

基于肠道菌群探讨苓桂术甘汤对瘦素缺陷代谢紊乱模型小鼠的骨保护作用

刘立萍, 李然, 姜楠, 张澜川, 谷松*
(辽宁中医药大学, 沈阳 110032)

[摘要] **目的:**观察苓桂术甘汤对瘦素缺陷代谢紊乱模型小鼠肠道菌群的影响,探讨其骨保护作用是否与其调节肠道菌群有关。**方法:**采用 ob/ob 小鼠,实验分为正常组,模型组,苓桂术甘汤组(7.7 g·kg⁻¹),阿托伐他汀组(0.002 6 g·kg⁻¹),每组 8 只。连续灌胃 4 周后,采用苏木素-伊红(HE)染色观察股骨和小肠组织形态,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测股骨组织碱性磷酸酶(ALP)蛋白表达,免疫荧光法检测小肠法尼醇 X 受体(FXR)蛋白表达,酶联免疫吸附测定(ELISA)法测定血清白细胞介素-6(IL-6)含量,16S 核糖体 RNA(16S rRNA)测序进行小鼠肠道菌群分析。**结果:**与正常组比较,模型组股骨骨小梁变细,骨髓腔脂肪浸润,股骨 ALP 蛋白下调;小肠上皮损伤,小肠 FXR 蛋白下调;血清 IL-6 含量升高;肠道菌群结构发生变化,在门水平,厚壁菌门(Firmicutes)丰度升高($P < 0.01$),拟杆菌门(Bacteroidetes)丰度降低($P < 0.01$),在属水平,毛螺菌属(Lachnospiraceae)_UCG-001 丰度升高($P < 0.05$),norank_f__拟杆菌属(Bacteroidales)_S24-7_group 丰度降低($P < 0.01$);Lachnospiraceae_UCG-001 与体质量正相关($r = 0.661$),norank_f__Bacteroidales_S24-7_group 与体质量负相关($r = -0.622$)。与模型组比较,苓桂术甘汤改善股骨和小肠组织形态,上调股骨 ALP 和小肠 FXR 表达,降低血清 IL-6 含量,可以逆转属水平的菌群改变($P < 0.05$)。**结论:**瘦素缺陷代谢紊乱模型小鼠出现骨损伤、肠道菌群紊乱和小肠上皮损伤;苓桂术甘汤对瘦素缺陷代谢紊乱模型小鼠的骨损伤具有保护作用,其作用机制可能与其调节肠道菌群有关。

[关键词] 瘦素; 代谢紊乱; 骨形成; 肠道菌群; 苓桂术甘汤

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)20-0019-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191904

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190617.1409.023.html>

[网络出版时间] 2019-06-19 09:38

Protective Effect of Lingui Zhugan Tang on Bone Injury in ob/ob Mice Based on Gut Microbiota

LIU Li-ping, LI Ran, JIANG Nan, ZHANG Lan-chuan, GU Song*

(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Lingui Zhugan Tang on gut microbiota in ob/ob mice, in order to explore whether its bone protective effect is related to its regulatory effect of gut microbiota. **Method:** The ob/ob mice were divided into control group, model group, Lingui Zhugan Tang group, and Atorvastatin group. After administration for 4 weeks, morphological changes in intestine and bone were observed by htoxylin eosin (HE) staining. The protein expression of alkaline phosphatase (ALP) was detected by Western blot in bone. The expression of farnioliol X receptor (FXR) was detected by immunofluorescence staining. And the content of interleukin-6 (IL-6) in serum was analyzed by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. Gut microbiota was analyzed by 16S rRNA. **Result:** Compared with control group, the trabecular bone of the femur

[收稿日期] 20190224(013)

[基金项目] 辽宁省科技厅自然科学基金计划重点项目(20170540618);中国博士后科学基金第九批特别项目(2016T90229)

[第一作者] 刘立萍,博士,副教授,硕士生导师,从事方药理论与效用机制研究,Tel:024-31207104,E-mail:fangji2013@163.com

[通信作者] *谷松,博士,教授,博士生导师,从事张仲景学术思想研究,Tel:024-31207071,E-mail:songgu03@sohu.com

became thinner, the bone marrow cavity was infiltrated with fat, and the epithelium of the small intestine was damaged in the model group. The protein expressions of ALP and FXR decreased, while the content of IL-6 in serum was increased in the model group. Compared with model group, the protein expressions of ALP and FXR increased, while the content of IL-6 in serum was decreased in the Linggui Zhugan Tang group. At the genus level, compared with control group, the abundance of *Lachnospiraceae*_ UCG-001 increased ($P < 0.05$), while that of *norank_f_Bacteroidales_S24-7* group decreased in model group ($P < 0.01$). *Lachnospiraceae*_ UCG-001 was positively correlated with the weight of body ($r = 0.661$), while *norank_f_Bacteroidales_S24-7* group was negatively correlated with the weight of body ($r = -0.622$). **Conclusion:** Linggui Zhugan Tang has a protective effect on bone injury in ob/ob mice, and its mechanism may be related to its regulation of gut microbiota.

[Key words] leptin; metabolic disorder; bone formation; gut microbiota; Linggui Zhugan Tang

痰湿体质是肥胖存在的内在因素,可作为肥胖亚型研究的一个切入点^[1]。从脾论治代谢性疾病为中医有效的防治方法之一,经方苓桂术甘汤(《金匮要略》)为健脾温阳化饮的代表方剂,加味苓桂术甘汤对代谢综合征所致体质量增加有降低作用,对代谢综合征所致糖和脂代谢紊乱有调节作用^[2-3]。肠道菌群影响宿主的免疫,在肥胖、糖尿病等疾病中都具有非常重要的作用^[4-5]。ob/ob 代谢紊乱模型小鼠以肥胖为特征,出现代谢异常和认知功能障碍^[6]。肥胖小鼠骨量减少,肠道菌群可能作为缓解骨质疏松的一个新靶点^[7],肠骨轴可能是连接肠和骨骼的研究途径^[8]。本研究以瘦素缺陷代谢紊乱模型小鼠为研究对象,观察模型小鼠肠骨轴的病理改变,进一步探讨其骨保护作用是否与其调节肠道菌群有关。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雌性 8 周龄野生型小鼠 8 只和 ob/ob 小鼠 24 只,ob/ob 小鼠体质量 45 ~ 50 g,实验动物由南京大学南京生物医药研究院提供,动物合格证号 SCXK(苏)2015-0001。本动物实验由辽宁中医药大学动物伦理委员会审核批准。

1.2 药物及试剂 苓桂术甘汤(《金匮要略》)原方用量为茯苓 4 两、桂枝 3 两、白术 3 两、炙甘草 2 两。苓桂术甘汤组按照 1 两为 5 g 折算,茯苓 20 g,桂枝 15 g,白术 15 g,炙甘草 10 g,所有药材由辽宁中医药大学李杨教授鉴定均为正品,中药饮片购于辽宁中医药大学附属第一医院,制备水煎剂。阳性药选用阿托伐他汀片(辉瑞制药有限公司,批号 N48762); β -肌动蛋白(β -actin)鼠单克隆抗体,法尼醇 X 受体(FXR)羊多克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司,批号分别为 sc-47778, sc-1205);碱性磷酸酶(ALP)兔多克隆抗体, Alexa Fluor[®] 488 标记驴抗

山羊免疫球蛋白(Ig)G(英国 Abcam 公司,批号 ab95462, ab150129);小鼠白细胞介素-6(IL-6)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(美国 R&D 公司,批号 E-20012);苏木素(中国 Solarbio 公司,批号 H8070);伊红(中国国药公司,批号 S23025101)。

1.3 仪器 iMark 型全自动酶标仪, Trans-Blot SD 型半干转印系统(美国 Bio-Rad 公司);RM2235 型石蜡切片机(德国 Leica 公司);BX53 型荧光显微镜(日本 Olympus 公司);FluorChenQ 型成像系统(美国 Protein Simple 公司)。

2 方法

2.1 分组及给药 实验随机分为 4 组,分别为正常组、模型组(ob/ob 小鼠)、苓桂术甘汤组、阿托伐他汀组,每组 8 只。按照小鼠与人的体表面积折算小鼠的用药剂量,苓桂术甘汤 $7.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,阿托伐他汀 $0.0026 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,正常组与模型组按体质量给予等体积的水,每日 1 次,连续灌胃 4 周。

2.2 检测指标

2.2.1 苏木素-伊红(HE)染色观察小肠和股骨组织形态变化 分离小鼠股骨组织和小肠组织,固定样品,石蜡包埋,制备切片,染色,光学显微镜下观察,拍照。

2.2.2 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测股骨组织 ALP 蛋白表达 分离小鼠股骨组织, $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。液氮研磨法将组织研成极细粉末,收集粉末,加入蛋白裂解液, $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min,收集上清液。蛋白上样,电泳,转印,封闭 1 h,一抗 ALP 抗体(1:1 000) $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,洗膜,二抗(1:5 000)室温孵育 1 h,洗膜, ECL 发光, Fluor Chen Q 成像系统成像,拍照。采用 Alpha View S A 软件进行 ALP 蛋白条带灰度扫描分析。

2.2.3 免疫荧光法检测小肠 FXR 表达 分离小鼠

小肠组织,固定样品,制备冰冻切片。按照免疫荧光染色常规方法进行操作,1% BSA 封闭 30 min,一抗 FXR 抗体(1:50)4℃ 孵育过夜,洗片,荧光二抗(1:200)室温避光孵育 1 h,洗片,DAPI 染核,洗片,封片。荧光显微镜下观察,拍照。

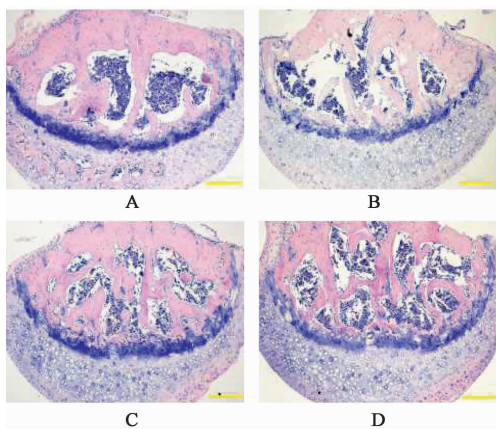
2.2.4 ELISA 法测定血清炎症因子 IL-6 含量 摘除小鼠眼球取血,分离血清。选用小鼠 IL-6 ELISA 试剂盒检测血清中 IL-6 含量,按照试剂盒说明书的操作步骤进行实验。

2.2.5 16S 核糖体 RNA(16S rRNA) 测序进行小鼠肠道菌群分析 收集各组小鼠粪便样品,提取肠道菌群总 DNA,扩增,上海美吉生物医药科技有限公司 16S rRNA 进行测序,在 I-Sanger 云平台完成测序数据生物信息学分析,进行肠道菌群构成、物种组成差异性和相关性分析。

2.3 统计学分析 采用 SPSS 20.0 软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析进行多组间差异显著性检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 ob/ob 小鼠股骨组织形态的影响 正常组小鼠股骨组织骨小梁结构正常。与正常组比较,模型组小鼠股骨组织骨小梁变细,骨髓腔扩大,脂肪浸润。与模型组比较,苓桂术甘汤可以部分改善 ob/ob 小鼠股骨组织的病理变化。见图 1。



A. 正常组;B. 模型组;C. 苓桂术甘汤组;D. 阿托伐他汀组(图 2~4 同)

图 1 苓桂术甘汤对 ob/ob 小鼠股骨组织形态的影响(HE, ×100)
Fig.1 Effect of Lingui Zhugan Tang on morphology change of femur tissue in ob/ob mice(HE, ×100)

3.2 对 ob/ob 小鼠股骨组织 ALP 蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组小鼠股骨组织 ALP 蛋白表达显著下调($P < 0.01$)。与模型组比较,苓桂术甘汤可以显著上调 ob/ob 小鼠股骨组织 ALP 蛋白

表达($P < 0.01$)。见图 2,表 1。

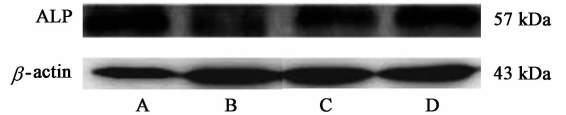


图 2 小鼠股骨组织 ALP 蛋白表达电泳

Fig.2 Electrophoresis of ALP expression of femur tissue in mice

表 1 苓桂术甘汤对 ob/ob 小鼠股骨组织 ALP 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effect of Lingui Zhugan Tang on expression of ALP protein of femur tissue in ob/ob mice($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ALP/β-actin
正常	-	0.74 ± 0.10
模型	-	0.23 ± 0.03 ²⁾
苓桂术甘汤	7.7	0.41 ± 0.04 ⁴⁾
阿托伐他汀	0.002 6	0.44 ± 0.05 ⁴⁾

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 同)。

3.3 对 ob/ob 小鼠小肠组织形态的影响 正常组小鼠小肠组织形态结构正常。与正常组比较,模型组小鼠小肠组织上皮损伤。与模型组比较,苓桂术甘汤可以部分减轻 ob/ob 小鼠肠上皮损伤。见图 3。

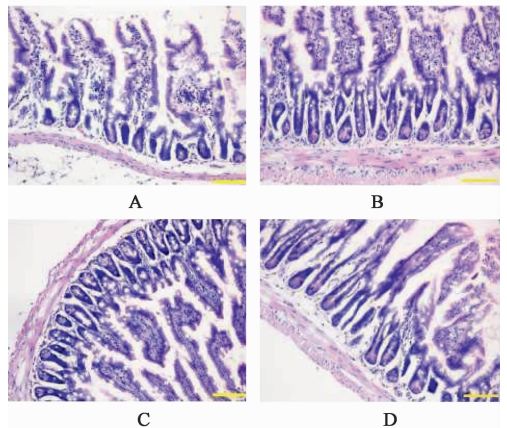


图 3 苓桂术甘汤对 ob/ob 小鼠小肠组织形态的影响(HE, ×200)

Fig.3 Effect of Lingui Zhugan Tang on morphology change of intestine tissue in ob/ob mice(HE, ×200)

3.4 对 ob/ob 小鼠小肠组织 FXR 蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组小鼠小肠组织 FXR 蛋白表达明显下调。与模型组比较,苓桂术甘汤可以上调 ob/ob 小鼠小肠组织 FXR 蛋白的表达。见图 4。

3.5 对 ob/ob 小鼠血清 IL-6 含量的影响 与正常组比较,模型组小鼠血清中 IL-6 含量显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,苓桂术甘汤可以明显降低 ob/

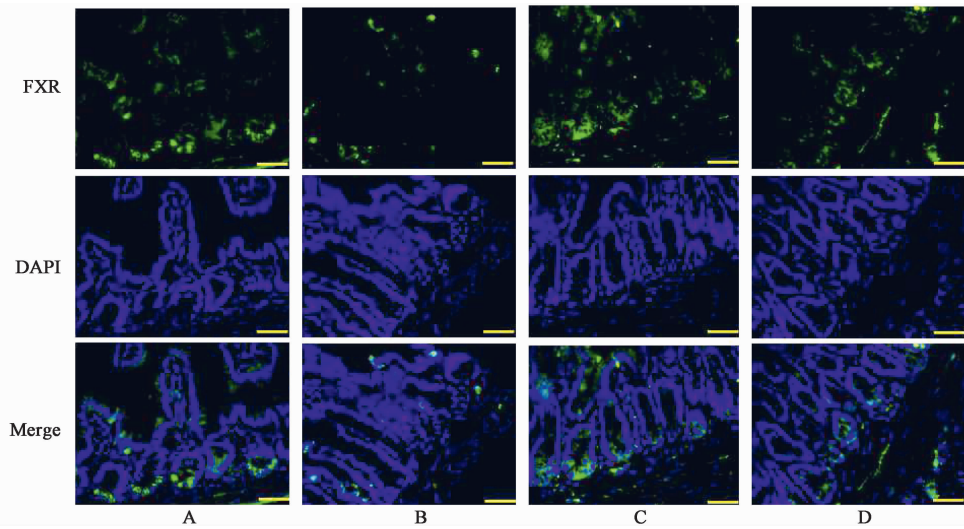


图 4 苓桂术甘汤对 ob/ob 小鼠小肠组织 FXR 蛋白表达的影响 (免疫荧光, ×400)

Fig. 4 Effect of Linggui Zhugan Tang on expression of FXR protein of intestine tissue in ob/ob mice (IF, ×400)

ob 小鼠血清中 IL-6 含量 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 苓桂术甘汤对 ob/ob 小鼠血清 IL-6 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)
Table 2 Effect of Linggui Zhugan Tang on serum IL-6 content in ob/ob mice ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	IL-6/ng·L ⁻¹
正常	-	10.09 ± 0.36
模型	-	12.37 ± 0.58 ²⁾
苓桂术甘汤	7.7	11.41 ± 0.69 ³⁾
阿托伐他汀	0.002 6	11.85 ± 0.64

3.6 对 ob/ob 小鼠肠道群落组成的影响 小鼠肠道群落组成分析结果显示,在门水平,高丰度菌门包括拟杆菌门(Bacteroidetes),厚壁菌门(Firmicutes),变形菌门(Proteobacteria);在属水平,高丰度菌属包括拟杆菌属(Bacteroidales),毛螺菌属(Lachnospiraceae),乳酸杆菌属(Lactobacillus),普氏菌属(Prevotella)。组间物种组成差异分析结果显示,在门水平,与正常组比较,模型组 ob/ob 小鼠肠道菌群结构发生变化,Firmicutes 丰度升高 ($P < 0.01$),Bacteroidetes 丰度降低 ($P < 0.01$);在属水平,与正常组比较,模型组 ob/ob 小鼠 Lachnospiraceae_UCG-001 丰度升高 ($P < 0.05$),norank_f__Bacteroidales_S24-7_group 丰度降低 ($P < 0.01$)。苓桂术甘汤可以部分逆转 ob/ob 小鼠在属水平的菌群改变 ($P < 0.05$)。见图 5。

3.7 属水平差异物种与体质量关联性分析 关联性分析结果显示,Lachnospiraceae_UCG-001 与体质量正相关(Spearman 相关系数 = 0.661),norank_f__

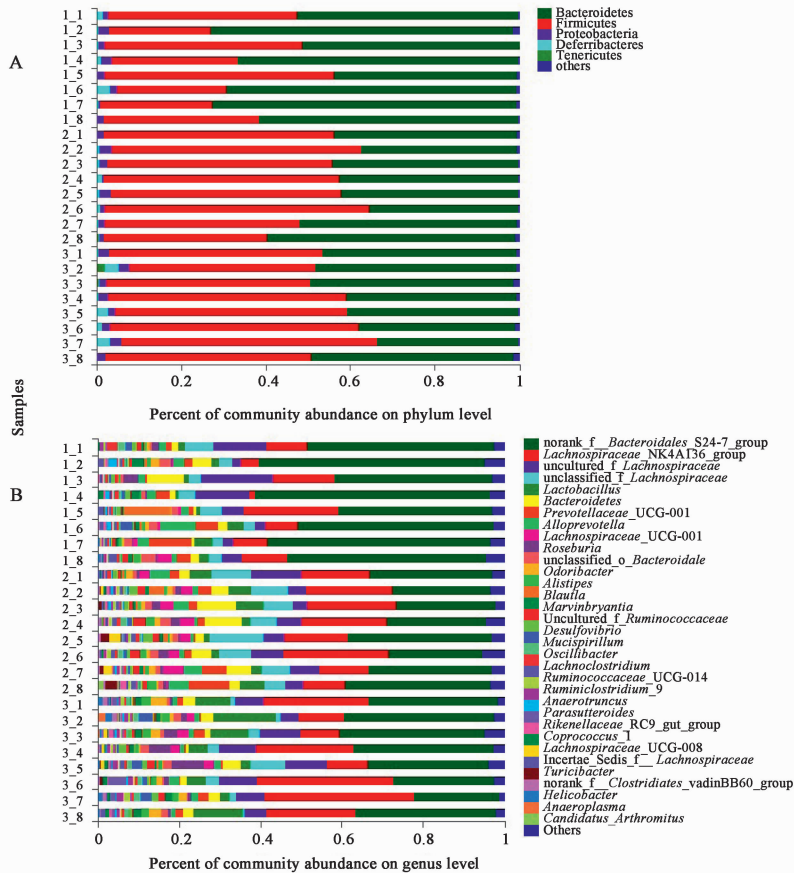
Bacteroidales_S24-7_group 与体质量负相关(Spearman 相关系数 = -0.622)。

4 讨论

肥胖患者的骨折发生风险明显增高,其发病率在全球范围内呈上升趋势,肥胖与骨骼健康受损和全身炎症有关。肥胖以脾失健运、痰浊内生为主要病机,治疗时当关注后天脾胃,重视阳气在机体健康中发挥的重要作用。苓桂术甘汤(《金匮要略》)以茯苓 4 两为君、桂枝 3 两为臣、白术 3 两为佐、炙甘草 2 两为使,功能温阳化饮、健脾利湿,主治中阳不足之痰饮证。

瘦素是一种主要由脂肪细胞分泌产生的激素,瘦素结合瘦素受体通过调节骨密度和脂肪等发挥维护骨骼健康的作用;瘦素受体信号突变可见肥胖和过度肥胖导致的骨骼损伤,与瘦素完全缺乏的 ob/ob 小鼠的表型一致^[9]。ob/ob 小鼠的特点是表现肥胖和代谢紊乱,体质量增加、脂肪堆积、骨损伤、血清 ALP 处于高水平等^[10]。ob/ob 小鼠出现骨髓脂肪组织增加,骨形成减少^[11]。本实验研究结果表明,ob/ob 小鼠出现骨小梁变细、骨髓腔增大、脂肪浸润,骨形成标志蛋白 ALP 表达下调;苓桂术甘汤可以改善骨组织形态,上调骨 ALP 表达,促进骨形成。

ALP 分布于肝组织、骨组织和肠黏膜,骨 ALP 是骨形成的主要标志基因,肠与骨组织 ALP 蛋白表达呈正相关关系,肠 ALP 与肠黏膜屏障功能密切相关^[12]。肠上皮屏障在维持宿主稳态中起着重要作用,肠上皮屏障破坏具有全身效应,包括骨丢失和炎症^[13]。IL-6 是一种炎症性细胞因子,可加强中央



A. 小鼠肠道菌群组成柱形(门水平);B. 小鼠肠道菌群组成柱形(属水平)

图 5 苓桂术甘汤对 ob/ob 小鼠肠道菌群组成的影响

Fig. 5 Effect of Lingui Zhugan Tang on relative abundance of gut microbiota in ob/ob mice

瘦素作用^[14]。IL-6 影响破骨细胞(OC)分化,IL-6 不仅在肠局部,而且在下丘脑中也有相应的变化^[15]。本实验研究结果显示,ob/ob 小鼠小肠上皮损伤,血清 IL-6 含量升高;苓桂术甘汤可以缓解小肠上皮损伤,降低血清 IL-6 含量。

胆汁酸核受体 FXR 是参与骨代谢的一种重要的调节因子,FXR 具有在骨髓分化过程中使基质细胞转化为成骨细胞(OB)的作用,FXR 激动剂能够刺激 OB 分化标记基因 ALP 等的表达;FXR 调控成骨细胞/脂肪细胞平衡,刺激 OB 分化,抑制向脂肪细胞样表型分化^[16]。FXR 负性调控 OC 分化,FXR 缺乏加速卵巢切除术所致的骨丢失^[17]。苓桂术甘汤能够部分抑制 ob/ob 小鼠体质量的生长,作用机制可能与其干预肝 FXR 途径有关^[18]。本实验研究结果显示,ob/ob 小鼠小肠 FXR 表达下调,苓桂术甘汤可以上调小肠 FXR 表达。

肠 FXR 在肠道稳态平衡的维持中扮演着重要的角色,FXR 的缺失与下调可导致肠黏膜屏障功能削弱,肠道炎症反应增加,肠道菌群的构成发生

变化^[19]。肥胖小鼠表现肠道菌群紊乱,在门水平上,拟杆菌门相对丰度降低,厚壁菌门相对丰度增加;在属水平上,毛螺菌属丰度上升,其丰度增高与肥胖有关,降低其丰度,可以减轻体质量^[20]。正常组关键物种是拟杆菌属,从属于拟杆菌门;肥胖组的关键物种有毛螺菌属,从属于厚壁菌门^[21]。肥胖影响肠道菌群的多样性,ob/ob 小鼠拟杆菌门数量减少 50%,厚壁菌门的比例增加,群落结构对调节肥胖者的能量平衡是有用的^[22]。本实验研究结果显示,在门水平,与正常组比较,模型组肠道菌群结构发生变化,Firmicutes 丰度升高,Bacteroidetes 丰度降低。在属水平,与正常组比较,模型组 *Lachnospiraceae*_UCG-001 丰度升高,norank_f__*Bacteroidales*_S24-7_group 丰度降低。*Lachnospiraceae*_UCG-001 与体质量正相关,norank_f__*Bacteroidales*_S24-7_group 与体质量负相关。苓桂术甘汤可以部分逆转 ob/ob 小鼠在属水平的菌群改变。

肠道菌群失调会导致肠上皮细胞损伤和肠黏膜

屏障功能障碍,通透性增强,内毒素移位,促炎因子异常分泌,可能是骨损伤的触发因素之一^[23]。肠道菌群失调既与肥胖形成有关,又与胆汁酸代谢异常和炎症因子异常分泌密切相关,肠道菌群可能通过干预胆汁酸核受体 FXR 和促炎因子 IL-6 途径影响骨代谢。拟杆菌属与胆汁酸代谢相关,炎症可诱导毛螺菌属发生改变。苓桂术甘汤能够上调小肠 FXR 表达和下调血清 IL-6 含量,其作用机制可能部分与其上调拟杆菌属和下调毛螺菌属相对丰度有关。

综上所述,瘦素缺陷代谢紊乱模型小鼠的骨骼健康受损,出现骨小梁变细、骨髓腔扩大、骨髓脂肪增多、骨形成减少;ob/ob 小鼠的肠稳态失衡,出现肠道菌群失调、胆汁酸核受体 FXR 表达减少、肠上皮屏障损伤和功能障碍、炎症因子增多。苓桂术甘汤对 ob/ob 小鼠的骨损伤具有保护作用,可能部分通过其对肠道菌群的调节作用来实现的,被苓桂术甘汤逆向调节的菌群可能是其发挥骨保护作用潜在的药物作用靶点。

[参考文献]

[1] 李玲孺,王济,李英帅,等.从痰湿体质角度研究肥胖亚型[J].世界中医药,2013,8(1):18-20.

[2] 黄江荣,李祥华,杜亚明,等.加味苓桂术甘汤对代谢综合征大鼠糖代谢的影响[J].中药药理与临床,2013,29(3):167-169.

[3] 卢文艺,刘莲,黄蔚,等.加味苓桂术甘汤对代谢综合征大鼠抗氧化作用及脂联素表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(10):97-101.

[4] 马巧灵,张发,刘朝芹,等.2型糖尿病肠道菌群研究进展[J].中国微生态学杂志,2018,30(11):1361-1364.

[5] 桑婷婷,郭铖洁,郭丹丹,等.中医药通过调节肠道菌群抑制肥胖和炎症相关疾病的进展研究[J].中国中药杂志,2018,43(16):3235-3242.

[6] 柴水琴,李继斌,王宏英,等.罗格列酮通过 IRS-1/Akt 信号通路改善 ob/ob 小鼠的认知功能障碍[J].中国药理学通报,2015,31(6):785-789.

[7] 宁辛.乳杆菌 T3L 改善肥胖小鼠骨量流失作用及肠道免疫机制研究[D].哈尔滨:哈尔滨工业大学,2018.

[8] Quach D, Britton R A. Gut microbiota and bone health. [J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 1033: 47-58.

[9] McCabe I C, Fedorko A, Myers M G, et al. Novel leptin receptor signaling mutants identify location and sex-dependent modulation of bone density, adiposity, and growth[J]. Cell Biochem, 2019, 120(3): 4398-4408.

[10] Michelin R M, Al-Nakkash L, Broderick T L, et al. Genistein treatment increases bone mass in obese, hyperglycemic mice [J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2016, 9: 63-70.

[11] Lindenmaier L B, Philbrick K A, Branscum A J, et al. Hypothalamic leptin gene therapy reduces bone marrow adiposity in ob/ob mice fed regular and high-fat diets [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2016, doi: 10. 3389/ fendo. 2016. 00110.

[12] 张澜川,李然,刘立萍.补肾方与补肾健脾方对快速老化模型小鼠肠和骨碱性磷酸酶蛋白的影响[J].中国老年学杂志,2018,38(14):3442-3445.

[13] Rios-Arce N D, Collins F L, Schepper J D, et al. Epithelial barrier function in gut-bone signaling[J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 1033: 151-183.

[14] Sadagurski M, Norquay L, Farhang J, et al. Human IL6 enhances leptin action in mice [J]. Diabetologia, 2010, 53(3): 525-535.

[15] 李婷,朱向东,杨意,等.痛泻要方对溃疡性结肠炎大鼠下丘脑中 IL-6, IL-6R 表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(11):103-108.

[16] Id Boufker H, Lagneaux L, Fayyad-Kazan H, et al. Role of farnesoid X receptor (FXR) in the process of differentiation of bone marrow stromal cells into osteoblasts [J]. Bone, 2011, 49(6): 1219-1231.

[17] ZHENG T, KANG J H, Sim J S, et al. The farnesoid X receptor negatively regulates osteoclastogenesis in bone remodeling and pathological bone loss [J]. Oncotarget, 2017, 8(44): 76558-76573.

[18] 刘立萍,李然,张立德,等.苓桂术甘汤对瘦素基因缺陷 ob/ob 小鼠肝 FXR/FGF15/SHP 途径的影响[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(22):107-111.

[19] 齐艳荣,曹海龙,高建新,等.法尼酯 X 受体与肠道疾病的关系[J].中国临床保健杂志,2017,20(4): 466-469.

[20] 朱杰.基于肠道菌群理论:姜黄石膏制剂对糖尿病小鼠血糖干预的研究[D].南京:南京中医药大学,2018.

[21] 朱宏斌.宏基因组研究高脂饮食诱导小鼠的肥胖易感性与肠道菌群的关系[D].重庆:第三军医大学,2017.

[22] Ley R E, Backhed F, Turnbaugh P, et al. Obesity alters gut microbial ecology [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(31): 11070-11075.

[23] 刘洋,李可峰,董贵俊,等.肠道菌群在运动改善肥胖性骨关节炎中的作用[J].体育科学,2018,38(4): 85-91, 97.

[责任编辑 周冰冰]