

本文引用:郭奎奎,邓多喜,张泓,黎帅,林英惠,谭洁.合募配穴针刺对肠易激综合征模型大鼠脊髓背根神经节 PAR-2、TRVP1 及相关致敏细胞因子表达的影响[J].湖南中医药大学学报,2018,38(1):59-64.

合募配穴针刺对肠易激综合征模型大鼠脊髓背根神经节 PAR-2、TRVP1 及相关致敏细胞因子表达的影响

郭奎奎,邓多喜,张泓,黎帅,林英惠,谭洁*
(湖南中医药大学,湖南长沙 410208)

[摘要] **目的** 观察合募配穴针刺对肠易激综合征(IBS)大鼠脊髓背根神经节(DRG)蛋白酶活化受体-2(PAR-2)、P物质(SP)、瞬时受体电位香草酸亚型1(TRPV1)和降钙素相关肽(CGRP)表达的影响,探讨合募配穴针刺对内脏高敏感性的可能作用机制。**方法** 采用雄性SD大鼠慢性应激结合束缚法制备肠易激综合征模型。随机分为空白组、模型组、合募针刺组和药物组。造模成功后,合募针刺组对大肠下合穴上巨虚和募穴天枢穴进行电针干预;药物组给予匹维溴胺灌胃。采用腹部回撤反射(AWR)对大鼠进行内脏敏感性评估并观察大鼠体质量变化情况,用免疫组织化学方法检验脊髓L5-S1段PAR-2、TRVP1、SP和CGRP的表达。**结果** AWR评分中,治疗前合募针刺组和模型组与空白组比较差异明显($P<0.01$),治疗后合募针刺组与模型组比较有显著性差异($P<0.01$),针刺治疗IBS内脏高敏感性有效;治疗后模型组大鼠与空白组比较,脊髓背根神经节中PAR-2、SP、TRVP1和CGRP的IOD值显著升高($P<0.01$);合募针刺组和药物组与模型组比较,脊髓背根神经节中PAR-2、SP、TRVP1和CGRP的IOD值明显降低($P<0.01$)。**结论** 合募配穴针刺干预机制可能是通过PAR-2、TRVP1降低SP和CGRP在DRG神经元中的表达来降低IBS大鼠的内脏高敏感性。

[关键词] 肠易激综合征;合募配穴针刺;蛋白酶活化受体-2;P物质;瞬时受体电位香草酸亚型1;降钙素相关肽

[中图分类号]R245;R574.4 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2018.01.016

Effects of He-Mu Adjunct Acupuncture Points on the Expression of PAR-2, TRVP1 and Related Sensitized Cytokines in Dorsal Root Ganglia of IBS Model Rats

GUO KuiKui, DENG Duoxi, ZHANG Hong, LI Shuai, LIN Yinghui, TAN Jie*
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of He-Mu adjunct acupuncture points on the protease-activated receptor-2 (PAR-2), transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) and calcitonin gene related to peptide (CGRP) of dorsal root ganglion (DRG) of the rat spinal cord in rats with irritable bowel syndrome (IBS), and to explore the possible mechanism of raised acupuncture on visceral hypersensitivity. **Methods** The male SD IBS model rats were built by using the chronic stress binding method. The model rats were randomly divided into blank group, model group, He-Mu acupuncture group and drug group. After successfully building the model, the He-Mu acupuncture group was acupunctured at Xiahe point and Tianshu point of the colon. The drug group was gavaged with pinaverium bromide. The visceral sensitivity of the rats was evaluated by abdominal back reflex. The expression of PAR-2, TRVP1, SP and CGRP in dorsal root ganglion of spinal cord was detected by immunohistochemistry. **Results** Before treatment, there were significant differences in the AWR scores between the acupuncture group and the model group, compared with the blank group ($P<0.01$); after treatment, there was significant difference in the AWR scores between the acupuncture group and the model group ($P<0.01$). Acupuncture in treatment of visceral hypersensitivity of

[收稿日期]2017-08-23

[基金项目]湖南省中医药科研计划重点资助项目(201525);湖南省教育厅科学研究项目优秀青年项目(16B197)。

[作者简介]郭奎奎,男,在读硕士研究生,研究方向:常见疾病中西医结合康复的机制与临床研究。

[通讯作者]*谭洁,女,副教授,硕士研究生导师,E-mail:86869454@qq.com。

IBS is effective. Compared with the blank group, PAR-2, SP, TRPV1 and CGRP increased significantly in the model group ($P < 0.01$). PAR-2, SP, TRPV1 and CGRP significantly decreased in acupuncture group and drug group, compared with model group ($P < 0.01$). **Conclusion** He-Mu adjunct acupuncture points can reduce the expression of SP and CGRP in the DRG through PAR-2 and TRPV1, to reduce the visceral hypersensitivity of IBS rats.

[**Keywords**] irritable bowel syndrome; He-Mu adjunct acupuncture points; protease-activated receptor-2; substance p; transient receptor potential vanilloid 1; calcitonin gene related to peptide

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种临床常见的具有高患病率的功能性胃肠疾病,其主要临床表现包括腹痛、腹胀或不适、大便不规则性和大便性状改变等^[1]。流行病学调查显示,全球10%~20%的成人和青少年有IBS症状,在我国普通人群中IBS患病率为0.82%~5.67%^[2-3]。IBS使患者生活质量明显下降,影响工作效率和收入,且治疗成本较高,给病人带来了沉重的健康和生活负担^[4]。IBS的发病机制尚不清楚,这可能与肠道运动异常、内脏敏感性、心理因素等有关,近年来的研究表明,低水平的炎症、脑-肠轴和神经-内分泌-免疫调控在IBS的发病中起重要作用^[5]。

其中对内脏敏感性异常被认为是IBS重要的病理生理机制^[6]。研究^[7]发现蛋白酶激活受体-2(proteinase-activated receptors-2, PAR-2)介导瞬时受体电位香草酸亚型1(transient receptor potential vanilloid1,TRPV1)敏化可能是肠易激综合征内脏敏感性增高的关键中间环节,肥大细胞活化诱导类胰蛋白酶分泌,作用于细胞膜受体PAR-2,经PKC途径致敏TRPV1使其磷酸化,引起疼痛神经递质P物质(substance P,SP)、降钙素相关肽(calcitonin gene related peptide,CGRP)等的释放,使脊髓背根神经节神经元兴奋性持续增高,疼痛神经元致敏,痛阈下降,致肠易激综合征内脏高敏的发生^[8-11]。因此,抑制PAR-2介导TRPV1敏化对下调肠易激综合征内脏高敏反应有重要意义。本文拟通过观察合募配穴针刺对IBS大鼠模型脊髓背根神经节组织中PAR-2、TRPV1、CGRP、SP表达的影响,在脊髓水平探讨合募配穴法治疗IBS内脏高敏的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康SPF级SD雄性大鼠48只,体质量180~200 g。随机分为空白组、模型组、药物组、合募针刺

组,每组12只。湖南斯莱克景达实验动物有限责任公司提供。许可证号为:SYXK(湘)2013-0005,质量合格证号:43004700025547。购入后于湖南中医药大学动物实验中心单只单笼饲养,自由进食水,室温22~25℃,湿度50%~70%,光照周期12/12 h。

1.2 药物和试剂

匹维溴胺片(Abbott Products SAS公司,批号:640434)。CGRP抗体(ab47027,英国Abcam公司);PAR2抗体(ab180953,英国Abcam公司);TRPV1(22686-1-AP,美国Proteintech公司);RIPA裂解液(中国北京普利莱);DAB试剂盒(中杉金桥);SuperECL Plus超敏发光液(美国Thermo pierce);显影液、定影液(中国WellBiologY公司)

1.3 主要仪器

华佗牌SDZ-II型电子针疗仪(苏州医疗用品有限公司);电泳仪(164-5050,美国Bio-rad);电泳槽、转膜仪(中国北京六一)。

1.4 造模方法及评价

1.4.1 造模 采用吕红等^[12]建立的肠易激综合征动物模型方法。给予大鼠刺激方式共7项:断水24 h,夹尾1 min,45℃环境5 min,游泳3 min(4℃冰水),明暗颠倒(12/12 h),禁食24 h,水平振荡(160次/min)45 min,前21 d内随机给予一种刺激,7种为1个周期,每天刺激方式不同;慢性应激处理终止后给予急性束缚应激1 h,将大鼠乙醚麻醉昏迷后,用胶带束缚其肩、双前肢及胸部,但不限制其活动,从大鼠清醒后开始计时,束缚时间为1 h。采用行为学的方法,观察电针对IBS内脏高敏大鼠腹壁回缩反射评分的影响。

1.4.2 腹壁回缩反射(AWR)评价 大鼠禁食12 h,把带有球囊的导尿管经石蜡润滑后插入大鼠肛门内,球囊距离大鼠肛门4.5 cm,把大鼠放入特制的20 cm×8 cm×8 cm大小的亚克力透明板盒中,30 min后检测大鼠内脏敏感性。检测时快速充气使

球囊体积扩张,容量分别达到 0.5、1、1.5 mL^[13],每个阶段持续 20 s,每只大鼠重复 3 次,观察大鼠腹壁对直肠球囊扩张刺激的反应。AWR 评分^[14]:直肠球囊扩张无明显反应视为 0 分;头部稍运动后停止为 1 分;腹部肌肉轻微收缩无抬离地面为 2 分;腹部肌肉强烈收缩抬离地面为 3 分;腹部收缩抬起、弓背、骨盆抬起为 4 分。测量重复 3 次取平均值为最后评分结果。

1.5 选穴和电针参数

取穴定位:参照《实验针灸学》^[15]大鼠标准穴位图谱定位及华兴邦等制定的《实验动物穴位图谱》^[16]提供的方法,并模拟人体腧穴骨度分寸法量取,以胸锁联合和耻骨联合连线下 1/4 与上 3/4 交点为大鼠肚脐,天枢穴位于脐中旁开 5 mm;上巨虚取大鼠后肢足三里向下约 5 mm 处,针刺深度 0.2~0.3 寸,进针后连接华佗牌 SDZ-II 型电子针疗仪,正极连接天枢穴,负极连接上巨虚穴,疏波 10 HZ,密波 50 HZ,强度以大鼠肢体末端轻微抖动为宜,每次留针 30 min。

1.6 干预方法

造模结束后,空白、模型、药物 3 组正常饲养,每天予以与合募针刺组相同的捆绑固定 30 min,空白组、模型组和合募针刺组灌服生理盐水;同时合募针刺组对大肠下合穴上巨虚和募穴天枢穴进行电针干预,药物组给予匹维溴胺灌胃,用生理盐水配制成 1 mg/mL 混悬液,每日 15 mg/kg,给药剂量按照实验动物研究“等效剂量”的方法计算。以上处理方法,1 次/d,连续 14 d。

1.7 标本制备及免疫组化染色

各组大鼠的大鼠脱颈致死,在冰上快速取出大鼠的脊髓腰骶段(L5~S2)以 4%多聚甲醛液固定,常规石蜡包埋。脊髓进行连续切片,片厚 2 μ m,60 $^{\circ}$ C 烤片 30~60 min,切片脱蜡至水,热修复抗原,孵育一抗(浓度为 1:50 稀释的 PAR2、TRPV1、SP 和 CGRP

抗体)、二抗,PBS 冲洗 5 min \times 3 次;DAB 显色,室温孵育 1~10 min 苏木素复染 5~10 min,蒸馏水冲洗,PBS 返蓝;各级酒精(60%~100%)脱水,每级 5 min。取出后置于二甲苯 10 min,2 次,中性树胶封片、显微镜观察。镜下控制反应时间,阳性染色为黄色或黄棕色。应用计算机图像分析系统半定量分析视野下的阳性表达部位的累积光密度和视野下样品面积的比值(IOD)。IOD 值反应组织染色强度,即 IOD 值越大染色越强。采像为普通的电脑采像,图像分析软件为 IPP(Image-Pro Plus)。

1.8 统计方法

所获取数据用 SPSS 22.0 for windows 软件统计处理,各项检测指标数据用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。所有资料进行正态性检验;符合正态分布者,多组计量资料采用单因素方差分析(One-way ANOVA),方差齐者用 LSD 和 SNK 法;不符合正态分布者,方差不齐时采用秩和检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义, $P<0.01$ 表明差异有显著统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠腹壁回缩反射(AWR)评分比较

由表 1 可见,治疗前,在结肠扩张(CRD)容量 0.5 mL、1 mL、1.5 mL 时,模型组、药物组和合募针刺组大鼠 AWR 评分与空白组相比均具有差异,有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);治疗后,合募针刺组和药物组 AWR 评分与治疗前相比均具有明显差异($P<0.05$ 或 $P<0.01$),治疗有效;模型组与空白组有明显差异($P<0.01$),合募针刺组和药物组与模型组相比差异均具有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$),合募针刺组与药物组比较无明显差异($P>0.05$)。

2.2 各组大鼠 PAR-2 和 TRVP1 的 IOD 值比较

表 2 可见,免疫组化 PAR-2 和 TRVP1 的 IOD

表 1 各组治疗前后 AWR 评分比较

($\bar{x}\pm s$,分)

组别	n	治疗前			治疗后		
		0.5 mL	1 mL	1.5 mL	0.5 mL	1 mL	1.5 mL
空白组	12	1.43 \pm 0.27	2.46 \pm 0.42	3.5 \pm 0.53	1.33 \pm 0.22	2.20 \pm 0.32	3.2 \pm 0.28
模型组	12	1.90 \pm 0.27**	3.10 \pm 0.52*	3.87 \pm 0.32**	1.77 \pm 0.22**	2.78 \pm 0.22**	3.83 \pm 0.18**
药物组	12	2.17 \pm 0.48**	3.23 \pm 0.76**	3.83 \pm 0.44*	1.37 \pm 0.55 Δ #	2.27 \pm 0.27 $\Delta\Delta$ ##	3.27 \pm 0.34 $\Delta\Delta$ ##
合募针刺组	12	1.93 \pm 0.38**	3.30 \pm 0.55**	3.89 \pm 0.24**	1.40 \pm 0.32 Δ #	2.23 \pm 0.27 $\Delta\Delta$ ##	3.41 \pm 0.31 $\Delta\Delta$ ##

注:与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$;与同组治疗前比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

值中模型组与空白组相比差异均有明显统计学意义($P<0.01$),合募针刺组和药物组与模型组相比在治疗后差异均具有统计学意义($P<0.01$),合募针刺组与药物组相比差异有统计学意义($P<0.05$),药物组 PAR-2 和 TRPV1 的 IOD 值更低。由图 1-2 可见切片经免疫组化染色后,免疫反应物呈黄棕色聚集于脊髓背根神经节细胞质中。在空白组、药物组和合募针刺组背根神经节中,整个视野可见阳性细胞与模型组相比数量较少,部分棕黄色颗粒沉积,少量蓝染颗粒沉积,PAR-2 和 TRPV1 的表达量低;模型组中神经细胞胞质内 PAR-2 和 TRPV1 表达丰富,视野可见大量棕黄色颗粒沉积。

表 2 各组大鼠 PAR-2、TRPV1 的 IOD 值比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	PAR-2	TRPV1
空白组	12	0.047 6±0.010 0	0.042 8±0.012 6
模型组	12	0.099 5±0.010 0**	0.096 5±0.011 9**
药物组	12	0.065 0±0.007 2 $\Delta\Delta$	0.071 1±0.006 7 $\Delta\Delta$
合募针刺组	12	0.079 4±0.053 8 $\Delta\Delta\#$	0.072±0.007 7 $\Delta\Delta\#$

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta\Delta P<0.01$;与药物组比较,# $P<0.05$ 。

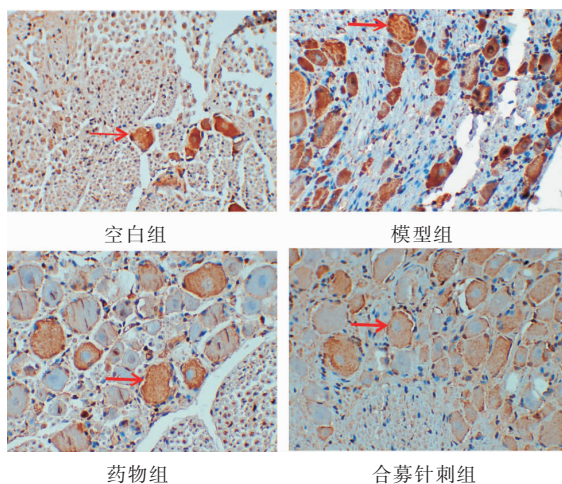


图 1 各组脊髓背根神经节中 PAR-2 的表达情况 (免疫组化染色,×400)

2.3 各组大鼠 SP 和 CGRP 的 IOD 值比较

表 3 可见,免疫组化 CGRP 的 IOD 值中模型组与空白组相比差异具有明显统计学意义($P<0.01$),治疗合募针刺组和药物组与模型组相比差异具有统计学意义($P<0.01$),合募针刺组与药物组相比差异有统计学意义($P<0.05$),药物组 CGRP 的 IOD 值更低;在 SP 的 IOD 值中模型组与空白组相比差异有统计学

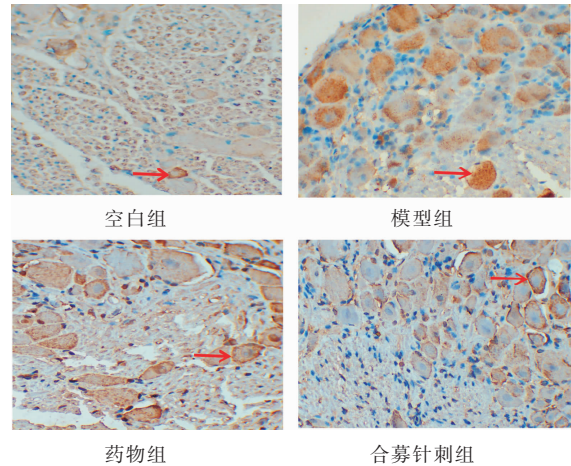


图 2 各组脊髓背根神经节中 TRPV1 的表达情况 (免疫组化染色,×400)

意义($P<0.01$),治疗后合募针刺组和药物组与模型组相比差异具有统计学意义($P<0.01$),合募针刺组与药物组相比差异无统计学意义($P>0.05$)。图 3-4 可见,在空白组、药物组和合募针刺组背根神经节中,视野可见阳性细胞与模型组相比数量较少,部分棕黄色颗粒沉积,SP 和 CGRP 的表达量低;模型组中神经细胞胞质内 SP 和 CGRP 表达丰富,视野可见大量棕黄色颗粒沉积。

表 3 各组大鼠 SP、CGRP 的 IOD 值比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	SP	CGRP
空白组	12	0.031 7±0.006 94	0.048 9±0.010 9
模型组	12	0.067 71±0.020 59**	0.096 8±0.010 7**
药物组	12	0.058 43±0.029 61 $\Delta\Delta$	0.064 7±0.026 3 $\Delta\Delta$
合募针刺组	12	0.044 08±0.021 82 $\Delta\Delta$	0.079 2±0.040 3 $\Delta\Delta\#$

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta\Delta P<0.01$;与药物组比较,# $P<0.05$ 。

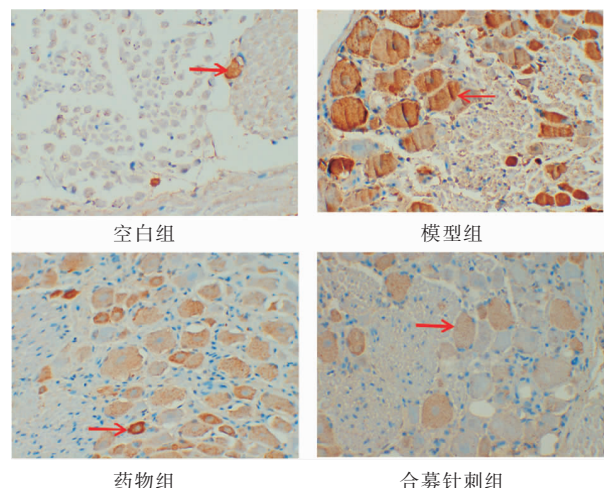


图 3 各组脊髓背根神经节中 SP 的表达情况 (免疫组化染色,×400)

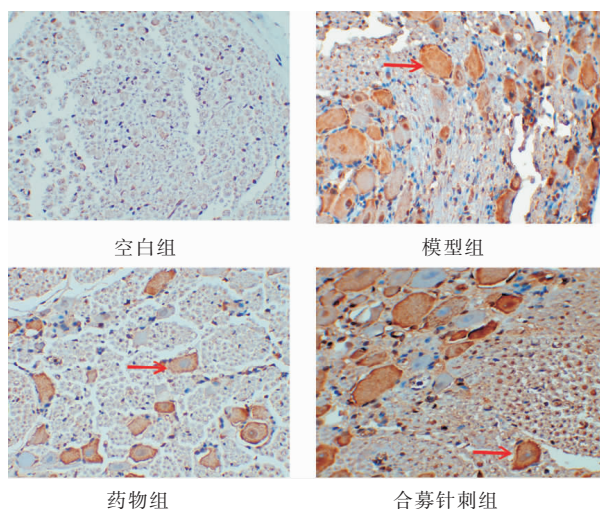


图4 各组脊髓背根神经节中 CGRP 的表达情况
(免疫组化染色,×400)

3 讨论

肠易激综合征在中医里属于“泄泻”“便秘”“腹痛”的范畴,病位在肠,涉及肝、脾、肾三脏,多由肝郁脾虚导致^[17]。针刺治疗肠易激具有较好疗效^[18],在本实验中选用电针上巨虚,天枢的“合募配穴”法是临床针灸治疗 IBS 的常采用较为经典的配穴方法之一。合募配穴是将下合穴与本经募穴相配以治疗六腑疾病的一种配穴方法,下合穴是治疗六腑病证的有效穴位,《素问·咳论》曰:“治府者,治其合”,表明下合穴在治疗腑病上有独特之处;《难经·六十七难》载:“五脏募皆在阴而俞在阳者,何谓也。然,阴病行阳,阳病行阴,故令募在阴”,募穴属阴,有调整脏腑功能的作用,是治疗六腑病的要穴^[19-20]。天枢为大肠募穴,故天枢穴主疏调肠腑、理气消食导滞,是治疗肠道疾病要穴;上巨虚为大肠的下合穴,取“合治内府”之义^[21]。所以合募配穴是取两者在主治上的共性,相互协调,增强疗效。

内脏高敏感被广泛认为存在于 IBS 病人中^[22-23]。大量周围神经损伤致疼痛敏化的相关实验研究表明,脊髓背根神经节是一个痛敏调节中的关键所在,是内脏敏化调控的重要部位,广泛参与痛敏信号的传递与调节,现已成为研究 IBS 致内脏高敏化机制的关键部位^[24]。PAR-2 在结肠、脊髓背根神经节高表达,参与神经原性炎症、疼痛和增加痛觉增敏性的过程等,PAR-2 的激活在 IBS 内脏高敏感性的发生中扮演着重要的角色^[25]。肠黏膜肥大细胞活化后

分泌类胰蛋白酶(tryptase, Try),激活神经细胞或炎症细胞上的细胞膜受体 PAR-2,PAR-2 被激活后可导致疼痛介质 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT)、SP、CGRP 等从初级传入神经纤维末梢等释放,引起神经元兴奋性增高,致内脏敏化的形成^[26]。有研究表明 TRPV1 通路在内脏敏感性异常形成信息通路中占据重要地位,TRPV1 被认为是一个新的与内脏感知异常通路形成相关的关键受体,TRPV1 磷酸化亦可引起疼痛神经递质的释放而引起肠易激综合征内脏高敏感及腹痛的发生^[27-28]。PAR-2 与 TRPV1 在初级传入神经上共定位,PAR-2 被激活时可以激活蛋白激酶 C (Protein kinase C, PKC),从而致敏 TRPV1 受体。由此可见,PAR-2 介导 TRPV1 敏化可能是肠易激综合征内脏敏感性增高的关键中间环节,肥大细胞活化诱导类胰蛋白酶分泌,作用于细胞膜受体 PAR-2,经 PKC 途径致敏 TRPV1 使其磷酸化,引起疼痛神经递质 SP、CGRP 等的释放,使 DRG 神经元兴奋性持续增高,疼痛神经元致敏,痛阈下降,致肠易激综合征内脏高敏的发生。

本实验研究发现,在治疗后 AWR 行为学评定中,模型组大鼠评分较空白组有明显差异($P<0.01$),合募针刺组和药物组评分与模型组差异明显($P<0.01$),且体质量与模型组相比明显增加,表明合募针刺治疗有效;模型组大鼠与空白组比较,背根神经节中 PAR-2、TRPV1、CGRP 和 SP 表达显著升高 ($P<0.01$);合募针刺组和药物组与模型组比较,背根神经节 PAR-2、TRPV1、CGRP 和 SP 表达明显下降 ($P<0.01$)。综上所述,研究团队认为合募配穴电针使细胞膜受体 PAR-2 活化下降,TRPV1 去磷酸化,疼痛神经递质 SP、CGRP 释放减少,脊髓背根神经节 DRG 神经元兴奋性下降,疼痛神经元脱敏,痛阈上升,减轻了 IBS 内脏高敏感,缓解 IBS 的腹痛症状。通过抑制 PAR-2/TRPV1 途径,减少 CGRP、SP 的释放,是合募配穴针刺有效对抗内脏高敏感性,治疗 IBS 的机制之一。

参考文献:

- [1] MEARIN F, CIRIZA C, MÍNGUEZ M et al Clinical practice guidelines Irritable bowel syndrome with constipation and functional constipation in adults: Concept, diagnosis, and healthcare continuity. (Part 1

- of 2[J]. *Semergen*, 2017, 43(1):43.
- [2] 何宛蓉. 肠易激综合征流行病学研究现状与进展[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2012, 21(1):83-88.
- [3] 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.
- [4] BUONO J L, CARSON R T, FLORES N M. Health-related quality of life, work productivity, and indirect costs among patients with irritable bowel syndrome with diarrhea [J]. *Health & Quality of Life Outcomes*, 2017, 15(1):35.
- [5] 杜海涛, 陈峥, 万军. 肠易激综合征的病理机制研究进展[J]. *解放军医学院学报*, 2017, 38(1):85-88.
- [6] 李海龙, 任维, 李彦敏, 等. 肠易激综合征相关致病因素及发病机制研究进展[J]. *医学与哲学*, 2017, 38(4):73-76.
- [7] GATTI R, ANDRE E, AMADESI S, et al. Protease-activated receptor-2 activation exaggerates TRPV1-mediated cough in guineapigs[J]. *J Appl Physiol*, 2006, 101(2):506-511.
- [8] LIANG W J, ZHANG G, LUO H S, et al. Tryptase and Protease-Activated Receptor 2 Expression Levels in Irritable Bowel Syndrome[J]. *Gut & Liver*, 2016, 10(3):382.
- [9] 奚庆华, 曾威, 吴至久. 肠黏膜肥大细胞与肠易激综合征发病机制作用的研究进展[J]. *现代医药卫生*, 2017, 33(11):1656-1658.
- [10] GATTI R, ANDRE E, AMADESI S, et al. Protease-activated receptor -2 activation exaggerates TRPV1-mediated cough in guineapigs[J]. *J Appl Physiol*, 2006, 101(2):506-511.
- [11] KAYSSI A, AMADESI S, BAUTISTA F, et al. Mechanisms of protease-activated receptor2-evoked hyperexcitability of nociceptive neurons innervating the mouse colon [J]. *J Physiol*, 2007, 580(3): 977-991.
- [12] 吕红, 钱家鸣, 金光亮, 等. 肠易激综合征慢急性联合应激动物模型的建立及其感觉、动力和心理行为的评价[J]. *中华内科杂志*, 2009, 48(12):1035-1039.
- [13] 李雪, 沈明勤. 肠康方对腹泻型肠易激综合征大鼠SP, VIP的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(12):112-115.
- [14] 白殿卿, 孙晓宁, 安钰, 等. 大鼠肠易激综合征模型的建立及其评价[J]. *中国实验动物学报*, 2009, 17(5):377-379.
- [15] 余曙光. *实验针灸学*[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2009.
- [16] 华兴邦, 周浩良. 大鼠穴位图谱的研制[J]. *实验动物与动物实验*, 1991(1):1-5.
- [17] 张声生, 李乾构, 魏玮, 等. 肠易激综合征中医诊疗共识意见[J]. *中华中医药杂志*, 2010, 25(7):1062-1065.
- [18] CHAO G Q, ZHANG S. Effectiveness of acupuncture to treat irritable bowel syndrome: A meta-analysis[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20(7):1871-1877.
- [19] 董明, 郭欣欣, 吴焕淦, 等. 合募配穴的理论依据及在脾胃病中的应用[J]. *河南中医*, 2014, 34(1):139-141.
- [20] 张辉, 陈媛, 李应昆. 合募配穴论治慢性功能性便秘[J]. *中医研究*, 2013, 26(2):53-54.
- [21] 程艳婷, 路晓红, 王艳珍, 等. 中脘、天枢、上巨虚为肠病基本方的古代文献研究[J]. *江苏中医药*, 2011, 43(7):79-80.
- [22] KANAZAWA M, HONGO M, FUKUDO S. Visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome[J]. *Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 2011, 26(s3):119-121.
- [23] 彭珊, 赵钢, 李春艳. 肠易激综合征的发病机制研究进展[J]. *中国医药导报*, 2016, 13(6):54-57.
- [24] WOOD J D. Enteric nervous system: sensory physiology, diarrhea and constipation[J]. *Current Opinion in Gastroenterology*, 2010, 26(2):102-108.
- [25] CENAC N, CHAPMAN K, ANDRADE-GORDON P, et al. Role for proteases and protease-activated receptor-2 (par2) in pain associated with irritable bowel syndrome (IBS)[J]. *Research*, 2005:A14.
- [26] WANG J J, JIANG Z D, ZHANG Z Y, et al. Role of mast cells and protease activated receptor-2 in irritable bowel syndrome [J]. *World Chinese Journal of Digestology*, 2014, 22(3): 327-332.
- [27] HONG S, FAN J, KEMMERER E S, et al. Reciprocal changes in vanilloid (TRPV1) and endocannabinoid (CB1) receptors contribute to visceral hyperalgesia in the water avoidance stressed rat[J]. *Gastroenterology*, 2009, 58(2):202-210.
- [28] 袁莉莉. 内脏高敏感大鼠结肠特异背根神经节神经元的兴奋性及 TRPV1、P2X3 受体表达研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2014.

(本文编辑 匡静之)