

葛根芩连汤对 KK-Ay 糖尿病小鼠血浆中 LPS、TNF- α 、IL-6 及肠道菌群的影响

章常华¹, 马广强², 邓永兵³, 王晓云¹, 陈颖翀⁴, 涂秀英¹, 于梅¹, 盛军庆^{5*}

1. 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330004

2. 江西中医药大学生命科学院, 江西 南昌 330004

3. 江西省南昌市新建区人民医院, 江西 南昌 330100

4. 江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004

5. 南昌大学生命科学学院, 江西 南昌 330031

摘要: 目的 探讨葛根芩连汤(GGQLD)对 KK-Ay 糖尿病小鼠血浆中脂多糖(LPS)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)的量及肠道菌群的调节作用。方法 以普通饲料喂养的 C57BL/6J 小鼠作为对照组, ig 等量蒸馏水。将高脂饲料喂养的 KK-Ay 小鼠分为 5 组, 吡格列酮组和模型组分别 ig 给予盐酸吡格列酮 5 mg/kg 和等量蒸馏水, GGQLD 高、中、低剂量组 ig 分别给予 GGQLD 生药 40、13.3、4.44 g/kg。各组均连续给药 4 周后, 以鲎试剂显色基质法测定血浆中 LPS 的量, 用酶联免疫吸附试验法(ELISA)检测血浆中 TNF- α 及 IL-6 的水平, 采用变性梯度凝胶电泳(DGGE)技术分析小鼠肠道菌群的结构。结果 与模型组相比, GGQLD 高、中剂量组均能显著降低小鼠血浆内 LPS 的量($P < 0.05$), 分别降低了 15.61%、14.48%; GGQLD 高、中、低剂量组 IL-6 的量与模型组比较分别下降了 56.86%、37.12%、30.21%, 具有一定的剂量依赖性, 且有统计学意义($P < 0.05$); GGQLD 高、中、低剂量组 TNF- α 的量均明显低于模型组($P < 0.05$), 分别下降了 28.32%、30.70%、23.42%。GGQLD 高剂量组 DGGE 图谱条带数目明显增多, 且经克隆、测序和 Blast 比对分析, 约翰逊氏乳杆菌 *Lactobacillus johnsonii* 为 GGQLD 高剂量组特有, 说明 GGQLD 可明显调节肠道菌群结构。结论 GGQLD 抗 2 型糖尿病胰岛素抵抗作用可能与其改善 LPS、TNF- α 、IL-6 等炎症因子, 及调节肠道菌群结构相关。

关键词: 葛根芩连汤; KK-Ay 糖尿病小鼠; 肠道菌群; 变性梯度凝胶电泳; 内毒素; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-6

中图分类号: R286.72 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)08-1611-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.08.020

Effect of Gegen Qinlian Decoction on LPS, TNF- α , IL-6, and intestinal flora in diabetic KK-Ay mice

ZHANG Chang-hua¹, MA Guang-qiang², DENG Yong-bing³, WANG Xiao-yun¹, CHEN Ying-chong⁴,
TU Xiu-ying¹, YU Mei¹, SHENG Jun-qing⁵

1. College of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang 330004, China

2. College of Life Science, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

3. People's Hospital of Xinjian County in Jiangxi Province, Nanchang 330100, China

4. Key Laboratory of Modern Preparation of TCM Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

5. College of Life Science, Nanchang University, Nanchang 330031, China

Abstract: Objective To explore the effect of Gegen Qinlian Decoction (GGQLD) on LPS, TNF- α , IL-6, and intestinal flora in diabetic KK-Ay mice. **Methods** C57BL/6J mice with ordinary feed were taken as the normal control group and orally administrated with equal distilled water. The KK-Ay mice fed with high-fat diet were divided into five groups: pioglitazone group, blank group (model

收稿日期: 2016-10-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81460622, 81260660); 江西省自然科学基金资助项目(20151BAB205079, 20151BAB205077); 江西省卫生计生委科研计划项目(2016A024)

作者简介: 章常华(1977—), 男, 博士, 副教授, 主要从事药理学教学及科研工作。Tel: (0791)87118919 E-mail: shengjunqin@163.com

*通信作者 盛军庆(1978—), 女, 博士, 副教授, 主要从事生物学教学及科研工作。Tel: (0791)83969530 E-mail: shengjunqing@163.com

group), high, medium, and low dose GGQLD group, and orally administrated with pioglitazone hydrochloride (5 mg/kg), distilled water, and GGQLD (crude drug 40, 13.3, and 4.44 g/kg), respectively. The oral administration for six groups lasted for four weeks. Tumor necrosis factor (TNF- α), interleukin 6 (IL-6), and endotoxin (LPS) levels in the plasma were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); Gut microbial communities were assayed by polymerase chain reaction (PCR) and PCR-denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE) methods. **Results** Compared with the model group, the LPS levels in the plasma of mice were significantly reduced by 15.61% and 14.48% respectively in the Gegenqinlian Decoction of high and medium dose group ($P < 0.05$), the IL-6 levels in plasma of mice were significantly reduced by 56.86%, 37.12% and 30.21% respectively in high, medium, and low dose GGQLD group ($P < 0.05$), and the TNF- α levels in plasma of mice were significantly reduced by 28.32%, 30.70%, and 23.42% respectively in high, medium, and low dose GGQLD group ($P < 0.05$). The number of DGGE bands in high dose group significantly increased, and by cloning, sequencing, and Blast analysis, *Lactobacillus johnsonii* only existed in the high dose group; The results showed that GGQLD could regulate the structure of intestinal flora in KK-Ay mice. **Conclusion** The mechanisms of anti-diabetic effects of GGQLD in type 2 diabetic KK-Ay mice are probably related with the anti-inflammation and regulation of intestinal flora.

Key words: Gegen Qinlian Decoction; diabetic KK-Ay mice; intestinal flora; DGGE; endotoxin; tumor necrosis factor- α ; interleukin 6

糖尿病是一种常见的内分泌代谢性疾病, 中国已成为糖尿病发病人口大国^[1-2]。越来越多的证据表明, 肠道菌群在肥胖及相关代谢性疾病中扮演着重要角色^[3-4]。研究表明, 长期吃低膳食纤维或高脂肪食物会导致肠道菌群失调, 尤其是肠道中革兰阴性菌增加, 其细胞壁结构中的脂多糖 (LPS) 释放, 产生大量内毒素, 破坏肠道黏膜, 造成肠壁渗漏, 并可吸收入血, 进一步刺激免疫细胞分泌炎症因子如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6 (IL-6) 等。以炎症因子升高为特征的慢性低度炎症与代谢异常密切相关, 最终可引起 2 型糖尿病胰岛素抵抗^[5-6]。在前期研究中发现, 葛根芩连汤 (GGQLD) 可改善高脂饲料联合链脲佐菌素诱导建立的 2 型糖尿病胰岛素抵抗大鼠的糖脂代谢^[7], 且可降低 KK-Ay 糖尿病小鼠的体质量、空腹血糖、三酰甘油、总胆固醇、胰岛素的量, 升高高密度脂蛋白的量等^[8], 但其作用机制仍需进一步深入研究。本研究检测了 GGQLD 对高脂饮食引起的 KK-Ay 糖尿病小鼠模型血浆中 LPS、TNF- α 、IL-6 水平及肠道菌群结构紊乱的调节作用, 从肠道微生态角度初步阐释了 GGQLD 干预糖尿病的作用机制。

1 材料

1.1 动物及饲料

健康雄性 C57BL/6J 小鼠 10 只, SPF 级, 体质量 (20 $\pm$ 2) g; 雄性自发性 2 型糖尿病模型 KK-Ay 小鼠 60 只, SPF 级, 8 周龄, 体质量 (20 $\pm$ 2) g, 北京华阜康生物科技股份有限公司, 许可证号 SCXK (京) 2014-0004。普通饲料和高脂饲料 (猪油 10%、蛋黄粉 10%、普通饲料 80%) 均由北京华阜康生物科技股份有限公司提供。

1.2 药品及试剂

葛根 *Puerariae Lobatae Radix* (批号 141201) 为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥根; 黄芩 *Scutellariae Radix* (批号 141203) 为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根; 黄连 *Coptidis Rhizoma* (批号 141221) 为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎; 炙甘草 *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle* (批号 141213) 为甘草的炮制加工品, 甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎; 以上药材由江西樟树台属药材公司提供, 由江西中医药大学药学院邓可众副教授鉴定。按文献方法^[7]制备 GGQLD。

Genview 细菌基因组 DNA 提取试剂盒, 美国 Genview 公司, 批号 5908010101; Sybrgreen I 荧光染料, 北京鼎国昌盛生物技术有限公司, 批号 46000130; 盐酸吡格列酮, 北京太洋药业有限公司, 批号 140201; TNF- α 酶联免疫试剂盒, 武汉优尔生科技股份有限公司, 批号 L150707213; IL-6 酶联免疫试剂盒, 武汉优尔生科技股份有限公司, 批号 L150715400; 鲎试剂试剂盒, 厦门市鲎试剂实验厂有限公司, 批号 140325。

Formamide 去离子甲酰胺 (批号 37B00160)、核酸染料 (批号 54D00150)、2 $\times$ Taq PCR Green Mix, (批号 55H001200), 均购自北京鼎国昌盛生物技术有限公司。

1.3 仪器

K960 型 PCR 扩增仪, 杭州晶格科学仪器有限公司; 721BR11308 凝胶成像系统, 美国 Bio-Rad

公司; EXx808iu 型酶标仪, 基因有限公司; DGGE 型变性梯度凝胶电泳系统 D-Code™ Universal Mutation Detection System, 美国 Bio-Rad 公司。

2 方法

2.1 分组及给药

以普通饲料喂养的 C57BL/6J 小鼠作为对照组, ig 等量蒸馏水。将高脂饲料喂养的符合条件的 KK-Ay 小鼠随机分为 5 组, 每组 10 只, 吡格列酮组和模型组分别 ig 盐酸吡格列酮 5 mg/kg 和等量蒸馏水; GGQLD 高、中、低剂量组分别 ig GGQLD 生药 40.00、13.30、4.44 g/kg。各组均连续给药 4 周, 末次给药后 3 h, 小鼠眼静脉丛取血, 肝素抗凝, 3 000 r/min 离心 10 min 分离血浆, 以鲎试剂显色基质法测定血浆 LPS, 酶联免疫吸附试验法 (ELISA) 检测血浆中 TNF- α 及 IL-6 的水平, 变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 技术分析小鼠肠道菌群结构^[8]。

2.2 肠道细菌组 DNA 提取^[9]

末次给药 3 h 后取小鼠的粪便, 无菌收集、溶解, 肠道细菌组 DNA 按 Genview 细菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书进行。

2.3 PCR-DGGE 电泳^[10-11]

2.3.1 PCR 条件 用带 GC 夹子的细菌 16 S rDNA V3 区引物扩增细菌基因组 DNA PCR 产物大小约 230 bp。引物如下: P1 (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3'), P2 (5'-CGCCCGCCGCGCGCGGCGGGC-GGGGCGGGGCACGGGGGGCCTACGGGAGGC-AGCAG-3'), P2 引物的 5'端带 GC 夹子。PCR 条件: 反应体系 25 μ L, DNA 模板 2 μ L, 上下游引物各 0.5 μ L, PCR Master Mix 12.5 μ L, ddH₂O 补足剩余体积; 反应条件为 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 55 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 30 个循环。

2.3.2 DGGE 电泳条件 上述 PCR 扩增产物用 DGGE 进行分析。用 1% 琼脂糖电泳检测 PCR 产物。DGGE 使用 8% 的聚丙烯酰胺凝胶, 梯度为 30%~50%, 每个泳道上样总量为 37.5 μ L, 其中 Reconditioning PCR 产物 25 μ L, 3 $\times$ Loading buffer 12.5 μ L。电泳采用 D-Code™ Universal Mutation Detection System 系统, 用 1 $\times$ TAE 作为电泳缓冲液, 加热至 60 $^{\circ}$ C, 220 V 预电泳 5 min 后 60 V 电泳 16 h。电泳结束后用 SYBrGreen I 染色、拍照。

2.3.3 克隆、测序和结果比对 选取 DGGE 凝胶上重要的差异条带割胶回收, 送生工生物工程 (上海) 股份有限公司克隆测序。V3 区的引物用 P1 和 P2,

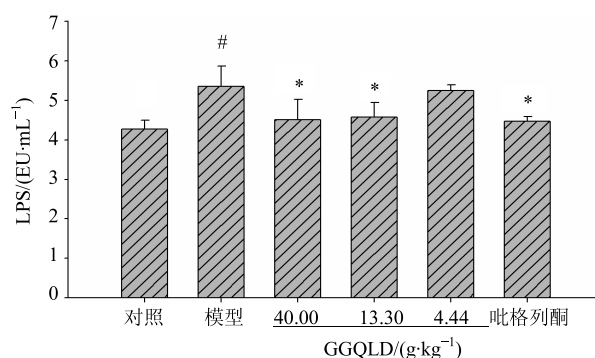
引物序列除不带 GC 夹子外, 其余均与“2.3.1”项下相同。挑选与 DGGE 同一位置的阳性克隆进行测序, 测序结果与 NCBI Genbank 数据库进行 Blast 比对。

2.3.4 统计学分析 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析, 组间差异分析采用 Student-*t* 检验。

3 结果

3.1 对小鼠血浆中 LPS 量的影响

结果显示, 模型组小鼠血浆中的 LPS 量明显高于对照组 ($P < 0.05$)。与模型组相比, GGQLD 高、中剂量组和吡格列酮组均能显著降低小鼠血浆内 LPS 的量 ($P < 0.05$), 分别降低了 15.61%、14.48%、16.52%。GGQLD 低剂量组与模型组相比差异无统计学意义 (图 1)。



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

$P < 0.05$ vs control group; * $P < 0.05$ vs model group, same as below

图 1 GGQLD 对 KK-Ay 小鼠血浆中 LPS 量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 1 Effect of GGQLD on LPS level in plasma of KK-Ay mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

3.2 对小鼠血浆中 TNF- α 、IL-6 量的影响

从图 2、3 可以看出, 模型组的 IL-6 和 TNF- α 量均比对照组高 ($P < 0.05$)。其中 GGQLD 高、中、低剂量组 IL-6 的量与模型组比较分别下降了 56.86%、37.12%、30.21%, 具有一定的剂量依赖性, 且有统计学意义 ($P < 0.05$); 吡格列酮组 IL-6 的量较模型组下降了 40.54%, 与模型组比较有显著性差异 ($P < 0.05$), 且明显低于 GGQLD 中、低剂量组, 略高于 GGQLD 高剂量组。GGQLD 高剂量组的 IL-6 水平比对照组低, 显示 GGQLD 高剂量组有较强的 IL-6 抑制作用。TNF- α 水平测定中, GGQLD 高、中、低剂量组和吡格列酮组差异不是很明显, 但都明显低于模型组 ($P < 0.05$), 分别下降了 28.32%、30.70%、23.42%和 34.92%。

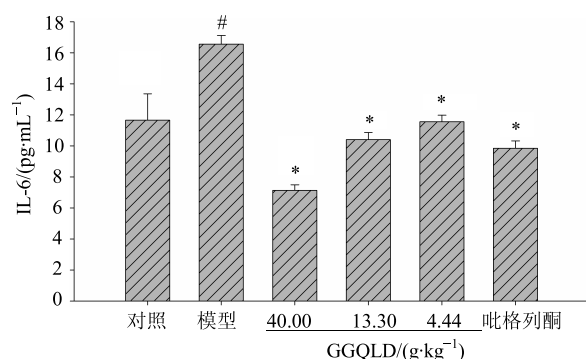


图 2 GGQLD 对 KK-Ay 小鼠血浆中 IL-6 量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 2 Effect of GGQLD on IL-6 level in plasma of KK-Ay mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

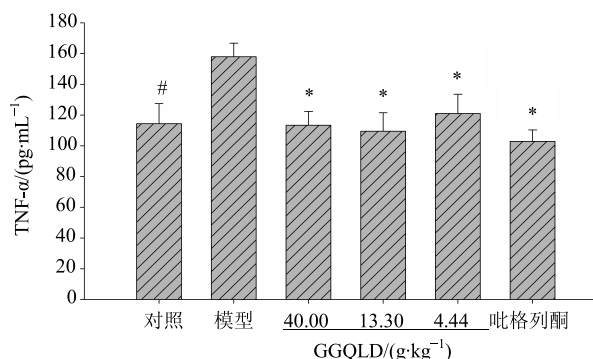


图 3 GGQLD 对 KK-Ay 小鼠血浆中 TNF-α 量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 3 Effect of GGQLD on TNF-α level in plasma in KK-Ay mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

3.3 对 KK-Ay 糖尿病小鼠肠道菌群的影响

3.3.1 肠道细菌基因组 DNA 电泳 用琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA。结果显示, 基因组 DNA 片段条带清晰可见, 浓度较高 (图 4)。

3.3.2 肠道细菌 DGGE 分析 对 DGGE 指纹图谱的 6 条带进行克隆和测序 (图 5), 测序结果与 NCBI Genebank 数据库进行 Blast 比对, 结果如表 1 (表中 E 值, 即期望值, 数据库用拟合系数, 数值越低代表拟合度越高) 所示, 1、2、3 号条带测序后分类上分别最接近于 *Lactobacillus johnsonii* strain CIP 103620 (99%)、*Bacteroides vulgatus* strain ATCC 8482 (100%) 和 *Stomatobaculum longum* strain ACC2 (99%)。而 4、5、6 号条带测序后分类上分别最接近于 *Fribergensis* strain Kp5.2 (100%)、*Sphenoides* strain DSM 632 (97%) 和 *Bacteroides oleiciplenus* strain JCM 16102 (97%)。*Lactobacillus johnsonii* strain CIP 103620、*Stomatobaculum longum* strain

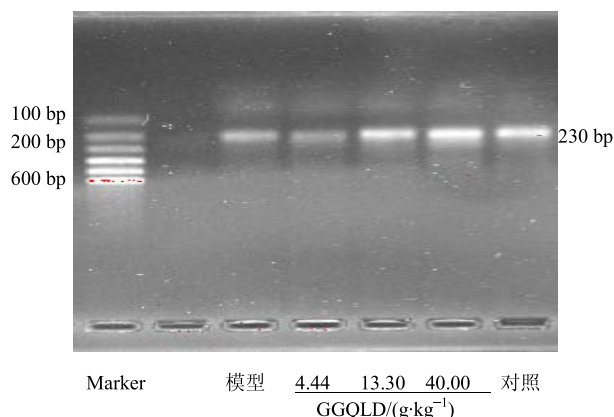


图 4 细菌 16 S rDNA V3 区片断的 PCR 扩增

Fig. 4 PCR amplified result using 16S rDNA V3 primers

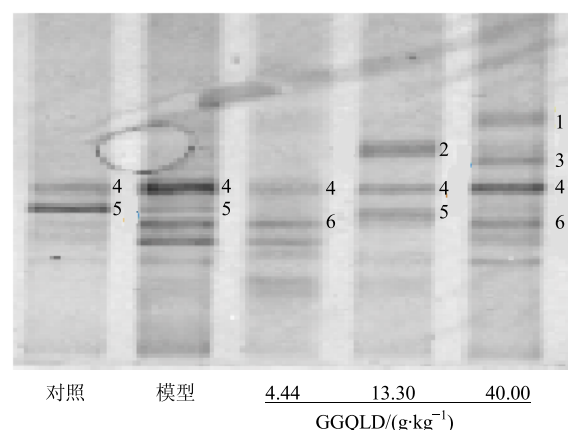


图 5 肠道细菌 DGGE 分析

Fig. 5 DGGE Analysis of intestinal bacteria

ACC2、*Sphenoides* strain DSM 632 属于 Firmicutes (厚壁菌门), *Bacteroides vulgatus* strain ATCC 8482 和 *Bacteroides oleiciplenus* strain JCM 16102 属于 Bacteroidetes (拟杆菌门), *Fribergensis* strain Kp5.2 属于 Proteobacteria (变形菌门)。

KK-Ay 小鼠肠道菌群 DGGE 指纹图谱中, 1、3 号条带是 GGQLD 高剂量组小鼠特有的, 2 号条带只存在于 GGQLD 中剂量组小鼠中, 4 号条带是对照组、模型组、GGQLD 低、中、高剂量组小鼠共有的, 5 号条带是对照组、模型组、GGQLD 中剂量组小鼠共有的, 6 号条带是模型组、GGQLD 低、高剂量组小鼠共有的。与模型组比较, GGQLD 高剂量组主要增加了 1、3 号条带, 即可能增加了 *Lactobacillus johnsonii* strain CIP 103620 (99%) 和 *Stomatobaculum longum* strain ACC2 (99%) 菌属; GGQLD 中剂量组主要增加了 2 号条带, 即可能增加了 *Bacteroides vulgatus* strain ATCC 8482 (100%)

表 1 16 S rRNA V3 区的 PCR-DGGE 指纹图谱主带基因序列分析结果

Table 1 Results of PCR-DGGE fingerprint dominant band of 16 S rRNA V3 area gene sequencing

条带编号	GenBank 中最相近的菌株	相似性/%	E 值	登录号
1	<i>Lactobacillus johnsonii</i> strain CIP 103620	99	2e-96	NR_117574.1
2	<i>Bacteroides vulgatus</i> strain ATCC 8482	100	1e-97	NR_074515.1
3	<i>Stomatobaculum longum</i> strain ACC2	99	3e-83	NR_117792.1
4	<i>Sphingopyxis fribergensis</i> strain Kp5.2	100	2e-86	NR_137271.1
5	<i>sphenoides</i> strain DSM 632	97	1e-78	NR_119035.1
6	<i>Bacteroides oleiciplenus</i> strain JCM 16102	97	3e-89	NR_113070.1

菌属;其中 GGQLD 高剂量组 1 号条带 *Lactobacillus johnsonii* (约翰逊氏乳杆菌) 为乳杆菌属, GGQLD 中剂量组 2 号条带 *Bacteroides vulgatus* (普通拟杆菌) 为拟杆菌属。

从 DGGE 图谱可见, GGQLD 高剂量组条带数目明显增多, 特别是增加了 1 号条带即乳杆菌属, 说明 GGQLD 高剂量组可明显调节肠道菌群结构。

4 讨论

GGQLD 是经典名方, 最早出自张仲景《伤寒论》, 由葛根、黄芩、黄连、甘草 4 味药组成, 具有清热生津的功效, 主治下利臭秽、口干而渴等证^[12-13]。

肠道菌群在相关代谢病中扮演着重要角色^[3-4], 肠道菌群失调会导致肠道中革兰氏阴性菌增加, 产生大量 LPS, 血液里内毒素浓度升高, 免疫系统分泌炎症因子 (如 TNF- α 和 IL-6), 而代谢异常与慢性低度炎症密切相关, 最终可引起 2 型糖尿病胰岛素抵抗^[5,14]。而且 LPS 大量释放可引起代谢性内毒素血症^[15]。本实验结果显示, GGQLD 可降低血浆内 LPS 的量。TNF- α 和 IL-6 是机体炎症反应中的主要细胞因子, 2 型糖尿病胰岛素抵抗患者体内 TNF- α 和 IL-6 的量升高^[16]。据文献报道^[17], GGQLD 能降低湿热证大鼠血清中 TNF- α 等的量, 本实验也发现, GGQLD 可明显降低 KK-Ay 糖尿病小鼠血清中 TNF- α 和 IL-6 的量, 说明 GGQLD 有一定的抗炎作用。

经临床试验研究表明 GGQLD 防治 2 型糖尿病作用与其改变肠道菌群有关^[18]。为了进一步深入探讨 GGQLD 抗 2 型糖尿病胰岛素抵抗作用, 基于 PCR-DGGE 技术, 本实验研究了 GGQLD 对 KK-Ay 小鼠肠道菌群结构的影响。研究发现, 与模型组比较, GGQLD 高剂量组主要增加了 1、3 号条带, 测序后分类上分别最接近 *Lactobacillus johnsonii* strain CIP 103620 (99%) 和 *Stomatobaculum longum* strain ACC2 (99%); GGQLD 中剂量组主要增加了

2 号条带, 测序后分类上最接近 *Bacteroides vulgatus* strain ATCC 8482 (100%)。其中 GGQLD 高剂量组 1 号条带约翰逊氏乳杆菌 *Lactobacillus johnsonii* 为乳杆菌属, 为益生菌^[19], 这些益生菌对 2 型糖尿病的防治是有益的^[20]。长期摄入高热量饮食, 可以使肠道中拟杆菌门的比例下降^[21], GGQLD 中剂量组 2 号条带普通拟杆菌 (*Bacteroides vulgatus*) 为拟杆菌属, 表明 GGQLD 中剂量组可增加拟杆菌门比例, 从而对高脂饮食诱导的 KK-Ay 小鼠 2 型糖尿病有改善作用。由于 DGGE 条带的共迁移现象, 并不是所有的条带都被克隆和测序, 这使得某些肠道细菌可能没有被发现。

综上所述, GGQLD 抗 2 型糖尿病胰岛素抵抗作用可能与其降低血浆中 LPS、TNF- α 、IL-6 的量, 以及调节肠道菌群结构有关。

参考文献

- [1] Xu Y, Wang L, He J, *et al.* Prevalence and control of diabetes in Chinese adults [J]. *JAMA*, 2013, 310(9): 948-959.
- [2] Zhao L. The gut microbiota and obesity: from correlation to causality [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2013, 11(9): 639-647.
- [3] Shen J, Obin M S, Zhao L. The gut microbiota, obesity and insulin resistance [J]. *Mol Aspects Med*, 2013, 34(1): 39-58.
- [4] Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism [J]. *Nature*, 2012, 489(7415): 242-249.
- [5] Caricilli A M, Saad M J. The role of gut microbiota on insulin resistance [J]. *Nutrients*, 2013, 5(3): 829-851.
- [6] Donath M Y, Steven S E. Type 2 diabetes as an inflammatory disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(2): 98-107.
- [7] Zhang C H, Xu G L, Liu Y H, *et al.* Anti-diabetic activities of Gegen Qinlian Decoction in high-fat diet

- combined with streptozotocin-induced diabetic rats and in 3T3-L1 adipocytes [J]. *Phytomedicine*, 2013, 20(3/4): 221-229.
- [8] 熊淑平, 章常华, 邓永兵, 等. 葛根芩连汤改善 KK-Ay 糖尿病小鼠糖脂代谢作用的实验研究 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(9): 2090-2092.
- [9] Song M Y, Wang J H, Eom T, *et al.* Schisandra chinensis fruit modulates the gut microbiota composition in association with metabolic markers in obese women: a randomized, double-blind placebo-controlled study [J]. *Nutr Res*, 2015, 35(8): 655-663.
- [10] 刘智伟, 曾本华, 张晓婧, 等. 茶多酚饮食对 HFA 小鼠肠道菌群和脂肪代谢的影响 [J]. 中国食品学报, 2015, 15(6): 26-31.
- [11] 廖振林, 曾本华, 李 瑞, 等. 基于 PCR-DGGE 分析抗性淀粉对高脂饮食 HFA 小鼠肠道菌群的影响 [J]. 现代食品科技, 2015, 31(9): 1-6.
- [12] 赵林华, 姬航宇, 冀博文, 等. 葛根芩连汤治疗糖尿病理论探讨 [J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(2): 280-283.
- [13] 陈丽红, 唐于平, 王 强. 葛根芩连汤的现代研究进展 [J]. 中草药, 2010, 41(4): 附 8-附 12.
- [14] Cani P D, Delzenne N M. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease [J]. *Curr Pharm Des*, 2009, 15(13): 1546-1558.
- [15] Cani P D, Bibiloni R, Knauf C, *et al.* Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice [J]. *Diabetes*, 2008, 57(6): 1470-1481.
- [16] Yeh T C, Liu C P, Cheng W H, *et al.* Caffeine intake improves fructose-induced hypertension and insulin resistance by enhancing central insulin signaling [J]. *Hypertension*, 2014, 63(3): 535-541.
- [17] 刘 容, 司晓莉. 葛根芩连汤对脾胃湿热证大鼠的治疗作用研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2014, 30(3): 287-290.
- [18] Xu J, Lian F, Zhao L, *et al.* Structural modulation of gut microbiota during alleviation of type 2 diabetes with a Chinese herbal formula [J]. *ISME J*, 2015, 9(3): 552-562.
- [19] 王露霏, 陆峻君. 益生菌产品种类及其对口腔生态的影响 [J]. 中国微生态学杂志, 2010, 22(3): 250-254.
- [20] Hulston C J, Churnside A A, Venables M C. Probiotic supplementation prevents high-fat, overfeeding-induced insulin resistance in human subjects [J]. *Brit J Nutr*, 2015, 113(4): 596-602.
- [21] Filippo C D, Cavalieri D, Paola M D, *et al.* Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(33): 14691-14696.