

基于食管菌群探讨黄连汤对反流性食管炎的干预作用及机制

刘鉴瑶¹, 高畅², 冯雪¹, 王敦方¹, 刘滨¹, 朱琳¹, 孙绮悦¹, 杨伟鹏¹, 李涛^{2*}, 张彩娟^{1*}

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 2. 中国中医科学院 医学实验中心, 北京 100700)

【摘要】 目的: 基于“食管菌群-胆汁酸代谢”探讨黄连汤对反流性食管炎大鼠的治疗作用及其机制。方法: 采用“前胃结扎+幽门夹诱导幽门不全梗阻法”建立反流性食管炎模型; 分为假手术组、模型组、黄连汤高剂量组(51.54 g·kg⁻¹)、黄连汤中剂量组(25.77 g·kg⁻¹)、黄连汤低剂量组(12.885 g·kg⁻¹)、阳性药组(奥美拉唑肠溶片, 5 mg·kg⁻¹), 每组10只。分别给予不同的药物干预, 持续给药2周后, 苏木素-伊红(HE)染色观察食管组织病理学变化; 采用16S rRNA高通量测序检测食管菌群变化; 靶向代谢组学技术检测胆汁酸表达; 采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒对血清中关键炎症指标、胃肠激素及功能进行检测。结果: 病理结果显示, 模型组大鼠出现明显的鳞状上皮细胞增生, 黏膜固有层出现乳头状突起等病理表现, 药物干预后则可显著改善大鼠食管黏膜损伤。与假手术组比较, 模型组大鼠血清白细胞介素(IL)-1 β 、肿瘤坏死因子(TNF)- α 表达明显升高($P<0.05$, $P<0.01$), IL-10表达则显著下降($P<0.01$); 与模型组比较, 各给药组均可明显降低血清中IL-1 β 、TNF- α 水平($P<0.05$, $P<0.01$), 显著升高IL-10水平($P<0.01$), 且高剂量组改善效果最佳; 同时与假手术组比较, 反流性食管炎模型大鼠血清中胃动素、胃泌素、P物质、血管活性肠肽、胃蛋白酶、胃蛋白酶原的表达水平显著升高($P<0.01$); 与模型组比较, 药物干预后显著改善其胃肠功能紊乱, 血清中胃肠激素及功能相关指标均明显降低($P<0.05$, $P<0.01$)。肠道菌群数据结果显示, 与假手术组比较, 模型组大鼠存在较为明显的食管菌群丰度降低, 黄连汤干预后则显著升高其丰度水平, 增加乳酸菌水平(*Lactobacillus johnsonii*、*Ligilactobacillus murinus*、*Lactobacillus intestinalis*)、降低有害菌(毛螺菌科、梭菌科、巴斯德菌科等)的水平。黄连汤还能够改善大鼠血清中胆汁酸代谢, 降低部分胆汁酸[鹅去氧胆酸(CDCA)、牛磺- α -鼠胆酸(T- α MCA)、甘氨酸去氧胆酸(GCDCA)、甘氨酸胆酸(GLCA)、甘氨酸熊去氧胆酸(GUDCA)等]的表达, 且与差异菌群具有显著相关关系。结论: 黄连汤可能通过调节食管菌群结构失衡、改善胆汁酸代谢异常, 从而减轻食管黏膜损伤, 其作用机制或与调节“食管菌群-胆汁酸代谢”密切相关。

【关键词】 反流性食管炎; 黄连汤; 食管菌群; 胆汁酸

【中图分类号】 R289; R259; R285 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2026)16-0038-12

【doi】 10.13422/j.cnki.syfjx.20251805

【网络出版地址】 <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20251224.1428.003>

【网络出版日期】 2025-12-25 09:02:37 **【增强出版附件】** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



Investigating Therapeutic Efficacy and Mechanisms of Huangliantang on Reflux Esophagitis Based on Esophageal Microbiota

LIU Jianyao¹, GAO Chang², FENG Xue¹, WANG Dunfang¹, LIU Bin¹, ZHU Lin¹, SUN Qiyue¹,
YANG Weipeng¹, LI Tao^{2*}, ZHANG Caijuan^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2. Medical Experiment Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

【Abstract】 **Objective:** To explore the therapeutic effect of Huangliantang on reflux esophagitis in rats based on the esophageal microbiota-bile acid metabolism. **Methods:** A reflux esophagitis model was established through the forestomach

【收稿日期】 2025-09-24

【基金项目】 中国中医科学院科技创新工程项目(CI2024-E003XY-22); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(ZXKT25016, ZZ17-YQ-017, ZXKT22058, ZZ16-XRZ-069); 国家自然科学基金面上项目(82574918)

【第一作者】 刘鉴瑶, 在读博士, 从事中药药理学研究, E-mail: liujianyaojin@163.com

【通信作者】 * 张彩娟, 博士, 从事中药药理学研究, E-mail: 18513031449@126.com;

* 李涛, 硕士, 副研究员, 从事中药药理学及中医药代谢组学研究, E-mail: hndxlitao@163.com

ligation+pyloric clip-induced incomplete pyloric obstruction method. Rats were assigned into sham operation (control), model, high-dose ($51.54 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), medium-dose ($25.77 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), and low-dose ($12.885 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) Huangliantang, and positive drug (omeprazole enteric-coated tablets, $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) groups, with 10 rats in each group. After 2 weeks of continuous administration, hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to observe histopathological changes in the esophageal tissue, and 16S rRNA high-throughput sequencing was employed to detect changes in the esophageal microbiota. Targeted metabolomics was employed to measure the bile acid levels. Enzyme-linked immunosorbent assay kits were used to determine the key serum inflammatory markers, gastrointestinal hormones, and functional indicators. **Results:** Histopathological results showed significant squamous epithelial cell hyperplasia and papillary projections in the lamina propria of the model group, which were markedly alleviated after drug intervention. Compared with the control group, the model group exhibited elevated serum levels of interleukin (IL)- 1β and tumor necrosis factor (TNF)- α ($P<0.05$, $P<0.01$) and declined level of IL-10 ($P<0.01$). Compared with the model group, all drug intervention groups reduced the serum levels of IL- 1β and TNF- α ($P<0.05$, $P<0.01$) and increased the IL-10 levels ($P<0.01$), with the high-dose group showing the most pronounced effects. Additionally, compared with the control group, the model group elevated the serum levels of motilin ($P<0.01$), gastrin ($P<0.01$), substance P ($P<0.01$), vasoactive intestinal peptide ($P<0.01$), pepsin ($P<0.01$), and pepsinogen ($P<0.01$). Drug intervention ameliorated gastrointestinal dysfunction and reduced serum levels of gastrointestinal hormones and functional indicators ($P<0.05$, $P<0.01$). Esophageal microbiota data revealed a significant reduction in the abundance of esophageal microbiota in the model group compared with the control group. Huangliantang intervention significantly increased the abundance, especially that of *Lactobacillus* species (*Lactobacillus johnsonii*, *Ligilactobacillus murinus*, *Lactobacillus intestinalis*), and reduced the abundance of harmful bacteria (e.g., *Lachnospiraceae*, *Clostridiaceae*, and *Pasteurellaceae*). Furthermore, Huangliantang improved bile acid metabolism in the serum, reducing the expression of certain bile acids [chenodeoxycholic acid (CDCA), tauro- α -muricholic acid (T- α MCA), glycochenodeoxycholic acid (GCDCA), glycolithocholic acid (GLCA), glyoursodeoxycholic acid (GUDCA), etc.], and these changes were significantly correlated with differential taxa of the microbiota. **Conclusion:** Huangliantang may alleviate esophageal mucosal injury by modulating the imbalance in esophageal microbiota structure and improving abnormal bile acid metabolism, which is closely related to the regulation of the esophageal microbiota-bile acid metabolism axis.

[Keywords] reflux esophagitis; Huangliantang; esophageal microbiota; bile acid

反流性食管炎(RE)是胃食管反流病的一种主要亚型^[1-2],以食管黏膜的炎症、糜烂甚至溃疡形成为主要病理特征,严重影响患者生活质量^[3]。目前RE的一线治疗以质子泵抑制剂(PPIs)为主。然而,长期使用PPIs可能增加肠道菌群紊乱及微量元素缺乏等不良反应风险^[4-6]。因此,探索RE发病新机制并寻求有效替代治疗策略已成为当前研究的迫切需求。

近年来,食管微生态与食管疾病关系的研究取得显著进展。传统观念中相对“无菌”的食管,如今被证实定植着复杂且动态的微生物群落,包括链球菌、普雷沃菌、韦荣球菌等核心菌属。健康状态下,这些菌群维持相对平衡,参与黏膜屏障保护、免疫调节及代谢稳态维持。RE患者食管菌群结构发生显著改变,表现为多样性降低、革兰阴性菌(如肠球菌、链球菌)比例升高及促炎菌种富集^[7-9]。这类菌群紊乱可能通过破坏上皮屏障、激活免疫炎症通路[如核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路];部分菌群编码的胆汁酸水解酶可将结合胆汁酸分解为毒性更强的游离胆汁酸(如脱氧胆酸),后者直接损伤食管上皮细胞并诱导氧化应激^[1,10]。

而胆汁酸反流同样是RE的重要致病因素,尤其在与胃酸协同作用下,对食管黏膜造成双重损

伤^[11-12]。胆汁酸中的疏水性胆汁酸可通过激活法尼醇X受体及G蛋白偶联胆汁酸受体1,诱导活性氧生成及线粒体功能障碍,促进上皮细胞凋亡^[13]。值得注意的是,食管菌群与胆汁酸代谢之间存在密切交互作用:菌群通过代谢胆汁酸影响其组成和毒性,而胆汁酸亦可作为信号分子调节菌群结构,形成恶性循环。因此,靶向调控“食管菌群-胆汁酸”代谢有望成为RE治疗的新策略。

黄连汤出自《伤寒论》:“伤寒,胸中有热,胃中有邪气,腹中痛,欲呕吐者,黄连汤主之”,是仲景寒热并用之典范^[14],临床多用于治疗消化系统疾病。临床研究显示,黄连汤及其加减方能显著改善RE患者反酸、烧心症状,促进黏膜愈合;现代药理学研究表明,黄连汤具有抗炎、抑酸、调节胃肠动力及保护黏膜等多重作用^[15-18]。然而,现有研究多集中于黄连汤的抗酸和抗炎效应,对其调节食管微生态及胆汁酸代谢的作用关注不足。因此,本研究拟从“食管菌群-胆汁酸代谢”这一视角,系统探讨黄连汤治疗RE的作用机制。通过建立RE大鼠模型,采用16S rRNA测序、靶向代谢组学及分子生物学技术,观察黄连汤对食管菌群结构、胆汁酸组成的影响,旨在阐明黄连汤通过调控“菌群-胆汁酸”对话发挥黏膜保护作用的机制,为中医药治疗RE提供创新

性的科学依据。

1 材料

1.1 动物 SPF级健康雄性SD大鼠70只,体质量200~220 g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司[动物生产合格证号SCXK(京)2024-0001]。所有大鼠饲养于中国中医科学院中药研究所SPF级动物房,环境温度20~28℃,相对湿度(50±5)%,自由进食标准营养饲料及清洁饮用水。

1.2 伦理 动物实验通过中国中医科学院中药研究所审查批准(批准号2024B153)。

1.3 药物 黄连汤由黄连3两(批号231130005)、炙甘草3两(炙)(批号240516001)、干姜3两(批号240518007)、桂枝3两(去皮)(批号231215002)、人参片2两(批号231203001)、清半夏半升(洗)(批号D23112001)、大枣12枚(擘)(批号240518009)组成,购自北京仟草中药饮片有限公司,均符合2025年版《中华人民共和国药典》各饮片规定标准。按照处方量分别称取黄连41.40 g、甘草(水炙)41.40 g、干姜41.40 g、桂枝41.40 g、人参片27.60 g、清半夏(汤洗)34.50 g、大枣30.00 g于砂锅中加10倍量水浸泡60 min,随后武火煮沸后文火保持微沸煎煮1 h,过滤;再加8倍量水同样方法煎煮1 h,过滤,合并2次滤液并进行浓缩,制备不同浓度的3种药液^[19-20]。根据体表面积换算后,大鼠每日生药量为25.77 g·kg⁻¹(临床等效剂量),以临床等效剂量为中剂量,临床等效剂量的2倍为高剂量,临床等效剂量1/2倍为低剂量;则高剂量组为51.54 g·kg⁻¹,中剂量组为25.77 g·kg⁻¹,低剂量组为12.885 g·kg⁻¹,大鼠给药体积为10 mL·kg⁻¹,所有药液存放于4℃冰箱。阳性药奥美拉唑肠溶片(修正药业集团长春高新制药有限公司,国药准字H20033484),根据人体表面积换算后大鼠给药剂量为5 mg·kg⁻¹,每次灌胃前使用蒸馏水将阳性药进行充分研磨,配制成0.5 g·L⁻¹混悬液。

1.4 试剂及药品 实验用水由Milli-Q Integral 5型超纯水机制备,甲醇、乙腈、甲酸和其他试剂等均为色谱纯(北京迪科马科技有限公司,批号分别为R142320、R142935、3551126);对照品胆酸(CA)、石胆酸(LCA)、甘氨酸(GCA)、去氧胆酸(DCA)(上海诗丹德标准技术服务有限公司,批号分别为8661、1712、9739、6330);鹅去氧胆酸(CDCA)、熊去氧胆酸(UDCA)(国家药品生物制品检定所,批号分别为RMT11540、RMT20080);牛磺鹅去氧胆酸(TCDCA)、牛磺熊去氧胆酸(TUDCA)、牛磺胆酸

(TCA)、牛磺猪去氧胆酸(THDCA)、猪胆酸(λ -鼠胆酸,HCA)、甘氨酸胆酸(GLCA)、甘氨酸去氧胆酸(GCDCA)、甘氨酸猪去氧胆酸(GHDCA)、熊果胆酸(UCA)、甘氨酸去氧胆酸(GDCA)、猪去氧胆酸(HDCA)、甘氨酸熊去氧胆酸(GUDCA)、牛磺- α -鼠胆酸(T- α -MCA)、牛磺- β -鼠胆酸(T- β -MCA)、牛磺- ω -鼠胆酸(T- ω -MCA)、牛磺石胆酸(TLCA)、去氢胆酸(DHCA)、牛磺去氧胆酸(TDCA)(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为N10HS200380、N18HS201601、J15HB170281、B16A10K94146、S20HS194989、B29J11K119775、N03F12T139480、Y23N9K75826、J30GB156323、Y27M9E56969、J24GB152684、J20GB154485、22B276-A1、23F027-W1、23F027-V1、D11GS1710S1、S12N10I102628、D02IB234190); α -鼠胆酸(α -MCA)、 β -鼠胆酸(β -MCA)、 ω -鼠胆酸(ω -MCA)[西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司,批号分别为700232P-1MG-E-010、700233P-1MG-E-010、700231P-1MG-F-010];内标 [²H₄]-胆酸(D4-CA)、[²H₄]-牛磺胆酸(D4-TCA)(美国Sigma公司,批号分别为ZZS-20-013-B9、23Z346-A1)。所有对照品和内标纯度均>98%。白细胞介素-10(IL-1 β)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、脂多糖(LPS)、超氧化物歧化酶(SOD)、胃动素(MTL)、胃泌素(Gas)、胃蛋白酶(PP)、胃蛋白酶原(PG)、血管活性肠肽(VIP)、P物质(SP)、一氧化氮合成酶(NOS)试剂盒(江苏酶标生物科技有限公司,货号分别为MB-1736A、MB-1588A、MB-1721A、MB-7290A、MB-1927A、MB-2032A、MB-6744A、MB-1829A、MB-22223A、MB-1986A、MB-1985A、MB-1992A)。

1.5 仪器 HPLC-MS/MS系统(美国AB Sciex公司),包括ExionLC-20AC型高效液相色谱仪、Ion Drive™ Turbo V型离子源、Sciex6500+型三重四级杆检测器、Analyst 1.7数据采集系统和MultiQuant 3.0.3数据处理系统、Targin VX-Ⅲ型多管涡旋振荡器(北京踏锦科技有限公司);Forma 88000型-86℃超低温冰箱(美国Thermo Scientific公司);Rotanta 460R型高速冷冻离心机(德国Hettich公司)。

2 方法

2.1 模型制备 70只大鼠随机选取10只作为假手术组(Sham组),剩余60只用于“前胃结扎+幽门夹诱导幽门不全梗阻法”手术造模建立RE模型。造模方法参考^[21]:将购买的尼龙扎线制备成幽门环内径大小为4.2 mm,做好标记,高压消毒备用;大鼠手

术前禁食36 h,禁水12 h(术前1 d喂食5%葡萄糖水),手术当日给予35 mg·kg⁻¹戊巴比妥钠麻醉大鼠,腹部正中2.0 cm×2.0 cm区域备皮刀背皮,将麻醉成功后大鼠仰卧置于手术台,固定大鼠四肢,并充分暴露胸腹部;将大鼠备皮好的部位进行碘伏消毒,铺无菌洞巾,用于手术;在大鼠剑突下腹前正中中线处开腹约1~2 cm,逐层剪开大鼠皮毛、腹肌等,利用开胸器充分暴露手术视野;分离幽门十二指肠交界处腹膜,避开血管,(将前胃排空)用尼龙扎线于幽门十二指肠交界下方穿过后绕圈,按预定内径套扎,剪去多余扎线并磨平断端;用5-0缝合线结扎前胃与腺胃交界处;检查胃及十二指肠等部位无出血后关腹腔;用5-0缝线逐层关腹;手术后立刻腹腔灌注0.5%甲硝唑(1 mL)及庆大霉素(2万IU);碘伏进行消毒。Sham组大鼠开腹后,不做幽门及胃底结扎,仅游离胃及十二指肠,1 min后关腹,手术过程严格无菌操作。手术后各组大鼠继续禁食24 h,自由饮水,24 h后以少量颗粒饲料喂养,术前后3 d每天腹腔注射庆大霉素2万IU预防感染,每天观察大鼠皮毛、食欲、精神、活动情况、进食量及体质量,并记录;3 d后正常饮水饮食。造模2周后,部分大鼠死亡,共计10只。

2.1.1 分组及给药 造模2周后将存活50只大鼠随机分为模型组(Model组)、黄连汤高剂量组(HLT-H, 51.54 g·kg⁻¹)、黄连汤中剂量组(HLT-M, 25.77 g·kg⁻¹)、黄连汤低剂量组(HLT-L, 12.885 g·kg⁻¹)、奥美拉唑组(5 mg·kg⁻¹),每组10只。所有大鼠于术后第15天开始灌胃给药,给药剂量按照1.3项下的剂量给予药物干预,给药体积为10 mL·kg⁻¹,每日1次,连续灌胃14 d。

2.1.2 取材 所有大鼠连续灌胃14 d后,禁食不禁水12 h,给予35 mg·kg⁻¹的戊巴比妥钠麻醉大鼠,收集大鼠血清,-80℃保存待检测;随后常规开腹,截取食管组织,先纵向剖开食管,肉眼观察食管损伤情况;分离并于食管上端至幽门结扎处十二指肠端切取完整食管,截取靠近幽门1 cm的部位放置于10%甲醛备用、剩余部分放置于冻存管中,于-80℃冻存,用于食管菌群检测。沿胃大弯侧纵向剖开,收集胃内容物,并以生理盐水冲净,保存胃组织-80℃保存备用;取材过程中进行无菌操作,避免标本污染。

2.2 观察指标及方法

2.2.1 一般情况观察 每日对大鼠体质量、饮水量、进食量进行记录,并观察各组大鼠精神状态等。

2.2.2 食管黏膜病理学观察 将10%甲醛浸泡好

的食管组织进行常规的石蜡包埋,制备病理切片,苏木素-伊红(HE)染色后,在光学显微镜下观察大鼠食管黏膜病理形态学表现。

2.2.3 血清指标检测 对大鼠血清样本按照试剂盒说明书操作,检测血清中IL-10、IL-1β、TNF-α、LPS、SOD、MTL、Gas、PP、PG、VIP、SP、NOS。

2.2.4 胆汁酸代谢分析 对大鼠血清样本进行胆汁酸代谢分析,样本处理情况如下:取血浆样本100 μL加入预冷的甲醇400 μL,混匀5 min,3 500 r·min⁻¹离心10 min(离心半径15 cm)。取上清180 μL,加入内标溶液20 μL,混匀,进样。

内标溶液制备:取D4-CA和D4-TCA各10 mg加入50%甲醇5 mL,配置成2 g·L⁻¹的胆汁酸单标母液,-80℃保存备用。临用前,用50%甲醇配制10 mg·L⁻¹的内标混合物备用。

混合对照品溶液制备:取各胆汁酸对照品10 mg,加入50%甲醇5 mL,配置成2 g·L⁻¹的胆汁酸单标母液,然后取各胆汁酸单标母液,用50%甲醇配置成含各对照品100 mg·L⁻¹的混合对照品母液,单标和混标母液,-80℃保存备用。实验前,将混合对照品母液用50%甲醇稀释成1~1 000 mg·L⁻¹的系列溶液,取180 μL,加入内标混合物20 μL,混匀,进样。制作的标准曲线用于各胆汁酸浓度的计算,D4-CA和D4-TCA分别用于游离型胆汁酸和结合型胆汁酸浓度的校正。

制备好的样品及标准品进行高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)检测,色谱条件为色谱柱为BEH C₁₈(2.1 mm×100 mm,1.7 μm,美国Waters公司);流动相为A(水,含0.1%甲酸):B(乙腈,含0.1%甲酸),梯度洗脱程序:0~1.0 min,20%~25%B;1.0~5.0 min,25%B;5.0~7.0 min,25%~30%B;7.0~8.0 min,30%B;8.0~11.0 min,30%~40%B;11.0~13.0 min,40%B;13.0~19.0 min,40%~70%B;19.0~20.0 min,70%~95%B;20.0~22.5 min,95%B;22.50~22.51 min,95%~20%B;22.51~25 min,20%B。流速0.3 mL·min⁻¹,柱温50℃,样品室4℃,进样量5 μL。质谱条件为:采用电喷雾离子源(ESI),气帘气(N₂)35.0 psi,碰撞气(N₂)9 psi,喷雾电压4 500 V,雾化气(N₂)和辅助气(N₂)均为50 psi,雾化温度550℃。在负离子模式下采用多反应监测(MRM)模式进行扫描,胆汁酸质谱检测参数及质谱图数据见增强出版附加材料。

2.2.5 食管菌群分析 对大鼠食管菌群进行

检测分析,根据DNA提取试剂盒说明书提取各组食管样本DNA,选用细菌16S rRNA基因高度可变的V3-V4区进行测序,并利用菌群通用引物进行PCR扩增,根据扩增结果进行凝胶电泳,并且取目标片段进行回收,用酶标仪对PCR产物进行定量,然后按照样本所需的数据量进行混样。构建测序文库,并在Illumina NovaSeq机器上按照操作说明进行测序。

2.3 统计学分析 采用SPSS 20.0统计学软件进行数据统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,若数据符合正态分布,采用单因素方差分析;若数据不符合正态分布,则采用非参数秩和检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

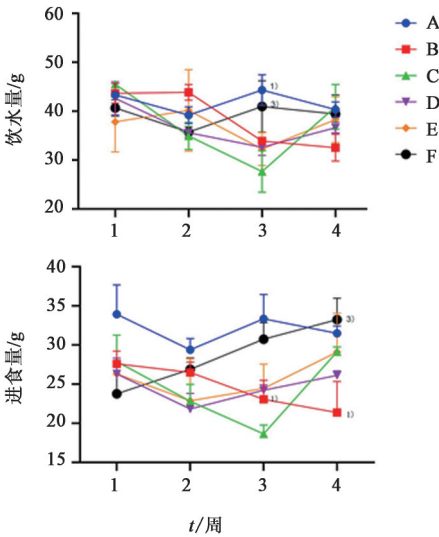
3.1 大鼠一般情况分析 整个实验从造模开始到药物干预结束,共持续28 d。Sham组10只大鼠均存活,造模2周后,有10只大鼠死亡,大鼠死亡原因解剖后发现主要是与幽门梗阻、肠梗阻、肠胀气、感染等有关。Sham组大鼠生理状态正常,表现为毛色光泽、活动敏捷、精神状态较佳、大便成形;除Sham组外,其余各组均出现不同程度毛发色泽较暗、活动减少、出现溏便、体质量减轻等现象。药物干预后上述证状则逐渐恢复,Model组恢复较慢。与Sham组比较,Model组大鼠体质量显著降低($P < 0.01$);与Model组比较,药物干预后体质量明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),HLT-L组及奥美拉唑组体质量恢复最佳。见表1。造模前2周各组大鼠饮水量、进食量均降低;第3、4周除Model组外,各组大鼠饮水量、进食量逐渐回升,到第4周时奥美拉唑效果最佳,其次是HLT-L组、HLT-H组、HLT-M组;Sham组饮水量及进食量均无明显变化;Model饮水量、进食量则持续降低。见图1。

3.2 各组大鼠食管病理学表现 Sham组大鼠食管组织上皮为典型的复层鳞状上皮,细胞形态正常,结构清晰,无炎性细胞浸润;Model组大鼠食管组织出现鳞状上皮细胞增生,黏膜固有层出现乳头状突

表1 黄连汤对RE大鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)
Table 1 Effect of Huangliantang on body weight of RE rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	体质量/g
Sham组		392.60 $\pm$ 44.04
Model组		314.42 $\pm$ 43.70 ²⁾
HLT-H组	51.54	328.79 $\pm$ 29.16
HLT-M组	25.77	361.79 $\pm$ 26.83 ³⁾
HLT-L组	12.885	373.41 $\pm$ 30.49 ⁴⁾
奥美拉唑组	0.005	377.55 $\pm$ 35.42 ⁴⁾

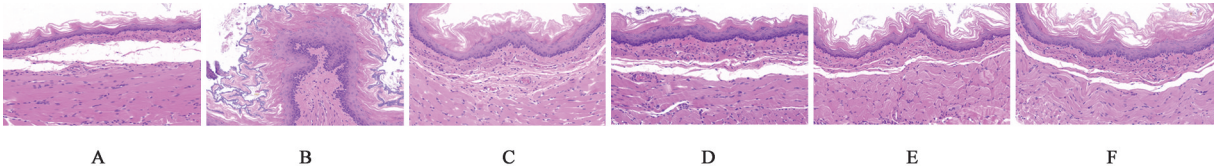
注:与Sham组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与Model组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (图1、表2-表7同)



注: A. Sham组; B. Model组; C. HLT-H组; D. HLT-M组; E. HLT-L组; F. 奥美拉唑组

图1 黄连汤对RE大鼠饮水量、进食量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)
Fig. 1 Effect of Huangliantang on water intake, and food intake in rats with reflux esophagitis ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

起等病理表现;药物干预后其食管鳞状上皮增生、基底层细胞增厚现象均得到较为明显的改善,固有层乳头延伸范围缩小,未见糜烂和溃疡形成,细胞排列紧密、整齐,且炎性细胞浸润明显减少,病理结果说明黄连汤能够改善RE大鼠食管黏膜的病理损伤。见图2。



注: A. Sham组; B. Model组; C. 奥美拉唑组; D. HLT-H组; E. HLT-M组; F. HLT-L组
图2 黄连汤对RE大鼠食管黏膜形态的影响(HE, $\times 50$)
Fig. 2 Effect of Huangliantang on morphology of esophageal mucosa in RE rats (HE, $\times 50$)

3.3 各组大鼠关键指标分析

3.3.1 黄连汤对RE大鼠血清炎症指标的影响 与Sham组比较,Model组大鼠血清IL-10显著降低($P<0.01$);与Model组比较,HLT-H组、HLT-M组、HLT-L组则显著升高($P<0.01$),HLT-H组效果最佳。Model组血清中IL-1 β 、TNF- α 含量相较于Sham组均明显升高($P<0.05$, $P<0.01$);黄连汤药物干预后

则显著下降,HLT-H组效果最佳($P<0.01$),其次是HLT-L组($P<0.01$)。

LPS的检测结果显示,Model组相较于Sham组含量显著升高($P<0.01$),药物干预后则显著降低,且有剂量依赖性,而奥美拉唑降低效果最佳。同时黄连汤干预后还能够改善RE大鼠血清中SOD的水平。见表2。

表2 黄连汤对RE大鼠血清炎症指标的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 2 Effect of Huangliantang on serum inflammatory indicators in RE rats ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	IL-10/ng·L ⁻¹	IL-1 β /ng·L ⁻¹	TNF- α /ng·L ⁻¹	LPS/EU·L ⁻¹	SOD/ng·L ⁻¹
Sham组		52.50 $\pm$ 2.72	234.18 $\pm$ 39.73	7.30 $\pm$ 5.62	369.89 $\pm$ 61.06	537.50 $\pm$ 39.75
Model组		10.79 $\pm$ 2.94 ²⁾	691.85 $\pm$ 44.31 ²⁾	14.00 $\pm$ 6.44 ¹⁾	1 181.67 $\pm$ 75.08 ²⁾	309.21 $\pm$ 34.89 ²⁾
HLT-H组	51.54	38.85 $\pm$ 3.67 ⁴⁾	396.01 $\pm$ 30.31 ⁴⁾	3.60 $\pm$ 3.38 ⁴⁾	715.96 $\pm$ 64.34 ⁴⁾	387.82 $\pm$ 43.56 ⁴⁾
HLT-M组	25.77	26.11 $\pm$ 3.79 ⁴⁾	540.19 $\pm$ 35.00 ⁴⁾	7.00 $\pm$ 2.00 ⁴⁾	782.89 $\pm$ 51.93 ⁴⁾	368.65 $\pm$ 46.33 ³⁾
HLT-L组	12.885	18.26 $\pm$ 4.19 ⁴⁾	528.69 $\pm$ 29.90 ⁴⁾	4.90 $\pm$ 2.40 ⁴⁾	989.81 $\pm$ 74.71 ⁴⁾	339.32 $\pm$ 41.41 ³⁾
奥美拉唑组	0.005	43.15 $\pm$ 2.40 ⁴⁾	251.42 $\pm$ 47.61 ⁴⁾	9.30 $\pm$ 4.57 ³⁾	558.89 $\pm$ 75.47 ⁴⁾	476.93 $\pm$ 35.38 ⁴⁾

3.3.2 黄连汤对RE大鼠血清胃肠激素、胃肠功能相关指标的影响 结果显示,与Sham组比较,Model组大鼠中MTL含量显著升高($P<0.01$),与Model组比较,HLT-H组、HLT-M组则显著降低大鼠血清中MTL含量($P<0.01$),奥美拉唑也能够显著降低大鼠血清中MTL含量($P<0.01$)。与Sham组比较,Model组大鼠血清中Gas含量、SP含量均显著升高($P<0.01$);黄连汤及奥美拉唑干预后相较于Model组则得到不同程度改善,其中HLT-H组及奥美拉唑组效果最佳。Model组

大鼠血清中VIP含量显著上升($P<0.01$),黄连汤干预后则能够显著降低大鼠血清中VIP,其中HLT-H组效果最佳($P<0.01$)。另外Model组大鼠PP、PG含量显著升高($P<0.01$),黄连汤则能够显著降低大鼠PP、PG,其中HLT-H组、HLT-L组效果最佳($P<0.05$, $P<0.01$)。进一步对NOS进行检测,结果显示Model组大鼠血清中NOS含量显著升高($P<0.01$),黄连汤干预后则能够显著降低大鼠血清中NOS含量,其中HLT-H组效果最佳($P<0.01$)。见表3。

表3 黄连汤对RE大鼠血清胃肠激素、胃肠功能相关指标的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 3 Effect of Huangliantang on serum gastrointestinal hormones and gastrointestinal function-related indicators in RE rats ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	MTL/ng·L ⁻¹	Gas/ng·L ⁻¹	SP/ng·L ⁻¹	VIP/ng·L ⁻¹	PP/ μ g·L ⁻¹	PG/ μ g·L ⁻¹	NOS/mmol·L ⁻¹
Sham组		221.02 $\pm$ 24.06	156.65 $\pm$ 17.85	73.52 $\pm$ 7.22	131.67 $\pm$ 19.61	24.76 $\pm$ 3.05	40.40 $\pm$ 3.78	23.18 $\pm$ 3.52
Model组		381.14 $\pm$ 27.91 ²⁾	406.67 $\pm$ 20.97 ²⁾	180.00 $\pm$ 9.68 ²⁾	328.14 $\pm$ 13.31 ²⁾	48.69 $\pm$ 2.87 ²⁾	72.55 $\pm$ 4.43 ²⁾	63.50 $\pm$ 2.76 ²⁾
HLT-H组	51.54	273.47 $\pm$ 17.61 ⁴⁾	250.61 $\pm$ 18.71 ⁴⁾	128.78 $\pm$ 11.07 ⁴⁾	212.40 $\pm$ 14.06 ⁴⁾	35.00 $\pm$ 2.98 ⁴⁾	44.15 $\pm$ 3.96 ⁴⁾	40.05 $\pm$ 2.92 ⁴⁾
HLT-M组	25.77	307.97 $\pm$ 27.50 ⁴⁾	307.02 $\pm$ 19.04 ⁴⁾	139.04 $\pm$ 8.49 ⁴⁾	245.45 $\pm$ 16.05 ⁴⁾	37.27 $\pm$ 3.58 ⁴⁾	58.15 $\pm$ 4.00 ⁴⁾	42.99 $\pm$ 2.30 ⁴⁾
HLT-L组	12.885	363.97 $\pm$ 27.50	363.76 $\pm$ 24.16 ⁴⁾	167.47 $\pm$ 8.40 ³⁾	318.03 $\pm$ 18.26	45.01 $\pm$ 3.58 ³⁾	54.20 $\pm$ 3.56 ⁴⁾	53.45 $\pm$ 3.40 ⁴⁾
奥美拉唑组	0.005	322.91 $\pm$ 31.51 ⁴⁾	200.74 $\pm$ 17.72 ⁴⁾	105.34 $\pm$ 6.87 ⁴⁾	155.16 $\pm$ 17.97 ⁴⁾	34.61 $\pm$ 3.55 ⁴⁾	37.46 $\pm$ 3.04 ⁴⁾	31.77 $\pm$ 3.75 ⁴⁾

3.4 各组大鼠胆汁酸代谢分析

3.4.1 黄连汤对RE大鼠血清胆汁酸代谢的多元统计分析 由于胆汁酸代谢变化也会严重影响RE,因此本研究进一步对各组大鼠的胆汁酸代谢进行靶向代谢组学分析,采用主成分分析法(PCA)、偏小二乘法-判别分析(OPLS-DA)对胆汁酸数据进行分析。结果显示,Model组与Sham组显著分离,药物干预后则向Sham组靠近,且OPLS-DA数据也显示

Model组与Sham组分离明显、同时各剂量组及奥美拉唑组与Model组分离显著。见增强出版附加材料。

3.4.2 黄连汤对RE大鼠血清胆汁酸调控作用分析

3.4.2.1 黄连汤对RE大鼠血清中初级胆汁酸及其结合型胆汁酸的影响 进一步落实黄连汤对RE大鼠胆汁酸代谢异常的调控作用,本项目对27种胆汁酸进行定量分析。与Sham组比较,Model组中初级

胆汁酸:CA、CDCA明显升高($P<0.05$);与Model组比较,药物干预后 HLT-L 组、奥美拉唑组则明显下调($P<0.05$, $P<0.01$)。其结合型胆汁酸:TCA、GCA 在Model组中明显上调($P<0.05$),药物干预后高剂量明显下调TCA的水平($P<0.05$);HLT-M组、HLT-L组、奥美拉唑组明显下调TCDCA的水平($P<0.05$, $P<0.01$)。与甘氨酸结合的初级胆汁酸:GCA、GCDCA在Model组中明显上调($P<0.05$);药物干预后 HLT-H 组、HLT-M 组、HLT-L 组及奥美拉唑组则明显下调($P<0.05$, $P<0.01$)。见表4。

表4 黄连汤对RE大鼠血清中初级胆汁酸及其结合型胆汁酸的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 4 Effect of Huangliantang on primary bile acids and their conjugated forms in serum of RE rats ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)							$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	CA	TCA	GCA	CDCA	TCDCA	GCDCA
Sham组		552.38±446.82	78.02±17.89	146.10±92.66	54.34±22.92	1.42±0.49	21.40±13.42
Model组		1 688.86±944.49 ¹⁾	175.69±88.23 ¹⁾	331.15±160.79 ¹⁾	1 379.21±145.23 ²⁾	2.78±1.12 ¹⁾	87.15±74.21 ¹⁾
HLT-H组	51.54	1 307.98±446.44	97.98±26.64 ³⁾	101.52±45.75 ⁴⁾	902.73±447.80 ³⁾	1.73±1.08	20.86±9.21 ³⁾
HLT-M组	25.77	2 083.59±1 213.58	119.80±66.89	82.31±10.44 ⁴⁾	1 574.04±782.61	1.12±0.70 ³⁾	37.51±25.02 ³⁾
HLT-L组	12.885	877.51±304.60 ³⁾	102.18±49.06 ³⁾	60.22±16.96 ⁴⁾	119.36±49.01 ⁴⁾	0.64±0.36 ⁴⁾	16.08±9.19 ³⁾
奥美拉唑组	0.005	795.41±442.81 ³⁾	109.28±56.34	113.64±42.96 ⁴⁾	104.11±74.82 ⁴⁾	1.04±0.52 ⁴⁾	24.36±17.32 ³⁾

3.4.2.2 黄连汤对RE大鼠血清中次级胆汁酸及其结合型胆汁酸的影响 对大鼠血清中次级胆汁酸及其结合型胆汁酸进行分析,结果显示,与Sham组比较,Model组大鼠血清中DCA及其结合型胆汁酸:TDCA、GDCA明显上调($P<0.05$);药物干预后则显著下调,其中HLT-H组明显下调DCA、TDCA、GDCA ($P<0.05$, $P<0.01$), HLT-M 组 明 显 下 调TDCA、GDCA ($P<0.05$), HLT-L 组 则 明 显 下 调DCA、TDCA ($P<0.05$, $P<0.01$)。Model组中LCA及其结合型胆汁酸:TLCA、GLCA明显上调($P<0.05$, $P<0.01$);HLT-H组明显下调LCA、TLCA、GLCA ($P<0.05$), HLT-M 组 明 显 下 调 TLCA、GLCA ($P<$

0.05), HLT-L 组 则 明 显 下 调 LCA、TLCA、GLCA ($P<0.05$, $P<0.01$)。HDCA及其结合型胆汁酸:THDCA、GHDCA在Model组中明显上调($P<0.05$, $P<0.01$);HLT-H组则明显逆转HDCA、THDCA、GHDCA的表达($P<0.05$, $P<0.01$), HLT-M 组、HLT-L 组 则 明 显 明 显 HDCA、THDCA、GHDCA 的 表 达 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与Sham组比较,Model组中UDCA及其结合型胆汁酸TUDCA明显下调($P<0.05$),GUDCA显著上调($P<0.01$);药物干预后,HLT-H组明显上调UDCA ($P<0.05$)、下调GUDCA的表达($P<0.05$), HLT-M 组 明 显 上 调 TUDCA 的 表 达 ($P<0.05$), HLT-L 组 显 著 下 调 GUDCA 的 表 达 ($P<0.01$)。见表5。

表5 黄连汤对RE大鼠血清中次级胆汁酸及其结合型胆汁酸的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 5 Effect of Huangliantang on secondary bile acids and their conjugated forms in serum of RE rats ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)							$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	DCA	TDCA	GDCA	LCA	TLCA	GLCA
Sham组		166.49±71.20	17.50±9.66	40.32±14.52	4.48±1.75	1.59±0.34	4.30±2.27
Model组		279.56±102.99 ¹⁾	35.08±23.09 ¹⁾	83.78±49.73 ¹⁾	16.52±9.17 ²⁾	2.98±1.56 ¹⁾	29.02±24.05 ²⁾
HLT-H组	51.54	148.60±70.60 ⁴⁾	15.72±6.28 ³⁾	18.84±10.20 ⁴⁾	8.42±3.05 ³⁾	1.69±0.34 ³⁾	5.82±3.02 ³⁾
HLT-M组	25.77	249.46±136.56	16.68±9.68 ³⁾	34.78±16.54 ³⁾	15.37±8.42	1.68±0.72 ³⁾	6.92±4.55 ³⁾
HLT-L组	12.885	154.50±42.80 ³⁾	8.52±2.36 ⁴⁾	45.21±29.18	8.35±3.08 ³⁾	1.16±0.47 ⁴⁾	3.56±2.15 ⁴⁾
奥美拉唑组	0.005	159.50±132.55 ³⁾	16.59±7.02 ³⁾	36.42±20.01 ³⁾	6.29±2.99 ³⁾	1.61±1.01 ³⁾	4.40±2.59 ⁴⁾
组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	HDCA	THDCA	GHDCA	UDCA	TUDCA	GUDCA
Sham组		185.87±90.27	51.45±14.91	15.11±3.55	90.28±38.78	3.78±0.83	1 749.74±926.25
Model组		1 022.32±204.84 ²⁾	74.31±23.34 ¹⁾	68.70±8.88 ²⁾	52.44±14.90 ¹⁾	2.56±1.04 ¹⁾	4 521.16±1275.13 ²⁾
HLT-H组	51.54	338.92±120.74 ³⁾	10.97±0.99 ⁴⁾	6.27±3.08 ⁴⁾	100.92±39.02 ³⁾	3.36±0.70	2 114.58±1 020.20 ³⁾
HLT-M组	25.77	674.71±250.87 ³⁾	29.04±12.64 ⁴⁾	18.01±9.23 ⁴⁾	54.39±22.66	3.68±0.85 ³⁾	2 975.84±1 836.92
HLT-L组	12.885	431.65±280.55 ⁴⁾	22.86±14.50 ⁴⁾	14.93±12.94 ⁴⁾	58.08±24.76	3.28±0.52	1 472.57±549.07 ⁴⁾
奥美拉唑组	0.005	404.58±345.63 ⁴⁾	36.92±25.03 ⁴⁾	33.04±32.41 ⁴⁾	50.60±20.19	4.26±1.48 ³⁾	3 136.48±1 396.55

3.4.2.3 黄连汤对RE大鼠血清中鼠胆酸及其结合型胆汁酸的影响 结果显示,与Sham组比较,Model组大鼠血清中HCA、 α -MCA均显著上调($P<0.01$),药物干预后HLT-M组显著下调HCA表达水平,HLT-L组能够明显下调HCA、 α -MCA表达水平($P<0.05$, $P<0.01$)。其结合型胆汁酸:T-

α -MCA、T- β -MCA、T- ω -MCA在Model组中明显上调($P<0.05$);HLT-H组、HLT-M组、HLT-L组均能够明显下调T- β -MCA表达水平($P<0.05$, $P<0.01$),同时HLT-H组、HLT-M组、HLT-L组明显下调T- α -MCA、T- β -MCA、T- ω -MCA表达水平($P<0.05$, $P<0.01$)。见表6。

表6 黄连汤对RE大鼠血清中鼠胆酸及其结合型胆汁酸的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 6 Effect of Huangliantang on muricholic acids and their conjugated forms in serum of RE rats ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)								$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	HCA	α -MCA	β -MCA	ω -MCA	T- α -MCA	T- β -MCA	T- ω -MCA
Sham组		8.45 $\pm$ 4.44	47.74 $\pm$ 50.52	62.68 $\pm$ 22.06	249.58 $\pm$ 186.52	15.78 $\pm$ 3.68	91.57 $\pm$ 41.78	2.44 $\pm$ 1.68
Model组		125.11 $\pm$ 23.84 ²⁾	260.05 $\pm$ 142.99 ²⁾	189.72 $\pm$ 65.32 ²⁾	254.72 $\pm$ 136.02	28.54 $\pm$ 17.39 ¹⁾	171.50 $\pm$ 75.26 ¹⁾	4.73 $\pm$ 0.86 ¹⁾
HLT-H组	51.54	41.51 $\pm$ 18.94	468.07 $\pm$ 97.93	501.57 $\pm$ 146.20	627.59 $\pm$ 203.41	8.60 $\pm$ 3.31 ⁴⁾	59.12 $\pm$ 7.07 ⁴⁾	2.11 $\pm$ 1.32 ³⁾
HLT-M组	25.77	31.95 $\pm$ 14.78 ⁴⁾	936.17 $\pm$ 723.47	465.63 $\pm$ 214.10	631.70 $\pm$ 250.23	11.48 $\pm$ 6.49 ³⁾	72.80 $\pm$ 30.56 ⁴⁾	2.00 $\pm$ 1.36 ⁴⁾
HLT-L组	12.885	18.25 $\pm$ 3.02 ⁴⁾	62.34 $\pm$ 9.99 ³⁾	290.36 $\pm$ 76.35	433.45 $\pm$ 185.19	11.62 $\pm$ 5.25 ³⁾	52.06 $\pm$ 13.46 ⁴⁾	1.24 $\pm$ 0.93 ⁴⁾
奥美拉唑组	0.005	10.11 $\pm$ 2.06 ⁴⁾	108.98 $\pm$ 25.56 ³⁾	195.00 $\pm$ 47.11	253.55 $\pm$ 108.74	13.09 $\pm$ 6.65 ³⁾	84.87 $\pm$ 40.93 ⁴⁾	2.40 $\pm$ 1.86 ³⁾

3.4.2.4 黄连汤对RE大鼠血清中其他胆汁酸的影响 结果显示,与Sham组比较,Model组DHCA、UCA水平明显升高($P<0.05$, $P<0.01$);药物干预后降低DHCA、UCA表达,其中HLT-L组能够明显下调UCA表达($P<0.05$)。见表7。

表7 黄连汤对RE大鼠血清中其他胆汁酸的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 7 Effect of Huangliantang on other bile acids in serum of rats with reflux esophagitis ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)				$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	DHCA	UCA	
Sham组		0.33 $\pm$ 0.16	16.02 $\pm$ 7.87	
Model组		2.53 $\pm$ 1.66 ¹⁾	58.71 $\pm$ 22.01 ²⁾	
HLT-H组	51.54	0.83 $\pm$ 0.23	55.01 $\pm$ 15.93	
HLT-M组	25.77	1.87 $\pm$ 1.75	55.50 $\pm$ 8.75	
HLT-L组	12.885	0.83 $\pm$ 0.72	35.05 $\pm$ 18.91 ³⁾	
奥美拉唑组	0.005	0.97 $\pm$ 0.48	19.75 $\pm$ 9.07 ⁴⁾	

3.5 各组大鼠食管菌群分析

3.5.1 黄连汤对RE大鼠食管菌群多样性的影响 综上实验数据分析,HLT-H组在改善RE炎症指标、胃肠道激素水平、胆汁酸代谢水平均表现较好,故选择高剂量大鼠食管组织样本进行食管菌群数据的分析(下文用“HLT”表示)。选择Sham组、Model组、黄连汤HLT-H组、奥美拉唑组进行食管菌群样本检测及数据分析。对各组大鼠食管菌群Alpha多样性进行分析。结果显示(增强出版附加材料),与Sham组比较,Model组大鼠食管菌群Shannon指数、Simpson指数、Invsimpson指数均明显下降($P<0.05$),与Model组比较,黄连汤能够明显增高大鼠食管菌群Shannon指数、Simpson指数、

Invsimpson指数($P<0.05$)。

对各组大鼠食管菌群Beta多样性进行分析。采用主坐标分析(PCoA)食管菌群组间差异,分析结果显示(增强出版附加材料)Sham组与Model组显著分离,表明其菌群组成具有明显的差异;而黄连汤组与Model组分离较为明显,说明黄连汤组的物种组成与Model组比较有一定的差异;并且黄连汤组相趋近于Sham组说明药物干预后其菌群丰度可能得到一定改善。

3.5.2 黄连汤对RE大鼠食管菌群物种丰度的影响 对各组大鼠食管菌群物种丰度进行分析,结果显示(增强出版附加材料),在门水平上,Sham组以厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)等为主;与Sham组比较,Model组拟杆菌门、变形菌门、放线菌门相对丰度降低,厚壁菌门相对丰度升高;而药物干预后拟杆菌门、变形菌门、放线菌门相对丰度升高。

在科水平上,Sham组以乳杆菌科(Lactobacillaceae)、毛螺菌科(Lachnospiraceae)、梭菌科(Clostridiaceae)、巴斯德菌科(Pasteurellaceae)、普雷沃氏菌科(Prevotellaceae)、消化链球菌科(Peptostreptococcaceae)、棒状杆菌科(Corynebacteriaceae)、链球菌科(Streptococcaceae)、拟杆菌科(Bacteroidaceae)等为主;与Sham组比较,Model组毛螺菌科、梭菌科、巴斯德菌科、普雷沃氏菌科、消化链球菌科、棒状杆菌科、链球菌科、拟杆菌科等相对丰度均显著升高;黄连汤药物干预后,

其相对丰度相较于Model组得到较大改善。

在属水平上,Sham组以乳杆菌属(*Lactobacillus*、*Ligilactobacillus*、*Limosilactobacillus*)、梭菌属(*Clostridium*)、普雷沃菌属(*Prevotella*)、啮齿动物杆菌属(*Rodentibacter*)、伦布茨氏菌属(*Romboutsia*)等为主;与Sham组比较,Model组大鼠普雷沃菌属、啮齿动物杆菌属等显著下调;黄连汤干预后则明显改善以上菌群表达。

在种水平上,Sham组以乳杆菌属及其近缘属(如*Ligilactobacillus*)和双歧杆菌属等有益菌为主;与Sham组比较,Model组有益菌*Lactobacillus_johnsonii*、*Ligilactobacillus_murinus*、*Prevotella_copri*、*Lactobacillus_intestinalis*等则显著下调,黄连汤组则能够显著上调以上有益菌的表达。

3.5.3 黄连汤对RE大鼠食管菌群差异物种分析

对各组大鼠食管菌群差异物种进行分析,结果显示(增强出版附加材料)Model组相较于Sham组下调108个,上调408个;黄连汤相较于Model组上调268个,下调184个。其中49个差异物种在每组种均有表达,以该49个差异物种为核心,进一步分析其表达量热图,结果显示黄连汤组与Sham组表达量更加相近,与Model组表达量相反,进一步说明黄连汤能够改善RE大鼠食管菌群紊乱。各组差异菌群相对表达量热图(增强出版附加材料)也充分。

3.6 食管菌群与胆汁酸相关性分析 建立差异菌群与胆汁酸的相关性分析热图,分析菌群与胆汁酸之间相互作用关系,更深层次解析其如何影响RE的疾病变化。其中与胆汁酸代谢直接相关的菌群如:乳杆菌科、梭菌科等,其中乳酸菌科(*Lactobacillaceae*)关键菌群(*Loigolactobacillus rennini*、*Lactobacillus timonensis*、*Lactobacillus* sp. CBA3606、*Paucilactobacillus suebicus*、*Secundilactobacillus silagei*)可能影响胆汁酸盐水解酶的表达,其与CDCA、Ta-MCA、UCA等显著正相关;韦荣球菌属(*Veillonella criceti*、*Veillonella* sp. VA139)、芽孢杆菌属(*Massilibacillus massiliensis*)、软体弓形杆菌属(*Malaciobacter*)与CDCA、Ta-MCA、UCA等显著正相关;螺杆菌属(*Helicobacter canadensis*)、长尾噬菌体科(*Siphoviridae*)、艾肯菌属(*Eikenella*)与GCDCA、GLCA、GUDCA显著正相关。以上数据说明黄连汤可能是通过调控菌群代谢进而影响胆汁酸(结合/游离转化、初级/次级转化)的表达,进而影响食管黏膜炎症,其中CDCA、Ta-MCA、UCA、GCDCA、

GLCA、GUDCA与大部分关键菌群呈现显著正相关关系。见增强出版附加材料。

4 讨论

RE是一种常见的消化系统疾病,其发病机制复杂,涉及多种因素的相互作用。目前研究认为RE是在十二指肠内容物如胃酸、胰蛋白酶、胆汁等的作用下,刺激炎症免疫细胞、分泌多种炎症介质,进而引起的食管上皮损伤^[22]。黄连汤源自《伤寒论》,其“辛开苦降、寒热并调、上下并治”的核心配伍逻辑,与本研究治疗RE的药效结果高度契合,既印证了传统方剂的临床合理性,也为阐释其现代作用机制提供了理论锚点。

方中黄连苦寒,上清胸中之热;干姜、桂枝辛温下散胃中之寒”的核心配伍,构成“辛开苦降”的关键框架,旨在恢复中焦升降之职。此配伍可对应本研究中“减轻食管黏膜病理损伤及系统性炎症”的药效结果。RE的核心病理环节为食管黏膜受反流物(胃酸、胆汁等)刺激引发的“寒热错杂”状态:胃热上逆则灼伤食管黏膜,胃寒内停则影响胃肠蠕动致反流加剧。黄连“主热气”且“三两增强清热止利作用”,其苦寒之性可直清上逆之热,减少炎症因子释放。这与实验中降低促炎因子的表达直接相关。干姜、桂枝辛温散寒,既能温散胃中寒邪以恢复胃腑通降功能;又可通过“交通营卫”,改善胃肠动力,减少反流频次,进而缓解食管黏膜的持续性损伤,这也印证了黄连汤能够改善RE大鼠食管黏膜的病理损伤。

近年来,随着微生物生态学和代谢组学的发展,食管菌群和胆汁酸代谢在RE发生发展中的作用逐渐受到关注,而黄连汤作为传统中药方剂,在RE治疗中展现出一定的潜力,本研究基于食管菌群、胆汁酸代谢探讨黄连汤治疗RE的作用机制。结果表明,黄连汤不仅能显著改善RE大鼠的一般生理状态(体质量、进食饮水量)、减轻食管组织病理损伤及系统性炎症,更能有效逆转RE所引发的食管菌群紊乱和胆汁酸代谢谱异常。更为关键的是,笔者通过相关性分析构建了黄连汤调控下的差异菌群与特定胆汁酸之间的相互作用网络,为阐释黄连汤通过“微生态-代谢”调控网络发挥疗效提供了直接证据。

胃食管反流物可以破坏食管黏膜屏障,使食管上皮细胞直接接触食管内细菌,导致食管菌群构成发生改变,食管菌群紊乱又可导致黏膜炎症反应^[1,23]。当食管菌群结构失衡时,可能通过多种途

径参与RE的病理过程。例如,某些致病菌的过度增殖可刺激食管黏膜释放炎症因子,如TNF- α 、IL-6等,引发局部炎症反应,破坏食管黏膜屏障^[7,10,24]。本研究发现,RE模型大鼠血清样本中炎症指标TNF- α 、IL- β 显著上调,IL-10则显著下调;同时RE Model组大鼠食管菌群多样性显著降低,且致病菌如链球菌等丰度升高,而有益菌 *Lactobacillus_johnsonii*、*Ligilactobacillus_murinus*、*Prevotella_copri*、*Lactobacillus_intestinalis*等则显著下调,黄连汤组则能够显著上调以上有益菌的表达,恢复食管菌群多样性,降低致病菌丰度,升高有益菌丰度。以上数据提示黄连汤可能通过调节食管菌群结构失衡来发挥治疗RE的作用。

胆汁酸是肝脏中产生胆固醇可溶性衍生物,随后发生细菌转化,产生各种代谢物(包括经过酶促反应合成初级胆汁酸,即CA、CDCA及其与甘氨酸和牛磺酸结合的形式(即结合型初级胆汁酸);少部分未吸收入血的结合型初级胆汁酸在肠道细菌酶的作用下生成次级胆汁酸,包括DCA、LCA及其结合型次级胆汁酸)^[25]。胆汁酸不仅对食管黏膜造成损伤,还可以通过诱导活性氧的产生、激活NF- κ B信号通路、阻止细胞凋亡等^[26-27]。胆汁酸代谢异常在RE的发病中也扮演着重要角色。正常情况下,胆汁酸在肠道内被重吸收,仅有少量进入食管。当胃食管反流发生时,胆汁酸反流入食管,可直接损伤食管黏膜上皮细胞,破坏黏膜屏障功能。同时,胆汁酸还可通过激活核受体如法尼醇X受体(FXR)等,影响炎症反应和细胞增殖分化过程^[28]。本研究结果显示,RE大鼠食管组织中总胆汁酸含量显著升高,且次级胆汁酸如DCA、LCA等显著增加;黄连汤治疗后,总胆汁酸含量降低,次级胆汁酸含量下降,提示黄连汤可能通过调节胆汁酸代谢来减轻食管黏膜损伤。

进一步研究发现,食管菌群与胆汁酸代谢之间存在密切的相互作用^[13]。食管菌群可通过其代谢产物影响胆汁酸的合成、转化和吸收过程。例如,某些菌群可产生胆汁酸水解酶,促进结合型胆汁酸向游离型胆汁酸转化。而胆汁酸也可通过改变食管内环境,影响菌群的定植和生长。结果显示黄连汤的治疗效应与乳酸菌科(*Lactobacillaceae*)下属多个关键菌种(如 *Loigolactobacillus_rennini*, *Lactobacillus_timonensis*等)的富集密切相关。这类细菌以其产乳酸和酸化环境的能力著称,是肠道和黏膜微生态中的有益菌。相关性分析显示,这些乳

酸菌与多种胆汁酸(如CDCA、T α -MCA、UCA)呈显著正相关。笔者推测,其潜在机制在于这些乳酸菌可能编码并高表达胆汁酸盐水解酶(BSH)。BSH是微生物代谢胆汁酸的关键酶,能将宿主肝脏合成的结合型胆汁酸(如GCDCA、GUDCA)去结合化,生成游离型初级胆汁酸(如CDCA、UCA),并进一步通过7- α 脱羟基作用转化为次级胆汁酸^[29-31]。此外,相关性分析还揭示了其他菌群与胆汁酸的密切关系。例如,韦荣球菌属(*Veillonella*)、软体弓形杆菌属(*Malaciobacter*)等通常与炎症状态相关的菌群也与CDCA、T α -MMCA等呈正相关,提示RE的疾病状态是由一个复杂的“菌群-代谢物”共同体所维持,而黄连汤能够整体性地重塑这一网络。另一方面,螺杆菌属(*Helicobacter*)与结合型胆汁酸(GCDCA、GLCA、GUDCA)的正相关关系,则暗示了不同微生物群落可能偏好利用不同形式的胆汁酸,共同参与了食管局部胆汁酸代谢池的构成。以上数据结果表明黄连汤可能通过调控菌群代谢影响胆汁酸的表达,进而影响食管黏膜炎症,达到治疗RE的作用。

方中半夏“和胃降逆”、人参-甘草-大枣“益胃和中”的佐使配伍,是黄连汤调控“微生态-代谢”网络的重要支撑,与实验中“逆转食管菌群紊乱、改善胆汁酸代谢谱”的药效紧密衔接。一方面,半夏性温善“燥湿化痰、降逆止呕”,其和胃降逆功效可恢复胃肠正常蠕动节律,减少胆汁反流对食管菌群的破坏。与实验结果黄连汤改善食管菌群丰度相对应。这也提示半夏可能通过调节胃肠微环境,为菌群定植提供稳定条件。另一方面,人参、甘草、大枣的“益胃和中”作用,可增强机体对胃肠功能的调控能力;实验中“体质量、进食饮水量改善”也正是“扶正”功效的直接体现。而胃肠功能的稳定又进一步影响胆汁酸代谢,如半夏降逆减少胆汁淤积,甘草、大枣补益中焦促进胆汁酸合成与排泄平衡,最终实现“胆汁酸代谢谱异常逆转”,尤其对初级、次级及鼠胆酸的调控,这与“和胃降逆、益胃和中”的协同作用是高度契合的。

本研究发现的“黄连汤通过差异菌群-特定胆汁酸相互作用网络发挥疗效”,本质是方解中“君臣佐使”整体协同的现代体现。方解中“黄连-半夏-干姜寒热同调”“黄连-桂枝交通上下”的多组分配伍,并非单一药材的独立作用,而是通过“清上温下、通调中焦”的整体效应,同步调控RE的两大关键机制:黄连的清热作用可抑制食管黏膜处致病菌过度增殖(如降低促炎菌群丰度),干姜、桂枝的温通作用

可促进胆汁酸肝肠循环(如调节结合型胆汁酸比例),两者通过“寒热平衡”为菌群与胆汁酸的相互作用提供适宜微环境;再结合半夏降逆、人参等补益的辅助作用,最终形成“菌群丰度恢复→胆汁酸代谢正常-食管炎症减轻-胃肠功能稳定”的正向循环。这与方解中“寒散热消,中焦得和,阴阳升降复常”的整体疗效描述相一致,证明黄连汤治疗RE是通过“多组分-多靶点-多网络”的协同作用,实现传统理论与现代机制的统一。

本研究通过方解与药效结果的对应分析表明,黄连汤治疗RE并非单一成分的作用,而是基于“辛开苦降、和胃益中”的传统配伍逻辑,通过同步干预RE的病理损伤(食管黏膜)、病理机制(炎症、菌群紊乱、胆汁酸异常)及整体生理状态,构建了“传统方剂-现代代谢微生态”的调控路径。这不仅为黄连汤治疗RE的临床应用提供了实验依据,更提示传统中药方剂的“君臣佐使”配伍,本质是对疾病复杂病理网络的系统性调控,为中西医结合治疗RE及其他胃肠疾病提供了“从方剂理论到机制验证”的研究思路。

[利益冲突] 杨伟鹏是本刊编,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] 甘丽虹. 补充动物双歧杆菌对反流性食管炎的辅助改善及基于肠道菌群的机制探索[D]. 南昌:南昌大学,2024.
GAN L H. Adjuvant ameliorate of *Bifidobacterium animalis* supplementation in reflux esophagitis and mechanism exploration based on gut microbiota [D]. Nanchang: Nanchang University, 2024.
- [2] 杨芳,胡以撒. 柴胡皂苷A对反流性食管炎大鼠炎性损伤的影响及机制研究[J]. 中国药理学杂志, 2025, 60(3): 250-256.
YANG F, HU Y S. Effect and mechanism of saikosaponin A on inflammatory injury in rats with reflux esophagitis [J]. Chin Pharm J, 2025, 60(3): 250-256.
- [3] 魏桐. 反流性食管炎的中医证候分布规律及相关因素研究[D]. 天津:天津中医药大学,2021.
WEI T. The distribution of TCM syndromes of reflux esophagitis and related factors of reflux esophagitis [D]. Tianjin: Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2021.
- [4] 梁景菊,林才志,谢思鹏,等. 中医药治疗肝胃郁热型反流性食管炎的研究进展[J]. 实用中医内科杂志, 2024, 38(11): 36-38.
LIANG J J, LIN C Z, XIE S P, et al. Research progress on traditional Chinese medicine in treating reflux esophagitis with type of liver and stomach stagnant heat [J]. J Pract Tradit Chin Intern Med, 2024, 38(11): 36-38.

- [5] 王敏,王爱民,徐心怡,等. 中医药干预反流性食管炎相关信号通路因子表达的研究进展[J]. 黑龙江医学, 2024, 48(11): 1401-1403.
WANG M, WANG A M, XU X Y, et al. Research progress of Chinese medicine intervention on the expression of signaling pathway factors in reflux esophagitis [J]. Heilongjiang Med J, 2024, 48(11): 1401-1403.
- [6] 张璇,王玉娟. 反流性食管炎的中医治疗进展[J]. 中医临床研究, 2024, 16(21): 32-36.
ZHANG X, WANG Y J. Progress in traditional Chinese medicine treatment of reflux esophagitis [J]. Clin J Chin Med, 2024, 16(21): 32-36.
- [7] 郭政,唐艳萍,李明莉,等. 从反流性食管炎到巴雷特食管:食管菌群扮演的角色[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2023, 31(10): 810-815, 820.
GUO Z, TANG Y P, LI M L, et al. From reflux esophagitis to Barrett's esophagus: The role of esophageal microbiome [J]. Chin J Integr Tradit West Med Dig, 2023, 31(10): 810-815, 820.
- [8] 余英,高峰,张杰. 反流性食管炎治疗效果与食管下段菌群构成变化的关系研究[J]. 首都医科大学学报, 2020, 41(2): 243-248.
YU Y, GAO F, ZHANG J. Study on the relationship between the changes of microbiota and therapeutic effect in patients with reflux esophagitis [J]. J Cap Med Univ, 2020, 41(2): 243-248.
- [9] 余英,张杰,高峰,等. 反流性食管炎严重程度与食管黏膜菌群结构变化的关系初探[J]. 中国医药, 2019, 14(10): 1519-1523.
YU Y, ZHANG J, GAO F, et al. A preliminary study on the relationship between severity of reflux esophagitis and changes of esophageal mucosal microbiome [J]. China Med, 2019, 14(10): 1519-1523.
- [10] 黄雨晴. 基于食管菌群探讨清郁和降汤对反流性食管炎的干预作用及机制[D]. 武汉:湖北中医药大学,2022.
HUANG Y Q. Study on the efficacy and mechanism of Qingyuhejiain decoction in treating reflux esophagitis based on esophageal flora [D]. Wuhan: Hubei University of Traditional Chinese Medicine, 2022.
- [11] 顾杨怡,张笑,朱梅,等. 肝胃同治中药复方对胆汁反流大鼠胆汁酸代谢的影响[J]. 环球中医药, 2024, 17(6): 1035-1042.
GU Y Y, ZHANG X, ZHU M, et al. Effect of Ganwei Tongzhi TCM compound on bile acid metabolism of rats with bile reflux [J]. Glob Tradit Chin Med, 2024, 17(6): 1035-1042.
- [12] 王根和. 胃食管反流性疾病的病因与发病机制研究进展[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2001, 10(2): 118-120.
WANG G H. Research progress on etiology and pathogenesis of gastroesophageal reflux disease [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2001, 10(2): 118-120.
- [13] COLLINS S L, STINE J G, BISANZ J E, et al. Bile acids and the gut microbiota: Metabolic interactions and impacts on disease [J]. Nat Rev Microbiol, 2023, 21(4): 236-247.
- [14] 丁鹏力,杨泊娇,赵啸虎,等. 《伤寒论》黄连汤方用当议[J].

- 中国中医基础医学杂志, 2025, 31(9): 1635-1638.
- DING P L, YANG B J, ZHAO X H, et al. On the use of Huanglian Tang from the treatise on Cold Damage Diseases [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med, 2025, 31(9): 1635-1638.
- [15] 代二庆, 于强. 中医、中西医结合治疗反流性食管炎进展[J]. 国医论坛, 2002, 17(2): 54-56.
- DAI E Q, YU Q. Progress in traditional Chinese medicine and integrated traditional Chinese and Western medicine treatment of reflux esophagitis [J]. Forum Tradit Chin Med, 2002, 17(2): 54-56.
- [16] 冯敏晓, 陈妍. 黄连汤加减治疗非糜烂性反流性食管炎的临床疗效与安全性评价[J]. 中国处方药, 2019, 17(12): 103-104.
- FENG M X, CHEN Y. Clinical efficacy and safety evaluation of modified Huanglian decoction in the treatment of non-erosive reflux esophagitis [J]. J China Prescr Drug, 2019, 17(12): 103-104.
- [17] 杨喜秋. 黄连汤加味治疗反流性食管炎(脾虚湿热证)的临床研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2021.
- YANG X Q. Study on mechanism of the clinical study on treatment of reflux esophagitis (syndrome of dampness-heat due to spleen deficiency) with modified Huanglian decoction [D]. Changchun: Changchun University of Traditional Chinese Medicine, 2021.
- [18] 喻秀兰 宋, 曾令菊, 游胜虎. 黄连汤加味治疗反流性食管炎临床观察[J]. 中国中西医结合脾胃杂志, 1999, 7(3): 140-141.
- YU X L, ZENG L J, YOU S H. Clinical observation of decoction of modified Huanglian on reflux esophagitis [J]. Chin J Integr Tradit West Med Gastro-spleen, 1999, 7(3): 140-141.
- [19] 彭梅梅, 郭爽, 陈琪, 等. 基于特征图谱和网络药理学的经典名方黄连汤质量标志物(Q-Marker)预测分析[J]. 中草药, 2021, 52(18): 5514-5523.
- PENG M M, GUO S, CHEN Q, et al. Q-Marker prediction analysis of classical prescription Huanglian decoction based on characteristic spectrums and network pharmacology [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(18): 5514-5523.
- [20] 赵志峰. 经典名方黄连汤物质基准及制剂研究[D]. 广州: 广东药科大学, 2021.
- ZHAO Z F. Study on the substance benchmark and preparation of famous classical formula Huanglian decoction [D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University, 2021.
- [21] 庄嘉元. 膳食中不同比值 n-6/n-3 多不饱和脂肪酸构成对大鼠慢性反流性食管炎的影响及作用机制研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2014.
- ZHUANG J Y. Study of different ratios of n-6/n-3 PUFAs on occurrence of chronic reflux esophagitis and relating mechanism [D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2014.
- [22] 王玮, 孙永顺. 疏肝和胃方对反流性食管炎大鼠 PAR-2/p38MAPK 通路影响的研究[J]. 时珍国医国药, 2025, 36(14): 2607-2613.
- WANG W, SUN Y S. Exploring the mechanism of Shugan Hewei decoction in treating rats with reflux esophagitis via the PAR-2/p38 MAPK pathway [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2025, 36(14): 2607-2613.
- [23] 高峰, 贾梦真, 孙玥. 奥美拉唑治疗对反流性食管炎模型大鼠食管菌群构成的影响[J]. 基础医学与临床, 2021, 41(3): 370-375.
- GAO F, JIA M Z, SUN Y. Effects of administration of omeprazole on the esophageal microbiota composition in rat model with reflux esophagitis [J]. Basic Clin Med, 2021, 41(3): 370-375.
- [24] 方婉婷, 王静. 柴胡疏肝散调控“微生物-肠-脑”轴治疗反流性食管炎机制研究进展[J]. 中国现代医生, 2025, 63(18): 123-126.
- FANG W T, WANG J. Research progress on the mechanism of Chaihu Shugan powder in treating reflux esophagitis by regulating the "microbiota-gut-brain" axis [J]. Chin Mod Dr, 2025, 63(18): 123-126.
- [25] 钟雅璐, 李国印, 黄卫. 胆汁酸反流诱导肠化生及胃癌的研究进展[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2021, 30(10): 5.
- ZHONG Y L, LI G Y, HUANG W. Progress of research on intestinal metaplasia and gastric cancer induced by bile acid reflux [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2021, 30(10): 5.
- [26] 孙澜, 王斯, 周圣宇, 等. 基于“肠道菌群-胆汁酸代谢轴”探讨“肝脾相关”理论在炎症性肠病中的研究进展[J]. 世界中西医结合杂志, 2025, 20(5): 929-935.
- SUN L, WANG S, ZHOU S Y, et al. Liver-spleen correlation theory in inflammatory bowel disease based on "intestinal flora-bile acid metabolism axis": A review [J]. World J Integr Tradit West Med, 2025, 20(5): 929-935.
- [27] SUGIMOTO M, MURATA M, KAWAI T. Importance of bile reflux to the esophagus in reflux esophagitis and the meaning of establishing a new endoscopy EP-0002 system to visualize bilirubin [J]. Dig Endosc, 2024, 36(8): 915-917.
- [28] 陈东风, 杨洋. 胆汁反流对食管胃黏膜屏障的损伤机制[J]. 中华消化杂志, 2016, 36(6): 363-365.
- CHEN D F, YANG Y. Mechanism of bile reflux induced esophageal and gastric mucosal barrier injury [J]. Chin J Dig, 2016, 36(6): 363-365.
- [29] 卢方云, 杨彪, 马晶晶, 等. 胆盐水解酶酶学性质与基因结构研究进展[J]. 食品工业科技, 2023, 44(8): 469-475.
- LU F Y, YANG B, MA J J, et al. Research progress on enzymatic properties and gene structure of bile salt hydrolase [J]. Sci Technol Food Ind, 2023, 44(8): 469-475.
- [30] RIMAL B, COLLINS S L, TANES C E, et al. Bile salt hydrolase catalyses formation of amine-conjugated bile acids [J]. Nature, 2024, 626(8000): 859-863.
- [31] GUZIOR D V, OKROS M, SHIVEL M, et al. Bile salt hydrolase acyltransferase activity expands bile acid diversity [J]. Nature, 2024, 626(8000): 852-858.

[责任编辑 周冰冰]