

电针不同穴组对功能性便秘大鼠结肠黏膜超微结构及 AQP3、AQP8 表达的影响

王渊¹, 王强¹, 刘思洋², 周锋³, 牛文民¹, 刘智斌¹, 刘龙⁴

(1. 陕西中医药大学针灸推拿学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 西安医学院临床医学院, 陕西 西安 710021; 3. 陕西中医药大学附属医院, 陕西 咸阳 712000; 4. 西安航天总医院中医针灸理疗科, 陕西 西安 710100)

摘要:目的 探讨电针不同穴组治疗功能性便秘(FC)大鼠的作用机理。方法 FC 动物模型采用 0℃ 0.9% 氯化钠溶液对 SD 大鼠灌胃复制, 随机分为模型组、电针 1 组(EA I 组)、电针 2 组(EA II 组)和电针 3 组(EA III 组), 正常组采用 SD 大鼠。EA I 组取天枢、大肠俞(双侧)、EA II 组取曲池、上巨虚(双侧)、EA III 组取天枢、大肠俞、曲池、上巨虚(单侧)进行电针治疗。观测粪便性状和肠道炭末推进率评定大鼠肠动力, 透射电镜检测大鼠结肠黏膜超微结构, Western blot 检测大鼠结肠 AQP3、AQP8 蛋白表达, qPCR 检测大鼠结肠 AQP3、AQP8 mRNA 表达。结果 EA II 组大鼠 24 h 粪便粒数、24 h 粪便含水量和肠道炭末推进率均显著增加, 首次黑便时间显著减少($P < 0.05$), 结肠黏膜超微结构经 EA II 干预后显著改善, 模型组大鼠结肠黏膜 AQP3、AQP8 蛋白和 AQP3、AQP8 mRNA 表达显著高于正常组($P < 0.05$), 经 EA II 干预后表达显著降低, 具有统计学意义($P < 0.05$)。结论 电针刺激曲池、上巨虚可能通过降低 FC 大鼠结肠黏膜 AQP3、AQP8 蛋白和 AQP3、AQP8 mRNA 表达, 减少结肠水分重吸收, 增加结肠粪便含水量, 调节水分转运, 改善结肠黏膜超微结构, 增强肠动力, 起到改善便秘症状的作用。

关键词:功能性便秘; 超微结构; AQP3; AQP8; 电针

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-0482(2019)02-0175-05

DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2019.0175

引文格式: 王渊, 王强, 刘思洋, 等. 电针不同穴组对功能性便秘大鼠结肠黏膜超微结构及 AQP3、AQP8 表达的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2019, 35(2): 175-179.

Influence on Ultrastructure of Colonic Mucosa in Colon, Expression of AQP3, AQP8 by Electroacupuncture at Different Acupoints Combination in Rats with Functional Constipation

WANG Yuan¹, WANG Qiang¹, LIU Si-yang², ZHOU Feng³, NIU Wen-min¹, LIU Zhi-bin¹, LIU Long⁴

(1. College of Acupuncture Moxibustion and Tuina, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, 712046, China; 2. Clinical Medical College, Xian Medical University, Xian, 710021, China; 3. Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, 712000, China; 4. Department of TCM Acupuncture and Physiotherapy, Xian Aerospace General Hospital, Xian, 710100, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the mechanism of electroacupuncture at different points combination in the treatment of rats with functional constipation (FC). **METHODS** SD rats replicated by intragastric administration with 0℃ 0.9% sodium chloride solution were taken as FC animal model and randomly divided into model group, electroacupuncture group I, electroacupuncture group II and electroacupuncture group III, SD rats were taken as control group. EA I had electroacupuncture at bilateral Tianshu(ST 25), Dachangshu(BL 25), EA II had electroacupuncture at bilateral Quchi(LI 11), Shangjuxu(ST 37), EA III had electroacupuncture at unilateral Tianshu(ST 25), Dachangshu(BL 25), Quchi(LI 11), Shangjuxu(ST 37). Observation on fecal characteristics and intestinal carbon propelling rate were used to evaluate intestinal motility of rats, transmission electron microscopy was used to observe colonic mucosa ultrastructure of rats, Western blot was used to determine the protein expression of AQP3, AQP8 in colon of rats, qPCR was used to determine the mRNA expression of AQP3, AQP8 in colon of rats. **RESULTS** The number of 24 h fecal grains, 24 h fecal water content and intestinal carbon propelling rate in EA II group increased significantly($P < 0.05$), protein and mRNA expression of AQP3, AQP8 in the model group was significantly higher than that of normal group in colon of rats, while significantly reduced after treatment with EA II ($P < 0.05$), the ultrastructure of colonic mucosa were significantly improved after treatment with EA II. **CONCLUSION** The mechanism of electroacupuncture stimulating Quchi(LI 11), Shangjuxu(ST 37) on enhancing intestinal motility and improving the symptoms

收稿日期: 2019-01-05

基金项目: 国家重点基础研究发展计划("973"计划)(2011CB505204)

第一作者: 王渊, 男, 副教授, 副主任医师, E-mail: icharles117@126.com

通信作者: 刘龙, 男, 副主任医师, 主要从事针灸治疗疼痛的临床和基础研究, E-mail: m18192003523@163.com

of constipation may be due to the reducing the expression of AQP3, AQP8 protein and AQP3, AQP8 mRNA in colonic mucosa of FC rats, thus reducing water reabsorption of colon, increasing fecal water content in colon, regulating water transport and improving the ultrastructure of colonic mucosa.

KEY WORDS: functional constipation; ultrastructure; AQP3; AQP8; electroacupuncture

功能性便秘(FC)是一种以持续性排便困难、便秘减少或有排便不尽感为主要表现的常见功能性肠病,不仅严重影响患者的生活质量、学习和工作效率,而且在某些疾病的发生发展中起到诱发或加重作用^[1]。FC发病是多方面因素综合所致,其中结肠内水分传输异常可导致肠道动力学障碍,而水通道蛋白3(AQP3)和水通道蛋白8(AQP8)被证实对结肠内水分的传输具有重要调控作用^[2-3]。本团队前期应用电针疗法治疗FC,临床疗效确切,为了进一步明确其调控机制,拟观察电针不同穴位组合对FC大鼠结肠黏膜超微结构及AQP3、AQP8表达的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物和分组

3.5月龄SPF级SD大鼠50只,体质量(190±15)g,购于西安交通大学实验动物中心,许可证号:SCXK(陕)2017-0015,上述大鼠被随机分为正常组、模型组、电针1组(EA I)、电针2组(EA II)和电针3组(EA III)等5组,每组10只。

1.2 主要仪器及试剂

TECNA1-10型透射电镜(荷兰PHILIPS公司);LKB-V型超薄切片机(瑞典BROMMA公司);凝胶成像分析系统(美国BIO-RAD公司);紫外可见分光光度计(美国MILTONROY公司);HANS-200A韩氏穴位神经刺激仪(南京济生医疗科技有限公司)。AQP3抗体(批号:ab125219)、AQP8抗体(批号:ab15124)、羊抗兔二抗-HRP(批号:ab6747),购自英国Abcam公司;Trizol(批号:15596-018),购自美国Invitrogen公司;反转录试剂盒(批号:A3101-1),购自美国Promega公司;SYBR Green(批号:AK6501),购自美国Statagene公司;多聚甲醛(批号:AR1069)、伊红染色液(批号:AR1180-2)、苏木素液(批号:AR1180-1),购自武汉博士德生物工程有限公司;戊二醛(批号:B421BA0009),购自生工生物工程(上海)股份有限公司;钨酸(批号:20170312)、醋酸铀(批号:20170125)、枸橼酸铅(批号:20170226),购自上海榕柏生物技术有限公司。

1.3 造模方法

对于模型组、EA I、EA II和EA III组大鼠,适应性喂养3d后,每日于同一时间段,采用0℃的0.9%氯化钠溶液对各组大鼠进行束缚并灌胃,剂量为10 mL/kg,连续灌胃干预14d,灌胃停止后,连续14d对各组大鼠给予正常饲食与饮水,造模于第28天结束。

1.4 各组干预方法

(1)EA I组干预方法 穴位选择:双侧天枢、大肠俞。天枢定位:大鼠脐中旁开5mm;大肠俞定位:大鼠第4腰椎棘突下,旁开5mm^[4]。操作方法:选用规格为0.30mm×13mm的不锈钢毫针(华佗牌,苏州医疗用品有限公司)。常规消毒后,将针刺入相应穴位,针刺深度均为5mm;将韩氏穴位神经刺激仪正极连接天枢,负极连接大肠俞,波形调至疏密波,频率和电流强度分别为2/15Hz、1mA,干预时间共为20min。

(2)EA II组干预方法 穴位选择:双侧曲池、上巨虚。曲池定位:大鼠桡骨近端的关节外侧前方凹陷中;上巨虚定位:大鼠后肢足三里向下约5mm处^[4]。操作方法:将韩氏穴位神经刺激仪正极连接曲池,负极连接上巨虚,其他步骤同上。

(3)EA III组干预方法 穴位选择:单侧天枢、大肠俞、曲池、上巨虚,穴位定位:同上^[4]。操作方法:将韩氏穴位神经刺激仪两组正极分别连接天枢、曲池,2组负极分别连接大肠俞、上巨虚,其他步骤同上。

(4)正常组和模型组 对于此2组大鼠,均于每日同一时间段对其捉拿固定,不予其他干预。

对于3个电针干预组,每日均进行1次的电针刺激,对于正常组和模型组,每日均进行1次的捉拿固定,10次为1个干预疗程,共观察1个疗程。

1.5 观察指标

1.5.1 一般情况观察 主要对大鼠的进食量、粪便粒数、精神状态以及处死后结肠内残留粪便粒数等情况进行观察。

1.5.2 大鼠粪便性状指标检测 大鼠首次排黑便时间:第15天给药前禁食不禁水12h,灌胃给药30min后,各组大鼠均给予墨汁0.5mL灌胃。恢复正常饮水和摄食,并在饲养笼中铺上滤纸。灌胃结束

同时开始计时,记录各组大鼠首次排出黑便的时间。

粪便含水量:采用电子天平对 3~24 h 间的大便(各组干预后)进行湿质量称量,接着采用微波对其烘烤 8 min 对其进行干质量称量,含水量=(湿质量-干质量)/湿质量 \times 100%。

1.5.3 炭末推进率检测 采用活性炭灌胃法观察肠道传输功能。每组大鼠禁食 40 min 后,经口灌入 100 g/L 活性炭混悬液 2 mL,等待 40 min 后立即处死大鼠,摘除从幽门到直肠末端的全部肠道。将肠管拉直后测量肠管的长度,即幽门至肛门的长度。松弛状态下测量肠道全长,以及活性炭混悬液前端(肠内容物呈漆黑处)到幽门的距离与肠道全长的百分比。

1.5.4 结肠黏膜超微结构观测方法 首先,在距回盲部 5 cm 处迅速截取 0.5 cm 段结肠;其次,以纵行方式将此段结肠进行剖开并清洗,再将其切为尺寸为 1 mm \times 1 mm 的小块;再次,将小块固定,先用多聚甲醛(10 g/L)和戊二醛(20 g/L)将其固定,再用锇酸(10 g/L)将其进行后固定;最后,将标本制作成超薄切片,对于结肠黏膜超微结构,采用透射电镜对其进行观察。

1.5.5 Western blot 检测 干预结束后,采用 10% 水合氯醛麻醉大鼠,采用 EP 管放置取出的适量结肠样本,将其投入液氮后取出,并保存于-80 $^{\circ}$ C 冰

箱中。Western blot 检测时按照以下步骤操作:将 RIPA 蛋白裂解液加入存放于 EP 管中的按等量比例剪取的每份结肠样本中,按步骤对其进行研磨和离心。采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定每份样本的蛋白浓度,按步骤对目标蛋白进行上样和电泳,并于 1 h 后进行转膜和封闭的操作,将一抗兔抗鼠 AQP3 (1:1 000)/AQP8(1:1 000)加入其中,并在 4 $^{\circ}$ C 条件下对其进行孵育过夜后 TBST 漂洗 5 次,每次 10 min,再将由 HRP 标记的二抗(1:5 000)加入其中,并在常温的条件下对其进行孵育 1 h 后进行漂洗 5 次,每次 10 min,最后对目标蛋白进行曝光,对目标条带灰度值采用凝胶成像分析系统进行计算。

1.5.6 qPCR 检测 采用 Trizol 提取结肠组织中总 RNA,其浓度以及纯度测定采用紫外分光光度法检测。而后在荧光定量 PCR 仪上进行反应,并根据 qPCR 试剂盒和扩增条件,分 3 个阶段。①将 RNA 逆转录为 cDNA,以 cDNA 为模板,并设置质量控制;②将标准品 2 μ L cDNA 稀释后分别进行基因的扩增,并以 GAPDH 为内参(扩增条件:94 $^{\circ}$ C、2 min,94 $^{\circ}$ C、15 s,60 $^{\circ}$ C、15 s,72 $^{\circ}$ C、15 s,40 个循环;72 $^{\circ}$ C、10 min,引物由上海生工生物技术有限公司合成,序列见表 1;③待反应完毕之后,对于 AQP3、AQP8 mRNA 的相对表达量,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法对结果进行分析并计算。

表 1 qPCR 相关引物序列及扩增长度

引物名称	引物序列	引物长度/bp
AQP3	F:5-CTTCTTGGGTGCTGGGATT-3'	122
	R:5-CAGAGGGATAGGTGGCAAAG-3'	
AQP8	F:5-ACGCCGATGTGTAGTATGGAC-3'	174
	R:5-CCCAATGAAGATGAAGAGAGC-3'	
GAPDH	F:5-GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG-3'	143
	R:5-ATGGTGGTGAAGACGCCAGTA-3'	

1.6 统计学方法

采用 SPSS19.0 软件进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析比较各组间均数, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况观测结果

造模结束后,大鼠精神状态较差,粪便粒数以及进食量明显减少,处死后结肠内残留粪便粒数明显增多,不同电针组干预后,以上几方面呈现出不同程度改善。

2.2 粪便性状比较结果

结果见表 2。

表 2 各组大鼠粪便性状的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	24 h 粪便粒数	24 h 粪便含水量/%	首次黑便时间/min
正常组	10	52.62 \pm 6.47	48.15 \pm 5.09	42.53 \pm 6.94
模型组	10	25.45 \pm 3.66**	22.34 \pm 2.63**	73.24 \pm 9.28*
EA I 组	10	38.36 \pm 4.21 [#]	36.73 \pm 4.25 [#]	56.89 \pm 8.37 [#]
EA II 组	10	49.72 \pm 5.84 [#]	44.56 \pm 4.57 [#]	47.46 \pm 7.75 [#]
EA III 组	10	30.51 \pm 3.95	27.21 \pm 2.84	70.78 \pm 8.36

注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$ 。

与正常组比较,模型组 24 h 粪便粒数显著减少、粪便含水量显著降低、首次黑便时间显著延长($P < 0.01$);与模型组比较,EA I 和 EA II 组 24 h 粪

便粒数显著增多、粪便含水量显著升高、首次黑便时间显著缩短,具有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 炭末推进率比较结果

结果见表 3。

表 3 各组大鼠炭末推进率的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	炭末推进长度/cm	肠道总长度/cm	炭末推进率/%
正常组	10	96.23 ± 7.73	141.52 ± 10.43	68.62 ± 5.74
模型组	10	56.25 ± 4.86 [*]	140.63 ± 10.12	40.13 ± 3.06 ^{**}
EA I 组	10	72.82 ± 6.51 [#]	142.78 ± 10.85	51.62 ± 4.27 [#]
EA II 组	10	88.05 ± 7.25 [#]	139.63 ± 9.89	63.57 ± 5.25 [#]
EA III 组	10	62.63 ± 5.25	145.11 ± 10.94	45.36 ± 3.73

注:与正常组比较,^{*} $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$ 。

对于大鼠肠道炭末推进率,与正常组比较,模型组显著减慢($P < 0.01$);与模型组比较,EA I 和 EA II 组均明显加快,具有统计学意义($P < 0.05$),说明

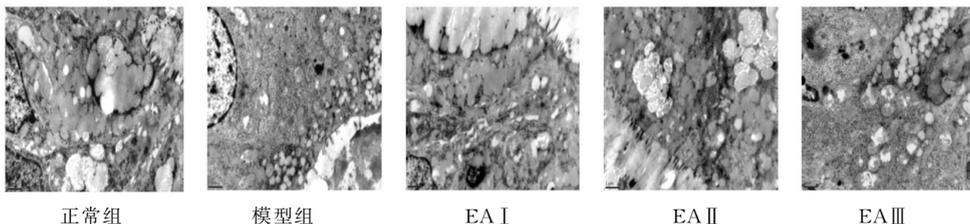


图 1 各组大鼠结肠黏膜超微结构($\times 10\ 000$)

2.5 结肠黏膜 AQP3、AQP8 蛋白表达比较结果

结果见图 2,表 4。

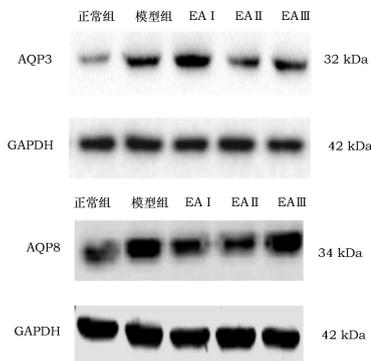


图 2 大鼠结肠黏膜 AQP3、AQP8 蛋白表达的比较

表 4 各组大鼠结肠黏膜 AQP3、AQP8 蛋白的表达($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	AQP3 蛋白	AQP8 蛋白
正常组	10	0.48 ± 0.04	0.63 ± 0.03
模型组	10	0.82 ± 0.09 ^{**}	0.98 ± 0.12 ^{**}
EA I 组	10	0.78 ± 0.06	0.84 ± 0.08
EA II 组	10	0.57 ± 0.05 [#]	0.69 ± 0.04 [#]
EA III 组	10	0.73 ± 0.08	0.93 ± 0.09

注:与正常组比较,^{*} $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$ 。

对于大鼠结肠黏膜 AQP3、AQP8 蛋白表达,与正常组比较,模型组表达显著增高($P < 0.01$);与模

EA I 和 EA II 组在调节 FC 大鼠肠道炭末推进率方面,有显著提升作用。

2.4 结肠黏膜超微结构观测结果

结果见图 1。正常组:结肠黏膜上皮微绒毛完整,排列整齐,上皮细胞连接紧密,细胞内可见丰富的线粒体,肠腺由杯状细胞组成,胞浆内富含黏液颗粒,并向腺腔排出。模型组:结肠黏膜上皮微绒毛减少并变短,排列扭曲,上皮细胞连接被破坏,线粒体肿胀,内容物丢失,杯状细胞排列紊乱且减少,黏液颗粒稀少。EA II:结肠黏膜上皮微绒毛恢复趋于完整,排列较为整齐,上皮细胞连接较为紧密,杯状细胞数量排列较整齐且数量增加,黏液颗粒较为丰富和成熟。EA I 和 EA III:细胞器减少的情况有所改观,结肠黏膜上皮表面微绒毛仍然缺失,变短,减少,杯状细胞排列紊乱,结肠上皮细胞连接未被修复。

型组比较,EA II 组表达显著降低,具有统计学意义($P < 0.05$),说明 EA II 组能够显著降低 FC 大鼠结肠黏膜 AQP3、AQP8 蛋白表达。

2.6 结肠黏膜 AQP3、AQP8 mRNA 表达比较结果

结果见图 3,表 5。

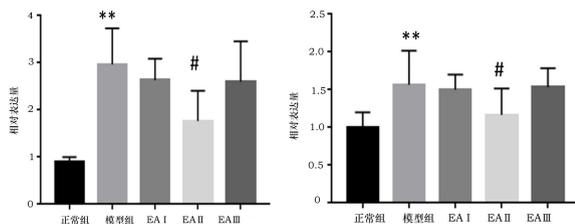


图 3 大鼠结肠黏膜 AQP3、AQP8 mRNA 表达的比较

表 5 各组大鼠结肠黏膜 AQP3、AQP8 mRNA 表达的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	AQP3 mRNA	AQP8 mRNA
正常组	10	0.93 ± 0.05	0.99 ± 0.02
模型组	10	2.91 ± 1.36 ^{**}	1.63 ± 0.23 ^{**}
EA I 组	10	2.62 ± 1.23	1.51 ± 0.17
EA II 组	10	1.72 ± 0.55 [#]	1.23 ± 0.09 [#]
EA III 组	10	2.55 ± 1.19	1.59 ± 0.19

注:与正常组比较,^{*} $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$ 。

对于大鼠结肠黏膜 AQP3、AQP8 mRNA 表

达,与正常组比较,模型组表达显著增高($P < 0.01$);与模型组比较,EA II 组表达显著降低,具有统计学意义($P < 0.05$),说明 EA II 组能够显著降低 FC 大鼠结肠黏膜 AQP3、AQP8 mRNA 表达。

3 讨论

本研究以功能性肠病为切入点,旨在揭示穴位功能和机体机能状态的相关规律,为解决穴位的双向调节效应奠定科学基础,明确穴位配伍的协同、拮抗关系和双向调节规律,形成建立在科学基础上的穴位组方原则,以指导临床和提高临床疗效。因此,本研究为优化穴位配伍方案,系统观察了电针刺激不同穴位组合对 FC 的效应差异。

交感神经紧张、副交感神经兴奋性降低导致肠道传输能力下降是 FC 的主要发病机制,针刺主要经由调控肠神经系统、肠道内环境稳定以及肠动力从而多途径、多靶点发挥对胃肠道的调节效应^[5],且临床疗效满意度评价方面显著优于西药^[6]。本研究基于躯体传入信息调整和平衡内脏功能的稳态系统,构建了两种相对紧密联系的结构模式,即在交感神经控制下的同神经节段支配的内脏器官与相关腧穴组成的功能性单元结构和在副交感神经控制下的异神经节段支配的内脏器官与相关腧穴组成的功能性集元结构,我们选择天枢和大肠俞作为单元穴位、曲池和上巨虚作为集元穴位,拟观察单元与集元穴位之间的效应差异以及单元与集元穴位组合之间究竟发挥协同效应还是拮抗效应。

结肠内异常表达的水通道蛋白(AQPs)可导致肠内水分被过度吸收从而致使结肠水分传输失司,是 FC 发病进程中的关键致病环节^[7]。作为 AQPs 家族重要亚型之一的 AQP3 和 AQP8,在结肠对水分的重吸收以及调节结肠水转运等两个方面发挥着至关重要的作用,抑制 AQP3、AQP8 表达可有效缓解 FC 的发生和发展。

本研究结果显示,电针刺激 FC 大鼠曲池、上巨虚后,主要产生以下几方面影响:①能够增加 FC 大鼠 24 h 粪便粒数和 24 h 粪便含水量,缩短首次黑便时间($P < 0.05$);②能够显著增加 FC 大鼠肠道炭末推进率($P < 0.05$);③能够使得 FC 大鼠结肠黏膜上皮微绒毛恢复趋于完整,排列较为整齐,上皮细胞连接较为紧密,杯状细胞数量排列较整齐且数量增加,

黏液颗粒较为丰富和成熟,修复受损的上皮细胞超微结构,从而发挥对肠道黏膜机械屏障的保护作用;④能够显著降低 FC 大鼠结肠 AQP3、AQP8 蛋白和 AQP3、AQP8 mRNA 表达($P < 0.05$),减少结肠水分重吸收,增加结肠粪便含水量,调节水分转运,起到改善便秘症状的作用。而电针刺激天枢、大肠俞、曲池、上巨虚在对上述四方面指标的影响方面,与空白组比较没有显著性差异,说明单元与集元穴位组合相伍发挥了拮抗作用,并未起到增强肠道传输能力、降低结肠 AQP3、AQP8 蛋白和 AQP3、AQP8 mRNA 表达、改善结肠黏膜超微结构的作用。

本研究主要证实了 2 方面问题:①电针刺激集元穴位(曲池、上巨虚)可通过改善 FC 大鼠粪便性状以及提高肠道炭末推进率来增强其肠动力,此效应的发挥与降低结肠 AQP3、AQP8 蛋白和 AQP3、AQP8 mRNA 表达表达及改善结肠黏膜超微结构具有一定相关性;②穴位之间的组合作用不是单穴作用的简单相加,本研究中电针刺激单元加集元穴位(曲池、上巨虚、天枢、大肠俞)对于以上各项观察指标的影响呈现出拮抗作用。总之,本研究从功能和结构上验证了电针不同穴组对 FC 的干预效应,优化了穴位配伍方案,对于指导临床和提高疗效提供依据。

参考文献:

- [1] ZHAO YF, MA XQ, WANG R, et al. Epidemiology of functional constipation and comparison with constipation-predominant irritable bowel syndrome: The Systematic Investigation of Gastrointestinal Diseases in China (SILC)[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2011, 34(8): 1020-1029.
- [2] 王健,汤健,胡晔,等.芪榔合剂对功能性便秘小鼠结肠 AQP4 和 AQP8 含量的影响研究[J]. *现代中西医结合杂志*, 2017, 26(29): 3193-3222.
- [3] ZHAO GX, DONG PP, PENG R, et al. Expression, localization and possible functions of aquaporins 3 and 8 in rat digestive system[J]. *Biotechnic Histochem*, 2016, 91(4): 269-276.
- [4] 李忠仁. *实验针灸学*[M]. 北京:中国中医药出版社, 2004: 327-329.
- [5] 张微,李瑛,刘丽莎,等.电针大肠俞募穴对功能性便秘小鼠结肠组织 GDNF 表达的影响[J]. *南京中医药大学学报*, 2015, 31(5): 475-479.
- [6] ZHENG H, LIU ZS, ZHANG W, et al. Acupuncture for patients with chronic functional constipation: A randomized controlled trial [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2018, 30(7): e13307.
- [7] 王健,汤健,胡晔.芪榔合剂对功能性便秘小鼠结肠 AQP4 和 AQP8 含量的影响研究[J]. *现代中西医结合杂志*, 2017, 26(29): 3193-3195.

(编辑:董宇)