

· 基础研究 ·

低频耳针电刺激降低内脏敏感性的机制探讨

徐万里¹, 周 帅², 周静珠¹, 赵瑞瑞², 孙鲁宁³, 王永庆³, 薛明新¹, 陈 欢^{1*}, 张朝晖^{1*}

¹南京医科大学第一附属医院针灸科, 江苏 南京 210029; ²南京中医药大学第二临床医学院, 江苏 南京 210029; ³南京医科大学第一附属医院药学部, 江苏 南京 210029

[摘要] 目的: 观察低频耳电针在降低内脏高敏感模型大鼠内脏敏感性中的作用。方法: SD大鼠随机分为空白组、模型组、耳针1组、耳针2组, 每组10只。除空白组外, 其余大鼠通过母婴分离加醋酸灌肠建立内脏高敏感大鼠模型。耳针1组与耳针2组接受2 Hz电针刺激30 min/d, 10 d。通过腹外斜肌肌电(EMG)测定直肠扩张下大鼠内脏疼痛阈值, 远端结肠HE染色观察病理改变, 实时荧光定量PCR检测大鼠下丘脑nesfatin-1, 促皮质素释放因子(CRF)及其受体1, 2(CRF1/2R)及结肠5-羟色胺受体4(serotonin receptor 4, 5-HT₄R)的mRNA表达情况。结果: 模型组腹外斜肌放电曲线下面积(AUC)较空白组显著增加($P < 0.05$); 与模型组相比, 耳针1组AUC显著减少($P < 0.05$)。与空白组比较, 模型组下丘脑CRF、nesfatin-1、CRF1R、CRF2R的mRNA表达均显著升高($P < 0.05$), 远端结肠5-HT₄R的mRNA表达有下降的趋势($P = 0.067$)。耳针1组下丘脑CRF、nesfatin-1、CRF1R、CRF2R的mRNA较模型组显著下降(均 $P < 0.05$), 且远端结肠5-HT₄R的mRNA表达显著提高($P < 0.05$)。耳针2组下丘脑CRF、CRF2R的mRNA较模型组显著下降(均 $P < 0.05$), 但较模型组nesfatin-1、CRF1R无显著差异, 远端结肠5-HT₄R的mRNA表达上调不显著($P > 0.05$)。结论: 低频耳电针可缓解内脏高敏感大鼠的内脏敏感性, 可能与调节下丘脑CRF、CRF1R、CRF2R、nesfatin-1, 以及远端结肠5-HT₄R的mRNA表达有关。

[关键词] 耳针; 内脏高敏感; nesfatin-1; 促皮质素释放因子; 肠易激综合征

[中图分类号] R245

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2021)02-181-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20210205

Study on the mechanism of low-frequency auricular electric stimulation to reduce visceral hypersensitivity

XU Wanli¹, ZHOU Shuai², ZHOU Jingzhu¹, ZHAO Ruirui², SUN Luning³, WANG Yongqing³, XUE Mingxin¹, CHEN Huan^{1*}, ZHANG Zhaohui^{1*}

¹Department of Acupuncture, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029; ²the Second Clinical School of Medicine, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029; ³Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** This study aims to explore the role of 'Brain-gut' regulation in low-frequency auricular electro-acupuncture on maternal separation combined with enema induced visceral hypersensitivity rats. **Methods:** Visceral hypersensitivity was established by maternal separation combined with acetic acid enema in SD rats, which were randomly divided into the normal control (NC) group, model control (MC) group, auricular acupuncture group 1 (AA1) and auricular acupuncture group 2 (AA2). Rats in the AA1 group and AA2 group were received electroacupuncture stimulation (2 Hz, 30 min/d) for consecutive 10 days. The visceral sensitivity of rats was evaluated by electromyographic (EMG) to graded colorectal distension. The pathological change in distal colon were observed by HE staining. The mRNA expressions of hypothalamic corticotropin releasing factor (CRF), corticotropin releasing factor receptor1 (CRF1R), corticotropin releasing factor receptor 2 (CRF2R), nesfatin-1, and colonic serotonin receptor 4 (5-HT₄R) were detected by quantitative real-time PCR. **Results:** Rats in MC group show higher EMG activity, and mRNA expression of

[基金项目] 江苏省中医药科技项目(YB201789); 江苏省“六大人才高峰”高层次人才项目(2016-WSN-094); 江苏省第三批中医临床优秀人才研修项目

*通信作者(Corresponding author), E-mail: chenhuan26384@163.com; z1356@126.com

hypothalamic CRF, nesfatin-1, CRF1R, and CRF2R compared with NC group (all $P < 0.05$). The colonic 5-HT₄R mRNA expression in MC group shows a decreased tendency ($P=0.067$). In contrast, AA treatment significantly reduced the area under the curve (AUC) ($P < 0.05$). Further, compared to MC group, the mRNA expressions of hypothalamic CRF, nesfatin-1, CRF1R, and CRF2R of AA group significantly decreased ($P < 0.05$) while the colonic 5-HT₄R mRNA expression elevated ($P < 0.05$). **Conclusion:** Low-frequency auricular electro-acupuncture could ameliorate the visceral sensitivity in rats with visceral hypersensitivity, which might relate to the regulation of mRNA expression of CRF, nesfatin-1, CRF1R, CRF2R in hypothalamus and of 5-HT₄R in colon.

[Key words] auricular acupuncture; visceral hypersensitivity; nesfatin-1; corticotropin releasing factor; irritable bowel syndrome

[J Nanjing Med Univ, 2021, 41(02): 181-186]

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是临床最常见的功能性肠病,以腹痛、内脏高敏感、肠动力异常以及排便习惯改变等一系列症状为主要表现^[1]。近来研究认为IBS发病以“脑-肠交互异常”为基础,婴幼儿时期经历的负性事件尤其是心理应激会极大地改变下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamo-pituitary-adrenal axis, HPA轴)对应激的负反馈调节功能,从而导致肠道免疫、动力以及疼痛感觉异常,产生相应症状^[2]。

由前体肽核组蛋白2(nucleobindin-2, NUCB2)衍生而来的nesfatin-1表达异常升高是应激导致的机体重要变化之一。Nesfatin-1促进下丘脑释放HPA轴关键调节因子促皮质素释放因子(corticotropin releasing factor, CRF),并通过其受体1, 2(corticotropin releasing factor receptor1/2, CRF1/2R)信号通路介导IBS的内脏高敏反应^[3], HPA轴激活最终诱使胃肠道5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)系统应答, 5-HT在胃肠道中含量占机体总量的95%,是胃肠重要的神经递质之一。5-HT₄型受体(5-HT₄R)在肠道各级神经元和肠细胞广泛分布,具有促肠动力和保护肠黏膜的作用^[4],其表达异常直接导致肠动力、感觉调节障碍。

耳针作为针灸重要分支,具有显著的调节中枢/外周神经系统的作用,并可通过神经-内分泌途径改善相应组织器官功能^[5-6],本文通过建立母婴分离结合醋酸灌肠诱导内脏高敏感大鼠模型,观察低频耳电针后大鼠内脏痛阈的改变,下丘脑CRF、CRF1R、CRF2R、nesfatin-1及结肠5-HT₄R的mRNA表达,初步探究耳针降低内脏高敏感的机制。

1 材料和方法

1.1 材料

8只SD孕大鼠由南京大学模式动物中心提供,单笼饲养于南京医科大学SPF级实验动物中心,室

温22~24℃,湿度50%,光照周期12 h/12 h,自由进食。新生雄性乳大鼠随机分为空白组(10只)与模型准备组(30只)。评价造模成功后,采用SAS软件产生随机数字法将模型准备组大鼠分为3组,每组10只。模型组:模型大鼠不予干预;耳针1组:模型大鼠取双耳“胃”穴(双侧耳甲区中央)针刺+电刺激^[7];耳针2组:模型大鼠取双耳“非穴区”(耳垂区中央)针刺+电刺激。所有实验操作遵循《动物实验的伦理准则与指南》并在获得南京医科大学伦理委员会审批(IACUC-1905023)后开始实验。

PrimeScript™RT reagent Kit with gDNA Eraser 逆转录试剂盒(RR047A)、RNAiso Plus TRIzol(9108, TaKaRa公司,日本);实时荧光定量PCR仪(Stepone plus, Applied Biosystems公司,美国),分光光度计(Nano drop 2000, Thermo Fisher公司,美国)。多道生理采集系统(BL420, 成都泰盟),麻醉机(ABS-100, 上海玉研仪器),电针仪(CMNS6-2型, 无锡佳健医疗),显微镜(H550S, 尼康, 日本)。

1.2 方法

1.2.1 内脏高敏感大鼠模型造模

采用“母婴分离结合醋酸灌肠”的造模方法^[8]。新生雄性乳大鼠出生后2~21 d行母婴分离,每天3 h;并于出生后第8~21天,给予0.5%醋酸灌肠,建立慢性结肠高敏感模型,空白组给予相同体积生理盐水。饲养至6周,通过结肠扩张(colorectal distension, CRD)刺激,记录腹外斜肌肌电活动(electromyographic, EMG),验证内脏高敏感模型是否建立。

1.2.2 耳针电刺激

第9周开始,每日上午8~12点进行实验操作。耳针1组、耳针2组大鼠2.0%~2.5%异氟烷吸入30 s后,采用固定装置固定大鼠,分别取相应部位针刺并连接电针仪(CMNS6-2型, 无锡佳健医疗),双极电针,大鼠恢复至清醒状态后予以电针刺激,两组电针参数与干预时间相同:频率2 Hz,强度(3.0±0.5)mA,连续

波,持续30 min,每天1次,治疗5次/周,共治疗2周。

1.2.3 腹外斜肌肌电测定

实验前1周大鼠双侧腹外斜肌处理植电极,导线留置于大鼠背部。测试前禁食24 h,固定大鼠。电极导线经切口引出连接BL-420生物机能实验系统。导尿管经液体石蜡润滑后插入大鼠直肠约4 cm。待大鼠安静后开始记录,测试参数:标准电压2 mV/cm,时间常数2 s,高频滤波30 Hz。向导尿管球囊充气,分别予20、40、60、80 mmHg压力观察EMG变化。通过BL-420配套计算机软件截取20、40、60、80 mmHg压力4个时段中1 min内波形EMG,配套软件计算该时间段曲线下面积(area under curve, AUC,单位: $\mu\text{V}\cdot\text{s}$),并计算与静息状态1 min内AUC的差值。

1.2.4 远端结肠组织HE染色

3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(4 mg/100 g)后处死,迅速开颅、开腹,冰上快速取下丘脑、结肠组织,固定于4%多聚甲醛24 h以上,依次梯度乙醇进行脱水。将浸好蜡的组织于包埋机内进行包埋。修块,切片,脱蜡至水、染色、冲洗伊红染色、乙醇脱水封片。显微镜镜检,图像采集分析。

1.2.5 实时荧光定量PCR(Real-time PCR)

同上操作,快速取下丘脑、结肠组织,置于液氮和-80℃冰箱备用。TRIzol试剂盒提取下丘脑内总RNA,反转录合成cDNA。引物序列如表1。反应体系:反应液10 μL , 5 \times Primescript Buffer 4 μL , 5 \times Primescript RT Enzyme Mix 1 μL , RT Primer Mix 4 μL , DEPC水1 μL 。反应条件:95.0℃ 10 min; 95.0℃ 5 s, 60.0℃ 1 min, 40个周期;95.0℃ 15 s 溶解曲线。根据real-time PCR原始检测结果,按照 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 相对定量计算公式,计算目的基因相对定量结果。

1.3 统计学方法

采用SPSS22.0软件对数据进行统计分析。数据均以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,符合正态分布和方差齐性的两组计量资料比较采用独立样本 t 检验,多组计量资料比较采用单因素方差分析。组间两两比较采用LSD法。 $P < 0.05$ 表示有显著统计学差异。

2 结果

2.1 内脏高敏感模型大鼠建立

腹外斜肌EMG显示,结直肠内置球囊压力为20 mmHg时,与空白组相比,模型组AUC差异无统计学意义($P > 0.05$);在40、60、80 mmHg压力时,模型组

表1 qPCR引物序列

引物名称	序列(5'→3')
Nesfatin-1-F	GACTCGGCATGAGGAGTTTAAG
Nesfatin-1-R	GGCTTCTTCCTCTTTCTCTCTC
CRF-F	TCCGCATGGGTGAAGAATAC
CRF-R	AAAGTTAGCCCGAGCCT
CRF1R-F	TGACAGCCGCCTACAATTAC
CRF1R-R	GTGGAGTACGTGAGCACAAT
CRF2 R-F	GTCACCAACTTCTTCTGGATGT
CRF2 R-R	GACAATGATAGGGCAGGGTATG
5-HT4R-F	TCGGCATAAGTTGATGTGATAGAG
5-HT4R-R	GAGGAGAAACGGGATGTAGAAG
GAPDH-F	GGGAAACCCATCACCATCTT
GAPDH-R	CCAGTAGACTCCACGACATACT

AUC较空白组明显升高(P 均 < 0.05 ,图1),提示IBS内脏高敏感模型造模成功。

空白组与模型组大鼠结肠HE染色后镜下观察,结肠组织结构正常,未见炎细胞浸润,肠黏膜未见增厚,固有层未见分离,肠绒毛形态结构正常,未见脱落(图2)。

2.2 低频耳针电刺激对内脏高敏感的作用

结直肠球囊压力为20 mmHg时,与模型组AUC比较,耳针1组AUC显著减少($P < 0.05$);耳针2组AUC有下降趋势,但无统计学意义($P > 0.05$)。

在40 mmHg及60 mmHg压力时,与模型组比较,耳针1组、耳针2组AUC均明显减少(均 $P < 0.05$)。在压力为80 mmHg时,耳针1组AUC较模型组显著下降($P < 0.05$),耳针2组有下降趋势,但无统计学差异(图3)。腹外斜肌EMG结果提示,耳针1组与耳针2组均有缓解模型大鼠内脏高敏感性的效应,且耳针1组效应更加显著。

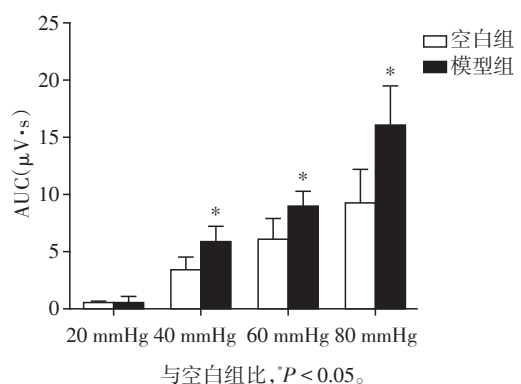


图1 不同结直肠压力下腹外斜肌肌电AUC
Figure 1 AUC of external oblique under different colorectal pressure

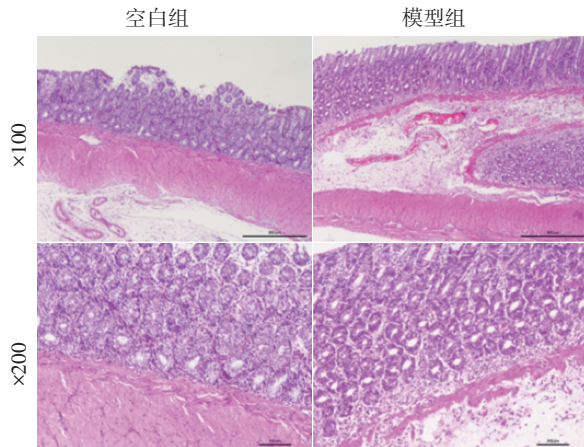
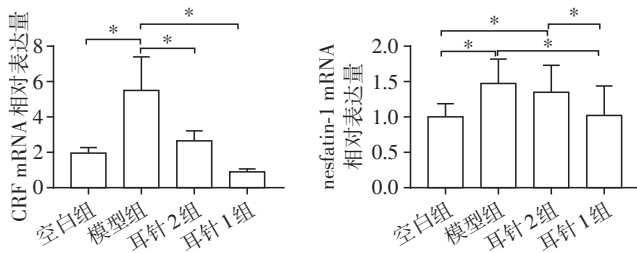


图2 结肠HE染色

Figure 2 HE staining of colon tissue

2.3 低频耳针电刺激后下丘脑基因表达变化

下丘脑组织CRF mRNA的表达比较,模型组比空白组显著增加($P < 0.05$),耳针1组与耳针2组较模型组显著减少($P < 0.05$)。nesfatin-1 mRNA的表达在模型组及耳针2组较空白组明显上升($P < 0.05$),耳针1组较模型组、耳针2组显著下降($P < 0.05$)。CRF1R mRNA的表达在模型组较空白组明显上升($P < 0.05$),耳针1组较模型组显著下降($P <$



两组比较, * $P < 0.05$ 。

图4 下丘脑CRF、nesfatin-1、CRF1R、CRF2R的mRNA相对表达

Figure 4 Relative mRNA expression of hypothalamic CRF, nesfatin-1, CRF1R, and CRF2R

降,但差异无统计学意义($P=0.067$);与模型组相比,耳针2组及耳针1组5-HT₄R的mRNA表达均显著升高(图5)。提示耳针1组、耳针2组干预均会上调5-HT₄R mRNA的表达,其中耳针1组的效果更强。

3 讨论

耳穴治疗功能性胃肠病具有悠久的历史^[9-10],早期学者提出的“耳-迷走反射”理论阐释了耳穴可通过中枢神经系统对五脏六腑的作用机制,亦为《灵枢·口问》所记载的“耳者,宗脉之所聚也”这一理论提供科学依据^[11]。近来,较多学者关注耳穴与脑(心理)相关疾病的研究,从脑功能改变、HPA轴、分

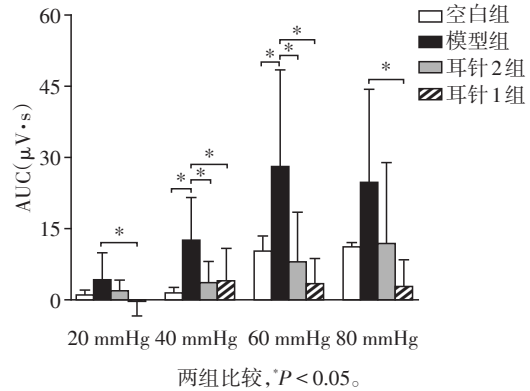
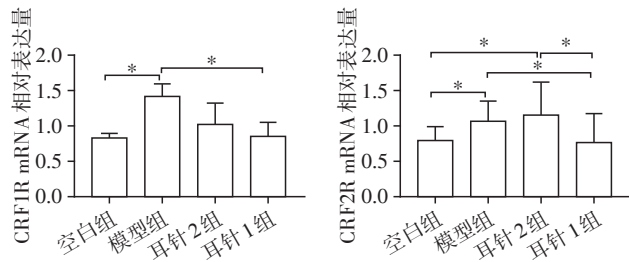


图3 干预后不同结肠压力下腹外斜肌肌电AUC比较
Figure 3 Comparison of AUC of external oblique under different colorectal pressure after intervention

0.05)。CRF2R mRNA与nesfatin-1 mRNA的表达相似,模型组及耳针2组较空白组明显上升($P < 0.05$),耳针1组较模型组、耳针2组显著下降($P < 0.05$,图4)。提示耳针对下丘脑CRF、CRF1R、CRF2R、nesfatin-1的表达具有调控作用。

2.4 低频耳针电刺激后大鼠远端结肠5-HT₄R的mRNA表达

与空白组比较,模型组5-HT₄R的mRNA表达下



子等不同层次阐述了耳穴通过“耳-脑”途径的调节机制^[12-13]。

本研究采用母婴分离结合醋酸灌肠的方法^[8]建立内脏高敏感大鼠模型,结果发现,低频电针耳穴“胃”穴可显著降低内脏高敏感大鼠直肠在不同球囊压力刺激下的腹外斜肌EMG改变,提示低频电针耳穴可缓解内脏高敏感模型大鼠的腹部症状。此外,内脏高敏感大鼠远端结肠组织未出现显著的炎性改变,表明该模型主要以功能改变为主。

CRF是下丘脑在应激状态下释放的神经内分泌调节因子,通过激活其G蛋白偶联受体CRF1R、CRF2R对靶细胞发挥作用。外源性脑室注射CRF

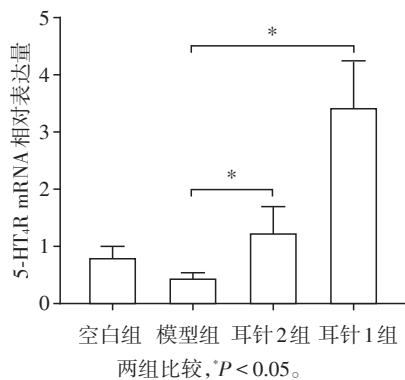


图5 远端结肠5-HT₄R mRNA相对表达量

Figure 5 Relative mRNA expression of 5-HT₄R in colon tissue

及应激引起的CRF升高均能诱发肠动力异常和内脏高敏感,使大鼠产生腹痛、腹泻、焦虑/抑郁等类IBS症状^[14]。Nesfatin-1在下丘脑中与CRF共表达,与压力刺激密切相关。提高侧脑室nesfatin-1浓度可显著增加下丘脑CRF神经元c-Fos的表达以及CRF神经元胞浆Ca²⁺浓度,提高神经元活性^[15]。此外,IBS大鼠侧脑室注射nesfatin-1抗体可显著减轻内脏高敏感^[3]。本研究观察到内脏高敏感模型大鼠下丘脑中CRF、CRF1R、CRF2R及nesfatin-1的mRNA表达均异常升高,提示下丘脑nesfatin-1与CRF系统对IBS大鼠的内脏超敏存在关联,与早前的研究结果一致。本研究发现低频电针耳穴“胃”可降低模型大鼠下丘脑CRF、CRF1R、CRF2R及nesfatin-1 mRNA的高表达状态,这可能是耳穴刺激能抑制肠道高敏感的中枢机制之一。然而,CRF系统与nesfatin-1在IBS中的相互作用,以及耳穴刺激对两者的调节机制仍需进一步研究。

5-HT是胃肠道中的重要动力分子和神经递质,其受下丘脑CRF的调节而合成释放,与特异性受体结合发挥作用^[14,16],广泛表达于突触前肠神经元上的5-HT₄R,主要参与肠道运动与感觉的调节,对肠神经元具有保护作用^[17]。研究发现,5-HT₄R可激活肠黏膜5-HT的释放、促使杯状细胞分泌黏液和肠上皮细胞分泌氯离子,对抗内脏痛^[17-18]。临床研究发现,5-HT₄R的部分激动剂替加色罗可以显著改善内脏高敏感患者的直肠压力敏感度和内脏高敏感^[19]。因此,5-HT₄R成为临床上治疗IBS内脏痛的靶点。本研究发现,模型组远端结肠5-HT₄R的mRNA表达较空白组有下降趋势($P=0.067$),耳针1组与耳针2组均能够显著提高模型大鼠结肠5-HT₄R的mRNA表达,且耳针1组较耳针2组有更强的趋

势。提示耳穴“胃”电刺激具有更好的修复与改善内脏高敏感的效应^[20]。

此外,发现耳针1组在缓解腹痛以及对下丘脑相关神经肽调控,均明显强于耳针2组,表明耳穴“胃”具有显著的特异性。这可能与不同穴区所处部位的迷走神经分布差异有关,迷走神经-下丘脑支配心脏、胃肠等内脏器官的运动与感觉,研究显示刺激迷走神经可激活丘脑室旁核、下丘脑室旁核谷氨酸能神经元^[21],电针或可通过该途径镇痛^[22],推测这或许也是本研究中耳穴“胃”电刺激镇痛的机制之一。此外,发现耳穴电针调节胃肠功能障碍还存在其他神经-体液机制,如本项研究中观察到电针耳穴“胃”提高肠道5-HT₄R mRNA表达,以及本课题组前期研究结果显示电针耳穴“胃”可促进糖尿病大鼠胃Cajal细胞的修复^[23],均提示耳针对胃肠功能的调节并非单一途径。

中医认为IBS虽然病位在肠腑,但与心、脑、肝、脾密切相关,现代医学研究也表明IBS很大程度上受社会心理因素影响,可见心神失调是IBS发病的关键因素。耳针具有显著宁心安神功效,临床上运用于治疗失眠、抑郁常获显著疗效^[24]。本研究结果也证实了耳针调节脑功能作为其修复内脏高敏感的重要途径。

总之,本研究同时从下丘脑与外周远端结肠两个层面观察低频耳电针缓解内脏高敏感性的效应,初步探讨了耳针治疗IBS肠脑共病的生物学机制,为今后耳穴治疗相关疾病提供新依据。

【参考文献】

- [1] MARI A, ABU BAKER F, MAHAMID M, et al. The evolving role of gut microbiota in the management of irritable bowel syndrome: an overview of the current knowledge [J]. *J Clin Med*, 2020, 9(3): 685
- [2] FUENTES I M, CHRISTIANSON J A. The influence of early life experience on visceral pain [J]. *Front Syst Neurosci*, 2018, 12: 2
- [3] JIA F Y, LI X L, LI T N, et al. Role of nesfatin-1 in a rat model of visceral hypersensitivity [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(22): 3487-3493
- [4] KENDIG D M, GRIDER J R. Serotonin and colonic motility [J]. *Neurogastroenterol motil*, 2015, 27(7): 899-905
- [5] 刘坤,李亮,贲卉,等.电针大鼠耳穴“心”等对孤束核升压反射相关神经元电活动的影响[J]. *针刺研究*, 2012, 37(3): 211-217
- [6] 乔丽娜,杨海龙,谭连红,等.耳穴经皮电刺激对颞叶癫痫大鼠癫痫发作频率与海马区胶质细胞活性及炎症因

- 子的影响[J]. 针刺研究, 2017, 42(3): 189-196
- [7] 华兴邦, 宋大鲁. 动物的耳廓与耳针穴位[J]. 实验动物与动物实验, 1992(2): 81-84
- [8] TAN L H, LI K G, WU Y Y, et al. Effect of electroacupuncture at different acupoints on the expression of NMDA receptors in ACC and colon in IBS rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019: 4213928
- [9] 周静珠, 王茵萍, 仲远明. 耳针疗法治疗消化系统疾病的临床研究[J]. 针灸临床杂志, 2011, 27(7): 54-56
- [10] 鲍娜, 王琼, 孙彦辉, 等. 基于数据挖掘的耳穴疗法临床应用规律[J]. 针刺研究, 2017, 42(1): 90-94
- [11] BUTT M F, ALBUSODA A, FARMER A D, et al. The anatomical basis for transcutaneous auricular vagus nerve stimulation[J]. *J Anat*, 2020, 236(4): 588-611
- [12] LIU C H, YANG M H, ZHANG G Z, et al. Neural networks and the anti-inflammatory effect of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation in depression[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 54
- [13] 荣培晶, 张悦, 李少源, 等. 经皮耳穴迷走神经刺激治疗脑及相关疾病的现状与展望[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2019, 21(9): 1799-1804
- [14] NAKADE Y, FUKUDA H, IWA M, et al. Restraint stress stimulates colonic motility via central corticotropin-releasing factor and peripheral 5-HT₃ receptors in conscious rats [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 292(4): G1037-1044
- [15] YOSHIDA N, MAEJIMA Y, SEDBAZAR U, et al. Stressor-responsive central nesfatin-1 activates corticotropin-releasing hormone, noradrenaline and serotonin neurons and evokes hypothalamic-pituitary-adrenal axis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2010, 2(11): 775-784
- [16] QIN H Y, XAVIER WONG H L, ZANG K H, et al. Enterochromaffin cell hyperplasia in the gut: Factors, mechanism and therapeutic clues [J]. *Life Sci*, 2019, 239: 116886
- [17] TERRY N, MARGOLIS K G. Serotonergic mechanisms regulating the GI tract: experimental evidence and therapeutic relevance [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2017, 239: 319-342
- [18] HOFFMAN J M, TYLER K, MACEACHERN S J, et al. Activation of colonic mucosal 5-HT₄ receptors accelerates propulsive motility and inhibits visceral hypersensitivity[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(4): 844-854 e4
- [19] FARZAEI M H, BAHRAMSOLTANI R, ABDOLLAHI M, et al. The role of visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome: pharmacological targets and novel treatments [J]. *J Neurogastroenterol Motil*, 2016, 22(4): 558-574
- [20] ZHAO J M, CHEN L, ZHOU C L, et al. Comparison of electroacupuncture and moxibustion for relieving visceral hypersensitivity in rats with constipation-predominant irritable bowel syndrome [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016: 9410505
- [21] 唐敏峰, 丁炯, 张璐, 等. 迷走神经刺激激活丘脑和下丘脑室旁核的谷氨酸能神经元的探讨[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2006, 26(2): 105-112
- [22] ZHU H, XIANG H C, LI H P, et al. Inhibition of GABAergic neurons and excitation of glutamatergic neurons in the ventrolateral periaqueductal gray participate in electroacupuncture analgesia mediated by cannabinoid receptor[J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 484
- [23] 陈欢, 周静珠, 朱伟坚, 等. 耳电针对链脲佐菌素致糖尿病大鼠胃窦Cajal间质细胞的修复效应[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2020, 40(3): 380-384
- [24] 许旭杰, 王文丽, 王箬, 等. 耳迷走神经刺激配合体针治疗失眠症45例[J]. 浙江中医杂志, 2017, 52(5): 361

[收稿日期] 2020-10-13