

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2021.02.006

TRPV1 通过非焦虑依赖的机制参与肠易激综合征内脏高敏感的形成 *

郑浩楠¹ 张 瑛^{2,3,4} 迟 雁^{1△}(¹ 北京大学第一医院消化科, 北京 100034; ² 北京大学神经科学研究所; ³ 北京大学基础医学院神经生物学系;⁴ 教育部/国家卫生健康委员会神经科学重点实验室, 北京 100191)

摘 要 目的: 探讨 TRPV1 受体是否通过影响焦虑水平, 参与肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 内脏高敏感性的产生。**方法:** 通过三硝基苯磺酸 (trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS) 单次灌肠的方法, 分别使用野生型 (wild type, WT) 与 *Trpv1*^{-/-} 小鼠构建 IBS 内脏高敏感小鼠模型; 利用结直肠扩张-腹壁撤回反射 (CRD-AWR) 法, 检测 IBS 模型鼠的内脏敏感性; 利用旷场实验、高架十字迷宫实验检测小鼠焦虑水平。**结果:** *Trpv1*^{-/-} 小鼠基础状态和 IBS 造模后的焦虑水平均低于野生型小鼠; 然而, 与基础状态相比较, 本研究中 TNBS 单次灌肠构建的 IBS 模型未影响 WT 和 *Trpv1*^{-/-} 小鼠的焦虑水平; 但 IBS 模型构建后的比较显示 *Trpv1*^{-/-} 小鼠较 WT 小鼠的内脏高敏感性降低。**结论:** 在单次注射 TNBS 诱导的 IBS 模型中, TRPV1 受体可能通过非焦虑依赖的机制参与 IBS 内脏高敏感的产生。

关键词 肠易激综合征; 内脏高敏感; TRPV1; 焦虑; 旷场实验

TRPV1 contributes to visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome model induced by TNBS in a non-anxiety-dependent mechanism *

ZHENG Hao-Nan¹, ZHANG Ying^{2,3,4}, CHI Yan^{1△}(¹ Department of Gastroenterology, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China; ² Neuroscience Research Institute; ³ Department of Neurobiology, School of Basic Medical Sciences, Key Laboratory for Neuroscience; ⁴ Ministry of Education/National Health Commission, Peking University, Beijing 100191, China)

Abstract Objective: To investigate whether TRPV1 receptor contributes to the visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome (IBS) through affecting the anxiety level. **Methods:** Wild-type (WT) and *Trpv1*^{-/-} mice were used to establish the IBS visceral hypersensitivity model by singular intrarectal administration of trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS). Colorectal distension-abdominal withdrawal reflex (CRD-AWR) was used to detect the visceral sensitivity after the establishment of IBS model. Open field test and elevated plus maze were used to evaluate the anxiety level of mice. **Results:** The anxiety level of *Trpv1*^{-/-} mice was reduced compared with the WT mice both in the basal condition and in IBS model. However, compared with the basal condition, the anxiety levels of both *Trpv1*^{-/-} mice and WT mice were unchanged after the establishment of IBS model. *Trpv1*^{-/-} mice show reduced visceral hypersensitivity in IBS model compared with the WT mice. **Conclusion:** In singular intrarectal administration of TNBS induced IBS model, TRPV1 receptors may contribute to IBS visceral hypersensitivity through a non-anxiety-dependent mechanism.

Key words Irritable bowel syndrome (IBS); Visceral Hypersensitivity; TRPV1; Anxiety; Open field test

肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 是临床最常见的胃肠功能紊乱性疾病, 以腹痛、腹胀或腹部不适伴有排便习惯及排便性状的改变为主要表现, 同时缺乏明显的形态学改变及临床

常规检查的异常^[1,2]。难以缓解且反复发作的腹痛症状是 IBS 病人的典型临床表现, 其不仅严重影响病人的生活质量, 同时也造成大量医疗资源的浪费。目前认为, 脑-肠轴互动紊乱、内脏高敏感、

* 基金项目: 北京大学医学部“临床+X”合作项目 (BMU2020MX004)

△ 通讯作者 迟雁 chiyan@263.net

肠道菌群紊乱、胃肠道动力异常、肠黏膜屏障受损、黏膜免疫与炎症、精神神经因素、遗传等机制共同参与 IBS 的产生^[3], 其中内脏高敏感 (visceral hypersensitivity) 被认为是 IBS 的核心病理生理学机制和生物学标记^[4], 但是关于其形成机制目前尚不清楚。探讨 IBS 内脏高敏感的形成机制, 对发掘新的 IBS 腹痛的治疗靶点和临床治疗方案具有重要意义。

瞬时受体电位通道香草素亚型 1 (transient receptor potential vanilloid, TRPV1) 是一种伤害性信息感受分子, 可接受热 ($> 43^{\circ}\text{C}$)、 H^{+} 、辣椒素等多种形式的刺激, 引起伤害性感受器的激活, 传递伤害性信息^[5,6]。TRPV1 高表达在外周感觉神经元及其神经末梢, 在支配消化道的内脏感觉神经纤维中也有广泛的分布^[7], 并且有多项研究表明, TRPV1 可通过表达和功能的改变参与 IBS 内脏高敏感的产生, 其机制涉及 TRPV1 与胆汁酸和肥大细胞表面及释放的多种分子的相互作用^[8-10]。

临床上, IBS 病人的焦虑/抑郁水平显著高于一般人群^[11], 而且研究发现, 机体在经历生理和心理应激后, 不仅可产生焦虑/抑郁情绪, 同时对内脏疼痛信号的感知也有所增强, 即产生内脏高敏感^[12-14]。有研究显示, TRPV1 受体可能参与焦虑/抑郁情绪的产生, 除外周神经系统外, 在多个脑区如海马、杏仁核、前额叶皮质等, 均可检测到 TRPV1 受体的表达, 且在给予 TRPV1 受体拮抗剂后, 能明显缓解动物的焦虑/抑郁程度^[15-17]。另外, 有研究认为, TRPV1 受体可介导位于基底外侧杏仁核 (basolateral amygdala, BLA) 内突触传递功能的增强, 这可能是内脏痛的中枢敏化机制之一^[18]。因此 TRPV1 受体介导的焦虑水平的改变, 是否可以作为 IBS 内脏敏感性升高的原因及其相关机制值得进一步探讨。本研究旨在探讨 TRPV1 是否可以通过影响焦虑水平从而进一步影响 IBS 内脏高敏感的产生。研究将为明确 TRPV1 参与 IBS 内脏高敏感形成所涉及的途径提供新的证据, 从而为临床 IBS 难治性腹痛的治疗提供进一步的理论依据。

表 1 Al-Chaer 评分标准

Table 1 Al-Chaer AWR score

分数 Scores	小鼠腹壁表现 AWR scale
0	无可察觉的行为反应 No behavioral response to CRD
1	轻微头部运动后停止, 身体不动 Brief head movement followed by immobility
2	腹部肌肉开始收缩 Contraction of abdominal muscles
3	下腹部抬高或明显收缩扁平 Lifting of abdomen
4	腹壁拱起身体呈弓形或伴有骨盆抬起 Body arching and lifting of pelvic structures

方 法

1. 实验动物及分组

本实验所用动物均为雄性 11 周龄, 清洁级, 体重为 20~30 g 的野生型 C57BL/6 小鼠和背景为 C57BL/6 的 *Trpv1*^{-/-} 小鼠; 饲养环境温度为 $(20 \pm 1)^{\circ}\text{C}$, 空气湿度为 $(50 \pm 5)\%$, 光照为 12/12 h 的明暗光照循环。动物自由饮水摄食, 每日更换饮水、饲料, 定期更换垫料, 保持小鼠生活环境通风及清洁卫生。野生型与 *Trpv1*^{-/-} 小鼠分别随机分为溶剂注射组 (CTRL) 与 IBS 模型组 (IBS), 共 4 组, 每组 8~10 只。

2. IBS 内脏高敏感模型的建立

各组小鼠在造模前 24 h 自由饮水但禁食。使用 0.1 ml 三硝基苯磺酸 (trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS) (sigma, P2297) 灌肠液 (TNBS 130 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 溶于 30% 乙醇), 缓慢注入 IBS 模型组小鼠结肠。对照组小鼠使用同样方法, 给予同等剂量的 30% 乙醇溶液灌肠。参照此前报道的方法进行^[19]。

灌肠结束后, 将所有小鼠放回原饲养笼, 常规环境饲养, 正常进食进水。随后为 28 天的缓解期。缓解期结束进行内脏敏感性的检测, 常规进行小鼠结肠炎症水平的评估。

3. IBS 模型内脏敏感性的评估

采用结直肠扩张 (colorectal distension, CRD)-腹壁撤回反射 (abdominal withdrawal reflex, AWR) 的方法检测内脏敏感性。

异氟烷 (瑞沃德生命科技有限公司, 中国) 麻醉小鼠后, 润滑球囊并小心缓慢插入小鼠结肠, 至球囊距离肛缘 1 cm, 并将导管固定于小鼠尾部。将小鼠置于固定器中, 保持小鼠只可前后运动但不能转身。待复苏至少 40 min 后开始 CRD 操作。快速向球囊内充气。将球囊内压力维持在 20、40、60 及 80 mmHg, 每个压力持续 20 s, 重复 3 次, 同一压力每次充气后为 1 min 无压力的间歇期。不同压力之间为 5 min 的间歇期。观察不同压力的 CRD 下, 小鼠腹壁撤回反射程度, 并根据 Al-Chaer 评分标准进行相应的评分 (见表 1)。为保证实验操作的严

谨性, CRD-AWR 检测由两位不同实验人员依从盲法记录实验结果, 每只小鼠的每个 CRD 压力重复记录 3 次并取平均值。

4. 旷场实验 (open field test, OFT) 及高架十字迷宫 (elevated plus maze, EPM)

通过旷场实验和高架十字迷宫实验反映小鼠的焦虑样行为。

旷场实验: 塑料制箱 (小鼠 50 cm×50 cm×100 cm 长×宽×高) 置于安静的环境中, 照明来自旷场上方白炽灯。实验开始前, 将实验用小鼠置于实验环境中适应 1 h 后开始实验。将小鼠放置在旷场中心开始测试, 每只小鼠测试间隙, 用酒精擦拭测试箱, 防止上一只小鼠遗留的气味或脏物干扰实验结果。小鼠的行为由摄像头记录, 中心区域 (小鼠 25 cm×25 cm) 停留的时间、进入中心区域次数及总运动距离由 ANY-MAZE 软件进行分析。

高架十字迷宫: 仪器由四个大小相同的塑料臂 (小鼠 5 cm×35 cm) 和一个中心平台 (小鼠 5 cm×5 cm) 组成, 其中两个相对的塑料臂为封闭臂, 被 40 cm 塑料墙封闭。实验开始前, 将实验用小鼠置于实验环境中适应 1 h 后开始实验。将小鼠至于迷宫中央, 头朝开臂, 每只小鼠测试间隙, 用酒精擦拭测试仪器, 防止上一只小鼠遗留的气味或脏物干扰实验结果。小鼠的行为由摄像头记录, 开放臂停留时间比例、进入开放臂次数及总运动距离由

ANY-MAZE 软件进行分析。

5. 统计学分析

实验数据采用均数 ± 标准误 ($\bar{x} \pm SEM$) 表示, 实验数据图形用 GraphPad Prism 7.0 软件进行绘制; CRD-AWR 结果使用 SPSS 18.0 进行 Mann-Whitney 法非参数检验, 旷场实验及高架十字迷宫实验结果采用多因素方差分析 (two-way ANOVA with Tukey's post-test)。P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. TRPV1 参与 IBS 内脏高敏感的形成

参考文献^[19], 选取了单次灌注 0.1 ml TNBS 灌肠液 (TNBS 130 μg/ml 溶于 30% 乙醇) 的方法构建 IBS 模型。野生型 (wild type, WT) 小鼠在 TNBS 灌注后第 28 天, 结肠组织完整, 无明显的充血和炎症细胞浸润 (见图 1), 表明本研究所用的 TNBS 剂量不会引起持续的炎症反应, 28 天可认为炎症期结束。同时, 通过 CRD-AWR 法检测了 IBS 造模后小鼠内脏敏感性的变化。结果显示, 与溶剂注射组 (WT-CTRL) 相比, IBS 模型组小鼠 (WT-IBS) 在 40 mmHg (P < 0.05) 和 60 mmHg (P < 0.001) 的压力下, 内脏敏感性升高, 具有显著性差异 (见图 2)。以上结果表明, 应用 TNBS 单次灌肠的方法在野生型小鼠成功构建了 IBS 内脏高敏感模型。

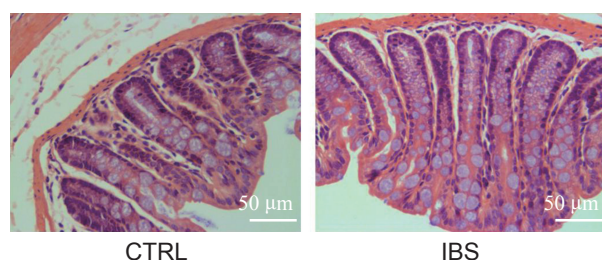


图 1 野生型小鼠溶剂注射组 (WT-CTRL) 和 IBS 模型组 (WT-IBS), 造模后第 28 天, 结肠 H&E 染色图。结果显示, 与溶剂注射组 (WT-CTRL) 类似, IBS 模型组 (WT-IBS) 在 TNBS 注射后 28 天, 结肠组织均完整, 无明显的充血和炎症细胞浸润。标尺 = 50 μm

Fig. 1 H&E (hematoxylin and eosin) staining images of colon tissues 28 d after solvent (WT-CTRL) (left) or TNBS (WT-IBS) (right) injection in wild-type mice. The images show that analogous to the solvent-injected mice, the colon tissues of TNBS-injected mice are intact and no obvious congestion and inflammatory cell infiltration were observed. Scale bar = 50 μm

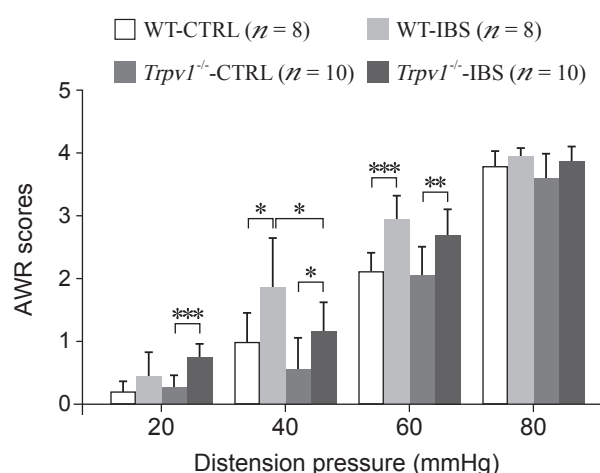


图 2 WT 小鼠与 *Trpv1*^{-/-} 小鼠结肠灌注 TNBS 前后 CRD-AWR 评分比较
非参数检验 Mann-Whitney 法, *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001

Fig. 2 Comparison of the CRD-AWR scores of WT and *Trpv1*^{-/-} mice after intro-colonic injection of solvent (CTRL) or TNBS (IBS)
Mann-Whitney Non-parametric tests, *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001.

为进一步验证 TRPV1 受体参与 IBS 模型内脏高敏感性的形成, 本研究使用 *Trpv1*^{-/-} 小鼠构建了 IBS 模型。在 TNBS 单次灌肠后第 28 天 CRD-AWR 法检测显示, *Trpv1*^{-/-} 造模小鼠 (*Trpv1*^{-/-}-IBS) 与 *Trpv1*^{-/-} 溶剂注射组 (*Trpv1*^{-/-}-CTRL) 相比, 其在 20 mmHg ($P < 0.001$)、40 mmHg ($P < 0.05$) 和 60 mmHg ($P < 0.01$) 的压力下均表现出内脏敏感性增加, 具有显著性差异 (见图 2)。同时, 与野生型 IBS 模型组 (WT-IBS) 小鼠相比, *Trpv1*^{-/-} IBS 模型组 (*Trpv1*^{-/-}-IBS) 小鼠在 40 mmHg 的压力下, 表现出内脏高敏感性的缓解, 差异具有显著性 ($P < 0.05$, 见图 2)。以上结果表明, TRPV1 受体可参与 IBS 内脏高敏感性的形成, 但内脏高敏感并非仅通过 TRPV1 受体这一单一途径形成, 其他机制也参与其中。

2. TRPV1 参与焦虑情绪的产生

接下来进行了旷场实验与高架十字迷宫检测,

观察 IBS 模型小鼠焦虑水平的改变情况。

旷场实验结果显示, 与野生型小鼠相比, *Trpv1*^{-/-} 小鼠不管在基础状态还是 IBS 造模后, 均显示中心区停留时间延长, 具有显著性差异 ($P < 0.05$, 见图 3A), 但两种基因型小鼠均未显示 IBS 造模前后, 中心区停留时间的变化。类似的, *Trpv1*^{-/-} 小鼠在 IBS 造模后 (*Trpv1*^{-/-}-IBS) 与野生型小鼠 IBS 造模后 (WT-IBS) 比较显示, 其进入中心区次数有增加的趋势 ($P = 0.056$, 见图 3B)。总运动距离的比较显示, 野生型小鼠溶剂注射组和 IBS 模型组、*Trpv1*^{-/-} 溶剂注射组和 IBS 模型组, 各组小鼠之间均无显著性差异 (见图 3C), 提示各组小鼠的运动能力无差别。

高架十字迷宫结果显示, 各组小鼠进入开放臂的时间比例 (见图 4A)、开放臂进入次数 (见图 4B) 及总运动距离 (见图 4C) 均无显著性差异。

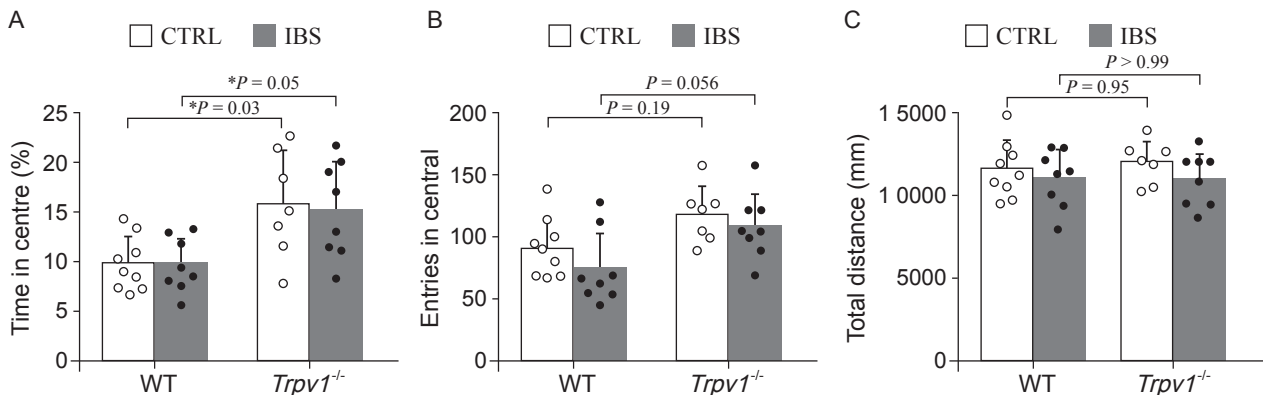


图 3 旷场实验结果显示, 在基础状态和 IBS 造模后, 与野生型小鼠相比, *Trpv1*^{-/-} 小鼠中央区停留时间延长 (A); 进入中央区次数有增加的趋势 (B); 总运动距离无显著性变化 (C) (two-way ANOVA with Tukey's post-test)

Fig. 3 Open field test showed that compared with the wild type mice, both under the basal condition and in the IBS model, *Trpv1*^{-/-} mice spent more time in central (A); showed an increased tendency in the entries in central (B); and showed no significant change in the total distance travelled (C) (two-way ANOVA with Tukey's post-test).

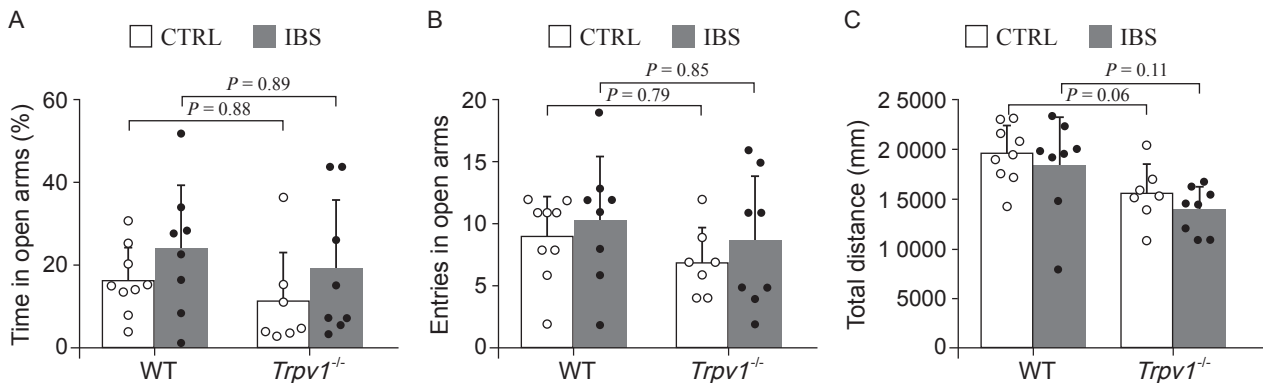


图 4 高架十字迷宫实验显示, 在基础状态和 IBS 造模后, 与 WT 小鼠比较, *Trpv1*^{-/-} 小鼠的开放臂停留时间 (A); 开放臂进入次数 (B) 和总运动距离 (C) 均无显著性变化 (two-way ANOVA with Tukey's post-test)

Fig. 4 Elevated plus maze assay showed that compared with the wild type mice, both under the basal condition and in the IBS model, there is no significant difference in the time spent in the open arms (A); Entries in the open arms (B) and total distance travelled (C) between WT and *Trpv1*^{-/-} mice (two-way ANOVA with Tukey's post-test).

讨 论

IBS 内脏高敏感模型的构建方法种类繁多,如束缚应激、母婴分离-避水应激、葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)灌肠、乙酸灌肠等。在众多方法中,结肠内灌注 TNBS 是应用最为广泛的造模方法。TNBS 是一种化学半抗原,能够与组织蛋白结合并刺激 Th1 细胞介导的免疫反应。该方法能够较好地模拟 IBS 病人的内脏高敏感、结肠动力紊乱、黏膜通透性及分泌改变等病理特征。本研究结果也证实,应用该方法建立的野生型小鼠 IBS 模型 28 天未显示结肠炎症的病理改变,同时使用 CRD-AWR 法检测到,IBS 模型组小鼠在 40 mmHg 和 60 mmHg 压力下内脏敏感性升高,表明 TNBS 单次灌肠方法建立的 IBS 模型是探究内脏高敏感性的可靠模型。

近些年的多项研究证实 TRPV1 受体与内脏高敏感的形成相关^[20]。Akbar 等发现 IBS 病人的乙状结肠黏膜中 TRPV1 表达上调^[21]。另一项研究显示,在结肠炎康复期, *Trpv1*^{-/-} 小鼠并未表现出和野生鼠类似的疼痛相关行为学改变或结肠扩张的内脏动力学改变^[22]。在本研究中,使用 *Trpv1*^{-/-} 小鼠也成功构建了 IBS 模型,提示 IBS 内脏高敏感的形成并非 TRPV1 相关的单一通路所致,其产生是多种因素共同作用的结果。但与野生型 IBS 模型组小鼠相比,敲除 *Trpv1* 基因能够显著降低 TNBS 灌注引起的内脏高敏感性,提示 TRPV1 受体是参与 IBS 内脏高敏感产生的重要分子之一。

临床上,IBS 病人往往合并焦虑或抑郁状态^[11]。心理或生理应激除诱发机体出现焦虑/抑郁情绪,亦可导致机体对内脏痛觉的感知增加^[14]。研究表明,TRPV1 受体与焦虑情绪的产生有关。除已在多个脑区检测到 TRPV1 受体的表达外^[23],研究发现,给予大鼠腹腔注射 capsazepine,能够减少其焦虑样行为的产生^[24],将 capsazepine 微量注射入大鼠腹内侧前额叶皮层(vmPFC)后可发挥其抗焦虑作用^[25]。

本研究探讨了 TRPV1 是否可以通过影响焦虑水平而参与内脏敏感性的形成。研究发现, *Trpv1* 基因敲除小鼠出现基础焦虑水平的显著降低,但与对照组相比,IBS 模型组并未显示有焦虑水平的升高。Salameh 等^[26]的研究发现:连续 3 周,给予 0.25 ml 的不同浓度(15, 30, 45 mg TNBS)的 TNBS-50% 乙醇溶液灌肠,诱导的结肠炎模型小鼠,其在缓解期的焦虑水平升高。本研究与之结果不同的原因,我们考虑与 TNBS 的灌肠剂量有关。虽然 TNBS 灌肠

作为经典的感染后 IBS (post-infection IBS, PI-IBS) 内脏高敏感动物模型已经得到了广泛的认可,但其缺点在于现存的使用 TNBS 造模的动物实验中,始终无统一的灌肠剂量与灌肠位置及模型评估时间。灌肠位置与剂量的不同,能够引起不同程度的 Th1 型细胞介导的免疫反应,造成不同程度的炎症反应。因此我们认为本研究所用的 TNBS 造模剂量不足以引起小鼠焦虑水平的改变。另一方面,研究表明 TRPV1 受体参与焦虑/抑郁情绪的产生。本研究分别借助野生型和 *Trpv1* 敲除的小鼠构建了 IBS 模型,均检测到内脏敏感性的升高且 *Trpv1* 基因敲除可缓解 IBS 导致的内脏高敏感,但是与各自的溶剂注射组相比,并未检测到焦虑水平的改变。由于 TNBS 造模后, *Trpv1*^{-/-} 小鼠在不改变其焦虑水平的情况下,仍然表现出内脏高敏感缓解的现象,提示 TRPV1 受体参与焦虑和内脏敏感性的形成可能为两条不同的通路,不存在相关性。因此认为在 TNBS 诱导的 IBS 模型中,TRPV1 受体可能通过非焦虑依赖的机制参与内脏高敏感形成。

在本研究中,没能在高架十字迷宫实验中发现 *Trpv1*^{-/-} 小鼠焦虑水平的改变。针对这种旷场实验和高架十字迷宫实验结果不一致的现象,我们认为可能的原因是在于旷场实验后再次进行高架十字迷宫实验,小鼠对这种刺激已经产生适应,所以并未在高架十字迷宫实验中产生明显差异。类似的情况在此前的一项关于 TNBS 诱导的结肠炎缓解期焦虑水平的研究中也报道^[26]。因此,接下来会进一步扩大实验样本量,确认该实验结果。

综上所述,TRPV1 参与 IBS 内脏高敏感的形成,也影响焦虑状态的形成。但在 TNBS 模型中其影响内脏高敏感形成的过程可能主要是通过非焦虑依赖的机制参与。今后若需进一步探寻 TRPV1 受体通过焦虑影响内脏敏感性的产生,可以尝试增加 TNBS 灌肠剂量或使用其他化学诱导法如葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)灌肠、乙酸灌肠的造模方法,比较 WT 鼠与 *Trpv1*^{-/-} 鼠构建 IBS 模型后的差异。在观察到内脏敏感性与焦虑水平有所改变的基础上,继续比较灌肠给药和脑室注射 TRPV1 拮抗剂后内脏敏感性水平改变的差异,以期能更准确的说明中枢和外周 TRPV1 受体在此中发挥的作用。

参 考 文 献

- [1] Ford AC, Lacy BE, Talley NJ. Irritable bowel syndrome[J]. N Engl J Med, 2017, 376(26):2566-2578.

- [2] 慢性疼痛分类目录和定义[J]. 中国疼痛医学杂志, 2021, 27(1):2-8.
- [3] Hadjivasilis A, Tsioutis C, Michalinos A, *et al.* New insights into irritable bowel syndrome: From pathophysiology to treatment[J]. *Ann Gastroenterol*, 2019, 32(6): 554-564.
- [4] Simrén M, Törnblom H, Palsson OS, *et al.* Cumulative effects of psychologic distress, visceral hypersensitivity, and abnormal transit on patient-reported outcomes in irritable bowel Syndrome[J]. *Gastroenterology*, 2019, 157(2):391-402.e2.
- [5] Van Wanrooij SJ, Wouters MM, Van Oudenhove L, *et al.* Sensitivity testing in irritable bowel syndrome with rectal capsaicin stimulations: Role of TRPV1 upregulation and sensitization in visceral hypersensitivity?[J]. *Am J Gastroenterol*, 2014, 109(1): 99-109.
- [6] 张庆奎, 刘若卓, 于生元. 瞬时受体通道 V1 生理特性研究进展 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2017, 23(10):759-763.
- [7] Van Avesaat M, Troost FJ, Westerterp-Plantenga MS, *et al.* Capsaicin-induced satiety is associated with gastrointestinal distress but not with the release of satiety hormones[J]. *Am J Clin Nutr*, 2016, 103(2):305-313.
- [8] Wouters MM, Balemans D, Van Wanrooy S, *et al.* Histamine receptor H1-mediated sensitization of TRPV1 mediates visceral hypersensitivity and symptoms in patients with irritable bowel syndrome[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(4):875-887.e9.
- [9] Li WT, Luo QQ, 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.
- [10] Jiang L, Ye B, 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.
- [11] Zamani M, Alizadeh-Tabari S, Zamani V. Systematic review with Meta-analysis: The prevalence of anxiety and depression in patients with irritable bowel syndrome[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2019, 50(2):132-143.
- [12] Jennings EM, Okine BN, Roche M, *et al.* Stress-induced hyperalgesia[J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 121:1-18.
- [13] Olango WM, Finn DP. Neurobiology of stress-induced hyperalgesia[J]. *Curr Top Behav Neurosci*, 2014, 20: 251-280.
- [14] Meerveld BG, Johnson AC. Mechanisms of stress-induced visceral pain[J]. *J Neurogastroenterol Motil*, 2018, 24(1):7-18.
- [15] Socala K, Wlaziński P. Evaluation of the antidepressant- and anxiolytic-like activity of alpha-spinasterol, a plant derivative with TRPV1 antagonistic effects, in mice[J]. *Behav Brain Res*, 2016, 303:19-25.
- [16] Manna SS, Umathe SN. A possible participation of transient receptor potential vanilloid type 1 channels in the antidepressant effect of fluoxetine[J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 685(1-3):81-90.
- [17] Santos CJ, Stern CA, Bertoglio LJ. Attenuation of anxiety-related behaviour after the antagonism of transient receptor potential vanilloid type 1 channels in the rat ventral hippocampus[J]. *Behav Pharmacol*, 2008, 19(4):357-360.
- [18] Xiao Y, Chen X, Zhang PA, *et al.* TRPV1-mediated presynaptic transmission in basolateral amygdala contributes to visceral hypersensitivity in adult rats with neonatal maternal deprivation[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 29026.
- [19] Castro J, Harrington AM, Garcia-Caraballo S, *et al.* alpha-Conotoxin Vc1.1 inhibits human dorsal root ganglion neuroexcitability and mouse colonic nociception via GABAB receptors[J]. *Gut*, 2017, 66(6): 1083-1094.
- [20] 肖礼祖, 孙周. TRP 通道在内脏痛中的研究进展 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2018, 24(1):54-59.
- [21] Akbar A, Yiangou Y, Facer P, *et al.* Increased capsaicin receptor TRPV1-expressing sensory fibres in irritable bowel syndrome and their correlation with abdominal pain[J]. *Gut*, 2008, 57(7):923-929.
- [22] Lapointe TK, Basso L, Iftinca MC, *et al.* TRPV1 sensitization mediates postinflammatory visceral pain following acute colitis[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2015, 309(2):G87-G99.
- [23] Tóth A, Boczán J, Keddi N, *et al.* Expression and distribution of vanilloid receptor 1 (TRPV1) in the adult rat brain[J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 2005, 135(1-2): 162-168.
- [24] Kasckow JW, Mulchahey JJ, Geraciotti TD, Jr. Effects of the vanilloid agonist olvanil and antagonist capsazepine on rat behaviors[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2004, 28(2):291-295.
- [25] Aguiar DC, Terzian AL, Guimarães FS, *et al.* Anxiolytic-like effects induced by blockade of transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) channels in the medial prefrontal cortex of rats[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2009, 205(2): 217-225.
- [26] Salameh E, Meleine M, Gourcerol G, *et al.* Chronic colitis-induced visceral pain is associated with increased anxiety during quiescent phase[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2019, 316(6):g692-g700.