

左归丸调节肠道菌群改善肾病综合征大鼠的机制

胡鑫宇^{1,2,3}, 张涂贝^{1,2,3}, 胡一昕^{1,2,3}, 王瑞^{2,3}, 熊致立^{1,3},
蔡燕^{2,3,4}, 张雪荣^{1,2,3,4}, 王林群^{1,2,3,4*}

(1. 湖北中医药大学, 武汉 430065; 2. 湖北省中医院, 武汉 430065;
3. 湖北时珍实验室, 武汉 430065; 4. 中医肝肾研究及应用湖北省重点实验室, 武汉 430065)

[摘要] 目的:研究左归丸通过调节肠道菌群对肾病综合征(NS)的保护作用。方法:30只雄性SD大鼠分为5组,每组6只,分为正常组,模型组,左归丸低、中、高剂量组,采用 $6.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 阿霉素尾静脉注射诱导的NS大鼠模型,造模成功后,正常组和模型组给予每天2次生理盐水($10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)灌胃,左归丸低、中、高剂量组(50 、 100 、 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)给予每天2次左归丸($10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)灌胃,各组大鼠按固定时间间隔每日给药,连续8周。观察左归丸对大鼠NS的治疗作用并筛选最佳剂量,观察大鼠肾脏和肠道病理变化,采集粪便标本,采用16S rDNA测序技术检测各组大鼠肠道菌群多样性与丰度。结果:与正常组比较,模型组大鼠24 h尿蛋白、血清肌酐、尿素氮、胆固醇显著升高($P<0.01$),血清白蛋白水平显著降低($P<0.01$),这种变化在各给药组大鼠中得到明显改善($P<0.05$, $P<0.01$)。肾脏病理显示,正常组大鼠肾小球、肾小管完整,排列整齐;模型组大鼠肾小球萎缩,系膜区增宽,足细胞肿胀,肾小管排列紊乱,有大量管型,糖原沉积和组织纤维化明显;各给药组大鼠可见不同程度肾小球萎缩和肾小管排列紊乱。特异性蛋白测定发现模型组大鼠血清中肾损伤分子-1(KIM-1)和 $\alpha 1$ -微球蛋白升高($P<0.01$),肾组织E-钙黏蛋白(E-cadherin)、足突蛋白(Podocin)、肾病蛋白(Nephrin)显著降低($P<0.01$),转化生长因子- β (TGF- β)显著升高($P<0.01$);各给药组血清KIM-1和 $\alpha 1$ -微球蛋白显著降低, E-cadherin显著升高($P<0.01$), TGF- β 显著降低($P<0.01$),左归丸高剂量组中Podocin、Nephrin升高($P<0.05$)。此外,模型组大鼠肠黏膜萎缩,上皮细胞水肿,杯状细胞减少,黏膜多炎性浸润;左归丸组大鼠肠屏障较完整,杯状细胞轻微减少,伴轻度炎性细胞浸润。肠道菌群测序结果显示,左归丸可以显著改善大鼠肠道菌群失衡,恢复有益菌丰度,对肠道菌群组成有显著影响。结论:左归丸可通过改善肠道菌群,保护肠屏障,从而减轻肾病综合征大鼠的肾损伤。

[关键词] 左归丸; 肾病综合征; 肠道菌群; 大鼠

[中图分类号] R692;R285;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)19-0032-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20250919

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20250819.1337.001>

[网络出版日期] 2025-08-19 14:25:59 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



Mechanism of Zuogui Wan in Improving Nephrotic Syndrome in Rats Based on Regulating Gut Microbiota

HU Xinyu^{1,2,3}, ZHANG Tubei^{1,2,3}, HU Yixin^{1,2,3}, WANG Rui^{2,3}, XIONG Zhili^{1,3}, CAI Yan^{2,3,4},
ZHANG Xuerong^{1,2,3,4}, WANG Linqun^{1,2,3,4*}

(1. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China;
2. Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine (TCM), Wuhan 430065, China;
3. Hubei Shizhen Laboratory, Wuhan 430065, China;
4. Hubei Provincial Key Laboratory of Research and Application of Liver and Kidney in TCM, Wuhan 430065, China)

[收稿日期] 2025-05-07

[基金项目] 第六批全国中医临床优秀人才研修项目(国中医药人教函[2025]256号);湖北省自然科学基金(联合基金)项目(2023AFD149);湖北省中医药管理局2023—2024年度中医药青年人才项目(ZY2023Q003)

[第一作者] 胡鑫宇,在读硕士,从事中医药防治肾病的研究, E-mail:2754322905@qq.com

[通信作者] *王林群,博士,教授,从事中医药防治儿童肾病的研究, E-mail:2991@hbucm.edu.cn

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effects of Zuogui Wan (ZGW) decoction on nephrotic syndrome (NS) through the regulation of gut microbiota. **Methods:** Thirty male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into five groups, with 6 rats in each group: The control group, model group, low-dose group, medium-dose group, and high-dose group. The NS rat model was induced by tail vein injection of $6.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ doxorubicin. After successful modeling, the control and model groups were gavaged with normal saline ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) twice daily, while the low- ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), medium- ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), and high-dose ($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) groups were gavaged with ZGW ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) twice daily. All rats were administered at fixed intervals daily for 8 consecutive weeks. The therapeutic effects of ZGW on NS in rats were observed, and the optimal dose was screened. Renal and intestinal pathological changes in rats were examined. Fecal samples were collected, and 16S rDNA sequencing technology was used to detect the diversity and abundance of gut microbiota in each group. **Results:** Compared with the control group, 24-hour urinary protein, serum creatinine, urea nitrogen, and cholesterol levels significantly increased in the model group ($P < 0.01$), while serum albumin levels decreased ($P < 0.01$). These changes were ameliorated in the treatment groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Renal pathology revealed intact and orderly arranged glomeruli and renal tubules in the control group. In the model group, glomerular atrophy, widened mesangial areas, podocyte swelling, disordered renal tubular arrangement, and numerous casts were observed. Varying degrees of glomerular atrophy and disordered renal tubular arrangement were seen in the treatment groups. Specific protein assays revealed increased serum levels of kidney injury molecule-1 (KIM-1) and $\alpha 1$ -microglobulin ($P < 0.01$), and significantly decreased levels of E-cadherin, Podocin, and Nephlin in renal tissues ($P < 0.01$), along with a significant increase in transforming growth factor- β (TGF- β) ($P < 0.01$) in the model group. In the treatment groups, serum KIM-1 and $\alpha 1$ -microglobulin levels decreased, E-cadherin levels significantly increased ($P < 0.01$), and TGF- β levels significantly decreased ($P < 0.01$). Podocin and Nephlin levels increased in the high-dose group ($P < 0.05$). Additionally, intestinal mucosal atrophy, epithelial cell edema, decreased goblet cells, and multiple inflammatory infiltrations were observed in the model group. The sequencing results of gut microbiota demonstrate that ZGW can significantly ameliorate intestinal dysbiosis in rats, restore the abundance of beneficial bacteria, and exert a profound influence on the compositional profile of gut microbiota. **Conclusion:** ZGW can alleviate renal injury in rats with nephrotic syndrome by improving gut microbiota and protecting the intestinal barrier.

[Keywords] Zuogui Wan; nephrotic syndrome; gut microbiota; rats

肾病综合征(NS)是一种以大量蛋白尿、低白蛋白血症、高脂血症和水肿为主要特征的肾脏疾病,其发病机制通常与肾小球滤过屏障功能障碍有关^[1-2]。原发性NS在儿童中多发,我国为高发地区,每年每10万例儿童中有1.4~6.1例患NS^[3]。NS易复发,常伴血栓形成、感染及急性肾损伤等严重并发症^[4]。当前临床管理以对症干预为主,主要包括限钠、血压调控、水肿管理及并发症防治。针对原发性NS,糖皮质激素虽为一线治疗方案,但存在易复发、激素依赖和不良反应多等局限性。而中医药通过多成分、多靶点调控在NS治疗中展现出独特优势,研究表明,中西医结合治疗可显著降低复发风险、改善肾小球滤过率,并减少糖皮质激素用量,为突破现有治疗瓶颈提供了新策略^[5]。

NS中医治疗根据其临床表现的不同,分别归属于“水肿”“尿浊”“虚劳”等范畴。其病机复杂,总体可概括为本虚标实。本虚以肺、脾、肾三脏功能虚损为主,其中肾虚尤为关键,多因先天禀赋不足或劳欲过度导致肾失封藏,精微下泄,发为蛋白尿^[6];三脏功能失调,水湿内停,泛滥肌肤,发为水肿。标实以湿热、瘀血为常见。水湿内停,郁而化热;久病入络,气虚不运,血行不畅;邪阻经络,影响血脉运行;水液外溢,津涸不运等,均可致瘀血阻络^[7-8]。肾阴亏虚,一则脉道失润,不能濡养他脏;二则虚火内

生,更灼阴精,热与湿合,酿生湿热;三则气化失司,与肺脾功能失调相互影响,发为水肿。左归丸由明代张介宾在《景岳全书》中创制,是张氏“阳中求阴”理论的代表方剂,方中重用熟地黄为君,功专滋阴补肾、填精益髓;山茱萸补养肝肾,涩精止遗;枸杞子滋补肝肾,益精明目,二者共为臣药,助君药滋肾养肝;山药健脾益肾,固精止泻,取“补后天以充先天”之意;龟板胶、鹿角胶为血肉有情之品,峻补精髓,龟板胶偏于滋阴,鹿角胶偏于温阳,于阴中求阳,以阳生阴长,共佐君药填补真阴;菟丝子平补肝肾,川牛膝补肝肾、强筋骨,兼能活血利水,引药下行,共为使药。诸药合用,共奏滋阴补肾、填精益髓之效,尤善填补下焦真阴,固摄精微。有研究表明,左归丸对阿霉素引起的肾小球毛细血管损伤具有保护作用,能够降低阿霉素NS大鼠模型24 h尿蛋白含量^[9];还可增强NS模型大鼠肾小球的滤出功能;并得出左归丸对阿霉素引起的大鼠NS模型具有治疗作用,该作用可能与其调节核转录因子(NF)- κ B信号通路有关的结论,但其具体机制尚不明确。

综上所述,本研究通过16S rDNA测序评价左归丸对阿霉素肾病模型大鼠肠道菌群的调节作用,从肠道微环境的角度揭示左归丸改善NS的作用机制及科学内涵。

1 材料

1.1 试剂和仪器 肾损伤分子-1(KIM-1)、 $\alpha 1$ -微球蛋白大鼠酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,批号分别为E-EL-M3039、IV7YD49XN7);抗E-钙黏蛋白(E-cadherin)抗体、抗转化生长因子- β (TGF- β)抗体、抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体、阿利新蓝(AB)染液、核固红染液、苏木素-伊红(HE)染液套装、马松(Masson)染液套装、过碘酸-希夫反应(PAS)染液套装(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号分别为GB15003、GB15003、GB15004、G1027、G1035、G1003、G1006、G1008);抗足突蛋白质(Podocin,英国Affinity公司,批号DF8593);抗肾病蛋白(Nephrin,武汉三鹰生物技术有限公司,批号22912-1-AP);白蛋白(ALB)、血肌酐(SCr)、尿素、胆固醇(TC)试剂盒[贝克曼库尔特实验系统(苏州)有限公司生产,批号分别为AU2-2804、AU2-2213、AU2-2542、AU2-2447];尿蛋白试剂盒(北京利德曼生化股份有限公司,批号24031406)。

D3024R型快速微冻离心机(北京大龙兴创实验仪器有限公司);MX-F型涡旋振荡器(南京泽维尔生物科技股份有限公司);JP-040S型超声波清洗机(深圳洁孟清洗设备有限公司);Chemray 800型全自动生化分析仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司);Nikon Eclipse E100型光学显微镜(日本尼康公司);Leica UC7型超薄切片机[徕卡显微系统(上海)贸易有限公司];Rayto RT-6000型酶标仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司);SVE-2型垂直电泳仪、转膜仪(武汉赛维尔生物科技股份有限公司);Ion Torrent™ Genexus™型集成测序仪(美国Thermo Fisher Scientific公司)。

1.2 药物制备 左归丸饮片来源于湖北省中医院中药房,饮片组成为熟地黄24 g、山药12 g、枸杞子12 g、山萸肉12 g、川牛膝9 g、菟丝子12 g、鹿角胶12 g、龟板胶12 g(生产批号分别为2423120105、202403023、231226、2424030108、202403005、C1291230171、2023101401、2023111601),药物经湖北中医药大学成药研究所成煥波博士鉴定均符合要求。研究参照《景岳全书》中的剂量比例,按10倍浓度配制上述中药饮片。除鹿角胶和龟板胶外,其他6种中药饮片在3 000 mL水中浸泡1 h,加热煮沸,小火煮30 min,搅拌,过滤。随后二煎将2 000 mL水加入剩余中药中,煮沸60 min,过滤。将2次过滤后的药液混合后,加入烊化鹿角胶和龟板

胶。将混合物浓缩得到相对密度在1.08~1.10的提取物,然后将其喷雾干燥,得到干燥的提取物粉末,干燥后的提取液在-20℃保存。以上操作均在湖北省中医医院药剂科指导下完成。阿霉素注射用粉剂购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司(批号A183027,规格25 mg),用生理盐水重新配置为2 g·L⁻¹的液体待用。

1.3 动物 SPF级雄性SD大鼠50只,体质量200 g,购自三峡大学实验动物中心,合格证号SCXK(鄂)2022-0012。饲养于SPF级实验动物房中,适应性喂养1周,环境温度(22±1)℃,湿度40%~50%,12 h黑暗/光照循环,自由饮水与进食。

1.4 伦理 本实验经湖北中医药大学实验动物伦理委员会批准,伦理审查批号HUCMS69900012,所有操作均符合动物实验伦理要求。

2 方法

2.1 模型建立及给药 适应性喂养1周后,将大鼠随机分为正常组,模型组,左归丸低、中、高剂量组,每组6只。除正常组外,其余大鼠均经尾静脉注射阿霉素,剂量为6.5 mg·kg⁻¹,制备NS动物模型,造模后第7天采集24 h尿液进行测量,24 h尿液蛋白≥100 mg表明NS模型制造成功^[10]。正常组大鼠给予等量生理盐水,未见尾静脉扭曲肿胀现象。造模后第7天开始给药,正常组和模型组每天2次灌胃生理盐水10 mL·kg⁻¹,左归丸低、中、高剂量组(50、100、200 mg·kg⁻¹)每天给予2次左归丸溶液10 mL·kg⁻¹灌胃。各组大鼠按固定时间每日给药,连续8周。

实验期间,观察大鼠的体质量、食量和饮水量。实验结束后,所有小鼠用戊巴比妥钠注射处死后,收集肾脏、大肠和血浆,等渗盐水冲洗,解剖左肾和大肠组织,置于4%多聚甲醛固定液中,4℃固定48 h,用于后续实验。留取大鼠中段粪便用于肠道菌群分析。剩余组织装入低温瓶,在-80℃保存。

2.2 生化分析尿液指标 采用全自动生化分析仪检测尿中ALB、TC、BUN、SCr和尿蛋白的含量。采用相应的ELISA试剂盒检测KIM-1、 $\alpha 1$ -微球蛋白水平。

2.3 组织学观察肾组织 石蜡包埋的4%多聚甲醛固定肾组织切片成5 μm厚的薄片,用HE、PAS和Masson三色染色。用4%多聚甲醛固定结肠组织,用HE和AB染色。

2.4 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠肾组织蛋白 取每只大鼠剩余肾脏组织,加入放射免疫

沉淀法(RIPA)蛋白裂解液(含蛋白酶和磷酸酶抑制剂),组织匀浆,4℃裂解30 min。收集所得液,在4℃下1 200 r·min⁻¹离心5 min(离心半径86.75 mm),用蛋白定量法(BCA)试剂盒测定蛋白量。通过10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白,并将其插入硝化纤维素膜。将膜用5%牛血清白蛋白阻断1 h,然后加入抗E-cadherin、抗Podocin、抗Nephrin、抗TGF-β、抗GAPDH抗体(1:1 000),4℃孵育过夜,之后与酶标辣根过氧化物酶(HRP)-山羊抗兔抗体(1:5 000)在室温下孵育1 h。用红外成像系统对图像进行扫描和分析。

2.5 肠道菌群的16s rDNA测序 从大鼠盲肠粪便中提取细菌总DNA,使用带有barcode的特异引物或合成带有错位碱基的融合引物对16S rDNA V3~V4区进行扩增,聚合酶链式反应(PCR)产物使用1%琼脂糖凝胶电泳检测扩增目的条带大小,并用核酸纯化试剂盒纯化。测序得到的是Pair-End(PE)双端序列数据,对测得的Fastq数据进行质控处理,最终得到优质的Fasta数据。根据barcode信息对样品进行数据拆分,利用Pear软件对Fastq数据进行质控,去除含有模糊碱基、引物错配序列,对序列进行修剪,去除序列中质量值低于Q20的碱基,根据paired-end reads的overlap关系对两端序列进行拼接(merge)处理,最小overlap设置为10 bp, P value设置为0.000 1,得到Fasta序列。采用RDP Classifier算法或blast、uclust consensus taxonomy assigner等方法对OTU代表序列进行比对分析,并在各个水平(界、门、纲、目、科、属、种)注释其物种信息。对各层级物种在各样本中的丰度进行统计,

表2 左归丸对NS大鼠血清SCr、BUN、胆固醇和ALB含量的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 2 Effect of Zuogui Wan on serum SCr, BUN, Cholesterol and ALB contents in each group of rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	SCr/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	BUN/mm $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	胆固醇/mm $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	ALB/g·L ⁻¹
正常组		7.72±1.24	6.90±1.10	1.20±0.86	35.77±2.42
模型组		17.78±2.48 ¹⁾	17.67±2.10 ¹⁾	2.28±0.21 ¹⁾	22.35±3.57 ¹⁾
左归丸低剂量组	50	15.93±0.94	17.05±1.06	1.81±0.09 ³⁾	25.35±2.16
左归丸中剂量组	100	14.85±0.86 ²⁾	14.98±1.58 ²⁾	1.61±0.10 ³⁾	29.05±2.28 ³⁾
左归丸高剂量组	200	12.12±1.18 ³⁾	11.72±0.81 ³⁾	1.22±0.10 ³⁾	32.20±2.37 ³⁾

由此可见,左归丸可以改善NS大鼠的体质量降低,并显著改善NS大鼠的血清学指标,且高剂量的药物浓度可能对大鼠治疗效果最佳。

3.2 左归丸对NS大鼠肾脏纤维化的影响 通过HE、PAS、Masson染色对各组大鼠肾脏组织进行观

基于得到的物种丰度统计信息,进行各比较组之间的差异分析。

2.6 统计学分析 通过GraphPad 10.1.2对实验结果进行统计分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。当数据在正态分布下方差相等时,采用单因素方差分析(ANOVA)。对于不符合正态分布标准或方差不等的数据,使用非参数检验。P<0.05为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 左归丸对NS大鼠理化指标的影响 在8周的药物干预后,与正常组大鼠比较,模型组大鼠体质量显著降低(P<0.01),24 h尿蛋白显著升高(P<0.01);与模型组比较,各给药组体质量显著升高(P<0.01),24 h尿蛋白显著降低(P<0.01)。见表1。

表1 左归丸对NS大鼠体质量和24 h尿蛋白的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 1 Effect of Zuogui Wan on body weight and 24-hour urine protein in each group of rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	体质量/g	24 h尿蛋白/mg
正常组		332.00±7.16	17.80±6.11
模型组		284.30±12.11 ¹⁾	239.20±48.12 ¹⁾
左归丸低剂量组	50	311.80±6.59 ³⁾	167.00±18.89 ³⁾
左归丸中剂量组	100	327.00±6.87 ³⁾	138.50±14.12 ³⁾
左归丸高剂量组	200	334.70±9.42 ³⁾	104.70±11.02 ³⁾

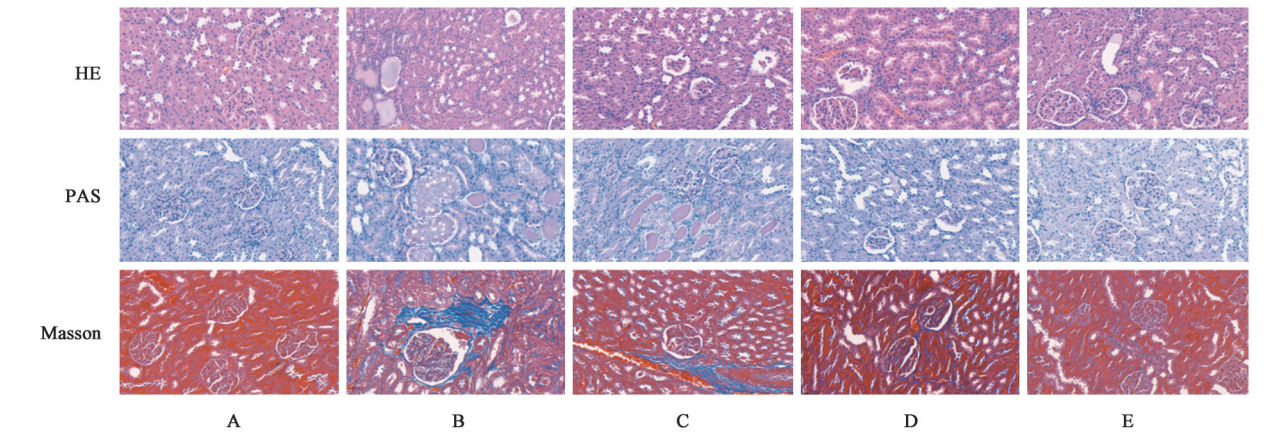
注:与正常组比较¹⁾P<0.01;与模型组比较²⁾P<0.05,³⁾P<0.01(表2-表6同)

与正常组大鼠比较,模型组大鼠SCr、BUN、胆固醇显著升高(P<0.01),ALB显著降低(P<0.01)。与模型组大鼠比较,左归丸低剂量组大鼠胆固醇显著降低(P<0.01),其余指标差异无统计学意义;左归丸中、高剂量组大鼠SCr、BUN、胆固醇明显降低(P<0.05, P<0.01),ALB显著升高(P<0.01)。见表2。

察,发现正常组大鼠肾小球形态规则,大小均匀,肾小管上皮完整,排列整齐。模型组大鼠肾小球肿胀或萎缩,系膜区增宽,足细胞肿胀,肾小管上皮弥漫性水肿,排列紊乱,管腔内可见大量管型,糖原沉积明显。各给药组大鼠肾组织上述症状均呈不同程

度减轻,肾小球轻度萎缩,肾小球囊腔增宽,肾小管上皮较为完整,排列稍紊乱。Masson 染色显示,正常组大鼠肾组织未见明显纤维化,与正常组比较,

模型组大鼠肾脏纤维化面积增加,与模型组比较,左归丸中、高剂量组大鼠肾脏纤维化面积减少。各组大鼠肾组织病理观察结果见图1、表3。



注:A.正常组;B.模型组;C-E.左归丸低、中、高剂量组(图2同)
图1 左归丸对各组大鼠肾脏纤维化的影响(×40)

Fig. 1 Effect of Zuogui Wan on kidneys renal fibrosis of rats in each group (×40)

表3 左归丸对NS大鼠肾纤维化面积和糖原沉积程度的影响(̄x±s,n=6)

Table 3 Effect of Zuogui Wan on renal fibrosis area and glycogen deposition degree in each group of rats (̄x±s,n=6) %			
组别	剂量/mg·kg ⁻¹	肾纤维化面积	糖原沉积程度
正常组		3.37±1.32	5.91±1.93
模型组		20.99±3.98 ¹⁾	24.65±4.74 ¹⁾
左归丸低剂量组	50	18.65±2.43	21.24±3.16
左归丸中剂量组	100	10.19±2.26 ³⁾	13.14±2.48 ³⁾
左归丸高剂量组	200	4.86±1.44 ³⁾	7.33±1.13 ³⁾

3.3 左归丸对NS大鼠肾脏特异性蛋白的影响 与正常组比较,模型组大鼠血清中KIM-1和α1-微球蛋白显著升高(P<0.01)。与模型组比较,左归丸各剂量组中KIM-1和α1-微球蛋白的血清含量明显降低(P<0.05,P<0.01)。见表4。

对大鼠肾脏组织进行 Weatern blot检测发现,与正常组比较,模型组的E-cadherin、Podocin、Nephrin显著降低(P<0.01),TGF-β显著升高(P<0.01);与模

表4 左归丸对NS大鼠血清KIM-1、α1微球蛋白的影响(̄x±s,n=6)

Table 4 Effect of Zuogui Wan on serum KIM-1 and α1-microglobulin in each group of rats (̄x±s,n=6)			
组别	剂量/mg·kg ⁻¹	KIM-1/ng·L ⁻¹	α1微球蛋白/mg·L ⁻¹
正常组		0.62±0.08	11.80±2.31
模型组		4.21±0.16 ¹⁾	61.13±2.15 ¹⁾
左归丸低剂量组	50	3.81±0.12 ³⁾	58.37±1.33 ²⁾
左归丸中剂量组	100	3.23±0.13 ³⁾	46.45±1.25 ³⁾
左归丸高剂量组	200	1.94±0.15 ³⁾	23.97±1.58 ³⁾

型组比较,各给药组的E-cadherin显著升高(P<0.01),TGF-β显著降低(P<0.01),药物浓度越高效果越明显,左归丸高剂量组的Podocin、Nephrin明显升高(P<0.05)。见表5、图2。

3.4 左归丸对NS大鼠肠道屏障的保护作用 基于之前的结果,选取了剂量为200 mg·kg⁻¹的左归丸水煎剂作为后续实验的药物剂量。HE和AB染色结果显示,正常组大鼠肠组织结构完整,上皮细胞排

表5 左归丸对NS大鼠E-cadherin、TGF-β、Podocin、Nephrin蛋白表达的影响(̄x±s,n=6)

Table 5 Effect of Zuogui Wan on expression of E-cadherin, TGF-β, Podocin and Nephrin in NS Rats (̄x±s,n=6)					
组别	剂量/mg·kg ⁻¹	E-cadherin/GAPDH	TGF-β/GAPDH	Nephrin/GAPDH	Podocin/GAPDH
正常组		0.86±0.04	0.37±0.02	0.69±0.01	0.94±0.04
模型组		0.31±0.03 ¹⁾	1.20±0.02 ¹⁾	0.56±0.02 ¹⁾	0.70±0.02 ¹⁾
左归丸低剂量组	50	0.39±0.03 ³⁾	1.09±0.07 ³⁾	0.58±0.02	0.70±0.01
左归丸中剂量组	100	0.71±0.02 ³⁾	0.81±0.08 ³⁾	0.58±0.02	0.71±0.01
左归丸高剂量组	200	0.74±0.03 ³⁾	0.58±0.09 ³⁾	0.60±0.03 ²⁾	0.73±0.03 ²⁾

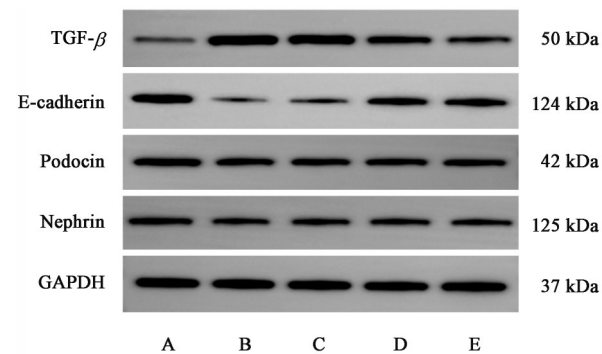
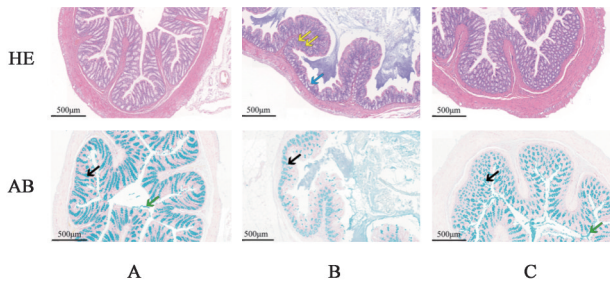


图2 各组大鼠肾脏特异性蛋白的蛋白表达电泳
Fig. 2 Electrophoresis of specific proteins in kidneys of rats in each group

列紧密规则,肠腺体数量丰富、排列规则,可见大量杯状细胞,黏液层较厚,散在少量免疫细胞分布。模型组大鼠肠黏膜萎缩变薄,上皮细胞水肿、排列紊乱,细胞间隙增宽,肠腺体萎缩,杯状细胞数量显著减少,黏膜层较多炎性细胞聚集浸润。左归丸组大鼠肠组织结构较为完整,上皮细胞排列较为紧密规则,杯状细胞数量轻微减少,伴轻度炎性细胞浸润。见图3、表6。



注:A.正常组;B.模型组;C.左归丸高剂量组;黑色箭头为杯状细胞;黄色箭头为炎症细胞;蓝色箭头为肠上皮细胞水肿,排列紊乱;绿色箭头为黏液层

图3 左归丸对各组大鼠肠道切片的影响(HE,×10;AB,×10)
Fig. 3 Effect of Zuogui Wan on intestinal pathological sections of rats in each group (HE,×10;AB,×10)

表6 左归丸对各组大鼠AB染色后杯状细胞数量的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)
Table 6 Effect of Zuogui Wan on number of goblet cells after AB staining in rats of each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	杯状细胞/个
正常组	8 013±1 021
模型组	2 731±660 ¹⁾
左归丸高剂量组	6 927±808 ³⁾

3.5 左归丸改善NS大鼠肠道菌群失调

3.5.1 测序结果质量分析 物种累积曲线是用于调查样本的物种组成和预测样本中物种丰度的有效工具,被广泛用于样本量是否充分的判断及物种丰富度的估计。在本研究中,物种累积曲线图的曲

线末端上升趋势趋于平缓,提示采样率足够,可进行后续数据分析。

3.5.2 多样性分析 采用 α -多样性指数,对Chao1指数、Observed species指数、Shannon指数、Simpson指数和PD whole tree指数进行分析,量化各组小鼠肠道微生物组的微生态多样性。3组大鼠的相关指数未出现显著变化,说明正常组、模型组与左归丸组大鼠肠道菌群组成的丰富度和均匀度相当。见增强出版附加材料。

对于肠道微生物组的 β 多样性,进行了主坐标分析(PCoA)和非度量多维尺度图(NMDS)。左归丸组大鼠的肠道微生物群与模型组大鼠的肠道微生物群物种组成存在显著差异,说明左归丸干预显著改变了NS小鼠的肠道菌群结构。

3.5.3 肠道菌群差异组分分析 通过分类学分析,量化3组大鼠之间的肠道微生物区系的相对丰度。在门水平上,厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidota)、营养螺旋菌门(Campilobacterota)、还原菌门(Desulfobacterota)、放线菌门(Actinobacteriota)在粪便样品中占主导地位,阿霉素干预后这些门水平菌无明显变化,左归丸可以上调NS大鼠拟杆菌门、营养螺旋菌门、还原菌门、放线菌门水平,下调厚壁菌门水平。在科水平上,拉克诺螺旋菌科(Lachnospiraceae)、普雷沃菌科(Prevotellaceae)、乳杆菌科(Lactobacillaceae)、墨里菌科(Muribaculaceae)、摇螺菌科(Oscillospiraceae)、幽门螺杆菌科(Helicobacteraceae)、牛梭菌科(Ruminococcaceae)、拟杆菌科(Bacteroidaceae)在粪便样品中占主导地位,左归丸的干预可以上调普雷沃菌科、幽门螺杆菌科,下调拉克诺螺旋菌科、乳杆菌科水平。在属水平上,乳杆菌属(Lactobacillus)、墨里菌科(Muribaculaceae)、拉克诺螺旋菌科NK4A136组(Lachnospiraceae NK4A136 group)、异普雷沃菌属(Alloprevotella)、幽门螺杆菌属(Helicobacter)、普雷沃菌属(Prevotella)在粪便样品中占主导地位,左归丸的干预可以上调幽门螺杆菌属、异普雷沃菌属,下调乳杆菌属、拉克诺螺旋菌科NK4A136组和普雷沃菌属水平。

3.5.4 线性判别分析效应大小(LEfSe)分析结果 肠道菌群进行LEfSe分析发现,3组之间在菌群结构上存在明显差异。按照LDA>3,正常组富集了15个物种,模型组富集了11个物种,左归丸组富集了48个物种。其中LDA>4的物种,正常组主要有

厚壁菌门(Firmicutes)、梭菌纲(Clostridia)、罗氏菌属(*Roseburia*)、模型组主要有拉克诺螺旋菌科(Lachnospiraceae)、拉克诺螺旋菌目(Lachnospirales)、肠道宏基因组(gut_metagenome)、乳杆菌科(Lactobacillaceae),左归丸组有异普雷沃菌属(*Alloprevotella*)、弯曲菌目(Campylobacteriales)、弯曲菌门(Campilobacterota)、啮齿动物幽门螺杆菌(*Helicobacter rodentium*)、幽门螺杆菌属(*Helicobacter*)、幽门螺杆菌科(Helicobacteraceae)、弯曲菌纲(Campylobacteria)葡萄球菌目(Staphylococcales)、葡萄球菌科(Staphylococcaceae)、放线菌门(Actinobacteriota)、放线菌纲(Actinobacteria)、棒状杆菌目(Corynebacteriales)、棒状杆菌属(*Corynebacterium*)、棒状杆菌科(Corynebacteriaceae)、缓慢葡萄球菌(*Staphylococcus lentus*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)。见增强出版附加材料。

4 讨论

目前针对NS的治疗手段较多,但仍以对症干预为主,主要包括限钠、血压调控、水肿管理及并发症防治,长期疗效不佳与复发率高仍是临床难点^[11]。中医药通过多成分、多靶点调控在NS治疗中展现出独特优势。研究表明,中西医结合治疗可显著降低复发风险、改善肾小球滤过率,并减少糖皮质激素用量,为突破现有治疗瓶颈提供了新策略^[5]。本研究发现,左归丸可显著降低24 h尿蛋白、血清SCr、BUN、胆固醇等指标,同时提升血清ALB水平,提示其在改善肾功能、调节机体蛋白与脂类代谢方面具有潜在优势。

NS作为一种以肾小球滤过屏障损伤为主要病理基础的疾病,其发生与发展过程中伴随着肾小管上皮结构破坏、足细胞损伤及肾间质纤维化等多重病理改变。在本研究中,组织病理结果显示其可有效缓解肾小球及肾小管的结构损伤,抑制纤维化过程。近年来,特异性蛋白标志物在评估肾组织损伤状况及监测治疗干预效果方面的应用价值愈发受到重视。KIM-1是一种I型跨膜糖蛋白,在近端肾小管上皮细胞损伤后特异性高表达^[12]。MORI等^[13]发现,KIM-1还可介导近端肾小管(PT)摄取棕榈酸(PA)结合的ALB,导致管状损伤增强,促进间质炎症和纤维化,以及继发性肾小球硬化。金婷婷等^[14]发现人血清KIM-1与脓毒症急性肾损伤患者的病情呈正相关。 α_1 -微球蛋白是肝脏合成的一种低分

子量蛋白,正常情况下经肾小球滤过后可被肾小管上皮细胞近乎完全重吸收。血清 α_1 -微球蛋白含量的升高可反映肾小球滤过功能损害,同时可反映肾损害的严重程度^[15]。E-cadherin是一种钙依赖性的细胞黏附分子,在维持肾小管上皮细胞极性和结构完整性中起着重要作用,并与上皮-间质转化(EMT)密切相关^[16]。近端肾小管上皮细胞中E-cadherin的缺失会增加 $\alpha_3\beta_1$ 整合素的表达,而 $\alpha_3\beta_1$ 整合素在TGF- β 诱导的肾脏促纤维化过程中起着关键作用^[17]。TGF- β 被广泛认为是介导肾间质纤维化的核心细胞因子之一,其过度表达可激活Smad信号通路,促进肾小管上皮细胞表型转化、胞外基质沉积和成纤维细胞增殖,最终导致肾脏结构重塑和功能下降。此外,TGF- β /Smad通路还可以调控多种miRNA和lncRNA促进肾脏纤维化^[18]。Podocin与Nephrin是足细胞特异性蛋白,构成足突之间的裂孔膜,是肾小球选择性滤过功能的分子基础。本研究表明,左归丸可以显著降低血清中KIM-1和 α_1 微球蛋白水平,升高大鼠肾脏E-cadherin水平,降低TGF- β 水平,对Podocin、Nephrin蛋白水平亦有一定升高作用,但具体疗效还需进一步探索。

肠道菌群在宿主健康中发挥着重要作用,健康人体肠道中的微生物群是一个复杂的群落,由超过100万亿个微生物细胞组成^[19]。在健康状态下,这些微生物与宿主共生,调节免疫系统,抵御病原体,调节碳水化合物和脂质的内源性代谢,从而有助于营养平衡^[20]。若因机体内外环境变化使肠道稳态失衡,菌群紊乱失调,则可能导致疾病的发生。

本研究肠道菌群分析显示,在门水平上,左归丸可以上调拟杆菌门和放线菌门水平,他们是机体肠道菌群的重要组成部分^[21]。拟杆菌门作为膳食纤维代谢的核心菌群,可以通过代谢膳食纤维生成短链脂肪酸(如丙酸)来增强肠道屏障功能,从而改善NS相关的脂代谢紊乱^[22-24]。放线菌门在维持肠道通透性、下调炎症过程及直接参与神经发生机制方面发挥着至关重要的作用^[25]。而厚壁菌门的下调与拟杆菌门的上调可以使厚壁菌门与拟杆菌门的比值(F/B值)降低,高F/B值可能与肥胖、炎症相关,降低这一比值,从而改善代谢紊乱,这与实验结果中提到的脂代谢改善一致^[26]。在科水平上,普雷沃菌科^[27]可以降解混合高纤维饮食个体的复杂多糖,通过降解黏液层多糖生成琥珀酸,从而促进肠道屏障修复,且拥有富含普雷沃氏菌的肠道微生物组可以降低胆固醇水平。幽门螺杆菌科的上调则

可能归因于其共生菌株(如啮齿动物幽门螺杆菌)的益生功能,通过竞争性抑制致病菌定植,减少细菌移位风险^[28]。而乳杆菌科与拉克诺螺旋菌科的下调,可能反映左归丸对NS大鼠过度免疫激活状态的纠正。乳杆菌科^[29-30]的下调可能通过改善辅助性T细胞17(Th17)/调节性T细胞(Treg)轴失衡,减少肠道炎症;乳杆菌物种通过竞争性排除肠道的机会性病原体来抑制病原体的附着及通过产生乳酸、乙酸、丙酸、细菌素和活性氧等直接杀死病原体来发挥微生物作用^[31]。拉克诺螺旋菌科NK4A136组是厚壁菌门中毛螺菌科的一个菌群,在肠道微生物群中具有重要作用,尤其是在短链脂肪酸的生成和肠道屏障功能的维护方面^[32]。其丰度的减少则可能反映了左归丸通过特定干预对菌群进行的动态调整,整体上肠道菌群经干预后多样性和丰富性得到了改善。在属水平上,异普雷沃菌属的显著上调与普雷沃菌属的下调形成鲜明对比,揭示科内菌属功能的异质性。普雷沃氏菌属具有促进蛋白质与碳水化合物分解的作用,通常与慢性炎症的发生、发展相关^[33]。有研究发现,普雷沃氏菌属丰度的升高与Th17介导的慢性炎症有正相关性^[34]。在普雷沃菌科科水平整体上调的背景下,普雷沃菌属却显著下调,提示左归丸可能选择性抑制促炎性菌株,同时保留或促进科内其他有益菌属的代谢功能,体现其对菌群生态的精细调控。

对肠道菌群进行LEfSe分析发现,左归丸组优势菌种在门水平上可分别归为拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门和放线菌门,都是肠道菌群的主要组成部分,其中变形菌门的丰度变化通常被认为是肠道微生物群落结构不稳定或生态失调的标志^[35]。优势菌种中的弯曲菌属及其下属弯曲菌纲、弯曲菌目均属于变形菌门,弯曲菌感染小鼠的免疫病理学后遗症是由于细菌脂寡糖诱导的Toll样受体4(TLR4)依赖性免疫反应^[36]。由此可见,左归丸处理后的大鼠肠道菌群变化,可能通过改善脂质代谢,增强肠道屏障功能及改善免疫微环境,从而预防大鼠的NS。

肠道菌群及其代谢物可以直接或间接参与机体的能量代谢与物质转运,影响宿主的生长、发育,与中医理论中的“肾为先天之本,主司生长发育”理论不谋而合。肾失封藏,则精微下泄;肠腑失司,则湿毒上泛。有研究证明,肾阴虚时肠道菌群及其代谢产物发生紊乱,肠道菌群的稳定性受到了影响^[37]。左归丸作为“滋补肾阴”的经典方剂,通过上

下调节肠道菌群来“扶正祛邪”“攻补兼施”,恰是中医“阴阳调和”理论的微观体现。本研究从“肠肾轴”视角揭示了左归丸治疗NS的系统性机制。一方面,其通过修复肠道菌群生态减少肠源性毒素对肾脏的持续攻击;另一方面,他直接作用于肾脏局部微环境,调控足细胞完整性及纤维化进程。左归丸通过“扶正祛邪-菌群调节-肾脏保护”这种“菌群-代谢-免疫”多维调控网络,重塑肠道菌群生态,重建“先天之精”(肾脏功能)与“后天之精”(肠道微生态)的交互平衡。但本研究尚存在一定不足,如缺乏对菌群功能的宏基因组水平验证、未检测菌群代谢产物与肾脏靶点的直接关联(如短链脂肪酸受体表达)、未验证关键菌群移植的因果性等,这些仍需通过代谢通路分析、粪菌移植等实验进一步验证。

5 结论

左归丸可显著改善NS大鼠的临床生理和生化指标,减轻NS大鼠肾小球及肾小管结构损伤,抑制肾组织的纤维化进程,恢复肾脏形态的完整性。左归丸处理后NS大鼠肾组织中KIM-1、 α_1 微球蛋白和TGF- β 表达水平显著下降,而E-cadherin、Podocin和Nephrin表达水平升高,提示其在保护肾小管上皮细胞结构、维持足细胞裂孔膜完整性及抑制上皮-间质转化方面发挥了积极作用。在肠道层面,左归丸显著改善NS大鼠肠屏障的损伤,有效调节NS大鼠菌群,上调拟杆菌门、放线菌门、幽门螺杆菌科、异普雷沃菌属等有益菌群的丰度,下调厚壁菌门、拉克诺螺旋菌科、乳杆菌属等潜在致炎或促病菌群,可能通过降低F/B值、优化菌群代谢网络来改善宿主的免疫代谢状态。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] ZABALA R M J, STEIN E J, JAIN K. Nephrotic syndrome for the internist[J]. Med Clin North Am, 2023, 107(4): 727-737.
- [2] 徐婷婷,张霞,丁樱,等. 单中心儿童肾病综合征临床诊疗及中药用药规律分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(12):176-184.
- [3] XU T T, ZHANG X, DING Y, et al. Analysis of clinical diagnosis and traditional Chinese medicine medication rules of children with nephrotic syndrome in a single center[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(12):176-184.
- [3] 程雪婷,韩雪,陈家欢,等. 儿童激素耐药型肾病综合征基因检测临床实践指南(2024版)计划书[J]. 儿科药学杂志, 2024, 30(9):1-4.
- CHENG X T, HAN X, CHEN J H, et al. Protocol of clinical

- practice guidelines for genetic testing of steroid-resistant nephrotic syndrome in children (2024 edition)[J]. *J Pediatr Pharm*, 2024, 30(9):1-4.
- [4] KODNER C. Diagnosis and management of nephrotic syndrome in adults[J]. *Am Fam Physician*, 2016, 93(6):479-485.
- [5] 赵沛东,翟文生. 肾病综合征国内外指南或共识治疗方案分析[J]. *中华中医药学刊*, 2025, 43(1):108-116.
- ZHAO P D, ZHAI W S. Analysis of domestic and international guidelines or consensus treatment plans for nephrotic syndrome[J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2025, 43(1):108-116.
- [6] 刘灿,沈稼轩,戴恩来,等. 基于原发性肾病综合征中西医临床病症特点的动物模型分析[J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(18):2703-2707.
- LIU C, SHEN J X, DAI E L, et al. Analysis of animal models based on characteristics of clinical symptoms of traditional Chinese and Western medicine of primary nephrotic syndrome[J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2023, 39(18):2703-2707.
- [7] 曹晨,王怡. 中医药在肾病综合征中的应用现状[J]. *河北中医药学报*, 2024, 39(3):73-76.
- CAO C, WANG Y. Current status of traditional Chinese medicine in nephrotic syndrome[J]. *J Hebei Tradit Chin Med Pharmacol*, 2024, 39(3):73-76.
- [8] 李福生,王茂泓. 从“伏邪”论治肾病综合征[J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(3):1092-1094.
- LI F S, WANG M H. Treatment of nephrotic syndrome based on the theory of hidden pathogen[J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2017, 32(3):1092-1094.
- [9] 李嘉,李想. 左归丸对肾病综合征模型大鼠NF- κ B和TNF- α 表达的影响[J]. *实用药物与临床*, 2021, 24(1):29-33.
- LI J, LI X. Effects of Zuogui pill on the expression of NF- κ B and TNF- α in rats with nephrotic syndrome[J]. *Pract Pharm Clin Remedies*, 2021, 24(1):29-33.
- [10] TENG J, ZANG L, LI L, et al. Overall condition improvement in a rat model of nephrotic syndrome treated with Cell Cept nanoliposomes[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2017, 45(1):128-134.
- [11] POLITANO S A, COLBERT G B, HAMIDUZZAMAN N. Nephrotic syndrome[J]. *Prim Care*, 2020, 47(4):597-613.
- [12] KARMAKOVA T A, SERGEEVA N S, KANUKOEV K Y, et al. Kidney injury molecule 1 (KIM-1): A multifunctional glycoprotein and biological marker (review)[J]. *Sovrem Tekhnologii Med*, 2021, 13(3):64-78.
- [13] MORI Y, AJAY A K, CHANG J H, et al. KIM-1 mediates fatty acid uptake by renal tubular cells to promote progressive diabetic kidney disease[J]. *Cell Metab*, 2021, 33(5):1042-1061.
- [14] 金婷婷,蒯雪,尤伟艳,等. 脓毒症急性肾损伤患者THBS1、TRAF-6、KIM-1、NLRP3水平及其与病情程度的关系[J]. *中华医院感染学杂志*, 2025, 35(4):518-522.
- JIN T T, LIN X, YOU W Y, et al. THBS1, TRAF-6, KIM-1, NLRP3 and their relationship with the severity of disease in sepsis patients with acute renal injury[J]. *Chin J Nosocomiol*, 2025, 35(4):518-522.
- [15] 李文耀. 血 α_1 、 β_2 微球蛋白,胱抑素C,尿微量白蛋白对高血压早期肾损害的诊断价值[D]. 长春:吉林大学,2016.
- LI W Y. The value of serum alpha-1-microglobulin, beta-2-microglobulin, cystatin C and urine microalbumin in early diagnosis of hypertensive renal injury[D]. Changchun: Jilin University, 2016.
- [16] 黎祖荣,郑宝玉,王瑞国,等. 巴戟天经不同比例甘草炮制后对腺嘌呤致肾虚模型大鼠肾功能和HPG轴改善作用的比较[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(19):128-138.
- LI Z R, ZHENG B Y, WANG R G, et al. Effect of Morindae Officinalis Radix processed with different proportions of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma on improvement of renal function and HPG axis of kidney Yang deficiency model rats induced by adenine[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2022, 28(19):128-138.
- [17] ZHENG G, ZHANG J, ZHAO H, et al. $\alpha 3$ integrin of cell-cell contact mediates kidney fibrosis by integrin-linked kinase in proximal tubular E-cadherin deficient mice[J]. *Am J Pathol*, 2016, 186(7):1847-1860.
- [18] 孙倩,李姗姗,杨少宁,等. 中医药靶向TGF- β_1 /Smad信号通路防治肾纤维化研究进展[J]. *中药药理与临床*, 2023, 39(1):118-124.
- SUN Q, LI S S, YANG S N, et al. Research progress of traditional Chinese medicine targeting TGF- β_1 /Smad signaling pathway in prevention and treatment of renal fibrosis[J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2023, 39(1):118-124.
- [19] DE S L, KHANNA V, DEBARBIEUX L. The gut microbiota facilitates drifts in the genetic diversity and infectivity of bacterial viruses[J]. *Cell Host Microbe*, 2017, 22(6):801-808.
- [20] WANG J, ZHU N, SU X, et al. Gut-microbiota-derived metabolites maintain gut and systemic immune homeostasis[J]. *Cells*, 2023, 12(5):793.
- [21] ADAK A, KHAN M R. An insight into gut microbiota and its functionalities[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(3):473-493.
- [22] WEISS B, SOUZA A C O, CONSTANCIO M T L, et al. Unraveling a lignocellulose-decomposing bacterial consortium from soil associated with dry sugarcane straw by genomic-centered metagenomics[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(5):995.
- [23] SUN Y, ZHANG S, NIE Q, et al. Gut Firmicutes: Relationship with dietary fiber and role in host homeostasis[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2023, 63(33):12073-12088.
- [24] 陈斯亮,石瑛,汤辰明,等. 基于16S核糖体RNA测序研究健脾方对绝经后骨质疏松症小鼠肠道菌群的影响[J]. *中医正骨*, 2023, 35(6):11-17, 23.
- CHEN S L, SHI Y, TANG C M, et al. A study of the effects of Jianpi Fang on intestinal flora in mice with postmenopausal osteoporosis based on 16S ribosomal RNA gene sequencing

- [J]. J Tradit Chin Orthop Traumatol, 2023, 35(6): 11-17, 23.
- [25] BINDA C, LOPETUSO L R, RIZZATTI G, et al. Actinobacteria: A relevant minority for the maintenance of gut homeostasis[J]. Dig Liver Dis, 2018, 50(5): 421-428.
- [26] YANG S, ZHANG Y, LI W, et al. Gut microbiota composition affects procyanidin A2-attenuated atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice by modulating the bioavailability of its microbial metabolites[J]. J Agric Food Chem, 2021, 69(25): 6989-6999.
- [27] TETT A, PASOLLI E, MASETTI G, et al. Prevotella diversity, niches and interactions with the human host[J]. Nat Rev Microbiol, 2021, 19(9): 585-599.
- [28] ZHAO B, OSBELT L, LESKER T R, et al. Helicobacter spp. are prevalent in wild mice and protect from lethal *Citrobacter rodentium* infection in the absence of adaptive immunity[J]. Cell Rep, 2023, 42(6): 112549.
- [29] GONZÁLEZ-LOZANO E, GARCÍA-GARCÍA J, GÁLVEZ J, et al. Novel horizons in postbiotics: Lactobacillaceae extracellular vesicles and their applications in health and disease[J]. Nutrients, 2022, 14(24): 5296.
- [30] ZHENG J, WITTOUCK S, SALVETTI E, et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae* [J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2020, 70(4): 2782-2858.
- [31] 董恩钊, 冯学烽, 李学圆, 等. 基于16S rRNA序列分析脾虚证骨质疏松症患者肠道菌群分布特点[J]. 广州中医药大学学报, 2024, 41(8): 1947-1955.
- DONG E Z, FENG X F, LI X Y, et al. Analysis of the distribution of intestinal flora in osteoporosis patients with spleen deficiency syndrome based on 16S rRNA sequence [J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med, 2024, 41(8): 1947-1955.
- [32] 郑文璐, 李莉, 王昆, 等. 肠道微生物群移植和益生菌补充剂对妊娠期糖尿病大鼠抗炎症、抗氧化及妊娠结局的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2024, 36(6): 657-664, 670.
- ZHENG W L, LI L, WANG K, et al. Effects of fecal microbiota transplantation and probiotic supplementation on anti-inflammation, antioxidation and pregnancy outcome in gestational diabetic rats[J]. Chin J Microecol, 2024, 36(6): 657-664, 670.
- [33] 黄旭春, 陆岩, 曹晓静, 等. 基于16S rDNA测序探析早发性卵巢功能不全肾虚肝郁证患者肠道菌群的特征[J]. 新中医, 2024, 56(4): 80-86.
- HUANG X C, LU Y, CAO X J, et al. Analysis of characteristics of intestinal flora in patients with premature ovarian insufficiency with kidney deficiency and liver constraint syndrome based on 16S rDNA sequencing[J]. New Chin Med, 2024, 56(4): 80-86.
- [34] LARSEN J M. The immune response to *Prevotella* bacteria in chronic inflammatory disease [J]. Immunology, 2017, 151(4): 363-374.
- [35] 郭仕辉, 余永涛, 万佳宏, 等. 变形菌门与哺乳动物结肠肠道菌群失调相关研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2022, 34(4): 479-484.
- GUO S H, YU Y T, WAN J H, et al. Progress in research on the relationship between Proteobacteria and the imbalance of mammalian colonic intestinal flora [J]. Chin J Microecol, 2022, 34(4): 479-484.
- [36] CORCIONIVOSCHI N, GUNDOGDU O. Foodborne pathogen *Campylobacter* [J]. Microorganisms, 2021, 9(6): 1241.
- [37] 叶雪珂, 单国顺, 付郁, 等. 靶向代谢组学联合16SrRNA基因测序分析地黄炮制前后对肾阴虚证大鼠肠道菌群的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(12): 1700-1712.
- YE X K, SHAN G S, FU Y, et al. Targeted metabolomics combined with 16S rRNA gene sequencing to analyze the effect of *Rehmanniae* radix on intestinal flora in rats with kidney-yin deficiency syndrome before and after processing [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2023, 34(12): 1700-1712.

[责任编辑 顾雪竹]