

丹参泽泻汤对代谢相关脂肪性肝病大鼠 肠道菌群-SCFAs-GLP-1代谢轴的调节作用

彪雅宁¹, 安嘉琪¹, 张豆², 高星星³, 陈健², 刘晨旭¹, 孟琳山², 张睦清^{4*}, 张一昕^{1*}

(1. 河北中医药大学药学院, 河北省中药资源利用与质量评价联合研究中心, 石家庄 050200;
2. 河北中医药大学中医学院, 石家庄 050200; 3. 河北中医药大学第一附属医院, 石家庄 050011;
4. 河北医科大学第四医院, 石家庄 050011)

[摘要] 目的:探讨丹参泽泻汤通过调节“肠道菌群-短链脂肪酸(SCFAs)-胰高糖素样肽-1(GLP-1)”代谢轴对代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)的治疗作用及其机制。方法:10只SD大鼠喂饲正常饲料作为正常组,另取50只SD大鼠喂饲高脂饲料复制MAFLD模型,并随机分为模型组、易善复组(0.144 g·kg⁻¹)和丹参泽泻汤低、中、高剂量组(2.5、5、10 g·kg⁻¹)。造模12周后,造模同时给予药物治疗4周。实验结束后,检测血清炎症因子含量;16S rRNA测序分析粪便肠道菌群结构;气相色谱质谱联用(GC-MS)仪检测粪便SCFAs含量;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠结肠组织G蛋白偶联受体41(GPR41)、G蛋白偶联受体43(GPR43)及肝组织GLP-1、胰高糖素样肽-1受体(GLP-1R)、腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)、磷酸化(p)-AMPK、沉默信息调节因子2同源体1(SIRT1)、核转录因子- κ B(NF- κ B)和p-NF- κ B蛋白表达水平。结果:与正常组比较,模型组大鼠血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)含量均显著升高($P<0.01$),肠道菌群 α 多样性指数、拟杆菌门和乳杆菌属丰度、SCFAs含量及GPR41、GPR43、GLP-1、GLP-1R、p-AMPK和SIRT1蛋白表达均显著降低($P<0.01$),厚壁菌门和考拉杆菌属丰度、厚壁菌门/拟杆菌门比值(F/B)和p-NF- κ B蛋白表达均明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较,丹参泽泻汤各剂量组均能明显降低血清炎症因子含量($P<0.01$),显著上调肠道菌群 α 多样性指数、拟杆菌门和乳杆菌属丰度、SCFAs含量及GPR41、GPR43、GLP-1、GLP-1R、p-AMPK和SIRT1蛋白表达($P<0.05$, $P<0.01$),明显下调厚壁菌门和考拉杆菌属丰度、F/B值和p-NF- κ B蛋白表达($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:丹参泽泻汤治疗MAFLD的作用机制可能与调节“肠道菌群-SCFAs-GLP-1”代谢轴,抑制炎症反应有关。

[关键词] 代谢相关脂肪性肝病; 丹参泽泻汤; 肠道菌群; 短链脂肪酸; 胰高糖素样肽-1

[中图分类号] R277;R285;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)16-0069-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20260242

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20260108.1011.003>

[网络出版日期] 2026-01-08 14:39:29 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



Regulatory Effect of Danshen Zexie Decoction on Gut Microbiota-SCFAs-GLP-1 Metabolic Axis in Rat Model of Metabolic-associated Fatty Liver Disease

BIAO Yaning¹, AN Jiaqi¹, ZHANG Dou², GAO Xingxing³, CHEN Jian², LIU Chenxu¹, MENG Linshan², ZHANG Muqing^{4*}, ZHANG Yixin^{1*}

(1. College of Pharmacy, Hebei University of Chinese Medicine, International Joint Research Center on Resource Utilization and Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicine (TCM) of Hebei Province, Shijiazhuang 050200, China; 2. College of TCM, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China; 3. The First Affiliated Hospital of Hebei University of Chinese Medicine,

[收稿日期] 2025-10-10

[基金项目] 河北省自然科学基金项目(H2023423064);河北省属高校基本科研业务费专项(TDZR2025008);河北省中医药管理局中医药类科学研究课题计划项目(2026093);国家级大学生创新创业训练计划项目(202514432023)

[第一作者] 彪雅宁, 博士, 讲师, 从事代谢性疾病中医药防治及机制研究, E-mail: biao Yaning@hebcm.edu.cn

[通信作者] * 张一昕, 博士, 教授, 博士生导师, 从事代谢性疾病中医药防治及机制研究, E-mail: zhangyixin@hebcm.edu.cn;

* 张睦清, 博士, 副主任医师, 从事消化内科疾病的基础和临床研究, E-mail: 1037297629@qq.com

Shijiazhuang 050011, China;

4. The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effect and mechanism of Danshen Zexie decoction on metabolic associated fatty liver disease (MAFLD) by regulating the gut microbiota-short-chain fatty acids (SCFAs)-glucagon-like peptide 1 (GLP-1) metabolic axis. **Methods:** Ten SD rats were fed a standard diet as the control group, while fifty SD rats were fed a high-fat diet to build the MAFLD model. The modeled rats were assigned into the model, Yishanfu ($0.144\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), and low-, medium-, and high-dose Danshen Zexie decoction ($2.5, 5, 10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively) groups. After 12 weeks of modeling, drugs were administered simultaneously with the modeling for 4 weeks. Serum levels of inflammatory factors were measured. Fecal gut microbiota composition was analyzed by 16S rRNA sequencing, and levels of SCFAs were quantified by gas chromatography-mass spectrometry. Western blot was performed to determine the protein levels of G protein-coupled receptors 41/43 (GPR41/43) in the colon as well as GLP-1, GLP-1 receptor (GLP-1R), adenosine monophosphate protein kinase (AMPK), phosphorylated (p)-AMPK, silent mating type information regulator 2 homolog 1 (SIRT1), nuclear factor- κ B (NF- κ B), and p-NF- κ B in the liver. **Results:** Compared with the control group, the model group showed increased serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), and interleukin-8 (IL-8), abundance of Firmicutes and Phascolarctobacterium, Firmicutes/Bacteroidetes (F/B) ratio, and protein level of p-NF- κ B ($P<0.05, P<0.01$). Furthermore, the model group exhibited decreased α diversity index of the gut microbiota, abundance of Firmicutes and *Lactobacillus*, content of SCFAs, and protein levels of GPR41, GPR43, GLP-1, GLP-1R, p-AMPK, and SIRT1 ($P<0.01$). Compared with the model group, Danshen Zexie decoction significantly decreased the contents of inflammatory factor levels in serum ($P<0.01$), increased the α diversity index of the gut microbiota, the abundance of Firmicutes and *Lactobacillus*, the content of SCFAs, and the protein levels of GPR41, GPR43, GLP-1, GLP-1R, p-AMPK and SIRT1 ($P<0.05, P<0.01$). Moreover, it decreased the abundance of Firmicutes and *Phascolarctobacterium*, the F/B ratio, and the protein level of p-NF- κ B ($P<0.05, P<0.01$). **Conclusion:** Danshen Zexie decoction may ameliorate MAFLD by modulating the gut microbiota-SCFAs-GLP-1 metabolic axis and suppressing inflammatory response.

[Keywords] metabolic-associated fatty liver disease; Danshen Zexie decoction; gut microbiota; short-chain fatty acid; glucagon-like peptide-1

代谢相关脂肪性肝病(MAFLD)为临床常见的慢性肝病,影响着全球约32.4%的人口^[1]。随着生活质量的提升,我国MAFLD患病人数逐年升高且趋于年轻化,患病率约为29.81%^[2-3]。若对MAFLD病情未能引起重视和及时干预,则会进一步恶化为肝炎、肝硬化,甚至肝癌,严重威胁着患者的身心健康和生活质量。因此,防治MAFLD的发生发展已成为我国重要的公共卫生问题^[4]。新近研究表明,肠道菌群及其代谢产物参与了MAFLD的发生和发展。短链脂肪酸(SCFAs)为肠道菌群的主要代谢产物,可通过与G蛋白偶联受体41/43(GPR41/43)结合促进胰高血糖素样肽-1(GLP-1)释放,GLP-1通过“肠-肝”轴进入肝脏激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)信号分子。AMPK活化后能够通过抑制核转录因子- κ B(NF- κ B)介导的炎症反应,从而延缓或抑制MAFLD的病程进展^[5]。目前有关肠道菌群及其代谢产物(SCFAs、胆汁酸、氧化三甲胺等)在MAFLD发病中的研究较多,但基于肠道菌群代谢产物对MAFLD发病机制的深入研究及中药干预效果的报道较少。

丹参泽泻汤为经方“泽泻汤”加丹参、荷叶而成,课题组前期研究已表明该方能够改善MAFLD

大鼠脂代谢紊乱,减轻肝组织脂肪变性^[6-8],但其对肠道菌群及其代谢产物的调节作用尚不明确。然而,中药复方通过“肠道菌群-SCFAs-GLP-1”代谢轴发挥治疗MAFLD作用的系统性证据尚缺乏。基于此,本实验以高脂饲料复制MAFLD大鼠模型,通过整合16S rRNA测序分析和气相色谱质谱联用(GC-MS)方法,观察了丹参泽泻汤对模型大鼠的保护作用及对肠道菌群组成结构、SCFAs含量、GLP-1信号通路相关蛋白表达水平的影响,旨在揭示该方对MAFLD的治疗作用及肠道机制。

1 材料

1.1 动物 60只SPF级SD大鼠,雄性,体质量(188 ± 12)g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证编号110011220104871687,生产合格证号SCXK(京)2021-0006。将动物饲养于河北中医药大学实验动物中心,温度(23 ± 3)℃、湿度30%~70%,12h明暗交替。

1.2 伦理 本实验经河北中医药大学伦理委员会审查通过(DWLL202303026)。

1.3 药物 本实验所用复方均为配方颗粒,由丹参15g、泽泻30g、麸炒白术12g、荷叶10g组成,由广东一方制药有限公司提供(批号分别为1102223、

1094813、1090903、0046403);多烯磷脂酰胆碱胶囊(北京赛诺菲制药有限公司,商品名易善复,批号ABJD069B,规格228 mg/粒)。

1.4 试剂 肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(上海森雄科技实业有限公司,批号分别为SXR0322、SXR033、SXR063);G蛋白偶联受体43(GPR43)和胰高糖素样肽-1受体(GLP-1R)抗体(北京博奥森生物技术有限公司,批号分别为bs-13536R、bs-1559R);GLP-1、沉默信息调节因子2同源体1(SIRT1)、AMPK、磷酸化(p)-AMPK(Thr172)、NF- κ B、p-NF- κ B(Ser536)和GPR41抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司,批号分别为AF0166、DF6033、AF6423、AF3423、AF5006、AF2006、AF9075);Mag-Bind Soil DNA提取试剂盒(美国BioTek公司,货号M5635-02)。

1.5 仪器 iChem-530型全自动生化分析仪(深圳市库贝尔生物科技股份有限公司);HT300R型离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);LEICA RM 2025型石蜡切片机(德国Leica公司);CX23型正置光学显微镜(日本Olympus公司);TRACE 1300型气相色谱仪、ISQ 7000型质谱仪、NC2000型NanoDrop超微量分光光度计(美国Thermo Fisher Scientific公司);Illumina MiSeq型测序仪(美国Illumina公司)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药 大鼠随机分为6组($n=10$):正常组,模型组,易善复组($0.144\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),丹参泽泻汤低($2.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、中($5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和高($10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)剂量组,分别相当于生药量7.04、14.08、28.16 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,依据《中药药理研究方法学》中人与大鼠体表系数法换算得出给药剂量^[9]。采用高脂饲料(78.8%基础饲料+15%猪油+5%蔗糖+1%胆固醇+0.2%胆酸钠)建立MAFLD模型,造模16周^[10]。以实验大鼠肝细胞内出现大小不一的脂滴空泡和气球样变为造模成功的标准^[11]。造模12周后开始给予药物治疗4周,正常组和模型组给予等量蒸馏水,给药剂量 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

2.2 标本采集 样本采集前大鼠禁食不禁水12 h,麻醉后股动脉取血, $3\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min(离心半径8.6 cm),收集血清;迅速剖取部分肝组织、结肠组织及结肠内容物(粪便)于液氮保存。

2.3 指标检测及方法

2.3.1 生化指标检测 ELISA检测血清TNF- α 、

IL-6和IL-8含量。

2.3.2 16S rRNA测序分析粪便肠道菌群 使用DNA试剂盒提取样本DNA。采用338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和806R引物(5'-GGACTACHVGGGTW TCTAAT-3')对肠道微生物的DNA中V3~V4区进行PCR扩增。扩增结果进行2%琼脂糖凝胶电泳,并进行磁珠纯化和Microplate reader酶标仪定量,构建文库。在Illumina NovaSeq机器上利用NovaSeq 6000 SP Reagent Kit(500循环)进行 $2\times 250\text{ bp}$ 的双端测序。使用QIIME2 2019.4版本,对微生物组生物学信息进行分析。使用QIIME2软件对扩增子序列变体(ASV)丰度矩阵中每个样本的序列总数绘制稀疏曲线,分别计算Chao1丰富度指数(Chao1)、观测物种数(Observed species)、香农多样性指数(Shannon)和辛普森多样性指数(Simpson)。通过R软件和QIIME2软件,使用独有分支分数度量(UniFrac)距离度量进行 β 多样性分析。同时,使用R软件将各样本在各分类水平的鉴定结果绘制成柱状图,直观地比较不同样本的ASV数和分类地位鉴定结果的差异。

2.3.3 GC-MS检测粪便SCFAs含量 量取乙酸、丙酸和丁酸对照品适量,用乙醚配制成工作标准溶液,4-甲基戊酸用乙醚配制内标溶液。取适量样本于2 mL离心管中,加入15%磷酸、内标溶液和乙醚,匀浆,离心取上清上机测试^[12]。

2.3.4 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测结肠组织GPR41、GPR43和肝组织GLP-1、GLP-1R、AMPK、p-AMPK、SIRT1、NF- κ B、p-NF- κ B蛋白表达情况 用放射免疫沉淀分析法(RIPA)裂解液和苯甲基磺酰氟(PMSF,1:10)混合液提取总蛋白,经10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶电泳分离,转膜,快速封闭液封闭10 min,分别加入相应一抗(稀释比例均为1:1 000,4℃过夜)和二抗(1:5 000,室温30 min)。ECL显影后Image J分析条带灰度值。

2.4 统计学分析 采用SPSS 19.0软件进行统计分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,计量资料采用单因素方差分析,方差齐用最小显著性差异法(LSD)检验,方差不齐用Dunnett' T3检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 丹参泽泻汤对MAFLD大鼠血清炎症因子水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清TNF- α 、IL-6和IL-8含量均显著升高($P<0.01$);与模型组比

较,各用药组大鼠血清炎症因子含量均显著降低 ($P<0.01$)。见表1。

表1 丹参泽泻汤对MAFLD大鼠血清炎症因子水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

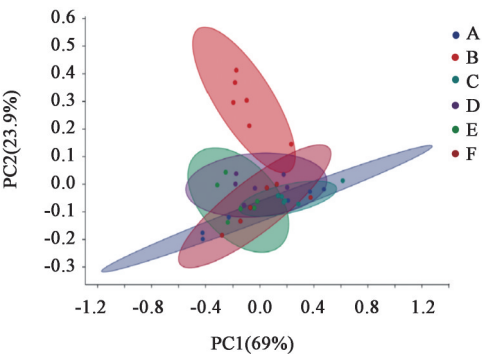
Table 1 Effect of Danshen Zexie decoction on contents of serum inflammatory factors in MAFLD rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)					ng·L ⁻¹
组别	剂量/g·kg ⁻¹	TNF- α	IL-6	IL-8	
正常组		4.62±0.92	7.81±1.29	11.30±2.17	
模型组		14.64±1.51 ²⁾	10.91±1.87 ²⁾	18.55±2.79 ²⁾	
易善复组	0.144	8.10±1.21 ⁴⁾	8.63±0.81 ⁴⁾	12.61±3.03 ⁴⁾	
丹参泽泻汤低剂量组	2.5	6.39±0.84 ⁴⁾	8.52±0.89 ⁴⁾	15.48±1.29 ⁴⁾	
丹参泽泻汤中剂量组	5	5.35±0.61 ⁴⁾	8.45±1.42 ⁴⁾	12.86±1.96 ⁴⁾	
丹参泽泻汤高剂量组	10	5.10±0.80 ⁴⁾	7.99±1.25 ⁴⁾	12.08±1.14 ⁴⁾	

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与模型组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表2-表6同)

3.2 丹参泽泻汤对MAFLD大鼠肠道菌群多样性的影响 与正常组比较,模型组大鼠Chao1、Observed species、Shannon和Simpson指数均显著降低($P<0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠 α 多样性指数均显著升高($P<0.01$),差异具有统计学意义。见表2。

表2 丹参泽泻汤对MAFLD大鼠肠道菌群 α 多样性的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 2 Effect of Danshen Zexie decoction on α -diversity of gut microbiota in MAFLD rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)					
组别	剂量/g·kg ⁻¹	Chao1	Observed species	Shannon	Simpson
正常组		5 738.29±674.73	3 720.48±201.27	8.31±1.18	0.95±0.04
模型组		2 540.95±388.15 ²⁾	2 052.40±365.81 ²⁾	4.04±0.56 ²⁾	0.61±0.07 ²⁾
易善复组	0.144	4 784.55±948.65 ⁴⁾	3 708.72±364.69 ⁴⁾	9.08±0.41 ⁴⁾	1.00±0.05 ⁴⁾
丹参泽泻汤低剂量组	2.5	4 122.72±542.65 ⁴⁾	3 284.30±284.73 ⁴⁾	7.49±0.90 ⁴⁾	0.92±0.06 ⁴⁾
丹参泽泻汤中剂量组	5	4 971.29±390.07 ⁴⁾	3 507.62±321.39 ⁴⁾	8.49±0.19 ⁴⁾	0.98±0.01 ⁴⁾
丹参泽泻汤高剂量组	10	5 279.47±462.34 ⁴⁾	3 994.70±440.88 ⁴⁾	8.68±1.01 ⁴⁾	0.97±0.03 ⁴⁾



注:A.正常组;B.模型组;C.易善复组;D-F.丹参泽泻汤低、中、高剂量组(图2同)

图1 PCoA分析

Fig. 1 PCoA analysis

3.3 丹参泽泻汤对MAFLD大鼠肠道菌群组成结构分析 在门水平上,拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes)所占比例较大,对二者丰度进行分析。结果显示,模型组拟杆菌门丰度显著低于正

通过PCoA来分析各组大鼠的肠道菌群结构的 β 多样性。PCoA结果显示,正常组和模型组样本之间分布较远,表明两组之间存在显著差异;与模型组比较,易善复组和丹参泽泻汤各剂量组与正常组均有重叠部分,表明丹参泽泻汤的干预改善了MAFLD大鼠肠道菌群紊乱。见图1。

常组和各给药组($P<0.01$),厚壁菌门丰度和拟杆菌门与厚壁菌门比值(F/B)均明显高于正常组和各给药组($P<0.05, P<0.01$)。在属水平上,大鼠肠道菌群主要由乳杆菌属(*Lactobacillus*)和考拉杆菌属(*Phascolarctobacterium*)组成。与正常组比较,模型组乳杆菌属丰度显著降低($P<0.01$),考拉杆菌属丰度显著升高($P<0.01$);与模型组比较,各给药组均能显著降低考拉杆菌属丰度($P<0.01$),显著升高乳杆菌属丰度($P<0.01$),见表3和增强出版附加材料。

3.4 丹参泽泻汤对MAFLD大鼠粪便SCFAs含量的影响 与正常组比较,模型组大鼠粪便乙酸、丙酸和丁酸含量均显著降低($P<0.01$);与模型组比较,各用药组大鼠粪便SCFAs含量均明显升高($P<0.05, P<0.01$)。见表4。

3.5 肠道菌群及肠道菌群与SCFAs的相关性分析 相关性结果表明,厚壁菌门、F/B和考拉杆菌属

表 3 丹参泽泻汤对 MAFLD 大鼠厚壁菌门、拟杆菌门丰度和二者比值及乳杆菌属和考拉杆菌属的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 5 Effect of Danshen Zexie decoction on abundance of Firmicutes and Bacteroidetes, as weell as ratio of F/B, and *Lactobacillus* and *Phascolarctobacterium* in MAFLD rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	厚壁菌门/%	拟杆菌门/%	F/B	乳杆菌属/%	考拉杆菌属/%
正常组		70.54±7.78	23.11±3.86	3.16±0.81	33.94±7.70	0.00±0.00
模型组		89.55±6.73 ¹⁾	8.03±1.75 ²⁾	11.74±3.32 ¹⁾	16.50±5.70 ²⁾	20.29±1.89 ²⁾
易善复组	0.144	70.20±2.60 ⁴⁾	20.83±2.05 ⁴⁾	3.40±0.38 ³⁾	25.51±7.80 ⁴⁾	1.25±0.27 ⁴⁾
丹参泽泻汤低剂量组	2.5	68.83±7.13 ⁴⁾	23.73±2.58 ⁴⁾	2.94±0.50 ³⁾	28.58±4.11 ⁴⁾	5.73±0.99 ⁴⁾
丹参泽泻汤中剂量组	5	67.38±4.55 ⁴⁾	26.51±3.43 ⁴⁾	2.59±0.46 ⁴⁾	34.35±2.29 ⁴⁾	1.51±0.27 ⁴⁾
丹参泽泻汤高剂量组	10	65.63±2.19 ⁴⁾	27.80±3.15 ⁴⁾	2.39±0.35 ⁴⁾	54.22±3.47 ⁴⁾	0.59±0.17 ⁴⁾

表 4 丹参泽泻汤对 MAFLD 大鼠粪便 SCFAs 含量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 4 Effect of Danshen Zexie decoction on contents of fecal SCFAs in MAFLD rats ($\bar{x}\pm s, n=6$) μg·g⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	乙酸	丙酸	丁酸
正常组		696.83±84.65	540.17±65.87	422.17±57.50
模型组		400.00±53.94 ²⁾	350.50±39.23 ²⁾	275.00±30.84 ²⁾
易善复组	0.144	524.33±54.99 ⁴⁾	502.67±30.79 ⁴⁾	428.33±49.19 ⁴⁾
丹参泽泻汤低剂量组	2.5	484.67±61.50 ³⁾	504.00±51.86 ⁴⁾	421.83±46.46 ⁴⁾
丹参泽泻汤中剂量组	5	679.00±93.76 ⁴⁾	530.33±78.14 ³⁾	453.67±68.83 ⁴⁾
丹参泽泻汤高剂量组	10	816.83±56.36 ⁴⁾	596.50±96.82 ⁴⁾	480.00±70.01 ⁴⁾

与乙酸、丙酸、丁酸水平呈显著负相关($P<0.01$),拟杆菌门和乳杆菌属与乙酸、丙酸和丁酸含量呈显著正相关($P<0.01$)。见增强出版附加材料。

3.6 丹参泽泻汤对 MAFLD 大鼠 GLP-1 通路相关蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组大鼠结肠组织 GPR41、GPR43 及肝组织 GLP-1、GLP-1R、

p-AMPK 和 SIRT1 蛋白表达均显著降低($P<0.01$), p-NF-κB/NF-κB 值明显升高($P<0.05$)。与模型组比较,各用药组大鼠结肠组织 GPR41、GPR43 蛋白及肝组织 GLP-1、GLP-1R、p-AMPK 和 SIRT1 蛋白表达均明显升高($P<0.05, P<0.01$), p-NF-κB/NF-κB 值明显降低($P<0.05$)。见表 5、表 6、图 2。

表 5 丹参泽泻汤对 MAFLD 大鼠结肠组织 GPR41、GPR43 及肝组织 GLP-1 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 5 Effect of Danshen Zexie decoction on proteins of GPR41, GPR43 in colon and GLP-1 in liver of MAFLD rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	GPR41/β-actin	GPR43/β-actin	GLP-1/β-actin
正常组		0.65±0.05	0.80±0.06	0.65±0.03
模型组		0.42±0.06 ²⁾	0.41±0.07 ²⁾	0.21±0.03 ²⁾
易善复组	0.144	0.61±0.10 ³⁾	0.78±0.07 ⁴⁾	0.61±0.06 ⁴⁾
丹参泽泻汤低剂量组	2.5	0.68±0.04 ⁴⁾	0.88±0.07 ⁴⁾	0.84±0.06 ⁴⁾
丹参泽泻汤中剂量组	5	0.92±0.06 ⁴⁾	0.92±0.01 ⁴⁾	1.08±0.06 ⁴⁾
丹参泽泻汤高剂量组	10	0.90±0.02 ⁴⁾	0.98±0.03 ⁴⁾	1.12±0.05 ⁴⁾

表 6 丹参泽泻汤对 MAFLD 大鼠肝组织 GLP-1R、p-AMPK、SIRT1 和 p-NF-κB 蛋白表达水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 6 Effect of Danshen Zexie decoction on protein expression levels of GLP-1R, p-AMPK, SIRT1 and p-NF-κB in liver of MAFLD rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	GLP-1R/β-actin	p-AMPK/AMPK	SIRT1/β-actin	p-NF-κB/NF-κB
正常组		0.95±0.08	0.53±0.10	0.68±0.06	0.38±0.05
模型组		0.42±0.02 ²⁾	0.29±0.06 ²⁾	0.39±0.03 ²⁾	1.24±0.14 ¹⁾
易善复组	0.144	0.76±0.07 ⁴⁾	0.49±0.03 ⁴⁾	0.63±0.07 ³⁾	0.57±0.09 ³⁾
丹参泽泻汤低剂量组	2.5	0.73±0.07 ⁴⁾	0.72±0.08 ⁴⁾	0.64±0.04 ⁴⁾	0.49±0.01 ³⁾
丹参泽泻汤中剂量组	5	0.74±0.05 ⁴⁾	0.63±0.07 ⁴⁾	0.70±0.03 ⁴⁾	0.48±0.02 ³⁾
丹参泽泻汤高剂量组	10	0.86±0.05 ⁴⁾	0.57±0.06 ⁴⁾	0.77±0.07 ⁴⁾	0.41±0.03 ³⁾

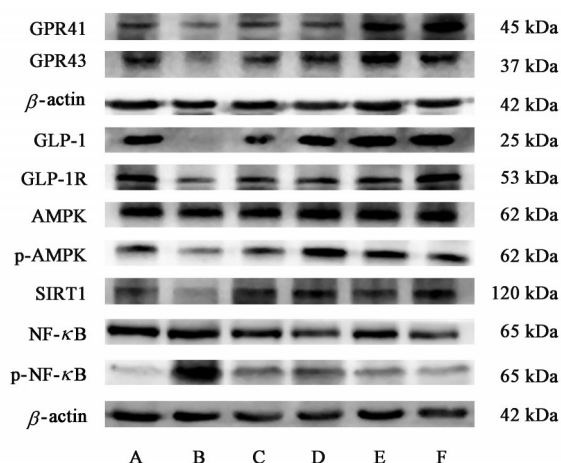


图2 各组大鼠 GPR41、GPR43、GLP-1、GLP-1R、AMPK、p-AMPK、SIRT1、NF-κB 和 p-NF-κB 蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of GPR41, GPR43, GLP-1, GLP-1R, AMPK, p-AMPK, SIRT1, NF-κB and p-NF-κB proteins in rats

4 讨论

祖国医学根据 MAFLD 的临床表现和发病特征,将其归属为“积聚”“痰浊”“胁痛”等范畴。课题组认为 MAFLD 的发病多是由于饮食失宜、情志失调、作息无序等因素,渐至脾失健运,肝失调达。脾运失司,则湿聚为痰;肝失疏泄,则气滞血瘀,终致痰瘀互结于肝而成。故“痰瘀互结”为该病的关键病机,治当痰瘀同治。丹参泽泻汤为泽泻汤加丹参和荷叶而成,方中泽泻祛水湿,消痰浊,白术补气健脾,燥湿利水,丹参活血祛瘀,荷叶化湿运脾。诸药合用,祛湿消痰,活血化瘀,恰合 MAFLD 关键病机。据报道,在高葡萄糖线虫生长培养基中培养的秀丽隐杆线虫经泽泻汤干预后,脂肪酸合成相关基因表达下调,全身脂肪的蓄积降低^[13-14]。丹参酮Ⅱ_A能够降低脂质积累,减轻炎症反应,改善 MAFLD 大鼠脂肪变性程度^[15]。荷叶中的黄酮类和生物碱类等活性物质有降脂减肥、抗氧化损伤作用,可治疗高胆固醇血症和动脉硬化,已被广泛用于减肥降脂^[16-17]。这些研究成果均为丹参泽泻汤治疗 MAFLD 提供了组分依据,故将该方选为治疗方药。

MAFLD 发病机制比较复杂,越来越多的证据表明,肠道菌群失调与 MAFLD 的病情进展密切相关。健康人体的肠道微生态处于一个动态平衡状态,但长期不良的饮食习惯(如高糖高脂饮食、暴饮暴食等)容易引起肠道稳态失衡,导致肠道菌群组成结构失调。厚壁菌门和拟杆菌门为肠道菌群的优势菌群,且二者的比值(F/B)被认为是肠道菌群失调的标志^[18]。考拉杆菌属属于厚壁菌门,乳杆菌为有益菌,多作为微生态制剂来改善脂代谢紊

乱^[19]。SCFAs 是肠道菌群通过酵解不可消化糖而生成的产物,主要包括乙酸、丙酸和丁酸。厚壁菌门和拟杆菌门是产生 SCFAs 的优势菌群,但尤以拟杆菌门产生的 SCFAs 较多^[20],乳杆菌能够通过底物谷氨酰胺生成丁酸^[21]。SCFAs 可作为底物减少肝脏脂肪沉积。乙酸主要用于合成肝脏中的脂质^[22],丙酸对肝脏 TG 合成有抑制作用^[23],丁酸加速 TC 的逆向运输,从而降低 TC 含量^[24]。相关研究已证实,高脂饮食可降低动物肠道菌群的丰富度和多样性,且 MAFLD 动物模型中厚壁菌门丰度和 F/B 值升高,拟杆菌门丰度及乙酸、丙酸和丁酸的含量均减少^[25-26]。研究表明,丹参酮Ⅱ_A对产生 SCFAs 的菌群有促进作用^[27]。泽泻乙醇提取物干预可以降低 MAFLD 小鼠 F/B 值,升高乳杆菌丰度^[28]。白术能够升高便秘小鼠肠道中 SCFAs 的含量^[29]。荷叶碱可逆转高脂饮食所致拟杆菌门丰度下降的趋势,进而降低 F/B 比值^[30]。本实验结果与文献报道一致,经丹参泽泻汤治疗后,能够重塑 MAFLD 大鼠肠道菌群结构,升高乙酸、丙酸和丁酸含量。

GPR41 和 GPR43 是目前已发现的仅有的 2 种特异性的 SCFAs 受体,可通过与 SCFAs 结合,进一步调控 AMPK 介导的炎症通路,参与 MAFLD 病情进展。GPR41 和 GPR43 被 SCFAs 激活后,促进肠道内 L 细胞分泌 GLP-1。GLP-1 经门静脉循环到达肝脏与 GLP-1R 结合,产生环磷酸腺苷(cAMP),通过激活腺苷酸环化酶进一步激活蛋白激酶,从而导致细胞内 Ca^{2+} 水平升高,钙调蛋白依赖的蛋白激酶(CaMKK)通过感知细胞内 Ca^{2+} 的水平,进而磷酸化 Thr172 位点激活 AMPK^[31]。AMPK 可与 SIRT1 相互调控,进一步抑制 NF-κB 活化,减轻 MAFLD 病情进展中的炎症反应^[32-33]。已有研究证实,GLP-1 类似物利拉鲁肽能够增加细胞内 Ca^{2+} 并激活 CaMKK,进而活化 AMPK^[31]。丁酸可减少 MAFLD 细胞模型的脂质积累,升高 p-AMPK 表达,降低 p-NF-κB 表达,减轻炎症反应^[34]。高脂饮食诱导的 MAFLD 的动物模型肝组织中的 AMPK 和 SIRT1 表达水平均降低,NF-κB 表达量升高^[35]。本实验结果显示,模型组大鼠结肠组织 GPR41、GPR43 及肝组织 GLP-1、GLP-1R、p-AMPK 和 SIRT1 蛋白表达水平下调,p-NF-κB/NF-κB 值升高,血清 TNF-α、IL-6 和 IL-8 含量升高,表明 GLP-1 分泌减少可加重炎症反应。丹参泽泻汤给药治疗后,可上调结肠组织 GPR41、GPR43 及肝组织 GLP-1、GLP-1R、p-AMPK 和 SIRT1 蛋白表达水平,下调 p-NF-κB/NF-κB 值,降

低TNF- α 、IL-6和IL-8含量,表明结肠组织对SCFAs的响应能力增强,提示丹参泽泻汤能够活化GPR41和GPR43,促进GLP-1释放,抑制炎症因子分泌,减轻炎症反应。

综上所述,丹参泽泻汤通过调节肠道菌群结构紊乱和SCFAs/GLP-1信号通路,减轻炎症反应,达到治疗MAFLD的目的。研究表明,本研究选用的阳性对照药易善复主要通过修复受损肝细胞膜、稳定肝细胞功能和调节脂肪代谢等途径达到保肝作用,而丹参泽泻汤能够改善肠道菌群结构,调节SCFAs/GLP-1信号通路相关蛋白表达,进而改善上述多项指标,这可能是该方从肠道源头调控的优势。但尚需要运用粪菌移植技术和体外实验,进一步验证、阐释丹参泽泻汤基于“肠道菌群-SCFAs-GLP-1”代谢轴,治疗MAFLD的肠道作用机制。

【利益冲突】 张一昕是本刊编委,本文遵循期刊标准流程处理,其同行评审工作独立于编委会成员及其研究团队之外,本文不存在任何利益冲突。

【参考文献】

- [1] RIAZI K, AZHARI H, CHARETTE J H, et al. The prevalence and incidence of NAFLD worldwide: A systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2022, 7(9): 851-861.
- [2] LIU J Y, TIAN Y, FU X, et al. Estimating global prevalence, incidence, and outcomes of non-alcoholic fatty liver disease from 2000 to 2021: Systematic review and Meta-analysis[J]. *Chin Med J*, 2022, 135(14): 1682-1691.
- [3] 王仁媛, 咸亚静, 林栋玲, 等. 基于甘油三酯相关指标的非酒精性脂肪性肝病预测价值研究[J]. *实用预防医学*, 2023, 30(6): 693-699.
WANG R Y, XIAN Y J, LIN D L, et al. Predictive values of triglyceride-related indicators on non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Pract Prev Med*, 2023, 30(6): 693-699.
- [4] GUO L, LEI J, LI P, et al. Hedon tablet ameliorated non-alcoholic steatohepatitis by moderating NF- κ B and lipid metabolism-related pathways via regulating hepatic metabolites[J]. *J Cell Mol Med*, 2024, 28(7): e18194.
- [5] 杨炯, 阮金兰. 鸡血莲黄酮通过调节AMPK/Sirt1/NF- κ B信号通路改善小鼠非酒精性脂肪肝的实验研究[J]. *中医药导报*, 2021, 27(4): 10-14.
YANG X, RUAN J L. Experimental study on the improvement of non-alcoholic fatty liver in mice with flavone of *Jixuelian* (*Pronephrium penangianum*) by regulating the AMPK/Sirt1/NF- κ B signaling pathway[J]. *Guiding J Tradit Chin Med Pharm*, 2021, 27(4): 10-14.
- [6] 彪雅宁, 高星星, 陈健, 等. 丹参泽泻汤调控Nrf2/Omi/HtrA2信号通路增加自噬通量改善代谢相关脂肪性肝病的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2026, 32(16): 85-91.

- BIAO Y N, GAO X X, CHEN J, et al. Danshen Zexie decoction ameliorates metabolic-associated fatty liver disease by increasing Nrf2/Omi/HtrA2 pathway-mediated autophagic flux[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2026, 32(16): 85-91.
- [7] 高星星, 顾颖, 路帅, 等. 丹参泽泻汤调控PINK1/Parkin信号通路干预线粒体自噬改善代谢相关脂肪性肝病大鼠线粒体功能障碍[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2026, 32(16): 77-84.
GAO X X, GU Y, LU S, et al. Danshen Zexie decoction alleviates mitochondrial dysfunction in rat model of MAFLD by intervening in mitophagy via PINK1/Parkin signaling pathway[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2026, 32(16): 77-84.
 - [8] 高星星, 张豆, 顾颖, 等. 丹参泽泻汤调控糖酵解抑制NETs改善代谢相关脂肪性肝病肝纤维化的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2026, 32(16): 60-68.
GAO X X, ZHANG D, GU Y, et al. Danshen Zexie decoction ameliorates metabolic-associated fatty liver disease with liver fibrosis by regulating glycolysis and inhibiting NETs[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2026, 32(16): 60-68.
 - [9] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 1261-1262.
CHEN Q. Methodology for pharmacological research of traditional Chinese medicine[M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011: 1261-1262.
 - [10] 储心乔, 彪雅宁, 顾颖, 等. 当归芍药散调节Nrf2/SLC7A11/GPX4信号通路干预非酒精性脂肪性肝病大鼠铁死亡的机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(16): 35-42.
CHU X Q, BIAO Y N, GU Y, et al. Danggui Shaoyaosan regulates Nrf2/SLC7A11/GPX4 signaling pathway to inhibit ferroptosis in rat model of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2025, 31(16): 35-42.
 - [11] 刘皎皎, 戴玲, 董璐, 等. 虎杖苷对非酒精性脂肪肝的影响及相关分子机制探究[J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(10): 1188-1191.
LIU J J, DAI L, DONG L, et al. Effects of polydatin on nonalcoholic fatty liver and related molecular mechanisms[J]. *Chin J Immunol*, 2019, 35(10): 1188-1191.
 - [12] ZHANG S, WANG H, ZHU M J. A sensitive GC/MS detection method for analyzing microbial metabolites short chain fatty acids in fecal and serum samples[J]. *Talanta*, 2019, 196: 249-254.
 - [13] RAHMAN M S, KIM Y S. PINK1-PRKN mitophagy suppression by mangiferin promotes a brown-fat-phenotype via PKA-p38 MAPK signalling in murine C3H10T1/2 mesenchymal stem cells[J]. *Metabolism*, 2020, 107: 154228.
 - [14] SINGH R, BARRIOS A, DIRAKVAND G, et al. Human brown adipose tissue and metabolic health: Potential for therapeutic avenues[J]. *Cells*, 2021, 10(11): 3030.
 - [15] 郝健亨, 王海军, 曹玉霞, 等. 丹参酮II_A治疗非酒精性脂肪性肝病的网络分析及实验验证[J]. *中国老年学杂志*, 2024, 44(21): 5243-5249.
HAO J H, WANG H J, CAO Y X, et al. Network analysis and experimental validation of tanshinone II_A in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Chin J Gerontol*, 2024, 44(21):

- 5243-5249.
- [16] 刘佳,朱建广,孔令弋,等. 荷叶水提取物的急性毒性及辅助降血脂功效研究[J]. 现代食品, 2021, 27(9): 85-90.
LIU J, ZHU J G, KONG L Y, et al. Study on acute toxicity and auxiliary hypolipidemic activity of lotus leaf aqueous extract[J]. Mod Food, 2021, 27(9): 85-90.
- [17] 程婷婷,原新博,惠小涵,等. 荷叶生物碱成分及其调脂机制研究进展[J]. 中草药, 2019, 50(8): 1998-2003.
CHENG T T, YUAN X B, HUI X H, et al. Research progress on chemical constituents and lipid-lowering mechanism of alkaloids in *Nelumbinis Folium*[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50(8): 1998-2003.
- [18] JASIRWAN C, MURADI A, HASAN I, et al. Correlation of gut firmicutes/bacteroidetes ratio with fibrosis and steatosis stratified by body mass index in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. Biosci Microbiota Food Health, 2021, 40(1): 50-58.
- [19] ZHAO Z, WANG C, ZHANG L, et al. *Lactobacillus plantarum* NA136 improves the non-alcoholic fatty liver disease by modulating the AMPK/Nrf2 pathway [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2019, 103(14): 5843-5850.
- [20] DE F C, CAVALIERI D, DI P M, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(33): 14691-14696.
- [21] BOTTA C, ACOUADRO A, GREPPI A, et al. Genomic assessment in *Lactobacillus plantarum* links the butyrogenic pathway with glutamine metabolism[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 15975.
- [22] ELVIRA-TORALES L I, PERIAGO M J, GONZALEZ-BARRIO R, et al. Spinach consumption ameliorates the gut microbiota and dislipaemia in rats with diet-induced non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)[J]. Food Funct, 2019, 10(4): 2148-2160.
- [23] LIN H V, FRASSETTO A, KOWALIK E J, et al. Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms [J]. PLoS One, 2012, 7(4): e35240.
- [24] COPPOLA S, AVAGLLIANO C, CALIGNANO A, et al. The protective role of butyrate against obesity and obesity-related diseases[J]. Molecules, 2021, 26(3): 682.
- [25] 龚明秀,袁懿炜,张一帆,等. 鸠坑龙井茶对高脂饮食 C57BL/6 小鼠肝脂肪变性 SREBPs 通路信号的影响及肠道菌群调节作用研究[J]. 茶叶科学, 2023, 43(4): 576-592.
GONG M X, YUAN Y W, ZHANG Y F, et al. Effect of Jiukeng Longjing tea on SREBPs signaling pathway and gut microbiota regulation in high-fat diet C57BL/6 mice with hepatic steatosis [J]. J Tea Sci, 2023, 43(4): 576-592.
- [26] 钟方为,李庚喜,曾立. 基于肠道菌群和短链脂肪酸代谢探讨绞股蓝总皂苷改善大鼠非酒精性脂肪肝病的实验研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(9): 2500-2508.
ZHONG F W, LI G X, ZENG L. *Gynostemma pentaphyllum* saponins alleviate non-alcoholic fatty liver disease in rats by regulating intestinal flora and short-chain fatty acid metabolism [J]. China J Chin Mater Med, 2022, 47(9): 2500-2508.
- [27] CHIANG J Y L, FERRELL J M. Bile acid receptors FXR and TGR5 signaling in fatty liver diseases and therapy[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2020, 318(3): G554-G573.
- [28] XIA F, XIANG S, CHEN Z, et al. The probiotic effects of AB23A on high-fat-diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice may be associated with suppressing the serum levels of lipopolysaccharides and branched-chain amino acids[J]. Arch Biochem Biophys, 2021, 714: 109080.
- [29] 尹康,陈科力,刘焱文,等. 白术对慢传输型便秘小鼠短链脂肪酸和肠道屏障的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(6): 66-74.
YIN K, CHEN K L, LIU M W, et al. Effect of *Atractylodis Macrocephalae* Rhizoma on short-chain fatty acids and intestinal barrier in mice with slow-transit constipation[J]. Chin J Exp Trad Med Form, 2024, 30(6): 66-74.
- [30] 孙静悦. 荷叶碱对高脂膳食诱导大鼠胆汁酸代谢和肠道菌群的影响及机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2022.
SUN J Y. Effect and mechanism of nuciferine on bile acid metabolism and gut microbiota in high-fat diet induced rats[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2022.
- [31] KRASNER N M, IDO Y, RUDERMAN N B, et al. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analog liraglutide inhibits endothelial cell inflammation through a calcium and AMPK dependent mechanism[J]. PLoS One, 2014, 9(5): e97554.
- [32] PARK S Y, LEE H R, LEE W S, et al. Cilostazol modulates autophagic degradation of beta-amyloid peptide via SIRT1-coupled LKB1/AMPK α signaling in neuronal cells[J]. PLoS One, 2016, 11(8): e160620.
- [33] 王嘉睿,吴永祥,刘金来. AMPK/SIRT1/NF- κ B 通路在糖尿病心肌病中的作用[J]. 新医学, 2017, 48(10): 677-682.
WANG J R, WU Y X, LIU J L. Role of AMPK/SIRT1/NF- κ B signaling pathway in diabetic cardiomyopathy[J]. J New Med, 2017, 48(10): 677-682.
- [34] DENG M, QU F, CHEN L, et al. SCFAs alleviated steatosis and inflammation in mice with NASH induced by MCD [J]. J Endocrinol, 2020, 245(3): 425-437.
- [35] TOLHURST G, HEFFRON H, LAM Y S, et al. Short chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2 [J]. Diabetes, 2012, 61(2): 364-371.

[责任编辑 孙丛丛]