

# 基于肠道菌群功能探究泄泻肠道湿热证和泄泻寒湿困脾证的 “同病异治”

李玉丽, 刘娅薇, 谭周进\*  
(湖南中医药大学, 长沙 410208)

**[摘要]** **目的:**研究泄泻肠道湿热证和寒湿困脾证在不同肠道生态位的菌群失调变化,为探索泄泻“同病异治”的治疗特色提供肠道菌群视角的客观依据。**方法:**从美国国家生物技术信息中心(NCBI)数据库获取泄泻肠道湿热证和寒湿困脾证模型小鼠,以及方证相应方剂干预后模型小鼠的16S rRNA基因高通量测序数据,比较各组小鼠的肠道优势菌组成、菌群功能差异;同时运用Spearman分别计算各组菌群间的相关性,构建肠道菌群共现网络以研究菌群相互作用。**结果:**泄泻肠道湿热证肠内容物菌群失调以*Muribaculum*、*Aerococcus*富集为特征,肠黏膜菌群失调则以革兰氏阴性菌*Neisseria*、*Capnocytophaga*、*Prevotella*富集为特征( $P<0.05$ ),而葛根芩连汤治疗后不同肠道生态位菌群以*Lactobacillus*富集为特征,肠黏膜还伴有*Streptococcus*丰度增加。泄泻寒湿困脾证肠内容物菌群失调以*Lactobacillus*( $P<0.01$ )、*Clostridium sensu stricto 1*富集为特征,肠黏膜则以*Candidatus Arthromitus*、*Enterobacter*丰度增加为主( $P<0.05$ ),而藿香正气散治疗后肠内容物以*Lactobacillus*富集为特征,而肠黏膜菌群特征体现在*Candidatus Arthromitus*、*Pseudomonas*、*Bacillus*富集。整体上,肠黏膜优势菌的差异贡献率高于肠内容物,且肠黏膜优势菌与其他菌的相互作用要多于肠内容物优势菌。**结论:**不同中医证型泄泻的肠道菌群失调存在差异,方证相应调节菌群失调的疗效同样存在差别,且“同一病证”在不同肠道生态位的菌群失调也各具特征,提示肠道菌群可能是探索泄泻中医“同病异治”治疗特色的生物学基础之一。

**[关键词]** 泄泻; 肠道湿热证; 寒湿困脾证; 同病异治; 中医

**[中图分类号]** R285;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)16-0140-10

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20220918

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220615.1016.001.html>

**[网络出版日期]** 2022-06-15 17:12

## Discussion on Treatment of Diarrhea of Intestinal Dampness-heat Syndrome and of Cold-dampness Disturbing Spleen Syndrome with Different Methods: Based on Intestinal Microbiota Function

LI Yuli, LIU Yawei, TAN Zhoujin\*

(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the changes of microbiota in different intestinal niches in the instance of diarrhea with intestinal dampness-heat syndrome and cold-dampness disturbing spleen syndrome, so as to provide objective evidence for treating diarrhea with different methods from the perspective of intestinal flora. **Method:** The 16S rRNA gene high-throughput sequencing data of model mice with diarrhea of the two syndromes and the model mice after prescription intervention were retrieved from National Center for Biotechnology Information (NCBI), and the intestinal dominant bacteria and microbial functions were compared among groups. Spearman's correlation coefficient among the microorganisms in each group was

**[收稿日期]** 2022-04-06

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81874460);湖南中医药大学研究创新项目(2021CX03)

**[第一作者]** 李玉丽,在读博士,从事肠道微生态研究,Tel:0731-88458206,E-mail:2549633938@qq.com

**[通信作者]** \*谭周进,教授,博士生导师,从事肠道微生态研究,Tel:0731-88458206,E-mail:tanzhjin@sohu.com

calculated and the co-occurrence networks of intestinal microbiota were constructed to study the interaction of the microbiota. **Result:** The microbiota imbalance in intestinal contents of mice with diarrhea of intestinal dampness-heat syndrome was characterized by the enrichment of *Muribaculum* and *Aerococcus*, while the imbalance in intestinal mucosa was manifested by the enrichment of Gram-negative *Neisseria*, *Capnocytophaga*, and *Prevotella* ( $P<0.05$ ). However, after the treatment with Gegen Qinliantang, the microbiota in two distinct ecosystems was characterized by the enrichment of *Lactobacillus* and the abundance of *Streptococcus* in intestinal mucosa was increased. The microbiota imbalance in intestinal contents of diarrhea with cold-dampness disturbing spleen syndrome was characterized by the enrichment of *Lactobacillus* ( $P<0.01$ ) and *Clostridium sensu stricto 1*, while the intestinal mucosa was dominated by the increase of *Candidatus arthromitus* and *Enterobacter*. However, after the treatment with Huoxiang Zhengqi powder, the intestinal contents were characterized by *Lactobacillus* enrichment, while the intestinal mucosal flora was featured by the enrichment of *C. arthromitus*, *Pseudomonas*, and *Bacillus*. Overall, the contribution of dominant bacteria in intestinal mucosa to the difference was higher than that in intestinal contents, and more dominant bacteria in the intestinal mucosa interacted with other bacteria. **Conclusion:** Microbiota imbalance is different for diarrhea of different syndromes, and the therapeutic effects of corresponding prescriptions are also different. In addition, the microbiota imbalance has different characteristics between intestinal niches for mice with diarrhea of the same syndrome. Therefore, intestinal flora may be one of the biological bases for exploring the characteristics of "treating the diarrhea with different methods" in Chinese medicine.

**[Keywords]** diarrhea; intestinal dampness-heat syndrome; cold-dampness disturbing spleen syndrome; treating the same disease with different methods; Chinese medicine

泄泻是临床发病率较高的消化系统疾病。随着肠道菌群失调在泄泻发生发展中的重要作用及中医方证相应调节泄泻菌群失调的疗效逐渐获得普遍认可,泄泻中医证候与肠道菌群之间的相关研究也收到广泛关注。数量庞大、种类丰富、结构复杂的肠道菌群是肠道微生态的重要组成部分,正常生理情况下,肠道菌群以一定的质和量维持着相互依存、相互制约的动态平衡。若生理性微生物群被大量肠道致病菌替代,则会出现菌群失调,表现为肠道菌群在种类、丰度、比例、定位和生物学特性上的变化<sup>[1-2]</sup>。中医“同病异治”强调“证候”差异,证候和菌群失调都是致病因素作用于机体的表现,从不同的角度归纳了疾病的表现。探究泄泻不同中医证型,以及方证相应干预后相对应的肠道菌群特征,从肠道菌群的角度为中医进行泄泻“同病异治”的治疗特色提供客观依据。

2017年中华中医药学会脾胃病分会制定的《泄泻中医诊疗专家共识意见》中指出肠道湿热证和寒湿困脾证是泄泻的常见中医证型,其治疗的代表方剂分别为葛根芩连汤、藿香正气散<sup>[3]</sup>。寒湿之邪为阴邪,最易直接损伤脾胃阳气,影响脾主运化功能。脾主运化、主升清,脾失运化与肠道菌群紊乱密切相关,脾阳损伤则运化饮食水液的功能减退,清浊

不分而发为泄泻。久病损及肾阳,肾阳为一身阳气之根本,肾阳虚衰,火不生土,脾失健运,故久泄不止,完谷不化。湿热之邪传内不仅影响脾的运化功能,且湿性趋下,阻遏肠道,加之郁热扰内,进一步改变肠道内微环境稳态,造成肠道菌群失调<sup>[4]</sup>。葛根芩连汤源于汉代张仲景所著的《伤寒论》,由葛根、黄芩、黄连、甘草4味药组成;藿香正气散出自宋代《太平惠民合剂局方》,由大腹皮、白芷、紫苏、茯苓、半夏曲、白术、陈皮、厚朴、桔梗、藿香、甘草、生姜、大枣13味药组成。葛根芩连汤和藿香正气散在方药组成上差别较大,葛根芩连汤所治病性属热,核心病机为湿热下注;藿香正气散所治病性为寒,核心病机为寒湿内停。但两方仍然存在不少相同之处,主要体现在①在方药组成存在一味相同的药味甘草,且甘草在两方的配伍意义基本一致,一方面调和诸药,一方面以其甘缓之用缓解肠道组织的痉挛蠕动而治疗泄泻;②两方的治法都体现了表里双解,且两方解表之力均不大,同时两方兼表证者可用,不兼表证者亦常用;③两方在功效上都体现了燥湿止泻;④两方主治证候都可为泄泻。葛根芩连汤和藿香正气散方证相应治疗同一疾病泄泻是中医“同病异治”的生动体现。

肠内容物菌群和肠黏膜菌群是2种不同的生态

系统,具有不同的代谢和免疫功能。目前与肠道菌群相关的研究主要集中肠内容物菌群分析中。然而,近年来的研究表明,肠内容物和肠黏膜的菌群结构存在差异,提示这2种不同部位的微生物群在肠道微生态系统中发挥着不同的作用<sup>[5-6]</sup>。故研究泄泻肠道湿热证和寒湿困脾证在不同肠道生态位的菌群失调变化,以及经典方剂葛根芩连汤和藿香正气散干预后的菌群变化,可为探索泄泻中医“同病异治”的治疗特色提供肠道菌群视角的客观依据。

## 1 材料和方法

**1.1 肠道数据来源** 从美国国家生物技术信息中心(NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/>)数据库获取泄泻肠道湿热证模型小鼠、泄泻寒湿困脾证模型小鼠、葛根芩连汤干预泄泻肠道湿热证模型小鼠、藿香正气散干预泄泻寒湿困脾证模型小鼠的肠内容物和肠黏膜细菌16S rRNA基因高通量测序数据。肠道菌群原始测序数据NCBI编号分别为PRJNA796740、PRJNA673123、PRJNA796813、PRJNA796931、PRJNA797112、PRJNA797161、PRJNA797198、PRJNA797213。本研究纳入的泄泻肠道湿热证小鼠模型均采用“高糖高脂+高温高湿+白酒+冰水”复合因素法构建,而泄泻寒湿困脾证小鼠模型则采用“人工气候箱模拟低温高湿环境应激法”建立。用Qiime软件([qiime.org](http://qiime.org))对所有样品序列以97%的一致性(Identity)进行操作分类单元(OTU)聚类,在聚类过程去除嵌合体并丢弃只含有一条序列的OTU。选择每个OTU中最长的序列作为该OTU的代表序列,选出与代表序列相似性在97%以上的序列,生成原始OTU表。然后使用Qiime对原始OTU表按照数据量最低的样品进行抽平,使抽平后的所有样品都拥有相等的数据量,得到最终用于分析的OTU表。采用RDP classifier贝叶斯算法对97%相似水平的OTU代表序列进行分类学分析(设置置信度阈值为0.8),分别在各个分类水平统计每个样品的群落组成用于后续分析。

## 1.2 生物信息学分析

**1.2.1 定义肠道优势菌群类别** 本研究以1%的相对丰度阈值来划分优势菌群<sup>[7]</sup>:优势菌群指在所有样本中丰度均高于1%的菌群和指在所有样本中丰度均高于0.1%,同时在部分样本中丰度高于1%的菌群。

**1.2.2 差异贡献率分析方法** 本研究运用古生物统计学(PAST)软件中的百分比相似性分析

(SIMPER)方法基于Bray-Curtis距离矩阵评估优势肠道菌群对各组产生的差异贡献率大小<sup>[8-9]</sup>。

**1.2.3 菌群共现网络** 运用R语言的corr.test函数(来自psych程序包)分组计算各组OTU丰度间的Spearman相关性系数,得到相关性系数矩阵和P矩阵;并且采用错误发现率(FDR)方法矫正上述步骤中所得到的 $P^{[10]}$ 。其次,基于Spearman相关性矩阵和校正后的P矩阵建立两组肠道菌群共现网络<sup>[11]</sup>。网络中的每一个节点(node)代表一个菌属,连接节点之间每一个边(edge)代表各菌种之间的相关性。菌群共现网络的构建是应用R语言中graph\_from\_adjacency\_matrix函数(来自igraph程序包)。利用Gephi 0.9.2对共现网络结果进行可视化。

**1.2.4 PICRUSt 2功能分析** 重构未观测状态进行群落系统发育研究2(PICRUSt 2)是哈佛大学Huttenhower实验室于2013年开发的基于京都基因和基因组百科全书(KEGG)数据库对OTU数据进行基因功能预测的工具<sup>[12]</sup>。该工具可以针对16S rRNA基因扩增子测序数据,进行KEGG直系同源系统(KO)基因注释,并经测试与宏基因测序的结果无显著差异。本研究将OTU数据和注释序列信息导入生科云在线数据分析平台(<https://bioincloud.tech/task-meta>)进行PICRUSt 2分析。

**1.3 统计学分析** 本研究采用SPSS 22.0软件对数据进行统计分析。当数据符合正态分布并满足方差齐性时,采用t检验对两组差异进行比较分析,采用单因素方差分析对多组差异进行比较分析,组间两两比较选用最小显著差异法(LSD)。当数据不符合正态分布或方差不齐时,采用非参数检验进行组间比较,两组比较采用Mann-Whitney U检验,多组比较采用Kruskal-Wallis H检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

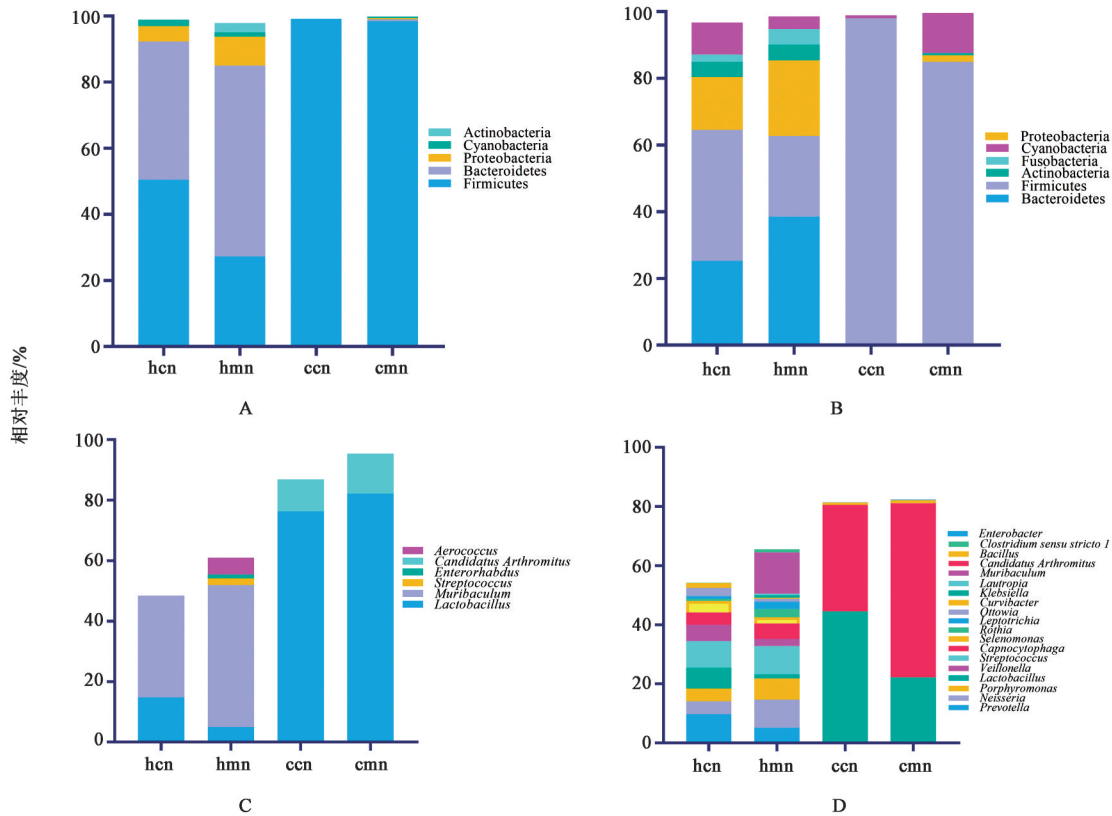
### 2.1 肠道优势菌差异及方证相应调节的变化

**2.1.1 模型组的优势菌差异** 优势菌是一类特殊类型的菌群,其不仅具有高丰度的特点,且对微生态系统的影响也与其丰度成正比,故本研究重点分析了各组优势菌的差异。在门水平,泄泻肠道湿热证不同肠道生态位菌群失调均表现Firmicutes相对丰度降低,Bacteroidetes相对丰度增加,而肠黏膜还伴有Proteobacteria相对丰度较高。在属水平,泄泻肠道湿热证肠内容物菌群失调以Muribaculum、Aerococcus富集为特征,而肠黏膜菌群失调特征为Neisseria、Capnocytophaga、Prevotella等富集

( $P < 0.05$ )。

在门水平, Firmicutes在泄泻寒湿困脾证不同肠道生态位均占绝对优势比例, 而肠黏膜还伴 Cyanobacteria、Proteobacteria富集。在属水平, 泄泻

寒湿困脾证肠内容物菌群失调以 *Lactobacillus* ( $P < 0.01$ )、*Clostridium sensu stricto 1* 富集为特征, 肠黏膜菌群失调则以 *Candidatus Arthromitus*、*Enterobacter* 显著增加为特征 ( $P < 0.05$ )。见图1。



注: hcn. 泄泻肠道湿热证空白组肠内容物菌群; hmn. 泄泻肠道湿热证肠内容物菌群; ccn. 泄泻寒湿困脾证空白组肠内容物菌群; cmn. 泄泻寒湿困脾证肠内容物菌群; hcm. 泄泻肠道湿热证空白组肠黏膜菌群; hmm. 泄泻肠道湿热证肠黏膜菌群; ccm. 泄泻寒湿困脾证空白组肠黏膜菌群; cmm. 泄泻寒湿困脾证肠黏膜菌群; A、B. 门水平优势菌; C、D. 属水平优势菌

图1 模型组各分类水平优势菌组成

Fig. 1 Composition of dominant bacteria in model groups at different levels

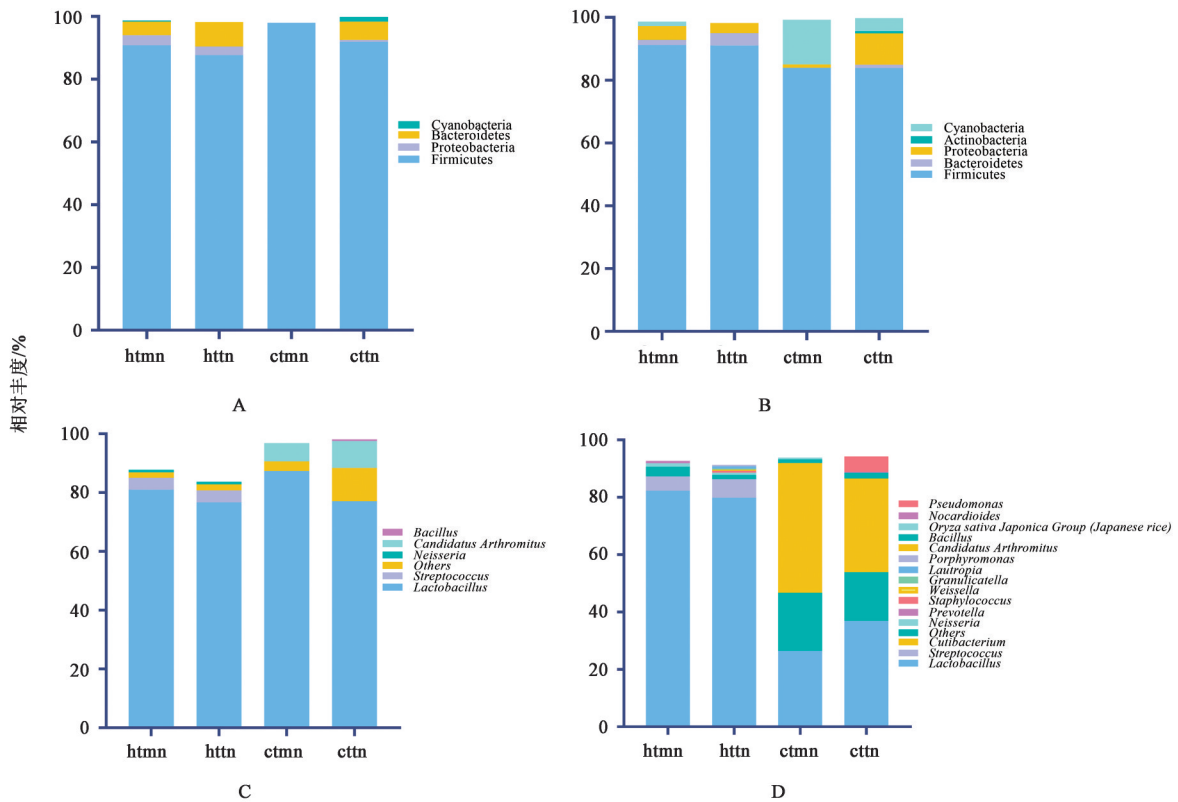
**2.1.2 方证相应干预组的优势菌差异** 在门水平, 葛根芩连汤治疗组在不同肠道生态位的优势菌仍呈现 Firmicutes 相对丰度降低, 而 Bacteroidetes 相对丰度增加, 但 Firmicutes 相对丰度却远高于 Bacteroidetes 相对丰度。在属水平, 葛根芩连汤治疗组肠内容物和肠黏膜均以 *Lactobacillus* 为绝对优势菌, 相对丰度均达 75.00% 以上。除此之外, 肠黏膜菌群失调的另一特征为 *Streptococcus* 富集。

在门水平, 藿香正气散治疗组在不同肠道生态位均以 Firmicutes 占绝对优势比例, 且 Bacteroidetes 相对丰度比例增加。在属水平, 藿香正气散治疗组肠内容物菌群失调以 *Lactobacillus* (相对丰度为 77.05%) 富集为特征, 而肠黏膜菌群失调的特征体现在 *Candidatus Arthromitus* (相对丰度为 32.65%)、*Pseudomonas*、*Bacillus* 占有优势。见图2。

**2.1.3 模型组和方证相应干预组优势菌的差异贡献率** 本研究以差异贡献率量化各组优势菌属对肠道微生物群落形成的差异大小, 见表1。在属水平, 各组肠黏膜优势菌属的差异贡献率均高于肠内容物优势菌属。

**2.2 肠道菌群共现网络差异及方证相应调节变化**

**2.2.1 模型组菌群共现网络分析** 为了探究菌群间相互作用, 本研究对各组属水平相对丰度前二十的菌群进行了相关性分析并构建了菌群共现网络。泄泻肠道湿热证肠内容物和肠黏膜共现网络分别包含 67、85 条边, 其中肠内容物优势菌属 *Muribaculum* 与 *Lactobacillus*、*Fretibacterium* 呈负相关, 而与 *Desulfovibrio*、*Enterorhabdus* 却呈正相关; 肠黏膜优势菌属 *Neisseria* 与 9 个菌属存在正相关关系, 而与 *Lactobacillus* 呈负相关。寒湿困脾证肠内



注: htmm. 泄泻肠道湿热证自愈组肠内容物菌群; httn. 葛根芩连汤治疗组肠内容物菌群; htmm. 泄泻肠道湿热证自愈组肠黏膜菌群; httn. 葛根芩连汤治疗组肠黏膜菌群; ctmm. 泄泻寒湿困脾证自愈组肠内容物菌群; cttm. 藿香正气散治疗组肠内容物菌群; ctmm. 泄泻寒湿困脾证自愈组肠黏膜菌群; cttm. 藿香正气散治疗组肠黏膜菌群; A、B. 门水平优势菌; C、D. 属水平优势菌

图2 方证相应干预组各分类水平优势菌组成

Fig. 2 Composition of dominant bacteria in treatment groups at different levels

表1 优势菌属的差异贡献率

Table 1 Differential contribution rate of dominant bacteria at genus level

组别	不同肠道生态位	差异贡献率/%
肠道湿热证组	肠内容物	40.75
	肠黏膜	57.02
寒湿困脾证组	肠内容物	49.84
	肠黏膜	69.99
葛根芩连汤治疗组	肠内容物	41.39
	肠黏膜	50.49
藿香正气散治疗组	肠内容物	62.61
	肠黏膜	63.62

容物和肠黏膜分别包含67、76条边,其中肠内容物优势菌属 *Lactobacillus* 与 *Pseudomonas*、*Rikenella* 呈正相关关系;肠黏膜优势菌属 *Candidatus Arthromitus* 与10个菌属存在正相关联系。见图3。

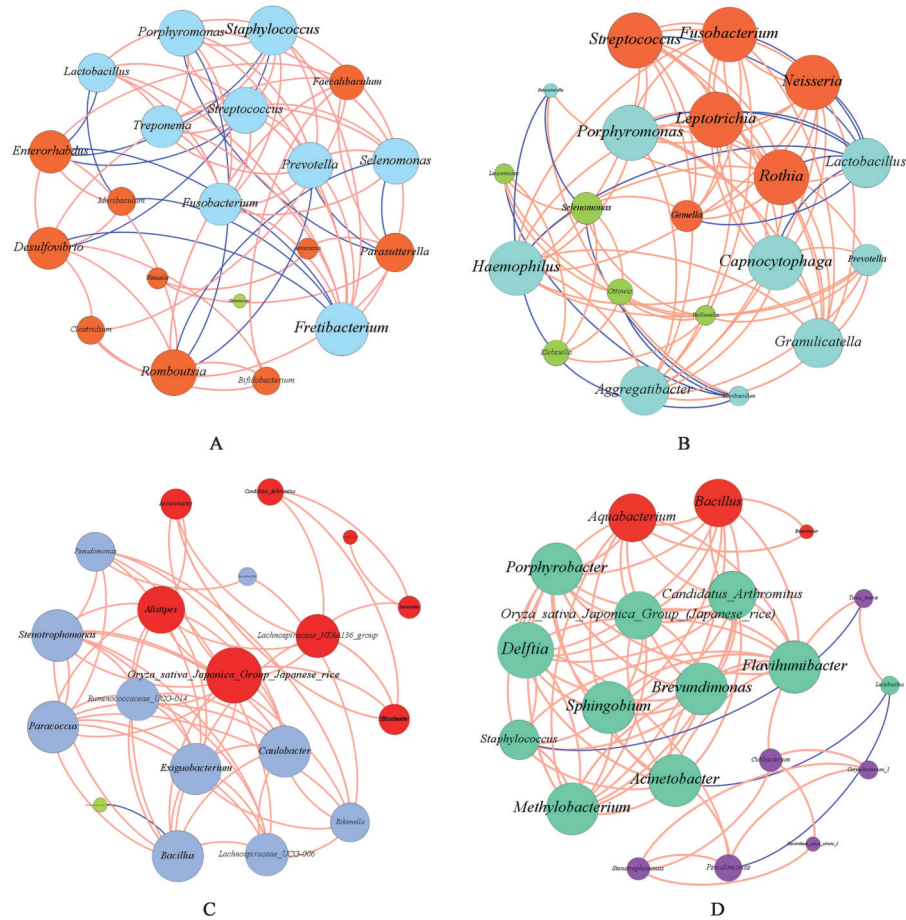
**2.2.2 方证相应干预组菌群共现网络分析** 葛根芩连汤治疗组的肠内容物和肠黏膜共现网络则分别包含64、55条边,其中肠内容物优势菌属 *Lactobacillus* 与4个菌属存在正相关关系,包括核心

菌属(共现网络中度值较大的菌群) *Streptococcus*、*Prevotella*;肠黏膜优势菌属 *Lactobacillus*、*Streptococcus* 与3个菌属存在负相关关系,与7个菌属存在正相关关系。而藿香正气散治疗组肠内容物和肠黏膜共现网络则分别包含97、44条边,其中肠内容物优势菌属 *Lactobacillus* 与 *Taxus mairei* 呈正相关关系;肠黏膜优势菌属 *Candidatus Arthromitus* 则与5个菌属存在正相关关系。见图4。

由上可知,各组肠黏膜优势菌与其他菌的相互作用要多于肠内容物优势菌。

### 2.3 肠道菌群功能差异及方证相应调节的变化

**2.3.1 模型组菌群功能分析** 与泄泻肠道湿热证肠黏膜菌群功能相比,肠内容物菌群功能有9个显著上升,如组氨酸代谢、半乳糖代谢、精氨酸生物合成等;而有26个菌群功能显著下降,例如细菌分泌系统、肾素-血管紧张素系统、胰岛素信号通路等。与泄泻寒湿困脾证肠黏膜菌群功能相比,肠内容物菌群功能有71个菌群功能显著增加,如胰高血糖素信号通路、谷氨酰胺和谷氨酸代谢、酮体的合成和降



注:A1.泄泻肠道湿热证肠内容物共现网络;A2.泄泻肠道湿热证肠黏膜共现网络;B1.泄泻寒湿困脾证肠内容物共现网络;B2.泄泻寒湿困脾证肠黏膜共现网络;图中粉色连线代表正相关,蓝色连线代表负相关

图3 模型组肠道菌群共现网络

Fig. 3 Coexistence network of intestinal flora in the model groups

解、D-丙氨酸代谢等,而有78个显著下降,包括细菌趋化性、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成、脂肪酸生物合成等。由上可知,不同中医证型泄泻在不同肠道生态位的菌群功能存在差异。

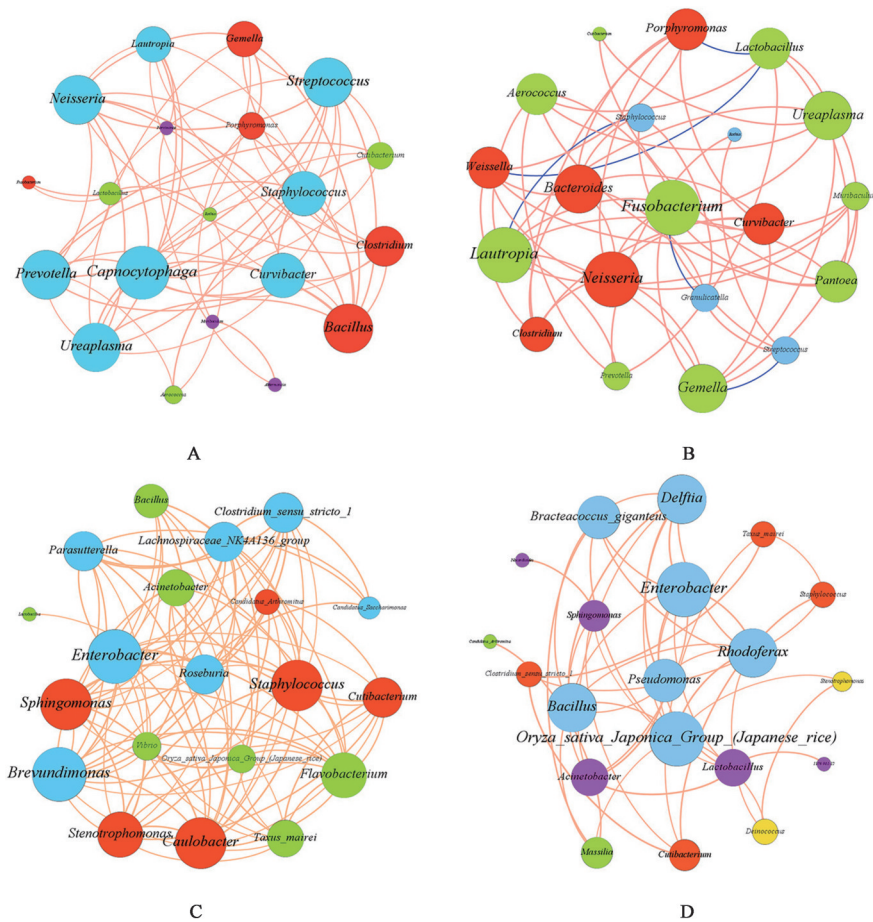
**2.3.2 方证相应干预组细菌功能分析** 与葛根芩连汤治疗组肠黏膜菌群功能相比,肠内容物菌群功能有2个显著下降,为非洲锥虫病、甲状腺激素合成。与藿香正气散治疗组肠黏膜菌群功能相比,肠内容物菌群功能有29个显著增加,包括胰高血糖素信号通路、糖酵解/糖异生、谷氨酰胺和谷氨酸代谢,而有19个菌群功能明显降低,如细菌趋化性、不饱和脂肪酸的生物合成、维生素B<sub>6</sub>代谢等。由上可知,中医方证相应干预差异性调节了不同中医证型泄泻在不同肠道生态位的菌群功能。

### 3 分析和讨论

不同中医证型泄泻在不同肠道生态位存在相同的肠道菌群种类,又具有各自独特的菌群特征。泄泻肠道湿热证和寒湿困脾证在不同肠道生态位

均表现Firmicutes相对丰度降低,而Bacteroidetes相对丰度增加,但Bacteroidetes是肠道湿热证的第一优势菌,而Firmicutes是寒湿困脾证的第一优势菌。有研究显示Firmicutes的代谢多样性高于Bacteroidetes,分别涉及393条代谢途径和92种代谢途径<sup>[13]</sup>。此外Firmicutes中富含与营养转运相关的基因<sup>[14]</sup>,相比于Bacteroidetes、Firmicutes更有助于碳水化合物和脂类的发酵和代谢,促进能量代谢吸收<sup>[15-16]</sup>,Firmicutes降低提示湿热、寒湿病邪侵袭肠道,影响了肠道营养消化吸收,这是泄泻发生的重要机制,但寒湿为阴邪,更易伤机体阳气而导致机体代谢下降,故Firmicutes在泄泻寒湿困脾证中的代偿性增加趋势更显著。

本研究发现泄泻肠道湿热证肠内容物菌群失调以优势菌Muribaculum、Aerococcus富集为特征,而肠黏膜菌群失调特征则突出以优势菌Neisseria、Capnocytophaga、Prevotella等富集为主。Muribaculum属于Bacteroidetes中的1个菌属,有研



注:A3.葛根芩连汤治疗组肠内容物共现网络;A4.葛根芩连汤治疗组肠黏膜共现网络;B3.藿香正气散治疗组肠内容物共现网络;B4.藿香正气散治疗组肠黏膜共现网络;图中粉色连线代表正相关,蓝色连线代表负相关

图4 方证相应干预组肠道菌群共现网络

Fig. 4 Coexistence network of intestinal flora in treatment groups

究发现 Bacteroidetes 常在一些炎症性肠病显著富集,故推测 *Muribaculum* 富集可能与炎症发生发展密切相关<sup>[17]</sup>。另一项研究证实 *Muribaculum* 相对丰度升高可与促炎症因子,如白细胞介素(IL)-6、IL-1 $\beta$ 和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )分泌减少同步出现<sup>[18]</sup>。*Muribaculum* 可能还与血脂异常和葡萄糖不耐受密切相关<sup>[19]</sup>。*Aerococcus* 是一种革兰阳性球菌,常引起侵袭性感染,病理表现组织学炎症、中性粒细胞募集和促炎细胞因子增加<sup>[20-21]</sup>,还可通过补体系统、纤维蛋白原和免疫球蛋白G(IgG)分子依赖的途径激活血小板<sup>[20]</sup>。*Neisseria* 是一种革兰氏阴性菌,多被认为是非致病性共生菌<sup>[22]</sup>,但也有研究报告其会引起侵袭性感染,如 *Neisseria* 是乳糜泻患者十二指肠的丰富物种,能够促进树突细胞诱导炎症反应<sup>[23]</sup>。*Capnocytophaga* 是一种革兰氏阴性芽孢杆菌,可导致免疫功能低下个体的全身感染<sup>[24]</sup>。*Prevotella* 是革兰氏阴性菌,属于拟杆菌门。研究发现 *Prevotella* 丰度增加与辅助性 T 细胞 17(Th17)介

导的黏膜炎症增加有关,可刺激抗原呈递细胞产生 Th17 极化细胞因子 IL-23 和 IL-1。此外, *Prevotella* 还会刺激上皮细胞产生促炎因子 IL-8、IL-6<sup>[25]</sup>。本研究显示葛根芩连汤治疗后肠内容物和肠黏膜均以 *Lactobacillus* 为主要优势菌。除此之外,肠黏膜菌群失调的另一特征为 *Streptococcus* 富集。*Streptococcus* 与宿主生物的相互作用从共生到致病性各不相同, *Streptococcus* 通常仅具有低致病性和毒力, *Streptococcus* 感染会刺激机体产生多种抗体,同型 *Streptococcus* 可使机体获得特异性免疫力<sup>[26-27]</sup>。由上可知,泄泻肠道湿热证肠内容物和肠黏膜菌群失调与炎症反应密切相关,其中肠黏膜革兰氏阴性菌的富集尤为特征,而葛根芩连汤治疗调节了不同肠道生态位益生菌和共生菌的丰度。

本研究发现泄泻寒湿困脾证肠内容物菌群失调以优势菌 *Lactobacillus*、*Clostridium sensu stricto 1* 富集为特征,肠黏膜菌群失调则以优势菌 *Candidatus Arthromitus*、*Enterobacter* 显著增加为特

征。*Lactobacillus*属于厚壁菌门,为革兰氏染色阳性菌,可将碳水化合物快速代谢为乳酸和短链脂肪酸等,调节肠道微生物群结构和菌群代谢输出<sup>[28-30]</sup>。此外,*Lactobacillus*通过与各种免疫细胞(如树突状细胞)相互作用以不断调节免疫系统<sup>[31]</sup>。*Clostridium sensu stricto 1*可产生丁酸,为肠道细胞提供能量和保护肠道屏障<sup>[32]</sup>,相关性分析发现其与抗炎因子IL-10呈正相关,与胰岛素水平的变化呈负相关<sup>[33]</sup>。*Candidatus Arthromitu*的独特性在于会紧密地固定在肠黏膜上皮细胞,通过诱导Th17细胞分化成熟及免疫球蛋白A(IgA)产生而在促进先天性免疫产生和获得性免疫分化中发挥作用,从而影响胃肠道病原体清除<sup>[34-35]</sup>。*Enterobacter*是一种革兰氏阴性的条件致病菌,可产生多种肠毒素<sup>[36]</sup>,同时也产生黏附素而对肠上皮具有显著黏附力<sup>[37]</sup>。*Enterobacter*可在巨噬细胞中持续存活,使IL-10/IL-12升高,诱发II型免疫反应<sup>[38]</sup>。本研究显示藿香正气散治疗后肠内容物菌群失调以*Lactobacillus*富集为特征,而肠黏膜菌群失调的特征体现在*Candidatus Arthromitus*、*Pseudomonas*、*Bacillus*富集。*Pseudomonas*会产生内毒素等毒力因子而具有潜在致病性,特别是对免疫功能低下的个体<sup>[39-40]</sup>。*Bacillus spp*会产生种类繁多的抗菌肽,这些肽已被证明对致病微生物具有广泛的抗菌活性<sup>[41]</sup>,但少数种类的*Bacillus spp*被发现是肠毒素产生者<sup>[42]</sup>。部分致病菌增加会促进肠道菌群达到整体平衡。由上可知,泄泻寒湿困脾证和藿香正气散治疗组肠内容物菌群与乳酸和丁酸产生相关,肠黏膜菌群则与免疫炎症反应有关,但菌群种类和丰度在治疗前后存在差别。

本研究发现肠黏膜优势菌属的差异贡献率整体上高于肠内容物优势菌属的差异贡献率,且共现网络分析证实肠黏膜优势菌与其他菌的相互作用要多于肠内容物优势菌,推测肠黏膜菌群更有可能发展为辨别不同中医证型泄泻的微生物群落系统,这与之前的研究结论基本一致<sup>[43-44]</sup>。与肠内容物菌群相比,黏膜菌群与宿主上皮更靠近,菌群与肠黏膜黏附、嵌合形成膜菌是产生肠道微生物定植抗力的重要因素,构成肠黏膜生物屏障,防止肠道上皮与致病菌接触,维持肠道正常生理功能<sup>[45]</sup>,故黏膜菌群在胃肠道疾病的发生发展过程中可能发挥更重要的作用。同时肠黏膜菌群不受食物类型、肠蠕动速度等影响,处于相对稳定的、动态变化的生态平衡之中。

综上所述,不同中医证型泄泻的肠道菌群失调存在差异,方证相应调节菌群失调的疗效同样存在差别,且“同一病证”在不同肠道生态位也具有特征的菌群失调,提示肠道菌群可能是探索泄泻中医“同病异治”治疗特色的生物学基础之一。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] MIAZGA A, OSIŃSKI M, CICHY W, et al. Current views on the etiopathogenesis, clinical manifestation, diagnostics, treatment and correlation with other nosological entities of SIBO [J]. *Adv Med Sci*, 2015, 60(1):118-124.
- [2] 周丽,徐派的,张红星. 肠道菌群与常见功能性胃肠病相关性的研究进展 [J]. *华中科技大学学报:医学版*, 2020, 49(6):756-760.
- [3] 张声生,王垂杰,李玉锋,等. 泄泻中医诊疗专家共识意见(2017) [J]. *中医杂志*, 2017, 58(14):1256-1260.
- [4] 冉颖卓,邵鑫,刘晶. 2型糖尿病湿热证胰岛素抵抗与肠道菌群相关性的研究进展 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2022, 42(4):508-512.
- [5] WU M, LI P, LI J, et al. The differences between luminal microbiota and mucosal microbiota in mice [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2020, 30(2):287-295.
- [6] DONG L N, WANG J P, LIU P, et al. Faecal and mucosal microbiota in patients with functional gastrointestinal disorders: Correlation with toll-like receptor 2/toll-like receptor 4 expression [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(36):6665-6673.
- [7] DAI T, ZHANG Y, TANG Y, et al. Identifying the key taxonomic categories that characterize microbial community diversity using full-scale classification: A case study of microbial communities in the sediments of Hangzhou Bay [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2016, 92(10):150.
- [8] KR C. Nonparametric multivariate analyses of changes in community structure [J]. *Aust J Ecol*, 1993, 18:117-143.
- [9] HAMMER Ø, HARPER D, RYAN P D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis [J]. *Palaeontologia Electronica*, 2001, 4(1):9.
- [10] BENJAMINI Y, KRIEGER A M, YEKUTIELI D. Adaptive linear step-up procedures that control the false discovery rate [J]. *Biometrika*, 2006, 93(3):491-507.
- [11] LANGFELDER P, HORVATH S. Fast R functions for robust correlations and hierarchical clustering [J]. *J Stat Softw*, 2012, 46(11):11.
- [12] DOUGLAS G M, MAFFEI V J, ZANEVELD J R, et al. PICRUSt2 for prediction of metagenome functions

- [J]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38(6): 685-688.
- [13] CASPI R, BILLINGTON R, KESELER I M, et al. The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes—a 2019 update[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(D1): D445-D453.
- [14] TURNBAUGH P J, LEY R E, MAHOWALD M A, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest [J]. *Nature*, 2006, 444(7122): 1027-1031.
- [15] KOLIADA A, SYZENKO G, MOSEIKO V, et al. Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population [J]. *BMC Microbiol*, 2017, 17(1): 120.
- [16] STOJANOV S, BERLEC A, ŠTRUKELJ B. The influence of probiotics on the Firmicutes/Bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(11): 1715.
- [17] SHAPIRO J M, DE ZOETE M R, PALM N W, et al. Immunoglobulin A targets a unique subset of the microbiota in inflammatory bowel disease [J]. *Cell Host Microbe*, 2021, 29(1): 83-93.
- [18] GUO W, XIANG Q, MAO B, et al. Protective effects of microbiome-derived inosine on lipopolysaccharide-induced acute liver damage and inflammation in mice via mediating the TLR4/NF- $\kappa$ B pathway [J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(27): 7619-7628.
- [19] DO M H, LEE E, OH M J, et al. High-glucose or fructose diet cause changes of the gut microbiota and metabolic disorders in mice without body weight change [J]. *Nutrients*, 2018, 10(6): 761.
- [20] RASMUSSEN M. *Aerococcus*: An increasingly acknowledged human pathogen [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2016, 22(1): 22-27.
- [21] GILBERT N M, CHOI B, DU J, et al. A mouse model displays host and bacterial strain differences in *Aerococcus* *urinae* urinary tract infection [J]. *Biol Open*, 2021, 10(8): bio058931.
- [22] DOREY R B, THEODOSIOU A A, READ R C, et al. The nonpathogenic commensal *Neisseria*: Friends and foes in infectious disease [J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2019, 32(5): 490-496.
- [23] D'ARGENIO V, CASABURI G, PRECONE V, et al. Metagenomics reveals dysbiosis and a potentially pathogenic *N. flavescens* strain in *Duodenum* of adult celiac patients [J]. *Am J Gastroenterol*, 2016, 111(6): 879-890.
- [24] YANG M C, LING J, MOSAED S. *Capnocytophaga canimorsus* blebitis: Case report and review of literature [J]. *BMC Ophthalmol*, 2021, 21(1): 59.
- [25] LARSEN J M. The immune response to *Prevotella* *bacteria* in chronic inflammatory disease [J]. *Immunology*, 2017, 151(4): 363-374.
- [26] KOTANI A, ODA Y, HIRAKAWA Y, et al. Peritoneal dialysis-related peritonitis caused by *Streptococcus* *oralis* [J]. *Intern Med*, 2021, 60(21): 3447-3452.
- [27] PITIROLLO O, MICOLI F, NECCHI F, et al. Gold nanoparticles morphology does not affect the multivalent presentation and antibody recognition of group A *Streptococcus* *synthetic oligorhamnans* [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 99: 103815.
- [28] AGUIRRE M, COLLINS M D. Lactic acid bacteria and human clinical infection [J]. *J Appl Bacteriol*, 1993, 75(2): 95-107.
- [29] DERRIEN M, VAN HYLCKAMA Vlieg J E. Fate, activity, and impact of ingested bacteria within the human gut microbiota [J]. *Trends Microbiol*, 2015, 23(6): 354-366.
- [30] VEMURI R, GUNDAMARAJU R, SHINDE T, et al. *Lactobacillus acidophilus* DDS-1 modulates intestinal-specific microbiota, short-chain fatty acid and immunological profiles in aging mice [J]. *Nutrients*, 2019, 11(6): 1297.
- [31] ZHENG D, WANG Z, SUI L, et al. *Lactobacillus johnsonii* activates porcine monocyte derived dendritic cells maturation to modulate Th cellular immune response [J]. *Cytokine*, 2021, 144: 155581.
- [32] KONG C, GAO R, YAN X, et al. Probiotics improve gut microbiota dysbiosis in obese mice fed a high-fat or high-sucrose diet [J]. *Nutrition*, 2019, 60: 175-184.
- [33] PAGLIAI G, RUSSO E, NICCOLAI E, et al. Influence of a 3-month low-calorie mediterranean diet compared to the vegetarian diet on human gut microbiota and SCFA: The CARDIVEG Study [J]. *Eur J Nutr*, 2020, 59(5): 2011-2024.
- [34] THOMPSON C L, VIER R, MIKAELIAN A, et al. '*Candidatus* *Arthromitus*' revised: Segmented filamentous bacteria in arthropod guts are members of Lachnospiraceae [J]. *Environ Microbiol*, 2012, 14(6): 1454-1465.
- [35] HEDBLOM G A, REILAND H A, SYLTE M J, et al. Segmented *Filamentous Bacteria-Metabolism* meets immunity [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1991.
- [36] PAGOTTO F J, NAZAROWEC-WHITE M, BIDAWID S, et al. *Enterobacter sakazakii*: Infectivity and enterotoxin production *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Food Prot*, 2003, 66(3): 370-375.
- [37] MANGE J P, STEPHAN R, BOREL N, et al. Adhesive properties of *enterobacter sakazakii* to human epithelial and brain microvascular endothelial cells [J]. *BMC Microbiol*, 2006, 6: 58.
- [38] TOWNSEND S M, HURRELL E, GONZALEZ-GOMEZ I, et al. *Enterobacter sakazakii* invades brain capillary endothelial cells, persists in human

- macrophages influencing cytokine secretion and induces severe brain pathology in the neonatal rat[J]. *Microbiology (Reading)*, 2007, 153 (Pt 10): 3538-3547.
- [39] IWASA S, PETKANCHANOPONG W, NAIGOWIT P, et al. Endotoxin of *Pseudomonas pseudomallei* detected by the body weight-decreasing reaction in mice and comparison of it with those of *P. cepacia* and *P. aeruginosa*[J]. *JPN J Med Sci Biol*, 1992, 45(1): 35-47.
- [40] ISEPPi R, SABIA C, BONDI M, et al. Virulence factors, drug resistance and biofilm formation in pseudomonas species isolated from healthcare water systems[J]. *Curr Microbiol*, 2020, 77(8): 1737-1745.
- [41] SUMI C D, YANG B W, YEO I C, et al. Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: A new era for antibiotics[J]. *Can J Microbiol*, 2015, 61(2): 93-103.
- [42] MCKILLIP J L. Prevalence and expression of enterotoxins in *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp., a literature review [J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2000, 77(4): 393-399.
- [43] SARRABAYROUSE G, LANDOLFI S, POZUELO M, et al. Mucosal microbial load in Crohn's disease: A potential predictor of response to faecal microbiota transplantation[J]. *EBio Med*, 2020, 51: 102611.
- [44] SOKOL H, BROTH L, STEFANESCU C, et al. Prominence of ileal mucosa-associated microbiota to predict postoperative endoscopic recurrence in Crohn's disease[J]. *Gut*, 2020, 69(3): 462-472.
- [45] 李小萍. 腹泻型肠易激综合征患者肠腔内菌群和肠道粘膜相关菌群的变化及意义[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2014.

[责任编辑 顾雪竹]

· 书讯 ·

## 对性护理模式在治疗慢性胃溃疡患者中的应用效果 ——评《现代疾病护理要点》

近年来随着生活压力的增加,大部分上班族饮食不规律,使得慢性胃溃疡发病率随着年龄增长而呈上升趋势。究其原因造成慢性胃溃疡发病率逐年升高的因素正是不规律的饮食结构。慢性胃溃疡作为临床常见病症之一,患者发病时会出现腹胀、腹痛等症状,因此及时性的治疗以及长期有效的护理措施对他们而言,至关重要。若慢性胃溃疡患者不及时治疗,则会并发胃出血、胃穿孔等严重情况。对于慢性胃溃疡的治疗及护理这一课题是近年来研究讨论的热点。该病症的发病机制主要是幽门螺杆菌等有害微生物,破坏人体胃肠道黏膜在细胞的毒作用下,诱发胃酸和蛋白酶的分泌,造成机体内胃酸含量过高,从而使胃肠道黏膜表面的离子屏障受损,胃肠道正常菌群被影响,最终水电解质失衡,出现胃肠道黏膜局部炎症,在长期的慢性刺激下演变成慢性胃溃疡。慢性胃溃疡患者在初期会出现腹痛、腹胀,晚期患者会出现呕血、吐血,还会出现黑便,甚至胃穿孔。目前慢性胃溃疡临床症状有所不同,治疗要从实际状况出发,以中西医结合治疗为主,给予生活调理、心理护理等必要的护理措施,来提高患者的自护能力。

《现代疾病护理要点》由艾翠翠主编,吉林科学技术出版社2019年出版。本书介绍当前临床疾病医疗进展与护理,包括内外科常见疾病的治疗和现代护理;其次介绍当代临床治疗新技术与护理,内容涉及心理、生理、治疗、康复等系统的护理措施。全书共分为八章节,内容包括护理技术的相关基础知识,基本理论及基本操作技术。涉及神经系统、呼吸系统、循环系统、消化系统等常见病的护理要点,第五章为消化系统疾病护理的具体内容,细分为八小节,图文并茂的介绍了该章节的内容。慢性胃溃疡患者的护理方法由6个部分组成。组建针对性护理工作组,由护士长为组长,针对护理目标制定组内人员职责,开展过程中需严格遵守各项规则,定期参加相关培训及针对性护理考核。心理护理,大部分患者会感觉到心理压力,负面的心理会使病情不稳定,因此护理人员要主动与患者进行沟通,尽可能地减轻患者的心理负担,增强患者的治疗信心。合理用药,主要是通过卫生宣教等方式提高患者对疾病的认知度,加强自身健康意识,提高患者治疗依从性,保证患者合理用药。健康饮食,主要是指导患者进行健康饮食,可以让家属协同参与。适度运动,让患者明白适量运动对疾病是有益处的。情绪干预,医护人员应做好患者心理护理,观察患者的情绪波动,调整治疗过程中的不良心理状态。针对性护理模式在慢性溃疡患者中的护理优势,与常规护理模式来说,针对性护理模式最为显著的特点是个性化、针对性强、护理效率高等。在慢性胃溃疡患者的护理中应用针对性护理模式,让每位患者可以体验到个性化的治疗方案,增强了治疗效果,针对不同的患病诱发因素制定合理的护理措施手段,能更好的让患者家属参与监督,对于护理过程中治疗依从性高的患者可以给予明确表扬,以提高其自护能力与积极性。在开展针对性护理的过程中能有效纠正患者的不良饮食习惯,大大促进了其康复进程,有效缩短了治愈时间。慢性胃溃疡患者常用观察指标,慢性胃溃疡患者护理评价主要包括抑郁自评量表(SDS)及焦虑自评量表(SAS)评分、护理治疗依从性两个关键指标。而护理治疗依从性评分主要评估患者在治疗前、后的护理治疗依从性情况。

《现代疾病护理要点》在编写过程中切实贯彻科学、严谨、创新的态度,注重于临床实践相结合,不脱离优秀经验与最新研究成果,体现了以人为本的护理理念与要求。该书内容具有覆盖面广、信息量大的特点,让读者在阅读接收到临床护理的新理论、新方法、新的临床护理实践知识。全书供临床各护理教师、专科护理人员与护理专业的医学生参考阅读。

(作者 郑建英,浙江省医疗健康集团杭州医院,杭州 310022)