

·实验研究·

本文引用: 欧 晨, 易肇兰, 宋厚盼, 谢 薇, 彭清华. 视网膜色素变性肝肾阴虚证小鼠的模型建立与评价[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46 (3): 440–446.

视网膜色素变性肝肾阴虚证小鼠的模型建立与评价

欧 晨^{1,2}, 易肇兰², 宋厚盼², 谢 薇^{2,3*}, 彭清华^{1,2*}

1. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007; 2. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208;

3. 湖南省妇幼保健院, 湖南 长沙 410008

〔摘要〕 目的 从“以方测证”的中医证候角度, 探讨视网膜色素变性肝肾阴虚证小鼠的模型建立。方法 48 只 rd10 小鼠采用情志刺激联合左甲状腺素钠片制备小鼠肝肾阴虚证候模型, 采用随机数表法分为 4 组: 模型组(等体积生理盐水)、乐町组(乐町软胶囊 0.15 g/kg)、滋阴明目丸低剂量组(4.5 g/kg)、滋阴明目丸高剂量组(9 g/kg); 12 只 C57BL/6 小鼠作为空白组(等体积生理盐水)。各组分别予以相应药物灌胃, 每天 1 次, 连续 28 d。观察小鼠一般情况并记录小鼠头、舌、爪、尾的照片信息; ELISA 检测小鼠血清环磷酸腺苷(cAMP)、环磷酸鸟苷(cGMP)、睾酮(T)含量; HE 染色观察小鼠肝、肾、视网膜组织形态; 视网膜血管网铺片过碘酸雪夫染色观察视网膜微血管形态。结果 与空白组比较, 模型组小鼠精神萎靡, 舌质红绛, 少津, 有裂纹, 爪甲苍白, 尾部皮肤干燥粗糙, 可见鳞片状角化片; 血清 cAMP 含量升高($P<0.01$), cGMP、T 含量降低($P<0.01$); 肝细胞排列紊乱, 出现萎缩及空泡变性, 纤维组织增生; 肾小管细胞排列紊乱, 肾小球毛细血管壁缺损, 肾组织内可见炎症细胞浸润及肾间质纤维化; 视网膜明显萎缩变薄, 视网膜色素上皮细胞缺失, 外核层结构消失, 视网膜厚度变薄($P<0.01$); 视网膜毛细血管排列紊乱, 分布致密, 管径变细, 可见明显血管扭曲成节, 相互攀缠。与模型组比较, 乐町组和滋阴明目丸低、高剂量组小鼠精神可, 舌质红, 爪甲色转红润, 尾部皮肤鳞片状角化片减少或消失; 血清 cAMP 含量显著降低($P<0.01$), cGMP、T 含量升高($P<0.05$, $P<0.01$); 肝、肾细胞排列较整齐, 纤维组织增生减少; 视网膜厚度增加($P<0.01$), 视网膜毛细血管网分布较有序, 管径增粗。与乐町组比较, 滋阴明目丸低剂量组血清 cAMP 含量升高($P<0.01$), 滋阴明目丸低、高剂量组血清 cGMP 含量降低($P<0.05$, $P<0.01$), 视网膜厚度增加($P<0.01$)。结论 滋阴明目丸可以影响小鼠的一般状态, 降低血清 cAMP 含量, 升高 cGMP 和 T 含量, 同时改善肝、肾、视网膜组织病理损伤, 增加视网膜厚度。

〔关键词〕 滋阴明目丸; 视网膜色素变性; 肝肾阴虚证; 环磷酸腺苷; 环磷酸鸟苷; 睾酮

〔中图分类号〕 R276.7

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.03.002

Establishment and evaluation of a mouse model of retinitis pigmentosa with liver–kidney yin deficiency pattern

OU Chen^{1,2}, YI Zhaolan², SONG Houpan², XIE Wei^{2,3*}, PENG Qinghua^{1,2*}

1. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China; 2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 3. Hunan Provincial Maternal and Child Health Care Hospital, Changsha, Hunan 410008, China

〔Abstract〕 Objective To establish a mouse model of retinitis pigmentosa (RP) with liver and kidney yin deficiency from the

〔收稿日期〕 2025–10–12

〔基金项目〕 国家自然科学基金青年科学基金项目(82405490); 湖南省教育厅科学研究项目(23B0347); 中国博士后科学基金第 76 批面上资助项目(2024M760896); 湖南中医药大学校院联合基金项目(2024XYLH020)。

〔通信作者〕* 彭清华, 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: pengqinghua@hnu.cm.edu.cn; 谢 薇, 女, 博士, 主治医师, E-mail: 2542095832@qq.com。

perspective of "determining pattern by formula" in Chinese medicine. **Methods** Forty-eight rd10 mice were used to establish a liver-kidney yin deficiency pattern model through emotional stimulation combined with levothyroxine sodium tablet. The mice were randomly divided into four groups using random number table method: model group (equal volume of normal saline), Leding group (0.15 g/kg of Leding soft capsules), low-dose Ziyin Mingmu Pill (ZYMMP) group (4.5 g/kg), and high-dose ZYMMP group (9 g/kg). Twelve C57BL/6 mice served as the blank group (equivalent volume of normal saline). Each group was given the corresponding drug by intragastric administration once a day for 28 consecutive days. General conditions of the mice were observed, and photographic information of their heads, tongues, claws, and tails were recorded. Serum levels of cyclic adenosine monophosphate (cAMP), cyclic guanosine monophosphate (cGMP) and mouse testosterone (T) were measured using ELISA. The morphological changes in the liver, kidney, and retinal tissues of mice were observed via HE staining, and retinal microvascular morphology was examined using vascular network flattening and periodic acid-Schiff (PAS) staining. **Results** Compared with the blank group, mice in the model group showed signs of lethargy, dark red and dry tongues with cracks, pale claws and nails, as well as dry and rough tail skin with scaly keratinized patches. Serum cAMP levels increased ($P<0.01$), while cGMP and T levels decreased ($P<0.01$). Hepatocytes were disorganized with visible atrophy, vacuolar degeneration, and fibrous tissue hyperplasia. Renal tubular cells were irregularly arranged, glomerular capillary walls were defective, and inflammatory cell infiltration and renal interstitial fibrosis were observed. The retina was significantly atrophied and thinner, with loss of retinal pigment epithelial cells and disappearance of the outer nuclear layer structure. Retinal thickness decreased ($P<0.01$). Retinal capillaries were disorganized, densely distributed, and thinner in diameter, with noticeable vascular twisting and entanglement. Compared with the model group, Leding group, low-dose and high-dose ZYMMP group showed normal mental state, with red tongue, reddish and moist claws and nails, and a reduction or disappearance of scaly keratinized patches on the tail. cAMP levels significantly decreased ($P<0.01$), while cGMP and T levels increased ($P<0.05$ or $P<0.01$). Liver and kidney cells were more regularly arranged, with reduced fibrous tissue hyperplasia. Retinal thickness significantly increased ($P<0.01$). The retinal capillary network was more orderly distributed, with thickened vessel diameters. Compared with the Leding group, the low-dose ZYMMP group showed an increase in cAMP levels ($P<0.01$), while both the low- and high-dose ZYMMP groups exhibited a decrease in cGMP levels ($P<0.05$, $P<0.01$) and an increase in retinal thickness ($P<0.01$). **Conclusion** ZYMMP can improve the general state of mice, reduce serum cAMP levels, elevate cGMP and T levels, and concurrently ameliorate pathological damage in the liver, kidney, and retina, as well as increases retinal thickness.

[**Keywords**] Ziyin Mingmu Pill; retinitis pigmentosa; liver kidney yin deficiency pattern; cyclic adenosine monophosphate; cyclic guanosine monophosphate; testosterone

视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)是以进行性感光细胞及色素上皮功能丧失为共同病理表现的遗传性疾病,属于眼科临床的疑难病症^[1]。其早期以夜盲症为主要临床表现,随着疾病进展,视野丧失程度逐渐加重,在疾病晚期常出现眼底退化和色觉受损^[1]。RP在西方国家的患病率为1:3 700,我国患病率为1:3 467,目前全世界大约有150万RP患者^[2],且临床上缺乏有效治疗本病的方法。RP主要与遗传有关,目前已发现超过80个相关的致病基因^[3]。这些基因的遗传方式多样,包括常染色体隐性遗传、常染色体显性遗传、X-连锁隐性遗传,还有少数为线粒体遗传^[4]。中医学认为,RP发病的主要病机为先天禀赋不足,或后天肝肾阴虚、精血不足导致神光衰微^[5]。故本病之根在于虚,先天不足为虚、

病久亦致虚,临床多见肝肾阴虚证,治疗强调肝肾同治。本研究通过建立RP肝肾阴虚证动物模型,旨在为相关临床药物的研发与药效评价提供关键的实验基础。

滋阴明目丸是湖南中医药大学第一附属医院李传课教授的经验方,前期研究表明,滋阴明目丸可以通过调节RP动物模型内质网应激、氧化应激等通路,减轻感光细胞和视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)细胞的凋亡,达到保护视网膜的目的^[6-7]。乐叮软胶囊主要成分包括叶黄素、维生素、锌等多种营养素,这些成分在视网膜保护方面具有明确作用^[6-7]。故本次研究选用乐叮软胶囊作为阳性对照药。本实验以rd10小鼠为研究对象,采用情志刺激联合左甲状腺素钠片制备肝肾阴虚

证候模型小鼠,拟通过相关指标检测以及滋阴明目丸以方测证,评价该模型,并为后续相关实验建立稳定可靠的RP 肝肾阴虚证模型提供参考。

1 材料

1.1 实验动物

实验动物 RP 模型鼠选用纯合子基因突变小鼠 rd10(C57 种系,Pde6b,-/-),由实验团队前期购于美国杰克森实验室,动物合格证书编号:1911A11353。对照实验鼠选用同种系 C57BL/6 小鼠,由湖南中医药大学动物实验中心采购,动物合格证书编号:430727241103068946。本动物实验方案通过湖南中医药大学动物实验中心伦理审查,批准编号:HNUCM21-2406-03。饲养于 SPF 级动物房,室温控制在 23~25 ℃,湿度 55%左右,12 h 规律昼夜循环,自由饮水饮食。

1.2 主要药品、试剂与仪器

滋阴明目丸(湖南中医药大学第一附属医院药房,规格:120 g/瓶,批号:20231202);乐町软胶囊(广州市范乐医药科技有限公司,规格:0.5 g/粒,批号:GD00029891);左甲状腺素钠片(江苏默克制药有限公司,规格:50 μg/片,批号:010017376)。

眼球固定液、环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)ELISA 试剂盒、环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)ELISA 试剂盒、小鼠睾酮(testosterone, T)ELISA 试剂盒(上海茁彩生物科技有限公司,批号:ZC-A0554、ZC-56240-J、ZC-55729-J、ZC-38183);4%多聚甲醛固定液(合肥兰杰柯科技有限公司,批号:BL539A);HE 染液套装、过碘酸雪夫染色(periodic acid-schiff stain, PAS)染色液(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号:G1003CAMP、G1008)。

脱水机(济南丹吉尔电子有限公司,型号:Donatello);包埋机(武汉俊杰电子有限公司,型号:JB-P5);病理切片机(上海徕卡仪器有限公司,型号:RM2016);组织摊片机(金华市科迪仪器设备有限公司,型号:KD-P);染色机(济南丹吉尔电子有限公司,型号:Giotto);正置光学显微镜、成像系统(日本尼康公司,型号:Nikon Eclipse E100、NIKON DS-U3)。

2 方法

2.1 模型制备

根据《素问·阴阳应象大论篇》中的“暴怒伤阴”理论,参考文献[8-9]的研究,采用情志刺激联合左甲状腺素钠片制备肝肾阴虚证候模型小鼠。从 rd10 小鼠出生第 21 天起将小鼠双后肢束缚,倒吊于饲养笼顶部,激怒小鼠(表现为粗叫、撕咬),首次激怒 20 min,以后每隔 1 天增加 10 min。将左甲状腺素钠片研磨成粉,称取粉末 0.30 mg,加蒸馏水 40 mL 搅拌均匀。每次激怒后立即予 150 μg/kg 左甲状腺素钠混悬液 0.2 mL 灌胃,连续造模 7 d。造模结束后,小鼠消瘦,精神萎靡,舌质红绛,少津,皮肤干燥,血清 cAMP 含量升高,血清 cGMP、T 含量降低,肝肾细胞排列紊乱,可见变性,则提示造模成功。

2.2 分组及给药

48 只 rd10 小鼠采用随机数表法分为模型组、乐町组、滋阴明目丸低剂量组、滋阴明目丸高剂量组,每组 12 只。12 只 C57BL/6 小鼠作为空白组。动物给药剂量按“动物与人体质量的每千克体质量等效剂量折算系数”折算,折算系数 $W=9.01^{[10]}$ 。滋阴明目丸低剂量组给予 4.5 g/(kg·d)(相当于成人的临床剂量);按照 1:2 比例设定低高剂量,则滋阴明目丸高剂量组给予 9 g/(kg·d);乐町组给予 0.15 g/(kg·d);空白组和模型组给予等体积的生理盐水。每组每天灌胃 1 次,连续干预 28 d。

2.3 指标检测

2.3.1 观察小鼠一般状态 观察小鼠一般情况,并利用摄像机采集不同组别小鼠舌、爪、尾的照片信息,对一般状态进行评估。

2.3.2 ELISA 检测小鼠血清 cAMP、cGMP、T 含量 按照 50 mg/kg 腹腔注射戊巴比妥钠麻醉小鼠后,通过腹主动脉穿刺采集血液样本,分离血清并应用 ELISA 检测血清 cAMP、cGMP、T 含量。

2.3.3 观察小鼠肝、肾、视网膜组织病理学改变

在小鼠麻醉下将标本摘除,用 4%多聚甲醛固定肝肾标本、眼球固定液固定眼球,常规石蜡包埋,切片。将石蜡切片依次放入二甲苯、无水乙醇、无水乙醇、75%乙醇,水浸洗。切片入苏木素染液染色,分化液分化,返蓝液返蓝,水冲洗。再将切片依次入梯度

乙醇脱水,入伊红染液染色。再脱水风干后中性树脂封片,最后在显微镜下镜检,图像采集观察肝肾组织病理改变,使用 CaseViewer 2.4.0 软件测量视网膜外层厚度。

2.3.4 视网膜血管网铺片 PAS 观察小鼠视网膜微血管病理改变 摘取带有视神经的小鼠眼球,4%多聚甲醛固定 12 h 以上。垂直于视神经方向将眼球沿着 1/2 处剖开,去除角膜、晶状体和玻璃体,以视神经乳头为中心剪成 4 份,剥离出内壁视网膜层。将视网膜组织置于 10 mL 胰酶消化液中 37 ℃ 消化 24 h,将视网膜层放入盛有纯水的培养皿中,吹洗去除黏附在视网膜血管网上的细胞,直至血管网呈现透明状。吸出血管网铺在防脱载玻片上,铺平自然晾干。进行高碘酸、雪弗、苏木素染色,中性树脂胶封片。每组选取 3 个小鼠的视网膜消化铺片结果,分别选取 3 个视野。在显微镜 400 倍下拍摄铺片 PAS 染色结果。

2.4 统计学分析

使用 Graphpad Prism 8 进行数据处理、统计分析及绘图,计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。多组比较,满足正

态及方差齐性,采用单因素方差分析;方差不齐则进行 Games-Howell 分析;不符合正态分布则进行秩和检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠一般状态

空白组小鼠活动自如,探索行为活跃,运动协调性良好,精神可,舌淡红,苔薄白湿润,爪甲红润,无干裂,尾部皮肤光滑湿润,无鳞屑、皱缩或角化片。模型组小鼠活动减弱,消瘦,精神萎靡,舌质红绛,少津,有裂纹,爪甲苍白,尾部皮肤干燥粗糙,可见鳞片状角化片,弹性差。乐町组小鼠活动减弱,反应较模型组灵敏,舌质红,少津,爪甲色偏苍白,尾部皮肤干燥粗糙,可见鳞片状角化片,弹性差。滋阴明目丸低剂量组小鼠精神可,反应灵敏性提高,活动量增加,舌质偏红,津液恢复,爪甲红润,尾部少量细小鳞屑。滋阴明目丸高剂量组小鼠活动自如,反应敏捷,舌质淡红,苔薄白湿润,无裂纹,爪甲偏红润,尾部皮肤光滑湿润,鳞片状角化片消失,弹性恢复。详见图 1。

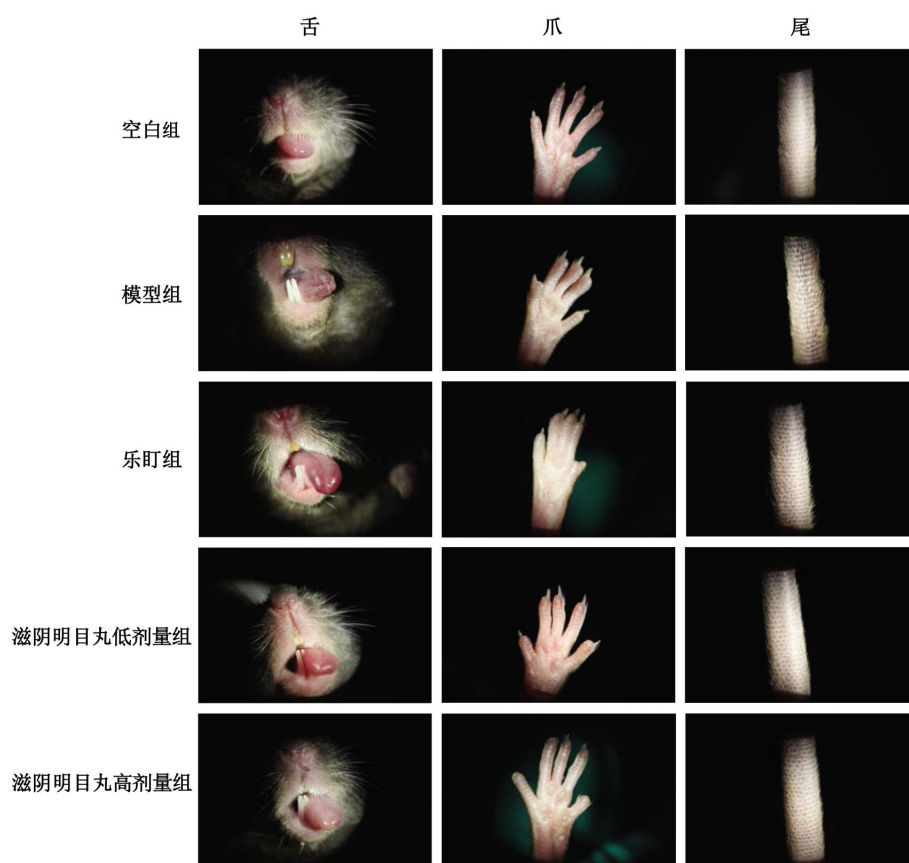


图 1 各组小鼠舌、爪、尾图像($\times 10$)

Fig.1 Images of mouse tongue, paw, and tail among groups ($\times 10$)

3.2 各组小鼠血清 cAMP、cGMP、T 含量比较

与空白组相比,模型组血清 cAMP 含量升高($P<0.01$),cGMP、T 含量降低($P<0.01$)。与模型组相比,乐町组和滋阴明目丸低、高剂量组血清 cAMP 含量降低($P<0.01$),cGMP 和 T 含量升高($P<0.05$, $P<0.01$)。与乐町组相比,滋阴明目丸低剂量组血清 cAMP 含量升高($P<0.01$);滋阴明目丸低、高剂量组血清 cGMP 含量降低($P<0.05$, $P<0.01$)。详见表 1。

表 1 各组小鼠血清 cAMP、cGMP、T 含量比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 1 Comparison of cAMP, cGMP, and T levels in serum among groups ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	cAMP/(pmol/mL)	cGMP/(nmol/L)	T/(ng/mL)
空白组	4.60±0.34	10.04±1.65	10.54±1.26
模型组	9.40±0.70 ^{##}	2.86±0.13 ^{##}	3.63±0.55 ^{##}
乐町组	5.74±0.46 ^{##**}	8.15±1.52 ^{##**}	5.81±0.55 ^{##*}
滋阴明目丸低剂量组	7.20±0.63 ^{##**△△}	5.16±0.91 ^{##**△△}	7.15±0.64 ^{##**}
滋阴明目丸高剂量组	6.53±0.92 ^{##**}	6.04±0.53 ^{##**△}	7.04±0.49 ^{##**}

注:与空白组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$;与乐町组比较,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$ 。

3.3 各组小鼠肝肾组织形态学改变

空白组小鼠肝细胞排列整齐,细胞核清晰,细胞质均匀,中央静脉结构正常,管腔通畅,无明显病理变化;模型组小鼠肝细胞排列紊乱,出现萎缩及空泡变性,中央静脉管腔明显狭窄变形,肝内细胞外间质成分过度沉积,纤维组织增生;乐町组小鼠肝细胞形

态可,排列欠整,中央静脉狭窄变形,可见纤维组织增生;滋阴明目丸低剂量组肝细胞形态基本正常,排列较整齐,细胞核清晰,中央静脉轻度缩窄变形,轻度纤维组织增生;滋阴明目丸高剂量组肝细胞形态接近空白组,排列整齐,细胞核清晰,细胞质均匀,中央静脉结构基本正常,无明显缩窄或变形,未见明显纤维组织增生表现。详见图 2。

空白组肾小管细胞排列整齐,细胞核居中,细胞质丰富,肾小球毛细血管壁完整,未见炎症细胞浸润或纤维化;模型组肾小管细胞排列紊乱,肾小球毛细血管壁缺损,肾组织内可见炎症细胞浸润及肾间质纤维化;乐町软胶囊及滋阴明目丸干预后,各治疗组肾脏病理变化均有不同程度的减轻。详见图 2。

3.4 各组大鼠视网膜组织改变

空白组小鼠视网膜各层结构清晰完整,排列紧密,厚度正常;模型组小鼠视网膜明显萎缩变薄,RPE 细胞缺失,外核层结构消失;乐町组小鼠视网膜可见呈现萎缩变薄的特征,RPE 细胞不可见,外核层结构消失;滋阴明目丸低剂量组小鼠视网膜变薄,可见 RPE 细胞,外核层结构模糊;滋阴明目丸高剂量组小鼠视网膜各层结构相对清晰,稍变薄,可见 RPE 细胞,外核层结构清晰,细胞核排列整齐。详见图 3。

与空白组比较,模型组视网膜厚度变薄($P<0.01$);与模型组比较,乐町组和滋阴明目丸低、高剂量组视

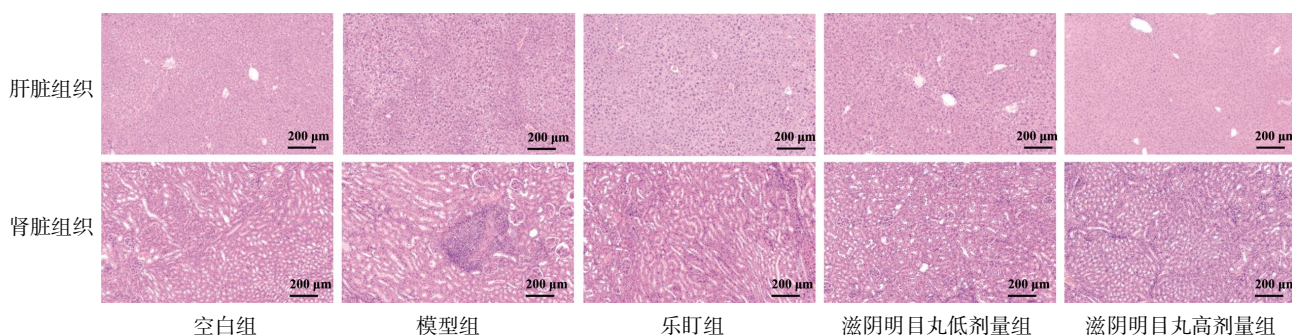


图 2 各组小鼠肝肾组织 HE 染色结果($\times 200$)

Fig.2 HE staining of liver and kidney tissues of mice in each group ($\times 200$)

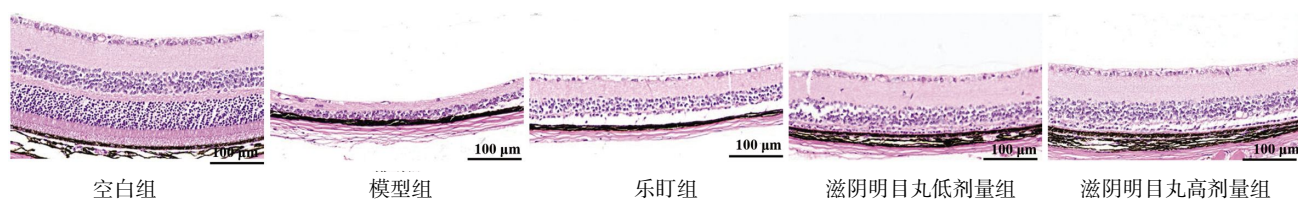


图 3 各组小鼠视网膜组织形态($\times 600$)

Fig.3 Morphology of retinal tissue in each group ($\times 600$)

网膜厚度增加($P<0.01$);与乐町组比较,滋阴明目丸低、高剂量组视网膜厚度增加($P<0.01$)。详见表 2。

表 2 各组小鼠视网膜组织厚度比较($\bar{x}\pm s, n=3$)
Table 2 Comparison of retinal tissue thickness among groups ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	视网膜厚度/ μm
空白组	214.00 $\pm$ 3.77
模型组	39.44 $\pm$ 4.16 ^{###}
乐町组	86.66 $\pm$ 11.34 ^{##**}
滋阴明目丸低剂量组	135.10 $\pm$ 9.49 ^{###**$\Delta\Delta$}
滋阴明目丸高剂量组	128.20 $\pm$ 4.91 ^{###**$\Delta\Delta$}

注:与空白组比较,^{###} $P<0.01$;与模型组比较,^{**} $P<0.01$;与乐町组比较, ^{$\Delta\Delta$} $P<0.01$ 。

3.5 各组小鼠视网膜微血管病理改变

空白组小鼠视网膜毛细血管排列均匀,管径粗细均匀,分布规则;模型组小鼠视网膜毛细血管排列紊乱,管径变细,可见明显血管扭曲、重塑;乐町组、滋阴明目丸低剂量组小鼠视网膜毛细血管网分布稀疏,管径较模型组稍增粗;滋阴明目丸高剂量组小鼠视网膜毛细血管排列均匀,管径粗细较均匀,分布规则。详见图 4。

4 讨论

肝肾阴虚证是中医临床常见证型,指肝肾两脏阴液亏耗,虚热内扰之候。肝藏血,肾藏精,精血同源互生,故二者一荣俱荣、一损俱损。其成因多为久病劳伤、气机郁滞或温热病后期伤阴。本研究采用情志刺激法使小鼠处于长期激怒状态,“怒伤肝”,肝疏泄失常,气机郁滞,日久化热伤阴,“肝肾同源”,肝阴虚日久必累伤肾阴。甲状腺激素升高引起机体代谢极度亢进,可出现烦躁易怒、头晕目眩、消瘦、口干舌燥等症状,与中医学阴虚内热证的病理表现高度吻合。

观察小鼠一般状态并结合舌、爪、尾的情况,发

现模型组小鼠出现活动减弱、消瘦、舌质红绛、少津、有裂纹等表现,符合中医肝肾阴虚证的临床表现。cAMP 和 cGMP 是细胞内重要的第二信使,参与多种生理过程的调控^[11]。在中医学中,cAMP 和 cGMP 常被用作研究阴虚、阳虚证候的分子标志物^[12]。其中,cAMP 常被视为“阳”的分子标志物,其水平升高与阴虚阳亢的病理状态相关,而 cGMP 常被视为“阴”的分子标志物,其水平降低与阴虚的病理状态相关^[13-14]。睾酮是由睾丸间质细胞分泌的,受下丘脑-垂体-性腺轴的精密调控^[15]。临床上,大多数低睾酮血症患者的症状符合肝肾阴虚的表现^[16]。血清学检测结果显示,模型组小鼠 cAMP 含量升高、cGMP 和 T 含量降低,这与肝肾阴虚证患者体内环核苷酸代谢紊乱的特征相一致^[17]。肝肾病理组织切片观察发现,模型组小鼠肝细胞排列紊乱,出现萎缩及空泡变性,中央静脉管腔狭窄变形,肝内细胞外间质纤维组织增生;肾小管细胞排列紊乱,肾小球毛细血管壁缺损,肾组织内可见炎症细胞浸润及肾间质纤维化。这进一步证实了本次实验成功建立肝肾阴虚证模型。滋阴明目丸方以枸杞子、熟地黄为君药,滋补肝肾、益精明目;以黄精、山药、菟丝子、山茱萸、楮实子、石决明为臣药,助君药增强补益肝肾之力。经过滋阴明目丸干预后,小鼠一般状态得到改善,血清 cAMP 含量降低、cGMP 和 T 含量升高,同时肝、肾组织病理损伤也得到不同程度的缓解,提示滋阴明目丸可改善 RP 肝肾阴虚证小鼠模型的症状和相关实验指标。

HE 染色结果显示,模型组小鼠视网膜明显萎缩变薄,RPE 细胞缺失,外核层结构消失,进一步证实了 RP 的病理特征^[18]。PAS 染色结果显示,模型组小鼠视网膜毛细血管扭曲、重塑,可见新生血管及微血管瘤,该变化与肝肾阴虚夹瘀的病理机制密切相关。本研究团队根据既往临床观察和机制研究发现,“虚中夹瘀”是 RP 病理基础之一^[19-21]。故滋阴明

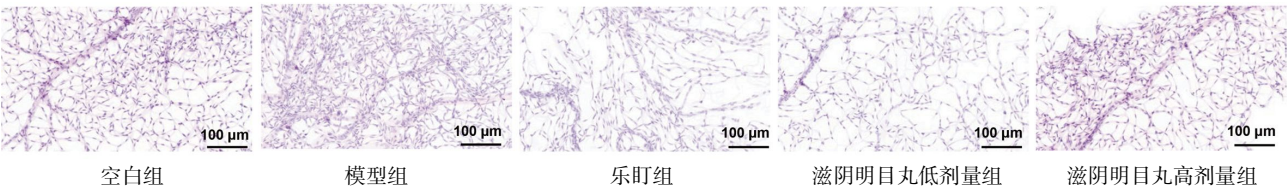


图 4 各组小鼠视网膜血管网铺片 PAS 染色结果($\times 400$)

Fig.4 PAS staining of retinal vascular network flat-mounts of mice in each group ($\times 400$)

目丸中佐以丹参、川芎、当归等活血化瘀药,以助行血。经滋阴明目丸干预后,小鼠的视网膜 HE 染色及 PAS 染色结果均有所改善,表现为视网膜形态结构改善、视网膜厚度增加及视网膜血管网病理改变好转,提示滋阴明目丸对 RP 肝肾阴虚证小鼠模型视网膜病理状态具有改善作用。

综上所述,本研究采用情志刺激联合左甲状腺素钠片制备小鼠肝肾阴虚证候模型,以方测证对模型进行评价,证实了滋阴明目丸可以影响小鼠的一般状态,降低血清 cAMP 含量,升高 cGMP 和 T 含量,同时改善肝肾、视网膜病理损伤,增加视网膜厚度,为今后 RP 方证对应机制的系统深入研究提供了理论和实验依据。

参考文献

- [1] KARUNTU J S, ALMUSHATTAT H, NGUYEN X T A, et al. Syndromic retinitis pigmentosa[J]. *Progress in Retinal and Eye Research*, 2025, 107: 101324.
- [2] CHEN X D, XU N D, LI J R, et al. Stem cell therapy for inherited retinal diseases: A systematic review and meta-analysis[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2023, 14(1): 286.
- [3] LI Y Y, LI R Y, DAI H H, et al. Novel variants in PDE6A and PDE6B genes and its phenotypes in patients with retinitis pigmentosa in Chinese families[J]. *BMC Ophthalmology*, 2022, 22(1): 27.
- [4] ÖZMERT E, ARSLAN U. Management of retinitis pigmentosa by Wharton's jelly -derived mesenchymal stem cells: Prospective analysis of 1-year results[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2020, 11(1): 353.
- [5] 彭清华. 中医眼科学[M]. 新世纪 5 版. 北京: 中国中医药出版社, 2021: 85.
- [6] OU C, SONG H P, PENG J, et al. Lycium barbarum L. and Salvia miltiorrhiza Bunge extract ameliorates retinitis pigmentosa in rd10 mice by affecting endoplasmic reticulum stress[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2025, 337: 118971.
- [7] OU C, JIANG P F, TIAN Y, et al. Fructus Lycii and Salvia miltiorrhiza Bunge extract alleviate retinitis pigmentosa through Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 273: 113993.
- [8] 樊蔚虹, 岳广欣, 李素香, 等. 长期应激致肝肾阴虚证动物模型研制[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2001, 7(9): 67-69.
- [9] 白茹, 刘欣欣, 李凤金, 等. 阴虚证动物模型的造模方法[J]. *中华中医药学刊*, 2020, 38(2): 69-71.
- [10] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 1103.
- [11] 林玲, 梁茜铭, 邓长生, 等. 基于 DRD4/NOX4 通路探讨左归丸改善肾阴虚型甲亢大鼠氧化应激的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2026, 32(2): 43-51.
- [12] WANG X, DU Y, WU C T, et al. UHPLC-MS/MS analysis of cAMP and cGMP in rat plasma as potential biomarkers of Yin-Yang disharmony in traditional Chinese medicine[J]. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2021, 11(4): 458-464.
- [13] 尹祎洁, 楚玉玺, 冯志毅, 等. 桑寄生总多糖干预肾阳虚、肾阴虚骨质疏松模型及其寒热的研究[J]. *中药药理与临床*, 2025, 41(7): 38-45.
- [14] 王婕, 陈雯佳, 林文武, 等. 围绝经期综合征肾阴虚证大鼠汗液分泌及其生化指标的变化[J]. *中国实验动物学报*, 2024, 32(6): 712-720.
- [15] 孙杰, 郭杨, 马勇, 等. 基于“天癸”学说分析健脾补肾方改善衰老 Leydig 细胞及睾酮分泌的作用机制[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2025, 31(9): 1568-1574.
- [16] 唐荣志, 曾晔, 黄新凯, 等. 自拟补肾生精汤联合负压吸引结合中药灌洗对肾虚型糖尿病勃起功能障碍患者血清睾酮水平的影响[J]. *长春中医药大学学报*, 2017, 33(4): 589-592.
- [17] 赵丹萍, 张建军, 黄志强, 等. 肝肾阴虚复合蓝光照射视疲劳模型的建立及杞菊明目片功效评价[J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(4): 2044-2049.
- [18] 王英, 邓颖, 逯晶, 等. 枸杞多糖通过抑制 NF- κ B/NLRP3 通路减少视网膜色素变性小鼠感光细胞凋亡[J]. *数字中医药(英文)*, 2023, 6(3): 307-316.
- [19] 彭清华, 李传课. 视网膜色素变性虚中夹瘀的机理研究小结[J]. *中国医药学报*, 1993, 8(6): 7-10, 61.
- [20] 彭清华, 朱文锋, 李传课. 视网膜色素变性血瘀机理的研究(103 例眼血流图检测)[J]. *江苏中医*, 1990(1): 39-41.
- [21] 徐剑, 杨毅敬, 覃艮艳, 等. 枸杞子配伍丹参对 RCS(rdy $^{-/-}$, p $^{-/-}$)视网膜色素变性大鼠虚中夹瘀证的干预研究(英文)[J]. *数字中医药(英文)*, 2019, 2(3): 157-165.

(本文编辑 田梦妍)