环境 (24 h)、光照 (24 h)、混养 (24 h) 等刺激, 每天给予 1 ~ 2 次, 连续 56 d ^[9] 。 Binding and tail clamping (5 min), cold water swimming (4℃, 5 min), fasting (12 h), water deprivation (12 h), tilting the squirrel cage and baning water (30℃, 12 h), hot and humid environment (30-32℃, 12 h), wet litter (12 h), high frequency flash (12 h), noise (rat screaming, 12 h), dark environment (24 h), illumination (24 h) and polyculture (24 h), etc. Giving the above stimulation 1-2 times a day for 56 consecutive days ^[9] .	肝郁脾虚证 Liver stagnation and spleen deficiency syndrome
CTX	小鼠: 80 mg/kg, 连续 3 d, 或 40 mg/kg, 连续 10 d, i.p.; 大鼠: 第 1 天 150 mg/kg, 第 4 天 100 mg/kg, i.p. ^[12] ; 家兔: 28.75 mg/(kg·d), 连续 10 d, i.p. ^[13] 。 Mice: 80 mg/kg for 3 days or 40 mg/kg for 10 days, i.p.; Rat: 150 mg/kg on the first day and 100 mg/kg on the fourth day, i.p. ^[12] ; Rabbit: 28.75 mg/(kg·d) for 10 days, i.p. ^[13] .	脾虚证、血虚证 Spleen deficiency syndrome, blood deficiency
HY	大鼠: 40 mg/(kg·d), 连续 14 d, i.m. ^[19] ; 小鼠: 40 mg/(kg·d), i.m 隔天 1 次, 共 5 次 ^[20] 或自由饮用 0.0375 mg/mL 浓度的 HY 水溶液, 连续 14 d ^[22] 。 Rat: 40 mg/(kg·d) for 14 days, i.m. ^[19] ; Mice: 40 mg/(kg·d) 5 times every other day, i.m. ^[20] or p.o HY aqueous solution (0.0375 mg/mL) for 14 days ^[22] .	虚证、阳虚证、脾肾虚证、肾虚证 Deficiency syndrome, yang deficiency syndrome, spleen-kidney deficiency syndrome, kidney deficiency syndrome
腺嘌呤 Adenine	大鼠: 腺嘌呤悬液 (150 mg/kg), 连续 56 d, i.g. ^[33] 。 Rat: adenine suspension (150 mg/kg) for 56 days, i.g. ^[33] .	肾虚证 Kidney deficiency syndrome
利血平 Reserpine	小鼠: 0.1 mg/kg, 连续 14 d, i.h.; 大鼠: 4 mg/kg, 连续 2 d, i.p. ^[36] 。 Mice: 0.1 mg/kg for 14 days, i.h.; Rat: 4 mg/kg for 2 days, i.p. ^[36] .	脾虚证 Spleen deficiency syndrome
D-半乳糖 D-gal	小鼠: 125 mg/kg, 连续 45 d, i.h. ^[40] ; 大鼠: 350 mg/kg, 连续 42 d, i.h. ^[41] 。 Mice: 125 mg/kg for 45 days, i.h. ^[40] ; Rat: 350 mg/kg for 42 days, i.h. ^[41] .	阳虚证、肾虚证 Yang deficiency syndrome, kidney deficiency syndrome

注: i.p. 腹腔注射; i.m. 肌内注射; i.h. 皮下注射; p.o. 口服; i.g. 灌胃。
Note. i.p, intraperitoneal. i.m, intramuscular. i.h, subcutaneous. p.o, oral. i.g, gavage.

表 2 免疫低下模型在中医证候中的应用

Table 2 Application of immunocompromised models in traditional Chinese medicine syndrome models

造模方法 Modeling methods	中医证候名称及主要评价指标 Traditional Chinese medicine syndrome and main evaluation indexes
辐射法 Radiation	血虚证:胸腺和脾指数,骨髓细胞 IL-6、IL-18 mRNA 的表达情况 ^[7] 。 Blood deficiency syndrome: thymus index; spleen index; expression of IL-6 and IL-18 mRNA in bone marrow cells ^[7] .
应激法 Stress	肝郁脾虚证:脾线粒体结构、ATP 含量,脾细胞因子(IL-2、IL-4、IL-10、IFN- γ 、IL-1 β) 表达情况,脾趋化因子 CCL22 和 CXCL10 水平 ^[9] 。 Liver stagnation and spleen deficiency syndrome: spleen mitochondrial structure and ATP content; expression of spleen cytokines (IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ and IL-1 β); spleen chemokine CCL22 and CXCL10 levels ^[9] .
腺嘌呤 Adenine	肾虚证:血清促肾上腺皮质激素(ACTH)、睾酮(T)、三碘甲腺原氨酸(T ₃)、甲状腺素(T ₄) 含量,血清中尿素(UREA)、肌酐(CREA) 水平,NK 细胞活性,淋巴细胞增殖能力 ^[33-34] 。 Kidney deficiency syndrome: serum ACTH, T, T ₃ and T ₄ content; UREA and CREA levels in serum; NK cell activity; lymphocyte proliferation capacity ^[33-34] .
利血平 Reserpine	脾虚证:血清淀粉酶和 D-木糖水平,排便情况,血清蛋白含量 ^[35] 。 Spleen deficiency syndrome: serum amylase and D-xylose levels; defecation situation; serum protein content ^[35] .
D-半乳糖 D-gal	阳虚证:血清超氧化物歧化酶(SOD) 活性,甘油三酯(TG)、胆固醇(TC) 含量,脾细胞 HSP70 mRNA 相对表达量 ^[41] 。 Yang deficiency syndrome: SOD activity; TG and TC content; expression of HSP70 mRNA in spleen cells ^[41] . 肾虚证:24 h 及总负荷 5 h 后的总尿量 ^[42] 。 Kidney deficiency syndrome: total urine output after 24 hours and total load after 5 hours ^[42] .
HY	虚证:体重,胸腺和脾指数,血清皮质酮(CORT) 水平,肾上腺类固醇激素合成酶(Star、Cyp11a1、Cyp21a1、CPY11b1、CYP11b2) 的基因表达水平 ^[22] 。 Deficiency syndrome: body weight; thymus index; spleen index; CORT level; gene expression levels of adrenal steroid hormone synthase (Star, Cyp11a1, Cyp21a1, CPY11b1 and CYP11b2) ^[22] . 脾肾虚证: ACTH、CORT 含量,肾上腺 Star、Cyp11a1、Cyp21a1、CPY11b1、CYP11b2 mRNA 表达水平,肾上腺 LDLR、SBRI、StAR 蛋白表达情况 ^[23] 。 Spleen-kidney deficiency syndrome: ACTH and CORT content; adrenal Star, Cyp11a1, Cyp21a1, CPY11b1 and CYP11b2 mRNA expression levels; adrenal LDLR, SBRI and StAR protein expression ^[23] .
CTX	肾虚证:HPA 轴中皮质醇(Cor.)、ACTH 含量,HPT 轴中 TSH、T ₃ 、T ₄ 含量,HPG 轴中促卵泡素(FSH)、雌二醇(E ₂)、T 含量 ^[24] 。 Kidney deficiency syndrome: Cor. and ACTH content in HPA axis; TSH, T ₃ and T ₄ content in HPT axis; FSH, E ₂ and Td content in HPG axis ^[24] . 阳虚证:血清 17-羟皮质类固醇(17-OHCS)、TG、TC、乳酸脱氢酶(LDH)、促甲状腺激素(TSH)、T ₃ 、T ₄ 含量 ^[47] 。 Yang deficiency syndrome: 17-OHCS, TG, TC, LDH, TSH, T ₃ and T ₄ content ^[47] . 脾虚证:胸腺和脾指数,温度趋向性(冷区/热区的停留比例),cAMP、cGMP 的浓度,细胞因子 IL-2、IFN- γ 水平及其基因表达情况 ^[17] 。 Spleen deficiency syndrome: thymus index; spleen index; temperature trend (retention ratio of cold zone and hot zone); cAMP and cGMP levels; IL-2 and IFN- γ levels and their gene expression ^[17] . 血虚证:胸腺和脾指数,外周血白细胞、红细胞、红细胞压积、血小板数量变化,骨髓有核细胞、网织红细胞数量,股骨病理状态 ^[18] 。 Blood deficiency: thymus index; spleen index; leukocyte, erythrocyte, hematocrit, and platelet count in peripheral blood; number of nucleated cells and reticulocytes in bone marrow; femoral pathology ^[18] .

作性和经济性上表现出的优势有关。检测指标可包括:模型动物的宏观指标(体重、摄食进水量、自主活动等)、脏器(胸腺、脾) 指数、动物存活率、血常规水平、各细胞因子含量与所占比例以及 T 淋巴细胞亚群值等。这些都是在免疫力低下模型研究中可借鉴和参考的方法。

中医药具有整合调节、扶正祛邪的作用,其多成分、多靶点、多环节的综合治疗能够较好地改善

机体亚健康状态,中医药在治疗免疫力低下这类疾病方面具有独特的优势。“免疫力低下”虽然是西医的病名,应用到中医、中药的现代研究就必然要涉及到中医证候的定位及病证结合模型的研究。我们认为可以在以下两个方面找到结合点:一是借鉴中医证候的造模方法,再结合免疫低下造模的手段,综合评价复合模型的中医证候指标及微观免疫学指标;另一方面是以现有的免疫低下造模方法为

主体,扩展中医证候的评价指标,以已有成熟的某种免疫低下造模方法来模拟某类中医证候模型的评价模式。这种病证结合模型研究将遵循中医理论指导的基本原则,既符合传统的评价体系,又能结合现代免疫学进展的技术和方法,深入探讨中医药“扶正祛邪”、“正气存内,邪不可干”等普适性治则治法的作用机理及药物干预机制,将能极大地推动中医药的现代化研究进程。因此,我们认为已有免疫低下动物模型的再评价、免疫力低下复合证候模型的研究模式将是今后此类动物模型在中医药领域开展研究的一个重要方向。

参 考 文 献(References)

- [1] 苏琛, 彭鑫, 张毅. 中医药对免疫低下动物模型作用的研究进展[J]. 四川中医, 2016, 34(12): 217-219.
Su C, Peng X, Zhang Y. Research developments of treating immunosuppressive animal models by traditional chinese medicine [J]. Sichuan J Tradit Chin Med, 2016, 34(12): 217-219.
- [2] 邵枫, 林文娟, 王玮雯, 等. 电击信号应激对大鼠体液免疫及内分泌功能的影响[J]. 心理学报, 2000, 32(4): 428-432.
Shao F, Lin WJ, Wang WW, et al. Effects of electric shock signal stress on humoral immunity and endocrine function in rats [J]. Acta Psychol Sin, 2000, 32(4): 428-432.
- [3] 杨芳, 索有瑞, 胡娜. 沙棘 Vp 对辐射损伤小鼠的保护及免疫功能作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(12): 1947-1951.
Yang F, Suo YR, Hu N. Protective and immunoregulation effects of sea buckthorn Vp on mice injured by X-ray radiation[J]. Nat Prod Res Dev, 2016, 28(12): 1947-1951.
- [4] 方永顺. 人参配伍黄芪对放射损伤小鼠免疫功能调节作用的实验研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2003.
Fang YS. Research of Ginseng combined with Astragalus impact on immunity function conditioning of small mouse affected by ultraray[D]. Shenyang: Liaoning College of Traditional Chinese Medicine, 2003.
- [5] 郑晓丹, 郭钰琪, 张洪海, 等. 辐射损伤后 T 细胞亚群的免疫重建特点及中药山茱萸的调节作用[J]. 中国免疫学杂志, 2015, 31(6): 769-773.
Zheng XD, Guo YQ, Zhang HH, et al. Characteristics of immunological reconstitution of T-cell subsets after irradiation and immunoregulatory activities of Chinese medicinal herb cornus[J]. Chin J Immun, 2015, 31(6): 769-773.
- [6] 张蓉, 石鹏展, 杨云霜, 等. 从肾阴亏虚探讨核辐射损伤的中医病因病机[J]. 湖南中医药大学学报, 2014, 34(3): 40-42.
Zhang R, Shi ZP, Yang YS, et al. Study on TCM pathogenesis of radiation injury from the angle of kidney Yin-deficiency[J]. J Tradit Chin Med Univ Hunan, 2014, 34(3): 40-42.
- [7] 郭平, 王升启. 川芎嗪对血虚证小鼠骨髓细胞 IL-6 和 IL-18 基因表达的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40(10): 2152-2154.
Guo P, Wang SQ. Effect of Ligustrazine on IL-6 and IL-18 gene expression in bone marrow cell of blood deficiency mice induced by radiation[J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2013, 40(10): 2152-2154.
- [8] Anderson RE, Scaletti JV, Howarth JL. Radiation-induced life shortening in germfree mice[J]. Exp Gerontol, 1972, 7(5): 289-301.
- [9] 马涛, 高东阳, 于姚, 等. 慢性应激对大鼠脾脏能量代谢及细胞免疫功能损伤和醒脾解郁法的干预机制研究[J]. 环球中医药, 2019, 12(3): 321-327.
Ma T, Gao DY, Yu Y, et al. Effects of chronic stress on rats' spleen energy metabolism and cellular immune function damage and intervention mechanism of Xingpi Jieyu Decoction [J]. Global Tradit Chin Med, 2019, 12(3): 321-327.
- [10] 黄晓峰, 侯春梅, 余海韵, 等. 慢性心理应激导致小鼠 γ DT 细胞数目减少[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(8): 912-915.
Huang XF, Hou CM, Yu HY, et al. Restraint stress leads to reduced number of γ DT cells in mice[J]. Chin J Immun, 2019, 35(8): 912-915.
- [11] 李霞霞, 李玉兰, 张东航, 等. 右美托咪定对免疫低下幼鼠细胞免疫的影响[J]. 临床麻醉学杂志, 2017, 33(4): 386-388.
Li XX, Li YL, Zhang DH, et al. Effects of dexmedetomidine on cellular immune function of immunosuppression juvenile rats[J]. J Clin Anesthesiol, 2017, 33(4): 386-388.
- [12] Liu T, Chen Y, Bi G, et al. Generation of methicillin-resistant staphylococcus aureus biofilm infection in an immunosuppressed rat model[J]. Med Sci Monit, 2017, 23: 5803-5811.
- [13] 吴萌. 基于“皮部”理论的推拿手法对实验性免疫力低下家兔脊神经 NGF 含量, 施术部位皮肤 IL-12、vimentin 表达的影响研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2015.
Wu M. Study on the effects of the massage based on the “Skin Theory” on experimental immunocompromised rabbits' NGF level at the spinal nerve and the expression of both IL-12 and vimentin at the treated skin area[D]. Changchun: Changchun University of Traditional Chinese Medicine, 2015.
- [14] 徐俞悦, 尹超, 陈波, 等. 人参超微粉对正常和免疫力低下小鼠免疫功能的影响[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(11): 1665-1669.
Xu RH, Yin C, Chen B, et al. Effects of superfine powder of ginseng on immune functions in normal and immunocompromised mice[J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2018, 35(11): 1665-1669.
- [15] 赵振寰, 荆伟丽, 孙向红, 等. 增龄 I 号对免疫力低下模型小鼠脾淋巴细胞转化和 T 细胞亚群的影响[J]. 中成药, 2009, 31(8): 1281-1283.
Zhao ZH, Jin WL, Sun XH, et al. Effect of Zengling I on splenic lymphocyte transformation and T cell subsets in immunocompromised model mice[J]. Chin Tradit Patent Med, 2009, 31(8): 1281-1283.

- [16] 王红梅, 马玲, 吴少平, 等. 比较两种墨汁注射途径对免疫低下小鼠廓清实验的影响[J]. 中国食品卫生杂志, 2003, 15(4): 314-316.
Wang HM, Ma L, Wu SP, et al. Effects of immune disorder mice on clearance tests of two different ink injecting approaches[J]. Chin J Food Hyg, 2003, 15(4): 314-316.
- [17] 费文婷, 侯燕, 王玉杰, 等. 玛咖对免疫抑制-脾虚证小鼠能量代谢及免疫调节机制研究[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(5): 1874-1880.
Fei WT, Hou Y, Wang YJ, et al. Energy metabolism and immune-enhancement effects and mechanisms of Maca on immunosuppression-spleen-deficiency mice[J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2018, 33(5): 1874-1880.
- [18] 杨秀娟, 杨志军, 李硕, 等. 红芪、黄芪及配伍当归对环磷酰胺所致血虚模型小鼠的干预作用[J]. 中国应用生理学杂志, 2018, 34(6): 550-554.
Yang XJ, Yang ZJ, Li S, et al. Effects of Radix Hedysari, Radix Astragalus and compatibility of Angelica Sinensis on blood deficiency model mice induced by cyclophosphamide[J]. Chin J Appl Physiol, 2018, 34(6): 550-554.
- [19] Keshri GK, Gupta A, Yadav A, et al. Photobiomodulation with pulsed and continuous wave near-infrared laser (810 nm, Al-Ga-As) augments dermal wound healing in immunosuppressed rats[J]. PLoS One, 2016, 11(11): e0166705.
- [20] 姜城子, 刘春花, 潘永龙, 等. 两种植物发酵液对氢化可的松致免疫抑制小鼠的免疫调节作用[J]. 中国食品学报, 2018, 18(8): 42-47.
Jiang CZ, Liu CH, Pan YL, et al. Immunomodulatory effects of two plant fermentation broths on hydrocortisone-induced immunosuppressive mice[J]. J Chin Inst Food Sci Tech, 2018, 18(8): 42-47.
- [21] 吕颖坚, 黄俊明, 蔡玟, 等. 氢化可的松对小鼠免疫功能低下模型的建立及其验证[J]. 毒理学杂志, 2013, 27(3): 194-196.
Lv YJ, Huang JM, Cai W, et al. Establishment and verification of hydrocortisone model of immunodeficiency in mice[J]. J Toxicol, 2013, 27(3): 194-196.
- [22] 钱宏梁, 潘志强, 王晓敏, 等. 氢化可的松诱发虚证状态对 H22 肝癌小鼠肿瘤增长的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2019, 35(3): 303-308.
Qian HL, Pan ZQ, Wang XM, et al. The effect of hydrocortisone induced deficiency syndrome on tumor growth in H22 liver cancer mice[J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2019, 35(3): 303-308.
- [23] 潘志强, 钱宏梁, 王晓敏, 等. 不同剂量氢化可的松诱发小鼠药源性脾肾虚证的评价研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(4): 480-485.
Pan ZQ, Qian HL, Wang XM, et al. Study on drug-induced pi and shen deficiency syndrome of mice induced by different doses of hydrocortisone[J]. Chin J Integr Trad West Med, 2019, 39(4): 480-485.
- [24] 戴冰, 张嘉妮, 杨梦琳, 等. 氢化可的松致肾虚证小鼠模型的建立及相关指标的评价[J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(1): 70-73.
Dai B, Zhang JN, Yang ML, et al. Establishment of a mouse model of kidney deficiency induced by oral administration of hydrocortisone and evaluation of related factors[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2017, 25(1): 70-73.
- [25] 夏琦, 邓时贵, 卢传坚, 等. 土茯苓对环孢素 A 诱导的免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(21): 2638-2642.
Xia Q, Deng SG, Lu CJ, et al. Effect of smilacis glabrae rhizoma on the immune function of immunosuppressive mice induced by cyclosporin A[J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2019, 36(21): 2638-2642.
- [26] 兰太进, 莫明月, 林江. 环孢素 A 造成免疫功能低下小鼠模型的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32(5): 764-765.
Lan TJ, Mo MY, Lin J. Research progress of mouse model of immunosuppression caused by cyclosporine A[J]. Chin J Immun, 2016, 32(5): 764-765.
- [27] 张子晋, 李玲, 杨胜辉, 等. 不同剂量环孢菌素 A 制备免疫缺陷小鼠模型的研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2014, 34(11): 14-17, 65.
Zhang YJ, Li L, Yang SH, et al. Study on different doses of cyclosporin A for preparing immunodeficiency mice models[J]. J Hunan Univ CM, 2014, 34(11): 14-17, 65.
- [28] Brieland JK, Loebenberg D, Menzel F, et al. Efficacy of SCH27899 in an animal model of Legionnaires' disease using immunocompromised A/J mice[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(5): 1333-1336.
- [29] Chan JF, Zhang AJ, Chan CC, et al. Zika virus infection in dexamethasone-immunosuppressed mice demonstrating disseminated infection with multi-organ involvement including orchitis effectively treated by recombinant type I interferons[J]. EBioMedicine, 2016, 14: 112-122.
- [30] Hong M, Kang B, Na W, et al. Prolonged shedding of the canine influenza H3N2 virus in nasal swabs of experimentally immunocompromised dogs[J]. Clin Exp Vaccine Res, 2013, 2(1): 66-68.
- [31] Roosenhoff R, van der Vries E, van der Linden A, et al. Influenza A/H3N2 virus infection in immunocompromised ferrets and emergence of antiviral resistance[J]. PLoS One, 2018, 13(7): e0200849.
- [32] Stittelaar KJ, de Waal L, van Amerongen G, et al. Ferrets as a novel animal model for studying human respiratory syncytial virus infections in immunocompetent and immunocompromised hosts[J]. Viruses, 2016, 8(6): 168.
- [33] 李晶晶, 周莹, 李卓恒, 等. 右归饮对腺嘌呤所致肾虚且免疫低下大鼠的改善作用[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(4): 1435-1439.
Li JJ, Zhou Y, Li ZH, et al. Improvement of Yougui Decoction on rats with adenine-induced kidney deficiency and immunodeficiency[J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2019, 34

- (4): 1435-1439.
- [34] 李卓恒, 柯慧, 李晶晶, 等. 右归饮对肾虚雄性大鼠生殖功能损害的改善作用及其与 EPO 的相关性[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(5): 1920-1926.
- Li ZH, Ke H, Li JJ, et al. Effects of Yougui Drink on the improvement of male reproductive function damage and its correlation with EPO[J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2019, 34(4): 1435-1439.
- [35] 张帆, 伍春, 明海霞, 等. 参苓白术散对利血平所致脾虚小鼠血清蛋白质组影响[J]. 中成药, 2013, 35(12): 2586-2591.
- Zhang F, Wu C, Ming HX, et al. Effect of Shenling Baizhu Powder on serum proteomic changes in mice with Reserpine-induced spleen deficiency[J]. Chin Tradit Patent Med, 2013, 35(12): 2586-2591.
- [36] 高雪松, 王永志, 李丽, 等. 利血平致抑郁样啮齿类动物模型的研究进展[J]. 实验动物科学, 2017, 34(2): 57-61.
- Gao XS, Wang YZ, Li L, et al. Research progress of reserpine-induced depression-like rodent model[J]. Lab Anim Sci, 2017, 34(2): 57-61.
- [37] Kong SZ, Li JC, Li SD, et al. Anti-aging effect of chitosan oligosaccharide on d-galactose-induced subacute aging in mice[J]. Mar Drugs, 2018, 16(6): 181.
- [38] Sun K, Yang P, Zhao R, et al. Matrine attenuates d-galactose-induced aging-related behavior in mice via inhibition of cellular senescence and oxidative stress[J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, 2018: 7108604.
- [39] 黄旭, 郝吉, 李薇, 等. 石榴籽油对 D-半乳糖诱导衰老小鼠免疫功能的调节作用[J]. 中国食品学报, 2019, 19(7): 42-48.
- Huang X, Hao J, Li W, et al. Regulatory effects of pomegranate seed oil on immune function induced by d-galactose in aged mice[J]. J Chin Inst Food Sci Tech, 2019, 19(7): 42-48.
- [40] 宋格格, 李梦云, 张克喆, 等. D-半乳糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016, 39(8): 180-182.
- Song GG, Li MY, Zhang KZ, et al. Effect of d-galactose on the immune function of mice[J]. Heilongjiang Anim Sci Vet Med, 2016, 39(8): 180-182.
- [41] 肖凌, 王静芝, 翁鑫宇, 等. 衰老阳虚大鼠生化指标及 HSP70 表达的研究[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(1): 101-103.
- Xiao L, Wang JZ, Weng XY, et al. Research on biochemical indicator and HSP70 expression in yang deficiency aging model rats[J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2013, 31(1): 101-103.
- [42] 徐晶晶, 邱琼华, 赖焕玲, 等. D-半乳糖致肾虚多尿动物模型研究[J]. 广州中医药大学学报, 2013, 30(3): 386-390.
- Xu JJ, Qiu QH, Lai HL, et al. Study on animal model of kidney deficiency and polyuria induced by D-galactose[J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med, 2013, 30(3): 386-390.
- [43] 李艳彦, 谢鸣, 陈禹, 等. 肝郁脾虚证大鼠模型复制中的免疫系统变化[J]. 中华中医药杂志, 2006, 21(7): 428-429.
- Li YY, Xie M, Chen Z, et al. Changes of immune system in the rat model of liver depression and spleen deficiency[J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2006, 21(7): 428-429.
- [44] 赵荣华, 谢鸣, 李聪, 等. 肝郁、脾虚和肝郁脾虚证模型大鼠的免疫功能变化[J]. 北京中医药大学学报, 2013, 36(12): 821-824.
- Zhao RH, Xie M, Li C, et al. Changes of immune functions in rat models of liver depression syndrome, spleen deficiency syndrome and syndrome of liver depression and spleen deficiency[J]. J Beijing Univ Chin Med, 2013, 36(12): 821-824.
- [45] 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.
- He QH, Yang WH, Li TY, et al. Immune effects of Tiancan Zhuangyang San on sub-healthy rats with kidney yang deficiency[J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2012, 27(5): 1298-1301.
- [46] 杨勇. 肾虚外感小鼠模型建立及麻黄细辛附子汤干预研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2012.
- Yang Y. Establishment of the kidney-yang deficiency mice model infected with influenza virus and study on the therapeutic mechanism of Mahuang-xixin-fuzi Decoction [D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 2012.
- [47] 刘欣, 张冰, 刘小青, 等. 氢化可的松诱导大鼠类阳虚状态的动态观察[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(1): 126-128.
- Liu X, Zhang B, Liu XQ, et al. Dynamic experimental study on rat's analogue yang deficiency syndrome induced by hydrocortisone[J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2011, 26(1): 126-128.
- [48] 吕颖坚, 黄俊明, 蔡玫, 等. 环磷酰胺和氢化可的松建立免疫抑制模型方法比较[J]. 卫生研究, 2012, 41(6): 951-955.
- Lv YJ, Huang JM, Cai W, et al. Comparison of experimental murine immunodeficiency models induced by cyclophosphamide and hydrocortisone[J]. J Hygiene Res, 2012, 41(6): 951-955.

[收稿日期] 2020-04-17