

祛瘀化痰通脉方对高脂血症金黄地鼠肠道菌群的调节作用

苗兰, 彭勃, 孙明谦, 张业昊, 张颖, 任常英, 刘建勋*, 林力*

(中国中医科学院西苑医院基础医学研究所, 中药药理北京市重点实验室, 北京 100091)

[摘要] 目的:探究中药复方祛瘀化痰通脉方对高脂血症金黄地鼠肠道菌群的调节作用及功效配伍的科学性。方法:实验选用叙利亚金黄地鼠,分为正常、模型、复方、祛瘀、化痰和解毒组6组,每组8只。采用高脂饲料喂饲法形成金黄地鼠高脂血症模型,造模4周,灌胃给予祛瘀组(1.11 g·kg⁻¹),化痰组(0.39 g·kg⁻¹),解毒组(0.07 g·kg⁻¹),祛瘀化痰通脉方组(1.42 g·kg⁻¹),正常组与模型组给予等体积的蒸馏水,每天1次,连续灌胃6周。收集血清测定血脂,苏木素-伊红(HE)染色观察肝脏病理形态,收集粪便进行肠道菌群16S rRNA基因高通量测序分析。结果:与正常组比较,模型组金黄地鼠鼠体质量增长明显($P<0.05$, $P<0.01$),各项血脂指标均显著升高($P<0.01$),肠道菌群多样性明显降低($P<0.05$, $P<0.01$),菌群相对丰度门、科、属水平均发生明显变化($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较,祛瘀化痰通脉方能控制高脂血症金黄地鼠鼠体质量变化,降低血清甘油三酯(TG),总胆固醇(TC),低密度脂蛋白胆固醇/高密度脂蛋白胆固醇比值(LDL-C/HDL-C)($P<0.05$, $P<0.01$);改善肠道菌群结构,显著降低厚壁菌门与拟杆菌门的比值($P<0.01$),增加拟杆菌科、紫单孢菌科、理研菌科、巴氏杆菌属等菌群丰度($P<0.05$, $P<0.01$),降低红螺菌属的相对丰度($P<0.05$)。各配伍组对高脂血症金黄地鼠血脂、肠道菌群具有不同程度的改善作用,其中解毒组降血脂作用和化痰组菌群调节作用更接近复方组。结论:祛瘀化痰通脉方及配伍组从不同角度对金黄地鼠高脂血症发挥不同程度的改善作用,其作用机制可能与调节肠道菌群结构、改善肠道微生态有关,复方组作用最为显著,化痰组次之,本研究亦为中药复方祛瘀化痰通脉方配伍的科学性提供了依据。

[关键词] 祛瘀化痰通脉方; 高脂血症; 肠道菌群; 复方配伍

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)01-0109-12

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20212403

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20211022.1744.007.html>

[网络出版日期] 2021-10-26 11:11

Regulatory Effect of Quyu Huatan Tongmai Prescription on Intestinal Microflora in Golden Hamster with Hyperlipidemia

MIAO Lan, PENG Qing, SUN Ming-qian, ZHANG Ye-hao, ZHANG Ying, REN Chang-ying,
LIU Jian-xun*, LIN Li*

(Institute of Basic Medical Sciences of Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences,
Beijing Key Laboratory of Pharmacology of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100091, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the regulatory effect of Quyu Huatan Tongmai prescription on intestinal microflora of hyperlipidemia golden hamster and scientific evidence for the compatibility. **Method:** Syrian golden hamsters were randomized into normal, model, prescription, stasis-disspelling (Quyu), phlegm-dissolving (Huatan), and detoxification (Jiedu) groups, with 8 in each group. Hyperlipidemia in golden hamsters was induced by high-fat diet (4 weeks). Then hamsters in the Quyu group (1.11 g·kg⁻¹), Huatan group (0.39 g·kg⁻¹), Jiedu group (0.07 g·kg⁻¹), and prescription group (1.42 g·kg⁻¹) were given (ig) corresponding

[收稿日期] 20210825(011)

[基金项目] 中国中医科学院科技创新工程项目(C12021A04508);国家自然科学基金项目(81673587,81803770)

[第一作者] 苗兰,在读博士,从事心血管药理研究,Tel:010-62835618,E-mail:miaolan911@163.com

[通信作者] *刘建勋,博士,研究员,博士生导师,从事中药心脑血管药理学研究,Tel:010-62835601,E-mail:liujx0324@sina.com;

*林力,博士,研究员,硕士生导师,从事中药药物分析研究,Tel:010-62835618,E-mail:temlinli@163.com

drugs and those in the normal group and the model group received (*ig*) distilled water of equivalent volume, once a day for 6 weeks. Serum lipids were determined, and hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological morphology of the liver. Feces were collected for 16S rRNA gene high-throughput sequencing of intestinal flora. **Result:** Compared with normal group, the model group demonstrated increase in body weight ($P<0.05$, $P<0.01$) and blood lipids ($P<0.01$), decrease in intestinal flora diversity ($P<0.05$, $P<0.01$), and variation of the relative abundance of intestinal flora at phylum, family, and genus levels ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the model group, Quyu Huatan Tongmai prescription controlled the body weight change, reduced the serum triglyceride (TG), total cholesterol (TC), and low density lipoprotein cholesterol/high density lipoprotein cholesterol ratio (LDL-C/HDL-C) ($P<0.05$, $P<0.01$), improved the structure of intestinal flora, decreased the ratio of Firmicutes to Bacteroides ($P<0.01$), raised the abundance of Bacteroidaceae, Porphyromonadaceae, Rikenellaceae, and *Pasteurella* ($P<0.05$, $P<0.01$), and lowered the relative abundance of *Coriobacterium* ($P<0.05$) in hyperlipidemia golden hamsters. All the split prescriptions improved blood lipids and intestinal flora of the hamsters and particularly, the lipids-lowering effect of the Jiedu group and the regulation of flora in the Huatan group were closer to those of the prescription group. **Conclusion:** Quyu Huatan Tongmai prescription and the split prescriptions all alleviated the hyperlipidemia of golden hamsters to different degrees possibly by regulating intestinal flora structure and improving intestinal microecology. The effect of the prescription group was most significant, and coming in second was the Huatan group. This study also provides scientific evidence for the effect of Quyu Huatan Tongmai prescription.

[Keywords] Quyu Huatan Tongmai prescription; hyperlipidemia; intestinal microflora; compound compatibility

在人类肠道中有超过100万亿的微生物,他们以互利共生的方式寄宿在宿主肠道中形成肠道微生物群,同时协同参与机体的新陈代谢、免疫反应和维持肠道结构^[1],并且与多种人类疾病的发生发展密切相关,如心力衰竭、肥胖、神经退行性疾病等^[2-4]。有研究甚至认为肠道菌群的差异可用于中医证候的分型,对中医药选择治疗具有潜在指导价值,如拟杆菌门(Bacteroidetes)与帕金森病中医内热证相关,而非特异的厚壁菌门(Firmicutes)分别与帕金森病内热证和痰浊证负相关^[5]。因此,通过改变或重塑肠道微生物群来治疗疾病被认为是一种新的治疗策略。近几年,大量研究发现中药能够通过调节肠道菌群的数量和比例,恢复肠道微生物多样性及菌群结构,从而影响机体代谢,发挥其药理特性达到治疗目的。黄连解毒汤能够使高脂饲养的自发性高血压大鼠肠道拟杆菌、杆菌、乳酸杆菌的丰度升高,厚壁菌、毛螺菌、巨单胞菌的丰度显著降低,可有效改善大鼠肠道菌群的紊乱,达到对抗高血压的作用^[6]。从心论治方能够使高脂喂养的载脂蛋白E(ApoE)基因敲除小鼠肠道菌群中Firmicutes与Bacteroidetes的比例降低,使菌群多样性增加,肠道菌群失调得到改善^[7]。四君子汤能够显著增加心力衰竭大鼠肠道Firmicutes,乳杆菌属,厌氧芽孢杆

菌属丰度,减少Bacteroidetes及Muribaculaceae norank菌属丰度,通过调节肠道菌群失衡对大鼠心肌梗死后心力衰竭产生一定的治疗作用^[8]。

中药复方祛瘀化痰通脉方是由丹参、川芎、人参、山楂、黄连、泽泻、红曲等7味中药组合而成,具有祛瘀化痰、解毒通脉、行气止痛之功,临床主要治疗痰瘀互结证冠心病心绞痛。在冠心病病理机制中肥胖导致的血脂代谢紊乱在一定程度上反映了中医“痰浊”的致病特性,而血液流变学异常反映了动脉粥样硬化形成过程的血液高黏、高凝状态,二者往往相互影响。前期研究发现祛瘀化痰通脉方能够减少经高脂饲料喂养结合冠脉血管拉伤的痰瘀互结证冠心病中国小型猪心肌缺血程度,增强心功能,改善缺血导致的心肌结构和功能改变,改善血液流变学的异常状态;具有调节血脂的作用,能够通过控制核转录因子- κ B p65(NF- κ B p65)核移位而降低下游炎症反应,从而抑制中国小型猪冠状动脉粥样硬化斑块的发生和发展;同时可能通过对抗自由基氧化损伤,抑制脂质过氧化反应而对痰瘀互结证冠心病中国小型猪心肌损伤有明显保护作用^[9-13]。为充分阐释祛瘀化痰通脉方的作用机制,前期研究考察了2种动物(大鼠和小型猪)和2个状态(正常和模型)下体内入血成分情况,应用液相色谱

谱-质谱法(LC-MS/MS)体外定量了48个成分,但在体内可以检测完整药时曲线的仅有6个成分,且含量不高,均为纳克级,这对物质基础的发现和功效标志物的寻找提出了挑战,限制了对于成分-效应-生物标志物的关联分析。但前期大量的药理学研究已经证实该方的有效性,本研究也发现祛瘀化痰通脉方调节脂质代谢的良好药效,那么入血成分较少的情况下其发挥作用的机制值得探究。因此,本研究从肠道微生物群的角度,旨在进一步明确祛瘀化痰通脉方的作用机制及其配伍的科学性。

1 材料

1.1 动物 SPF级雄性叙利亚金黄地鼠,7周龄,48只,实验动物由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号SCXK(京)2016-0011,合格证编号114-7002008112。本实验均符合北京实验动物福利伦理审查指南的相关要求,由中国中医科学院西苑医院动物伦理委员会审核批准,伦理编号2019XLC016-2。

1.2 药物与试剂 丹参配方颗粒,人参配方颗粒,川芎配方颗粒,黄连配方颗粒,泽泻配方颗粒,生山楂配方颗粒(北京康仁堂药业有限公司,批号分别为16004411,16013471,16009741,16011721,15017762,16018081),红曲粉末(浙江桐君堂中药饮片有限公司,批号160321);高脂饲料[北京科奥协力饲料有限公司,合格证号SCXK(京)2014-0010,质量合格证号为11002900028290];血脂四项[总胆固醇(TC),甘油三酯(TG),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)]测定试剂盒(日本日立公司,批号分别为701792,605517,702824,701794);Qubit dsDNA检测试剂盒(美国Life Technologies公司,批号Q328520);HiFi高保真热启动DNA聚合酶预混液(HiFi Hot Start Ready Mix,美国KAPA公司,批号KK2501);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(珠海贝索生物技术有限公司,批号718091)。

1.3 仪器 580BR10905型聚合酶链式反应(PCR)仪和POWERPAC3000型电泳仪(美国Bio-Rad公司);HE-120型电泳仪和Tanon-2500型凝胶成像仪(上海天能科技有限公司);Agilent 2100 Bioanalyzer型生物分析仪[安捷伦科技(中国)有限公司];LAbOSPECT003型日立全自动生化仪(日本Hitachi公司);IlluminaHiSeq2000DNA型测序仪(美国Illumina公司);NANO DROP型紫外分光光度计(美国Thermo公司);SQ510C型立式压力蒸汽灭菌器

(重庆雅马拓科技有限公司);VX-02 Multi-Tube Vortex型涡旋混合器(北京绿锦科技有限公司);MIKRO 22R型低温超速离心机(德国Hettich公司);Eppendorf 5418型台式高速离心机(德国Eppendorf公司);MSC-100型恒温混匀仪(美国Thermoelectric公司);AE240型精密分析天平(美国Mettler公司产品);HR-215S型冰箱(青岛海尔公司)。

2 方法

2.1 动物分组与模型制备 叙利亚金黄地鼠48只,根据功效配伍分为正常组,模型组,复方组,祛瘀组(丹参、人参、川芎和山楂),化痰组(人参、泽泻和红曲)和解毒组(黄连),每组8只。本实验采用高脂饲料喂饲法诱导金黄地鼠高脂模型的形成^[14]。48只金黄地鼠适应性饲养1周后,按照随机数字表法随机分为6组,正常组给予普通饲料,其余各组饲以高脂饲料,造模4周。

2.2 给药情况 给药剂量以前期实验的有效剂量为依据^[13],按照金黄地鼠与人的体表面积换算金黄地鼠的等效剂量,灌胃给予祛瘀组 $1.11 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,化痰组 $0.39 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,解毒组 $0.07 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,祛瘀化痰通脉方组 $1.42 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,正常组与模型组给予等体积的蒸馏水,灌胃量为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,每天1次,连续灌胃6周。

2.3 检测指标

2.3.1 血脂指标检测 所有动物于末次给药前1 d禁食12 h,末次给药后1 h,称体质量,各组金黄地鼠腹主动脉取血, $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min(离心半径85 mm)收集血清, $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存待测。按照试剂盒说明书进行血清TC, TG, HDL-C和LDL-C测定。

2.3.2 肝脏组织HE染色观察 取各组金黄地鼠新鲜肝脏相同部位组织1块,10%中性甲醛缓冲液固定过夜,常规石蜡包埋,切片,脱蜡,HE染色,中性树脂封片,光学显微镜下观察肝组织形态学变化。

2.3.3 肠道菌群16S rRNA高通量测序分析 取各组动物粪便 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存待测。采用DNA抽提试剂盒对各个金黄地鼠的粪便样本的基因组DNA进行提取,之后利用琼脂糖凝胶电泳检测DNA的纯度和浓度,取适量的样品于离心管中,使用无菌水稀释样品至 $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

以稀释后的基因组DNA为模板对肠道菌群16S V3-V4区进行PCR扩增,使用带Barcode的特异引物进行PCR,确保扩增效率和准确性。引物序列:343F(5'-TACGGRAGGCAGCAG-3')和798R(5'-AGGGTATCTAATCCT-3')。PCR产物使用电泳检

测,检测后使用磁珠纯化,纯化后作为二轮PCR模板,并进行二轮PCR扩增,并再次使用电泳检测,检测后使用磁珠纯化,纯化后对PCR产物进行Qubit定量。根据PCR产物浓度进行等量混样,并上机测序。

2.3.4 生物信息学分析 由Illumina Miseq测序获得原始数据,在微生物多样性测序分析中,先使用Trimmomatic软件对原始双端序列进行去杂、拼接、精准去杂及去嵌合体等处理,最终得到较优质的序列即valid tags,然后采用Vsearch软件,将序列相似度大于或等于97%被归为一个操作分类单元(OTU)。随后使用QIIME软件包从各OTU中挑选丰度最大的序列作为代表序列,并将所有代表序列与Silva数据库进行比对注释,得到系统发育树和OTU分类表格。物种比对注释使用RDP classifier软件,保留置信区间大于0.7的注释结果。最终执行下游的 α 和 β 多样性分析。

2.4 统计学分析 利用统计分析软件SPSS 20.0处理得到的数据,计量资料均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用独立样本t检验进行统计学分析, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 祛痰化痰通脉方及其配伍对高脂金黄地鼠体质量、血脂等指标的影响 实验开始前,各组动物体质量没有显著差异,至给药6周后,与正常组比较,模型组金黄地鼠体质量明显增加($P<0.05$),说明高脂饲料喂养引起模型组动物体质量增加较快;与模型组比较,给药6周后复方组能够明显降低动物体质量($P<0.05$),而其余各配伍组降低体质量的作用不明显。考虑到动物体质量增长受多种因素影响,如体质量基数,进食量等,因此研究者进行了体质量增长率的分析比较,发现与正常组比较,模型组动物体质量增长较快($P<0.01$),而与模型组比较,复方给药组能够显著降低金黄地鼠体质量增长速度($P<0.01$),各配伍组中只有化痰组能够明显减缓实验动物的体质量增长速度($P<0.05$)。见表1。

与正常组比较,模型组血清TC, TG及LDL-C/HDL-C显著升高($P<0.01$),表明金黄地鼠高脂模型构建成功。与模型组比较,复方组和解毒组均能够明显降低TC, TG及LDL-C/HDL-C,差异均具有统计学意义($P<0.05, P<0.01$);而化痰组能够显著降低TG水平($P<0.01$),祛痰组能够显著降低LDL-C/HDL-C($P<0.01$),且效果较解毒组和复方组更为显著。见表2。

表1 祛痰化痰通脉方及其配伍组对高脂金黄地鼠体质量的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 1 Effect of Quyu Huatan Tongmai prescription and its combination on body weight of high fat golden hamster ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	给药前/g	给药6周/g	体质量增长率/%
正常		110.50±5.40	169.25±11.88	34.33±6.86
模型		107.38±7.37	192.13±13.52 ¹⁾	44.00±3.66 ²⁾
复方	1.42	110.38±7.13	171.75±8.10 ³⁾	35.68±4.11 ⁴⁾
祛痰	1.11	110.00±10.42	191.25±16.60	42.40±2.96
化痰	0.39	113.88±7.45	182.13±23.07	36.89±6.36 ³⁾
解毒	0.07	114.38±9.62	191.50±11.28	40.31±3.96

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2,3同)。

表2 祛痰化痰通脉方及其配伍组对高脂金黄地鼠血脂指标的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

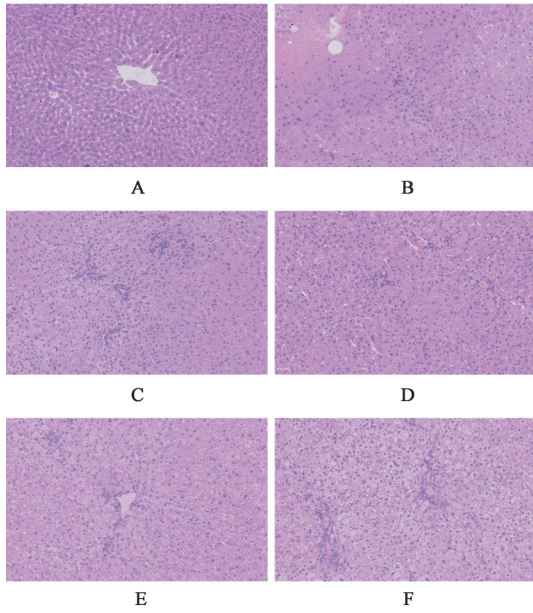
Table 2 Effect of Quyu Huatan Tongmai prescription and its combination on blood lipid of high-fat golden hamster ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TC/mmol·L ⁻¹	TG/mmol·L ⁻¹	LDL-C/HDL-C
正常		3.38±0.45	0.53±0.13	0.27±0.04
模型		12.92±3.45 ²⁾	5.46±1.27 ²⁾	1.25±0.12 ²⁾
复方	1.42	9.49±1.52 ³⁾	3.59±0.72 ⁴⁾	0.97±0.14 ³⁾
祛痰	1.11	9.87±2.28	4.17±2.11	0.87±0.07 ⁴⁾
化痰	0.39	11.71±3.08	3.31±0.82 ⁴⁾	1.18±0.37
解毒	0.07	9.61±1.80 ³⁾	3.74±0.92 ⁴⁾	1.00±0.24 ³⁾

3.2 祛痰化痰通脉方及其配伍对高脂金黄地鼠肝脏组织病理学的影响 正常组金黄地鼠肝组织结构如常,肝细胞索围绕中央静脉呈放射状分布,排列整齐有序,肝窦充盈、可见,肝细胞未见肿胀变性,汇管区未见炎细胞浸润及纤维组织增生。高脂模型组金黄地鼠肝组织结构紊乱,肝细胞大片气球样变性,灶性小泡性脂肪变,肝细胞肥大致肝窦不明显,枯否细胞增生,肝小叶内可见炎细胞聚集灶,汇管区轻度炎细胞浸润及纤维组织增生。与模型组比较,复方组肝组织结构较正常,肝细胞气球样变性,但程度及范围较模型组明显减轻,肝细胞肥大不明显,肝窦可见,肝小叶见灶性炎细胞灶,汇管区扩张,血管充血,少量炎细胞浸润及纤维组织增生。其他各配伍组可见肝组织结构不同程度损伤,肝细胞气球样变性及脂肪变性,肝细胞轻度肥大,轻度炎细胞浸润,少量纤维组织增生。见图1。

3.3 祛痰化痰通脉方及其配伍组对高脂金黄地鼠肠道菌群的影响

3.3.1 菌群多样性分析 肠道菌群多样性分为 α 多



A. 正常组; B. 模型组; C. 复方组; D. 化痰组; E. 祛瘀组; F. 解毒组
图1 祛瘀化痰通脉方及其配伍组对高脂金黄地鼠肝组织形态的影响(HE, ×200)

Fig. 1 Effect of Quyu Huatan Tongmai prescription and its combination on morphology change of liver tissue in golden hamster with high fat (HE, ×200)

表3 肠道菌群α多样性统计分析 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

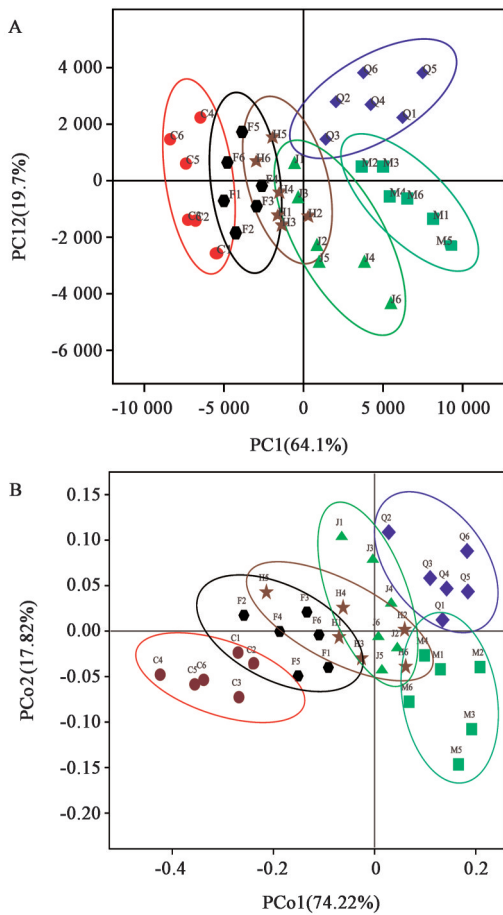
Table 3 Statistical analysis of Alpha diversity of intestinal flora ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Chao 指数	Observed-species 指数	Shannon 指数	Simpson diversity 指数
正常		486.24±87.11	383.50±87.69	4.77±1.14	0.88±0.09
模型		379.48±72.26 ²⁾	267.90±50.34 ²⁾	3.61±0.86 ¹⁾	0.77±0.15
复方	1.42	535.67±62.64 ⁴⁾	414.75±48.71 ⁴⁾	4.56±0.85 ³⁾	0.85±0.08
祛瘀	1.11	452.19±77.07	322.67±60.09	3.78±0.56	0.81±0.07
化痰	0.39	547.68±79.93 ³⁾	412.83±75.38 ³⁾	4.79±0.64 ³⁾	0.89±0.04
解毒	0.07	466.27±56.49	327.17±63.47	3.96±0.71	0.82±0.08

β多样性则为不同生物环境之间的多样性程度的分析,即比较不同分组样本菌群结构的差异。经无监督主成分分析(PCA)发现正常组与模型组菌群结构能够被明显区分,而各给药组介于正常与模型组之间,其中复方组的菌群结构与正常组最接近,其次是化痰组;主坐标分析(PCoA)结果也显示正常组与模型组距离最远,差异最大,各给药组介于两组之间,并且具有向正常组靠拢的趋势,其中复方组与正常组距离最近,其次是化痰组,与PCA分析结果一致。见图2。

3.3.2 肠道菌群门水平丰度变化 从肠道微生物门分类水平来看,群落组成中优势菌门主要是 Firmicutes, Bacteroidetes, 变形菌门(Proteobacteria), 放线菌门(Actinobacteria)及脱铁杆菌门

(Deferribacteres)等,见图3。与正常组比较,金黄地鼠高脂模型组肠道内优势菌群中 Proteobacteria, Deferribacteres, Bacteroidetes 菌群丰度明显降低($P<0.05, P<0.01$), Firmicutes 丰度具有升高的趋势。而给予中药复方干预后,与高脂模型组比较,祛瘀化痰通脉方金黄地鼠肠道内 Proteobacteria, Deferribacteres, Bacteroidetes 均明显增加($P<0.05, P<0.01$), 而化痰组能够明显增加 Proteobacteria 和 Bacteroidetes 在肠道菌群中的丰度($P<0.05, P<0.01$), 复方组和化痰组均能显著降低 Firmicutes 的丰度($P<0.05$)。与复方组比较,化痰组改善菌群丰度的能力与复方组没有显著性差异。本研究正常组与模型组中 Firmicutes 的相对丰度变化不大,而 Bacteroidetes 在各组间差异明



C. 正常组; M. 模型组; F. 复方组; H. 化痰组; J. 解毒组; Q. 祛瘀组 (图3~5同)

图2 各组金黄地鼠肠道菌群β多样性PCA和PCoA分析
Fig. 2 PCA and PCoA analysis of β diversity of intestinal flora of golden hamsters in each group

显, 导致 Firmicutes/Bacteroidetes (F/B) 值发生明显改变, 与正常组比较, 模型组 F/B 值明显升高 ($P < 0.05$), 与模型组比较, 复方组和各配伍组均能够明显降低 F/B 值 ($P < 0.05, P < 0.01$), 且各给药组之间差异有统计学意义, 因此推断祛瘀化痰通脉方及其配伍组均有助于改善高脂饲料引起的 Firmicutes 和

表4 祛瘀化痰通脉方及其配伍组对金黄地鼠肠道菌群门水平菌群丰度变化的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Effect of Quyu Huatan Tongmai prescription and its combination on abundance change of intestinal microflora phylum level in golden hamster with high fat ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Firmicutes	Proteobacteria	Deferribacteres	Bacteroidetes	F/B
正常		90.097±4.562	0.842±0.435	0.156±0.082	7.913±3.133	13.077±4.568
模型		94.573±2.205	0.239±0.140 ²⁾	0.009±0.003 ¹⁾	3.878±1.723 ¹⁾	24.116±7.229 ¹⁾
复方	1.42	86.405±4.301 ³⁾	1.158±0.548 ⁴⁾	0.146±0.128 ³⁾	14.587±6.017 ⁴⁾	6.727±2.507 ⁴⁾
祛瘀	1.11	91.322±2.926	0.745±0.378	0.024±0.021	7.074±2.390 ⁵⁾	14.215±4.743 ³⁾
化痰	0.39	84.042±5.590 ³⁾	0.886±0.416 ³⁾	0.031±0.025	12.261±2.203 ⁴⁾	7.113±1.767 ⁴⁾
解毒	0.07	89.665±5.336	0.586±0.320 ⁵⁾	0.018±0.022 ⁵⁾	8.855±5.334	13.758±8.080 ³⁾

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⁾ $P < 0.01$; 与复方组比较⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$ (表5, 6同)。

Bacteroidetes 比例失调。见表4。

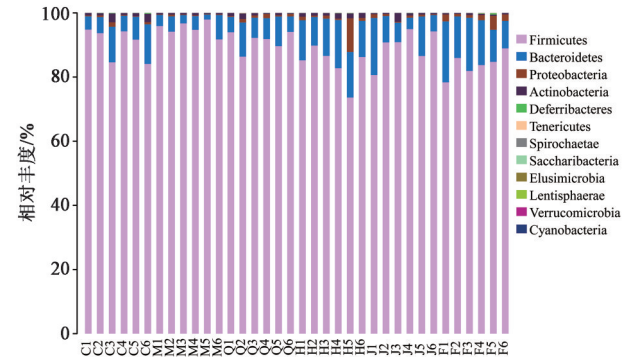


图3 各组金黄地鼠肠道菌群组成(门水平)

Fig. 3 Composition of intestinal flora of golden hamsters in each group (phylum level)

3.3.3 肠道菌群科水平丰度变化 从肠道微生物科分类水平来看, 群落组成中优势菌科主要是韦荣球菌科 (Erysipelotrichaceae), 真杆菌科 (Eubacteriaceae), 拟杆菌科 (Bacteroidaceae) 及瘤胃菌科 (Ruminococcaceae) 等, 见图4。与正常组比较, 模型组肠道内 Bacteroidaceae, 紫单孢菌科 (Porphyromonadaceae), 理研菌科 (Rikenellaceae), 乳酸杆菌科 (Lactobacillaceae), 梭菌科 (Clostridiales_vadinBB60_group), Family_XIII, 毛螺菌科 (Lachnospiraceae), 脱硫弧菌科 (Desulfovibrionaceae) 及 Ruminococcaceae 菌群丰度明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$), Eubacteriaceae 菌群丰度显著升高 ($P < 0.01$)。中药干预后, 与高脂模型组比较, 复方组金黄地鼠肠道内 Bacteroidaceae, Porphyromonadaceae, Rikenellaceae, Clostridiales_vadinBB60_group, Family_XIII, Lachnospiraceae 及 Desulfovibrionaceae 菌群丰度均明显增加 ($P < 0.05, P < 0.01$), 而化痰组能够明显增加 Bacteroidaceae, Rikenellaceae, Family_XIII 及 Lachnospiraceae 在肠道菌群中的丰度 ($P < 0.05$), 降低 Eubacteriaceae 的丰度

($P<0.05$) ; 解毒组能够明显增加肠道内 Lactobacillaceae 的菌群丰度 ($P<0.05$)。以上结果显示,模型组肠道菌群科水平的菌群丰度较正常组显

著下降,而祛痰化痰通脉方能够显著改善差异菌群的丰度,化痰组和解毒组能够不同程度的、针对性的改善某些菌群的丰度。见表5。

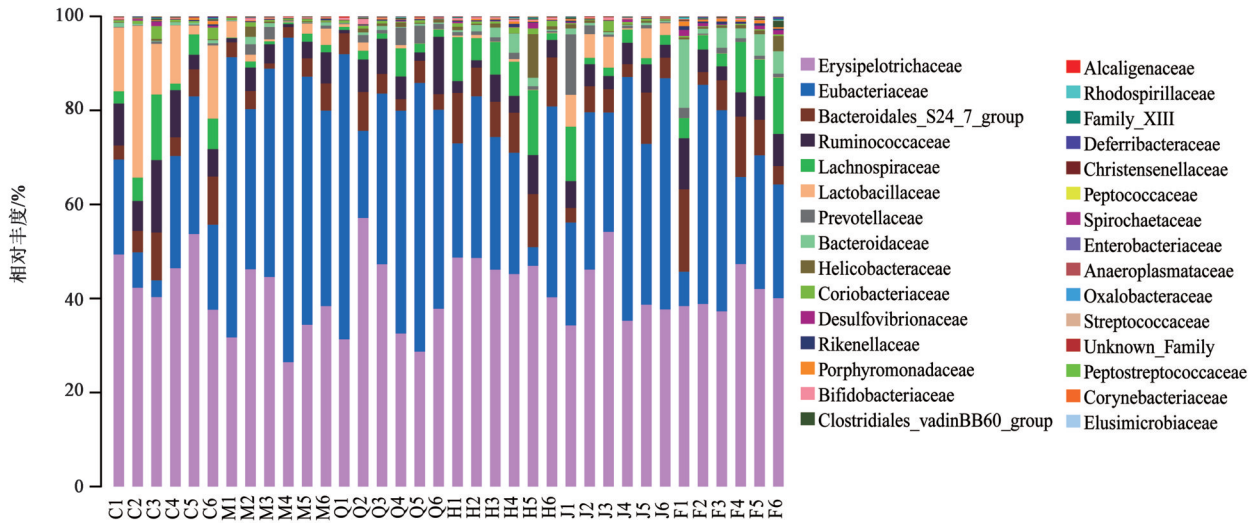


图4 各组金黄地鼠肠道菌群组成(科水平)

Fig. 4 Composition of intestinal flora of golden hamsters in each group (family level)

表5 祛痰化痰通脉方及其配伍组对金黄地鼠肠道菌群科水平菌群丰度变化的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 5 Effect of Quyu Huatan Tongmai prescription and its combination on abundance change of intestinal microflora family level in golden hamster with high fat ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Bacteroidaceae	Porphyromonadaceae	Rikenellaceae	Lactobacillaceae	Clostridiales_vadin-BB60_group
正常		1.640±1.331	0.441±0.304	0.327±0.205	11.556±2.891	0.222±0.088
模型		0.228±0.158 ²⁾	0.076±0.033 ²⁾	0.086±0.040 ²⁾	1.041±0.789 ²⁾	0.016±0.006 ²⁾
复方	1.42	3.141±1.575 ⁴⁾	0.534±0.254 ⁴⁾	0.378±0.134 ⁴⁾	0.157±0.146	0.173±0.068 ⁴⁾
祛痰	1.11	0.423±0.279 ⁶⁾	0.117±0.072 ⁶⁾	0.152±0.072 ⁵⁾	0.533±0.372	0.081±0.096
化痰	0.39	1.686±1.393 ³⁾	0.256±0.128 ⁵⁾	0.274±0.190 ³⁾	0.309±0.262	0.047±0.035 ⁵⁾
解毒	0.07	0.584±0.370 ⁵⁾	0.144±0.086 ⁶⁾	0.124±0.107 ⁶⁾	4.585±2.639 ³⁾	0.066±0.058
组别	剂量/g·kg ⁻¹	Eubacteriaceae	Family_XIII	Lachnospiraceae	Desulfovibrionaceae	Ruminococcaceae
正常		17.079±9.744	0.146±0.058	9.737±4.344	0.534±0.278	10.216±3.429
模型		43.692±11.087 ²⁾	0.021±0.007 ²⁾	1.525±0.479 ²⁾	0.034±0.017 ²⁾	4.867±1.098 ¹⁾
复方	1.42	32.378±10.866	0.138±0.040 ⁴⁾	7.115±3.630 ³⁾	0.709±0.377 ⁴⁾	4.779±1.217
祛痰	1.11	43.710±15.323	0.035±0.035 ⁵⁾	2.190±1.922 ⁵⁾	0.068±0.063 ⁶⁾	5.636±4.202
化痰	0.39	26.129±12.428 ³⁾	0.089±0.076 ³⁾	7.243±4.187 ³⁾	0.306±0.204	4.214±2.418
解毒	0.07	35.972±12.214	0.044±0.035 ⁵⁾	3.497±2.980	0.138±0.109 ⁵⁾	4.400±1.395

3.3.4 肠道菌群属水平丰度变化 从肠道微生物属分类水平来看,群落组成中优势菌属主要是异杆菌属(*Allobaculum*),瘤胃球菌属_2(*Ruminococcus_2*),乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)及拟杆菌属(*Bacteroides*)等,见图5。与正常组比较,模型组肠道内 *Bacteroides*, 巴氏杆菌属(*Barnesiella*), *Odoribacter*, 理研菌属(*Rikenellaceae_RC9_gut_*

group), *Family_XIII_AD3011_group*, 优杆菌属(*[Eubacterium]_brachy_group*), *Acetatifactor*, 粪球菌属(*Coprococcus_1*), 毛螺菌属(*Lachnospiraceae_FCS020_group*), 罗氏菌属(*Roseburia*), 颤杆菌属(*Oscillibacter*), 瘤胃菌属_UCG_005(*Ruminococcaceae_UCG_005*), 脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*), 厌氧棍状菌属(*Anaerotruncus*), 瘤

胃梭菌属 (*Ruminiclostridium_9*), 瘤胃菌属 *_NK4A214_group* (*Ruminococcaceae_NK4A214_group*) 及 *Lactobacillus_UCG_002* 菌群丰度均明显降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 而红螬菌属 (*Coriobacteriaceae_UCG_002*) 菌群丰度显著升高 ($P<0.01$)。中药干预后, 与模型组比较, 复方组金黄地鼠肠道内拟杆菌属 (*Bacteroides*), *Barnesiella*, *Odoribacter*, *Rikenellaceae_RC9_gut_group*, *Family_XIII_AD3011_group*, *Acetatifactor*, *Coprococcus_1*, *Lachnospiraceae_FCS020_group*, *Roseburia*, *Oscillibacter*, *Ruminococcaceae_UCG_005*, *Desulfovibrio*, *Anaerotruncus*, *Ruminiclostridium_9* 及 *Ruminococcaceae_NK4A214_group* 菌群丰度均明显增加 ($P<0.05$, $P<0.01$), *Coriobacteriaceae_UCG_*

002 的表达丰度显著下降 ($P<0.05$)。化痰组能够明显增加 *Bacteroides*, *Coprococcus_1*, *Lachnospiraceae_FCS020_group*, *Oscillibacter* 及 *Ruminococcaceae_NK4A214_group* 在肠道菌群中的丰度 ($P<0.05$), 同时明显降低 *Coriobacteriaceae_UCG_002* 的表达丰度 ($P<0.05$), 差异有统计学意义; 解毒组具有升高 *Lactobacillus* 菌群丰度的趋势。各配伍组与复方组整体比较调节肠道菌群属水平丰度的能力, 发现复方组菌群丰度的调节能力最强, 各配伍组中化痰组对属水平的菌群丰度调节能力较强, 同时可能对复方组菌群调节能力的贡献度最高。以上结果显示, 高脂血症金黄地鼠肠道菌群属水平的菌群丰度较正常组显著下降, 而祛瘀化痰通脉方和各配伍组能够不同程度的改善差异菌群的丰度。见表6。

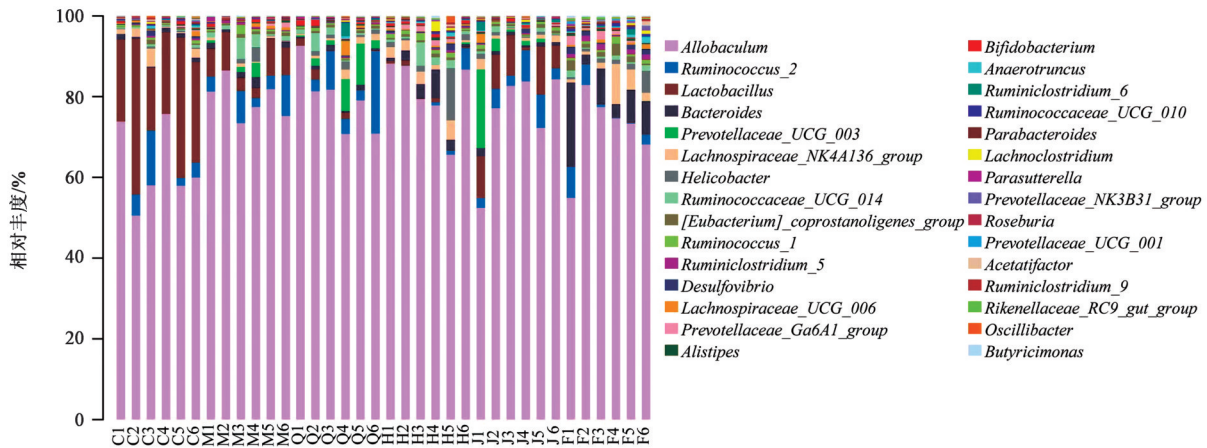


图5 各组金黄地鼠肠道菌群组成(属水平)

Fig. 5 Composition of intestinal flora of golden hamsters in each group (genus level)

3.4 差异菌群与血脂指标关联性分析 斯皮尔曼相关系数(Spearman 相关系数)分析结果显示, 在科水平, *Lactobacillaceae* 与 TC, TG, LDL-C/HDL-C 值均呈负相关 (Spearman 相关系数分别为 -0.75, -0.62, -0.71); 在属水平, *Family_XIII_AD3011_group* 与 TC, TG, LDL-C/HDL-C 值均呈负相关 (Spearman 相关系数分别为 -0.66, -0.60, -0.67), *Lactobacillus* 与 TC, LDL-C/HDL-C 值呈负相关 (Spearman 相关系数分别为 -0.71 和 -0.67), *Roseburia*, *Oscillibacter* 均与 TG 呈负相关 (Spearman 相关系数均为 -0.62)。见图6。

4 讨论

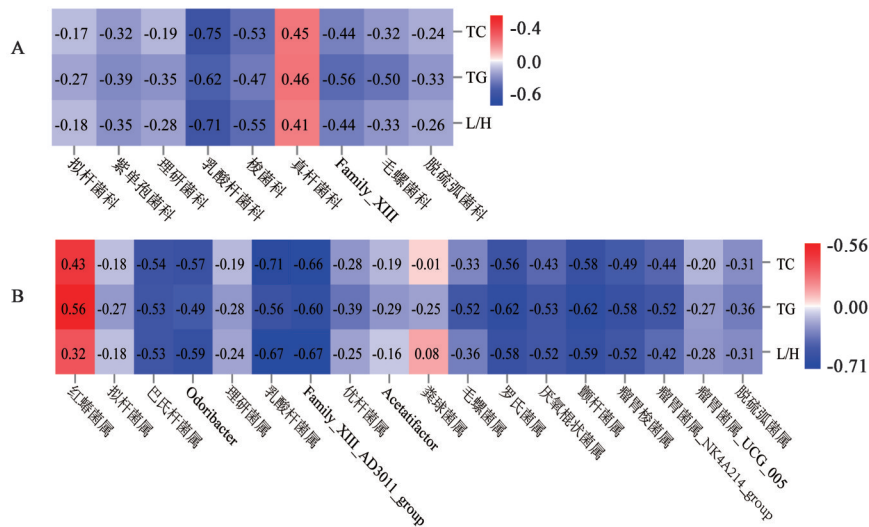
中药复方祛瘀化痰通脉方主要治疗痰瘀互结证冠心病心绞痛, 具有祛瘀化痰、解毒通脉、行气止痛之功。具有抗心肌缺血, 改善心功能和血液流变学的异常状态, 抗炎, 抗自由基氧化损伤, 抑制脂质

过氧化等多种特性。脂代谢紊乱被认为是心血管疾病的病理基础, 研究中, 从中药复方功效配伍的角度, 观察祛瘀化痰通脉方及其配伍组对高脂饲料喂养诱导的金黄地鼠的体质量、血脂、肝脏脂肪变性和肠道微生物群的影响。研究结果显示大鼠灌胃祛瘀化痰通脉方和配伍组(祛瘀组、化痰组、解毒组)6周后, 复方组能够显著降低金黄地鼠的体质量及体质量增长速度, 而各配伍组中只有化痰组表现出降低动物体质量增长率的作用。祛瘀化痰通脉方能够使血清 TC, TG 和 LDL-C/HDL-C 值均显著降低, 各配伍组中解毒组也能够显著降低这3项血脂指标, 化痰组则能够显著降低 TG 水平, 而祛瘀组降低 LDL-C/HDL-C 值的作用更显著; 肝脏组织病理学结果显示肝脏组织结构损伤和肝细胞脂肪变性的形成能够被祛瘀化痰通脉方显著逆转, 各配伍组能够不同程度的改善肝细胞脂肪变性。

表 6 祛瘀化痰通脉方及其配伍组对金黄色鼠肠道菌群属水平菌群丰度变化的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 6 Effect of Quyu Huatan Tongmai prescription and its combination on abundance change of intestinal microflora genus level in golden hamster with high fat ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	<i>Coriobacteriaceae</i> _UCG_002	<i>Bacteroides</i>	<i>Barnesiella</i>	<i>Odoribacter</i>	<i>Rikenellaceae</i> _RC9_gut_group	Family_XIII_AD3_011_group
正常		0.004±0.001	1.640±1.331	0.127±0.097	0.033±0.007	0.096±0.061	0.023±0.013
模型		0.048±0.022 ²⁾	0.228±0.102 ¹⁾	0.002±0.001 ²⁾	0.002±0.002 ²⁾	0.014±0.010 ¹⁾	0.000±0.000 ²⁾
复方	1.42	0.018±0.010 ³⁾	3.141±1.575 ⁴⁾	0.098±0.048 ⁴⁾	0.040±0.017 ⁴⁾	0.169±0.070 ⁴⁾	0.007±0.002 ⁴⁾
祛瘀	1.11	0.028±0.018	0.423±0.279 ⁶⁾	0.001±0.000 ⁶⁾	0.008±0.005 ⁵⁾	0.035±0.016 ⁵⁾	0.007±0.007
化痰	0.39	0.017±0.010 ³⁾	1.686±1.393 ³⁾	0.011±0.000	0.010±0.007 ⁵⁾	0.079±0.052	0.004±0.001
解毒	0.07	0.027±0.018	0.584±0.370 ⁵⁾	0.007±0.002 ⁶⁾	0.010±0.006 ⁵⁾	0.024±0.021 ⁶⁾	0.005±0.002
组别	剂量/g·kg ⁻¹	[<i>Eubacterium</i>] <i>_brachy_group</i>	<i>Acetatifactor</i>	<i>Coprococcus</i> _1	<i>Lachnospiraceae</i> _FCS020_group	<i>Roseburia</i>	<i>Anaerotruncus</i>
正常		0.053±0.034	0.032±0.011	0.026±0.014	0.035±0.006	0.191±0.094	0.410±0.266
模型		0.011±0.005 ²⁾	0.013±0.007 ²⁾	0.006±0.004 ²⁾	0.006±0.002 ²⁾	0.017±0.003 ²⁾	0.026±0.012 ²⁾
复方	1.42	0.049±0.028	0.068±0.035 ³⁾	0.081±0.052 ⁴⁾	0.025±0.010 ⁴⁾	0.062±0.025 ⁴⁾	0.192±0.116 ³⁾
祛瘀	1.11	0.014±0.009	0.016±0.010 ⁵⁾	0.014±0.010 ⁶⁾	0.011±0.002	0.048±0.022	0.076±0.047 ⁵⁾
化痰	0.39	0.045±0.038	0.028±0.018	0.044±0.023 ³⁾	0.027±0.018 ³⁾	0.071±0.030	0.192±0.178
解毒	0.07	0.020±0.015	0.020±0.010 ⁵⁾	0.035±0.023	0.017±0.013	0.053±0.017	0.072±0.067 ⁵⁾
组别	剂量/g·kg ⁻¹	<i>Oscillibacter</i>	<i>Ruminiclostridium</i> _9	<i>Ruminococcaceae</i> _NK4A214_group	<i>Ruminococcaceae</i> _UCG_005	<i>Desulfovibrio</i>	<i>Lactobacillus</i>
正常		0.200±0.145	0.196±0.111	0.060±0.024	0.045±0.030	0.400±0.274	11.556±2.891
模型		0.001±0.001 ²⁾	0.022±0.010 ¹⁾	0.007±0.005 ²⁾	0.004±0.002 ²⁾	0.030±0.019 ²⁾	2.388±0.873 ²⁾
复方	1.42	0.050±0.031 ³⁾	0.085±0.050 ³⁾	0.055±0.007 ⁴⁾	0.068±0.043 ⁴⁾	0.622±0.341 ⁴⁾	0.053±0.032
祛瘀	1.11	0.021±0.013	0.031±0.028	0.026±0.021 ⁵⁾	0.005±0.001 ⁶⁾	0.055±0.023 ⁶⁾	0.533±0.473
化痰	0.39	0.053±0.021 ³⁾	0.087±0.118	0.039±0.031 ³⁾	0.030±0.023	0.120±0.086 ⁶⁾	0.309±0.262
解毒	0.07	0.038±0.018	0.028±0.026	0.035±0.033	0.009±0.004 ⁵⁾	0.126±0.167 ⁵⁾	4.585±2.639



A. 科分类水平; B. 属分类水平; L/H. LDL-C/HDL-C

图 6 金黄色鼠肠道差异菌群与血脂指标关联性分析

Fig. 6 Correlation between intestinal microflora and blood lipid in golden hamster

肠道菌群与人体健康的关系越来越引起科学界的重视,甚至认为肠道菌群可看作人体的一个独

立的“器官”,认为肠道菌群能为人体提供营养、参与宿主共代谢、调节抗生素敏感性、诱导先天性免

疫^[15]。肠道菌群中>99%的细菌隶属于 Firmicutes 和 Bacteroidetes, 主要由厌氧菌组成, 有助于宿主的食物消化^[16-17]。有研究指出, 长期的高脂膳食可增加 Firmicutes 与 Bacteroidetes 的比值, 并且这一比值的改变与肥胖发生有关联^[17-19]。本研究结果亦显示高脂金黄地鼠模型组 F/B 值较正常组明显升高, 祛瘀化痰通脉方及各配伍组均能够显著降低 F/B 值, 说明祛瘀化痰通脉方及其配伍组均有助于改善高脂饲料引起的金黄地鼠肠道菌群 Firmicutes 和 Bacteroidetes 比例失调。

宿主和肠道微生物群之间的互利关系依赖于复杂的分子交互作用, 如肠道菌群通过消化降解膳食纤维等产生短链脂肪酸(SCFA), 三甲胺-氮-氧化物(TMAO)等^[20-21], 肠道菌群还参与人体合成非必需氨基酸: 天冬氨酸、丙氨酸等, 以及氨基酸的代谢过程^[22], 通过影响肠道 pH 值、肠道通透性, 抑制有害细菌的繁殖, 增强肠黏膜的免疫功能, 保持肠道内稳态, 同时参与机体炎症反应、脂质代谢、氨基酸代谢、神经递质传导等过程影响机体的健康状况及疾病的发展^[23-27]。本研究结果显示高脂金黄地鼠肠道内拟杆菌、乳酸杆菌、毛螺菌、罗氏菌、瘤胃球菌等菌群丰度较正常组下降, 中药干预可以调节这些菌群的丰度, 改善肠道微环境。这些差异菌群均可以影响 SCFAs 的产生, 包括乙酸盐、丁酸盐和丙酸盐等^[28-30]。瘤胃球菌能够产生丁酸盐, 也是已知与肥胖直接相关的菌群, 有研究显示肥胖个体肠道内其比例会显著上升^[31-33], 亦有研究表明其在高脂膳食宿主肠道内的相对丰度较低^[34-35]。肠道菌群还可以通过对氨基酸的代谢来影响 SCFAs 的生成, 如在肠道微生物的作用下, 亮氨酸、异亮氨酸降解形成异戊酸, 缬氨酸代谢形成异丁酸, 脯氨酸代谢产生戊酸^[36]。研究报告膳食蛋白质的降解导致色氨酸的释放, 而色氨酸可被拟杆菌、乳酸杆菌、梭菌属、瘤胃球菌、厌氧棍状菌属、脱硫弧菌等肠道微生物群转化为各种代谢活性物, 包括吲哚、色胺、吲哚乙醇等, 这些分解代谢产物通过肠上皮吸收进入血液, 并以多种方式发挥抑制食欲、胰岛素分泌、减缓胃排空、免疫调控、抗氧化和抗炎作用^[37]。在本研究中, 以上相关菌群在模型组中相对丰度显著降低, 复方干预后相应菌群丰度发生了回调。同时, 课题组在进行靶向代谢组分析时发现血清中脯氨酸、色氨酸、吲哚类、戊酸等的含量发生了变化, 变化趋势与文献报导一致, 另外天冬氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸及异亮氨酸等支链氨基酸、芳香氨基酸和非

必需氨基酸也发生了改变, 而复方干预后可以进行了回调。同时相关性分析结果显示乳酸杆菌属、罗氏菌属及颤杆菌属等与血脂指标 TC, TG, LDL-C/HDL-C 值呈负相关, 即血脂异常情况下这些菌群的丰度较低, 且具有较高相关性, 这可以为临床疾病预测或风险评估提供借鉴或者思路。

研究从中药复方及其配伍对肠道菌群的影响来阐释中药复方功效配伍的科学性, 从研究结果可以看出祛瘀化痰通脉方较各配伍组对菌群的调节作用确实更强, 包括调节强度和菌群种类, 化痰组和解毒组调节的菌群也各有优势, 如化痰组和解毒组分别对真杆菌科、乳酸杆菌科特异性的调节作用。另外, 解毒组只有一味黄连, 但是未能显现出其他相关报道中较强的菌群调节作用^[38-39], 研究者分析由于是复方拆方, 黄连的给药量与复方中的药量是一致的, 导致单味药的给药量较低, 主要有效成分小檗碱的含量则更低, 所以对肠道菌群的改善效果并不是很显著, 但对血脂的调控作用与文献报道还是一致的^[40-41]。祛瘀组对高脂血症金黄地鼠肠道菌群未显示出明显的调节作用, 其与化痰组均有人参, 而化痰组显示出更接近于复方组对高脂血症金黄地鼠肠道菌群的调节作用, 研究者分析认为各配伍组之间的作用差异可能与药物配伍有关, 化痰组伍以长于去除痰浊的泽泻和红曲, 相应的脂质代谢紊乱的调节作用则体现的更加显著, 而祛瘀组中伍以长于活血的丹参、川芎和山楂, 高脂血症模型中瘀血症状不甚显著, 因而祛瘀效果体现的也就不明显, 这与中医“方证相应”的思想是一致的, 亦体现了中药复方配伍的优势和科学性。以上结果显示, 各给药组在控制体质量、血脂、肝脂肪变性及改善高脂血症金黄地鼠肠道菌群微环境方面均有不同程度的改善作用, 但整体来看祛瘀化痰通脉方各方面的调节作用均明显优于各配伍组, 在一定程度上提供了中药复方配伍的科学依据, 同时表明调节肠道菌群微环境是中药复方祛瘀化痰通脉方起效的作用机制之一。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] FENG Q, CHEN W D, WANG Y D. Gut microbiota: an integral moderator in health and disease[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 151.
- [2] 熊艳华, 曾文平, 方娟. 老年慢性心力衰竭程度与肠道菌群的关系[J]. 中国微生态学杂志, 2021, 33(6): 662-665, 669.

- [3] 刘婉君. 基于机器学习的肠道菌群与肥胖状态关系研究[D]. 大连:大连理工大学, 2021.
- [4] WANG H, YANG F, XIN R, et al. The gut microbiota attenuate neuroinflammation in manganese exposure by inhibiting cerebral NLRP3 inflammasome [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 129: 110449.
- [5] 周梦玲, 李婷, 倪敬年, 等. 帕金森病肠道菌群与中医证候的相关性研究[J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(5): 2274-2278.
- [6] 尹胡海. 基于16S rDNA分析黄连解毒汤对高脂饲养的SHR肠道菌群的影响[D]. 南宁:广西中医药大学, 2020.
- [7] 张雅心, 江伟豪, 陈奕濂, 等. 从心论治方对ApoE^{-/-}小鼠血脂和肠道菌群的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2020, 31(8): 892-899.
- [8] 卢永康, 陈窈圆, 庄贤勉, 等. 基于调节肠道菌群失衡的四君子汤干预心力衰竭大鼠机制研究[J]. *中国中医药信息杂志*, 2021, 28(4): 81-87.
- [9] 李磊, 刘建勋, 任建勋, 等. 祛瘀化痰通脉颗粒对比格犬心脏血流动力学及心肌耗氧量的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(9): 90-98.
- [10] 任建勋, 李磊, 林成仁, 等. 痰瘀同治方对小型猪冠状动脉粥样硬化炎症反应的影响[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(2): 285-290.
- [11] 林成仁, 李磊, 任建勋, 等. 痰瘀同治方对小型猪痰瘀互结证冠心病血液流变性及血脂的改善作用[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(2): 300-303.
- [12] 马悦颖, 刘建勋, 李澎, 等. 痰瘀同治方含药血清对ox-LDL损伤人脐静脉内皮细胞NF- κ B和ICAM-1表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(5): 140-144.
- [13] 王建辉, 李磊, 柳芳, 等. 痰瘀同治方对大鼠颈总动脉粥样硬化易损斑块稳定性的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(20): 136-140.
- [14] 杨康敏. 叙利亚金黄地鼠高脂血症和动脉粥样硬化模型快速建立及药效学评价关键技术研究[D]. 北京:北京协和医学院, 2013.
- [15] JIANG X, HALL A B, ARTHUR T D, et al. Invertible promoters mediate bacterial phase variation, antibiotic resistance, and host adaptation in the gut[J]. *Science*, 2019, 363(6423): 181-187.
- [16] OJEDA P, BOBE A, DOLAN K, et al. Nutritional modulation of gut microbiota-the impact on metabolic disease pathophysiology [J]. *J Nutr Biochem*, 2016, 28: 191-200.
- [17] USSAR S, GRIFFIN N W, BEZY O, et al. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet modulate the predisposition to obesity and metabolic syndrome[J]. *Cell Metab*, 2015, 22(3): 516-530.
- [18] LEY R E, TURNBAUGH P J, KLEIN S, et al. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity[J]. *Nature*, 2006, 444(7122): 1022-1023.
- [19] SHI L L, LI Y, WANG Y, et al. MDG-1, an ophiopogon polysaccharide, regulate gut microbiota in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 81: 576-583.
- [20] KOH A, DE VADDER F, KOVATCHEVA-DATCHARY P, et al. From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites[J]. *Cell*, 165(6): 1332-1345.
- [21] ORGAN C L, OTSUKA H, BHUSHAN S, et al. Choline diet and its gut microbe-derived metabolite, trimethylamine N-oxide, exacerbate pressure overload-induced heart failure [J]. *Circulation Heart Failure*, 2016, 9(1): e002314.
- [22] VELAGAPUDI V R, HEZAVEH R, REIGSTAD C S, et al. The gut microbiota modulates host energy and lipid metabolism in mice[J]. *J Lipid Res*, 2010, 51(5): 1101-1112.
- [23] FROST G, SLEETH M L, SAHURI-ARISOYLU M, et al. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 3611.
- [24] WANG Z, KLIPFELL E, BENNETT B J, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease [J]. *Nature*, 2011, 472(7341): 57-63.
- [25] JIA Q, LI H, ZHOU H, et al. Role and effective therapeutic target of gut microbiota in heart failure[J]. *Cardiovasc Ther*, 2019, doi: 10. 1155/2019/5164298.
- [26] GIAU V V, WU S Y, JAMERLAN A, et al. Gut microbiota and their neuroinflammatory implications in Alzheimer's disease [J]. *Nutrients*, 2018, 10(11): 1765.
- [27] WALL R, CRYAN J F, ROSS R P, et al. Bacterial neuroactive compounds produced by psychobiotics[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2014, 817: 221-239.
- [28] CAO Y N, FENG L J, WANG B M, et al. *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium longum* supernatants upregulate the serotonin transporter expression in intestinal epithelial cells [J]. *Saudi J Gastroenterol*, 2018, 24(1): 59-66.
- [29] MEEHAN C J, BEIKO R G. A phylogenomic view of ecological specialization in the lachnospiraceae, a family of digestive tract-associated bacteria [J]. *Genome Biol Evol*, 2014, 6(3): 703-713.

- [30] LOUIS P, FLINT H J. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota[J]. *Environ Microbiol*, 2017, 19(1): 29-41.
- [31] 沙继斌, 张静, 隋波, 等. 有氧运动与复合多糖干预对高脂膳食诱导肥胖大鼠肠道菌群的影响[J]. *中国运动医学志*, 2018, 37(4): 328-336.
- [32] ARUMUGAM M, RAES J, PELLETIER E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome[J]. *Nature*, 2011, 473(7346): 174-180.
- [33] DANIEL H, GHOLAMI A M, BERRY D, et al. High-fat diet alters gut microbiota physiology in mice[J]. *ISME J*, 2014, 8(2): 295-308.
- [34] 夏雪娟, 李冠楠, 廖丽婷, 等. 基于 Miseq 测序技术分析高脂膳食对不同性别 SD 大鼠盲肠菌群的影响[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(1): 223-232.
- [35] 林玲, 刘芷君, 雷郑延, 等. 茶籽皂苷对高脂血症大鼠肠道菌群的影响研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2020, 32(2): 173-181.
- [36] 张小芳. 利用体外发酵模型研究人体肠道中氨基酸代谢[D]. 杭州: 浙江师范大学, 2020.
- [37] ROAGER H M, LICHT T R. Microbial tryptophan catabolites in health and disease[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 3294.
- [38] 王鑫喆, 沈梦婷, 闫鹏举, 等. 黄连生物碱类活性成分与肠道菌群相互作用的研究进展[J]. *中国药房*, 2021, 32(1): 109-115.
- [39] LI D, ZHENG J, HU Y, et al. Amelioration of intestinal barrier dysfunction by berberine in the treatment of nonalcoholic fatty liver disease in rats[J]. *Pharmacogn Mag*, 2017, 13(52): 677-682.
- [40] 谭文倩, 李锐, 于鑫, 等. 低剂量黄连素对小鼠肠道短链脂肪酸和胆汁酸成分以及血脂的影响[J]. *复旦学报: 医学版*, 2020, 47(1): 93-100.
- [41] 贺凯. 黄连生物碱调节高脂 C57BL/6J 小鼠胆汁酸信号通路和肠道微生物改善血脂异常研究[D]. 重庆: 西南大学, 2017.

[责任编辑 周冰冰]