

三物黄芩汤对炎症性肠病大鼠肠道菌群多样性影响初探

姜靖雯¹ 黄闻柏² 陈海滔³ 王星⁴ 陈兰玉⁴ 郑智^{4*}

1. 广东省中医院海南医院肿瘤科 海南海口 570100

2. 广州中医药大学 广东广州 510006

3. 浙江中医药大学第二附属医院肿瘤内科 浙江杭州 310005

4. 江西省人民医院（中南大学湘雅医院江西医院，国家神经疾病区域医疗中心） 江西南昌 330000

摘要：目的 构建DSS水溶液诱导炎症性肠病（IBD）大鼠模型，采用16S rDNA测序方法，探讨三物黄芩汤对IBD模型大鼠肠道菌群结构的影响。方法 将20只SD大鼠随机分为4组，分别为空白对照组、IBD模型组、三物黄芩汤低倍组、三物黄芩汤高倍组。每组5只，适应性喂养7天之后空白对照组继续饮用纯净水，其余3组连续7天自由饮用3% DSS水溶液诱导IBD模型。之后三物黄芩汤低倍、高倍组停止饮用3% DSS水溶液，改为饮用纯净水，并以灌胃的方式分别连续给0.5倍浓度和2倍浓度中药汤剂7天，而IBD模型组仅改为饮用纯净水，不做其余处理。期间定时称量大鼠的体重，监测并记录大鼠的精神状态、进食情况、饮水量和粪便情况等DAI评分。实验第21天时收集各组大鼠新鲜粪便，按步骤进行16S rDNA测序分析。结果 与空白对照组相比，IBD模型大鼠的体重增长速度和DAI指数出现了不同程度的下降，结肠HE病理中大鼠结肠可见炎症细胞浸润、黏膜层破损、杯状细胞数量减少等情况。在使用0.5倍浓度的三物黄芩汤干预后，其在体重和症状上的恢复速度和IBD模型组相近，未见明显差异。然而在2倍浓度的三物黄芩汤干预过后，大鼠体重增长速度和DAI指数出现了一定程度的恢复，结肠HE病理中结肠组织病变也出现了不同程度的减轻。这表明三物黄芩汤对IBD有较好的缓解甚至治疗作用，且呈现一定程度的剂量依赖性。16S rDNA测序分析结果提示，大鼠肠道菌群在经过三物黄芩汤干预后肠道菌群整体丰度未见明显差异，但是肠道菌群物种组成结构具有较大差异。其中Lachnoclostridium属在IBD模型组中丰度明显升高，而布劳特氏菌属在三物黄芩汤治疗组丰度明显升高，该两者是区分组间差异的关键菌属，并很可能是三物黄芩汤发挥治疗IBD作用的核心菌群。结论 三物黄芩汤能够较好地缓解IBD模型大鼠的病情进展，其作用机制可能与其重塑IBD模型大鼠肠道菌群构成，直接或间接缓解肠道炎症相关。

关键词：三物黄芩汤；炎症性肠病；16S rDNA测序；肠道菌群

炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 是一组以慢性肠道炎症为特征的疾病，主要包括溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 和克罗恩病 (Crohn's disease, CD)^[1]。相关流行病学表明，IBD在西方国家的发病率增长已经稳定下来，但是在亚洲地区IBD的发病率正在逐年上升，预计其造成的疾病负担将在不久的将来超过大多数高收入国家^[2-3]。目前对于IBD主要的药物治疗仍以抗炎为主，包括氨基水杨酸类、糖皮质激素类、免疫调节剂类、生物抑制剂类、抗生素类和益生菌6类，若药物治疗效果不佳，还可进行手术切除治疗^[4-6]。然而，目前上述治疗手段的疗效并不理想，尤其对于中重度的IBD患者，目前临床约50%的中度至重度IBD患者不能达到黏膜愈合，同时这些药物高发的不良反应、术后

并发症及术后病情的复发也给对患者的生活质量产生了严重的影响^[7-10]。

已有研究证实，健康人群和IBD患者肠道中微生物群落的构成具有明显不同，如拟杆菌门、乳酸杆菌等有益菌的丰度降低，大肠杆菌、梭杆菌等致病菌的丰度升高^[11]。IBD患者肠道菌群的失调可以通过多个途径导致肠黏膜持续炎症，促进了IBD的发生，同时炎症反应的副产物又能进一步破坏肠道黏膜屏障，导致肠黏膜通透性增加，从而促进致病菌的进一步繁殖，加重肠道的炎症，甚至导致肠黏膜的异常增生、渗出等，从而诱发结直肠癌^[12-14]。

中医虽对IBD无确切对应的病名，但根据其发病因素及症状，中医文献中有大量本病类似的记载，如“痢疾”、

“肠滞”、“肠风”、“脏毒”等^[15]。传统中医学认为, 湿热既是IBD的致病因素, 也是其病理表现之一。在IBD活动期, 湿热会导致瘀血和毒素积聚, 进而加重IBD的症状, 因此中医治疗多以运化湿浊、清热利湿为主^[16]。三物黄芩汤首见于《金匱要略·妇人产后病脉证治》附方, 原方以黄芩一两, 苦参二两, 干地黄四两组成, 可清湿热、除血热, 方中三药在既往的药理学研究中均有调节免疫功能、抗炎甚至抗肿瘤的作用, 能改善诸多IBD患者的临床证候^[17]。有研究发现, 作为三物黄芩汤中主要成分的黄芩苷不仅可以调节Th17/Treg平衡、调节肠道菌群来保护大鼠免受UC的侵袭, 还可作为一种益生元药物用于治疗UC相关炎症和肠道菌群失调^[18]。因此, 本实验采用DSS诱导大鼠结肠损伤, 建立大鼠IBD模型, 监测大鼠IBD发生发展过程中菌群结构的变化, 分析菌群在IBD发生发展过程中可能的作用, 并初步探索三物黄芩汤是否通过调节肠道菌群达到治疗IBD的目的。

1. 材料与方法

1.1 试剂和化学品

三物黄芩汤的制备: 三物黄芩汤中所有中药饮片由海南省中医院药剂科提供, 称取黄连10g, 苦参10g, 生地黄10g, 上述药材用500ml水浸泡30min, 小火煎煮1h后, 趁热过滤药液; 残渣加500ml的水继续煎煮1h, 过滤, 合并2次水煎液, 小火浓缩至含生药质量浓度为0.5g/ml, 取出部分药液置于4℃保存, 剩余药液继续小火浓缩至含生药质量浓度为2g/ml, 置于4℃保存; 偶氮甲烷(AOM, 货号: 329770827) 购于美国Sigma-Aldrich公司。

1.2 研究方法

1.2.1 动物模型建立与分组

SPF级雄性SD大鼠20只, 6周龄, 体重为210~220g, 购自广东省医学实验动物中心, 生产许可证号为SCXK(粤)2022-0002, 饲养于海南省中医院实验动物中心(实验动物使用许可证号: IACUC-HPHCM-2307001)。SD大鼠随机分成空白对照组(C组)、IBD模型组(M组)、三物黄芩汤低倍组(D1组)、三物黄芩汤高倍组(D2组), 共4组, 每组5只, 适应性喂养7天。之后空白对照组继续饮用纯净水, 其余3组连续7天自由饮用3% DSS水溶液诱导IBD模型。之后三物黄芩汤低倍、高倍组停止饮用3% DSS水溶液, 改为饮用纯净水, 并以灌胃的方式分别连续给

0.5倍浓度和2倍浓度中药汤剂7天, 而IBD模型组仅改为饮用纯净水, 不做其余治疗处理。实验过程中根据实际消耗量每天新鲜配制3% DSS水溶液。实验第21天时收集各组大鼠新鲜粪便, 并保存于-80℃冰箱中。

1.2.2 大鼠病活动指数评分(Disease activity index, DAI)

从实验第7天造模开始, 每天定时称量大鼠的体重, 监测并记录大鼠的精神状态、进食情况、饮水量和粪便情况等。疾病活动评分根据文献^[19]中的标准进行。评分依据为: 体重减少<1%: 评分为0; 体重减少1-5%: 评分为1; 体重减少5-10%: 评分为2; 体重减少10-15%: 评分为3; 体重减少>15%: 评分为4。正常成形粪便评分为0; 轻微松散粪便: 评分为1; 松散粪便(糊状): 评分为2; 腹泻(液体粪便): 评分为3; 严重腹泻(完全液体粪便): 评分为4。无便血: 评分为0; 微量便血(隐血试验阳性): 评分为1; 中等量便血(隐血试验强阳性): 评分为2; 明显便血(肉眼可见血液): 评分为3; 重度便血(大量肉眼可见血液): 评分为4。计算方法为 $DAI = (\text{体重分数} + \text{粪便性状分数} + \text{隐血分数}) / 3$ 。

1.2.3 结肠组织HE染色

将结肠组织迅速放入预冷的OCT包埋剂中, 然后将其置于液氮或干冰中快速冷冻。使用冰冻切片机将冻好的组织切成4至6μm厚的切片, 并将切片小心地平铺在载玻片上。将载玻片放入室温的乙醇中固定, 然后用蒸馏水清洗。将切片浸入苏木精染色液中染色5至10分钟, 并用水冲洗数分钟, 随后在1%盐酸乙醇中分化数秒钟, 用水冲洗后在碱性水中蓝化, 再次用水冲洗。将处理好的切片浸入伊红染色液中1至3分钟后冲洗数秒钟。染色完成后, 切片依次经过70%、80%、95%和100%的乙醇脱水, 每步2至5分钟, 最后在100%乙醇中处理两次。将染色后的切片依次放入二甲苯中两次进行透明。最后, 在切片上滴一滴中性树胶封固剂并盖上盖玻片, 待封固剂干燥后即可进行显微镜观察。

1.2.4 DNA抽提和PCR扩增

大鼠粪便16S rDNA测序由上海欧易生物医学科技有限公司完成。采用MagPure Soil DNA LQ Kit (Magan)试剂盒依照说明书对样本的基因组DNA进行提取。利用NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, USA)和琼脂糖凝胶电泳检测DNA的浓度和纯度, 将提取的DNA于-20℃保存。以提取的基因组DNA为模板, 使用带Barcode的特异引物和

Takara Ex Taq 高保真酶进行真菌 ITS 基因的 PCR 扩增。采用通用引物 ITS1F (5' -CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS2 (5' -GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3') 扩增 ITS 基因 ITS1 可变区, 用于菌群多样性分析^[20]。

1.2.5 文库构建和测序

使用电泳检测 PCR 扩增产物。然后使用 AMPure XP beads 磁珠纯化, 纯化后作为二轮 PCR 模板, 并进行二轮 PCR 扩增。并再次使用磁珠纯化, 取纯化过的二轮产物进行 Qubit 定量。然后调整浓度进行测序。使用 Illumina NovaSeq 6000 测序平台进行测序, 并生成 250 bp 双端 reads。

1.2.6 生物信息学分析

数据下机后, 首先使用 Cutadapt 软件, 将 raw data 序列剪切掉引物序列。然后使用 DADA2^[21], 将上一步合格的双端 raw data 按照 QIIME 2 (2020.11) 默认参数^[22] 进行质量过滤、降噪、拼接及去嵌合体等质控分析, 得到代表序列及 ASV 丰度表格。使用 QIIME 2 软件包挑选出各个 ASV 的代表序列后, 并将所有代表序列与 Unite 数据库进行比对注释。物种比对注释使用 q2-feature-classifier 软件默认参数进行分析。采用 QIIME 2 软件进行 α 和 β 多样性分析。使用包括 Chao1 指数^[23] 和 Shannon 指数^[24] 的 α 多样性评估样品的 α 多样性。利用偏最小二乘法判别分析 (Partial Least Squares Discriminant Analysis, PLS-DA) 来评估样本的 β 多样性。基于 R 包, 采用 ANOVA/Kruskal Wallis 统计算法, 进行差异分析。使用 LEfSe 对物种丰度谱进行差异分析。

2. 结果

2.1 各组大鼠一般情况及 DAI 评分变化

实验期间, 空白对照组大鼠体重逐渐增加, 精神状态和生理表现均正常。IBD 模型组及三物黄芩汤低倍、高倍组大鼠在第 7 天开始 DSS 干预后, 体重增长放缓, 出现精神不振、食欲减少、便溏腹泻等症状, DAI 评分升高。在第 14 天治疗开始后, 三物黄芩汤高倍组大鼠体重增长逐渐恢复, 上述症状改善, DAI 评分在第二天开始下降。相比之下, IBD 模型组和三物黄芩汤低倍组在体重和症状上的恢复速度相近, 未见明显差异, 且两组均慢于三物黄芩汤高倍组, 甚至部分大鼠出现了不同程度的体重下滑。各组大鼠体重及 DAI 评分变化见图 1A-B。结果提示 2 倍浓度的三物黄芩汤对 IBD 有较好的缓解甚至治疗作用, 后续将以该浓度组为主要研究对象。

2.2 结肠组织病理学变化

空白对照组大鼠肠组织表面平坦, 黏膜上皮形态结构正常, 固有层肠腺数量丰富, 上皮细胞之间有杯状细胞分布, 黏膜肌层、肠隐窝和黏膜下层分隔明显, 结构完整, 见图 1C。IBD 模型组肠组织表面不平坦, 隐窝较深, 黏膜上皮形态结构被破坏, 杯状细胞数量减少; 肠腺间隔增大, 并可见炎性细胞浸润, 见图 1D。三物黄芩汤高倍组肠组织黏膜层较薄, 黏膜上皮破坏减轻, 固有层可见少量肠腺上皮细胞变性, 细胞破裂减少, 炎性细胞浸润减少, 见图 1E。

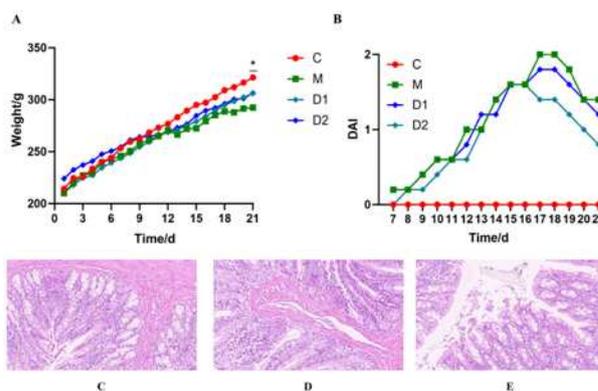


图 1 (A) 各组大鼠体重变化情况; (B) 各组大鼠 DAI 评分变化情况; (C) 空白对照组大鼠结肠组织 HE 染色情况; (D) IBD 模型组大鼠结肠组织 HE 染色情况; (E) 三物黄芩汤高倍组大鼠结肠组织 HE 染色情况。注: C 代表空白对照组; M 代表 IBD 模型组; D 代表三物黄芩汤高倍组。

2.3 ASV 的聚类分析及菌群群落结构分布

收集空白对照组、IBD 模型组和三物黄芩汤高倍组的粪便样本进行分析, 结果显示, 在三组所有的样品中一共检测出 1954 种 ASV, 位于中心的为三组共有的 ASV, 一共有 29 种, 包括 Muribaculaceae 属、Rikenellaceae 属、拟杆菌属 (Bacteroides)、Intestinimonas 属、普雷沃氏菌属 (Prevotella)、乳杆菌属 (Lactobacillus)、密螺旋体属 (Treponema)、厌氧弧菌属 (Anaerovibrio) 等, 见图 2A。对样本在门、纲、目、科、属、种等各个不同的分类层级进行 ASV 注释以及汇总, 并进行微生物群落分布统计, 结果见图 2B。

在门水平上, 组成占比及相对丰度排名最高的三种菌门分别是拟杆菌门 (Bacteroidota)、厚壁菌门 (Firmicutes)、螺旋体门 (Spirochaetota), 见图 2C。进一步通过三元相图分析, 拟杆菌门在空白对照组中相对丰度较高; 疣微菌门 (Verrucomicrobiota) 和梭杆菌门 (Fusobacteriota) 在 IBD 模型组

中的相对丰度较高；而蓝菌门(Cyanobacteria)在三物黄芩汤高倍组中相对丰度较高，见图 2D。

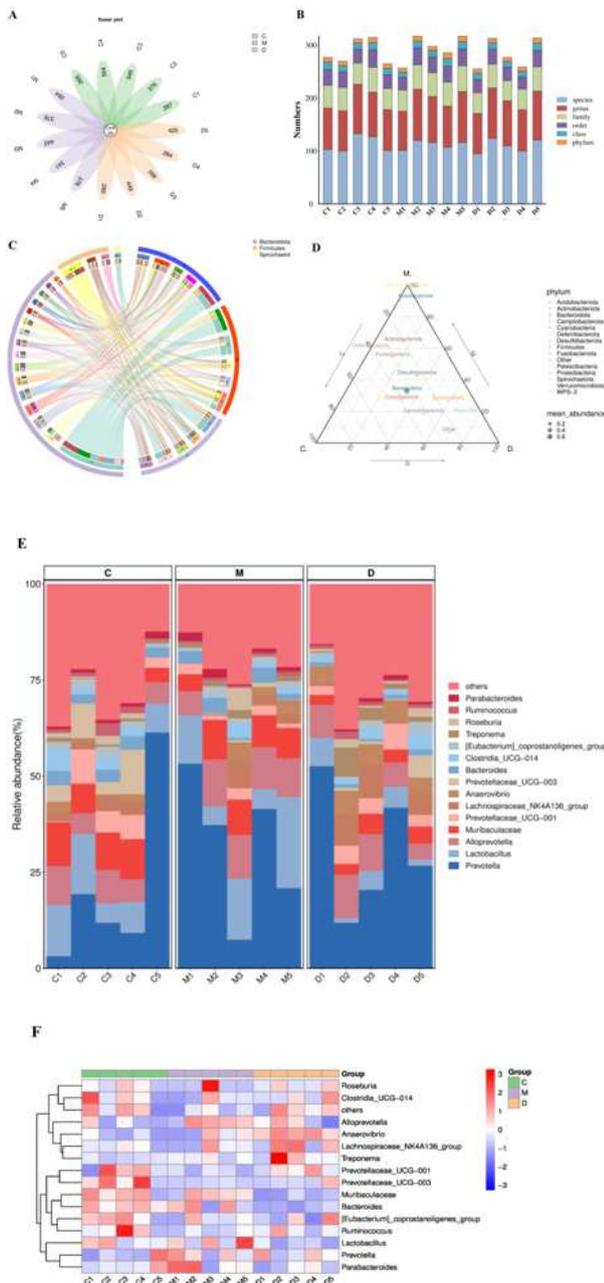


图 2 (A) ASVs 聚类分析花瓣图；(B) 样本微生物群落分布统计柱状图；(C) Circos 样本与物种关系图；(D) Ternary 三元相图；(E) 属水平群落结构柱状图；(F) 属水平群落结构 Heatmap 图。注：C 代表空白对照组；M 代表 IBD 模型组；D 代表三物黄芩汤高倍组。

在属水平上，对三组粪便样本的不同细菌进行绝对丰度和相对丰度的统计和排序，其中排名前 15 的菌属

分别是：普雷沃氏菌属、副拟杆菌属 (Parabacteroides)、Muribaculaceae 属、拟普雷沃菌属 (Alloprevotella)、乳杆菌属、拟杆菌属、梭状芽胞杆菌 -014 属 (Clostridia_UCG014)、瘤胃球菌属 (Ruminococcus)、罗塞氏菌属 (Roseburia)、普雷沃氏菌 -001 属 (Prevotellaceae_UCG-001)、产粪甾醇真杆菌属 (Eubacterium_coprostanoligenes_group)、密螺旋体属、普雷沃氏菌 -003 属 (Prevotellaceae_UCG-003)、毛螺菌 NK4A136 属 (Lachnospiraceae_NK4A136_group)、厌氧弧菌属，见图 2E-F。分析结果显示，在属水平上，空白对照组中罗塞氏菌属和普雷沃氏菌属丰度较高，Muribaculaceae 属丰度较低；在 IBD 模型组中毛螺菌 NK4A136 属和 Muribaculaceae 属丰度较高，罗塞氏菌属和副拟杆菌属丰度较低；三物黄芩汤治疗组中密螺旋体属丰度较高，罗塞氏菌属和梭状芽胞杆菌 -014 属丰度较低。

2.4 组内 α 多样性分析

α 多样性分析多用于评价肠道菌群的丰富度和多样性，其分析结果提示，本研究中 Specaccum 物种累积曲线趋于平缓，表示此环境中的物种并不会随样本量的增加而显著增多，表明本研究抽样充分，后续分析具有一定研究价值，见图 3A。此外，作为 α 多样性分析的一部分，Rank Abundance 分析通过横轴上的长度来反映物种的丰富程度，横轴的跨度越大则表示物种的组成越丰富；通过纵轴的跨度来反映物种组成的均匀程度，纵轴的跨度越小则表示物种组成的均匀程度越高。本研究 Rank Abundance 分析结果提示样品整体所含物种的丰富程度和均匀程度均较高，见图 3B。然而，对比各组间多种 α 多样性指数，如 Observed species 指数、Chao1 指数、Simpson 指数、Shannon 指数，其组间差异均无统计学意义 ($P>0.05$)，提示各组间肠道菌群整体丰度未见明显差异，见图 3C。

2.5 组间 β 多样性分析

本研究通过多样本 PLS-DA 分析，其结果显示，除个别样本 (C5) 稍离群外，各组样本内部均能实现聚类，肠道菌群趋向一致，分组效果较好；IBD 模型组和三物黄芩汤高倍组分布轮廓无重合，提示三物黄芩汤干预后肠道菌群物种组成结构具有较大差异，见图 3D。

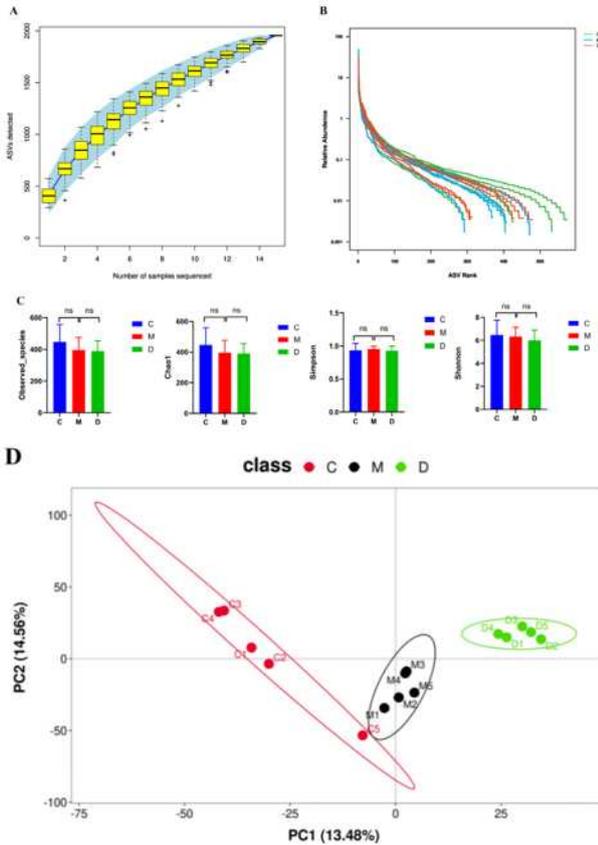


图3 (A) Specaccum物种累积曲线图; (B) Rank Abundance分析曲线图; (C) α 多样性相关指数柱状图; (D) PLS-DA分析图。注: C代表空白对照组; M代表IBD模型组; D代表三物黄芩汤高倍组。

2.6 微生物多元变量统计分析

通过ANOVA差异统计和Kruskal Wallis差异统计,挑选差异物种丰度较显著的菌属,获得优势差异物种在组内丰度及组间比较,见图4A-B。其结果提示:在属水平上,与空白对照组相比,IBD模型组中柯林斯氏菌(*Collinsella*)、瘤胃球菌属(*Barnesiella*)属、*Lachnoclostridium*属、*Anaerovorax*属、布劳特氏菌属(*Blautia*)丰度出现了升高,其中*Lachnoclostridium*属丰度水平具有极高的差异($P < 0.001$)。经三物黄芩汤灌胃给药后,上述菌属丰度出现不同程度的下降。其中,布劳特氏菌属和*Lachnoclostridium*属的丰度出现了显著的改变($P < 0.01$),见图4C-D。此外,与空白对照组相比,IBD模型组中拟杆菌属、普雷沃氏菌-003属、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)、*Monoglobus*属、毛螺菌-001属(*Lachnospiraceae_UCG-001*)、普雷沃氏菌-NK3B31属(*Prevotellaceae_NK3B31_group*)丰度出现了下降,经三物黄

芩汤灌胃给药后,上述菌属丰度出现不同程度的恢复,见图4E-F。

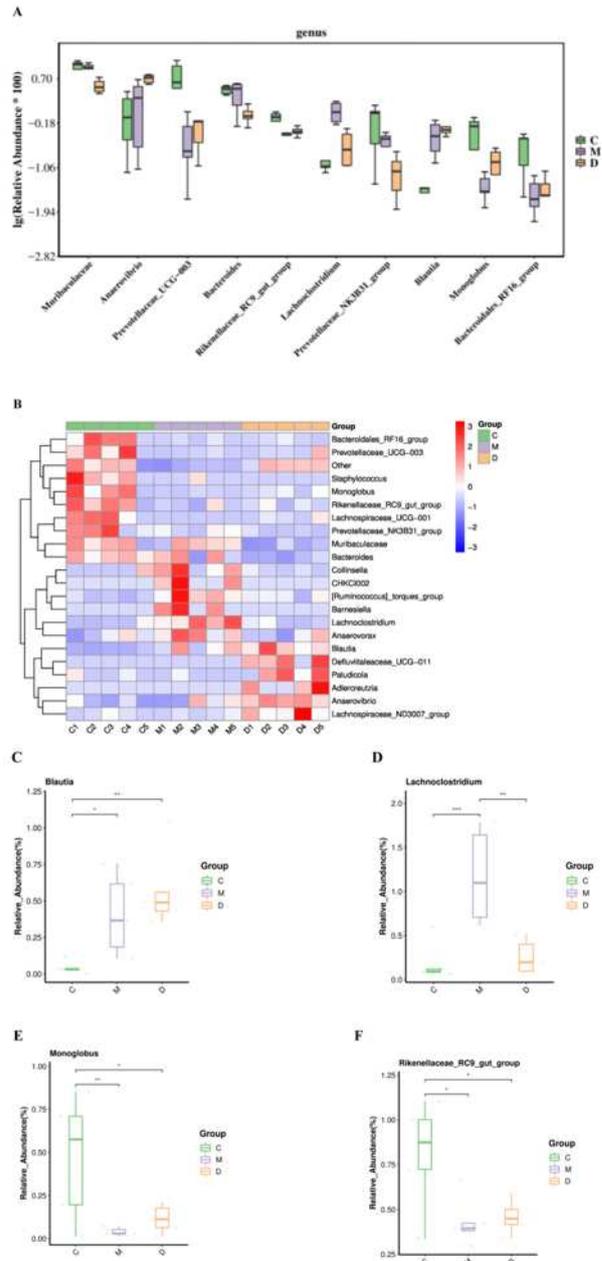


图4 (A) 属水平差异物种 Boxplot图; (B) 属水平差异物种 Heatmap图; (C) 各组 *Blautia* 属丰度水平 Boxplot图; (D) 组 *Lachnoclostridium* 属丰度水平 Boxplot图; (E) 组 *Monoglobus* 属丰度水平 Boxplot图; (F) 属组 *Rikenellaceae-RC9* 属丰度水平 Boxplot图。注: C代表空白对照组; M代表IBD模型组; D代表三物黄芩汤高倍组。

2.7 组间 LEfSe 分析和随机森林分析

通过运用 LEfSe 分析检测各组间差异的菌群类别, 比较各组从界到属的菌群变化和差异, 绘制 LDA 值分布柱状图, 结果显示 *Lachnospiraceae* 属在 IBD 模型组丰度升高差异明显, 布劳特氏菌属在三物黄芩汤高倍组丰度升高差异明显, 见图 5A-C。为进一步明确 *Lachnospiraceae* 属和布劳特氏菌属是否是区分组间差异的关键物种, 本研究进一步通过随机森林分析进行预测, 分析结果显示, 按物种重要性排序后, *Lachnospiraceae* 属和布劳特氏菌属分别位于纵坐标的第二位和第三位, 见图 5D。说明两者是区分组间差异的关键菌属, 并很可能是三物黄芩汤发挥治疗 IBD 作用的核心菌群。

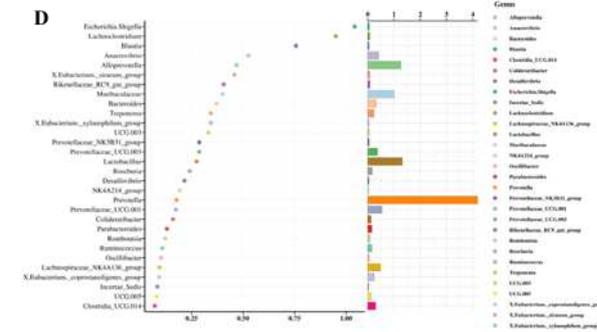
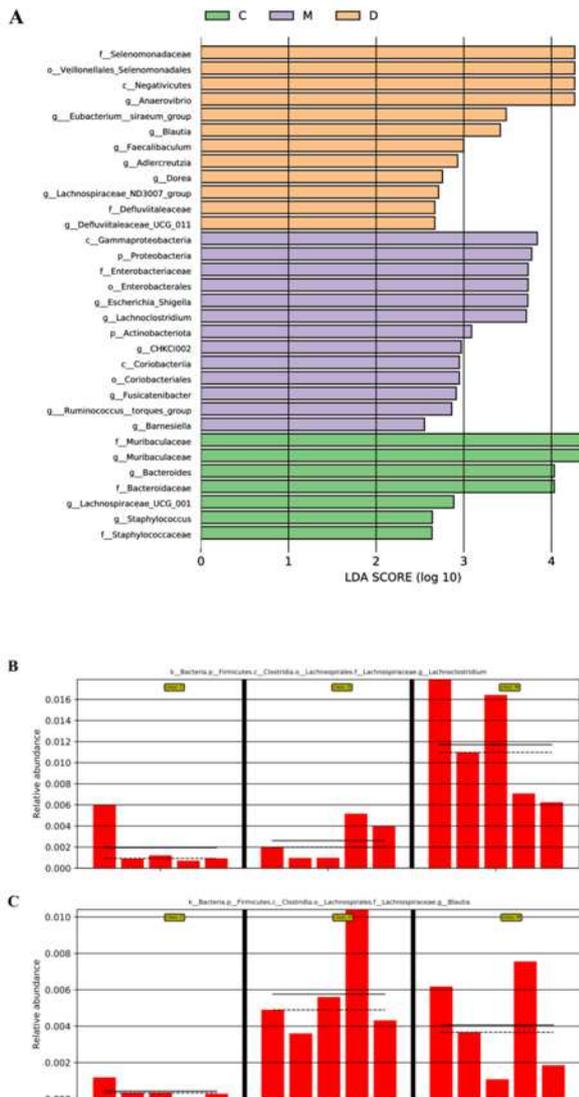


图 5 (A) LEfSe 分析柱状图; (B) *Lachnospiraceae* 属相对丰度柱状图; (C) *Blautia* 属相对丰度柱状图; (D) 随机森林分析图。注: C 代表空白对照组; M 代表 IBD 模型组; D 代表三物黄芩汤高倍组。

3 讨论

IBD 是一个多因素疾病, 受到遗传、环境、饮食、免疫等多方面因素的影响, 由于缺乏有效的根治方法, 因此世界卫生组织将其列作现代难治病之一^[25]。在 IBD 的治疗中, 中医药在缓解患者症状、防止病情反复及改善患者生活质量上具有独特的优势^[26]。三物黄芩汤作为《金匱要略》之名方, 临床上广泛用于湿热证型的胃肠道疾病中, 作为方中主要成分的黄芩、黄连中的黄芩苷和盐酸小檗碱已被证实对小鼠 DSS 诱导的结肠炎具有一定的保护作用, 且其保护作用与肠道菌群密切相关^[27]。

本研究成功构建了 DSS 诱导的 IBD 大鼠模型, 并给予三物黄芩汤干预。结果显示, IBD 大鼠体重增长速度和 DAI 指数出现了不同程度的下降, 结肠 HE 病理可见炎症细胞浸润、黏膜层破损、杯状细胞数量减少等情况, 表明 IBD 造模成功。在使用 0.5 倍浓度的三物黄芩汤干预后, 其在体重和症状上的恢复速度和 IBD 模型组相近, 无明显差异。而在 2 倍浓度的三物黄芩汤干预后, 可见大鼠体重增长速度和 DAI 指数出现一定程度的恢复, 结肠组织病变也出现了不同程度的减轻。这表明三物黄芩汤对 IBD 有较好的缓解甚至治疗作用, 且呈现出一定剂量的剂量依赖性。

肠道菌群是肠道内环境的重要组成部分, 这些微生物长时间保持着动态平衡的状态, 维护着肠道生态系统的稳定, 在肠道的代谢过程中扮演着必不可少的角色, 甚至与肠道的炎症和癌症存在着紧密的关联^[28-29]。

为了探索三物黄芩汤干预后 IBD 大鼠肠道微生物群落的变化, 本研究基于 16S rDNA 测序, 对大鼠肠道菌群进行

了 ASV 的聚类分析、 α 多样性分析、 β 多样性分析、微生物多元变量统计分析、组间 LEfSe 分析和随机森林分析。 α 多样性及 β 多样性分析结果提示三物黄芩汤干预前后肠道菌群整体丰度未见明显差异，但是肠道菌群物种组成结构具有较大差异。通过 ANOVA 差异统计分析和 Kruskal Wallis 差异统计分析，我们发现 *Lachnospirillum* 属在 IBD 模型组中丰度明显升高，而布劳特氏菌属在三物黄芩汤治疗组丰度明显升高。在此基础上，团队进一步完善组间 LEfSe 分析和随机森林分析，其结果提示上述两者是区分组间差异的关键菌属，并很可能是三物黄芩汤发挥治疗 IBD 作用的核心菌群。

Lachnospirillum 属是一类厌氧型革兰阳性菌，在不同疾病状态下，*Lachnospirillum* 属的相对丰度存在差异，如在溃疡性结肠炎和肠易激综合征患者的肠道菌群中，*Lachnospirillum* 属的含量较高^[30]。有多项研究表明，*Lachnospirillum* 能够通过代谢 L- 谷氨酸来产生包括乙酸在内的短链脂肪酸，促进肠道上皮细胞生长、修复和抗炎的作用，有助于减少肠道炎症和维持肠道屏障功能 [31–32]。布劳特氏菌属也是一类厌氧型革兰阳性菌，在肠道炎症和结肠癌患者中其丰度往往低于正常人^[33]。多项相关研究证实，布劳特氏菌属可以通过多种途径缓解肠道炎症，其自身可以通过发酵膳食纤维和其他碳水化合物生成短链脂肪酸，进而参与抗原呈递、B 细胞和 T 细胞活化等方式调节肠道免疫反应、抑制炎症因子的产生、减少氧化应激、防止肠屏障的损伤，在缓解肠道炎症中发挥了重要的作用 [34–39]。本实验研究结果提示，与空白对照组相比，运用 3% DSS 水溶液造模后，大鼠肠道内 *Lachnospirillum* 属相对丰度升高、布劳特氏菌属相对丰度下降，大鼠肠道炎症表现明显，而在经过三物黄芩汤干预后，*Lachnospirillum* 属和布劳特氏菌属的相对丰度出现了明显的恢复，大鼠肠道炎症出现缓解。由此我们推测，三物黄芩汤能重构肠道菌群构成，提高布劳特氏菌属丰度使其趋向正常水平，直接或间接发挥减轻炎症作用，减轻肠道炎症。然而，因为肠道菌群组成十分庞杂，其与 IBD 的作用关系及中药对其的调控机制有待进一步研究。

参考文献：

[1] Gilliland A, Chan JJ, De Wolfe TJ, Yang H, Vallance BA. Pathobionts in Inflammatory Bowel Disease: Origins, Underlying Mechanisms, and Implications for Clinical Care. *Gastroenterology*.

2024;166(1):44–58.

[2] Banerjee R, Pal P, Mak JWY, Ng SC. Challenges in the diagnosis and management of inflammatory bowel disease in resource-limited settings in Asia. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5(12):1076–1088.

[3] Sebastian S, Siegmund B, Teferra F, et al. Promoting equity in inflammatory bowel disease: a global approach to care. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2024;9(3):192–194.

[4] Bernstein CN, Eliakim A, Fedail S, et al. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines Inflammatory Bowel Disease: Update August 2015. *J Clin Gastroenterol*. 2016;50(10):803–818.

[5] 吴开春, 梁洁, 冉志华, 等. 炎症性肠病诊断与治疗的一致意见 (2018 年·北京) [J]. *中国实用内科杂志*. 2018;38(09):796–813.

[6] M'Koma AE. Inflammatory Bowel Disease: Clinical Diagnosis and Surgical Treatment—Overview. *Medicina (Kaunas)*. 2022;58(5):567.

[7] Yeshi K, Ruscher R, Hunter L, Daly NL, Loukas A, Wangchuk P. Revisiting Inflammatory Bowel Disease: Pathology, Treatments, Challenges and Emerging Therapeutics Including Drug Leads from Natural Products. *J Clin Med*. 2020;9(5):1273.

[8] Ho GT, Cartwright JA, Thompson EJ, Bain CC, Rossi AG. Resolution of Inflammation and Gut Repair in IBD: Translational Steps Towards Complete Mucosal Healing. *Inflamm Bowel Dis*. 2020;26(8):1131–1143.

[9] Shouval DS, Rufo PA. The Role of Environmental Factors in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases: A Review. *JAMA Pediatr*. 2017;171(10):999–1005.

[10] Morar PS, Hodgkinson JD, Thalayasingam S, et al. Determining Predictors for Intra-abdominal Septic Complications Following Ileocolonic Resection for Crohn's Disease—Considerations in Pre-operative and Peri-operative Optimisation Techniques to Improve Outcome. *J Crohns Colitis*. 2015;9(6):483–491.

[11] Kostic AD, Xavier RJ, Gevers D. The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future ahead. *Gastroenterology*. 2014;146(6):1489–1499.

- [12]Perna A, Hay E, Contieri M, De Luca A, Guerra G, Lucariello A. Adherent-invasive Escherichia coli (AIEC): Cause or consequence of inflammation, dysbiosis, and rupture of cellular joints in patients with IBD?. *J Cell Physiol.* 2020;235(6):5041–5049.
- [13]Caenepeel C, Sadat Seyed Tabib N, Vieira-Silva S, Vermeire S. Review article: how the intestinal microbiota may reflect disease activity and influence therapeutic outcome in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2020;52(9):1453–1468.
- [14]Shah SC, Itzkowitz SH. Colorectal Cancer in Inflammatory Bowel Disease: Mechanisms and Management. *Gastroenterology.* 2022;162(3):715–730.
- [15]徐慧超, 武荣林, 蒋子文, 等. 基于中医气学理论探讨自噬在炎症性肠病中的作用[J]. *中华中医药杂志*, 2024,39(07):3363–3367.
- [16]苟兰兰, 沈洪. 古方加减治疗溃疡性结肠炎研究概况[J]. *山东中医药大学学报*, 2012,36(02):164–166.
- [17]张兆洲, 王炎, 李琦. 三物黄芩汤研究概述及其应用展望[J]. *辽宁中医杂志*, 2019,46(07):1551–1554.
- [18]Zhu L, Xu LZ, Zhao S, Shen ZF, Shen H, Zhan LB. Protective effect of baicalin on the regulation of Treg/Th17 balance, gut microbiota and short-chain fatty acids in rats with ulcerative colitis. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2020;104(12):5449–5460.
- [19]杨光勇, 喻良锦, 涂小华, 等. 黄连对溃疡性结肠炎小鼠肠道内嗜黏蛋白益生菌 *A.muciniphila* 菌及肠粘膜屏障的影响[J]. *中国民族民间医药*, 2022,31(05):27–32.
- [20]Mukherjee PK, Chandra J, Retuerto M, et al. Oral mycobiome analysis of HIV-infected patients: identification of *Pichia* as an antagonist of opportunistic fungi. *PLoS Pathog.* 2014;10(3):e1003996.
- [21]Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJ, Holmes SP. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods.* 2016;13(7):581–583.
- [22]Bolyen, Evan et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature biotechnology* vol. 37,8 (2019): 852–857.
- [23]Chao A, Bunge J. Estimating the number of species in a stochastic abundance model. *Biometrics.* 2002;58(3):531–539.
- [24]Hill TC, Walsh KA, Harris JA, Moffett BF. Using ecological diversity measures with bacterial communities. *FEMS Microbiol Ecol.* 2003;43(1):1–11.
- [25]Grossberg LB, Papamichael K, Cheifetz AS. Review article: emerging drug therapies in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2022;55(7):789–804.
- [26]苏晓兰, 国嵩, 张涛, 等. 炎症性肠病诊治现状及中医药治疗特色与优势[J]. *北京中医药*, 2020,39(03):211–215.
- [27]Yan Y, Li L, Wu K, et al. A Combination of Baicalin and Berberine Hydrochloride Ameliorates Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis by Modulating Colon Gut Microbiota. *J Med Food.* 2022;25(8):853–862.
- [28]刘利, 叶映泉, 桂仲旋, 等. 亮菌多糖对 AOM/DSS 炎症相关性结肠癌小鼠模型及其肠道菌群的影响[J]. *现代肿瘤医学*, 2024,32(12):2161–2170.
- [29]朱琳, 王敦方, 冯雪, 等. 黄芩汤对炎症相关性结直肠癌小鼠炎症及短链脂肪酸相关肠道菌群的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 1–15.
- [30]Zhang W, Zou G, Li B, et al. Fecal Microbiota Transplantation (FMT) Alleviates Experimental Colitis in Mice by Gut Microbiota Regulation. *J Microbiol Biotechnol.* 2020;30(8):1132–1141.
- [31]Dandachi I, Anani H, Hadjadj L, et al. Genome analysis of *Lachnoclostridium phocaeense* isolated from a patient after kidney transplantation in Marseille. *New Microbes New Infect.* 2021;41:100863.
- [32]Liang JQ, Li T, Nakatsu G, et al. A novel faecal *Lachnoclostridium* marker for the non-invasive diagnosis of colorectal adenoma and cancer. *Gut.* 2020;69(7):1248–1257.
- [33]Chen W, Liu F, Ling Z, Tong X, Xiang C. Human intestinal lumen and mucosa-associated microbiota in patients with colorectal cancer. *PLoS One.* 2012;7(6):e39743.
- [34]Liu X, Mao B, Gu J, et al. *Blautia*—a new functional genus with potential probiotic properties?. *Gut Microbes.* 2021;13(1):1–21.
- [35]Rashidi A, Peled JU, Ebadi M, et al. Protective Effect

of Intestinal *Blautia* Against Neutropenic Fever in Allogeneic Transplant Recipients. *Clin Infect Dis*. 2022;75(11):1912–1920.

[36]de Mooij CEM, van Groningen LFJ, Molendijk EBD, Wardill HR, van der Velden WJFM, Blijlevens NMA. *Blautia* Abundance and Mucosal Barrier Injury: A Complex Play of Cause and Effect. *Clin Infect Dis*. 2023;76(6):1152–1153.

[37]Holmberg SM, Feeney RH, Prasoodanan P K V, et al. The gut commensal *Blautia* maintains colonic mucus function under low-fiber consumption through secretion of short-chain fatty acids. *Nat Commun*. 2024;15(1):3502.

[38]Wang J, Zhang C, Guo C, Li X. Chitosan Ameliorates DSS-Induced Ulcerative Colitis Mice by Enhancing Intestinal Barrier Function and Improving Microflora. *Int J Mol Sci*. 2019;20(22):5751.

[39]Jenq RR, Taur Y, Devlin SM, et al. Intestinal *Blautia* Is Associated with Reduced Death from Graft-versus-Host Disease.

Biol Blood Marrow Transplant. 2015;21(8):1373–1383.

作者简介：

姜靖雯（1982—），女，汉族，山东烟台人，博士，主任医师，广东省中医院海南医院，研究方向是中药治疗结肠直肠癌的机制探讨。

资助课题：

1. 海南省自然科学基金（高层次人才项目）项目编号：819QN358；
2. 海南省自然科学基金（面上项目）项目编号：822RC847；
3. 海南省卫生健康科技创新联合项目项目编号：WSJK2024MS178；
4. 赣鄱俊才支持计划—领军人才项目项目编号：20232BCJ22057；
5. 国家自然科学基金项目编号：81960865。