

## 基础研究

## 论著

## 酸敏感离子通道3对肠易激综合征大鼠内脏高敏感性的影响及其机制

张立霞<sup>1,2</sup>, 闫波<sup>3</sup>, 潘颖<sup>3</sup>, 田平平<sup>3</sup>, 张卫洁<sup>3</sup>, 李欢<sup>1</sup>, 袁丽萍<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>安徽医科大学第一附属医院儿科, 安徽合肥 230022; <sup>2</sup>安徽医科大学附属宿州医院儿科, 安徽宿州 234000; <sup>3</sup>安徽医学高等专科学校医学技术系, 安徽合肥 230026

[中图分类号] R725.7 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.1220.2023.0315

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 张立霞, 闫波, 潘颖, 等. 酸敏感离子通道3对肠易激综合征大鼠内脏高敏感性的影响及其机制[J]. 解放军医学杂志, 2023, 48(10): 1162-1166.

[收稿日期] 2022-06-17 [录用日期] 2022-09-29 [上线日期] 2023-03-15

**[摘要]** 目的 探讨酸敏感离子通道3(ASIC3)对肠易激综合征(IBS)大鼠内脏敏感性的影响及可能的信号通路调节机制。方法 孕龄鼠产后第2天开始, 将分娩的6只幼鼠与母鼠继续在原笼中饲养, 作为对照组, 其余幼鼠采取母婴分离(NMS)法制作IBS模型。待NMS幼鼠生长至成年(8周龄), 通过腹部回撤反射(AWR)评分筛选出16只造模成功的大鼠, 将其随机分为NMS组( $n=8$ )与NMS+APETx2组( $n=8$ ), NMS+APETx2组每日给予ASIC3特异性阻滞剂APETx2 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 腹腔注射, NMS组及对照组腹腔注射等量生理盐水, 持续1周。采用AWR评分评估内脏敏感性, 墨汁染色法检测肠道传输速率以评估肠道动力, ELISA法检测结肠组织5-羟色胺(5-HT)水平, 免疫组化法检测结肠组织5-HT4受体、ASIC3表达水平。结果 与对照组比较, NMS组大鼠在结直肠压力为40、60、80 mmHg时的AWR评分明显增加, 肠道传输速率降低, 5-HT、ASIC3及5-HT4受体表达水平升高, 差异均有统计学意义( $P<0.01$ ); 而与对照组比较, NMS+APETx2组的AWR评分及肠道传输速率无明显变化( $P>0.05$ ), 但结肠组织5-HT、ASIC3及5-HT4受体表达水平升高, 差异均有统计学意义( $P<0.01$ )。与NMS组比较, NMS+APETx2组大鼠AWR评分降低, 肠道传输速率增高, 5-HT、ASIC3及5-HT4R受体表达水平降低, 差异均有统计学意义( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ )。结论 ASIC3参与了IBS大鼠内脏高敏感性的形成, 可能与其促进大鼠体内5-HT通路活化有关。

**[关键词]** 肠易激综合征; 酸敏感离子通道3; APETx2; 5-羟色胺; 5-羟色胺4受体

## Effect and mechanism of acid-sensing ion channel 3 on visceral hypersensitivity in rats with irritable bowel syndrome

Zhang Li-Xia<sup>1,2</sup>, Yan Bo<sup>3</sup>, Pan Ying<sup>3</sup>, Tian Ping-Ping<sup>3</sup>, Zhang Wei-Jie<sup>3</sup>, Li Huan<sup>1</sup>, Yuan Li-Ping<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230022, China

<sup>2</sup>Department of Pediatrics, Suzhou Hospital of Anhui Medical University, Suzhou, Anhui 234000, China

<sup>3</sup>Department of Medical Technology, Anhui Medical College, Hefei, Anhui 230026, China

\*Corresponding author, E-mail: yuanliping3986@sina.com

This work was supported by the Major Project of Natural Science Research in Anhui Universities (KJ2020ZD67)

**[Abstract]** **Objective** To explore the effect and mechanism of acid-sensitive ion channel 3 (ASIC3) expression on visceral sensitivity in irritable bowel syndrome (IBS) rats and the possible regulatory mechanisms of signalling pathways. **Methods** From the 2nd day postpartum, 6 neonatal rats and their mother were kept in their original cages as control group; the rest of the neonatal rats were separated from their mother to make IBS models. After the neonatal rats grow into rats, use abdominal withdrawal reflex (AWR) score to screen 16 rats that were successful in IBS modeling, and they were randomly divided into neonatal maternal separation

[基金项目] 安徽高校自然科学研究重大项目(KJ2020ZD67)

[作者简介] 张立霞, 硕士研究生, 主要从事儿童消化、呼吸系统疾病等方面的研究

[通信作者] 袁丽萍, E-mail: yuanliping3986@sina.com

(NMS) group and NMS+APETx2 group, with 8 rats in each group. NMS+APETx2 group was given the ASIC3-specific blocker APETx2 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  intraperitoneally for 1 week while NMS group and control group were intraperitoneally injected with same amount of normal saline. Visceral pain response was measured by abdominal withdraw reflex (AWR) score, the intestinal transmission rate was measured by ink staining, the 5-hydroxytryptamine (5-HT) level in colonic tissue was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the expression levels of 5-HT4 receptor and ASIC3 in colonic tissue were measured by immunohistochemistry. **Results** Compared with control group, rats in NMS group showed significantly increased AWR scores at colorectal pressures of 40, 60, 80 mmHg, decreased intestinal transmission rate, intestinal 5-HT, ASIC3 and 5-HT4 receptor expression increased, all with statistically significant differences ( $P<0.01$ ). There was no significant difference in AWR score and intestinal propulsion rate in NMS+APETx2 group compared with control group ( $P>0.05$ ), but the expression levels of 5-HT, ASIC3 and 5-HT4 receptors increased compared with control group with significant difference ( $P<0.01$ ). Compared with NMS group, the application of ASIC3-specific blocker APETx2 in NMS+APETx2 group resulted in lower AWR scores, enhanced intestinal transmission rate, and the expression levels of 5-HT, ASIC3 and 5-HT4 receptor decreased, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). **Conclusion** ASIC3 expression takes part in the generation of high sensitivity in viscera of IBS rat, which may be related to the enhance of 5-HT pathway activation.

**[Key words]** irritable bowel syndrome; acid-sensitive ion channel; APETx2; 5-hydroxytryptamine; 5-hydroxytryptamine 4 receptor

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是儿童常见的一种慢性反复发作的功能性胃肠病, 主要特征为腹痛、腹胀、排便习惯改变及大便性状异常(腹泻、便秘、黏液便等)。IBS在儿童时期发病率很高, 全球约20%的学龄儿童生活和学习情况受到其影响<sup>[1]</sup>。IBS的具体发病机制尚未完全明确, 目前认为与饮食、环境、炎症、感染、精神等因素导致的“脑-肠轴”互动异常以及肠道动力、内脏敏感性改变有关<sup>[2]</sup>。酸敏感离子通道(acid-sensing ion channel, ASIC)是可被酸激活的通道蛋白, 能够对炎症、疼痛、癫痫等病理反应产生响应, 这些病理反应的共同特点是组织酸化, 而肠道在多种异常代谢产物的影响下亦可出现肠组织酸化, 产生相似的病理反应。ASIC被证实可在胃肠道内广泛分布, 并可对胃肠道酸环境的改变做出反应, 从而维持胃肠道功能的稳定。既往研究发现, 大鼠接受便秘患儿粪菌移植后其结肠组织中ASIC3表达水平明显升高<sup>[3]</sup>, 但ASIC3在母婴分离(neonatal maternal separation, NMS)大鼠IBS内脏高敏感性形成中的作用及机制尚未完全明确。目前的研究显示, 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)通路与肠道动力、内脏敏感性密切相关<sup>[4-5]</sup>。本研究采用NMS法建立IBS大鼠模型, 探讨ASIC3对IBS大鼠内脏敏感性的影响及5-HT信号通路在其中的作用, 以期找到IBS新的治疗靶点。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物及试剂** SPF级健康SD孕鼠3只, 孕龄16~20 d, 体重260~280 g, 购自安徽医科大学实验动物中心。大鼠饲养条件符合SPF级动物饲养环境, 温度设置为(22±2)  $^{\circ}\text{C}$ , 相对湿度控制在45%~60%, 光照/黑暗时间为12 h/12 h, 自由饮水、进食; 待孕

鼠分娩幼鼠, 每只孕鼠分娩约10只幼鼠。ASIC3抑制剂APETx2购自上海信裕生物科技有限公司, 外径4 mm硅胶导管、4~6 cm的柔软乳胶指套购自北京泽平科技公司, 异氟醚、石蜡、印度墨汁、2%戊巴比妥钠购自福州迈新公司, 4%多聚甲醛溶液购自国药集团化学试剂有限公司。

## 1.2 研究方法

**1.2.1 IBS模型的建立及分组** 产后第2天开始, 将分娩的6只幼鼠与母鼠继续在原笼中饲养, 作为对照组; 其余幼鼠取出分别放入另一笼中饲养, 每天将母鼠与幼鼠分离3 h, 3 h后将两组幼鼠分别放回原笼中, 直到第21天结束。第22天所有幼鼠断奶后单独饲养, 于自然环境下饲养至第8周(即大鼠成年), 体重220~240 g。对NMS大鼠采用腹部回撤反射(abdominal withdraw reflex, AWR)评分来检测内脏痛反应, AWR评分明显升高即为造模成功。选取造模成功的16只大鼠随机分为NMS组( $n=8$ )与NMS+APETx2组( $n=8$ )。NMS+APETx2组每日腹腔注射100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  APETx2, 而NMS组及对照组腹腔注射等量生理盐水, 持续1周。本实验过程符合国家及单位有关实验动物的管理及使用规定。

**1.2.2 内脏敏感性评估** 实验前3 d将大鼠放入20 cm×8 cm×8 cm的有机玻璃观察箱内, 每天30 min, 使大鼠适应该密闭环境, 以减少实验环境造成的误差。在外径4 mm硅胶导管的一侧末端, 系一长4~6 cm的柔软乳胶指套制成气囊, 导管另一末端与内脏扩张器连接, 实验前预扩张充气24 h检查气囊的密闭性。AWR评分实验: 大鼠给予异氟醚轻微吸入麻醉, 然后放入观察箱, 将涂石蜡油的气囊轻柔地经肛门插入大鼠直肠内, 气囊末端需深入肛门内1~2 cm, 在肛门外1 cm处用胶布将导管紧紧固定在大鼠尾根部, 以防止导管移位。气囊给予不同压力

(20、40、60、80 mmHg)刺激,引起大鼠疼痛,表现为不同程度内脏痛引起的行为学反应。大鼠AWR评分标准:0分,对结肠扩张实验无反应性;1分,大鼠表现为活动停顿后短暂头部运动行为;2分,大鼠存在腹部肌肉收缩;3分,大鼠有腹部抬起行为;4分,大鼠身体拱起,并抬起盆腔和阴部。

**1.2.3 肠道动力测定** 大鼠禁食24 h,经口灌入印度墨汁0.5 ml,30 min后腹腔注入50 mg/kg 2%戊巴比妥钠,麻醉起效后处死大鼠并剖腹,取出从贲门至直肠末段的肠段,测量小肠全长及墨汁在小肠推进的距离,计算墨汁推进距离占小肠全长的百分比,即为肠道传输速率。公式如下:墨汁推进率(%)=墨汁在小肠内推进的距离(cm)/小肠全长(cm)×100%。

**1.2.4 结肠组织5-HT水平检测** 将处死后的小鼠结肠取出,保存于-80℃冰箱。采用ELISA方法检测结肠组织中5-HT的水平。

**1.2.5 免疫组化检测结肠组织5-HT4受体及ASIC3的表达水平** 将结肠组织固定于4%多聚甲醛溶液中,经包埋、切片、脱蜡、水化、DAB显色、封片等处理,显微镜下观察切片,随机选取视野拍照,以5-HT4受体及ASIC3表达阳性作为标准,应用Image Pro Plus软件计算每张照片的累积光密度值(integrated optical density, IOD)。

**1.3 统计学处理** 采用SPSS 23.0软件进行统计分析。所有数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,大鼠在不同压力下的

AWR评分比较采用两因素方差分析,其余指标比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD-t检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠肠道敏感性比较** 随着气囊压力增大,各组间AWR评分出现变化:与对照组比较,NMS组大鼠腹部疼痛反应较重,压力为40、60、80 mmHg时,AWR评分明显增高,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),而NMS+APETx2组AWR评分与对照组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );与NMS组比较,压力为40 mmHg和80 mmHg时,NMS+APETx2组大鼠AWR评分明显降低,腹部疼痛反应减轻,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与压力为20 mmHg时比较,压力为40 mmHg时的NMS组,60 mmHg时的NMS组、NMS+APETx2组,以及80 mmHg时的对照组、NMS组、NMS+APETx2组AWR评分明显升高,差异有统计学意义( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ );与压力为40 mmHg时比较,压力为60 mmHg时的NMS组、NMS+APETx2组及80 mmHg时的对照组、NMS组、NMS+APETx2组AWR评分明显升高,差异有统计学意义( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ );与压力为60 mmHg时比较,压力为80 mmHg时的对照组、NMS组AWR评分明显升高,差异有统计学意义( $P<0.01$ )(表1)。

**2.2 各组大鼠肠道动力比较** 与对照组(64.55%±

表1 各组大鼠在不同压力下的AWR评分比较( $\bar{x}\pm s$ )

Tab.1 Comparison of AWR scores of rats in each group under different pressures ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	20 mmHg	40 mmHg	60 mmHg	80 mmHg	F	P
对照组	0.00±0.00	0.00±0.00	0.33±0.18	1.17±0.14 <sup>(3)(4)(6)</sup>	16.795	<0.01
NMS组	0.00±0.00	0.83±0.14 <sup>(1)(3)</sup>	1.50±0.09 <sup>(1)(3)(4)</sup>	2.17±0.14 <sup>(1)(3)(4)(6)</sup>	32.544	<0.01
NMS+APETx2组	0.00±0.00	0.33±0.18 <sup>(2)</sup>	1.00±0.22 <sup>(3)(5)</sup>	1.50±0.19 <sup>(2)(3)(4)</sup>	11.207	<0.01
F		7.308	6.379	7.368		
P		<0.01	<0.01	<0.01		

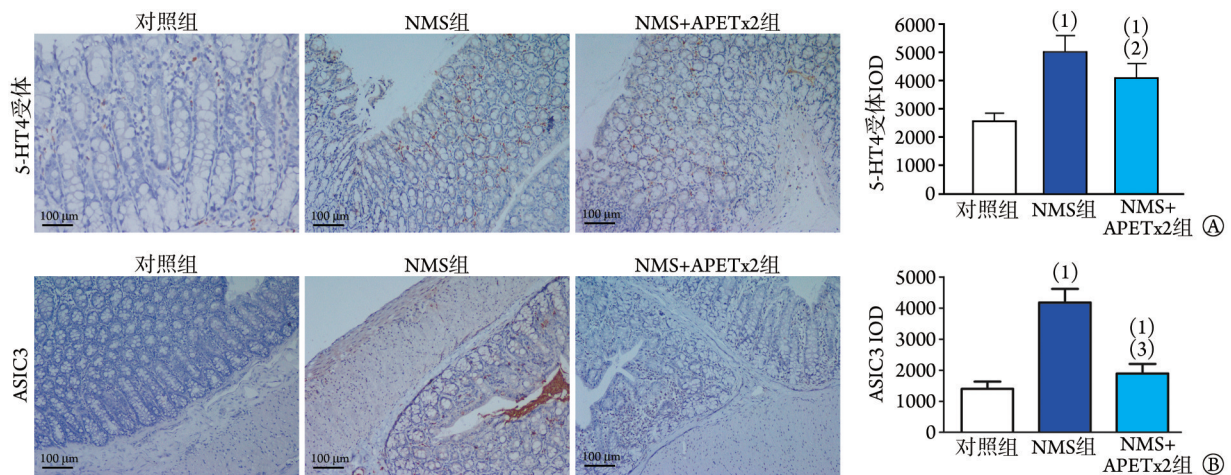
AWR.腹部回缩反射;与对照组比较,(1) $P<0.01$ ;与NMS组比较,(2) $P<0.05$ ;与20 mmHg比较,(3) $P<0.01$ ;与40 mmHg比较,(4) $P<0.01$ , (5) $P<0.05$ ;与60 mmHg比较,(6) $P<0.01$

3.76%)比较,NMS组大鼠小肠墨汁推进率(46.38%±4.32%)降低,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),而NMS+APETx2组小肠墨汁推进率(59.79%±5.26%)与对照组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );与NMS组比较,APETx2阻断ASIC3后,NMS+APETx2组大鼠小肠墨汁推进率明显增高,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。

**2.3 各组大鼠结肠组织5-HT水平变化** 与对照组[(3.71±0.32) mg/ml]比较,NMS组、MS+APETx2组大鼠结肠组织5-HT水平[分别为(66.78±29.69) mg/ml、(26.56±6.38) mg/ml]明显升高,差异有统计学意义

( $P<0.01$ );而与NMS组比较,APETx2阻断ASIC3后,NMS+APETx2组大鼠结肠组织5-HT水平[(26.56±6.38) mg/ml]明显降低,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。

**2.4 各组大鼠结肠组织5-HT4受体及ASIC3表达变化** 与对照组比较,NMS组、MS+APETx2组大鼠结肠组织5-HT4受体及ASIC3表达水平明显升高,差异有统计学意义( $P<0.01$ );与NMS组比较,APETx2阻断ASIC3后,NMS+APETx2组大鼠结肠组织5-HT4受体及ASIC3表达水平明显降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )(图1)。



5-HT. 5-羟色胺; ASIC3. 酸敏感离子通道3; IOD. 累积光密度; 与对照组比较, (1) $P < 0.01$ ; 与NMS组比较, (2) $P < 0.05$ , (3) $P < 0.01$

图1 免疫组化测定大鼠结肠组织中5-HT4受体(A)及ASIC3(B)表达水平(DAB)

Fig.1 Expressions of 5-HT4 receptor (A) and ASIC3 (B) of rat colon tissue by immunohistochemical analysis (DAB)

### 3 讨论

IBS是儿童时期最常见的一种功能性胃肠病,其症状的产生与动力紊乱、内脏高敏感性、黏膜和免疫功能改变、肠道菌群变化及中枢神经系统调节功能异常有关。其中,内脏高敏感性是IBS主要的病理生理机制之一,是胃肠功能紊乱、腹痛及症状多样化的原因,也是IBS的生物学标志<sup>[6-7]</sup>。本研究发现,NMS后大鼠肠道敏感性增高,提示NMS可导致IBS的产生,与国内外文献报道一致<sup>[8-9]</sup>。此外,NMS后结肠组织中ASIC3表达水平明显升高,而APETx2阻断后其结肠组织中ASIC3表达水平则明显降低,内脏敏感性降低,肠道动力也明显好转,提示ASIC3参与了IBS内脏敏感性的产生,可能与IBS的发生有关。

ASICs是NAC/DEG钠通道家族成员,有7个不同亚基,广泛存在于人体内;目前在胃肠道炎症性疾病如幽门螺杆菌感染所致胃炎、粪菌移植导致的IBS中,与痛觉过敏关系密切的是ASIC3亚型<sup>[3,10]</sup>,其激活与细胞外 $H^+$ 的变化密切相关。Gregory等<sup>[11]</sup>发现,在运动应激、缺血缺氧、感染等条件下,肌肉组织出现酸中毒、pH值下降等改变,ASIC3表达明显增高,疼痛敏感性增高,且ASIC3表达水平升高与局部组织的pH值下降呈正相关。在大量肠道微生物代谢产物(如短链脂肪酸乙酸、丙酸、丁酸等)、胆汁酸的作用下,IBS患儿肠道pH值明显降低<sup>[12]</sup>。同时有研究发现,IBS患儿肠黏膜屏障损伤、肠道通透性改变可使肠道内毒素水平升高并产生促炎因子,从而引起慢性低度炎症<sup>[13]</sup>,也可导致肠道pH值降低。因此,笔者推测NMS法建立的IBS模型大鼠肠道组织中ASIC3表达水平升高与肠道局部pH值降低有

关。有研究证实,ASICs在胃肠道信息处理过程中发挥重要作用,其中ASIC3主要参与胃肠道机械敏感性的调节,敲除ASIC3可降低胃肠道内脏敏感性<sup>[14]</sup>。本研究也发现,阻断ASIC3可降低IBS大鼠的内脏敏感性,但ASIC3参与内脏敏感性的机制尚不明确。

5-HT是人体的一种重要神经递质,广泛存在于外周及中枢神经系统。外周神经系统中95%的5-HT来源于胃肠道,发挥调控胃肠道感觉、运动及内分泌等作用<sup>[15]</sup>。Qin等<sup>[16]</sup>发现,IBS患者的肠道在受到炎症或化学等刺激时,嗜铬细胞或肥大细胞可脱颗粒分泌5-HT,使5-HT水平明显升高,而5-HT信号系统可介导肠道感觉、运动功能的改变,进而出现IBS的临床表现。Zhu等<sup>[17]</sup>发现,采用电针治疗炎症后的IBS,可使结肠内嗜铬细胞数量减少,5-HT水平降低,腹部AWR评分下降,内脏痛觉减弱,提示其镇痛作用可能是通过5-HT介导的。5-HT可通过与胃肠道不同效应器细胞上的不同5-HT受体结合,调节胃肠感觉、运动及内分泌功能,其中5-HT3受体、5-HT4受体与肠道动力及敏感性关系尤为密切<sup>[18-19]</sup>。Fu等<sup>[20]</sup>发现,5-HT3受体激活后,可刺激神经末梢释放乙酰胆碱,从而促进平滑肌收缩及腺体分泌,而5-HT4受体可表达于肠道神经元、平滑肌细胞及上皮细胞,其中位于肠道神经元的5-HT4受体兴奋可增强胃肠道动力。人类平滑肌上的5-HT4受体则可介导平滑肌的舒张,其分布不同,功能有所差异,在肠道内主要调控胃肠道的运动<sup>[21]</sup>。本研究发现,与对照组比较,IBS大鼠存在内脏高敏感性,结肠组织中的5-HT分泌明显增多,且5-HT4受体、ASIC3表达水平明显升高;应用ASIC3阻断剂APETx2后,IBS大鼠结肠组织ASIC3表达水平明显降低,内脏高敏感性下降、肠道运动恢复,同时结

肠组织中 5-HT 分泌减少、5-HT<sub>4</sub> 受体表达水平降低,提示阻断 ASIC3 可改变内脏高敏感性,其机制可能与 5-HT、5-HT<sub>4</sub> 受体信号通路调控有关。

综上所述, NMS 后 IBS 大鼠肠道组织中 ASIC3 表达增加, ASIC3 阻断剂 APETx2 可抑制 IBS 大鼠肠道组织 ASIC3 的表达,改善 IBS 大鼠内脏敏感性,可能与 APETx2 阻断 ASIC3 进而抑制 5-HT 分泌、下调 5-HT<sub>4</sub> 受体表达有关。因此, ASIC3 可能成为未来 IBS 内脏高敏感性的治疗新靶点。但本研究仍存在不足之处,实验仅设计了单一 IBS 模型探讨 ASIC3 致内脏高敏感性及其 5-HT 信号通路的调节机制,后续可设计多种 IBS 模型来进一步验证 ASIC3 致 IBS 内脏高敏感性的发生机制。

#### 【参考文献】

- [1] Xu HL, Zou LL, Chen MB, *et al.* Efficacy of probiotic adjuvant therapy for irritable bowel syndrome in children: a systematic review and meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2021, 16(8): e0255160.
- [2] Li L, Zhu HM, Yan Q, *et al.* The antibacterial activity of *Berberis heteropoda* Schrenk and its effect on irritable bowel syndrome in rats [J]. *Chin J Nat Med*, 2020, 18(5): 356-368.
- [3] Li H, Yan B, Wang JK, *et al.* Effect and mechanism of APETx2 and fecal bacteria transplantation on visceral sensitivity in rats with irritable bowel syndrome induced by mother infant separation[J]. *Tianjin Med J*, 2021, 49(12): 1265-1270. [李欢, 闫波, 王金坤, 等. APETx2 及粪菌移植对母婴分离诱导肠易激综合征大鼠内脏敏感性的影响及机制[J]. *天津医药*, 2021, 49(12): 1265-1270.]
- [4] Gao L, Niu X, Niu T, *et al.* Ganjiang granule regulates cecal microflora and serum biochemical components in a rat model of constipation-predominant irritable bowel syndrome[J]. *J Tradit Chin Med Sci*, 2020, 7(2): 148-153.
- [5] Zhang HA, Sang N, Ge X, *et al.* Nesfatin-1 in the dorsal raphe nucleus influences visceral sensitivity via 5-HT neurons in male maternally separated rats[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 9334.
- [6] Geng LL, Liu MN, Long G, *et al.* Rome IV criteria for functional gastrointestinal disease in children[J]. *Chin J Pediatr*, 2017, 55(1): 4-14. [耿岚岚, 刘明南, 龙高, 等. 儿童功能性胃肠病罗马 IV 标准[J]. *中华儿科杂志*, 2017, 55(1): 4-14.]
- [7] Grabauskas G, Wu XY, Gao J, *et al.* Prostaglandin E<sub>2</sub>, produced by mast cells in colon tissues from patients with irritable bowel syndrome, contributes to visceral hypersensitivity in mice[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(8): 2195-2207.e6.
- [8] Zhang W, Zhao Y, Zheng QH, *et al.* Comparative study on different production methods of visceral hypersensitivity models of irritable bowel syndrome[J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2020, 28(4): 503-509. [张薇, 赵映, 郑倩华, 等. 肠易激综合征内脏高敏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.]
- [9] Tao E, Long G, Yang T, *et al.* Maternal separation induced visceral hypersensitivity evaluated via novel and small size distention balloon in post-weaning mice[J]. *Front Neurosci*, 2022, 15: 803957.
- [10] Wang JK, Yuan LP, Li H, *et al.* The role of gastric mucosa ASICs expression in gastrointestinal motility in children with *Helicobacter pylori*-infected gastritis[J]. *J Pract Med*, 2021, 37(6): 755-758. [王金坤, 袁丽萍, 李欢, 等. 幽门螺杆菌感染胃炎患儿胃黏膜 ASICs 表达在胃肠道动力中的作用[J]. *实用医学杂志*, 2021, 37(6): 755-758.]
- [11] Gregory NS, Brito RG, Fusaro MCGO, *et al.* ASIC3 is required for development of fatigue-induced hyperalgesia[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(2): 1020-1030.
- [12] Moloney RD, Johnson AC, O'Mahony SM, *et al.* Stress and the microbiota-gut-brain axis in visceral pain: relevance to irritable bowel syndrome[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2016, 22(2): 102-117.
- [13] Rea K, O'Mahony SM, Dinan TG, *et al.* The role of the gastrointestinal microbiota in visceral pain[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2017, 239: 269-287.
- [14] Xu K, Wang W. Progress in the study of acid-sensitive ion channel 3 and its characterization in knockout mice[J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2016, 34(7): 1653-1655. [徐坤, 王巍. 酸敏感离子通道 3 及其基因敲除小鼠特性的研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2016, 34(7): 1653-1655.]
- [15] Guzel T, Mirowska-Guzel D. The role of serotonin neurotransmission in gastrointestinal tract and pharmacotherapy [J]. *Molecules*, 2022, 27(5): 1680.
- [16] Qin HY, Zang KH, Zuo X, *et al.* Quercetin attenuates visceral hypersensitivity and 5-hydroxytryptamine availability in postinflammatory irritable bowel syndrome rats: role of enterochromaffin cells in the colon[J]. *J Med Food*, 2019, 22(7): 663-671.
- [17] Zhu XW, Liu ZB, Qin YF, *et al.* Analgesic effects of electroacupuncture at ST25 and CV12 in a rat model of postinflammatory irritable bowel syndrome visceral pain[J]. *Acupunct Med*, 2018, 36(4): 240-246.
- [18] Kim KB, Nam JH, Lee JR, *et al.* The traditional medicine banhasim-tang depolarizes pacemaker potentials of cultured interstitial cells of Cajal through M3 muscarinic and 5-HT<sub>3</sub> receptors in murine small intestine[J]. *Digestion*, 2020, 101(5): 536-551.
- [19] Kim HJ, Lee GS, Kim H, *et al.* Hwangryunhaedok-tang induces the depolarization of pacemaker potentials through 5-HT<sub>3</sub> and 5-HT<sub>4</sub> receptors in cultured murine small intestine interstitial cells of Cajal [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(29): 5313-5323.
- [20] Fu R, Chen MX, Chen Y, *et al.* Expression and clinical significance of 5-HT and 5-HT<sub>3</sub>R in the intestinal mucosa of patient with diarrhea-type irritable bowel syndrome[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(4): 3077-3082.
- [21] Wang YS, Wang EK, Meng YY, *et al.* Research progress on the relationship between serotonin and its receptors and abnormal intestinal motility in irritable bowel syndrome[J]. *World Chin J Digestol*, 2019, 27(15): 954-960. [王殷姝, 王恩康, 孟杨杨, 等. 5-羟色胺及其受体与肠易激综合征肠道动力异常的关系研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2019, 27(15): 954-960.]

(责任编辑: 张小利)