

本文引用: 穆永慧, 师启众, 张大伟, 等. 机械刺激诱导的远端结肠黏膜离子转运在腹泻型肠易激综合征大鼠模型中的变化[J]. 新乡医学院学报, 2014, 31(3): 166-169.

【基础研究】

机械刺激诱导的远端结肠黏膜离子转运在腹泻型肠易激综合征大鼠模型中的变化

穆永慧¹, 师启众², 张大伟¹, 赵文超³

(1. 新乡医学院病理生理学教研室, 河南 新乡 453003; 2. 新乡医学院第一附属医院胸外科, 河南 卫辉 453100; 3. 郑州大学医学院生理学教研室, 河南 郑州 450052)

摘要: 目的 探讨在腹泻型肠易激综合征(D-IBS)大鼠中,机械刺激诱导的远端结肠黏膜离子转运是否发生改变。方法 将Sprague-Dawley大鼠分为对照组和模型组,采用孤养+慢性非预见刺激的方法制备D-IBS大鼠模型,通过排便和蔗糖偏嗜度来检测D-IBS大鼠模型,采用短路电流技术结合去除溶液中阴离子和运用各种阻断剂的方法,观察机械刺激诱导的远端结肠黏膜离子转运。结果 同对照组比较,模型组大鼠的排便数量显著增加,蔗糖偏嗜度显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。2组大鼠结肠黏膜的基础电生理特性无显著差异($P > 0.05$)。机械刺激引起对照组和模型组大鼠结肠黏膜的短路电流均显著增加,但是模型组中增加的短路电流,显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。去除溶液中的 HCO_3^- 并不能改变2组的短路电流,但是去除溶液中的 Cl^- 均显著降低2组的短路电流,差异有统计学意义($P < 0.001$)。运用 Ca^{2+} 激活的 Cl^- 通道(CaCC)阻断剂4,4'-二异硫氰酰芪-二苯乙烯-2,2-二磺酸二钠盐(DIDS)并不能改变2组的短路电流,但是运用囊性纤维变性跨膜电导调节器(CFTR)的抑制剂CFTR(inh)-172或 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$ 共转运体(NKCC)的阻断剂bumetanide均显著降低2组的短路电流,差异有统计学意义($P < 0.001$)。结论 在D-IBS大鼠模型中,机械刺激诱导的远端结肠黏膜 Cl^- 分泌增加可能是D-IBS大鼠产生腹泻的原因之一。

关键词: 腹泻型肠易激综合征;结肠黏膜;离子转运

中图分类号: R333.3 文献标志码: A 文章编号: 1004-7239(2014)03-0166-04

Alteration of mechanical stimulus-induced ions transport of distal colon in diarrhea predominant irritable bowel syndrome rat model

MU Yong-hui¹, SHI Qi-zhong², ZHANG Da-wei¹, ZHAO Wen-chao³

(1. Department of Pathophysiology, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China; 2. Department of Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, Henan Province, China; 3. Department of Physiology, Medical College of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China)

Abstract: **Objective** To investigate whether the mechanical stimulus-induced ions transport of distal colon of rats with diarrhea predominant irritable bowel syndrome (D-IBS) is altered. **Methods** The Sprague-Dawley rats were divided into control group and model group. The rats were exposed to individual housing combined with additional chronic unpredictable stress to induce D-IBS. The D-IBS model was tested by feces granules counting and sucrose consumption test. The mechanical stimulus-induced ions transport of distal colon were investigated using short circuit current technique combined with removal extracellular anions and application of different blockers. **Results** The amount of feces granules was increased and sucrose consumption was decreased in model group compared with control group ($P < 0.05$). There was no significant difference in electrophysiological properties between control group and model group ($P > 0.05$). The mechanical stimulus-induced short-circuit current in model group was statistically higher than that in control group ($P < 0.05$). The mechanical stimulus-induced short-circuit current in both control group and model group were reduced significantly by removal of extracellular Cl^- ($P < 0.001$) but not by HCO_3^- . The application of 4,4'-diisothiocyanato-stilbene-2,2'-disulfonic acid (DIDS), a Ca^{2+} -activated Cl^- channel blocker, didn't alter the short-circuit current induced by mechanical stimulus in both groups. However, addition of CFTR(inh)-172, the inhibitor of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, or bumetanide, a blocker of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$ cotransporter reduced the mechanical stimulus-induced short-circuit current in control group and model group significantly ($P < 0.001$). **Conclusion** The mechanical stimulus can induce the secretion of Cl^- in distal colon of model rats, which is a possible mechanism responsible for the diarrhea of D-IBS rats.

Key words: irritable bowel syndrome; colonic mucosa; ion transport

DOI: 10.7683/xyxyxb.2014.03.002

收稿日期: 2013-12-23

基金项目: 新乡医学院科学研究培育基金资助项目(编号: 2013QN105)

作者简介: 穆永慧(1979-),女,河南内黄人,博士,讲师,研究方向:消化和心血管生理学。

通信作者: 赵文超(1973-),男,河北阜平人,博士,副教授,研究方向:消化生理学。

肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 是一种功能性胃肠病,其临床症状包括腹痛、腹胀、排便习惯改变[便秘和(或)腹泻]和大便性状异常等^[1]。根据临床特点的不同,IBS 分为腹泻型、便秘型和腹泻便秘交替型。目前研究认为,胃肠道动力改变是 IBS 发病的重要因素之一^[2-3]。由于胃肠的运动可以促进胃肠内容物的排空,因此,IBS 患者的胃肠动力异常被认为是 IBS 患者产生便秘和(或)腹泻的重要原因。但有研究表明,胃肠动力异常与 IBS 患者的便秘和(或)腹泻并无相关性^[4-5],说明胃肠动力异常并不是产生便秘和(或)腹泻的唯一原因,可能还存在其他的机制。哺乳动物的远端结肠对多种电解质具有转运功能,进而能够继发性地对结肠内的水分进行被动转运。当结肠黏膜对肠腔内的电解质吸收减少或者分泌增多时,会造成肠腔内的水分含量增多,进而有可能造成腹泻,反之则会产生便秘。由此作者推测,IBS 患者可能存在着结肠黏膜离子转运功能的改变,进而导致 IBS 患者产生便秘和(或)腹泻。本研究运用短路电流技术,观察了腹泻型 IBS (diarrhea predominant IBS, D-IBS) 大鼠远端结肠黏膜离子转运功能的变化。

1 材料与方法

1.1 实验动物 成年健康雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 40 只,由新乡医学院实验动物中心提供,体质量 (243 ± 22) g,常规饲养。

1.2 试剂和仪器 囊性纤维变性跨膜电导调节器 (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR) (inh)-172、Ca²⁺ 激活的 Cl⁻ 通道 (Ca²⁺-activated Cl⁻ channel, CaCC) 阻断剂 4,4'-二异硫氰酰芪-二苯乙烯-2,2'二磺酸二钠盐 (4,4'-diisothiocyanato-stilbene-2,2'-disulfonic acid, DIDS) 和 Na⁺-K⁺-2Cl⁻ 共转运体 (Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter, NKCC) 的阻断剂 bumetanide 均购自美国 Sigma-Aldrich 公司,二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 为上海碧云天生物技术公司产品,NaCl、KCl、MgCl₂ · 6H₂O、KH₂PO₄、NaHCO₃、CaCl₂ · 2H₂O、葡萄糖、羟乙基哌嗪乙磺酸 {2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl] ethanesulfonic acid, HEPES}、Na-gluconate、K-gluconate 及 Ca-gluconate 等购自美国 Gibco 或 Sigma 公司。VCC MC6 生理记录仪 (美国 WPI 公司生产) 记录电路电流,生理数据记录分析系统 (AD Instruments) 记录并分析数据。

1.3 Krebs-Henseleit solution (KHS) 配制 正常 KHS: NaCl 117 mmol · L⁻¹, KCl 4.7 mmol · L⁻¹, MgCl₂ · 6H₂O 1.2 mmol · L⁻¹, KH₂PO₄ 1.2 mmol · L⁻¹, NaH-

CO₃ 24.8 mmol · L⁻¹, CaCl₂ · 2H₂O 2.56 mmol · L⁻¹, 葡萄糖 11.1 mmol · L⁻¹, pH 为 7.4。无 Cl⁻ KHS: Na-gluconate 117.0 mmol · L⁻¹, K-gluconate 4.7 mmol · L⁻¹, MgSO₄ 1.2 mmol · L⁻¹, KH₂PO₄ 1.2 mmol · L⁻¹, NaHCO₃ 24.8 mmol · L⁻¹, Ca-gluconate 2.56 mmol · L⁻¹, 葡萄糖 11.1 mmol · L⁻¹, pH 为 7.4。无 HCO₃⁻ KHS: NaCl 141.8 g, KCl 5.9 g, MgCl₂ · 2H₂O 1.2 g, HEPES 10.0 g, CaCl₂ · 2H₂O 2.56 g, 葡萄糖 11.1 g, 用 Tris 将溶液 pH 值调至 7.4。

1.4 D-IBS 大鼠模型制备 SD 大鼠随机分为对照组与模型组,每组 20 只。对照组大鼠每笼 4~5 只,常规饲养。模型组大鼠采用孤养+慢性非预见刺激的方法制备 D-IBS 大鼠模型,即每笼单只大鼠饲养,并施加以下刺激:禁食、禁水、冷刺激、昼夜颠倒、束缚制动、热刺激、高速震荡等共 7 种。模型组大鼠每天施加上述 1 种刺激,共施加 21 d。

各种刺激给予方法: (1) 禁食: 24 h 断食。(2) 禁水: 24 h 断水。(3) 冷刺激: 将大鼠放置于 4 °C 冰水中 5 min。(4) 昼夜颠倒: 早 7 时至晚 7 时将大鼠放入暗室中,晚 7 时至早 7 时将大鼠放入亮室中。(5) 束缚制动: 将大鼠置于固定笼中,其四肢头部不能随意摆动;第 1 次束缚制动时间为 5 h,以后每次递增 1 h。(6) 热刺激: 置于 45 °C 的烘箱中 5 min。(7) 高速震荡: 将大鼠放入振荡器中,高速水平震荡 (110 次 · min⁻¹) 15 min。

1.5 排便及蔗糖水偏嗜度测定 21 d 后,测定各组大鼠 2 h 内排便粒数并观察粪便性状,并对大鼠进行蔗糖水偏嗜度测定。首先对大鼠进行蔗糖水饮用训练: 第 1 个 24 h 内,每笼放置 2 瓶质量分数 1% 的蔗糖水,第 2 个 24 h 内,每笼放置 1 瓶质量分数 1% 的蔗糖水和 1 瓶纯净水。随后将大鼠禁食禁水,24 h 后进行蔗糖水偏嗜度测定: 给予大鼠 1 瓶质量分数 1% 的蔗糖水和 1 瓶纯净水,4 h 后,分别测定蔗糖水和纯水的消耗量并计算蔗糖水偏嗜度。蔗糖水偏嗜度 = 蔗糖水消耗量 / (蔗糖水消耗量 + 纯水消耗量) × 100%。

1.6 结肠组织的制备和短路电流的测定 CO₂ 窒息处死大鼠后,迅速取出 4~5 cm 远端结肠,沿肠系膜纵向切开,用预冷的 KHS 将组织的黏膜面冲洗干净。在显微镜下用镊子将肌层和浆膜层剥离,得到包括黏膜下层和黏膜层的组织。将结肠黏膜垂直固定于短路电流装置的 Ussing 灌流小室。结肠黏膜的两侧 (即两边的 Ussing 小室) 均充有 5 mL KHS,并通入体积分数 95% O₂ 和体积分数 5% CO₂ 的混合气体 (无 HCO₃⁻ KHS 通入体积分数 100% O₂)。

采用 $3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钾质量分数 4% 琼脂盐桥和 Ag/AgCl 电极测得跨黏膜电位差、跨黏膜电流, 电位差除以电流得到跨黏膜电阻。当基础电流处于平稳状态时, 采用于结肠黏膜顶端膜施加 15 cm 水柱的方法来施加机械刺激, 计算施加刺激后 15 min 内短路电流的平均值 (ΔIsc)。

1.7 短路电流实验分组 对照组和模型组大鼠结肠黏膜均分为以下 6 个亚组: (1) 正常 KHS 组: 正常 KHS 中, 结肠黏膜顶端膜施以 15 cm 水柱的压力。(2) 无 Cl^- 组: 无 Cl^- 的 KHS 中, 结肠黏膜顶端膜施以 15 cm 水柱的压力。(3) 无 HCO_3^- 组: 无 HCO_3^- 的 KHS 中, 结肠黏膜顶端膜施以 15 cm 水柱的压力。(4) DIDS 组: 正常 KHS 中, 预先加入 DIDS ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 10 min) 后, 结肠黏膜顶端膜施以 15 cm 水柱的压力。(5) CFTR (inh)-172 组: 正常 KHS 中, 预先加入 CFTR (inh)-172 ($2.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 10 min) 后, 结肠黏膜顶端膜施以 15 cm 水柱的压力。(6) Bumetanide 组: 正常 KHS 中, 预先加入 bumetanide ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 10 min) 后, 结肠黏膜顶端膜施以 15 cm 水柱的压力。

1.8 统计学处理 应用 SPSS 11.5 统计软件进行统计学分析, 数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 慢性应激刺激对大鼠排便和蔗糖偏嗜度影响

21 d 后, 对照组大鼠未见粪便变稀、腹泻、便血等异常行为, 而模型组大鼠粪便呈软便或糊状便。统计结果表明, 对照组大鼠 2 h 内粪便排出量为 (2.93 ± 2.66) 粒 ($n=20$), 而模型组大鼠为 (5.20 ± 3.23) 粒 ($n=20$), 显著高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。此外, 对照组大鼠蔗糖偏嗜度为 (86.2 ± 11.5)%, 而模型组大鼠为 (74.8 ± 11.6)%, 显著低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 2 组大鼠结肠黏膜基础电生理特性比较 未施加机械刺激之前, 结肠黏膜均呈现出一定的跨黏膜电位差和跨黏膜电流。在正常 KHS 中, 对照组大鼠结肠黏膜 ($n=38$) 的基础电生理特性, 即跨黏膜电位差、跨黏膜电流和跨黏膜电阻分别为 (-3.7 ± 1.2) mV、(25.7 ± 6.8) $\mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2}$ 、(150.9 ± 38.2) $\Omega \cdot \text{cm}^{-2}$, 模型组大鼠结肠黏膜 ($n=39$) 的跨黏膜电位差跨黏膜电流和跨黏膜电阻分别为 (-3.9 ± 1.1) mV、(24.6 ± 7.5) $\mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2}$ 、(146.7 ± 42.5) $\Omega \cdot \text{cm}^{-2}$, 2 组大鼠结肠黏膜的基础

电生理特性比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 不同 KHS 机械刺激所产生的 ΔIsc 结果见表 1。在对照组中, 结肠黏膜顶端膜施加 15 cm 水柱后, ΔIsc 约为 (49.1 ± 20.4) $\mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2}$ ($n=10$), 而模型组增加 (68.7 ± 20.0) $\mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2}$ ($n=10$), 显著高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。去除 KHS 中的 Cl^- 后 (无 Cl^- 组), 在对照组和模型组, ΔIsc 均显著降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 但是对照组和模型组之间的 ΔIsc 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。去除 KHS 中的 HCO_3^- 后 (无 HCO_3^- 组), 在对照组和模型组, 机械刺激诱导的 ΔIsc 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 不同 KHS 中机械刺激诱导的 ΔIsc

组别	正常 KHS/ ($\mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2}$)	无 Cl^- KHS/ ($\mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2}$)	无 HCO_3^- KHS/ ($\mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2}$)
对照组	49.1 ± 20.4 ($n=10$)	3.5 ± 1.1 ($n=9$) ^a	45.3 ± 18.9 ($n=10$)
模型组	68.7 ± 20.0 ($n=10$) ^b	3.8 ± 0.9 ($n=9$) ^c	69.6 ± 21.3 ($n=9$)

注: 与对照组的正常 KHS 亚组比较^a $P < 0.001$, ^b $P < 0.05$; 与模型组的正常 KHS 亚组比较^c $P < 0.001$ 。

2.4 DIDS、CFTR (inh)-172 和 bumetanide 对机械刺激诱导的 ΔIsc 影响 结果见表 2。结肠黏膜顶端膜预先加入 DIDS ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 10 min) 后, 对照组和模型组大鼠的 ΔIsc 均无显著改变, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。但是顶端膜预先加入 CFTR (inh)-172 ($2.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 10 min) 后, 对照组和模型组大鼠的 ΔIsc 均显著减小, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 但在对照组和模型组之间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。基底侧膜预先加入 bumetanide ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 10 min) 后, 对照组和模型组大鼠的 ΔIsc 均显著减小, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 但在对照组和模型组之间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 DIDS、CFTR (inh)-172 和 bumetanide 对 ΔIsc 的影响
Tab.2 Effects of DIDS, CFTR (inh)-172 and bumetanide on mechanical stimulus-induced ΔIsc ($\bar{x} \pm s$)

组别	正常 KHS/ ($\mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2}$)	DIDS/ ($\mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2}$)	CFTR (inh)-172/ ($\mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2}$)	Bumetanide/ ($\mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2}$)
对照组	49.1 ± 20.4 ($n=10$)	47.8 ± 18.9 ($n=9$)	6.4 ± 1.8 ($n=10$) ^a	16.4 ± 5.9 ($n=9$) ^a
模型组	68.7 ± 20.0 ($n=10$)	65.3 ± 21.7 ($n=10$)	7.5 ± 2.3 ($n=10$) ^b	19.5 ± 4.6 ($n=9$) ^b

注: 与对照组的正常 KHS 亚组比较^a $P < 0.001$; 与模型组的正常 KHS 亚组比较^b $P < 0.001$ 。

3 讨论

D-IBS 以腹泻为其主要症状之一, 其产生原因目前并不是很确定^[4-5]。当肠道内容物进入结肠时, 引起肠腔内的压力增加, 对结肠黏膜产生机械刺激,

该刺激可以诱发结肠黏膜对 Cl^- 的分泌增加,继发性地引起肠腔内的水分增多,促进粪便的排出^[6-7]。当上述生理过程发生改变时,则引起结肠黏膜的 Cl^- 分泌发生变化,引起肠腔内的水分增多或减少,最终产生腹泻或者便秘。由于结肠黏膜的上述作用,作者推测在 D-IBS 患者中,可能存在着结肠黏膜离子转运功能的改变,而这可能是 D-IBS 患者产生腹泻的重要原因之一。

本研究表明,模型组大鼠的粪便排出数量增多,且粪便多表现为软便或糊状便,说明模型组大鼠出现腹泻样改变。而且模型组大鼠的蔗糖偏嗜度降低,表明大鼠的快感丧失,具有抑郁样改变。模型组大鼠的上述特征均与 IBS 患者的排便异常和精神异常类似,说明 D-IBS 大鼠模型造模成功。

短路电流结果表明,对照组和模型组大鼠的基础电生理特性均无显著改变,说明未受到刺激的情况下,结肠黏膜的离子转运功能并没有发生改变。但是给予了机械刺激后,模型组大鼠产生的 ΔIsc 显著高于对照组,表明模型组大鼠的结肠黏膜离子转运功能发生了改变。由于在对照组和模型组大鼠的结肠黏膜,机械刺激引起的短路电流改变均表现为增加,因此,作者认为这一改变可能是由于阴离子的分泌增多所产生。结肠黏膜能够分泌的阴离子主要是 Cl^- 和 HCO_3^- ,为了探讨 ΔIsc 的离子组成,作者分别观察了在去除 Cl^- 和 HCO_3^- 的情况下,机械刺激诱导的 ΔIsc 是否发生改变。去除溶液中的 Cl^- 后,对照组和模型组的 ΔIsc 均几乎消失,而去除溶液中的 HCO_3^- 后,对照组和模型组的 ΔIsc 却无显著变化,表明在对照组和模型组大鼠,机械刺激引起的 ΔIsc 均是与 Cl^- 的分泌增多有关,也证明了机械刺激诱导的 Cl^- 分泌在模型组显著增多。

结肠黏膜分泌的过程分为 2 步:(1)在基底侧膜,组织液或血液中的 Cl^- 转运到细胞内;(2)在顶端膜,细胞内的 Cl^- 转运到肠腔中。在结肠黏膜上皮细胞的基底侧膜,存在着 NKCC,能够将 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 以 1:1:2 的比例将组织液或血液中的 Cl^- 转运到细胞内^[8]。而在结肠黏膜的顶端膜上,则存在着 2 种 Cl^- 通道,分别是 CFTR 和 CaCC^[9-10]。为了进一步证明机械刺激引起的 ΔIsc 与 Cl^- 之间的关系和探讨 Cl^- 分泌的机制,作者观察了不同阻断剂对 ΔIsc 的作用。

预先加入 CaCC 的阻断剂 DIDS 后,对照组和模型组大鼠的 ΔIsc 均无显著改变,表明 Cl^- 在顶端膜的分泌不是通过 CaCC 介导的。但是预先加入 CFTR 阻断剂 CFTR (inh)-172 或 NKCC 阻断剂 bu-

metanide 后,对照组和模型组大鼠的 ΔIsc 均显著降低,进一步表明机械刺激诱导的 ΔIsc 是 Cl^- 的分泌增多所导致,而且这一过程是通过基底侧膜的 NKCC 和顶端膜的 CFTR 所完成的。此外,结果还发现,在预先阻断 CFTR 或 NKCC 的情况下,对照组和模型组的 ΔIsc 均无显著改变,说明机械刺激诱导的 Cl^- 分泌在模型组显著增多。

该研究结果表明,D-IBS 大鼠的结肠黏膜 Cl^- 分泌功能发生了改变,表现为其对机械刺激的反应加强,而这有可能是 D-IBS 大鼠产生腹泻的原因之一。因此,该实验可能发现了一个新的 IBS 的发生机制,为临床 IBS 的预防及治疗提供了新的思路。

参考文献:

- [1] 孙铭. 双歧杆菌乳杆菌三联活菌片治疗肠易激综合征 40 例 [J]. 新乡医学院学报, 2011, 28 (4): 509-510.
- [2] Devanarayana N M, Rajindrajith S, Rathnamalala N, et al. Delayed gastric emptying rates and impaired antral motility in children fulfilling Rome III criteria for functional abdominal pain [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2012, 24 (5): 420-425.
- [3] Manabe N, Wong B S, Camilleri M, et al. Lower functional gastrointestinal disorders: evidence of abnormal colonic transit in a 287 patient cohort [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2010, 22 (3): 293-e82.
- [4] Malagelada C, De Lorio F, Seguí S, et al. Functional gut disorders or disordered gut function? Small bowel dysmotility evidenced by an original technique [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2012, 24 (3): 223-228.
- [5] Sadik R, Björnsson E, Simrén M. The relationship between symptoms, body mass index, gastrointestinal transit and stool frequency in patients with irritable bowel syndrome [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2010, 22 (1): 102-108.
- [6] Schulzke J D, Pfaffenbach S, Fromm A, et al. Prostaglandin I (2) sensory input into the enteric nervous system during distension-induced colonic chloride secretion in rat colon [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2010, 199 (3): 305-316.
- [7] Weber E, Neunlist M, Schemann M, et al. Neural components of distension-evoked secretory responses in the guinea-pig distal colon [J]. *J Physiol*, 2001, 536 (Pt 3): 741-751.
- [8] Bouyer P G, Tang X, Weber C R, et al. Capsaicin induces NKCC1 internalization and inhibits chloride secretion in colonic epithelial cells independently of TRPV1 [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2013, 304 (2): 142-156.
- [9] Ramprasad J, Sood M, Ludwig K, et al. Up-regulated cystic fibrosis transmembrane conductance regulator after anal stenosis in rats [J]. *J Pediatr Surg*, 2012, 47 (3): 556-564.
- [10] Arreola J, Melvin J E, Begenisich T. Differences in regulation of Ca^{2+} -activated Cl^- channels in colonic and parotid secretory cells [J]. *Am J Physiol*, 1998, 274 (1): 161-166.

(本文编辑:徐刚珍 英文编辑:孟月)