

肉苁蓉多糖对便秘型肠易激综合征大鼠的影响^Δ

刘延忠^{1*}, 贾新梅^{2#}, 郭洪章³, 王雪莲⁴, 刘东升⁵(1. 甘肃省药品监督管理局信息中心统计咨询科, 兰州 730070; 2. 武威市中医医院药剂科, 甘肃武威 733000; 3. 甘肃省中医院消化内科, 兰州 730050; 4. 甘肃省药品监督管理局审核查验中心药品检查科, 兰州 730070; 5. 甘肃省药品检验研究院中成药检验研究室, 兰州 730070)

中图分类号 R965;R574 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2023)18-2208-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2023.18.07



摘要 目的 探讨肉苁蓉多糖(简称CDPS)对便秘型肠易激综合征(IBS-C)大鼠的影响。方法 将SD大鼠分为对照组(20只)和造模组。造模组大鼠灌胃0~4℃生理盐水2 mL(每天1次,连续14 d)诱导IBS-C模型。将造模成功的大鼠分为模型组、阳性对照组(枸橼酸莫沙必利, 1.35 mg/kg)和CDPS低、高剂量组(50、100 mg/kg), 每组20只。各药物组大鼠灌胃相应药液, 对照组和模型组大鼠灌胃等体积水, 每次1次, 持续28 d。检测各组大鼠的粪便含水量、血清5-羟色胺(5-HT)含量、炭末推进率, 观察其结肠组织病理形态并检测结肠组织中神经生长因子(NGF)、原肌球蛋白受体激酶A(TrkA)mRNA及蛋白的表达。结果 与对照组比较, 模型组大鼠的粪便含水量和炭末推进率均显著降低($P<0.05$), 结肠组织黏膜肌层断裂, 炎症细胞浸润和细胞水肿明显, 血清5-HT含量和结肠组织中NGF、TrkA mRNA及蛋白的相对表达量均显著升高($P<0.05$)。与模型组比较, 各药物组大鼠的粪便含水量和炭末推进率均显著升高($P<0.05$), 结肠组织病理改变明显减轻, 血清5-HT含量和结肠组织中NGF、TrkA mRNA及蛋白的相对表达量均显著降低($P<0.05$), 其中, 阳性对照组和CDPS高剂量组的上述指标普遍接近于对照组($P>0.05$)。结论 CDPS可缓解IBS-C大鼠的症状, 该作用可能与NGF/TrkA信号通路被抑制有关。

关键词 肉苁蓉多糖;便秘型肠易激综合征;神经生长因子/原肌球蛋白受体激酶A信号通路;结肠组织

Effects of Cistanches Herba polysaccharides on rats with constipation-predominant irritable bowel syndrome

LIU Yanzhong¹, JIA Xinmei², GUO Hongzhang³, WANG Xuelian⁴, LIU Dongsheng⁵ (1. Statistics Advisory Department, Information Center, Gansu Medical Products Administration, Lanzhou 730070, China; 2. Dept. of Pharmacy, Wuwei Hospital of Traditional Chinese Medicine, Gansu Wuwei 733000, China; 3. Dept. of Gastroenterology, Gansu Provincial Hospital of TCM, Lanzhou 730050, China; 4. Drug Inspection Department, Audit and Inspection Center, Gansu Medical Products Administration, Lanzhou 730070, China; 5. Laboratory of Chinese Patent Medicine, Gansu Institute for Drug Control, Lanzhou 730070, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the effects of Cistanches Herba polysaccharides (abbreviated as CDPS) on rats with constipation-predominant irritable bowel syndrome (IBS-C). **METHODS** SD rats were divided into control group (20 rats) and modeling group. The modeling group was given 2 mL of normal saline at 0-4 °C intragastrically (once a day, for 14 consecutive days) to induce IBS-C model. After modeling, model rats were grouped into model group, positive control group (mosapride citrate, 1.35 mg/kg), CDPS low-dose group (50 mg/kg) and CDPS high-dose group (100 mg/kg), with 20 rats in each group. Administration groups were given corresponding drug solution intragastrically, and control group and model group were given a constant volume of water intragastrically, once a day, for 28 consecutive days. The fecal water content, serum content of 5-hydroxytryptamine (5-HT), and charcoal powder propulsion rate of rats were determined in each group; the pathological morphology of colon tissue was observed, and mRNA and protein expressions of nerve growth factor (NGF) and tropomyosin receptor kinase A (TrkA) in colon tissue were detected. **RESULTS** Compared with control group, the fecal water content and carbon powder propulsion rate in the model group were decreased significantly ($P<0.05$); the rupture of mucosal muscle layer in colon tissue, significant infiltration of inflammatory cells and cellular edema were observed; the content of 5-HT in serum, and relative mRNA and protein expressions of NGF and TrkA were increased significantly ($P<0.05$). Compared with model group, the fecal water content and carbon powder propulsion rate of rats were increased significantly in administration groups ($P<0.05$), and pathological changes of colon tissue were relieved significantly, while the content of 5-HT in serum, the mRNA and protein expressions of NGF and TrkA in colon tissue were decreased significantly ($P<0.05$); among them, the above indicators in the positive control group and CDPS high-dose group were generally close to those in the control group ($P>0.05$).

Δ 基金项目 甘肃省药品监督管理局药品科研项目(No. 2022GSMPA0027)

* 第一作者 副主任医师。研究方向:内科中医药治疗。电话: 0931-7678136。E-mail: liuu51@yeah.net

通信作者 副主任中药师。研究方向:临床药学。电话: 0935-6397097。E-mail: 1219240476@qq.com

CONCLUSIONS CDPS can alleviate the symptoms of IBS-C rats, which may be related to the inhibition of NGF/TrkA signaling pathway.

KEYWORDS Cistanches Herba polysaccharides; constipation-predominant irritable bowel syndrome; nerve growth factor/tropomyosin receptor kinase A signaling pathway; colon tissue

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种慢性功能性胃肠道疾病,主要分为4种类型:腹泻型IBS、便秘型IBS(constipation-predominant irritable bowel syndrome, IBS-C)、混合型IBS和未分类IBS^[1]。其中,IBS-C约占IBS的三分之一,以腹痛、排便不尽、排便习惯改变等为主要表现,虽不造成任何器质性病变和生化指标异常,但会严重影响患者(尤其是功能性肠道疾病患者)的生活质量和工作效率^[2]。研究指出,与西药治疗相比,中药治疗能更好地缓解IBS患者的相关症状,同时可使其复发率更低^[3]。可见,有必要不断探索可有效治疗IBS-C的中药。

有“沙漠人参”之称的中药肉苁蓉来源于列当科植物肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 或管花肉苁蓉 *Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight 的干燥带鳞叶的肉质茎,具有温肾通便、调节内分泌、保护神经等药理作用;其活性成分之一的肉苁蓉多糖(以下简称“CDPS”)可调节肠道菌群结构和组成,促进益生菌生长,对维持肠道健康具有重要作用^[4]。研究表明,CDPS可通过恢复肠道微生物群失调来缓解衰老小鼠的认知能力下降^[5],但其对IBS-C的具体作用尚不明确。

神经生长因子(nerve growth factor, NGF)是一种原型神经营养因子,具有维持和诱导外周神经细胞分化的能力,可作用于中枢神经系统、免疫系统和内分泌系统;原肌球蛋白受体激酶A(tropomyosin receptor kinase A, TrkA)是受体酪氨酸激酶家族的关键成员,也是NGF的同源受体^[6]。研究发现,NGF介导的TrkA信号转导与炎症相关的内脏痛觉过敏的发展有关,且NGF、TrkA在IBS患者结肠黏膜组织中的表达均明显上调,故抑制NGF可能是治疗该症的重要策略^[7];另一项基于脊髓损伤白化大鼠的研究发现,肉苁蓉提取物中的低聚糖能通过激活NGF前体来发挥抗炎、抗氧化应激、抗凋亡作用^[8]。由此可见,肉苁蓉的糖类提取物(如CDPS)可能对NGF介导的信号通路具有一定的调控作用。为验证这一假设,本研究拟基于NGF/TrkA信号通路探讨CDPS对IBS-C大鼠的影响,以期探索更多有效治疗IBS-C的方案提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括SpectraMax iD5型多功能微孔酶标仪[美谷分子仪器(上海)有限公司],E100型光学显微镜(日本Nikon公司),CFX96 Touch型荧光定量聚合酶链反应(PCR)仪、ChemiDoc MP型全能成像系统[伯乐生命医学产品(上海)有限公司]等。

1.2 主要药品与试剂

CDPS[货号BJ-1962,规格200 mg(每克相当于生药12.61 g)]购自北京凯诗源生物科技有限公司;枸橼酸莫沙必利片[阳性对照,批号20220824,规格5 mg(按 $C_{21}H_{25}ClFN_3O_3 \cdot C_6H_5O_7$ 计算)]购自江苏豪森药业集团有限公司;苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色试剂盒(货号E-IR-R117)购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;RNA提取试剂(Trizol法)、两步法实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)试剂盒(货号分别为R401-01、R232-01)均购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司;兔源NGF、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)多克隆抗体和兔源TrkA单克隆抗体(货号分别为ab6199、ab9485、ab302524)均购自英国Abcam公司;辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG二抗(货号FNab09778)购自武汉菲恩生物科技有限公司;5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(货号EK-H12226)购自上海酶研生物科技有限公司。

1.3 实验动物

SPF级雄性SD大鼠,6周龄,体重(200±20)g,购自中国农业科学院兰州兽医研究所,动物生产许可证号为SYXK(甘)2020-0002。所有大鼠均在26℃、60%相对湿度环境下饲养,并自由摄食、饮水。本实验方案经武威市中医医院医学伦理委员会审核批准,批号为2022伦审0003号。

2 方法

2.1 大鼠模型的建立与分组

所有大鼠适应性饲养1周后,将其分为对照组(20只)和造模组(90只)。对照组大鼠正常饲养;造模组大鼠参照文献方法^[9],每天上午8:00灌胃0~4℃生理盐水2 mL,连续14 d,以建立IBS-C大鼠模型。末次灌胃结束后,所有大鼠禁食禁水4 h,记录这4 h内各组大鼠的粪便颗粒数,并根据Bristol粪便性状分型量表^[10]进行评分,若粪便颗粒数、Bristol评分均显著低于对照组则表明造模成功。由于造模期间,造模组大鼠有2只死亡,5只的粪便颗粒数、Bristol评分与对照组比较差异均无统计学意义($P>0.05$),故本研究随机选择造模成功的80只大鼠,分为模型组、阳性对照组、CDPS低剂量组、CDPS高剂量组,每组20只。阳性对照组大鼠灌胃枸橼酸莫沙必利混悬液1.35 mg/kg(以水为溶剂)^[11],CDPS低、高剂量组大鼠分别灌胃CDPS混悬液50、100 mg/kg(以水为溶剂)^[9],对照组和模型组大鼠均灌胃等体积水,每天1次,持续28 d。

2.2 大鼠粪便含水量检测

给药期间,每天清理大鼠粪便;末次给药结束后,将大鼠放入代谢笼中,收集其排泄的新鲜粪便并置于无菌管中称重(即新鲜粪便质量);随后,将粪便干燥24 h(80 °C),再次称重(即干燥粪便质量)并按下式计算粪便的含水量:含水量=(新鲜粪便质量-干燥粪便质量)/新鲜粪便质量×100%。

2.3 大鼠血清中5-HT含量检测

采用ELISA法进行检测。粪便含水量检测结束后,将大鼠用1%戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉,于腹主动脉采血2 mL,离心后分离上层血清,置于-20 °C保存,备用。取各组大鼠上述血清样品,采用ELISA法以酶标仪检测其5-HT含量。严格按照相应试剂盒说明书操作。

2.4 大鼠肠道炭末推进率检测

采用炭末推进法进行检测。采血后,从每组大鼠中随机选取5只,禁食不禁水24 h后,灌胃5%活性炭和4%阿拉伯胶混悬液(二者体积比1:2)10 mL/kg;30 min后,用1%戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉,以颈椎脱位法处死,打开腹腔取出完整的肠道组织,平放在吸水纸上,测量肠管长度(即小肠全长)和幽门至炭末前沿的距离并按下式计算炭末推进率:炭末推进率=幽门至炭末前沿的距离/小肠全长×100%。

2.5 大鼠结肠组织病理形态观察

采用HE染色法进行观察。将各组剩余大鼠用1%戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉后,以颈椎脱位法处死,取出其结肠组织于-80 °C冻存。从每组样品中随机选取5只小鼠的组织样品,放入4%多聚甲醛中固定过夜,随后行常规石蜡包埋、切片;切片以HE染色后,再以梯度乙醇脱水、二甲苯透明,以中性树脂封片后,使用显微镜观察各组大鼠结肠组织的病理形态。

2.6 大鼠结肠组织中NGF、TrkA mRNA表达检测

采用qRT-PCR法进行检测。从“2.5”项下冻存的每组样品中随机选取另5只小鼠的结肠组织样品,利用Trizol法提取RNA,再利用反转录试剂将其反转录为cDNA;以cDNA为模板进行PCR扩增,反应体系包括:2×SYBR qPCR Master Mix 10 μL,上、下游引物(具体序列及产物长度见表1)各0.4 μL,cDNA模板1 μL,加ddH₂O至20 μL。反应程序包括:95 °C预变性2 min;95 °C变性10 s,60 °C退火30 s,共40个循环。以GAPDH为内参,采用2^{-ΔΔCt}法计算大鼠结肠组织中NGF、TrkA mRNA的相对表达量。

表1 qRT-PCR引物及产物长度

目的基因	序列(5'→3')	产物长度/bp
NGF	上游:GGCATTGACTCCAAGCAC	89
	下游:GTATCTATCCTGATGAACCTCC	
TrkA	上游:TGGCAGCGTGAGCCGAACA	124
	下游:GCCAGAACGTCCAGGTAA	
GAPDH	上游:ACAGCAACAGGGTGGTGGAC	95
	下游:TTTGAGGGTGCAGCGAAGCTT	

2.7 大鼠结肠组织中NGF、TrkA蛋白表达检测

采用Western blot法进行检测。从“2.5”项下冻存的每组样品中选取剩余5只小鼠的结肠组织样品,放入匀浆器中,加入蛋白裂解液匀浆并提取总蛋白,以BCA测定法进行蛋白定量后再作变性处理。取变性蛋白适量,以10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后,转移至聚偏二氟乙烯膜上,然后以5%脱脂奶粉于4 °C下封闭过夜;加入NGF、TrkA、GAPDH一抗(稀释比例分别为1:1 000、1:1 000、1:2 500),室温孵育2 h;加入相应二抗(稀释比例为1:1 000),室温孵育2 h;再以ECL试剂避光显色后,于全能成像系统下成像。以GAPDH为内参,使用Image J软件分析目的蛋白的相对表达量。

2.8 统计学方法

利用GraphPad Prism 9.0软件对数据进行统计分析。计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用SNK-*q*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 CDPS对大鼠粪便含水量的影响

与对照组比较,模型组大鼠的粪便含水量显著降低($P<0.05$);与模型组比较,各药物组大鼠的粪便含水量均显著升高($P<0.05$),且阳性对照组和CDPS高剂量组上述指标与对照组比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。结果见表2。

表2 各组大鼠的粪便含水量、血清5-HT含量和炭末推进率比较($\bar{x} \pm s$)

组别	粪便含水量(n=20)/%	5-HT(n=20)/(ng/mL)	炭末推进率(n=5)/%
对照组	60.54±3.11	40.28±2.76	74.65±3.41
模型组	38.42±2.15 ^a	63.41±4.12 ^a	51.34±2.38 ^a
阳性对照组	58.83±2.64 ^b	43.16±3.24 ^b	72.46±3.23 ^b
CDPS低剂量组	47.16±2.38 ^{ab}	55.62±3.41 ^{ab}	63.20±2.81 ^{ab}
CDPS高剂量组	59.21±2.93 ^b	42.83±3.32 ^b	73.79±3.26 ^b

a:与对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

3.2 CDPS对大鼠血清中5-HT含量的影响

与对照组比较,模型组大鼠血清中5-HT含量显著升高($P<0.05$);与模型组比较,各药物组大鼠血清中5-HT含量均显著降低($P<0.05$),且阳性对照组和CDPS高剂量组上述指标与对照组比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。结果见表2。

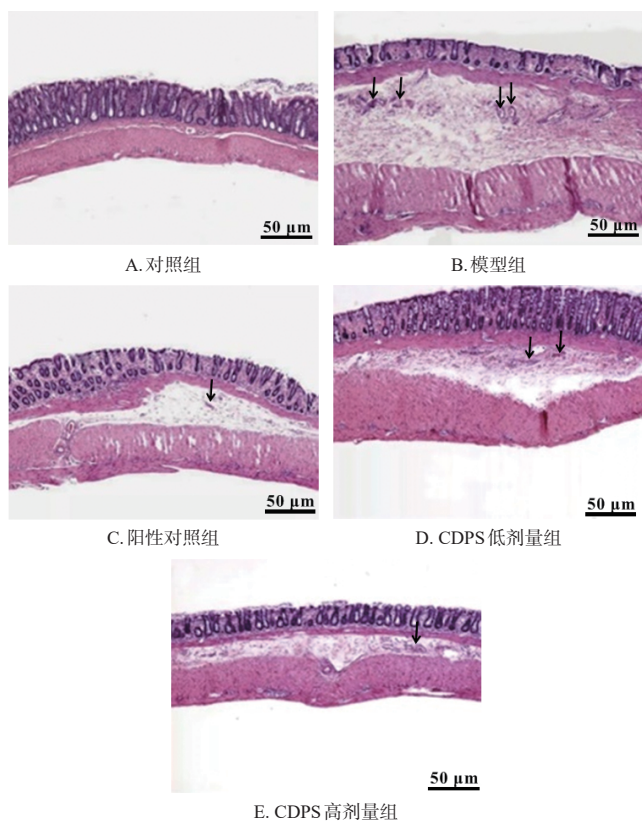
3.3 CDPS对大鼠炭末推进率的影响

与对照组比较,模型组大鼠的炭末推进率显著降低($P<0.05$);与模型组比较,各药物组大鼠的炭末推进率均显著升高($P<0.05$),且阳性对照组和CDPS高剂量组上述指标与对照组比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。结果见表2。

3.4 CDPS对大鼠结肠组织病理形态的影响

对照组大鼠的结肠组织结构完整,黏膜层腺体排列整齐,无明显炎症细胞浸润;与对照组比较,模型组大鼠的结肠组织黏膜肌层出现断裂,腺体紊乱,炎症细胞浸润和细胞水肿明显;与模型组比较,阳性对照组和CDPS低、高剂量组大鼠的结肠组织形态逐渐恢复,黏膜层腺

体排列较规则,炎症细胞浸润和细胞水肿明显减轻,其中阳性对照组、CDPS高剂量组的形态与对照组较为接近。结果见图1。



→:炎症细胞浸润。

图1 各组大鼠结肠组织病理形态的显微镜

3.5 CDPS对大鼠结肠组织中NGF、TrkA mRNA水平的影响

与对照组比较,模型组大鼠结肠组织中NGF、TrkA mRNA的相对表达量均显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,各药物组大鼠结肠组织中NGF、TrkA mRNA的相对表达量均显著降低($P < 0.05$),且阳性对照组和CDPS高剂量组上述指标与对照组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结果见表3。

表3 各组大鼠结肠组织中NGF、TrkA mRNA及蛋白的相对表达量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	mRNA (n=5)		蛋白 (n=5)	
	NGF	TrkA	NGF	TrkA
对照组	0.59 ± 0.04	0.48 ± 0.03	0.79 ± 0.05	0.67 ± 0.04
模型组	1.03 ± 0.08 ^a	0.99 ± 0.07 ^a	1.45 ± 0.09 ^a	1.38 ± 0.08 ^a
阳性对照组	0.63 ± 0.04 ^b	0.52 ± 0.04 ^b	0.84 ± 0.07 ^b	0.71 ± 0.06 ^b
CDPS低剂量组	0.85 ± 0.06 ^b	0.74 ± 0.05 ^b	1.16 ± 0.08 ^b	1.08 ± 0.07 ^b
CDPS高剂量组	0.62 ± 0.05 ^b	0.51 ± 0.03 ^b	0.83 ± 0.06 ^b	0.69 ± 0.05 ^b

a:与对照组比较, $P < 0.05$;b:与模型组比较, $P < 0.05$ 。

3.6 CDPS对大鼠结肠组织中NGF、TrkA蛋白表达的影响

与对照组比较,模型组大鼠结肠组织中NGF、TrkA蛋白的相对表达量均升高($P < 0.05$);与模型组比较,各药物组大鼠结肠组织中NGF、TrkA蛋白的相对表达量

均显著降低($P < 0.05$),且阳性对照组和CDPS高剂量组上述指标与对照组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结果见表3、图2。

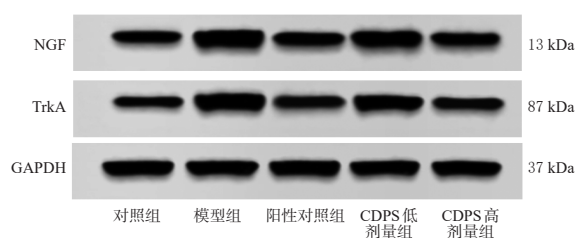


图2 各组大鼠结肠组织中NGF、TrkA蛋白表达的电泳图

4 讨论

IBS是一种常见的胃肠道疾病,其特征以腹部不适、腹痛反复发作并伴排便习惯改变为主,严重降低了患者的生活质量^[12]。学界普遍认为,IBS-C的发病机制与自主神经系统功能障碍、内脏高敏感性、肠道细菌过度生长和肠道炎症等有关,然而能有效改善IBS-C患者症状的上市治疗方案很少^[13]。IBS-C属中医“便秘”范畴,病因为脾虚气弱、肝郁不畅、郁而化火,从而致大肠传导功能异常^[14]。肉苁蓉是一种可增强机体肠道蠕动、提升免疫力、抗衰老、抗氧化的功能性药用植物。CDPS作为其主要活性成分,不仅具有调节免疫、抗氧化和抗炎等多种生物活性,而且在改善老年人便秘方面也有较大潜力^[15],但该组分对IBS-C的作用尚不明确。枸橼酸莫沙必利是消化道促动力剂,常用于改善功能性消化不良、慢性胃炎伴烧心、嗝气、恶心、呕吐、早饱、上腹胀、上腹痛等消化道症状^[16]。基于此,本研究建立了IBS-C大鼠模型,并以枸橼酸莫沙必利为阳性对照,结果显示,模型组大鼠的粪便含水量和炭末推进率均较对照组显著降低,结肠组织黏膜肌层出现断裂,腺体紊乱,炎症细胞浸润和细胞水肿明显;而各药物组大鼠的粪便含水量和炭末推进率均较模型组显著升高,结肠组织损伤有所减轻,上述指标(CDPS低剂量组除外)与对照组相当,组织形态(CDPS低剂量组除外)逐渐接近于对照组。这提示CDPS可软化IBS-C模型大鼠的粪便,促进粪便排出,从而缓解结肠组织的病理改变,高剂量CDPS的作用与阳性对照药物相当。

内脏超敏反应是IBS的重要病理生理变化之一,与腹痛有关,可涉及神经系统的多个层次,如包括NGF在内的多种神经内分泌介质^[17]。NGF是神经营养因子家族的重要成员,参与了内脏超敏反应过程,可导致内脏疼痛阈值降低^[18]。研究显示,NGF可诱导肠道干细胞增生,并驱动其扩增、分化为分泌细胞,从而促进神经递质5-HT高表达,最终导致内脏痛觉敏感和胃肠道运动加剧^[18]。TrkA是NGF的高亲和力受体,两者结合后可调节下游信号通路(如促分裂原活化的蛋白激酶/胞外信号调节激酶通路、磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B通路等),从而促进神经递质的释放、突触受体的表达和神经可塑

性的改变^[19]。研究显示,通泻安肠汤可通过抑制 NGF/TrkA 信号通路来减轻腹泻型 IBS 大鼠的内脏高敏感性^[17]。本研究结果显示,模型组大鼠血清中 5-HT 含量和结肠组织中 NGF、TrkA mRNA 及蛋白的相对表达量均显著高于对照组,而各药物组大鼠血清中 5-HT 含量和结肠组织中 NGF、TrkA mRNA 及蛋白的相对表达量均显著低于模型组,且阳性对照组和 CDPS 高剂量组上述指标与对照组比较差异均无统计学意义。这提示 CDPS 可抑制 NGF/TrkA 信号通路的激活,减少 5-HT 的产生,减轻 IBS-C 大鼠的内脏高敏感性和胃肠道运动,从而抑制 IBS-C 的发展。

综上所述,CDPS 能够缓解 IBS-C 大鼠的症状,其作用可能与 NGF/TrkA 信号通路被抑制有关。本研究初步证实了 CDPS 对 IBS-C 具有潜在的治疗作用,并提供了相关理论依据。然而有研究发现,CDPS 能够通过激活 Wnt/ β -联蛋白信号通路来预防骨质疏松,同时该通路的激活增加了 NGF 的分泌^[20-21]。但关于这两种信号途径在 IBS-C 发生发展中的级联反应还有待深入探索。

参考文献

[1] MOUREY F, DECHERF A, JEANNE J F, et al. *Saccharomyces cerevisiae* I-3856 in irritable bowel syndrome with predominant constipation[J]. World J Gastroenterol, 2022, 28(22):2509-2522.

[2] JAFARI S, SAJEDI B, JAMESHORANI M, et al. Comparison of fluoxetine and duloxetine hydrochloride therapeutic effects on patients with constipation-predominant irritable bowel syndrome[J]. Gastroenterol Hepatol Bed Bench, 2022, 15(1):45-52.

[3] YAO C J, LI Y L, PU M J, et al. Traditional Chinese medicine for irritable bowel syndrome: a protocol for meta-analysis[J]. Medicine(Baltimore), 2020, 99(48):e23394.

[4] LI Y L, ZHANG Y L, SU X M, et al. Effects of two kinds of extracts of *Cistanche deserticola* on intestinal microbiota and its metabolism[J]. Foods, 2022, 11(18):2897.

[5] GAO Y, LI B, LIU H, et al. *Cistanche deserticola* polysaccharides alleviate cognitive decline in aging model mice by restoring the gut microbiota-brain axis[J]. Aging (Albany NY), 2021, 13(11):15320-15335.

[6] TRIACA V, FICO E, SPOSATO V, et al. hNGF peptides elicit the NGF-TrkA signalling pathway in cholinergic neurons and retain full neurotrophic activity in the DRG assay[J]. Biomolecules, 2020, 10(2):216.

[7] WONG H L X, QIN H Y, TSANG S W, et al. Early life stress disrupts intestinal homeostasis via NGF-TrkA signaling[J]. Nat Commun, 2019, 10(1):1745.

[8] ZHANG H, XIANG Z, DUAN X, et al. Antitumor and anti-inflammatory effects of oligosaccharides from *Cistanche deserticola* extract on spinal cord injury[J]. Int J Biol Macromol, 2019, 124:360-367.

[9] 刘媛,唐洪梅,钟如帆,等. 健脾通腑颗粒对肝郁脾虚型便秘型肠易激综合征大鼠模型的作用及机制研究[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(12):2870-2874.

[10] 吴艳英,任晓暄,郭孟玮,等. 电针足三里、合谷穴对 IBS 模型大鼠肠道痛敏及动力异常治疗效应的比较研究[J]. 北京中医药大学学报, 2017, 40(6):514-521.

[11] 刘梦茹,邱仁静,李慧,等. 运脾柔肝方对便秘型肠易激综合征大鼠 SCF/c-kit 信号通路的影响[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(11):2593-2596.

[12] XIAO L, LIU Q, LUO M, et al. Gut microbiota-derived metabolites in irritable bowel syndrome[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11:729346.

[13] LIU J, LV C L, WANG W, et al. Slow, deep breathing intervention improved symptoms and altered rectal sensitivity in patients with constipation-predominant irritable bowel syndrome[J]. Front Neurosci, 2022, 16:1034547.

[14] 王金鑫,谢胜,黄茂光,等. 肠紧密连接在腹泻型肠易激综合征中的作用及中医药干预的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(2):253-259.

[15] LIU X J, JIAN C, LI M Y, et al. Microbiome-metabolomics deciphers the effects of *Cistanche deserticola* polysaccharides on aged constipated rats[J]. Food Funct, 2022, 13(7):3993-4008.

[16] LI W T, LUO Q Q, WANG B, et al. Bile acids induce visceral hypersensitivity via mucosal mast cell-to-nociceptor signaling that involves the farnesoid X receptor/nerve growth factor/transient receptor potential vanilloid 1 axis [J]. FASEB J, 2019, 33(2):2435-2450.

[17] TAN X, PEI W J, XIE C E, et al. Tongxie anchang decoction relieves visceral hypersensitivity in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome rats by regulating the NGF/TrkA signaling pathway[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021:6679348.

[18] CHOW C F W, CHE S J, QIN H Y, et al. From psychology to physicality: how nerve growth factor transduces early life stress into gastrointestinal motility disorders later in life[J]. Cell Cycle, 2019, 18(16):1824-1829.

[19] JIANG L Q, YE B X, WANG Y, et al. Effect and mechanisms of sacral nerve stimulation on visceral hypersensitivity mediated by nerve growth factor[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(12):8019-8024.

[20] WANG F J, TU P F, ZENG K W, et al. Total glycosides and polysaccharides of *Cistanche deserticola* prevent osteoporosis by activating Wnt/ β -catenin signaling pathway in SAMP6 mice[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 271:113899.

[21] 王景博,韦春珠,潘茂华,等. 活血化痰方剂对重型颅脑损伤大鼠 Wnt/ β -连环蛋白信号通路表达的影响[J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32(9):1101-1106.

(收稿日期:2023-02-18 修回日期:2023-07-10)

(编辑:张元媛)