

# 补脾益气方对实验性“脾虚”小鼠 肠道菌群的影响

严梅楨 宋红月 谢念祥 刘林祥

(中国中医研究院中药研究所 北京 100700)

**摘要** 以肠道中厌氧菌主要成员双歧杆菌、乳杆菌为观察对象,研究了脾虚动物肠道菌群变化。实验结果表明,补脾益气方均能对抗大黄引起的双歧杆菌和乳杆菌下降的作用,实验结果从一个方面阐明了补脾益气方的作用机理,同时表明了双歧杆菌和乳杆菌的稳定性与人体健康的关系。

**关键词** 脾虚 肠道菌群 健脾益气方

## Influence of Strengthening Recipes on the Intestinal Flora in a Mouse Model with "Spleen Deficiency"

*Yan Meizhen, Song Hongyue, Xie Nianxiang, Liu Linxiang*

*(Institute of Chinese Materia Medica, Academy of Traditional Chinese Medicine,  
Beijing 100700)*

**Abstract:** Using both bifidobacteria and lactobacilli, major anaerobes in intestine, as main objects, the change of the intestinal flora of the mice with experimental Spleen deficiency was studied. The results indicated that the recipes for strengthening spleen and reinforcing the vital energy (qi) were all able to counteract the effect of rhubarb which decreased the counts of the above bacteria. The data elucidated one possible mechanism of the biological action of the recipes, indicating relationship between a normal stabilization of bifidobacteria and lactobacilli and the human body health.

**Key words:** Spleen deficiency; Intestinal flora; strengthen spleen and replenish vital energy

在目前许多由致病菌引起的疾病已逐步减少和得到控制情况下,出现了许多以往被忽视的疾病,其中最常见有由于抗生素、激素、同位素及各种免疫抑制剂的广泛使用,引起机体肠道菌群之间生态平衡失调所导致的腹泻,从而严重地危害着人类的健康。当前公认使用的活菌制剂即是调整菌群失调的一种好方法,其优越性大于抗菌素的应用。我国中草药资源丰富,中医中药治病有着悠久的历史,我们的实验工作也已初步证明,中草药具有调整动物菌群紊乱的作用<sup>[1]</sup>,从而为肠道菌群的复正开辟了一条新的途径。为了探索中医健脾益气方对肠道菌群影响的规律,根据中医辩证论治的治则,开展祖国传统医药对菌群失调症的治疗,从而为进一步揭示中医“脾虚”实质提供理论依据。我们选择了几个治疗“脾虚”证的方剂,观察其对实验性“脾虚”小鼠肠道菌群的影响。现将结果报导如下。

## 1 材料和方法

**1.1 动物** 昆明种雄性小鼠,18—20g,由中国中医研究院动物中心供应。

**1.2 药物的制备** 选用临床治疗脾虚证的5个健脾益气方,有补中益气汤(《脾胃论》)、附子理中汤(《太平惠民和剂局方》)、异功散(《小儿药证直诀》)、六君子汤(《校注妇人良方》)和香砂六君子汤(《和剂局方》)。以上复方中各药味间比例均按照“中医辞典”中所记载。将生药于蒸馏水中浸泡半小时后,用大火煮开小火煎煮半小时,滤取药液,再加适量水,煎煮半小时,合并二次滤液,浓缩成每毫升含生药1g,每日每鼠灌喂0.5ml。正品西宁大黄(箱吉)由中药所理论室提供。大黄用水浸泡半小时后用大火煮沸,微火煎煮15分钟,将滤液浓缩成每毫升含0.5g生药浓度的水煎液。

**1.3 培养基** 1. 需氧菌选择培养基:分别用伊红美兰培养基(EMB)和肠球菌选择培养基(EC)分离大肠杆菌和肠球菌。2. 厌氧菌选择培养基:分离厌氧菌所用的基础培养基为脑心浸液BHI,添加各种抗生素,制成各种选择性培养基:拟杆菌培养基(BA)、乳杆菌培养基(LA)和双歧杆菌培养基(BF)。

**1.4 动物“脾虚”模型的复制** 按以前报导的方法进行复制<sup>[1]</sup>。

**1.5 动物给药** 选择体重合格的健康小鼠,每天每鼠灌喂1ml大黄水煎液,给大黄二天后,将小鼠按体重和拉稀程度,均匀分成用药组和对照组,用药组小鼠在给大黄第三天起,在灌喂大黄同时,给小鼠以健脾益气方水煎液,对照组动物给以同体积水,同时设正常动物对照组,连续给药6天后,处死动物。

**1.6 菌群的分离、培养、鉴定及计数** 将动物拉颈脱臼处死,用无菌手段取出小鼠盲肠内容物,置于无菌试管内,加入10倍于盲肠内容物的0.05%灭菌酵母水,在液体振荡器(江西医疗器械厂产品)上振荡成粪便悬液,用酵母水将粪便悬液进行10倍稀释至 $10^{-7}$ ,分别用微量加样器将 $10\mu\text{l}$ 菌液点种于各种培养基上。选用 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 和 $10^{-5}$ 三个稀释度的菌液滴种于EC平板上,稀释度 $10^{-4}$ — $10^{-6}$ 的菌液点种于EMB平板上,将接种好的平板放入37℃普通培养箱内,培养24小时后观察结果。厌氧菌选择性琼脂平板上接种 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 三个稀释度的菌液,将接种培养物的平板置于37℃厌氧手套箱内,三天后根据菌落特征,涂片染色镜检和API20A进行鉴定。计数各种平板上的菌落数,将菌落数乘以稀释度和接种系数100,算出每g粪便中该菌的数量,结果以每克粪便中的菌数对数表示( $\log N/g$ )。

## 2 结果

2.1 三批试验结果都证实了,小鼠服用过量大黄形成脾虚模型后,其肠道内与人体健康密切有关的正常生理菌双歧杆菌和乳杆菌菌量下降,明显低于正常小鼠肠道内双歧杆菌和乳杆菌的菌量,而其肠道内拟杆菌菌量上升,明显高于正常小鼠,大肠杆菌和肠球菌数量无明显变化(见表 1、2 和 3)。以上实验结果表明了,脾虚小鼠肠道内几种重要的正常

生理菌菌量发生了明显的变化,这种菌群数量上的比例变化显示了脾虚小鼠肠道菌群的紊乱。

2.2 在小鼠服用大黄形成实验性“脾虚”模型过程中,给小鼠灌喂附子理中汤、异功散、补中益气汤、六君子汤和香砂六君子汤后,都能阻止实验性“脾虚”小鼠肠道内双歧杆菌和乳杆菌的下降,使双歧杆菌和乳杆菌的菌量

表 1 附子理中汤和异功散对脾虚小鼠肠道菌群的影响

(log N/g,  $\bar{X} \pm SD$ )

细菌种类	对照组	模型组	附子理中汤	异功散
肠球菌	7.12 ± 0.45 (9)	6.87 ± 0.45 (12)	5.88 ± 1.47 <sup>△</sup> (10)	6.69 ± 0.67 (11)
大肠杆菌	7.00 ± 0.53 (10)	7.13 ± 0.58 (10)	7.33 ± 0.79 (10)	7.42 ± 0.51 (11)
乳杆菌	9.71 ± 0.56 (10)	8.39 ± 0.93* (12)	9.37 ± 0.64 <sup>△</sup> (8)	9.43 ± 0.71 <sup>△△</sup> (10)
拟杆菌	8.99 ± 1.05 (10)	10.08 ± 0.27* (12)	9.56 ± 0.54 <sup>△△</sup> (10)	9.77 ± 0.47 (11)
双歧杆菌	9.86 ± 0.56 (10)	8.56 ± 0.80* (12)	9.72 ± 0.37 <sup>△△</sup> (8)	9.59 ± 0.38 <sup>△△</sup> (10)

注:括号内为动物数 与对照组比较 \*P<0.001 与模型组比较 <sup>△</sup>P<0.05 <sup>△△</sup>P<0.01

表 2 香砂六君子汤和补中益气汤对脾虚小鼠肠道菌群的影响

(log N/g,  $\bar{X} \pm SD$ )

细菌种类	对照组	模型组	香砂六君子汤	补中益气汤
肠球菌	6.92 ± 1.04 (4)	6.61 ± 0.97 (7)	6.90 ± 0.53 (10)	6.54 ± 0.79 (8)
大肠杆菌	8.20 ± 0.87 (4)	8.19 ± 0.94 (7)	7.28 ± 1.33 (8)	7.75 ± 0.94 (10)
乳杆菌	8.25 ± 0.50 (5)	7.17 ± 0.93* (9)	8.40 ± 1.17 <sup>△</sup> (11)	8.37 ± 0.94 <sup>△</sup> (11)
拟杆菌	8.53 ± 0.37 (4)	9.56 ± 0.56* * (9)	9.57 ± 0.31 (10)	9.52 ± 0.35 (10)
双歧杆菌	8.45 ± 0.43 (5)	6.28 ± 0.86* * * (9)	8.61 ± 0.67 <sup>△△</sup> (11)	8.37 ± 0.87 <sup>△△</sup> (11)

注:括号内为动物数 与对照组比较 \*P<0.05 \* \*P<0.01 \* \* \*P<0.001 与模型组比较 <sup>△</sup>P<0.05 <sup>△△</sup>P<0.001

上升至正常动物肠道内该菌的菌量水平(见表1、2和3)。这表明了脾虚小鼠服用健脾益

气中药后,能使其肠道内紊乱的菌群得到调整。

表3 六君子汤对脾虚小鼠肠道菌群的影响

细菌种类	(logN/g, $\bar{X} \pm SD$ )		
	对照组	模型组	六君子汤
肠球菌	6.55 ± 0.58(6)	7.07 ± 1.00(11)	6.82 ± 1.02(10)
大肠杆菌	8.58 ± 0.84(6)	8.51 ± 0.66(11)	8.49 ± 0.47(11)
乳杆菌	9.37 ± 0.63(5)	8.81 ± 0.40(10) * *	9.42 ± 0.47(11) <sup>△</sup>
拟杆菌	8.57 ± 0.35(5)	9.55 ± 0.75(9) *	8.93 ± 0.75(10)
双歧杆菌	9.16 ± 0.42(5)	8.01 ± 0.82(11) *	9.57 ± 0.44(11) <sup>△</sup>

注:括号内为动物数 与对照组比较 \*P<0.05 \*\*P<0.01 与模型组比较 <sup>△</sup>P<0.01

### 3 讨论

**3.1** 目前国内外科学工作者一致公认:导致慢性腹泻的经常性原因之一就是由于肠道微生态平衡在放射性同位素、抗生素等因素的影响下,受到破坏所造成的。脾虚为中医临床常见病,慢性腹泻为患者的主要表现之一,动物实验已证明,脾虚小鼠肠道内与人体生理活动关系密切的正常菌双歧杆菌和乳杆菌菌量均下降,经灌喂健脾益气方能使双歧杆菌和乳杆菌数量上升至正常水平,同时动物的体症也有所改善。临床也有类似的报导<sup>[2]</sup>,康白等对27例原因不明的慢性腹泻患者进行菌群调正法治疗,于治疗前后进行肠道菌群分析,观察结果表明,患者的症状与菌群的调正是一致的,即症状缓解,菌群恢复,症状消失,菌群复正。这充分表明了肠道内菌群失调与脾虚间关系的密切。目前脾虚实质的研究已成为中医理论研究的重要课题之一,正常的肠道菌群是维持人体健康的必要因素,一旦失去稳定性,即将有可能导致疾病的产生。因此系统而深入地分析肠道菌群状态也是研究脾胃疾病的生理病理变化的一个重要途

径。通过对脾虚动物肠道菌群变化的分析,将有助于阐明脾虚的实质。

**3.2** 我们选用了几个补脾益气方作为研究对象,对方剂的分析表明,这些方剂都以四君子汤的药味为主要组成部分,根据中医的不同症候,加上其它药味所组成。实验结果表明,试验的几个健脾益气方具有一个共同的特点,即均能阻止脾虚小鼠肠道内双歧杆菌和乳杆菌数量的减少。众所周知,双歧杆菌和乳杆菌是机体肠道内重要的生理性细菌,对维护肠道的生态平衡起着重要的作用。当机体处于各种病理状态时双歧杆菌数量往往下降,并随着病情的好转而逐渐恢复<sup>[3]</sup>。因此人们把双歧杆菌的量作为衡量机体健康状态的一个指标。凡能促使双歧杆菌和乳杆菌数量增加,必能促进身体康复。我们的实验从一个方面阐明了健脾益气方治疗脾虚患者的作用机理,也可为中医临床用药提供依据。

#### 参 考 文 献

- [1] 严梅桢等. 中国微生物学杂志 1981;1(1):40
- [2] 康白等. 康白论文集 1989:21
- [3] 郝维善. 中国微生物学杂志 1989;1(11):116