

• 基础研究 •

脾肾阳虚型肠易激综合征大鼠模型的建立与评价

李依洁^{1,2} 苏晓兰¹ 杨晨³ 郭宇¹ 朱佳杰² 宋熠林² 王贵澍² 王庆国⁴ 陈建德⁵ 魏玮¹

摘要 目的 探讨脾肾阳虚型肠易激综合征(IBS-D) 病证结合大鼠模型的建立方法。方法 4 周龄雄性 SD 大鼠 38 只, 随机分为正常组 10 只、模型组 14 只和温肾健脾方组 14 只, 采用物理化学刺激共同作用的方法, 即全周期(4 周) 番泻叶灌胃联合 2 周冰醋酸灌肠 + 固定器束缚、2 周球囊直肠刺激 + 夹尾刺激制备大鼠模型, 造模后温肾健脾方组以 13.98 g/(kg·d) 温肾健脾方灌胃给药 2 周, 模型组同期予等容量蒸馏水灌胃, 正常组无干预。观察大鼠形态学表现和体重; 比较排便粒数、粪便含水量、Bristol 分型, 评估肠道敏感性、肠道动力, 并观察肠道黏膜病理组织学。结果 与正常组比较, 模型组精神萎靡, 易激惹, 体重无明显变化 ($P > 0.05$), 排便粒数明显增多 ($P < 0.05$), 粪便含水量增加 ($P < 0.05$), Bristol 分型中 5、6、7 型明显增多, 肠道敏感性、肠道动力增加 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 温肾健脾方组动作较灵活, 偶见烦躁, 体重无明显变化 ($P > 0.05$), 排便粒数下降 ($P < 0.05$), 粪便含水量减少 ($P < 0.05$), Bristol 分型向 4 型转化, 肠道敏感性、肠道动力下降 ($P < 0.05$)。各组大鼠肠道黏膜病理组织学表现均未见明显异常。结论 本物理化学刺激共同作用的造模方法可作为制备脾肾阳虚证 IBS-D 大鼠模型较理想的方法。

关键词 脾肾阳虚证; 腹泻型肠易激综合征; 病证结合; 动物模型

Establishment and Evaluation of Pi-Shen Yang Deficiency Syndrome of Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome Rat Model LI Yi-jie^{1,2}, SU Xiao-lan, YANG Chen³, GUO Yu¹, ZHU Jia-jie², SONG Yi-lin², WANG Gui-shu², WANG Qing-guo⁴, CHEN Jian-de⁵, and WEI Wei¹ 1 Gastroenterology Department of Wangjing Hospital, Chinese Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing (100102); 2 First Clinical Medical College, Beijing University of Chinese Medicine Beijing (100029); 3 Emergency Department, Miyun Hospital of Traditional Chinese Medicine, Beijing (101500); 4 Basic Medical College, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100029); 5 Johns Hopkins University, Baltimore, USA (21224)

ABSTRACT Objective To observe the establishment method for combination of disease and syndrome in Pi-Shen yang deficiency syndrome of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D) rat model. Methods Totally 38 male SD rats, 4 weeks old, were randomly divided into the normal group ($n = 10$), the model group ($n = 14$), and Wenshen Jianpi Recipe (WJR) group ($n = 14$). The rat model was prepared by physicochemical stimulation, i. e., a whole period (4 weeks) of senna gavage plus 2 weeks of acetic acid enema + fixation bound, 2 weeks balloon rectal stimulation + rat tail clip. After modeling rats in the WJR group were administered with WJR by gastrogavage at the daily dose of 13.98 g/kg. Equal volume of distilled water was administered to rats in the model group. No intervention was given to rats in the normal group. Morphological manifestations and body weight were observed. The number of defecation, fecal water content, Bristol grade, intestinal sensitivity, intestinal motility were compared, and histopathological performance of intestinal mucosa observed. Results Compared with the normal group, rats in the model group were in poor mental state, liable to be irritated, with no obvious change in body weight increment ($P > 0.05$). They defecated more granules ($P < 0.05$). The feces con-

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目(No. 81403389)

作者单位: 1. 中国中医科学院望京医院脾胃病科(北京 100102); 2. 北京中医药大学第一临床医学院(北京 100029); 3. 北京市密云中医医院急诊科(北京 101500); 4. 北京中医药大学基础医学院(北京 100029); 5. 约翰·霍普金斯大学 美国(21224)

通讯作者: 魏玮, Tel: 010-84739719, E-mail: sxxy@sina.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20170614.136

tained more water ($P < 0.05$). Bristol type 5, 6, 7 increased more obviously. The intestinal sensitivity and motility increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the motion was more active, with occasionally irritable or no obvious change in body weight in the WJR group ($P > 0.05$). They defecated more granules with less water content in feces ($P < 0.05$). Bristol type conversed to type 4. The intestinal sensitivity and motility gradually decreased ($P < 0.05$). There was no obvious abnormalities in intestinal mucosal histopathology of rats in each group. Conclusion This model method of physicochemical stimulation could be used as an ideal way for preparing IBS-D rats with Pi-Shen yang deficiency syndrome.

KEYWORDS Pi-Shen yang deficiency syndrome; diarrhea-predominant irritable bowel syndrome; combination of disease and syndrome; animal model

腹泻型肠易激综合征 (diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, IBS-D) 是以腹泻、腹痛为症状基础,以症状反复、病程漫长、无器质性病变、精神心理因素突出为特征,为临床治疗常见病。笔者认为本病以脾虚为基,以日久不愈、伤及肾阳为理,故以脾肾阳虚证多见^[1]。目前中西医相关实验研究较多,需针对不同病机假说进行造模,而涉及中医证型的病证结合模型研究较少,也缺乏相应的模型评价方法。本研究制备脾肾阳虚证 IBS-D 大鼠模型,通过评价模型的安全性及稳定性,总结病证结合模型的成功经验。

材料与方法

1 实验动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 38 只,4 周龄,体重 (70.48 ± 2.35) g,由斯贝福实验动物科技有限公司提供,许可证号: SCXK(京) 2011-0004。恒温 (约 23~25 °C) 饲养,光照和黑暗各 12 h 交替,自由进食标准颗粒饲料及饮食。本研究由北京中医药大学伦理委员会批准,实验动物伦理号: BUCM-4-2016041001-2002。

2 主要试剂及仪器 双腔带囊直径为 2.7 mm 的儿童型导尿管 (Bardex 公司); 水合氯醛: 国药集团化学试剂有限公司,批号: 20140827; 福尔马林: 北京益利精细化学品有限公司,产品标准编号: YZB/京0099-2011; U-TvO.5xC.24H01726 显微镜 (Olympus 公司); RM2255 切片机 (Leica 公司); H1122Q 烤片机 (Leica 公司); Eql50H 脱水机 (Leica 公司); YP402N 电子天平 (上海菁海仪器有限公司); AHB-2-LB 万能照相机 (Olympus 公司)。

3 温肾健脾方的制备 温肾健脾方药物由肉豆蔻 15 g、补骨脂 30 g、五味子 9 g、吴茱萸 9 g、党参 30 g、白术 15 g、郁金 18 g、生姜 2 g、大枣 2 g 组成。以上药物均购自中国中医科学院望京医院颗粒药房,由四川新绿药业科技发展股份有限公司制备,经沸水冲溶后

置凉使用。

4 分组及造模

4.1 分组 共计 38 只大鼠,适应性喂养 1 周后,随机分为 3 组: 正常组 10 只、模型组 14 只和温肾健脾方组 14 只。

4.2 造模方法 以 ALChaer ED 等^[2]的造模方法为基础,同时予番泻叶灌胃联合夹尾刺激,即采用物理化学刺激共同作用的方法制备内脏高敏并脾肾阳虚型 IBS-D 大鼠模型,具体操作方法如下: 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 min,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,剂量保持 0.5 mL 不变;同时以大鼠固定器束缚大鼠,时间从 0.5 h 逐渐加至 1 h,共持续 2 周。后 2 周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 min,2 次/天,同时联合采用卵圆钳夹尾刺激,间断持续 3~5 min,2 次/天。在结肠注射冰醋酸、束缚、直肠扩张联合夹尾刺激的同时,予 20 mL/kg (0.3~0.5 g/mL) 番泻叶浓缩剂灌胃,每次 2.0~2.5 mL/只,1 次/天,持续灌胃 4 周。造模结束后大鼠归笼,常规饲养,自由饮食。

5 干预方法 正常组正常饲养,无造模干预及治疗;模型组及温肾健脾方组进行为期 4 周的造模。造模结束后,参照药理学实验动物给药量的换算公式 ($dB = dA \times KB/KA$, $dA =$ 成人每天每 kg 用药量, $KB = 0.71$, $KA = 0.11$ 为常数),以成人 60 kg 每天总药量 130 g 计算,温肾健脾方组以 13.98 g/(kg·d) 温肾健脾方灌胃给药,每日 2 次,每次 2 mL,相当于临床等效剂量;模型组同期予等容量蒸馏水灌胃。连续灌胃 2 周。

6 观察比较模型安全性

6.1 大鼠形态学表现 观察大鼠的被毛、活动、精神状态,食量、大便性状、饮水量等。

6.2 监测大鼠体重变化 实验开始后每周一 7:00AM 用电子秤称量大鼠体重,同时根据体重调整药量。测量第 0、1、2、3、4、5、6 周各组大鼠体重并进行比较。

7 观察模型疾病成模情况

7.1 粪便情况 大鼠排便粒数、含水量及粪便分型(Bristols tool form scale, Bristol 分型)^[4]。分别于造模第 14 天、造模第 28 天及灌胃第 14 天,在笼内垫清洁滤纸,观察 8:00AM - 12:00AM 4 h 内大鼠排便的粪点数,并称湿质量,然后置于通风处干燥放置 24 h,再称干质量,计算粪便含水量 = (湿质量 - 干质量) / 湿质量 × 100%^[3]。正常组同期观察。并通过粪便 Bristol 分型进行大便性状评估。

7.2 大鼠肠道敏感性评估 采用腹壁撤退反射(abdominal with drawal reflex, AWR)评分^[5]判断。分别于造模前(第 0 周)、造模结束后(第 4 周)、治疗结束后(第 6 周)3 个时间点对各组大鼠进行 AWR 评分。具体方法如下:大鼠实验前 24 h 禁食不禁水,在 30 g/L 戊巴比妥钠腹腔注射(1 mL/kg)麻醉下,将涂石蜡油的带气囊的 8F 导尿管经肛门插入(使气囊末端插入肛门外 7.0 cm,在肛门外 1.0 cm 处将其固定在大鼠尾根部)后,将大鼠放入特制的透明塑料桶笼内(18 cm × 5 cm × 7 cm)中,只能前后运动不能转身,待大鼠适应环境 30 min 后开始实验。每只大鼠给予球囊扩张 3 次,容量分别为 1.0、1.5、2.0 mL,每次扩张持续 5 min,间隔 30 s(以防肠道缺血)。AWR 评分标准^[5]: 0 分,给予结肠扩张刺激大鼠情绪基本稳定;1 分,给予刺激时变得不稳定,偶尔扭动头部;2 分,腹背部肌肉轻微收缩但腹部未抬离地面;3 分,腹背部肌肉较强烈收缩并把腹部抬离地面;4 分,腹部肌肉强烈收缩,腹部呈弓形并把腹部、会阴部抬离地面。

7.3 大鼠肠道动力评估 采用直肠内玻璃小球排出时间^[3]评估。取直径为 3 mm 的玻璃小球沿肛门放入距肛门 3 cm 的直肠内,记录玻璃小球排出时间。

7.4 肠道黏膜病理组织学表现观察 造模结束后,各组随机抽取 1 只大鼠,经 10% 水合氯醛(0.4 mL/100 g)麻醉、腹主动脉取血,取距肛缘 8 cm 以上的结肠组织,生理盐水冲洗,固定于 10% 福尔马林溶液,梯度酒精脱水,石蜡包埋,常规切片(5 μm),经苏木素 - 伊红(hematoxylinandeosin, HE)染色,观察

其病理变化,验证造模是否成功。

8 统计学方法 采用 SPSS 18.0 进行分析。计数资料采用 χ^2 检验;计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,经正态性检验,符合者采用 *t* 检验或方差分析,不符合者采用非参数检验,并以中位数进行统计学描述。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠形态学表现 造模开始前,各组大鼠精神状态良好、活泼好动、皮毛洁白光泽,无异常躁动及撕咬,排便正常成颗粒状。初次造模时表现出惊吓、紧张、大鼠之间打斗现象。造模 2 周后大鼠警惕性高,束缚时反抗、撕叫,灌肠时拱背炸毛,精神萎靡、烦躁,偶见稀软便,食量减少;模型组 2 只大鼠死亡,根据大鼠伤口考虑为打斗致死;温肾健脾方组 1 只大鼠于束缚时死亡,考虑为窒息致死,余大鼠无死亡。造模 4 周后大鼠出现贴边畏惧、食量减少,排便显著增多、排出含水分较多的湿软便,精神萎靡,肛门口粪便污染,大鼠洗脸、舔足、理毛动作减少,皮毛晦暗发黄。整个造模过程正常组大鼠精神状态佳、反应灵敏,机敏好动、毛色光滑,肛门口清洁,大便成干燥粒状。

给药 1 周后模型组大鼠神态倦怠,毛发散乱发黄、活动明显减少,抓取过程中反抗力降低,多数时间蛰伏在角落,排便较多,粪便稀软不成形;温肾健脾方组大鼠动作较灵活、毛发色稍黯,叫声细小柔和,偶见紧张对峙,烦躁易激怒情况明显减少,偶见颗粒状粪便,2 只大鼠死亡,结合解剖考虑为灌胃不当致死;正常组大鼠无明显改变,毛色光滑洁白,肛门口清洁,大便成形。给药 2 周后,模型组大鼠精神萎靡,抓力及反抗减少,甚至停止挣扎,弓背静卧少动,偶见粪便成形,多数为稀软便;温肾健脾方组大鼠动作较灵活、毛色较对照组略浅,偶见烦躁,排便多数为颗粒状,偶见软便;正常组大鼠无明显改变,毛色光滑洁白,肛门口清洁,大便成形。最后进入统计大鼠:正常组 10 只,模型组 12 只,温肾健脾方组 11 只。

2 各组大鼠体重比较(表 1) 整个实验期间,正常组体重平稳上升,模型组及温肾健脾方组体重增加幅度较小。第 0~4 周,3 组大鼠体重比较差异无统计学意义(*P* > 0.05);第 5、6 周,模型组及温肾健脾方组较正常组减轻(*P* < 0.05),模型组与温肾健脾方组比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

表 1 各组大鼠体重比较 (g, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	第 0 周	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周	第 6 周
正常	10	72.24 ± 4.70	149.26 ± 7.85	198.41 ± 6.83	255.68 ± 19.37	311.43 ± 19.86	371.99 ± 15.16	407.24 ± 18.92
模型	12	71.40 ± 4.11	147.06 ± 13.95	190.98 ± 20.39	259.84 ± 27.79	303.05 ± 29.08	333.32 ± 31.33*	372.92 ± 35.05*
温肾健脾方	11	67.81 ± 5.56	139.32 ± 8.85	185.59 ± 10.58	250.89 ± 13.59	305.37 ± 31.71	333.97 ± 25.73*	370.50 ± 36.92*

注:与正常组同期比较,*P < 0.05

3 各组大鼠粪便情况比较(表 2) 第 1 周 3 组排便数量相当,Bristol 分型情况也较集中于 3、4 型,经 χ^2 检验显示差异无统计学意义($\chi^2 = 4.85 P = 0.90$);第 4 周 3 组排便粒数明显不同,模型组与温肾健脾方组明显多于正常组,且 Bristol 分型中 5、6、7 型粪便粒数明显增多($\chi^2 = 21.16 P = 0.00$);第 6 周正常组、模型组大鼠排便粒数无明显变化,而温肾健脾方组大鼠排便粒数明显下降,Bristol 分型也向 4 型转化,差异有统计学意义($\chi^2 = 20.896 P = 0.02$)。

表 2 各组大鼠主要时间点 4 h 排便总数及 Bristol 分型分布情况(粒)

组别	n	时间	Bristol 分型						
			1	2	3	4	5	6	7
正常	10	第 1 周	0	5	12	15	4	1	0
		第 4 周	1	4	10	15	1	0	1
		第 6 周	0	5	15	12	3	0	0
模型	12	第 1 周	1	6	17	12	4	1	0
		第 4 周	0	2	13	13	15	8	5
		第 6 周	1	2	11	14	15	7	4
温肾健脾方	11	第 1 周	1	2	16	15	3	2	0
		第 4 周	0	3	11	13	13	7	4
		第 6 周	1	1	15	17	9	2	0

4 各组大鼠主要时间点粪便含水量比较(表 3) 3 组第 1 周粪便含水量相当,差异无统计学意义($P > 0.05$),第 4、6 周模型组及温肾健脾方组较正常组增加($P < 0.05$);第 6 周温肾健脾方组较模型组减少($P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠主要时间点粪便含水量比较 (g, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	第 1 周	第 4 周	第 6 周
正常	10	14.49 ± 2.03	14.32 ± 1.4	13.91 ± 1.85
模型	12	14.23 ± 1.93	26.42 ± 7.89*	30.21 ± 7.04*
温肾健脾	11	13.51 ± 2.22	26.45 ± 5.03*	17.39 ± 4.43* [△]

注:与正常组比较,*P < 0.05;与模型组比较,[△]P < 0.05

5 各组大鼠肠道敏感性比较(表 4) 第 1 周各组之间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),第 4 周,容量加至 1.5 mL 时模型组及温肾健脾方组较正常组肠道敏感性增加($P < 0.05$),但模型组与温肾健脾方组之间差异不明显($P > 0.05$),容量加至 2 mL 时,模型组与正常组及温肾健脾方组比较肠道敏感

性均无差异($P > 0.05$),温肾健脾方组较正常组肠道敏感性增加($P < 0.05$);第 6 周容量为 1.0 mL、1.5 mL 时各组之间肠道敏感性均无差异($P > 0.05$),容量为 2.0 mL 时,模型组较正常组肠道敏感性增加($P < 0.05$),温肾健脾方组较模型组肠道敏感性降低($P < 0.05$)。

表 4 各组大鼠 AWR 评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	时间	容量		
			1.0 mL	1.5 mL	2.0 mL
正常	10	第 1 周	1.15 ± 0.27	1.97 ± 0.39	2.53 ± 0.44
		第 4 周	1.02 ± 0.20	1.81 ± 0.25	2.65 ± 0.35
		第 6 周	1.17 ± 0.19	2.08 ± 0.29	2.64 ± 0.39
模型	12	第 1 周	1.17 ± 0.24	2.10 ± 0.47	2.55 ± 0.46
		第 4 周	1.27 ± 0.35	2.20 ± 0.43*	2.79 ± 0.35
		第 6 周	1.36 ± 0.32	2.23 ± 0.50	3.14 ± 0.44*
温肾健脾方	11	第 1 周	1.07 ± 0.28	2.08 ± 0.20	2.72 ± 0.20
		第 4 周	1.22 ± 0.25	2.28 ± 0.19*	3.08 ± 0.15*
		第 6 周	1.20 ± 0.34	2.14 ± 0.27	2.85 ± 0.32 [△]

注:与正常组比较,*P < 0.05;与模型组比较,[△]P < 0.05

6 大鼠肠道动力评估(表 5) 第 1 周、第 4 周各组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),第 6 周时,模型组较正常组、温肾健脾方组肠道动力增加($P < 0.05$),温肾健脾方组与正常组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 5 各组大鼠大鼠肠道动力评估 (s, $\bar{x} \pm s$)

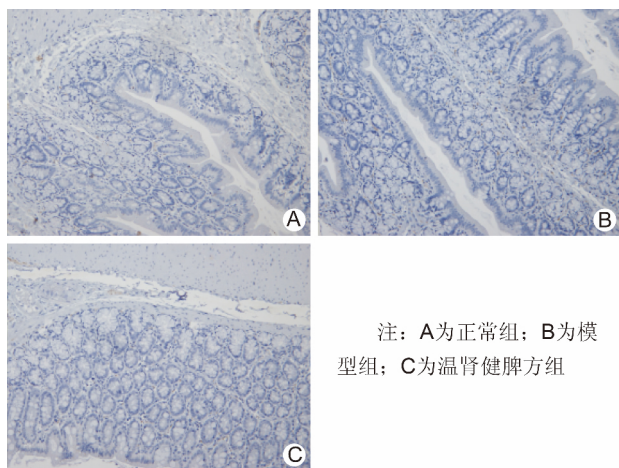
组别	n	第 1 周	第 4 周	第 6 周
正常	10	90.50 ± 54.27	90.30 ± 55.82	93.30 ± 49.30
模型	12	112.33 ± 72.52	96.67 ± 88.59	53.17 ± 32.16*
温肾健脾方	11	99.36 ± 64.97	103.36 ± 129.2	98.18 ± 52.93 [△]

注:与正常组比较,*P < 0.05;与模型组比较,[△]P < 0.05。

7 各组大鼠肠道黏膜病理组织学表现(图 1) 各组大鼠结肠组织及回盲部组织膜上皮表面微绒毛完整,排列整齐,上皮细胞连接紧密,膜下血管正常,腺体结构排列规则,偶见炎症细胞浸润,杯状细胞胞浆内富含液颗粒。未见充血水肿,无糜烂及溃疡。肌层无异常。

讨论

顺应疾病发展的趋势、模拟最终的状态,是构建疾



注: A 为正常组; B 为模型组; C 为温肾健脾方组

图 1 各组大鼠肠道黏膜病理组织学表现 (HE, ×200)

病动物模型的要求,而保证建立可靠动物模型,决定了后续实验的质量。肠易激综合征的形成需经历慢性的过程,目前已证实其发病与长期心理应激状态密切相关^[6]。而本病涉及心理诱因多样,包括抑郁、焦虑情绪、竞争性活动、容易紧张、担忧、情绪起伏较大等^[7]。所以,以多种行为学刺激共同、长时间作用更符合疾病产生的过程。

中医认为,在本病慢性病程的演化过程中,患者由肝郁脾虚的致病因素逐渐转化为脾肾阳虚的证候类型^[1]。临证中,无论是患者的证候分析,还是以温肾健脾法以方测证,均证实了脾肾阳虚在 IBS-D 病机中的重要地位^[8]。

本次研究中动物模型的建立,综合考虑了证型和疾病的特点。鉴于目前国内关于脾肾阳虚证 IBS-D 的造模方式尚无统一标准,在本次造模中,参考临床患者由肝郁脾虚的致病因素,因病情迁延,逐渐转化为脾肾阳虚证为 IBS 慢性疾病的机理,选取公认的^[4,9]肝郁证造模方式——束缚和夹尾、脾虚证的造模方式——番泻叶灌胃,以及内脏高敏感的造模方式——冰醋酸灌胃和球囊扩张刺激,以延长造模周期、夹尾束缚的惊恐刺激复合方式建立病证模型。本法以大鼠固定束缚、夹尾刺激联合直肠球囊扩张进行大鼠行为学应激,诱导肝郁因素;以番泻叶灌胃、冰醋酸灌肠进行大鼠化学性刺激,模拟脾虚因素^[10];以长周期、多种刺激模式、高频率模拟病程演变;从中医致病因素分析,番泻叶苦寒、冰醋酸寒凉,共奏泻热行滞之功,损伤胃肠阳气,日久及肾,符合脾肾阳虚的证候要素。从评价指标的结果分析:较正常组大鼠,模型组大鼠精神状态较差,易激惹,灌胃操作时挣扎明显,体重波动大,排便次数多,便质稀溏,肠道敏

感性及动力增加;温肾健脾方组大鼠服用温肾健脾方耐受性好,经治疗后精神状态有所缓解,灌胃操作时挣扎较少,体重波动较模型组缓和,排便次数减少,粪便含水量减少,肠道敏感性及动力逐渐下降。

本实验操作简单,制备工具容易获得,机理明确,模型安全性好,IBS-D 症状明确;经温肾健脾方治疗后模型大鼠的症状及指标有所改善,确定为较理想的病证结合模型制备方法。综合评价,此法可用于制备脾肾阳虚证 IBS-D 大鼠模型。

参 考 文 献

- [1] 苏晓兰,魏玮,林琳. 魏玮教授论治腹泻型肠易激综合征经验[J]. 吉林中医药, 2012, 32(2): 142-146.
- [2] AlChae ED, Kawasaki M, Pasricha PJ. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development[J]. Gastroenterology, 2000, 119(5): 1276-1285.
- [3] 张铮铮,张进领,陈惠军,等. 加味柴胡疏肝散对腹泻型肠易激综合征模型大鼠结肠黏膜胆囊收缩素的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(5): 473-475.
- [4] Thabit AK, Nicolau DP. Lack of correlation between bristol stool scale and quantitative bacterial load in *Clostridium difficile* infection[J]. Infect Dis, 2015, 8(8): 1-4.
- [5] 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, 8(5): 557-562.
- [6] 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 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, 31(5): 587-590.
- [7] 刘小彦. 肠易激综合征的社会心理因素调查及危险因素分析[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2012.
- [8] Su X, Tang Y, Zhang J, et al. Curative effect of Warming Kidney and Fortifying Spleen Recipe on diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. J Tradit Chin Med, 2013, 33(5): 615-661.
- [9] 崔秀芳,周尾梅,程秀琴,等. 表皮生长因子在醋酸诱导的结肠高敏感模型大鼠中的表达及其作用[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2014, 34(4): 427-432.
- [10] 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.

(收稿: 2015-12-26 修回: 2016-04-12)

责任编辑: 李焕荣

英文责编: 张晶晶