

王婷, 刘志勇, 罗黎明, 等. 当归生姜羊肉汤对脾肾阳虚型 IBS-D 大鼠中医证候的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(12): 37-48.

Wang T, Liu ZY, Luo LM, et al. Effects of decoction of *Angelica sinensis*, *Zingiberis Rhizoma Recens*, and mutton on traditional Chinese medicine symptoms of IBS-D female rats with spleen-kidney Yang deficiency [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(12): 37-48.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.12.006

当归生姜羊肉汤对脾肾阳虚型 IBS-D 大鼠中医证候的影响

王 婷^{1,2#}, 刘志勇^{3#}, 罗黎明³, 张 鸿⁴, 徐 磊³, 曾宪保⁴, 郑梓泓^{1,2}, 刘志勇^{1,2*}

(1.江西中医药大学中医学院,南昌 330004;2.江西省中医基础理论教研室,南昌 330004;
3.江西中医药大学实验动物科技中心,南昌 330004;4.江西中医药大学药学院,南昌 330004)

【摘要】 目的 探讨脾肾阳虚模型的中医证候表现并观察当归生姜羊肉汤对脾肾阳虚 IBS-D 雌性大鼠中医证候的改善作用。**方法** 以腺嘌呤和冰番泻叶联合灌胃制作脾肾阳虚雌性大鼠模型,成模后随机分成 5 组,分别为低、中、高 3 个剂量的当归生姜羊肉汤组,真武汤为阳性组,脾肾阳虚模型组,另设空白对照正常组。连续给药 4 周,每天记录各组大鼠的饮水量和摄食量,每周对其体重和肛温进行测量,于实验结束对其中医一般证候进行评价、做旷场实验和在同一光线、同一位置对大鼠的舌、尾、足底进行拍照并分析,综合探讨当归生姜羊肉汤对脾肾阳虚 IBS-D 雌性大鼠中医证候的改善作用。**结果** 低、中、高 3 个剂量组与模型组相比,精神状态、眼睛、耳尾颜色、毛发、粪便都有所改善,其中精神状态、眼睛、毛发、粪便都有显著性差异($P < 0.05$),各组的体重和肛温都在逐渐上升,于实验结束时各组之间无显著性差异($P > 0.05$),各组(除正常组)大鼠的饮水量趋势线逐渐下降,但与正常组大鼠相比还是明显较高,具有显著性差异($P < 0.05$),通过旷场实验发现,低、中、高 3 个剂量组在中心区域和周边区域的时间、距离、快速移动时间、慢速移动时间与模型组比较都有明显提高,其中中、高剂量大鼠的在中心区域和周边区域的时间、中心区域移动的距离、在周边休息的时间与模型组都具有显著性差异($P < 0.05$),从 RGB 值数据来看,低、中、高剂量组大鼠尾部、足底、舌面的 R、G、B 值与模型组比较更高,其中尾部的 R、B 值具有显著性差异($P < 0.05$),高剂量组大鼠的 G 值更高,也具有显著性差异($P < 0.05$),其中足底的 R 值具有显著性差异($P < 0.05$),同时,阳性组和中、高剂量组的 G 值比模型组更高,具有显著性差异($P < 0.05$),中、高两个剂量组大鼠舌面的 R 值更高,具有显著性差异($P < 0.05$),提示灌胃当归生姜羊肉汤均改善 IBS-D 大鼠尾部、足底、舌面的色泽。**结论** 当归生姜羊肉汤对脾肾阳虚 IBS-D 雌性大鼠中医证候的改善作用,以高剂量当归生姜羊肉汤组的改善作用最强。

【关键词】 当归生姜羊肉汤;IBS-D;真武汤;脾肾阳虚;中医证候

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 12-0037-12

Effects of decoction of *Angelica sinensis*, *Zingiberis Rhizoma Recens*, and mutton on traditional Chinese medicine symptoms of IBS-D female rats with spleen-kidney Yang deficiency

WANG Ting^{1,2#}, LIU Zhiyong^{3#}, LUO Liming³, ZHANG Hong⁴, XU Lei³, ZENG Xianbao⁴,
ZHENG Zihong^{1,2}, LIU Zhiyong^{1,2*}

【基金项目】 江西省教育厅重点项目(20180642);江西中医药大学校级科技创新团队发展计划(CXTD-22004);江西中医药大学校级大学生创新创业训练计划项目(2022042)。

【作者简介】 王婷(1991—),女,在读硕士研究生,研究方向:中医基础理论。E-mail:458902921@qq.com

刘志勇(1969—),研究员,教授,研究方向:药食两用中药药理药效。E-mail:liuzhiyong0791@163.com #共同第一作者

【通信作者】 刘志勇(1977—),教授,研究方向:中医基础理论。E-mail:469241547@qq.com

(1. School of TCM Under Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China. 2. Teaching and Research Office of Basic Theory on TCM in Jiangxi Province, Nanchang 330004. 3. Experimental Animal Science and Technology Center of Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004. 4. School of Pharmacy, Jiangxi University of TCM College of Pharmacy, Nanchang 330004)

【Abstract】 Objective To investigate manifestations of traditional Chinese medicine (TCM) symptoms in a model of spleen-kidney Yang deficiency and observe the effects of decoction of *Angelica sinensis*, *Zingiberis Rhizoma Recens*, and mutton on TCM symptoms of Sprague Dawley (SD) female rats with spleen-kidney Yang deficiency. **Methods** A female rat model of spleen-kidney Yang deficiency was established by combined gavage with adenine and ice senna. After model establishment, rats were randomly divided into five groups: low, medium, and high dose decoction of *Angelica sinensis*, *Zingiberis Rhizoma Recens*, and mutton groups; Zhenwu decoction positive-control group; spleen-kidney Yang deficiency model group; and blank control normal group. After continuous administration for 4 weeks, the water and food intake of rats was recorded daily, and their body weight and rectal temperatures were measured weekly. At the end of the experiment, general TCM symptoms were evaluated; an open field test was performed; and the tongue, tail, and soles of each rat were photographed and analyzed under the same light and in the same position. The effects of the decoction of *Angelica sinensis*, *Zingiberis Rhizoma Recens*, and mutton on TCM symptoms of SD female rats with spleen-kidney Yang deficiency were comprehensively discussed. **Results** Compared with the model group, the groups given low, medium, or high doses showed improvements in mental status, eyes, ear and tail color, hair, feces, and there were significant differences in their mental state, eyes, hair and feces ($P < 0.05$). The body weight and rectal temperature of each group gradually increased, and there were no significant differences between the groups at the end of the experiment ($P > 0.05$). Water intake by rats in each group (except in the normal group) gradually decreased but was still significantly higher than that of the normal group ($P < 0.05$). In the open field test, the time, distance, fast movement time, and slow movement time in the central and peripheral areas of the low, medium and high dose groups were significantly improved over those of the model group. Time spent in the central and peripheral areas, distance moved in the central area, and time spent resting in the peripheral area of the middle and high dose rats were significantly different from those of the model group ($P < 0.05$). According to the RGB color mode, the R, G and B values of the tail, soles, and tongue surfaces of the rats in the low, medium, and high dose groups were higher than those in the model group, and the R and B values of the tails were significantly higher ($P < 0.05$). The G value was highest in the rats in the high dose group, and there was a significant difference ($P < 0.05$). The R value of the soles was significantly different ($P < 0.05$). The G values of the positive group and middle and high dose groups were significantly higher than that of the model group ($P < 0.05$). The R values of tongue surfaces of the middle and high dose groups were significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$), suggesting that the gavage of decoction of *Angelica sinensis*, *Zingiberis Rhizoma Recens*, and mutton significantly improved the color of the tails, soles, and tongues of the rats. **Conclusions** Decoction of *Angelica sinensis*, *Zingiberis Rhizoma Recens*, and mutton improved TCM symptoms in SD female rats with spleen-kidney Yang deficiency, and the effect was strongest in the high-dose decoction of *Angelica sinensis*, *Zingiberis Rhizoma Recens*, and mutton group.

【Keywords】 Decoction of *Angelica sinensis*, *Zingiberis Rhizoma Recens*, and mutton; IBS-D; Zhenwu decoction; spleen-kidney Yang deficiency; TCM symptoms

腹泻型肠易激综合征 (irritable bowel syndrome with predominant diarrhea, IBS-D) 是一种常见的胃肠道功能紊乱性疾病, 是肠易激综合征 (IBS) 中最普遍的亚型。其特点是在没有特定的器质性病理情况下, 以腹痛、腹泻、腹胀为主要症状, 常伴有排便习惯及大便性状的改变, 呈持续存在或反复发作^[1]。现代研究发现, 该病发病机制尚不明确, 但是与肠道动力异常、脑肠轴功能紊乱、肠道菌群失调、内脏高敏感性、粘膜免疫和炎症反应等因素有关^[2]。如今, 肠易激综合征的发病率已在功能性疾

病中位居第一位^[3], 经过文献数据整理显示, 全球 IBS 的总患病率为 8.8%, 北美、欧洲、澳大利亚、新西兰等地区为 8.1%、亚洲为 9.6%, 拉丁美洲最高, 患病率为 17.5%^[4], 其中, 腹泻型肠易激综合征占比大, 据惠州市中心人民医院在 2015 年 3 月~2018 年 6 月调查发现符合 Rome II 诊断标准的 54 例肠易激综合征患者, 腹泻为主要症状患者 30 例, 占 55.6%; 便秘为主导的患者 18 例, 占 33.3%; 交替型患者 6 例, 占 11.1%^[5]。可见, 肠易激综合征患病范围广、人口多, 并据相关文献研究, 女性的患病率

明显高于男性^[6],女性更容易感到疲劳,抑郁,焦虑等情绪,从而影响他们的生活质量。目前,西医多以对症治疗为主,药物治疗副作用大、不良反应多,且停药后易复发^[7]。因此,肠易激综合征是当今医学领域研究是重点课题之一,其中腹泻型肠易激综合征更加应该引起我们的重视。

当归生姜羊肉汤作为药膳名方,原方由当归、生姜、羊肉组成,当归能补血活血,调经止痛,生姜温中散寒,羊肉能温补脾胃,补血益肾。具有补益气血、温中散寒止痛的功效。本方在张仲景的《金匮要略》记载:“寒疝,腹中痛及胁痛里急者,当归生姜羊肉汤主之”,以及《金匮要略·妇人产后病脉证》曰:“产后腹中痛,当归生姜羊肉汤主之;并治腹中寒疝,虚劳不足”^[8],该方以脾胃为本,使驱邪而不伤正,以食物协助药物发挥效力,既能治愈疾病,而又不损伤脾胃,主要用于病机为虚寒性疝气、腹痛及妇女痛经、产后的调理。经现代文献研究发现,当归生姜羊肉汤已用于呼吸、消化、免疫等系统疾病,均取得了较好的治疗作用^[9]。

近年来中医受到越来越多人的关注,中医治疗腹泻型肠易激综合征以辨证论治和整体观念出发,有其副作用小和不易复发的优势。由于该病女性发病率更多,因此本研究以雌性大鼠作为研究对象,通过研究当归生姜羊肉汤对脾肾阳虚型 IBS-D 大鼠中医证候的影响,探讨当归生姜羊肉汤对脾肾阳虚 IBS-D 大鼠脾肾阳虚证的改善作用,为当归生姜羊肉汤用于临床一些疾病证候的应用提供实验基础,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 2 月龄 SD 雌性大鼠 72 只,体重 180~220 g,江西中医药大学实验动物科技中心提供[SCXK(赣)2018-0003],实验大鼠饲养在江西中医药大学实验动物科技中心 SPF 级屏障系统内[SYXK(赣)2017-0004],饲养环境条件为环境温度为 20℃~25℃、湿度 45%~55%。整个实验通过江西中医药大学实验动物伦理委员会的审查(JZLLSC20210053),并接受其监督,实验过程中做到了 3R 原则并对实验动物进行伦理关怀。

1.2 主要试剂与仪器

上海麦克林生化科技有限公司提供的腺嘌呤(批号:20210307)。大鼠旷场箱,旷场装置由 3 部

分构成:长 100 cm、宽 100 cm、高 40 cm 的箱体;视频录制系统及 SMARTv 2.5.21 行为实验分析软件(西班牙 Panlab 公司);医用电子体温计(TDB-1,深圳雅岚科技有限公司);华为手机(荣耀 p20,深圳华为公司);Image J 图像分析软件(National Institutes of Health, NIH 研发);个人手提式电脑(HUAWEI MateBook D15,华为);量尺(普通市售,精度 1 mm);电子天平(JH03K2,北京京衡伟业科技有限公司,最小称量 0.1 g)。

1.3 实验方法

1.3.1 模型制备方法

由江西古汉精制中药饮片有限公司提供煎制的番泻叶水煎液(批号:20210411),将腺嘌呤和蒸馏水配置成浓度为 20 mg/mL 的腺嘌呤药液,番泻叶水煎液浓度为 2 g/mL,以腺嘌呤和冰番泻叶水复合灌胃(各 1 mL/100 g)30 d 造成脾肾阳虚型 IBS-D 模型。

1.3.2 受试物

(1) 当归生姜羊肉汤的制备

当归生姜羊肉汤,按照《中华方剂本源剂量大典》方源东汉张仲景《金匮》卷上,组成:当归 3 两(45 g)生姜 5 两(75 g)羊肉 1 斤(250 g)用法:上三味,以水 8 升(1600 mL),煮取 3 L(600 mL),温服 7 合(140 mL),浓缩为 1:2:4 比例的当归生姜羊肉汤,其低、中、高剂量分别为 4.2、8.4、16.8 g/kg,用于本实验。

(2) 真武汤的制备

真武汤为治疗脾肾阳虚,水湿泛滥的基础方,全方以助阳气,利小便以祛水邪,主治阳虚水泛证。畏寒肢厥,小便不利,心下悸动不宁,头目眩晕,身体筋肉瞤动,站立不稳,四肢沉重疼痛,浮肿,腰以下为甚;或腹痛,泄泻,故本实验采用真武汤做为对照。真武汤药液的制备:参考全国高等医药院校教材《方剂学》(第五版),即茯苓 9 g、芍药 9 g、生姜 9 g、附子(炮)9 g、白术 6 g,置于凉水中浸泡 1 h,蒸煮 30 min 后浓缩至质量浓度为 2 g/mL,全过程由江西古汉精制中药饮片有限公司代煎制备。

1.3.3 动物分组

大鼠检疫 5 d,选取营养良好、健康活泼大鼠 72 只,将 72 只 SD 雌性大鼠随机分为 6 组,脾肾阳虚 IBS-D 造模成功后将大鼠分组为正常组、模型组、阳性组、低剂量组、中剂量组和高剂量组,每组 12 只,进行灌胃。正常组和模型组每天不限饮食,阳性组每天给予真武汤,低、中、高 3 个剂量组分

别给与不同剂量的当归生姜羊肉汤,连续灌胃 4 周。

1.3.4 外观检查和中医证候积分评价

造模过程中,观察动物的生长情况,对动物饮食饮水和二便情况进行观察。于给药 4 周时(即实验结束时),分别在对应时间点观察各组大鼠中医证候。参照文献^[10-11],根据国家卫生部《中药新药

临床指导原则》及《中医虚证辨证参考标准》中脾肾阳虚证判断标准,拟定脾肾阳虚证大鼠模型证候积分评价量表(见表 1),分值越高,提示中医证候越严重。从大鼠精神状态、眼睛、耳尾颜色、毛发、粪便等项目评价灌胃真武汤阳性组和灌胃当归生姜羊肉汤低、中、高 3 个剂量组对脾肾阳虚 IBS-D 证候的改善情况。

表 1 脾肾阳虚 IBS-D 大鼠模型证候积分评价量表
Table 1 Syndrome integral evaluation scale of IBS-D rat model of spleen kidney Yang deficiency

证候项目 Syndrome items	评分标准 Marking criterion	评分 Marking
精神状态 Mentality	正常:活泼好动 Normal, Lively	0
	轻度异常:反应稍迟钝、自主活动减少 Mild abnormalities, Slightly slow reaction and reduced autonomous activity	1
	中度异常:倦怠乏力、四肢蜷缩、行动迟缓 Moderate abnormalities, Fatigue, limbs curled up and slow movement	2
	重度异常:精神萎靡、攻击性及对抗行为消失 Severe abnormalities, Mental depression, aggressive and confrontation albehavior disappeared	3
眼睛 Eye	正常:眼光红亮有神、灵活 Normal, Red, bright, divine and flexible eyes	0
	轻度异常:眼光乏神 Mild abnormalities, Dull eyes	1
	中度异常:眼光呆滞 Moderate abnormalities, Sluggish	2
	重度异常:眼光无神 Severe abnormalities, Dull eyes	3
耳尾颜色 Ear and tail color	正常:红润光泽 Normal, Red, luster	0
	轻度异常:淡红少泽 Mild abnormalities, Reddish, lusterless	1
	中度异常:淡白少泽 Moderate abnormalities, White, lusterless	2
	重度异常:苍白或透青色 Severe abnormalities, Pale or green	3
毛发 Hair	正常:毛发光亮柔顺、满目皆是白色 Normal, Bright and soft hair, white all over the eyes	0
	轻度异常:毛发无光泽,白中少有黄色 Mild abnormalities, Dull hair, white with little yellow	1
	中度异常:毛发毛躁,白中有较多黄色 Moderate abnormalities, Dry hair with much yellow in white	2
	重度异常:毛发干枯,满目皆有黄色,稀疏脱落 Severe abnormalities, Dry hair, yellow everywhere, sparse and falling off	3
粪便 Feces	正常:粪便干、成形 Normal, Dry and shaped feces	0
	轻度异常:粪便黏软有形 Mild abnormalities, Soft and shaped feces	1
	中度异常:粪便不成形,但不稀溏 Moderate abnormalities, Soft and tangible feces	2
	重度异常:粪便稀溏,黄褐恶臭 Severe abnormalities, Loose feces, yellowish brown and malodorous	3

1.3.5 体重和肛温以及肠道病理

每周对各组大鼠的体重和肛温进行称重和测量,测肛温是用医用电子体温计 TDB-1 放入大鼠肛门,待声音提示时进行读数并记录,以观察其体重和肛温变化情况。当归生姜羊肉汤给药结束后取肠道进行固定并做组织切片,光镜下观察肠道的组织学变化。

1.3.6 饮水量和摄食量

每天记录各组大鼠饮水量及摄食量,检查鼠笼、水瓶,确保无漏水情况后,每天早上 9:00 投放定量的 500 mL 水和 300 g 的饲料,于第 2 天 9:00 对所剩的水和饲料进行称重和测量,以观察其饮水量和摄食量变化情况。计算方法为:平均日进食量(g)=(添加的饲料量-剩余量)/每笼只数;平均日饮水量(mL)=(添加的水量-剩余量)/每笼只数。

1.3.7 旷场实验

行为实验在安静的环境下进行,实验开始将动物放入角落区,同时进行摄像和计时,记录 6 min 内动物的活动状态,用 SMARTv2.5.21 行为实验分析软件对后 4 min 的活动状态进行分析。

1.3.8 RGB 值

大鼠爪、尾、舌拍照及图像处理,将大鼠的左后爪、尾巴中末端及舌面置于同一位置、同一亮度下采用华为手机拍照。图像处理:将照片输入电脑,用 Image J 图像分析软件对图片进行白平衡,用不规则曲线工具,分别框定出大鼠舌面、足底和尾部范围,检测其 RGB 模式下的 R (red, 红色), G (green, 绿色), B (blue, 蓝色) 分量值。

1.4 统计学方法

实验结果的统计分析采用 SPSS 20.0 统计软件,实验数据均表示为平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)。多组

数据若全部满足正态分布而且方差齐,采用单因素方差分析法比较组间的差异,组间两两比较则选择用 LSD 法进行多重比较;如果没有完全满足,那么就选择采用非参数检验。两组数据的比较采取独立样本 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有研究统计学意义。最后采用 GraphPad Prism 8.0.1 做图。

2 结果

2.1 动物整体情况的观察

造模结束后,模型大鼠出现喜欢扎堆,垫料潮湿污秽加重的情况,模型鼠粪便出现稀软便溏现象,还可见到大便具有不消化的颗粒状,见图 1。

2.2 中医证候积分评价结果

正常组的精神状态、眼睛、耳尾颜色、毛发、粪便都为正常状态,模型组与正常组相比,精神状态、眼睛、耳尾颜色、毛发、粪便都有异常,具有显著性差异($P < 0.05$),阳性组和低、中、高 3 个剂量组大鼠的中医证候积分评价结果见表 2。

与模型组相比,精神状态、眼睛、耳尾颜色、毛发、粪便的积分有所改善,其中精神状态、眼睛、毛发、粪便的积分都有显著性差异($P < 0.05$),而低、中、高剂量组与阳性组相比,精神状态、眼睛、耳尾颜色、毛发、粪便均较好,各组之间无显著性差异($P > 0.05$) (见表 2)。

2.3 体重和肛温

从数据来看,正常组、模型组、阳性组和 3 个剂量组大鼠的体重都呈缓慢上涨趋势,各组之间的体重无显著性差异($P > 0.05$) (见表 3)。从数据来看,造模后模型组、阳性组和 3 个剂量组大鼠的肛温与正常组相比都有所下降,其中模型组、阳性组和低、中剂量组大鼠的肛温与正常组相比具有显著性差异($P < 0.05$),在第 3 周,模型组大鼠的肛温与正常



注:A:正常大鼠;B:造模后大鼠出现畏冷扎堆现象;C:模型鼠粪便情况;D:正常大鼠大便;E:造模过程中粪便出现含水略多质软的情况;F:造模成功大鼠粪便不成形的情况。

图 1 脾肾阳虚 IBS-D 模型鼠的表现及粪便状况的改变

Note. A, Normal rats. B, Fear of cold and pile up after modeling. C, Looses tool of model rats. D, Stool of normal rats. E, Slightly watery and soft feces during modeling. F, Feces of rats with successful modeling.

Figure 1 Performance of IBS-D model rat with spleen kidney Yang deficiency and the changes of fecal status

组相比明显更低,具有显著性差异($P<0.05$);中、高剂量组大鼠肛温与模型组相比明显更高,具有显著

性差异($P<0.05$);低、中、高 3 个剂量组大鼠的肛温与阳性组相比无显著性差异($P>0.05$)(见表 4)。

表 2 各组大鼠中医证候积分评价结果($\bar{x}\pm s, n=12$)

Table 2 Evaluation results of TCM syndrome score of rats in each group

组别 Groups	精神状态 Mentality	眼睛 Eye	耳尾颜色 Ear and tail color	毛发 Hair	粪便 Feces
正常组 Normal group	/	/	/	/	/
模型组 Model group	2.33±0.47 ****	2.25±0.43 ****	2.42±0.49 ****	2.67±0.47 ****	2.58±0.49 ****
阳性组 Positive group	0.83±0.37 *** #####	0.75±0.43 *** #####	0.92±0.64 ** #####	1.25±0.43 **** #####	1.08±0.28 **** #####
低剂量组 Low dose group	0.92±0.49 **** #####	0.83±0.55 **** #####	1.25±0.43 **** #####	1.42±0.49 **** #####	1.58±0.49 **** #####
中剂量组 Medium dose group	1.08±0.64 **** #####	0.75±0.60 *** #####	1.17±0.55 **** #####	1.25±0.43 **** #####	1.42±0.49 **** #####
高剂量组 High dose group	0.83±0.37 *** #####	0.83±0.37 *** #####	0.92±0.64 ** #####	1.17±0.55 **** #####	1.25±0.43 **** #####

注:与正常组比较, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$;与模型组比较, ##### $P<0.0001$ 。

Note. Compared with normal group, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$. Compared with model group, ##### $P<0.0001$.

表 3 各组雌性大鼠体重变化趋势($n=12$)

Table 3 Body weight change trend of female rats in each group

组别 Groups	始重(g) Initial body weight	第 1 周(g) First week	第 2 周(g) Second week	第 3 周(g) Third week	第 4 周(g) Fourth week
正常组 Normal group	265.20±12.64	269.80±15.40	274.60±15.80	277.90±17.30	282.00±18.00
模型组 Model group	246.60±19.70	262.10±21.10	267.40±17.50	271.30±17.10	271.60±15.90
阳性组 Positive group	250.30±11.55	259.38±13.62	265.80±13.35	267.90±10.95	269.20±11.60
低剂量组 Low dose group	257.70±19.10	269.30±15.70	276.30±13.50	281.10±15.50	278.50±16.80
中剂量组 Medium dose group	249.30±21.30	262.10±19.60	267.70±19.20	272.90±19.30	271.50±19.30
高剂量组 High dose group	250.80±9.30	258.10±12.10	273.80±9.80	279.60±8.70	278.30±8.20

表 4 各组雌性大鼠肛温变化趋势($n=12$)

Table 4 Change trend of anal temperature of female rats in each group

组别 Groups	造模后(℃) After molding	第 1 周(℃) First week	第 2 周(℃) Second week	第 3 周(℃) Third week	第 4 周(℃) Fourth week
正常组 Normal group	38.03±0.58	37.03±0.55	37.22±0.40	38.46±0.61	37.88±0.46
模型组 Model group	36.58±0.87 **	37.02±0.50	36.69±0.69	37.76±0.76 *	37.41±0.47
阳性组 Positive group	36.17±1.07 ****	37.02±0.85	36.42±2.52	38.44±0.41	37.70±0.43
低剂量组 Low dose group	36.51±0.75 **	37.33±0.52	37.56±0.84	37.84±0.33	37.76±0.62
中剂量组 Medium dose group	36.23±0.16 ***	37.44±0.49	37.34±0.74	38.17±0.44 #	37.91±0.48
高剂量组 High dose group	37.43±0.72	37.52±0.64	37.60±0.51	38.45±0.41 #	37.77±0.37

注:与正常组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$;与模型组比较, # $P<0.05$ 。

Note. Compared with normal group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$. Compared with the model group, # $P<0.05$.

2.4 饮水量和摄食量

由图可知,在第 1 周,阳性组大鼠的摄食量与正常组相比明显更高,具有显著性差异($P<0.05$),高剂量组大鼠的摄食量与模型组和阳性组相比都明显更低,均具有显著性差异($P<0.05$);在第 2 周,高剂量组大鼠的摄食量与模型组和阳性组相比均更低,都具有显著性差异($P<0.05$),在第 3 周和第 4 周,高剂量组大鼠的摄食量与正常组、模型组、阳性组相比都更低,均具有显著性差异($P<0.05$),提示可能由于灌胃高剂量的当归看生姜羊肉汤和高比例的羊肉导致高剂量组大鼠摄食量的减少(见图 2)。

从图 2 可知,模型组、阳性组和 3 个剂量组大鼠的饮水量趋势线逐渐下降,但与正常组大鼠相比还是明显较高,具有显著性差异($P<0.05$),其中,在第 1 周,高剂量组和阳性组大鼠的饮水量与模型组相比都具有显著性差异($P<0.05$);在第 2 周,高剂量组大鼠的饮水量明显高于阳性组,具有显著性差异($P<0.05$);在第 3 周,中、高剂量组大鼠的饮水量与阳性组相比明显更高,具有显著性差异($P<0.05$);

在第 4 周,阳性组大鼠的饮水量与模型组相比明显更低,具有显著性差异($P<0.05$),中、高剂量组大鼠的饮水量明显高于阳性组,具有显著性差异($P<0.05$),提示 3 个剂量组的饮水量可能与灌胃当归生姜羊肉汤有关(见图 2)。

2.5 肠道组织病理学改变

肠道光镜下可见,正常组织结构正常、无或少炎性细胞浸润,而模型鼠肠道粘膜下层出现大量淋巴细胞浸润,喂食当归生姜羊肉汤后炎性浸润明显减少,阳性对照组也基本正常(图 3A~3F);模型动物的肠绒毛紊乱,柱状绒毛破坏,肠隐窝基底部有破坏现象,黏膜下层,黏膜下基层,肌层增宽,结构疏松,喂食当归生姜羊肉汤后结构有所恢复(图 3G~3L)。

2.6 旷场实验

从运动轨迹来看,正常组大鼠在箱中快速移动,频繁经过中心区域;模型组大鼠运动度明显降低,在箱中移动速度缓慢,几乎不经过中心区域,停留角落区域时间长,表现出明显的倦怠乏力;阳性组大鼠通过灌胃真武汤,与模型组相比,运动度明

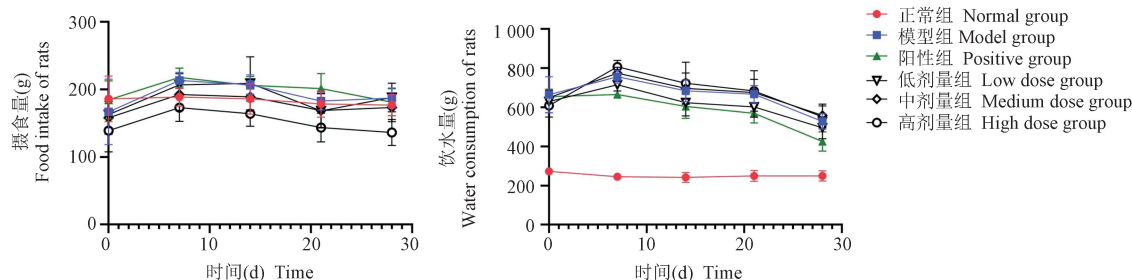
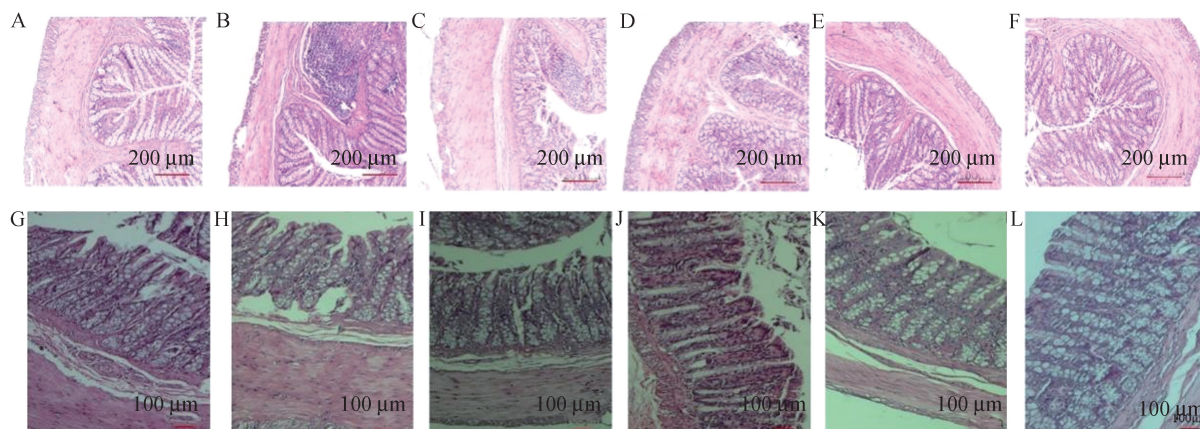


图 2 各组大鼠每周摄食量和饮水量变化图

Figure 2 Changes of weekly food intake and water consumption of rats in each group



注: A、G: 正常组; B、H 模型组; C、I 低剂量组; D、J 中剂量组; E、K 高剂量组; F、L 阳性对照组。

图 3 各组大鼠肠道的病理组织的变化

Note. A/G, Normal group. B/H, Model group. C/I, Low dose group. D/J, Medium dose group. E/K, High dose group. F/L, Positive group.

Figure 3 Pathological changes of intestinal tract of rats in each group

显提升,在箱中移动速度较快,较多经过中心区域,频繁在周边地区移动;低、中、高 3 个剂量组较模型组从运动轨迹来看都有较大的改善,移动速度有依次提升的趋势,其中中剂量和高剂量大鼠较频繁经过中心区域(见图 4)。

从数据结果分析,与正常组比较,模型组大鼠在周边区域时间过长,在中心区域时间明显下降,具有显著性差异($P<0.05$),在周边区域爬行的距离更短,具有显著性差异($P<0.05$),同时长时间在周边区域休息,具有显著性差异($P<0.05$),且无论在周边区域还是在中心区域都行动过慢,其中在中心区域的行动过慢具有显著性差异($P<0.05$),表明番泻叶和腺嘌呤造模引起大鼠精神萎靡,活动度下降,倦怠乏力;阳性组和低、中、高 3 个剂量组在中心区域和周边区域的时间、距离、快速移动时间、慢速移动时间与模型组比较都有明显提高,其中阳性组和中、高剂量大鼠的在中心区域和周边区域的时间、中心区域移动的距离、在周边休息的时间与模型组都具有显著性差异($P<0.05$);与阳性组相比,低、中剂量组大鼠在周边区域更长和在中心区域时间更短,都具有显著性差异($P<0.05$),高剂量组大鼠在周边区域更短和在中心区域时间更长,具有显著性差异($P<0.05$),可见阳性组灌胃真武汤和 3 个剂量组灌胃的当归生姜羊肉汤都明显改善了大鼠的自主活动状态,而且高剂量组的活动状态比阳性组更佳,为该方缓解倦怠乏力的脾肾阳虚症状提供了实验依据(见图 5)。

2.7 RGB 值

2.7.1 尾部

从图片来看,正常组大鼠的尾部红润,模型组大鼠的尾部苍白,近尾尖稍红,阳性组和低、中、高 3 个剂量组大鼠的尾部较模型组红,高剂量组明显更红(见图 6)。

从 RGB 值数据来看,模型组的 R、G、B 值与正常组比较,均有明显下降,其中 G、B 值具有显著性差异($P<0.05$);与模型组比较,阳性组和低、中、高剂量组大鼠的 R、G、B 值更高,其中 R、B 值具有显著性差异($P<0.05$),高剂量组大鼠的 G 值更高,也具有显著性差异($P<0.05$),提示灌胃真武汤和当归生姜羊肉汤都明显改善了大鼠尾部的色泽(见图 6)。

2.7.2 足底

从图片来看,正常组大鼠足底红润,模型组足底苍白,阳性组和低、中、高 3 个剂量组较模型组红,高剂量组明显更红(见图 7)。

从 RGB 值数据来看,模型组大鼠足底的 R、G、B 值与正常组比较有明显下降,其中 R 值具有显著性差异($P<0.05$);阳性组和低、中、高 3 个剂量组的 R、G、B 值与模型组比较有明显提高,其中 R 值具有显著性差异($P<0.05$),同时,阳性组和中、高剂量组的 G 值比模型组更高,具有显著性差异($P<0.05$);低剂量的 G 值稍低于阳性组,具有显著性差异($P<0.05$),提示灌胃真武汤和当归生姜羊肉汤都明显改善了大鼠足底的色泽(见图 7)。

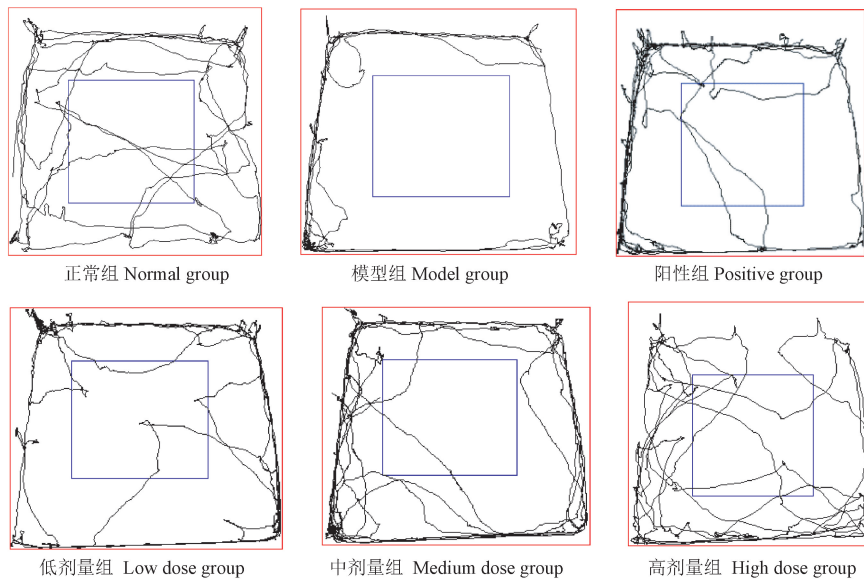
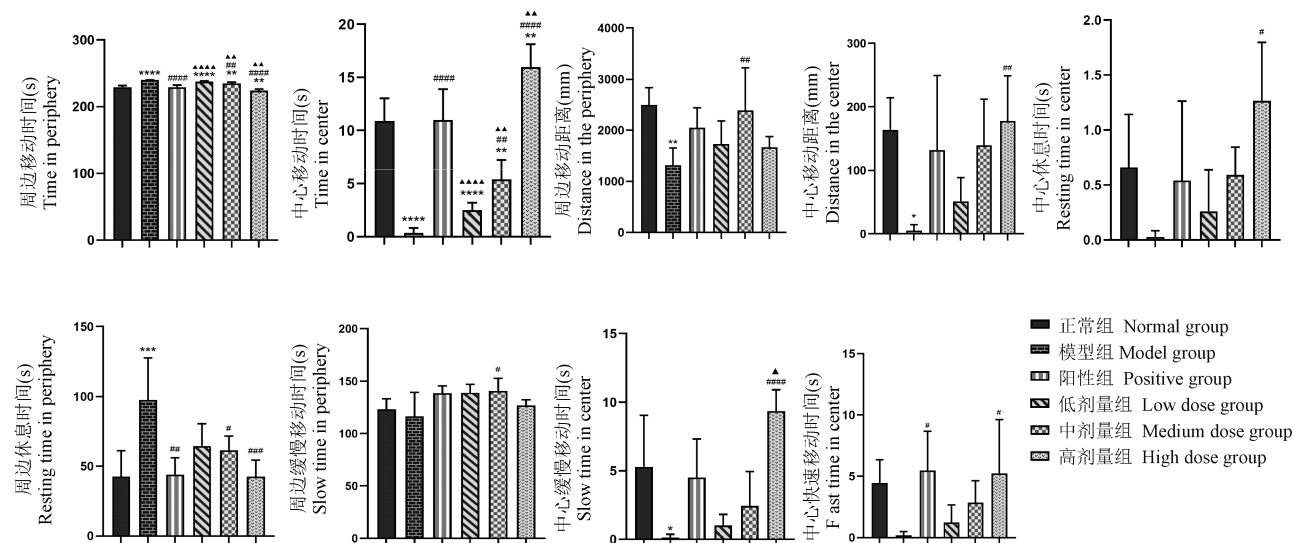


图 4 旷场实验中各组大鼠典型运动轨迹图

Figure 4 Typical trajectories of rats in each group in open field experiments

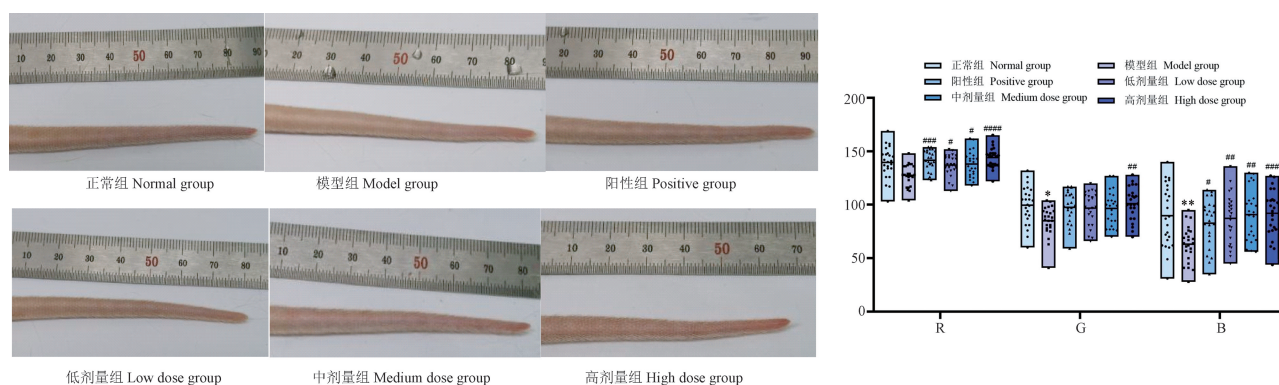


注:与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$;与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$;与阳性组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$, ▲▲▲ $P < 0.0001$ 。

图5 各组大鼠旷场实验结果

Note. Compared with normal group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$. Compared with model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$. Compared with positive group, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$, ▲▲▲ $P < 0.0001$.

Figure 5 Open field experiment results of rats in each group



注:与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$ 。

图6 各组大鼠尾部图片和尾部色度比较图

Note. Compared with normal group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Compared with model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$.

Figure 6 Comparison of tail pictures and tail chromaticity of rats in each group

2.7.3 舌面

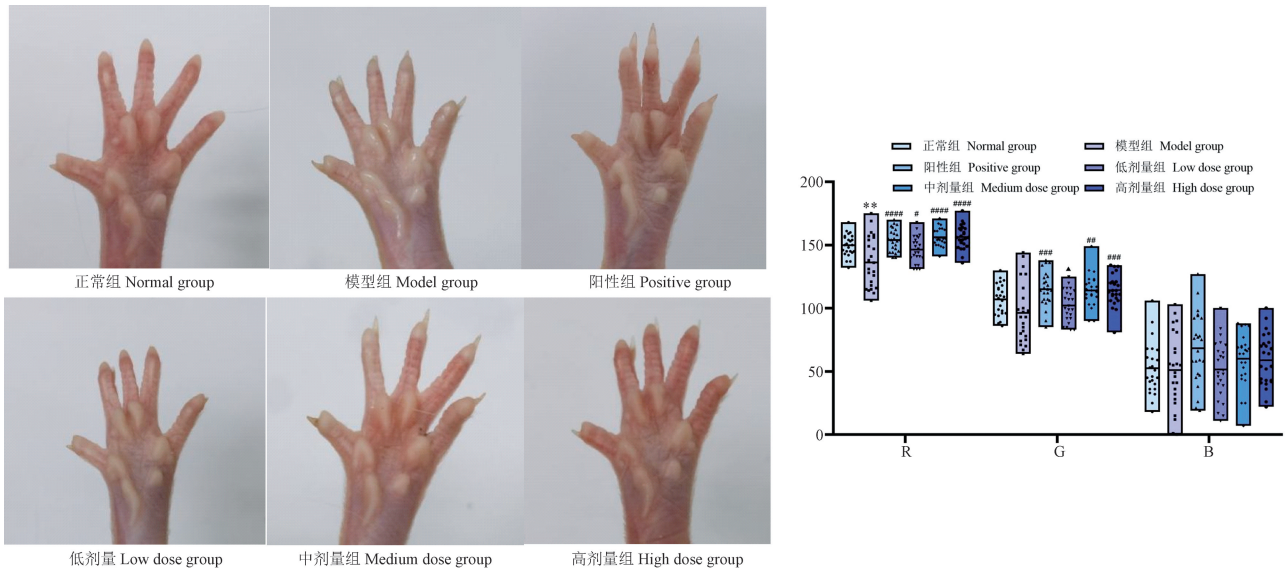
从图片来看,正常组大鼠舌面淡红、薄白苔,模型组舌面胖大暗红,薄白苔,少泽,阳性组低剂量组舌面淡红、薄白苔,中、高剂量组舌面稍红(见图8)。

从RGB值数据来看,与正常组相比,中剂量组大鼠的舌面B值更高,具有显著性差异($P < 0.05$),与模型组比,中、高2个剂量组大鼠舌面的R值更高,具有显著性差异($P < 0.05$),与阳性组比较,低剂量组的G值更低,具有显著性差异($P < 0.05$),提示

灌胃真武汤和当归生姜羊肉汤都明显改善了大鼠舌面的色泽(见图8)。

3 讨论

本研究采用腺嘌呤和番泻叶水煎液的方法成功建立脾肾阳虚IBS-D的雌性大鼠模型,用中医证候来探究当归生姜羊肉汤对脾肾阳虚IBS-D的干预作用,而真武汤由炮附子、白术、茯苓、芍药、生姜组成,功效温补脾肾阳气、利水消肿。主治阳虚水泛,

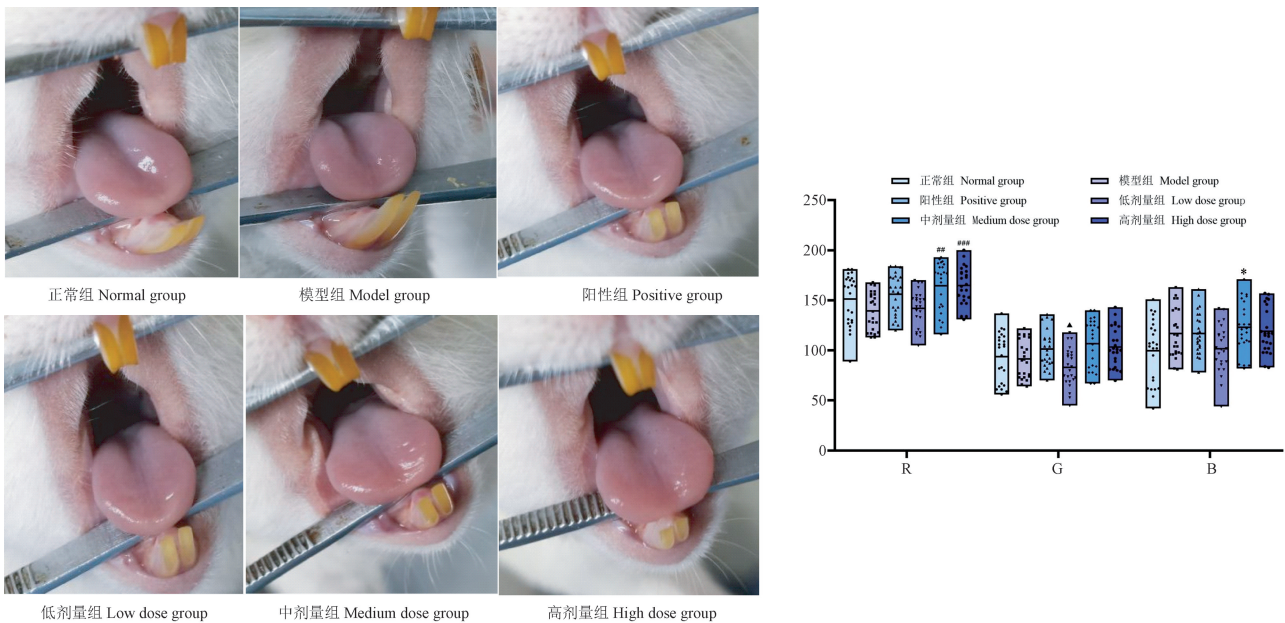


注:与正常组比较, ** $P < 0.01$;与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$;与阳性组比较, ▲ $P < 0.05$ 。

图7 各组大鼠足底图片和足底色度比较图

Note. Compared with normal group, ** $P < 0.01$. Compared with model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$. Compared with positive group, ▲ $P < 0.05$.

Figure 7 Comparison of plantar pictures and plantar chromaticity of rats in each group



注:与正常组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$;与阳性组比较, ▲ $P < 0.05$ 。

图8 各组大鼠舌面图片和舌面色度比较图

Note. Compared with normal group, * $P < 0.05$. Compared with model group, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$. Compared with positive group, ▲ $P < 0.05$.

Figure 8 Comparison of tongue surface pictures and tongue surface chromaticity of rats in each group

临床应用于小便不利、腹痛、泄泻等症,王晓东^[12]用真武汤合小青龙汤治疗腹泻型 IBS-D 和张连文^[13]用真武汤合柴胡疏肝散治疗腹泻型 IBS-D 均取得了较好的临床疗效。因此,本研究选其作为阳性药。

脾肾阳虚型 IBS-D 是一种消化系统疾病,中医认为,本病属“腹痛”、“泄泻”等范畴。《素问·举

痛论篇》曰:“寒气客于小肠,小肠不得成聚,故后泄腹痛矣”,且《医宗必读》也指出“无湿不成泄”,可见该病与寒和湿有关。脾肾阳虚作为该病的证,《内经》记载,“脾居中央以灌四旁”,脾主司运化之职,是机体消化饮食、吸收输布水谷精微和代谢津液的枢纽。《素问》曰:“肾者主蛰,封藏之本,精之处

也。”肾藏精,精化气,肾气是生气之源,是生命力活动的原动力,具有推动人体生长发育、促进人体生殖功能、防御外邪入侵的作用。脾与肾的关系主要表现在先后天相互滋生和水液代谢方面,脾运化水谷精微,依赖于肾阳的温煦蒸化,才能健运,肾精依赖于脾运化的水谷精微不断补充,才能充盛。而脾肾两脏的阳气亏虚,会引起消化机能失调和水液代谢的紊乱,出现腹痛、腹泻等临床表现。辨证论治是中医理论的核心和精髓,中医治病以辨证论治为基本原则,治疗主要是温肾健脾、化湿止泻。

当归生姜羊肉汤,本方当归能补血活血、温中止痛,在《名医别录》中记载,“能温中止痛,补五脏,生肌肉”李时珍认为当归可补血活血,甄权认为凡虚寒证,宜重用当归,经现代研究发现当归能抗炎、促进造血功能,保肝、护肾,调节免疫等药理作用^[14];生姜能温中散寒,驱除表邪,《食疗本草》中记载生姜“除壮热,治转筋、心满”《珍珠囊》中生姜“益脾胃,散风寒”有抗炎、抗肿瘤,增强免疫功能,抗动脉粥样硬化等药理作用^[15];羊肉暖中补虚,补中益气,益肾气,治虚劳寒冷,五劳七伤。三者合用,具有补益气血、温中散寒、调经止痛的功效,此方药借食味,食助药性,有“药食同源”、“寓药于食”的特点,以脾胃为本,以后天滋养先天,补益脾肾,促进脾运化水谷精微、统摄血液的功能,提高机体免疫应答和造血的能力,肾为一身元阳之本,能提高肾温煦机体的作用,推动人体的生命活动。经查文献可知,当归生姜羊肉汤对寒性疾病有良好的治疗效果^[16-17]。基于此,本研究立足于中医基础理论,探讨当归生姜羊肉汤对脾肾阳虚型 IBS-D 大鼠中医证候的影响,为中医治疗脾肾阳虚 IBS-D 提供实验支撑和指导临床实验,为进一步研究 IBS-D 的作用机制打下基础。本研究采用雌性大鼠,为扩大当归生姜羊肉汤适用人群提供一定的实验基础。

从实验结果来看,给雌性大鼠灌胃低、中、高不同剂量的当归生姜羊肉汤后中医证候评分明显低于模型组,具有显著性差异($P<0.05$),体重、肛温、摄食量、饮水量也有相应的恢复,可见当归生姜羊肉汤补益脾肾,提高机体免疫能力,有效的改善脾肾阳虚所引起大鼠精神萎靡、眼睛乏神、毛发稀疏发黄、粪便稀溏、食欲不振的症状。

旷场实验可以用于实验动物的虚证的探索,通过旷场实验可见,灌胃当归生姜羊肉汤后,低、中、高 3 个剂量组大鼠的活动度与模型组比明显提高,

具有显著性差异($P<0.05$),提示当归生姜羊肉汤有其温中散寒的作用,能有效的改善脾肾阳虚所引起的畏寒肢冷,倦怠乏力懒动的症状。腺嘌呤造模肾阳虚对肾造成损害,经药理研究发现当归对肾具有保护作用,尤其在肾小球的过滤与肾小管的重吸收作用中有很明显的效果,减轻肾损伤^[18]。旷场实验有助于我们对由于脾肾原因导致的气虚活动度减少的定量评价具有重要的参考意义。

中医四诊是中医诊病的重要方法,动物的四诊等由于实验动物的特殊性,难以定性和定量判断,建立图像和软件分析的方法可以帮助进行诊断。从 RGB 值数据来看,低、中、高剂量组大鼠尾部、足底、舌面的 R、G、B 值与模型组比较更高,具有显著性差异($P<0.05$)。表明当归生姜羊肉汤具有补血活血的作用,能明显改善了大鼠尾部、足底、舌面的色泽。这可能其中当归含有的多糖有关,它能推动脾脏内源性结节的生长,使得 MSCs 增殖,促进骨髓细胞 DNA 的合成,刺激机制的造血功能,从而缓解缺血性症状^[19]。

本研究表明,使用旷场实验和舌、爪、尾的 RGB 值可以在一定程度上和中医的四诊在实验动物上进行定量分析,有助于实验动物模型的中医证候指标的建立。结合实验中的大鼠的中医证候的表现,当归生姜羊肉汤对脾肾阳虚 SD 雌性大鼠中医证候具有改善作用,且呈现出一定的剂量效应关系。

参考文献:

- [1] 中华医学会消化病学分会胃肠功能性疾病协作组,中华医学会消化病学分会胃肠动力学组. 中国肠易激综合征专家共识意见(2015 年,上海) [J]. 中华消化杂志, 2016, 36(5): 299-312.
- [2] 解坤. 从脾肾阳虚辨治腹泻型肠易激综合征的 Meta 分析 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2021.
- [3] 李海燕, 施思, 孙红, 等. 灵龟八法择时取穴雷火灸治疗脾肾阳虚腹泻型肠易激综合征的临床效果 [J]. 中国医药导报, 2021, 18(23): 135-139.
- [4] Sperber AD, Dumitrascu D, Fukudo S, et al. The global prevalence of IBS in adults remains elusive due to the heterogeneity of studies: a rome foundation working team literature review [J]. Gut, 2017, 66(6): 1075-1082.
- [5] 曾书君, 程进伟, 罗程. 肠易激综合征流行病学系列研究 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2019, 29(13): 98-99.
- [6] 赵尔樱, 周佳玮, 褚海云, 等. 肠易激综合征流行病学与致病因素研究进展 [J]. 中国公共卫生, 2021, 37(4): 764-768.
- [7] 张子悦, 马书进, 贺新月, 等. 肠易激综合征的发病机制及治疗研究进展 [J]. 临床消化病杂志, 2019, 31(1): 60-63.

- [8] 李克光. 金匱要略讲义 [M]. 上海: 上海科学技术出版社; 1985.
- [9] 谢敏. 基于古今文献的当归生姜羊肉汤应用探析 [J]. 理论前沿, 2014, 9: 282.
- [10] 侯建媛. 附子理中汤合四神丸治疗脾肾阳虚型腹泻型肠易激综合征疗效及对直肠黏膜蛋白酶激活受体的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27(18): 2022-2025.
- [11] 叶艳. 补虚劳药膳神仙粥对脾肾阳虚证慢性疲劳综合征患者的干预研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2017.
- [12] OKYOTO(王晓东). 真武汤合小青龙汤治疗腹泻型肠易激综合征的疗效评价 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2019.
- [13] 张连文. 真武汤合柴胡疏肝散治疗腹泻型肠易激综合征 52 例临床观察 [J]. 河北中医, 2012, 34(10): 1493-1495.
- [14] 李曦, 张丽宏, 王晓晓, 等. 当归化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中药材, 2013, 36(6): 1023-1028.
- [15] 王颖, 李东伟. 生姜的研究进展 [J]. 中国药业, 2006, 15(9): 62-63.
- [16] 刘倩, 廉永红, 李玉婷, 等. 当归生姜羊肉汤治疗寒凝型原发性痛经的临床观察 [J]. 中国民间疗法, 2020, 28(24): 65-69.
- [17] 高大硕. 当归生姜羊肉汤治疗虚寒咳嗽举隅 [J]. 时珍国药研究, 1997, 8(1): 93.
- [18] 唐维我, 张会永, 李芹, 等. 肾阳虚证动物模型造模方法及模型评价 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2021, 23(4): 1317-1324.
- [19] 马艳春, 吴文轩, 胡建辉, 等. 当归的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医药学报, 2022, 50(1): 111-114.

[收稿日期] 2022-07-27

《中国比较医学杂志》稿约

国内刊号 CN 11-4822/R 国际刊号 ISSN 1671-7856 邮局代号 82-917

一、杂志介绍

本刊是由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊)。征稿的范围是与人类生命与健康密切相关的实验动物与动物实验等生命科学各分支学科,重点刊载比较医学成果和进展。栏目设置包括研究报告、综述与专论、研究快报、研究简讯、技术与方法、经验交流、学术动态、国外研究进展、学术信息、简讯等栏目。要求来稿数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

本刊是中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、被《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》、中文生物医学期刊文献数据库(CMCC)、中国生物医学期刊数据库等数据库收录。

二、投稿要求及注意事项

文稿内容要具有创新性、科学性和实用性,论点明确,资料可靠,文字通顺精练,标点符号准确,用词规范,图表清晰。文章正文字数在 5000 字左右。

投稿网址: <http://zggydw.cnjournals.com/zghjyxxz/ch/index.aspx>

期待您的来稿!