

# 痛泻要方破壁饮片对慢性避水应激大鼠内脏高敏感性的调节作用

胡莹<sup>1</sup>, 郑依玲<sup>2</sup>, 梅全喜<sup>3</sup>, 彭伟文<sup>1</sup>, 宋叶<sup>1</sup>(1. 中山市中医院, 广东 中山 528400; 2. 广州市中西医结合医院, 广东 广州 510800; 3. 深圳市宝安纯中医治疗医院, 广东 深圳 518101)

**摘要:** **目的** 观察痛泻要方破壁饮片对慢性避水应激大鼠内脏高敏感性的调节作用。**方法** 将 85 只 Wistar 大鼠随机分为空白组、模型组、匹维溴铵组( $0.018\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )、痛泻要方传统饮片组( $4.060\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )及痛泻要方破壁饮片低、中、高剂量组( $1.015$ 、 $2.030$ 、 $4.060\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )。采用慢性避水应激法建立肠易激综合征内脏高敏感性大鼠模型, 连续 10 d。第 3 天开始, 每日避水实验前 1 h 进行灌胃给药, 连续 8 d。观察记录模型复制期间大鼠体质量及排便情况; 采用腹壁撤回反射(AWR)评分对大鼠进行内脏敏感性评估; 观察 5-羟色胺(5-HT)诱导下大鼠离体肠平滑肌收缩情况; 采用 ELISA 法检测大鼠结肠及脑组织中的 5-HT 含量; 苏木精-伊红染色法(HE)观察大鼠结肠及脑组织病理形态学变化; 采用免疫组化及 Western Blot 法检测 5-羟色胺 3A 受体(5-HTR3A)在大鼠结肠黏膜及脑组织中的表达情况。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠体质量明显下降( $P<0.01$ ), 排便粒数及 AWR 评分明显增加( $P<0.01$ ); 5-HT 诱导的大鼠离体结肠肌条张力显著增加( $P<0.01$ ); 结肠黏膜及脑组织中的 5-HT 及 5-HTR3A 表达量显著增加( $P<0.01$ )。与模型组比较, 痛泻要方破壁饮片各剂量组及传统饮片组的大鼠体质量呈明显上升趋势( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 排便粒数明显减少( $P<0.01$ ), 痛泻要方破壁饮片高剂量组及传统饮片组的大鼠 AWR 评分明显降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ); 痛泻要方破壁饮片组及传统饮片组的离体结肠肌条张力明显降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ); 痛泻要方破壁饮片各剂量组及传统饮片组的大鼠结肠及脑组织中 5-HT 含量及 5-HTR3A 表达量均明显降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。痛泻要方破壁饮片高剂量组的改善效果优于传统饮片组, 但差异无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** 痛泻要方破壁饮片可有效缓解慢性避水应激大鼠的内脏高敏感性, 其作用机制可能与调控 5-HT 信号通路, 抑制 5-HT 及 5-HTR3A 的过度表达有关。

**关键词:** 痛泻要方破壁饮片; 肠易激综合征; 慢性避水应激; 内脏高敏感性; 5-羟色胺; 大鼠

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)03-0322-10

**doi:** 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.03.004

## Effects of Tongxie Yaofang Formula Ultrafine Granular Powder in Viscera Hypersensitive of Rats with Chronic Water Avoidance Stress

HU Ying<sup>1</sup>, ZHENG Yiling<sup>2</sup>, MEI Quanxi<sup>3</sup>, PENG Weiwen<sup>1</sup>, SONG Ye<sup>1</sup> (1. Hospital of Traditional Chinese Medicine of Zhongshan, Zhongshan 528400 Guangdong, China; 2. Guangzhou Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Guangzhou 510800 Guangdong, China; 3. Shenzhen Bao'an Hospital of Pure Chinese Medicine Treatment, Shenzhen 518101 Guangdong, China)

**Abstract: Objective** To study the effects of *Tongxie Yaofang* formula ultrafine granular powder (POTXYF) on the regulation of 5-HT signaling pathway in viscera hypersensitive of rats with chronic water avoidance stress (WAS).

**Methods** 85 Wistar rats were randomly divided into normal group, model group, Pinaverium Bromide group ( $0.018\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), POTXYF low, medium, high dosages groups ( $1.015$ ,  $2.030$ ,  $4.060\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), and TXYF group ( $4.060\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). The visceral hypersensitive model (VH) of diarrheal irritable bowel syndrome (IBS-D) in rats were established by WAS for 10 d. From the third day of modelling, the rats were given correspondent drugs 1 h before

收稿日期: 2020-07-17

作者简介: 胡莹, 女, 硕士, 副主任中药师, 研究方向: 广东地产药材的药理作用研究。Email: 64460266@qq.com。通信作者: 梅全喜, 男, 主任中药师, 博士研究生导师, 研究方向: 药学史及本草研究、地产药材及中药临床药理学研究。Email: meiquanxi@163.com。

基金项目: 广东省中医药管理局面上项目(20191358)。

WAS consecutively for 8 d. The changes of body mass, number of fecal pellets and abdominal withdrawal reflex (AWR) scores in VH rats were measured and evaluate. The contractility of colon smooth muscle induced by 5-HT *in vitro* was observed. The concentrations of 5-HT in the colon and brain were determined by ELISA. The pathological structure of the colonic mucosa and brain was visualized by HE. The expression of 5-HTR3A in colonic mucosa and brain was determined by IHC and Western Blot. **Results** Compared with the normal group, the body mass in model group rats were decreased significantly ( $P < 0.01$ ); the number of fecal pellets and the AWR score were increased significantly ( $P < 0.01$ ); the contractility of colon smooth muscle increased significantly induced by 5-HT *in vitro* ( $P < 0.01$ ); the pathological structure of the colonic mucosa and brain were slight changed, and the expressions of 5-HT and 5-HTR3A in the colonic mucosa and brain were significantly increased ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, the body mass increased significantly in each treatment group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); the numbers of fecal pellets were decreased significantly ( $P < 0.01$ ); and the AWR scores in POTXYF high dose group and TXYF group decreased significantly ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The hypervelocity contractility of colon smooth muscle were effectively inhibited significantly in POTXYF groups and TXYF group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), and the expression of 5-HT and 5-HTR3A in colon mucosa and brain effectively were reduced ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The effect of POTXYF high dose group was better than TXYF. **Conclusion** POTXYF can treat IBS-D effectively, improve visceral hypersensitivity in VH model rats; the mechanism may be related to inhibition of excessive release and synthesis of 5-HT in the colon and brain by regulating the 5-HT signaling pathway.

**Keywords:** *Tongxie Yaofang* formula ultrafine granular powder; irritable bowel syndrome; chronic water avoidance stress model; visceral sensitivity; 5-HT; rats

肠易激综合征(Irritable bowel syndrome, IBS)是一种功能性胃肠道疾病<sup>[1-2]</sup>,患者伴有腹痛、腹胀及排便习惯改变等不适症状,属中医“腹痛”“泄泻”范畴<sup>[3]</sup>。我国主要以腹泻型肠易激综合征(IBM-D)为主<sup>[4-6]</sup>,其病程绵延反复,易受情绪影响,严重影响患者的生活质量。IBM-D 病因病机复杂<sup>[7-8]</sup>,内脏高敏感性是其发病的一个重要因素。研究表明,IBM-D 患者血清及肠黏膜中 5-羟色胺(5-HT)含量显著增加<sup>[9-11]</sup>,5-HT 信号通路参与了 IBM-D 的发生过程<sup>[12-13]</sup>。

痛泻要方首见于《丹溪心法》,由白术、白芍、防风、陈皮组成,全方侧重抑木培土,是临床有效治疗 IBM-D 的经典方剂<sup>[14]</sup>。与传统饮片相比,破壁饮片经过超微粉碎技术破壁处理,具有提高有效成分溶出率及均匀性,增加药材生物利用度,便于患者使用等优势。本课题组前期研究建立了对痛泻要方饮片及其破壁饮片的质量控制方法<sup>[15-16]</sup>。并通过药理研究<sup>[17-19]</sup>表明,痛泻要方破壁饮片可有效抑制小鼠胃排空、小肠推进及转运功能;有效调节离体大鼠结肠平滑肌收缩,缓解胃肠痉挛;可有效改善小鼠内脏高敏模型的胃肠道症状。本实验拟采用慢性避水应激法(Water avoidance stress, WAS)建立 IBM-D 大鼠内脏高敏感性(Visceral hypersensitive, VH)模型,基于 5-HT 信号通路探讨痛泻要方破壁饮片对 IBM-D

大鼠内脏高敏感性的调节作用,并继续与传统饮片组方的药效进行比较,以期破壁饮片的临床应用提供依据。

## 1 材料与方法

**1.1 动物** 健康雄性 Wistar 大鼠,85 只,SPF 级,7 周龄,体质量( $180 \pm 220$ )g,由山东省医学实验动物中心提供,动物质量合格证号:3700920005166,动物生产许可证号:SCXK(鲁)20140007。动物饲养于中山市中医院屏障级实验室内,实验室动物使用许可证号:SYXK(粤)2015-0109;12 h 昼夜交替,保持室内恒温( $22 \pm 2$ )℃,相对湿度 40%~70%;动物进入实验室后统一适应性喂养 1 周。

**1.2 药物、试剂及制备** 白术(批号:20140301)、白芍(批号:20140301)、陈皮(批号:20140301)、防风(批号:20140201),均购自南京同仁堂药店,经中山市中医院药检室曾聪彦主任中药师鉴定合格。将白术、白芍、陈皮、防风中药饮片按 9:6:4.5:3 称取,置于圆底烧瓶中,加入 10 倍量(*m/V*)蒸馏水浸泡 30 min;回流提取 1 h,用 8 层纱布过滤药液,药渣再加入 8 倍量蒸馏水,回流提取 45 min;合并 2 次滤液,用旋转蒸发器浓缩至适宜浓度,置于 4℃ 备用。



痛泻要方破壁饮片(批号: 20160130), 由中山市中智药业公司提供, 使用前以 90 ℃ 水溶解; 匹维溴铵(得舒特, 批号: 642647), 法国 Abbott Healthcare SAS 公司。BCA 蛋白浓度测定试剂盒(批号: 74k00153)、RIPA 裂解液(强, 批号: 78100150)、5×SDS 蛋白电泳上样缓冲液(批号: 795001100), 均为北京鼎国昌盛生物技术公司产品; Rat 5-HT Elisa KIT 96T(批号: 05/2017), 上海酶联生物科技有限公司; HRP Goat Anti-Rabbit IgG 二抗(批号: 9300014001)、GAPDH 抗体(批号: 0074420202)、5-羟色胺 3A 受体(5-HTR3A)抗体(批号: 0015230201), 均为美国 Abclonal 公司产品; SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(批号: 75L001100), 杭州联科生物公司; Maker(批号: 00482123), 美国 Thermo Scientific 公司; 显影定影试剂盒(批号: 052417170810), 上海碧云天生物技术有限公司。

Ker's 液配制: 分别精确称取 KCl 4.75 mmol·L<sup>-1</sup>、NaCl 118 mmol·L<sup>-1</sup>、NaHCO<sub>3</sub> 24.8 mmol·L<sup>-1</sup>、MgSO<sub>4</sub> 1.18 mmol·L<sup>-1</sup>、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.18 mmol·L<sup>-1</sup>、C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>·H<sub>2</sub>O 10 mmol·L<sup>-1</sup>, 加入 1 L 蒸馏水, 混匀, 搅拌至所有物质完全溶解, 再缓缓加入 CaCl<sub>2</sub> 2.5 mmol·L<sup>-1</sup>, 搅拌至无沉淀即得。

**1.3 主要仪器** Multiskan FC 酶标仪、WELLWASH 洗板机, 美国 Thermo Scientific 公司; 10G 超微粉碎匀浆机, 德国 FLUKO 公司; TD25-WS 型 48 孔多管架自动平衡离心机, 长沙湘仪离心机仪器有限公司; TS-8 型摇床, 海门市其林贝尔仪器公司; PowerLab8/30 型生物机能实验系统, 澳大利亚 ADInstruments 公司; TRT201A 型生物张力换能器及压力传感器、LE 13206 THERMOSTAT 恒温平滑肌浴槽, 西班牙 Panlab Harvard Apparatus 公司; JY 92-IIN 型超声波细胞粉碎机, 宁波新芝生物科技公司; BK-DM500 型数码显微镜, 重庆奥体光学显微镜公司; LEICA2015-RM 型切片机, 德国徕卡公司; EPS-300 型电泳仪、VE-180 型电泳槽, 上海天能科技公司; Gel Doc XR+凝胶成像系统, 美国 Bio-Rad 公司。

**1.4 分组、模型复制及给药** 将 85 只大鼠随机分为 7 组: 空白组、模型组、匹维溴铵组(0.018 g·kg<sup>-1</sup>)、痛泻要方传统饮片组(4.060 g·kg<sup>-1</sup>)及痛泻要方破壁饮片低、中、高剂量组(1.015、2.030、4.060 g·kg<sup>-1</sup>, 相当于成人临床剂量的 1/4、1/2、1 倍剂量)。采用慢性避水应激法建立内脏高敏感性大鼠模型<sup>[20]</sup>, 随

机挑选 8 只大鼠作为空白组, 其余大鼠作为造模组。制作规格为 45 cm × 25 cm × 25 cm 的盒子, 并于盒子正中间放 1 个规格为 8 cm × 8 cm × 10 cm 的小站台; 盒子中加水, 使水面高度低于小站台 1 cm, 水温控制在 25 ℃。将大鼠分别置于小站台上, 于每天 10:00~11:00 进行避水实验 1 h, 连续 10 d。空白组的盒子中不加水, 大鼠站立于无水站台上。第 3 天开始, 每日避水实验前 1 h 进行灌胃给药, 连续 8 d, 模型组及空白组给予等量蒸馏水灌胃。模型复制期间观察各组大鼠的精神状态、毛色及饮食、饮水情况, 连续 10 d 记录大鼠的体质量变化及避水实验 1 h 内的排便粒数。

**1.5 大鼠内脏敏感性评价** 末次避水实验后, 采用腹壁撤回反射(Abdominal withdrawal reflex, AWR)评分标准<sup>[21]</sup>对大鼠进行内脏敏感性评估。采用导尿管连接血压计, 自制气囊扩张器; 将 10F 导尿管插入大鼠肛门, 球囊位置距离肛门处 1 cm, 用胶布将导管固定于大鼠尾部; 分别观察血压计 20、40、60、80 mmHg 时大鼠的行为变化, 每次加压间隔 5 min。AWR 评分标准: 无行为学反应, 0 分; 身体静止, 头部活动减少, 1 分; 腹肌轻微收缩, 腹部不离开地面, 2 分; 腹肌强烈收缩, 腹部抬离地面, 3 分; 骨盆抬起, 身体拱起, 4 分。当观察到大鼠腹部抬起时, 记录血压计读数作为 AWR 最小容量阈值(mmHg), 每只大鼠测定 3 次, 每次间隔时间 8 min, 结果取平均值。

**1.6 样本采集、处理** AWR 评分结束后, 采用 10% 水合氯醛(3.5 mL·kg<sup>-1</sup>)腹腔注射麻醉大鼠, 打开腹腔进行腹主动脉采血; 同时剖取大鼠结肠组织, 将其分为 3 段, 分别置于液氮、Ker's 营养液及 10% 多聚甲醛中备用; 最后, 将大鼠头骨打开, 取出大脑组织, 将其分为 2 份, 分别置于液氮及 10% 多聚甲醛中备用。液氮中的结肠及脑组织标本随后转移至 -80 ℃ 冰箱中保存。

**1.7 大鼠离体结肠平滑肌条收缩抑制率测定** 剪取模型组大鼠远端结肠, 置于 4 ℃ Ker's 液中, 通入 95%CO<sub>2</sub>+5%O<sub>2</sub> 的混合气体; 快速分离结肠周围肠系膜, 将结肠剪成 1 cm 小段; 将结肠两端分别挂在浴槽通气钩及张力换能器上, 并移至盛有 Ker's 液的 5 mL 浴槽中, 张力负荷值为 1 g; 将张力换能器连接 LabChart8 生物采集处理系统, 实验过程中保持浴槽温度为(37±0.5)℃, 并持续稳定通入 95%CO<sub>2</sub>+5%O<sub>2</sub> 的混合气体; 结肠在浴槽内平衡 30 min, 待其蠕动

稳定后,加入  $10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  5-HT, 然后每隔 5 min 向浴槽内加入生药浓度为  $500 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的痛泻要方传统饮片及破壁饮片供试液,使浴槽内最终生药梯度浓度分别为 3、6、12、24、48、60  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。观察并记录给药前、后 5 min 内结肠蠕动曲线,以初始结肠平均收缩张力为空白值,以加入 5-HT 后的平均张力为检测值,以给药后的平均张力为效应值,计算:收缩抑制率(%)=(检测值-效应值)/检测值 $\times 100\%$ 。

### 1.8 ELISA 法检测结肠及脑组织中的 5-HT 含量

将结肠及脑组织从  $-80^\circ\text{C}$  冰箱中取出,于  $37^\circ\text{C}$  水浴解冻;用 PBS 将结肠及脑组织冲洗干净,多余液体用滤纸吸干。分别精密称取 100 mg 结肠及脑组织,冰浴下分别将其剪碎,加入 1 mL 裂解液,粉碎、匀浆;取 10% 的组织匀浆液,于  $4^\circ\text{C}$ 、 $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 2 次,每次 10 min;取组织上清液,按照 ELISA 试剂盒说明书步骤操作,分别测定结肠及脑组织中的 5-HT 含量。

**1.9 结肠及脑组织病理形态学观察** 将结肠组织及脑组织于 10% 多聚甲醛中取出,依次脱水、石蜡包埋、切片,采用 HE 染色后,于  $\times 200$  显微镜下拍照,观察结肠及脑组织的病理形态学变化。

### 1.10 免疫组织化学法检测结肠及脑组织的 5-HTR3A 表达

将结肠组织及脑组织于 10% 多聚甲醛中取出,经常规脱水、透明、浸蜡、包埋、切片;二甲苯脱蜡,梯度酒精水化后,于蒸馏水中漂洗 5 min;然后以  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS (pH=7.4) 洗 3 次,每次 3 min,除去 PBS 液;每张切片加 50  $\mu\text{L}$  过氧化物酶阻断剂,避光、室温下孵育 10~30 min;以  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS 清洗后,加入 50  $\mu\text{L}$  正常动物非免疫血清,  $37^\circ\text{C}$  孵育 10~30 min;除去血清,不洗,加入 50  $\mu\text{L}$  5-HTR3A 一抗,  $37^\circ\text{C}$  孵育 1 h,  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS 清洗,除去 PBS 液;加入 50  $\mu\text{L}$  生物素标记二抗,  $37^\circ\text{C}$  孵育 30 min,  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS 清洗,除去 PBS 液;加入 50  $\mu\text{L}$  HRP 标记链霉素抗生物素蛋白,  $37^\circ\text{C}$  孵育 30 min,  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS 清洗,除去 PBS 液;加入 50  $\mu\text{L}$  DABA 显色液,避光,观察 1~15 min,阳性显色为黄褐色;冲洗,苏木素复染,冲洗,脱水,透明,中性树胶封片。阳性表达显示为胞浆染色呈淡黄色、咖啡色、棕黄色或棕黑色。阳性着色细胞计数方法:在  $\times 400$  显微镜下,每个样本随机选取 5 个不同的视野拍照;采用 IPP 6.0 病理图像分析系统测定各组免疫阳性产物光密度(OD)值,对每百个细胞中的阳性细胞进行计数。

### 1.11 Western Blot 法检测结肠及脑组织中 5-HTR3A 蛋白的表达

按照“1.8”项下方法制备结肠及脑组织上清液。采用 BCA 蛋白测定试剂盒,通过酶标仪进行蛋白定量。上样量 50  $\mu\text{g}$  蛋白,经 SDS-PAGE 80 V 恒压电泳,转移至 PVDF 膜上;以 3% 脱脂奶粉摇床室温封闭 1.5 h;洗脱后加入一抗 5-HTR3A (1:1 000)、GADPH (1:2 000),  $4^\circ\text{C}$  摇床上缓慢摇动过夜;经 TBST 洗涤 3 次,以荧光二抗 (1:5 000) 室温摇床孵育 1 h;经 TBST 洗涤 3 次后,滴加适量的 ECL 底物液 (1:1 混匀);待整个膜均覆盖发光液后放入暗匣中, X 光胶片压片,于显影液中直至条带显出;再于定影液中浸泡 1 min,用蒸馏水冲洗,室温下晾干。使用 Bio-Rad 凝胶成像系统分析胶片灰度值,将各组 5-HTR3A 灰度值分别与 GAPDH 灰度值的比值作为其相对表达量。

**1.12 统计学处理方法** 采用 SPSS 23.0 统计软件进行数据分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示;多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),两两比较用 LSD 检验;以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 痛泻要方破壁饮片对内脏高敏感性大鼠体质量、排便粒数及内脏敏感性评分的影响** 结果见表 1、表 2、表 3。与空白组比较,模型组大鼠的体质量呈明显下降趋势( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ;第 3~10 天),排便粒数明显增加( $P < 0.01$ ;第 1~10 天),AWR 评分明显升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ;40、60、80 mmHg)。与模型组比较,痛泻要方破壁饮片各剂量组及传统饮片组的大鼠体质量呈明显上升趋势( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ;第 5~10 天),排便粒数明显减少( $P < 0.01$ ;第 5~10 天);痛泻要方破壁饮片高剂量组及传统饮片组的大鼠 AWR 评分明显降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ;40、60、80 mmHg)。痛泻要方破壁饮片高剂量组的改善效果优于传统饮片组,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结果表明,痛泻要方破壁饮片可有效缓解内脏高敏感性模型大鼠的体质量下降,降低其排便频率及内脏敏感性。

**2.2 痛泻要方破壁饮片对 5-HT 诱导的内脏高敏感性大鼠离体结肠平滑肌的影响** 结果见表 4。与结肠蠕动稳定后的空白组基值比较,加入 5-HT 后的结肠肌条迅速收缩,张力明显增加( $P < 0.01$ )。与 5-HT 组比较,痛泻要方破壁饮片组及传统饮片组的结肠

表 1 痛泻要方破壁饮片对内脏高敏感性大鼠体质量的影响( $\bar{x} \pm s$ )Table 1 The effect of *Tongxie Yaofang* formula ultrafine granular powder on the body mass in visceral hypersensitive rats( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别       | 鼠数/只 | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | 体质量/g         |                             |                              |                              |                              | 增长率/% |
|----------|------|--------------------------|---------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------|
|          |      |                          | 第 1 天         | 第 3 天                       | 第 5 天                        | 第 7 天                        | 第 10 天                       |       |
| 空白组      | 8    | —                        | 232.63 ± 6.14 | 246.20 ± 10.93              | 259.63 ± 10.53               | 269.25 ± 9.47                | 291.38 ± 9.58                | 25.34 |
| 模型组      | 10   | —                        | 240.20 ± 4.39 | 233.81 ± 10.95 <sup>#</sup> | 229.40 ± 8.62 <sup>##</sup>  | 235.30 ± 7.90 <sup>##</sup>  | 235.70 ± 13.10 <sup>##</sup> | -1.84 |
| 匹维溴铵组    | 11   | 0.018                    | 238.91 ± 6.92 | 243.06 ± 6.50               | 250.09 ± 11.19 <sup>**</sup> | 259.73 ± 11.31 <sup>**</sup> | 276.45 ± 12.95 <sup>**</sup> | 15.69 |
| 破壁饮片低剂量组 | 10   | 1.015                    | 237.97 ± 7.45 | 243.80 ± 12.75              | 246.70 ± 13.22 <sup>*</sup>  | 251.50 ± 10.63 <sup>*</sup>  | 258.70 ± 8.55 <sup>**</sup>  | 8.74  |
| 破壁饮片中剂量组 | 9    | 2.030                    | 237.54 ± 6.95 | 232.00 ± 12.23              | 244.56 ± 12.09 <sup>*</sup>  | 258.00 ± 9.73 <sup>**</sup>  | 268.44 ± 14.69 <sup>**</sup> | 13.07 |
| 破壁饮片高剂量组 | 11   | 4.060                    | 233.75 ± 4.75 | 238.82 ± 9.08               | 240.46 ± 8.93 <sup>*</sup>   | 253.73 ± 8.79 <sup>**</sup>  | 267.45 ± 7.63 <sup>**</sup>  | 14.44 |
| 传统饮片组    | 11   | 4.060                    | 238.15 ± 7.31 | 245.00 ± 5.88               | 249.09 ± 12.12 <sup>**</sup> | 256.64 ± 9.86 <sup>**</sup>  | 271.09 ± 10.18 <sup>**</sup> | 13.88 |

注:与空白组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 表 2 痛泻要方破壁饮片对内脏高敏感性大鼠排便粒数的影响( $\bar{x} \pm s$ )Table 2 The effect of *Tongxie Yaofang* formula ultrafine granular powder on the number of the fecal pellets in visceral hypersensitive rats( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别       | 鼠数/只 | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | 排便粒数/粒                     |                            |                            |                            |                            |
|----------|------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|          |      |                          | 第 1 天                      | 第 3 天                      | 第 5 天                      | 第 7 天                      | 第 10 天                     |
| 空白组      | 8    | —                        | 7.38 ± 1.41                | 7.63 ± 1.06                | 6.13 ± 1.89                | 6.88 ± 1.36                | 6.88 ± 1.46                |
| 模型组      | 10   | —                        | 26.70 ± 2.06 <sup>##</sup> | 28.70 ± 1.57 <sup>##</sup> | 29.40 ± 2.59 <sup>##</sup> | 31.70 ± 2.16 <sup>##</sup> | 27.90 ± 3.45 <sup>##</sup> |
| 匹维溴铵组    | 11   | 0.018                    | 26.09 ± 1.81               | 26.82 ± 1.99               | 26.27 ± 1.19 <sup>*</sup>  | 23.73 ± 2.45 <sup>**</sup> | 18.55 ± 3.14 <sup>**</sup> |
| 破壁饮片低剂量组 | 10   | 1.015                    | 26.40 ± 1.78               | 26.80 ± 2.25               | 26.10 ± 1.66 <sup>*</sup>  | 25.10 ± 2.23 <sup>**</sup> | 22.10 ± 2.85 <sup>**</sup> |
| 破壁饮片中剂量组 | 10   | 2.030                    | 27.20 ± 1.93               | 27.10 ± 2.02               | 26.60 ± 2.22 <sup>*</sup>  | 24.30 ± 2.31 <sup>**</sup> | 21.40 ± 2.59 <sup>**</sup> |
| 破壁饮片高剂量组 | 11   | 4.060                    | 26.91 ± 2.55               | 26.55 ± 2.58               | 26.91 ± 1.14 <sup>*</sup>  | 23.91 ± 2.34 <sup>**</sup> | 19.91 ± 3.18 <sup>**</sup> |
| 传统饮片组    | 11   | 4.060                    | 26.27 ± 3.20               | 26.36 ± 2.84               | 25.00 ± 2.05 <sup>**</sup> | 24.09 ± 2.63 <sup>**</sup> | 20.09 ± 3.39 <sup>**</sup> |

注:与空白组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 表 3 痛泻要方破壁饮片对内脏高敏感性大鼠内脏敏感性评分的影响( $\bar{x} \pm s$ )Table 3 The effect of *Tongxie Yaofang* formula ultrafine granular powder on the colon sensitivity score by abdominal withdrawal reflex in visceral hypersensitive rats( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别       | 鼠数/只 | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | 腹壁撤回反射(AWR)评分/分 |                          |                           |                           |
|----------|------|--------------------------|-----------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
|          |      |                          | 20 mmHg         | 40 mmHg                  | 60 mmHg                   | 80 mmHg                   |
| 空白组      | 8    | —                        | 0.63 ± 0.52     | 1.00 ± 0.53              | 1.38 ± 0.52               | 1.88 ± 0.64               |
| 模型组      | 10   | —                        | 0.90 ± 0.57     | 1.70 ± 0.49 <sup>*</sup> | 3.10 ± 0.57 <sup>##</sup> | 3.70 ± 0.48 <sup>##</sup> |
| 匹维溴铵组    | 12   | 0.018                    | 0.58 ± 0.51     | 1.08 ± 0.29 <sup>*</sup> | 1.83 ± 0.58 <sup>**</sup> | 2.58 ± 0.67 <sup>**</sup> |
| 破壁饮片低剂量组 | 10   | 1.015                    | 0.60 ± 0.52     | 1.40 ± 0.52              | 2.70 ± 0.48               | 3.20 ± 0.63               |
| 破壁饮片中剂量组 | 11   | 2.030                    | 0.72 ± 0.47     | 1.28 ± 0.47              | 2.36 ± 0.50 <sup>*</sup>  | 3.09 ± 0.54               |
| 破壁饮片高剂量组 | 12   | 4.060                    | 0.42 ± 0.51     | 1.17 ± 0.39 <sup>*</sup> | 1.75 ± 0.45 <sup>**</sup> | 2.67 ± 0.49 <sup>**</sup> |
| 传统饮片组    | 11   | 4.060                    | 0.55 ± 0.52     | 1.18 ± 0.40 <sup>*</sup> | 1.82 ± 0.60 <sup>**</sup> | 2.91 ± 0.54 <sup>*</sup>  |

注:与空白组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 

肌条张力明显降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ; 24、48、60 mg·mL<sup>-1</sup>)。结果表明,痛泻要方破壁饮片可有效抑制 5-HT 体外诱导的内脏高敏感性大鼠离体结肠收缩,有松弛离体结肠平滑肌的作用。

**2.3 痛泻要方破壁饮片对内脏高敏感性大鼠结肠及脑组织中 5-HT 含量的影响** 结果见表 5。与空白组比较,模型组大鼠结肠及脑组织中的 5-HT 含量明显

增加( $P < 0.01$ );与模型组比较,痛泻要方破壁饮片各剂量组及传统饮片组的大鼠结肠及脑组织中的 5-HT 含量均明显降低( $P < 0.01$ )。结果表明,痛泻要方破壁饮片可有效降低内脏高敏感性大鼠结肠及脑组织中的 5-HT 含量。

**2.4 痛泻要方破壁饮片对内脏高敏感性大鼠结肠及脑组织病理形态的影响** 与空白组比较,模型组大



鼠的结肠黏膜可见少量上皮细胞脱落坏死,黏膜层上皮有少量炎性细胞浸润,固有层腺体轻微萎缩,少量炎性细胞浸润,肠黏膜下层及肌层未见明显病理改变。与模型组比较,给药组大鼠的结肠黏膜结构变化不大,仅个别上皮细胞出现坏死脱落及微量炎性细胞浸润,尤其痛泻要方破壁饮片高剂量组的肠黏膜上皮细胞排列规则整齐,未见坏死脱落,未见明显的炎性细胞浸润,固有层中腺体未见萎缩及减少,黏膜下层及肌层均未见明显病理改变。结果见图 1。

表 4 痛泻要方破壁饮片对 5-羟色胺(5-HT)诱导的内脏高敏感性大鼠离体结肠平滑肌的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

Table 4 The effect of *Tongxie Yaofang* formula ultrafine granular powder on 5-HT-induced colon smooth muscle in visceral hypersensitive rats( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

| 组别     | 浓度<br>$/(mg \cdot mL^{-1})$          | 传统饮片组                     |       | 破壁饮片组                     |       |
|--------|--------------------------------------|---------------------------|-------|---------------------------|-------|
|        |                                      | 张力/g                      | 抑制率/% | 张力/g                      | 抑制率/% |
| 空白组    | —                                    | 1.05 ± 0.09               | —     | 1.01 ± 0.12               | —     |
| 5-HT 组 | 10 <sup>-4</sup> mol·L <sup>-1</sup> | 1.86 ± 0.22 <sup>##</sup> | —     | 1.72 ± 0.30 <sup>##</sup> | —     |
| 给药组    | 3                                    | 1.84 ± 0.22               | 1.08  | 1.72 ± 0.12               | 0.00  |
|        | 6                                    | 1.68 ± 0.11               | 9.68  | 1.58 ± 0.24               | 8.14  |
|        | 12                                   | 1.60 ± 0.16 <sup>*</sup>  | 13.98 | 1.50 ± 0.21               | 12.79 |
|        | 24                                   | 1.49 ± 0.19 <sup>**</sup> | 19.89 | 1.41 ± 0.16 <sup>*</sup>  | 18.02 |
|        | 48                                   | 1.28 ± 0.17 <sup>**</sup> | 31.18 | 1.28 ± 0.21 <sup>**</sup> | 25.58 |
|        | 60                                   | 1.12 ± 0.08 <sup>**</sup> | 39.78 | 1.24 ± 0.15 <sup>**</sup> | 27.91 |

注:与空白组比较, <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; 与 5-HT 组比较, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

与空白组比较,模型组大鼠的大脑海马颗粒层神经元细胞核发生明显的固缩,神经元细胞变得疏松,数量明显减少,神经纤维变得短粗扭曲,萎缩明显,结构变得疏松,淡染。与模型组比较,痛泻要方破壁饮片高剂量组大鼠的海马颗粒层神经元细胞排列整齐,未见神经元细胞核固缩,未见神经纤维扭曲及萎缩性改变;其他给药组大鼠的海马神经元细胞有不同程度的固缩、减少及疏松,神经纤维可见扭曲、萎缩,但变化程度较模型组轻。结果见图 2。

表 5 痛泻要方破壁饮片对内脏高敏感性大鼠结肠及脑组织中 5-羟色胺(5-HT)含量的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

Table 5 The effect of *Tongxie Yaofang* formula ultrafine granular powder on 5-HT content in colon and brain homogenate in visceral hypersensitive rats( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

| 组别       | 剂量<br>$/(g \cdot kg^{-1})$ | 结肠中 5-HT<br>含量/ $(pg \cdot mL^{-1})$ | 脑中 5-HT<br>含量/ $(pg \cdot mL^{-1})$ |
|----------|----------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
| 空白组      | —                          | 52.46 ± 8.66                         | 34.16 ± 2.80                        |
| 模型组      | —                          | 171.45 ± 9.75 <sup>##</sup>          | 90.02 ± 8.05 <sup>##</sup>          |
| 匹维溴铵组    | 0.018                      | 92.41 ± 6.05 <sup>**</sup>           | 45.95 ± 4.06 <sup>**</sup>          |
| 破壁饮片低剂量组 | 1.015                      | 131.13 ± 6.76 <sup>**</sup>          | 62.26 ± 5.83 <sup>**</sup>          |
| 破壁饮片中剂量组 | 2.030                      | 110.63 ± 6.48 <sup>**</sup>          | 58.99 ± 7.35 <sup>**</sup>          |
| 破壁饮片高剂量组 | 4.060                      | 97.13 ± 4.44 <sup>**</sup>           | 46.87 ± 3.95 <sup>**</sup>          |
| 传统饮片组    | 4.060                      | 107.00 ± 9.92 <sup>**</sup>          | 49.79 ± 4.31 <sup>**</sup>          |

注:与空白组比较, <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较, <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

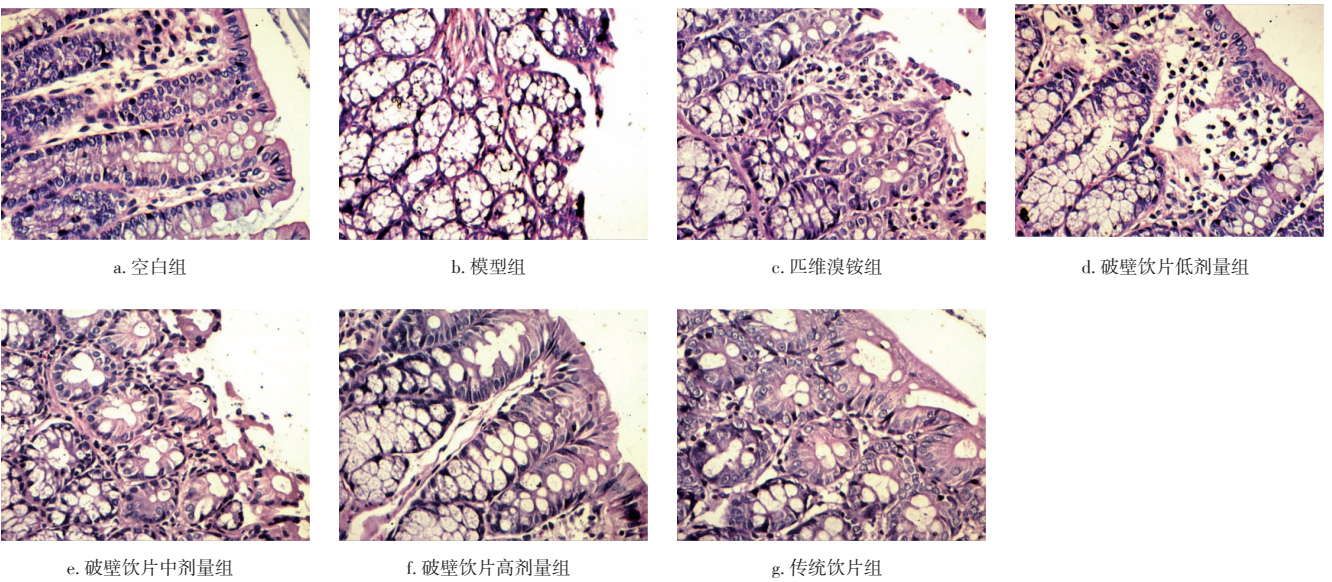


图 1 痛泻要方破壁饮片对内脏高敏感性大鼠结肠组织病理形态的影响(HE 染色,  $\times 200$ )

Figure 1 The effect of *Tongxie Yaofang* formula ultrafine granular powder on the pathological changes of the colonic mucosa in visceral hypersensitive rats(HE staining,  $\times 200$ )



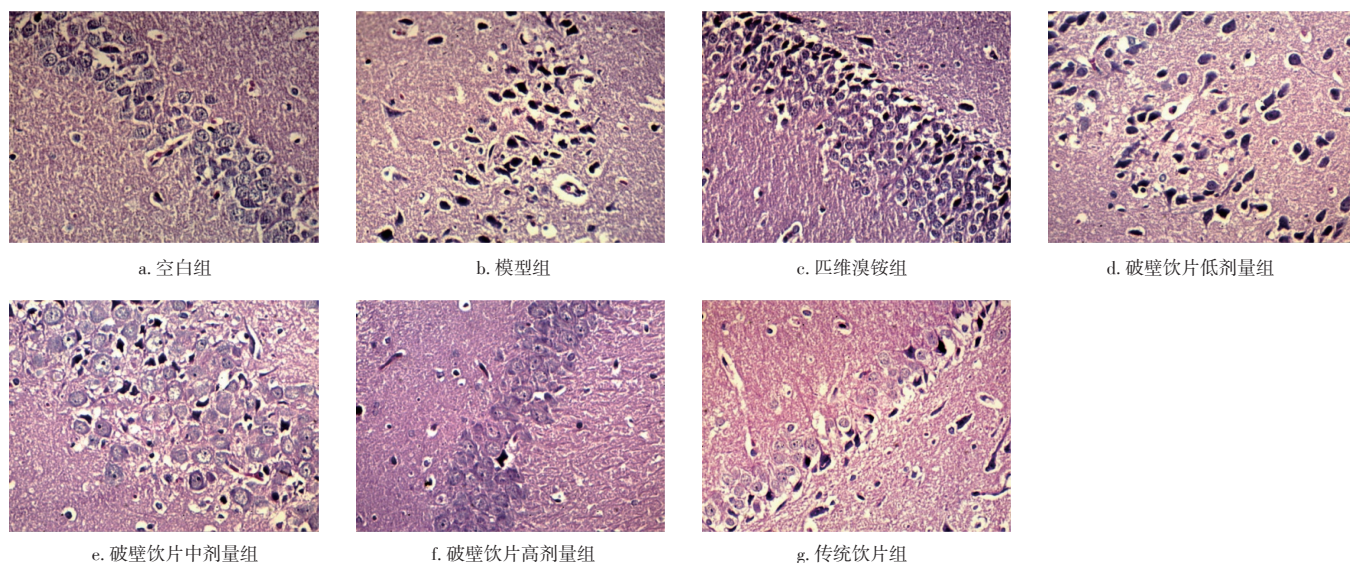


图2 痛泻要方破壁饮片对内脏高敏感性大鼠脑组织病理形态的影响(HE染色,  $\times 200$ )

Figure 2 The effect of *Tongxie Yaofang* formula ultrafine granular powder on the pathological changes of the brain in visceral hypersensitive rats(HE staining,  $\times 200$ )

**2.5 痛泻要方破壁饮片对内脏高敏感性大鼠结肠及脑组织中 5-HTR3A 表达水平的影响** 结果见图3、图4、图5。与空白组比较,模型组大鼠结肠及脑组织的 5-HTR3A 阳性表达 OD 值、阳性细胞数均明显增加( $P < 0.01$ )。与模型组比较,给药组大鼠结肠及脑组织的 5-HTR3A 阳性表达 OD 值、阳性细胞数均明显降低( $P < 0.01$ )。结果表明,痛泻要方破壁饮片能抑制内脏高敏感性大鼠结肠及脑组织中 5-HTR3A 的过度表达,调节“脑-肠轴”递质平衡,从而维持

肠道正常功能,缓解内脏敏感性。

**2.6 痛泻要方破壁饮片对内脏高敏感性大鼠结肠及脑组织中 5-HTR3A 蛋白表达的影响** 结果见图6。与空白组比较,模型组大鼠结肠及脑组织中的 5-HTR3A 蛋白表达明显上调( $P < 0.01$ )。与模型组比较,给药组大鼠结肠及脑组织中的 5-HTR3A 蛋白表达明显下调( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。结果表明,痛泻要方破壁饮片可有效抑制内脏高敏感性大鼠结肠及脑组织中的 5-HTR3A 蛋白表达,减轻内脏敏感性。

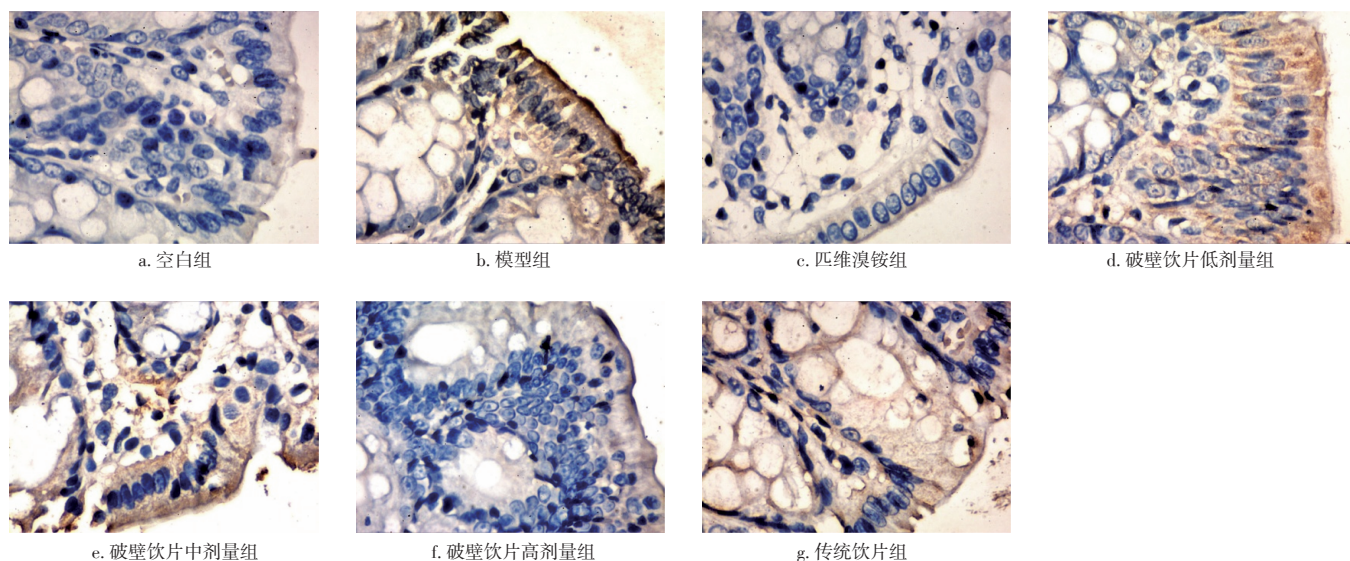


图3 痛泻要方破壁饮片对内脏高敏感性大鼠结肠组织中 5-羟色胺 3A 受体表达的影响(免疫组化,  $\times 400$ )

Figure 3 The effect of *Tongxie Yaofang* formula ultrafine granular powder on expression of 5-HTR3A in colonic mucosa of visceral hypersensitive rats(IHC,  $\times 400$ )

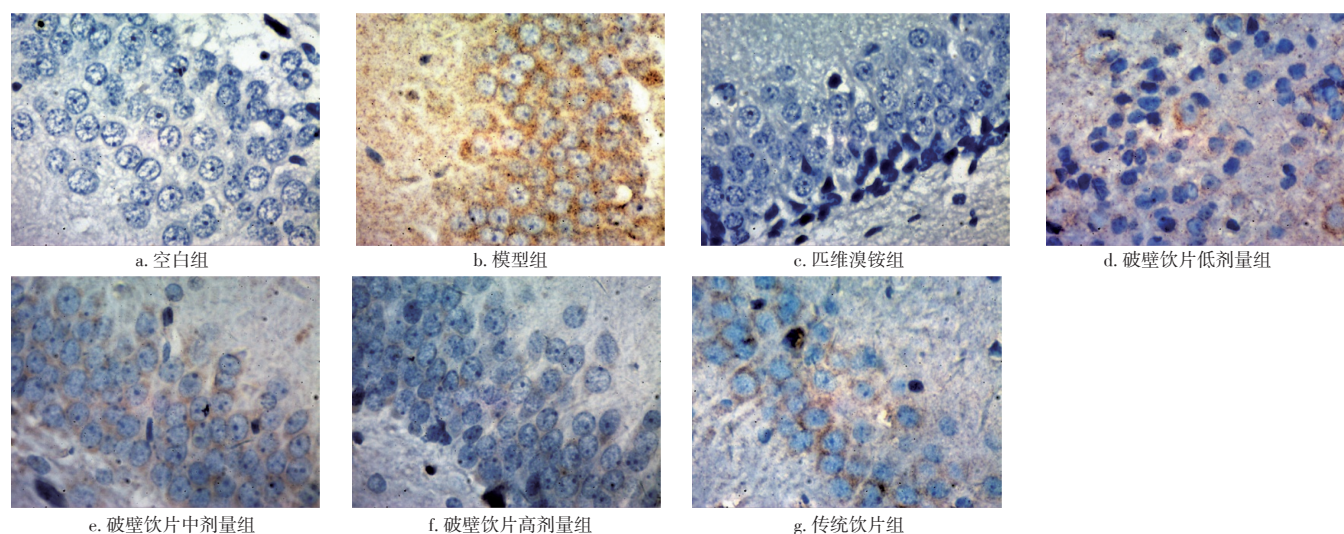
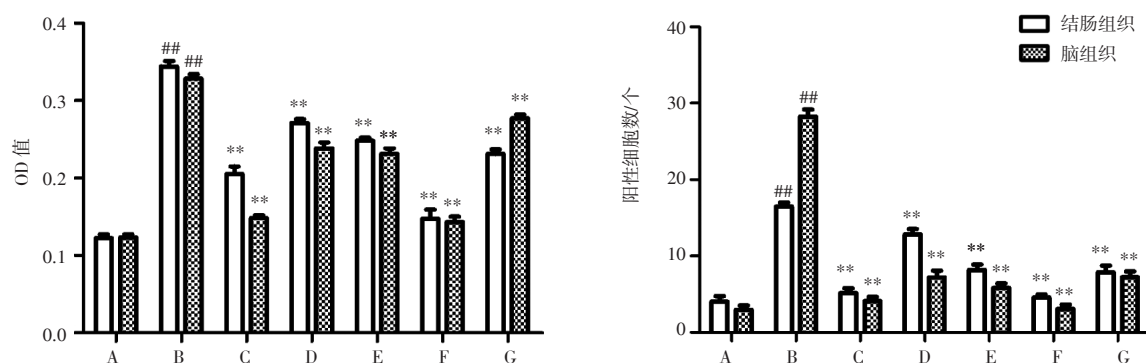


图 4 痛泻要方破壁饮片对内脏高敏感性大鼠脑组织中 5-羟色胺 3A 受体表达的影响(免疫组化,  $\times 400$ )

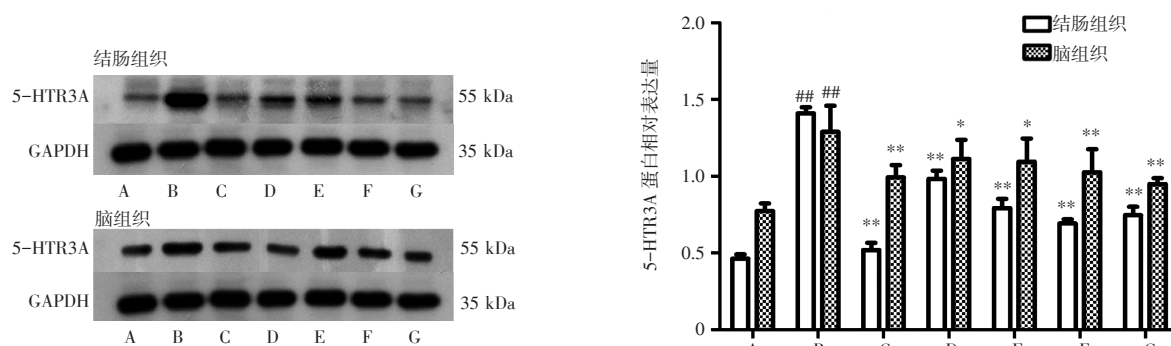
Figure 4 The effect of *Tongxie Yaofang* formula ultrafine granular powder on expression of 5-HT3A in brain of visceral hypersensitive rats (IHC,  $\times 400$ )



注: A. 空白组; B. 模型组; C. 匹维溴铵组; D. 破壁饮片低剂量组; E. 破壁饮片中剂量组; F. 破壁饮片高剂量组; G. 传统饮片组。与空白组比较,  $^{##}P < 0.01$ ; 与模型组比较,  $^{**}P < 0.01$

图 5 痛泻要方破壁饮片对内脏高敏感性大鼠结肠及脑组织中 5-羟色胺 3A 受体表达水平的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

Figure 5 The effect of *Tongxie Yaofang* formula ultrafine granular powder on 5-HT3A in colon and brain of visceral hypersensitive rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )



注: A. 空白组; B. 模型组; C. 匹维溴铵组; D. 破壁饮片低剂量组; E. 破壁饮片中剂量组; F. 破壁饮片高剂量组; G. 传统饮片组。与空白组比较,  $^{##}P < 0.01$ ; 与模型组比较,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$

图 6 痛泻要方破壁饮片对内脏高敏感性大鼠结肠及脑组织中 5-羟色胺 3A 受体(5-HT3A)蛋白表达水平的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

Figure 6 The effect of *Tongxie Yaofang* formula ultrafine granular powder on 5-HT3A protein expression of colon and brain in visceral hypersensitive rats( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )



### 3 讨论

肠易激综合征(IBS)是临床常见的一种胃肠道疾病,我国以腹泻型肠易激综合征(IBS-D)发病率高<sup>[4-6]</sup>,其病因病机复杂,目前该病的发病机制尚不明确。有研究<sup>[7-8]</sup>认为,IBS-D的发生与心理因素、肠道通透性增加、胃肠动力异常、“脑-肠轴”功能失调、内脏敏感性升高等因素有关。IBS-D虽病位在大肠,但其病因乃肝郁情志日久不畅而累及脾胃,致内生湿邪下注大肠,最终出现腹泻,因此中医治疗的关键在于调畅情志,疏导气机以缓解腹痛、腹泻的症状<sup>[7-8]</sup>。

5-羟色胺(5-HT)又称血清素,是一种重要的神经递质,起到调节机体情绪的作用。胃肠道内存在的5-HT主要由肠嗜铬细胞分泌<sup>[22]</sup>,可直接参与胃肠道运动,与脑内中枢神经一起构成“脑-肠轴”双向神经调节系统<sup>[23-25]</sup>。5-HT在IBS发病过程中起重要作用,当肠道内5-HT含量发生变化可直接影响肠道神经系统,导致“脑-肠轴”功能异常,引起腹痛、腹泻等各种IBS-D样症状。5-HT在肠道内通过激活其受体来完成胃肠道功能调控,5-羟色胺3A受体(5-HTR3A)是5-HT的受体之一<sup>[12]</sup>,主要分布于海马中枢神经系统及迷走神经背核,从迷走神由胃肠道经脊髓初级传入神经元、肠神经元及肠平滑肌细胞等部位<sup>[26-27]</sup>,直接参与胃肠运动,正相调控肠道张力及内脏敏感性<sup>[28-30]</sup>。当肠道中的5-HTR3A受体被大量分泌的5-HT过度激活,使结肠呈兴奋状态,导致肠道蠕动加快,即表现为内脏敏感性增高。内脏敏感性增高已是临床诊断IBS-D的重要生物学标志之一<sup>[31-34]</sup>,因此,有效降低5-HT表达并抑制5-HTR3A受体活性是治疗IBS-D内脏高敏感性的重要手段之一。本研究结果表明,痛泻要方破壁饮片可不同程度使内脏高敏感性大鼠体质量增加,有效降低结肠蠕动过速,减少排便频率,降低腹壁撤回反射(AWR)评分,改善结肠及大脑组织的病理损伤,抑制5-HT诱导离体结肠收缩,抑制结肠及脑组织中5-HTR3A过度表达。痛泻要方破壁饮片与传统饮片的作用机制一致,且破壁饮片的药效作用优于同等剂量的传统饮片,但差异无统计学意义( $P>0.05$ )。推测痛泻要方破壁饮片可能是通过抑制5-HT及5-HTR3A的过度表达来降低模型大鼠增高的内脏敏感性,从而达到治疗IBS-D的目的。

痛泻要方原名“白术芍药散”,原方以散剂成方,后《景岳全书》以“痛泻”一词命名,作为汤

剂使用,起到补脾利湿、柔肝止痛、缓急止泻的功效,现代临床常用于治疗“肝郁脾虚”泄泻<sup>[9]</sup>。本课程前期研究<sup>[15-16]</sup>表明,痛泻要方破壁饮片与传统饮片的有效成分一致,其中破壁饮片中的芍药内酯苷、芍药苷、升麻素3种有效成分含量均高于传统饮片,说明传统饮片经破壁技术处理后有效成分并未发生改变,同时某些成分更易溶出。破壁饮片作为一种新型中药饮片,是传统饮片经过破壁技术加工制得。破壁饮片质量可控,稳定性好,在不改变饮片原有物质成分的前提下,提高了药物中有效成分的溶出率<sup>[35]</sup>。同时,破壁饮片在使用过程中与传统饮片一样可临证组方、随证加减,并可直接冲服,即使不经过煎煮也可发挥较稳定的效果,患者更容易操作使用。本研究为痛泻要方破壁饮片在临床上的应用提供了理论依据,有助于将破壁饮片作为传统中药饮片的有益补充,从而提高患者依从性。

### 参考文献:

- [1] DROSSMAN D A. Functional gastrointestinal disorders: history, pathophysiology, clinical features and rome IV[J]. Gastroenterology, 2016, 150(6): 1262-1279.
- [2] LACY B E, MEARIN F, LIN C, et al. Bowel disorders[J]. Gastroenterology, 2016, 150(6): 1393-1407.
- [3] 中华中医药学会脾胃病分会. 肠易激综合征中医诊疗专家共识意见[J]. 中医杂志, 2017, 58(18): 1615-1620.
- [4] 姚欣, 杨云生, 赵卡冰, 等. 罗马III标准研究肠易激综合征临床特点及亚型[J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(5): 563-566.
- [5] 朱佳杰, 刘珊, 赵鹏程, 等. 肠易激综合征的流行病学研究进展[J]. 国际消化病杂志, 2017, 37(5): 271-273.
- [6] 熊理守, 陈惠新, 许岸高, 等. 广东省社区人群肠易激综合征的流行病学研究[J]. 中华医学杂志, 2004, 84(4): 278-281.
- [7] 谈晶晶, 韩树堂. 肠易激综合征病因学研究进展[J]. 世界中西医结合杂志, 2011, 6(5): 443-444.
- [8] 黄妙珊. 浅论肠易激综合征的中医病因及疗法[J]. 当代医药论丛, 2003, 12(21): 28-29.
- [9] 姜敏, 凌立平, 傅宝玉. 肠易激综合征患者结肠5-HT的分布特点[J]. 世界华人消化杂志, 2015, 13(4): 541-543.
- [10] 王迎寒, 刘玉玲, 赵素微, 等. 腹泻型IBS脾虚肝郁证候与5-HT, CRH的相关性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(18): 124-129.
- [11] ATKINSON W, LOCKHART S, WHORWELL P J, et al. Altered 5-hydroxytryptamine signaling in patients with constipation- and diarrhea-predominant irritable bowel syndrome[J]. Gastroenterology, 2006, 130: 34-43.
- [12] 康明祥, 贾红志. 肠易激综合征内脏高敏感性机制的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(14): 1554-1558.
- [13] 张婧娴, 芮俊乾, 陈逸凡, 等. 四逆散有效成分对内脏高敏感大鼠5-HT信号通路的多靶点协同调控[J]. 中国实验方剂学杂志,

- 2018, 24(16): 115-123.
- [14] 郑依玲, 梅全喜, 胡莹, 等. 痛泻要方考证[J]. 亚太传统医药, 2017, 13(23): 57-58.
- [15] 胡莹, 郑依玲, 梅全喜, 等. HPLC法测定痛泻要方及其破壁饮片中4种成分的含量[J]. 中药材, 2019, 42(7): 1601-1604.
- [16] 胡莹, 郑依玲, 梅全喜, 等. UPLC法同时测定痛泻要方及其破壁饮片中7种活性成分的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(6): 786-791.
- [17] 胡莹, 郑依玲, 梅全喜, 等. 痛泻要方破壁饮片对内脏高敏感小鼠胃肠影响的研究[J]. 中药材, 2018, 14(4): 976-979.
- [18] 郑依玲, 胡莹, 梅全喜, 等. 痛泻要方破壁饮片对小鼠胃排空、小肠推进及转运的影响[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(6): 1316-1318.
- [19] 胡莹, 郑依玲, 梅全喜, 等. 痛泻要方破壁饮片对大鼠离体结肠平滑肌收缩的影响[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(2): 311-315.
- [20] TAN W, ZHOU W, LUO H S, et al. The inhibitory effect of melatonin on colonic motility disorders induced by water avoidance stress in rats[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2013, 17(22): 3060-3067.
- [21] ALCHAER E D, KAWASAKI M, PASRICHA 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] GERSHON M D, TACK J. The serotonin signaling system: from basic understanding to drug development for functional GI disorders[J]. Gastroenterology, 2007, 132(1): 397-414.
- [23] YOUNG E J. Increased expression of brain-derived neurotrophic factor in irritable bowel syndrome and its correlation with abdominal pain[J]. Neurogastroenterol Motil, 2013, 19(1): 109-111.
- [24] MULAK A, BONAZ B. Irritable bowel syndrome: a model of the brain-gut interactions[J]. Med Sci Monit, 2004, 10(4): 55-62.
- [25] MAYER E A, TILLISCH K. The brain-gut axis in abdominal pain syndromes[J]. Annual Review of Medicine, 2011, 62(1): 381-96.
- [26] HOYER D, HANNON J P, MARTIN G R. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors[J]. Pharmacology Biochemistry & Behavior, 2002, 71(4): 533-554.
- [27] WALTHER D J, PETER J U, BASHAMMAKH S, et al. Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform[J]. Science, 2003, 299(5603): 76.
- [28] MNINIKES H, RUTER J, KONIG M, et al. Different induction of c-fos expression in brain nuclei by noxious and non-noxious colonic distension: role of afferent C-fibers and 5-HT3 receptors[J]. Brain Research, 2003, 966(2): 253-264.
- [29] YANG J M, XIAN Y F, PAUL S P, et al. Schisandra chinensis reverses visceral hypersensitivity in an neonatal-maternal separated rat model[J]. Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology, 2012, 19(5): 402-408.
- [30] 税杰. 基于5-HT信号通路研究痛泻要方白芍防风组方缓解IBS-D内脏高敏的机制[D]. 成都: 成都中医药大学, 2017.
- [31] ELSENBMCH S, ROSENBERGER C, BINGEL U, et al. Patients with irritable bowel syndrome have altered emotional modulation of neural responses to visceral stimuli[J]. Gastroenterology, 2010, 139(4): 1310-1319.
- [32] 张婧娟, 芮俊乾, 陈逸凡, 等. 四逆散有效成分对内脏高敏感大鼠5-HT信号通路的多靶点协同调控[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(16): 115-123.
- [33] GAO J, WU X Y, OWYANG C, et al. Enhanced responses of the anterior cingulate cortex neurones to colonic distension in viscerally hypersensitive rats[J]. The Physiological Society, 2006, 570(1): 169-183.
- [34] 柯美云, 方秀才. 《罗马III: 功能性胃肠病》解读[M]. 北京: 科学出版社, 2012: 17-18.
- [35] 成金乐, 赖志填, 彭丽华. 中药破壁饮片研究[J]. 世界科学技术, 2014, 16(2): 254-264.

(编辑: 邹元平)