

赵中敏,梁书志,高相焯,等. 病证结合失眠动物模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(12): 85-95.

Zhao ZM, Liang SZ, Gao XY, et al. Research progress in animal models of insomnia based on combination of disease and syndrome [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(12): 85-95.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.12.010

病证结合失眠动物模型的研究进展

赵中敏¹, 梁书志¹, 高相焯¹, 侯苏寓¹, 罗丹丹¹, 张 艳^{1*}, 王世军^{1,2*}

(1. 山东中医药大学中医学院, 济南 250355; 2. 山东省中医经典名方协同创新中心, 济南 250355)

【摘要】 失眠作为一种常见的临床疾病, 不仅影响患者的生活质量, 还可能引发其他健康问题。中医药在治疗失眠方面历经千年的沉淀与传承, 拥有独特优势, 通过辨证施治调整人体内在平衡达到治疗效果。为了更好地探讨中医药治疗失眠的机制, 制备与人类失眠症状相似的动物模型变得尤为重要。本文归纳总结现有的病证结合模型包括肝郁气滞型、心脾两虚型、心肾不交型、阴血亏虚型 4 大类, 对其具体造模方法、评价指标、模型表现进行探讨, 推进中医药认识本病的发病机制, 为临床疗效评估和新药研发提供技术支持。

【关键词】 失眠; 动物模型; 病证结合; 中医证候

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 12-0085-11

Research progress in animal models of insomnia based on combination of disease and syndrome

ZHAO Zhongmin¹, LIANG Shuzhi¹, GAO Xiangye¹, HOU Suyu¹, LUO Dandan¹, ZHANG Yan^{1*}, WANG Shijun^{1,2*}
(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Institute of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China.

2. Shandong Traditional Chinese Medicine Classic Famous Collaborative Innovation Center, Jinan 250355)

【Abstract】 Insomnia is a prevalent clinical condition that not only diminishes the patient's quality of life but also has the potential to give rise to further health complications. Traditional Chinese medicine (TCM) has been used to treat insomnia for thousands of years, with distinct advantages. TCM uses syndrome differentiation and therapy to achieve its therapeutic effects, by regulating the internal balance of the human body. To gain a deeper understanding of how TCM treats insomnia, it is crucial to create animal models that exhibit insomnia symptoms closely resembling those found in humans. This review summarizes the current disease-syndrome combination models, which can be classified into four categories: liver depression and Qi stagnation, heart-spleen deficiency, heart-kidney incompatibility, and Yin and blood deficiency. This paper focuses on specific modelling method ologies, assessment indicators, and model performances, with the aim of enhancing our understanding of the pathophysiology of insomnia in the context of TCM, and providing technical assistance for clinical efficacy evaluation and the creation of novel drugs.

【Keywords】 insomnia; animal model; combination of disease and syndrome; TCM syndrome

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

【基金项目】 国家自然科学基金 (82374330, 82174117); 山东省自然科学基金重大基础项目 (ZR2019ZD23); 山东省中医药科技发展计划项目 (2019-0034); 山东中医药大学青年科研创新团队 ([2024] 1-12)。

【作者简介】 赵中敏 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药复方作用机制及中药药性研究。E-mail: zzm2022110077@163.com

【通信作者】 张艳 (1973—), 女, 博士, 硕士生导师, 研究方向: 中药复方作用机制及中药药性研究。E-mail: zhangyan@sdutcm.edu.cn

王世军 (1963—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中西医结合基础研究。E-mail: pathology@163.com * 共同通信作者

失眠作为一种常见的临床疾病,以难以入睡或难以维持睡眠,并伴有疲劳、行为问题或情绪障碍、注意力不集中、记忆力减退等相关日间功能障碍为特点^[1-3]。西医的传统疗法多使用镇静安眠类药物,包括对苯二氮 受体激动剂、褪黑素受体激动剂、食欲素受体抑制药以及产生强烈催眠效果的抗抑郁药,但长期服用易致头痛、嗜睡、身体或心理的依赖性、成瘾性等副作用^[4]。而中医药在失眠治疗领域历史悠久,拥有其独特的辨证论治方法,可通过调节脑内神经递质的平衡,维持下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴的稳态并显著改善其潜在的病理变化^[5]、调控体内代谢^[6]、减轻炎症反应和炎症因子的释放^[7]等方面发挥重要作用。

目前,失眠是中医药实验研究的重点,多采用动物模型进行研究。但现有的动物模型主要以西医疾病为研究对象,以病为主,中医证型考虑较少,难以反映中医药防治失眠中医证的特点^[8]。因此,病证结合失眠动物模型的制备是实现中医药现代化研究的重要突破口。本文收集并归纳现有病症结合的失眠动物模型,以期为中医药研究失眠提供理论支持。

1 失眠的中医分型

辨证论治是中医治疗疾病的特色之一,通过表里、阴阳、寒热、四诊等方法明确疾病所处阶段,对证选方治疗疾病的一种方式。根据《失眠症中医临床实践指南(WHO/WPO)》^[9]和《中国失眠症诊断和治疗指南》^[10]将失眠分为肝郁化火证、心脾两虚证、心肾不交证、阴虚火旺证、痰热内扰证、心胆气虚证、胃气失和证和瘀血内扰证。

2 失眠病证结合动物模型

制备一个恰当合适的病证结合失眠动物模型是决定实验研究成功与否的关键。经过长期实践探索,失眠动物模型的技术已较成熟。目前,肝郁气滞型、心脾两虚型、阴血亏虚型、心肾不交型等失眠动物模型较为成熟,近年来还创新性地出现了肾不藏志型、肺不藏魄型、阳虚型等失眠动物模型的制备方法。本文就上述失眠证型探讨病证结合动物模型的构建,为中医药治疗失眠提供科学的方法论与坚实的理论依据。

2.1 肝郁气滞型动物模型

《丹溪心法》^[11]有言:“气血冲和,万病不生,一

有怫郁,诸病生焉。”肝失疏泄,气机郁滞,气有余便是火,煎熬津液,肝郁过盛制约脾土,使之阳盛阴衰,阳不入营,引起失眠。研究表明肝郁气滞型失眠的发生率为 57.35%^[12],是失眠的主要证型之一。临床上以入睡困难,善太息,烦躁易怒,胁肋胀满疼痛,食后腹胀痞满,女性乳房胀痛,月经不调。舌质暗红或淡红,苔白,脉弦^[13]。

肝郁气滞型失眠动物模型制备时,依据“怒伤肝,久则郁”的原理,通过多种干扰因素诱导动物产生心理和生理双重应激反应,引起实验动物肝气郁结,日久化热或肝郁日久克伐脾土,气血生化无源,神无所安,发为失眠。如吴丽丽^[14]采用“夹尾法+多平台水环境法”构建肝郁失眠模型,随机选取组内一只 Wistar 大鼠使用包裹纱布的止血钳将其尾巴夹住,以大鼠感到疼痛但不破血为宜,引发组内斗争,每天夹尾 30 min,每天 2 次,连续此操作 7 d,制备肝郁模型,运用多平台水环境法连续睡眠剥夺 48 h 进行模型构建,并应用此模型成功验证舒郁安神方治疗失眠大鼠的疗效。独家能等^[15]运用“慢性束缚法+夹尾法+对氯苯丙氨酸(DL-4-chlorophenylalanine, PCPA)”方法构建肝郁失眠模型,具体操作将造模组全组 SD 大鼠均使用医用胶带束缚前肢和夹尾 5 min,连续 21 d,并在第 14、15 天,腹腔注射(intraperitoneal injections, IP) 40 mg/(mL·d) PCPA。赵琳儒等^[16]也采用此法构建肝郁模型,所不同的是缩短束缚和夹尾时间至 3 min,连续进行 21 d,在造模第 15、16 天,IP 45 g/(L·d) PCPA。王婷婷等^[17]在上述基础上去掉束缚法,增加夹尾时间至 45 min,持续 20 d,并在第 16、17 天,IP 400 mg/(mL·d) PCPA,仍成功构建肝郁失眠模型。程程^[18]在独氏的基础上去掉 IP PCPA,采用“慢性束缚法+夹尾法”复合法使动物肝郁,在第 1 天,将 SD 大鼠放置于束缚制动筒内 4 h,并利用调整插片位来减少大鼠运动范围,以不产生激烈抵抗为宜。往后每天在此基础上增加 30 min,同时每日夹尾 30 min,连续此操作 15 d。在造模期间禁食禁水。最后运用龙胆泻肝汤“以方测证”明确该证型为肝郁化火型^[19]。张瑜等^[20]采用“夹尾法+PCPA+不规则饮食”制备肝郁脾虚模型,与王氏肝郁失眠模型不同的是随机选取组内一只 SD 大鼠夹尾 30 min,每天 2 次,持续 7 d,然后 IP 10 mL/(kg·d) PCPA 持续 2 d。大鼠单日禁食,双日给予 200 g 食物,饮水正常。见图 1。目前通过文

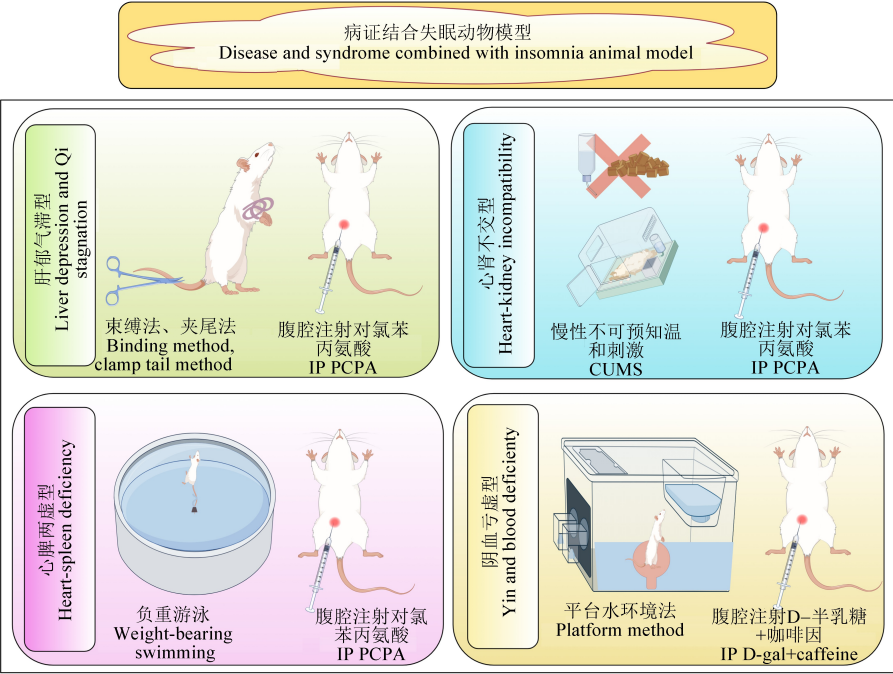


图 1 常见病证结合失眠动物模型制备方法 (由 Figdraw 绘制)

Figure 1 Preparation method of animal model of common diseases combined with insomnia (By Figdraw)

献整理发现,肝郁类证型失眠研究最多,复合情绪刺激造模与临床吻合度高,成功率高,可行性强^[21]。常用方法均是通过搭配夹尾法、束缚法和 PCPA 制备失眠模型,但具体选取何种造模方式搭配,模型造模时间仍值得研究者重点关注。

2.2 心脾两虚型动物模型

《素问·玉机真脏论》:“脾为孤脏,中央土以灌四傍。”中焦脾土,堪称“后天之本”,是气血生成的源泉与根基。脾胃虚弱,运化功能失常,水谷精微物质生成不足,心神难以濡养,心失所养,神无所安,发为失眠。该证型失眠的发生率为 25.3%^[22],临床以维持睡眠困难,睡后易醒,醒后难以入睡,心悸,神疲乏力,舌淡苔白,脉细弱为特点^[9]。

目前制备心脾两虚型失眠动物模型多依据“过劳伤脾”原理,使动物通过过度疲劳模拟“虚劳虚烦”病因,结合减慢心率、抑制心脏收缩力的西药使其“心失所养”,发为失眠。如廖艳等^[23]采用“负重游泳+盐酸普萘洛尔”制备目标模型,先每天令昆明小鼠尾部负荷 5% 重量的铅块,在水深 25 cm,水温 (20±5)℃ 的游泳箱内游泳至力竭,连续 15 d 后,再给予 1.5 mg/100 g 盐酸普萘洛尔溶液进行灌胃,1 天 1 次,连续进行 4 d。杨铭等^[24]在上述方法基础上以加用了利血平进行皮下注射 0.5 mg/(kg·d),连续 5 d,复制目标模型。王媛^[25]则选取“负重游泳

+PCPA”复制目的模型,于每日早上 8:00~9:00 将 SD 大鼠尾巴绑有 1 g 重量的铁块进行力竭游泳,连续 14 d,第 14、15 天,IP 0.04 g/(mL·d) PCPA,结果表明人参-酸枣仁能够通过 GLU/GABA-GLN 代谢环路改善心脾两虚失眠大鼠睡眠情况。见图 1。PCPA 是作为一种不可逆的色氨酸羟化酶抑制剂,可具有阻断 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 生成的合成功能,已被广泛接受并被视为目前公认的失眠造模方法型制作手段。但其溶解度有限制,在 25℃ 条件下,PCPA 的溶解度 0.96 mg/mL^[26],持续时间可长达一周^[27],失眠症状与人类相似,具有成功率高、稳定性强、简单便捷的优势。

2.3 心肾不交型动物模型

心主火,居于上焦;肾主水,位于下焦。二者通过三焦,使心阳向下温煦肾水,肾水向上滋养心阳,使得上下、阴阳、水火相交。这种动态平衡被称为心肾相交。若肾阴不足不能上济心火或心阳过亢不能温煦肾水,则心肾不交,心神不安,发为失眠。数据表明该型失眠发生率为 28.5%^[28],临床以入睡困难,甚至彻夜不眠,男子出现阳痿遗精,女子月经不调,舌红少苔,脉细为主要特征^[9]。

对相关文献整理发现,心肾不交型失眠在临床上广泛出现,但相关的实验研究较少,动物模型的制备仍不完善,制备合适且符合中医思路的动物模

型应值得研究者关注。心肾不交失眠动物模型的制备主要以慢性不可预知温和刺激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS) 为主,通过禁食禁水、潮湿垫料、夹尾、笼盒倾斜、冷水游泳等刺激,引起动物焦虑、抑郁等情绪,实验动物表现出白天少睡,精神不振,毛发干枯暗淡、易掉落,体重降低与心肾不交失眠临床症状相似^[29]。郜红利等^[30]采用“母乳鼠分离+CUMS+PCPA”制备目标模型,第 1~21 天,每日将乳鼠与母鼠分离 180 min,第 21~35 天,乳鼠随机接受一种 CUMS,第 35~37 天,乳鼠 IP 10 mL/(kg·d) PCPA。杨钰涵等^[29]在此基础上去掉母乳鼠分离,发现大鼠活动明显减少、毛发干枯杂乱、反应慢,精神萎靡等,符合心肾不交型失眠症状,成功构建目标模型。见图 1。

2.4 阴血亏虚型动物模型

《灵枢·邪客》亦云:“今厥气客于五脏六腑,则卫气独卫其外,行于阳,不得入于藏。行于阳则阳气盛,阳气盛则阳跷满,不得入于阴,阴虚,故目不瞑。”阴阳二气在体内相互平衡相互制约使得人体正常生理功能有序进行。阳气过于亢盛,阴气难以制约,表现为阴虚阳亢,阴虚日久耗伤精血,发为阴血亏虚。柳遍^[31]整理发现阴虚火旺型失眠频率最高,为 17.63%。临床上以入睡困难、虚烦不眠或睡后易醒;口燥咽干、潮热盗汗、五心烦热。舌红少苔,脉细数为特点^[9]。血虚证常以面色淡白或萎黄、心悸、月经延期等为主要临床表现。

黄攀攀等^[32]采用“D-半乳糖 (D-galactose, D-gal)+咖啡因+平台水环境法”复制老年阴虚失眠大鼠模型,实验的第 1~20 天,SD 大鼠背部皮下注射 60 mg/(kg·d) D-gal 制作衰老模型;第 21~28 天,在此基础上 IP 30 mg/(kg·d) 咖啡因;第 29~35 天,多平台水环境法睡眠剥夺 7 d,共计 35 d。见图

1。张舜波等^[33]采取“D-gal+环磷酰胺+氢化可的松+多平台水环境法”复合因素制备老年阴血亏虚型失眠模型,在上述基础上使用 Wistar 大鼠,将 D-gal 注射时间延长至 42 d,第 43~47 天,注射 100 mg/(kg·d) 环磷酰胺和 50 mg/(kg·d) 氢化可的松注射液制备血虚、阴虚模型,多平台水环境法制备失眠模型缩短为 2 d。黄晓巍等^[34]小鼠 IP 0.5 mg/(kg·d) 甲状腺素 7 d 制备阴虚模型。由此可见,阴虚、血虚症状常出现在老年阶段,且动物模型的制备大多依赖于注射药物,但林腊梅^[35]运用中医“肝藏血”理论,将 SD 大鼠肝切除,大鼠休息恢复 5 d 后,多平台水环境法进行睡眠剥夺 72 h,制备肝血虚动物模型。

2.5 其他动物模型

整理文献发现张星平教授团队按照不寐五神分型诊断法制备失眠动物模型,如肾不藏志型失眠动物模型的制备大多通过“D-gal+PCPA”制备^[36-37],极少数使用“湿地法”^[38],肺不藏魄型失眠主要依赖于“多平台水环境法”进行制备^[39-40]。多平台水环境法为常见的失眠造模方式之一,在实验动物的选择上更倾向于大鼠,大鼠体力强健,而且具有死亡率低、可控性强等优势。但是由于整个造模期间实验动物处于水中,脑电检测作为常见的失眠动物评价方法之一,会增加动物感染的概率,评价方法的选择上有所局限。其次实验持续周期较长,每天睡眠剥夺时长达 8~18 h,持续时间至少 3 周以上,同时动物饲养的成本增加^[41]。阳虚型则多依赖于“PCPA”制备^[42-43]。脾胃不和型则选取“碘乙酰胺灌胃法+PCPA”制备^[44]等相关失眠动物模型的制备方法。见表 1。但失眠病因病机复杂,证候繁多,仍有胃气失和、瘀血内阻等证型尚无动物模型的制备方法。

表 1 常见病证结合动物模型总结

Table 1 Summary of common disease and syndrome combined with animal model				
证型	动物品系	造模方式	造模时间	模型评价
Syndrome type	Animal strain	Modeling method	Modeling time	Model evaluation
肝郁气滞型 ^[14] Liver depression and Qi stagnation	Wistar 大鼠 (雄)	夹尾法+多平台水环境法	9 d	一般情况,脑组织 SOD、MDA 的含量,血浆中 6-keto-PGF _{1a} 及 TXB ₂ 的含量,Morris 水迷宫实验,脑组织 GLU 及 GABA 含量 In general, the content of SOD and MDA in brain tissue, 6-keto-PGF _{1a} and TXB2 in plasma contains, Morris water maze experiments, GLU and GABA content in brain tissue
	Wistar rats (male)	Clamp tail method + multi-platform method		

续表1

证型 Syndrome type	动物品系 Animal strain	造模方式 Modeling method	造模时间 Modeling time	模型评价 Model evaluation
肝郁气滞型 ^[15] Liver depression and Qi stagnation	SD 大鼠 (雌雄各半)	慢性束缚法+夹尾法+对 氯苯丙氨酸	21 d	一般情况和总睡眠量,糖水实验, Morris 水迷宫实验, 下 丘脑 CRH、血浆 ACTH、血清 CORT 含量
	SD rats (half male and half female)	Chronic restraint method + clamp tail method+PCPA		General condition and total sleep volume, sugar water test, Morris water maze test, hypothalamic CRH, plasma ACTH, serum CORT content
肝郁气滞型 ^[16] Liver depression and Qi stagnation	SD 大鼠 (雌雄各半)	夹尾法+慢性束缚法 +PCPA	21 d	一般情况,体重,血流液变学检测,血清中单胺类神经递 质含量
	SD rats (half male and half female)	Clamp tail method+chronic restraint stress+PCPA		General condition, body weight, blood fluidics, serum levels of monoamine neurotransmitters
肝郁气滞型 ^[17] Liver depression and Qi stagnation	昆明小鼠 (雄性)	夹尾法+PCPA	20 d	一般状况,血清 NE、DA、5-HT 及垂体 ACTH、下丘脑 CRH 的含量,脑组织 ACTH、5-HT 蛋白表达,脑组织 KCC2、NKCC1 mRNA 表达
	Kunming mice (male)	Clamp tail method+PCPA		General condition, serum NE, DA, 5-HT and pituitary ACTH, hypothalamus CRH content, brain tissue ACTH, 5- HT protein expression, brain tissue KCC2, NKCC1 mRNA expression
肝郁气滞型 ^[18] Liver depression and Qi stagnation	SD 大鼠(雄性)	慢性束缚法+夹尾法	15 d	一般状况,戊巴比妥钠睡眠实验,鼠尾悬挂实验,高架十 字迷宫实验,NE、DA、CORT 含量,下丘脑室旁核 CRH、 肾上腺素受体 α 1 和 α 2,蓝斑核 NET,垂体 ACTH,海马 GABA 含量,胸腺指数与脾指数
	SD rat (male)	Chronic restraint method + clamp tail method		General condition, sodium pentobarbital sleep test, rat tail suspension test, elevated cross maze test, NE, DA, CORT content, hypothalamic paraventricular nucleus CRH, adrenergic receptors α 1 and α 2, locus coeruleus NET, pituitary ACTH, hippocampal GABA content, thymus index and spleen index
肝郁气滞型 ^[20] Liver depression and Qi stagnation	SD 大鼠(雄性)	夹尾法+PCPA+不规则 饮食	9 d	一般状况,CCK-8 含量
	SD rat (male)	Clamp tail method+PCPA +irregular diet		General condition, CCK-8 content
心脾两虚型 ^[23] Heart-spleen deficiency syndrome	昆明小鼠(雄性)	负重游泳+盐酸普萘洛尔	15 d	体重和摄食量,胸腺、脾指数,戊巴比妥钠翻正实验,力 竭负重游泳时间和悬尾不动时间、血清中谷丙转氨酶 ALT、ALP、AST、LDH、CK 含量,心、肝、脾和肌肉组织病 理学检查
	Kunming mice (male)	Weight-bearing swimming+ propranolol hydrochloride solution		Body weight and food intake, thymus and spleen index, sodium pentobarbital correction test, exhaustive weight- bearing swimming time and tail suspension time, serum alanine aminotransferase ALT, ALP, AST, LDH, CK content, histopathological examination of heart, liver, spleen and muscle
心脾两虚型 ^[24] Heart-spleen deficiency syndrome	ICR 小鼠(雌雄兼 有)	负重游泳+心得安+利 血平	15 d	一般情况及体重,悬尾不动时间及游泳时间,戊巴比妥 钠翻正实验,小肠推进实验,5-HT、GABA、GLU 含量
	ICR mice (both male and female)	Weight-bearing swimming+ propranolol+reserpine		General condition and body weight, tail suspension immobility time and swimming time, sodium pentobarbital correction test, small intestine propulsion test, 5-HT, GABA, GLU content

续表1

证型	动物品系	造模方式	造模时间	模型评价
Syndrome type	Animal strain	Modeling method	Modeling time	Model evaluation
心脾两虚型 ^[25] Heart-spleen deficiency syndrome	SD 大鼠(雄性) SD rats (males)	负重游泳+PCPA Weight-bearing swimming +PCPA	15 d	一般状况,呼吸频率,戊巴比妥钠睡眠时间,力竭游泳时间,海马 GABA、GLU、GAD65 的含量,海马 GABAAR α 1 mRNA、mGluR5 mRNA、GluR1 mRNA 的表达 General condition, respiratory rate, pentobarbital sodium sleep time, exhaustive swimming time, hippocampal GABA, GLU, GAD65 content, hippocampal GABAAR α 1 mRNA, mGluR5 mRNA, GluR1 mRNA expression
心肾不交型 ^[30] Disharmony between heart and kidney	SD 大鼠窝鼠(雌雄不限) SD rat nest rat (male or female)	母乳鼠分离+慢性不可预知温和刺激+PCPA Female-rat separation + chronic unpredictable mild stimulation+PCPA	37 d	一般行为,血象,心率和收缩压,HPA 轴激素水平 General behavior, blood count, heart rate and systolic blood pressure, HPA axis hormone levels
心肾不交型 ^[29] Disharmony between heart and kidney	Wistar 大鼠(雄性) Wistar rat (male)	1. PCPA 2. 慢性不可预知温和刺激+PCPA 1. PCPA 2. Chronic unpredictable mild stress+PCPA	23 d	一般情况,体重,肾上腺脏器指数和脾脏器指数,HPA 轴激素水平 General condition, body weight, adrenal and spleen indexes, HPA axis hormone levels
阴血亏虚型 ^[32] Deficiency of yin and blood	SD 大鼠(雄性) SD rat (male)	D-半乳糖+咖啡因+多平台水环境法 D-gale + caffeine + multi-platform method	35 d	一般情况,呼吸频率,心率和收缩压,力竭性游泳时间,血象,体重、耳温,摄食量 General condition, respiratory rate, heart rate and systolic blood pressure, exhaustive swimming time, blood count, body weight, ear temperature, food intake
阴血亏虚型 ^[33] Deficiency of yin and blood	Wistar 大鼠(雌雄各半) Wistar rats (half male and half female)	D-半乳糖+环磷酰胺+氢化可的松+多平台水环境法 D-gal + cyclophosphamide + hydrocortisone + multi-platform method	49 d	皮质、海马中氨基酸类神经递质含量,GABAAR α 1 和 γ 2 亚单位免疫组织化学染色和半定量检测 Amino acid neurotransmitters in cortex and hippocampus were determined by GABAAR α 1 and γ 2 subunit immunohistochemical staining and semi-quantitative determination
阴血亏虚型 ^[34] Deficiency of yin and blood	ICR 小鼠(雌雄各半) ICR mice (half male and half female)	甲状腺素 Thyroxine	7 d	行为学实验,旷场实验,体重,饮水量、进食量,肛温,血清中 5-HT、DA、NE、 γ -GABA、GLU、TSH,血浆中 cAMP、cGMP 含量,脑组织中 CRH、ACTH 蛋白表达水平 Behavioral experiments, open field experiments, body weight, water intake, food intake, rectal temperature, 5-HT, DA, NE, γ -GABA, GLU, TSH in serum, cAMP and cGMP in plasma, and CRH and ACTH protein expression levels in brain tissue
阴血亏虚型 ^[35] Deficiency of yin and blood	SD 大鼠(雌雄各半) SD rats (half male and half female)	肝切除+多平台水环境法 Liver resection + multi-platform method	10 d	一般情况,血象,单胺类神经递质含量,氨基酸类神经递质水平 Generally, blood profile, monoamine neurotransmitter content, amino acid neurotransmitter levels
肾不藏志型 ^[36] Kidneys are not hidden	SD 大鼠(雄性) SD rats (male)	D-gal+PCPA	45 d	脑电检测,戊巴比妥钠翻正实验,免疫组化法检测相关脏器组织中 IL-10、IL-1 β 的表达水平差异 Expression levels of IL-10 and IL-1 β in relevant organs were detected by EEG, pentobarbital sodium correction test and immunohistochemistry
肾不藏志型 ^[37] Kidneys are not hidden	SD 大鼠(雄性) SD rats (male)	D-gal+PCPA	45 d	各脏器组织中 IL-6、TNF- α 表达免疫组化检测 Immunohistochemical detection of IL-6 and TNF- α expression in various tissues

续表1

证型 Syndrome type	动物品系 Animal strain	造模方式 Modeling method	造模时间 Modeling time	模型评价 Model evaluation
肾不藏志型 ^[38] Kidneys are not hidden	SD 大鼠(雄性) SD rats(male)	湿地法 Wetlands act	21 d	一般情况,体重和血清 MT 浓度,水迷宫实验,戊巴比妥钠实验,中段脑 GPR50 表达比较 General condition, body weight, and serum MT concentration, water maze test, sodium pentobarbital test, and midstream brain GPR50 expression comparison
肺不藏魄型 ^[39] Lungs do not hide the type	SD 大鼠(雄性) SD rats(male)	平台水环境法 Platform method	9 d	各部位 5-HT1AR 及 5-HT2AR 的表达 Expression of 5-HT1AR and 5-HT2AR in each part
肺不藏魄型 ^[40] Lungs do not hide the type	SD 大鼠(雄性) SD rats(male)	多平台水环境法 Multi-platform method	42 d	体重,戊巴比妥钠翻正实验,水迷宫实验,脑肌电检测, MT 浓度检测,GPR50 在多个脑区表达,松果体超微结构观察 Body weight, sodium pentobarbital correction test, water maze test, brain electromyography detection, MT concentration detection, GPR50 expression in multiple brain regions, and pineal gland ultrastructure observation
阳虚型 ^[42] Yang deficiency type	SD 大鼠(雄性) SD rats(male)	PCPA	2 d	一般情况 General condition
阳虚型 ^[43] Yang deficiency type	Wistar 大鼠(雌雄兼用) Wistarrat (both male and female)	肩胛骨间棕色脂肪组织切除术+高脂饲料+PCPA Interscapular brown adipose tissue excision + high-fat diet + PCPA	23 d	orexin mRNA 表达及 5-HT, CRH, ACTH 含量 orexin mRNA expression and 5-HT, CRH, and ACTH contents
肝脾不和型 ^[44] Liver-spleen disharmony	Wister 乳鼠(雄性,带母鼠) Wester suckling rats (male, with female)	碘乙酰胺灌胃法+PCPA Iodoacetamide gavage metho+PCPA	55 d	一般情况,戊巴比妥钠翻正实验,海马病理变化,下丘脑 5-HT 的含量,下丘脑内 5-HT1A、5-HT2A 蛋白的表达,下丘脑内 5-HT1A、5-HT2A mRNA 的表达量 In general, pentobarbital sodium correction test, pathological changes in hippocampus, content of 5-HT in hypothalamus, expression of 5-HT1A and 5-HT2A proteins in hypothalamus, and expression of 5-HT1A and 5-HT2A mRNA in hypothalamus

3 小结

失眠作为当前研究的一个热点,其重要性和关注度日益增加。中医药认为失眠是由于脏腑功能失调、气血阴阳失衡所致,因此根据整体观念、辨证施治为指导原则进行调理。为了更好地推动中医药事业研究失眠、完善病症结合的失眠动物模型是今后的重点研究方向。在常见的西医失眠模型制备基础上,通过多种因素模拟中医病因病机,建立病证结合失眠动物模型,有利于评估药物的功效,揭示药物的作用机制,有助于中医药现代化的推进。

研究者在制备病证结合的失眠动物模型时,常选用成本较低的 Wistar 大鼠、SD 大鼠、ICR 小鼠为造模对象,平台水环境法、注射 PCPA、咖啡因等方

法制备失眠模型,采用戊巴比妥钠睡眠协同实验、脑肌电图作为评判标准,检测神经递质变化验证失眠模型是否成功^[45-46]。对于中医证型,则根据中医理论,模拟中医病因病机,运用慢性束缚、CUMS、负重游泳等物理诱导因素,盐酸普萘洛尔、D-gal、环磷酸胺+氢化可的松等化学因素,或将以上因素复合,以制备具有中医证型特点的失眠模型,运用中医“望”的方法,观察动物精神状态、行为、皮毛、爪甲、口唇等整体变化鉴定中医证型,借助现代行为学实验、微观检测分子生物学指标进一步鉴定。如肝郁气滞型动物常表现精神差、好斗,为进一步验证肝气郁滞的证候特点,研究者常借助旷场实验、糖水偏好实验,以及检测 HPA 轴的变化;心脾两虚型多

表现为精神萎靡、饮食减少、爪甲苍白,研究者多同时开展现代力竭游泳实验、悬尾实验,检测胸腺、脾指数的变化;阴血亏虚型表现口唇呈苍白色,毛发干枯杂乱,爪甲粗糙,研究者常同时检测血象变化;心肾不交型动物则常由亢奋转变为抑制,双目、口唇苍白,爪甲光滑等,研究者借助检测肾上腺脏器指数、心率、血压、HPA 轴等微观变化进一步验证。

但是目前,失眠病证动物模型的制备,仍存在以下不足:(1)实验动物种类、品系、性别选取不统一。遗传体质能够一定程度上决定疾病证型,这在不同遗传背景的实验动物中也存在类似现象^[47]。例如,研究发现,大鼠和小鼠是适宜于制备失眠肝郁证型的动物。其中,Wistar 大鼠因对外界刺激更为敏感,相较于 SD 大鼠可能是更为合适的选择^[48]。此外,动物性别选择偏向于雄性,与临床中失眠以女性患病率更高不相符^[49]。因此,今后研究者可进行与失眠病证适宜动物种类、品系、性别的探索,并可建立失眠病证实验动物选取标准,以便规范制备证候类型的适用动物。(2)中医证型判断不精确。传统中医根据“望、闻、问、切”四诊合参对疾病的证型做出判断,但目前动物模型中多采用“望”,其他形式采用较少,而且“望”的过程中,大多依据个人经验作出主观判断,今后研究者可借助现代 AI 技术,研发一种能全面捕捉实验动物的复杂行为模式,筛选出证型密切相关的行为学指标,并实现舌象与脉象的精确量化测量,构建中医证型的量化评价体系表,在遵循中医理论的前提下,做到客观量化,并以此做为失眠病证模型制备成功的宏观评价指标。同时,研究者可以运用系统生物学^[50]和现代生物组学,从基因组学、蛋白质组学、代谢组学、生物信息学等多层次进行深入研究,进一步探索筛选出与证型密切相关,又简便易测的血液、大小便特异性指标,以此作为失眠病证动物模型制备成功的微观评价指标。(3)在明确宏观与微观模型制备成功评价指标的前提下,相同中医证型可以采用不同的造模方法。如肝郁证型中,可根据失眠-肝郁证型模型制备成功的评价指标,明确适宜的束缚、夹尾时长、周期。根据心脾两虚型失眠模型制备成功的评价指标,确定造模的适宜药物及剂量。此外,同一证型模型的制备可借鉴参考其他疾病中的方法进行制备。

病证结合动物模型是医学基础研究和临床研

究的桥梁。病证结合动物模型的制备应以中医药理论为指导,借助现代科学技术,与现代医学先进的理论方法相结合。虽然失眠中医病证结合动物模型取得了一定的成绩,但仍需要进一步完善客观化、量化、规范化,宏观与微观的病证结合模型评价指标,为中医药防治疗失眠的现代化和国际化提供有力支持。

参考文献:

- [1] 高和.《国际睡眠障碍分类》(第三版)慢性失眠障碍的诊断标准 [J]. 世界睡眠医学杂志, 2018, 5(5): 555-557.
GAO H. International classification of sleep disorders (ICSD-3) diagnostic criteria for chronic insomnia [J]. World J Sleep Med, 2018, 5(5): 555-557.
- [2] KUTSCHER S, JUANG C. Insomnia [J]. Continuum, 2023, 29(4): 1167-1187.
- [3] HUANG L, ZHU W, LI N, et al. Functions and mechanisms of adenosine and its receptors in sleep regulation [J]. Sleep Med, 2024, 115: 210-217.
- [4] 郑俊玮, 孟适秋, 刘玉珩, 等. 镇静催眠药的合理使用与滥用 [J]. 四川大学学报(医学版), 2023, 54(2): 231-239.
ZHENG J W, MENG S Q, LIU W Y, et al. Appropriate use and abuse of sedative-hypnotic drugs [J]. J Sichuan Univ Med Sci, 2023, 54(2): 231-239.
- [5] DONG Y J, JIANG N H, ZHAN L H, et al. Soporific effect of modified Suanzaoren Decoction on mice models of insomnia by regulating Orexin-A and HPA axis homeostasis [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 143: 112141.
- [6] 王泽琨, 刘沈林, 于小聪, 等. 基于血清代谢组学探讨复方枣仁颗粒改善失眠的机制 [J]. 中国药房, 2023, 34(9): 1093-1098.
WANG Z K, LIU S L, YU X C, et al. Study on the mechanism of compound Zoren granule to improve insomnia based on serum metabolomics [J]. Chin Pharm, 2019, 34(9): 1093-1098.
- [7] 王雅静, 杨伟丽, 刘艳蕊, 等. 基于 TLR4/NF-κB/MLCK 通路探讨百合地黄汤治疗失眠伴肠道菌群失调小鼠的机制 [J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35(5): 681-693.
WANG Y J, YANG W L, LIU Y R, et al. Exploration of the mechanism of Baihe Dihuang Decoction in treating insomnia with intestinal flora disturbance in mice based on TLR4/NF-κB/MLCK pathway [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2024, 35(5): 681-693.
- [8] 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.
LI L, LIU J X, REN J G, et al. Research status and perspective of animal models in research and development traditional Chinese medicine [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(1): 104-110.
- [9] 中医科学院失眠症中医临床实践指南课题组. 失眠症中

- 医临床实践指南 (WHO/WPO) [J]. 世界睡眠医学杂志, 2016, 3(1): 8-25.
- Research Group of Clinical Practice Guidelines for Insomnia in Chinese Medicine, Academy of Chinese Medical Sciences. TCM clinical guidelines of insomnia research group (WHO/WPO) [J]. World J Sleep Med, 2016, 3(1): 8-25.
- [10] 中国睡眠研究会. 中国失眠症诊断和治疗指南 [J]. 中华医学杂志, 2017, 97(24): 1844-1856.
- CHINESE SLEEP RESEARCH SOCIETY. China guidelines for diagnosis and treatment of insomnia [J]. Natl Med J China, 2017, 97(24): 1844-1856.
- [11] (元)朱震亨. 丹溪心法 [M]. 北京: 科学出版社, 2022.
- ZHU Z H. Danxi Mentality [M]. Beijing: Science Press, 2022.
- [12] LI L, DONG L L, LI X R, et al. Effects of acupuncture on behaviors and expression levels of 5-HT1AR and 5-HT2AR in the hippocampus of insomnia rats due to liver Qi stagnation [J]. J Acupunct Tuina Sci, 2023, 21(5): 337-345.
- [13] 中国民族医药学会睡眠分会. 中国民族医药治疗成人失眠的专家共识 [J]. 北京中医药大学学报, 2022, 45(1): 21-28.
- Chinese Society of Ethnomedicine Sleep branch. Expert consensus on the treatment of adult insomnia with traditional Chinese medicine [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2022, 45(1): 21-28.
- [14] 吴丽丽. 老年肝郁失眠大鼠模型的建立及舒郁安神方作用的研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2008.
- WU L L. Establishment of a rat model of liver depression and insomnia in the elderly and study of the effects of Shuyu Anshen Recipe [D]. Wuhan: Hubei College of Traditional Chinese Medicine, 2008.
- [15] 独家能, 聂春霞, 许雯雯, 等. 柴欢宁神颗粒对肝郁失眠证候大鼠模型行为学及下丘脑-垂体-肾上腺轴的影响 [J]. 中国医药导报, 2018, 15(5): 13-17.
- DU J N, NIE C X, XU W W, et al. Effects of Chaihuan Ningshen Granules on the behavior and hypothalamic-pituitary-adrenal axis of rats with insomnia with syndrome of stagnation of liver qi [J]. China Med Her, 2018, 15(5): 13-17.
- [16] 赵琳儒, 张月, 何盼, 等. 基于 LC-MS 代谢组学技术的柴苓宁神颗粒治疗肝郁失眠证的作用机制分析 [J]. 中药药理与临床, 2022, 38(6): 64-70.
- ZHAO L R, ZHANG Y, HE P, et al. Analysis of the mechanism of action of Chaifin Ningshen Granules in the treatment of liver depression and insomnia based on LC-MS metabolomics technology [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2022, 38(6): 64-70.
- [17] 王婷婷, 郝蕾, 王芮, 等. 酸枣仁-延胡索配伍对肝郁型失眠小鼠的作用及机制研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(5): 619-626.
- WANG T T, HAO L, WANG R, et al. Effect and mechanism of combining ziziphi spinosae Semen and Corydalis rhizoma on insomnia mice model with liver depression syndrome [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2021, 32(5): 619-626.
- [18] 程程. 慢性束缚加疼痛法复制大鼠模型的“以方测证”研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2021.
- CHENG C. Research on “prescription testing” of chronic restraint and pain replication rat model [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2021.
- [19] 钟森杰, 李静, 李琳, 等. “以方测证”在中医证候模型研究中的应用述评 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(2): 48-50.
- ZHONG S J, LI J, LI L, et al. Review on application of “syndrome differentiation through formula effect assessment” in TCM syndrome model research [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2021, 39(2): 48-50.
- [20] 张瑜, 王秀峰, 曾雪爱, 等. 肝郁脾虚方对失眠大鼠血浆和下丘脑胆囊收缩素-8 的影响 [J]. 世界睡眠医学杂志, 2021, 8(1): 38-40.
- ZHANG Y, WANG X F, ZENG X A, et al. Effect of Ganyu pixu formula on plasma and hypothalamus cholecystokinin-8 levels in insomnic rats [J]. World J Sleep Med, 2021, 8(1): 38-40.
- [21] 石亮, 孙佳惠, 孙蓉. 单一情绪刺激与复合情绪刺激对肝郁证动物模型作用的比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(4): 82-88.
- SHI L, SUN J H, SUN R. Comparison of the effects of single emotional stimulus and complex emotional stimuli on the rat model of liver depression syndrome [J]. Chin J Comp Med, 2017, 27(4): 82-88.
- [22] 户家轩, 周岳君, 刘媛, 等. 失眠患者 637 例证型与体质类型的相关性研究 [J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(7): 3372-3375.
- HU J X, ZHOU Y J, LIU Y, et al. Study on the correlation between 637 cases of insomnia and physical types [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2023, 38(7): 3372-3375.
- [23] 廖艳, 热依拉·吐尔逊, 高鑫, 等. 补脾养心方对心脾两虚证失眠小鼠补益心脾及改善睡眠的研究 [J]. 环球中医药, 2023, 16(7): 1279-1287.
- LIAO Y, TUERXUN R, GAO X, et al. A study on Bupiyangxin decoction on the improvement of the heart and spleen and sleep improvement in mice with insomnia with two deficiency of the heart and spleen [J]. Glob Tradit Chin Med, 2023, 16(7): 1279-1287.
- [24] 杨铭, 于德伟, 赫慧, 等. 人参白术枣仁颗粒对心脾两虚证失眠小鼠睡眠的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(10): 6128-6131.
- YANG M, YU D W, HE H, et al. Effects of Renshen Baizhu Zaoren Granules on insomnia mice with syndrome of deficiency of heart and spleen [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2021, 36(10): 6128-6131.
- [25] 王媛. 基于“脑肠轴”探讨药对人参-酸枣仁对心脾两虚失眠大鼠的影响 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2022.
- WANG Y. Based on the “brain-intestine axis”, this paper

- discusses the influence of drugs on ginseng-*Ziziphus jujuba* seed on insomnia rats with deficiency of both heart and spleen [D]. Shenyang: Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2022.
- [26] LI X, HE C, SHEN M, et al. Effects of aqueous extracts and volatile oils prepared from Huaxiang Anshen decoction on p-chlorophenylalanine-induced insomnia mice [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 319(Pt 3): 117331.
- [27] 郭海波, 王慧. 对氯苯丙氨酸在动物失眠模型中的应用概述 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(6): 135-140.
GUO H B, WANG H. Application of para-chlorophenylalanine in animal models of insomnia [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(6): 135-140.
- [28] 戴永生. 1353 例失眠病证诊治分析 [J]. 贵阳中医学院学报, 2019, 41(4): 35-37, 76.
DAI Y S. Analysis of diagnosis and treatment of 1353 cases of insomnia [J]. J Guiyang Tradit Chin Med, 2019, 41(4): 35-37.
- [29] 杨钰涵, 孙雨, 王珺, 等. 中医病证相符的大鼠心肾不交失眠模型的建立及其血清代谢组学研究 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(2): 383-390.
YANG Y H, SUN Y, WANG J, et al. Establishment of rat heart-kidney insomnia model consistent with traditional Chinese medicine syndrome and its serum metabolomics [J]. China J Chin Mater Med, 2020, 45(2): 383-390.
- [30] 郇红利, 涂星, 卢映, 等. 心肾不交所致失眠大鼠模型 [J]. 中成药, 2014, 36(6): 1138-1141.
GAO H L, TU X, LU Y, et al. Rat model for insomnia caused by heart-kidney imbalance [J]. Chin Tradit Pat Med, 2014, 36(6): 1138-1141.
- [31] 柳遍. 基于近十年文献研究不寐的证候特征及病机探索 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2023.
LIU B. Study on the syndrome characteristics and pathogenesis of insomnia based on the literature in recent ten years [D]. Changchun: Changchun University of Chinese Medicine, 2023.
- [32] 黄攀攀, 王平, 李贵海, 等. 老年阴虚失眠动物模型的建立与评价 [J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(8): 1719-1723.
HUANG P P, WANG P, LI G H, et al. Establishment and evaluation on a Yin-weakness syndrome model of insomnia in senile rats [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2010, 28(8): 1719-1723.
- [33] 张舜波, 王平, 田代志, 等. 酸枣仁总皂苷对失眠老年大鼠脑氨基酸类神经递质及受体表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(4): 124-127.
ZHANG S B, WANG P, TIAN D Z, et al. Effects of jujuboside on amino acid neurotransmitters and its receptor expression in the brain of syndrome insomnia old rats [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2014, 20(4): 124-127.
- [34] 黄晓巍, 王宇, 王亚杰, 等. 枣仁茯苓玉竹膏改善阴虚型失眠作用研究 [J]. 人参研究, 2022, 34(2): 21-26.
HUANG X W, WANG Y, WANG Y J, et al. ZaoRenFuLingYuZhu plasters for study on the effect of improving insomnia of Yin deficiency type [J]. Ginseng Res, 2022, 34(2): 21-26.
- [35] 林腊梅. 酸枣仁汤对肝血虚失眠模型大鼠神经递质的影响 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2014.
LIN L M. Effect of Suanzaoren Decoction on neurotransmitters in insomnia model rats with liver-blood deficiency [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2014.
- [36] 陈旭, 张星平, 梁瑞宁, 等. 肾不藏志型不寐模型大鼠相关组织 IL-10、IL-1 β 的表达差异研究 [J]. 云南中医药大学学报, 2023, 46(4): 81-86.
CHEN X, ZHANG X P, LIANG R N, et al. Study on the expression differences of IL-10 and IL-1 β in relevant tissues of rats with renal insomnia model [J]. J Yunnan Univ Tradit Chin Med, 2023, 46(4): 81-86.
- [37] 陈旭, 张星平, 梁瑞宁, 等. 肾不藏志型不寐大鼠肾、心、脑等相关组织 IL-6、TNF- α 表达的差异研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2023, 32(15): 2066-2070.
CHEN X, ZHANG X P, LIANG R N, et al. Study on the differential expression of IL-6 and TNF- α in kidney, heart, brain and other related tissues of rats with kidney failure type insomnia [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2023, 32(15): 2066-2070.
- [38] 闫德祺, 张星平, 邓宁, 等. 久坐湿地法建立肾不藏志不寐大鼠模型的研究 [J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(3): 1254-1258.
YAN D Q, ZHANG X P, DENG N, et al. Study on establishment of a rat model of insomnia with kidney not being able to store Zhi by long time sitting on the wetland [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2023, 38(3): 1254-1258.
- [39] 王凯凯, 张星平, 王冠英, 等. 肺不藏魄型失眠大鼠相关器中 5-HT_{1A} 及 5-HT_{2A} 受体的表达研究 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(4): 2227-2230.
WANG K K, ZHANG X P, WANG G Y, et al. Research on expression of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors in related organs of insomnia rats with lung not storing inferior spirit [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2022, 37(4): 2227-2230.
- [40] 闫德祺, 张星平, 邓宁, 等. 魄不安于肺不寐大鼠褪黑素及其相关受体的变化 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(5): 2924-2928.
YAN D Q, ZHANG X P, DENG N, et al. Changes in melatonin and its related receptors in rats with poor lung and insomnia [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2022, 37(5): 2924-2928.
- [41] 刁华琼, 张婧, 王敏, 等. 改良的多平台水环境法在睡眠剥夺动物模型中的应用与评价 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(1): 120-128.
DIAO H Q, ZHANG J, WANG M, et al. Application and evaluation of the modified multi-platform method in animal model of sleep deprivation [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(1):

120–128.

[42] 王志鹏. 桂枝甘草龙骨牡蛎汤对阳虚证失眠大鼠脑内 5-HT、NE 含量的影响 [D]. 南京: 东南大学, 2015.

WANG Z P. Effect of Guizhi Gancao Longgu Muli Decoction on the content of 5-HT and NE in brain of insomnia rats with Yang deficiency syndrome [D]. Nanjing: Southeast University, 2015.

[43] 韦祎, 唐汉庆, 李克明, 等. 脾阳虚证失眠大鼠模型的建立和附子理中汤的干预效应 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(16): 289–292.

WEI Y, TANG H Q, LI K M, et al. Establishment of rat spleen Yang deficiency syndrome insomnia model and effect of Fuzi Lizhong Decoction on it [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2013, 19(16): 289–292.

[44] 冯志涛. 基于“脑肠互动”理论的不同选穴法针刺治疗原发性失眠(脾胃不和型)效应差异及机制的研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2023.

FENG Z T. Study on the effect difference and mechanism of different acupoint selection methods based on the theory of “brain-intestine interaction” in treating primary insomnia (spleen-stomach disharmony) [D]. Changchun: Changchun University of Chinese Medicine, 2023.

[45] 胡金, 韦姗姗, 彭君美, 等. 药物筛选的常用失眠动物模型的研究状况 [J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(18): 2708–2712.

HU J, WEI S S, PENG J M, et al. Research status of commonly used insomnia animal models for drug screening [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2023, 39(18): 2708–2712.

[46] 李紫东, 张明星, 方晓艳, 等. 基于中西医临床病症特点的失眠动物模型分析 [J]. 中药新药与临床药理, 2022, 33(8): 1102–1107.

LI Z D, ZHANG M X, FANG X Y, et al. Analysis of insomnia animal models based on the characteristics of clinical symptoms in Chinese and western medicine [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2022, 33(8): 1102–1107.

[47] 郭淑贞, 王伟. 中医证候形成的“三因”理论 [J]. 中医杂志, 2020, 61(17): 1493–1497.

GUO S Z, WANG W. The “three causes” theory of TCM syndrome formation [J]. J Tradit Chin Med, 2020, 61(17): 1493–1497.

[48] 王雯, 侯雨君, 王路, 等. 胃溃疡中医证候动物模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(10): 1351–1360.

WANG W, HOU Y J, WANG L, et al. Research progress on animal model establishment and evaluation of TCM syndromes of gastric ulcer [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(10): 1351–1360.

[49] WANG S, LIU L, LIANG S, et al. Effects of BXSMC on ESR1 and ESR2 expression in CSD female mice [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 318(Pt B): 116973.

[50] 袁顺, 王宁, 孟丹丹, 等. 系统生物学在中医证候模型评价方法中的应用与研究进展 [J]. 中国中西医结合杂志, 2020, 40(10): 1252–1257.

YUAN S, WANG N, MENG D D, et al. Application and progress of systems biology in evaluation of TCM syndrome models [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2020, 40(10): 1252–1257.

[收稿日期]2024-05-22