

基于脑肠轴探讨静灵口服液治疗注意缺陷多动障碍的作用机制

张甘霖¹, 季庆欣¹, 李明芯¹, 李伟^{1*}, 孙鹏^{2*}

1. 山东中医药大学 药学院, 山东 济南 250355

2. 山东中医药大学 中医药创新研究院, 山东 济南 250355

摘要:目的 通过观察静灵口服液(JLOL)对注意缺陷多动障碍(ADHD)大鼠脑肠肽分泌及肠道菌群结构的影响,探讨其治疗 ADHD 的作用机制。方法 将 40 只 SPF 级 3 周龄雄性 SHR 大鼠随机分为模型组、盐酸托莫西汀(阳性药, 2.68 mg·kg⁻¹)组及 JLOL 低、中、高剂量(2、4、8 mL·kg⁻¹)组, 每组 8 只, 并以 8 只同周龄雄性 WKY 大鼠作为对照组, 各组大鼠 ig 给予相应药物, 对照组和模型组 ig 给予去离子水, 每天 2 次, 给药 21 d。实验期间记录大鼠体重变化情况; 旷场实验与水迷宫实验观察大鼠行为学变化; 采用酶联免疫吸附(ELISA)法检测大鼠血清胃泌素(GAS)、胃动素(MTL)、饥饿素(GHRL)、血管活性肠肽(VIP)、P 物质(SP)、5-羟色胺(5-HT)含量; 宏基因组学检测大鼠肠道菌群的结构变化。结果 与模型组相比, JLOL 组大鼠体重显著降低($P < 0.05$); 旷场实验运动总路程、中心区域时间显著降低($P < 0.05$ 、0.01), 静止时间、边缘区域时间显著升高($P < 0.05$ 、0.01、0.001); 水迷宫实验潜伏时间均明显缩短($P < 0.05$ 、0.01、0.001); 血清 GAS、MTL、SP、GHRL 水平显著升高($P < 0.05$ 、0.001), VIP、5-HT 水平显著降低($P < 0.05$ 、0.01); 肠道菌群物种多样性明显提高, 厚壁菌门(Firmicutes)丰度明显升高, 拟杆菌门(Bacteroidota)丰度明显下降, 拟杆菌属(Bacteroides)、双歧杆菌属(Bifidobacterium)、粪杆菌属(Faecalibacterium)、副拟杆菌属(Parabacteroides)相对丰度上调, 梭菌属(Clostridium)、肠杆菌属(Enterobacter)、瘤胃球菌属(Ruminococcus)相对丰度下调; Chao1、Simpson、Observed、Shannon 指数均有所上升($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。Ruminococcus、Enterobacter 与血清中 GAS、MTL、GHRL、SP 含量呈负相关, 与血清中 VIP、5-HT 含量呈正相关; Faecalibacterium、Parabacteroides、Bifidobacterium、Bacteroides 与血清中 GAS、MTL、GHRL、SP 呈正相关, 与血清中 VIP、5-HT 含量呈负相关。结论 JLOL 对 ADHD 具有较好的治疗效果, 其机制可能与调节脑肠肽分泌与肠道菌群结构有关。

关键词: 注意缺陷多动障碍; 静灵口服液; 脑肠轴; 脑肠肽; 肠道菌群

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2026)03-1154-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.04.006

Mechanism of Jing Ling Oral Liquid in treatment of attention deficit hyperactivity disorder based on brain-gut axis

ZHANG Ganlin¹, JI Qingxin¹, LI Mingxin¹, LI Wei¹, SUN Peng²

1. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

2. Innovative Institute of Chinese Medicine and Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of action of Jingling Oral Liquid (JLOL) in the treatment of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD), the effects of JLOL on the secretion of brain-gut peptides and the structure of intestinal flora in ADHD rats were observed. **Methods** Forty 3-week-old male SHR rats were randomly divided into a model group, a positive drug group (atomoxetine hydrochloride, 2.68 mg·kg⁻¹), and low-, medium-, and high-dose JLOL groups (2, 4, and 8 mL·kg⁻¹), with eight rats in each group. Eight male WKY rats of the same age were used as the control group. Each group of rats was ig administered the corresponding drug, while the control and model groups were ig administered deionized water, twice a day for 21 days. During the experiment, the changes in body weight of the rats were recorded; the behavioral changes of the rats were observed through the open

收稿日期: 2025-12-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81874419)

作者简介: 张甘霖, 研究方向为分析药理学。E-mail: zhangganlin2023@163.com

*通信作者: 李伟, 教授, 研究方向为天然药物活性成分及构效关系。E-mail: liwei6911@163.com

field test and water maze test; the contents of gastrin (GAS), motilin (MTL), ghrelin (GHRL), vasoactive intestinal peptide (VIP), substance P (SP), and 5-hydroxytryptamine (5-HT) in the rat serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); and the structural changes of the intestinal flora in the rats were detected by metagenomics. **Results** Compared with the model group, the body weight of the JLOL group rats was significantly reduced ($P < 0.05$); the total distance traveled and the time spent in the center area in the open field test were significantly reduced ($P < 0.05, 0.01$), while the time spent at rest and in the peripheral area was significantly increased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$); the latency time in the water maze test was significantly shortened ($P < 0.05, 0.01, 0.001$); the levels of GAS, MTL, SP, and GHRL in the serum were significantly increased ($P < 0.05, 0.001$), while the levels of VIP and 5-HT were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$); the species diversity of the intestinal flora was significantly improved, the abundance of Firmicutes was significantly increased, the abundance of Bacteroidota was significantly decreased, the relative abundance of *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, and *Parabacteroides* was upregulated, and the relative abundance of *Clostridium*, *Enterobacter*, and *Ruminococcus* was downregulated; the Chao1, Simpson, Observed, and Shannon indices all increased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$); *Ruminococcus* and *Enterobacter* were negatively correlated with the levels of GAS, MTL, GHRL, and SP in the serum, and positively correlated with the levels of VIP and 5-HT; *Faecalibacterium*, *Parabacteroides*, *Bifidobacterium*, and *Bacteroides* were positively correlated with the levels of GAS, MTL, GHRL, and SP in the serum, and negatively correlated with the levels of VIP and 5-HT. **Conclusion** JLOL has a good therapeutic effect on ADHD, and its mechanism may be related to the regulation of brain-gut peptide secretion and the structure of intestinal flora.

Key words: attention deficit hyperactivity disorder; Jing Ling Oral Liquid; brain-gut axis; brain-gut peptide; gut microbiota

注意缺陷多动障碍 (ADHD) 是一种常见的儿童神经发育障碍, 俗称多动症, 主要表现为注意对象频繁转移, 轻者可对感兴趣的活动集中注意, 重者则对任何活动都无法集中注意^[1]。ADHD 的发病症状往往会一直持续到青年时期, 如若不进行积极的干预, 甚至会持续至成年时期, 其家庭也会面临较高的照顾负担^[2]。目前, 我国流行病学调查发现儿童 ADHD 发病率为 5.36%~7.22%, 常在 12 岁之前发病, 男性多于女性^[3-4]。

静灵口服液 (JLOL) 是一种中成药制剂, 具有滋阴潜阳、镇心安神的作用^[5], 由熟地黄、山药、茯苓、牡丹皮、泽泻、远志、龙骨等中药组成。临床研究发现, JLOL 治疗后, ADHD 患儿 Conners 评分显著降低, 神思涣散、多动多语有所改善^[6]。ADHD 患儿存在多巴胺异常摄取与释放, 多巴胺转运体 (DAT)、多巴胺 D2 受体 (DRD2) 表达异常^[7], JLOL 干预后降低 DAT、DRD2 表达, 改善临床症状^[8]。JLOL 联合化学药治疗 ADHD 有效率 (91.18%) 显著高于单用化学药治疗有效率 (73.53%)^[9], 且较单用化学药, JLOL 的联合使用并未增加患儿药物相关的不良反应, 安全性好^[10]。

本研究选取自发性高血压 (SHR) 大鼠为 ADHD 动物模型。幼年期的 SHR 大鼠表现出冲动性、活动过度 and 注意力缺陷^[11], 与 ADHD 临床症状相似。研究发现, SHR 大鼠在旷场实验中运动距离和运动速度较正常大鼠均显著增加^[12]。神经生物学

层面研究发现, SHR 大鼠与 ADHD 患者存在诸多同源性。SHR 大鼠去甲肾上腺素系统发生紊乱影响注意力调控, 炎症因子水平升高、纹状体和前额叶皮质结构和功能发生改变^[13]。目前, SHR 大鼠在国际上已广泛应用于 ADHD 疾病研究中^[14-16]。

ADHD 的病因及发病机制至今尚不清楚, 患者通常伴随其他精神疾病或其他身体系统疾病。临床统计中, 儿童患者常合并胃肠疾病, 提示除传统神经递质外存在其他中枢神经系统与机体其他部分发生联系的新信号通路和机制。本研究基于现代医学的脑肠轴理论, 采用 SHR 大鼠作为 ADHD 模型, 探讨 JLOL 对 ADHD 的大鼠脑肠肽及肠道菌群的调节作用。

1 材料

1.1 实验动物

40 只 3 周龄 SPF 级雄性 SHR 大鼠, 8 只 3 周龄 SPF 级雄性 WKY 大鼠, 均购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2021-0006。本实验动物于山东中医药大学动物实验室 SPF 级动物房饲养, 动物实验经伦理委员会审批, 审批号 SDUTCM20250528003。本实验过程中动物自由饮食、饮水, 温度 20~27 °C, 湿度 50%~70%。

1.2 药物及主要试剂

JLOL (辽宁东方人药业有限公司, 批号 20241016); 盐酸托莫西汀胶囊 (规格 10 mg, 北京

百奥药业有限公司, 批号 280202410007); 大鼠胃泌素 (GAS) 酶联免疫吸附测定试剂盒 (货号 K30542)、胃动素 (MTL) 酶联免疫吸附测定试剂盒 (货号 30543)、饥饿素 (GHRL) 酶联免疫吸附测定试剂盒 (货号 30930)、血管活性肠肽 (VIP) 酶联免疫吸附测定试剂盒 (货号 30538)、P 物质 (SP) 酶联免疫吸附测定试剂盒 (货号 30537)、5-羟色胺 (5-HT) 酶联免疫吸附测定试剂盒 (货号 30534) 均购于科捷斯 (上海) 生物科技有限公司。

1.3 主要仪器

ELX800T 型酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司); DYCP-32C 型琼脂糖水平核酸电泳仪 (北京市六一仪器厂); Covaris M220 超声波破碎仪 (美国 Covaris 公司); Agilent 2100 生物分析仪 (美国 Agilent Technologies 公司); PCR 仪 (美国 Bio Rad 公司)。

2 方法

2.1 动物分组及给药

开始实验前, 48 只大鼠于屏障环境内适应性饲养 7 d, 将 SHR 大鼠随机分为 5 组, 分别为模型组、托莫西汀 (阳性药, $2.68 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组和 JLOL 低、中、高剂量 (2 、 4 、 $8 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组, 每组 8 只, 另取 8 只 WKY 大鼠为对照组。按人 12 岁体质量 32 kg 计算, 每次用量 $0.3125 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$, 大鼠等效量为 $2 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。ig 给药, 对照组和模型组 ig 给予等量 0.9% 氯化钠溶液, 每天 2 次, 连续 21 d。

2.2 动物模型验证

为验证所购入 SHR 大鼠是否符合本实验要求, 在给药前对所有大鼠进行旷场实验。于给药前一天晚 8:00 对大鼠进行旷场实验, 在实验箱底中心划定中心区域。实验开始后始终将大鼠从中间区域放入检测箱, 检测时间 6 min, 第 1 分钟为适应阶段, 记录后 5 min 大鼠的探索行为。

2.3 观察大鼠的一般状态

实验期间观察记录大鼠的精神状态, 于每天 9:00 时记录各组大鼠体质量。

2.4 旷场实验

第 21 天 ig 给药后, 于 20:00 对大鼠进行旷场实验, 在实验箱底中心划定中心区域。实验开始后始终将大鼠从中间区域放入检测箱, 检测时间 6 min, 第 1 分钟为适应阶段, 记录后 5 min 大鼠的探索行为。

2.5 水迷宫实验

第 15 天对各组大鼠进行适应性游泳, 排除体

力不支的大鼠。给药第 16 天起进行为期 6 d 的水迷宫实验, 前 5 天为隐匿平台实验, 将水箱内注入水, 并适量加入可食用黑色素, 水面高于平台约 1 cm; 水面根据壁挂标志物分为 4 个象限, 为 I (东北)、II (东南)、III (西南)、IV (西北), 隐匿平台放在第 II 象限内。每天将大鼠依次从 I、III、IV 象限 3 个象限头面朝池壁入水, 同一只大鼠每次不同象限放入间隔 15~20 min。记录大鼠航行轨迹、找到隐匿平台时间等。当大鼠找到隐匿平台并停留 5 s 则停止信号追踪; 若大鼠在 60 s 内未找到平台, 则将其引导至隐匿平台, 并在此停留 10 s 后, 进行下一次实验。

2.6 脑肠肽测定

采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测大鼠血清中 GAS、MTL、GHRL、VIP、SP、5-HT 水平。

2.7 肠道菌群分析

通过行为学数据分析, JLOL 高剂量组较低剂量组、中剂量组效果更显著, 故本研究选取对照组、模型组和 JLOL 高剂量组大鼠肠道内容物, 进行宏基因组学分析。委托南京派森诺基因科技有限公司协助完成, 对各组大鼠肠道菌群物种丰度、菌群多样性、差异性等进行分析。

2.8 统计学方法

采用 SPSS 26.0、Graph Pad 10、Origin 软件对数据进行处理分析, 据情况采用单因素或双因素方差分析 (ANOVA), 各组结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

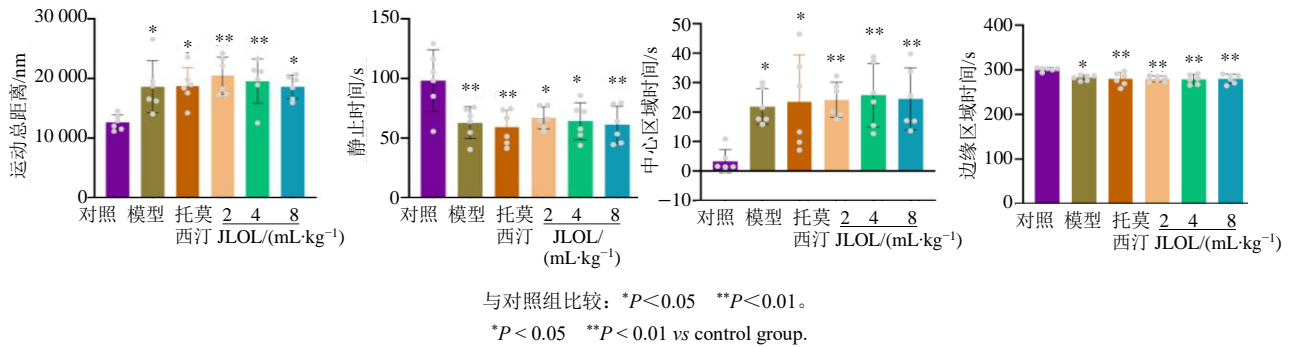
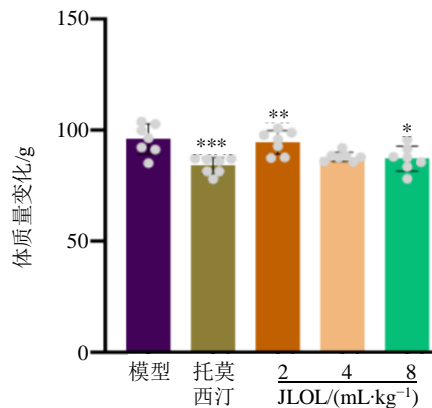
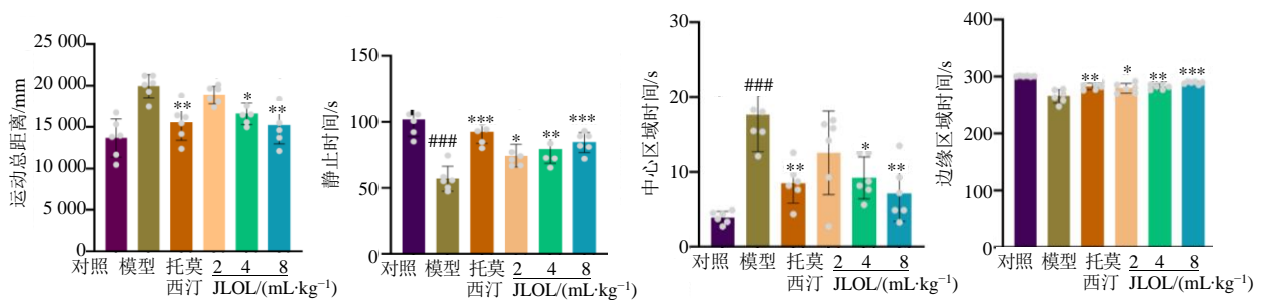
3.1 动物模型验证结果

给药前对各组动物进行旷场实验。结果如图 1 所示, 对照组为 WKY 大鼠, 其余组别大鼠均为未给药的 SHR 大鼠, 与对照组相比, 未给药 SHR 大鼠运动总距离增加, 静止时间减少, 中心区域时间增加, 边缘时间减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 、 0.01)。表明未给药 SHR 大鼠存在多动、冲动行为, 与 ADHD 临床表现一致, 模型符合实验要求。

3.2 大鼠一般状态及体质量变化情况

实验前, 除对照组外, 各组大鼠好动、躁动、反应激烈, 存在攻击行为; 随着给药次数的增加, 给药组大鼠表现镇静, 活动减少, 反应减弱。

实验开始前各组大鼠体质量均呈正态分布, 由于 WKY 大鼠与 SHR 大鼠品种不同, 在体型、体质量方面存在客观差异, 故本研究以 SHR 大鼠体质量进行比较。经 21 d 给药后, 各组大鼠体质量变化数据如图 2 所示, 与模型组 (均值 95.96 g) 相比,

图 1 给药前大鼠自主活动情况 ($\bar{x} \pm s, n=8$)Fig. 1 Spontaneous activity of rats before drug administration ($\bar{x} \pm s, n=8$)图 2 JLOL 对 ADHD 大鼠体质量变化的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)Fig. 2 Effect of JLOL on weight change of ADHD rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)图 3 JLOL 对 ADHD 大鼠自主活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)Fig. 3 Effect of JLOL on autonomic activity of ADHD rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

3.4 各组大鼠水迷宫实验结果比较

结果如图 4 所示, 各组大鼠在水迷宫实验中, 随着训练时间的增加, 潜伏时间呈下降趋势。实验 1~5 d 结果显示, 与对照组相比, 模型组潜伏时间均

给药组 JLOL 高剂量组 (均值 87.21 g) 大鼠体质量显著降低 ($P < 0.05$), 提示 JLOL 存在抑制食欲情况, 导致进食量减少或体质量下降。与模型组相比, 阳性药组 (均值 84.05 g) 大鼠体质量显著降低 ($P < 0.001$), 提示盐酸托莫西汀作为神经类药物导致食欲下降。

3.3 给药后各组大鼠旷场实验结果比较

结果如图 3 所示, 与对照组比较, 模型组运动总路程呈升高趋势, 中心区域时间显著增加 ($P < 0.001$); 与模型组相比, 阳性药组和 JLOL 中、高剂量组运动总路程、中心区域时间显著降低 ($P < 0.05, 0.01$)。与对照组比较, 模型组静止时间显著降低 ($P < 0.001$), 边缘区域时间呈降低趋势; 与模型组比较, JLOL 低、中、高剂量组静止时间、边缘区域时间显著升高 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$)。

明显缩短, 第 3~5 天差异显著 ($P < 0.001$), WKY 大鼠自主活动能力较低^[17], 且在水中具有漂浮的特性^[18-19], 导致 WKY 大鼠潜伏期相较于其余各组显著延长。与模型组相比, 实验 1~3 d 结果显示, 除

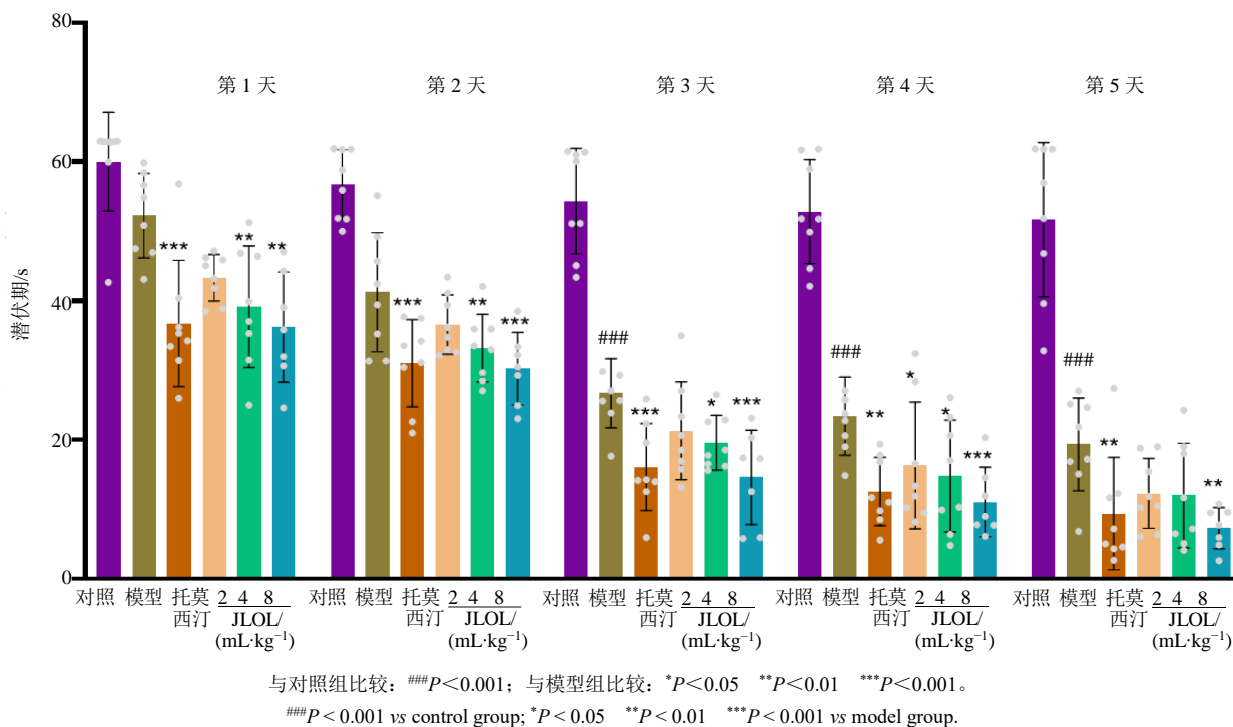


图 4 隐匿平台时期各组大鼠潜伏期时间比较 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

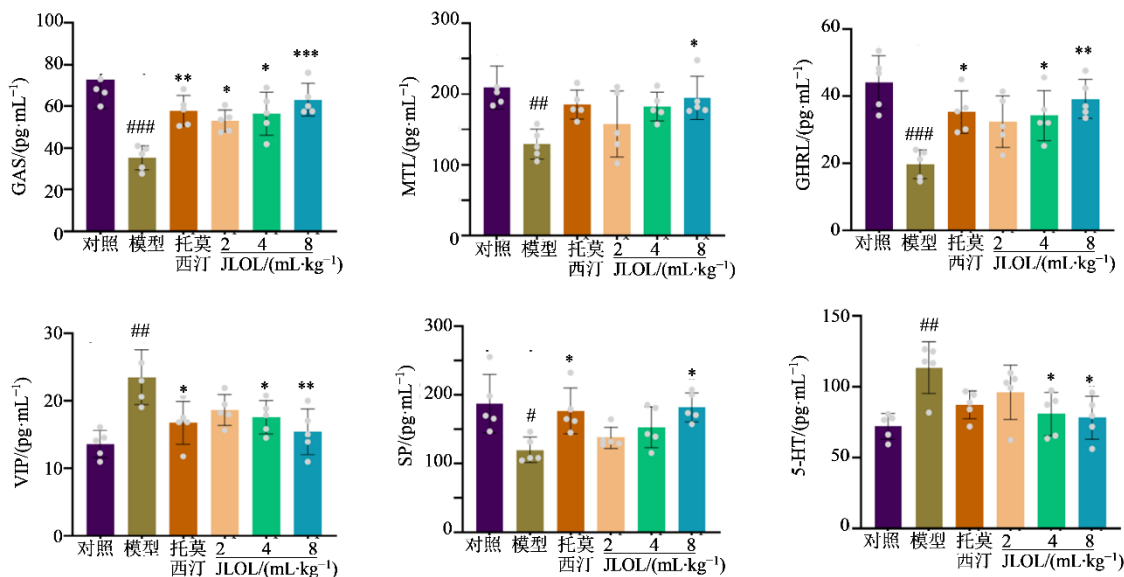
Fig. 4 Comparison of latency time of rats in different groups during period of concealing platform ($\bar{x} \pm s, n=8$)

JLOL 低剂量组外, 其余各组潜伏时间均明显缩短, 差异有统计学意义 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$); 实验第 4 天, 与模型组相比, 用药组潜伏期均显著缩短, 差异有统计学意义 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$); 实验第 5 天, 与模型组相比, 阳性药组和高剂量组潜伏期显

著缩短, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。结果表明, 药物干预后能有效改善 SHR 大鼠的记忆能力。

3.5 各组大鼠血清脑肠肽水平比较

结果如图 5 所示, 模型组大鼠血清 GAS、MTL、GHRL、SP 水平显著低于对照组 ($P < 0.05, 0.01,$



与对照组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$.
 # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group.

图 5 大鼠血清 GAS、MTL、GHRL、VIP、SP、5-HT 水平 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Fig. 5 Levels of serum GAS, MTL, GHRL, VIP, SP and 5-HT in rats ($\bar{x} \pm s, n=5$)

0.001), VIP、5-HT 水平显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, JLOL 低、中、高剂量组 GAS 水平显著升高 ($P < 0.05$ 、0.001), 高剂量组 MTL、SP 水平显著升高 ($P < 0.05$), 中、高剂量组 GHRL 水平显著升高 ($P < 0.05$ 、0.01), VIP、5-HT 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01)。

3.6 各组肠道菌群结果组成及差异

3.6.1 OUT 聚类分析 结果如图 6 显示, 对照组为 7 795 个物种, 模型组 7 301 个物种, 表明模型组大鼠肠道菌群物种的多样性较对照组有所降低。JLOL 高剂量组 7 532 个物种, 研究表明经过 JLOL 的干预治疗后, 大鼠肠道菌群物种多样性得到提高。

3.6.2 各组大鼠肠道菌群在门水平上分析 肠道菌群组成的分析结果如图 7 所示, 在门水平上, 各组大鼠肠道菌群均以厚壁菌门 (Firmicutes, 59.15%~89.13%) 和拟杆菌门 (Bacteroidota, 7.26%~36.49%) 为主, 占细菌总丰度的 80% 以上。与对照组相比, 模型组厚壁菌门 (Firmicutes) 丰度

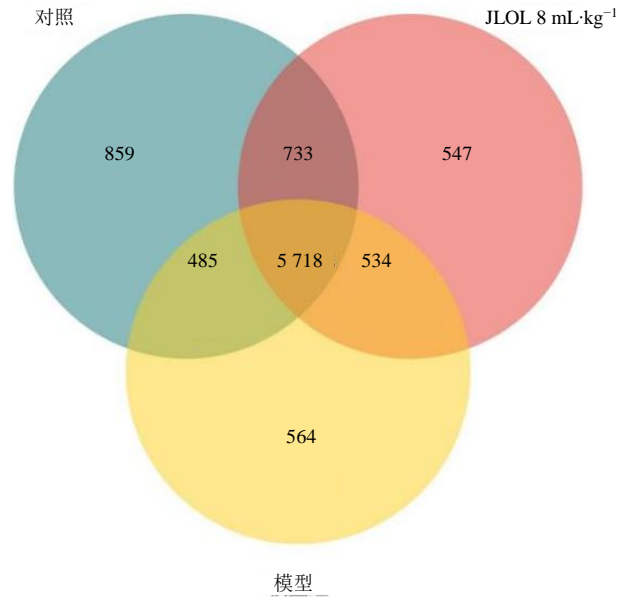


图 6 各组共有和特有菌群 Venn 图 ($n=3$)

Fig. 6 Venn diagram of shared and unique species in group ($n=3$)

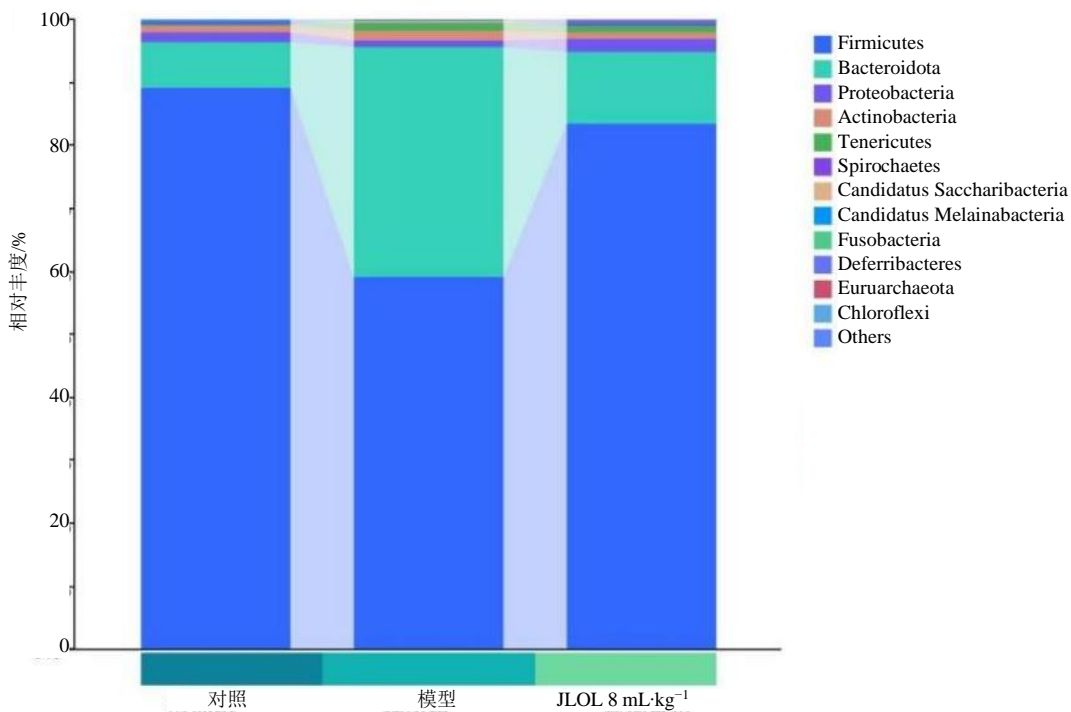


图 7 JLOL 对 ADHD 大鼠肠道菌群门水平物种的影响 ($n=3$)

Fig. 7 Effect of JLOL on phylum-level species of gut microbiota in ADHD rats ($n=3$)

明显降低, 拟杆菌门 (Bacteroidota) 丰度明显升高; 与模型组相比, 高剂量组厚壁菌门 (Firmicutes) 丰度明显升高, 拟杆菌门 (Bacteroidota) 丰度明显下降, 比例重新趋近于对照组。表明 JLOL 的干预可以调节大鼠肠道菌群, 缓解肠道紊乱。

3.6.3 各组大鼠肠道菌群在属水平上分析 肠道菌群组成的分析结果如图 8 所示, 在属水平上, 优势菌属包括梭菌属 (*Clostridium*)、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、罗氏菌属 (*Roseburia*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*)、瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*) 等。

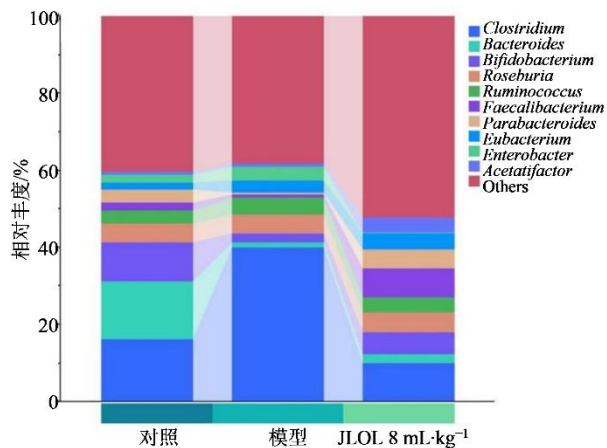
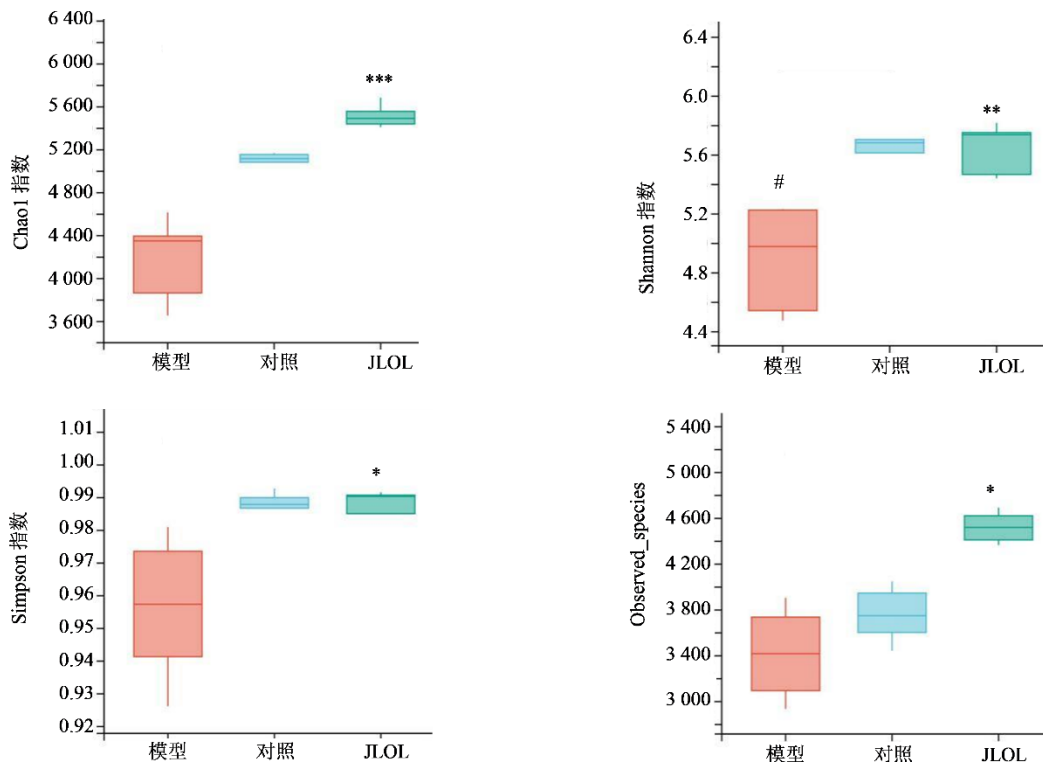


图 8 JLOL 对 ADHD 大鼠肠道菌群属水平物种的影响 (n=3)

Fig. 8 Effect of JLOL on gut microbiota genus-level species in ADHD rats (n=3)



与对照组比较: # $P < 0.05$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。
$P < 0.05$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group.

图 9 JLOL 对 ADHD 大鼠肠道菌群 Alpha 多样性指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 9 Effect of JLOL on alpha diversity index of gut microbiota in ADHD rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

数均有所降低, 差异没有统计学意义; 模型组的 Shannon 指数显著降低, 肠道微生物群落的丰富度和多样性降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与模型组相比, JLOL 高剂量组 Chao1、Simpson、Observed、Shannon 指数均有所上升, 差异有统计学

与对照组相比, 模型组梭菌属 (*Clostridium*)、肠杆菌属 (*Enterobacter*)、瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*) 相对丰度升高, 拟杆菌属 (*Bacteroides*)、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、粪杆菌属 (*Faecalibacterium*)、副拟杆菌属 (*Parabacteroides*) 相对丰度降低; 与模型组相比, 高剂量组上调了拟杆菌属 (*Bacteroides*)、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、粪杆菌属 (*Faecalibacterium*)、副拟杆菌属 (*Parabacteroides*) 相对丰度, 下调了梭菌属 (*Clostridium*)、肠杆菌属 (*Enterobacter*)、瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*) 相对丰度。表明 JLOL 对 ADHD 大鼠肠道菌群结构有正向调节作用, 即增加了调节情绪相关的益生菌丰度, 抑制有害菌生长。

3.6.4 Alpha 多样性分析 结果如图 9 所示, 与对照组相比, 模型组的 Chao1、Simpson、Observed 指

意义 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$)。表明 JLOL 可以恢复模型大鼠肠道菌群的丰富度和多样性。

3.6.5 Beta 多样性分析 结果如图 10 所示, 对照组与模型组样本分离度较好, 无重复无交集, 表明模型组大鼠肠道菌群发生了显著变化, 菌群结

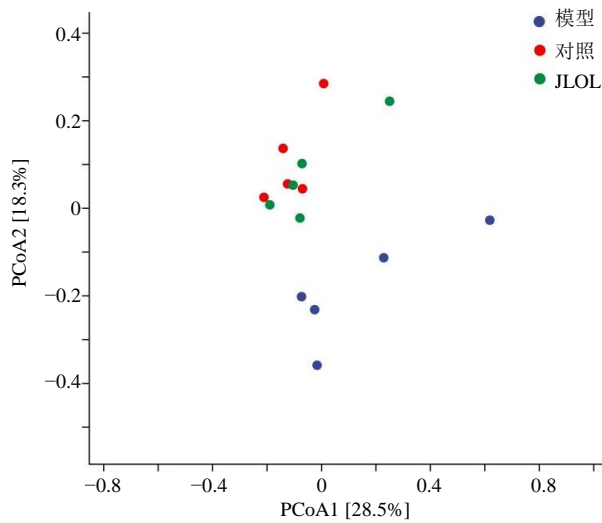


图 10 肠道菌群的 PCoA 图 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 10 PCoA plot of gut microbiota ($\bar{x} \pm s, n=3$)

构紊乱。给予 JLOL 治疗后，样本出现重叠区域，表明 JLOL 对 ADHD 大鼠的肠道菌群紊乱有改善作用。

3.6.6 Lefse 分析 筛选出各组线性判别分析 (LDA) 值 >2 的菌种，进行 Lefse 分析。

如图 11 结果所示，在对照组和模型组中，采用 Lefse 分析方法，从门到属共筛选到 25 个标志微生物，与对照组相比，在门水平上，模型组 Firmicutes、Actinobacteria 相对丰度显著降低。在属水平上，模型组 *Bacteroides*、*Bifidobacterium*、*Parabacteroides*、*Faecalibacterium*、*Blautia* 相对丰度降低，*Enterobacter*、*Ruminococcus* 相对丰度升高。

如图 12 结果所示，在 JLOL 组和模型组中，采用 Lefse 分析方法，从门到属共筛选到 40 个标志微生物，与模型组相比，在门水平上，JLOL 组

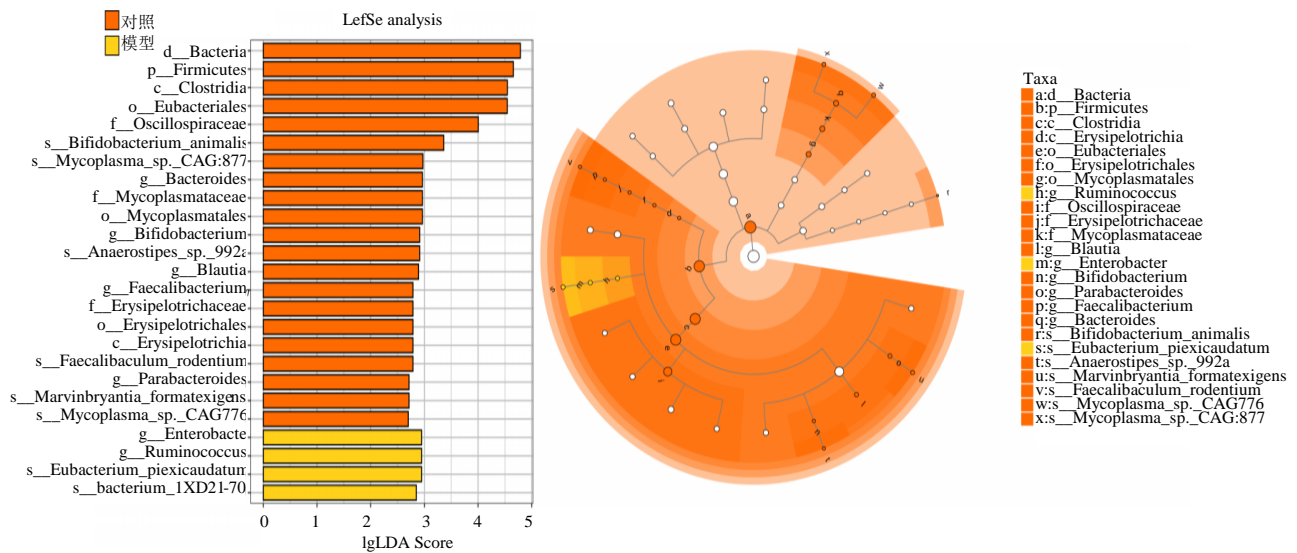


图 11 对照组和模型组 Lefse 分析 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 11 Lefse analysis of control group and model group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Firmicutes、Actinobacteria 相对丰度显著升高。在属水平上，JLOL 组 *Bacteroides*、*Bifidobacterium*、*Parabacteroides*、*Faecalibacterium* 相对丰度升高，*Enterobacter*、*Ruminococcus* 相对丰度降低。

3.7 肠道菌群与脑肠肽的相关性分析

结果如图 13 所示，*Ruminococcus*、*Enterobacter* 与血清中 GAS、MTL、GHRL、SP 含量呈负相关；与血清中 VIP、5-HT 含量呈正相关。*Faecalibacterium*、*Parabacteroides*、*Bifidobacterium*、*Bacteroides* 与血清中 GAS、MTL、GHRL、SP 呈正相关；与血清中 VIP、5-HT 含量呈负相关。

4 讨论

根据症状和临床特征，可将 ADHD 归属为“脏躁”“躁动”“狂越”等范畴^[20]。ADHD 的发病主要与情志因素、社会因素和饮食因素有关。小儿脾常不足，饮食不当有损脾胃，生痰热，扰心神，神思涣散，可能出现多动、学习困难等症状。

本研究采用 ADHD 模型大鼠，SHR 大鼠起源于东京高血压 Wistar 大鼠，经过交叉培育获得，较好地模拟 ADHD 多动、冲动、学习认知障碍的特点。本研究行为学实验中，在经 JLOL 和盐酸托莫西汀胶囊治疗 3 周后，其在中心区域运动时间和运

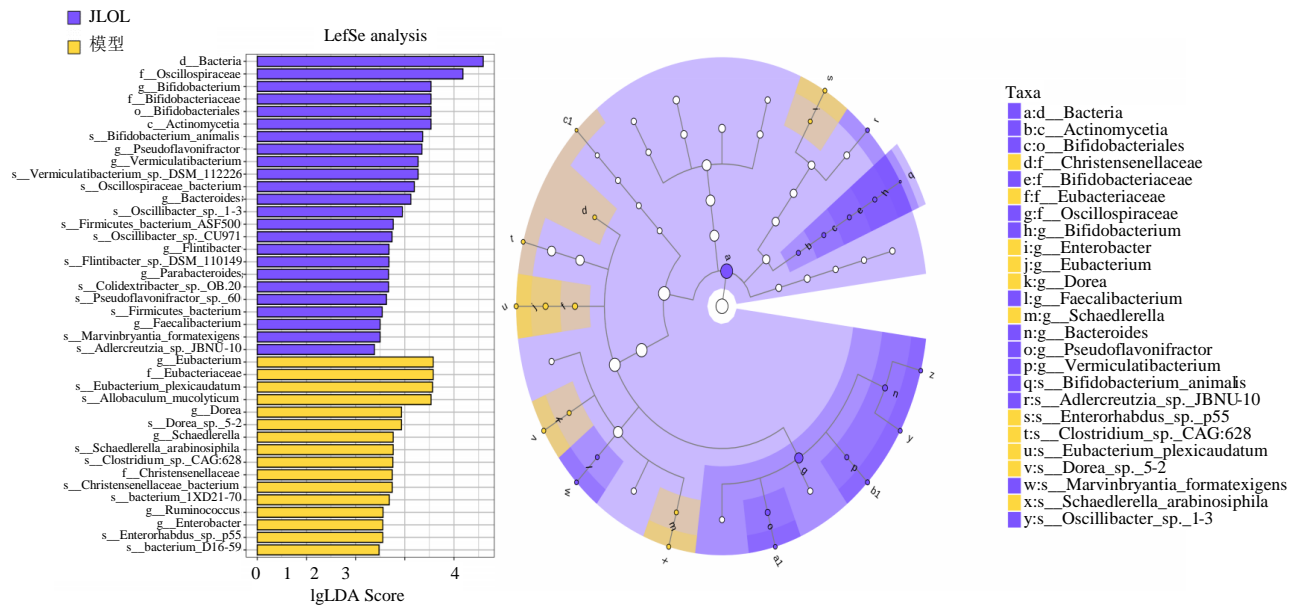
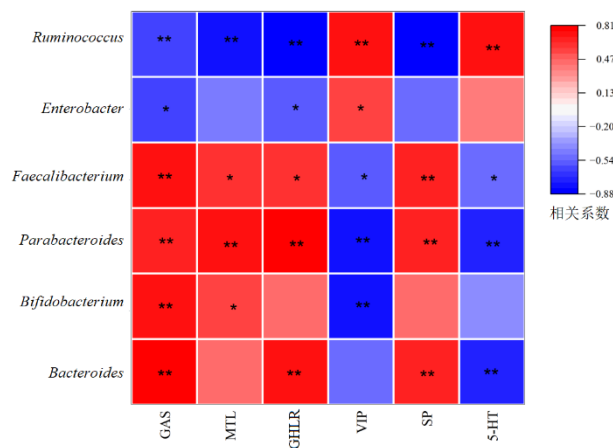


图 12 JLOL 高剂量组和模型组 Lefse 分析 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 12 Lefse analysis of JLOL high-dose group and model group ($\bar{x} \pm s, n=3$)



与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$.

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group.

图 13 相关性分析热图 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 13 Correlation analysis heatmap ($\bar{x} \pm s, n=3$)

动总距离显著下降,水迷宫潜伏期明显缩短。脑肠肽测定结果显示对照组和模型组大鼠存在显著差异, JLOL 和盐酸托莫西汀胶囊能显著调节大鼠血清 GAS、MTL、GHRL、VIP、SP、5-HT 水平。肠道菌群测定结果显示对照组、模型组和 JLOL 高剂量组在菌群丰富度和多样性方面有显著差异。

脑肠肽既是调节胃肠功能的关键因素,也是神经系统重要的神经递质。GAS 是一种由胃窦和十二指肠中的 G 细胞分泌的消化激素,刺激胃酸的分泌、促进胃黏膜生长,参与消化调节^[21]。同时,在

中枢神经系统中,多巴胺 D1 受体和 GAS 胆囊收缩素 B 受体存在关联机制, GAS/CCK 介导的信号传导参与并上调多巴胺能奖励系统、调节 HPA 轴^[22]。MTL 由十二指肠和空肠黏膜 EC2 细胞合成释放。中枢神经系统及肠肌间神经丛中也存在胃动素表达,激发肌电活动 III 相,形成周期性蠕动波以促进胃排空和小肠传递, MTL 及其受体激动剂红霉素具有抗焦虑作用^[23]。抑郁症患病率被证实与 MTL 基因多态性有关^[24],提示 MTL 可能参与影响 ADHD 的认知功能,情绪调控功能。Ghrelin 由胃底 X/A 样细胞分泌,通过激活下丘脑弓状核的神经肽 Y 神经元,参与食欲启动调控,同时促进胃肠蠕动和胃酸分泌,此外还涉及睡眠-觉醒周期调节、认知功能等生理活动^[25]。其基因多态性已被证实为 ADHD 发病的危险因素^[26]。VIP 由中枢神经系统和胰岛素 D1 细胞分泌,可以调节血压、中枢体温睡眠等,在消化系统主要作用是舒张肠道平滑肌并刺激腺体分泌^[27]。VIP 相关的基因超表达可以增加动物的攻击性行为^[28]。提示 VIP 与 ADHD 的躁动行为有关。SP 广泛分布在神经系统中的神经肽,主要参与痛觉传递和情绪调节等生理过程。SP 优先神经激肽 1 受体的缺乏会导致小鼠出现多动、冲动等类似于 ADHD 症状的特征^[29]。5-HT 是一种单胺类神经递质,广泛存在于中枢神经系统、肠道和血液中。参与情绪、食欲和认知功能的调节,如若分泌不足,

常有抑郁、情绪低落等表现^[30],提示 ADHD 与其分泌过多有关。

肠道菌群是指在人体消化道内栖息并与宿主形成共生关系的细菌群,研究发现,肠道菌群可以通过调节脑肠轴功能参与 ADHD 的发病^[31]。哺乳动物早期肠道菌群的结构组成相对简单,主要以变形菌门和放线菌门为主,随着时间的推移,肠道菌群的结构更加多样,厚壁菌门和拟杆菌门逐渐成为优势菌种(>98%),厚壁菌门(Firmicutes)/拟杆菌门(Bacteroidetes)(F/B)是反映肠道菌群紊乱的重要指标^[32]。研究结果显示,3组大鼠的肠道微生物在 Alpha 多样性指数和 Beta 多样性分析中均表现出具有统计学意义的差异,说明它们在物种组成方面也存在一定的区别,药物干预后改善了 ADHD 大鼠肠道菌群的紊乱情况。在属水平上,有害菌属梭菌属、肠杆菌属、瘤胃球菌属相对丰度升高,有益菌属拟杆菌属、双歧杆菌属、粪杆菌属、副拟杆菌属相对丰度降低。JLOL 干预后,其占比得到恢复,促进肠道微生态的恢复。

为深入探究 ADHD 大鼠模型在 JLOL 治疗后的肠道菌群变化特征,本研究选取了 3 组实验大鼠,对其肠道微生物群落进行了系统的差异性对比分析。结果表明,与对照组相比,模型组 Firmicutes、Actinobacteria、Bacteroides、Bifidobacterium、Parabacteroides、Faecalibacterium、Blautia 相对丰度降低,Enterobacter、Ruminococcus 相对丰度升高。与模型组相比,高剂量组 Firmicutes、Actinobacteria、Bacteroides、Bifidobacterium、Parabacteroides、Faecalibacterium 相对丰度升高,Enterobacter、Ruminococcus 相对丰度降低。Bacteroides 是生产短链脂肪酸(SCFAs)的主要菌群之一^[33]。SCFAs 对宿主具有抗炎和神经活性作用,肠道菌群会产生 SCFAs 影响神经营养因子(BDNF)的水平,BDNF 降低会导致小鼠出现工作记忆问题^[34]。对患病人群研究发现,ADHD 患者 BDNF 水平显著降低^[35]。提示 Bacteroides 丰度增加,产生 SCFAs 增多,BDNF 水平升高,从而改善 ADHD 的认知功能障碍、记忆障碍。Bifidobacterium 能够产生 γ -氨基丁酸(GABA),是人类大脑皮层中一种主要抑制性神经递质,有研究^[36-37]发现 ADHD 患儿 GABA 水平会显著降低,结果显示与冲动、多动呈负相关,因此推测 Bifidobacterium 在 ADHD 中起重要作用,进而影响多动、冲动水平。研究发现^[38]Enterobacter 会分

泌内毒素释放到血液中,从而通过血液循环到达下丘脑,引起体温调节中枢神经功能紊乱,进而影响中枢神经系统导致宿主行为异常。有动物实验研究表明^[39],ADHD 菌群移植小鼠与正常菌群移植小鼠相比,Parabacteroides 丰度减少。此外还发现 ADHD 菌群移植小鼠双侧海马、右侧内囊的各项异性分数降低,海马体对人体学习记忆、调节情绪起重要作用^[40]。故推测 Parabacteroides 在 ADHD 中发挥重要作用。Ruminococcus 相对丰度在 ADHD 和抑郁症等精神疾病中观察到变化^[41]。Ruminococcus NK4A214 group 的丰度降低,能够减少 ADHD 大鼠的过度运动,改善 ADHD 大鼠的症状^[42]。研究发现^[43],与对照组相比,Faecalibacterium 水平低的儿童 ADHD 患病率增加 30%~50%,同时,Faecalibacterium 与有一定抗炎作用,而 ADHD 患者体内炎症因子水平显著升高,因此推测 Faecalibacterium 可以稀释炎症细胞因子从而影响大脑发育,进而在 ADHD 中发挥作用。

肠道菌群是胃肠道与大脑之间双向调节通路的重要组成部分,其稳态对脑肠互动的协调平衡起着关键作用。肠道中关键菌群与脑肠肽进行相关性分析发现,肠道菌群作为脑肠轴上行通路信号传递的重要媒介,能通过神经内分泌、免疫等多种信号转导途径影响脑肠轴功能,进而调控脑肠肽的分泌,两者有着密切的关联。

JLOL 在治疗 ADHD 方面展现出良好的疗效。其作用机制可能涉及多个方面:首先,它能够调节脑肠肽的分泌;其次,有助于改善肠道菌群的结构平衡;此外,还与恢复脑肠轴的功能密切相关。这些综合因素共同作用,使得该药物在 ADHD 的治疗中发挥积极作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 见海超,张建民. 儿童多动症和抽动障碍的治疗与护理 [J]. 药物与人, 2025, 38(9): 59-61.
Jian H C, Zhang J M. Treatment and nursing care of children with ADHD and TIC disorder [J]. Med Hum, 2025, 38(9): 59-61.
- [2] 龚金鑫,蔡世忠,赵焱,等. 6~14 岁注意缺陷多动障碍儿童行为症状及主要照顾者负担研究 [J]. 华南预防医学, 2025, 51(3): 344-347, 352.
Gong J X, Cai S Z, Zhao Y, et al. Behavioral symptoms of children aged 6—14 years with attention deficit

- hyperactivity disorder and the burden of primary caregiver [J]. *South China J Prev Med*, 2025, 51(3): 344-347, 352.
- [3] Polanczyk G V, Salum G A, Sugaya L S, et al. Annual research review: A Meta-analysis of the worldwide prevalence of mental disorders in children and adolescents [J]. *J Child Psychol Psychiatry*, 2015, 56(3): 345-365.
- [4] Popit S, Serod K, Locatelli I, et al. Prevalence of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD): Systematic review and Meta-analysis [J]. *Eur Psychiatry*, 2024, 67(1): e68.
- [5] 史亦男, 杜志云, 李书秀. 静灵口服液联合阿立哌唑治疗儿童注意缺陷多动障碍的临床研究 [J]. *现代药物与临床*, 2024, 39(4): 962-965.
- Shi Y N, Du Z Y, Li S X. Clinical observation of tomoxetine capsule combined with Jingling Oral Liquid in the treatment of ADHD in children [J]. *Drugs Clin*, 2024, 39(4): 962-965.
- [6] 徐凌燕, 滕懿群. 静灵口服液联合中枢神经兴奋剂对 160 例儿童多动症的临床分析 [J]. *中国妇幼健康研究*, 2020, 31(10): 1388-1392.
- Xu L Y, Teng Y Q. Therapeutic effect of Jingling oral liquid combined with central nervous stimulant on ADHD in children [J]. *Chin J Woman Child Health Res*, 2020, 31(10): 1388-1392.
- [7] Hasler R, Salzmann A, Bolzan T, et al. DAT1 and DRD4 genes involved in key dimensions of adult ADHD [J]. *Neurosci*, 2015, 36(6): 861-869.
- [8] 郝伟红, 关小宁, 冯淑医, 等. 静灵口服液对癫痫共患儿童注意缺陷多动障碍患儿 DAT、DRD2 的影响 [J]. *长春中医药大学学报*, 2020, 36(3): 507-510.
- Hao W H, Guan X N, Feng S Y, et al. Effect of Jingling Oral Liquid on attention deficit hyperactivity disorder in children with epilepsy and its effect on serum DAT and DRD2 levels [J]. *J Changchun Univ Chin Med*, 2020, 36(3): 507-510.
- [9] 赵静丽, 陈云秋, 宋哲, 等. 静灵口服液辅助托莫西汀治疗小儿抽动障碍共患注意缺陷多动障碍的增效作用分析 [J]. *临床医学*, 2026, 46(1): 108-112.
- Zhao J L, Chen Y Q, Song Z, et al. Analysis of synergistic effect of jingling oral liquid assisted with tomoxetine in the treatment of attention deficit hyperactivity disorder in children with tic disorder [J]. *Clin Med*, 2026, 46(1): 108-112.
- [10] 廖文娟, 吴能静, 陈恒炜, 等. 静灵口服液联合盐酸哌甲酯治疗注意缺陷多动障碍的效果 [J]. *中国医学创新*, 2025, 22(30): 1-5.
- Liao W J, Wu N J, Chen H W, et al. Effect of jingling oral liquid combined with methylphenidate hydrochloride in the treatment of attention deficit hyperactivity disorder [J]. *Med Innov China*, 2025, 22(30): 1-5.
- [11] Aparicio C F, Hennigan P J, Mulligan L J, et al. Spontaneously hypertensive (SHR) rats choose more impulsively than Wistar-Kyoto (WKY) rats on a delay discounting task [J]. *Behav Brain Res*, 2019, 364: 480-493.
- [12] 周荣易, 王娇娇, 韩新民. SHR、WKY 大鼠与 SD 大鼠注意缺陷多动障碍模型行为学特征的比较 [J]. *中国实验动物学报*, 2017, 25(4): 380-385.
- Zhou R Y, Wang J J, Han X M. Comparison of the behavior characteristics in SHR, WKY and SD rat models of attention deficit/hyperactivity disorder [J]. *Acta Lab Animalis Sci Sin*, 2017, 25(4): 380-385.
- [13] Bogdańska-Chomeczyk E, Wojtacha P, Tsai M L, et al. Alterations in striatal architecture and biochemical markers' levels during postnatal development in the rat model of an attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD) [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(24): 13652.
- [14] Dupuy C, Castelnaud P, Mavel S, et al. SHR/NCrI rats as a model of ADHD can be discriminated from controls based on their brain, blood, or urine metabolomes [J]. *Transl Psychiatry*, 2021, 11(1): 235.
- [15] Gungor Aydin A, Adiguzel E. The mesocortical dopaminergic system cannot explain hyperactivity in an animal model of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD)- Spontaneously hypertensive rats (SHR) [J]. *Lab Anim Res*, 2023, 39(1): 20.
- [16] Chang T M, Lin H L, Tzang C C, et al. Unraveling the role of miR-200b-3p in attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) and its therapeutic potential in spontaneously hypertensive rats (SHR) [J]. *Biomedicines*, 2024, 12(1): 144.
- [17] 郑小兰, 陈燕惠. 注意缺陷多动障碍的实验动物模型 [J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2015, 24(3): 276-279.
- Zheng X L, Chen Y H. Experimental animal models in attention deficit hyperactivity disorder [J]. *Chin J Behav Med Brain Sci*, 2015, 24(3): 276-279.
- [18] Diana G. Does hypertension alone lead to cognitive decline in spontaneously hypertensive rats? [J]. *Behav Brain Res*, 2002, 134(1/2): 113-121.
- [19] 周荣易, 王娇娇, 韩新民. SHR、WKY 大鼠与 SD 大鼠注意缺陷多动障碍模型行为学特征的比较 [J]. *中国实验动物学报*, 2017, 25(4): 380-385.
- Zhou R Y, Wang J J, Han X M. Comparison of the behavior characteristics in SHR, WKY and SD rat models of attention deficit/hyperactivity disorder [J]. *Acta Lab Animalis Sci Sin*, 2017, 25(4): 380-385.
- [20] 许甜, 李静. 儿童多动症中医外治法研究进展 [J]. 实

- 用中医药杂志, 2021, 37(3): 521-523.
- Xu T, Li J. Research progress on external treatment of ADHD in children with traditional Chinese medicine [J]. *J Pract Tradit Chin Med*, 2021, 37(3): 521-523.
- [21] Xu P, Gildea J J, Zhang C, et al. Stomach gastrin is regulated by sodium via PPAR- α and dopamine D1 receptor [J]. *J Mol Endocrinol*, 2020, 64(2): 53-65.
- [22] Nees F, Löffler M, Usai K, et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis feedback sensitivity in different states of back pain [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2019, 101: 60-66.
- [23] Feng B, Liu J C, Zhang J, et al. Anxiolytic actions of motilin in the basolateral amygdala [J]. *Mol Neurobiol*, 2013, 47(3): 892-902.
- [24] Rajkumar R P. Gut hormones as potential therapeutic targets or biomarkers of response in depression: The case of motilin [J]. *Life*, 2021, 11(9): 892.
- [25] Poher A L, Tschöp M H, Müller T D. Ghrelin regulation of glucose metabolism [J]. *Peptides*, 2018, 100: 236-242.
- [26] 郝燕燕, 何佩佩, 林军祥, 等. 血浆 ghrelin 水平与儿童注意缺陷多动障碍的相关性分析 [J]. *现代实用医学*, 2020, 32(1): 59-61, 110.
- Hao Y Y, He P P, Lin J X, et al. Correlation analysis between plasma ghrelin level and attention deficit hyperactivity disorder in children [J]. *Mod Pract Med*, 2020, 32(1): 59-61, 110.
- [27] 叶贝. P-物质、血管活性肠肽、胃泌素和 5-羟色胺与胃肠功能的研究进展 [J]. *国际儿科学杂志*, 2017, 44(4): 249-252.
- Ye B. Substance P, vasoactive intestinal peptide, gastrin, 5-hydroxytryptamine and gastrointestinal function [J]. *Int J Pediatr*, 2017, 44(4): 249-252.
- [28] Horton B M, Michael C M, Prichard M R, et al. Vasoactive intestinal peptide as a mediator of the effects of a supergene on social behaviour [J]. *Proc Biol Sci*, 2020, 287(1924): 20200196.
- [29] Pillidge K, Porter A J, Dudley J A, et al. The behavioural response of mice lacking NK₁ receptors to guanfacine resembles its clinical profile in treatment of ADHD [J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171(20): 4785-4796.
- [30] 秦娟娟, 刘振华, 梁艳, 等. 5-羟色胺及其受体与抑郁症 [J]. *国际药学研究杂志*, 2012, 39(5): 409-413.
- Qin J J, Liu Z H, Liang Y, et al. Serotonin, its receptors and depression [J]. *J Int Pharm Res*, 2012, 39(5): 409-413.
- [31] 张珊, 万林, 孙于林, 等. 注意缺陷多动障碍患儿的肠道菌群特征 [J]. *临床儿科杂志*, 2020, 38(4): 264-268.
- Zhang S, Wan L, Sun Y L, et al. Characteristics of gut microbiota in children with attention deficit hyperactivity disorder [J]. *J Clin Pediatr*, 2020, 38(4): 264-268.
- [32] Qin J J, Li R Q, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing [J]. *Nature*, 2010, 464(7285): 59-65.
- [33] MacFarlane S, MacFarlane G T. Regulation of short-chain fatty acid production [J]. *Proc Nutr Soc*, 2003, 62(1): 67-72.
- [34] Bercik P, Denou E, Collins J, et al. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotrophic factor and behavior in mice [J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(2): 599-609, 609.e1-3.
- [35] Corominas-Roso M, Ramos-Quiroga J A, Ribases M, et al. Decreased serum levels of brain-derived neurotrophic factor in adults with attention-deficit hyperactivity disorder [J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2013, 16(6): 1267-1275.
- [36] Yunes R A, Poluektova E U, Dyachkova M S, et al. GABA production and structure of gadB/gadC genes in *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains from human microbiota [J]. *Anaerobe*, 2016, 42: 197-204.
- [37] Edden R A E, Crocetti D, Zhu H, et al. Reduced GABA concentration in attention-deficit/hyperactivity disorder [J]. *Arch Gen Psychiatry*, 2012, 69(7): 750-753.
- [38] Wang L J, Yang C Y, Chou W J, et al. Gut microbiota and dietary patterns in children with attention-deficit/hyperactivity disorder [J]. *Eur Child Adolesc Psychiatry*, 2020, 29(3): 287-297.
- [39] Tengeler A C, Dam S A, Wiesmann M, et al. Gut microbiota from persons with attention-deficit/hyperactivity disorder affects the brain in mice [J]. *Microbiome*, 2020, 8(1): 44.
- [40] Hueston C M, Cryan J F, Nolan Y M. Stress and adolescent hippocampal neurogenesis: Diet and exercise as cognitive modulators [J]. *Transl Psychiatry*, 2017, 7(4): e1081.
- [41] Hsiao E Y, McBride S W, Hsien S, et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders [J]. *Cell*, 2013, 155(7): 1451-1463.
- [42] Tang K R, Hao W Z, Mo X W, et al. Analysis of the therapeutic effect of Dimu Ningshen (TCM formula) on attention deficit hyperactivity disorder based on gut microbiota and serum metabolomics [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2022, 22(1): 24.
- [43] Penders J, Stobberingh E E, van den Brandt P A, et al. The role of the intestinal microbiota in the development of atopic disorders [J]. *Allergy*, 2007, 62(11): 1223-1236.