

李艳秋,何悦,侯雨君,等. 番泻叶灌胃联合慢性束缚应激构建腹泻型肠易激综合征小鼠模型的研究[J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(7): 958-967.

LI Y Q, HE Y, HOU Y J, et al. A diarrhea-predominant irritable bowel syndrome mouse model induced via sennae folium gavage combined with chronic restraint stress [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(7): 958-967.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2025.07.003

番泻叶灌胃联合慢性束缚应激构建腹泻型肠易激综合征小鼠模型的研究

李艳秋,何悦,侯雨君,罗芳丽,鄢香芸,何昭璇,李瑛*,周思远*

(成都中医药大学针灸推拿学院,成都 610075)

【摘要】 目的 对比不同质量浓度的番泻叶灌胃联合慢性束缚应激法构建的腹泻型肠易激综合征(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, IBS-D)小鼠模型差异性,以确定适宜的番泻叶灌胃质量浓度。**方法** 根据相关研究中构建 IBS-D 小鼠模型使用的番泻叶灌胃质量浓度,制定质量浓度梯度,并开展实验。雌性 C57BL/6 小鼠随机分成空白组(N 组)、低剂量组(0.25 g/mL 番泻叶, L 组)、中剂量组(0.50 g/mL 番泻叶, M 组)和高剂量组(1.0 g/mL 番泻叶, H 组),每组 10 只。连续造模 14 d 后,观察并记录各组小鼠排便情况、腹泻指数、内脏敏感性、结肠组织形态学变化,比较不同番泻叶质量浓度构建的模型差异。**结果** 与 N 组小鼠(42.90 ± 11.90)%相比, L 组(80.30 ± 5.77)%、M 组(80.50 ± 3.44)%、H 组(81.90 ± 2.68)%小鼠的 6 h 粪便含水率显著增加($P < 0.01$);与 N 组小鼠(0.00 ± 0.00)相比, L 组(0.57 ± 0.16)、M 组(0.62 ± 0.23)、H 组(0.60 ± 0.23)小鼠的腹泻指数也均显著增加($P < 0.01$)。与 N 组小鼠($0.65(0.60, 0.65)$)相比, M 组($0.32(0.24, 0.39)$)和 H 组($0.34(0.27, 0.47)$)小鼠的内脏痛阈值显著降低,内脏敏感性增高($P < 0.01$)。此外, M 组小鼠首粒蓝便时间($98.15(93.41, 100.44)$)min 较 N 组小鼠($186.81(109.28, 192.05)$)min 显著缩短($P < 0.01$)且 M 组小鼠的 6 h 粪便总粒数(22.4 ± 3.73)也较 N 组小鼠(17.90 ± 4.48)相比明显增加($P < 0.05$)。**结论** 与 0.25 和 1.0 g/mL 相比, 0.50 g/mL 的番泻叶灌胃联合慢性束缚应激能更好的构建 IBS-D 小鼠模型。

【关键词】 腹泻型肠易激综合征;小鼠模型;番泻叶灌胃;慢性束缚应激

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2025) 07-0958-10

A diarrhea-predominant irritable bowel syndrome mouse model induced via sennae folium gavage combined with chronic restraint stress

LI Yanqiu, HE Yue, HOU Yujun, LUO Fangli, YAN Xiangyun, HE Zhaoxuan, LI Ying*, ZHOU Siyuan*

(Acupuncture and Tuina School, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China)

Corresponding author: LI Ying. E-mail: liying@cdutcm.edu.cn; ZHOU Siyuan. E-mail: zzy6688@qq.com

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(82374591), 四川省自然科学基金青年基金项目(24NSFC7495, 2023NSFC1820)。Funded by National Natural Science Foundation of China (82374591), Sichuan Provincial Natural Science Foundation Youth Fund Project (24NSFC7495, 2023NSFC1820).

【作者简介】 李艳秋,在读博士研究生,研究方向:针刺治疗腹泻型肠易激综合征的效应及机制。Email:15308011884@163.com

【通信作者】 李瑛,女,博士,教授,研究方向:针刺治疗功能性胃肠病的效应及机制。Email:liying@cdutcm.edu.cn;

周思远,女,博士,副教授,研究方向:针刺治疗腹泻型肠易激综合征的效应及机制。Email:zzy6688@qq.com。

* 共同通信作者

[Abstract] Objective This study sought to establish a diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D) mouse model by gavage different mass concentrations sennae folium combined with chronic restraint stress, and to determine the appropriate mass concentration of sennae folium to establish IBS-D mouse model. **Methods** The mass concentration of sennae folium used for the IBS-D mouse model followed suggested amounts in the literature and on that basis, the mass concentration gradient was established prior to conducting the experiment. Female C57BL/6 mice were divided into a normal group (Group N), a low-dose group (Group L; 0.25 g/mL sennae solution), a medium-dose group (Group M; 0.50 g/mL sennae solution), and a high-dose group (Group H; 1.0 g/mL sennae solution), with 10 mice per group. After 14 days, the defecation, diarrhea index, visceral sensitivity, and morphological changes in the colonic tissue in each group were observed and recorded to compare the differences among models established with varying mass concentrations of sennae folium. **Results** Compared with Group N ($42.90 \pm 11.90\%$), Group L ($80.30 \pm 5.77\%$), Group M ($80.50 \pm 3.44\%$), and Group H ($81.90 \pm 2.68\%$) had significantly higher 6 h fecal water content ($P < 0.01$). Compared with Group N (0.00 ± 0.00), the diarrhea index of mice in Group L (0.57 ± 0.16), Group M (0.62 ± 0.23), and Group H ($0.60, 0.23$) also increased significantly ($P < 0.01$). Compared with Group N ($0.65 (0.60, 0.65)$), Group M ($0.32 (0.24, 0.39)$) and Group H ($0.34 (0.27, 0.47)$) had significantly lower visceral pain threshold and higher visceral sensitivity ($P < 0.01$). Additionally, the first blue stool time in Group M ($98.15 (93.41, 100.44)$ min) was significantly shorter than that in Group N ($186.81 (109.28, 192.05)$ min) ($P < 0.01$), and the total number of stools in Group M (22.4 ± 3.73) was significantly higher than that in Group N (17.90 ± 4.48) ($P < 0.05$). **Conclusions** Compared with 0.25 and 1.0 g/mL, 0.50 g/mL sennae folium gavage, combined with chronic restraint stress, can better simulate the clinical symptoms of IBS-D.

[Keywords] diarrhea-predominant irritable bowel syndrome; mouse model; sennae folium gavage; chronic restraint stress

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

腹泻型肠易激综合征 (diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, IBS-D) 是一种以反复发作性腹痛、腹泻为主要临床表现的功能性肠道疾病^[1-2]。据调查研究显示,IBS-D 在我国的发病率高达 52.9%^[3],女性患病率高于男性,且随着生活节奏加快,发病率呈逐年上升趋势^[4]。IBS-D 病情反复、病程迁延,严重危害患者身心健康,加重患者经济负担^[5]。该病发病机制复杂,涉及脑-肠轴紊乱、肠道低度炎症反应、肠道菌群失调、肠屏障功能异常等多个方面,且尚未完全明晰,因此目前临床治疗只能以对症为主,缺乏让患者满意的长效治疗手段^[6-7]。

稳定且可靠的动物模型在深入研究 IBS-D 的病理机制、探索不同治疗策略的有效性及其作用机制等方面,发挥着关键作用。目前,IBS-D 动物模型的构建方法较多,包括束缚应激、番泻叶灌胃、理化刺激(如乙酸灌肠)等,其中番泻叶灌胃、束缚应激最为常用,但尚缺乏统一、公认的造模方式^[8]。且在 IBS-D 的机制研究中,大鼠是最常选择的模型动物。小鼠作为常用的实验动物之一,具有基因背景多样性和遗传操作便利性等特点,

虽被广泛应用于基础研究中,但涉及 IBS-D 小鼠模型构建的研究相对较少、造模方法也各异,这一方面不仅增加了造模因素不同带来的实验差异,另一方面也会增加研究中模型优化附带的研究成本。因此,构建稳定的小鼠模型对 IBS-D 研究的深入与拓展具有重要意义。

由于 IBS-D 病理生理机制复杂,单一致病因素或手段难以构建出与 IBS-D 临床特点相契合的动物模型,本研究采用多因素联合的造模方法——番泻叶灌胃联合慢性束缚应激法构建 IBS-D 小鼠模型。在参考文献^[8]基础上,研究人员系统整理了相关研究中使用的番泻叶灌胃质量浓度范围,并据此设计了 3 个质量浓度,以期确定番泻叶灌胃联合慢性束缚应激法构建 IBS-D 小鼠模型的最佳番泻叶灌胃质量浓度,为 IBS-D 相关研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

40 只 SPF 级的 C57BL/6 雌性小鼠,6 ~ 8 周

龄,体质量 18 ~ 22 g。实验小鼠均购自成都达硕实验动物有限公司【SCXK(川)2020-0030】,并饲养于成都中医药大学动物实验室【SYXK(川)2024-0049】。实验期间,小鼠自由饮水、摄食,同时接受循环照明,光照周期为 12 h 明/12 h 暗。实验室环境条件严格控制,温度恒定在(22 ± 2)℃,相对湿度保持在 55% ~ 65%。所有实验操作均严格遵守成都中医药大学实验伦理学要求,并经过伦理审批(2024177)。

1.1.2 主要试剂与仪器

番泻叶(亳州市大西北药业),伊文思蓝染液(Sigma 公司),苏木素染液(Sigma 公司),伊红染液(合肥博美生物)。

电热恒温干燥箱(北京中兴伟业),组织包埋机(常州中威),转轮式切片机(德国徕卡),玻片扫描影像系统(深圳生强)等。

1.2 方法

1.2.1 动物分组

适应性喂养 7 d 后,将 40 只小鼠随机分为空白组(N 组)、低剂量组(0.25 g/mL 番泻叶,L 组)、中剂量组(0.50 g/mL 番泻叶,M 组)和高剂量组(1.0 g/mL 番泻叶,H 组),每组各 10 只。

1.2.2 实验造模

采用番泻叶灌胃联合慢性束缚应激构建 IBS-D 小鼠模型。番泻叶浸液制作方法:用沸水浸泡生番泻叶 30 min(沸水体积为生番泻叶药量的 4 倍),过滤后浓缩至 1.0 g/mL,低温保存^[9]。灌胃操作前,取出番泻叶浸液加热至室温,并分别配制 0.25 和 0.50 g/mL 的番泻叶浸液。各组小鼠正常摄食、饮水,N 组小鼠按照 10 mL/kg 的剂量给予 0.9%生理盐水灌胃,而 L 组、M 组、H 组小鼠按照 10 mL/kg 的剂量分别给予 0.25、0.50、1.0 g/mL 的番泻叶浸液灌胃。在给药 1 h 后,对 L 组、M 组和 H 组小鼠进行离心管法束缚刺激^[10]:采用 50 mL 离心管,于前端开口,将小鼠装进离心管中,再用泡沫塞子堵住管口,限制小鼠的自由活动,使其不能翻身、转身或前后移动,持续 1 h,N 组小鼠不予干预。操作固定在每天上午 9:00 进行,连续 14 d。造模结束后,观察各小鼠的排便情况,评估各小鼠的内脏敏感性。以腹泻指数、内脏敏感性均显著高于 N 组小鼠($P < 0.05$),则认为模型构建成功^[11]。

1.2.3 观察指标及取材

(1)一般情况:每日观察各组小鼠的精神状态、皮毛光泽度、自主活动情况等,记录各组小鼠的体质量变化,以及整个实验期间各组小鼠的存活率。

(2)首粒蓝便时间:造模结束后第 1 天,将每只小鼠单笼饲养,并给予每只小鼠 0.2 mL 浓度为 0.5%伊文思蓝溶液灌胃,记录从灌胃结束后至小鼠排出首粒蓝便的时间,即为首粒蓝便时间,观察期间各组小鼠可自由摄食、饮水。

(3)6 h 粪便总粒数及粪便含水率:观察各组小鼠排便情况的同时,每 2 h 收集一次小鼠的粪便,共收集 6 h。统计各组小鼠 6 h 内的粪便总粒数,称量并记录粪便湿质量。将粪便放入恒温干燥箱中烘干后(200 ℃,30 min),再次称质量,记录粪便干质量。根据:粪便含水率 = (粪便湿质量 - 粪便干质量)/粪便湿质量 × 100%,计算各组小鼠 6 h 粪便含水率。

(4)腹泻指数:于笼子底部铺设洁净滤纸,观察每只小鼠排便情况,每 2 h 更换一次滤纸,并详细记录小鼠的排便情况,共观察 6 h。为确保数据准确性,由专门实验人员对稀便直径进行测量,若滤纸污迹形状近似圆形则测量直径;若形状不规则,则测量其最长与近似圆直径的长度,取两者平均值作为结果;若粪便界限不清、粒数不明,则统一视作 1 粒。计算各组小鼠的腹泻指数:腹泻指数 = 稀便率 × 平均稀便级,稀便率 = 稀便数/总排便数,平均稀便级 = 稀便级总和/稀便数。据滤纸污迹的直径,稀便级分为 4 级: < 1 cm 为 1 级, [1 cm, 2 cm) 为 2 级, [2 cm, 3 cm] 为 3 级, > 3 cm 为 4 级^[9]。

(5)内脏敏感性:腹壁撤退反射(abdominal withdrawal reflex,AWR)评分:造模结束后第 2 天,各组小鼠禁食不禁水 18 h。将直径为 6 Fr 导尿管用液状石蜡润滑后,轻柔插入小鼠肛门,使球囊端距肛门约 1.0 cm 处固定。待小鼠恢复平静后,用 1 mL 注射器缓慢、匀速注入空气以扩张球囊,注射容量分别为 0.25、0.35、0.50 和 0.65 mL,每次直肠扩张持续 30 s。每只小鼠重复测量 3 次,每次间隔 5 min,记录不同扩张容量下的 AWR 评分,评估各组小鼠的内脏敏感性^[12](AWR 评分标准见表 1)。

内脏痛阈值评估:将小鼠固定,采用 AWR 评分相同的方法,向小鼠肛门轻柔插入导尿管,待小鼠恢复平静后,用 1 mL 注射器向球囊内充气,注射容量缓慢从 0 mL 匀速推注,最大注射容量至 0.65 mL,期间密切观察小鼠反应。当小鼠腹部收缩较强,并抬离地面时(即 AWR 评分达到 3 分)的最低压力值,即最小容量阈值,以此评估内脏痛阈值。每只小鼠测量 3 次,每次间隔 5 min,最终结果取 3 次的平均值^[13]。

表 1 AWR 评分标准
Table 1 AWR scoring criteria

得分/分 Score/point	评分标准 Grading criteria
0	无明显行为变化 No significant behavioral changes
1	身体静止不动,头部运动减少 Body remains motionless, the head moves less
2	腹部肌肉收缩,但腹肌未抬离桌面 Abdominal muscles contract, but they do not lift off the table
3	腹部肌肉收缩,腹肌抬离桌面 Abdominal muscles contract, lifting the abdominal muscles off the table
4	骨盆抬起,身体呈弓形,会阴部离开地面 Pelvis is raised, the body is arched, and the perineum leaves the floor

(6)结肠黏膜组织苏木素-伊红(HE)染色观察:取各组小鼠距肛门 5 cm 处的结肠组织,固定于 4%多聚甲醛中,石蜡包埋、切片,HE 染色、封

片,通过光镜观察各组小鼠肠道组织是否存在病理性改变。

1.3 统计学分析

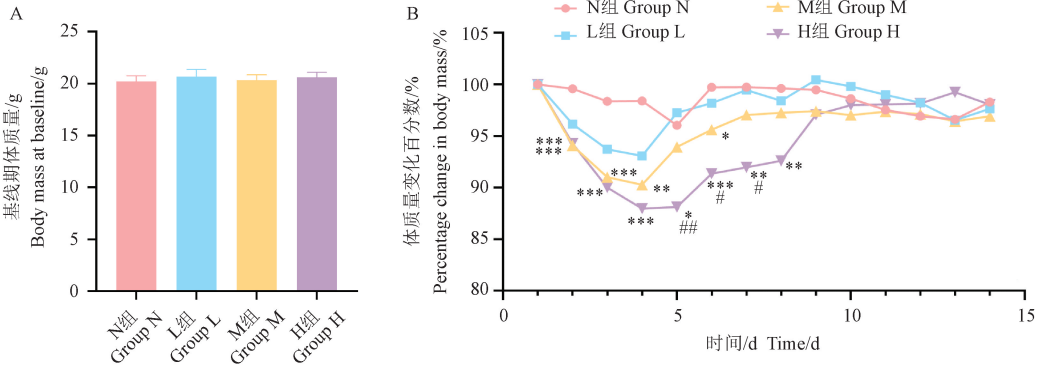
采用 SPSS 26.0 统计软件对数据进行分析,借助 GraphPad Prism 9.3 工具绘制统计图表。符合正态分布的数据,采用平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)描述,满足方差齐时,采用单因素方差分析(ANOVA)进行组间比较;若不符合正态分布的数据,采用中位数及四分位数间距[M(P25, P75)]描述,用非参数检验方法。当 $P < 0.05$ 时,认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

基线期观察 4 组小鼠体质量范围均为 19 ~ 21 g, 4 组小鼠的平均体质量分别为(20.19 ± 0.59)g(N 组)、(20.67 ± 0.70)g(L 组)、(20.33 ± 0.53)g(M 组)和(20.61 ± 0.51)g(H 组)。数据分析显示各组间体质量,无统计学意义($P > 0.05$)(见图 1A)。

如图 1B 所示,从造模第 1 天到第 4 天,除 N 组小鼠,其余 3 组小鼠的体质量都显著降低,而第 4 天之后逐渐回升。期间 N 组小鼠体质量变化平稳,M 组小鼠体质量在第 7 天后趋于平稳,但 L 组小鼠的体质量变化较为平稳,而 H 组小鼠体质量在造模后期回升更明显。在整个造模期间,除 N 组小鼠,其余 3 组小鼠活动减少,喜扎堆抱团,精



注:与 N 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$;与 L 组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。(下图/表同)

图 1 各组小鼠基线期体质量及造模期间体质量变化百分数

Note. Compared with Group N, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. Compared with Group L, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$. (The same in the following figures and tables)

Figure 1 Baseline body mass and percentage change in body mass of mice in each group

神状态欠佳,毛发光泽度明显下降,M 组小鼠尤为明显(见图 2);而且 H 组小鼠在前期造模过程中还出现了血红色黏冻状稀便,但随着体质量的逐渐回升,其粪便颜色逐渐正常。在整个实验期间,无小鼠死亡。

2.2 首粒蓝便时间和 6 h 粪便总粒数

如图 3A 所示,与 N 组小鼠首粒蓝便时间(186.81(109.28,192.05))min 相比,M 组小鼠首粒蓝便时间(98.15(93.41,100.44))min 显著缩短($P < 0.01$),而 L 组小鼠首粒蓝便时间(111.24(99.29,124.81))min 和 H 组小鼠的首粒蓝便时间(103.71(100.77,112.55))min 均没有明显变化($P > 0.05$)。L 组、M 组和 H 组 3 组小鼠的首粒蓝便时间均无显著性差异($P > 0.05$)。

如图 3B 所示,与 N 组小鼠 6 h 粪便总粒数(17.90 ± 4.48)相比,M 组小鼠 6 h 粪便总粒数(22.4 ± 3.73)显著增多($P < 0.05$),而 L 组小鼠 6 h 粪便总粒数(20.30 ± 3.62)和 H 组小鼠 6 h

粪便总粒数(21.40 ± 4.12),无统计学意义($P > 0.05$)。L 组、M 组和 H 组 3 组小鼠的 6 h 粪便总粒数均无显著性差异($P > 0.05$)。

2.3 6 h 粪便含水率和腹泻指数

如图 4A 所示,与 N 组小鼠 6 h 粪便含水率(42.90 ± 11.90)%相比,L 组小鼠的 6 h 粪便含水率(80.30 ± 5.77)%、M 组小鼠的 6 h 粪便含水率(80.50 ± 3.44)%和 H 组小鼠的 6 h 粪便含水率(81.90 ± 2.68)%均有显著增加($P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.001$)。但 L 组、M 组与 H 组 3 组间的粪便含水率无显著性差异($P > 0.05$)。

如图 4B 所示,与 N 组小鼠腹泻指数(0.00 ± 0.00)相比,L 组小鼠的腹泻指数(0.57 ± 0.16)、M 组小鼠的腹泻指数(0.62 ± 0.23)、H 组小鼠的腹泻指数(0.60 ± 0.23)均有明显增加($P < 0.01$),其中 M 小鼠腹泻指数的增加最为显著($P < 0.001$)。但 L 组、M 组与 H 组 3 组间的腹泻指数无显著性差异($P > 0.05$)。

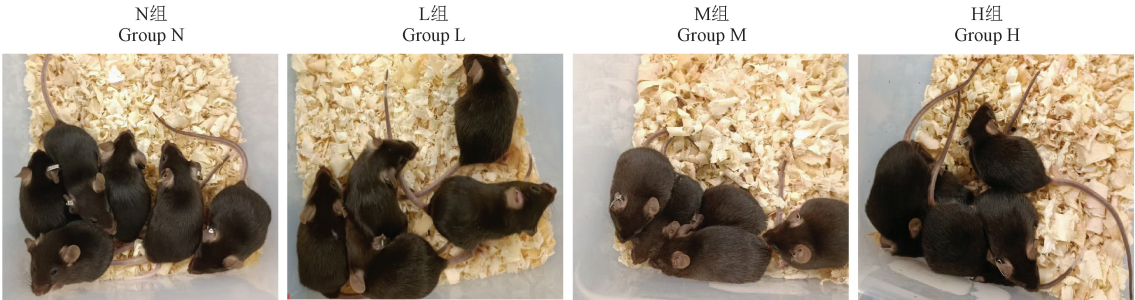


图 2 各组小鼠造模后的一般情况
Figure 2 General condition of mice in each group

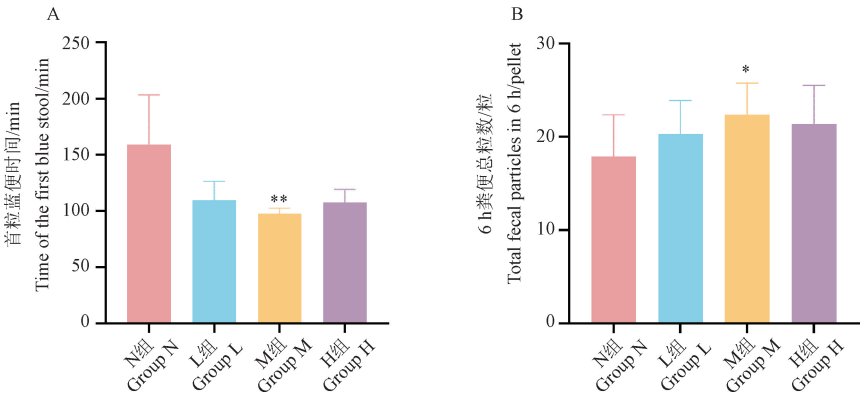


图 3 各组小鼠的首粒蓝便时间和 6 h 粪便总粒数
Figure 3 Time of the first blue stool and the total fecal particles in 6 h of mice in each group

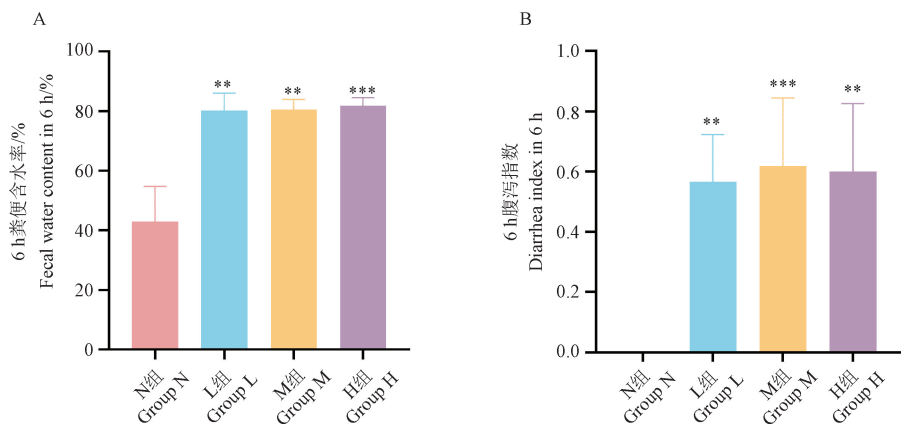


图 4 各组小鼠 6 h 粪便含水率和腹泻指数

Figure 4 Fecal water content and diarrhea index in 6 h of mice in each group

2.4 内脏敏感性

如表 2 所示,在 0.25、0.35 和 0.50 mL 这 3 个扩张容量下,与 N 组比较,M 组和 H 组小鼠的内脏敏感性显著增高 ($P < 0.01$, $P < 0.001$),且当扩张容量达到 0.65 mL 时,仅 M 组小鼠的内脏敏感性与 N 组小鼠相比,具有显著性差异 ($P < 0.01$)。而 L 组在不同扩张容量下,与 N 组比较均没有统计学意义 ($P > 0.05$)。与 L 组比较,M 组和 H 组小鼠的内脏敏感性在 0.25、0.35 和 0.50 mL 这 3 个扩张容量下均显著增加 ($P <$

0.05, $P < 0.01$)。但 M 组与 H 组小鼠相比,在 4 个扩张容量下均没有统计学意义 ($P > 0.05$)。

如图 5 所示,与 N 组小鼠内脏痛的最小容量阈值(0.65(0.60,0.65))相比,L 组小鼠的最小容量阈值 (0.62 (0.58, 0.64)) 无明显变化 ($P > 0.05$),而 M 组(0.32(0.24,0.39)) 和 H 组小鼠的最小容量阈值(0.34(0.27,0.47)) 均显著降低 ($P < 0.01$, $P < 0.001$)。与 L 组小鼠相比,M 组和 H 组小鼠的最小容量阈值也明显降低 ($P < 0.05$),但 M 组和 H 组小鼠的最小容量阈值明显差异 ($P > 0.05$)。

表 2 各组小鼠在不同扩张容量下的 AWR 评分 [M(P25,P75)]

Table 2 AWR scores of mice in each group at different expansion volumes [M(P25,P75)]

分组 Groups	0.25 mL	0.35 mL	0.50 mL	0.65 mL
N 组 Group N	1.00(1.00,1.00)	1.00(1.00,1.25)	1.67(1.33,2.00)	2.33(1.75,3.00)
L 组 Group L	1.00(1.00,1.00)	1.33(1.08,1.33)	2.00(2.00,2.00)	3.00(3.00,3.00)
M 组 Group M	2.17(1.75,2.92) ** #	3.00(2.17,3.00) *** #	3.00(3.00,3.00) *** #	3.00(3.00,3.23) **
H 组 Group H	2.00(2.00,2.25) ** #	2.67(2.00,3.00) ** #	3.00(3.00,3.00) *** #	3.00(3.00,3.00)

2.5 结肠组织 HE 染色

各组小鼠的结肠组织 HE 染色结果显示(见图 6),4 组小鼠结肠壁光滑,组织结构完整、未见明显粘连,也未见明显的炎性细胞浸润,黏膜无充血水肿,均未出现明显的病理变化。

2.6 造模成功率

与 N 组小鼠对比,3 组小鼠在造模结束后均

出现了大便质地变稀,粪便含水率、腹泻指数显著增加,均高于 N 组小鼠的平均值。在内脏敏感性评估中,M 组和 H 组小鼠达到 AWR 评分 3 分的最小容量阈值均低于 N 组小鼠的平均阈值,而 L 组小鼠中有 3 只小鼠未达到该标准,视为造模未成功。因此,M 组和 H 组小鼠的造模成功率达 100%,而 L 组小鼠的造模成功率仅为 70%。

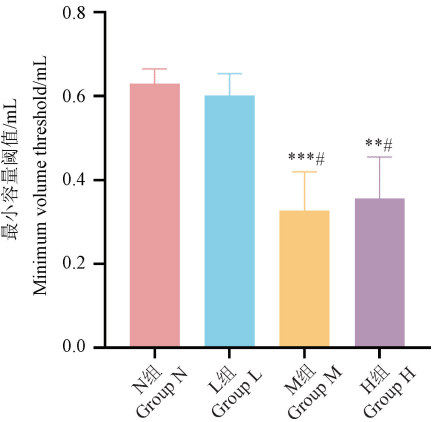


图 5 各组小鼠内脏痛的最小容量阈值

Figure 5 Minimum volume threshold for visceral pain of mice in each group

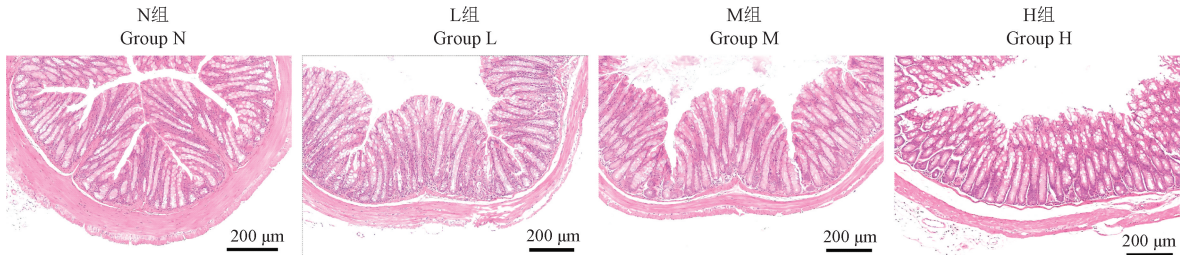


图 6 各组小鼠的结肠组织 HE 染色

Figure 6 HE staining of colon tissue of mice in each group

模型所使用的番泻叶质量浓度范围在 0.2 ~ 1.0 g/mL,其中 0.4 ~ 0.6 g/mL 较为常见,但鲜有研究报道构建 IBS-D 小鼠模型的最佳番泻叶灌胃质量浓度。因此,本研究设置了 3 个质量浓度: 0.25,0.50 和 1.0 g/mL,联合慢性束缚应激以筛选构建 IBS-D 小鼠模型的适宜番泻叶质量浓度。慢性束缚采用离心管法,其操作简便、安全性高且应激效果稳定,避免了传统束缚方法带来的皮毛损伤、窒息致死等风险^[18]。且相关研究已证实,离心管法能成功诱导小鼠应激反应,可构建 IBS-D 小鼠模型^[19-20]。

本研究结果显示,L 组、M 组、H 组小鼠均出现粪便质地稀软,粪便含水率、腹泻指数均显著高于 N 组,表明番泻叶灌胃联合慢性束缚应激均能明显诱导腹泻症状,这与前期研究报道一致^[21]。此外,肠道动力也是评价 IBS-D 模型制备成功与否的又一客观指标^[22]。研究人员发现造模结束后,仅 M 组小鼠的首粒蓝便时间显著缩短,总粪便粒数明显增多,表明 0.5 g/mL 的番泻叶在促进肠道动力方面优于 0.25 和 1.0 g/mL。

3 讨论

前期数据挖掘分析发现,束缚应激和番泻叶灌胃是构建 IBS-D 模型最常用的造模方式^[8],番泻叶灌胃操作简单、重复性强,慢性束缚应激能有效诱导应激反应,两者均能明显诱导腹泻症状,增加内脏高敏感性,联合应用能避免单一造模方式带来的局限性^[14]。且据研究报道,束缚应激与番泻叶灌胃的联合使用能成功构建 IBS-D 小鼠模型,该模型在行为学表现、排便功能、内脏敏感性以及肠道组织病理改变等方面均能稳定模拟 IBS-D 的临床特征^[15-17]。

现有文献报道,采用番泻叶灌胃法构建动物

内脏敏感性是评价 IBS-D 模型成功与否的关键性指标之一^[23]。本研究结果显示,M 组和 H 组小鼠在不同扩张容量下,AWR 评分均显著增加,内脏痛阈值显著降低,与 L 组小鼠相比,均具有统计学意义,这表明 0.5 和 1.0 g/mL 的番泻叶灌胃能显著诱导内脏高敏感性,但 0.25 g/mL 不能,而前期研究中也发现中、高剂量的番泻叶溶液比低剂量更能诱导肠道高敏感性^[24],与本研究结果一致。上述研究结果表明,与低剂量番泻叶(0.25 g/mL)相比,中剂量(0.5 g/mL)和高剂量(1.0 g/mL)的番泻叶灌胃联合慢性束缚应激构建的 IBS-D 小鼠模型优势显著。

然而,H 组在造模初期有 50%左右的小鼠出现过血色黏液样便。值得注意的是,随着体质量的逐渐回升,其血色粪便也逐渐消失。进一步分析发现,番泻叶中所含的蒽醌类等刺激性成分在浓度过高时,会引起肠道电解质紊乱和神经丛功能异常,从而影响肠道动力^[25-27],甚至可能引起肠粘膜损伤,进而导致血色便^[28-30]。这可能解释了 H 组小鼠肠道动力没有明显变化并伴有血色

便的现象,同时也提示高剂量番泻叶可能会导致小鼠肠道组织器质性改变。尽管结肠组织 HE 染色未显示 H 组小鼠的肠道组织存在显著病理改变,研究人员推测这可能与啮齿类动物较强的自我修复能力有关。因此,综合以上实验结果,认为 0.5 g/mL 番泻叶灌胃联合慢性束缚应激能更好构建 IBS-D 小鼠模型。

本研究也存在一定局限性。本研究仅观察了不同质量浓度的番泻叶灌胃联合慢性束缚应激法对 IBS-D 小鼠模型构建的表型差异性,并未探讨这种造模方式所触发的发病机制。目前,基于此造模方法构建的动物模型已用于多项 IBS-D 相关研究,涉及的病理机制主要包括内脏高敏感性^[31]、肠黏膜屏障紊乱^[32]、炎症反应^[33]、肠道菌群失调^[17]等,推测此种造模方法可能会从不同途径诱发 IBS-D,但其诱发的核心病理机制,建议在未来研究中增设特征性指标的检测以做深入探究,优化 IBS-D 相关的机制研究。

通过梳理相关文献,本研究发现番泻叶灌胃的质量浓度范围在 0.2 ~ 1.0 g/mL,常用的质量浓度范围是 0.4 ~ 0.6 g/mL。因此,本研究设置了 0.25、0.5、1.0 g/mL 3 个质量浓度进行比较。尽管最后发现 0.5 g/mL 能显著诱导小鼠的腹泻、腹痛症状,是适宜的番泻叶灌胃质量浓度。但在 0.2 ~ 1.0 g/mL 的区间范围内,是否还存在比 0.5 g/mL 更具优势的灌胃剂量,仍有待后续研究进一步缩小浓度梯度深入探究,以进一步优化造模方案。

此外,本研究选择了目前最为常见的 14 d 造模周期进行观察。在造模周期内,主要评估了模型构建的成功率及其稳定性。虽然从体质量变化来看,7 d 可能足以构建稳定的 IBS-D 小鼠模型,但本研究并未对不同时间点对 IBS-D 模型构建的差异性作比较。并且,也未观察长周期下模型的可靠性和稳定性,以及不同造模周期是否会诱发不同的病理机制等,这些问题有待后续研究深入探究。

4 小结

综上所述,本研究通过对比不同质量浓度的番泻叶(0.25、0.50、1.0 g/mL)灌胃联合慢性束缚应激法所构建的 IBS-D 小鼠模型差异发现,相

比 0.25 和 1.0 g/mL 这两个浓度,0.50 g/mL 质量浓度的番泻叶联合慢性束缚应激能更明显促进小鼠肠道动力,显著诱导腹泻症状以及肠道高敏感性,能构建更符合 IBS-D 临床特点的小鼠模型。

参 考 文 献(References)

- [1] MAYER E A, RYU H J, BHATT R R. The neurobiology of irritable bowel syndrome [J]. *Mol Psychiatry*, 2023, 28 (4): 1451–1465.
- [2] DROSSMAN D A. Functional gastrointestinal disorders: history, pathophysiology, clinical features and rome IV [J]. *Gastroenterology*, 2016, 19: S0016-S5085.
- [3] 赵尔樱,周佳玮,褚海云,等. 肠易激综合征流行病学与致病因素研究进展 [J]. *中国公共卫生*, 2021, 37(4): 764–768.
ZHAO E Y, ZHOU J W, CHU H Y, et al. Epidemiology and pathogenic factors of irritable bowel syndrome: a review on research progress [J]. *Chin J Public Health*, 2021, 37 (4): 764–768.
- [4] 马凤君,刘桐,李昕芮,等. 隔药灸脐法调控结肠组织 TRPV1 离子通道对腹泻型肠易激综合征大鼠的作用机制 [J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(8): 3976–3982.
MA F J, LIU T, LI X R, et al. Mechanism of regulating TRPV1 ion channel in colon tissue by herb-partitioned moxibustion on the navel in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome rats [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*, 2024, 39(8): 3976–3982.
- [5] 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.
- [6] CHEY W D, KURLANDER J, ESWARAN S. Irritable bowel syndrome: a clinical review [J]. *JAMA*, 2015, 313 (9): 949–958.
- [7] RANGAN V, BALLOU S, SHIN A, et al. Use of treatments for irritable bowel syndrome and patient satisfaction based on the IBS in America survey [J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(3): 786–788.
- [8] 罗芳丽,孙路强,侯雨君,等. 基于数据挖掘的腹泻型肠易激综合征动物模型应用分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(2): 219–226.
LUO F L, SUN L Q, HOU Y J, et al. Application analysis of animal models of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome based on data mining [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae*, 2025, 31(2): 219–226.
- [9] 侯雨君,王楷,蒋慧灵,等. 电针调节肥大细胞活化修复腹泻型肠易激综合征大鼠肠道屏障的机制研究 [J]. *针刺研究*, 2023, 48(3): 281–286.
HOU Y J, WANG K, JIANG H L, et al. Study on the mechanism of electroacupuncture repairing intestinal barrier

- via regulating mast cell in rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. *Acupunct Res*, 2023, 48(3): 281–286.
- [10] CHEN Q, ZHANG H, SUN C Y, et al. Evaluation of two laboratory model methods for diarrheal irritable bowel syndrome [J]. *Mol Med*, 2023, 29(1): 5.
- [11] 赖碧玉, 洪梦颖, 李兴, 等. 乙酸灌肠联合束缚夹尾应激诱导肝郁脾虚型腹泻型肠易激综合征大鼠模型的制备 [J]. *中国实验动物学报*, 2024, 32(3): 317–328.
- LAI B Y, HONG M Y, LI X, et al. Preparation of a rat model of diarrheal irritable bowel syndrome induced by an acetic acid enema combined with binding tail-clamping stress [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2024, 32(3): 317–328.
- [12] 彭思远, 于洁琼, 凌茜文, 等. 五谷虫小分子多肽对小鼠腹泻型肠易激综合征的作用机制研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(10): 1176–1179, 1183.
- PENG S Y, YU J Q, LING X W, et al. Effect and mechanism of low molecular weight peptides from the larvae of musca domestica on diarrhea-predominant irritable bowel syndrome in mice [J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2021, 37(10): 1176–1179, 1183.
- [13] 陈伟, 程斌, 余曙光, 等. 艾灸对慢性溃疡性结肠炎小鼠内脏高敏及结肠组织炎症反应的影响 [J]. *针刺研究*, 2024, 49(2): 145–154.
- CHEN W, CHENG B, YU S G, et al. Effects of moxibustion on visceral hypersensitivity and colonic inflammatory response in mice with chronic ulcerative colitis [J]. *Acupunct Res*, 2024, 49(2): 145–154.
- [14] 侯雨君, 赵映, 蒋慧灵, 等. 联合法诱导内脏高敏感模型的研究 [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.
- [15] JOHNSON A C, FARMER A D, NESS T J, et al. Critical evaluation of animal models of visceral pain for therapeutics development: a focus on irritable bowel syndrome [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2020, 32(4): e13776.
- [16] 王宁, 纪昌春, 万鹏, 等. 病证结合模式下腹泻型肠易激综合征实验动物模型的研究进展 [J]. *天津中医药大学学报*, 2021, 40(4): 533–538.
- WANG N, JI C C, WAN P, et al. Research progress on experimental animal model of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome combining disease and syndrome [J]. *J Tianjin Univ Tradit Chin Med*, 2021, 40(4): 533–538.
- [17] 蔡莹, 李翠茹, 吴仪, 等. 五苓散对腹泻型肠易激综合征小鼠肠道菌群的影响 [J]. *中国微生态学杂志*, 2023, 35(8): 917–923.
- CAI Y, LI C R, WU Y, et al. Effect of Wuling Powder on intestinal flora of mice with diarrhea predominant-irritable bowel syndrome [J]. *Chin J Microecol*, 2023, 35(8): 917–923.
- [18] 乔怡倩, 聂梦珂, 李扬, 等. 慢性应激对肠道屏障及结直肠癌肝转移的影响 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2022, 29(20): 1475–1483.
- QIAO Y Q, NIE M K, LI Y, et al. Effect of chronic stress on intestinal barrier and liver metastasis of colorectal cancer [J]. *Chin J Cancer Prev Treat*, 2022, 29(20): 1475–1483.
- [19] 邓娜, 谢诗琴, 谭周进. 腹泻型肠易激综合征脾肾阳虚证小鼠模型的建立与验证 [J]. *中医杂志*, 2024, 65(24): 2572–2579.
- DENG N, XIE S Q, TAN Z J. Establishment and validation of a mouse model of spleen-kidney Yang deficiency syndrome in irritable bowel syndrome-diarrhea [J]. *J Tradit Chin Med*, 2024, 65(24): 2572–2579.
- [20] 周天祺, 王正翊, 王劲松. 腹泻型肠易激综合征小鼠三种造模方法的比较 [J]. *南通大学学报(医学版)*, 2018, 38(2): 81–84.
- ZHOU T Q, WANG Z Y, WANG J S. Comparison of three methods in mice model of irritable bowel syndrome with diarrhea [J]. *J Nantong Univ (Med Sci)*, 2018, 38(2): 81–84.
- [21] 潘晓鸥, 赵燕, 赵远桥, 等. 石斛碱对肝郁脾虚型肠易激综合征小鼠 GFAP、NGF、BDNF 表达及内脏敏感性的影响 [J]. *中成药*, 2021, 43(5): 1186–1190.
- PAN X O, ZHAO Y, ZHAO Y Q, et al. Effects of dendrobine on visceral sensitivity associated GFAP, NGF, BDNF expressions in mice with irritable bowel syndrome of liver Qi-Stagnation & Spleen-deficiency pattern [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2021, 43(5): 1186–1190.
- [22] 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.
- [23] SIMRÉN M, TÖRNBLOM H, PALSSON O S, et al. Cumulative effects of psychologic distress, visceral hypersensitivity, and abnormal transit on patient-reported outcomes in irritable bowel syndrome [J]. *Gastroenterology*, 2019, 157(2): 391–402.
- [24] 赵妍, 罗丹妮, 陈颖, 等. 慢性束缚应激联合番泻叶灌胃法制备 IBS-D 大鼠模型的量效及时效关系评价 [J]. *世界华人消化杂志*, 2017, 25(15): 1360–1367.
- ZHAO Y, LUO D N, CHEN Y, et al. Dose-effect and time-

effect relationship of chronic restraint stress combined with Senna extract gavage in inducing diarrhea-predominant irritable bowel syndrome in rats [J]. World Chin J Dig, 2017, 25(15): 1360-1367.

[25] 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 Arch Tradit Chin Med, 2018, 36(5): 1092-1095.

[26] 易首利, 关铭, 谢小东, 等. 苍朴乌梅散对番泻叶致泻小鼠的作用效果研究 [J]. 饲料工业, 2024, 45(17): 100-107.

YI S L, GUAN M, XIE X D, et al. Study on the effects of Cangpu Wumei Powder on Senna-induced diarrhea in mice [J]. Feed Ind, 2024, 45(17): 100-107.

[27] ZHANG C, SHAO H, LI D, et al. Role of tryptophan-metabolizing microbiota in mice diarrhea caused by Folium sennae extracts [J]. BMC Microbiol, 2020, 20(1): 185.

[28] XUN L, LIU Y J, CHU S F, et al. Physcion and physcion 8-O- β -glucopyranoside: a review of their pharmacology, toxicities and pharmacokinetics [J]. Chem Biol Interact, 2019, 310: 108722.

[29] 毕海林, 肖裕章, 胡军, 等. 番泻叶的研究概况 [J]. 中国兽医杂志, 2017, 53(4): 108-111.

BI H L, XIAO Y Z, HU J, et al. General situation of research on senna leaves [J]. Chin J Vet Med, 2017, 53(4): 108-111.

[30] 管志伟, 赵琼, 赵中和, 等. 番泻叶致幼龄大鼠腹泻模型量-时-效关系研究 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(8): 1806-1809.

GUAN Z W, ZHAO Q, ZHAO Z H, et al. Study on dose-time-effect relationship of diarrhea model in young rats induced by folium sennae [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2021, 32(8): 1806-1809.

[31] 周小琴, 王婧雯, 许金森, 等. 电针足三里对腹泻型肠易激综合征模型大鼠 EC 细胞及内脏敏感性的影响 [J]. 中医药信息, 2024, 41(10): 27-33.

ZHOU X Q, WANG J W, XU J S, et al. Effect of electroacupuncture at Zusanli (ST36) on EC cells and visceral sensitivity in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome model rats [J]. Inf Tradit Chin Med, 2024, 41(10): 27-33.

[32] 王楷, 侯雨君, 王路, 等. 培土抑木针法调节 CRF/CRFR1 通路修复腹泻型肠易激综合征大鼠肠黏膜屏障的机制研究 [J]. 针刺研究, 2024, 49(5): 472-479.

WANG K, HOU Y J, WANG L, et al. Mechanisms of Peitu Yimu acupuncture in repairing intestinal mucosal barrier by regulating CRF/CRFR1 pathway in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome rats [J]. Acupunct Res, 2024, 49(5): 472-479.

[33] 王梓羽, 李翠茹, 姚旭琴, 等. 五苓散对腹泻型肠易激综合征小鼠体质量、血常规及脏器的影响 [J]. 湖南中医杂志, 2024, 40(10): 127-131.

WANG Z Y, LI C R, YAO X Q, et al. Effect of Wuling powder on body weight, routine blood test results, and visceral organs in mice with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. Hunan J Tradit Chin Med, 2024, 40(10): 127-131.

[收稿日期] 2024-12-11