

基于 16S rRNA 测序和粪菌移植法探讨穿山龙总皂苷对高尿酸血症小鼠肠道菌群的影响

高 澳¹, 王晓菲¹, 卢 意¹, 卢柠霞¹, 王天雨¹, 卢 芳², 于栋华², 刘树民^{2*}

(1. 黑龙江中医药大学研究生院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江中医药大学中医药研究院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: 目的 基于 16S rRNA 测序和粪菌移植法 (FMT) 探讨穿山龙总皂苷对高尿酸血症小鼠肠道菌群的影响。

方法 大鼠随机分为空白组、模型组、穿山龙总皂苷组及别嘌醇组, 除空白组外, 其他 3 组灌胃给予 5% 氧嗪酸钾混悬液, 连续 5 周, 并给予 10% 酵母饲料; 第 3 周, 穿山龙总皂苷组及别嘌醇组分别灌胃给予 480 mg/kg 穿山龙总皂苷及 25 mg/kg 别嘌醇, 第 5 周采用全自动生化分析仪检测血清尿酸、尿素氮水平。建立伪无菌小鼠模型, 分为空白对照组、正常粪便移植组、模型粪便移植组、穿山龙总皂苷粪便移植组, 后三者分别灌胃给予空白组、模型组、穿山龙总皂苷组大鼠粪菌悬液, 连续 5 周, 对新鲜粪便进行 16S rRNA 测序, 全自动生化分析仪检测血清尿酸、尿素氮水平。

结果 经过粪菌移植给药穿山龙总皂苷后, 与模型粪便移植组比较, 穿山龙总皂苷粪便移植组尿酸水平及拟杆菌属、毛螺菌属丰度降低 ($P < 0.05$), 弯曲菌门、螺杆菌属、梭菌属丰度升高 ($P < 0.05$)。结论 穿山龙总皂苷可通过调控高尿酸血症小鼠的肠道菌群动态平衡, 影响其组成与功能, 从而降低血尿酸。

关键词: 穿山龙总皂苷; 高尿酸血症; 粪菌移植; 16S rRNA 测序; 肠道菌群

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)02-0634-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.02.045

近年来, 高尿酸血症的发病率迅速增长, 严重危害人们的健康。研究发现, 高尿酸血症与尿酸的排泄障碍有关^[1-2]。肠道作为尿酸排泄的重要潜在器官^[3], 不仅存在促进尿酸排泄的转运蛋白, 还有许多菌群及其代谢产物, 通过影响尿酸转运体、肠道屏障通透性及尿酸分解代谢来降低血尿酸水平^[4]。高尿酸血症患者和健康人群的肠道菌群分布也存在一定差异^[5-6]。这些发现为高尿酸血症相关肠道菌群的治疗探索奠定了基础。课题组前期研究发现, 中药穿山龙^[7] *Dioscorea nipponica* Makino 所富含的穿山龙总皂苷可通过调控菌群代谢产物短链脂肪酸的含量变化, 改变高尿酸血症大鼠肠道中厚壁菌、乳酸杆菌、梭菌、拟杆菌等^[8-9] 多种优势和劣势菌群的丰度, 从而降低尿酸^[10]。粪菌移植是一种新型疾病改善疗法, 用于确定微生物在肠道菌群失调相关疾病模型中的作用^[11-14]。该方法不仅可以模拟健康供体的肠道菌群状态, 还能改变疾病受体的肠道菌落结构, 重建健康的肠道微生物环境^[15]。因此, 本实验采用粪菌移植法研究穿山龙总皂苷干预后高尿酸血症小鼠肠道菌群变化, 希望通过改善和平衡肠道微生态系统, 发现治疗高尿酸血症疾病的新靶点和新策略。

1 材料

1.1 试剂与药物 穿山龙 (哈药集团世一堂中药饮片有限责任公司, 批号 z20190312); 穿山龙总皂苷由课题组前期实验制得^[9]。10% 酵母饲料 (北京科澳协力饲料有限公司, 批号 20220403); 别嘌醇 (合肥久联制药有限公司, 批号 20190204); 酵母粉 (广东环凯生物科技有限公司, 批号 20220320); 氧嗪酸钾、氨苄西林、硫酸新霉素、甲硝唑、万古霉素 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司, 批号 H2017152、A105483、N109017、M109874、V105495); MagPure Soil DNA LQ Kit (北京美基美生物科技有限公司, 批号 D6356-02); Qubit dsDNA Assay Kit (美国 Life Technologies 公司, 批号 Q32854); Tks Gflex DNA Polymerase (日本 TaKaRa 公司, 批号 R060B)。

1.2 仪器 JE502 电子天平 (上海浦春计量仪器有限公司); Pico17 离心机、Thermo 907 低温医疗冷冻冰箱 (美国 Thermo 公司); MS105DU 电子计量秤 (瑞士梅特勒-托利多公司); G240 全自动生化分析仪 (深圳雷杜生命科学股份有限公司); Covaris M220 超声波破碎仪 (杭州奥盛仪器有限公司); Centrifuge5418 台式高速离心机 (德国 Eppendorf

收稿日期: 2024-08-02

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目 (ZD2020H006)

作者简介: 高 澳 (1999—), 女, 硕士生, 研究方向为中药药性理论及药效物质基础。Tel: 13159811322, E-mail: 1453531667@qq.com

* 通信作者: 刘树民 (1963—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药药性理论及药效物质基础。Tel: 13945133028, E-mail: keji-liu@163.com

公司); 580BR10905 PCR 仪 (美国 Bio-rad 公司); HE-120 电泳仪、凝胶成像仪 (上海天能生命科学有限公司)

1.3 动物 40 只雄性 SPF 级 SD 大鼠, 8 周龄, 体质量 180~220 g; 40 只雄性 SPF 级 C57BL/6J 小鼠, 8 周龄, 体质量 18~22 g, 均购自辽宁长生生物技术股份有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (辽) 2020-0001]。适应性隔离喂养 7 d, 温度 22~26 °C, 相对湿度 50%~60%, 每天以 12 h/12 h 进行光/暗交替, 自由饮用无菌水, 给予普通灭菌饲料。本研究已获得黑龙江中医药大学伦理委员会批准 (伦理号 2024050703)。

2 方法

2.1 分组、造模及给药

2.1.1 粪菌悬液供体大鼠处理 40 只大鼠随机分为空白组、模型组、穿山龙总皂苷组、别嘌醇组, 每组 10 只。空白组大鼠连续 5 周灌胃给予无菌水并给予普通饲料, 其余 3 组大鼠灌胃给予 5% 氧嗪酸钾混悬液并给予 10% 酵母饲料, 连续 5 周。选择课题组前期研究所得最佳给药量^[9-10], 第 3 周开始, 穿山龙总皂苷组及别嘌醇组分别每天灌胃给予 480 mg/kg 穿山龙总皂苷及 25 mg/kg 别嘌醇。第 5 周取各组 SD 大鼠新鲜粪便于无菌管中, 于-80 °C 保存, 用于后续粪菌悬液的制备。

2.1.2 粪菌移植伪无菌小鼠处理 40 只小鼠随机分为空白对照组 (10 只)、伪无菌模型组 (30 只), 后者随机分为正常粪便移植组、模型粪便移植组、穿山龙总皂苷粪便移植组, 各 10 只。空白对照组给予无菌水、灭菌普通饲料和垫料, 伪无菌模型 3 组小鼠灌胃给予抗生素混合无菌水溶液 (200 μL/只), 每天 1 次, 同时饮用抗生素混合无菌水 (氨苄西林 1 g/L+硫酸新霉素 1 g/L+甲硝唑 1 g/L+万古霉素 500 mg/L), 无菌水每 2 天更换 1 次, 连续 2 周, 给予灭菌普通饲料和垫料。于第 15 天在无菌环境下收集小鼠新鲜粪便置于无菌冻存管中, 每组随机抽取 6 只小鼠进行粪便 16S rRNA 测序, 检测伪无菌模型是否成功建立。

若伪无菌小鼠模型建立成功, 则在第 3 周时, 对正常粪便移植组、模型粪便移植组、穿山龙总皂苷粪便移植组小鼠上午灌胃给予 5% 氧嗪酸钾混悬液, 并给予 10% 酵母

饲料进行高尿酸血症造模, 下午分别灌胃给予空白组、模型组、穿山龙总皂苷组大鼠粪便混悬液 (200 μL/只), 每天 1 次, 持续 5 周。空白对照组灌胃给予等体积生理盐水。于第 6 周取各组小鼠新鲜粪便置于液氮中, 对其进行 16S rRNA 测序。

2.2 药效生化指标检测

2.2.1 大鼠生化指标测定 给药 2 周后对取材完毕的大鼠麻醉处死, 腹主动脉取血, 3 500 r/min 离心 10 min, 取上清, 采用全自动生化仪检测尿酸、尿素氮水平, 确定高尿酸血症大鼠模型建立是否成功, 以及穿山龙总皂苷是否具有药效。

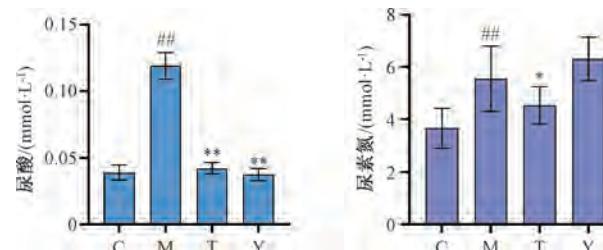
2.2.2 小鼠生化指标检测 对取材完毕的小鼠麻醉处死, 心脏采血, 采用全自动生化仪检测尿酸、尿素氮水平, 确定粪菌移植是否成功, 以及在粪菌移植中穿山龙总皂苷是否具有药效。

2.3 粪菌悬液制备方法 取“2.1.1”项下各组大鼠无污染粪便, 置于 37.5 °C 的恒温水浴锅中解冻 10 min。开启洁净工作台紫外灯, 灭菌 30 min, 开启洁净工作台风机 15 min, 离心管、纱布、网滤筛、烧杯等物品经高温高压灭菌后置于洁净工作台。每 200 mg 无污染粪便加入 2 mL PBS/DTT 无菌溶液, 在密闭厌氧状态下涡旋振荡 2 min, 100 μm 无菌滤网过滤 3 次, 得 100 mg/mL 粪菌悬液, 分装至 5 mL 无菌 EP 管中, 于-80 °C 保存。

2.4 统计学分析 通过 SPSS 26.0 软件进行处理, 数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 若方差齐, 进一步两两比较采用 LSD 分析, 方差不齐则采用 Games-Howell 分析。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 粪菌悬液供体大鼠药效生化指标 由图 1 可知, 与空白组比较, 模型组大鼠血清尿酸和尿素氮水平升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 说明高尿酸血症大鼠模型建立成功。与模型组比较, 穿山龙总皂苷组血清尿酸和尿素氮水平降低 ($P < 0.01$), 趋近于空白组, 说明穿山龙总皂苷对高尿酸血症具有一定的治疗作用, 故可以采用穿山龙总皂苷组大鼠粪便用于后续粪菌移植。



注: C 为对照组, M 为模型组, T 为穿山龙总皂苷组, Y 为阳性药别嘌醇组。与对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 1 各组大鼠血液中尿酸、尿素氮水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

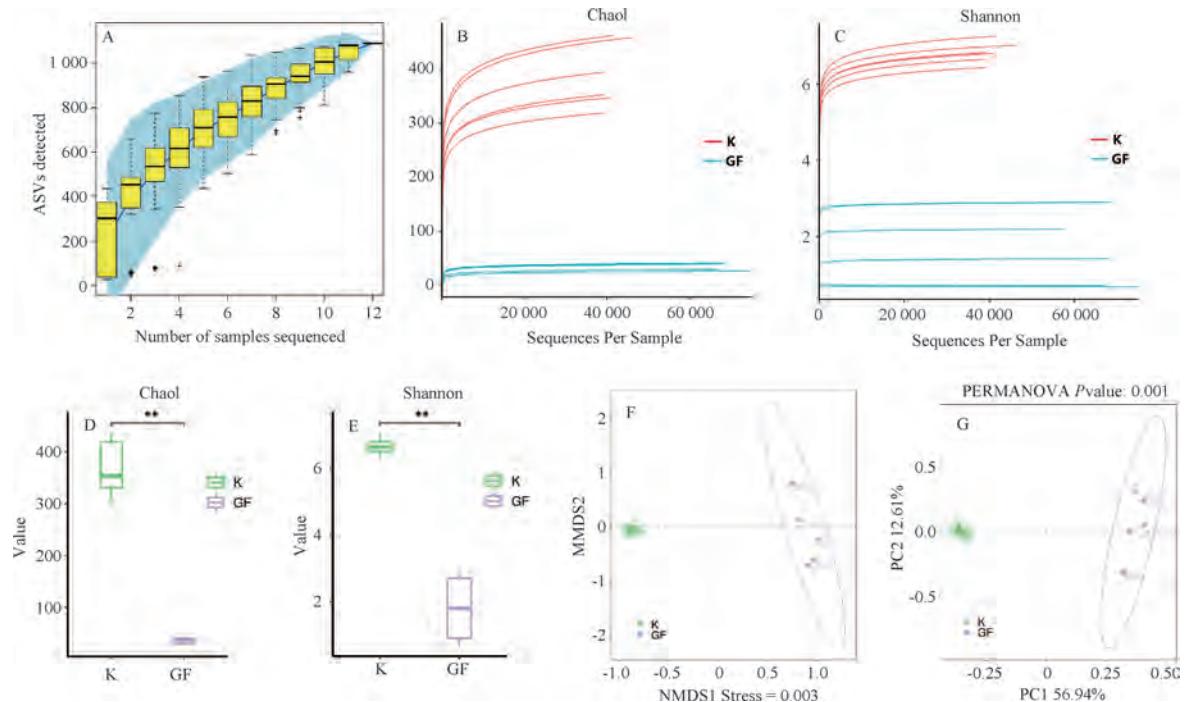
3.2 伪无菌模型建立

3.2.1 伪无菌小鼠测序质量评估 由图 2 可知, 当稀释曲线和箱形图位置随着样本量的增加而趋于平缓时, 提示样

本量充分, 各组样品达到应有的测序深度。对各组小鼠肠道菌落进行 Alpha 和 Beta 多样性评价, 结果显示, 与空白对照组比较, 伪无菌模型 3 组小鼠肠道菌群的丰度和多样

性下降 ($P<0.01$)，且空白对照组与伪无菌模型3组肠道

的菌落结构差异较大。



注：A 为物种累计曲线，B~C 为稀释曲线，D~E 为 Alpha 多样性分析，F~G 为 Beta 多样性分析。Chao1 为肠道菌群丰度，Shanno 为肠道菌群多样性。K 为空白对照组，GF 为伪无菌模型组。与空白对照组比较，** $P<0.01$ 。

图 2 伪无菌小鼠模型评估

3.2.2 伪无菌小鼠肠道菌群结构分布变化 由图3可知，与空白对照组比较，伪无菌模型3组在门、属分类水平上肠道菌群的多样性、丰富度下降 ($P<0.01$)；在门水平上发现伪无菌模型3组小鼠肠道拟杆菌（*Bacteroidota*）与厚壁菌门（*Firmicutes*）丰度下降 ($P<0.01$)；在属水平上，梭菌属（*Clostridia*）、普雷沃氏菌属（*Prevotellaceae*）、乳酸杆菌属（*Lactobacillus*）等也下降 ($P<0.01$)，说明抗生素干预后小鼠肠道菌群被大量剔除，伪无菌小鼠模型构建成功^[7]。

3.3 粪菌移植

3.3.1 粪菌移植小鼠药效生化指标 由图4可知，给予粪菌悬液5周后，与空白对照组比较，伪无菌模型3组小鼠血清尿酸、尿素氮水平升高 ($P<0.01$)，说明伪无菌小鼠的高尿酸血症模型构建成功。与模型粪便移植组比较，穿山龙总皂苷粪便移植组和正常粪便移植组小鼠血清尿酸水平降低 ($P<0.01$, $P<0.05$)，尿素氮水平升高 ($P<0.05$)，以前者更明显。

3.3.2 粪菌移植小鼠肠道菌群 Alpha 和 Beta 多样性 由图5可知，物种累计曲线和丰度等级反映样本量充分，且各组小鼠肠道菌群丰度高、物种分布均匀。与空白对照组比较，模型粪便移植组 Shannon 指数、simpson 指数降低 ($P<0.01$)；经灌胃给予粪菌悬液干预后，正常粪便移植组和穿山龙总皂苷粪便移植组小鼠的肠道菌群丰度升高 ($P<0.05$)。通过PCoA进行Beta分析，穿山龙总皂苷粪便移植组和正常粪便移植组肠道菌群结构最相近，其次是模型粪

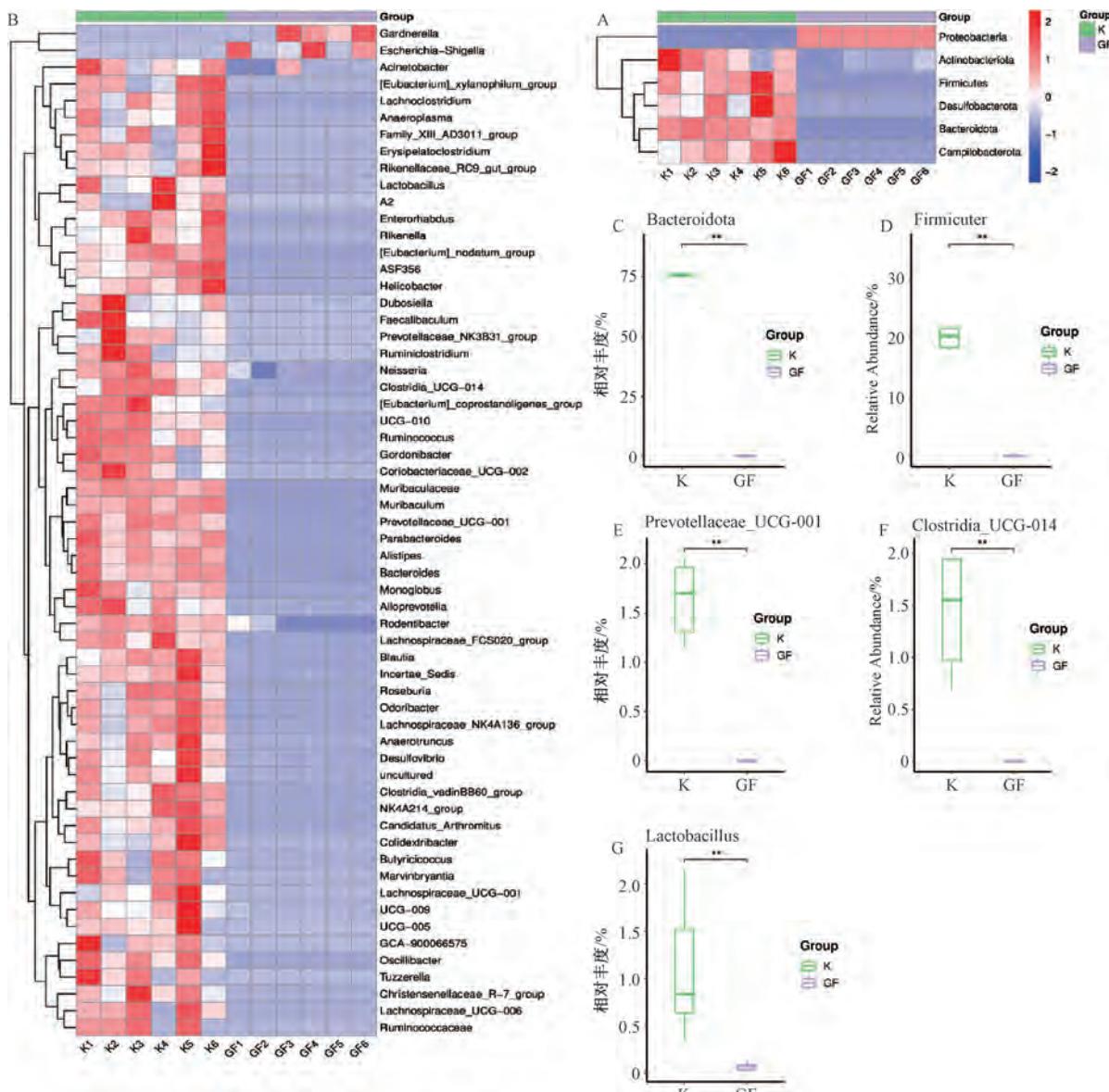
便移植组，空白对照组差异最大。

3.3.3 粪菌移植小鼠肠道菌群物种组成差异性分析 通过对各组小鼠的粪便进行16S rRNA测序，在门、属各水平上进行统计，挑选差异物种丰度前15位做相对丰度分析，比较差异物种在组内及组间丰度。由图6可知，与空白对照组比较，在门水平上，模型粪便移植组拟杆菌门丰度升高 ($P<0.01$)，弯曲菌门（*Campylobacterota*）、疣微菌门（*Verrucomicrobiota*）、厚壁菌门丰度下降 ($P<0.01$)；在属水平上，模型粪便移植组的拟杆菌属（*Bacteroides*）、肠杆菌属（*Muribaculaceae*）丰度升高 ($P<0.01$)，螺杆菌属（*Helicobacter*）、梭菌属、普雷沃氏菌属、乳酸杆菌属、毛螺菌属（*Lachnosporaceae*）丰度下降 ($P<0.01$)。

经粪菌移植给药后，与模型粪便移植组比较，正常粪便移植组及穿山龙总皂苷粪便移植组弯曲菌门、拟杆菌属、螺杆菌属、梭菌属均升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，且穿山龙总皂苷粪便移植组毛螺菌属丰度升高 ($P<0.05$)。

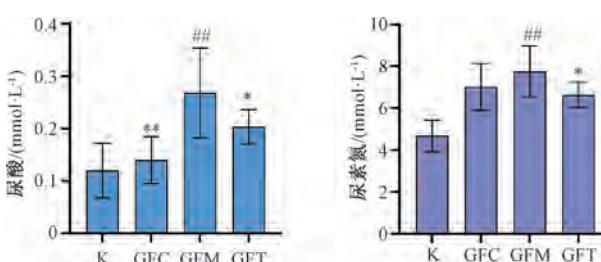
3.3.4 各组小鼠肠道菌群 Lefse 多级物种差异分析 根据LEfSe分析找到具有差异性影响的肠道菌群，结果见图7。在模型粪便移植组中，肠杆菌属、拟杆菌属、普雷沃氏菌属、*Anaerofilum*、*Dubosiella*富集。给予穿山龙总皂苷后，穿山龙总皂苷粪便移植组中普雷沃氏菌属、*Eubacterium*、*Parvibacter*、克里斯滕森氏菌属富集。

3.3.5 肠道菌群变化对机体代谢的影响 运用KEGG数据库进行分析，对一级生物代谢通路对比分析发现，相对丰度主要差异代谢通路为人类疾病。由图8可知，KEGG数据



注: A 为门水平菌群分布热图, B 为属水平菌群分布热图, C~D 为门水平差异分析, E~G 为属水平差异分析。K 为空白对照组, GF 为伪无菌模型组。与空白对照组比较, **P<0.01。

图3 伪无菌小鼠小鼠肠道菌群分布差异

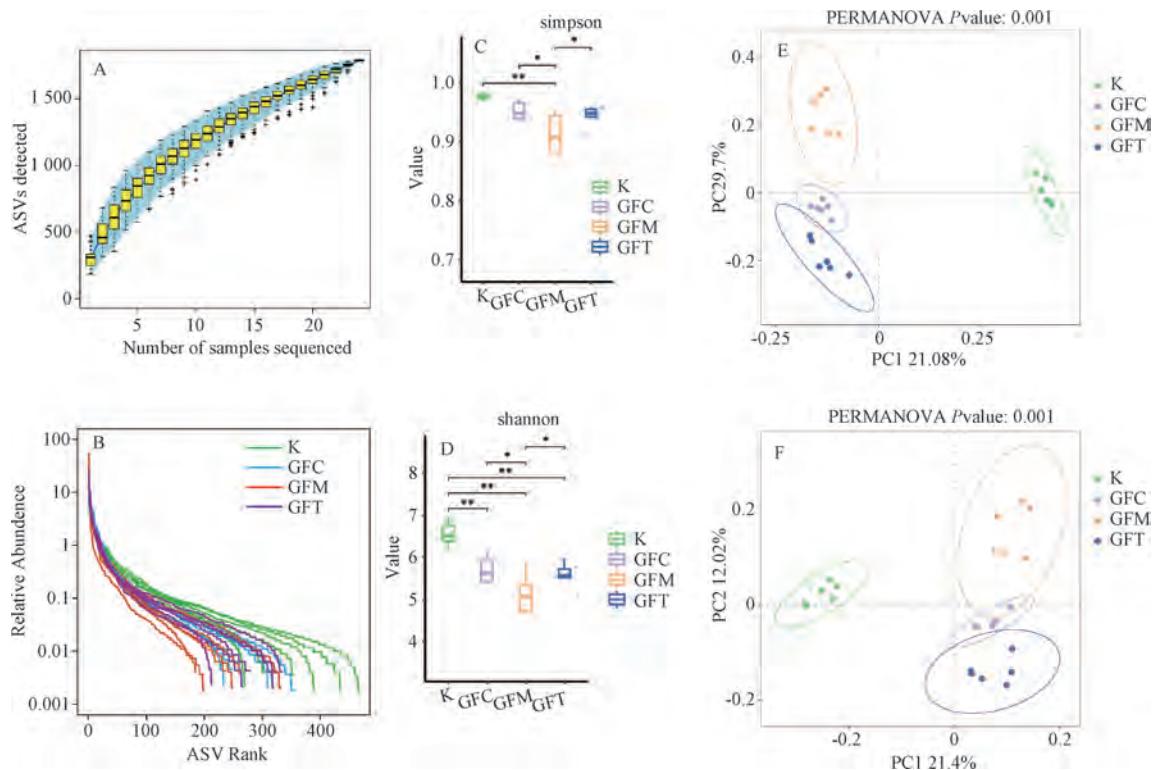


注: K 为空白对照组, GFC 为正常粪便移植组, GFM 为模型粪便移植组, GFT 为穿山龙总皂苷粪便移植。与空白对照组比较, **P<0.01; 与模型粪便移植组比较, *P<0.05, **P<0.01。

图4 粪菌移植小鼠血清尿酸、尿素氮水平 (n=10)

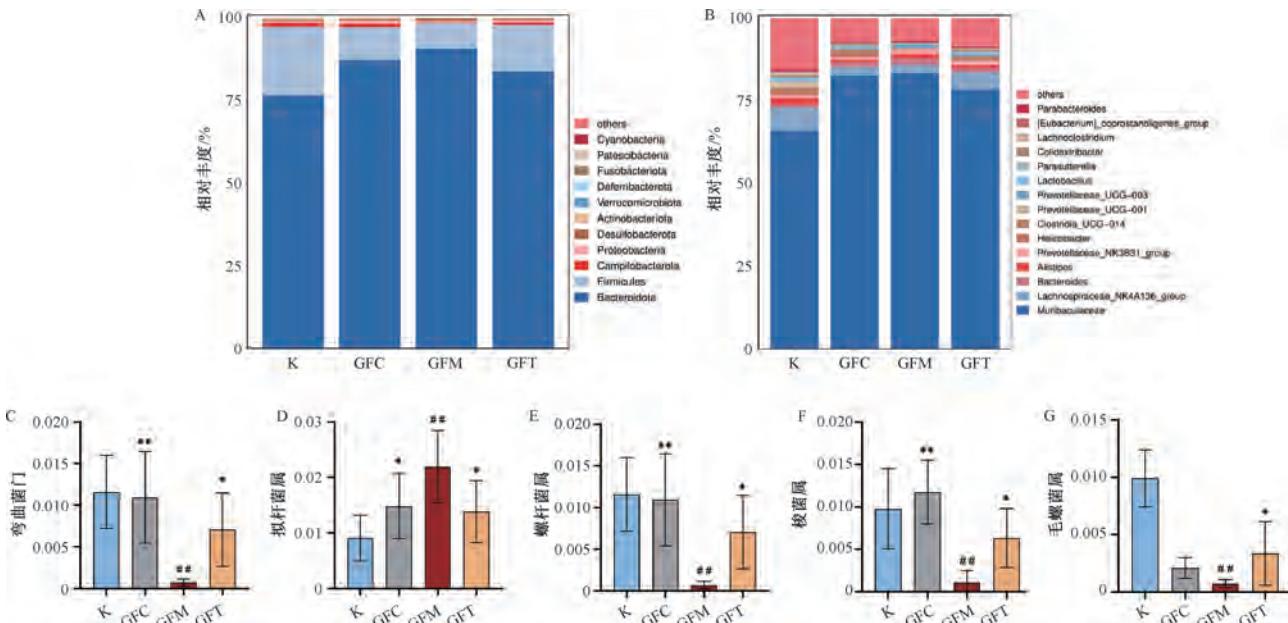
库菌群的代谢结果表明该代谢途径的二级通路中复制与修复代谢、核苷酸代谢、聚糖生物合成与代谢、耐药性 (抗

菌素) 代谢、萜类和聚酮类化合物代谢、细胞的生长与死亡代谢有差异 (P<0.05)。分析最相关代谢通路的三级通



注: A 为物种累计曲线, B 为丰度等级曲线, C~D 为 Alpha 多样性分析, E~F 为 Beta 多样性分析。K 为空白对照组, GFC 为正常粪便移植组, GFM 为模型粪便移植组, GFT 为穿山龙总皂苷粪便移植组。组间比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 5 粪菌移植小鼠肠道菌群 Alpha 和 Beta 多样性分析



注: A 为门水平物种分布, B 为属水平物种分布, C 为门水平差异菌群分析, D~G 为属水平差异菌群分析。K 为空白对照组, GFC 为正常粪便移植组, GFM 为模型粪便移植组, GFT 为穿山龙总皂苷粪便移植组。与空白对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型粪便移植组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 6 粪菌移植小鼠肠道菌群物种丰度分布情况及差异分析

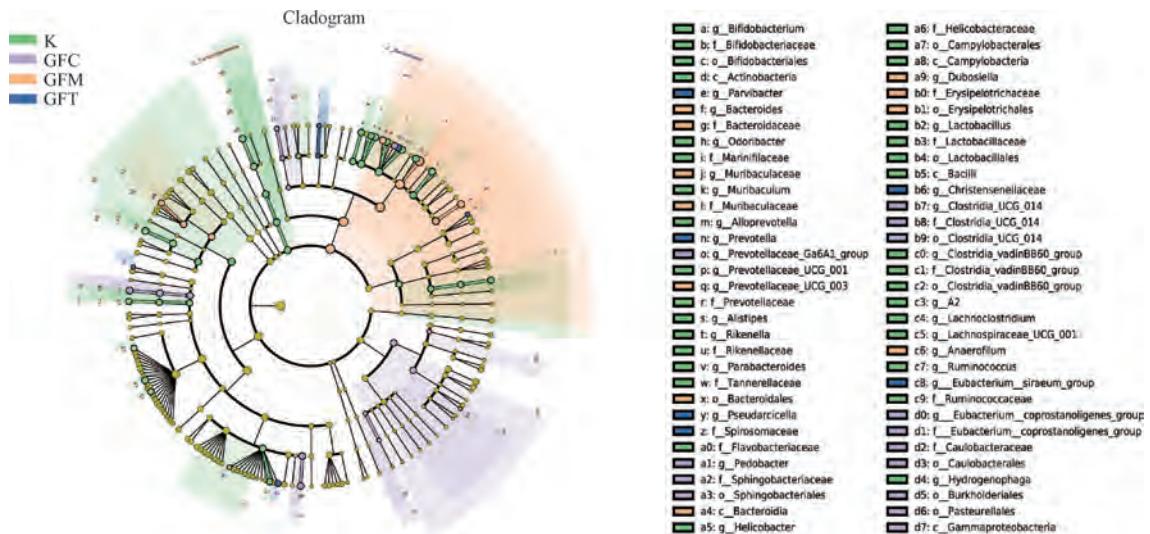
路结果表明, 与核糖体、嘌呤代谢、糖酵解/糖异生、嘧啶代谢、氨酰生物合成以及氧化磷酸化最相关 ($P < 0.05$)。

4 讨论

通过药效学研究获得的生化指标发现, 穿山龙总皂苷

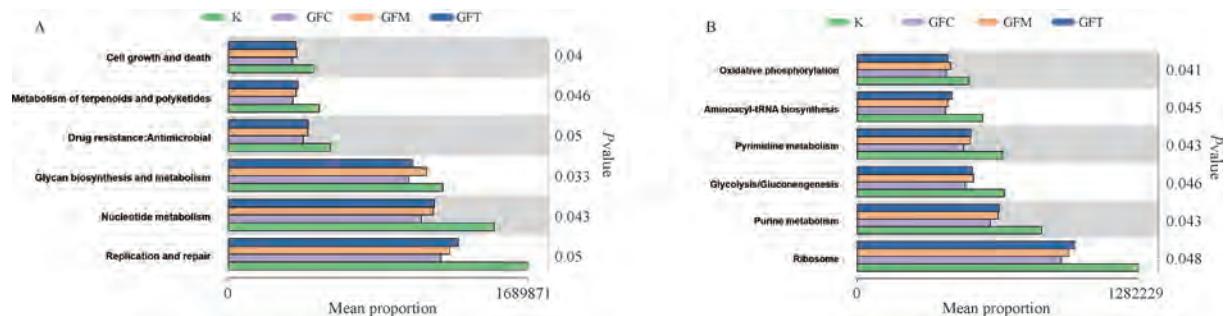
可以降低高尿酸血症大鼠的尿酸和尿素氮水平, 进而对高尿酸血症起到治疗作用。

在粪菌移植中, 被移植小鼠肠道中存在着大量定植菌会对实验结果产生一定影响^[16], 所以要提前采用抗生素混



注: K 为对照组, GFC 为正常粪便移植组, GFM 为模型粪便移植组, GFT 为穿山龙总皂苷粪便移植组。

图 7 各组小鼠肠道菌群 Lefse 多级物种差异分析



注：A 为二级代谢通路丰度对比图，B 为三级代谢通路丰度对比图。K 为空白对照组，GFC 为正常粪便移植组，GFM 为模型粪便移植组，GFT 为穿山龙总皂苷粪便移植组。

图 8 KEGG 差异结果条形图

合物处理方法剔除小鼠肠道绝大多数微生物，模拟无菌小鼠肠道微生物状态^[17-18]。成功诱导伪无菌小鼠模型后构建高尿酸血症模型，并进行粪菌移植给药干预。生化指标结果显示，模型粪便移植组的尿酸、尿素氮水平较高，这说明移植模型大鼠粪便后不但未改善小鼠高尿酸血症症状^[19]，反而会导致肠道菌群失调，使这种症状加剧。但穿山龙总皂苷粪便移植组和正常粪便移植组的尿酸、尿素氮水平均出现回调趋势，这说明通过粪菌移植给药穿山龙总皂苷能够降低高尿酸血症小鼠的尿酸及尿素氮水平，进而对高尿酸血症起到治疗作用。

从粪菌移植小鼠肠道菌群的 Alpha 和 Beta 多样性分析结果发现，比较于模型粪便移植组，穿山龙总皂苷粪便移植组的 Shannon、Simpson 指数回调 ($P < 0.05$)，这说明穿山龙总皂苷能够通过粪菌移植调节小鼠肠道中的菌群结构及丰度，维持其动态平衡。除此之外，经粪菌移植给药的伪无菌模型三组的菌群丰度区别且低于空白对照组，其原因可能在于粪菌移植虽然能够对抗生素处理后的肠道进行微生物菌落的重建，但是部分菌群由于丰度偏低而无法在小鼠肠道中定植，亦或是小鼠的生理代谢以及免疫体系对一些大鼠的肠道菌群具有排斥作用，从而致使此种状况。

但这也恰恰证明了粪菌移植方法成功在伪无菌小鼠肠道模拟了大鼠的肠道菌群结构并发挥效用。

通过肠道差异菌群结果分析可知, 经过粪菌移植给药穿山龙总皂苷后, 相对于模型粪便移植组, 穿山龙总皂苷粪便移植组中的弯曲菌门、厚壁菌门、疣微菌门、乳酸杆菌属、螺杆菌属、梭菌属、普雷沃氏菌属丰度均上升, 下调拟杆菌属、肠鼠杆菌属和 [*Eubacterium*] - *coprostanoligenes* - group 丰度。

有实验研究表明^[19-21]，拟杆菌丰度的增加和厚壁菌门、乳酸杆菌科的丰度降低时常伴随黄嘌呤氧化酶（xanthine oxidase, XOD，一种既能催化次黄嘌呤生成黄嘌呤，又能直接催化黄嘌呤生成尿酸的酶）活性的增强。普雷沃氏菌^[22]的丰度在痛风中富集，其脂质 A 结构有所不同（具有四或五条酰基链），不同的异构体脂质 A 的生物合成发生改变，可能对先天免疫应激和内毒素耐受性产生负面影响，从而引发炎症。而梭菌属^[23]能够产生丁酸脂，有助于维持肠道屏障，具有抗炎和免疫调节功能，这也与 Lin 等^[24-26]实验相印证。另外，螺杆菌感染可能导致慢性炎症。一些研究发现^[27-29]，螺杆菌丰度水平与 C 反应蛋白（C-reactive protein, CRP）的循环水平呈正相关，CRP 是高尿酸血症的

炎症标志物之一，幽门螺杆菌可能通过CRP介导高尿酸血症。毛螺菌^[30-33]是一种革兰氏阳性属，专门从事厌氧发酵以产生丁酸和乙酸等短链脂肪酸，这些物质具有抗炎、抗动脉粥样硬化和抗氧化作用，各种代谢疾病的发展与其密切相关。

综上所述，穿山龙总皂苷可能通过影响肠道菌群中弯曲菌、厚壁菌、拟杆菌、螺杆菌、乳酸杆菌、普雷沃氏菌属、梭菌等菌群丰度，影响肠道菌群的结构与功能，调控其中的动态平衡，进而影响与核糖体、嘌呤代谢、糖酵解/糖异生、嘧啶代谢、氨酰生物合成以及氧化磷酸化等代谢过程，通过抑制尿酸生成、促进尿酸排泄来实现降低血尿酸的作用。但是关于穿山龙总皂苷具体作用的菌种及其治疗高尿酸血症的潜在机制还需进一步深入探究。

参考文献:

- [1] Richette P, Bardin T. Gout[J]. *Lancet*, 2010, 375(9711): 318-328.
- [2] Yin H, Liu N, Chen J. The role of the intestine in the development of hyperuricemia[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 845684.
- [3] 张超, 常岭迪, 冯伟, 等. 高尿酸血症发病机制与治疗策略的研究进展[J]. 空军军医大学学报, 2024, 45(10): 1184-1190.
- [4] 刘银辉, 李明, 段丽丽, 等. 肠道菌群失调与高尿酸血症关系的研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2023, 35(2): 229-233.
- [5] Shao T J, Shao L, Li H C, et al. Combined signature of the fecal microbiome and metabolome in patients with gout[J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 268.
- [6] 蚁硕钊. 高尿酸血症患者肠道菌群的分析与乳酸菌对高尿酸血症大鼠的影响[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2022.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 267.
- [8] 于栋华, 王晓菲, 王宇, 等. 穿山龙总皂苷对高尿酸血症大鼠肠道菌群和短链脂肪酸代谢的影响[J]. 中医药学报, 2023, 51(7): 27-33.
- [9] 刘树民, 卢意, 轩秀秀, 等. 基于16S rRNA测序探讨穿山龙总皂苷对高尿酸血症大鼠的作用及机制[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(1): 163-167.
- [10] 刘树民, 林芳芳, 周琦. 穿山龙总皂苷治疗痛风性关节炎的药理作用研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(8): 3610-3613.
- [11] 黄璐. 慢传输型便秘动物模型的建立及肠道微生物多样性分析[D]. 南京: 南京大学, 2017.
- [12] 方晶. 基于肠道菌群对肠粘膜机械屏障影响探讨大黄泽泻汤治疗NAFLD机制的研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2018.
- [13] Zhang W Y, Zou G L, Li B, et al. Fecal microbiota transplantation (FMT) alleviates experimental colitis in mice by gut microbiota regulation[J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2020, 30(8): 1132-1141.
- [14] Bokoliya S C, Dorsett Y, Panier H, et al. Procedures for fecal microbiota transplantation in murine microbiome studies[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 711055.
- [15] 马磊, 邢卉春. 粪菌移植临床应用规范及前景[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2024, 16(1): 8-12; 4.
- [16] Lee S H, An J H, Lee H J, et al. Evaluation of pharmacokinetic differences of acetaminophen in pseudo germ-free rats[J]. *Biopharm Drug Dispos*, 2012, 33(6): 292-303.
- [17] 郑志天, 程教擘, 钟亚东, 等. 不同拟杆菌的定殖对伪无菌小鼠血清生化指标和短链脂肪酸的影响[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(2): 1-9.
- [18] Liang W O, Zhao L C, Zhang J F, et al. Colonization potential to reconstitute a microbe community in pseudo germ-free mice after fecal microbe transplant from equol producer[J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 1221.
- [19] Guo Z, Zhang J C, Wang Z L, et al. Intestinal microbiota distinguish gout patients from healthy humans[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 20602.
- [20] 康希, 郝慧汇, 穆成林, 等. 萍草不同提取物对高尿酸血症小鼠肠道菌群的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(17): 132-138.
- [21] Yamanaka H, Taniguchi A, Tsuboi H, et al. Hypouricaemic effects of yoghurt containing lactobacillus gasseri PA-3 in patients with hyperuricaemia and/or gout: A randomised, double-blind, placebo-controlled study[J]. *Mod Rheumatol*, 2019, 29(1): 146-150.
- [22] Chu Y L, Sun S L, Huang Y F, et al. Metagenomic analysis revealed the potential role of gut microbiome in gout[J]. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2021, 7(1): 66.
- [23] Méndez-Salazar E O, Vázquez-Mellado J, Casimiro-Soriguer C S, et al. Taxonomic variations in the gut microbiome of gout patients with and without tophi might have a functional impact on urate metabolism[J]. *Mol Med*, 2021, 27(1): 50.
- [24] Lin X Y, Shao T J, Huang L, et al. Simiao Decoction alleviates gouty arthritis by modulating proinflammatory cytokines and the gut ecosystem[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 955.
- [25] Han J J, Wang X F, Tang S S, et al. Protective effects of tuna meat oligopeptides (TMOP) supplementation on hyperuricemia and associated renal inflammation mediated by gut microbiota[J]. *FASEB J*, 2020, 34(4): 5061-5076.
- [26] Wang Z L, Li Y C, Liao W H, et al. Gut microbiota remodeling: A promising therapeutic strategy to confront hyperuricemia and gout[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 935723.
- [27] Watanabe J, Kotani K. The effect of *Helicobacter pylori* eradication on C-reactive protein: results from a meta-analysis[J]. *Arch Med Sci*, 2021, 18(4): 958-964.
- [28] Guo X Z, Tang P, Zhang X, et al. Causal associations of circulating *Helicobacter pylori* antibodies with stroke and the mediating role of inflammation[J]. *Inflamm Res*, 2023, 72(6): 1193-1202.

- [29] Liang J, Jiang Y T, Huang Y F, et al. The comparison of dyslipidemia and serum uric acid in patients with gout and asymptomatic hyperuricemia: a cross-sectional study[J]. *Lipids Health Dis*, 2020, 19(1): 31.
- [30] Cao C, Li F, Ding Q, et al. Potassium sodium hydrogen citrate intervention on gut microbiota and clinical features in uric acid stone patients[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2024, 108(1): 11-15.
- [31] Dou L, Liu C, Chen X Y, et al. Supplemental *Clostridium butyricum* modulates skeletal muscle development and meat quality by shaping the gut microbiota of lambs[J]. *Meat Sci*, 2023, 204: 109235.
- [32] Zang L, Baharlooian M, Terasawa M, et al. Beneficial effects of seaweed-derived components on metabolic syndrome via gut microbiota modulation[J]. *Front Nutr*, 2023, 10: 1173225.
- [33] Zhao R J, Li N, Liu W, et al. Low glycemic index potato biscuits alleviate physio-histological damage and gut dysbiosis in rats with type-2 diabetes mellitus induced by high-sugar and high-fat diet and streptozotocin[J]. *J Nutr Biochem*, 2023, 119: 109401.

基于网络药理学与动物实验探讨参芪抑瘤方对胃癌癌前病变的影响

彭月^{1,2}, 梁建庆^{1,3*}, 段永强^{4*}, 张延英^{1,5}, 白敏¹, 虎峻瑞⁴, 宋冰^{1,5}, 袁晓梅¹, 刘自由¹

(1. 甘肃中医药大学, 甘肃兰州 730000; 2. 敦煌医学与转化教育部重点实验室, 甘肃兰州 730000; 3. 甘肃省中医方药挖掘与创新转化重点实验室, 甘肃兰州 730000; 4. 宁夏医科大学中医学系, 宁夏银川 750004; 5. 甘肃省实验动物行业技术中心, 甘肃兰州 730000)

摘要: 目的 基于网络药理学与动物实验探讨参芪抑瘤方对胃癌癌前病变的影响。方法 通过TCMSP数据库获取参芪抑瘤方有效成分和作用靶点, 通过GeneCards数据库获取胃癌癌前病变相关靶点, Cytoscape 3.10.0软件构建“药物-成分-靶点-疾病”网络, 通过STRING数据库建立PPI网络, 进行GO功能和KEGG通路富集分析。SD大鼠随机分为空白组、模型组、叶酸组(2 mg/kg)和参芪抑瘤方高、中、低剂量组(37.5、18.75、9.38 g/kg), 每组10只, 采用复合慢性损伤因素造模法构建胃癌癌前病变模型。观察大鼠一般情况变化, HE染色观察大鼠胃组织形态变化, ELISA法检测大鼠胃组织IL-6、IL-17A、TGF-β水平, RT-qPCR法和Western blot法检测大鼠胃组织TLR4、MyD88、NF-κB、FOXP3、RORγt mRNA和蛋白表达。结果 共获得参芪抑瘤方与胃癌癌前病变交集靶点137个, 涉及79种活性成分, KEGG通路富集分析结果表明, 参芪抑瘤方可能通过Toll样受体信号通路作用于胃癌癌前病变。与空白组比较, 模型组大鼠胃黏膜结构排列紊乱, 显微镜下可见肠上皮化生, 上皮细胞异型以及细胞核的增大、拉长, 胃组织IL-17A、IL-6水平和TLR4、MyD88、NF-κB、RORγt mRNA和蛋白表达升高($P<0.05$), TGF-β水平和FOXP3 mRNA和蛋白表达降低($P<0.05$); 与模型组比较, 各给药组大鼠胃黏膜腺体异常改善, 参芪抑瘤方各剂量组大鼠胃组织IL-17A、IL-6水平降低($P<0.05$), 各给药组大鼠胃组织TGF-β水平和FOXP3 mRNA表达和蛋白表达升高($P<0.05$), TLR4、MyD88、NF-κB、RORγt mRNA和蛋白表达降低($P<0.05$)。结论 参芪抑瘤方可能通过抑制TLR4/NF-κB信号通路, 调控Th17/Treg免疫平衡轴, 进而减轻胃癌癌前病变大鼠胃组织的炎症反应, 改善生存状况。

关键词: 参芪抑瘤方; 胃癌癌前病变; 网络药理学; TLR4/NF-κB通路; Th17/Treg

中图分类号: R285.5; R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)02-0641-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.02.046

收稿日期: 2024-03-25

基金项目: 甘肃省自然科学基金(20JR10RA314); 宁夏回族自治区重点研发计划项目(2022BEG03150)

作者简介: 彭月(1996—), 女, 硕士生, 从事消化系统疾病及中医老年病相关中药防治研究。Tel: 15893305132, E-mail: 395047959@qq.com

*通信作者: 梁建庆(1976—), 男, 博士, 教授, 副主任医师, 博士生导师, 从事中医药防治帕金森病、肿瘤及糖尿病研究。Tel: 13639332348, E-mail: 1766424015@qq.com

段永强(1974—), 男, 教授, 博士生导师, 从事中医老年病、脾胃病和敦煌古医方研究。Tel: 18893117856, E-mail: dyqgs2008@163.com