

李亚青,王灿,苗明三. 基于数据挖掘的慢性疲劳综合征动物模型的评价 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(4): 54-64.
Li YQ, Wang C, Miao MS. Evaluation of an animal model of chronic fatigue syndrome based on data mining [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(4): 54-64.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.04.007

基于数据挖掘的慢性疲劳综合征动物模型的评价

李亚青,王 灿,苗明三*

(河南中医药大学 药学院,郑州 450046)

【摘要】 目的 研究慢性疲劳综合征动物模型的应用情况,为其动物实验方法和模型完善提供参考。**方法** 以“慢性疲劳综合征、动物模型”“Chronic fatigue syndrom, animal model”等为检索词,在中国知网、万方、PubMed 数据库进行检索,整理 2000 年 7 月~2023 年 7 月慢性疲劳综合征动物模型的文献,对实验动物、造模方法、阳性药、检测指标等内容进行整理,建立数据库进行统计、分析。**结果** 共纳入有效文献 155 篇;实验动物以 SPF 级、体重集中在 180~220 g 的雄性 SD 大鼠最多;小鼠应用最多的是 18~22 g 的 SPF 级雄性 KM 小鼠;应用最多的阳性药是人参皂苷片;应用最多的造模方法是“强制冷水游泳+慢性束缚”法,造模周期多集中在 14 d,大多采用边造模边干预的方式;检测指标以行为学为主,主要包括力竭游泳实验、旷场实验、鼠尾悬吊实验、Morris 水迷宫实验以及动物一般状态观察,其次是血清生化指标,检测最多的是血清 MDA、SOD、TNF- α 、IL-1 β 、CORT、IL-2、IFN- γ 、ACTH、GSH-Px、IgG、IgA、IL-6 等;根据研究目的不同选择其余多种检测指标,包括脾、胸腺等脏器指数测定、HE 病理染色和超微结构电镜检测的形态学指标、免疫组化相关指标、实时荧光定量 PCR 检测法和 Western blot 法检测相关 mRNA 及蛋白表达指标,检测种类繁多但应用频率均不高;目前动物模型主要用于研究干预效果、探究病因病机及机制。**结论** 目前慢性疲劳综合征的发病机制尚不明确,动物模型以“强制冷水游泳+慢性束缚”的应激造模方法为主,模拟人类身体和心理疲劳状态;动物模型成模标准尚无统一规定,模型评价方式以各种行为学实验单独或组合应用为主,多数文献中客观评价指标多用于病因病机猜想的论证及干预措施有效性评价;各项检测指标应用结果表明慢性疲劳综合征可能与炎症反应、神经功能障碍和线粒体功能异常等因素有关,其发病机制中可能存在免疫功能、能量代谢、细胞增殖和细胞死亡的异常状况,挖掘内容有望为模型应用提供参考,为模型完善提供思路。

【关键词】 慢性疲劳综合征;动物模型;评价指标;数据挖掘;综述

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 04-0054-11

Evaluation of an animal model of chronic fatigue syndrome based on data mining

LI Yaqing, WANG Can, MIAO Mingsan*

(School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

【Abstract】 Objective To study animal models of chronic fatigue syndrome and to provide a reference for improvements in related animal experimental method and models. **Methods** Using “chronic fatigue syndrome, animal model” and “chronic fatigue syndrome, animal model” as search terms, we searched in the China Knowledge, Wanfang, and PubMed databases from July 2000 to July 2023. We compiled the literature on animal models of chronic fatigue syndrome and analyzed the experimental method and models. Content relating to experimental animals, modeling method,

【基金项目】 国家自然科学基金(82274119);河南省重大专项(221100310400);岐黄学者(国中医药人教函 2022-6);中原学者工作站项目(224400510011);2022 年河南省博士后科研资助项目(HN2022079)。

【作者简介】 李亚青(1995—),女,硕士研究生,研究方向:药理学。E-mail:aspringlee@163.com

【通信作者】 苗明三(1965—),男,教授,研究方向:中药学。E-mail:miaomingsan@163.com

positive drugs, and detection indexes was sorted, and a database was set up for statistics and analysis. **Results** A total of 155 articles were included from the validated literature; most of the experimental animals were male SD rats of specific-pathogen free grade and body weights of around 180~220 g. Most of the mice used were KM males of 18~22 g. The most commonly used positive drug was ginsenoside tablets; and the typical modeling method was “forced cold water swimming + chronic restraint”. Testing indexes were mainly behavioral and included exhaustive swimming test, open field test, rat tail suspension test, Morris water maze test, and animal’ behavioral cycle, and observations of the general state of the animals. Modeling cycles mostly spanned 14 days. The most frequently tested indexes were serum MDA, SOD, TNF- α , IL-1 β , CORT, IL-2, IFN- γ , ACTH, GSH-Px, IgG, IgA, and IL-6. The remaining indicators were selected according to the research purpose and included spleen, thymus, and other organ indexes; morphological indicators detected by hematoxylin and eosin pathological staining; ultrastructural electron microscopy indicators; immunohistochemistry-related indicators, and related mRNA and protein expression indicators detected by fluorescence quantitative PCR and Western blot method. mRNA and protein expression indexes were determined via a variety of tests, but the frequency of their application was low. At present, animal models are mainly used to study the effects of interventions and the etiology and mechanisms of the disease. **Conclusions** The pathogenesis of chronic fatigue syndrome is still unclear, and animal models are mainly based on stress modeling with “forced cold water swimming + chronic restraint”, which simulates the physical and mental fatigue states of humans. No standard criteria for the formation of animal models are available, and the evaluation of models is based on the application of a variety of behavioral experiments, individually or in combination. Objective evaluation indexes are mostly used to validate the etiology of the disease and evaluate the effectiveness of interventions. The result of various test indexes have shown that chronic fatigue syndrome may be related to inflammatory responses, neurological dysfunction, and mitochondrial dysfunction, and there may be abnormalities in immune function, energy metabolism, cell proliferation, and cell death. This summary is expected to provide a reference for researchers planning to employ these models and ideas for model refinements.

【Keywords】 chronic fatigue syndrome; animal models; evaluation metrics; data mining; review

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

慢性疲劳综合征 (chronic fatigue syndrome, CFS) 是持续或反复发作半年以上^[1], 且排除其他疾病或药物导致的不明原因的长期疲劳^[2], 其主要特点是经休息后无法缓解的长时间疲劳, 并伴有肌肉酸痛、食欲减退、睡眠障碍、认知障碍和自主神经功能失调等症状的一组症候群^[3]。美国疾病预防控制中心于 1988 年正式将该病命名为慢性疲劳综合征, 体检和常规实验室检查一般无异常发现, 是一类缺乏普遍公认的病例定义、病因、诊断及治疗的疾病^[4]。有调查表明, 全球该病的发病率逐年上升, 严重影响人们的生活质量。现代医学治疗慢性疲劳综合征主要以补充维生素和营养为主, 效果不佳^[5], 其发病机制尚不完全明确^[6]。治疗多以改善睡眠、抗焦虑、止痛、镇静、补充维生素等对症治疗; 中医以中医药物治疗、五行音乐疗法、针灸治疗、穴位贴敷按摩及药浴为主^[7-8], 但 CFS 的确切发病机制尚不清楚, 目前尚无 CFS 的特效疗法, 因此研究有效的治疗药物和发病机制至关重要, 而稳定、可靠的 CFS 动物模型是开展相关研究的关键基础和重要手段, 但目前模型动物的品系和造模方式尚未有统一标准^[9]。因此, 对现有的 CFS 动物实验文献

进行检索、整理和分析, 通过探讨动物种类、造模方式及主要检测指标的选择依据, 旨在提供科学且可重复的 CFS 动物模型制备方法^[10], 为 CFS 模型的完善提供思路, 使其能更好地应用于后续的研究中。

1 资料与方法

1.1 数据来源

以“慢性疲劳综合征”和“动物模型”为主题, 在中国知网、万方数据库进行检索; 以“chronic fatigue syndrome”“models animal”“laboratory animal model”“animal model”“experimental animal model”为关键词, 在 PubMed 数据库进行检索。检索时间为 2000 年 1 月 1 日~2023 年 8 月 1 日, 共检索到期刊文献 236 篇。

1.2 文献筛选标准

(1) 纳入标准: 研究慢性疲劳综合征并造模成功的动物实验文献; (2) 排除标准: 学位论文、会议和综述; 资料不全的文献。最终纳入符合标准的文献 155 篇^[10]。

1.3 统计学分析

实验动物名称、种类等均参照中国中医药出版

社出版的《实验动物学》(十三五)和人民卫生出版社出版的《医学动物实验技术》进行规范,将收集的实验动物种类、造模方法、阳性药种类、检测指标等录入 Excel 2019 建立数据库,对纳入文献的研究结果采用频数和百分比进行统计描述,对数据进行整理、统计和分析^[11]。

2 结果

2.1 实验动物选择

155 篇文献涉及 5 种品系的造模动物,分别为 SD 大鼠、Wistar 大鼠、KM 小鼠、BALB/c 小鼠和 ICR 小鼠,应用最多的是 SD 大鼠(109 次,70.30%),其次是 Wistar 大鼠(24 次,15.40%),KM 小鼠(12 次,7.70%)。此外,在数据整理时发现,动物主要选择雄性,SD 大鼠体重集中在 180~220 g,Wistar 大鼠体重多为 160~180 g,小鼠体重集中为 18~22 g;动物年龄有 103 篇未记载,故不计入,明确记载动物年龄的有 52 篇,应用最多的是 6~8 周龄以 SD 大鼠最多。

2.2 阳性药应用

101 篇未设置阳性药对照组,故不计入,其余 54 篇应用到阳性药一共 12 种,共计 54 次,应用频次位居前三的各阳性药具体应用情况见表 1。

表 1 结果显示,常用的阳性药分别是人参皂苷片(24 次,44.44%)、苁蓉益肾颗粒(8 次,14.81%)、诺迪康胶囊(4 次,7.41%),共计 36 次,占据所有阳性药的 66.7%。此外,文献中的研究还采用的其他阳性药有复方阿胶浆(3 次,5.56%)、归脾丸(3 次,5.56%)、红景天胶囊(3 次,5.56%)、盐酸帕罗西汀片(3 次,5.56%)、逍遥丸(2 次,3.70%)、理虚解郁方(1 次,1.85%)、生脉饮(1 次,1.85%)、天王补心丸(1 次,1.85%)、无籽刺梨原液(1 次,1.85%)。

2.3 CFS 动物模型造模方法

如表 2 所示,155 篇文献涉及到 CFS 的造模方式一共 13 种,有单因素造模法 3 种(共计 21 次,13.55%),两种因素复合造模法 5 种(共计 93 次,60.00%)、三种因素复合造模法 3 种(共计 32 次,20.65%)、三种以上多因素复合造模法 1 种(共计 9 次,5.81%)。其中两种因素复合造模法的“强制冷水游泳+慢性束缚”法应用最多(53 次,34.19%),其次依次为“力竭游泳+慢性束缚+夹尾刺激”法(19 次,12.26%)、“力竭游泳+睡眠剥夺”法(17 次,10.97%);就造模周期而言,“强制冷水游泳+慢性束缚”法造模周期多为 14 d(28 次,18.06%),各方法应用最多的造模周期也是 14 d;其次是“力竭游泳+睡眠剥夺”造模 14 d(12 次,7.74%)。另外,实验期间应用最多的是造模与干预同时进行(99 次,63.87%),其次是造模成功后进行干预(49 次,31.61%),剩余的分别为造模成功后干预,干预期间持续造模(5 次,3.23%)、先干预后造模(2 次,1.29%)。

2.4 检测指标

2.4.1 行为学及一般状态观察指标

155 篇文献涉及到 7 类检测指标,分别为一般情况与行为学指标、脏器指数、形态学相关指标、免疫组化相关指标、血清生化指标、相关 mRNA 表达检测指标和相关蛋白表达检测指标。共涉及到具体指标 165 项,累计应用 751 次。其中,32 篇文献采用力竭游泳实验、旷场实验、悬尾实验明确判定是否成模,31 篇明确记载了对动物一般状态观察的情况,有 76 篇将体重纳入最终的检测指标内,155 篇最终的检测指标均包含与疲劳有关的行为学指标检测,包括力竭游泳实验、旷场实验、悬尾实验和 Morris 水迷宫实验,具体见表 3。

表 1 CFS 动物模型阳性药及频次
Table 1 Positive drugs and frequency in animal model of CFS

阳性药 Positive medicine	给药方式及剂量 Mode of administration and dose	频次/ <i>n</i> Frequency	频率/% Frequency
人参皂苷片 Ginsenoside tablets	混悬液灌胃 5 mg/(kg·d)、70 mg/(kg·d) Suspension was gavaged at 5 mg/(kg·d), 70 mg/(kg·d)	24	44.44
苁蓉益肾颗粒 Cistanche kidney particles	混悬液灌胃 41.7 mg/(kg·d)、10 mg/(kg·d) Suspension was gavaged at 41.7 mg/(kg·d), 10 mg/(kg·d)	8	14.81
诺迪康胶囊 Nordecon capsule	混悬液灌胃 182 mg/(kg·d) Suspension was gavaged at 182 mg/(kg·d)	4	7.41
其他 Others	灌胃给药 Gavage	18	33.33
	合计 Summation	54	100.00

表 2 CFS 动物模型造模方法及频次
Table 2 Methods and frequency of modeling in CFS animal models

		造模方法 Molding method	频次/ <i>n</i> Frequency	频率/% Frequency
单因素造模 Univariate mold making	负重力竭游泳 Bodyweight exhaustion swimming	动物尾部负荷约体重 5% 的铅室温水池中游泳至力竭 (力竭标准: 游泳动作明显失调, 动物头部沉入水下 10 s 不能上浮), 每天 1 次 Lead at the tail load of about 5% of the body weight in the water pool to exhaustion (exhaustion standard: swimming movement is obviously unbalanced, the animal's head can not float for 10 s), 1 time/d	15	9.68
	慢性束缚 Chronic binding	将动物颈部、腹部及后肢用塑料扎带束缚于网格铁丝架上, 每只束缚 45 min, 将针刺组和模型组大鼠颈部、腹部及后肢用塑料扎带束缚于网格铁丝架上, 每次束缚 45 min, 每天 1 次 ^[12] Neck, abdomen and hind limbs of the animals were bound to the mesh wire frame, binding each animal for 45 min. The neck, abdomen and hind limbs of the acupuncture and model rats were bound to the grid wire frame for 45 min, 1 time/d	5	3.23
	腹腔注射 poly I: C Intraperitoneal injection of poly I: C	小鼠腹腔注射 poly I: C (5 mg/kg), 每天 1 次 Mice were injected intraperitoneally with poly I: C (5 mg/kg), 1 time/d	1	0.65
	强迫冷水游泳+慢性束缚 Forced cold-water swimming + chronic binding	上午强制冷水游泳: 水温 (10±1)℃, 持续每次 7 min, 每天 1 次; 下午慢性束缚: 将鼠放入自制束缚筒内 (大鼠: 内径约 6.5 cm, 长 23.5 cm; 小鼠: 内径约 3 cm, 长 12 cm), 束缚开始时间不确定, 每次 3~4 h, 每天 1 次 Forced cold water swimming in the morning; water temperature (10±1)℃, 7 min/time, 1 time/d; afternoon chronic binding: put the mouse into a self-made binding cylinder (rat: internal diameter about 6.5 cm, 23.5 cm long; mouse: inner diameter about 3 cm, 12 cm long), binding start time is uncertain, 3~4 h /time, 1 time/d	53	34.19
两种因素复合 造模 Two factors of compound modeling	力竭游泳+睡眠剥夺 Exhaust swimming+ sleep deprivation	小平台水环境法睡眠剥夺: 将矿泉水瓶底座 (小平台) 立在塑料水箱 (30 cm×30 cm×40 cm) 中心, 在水箱中注水, 水面低于平台 1 cm; 待负重游泳结束后将大鼠置于小平台上, 次日负重游泳时再取出, 单鼠单箱, 大鼠可以自由饮食 ^[13] , 每天 1 次 Small platform water environment method sleep deprivation: the mineral water bottle base (small platform) in the center of plastic water tank (30 cm×30 cm×40 cm), water tank, the water surface below the platform 1 cm, after the end of the swimming, the rat in the small platform, the next day when swimming out, single mouse single box, rats can free diet, 1 time/d	17	10.97
	力竭游泳+夹尾激怒 Exhaust swimming + tail rage	夹尾激怒: 将止血钳尖端用纱布包裹, 夹试验动物尾巴让其呈激怒状态, 每次刺激 15 min, 每天 3 次, 每天刺激时间点不固定, 按照实际情况进行; 同时每天强迫游泳至力竭状态, 每天 1 次 Enrage: the tip of the clamp was wrapped with gauze, and the tail of the test animal was brought to an angry state, each stimulation 15 min, 3 times/d, daily stimulation time point is not fixed, according to the actual situation; and forced to swim to exhaustion every day, 1 time/d	16	10.33
	饮食失调+强迫游泳 Eating disorders + forced swimming	日不限量饲喂大白菜, 双日灌精炼猪油, 每次 2 mL, 每天 2 次; 同时每日在水温 21℃ 左右的水中游泳 30 min ^[1] , 每天 1 次 Feed Chinese cabbage and refine lard, 2 mL / time, 2 times/d; swim in water temperature 21℃ for 30 min, 1 time/d	5	3.23
	力竭游泳+肌注氢化可 的松 Exhaust swimming + hydrocortisone	肌注氢化可的松 30 mg/kg, 连续注射 9 d 停药, 同时每天在水温 (10±1)℃ 游泳, 游泳时间每次 10 min。共造模 9 d Hydrocortisone was injected at 30 mg/kg, injected for 9 days, and swimming at the water temperature (10±1)℃ every day for 10 min each time. A total of 9 days of mold creation	1	0.65

续表2

	造模方法 Molding method	频次/ <i>n</i> Frequency	频率/% Frequency
三种因素复合造模 Three factors are compound mold making	停药法+冷水游泳法 Stop drug method + cold water swimming method	肌肉注射氢化可的松 20 mg/kg, 每天 1 次, 连续注射 9 d 停药, 同时每天在水温 (21±1)℃ 的水中游泳 30 min, 共计 21 d ^[14] Hydrocortisone 20 mg / kg once a day for 9 d of continuous injections, while swimming for 30 min daily in water temperature (21±1)℃ for a total of 21 d	1 0.65
	力竭游泳+慢性束缚+夹尾刺激 Exhaust swimming + chronic binding + tail stimulation	单日冷水 (水温: (10±1)℃) 游泳直至力竭 (力竭标准: 游泳动作明显失调, 动物头部沉入水下 10 s 不能上浮); 双日日夹尾刺激 (每次 30 min, 每天 1 次); 每日束缚 30 min 至 2 h 不等 One day cold water (water temperature: (10±1)℃) swimming until exhaustion (exhaustion standard: swimming movement, the animal head can not float for 10 s); double daily tail stimulation (30 min/time, 1 time /d); daily binding for 30 min to 2 h	19 12.26
	负重力竭游泳+慢性束缚+睡眠剥夺 Bodyweight exhaustion swimming + chronic binding + sleep deprivation	每日上午强迫负重 (体重的 5%) 游泳; 每天 2 次, 前后相差 10 min, 游泳至力竭为止; 慢性束缚: 每日束缚 1 h; 睡眠剥夺: 每日下午 13:00 将大鼠放入水深 1.5 cm 的塑料盒中 (有铁丝网盖住, 大鼠不能逃脱且可以自由进食、饮水), 水刚没过大鼠四肢为宜, 次日 9:00 取出大鼠, 睡眠剥夺共 20 h ^[15-17] Daily morning forced loading (5% of body mass) swimming; twice/d, difference of 10 min, swimming until exhaustion; chronic restraint: daily restraint for 1 h; Sleep deprivation: put rats into a plastic box of 1.5 cm at 13:00 (covered with barbed wire, rats cannot escape and can eat and drink freely), the limbs of the rats were removed at 9:00 the next day, sleep deprivation for a total of 20 h	10 6.45
三种以上多因素复合造模 More than three kinds of multi-factor composite modeling	力竭游泳+房劳+慢性束缚 Exhaust swimming + room labor + chronic bondage	单日冷水 (4℃) 游泳 30 min, 每天 1 次; 双日日让其与发情期雌鼠合笼 (每次合笼均新换一批雌鼠); 每天塑料筒内束缚, 每次 3 h Swimming in daily cold water (4℃) for 30 min, once/d; cage with heat females (replace a new female for each cage); bind in the plastic tube for 3 h/time per day	3 1.94
	力竭游泳+各类应激刺激 (包括: 慢性束缚、睡眠干扰、夹尾刺激、禁食禁水、噪音、拥挤环境、跑台训练、悬尾), 每天随机采用 2 种刺激, 每天 1 次 Exhaust swimming + all kinds of stress stimuli (including: chronic binding, sleep interference, tail stimulation, fasting and water ban, noise, crowded environment, running platform training, hanging tail), random 2 kinds of stimuli every day, 1 time/d	各类应激刺激包括: 12 h 禁食, 12 h 禁水; 夹尾 (1 min); 通宵照明; 噪声刺激 (110 dB, 1 h) 跑台: 10 m/min 的速度, 每次 5 min; 悬尾每次 30 min。每天随机给予两种不同刺激, 每天 1 次 All kinds of stress stimuli include: 12 h fasting, 12 h water prohibition; tail clip (1 min); overnight lighting; noise stimulation (110 dB, 1 h) running table: 10 m/min speed, 5 min/time; hanging tail 30 min/time. Two different stimuli were given randomly each day, once/d	9 5.82
合计 Summation	13 种 13 species	155	100.00

表 3 结果显示, 常用于判断模型成功与否的行为学有 3 种, 力竭游泳实验 (11 次, 34.38%)、旷场实验 (11 次, 34.38%)、悬尾实验 (10 次, 31.25%), 三者几乎同时应用; 生长发育情况用动物一般情况观察 (包括精神状态、摄食摄水量、活动情况、皮毛色泽、耳尾颜色和粪便形态) 和体重来衡量; 与疲劳有关的行为学指标应用最多的是力竭游泳实验 (61 次, 39.35%), 其次依次是旷场实验 (57 次, 36.77%)、悬尾实验 (25, 16.33%)、Morris 水迷宫实验 (12 次, 7.74%)。

2.4.2 血清生化指标

155 篇文献共涉及到 58 种血清生化指标, 累计 274 次, 其中高频 (≥ 10 次) 的有 MDA (19 次, 6.93%)、SOD (19 次, 6.93%)、TNF-α (18 次,

6.53%)、IL-1β (15 次, 5.47%)、CORT (14 次, 5.11%)、IL-2 (14 次, 5.11%)、IFN-γ (13 次, 4.74%)、ACTH (12 次, 4.38%)、GSH-Px (11 次, 4.01%)、IgG (11 次, 4.01%)、IgA (10 次, 3.65%)、IL-6(10 次,3.65%),共计 166 次,占有血清生化指标的 60.58%;其他应用频次多于 5 次少于 10 次的指标有 BUN、CRH、BLA、IgM、IL-10、T、TGF-β,其余应用少于 5 次的有 5-HT、C3、C4、DA、IL-4、CRP、IFN-α、IFN-β、NE、TG、Trp、β-EP、8-OHdG、ALD、BDNF、CAT、CK、CR、CXCL9、DHEA、DHT、DR、E2、Fas、FFAs、FSH、GC、GPx、GSSG、IFN、IL-12、LDH、LH、LPS、NGF、NK、PG、TNF-β、TSH,共计 108 次。

2.4.3 CFS 动物模型其余检测指标

CFS 动物模型其余检测指标类目视文献研究目的和需要进行选择。种类繁多但检测频率普遍较低。用来检测脏器指数的脏器有脾、胸腺、肾、肝,也有文献依照实验目的检测了垂体、肾上腺脏器指数,累计 40 次;CFS 动物模型形态学相关指标涉及

到全脑、海马 CA1 区、海马 CA3 区、下丘脑、股四头肌、肾组织的 HE 染色病理指标,海马 CA1 区、海马 CA3 区、骨骼肌超微电镜结构指标,累计 29 次;CFS 动物模型免疫组化相关指标涉及到海马、下丘脑 COX-2、FKBPs、GR、IL-2、NF-κB p65 等,股四头肌 AMPK、PGC-1α,肝组织 HO-1、Keap1、Nrf2,结肠组织 Occludin、ZO-1 等共计 16 种,累计 18 次^[18]。采用实时荧光定量 PCR 检测法检测 CFS 动物模型相关 mRNA 表达序列的有 33 种,累计 47 次,采用 Western blot 检测法最常检测的蛋白表达共 31 种,累计 49 次,但各指标检测频率皆不高,应用频率均位居前三的分别是 CREB (7 次)、BDNF (4 次)、Smad4(3 次),其余指标多与研究目的紧密相关,需视具体研究目的而定,应用频率统计意义不高。

2.5 CFS 动物模型应用情况

目前 CFS 动物模型主要应用于对 CFS 的疗效评价、病因病机分析及机制研究,具体应用情况见表 4。

表 3 CFS 动物模型一般情况与行为学指标及频次
Table 3 General and behavioral indicators and frequency of CFS animal models

与疲劳有关的行为学指标 Behavioral indicators related to fatigue	频次/ <i>n</i> Frequency	频率/% Frequency
力竭游泳实验 Exhaust swimming experiment	61	39.35
旷场实验 Abfield experiment	57	36.77
悬尾实验 Hanging tail experiment	25	16.13
Morris 水迷宫实验 Morris water maze experiment	12	7.74
合计 Summation	155	100.00

表 4 CFS 动物模型应用情况
Table 4 Application of animal models of CFS

应用情况 Situation of application	频次/ <i>n</i> Frequency	频率/% Frequency	具体情况 Specific application	频次/ <i>n</i> Frequency	频率/% Frequency
干预效果评价 Evaluation of intervention effect	155	100	药效评价 Efficacy evaluation	65	41.94
			其他干预措施 Other interventions	90	58.06
			神经功能障碍 Dysneuria	33	21.29
病因病机分析 Analysis of etiology and pathogenesis	51	32.9	炎症反应 Inflammatory reaction	16	10.32
			线粒体功能异常 Abnormal mitochondrial function	2	1.29
			免疫功能异常 Abnormal immune function	60	38.71
			能量代谢 Energy metabolism	19	12.26
机制研究 Mechanism research	93	60	细胞增殖和细胞死亡的异常 Abnormalities in cell proliferation and cell death	14	9.03

表 4 结果显示,155 篇文献均研究了各干预措施对 CFS 的疗效,其中,药效研究(65 次,41.94%)、其他疗效研究(90 次,58.06%);病因病机研究主要集中在神经功能障碍(33 次,21.29%)和炎症反应(16 次,10.32%);机制研究主要侧重于免疫功能异常(60 次,38.71%)和能量代谢(19 次,12.26%)。

3 讨论

3.1 CFS 模型动物及阳性药的选择

数据结果表明,目前 CFS 造模动物大鼠以 SD 大鼠为主,其次是 Wistar 大鼠,小鼠主要是 KM 小鼠,个别文献也应用到 BALB/c 小鼠和 ICR 小鼠。鼠类生长速度快、易于繁殖且饲养成本低,适合长时间大样本实验;与 Wistar 大鼠相比,SD 大鼠更易受应激因素影响^[18],干预效果更明显,且 SD 大鼠生长发育较 Wistar 更快,对性激素敏感程度高,适合以应激方式造模;KM 小鼠相对于 BALB/c 小鼠和 ICR 小鼠而言,成本更低,耐受程度更高,避免了因各种刺激方式造成动物死亡的损失,且 KM 小鼠生长较快,易于饲养,总体而言,需根据不同实验目的选择合适的动物品系。

应用最多的阳性药是人参皂苷,人参皂苷是从中药人参中提取出的一种多糖总成分,是人参最重要的有效成分,是目前公认的抗疲劳、抗应激药物^[13]。有研究发现,人参皂苷是通过改善骨骼肌线粒体生物合成相关因子 PGC-1 α 、NRF-1、TFAM mRNA 和 miR-130b-3p 的表达以及 PGC-1 α 、AMPK、NRF-1、TFAM 蛋白的表达,加速调节线粒体生物合成从而达到抗疲劳作用^[19]。但慢性疲劳是一类受因素影响的症候群,应用最多的阳性药即使是公认的治疗药物,但应根据研究目的及干预措施不同,酌情应用阳性药,例如在疲劳研究中,苁蓉益肾颗粒侧重改善机体免疫功能,调节内分泌系统,增强体力和抵抗力^[20];诺迪康胶囊侧重增加机体能量供应和肌肉耐力^[21];复方阿胶浆侧重提高机体的免疫力,改善 CFS 患者的贫血状况^[22];归脾丸侧重增加机体的消化吸收能力,提高食欲,改善 CFS 患者的胃肠功能,增加体力和抵抗力^[23];红景天胶囊侧重改善 CFS 患者的气血不足症状,增加机体的能量供应^[24];盐酸帕罗西汀片侧重改善 CFS 患者的抑郁情绪^[25]等。各药物疗效侧重各有不同,应根据研究研究的目的药物来选择对照意义最佳的阳性药。

3.2 CFS 动物模型造模方法

数据结果显示,应用最多的是 14 d“强制冷水

游泳+慢性束缚”法。CFS 是一个长期的、多因素作用的结果,受劳累、生活压力、精神紧张、负面情绪等多因素的长期影响,这决定了 CFS 的造模方法是一个复合应激的过程。在冷水刺激下强迫游泳,既可诱发身体疲劳,又可诱导绝望情绪的产生;慢性束缚能够诱导动物出现愤怒、抑郁、焦虑等不良情绪,产生心理应激^[25-26],因此,“强制冷水游泳+慢性束缚”的造模方法基本还原了 CFS 长期疲劳、社会心理应激等病因^[27-28]。在早期的文献中,单因素诱导的 CFS 造模周期大多在 21 d、28 d 不等^[15],近年来 CFS 造模方式逐渐被改进,复合因素应用居多,且造模周期多在 14 d,这避免了因长时间同一应激让动物产生免疫或对应激不敏感,影响造模效果,上午游泳下午束缚,改进了游泳和束缚隔日进行的弊端,也是目前最为成熟和经典的 CFS 造模方法。但仍存在一些亟需改进的问题:①应明确规定在哪个温度下模型最成功;②应根据动物体质来明确束缚力度,既保证束缚有效性又不造成动物死亡,例如可根据动物体重或机体半定量评分的百分比来确定束缚力度。每种方法都有各自的原理和优缺点,根据不同的研究目的和需求,可以选择合适的方法来制备动物模型。

3.3 CFS 动物模型检测指标

3.3.1 行为学及一般状态观察指标

数据结果显示,行为学实验既是评价模型成功的有效指标,又是评价干预措施有效性的重要指标,最常用的是力竭游泳实验、旷场实验、鼠尾悬吊实验和水迷宫实验,多数文献常等将几种结合应用^[29]。力竭游泳实验是通过记录实验动物在水中游泳挣扎到力竭的时间来评价动物的体力疲劳程度和心理绝望程度;旷场实验是检测抑郁症行为学的经典方法,主要用于评价在陌生环境中实验动物的自主探究行为以及紧张程度等情绪反应,是判断 CFS 模型是否心理疲劳的一项重要行为学指标^[30];鼠尾悬吊实验原理是模拟人的抑郁行为,动物处于不正常体位状态时,会有自发的纠正行为,会产生愤怒情绪,逐渐进入绝望而不动的状态,以不动时间反映个体的心理状态,是判断模型动物心理、身体双重疲劳的一项有效行为学指标^[29-30]。啮齿类动物记忆能力较好,经过训练的动物在较长时间内不会忘记行动轨迹,水迷宫实验是利用鼠类在水中求生的本能,对鼠类的空间位置感、方向感以及学习记忆能力等复杂生理功能进行测试^[29]。目前大

量实验研究也证实了以上行为学实验能给疲劳研究提供有效的参考意义。此外,模型动物一般状况,主要包括体重、活动度、毛发色泽、大便性状等,是用于疲劳研究的最常用的外观指标,造模成功的动物体型明显减小、眯眼明显、喜欢扎堆、毛发稀疏、光泽减退、烦躁多动、大便稀、精神较萎靡、嗜睡、逃避反应能力降低、出现好斗倾向等^[30],此类一般情况均能最直接观测,不仅能对实验动物的成模情况进行初步评价,而且可以通过比较造模前、造模后、干预后各组一般状况的差异,来反应动物的生长状况和干预措施对疲劳症状的影响情况。因此各行为学实验是从身体、心理疲劳、抑郁、认知和记忆能力变化等方面来评价 CFS 动物模型、检测干预方式的有效性。除以上最常用的行为学指标外,还有其他可用于疲劳评价的行为学指标,例如高价十字迷宫、跑台实验等,在研究中,不论是采用单一行为学指标,还是将几个行为学结合应用,最关键的是需要根据研究目的及干预措施及并发的疾病表现进行选择,例如若单纯研究身体疲劳,可侧重选择力竭游泳、跑台实验、旷场运动速度和总路程等;若倾向于研究心理疲劳程度,可侧重选择鼠尾悬吊、观察旷场内活动轨迹等;若研究疲劳给认知、记忆带来的影响,可侧重应用 Morris 水迷宫、Y 字迷宫等;若研究疲劳伴发抑郁症状,可增加糖水试验等。

3.3.2 生化指标

数据显示,CFS 动物模型最常检测的血清生化指标有 MDA、SOD、TNF- α 、IL-1 β 、CORT、IL-2、IFN- γ 、ACTH、GSH-Px、IgG、IgA、IL-6;实时荧光定量 PCR 检测法和 Western blot 检测法均最常检测 BDNF、CREB、Smad4 相关 mRNA 和蛋白表达情况。这些最常用的指标涵盖免疫、氧化应激、神经递质、炎症指标,说明 CFS 的研究目前集中在炎症水平、氧化应激、免疫功能和激素调节等方面。其中,MDA 是膜脂过氧化的最终分解产物、SOD 是重要的抗氧化酶、GSH-Px 参与细胞内的氧化还原反应,这些指标常用来评估 CFS 机体氧化程度和应激状态^[31-32];TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IFN- γ 、IL-2 参与多种炎症反应和免疫调节,检测这些指标主要是反映 CFS 机体的免疫和炎症水平^[33],有助于判断 CFS 机体是否存在慢性炎症反应;CORT 是一种主要的应激激素,检测 CORT 水平可以评估 CFS 机体的应激状态,了解压力对 CFS 的影响^[34];ACTH 调节副肾上

腺皮质激素的释放,检测 ACTH 水平,可以了解 CFS 动物模型中的激素调节异常情况;IgG、IgA 是体液免疫的重要组分,通过检测它们的水平可以了解机体的免疫功能状态和免疫球蛋白的合成情况;通过对这些血清生化指标的综合检测,可以全面评估 CFS 动物模型中的炎症水平、氧化应激、免疫功能和激素调节等方面的异常情况。根据研究目的酌情选择最优的血清生化指标能为揭示 CFS 的发病原因提供重要依据。BDNF 是脑源性神经营养因子,对神经元的生存和发育具有重要的调控作用,CREB (cAMP 响应元结合蛋白) 参与调控基因的转录过程^[35],有研究发现 CFS 患者的脑内 BDNF 水平较低,CFS 患者的 CREB 活性降低,通过检测 CFS 动物模型 BDNF、CREB 的表达水平,了解 CFS 发病机制中神经元受损和功能变化的程度到,这可能导致体能和认知功能改变^[36],通过干预调节 BDNF、CREB 的表达水平可以有效降低 CFS 认知和记忆能力损伤,通过检测 BDNF、CREB 的表达水平,可以进一步说明 CFS 会引起认知和记忆障碍且可能和脑内 BDNF、CREB 的表达水平相关^[37]。Smad4 是一个信号转导蛋白,参与调控细胞增殖和生长,参与 TGF- β 信号的传导,研究发现,CFS 动物模型中 Smad4 的表达水平降低,这表明 Smad4 在 CFS 发病中调节炎症反应和免疫功能^[38],通过检测这些蛋白在 CFS 动物模型中的表达变化,可以深入了解 CFS 发病机制中能量代谢、细胞增殖和细胞死亡的异常状况^[39]。常用的这些生化指标提示 CFS 可能与炎症反应、免疫功能异常、神经功能障碍和线粒体功能异常等因素有关,与 CFS 动物模型应用情况统计结果一致,进一步研究这些关键因子的作用机制,有助于揭示 CFS 的发病机制,并为临床治疗提供新的靶点和策略。

3.4 CFS 动物模型的发展与展望

整理 CFS 文献时发现,早期研究者多倾向于单因素造模方式,如单纯游泳、跑台、慢性束缚、夹尾刺激等;随着 CFS 的发病机制可能和炎症程度、氧化应激水平、免疫功能状况等有关的因素的提出,CFS 模型制备方式由单因素逐渐转变为复合因素甚至多因素复合造模法,以便更贴合人类 CFS 表现。检测指标也不再局限于表观指标、行为学测试、血清学检查,分子生物学检测、蛋白组学、细胞组学、基因组学的研究方法逐渐增多^[40],这表明对 CFS 的研究方向正从器官水平向细胞和分子水平不断深

人^[41-43],造模成功的评判标准也更具有可信度。CFS 动物模型的研究仍处于不断更新与完善的过程中,但仍存在以下问题:①缺少统一且量化的造模因素与相应的造模周期,各模型持续时间尚未明确;②检测指标多依据研究者的经验和研究目的进行选择,缺少统一的模型评判标准;③缺乏同时满足中西医临床病症特点的“病症结合”动物模型^[10]等。

尽管目前 CFS 的发病机制尚不明确,但数据结果仍有望为目前的 CFS 动物模型存在的不足之处提供以下改进和完善的参考:①为尽可能避免因个人主观因素和外界环境干扰因素,对模型动物一般情况的观察尽可能采用半定量评分量表,以减少误差。②具体到旷场实验改进:由于动物初次进入陌生环境会短暂因惊吓恐惧心理活动增多,参考价值较低,应被剔除,所以可调整为只计入 6 min 中后 4 min 的数据,剔除前 2 min 的活动记录。③Moriss 水迷宫实验改进:实验人员应注意自身及实验环境中其他物体的位移对实验结果的影响;同一实验中造模后及治疗后均需要进行评价,需要考虑动物的记忆效应对评价的干扰。④悬尾实验改进:动物在一开始悬挂时会进行剧烈挣扎,情绪不稳定,影响对于挣扎次数与不动时间指标的观察,可将观察时间 5 min 调整为 6 min,舍弃前 2 min 内大鼠的活动记录,仅记录后 4 min 内大鼠指标变化^[30]。⑤在动物模型制备过程中,若能通过人工智能协助优化实验方案的设计,包括样本选择、药物剂量、实验时间等,在实验前进行大规模的数据分析和建模,预测不同变量与结果之间的关系,提供合理的实验设计,研究人员可以减少不必要的试验,提高实验效率,降低实验成本。

因此可根据数据结果对 CFS 动物模型初步标准提供些许建议,模型动物选择雄性 SD 大鼠、KM 小鼠,造模方法以“强制冷水游泳+慢性束缚”复合方法为主,上午游泳,下午束缚,造模周期建议 14 d 来模拟人类身体和心理疲劳状态;动物模型成模标准尚无统一规定,模型评价标准建议力竭游泳实验和悬尾实验为主来判断模型是否成功,行为学评价以力竭游泳、旷场实验评价体力疲劳程度,以悬尾实验、水迷宫实验评价心理疲劳程度,根据研究方向和领域,可从炎症反应、神经功能障碍和线粒体功能异常等方面来选择合适的生化指标进行检测,此外,可借助赋值的方法根据中西医临床病症特点

对模型进行量化评估,为模型完善提供思路。

参考文献:

[1] 成泽东, 陈以国, 张涛. 温和灸对慢性疲劳大鼠肠道菌群的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(1): 45-46, 63. CHENG Z D, CHEN Y G, ZHANG T. Influence of mild moxibustion on intestinal microflora of chronic fatigue rats [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2013, 20(1): 45-46, 63.

[2] 张力, 张强, 刘凯利, 等. 中医辨证分型治疗慢性疲劳综合征的临床研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志, 2022, 31(18): 2623-2628. ZHANG L, ZHANG Q, LIU K L, et al. Clinical research progress of chronic fatigue syndrome treated by TCM syndrome differentiation and classification [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2022, 31(18): 2623-2628.

[3] 李悦, 韩秀珍, 徐秋露, 等. 慢性疲劳综合征动物模型的构建与评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(9): 234-242. LI Y, HAN X Z, XU Q L, et al. Establishment and evaluation of animal models of chronic fatigue syndrome [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2023, 29(9): 234-242.

[4] STRASSHEIM V, NEWTON J L, COLLINS T. Experiences of living with severe chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis [J]. Healthcare (Basel), 2021, 9(2): 168.

[5] 水玲, 乌云格日乐, 卢峻, 等. 蒙医温针对慢性疲劳大鼠 iNOS 信号通路及海马、下丘脑细胞因子表达的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2021, 48(9): 196-198. SHUI L, WU Y, LU J, et al. Effects of warm acupuncture of Mongolian medicine on iNOS signaling pathway of chronic fatigue rats and its influence on cytokines expressions in hippocampus and hypothalamus [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2021, 48(9): 196-198.

[6] LORUSSO L, MIKHAYLOVA S V, CAPELLI E, et al. Immunological aspects of chronic fatigue syndrome [J]. Autoimmun Rev, 2009, 8(4): 287-291.

[7] 李娜, 王洁晶, 陈晓敏, 等. 慢性疲劳综合征的中医研究进展 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2023, 21(9): 200-202. LI N, WANG J J, CHEN X M, et al. The research progress of traditional Chinese medicine in the treatment of chronic fatigue syndrome [J]. Chin Med Mod Distance Educ China, 2023, 21(9): 200-202.

[8] 韩雪, 李京, 刘文华, 等. 中医适宜技术干预慢性疲劳综合征临床研究概况 [J]. 光明中医, 2022, 37(19): 3629-3631. HAN X, LI J, LIU W H, et al. A survey of clinical research on appropriate techniques of traditional Chinese medicine in intervening chronic fatigue syndrome [J]. Guangming J Chin Med, 2022, 37(19): 3629-3631.

[9] 陶睿智, 顾任钧, 夏雅雯, 等. 功能性消化不良动物模型的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(2): 283-290. TAO R Z, GU R J, XIA Y W, et al. Progress of animal models

- of functional dyspepsia [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2022, 30 (2): 283-290.
- [10] 刘昊, 李文静, 王馨媛, 等. 基于数据挖掘的功能性消化不良动物模型的评价 [J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(4): 478-491.
LIU H, LI W J, WANG X A et al. Analysis of the application characteristics of functional dyspepsia animal models based on data mining [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2023, 31(4): 478-491.
- [11] 邓亚胜, 黄慧, 梁天薇, 等. 基于数据挖掘的慢性支气管炎动物模型应用分析 [J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(3): 327-336.
DENG Y S, HUANG H, LIANG T W, et al. Analysis of the application of animal models of chronic bronchitis by data mining [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2023, 31(3): 327-336.
- [12] 封艳艳, 蔡尚志, 何江山, 等. 针刺对慢性疲劳模型大鼠海马 TLR4/NF- κ B 信号通路及星形胶质细胞的影响 [J]. *针灸临床杂志*, 2023, 39(2): 68-74.
FENG Y Y, CAI S Z, HE J S, et al. Effects of acupuncture on TLR4/NF- κ B signaling pathway and astrocytes in hippocampus of CFS model rats [J]. *J Clin Acupunct Moxibustion*, 2023, 39 (2): 68-74.
- [13] 钟晓玲, 童伯瑛, 杨一涵, 等. 经皮穴位电刺激对慢性疲劳综合征大鼠学习记忆能力的影响及其机制探讨 [J]. *针刺研究*, 2023, 48(4): 317-324.
ZHONG X L, TONG B Y, YANG Y H, et al. Effect of transcutaneous electrical acupoint stimulation on learning and memory ability of chronic fatigue syndrome rats and its mechanisms [J]. *Acupunct Res*, 2023, 48(4): 317-324.
- [14] 武淑娟, 张青川, 何采辉, 等. 电针对复合应激致慢性疲劳大鼠下丘脑组织中单胺类神经递质含量的影响 [J]. *针刺研究*, 2006, 31(2): 96-99.
WU S J, ZHANG Q C, HE C H, et al. Effects of electroacupuncture on contents of monoamines transmitters in hypothalamic tissues of chronic fatigue syndrome rats [J]. *Acupunct Res*, 2006, 31(2): 96-99.
- [15] 郑娟娟, 赵毅, 姚斐. 慢性疲劳综合征的动物造模方法研究概况 [J]. *时珍国医国药*, 2009, 20(9): 2289-2291.
ZHENG J J, ZHAO Y, YAO F. Research on making model method and ethology index of chronic fatigue syndrome [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2009, 20(9): 2289-2291.
- [16] 牛占忠, 刘丁丁, 岳雁, 等. 补肾疏肝汤对慢性疲劳综合征大鼠模型抗疲劳作用机制的实验研究 [J]. *河北中医*, 2020, 42(1): 96-100, 131.
NIU Z Z, LIU D D, YUE Y, et al. Experimental study on anti fatigue effect of Bushen Shugan Decoction on chronic fatigue rat [J]. *Hebei J Tradit Chin Med*, 2020, 42(1): 96-100, 131.
- [17] 牛占忠, 张喜平, 周红军, 等. 补肾疏肝汤对大鼠抗疲劳作用的机理 [J]. *河南中医*, 2015, 35(9): 2047-2048.
NIU Z Z, ZHANG X P, ZHOU H J, et al. Action mechanism of antifatigue of kidney-tonifying and liver-soothing decoction in rats [J]. *Henan Tradit Chin Med*, 2015, 35(9): 2047-2048.
- [18] 斯琴, 水玲, 陈英松. 蒙医温针对疲劳模型大鼠海马及下丘脑细胞因子含量的影响 [J]. *中国民族民间医药*, 2020, 29 (2): 11-14.
SI Q, SHUI L, CHEN Y S. Effects of Mongolian warming on cytokine content in hippocampus and hypothalamus of rats in fatigue model [J]. *Chin J Ethnomed Ethnopharmacy*, 2020, 29 (2): 11-14.
- [19] 王向义, 刘长征, 雷波. 针刺对慢性疲劳综合征大鼠血浆 T 细胞转录因子/GATA 结合蛋白 3 表达的影响 [J]. *针刺研究*, 2017, 42(3): 246-248, 262.
WANG X Y, LIU C Z, LEI B. Effect of acupuncture on the expression of transcription factor T-bet/GATA-3 in plasma of rats with chronic fatigue syndrome [J]. *Acupunct Res*, 2017, 42 (3): 246-248, 262.
- [20] 韩玲, 颜志浪, 刘长征. 安神定志方对慢性疲劳综合征大鼠色氨酸代谢通路及运动能力的影响 [J]. *中成药*, 2021, 43 (12): 3493-3497.
HAN L, YAN Z L, LIU C Z. Effects of Anshen Dingzhi formula on tryptophan metabolic pathway and exercise ability in rats with chronic fatigue syndrome [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2021, 43 (12): 3493-3497.
- [21] 董林林. 清暑益气汤治疗脾虚湿热型慢性疲劳综合征的临床观察 [J]. *中国民间疗法*, 2020, 28(20): 72-74.
DONG L L. Clinical observation of Qingshu Yiqi Decoction in treating chronic fatigue syndrome with dampness-heat of spleen deficiency [J]. *China's Naturopathy*, 2020, 28(20): 72-74.
- [22] 石世德, 周民伟, 李建军, 等. 慢性应激性疲劳小鼠行为和神经内分泌改变与怡欣乐口服液的干预作用 [J]. *中国临床康复*, 2005, 9(36): 179-181.
SHI S D, ZHOU M W, LI J J, et al. Behavioral and neuroendocrinological changes in mice with chronic stress-related fatigue and interventions of yixinle oral liquid [J]. *Chin J Tissue Eng Res*, 2005, 9(36): 179-181.
- [23] 周翠兰, 孙翠梅, 王莹, 等. 心神安胶囊治疗慢性疲劳综合征的效果观察及对外周血 NK 细胞活性、T 淋巴细胞亚群的影响 [J]. *湖南师范大学学报(医学版)*, 2022, 19(3): 53-57.
ZHOU C L, SUN C M, WANG Y, et al. Curative effect of Xinshen'an Capsule on chronic fatigue syndrome and its influences on peripheral blood NK cells activity and T lymphocyte subsets [J]. *J Hunan Norm Univ Med Sci*, 2022, 19(3): 53-57.
- [24] 陈虹. 复方红景天片质量标准及功能活性研究 [D]. 天津: 天津科技大学, 2014.
CHEN H. Study on quality standard and functional activities of Fufang Hongjingtian Tablets [D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology, 2014.
- [25] 李欢, 侯江红, 许瑾, 等. 重灸足三里联合盐酸帕罗西汀片治疗慢性疲劳综合症患者的疗效观察 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2020, 40(3): 371-373.
LI H, HOU J H, XU J, et al. Observation of the efficacy of heavy moxibustion Zusanli combined with paroxetine

- hydrochloride tablets in the treatment of patients with chronic fatigue syndrome [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2020, 40 (3): 371-373.
- [26] ZHAO H, ZHOU M, LIU Y, et al. Recent advances in anxiety disorders; Focus on animal models and pathological mechanisms [J]. *Animal Model Exp Med*, 2023, 6(6): 559-572.
- [27] 张烨. 中药复方对慢性疲劳大鼠认知能力及下丘脑生物钟基因表达的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2022, 33(7): 1579-1581.
- ZHANG Y. Effects of traditional Chinese medicine compound on cognitive ability and gene expression of hypothalamic biological clock in chronic fatigue rats [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2022, 33(7): 1579-1581.
- [28] JIANG Y, BIAN W, CHEN J, et al. miRNA-137-5p improves spatial memory and cognition in Alzheimer's mice by targeting ubiquitin-specific peptidase 30 [J]. *Animal Model Exp Med*, 2023, 6(6): 526-536.
- [29] 王玉琳, 刘同岩, 孙玮, 等. 慢性疲劳综合征动物模型评价方式的现状与思考 [J]. *医学综述*, 2022, 28(14): 2884-2888.
- WANG Y L, LIU T Y, SUN W, et al. Current situation and thinking of evaluation methods of animal models of chronic fatigue syndrome [J]. *Med Recapitul*, 2022, 28(14): 2884-2888.
- [30] 徐小珊, 田岳凤, 翟春涛, 等. 慢性疲劳综合征大鼠模型的行为学特征研究 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2022, 20(21): 3906-3912.
- XU X S, TIAN Y F, ZHAI C T, et al. Behavioral characteristics of rat model of chronic fatigue syndrome [J]. *Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis*, 2022, 20(21): 3906-3912.
- [31] 王庆勇, 孙维伯, 杨燕, 等. 慢性疲劳综合征常用动物模型研究进展 [J]. *神经损伤与功能重建*, 2021, 16(7): 392-394, 413.
- WANG Q Y, SUN W B, YANG Y, et al. Research progress of common animal models of chronic fatigue syndrome [J]. *Neural Inj Funct Reconstr*, 2021, 16(7): 392-394, 413.
- [32] JONES B, BOURNE C, GLADWELL P. Evaluating the ability of patient reported outcome measures to represent the functional limitation of people living with myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome [J]. *Fatigue Biomed Health & Behav*, 2023, 11: 83-93.
- [33] CLAGUE-BAKER N, TYSON S, LESLIE K, et al. Home-based testing protocol to measure physiological responses to everyday activities in ME: a feasibility study [J]. *Fatigue Biomed Health & Behav*, 2023, 11: 142-156.
- [34] EIDE GOTAAS M, LANDMARK T, S. HELVIK A, et al. Characteristics associated with physical functioning and fatigue in patients with chronic fatigue syndrome (CFS): secondary analyses of a randomized controlled trial [J]. *Fatigue Biomed Health & Behav*, 2023, 11: 66-82.
- [35] 王虎, 张姣姣, 孙俊楠, 等. 白介素-6 联合 CD4⁺T 淋巴细胞百分比对脓毒症患者预后的评估价值 [J]. *内科理论与实践*, 2021, 16(6): 404-408.
- WANG H, ZHANG J J, SUN J N, et al. Evaluating value of interleukin-6 combined with CD4⁺ T cell percentage on prognosis in patients with sepsis [J]. *J Intern Med Concepts Pract*, 2021, 16(6): 404-408.
- [36] 李志超, 曹庆生, 曹俊杰. 矮地茶黄酮对大鼠急性酒精性肝损伤的保护作用研究 [J]. *贵州中医药大学学报*, 2021, 43(1): 24-28.
- LI Z C, Cao Q S, Cao J J. Study on the protective effect of Chondrus crispus flavonoids on acute alcoholic liver injury in rats [J]. *J Guizhou Univ Tradit Chin Med*, 2021, 43(1): 24-28.
- [37] 黄熙龙, 费书珂. 中性粒细胞胞外诱捕网的形成机制及其与肝胆胰炎症性疾病的联系 [J]. *现代免疫学*, 2022, 42(4): 364-368.
- HUANG X L, FEI S K. Mechanism of neutrophil extracellular trap formation and its relationship with hepatobiliary and pancreatic inflammatory diseases [J]. *Curr Immunol*, 2022, 42(4): 364-368.
- [38] 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.
- [39] RONDANELLI M, RIVA A, PETRANGOLINI G, et al. Two-month period of 500 mg lecithin-based delivery form of quercetin daily dietary supplementation counterbalances chronic fatigue symptoms: a double-blind placebo controlled clinical trial [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 167: 115453.
- [40] DOMINGUES T D, MALATO J, GRABOWSKA A D, et al. Association analysis between symptomology and herpesvirus IgG antibody concentrations in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome (ME/CFS) and multiple sclerosis [J]. *Heliyon*, 2023, 9(7): e18250.
- [41] 裴海月, 姜宁, 王孟迪, 等. 槟榔对小鼠的抗抑郁作用影响及机制研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2022, 32(1): 24-32.
- PEI H Y, JIANG N, WANG M D, et al. Antidepressant effect of *Areca catechu* L. on mice and its mechanism [J]. *Chin J Comp Med*, 2022, 32(1): 24-32.
- [42] BINETTI J, REAL M, RENZULLI M, et al. Clinical and biomarker profile responses to rehabilitation treatment in patients with long COVID characterized by chronic fatigue [J]. *Viruses*, 2023, 15(7): 1452.
- [43] SOFFRITTI I, GRAVELSINA S, D' ACCOLTI M, et al. Circulating miRNAs expression in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(13): 10582.