

半夏泻心汤对糖尿病胃轻瘫大鼠肠道菌群及炎症因子的影响

徐 萌¹, 岳仁宋^{2*}, 杨茂艺¹, 杨 旭¹, 吴挺超¹, 李济娜¹

1. 成都中医药大学临床医学院, 四川 成都 610075

2. 成都中医药大学附属医院, 四川 成都 610075

摘 要: **目的** 观察半夏泻心汤对糖尿病胃轻瘫(DGP)大鼠肠道菌群及炎症因子的影响。**方法** 采用高脂高糖喂养联合 ip STZ 的方法制备 DGP 大鼠模型, 将成模大鼠随机分为模型组, 二甲双胍(1.80 g/kg)组, 半夏泻心汤高、中、低剂量(10.20、5.10、2.55 g/kg)组, 另设对照组。各组均连续 ig 给药 4 周, 检测各组大鼠空腹血糖、胃残留率、肠推进率、血清 D-木糖水平、肠道菌群、血清内毒素、免疫球蛋白 A(IgA)及肠组织炎症因子水平。**结果** 与对照组相比, DGP 模型大鼠体质量、肠推进率、菌群(拟杆菌、双歧杆菌、肠球菌、乳酸杆菌)数量、IgA 及 IL-10 水平显著降低($P < 0.01$), 空腹血糖、胃残留率、血清 D-木糖、肠杆菌、内毒素及 TNF- α 水平显著升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 半夏泻心汤高、中剂量组大鼠体质量、肠推进率、菌群(拟杆菌、双歧杆菌、肠球菌、乳酸杆菌)数量、IgA、IL-10 水平明显升高($P < 0.05$ 、 0.01), 空腹血糖、胃残留率、血清 D-木糖水平、肠杆菌数量、内毒素及 TNF- α 水平明显降低($P < 0.05$ 、 0.01), 半夏泻心汤低剂量组对空腹血糖、肠推进率、拟杆菌数量、IgA 水平影响较小。**结论** 半夏泻心汤能够有效调节 DGP 模型大鼠各项指标, 改善肠道菌群比例, 减轻内毒素作用, 抑制炎症因子, 提高肠道屏障功能, 其作用机制可能与调控肠杆菌及炎症因子有关。

关键词: 半夏泻心汤; 糖尿病胃轻瘫; 肠道菌群; 炎症因子; 胃肠动力

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)13-3056-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.13.015

Effects of Banxia Xiexin Decoction on intestinal flora and inflammatory factors of diabetic gastroparesis rats

XU Meng¹, YUE Ren-song², YANG Mao-yi¹, YANG Xu¹, WU Ting-chao¹, LI Ji-na¹

1. Clinical Medical College of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China

2. Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China

Abstract: Objective To observe the effects of the Banxia Xiexin Decoction (BXD) on the intestinal flora and inflammatory factors of diabetic gastroparesis (DGP) rats. **Methods** The high fat and sugar feeding combined with intraperitoneal injection of STZ were used for the preparation of DGP rats model, which were randomly divided into model group, the metformin (1.80 g/kg) group, the low (2.55 g/kg), medium (5.10 g/kg), and high (10.20 g/kg) dose group of BXD, and the blank group with 10 rats in each group. Four weeks of continuous ig administration of fasting blood glucose (FBG), gastric residual rate, intestinal propulsion rate, serum D-xylose level, intestinal flora, serum endotoxin, immunoglobulin A, and inflammatory factors were detected. **Results** Compared with the blank group, the body weight, intestinal propulsion rate, flora (bacteroides, bifidobacterium, enterococcus, and lactobacilli) amount, IgA, and IL-10 in DGP model were significantly reduced ($P < 0.01$); FBG, gastric residual rate, serum D-xylose, enterobacter number, endotoxin, and TNF- α were significantly increased ($P < 0.01$); Compared with model group, high dose BD group of body weight, intestinal propulsion rate, flora (bacteroides, bifidobacterium, enterococcus, and lactobacilli) amount, IgA, and IL-10 level in the low, medium, and high dose group of Banxia Xiexin decoction were increased significantly ($P < 0.05$, 0.01), FBG, gastric residual rate, serum D-xylose, enterobacter number, endotoxin and TNF- α were significantly decreased ($P < 0.05$, 0.01). The FBG, intestinal propulsion rate, bacteroides number, and IgA level in the low-dose group were less affected. **Conclusion** BXD can effectively adjust the various indexes of DGP model rats, including improving the intestinal flora proportion, reducing endotoxin, inhibiting inflammation factors, and improving the intestinal barrier function, and the potential mechanism may be related to regulation of intestinal bacteria and inflammation factors.

Key words: Banxia Xiexin Decoction; diabetes gastroparesis; intestinal flora; inflammatory factor; gastrointestinal motility

收稿日期: 2017-11-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81774279); 国家中医药管理局资助项目(JDZX2015215)

作者简介: 徐 萌(1987—), 男, 湖南岳阳人, 内科博士, 从事中医药防治内分泌代谢性疾病的研究。Tel: 13881938504 E-mail: 214136061@qq.com

*通信作者 岳仁宋(1964—), 男, 四川成都人, 教授, 博士生导师, 从事中医药防治内分泌代谢性疾病的研究。

糖尿病胃轻瘫 (diabetic gastroparesis, DGP) 是诸多糖尿病并发症中较为常见的一种, 其主要病理特点是胃肠蠕动功能减弱, 胃排空延迟而使消化功能降低。相关资料显示, 糖尿病胃并发症发生率高达 30%~50%^[1], 其中 DGP 的发病率就占到其中的 50%~76%^[2], 且症状容易反复, 不易治愈, 其出现的时间往往早于其他并发症, 多数患者因其临床症状较轻而忽视。该并发症初期临床症状不明显, 但该症状后期引起的危害非常大, 持续的 DGP 症状会导致消化、吸收不良, 血糖波动性比较大, 能加速糖尿病进程。肠道菌群及微生态是近年来的研究热点, 有研究发现^[3-4], 肠道菌群不仅可以与机体进行物质与信息交换, 而且能参与宿主的代谢, 生理性调控重要化学物质转换, 影响宿主消化、吸收、分泌, 参与胃肠神经调节, 与机体保持相对平衡, 维持机体的正常运行, 一旦打破平衡, 肠道菌群失调, 就会诱发 2 型糖尿病、心血管疾病、免疫系统疾病等^[5]。目前对于 DGP 的发病机制并不十分明确, 本课题组前期研究发现^[6], DGP 与胃肠激素、Cajal 细胞及胃肠神经功能紊乱有关, 半夏泻心汤能改善胃肠动力障碍, 调节胃肠激素, 促进胃肠运动, 并改善胰岛素抵抗, 从而降低血糖水平。本研究通过使用半夏泻心汤干预 DGP 模型大鼠以探讨其对 DGP 大鼠肠道菌群的影响, 为半夏泻心汤辛开苦降法调控 DGP 寻找分子生物学的科学依据, 为辛开苦降法在临床通过调控肠道菌群改善 DGP 提供思路。

1 材料

1.1 药物

半夏泻心汤由法半夏 240 g、黄芩 180 g、干姜 180 g、人参 180 g、黄连 180 g、甘草 180 g、大枣 720 g 组成, 由成都中医药大学附属医院提供, 组方药材经成都中医药大学附属医院药剂科宋英教授鉴定, 均符合《中国药典》2015 年版规定, 制剂由成都中医药大学附属医院药剂科提供。盐酸二甲双胍片, 中美上海施贵宝制药有限公司生产, 批号 0912057; 链脲佐菌素 (STZ, Sigma 公司, 批号 119k1591)。

1.2 实验动物

SD 大鼠 120 只, SPF 级, 雌雄各半, 体质量 180~220 g, 由成都达硕科技有限公司提供, 动物许可证号 SCXK(川)2012-24, 饲养温度 20~25 ℃, 湿度 50%~70%。高脂高糖饲料、普通饲料均由成都达硕科技有限公司提供。

1.3 试剂

羧甲基纤维素钠, 国药集团化学试剂有限公司; 活性炭, 成都市科龙化工试剂厂; D-木糖, 成都市克隆化工试剂厂; D-木糖试剂盒, 南京建成生物工程研究所; 内毒素及免疫球蛋白 A (IgA)、白细胞介素-10 (IL-10)、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 美国 R&D 进口分装; 肠道菌群 qPCR 试剂盒, 美国 BioRad 公司。

1.4 仪器

血糖仪及血糖试纸 (艾科生物技术杭州有限责任公司); BSA124S 电子天平 (赛多利斯科学仪器北京有限公司); Model550 Microplate Reader 全波长多功能酶标测试仪 (BLORAD 公司); TGL-16G 高速低温离心机 (美国赛默飞世尔公司); DY89-2 电动玻璃匀浆机 (宁波新芝生物科技股份有限公司); PCR 仪 (Applied Biosystems® Gene Amp® PCR System 9700)。

2 方法

2.1 半夏泻心汤的制备

汤药煎煮按照中药常规煎煮法进行, 以 7 倍量水浸泡 30 min, 加热保持微沸 30 min, 七层纱布滤过; 残渣加 5 倍量水, 微沸 30 min, 七层纱布滤过, 合并 2 次滤液, 浓缩至生药质量浓度 1 g/mL 的药液, 置于 4 ℃冰箱保存备用。

2.2 造模、分组与给药

模型参照文献报道方法^[7]制备, 将 120 只 SD 大鼠随机分为对照组 (10 只) 和造模组 (110 只), 造模组大鼠以高脂高糖饲料喂养 15 d, 禁食 12 h 后, ip 40 mg/kg STZ (STZ 溶于 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲盐溶液中, pH 4.4), 大鼠造模后给予普通颗粒饲料, 72 h 后采用剪尾法取血, 测血糖, 选择空腹血糖值在 16.7~30.0 mmol/L, 且伴有明显饮食及大便性状改变, 腹部有胀满表现的 50 只大鼠作为 DGP 模型大鼠, 按血糖值分层随机分为模型组, 二甲双胍 (1.80 g/kg) 组, 半夏泻心汤高、中、低剂量 (10.20、5.10、2.55 g/kg) 组, 每组 10 只, 各组大鼠分别 ig 给予相应剂量的药物, 对照组和模型组大鼠 ig 等体积的生理盐水, 每天 1 次, 连续 4 周。

2.3 取材

给药 4 周后逼迫法无菌取粪便样本, 每只大鼠取少量新鲜粪便约 0.1 g, 分别置于 10 mL 无菌 EP 管中和冻存管中, -80 ℃冻存。大鼠禁食不禁水 12 h 后处死, 处死前 1 h, 各组大鼠 ig 给予碳糊 (羧

甲基纤维素钠 10 g, 溶于 250 mL 蒸馏水中, 搅拌均匀, 然后加入活性炭粉, 配成 300 mL 的半固体糊, 即碳糊) 2 mL, 处死前 0.5 h 给予 *D*-木糖溶液 (0.02 g/mL) 1 mL。所有动物股动脉取血 5 mL, 静置 4 h, 以 3 500 r/min 离心 15 min, 提取上清液 -80 °C 冰箱保存备用; 将大鼠处死后仰卧固定, 沿腹中线剪开, 结扎贲门和幽门部分, 于冰上分别分离出胃肠组织。从幽门部将肠平铺于干净的操作台, 不加牵引, 测量幽门部至直肠的长度 (肠全长)。

2.4 指标测定

2.4.1 大体指标 分别测定给药前和给药后各组大鼠体质量和空腹血糖值。

2.4.2 胃肠推进功能 大鼠处死后剖开腹部, 结扎胃贲门和幽门, 将胃取出用滤纸擦拭干净后, 称全胃质量 (胃体及内容物质量) 和胃体净质量, 计算胃残留率和肠推进率。

胃残留率 = (全胃质量 - 胃体净质量) / 半固体糊质量

肠推进率 = 碳末推进长度 / 肠全长

2.4.3 血清 *D*-木糖水平测定 采用股动脉取血法, 收集后常温静置 4 h, 然后于 4 °C、3 500 r/min 离心 15 min, 取上清液, -20 °C 保存待测。检测采用间苯三酚法, 具体操作严格按照 *D*-木糖试剂盒要求测定血清中 *D*-木糖水平。

2.4.4 肠道菌 qPCR 检测 各细菌扩增序列参照文献方法^[8], 使用各菌属通用 16 S rDNA 进行设计, 且在 NCBI BLAST 验证可用, 由罗宁生物公司合成引物序列及合成各细菌基因标准品。各菌标准品原液测定其 DNA 浓度按浓度依次 10 倍稀释 8 个梯度待用, 各样本粪便 DNA 提取严格按照试剂盒说明书进行, 紫外分光光度计测定 DNA 浓度及纯度, 再将各样本 DNA 稀释到相同浓度备用。qPCR 绝对

定量采用 20 μL 反应体系: 样本 DNA 模板/标准品 DNA 模板 2 μL, 上、下游引物各 1 μL 灭菌蒸馏水 7 μL, SYBRGreen Super Mix 10 μL, 稍震荡混匀且稍离心后进行荧光定量 PCR 程序。qPCR 扩增条件为 95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 10 s, 54 °C 退火 15 s, 72 °C 延伸 30 s, 进行 30 个循环, 最后一次扩增 72 °C、5 min, 每个样本重复检测 3 次, 数据由荧光 PCR 仪自带软件分析完成。

2.4.5 血清内毒素及 IgA 水平检测 采用股动脉取血法, 收集后常温静置 4 h, 然后于 4 °C、3 500 r/min 离心, 取上清液, -20 °C 保存待测。具体操作严格按照试剂盒检测要求测定血清内毒素及 IgA 水平。

2.4.6 肠组织炎症因子 IL-10、IL-6、TNF-α 水平检测 取距回盲部 5 cm 处回肠 4 cm, 置于 -80 °C 冰箱冷冻用于制备匀浆。具体操作严格按照试剂盒检测要求测定炎症因子 IL-10、IL-6、TNF-α 水平。

2.5 统计学处理

数据处理采用 SPSS 21.0 统计软件进行分析, 计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 *t* 检验, 组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 对大鼠体质量和空腹血糖的影响

与对照组相比, 造模结束时各组大鼠体质量明显下降, 差异显著 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 给药后二甲双胍组和半夏泻心汤中、高剂量组大鼠体质量明显增加, 差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结果见表 1。

与对照组相比, 给药前 DGP 模型大鼠空腹血糖明显升高, 差异显著 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 给药后二甲双胍组和半夏泻心汤中、高剂量组大鼠空腹血糖显著降低, 差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结果见表 1。

表 1 半夏泻心汤对 DGP 模型大鼠体质量和空腹血糖的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Effects of BXD on body weight and fasting blood glucose of DGP model rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	体质量/g		空腹血糖/(mmol·L ⁻¹)	
		给药前	给药后	给药前	给药后
对照	—	270.04 ± 5.66	375.80 ± 7.98	4.47 ± 2.21	4.30 ± 0.78
模型	—	242.33 ± 6.18 ^{##}	294.73 ± 14.91 ^{##}	24.20 ± 2.74 ^{##}	21.79 ± 3.24 ^{##}
二甲双胍	1.80	249.43 ± 6.21	301.21 ± 4.23 [*]	23.15 ± 3.01	15.91 ± 2.31 ^{**}
半夏泻心汤	10.20	236.77 ± 9.07	306.62 ± 6.14 [*]	24.78 ± 1.93	18.16 ± 2.98 [*]
	5.10	241.92 ± 7.14	331.83 ± 7.17 ^{**}	22.83 ± 2.18	16.10 ± 3.36 ^{**}
	2.55	248.92 ± 5.89	286.75 ± 7.91	22.69 ± 2.58	19.34 ± 3.27

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

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below

3.2 对大鼠胃肠动力的影响

与对照组相比,模型组大鼠胃残留率、血清 *D*-木糖水平显著升高,肠推进率明显降低 ($P<0.01$);与模型组比较,二甲双胍组和半夏泻心汤高、中、低剂量组大鼠胃残留率、血清 *D*-木糖水平明显降低 ($P<0.05$ 、 0.01),二甲双胍组和半夏泻心汤高、中剂量组大鼠肠推进率明显增加 ($P<0.05$ 、 0.01)。结果见表 2。

3.3 对肠道菌群的影响

与对照组相比,模型组大鼠肠杆菌数量显著升高 ($P<0.01$),拟杆菌、双歧杆菌、肠球菌、乳酸杆菌数量明显减少 ($P<0.01$);与模型组比较,二甲双胍组和半夏泻心汤高、中、低剂量组大鼠肠杆菌数量明显受到抑制 ($P<0.05$ 、 0.01),二甲双胍组和半夏泻心汤高、中剂量组拟杆菌、双歧杆菌、

肠球菌、乳酸杆菌数量明显增加 ($P<0.05$ 、 0.01),半夏泻心汤低剂量对拟杆菌增殖影响不明显,双歧杆菌、肠球菌、乳酸杆菌数量增加明显 ($P<0.05$ 、 0.01)。结果见表 3。

3.4 对血清内毒素、IgA 水平及肠组织中炎症因子的影响

与对照组相比,模型组大鼠血清内毒素水平及肠组织中 IL-6、TNF- α 水平显著升高 ($P<0.01$),血清 IgA 及肠组织中 IL-10 水平明显降低 ($P<0.01$);与模型组比较,二甲双胍组及半夏泻心汤高、中、低剂量组大鼠血清内毒素及肠组织中 IL-6、TNF- α 水平明显降低 ($P<0.01$),肠组织中 IL-10 水平明显升高 ($P<0.01$);二甲双胍组、半夏泻心汤中剂量组大鼠血清 IgA 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01)。结果见表 4。

表 2 半夏泻心汤对 DGP 模型大鼠胃肠动力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of BXD on gastrointestinal motility of DGP model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	胃残留率/%	肠推进率/%	血清 <i>D</i> -木糖/(mmol·L ⁻¹)
对照	—	24.91±3.18	55.21±4.46	3.36±1.25
模型	—	46.63±3.27 ^{##}	31.32±1.92 ^{##}	6.26±1.83 ^{##}
二甲双胍	1.80	35.92±4.26 ^{**}	51.57±3.84 ^{**}	2.90±0.84 ^{**}
半夏泻心汤	10.20	30.21±3.54 ^{**}	35.82±3.31 [*]	4.35±1.54 ^{**}
	5.10	28.49±3.66 ^{**}	40.33±3.60 ^{**}	3.95±0.98 ^{**}
	2.55	32.91±3.62 ^{**}	34.06±2.86	4.48±1.10 [*]

表 3 半夏泻心汤对 DGP 模型大鼠肠道菌群的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of BXD on intestinal flora of DGP model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	菌群数量/(CFU·g ⁻¹)				
		肠杆菌	拟杆菌	双歧杆菌	肠球菌	乳酸杆菌
对照	—	6.58±0.57	11.24±1.85	9.11±1.26	7.87±1.28	10.10±1.71
模型	—	9.23±1.41 ^{##}	7.54±1.19 ^{##}	6.76±1.32 ^{##}	5.23±1.10 ^{##}	6.69±1.38 ^{##}
二甲双胍	1.80	7.92±1.12 [*]	9.46±1.54 [*]	8.86±1.54 ^{**}	7.06±0.89 ^{**}	8.36±1.08 [*]
半夏泻心汤	10.20	5.13±0.33 ^{**}	9.64±1.23 ^{**}	8.31±0.93 [*]	6.49±1.08 [*]	8.60±1.51 [*]
	5.10	6.23±0.54 ^{**}	10.54±1.35 ^{**}	8.98±1.35 ^{**}	7.43±0.78 ^{**}	9.89±1.37 ^{**}
	2.55	7.64±1.13 ^{**}	8.46±1.28	8.26±1.20 [*]	7.06±0.52 ^{**}	9.23±1.47 ^{**}

表 4 半夏泻心汤对 DGP 模型大鼠血清内毒素及 IgA 水平和肠组织炎症因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of BXD on levels of endotoxin and IgA in serum and inflammatory factors in intestinal tissues of DGP model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	内毒素/(EU·L ⁻¹)	IgA/(mg·L ⁻¹)	IL-10/(ng·L ⁻¹)	IL-6/(ng·L ⁻¹)	TNF- α /(ng·L ⁻¹)
对照	—	36.58±4.14	4.11±0.33	105.24±8.98	31.26±3.68	86.70±7.86
模型	—	62.23±6.27 ^{##}	2.96±0.36 ^{##}	71.53±6.54 ^{##}	67.11±4.25 ^{##}	135.13±10.54 ^{##}
二甲双胍	1.80	56.02±6.12 [*]	3.46±0.37 [*]	87.23±7.22 ^{**}	42.14±5.34 ^{**}	95.23±8.41 ^{**}
半夏泻心汤	10.20	55.14±5.23 [*]	3.11±0.45	91.37±8.62 ^{**}	39.61±4.96 ^{**}	91.23±8.98 ^{**}
	5.10	34.53±4.17 ^{**}	3.97±0.43 ^{**}	102.31±7.83 ^{**}	35.51±4.13 ^{**}	82.05±6.33 ^{**}
	2.55	47.51±4.83 ^{**}	3.36±0.41	89.41±8.31 ^{**}	44.36±5.02 ^{**}	102.41±9.12 ^{**}

4 讨论

肠道菌群是近年研究的热点^[9],也逐渐开始成为糖尿病防治的新靶点。肠道内栖息着大量的微生物菌群,对机体起着非常重要的作用,不仅可以与机体进行物质与信息交换,而且能参与宿主的新陈代谢^[10],生理性调控重要化学物质转换,维持机体营养、能量、免疫等正常运行^[11]。生理情况下,肠道菌群与机体保持相对平衡的状态,一旦平衡被打破,肠道菌群失调,就会导致机体疾病的产生。糖尿病是目前最为广泛的代谢性疾病,发病率也迅速增加,相关研究发现^[12],糖尿病与肠道菌群关系密切,而胃轻瘫是糖尿病并发症早期的一个阶段,其中肠道菌与宿主交互对 DGP 发挥着重要作用,因而在治疗 DGP 的同时,调整肠道微生态是近年防治糖尿病的全新领域^[13]。

DGP 属于中医“消渴”“痞满”等范畴,消渴患者因素体禀赋不足、久病耗气伤阴、或因饮食不节、或寒湿困脾、或外邪犯胃、或情志不遂、气机不畅均能导致脾胃虚弱、清阳不升、浊阴下降、运化失职而发病,半夏泻心汤辛开苦降,具开结消痞之功,根据现代药理研究显示半夏泻心汤具有调节胃蠕动的作用^[14]。本研究应用高脂饮食结合 ip STZ 的方法,结合临床表现,筛选出制备成功的 DGP 模型大鼠,观察半夏泻心汤对模型大鼠肠道菌群数量、炎症相关因子的影响。结果表明,DGP 模型大鼠体质量和肠推进率明显减轻,空腹血糖、胃残留率及血清 D-木糖水平明显升高,半夏泻心汤组对 DGP 模型大鼠体质量、空腹血糖、胃肠动力都有明显改善,说明模型制备较为成功,半夏泻心汤能调节血糖,改善 DGP。

内毒素由条件致病菌及革兰氏阴性菌产生,肠杆菌是内毒素的主要来源,能够产生脂多糖(LPS)、NH₃、H₂S 等有害物质,导致肠道黏膜损伤,破坏免疫功能,导致肠道通透性增加,肠道菌群定植肠道黏膜黏液层,内毒素、炎症介质聚集激发迷走神经功能兴奋,导致胃肠功能紊乱^[15];肠杆菌被抑制,内毒素减少,减轻对肠道黏膜损伤和对各器官功能的损害^[16],有利于 DGP 症状的恢复。研究结果表明,DGP 模型组大鼠肠道拟杆菌、双歧杆菌、肠球菌和乳酸杆菌较对照组明显降低,而肠杆菌较对照组明显升高,半夏泻心汤组益生菌数量较模型组增长快速,肠杆菌受到抑制,说明半夏泻心汤能够促进益生菌的增殖,抑制条件致病菌的生长。在肠道

内,内毒素促进上皮细胞凋亡,菌群移位导致黏膜屏障损伤,激发促炎因子如 IL-6、TNF- α 引起全身器官损伤,抑制 IL-10^[17]。IgA 由肠道淋巴细胞分泌,与肠道内抗原结合后成为阻挡肠道菌群入侵的第一道防线,防止其进入后破坏肠道免疫屏障^[18]。近年随着肠道菌群研究的深入研究发现^[19-21],代谢性疾病诸如肥胖、糖尿病患者血清及肠道组织存在内毒素,IL-6、TNF- α 水平上调,抗炎因子 IL-10、IgA 水平下调。本研究结果显示,DGP 模型大鼠内毒素、IL-6 及 TNF- α 水平较对照组明显升高,IL-10 和 IgA 水平明显降低,经治疗后内毒素、IL-6 及 TNF- α 明显受到抑制,IL-10 和 IgA 水平明显升高,且最新研究发现,IL-10 能够促进胃肠动力,加快胃排空^[22],可能在缓解 DGP 症状上有一定作用,说明半夏泻心汤能够改善肠道微生态,调节肠道抗炎水平。

综上所述,DGP 大鼠肠道益生菌减少,致病菌增加,致炎因子水平上升,抗炎因子降低,半夏泻心汤能明显改善肠道菌群比例,改善炎症因子水平,从而调整了抗炎因子与抑炎因子的平衡,纠正了肠道异常免疫反应,使肠黏膜组织修复。由此可推,DGP 的发生可能与肠道菌群与炎症因子有关,半夏泻心汤通过多途径、多靶点改善 DGP 模型大鼠各项指标,具体作用机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] Horowitz M, Donovan D, Jones K L, et al. Gastric emptying in diabetes: Clinical significance and treatment [J]. *Diabet Med*, 2002, 19(3): 177-194.
- [2] 顾凯时. 糖尿病学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2003.
- [3] Karlsson F, Tremaroli V, Nielsen J, et al. Assessing the human gut microbiota in metabolic disease [J]. *Diabetes*, 2013, 62(10): 3341-3349.
- [4] Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, et al. From dietary fiber to host physiology: Short-chain fatty acids as key bacterial metabolites [J]. *Cell*, 2016, 165(6): 1332-1345.
- [5] 郑礼胜, 邵文, 兰新新, 等. 基于肠道菌群新靶点的中药防治糖尿病研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2017, 40(8): 1173-1181.
- [6] 邱桂兰, 黄秀深, 张丰华, 等. 半夏泻心汤对糖尿病大鼠糖原合成及 GLUT4 表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(21): 207-209.
- [7] 徐萌, 王吉娥, 陈继兰, 等. 半夏泻心汤对糖尿病胃轻瘫大鼠胰岛素抵抗的影响 [J]. *中医杂志*, 2015,

- 56(17): 1502-1505.
- [8] Zeng Y Q, Dai Z, Lu F, *et al.* Emodinviacolon irrigation modulates gut microbiota and reduces uremic toxins in rats with chronic kidney disease [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(14): 17468-17478.
- [9] Brunkwall L, Orho-Melander M. The gut microbiome as a target for prevention and treatment of hyperglycaemia in type 2 diabetes: from current human evidence to future possibilities [J]. *Diabetologia*, 2017, 60(6): 943-951.
- [10] Herrema H, Jzerman R G, Nieuwdorp M. Emerging role of intestinal microbiota and microbial metabolites in metabolic control [J]. *Diabetologia*, 2016, 60(4): 613-617.
- [11] Burcelin R, Serino M, Chabo C, *et al.* Gut microbiota and diabetes: From pathogenesis to therapeutic perspective [J]. *Acta Diabetologica*, 2011, 48(4): 257-273.
- [12] 赵先群, 张雪松, 刘晓政, 等. 糖尿病胃轻瘫患者肠道菌群分布及炎症因子水平变化的观察 [J]. 中国糖尿病杂志, 2017, 25(8): 725-728.
- [13] Needell J C, Ir D, Robertson C E, *et al.* Maternal treatment with short-chain fatty acids modulates the intestinal microbiota and immunity and ameliorates type 1 diabetes in the offspring [J]. *PLoS One*, 2017, 12(9): e0183786.
- [14] 王丽娜. 半夏泻心汤加减治疗糖尿病胃轻瘫 30 例 [J]. 河南中医, 2011, 31(6): 586-587.
- [15] Tunçel N, Korkmaz O T, Tekin N, *et al.* Antioxidant and anti-apoptotic activity of vasoactive intestinal peptide (VIP) against 6-hydroxy dopamine toxicity in the rat corpus striatum [J]. *J Mol Neurosci*, 2012, 46(1): 51-57.
- [16] 邹瑞政, 刘 畅, 王 俊, 等. 红霉素治疗糖尿病胃轻瘫对肠道菌群及循环炎症因子的影响 [J]. 重庆医学, 2016(4): 478-480.
- [17] 杨 玘, 黄中伟, 刘 春. 血必净对脓毒症大鼠肠道炎症因子表达的影响 [J]. 医学理论与实践, 2014, 27(21): 2801-2802.
- [18] Man A L, Gicheva N, Nicoletti C. The impact of ageing on the intestinal epithelial barrier and immune system [J]. *Cell Immunol*, 2014, 289(1/2): 112.
- [19] Esser N, Legrandpoels S, Piette J, *et al.* Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014, 105(2): 141.
- [20] 章常华, 马广强, 邓永兵, 等. 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 [J]. 中草药, 2017, 48(8): 1611-1616.
- [21] 袁榴翼, 李小锦, 尹清晟, 等. 中药干预肠道菌群改善肠黏膜屏障功能的研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(8): 1932-1938.
- [22] Choi K M, Gibbons S J, Lei S, *et al.* Interleukin 10 restores gastric emptying, electrical activity, and interstitial cells of cajal networks in diabetic mice [J]. *Cell Molr Gastroenterol Hepatol*, 2016, 2(4): 454-467.