

基于16S rDNA技术和TLRs/MyD88/NF- κ B信号通路探讨 参苓白术散抗腹泻型肠易激综合征大鼠的分子机制

吕腾飞¹, 王景瑀¹, 谢明月¹, 席斌^{2*}

(1. 河南中医药大学第二临床医学院, 郑州 450046; 2. 河南中医药大学管理学院, 郑州 450046)

[摘要] 目的: 基于16S rDNA技术和分子生物学手段探讨参苓白术散治疗腹泻型肠易激综合征(IBS-D)的分子机制。方法: 42只SPF级SD大鼠中随机分为空白组、参苓白术散高(SLBZS-H)、中(SLBZS-M)、低(SLBZS-L)剂量组, 匹维溴铵组和模型组, 每组7只。采用冰冷番泻叶(0.45 g·mL⁻¹)灌胃(10 mL·kg⁻¹)联合束缚应激方法制备IBS-D大鼠模型, 连续14 d。造模成功后以10 mL·kg⁻¹的灌胃体积给予各组相应药物: 匹维溴铵组灌胃匹维溴铵(2.0 g·L⁻¹)、SLBZS-H、SLBZS-M、SLBZS-L组分别灌胃2.36、1.18、0.59 g·mL⁻¹的参苓白术散药液, 正常组和模型组灌胃同体积生理盐水, 连续14 d。观察并记录大鼠一般情况: 体质量、粪便、精神状态和死亡等情况。并在造模前(第1天)、造模后(第14天)和治疗后(第28天)检测各组大鼠体质量、腹壁回缩反射评分(AWR)和稀便率; 苏木素-伊红(HE)对实验动物结肠组织的形态学特征进行显微观察; 酶联免疫吸附测定法(ELISA)定量分析各组5-羟色胺(5-HT)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的浓度变化; 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠结肠组织中Toll样受体4(TLR4)、Toll样受体2(TLR2)、髓样分化因子88(MyD88)及核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路关键蛋白的表达水平; 16S rDNA技术检测大鼠肠道菌群结构变化。结果: 与空白组比较, 模型组大鼠结肠部分黏膜上皮脱落和炎性细胞浸润; 血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和5-HT含量明显升高($P < 0.05$); 结肠组织中TLR2、TLR4、MyD88和NF- κ B蛋白表达明显增加($P < 0.05$); 物种丰富度(Richness)、Chao1丰富度指数(Chao1)、丰度覆盖估计指数(ACE)及Shannon多样性指数均明显降低($P < 0.05$), 厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、拟杆菌属-H(*Bacteroides*-H)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)和唾液乳杆菌属(*Ligilactobacillus*)的相对丰富度明显降低($P < 0.05$), 拟杆菌门(Bacteroidetes)、变形菌门(Proteobacteria)、普氏菌属(*Prevotella*)相对丰富度明显升高($P < 0.05$)。与模型组比较, SLBZS-H组、SLBZS-M组、SLBZS-L组及匹维溴铵组大鼠的结肠结构组织更加清晰, 且仅部分区域存在少量炎性细胞、血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和5-HT含量明显降低($P < 0.05$)、TLR2、TLR4、MyD88和NF- κ B蛋白表达明显减少($P < 0.05$); 分组信息不明确微生物方面, 相比于模型组, SLBZS-H、SLBZS-M、SLBZS-L组Richness、Chao1、ACE及Shannon多样性指数均明显上升($P < 0.05$), Firmicutes和Actinobacteria的丰富度明显升高($P < 0.05$), Bacteroidetes、Proteobacteria和*Prevotella*丰富度明显降低($P < 0.05$), 匹维溴铵组中*Prevotella*明显减少($P < 0.05$)、拟杆菌属-H(*Bacteroides*-H)、*Muribaculum*、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、唾液乳杆菌(*Lactobacillus salivarius*)相对丰富度明显增加($P < 0.05$)。结论: 参苓白术散能够有效治疗IBS-D, 其分子机制可能是通过改善肠道菌群和抑制TLRS/MYD88/NF- κ B信号通路降低炎症反应发挥治疗作用。

[关键词] 参苓白术散; 腹泻型肠易激综合征; 肠道菌群; 免疫炎症; Toll样受体家族/髓样分化因子88/核转录因子- κ B(TLRs/MyD88/NF- κ B)

[中图分类号] R574.4; R256.34; R285 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2026)11-0013-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20250612

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20250520.1828.006>

[网络出版日期] 2025-05-21 09:56:07 [增强出版附件] 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



Based on 16S rDNA Technology and TLRs/MyD88/NF- κ B Signaling Pathway, Molecular Mechanism of Shenling Baizhusan Resistance to Diarrhea Irritable Bowel Syndrome Rats Was Investigated

LYU Tengfei¹, WANG Jingyu¹, XIE Mingyue¹, XI Bin^{2*}

[收稿日期] 2025-03-13

[基金项目] 河南省中医药科学研究专项(2022ZY1164, 2024ZY2155)

[第一作者] 吕腾飞, 在读硕士, 从事中医药防治心身疾病研究, E-mail: 2315237814@qq.com

[通信作者] * 席斌, 硕士, 副教授, 从事中医药防治心身疾病研究, E-mail: 13733833819@163.com

- (1. *The Second Clinical Medical College of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;*
2. *Henan University of Chinese Medicine School of Management, Zhengzhou 450046, China*)

[Abstract] **Objective:** Based on 16S rDNA technology and molecular biology methods, the molecular mechanism of Shenling Baizhusan in the treatment of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D) was investigated. **Methods:** The 42 SD rats with SPF were randomly divided into no control group, SLBZS-H, medium (SLBZS-M), low (SLBZS-L) dose group, positive control group and model group, with 7 rats in each group. The rat model of IBS-D was prepared by ice-cold senna ($0.45 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$) gavage ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) combined with restraint stress for 14 consecutive days. After successful modeling, the corresponding drugs were given to each group with a gavage volume of $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$: The positive group was administered with 2.36, 1.18, $0.59 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ of Shenling Baizhusan in the Positive group and the Model group with the same volume of normal saline for 14 d. The general condition of the rats: Weight, feces, mental state and death were observed and recorded. The body weight, abdominal wall retraction reflex score (AWR) and loose stool rate of rats in each group were measured before (the first day), after the model (day 14) and after treatment (day 28). Hematoxylin-eosin staining was used to observe the morphological characteristics of colon tissues of experimental animals. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to quantitatively analyze the concentration of inflammatory mediators in the peripheral blood of experimental animals. Western blotting was used to detect the expression levels of key proteins of Toll-like receptor 4 (TLR4), Toll-like receptor 2 (TLR2), myeloid differentiation factor 88 (MyD88) and nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling pathway in rat colon tissue. 16S rDNA technology was used to detect the structural changes of intestinal microbiota in rats. **Results:** Compared with Control, the colon of the Model group showed partial mucosal epithelial shedding and inflammatory cell infiltration. The contents of TNF- α , IL- 1β , IL-6 and 5-HT in serum increased ($P < 0.05$), the protein expressions of TLR2, TLR4, MyD88 and NF- κ B in colon tissue increased ($P < 0.05$), the diversity indices of Richness, Chao1, abundance-based coverage estimator (ACE) and Shannon decreased ($P < 0.05$), and the phylum Firmicutes, Actinobacteria, The relative richness of *Bacteroides*-H, *Lactobacillus* and *Ligilactobacillus* decreased ($P < 0.05$), while the relative richness of Bacteroidetes, Proteobacteria and *Prevotella* increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the colonic structure and organization of the SLBZS-H group, SLBZS-M group, SLBZS-L group and Positive group were clearer, and only a small number of inflammatory cells were present in some areas, and the serum contents of TNF- α , IL- 1β , IL-6 and 5-HT were decreased ($P < 0.05$), TLR2, TLR4, The protein expressions of MyD88 and NF- κ B decreased ($P < 0.05$), and compared with the model group, the diversity indices of Richness, Chao1, ACE and Shannon in the SLBZS-H, SLBZS-M and SLBZS-L groups increased ($P < 0.05$), and the richness of Firmicutes and Actinobacteria increased ($P < 0.05$). The richness of Proteobacteria and *Prevotella* decreased ($P < 0.05$), and the abundance of *Prevotella* decreased ($P < 0.05$), *Bacteroides*-H, *Muribaculum*, *Lactobacillus* and *salivarius* in the Positive group *salivarius* ($P < 0.05$). **Conclusion:** Shenling Baizhusan can effectively treat IBS-D, and its molecular mechanism may be to play a therapeutic role by improving intestinal flora and inhibiting the TLRs/MyD88/NF- κ B signaling pathway to reduce inflammatory response.

[Keywords] Shenling Baizhusan; diarrhoeal irritable bowel syndrome; intestinal flora; immune inflammation; Toll-like receptors/myeloid differentiation factor 88/nuclear factor- κ B (TLRs/MyD88/NF- κ B)

肠易激综合征 (IBS) 是一种以腹痛、排便习惯改变为特征的慢性功能性胃肠疾病, 全球患病率高达 3.8%。依据罗马标准, IBS 患者被划分为四大主要亚型, 分别是腹泻型 (IBS-D)、便秘型 (IBS-C)、混合型 (IBS-M) 及未分型 (IBS-U), 其中 IBS-D 为主要亚型, 占比 31.5%^[1-3]。IBS-D 具有长期腹痛和腹泻的疾病特征, 现代医学缺乏特异性治疗药物等问题导致该疾病患者的生活质量严重降低, 亟待探索新的干预策略提高患者生活质量^[4]。近年来, 包括参苓白术散在内的中药复方凭借其整体调节和多靶点干预的优势, 在改善 IBS-D 症状方面展现出独特的潜力, 但是其作用机制并未阐明。因此, 揭示参苓白术散在内的中药复方抗 IBS-D 的分子机制, 对推动中医药治疗 IBS-D 和开发新型治疗策略具有重

要价值。

研究证实, IBS-D 的发病与肠道菌群失调、内脏高敏感性、肠道低度炎症及脑-肠轴紊乱等多种机制相关^[5]。随着微生物学研究的深入, 肠道菌群失调在胃肠道疾病中的作用日益受到重视, 可通过破坏肠道屏障功能, 联系机体免疫诱发炎症反应导致疾病的发生^[6]。其中厚壁菌门和拟杆菌门是肠道内的主要菌群, 其比值被认为是机体健康与否的标志^[7]。此外, Toll 样受体家族/髓样分化因子 88/核转录因子- κ B (TLRs/MyD88/NF- κ B) 作为机体免疫炎症的重要信号通路, 在胃肠道疾病中占有重要地位^[8]。TLRs/MyD88/NF- κ B 激活可使下游促炎性细胞因子白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素- 1β (IL- 1β) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 等大量产生, 这些促炎因子介

导肠上皮屏障损伤,导致肠道通透性异常升高,扰乱肠道动力调节机制和促使外周敏化,形成内脏高敏感状态最终引发腹泻^[9]。

参苓白术散来源于《太平惠民和剂局方》,是治疗胃肠疾病的经典方剂,主要由人参、茯苓、白术、山药、莲子肉等药材组成,具有健脾益气、渗湿止泻的功效,临床用于改善IBS-D疗效显著^[10-11]。且现代药理学研究发现,参苓白术散在调节肠道菌群、抗炎、抗氧化、增强免疫力等机制中发挥一定药理作用。然而,参苓白术散在肠道菌群和TLRs/MyD88/NF- κ B信号通路作用于IBS-D的具体分子机制并未被完全阐述。因此,基于上述前人研究背景,本实验拟通过建立IBS-D大鼠模型,通过16S rDNA技术和分子生物学手段探讨参苓白术散基于肠道菌群和TLRs/MyD88/NF- κ B信号通路抗IBS-D的分子机制。此研究不仅为进一步探索出中医药抗IBS-D的分子机制提供了理论基础,也为深入理解中药复方通过菌群-免疫-炎症调控疾病的作用机制提供了新的思路。

1 材料

1.1 动物 6~8周龄(SPF)级雄性SD大鼠,体质量为(210 \pm 10) g,由辽宁长生生物技术股份有限公司提供,合格证号SCXK(辽)2020-001。饲养于河南中医药大学实验动物中心[实验动物许可证号SYXK(豫)2021-0015],动物饲养环境参数为室内温度21~25 $^{\circ}$ C,光照采用12 h/12 h明暗交替,环境湿度40%~60%。

1.2 伦理 本研究经河南中医药大学实验动物中心伦理委员会批准(伦理编号IACUC-202312025)。

1.3 药物 参苓白术散由麸炒白术15 g、山药15 g、茯苓15 g、人参15 g、白扁豆12 g、莲子9 g、麸炒薏苡仁9 g、砂仁6 g、桔梗6 g、炙甘草10 g组成,均购自河南中医药大学第一附属医院龙子湖院区,以上药物经河南中医药大学第一附属医院药学部陈天朝副主任药师鉴定均符合2020年版《中华人民共和国药典》规定。所有药物使用12倍比例纯净水冷水浸泡30 min后采用2次沸水煎煮后,过滤浓缩成2.36 g \cdot mL⁻¹的高质量浓度溶液,一部分使用生理盐水梯度稀释为1.18、0.59 g \cdot mL⁻¹的中、低质量浓度溶液,均4 $^{\circ}$ C保存备用。番泻叶(购自张仲景大药房,批号230901-3)溶液制备先以4倍体积沸水浸泡30 min,煎煮,然后纱布过滤浓缩,最终制成生药含量为0.45 g \cdot mL⁻¹的番泻叶药液,存于4 $^{\circ}$ C冰箱备用。匹维溴铵(北京福元医药股份有限公司,生产批号

H20133036,规格50 mg/片),利用生理盐水制成2.0 g \cdot L⁻¹的悬浮液。

1.4 试剂 大鼠5-羟色胺(5-HT)、IL-6、TNF- α 、IL-1 β 酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(上海酶联源桔生物科技有限公司,货号分别为YJ003125、YJ102828、YJ002859、YJ003057);苏木素染液、醇溶伊红染液、中性树胶(安徽欣乐生物技术有限公司,批号分别为0320220、0222215、030220);二甲苯(天津市凯通化学有限公司,批号2020223);无水乙醇(上海广诺化学有限公司,批号2020221);Toll样受体4(TLR4)、MyD88、NF- κ B抗体[普健生物科技(武汉)有限公司,货号分别为19811-1-AP、29946-1-AP、10745-1-AP];Marker(上海三鹰生物技术有限公司,货号PL0004),甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH,美国Proteintech公司,批号60004-1-Ig)。

1.5 仪器 Heraeus Fresco 21型高速冷冻离心机、Varioskan LUX型酶标仪(美国Thermo Fisher Scientific公司);YB-7LF型自动脱水机、ZT-12M型包埋机、YT-7FB型摊烤片机(武汉亚光电子有限公司);RM2016型轮转式切片机(德国Leica公司);DHG-9070型电热鼓风干燥箱(上海三发科学仪器有限公司);CX41型生物显微镜(日本Olympus Corporation有限公司);DYCP-32C型琼脂糖水平电泳仪(北京市六一仪器厂);T100型聚合酶链式反应(PCR)仪、转膜仪(美国Bio-Rad公司);NovaSeq 6000测序仪(美国Illumina公司)。

2 方法

2.1 IBS-D模型大鼠建立^[12] 经过1周的适应性饲养,采用随机数字表法将42只大鼠分为空白组7只和造模组35只。造模组大鼠采用冰冷番泻叶(0.45 g \cdot mL⁻¹)灌胃联合束缚应激制备IBS-D模型,空白组灌胃同体积生理盐水,以上灌胃均按照0.01 mL \cdot g⁻¹的灌胃体积进行灌胃,连续14 d。造模结束后对大鼠进行模型评价,以大鼠一般状态改变,体质量下降、粪便含水量及腹壁回缩反射评分(AWR)上升为造模成功标准。

2.2 分组与给药 将造模成功后的大鼠随机分为模型组、匹维溴铵组、SLBZS-H组、SLBZS-M组和SLBZS-L组,正常组和模型组大鼠灌胃生理盐水,SLBZS-H组、SLBZS-M组和SLBZS-L组灌胃相应治疗药物,参照Dreyer's体表面积等效剂量换算公式进行计算,以成人临床日剂量112 g生药量为基准,通过种属间代谢速率校正系数6.3进行剂量转换:实验动物等效剂量=(112 g \times 6.3)/60 kg=

11.76 g·kg⁻¹·d⁻¹(中剂量组),据此建立梯度给药方案(23.59、11.76、5.88 g·kg⁻¹·d⁻¹),匹维溴铵组灌胃2.0 g·L⁻¹匹维溴铵,均以10 mL·kg⁻¹灌胃体积灌胃,以上操作连续14 d。干预结束后观察大鼠的一般状态、检测各组大鼠的体质量、稀便率和AWR评分。

2.3 取材 大鼠粪便:将各组大鼠新鲜的粪便(10 g)装入冻存管中,并放于-80 °C冰箱中保存,用于16S rDNA肠道菌群测序。采集腹主动脉血:采用腹腔注射2%戊巴比妥钠溶液(40 mg·kg⁻¹)对大鼠实施麻醉。待麻醉起效后,经腹主动脉采集全血样本。将采集的血液样本立即置于4 °C预冷离心管中,以3 500 r·min⁻¹的转速在4 °C低温条件下离心15 min(离心半径10 cm)。离心后吸取上层血清,分装于无菌离心管中,然后迅速转移至-80 °C超低温冰箱保存,用于后续ELISA实验。大鼠结肠组织:选取距离肛门约8 cm处的病变显著区域,截取尺寸为长宽各1 cm的组织样本2份,其中1份立即置于4%浓度的多聚甲醛(PFA)固定液中,用于结肠组织形态观察分析;另1份-80 °C冰箱保存,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测。

2.4 观察指标与检测方法 一般状态、体质量:观察记录每组大鼠的体质量、饮食量、精神状态、毛发、粪便情况等。稀便率:将实验动物采用单笼饲养模式,使用底部为不锈钢网状结构的专用大鼠饲养笼,下方配置整张滤纸覆盖的收集托盘。收集并观察6 h内各组大鼠的粪便。对于观察期内未排便的大鼠,按照实验统计学处理方法,将其排便粒数设为1,以避免数据偏差。同时,采集新鲜粪便样本(10 g)置于无菌冻存管中,于-80 °C超低温冰箱保存,以备后续进行16S rDNA测序分析,研究肠道微生物群落结构。稀便率的计算方法如下,以滤纸表面是否出现污渍作为粪便性状的判定标准,统计每只实验动物在观察期内的稀便次数与排便总量,通过公式计算得出稀便率=(稀便次数/排便总次数)×100%。腹壁回缩反射,在进行AWR检测前,各组大鼠需经历36 h的禁食期(允许自由饮水)。检测时,使用乙醚进行麻醉处理,随后将大鼠固定于专用实验装置中。采用经石蜡油润滑的8 F导尿管(配备气囊)经肛门插入结肠约7 cm深度,确保实验动物仅能进行前后移动。待其完全适应实验环境后,依次注入1.0、1.5、2.0 mL的37 °C温水进行球囊扩张刺激,每个刺激量持续20 s,重复3次,刺激间隔30 s。记录每次扩张时动物的行为反应,取3次评分的均值作为最终结果。评分标准见增强出版附加

材料。

结肠组织形态:结肠组织标本经梯度脱水、石蜡包埋后切片(3 μm),脱蜡复水后行苏木素-伊红(HE)染色,经脱水透明处理,中性树胶封片,光镜下观察黏膜结构并采集图像分析。

ELISA检测血清:采用ELISA试剂盒检测血清5-HT、IL-6、IL-1β及TNF-α浓度,按说明书步骤操作;酶标仪450 nm测吸光度A,标准曲线四参数方程计算浓度。

Western blot检测大鼠结肠组织样本中TLR2、TLR4、MyD88、NF-κB等关键信号分子的表达:取-80 °C结肠组织冰上匀浆,放射免疫沉淀法缓冲液(RIPA)裂解液裂解后离心取上清;聚氨基丙烯酸正丁酯(BCA)定量蛋白,煮沸变性后经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离,转至PVDF膜;分别使用一抗TLR2(1:2 000)、TLR4(1:4 000)、NF-κB(1:6 000)、MyD88(1:3 000)4 °C孵育过夜,GAPDH(1:10 000)作为内参。辣根过氧化物酶(HRP)二抗室温反应60 min,增强化学发光(ECL)显影后图像系统分析条带灰度值,并进行统计学分析。

16S rDNA肠道菌群测序:采用16S核糖体DNA高通量测序技术对大鼠粪便样本中的肠道微生物群落进行分析。首先从粪便样本中提取微生物总DNA,使用特异性引物扩增16S rDNA的V3-V4可变区,并对PCR产物进行纯化。随后,利用Illumina测序平台构建测序文库并进行双端测序。获得原始测序数据后,通过质量控制和过滤去除低质量序列,保留高质量的有效数据。对有效序列进行可操作分类单元(OTU)聚类分析,采用去噪算法优化序列数据,并在不同分类水平门、属上进行物种注释。基于标准化处理后的OTU丰度矩阵,计算α多样性指数(包括Shannon指数、Chao1指数等)和β多样性指数,并进行群落结构的多元统计分析,包括主坐标分析(PCoA)和线性判别分析(LEfSe)等。

2.5 统计学处理 运用GraphPad Prism 9.1.0软件对实验数据进行统计学分析与图表绘制,多组间比较确定其差异性,应用单因素方差分析(One-way ANOVA)和多重比较检验法(Multiple comparisons)方法。 $P < 0.05$ 表明差异有统计学意义。

3 结果

3.1 参苓白术散对IBS-D大鼠一般状态的影响 正常组大鼠毛发有光泽,进食量正常,无扎堆和弓背,不易被激怒,肛门干净;造模大鼠进食量减少,

毛发无光泽,有弓背和扎堆现象,易被激怒,肛门污秽;经参苓白术散和匹维溴铵药物灌胃后,大鼠进食逐渐增多,毛发恢复正常,肛门污秽、易被激怒和扎堆现象明显缓解。

3.2 参苓白术散对IBS-D大鼠体质量、稀便率及腹壁回缩反射的影响 造模前,正常组和造模大鼠的体质量、稀便率和腹壁回缩反射差异均无统计学意义。造模后,与正常组比较,模型组、SLBZS-H组、SLBZS-M组、SLBZS-L组和匹维溴铵组的大鼠体质量明显降低($P<0.05$),稀便率明显升高($P<0.05$),AWR明显升高($P<0.05$),符合IBS-D模型大鼠标准;药物干预后,与模型组大鼠相比,SLBZS-H组、SLBZS-M组、SLBZS-L组和匹维溴铵组的大鼠体质量均明显升高($P<0.05$),稀便率均明显降低($P<0.05$),AWR明显下降($P<0.05$),说明匹维溴铵和参苓白术散药物可以改善IBS-D大鼠的一般状态。见表1-表3。

表1 参苓白术散对IBS-D大鼠体质量的影响($\bar{x}\pm s, n=7$)

Table 1 Effect of Shenling Baizhusan on body weight of IBS-D rats ($\bar{x}\pm s, n=7$) g

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	造模前	造模后	治疗后
正常组		250.70±5.23	349.00±5.11	395.00±3.57
模型组		249.60±7.56	266.10±10.40 ¹⁾	270.90±2.57
匹维溴铵组	0.02	252.30±8.69	260.50±5.91 ¹⁾	331.70±5.71 ²⁾
SLBZP-H组	23.59	250.00±8.96	261.10±4.53 ¹⁾	355.80±3.27 ²⁾
SLBZP-M组	11.76	244.50±11.27	260.10±5.13 ¹⁾	332.80±4.64 ²⁾
SLBZP-L组	5.88	248.70±5.56	263.00±5.38 ¹⁾	318.40±16.14 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较²⁾ $P<0.05$ (表3、表5-表9同)

表2 参苓白术散对IBS-D大鼠稀便率的影响($\bar{x}\pm s, n=7$)

Table 2 Effect of Shenling Baizhusan on defecation rate of IBS-D rats ($\bar{x}\pm s, n=7$) %

组别	剂量 /g·mL ⁻¹	造模前	造模后	治疗后
正常组		1.286±0.488	1.143±0.378	1.429±0.535
模型组		1.571±0.535	56.570±1.988 ¹⁾	55.710±2.360
匹维溴铵组	0.002	1.419±0.430	56.000±1.826 ¹⁾	15.710±1.604 ²⁾
SLBZP-H组	23.59	1.000±0.000	57.000±2.309 ¹⁾	13.860±2.116 ²⁾
SLBZP-M组	11.76	1.400±0.502	57.000±1.155 ¹⁾	15.430±1.718 ²⁾
SLBZP-L组	5.88	1.429±0.535	56.000±2.082 ¹⁾	19.290±1.254 ²⁾

3.3 参苓白术散对IBS-D大鼠结肠组织形态的影响 正常组和干预组结肠组织结构正常,各层结构清晰,黏膜表层完整,黏膜上皮未见糜烂,固有层、

表3 参苓白术散对IBS-D大鼠AWR的影响($\bar{x}\pm s, n=7$)

Table 3 Effect of Shenling Baizhusan on AWR in IBS-D rats ($\bar{x}\pm s, n=7$) 分

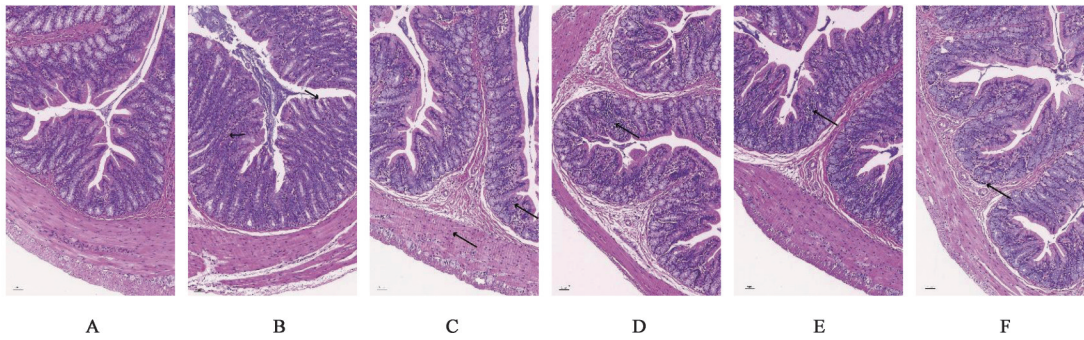
体积 /mL	组别	剂量 /g·kg ⁻¹	造模前	造模后	治疗后
1	正常组		0.42±0.53	0.42±0.53	0.28±0.48
	模型组		0.57±0.53	2.42±0.53 ¹⁾	2.71±0.48
	匹维溴铵组	0.002	0.42±0.53	2.57±0.54 ¹⁾	1.14±0.37 ²⁾
	SLBZP-H组	23.59	0.42±0.53	2.42±0.54 ¹⁾	0.71±0.48 ²⁾
	SLBZP-M组	11.76	0.42±0.53	2.28±0.48 ¹⁾	1.28±0.48 ²⁾
1.5	正常组		0.57±0.78	0.71±0.75	0.71±0.75
	模型组		0.57±0.78	2.28±0.48 ¹⁾	2.71±0.48
	匹维溴铵组	0.002	0.71±0.75	2.57±0.53 ¹⁾	1.28±0.48 ²⁾
	SLBZP-H组	23.59	0.71±0.75	2.57±0.53 ¹⁾	1.14±0.37 ²⁾
	SLBZP-M组	11.76	0.57±0.78	2.42±0.53 ¹⁾	1.28±0.48 ²⁾
2.0	正常组		0.71±0.75	0.71±0.75	1.00±0.57
	模型组		0.57±0.78	3.28±0.75 ¹⁾	3.00±0.81
	匹维溴铵组	0.002	0.71±0.75	3.28±0.75 ¹⁾	1.42±0.53 ²⁾
	SLBZP-H组	23.59	0.71±0.75	3.00±0.81 ¹⁾	1.28±0.48 ²⁾
	SLBZP-M组	11.76	0.57±0.78	3.00±1.00 ¹⁾	1.57±0.53 ²⁾
2.0	SLBZP-L组	5.88	0.71±0.75	3.14±0.69 ¹⁾	1.71±0.75 ²⁾

注:与相同体积刺激正常组比较¹⁾ $P<0.05$;与相同体积模型组比较²⁾ $P<0.05$

黏膜下层未见充血、水肿等病理变化,肌层、浆膜正常。参苓白术散高、中、低剂量组和阳性对照组可见少量炎性细胞;模型组部分组织结构可以看到少量炎性细胞浸润,部分黏膜上皮脱落和杯状细胞减少,部分隐窝结构皱缩炎性细胞浸润。见图1。

3.4 参苓白术散对IBS-D大鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、5-HT含量的影响 与正常组比较,模型组大鼠TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和5-HT炎症因子水平明显上升($P<0.05$)。相比于模型组,SLBZS-H组、SLBZS-M组、SLBZS-L组和匹维溴铵组的TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和5-HT炎症因子水平均出现了明显降低($P<0.05$),说明参苓白术散和匹维溴铵可以降低IBS-D大鼠血清中炎症因子水平。见表4。

3.5 参苓白术散对IBS-D大鼠结肠组织TLR4、MyD88和NF- κ B蛋白表达水平的影响 相较于正常组,模型组TLR4、TLR2、MyD88和NF- κ B蛋白表达量明显上升($P<0.05$)。与模型组相比较,给予不同浓度的参苓白术散及匹维溴铵处理的大鼠的TLR4、TLR2、MyD88和NF- κ B蛋白表达量均明显下降($P<0.05$),说明参苓白术散和匹维溴铵可以减



注:A. 正常组;B. 模型组;C. 匹维溴铵组;D. SLBZS-H组;E. SLBZS-M组;F. SLBZS-L组(图2同)

图1 参苓白术散对IBS-D大鼠结肠组织形态的影响(HE, ×40)

Fig. 1 Effect of Shenling Baizhusan on colon histomorphology in IBS-D rats (HE, ×40)

表4 参苓白术散对IBS-D大鼠血清中TNF-α、IL-6、IL-1β与5-HT水平的影响(̄x±s, n=7)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TNF-α	IL-1β	IL-6	5-HT
正常组		32.61±4.78	67.11±8.60	32.61±4.78	190.30±14.98
模型组		122.38±7.63 ¹⁾	144.18±11.36 ¹⁾	122.38±7.64 ¹⁾	405.47±25.10 ¹⁾
匹维溴铵组	0.002	79.28±2.83 ²⁾	100.65±3.47 ²⁾	79.28±2.83 ²⁾	311.44±14.83 ²⁾
SLBZS-H组	23.59	79.83±3.60 ²⁾	103.07±4.46 ²⁾	79.83±3.60 ²⁾	301.49±13.11 ²⁾
SLBZS-M组	11.76	85.94±3.14 ²⁾	108.63±0.99 ²⁾	85.94±3.14 ²⁾	326.87±3.39 ²⁾
SLBZS-L组	5.88	100.94±4.15 ²⁾	119.64±1.87 ²⁾	100.94±4.16 ²⁾	334.58±6.71 ²⁾

少IBS-D大鼠结肠中TLRs/MyD88/NF-κB信号通路 相关蛋白水平。见表5、图2。

表5 参苓白术散对IBS-D大鼠结肠组织TLR2、TLR4、MyD88和NF-κB蛋白表达的影响(̄x±s, n=7)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TLR4/GAPDH	TLR2/GAPDH	MyD88/GAPDH	NF-κB/GAPDH
正常组		0.67±0.22	1.80±0.83	0.82±0.35	1.56±0.39
模型组		2.39±0.25 ¹⁾	4.81±0.25 ¹⁾	2.85±0.43 ¹⁾	3.81±0.24 ¹⁾
匹维溴铵组	0.002	0.65±0.15 ²⁾	2.12±0.18 ²⁾	1.38±0.14 ²⁾	2.00±0.42 ²⁾
SLBZS-H组	23.59	0.85±0.04 ²⁾	2.33±1.26 ²⁾	1.51±0.16 ²⁾	1.95±0.39 ²⁾
SLBZS-M组	11.76	0.72±0.10 ²⁾	1.76±0.82 ²⁾	1.33±0.04 ²⁾	1.70±0.36 ²⁾
SLBZS-L组	5.88	0.83±0.30 ²⁾	1.98±1.18 ²⁾	1.32±0.09 ²⁾	2.24±0.35 ²⁾

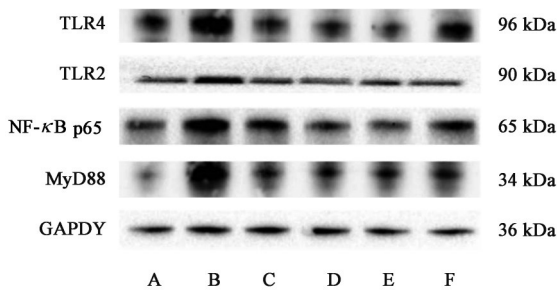


图2 各组大鼠结肠组织TLR2、TLR4、MyD88和NF-κB蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of TLR2, TLR4, MyD88 and NF-κB protein expression in colonic tissues of rats in each group

3.6 参苓白术散对IBS-D大鼠肠道菌群的影响

3.6.1 物种的注释与评估 Shannon曲线和花瓣图分析显示,在测序深度同样的条件下,与模型组比较,正常组、匹维溴铵组、SLBZS-H组、SLBZS-M组和SLBZS-L组的大鼠的OTU数量均有所增加,SLBZS-H组增加较为显著,说明参苓白术散和匹维溴铵可提高IBS-D大鼠体内肠道微生物丰富度。见增强出版附加材料。

3.6.2 物种组成分析 门水平上,与正常组比较,模型组大鼠Firmicutes和Actinobacteria等门类的菌群丰富程度明显减少($P<0.05$),而Bacteroidetes和

Proteobacteria 菌群丰富度明显增加($P<0.05$)。与模型组比较,正常组、匹维溴铵组、SLBZS-H组、SLBZS-M组和SLBZS-L组大鼠的 Firmicutes 和

Actinobacteria 菌群丰富度数目明显提升($P<0.05$),而 Bacteroidetes 和 Proteobacteria 的菌群丰富度则明显降低($P<0.05$)。见表6。

表6 参苓白术散对 IBS-D 大鼠门水平肠道菌群差异分析 ($\bar{x}\pm s, n=7$)

Table 6 Analysis on difference of intestinal flora at portal level of IBS-D rats by Shenling Baizhusan ($\bar{x}\pm s, n=7$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Firmicutes	Actinobacteria	Bacteroidetes	Proteobacteria
正常组		0.47±0.02	0.08±0.01	0.21±0.03	0.01±0.01
模型组		0.26±0.03 ¹⁾	0.03±0.01 ¹⁾	0.52±0.04 ¹⁾	0.07±0.01 ¹⁾
匹维溴铵组	0.002	0.42±0.01 ²⁾	0.06±0.01 ²⁾	0.29±0.03 ²⁾	0.03±0.01 ²⁾
SLBZP-H组	23.59	0.38±0.01 ²⁾	0.05±0.01 ²⁾	0.29±0.01 ²⁾	0.04±0.01 ²⁾
SLBZP-M组	11.76	0.35±0.01 ²⁾	0.04±0.01 ²⁾	0.31±0.02 ²⁾	0.05±0.01 ²⁾
SLBZP-L组	5.88	0.33±0.01 ²⁾	0.04±0.01 ²⁾	0.39±0.02 ²⁾	0.05±0.01 ²⁾

属水平上,与正常组比较,模型组中 *Prevotella* 的菌群相对丰富度明显呈现上升趋势($P<0.05$),而 *Bacteroides-H*、*Lactobacillus* 和 *Ligilactobacillus* 的相对丰富度呈明显降低趋势($P<0.05$)。与模型组比较,SLBZS-H组、SLBZS-M组、SLBZS-L组和匹维溴铵组的 *Prevotella* 的相对丰富度出现明显下降

($P<0.05$),SLBZS-H组、SLBZS-M组 *Bacteroides-H*、*Muribaculum* 和 *Limosilactobacillus* 明显升高($P<0.05$);匹维溴铵组 *Bacteroides-H*、*Muribaculum*、*Lactobacillus*、*Ligilactobacillus* 相对丰度明显升高($P<0.05$)。说明参苓白术散能够提高 IBS-D 大鼠有益菌数目和降低有害菌数目。见表7。

表7 参苓白术散对 IBS-D 大鼠属水平肠道菌群差异分析 ($\bar{x}\pm s, n=7$)

Table 7 Analysis on difference of intestinal flora in IBS-D rats by Shenling Baizhusan ($\bar{x}\pm s, n=7$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	<i>Prevotella</i>	<i>Bacteroides-H</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Ligilactobacillus</i>
正常组		0.024 0±0.014 3	0.073 3±0.007 4	0.162 4±0.025 2	0.290 4±0.037 4
模型组		0.235 4±0.068 8 ¹⁾	0.027 3±0.004 7 ¹⁾	0.023 8±0.014 0 ¹⁾	0.018 9±0.006 5 ¹⁾
匹维溴铵组	0.002	0.035 7±0.002 6 ²⁾	0.078 2±0.000 7 ²⁾	0.112 6±0.033 0 ²⁾	0.339 2±0.067 6 ²⁾
SLBZP-H组	23.59	0.037 4±0.017 7 ²⁾	0.088 7±0.000 7 ²⁾	0.141 2±0.046 2 ²⁾	0.033 1±0.004 2 ²⁾
SLBZP-M组	11.76	0.060 9±0.009 8 ²⁾	0.087 5±0.000 7 ²⁾	0.120 3±0.034 5 ²⁾	0.026 0±0.013 5 ²⁾
SLBZP-L组	5.88	0.101 1±0.006 4 ²⁾	0.054 5±0.000 8 ²⁾	0.072 1±0.003 1	0.045 3±0.017 2

3.6.3 α 多样性分析 Chao1 指标代表生物群落的物种丰裕程度,数值越高,代表群落中的物种数量越多。Shannon 指标、Simpson 指标及 Faith_pd 等参数的数值越大,说明样本中的物种分布越广泛。相较于正常组,模型组的 Chao1 指数、Shannon 指数、

Faith_pd 指数和 Simpson 指数均呈明显下降趋势($P<0.05$);经 SLBZP 干预后,与模型组比较,SLBZS-H组、SLBZS-M组、SLBZS-L组和匹维溴铵组的 Chao1 指数、Shannon 指数、Faith_pd 指数和 Simpson 指数明显上升($P<0.05$)。见表8。

表8 参苓白术散对 IBS-D 大鼠肠道 α 多样性分析 ($\bar{x}\pm s, n=7$)

Table 8 Analysis of Shenling Baizhusan on α diversity of intestine in IBS-D rats ($\bar{x}\pm s, n=7$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Chao1	Simpson	Shannon	Faith-pd
正常组		640.30±71.97	0.97±0.01	6.82±0.52	34.52±2.25
模型组		383.10±71.29 ¹⁾	0.64±0.05 ¹⁾	3.80±0.39 ¹⁾	21.54±0.78 ¹⁾
匹维溴铵组	0.002	498.10±18.37 ²⁾	0.88±0.03 ²⁾	5.32±0.13 ²⁾	28.73±0.98 ²⁾
SLBZP-H组	23.59	531.90±13.54 ²⁾	0.85±0.01 ²⁾	5.46±0.51 ²⁾	28.09±1.41 ²⁾
SLBZP-M组	11.76	455.90±37.45 ²⁾	0.84±0.03 ²⁾	5.27±0.16 ²⁾	26.12±0.70 ²⁾
SLBZP-L组	5.88	437.40±46.06 ²⁾	0.79±0.04 ²⁾	4.82±0.46 ²⁾	25.42±2.51 ²⁾

3.6.4 β 多样性分析和功能预测分析 PCoA显示正常组与模型组空间分离,表明肠道菌群结构显著改变;匹维溴铵组、SLBZS-H组及SLBZS-M组向正常组聚集,其中SLBZS-H组分布最接近,提示SLBZP可改善菌群紊乱。京都基因与基因组百科全书(KEGG)预测显示各组大鼠肠道菌群前10代谢通路包括D-丙氨酸代谢、D-谷氨酰胺/谷氨酸代谢、其他糖降解、DNA错配修复、链霉素生物合成、肽聚糖生物合成、氨酰基-tRNA生物合成、核糖体功能、缬氨酸/亮氨酸/异亮氨酸生物合成及细胞周期调控等。见增强出版附加材料。

3.6.5 功能差异比较 功能注释分析显示,正常组与模型组在细胞凋亡、自噬、铜绿假单胞菌生物膜形成、铁死亡、溶酶体、坏死性凋亡、过氧化物酶体及群体效应等功能上存在显著差异($P<0.05$, $P<0.01$);模型组与SLBZS各组在细胞凋亡、铁死亡、过氧化物酶体和群体效应中差异显著($P<0.05$, $P<0.01$)。见增强出版附加材料。

4 讨论

参苓白术散出自《太平惠民和剂局方》,广泛应用于治疗胃肠疾病,且临床效果显著^[13]。该方主要由人参、茯苓、白术、白扁豆、莲子、甘草、山药、砂仁、薏苡仁、桔梗等中草药组成,人参健脾养胃;白术、茯苓搭配共建燥湿健脾之功;山药、薏苡仁和白扁豆三者健脾化湿;砂仁芳香化湿,和胃降逆;桔梗宣发肺气;甘草具有调和诸药,共奏祛湿止泻的功效。本实验采用冰冷番泻叶灌胃联合束缚应激造模方法构建IBS-D动物实验模型,经过一段时间造模处理后,造模大鼠均出现稀便、AWR评分增高、体重下降和易被激怒等异常情况,符合一般IBS-D模型大鼠特点^[14]。而经参苓白术散和匹维溴铵药物治疗后,大鼠的稀便率和AWR被显著改善,说明参苓白术散可以有效改善IBS-D大鼠腹泻和腹痛等不适症状。

本研究发现肠道菌群在各组大鼠中存在明显差异,提示参苓白术散治疗IBS-D大鼠可能是通过调节肠道菌群紊乱实现。随后根据Western blot、HE和ELISA结果得知,参苓白术散和匹维溴铵药物能够改善大鼠结肠病理损伤、降低大鼠结肠TLR4、TLR2、MyD88和NF- κ B蛋白的表达量和下调大鼠血清中的炎症因子的水平,推测参苓白术散治疗IBS-D的机制可能是通过调节IBS-D大鼠肠道菌群和调控TLRs/MyD88/NF- κ B信号通路抑制炎症反应来发挥治疗作用的。

本实验证明改善肠道菌群是参苓白术散治疗IBS-D大鼠的有效方向^[15-17]。槲皮素、人参皂苷、桔梗皂苷等是参苓白术散中关键活性成分,可通过其抗氧化特性,调节免疫细胞功能和肠道菌群结构,上调有益菌群的丰度降低炎症因子的表达进而改善炎症,且肠道微生物还可将桔梗皂苷转化为具有抗炎作用的生物活性物质,通过TLR4/NOD信号通路缓解肠道炎症^[18-21]。

在本研究中,对大鼠粪便采取16S rDNA肠道菌群测序,肠道微生物群落主要由Firmicutes、Actinobacteria、Bacteroidetes和Proteobacteria四大菌门构成。实验结果显示,经参苓白术散干预后,肠道菌群结构发生显著改变,其中Firmicutes和Actinobacteria的相对丰度显著升高,而Bacteroidetes和Proteobacteria的丰度则呈现下降趋势。从功能角度来看,Firmicutes通常与抗炎作用相关,能够促进短链脂肪酸的产生;而Bacteroidetes则与促炎反应密切相关,其代谢产物可能诱导炎症反应。因此,Firmicutes与Bacteroidetes的相对丰度比值(F/B)被广泛认为是评估肠道微生态平衡和炎症状态的重要生物学指标,该比值的变化可反映肠道屏障功能的完整性及机体的炎症水平。

经参苓白术散治疗后,厚壁菌门和放线菌门数量增加,拟杆菌门和变形菌门数量减少;在机体中,厚壁菌门一般具有抗炎作用,拟杆菌门具有促炎作用,其比值是判断肠道菌群健康与否和炎症的重要指标^[22-23]。放线菌门和变形菌门在胃肠道均与炎症相关,放线菌门通过代谢和免疫调节活动,发挥保护和抗炎作用;变形菌门则是菌群失调和炎症疾病的标志,通过脂多糖(LPS)等机制引发炎症^[24-25]。根据本实验门水平分析结果来看,参苓白术散能够显著改善厚壁菌门与拟杆菌门的比值,降低变形菌门和提高放线菌门的微生物数量,发挥机体抗炎作用。在属水平上,实验结果显示主要以普氏菌属为主要有害菌,拟杆菌属、乳杆菌属等为主要有益菌。普氏菌属可产生短链脂肪酸(SCFAs)如丙酸和丁酸,这些代谢物对肠道屏障功能和抗炎作用具有重要作用,普氏菌属的比例升高可能会通过增强肠道免疫反应或增加肠道通透性加剧炎症和不适症状^[26]。拟杆菌属的一个重要亚群拟杆菌属-H与肠道屏障功能和代谢活动密切相关,其代谢产物如LPS可通过激活TLR4,诱导黏膜炎症,加重肠道不适症状^[2]。乳杆菌属衍生物在研究中发现可通过增强紧密连接蛋白表达(如ZO-2)的能力,减轻IBS-D

患者的肠道通透性从而缓解症状,此外,乳酸菌还可通过调节5-HT信号通路及减少促炎性细胞因子的产生,改善IBS-D腹痛和腹泻症状^[27-28]。根据属水平实验结果显示,参苓白术散调节肠道菌群治疗IBS-D大鼠的作用机制可能是通过提高肠道屏障和抑制炎症通路降低炎症因子的表达。从 α 和 β 分析显示的结果来看,参苓白术散能够上调大鼠肠道微生物丰富度,功能预测分析和功能差异性比较显示模型组和参苓白术散治疗组在细胞凋亡、铁死亡、过氧化物酶体和群体效应上有显著差异,而细胞凋亡、铁死亡、过氧化物酶体和群体效应与炎症反应关系密切,因此推测参苓白术散可能通过调节大鼠肠道菌群修复免疫损伤进而降低炎症反应治疗IBS-D。

低度炎症是IBS-D的重要潜在机制,TLRs/NF- κ B信号转导通路作为重要的调控网络,在肠道黏膜慢性低度炎症和免疫稳态失衡等病理生理过程中发挥着核心作用^[29],从分子机制层面来看,当位于细胞膜表面的模式识别受体(如TLR2、TLR4等)与其相应配体结合而被激活后,会启动下游级联反应。首先,胞质内的MyD88表达水平显著上调;随后,这一信号通过I κ B激酶(IKK)复合物的磷酸化作用传导至细胞核内,这一过程将会促使NF- κ B抑制蛋白进一步降解,进而使NF- κ B能够迁移至细胞核内。这一系列分子事件最终导致TNF- α 、IL-6等促炎细胞因子的转录水平显著升高,诱发持续的炎症反应。值得注意的是,这种炎症微环境的形成会进一步导致肠道神经元敏感性增强,从而促进内脏高敏感状态的发生发展,严重影响患者的肠道功能和生活质量,这与最新研究报道指出低度炎症与IBS-D有密切联系观点一致^[30-31]。在本实验中,Western blot、HE和ELISA实验结果显示参苓白术散明显降低了TLR4、MyD88和NF- κ B蛋白表达,改善了大鼠结肠组织结构轻度损伤和抑制TNF- α 、5-HT、IL-6、IL-1 β 炎性因子释放,与已有的研究结果类似,证明了参苓白术散可以很好地改善IBS-D的低度炎症变化。

综上所述,本研究利用16S rDNA扩增测序技术、Western blot、HE和ELISA等实验,初步揭示了参苓白术散治疗IBS-D的可能性机制。但是由于中药复方成分多且复杂和庞大多样的肠道微生物,导致药物治疗疾病的具体途径并不明确。而从本实验中功能差异比较和功能预测分析部分来看,细胞凋亡、铁死亡和过氧化物酶体皆可以作为IBS-D机

制新的研究方向,且以上机制皆与肠道黏膜屏障密切相关,可通过氧化应激和炎症损伤肠道上皮屏障,增加肠道通透性并加重炎症反应,引起胃肠道疾病。此外,研究发现免疫介导的细胞凋亡可能是IBS-D发生的重要触发因素,进一步为潜在的治疗靶点提供了线索^[32-34]。最后,继本实验之后,拟更进一步通过多组学技术继续深入探讨和开展更多针对IBS-D发病和治疗机制的研究。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] FORD A C, SPERBER A D, CORSETTI M, et al. Irritable bowel syndrome[J]. *Lancet*, 2020, 396(10263): 1675-1688.
- [2] ALTOMARE A, DI ROSA C, IMPERIA E, et al. Diarrhea predominant-irritable bowel syndrome (IBS-D): Effects of different nutritional patterns on intestinal dysbiosis and symptoms[J]. *Nutrients*, 2021, 13(5): 1506.
- [3] KANG X, ZHANG H, LI X, et al. Electroacupuncture improving intestinal barrier function in rats with irritable bowel syndrome through regulating aquaporins[J]. *Dig Dis Sci*, 2024, 69(4): 1143-1155.
- [4] QI L Y, YANG J W, YAN S Y, et al. Acupuncture for the treatment of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome: A pilot randomized clinical trial[J]. *JAMA Netw Open*, 2022, 5(12): e2248817.
- [5] XIAO L, LIU Q, LUO M, et al. Gut microbiota-derived metabolites in irritable bowel syndrome[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 729346.
- [6] GUO Q, LIN H, CHEN P, et al. Dynamic changes of intestinal flora in patients with irritable bowel syndrome combined with anxiety and depression after oral administration of enterobacteria capsules[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(2): 11885-11897.
- [7] RINNINELLA E, RAOUL P, CINTONI M, et al. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases [J]. *Microorganisms*, 2019, 7(1): 14.
- [8] ZHANG P, MA Y, WANG Z, et al. The effect and mechanism of Sancao Lichang decoction on diarrhea-predominant irritable bowel syndrome by regulating TLR4/MyD88/NF- κ B pathway[J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2023, 26(13): 2372-2379.
- [9] XIA Q, WEI Y, HU L J, et al. Inhalation of microplastics induces inflammatory injuries in multiple murine organs via the toll-like receptor pathway[J]. *Environ Sci Technol*, 2024, 58(42): 18603-18618.
- [10] 周丽洁, 黄适, 田维, 等. 参苓白术散治疗腹泻型肠易激综合征现状分析[J]. *实用中医内科杂志*, 2024, 38(8): 28-30.
ZHOU LJ, HUANG S, TIAN W, et al. Status analysis of Shenlingbaizhu powder in the treatment of diarrhea-

- predominant irritable bowel syndrome[J]. J Pract Tradit Chin Intern Med, 2024, 38(8): 28-30.
- [11] QU Q, LI S P, DONG Q, et al. Transcriptome profiling revealed the potential mechanisms of Shen Lin Bai Zhu San *n*-butanol extract on DSS induced colitis in mice and LC-MS analysis[J]. Phytomedicine, 2023, 110: 154645.
- [12] 张之涵, 刘羽彤, 顾玲, 等. 基于5-HT探讨电针刺激天枢、足三里对IBS-D大鼠的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(12): 2264-2271.
- ZHANG ZH, LIU YT, GU L, et al. Effects of electroacupuncture stimulation of "Tianshu" (ST25) and "Zusanli" (ST36) on IBS-D rats based on 5-HT[J]. J Hunan Univ Chin Med, 2023, 43(12): 2264-2271.
- [13] XUE H, MA J, WANG Y, et al. Shen-Ling-Bai-Zhu-San (SL) and SL derived-polysaccharide (PL) ameliorate the severity of diarrhea-induced by high lactose via modification of colonic fermentation[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 883355.
- [14] 张佳河, 祝旺, 沈丹婷, 等. 腹泻型肠易激综合征动物模型评价的研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(2): 238-247.
- ZHANG JH, ZHU W, SHEN DT, et al. Research progress on animal models for the evaluation of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(2): 238-247.
- [15] THURSBY E, JUGE N. Introduction to the human gut microbiota[J]. Biochem J, 2017, 474(11): 1823-1836.
- [16] NAGU P, PARASHAR A, BEHL T, et al. Gut microbiota composition and epigenetic molecular changes connected to the pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. J Mol Neurosci, 2021, 71(7): 1436-1455.
- [17] 庄晓君, 陈旻湖, 熊理守. 肠道微生态参与肠易激综合征发病的相关机制[J]. 胃肠病学, 2017, 22(3): 181-183.
- ZHUANG X J, CHEN Y H, XIONG L S. Mechanism of involvement of intestinal microbiota in pathogenesis of irritable bowel syndrome[J]. Chin J Gastroenterol, 2017, 22(3): 181-183.
- [18] ZHAO L, ZHANG T, ZHANG K. Pharmacological effects of ginseng and ginsenosides on intestinal inflammation and the immune system[J]. Front Immunol, 2024, 15: 1353614.
- [19] YU T, XIE Y, WANG Z, et al. Quercetin ameliorates celiac-related intestinal inflammation caused by wheat gluten through modulating oxidative stress, Th1/Th2/Treg balance, and intestinal microflora structure[J]. Food Funct, 2024, 15(18): 9343-9356.
- [20] 金蕾, 朱轶. 桔梗皂苷D对大鼠溃疡性结肠炎的改善作用及对TLR4/NOD信号通路蛋白表达的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2023, 40(6): 1462-1467.
- JIN L, ZHU Y. Improvement of platycodin D on ulcerative colitis in rats and effect on protein expression of TLR4/NOD signaling pathway[J]. J Guangzhou Univ Chin Med, 2023, 40(6): 1462-1467.
- [21] XU W, HAN S, WANG W, et al. Analysis of gut microbiota metabolites of platycodin D and activity verification [J]. J Pharm Biomed Anal, 2024, 242: 116016.
- [22] STOJANOV S, BERLEC A, ŠTRUKELJ B. The influence of probiotics on the firmicutes/bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease [J]. Microorganisms, 2020, 8(11): 1715.
- [23] KE W, WANG Y, HUANG S, et al. Paeoniflorin alleviates inflammatory response in IBS-D mouse model via downregulation of the NLRP3 inflammasome pathway with involvement of miR-29a[J]. Heliyon, 2022, 8(12): e12312.
- [24] RICHARD M L, SOKOL H. The gut mycobiota: Insights into analysis, environmental interactions and role in gastrointestinal diseases [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(6): 331-345.
- [25] SUN H, LONG S R, JIANG M, et al. The gut microbiota is essential for *Trichinella spiralis*-evoked suppression of colitis [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2024, 18(11): e0012645.
- [26] HILLESTAD E, VAN D M A, NAGARAJA B H, et al. Gut bless you: The microbiota-gut-brain axis in irritable bowel syndrome [J]. World J Gastroenterol, 2022, 28(4): 412-431.
- [27] CHENG X, REN C, MEI X, et al. Gut microbiota and irritable bowel syndrome: Status and prospect [J]. Front Med (Lausanne), 2024, 11: 1429133.
- [28] ANDREWS C N, SIDANI S, MARSHALL J K. Clinical management of the microbiome in irritable bowel syndrome [J]. J Can Assoc Gastroenterol, 2021, 4(1): 36-43.
- [29] 储浩然, 王宇, 仝理, 等. 艾灸对腹泻型肠易激综合征大鼠结肠TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路的影响[J]. 针刺研究, 2020, 45(8): 633-639.
- CHU HR, WANG Y, TONG L, et al. Effect of moxibustion on TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway in colon of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome rats [J]. Acupunct Res, 2020, 45(8): 633-639.
- [30] MACUNLUOGLU B, GUMRUKCUOGLU H A, ATAKAN A, et al. Lowering dialysate sodium improves systemic oxidative stress in maintenance hemodialysis patients [J]. Int Urol Nephrol, 2016, 48(10): 1699-1704.
- [31] WANG J Q, BEUTLER B, GOODNOW C C, et al. Inhibiting TLR9 and other UNC93B1-dependent TLRs paradoxically increases accumulation of MyD88L265P plasmablasts *in vivo* [J]. Blood, 2016, 128(12): 1604-1608.
- [32] ZHENG X, JIN X, YE F, et al. Ferroptosis: A novel regulated cell death participating in cellular stress response, radiotherapy, and immunotherapy [J]. Exp Hematol Oncol, 2023, 12(1): 65.
- [33] DIN M, LIN Y, WANG N, et al. Ferroptosis and the ubiquitin-proteasome system: Exploring treatment targets in cancer [J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1383203.
- [34] HAN J, ZHENG D, LIU P S, et al. Peroxisomal homeostasis in metabolic diseases and its implication in ferroptosis [J]. Cell Commun Signal, 2024, 22(1): 475.

[责任编辑 顾雪竹]