

[J]. *J Am Med Assoc*, 2017, 317(4): 355-356.

[22] Kappel B A, De Angelis L, Heiser M, *et al.* Cross-omics analysis revealed gut microbiome-related metabolic pathways underlying atherosclerosis development after antibiotics treatment[J]. *Mol Metab*, 2020, 36: 100976.

[23] 刘又嘉, 贺 璐, 郭艳芳, 等. 肠道梭菌的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2017, 25(22): 2007-2014.

[24] Klimiec E, Pasinska P, Kowalska K, *et al.* The association between plasma endotoxin, endotoxin pathway proteins and outcome after ischemic stroke[J]. *Atherosclerosis*, 2018, 269: 138-143.

[25] Xu K, Gao X, Xia G, *et al.* Rapid gut dysbiosis induced by stroke exacerbates brain infarction in turn[J]. *Gut*, 2021, 70: 1486-1494.

[26] Lin Z, Ye W, Zu X P, *et al.* Integrative metabolic and microbial profiling on patients with Spleen-yang-deficiency syndrome[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 6619.

[27] Hsiao A, Ahmed A M S, Subramanian S, *et al.* Members of the human gut microbiota involved in recovery from *Vibrio cholerae* infection[J]. *Nature*, 2014, 515(7527): 423-426.

基于高通量测序技术研究麻仁丸对功能性便秘大鼠肠道菌群的影响

齐云菲¹, 牛明了¹, 张龙江^{2*}
(1. 河南中医药大学第二附属医院, 河南 郑州 450046; 2. 河南省中医院, 河南 郑州 450002)

摘要: **目的** 研究麻仁丸对功能性便秘大鼠肠道菌群的影响, 探究肠道菌群在麻仁丸发挥疗效中的关键作用。**方法** 将18 只大鼠随机分为对照组、模型组和麻仁丸组。采用洛哌丁胺制备功能性便秘大鼠模型, 造模成功后灌胃给药 14 d。采用 16S rRNA 技术分析各组大鼠肠道菌群组成, 高通量靶向代谢组学技术分析粪便中次级胆汁酸的含量。**结果** 与对照组比较, 模型组大鼠粪便总数和粪便含水率均降低 ($P<0.05$), 肠道菌群多样性增加 ($P<0.01$), 次级胆汁酸含量减少 ($P<0.05$); 经麻仁丸给药后, 大鼠粪便总数和粪便含水率升高 ($P<0.05$), 多种次级胆汁酸含量恢复 ($P<0.05$), 肠道菌群多样性恢复 ($P<0.05$), 拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)、普雷沃氏菌科 (*Prevotellaceae*)、乳杆菌科 (*Lactobacillaceae*) 等物种丰度增加。肠道菌群与次级胆汁酸含量密切相关。**结论** 麻仁丸可改善功能性便秘大鼠的便秘症状, 调节大鼠肠道微生态, 增加益生菌丰度, 影响次级胆汁酸代谢。

关键词: 麻仁丸; 功能性便秘; 次级胆汁酸; 肠道菌群; 高通量测序

中图分类号: R285.5 文献标志码: B 文章编号: 1001-1528(2023)07-2388-05
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.07.049

功能性便秘是一种复杂的胃肠系统疾病, 主要分为正常传输型、慢传输型和直肠排泄紊乱型^[1], 具体机制尚不明确, 患者生活质量受到严重影响。近年研究发现, 肠道菌群与多种便秘关系密切, 便秘患者的肠道菌群发生紊乱, 多种益生菌减少^[2]。麻仁丸是由火麻仁、苦杏仁、大黄、炒枳实、姜厚朴、炒白芍组成, 具有润肠通便之功效, 用于肠热津亏所致的便秘, 临床上对多种便秘均具有较好的疗效^[3]。现代药理研究表明, 麻仁丸能够增加功能性便秘大鼠结肠组织水通道蛋白的表达^[4], 影响结肠 Cajal 间质细胞及其 c-kit/SCF 信号通路^[5], 但麻仁丸对于肠道菌群影响的研究尚未见报道。因此, 本研究基于高通量测序技术探究麻仁丸对功能性便秘大鼠肠道菌群的影响, 探讨麻仁丸发挥药效的机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 SD 大鼠 18 只, 体质量 180~220 g, 由

北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2016-0006。

1.2 试剂与药物 麻仁丸 (国药准字 Z11020159, 北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂)。洛哌丁胺 (上海麦克林生化科技股份有限公司); 熊果胆酸、牛磺胆酸、7-酮脱氧胆酸、7-酮基石胆酸、 α -鼠胆酸、 β -鼠胆酸、牛磺- α -鼠胆酸、牛磺- β -鼠胆酸、12-酮基石胆酸 (德国 Sigma-Aldrich 公司)。甲醇、乙腈、乙酸、乙酸铵、甲酸 (均为 LC-MS 级, 德国 CNW Technologies 公司)。

1.3 仪器 Vanquish 超高效液相色谱仪、Q Exactive HFX 高分辨质谱仪、ABI GeneAmp[®] 9700 型 PCR 仪、Heraeus Fresco17 型离心机 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Miseq PE300/NovaSeq PE250 测序平台 (美国 Illumina 公司); JXFSTPRP-24 型研磨仪 (上海净信环境科技有限

收稿日期: 2021-12-23
基金项目: 河南省中医药科学研究专项课题 (20-21ZY2069)
作者简介: 齐云菲 (1992—), 女, 硕士生, 从事中医外科学 (肛肠方向) 研究。Tel: 17737171730, E-mail: qiyunfei009@163.com
* 通信作者: 张龙江 (1965—), 男, 主任医师, 从事中医外科学 (肛肠方向) 研究。Tel: 13949083800, E-mail: zlj1965@163.com

公司)。

2 方法

2.1 分组、造模与给药 大鼠适应性饲养 1 周后随机分为对照组、模型组、麻仁丸组, 每组 6 只。参考 Shimotoyodome 等^[6]报道制备功能性便秘大鼠模型, 大鼠灌胃给予 1.5 mg/kg 洛哌丁胺, 每天 2 次, 连续造模 5 d。确认造模成功后, 麻仁丸组按照成人 (60 kg) 日服剂量 2.4 g 换算成大鼠剂量 0.28 g/kg, 采用生理盐水制成悬浊液, 每天灌胃给药 2 次, 每次 2.5 mL, 连续 14 d; 对照组和模型组每天灌胃等量生理盐水。

2.2 大鼠便秘情况检测 给药 14 d 后, 将大鼠置于代谢笼内, 禁食不禁水, 6 h 后记录①粪便总数, 每只大鼠所排的粪便总数; ②粪便含水率, 每只大鼠所排粪便总数称定质量, 记为粪便湿重, 于 70 ℃烘箱内烘干至恒重, 再次称定质量, 作为粪便干重, 计算粪便含水率, 公式为含水率= [(粪便湿重-粪便干重) /粪便湿重] ×100%。

2.3 UPLC-MS/MS 分析粪便样品胆汁酸含量 称取 25 mg 粪便, 加入 1 000 μL 含 0.1% 甲酸的提取液 (甲醇: 乙腈: 水=2: 2: 1), 研磨提取后于 4 ℃、12 000 r/min 下离心 15 min, 取上清液至 LC 进样瓶中, 用于 UHPLC-MS/MS 分析。采用 Vanquish 超高效液相色谱仪, 通过 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (150 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 进行色谱分离; 流动相 5 mmol/L 乙酸铵、0.1% 乙酸 (A) -乙腈 (B); 柱温箱温度 50 ℃; 样品盘温度 4 ℃; 进样体积 1 μL。使用 Q Exactive HFX 高分辨质谱仪, 以平行反应监测 (parallel reaction monitoring, PRM) 模式进行质谱分析, 离子源参数为喷雾电压+3 600/-3 200 V; 鞘气 N₂, 体积流量 40 arb; 辅助气体 N₂, 体积流量 15 arb; 吹扫气 N₂, 体积流量 0 arb; 辅助气体 N₂, 温度 350 ℃; 毛细管温度 320 ℃。制备标准曲线后进行方法学考察。

2.4 16S rRNA 测序 收集各组大鼠粪便, -80 ℃冰箱保存。根据 E. Z. N. A. ® soil DNA kit (美国 BioTek 公司)

说明书进行微生物群落总 DNA 抽提; 使用 338F (5'-ACTCTACGGGAGGCAGCAG-3')、806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 对 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增, 扩增程序为 95 ℃预变性 3 min, 95 ℃变性 30 s, 55 ℃退火 30 s, 72 ℃延伸 30 s, 27 个循环, 然后 72 ℃稳定延伸 10 min, 最后在 4 ℃进行保存。PCR 反应体系为 5× TransStart FastPfu 缓冲液 4 μL, 2.5 mmol/L dNTPs 2 μL, 正、反向引物 (5 μmol/L) 各 0.8 μL, TransStart FastPfu DNA 聚合酶 0.4 μL, 模板 DNA 10 ng, 补足至 20 μL。每个样本重复 3 次。将同一样本的 PCR 产物混合后使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物, 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 并用 Quantus Fluorometer (美国 Promega 公司) 对回收产物进行检测定量。使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 进行建库, 利用 Miseq PE300/NovaSeq PE250 平台进行测序。

使用 fastp (<https://github.com/OpenGene/fastp>, version 0.20.0) 软件对原始测序序列进行质控, FLASH (<http://www.cbcb.umd.edu/software/flash>, version 1.2.7) 软件进行拼接, UPARSE 软件 (<http://drive5.com/uparse/>, version 7.1) 根据 97% 相似度对序列进行 OTU 聚类并剔除嵌合体, RDP classifier (<http://rdp.cme.msu.edu/>, version 2.2) 对每条序列进行物种分类注释。再比对 Silva 16S rRNA 数据库 (v138), 设置比对阈值为 70%。

2.5 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理, 数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 麻仁丸对功能性便秘大鼠粪便的影响 与对照组比较, 模型组大鼠 6 h 粪便总数、粪便湿重、粪便干重和粪便含水率均降低 ($P<0.05$), 表明模型制备成功; 与模型组比较, 麻仁丸组大鼠 6 h 粪便总数、粪便湿重、粪便干重、粪便含水率均升高 ($P<0.05$), 表明麻仁丸对功能性便秘大鼠的便秘症状具有改善作用, 见表 1。

表 1 麻仁丸对功能性便秘大鼠粪便的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	6 h 粪便总数/颗	粪便湿重/g	粪便干重/g	粪便含水率/%
对照组	40.2±5.9	4.45±0.32	1.89±0.13	56.67±4.32
模型组	19.3±4.2 [*]	2.26±0.48 [*]	1.24±0.21 [*]	46.98±3.42 [*]
麻仁丸组	36.8±6.4 [#]	3.58±0.34 [#]	1.69±0.14 [#]	52.75±5.21 [#]

注: 与对照组比较, ^{*} $P<0.05$; 与模型组比较, [#] $P<0.05$ 。

3.2 麻仁丸对功能性便秘大鼠粪便中次级胆汁酸含量的影响 与对照组比较, 模型组大鼠粪便中 9 种次级胆汁酸的含量均降低, 其中熊果胆酸 (ursocholic acid), 牛磺胆酸 (taurocholic acid)、7-酮脱氧胆酸 (7-ketodeoxycholic acid)、7-酮基石胆酸 (7-ketolithocholic acid)、α-鼠胆酸 (α-muricholic acid)、牛磺-α-鼠胆酸 (tauro-α-muricholic acid)、牛磺-β-鼠胆酸 (tauro-α-muricholic acid) 含量更显著 ($P<0.05$); 与模型组比较, 麻仁丸组大鼠粪便中 9 种次级胆汁酸的含量均升高, 其中牛磺胆酸、7-酮脱氧胆酸、α-鼠胆酸、牛磺-α-鼠胆酸、牛磺-β-鼠胆酸含量更显著 ($P<0.05$), 见表 2。结果表明, 功能性便秘大鼠粪便中的胆汁

酸发生改变, 次级胆汁酸含量降低, 麻仁丸给药后可以恢复次级胆汁酸的含量。

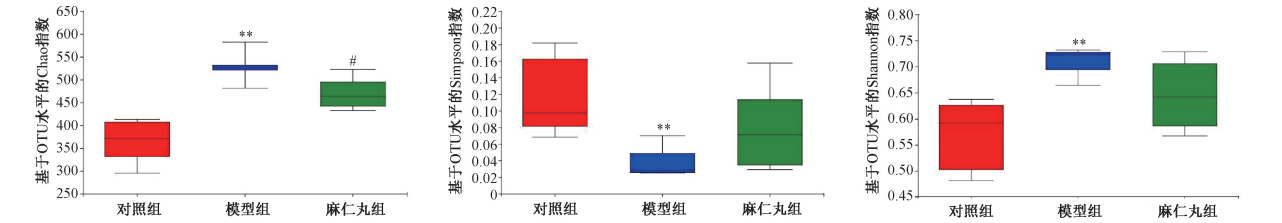
3.3 麻仁丸对功能性便秘大鼠肠道菌群的影响

3.3.1 肠道菌群物种多样性 与对照组比较, 模型组 chao 指数、shannoneven 指数升高 ($P<0.01$), simpson 指数降低 ($P<0.01$), 表明功能性便秘大鼠肠道菌群物种丰富度、均匀度、多样性增加; 与模型组比较, 麻仁丸组 chao 指数降低 ($P<0.05$), Simpson 指数、Shannoneven 指数有一定向对照组回调的趋势, 表明麻仁丸干预可以降低功能性便秘大鼠肠道菌群物种丰富度, 对物种均匀度和多样性有一定影响。见图 1。

表 2 麻仁丸对功能性便秘大鼠粪便次级胆汁酸含量的影响 (nmol/L, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	熊果胆酸	牛磺胆酸	7-酮脱氧胆酸	7-酮基石胆酸	α -鼠胆酸	β -鼠胆酸	12-酮基石胆酸	牛磺- α -鼠胆酸	牛磺- β -鼠胆酸
对照组	1.019 5±0.250 5	11.253 4±3.950 1	8.249 1±1.971 7	1.475 3±0.700 7	72.552 5±22.467 7	30.642 3±4.778 2	2.490 7±0.673 1	7.264 0±2.605 2	10.085 2±1.941 9
模型组	0.408 7±0.046 1 *	4.861 7±0.729 4 *	0.612 9±0.264 6 *	1.117 3±0.059 2 *	8.487 6±5.136 6 *	27.830 1±5.229 1	2.134 7±0.221 3	1.760 6±0.824 4 *	4.575 3±0.587 2 *
麻仁丸组	0.525 8±0.104 9	5.692 0±0.358 9 [#]	2.824 8±1.729 8 [#]	1.212 4±0.190 6	33.174 0±5.371 1 [#]	29.769 3±2.409 2	2.305 6±0.114 9	3.675 0±0.514 1 [#]	7.066 1±0.537 7 [#]

注：与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$ 。



注：与对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$ 。

图 1 各组大鼠肠道菌群的 α 多样性 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

3.3.2 各组微生物群落差异 采用基于 OTU 的主成分分析 (principal component analysis, PCA, 图 2A)、主坐标分析 (principal co-ordinates analysis, PCoA, 图 2B) 和非度量多维尺度分析 (non-metric multidimensional scaling, NMDS, 图 2C) 评估各组微生物群落之间的差异。结果显示, 各组

样本内部均能够显著聚类, 表明各组样本内部肠道菌群趋于一致; 对照组和模型组菌群结构组成差异显著 ($P<0.05$), 表明功能性便秘大鼠肠道菌群结构发生紊乱; 麻仁丸组肠道菌群结构偏离模型组, 并趋向对照组, 表明麻仁丸干预后功能性便秘大鼠的肠道菌群结构向正常状态回调。

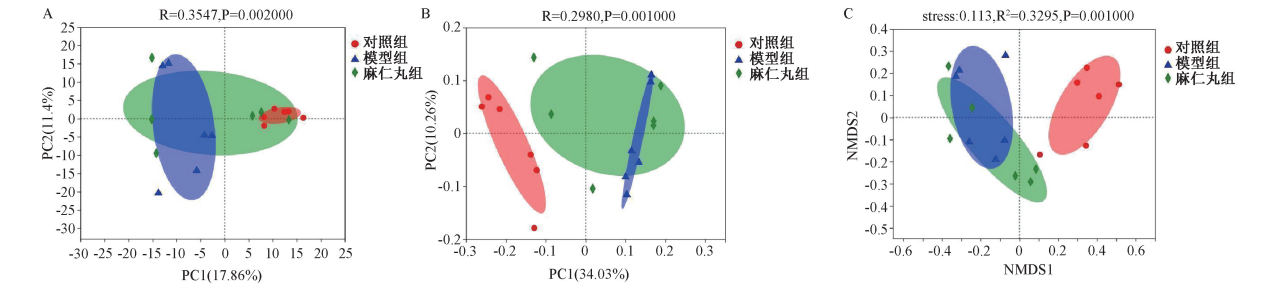


图 2 各组大鼠肠道菌群的 β 多样性 ($n=6$)

3.3.3 不同分类水平的物种组成分析 如图 3A 所示, 在门水平上, 与对照组比较, 模型组样本中拟杆菌门 (Bacteroidetes, 图 3A 绿色) 丰度减少, 厚壁菌门 (Firmicutes, 图 3A 红色) 丰度增加; 麻仁丸干预可升高拟杆菌门丰度, 降低厚壁菌门丰度。如图 3B 所示, 在科水平上, 与对照组比较, 模型组样本中普雷沃氏菌科 (Prevotellaceae, 图 3B 深绿色) 和乳杆菌科 (Lactobacillaceae, 图 3B 浅绿色) 丰度减少, Bacteroidales S24-7 group (图 3B 红色) 丰度增加; 麻仁丸干预可升高普雷沃氏菌科和乳杆菌科丰度, 降低 Bacteroidales S24-7 group 的丰度。以上结果表明, 各组之间肠道菌群组成有着高度的特异性, 功能性便秘大鼠肠道菌群中有益菌 (拟杆菌门、普雷沃氏菌科和乳杆菌科) 的丰度减少, 有害菌 (厚壁菌门、Bacteroidales S24-7 group) 的丰度增加, 麻仁丸干预可增加大鼠肠道菌群中益生菌的丰度。

3.3.4 各组物种组成差异分析 采用线性判别效应量分析 (linear discriminant analysis effect size, LEfSe) 进行多个分组之间的比较, 根据线性判别分析值 (LDA score) 的排序, 找到组间在丰度上有显著差异的物种, 见图 4。由此可知, 对照组的特征菌群为普氏菌属 (Prevotella 9)、普雷沃

氏菌科 (Prevotellaceae)、拟杆菌纲 (Bacteroidia)、拟杆菌目 (Bacteroidales)、拟杆菌门 (Bacteroidetes), 模型组的特征菌群为瘤胃菌科 (Ruminococcaceae)、消化球菌属 (Peptococcus)、Bacteroidales S24 7 group 等, 麻仁丸组的特征菌群为 g Papillibacter、g Tyzzerella 3、g Ruminococcaceae UCG 009、g Lachnospiraceae NK4B4 group 等。

3.3.5 肠道菌群与次级胆汁酸的相关性分析 为了进一步探究麻仁丸治疗功能性便秘的作用机制, 将所有样本的差异菌群和次级胆汁酸进行斯皮尔曼 (Spearman) 相关分析, 寻找菌群与胆汁酸的关系, 见图 5。由此可知, 多个差异物种与次级胆汁酸存在广泛的相关性, 其中牛磺胆酸、7-酮脱氧胆酸、7-酮基石胆酸、12-酮基石胆酸、牛磺- α -鼠胆酸与瘤胃菌科呈显著负相关, 与普雷沃氏菌科呈显著正相关。以上结果表明, 在麻仁丸治疗疾病的过程中, 药物、肠道菌群和胆汁酸之间存在密切的相互作用。

4 讨论

许多研究表明肠道菌群与多种原因引起的便秘关系密切, 便秘患者的肠道菌群多样性和组成发生显著变化^[7]。本研究发现功能性便秘大鼠的肠道菌群多样性升高, 菌群组成发生紊乱, 麻仁丸可以改善便秘引起的肠道菌群紊乱。

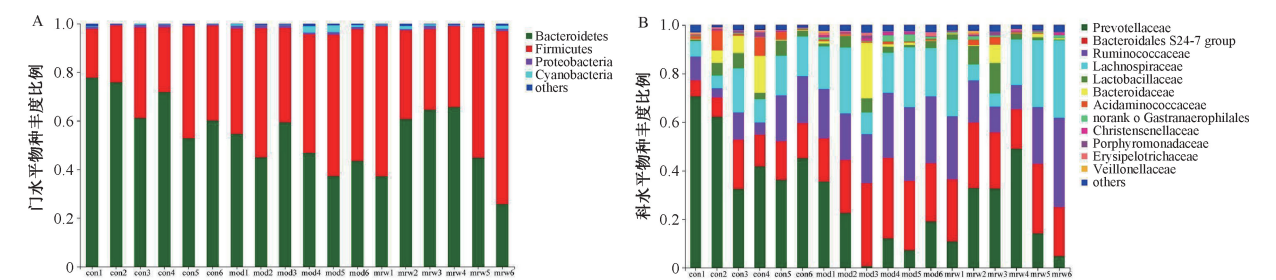
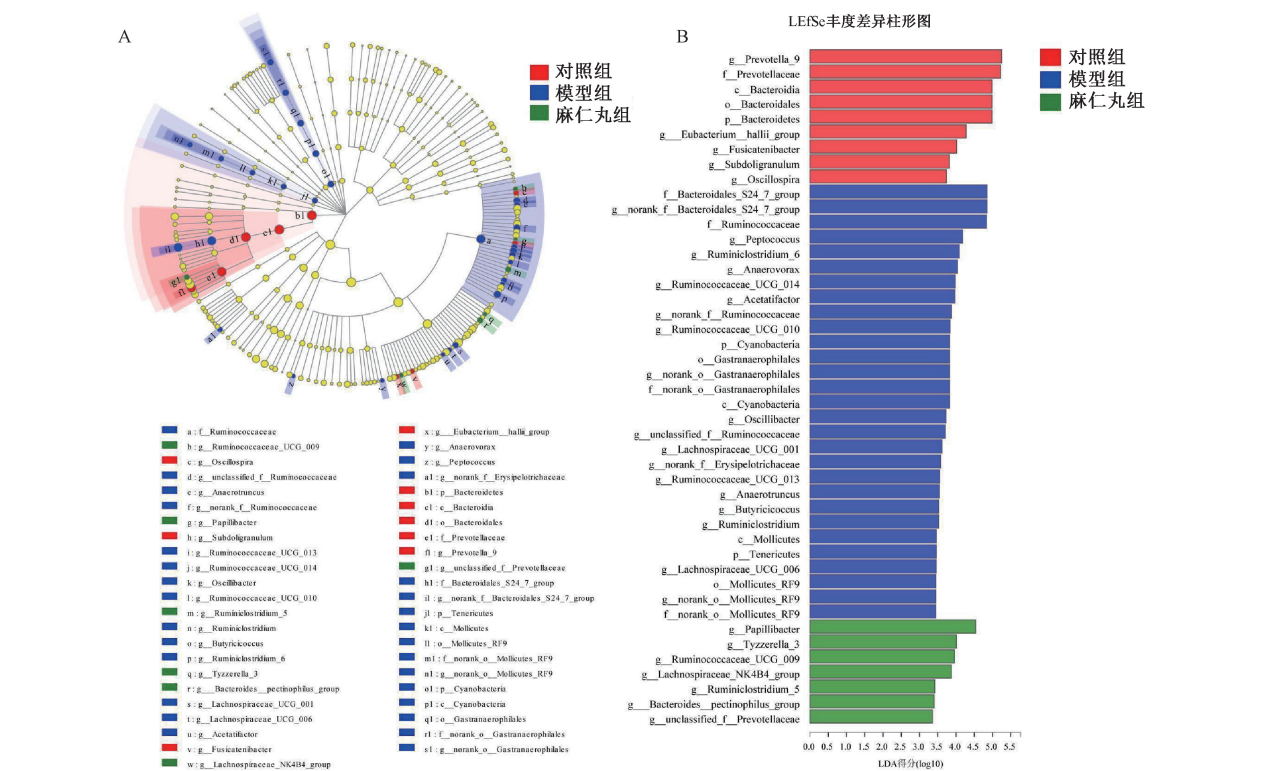
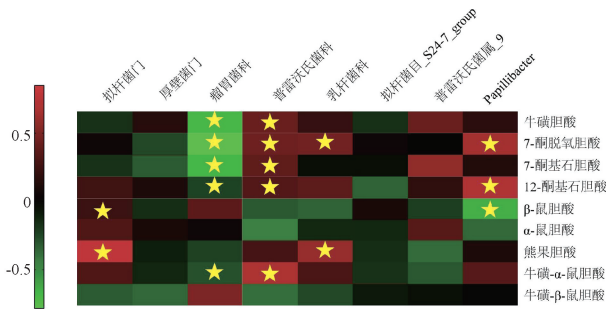


图 3 各组大鼠肠道菌群门水平 (A)、科水平 (B) 物种丰度



注：A 为由门到属的差异物种进化分支图，B 为 LDA 值分布的柱状图。

图 4 各组大鼠样本菌群的差异菌属 LEfSe 分析



注：红色为正相关，绿色为负相关，黄色五角星表示 $P < 0.05$ 。

图 5 差异菌属与次级胆汁酸的 Spearman 相关性分析 ($n = 18$)

本研究基于 16S rRNA 高通量测序的方法分析麻仁丸对功能性便秘大鼠肠道菌群的影响，发现麻仁丸可显著改善功能性便秘大鼠的肠道菌群紊乱，调节菌群中异常的拟杆菌门、厚壁菌门、普雷沃氏菌科、乳杆菌科、*g Papillibacter*、*g Tyzerella 3*、*g Ruminococcaceae UCG 009*、

g Lachnospiraceae NK4B4 group 等物种水平，表明其治疗便秘的作用与上述物种有关。厚壁菌门和拟杆菌门是肠道菌群中丰度最高的优势菌门，两者比值是肠道菌群平衡的重要指标^[8]。研究发现肥胖动物和人群的肠道菌群中厚壁菌门丰度相对升高，拟杆菌门丰度降低，厚壁菌门与拟杆菌门的比值升高^[9]，导致肠道菌群对碳水化合物的代谢紊乱，结肠中含水量减少。本研究发现，麻仁丸可在门水平上升高拟杆菌门丰度，降低厚壁菌门丰度，表明麻仁丸可能影响厚壁菌门和拟杆菌门的比值，调节粪便中的含水量，治疗功能性便秘；在科水平上，麻仁丸可升高功能性便秘大鼠肠道菌群中普雷沃氏菌科和乳杆菌科丰度。有研究发现，便秘患者肠道中的普氏菌减少，与本研究结果一致。普雷沃氏菌科主要参与植物纤维的代谢，发酵产生短链脂肪酸，维持肠道菌群的稳态^[10]。乳杆菌科为革兰氏阳性菌，在肠道菌群中参与糖类的发酵，产生短链脂肪酸，可以减弱肠易激综合症的症状，发挥抗炎作用^[11]。本研究发现，麻仁

丸干预后普雷沃氏菌科和乳杆菌科水平升高，可能增加肠道菌群发酵能力，维持肠道微生态环境平衡。

次级胆汁酸是由肝脏将胆固醇转化为胆汁酸后经肠道菌群代谢的产物^[12]，胆汁酸控制肠道菌群生长，并影响其调控天然免疫系统的能力^[13]；反之，肠道菌群也可以调节胆汁酸信号，影响胆汁酸合成及宿主代谢^[14]。一项基于人群的基因组研究发现，炎症性肠病（IBD）患者和健康人的每种菌株对胆汁酸生产能力贡献有较大差异，IBD 患儿肠道菌群的胆汁酸生产能力显著下降^[15]。另外有动物研究发现，在小鼠结肠炎模型中，补充次级胆汁酸通过 G 蛋白胆汁酸偶联受体 5（TGR5）胆汁酸受体缓解肠道炎症^[16]。本研究发现，功能性便秘大鼠的次级胆汁酸代谢显著改变，多种次级胆汁酸含量降低，麻仁丸给药后可增加次级胆汁酸的含量。相关分析发现，普雷沃氏菌科、乳杆菌科等益生菌与多种次级胆汁酸呈显著正相关，瘤胃菌科与次级胆汁酸呈显著负相关，表明胆汁酸的代谢受到肠道菌群的调控，麻仁丸可作用于肠道菌群进而影响次级胆汁酸的含量，改善功能性便秘。

麻仁丸主要化学成分为苦杏仁苷、大黄素、大黄酚、芍药苷、厚朴酚等物质^[17]，可在体内外增加水通道蛋白（AQP3）、纤维化跨膜电导调节蛋白等表达量，抑制便秘大鼠结肠中 NF-κB 通路的激活，减轻结肠炎症反应^[18]，表明麻仁丸经过肠道菌群代谢后可能影响肠道菌群与宿主的相互作用，改善便秘。今后，将对肠道菌群与宿主的相互作用进行深入研究，以揭示麻仁丸发挥泻下功效影响的肠道菌群。

综上所述，麻仁丸可改善功能性便秘大鼠便秘症状、肠道微生态紊乱，增加次级胆汁酸含量，调节肠道菌群结构和多样性，增加菌群中拟杆菌门、普雷沃氏菌科、乳杆菌科等益生菌的丰度，影响胆汁酸和肠道菌群的相互作用。

参考文献：

[1] Vriesman M H, Koppen I J N, Camilleri M, *et al.* Management of functional constipation in children and adults[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(1): 21-39.

[2] Guo M, Yao J, Yang F, *et al.* The composition of intestinal microbiota and its association with functional constipation of the elderly patients[J]. *Future Microbiol*, 2020, 15: 163-175.

[3] 薛 钧, 王道坤, 刘晶煜, 等. 麻仁丸联合乳果糖对癌痛患者阿片诱导性便秘的预防作用[J]. *中国药房*, 2015, 26(20): 2835-2837.

[4] 耿学斯, 罗春华, 肖秋平, 等. 肠润方对功能性便秘大鼠结肠黏膜 AQP3、AQP9 表达的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(11): 4699-4703.

[5] 肖秋平, 洪燕秋, 耿学斯, 等. 肠润方对功能性便秘大鼠结肠 Cajal 间质细胞及 c-kit/SCF 信号通路的影响[J]. *中医药通报*, 2020, 19(2): 57-62.

[6] Shimotoyodome A, Meguro S, Hase T, *et al.* Decreased colonic mucus in rats with loperamide-induced constipation[J]. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 2000, 126(2): 203-212.

[7] 解萧宇, 陈保祥, 黄志浩, 等. 肠道菌群在慢传输型便秘患者中的变化及意义[J]. *中华实验外科杂志*, 2018, 35(8): 1554-1557.

[8] Zhou W, Xu H, Zhan L, *et al.* Dynamic development of fecal microbiome during the progression of diabetes mellitus in Zucker diabetic fatty rats[J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 232.

[9] 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.

[10] Zhu L, Liu W, Alkhouri R, *et al.* Structural changes in the gut microbiome of constipated patients[J]. *Physiol Genomics*, 2014, 46(18): 679-686.

[11] Mao J H, Kim Y M, Zhou Y X, *et al.* Genetic and metabolic links between the murine microbiome and memory [J]. *Microbiome*, 2020, 8(1): 53.

[12] Raphael C, Carlos S R, Oliver S. Nutritional modulation of innate immunity: The fat-bile-gut connection [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2018, 29(10): 686-698.

[13] Wahlström A, Sayin S I, Marschall H U, *et al.* Intestinal crosstalk between bile acids and microbiota and its impact on host metabolism[J]. *Cell Metab*, 2016, 24(1): 41-50.

[14] Sipe L M, Chaib M, Pingili A K, *et al.* Microbiome, bile acids, and obesity: How microbially modified metabolites shape anti-tumor immunity [J]. *Immunol Rev*, 2020, 295(1): 220-239.

[15] Heinken A, Ravcheev D A, Baldini F, *et al.* Systematic assessment of secondary bile acid metabolism in gut microbes reveals distinct metabolic capabilities in inflammatory bowel disease[J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 75.

[16] Sinha S R, Haileselassie Y, Nguyen L P, *et al.* Dysbiosis-induced secondary bile acid deficiency promotes intestinal inflammation[J]. *Cell Host Microbe*, 2020, 27(4): 659-670.

[17] 张 宪, 李 岳. 高效液相色谱法同时测定麻仁丸中大黄素、大黄酚、大黄酸及厚朴酚含量[J]. *国际中医中药杂志*, 2019, 41(10): 1107-1110.

[18] Zhan Y, Tang X, Xu H, *et al.* Maren Pills improve constipation via regulating AQP3 and NF-κB signaling pathway in slow transit constipation *in vitro* and *in vivo* [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 9837384.