

白藜芦醇对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能和肠道菌群的影响

刘丽君<sup>1</sup>, 郑慧军<sup>2\*</sup>  
(1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046; 2. 河南省中医院, 河南 郑州 450002)

**摘要:** **目的** 探究白藜芦醇对急性脑缺血再灌注大鼠神经功能和肠道菌群的影响。**方法** 采用线栓法制备急性脑缺血再灌注(MCAO)大鼠模型, 给药组手术前 6 d 每天灌胃白藜芦醇 100 mg/kg。采用酶联免疫吸附法检测大鼠粪便中 LPS 水平和坏死部分脑组织中 COX2 和 NOS2 水平, 并采用 16S rRNA 高通量测序技术对大鼠粪便细菌结构和组成进行全面特征分析。**结果** 白藜芦醇可显著改善 MCAO 大鼠神经损伤, 降低脑组织 COX2 和 NOS2 水平, 提高肠道菌群  $\alpha$  多样性, 改变肠道菌群结构, 减少肠杆菌科等有害菌的丰度并降低粪便中细菌分泌的 LPS 水平。**结论** 白藜芦醇对急性脑缺血再灌注大鼠的脑损伤有改善作用, 其机制可能是通过调节肠道菌群中有害细菌的丰度抑制脑组织炎症反应。  
**关键词:** 白藜芦醇; 脑缺血再灌注损伤; 炎症; 肠道菌群; 肠杆菌科  
**中图分类号:** R285.5      **文献标志码:** B      **文章编号:** 1001-1528(2023)07-2384-05  
**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.07.048

缺血再灌注损伤是指脑缺血一定时间恢复血液供应后, 其功能不但没有完全恢复, 反而出现了更严重的脑机能障碍, 严重影响患者生活质量, 且具有高发病率、高死亡率和致命性等特点, 目前针对该疾病仍缺乏有效的治疗方法<sup>[1]</sup>。急性脑缺血引起局部神经炎症反应并同时改变外周免疫稳态, 导致肠道菌群失调, 细菌多样性减少<sup>[2-3]</sup>。紊乱的肠道菌群可能通过调节中枢神经系统抗原特异性免疫反应而影响脑缺血<sup>[4]</sup>。白藜芦醇是一种具有抗氧化、抗炎作用的多酚类化合物, 可在多种植物中提取<sup>[5]</sup>。已有研究证实, 白藜芦醇通过抑制炎症反应, 修复血脑屏障等方式改善脑缺血再灌注损伤<sup>[6]</sup>。近年研究报道, 白藜芦醇可改变肠道菌群, 增加肠道中有益菌的丰度<sup>[7]</sup>, 减少有害菌及有害物质, 如 LPS 等致炎因子的分泌, 发挥抗肥胖<sup>[8]</sup>、抗动脉粥样硬化的作用<sup>[9]</sup>。基于此, 本研究观察白藜芦醇对急性脑缺血再灌注损伤大鼠的干预效果, 并探究白藜芦醇对 MCAO 大鼠肠道菌群的影响, 挖掘白藜芦醇发挥神经保护作用的肠道菌群机制。

1 材料与方法

1.1 动物分组及造模 SPF 级 SD 雄性大鼠 18 只, 8 周龄, 体质量 (200±20) 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。大鼠随机分为假手术组、模型组和白藜芦醇组。于第 7 天灌胃给药结束后 2 h, 采用线栓法建立大鼠大脑中动脉阻塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 模型, 假手术组不插线栓, 缺血 1 h 后轻轻抽出线栓使其再灌注, 最后清理伤口并消毒。大鼠清醒后及时补充水分和营养。

1.2 药液配制与给药 称取适量白藜芦醇 (上海麦克林生

化科技股份有限公司, CAS 号 501-36-0) 溶于生理盐水中, 超声溶解, 于 4 ℃ 冰箱中保存。白藜芦醇组大鼠于术前和术后清醒 24 h 每天灌胃 100 mg/kg 白藜芦醇, 假手术组、模型组大鼠每天灌胃等量生理盐水, 给药剂量和时间依据 Sharma<sup>[10]</sup>、Wagnerova 等<sup>[11]</sup>报道并进行调整。  
1.3 神经功能评分 术后清醒 24 h 后参考 Longa 等<sup>[12]</sup>报道进行神经功能评分, 即活动正常, 无神经损伤症状, 记为 0 分; 不能完全伸展对侧前爪, 记为 1 分; 爬行时自发向左侧转圈, 记为 2 分; 站立不稳, 行走时向一侧倾倒, 记为 3 分; 行为意识功能障碍, 无法行走, 记为 4 分。评分后进行最后 1 次给药。  
1.4 取材 最后 1 次给药后 2 h, 将大鼠置于干净滤纸上, 以腹部按摩法促使排便, 每只收集 2 份, 分别用于肠道菌群、LPS 检测。水合氯醛麻醉大鼠后处死, 断头取脑, 收集脑梗死处组织, 于 -80 ℃ 冰箱中保存。  
1.5 ELISA 法检测粪便中 LPS 和脑组织中 COX2、NOS2 水平 取缺血一侧脑组织, 用预冷 PBS 清洗, 精密称定质量, 加新鲜的裂解缓冲液制成 10% 组织匀浆, 离心后取上清, 于 -20 ℃ 冰箱中保存。按照 COX2、NOS2 试剂盒 (上海蓝基生物科技有限公司) 说明书检测脑组织 COX2、NOS1 水平。称取大鼠粪便约 30 mg, PBS 混匀, 离心取上清后, 按照 LPS 试剂盒 (上海蓝基生物科技有限公司) 说明书检测粪便中 LPS 水平。  
1.6 16S rRNA 测序 利用 Illumina 公司的 Miseq PE300/ NovaSeq PE250 平台进行测序。使用 5'-ACTCCTACG GGAGGCAGCAG-3'、5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3' 对 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增, 扩增程序为

收稿日期: 2021-12-22  
基金项目: 河南省中医药科学研究专项课题 (19-21ZY2069)  
作者简介: 刘丽君 (1994—), 女, 硕士生, 从事外科学研究。Tel: 17839908776, E-mail: liulijun22020@163.com  
\* 通信作者: 郑慧军 (1971—), 男, 主任医师, 从事外科学研究。Tel: 13525818678, E-mail: zhenghuijunvip@163.com

95 ℃ 预变性 3 min, 95 ℃ 变性 30 s, 55 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 共 27 个循环, 72 ℃ 稳定延伸 10 min, 4 ℃ 保存。每个样本重复检测 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, 采用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 进行建库。通过 fastp (<https://github.com/OpenGene/fastp>, version 0.20.0)、FLASH (<http://www.cbcb.umd.edu/software/flash>, version 1.2.7) 软件对原始测序序列进行质控和拼接。根据 97% 的相似度对序列进行 OTU 聚类并剔除嵌合体。基于得到的 OTU 序列进行  $\alpha$  多样性、 $\beta$  多样性、群落组成分析, 评估各组大鼠肠道细菌群落的改变, 并对其进行组间比较。

1.7 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

表 1 各组大鼠神经功能评分及 LPS、COX2、NOS2 水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ )

| 组别    | 神经功能评分/分               | 粪便 LPS/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | 脑组织 COX2/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | 脑组织 NOS2/(ng·mL <sup>-1</sup> ) |
|-------|------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 假手术组  | 0.00±0.00              | 72.77±10.25                   | 69.19±7.88                      | 46.97±8.48                      |
| 模型组   | 3.33±0.52 <sup>*</sup> | 110.30±8.51 <sup>*</sup>      | 108.60±10.96 <sup>*</sup>       | 74.26±2.30 <sup>*</sup>         |
| 白藜芦醇组 | 2.33±0.52 <sup>#</sup> | 92.92±5.86 <sup>#</sup>       | 86.93±8.01 <sup>#</sup>         | 58.27±5.73 <sup>#</sup>         |

注: 与假手术组比较,  $^*P<0.05$ ; 与模型组比较,  $^{\#}P<0.05$ 。

2.3 白藜芦醇对 MCAO 大鼠肠道菌群的影响 基于 16S rRNA 高通量测序得到的 OTU 序列对各组大鼠肠道菌群多样性和物种组成进行分析, 包括肠道菌群  $\alpha$  多样性、 $\beta$  多样性, 各级物种组成及单一物种的丰度比较, 探究白藜芦醇改善 MCAO 大鼠神经功能和炎症影响的肠道菌群。

2.3.1 肠道菌群的物种多样性变化 如图 1 所示, 与假手术组比较, 模型组 shannon 指数、shannoneven 指数降低

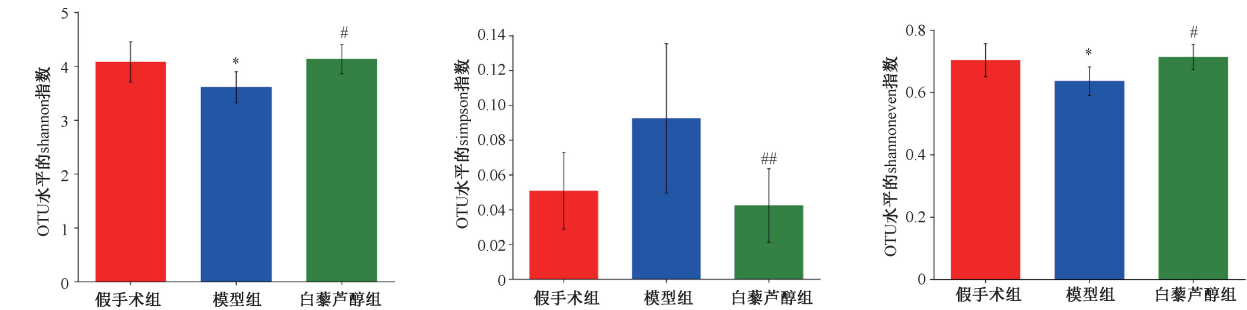
示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 白藜芦醇对 MCAO 大鼠神经功能的影响 如表 1 所示, 与假手术组比较, 模型组大鼠神经功能评分升高 ( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 白藜芦醇组大鼠神经功能评分降低 ( $P<0.05$ )。以上结果表明, 白藜芦醇具有改善急性缺血性再灌注大鼠的神经功能的效果。

2.2 白藜芦醇对 MCAO 大鼠粪便中 LPS 和脑组织 COX2、NOS2 水平的影响 如表 1 所示, 与假手术组比较, 模型组大鼠粪便中 LPS 水平和脑缺血组织中 COX2、NOS2 水平均升高 ( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 白藜芦醇组大鼠粪便中 LPS 水平和脑缺血组织中 COX2、NOS2 水平均降低 ( $P<0.05$ )。以上结果表明, 白藜芦醇给药可恢复 MCAO 造模导致的肠道菌群分泌的脂多糖紊乱和脑中炎症因子水平的升高。

( $P<0.05$ ), simpson 指数有升高的趋势, 但差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ), 表明 MCAO 大鼠肠道菌群的物种丰富度、均匀度和多样性降低; 与模型组比较, 白藜芦醇组 simpson 指数降低 ( $P<0.01$ ), shannon 指数、shannoneven 指数升高 ( $P<0.05$ )。以上结果表明, 白藜芦醇给药可提高大鼠的肠道菌群多样性。



注: 与假手术组比较,  $^*P<0.05$ ; 与模型组比较,  $^{\#}P<0.05$ ,  $^{##}P<0.01$ 。

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

2.3.2 白藜芦醇对肠道菌群结构的影响 采用基于 OTU 的 unweighted UniFrac (图 2A) 和 weighted UniFrac (图 2B) 主坐标分析 (principal co-ordinates analysis, PCoA) 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。由此可知, 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; 假手术组和模型组菌群结构组成差异显著 ( $P<0.05$ ), 表明 MCAO 大鼠肠道菌群结构发生紊乱; 白藜芦醇组肠道菌群结构偏离模型组, 并趋向假手术组。以上结果表明, 白藜芦醇给药可使 MCAO 大鼠的肠道菌群结构向正常状态回调。

2.3.3 不同分类水平物种组成分析 如图 3、表 2 所示, 根据物种分类学分析结果可获得各组肠道菌群在不同水平的优势物种。在门水平上, 与假手术组比较, 模型组拟杆菌门 (*Bacteroidetes*, 图 3A 绿色) 丰度升高 ( $P<0.05$ ), 厚壁菌门 (*Firmicutes*, 图 3A 红色) 丰度降低 ( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 白藜芦醇组厚壁菌门丰度升高 ( $P<0.05$ ), 拟杆菌门丰度降低 ( $P<0.05$ )。在纲水平上, 与假手术组比较, 模型组梭菌纲 (*Clostridia*, 图 3B 红色) 丰度降低 ( $P<0.05$ ), 拟杆菌纲 (*Bacteroidia*, 图 3B 绿色) 丰度升高 ( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 白藜芦醇组梭菌纲丰度升高 ( $P<0.05$ ), 拟杆菌纲丰度降低 ( $P<0.05$ )。以上结果表

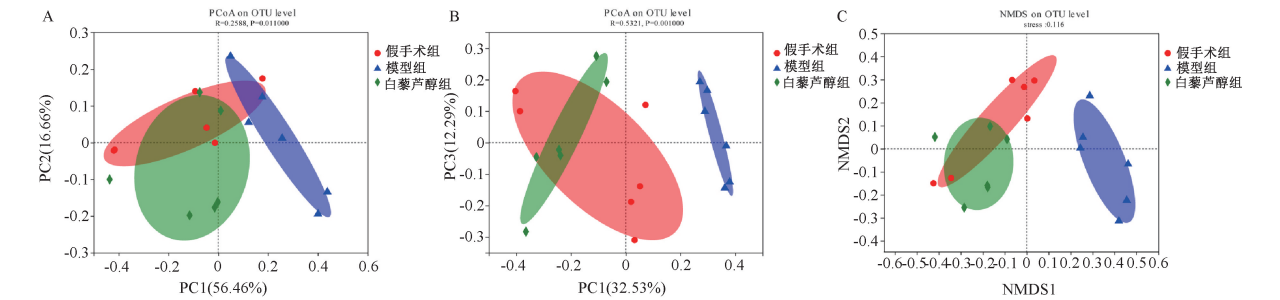
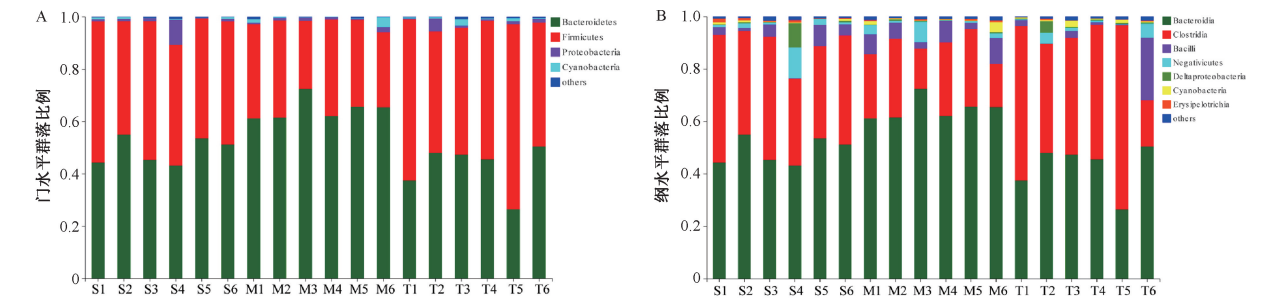


图 2 各组大鼠肠道菌群的  $\beta$  多样性分析 ( $n=6$ )



注：S1~S6 为假手术组，M1~M6 为模型组，T1~T6 为白藜芦醇组。

图 3 各组大鼠肠道菌群在门水平和纲水平的组成

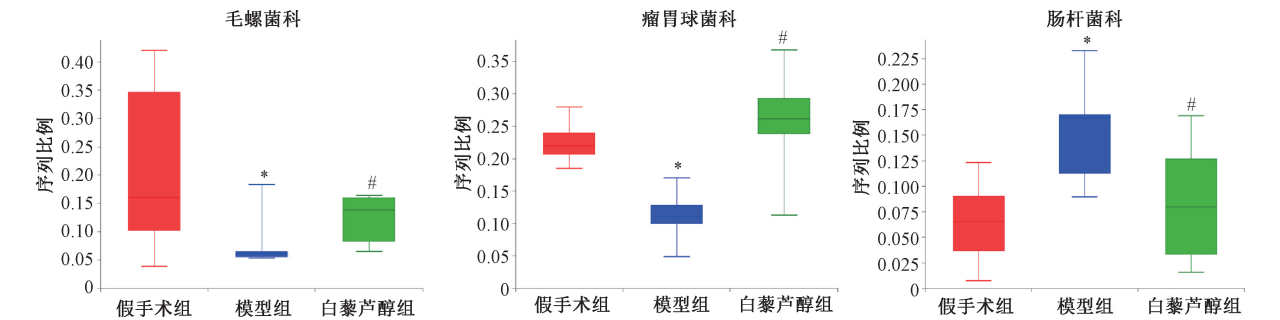
表 2 各组肠道菌群门水平、纲水平主要物种丰度比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ )

| 组别    | 拟杆菌门                | 厚壁菌门                | 变形菌门               | 拟杆菌纲                | 梭菌纲                 | 杆菌纲                |
|-------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|
| 假手术组  | 0.424 77±0.090 68   | 0.546 12±0.097 02   | 0.015 31±0.017 56  | 0.424 78±0.090 68   | 0.474 09±0.178 77   | 0.050 16±0.092 93  |
| 模型组   | 0.646 33±0.042 65 * | 0.330 42±0.046 58 * | 0.010 32±0.005 24  | 0.646 33±0.042 65 * | 0.240 13±0.065 80 * | 0.061 63±0.031 08  |
| 白藜芦醇组 | 0.487 27±0.051 23#  | 0.481 80±0.042 66#  | 0.023 29±0.036 25# | 0.487 27±0.051 22#  | 0.408 13±0.062 01#  | 0.035 81±0.028 11# |

注：与假手术组比较，\*  $P<0.05$ ；与模型组比较，#  $P<0.05$ 。

明，各组之间肠道菌群组成有着高度的特异性，MCAO 大鼠肠道菌群中有益菌的丰度减少，有害菌的丰度增加，白藜芦醇给药可增加大鼠肠道菌群中益生菌的丰度。

2.3.4 白藜芦醇对肠道细菌丰度的影响 进一步对各组显著变化的肠道细菌丰度进行分析，如图 4 所示，与假手术组比较，模型组毛螺菌科 (*Lachnospiraceae*) 和瘤胃球菌科 (*Ruminococcaceae*) 丰度降低 ( $P<0.05$ )，肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*) 丰度升高 ( $P<0.05$ )；与模型组比较，白藜芦醇组毛螺菌科和瘤胃球菌科丰度升高 ( $P<0.05$ )，肠杆菌科丰度降低 ( $P<0.05$ )。以上结果表明，白藜芦醇具有增加 MCAO 大鼠肠道内益生菌，减少有害菌的作用。



注：与假手术组比较，\*  $P<0.05$ ；与模型组比较，#  $P<0.05$ 。

图 4 各组大鼠肠道细菌的丰度 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ )

3 讨论

发生脑缺血再灌注可导致缺血脑组织中的炎症反应增加，一氧化氮合酶的表达量升高<sup>[13]</sup>。越来越多的研究发现肠道菌群可通过分泌促炎因子影响外周和大脑炎症，减少肠道菌群中有害菌的治疗方式受到许多研究关注<sup>[14]</sup>。

已有研究证实，脑缺血再灌注后大脑中的炎症反应增加，一氧化氮合酶表达增加，促进 NO 等炎症因子的释放<sup>[15]</sup>。李薇娜<sup>[16]</sup>研究发现，白藜芦醇可通过降低诱导性一氧化氮合酶的表达，提高 SOD 活性，提升机体抗氧化应激的能力，进而对大鼠脑缺血再灌注的神经损伤发挥保护作用。

用。本研究结果与其一致，发现脑缺血再灌注损伤可导致大鼠的神经功能障碍，并且升高 iNOS 水平。环氧化酶 2（COX2）是炎症反应的关键限速酶，在生理状况下表达量极低<sup>[17]</sup>，有研究发现在大鼠脑缺血一侧的组织中 COX2 表达增加<sup>[18]</sup>，表明缺血导致的脑损伤伴随着剧烈的炎症反应。房亚兰等<sup>[19]</sup>研究发现，大黄酚能够抑制缺血组织 COX2 表达进而改善脑缺血导致的神经损伤。研究表明，多酚类物质白藜芦醇可抑制 MCAO 大鼠脑缺血侧组织 COX2 水平，发挥神经保护的作用。

肠道菌群主要由厚壁菌门和拟杆菌门组成，二者的比例与多种疾病发生有关<sup>[20-21]</sup>。梭菌纲和拟杆菌纲分别是厚壁菌门和拟杆菌门的主要物种，有研究报道梭菌纲丰度的减少与认知损伤和动脉粥样硬化有关<sup>[22-23]</sup>。本研究发现，白藜芦醇给药可增加 MCAO 模型大鼠的肠道菌群多样性，提高梭菌纲丰度，表明白藜芦醇可能促进梭菌纲的生长发挥改善脑缺血再灌注神经损伤的作用。临床研究观察到脑卒中患者血浆中 LPS 水平升高<sup>[24]</sup>。肠杆菌科在肠道内生长，可通过产生大量的脂多糖破坏肠道屏障并进一步迅速诱发外周炎症反应<sup>[25]</sup>。毛螺菌科和瘤胃球菌科可在肠道中产生短链脂肪酸，保护肠道屏障，减少肠道菌群中异常分泌的脂多糖等致炎物质进入外周导致中枢炎症损伤加重<sup>[26-27]</sup>。本研究发现，缺血性脑卒中损伤后，大鼠粪便中 LPS 水平升高，肠杆菌科过度繁殖而毛螺菌科和瘤胃球菌科的丰度降低。白藜芦醇给药可降低 LPS，抑制肠杆菌科的生长，促进有益菌毛螺菌科和瘤胃球菌科的生长。以上结果表明，白藜芦醇具有促进益生菌，抑制有害菌改善急性脑缺血再灌注导致的神经损伤功能。

综上所述，本研究探讨了大鼠脑缺血再灌注损伤过程中肠道菌群和脑中炎症反应的关系，发现紊乱的肠道菌群分泌的致炎性物质增加，与脑中的炎症反应密切相关。白藜芦醇可改善肠道菌群紊乱，抑制肠道菌群中的有害菌生长，刺激益生菌的繁殖，减少毒性物质分泌，减轻大脑炎症反应并发挥改善脑缺血再灌注神经损伤的作用。本研究从肠-脑轴的角度为临床治疗脑缺血提供了新的证据和方法。

参考文献：

[ 1 ] Zhou M G, Wang H D, Zeng X Y, *et al.* Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. *Lancet*, 2019, 394(10204): 1145-1158.

[ 2 ] Xia G H, You C, Gao X X, *et al.* Stroke dysbiosis index (SDI) in gut microbiome are associated with brain injury and prognosis of stroke[J]. *Front Neurol*, 2019, 10: 397.

[ 3 ] Singh V, Roth S, Llovera G, *et al.* Microbiota dysbiosis controls the neuroinflammatory response after stroke [J]. *J Neurosci*, 2016, 36(28): 7428-7240.

[ 4 ] Benakis C, Brea D, Caballero S, *et al.* Commensal microbiota affects ischemic stroke outcome by regulating intestinal  $\gamma\delta$  T cells[J]. *Nat Med*, 2016, 22(5): 516-523.

[ 5 ] 王新萍, 郭 芹, 李 甜, 等. 植物中白藜芦醇提取和检测方法研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(21): 7957-7965.

[ 6 ] 马 姗, 闫忠军, 李军朝, 等. 白藜芦醇抑制 TLR4 信号通路减轻脑缺血再灌注损伤后神经炎症的具体机制研究[J]. *中华神经医学杂志*, 2019, 18(11): 1081-1082; 1086.

[ 7 ] Shen L, Ji H F. Reciprocal interactions between resveratrol and gut microbiota deepen our understanding of molecular mechanisms underlying its health benefits[J]. *Trends Food Sci Technol*, 2018, 81: 232-236.

[ 8 ] Sung M M, Kim T T, Denou E, *et al.* Improved glucose homeostasis in obese mice treated with resveratrol is associated with alterations in the gut microbiome[J]. *Diabetes*, 2016, 66(2): 418-425.

[ 9 ] Chen M L, Long Y, Yong Z, *et al.* Resveratrol attenuates Trimethylamine-N-Oxide (TMAO) -induced atherosclerosis by regulating TMAO synthesis and bile acid metabolism *via* remodeling of the gut microbiota [J]. *mBio*, 2016, 7(2): e02210-e02215.

[ 10 ] Sharma M, Mohapatra J, Wagh A, *et al.* Involvement of TACE in colon inflammation: A novel mechanism of regulation *via* SIRT-1 activation[J]. *Cytokine*, 2014, 66(1): 30-39.

[ 11 ] Wagnerova A, Babickova J, Liptak R, *et al.* Sex differences in the effect of resveratrol on DSS-induced colitis in mice [J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2017, 2017: 8051870.

[ 12 ] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, *et al.* Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.

[ 13 ] 刘 巍, 王晶晶, 闫 明, 等. 一氧化氮合酶在大鼠脑缺血再灌注损伤后时间-量的变化 [J]. *中国比较医学杂志*, 2007, 17(9): 539-543; 560.

[ 14 ] Yamashiro K, Tanaka R, Urabe T, *et al.* Gut dysbiosis is associated with metabolism and systemic inflammation in patients with ischemic stroke[J]. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0176062.

[ 15 ] 王淑静, 胡子娟, 杨俊杰, 等. 局灶性脑缺血对大鼠前额叶皮质神经型一氧化氮合酶的影响 [J]. *神经解剖学杂志*, 2021, 37(1): 35-40.

[ 16 ] 李薇娜. 白藜芦醇在大鼠脑缺血再灌注损伤中的神经保护作用[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2014.

[ 17 ] 龙 洁, 张在强, 路敦跃. 钙离子拮抗剂对大鼠局灶性脑缺血环氧化酶-2 的影响[J]. *首都医科大学学报*, 2000, 21(3): 214-216.

[ 18 ] Yokota C, Kaji T, Kuge Y, *et al.* Temporal and topographic profiles of cyclooxygenase-2 expression during 24 h of focal brain ischemia in rats[J]. *Neurosci Lett*, 2004, 357(3): 219-222.

[ 19 ] 房亚兰, 黄语悠, 赵咏梅, 等. 大黄酚对局灶性脑缺血再灌注小鼠缺血半暗带区环氧化酶 2 和基质金属蛋白酶-9 表达的影响[J]. *首都医科大学学报*, 2017, 38(1): 47-52.

[ 20 ] 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.

[ 21 ] Komaroff A L. The microbiome and risk for obesity and diabetes

[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<sup>1</sup>, 牛明了<sup>1</sup>, 张龙江<sup>2\*</sup>  
(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<sup>[1]</sup>, 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<sup>[2]</sup>。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<sup>[3]</sup>。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<sup>[4]</sup>, 影响结肠 Cajal 间质细胞及其 c-kit/SCF 信号通路<sup>[5]</sup>, 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、 $\alpha$ -鼠胆酸、 $\beta$ -鼠胆酸、牛磺- $\alpha$ -鼠胆酸、牛磺- $\beta$ -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