

基于肠道菌群探讨甘草泻心汤对伊立替康致小鼠腹泻的影响

聂彦丰¹, 范永春², 郭双双¹, 李步阳^{2*}

1. 邳州市中医院, 江苏 徐州 221300

2. 江苏省中医药研究院, 江苏 南京 210028

摘要: 目的 研究甘草泻心汤对化疗相关腹泻小鼠肠道菌群的影响。方法 将小鼠随机分为对照组、模型组、洛哌丁胺(阳性药, $0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)组和甘草泻心汤高、低剂量(16.4 、 $4.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)组;采用连续4 d ip $55 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 伊立替康诱导小鼠化疗相关腹泻模型;记录小鼠首次排便时间、稀便级、稀便率和腹泻指数;采用试剂盒测定小鼠肠道消化酶活力及炎症因子水平;采用高通量测序技术分析结肠内容物肠道菌群变化。结果 与对照组比较,模型组小鼠首次排便时间显著缩短($P < 0.01$),稀便级、稀便率和腹泻指数显著升高($P < 0.01$);消化酶乳酸脱氢酶(LDH)、淀粉酶(AMS)和脂肪酶(LPS)活力显著降低($P < 0.01$);炎症因子白细胞介素 1β (IL- 1β)、环氧合酶2(COX-2)、细胞间黏附分子1(ICAM-1)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平显著升高($P < 0.01$);肠道菌群 α 多样性 Simpson 指数显著升高($P < 0.05$);肠道菌群 β 多样性差异较大;变形菌门、梭杆菌门、变形菌纲、梭杆菌纲、肠杆菌目、梭杆菌目、拟杆菌科、丹毒丝菌科、埃格特菌科和拟杆菌属丰度显著升高($P < 0.01$), *Muribaculaceae* 和 *norank_f_Muribaculaceae* 丰度显著降低($P < 0.01$)。与模型组比较,甘草泻心汤高、低剂量组小鼠首次排便时间显著延长($P < 0.05$ 、 0.01)、稀便率和腹泻指数显著降低($P < 0.05$ 、 0.01),高剂量组稀便级显著降低($P < 0.01$);高、低剂量组各消化酶活力显著回升($P < 0.05$ 、 0.01);高、低剂量组各炎症因子水平显著降低($P < 0.05$ 、 0.01);高剂量组 Simpson 指数显著降低($P < 0.05$), β 多样性更趋近对照组,显著回调各优势物种丰度的显著性变化($P < 0.05$ 、 0.01)。结论 甘草泻心汤对于伊立替康诱导的腹泻小鼠具有明显的治疗作用,可能是其通过调整腹泻小鼠肠道菌群实现。

关键词: 甘草泻心汤; 化疗相关腹泻; 伊立替康; 高通量测序; 肠道菌群

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2023)07-1497-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.07.013

Effects of Gancào Xiexin Decoction on irinotecan-induced diarrhea mice based on gut microbiota

NIE Yanfeng¹, FAN Yongchun², GUO Shuangshuang¹, LI Buyang²

1. Pizhou Hospital of Chinese Medicine, Xuzhou 221300, China

2. Jiangsu Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of Gancào Xiexin Decoction on the gut microbiota of mice with chemotherapy-related diarrhea. **Methods** Mice were randomly divided into the control group, model group, loperamide group (positive drug, $0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), and high- and low-dose Gancào Xiexin Decoction (16.4 and $4.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) groups. The chemotherapy-associated diarrhea model was induced by ip injection of $55 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ irinotecan for 4 d. The time of first defecation, dilute stool grade, dilute stool rate and diarrhea index were recorded. The intestinal digestive enzyme activity and inflammatory factor level of mice were measured by kits. The changes in gut microbiota of colonic contents were analyzed by high-throughput sequencing technology. **Results** Compared with the control group, the first defecation time of the model group mice was significantly shortened ($P < 0.01$), and the stool grade, stool rate, and diarrhea index were significantly increased ($P < 0.01$), the activities of digestive enzyme lactate dehydrogenase (LDH), amylase (AMS) and lipase (LPS) decreased significantly ($P < 0.01$), the level of inflammatory factor interleukin- 1β (IL- 1β), cyclooxygenase 2 (COX-2), intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) and tumor necrosis factor α (TNF- α) were significantly increased ($P < 0.01$), the Simpson index of gut microbiota α diversity significantly increased ($P < 0.05$), there were significant

收稿日期: 2023-01-28

基金项目: 南京药学会-常州四药医院药学科科研项目(2017YX007)

第一作者: 聂彦丰,男,副主任中药师,主要从事中药学研究。E-mail:503620637@qq.com

*通信作者: 李步阳,男,主任中药师,主要从事中药学研究。E-mail:buyangli0128@163.com

differences in diversity of gut microbiota β , the abundance of Pseudomonadota, Fusobacteria, Proteobacteria, Fusobacteria, Enterobacterales, Fusobacteriaceae, Bacteroidaceae, Erysipelotrichaceae, Egerteraceae and *Bacteroides* increased significantly ($P < 0.01$), the abundance of *Muribaculaceae* and *norank_f_Muribaculaceae* significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the first defecation time of Gancao Xiexin Tang high and low dose group was significantly prolonged ($P < 0.05, 0.01$), the loose stool rate and diarrhea index were significantly reduced ($P < 0.05, 0.01$), the high dose group had a significant decrease in loose stool grade ($P < 0.01$), the activity of digestive enzyme of high and low dose group increased significantly ($P < 0.05, 0.01$), the levels of various inflammatory factors of high and low dose group significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$), the Simpson index of high dose group significantly decreased ($P < 0.05$), β diversity was closer to the control group, Simpson changes in the abundance of dominant species were significantly reversed in high dose group ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Gancao Xiexin Decoction has a significant therapeutic effect on irinotecan-induced diarrhea mice, and this effect may be achieved by its adjustment of gut microbiota in diarrhea mice.

Key words: Gancao Xiexin Decoction; chemotherapy-associated diarrhea; irinotecan; high-throughput sequencing; gut microbiota

腹泻是肿瘤化疗过程中或治疗结束后最常见的不良反应之一。数据显示,化疗期间所有级别腹泻的发生率高达50%~80%^[1],其中,超过30%的患者出现严重腹泻,尤其是采用5-氟尿嘧啶或伊立替康治疗方案的患者^[2]。这种严重的化疗相关腹泻可导致体液和电解质丢失以及胃肠道运输和消化功能改变,进而影响机体的营养吸收,最终导致治疗延误、剂量减少或治疗中断等严重后果^[3]。值得注意的是,西医临床当前对于化疗相关腹泻暂无有效措施。化疗药物会严重破坏肠道菌群的正常组成和功能特征^[4]。这种肠道菌群结构的剧烈改变已被证实是化疗相关腹泻发生发展的重要机制^[5]。因此,纠正肠道菌群有望成为化疗相关腹泻的治疗靶点。

《古代经典名方目录(第一批)》中的甘草泻心汤最早出自于《伤寒论》,由炙甘草、黄芩、干姜、半夏、大枣、黄连组成,传统中医功效为益气和胃、消痞止呕,当前现代临床多用于急慢性胃肠炎等诸多消化系统疾病^[6]。研究显示,甘草泻心汤亦用于重症监护病房^[7]和卡培他滨^[8]相关腹泻的临床实践中,并取得不错的效果。另外有研究显示,甘草泻心汤通过改善肠道菌群而发挥疗效^[9-10]。本研究以伊立替康诱导化疗相关腹泻小鼠模型,探讨甘草泻心汤的治疗作用及从肠道菌群角度探讨可能的作用机制。

1 材料

1.1 动物

6周龄体质量为20~22 g的雄性C57BL/6JGpt小鼠购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司,动物生产许可证号SCXK(苏)2018-0008。本实验在江苏省中西医结合医院实验动物伦理委员会同意下开展实施,批准编号为202210A046。动物饲养在江苏省中西医结合医院实验动物中心,室温22~

25 °C、12 h昼夜交替、55%相对湿度,自由饮水及摄食。

1.2 药物及主要试剂

中药饮片炙甘草、黄芩、干姜、半夏、大枣和黄连均由邳州市中医院药房提供,基原经江苏省中医药研究院李步阳主任中药师鉴定,分别为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎、唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根、姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的干燥根茎、天南星科植物半夏 *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎、鼠李科植物枣 *Ziziphus jujuba* Mill. 的干燥成熟果实和毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎;盐酸洛哌丁胺胶囊,批号为210601,购自上海新亚药业闵行有限公司;盐酸伊立替康,批号为220708AL,购自江苏恒瑞医药股份有限公司;乳酸脱氢酶(LDH)、淀粉酶(AMS)和脂肪酶(LPS)测定试剂盒,货号分别为A020-2-2、C016-2-1和A054-1-1,均购自南京建成生物工程研究所;白细胞介素-1 β (IL-1 β)、环氧合酶2(COX-2)、细胞间黏附分子1(ICAM-1)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) ELISA 试剂盒,货号分别为SEKM-0002、SEKM-0156、SEKM-0132和SEKM-0034,均购自北京索莱宝科技有限公司;肠道菌群测序所需材料均由上海美吉生物公司提供。

1.3 主要仪器

Milli-Q 纯水系统,德国默克公司;ML204/MS105型电子天平,美国梅特勒-托利多公司;R-210型旋转蒸发器,瑞士Buchi公司;肠道菌群测序仪器均由上海美吉生物公司提供。

2 方法

2.1 药物制备

一剂成人剂量(54 g)甘草泻心汤中炙甘草、黄

芩、干姜、半夏、大枣和黄连的比例为4:3:3:3:4:1,参考文献方法进行制备和浓缩^[10-11]:用10倍体积水浸泡30 min,煎煮30 min,趁热滤过;药渣再加8倍体积水,煎煮30 min后滤过,合并2次滤液,减压浓缩得到甘草泻心汤水煎液(生药质量浓度为1.0 g·mL⁻¹),使用前于4℃中保存。水煎液经高效液相色谱结合外标法定量得出甘草苷质量分数为2.07%、甘草酸质量分数为3.32%。

2.2 化疗致腹泻模型建立及药物干预

小鼠适应期后,随机分成对照组(10只)和模型组(60只)。参考文献报道^[12]制备伊立替康诱导的腹泻小鼠模型:ip 55 mg·kg⁻¹伊立替康,连续4 d。表现出腹泻症状的小鼠以每组10只被随机分成模型组、洛哌丁胺(阳性药,0.4 mg·kg⁻¹)组和甘草泻心汤高、低剂量(16.4、4.1 g·kg⁻¹)组,ig给药,对照组和模型组ig给予等量0.9%氯化钠溶液,连续给药5 d。末次给药后,观察记录小鼠排便时间及次数和稀便污迹,并参考文献报道进行评价^[13]。

2.3 取样及小肠消化酶活力检测

末次给药结束12 h期间禁食不禁水,所有小鼠用异氟醚安乐死后打开腹腔,快速收集结肠内容物于无菌EP管中,并快速置于液氮中速冻;小肠组织依据标准步骤检测LDH、AMS和LPS活力以及IL-1 β 、COX-2、ICAM-1和TNF- α 水平。

2.4 结肠内容物肠道菌群DNA抽提和PCR扩增

按试剂盒说明书步骤,使用凝胶电泳仪抽提各结肠内容物肠道菌群的总DNA并结合紫外分光光度法定量,随后在338F~806R测序区域进行16S rRNA PCR扩增,扩增程序及反应体系与相同测序体系下参考文献报道^[14]一致。

2.5 结肠内容物肠道菌群Illumina Miseq测序

按试剂盒说明书步骤,纯化回收PCR产物,使用凝胶电泳仪检测,并结合荧光法对回收产物进行

定量。继续按照试剂盒说明书进行建库并采用Illumina Miseq PE300测序平台测序,随后采用Trimmomatic以及Flash对原始测序序列进行质控和拼接,质控及拼接参数与相同测序体系下参考文献报道一致^[14],最终得到优化后的序列。利用生信云平台(上海美吉生物公司,https://cloud.majorbio.com/)将优化后的序列归为多个无嵌合体操作分类单位(OTU)(97%相似度),随后基于此在生信云平台进行分析。

2.6 数据处理与分析

数据处理使用SPSS 21.0,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间分析使用One-Way ANOVA,两组间分析使用LSD-*t*检验(方差齐性)和Dunnett's *T*3检验(方差不齐)。

3 结果

3.1 甘草泻心汤对小鼠腹泻的影响

如图1所示,与对照组比较,模型组小鼠首次排便时间显著缩短($P < 0.01$),稀便级、稀便率和腹泻指数显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,甘草泻心汤高、低剂量组小鼠首次排便时间显著延长($P < 0.05$ 、 0.01),稀便率和腹泻指数显著降低($P < 0.05$ 、 0.01),高剂量组稀便级显著降低($P < 0.01$),其中高剂量组的效果与洛哌丁胺接近。结果表明,甘草泻心汤对于伊立替康诱导的小鼠腹泻具有改善作用。

3.2 甘草泻心汤对腹泻小鼠消化酶活力的影响

如图2所示,与对照组比较,模型组小鼠消化酶(LDH、AMS和LPS)活力显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,甘草泻心汤高、低剂量组这些消化酶活力显著回升($P < 0.05$ 、 0.01),其中高剂量组的作用与洛哌丁胺接近。结果表明,甘草泻心汤能够改善伊立替康诱导的腹泻小鼠的消化功能。

3.3 甘草泻心汤对腹泻小鼠炎症因子水平的影响

如图3所示,与对照组比较,模型组小鼠炎症因

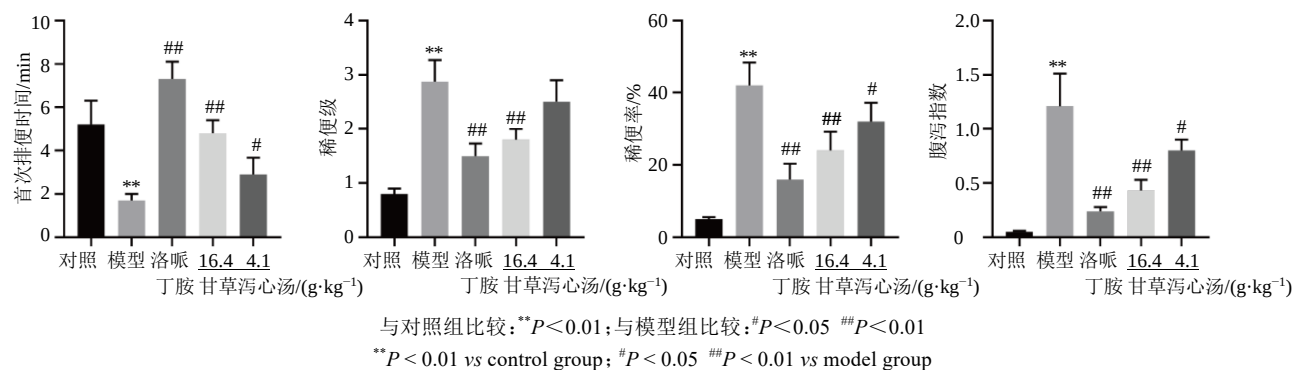
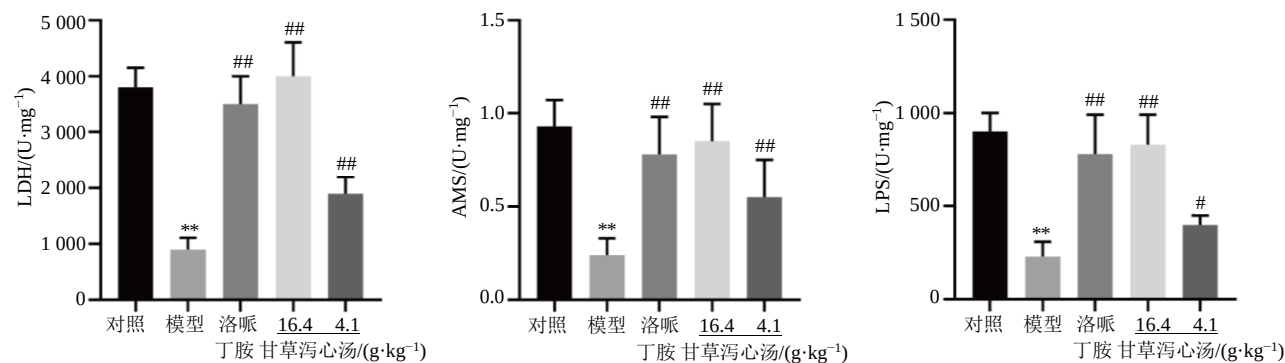
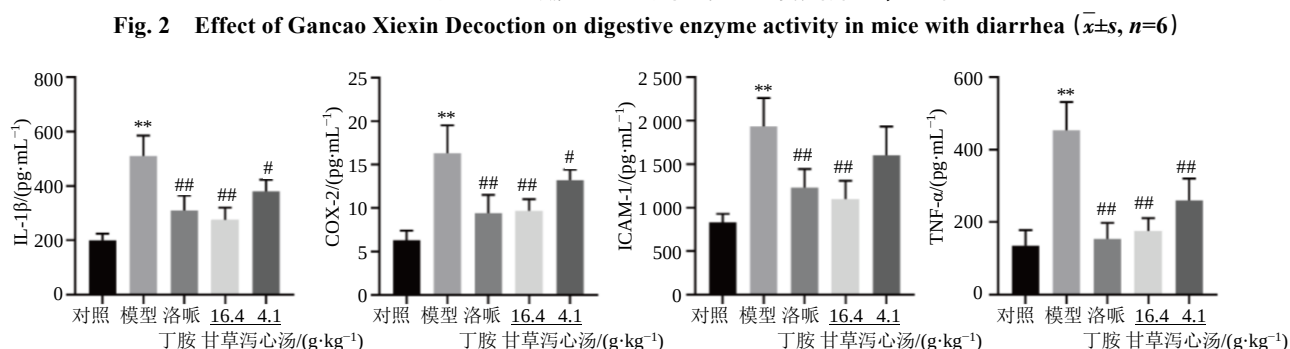


图1 甘草泻心汤对小鼠腹泻的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
 Fig. 1 Effect of Gancao Xiexin Decoction on diarrhea in mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$
 ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group
 图2 甘草泻心汤对腹泻小鼠消化酶活力的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$
 ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group
 图3 甘草泻心汤对腹泻小鼠炎症因子水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 3 Effect of Gancan Xiexin Decoction on inflammatory factors level in mice with diarrhea ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

子(IL-1β、COX-2、ICAM-1和TNF-α)水平显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,甘草泻心汤高、低剂量组这些炎症因子水平显著降低($P < 0.05$ 、 0.01),其中高剂量甘草泻心汤与洛哌丁胺效果接近。结果表明,甘草泻心汤能够降低伊立替康诱导的腹泻小鼠的炎症因子水平。

3.4 甘草泻心汤对腹泻小鼠肠道菌群OUT分类学的影响

药效学实验结果综合显示甘草泻心汤高剂量的效果优于低剂量,所以肠道菌群测序结果选择高

剂量组代表说明。另外,本研究主要探讨甘草泻心汤对于肠道菌群的调控作用,洛哌丁胺治疗腹泻的机制尚不明确,且不在本研究范围内,故洛哌丁胺组不纳入此次肠道菌群测序中。如图4所示,各组小鼠Rank-Abundance及Core/Pan分析曲线呈现逐步稳定的趋势,结果表明本研究实验样本数及肠道菌群OUT分类满足肠道菌群高通量测序要求。

3.5 甘草泻心汤对腹泻小鼠肠道菌群α多样性的影响

如图5所示,与对照组比较,模型组α多样性

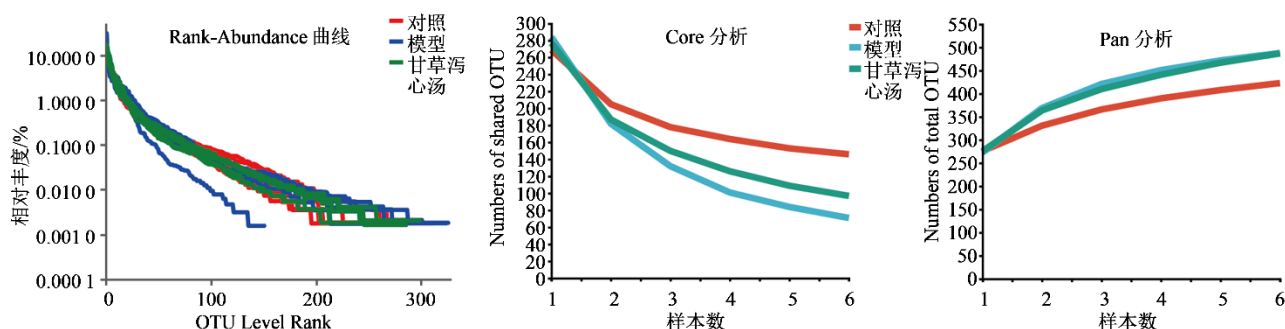
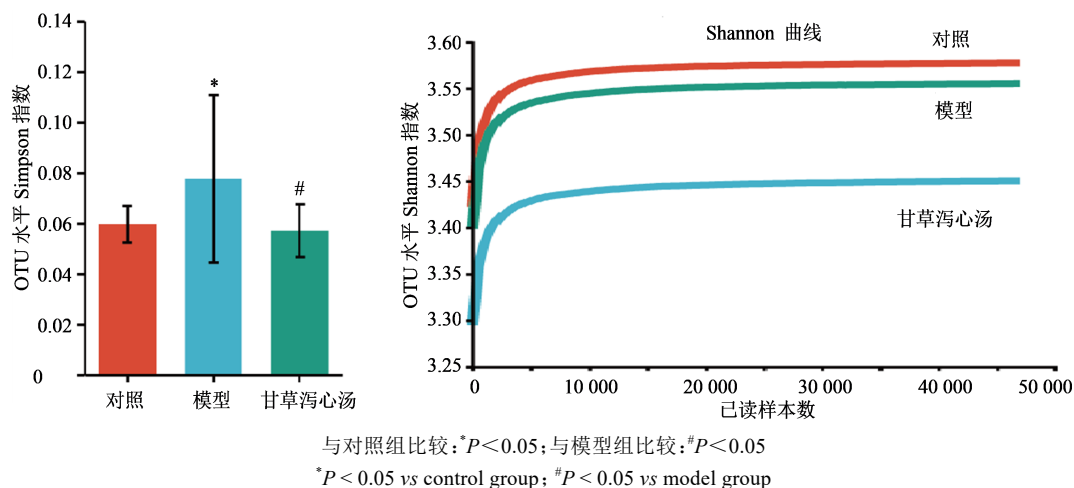


图4 甘草泻心汤对腹泻小鼠肠道菌群OUT分类学的影响($n=6$)

Fig. 4 Effect of Gancan Xiexin Decoction on OUT Taxonomy of gut microbiota in mice with diarrhea ($n=6$)

图5 甘草泻心汤对腹泻小鼠肠道菌群 α 多样性的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)Fig. 5 Effect of Gancan Xiexin Decoction on α -diversity of gut microbiota in mice with diarrhea ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Simpson 指数显著升高($P < 0.05$); 与模型组比较, 甘草泻心汤组该指数显著降低($P < 0.05$)。另外, 在 α 多样性 Shannon 指数曲线中模型组与对照组距离较远, 而甘草泻心汤组与对照组距离接近。结果说明, 甘草泻心汤具有改善伊立替康诱导的腹泻小鼠肠道菌群 α 多样性的效果。

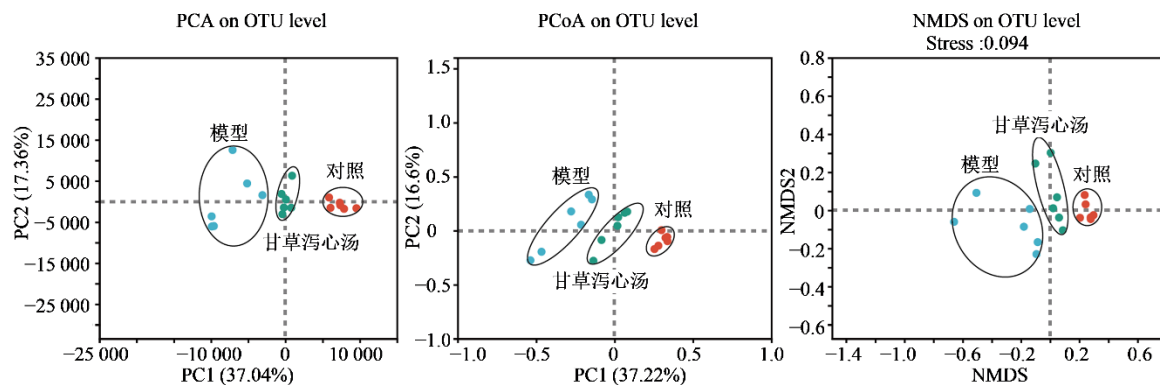
3.6 甘草泻心汤对腹泻小鼠肠道菌群 β 多样性的影响

如图6所示, 在肠道菌群 β 多样性主成分分析(PCA)、主坐标分析(PcoA)和非度量多维尺度分析(NMDS)所得散点图中, 对照组、模型组和甘草泻心汤组各自聚集成圈。其中, 模型组与对照组聚集成圈距离较远, 说明二者肠道菌群多样性存在差异。而甘草泻心汤组聚集成圈与对照组接近, 说明二者肠道菌群多样性较为接近。结果说明, 甘草泻心汤具有纠正伊立替康诱导的腹泻小鼠肠道菌群 β 多样性的作用。

3.7 甘草泻心汤对腹泻小鼠肠道菌群物种组成的影响

如图7所示, 各组小鼠在门、纲、目、科和属水平

群落丰度排名靠前的优势物种分别为拟杆菌门(Bacteroidota)、厚壁菌门(Firmicutes)、Verrucomicrobiota、变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteriota)、梭杆菌门(Fusobacteriota)、拟杆菌纲(Bacteroidia)、梭菌纲(Clostridia)、Bacilli、Verrucomicrobiae、变形菌纲(Gammaproteobacteria)、红螺菌纲(Coriobacteriia)、梭杆菌纲(Fusobacteriia)、拟杆菌目(Bacteroidales)、乳螺目(Lachnospirales)、乳酸杆菌目(Lactobacillales)、Verrucomicrobiales、丹毒丝菌目(Erysipelotrichales)、Peptostreptococcales-Tissierellales、颤螺菌目(Oscillospirales)、红螺菌目(Coriobacteriales)、梭菌目(Clostridiales)、肠杆菌目(Enterobacterales)、梭杆菌目(Fusobacteriales)、Muribaculaceae、毛螺菌科(Lachnospiraceae)、拟杆菌科(Bacteroidaceae)、Akkermansiaceae、乳酸杆菌科(Lactobacillaceae)、链球菌科(Streptococcaceae)、Rikenellaceae、消化链球菌科(Peptostreptococcaceae)、丹毒丝菌科(Erysipelotrichaceae)、埃格特菌

图6 甘草泻心汤对腹泻小鼠肠道菌群 β 多样性的影响($n=6$)Fig. 6 Effect of Gancan Xiexin Decoction on β -diversity of gut microbiota in mice with diarrhea ($n=6$)

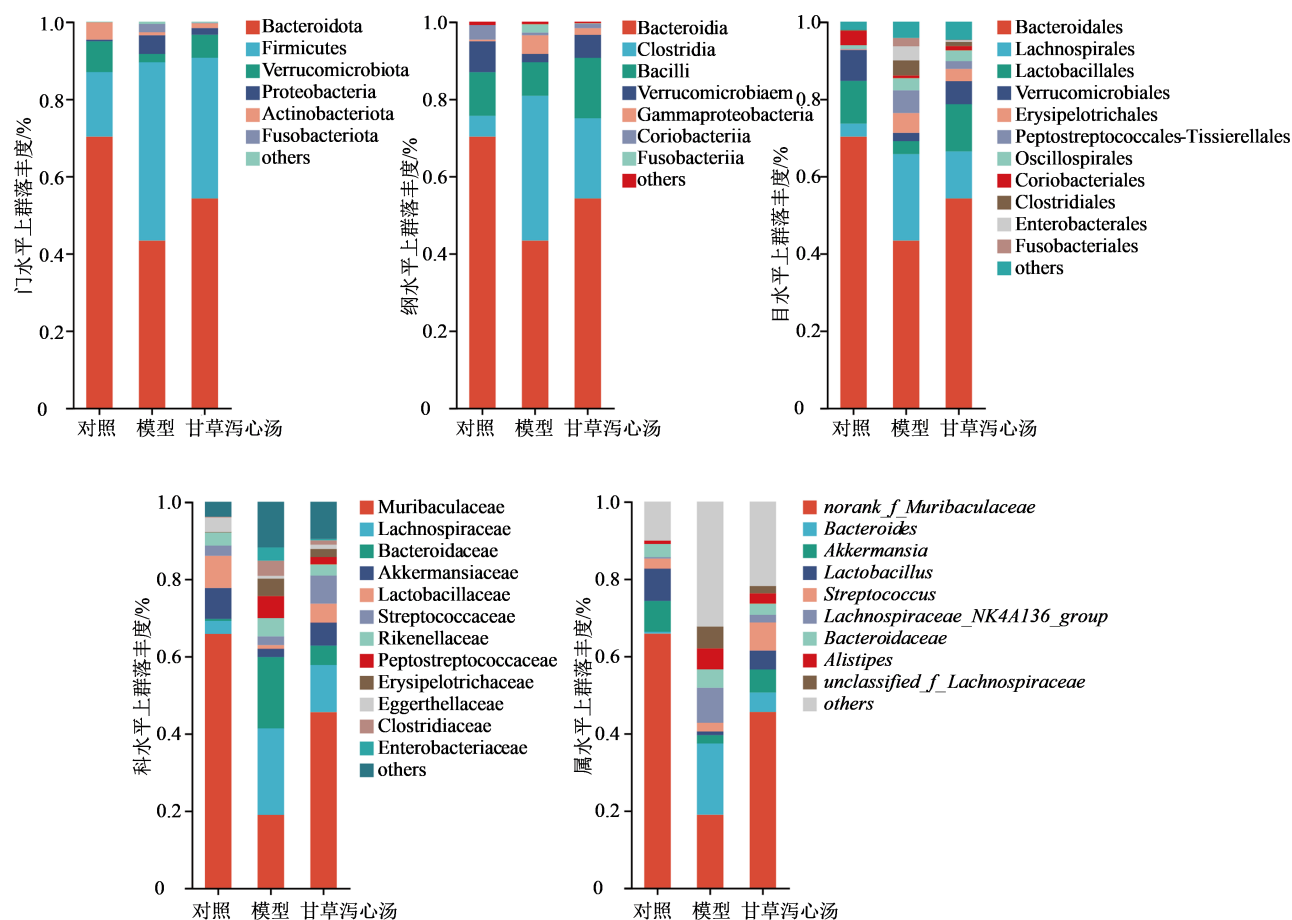


图7 各组小鼠肠道菌群优势物种

Fig. 7 Dominant species of Gut microbiota of mice in each group

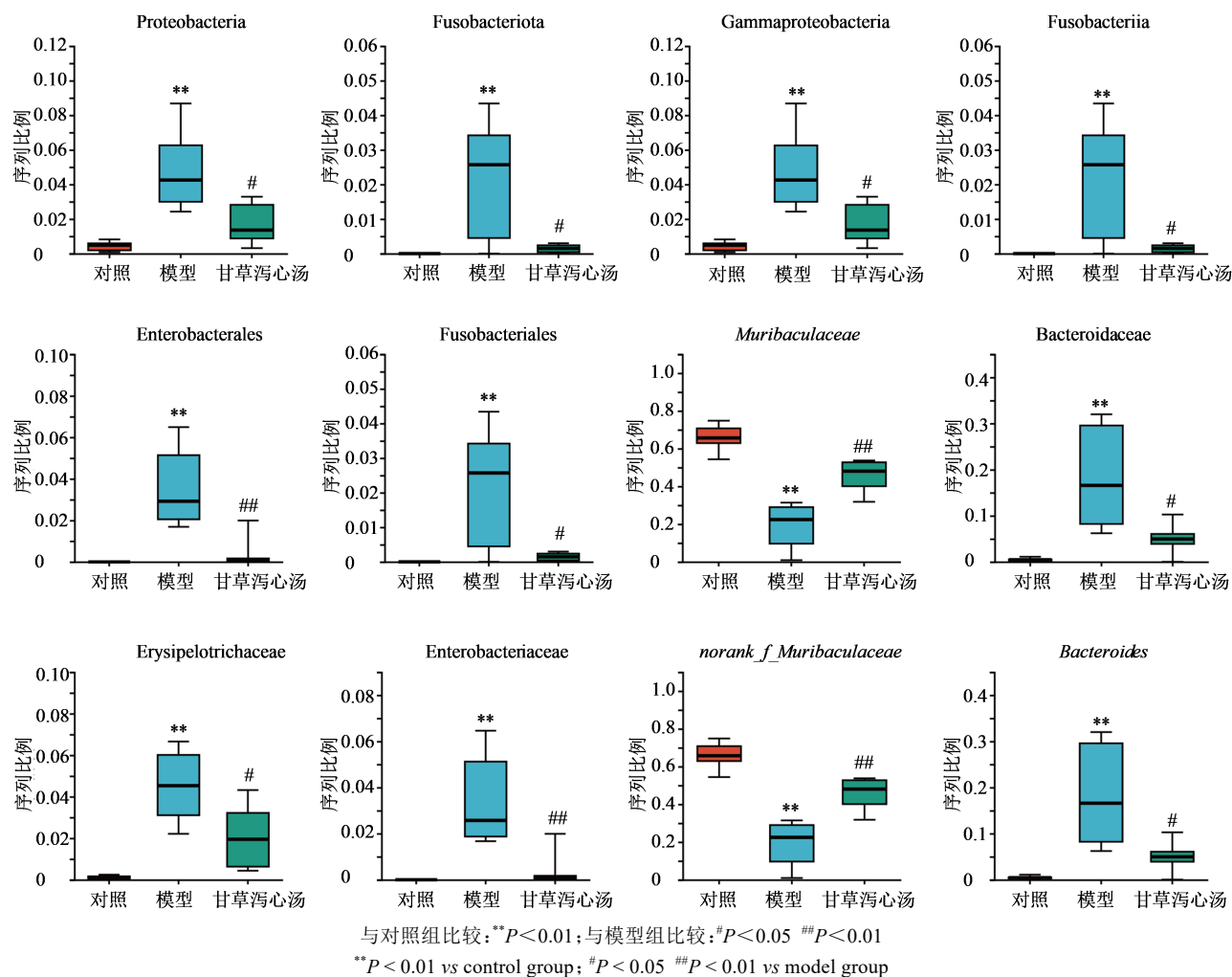
科(Eggerthellaceae)、梭菌科(Clostridiaceae)、肠杆菌科(Enterobacteriaceae)、*norank_f_Muribaculaceae*、拟杆菌属(*Bacteroides*)、*Akkermansia*、乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)、链球菌属(*Streptococcus*)、*Lachnospiraceae_NK4A136_group*、另枝菌属(*Alistipes*)、*unclassified_f_Lachnospiraceae*和*Romboutsia*。如图8所示,在这些优势物种中,与对照组比较,模型组小鼠变形菌门、梭杆菌门、变形菌纲、梭杆菌纲、肠杆菌目、梭杆菌目、拟杆菌科、丹毒丝菌科、埃格特菌科和拟杆菌属丰度显著升高($P < 0.01$), *Muribaculaceae*和*norank_f_Muribaculaceae*丰度显著降低($P < 0.01$)。与模型组比较,甘草泻心汤组这些优势物种丰度显著趋于对照组($P < 0.05, 0.01$)。这些结果表明,甘草泻心汤可以通过调控伊立替康诱导的腹泻小鼠肠道菌群优势物种的相对丰度而发挥作用。

4 讨论

化疗相关腹泻西医临床上暂无标准治疗方案,洛哌丁胺、奥曲肽等为常用药物,但治疗过程中存在较高的失效率(9%~30%),仍未达到人们的预

期^[15]。祖国医药对于化疗相关腹泻认识充分,将其归属于“下利”和“泄泻”范畴。药理研究发现,中医药中存在丰富的活性成分,这些活性成分之间能够加和、协同地通过系列途径发挥对机体生理及病理过程的整体调节作用^[16]。临床研究发现,甘草泻心汤、半夏泻心汤、乌梅丸等组方在化疗相关腹泻的防治过程中呈现出不错的效果^[17-18]。因此,中医药对于治疗化疗相关腹泻有完整的“中医理论基础-药理研究-临床实践”体系,其有望成为防治化疗相关腹泻的有效方案。

症状是疾病诊断的重要部分,首次排便时间、稀便级、稀便率和腹泻指数可以反映化疗相关腹泻的严重程度^[19]。另外,当使用伊立替康等化疗时,肠道中体液和电解质出现紊乱,此时肠道内消化酶活力受到明显影响^[12,19]。在本研究中,伊立替康干预的小鼠较健康小鼠首次排便时间明显缩短,稀便级、稀便率和腹泻指数明显升高,肠道LDH、AMS和LPS 3种消化酶活力明显降低。此外,已知促炎细胞因子和抗炎细胞因子表达之间的不平衡在化疗相关腹泻进展中起重要作用^[12]。本研究中,伊立

图8 甘草泻心汤对腹泻小鼠肠道菌群优势物种的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)Fig. 8 Effect of Gancao Xiexin Decoction on dominant species of gut microbiota in mice with diarrhea ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

替康干预的小鼠较健康小鼠肠道中IL-1 β 、COX-2、ICAM-1和TNF- α 在内的促炎细胞因子水平明显升高。这些结果说明本研究成功利用伊立替康构建化疗相关腹泻小鼠模型。当甘草泻心汤治疗后,腹泻小鼠上述腹泻症状、肠道消化酶活力及炎症因子水平均得到明显改善,其中高剂量的甘草泻心汤效果与洛哌丁胺相当。结果明确了甘草泻心汤对于伊立替康诱导的化学相关腹泻的疗效。

肠道菌群与宿主共存,其种类庞杂,能通过多种途径参与宿主代谢,具有十分广阔的研究空间。患者接受化疗后,正常的肠道菌群结构遭到破坏,这是化疗相关腹泻进展的关键之一^[4-5]。在本研究中,伊立替康诱导的腹泻小鼠较健康小鼠肠道菌群的 α 和 β 多样性明显改变。甘草泻心汤治疗后,腹泻小鼠的多样性得到纠正,趋于健康小鼠。基于此,甘草泻心汤具有调节化疗相关小鼠肠道菌群的效果。值得关注的是,甘草泻心汤治疗后,在门、

纲、目、科和属水平优势物种上,腹泻小鼠肠道菌群变形菌门、梭杆菌门、变形菌纲、梭杆菌纲、肠杆菌目、梭杆菌目、Muribaculaceae、拟杆菌科、丹毒丝菌科、埃格特菌科、norank_f_Muribaculaceae和拟杆菌属明显趋于健康小鼠。在这些受甘草泻心汤调控的优势物种中,变形菌门中多种(如沙门氏菌、霍乱弧菌)病原菌,其细胞壁成分脂多糖是机体炎症的诱因之一^[20]。研究显示,梭杆菌与结肠癌等肿瘤密切相关,结肠癌患者肠道中梭杆菌数量是健康人群的数百倍^[21]。Muribaculaceae广泛存在于动物肠道中,是肠道黏蛋白单糖的主要利用者,研究证实其丰度增加能够竞争性占据同样利用黏蛋白单糖的包括艰难梭菌在内的致病菌的生态位,进而有效抑制致病菌的丰度^[22]。拟杆菌属能够产生信使物质短链脂肪酸,进而影响肠道功能及炎症^[23]。因此,甘草泻心汤能够通过纠正腹泻小鼠这些优势物种丰度而发挥治疗腹泻的作用。

甘草泻心汤对于伊立替康诱导的腹泻小鼠具有明显的治疗作用,这一作用可能是通过调整腹泻小鼠肠道菌群而实现,研究结果可为经典名方甘草泻心汤的进一步开发与利用提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Negarandeh R, Salehifar E, Saghafi F, et al. Evaluation of adverse effects of chemotherapy regimens of 5-fluoropyrimidines derivatives and their association with DPYD polymorphisms in colorectal cancer patients [J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 560.
- [2] Wei D, Heus P, van de Wetering F T, et al. Probiotics for the prevention or treatment of chemotherapy- or radiotherapy-related diarrhoea in people with cancer [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2018, 8(8): CD008831.
- [3] Shaw C, Taylor L. Treatment-related diarrhea in patients with cancer [J]. Clin J Oncol Nurs, 2012, 16(4): 413-417.
- [4] Mekonnen S A, Merenstein D, Fraser C M, et al. Molecular mechanisms of probiotic prevention of antibiotic-associated diarrhea [J]. Curr Opin Biotechnol, 2020, 61: 226-234.
- [5] Grant C V, Loman B R, Bailey M T, et al. Manipulations of the gut microbiome alter chemotherapy-induced inflammation and behavioral side effects in female mice [J]. Brain Behav Immun, 2021, 95: 401-412.
- [6] 胡越, 李佳玲, 蒋淼, 等. 甘草泻心汤药理研究及临床应用进展 [J]. 中药与临床, 2022, 13(4): 80-84.
Hu Y, Li J L, Jiang M, et al. Progress in pharmacological research and clinical application of Gancao Xiexin Decoction [J]. Pharm Clin Chin Mater Med, 2022, 13(4): 80-84.
- [7] 彭晓洪, 宋棠, 黄亚秀, 等. 甘草泻心汤联合五苓散加减治疗重症监护病房相关性腹泻疗效研究 [J]. 中医临床研究, 2020, 12(36): 72-74.
Peng X H, Song T, Huang Y X, et al. Efficacy of Gancao Xiexin decoction combined with Wuling powder in the treatment of ICU-related diarrhea [J]. Clin J Chin Med, 2020, 12(36): 72-74.
- [8] 杨文博, 宋凤丽, 李全. 李全教授运用甘草泻心汤治疗卡培他滨所致腹泻的临床经验 [J]. 世界中西医结合杂志, 2017, 12(2): 180-183
Yang W B, Song F L, Li T. Prof. Li Tong's clinical experiences in the treatment of capecitabine - induced diarrhea with Gangcao Xiexin Tang [J]. World J Integr Tradit West Med, 2017, 12(2): 180-183
- [9] 沈灵娜, 刘军, 钱赟达, 等. 甘草泻心汤联合美沙拉嗪对溃疡性结肠炎患者疗效及肠道菌群和血清炎症因子水平的影响 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2021, 29(7): 474-478.
- [10] 郭佳裕, 孟娟, 杜锦辉. 甘草泻心汤对抗生素诱导肠道菌群失调小鼠肠道主要菌群及sIgA的影响 [J]. 中国微生态学杂志, 2019, 31(11): 1246-1249, 1259.
Guo J Y, Meng J, Du J H. Effects of Gancao Xiexin Decoction on main intestinal flora and sIgA in mice with intestinal flora disorder induced by antibiotics [J]. Chin J Microecol, 2019, 31(11): 1246-1249, 1259.
- [11] 沈雁, 倪思忆, 郑华君, 等. 甘草泻心汤调控 PERK-eIF2 α -CHOP 信号通路保护溃疡性结肠炎肠黏膜屏障的机制 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(5): 2657-2663.
Shen Y, Ni S Y, Zheng H J, et al. Mechanisms of Gancao Xiexin Decoction on protecting intestinal mucosal barrier by regulating PERK-eIF2 α -CHOP signaling pathway [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2021, 36(5): 2657-2663.
- [12] Wu Y H, Wang D, Yang X Q, et al. Traditional Chinese medicine Gegen Qinlian Decoction ameliorates irinotecan chemotherapy-induced gut toxicity in mice [J]. Biomedicine Pharmacother, 2019, 109: 2252-2261.
- [13] 刘芬, 谢思玲, 刘振云, 等. 六堡茶水提物对小鼠腹泻及肠道菌群的影响 [J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(23): 9166-9171.
Liu F, Xie S L, Liu Z Y, et al. Effects of Liupao tea water extract on diarrhea and intestinal flora of mice [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(23): 9166-9171.
- [14] 袁鹏, 马瑜璐, 刘圣金, 等. 矿物药青礞石对戊四唑点燃癫痫大鼠肠道菌群的影响 [J]. 中草药, 2021, 52(7): 2011-2023.
Yuan P, Ma Y L, Liu S J, et al. Effects of mineral Chinese medicine *Chloriti Lapis* on gut microbiota in PTZ-kindled epileptic rats [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(7): 2011-2023.
- [15] Benson A B, Ajani J A, Catalano R B, et al. Recommended guidelines for the treatment of cancer treatment-induced diarrhea [J]. J Clin Oncol, 2004, 22(14): 2918-2926.
- [16] 段金廛. 中药资源化学: 理论基础与资源循环利用 [M]. 北京: 科学出版社, 2015.
Duan J A. *Traditional Chinese Medicine Resource Chemistry: Theoretical Basis and Resource Recycling* [M]. Beijing: Science Press, 2015.
- [17] 许馨月. 中医药对化疗相关腹泻的研究进展 [J]. 世界

- 最新医学信息文摘, 2019, 19(72): 33-34.
- Xu X Y. Research progress of Chinese medicine on chemotherapeutic related diarrhoea [J]. World Latest Med Inf (Elect Vers), 2019, 19(72): 33-34.
- [18] 张桥, 乐世俊, 陈艳琰, 等. 中药调节肠道菌群治疗慢性腹泻的研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(8): 2539-2549.
- Zhang Q, Le S j, Chen Y y, et al. Research progress on traditional Chinese medicine regulating gut microbiota in treatment of chronic diarrhea [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(8): 2539-2549.
- [19] 朱杰, 杨云华, 王斐, 等. 基于高通量测序技术探讨陈皮对腹泻小鼠肠道菌群的影响 [J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(11): 3499-3508.
- Zhu J, Yang Y H, Wang F, et al. Effects of *Citri Reticulatae Pericarpium* on gut microbiota of diarrhea mice based on high-throughput sequencing technology [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(11): 3499-3508.
- [20] Vila-Casahonda R G, Lozano-Aponte J, Guerrero-Beltrán C E. HSP60-derived peptide as an LPS/TLR4 modulator: An *in silico* approach [J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 731376.
- [21] Tran H N H, Thu T N H, Nguyen P H, et al. Tumour microbiomes and *Fusobacterium* genomics in Vietnamese colorectal cancer patients [J]. NPJ Biofilms Microbiomes, 2022, 8(1): 87.
- [22] Pereira F C, Wasmund K, Cobankovic I, et al. Rational design of a microbial consortium of mucosal sugar utilizers reduces *Clostridiodes difficile* colonization [J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 5104.
- [23] Duncan S H, Louis P, Thomson J M, et al. The role of pH in determining the species composition of the human colonic microbiota [J]. Environ Microbiol, 2009, 11(8): 2112-2122.

[责任编辑 兰新新]