

# 病证结合的肠易激综合征动物模型研究进展

李依洁 魏玮 苏晓兰 杨晨 郭宇

**【摘要】** 本文旨在总结近几年肠易激综合征在中医药相关研究中建立的病证结合动物模型。发现相应病证结合动物模型的研究并未随着证型分布的研究而深入,仅在肝气乘脾证、肝郁气滞证、脾肾阳虚证、脾胃湿热证等证型的研究较多。本文遂从证型角度探索以上证型模型的研究进展。

**【关键词】** 肠易激综合征; 动物模型; 病证结合

**【中图分类号】** R256.3 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2016.02.045

**Disease and pattern-based Irritable Bowel Syndrome( IBS) Animal Models** LI Yi-jie, WEI Wei, SU

Xiao-lan, et al. Dongzhimen Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China

Corresponding author: WEI Wei, E-mail: sxxtty@sina.com

**【Abstract】** In this review, we summarize experimental animal models of irritable bowel syndrome (IBS) based on differentiation of disease and pattern in traditional Chinese medicine (TCM). Our findings show that the corresponding animal models involve only a few patterns, instead of covering all the patterns. Liver-qi stagnation pattern, the pattern of the liver overacting on the spleen, yang deficiency pattern of the spleen and kidney and the pattern of dampness-heat in the spleen and stomach are patterns most often studied. This review summarizes the research progress of the above models from the perspective of pattern types.

**【Key words】** Irritable bowel syndrome; Animal models; Combination of disease and pattern

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是十分常见的消化系统功能性疾病,其患病率逐年升高<sup>[1]</sup>,受到了行业的广泛重视。针对 IBS 的动物模型建立方法包括物理化学刺激造模、心理应激造模、导泻造模及复合方法造模等<sup>[2]</sup>。在中医动物实验研究现代化的过程中,考虑到辨证论治的核心思想,逐渐倡导制备病证结合的证候模型<sup>[3]</sup>。本文即以证型为纲进行了相关总结,以期对中医药研究 IBS 的动物实验提供模型借鉴意义。

## 1 肝气乘脾证的 IBS 动物模型

肝气乘脾证,是基于肝经郁滞、气盛化火、木火乘土导致脾土受制、脾气不舒、难以运化,或脾血不足、生化乏源,又常被称为肝郁脾虚证。在 IBS 中医临床辨证统计中,肝郁脾虚证的患者比例最大,占 85.6%<sup>[4]</sup>,而根据共识意见<sup>[5]</sup>描述此证多见腹泻型肠易激综合征(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, IBS-D)。

### 1.1 肝气乘脾证的 IBS-D 动物模型

岳利峰等<sup>[6]</sup>采用慢性束缚方法制作应激模型。而唐洪梅等<sup>[7]</sup>考虑要集合肝郁和脾虚两点因素,采用大黄结合夹尾应激法和番泻叶结合束缚应激法分别进行大鼠行为学应激,以此产生肝郁类似影响,并以化学性刺激导泻产生脾虚类似结局。造模结束后,根据其粪点数和排便时间进行评价,证实其能成功诱导肝郁脾虚证 IBS-D,并导致肠道高敏

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(81403389)

作者单位:100700 北京中医药大学第一临床医学院[李依洁(博士研究生)、郭宇];中国中医科学院望京医院脾胃病科(苏晓兰、魏玮);密云中医医院急诊科(杨晨)

作者简介:李依洁(1989-),女,2014 级在读博士研究生。研究方向:中西医结合治疗脾胃病。E-mail:lyj.lyj@163.com

通讯作者:苏晓兰(1982-),女,博士研究生,住院医师。研究方向:中西医结合消化病学。E-mail:suxiaolan1982@126.com

性。具体实验方法如下:前法以大黄煎煮液灌胃,同时夹尾 30 min/次,每日 2 次;后法灌以番泻叶煎煮液,同时用棉绳束缚四肢限制活动 1h/次,每日 1 次,两法连续造模 7 天。周云等<sup>[8]</sup>同样采用番泻叶水煎剂灌胃加四肢束缚应激法造模后,发现大鼠体重下降,且粪便含水量、稀便级数、小肠炭末推进百分率、血清中 5-羟色胺的含量、病理组织学等多项指标与应用肠乐胶囊的治疗组有明显差异。

母子分离(maternal deprivation stress, MS)法是一种幼年消极生活应激,可诱导内脏痛觉过敏及应激性结肠运动加强<sup>[9]</sup>,而无明显器质性改变,符合 IBS 主要病理特征,是 IBS 的一种代表性造模方式。张北华<sup>[10]</sup>应用母子分离法、慢性束缚应激结合番泻叶灌胃致泻复合造模方法建立大鼠模型,根据腹泻率、体重增长量、大便积分及近端结肠病理结果判断其符合 IBS-D 肝郁脾虚型病证结合模型。赵迎盼等<sup>[11]</sup>综合比较母子分离法、束缚刺激、番泻叶灌胃三种方法后发现,单一母子分离法不会引起腹泻症状,成功造模需要三种因素叠加使用,缺一不可。无论是单因素母子分离组、束缚组,还是双因素母子分离合束缚组、母子分离合番泻叶组,均无法同时达到内脏高敏感、肝郁特质、腹泻症状三个标准。

疏肝健脾法为肝郁脾虚证的对证治法,其代表方包括逍遥散、痛泻要方等。石君杰等<sup>[12]</sup>采用慢性束缚夹尾刺激法以达到应激的目的,并联合腹腔注射卵清蛋白免疫诱导致敏来制备 IBS-D 大鼠模型,在以逍遥散灌胃治疗后证实其提高了大鼠的内脏痛阈,同时也减轻了肠道过敏。杨银芳等<sup>[13]</sup>运用痛泻要方治疗 IBS-D 大鼠亦取得一定成果,其运用寒冷—束缚应激制备模型,证实能减少此模型大鼠排便次数及粪便含水量,并减缓肠动力。从以方测证角度分析,以上方法可能也成功制备了肝气乘脾证的 IBS-D 模型,但对制备方法无证候系统评价,尚需进一步研究确定。

## 1.2 肝气乘脾证的 IBS-C 动物模型

脾虚则中气不足、运化无力,故临床也可见到便秘型肠易激综合征(constipation-predominant irritable bowel syndrome, IBS-C)。而冰水灌胃法为常用的建立便秘表现的应激刺激方法。邱贝<sup>[14]</sup>采用冰水灌胃法建立 IBS-C 大鼠模型,并证实麻枳降浊方对其有治疗作用。涂星等<sup>[15]</sup>参考以上病机,验证常见的 IBS-C 模型建立方法,最后证实母婴分离结合冰水灌胃法能够高度模拟 IBS-C 肠道高敏感性

而无病理改变的疾病特征,并符合肝郁脾虚证情志改变、进食量与活动量减少、排便减少、粪质干结等证候特点。具体制备方式如下:每日将乳鼠(出生 21 天)与母鼠分离,单笼饲养 180 分钟后再与母鼠同笼饲养,共进行 14 天,然后冰水灌胃 2 周。该制备方法模型稳定、可操作性较强,值得进一步研究和验证。

## 2 肝郁气滞证的 IBS 动物模型

IBS 的发病与精神心理因素有密切相关性<sup>[16]</sup>。精神心理异常多归结于肝失疏泄,气机郁滞不畅<sup>[17]</sup>。《丹溪心法·六郁》言:“气血冲和,万病不生,一有怫郁,诸病生焉。故人身诸病,多生于郁。”肝郁气滞证 IBS 模型建立方法尚无评定标准,多以应激刺激模拟证型发展的气郁特点。常见的应激方式包括:束缚、拥挤、避水、寒冷、夹尾、电刺激等<sup>[18]</sup>。与肝气乘脾证不同,肝郁气滞证临证多见 IBS-C。

### 2.1 肝郁气滞证的 IBS-C 动物模型

韩棉梅<sup>[19]</sup>采用夹尾法加饥饱失常法制备肝郁气滞证大鼠,具体操作如下:将 SD 大鼠 5 只置于同一笼内,以长尾票夹钳夹大鼠尾部致整笼大鼠保持激怒状态,刺激 30 min/次,每日 4 次,2 次刺激间隔时间为 3 小时,同时隔天喂食,喂食时食量不限,食物为高脂饲料,造模时间共 7 天。考虑造模方式符合情志致病特点,结合大鼠生物学表现和四磨汤疗效,判定造模成功,且模型大鼠符合肝郁气滞证证候特点及发病规律。此外,陆迅等<sup>[20]</sup>采用结直肠球囊扩张刺激合并限水法<sup>[21]</sup>制备模型,即大鼠在清醒的状态下,使用自制球囊,插入肛门 4~5 cm,约至大鼠降结肠部位,每次充气,维持肠道压力 7.98 kPa (60 mmHg),保留 1 分钟,然后撤气。每日操作 1 次,共持续刺激 15 天;15 天后,大鼠禁水不禁食,共 3 天。经腹部回撤反射压力阈值评分(abdominal withdrawal reflex, AWR)判定此法可成功制备 IBS-C 大鼠模型;模型制备完成后,以行气润肠汤进行治疗,且疗效肯定,但未提及是否符合肝郁气滞证证候特点,故单纯使用此方法尚需进行验证和评判。

### 2.2 肝郁气滞证的 IBS-D 动物模型

肝者,将军之官,气郁日久则化火,火热灼伤津液,故多表现为便秘型 IBS;但气滞则运化失常,水湿内生,下流大肠,遂有研究显示 8.39% 表现为腹泻型<sup>[22]</sup>。

谢建群等<sup>[23]</sup>采用急性避水应激刺激法<sup>[24]</sup>制备符合 IBS-D 症状的模型,考虑造模方法的强心理刺激性及采用经验方疏肝饮治疗后模型大鼠血管活性肠肽、一氧化氮等胃肠激素水平有所改善,认为造模方法符合肝郁气滞证证候特点及 IBS 疾病特征。

### 3 其他证型的 IBS 动物模型

#### 3.1 脾肾阳虚证的 IBS 动物模型

脾肾阳虚证者,病位虽在肠,但与肝、脾密切相关,且多因慢性病程,日久及肾,脾肾阳虚,脏腑失于温养,从而表现出病情迁延难愈。关键治则为“温补脾肾”,而本证动物模型的建立,考虑到证型特点,造模周期应当较长,并采取复合方式建立。苏晓兰等<sup>[25]</sup>综合以上观点,采用物理化学刺激共同作用的复合方法建立 IBS-D 大鼠模型,具体操作如下:先将石蜡润滑后的连续硬膜外导管(直径 1 mm)经肛门插入距肛缘 3~5 cm 处,注入 0.5% 冰醋酸,将大鼠倒置,按住肛门约 1 分钟,以防冰醋酸漏出,首次剂量从 0.2 mL 开始,每 2 天增加 0.1 mL,增加至 0.5 mL 时不变,持续 2 周;然后将一次性儿童型导尿管球囊端石蜡润滑后插入大鼠距肛缘 2~3 cm 处,另一端连接 5 mL 注射器,每次注射器充气 1.5~2.0 mL,进行球囊直肠刺激,间断持续 3~5 分钟,每天 2 次,同时联合夹尾刺激,间断持续 3~5 分钟,每天 2 次,也持续 2 周。在结肠注射冰醋酸、直肠扩张联合夹尾刺激的同时予 0.3~0.5 g/mL (20 mL/kg) 番泻叶浓缩剂灌胃,每只每次 2~2.5 mL,每日 1 次,持续灌胃 4 周。造模结束后根据大鼠排便粒数、布里斯托尔粪便量表 (bristol stool form scale)、平均稀便级和粪便干湿比重、腹壁撤退反射评分等判断其符合 IBS 慢性内脏感觉过敏理论,并且模型大鼠肠黏膜无大体及组织学改变,从而判定造模成功。从中医致病因素分析,番泻叶味甘、苦,性寒,有小毒,有泻热行滞、通便利水之功,加之冰醋酸寒凉,二者共同作用,胃肠阳气受损,日久及肾,故符合脾肾阳虚的病机要素,是制备脾肾阳虚证 IBS 动物模型较理想的方法。

#### 3.2 脾胃湿热证的 IBS 动物模型

谭洁等<sup>[26]</sup>通过慢性应激复合湿热刺激法,成功建立脾胃湿热型 IBS-D 大鼠模型,具体操作如下:以高糖高脂饲料喂养大鼠,第 8 天开始置于高温高湿度环境;第 15 天开始予二锅头 10 mL/kg,每日 1

次,灌胃,共 7 天;同时每日随机予大鼠 1 种刺激,刺激方法共包括 7 种:禁水 24 小时、夹尾 1 分钟、45℃ 环境 5 分钟、4℃ 冰水游泳 3 分钟、12 小时明暗颠倒、禁食 24 小时、水平振荡 (160 次/min) 45 分钟等,连续两天内所予处理不相同,让大鼠不能预料刺激的发生,共持续 3 周。同时,徐秋颖等<sup>[27]</sup>应用不可预见性应激建立脾胃湿热证 IBS 模型,并分析了模型大鼠在粪便性状、肠道痛阈、行为/心理等方面的分数,认为模型制备成功并具备可复制性。

#### 3.3 脾胃虚寒证与脾胃虚弱证的 IBS 动物模型

梁万年、谢建群等<sup>[28,29]</sup>均认为番泻叶水煎剂灌胃加四肢束缚应激刺激可造成 IBS 模型属脾胃虚寒证,并分别以高良姜总黄酮、健脾温中法治疗后证实有效,但并无其他相关证型评价指标。此法是否真的可以建立脾胃虚寒证 IBS 模型需要进一步研究。

鉴于脾胃虚寒证与脾胃虚弱证存在证型要素的不同,对符合脾胃虚弱证证候发展规律的 IBS 模型研究尚无共识。脾胃虚弱的病因多责之外邪侵袭中焦、饮食不调中伤脾胃、木旺克土或先天禀赋不足等,而 IBS 作为常见的功能性疾病,其肝经疏泄失司和气机运化失常的病机贯穿整个病程<sup>[30]</sup>。尚未发现单纯针对脾虚证的模型制备标准;相关实验研究也缺乏单独针对此证型的制备与治疗方法,多参照肝郁脾虚证的模型制备<sup>[31]</sup>或以方测证运用温中健脾汤药进行治疗,如附子理中汤<sup>[32]</sup>、四君子汤和理中汤<sup>[33]</sup>等。

#### 3.4 寒热错杂证的 IBS 动物模型

寒热错杂证 IBS 根据病机发展及症状表现多归属于混合型肠易激综合征 (mix-predominant irritable bowel syndrome, IBS-M)<sup>[5]</sup>,有研究显示此证型在临床患者中仅占 1.98%<sup>[22]</sup>。目前缺乏关于此证型 IBS 及 IBS-M 的实验研究,关于这方面的模型制备及相关证型评价指标均需继续探索和研究。

### 4 讨论

IBS 根据疾病表现属于中医“泄泻”“便秘”“腹胀”“腹痛”等范畴,病位涉及肝、脾、肾三脏。2011 年《肠易激综合征中西医结合诊疗共识意见》<sup>[5]</sup>确定本病包括肝郁气滞证、大肠燥热证、肝气乘脾证、脾胃虚弱证、寒热夹杂证等 5 个中医证型。而关于本病的证型分布规律,许多学者认为并不局限于此;吴皓萌等<sup>[30]</sup>根据临床患者辨证论治分为肝郁脾



虚、脾肾阳虚、肝阳上亢、湿邪中阻、肝气郁滞、肝气乘脾、脾胃虚弱、大肠湿热、脾胃气滞等 9 个证型;时乐等<sup>[34]</sup>认为其证候分布涉及脾胃虚弱、肝胃郁热、脾胃阳虚、脾胃阴虚、肝胃不和、脾虚湿困、肝郁脾虚、中气下陷、肝肠气滞、脾肾阳虚等。然而,建立相应病证结合动物模型的研究却并未随着证型分布的研究而深入。

在已知的 IBS 动物实验中,常见以单纯疾病模型混淆病证结合模型,部分研究对模型种类和证型的选择原因不明确,既无法体现中医中药对证型的针对性,也无法确定模型大鼠的疾病趋势;又存在通过以方测证的形式验证模型的证候属性,忽略了方剂对不同证型的重叠效果,无法突出证候的特征性症状和方剂辨证施治的特异性效果。

目前许多学者已意识到病证结合模型并非单纯综合现代病理造模和传统中医病因造模两种方式,而是强调整体影响因素,模仿疾病及证型形成的自然状态<sup>[35-36]</sup>,然而整体观纳入造模方式存在操作因素复杂、可控性差、实验成本增加等困难,目前研究较少,存在阻力。而证候模型判断缺乏标准,尤其是缺乏体现中医四诊信息特点的判定方式<sup>[37]</sup>,无法为进一步进行实验模型探索提供强有力的参考,也是亟待解决的问题和值得进一步研究的方向。

### 参 考 文 献

- [1] 李晓青,常敏,许东,等. 中国肠易激综合征流行病学调查现状分析[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2013,22(8):734-739.
- [2] 苏晓兰,魏玮. 肠易激综合征动物模型研究进展[J]. 山东中医杂志,2013,32(2):133-135.
- [3] 殷惠军,黄烨. 病证结合动物模型的研究进展[J]. 中国中西医结合杂志,2013,21(1):8-10.
- [4] 李梅. 肠易激综合征中医证候临床流行病学调查研究[D]. 广州:广州中医药大学,2012,29.
- [5] 肠易激综合征中西医结合诊疗共识意见[J]. 中国中西医结合杂志,2011,19(5):587-590.
- [6] 岳利峰,丁杰,陈家旭,等. 肝郁脾虚证大鼠模型的建立与评价[J]. 北京中医药大学学报,2008,31(6):396-400.
- [7] 唐洪梅,廖小红,房财富,等. 肝郁脾虚型大鼠肠易激综合征模型的建立及评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(6):138-140.
- [8] 周云,梁万年,唐春萍,等. 肠乐胶囊对肝郁脾虚型肠易激综合征模型大鼠的影响[J]. 广东药学院学报,2015,23(1):70-74.
- [9] 赵云. 母婴分离应激致肠易激综合征的生物学特征及同型半胱氨酸损伤机制[D]. 北京:中国人民解放军军事医学科学院,2014.
- [10] 张北华. IBS-D 肝郁脾虚型病证结合大鼠模型的建立与评价[D]. 北京:中国中医科学院,2013.
- [11] 赵迎盼,唐旭东,卞兆祥,等. IBS-D 肝郁脾虚型病证结合大鼠模型的建立与评价的初步研究[J]. 中国中西医结合杂志,2013,21(11):1507-1514.
- [12] 石君杰,徐发莹,宋李亚,等. 逍遥散对肠易激综合征大鼠结肠 5-HT 受体的干预作用[J]. 浙江中西医结合杂志,2012,22(3):172-174.
- [13] 杨银芳,楚更五,张建,等. 痛泻要方对寒冷-束缚肠易激综合征模型大鼠作用的实验研究[J]. 中华中医药学刊,2008,26(9):1984-1986.
- [14] 邱贝. 麻枳降浊方改善便秘型肠易激综合征模型大鼠肠组织中 5-HT 的实验研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2013.
- [15] 涂星,柴玉娜,唐洪梅,等. 肝郁脾虚型肠易激综合征便秘大鼠模型的建立和评价[J]. 中国实验动物学报,2015,23(1):30-34.
- [16] Altayar OI, Sharma V2, Prokop LJ3, et al. Psychological therapies in patients with irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Gastroenterol Res Pract, 2015,549308.
- [17] 孙前明,詹向红. 从肝论治抑郁症的中医研究概况[J]. 辽宁中医杂志,2015,42(1):211-213.
- [18] 严博,邓莉,陈建明. 肠易激综合征相关动物模型研究进展[J]. 药学与临床研究,2013,21(5):557-562.
- [19] 韩棉梅. 四磨汤口服液治疗肝郁气滞型 IBS-C 的疗效分析和机理研究[D]. 石家庄:广州中医药大学,2012.
- [20] 陆迅,叶柏. 行气润肠汤治疗便秘型肠易激综合征的实验研究[J]. 河南中医,2013,33(4):515-518.
- [21] AL Chaer E D, Kaw asak iM, Pasrcha P J. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development[J]. Gastroenterology, 2000, 119( 5 ): 1276 -1285.
- [22] 沈淑华,黄宣,吕宾,等. 腹泻型肠易激综合征证型及证候要素的文献研究[J]. 中华中医药杂志,2013, 28 ( 5 ): 1538-1540.
- [23] 谢建群,郑昱,吴大正,等. 疏肝饮对腹泻型肠易激综合征大鼠血管活性肠肽和 P 物质的影响[J]. 上海中医药大学学报,2004,19(3):36-39.
- [24] Paul R. Saunders, et al. Physical and Psychological Stress in Rats Enhances Colonic Epithelial Permeability via Peripheral CRH[J]. Dig Dis Sci, 2002, 47 ( 1 ): 208-215.
- [25] 苏晓兰,唐艳萍,张静,等. 温肾健脾法干预腹泻型肠易激综合征大鼠的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志,2014, 34 ( 2 ): 197-202.
- [26] 谭洁,马薇,彭芝配,等. 建立肠易激综合征中医证候模型的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,21(8):197-199.
- [27] 徐秋颖,韩佩玉. 肠易激综合征脾胃湿热证大鼠模型建立[J]. 亚太传统医药,2015,11(6):12-13.
- [28] 梁万年,江涛,唐春萍,等. 高良姜姜黄酮对脾胃虚寒型肠易激综合征的影响[J]. 中成药,2013,35(9):1863-1868.
- [29] 建群,陆雄,马军,等. 健脾温中法对脾胃虚寒型肠易激综合征模型大鼠生长抑素影响的实验研究[J]. 江西中医学院学报,2003,28(4):56-58.
- [30] 吴皓萌,徐志伟,敖海清. 肠易激综合征中医证候规律的研究[J]. 世界中医药,2013,8(2):127-129.
- [31] 段永强,程卫东,李兰珍,等. 四君子汤和理中汤对脾虚肠易

- 激综合征大鼠一氧化氮信号通路及胃动素表达影响的差异[J]. 中国老年学杂志, 2014, 24(18): 5148-5151.
- [32] 武志娟, 张志敏, 张大鹏, 等. 附子理中汤对腹泻型肠易激大鼠模型结肠组织中 AQP8 mRNA 表达水平的影响[J]. 中药材, 2014, 37(6): 1046-1048.
- [33] 段永强, 程卫东, 李兰珍, 等. 四君子汤和理中汤对脾虚肠易激综合征大鼠一氧化氮信号通路及胃动素表达影响的差异[J]. 中国老年学杂志, 2014, 24(18): 5148-5151.
- [34] 时乐, 卜平, 郑新梅, 等. 211 例肠易激综合征证候病机的研究[J]. 中医研究, 2005, 18(11): 24-26.
- [35] 苏晓兰, 魏玮. 肠易激综合征动物模型研究进展[J]. 山东中医杂志, 2013, 32(2): 133-135.
- [36] 刘丽梅, 王瑞海, 陈琳, 等. 病证结合方证相应证候动物模型研究中的应用[J]. 中国中医基础医学杂志, 2010, 16(1): 88-90.
- [37] 潘锋, 陈建永, 张涛. 肠易激综合征中医实验研究进展述评[J]. 中国中医药科技, 2010, 17(5): 470-471.
- (收稿日期: 2015-05-04)  
(本文编辑: 韩虹娟)