

香砂六君子汤对脾虚型 IBS-D 大鼠肠道菌群及其代谢产物 SCFAs 的调节作用

张远哲¹, 黎豫川^{2*}, 杨元凤², 陈礼大², 罗玉玲²

(1. 贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州中医药大学第二附属医院, 贵州 贵阳 550025)

摘要: **目的** 探讨香砂六君子汤对脾虚证腹泻型肠易激综合征 (IBS-D) 大鼠肠道菌群及短链脂肪酸 (SCFAs) 的影响。**方法** 大鼠随机分为对照组, 模型组, 香砂六君子汤低、中、高剂量组 (0.145、0.29、0.58 g/mL), 复合乳酸菌组。给予相应药物干预后, 检测大鼠粪便含水量、布里斯托大便分类法评分, AWR 实验和炭末推进实验检测大鼠内脏敏感性和肠道运输速率, HE 染色检测大鼠结肠病理改变, ELISA 法检测大鼠外周血中 5-HT 水平, 16S rRNA 测序分析大鼠肠道菌群多样性和组间差异, GC-MS 代谢组学评价大鼠粪便中 SCFAs 浓度。**结果** 与模型组比较, 香砂六君子汤各剂量组大鼠粪便含水量、布里斯托大便分类法评分、肠道敏感性、结肠推进率降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 结肠组织病理损伤减轻, 血清 5-HT 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 粪便 SCFAs 含量升高 ($P<0.05$)。香砂六君子汤干预后, Chao1、Observed-Species、shannon 指数降低, Goods-coverage 指数升高, 大鼠粪便中厚壁菌门、乳杆菌属、普雷沃菌属相对丰度升高, 拟杆菌门相对丰度降低。**结论** 香砂六君子汤可能通过调节肠道菌群平衡, 从而促进 SCFAs 生成, 缓解脾虚型 IBS-D 大鼠症状。

关键词: 香砂六君子汤; 腹泻型肠易激综合征 (IBS-D); 脾虚证; 肠道菌群; 16S rRNA; SCFAs

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)01-0272-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.01.047

肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 是一种肠道功能紊乱性疾病^[1], 主要分为便秘型 (IBS-C)、腹泻型 (IBS-D)、混合型 (IBS-M)、非典型肠易激综合征^[2], 其中 IBS-D 的发病率约占 IBS 患者的 40% 以上, 治疗后易反复, 给患者的心理及经济带来负担。研究表明, IBS-D 发生与饮食、心理因素、遗传及肠道菌群紊乱等因素密切相关^[3], 患者普遍存在肠道菌群紊乱现象, 表现为部分有益菌减少、致病菌增多^[4]。短链脂肪酸 (short-chain fatty acids, SCFAs) 是肠道微生物作用与机体免疫功能的一种介质, 肠道菌群能够利用 SCFAs 作用于肠嗜铬细胞, 调控 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 的合成和释放, 从而影响肠动力及敏感性^[5]。目前治疗 IBS-D 主要以抗感染、促进肠道菌群平衡为主, 短期效果佳, 但长期易产生较多副作用, 停药后易复发^[6]。香砂六君子汤由六君子汤演变而来, 具有益气健脾化湿之效, 是临床治疗脾虚湿阻的常用方, 能有效调节脾虚型 IBS-D 大鼠肠动力, 但其具体机制尚不清楚^[7], 故本研究通过建立脾虚型 IBS-D 大鼠模型, 探讨香砂六君子汤对 IBS-D 大鼠肠道菌群及其代谢产物

SCFAs 的影响, 为相关治疗提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 36 只雄性 SPF 级 SD 大鼠, 体质量 (200±20) g, 购自成都达硕实验动物有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (川) 2021-0037, 饲养于贵州中医药大学动物实验中心, 实验动物使用许可证号 SYXK (黔) 2021-0005。本实验获得贵州中医药大学动物实验伦理委员会批准 (批准号 20210042), 操作严格按照 3R 准则。大鼠置于安静环境中适应性饲养 1 周, 给予充足、清洁的饮水。

1.2 药物 香砂六君子汤由人参 3 g、茯苓 6 g、生白术 6 g、生甘草 2 g、陈皮 2.5 g、生半夏 3 g、砂仁 2.5 g、木香 2 g、生姜 6 g 组成, 混合煎煮 2 次, 第 1 次加 8 倍量水, 武火煮开后文火煎煮 30 min; 第 2 次加 6 倍量水, 武火煮开后文火煎煮 20 min, 合并 2 次滤液, 100 °C 水浴浓缩至 1 g/mL, 4 °C 保存。依据人与大鼠体表面积系数法, 得出大鼠给药剂量为每天 2.9 g/kg。复合乳酸菌购自江苏美通制药有限公司 (国药准字 H19980184)。

1.3 试剂与仪器 甲醛购自四川西陇科学有限公司 (批号

收稿日期: 2023-08-24

基金项目: 贵州省省级科技计划项目 (黔科合基础-ZK [2022] 一般 467); 贵州省教育厅高等学校科学研究项目-青年项目 (黔教技 [2022] 217 号); 贵州中医药大学学术新苗项目 (贵科合学术新苗 [2023] -37 号)

作者简介: 张远哲 (1990—), 女, 博士, 讲师, 从事《内经》学术思想及应用、肠道疾病证治与方剂配伍运用研究。Tel: 18185036409, E-mail: 357984356@qq.com

* 通信作者: 黎豫川 (1987—), 男, 博士, 副主任药师, 从事方剂配伍规律、临床应用研究。Tel: 18185028940, E-mail: 531533319@qq.com

1340040101602); 苏木素染液购自武汉赛维尔生物科技有限公司(批号 G1004); 伊红染液购自合肥博美生物科技有限公司(批号 YE2080); Rat 5-HT ELISA 试剂盒购自上海苗彩生物科技有限公司(批号 ZC-35959); TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 购自美国 Illumina 公司(批号 NP1011001); 高灵敏度 DNA 分析试剂盒购自美国安捷伦公司(批号 50674626)。数码三目摄像显微镜购自麦克奥迪实业集团有限公司(型号 BA210Digital); Hiseq 测序仪购自美国 Illumina 公司(型号 2500); 紫外分光光度计(型号 Evolution 200)、质谱仪(型号 ISQ 7000 质谱仪)、气相色谱仪(型号 Trace 1300)均购自美国赛默飞世尔科技公司。

2 方法

2.1 模型建立及给药 大鼠随机分为对照组, 模型组, 香砂六君子汤低、中、高剂量组, 复合乳酸菌组。除对照组外, 其余各组大鼠灌胃给予 100% 番泻叶水煎剂(生药量 1 g/mL) 10 mL/kg, 采取弹力绷带束缚其两前肢和肩背部, 限制其上半身活动, 时长 2 h, 束缚期间联合给予夹尾刺激, 每次约 3~5 min, 每天 2 次, 连续 14 d, 可见大鼠出现腹泻、体重减轻、神态萎靡、食少纳呆、困倦等症状, 而且根据 AWR 评分标准对模型进行验证。香砂六君子汤低、中、高剂量组灌胃给予 0.2 mL 质量浓度分别为 0.145、0.29、0.58 g/mL 的香砂六君子汤水煎液, 复合乳酸菌组每天灌胃给予 0.2 mL 0.026 g/mL 复合乳酸菌混悬液, 对照组和模型组灌胃给予等体积蒸馏水, 每天 1 次, 连续 14 d。

2.2 粪便性状评分及粪便含水量检测 观察大鼠毛色、精神状态、进食状态、粪便性状及形态, 采用布里斯托大便分类法对大便性状进行评分。收集 24 h 内大鼠粪便, 计数并称定质量, 得到粪便湿重, 烘干后再次称定质量, 获得粪便干重, 计算粪便含水量, 公式为含水量 = [(粪便湿重 - 粪便干重) / 粪便湿重] × 100%。

2.3 腹壁撤退反射实验(AWR)检测内脏敏感性 在造模和给药结束后, 采用球囊扩张直肠。大鼠固定后, 将有气囊的导尿管前端用石蜡润滑后插入肛门, 后端连接注射器, 待大鼠适应后经导尿管注射温盐水进行扩张, 记录出现弓背和腹部抬起的最小容量阈值。

2.4 炭末推进实验检测肠运输速率 治疗后, 各组大鼠灌胃给予 2 mL 炭末混悬液, 40 min 后处死, 并对肠系膜进行分离, 测量幽门至炭末前沿的距离, 即炭末在小肠中推进距离, 计算炭末推进率, 公式为炭末推进率 = (炭末在小肠中的推进距离 / 小肠总长度) × 100%。

2.5 HE 染色检测结肠病理变化 收集大鼠结肠组织, 用 10% 中性甲醛固定, 乙醇脱水后石蜡包埋, 切片, 脱蜡, HE 染色, 封片, 用显微镜观察组织形态结构变化并拍照, 根据大鼠结肠组织损伤评分标准(表 1)进行评分。

2.6 ELISA 法检测大鼠血清 5-HT 水平 严格按照试剂盒说明书操作, 在 450 nm 波长处检测光密度(OD)值, 计算大鼠血清 5-HT 水平。

表 1 大鼠结肠组织损伤评分标准

症状表现	0 分	1 分	2 分
杯状细胞	无	有	—
隐窝脓肿	无	有	—
黏膜结构破坏	无	局部病灶	多病灶
炎性细胞浸润	无	局部病灶	透壁
纤维组织增生	无	局部病灶	多病灶

2.7 16S rRNA V3-V4 肠道菌群测序 收集大鼠粪便, DNA 提取试剂盒提取总 DNA, Nanodrop 定量 DNA, 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量, 加入引物进行 PCR 扩增, 引物序列为正向 ACTCCTACGGGAGGCAGCA, 反向 GGACTACHVGGGTWTCTAAT。将 PCR 扩增回收产物进行荧光定量, TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 制备测序文库, 高灵敏度 DNA 试剂盒进行质量检测, 在 Illumina HiSeq 平台进行测序。

2.8 GC-MS 法对大鼠肠道粪便中 SCFAs 浓度分析 取适量大鼠粪便于 1.5 mL 离心管中, 加 500 μ L 水和 100 mg 玻璃珠, 匀浆 1 min, 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 200 μ L, 加入 100 μ L 15% 磷酸、20 μ L 375 μ g/mL 4-甲基戊酸溶液和 280 μ L 乙醚匀浆 1 min, 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 10 min, 即得供试品溶液。质谱条件为 Agilent HP-INNOWAX 色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μ m); 进样量 1 μ L, 分流比 10:1; 进样口温度 250 $^{\circ}$ C; 离子源温度 300 $^{\circ}$ C; 传输线温度 50 $^{\circ}$ C; 程序升温(初始 90 $^{\circ}$ C, 10 $^{\circ}$ C/min 升至 120 $^{\circ}$ C, 5 $^{\circ}$ C/min 升至 150 $^{\circ}$ C, 25 $^{\circ}$ C/min 升至 250 $^{\circ}$ C, 维持 2 min); 载气气体氦气, 体积流量 1.0 mL/min; 电子轰击电离(EI)源; SIM 扫描; 电子能量 70 eV。

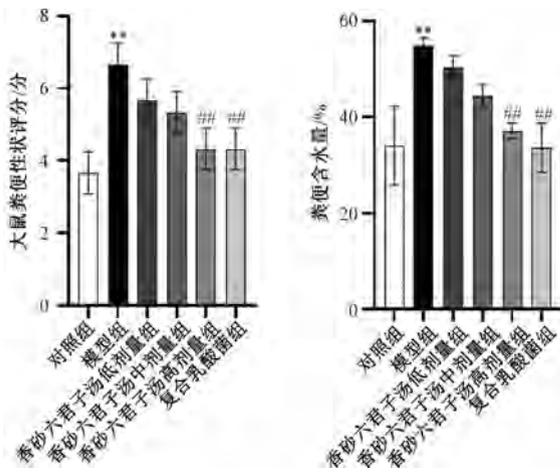
2.9 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行处理, 数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 2 组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。*P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 香砂六君子汤对 IBS-D 大鼠一般状态、粪便性状及粪便含水率的影响 对照组大鼠精神良好、毛色光滑, 粪便呈颗粒状; 模型组大鼠出现精神萎靡、扎堆、腹泻、毛色杂乱晦暗。与对照组比较, 模型组大鼠布里斯托大便分类法评分、粪便含水量升高(*P* < 0.01); 与模型组比较, 香砂六君子汤高剂量组和复合乳酸菌组大鼠布里斯托大便分类法评分、粪便含水量降低(*P* < 0.01), 见图 1。

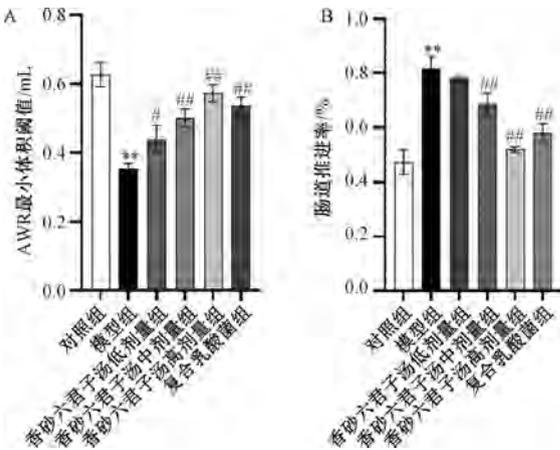
3.2 香砂六君子汤对 IBS-D 大鼠结肠动力、内脏敏感性的影响 与对照组比较, 模型组大鼠疼痛阈值降低(*P* < 0.01); 与模型组比较, 香砂六君子汤各剂量组和复合乳酸菌组大鼠疼痛阈值升高(*P* < 0.05, *P* < 0.01), 表明香砂六君子汤干预后大鼠的内脏敏感性降低, 见图 2A。与对照组比较, 模型组大鼠肠道推进率升高(*P* < 0.01); 与模型组比较, 香砂六君子汤中、高剂量组和复合乳酸菌组大鼠肠道推进率降低(*P* < 0.01), 见图 2B。

3.3 香砂六君子汤对 IBS-D 大鼠结肠组织病理改变的影



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

图1 香砂六君子汤对 IBS-D 大鼠粪便性状、粪便含水量率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



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

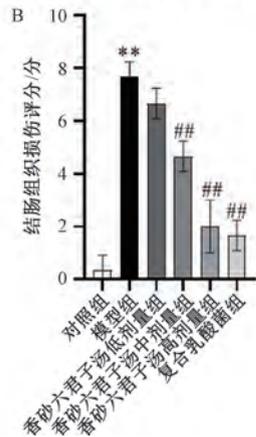
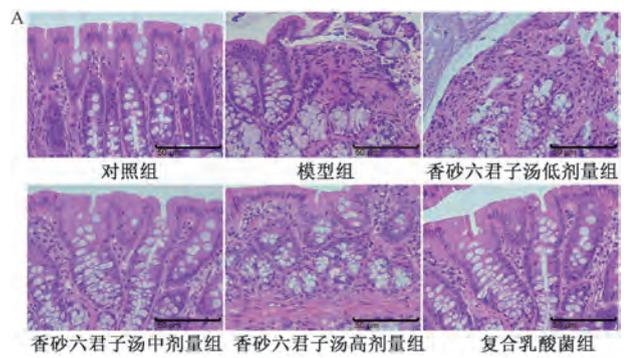
图2 香砂六君子汤对 IBS-D 大鼠结肠动力、内脏敏感性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

响 与对照组比较，模型组大鼠结肠组织中可见黏膜上皮分离、脱落、坏死，以及少量炎性细胞浸润和纤维组织增生；与模型组比较，香砂六君子汤组和复合乳酸菌组大鼠结肠组织黏膜层、黏膜下层、肌层及浆膜层结构较完整，黏膜上皮细胞完整，未见炎性细胞浸润和纤维组织增生，见图3A。与对照组比较，模型组大鼠结肠组织损伤评分升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，香砂六君子汤中、高剂量组和复合乳酸菌组大鼠结肠组织损伤评分降低 ($P < 0.01$)，见图3B。

3.4 香砂六君子汤对 IBS-D 大鼠血清中 5-HT 水平的影响 与对照组比较，模型组大鼠血清 5-HT 水平升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，香砂六君子汤各剂量组和复合乳酸菌组大鼠血清 5-HT 水平降低 ($P < 0.05, P < 0.01$)，见图4。

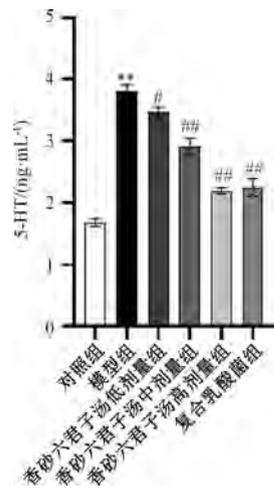
3.5 16S rRNA V3-V4 肠道菌群测序

3.5.1 各组大鼠粪便菌群门、属水平分析 大鼠粪便菌群组成在门水平上以厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门



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

图3 香砂六君子汤对 IBS-D 大鼠结肠组织病理改变的影响 (HE, $\times 400, \bar{x} \pm s, n = 6$)



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

图4 香砂六君子汤对大鼠血清 5-HT 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

(Bacteroidetes) 和变形菌门 (Proteobacteria) 为主，与模型组比较，香砂六君子汤组厚壁菌门相对丰度升高，拟杆菌门丰度降低，见图5A。大鼠粪便菌群组成在属水平上以乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、普雷沃菌属 (*Prevotella*) 和瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*) 为主，与对照组比较，模型组普雷沃菌属相对丰度降低；与模型组比较，香砂六君子汤组和复合乳酸菌组乳杆菌属和普雷沃菌属相对丰度升高，见

图 5B。

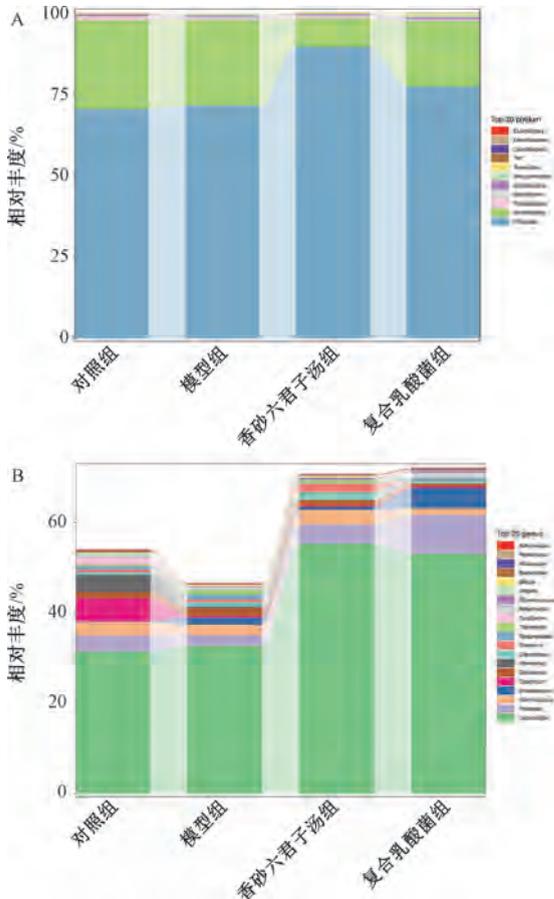


图 5 各组大鼠粪便肠道菌群门、属水平分类图 (n=3)

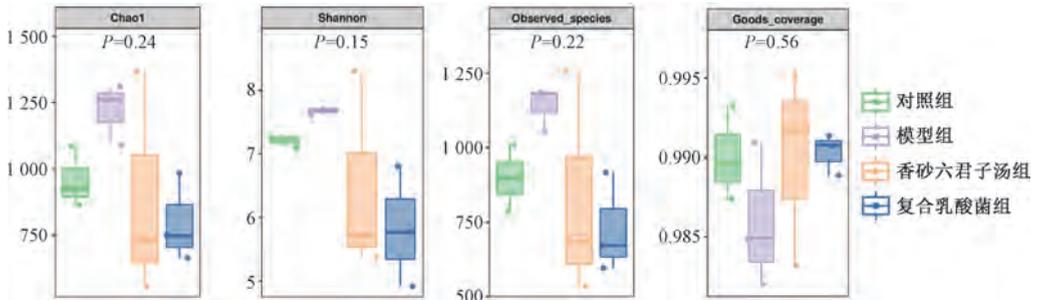


图 6 Alpha 多样性指数的分组箱线图 (n=3)

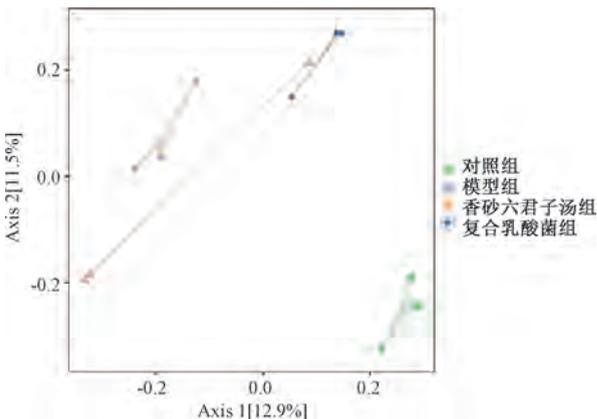


图 7 PCoA 分析的样本二维排序图 (n=3)

3.5.2 菌群多样性分析 如图 6 所示,与对照组比较,模型组 Chao1、Observed-Species、shannon 指数均呈升高趋势,而 Goods-coverage 指数降低;与模型组比较,香砂六君子汤组和复合乳酸菌组 Chao1、Observed-Species、shannon 指数降低, Goods-coverage 指数升高。通过 PCoA 在加权 UniFrac 距离矩阵上评估 Beta 多样性,结果见图 7,可知模型组样本菌落组成差异较大,香砂六君子汤、复合乳酸菌等药物干预后菌落组成差异较小。

3.5.3 物种韦恩图分析 由图 8 可知,各组间具有共有和单独的 OTU 数量,4 个分组共有 OTU 数目为 140 个,对照组共有 2 223 个 OTU,模型组共有 2 733 个 OTU,香砂六君子汤组共有 2 137 个 OTU,复合乳酸菌组共有 1 747 个 OTU,模型组独有的 OTU 数目最多,为 2 027 个;对照组独有 1 687 个;香砂六君子汤组和复合乳酸菌组分别独有 1 470、1 134 个。

3.5.4 物种聚类的属水平物种组成 由图 9 可知,与对照组比较,模型组大鼠粪便组织中黏液螺菌属 (*Mucispirillum*)、安德克氏菌属 (*Adlercreutzia*)、普雷沃菌属等相对丰度降低,考拉杆菌属 (*Phascolarctobacterium*)、密螺旋体属 (*Treponema*) 相对丰度升高;与模型组比较,香砂六君子汤组和复合乳酸菌组乳杆菌属、瘤胃球菌属、普雷沃菌属相对丰度升高。

3.5.5 差异菌群筛选 由图 10 可知,对照组优势菌株是 *g_Bacteroides*、*f_Bacteroidaceae*、*g_Turicibacter*、*o_Turicibacterales*、*c_Actinobacteria*、*g_Paraprevotellaceae*、*Turicibacteraceae*、*Actinomycetales*、*Porphyromonadaceae*,模型组

优势菌株是 *f_S24_7*,香砂六君子汤组优势菌株是 *P_Firmicutes*,复合乳酸菌组优势菌株是 *f_Streptococcaceae*、*p_Verrucomicrobia*、*g_Akkermansia*、*p_Verrucomicrobiae*、*f_Micrococcaceae*、*Parabacteroides*、*Verrucomicrobiales*、*Verrucomicrobiaceae*、*g_Streptococcus*、*g_Rothia*。

3.6 香砂六君子汤对 IBS-D 大鼠粪便中乙酸、丙酸、丁酸含量的影响 由图 11 可知,与对照组比较,模型组大鼠粪便中乙酸、丙酸、丁酸含量降低 ($P < 0.05$);与模型组比较,香砂六君子汤组和复合乳酸菌组大鼠粪便中乙酸、丙酸、丁酸含量升高 ($P < 0.05$)。

4 讨论

中医认为,IBS-D 属于“腹痛”“泄泻”范畴,饮食不

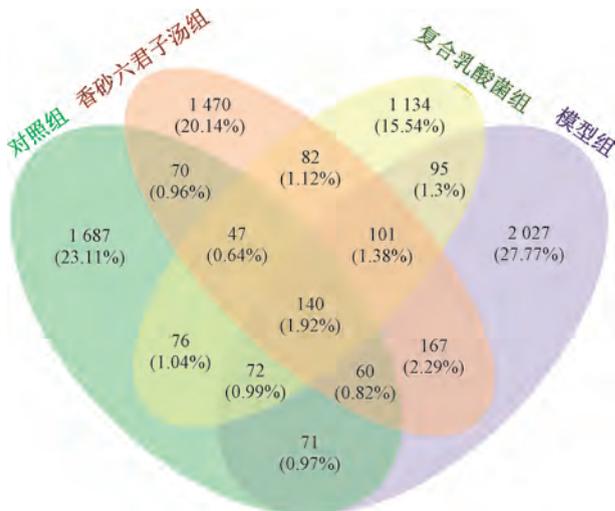


图8 大鼠肠道微生物 ASV/OTU 维恩图 (n=3)

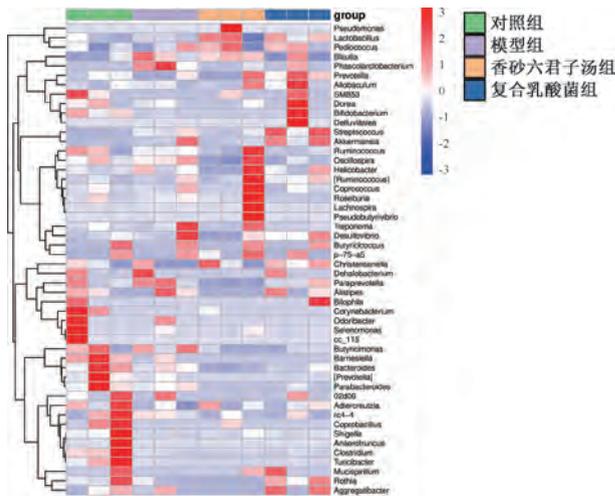
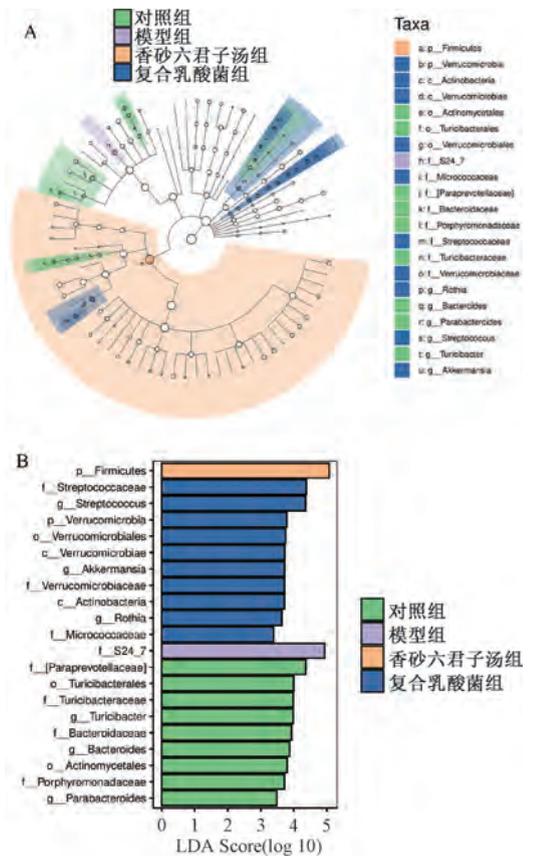


图9 物种聚类的属水平物种组成热图 (n=3)

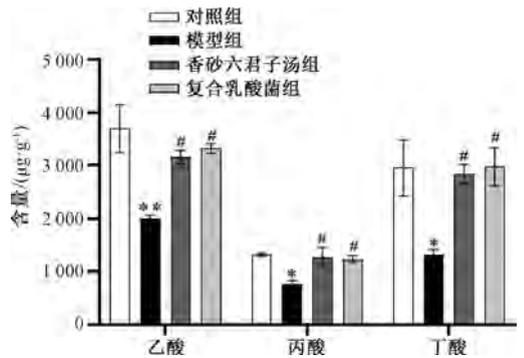
节、先天不足、后天失养、外感邪机等因素是造成 IBS-D 的主要病机^[8]，基本特征为脾虚湿盛，病位在肠，主病之脏属脾，湿盛为标，脾虚为本，故益气健脾是治疗本病的基本治法^[9]。香砂六君子汤经六君子汤加砂仁和木香衍变所得，由人参、茯苓、白术、甘草、陈皮、砂仁、半夏、木香及生姜组成，具有益气健脾、燥湿行气之功效。其中人参为君药，具有安神益智、补脾益肺的作用；白术、茯苓为臣药，具有利水祛湿、健脾安神的功效；半夏、陈皮、砂仁、木香为佐药，具有化痰止呕、理气健脾、温脾止泻、行气止痛，健脾消食等作用；甘草为使药，具有补脾益气、调和众药的作用；全方组合，主要发挥益气健脾化湿之效。本研究结果表明，香砂六君子汤干预后大鼠腹泻状况、粪便含水量、内脏敏感性、肠道推进率、外周血中 5-HT 水平、炎性细胞浸润和纤维组织增生降低，表明它能减轻脾虚型 IBS-D 的临床症状，具有较好的治疗作用。

肠道菌群失调是导致 IBS-D 发生发展的重要因素^[10]，IBS-D 发生后肠道菌群中双歧杆菌、乳杆菌等数量降低，肠道杆菌升高，导致菌群多样性降低^[11-12]，而造成肠道菌群



注：A 为进化分支，B 为标志物种 LDA 效应值。

图10 物种结构差异显著性分析的 LEfSE 图 (n=3)



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

图11 香砂六君子汤对 IBS-D 大鼠粪便中乙酸、丙酸、丁酸含量的影响 (x̄±s, n=6)

失衡的因素主要包含肠道敏感性和通透性升高、炎症反应、胃肠动力改变和应激等因素，故维持肠道菌群的平衡是治疗 IBS-D 的关键^[13]。16S rRNA 结果显示，经过对各组菌群在门、属水平上的结构变化比较，与模型组比较，香砂六君子汤组菌群结构发生了显著变化，其中厚壁菌门和拟杆菌门分别具有抗炎和促炎作用，其比值的大小反应了肠道炎症水平^[14]。乳杆菌属作为肠道中常见的一种有益菌，具有促进消化、保护消化道黏膜、维持肠道菌群平衡的作用^[15]。普雷沃菌属是一种具有维持肠道正常生理功能的多形态杆菌，其数目的减少常预示着机体中生理代谢的失

衡^[16-17]。本研究结果显示, 香砂六君子汤组大鼠粪便中厚壁菌门/拟杆菌门比值升高, 乳杆菌属和普雷沃菌属含量及相对丰度升高, 表明香砂六君子汤能够通过抗炎并维持肠道菌群平衡来维持肠道健康。

肠道菌群的代谢产物主要包含 SCFAs、胆碱代谢物、脂类、维生素、多胺类等^[18], 其中 SCFAs 作为肠道微生物的重要代谢产物之一, 在结肠中的抗性淀粉和纤维被厌氧菌发酵后生成, 具有降低结肠 pH、抑制病原菌繁殖等作用, 主要包含乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸等^[19-20]。近年来研究证实, SCFAs 能通过调控神经递质 5-HT 来间接影响肠道菌群稳态。本研究结果表明, 香砂六君子汤干预后能增加肠道粪便中乙酸、丙酸、丁酸含量及 SCFAs 水平, 从而发挥治疗 IBS-D 的作用。

综上所述, 香砂六君子汤能够通过调节肠道菌群平衡, 升高大鼠肠道粪便中 SCFAs 浓度, 从而减轻 IBS-D 的症状。但本研究未深入阐明香砂六君子汤对肠道菌群调控的详细机制, 后期将进一步加以阐述。

参考文献:

[1] Sebastián Domingo J J. Irritable bowel syndrome[J]. *Med Clin (Barc)*, 2022, 158(2): 76-81.

[2] 胡 玥, 吕 宾. 肠易激综合征的治疗进展[J]. 中国实用内科杂志, 2020, 40(2): 105-110.

[3] 王金鑫, 谢 胜, 黄茂光, 等. 肠紧密连接在腹泻型肠易激综合征中的作用及中医药干预的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(2): 253-259.

[4] Altomare A, Di Rosa C, Imperia E, et al. Diarrhea predominant-irritable bowel syndrome (IBS-D): effects of different nutritional patterns on intestinal dysbiosis and symptoms [J]. *Nutrients*, 2021, 13(5): 1506.

[5] Dalile B, Van Oudenhove L, Vervliet B, et al. The role of short-chain fatty acids in microbiota-gut-brain communication[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(8): 461-478.

[6] Guo J B, Xing X X, Wu J N, et al. Acupuncture for adults with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome or functional diarrhea: a systematic review and meta-analysis [J]. *Neural Plast*, 2020, 2020, 8892184.

[7] 鲁 慧, 王东旭. 香砂六君子汤治疗脾虚湿盛型腹泻型肠易激综合征的中医证候疗效及对血清 5-羟色胺、脑源性神经营养因子、神经肽 Y 的影响[J]. 河北中医, 2021, 43(2): 256-260; 269.

[8] 张全文, 冯 硕, 夏世信. 参苓白术散治疗腹泻型肠易激综

合征对症状、脑肠肽、IFN- γ 、IL-8 水平的影响[J]. 中药材, 2023, 46(4): 1030-1033.

[9] 张文杰. 基于 PI3K/AKT 通路探讨肠安菌泰对肝郁脾虚型 IBS-D 大鼠的作用机制[D]. 广州: 广州中医药大学, 2021.

[10] Chao G Q, Zhang S. The characteristics of intestinal flora of IBS-D with different syndromes [J]. *Immun Inflamm Dis*, 2020, 8(4): 615-628.

[11] Skrzydło-Radomska B, Prozorow-Król B, Cichoż-Lach H, et al. The effectiveness of synbiotic preparation containing *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* probiotic strains and short chain fructooligosaccharides in patients with diarrhea predominant irritable bowel syndrome—a randomized double-blind, placebo-controlled study [J]. *Nutrients*, 2020, 12(7): 1999.

[12] Sabo C M, Dumitrascu D L. Microbiota and the irritable bowel syndrome [J]. *Minerva Gastroenterol (Torino)*, 2021, 67(4): 377-384.

[13] Kataoka K. The intestinal microbiota and its role in human health and disease [J]. *J Med Invest*, 2016, 63(1-2): 27-37.

[14] Jandhyala S M, Talukdar R, Subramanyam C, et al. Role of the normal gut microbiota [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(29): 8787-8803.

[15] Lewis E D, Antony J M, Crowley D C, et al. Efficacy of *Lactobacillus paracasei* HA-196 and *Bifidobacterium longum* R0175 in alleviating symptoms of irritable bowel syndrome (IBS): a randomized, placebo-controlled study [J]. *Nutrients*, 2020, 12(4): 1159-1178.

[16] Wu K Q, Sun W J, Li N, et al. Small intestinal bacterial overgrowth is associated with Diarrhea-predominant irritable bowel syndrome by increasing mainly *Prevotella* abundance [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2019, 54(12): 1419-1425.

[17] Su T T, Liu R B, Lee A, et al. Altered intestinal microbiota with increased abundance of *Prevotella* is associated with high risk of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2018, 2018: 6961783.

[18] Xiao L, Liu Q, Luo M, et al. Gut microbiota-derived metabolites in irritable bowel syndrome [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 729346.

[19] Shaidullof I F, Sorokina D M, Sitdikov F G, et al. Short chain fatty acids and colon motility in a mouse model of irritable bowel syndrome [J]. *BMC Gastroenterol*, 2021, 21(1): 37-48.

[20] Jiang W X, Wu J L, Zhu S F, et al. The role of short chain fatty acids in irritable bowel syndrome [J]. *J Neurogastroenterol Motil*, 2022, 28(4): 540-548.