

张佳河,祝旺,沈丹婷,等. 腹泻型肠易激综合征动物模型评价的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(2): 238-247.
ZHANG J H, ZHU W, SHEN D T, et al. Research progress on animal models for the evaluation of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(2): 238-247.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.02.011

腹泻型肠易激综合征动物模型评价的研究进展

张佳河¹, 祝旺¹, 沈丹婷¹, 杨希玲¹, 刘凤斌^{2,3}, 侯秋科^{3*}

(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广州 510405; 2. 广州中医药大学第一附属医院白云医院, 广州 510405; 3. 广州中医药大学第一附属医院脾胃病科, 广州 510405)

【摘要】 肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是常见的功能性肠病之一,其中腹泻型肠易激综合征(diarrhea-predominant IBS, IBS-D)占比最多,发病机制复杂多样,且缺少临床特效药。动物模型的制备是进一步研究疾病机制、评价临床药效以及药物开发的重要基础,而模型制备和评价标准关乎研究的质量。本文通过查阅国内外文献及结合本课题组的前期建模经验,基于 IBS-D 目前公认的发病机制出发,从腹泻情况观察,内脏敏感性测定,肠道动力测定等方面系统总结 IBS-D 动物模型的评价方法,以期为今后研究提供参考。

【关键词】 腹泻型肠易激综合征(IBS-D); 动物模型; 评价方式

【中图分类号】 Q95-33 【文献标志码】 A 【文章编号】 1005-4847 (2024) 02-0238-10

Research progress on animal models for the evaluation of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome

ZHANG Jiahe¹, ZHU Wang¹, SHEN Danting¹, YANG Xiling¹, LIU Fengbin^{2,3}, HOU Qiuke^{3*}

(1. the First Clinical Medical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;
2. Baiyun Hospital, the First Affiliated Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;
3. Department of Spleen and Stomach Disease, the First Affiliated Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

Corresponding author: HOU Qiuke. E-mail: houqiuke@gzucm.edu.cn

【Abstract】 Irritable bowel syndrome (IBS) is one of the most common functional gastrointestinal disorders, of which diarrhea-predominant IBS (IBS-D) accounts for the largest proportion. The pathogenesis of IBS-D is complicated and diverse, and there is currently a lack of clinically effective drugs. The establishment of animal models is an essential tool for further studies of the disease mechanisms, evaluation of clinical efficacy, and drug development, and the preparation and evaluation standards of models are important factors affecting the quality of the research. Based on the currently accepted pathogenesis of IBS-D and the previous modeling experience of our research group, this review systematically summarizes the evaluation method used in animal models of IBS-D in terms of diarrhea observation, visceral sensitivity tests, and intestinal motility tests, to provide a reference for future studies.

【Keywords】 diarrhea-predominant irritable bowel syndrome(IBS-D); animal model; evaluation method

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种临床常见的,以反复腹痛、腹部不适伴排便习

惯和(或)大便性状改变为特征的胃肠功能紊乱性疾病^[1]。根据罗马IV标准^[2]将 IBS 分为便秘型、腹

【基金项目】国家自然科学基金项目(81804047, 82174303)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (81804047, 82174303).

【作者简介】张佳河,男,在读硕士研究生,研究方向:中医药防治脾胃病研究。Email: zjh1124183172@163.com

【通信作者】侯秋科,女,副研究员,博士,研究方向:中西医结合脾胃消化系统疾病研究。Email: houqiuke@gzucm.edu.cn

泻型、混合型和不定型共 4 个亚型,其中腹泻型 IBS (diarrhea-predominant IBS, IBS-D) 在临床中最为常见,占总 IBS 发病患者的 23.3% ~ 65.0%^[3]。虽然该病发病率高,但由于致病因素复杂,发病机制尚不十分清楚,缺乏良好的生物学标志物,且存在多种、重叠、非特异性症状,给诊断带来困难。目前认为其生理病理机制与内脏高敏感、肠道动力异常、肠道菌群紊乱、肠脑轴异常、肠道低度炎症、精神心理、遗传等因素密切相关^[1],治疗手段十分有限,近 10 年来几乎没有新的技术和药物推向临床。患者常因反复发作的腹部症状而备受煎熬,严重影响患者的工作生活,并因长期寻医用药带来了沉重的经济负担^[4],从而进一步加重其精神心理压力及脑-肠互动紊乱等,形成恶性循环,因此有必要进行更多的动物实验以深入探讨 IBS-D 发病机理和开展新药研发。

早前已有文献从病因及中医病证结合角度^[5-6]对 IBS-D 动物造模方法做了归纳和比较,模型评价方法也多种多样,但缺乏专门对其详尽地系统整理。由于模型评价标准是判断动物模型制备质量的关键,其重要性不言而喻,因此本文针对 IBS-D 动物模型评价方法进行归纳总结,以期对 IBS-D 的机制研究提供借鉴和参考。

1 腹泻症状评价方法

1.1 一般情况观察

一般情况是最基本的观察指标,能反映造模过程中动物的整体状态,主要包括行为活动、精神状态、饮食、体重、毛色毛质、粪便等。作为宏观指标,主观性强,可靠性低。正常状态下,动物活泼好动,精神良好,饮水进食量正常,体重平稳增加,皮毛光泽柔顺,粪便软硬度适中。成功造模后 IBS-D 动物模型出现静卧少动,精神倦怠,进食量减少,体重增长缓慢,毛色不均,毛糙散乱甚至脱落,排便量增多,粪便质稀,粘附肛周^[7],解剖时见粪便质软或呈稀烂便。

1.2 粪便情况观察

观察排便情况是评价 IBS-D 动物模型最直接的方法,可间接反映肠道动力、肠道黏膜通透性。通过观测排便的多少、粪便性状以及计算含水率等综合评价粪便量和质的变化。

1.2.1 粪便性状

粪便性状异常是 IBS-D 特点之一,根据 Bristol

粪便性状评分法^[7-12]共将粪便性状分为 7 种,根据性状赋予 1 ~ 7 分,性状 3、4 为正常粪便性状,腹泻倾向性状 5 ~ 7,王科凯等^[7]收集每只大鼠造模后 4 h 的粪便并进行分级评分,结果与空白组相比具有统计学意义。该评分法是评估大便形态最简单而有效的工具,见表 1。

表 1 Bristol 粪便性状分级
Table 1 Bristol stool form scale

分型 Type	说明 Explanation	评分 Score
性状 1 Type 1	一颗颗硬球像坚果,难以排出 A hard ball like a nut that's hard to expel	1 分 1 mark
性状 2 Type 2	香肠状,但表面有凹凸 Sausage-shaped, but with a bumpy surface	2 分 2 mark
性状 3 Type 3	香肠状,但表面有裂纹 Sausage-shaped, but with surface cracks	3 分 3 mark
性状 4 Type 4	像香肠或蛇形,光滑且柔软 Like a sausage or serpentine, smooth and soft	4 分 4 mark
性状 5 Type 5	断边光滑的柔软块状,容易通过 Soft block with smooth broken edges, easy to pass through	5 分 5 mark
性状 6 Type 6	粗边蓬松块,糊状大便 Rough-edged fluffy lumps, mushy stools	6 分 6 mark
性状 7 Type 7	水状,无固体块,呈完全液体 Watery, no solid lumps, completely liquid	7 分 7 mark

1.2.2 粪便粒数

也称为粪点数,是通过计算一段时间内的排便颗粒数来评估判断肠道的传输情况。造模成功时,动物排便粒数会增多,但观察时长并未统一,周天然等^[13]和胡莹等^[9]分别收集了大鼠 4、12 h 的粪点数,也有学者认为 2 h 粪便粒数能较好地体现肠蠕动的快慢^[14]。该方法忽略了对大便性状的评价,常与大便积分、腹泻指数结合使用。

1.2.3 大便积分

该法将粪便粒数和性状融合一体,操作简便。具体方法是将动物单笼饲养,并记录一段时间的粪便粒数,并按“硬便 1 分,软便 2 分,不成形便 3 分”的标准进行评分,软硬便的判断标准是根据粪便能否在水中漂浮,漂浮者为硬便,下沉者为软便,最后比较分析各组每只动物的平均大便积分^[15-16]。

1.2.4 粪便面积

有学者用吸水性清洁滤纸收集并记录每只大鼠 4 h 粪便粒数,设置标尺,在固定高度对滤纸进行拍照,使用 Image J 软件处理后计算粪便面积,并通过 Spearman 相关系数发现粪便面积和粒数成正相关^[13]。该法将粪便粒数利用软件进一步量化,更为准确,并且可以存留照片资料以备数据核对,减少错误,具有创新性,但实用性和可操作性值得进一

步验证。

1.2.5 粪便含水率

粪便含水率是表征 IBS-D 肠道水分吸收与肠液分泌情况的重要指标之一^[8,11,17-20]。通过收集动物一定时间内排出的粪便,用精密电子天平称得质量为湿重,再将新鲜粪便用电热恒温干燥箱,在固定的温度和时间下烘干至质量不再变化,称出干重,粪便含水率(%) = (湿重 - 干重)/湿重 × 100%。该方法适用于成形大便的评价,相对客观,但收集时间过长会导致粪便水分挥发明显且涉及代谢笼选择问题,如非代谢笼易导致二便混杂,进而对含水率产生巨大影响,因此有学者认为收集粪便时间不宜过长^[18]。

1.2.6 腹泻指数

腹泻指数将稀便率、粪便粒数和稀便污迹直径相结合,可综合衡量模型的腹泻情况,能对模型即时粪便状态有明确的反映^[21],适用于评价不成形粪便,但操作方法^[12,18,22-24]较为繁琐:将大鼠分笼饲养,并在鼠笼下方垫清洁滤纸,每隔 1 h 换纸,记录 4 h 的腹泻指数。腹泻指数 = 稀便率(%) × 平均稀便级,其中腹泻率(%) = 每只大鼠的稀便数/粪便总数 × 100%,平均稀便级 = 每只大鼠所有稀便级数总和/每只大鼠的稀便数。以滤纸是否有污迹作为干稀便的区分标准,以粪便粒数之和为粪便总数,不能明确辨别粒数者以一堆计为 1 次。稀便级分 4 级,以每颗稀便浸染滤纸范围计算,具体分级如下:稀便污染直径小于 1 cm 为 1 级,1 ~ 1.9 cm 为 2 级,2 ~ 3 cm 为 3 级,大于 3 cm 为 4 级。

1.2.7 腹泻率

腹泻症状是肠低度炎症最直接的外在表现,该指标^[15,23]相对简单,是常用辅助指标之一,腹泻率(%) = 腹泻的动物数/该组动物总数 × 100%。

1.2.8 腹泻潜伏期

腹泻潜伏期指每只动物自造模开始到出现稀便所用时间(h),目前该指标很少应用^[23]。

2 内脏敏感性测定

内脏高敏感是指机体对外界刺激的承受能力下降、承受阈值降低,即疼痛过敏,是引起腹痛及腹部不适的主要病理基础,被认为是 IBS 发病的核心发病机制和生物学标志^[15],也是判断 IBS-D 造模成功与否的关键指标。

2.1 腹壁撤退反射 (abdominal withdrawal reflex, AWR)

AWR 实验是目前最公认、应用最广泛的评价动物内脏敏感度的经典方法^[7-9,12,16-18,24-27]。该方法在直结肠球囊扩张(colonrectal distension, CRD)^[28]下观察并评价动物行为表现,简单易分辨、伤害小,不易影响后续实验。目前 AWR 操作方式标准不一,所采用的扩张方式、持续时间、气囊种类与制作方法、判断标准等均存在明显差异,进而影响了动物模型内脏高敏感性评估的准确性。有文献对大鼠 AWR 实验的操作方法^[29]及材质^[30]作出总结:为减少主观偏倚,操作者和评价者彼此独立,互不干扰。大鼠进行 12 ~ 24 h 的禁食不禁水后,麻醉大鼠,将大鼠固定于手术台,再把固定在 8F 导尿管前端的圆形乳胶气球涂上少许石蜡油,缓慢插入大鼠肛门 6 ~ 8 cm,用胶布将导管固定于大鼠尾巴根部。随后将大鼠放在透明塑料笼中,使其不能转身,待其苏醒平静后,用血压计按 10 mmHg 的速度匀速加压观察 3 分阈值(见表 2)时对应的压力值。重复测量 3 次,每次扩张持续 20 s,间隔时间不少于 4 min,取平均压力值作为大鼠的疼痛阈值来判断动物内脏敏感程度。

表 2 AWR 等级评分标准
Table 2 AWR rating scale

评分 Score	动物行为表现 Animal behaviour
0 分 0 mark	给予 CRD 时大鼠无行为反应 No behavioural response in rats given CRD
1 分 1 mark	大鼠变得不稳定,偶尔扭动头部 Rats become unstable and occasionally twist their heads
2 分 2 mark	腹背部肌肉轻微收缩,但腹部未抬离地面 Slight contraction of the abdominal and back muscles, but the abdomen is not lifted off the ground
3 分 3 mark	腹背部肌肉较强烈收缩并把腹部抬离地面,骨盆不抬离 Stronger contraction of the abdominal and back muscles and lifting the abdomen off the floor, without lifting the pelvis off the floor
4 分 4 mark	腹部肌肉强烈收缩,腹部呈弓形并把腹部、会阴部抬离地面 Strong contraction of the abdominal muscles, arching the abdomen and lifting the abdomen and perineum off the ground

2.2 腹外斜肌放电实验

腹外斜肌放电实验是将针形电极插入大鼠腹股沟韧带上方、距中线 1.5 cm 的一侧腹外斜肌上^[15],用生理信号采集系统记录在不同 CRD 压力下大鼠腹外斜肌的放电活动^[20,31-32],减去基线波幅后得到肌肉放电幅值。与正常组相比,IBS-D 动物模型的肌电活动明显增强。AWR 和腹外斜肌放电实验均可以作为评价内脏敏感度的指标^[31],前者应用范围更广,使用工具易制备,评分标准易于观察分辨,操作方法也相对简单,但带有一定主观性;后者能观察腹部肌肉兴奋时产生的电生理变化,实验结果更为客观,缺点是对设备要求较高,需要运用高精尖仪器采集数据,而且为侵入性有创操作,可能会危害动物生命及造成额外致敏,使实验的不确定性因素增加。

2.3 避水应激实验(water avoid stress, WAS)

WAS 具有双重属性,既是一种模拟精神应激的造模方式^[5],也可作为 IBS-D 模型造模成功与否的评价方法,但应用较少。张文杰^[33]研究 IBS-D 模型在 WAS 下 1 h 的粪便粒数较正常组明显增多从而证实动物存在内脏高敏及其所致的结肠动力紊乱情况。

2.4 其他测定方法

AL-CHAER 等^[28]用手术暴露大鼠 L6-S1 脊髓节段,记录单个脊髓背角神经元在不同 CRD 压力下的电生理活动以验证大鼠的内脏高敏感,此方法反映的是中枢电生理,结果客观但流程复杂,需要精细操作且创伤性更大,不利于推广应用。刘珊珊^[34]运用离体肠管运动实验发现加入致痉剂 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)的模型组离体小肠平均张力升高比值明显高于正常组,从而说明 IBS-D 大鼠具有内脏高敏感,该方法具有经济易行、实验条件易控制、重现性好、结果准确可靠的优点,但主要应用于观察药物对肠道运动和张力的影响,很少用于内脏高敏测定。

3 肠道动力测定

IBS-D 存在食管、胃肠乃至整个消化道的动力异常,但以肠道为主,胃肠动力快则腹泻,肠道痉挛则腹痛。

3.1 小肠推进率

小肠推进率是测定一定时间肠内标志物在小肠中的移动距离来评估小肠转运功能,肠内标志物

是不被消化吸收且易于观察的有色介质,包括墨汁、苯酚红、葡聚糖蓝等。现常用墨汁进行该实验^[27,32,35-36],YU 等^[32]用墨汁按 10 mL/kg 的用量对禁食 24 h 的大鼠进行灌胃,于 30 min 后处死大鼠,取出整段小肠。测量幽门至回盲部的长度,即小肠总长度;幽门至色素最前端的长度,即墨汁的推进距离,计算小肠推进率为墨汁的推进距离(cm)/小肠总长度(cm) × 100%。此方法需精准把握灌胃量和处死时间,且不能用力牵拉小肠,对操作要求高;灌胃后要处死大鼠,可重复性差,不能进行连续测量,容错率较低;活性炭、炭末等含炭类物质存在抑制胃肠蠕动功能的副作用,可诱导便秘,所以该实验影响因素较多,可能无法准确客观地反映动物小肠动力,因此既往有提出硫酸钡灌胃法^[37]作为新的检验方法。

3.2 首粒粪便排出时间

首粒粪便排出时间能反映整个胃肠道的运输功能,操作方法与小肠推进率类似,不同在于:用肠内标志物灌胃后,不处死大鼠,而是单笼饲养,并在鼠笼下铺张白纸^[35]以便于观察并记录排出首粒有色粪便的时间。该指标观察时间较长,也不能连续进行实验,优点在于不需要立即处死大鼠。程斌等^[17]用 0.2 mL 浓度为 3% 的苯酚红混悬液对禁食 12 h 的小鼠进行灌胃,记录 4 h 内从灌胃到首粒红便排出的时间。王阳等^[38]予大鼠 0.5 mL 墨汁灌胃后,记录大鼠首粒黑便的排出时间。钱宁等^[37]对比了活性炭和硫酸钡混悬液在测定首粒粪便排出时间差异,发现硫酸钡能使小鼠出现白色粪便,相比活性炭灌胃更便于区分观察,且不影响动物肠道蠕动功能。

此外,REED 等^[39]将小钢珠、钡餐和荧光透视技术相结合,建立一种全新的胃肠动力检测方法。该法有一套肠道转运评分方案:根据钢珠停留部位赋予每颗钢珠一个分值,停于胃内为 0 分,近端小肠 1 分,远端小肠 2 分,盲肠 3 分,结肠 4 分,排出体外 5 分,最后算出总分。DE PALMA 等^[40]发现植入了 IBS-D 患者粪便菌群的小鼠有着更高的转运分数,表明小鼠胃肠道蠕动加快。该实验被认为简单易重复、耗时短、费用低,值得推广。

3.3 结肠排珠实验

为衡量结肠转运能力的指标,将玻璃珠或小钢珠经肛门放入动物结直肠内计算其排出时间。该方法的优点在于可重复性高,能进行多次评估,对

动物伤害小。具体方法为^[22,27,35]:对大鼠进行 24 h 禁食不禁饮后麻醉,把一颗不带有润滑剂、提前预热至 37 ℃^[22]、直径约 3 ~ 6 mm 的玻璃珠或小钢珠置入距肛门口约 3 cm 的直肠内,单笼饲养,待大鼠能爬起活动、自由翻身后开始计时,观察并记录大鼠排出小球所用的时长。小球排出的时间越短,表明结肠蠕动力越强。

3.4 在体平滑肌运动实验

马晓玲等^[19]记录 IBS-D 大鼠餐后 1 h 空肠平滑肌运动波,分析计算运动波振幅和频率以评估肠道动力紊乱情况。该法利用肠道电生理评估,优缺点与腹外斜肌放电实验相似,但对模型创伤较大,应用较少。

4 组织病理学观察

IBS-D 缺乏任何可解释其症状的器质性病变,因此需要利用光学显微镜观察肠粘膜有无异常组

织病理学表现。目前常采用 HE 染色法^[7-8,17,21],主要观察结肠组织结构是否完整,有无炎症细胞浸润、水肿溃疡以及杯状细胞变化等情况,评价标准^[8]见表 3。对于成功造模的 IBS-D 动物,无菌剖腹后可见肠壁光滑,未见充血、水肿及溃疡,与其他组织器官无粘连;镜下肠黏膜组织无明显损伤迹象或仅呈现肠道低度炎症。张北华^[15]对比不同造模方式的差异,发现醋酸灌肠组部分结肠与腹腔组织粘连、增厚,近端结肠可见黏膜轻度充血,绒毛变钝,不符合 IBS-D 疾病的特点,可见不同方式诱导的 IBS-D 模型存在差异,而病理组织观察作为一种排他性的检查,确保模型属于功能性疾病范畴。病理切片截取的肠道部位各异,有取距离肛门口约 4 ~ 5 cm^[8]、5 ~ 7 cm^[7]、10 cm 处^[21]的结肠组织,也有选择胃、回肠、十二指肠等其他部位^[13,32],而 IBS-D 发病以结直肠为主,部位不同是否对研究结果造成影响值得进一步探讨。

表 3 结肠病理组织炎症评价表
Table 3 Evaluation of inflammatory grade of colonic pathological tissue

评分 Score	镜下表现 Microscopic presentation
0 分 0 mark	无炎症,固有层无中性粒细胞浸润,间质无水肿 No inflammation, no neutrophilic infiltration in the lamina propria, no interstitial oedema
1 分 1 mark	轻度,固有层少量中性粒细胞浸润,轻度或无间质水肿 Mild, small neutrophilic infiltration of the lamina propria, mild or no interstitial oedema
2 分 2 mark	中度,固有层中等量粒细胞浸润,间质中度水肿 Moderate, moderate granulocytic infiltration of the lamina propria, moderate interstitial oedema
3 分 3 mark	重度,固有层有中量到大量中性粒细胞弥漫性浸润,严重间质水肿 Severe, with diffuse infiltration of moderate to large numbers of neutrophils in the lamina propria and severe interstitial oedema

5 生物学标志物检测

生物学标志物虽是客观指标,但因缺乏特异性仅作为辅助指标或药物干预后的疗效评价,因此需配合其他实验检测。

5.1 免疫相关指标

IBS-D 存在低度炎症,被认为是重要病理特征并由此引发肠道免疫功能异常。除病理组织观察可见低度炎症外,机体炎症介质、因子和免疫细胞的改变也反映疾病的变化发展。可检测结肠髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)的表达变化^[41]评估结肠炎症的严重程度,还可检测其他血清或肠道免疫指标,如 IL-6、IL-10、TNF-α、IFN-γ、IgA、IgG、CD4/CD8 比值等^[16,18,25]。肥大细胞(mast cell, MC)是肠道内广泛存在的炎症-免疫细胞,可观察肠 MC 数量变化以进一步评估免疫激活水平^[12,16,42]。此

外,有学者取脾和胸腺称重并计算两者指数作为动物的免疫指标,发现 IBS-D 大鼠胸腺和脾指数均升高^[25],免疫脏器指数(%) = 脏器重量(g)/体重(g) × 100%,该指数可结合炎症因子检测在免疫相关研究中运用^[16]。

5.2 脑肠肽

脑肠肽包括 5-HT、脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)、P 物质(substance P, SP)、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)、胆囊收缩素(cholecystokinin, CCK)、神经肽 Y(neuropeptide Y, NPY)等,广泛存在于人体中枢神经及胃肠道中,在脑肠轴双向调节中发挥桥梁作用,可引起肠道动力紊乱及高敏感^[9],检测脑肠肽在血清、结肠和脑组织中的变化可协助评估动物造模^[7,17,22,42]。肠道菌群中主要由大肠杆菌合成的色氨酸合成酶(tryptophan synthase, TRPA)可以间接反

映 5-HT 水平^[43]。此外,约 90% 5-HT 的分泌来自肠嗜络细胞(enterochromaffin cell, EC),也可通过免疫组化染色法观察模型肠道中的 EC 数量以衡量其活跃水平^[16]。

5.3 肠道通透性指标

D-乳酸是一种细菌发酵的代谢产物,可通过受损黏膜入血,因此检测血清 D-乳酸水平可反映肠黏膜受损程度和通透性的改变^[27,44]。还可以检测血清中二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)和脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的含量^[44]、结肠组织中紧密连接蛋白 Occludin、ZO-1、CLDN1,水通道蛋白(aquaporin, AQP)的表达^[18,26]、FD4 渗透实验^[17]评价肠黏膜通透性。

5.4 肠道微生物

近年来“微生物-脑-肠轴”逐渐被研究者重视,肠道微生物作为肠脑互动的“中介”强调了在生物轴中的重要性。研究表明,IBS-D 发病与肠道益生菌的缺失和致病菌的聚集相关,研究结果虽存在矛盾但主要表现为双歧杆菌和乳酸杆菌丰度下降,肠杆菌丰度上升^[45-47]。此外,测序技术的发展使得真细菌群的作用得到关注,文献报道 IBS-D 患者肠道念珠菌属(*Candida*)丰度增加,球腔菌属(*Mycosphaerella*)、曲霉菌属(*Aspergillus*)、锁掷酵母菌属(*Sporidiobolus*)、潘多拉菌属(*Pandora*)被认为是区分 IBS-D 的生物标志物^[48]。肠道微生物受饮食、环境等多种因素影响,目前常作为 IBS-D 治疗靶点以探究菌群结构及丰度变化,尚未挖掘出公认的肠道微生物诊断标志物;菌群失调伴随着代谢产物的变化,如将肠道菌群(包括细菌和真菌)与其代谢物如短链脂肪酸、胆汁酸等相组合可能具备一定的诊断潜力,能否作为模型评价及疾病诊断的指标之一仍需开展更多研究。

5.5 其他生物学指标

研究发现 miR-144^[49]、miR-200a^[41]、miR-29a^[50]、miR-495^[51]等 miRNA 在调控肠道通透性和内脏高敏中起着重要作用,是一种潜在的生物学诊断标志物。IBS-D 大鼠背根神经节 pPKC γ 和 ERK1 基因表达较正常组明显增高,说明其参与了疼痛信号外周敏化机制^[52]。内脏高敏与肠神经胶质细胞(enteric glial cell, EGC)的活化相关,观察 EGC 超微结构及其分子标志物 GFAP、S100B 蛋白表达可评估 EGC 活化程度^[24,53]。Cajal 间质细胞(interstitial cells of cajal, ICC)是胃肠动力的重要调控者,检测

C-kit 蛋白表达可反映 ICC 的数量变化,同时利用电镜观察 ICC 的形态和超微结构改变^[38]。

6 焦虑抑郁程度评价

IBS-D 是一种典型的肠脑互动紊乱性疾病,研究表明 IBS-D 与焦虑共病率高达 80%^[54],症状反复发作和加重与情绪密切相关。目前常采用旷场实验^[10-11,16,27]、糖水偏嗜实验^[10,25,36]、高架十字迷宫实验^[10-11,24,36,53]、悬尾实验^[16]、强迫游泳实验^[33]等行为学评价焦虑抑郁情况。

7 中医病证结合模型评价

中医药对本病的治疗取得了较好的疗效,可弥补西医的不足,其机制也值得深入探究。回顾文献发现^[6],研究者常通过中医病因造模直接制备对应证型,但辨证分型仍存在缺乏体系、主观性大、舌脉象在中医辨证中缺一不可却难以获得、模型缺少中医体质因素、方证效果存在重叠等问题。

7.1 肝郁脾虚证模型

肝郁脾虚证模型是最常见的病证结合模型,成模需同时评价脾虚和情志改变。因脾主肌肉主运化,脾虚则消瘦不思饮食,通过体重增长率下降、进食饮水量减少、毛发枯黄、精神倦怠等一般情况并结合抓力下降、粪便稀烂、含水率增高、血清或尿 D-木糖降低说明动物脾虚状态^[15],同时借鉴焦虑抑郁评价方法评估肝郁情况^[25]。此外,可使用痛泻要方这一经典公认的方药验证模型的准确性^[6]。

7.2 脾肾阳虚证模型

除观察动物饮食和体重下降、大便稀软、静卧少动、精神萎靡、毛色黯淡等宏观表征外,测肛温提示形寒肢冷,负重游泳实验、测握力反映动物腰膝酸软,倦怠乏力。同时结合 D-木糖、血清促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)、血清皮质酮(cortisone, CORT)、尿 17-羟皮质类固醇(17-hydroxy corticosteroid, 17-OHCS)生物学指标,四神丸方药反证综合反映脾肾阳虚^[55-56]。

7.3 其他证型模型

其他如脾胃湿热证、脾胃虚寒证、寒热错杂证等模型制备较少^[6],文献常以宏观体征和动物行为学符合临床症候作为证型评价依据,无特异性指标,需进一步研究。

8 小结

目前,内脏高敏和腹泻被认为是 IBS-D 动物模

型具备的两大主要特征,因此 AWR、腹泻情况以及肠道动力学改变常作为核心评价指标。AWR 是评价肠道敏感性公认指标,国内外均广泛应用,可谓评价 IBS-D 模型制备成败的金标准,但操作方法仍需进一步规范。观察动物排便在模型评价中必不可少,粪便粒数、粪便含水率、腹泻指数是作为腹泻症状判定的主要指标。粪便粒数一定程度反映胃肠的传输速度,与粪便含水率相似,目前两者观察时间不存在统一性,时间过短过长都会对实验结果造成影响,需综合考虑动物的种类、习性、温度环境的影响,有必要探究最佳的观察时长和时间段。腹泻指数将粪便粒数、稀便率、污迹直径结合起来,评价较为全面,但操作繁琐,缺乏效率。肠道动力测定方面,墨汁是小肠推进率实验的最常用介质,首粒粪便排出时间和结肠排珠实验因操作简单、无精密设备等硬性要求,也常为研究者所选用。最后,利用病理组织观察以排除其他病理改变,并结合自身研究方向综合选择其他指标。

IBS-D 发病机制涉及神经、内分泌、消化、免疫等多个系统,范围广泛,造模和评价方式多种多样,至今尚未形成标准化的评价方式,统一方案以及制备成功标准,导致实验间的参考性和可重复性差,制定规范化的操作步骤以及开发和探究主观性较小、特异性高、便捷经济,易推广认可的模型评价指标仍任重道远。肠道菌群、脑肠轴等作为 IBS-D 的研究热点,从中找到简单易测、敏感性和特异性较高的生物学指标,以及参考中医以方测证的角度寻找出有效药物进行反证,这些都有利于 IBS-D 模型评价体系的构建与完善。由于 IBS-D 动物造模以运用 SD 大鼠为主^[5],本文主要从大鼠的角度描述相关评价方法的操作过程。文章通过对 IBS-D 动物模型评价操作办法及其当前应用情况进行了初步的归类汇总,并对其优缺点进行总结,以期为后续研究者选择 IBS-D 造模评价方法提供参考依据。

参 考 文 献(References)

- [1] FORD A C, SPERBER A D, CORSETTI M, et al. Irritable bowel syndrome [J]. *Lancet*, 2020, 396 (10263): 1675-1688.
- [2] MEARIN F, LACY B E, CHANG L, et al. Bowel disorders [J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(6): 1393-1407.
- [3] XU X J, LIU L, YAO S K. Nerve growth factor and diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D): a potential therapeutic target? [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2016, 17(1): 1-9.
- [4] BLACK C J, FORD A C. Global burden of irritable bowel syndrome: trends, predictions and risk factors [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(8): 473-486.
- [5] 何宗卿, 经双双, 智沐君, 等. 基于数据挖掘的肠易激综合征动物模型应用特点分析 [J]. *中医研究*, 2022, 35(5): 70-77.
HE Z Q, JING S S, ZHI M J, et al. Analysis of application characteristics of animal model of irritable bowel syndrome based on data mining [J]. *Tradit Chin Med Res*, 2022, 35(5): 70-77.
- [6] 刘新明, 刘斯文, 刘书芹, 等. 病证结合的肠易激综合征动物模型研究进展 [J]. *吉林中医药*, 2022, 42(1): 116-119.
LIU X M, LIU S W, LIU S Q, et al. Research progress in establishing IBS animal models by combining the disease with its syndromes [J]. *Jilin J Chin Med*, 2022, 42(1): 116-119.
- [7] 王科凯, 杨焱麟, 周彦妮, 等. 痛泻要方拆方对腹泻型肠易激综合征大鼠脑肠肽的影响研究 [J]. *中国全科医学*, 2023, 26(5): 569-575.
WANG K K, YANG Y L, ZHOU Y N, et al. Efficacies of Tong-Xie-Yao-Fang disassembled recipes on brain-gut peptide in a rat model of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. *Chin Gen Pract*, 2023, 26(5): 569-575.
- [8] 张薇, 赵映, 郑倩华, 等. 肠易激综合征内脏高敏感模型不同制作方法的比较研究 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(4): 503-509.
ZHANG W, ZHAO Y, ZHENG Q H, et al. Methods for establishing rat models of irritable bowel syndrome visceral hypersensitivity [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2020, 28(4): 503-509.
- [9] 胡莹, 郑依玲, 梅全喜, 等. 痛泻要方破壁饮片对腹泻型肠易激综合征大鼠脑肠肽的影响 [J]. *中药材*, 2020, 43(7): 1726-1731.
HU Y, ZHENG Y L, MEI Q X, et al. Effect of broken pieces of Tongxie Yaofang on brain-gut peptide in rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. *J Chin Med Mater*, 2020, 43(7): 1726-1731.
- [10] 吴帆, 李佳, 吴松, 等. “标本配穴”针刺法对腹泻型肠易激综合征焦虑模型大鼠焦虑样行为及肠道菌群的影响 [J]. *中医杂志*, 2023, 64(8): 841-847.
WU F, LI J, WU S, et al. Effect of Biaoben acupoints combination needling on anxiety-like behavior and gut flora in model rats of irritable bowel syndrome with predominant diarrhea and anxiety [J]. *J Tradit Chin Med*, 2023, 64(8): 841-847.
- [11] 侯雨君, 赵映, 蒋慧灵, 等. 联合法诱导内脏高敏感模型的比较研究 [J]. *中国实验动物学报*, 2022, 30(3): 343-349.
HOU Y J, ZHAO Y, JIANG H L, et al. Visceral hypersensitivity model of irritable bowel syndrome established by combined methods: a comparative study [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2022, 30(3): 343-349.
- [12] TANG H Y, CHEN X Q, WANG H, et al. Acupuncture relieves the visceral pain of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome rats by regulating P2X4 expression [J]. *Am J Transl Res*, 2022, 14(8): 5563-5573.

- [13] 周天然, 张瑶, 遼晓旭, 等. 慢性束缚应激腹泻型肠易激综合征大鼠模型的改良与评价 [J]. 广州中医药大学学报, 2018, 35(1): 163-168.
- ZHOU T R, ZHANG Y, LU X X, et al. Improvement and evaluation of rat model of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome induced by chronic restraint stress [J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med, 2018, 35(1): 163-168.
- [14] 安荣, 韩佩玉, 徐秋颖, 等. 肠易激综合征动物模型的建立及评价 [J]. 新乡医学院学报, 2016, 33(5): 434-439.
- AN R, HAN P Y, XU Q Y, et al. Establishment and evaluation of animal model of irritable bowel syndrome [J]. J Xinxiang Med Univ, 2016, 33(5): 434-439.
- [15] 张北华. IBS-D 肝郁脾虚型病证结合大鼠模型的建立与评价 [D]. 北京: 中国中医科学院; 2013.
- ZHANG B H. Establishment and evaluation of a rat model of IBS-D with liver depression and spleen deficiency syndrome [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences; 2013.
- [16] 张北华, 王微, 王凤云, 等. 痛泻要方干预腹泻型肠易激综合征肝郁脾虚证模型大鼠的效应评价 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(10): 4341-4346.
- ZHANG B H, WANG W, WANG F Y, et al. Effects of Tongxie Yaofang in treating IBS-D rats with syndrome of stagnation of liver qi and spleen deficiency [J]. Chin Archives Tradit Chin Med, 2018, 33(10): 4341-4346.
- [17] 程斌, 黄琴, 王军蒙, 等. 乙酸联合束缚应激诱导腹泻型肠易激综合征小鼠模型的制备 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(2): 153-160.
- CHENG B, HUANG Q, WANG J M, et al. Preparation of a mouse model of irritable bowel syndrome with diarrhea induced by acetic acid combined with restraint stress [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(2): 153-160.
- [18] 李雪梅. 电针调节肠粘膜状态改善腹泻型肠易激综合征大鼠结肠低度炎症的研究 [D]. 成都: 成都中医药大学; 2021.
- LI X M. Study on electroacupuncture regulating intestinal mucosa to improve low-grade colon inflammation in rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine; 2021.
- [19] 马晓玲, 夏提古丽·阿不利孜, 石磊岭, 等. 慢性束缚应激联合特殊饮食制备腹泻性肠易激综合征 (IBS-D) 大鼠模型的研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(7): 12-17.
- MA X L, XIATIGULI A B L Z, SHI L L, et al. Establishment of diarrhea-predominant of irritable bowel syndrome (IBS-D) model rats by chronic restraint stress and a specialized diet [J]. Chin J Comp Med, 2018, 28(7): 12-17.
- [20] JIA M, LU X, WANG Z, et al. Effects of Fengliao-Changweikang in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome rats and its mechanism involving colonic motility [J]. J Neurogastroenterol Motil, 2018, 24(3): 479-489.
- [21] 张北华, 王微, 王凤云, 等. 腹泻型肠易激综合征大鼠模型不同造模方法的比较研究 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(5): 1092-1095.
- ZHANG B H, WANG W, WANG F Y, et al. Research of different modeling methods of rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. Chin Archives Tradit Chin Med, 2018, 36(5): 1092-1095.
- [22] 任培培, 王淼蕾, 赵丽, 等. 平胃胶囊对肝郁脾虚腹泻型肠易激综合征大鼠脑肠肽的影响 [J]. 华西药学杂志, 2021, 36(3): 262-267.
- REN P P, WANG M L, ZHAO L, et al. Effect of Pingwei capsule on cerebral enteric peptide in irritable bowel syndrome rats with liver stagnation and spleen deficiency [J]. West Chin J Pharm Sci, 2021, 36(3): 262-267.
- [23] 胡瑞, 唐方. 肝脾不调所致腹泻型肠易激综合征的动物模型研究 [J]. 中医杂志, 2010, 51(6): 547-550.
- HU R, TANG F. Study on making the animal model of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome due to liver-spleen disharmony [J]. J Tradit Chin Med, 2010, 51(6): 547-550.
- [24] HOU Y, ZHAO Y, JIANG H, et al. Maintenance of intestinal homeostasis in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome by electroacupuncture through submucosal enteric glial cell-derived S-nitrosoglutathione [J]. Front Physiol, 2022, 13(5): 917579.
- [25] 柴玉娜, 黄育生, 唐洪梅, 等. 疏肝健脾法肠激安方对 IBS-D 大鼠免疫功能的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(21): 93-98.
- CHAI Y N, HUANG Y S, TANG H M, et al. Effect of Shugan Jianpi method (changji' an fomulation) on IBS-D immune function [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2016, 22(21): 93-98.
- [26] 祝赫, 柴玉娜, 张毅靖, 等. 肠激安方对腹泻型肠易激综合征模型大鼠结肠黏膜超微结构及 ZO-1、CLDN1 表达的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(7): 905-911.
- ZHU H, CHAI Y N, ZHANG Y J, et al. Effects of changji' an formula on ultrastructure of colonic mucosa and levels of ZO-1 and CLDN1 in model rats with IBS-D [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2021, 32(7): 905-911.
- [27] 赵丽. 腹泻型肠易激综合征大鼠肠道菌群和肠道屏障功能的变化及相关分子机制的研究 [D]. 兰州: 兰州大学; 2020.
- ZHAO L. Changes in intestinal flora and intestinal barrier function in diarrhea-predominant IBS rats and related molecular mechanisms [D]. Lanzhou: Lanzhou University; 2020.
- [28] AL-CHAER 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.
- [29] 陈颖, 赵妍, 罗丹妮, 等. 腹壁撤退反射实验测量方法概述 [J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(8): 89-93.
- CHEN Y, ZHAO Y, LUO D N, et al. A summary of measurement methods for abdominal withdrawal reflex test [J]. Chin J Comp Med, 2017, 27(8): 89-93.
- [30] 赵妍, 周思远, 罗丹妮, 等. 气囊对腹壁撤退反射实验结果的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(8): 50-54.
- ZHAO Y, ZHOU S Y, LUO D N, et al. Effect of air bag on the

- outcome of abdominal withdrawal reflex test [J]. *Chin J Comp Med*, 2017, 27(8): 50–54.
- [31] 林国威, 张睿, 林春. 慢性内脏痛觉敏化模型的两行为学评价指标比较 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2007, 13(3): 153–156.
- LIN G W, ZHANG R, LIN C. Comparison of two behavioral indexes in a model of chronic visceral hypersensitivity [J]. *Chin J Pain Med*, 2007, 13(3): 153–156.
- [32] YU Z C, CEN Y X, WU B H, et al. Berberine prevents stress-induced gut inflammation and visceral hypersensitivity and reduces intestinal motility in rats [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(29): 3956–3971.
- [33] 张文杰. 基于 PI₃K/AKT 通路探讨肠安菌泰对肝郁脾虚型 IBS-D 大鼠的作用机制 [D]. 广州: 广州中医药大学; 2021.
- ZHANG W J. Mechanism research of Chang-An-Jun-Tai decoction on IBS-D rats with liver depression and spleen deficiency based on PI3K/AKT pathway [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine; 2021.
- [34] 刘珊珊. 舒肝健脾复方对内脏高敏感模型大鼠的治疗作用及机制 [D]. 广州: 广州中医药大学; 2006.
- LIU S S. Effect and mechanism of shugan Jianpi decoction on the model of visceral hypersensitivity rats [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine; 2006.
- [35] ZIELIŃSKA M, CHEN C, MOKROWIECKA A, et al. Orally administered novel cyclic pentapeptide P-317 alleviates symptoms of diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2015, 67(2): 244–254.
- [36] 周子娴, 马惠芳, 杨易陈, 等. 电针对腹泻型肠易激综合征大鼠结肠动力学及相关蛋白表达的影响 [J]. *针刺研究*, 2022, 47(7): 611–616.
- ZHOU Z X, MA H F, YANG Y C, et al. Effect of electroacupuncture on colonic motility and RhoA and ROCK protein expression in IBS-D rats [J]. *Acupunct Res*, 2022, 47(7): 611–616.
- [37] 钱宁, 巫全胜, 赵菊花, 等. 一种新的小鼠肠道传输功能的检测方法 [J]. *实验动物科学*, 2007, 24(3): 60–62.
- QIAN N, WU Q S, ZHAO J H, et al. A new examining method of intestinal transmission function of mice [J]. *Lab Anim Sci*, 2007, 24(3): 60–62.
- [38] 王阳, 鲍晓蕾, 郎轶萱, 等. 实验性腹泻型肠易激综合征模型大鼠 Cajal 间质细胞改变对胃肠动力及 VIP 和 CGRP 水平的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(6): 1293–1296.
- WANG Y, BAO X L, LANG Y X, et al. Cajal mesenchymal cells in rats, a model of experimental diarrheal irritable bowel syndrome [J]. *Chin J Gerontol*, 2021, 41(6): 1293–1296.
- [39] REED D E, PIGRAU M, LU J, et al. Bead study: a novel method to measure gastrointestinal transit in mice [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2014, 26(11): 1663–1668.
- [40] DE PALMA G, LYNCH M D, LU J, et al. Transplantation of fecal microbiota from patients with irritable bowel syndrome alters gut function and behavior in recipient mice [J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(379): eaaf6397.
- [41] HOU Q, HUANG Y, ZHANG C, et al. MicroRNA-200a targets cannabinoid receptor 1 and serotonin transporter to increase visceral hyperalgesia in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome rats [J]. *J Neurogastroenterol Motil*, 2018, 24(4): 656–668.
- [42] 裴文婧, 谢春娥, 李军祥, 等. 痛泻安肠方对腹泻型肠易激综合征小鼠内脏高敏及肠道菌群的影响 [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2023, 31(1): 37–44.
- PEI W J, XIE C E, LI J X, et al. Effect of Tongxie Anchang Decoction on visceral hypersensitivity and gut microbiota in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome mice [J]. *Chin J Integr Tradit West Med Dig*, 2023, 31(1): 37–44.
- [43] 安荣. 基于“脑肠菌轴”探讨痛泻要方治疗 IBS 模型大鼠新机制 [D]. 成都: 成都中医药大学; 2016.
- AN R. Exploration of the novel therapeutic mechanism of tong-xie-yao-fang against IBS rats based on the “brain-gut-enteric microbiota axis” [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine; 2016.
- [44] 吴帆, 唐丽娜, 王华, 等. 标本配穴针灸对 IBS-D 大鼠肠黏膜机械屏障的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2022, 33(3): 756–760.
- WU F, TANG L N, WANG H, et al. Effect of specimen-matched acupuncture on the mechanical barrier of intestinal mucosa in IBS-D rats [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2022, 33(3): 756–760.
- [45] LIU H N, WU H, CHEN Y Z, et al. Altered molecular signature of intestinal microbiota in irritable bowel syndrome patients compared with healthy controls: a systematic review and meta-analysis [J]. *Dig Liver Dis*, 2017, 49(4): 331–337.
- [46] PITTAYANON R, LAU J T, YUAN Y, et al. Gut microbiota in patients with irritable bowel syndrome-a systematic review [J]. *Gastroenterology*, 2019, 157(1): 97–108.
- [47] 占凯, 吴皓萌, 郑欢, 等. IBS-D 大鼠肠道菌群-短链脂肪酸代谢轴变化特点及丁酸钠干预作用研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2023, 33(9): 16–24.
- ZHAN K, WU H M, ZHENG H, et al. Alterations in gut microbiota-short-chain fatty acid axis in rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome and the effect of sodium butyrate [J]. *Chin J Comp Med*, 2023, 33(9): 16–24.
- [48] HONG G, LI Y, YANG M, et al. Gut fungal dysbiosis and altered bacterial-fungal interaction in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome: an explorative study [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2020, 32(11): e13891.
- [49] HOU Q, HUANG Y, ZHU S, et al. MiR-144 increases intestinal permeability in IBS-D rats by targeting OCLN and ZO1 [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44(6): 2256–2268.
- [50] ZHU H, XIAO X, SHI Y, et al. Inhibition of miRNA-29a regulates intestinal barrier function in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome by upregulating ZO-1 and CLDN1 [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(6): 155.
- [51] FEI L, WANG Y. MicroRNA-495 reduces visceral sensitivity in mice with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome through

suppression of the PI3K/AKT signaling pathway via PKIB [J]. IUBMB Life, 2020, 72(7): 1468–1480.

[52] 黄适, 刘鹏, 林春李, 等. 肝郁脾虚型肠易激综合征大鼠 pPKC γ 和 ERK1 基因在背根神经节的表达研究 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(1): 19–22.

HUANG S, LIU P, LIN C L, et al. Liver-depression and spleen-deficiency syndrome of irritable bowel rats pPKC γ and ERK1 gene expressions in dorsal root Ganglia [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2018, 36(1): 19–22.

[53] 张薇. 针刺缓解肠易激综合征大鼠内脏高敏的肠道胶质细胞活化机制研究 [D]. 成都: 成都中医药大学; 2021.

ZHANG W. The role of acupuncture on enteric glial cells in visceral hypersensitivity rats with irritable bowel syndrome [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine; 2021.

[54] KIBUNE NAGASAKO C, GARCIA MONTES C, SILVA LORENA S L, et al. Irritable bowel syndrome subtypes: clinical

and psychological features, body mass index and comorbidities [J]. Rev Esp Enferm Dig, 2016, 108(2): 59–64.

[55] 苏晓兰, 刘倩, 韩博宇, 等. 病证结合脾肾阳虚型 IBS-D 大鼠模型的建立与评价 [J]. 北京中医药大学学报, 2021, 44(3): 245–251.

SU X L, LIU Q, HAN B Y, et al. Establishment and evaluation of disease-pattern rat model with IBS-D and spleen-kidney Yang deficiency [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2021, 44(3): 245–251.

[56] 韩博宇. 脾肾阳虚证 IBS-D 大鼠模型的建立与生物学基础的探索 [D]. 北京: 北京中医药大学; 2019.

HAN B Y. Exploration of the establishment and biological basis of the IBS-D rat model of spleen and kidney Yang deficiency evidence [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine; 2019.

[收稿日期] 2023-04-18

《中国实验动物学报》稿约

国内刊号 CN 11-2986/Q 国际刊号 ISSN 1005-4847 邮局代号 2-748

一、杂志介绍

本刊是由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊),以理论与实践、普及与提高相结合为宗旨,征稿的范围是与实验动物与动物实验相关的生命科学各分支学科,栏目设置包括研究报告、研究快报和进展与综述。要求来稿材料翔实、数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

本刊是中国科学引文数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)统计源期刊、《中国学术期刊文摘》来源期刊;被中国生物学文献数据库、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》(北大核心)等数据库收录。

二、投稿要求及注意事项

文稿内容要具有创新性、科学性和实用性,论点明确,资料可靠,文字通顺精练,标点符号准确,用词规范,图表清晰。文章字数在 6000 字之内。

投稿网址: <http://zgswdw.cnjournals.com/>
期待您的来稿!