

吉尼德协对2型糖尿病大鼠肠道真菌、病毒和古菌的影响

汪丽洁¹, 丁 银¹, 陶乙文¹, 伍金丹增^{2*}, 范 刚^{1*}, 张 艺¹

(1. 成都中医药大学民族医药学院, 四川成都 611137; 2. 德格县藏医院/藏医药研究所, 四川德格 627250)

摘要: 目的 从肠道真菌、病毒和古菌角度探讨吉尼德协对2型糖尿病(T2DM)大鼠的影响。方法 通过小剂量链脲佐菌素(STZ)配合高脂饲料诱导建立T2DM大鼠模型, 灌胃吉尼德协(0.330、0.165、0.083 g/kg)和二甲双胍(0.25 g/kg)进行干预, 通过检测空腹血糖(FBG)、糖化血清蛋白(GSP)、血清脂质水平(TG、TC、LDL-C、HDL-C)和炎症因子(IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、LPS)等指标评价吉尼德协对T2DM大鼠的改善作用, 并采用宏基因组学测序技术结合多样性分析、线性判别分析和方差分析筛选各组大鼠的差异肠道真菌、病毒和古菌。结果 与模型组比较, 吉尼德协高、中剂量组和二甲双胍组T2DM大鼠FBG、GSP、TG、TC、LDL-C、LPS、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平均降低($P<0.05$, $P<0.01$), HDL-C水平均升高($P<0.05$, $P<0.01$)。吉尼德协能够改善肠道真菌、病毒和古菌的紊乱, 包括提高有益菌的丰度和降低有害菌的丰度, 且部分菌与T2DM相关生化指标密切相关。结论 吉尼德协具有良好改善T2DM的作用, 其机制与调节肠道真菌、病毒和古菌有关。

关键词: 吉尼德协; 2型糖尿病; 肠道真菌; 肠道病毒; 肠道古菌; 宏基因组

中图分类号: Q93; R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)11-3765-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.11.035

藏药吉尼德协, 又名糖尿康, 为四川南派藏医药治疗“京尼萨库”(糖尿病)的代表性复方制剂, 在临幊上治疗糖尿病已有10余年历史, 疗效确切、安全可靠^[1]。该制剂由小檗皮、诃子、余甘子、姜黄、蒺藜、鸭嘴花、红花和多花黄芪8味药材组成, 能调和“隆”“赤巴”和“培根”三因紊乱, 具有强身壮体、补肾、延年益寿、滋养生精等作用, 临幊主要用于治疗“京尼萨库”引起的口干、多饮多食、多汗、消瘦、足脚麻木、视物昏花等症状^[2-3]。然而, 其作用机制尚未完全阐明, 影响其开发利用。

人体肠道内栖息着细菌、真菌、病毒和古菌等微生物^[4], 在疾病治疗中起重要作用。现有研究多聚焦于细菌^[5-6], 如片仔癀通过调节肠道菌群改善非酒精性脂肪肝, 而对肠道真菌、病毒、古菌的研究较少。随着高通量测序技术的飞速发展, 肠道微生物的研究已不再局限于细菌, 肠道真菌、病毒和古菌在药物治疗疾病过程中所发挥的作用越来越不容忽视。因此, 本研究采用宏基因组学技术重点研究吉尼德协对2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)大鼠肠道真菌、病毒和古菌的影响, 以探讨其潜在的作用机制。

1 材料

1.1 实验动物 SPF级雄性SD大鼠, 6周龄, 体质量160~180 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)2020-030], 饲养于成都中医药大学药学院动物房[实验动物使用许可证号SYXK(川)2020-124], 环境温度20~26℃, 日温差≤4℃, 相对湿度40%~70%, 昼夜明暗交替时间为12 h/12 h。动物实验经成都中医药大学实验动物伦理委员会批准(登记号2021-44)。

1.2 药物 吉尼德协(川药制字Z20060121)购自四川省德格县藏医院。前期已经确定了吉尼德协中主要有效成分(木兰花碱、药根碱、小檗碱、姜黄素、去甲氧基姜黄素、没食子酸、诃黎勒酸、阿魏酸4-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、羟基红花黄色素A、芦丁、阿魏酸、鞣花酸)的含量^[7]。

1.3 试剂 盐酸二甲双胍片(中美上海施贵宝制药有限公司, 批号ABS9845); 链脲佐菌素链(streptozotocin, STZ)[西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司, 批号WXBD7077V]; 低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high

收稿日期: 2025-02-11

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFC3504402; 2023YFC3504403)

作者简介: 汪丽洁(1999—), 女, 博士生, 研究方向为民族药的药效物质基础及作用机制。Tel: (028) 61656141, E-mail: 3061900491@qq.com

*通信作者: 范刚(1983—), 男, 博士, 教授, 研究方向为民族药的药效物质基础及作用机制。Tel: (028) 61656141, E-mail: fangang1111@163.com

伍金丹增(1978—), 男(藏族), 硕士, 副主任藏医师, 研究方向为藏医临床研究。Tel: (028) 61656141, E-mail: 1043091135@qq.com

density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC) 检测试剂盒 (长春汇力生物技术有限公司, 批号 C070-a、C069-a、C061-a、C063-a); 糖化血清蛋白 (glycated serum protein, GSP)、脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)、白细胞介素 (lipopolysaccharide, IL)-6、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 检测试剂盒 (江苏酶免实业有限公司, 批号 MM-0735R1、MM-0647R1、MM-0190R1、MM-0047R1、MM-0180R1)。

1.4 仪器 安稳⁺血糖仪 (三诺生物传感股份有限公司); TGL-16C 台式高速冷冻离心机 (长沙高新技术产业开发区湘仪离心机仪器有限公司); BK-200 全自动生化分析仪 (山东博科科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 大鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为正常组和造模组。正常组采用普通饲料喂养, 造模组给予高脂饲料喂养 4 周。4 周后, 所有大鼠禁食 12 h, 造模组腹腔注射 1% STZ 溶液 (35 mg/kg), 正常组注射等量缓冲液 (pH 4.1), 继续高脂饲料喂养 72 h 后, 尾尖采血检测空腹血糖 (fasting blood-glucose, FBG), 以 FBG ≥ 11.0 mmol/L 且连续 3 次测定稳定视为造模成功。根据临床剂量换算, 设置吉尼德协高、中、低剂量为 0.330、0.165、0.083 g/kg, 二甲双胍剂量为 0.25 g/kg。各给药组每天灌胃相应剂量 1 次, 连续给药 40 d。给药前后测定 FBG 变化, 末次给药后禁食 12 h, 腹主动脉采血并分离血清, 同时收集新鲜粪便样本, 所有生物样本均于-80 ℃ 保存备用。

2.2 生化指标检测 采用全自动生化分析仪检测大鼠血清 TG、TC、LDL-C、HDL-C 水平。按试剂盒说明书检测大鼠血清 GSP、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、LPS 水平。

2.3 宏基因组学测序 基于药效学评估结果, 选取吉尼德协高剂量组进行宏基因组学测序。取正常组、模型组和吉尼德协组大鼠的新鲜粪便样本, 使用 Magnetic Soil And Stool DNA Kit 提取 DNA, 并进行严格的质检操作。利用 NEBNext[®] UltraTM DNA Library Prep Kit 来生成测序文库。构建好的文库随后在 Illumina Novaseq 6000 测序平台上进行测序。使用 fastp 软件对测序原始数据进行预处理, 再利用 BWA 软件将处理后的数据与宿主数据库比对, 以排除宿主污染。通过 MEGAHIT 软件进行数据拼接组装, 生成 Contigs。筛选出长度超过 800 bp 的 Contigs, 借助 Prodigal 软件预测并翻译这些 Contigs 中的开放阅读框 (open reading frame, ORF), 以识别和分析潜在的基因序列。为了降低数据冗余, 采用 CD-HIT 软件进行去冗余处理, 选择最长序列作为代表性序列, 生成非冗余基因集。利用 bowtie2 软件将每个样本的 clean reads 与非冗余基因集进行比对, 以计算各基因在各样品中的丰度信息, 从而分析样本的微生物组成。整个测序过程委托上海中科新生命生物科技有限公司完成。

2.4 数据分析 采用 GraphPad Prism (Version 9.3.1) 软

件进行处理, 计量资料以均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 多组间比较单因素方差分析。为评估肠道微生物群落间 α 多样性, 采用 R 语言软件包 phyloseq 进行计算, 根据 α 多样性结果进行方差分析。为评估不同组样本间 β 多样性, 根据 Bray Curtis 距离进行主坐标分析, 并使用 R 语言软件包 vegan 进行相似性分析。为评估差异显著物种的影响力, 采用线性判别分析效应大小 (LDA Effect Size, LEfSe) 分析筛选差异菌, 并进行方差分析, 首先进行正态检验, 若数据满足正态分布, 两两比较采用 *t* 检验; 若不满足正态分布, 组间比较采用曼-惠特尼秩和检验 (Mann-Whitney)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。此外, 将药效指标和差异微生物相对丰度分别导入 R 语言软件进行 Spearman 秩相关性分析, 并绘制热图。

3 结果

3.1 吉尼德协对 T2DM 大鼠血糖水平的影响 与正常组比较, 模型组大鼠 FBG 和 GSP 水平升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 吉尼德协高、中剂量组及二甲双胍组大鼠 FBG 和 GSP 水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 见表 1。结果表明, 吉尼德协可降低 T2DM 大鼠血糖水平, 改善其血糖紊乱。

表 1 各组大鼠 FBG 和 GSP 水平比较 (mmol/L, $\bar{x}\pm s$, n=8)

组别	FBG	GSP
正常组	4.51±0.24	1.66±0.10
模型组	22.31±1.41 ^{##}	2.54±0.11 ^{##}
二甲双胍组	13.04±0.87 ^{**}	1.96±0.10 ^{**}
吉尼德协高剂量组	16.51±0.41 ^{**}	1.97±0.08 ^{**}
吉尼德协中剂量组	18.90±0.84 [*]	2.10±0.12 [*]
吉尼德协低剂量组	20.34±0.75	2.11±0.11 [*]

注: 与正常组比较, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ 。

3.2 吉尼德协对 T2DM 大鼠血脂水平的影响 与正常组比较, 模型组大鼠血清 TG、TC 和 LDL-C 水平均升高 ($P < 0.01$), 而 HDL-C 水平降低 ($P < 0.01$), 说明 T2DM 大鼠血脂发生了明显的紊乱; 与模型组比较, 吉尼德协高剂量组及二甲双胍组大鼠血清 TG、TC 和 LDL-C 水平均降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), HDL-C 水平升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 见表 2。结果表明, 吉尼德协能够改善 T2DM 大鼠血脂紊乱状况。

3.3 吉尼德协对 T2DM 大鼠炎症水平的影响 与正常组比较, 模型组大鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 LPS 水平均升高 ($P < 0.01$), 说明模型大鼠有明显的炎症; 与模型组比较, 吉尼德协各剂量组和二甲双胍组大鼠血清 TNF- α 、IL-6 和 LPS 水平均降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 吉尼德协高、中剂量组以及二甲双胍组大鼠血清 IL-1 β 水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 见表 3。结果表明, 吉尼德协在降低 T2DM 大鼠炎症水平方面有良好效果。

3.4 基于宏基因组学吉尼德协对 T2DM 大鼠肠道真菌、病毒和古菌的影响 对正常组、模型组和吉尼德协大鼠粪便样本进行测序, 获得总计 1 063 731 388 bp 的最终测序数据量, 过滤掉宿主后的 reads 总数与原始序列的占比超过了

表2 各组大鼠血清TG、TC、LDL-C和HDL-C水平比较 (mmol/L, $\bar{x}\pm s$, n=8)

组别	TG	TC	LDL-C	HDL-C
正常组	0.45±0.06	1.45±0.12	0.30±0.02	1.34±0.06
模型组	2.14±0.26 ^{##}	4.27±0.36 ^{##}	1.68±0.09 ^{##}	0.53±0.07 ^{##}
二甲双胍组	0.99±0.18 ^{**}	2.61±0.39 [*]	0.79±0.13 ^{**}	1.08±0.10 ^{**}
吉尼德协高剂量组	1.43±0.10 [*]	2.64±0.33 ^{**}	0.91±0.14 ^{**}	0.93±0.07 ^{**}
吉尼德协中剂量组	1.45±0.30	2.70±0.37 [*]	0.93±0.14 ^{**}	0.80±0.07 [*]
吉尼德协低剂量组	1.61±0.19	3.25±0.56	1.29±0.16	0.81±0.05 [*]

注：与正常组比较，^{##}P<0.01；与模型组比较，^{*}P<0.05，^{**}P<0.01。

表3 各组大鼠血清TNF-α、IL-6、IL-1β和LPS水平比较 (ng/L, $\bar{x}\pm s$, n=8)

组别	TNF-α	IL-6	IL-1β	LPS
正常组	319.40±8.73	320.50±12.55	327.50±10.04	140.00±7.78
模型组	448.60±14.24 ^{##}	459.80±15.86 ^{##}	449.30±12.19 ^{##}	207.20±7.19 ^{##}
二甲双胍组	408.30±15.83 [*]	403.20±13.03 [*]	411.40±8.85 [*]	172.90±8.64 [*]
吉尼德协高剂量组	388.10±8.82 [*]	394.00±12.03 ^{**}	389.10±10.09 ^{**}	168.90±7.40 ^{**}
吉尼德协中剂量组	386.50±11.99 [*]	411.40±11.41 [*]	407.80±11.37 [*]	177.60±6.62 [*]
吉尼德协低剂量组	395.40±13.05 [*]	418.10±8.52 [*]	417.00±11.15	181.10±8.69 [*]

注：与正常组比较，^{##}P<0.01；与模型组比较，^{*}P<0.05，^{**}P<0.01。

97%。针对不同测序深度序列进行组装，本次拼接 contigs N50 介于 1 676 bp 和 5 170 bp 之间，基因预测结果一共得到 8 227 123 条 ORF 序列，最小长度为 500 bp，最大长度为 804 144 bp，N50 平均为 3 018 bp。

3.4.1 对真菌的影响 物种组成分析结果显示，在受试大鼠的肠道内，*Saccharomycetaceae*、*Neocallimastigaceae*、*Kazachstanian*、*Nakaseomyces*、*Candida glabrata* 和 *Kazachstanian naganishii* 占主导地位，见图 1。与正常组比较，模型组大鼠肠道真菌的 α 多样性降低。 β 多样性分析结果提示，正常组、模型组和吉尼德协组大鼠的肠道真菌组成存在差异 ($P<0.01$)。通过 LEfSe 分析筛选出 14 种肠道真菌生物标志物（科 5 个，属 5 个，种 4 个）。标志物方差分析结果显示，给药后，*Saccharomycetaceae* 相对丰度增加，而 *Neocallimastigaceae*、*Mucor*、*Alternaria*、*Mucor ambiguus* 和 *Anaeromyces robustus* 相对丰度减少。结果表明，吉尼德协可明显调节 T2DM 大鼠的肠道真菌紊乱。

3.4.2 对病毒的影响 物种组成分析揭示大鼠肠道内的主要病毒家族为 *Siphoviridae*、*Podoviridae*、*Tequaviridae*、*Scapnavirus* 和 *Bacteriophage sp*，见图 2。 α 多样性分析结果表明，与正常组比较，模型组大鼠肠道病毒多样性降低。 β 多样性分析结果显示，正常组、模型组和吉尼德协组大鼠肠道病毒组成有差异 ($P<0.01$)。此外，通过 LEfSe 分析筛选出了 8 种组间差异肠道病毒生物标志物，包括 1 个科、3 个属和 4 个种。进一步方差分析显示，给药后，*Lactobacillus prophage Lj771* 减少，而噬菌体 *Phage DP-2017a* 增加。结果表明，吉尼德协可调节 T2DM 大鼠的肠道病毒组紊乱。

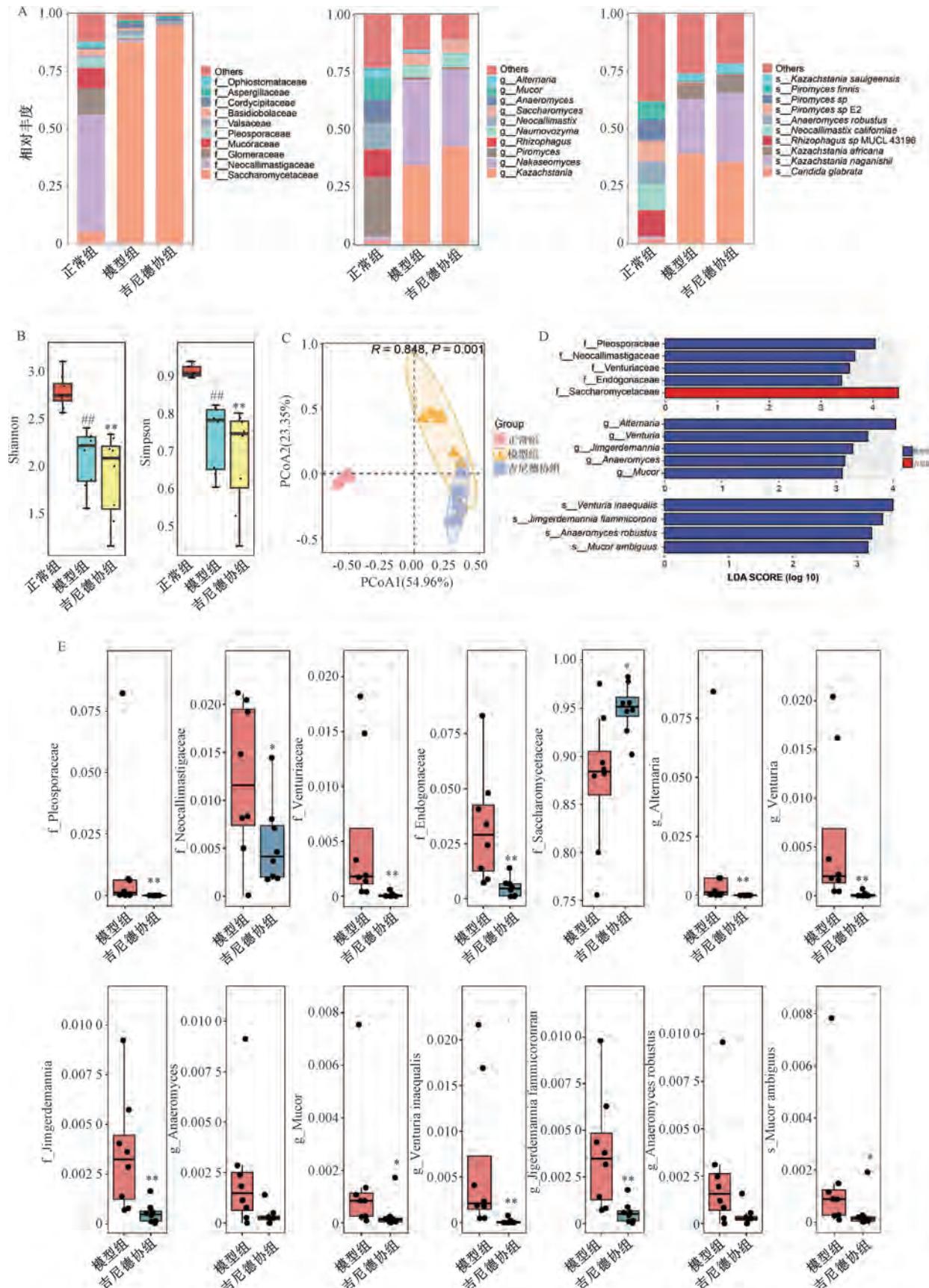
3.4.3 对古菌的影响 物种组成分析发现，*Methanospaera cuniculi* 为大鼠肠道中的主要古菌，见图 3。 α 多样性分析结果显示，与正常组比较，模型组大鼠肠道中古菌的多样性增加，而吉尼德协给药后可降低 T2DM 大鼠肠道古菌的多样性水平。此外， β 多样性分析结果表明，正常组、模

型组和吉尼德协组大鼠肠道古菌组成有着显著差异 ($P<0.01$)。根据 LEfSe 分析结果，筛选出了 29 种组间差异肠道古菌生物标志物，包括 *Methanosarcinaceae* 等 10 个科、*Methanosa* 等 7 个属和 *Methanobrevibacter ruminantium* 等 12 个种。方差分析结果发现，吉尼德协给药后 3 个古菌科和 3 个古菌种被富集，而 6 个古菌科、6 个古菌属和 9 个古菌种（特别是产甲烷菌 *Methanobrevibacter ruminantium*）的相对丰度减少。结果表明，吉尼德协可调节 T2DM 大鼠的肠道古菌紊乱。

3.4.4 药效学指标与肠道真菌、病毒和古菌的相关性分析 肠道微生物与药效指标之间的相关性分析结果见图 4。(1) 肠道真菌，*Saccharomycetaceae* 与 GSP 呈负相关，但与 HDL-C 呈正相关；*Mucor* 和 *Mucor ambiguus* 与 FBG 和 TC 呈正相关，但与 HDL-C 呈负相关；*Alternaria* 与血糖、血脂及炎症多个指标呈正相关，与 HDL-C 呈负相关。(2) 肠道病毒，*Vequintavirus* 与 FBG、TG、LDL-C、IL-6 和 IL-1 β 呈正相关，但与 HDL-C 呈负相关；噬菌体 *Phage DP-2017a* 与 FBG、GSP、LDL-C、IL-6、IL-1 β 和 LPS 呈负相关，与 HDL-C 呈正相关。(3) 肠道古菌，*Thermococcus* 与 FBG、GSP、TC、LDL-C 和 TNF- α 呈正相关，与 HDL-C 呈负相关；而 *Methanospirillum hungatei* 和产甲烷菌种 *Methanobrevibacter ruminantium* 与血糖、血脂及炎症多个指标呈负相关，与 HDL-C 呈正相关。

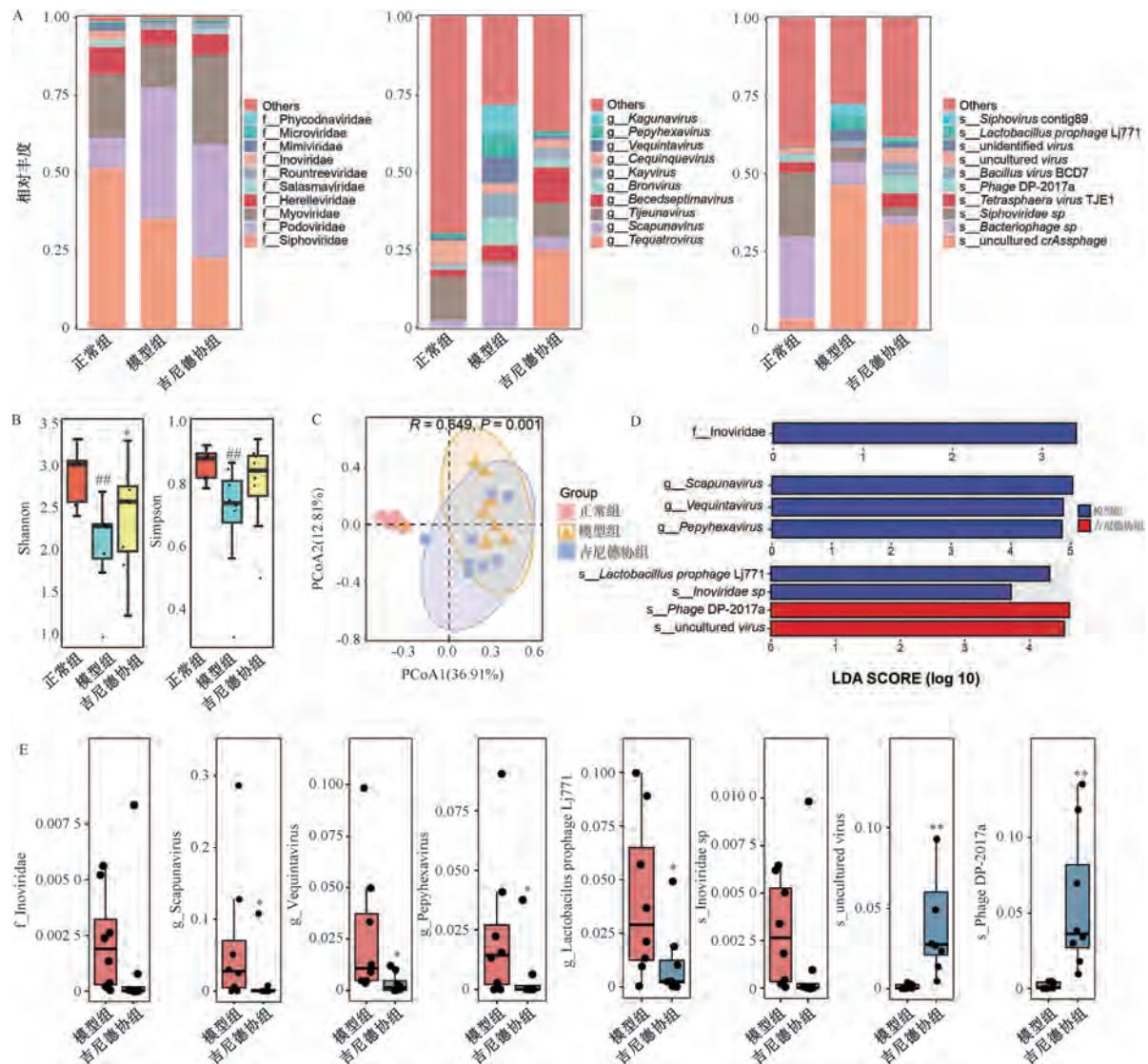
4 讨论

近年来，除了肠道细菌、真菌、病毒和古菌等与人类疾病发展息息相关。*Meyerozyma guilliermondii* 能将花生四烯酸转化为前列腺素 E₂，引起肝脏脂质积聚^[8]。在临床研究中，T2DM 患者体内的肠道病毒组多样性减少，特定病毒种类改变，多种病毒功能丧失^[9]。粪便病毒组移植可减轻小鼠肥胖和 T2DM 症状^[10]。肠道中 *Methanobrevibacter* 古菌的缺乏可导致脂肪酸氧化减少和厌氧菌过度生长，从而诱发肠易激综合征^[11]。这些研究结果证实了肠道真菌、病毒和



注: A 为物种组成分析, B 为 α 多样性分析, C 为 β 多样性分析, D 为 LEfSe 分析, E 为方差分析。与正常组比较, $^{##} P < 0.01$; 与模型组比较, $^* P < 0.05$, $^{**} P < 0.01$ 。

图 1 吉尼德协对 T2DM 大鼠肠道真菌的影响



注: A 为物种组成分析, B 为 α 多样性分析, C 为 β 多样性分析, D 为 LEfSe 分析, E 为方差分析。与正常组比较, $^{**}P<0.01$; 与模型组比较, $*P<0.05$, $^{**}P<0.01$ 。

图 2 吉尼德协对 T2DM 大鼠肠道病毒的影响

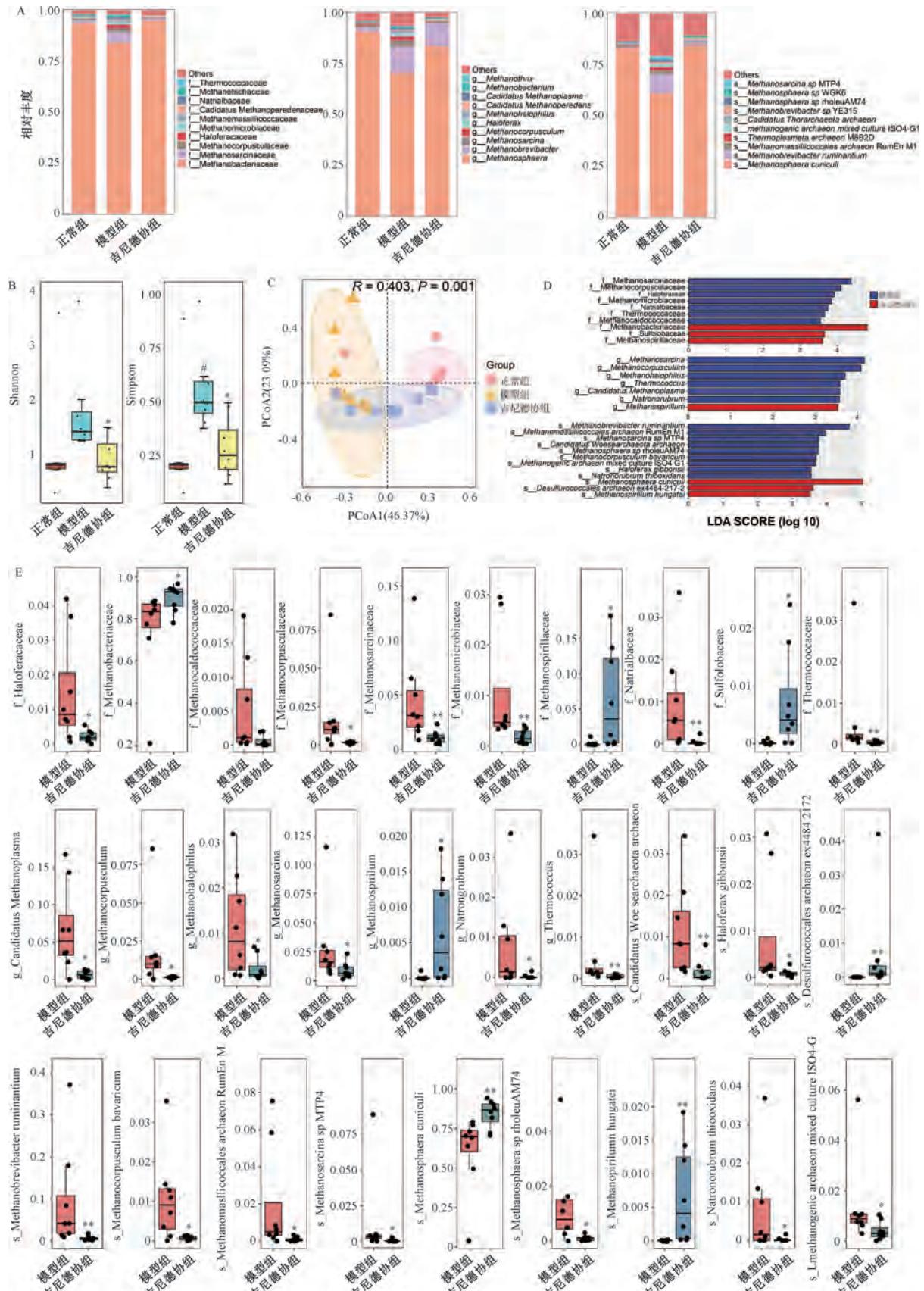
古菌在人类疾病中的重要作用,也提示这些微生物或可成为药物治疗疾病的新靶点。

吉尼德协在临幊上用于治疗 T2DM 已有多年,疗效确切。课题组前期已证实吉尼德协能改善 T2DM 大鼠的肠道细菌紊乱,从而发挥药效作用的能力^[12]。然而,该研究聚焦于肠道细菌,对于肠道真菌、病毒和古菌的影响尚不清楚。与 16S rRNA 技术相比,宏基因组学技术具有更广泛的注释能力,能够同时识别肠道内的真菌、病毒和古菌,为探索肠道微生物与药物治疗疾病之间的关系提供了新的视角和有力支撑^[13-14]。

本研究发现,吉尼德协能够降低 T2DM 大鼠血糖水平、改善血脂紊乱。此外,炎症反应会加重 T2DM 的发展^[15],而吉尼德协可降低 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 LPS 水平,改善 T2DM 的慢性炎症。由药效指标与肠道微生物的相关性分析发现 *Saccharomycetaceae*、*Phage DP 2017a*、*Methanobrevibacter*

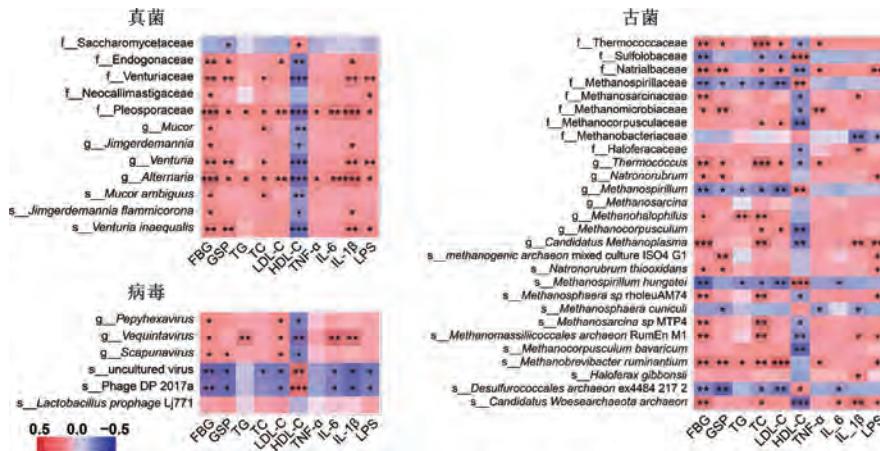
ruminantium 与血糖、血脂及炎症相关指标呈负相关,而 *Mucor ambiguum* 和肠道病毒 *Vequintavirus* 与血糖、血脂及炎症相关指标呈正相关。

宏基因组学分析发现,吉尼德协能降低肠道中 *Mucor* 水平,且 *Mucor ambiguum* 与体质量指数、TC、LDL-C 等呈正相关^[16],*Mucor* 还可损伤肠道屏障^[17]。吉尼德协还能降低肠道 *Alternaria* 相对丰度,其代谢产物 *Alternaria mycotoxins* 会损害 DNA,并影响巨噬细胞表型和炎症反应^[18]。吉尼德协能降低 *Alternaria* 相对丰度,或能降低其有害代谢物在体内的积聚,从而改善炎症。尽管本研究初步观察到 *Mucor* 与 *Alternaria* 等丰度的降低与 T2DM 病理进程存在潜在关联,但同时也观察到了药物干预引发的菌群动态的“异常”变化,如造模阶段增殖的菌群,在给药阶段持续扩增,而受到抑制的菌群在给药后进一步耗竭。此类现象在菌群-药物互作中并非孤例,其深层机制与药物压力



注：A 为物种组成分析，B 为 α 多样性分析，C 为 β 多样性分析，D 为 LEFSe 分析，E 为方差分析。与正常组比较， $^{\#}P<0.05$ ；与模型组比较， $^{*}P<0.05$ ， $^{**}P<0.01$ 。

图 3 吉尼德协对 T2DM 大鼠肠道古菌的影响



注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图4 T2DM 大鼠关键肠道菌群与药效学指标的相关性分析

下菌群的双重适应性息息相关。(1)代谢层面,耐药菌通过激活解毒通路或重构代谢网络,将药物毒性转化为生存优势;(2)生态层面,敏感菌群受抑制或外源干预引发的竞争失衡,促进耐药菌的正反馈扩增^[19-20]。这种代谢与生态的协同适应机制,不仅揭示了菌群在药物干预中的动态演化复杂性,也提示其单一靶向调控策略的局限性,其实际作用需结合多维调控网络综合评估^[21]。

本研究还发现吉尼德协改变了T2DM大鼠的肠道病毒组成,尤其是富集噬菌体Phage DP-2017a。噬菌体能通过肠道上皮细胞进入全身循环,并通过调控细胞因子的释放以及T细胞和B细胞的活性,对人体免疫系统产生重要的影响^[22]。吉尼德协还降低了古菌Methanobrevibacter ruminantium的相对丰度,这种古菌在生物体内与碳水化合物的耗竭密切相关,它可通过代谢氢产生甲烷,并影响细菌的定植情况^[23-24]。

参考文献:

- [1] 黄宇,蒋舜媛.南派藏医药发展探讨[J].中国民族民间医药杂志,2005(1): 4-9.
- [2] 鄢良春,华桦,李莉,等.藏药复方TKF对自发性2型糖尿病小鼠(KK-Ay小鼠)糖代谢的作用研究[J].中药药理与临床,2007,23(5): 198-200.
- [3] 李琪,杜欢,文焕松,等.藏族药小檗皮中6种成分的含量测定及不同品种比较研究[J].中国中药杂志,2019,44(5): 968-974.
- [4] Yilmaz B, Juillerat P, Øyås O, et al. Microbial network disturbances in relapsing refractory Crohn's disease[J]. Nat Med, 2019, 25(2): 323-336.
- [5] Gou H, Su H, Liu D, et al. Traditional medicine Pien Tze Huang suppresses colorectal tumorigenesis through restoring gut microbiota and metabolites[J]. Gastroenterology, 2023, 165(6): 1404-1419.
- [6] Yi Z, Chen L, Wang Y, et al. The potential mechanism of Liu-Wei-Di-Huang Pills in treatment of type 2 diabetic mellitus: From gut microbiota to short-chain fatty acids metabolism[J].
- [7] 彭芳,赵紫薇,罗玉婷,等.高效液相色谱-三重四极杆质谱法同时测定藏药制剂吉尼德协中12种成分的含量[J].中国新药杂志,2023,32(19): 2001-2008.
- [8] Sun S, Wang K, Ma K, et al. An insoluble polysaccharide from the sclerotium of *Poria cocos* improves hyperglycemia, hyperlipidemia and hepatic steatosis in ob/ob mice via modulation of gut microbiota[J]. Chin J Nat Med, 2019, 17(1): 3-14.
- [9] Fan G, Cao F, Kuang T, et al. Alterations in the gut virome are associated with type 2 diabetes and diabetic nephropathy[J]. Gut Microbes, 2023, 15(1): 2226925.
- [10] Rasmussen T S, Mentzel C M J, Kot W, et al. Faecal virome transplantation decreases symptoms of type 2 diabetes and obesity in a murine model[J]. Gut, 2020, 69(12): 2122-2130.
- [11] Orgler E, Baumgartner M, Duller S, et al. Archaea influence composition of endoscopically visible ileocolonic biofilms[J]. Gut Microbes, 2024, 16(1): 2359500.
- [12] Tao Y, Peng F, Wang L, et al. Ji-Ni-De-Xie ameliorates type 2 diabetes mellitus by modulating the bile acids metabolism and FXR/FGF15 signaling pathway[J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1383896.
- [13] Eisenstein M. Microbiology: Making the best of PCR bias[J]. Nat Methods, 2018, 15(5): 317-320.
- [14] Gu W, Miller S, Chiu C Y. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection[J]. Annu Rev Pathol, 2019, 14: 319-338.
- [15] 官庆华,姜雪梅,李新焕.蕨麻多糖通过调控miR-421表达对LPS诱导的心肌细胞炎症反应及凋亡的影响[J].中国免疫学杂志,2023,39(1): 81-85.
- [16] Niu C, Tu Y, Jin Q, et al. Mapping the human oral and gut fungal microbiota in patients with metabolic dysfunction-associated fatty liver disease[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2023, 26, 13: 1157368.
- [17] Mueller K D, Zhang H, Serrano C R, et al. Gastrointestinal microbiota alteration induced by *Mucor circinelloides* in a murine model[J]. J Microbiol, 2019, 57(6): 509-520.

- [18] Solhaug A, Wisbech C, Christoffersen T E, et al. The mycotoxin alternariol induces DNA damage and modify macrophage phenotype and inflammatory responses[J]. *Toxicol Lett*, 2015, 239(1): 9-21.
- [19] Li Y, Zhao L, Sun C, et al. Regulation of gut microflora by *Lactobacillus casei* Zhang attenuates liver injury in mice caused by anti-Tuberculosis drugs[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(11): 9444.
- [20] Trepka K R, Kidder W A, Kyaw T S, et al. Expansion of a bacterial operon during cancer treatment ameliorates fluoropyrimidine toxicity[J]. *Sci Transl Med*, 2025, 17(794): eadq8870.
- [21] Wang L, Zhang K, Zeng Y, et al. Gut mycobiome and metabolic diseases: the known, the unknown, and the future[J]. *Pharmacol Res*, 2023, 193: 106807.
- [22] Cao Z, Sugimura N, Burgermeister E, et al. The gut virome: a new microbiome component in health and disease[J]. *EBioMedicine*, 2022, 81: 104113.
- [23] Ruaud A, Esquivel-Elizondo S, de la Cuesta-Zuluaga J, et al. Syntrophy via interspecies H₂ transfer between *Christensenella* and *Methanobrevibacter* underlies their global cooccurrence in the human gut[J]. *mBio*, 2020, 11(1): e03235-19.
- [24] Madigan K E, Bundy R, Weinberg R B. Distinctive clinical correlates of small intestinal bacterial overgrowth with methanogens[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2022, 20(7): 1598-1605. e2.

左归丸对妊娠糖尿病孕鼠胎盘外泌体分泌及外泌体 miR-127-3p 表达的影响

王超群, 孙凯男, 许凯霞, 吴玉洁, 杨敏, 任晓怡, 王永辉^{*}
(山西中医药大学, 山西晋中 030619)

摘要: 目的 研究左归丸对妊娠糖尿病 (GDM) 孕鼠胎盘外泌体分泌及外泌体 miR-127-3p 表达的影响。方法 SD 大鼠以雌雄 2:1 同笼结合链脲佐菌素腹腔注射的方法复制 GDM 大鼠模型, 造模成功后, 空白组和模型组给予生理盐水灌胃, 胰岛素组给予甘精胰岛素 20 U/kg 皮下注射, 左归丸组给予左归丸 (4.5、9、18 g/kg) 灌胃给药。于受孕第 3 天 (E3d)、E6d、E18d 及 E21d 记录随机血糖情况; E6d、E18d、E21d 记录体重质量情况。E21d 时, 检测孕鼠血清 FBG、FINS, 并计算 HOMA-IR 值; 超速离心提取羊水胎盘外泌体并用透射电镜、NTA、Western blot 法鉴定后检测其含量, RNA-seq 技术检测胎盘外泌体中 miR-127-3p 表达, HE 染色观察胎盘组织病理变化。结果 E6d, 与空白组比较, 模型组血糖升高 ($P<0.01$)。E21d, 与空白组比较, 模型组血清 FBG、HOMA-IR 升高 ($P<0.01$), 血清 FINS、羊水胎盘外泌体、PLAP 与 miR-127-3p 的表达量降低 ($P<0.01$); 与模型组比较, 胰岛素组和左归丸各剂量组血清 FBG、HOMA-IR 降低 ($P<0.01$), 血清 FINS、羊水胎盘外泌体及 PLAP 升高 ($P<0.01$), miR-127-3p 表达升高 ($P<0.01$); 与胰岛素组比较, 左归丸各剂量组血清 FBG、HOMA-IR 升高 ($P<0.01$), PLAP 及 miR-127-3p 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。模型组胎盘较空白组病理性改变严重; 左归丸干预后胎盘病变略有减轻, 中剂量组减轻较多; 胰岛素组病变相对最轻。**结论** 左归丸通过促进 GDM 孕鼠胎盘外泌体分泌, 提高 miR-127-3p 表达, 改善胎盘病理病变。

关键词: 左归丸; 妊娠糖尿病; 葡萄糖稳态; 胎盘外泌体; miR-127-3p

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)11-3772-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.11.036

妊娠糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 指妇女在妊娠期间出现的血糖异常升高的现象, 会导致流产、死胎、滑胎等不良妊娠结局^[1]。胎盘外泌体是妊娠期间参与母体生理功能和胎儿生长发育的主要外泌体。正常情况下, 胎盘外泌体通过调节母体葡萄糖稳态及胰岛素抵抗促

进其营养物质的合理分配, 调节子代的正常发育。而在 GDM 中, 对母体的调节能力减弱可引起子代代谢疾病的发生^[2-3], 且 GDM 会改变胎盘的糖原细胞积累, 增加其氧化应激反应, 损害胎盘血管形成。据报道, 哺乳动物 miRNA 能够促进胎盘滋养层的形成, 增强胎盘免疫功能, 促进胎

收稿日期: 2025-03-07

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (82205173); 山西省中医药管理局重点研究室项目 (zyyyis2024023); 山西中医药大学优秀博士毕业生来晋工作奖励经费科研启动基金项目 (2022BKS15); 山西中医药大学博士科研启动基金项目 (ZYYBS202303)

作者简介: 王超群 (1992—), 女, 博士, 讲师, 从事中药药理与方剂配伍作用的研究。E-mail: 1529971436@qq.com

*通信作者: 王永辉 (1974—), 男, 博士, 教授, 从事中药药理与方剂配伍作用的研究。E-mail: wyh766188@sina.com