

四神丸对腹泻型肠易激综合征大鼠结肠 MCT、c-fos 表达的影响

蔺晓源¹, 邓娜², 夏旭婷², 刘富林², 刘杰民^{3*}

(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. 贵州省人民医院, 贵州贵阳 550002)

摘要: **目的** 观察四神丸对腹泻型肠易激综合征 (IBS-D) 模型大鼠结肠 MCT、c-fos 表达的影响。**方法** 将 40 只大鼠随机分为正常组、模型组、匹维溴铵组 (15.23 mg/kg) 和四神丸组 (7.32 mg/kg), 每组 10 只, 采用番泻叶灌胃联合避水应激法造模, 灌胃给药 14 d 后, 观察一般状态, 测定体质量、粪便含水量和 AWR 评分, ELISA 法检测血清 MCT、c-fos 水平, 免疫组织化学法、Western blot 法分别检测结肠组织 MCT、c-fos 蛋白定位及表达, RT-qPCR 法检测结肠组织 MCT、c-fos mRNA 表达。**结果** 与模型组比较, 四神丸组和匹维溴铵组大鼠一般状态明显好转, 体质量升高 ($P<0.01$), 粪便含水量、AWR 评分以及血清中 MCT、c-fos 水平均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 结肠组织 MCT、c-fos 蛋白及 mRNA 表达均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$); 四神丸组结肠组织 MCT 蛋白表达及 c-fos 蛋白表达均低于匹维溴铵组 ($P<0.05$)。**结论** 四神丸对 IBS-D 大鼠内脏敏感的保护机制可能与调节结肠肥大细胞活化指标 MCT、c-fos 的表达有关。

关键词: 四神丸; 腹泻型肠易激综合征; 内脏敏感性; MCT; c-fos

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)05-1658-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.05.040

腹泻型肠易激综合征 (irritable bowel syndrome-diarrhea, IBS-D) 是最为常见的肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 亚型, 以腹痛腹泻等症状反复发作为主要临床表现^[1], 其发病率高、治愈难度大, 但发病机制仍不明确。IBS-D 中医病位在肠, 属“泄泻”范畴, 病机关键在于脾失健运, 同时与肾关系密切。命门火衰, 火不暖土, 则脾肾阳虚。主治脾肾阳虚泄泻的经典名方四神丸, 临床治疗 IBS-D 效果显著^[2-3], 但作用机制尚不清楚。目前认为胃肠动力紊乱和内脏高敏性是 IBS 主要的病理生理学基础, 与脑肠轴调节失衡密切相关。促肾上腺皮质激素释放因子 (corticotropinreleasing factor, CRF) 作为脑肠轴在应激反应系统中的重要脑肽, 课题组前期研究发现, 四神丸可降低 IBS-D 大鼠血清 CRF 水平及其在结肠中的蛋白和基因表达^[4]。而 CRF 在 IBS-D 中发挥作用的关键是激活肥大细胞 (mast cell, MC)^[5], MC 活化可导致 IBS 肠道动力异常、内脏高敏感等。因此, 为了探究四神丸治疗 IBS-D 的内脏敏感机制是否与调节 MC 活化有关, 本研究通过复制脾肾阳虚 IBS-D 大鼠模型, 观察四神丸对其结肠 MC 活化指标类胰蛋白酶 (mast cell tryptase, MCT) 和即刻早

期基因 c-fos 表达的影响。

1 材料

1.1 动物 40 只雄性 SD 大鼠, SPF 级, 体质量 180~220 g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (湘) 2019-0004], 饲养于湖南中医药大学第一附属医院 SPF 实验动物房 [实验动物使用许可证号 SYXK (湘) 2020-0010]。本实验经湖南中医药大学第一附属医院实验动物伦理委员会批准 (伦理号 ZYFY20210847)。

1.2 药物 四神丸 (批号 21030012, 规格 27 g/瓶) 购自北京同仁堂天然药物 (唐山) 有限公司, 用蒸馏水配制成 0.732 g/mL 的混悬液。匹维溴铵片 (批号 637883, 规格 50 mg/片) 购自法国苏威制药有限公司, 用蒸馏水配制成 1.523 mg/mL 的药液。番泻叶购自湖南中医药大学第一附属医院, 由湖南中医药大学第一附属医院龙红萍副研究员鉴定为正品, 按传统水提法配制成 1.0 g/mL 的水煎液。

1.3 试剂 大鼠 MCT ELISA 试剂盒 (武汉菲恩生物科技有限公司, 批号 ER0432); 大鼠 c-fos ELISA 试剂盒 (上海纪宁生物科技有限公司, 批号 JN6226); MCT 抗体 (武汉

收稿日期: 2023-03-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81403380); 湖南省自然科学基金项目 (2024JJ9435); 贵州省高层次创新型人才项目 (黔科合平台人才 [2020] 6016-2); 湖南省教育厅科学研究项目 (21B0368, 21C0221); 湖南中医药大学中医学国内一流建设学科开放基金 (2021ZYX15)

作者简介: 蔺晓源 (1985—), 男, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 从事中医药防治脾胃病研究。Tel: 13975886107, E-mail: ll.xx.yy.521@126.com

* **通信作者:** 刘杰民 (1973—), 男, 博士, 主任医师, 硕士生导师, 从事中西医结合防治胃肠疾病研究。Tel: 13984074607, E-mail: liujm0851@126.com

博士德生物工程有限公司, 批号 BA3245); c-fos 抗体 (英国 Abcam 公司, 批号 ab208942); BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (北京康为世纪生物科技有限公司, 批号 CW0014S); RNA 提取试剂盒 (北京华新康信生物科技有限公司, 批号 BSC52M1); 逆转录试剂盒 [普洛麦格 (北京) 生物技术有限公司, 批号 A5001]。

1.4 仪器 Z32HK 高速冷冻离心机 (德国贺默公司); Enspire 多功能酶标仪 (美国 Perkinelmer 公司); HM 325 轮转式切片机 (美国赛默飞公司); BX43 荧光显微镜和图像分析系统 (日本奥林巴斯公司); 蛋白印迹系统 (美国伯乐公司); Realplex2 荧光定量 PCR 仪 (德国艾本德公司)。

2 方法

2.1 分组与造模 40 只大鼠根据体质量随机分为正常组、模型组、匹维溴铵组和四神丸组, 每组 10 只。除正常组外, 其余各组均参考文献 [6] 报道复制脾肾阳虚型 IBS-D 大鼠模型。大鼠每天灌胃番泻叶水煎液 (10 mL/kg) 1 次, 28 d 后进行避水应激, 连续 10 d。

2.2 给药与标本采集 四神丸组给予成人等效 4 倍剂量 (7.32 mg/kg) 的四神丸混悬液, 匹维溴铵组给予成人等效剂量 (15.23 mg/kg) 的匹维溴铵药液, 模型组给予蒸馏水, 给药体积 10 mL/kg, 共给药 14 d。末次灌胃给药后麻醉取血, 离心取血清, 于-80 ℃冰箱保存; 剪取距肛门 10 cm 处的一段结肠, PBS 液漂洗后, 一部分装入冻存管中于液氮中保存, 另一部分放入 4% 多聚甲醛液中固定。

2.3 指标检测

2.3.1 一般状态观察和体质量、粪便含水量测定 观察给药前后各组大鼠的精神状态、毛发色泽、活动及排便情况等, 记录体质量变化; 代谢笼收集各组大鼠 24 h 的粪便, 参考文献 [7] 报道计算粪便含水量。

2.3.2 腹壁撤离反射 (AWR) 评分测定 将大鼠放入自制的玻璃容器中限制运动, 从肛门插入带有球囊的导尿管, 参考文献 [8] 报道观察各组大鼠分别在 40、60、80 mmHg 压力下的身体反应, 进行 AWR 评分。1 mmHg = 0.133 kPa。

2.3.3 ELISA 法检测血清 MCT、c-fos 水平 分别按 MCT、c-fos ELISA 试剂盒说明书进行操作, 于 450 nm 波长处测量光密度 (OD) 值, 建立标准曲线计算各样品 MCT、c-fos 水平。

2.3.4 免疫组织化学法检测结肠组织 MCT、c-fos 蛋白定位及阳性表达 结肠石蜡包埋切片, 滴加一抗 MCT (1 : 200)、c-fos (1 : 1 000) 4 ℃孵育过夜, 二抗 37 ℃孵育 30 min, DAB 显色。于 400 倍镜下拍照, 分析 MCT、c-fos 免疫阳性染色的平均 OD 值。

2.3.5 Western blot 法检测结肠组织 MCT、c-fos 蛋白表达 提取各组结肠组织蛋白, 制备蛋白上样样本, 经电泳、湿法转膜、封闭后, 加入 MCT、c-fos 一抗 (1 : 1 000), 二抗室温孵育, 显色。以内参蛋白 β -actin 的灰度值为对照, 计算目的蛋白的相对表达量。

2.3.6 RT-qPCR 法检测结肠组织 MCT、c-fos mRNA 表达 提取各组结肠组织 RNA, 逆转录合成 DNA, 进行 RT-qPCR 扩增。根据扩增结果, 按照 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算目的基因相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列	长度/bp
MCT	正向 5'-GGCAGGTGAGCCTGAGATTT-3'	91
	反向 5'-GGAAGAGCTGTGGCTTTT-3'	
c-fos	正向 5'-TGCTCTTCTCGGACGACTCTGAC-3'	98
	反向 5'-AGGACTCGGCTCTTTGGACAGG-3'	
β -actin	正向 5'-ACGCCAACACAGTGCTGTCTG-3'	102
	反向 5'-TGCTTGCTGATCCACATCTGCTG-3'	

2.4 统计学分析 通过 SPSS 19.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析。P<0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 四神丸对 IBS-D 大鼠一般状态和体质量、粪便含水量的影响 给药前, 正常组大鼠反应灵敏, 毛发光泽, 粪便呈颗粒状; 其余各组大鼠毛发枯晦, 反应迟钝, 喜扎堆, 肛周污秽, 粪便稀溏。给药后, 模型组大鼠以上症状改善不明显, 而四神丸组和匹维溴铵组大鼠精神状态明显改善, 活动增加, 毛发光泽, 体质量升高 (P<0.01), 粪便含水量降低 (P<0.05), 见表 2。

表 2 各组大鼠体质量、粪便含水量比较 ($\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	体质量/g	粪便含水量/%
正常组	372.07 $\pm$ 21.32	41.28 $\pm$ 2.27
模型组	253.36 $\pm$ 17.85 ^{##}	52.16 $\pm$ 3.43 ^{##}
匹维溴铵组	344.08 $\pm$ 19.37 ^{$\Delta\Delta$}	44.15 $\pm$ 2.55 ^{Δ}
四神丸组	351.79 $\pm$ 16.59 ^{$\Delta\Delta$}	45.27 $\pm$ 2.62 ^{Δ}

注: 与正常组比较, ^{##}P<0.01; 与模型组比较, ^{Δ} P<0.05, ^{$\Delta\Delta$} P<0.01。

3.2 四神丸对 IBS-D 大鼠 AWR 评分的影响 与正常组比较, 模型组大鼠在 40、60、80 mmHg 下的 AWR 评分均升高 (P<0.01); 与模型组比较, 四神丸组和匹维溴铵组大鼠在 40、60、80 mmHg 下的 AWR 评分均降低 (P<0.05, P<0.01), 见表 3。

表 3 各组大鼠 AWR 评分比较 (分, $\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	40 mmHg	60 mmHg	80 mmHg
正常组	1.14 $\pm$ 0.15	1.59 $\pm$ 0.43	2.17 $\pm$ 0.78
模型组	2.36 $\pm$ 0.60 ^{##}	2.95 $\pm$ 0.67 ^{##}	3.19 $\pm$ 0.84 ^{##}
匹维溴铵组	1.33 $\pm$ 0.32 ^{$\Delta\Delta$}	2.04 $\pm$ 0.56 ^{Δ}	2.46 $\pm$ 0.63 ^{Δ}
四神丸组	1.41 $\pm$ 0.26 ^{$\Delta\Delta$}	1.87 $\pm$ 0.34 ^{$\Delta\Delta$}	2.51 $\pm$ 0.58 ^{Δ}

注: 与正常组比较, ^{##}P<0.01; 与模型组比较, ^{Δ} P<0.05, ^{$\Delta\Delta$} P<0.01。

3.3 四神丸对 IBS-D 大鼠血清 MCT、c-fos 水平的影响 与正常组比较, 模型组大鼠血清 MCT、c-fos 水平升高 (P<0.01); 与模型组比较, 四神丸组和匹维溴铵组大鼠血清 MCT、c-fos 水平均降低 (P<0.05, P<0.01), 见表 4。

3.4 四神丸对 IBS-D 大鼠结肠组织 MCT、c-fos 蛋白阳性表达的影响 MCT、c-fos 表达于结肠黏膜固有层及黏膜下层,

表 4 各组大鼠血清 MCT、c-fos 水平比较 (ng/mL, $\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	MCT	c-fos
正常组	15.43±4.75	1.87±0.25
模型组	26.18±6.39 ^{##}	3.68±0.40 ^{##}
匹维溴铵组	18.29±5.06 ^{△△}	2.45±0.29 [△]
四神丸组	17.60±4.27 ^{△△}	2.16±0.31 [△]

注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，[△] $P<0.05$ ，^{△△} $P<0.01$ 。

在细胞质和细胞核内呈棕褐色染色。与正常组比较，模型组大鼠结肠组织 MCT、c-fos 蛋白阳性表达均增强 ($P<0.01$)；与模型组比较，四神丸组和匹维溴铵组大鼠结肠

组织 MCT、c-fos 蛋白阳性表达均减少 ($P<0.05$, $P<0.01$)；且四神丸组 c-fos 阳性表达低于匹维溴铵组 ($P<0.05$)，见表 5、图 1。

表 5 各组大鼠结肠 MCT、c-fos 蛋白阳性表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	MCT	c-fos
正常组	0.28±0.04	0.17±0.03
模型组	0.45±0.06 ^{##}	0.41±0.07 ^{##}
匹维溴铵组	0.33±0.05 ^{△△}	0.29±0.05 [△]
四神丸组	0.31±0.04 ^{△△}	0.18±0.04 ^{△△*}

注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，[△] $P<0.05$ ，^{△△} $P<0.01$ ；与匹维溴铵组比较，^{*} $P<0.05$ 。

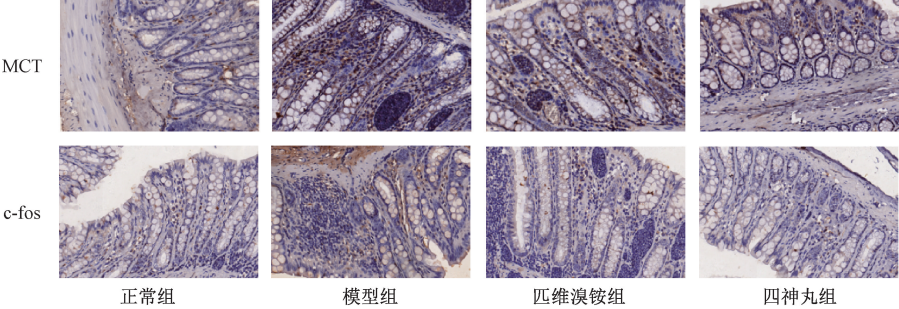


图 1 各组大鼠结肠组织 MCT、c-fos 免疫组化染色 (×400)

3.5 四神丸对 IBS-D 大鼠结肠组织 MCT、c-fos 蛋白表达的影响 与正常组比较，模型组大鼠结肠组织 MCT、c-fos 蛋白表达均升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，四神丸组和匹维溴铵组大鼠结肠组织 MCT、c-fos 蛋白表达均降低 ($P<0.01$)；且四神丸组大鼠结肠组织 MCT、c-fos 蛋白表达低于匹维溴铵组 ($P<0.05$)，见表 6、图 2。

表 6 各组大鼠结肠组织 MCT、c-fos 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	MCT	c-fos
正常组	0.29±0.05	0.35±0.07
模型组	0.74±0.11 ^{##}	0.86±0.10 ^{##}
匹维溴铵组	0.48±0.08 ^{△△}	0.57±0.09 ^{△△}
四神丸组	0.35±0.06 ^{△△*}	0.42±0.07 ^{△△*}

注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{△△} $P<0.01$ ；与匹维溴铵组比较，^{*} $P<0.05$ 。

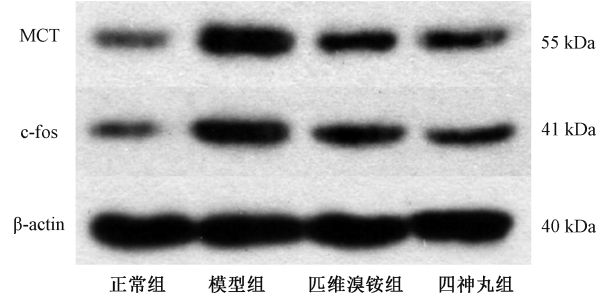


图 2 各组大鼠结肠组织 MCT、c-fos 蛋白条带图

3.6 四神丸对 IBS-D 大鼠结肠组织 MCT、c-fos mRNA 表达的影响 与正常组比较，模型组大鼠结肠组织 MCT、c-fos mRNA 表达均升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，四神丸组和匹维溴铵组大鼠结肠组织 MCT、c-fos mRNA 表达均降低

($P<0.01$)，见表 7。

表 7 各组大鼠结肠组织 MCT、c-fos mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	MCT	c-fos
正常组	1.18±0.26	1.03±0.15
模型组	4.65±0.93 ^{##}	5.54±0.71 ^{##}
匹维溴铵组	2.24±0.30 ^{△△}	2.22±0.34 ^{△△}
四神丸组	2.18±0.32 ^{△△}	2.30±0.48 ^{△△}

注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{△△} $P<0.01$ 。

4 讨论

随着研究的不断深入，MC 作为肠道免疫中的“明星细胞”在 IBS 发病中的作用逐渐成为当前关注的热点^[9]。MCT 是 MC 激活和脱颗粒的重要标志，储存和表达具有高度选择性，在 MC 内含量最多，故 MCT 水平可作为 MC 活化程度的生物学标志^[10]。MCT 可通过激活蛋白酶活化受体-2 增加肠上皮的通透性，释放 P 物质等兴奋性神经递质，导致 IBS 腹痛等内脏高敏症状的发生；同时可增强平滑肌收缩，加速肠道蠕动，导致 IBS-D 腹泻等肠道运动功能异常症状的发生^[11]。研究发现，结肠致敏模型大鼠 MCT 蛋白表达显著升高^[12]；IBS-D 患者的初始感觉阈值和初始排便冲动阈值明显低于健康对照者，而 IBS-D 患者血中 MCT 水平与以上 2 种阈值呈负相关^[13]。秦斌等^[14]研究显示，IBS-D 患者结肠黏膜 MCT 含量高于健康对照者，当应激发生时，CRF 分泌增加并直接作用于肠黏膜 MC 促使活性介质释放。

c-fos 是细胞内信号级联反应的关键效应因子，与内脏高敏性密切相关^[15]。生理状态下 c-fos 表达不显著，病理状态下短暂而迅速地表达并合成 c-fos 蛋白，尤其在 IBS 内

脏高敏导致腹痛时，c-fos 处于高表达状态^[16]。在 MC 中，c-fos 的表达对 MC 的增殖及信号传导具有重要作用^[17]，与 MCT 一样均可作为 MC 活化程度的生物学标志。研究发现，IBS 模型大鼠中枢蓝斑区 c-fos mRNA 表达升高，大鼠内脏敏感性增加^[18]。IBS-D 患者结肠黏膜 c-fos 表达显著高于正常者^[19]。脾肾阳虚型 IBS-D 在脑肠不同层面上均有 c-fos 介导的神经可塑性变化^[20]。“补骨脂-肉豆蔻”醇提物不仅能降低 IBS 内脏高敏感大鼠结肠组织 CRF 的蛋白表达，还能降低 c-fos 的 mRNA 和蛋白表达^[21]。

脾肾阳虚证作为 IBS-D 中医辨证论治中的主要证型之一，贯穿于 IBS-D 发病的始终^[22]。脾肾阳虚型 IBS-D 治当益火补土以温补脾肾。四神丸源于《内科摘要》，作为治疗脾肾阳虚型泄泻的经典名方，用于 IBS-D 临床疗效明显^[2-3]。有研究表明，四神丸可能通过保护肠黏膜屏障、改善胃肠运动和肠道菌群等达到治疗 IBS-D 的作用^[23]。课题组前期研究则证实，四神丸可影响脾肾阳虚 IBS-D 大鼠结肠 CRF 的蛋白和 mRNA 表达^[4]。本研究结果显示，四神丸能明显改善 IBS-D 模型大鼠精神状态，增加体质量，降低粪便含水量和 AWR 评分，表明四神丸能缓解 IBS-D 大鼠内脏高敏感；其还能降低血清 MCT、c-fos 水平，减少 MCT、c-fos 在结肠中的蛋白和 mRNA 表达，表明四神丸对 IBS-D 大鼠的作用与调控 MCT、c-fos 的表达有关。结合前期研究结果提示，四神丸治疗 IBS-D 的作用机制可能与脑肠肽 CRF 活化 MC 作用途径密切相关，可为后续从神经免疫角度开展四神丸调节 IBS-D 的内脏敏感机制研究提供新思路。

参考文献:

[1] Sperber A D, Bangdiwala S I, Drossman D A, *et al.* Worldwide prevalence and burden of functional gastrointestinal disorders, results of Rome Foundation Global Study [J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(1): 99-114.

[2] 陈佳利, 姚艳玲, 刘 昊, 等. 四神丸联合督灸治疗脾肾阳虚型腹泻型肠易激综合征疗效观察[J]. 山东中医杂志, 2021, 40(6): 572-576.

[3] 文廷玉, 曹砚杰. 附子理中汤合四神丸加减治疗脾肾阳虚型腹泻型肠易激综合征[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(9): 177-180.

[4] 蔺晓源, 邓 娜, 龙红萍, 等. 四神丸对脾肾阳虚型 IBS-D 大鼠结肠 CRF 表达的影响[J]. 吉林中医药, 2020, 40(5): 647-650.

[5] Costa S D, Ayyadurai S, Gibson A J, *et al.* Mast cell corticotropin-releasing factor subtype 2 suppresses mast cell degranulation and limits the severity of anaphylaxis and stress-induced intestinal permeability [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 143(5): 1865-1877.

[6] 蔺晓源, 邓 娜, 夏旭婷, 等. 四神丸对腹泻型肠易激综合征大鼠脊髓 Ghrelin、GHSR 表达的影响[J]. 中国中医急症, 2020, 29(10): 1735-1738.

[7] 曹佳男, 刘 霞, 刘 涛, 等. 艾灸对腹泻型肠易激综合征大鼠结肠 5-HT 及 5-HT3R 的影响[J]. 湖南中医药大学

学报, 2021, 41(10): 1493-1497.

[8] 任 杰, 樊欣钰, 范志巍, 等. 肠康方对腹泻型肠易激综合征模型大鼠肥大细胞的影响[J]. 中医药信息, 2020, 37(3): 35-39.

[9] Weinstock L B, Pace L A, Rezaie A, *et al.* Mast cell activation syndrome; A primer for the gastroenterologist[J]. *Dig Dis Sci*, 2021, 66(4): 965-982.

[10] 李 超, 迟 雁, 王化虹, 等. 腹泻型肠易激综合征患者肛管直肠动力及感觉功能与外周肥大细胞类胰蛋白酶的相关性研究[J]. 中国全科医学, 2017, 20(11): 1320-1325.

[11] 王 雪, 郝贵亮, 高琛琛, 等. 肠道卫士肥大细胞及其功能研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2018, 26(10): 601-608.

[12] Yang J, Shang B, Shi H, *et al.* The role of toll-like receptor 4 and mast cell in the ameliorating effect of electroacupuncture on visceral hypersensitivity in rats[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2019, 31(6): e13583.

[13] Chi Y, Li C, Wu L H, *et al.* The relationship between dectin-1 and mast cells in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2020, 55(7): 762-768.

[14] 秦 斌, 郭晓燕, 董 蕾, 等. 腹泻型肠易激综合征患者结肠肥大细胞与症状相关性研究[J]. 山西医科大学学报, 2014, 45(7): 598-601.

[15] 蒋天媛, 牛 然, 刘 倩, 等. 基于“肠-脑互动”探讨温肾健脾方对脾肾阳虚型腹泻型肠易激综合征大鼠内脏敏感性 & c-Fos 表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2022, 29(10): 96-102.

[16] 李 聪. 痛泻要方对内脏高敏性肠易激综合征大鼠模型作用及机制[J]. 创伤与急危重病医学, 2019, 7(2): 109-111.

[17] 王晓鸽. 痛泻要方治疗 IBS 文献研究及其对 PI-IBS 模型大鼠肥大细胞活化的干预机制[D]. 北京: 中国中医科学院, 2015.

[18] 王 曦, 李 蒙, 胡 玥, 等. 蓝斑核促肾上腺皮质激素释放激素系统对肠易激综合征大鼠内脏敏感性的影响[J]. 中华消化杂志, 2020, 40(1): 40-41.

[19] 冯文林, 伍海涛, 罗超华. 中医药对肠易激综合征中 c-fos 表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(10): 2343-2345.

[20] 侯理伟. 温肾健脾方干预脾肾阳虚型 IBS-D 大鼠脑-肠 CREB/BDNF/TrkB 信号通路的机制研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2018.

[21] 魏良兵, 高家荣, 王 婷, 等. “补骨脂-肉豆蔻”醇提物调控 CRF-CREB 信号通路对肠易激综合征内脏高敏感大鼠发挥治疗作用的研究[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(6): 96-101.

[22] 张伟健, 郭绍举. 中医分型论治腹泻型肠易激综合征经验总结及分析[J]. 山东中医杂志, 2019, 38(1): 59-62.

[23] 李雪莹, 王佐梅, 姚欣卉, 等. 四神丸药理作用及临床应用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(4): 122-126.