

(12): 130485.

[14] Schürks M, Glynn R J, Rist P M, *et al.* Effects of vitamin E on stroke subtypes; meta-analysis of randomised controlled trials [J]. *BMJ*, 2010, 341: c5702.

[15] Loh H C, Lim R, Lee K W, *et al.* Effects of vitamin E on stroke: a systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis[J]. *Stroke Vasc Neurol*, 2021, 6(1): 109-120.

[16] 兰 欣, 党少农, 赵亚玲, 等. 维生素 E 补充对心脑血管疾病影响随机对照试验 meta 分析 [J]. 中国公共卫生, 2015, 31(11): 1497-1501.

[17] Gureev A P, Shaforostova E A, Starkov A A, *et al.* β -Guanidinopropionic acid stimulates brain mitochondria biogenesis and alters cognitive behavior in nondiseased mid-age mice [J]. *J Exp Neurosci*, 2018, 12: 1179069518766524.

[18] Pedley A M, Benkovic S J. A new view into the regulation of purine metabolism; the purinosome [J]. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42(2): 141-154.

[19] Mádrová L, Krijt M, Barešová V, *et al.* Mass spectrometric analysis of purine *de novo* biosynthesis intermediates [J]. *PLoS One*, 2018, 13(12): e0208947.

[20] Nyhan W L. Disorders of purine and pyrimidine metabolism [J]. *Mol Genet Metab*, 2005, 86(1-2): 25-33.

[21] Liu L X, Zhou X Y, Zhang Y Q, *et al.* Hippocampal metabolic differences implicate distinctions between physical and psychological stress in four rat models of depression [J]. *Transl Psychiatry*, 2018, 8(1): 4.

紫苏汤对抗生素诱导的肠道菌群失调小鼠菌群多样性及结构的影响

席素曼¹, 王亚静^{1*}, 赵 鑫^{2*}, 苗小雨¹, 张紫千¹, 赵 森¹
(1. 天津中医药大学现代中药发现与制剂技术教育部工程研究中心, 天津 301617; 2. 天津中医药大学方剂学教育部重点实验室, 天津 301617)

摘要: **目的** 探讨紫苏汤对肠道菌群失调小鼠多样性及组成的影响。**方法** 将小鼠随机分为正常组、模型组及紫苏汤低、高剂量组, 每组 8 只。除正常组外, 其余组连续灌胃给予抗生素 8 d 后, 再分别灌胃给予等量无菌水和紫苏汤溶液 1.82、3.64 g/kg 8 d, 记录小鼠体质量、摄食量、饮水量的变化。收集各组新鲜粪便样本, 进行 16S rRNA 高通量测序, 对肠道菌群多样性、物种差异性进行分析。**结果** 抗生素干预 8 d 后, 小鼠精神状态较萎靡, 有稀便现象出现, 摄食量减少, 饮水量增多; 而停用抗生素后, 小鼠摄食量增多, 饮水量减少; 紫苏汤可使小鼠精神状态恢复, 减轻稀便, 改善摄食量和饮水量。肠道菌群多样性分析显示, 抗生素干预后, 小鼠肠道菌群多样性降低, 而紫苏汤可使小鼠肠道菌群丰富度和多样性增加, 菌群结构向对照组靠近。门水平分析显示, 紫苏汤干预后, 小鼠肠道中厚壁菌门丰度增加, 变形菌门和疣微菌门丰度降低。属水平分析显示, 紫苏汤干预后, 小鼠肠道中乳杆菌属丰度增加, 克雷伯氏菌属、埃希氏-志贺氏菌属及韦荣氏球菌属丰度降低。**结论** 紫苏汤对肠道菌群失调有积极作用, 可改善小鼠的肠道菌群结构, 抑制致病菌并促进有益菌。

关键词: 紫苏汤; 肠道菌群; 16S rRNA 测序
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)06-2079-07
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.06.052

感染后咳嗽是指当呼吸道感染的急性期症状消失后, 咳嗽仍迁延不愈^[1-2]。感染后咳嗽常为自限性疾病, 可自行缓解, 但部分患者仍咳嗽顽固, 甚至发展为慢性咳嗽, 近年此病患率率逐渐升高^[3]。对出现感染后咳嗽症状患者的微生物群进行评估时发现其肠道菌群紊乱, 总体细菌多样性较低, 菌群结构发生改变^[4-6]。且有研究表明, 感染后咳嗽存在肺部与肠道菌群相互作用的“肠-肺轴”, 影响肠道与肺部的健康^[7-10]。许多肠道微生物也可以参与多种感染后咳嗽的治疗, 例如乳杆菌^[11]、双歧杆菌^[12]、链球菌^[13]、肠球菌^[14]等。

紫苏汤收载于宋代的《太平惠民和剂局方》, 由紫苏叶、乌梅、苦杏仁、甘草组成^[15-18], 其在临床上对感染后

收稿日期: 2023-08-11
基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81803959); 国家中医药管理局中医药创新团队及人才支持计划项目 (ZYXCXTD-C-202009); 天津市科技计划项目 (19ZYPTJC00060, 18ZXXYSY00130)
作者简介: 席素曼 (1998—), 女, 硕士生, 从事药物制剂与新药开发研究。Tel: 15128896265, E-mail: 810707020@qq.com
* **通信作者:** 王亚静 (1969—), 女, 研究员, 从事药物制剂与新药开发研究。Tel: (022) 59596169, E-mail: yajing022@163.com
赵 鑫 (1989—), 女, 博士, 副研究员, 从事中药微生物组学研究。Tel: 15510969668, E-mail: x.zhao26@tjutcm.edu.cn

咳嗽的作用已得到证实。已有研究表明，方中的乌梅^[19]、甘草^[20]具有调节肠道菌群作用，紫苏叶^[21-22]、苦杏仁^[23]具有抑菌作用，但紫苏汤的治疗作用是否与调节肠道菌群结构有关尚未明确，考虑到紫苏汤可能是通过“肠-肺轴”来治疗感染后咳嗽，本研究拟通过抗生素干预小鼠模拟感染后咳嗽肠道菌群紊乱模型，采用 16S rRNA 高通量测序技术分析小鼠肠道菌群多样性及组成，探究紫苏汤对抗生素诱导的肠道菌群失调小鼠菌群多样性及结构的影响。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 BALB/c 雄性小鼠 32 只，8 周龄，由北京华阜康生物科技股份有限公司提供 [实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2019-0008]，饲养于天津中医药大学动物中心 SPF 级动物房，环境温度 (22±2)℃，相对湿度 (50±5)%，明暗各 12 h，自由进食和饮水，适应性饲养 7 d。本实验经天津中医药大学动物研究伦理委员会批准 (伦理号 TCM-LAEC2021206)。

1.2 试剂与药物 氨苄青霉素 (批号 325P021)、硫酸新霉素 (批号 910J053)、甲硝唑 (批号 125N023)、盐酸万古霉素 (批号 716R026) 均购自北京索莱宝科技有限公司。乌梅 (批号 201007)、紫苏叶 (批号 201007)、苦杏仁 (批号 201007)、甘草 (批号 201007) 均购自北京同仁堂 (集团) 有限责任公司并由其鉴定为正品。

1.3 仪器 Milli-Q 超纯水处理器 (美国 Millipore 公司)；ZDHW 调温电热套 (北京中兴伟业仪器有限公司)；EYELA N-1100 旋转蒸发仪 (上海爱朗仪器有限公司)；Alpha2-4 LSC basic 冷冻干燥机 (德国 Christ 公司)；HH-2 数显恒温水浴锅 (常州越新仪器制造有限公司)；KQ-400KDE 高功率数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

2 方法

2.1 紫苏汤制备 参考 2020 年版《中国药典》^[24]，分别选择迷迭香酸、绿原酸、苦杏仁苷、甘草苷作为紫苏汤的质量控制指标，对这 4 种指标成分进行含量测定，测定结果为迷迭香酸 125.1 μg/g、绿原酸 20.3 μg/g、苦杏仁苷 710.5 μg/g、甘草苷 502.7 μg/g。按照《太平惠民和剂局方》^[15] 记载的紫苏汤各药比例、用法，按乌梅-紫苏叶-甘草-苦杏仁 (9∶6∶3∶10) 的比例将饮片粉碎后装入圆底烧瓶中，加入 6 倍量纯水，水回流提取 2 h，滤液 60℃ 下旋转蒸发浓缩至生药量 1 g/mL，于 -80℃ 预冻过夜，冻干得到紫苏汤冻干粉，密封保存于干燥容器内备用。使用时精密称取冻干粉，溶于相应体积的纯水中，超声辅助溶解后得到紫苏汤溶液。

2.2 抗生素混合溶液配制 称取抗生素 (氨苄青霉素 100 mg、甲硝唑 100 mg、硫酸新霉素 100 mg、万古霉素 50 mg)，用无菌水溶解 (混合溶液中各抗生素质量浓度为氨苄青霉素 2.5 mg/mL、甲硝唑 2.5 mg/mL、硫酸新霉素 2.5 mg/mL、万古霉素 1.25 mg/mL)。

2.3 造模 将 32 只小鼠随机分为对照组 (8 只) 和造模

组 (24 只)，对照组小鼠正常饮食，造模组小鼠每天灌胃给予抗生素混合溶液 (10 mL/kg) 构建小鼠肠道菌群失调模型，连续 8 d，每天观察小鼠的一般情况。抗生素所致肠道菌群失调也称为抗生素相关性腹泻，是指伴随着抗生素的使用而发生的、无法用其他原因解释的腹泻^[25]。抗生素造模第 4 天，小鼠出现精神不佳、活动减少、大便稀软症状。抗生素造模第 5 天起，小鼠精神状态萎靡、扎堆嗜卧、毛发脏乱无光泽、肛周有污物，连续 3 d 出现大便稀溏现象，提示造模成功^[26-28]。

2.4 分组与给药 造模组小鼠随机分为模型组和紫苏汤低、高剂量组，每组 8 只，其中高剂量为临床等效剂量。紫苏汤低、高剂量组灌胃给予 1.82、3.64 g/kg 紫苏汤溶液，对照组和模型组灌胃给予等体积蒸馏水，从实验第 9 天起至第 16 天连续 8 d。

2.5 取材 各组小鼠于第 16 天收集新鲜粪便样本，模型组采用拖尾取便法进行取便，具体操作为将小鼠尾部提起，固定后用手指顺时针轻轻按揉小鼠下腹部，加快其肠道蠕动，小鼠排便时立即将新鲜粪便直接收集于干净的 1.5 mL 离心管中；其他组小鼠采用自然排便法进行取便，具体操作为用酒精消毒过的干净镊子夹取新鲜粪便放入干净的 1.5 mL 离心管中。粪便样本速冻后于 -80℃ 冰箱保存备用，以供肠道菌群测序。

2.6 小鼠一般情况观察 在实验进行时，观察并记录各组小鼠体质量、精神行为状态、饮水量及摄食量。

2.7 菌群测序流程 每组随机选 6 个粪便样本进行微生物多样性的检测，委托上海美吉生物医药科技有限公司完成 DNA 提取、PCR 扩增、测序。对原始数据进行质控及优化序列，优化序列基于 silva138/16s_bacteria 物种分类数据库按 97% 相似度进行 OTU 聚类分析 (置信度为 0.7)，按最小样本序列数 (31 869) 抽平生成 OTU 物种分类统计表格。在 Qiime 平台 (<http://qiime.org>) 依照 OTU 表格数据进行物种注释与评估、物种组成分析、样本比较分析、物种差异分析，在 Microbiome Analyst 平台绘图。

2.8 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，两组间比较采用独立样本 *t* 检验，多组间比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验和单因素方差分析，方差齐时，两两比较采用 LSD 检验，方差不齐时采用 Dunnett's 检验方法。*P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 紫苏汤对肠道菌群紊乱小鼠一般情况的影响 给予紫苏汤后，小鼠精神状态较模型组活泼，毛发恢复光泽，稀便现象减少。由表 1 可知，与对照组比较，模型组小鼠饮水量和摄食量均增加 (*P* < 0.05, *P* < 0.01)；与模型组比较，紫苏汤各剂量组饮水量和摄食量均减少 (*P* < 0.05, *P* < 0.01)；各组体质量无明显差异 (*P* > 0.05)。

3.2 紫苏汤对肠道菌群紊乱小鼠肠道菌群的影响

3.2.1 平均有效序列、平均覆盖度 由表 2 可知，各组平均有效序列均高达 4.5 万条以上，说明样本满足测序要求；

表 1 紫苏汤对肠道菌群紊乱小鼠一般情况的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	饮水量/mL	摄食量/g	体质量/g
对照组	2.521±0.096	1.725±0.318	23.738±1.187
模型组	2.863±0.025**	2.106±0.062*	24.325±1.562
紫苏汤低剂量组	2.563±0.165##	1.738±0.335#	22.850±2.003
紫苏汤高剂量组	2.358±0.044##	1.706±0.220#	22.725±1.096

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

各组平均测序深度均在 0.999 以上，表明样本中序列基本被测出，测序结果能够反映样本真实情况。与对照组比较，模型组平均有效序列数减少，但差异无显著性；与模型组比较，紫苏汤低、高剂量组平均有效序列数增加 ($P<0.01$)，说明紫苏汤能够提高抗生素干预小鼠肠道菌群多样性。

表 2 紫苏汤对肠道菌群紊乱小鼠肠道菌群平均有效序列、平均覆盖度的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	平均有效序列	平均覆盖度
对照组	49 959±4 948	0.999±0.000 54
模型组	46 962±1 725	0.999±0.000 07
紫苏汤低剂量组	67 344±8 489**	0.999±0.000 09
紫苏汤高剂量组	67 498±7 637**	0.999±0.000 23

注：与模型组比较，** $P<0.01$ 。

3.2.2 OTU 组成相似性 如图 1 所示，对照组、模型组、紫苏汤低、高剂量组 OTUs 数目分别为 448、73、81、105，其中 40 个 OTUs 为 3 组所共有；4 组均检出特异的 OTUs，分别为 335、4、9、3；对照组与模型组共有的 OTU 数目为

16，对照组与紫苏汤低剂量组共有的 OTUs 数目为 8，对照组与紫苏汤高剂量组共有的 OTUs 数目为 34，表明高剂量紫苏汤提高了抗生素干预小鼠肠道菌群的多样性，同时也增强了抗生素干预小鼠与对照组 OTU 组成的相似性。

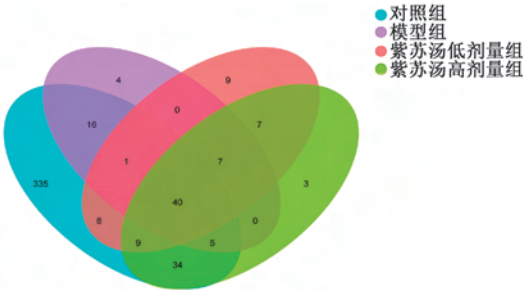
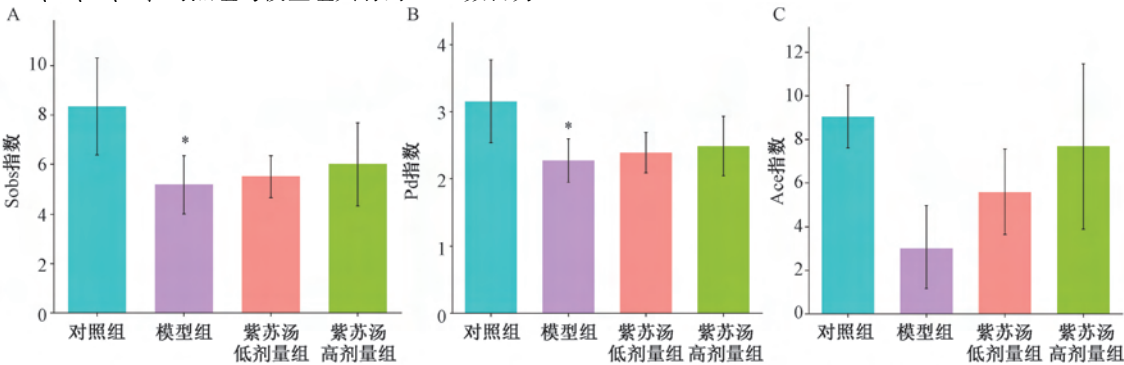


图 1 紫苏汤对肠道菌群紊乱小鼠肠道菌群组成相似性分析 ($n=6$)

3.2.3 Alpha 多样性分析 Sobs 指数可解释微生物群落丰富度，见图 2A；Pd 指数可解释样本谱系均匀性，见图 2B。与对照组比较，模型组 Sobs、Pd 指数均降低 ($P<0.05$)，说明抗生素导致模型小鼠肠道菌群丰富度、谱系均匀性下降；与模型组比较，紫苏汤各剂量组 Pd 指数均出现不同程度的升高，但差异无统计学意义 ($P>0.05$)，说明紫苏汤可以提升小鼠肠道菌群丰富度和谱系均匀性。Ace 指数可解释群落丰度指数，见图 2C，与对照组比较，模型组小鼠肠道菌群丰度降低；与模型组比较，紫苏汤各剂量组群落丰富度有所提高，但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。



注：与对照组比较，* $P<0.05$ 。

图 2 各组小鼠 Alpha 多样性分析 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

3.2.4 Beta 多样性分析 Beta 多样性能反映各组之间菌群结构的相似性和差异性，Bray-Curtis 距离是估算微生物群落样本间距离的方法，样本在图中的距离越接近，代表菌群组成越相似。Bray-Curtis 距离可以用主坐标分析 (PCoA) 在二维或三维空间进行排序展现，体现菌群群落的空间分布^[29]。如图 3 所示，门水平下基于 Bray-Curtis 距离的 PCoA 分析，Axis. 1 对总体菌群的代表性为 31.3%，Axis. 2 为 23.4%，Axis. 1 和 Axis. 2 的解释度之和为 54.7%，说明样本本各组间存在差异。模型组样本点与对照组样本点显著分离，与 Alpha 多样性结果吻合，表明抗生素致小鼠肠道菌

群失调模型造模成功，提示对照组和模型组小鼠肠道菌群结构差异较大；紫苏汤各剂量组与对照组的点距离较近，与模型组的点距离较远，说明其菌群结构更接近对照组，紫苏汤在一定程度上能够调节抗生素干预小鼠肠道细菌的结构。

3.2.5 紫苏汤对小鼠肠道菌群门水平的影响 门水平下各组小鼠肠道菌群组成及物种丰度分析见图 4。各组小鼠菌群种类差异不大，主要由拟杆菌门 (*Bacteroidota*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*)、变形菌门 (*Proteobacteria*)、疣微菌门 (*Verrucomicrobiota*)、脱硫杆菌门 (*Desulfobacterota*) 和弯曲

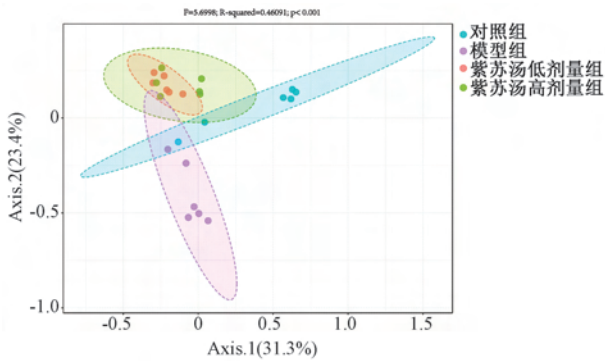


图 3 各组小鼠肠道菌群 PCoA 分析

杆菌门 (*Campilobacterota*) 构成, 其中拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门的丰度占 90% 以上。由表 3 可知, 与对照组比较, 模型组小鼠肠道菌群变形菌门、疣微菌门相对丰度升高 ($P<0.01$), 厚壁菌门、弯曲杆菌门、脱硫杆菌门相对丰度降低 ($P<0.01$); 而与模型组比较, 紫苏汤各剂量组变形菌门、疣微菌门相对丰度降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 厚壁菌门相对丰度升高 ($P<0.05$)。

3.2.6 紫苏汤对小鼠肠道菌群属水平的影响 如图 5 所示, 在所有样本中丰度大于等于 5% 的属共有 13 个, 包括未知的 *Muribaculaceae* 科、乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、副杆菌属 (*Parabacteroides*)、毛螺旋菌属 *NK4A13* 家族

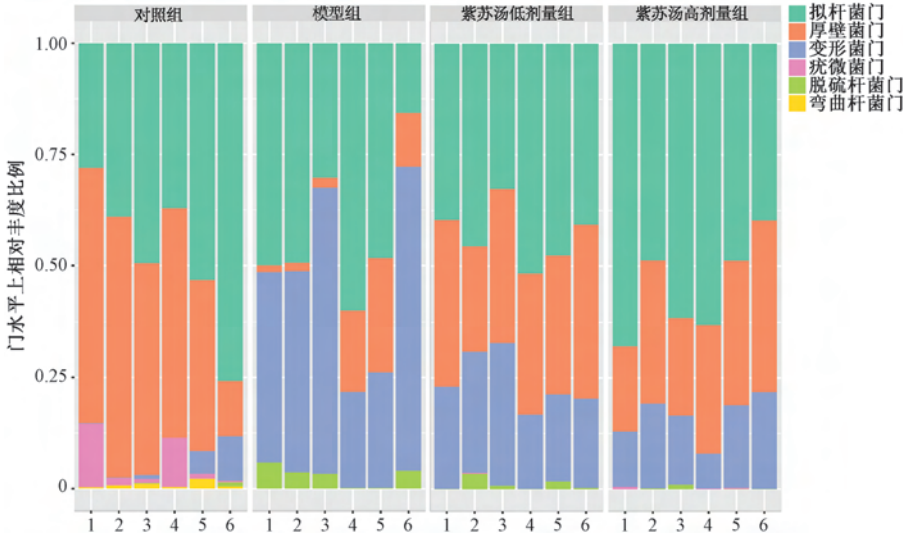


图 4 各组小鼠肠道菌群门水平组成及物种丰度分析

表 3 各组小鼠肠道菌群门水平相对丰度比较 (% , $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	厚壁菌门	拟杆菌门	变形菌门	疣微菌门	脱硫杆菌门	弯曲杆菌门
对照组	41.2±14.8	52.2±12.5	4.3±2.7	0.15±0.3	1.82±1.82	1.01±0.83
模型组	15.5±13.6**	41.2±17.4	40.6±14.5**	2.6±2.2**	0.01±0.01**	0.03±0.08**
紫苏汤低剂量组	32.9±5.5 [#]	43.0±6.7	23.1±5.7 ^{##}	1.4±1.0 [#]	0.05±0.08	0.02±0.04
紫苏汤高剂量组	29.1±7.0 [#]	54.6±10.5	15.7±5.1 ^{##}	0.2±0.4 ^{##}	0.16±0.19	0.19±0.30

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

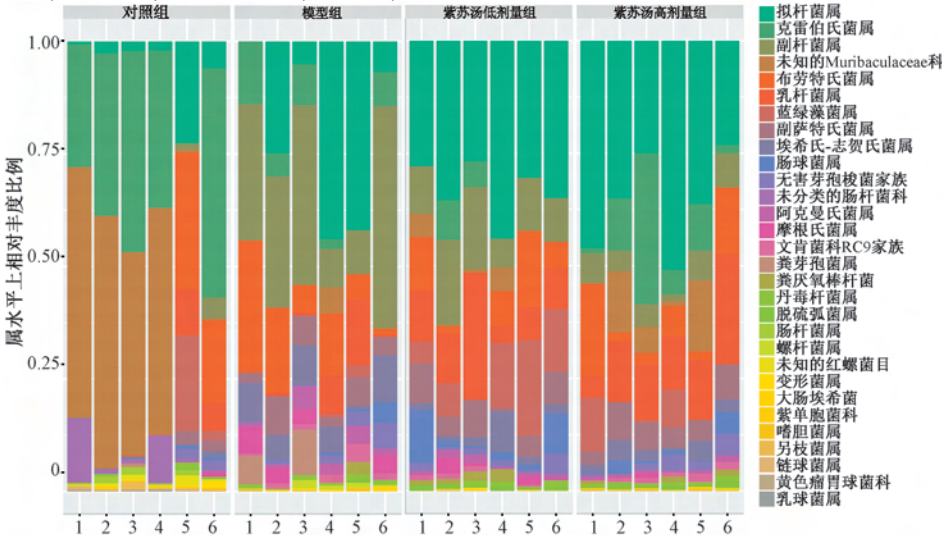
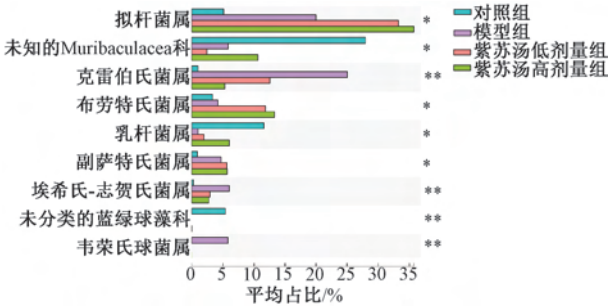


图 5 各组小鼠肠道菌群属水平组成及物种丰度分析

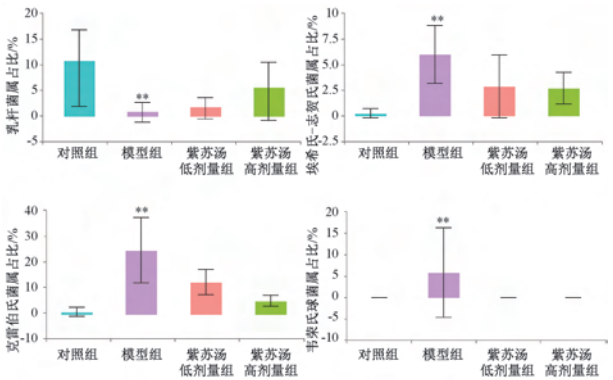
(*Lachnospiraceae*_ *NK4A136*_ *group*)、未分类的毛螺旋菌科 (*unclassified*_ *f*_ *Lachnospiraceae*)、克雷伯氏菌属 (*Klebsiella*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*)、埃希氏-志贺氏菌属 (*Escherichia-Shigella*)、韦荣氏球菌 (*Veillonella*)、布劳特氏菌属 (*Blautia*)、蓝绿藻菌属 (*Lachnoclostridium*)、未知的 *Muribaculaceae* 属、副萨特氏菌属 (*Parasutterella*)。如图 6 所示, 各组小鼠多种肠道菌群属水平丰度存在差异, 包括克雷伯氏菌属、韦荣氏球菌属、埃希氏-志贺氏菌属、布劳特氏菌属、乳杆菌属。



注: * 表示 $P<0.05$, ** 表示 $P<0.01$ 。

图 6 各组小鼠肠道菌群属水平相对丰度比较

筛选出与感染后咳嗽相关的 4 个细菌属, 分别是乳杆菌属^[30-31]、克雷伯氏菌属^[32]、埃希氏-志贺氏菌属^[33]、韦荣氏球菌属^[34]。其属水平变化见图 7。由此可知, 与对照组比较, 模型组小鼠肠道菌群克雷伯氏菌属、韦荣氏球菌属、埃希氏-志贺氏菌属相对丰度升高 ($P<0.01$), 乳杆菌属相对丰度降低 ($P<0.01$); 而与模型组比较, 紫苏汤各剂量组克雷伯氏菌属、韦荣氏球菌属、埃希氏-志贺氏菌属相对丰度降低, 乳杆菌属相对丰度升高, 但差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。



注: 与对照组比较, ** $P<0.01$ 。

图 7 各组小鼠肠道菌群关键菌属相对丰度比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

3.2.7 紫苏汤调节肠道菌群的标志性物种筛选 LefSe 分析可直接对不同组间样品所有分类水平同时进行差异分析, 找出差异物种。LDA score 越大, 表示差异物种的影响越大。筛选出 4 组小鼠肠道中具有主要差异的微生物, 得出多级物种柱状图, 见图 8。由此可知, 对照组主要细菌为乳

杆菌属、未知的 *Muribaculaceae* 科, 以益生菌为主; 模型组中主要细菌为克雷伯氏菌属、埃希氏-志贺氏菌属、未分类的肠杆菌科 (*unclassified_f_Enterobacteriaceae*), 其中克雷伯氏菌属与埃希氏-志贺氏菌属均为致病菌, 肠杆菌科为条件致病菌; 紫苏汤低剂量组中主要细菌为肠球菌属 (*Enterococcus*)、粪芽孢菌属 (*Coprobacillus*), 均为条件致病菌; 紫苏汤高剂量组中主要细菌为拟杆菌属、布劳特氏菌属, 均为益生菌。

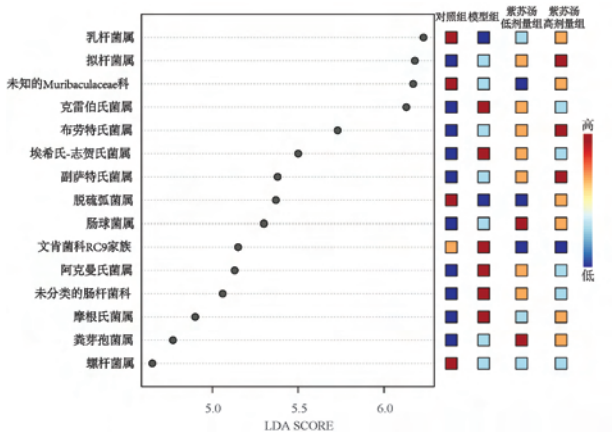


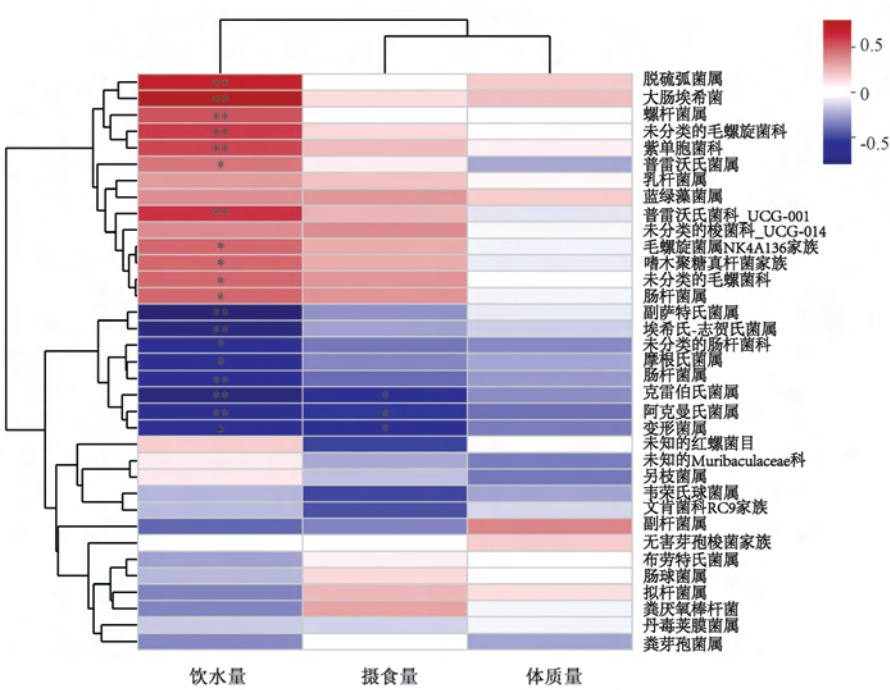
图 8 各组小鼠肠道菌群 LefSe 分析

3.2.8 相关性分析 根据小鼠肠道属水平的物种注释及丰度信息, 选取丰度排名前 35 位的属, 根据表 1 的信息进行 spearman 相关性分析, 见图 9。由此可知, 饮水量与脱硫弧菌属、大肠埃希菌 (*Colidextribacter*)、未分类的毛螺旋菌科、毛螺旋菌属 *NK4A136* 家族等呈显著正相关 ($P<0.05$, $P<0.01$), 而与埃希氏-志贺氏菌属、克雷伯氏菌属、变形菌属等呈显著负相关 ($P<0.05$, $P<0.01$); 摄食量与克雷伯氏菌属、阿克曼氏菌属、变形菌属呈显著负相关 ($P<0.05$)。

4 讨论

紫苏汤作为古方, 距今已有九百余年的使用历史, 方中 4 味药物在临床上对感染后咳嗽的作用均已得到证实^[15-18]。临床上感染后咳嗽常使用抗生素配合进行治疗, 并发现感染后咳嗽患者的肠道总体细菌多样性较低, 菌群结构发生改变^[4-6]。本研究以抗生素干预的小鼠模拟感染后咳嗽肠道菌群紊乱模型, 采用 16S rRNA 高通量测序技术分析小鼠肠道菌群多样性及组成, 结果表明, 紫苏汤对抗生素诱导的肠道菌群失调小鼠菌群多样性及结构具有改善作用。

通过 Bar 图在门水平上分析各组小鼠肠道菌群结构差异, 发现抗生素干预导致变形菌门相对丰度升高, 厚壁菌门相对丰度降低; 而给予紫苏汤后变形菌门相对丰度降低, 厚壁菌门相对丰度升高。变形菌门是疾病哮喘的潜在生物标志物, 并在多种呼吸道疾病中均观察到高表达^[35]; 厚壁菌门是乙酸盐、丙酸盐等短链脂肪酸 (SCFAs) 的重要生产者, SCFAs 已被证明能促进抗炎反应^[36]。因此, 紫苏汤缓解呼吸道炎症的作用可能与变形菌门相对丰度降低、厚



注：* 表示 $P<0.05$ ，** 表示 $P<0.01$ 。
图9 属水平与饮水量、摄食量、体质量的相关性分析

壁菌门相对丰度增加有关。通过 Bar 图、Heatmap 图在属水平上交叉分析小鼠肠道菌群结构差异，结合 LefSe 分析表明，各组小鼠均具有特征性的高丰度细菌，说明不同组别小鼠肠道菌群的物种结构具有差异性。与对照组比较，模型组小鼠乳杆菌属相对丰度降低，紫苏汤各剂量组小鼠乳杆菌属相对丰度呈回调趋势。有研究证明乳杆菌属能够预防感染后咳嗽^[32-33]，给予紫苏汤后的小鼠肠道菌群中乳杆菌属相对丰度出现回调趋势，这提示乳杆菌属数量的增加可能与紫苏汤减轻呼吸道炎症有关。与对照组比较，模型组小鼠的克雷伯氏菌属^[34]、韦荣氏球菌属^[37]、埃希氏-志贺氏菌属^[38]相对丰度升高，既往研究表明这些细菌均为致病菌或条件致病菌；而紫苏汤各剂量组上述细菌相对丰度均出现不同程度的回调，说明紫苏汤可能是通过改变一些特征菌属相对丰度，如上调有益菌、下调致病菌的丰度来维持肠道微生态，进而通过肠-肺轴预防或治疗呼吸道炎症，这些可能的标志性菌属对探究紫苏汤通过调节肠道菌群缓解感染后咳嗽的机制有重要意义。

综上所述，本研究采用高通量测序技术，初步探究了紫苏汤对抗生素诱导的肠道菌群失调小鼠菌群多样性及结构的影响，结果表明，紫苏汤促进了小鼠精神状态、稀便现象、摄食量及饮水量的改善，使小鼠肠道菌群丰富度和多样性增加，菌群结构向对照组靠近，并发现了几种可能缓解感染后咳嗽的标志性菌属，为今后紫苏汤通过调节肠道菌群介导“肠-肺轴”的疾病治疗提供研究基础。

参考文献：

[1] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 咳嗽的诊断与治疗指南 2024

南 (2015) [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39 (5): 323-340.

[2] Braman S S. Postinfectious cough: ACCP evidence-based clinical practice guidelines [J]. *Chest*, 2006, 129 (1): 138-146.

[3] 崔立慧, 李素娟, 李士荣. 门诊上感染后咳嗽途径及临床常用抗生素疗效调查 [J]. 中国病原生物学杂志, 2019, 14 (10): 1186-1189.

[4] Vael C, Nelen V, Verhulst S L, *et al.* Early intestinal bacteroides fragilis colonisation and development of asthma [J]. *BMC Pulm Med*, 2008, 26(8) : 19.

[5] Melli L C, do Carmo-Rodrigues M S, Araújo-Filho H B, *et al.* Intestinal microbiota and allergic diseases: a systematic review [J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2016, 44(2) : 177-188.

[6] Arrieta M C, Arévalo A, Stiemsma L, *et al.* Associations between infant fungal and bacterial dysbiosis and childhood atopic wheeze in a nonindustrialized setting [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 142(2) : 424-434.

[7] 叶 威, 王新华. 从肺肠微生物群变化探讨“肺与大肠相表里”治疗呼吸系统疾病 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2019, 29(5) : 592-596.

[8] 时 晨, 林丽丽, 谢 彤, 等. 基于“肺-肠”轴探讨肺、肠微生态对肺部疾病的影响 [J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(2) : 168-173.

[9] Jess T, Horváth-Puhó E, Fallingborg J, *et al.* Cancer risk in inflammatory bowel disease according to patient phenotype and treatment: a Danish population-based cohort study [J]. *Am J Gastroenterol*, 2013, 108(12) : 1869-1876.

[10] Schuijt T J, Lankelma J M, Scicluna B P, *et al.* The gut

microbiota plays a protective role in the host defence against pneumococcal pneumonia[J]. *Gut*, 2016, 65(4): 575-583.

[11] 李凌智. 乳杆菌对呼吸道过敏缓解的作用及机制研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021.

[12] Chung K F. Airway microbial dysbiosis in asthmatic patients: A target for prevention and treatment? [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, 139(4): 1071-1081.

[13] Tanabe S. The effect of probiotics and gut microbiota on Th17 cells[J]. *Int Rev Immunol*, 2013, 32(5-6): 511-525.

[14] Xu L, Yang C S, Liu Y, *et al*. Effective regulation of gut microbiota with probiotics and prebiotics may prevent or alleviate COVID-19 through the gut-lung axis [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 895193.

[15] 太平惠民各剂局. 太平惠民和剂局方[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2018.

[16] 伍思琪. 刘建秋教授治疗感染后咳嗽用药规律研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2021.

[17] 孙 宁. 崔红生教授治疗哮喘中医用药规律及中医诊断与治疗量表拟定初探[D]. 北京: 北京中医药大学, 2021.

[18] 陈 千, 熊富良, 张雪琼, 等. 甘草苷对感染后咳嗽(肺阴虚证)小鼠的止咳作用机制及抗氧化作用的研究[J]. *华中师范大学学报(自然科学版)*, 2020, 54(5): 841-848; 873.

[19] 管志伟. 加味人参乌梅汤调控腹泻大鼠肠道菌群结构和功能的宏基因组学研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2021.

[20] 段伟萍. 蜜炙对甘草化学成分及其调节肠道菌群和免疫活性的影响[D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.

[21] 周 丹, 古建兰, 朱 梅, 等. 紫苏提取物对两种病原菌的抑制效果[J]. *中国植保导刊*, 2022, 42(5): 15-19.

[22] 张 敏. 紫苏迷迭香酸的提取纯化及抑菌性研究[D]. 太原: 山西大学, 2021.

[23] 马 杰. 桃仁、苦杏仁苷的提取及其抑菌活性研究[J]. *食品工业*, 2015, 36(5): 116-120.

[24] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 62-251.

[25] 韩天雨, 杨 栋, 周树青, 等. 抗生素所致肠道菌群失调与治疗研究进展[J]. *解放军预防医学杂志*, 2021, 39(1): 98-101.

[26] 曲 巍, 张 智, 马建章, 等. 高通量测序研究益生菌对小鼠肠道菌群的影响[J]. *食品科学*, 2017, 38(1): 214-219.

[27] 杨斯琴, 王 平, 陈 静. 阿如拉-7 味散对肠道菌群失调小鼠免疫功能及肠道菌群多样性的影响[J]. *中国微生态学杂志*, 2021, 33(3): 264-270.

[28] 周干南, 胡芝华, 汪亚先, 等. 小鼠腹泻模型的制备与腹泻指数的应用[J]. *中草药*, 1994(4): 195-196.

[29] Chong J, Liu P, Zhou G, *et al*. Using microbiome analyst for comprehensive statistical, functional, and meta-analysis of microbiome data[J]. *Nat Protoc*, 2020, 15(3): 799-821.

[30] Dhariwal A, Chong J, Habib S, *et al*. Microbiome Analyst: a web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of microbiome data[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(W1): W180-W188.

[31] Sarangi A N, Goel A, Aggarwal R. Methods for studying gut microbiota: a primer for physicians[J]. *J Clin Exp Hepatol*, 2019, 9(1): 62-73.

[32] Ozen M, Kocabas Sandal G, Dinleyici E C. Probiotics for the prevention of pediatric upper respiratory tract infections: a systematic review[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2015, 15(1): 9-20.

[33] Belkacem N, Bourdet-Sicard R, Taha M K. *Lactobacillus paracasei* feeding improves the control of secondary experimental meningococcal infection in flu-infected mice[J]. *BMC Infect Dis*, 2018, 18(1): 167.

[34] Jeon H Y, Park J H, Park J I, *et al*. Cooperative interactions between Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 in murine *Klebsiella pneumoniae* infections [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2017, 27(8): 1529-1538.

[35] Faith J J, Guruge J L, Charbonneau M, *et al*. The long-term stability of the human gut microbiota[J]. *Science*, 2013, 341(6141): 1237439.

[36] Shin N R, Whon T W, Bae J W. *Proteobacteria*: Microbial signature of dysbiosis in gut microbiota[J]. *Trends Biotechnol*, 2015, 33(9): 496-503.

[37] 袁星星. 基于肠道及呼吸道菌群探讨六君子汤治疗哮喘慢性持续期的疗效及机制研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2021.

[38] 徐航宇. 黄芩汤对溃疡性结肠炎小鼠肠道菌群的影响及肠黏膜屏障的保护作用机制研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2018.