

## 不同药性归脾经中药对肝郁脾虚证动物模型肠道微环境的影响

关婷<sup>1</sup>, 黄海阳<sup>2</sup>, 黄纯美<sup>3</sup>, 杜先华<sup>1</sup>, 侯少贞<sup>1</sup>, 许仕杰<sup>3</sup>(1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006; 2. 东莞市中医院, 广东 东莞 523005; 3. 广州中医药大学发展规划处, 广东 广州 510006)

**摘要:** **目的** 探究以干姜、白术、黄连、薏苡仁、茯苓 5 种不同药性、归脾经为代表的中药对肝郁脾虚证动物模型肠道微生态的影响有何不同。**方法** SPF 级雄性 KM 小鼠, 连续 2 周通过“夹尾刺激”方法制备“慢性束缚刺激诱导型肝郁脾虚证”动物模型; 同窝未经刺激的小鼠作为正常组。动物模型复制成功后随机分为模型组和给药组, 给药组分别给予干姜、白术、黄连、薏苡仁、茯苓 5 种药物水提液灌胃。观察动物外观表征和行为学, 3 周后解剖小鼠, 测定刺激性气体硫化氢(H<sub>2</sub>S)、氨气(NH<sub>3</sub>)的浓度, 并采用测序 16S rDNA 对小鼠肠道菌群多样性进行测定。**结果** 与正常组比, 模型组动物便溏情况和次数明显增加, 粪便中 NH<sub>3</sub> 的浓度明显升高并伴随菌群失调。与模型组比, “五性”归脾经的常用中药干预组刺激性气体的水平有所降低, 其中白术和茯苓抑制 NH<sub>3</sub> 浓度升高的作用最明显( $P < 0.05$ )。从模型中主要菌群种属角度看, 茯苓组肠道菌群可以得到明显改善, 白术组和薏苡仁组次之, 干姜组和黄连组肠道菌群比例无明显变化。**结论** 5 种不同药性的归脾经中药对肝郁脾虚证动物模型肠道微环境改变的逆转程度不同。茯苓组的菌群结构改变后最接近正常小鼠肠道菌群比例, 具有明显的改善作用, 白术组和薏苡仁组对于肠道菌群的改善作用较弱, 干姜组和黄连组无明显改善作用。

**关键词:** 药性; 肝郁脾虚; 脾经; 中药; 干姜; 白术; 黄连; 薏苡仁; 茯苓; 肠道菌群; 小鼠

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)04-0511-07

**doi:** 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.04.010

### The Effects of Spleen-meridian Chinese Herbs with Different Medical Properties on the Intestinal Microecology of Liver-stagnation and Spleen-deficiency Mice

GUAN Ting<sup>1</sup>, HUANG Haiyang<sup>2</sup>, HUANG Chunmei<sup>3</sup>, DU Xianhua<sup>1</sup>, HOU Shaozhen<sup>1</sup>, XU Shijie<sup>3</sup>(1. School of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. Dongguan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Dongguan 523005 Guangdong, China; 3. Development Planning Department, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

**Abstract: Objective** To explore the various effects of five spleen-meridian Chinese herbs with different properties, such as *Rhizoma zingiberis*, *Atractylodes macrocephala*, *Coptidis rhizoma*, *Semen Coicis*, and *Poria cocos*, on the intestinal microenvironment of liver-stagnation and spleen-deficiency mice. **Methods** Animal models of liver stagnation and spleen deficiency syndrome were induced by chronic restraint in SPF KM mice for two weeks. Untreated mice in the same cage were selected as normal control. Then liver-stagnation and spleen-deficiency mice were randomly divided into a model group and five administration groups, which were daily given with the water extract of *Rhizoma zingiberis*, *Atractylodes macrocephala*, *Coptidis rhizoma*, *Semen Coicis*, and *Poria cocos* respectively. The appearance and behavior of animals were observed. After three weeks' administration, mice were sacrificed then the feces was collected. The levels of hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) and ammonia (NH<sub>3</sub>) were measured. Intestinal flora were analyzed by 16S rDNA. **Results** The increase in the number of loose stools was found in the model group. And the content of NH<sub>3</sub> in feces was elevated and composition of intestinal microbiota changed obviously in the model group. The decrease of the levels of irritant gas was observed after treatment of five spleen-

收稿日期: 2020-10-21

作者简介: 关婷, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 中药药理学。Email: gggg774277124@163.com。通信作者: 许仕杰, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 脾胃病的防治。Email: xsj@gzucm.edu.cn。

基金项目: 广东省教育厅项目(2019KTSCX026); 广东省基础与应用基础粤莞联合基金项目(2019A1515110653); 广东省中医药局科研项目(20202045); 东莞市社会科技发展项目(2019507101570)。

meridian Chinese herbs. Compared to the model group, treatment with *Atractylodes macrocephala* and *Poria cocos* can significantly reduce the production of  $\text{NH}_3$  ( $P < 0.05$ ). Also, *Poria cocos* can reverse the dysbacteriosis in the liver-stagnation and spleen-deficiency mice, followed by the effects of *Atractylodes macrocephala* group and *Semen Coicis* group. *Rhizoma zingiberis* and *Coptidis rhizome* didn't affect the composition of intestinal microbiota changed obviously. **Conclusion** Five spleen-meridian Chinese herbs with different properties had various effects on the intestinal microenvironment in the liver-stagnation and spleen-deficiency mice. *Poria cocos* exerted better effects on the improvement of dysbacteriosis than other medical herbs, *Rhizoma zingiberis* and *Coptidis rhizoma* had the poorest improvement.

**Keywords:** Medicinal properties; liver-stagnation and spleen-deficiency; spleen-meridian; Chinese herbs; *Rhizoma zingiberis*; *Atractylodes macrocephala*; *Coptidis rhizoma*; *Semen Coicis*; *Poria cocos*; intestinal flora; mice

脾虚证是现代临床常见病之一, 导致脾虚的常见因素有“肝郁脾虚”“劳倦伤脾”“饮食不节”等, 这些病因不同的脾虚证所导致的便溏, 会使肠道中微生物数量和比例产生变化<sup>[1]</sup>, 对肠道微生态产生影响。

中药“五性”为寒、热、温、凉、平 5 种药物性质, 首先由李时珍于《本草纲目》一书中提出, 现代中药“五性”在临床运用中的重要性日渐增加。归脾经的中药因中医理论“脾”的特殊性均包含了这 5 种药性<sup>[2]</sup>。从《脾胃论》《内外伤辨惑论》以及《卫生宝鉴》这 3 本治疗脾胃疾病的古代专书中, 将与脾虚有关的方剂手工检索出来, 筛选出 69 首方剂。这些方剂中一共涉及药物 128 种, 平均每首方剂用药 9 味。其中出现频次 $\geq 10$  次的药物有 20 味, 甘草、陈皮、白术、黄芪、茯苓、干姜、当归、柴胡、白芍等出现的频次较高。综合以上研究结果, 本课题选取临床使用频率最高、最常用的“五性”归脾经中药作为研究对象, 包括干姜(热性药)、白术(温性药)、茯苓(平性药)、薏苡仁(凉性药)、黄连(寒性药)。

由于肝郁脾虚证的发病机制及不同药性的中药对肝郁脾虚证的治疗靶点等尚未明确<sup>[3]</sup>, 因此我们将从肠道微生态的角度来探讨不同药性的归脾经中药对肝郁脾虚证的作用。拟通过检测脾虚动物粪便有害气体以及肠道菌群等指标, 研究不同药性的归脾经中药对于脾虚小鼠肠道微生态的影响, 探讨肝郁脾虚证肠道微生态的变化机制, 旨在为中药治疗肝郁脾虚证提供肠道微生态层面上的参考依据, 为后期进一步研究其作用机制提供基础。

## 1 材料与方法

**1.1 动物** KM 小鼠, 雄性, SPF 级, 7 周龄, 体质

量 20~24 g, 由广州中医药大学实验动物中心提供, 动物许可证号: SCXK(粤)2013-0085, 动物质量合格证号: 44007200008197。饲养条件: 温度 20~25 °C, 湿度(55±10)%, 12 h/12 h 光照与黑暗循环。

**1.2 药物及试剂** 干姜(批号: 160505131)、白术(批号: 160506971)、茯苓(批号: 160500181)、薏苡仁(批号: 160502421)、黄连(批号: 160407731), 康美药业股份有限公司; 生理盐水, 山东华鲁制药有限公司, 批号: B16020402; PBS, 赛默飞世尔生物化学有限公司, 批号: AB217272; 4%多聚甲醛, 广州化学试剂厂, 批号: 20160302-2。

**1.3 仪器** 15 mm 长尾夹, 上海晨光文具股份有限公司; GD2000- $\text{H}_2\text{S}$  气体检测仪、GD2000- $\text{NH}_3$  气体检测仪, 上海上天精密仪器有限公司; 4 °C 离心机, 湘仪离心机仪器有限公司; IKA 组织匀浆器、涡旋振荡器, 广东天恩仪器有限公司。

**1.4 模型制备、分组及给药** 随机选取 10 只小鼠作为正常组, 不实施任何干预措施, 余进行慢性束缚诱导肝郁脾虚证模型。每只小鼠的尾巴用塑料夹夹住, 每日处理 1 次, 每次 30 min, 连续刺激 15 d<sup>[4]</sup>。以小鼠情绪易怒低落, 倦卧少动, 毛发不泽, 便溏, 叫声逐渐变细等为模型复制成功的标志<sup>[5-6]</sup>。

模型复制成功后, 按体质量随机分组, 每组 15 只小鼠, 分别为模型组、干姜组(热性代表药)、白术组(温性代表药)、茯苓组(平性代表药)、薏苡仁(凉性代表药)、黄连(寒性代表药); 提取液由以上药材煎煮而成水提液, 浓度依据预实验结果, 使用量 1 mL 相当于 40 mg 生药, 储存于 4 °C 恒温冰箱中。各给药组每天灌胃给药 1 次, 按生药量计给药剂量为 2 g·kg<sup>-1</sup>, 连续给药 3 周; 正常组和模型组分

别给予等容量的生理盐水。除正常组外，模型组和给药组均持续实施诱导脾虚的干预措施。

**1.6 动物一般状况** 分别于模型复制、给药期间，每 5 d 记录动物的体质量和饮食饮水情况，观察动物的基本状态，主要包含精神状态、毛发、粪便成型度等情况，并以粪便的成型度和动物精神状态作为判断典型脾虚动物的主要观察指标。

**1.7 粪便气体浓度检测** 将动物置于高围蔽状态的盒子里面，采用有害气体检测仪器检测在 1 h 之内动物排出的粪便所产生的  $\text{NH}_3$  和  $\text{H}_2\text{S}$  气体浓度，同 1 d 内每组测 3 次取平均值。

**1.8 肠道菌群检测** 实验结束前动物注射过量的戊巴比妥钠溶液 ( $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 诱导其死亡。随后立即解剖，于洁净工作台下用消毒过的眼科剪剪开小鼠肠道回盲部，无菌条件下取肠道回盲部粪便，装入无菌管，每组选择 4 份样品，用于检测肠道菌群。使用 Mobio 强力粪便提取试剂盒提取肠道总 DNA，提取出 DNA 后将样品送至北京诺禾致源科技股份有限公司进行测序分析 16S rDNA V4 段。基于 Illumina 技术测序平台，利用双末端测序 (Paired-End) 的方法，完成小鼠肠道样本的扩增子测序，根据所扩增的 16 S V4 区扩增子区域特点，开发适用于该区域的数据质控的软件 Microbial。完成建库后利用 HiSeq 测序平台测序，运用软件 Microbial 对产生的测序数据进行数据分析。

**1.9 统计学处理方法** 数据用均数±标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示，用 SPSS 20.0 统计软件，多组间比较采用单因素方差分析，组间比较作 *T* 检验 (Student's *t* test)，当  $P < 0.05$  时即认为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 小鼠外观表征的变化** 正常组小鼠活动正常，毛发浓密且顺滑有光泽，未见大便溏泻；模型组小鼠情绪低落易怒，倦卧少动，毛发枯黄无泽，饮食逐渐减少，便溏；除黄连组外的其他各给药组小鼠动作缓慢，毛发较模型组有所改善，无明显的大便溏泻；黄连组小鼠体质量明显下降，形体消瘦，动作迟缓，少动喜群居，粪便不成型。

**2.2 粪便中有毒气体  $\text{H}_2\text{S}$  和  $\text{NH}_3$  的浓度变化** 与正常组比较，模型组动物粪便释放的有毒气体  $\text{H}_2\text{S}$  浓度呈现上升趋势，但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。与模型组比较，给药组释放的  $\text{H}_2\text{S}$  有下降趋势 ( $P > 0.05$ )，其中黄连组下降趋势不如其他 4 组。见图 1。

与正常组比较，模型组动物粪便释放的  $\text{NH}_3$  浓度

有一定的上升趋势，且升高的幅度差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )；与模型组比较，给药组释放的  $\text{NH}_3$  浓度均有下降趋势，其中白术、茯苓给药组下降较明显 ( $P < 0.05$ )。见图 2。

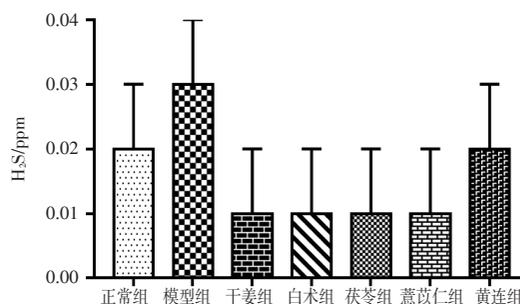
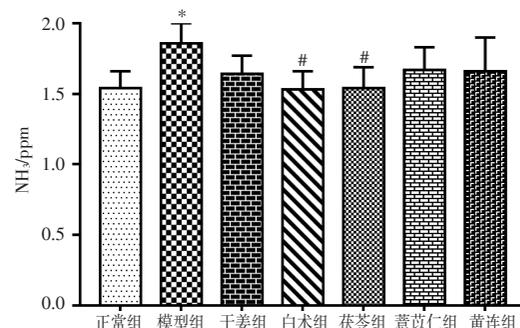


图 1 “五性”归脾经常用中药对肝郁脾虚证小鼠粪便中  $\text{H}_2\text{S}$  浓度的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

Figure 1 Effects of five spleen-meridian Chinese herbs with different properties on the  $\text{H}_2\text{S}$  content of stool in liver-stagnation and spleen-deficiency mice ( $\bar{x} \pm s, n=15$ )



注：与正常组比较，\* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$

图 2 “五性”归脾经常用中药对肝郁脾虚证小鼠粪便中  $\text{NH}_3$  浓度的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

Figure 2 Effects of five spleen-meridian Chinese herbs with different properties on the  $\text{NH}_3$  content of stool in liver-stagnation and spleen-deficiency mice ( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

### 2.3 小鼠肠道菌群相对丰度

**2.3.1 肝郁脾虚证小鼠肠道菌群 16S rDNA 测序结果** 我们将测序得到的有效序列归类为物种分类 OTU，测得的 OTU 的丰度可以初步说明样品的物种丰富程度。在 97% 相似度下，统计每个样品在每个 OTU 中的丰度信息，得到每个组 OTU 统计结果，见表 1。从表 1 显示的 OTU 结果来看，正常组与模型组、平性药组物种的丰富程度相当，药性越寒凉的药物可能会进一步增加物种丰度，而温热药刚好相反。由图 3 的 Venn 图可以看出，肝郁脾脏证的小鼠肠道菌群发生了明显的改变。

**2.3.2 肝郁脾虚证小鼠肠道菌群 (门水平) 相对丰度分析** 分别对 7 组小鼠样本在门水平构成的维度上进行

表 1 肝郁脾虚证小鼠肠道菌群物种组成的 OTU 统计

Table 1 OTU statistics of species composition in liver-stagnation and spleen-deficiency mice

组别	正常组	模型组	热性药组	温性药组	平性药组	凉性药组	寒性药组
OTU	606	607	581	562	604	605	624

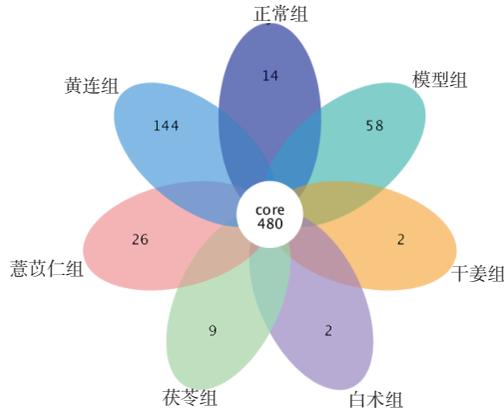
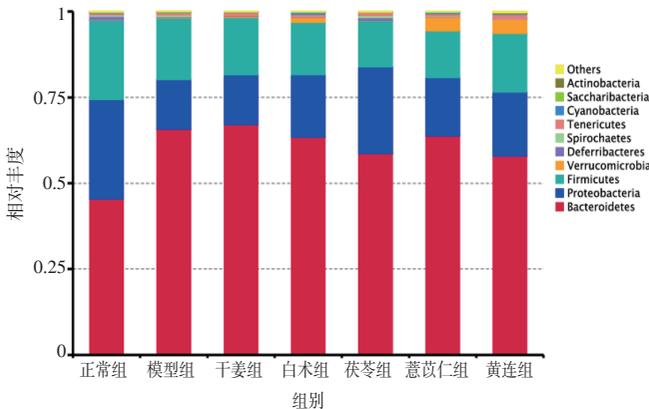


图 3 肝郁脾虚证小鼠肠道菌群中 OTU 数目

Figure 3 The number of OTUs of the intestinal flora in liver-stagnation and spleen-deficiency mice



注：不同颜色代表不同的菌群

图 4 肝郁脾虚证小鼠肠道菌群相对丰度柱状图(门水平)

Figure 4 Relative abundance of intestinal flora in liver-stagnation and spleen-deficiency mice(Phylum level)

各组小鼠的肠道相关细菌群落物种进行分析, 见图 4。

正常对照组中处于前 5 位的细菌门为：拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*)、脱铁杆菌门(*Deferribacteres*)、无壁菌门 (*Tenericutes*)。正常组有害菌(45.4%)与有益菌 (52.2%)的丰度比约为 1 : 1。

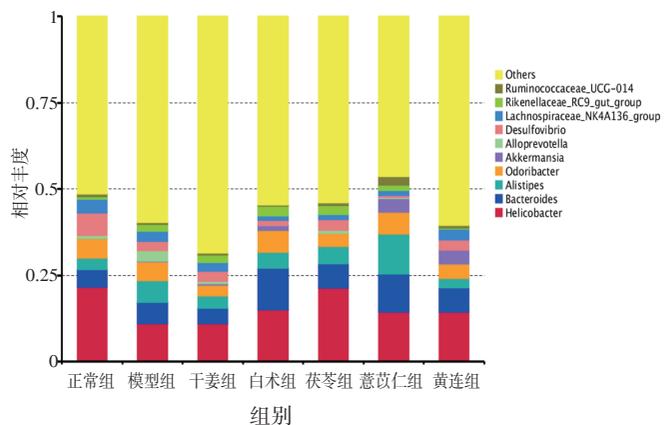
在肝郁脾虚证模型组中, 处于前 5 位的细菌门分别为拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、螺旋菌门 (*Spirochaetes*)和无壁菌门(*Tenericutes*)。肝郁脾虚组有害菌(65.7%)与有益菌(32.4%)的丰度比约为 2 : 1。

在各给药组中, 干姜给药组对肝郁脾虚证动物模型在门水平上菌群构成的影响并不明显; 其余组的拟杆菌的水平有所下降, 变形菌和厚壁菌的水平有所升高, 以茯苓组的拟杆菌与变形菌和厚壁菌等的比例改善程度最接近正常组。结果显示肝郁脾虚证模型中拟杆菌门数量明显升高, 厚壁菌门和变形菌门数量降低, 这表明了肝郁脾虚证的动物肠道中, 拟杆菌门可能是与肝郁脾虚证相关的有害菌, 变形菌门和厚壁菌门可能为有益菌。

2.3.3 肝郁脾虚证小鼠肠道菌群(属水平)相对丰度分析 在不同药性的药物作用下, 不同的丰度和相似的总比例意味着在某种药物作用下肠道微生态已经近于恢复为原本的水平<sup>[7]</sup>。分别对 7 组小鼠样本中肠道相关细菌群落属水平的构成进行分析, 结果见图 5。

正常组处于前 5 位的细菌种属为：未知菌、螺杆菌 (*Helicobacter*)、脱铁杆菌 (*Desulfovibrio*)、*Odoribacter*、变形杆菌(*Bacteroides*)。在肝郁脾虚证模型组中, 处于前 5 位的细菌分别为：未知菌、螺杆菌(*Helicobacter*)、*Alistipes*、变形杆菌(*Bacteroides*)、*Odoribacter*。

在肝郁脾虚证的小鼠模型中, 螺杆菌的水平相对于正常小鼠肠道菌群明显下降, 脱铁杆菌和 *Alistipes* 的水平明显升高。根据分析得知各给药组菌群物种种属组成比例, 其中茯苓组最接近正常组, 白术组和薏苡仁组变化较小, 干姜组和黄连组变化最大。



注：不同颜色代表不同的菌群

图 5 肝郁脾虚证小鼠肠道菌群相对丰度柱状图(属水平)

Figure 5 Relative abundance of intestinal flora in liver-stagnation and spleen-deficiency mice(Genus level)

2.3.4 各组小鼠肠道菌群物种多样性分析 见图 6。由结果可知, 正常动物与肝郁脾虚证模型组肠道菌群分布的距离较远, 表明在肝郁证模型的动物中,

肠道菌群的结构有明显改变。与肝郁脾虚动物菌群分布相比较，白术及茯苓给药组动物的菌群分布有着向正常组靠拢的趋势，这表明白术及茯苓能够发挥治疗效果，改变肝郁脾虚证动物中肠道菌群的结构；干姜、薏苡仁对肠道菌群结构的改善作用不明显，而黄连组结果离散程度较为明显，表示其肠道菌群结构与别组完全不同。

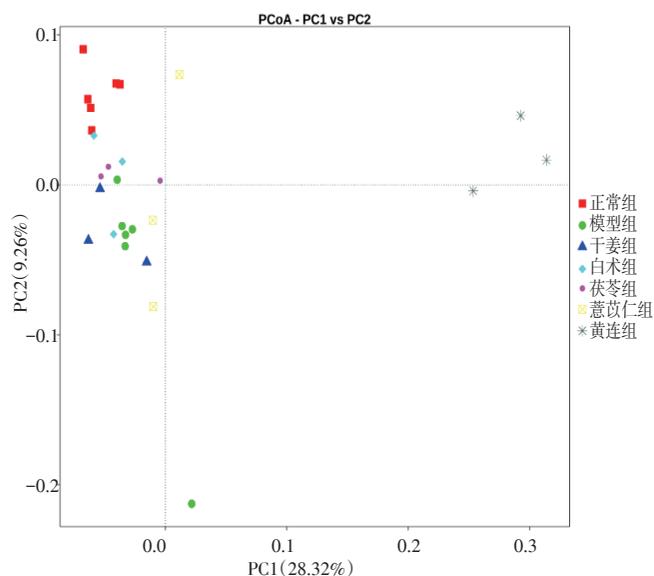


图 6 肝郁脾虚证小鼠肠道中菌群 PCoA 分析  
Figure 6 PCoA analysis of intestinal flora in liver-stagnation and spleen-deficiency mice

**2.3.5 肝郁脾虚证实验各组小鼠物种注释 GraPhlAn 图** 见图 7。对一个分组所有样本的 OTU 物种注释结果进行总体展示，可以看出优势菌种。由图 7 可知，正常组动物以拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、脱铁杆菌门(*Deferribacteres*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)和变形菌门(*Proteobacteria*)为主要优势菌；肝郁脾虚证模型组动物以拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)和螺旋体门(*Spirochaetes*)为主要优势菌。由正常组和模型组优势菌的对比可以发现，拟杆菌门、厚壁菌门和变形菌门虽然为两者共有的菌种，但是从数量上两者已经发生了明显的改变，肝郁脾虚证模型组动物中脱铁杆菌门的水平明显下降，变形菌门的水平明显升高，这表明变形菌门在诱发肝郁脾虚证中发挥着重要的作用；各给药组包括的主要优势菌为拟杆菌门、变形菌门、厚壁菌门，从各给药组的 GraPhlAn 图可以看出，除茯苓组外，其余药物能改变这些菌群物种的 OTU，有效降低螺旋体门的水平。

### 3 讨论

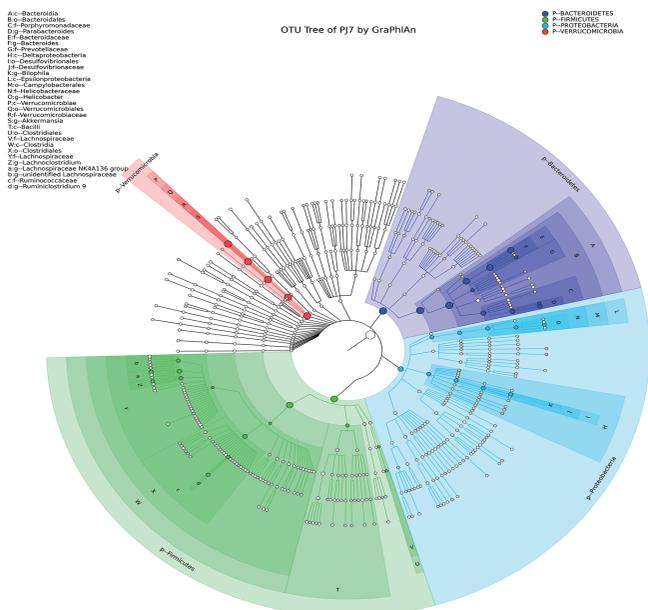
传统中医脏腑辨证中，肝郁脾虚证是一种较为常见的证型。“肝郁”可诱导消化系统障碍，产生“脾虚”证，导致“脾主运化水湿”的功能丧失，导致肠道水湿内停而出现便溏甚至泄泻<sup>[8]</sup>。在临床上，肝郁脾虚证患者常常伴有体质量下降、便溏、腹泻等症状<sup>[9]</sup>。实验观察到模型组小鼠情绪易怒继而低落，倦卧少动，扎堆，反应迟缓，倦卧、嗜睡，便溏，饮食减少，体质量减轻，与临床患者的表现相似，表明动物模型复制成功<sup>[10]</sup>。

本研究中肝郁脾虚证模型小鼠出现便溏，甚至伴随粪便恶臭。粪便有害气体检测结果显示 H<sub>2</sub>S 和 NH<sub>3</sub> 浓度呈现升高趋势。热性的干姜、温性的白术、平性的茯苓及凉性的薏苡仁 4 个给药组动物粪便 H<sub>2</sub>S 和 NH<sub>3</sub> 的浓度均有不同程度的下降，而寒凉的黄连组浓度下降不如其他药物组。这些现象表明不同药性的中药对肝郁脾虚证动物粪便性质的影响有差异，其中平性的茯苓、温性的白术抑制肝郁脾虚动物肠道刺激性气体生成的作用更突出。

有研究<sup>[11-13]</sup>表明，粪便中 H<sub>2</sub>S 和 NH<sub>3</sub> 浓度的异常升高与肠道菌群失调密切相关。肠道菌群在人体内发挥生物屏障作用，参与免疫系统的调节，并对机体内各种生理代谢起着重要作用<sup>[14]</sup>。因此，肠道菌群正常稳定与否，有益菌种类和数量都对人体的健康程度有着重要影响<sup>[15-17]</sup>。本实验同样证实肝郁脾虚证动物存在肠道菌群稳态的紊乱，肠道菌群的结构和物种数量都发生了明显的改变。5 种不同药性归脾中药分别干预肝郁脾虚证模型小鼠后，可见平性茯苓组肠道菌群的整体结构和物种数量有明显的改善作用，温性白术组、凉性薏苡仁组次之，热性药干姜组和苦寒的黄连组改善程度最弱。结合该肝郁脾虚的动物模型体质“寒热”偏性并不明显的特点，且平性药茯苓的综合改善效果最突出，我们推测本实验结果切合中医临床用药“以偏纠偏”的疗效原则，平性药药效最佳，药性越偏的药物反而治疗效果越弱。本研究中寒性黄连组疗效最差，且无论与正常组比较还是与模型组比较，肠道菌群结构整体的偏离程度最明显。黄连作为苦寒性药物，在一定程度上会影响肠道菌群，导致大便溏泻<sup>[18]</sup>，这可能是黄连引起“败脾胃”的重要原因之一。

人的肠道中布满了各种各样的菌群菌属。在机体中，这些菌群与宿主之间保持着能量、物质和信息方面的传递，形成了相互依存和相互制约的微生物生态





注：PJ1. 正常组；PJ2. 模型组；PJ3. 干姜组；PJ4. 白术组；PJ5. 茯苓组；PJ6. 薏苡仁组；PJ7. 黄连组

图 7 各组小鼠物种注释 GraPhlAn 图

Figure 7 GraPhlAn diagram of annotated in mouse species

环境<sup>[19]</sup>。当前的研究发现，肠道菌群能够在机体中发挥肠道免疫、物质代谢<sup>[20]</sup>和生物屏障<sup>[21]</sup>等作用。在这些菌群中，有些是有益菌，有些是有害菌。在疾病的状态下，机体中有害菌升高，有益菌下降，从而破坏了稳态的微生物环境。通过改变肠道环境中肠道菌群的构成和数量，降低有害菌的水平，可能是药物在肠道中发挥治疗效果的主要靶点<sup>[22]</sup>。

综上，本实验通过粪便有害气体浓度和肠道菌群改变两方面探讨了“寒、热、温、凉、平”5种不同药性常见归脾经中药对肝郁脾虚证模型小鼠肠道微环境的影响。可以发现：对于有害气体及菌群失调的改善，以平性药茯苓的整体疗效最佳，温性药白术、凉性药薏苡仁次之；但热性药干姜、寒性药黄连组的疗效不佳，其中黄连组的疗效最差。值得注意的是，茯苓组的菌群结构最趋近于小鼠正常情况下的状态，而苦寒黄连可加剧菌群结构更加偏离正常情况。

本实验探讨了不同药性归脾经中药对肝郁脾虚证小鼠模型肠道菌群的影响，后续将进一步探究药性改变与菌群变化之间的规律，并进行相关联用机制的探讨。

参考文献：

[1] OHMAN L, SIMRÉN M. Intestinal microbiota and its role in irritable bowel syndrome (IBS) [J]. *Curr Gastroenterol Rep*, 2013, 15 (5) :

323.

[2] 赖昌生. 入脾经中药性能及功效特点的计算机分析[J]. *河南中医*, 2010, 30(8): 825-829.

[3] 洪妙莹, 冯雯倩, 杨珍珍, 等. 肝郁脾虚证的研究进展[J]. *辽宁中医杂志*, 2020, 47(6): 217-220.

[4] 许仕杰. “五性”归脾经常用中药对脾虚动物模型的干预作用比较研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2016.

[5] 李亚欢, 张冬梅, 王淑艳, 等. 脾虚证动物模型研制概况[J]. *中医导报*, 2019, 25(1): 100-102.

[6] 赵竞业, 杨菁华, 张晓晨, 等. 肝郁脾虚外感小鼠模型的建立及评价[J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(7): 3602-3607.

[7] LEE W J, HASE K. Gut microbiota-generated metabolites in animal health and disease[J]. *Nature chemical biology*, 2014, 10(6):416-424.

[8] 高维, 郭蓉娟, 于姚, 等. 从肝脾论治郁病源流初探[J]. *环球中医药*, 2019, 12(12): 1787-1790.

[9] 赵歆, 刘玥芸, 陈家旭, 等. 肝郁脾虚证诊断标准探讨[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2018, 20(11): 1974-1978.

[10] 吴天石, 张会永, 张哲, 等. 脾虚证动物模型造模方法述评[J]. *中医杂志*, 2015, 56(11): 978-983.

[11] 金红芳, 杜军保, 唐朝枢, 等. 气体信号分子硫化氢的研究进展[J]. *生理学报*, 2010, 62(6): 495-504.

[12] GREER J B, O'KEEFE S J. Microbial induction of immunity, inflammation and cancer[J]. *Front Physiol*, 2011, 1: 168-169.

[13] 孙敏, 樊国华, 万光升. 肠道菌群代谢产物与大肠癌关系的研究进展[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(71): 118-124.

[14] 邵铁娟, 李海昌, 谢志军, 等. 基于脾主运化理论探讨脾虚湿困与肠道菌群紊乱的关系[J]. *中华中医药杂志*, 2014(12): 3762-3765.

[15] ALLEN J M, BERG MILLER MARGRET E, PENCE BRANDT D, et al. Voluntary and forced exercise differentially alters the gut microbiome in C57Bl/6J mice[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2015, 118(8): 1059-1066.

[16] LOZUPONE C A, STOMBAUGH J I, GORDON J I, et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota[J]. *Nature*, 2012, 489(7415): 220 - 230.

[17] 李兰娟. 中国消化道微生态调节剂临床应用共识(2016版)[J]. *中国微生态学杂志*, 2016, 28(6): 621-631.

[18] 卢冬雪, 陈昂仔, 刘峰, 等. 基于肠道菌群论苦寒药的临床应用[J]. *南京中医药大学学报*, 2020, 36(4): 567-572.

[19] 杜慧真. 肠道微生态与人体健康[A]. 中国中西医结合学会. 第四届全国中西医结合营养学术会议论文资料汇编[C]. 中国中西医结合学会: 中国中西医结合学会, 2013: 4.

[20] 王秀武, 杜昱光, 白雪芳, 等. 壳聚糖对肉仔鸡矿物质代谢、肠道菌群、免疫器官及肠黏膜形态的影响[J]. *动物营养学报*, 2004, 16(4): 62-62.

[21] 王宏刚. 多粘菌素E诱导肠道菌群失调对肠屏障功能及细菌易位的影响[D]. 南京: 南京大学, 2012.

[22] 陈新君. 复方四君子汤及党参多糖调节溃疡性结肠炎小鼠肠道菌群的作用研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2016.

(编辑: 修春)