

基于“心与小肠相表里”探讨回肠菌群在七圣丸 抗阿尔茨海默病中的变化

许青, 赵晓芹, 刘彦君, 熊伟, 文铃森, 向春晓, 陈春兰, 魏桂花, 闫智勇*
(西南交通大学生命科学与工程学院, 成都 610000)

[摘要] 目的:在“心与小肠相表里”理论指导下,探究七圣丸治疗阿尔茨海默病的作用及其对回肠菌群的影响。方法:采用双侧脑室注射 β -淀粉样蛋白1-42($A\beta_{1-42}$)的方法建立阿尔茨海默病(AD)模型,将大鼠随机分为正常组、假手术组、模型组及七圣丸低、中、高剂量组(5.6, 11.2, 22.4 g·kg⁻¹·d⁻¹)和多奈哌齐组(多奈哌齐, 0.46 mg·kg⁻¹·d⁻¹),连续给药28 d后,采用水迷宫实验观察大鼠的空间记忆能力,酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测海马组织中的 $A\beta_{1-42}$ 和核转录因子- κ B(NF- κ B),肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-6(IL-6)含量。另取其回肠内容物采用16S rRNA高通量测序技术检测各组大鼠回肠菌群的变化。结果:与正常组和假手术组比较,模型组的大鼠的目标象限停留时间、目标象限穿越次数与平台穿越次数明显降低($P<0.05$, $P<0.01$),海马中的 $A\beta_{1-42}$ 含量显著升高($P<0.01$),中枢炎症因子NF- κ B, TNF- α , IL-6水平明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较,七圣丸各给药组可明显回调其空间记忆功能损伤($P<0.05$, $P<0.01$),改善大鼠海马组织的 $A\beta_{1-42}$ 沉积($P<0.05$, $P<0.01$),明显降低中枢神经炎症因子表达($P<0.05$, $P<0.01$),对AD大鼠有良好的治疗作用。16S分析结果表明模型组大鼠的回肠菌群结构相对于正常组和假手术组显著偏离,且毛螺菌科NK4A136(*Lachnospiraceae* NK4A136 group)的丰度显著升高($P<0.01$),埃希氏菌-志贺氏菌(*Escherichia-Shigella*)的丰度明显降低($P<0.05$, $P<0.01$)。而七圣丸给药组可显著调节大鼠回肠的菌群结构,同时调节*Lachnospiraceae* NK4A136 group, *Escherichia-Shigella*, 瘤胃菌科(Ruminococcaceae)等菌群的相对丰度。结论:七圣丸对阿尔茨海默病有良好的治疗效果,可明显增强AD大鼠的记忆认知能力,其作用机制可能与调节大鼠回肠菌群结构以及*Lachnospiraceae* NK4A136 group, *Escherichia-Shigella*, Ruminococcaceae等菌群的相对丰度,减轻中枢神经炎症反应,降低中枢 $A\beta_{1-42}$ 沉积有关。

[关键词] 阿尔茨海默病; 七圣丸; β -淀粉样蛋白1-42($A\beta_{1-42}$); 回肠菌群; 神经炎症

[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)04-0009-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220103 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20211111.1533.003.html>

[网络出版日期] 2021-11-15 11:14

Changes in Ileal Flora Induced by Qishengwan in Treatment of Alzheimer's Disease: An Exploration Based on "Interior-Exterior Relationship Between Heart and Small Intestine"

XU Qing, ZHAO Xiao-qin, LIU Yan-jun, XIONG Wei, WEN Ling-miao, XIANG Chun-xiao,
CHEN Chun-lan, WEI Gui-hua, YAN Zhi-yong*

(College of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610000, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of Qishengwan on ileal flora during its treatment of Alzheimer's disease (AD) under the guidance of the theory of "interior-exterior relationship between heart and small intestine". **Method:** The AD model was established by bilateral intraventricular injection of β -amyloid 1-42 ($A\beta_{1-42}$). The rats were then randomly divided into the blank group, sham-operated group, model group,

[收稿日期] 20210907(003)

[基金项目] 中央高校基本科研业务费专项(2682020ZT81);四川省中医药管理局中医药科研专项(2021MS099);成都市科技局技术创新研发项目(2021-YF05-02379-SN)

[第一作者] 许青,在读硕士,从事中药药理学研究, Tel:028-66366831, E-mail: xuqing_915@163.com

[通信作者] * 闫智勇, 博士, 教授, 从事中药药理学研究, Tel:028-87601838, E-mail: yzhiy@swjtu.edu.cn

low-, medium-, and high-dose (5.6, 11.2, 22.4 g·kg⁻¹·d⁻¹) Qishengwan groups, and donepezil (0.46 mg·kg⁻¹·d⁻¹) group. After medication for 28 successive days, the spatial memory ability of rats was observed in water maze test, and the levels of A β ₁₋₄₂, nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interleukin-6 (IL-6) in the hippocampus were analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Additionally, the contents of the ileum were collected and subjected to 16SrRNA-sequencing analysis for figuring out the changes in ileal flora. **Result:** Compared with the blank group and sham-operated group, the model group exhibited significantly reduced stay time in the target quadrant and number of target quadrant and platform crossings ($P < 0.05$, $P < 0.01$) and elevated A β ₁₋₄₂ content in the hippocampus ($P < 0.01$) and central inflammatory factors NF- κ B, TNF- α , and IL-6 ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, Qishengwan at each dose significantly alleviated the impaired spatial memory function ($P < 0.05$, $P < 0.01$), improved the deposition of A β ₁₋₄₂ in the hippocampus of rats ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and reduced the expression of central nervous system inflammatory factors ($P < 0.05$, $P < 0.01$), thus exerting a good therapeutic effect on AD rats. The 16SrRNA-sequencing analysis results showed that the structure of the ileal flora in the model group was significantly separated from those in the blank group and sham-operated group. The abundance of *Lachnospiraceae NK4A136 group* was significantly increased ($P < 0.01$), while that of *Escherichia-Shigella* was reduced ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Qishengwan at each dose significantly changed the ileal flora structure and regulated the relative abundance of *Lachnospiraceae NK4A136 group*, *Escherichia-Shigella*, and *Ruminococcaceae*. **Conclusion:** Qishengwan has a positive therapeutic effect on AD. It can significantly enhance the memory and cognitive abilities in AD rats, which may be related to its regulation of the structure of rat ileal flora and the relative abundance of *Lachnospiraceae NK4A136 group*, *Escherichia-Shigella*, and *Ruminococcaceae*, the attenuation of the central neuroinflammatory response, and the reduction of central A β ₁₋₄₂ deposition.

[Keywords] Alzheimer's disease (AD); Qishengwan; β -amyloid 1-42 (A β ₁₋₄₂); ileal flora; neuroinflammation

中医学认为人体是一个有机整体,脏腑有表里相合的关系,“心与小肠相表里”是中医藏象基本理论之一。“心主神明”是心的主要功能之一,指心有主宰整个人体生命活动的作用,并主司意识、思维、情志等神志活动,这正是中医藏象学说心的功能范畴既包含心血管系统,又涉及中枢神经系统的独特认识^[1]。因此根据“心与小肠相表里”理论,中枢神经系统的生理病理和小肠密切相关,这就指明了中枢神经系统疾病如阿尔茨海默病(AD)的发生发展和小肠之间的病因病机相关性。

AD是目前普遍存在的一种中枢神经退行性疾病,其病理特征主要为脑内 β -淀粉样蛋白(A β)沉积和Tau蛋白过度磷酸化,临床表现始于轻微的记忆力衰退,最终可发展为严重的自理能力和认知功能缺陷^[2-3]。其病因和发病机制仍未十分明确,发病率却持续增加,根据《2016年世界AD报告》预测到2050年全球痴呆症患者数量将增加至1.31亿^[4]。肠道菌群是寄生于人或动物肠道内的复杂微生物群落,参与人体的消化、代谢、免疫调节、能量转换等

环节^[5]。肠道菌群在调节脑-肠轴的双向信号传导中起着重要作用,许多文献对其潜在机制进行了探究。有研究表明,通过特定的营养干预以及使用益生菌等来调节肠道微生物可以预防或改善AD症状^[6-7]。此外,中药复方柴胡疏肝散可调节AD模型小鼠的肠道菌群结构,使其肠道菌群多样性恢复^[8]。

七圣丸出自《圣济总录·卷第四十三·心脏门》,由白茯苓(去黑皮)、桂(去粗皮)、远志(去心)、人参、天冬(去心焙)、石菖蒲、地骨皮7味药组成。茯苓健脾补中,宁心安神,人参补肺益脾、益智宁神,石菖蒲开心窍、提神智,配远志安神益智、交通上下,及天冬、地骨皮、肉桂调合阴阳,全方可奏健脾安神、开窍益智、通上下、调阴阳之功。有研究表明其具有抗缺氧、抗脂质过氧化、免疫调节等功能^[9-10]。此外,方玉珍等^[11]发现七圣丸水煎液可逆转东莨菪碱所致的小鼠记忆和认知功能障碍。

本研究基于“心与小肠相表里”这一传统中医理论,采用双侧脑室注射A β ₁₋₄₂的方法建立AD大鼠模型,并用七圣丸水煎液干预治疗,通过16SrRNA

高通量测序分析七圣丸水煎液对AD大鼠回肠菌群的影响,从而探究回肠菌群在七圣丸治疗AD中的作用,为AD的治疗及其药物开发提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SPF级SD大鼠,雌雄各半,体质量(180±10)g,购自中国成都达硕实验动物有限公司,合格证号SCXK(川)2015-030。动物饲养于西南交通大学生命科学与工程学院动物实验室,大鼠自由饮食饮水。实验已由西南交通大学动物伦理委员会批准,批准编号为SWJTU-2006-001。

1.2 药材 七圣丸组成药材均购于中国四川省成都市荷花池中药材批发市场,经西南交通大学宋良科副教授鉴定分别为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* 的干燥菌核、樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* 的干燥树皮、远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* 或卵叶远志 *P. sibirica* 的干燥根、五加科植物人参 *Panax ginseng* 的干燥根和根茎、百合科植物天冬 *Asparagus cochinchinensis* 的干燥块根、天南星科植物石菖蒲 *Acorus tatarinowii* 的根茎、茄科植物枸杞 *Lycium chinense* 的干燥根皮。

1.3 药品与试剂 盐酸多奈哌齐片[卫材(中国)药业有限公司,批号H20050978];大鼠Aβ₁₋₄₂(大连美仑生物技术有限公司,批号J0426A);生理盐水(四川科伦药业股份有限公司,批号H51021158);Zymo Research BIOMICS DNA 显微制备试剂盒(美国Zymo公司,批号D4301);TOYOBO KOD-Plus-Neo DNA Polymerase 酶(日本Toyobo公司,批号KOD-401B);Zymo clean Gel Recovery 试剂盒(美国Zymo公司,批号D4008);NEBNext Ultra II DNA Library Prep 试剂盒(美国New England Biolabs公司,批号NEB#E7645L);Hiseq Rapid SBS Kit v2(美国Illumina公司,批号FC-402-4023 500 Cycle);大鼠Aβ₁₋₄₂ 试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,批号6C739NJD9);大鼠核转录因子-κB(NF-κB)测定试剂盒(上海茁彩生物科技有限公司,批号1204E19);TNF-α,IL-6测定试剂盒(依科赛生物科技有限公司,批号分别为211268,211295)。

1.4 仪器 DW-2000型脑立体定位仪,Exp Trade C0.Ltd Morris型水迷宫系统(成都泰盟软件公司);艾柯Exceed-Cd-16型超纯水仪(成都唐氏康宁科技发展有限公司);HH-4型恒温水浴锅(常州澳华仪器有限公司);LDZM-60L型压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂);ES10K-1D型电子天平,JD110-4型分析天平(沈阳龙腾电子有限公司);GeneAmp

PCR System 9700型扩增仪(美国ABI公司);Centrifuge 5418型离心机,ThermoMixer C型恒温混匀仪(德国Eppendorf公司);Bio-Rad DNA Engine Opticon 2型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(美国Bio-Rad公司);Illumina HiSeq 2500 System型测序仪(美国Illumina公司)。

2 方法

2.1 药物制备 由现代常用剂量确定人日剂量茯苓30g,远志、地骨皮、肉桂、天冬、人参以及石菖蒲各15g。换算大鼠低、中、高给药剂量分别为5.6, 11.2, 22.4 g·kg⁻¹·d⁻¹。称取茯苓420g,肉桂、远志、人参、天冬、石菖蒲、地骨皮各210g,粉碎,用4倍量水浸泡1h后煎煮3次,所用时长分别为1h,30min,30min。将3次煎煮所得滤液合并,浓缩配制成不同浓度的七圣丸水煎液,即低剂量0.56 g·mL⁻¹,中剂量1.12 g·mL⁻¹,高剂量2.24 g·mL⁻¹(以人的等效剂量换算)。

根据盐酸多奈哌齐的药品说明书可知成人治疗量为5 mg·d⁻¹,以人的等效剂量换算可得大鼠给药剂量为0.46 mg·kg⁻¹·d⁻¹。取适量盐酸多奈哌齐片研细,称质量,加蒸馏水配制成质量浓度为0.046 g·L⁻¹溶液,4℃冷藏备用。参考文献[12],使用无菌生理盐水将Aβ₁₋₄₂稀释至2 g·L⁻¹,在37℃恒温培养箱中连续孵育7d,使其成为聚集状态,4℃冷藏备用。

2.2 AD模型的制备 所有大鼠适应性饲养7d后,将其随机分为正常组(10只)、假手术组(10只)和造模组(50只)。正常组不作处理。假手术组和造模组将大鼠麻醉后,用手术剪清理头部毛发,并固定在脑立体定位仪上。手术开始前对手术区域消毒,切开头顶正中间皮肤,找到囟门^[13]。以前囟为原点,前囟靠后3.2mm,中线旁2.0mm处为左右两个标志点,各钻一孔,颅骨表面下2.9mm为Aβ₁₋₄₂注射点。假手术组大鼠使用微量注射器于两注射点分别缓慢注射无菌生理盐水2 μL,造模组则缓慢注射Aβ₁₋₄₂ 2 μL。

2.3 动物分组及给药 造模手术结束后,将造模组的50只大鼠随机分为模型组(10只),七圣丸低剂量组(10只,5.6 g·kg⁻¹·d⁻¹),七圣丸中剂量组(10只,11.2 g·kg⁻¹·d⁻¹),七圣丸高剂量组(10只,22.4 g·kg⁻¹·d⁻¹)和多奈哌齐组(10只,0.46 mg·kg⁻¹·d⁻¹多奈哌齐溶液)。造模结束7d后,各给药组分别灌胃相应剂量的七圣丸水煎液,正常组、假手术组和模型组均灌胃等体积的蒸馏水,10 mL·kg⁻¹,每天

1次,连续28 d。

2.4 行为学实验 给药结束后进行水迷宫实验。参考 Morris 水迷宫的经典方法^[14],使用由水池、可移动平台和图像采集分析系统组成的实验装置。将水池划分为4个象限,在第三象限中设置一个低于水面2 cm的平台。在实验的前5 d,对大鼠进行训练,将大鼠面朝水池壁放入水中,若其在120 s内找到平台则使其在平台上停留20 s;若未找到平台,则引导其找到平台并停留20 s。在实验的第6天,撤去平台,将大鼠从相同的位置放入泳池中,记录大鼠在规定时间内(120 s)穿越目标象限、平台的次数及时间等。

2.5 样品收集与处理 水迷宫实验结束后,各组大鼠禁食不禁水12 h后处死。在冰盘上快速分离其海马组织,收集回肠内容物放置于灭菌干燥后的冻存管中,-80 °C储存备用。

2.6 海马组织的 $A\beta_{1-42}$ 和炎症因子检测 ELISA 试剂盒测定海马组织中 $A\beta_{1-42}$ 和核转录因子- κ B (NF- κ B),肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-6 (IL-6)含量,具体操作严格参照试剂盒检测要求。

2.7 肠道菌群 16SrRNA 高通量测序 从各组粪便样品中随机抽取4个进行16SrRNA高通量测序。正常组、假手术组、模型组、七圣丸低、中、高剂量组、多奈哌齐组分别编号为A1-A4, B1-B4, C1-C4, D1-D4, E1-E4, F1-F4, G1-G4。采用 Zymo Research BIOMICS DNA Microprep Kit (Cat# D4301) 进行样本DNA纯化,并检测其浓度。根据测序区域,合成带有索引序列的特异引物对样本的16S rDNA V4区域进行扩增,扩增引物序列如下,Primer5'-3': 515F (5' -GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 806R (5' -GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'), 扩增长度为292 bp(成都罗宁生物科技有限公司)。PCR程序为预变性94 °C 1 min, 1个循环;变性94 °C 20 s,退火54 °C 30 s和延伸72 °C 30 s, 25~30个循环;72 °C 5 min, 1个循环;4 °C保温。扩增产物进行检测回收并定量,根据样本的测序量要求进行等摩尔量混合。使用 NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit for Illumina 构建测序文库,采用 PE250 方式进行测序。

2.8 菌群分析 使用 QIIME 对各样品原始序列进行质控和过滤。基于 Usearch 软件,使用 UPARSE 算法在97%的一致性水平上进行了 OTU 聚类,挑选每个 OTU 中出现频数最高的序列作为 OUT 的代表性序列。使用 R 语言进行群落组成分析,Alpha 多

样性和 Beta 多样性分析,使用 LEfse 进行差异物种分析。

2.9 统计学分析 实验结果采用 SPSS 22.0 和 Graphpad Prism 8.0 进行分析,组间样本参数比较采用 One-way ANOVA 进行统计学分析,数据均用 $\bar{x}\pm s$ 表示, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 AD 大鼠行为学的影响 与正常组和假手术组比较,模型组大鼠目标象限停留时间、目标象限穿越次数与平台穿越次数均明显减少($P<0.05$, $P<0.01$);与模型组比较,七圣丸水煎液低、中、高剂量组和多奈哌齐组的目标象限停留时间、目标象限穿越次数与穿越平台次数均明显增加($P<0.05$, $P<0.01$)。见表1。

表1 七圣丸对AD大鼠行为学的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Effect of Qishengwan on behavior of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	目标象限停留 时间/s	目标象限穿越 次数/次	平台穿越次 数/次
正常		45.26±2.29	46.00±7.51	7.50±0.81
假手术		41.78±2.23	38.80±7.69	5.20±0.47
模型		30.17±2.29 ^{1,3)}	13.00±1.10 ^{1,4)}	1.90±0.23 ^{1,4)}
多奈哌齐	0.000 46	40.33±2.41 ⁵⁾	41.00±7.35 ⁵⁾	5.30±1.34 ⁶⁾
七圣丸	5.6	41.71±2.38 ⁵⁾	35.00±7.57 ⁶⁾	6.90±0.89 ⁵⁾
	11.2	41.92±1.85 ⁵⁾	44.10±7.20 ⁵⁾	7.00±1.48 ⁵⁾
	22.4	39.68±1.82 ⁵⁾	37.10±7.55 ⁶⁾	5.70±0.90 ⁵⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与假手术组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$;与模型组比较⁵⁾ $P<0.05$,⁶⁾ $P<0.01$ (表2~6同)。

3.2 对 AD 大鼠海马组织中 $A\beta_{1-42}$ 沉积的影响 与正常组和假手术组比较,模型组大鼠海马中的 $A\beta_{1-42}$ 含量显著增加($P<0.01$);与模型组比较,七圣丸水煎液低、中、高剂量组和多奈哌齐组均可显著降低大鼠海马中的 $A\beta_{1-42}$ 含量($P<0.05$, $P<0.01$)。表明七圣丸水煎液可降低 AD 大鼠海马组织中的 $A\beta_{1-42}$ 沉积。见表2。

3.3 对 AD 大鼠海马组织中 NF- κ B, TNF- α , IL-6 的影响 与正常组和假手术组比较,模型组大鼠海马中的 IL-6, TNF- α , NF- κ B 含量明显增加($P<0.05$, $P<0.01$);与模型组比较,七圣丸水煎液低、中、高剂量组和多奈哌齐组均明显降低大鼠海马中的 IL-6, TNF- α , NF- κ B 含量,差异有明显统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。见表3。

3.4 对 AD 大鼠回肠菌群多样性的影响

3.4.1 α 多样性分析 为研究样本的物种组成和多样性信息,对测序序列在97%的相似水平下进行了

表2 七圣丸对AD大鼠海马组织中Aβ₁₋₄₂沉积的影响 ($\bar{x} \pm s, n=7$)

Table 2 Effect of Qishengwan on Aβ₁₋₄₂ deposition in hippocampus of AD rats ($\bar{x} \pm s, n=7$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Aβ ₁₋₄₂ /ng·L ⁻¹
正常		213.31±15.16
假手术		225.81±7.20
模型		386.43±36.82 ^{1,3)}
多奈哌齐	0.000 46	251.28±19.83 ⁵⁾
七圣丸	5.6	237.58±43.26 ⁵⁾
	11.2	285.96±35.88 ⁶⁾
	22.4	255.23±35.48 ⁵⁾

OTU聚类分析,各组大鼠回肠菌群在不同分类水平的OUT数量有明显差异。稀释曲线常用于表征样本物种丰富度随测序深度的变化趋势,当曲线趋于平缓时可认为测序深度已经基本覆盖到样品中所

有的物种。本研究测序深度足够,可以进行后续分析。见增强出版附件材料。

α多样性用于表征样本的物种丰富程度,Chao1, Shannon, PD为常用的3个指数,其中Chao1指数用于估算物种总数;Shannon指数用于评估物种数与均匀性;PD指数用于表明菌群丰度,且包括稀有物种丰度。与正常组比较,模型组Chao1, Shannon, PD指数均明显降低($P<0.05, P<0.01$),与假手术组比较Chao1, PD指数明显降低($P<0.05, P<0.01$)。与模型组比较,七圣丸水煎液低、中、高剂量组各指数差异无统计学意义,多奈哌齐组与模型组比较Chao1, Shannon指数降低($P<0.01$)。由此表明,双侧脑室注射Aβ₁₋₄₂降低了大鼠的物种数与均匀性,七圣丸水煎液对大鼠回肠菌群的α多样性无明显改善作用。见表4。

表3 七圣丸对AD大鼠海马组织中NF-κB, TNF-α, IL-6的影响 ($\bar{x} \pm s, n=7$)

Table 3 Effect of Qishengwan on NF-κB, TNF-α and IL-6 in hippocampus of AD rats ($\bar{x} \pm s, n=7$)

ng·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	NF-κB	TNF-α	IL-6
正常		288.97±1.76	52.20±9.40	106.50±8.76
假手术		301.36±5.93	55.60±2.92	111.77±16.75
模型		351.67±10.34 ^{1,3)}	100.19±8.32 ^{1,3)}	162.44±22.66 ^{2,4)}
多奈哌齐	0.000 46	299.16±8.79 ⁵⁾	62.98±1.93 ⁵⁾	109.92±3.04 ⁶⁾
七圣丸	5.6	293.56±5.01 ⁵⁾	58.65±2.50 ⁵⁾	114.54±24.90 ⁶⁾
	11.2	297.07±3.42 ⁵⁾	52.82±2.05 ⁵⁾	103.95±9.06 ⁶⁾
	22.4	296.84±4.83 ⁵⁾	57.83±1.74 ⁵⁾	115.19±7.10 ⁶⁾

表4 各组大鼠回肠菌群α多样性指数分析 ($\bar{x} \pm s, n=4$)

Table 4 Alpha diversity indexes analysis of ileal flora in each group ($\bar{x} \pm s, n=4$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Chao1	Shannon	PD
正常		2 978.18±64.96	5.99±0.11	162.39±3.128
假手术		2 256.35±108.52 ¹⁾	5.76±0.09	119.84±7.90 ¹⁾
模型		1 934.87±59.20 ^{1,4)}	5.63±0.03 ²⁾	91.15±1.73 ^{1,3)}
多奈哌齐	0.000 46	1 425.69±59.18 ⁵⁾	4.66±0.04 ⁵⁾	74.14±84.45
七圣丸	5.6	1 865.40±104.93	5.43±0.07	94.08±5.80
	11.2	1 827.64±842.30	5.43±0.08	94.21±94.78
	22.4	2 138.43±135.95	5.89±0.22	107.10±10.06

3.4.2 β多样性分析 β多样性用于表征样本间的差异。分别基于Bray-Curtis距离和Jaccard距离,利用主坐标分析(Principal Co-ordinates Analysis, PCoA)比较各组大鼠回肠微生物群落结构,进而评估各组样本的差异程度。通过图中样品点距离的远近,可观察个体或群体间的差异,距离越远则差异越大。见增强出版附件材料,模型组与正常组和假手术组的菌群结构差异明显,七圣丸水煎液低、

中、高剂量组和多奈哌齐组显著偏离模型组,而接近假手术组。由此表明,双侧脑室注射Aβ₁₋₄₂使大鼠回肠菌群结构改变,而七圣丸水煎液能有效改善AD大鼠的菌群紊乱。

3.5 对AD大鼠回肠菌落组成的影响

3.5.1 门水平回肠菌群组成 从28个样品中检测出45个菌门,其中拟杆菌门(Bacteroidetes),厚壁菌门(Firmicutes),变形菌门(Proteobacteria),放线菌

门(Actinobacteria)的丰度较高。与正常组比较,模型组 Bacteroidetes 和 Firmicutes 的丰度显著升高($P<0.01$), Proteobacteria 和 Actinobacteria 的丰度显著降低($P<0.01$);与假手术组比较, Firmicutes 的丰度显著升高($P<0.01$), Proteobacteria 的丰度显著降低,差异有显著统计学意义($P<0.01$)。与模型组比较,七

圣丸水煎液各给药组和多奈哌齐组可显著降低 Firmicutes 的丰度($P<0.01$),低剂量组可显著提升 Proteobacteria 的丰度,差异有明显统计学意义($P<0.01$),中、高剂量组和多奈哌齐组可明显提升 Bacteroidetes 的丰度($P<0.05, P<0.01$)。见增强出版附件材料。见表5。

表5 各组大鼠回肠菌群在门水平的优势菌群($\bar{x}\pm s, n=4$)

Table 5 Dominant flora of ileal flora in each group at phylum level ($\bar{x}\pm s, n=4$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Bacteroidetes	Firmicutes	Proteobacteria	Actinobacteria
正常		0.136±0.002	0.265±0.006	0.413±0.015	0.085±0.007
假手术		0.399±0.008 ¹⁾	0.338±0.003 ¹⁾	0.163±0.006 ¹⁾	0.021±0.003 ¹⁾
模型		0.387±0.012 ¹⁾	0.504±0.011 ¹⁾³⁾	0.050±0.001 ¹⁾³⁾	0.009±0.002 ¹⁾
多奈哌齐	0.000 46	0.695±0.006 ⁵⁾	0.172±0.000 ⁵⁾	0.031±0.001	0.004±0.000
七圣丸	5.6	0.372±0.009	0.450±0.006 ⁵⁾	0.134±0.001 ⁵⁾	0.009±0.001
	11.2	0.541±0.004 ⁵⁾	0.400±0.004 ⁵⁾	0.027±0.001	0.005±0.000
	22.4	0.469±0.040 ⁶⁾	0.420±0.018 ⁵⁾	0.055±0.012	0.010±0.002

3.5.2 属水平回肠菌群组成 从28个样品中检测出1078个属,其中拟杆菌属(*Bacteroides*),埃希氏菌-志贺氏菌(*Escherichia-Shigella*),普氏菌科 UCG-003(*Prevotellaceae UCG-003*),毛螺菌科 NK4A136(*Lachnospiraceae NK4A136 group*)的丰度较高。与正常组比较,模型组 *Escherichia-Shigella* 的丰度显著降低($P<0.01$), *Lachnospiraceae NK4A136 group* 的丰度显著升高($P<0.01$);与假手术组比较,模型组 *Bacteroides* 和 *Escherichia-Shigella* 的丰度明显降低

($P<0.05, P<0.01$), *Lachnospiraceae NK4A136 group* 的丰度显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,七圣丸水煎液各给药组和多奈哌齐组可明显提升 *Bacteroides* 的丰度($P<0.05, P<0.01$),同时显著降低 *Lachnospiraceae NK4A136 group* 的丰度($P<0.01$)。此外,低剂量组可显著提升 *Escherichia-Shigella* 的丰度($P<0.01$),中、高剂量组和多奈哌齐组可显著提升 *Prevotellaceae UCG-003* 的丰度($P<0.01$)。见表6。

表6 各组大鼠回肠菌群在属水平的优势菌群($\bar{x}\pm s, n=4$)

Table 6 Dominant flora of ileal flora in each group at genus level ($\bar{x}\pm s, n=4$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	<i>Bacteroides</i>	<i>Escherichia-Shigella</i>	<i>Prevotellaceae UCG-003</i>	<i>Lachnospiraceae NK4A136 group</i>
正常		0.034±0.001	0.219±0.018	0.005±0.000	0.011±0.001
假手术		0.247±0.009 ¹⁾	0.040±0.002 ¹⁾	0.015±0.000	0.018±0.001
模型		0.050±0.001 ³⁾	0.006±0.000 ¹⁾⁴⁾	0.006±0.000	0.100±0.003 ¹⁾³⁾
多奈哌齐	0.000 46	0.192±0.004 ⁵⁾	0.004±0.000	0.170±0.002 ⁵⁾	0.026±0.000 ⁵⁾
七圣丸	5.6	0.162±0.005 ⁵⁾	0.075±0.001 ⁵⁾	0.005±0.000	0.037±0.001 ⁵⁾
	11.2	0.095±0.001 ⁵⁾	0.004±0.000	0.051±0.003 ⁵⁾	0.025±0.001 ⁵⁾
	22.4	0.075±0.008 ⁶⁾	0.008±0.002	0.054±0.005 ⁵⁾	0.049±0.009 ⁵⁾

3.5.3 LEfse 分析差异物种分析 LEfse 分析常用于进行两组或多个分组之间类群的差异检验以及寻找重要的标志物,以 LDA 值>4 为标准,确定在各组中对组间差异贡献最大的菌群。LDA 值分布柱状图可显示各组在门、纲、目、科、属 5 个分类水平上显著富集的物种及其重要性程度,Cladogram 环形树状图以不同颜色节点区别各物种在不同组的富

集情况以及各差异物种的系统发生关系。由图6可得,正常组中有22个显著富集的物种,假手术组中有12个显著富集物种,模型组有7个显著富集物种,低剂量组有4个显著富集物种,中剂量组有12个显著富集物种,高剂量组有1个显著富集物种,多奈哌齐组有9个显著富集物种。从属水平来看, *Escherichia-Shigella*, 乳酸杆菌(*Lactobacillus*)等益

生菌主要富集在正常组中。毛囊菌属(*Muribaculum*),瘤胃菌科UCG_003(*Ruminococcaceae_UCG_003*),瘤胃菌科UCG_005(*Ruminococcaceae_UCG_005*),瘤胃菌科NK4A214(*Ruminococcaceae_NK4A214_group*)等菌属分别在低、中、高剂量组中富集。*Ruminococcaceae_UCG_003*,普雷沃氏菌科Ga6A1(*Prevotellaceae_Ga6A1_group*)富集在多奈哌齐组。而在模型组中主要富集了普氏菌属(*Prevotella* 9),毛螺菌科NK4A136(*Lachnospiraceae_NK4A136_group*)等。见增强出版附件材料。

4 讨论

《黄帝内经·素问·灵兰秘典论》曰:“小肠者,受盛之官,化物出焉。”小肠位于腹中,上接幽门与胃相通,下通过阑门与大肠相连,分为十二指肠、空肠和回肠这三个部分,是食物消化吸收的主要场所。中医学认为心与小肠通过经脉相互络属,互为表里,《黄帝内经·灵枢·经脉第十》曰:“心手少阴之脉,起于心中,出属心系,下膈,络小肠”,“小肠手太阳之脉,起于小指之端……入缺盆,络心”。心与小肠的表里关系在中医临床实践中发挥着重要作用,中医心的功能包括主血脉和主神明两个方面,其中主神明功能包含了现代中枢神经的部分功能,也即中枢神经系统与小肠生理、病理上密切相关^[1]。

现代医学在发现大脑与肠道通过交感神经系统、内分泌系统、免疫系统、肠道微生物等途径互通基础上,所进行的脑-肠轴、脑-肠-菌群轴的研究,与“心与小肠相表里”在“心主神明”角度具有高度切合性。其中肠道菌群在脑肠互通中的作用尤其引人注目^[15],因此其与AD发生、发展及防治的关系值得深入探讨。现代“脑-肠轴”研究对“心与小肠相表里”理论进行了较好的阐述,在情志方面将大脑的情感、认知与肠道功能密切联系起来^[16],脑可以通过神经系统、自主神经系统,同时联合肠神经系统共同发挥对肠道系统的调节功能,而肠道通过神经内分泌系统、免疫系统等途径将信息上传于大脑,二者相互为用、紧密联系,在人体生理病理中发挥重要作用^[17]。随着肠道菌群研究的日益丰富,人们发现肠道菌群的变化对肠道和中枢神经系统均可产生影响,在“脑-肠轴”的基础上进一步提出“脑-肠-菌群轴”概念。因此,中医学“心与小肠相表里”理论在一定程度上又可理解为中枢神经系统与肠道菌群的关系^[18]。

目前越来越多的研究表明肠道菌群与抑郁症、AD等中枢神经系统疾病关系密切。肠道菌群失调

可导致中枢神经炎症,A β 沉积和脑血管功能退化等,从而引发中枢的AD病变^[19]。因此,人们逐渐认识到调节肠道菌群是治疗AD潜在的新疗法,对此产生了大量研究。我国研发的首个靶向脑-肠轴的AD新药“甘露寡糖二酸GV-971”即可通过抑制肠道菌群失调及相关代谢物积累,改善神经炎症并逆转认知功能障碍^[20]。与此同时,笔者注意到现有研究多聚焦于结肠或粪便菌群,因其丰度高且标本易于获取而应用较为广泛。而哺乳动物的肠道分为不同的肠段,因pH值、含氧量、肠道蠕动强度等多种因素的影响,不同个体之间或同一个体不同肠段的菌落组成、数量、多样性等均存在一定差异^[21-22]。本研究基于“心与小肠相表里”的中医理论,以回肠菌群为出发点,探究了七圣丸对AD模型大鼠的认知功能、中枢神经炎症反应等的影响。

本实验采用双侧脑室注射A β_{1-42} 的方法建立AD模型,通过水迷宫实验评价其空间学习与记忆力,结果显示与正常组和假手术组比较,模型组大鼠的目标象限停留时间、目标象限穿越次数与平台穿越次数均显著减少,表明双侧脑室注射A β_{1-42} 损伤了大鼠空间记忆和认知功能,成功建立了AD大鼠模型,而七圣丸水煎液对其有较好的治疗作用。此外海马组织的A β_{1-42} 的沉积情况也印证了这一结论。

神经炎症是AD患者大脑的一大特征,其中一个重要标志即小胶质细胞被激活。最近的研究表明,神经炎症不止是疾病进展的后果,也是疾病发展的关键上游机制,其与A β 之间的相互作用使tau蛋白扩散,从而导致脑损伤与认知障碍^[23]。A β 可通过激活小胶质细胞引起TNF- α ,IL-6等炎症因子的过表达,诱导炎症发生,增强神经毒性^[24]。NF- κ B是一种多效性的转录因子,受到病理刺激时可激活多种炎症相关基因的表达,促进炎症因子和炎症趋化因子的表达,如TNF- α ,IL-6等^[25]。A β 沉积即可以激活NF- κ B信号通路,使IL-1 β ,TNF- α 等炎症因子的分泌增多^[26]。研究发现AD患者血清中TNF- α 含量显著高于正常人^[27]。而IL-6的异常表达与AD患者的认知功能密切相关,当患者认知功能受损时,IL-6往往处于较高的水平^[28]。本研究发现七圣丸水煎液可使AD大鼠海马组织中的NF- κ B,TNF- α ,IL-6水平显著降低,减轻AD大鼠的神经炎症反应。

采用16SrRNA高通量测序分析各组大鼠回肠菌群的 α 多样性和 β 多样性发现,双侧脑室注射A β_{1-42} 可使大鼠回肠菌群的物种多样性降低,菌落结构改变,而七圣丸水煎液的各给药组虽然未能使物

种多样性显著回升,但可改善其菌落结构的紊乱,使其倾向于假手术组。从门和属水平上探究回肠菌群的群落组成变化,发现模型组 Firmicutes, *Lachnospiraceae NK4A136 group* 的丰度显著升高, Proteobacteria, *Escherichia-Shigella* 的丰度显著降低。而七圣丸水煎液可显著提升 *Bacteroides* 的丰度,降低 Firmicutes, *Lachnospiraceae NK4A136 group* 的丰度,低剂量组还可显著回调 Proteobacteria, *Escherichia-Shigella* 的丰度,中、高剂量组和多奈哌齐组可显著提升 Bacteroidetes, *Prevotellaceae UCG-003* 的丰度。其中, *Lachnospiraceae NK4A136 group* 被发现可以维持小鼠肠道屏障的完整性,并且与肠道通透性呈负相关^[29]。*Escherichia-Shigella* 通常被认为非致病菌^[30],其可在人体内合成甲基萘醌(MK)MK8^[31],而 MK8 是维生素 K2 的成分之一。拟杆菌属 (*Bacteriodes*) 可生成短链脂肪酸,有助于肠道屏障的完整性,且短链脂肪酸的增加还可降低肠道炎症^[32-33]。有研究发现,在溃疡性结肠炎的临床案例中可发现明显的拟杆菌科丰度降低和毛螺菌科丰度增加^[34]。此外, *Prevotellaceae UCG-003* 在治疗由哮喘引起的气道炎症中也有重要作用^[35]。

结合 LEfSe 分析的结果,正常组中富集的 *Lactobacillus* 是肠道中潜在的益生菌,它可以通过竞争上皮结合位点和养分来预防病原体的感染或定殖,并产生一些抗菌素^[36]。最近有研究表明在 AD 患者体内乳酸杆菌下降导致肠道菌群紊乱,且可与炎症因子相互作用,影响患者的病情发展^[37]。此外,也有研究表明在结肠中 *Lactobacillus* 可以将初级胆汁酸转化为次级胆汁酸^[22,38]。近期有报道指出胆汁酸或将成为 AD 新的生物标志物^[39]。模型组中富集的 *Prevotella* 是一种与富含纤维的饮食相关的有益微生物,然而肠道中的普氏菌也与炎症有关,已有研究表明其在牙周病、溃疡性结肠炎、关节炎中均具有致病潜力^[40-41]。各给药组中富集的 *Ruminococcaceae* 是主要的丁酸盐生产者,丁酸盐具有神经保护的作用,有研究表明注射丁酸盐可改善创伤性脑损伤小鼠模型的神经损伤和血脑屏障损伤等^[42]。此外,瘤胃球菌科还可分泌 7 α -脱羟基酶,该酶是催化初级胆汁酸转化为次级胆汁酸的关键步骤^[43]。在上述分析过程中,也发现假手术组大鼠的回肠菌群的多样性和群落组成有较为明显的差异。查阅文献可知肠道菌群紊乱也会发生在大手术或危重患者中^[44-46]。脑部损伤改变肠道微生物群的

组成,导致肠道微生物多样性降低^[45]。本研究中假手术组实验操作的菌群改变也再次印证以上结论。

综上所述,七圣丸水煎液可通过调节大鼠回肠菌群的结构以及 *Lachnospiraceae NK4A136 group*, *Escherichia-Shigella*, *Ruminococcaceae* 等菌群的相对丰度,从而调节 AD 大鼠的菌群失衡,同时可明显减轻中枢神经炎症反应,降低中枢 $A\beta_{1-42}$ 沉积,从而发挥对 AD 大鼠的治疗作用。本研究阐明了回肠菌群与 AD 的联系与相关性,从现代医学中肠道菌群的角度阐述了“心与小肠相表里”这一经典中医理论,进一步丰富了其内涵。同时,也为七圣丸治疗 AD 等中枢神经系统疾病提供了实验依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 王世荣,岳寿松. 微生态学及中医“心与小肠相表里”新论[J]. 中国微生态学杂志,2018,30(7):847-848.
- [2] MATHYS H, DAVILA-VELDERRAIN J, PENG Z, et al. Single-cell transcriptomic analysis of Alzheimer's disease[J]. Nature, 2019, 570(7761):332-337.
- [3] KIM M S, KIM Y, CHOI H, et al. Transfer of a healthy microbiota reduces amyloid and tau pathology in an Alzheimer's disease animal model[J]. Gut, 2020, 69(2):283-294.
- [4] HERRERA A C, PRINCE M, KNAPP M, et al. World Alzheimer Report 2016: improving healthcare for people with dementia. Coverage, quality and costs now and in the future [M]. London: Alzheimer's Disease International, 2016:6-7.
- [5] CRYAN J F, O'RIORDAN K J, COWAN C S M, et al. The microbiota-gut-brain axis[J]. Physiol Rev, 2019, 99(4):1877-2013.
- [6] BERTI V, MURRAY J, DAVIES M, et al. Nutrient patterns and brain biomarkers of Alzheimer's disease in cognitively normal individuals [J]. J Nutr Health Aging, 2015, 19(4):413-423.
- [7] STEFANI M, RIGACCI S. Beneficial properties of natural phenols: highlight on protection against pathological conditions associated with amyloid aggregation[J]. Biofactors, 2014, 40(5):482-493.
- [8] 刘荣强,王艳秋,淮文英,等. 中医药调节肠道菌群防治阿尔茨海默病研究进展[J]. 亚太传统医药, 2019, 15(1):167-169.
- [9] 方玉珍,谢达莎,陈秀芬. 七圣丸水提液抗缺氧与脂质过氧化作用研究[J]. 云南中医中药杂志, 2007, 28(8):30-31, 64.
- [10] 方玉珍,谢达莎,隋艳华,等. 七圣丸免疫调节作用观

- 察[J]. 中成药, 2003, 25(7): 86-87.
- [11] 方玉珍, 宋杰云, 谢达莎, 等. 七圣丸对小鼠记忆行为等作用的研究[J]. 云南中医中药杂志, 2001, 22(3): 26-27, 49.
- [12] XU M, YAN T, FAN K, et al. Polysaccharide of *Schisandra Chinensis Fructus* ameliorates cognitive decline in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 237: 354-365.
- [13] 包新民, 舒斯云. 大鼠脑立体定位图谱[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 35.
- [14] VORHEES C V, WILLIAMS M T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory [J]. *Nat Protoc*, 2006, 1(2): 848-858.
- [15] 徐春悦, 李宝玲. 基于中西医维度对脑肠轴的探讨[J]. 中医研究, 2021, 34(4): 6-9.
- [16] ROGERS G B, KEATING D J, YOUNG R L, et al. From gut dysbiosis to altered brain function and mental illness: mechanisms and pathways [J]. *Mol Psychiatry*, 2016, 21(6): 738-748.
- [17] CARABOTTI M, SCIROCCO A, MASELLI M A, et al. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems [J]. *Ann Gastroenterol*, 2015, 28(2): 203-209.
- [18] 李艳, 项丽玲, 郭晖, 等. 基于“心与小肠相表里”的肠道菌群对中枢神经系统的影响及中药干预[J]. 中草药, 2019, 50(6): 1493-1498.
- [19] BOSTANCIKLIOĞLU M. The role of gut microbiota in pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. *J Appl Microbiol*, 2019, 127(4): 954-967.
- [20] WANG X, SUN G, FENG T, et al. Sodium oligomannate therapeutically remodels gut microbiota and suppresses gut bacterial amino acids-shaped neuroinflammation to inhibit Alzheimer's disease progression[J]. *Cell Res*, 2019, 29(10): 787-803.
- [21] TROPINI C, EARLE K A, HUANG K C, et al. The gut microbiome: connecting spatial organization to function [J]. *Cell Host Microbe*, 2017, 21(4): 433-442.
- [22] MARTINEZ-GURYN K, LEONE V, CHANG E B. Regional diversity of the gastrointestinal microbiome [J]. *Cell Host Microbe*, 2019, 26(3): 314-324.
- [23] PASCOAL T A, BENEDET A L, ASHTON N J, et al. Microglial activation and tau propagate jointly across Braak stages[J]. *Nat Med*, 2021, 27(9): 1592-1599.
- [24] 石坤, 兰洲, 王平, 等. 小胶质细胞治疗阿尔茨海默病的作用探讨[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(5): 94-97.
- [25] 徐赞晟, 王伊丽, 李澜, 等. 龙钴颗粒对心肌梗死大鼠心功能及NF- κ B介导的炎症反应的影响[J]. 中草药, 2018, 49(19): 4586-4590.
- [26] WANG D, CHEN F, HAN Z, et al. Relationship between amyloid- β deposition and blood-brain barrier dysfunction in Alzheimer's disease [J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15: 695479. doi: 10.3389/fncel.2021.695479
- [27] 邓莉, 王今朝, 杨莉, 等. 胆碱转运体与阿尔茨海默病[J]. 生物化学与生物物理进展, 2014, 41(12): 1207-1213.
- [28] 童骄, 葛资宇, 蒋黎. 穿心莲内酯对阿尔茨海默病患者血清IL-1 β 、IL-6及TNF- α 表达的影响[J]. 临床合理用药杂志, 2020, 13(26): 68-69.
- [29] HU S, WANG J, XU Y, et al. Anti-inflammation effects of fucosylated chondroitin sulphate from *Acaudina molpadioides* by altering gut microbiota in obese mice[J]. *Food Funct*, 2019, 10(3): 1736-1746.
- [30] LIU Q X, ZHOU Y, LI X M, et al. Ammonia induce lung tissue injury in broilers by activating NLRP3 inflammasome via *Escherichia/Shigella* [J]. *Poult Sci*, 2020, 99(7): 3402-3410.
- [31] GORDIENKO E N, KAZANOV M D, GELFAND M S. Evolution of pan-genomes of *Escherichia coli*, *Shigella spp.*, and *Salmonella enterica* [J]. *J Bacteriol*, 2013, 195(12): 2786-2792.
- [32] SHEN F, ZHENG R D, SUN X Q, et al. Gut microbiota dysbiosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2017, 16(4): 375-381.
- [33] KARLSSON F H, FÅK F, NOOKAEW I, et al. Symptomatic atherosclerosis is associated with an altered gut metagenome [J]. *Nat Commun*, 2012, doi: 10.1038/ncomms2266.
- [34] SCHIRMER M, GARNER A, VLAMAKIS H, et al. Microbial genes and pathways in inflammatory bowel disease [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17(8): 497-511.
- [35] WANG J, LU H, YU L, et al. Aggravation of airway inflammation in RSV-infected asthmatic mice following infection-induced alteration of gut microbiota [J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(5): 5084-5097.
- [36] YU M, MU C, ZHANG C, et al. Marked response in microbial community and metabolism in the ileum and cecum of suckling piglets after early antibiotics exposure [J]. *Front Microbiol*, 2018, doi: 10.3389/fmicb.2018.01166.
- [37] 邓爱萍, 刘焦, 杨静, 等. 帕金森病与阿尔茨海默病患者肠道菌群及炎症因子分析[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2021, 30(1): 60-65.
- [38] GÉRARD P. Metabolism of cholesterol and bile acids by the gut microbiota [J]. *Pathogens*, 2013, 3(1):

- 14-24.
- [39] MAHMOUDI ANDEHKORDI S, ARNOLD M, NHO K, et al. Altered bile acid profile associates with cognitive impairment in Alzheimer's disease-an emerging role for gut microbiome [J]. *Alzheimers Dement*, 2019, 15(1):76-92.
- [40] SCHER J U, SCZESNAK A, LONGMAN R S, et al. Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis [J]. *Elife*, 2013, doi: 10.7554/eLife.01202
- [41] DILLON S M, LEE E J, KOTTER C V, et al. Gut dendritic cell activation links an altered colonic microbiome to mucosal and systemic T-cell activation in untreated HIV-1 infection [J]. *Mucosal Immunol*, 2016, 9(1):24-37.
- [42] 张维捷, 谢兴非, 闫鹤. 一种复方中草药对阿尔兹海默症模型小鼠认知功能障碍及肠道菌群的影响 [J]. *食品工业科技*, 2021, 42(13):345-350.
- [43] VITAL M, RUD T, RATH S, et al. Diversity of bacteria exhibiting bile acid-inducible 7α -dehydroxylation genes in the human gut [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2019, 17:1016-1019.
- [44] EARLEY Z M, AKHTAR S, GREEN S J, et al. Burn injury alters the intestinal microbiome and increases gut permeability and bacterial translocation [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7):e0129996.
- [45] WANG S, ZHU K, HOU X, et al. The association of traumatic brain injury, gut microbiota and the corresponding metabolites in mice [J]. *Brain Res*, 2021, doi:10.1016/j.brainres.2021.147450.
- [46] WANG W, LI Y, WU Q, et al. High-throughput sequencing study of the effect of transabdominal hysterectomy on intestinal flora in patients with uterine fibroids [J]. *BMC Microbiol*, 2020, doi: 10.1186/s12866-020-01779-7.

[责任编辑 周冰冰]

·书讯·

采用安宁疗护对肿瘤患者临终生活质量的影响 ——评《安宁疗护症状处理》

随着社会环境的变化、人口老龄化使恶性肿瘤的发生率逐年增高,肿瘤患者临终的生存期不足3个月,身体机能受损严重,增加了患者的痛苦。患者家属不仅要承担高额的经济负担,同时还承受失去亲人的痛苦,从而出现严重的负面心理反应,使正常生活能力下降。安宁疗护又称临终关怀,主要是针对那些治愈性治疗无反应患者,开展对肿瘤终末期患者在临终前通过控制痛苦和不适应症状,提供身体、心理、精神方面照顾和人文关怀等服务的安宁疗护工作,使其有尊严的走完生命的最后阶段,减轻患者的痛苦,缓解家属的心理应激反应。基于对安宁疗护“尊重患者权利”这一核心的理解,尊重患者和家属的意见,这需要从伦理学层面的深入思考和讨论。

《安宁疗护症状处理》夏环玲,宋启京主编,由天津科学技术出版社2020年5月出版。全书共七章,是专门针对晚期和终末期癌症患者的临床症状管理书籍。作者长期致力于肿瘤的放疗、化疗、生物免疫治疗等,特别是在肿瘤综合治疗方面有着丰富的临床经验和体会。参考翻阅大量文献资料,精心撰写了从理论基础、药物使用、症状处理、心理照护、癌痛、中医中药等各个方面对安宁疗护进行了详细的讲解。每一项症状都详细规定了评估和观察的内容、操作和指导的要点、治疗原则及注意事项。第一章为安宁疗护概论,第二章为安宁疗护实践指南,第三章为安宁疗护症状处理基本药物,第四章为安宁疗护症状处理,第五章至第七章介绍了终末期患者关怀及中医药在安宁疗护中的应用。患者已处于临终期,现有医疗水平不可能使其痊愈,医护人员与家属沟通,主要针对不适症状进行处理,随后将心理护理跟进,帮助患者平静地面对死亡,完成心愿。该书叙述了安宁疗护对肿瘤患者的护理分析。疼痛护理以入院后使用数字疼痛评估量表对患者的疼痛部位、性质及强度等进行评估,按医嘱给予药物止痛,必要时请康复科医生进行双天枢等针灸疗法。癌性疲乏护理,对主诉有疲乏无力的患者,每日对患者的疲乏程度进行评估,对患者进行心理疏导,引导患者通过交谈、写日记,甚至网络发帖交友等方式释放情绪。嘱托家属多陪伴、多关心,指导家属对患者进行身体按摩。心灵触摸来观察患者的情绪变化,与患者积极交流,关怀抚慰患者,尽可能减轻患者的不适感及疼痛感,改善精神状态,提高生活质量,体现人文关怀的重要性。心理支持的目的是与患者建立信任关系,引导患者面对和接受疾病的现状,帮助患者应对情绪的不稳定,鼓励家属参与患者的意愿做出决策,让其保持乐观的态度度过生命终期,从而舒适、安详、有尊严的离世。医患沟通是一种特殊的人际沟通,是医护人员与患者及其家属之间信息交流的过程。症状控制下“评估和观察”应多从患者角度出发,在面对安宁疗护对象时,临床工作人员要多以减轻患者痛苦、理解患者意愿的角度进行评估。在常规治疗中,医嘱在前,护理人员执行医嘱在后。但对于临终患者,护理团队发挥的作用远远大于医疗团队,无论是在应对患者情绪变化方面,还是在舒适护理方面,强调对患者意愿的尊重,个别临床处理方法仍待完善。

《安宁疗护症状处理》致力于肿瘤的放疗、化疗、生物免疫治疗等,是在肿瘤综合治疗方面有着丰富的临床经验和体会。在国内较早开展了针对肿瘤终末期患者的安宁疗护工作,将国内外先进的人文医疗理念融入到安宁疗护工作中,积累了丰富的临床经验。此书语言简明扼要,实用性强,发挥中医药在肿瘤方面的实用性,是临床肿瘤医生、基层医生从事安宁疗护工作的实用工具书,可供临床护理人员参考学习。

(作者刘雪霜,张艳,孙黛茜,刘小娟,首都医科大学附属北京朝阳医院,北京100021)