

表皮生长因子在醋酸诱导的结肠高敏感模型大鼠中的表达及其作用

崔秀芳,周尾梅,程秀琴,王颖,林琳,张红杰*

(南京医科大学第一附属医院消化科,江苏 南京 210029)

[摘要] **目的:**初步探讨表皮生长因子(EGF)在醋酸诱导的结肠高敏感模型大鼠中的表达及其作用。**方法:**新生雄性乳大鼠20只,于出生第10~21天,模型组($n = 10$)给予0.5%醋酸灌肠,建立慢性结肠高敏感模型,对照组($n = 10$)给予相同体积生理盐水。通过结直肠扩张(CRD)刺激,记录腹壁撤退反射(AWR)评分和腹外斜肌肌电活动(EMG),评估内脏敏感性。ELISA法检测两组大鼠血清及结肠组织中EGF和5-羟色胺(5-HT)水平,采用Western blot方法检测模型组与对照组结肠组织中5-HT转运体(SERT)表达,并分析两组大鼠结肠组织EGF水平与SERT蛋白表达间关系。体外细胞实验进一步探讨EGF对SERT表达的影响,大鼠肠上皮细胞(IEC-6细胞)给予不同浓度EGF(0、20、40、80 ng/ml)刺激24 h,检测SERT蛋白表达。**结果:**结肠高敏感组大鼠AWR评分及EMG幅值较对照组显著增高($P < 0.05$),HE染色及髓过氧化物酶(MPO)水平检测显示两组大鼠结肠组织均无明显炎症表现,提示持续内脏高敏感形成。模型组大鼠与对照组相比,血清EGF水平明显降低[(2.639 ± 0.107)ng/ml vs (4.066 ± 0.573)ng/ml, $P < 0.05$],且结肠中EGF表达也明显减低[(3.244 ± 0.135)ng/100 mg vs (3.582 ± 0.197)ng/100 mg, $P < 0.05$]。结肠组织中SERT蛋白表达量,模型组大鼠与对照组相比显著下降[(0.711 ± 0.219)vs (0.980 ± 0.239), $P < 0.01$]。模型组大鼠血清及结肠组织中5-HT水平显著高于对照组 [(6.125 ± 0.534)ng/ml vs (3.540 ± 0.442)ng/ml, (5.527 ± 0.514)ng/100 mg vs (2.650 ± 0.495)ng/100 mg, $P < 0.05$]。结肠组织中EGF水平与SERT蛋白表达存在显著正相关($r = 0.820, P < 0.001$)。体外细胞实验结果显示,予不同浓度EGF(20、40、80 ng/ml)刺激细胞,SERT相对表达量(分别为 1.398 ± 0.091 、 1.725 ± 0.124 、 1.571 ± 0.088),与0 ng/ml(1.011 ± 0.012)比较, $P < 0.05$ 。**结论:**醋酸诱导结肠高敏感大鼠结肠组织中5-HT水平增高,结肠组织SERT蛋白表达下降,同时其血清及结肠组织中EGF水平下降,且结肠组织中SERT表达与EGF水平呈正相关。体外细胞实验EGF可呈浓度依赖上调IEC-6细胞SERT蛋白表达,提示EGF可能通过影响SERT的表达参与内脏高敏感性形成。

[关键词] 内脏高敏感性;表皮生长因子;5-羟色胺转运体

[中图分类号] R574.62

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)04-427-06

doi:10.7655/NYDXBNS20140405

The expression of epidermal growth factor and it's effect on colonic-sensitized rats induced by acetic acid

Cui Xiufang, Zhou Weimei, Cheng Xiuqin, Wang Ying, Lin Lin, Zhang Hongjie*

(Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression and effect of epidermal growth factor (EGF) on a rat model with colonic hypersensitivity induced by acetic acid. **Methods:** A total of 20 neonatal male rats were included in this study. Rat models with colonic hypersensitivity ($n = 10$) were established by intra-colonic infusion of 0.5% acetic acid (AA) at the age of 10~21 days, the controls ($n = 10$) received the same volume saline. Abdominal withdrawal reflex (AWR) score and external oblique muscle electromyography (EMG) activities were detected after colorectal expansion (CRD) stimulation to evaluate visceral sensitivity. The levels of EGF and 5-HT in plasma and intestinal tissues were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The expression of serotonin transporter (SERT) was determined by Western blot to analyze the relationship between EGF levels and SERT expression in colon tissues. To further confirm the influence of EGF on SERT, rat intestinal epithelial cells (IEC-6) were stimulated at various concentrations of EGF (0, 20, 40 and 80 ng/ml) for 24 h to examine SERT protein expression. **Results:** Compared with the control rats, the AWR scores and EMG curve area during CRD in the rats with high colonic hypersensitivity were significantly

[基金项目] 江苏省兴卫工程重点人才项目(RC201163)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: hjzhang06@163.com

increased ($P < 0.05$). HE staining and MPO level detection showed that no inflammation was found in both groups, which indicated that visceral hypersensitivity was successfully established. For visceral sensitized rats, the expression of SERT protein in colon were lower than that in the control group (0.711 ± 0.219 vs 0.980 ± 0.239 , $P < 0.01$), and the levels of EGF in plasma [(2.639 ± 0.107) ng/ml vs (4.066 ± 0.573) ng/ml, $P < 0.05$] and colonic tissues [(3.244 ± 0.135) ng/100 mg vs (3.582 ± 0.197) ng/100 mg, $P < 0.05$] were also decreased compared with the controls. The concentrations of 5-HT in plasma and colonic tissues of model rats were significantly increased compared with those of the controls [(6.125 ± 0.534) ng/ml vs (3.540 ± 0.442) ng/ml, (5.527 ± 0.514) ng/100 mg vs (2.650 ± 0.495) ng/100 mg, respectively in plasma and colon, $P < 0.05$]. Furthermore, we analyzed the relationship between EGF and SERT level in colon tissues, and found that they were positively correlated ($r = 0.820$, $P < 0.001$). *In vitro*, IEC-6 cells were treated with EGF at different concentration (0, 20, 40 and 80 ng/ml) for 24 h. Compared with the concentration of 0 ng/ml, the relative expression of SERT was significantly increased (1.398 ± 0.091 , 1.725 ± 0.124 and 1.571 ± 0.088 at 20, 40 and 80 ng/ml, respectively, $P < 0.05$). **Conclusion:** In visceral hypersensitivity rats, the EGF levels both in plasma and colonic tissue were decreased, but the 5-HT concentrations were increased. Moreover, the expression of SERT protein was positively correlated with EGF levels in colonic tissue. EGF can up-regulate the expression of SERT protein in IEC-6 cells in dose-dependent manner. These suggest that EGF may be involved in the formation of visceral hypersensitivity by affecting SERT expression.

[Key words] visceral hypersensitivity; epidermal growth factor; serotonin transporter

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(04):427-432]

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种以腹痛或腹部不适为主要表现的功能性肠病,其发病机制尚未完全清楚,目前认为主要与内脏高敏感性及胃肠动力异常相关^[1]。多项研究证实内脏高敏感性与高水平的5-羟色胺(5-HT)密切相关,5-HT作用于肠道感觉神经元突触上相应受体,参与肠腔内刺激的感觉传递和内脏痛的介导,进而导致痛觉过敏^[2-4]。研究发现,不论是内脏高敏感的大鼠,还是IBS患者,其结肠组织中5-羟色胺转运体(serotonin transporter, SERT)表达均明显下降,而5-HT水平明显升高^[5-7]。SERT主要表达在神经元突触、肠上皮细胞膜等,对5-HT再摄取及灭活发挥作用,可能是导致内脏高敏形成的重要机制。近期有学者发现表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)可在转录水平调控人肠上皮细胞SERT的表达及5-HT再摄取功能^[8]。本课题旨在通过乳大鼠醋酸灌肠建立慢性结肠高敏感模型,研究5-HT、SERT、EGF在内脏高敏感组大鼠外周血及结肠组织中的表达,并分析EGF水平与SERT蛋白表达之间的关系。体外实验中进一步研究EGF对肠上皮细胞SERT蛋白表达的影响。初步探讨EGF与SERT蛋白表达及内脏高敏感性之间关系。

1 材料和方法

1.1 材料

Sprague-Dawley 雄性新生乳大鼠 20 只,由北京维通利华实验动物中心提供。醋酸(深圳晶美生物工程公司);大鼠 EGF(PeproTech 公司,美国);

5-HT ELISA 检测试剂盒(Millipore 公司,美国);大鼠 EGF ELISA 检测试剂盒(R&D Systems 公司,美国);兔抗 SERT 多克隆抗体(Millipore 公司,美国);鼠抗 GAPDH 多克隆抗体(CMC Scientific 公司,美国);HRP 标记的山羊抗兔、抗鼠 IgG 二抗(Bioworld 公司,美国);蛋白提取试剂盒、BCA 蛋白定量试剂盒, Super ECL 化学发光试剂盒(Thermo Fisher 公司,美国)。其余未作说明的试剂均购自美国 Gibco 公司。

1.2 方法

1.2.1 造模方法

大鼠分为模型组($n = 10$)和对照组($n = 10$),与母鼠共同饲养在昼夜控制间隔 12 h, 安静、恒温 25℃环境中。参照文献^[9-10]方法,采用石蜡油润滑后的硬膜外导管(直径约 1 mm),乳大鼠第 10~21 天予以灌肠刺激,模型组大鼠给予 0.5%醋酸 0.2 ml 经导管插至距肛门 2 cm 处注入,建立结肠高敏感动物模型,对照组给予相同体积的生理盐水,第 21 天起至成年后不给任何刺激,在第 8 周开始实验,实验前 1 d 两组大鼠均禁食,自由饮水,所有实验均在上午 8:00 进行,以此消除生物节律的影响。

1.2.2 大鼠内脏敏感性评估

给予大鼠结肠扩张(colorectal distention, CRD),观察大鼠腹部撤退反射(abdominal withdrawal reflex, AWR)并采用 ML132 生物电放大器记录大鼠腹外斜肌电活动即肌电图(electromyography, EMG)^[9]。大鼠出生后第 8 周行双电极置入术。第 9 周对两组大鼠(内脏高敏感组、对照组)进行内脏敏感性评估,实验前所有大鼠均禁食 12 h,自由饮水,

采用乙醚麻醉后将涂有石蜡油的橡皮球囊插入大鼠结肠内(深度距肛门约为 6~8 cm),将球囊连接血压计,大鼠固定在固定器中,待其清醒后开始实验,向球囊内注入空气,压力分别达到 20、40、60、80 mmHg,每次扩张球囊维持压力持续 20 s,放松 2 min,每个压力下重复 3 次。分别记录:①在不同 CRD 压力刺激下的 AWR 评分,评分标准依据^[9]:0:无行为反应;1:出现短暂头部运动;2:腹壁肌肉轻中度收缩;3:腹壁收缩抬高固定器底面;4:大鼠背部拱起;②不同 CRD 压力刺激下的大鼠腹外斜肌电活动(EMG),低频滤过为 1 kHz,高频滤过为 10 kHz,电压为 1 mV。

1.2.3 肠道炎症评估

取两组大鼠结肠组织各 1 块,甲醛(40 g/L)固定,依次乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,切片厚度为 4 μm ,HE 染色。

1.2.4 酶联免疫吸附试验

ELISA 检测大鼠血清及结肠组织中 EGF 和 5-HT 含量以及髓过氧化物酶(MPO)活性。具体操作步骤严格按照检测试剂盒说明书进行。

1.2.5 不同浓度 EGF 对 IEC-6 细胞 SERT 蛋白表达影响

大鼠肠上皮细胞 IEC-6(CRL-1592,ATCC 公司,美国),培养于含有 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养,隔日换液。EGF 溶解于 ddH₂O。实验前,IEC-6 细胞在无血清培养基中饥饿培养 24 h,随机分为不同浓度 EGF 刺激组(0、20、40、80 ng/ml),刺激 24 h 后收集细胞,采用 Western blot 方法检测 SERT 蛋白表达。

1.2.6 Western blot 检测 SERT 蛋白表达

用蛋白提取试剂盒提取新鲜大鼠结肠组织及 IEC-6 细胞总蛋白,取 30 μg 总蛋白进行 SDS-PAGE 蛋白电泳,蛋白煮沸变性 5 min,采用 10%聚丙烯酰胺凝胶电泳,100 mV 电压下将蛋白转移至 PVDF 膜上,5%脱脂奶粉室温封闭 1 h,SERT (1:500) 及 GAPDH(1:3 000)一抗稀释液中 4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床上封闭过夜,次日 TBST 洗 10 min \times 3 次,抗兔(1:3 000)及抗鼠(1:3 000)二抗 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温摇床中封闭 1 h,TBST 洗 10 min \times 3 次,超敏化学发光液中显影,灰度扫描比较 SERT 蛋白相对表达量。

1.3 统计学方法

采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理,所有数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,方差齐性比较采用通用的 *F* 检验,两组数据采用 *t* 检验,多组数据采用

单因素方差分析(One-way ANOVA),组间比较应用 Bonferroni 法, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳大鼠幼年醋酸灌肠刺激可产生持续内脏高敏感性

乳大鼠第 10~21 天予以灌肠刺激,模型组大鼠($n = 10$)给予 0.5%醋酸 0.2 ml 灌肠,建立结肠高敏感动物模型,对照组($n = 10$)给予相同体积的生理盐水。第 21 天之后对大鼠不作任何处理,成年后通过观察不同 CRD 压力下 AWR 评分及记录 EMG 放电幅值来评估内脏敏感性。不同压力 CRD 刺激下,与对照组相比,模型组大鼠 AWR 评分在 40、60 mmHg 压力下均明显升高(图 1A)。当球囊压力在 0 mmHg 时均可记录到各组大鼠腹外斜肌轻微电活动,两组大鼠基础状态下 EMG 的电活动幅值无明显差异。在给予球囊扩张刺激下,与对照组相比,结肠高敏组大鼠(模型组)在 40、60、80 mmHg 压力下的 EMG 电活动均明显升高(图 1B)。提示通过幼年短时间醋酸灌肠刺激乳大鼠,至成年后大鼠表现出持续的内脏高敏感性。

2.2 HE 染色及结肠组织 MPO 活性评估两组大鼠结肠炎症

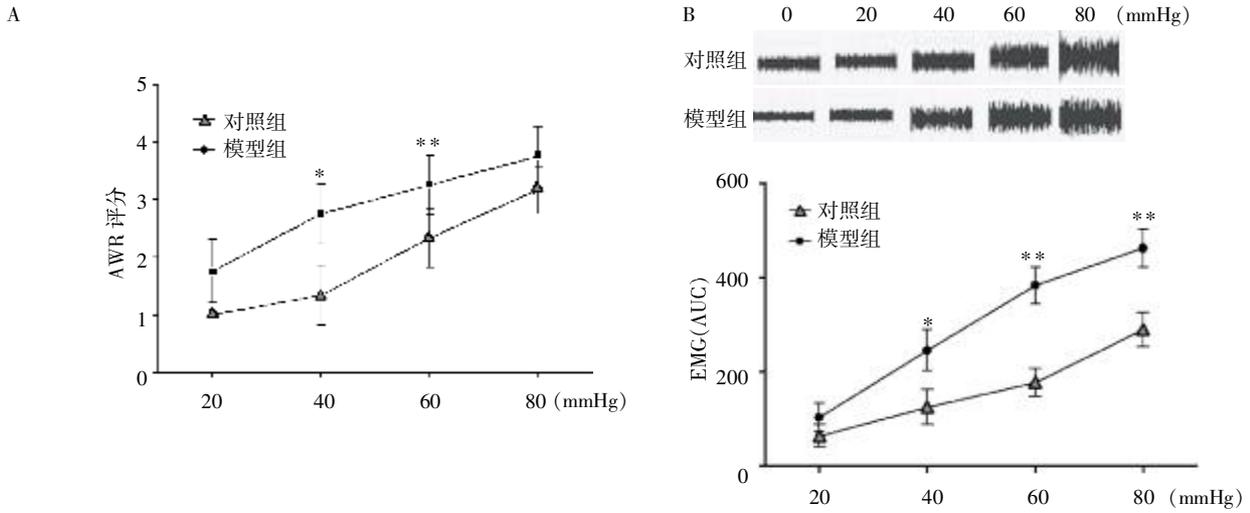
结肠组织学检测发现两组大鼠结肠均无明显形态学异常,即无明显的结肠炎症表现(图 2)。通过 ELISA 法检测两组大鼠结肠组织 MPO 活性,差异无统计学意义(表 1)。幼年乳大鼠采用 0.5%醋酸灌肠,成年后内脏敏感性明显高于对照组,同时并无结肠炎症改变,提示醋酸灌肠乳大鼠成年后在结肠组织并无炎症改变情况下,出现持续性内脏高敏感性。

2.3 模型组大鼠血清及结肠组织中 5-HT 水平

采用 ELISA 法检测模型组及对照组大鼠血清及结肠组织中 5-HT 表达,结果发现,模型组大鼠血清中 5-HT 水平明显高于对照组 [(6.125 \pm 0.534) ng/ml vs (3.540 \pm 0.442) ng/ml, $P < 0.05$, 图 3A],同时其结肠组织中 5-HT 也明显升高,差异有统计学意义 [(5.527 \pm 0.514) ng/100 mg vs (2.650 \pm 0.495) ng/100 mg, $P < 0.05$, 图 3B]。

2.4 模型组大鼠结肠组织中 SERT 蛋白表达

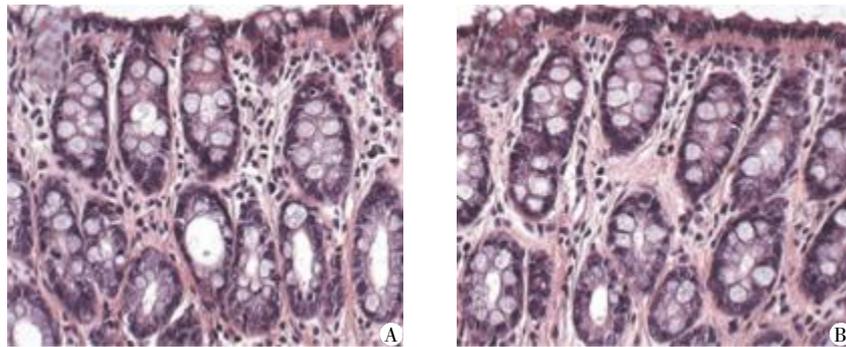
Western blot 检测模型组及对照组大鼠结肠组织中 SERT 蛋白的表达,以 GAPDH 为内参,计算 SERT 蛋白的相对表达量,结果发现,与对照组相比,模型组大鼠结肠组织中 SERT 蛋白表达明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$, 图 4)。



与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 1 两组大鼠内脏敏感性的比较

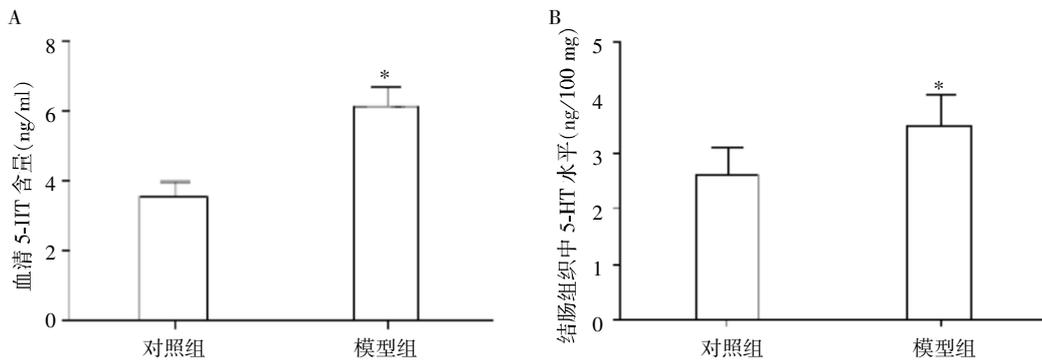
Figure 1 The comparison of visceral sensitivity in rats between two groups



A: 模型组大鼠结肠; B: 对照组大鼠结肠(两组大鼠结肠均无炎症改变)。

图 2 两组大鼠结肠组织 HE 染色观察炎症情况($\times 400$)

Figure 2 The comparison of inflammation in colonic tissues by H&E-staining between two groups($\times 400$)



A: 两组大鼠血清中 5-HT 含量; B: 两组大鼠结肠组织中 5-HT 含量。与对照组相比, * $P < 0.05$ 。

图 3 两组大鼠血清及结肠组织中 5-HT 表达情况

Figure 3 Expression of 5-HT in plasma and colon of rats in two groups

2.5 模型组大鼠血清及结肠组织中 EGF 水平

ELISA 检测结果发现,与对照组相比,模型组大鼠血清 EGF 表达明显下降 [(2.639 ± 0.107)ng/ml vs (4.066 ± 0.573)ng/ml, $P < 0.05$, 图 5A],且结肠中 EGF 表达也明显减低[(3.244 ± 0.135)ng/100 mg vs

(3.582 ± 0.197)ng/100 mg, $P < 0.05$, 图 5B]。

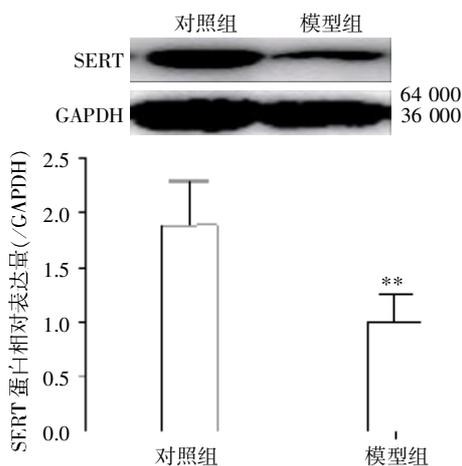
2.6 内脏敏感大鼠结肠组织中 EGF 水平与 SERT 表达相关性分析

与对照组相比, SERT 蛋白表达在内脏敏感模型组大鼠结肠组织中明显减低,而 EGF 在内脏敏感

表 1 模型组及对照组大鼠结肠组织中 MPO 活性比较
Table 1 The comparison of MPO activity in colonic tissues of rats between two groups

组别	MPO	P 值
对照组	110.3 ± 4.7	
模型组	113.8 ± 3.1	0.074

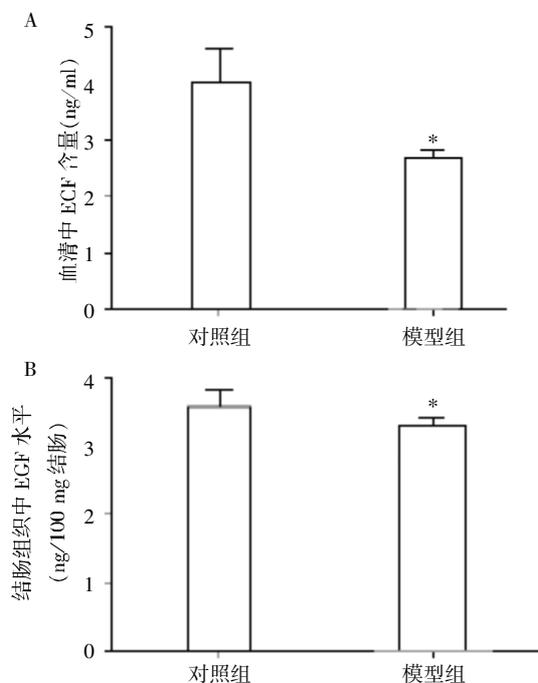
(U/L, $\bar{x} \pm s, n=10$)



与对照组相比, ** $P < 0.01$ 。

图 4 两组大鼠结肠组织 SERT 蛋白表达的改变

Figure 4 The changed expressions of SERT in colonic tissues of rats in two groups



与对照组相比, * $P < 0.05$ 。

图 5 两组大鼠血清(A)及结肠组织(B)中 EGF 表达情况

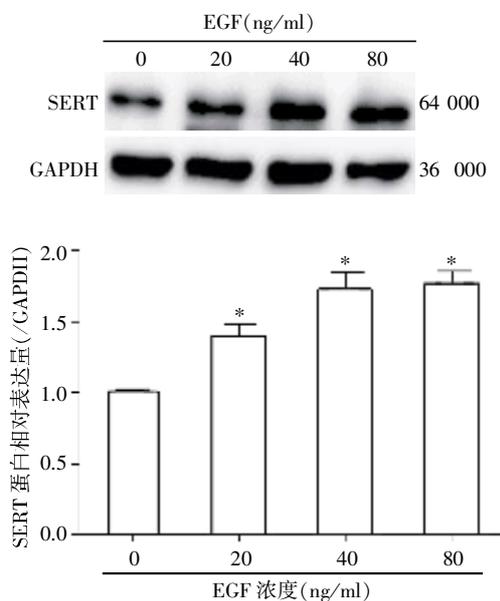
Figure 5 The concentrations of EGF in plasma (A) and colon (B) of rats in two groups

模型组大鼠外周血及结肠组织中的水平也明显降低,采用 Pearson's 相关分析法进一步分析大鼠结肠

组织中 SERT 蛋白表达与 EGF 水平间关系,结果发现内脏敏感模型大鼠结肠组织中 EGF 水平与 SERT 蛋白表达存在显著正相关($r=0.820, P < 0.001$)。

2.7 EGF 对肠上皮细胞 SERT 蛋白表达的影响

IEC-6 细胞给予不同浓度的 EGF (0、20、40、80 ng/ml) 刺激后,采用 Western blot 法检测 SERT 蛋白表达,结果发现 IEC-6 细胞经不同浓度 EGF 刺激后,SERT 蛋白表达呈浓度依赖性增加,SERT 相对表达量分别为 1.398 ± 0.091 、 1.725 ± 0.124 、 1.571 ± 0.088 (EGF 浓度为 20、40、80 ng/ml),与 0 ng/ml 组 (1.011 ± 0.012) 相比,差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 6)。



与对照组相比, * $P < 0.05$ 。

图 6 不同浓度 EGF 对 IEC-6 细胞 SERT 蛋白表达的影响

Figure 6 The effect of different EGF concentrations on SERT protein levels in rat intestinal epithelial (IEC-6) cells

3 讨论

目前 IBS 发病机制不明,多数学者普遍认为 IBS 发病的主要病理生理机制系胃肠动力异常^[11]及内脏高敏感性,其中以内脏高敏感性尤为重要^[12]。醋酸灌肠刺激新生乳大鼠建立慢性内脏高敏感动物模型,为幼年伤害性刺激下形成外周致敏,可模拟 IBS 的内脏高敏感性形成^[9]。本研究中,采用 0.5% 醋酸灌肠刺激新生乳大鼠,待大鼠成年后进行内脏敏感性评估,结果提示醋酸灌肠组大鼠在不同压力 CRD 刺激下的 AWR 评分及 EMG 放电活动均明显高于对照组,且 HE 染色进行肠道炎症评估显示模型组

和对照组大鼠结肠组织中均未见明显炎症改变,提示内脏高敏感性大鼠模型建立。本研究建立的内脏高敏感性大鼠模型与既往研究一致^[13],可用于慢性内脏高敏感相关形成机制的研究。

5-HT 是一种重要的神经递质,可与表达于胃肠道黏膜及黏膜下层神经元上相应的受体结合,发挥调节动力、感觉及分泌功能,5-HT 持续高水平或其受体敏化均是慢性内脏高敏感的重要机制^[14-15]。5-HT 水平主要与其合成和降解过程密切相关,其中 SERT 是一种调节 5-HT 含量的重要转运体,主要表达于肠上皮细胞、神经元突触和血小板等,其主要作用是将外周循环中及肠道局部的 5-HT 再摄取入细胞内进行降解,SERT 表达下降可直接导致 5-HT 持续高水平,进而导致内脏高敏感。目前研究发现 IBS 患者结肠组织中的 SERT 表达量明显下降,而 5-HT 水平明显增高,提示 SERT 可能通过影响 5-HT 从而参与慢性内脏高敏感形成^[5]。本研究显示慢性内脏高敏感大鼠结肠组织中 SERT 表达量明显下降,而 5-HT 水平明显升高,提示 SERT 可能通过提高 5-HT 水平参与了内脏高敏感形成。

EGF 广泛分布于胃肠道,主要作用有:①促进肠上皮细胞增殖,减少机械屏障的损害;②降低肠黏膜通透性,促进肠黏膜屏障损伤后修复。有研究证实,EGF 可在转录水平直接影响肠上皮细胞上 SERT 蛋白的表达及再摄取 5-HT 功能,可能成为 IBS 及炎性肠病 (IBD) 等多种肠道疾病新的治疗方向^[8]。本研究发现内脏高敏感型大鼠外周血清及结肠组织 EGF 水平明显下降。进一步我们将大鼠结肠组织中 SERT 蛋白表达量与结肠组织 EGF 含量进行相关性分析,发现两者之间存在明显的正相关关系。

综合以上,结合以往研究结果^[8],推测在慢性内脏高敏感大鼠模型中,模型组大鼠外周血清及结肠组织 EGF 含量下降,而 EGF 可能通过减低结肠组织中 SERT 蛋白表达,进而通过增加 5-HT 水平,参与内脏高敏感形成和发展。关于 EGF 在内脏高敏感形成中的作用及具体作用机制有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Camilleri M, Coulie B, Tack JF. Visceral hypersensitivity: facts, speculations, and challenges [J]. *Gut*, 2001, 48 (1): 125-131
- [2] Gershon MD. Review article: roles played by 5-hydroxytryptamine in the physiology of the bowel [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 1999, 13 (Suppl 2): 15-30

- [3] Camilleri M. Serotonergic modulation of visceral sensation: lower gut [J]. *Gut*, 2002, 51 (Suppl 1): i81-86
- [4] Tack J, Sarnelli G. Serotonergic modulation of visceral sensation: upper gastrointestinal tract [J]. *Gut*, 2002, 51 (Suppl 1): i77-80
- [5] Coates MD, Mahoney CR, Linden DR, et al. Molecular defects in mucosal serotonin content and decreased serotonin reuptake transporter in ulcerative colitis and irritable bowel syndrome [J]. *Gastroenterology*, 2004, 126 (7): 1657-1664
- [6] Dunlop SP, Coleman NS, Blackshaw E, et al. Abnormalities of 5-hydroxytryptamine metabolism in irritable bowel syndrome [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2005, 3 (4): 349-357
- [7] Chen JJ, Li Z, Pan H, et al. Maintenance of serotonin in the intestinal mucosa and ganglia of mice that lack the high-affinity serotonin transporter: Abnormal intestinal motility and the expression of cation transporters [J]. *J Neurosci*, 2001, 21 (16): 6348-6361
- [8] Gill RK, Anbazhagan AN, Esmaili A, et al. Epidermal growth factor upregulates serotonin transporter in human intestinal epithelial cells via transcriptional mechanisms [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2011, 300 (4): G627-636
- [9] Winston J, Shenoy M, Medley D, et al. The vanilloid receptor initiates and maintains colonic hypersensitivity induced by neonatal colon irritation in rats [J]. *Gastroenterology*, 2007, 132 (2): 615-627
- [10] Xu GY, Shenoy M, Winston JH, et al. P2X receptor-mediated visceral hyperalgesia in a rat model of chronic visceral hypersensitivity [J]. *Gut*, 2008, 57 (9): 1230-1237
- [11] Tian XY, Bian ZX, Hu XG, et al. Electro-acupuncture attenuates stress-induced defecation in rats with chronic visceral hypersensitivity via serotonergic pathway [J]. *Brain Res*, 2006, 1088 (1): 101-108
- [12] Bueno L, Fioramonti J. Visceral perception: in ammatory and non-in ammatory mediators [J]. *Gut*, 2002, 51 (Suppl 1): i19-23
- [13] 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
- [14] Gershon MD, Tack J. The serotonin signaling system: from basic understanding to drug development for functional GI disorders [J]. *Gastroenterology*, 2007, 132 (1): 397-414
- [15] 孙程程, 迟雁, 王化虹, 等. 内脏高敏感大鼠结肠 5-羟色胺转运体蛋白的表达 [J]. *世界华人消化杂志*, 2010, 18 (14): 1428-1433

[收稿日期] 2013-12-15