

# 腹泻型肠易激综合征模型大鼠海马与结肠组织中细胞因子的含量变化及 mRNA 的表达

李得堂<sup>1</sup>, 涂星<sup>1,2</sup>, 柴玉娜<sup>2</sup>, 唐洪梅<sup>1\*</sup>, 黄育生<sup>2</sup>, 王婷<sup>2</sup>

(1. 广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405; 2. 广州中医药大学, 广州 510405)

**[摘要]** **目的:**探讨腹泻型肠易激综合征( IBS-D)模型大鼠海马与结肠组织中细胞因子白细胞介素 $1\beta$ (IL- $1\beta$ ),白细胞介素2(IL-2)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )的含量变化及其 mRNA 的表达,初步分析脑-肠轴中细胞因子在 IBS-D 中的发病机制。**方法:**取健康 SD 大鼠 30 只,分为正常组和模型组,正常组 10 只,模型组 20 只。模型组复制 IBS-D 模型,造模成功后取模型大鼠和正常大鼠的海马和结肠组织制成石蜡切片,采用免疫组化染色法分析组织中 IL- $1\beta$ ,IL-2 和 TNF- $\alpha$  的表达,同时采用 RT-qPCR 法检测其海马与结肠组织中 IL- $1\beta$ ,IL-2 和 TNF- $\alpha$  mRNA 的表达。**结果:**与正常组比较,IBS-D 模型组海马和结肠组织中 IL- $1\beta$ ,IL-2 和 TNF- $\alpha$  均明显增加,且海马与结肠组织中的 IL- $1\beta$ ,IL-2 和 TNF- $\alpha$  呈一定程度的相关性;IL- $1\beta$  mRNA 在 IBS-D 组大鼠海马组织中表达量明显增加,TNF- $\alpha$  mRNA 在海马和结肠组织中表达量均明显增加( $P < 0.05$ ),IL-2 mRNA 的表达水平无显著变化。**结论:**IL- $1\beta$ ,IL-2 和 TNF- $\alpha$  作为致炎介质,在 IBS-D 脑海马和结肠组织均异常表达,提示其作用机制可能是通过影响神经-内分泌-免疫网络而实现脑-肠轴功能的结构基础改变,进而导致 IBS-D 的发生和发展。

**[关键词]** 腹泻型肠易激综合征; 脑-肠轴; 白细胞介素- $1\beta$ ; 白细胞介素-2; 肿瘤坏死因子- $\alpha$

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)10-0128-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015100128

## Research on Cytokine and mRNA Expression in Entorhinal Cortex and Colon Tissue of IBS-D Model Rats

LI De-tang<sup>1</sup>, TU Xing<sup>1,2</sup>, CHAI Yu-na<sup>2</sup>, TANG Hong-mei<sup>1\*</sup>, HUANG Yu-sheng<sup>2</sup>, WANG Ting<sup>2</sup> (1. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; 2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

**[Abstract]** **Objective:** To detect the expression levels of cytokine interleukin  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ), interleukin 2 (IL-2) and tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) as well as the mRNA expression in hippocampus and colon tissues of diarrhea predominant irritable bowel syndrome (IBS-D) rat model, and to make a preliminary analysis of the pathogenesis of brain-gut axis in IBS-D. **Method:** Thirty Sprague Dawley rats were divided into the normal group ( $n = 10$ ) and the model group ( $n = 20$ ). The IBS-D rat model was replicated in the model group, and the expression levels of IL- $1\beta$ , IL-2 and TNF- $\alpha$  were detected by using immunohistochemical analysis, the mRNA expressions of IL- $1\beta$ , IL-2 and TNF- $\alpha$  were detected by using fluorescence quantitative PCR method. The relationship of the different expression in hippocampus and colon tissues was analyzed by using SPSS 13.0. **Result:** Compared with the normal group, the levels of IL- $1\beta$ , IL-2 and TNF- $\alpha$  in the hippocampus and colon tissue of increased significantly in the model group, and the results showed some degree of correlation between the hippocampus and colon tissue. The mRNA expression of IL- $1\beta$  in the hippocampus of IBS-D rats increased significantly, the mRNA expression of TNF- $\alpha$  in the hippocampus and colon tissues increased significantly ( $P < 0.05$ ), but there were no significant changes in the mRNA expression level of IL-2. **Conclusion:** As the mediators of inflammation, the expressions of IL- $1\beta$ , IL-2 and TNF- $\alpha$ , were abnormal in the hippocampus and colon tissues of the IBS-D rats, suggesting that the occurrence and development of IBS-D may be contributed by the effect of

**[收稿日期]** 20140912(008)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81073160);广东省自然科学基金项目(1015104701000041,S2012010010539)

**[第一作者]** 李得堂,硕士,主管药师,从事中药新制剂开发与评价的研究,Tel:15918727697,E-mail:lidetang2002@163.com

**[通讯作者]** \*唐洪梅,博士,教授,从事中药制剂与药理机制研究,Tel:020-36588708,E-mail:tanghongmei2000@163.com

nerve endocrine immune network and the realization of brain-gut axis function changes.

[ **Key words** ] diarrhea-predominant irritable bowel syndrome; brain-gut axis; interleukin-1 $\beta$ ; interleukin-2; tumor necrosis factor- $\alpha$

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种非器质性肠功能紊乱性疾病,以反复发作的腹痛、腹泻、便秘或腹泻与便秘交替出现为主要症状,缺乏病理形态学改变及生化学指标异常改变依据<sup>[1]</sup>,根据其临床主要症状分为腹泻型( IBS-D),便秘型( IBS-C),腹泻便秘交替型( IBS-M)和无定型( IBS-U)<sup>[1-2]</sup>,其中以 IBS-D 最为常见。IBS-D 的临床表现为腹痛或腹部不适伴有排便习惯和粪便性状的变化,其发病与肠动力异常、内脏高敏感性、肠道炎症与免疫反应、精神心理因素等有关<sup>[3-4]</sup>。中医学认为,肝主疏泄,调畅气机,而机体情绪的变化与气血的运行密切相关,肝主疏泄的功能在机体心理应激中起着决定性的作用,肝是机体调节心理应激反应的核心。腹泻的发生在中医学中则主要是脾失健运,水湿不化的结果。传统中医中药基于整体观念和辨证论治的基本思想,经过临床观察,认为本病症状的发作和加重与情绪紧张有关。IBS 证候表现虽以脾胃为主,但其本多在肝,其发病可由情绪过激或欲望不遂等原因导致肝之疏泄失常,肝脾气机不调酿成。因此,肝脾两脏功能失调在 IBS-D 发病过程中的重要作用是肯定的。目前,脑-肠轴(brain-gut axis)异常在 IBS-D 发病机制的研究中成为热点<sup>[5-7]</sup>,但是“脑-肠轴异常”的检测研究方法在人身还无法实现,只能通过建立 IBS-D 动物模型进行研究,但是,较多文献报道的 IBS-D 动物模型均为单一症状的病理模型,与人的 IBS 相似性还有一定差距,本研究在前期研究的基础上,建立病证结合的复合动物模型,且将情志因素在动物模型上充分体现,与人 IBS-D 有较好的相似性,并采用分子生物学技术进一步分析探讨病证结合 IBS-D 大鼠动物模型的脑、结肠组织中白细胞介素 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ),白细胞介素 2(IL-2)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )的表达,一方面可以建立客观的模型评价指标,另一方面为脑-肠轴在 IBS-D 中的发病机制提供依据。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级 SD 大鼠,雌雄各半,购于广州中医药大学动物中心,动物合格证号 SCXK(粤)2013-0020。动物饲养及造模在广州中医药大学第一附属医院实验动物中心屏障动物实验设施进行,实验合格证号 SYXK(粤)2013-0092,饲养温度(22 $\pm$ 3) $^{\circ}$ C,相

对湿度 55%~75%,自然光节律。

**1.2 试剂** RNAiso plus(瑞士罗氏公司,批号 BK1122),PCR 反转录试剂盒(瑞士罗氏公司,批号 BK1303),SYBR Green 荧光定量试剂(日本 TaKaRa 公司),RNase free 枪头,1.5 mL RNase free 离心管(美国 Axygen 公司),IL-1 $\beta$  试剂盒(碧云天生物技术研究所以,批号 20130830),IL-2 试剂盒(碧云天生物技术研究所以,批号 20130735),TNF- $\alpha$  试剂盒(碧云天生物技术研究所以,批号 20130622)。

**1.3 仪器** IQ5 型荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司),1300 MSC 型生物安全柜(美国 Thermo Fisher 公司),Nano-drop 型微量核酸测定仪(美国 Thermo Fisher 公司),PTC200 型定性 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司),7020 型全自动生化分析仪(日本日立公司)。

## 2 方法

**2.1 IBS-D 动物模型的复制** 取健康 SD 大鼠 30 只,随机分为正常组和模型组,正常组 10 只,模型组 20 只。模型组参考前期研究文献[8],采用母婴分离、束缚刺激结合职场醋酸刺激 3 种因素复合造模,选取 Bristol 粪便分型积分在 5~7 分,粪便含水量较正常组粪便含水量平均值显著升高 10% 的大鼠为成功的模型大鼠,最终得到符合要求的 IBS-D 模型大鼠 16 只。

**2.2 组织样本的制备** 海马组织剥离:随机选取正常组和模型组大鼠各 10 只,给予 10% 水合氯醛 ip 麻醉后,快速断头取出脑组织,去掉小脑,沿两侧大脑半球连接处将大脑半球切开,剥离出海马,漂洗去血,立即冻于液氮中<sup>[9]</sup>。结肠组织剥离:打开断头取脑大鼠,打开腹腔,取一段长约 1~2 cm 新鲜远端结肠组织,盐水洗净肠内容物,漂洗去血,立即冻存于液氮中。

**2.3 免疫组化染色法检测 IL-1 $\beta$ , IL-2 和 TNF- $\alpha$  的含量** 分别取冻存的海马组织和结肠组织,4% 中性甲醛固定 24 h 后梯度乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋。连续切成 4  $\mu$ m 的厚度,每隔 5 片取连续的 3 片贴在经多聚赖氨酸处理的载玻片上,低温烘烤过夜。海马组织和结肠组织经脱蜡、水化后,用 SP 法进行免疫组化染色。阳性表达为 IL-1 $\beta$ , IL-2 和 TNF- $\alpha$  免疫组化切片胞浆、胞膜和细胞外基质出现浅黄色至棕黄色颗粒,呈细丝状、颗粒状和狙击状

态,无着色为阴性。用 Aprieo 切片扫描系统扫描面整张切片,随机取 5 个高倍视野,用 MetaMorph 图像分析软件测定 IL-1 $\beta$ , IL-2 和 TNF- $\alpha$  的积分吸光度值 (IA)。每只动物计数 3 张切片,取平均值。

**2.4 海马组织和结肠组织中 IL-1 $\beta$ , IL-2 和 TNF- $\alpha$  的 mRNA 表达** 取海马组织和结肠组织,按照 RNAiso Plus (Total RNA 提取试剂) 说明书操作提取总 RNA。将已提取的总 RNA 在冰上反转录为 cDNA,按照逆转录试剂盒 PrimeScript<sup>TM</sup> RT reagent 说明书配置 RT 反应液,将反转录反应体系加到无 RNase 的 PCR 管内,反转录反应条件:37  $^{\circ}$ C 15 min, 85  $^{\circ}$ C 5 s。将获得的 cDNA 用实时荧光定量 PCR 进行扩增,按照荧光定量试剂盒 SYBR Premix Ex Taq<sup>TM</sup> II (Perfect Real Time) 说明书配置扩增液,并设置阴性对照。PCR 引物序列见表 1。将反转录反应体系加到用于荧光定量反应的 8 个联管内,扩增反应条件如下,预变性:95  $^{\circ}$ C 3 min;48 个循环(95  $^{\circ}$ C 10 s,60  $^{\circ}$ C 30 s);溶解曲线:从 55  $^{\circ}$ C 开始,每 30 s 升高 0.5  $^{\circ}$ C,直到 95  $^{\circ}$ C,循环 1 次。脑、结肠组织 IL-1 $\beta$ , IL-2 和 TNF- $\alpha$  的 mRNA 的 PCR 反应信息资料由 PCR 仪收集,Ct 值通过计算机软件来测量和计算,转录水平通过公式  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算<sup>[30]</sup>。

表 1 PCR 引物序列

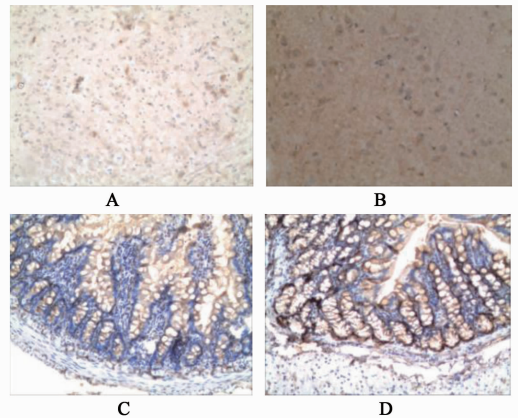
Table 1 Primer sequence of polymerase chain reaction		
基因名称	引物序列	片段长度/bp
IL-1 $\beta$	上游 5'-CCCTGAACTCAACTGTGAAATAGCA-3'	111
	下游 5'-CCCAAGTCAAGGCTTGAA-3'	
IL-2	上游 5'-GCAGCGTGTGTTGGATTGAC-3'	142
	下游 5'-TGCTGGCTCATCATCGAATTG-3'	
TNF- $\alpha$	上游 5'-ATACACTGGCCCGAGGCAAC-3'	150
	下游 5'-CCACATCTCGGATCATGCTTTC-3'	

**2.5 统计学分析** 采用 SPSS 15.0 统计学软件,统计方法采用两独立样本 *t* 检验,各指标的相关性用线性回归分析,其中  $r = 0.00$ , 无相关关系;  $r = 0.00 \sim \pm 0.3$ , 微正负相关;  $r = \pm 0.30 \sim \pm 0.50$ , 实正负相关;  $r = \pm 0.50 \sim \pm 0.80$ , 显著正负相关;  $r = \pm 0.80 \sim \pm 1.00$ , 高度正负相关。计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 脑组织和结肠组织中 IL-1 $\beta$  的表达及相关性分析** 与正常组比较,IBS-D 组脑组织和结肠组织中 IL-1 $\beta$  的 IA 值显著升高 ( $P < 0.05$ ),与脑组织中 IL-1 $\beta$  含量比较,结肠组织中 IL-1 $\beta$  含量显著升高

( $P < 0.05$ )。线性相关性分析表明,正常组与 IBS-D 组脑、结肠组织的 IL-1 $\beta$  含量呈现高度正相关关系 ( $r > 0.80$ )。见图 1,表 2。



A. 正常组海马;B. IBS-D 组海马;C. 正常组结肠;D. IBS-D 组结肠 (图 2~3 同)

图 1 大鼠海马、结肠组织中 IL-1 $\beta$  的表达 (免疫组化,  $\times 400$ )

Fig.1 Expression of IL-1 $\beta$  in entorhinal cortex and colon tissues (Immunohistochemistry,  $\times 400$ )

表 2 大鼠脑组织和结肠组织中 IL-1 $\beta$  的 IA 及相关性分析 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 2 Integral optical density and correlation analysis of IL-1 $\beta$  in brain and colon tissues of rat ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	IL-1 $\beta$ /IA		<i>r</i>
	脑组织	结肠组织	
IBS-D	88.95 $\pm$ 0.88 <sup>1)</sup>	107.14 $\pm$ 8.89 <sup>1,3)</sup>	0.93
正常	72.65 $\pm$ 4.88	79.37 $\pm$ 6.29 <sup>3)</sup>	0.88

注:与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与脑组织比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup>  $P < 0.01$  (表 3~4,图 4 同)。

**3.2 脑组织和结肠组织中 IL-2 的表达及相关性分析** 与正常组比较,IBS-D 组脑组织和结肠组织中 IL-2 的 IA 显著升高 ( $P < 0.05$ );正常组中,脑组织中 IL-2 含量显著高于结肠组织中 IL-2 含量 ( $P < 0.05$ );模型组中,脑组织中 IL-2 含量显著低于结肠组织中 IL-2 含量 ( $P < 0.05$ )。线性相关性分析表明,正常组脑、结肠组织的 IL-2 含量呈现高度正相关关系 ( $r > 0.80$ );模型组脑、结肠组织的 IL-2 含量呈现微正相关 ( $0 < r < 0.3$ )。见图 2,表 3。

**3.3 脑组织和结肠组织中 TNF- $\alpha$  的表达及相关性分析** 与正常组比较,IBS-D 组脑组织和结肠组织中 TNF- $\alpha$  的 IA 显著升高 ( $P < 0.05$ );正常组和 IBS-D 组脑组织中 TNF- $\alpha$  含量均显著高于结肠组织中 TNF- $\alpha$  含量 ( $P < 0.05$ )。线性相关性分析表明,正常组和模型组脑、结肠组织的 TNF- $\alpha$  含量呈现显著正相关关系 ( $0.50 < r < 0.80$ )。见图 3,表 4。

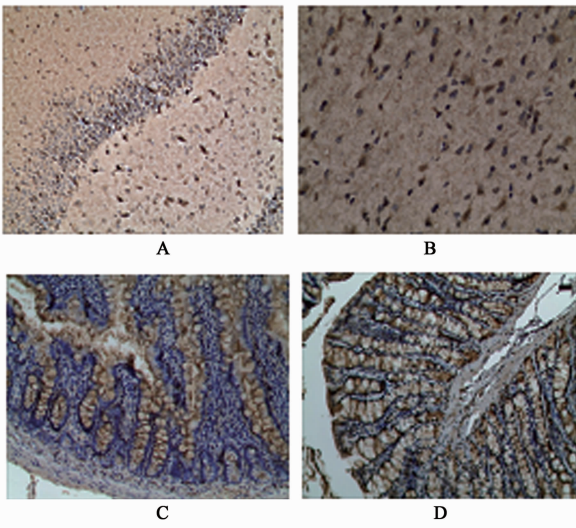


图 2 大鼠海马、结肠组织中 IL-2 的表达(免疫组化, ×400)  
Fig.2 Expression of IL-2 in entorhinal cortex and colon tissues (Immunohistochemistry, ×400)

表 3 大鼠脑组织和结肠组织中 IL-2 的 IA 及相关性分析 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Integral optical density and correlation analysis of IL-2 in brain and colon tissues of rat ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	IL-2/IA		r
	脑组织	结肠组织	
IBS-D	302.41 ± 1.89 <sup>1)</sup>	252.53 ± 1.58 <sup>1,3)</sup>	0.16
正常	92.79 ± 0.50	122.27 ± 0.78 <sup>3)</sup>	0.93

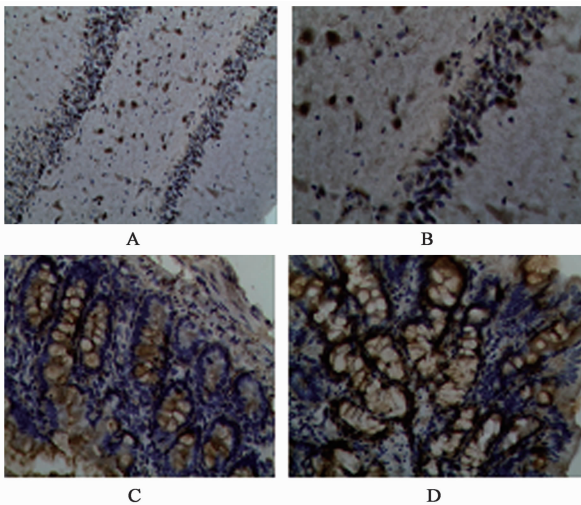


图 3 大鼠海马、结肠组织中 TNF-α 的表达(免疫组化, ×400)  
Fig.3 Expression of TNF-α in entorhinal cortex and colon tissues (Immunohistochemistry, ×400)

3.4 海马组织和结肠组织中 IL-1β, IL-2 和 TNF-α mRNA 的表达 与正常组比较, IBS-D 组脑组织中 IL-1β 和 TNF-α mRNA 的表达显著增加 ( $P < 0.05$ ),

表 4 脑组织和结肠组织中 TNF-α 的 IA 及相关性分析 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  
Table 4 Integral optical density and correlation analysis of TNF-α in brain and colon tissues ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	TNF-α/IA		r
	脑组织	结肠组织	
IBS-D	53.57 ± 3.11 <sup>1)</sup>	105.72 ± 6.17 <sup>1,3)</sup>	0.52
正常	39.43 ± 2.19	64.61 ± 2.85 <sup>3)</sup>	0.68

而 IL-2 mRNA 表达水平无显著差异; 结肠组织中 TNF-α mRNA 的表达显著增加 ( $P < 0.05$ ), 而 IL-1β, IL-2 mRNA 表达水平无显著差异。组内结肠组织和脑组织的比较显示, 正常组和 IBS-D 组脑组织中 IL-1β 和 IL-2 mRNA 的表达水平均显著低于结肠组织中的表达量, 脑组织中 TNF-α mRNA 的表达水平均显著高于结肠组织中的表达量。见图 4。

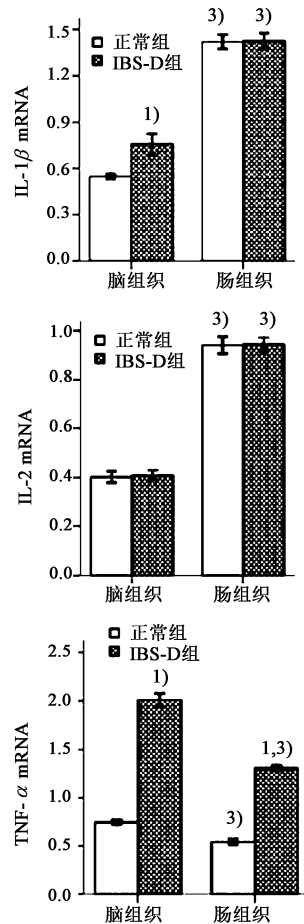


图 4 大鼠脑和结肠组织中 IL-1β, IL-2 和 TNF-α mRNA 的表达 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig.4 Expression of IL-1β, IL-2 and TNF-α were detected in brain and colon tissues with rat ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

#### 4 讨论

IBS 目前尚无公认的动物模型, 且对该病的研

究大多停留在临床阶段,基于动物实验的基础研究较少。目前大多研究采用单一症状的病理动物模型,与人的IBS相似性有一定差距。中医学认为,肝郁脾虚泄泻是IBS-D的主要病机,中医学肝郁脾虚泄泻的病理观点和IBS-D患者“脑-肠轴异常”学说之间可能存在密切关联,本研究在前期研究的基础上,建立病证结合的复合动物模型,采用母婴分离、束缚刺激结合直肠醋酸刺激3种因素复合造模,大鼠直肠注射醋酸造模的方法属于外周致敏IBS动物模型,是基于重复的伤害性刺激或者持续的伤害性刺激都可以导致疼痛的高敏感性动物模型。临床研究也发现IBS患者在其患病前往往有急性胃肠道感染的病史,炎症性肠病患者在缓解期产生肠易激的症状。选择大鼠新生期的刺激是由于新生期的大鼠神经系统处于发育期,比较脆弱和敏感,易受造型变化的影响。表现在:①缺乏有效的背角神经元下行抑制系统,②新生脊髓比成年后更易兴奋。如果在这一时期,动物经受持续有害刺激可以引起神经痛觉传导通路的长时期的过敏,在成年后,尽管当初的有害刺激已消除,肠道始终处于过敏状态。从这一点看乳鼠的新生期肠道内的慢性炎症刺激,母婴分离及束缚的情志刺激可以在成年后引起慢性内脏敏感性增高,且无病理改变,是一个较符合IBS的基本特征的病证结合模型,为进一步建立模型客观的评价体系及研究“脑-肠轴异常”在IBS-D中的发病机制奠定基础。

IL-1 $\beta$ 主要由激活的单核巨噬细胞和上皮细胞分泌,是重要的致炎症介质,作用于腺管上皮细胞诱导炎症反应,破坏黏膜屏障完整性,并作用于结肠平滑肌产生收缩作用和炎症性疼痛<sup>[10]</sup>。IL-2作为Th1类炎症细胞因子,介导细胞免疫<sup>[11]</sup>。TNF- $\alpha$ 主要由活化的单核巨噬细胞和T淋巴细胞分泌,具有广泛的化学活性,是一个促炎细胞因子<sup>[12]</sup>。TNF- $\alpha$ 促进中性粒细胞和巨噬细胞的增殖、活化、游走和脱颗粒;同时可以活化T淋巴细胞和B淋巴细胞,在中枢神经系统由星形胶质细胞和小胶质细胞及神经元产生,参与神经-内分泌-免疫网络的调控<sup>[13]</sup>。本研究结果发现IL-1 $\beta$ , IL-2和TNF- $\alpha$ 作为致炎症介质,可以纳入IBS-D动物模型的客观评价指标,也可能是脑-肠互动的1种重要介质,研究结果表明三种介质在IBS-D病证结合的动物模型的脑海马和结肠组织中均异常表达,这些表达异常的细胞因子具有影响脑-肠轴功能的结构基础改变,进而导致IBS-D的发生和发展。

[参考文献]

- [1] 秦环龙,杨俊. 功能性肠病的多学科治疗 [J]. 中国实用外科杂志, 2011, 31(1): 50-51.
- [2] 姚欣,杨云生,赵卡冰,等. 罗马Ⅲ标准研究肠易激综合征临床特点及亚型 [J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(5): 563-566.
- [3] Stengel A, Taché Y. Corticotropin-releasing factor signaling and visceral response to stress [J]. Exp Biol Med, 2010, 235(10): 1168-1173.
- [4] 杨云生. 肠易激综合征神经免疫内分泌网络调控机制 [J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2002, 11(4): 320-322.
- [5] Basilisco G. Pathogenesis of irritable bowel syndrome: current understanding [J]. Recenti Prog Med, 2007, 98(11): 543-547.
- [6] 房财富,唐洪梅,廖小红,等. 肠激安胶囊对IBS-D模型大鼠脑-肠轴中NPY mRNA表达及ACTH含量的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(7): 948-952.
- [7] 邹白仓,董蕾,戴社教,等. 肠易激综合征模型内脏敏感性的脑-肠轴机制研究 [J]. 西安交通大学学报:医学版, 2012, 33(1): 91-94.
- [8] 张庆业,廖小红,范丽霞,等. 肝郁脾虚泄泻大鼠模型的建立及评价 [J]. 中国实验动物学报, 2014, 22(3): 20-23.
- [9] 于丹,王哲,王健,等. 眼针对脑缺血再灌注损伤72小时大鼠海马组织ICAM表达的影响 [J]. 解剖科学进展, 2012, 18(1): 1-7.
- [10] Bereik P, Wang L, Verdu E F, et al. Visceral hyperalgesia and intestinal dysmotility in a mouse model of post infective gut dysfunction [J]. Gastroenterology, 2004, 127(1): 179-187.
- [11] Korneva E A, Barabaneva S V, Golooko D I. C-fos and IL-2 gene expression in rat brain cells and splenic lymphocytes after nonantigenic and antigenic stimuli [J]. Ann N Y Acad Sci, 2000, 917: 197-209.
- [12] Sands B E, Kaplan G G. The role of TNF- $\alpha$  in ulcerative colitis [J]. Clin Pharmacol, 2007, 47: 930-941.
- [13] McCoy M K, Tansey M G. TNF signaling inhibition in the CNS: implications for normal brain function and neurodegenerative disease [J]. J Neuroinflammation, 2008, 5(2): 45-46.

[责任编辑 周冰冰]