

efficacy of chemotherapeutics by gambogic acid against gastric cancer cells[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2012, 27(5): 299-306.

[19] Hatami E, Nagesh P K B, Jaggi M, *et al.* Gambogic acid potentiates gemcitabine induced anticancer activity in non-small cell lung cancer[J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 888: 173486.

[20] Hatami E, Jaggi M, Chauhan S C, *et al.* Gambogic acid: A shining natural compound to nanomedicine for cancer therapeutics[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1874(1): 188381.

[21] Jang J H, Kim J Y, Sung E G, *et al.* Gambogic acid induces apoptosis and sensitizes TRAIL-mediated apoptosis through downregulation of cFLIPL in renal carcinoma Caki cells[J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(1): 376-384.

[22] Jiang X L, Zhang Y, Luo C L, *et al.* Targeting renal cell carcinoma with gambogic acid in combination with sunitinib *in vitro* and *in vivo*[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 13(12): 6463-6468.

兗州卷柏水提物对急性酒精性肝损伤小鼠保肝及肠道菌群的影响

温扬敏¹, 田 力¹, 蔡 炼², 邱丹缨¹
(1. 泉州医学高等专科学校基础医学部, 福建 泉州 362000; 2. 泉州市医药研究所, 福建 泉州 362000)

摘要: **目的** 研究兗州卷柏水提物对急性酒精性肝损伤小鼠保肝及肠道菌群的影响。**方法** 将 60 只小鼠随机分成 6 组, 每组 10 只。正常组和模型组每天灌胃生理盐水, 阳性组每天灌胃 100 mg/kg 葵花护肝片, 兗州卷柏低、中、高剂量组每天分别灌胃 100、150、200 mg/kg 兗州卷柏水提物, 连续 15 d。末次给药 3 h 后, 模型组、阳性组和兗州卷柏各剂量组小鼠灌胃 10 mL/kg 无水乙醇, 正常组小鼠灌胃等体积生理盐水。造模 24 h 后, 检测血清谷草转氨酶 (GOT)、谷丙转氨酶 (GPT) 和碱性磷酸酶活性 (ALP) 活性, 以及肝组织核因子 κ B (NF- κ B) 和肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 蛋白表达, HE 染色观察肝组织病理性改变, 采用高通量测序技术对小鼠粪便细菌进行分析。**结果** 与模型组比较, 兗州卷柏各剂量组小鼠血清 GOT、GPT 和 ALP 活性降低 ($P<0.05$), 肝组织 TNF- α 和 NF- κ B 表达降低 ($P<0.05$), 肝组织病理性损伤得到改善, 酒精引起的肠道菌群紊乱得到一定恢复。**结论** 兗州卷柏对酒精引起小鼠肝损伤具有一定保护作用, 其机制可能与阻断 NF- κ B 通路的活化进而抑制炎症反应, 以及改善肠道菌群紊乱有关。

关键词: 兗州卷柏; 水提物; 急性酒精性肝损伤; 肠道细菌; 炎症反应; 保肝作用

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)06-2016-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.06.046

据世界卫生组织发布的《2018 全球酒精与健康报告》显示, 我国约有 6% 的男性和 1% 的女性居民死于酒精相关疾病, 酒精性肝病对人类健康造成严重危害^[1]。近年来研究发现, 肠道微生物在酒精性肝病的发生发展中发挥着重要作用^[2]。过量饮酒引起由肠黏膜屏障、肠道微生物及肝组成的“肠-肝轴”失调, 导致肠道细菌移位, 细菌及其代谢产物通过与肝脏库普弗巨噬细胞 (kupffer cell) 的 Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR-4) 结合, 调控核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 炎症信号通路引发炎症, 加速肝损伤^[3]。以肠道菌群为靶点是未来治疗酒精性肝病的一个重要手段。

兗州卷柏为卷柏科植物兗州卷柏 *Selaginella involvens* 全草, 具有清热利湿、止咳、解毒等功效。兗州卷柏在民间广泛用于治疗肝炎, 并取得良好的效果^[4]。课题组前期研

究表明, 兗州卷柏水提物能减轻 CCl₄ 引起的肝组织损伤, 但其保肝的有效物质及作用机制还不清楚^[5]。肠道菌群是中药起效过程的关键点, 基于肠道菌群的中药活性成分及效应物质发现模式具有重要意义^[6]。本研究通过探讨兗州卷柏对急性酒精性肝损伤小鼠的保肝作用及肠道细菌的影响, 以期为兗州卷柏应用于酒精性肝病的临床治疗提供依据。

1 材料

1.1 动物 60 只 SPF 昆明小鼠, 体质量 19~21 g, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2020-0004。小鼠饲养环境为温度 (25±2)℃, 12 h/12 明暗交替, 自由饮水, 适应性饲养 1 周后开始实验。

1.2 试剂与药物 兗州卷柏采集自福建宁化县治平乡泥坑

村,经泉州医药研究所苏齐主任医师鉴定为卷柏科植物兖州卷柏 *Selaginella involvens* 全草。无水乙醇、二甲苯、盐酸、中性树胶、双氧水(国药集团化学试剂有限公司,批号 10009218、10023418、10011018、10004160、10011208);PBS、柠檬酸(pH 6.0)抗原修复液、苏木素染液、DAB 显色试剂盒、TNF- α 多克隆抗体、NF- κ B 多克隆抗体、兔抗小鼠 IgG 多克隆抗体(武汉云克隆科技股份有限公司,批号 C1103、C1010、C1001、C1101、A20200511796、A20200802367、A20210707868);小鼠粪便 DNA 提取试剂盒(北京百奥莱博科技有限公司,批号 20190611);谷草转氨酶(GOT)、谷丙转氨酶(GPT)、碱性磷酸酶(ALP)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 20191301、20190745、20181758)。

1.3 仪器 组织包埋机(型号 KD-BM)、病理切片机(型号 KD-2258)、组织冷冻台(型号 KD-BL)、摊片机(型号 KD-P),购自浙江省金华市科迪仪器设备有限公司;脱水机(型号 JJ-12J),购自武汉俊杰电子有限公司;脱色摇床(型号 WD-9405A)、电泳仪(型号 JY300C),购自北京六一生物科技有限公司;显微镜(型号 Olympus CK31),购自日本 Olympus 公司;数字扫描仪(型号 Panoramic SCAN),购自匈牙利 3DHISTECH 公司;PCR 仪(型号 Veriti 96),购自美国 ABI 公司。

2 方法

2.1 兖州卷柏水提物制备 根据课题组前期研究方法^[7],兖州卷柏全草粉碎后加 10 倍量双蒸水浸泡 24 h,过滤取滤液,蒸发浓缩,再冷冻干燥,得到兖州卷柏水提物,提取率约为 1.83%。测定兖州卷柏水提物总黄酮含量、重金属和微生物指标,委托福建省福食安检测技术有限公司检测,结果见表 1。

表 1 兖州卷柏水提物检测结果

检测项目	检测结果	检测方法
总黄酮含量	21.24%	紫外分光光度法
水分	4.64%	GB 5009.3-2014
灰分	2.13%	GB 5009.4-2014
重金属	5.13 ppm	JP 重金属检测方法
菌落总数	256 cfu/g	GB 4789.2-2016
酵母、霉菌	24 cfu/g	GB 4789.15-2016
大肠杆菌	未检出	GB 4789.3-2016
沙门氏菌	未检出	GB 4789.4-2016
金黄色葡萄球菌	未检出	GB 4789.10-2016

2.2 动物分组及给药 参考预实验及文献[2]报道方法,小鼠随机分成 6 组,每组 10 只。正常组和模型组每天灌胃生理盐水,阳性组每天灌胃 100 mg/kg 葵花护肝片,兖州卷柏低、中、高剂量组每天分别灌胃 100、150、200 mg/kg 兖州卷柏水提物,连续 15 d。末次给药 3 h 后,模型组、阳性组和兖州卷柏各剂量组小鼠灌胃 10 mL/kg 无水乙醇,正常组小鼠灌胃等体积生理盐水。24 h 后,先收集小鼠粪便;再眼球取血,按试剂盒说明书检测血清 GOT、GPT 和 ALP 活性;脱臼处死小鼠,取小鼠肝脏,其中肝脏

右叶同一部位经 10% 甲醛固定。

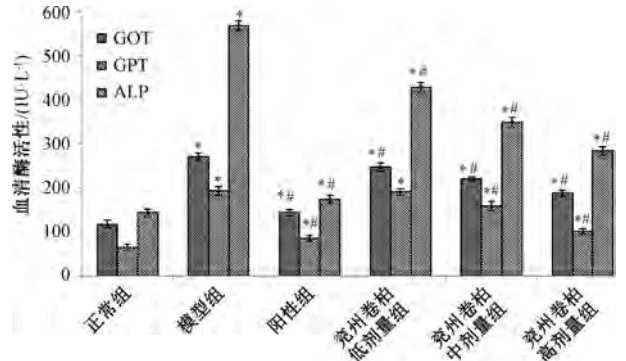
2.3 肝组织 HE 与免疫组化染色 参考文献[8-9]报道方法,肝组织经脱水、包埋、切片、脱蜡后,进行 HE 染色,观察肝组织病理学变化。根据试剂盒说明书进行免疫组化 TNF- α 和 NF- κ B 染色,一抗为兔抗小鼠 TNF- α 、NF- κ B 多克隆抗体,二抗为兔抗小鼠 IgG 多克隆抗体,以缓冲液代替一抗设立阴性对照。在 200 倍镜下用 Panoramic SCAN 数字扫描仪进行分析。

2.4 肠道菌分析 每组随机选择 4 个粪便样品,根据试剂盒说明书提取 DNA,以提取的 DNA 为模板,根据文献引物和条件扩增 16S rDNA 的 V3-V4 区^[10],委托杭州联川生物技术股份有限公司测序。首先对原始数据进行质控、过滤等处理以获得高质量有效数据。再使用 ASVs (amplicon sequence variants) 的概念构建类 OUTs (operational taxonomic units)。基于 OUTs 结果使用 SILVA (Release 132, <https://www.arb-silva.de/documentation/release-132/>) 以及 NT-16S 数据库进行物种分类及后续分析。

2.5 统计学分析 通过 SPSS 软件进行处理,实验结果以 ($\bar{x}\pm s$) 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 兖州卷柏对小鼠血清 GOT、GPT 和 ALP 活性的影响 图1 显示,与正常组比较,模型组小鼠血清 GOT、GPT 和 ALP 活性均升高 ($P<0.05$),表明酒精对小鼠肝功能造成损伤;与模型组比较,兖州卷柏各剂量组小鼠血清 GOT、GPT 和 ALP 活性降低 ($P<0.05$),表明兖州卷柏能有效减缓因酒精导致的 GOT、GPT 和 ALP 活性异常升高,达到保肝护肝的效用。



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

图 1 兖州卷柏对小鼠血清 GOT、GPT 和 ALP 活性的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

3.2 兖州卷柏对小鼠肝组织病理学的影响 图 2 显示,正常组小鼠肝组织细胞形态正常,肝细胞于中央静脉为中心呈单行有规律的排列;模型组小鼠肝组织损伤病变严重,大量的肝细胞疏松水肿,部分肝细胞嗜酸性病变,核固缩,颜色深染;阳性组和兖州卷柏各剂量组小鼠肝组织局部病变,肝细胞损伤、坏死等病理改变均较模型组有不同程度的改善。

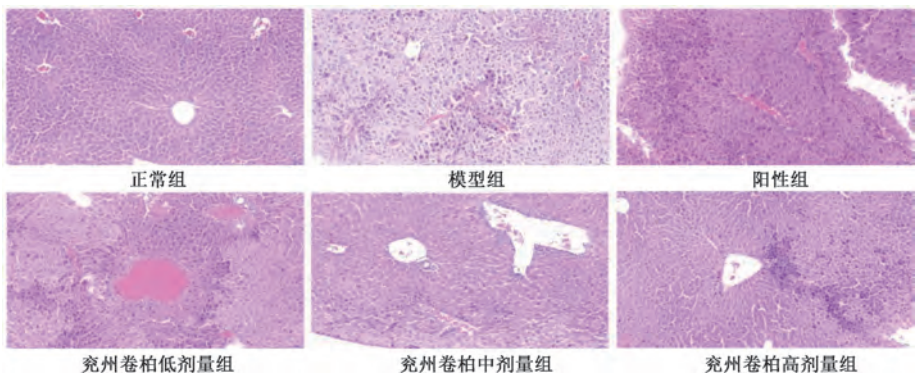
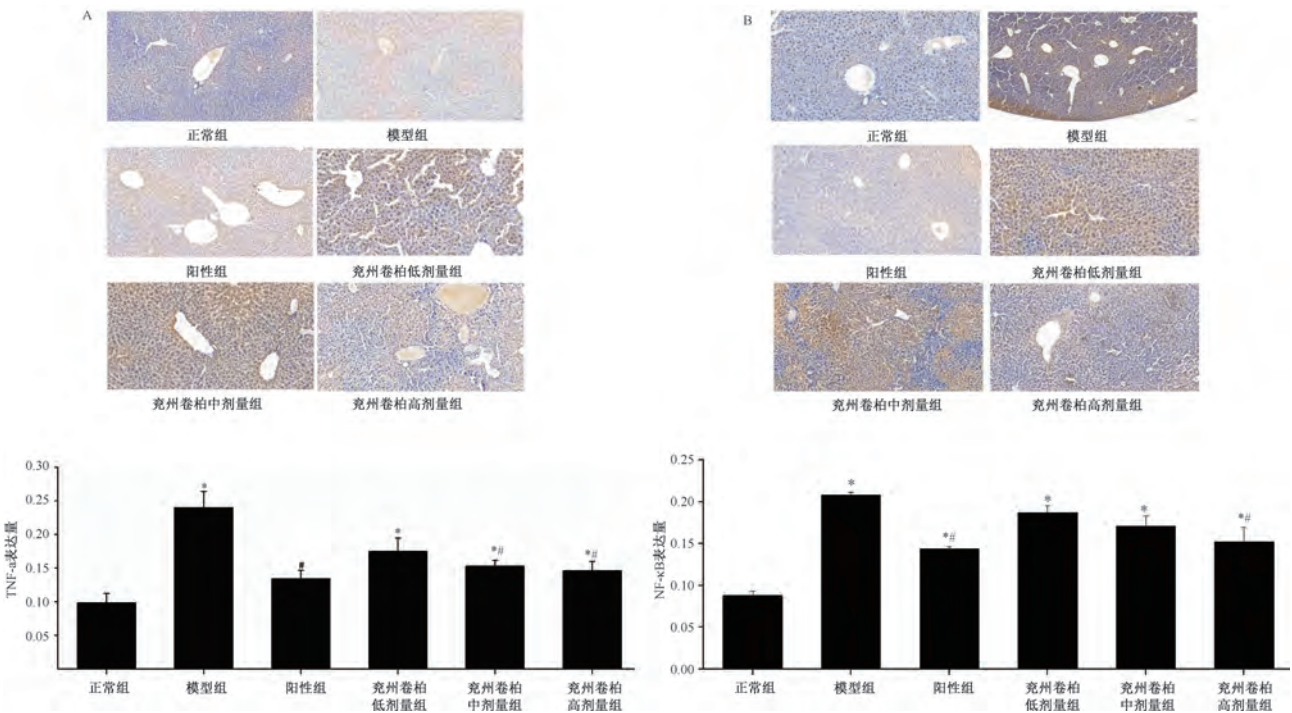


图 2 兗州卷柏对肝组织病理学的影响 (HE, ×200)

3.3 兗州卷柏对小鼠肝组织 TNF-α、NF-κB 表达的影响

图 3 显示, 与正常组比较, 模型组小鼠肝组织 TNF-α、NF-κB 表达均升高 ($P<0.05$); 与模型组比较, 兗州卷柏高剂量组小鼠 TNF-α、NF-κB 表达降低 ($P<0.05$)。



注: A 为小鼠肝组织 TNF-α 免疫组化染色结果, B 为小鼠肝脏 NF-κB 免疫组化染色结果。与正常组比较, * $P<0.05$; 与模型组比较, # $P<0.05$ 。

图 3 兗州卷柏对小鼠肝组织 TNF-α、NF-κB 表达的影响 (免疫组化, ×200, $\bar{x}\pm s$, $n=10$)

3.4 兗州卷柏对小鼠肠道细菌的影响

3.4.1 兗州卷柏对小鼠肠道细菌多样性的影响 稀释曲线可反映样本的测序数据量是否足以反映环境中的物种多样性, 当稀释曲线趋向平坦时, 显示增加测序数据量对获得新的 OTU 帮助不大。图 4A 显示, 随着测序数量增加, 所有样品稀释曲线均趋于平坦, 表明测序量已达到饱和。Shannon 指数和 Simpson 指数等 alpha 多样性指数是反映一个特定区域或生态系统内物种丰富度和均匀度的重要指标。图 4B~4C 显示, 模型组小鼠 Shannon 指数和 Simpson 指数均小于对照组; 兗州卷柏各剂量组小鼠 Shannon 指数和 Simpson 指数均高于模型组, 表明兗州卷柏能提高酒精性肝损伤小鼠肠道细菌的 alpha 多样性。Beta 多样性反映不同生

态系统之间微生物群落差异。主成分分析 (PCA) 结果见图 4D, 两个样本之间距离越接近表示物种组成越相似, 由此可知, 与正常组比较, 模型组肠道细菌群落差异显著 ($P=0.031$), 表明酒精能影响小鼠肠道细菌群落; 与模型组比较, 兗州卷柏低、中、高剂量组细菌群落差异显著 ($P=0.037$ 、 0.024 、 0.034), 表明兗州卷柏能影响酒精性肝损伤小鼠肠道细菌群落结构。

3.4.2 兗州卷柏对小鼠肠道细菌组成的影响 图 5A 显示, 在门水平上, 厚壁菌门、拟杆菌门和变形菌门是小鼠肠道细菌优势菌群, 约占物种总丰度的 80%。模型组小鼠肠道细菌厚壁菌门相对丰度较正常组减少 19.2%, 而变形菌门、拟杆菌门和疣微菌门分别增加 4.66%、17.49% 和 28.26%。

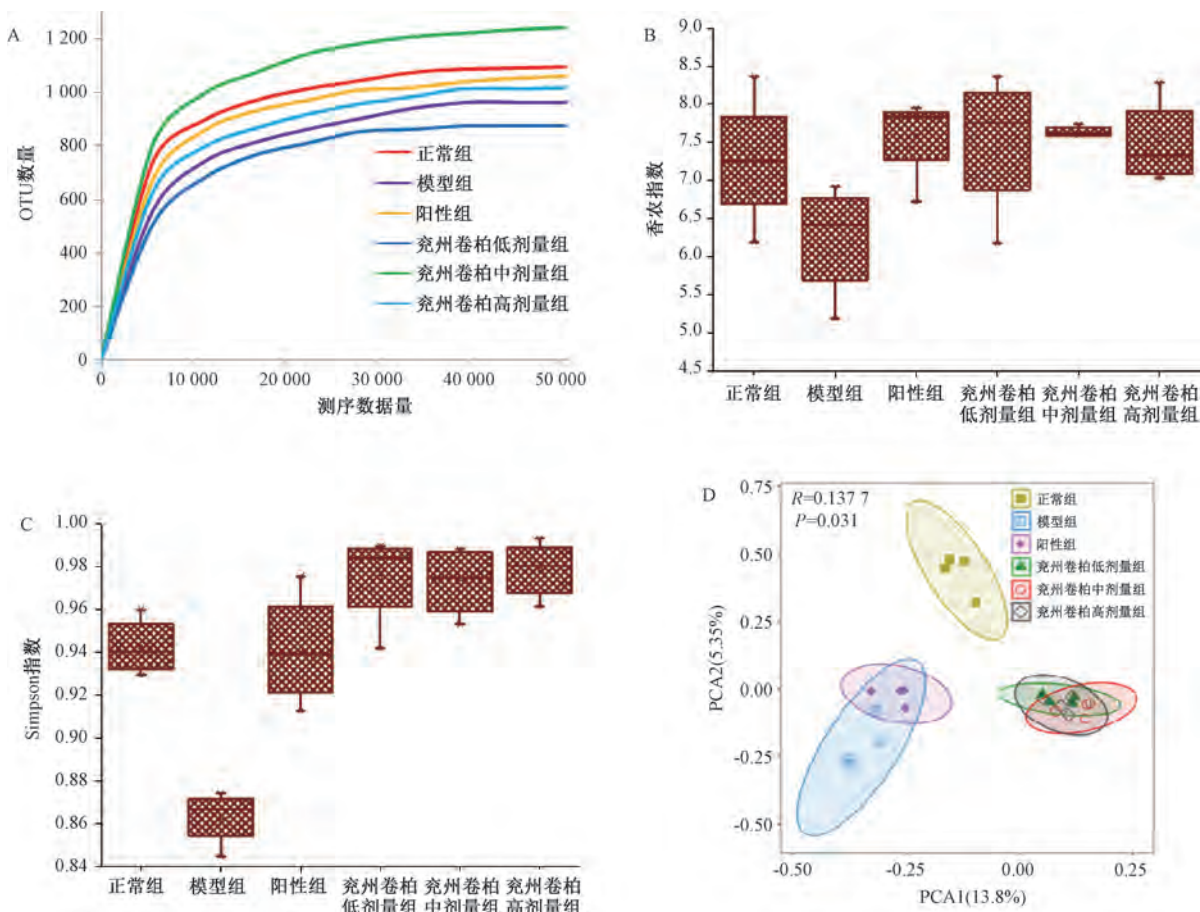


图 4 兖州卷柏对小鼠肠道细菌多样性的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=4$)

阳性组和兖州卷柏水提物低、中、高剂量组厚壁菌门相对丰度较模型组分别增加 14.87%、3.65%、14.95% 和 13.80%，而疣微菌门相对丰度分别减少 96.28%、21.89%、21.58 和 20.68%。

图 5B 显示，在科水平上，小鼠肠道细菌优势菌群是 Muribaculaceae、丹毒丝菌科、毛螺菌科、乳酸菌科和瘤胃菌科。与正常组比较，模型组小鼠肠道菌 Muribaculaceae、瘤胃菌科和乳酸菌科相对丰度减少，而丹毒丝菌科相对丰度增加；与模型组比较，兖州卷柏各剂量组小鼠 Muribaculaceae、乳酸菌科和瘤胃菌科相对丰度增加，毛螺菌科相对丰度减少。

以上结果显示，兖州卷柏各剂量组小鼠肠道菌群在门水平和科水平分布均趋于正常，表明兖州卷柏对酒精性肝损伤小鼠肠道细菌菌群紊乱具有一定恢复作用。

3.4.3 差异菌分析 图 6 显示，与正常组比较，模型组小鼠肠道乳酸菌属、另枝菌属和艾克曼菌属 (*Akkermansia*) 相对丰度减少，而螺杆菌属、*Erysipelatoclostridium* 菌属相对丰度增加；与模型组比较，兖州卷柏各剂量组小鼠乳酸菌属、另枝菌属和艾克曼菌属等相对丰度增加，而螺杆菌属和 *Erysipelatoclostridium* 相对丰度减少，表明兖州卷柏能增加酒精性肝损伤小鼠肠道有益菌丰度，而减少有害菌丰度。

4 讨论

肝脏是酒精代谢的主要器官，长期大量摄入酒精可直接或间接损伤肝脏的结构和功能。GOT、GPT 和 ALP 是反应肝功能的主要生化指标，而病理学观察是判断药物是否具有保肝功能的最直接指标^[2]。本实验结果显示，与对照组比较，模型组小鼠血清 GOT、GPT 和 ALP 活性增加，且肝组织病变严重。兖州卷柏水提物能降低 GOT、GPT 和 ALP 活性，改善酒精引起肝组织病理学改变，表明其对酒精引起的肝损伤具有一定保护作用。

酒精及其代谢产物除对肝脏直接造成毒性外，还能通过抑制肝脏库普弗巨噬细胞吞噬功能而使内毒素含量增加，调节 NF- κ B 炎症信号通路，导致肝脏炎症和肝细胞损伤^[11]。TNF- α 是最关键的促炎介质，是反映肝细胞损伤程度及炎症反应程度的重要指标^[12]。NF- κ B 是应激与炎症反应的中枢调节物，在酒精性肝病的细胞凋亡调控中起到了重要作用。研究证实，可通过阻断 NF- κ B 通路活化，从而减少乙醇对肝细胞的毒性^[13]。本实验结果显示，兖州卷柏组小鼠肝组织 TNF- α 和 NF- κ B 表达均较模型组减少，表明兖州卷柏能抑制 NF- κ B 通路的活化进而抑制炎症反应，从而对酒精引起小鼠肝损伤起到保护作用。

近年来，酒精通过肠道菌群间接损伤肝脏的机制越来越受关注，以肠道菌群为靶点是未来治疗酒精性肝病的一

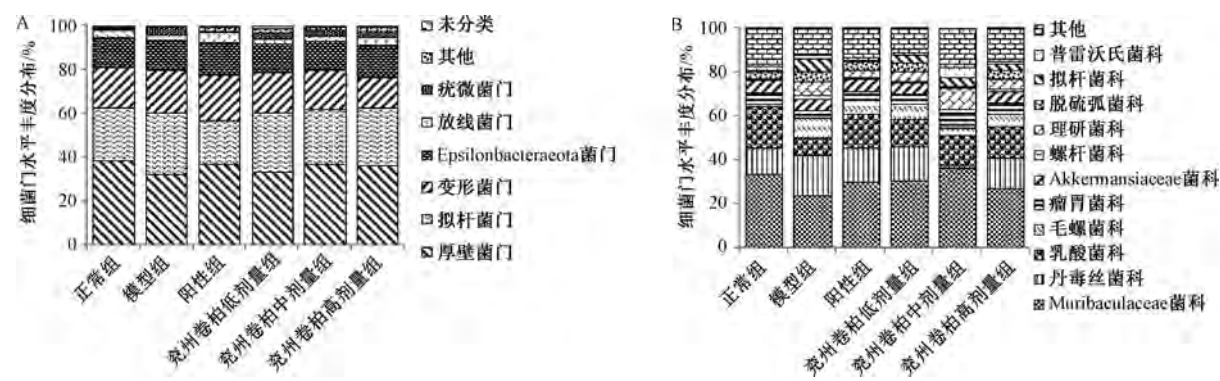


图 5 门水平 (A) 和科水平 (B) 微生物种类分布

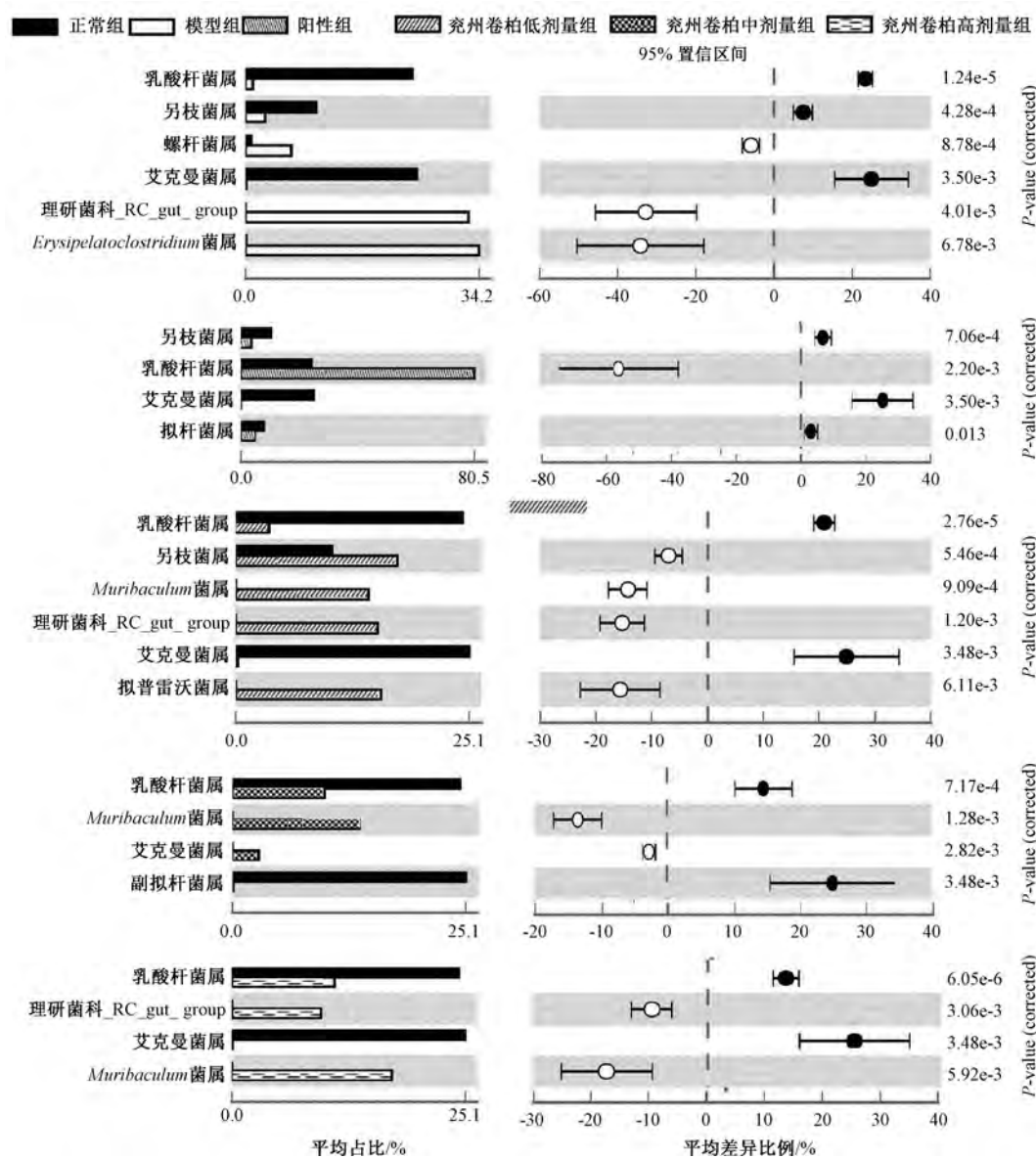


图 6 属水平菌群差异分析

个重要手段^[14]。酒精破坏胃肠道黏膜的完整性和引起肠道菌群失调是促进酒精性肝病发生发展的重要机制^[15]。可通过调节饮食、使用抗生素和微生态制剂等非靶向改变肠道微生物，以及补充特定生物工程菌或微生物代谢物等靶向调节肠道微生物，实现治疗酒精性肝病的目标^[16]。

本研究显示，厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门

(Bacteroidetes) 和变形菌门 (Proteobacteria) 是小鼠肠道细菌优势菌群, 约占物种总丰度的 80%, 其与 Fan 等^[17] 研究结果相似。Yi 等^[2] 研究表明, 酒精性肝损伤小鼠厚壁菌门相对丰度下降, 而变形菌门相对丰度增加。Yan 等^[18] 研究表明, 酒精能诱导小鼠肠道拟杆菌门和疣微菌门 (Verrucomicrobia) 数量显著增加。与以上结果相似, 本研究结果显示, 模型组小鼠肠道菌厚壁菌门相对丰度较正常组减少, 而变形菌门、拟杆菌门和疣微菌门增加; 阳性组和兖州卷柏水提物各剂量组厚壁菌门相对丰度较模型组增加, 而疣微菌门减少。

乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*) 能通过抑制肠道内有害菌群生长、阻止致病菌的定植和入侵、产生特殊酶系减少毒素与肠黏膜受体的结合等途径维持肠道微生态平衡, 是最重要的益生菌之一, 对机体健康发挥重要作用^[19]。范颖等^[20] 研究表明, 酒精性肝损伤小鼠乳酸杆菌丰度减少, 大蒜多糖能使小鼠肠道乳酸杆菌相对丰度增加, 减缓酒精性肝损伤。另枝菌属 (*Alistipes*) 等菌群能产生对机体有益的短链脂肪酸。Panahi 等^[21] 研究表明, 酒精性肝损伤患者另枝菌属、罗氏菌属 (*Roseburia*) 等产生短链脂肪酸菌群丰度减少, 而采用粪便菌群灌肠移植后产生短链脂肪酸菌群丰度增加, 患者病情显著改善。螺杆菌属 (*Helicobacter*) 和 *Erysipelatoclostridium* 与多种疾病发生相关。肝炎、肿瘤、肥胖和帕金森病等患者螺杆菌属相对丰度显著提高, 糖尿病、抑郁症、类风湿性关节炎等患者 *Erysipelatoclostridium* 相对丰度显著增加^[22-24]。本研究结果显示, 与正常组比较, 模型组小鼠肠道乳酸菌属、另枝菌属和阿克曼菌属 (*Akkermansia*) 相对丰度减少, 而螺杆菌属、*Erysipelatoclostridium* 菌属相对丰度增加; 与模型组比较, 兖州卷柏各剂量组小鼠乳酸菌属、另枝菌属和阿克曼菌属等相对丰度增加, 而螺杆菌属和 *Erysipelatoclostridium* 相对丰度减少。以上结果显示, 兖州卷柏能调节小鼠肠道细菌菌群组成, 增加乳酸菌属等有益菌丰度, 而减少螺杆菌属等有害菌丰度。表明兖州卷柏对酒精引起小鼠肠道菌群紊乱具有一定恢复作用, 其保肝作用可能与改善肠道菌群有关, 相关机制有待进一步研究。

综上所述, 兖州卷柏对酒精引起的小鼠肝损伤具有保护作用, 能通过抑制肝损伤小鼠肝组织 NF- κ B 激活, 减少 TNF- α 等炎症因子释放, 发挥抗炎作用。此外, 兖州卷柏还可能通过改善酒精引起小鼠肠道菌群紊乱而达到对肝损伤的保护作用。

参考文献:

[1] 吕 卉, 盛吉芳. 酒精性肝病与肠道菌群失调研究进展[J]. 现代医药卫生, 2019, 35(2): 166-169.

[2] Yi Z W, Xia Y J, Liu X F, *et al.* Antrodin A from mycelium of *Antrodia camphorata* alleviates acute alcoholic liver injury and modulates intestinal flora dysbiosis in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 254: 112681.

[3] Szabo G, Bala S. Alcoholic liver disease and the gut-liver axis [J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(11): 1321-1329.

[4] 林美珍, 许振强. 兖州卷柏识别及对肝炎的治疗作用[J]. 海峡药学, 2004, 16(5): 94-95.

[5] 邱丹纓, 温扬敏, 谢永华, 等. 兖州卷柏提取物对 CCl₄ 致小鼠肝损伤的保护作用[J]. 福建医科大学学报, 2016, 50(5): 285-289.

[6] 李寒冰, 吴宿慧, 张颜语, 等. 中药与肠道菌相互作用研究进展[J]. 中成药, 2016, 38(1): 147-151.

[7] 谢永华, 温扬敏, 韩萍萍, 等. 兖州卷柏水提物对四氯化碳致小鼠肝损伤的保护作用和抗氧化活性[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(2): 195-201; 227.

[8] Khan H A, Ibrahim K E, Alrashood S T, *et al.* Immunohistochemistry of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in spleens of mice treated with gold nanoparticles [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2020, 27(4): 1163-1168.

[9] 倪灿荣, 马大烈, 戴益民. 免疫组织化学实验技术及应用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 213-235.

[10] Walters W, Hyde E, Berglyons D, *et al.* Improved bacterial 16s Rrna gene (v4 and V4-5) and fungal internal transcribed spacer marker gene primers for microbial community surveys [J]. *Msystems*, 2017, 1(1): 9-15.

[11] Leclercq S, De Saeger C, Delzenne N, *et al.* Role of inflammatory pathways, blood mononuclear cells, and gut-derived bacterial products in alcohol dependence [J]. *Biol Psychiatry*, 2014, 76(9): 725-733.

[12] Zhou Z X, Wang L P, Song Z Y, *et al.* Zinc supplementation prevents alcoholic liver injury in mice through attenuation of oxidative stress[J]. *Am J Pathol*, 166(6): 1681-1690.

[13] Soliman M M, Aldhahrani A, Metwally M M M. Hepatoprotective effect of *Thymus vulgaris* extract on sodium nitrite-induced changes in oxidative stress, antioxidant and inflammatory marker expression [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 5747.

[14] Zhou Z X, Zhong W. Targeting the gut barrier for the treatment of alcoholic liver disease[J]. *Liver Res*, 2017, 1(4): 197-207.

[15] Qinna N A, Ismail O A, Alhussainy T M, *et al.* Evidence of reduced oral bioavailability of paracetamol in rats following multiple ingestion of grapefruit juice[J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2016, 41(2): 187-195.

[16] Llorente C, Jepsen P, Inamine T, *et al.* Gastric acid suppression promotes alcoholic liver disease by inducing overgrowth of intestinal *Enterococcus*[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 837.

[17] Fan J J, Wang Y S, You Y, *et al.* Fermented ginseng improved alcohol liver injury in association with changes in the gut microbiota of mice [J]. *Food Funct*, 2019, 10(9): 5566-5573.

[18] Yan A W, Fouts D E, Brandl J, *et al.* Enteric dysbiosis associated with a mouse model of alcoholic liver disease[J]. *Hepatology*, 2011, 53(1): 96-105.

[19] 张秀凤, 王 军, 李云芳. 乳酸菌维持人体肠道微生态平

衡的作用及其机理[J]. 中国食物与营养, 2007(6): 59-61.

[20] 范 颖, 赵 鑫, 李 娜, 等. 大蒜多糖对急性酒精性肝损伤小鼠肠道菌群失调的影响[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(22): 141-146.

[21] Panahi Y, Ghamarchehreh M E, Beiraghdar F, *et al.* Investigation of the effects of *Chlorella vulgaris* supplementation in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized clinical trial [J]. *Hepatogastroenterology*, 2012, 59 (119): 2099-2103.

[22] 张 丹, 周 波, 邓 溢, 等. 非诺贝特对非酒精性脂肪性肝病小鼠模型肠道菌群多样性的影响[J]. 临床肝胆病杂志, 2020, 36(4): 829-834.

[23] 刘靓妍, 崔松彪. 帕金森病与肠道菌群的研究进展[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020, 8(34): 26-27.

[24] 翁幸璧, 糜祖煌. 人体肠道细菌群落与疾病[J]. 中国微生物生态学杂志, 2011, 23(7): 662-666; 669.

妇阴康洗剂的抑菌抗炎活性及对大鼠阴道炎的药效学研究

叶新越¹, 刘仔翔¹, 何枢衡², 邓雪阳³, 马世平³, 周长林^{1*}
(1. 中国药科大学生命科学与技术学院, 江苏 南京 210009; 2. 亿帆医药股份有限公司中药研发中心, 安徽 合肥 231300; 3. 中国药科大学中药学院, 江苏 南京 210009)

摘要: **目的** 探讨中药妇阴康洗剂的体外抑菌抗炎活性, 及体内对大鼠霉菌性/细菌性阴道炎的药效。**方法** 以平板稀释法、ELISA 法评价妇阴康洗剂体外抑菌抗炎活性; 活菌计数和病理切片观察评价妇阴康洗剂对大鼠霉菌性/细菌性阴道炎的药效。**结果** 妇阴康洗剂对细菌、真菌有较好体外抑菌活性, 对部分临床菌株的 MIC 为其 20 倍稀释; 2/5 稀释度时可抑制白色念珠菌和加德纳菌感染的 RAW 264.7 细胞分泌 IL-1 β 、TNF- α 。妇阴康洗剂能使霉菌性/细菌性阴道炎大鼠阴道内白色念珠菌、加德纳菌的载菌量分别降低约 2、0.7 lg (CFU/mL), 并改善病理变化。**结论** 妇阴康洗剂具有较好体外抑菌抗炎活性, 并对白色念珠菌、加德纳菌感染所致大鼠阴道炎有明显药效。

关键词: 妇阴康洗剂; 抑菌; 抗炎; 霉菌性阴道炎; 细菌性阴道炎

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)06-2022-07
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.06.047

阴道炎是一种常见的阴道微生物群紊乱失调症, 霉菌性和细菌性阴道炎是两类常见阴道炎。临床常用治疗阴道炎的广谱抗真菌药如甲硝唑、克林霉素对全身治疗和局部治疗有一定效果, 但也有复发性和耐药性等问题^[1-4]。与传统抗真菌药物相比, 中药具有多靶点、整体调节的作用。近年来, 研究人员发现多种有抑菌活性的中药单体(如黄芩苷、小檗碱、苦参碱、蛇床子素等^[5-6])和中药外用制剂(如妇阴康洗剂、红核妇洁洗液^[7]、洁尔阴洗液^[8]等)。妇阴康洗剂主要成分为秦皮、鱼腥草、苦参、仙鹤草、大青叶和紫花地丁, 其主要功能为清热燥湿、除痒止带。本研究通过测定妇阴康洗剂体外抑菌抗炎活性, 及其对霉菌性阴道炎和细菌性阴道炎的治疗作用, 为临床妇阴康洗剂的指导用药提供依据。

1 材料

1.1 药物 妇阴康洗剂浓缩液(批号 200304, 宿州亿帆药业有限公司), 无菌纯水或适宜的培养基按 1:4 稀释, 即得, 为临床使用浓度。

阳性对照药物: 醋酸氯己定(批号 D1201A, 大连美仑

生物技术有限公司); 硝酸咪康唑、甲硝唑[批号 B603BA0014、E515BA0003, 生工生物工程(上海)股份有限公司]。

1.2 菌株 临床株: 需氧菌金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、表皮葡萄球菌各 5 株, 由东南大学附属医院检验科分离鉴定提供; 厌氧菌加德纳菌 5 株、克氏动弯杆菌 1 株、二路普雷沃菌 1 株、卷曲乳杆菌 3 株由南京军区总医院检验科分离鉴定提供。

标准株: 金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)、大肠埃希菌(ATCC 25922)、铜绿假单胞菌(ATCC 27853)、白色念珠菌(ATCC 10231)、二路普雷沃菌(ATCC 29303)、克氏动弯杆菌(ATCC 35241)、卷曲乳杆菌(ATCC 33197)、詹氏乳杆菌(ATCC 25258)、嗜性乳杆菌(ATCC 55195)、加德纳菌(ATCC 14018), 为中国药科大学微生物教研室保存。

1.3 细胞 小鼠单核巨噬细胞 RAW 264.7 细胞株, 为中国药科大学微生物教研室保存。

1.4 培养基 细菌培养基: MRS 培养基(批号 20190730)

收稿日期: 2022-03-20

作者简介: 叶新越(1998—), 女, 硕士生, 从事抗感染药物药效学和机理研究。Tel: 19850852810, E-mail: yexinyue1998@163.com
* **通信作者:** 周长林(1964—), 男, 教授, 博士, 从事抗感染药物药效学和机理研究。Tel: (025) 83271323, E-mail: cl_zhou@cpu.edu.cn