

痛泻要方对内脏高敏感大鼠肠道肥大细胞及细胞因子表达的影响

李 蒙 吕 宾 钜 莉 张 璐 陶丽媛

摘要 **目的** 观察痛泻要方对内脏高敏感大鼠肠道肥大细胞(mast cell, MC)及细胞因子表达的影响,探讨痛泻要方治疗内脏高敏感的作用及其机制。**方法** 采用随机数字表法将 30 只成年雄性 SD 大鼠随机分成空白对照组、模型组及中药治疗组,每组 10 只,模型组及中药治疗组以结直肠扩张联合束缚刺激建立大鼠内脏高敏感模型,以腹部收缩反射(abdominal withdrawal reflex, AWR)评估大鼠内脏敏感性,模型构建成功后第 2 日中药治疗组予痛泻要方 4 g/(kg·d)灌胃 4 周,模型组予以等量生理盐水灌胃 4 周,空白对照组大鼠不予任何刺激。4 周后采用甲苯胺蓝染色法计数回盲部结肠黏膜 MC,采用 ELISA 法检测血清及肠黏膜 IL-4、IL-9 表达,Western blot 法检测肠黏膜蛋白酶激活受体-2(PAR-2)蛋白表达。**结果** 与空白对照组大鼠比较,模型组大鼠内脏敏感性升高,回盲部 MC 增多,血清及肠黏膜中 IL-4、IL-9 及 PAR-2 蛋白表达水平升高($P < 0.05$);与模型组比较,中药治疗组大鼠内脏敏感性显著降低,MC 数量减少,肠黏膜 PAR-2 蛋白表达下降(均 $P < 0.05$),大鼠肠黏膜 IL-4 及血清 IL-9 表达水平亦明显降低($P < 0.05$)。**结论** 痛泻要方可能通过作用于 MC 相关细胞因子,减少 MC 脱颗粒,从而降低内脏高敏感。

关键词 内脏高敏感;肥大细胞;痛泻要方;IL-4;IL-9;蛋白酶激活受体-2

Effect of Tongxie Yaofang on Intestinal Mast Cells and Cytokine Expression of Rats with Visceral Hypersensitivity LI Meng, LU Bin, CHU Li, ZHANG Lu, and TAO Li-yuan Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou (310006), China

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of Tongxie Yaofang (TY) on the number of mast cells (MCs) and the expression of cytokines in rats with visceral hypersensitivity, and to explore roles of TY in treating visceral hypersensitivity and its possible mechanism. **Methods** Totally 30 male adult Sprague Dawley (SD) rats were randomly divided into the blank control group, the model group, and the TY treatment group, 10 in each group. The irritable bowel syndrome (IBS) rat model was established by combining colorectal distention with restraint stress in the TY treatment group and the model group. The visceral hypersensitivity was assessed by abdominal withdrawal reflex (AWR). From the 2nd day of successful modeling, rats in the treatment group were administered with TY at the daily dose of 4 g/kg for 4 successive weeks. Equal volume of normal saline was given to rats in the model group for 4 successive weeks. No treatment was given to rats in the blank control group. Four weeks later the number of MCs was counted by using toluidine blue staining. The expression of interleukin-4 (IL-4) and interleukin-9 (IL-9) both in colonic mucosa and serum were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), and the expression of protease-activated receptor type 2 (PAR-2) was detected by Western blot. **Results** Compared with the blank control group, the visceral sensitivity was significantly elevated, the number of MCs in the ileocecal junction increased, and the expression of IL-4, IL-9, and PAR-2 in serum and the colonic mucosa significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the visceral sensitivity significantly decreased, the number of MCs reduced, and the expression of PAR-2 in the colonic mucosa significantly reduced (all $P < 0.05$), and the expression of IL-4 in colonic mucosa and IL-9 in serum were

基金项目:国家自然科学基金项目(No.81170348);浙江省自然科学基金项目(No.LZ12H03001)

作者单位:浙江中医药大学附属第一医院消化科(杭州 310006)

通讯作者:吕 宾, Tel:13906515409, E-mail:lvbin@medmail.com.cn

DOI: 10.7661/CJIM.2014.09.1130

obviously reduced in the TY treatment group ($P < 0.05$). Conclusion TY might improve the visceral hypersensitivity by acting on MCs related cytokines and reducing degranulation of MCs.

KEYWORDS visceral hypersensitivity; mast cell; Tongxie Yaofang; interleukin 4; interleukin 9; protease-activated receptor type 2

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是世界范围内的多发病。其中欧美国家人群 IBS 发病率达 10% ~ 20%^[1], 亚洲国家的发病率达 6.5% ~ 10.1%, 且近年发病率有逐渐升高的趋势^[2]。由于 IBS 的病因和发病机制尚不明确, 临床上缺乏有效的诊治手段, 导致 IBS 患者症状长期存在, 严重影响患者的学习、工作和生活。与健康人群相比, IBS 患者较易寻求各种医疗帮助, 花费高额的医疗费用, 同时患者因疾病而旷工、旷课也造成间接的经济损失^[3]。近年来研究发现, IBS 患者结肠黏膜存在免疫细胞及细胞因子表达异常, 提示免疫功能异常在 IBS 发病中起重要作用^[4-6]。中医药治疗 IBS 以其疗效满意, 不良反应少而日益受到人们的青睐。痛泻要方为《景岳全书》所载的经典名方, 由白术、白芍、陈皮及防风组成, 具有健脾舒肝、止痛止泻的作用, 目前临床主要用于腹泻型 IBS 的治疗。为进一步研究痛泻要方的治疗作用并探讨其作用机制, 本研究以 IBS 模型大鼠为研究对象, 观察痛泻要方对内脏高敏感大鼠肥大细胞(mast cell, MC)及其相关细胞因子变化的影响, 并在此基础上探讨其治疗机制, 试图为中医药治疗 IBS 提供新的依据。

材料与方法

1 动物 SPF 级成年雄性 SD 大鼠 30 只, 8 周龄, 体重 180 ~ 200 g, 浙江中医药大学动物实验研究中心提供, 动物合格证号: SCXK(沪)2008-001。所有大鼠在实验前 1 周均在室温 22 ~ 24 °C、湿度 < 60%、噪音 < 50 dB 环境中由专人饲养, 保持 12 h: 12 h 昼夜交替, 每笼 4 只, 正常饮水、摄食。

2 试剂及仪器 兔抗 PAR-2 多克隆抗体购自美国 Abcam 公司, 兔抗 β -actin 多克隆抗体购自北京中杉金桥公司, 大鼠 IL-4 ELISA 试剂盒购自美国 eBioscience 公司, 大鼠 IL-9 ELISA 试剂盒购自美国 GUSABIO 公司, ELX808 酶标测试仪购自美国 Bio-Tek 公司, ChemidocXRS 型蛋白印迹检测系统购自美国 Bio-RAD 公司。

3 动物模型制备 大鼠自适应饲养 1 周后采用随机数字表法分为空白对照组、模型组及中药治疗组, 每组 10 只。采用结直肠联合束缚应激建立内脏高敏

感大鼠模型^[7,8]。模型组及中药治疗组大鼠采用结直肠扩张刺激 2 周, 方法如下: 8F 气囊导尿管以液状石蜡润滑后经肛门插入直肠, 气囊远端距肛门 1 cm, 导尿管肛门外部分以棉线固定鼠尾根部, 以 60 mmHg 气囊压力予以刺激, 每日 2 次, 间隔 30 min, 每次持续 1 min。结直肠扩张刺激结束后予以束缚应激 5 天: 大鼠置入特殊制动笼器内, 束缚前肩、前上肢及胸部, 限制其搔抓头面部, 可少许前后活动, 束缚时间为 2 h。结直肠扩张联合束缚应激共 19 天。空白对照组大鼠不予任何刺激。

4 给药方法 模型构建成功后第 2 日中药治疗组予以中药痛泻要方灌胃 4 周, 痛泻要方组成: 炒白术 15 g 炒白芍 12 g 防风 10 g 陈皮 6 g, 大鼠(200 g)与人(70 kg)比较, 折算系数为 0.018, 折算后为生药用量约 4 g/(kg · d), 此给药剂量相当于成人正常 1 日用药量。模型组予以同等量生理盐水灌胃 4 周。

5 模型评估 分别于造模结束 3 天及灌胃 4 周后采用国际通用的大鼠腹部收缩反射(abdominal withdrawal reflex, AWR)^[9]评分标准评估肠道敏感性。方法如下: 大鼠处于清醒状态, 不限制其活动情况下, 将 8F 带气囊导尿管外涂液状石蜡后经肛门插入, 气囊末端距肛缘 1 cm。导尿管肛门外部分以棉线固定鼠尾根部。30 min 后大鼠适应环境呈安静状态, 扩张球囊使球囊内压力逐渐升高, 观察腹部抬离桌面(AWR = 3)时的气囊压力, 由非实验者记录 AWR = 3 时的球囊压力, 共进行 3 次, 每次持续 30 s, 间隔 3 min, 取平均压力值。AWR 评分标准: 0 分: 大鼠对结肠扩张无行为学反应; 1 分: 结肠扩张时身体静止不动, 头部运动减少; 2 分: 结肠扩张时腹肌收缩, 但腹部未抬离桌面; 3 分: 结肠扩张时腹肌收缩并抬离桌面; 4 分: 结肠扩张时骨盆抬起, 身体呈弓形。

6 标本采集 灌胃治疗 4 周后, 将各组大鼠经由水合氯醛麻醉后处死, 抽取腹主动脉外周血约 5 mL, 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清后置 -80 °C 冰箱保存备用; 取出各组大鼠回盲部结肠组织约 1 cm, 纵向剪开, 用生理盐水清洗干净, 分成两份, 分别浸泡入 10% 中性福尔马林中或液氮中备用。

7 甲苯胺蓝染色法计数 MC 10% 甲醛固定新

鲜标本,系列乙醇脱水、二甲苯透明,浸蜡,石蜡包埋,4 μm 连续石蜡切片,75 $^{\circ}\text{C}$ 烤 30 min 后常规脱蜡至水;滴加甲苯胺蓝液反应 30 min;稍水洗,入冰醋酸液分化,直到胞核和颗粒清晰;稍水洗,用冷风吹干;二甲苯透明,中性树胶封固。染色结果判定及分析:MC 胞质颗粒呈红紫色,胞核呈蓝色。每个样本随机连续计数 5 个高倍视野 (high power field, HP),取平均值。

8 ELISA 法检测血清及肠黏膜 IL-4 和 IL-9 含量 采用 ELISA 方法分别测定大鼠血清及肠黏膜细胞因子 IL-4 及 IL-9 含量,具体实验步骤严格参照试剂盒说明书,肠黏膜细胞因子测定前先提取组织蛋白检测蛋白浓度。

9 Western-blot 法检测回盲部肠黏膜 PAR-2 蛋白表达 取结肠黏膜组织,加入 RIPA 裂解液匀浆,混匀后 4 $^{\circ}\text{C}$ 12 000 r/min 离心 5 min,收集上清液;DC 法测定蛋白浓度。聚丙烯酰胺凝胶 (polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE) 电泳,转膜、封闭后,加入 PAR-2 (1:1 200) 和 β -actin 一抗 (1:5 000),4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜;TBST 洗 10 min $\times$ 3 次,加二抗 (工作浓度为 1:1 000),室温 1 ~ 2 h TBST 洗 10 min $\times$ 3 次。ECL 发光自显影。凝胶成像系统成像,应用 Quantity One 软件对条带进行半定量分析。结果以目的条带与内参照 β -actin 条带的积分光密度的比值表示。

10 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,配对计量资料采用配对样本 t 检验,多组样本均数比较采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA),方差齐性组间均数比较采用 LSD- t 检验,方差不齐组间均数比较采用 Dunnett's T_3 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠一般情况 空白对照组大鼠一般情况良好。造模后大鼠表现为焦躁不安,反应迟钝,大便质稀,甚至水样,肛周污秽,粪便残留,体重减轻等,至灌胃治疗开始 1 周后,中药治疗组及模型组大鼠大便逐渐成形,体重缓慢增加,中药治疗组灌胃 2 周后死亡 1 只,尸检发现胸腔积液及肺部淤血,考虑灌胃不当误伤气管所致。

2 各组大鼠肠道敏感性比较 (表 1) 造模结束 (21 天后),与空白对照组比较,模型组大鼠 AWR = 3 时气囊压力降低 ($P < 0.05$),提示内脏敏感性升高。模型组与中药治疗组气囊压力值比较,差异无统计学

意义 ($P > 0.05$)。造模 52 天后,与空白对照组比较,模型组大鼠内脏敏感性升高 ($P < 0.05$);与模型组比较,中药治疗组内脏敏感性降低 ($P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠 AWR = 3 时气囊压力值比较
(mmHg, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	造模 21 天后	造模 52 天后
空白对照	10	80.50 $\pm$ 2.85	83.59 $\pm$ 4.74
模型	10	52.53 $\pm$ 3.45 *	69.20 $\pm$ 5.05 *
中药治疗	9	51.59 $\pm$ 2.59	79.26 $\pm$ 4.11 $^{\Delta}$

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

3 各组大鼠 MC 计数比较 (图 1) 与空白对照组比较,模型组大鼠回盲部 MC 数目升高 ($P < 0.05$);与模型组比较,中药治疗组 MC 数目减少 ($P < 0.05$)。

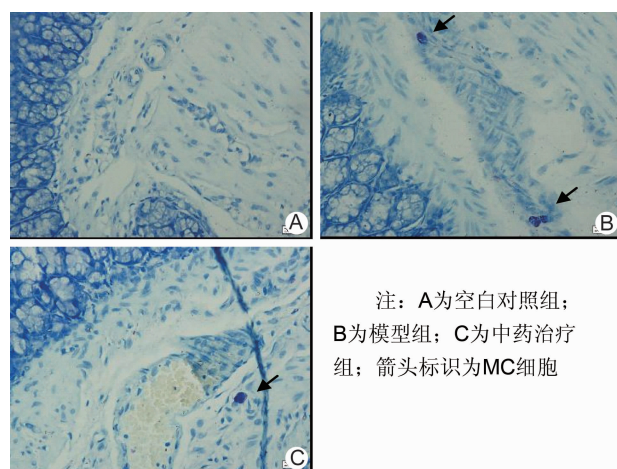


图 1 各组大鼠回盲部 MC 计数 (5 个 HP, $\times 200$)

4 各组大鼠血清及肠黏膜 IL-4、IL-9 表达水平比较 (表 2) 与空白对照组比较,模型组血清及肠黏膜中 IL-4、IL-9 表达水平均升高 ($P < 0.05$);与模型组比较,中药治疗组肠黏膜 IL-4 及血清 IL-9 表达明显降低 ($P < 0.05$),两组血清 IL-4 及肠黏膜 IL-9 表达水平比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 各组大鼠血清及肠黏膜 IL-4、IL-9 表达水平比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	血清 IL-4	肠黏膜 IL-4	血清 IL-9	肠黏膜 IL-9
空白对照	10	2.12 $\pm$ 0.38	3.53 $\pm$ 1.14	21.92 $\pm$ 1.85	5.22 $\pm$ 0.79
模型	10	2.59 $\pm$ 0.52 *	32.32 $\pm$ 3.44 *	50.81 $\pm$ 7.00 *	23.83 $\pm$ 4.14 *
中药治疗	9	2.85 $\pm$ 0.43	27.19 $\pm$ 1.02 $^{\Delta}$	33.45 $\pm$ 8.93 $^{\Delta}$	19.42 $\pm$ 2.41

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

5 各组大鼠肠黏膜 PAR-2 蛋白表达水平比较 (图 2) 在各组均有 PAR-2 蛋白表达。灰度分析显示,与对照组比较,模型组大鼠肠组织中 PAR-2 蛋白表达量升高 ($P < 0.05$);与模型组比较,中药治疗组大鼠肠黏膜 PAR-2 蛋白表达量降低 ($P < 0.05$)。

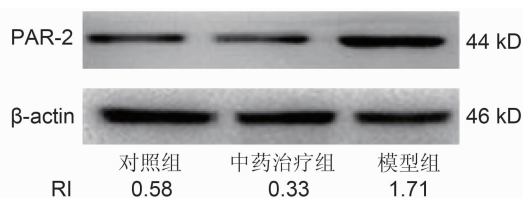


图2 各组大鼠肠黏膜 PAR-2 蛋白表达水平比较

讨 论

IBS 发病原因及发病机制尚未明确,目前认为可能存在应激、免疫、感染等多种发病途径。胃肠动力障碍及内脏高敏感性是 IBS 症状发生的主要病理生理学机制。但越来越多的研究表明,IBS 复杂的症状群并不能完全用动力障碍及感觉异常解释,对 IBS 的研究已超越动力理论的范畴,而更关注与免疫、炎症、遗传相关的分子生物学机制。近年研究认为免疫调节异常与 IBS 发病密切相关,IBS 患者结肠黏膜存在免疫细胞(CD3⁺、CD4⁺及 CD8⁺T 细胞等)数量增多,并伴有细胞因子(IL-5、IL-13、IL-6、TNF-α、IL-1β等)表达增加^[4,6]。而肠黏膜免疫功能异常在 IBS 发病中的作用需进一步阐明。本研究通过建立 IBS 大鼠内脏高敏感模型,采用中药痛泻要方治疗,通过分析肠黏膜 MC 数量变化,细胞因子及 PAR-2 的表达,探讨痛泻要方治疗内脏高敏感的可能作用机制。

内脏高敏感大鼠中存在 MC 及相关细胞因子的异常表达。MC 在 IBS 中的重要作用已被肯定,MC 活化后释放组胺、5-羟色胺、纤维蛋白溶酶等介质,激活包括胃肠道在内的感觉神经元,导致痛觉增敏或异常疼痛。其中纤维蛋白溶酶可活化位于结肠脊髓后根神经元细胞膜上的 PAR-2,从而导致伤害性感受器持久的高兴奋性^[10]。研究显示,MC 在 IBS 患者大肠及小肠肠黏膜中数量增加^[11],活化的脱颗粒 MC 比例增多^[12]。在 IBS 患者中观察到脱颗粒的 MC 在输出神经元周围密集出现,提示 MC 可能参与了 IBS 肠道感觉及运动的异常^[12,13],临床研究及动物实验均显示,使用 MC 稳定剂酮替芬可缓解内脏高敏感性 IBS 症状^[14],本研究中亦显示 IBS 大鼠 MC 数量增多,局部黏膜 PAR-2 表达上调。

MC 能被多种途径激活,最经典的是 IgE 与其受体 FcεRI 识别、桥联,导致脱颗粒^[15]。IL-4 是特异性促 IgE 生成的细胞因子,IL-4 的表达上调引起抗原特异性 IgE 产生,导致 MC 活化^[16]。IL-9 能增加 MC 表面 FcεRIα 的表达,使 MC 处于更易被激活状态^[17]。既往研究认为 IL-9 是 Th2 类细胞因子,但在特定环境

下,多种 T 细胞(Th9 细胞、Th17 细胞、Treg 细胞)也能分泌 IL-9^[18]。有关 IL-4 在 IBS 中的研究鲜有报道,有研究报道,感染后 IBS(PI-IBS)小鼠在肠道急性感染期肠道 IL-4 表达上调,但在造模成功后 IL-4 表达恢复正常甚至降低^[19],因此在 IBS 早期,可能是 IL-4 在激活 MC 中发挥作用。McKernan DP 等^[20]比较了 30 例 IBS 患者血浆细胞因子的表达情况,发现 IL-6、IL-8 表达上调,而 IL-4 与正常对照组比较无明显变化。而 IL-9 与 IBS 关系目前尚未见报道。本研究发现 IBS 内脏高敏感大鼠在血清及肠黏膜中 IL-4、IL-9 皆表达升高,提示 MC 及 PAR-2 在 IBS 大鼠内脏高敏感的发生及发展过程中起着重要的作用,IL-4 及 IL-9 可能通过局部及全身免疫途径介导 MC 活化导致内脏高敏感。

痛泻要方通过调节 MC 及其相关细胞因子改善 IBS 大鼠内脏高敏感。IBS 属中医学“腹痛”、“泄泻”、“便秘”等范畴。中医认为痛泻之证由土虚木乘,肝脾不和,脾运失常所致。其特点是泻必腹痛。《医方考》提到:“泻责之脾,痛责之肝;肝责之实,脾责之虚,脾虚肝实,故令痛泻。”治宜补脾抑肝,祛湿止泻。痛泻要方,原名白术芍药散,出自《景岳全书》引刘草窗方,因张景岳称之为“治痛泻要方”,故有今名。方中白术苦甘而温,补脾燥湿以治土虚,为君药。白芍酸寒,柔肝缓急止痛,与白术相配,于土中泻木,为臣药。陈皮辛苦而温,理气燥湿,醒脾和胃,为佐药。配伍少量防风,具升散之性,与术、芍相伍,辛能散肝郁,香能舒脾气,且有燥湿以助止泻之功,又为脾经引经之药,故兼具佐使之用。四药相合,可补脾胜湿而止泻,柔肝理气而止痛,使脾健肝柔,痛泻自止。痛泻要方自古为治疗肝脾不和“痛泻”的经典方剂,临床实践表明,其治疗腹泻型 IBS 征疗效显著,而文献报道,痛泻要方可通过不同的作用机制改善 IBS 的主要症状,包括抑制 IBS 大鼠 MC 数量及脱颗粒现象^[21],降低 IBS 模型大鼠不同脑区核团 c-fos 蛋白表达,进而调节 IBS 大鼠的脑肠轴功能紊乱^[22]等,本课题组前期研究也显示,痛泻要方能有效降低 IBS 大鼠内脏敏感性,其机制可能与下调 CRF-R1,上调 CRF-R2 的表达有关^[23]。

本研究首次发现,痛泻要方可能通过调节细胞因子介导的 MC 活化,从而降低 IBS 内脏高敏感。IL-4 属 Th2 类细胞因子,一般认为 IL-9 是 Th2 类细胞因子,但特定环境下其他细胞亦能分泌,本研究发现,经痛泻要方治疗 4 周后,与模型组比较,中药治疗组大鼠肠黏膜 IL-4 及血清 IL-9 的表达降低,但两组大鼠血清

IL-4 及肠黏膜 IL-9 表达,差异无统计学意义,这提示在局部黏膜中,痛泻要方可能通过调节 CD4⁺T 淋巴细胞,减少 IL-4 分泌;在血清中,通过调节其他类型细胞减少 IL-9 分泌,进而抑制 MC 活化,从而改善 IBS 症状。痛泻要方对于 IL-4 及 IL-9 的不同作用提示,IL-9 的分泌可能与 CD4⁺T 细胞无关,其对于血清 IL-4 及肠黏膜 IL-9 表达并无作用,提示痛泻要方对局部免疫及系统免疫可能存在不同的作用机制。

综上所述,笔者推测,黏膜异常免疫应答可能在 IBS 的发生发展中起重要作用。异常免疫应答通过产生细胞因子 IL-4、IL-9,使 MC 处于高敏状态甚至脱颗粒,从而导致 IBS 的发病,痛泻要方可能通过作用于 MC 相关细胞因子,减少 MC 脱颗粒,从而降低内脏高敏感。

参 考 文 献

- [1] Spinelli A. Irritable bowel syndrome[J]. Clin Drug Investig, 2007, 27(1): 15-33.
- [2] Chang FY, Lu CL, Chen TS. The current prevalence of irritable bowel syndrome in Asia[J]. J Neurogastroenterol Motil, 2010, 16(4): 389-400.
- [3] Spiegel BM. The burden of IBS: looking at metrics [J]. Curr Gastroenterol Rep, 2009, 11(4): 265-269.
- [4] Cremon C, Gargano L, Morselli-Labate AM, et al. Mucosal immune activation in irritable bowel syndrome: gender-dependence and association with digestive symptoms [J]. Am J Gastroenterol, 2009, 104(2): 392-400.
- [5] Liebrechts T, Adam B, Bredack C, et al. Immune activation in patients with irritable bowel syndrome[J]. Gastroenterology, 2007, 132(3): 913-920.
- [6] Kindt S, Van Oudenhove L, Broekaert D, et al. Immune dysfunction in patients with functional gastrointestinal disorders [J]. Neurogastroenterol Motil, 2009, 21(4): 389-398.
- [7] Plourde V, St-Pierre S, Quirion R. Calcitonin gene-related peptide in viscerosensitive response to colorectal distension in rats[J]. Am J Physiol, 1997, 273(1 Pt 1): G191-G196.
- [8] Agostini S, Gubern M, Tondereau V, et al. A marketed fermented dairy product containing Bifidobacterium lactis CNCM I-2494 suppresses gut hypersensitivity and colonic barrier disruption induced by acute stress in rats[J]. Neurogastroenterol Motil, 2012, 24(4): 376-e172.
- [9] Al-Chaer 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.
- [10] Cenac N, Andrews CN, Holzhausen M, et al. Role for protease activity in visceral pain in irritable bowel syndrome[J]. J Clin Invest, 2007, 117(3): 636-647.
- [11] Weston AP, Biddle WL, Bhatia PS, et al. Terminal ileal mucosal mast cells in irritable bowel syndrome [J]. Dig Dis Sci, 1993, 38(9): 1590-1595.
- [12] Barbara G, Stanghellini V, De Giorgio R, et al. Activated mast cells in proximity to colonic nerves correlate with abdominal pain in irritable bowel syndrome [J]. Gastroenterology, 2004, 126(3): 693-702.
- [13] Park JH, Rhee PL, Kim G, et al. Enteroendocrine cell counts correlate with visceral hypersensitivity in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. Neurogastroenterol Motil, 2006, 18(7): 539-546.
- [14] Klooker TK, Braak B, Koopman KE, et al. The mast cell stabiliser ketotifen decreases visceral hypersensitivity and improves intestinal symptoms in patients with irritable bowel syndrome [J]. Gut, 2010, 59(9): 1213-1221.
- [15] Bugajev V, Bambousková M, Dráberová L, et al. What precedes the initial tyrosine phosphorylation of the high affinity IgE receptor in antigen-activated mast cell [J]. FEBS Lett, 2010, 584(24): 4949-4955.
- [16] Kashiwada M, Levy DM, McKeag L, et al. IL-4-induced transcription factor NFIL3/E4BP4 controls IgE class switching[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(2): 821-826.
- [17] Louahed J, Kermouni A, Van Snick J, et al. IL-9 induces expression of granzymes and high-affinity IgE receptor in murine T helper clones [J]. J Immunol, 1995, 154(10): 5061-5070.
- [18] Li H, Rostami A. IL-9: basic biology, signaling pathways in CD4⁺T cells and implications for autoimmunity [J]. J Neuroimmune Pharmacol, 2010, 5(2): 198-209.
- [19] Akiho H, Deng Y, Blennerhassett P, et al. Mechanisms underlying the maintenance of muscle hypercontractility in a model of post-infective gut dysfunction [J]. Gastroenterology, 2005, 129(1): 131-141.
- [20] McKernan DP, Gaszner G, Quigley EM, et al. Altered peripheral Toll-like receptor responses in irritable bowel syndrome [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2011, 33(9): 1045-1052.
- [21] 王垂杰, 包艳莉, 李玉锋. 痛泻要方煎剂对肠易激综合征内脏高敏感性模型大鼠的肠道肥大细胞的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2009, 4(1): 12-15.
- [22] 李冬华, 白霞, 谢小磊, 等. 从脑肠互动的角度研究痛泻要方治疗肠易激综合征的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12): 118-121.
- [23] 晁冠群, 吕宾, 孟立娜, 等. 痛泻要方对内脏高敏感大鼠脑、脊髓 CRF 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(15): 2012-2016.