

· 经典名方 ·

基于 16S rRNA 技术分析柴胡龙骨牡蛎汤对精神分裂症大鼠肠道菌群多样性的影响

李自辉¹, 庞牧¹, 林佩琦², 刘树民^{1*}

(1. 黑龙江中医药大学 药物安全性评价中心, 哈尔滨 150040;
2. 马来西亚惠民中医药针灸治疗中心, 吉隆坡 661000)

[摘要] 目的: 基于 16S rRNA 技术研究柴胡龙骨牡蛎汤对精神分裂症模型大鼠肠道菌群多样性的影响, 并探讨该复方治疗精神分裂症的作用机制。方法: 雄性 SD 大鼠除正常组外, 每日按剂量 0.1 mg·kg⁻¹ 腹腔注射地卓西平马来酸盐进行造模, 模型成功后, 柴胡龙骨牡蛎汤高、中、低剂量组给予实验大鼠柴胡龙骨牡蛎汤 (11.2, 5.6, 2.8 g·kg⁻¹), 利培酮组按 0.4 mg·kg⁻¹ 灌胃给予利培酮片, 正常组与模型组灌胃给予蒸馏水, 给药体积均为 10 mL·kg⁻¹, 连续给药 14 d, 将大鼠麻醉后取大鼠盲肠内容物, 以 Illumina MiSeq 为测序平台, 对其 16S rRNA V4 区的肠道菌群可操作分类单元 (OTUs) 数量, alpha 与 beta 多样性, 丰富度指数与多样性指数以及差异菌门与菌属进行综合性分析与评价。结果: 柴胡龙骨牡蛎汤可改善精神分裂模型大鼠 OTUs 数量及 alpha 与 beta 多样性的失调, 降低菌群生物丰富度指数与多样性指数, 对精神分裂症模型大鼠的 5 种差异菌门 (上调拟杆菌门、酸杆菌门、变形菌门和 TM7 菌门, 下调厚壁菌门) 与 20 种差异菌属的分布结构均产生回调作用。结论: 柴胡龙骨牡蛎汤对精神分裂症模型大鼠的异常菌群多样性起到治疗作用, 并通过 16S rRNA 技术揭示了肠道菌群在精神分裂状态下的相关病理机制。

[关键词] 柴胡龙骨牡蛎汤; 精神分裂症; 肠道菌群; 高通量测序; 16S rRNA 技术; 柴胡加龙骨牡蛎汤; 可操作分类单元

[中图分类号] R22; R24; R28; C37; R378. 2; R749. 3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)13-0001-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190302

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181115.1007.022.html>

[网络出版时间] 2018-11-16 14:43

Analysis of Effect of Chaihu Longgu Mulintang on Intestinal Microflora Diversity of Schizophrenic Rats Based on 16S rRNA Technique

LI Zi-hui¹, PANG Mu¹, LIN Pei-qi², LIU Shu-min^{1*}

(1. Center for Drug Safety Evaluation, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;
2. Pusat Perubatan Cina & Akupunktur Mercy Sdn Bhd, Kuala Lumpur 661000, Malaysia)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of Chaihu Longgu Mulintang on intestinal microflora diversity of schizophrenic model rats, and further reveal its therapeutic characteristics and mechanisms based on the 16S rRNA technique. **Method:** Except the normal group, male SD rats were intraperitoneally injected dizocilpine maleate with daily dose of 0.1 mg·kg⁻¹. After the success of the model, Chaihu Longgu Mulintang high, middle and low dose groups were converted into the human clinical upper limit daily, and the experimental rats were given Chaihu Longgu Mulintang with doses of 11.2, 5.6, 2.8 g·kg⁻¹, respectively. And the positive drug group was treated with 0.4 mg·kg⁻¹ of risperidone tablets. The normal group and model group was treated with water. The

[收稿日期] 20180906(007)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81774188); 黑龙江中医药大学研究生创新科研项目(2018yjcx004)

[第一作者] 李自辉, 在读博士, 从事中药性味理论的研究, E-mail: 1831794073@qq.com

[通信作者] * 刘树民, 博士, 教授, 从事中药药效物质基础及中药药性理论的研究, Tel: 0451-82193278, E-mail: keji-liu@163.com

rats were continuous administrated 14 days with dosing volume of $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, the contents in caecum of rats were taken after anesthesia. Illumina MiSeq was used as the sequencing platform, the number of operational taxonomic units (OTUs), richness and diversity indexes, diversity of alpha and beta, differential phylum and genus of intestinal flora in V4 zone of 16S rRNA were comprehensively analyzed and evaluated. **Result:** Chaihu Longgu Multiang could improve the number of OTUs, richness and diversity indexes of intestinal flora, imbalance of alpha and beta diversity of schizophrenic model rats. And this formula had a callback effect on 5 differential phyla of bacteria (Bacteroidetes, Acidobacteria, Proteobacteria, Firmicutes and TM7) and 20 genera of bacteria in schizophrenic model rats. **Conclusion:** Chaihu Longgu Multiang plays an therapeutic effect on diversity of abnormal microflora in schizophrenic model rats, and this paper reveals the pathological mechanism of intestinal microflora in the state of schizophrenia by 16S rRNA technique.

[**Key words**] Chaihu Longgu Multiang; schizophrenia; intestinal flora; high-throughput sequencing; 16S rRNA technique; Chaihu Jia Longgu Multiang; operational taxonomic units

精神分裂症已成为现今高发性的精神类疾病, 中医将其归于“癫狂病”的范畴, 目前对其治疗多以服用抗精神病类药物为主, 虽有一定的临床疗效, 但其毒副作用与依从性却是不可忽视的, 寻找一种理想的药物是目前治疗精神分裂症的关键^[1-2]。有研究表明, 肠道菌群失调与精神分裂症的发生存在着一定的相关性, Rebollo 等^[3]通过研究发现, 调节精神分裂患者肠道菌群的多样性结构, 可提高 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸 (NMDA) 受体与脑源性神经营养因子 (BDNF) 的表达水平, 异常行为与认知功能得到了相应改善^[4]。柴胡龙骨牡蛎汤源自经典安神名方柴胡加龙骨牡蛎汤, 原方出自《伤寒论》, 现代临床常用于治疗精神分裂症等相关疾病^[5]。李东阳等^[6]研究发现, 柴胡龙骨牡蛎汤可对精神分裂模型大鼠行为学及胶质细胞的表达起到治疗作用。但该复方对于精神分裂症机体的肠道菌群多样性是否具有调节作用尚未见报道。因此, 通过肠道菌群多样性来研究柴胡龙骨牡蛎汤治疗精神分裂症的作用机制, 这可为此类疾病的预防与药物研发提供新思路。

16S rRNA 技术是基于宏基因组学针对微生物的一种高通量测定方法, 常用于对机体肠道菌群的多样性序列检测^[7]。近年来, 其在各类疾病的机制研究已成为热点。顾宁宁等^[8]采用该技术进行研究, 发现黄连可改善 2 型糖尿病大鼠肠道菌群紊乱, 同时还发现了与 2 型糖尿病具有相关性的菌门与菌属; 徐航宇等^[9]通过 16S rRNA 测序发现, 黄芩可提高溃疡性结肠炎 (UC) 大鼠益生菌的丰富度指数, 以此调整肠道菌群的平衡。但大多数研究是以单味中药或中药单体成分为研究对象, 应用该技术研究中药复方的报道较少。本实验拟采用最新一代 Illumina MiSeq 平台的 16S rRNA 技术, 对柴胡龙骨

牡蛎汤治疗精神分裂症模型大鼠的肠道菌群多样性进行高通量测序, 旨在从肠道微生物生态层面上探究该复方的作用机制, 为临床上精神分裂症的评价与诊断提供理论依据。

1 材料

RS232G 型紫外分光光度计 (德国 Eppendorf 公司), AL204 型电子天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司], Forma 88000 型超低温冰箱 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司], YP10001 型电子秤 (上海佑科仪器仪表有限公司)。

地卓西平马来酸盐 (MK-801, 美国 Sigma 公司, 批号 M107-50MG), 利培酮片 (西安杨森制药有限公司, 批号 H20010309), 大鼠饲料 (北京科澳协力饲料有限公司, 批号 2017041021), 文库检测及定量试剂盒 (Invitrogen 公司, 批号 P7589)。柴胡龙骨牡蛎汤由柴胡 24 g, 大黄 12 g, 生姜 9 g, 人参 9 g, 大枣 12 枚, 龙骨 9 g, 牡蛎 9 g (均购自黑龙江省药材公司, 批号分别为 170623, 170609, 170606, 170524, 170521, 170517, 170514) 和桂枝 9 g, 茯苓 9 g, 半夏 12 g, 黄芩 9 g (亳州市聚仁中药材种植有限责任公司, 批号依次为 17052030, 17052437, 17052616, 17053041) 组成 (与柴胡加龙骨牡蛎汤相比少了铅丹, 每剂共 11 味药), 经黑龙江中医药大学中药资源教研室王振月教授鉴定, 均符合 2015 年版《中国药典》的相关要求; 将上述全部药材饮片于 6 倍量水中浸泡 30 min, 武火煮沸后改文火继续煎煮 30 min, 煎煮 2 次, 合并药液, 过滤, 滤液减压浓缩至生药质量浓度 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下保存备用。水为蒸馏水。

SPF 级雄性 SD 大鼠, 体质量 (220 ± 20) g, 购自辽宁长生生物技术有限公司, 合格证号 SCXK (辽) 2015-0001, 饲养于黑龙江中医药大学实验动物中心

屏障系统内,室内温度(22 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 45%;适应性喂养 7 d 后进行实验,所有实验大鼠的使用和喂养严格遵照动物保护协会所规定的有关条款,并获得黑龙江中医药大学伦理委员会的批准,批准编号 DWLL20170824001。

2 方法与结果

2.1 精神分裂症大鼠模型的制备 SD 大鼠按剂量 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射 MK-801,每日 1 次,连续 14 d,每日上午 9:00—10:00 点完成造模。造模 14 d 后进行一般行为学评价,评价合格的大鼠,可认定为造模成功^[10]。

2.2 大鼠的分组与给药 未造模前,随机选择 10 只大鼠作为正常组,造模成功后大鼠随机分为模型组、柴胡龙骨牡蛎汤高、中、低剂量组、利培酮组,每组 10 只。柴胡龙骨牡蛎汤高、中、低剂量组每日进行按人体临床上限的 4,2,1 倍剂量折算后灌胃给予实验大鼠柴胡龙骨牡蛎汤(按生药量计算分别为 $11.2, 5.6, 2.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),利培酮组按 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃给予利培酮片,正常组与模型组灌胃给予蒸馏水,给药体积均为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,连续给药 14 d^[11]。

2.3 样品的制备 大鼠盲肠内容物为机体菌群多样性最为丰富的部位^[12],末次给药后用 20% 乌拉坦将大鼠麻醉,取大鼠大肠粗短处(盲肠)的内容物,放入液氮中速冻, -80°C 超低温冰箱保存,从每组中随机选出 5 个样本邮寄到上海派森诺生物科技股份有限公司进行肠道菌群多样性检测。

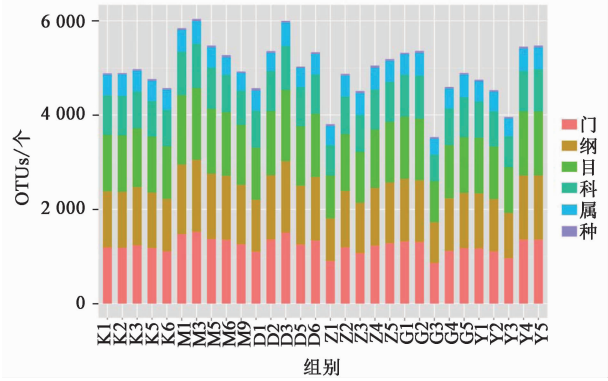
2.4 菌群 16S rRNA 测序分析 采用 Illumina MiSeq 测序平台,前引物为 5'-AYTGGGYDTAAAGNG-3',后引物为 5'-TACNVGGGTATCTAATCC-3',经过双端数据连接与去除嵌合体等步骤之后,利用高灵敏度定量及文库试剂盒对文库信息 2100 作质检,TruSeq Nano DNA LT 对样品试剂盒进行建库,运用荧光定量分析法对 16S rRNA V4 区有效序列进行 MiSeq 的 $2 \times 300 \text{ bp}$ 双端测序。使用 QIIME 软件,R 软件及 Mothur 软件等对测序结果进行 alpha 多样性,beta 多样性,菌群分类学组成等一系列的综合性分析及处理。

2.5 数据处理 各组实验数据均用 SPSS 20.0 软件进行统计学处理,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,对数据进行单因素方差分析,组间差异比较用最小显著性差异法(LSD), $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2.6 肠道菌群多样性的变化

2.6.1 大鼠菌群可操作分类单元(OTUs)分析 与正常组相比,模型组大鼠门、纲、目、科、属、种六类

OTUs 地位丰富度明显增加。与模型组相比,给予柴胡龙骨牡蛎汤与利培酮片干预后,门、纲、目、科、属、种六类 OTUs 地位丰富度在一定程度上有所减少;且柴胡龙骨牡蛎汤中、高剂量组与利培酮组门、纲、目、科、属、种六类 OTUs 地位丰富度明显降低,且这 3 组更接近正常组,见图 1。



K. 正常组;M. 模型组;D. 柴胡龙骨牡蛎汤低剂量组;Z. 柴胡龙骨牡蛎汤中剂量组;G. 柴胡龙骨牡蛎汤高剂量组;Y. 利培酮组(图 3~9 同)

图 1 各组大鼠肠道菌群的 OTUs 分析

Fig. 1 OTUs analysis of intestinal flora in rats from each group

2.6.2 大鼠样本菌群的 alpha 多样性分析 随着样本数量与相应等级值的增加,菌群数量与相对丰度趋于某一恒定值,表明测序深度充分,足够反映群落丰富度的水平,OTUs 的数量接近实际情况,群落组成的均匀度较高,见图 2,3。结果与正常组比较,模型组大鼠肠道菌群丰富度指数(Chao1 与 ACE)极显著增多($P < 0.01$),多样性指数(Simpson 与 Shannon)显著升高($P < 0.05$)。与模型组比较,柴胡龙骨牡蛎汤高剂量组与利培酮组大鼠肠道菌群丰富度指数(Chao1 与 ACE)显著减少($P < 0.01$),多样性指数(Simpson 与 Shannon)显著降低($P < 0.05$);柴胡龙骨牡蛎汤中剂量组大鼠肠道菌群丰富度指数(Chao1 与 ACE)显著减少($P < 0.05$),见表 1。

2.6.3 大鼠样本菌群分类学组成分析 在门水平,与正常组相比,模型组大鼠具有显著性差异的菌门有 5 个($P < 0.01$),上调拟杆菌门(Bacteroidetes),酸杆菌门(Acidobacteria),变形菌门(Proteobacteria),TM7 菌门,下调厚壁菌门(Firmicutes);给药干预后,柴胡龙骨牡蛎汤高剂量组与利培酮组可显著性回调这 5 个菌门($P < 0.01$),柴胡龙骨牡蛎汤中剂量组可上调 Proteobacteria 与 TM7 调差异性($P < 0.05$),见图 4。

在属水平,通过对整体菌属聚类分析,将具有

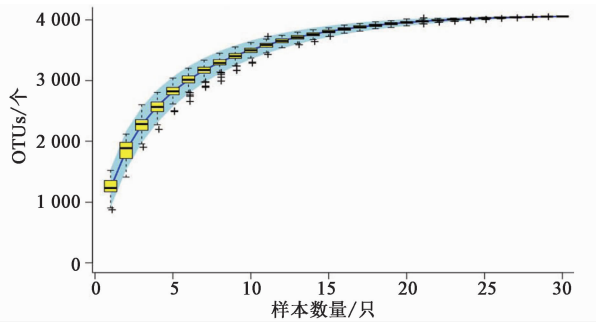


图 2 各组大鼠肠道菌群的 Specaccum 物种累积曲线
Fig.2 Specaccum species accumulation curve of intestinal flora in rats from each group

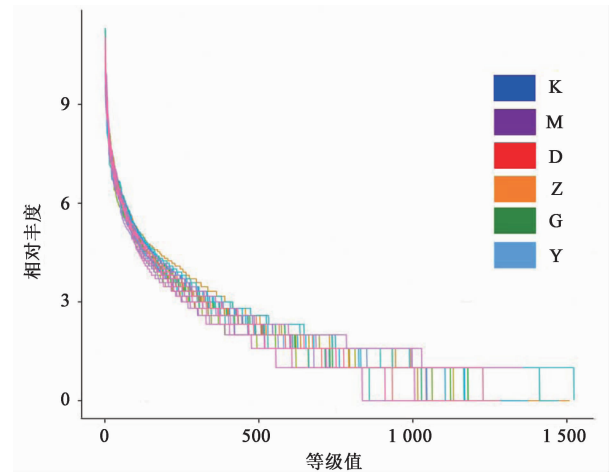


图 3 各组大鼠肠道菌群的丰度等级曲线
Fig.3 Abundance grade curve of intestinal flora in rats from each group

共同差异性菌属的位置在系统发育树中标注,分别是厌氧棒状菌属 (*Anaerostipes*), 球杆菌属 (*Aggregatibacter*), 布劳特氏菌属 (*Blautia*), 克里

表 1 各组大鼠肠道菌群的多样性指数与丰富度指数 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Diversity and richness indexes of intestinal flora in rats from each group ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	丰富度指数		多样性指数	
		Chao1	ACE	Simpson	Shannon
正常	-	1 150.8 ± 34.5	1 173.3 ± 43.1	0.977 3 ± 0.0087	7.614 0 ± 0.372 8
模型	-	1 371.9 ± 96.5 ²⁾	1 387.5 ± 86.0 ²⁾	0.989 7 ± 0.007 2 ¹⁾	8.132 0 ± 0.298 2 ¹⁾
柴胡龙骨牡蛎汤	2.8	1 306.9 ± 83.5	1 311.4 ± 72.3	0.988 9 ± 0.009 6	8.106 5 ± 0.284 6
	5.6	1 238.3 ± 103.8 ³⁾	1 267.4 ± 67.6 ³⁾	0.985 4 ± 0.008 9	7.963 3 ± 0.260 6
	11.2	1 152.4 ± 163.4 ⁴⁾	1 172.5 ± 163.5 ⁴⁾	0.977 6 ± 0.007 4 ³⁾	7.672 4 ± 0.274 9 ³⁾
利培酮	0.000 4	1 154.8 ± 96.4 ⁴⁾	1 187.7 ± 75.3 ⁴⁾	0.979 2 ± 0.008 2 ³⁾	7.636 5 ± 0.524 3 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⁾ $P < 0.01$ (图 4,7 同)。

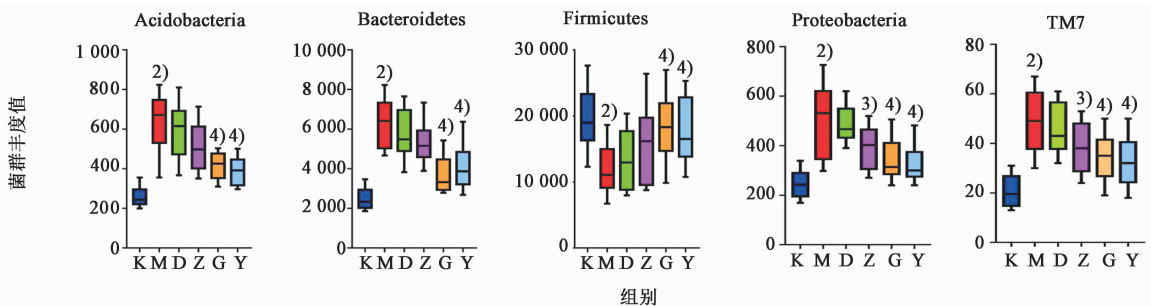


图 4 各组大鼠样本菌群具有显著性差异水平的菌门分布
Fig.4 Distribution of bacterial phylum with significant difference level of intestinal flora in rats from each group

斯滕森菌属 (*Christensenella*), 梭菌属 (*Clostridium*), 伯克氏菌属 (*Cupriavidus*), 多尔氏菌属 (*Dorea*), 毛形杆菌属 (*Lachnobacterium*), 毛螺旋菌属 (*Lachnospira*), 乳杆菌属 (*Lactobacillus*), 乳球菌属 (*Lactococcus*), 颤螺旋菌属 (*Oscillospira*), 冷杆菌属 (*Psychrobacter*), 帕拉普氏菌属 (*Paraprevotella*),

普雷沃菌属 (*Prevotella*), 罗斯氏菌属 (*Rothia*), 瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*), 萨特氏菌属 (*Sutterella*), 链球菌属 (*Streptococcus*), 密螺旋体菌属 (*Treponema*), 见图 5,6。

结果发现与正常组相比,模型组大鼠具有显著性差异的菌属有 20 个 ($P < 0.05, P < 0.01$),其中

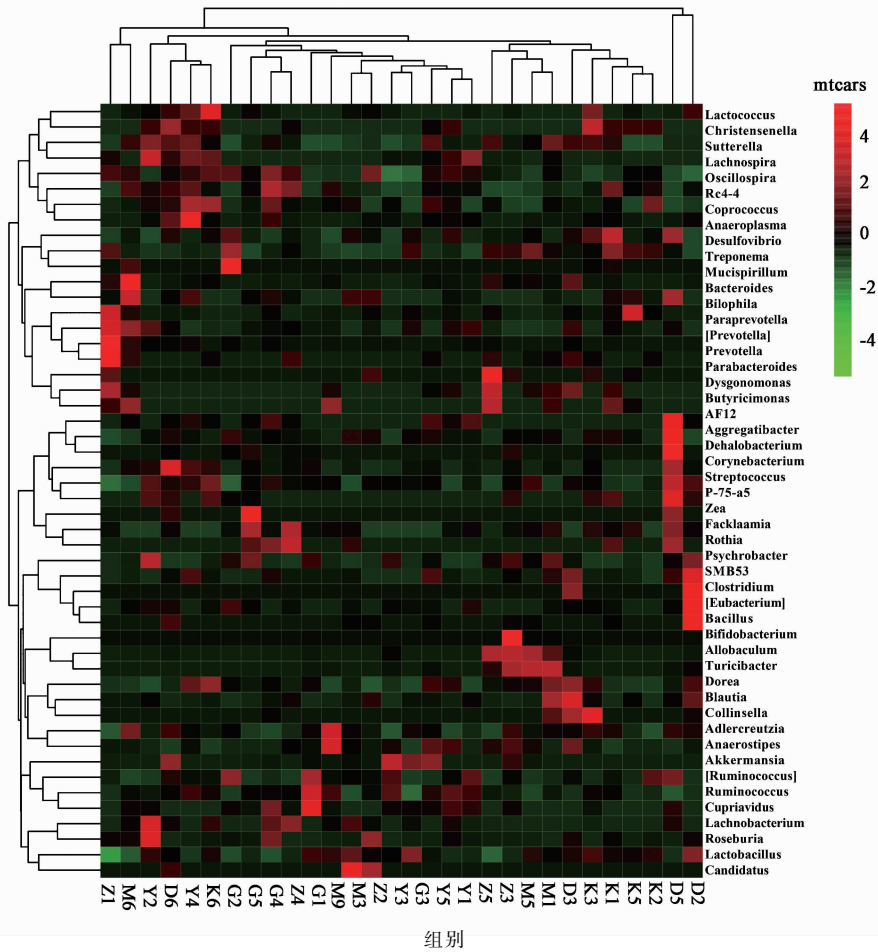


图 5 各组大鼠样本菌群整体属水平的群落分类丰度分布热分析

Fig. 5 Heat map of community taxonomic abundance distribution at whole genus level of intestinal flora in rats from each group

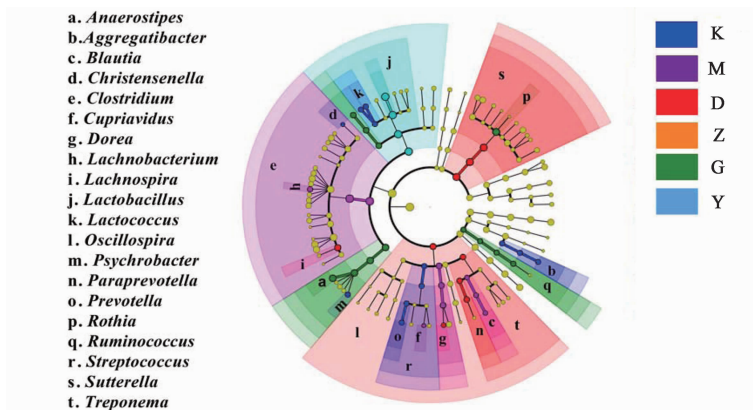


图 6 各组大鼠样本菌群差异菌属的系统等级分析

Fig. 6 Cladogram classification of bacteria genus with significant differences in intestinal flora of rats from each group

12 种菌属上调,8 个菌属下调。与模型组相比,柴胡龙骨牡蛎汤高剂量组可显著性回调 19 个菌属 ($P < 0.05, P < 0.01$),其中下调 11 个,上调 8 个;利培酮组可显著性回调 18 个菌属 ($P < 0.05, P < 0.01$),下调 11 个,上调 7 个;柴胡龙骨牡蛎汤中剂量组可显著性回调 6 个菌属 ($P < 0.05$),3 个菌属下调,3 个

菌属上调,见图 7。

2.6.4 大鼠菌群结构 beta 多样性分析 采用主成分分析(PCA)考察大鼠肠道菌群 beta 多样性的差异。与正常组比较,模型组大鼠菌群明显分开,表明两组菌群结构具有显著性差异。柴胡龙骨牡蛎汤中、高剂量组与利培酮组均趋向于正常组,且柴胡

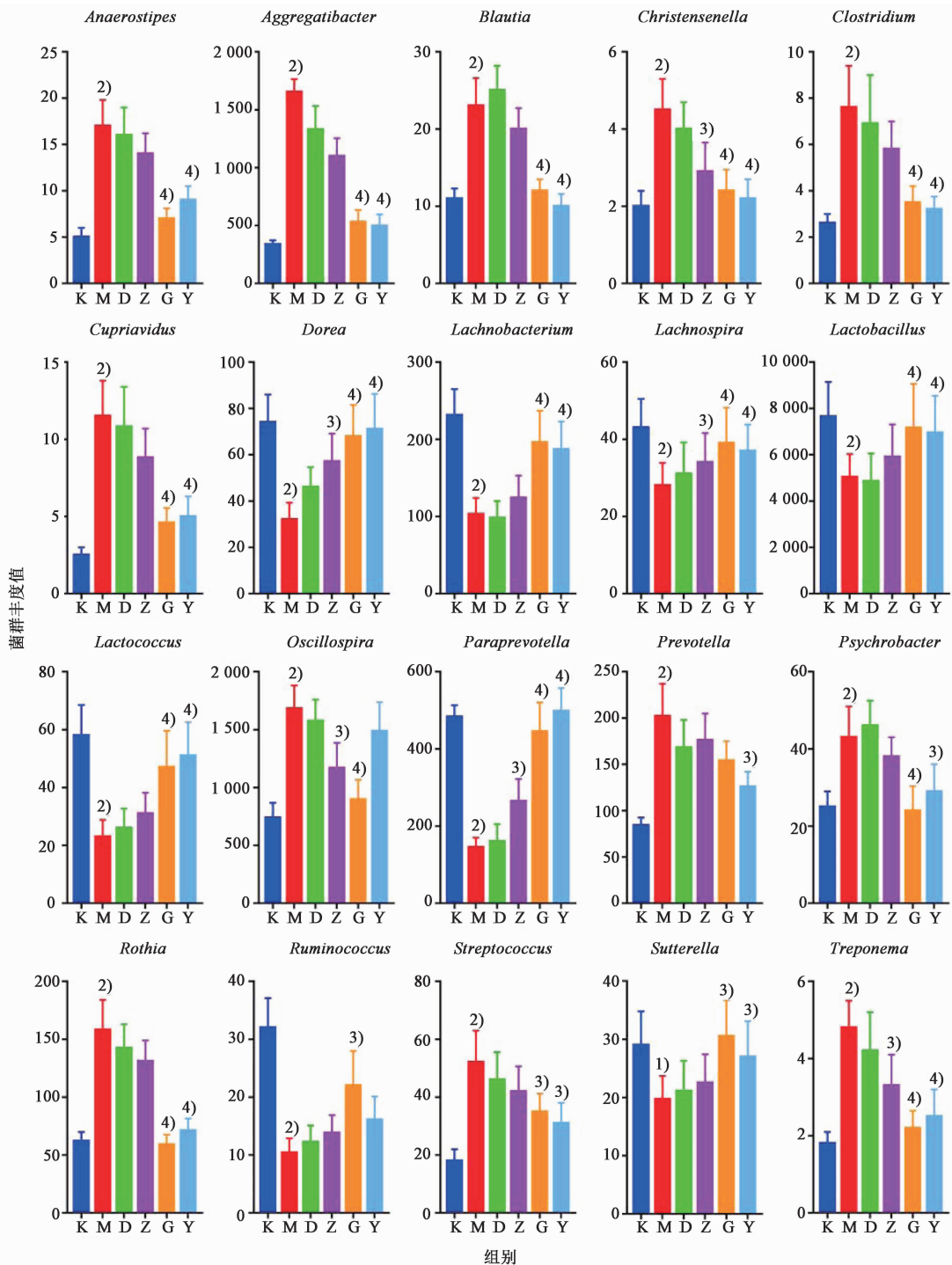


图 7 各组大鼠样本菌群具有显著性差异菌属的丰度值

Fig. 7 Abundance of bacteria genus with significant differences in intestinal flora of rats from each group

龙骨牡蛎汤高剂量组更接近正常组,说明柴胡龙骨牡蛎汤高剂量组菌群结构与正常组相近,两者存在一定的亲缘关系,见图 8。

2.6.5 大鼠菌群比较分析 根据物种丰度矩阵和样本分组数据构建偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)模型,分析各组间大鼠菌群的相互关系,见图

9。结果发现正常组与模型组各自聚类,无交集,说明正常组与模型组群落结构多样性无关联性;柴胡龙骨牡蛎汤低剂量组、利培酮组与模型组均有交集,表明这三组之间存在着一定的关联性。同时,柴胡龙骨牡蛎汤中剂量组与高剂量组与模型组无交集;且柴胡龙骨牡蛎汤高剂量组最接近于正常组,说明

预防具有深远的指导意义。另外,机体肠道菌群的结构与组成相对复杂,仍有部分菌群的生物意义及多样性是现代技术无法检测与解释的,还有待于基因测序技术的继续发展。

[参考文献]

[1] 朱虹,尹冬青,张晓钢,等.精神分裂症前驱期中医证素特点研究[J].中华中医药杂志,2018,33(4):1303-1307.

[2] 魏妍妍,刘丹丹,戎文娟,等.温胆汤对精神分裂症模型鼠海马 PKC, p38MAPK 及 P-Cx43 的影响[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(11):103-106.

[3] Rebollo B, Maria P Z, Marcel R M, et al. Beta and gamma oscillations in prefrontal cortex during nmda hypofunction: an *in vitro* model of schizophrenia features [J]. Neuroscience, 2018, 43(6):1324-1333.

[4] Pyndt J B, Krych L, Pedersen T B, et al. Investigating the longterm effect of subchronic phencyclidine-treatment on novel object recognition and the association between the gut microbiota and behavior in the animal model of schizophrenia[J]. Physiol Behav, 2015, 141:32-39.

[5] 陈琪,杨德爽,李诗梦,等.柴胡加龙骨牡蛎汤研究进展[J].医学综述,2016,22(17):3441-3443.

[6] 李东阳,周秀芳,孙晓,等.柴胡龙牡汤对精神分裂症大鼠模型刻板行为和胶质细胞纤维酸性蛋白(GFAP)表达的影响[J].现代预防医学,2011,38(7):1296-1297.

[7] McGovern E, Kenny D A, McCabe M S, et al. 16S rRNA sequencing reveals relationship between potent cellulolytic genera and feed efficiency in the rumen of bulls [J]. Front Microbiol, 2018, doi: 10.3389/fmicb.2018.01842.

[8] 顾宁宁,张兴德,郁红礼,等.基于 16S rRNA 基因测序的黄连对 2 型糖尿病大鼠肠道微生物多样性影响研究[J].中草药,2018,48(19):3998-4004.

[9] 徐航宇,王彦礼,王敦方,等.高通量测序技术研究黄芩汤对溃疡性结肠炎大鼠肠道菌群的影响[J].药学报,2017,52(11):1673-1681.

[10] 张春娟.十味温胆汤对 MK-801 诱导精神分裂症模型大鼠神经递质及免疫功能影响的研究[D].哈尔滨:黑龙江省中医药科学院,2016.

[11] 王超,杜泓森,张秀静,等.柴胡龙骨牡蛎汤对心肌梗

死大鼠骨髓 c-kit⁺ 干细胞动员的影响[J].北京中医药大学学报,2018,41(3):203-209.

[12] SHENG Y, ZHENG S, MA T, et al. Mulberry leaf alleviates streptozotocin-induced diabetic rats by attenuating NEFA signaling and modulating intestinal microflora[J]. Sci Rep, 2018, 21(9):12041-12051.

[13] 张宏耕,王杨,范荣,等.精神分裂症的中医证候规范化研究[J].国际精神病学杂志,2018,45(2):271-274.

[14] Dinan T G, Cryan J F. Gut-brain axis in 2016: brain-gut-microbiota axis-mood, metabolism and behaviour[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2017, 14(2):69-70.

[15] Galland L. The gut microbiome and the brain[J]. J Med Food, 2014, 17(12):1261-1272.

[16] Hsiao E Y, McBride S W, Hsien S, et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders[J]. Cell, 2013, 155(7):1451-1463.

[17] Fiorentino M, Sapone A, Senger S, et al. Blood-brain barrier and intestinal epithelial barrier alterations in autism spectrum disorders [J]. Mol Autism, 2016, doi: 10.1186/s13229-016-0110-z.

[18] 梁惠,吕锐,傅泳,等.益生菌对大鼠酒精性肝损伤的保护作用及机制研究[J].中国药理学通报,2016,32(7):991-997.

[19] 张宁,李自辉,赵洪伟,等.寒凝血瘀证大鼠的肠道菌群变化与粪便代谢特征分析[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(2):79-85.

[20] Severance E G, Gressitt K L, Stallings C R, et al. Probiotic normalization of *Candida albicans* in schizophrenia: a randomized, placebo-controlled, longitudinal pilot study[J]. Brain Behav Immun, 2017, 62:41-45.

[21] Sampson T R, Mazmanian S K. Control of brain development, function, and behavior by the microbiome [J]. Cell Host Microbe, 2015, 17(5):565-576.

[22] Schwarz E, Maukonen J, Hyttiainen T, et al. Analysis of microbiota in first episode psychosis identifies preliminary associations with symptom severity and treatment response [J]. Schizophr Res, 2018, 192:398-403.

[责任编辑 刘德文]