

人参固本口服液对椎间盘退变小鼠肠道菌群的影响

李艺璇¹, 姜艳玲^{2#}, 廖 镒¹, 王 伟², 欧儒珍³, 唐树杰^{1*}, 孙国栋^{3*}

1. 暨南大学中医学院, 广东 广州 510630

2. 鲁南制药集团股份有限公司, 中药制药共性技术国家重点实验室, 山东 临沂 276006

3. 暨南大学附属第一医院, 广东 广州 510630

摘要: 目的 研究人参固本口服液对椎间盘退变小鼠肠道菌群的影响。方法 28 只小鼠随机分为假手术组、模型组、布洛芬 (90 mg/kg) 组和人参固本口服液 (3 mL/kg), 每组 7 只。采用尾部全层穿刺法制备椎间盘退变模型, 给予相应药物干预 28 d, 拍摄尾部核磁共振; 采用苏木素-伊红 (HE)、番红固绿染色观察小鼠肝、肾、椎间盘的病理变化; 采用 16S rRNA 高通量测序检测小鼠结肠内肠道菌群组成和结构。结果 与假手术组比较, 模型组椎间盘结构明显破坏; 肠道菌群 α 多样性分析 Chao 指数、Shannon 指数无明显差异, β 多样性 PC1、PC2 水平均有明显偏移; 疣微菌门 (Verrucomicrobiota)、巴氏杆菌门 (Patescibacteria)、杜氏杆菌属 *Dubosiella*、阿克曼氏菌属 *Akkermansia* 的相对丰度显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 粪杆菌属 *Faecalibaculum* 相对丰度显著升高 ($P < 0.001$)。与模型组比较, 人参固本口服液组失序的椎间盘结构得到修复; 肠道菌群 α 多样性 Chao 指数、Shannon 指数显著升高 ($P < 0.05$), β 多样性在 PC1 水平更趋向于假手术组; 疣微菌门、Lachnospiraceae_NK4A136_group、阿克曼氏菌属、回肠杆菌属 *Ileibacterium* 相对丰度显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 粪杆菌属相对丰度显著降低 ($P < 0.001$)。结论 人参固本口服液能够修复髓核、纤维环的结构, 减轻炎性细胞浸润, 延缓椎间盘退变的病理过程, 其机制可能与调控肠道菌群微环境有关。

关键词: 人参固本口服液; 椎间盘退变; 肠道菌群; 髓核; 纤维环

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)22-7121-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.22.015

Effect of Ginseng Guben Oral Liquid on intestinal flora in mice with intervertebral disc degeneration

LI Yi-xuan¹, JIANG Yan-ling², LIAO Yi¹, WANG Wei², OU Ru-zhen³, TANG Shu-jie¹, SUN Guo-dong³

1. School of Traditional Chinese Medicine, Jinan University, Guangzhou 510630, China

2. State Key Laboratory of Generic Manufacture Technology of Chinese Traditional Medicine, Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Linyi 276006, China

3. The First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510630, China

Abstract: Objective To study the effect of Ginseng Guben Oral Liquid (人参固本口服液) on intestinal flora of mice with intervertebral disc degeneration (IVDD). **Methods** Twenty-eight mice were randomly divided into sham operation group, model group, ibuprofen (90 mg/kg) group and Ginseng Guben Oral Liquid (3 mL/kg), with seven mice in each group. The model of IVDD was made by tail full-thickness puncture, and corresponding drugs were given for 28 d, tail nuclear magnetic resonance was taken; HE and saffron fast green staining were used to observe the pathological changes of liver, kidney and intervertebral disc in mice; 16S rRNA high-throughput sequencing was used to detect the composition and structure of intestinal flora in colon of mice. **Results** Compared with sham operation group, intervertebral disc structure in model group was obviously destroyed; There was no significant difference

收稿日期: 2022-07-28

基金项目: 中药制药共性技术国家重点实验室开放基金资助项目 (202009)

作者简介: 李艺璇 (1996—), 女, 硕士, 研究方向为脊柱骨关节病。Tel: 15521321703 E-mail: liyixuanhenan@163.com

*通信作者: 唐树杰, 男, 博士, 研究方向为脊柱骨关节病。Tel: (020)85226289 E-mail: tsj697@163.com

孙国栋, 男, 博士, 研究方向为脊柱骨科。Tel: 15521382902 E-mail: sgd96@jnu.edu.cn

#共同第一作者: 姜艳玲 (1990—), 女, 硕士, 研究方向为中药及天然药物有效成分及质量控制。

Tel: 15098860396 E-mail: ml15098860396@163.com

in Chao index and Shannon index of α diversity analysis in intestinal flora, but PC1 and PC2 levels of β diversity were obviously deviated; Relative abundance of Verrucomicrobiota, Patescibacteria, *Dubosiella* and *Akkermansia* were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$), while *Faecalibacterium* relative abundance was significantly increased ($P < 0.001$). Compared with model group, disordered intervertebral disc structure in Ginseng Guben Oral Liquid group was repaired; Chao index and Shannon index of α diversity analysis in intestinal flora were significantly increased ($P < 0.05$), β diversity tended to sham-operation group at PC1 level; Relative abundance of Verrucomicrobiota, Lachnospiraceae_NK4A136_group, *Akkermansia* and *Ileibacterium* were significantly increased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), while relative abundance of *Faecalibaculum* was significantly decreased ($P < 0.001$). **Conclusion** Ginseng Guben Oral Liquid can repair the structure of nucleus pulposus and annulus fibrosus, reduce the infiltration of inflammatory cells and delay the pathological process of IVDD, and its mechanism may be related to the regulation of intestinal flora microenvironment.

Key words: Ginseng Guben Oral Liquid; intervertebral disc degeneration; intestinal flora; nucleus pulposus; annulus fibrosus

全球约 5.4 亿人受到腰背痛的困扰^[1], 承受着巨大的身体负担和经济压力^[2]。椎间盘退变 (intervertebral disc degeneration, IVDD) 导致椎间盘机械稳定性以及力的传导功能下降, 与腰背痛有着密不可分的联系^[3]。目前的治疗方式主要包括非甾体类抗炎药、康复锻炼、心理辅导、介入及手术治疗等^[4], 但是均无法恢复甚至逆转 IVDD 的病理改变。此外, 长期服用非甾体类抗炎药具有消化道出血及肝肾损伤的风险。为缓解病人痛苦、提高患者的生活质量, 寻找有效和不良反应小的治疗药物十分必要。

传统医学在治疗腰痛方面具有很好的疗效。传统医学认为, 腰为肾之府, 故 IVDD 的治疗应从肾论治。人参固本口服液^[5]是在六味地黄丸的基础上, 添加人参、天冬及麦冬, 具有固本培元、补肾填精的功效。研究发现, 骨相关疾病与肠道菌群失调有密切关系^[6-7]。考虑到肠道菌群在关节稳态中起重要作用^[8], 因此本研究从肠道菌群角度探究人参固本口服液治疗 IVDD 的作用及其机制。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠, 4~6 周龄, 体重 20~25 g, 购自浙江维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号 SYXK (粤) 2017-0174。动物饲养于暨南大学动物实验中心, 室温 20~24 °C, 相对湿度 52%~64%, 光照周期 10~14 h, 自由进食饮水, 实验前适应性饲养 10 d。动物实验经暨南大学动物实验中心伦理委员会批准 (批准号 IACUC-20220221-07)。

1.2 药品与试剂

人参固本口服液 (批号 29190332, 10 mL/支) 购自鲁南厚普制药有限公司; 布洛芬缓释胶囊 (批号 H20066822, 0.3 mg/粒) 购自珠海润都制药股份

有限公司; DNA 抽提试剂盒购自 MP Biomedicals 公司; 琼脂糖购自 Biowest 公司; Fast Pfu DNA 聚合酶购自北京全式金生物技术有限公司; DNA 凝胶回收试剂盒购自 Axygen 公司; 建库试剂盒购自 Bio Scientific 公司; 测序试剂盒购自美国 Illumina 公司; 4%多聚甲醛 (批号 043368) 购自 ALFA 公司; 1.25% 三溴乙醇 (批号 T48402) 购自美国 Sigma 公司; 无水乙醇 (批号 10009218) 购自上海国药集团化学试剂有限公司; 二甲苯 (批号 X820585) 购自广州从源仪器有限公司; 中性树胶 (批号 yk-3313) 购自广州市佳研生物有限公司; 苏木素-伊红 (HE) 染液套装 (批号 GP1031)、番红固绿染液套装 (批号 G1031)、环保型脱蜡透明液 (批号 G1128)、分化液 (批号 G1039) 购自 Servicebio 公司。

1.3 仪器

DYY-6C 型核酸电泳仪、ND2000 型光度计、94/30 型小动物磁共振成像系统 (BioSpec 公司); Donatello 脱水机、Giotto 染色机 (Diapath 公司); JB-P5 型包埋机、JB-L5 型冻台 (武汉俊杰电子有限公司); RM2016 型病理切片机 (上海徕卡仪器有限公司); KD-P 型组织摊片机 (浙江省金华市科迪仪器设备有限公司); Eclipse E100 型正置荧光显微镜 (日本 Olympus 公司); 9700 型 PCR 仪 (美国 ABI 公司); Quantus™ 高灵敏荧光计 (Promega 公司); Miseq PE300 型测序平台 (上海美吉生物公司)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药

28 只 C57BL/6J 小鼠随机分为假手术组、模型组、布洛芬 (90 mg/kg) 组和人参固本口服液 (3 mL/kg, 相当于临床等效剂量) 组, 每组 7 只。除假手术组外, 其余各组均采用尾部全层穿刺法制备 IVDD 模型^[9]: 小鼠 ip 1.25% 三溴乙醇麻醉 (0.3 mL/只), 沿矢状面切开尾部 Co3~5 节段皮肤, 暴露 Co3~4、Co4~5

椎间盘, 31G 注射器针头沿平行软骨终板的方向刺入 1.5 mm, 进入纤维环、髓核后, 轴向旋转 180°, 保持 10 s, 缝合, 青霉素钠涂抹伤口防止感染。假手术组仅切开尾部皮肤, 不予椎间盘穿刺。各给药组 ig 相应药物, 假手术组和模型组 ig 生理盐水 (3 mL/kg), 1 次/d, 连续 28 d。

2.2 椎间盘核磁共振成像检测

末次给药后禁食 12 h, 使用小动物呼吸麻醉机用异氟烷麻醉小鼠, 对小鼠 Co3~5 椎间盘进行核磁共振成像检测。

2.3 肝、肾、椎间盘的 HE 与番红固绿染色观察

小鼠于无菌环境中脱颈椎处死, 取肝、肾、椎间盘, 于 4% 多聚甲醛中固定, 石蜡包埋后切片, 肝、肾组织切片进行常规 HE 染色, 椎间盘组织切片脱钙后进行 HE 和番红固绿染色, 于显微镜下观察肝、肾、椎间盘组织病理变化。

2.4 16S rRNA 测序分析

2.4.1 DNA 抽提及 PCR 扩增

取各组小鼠结肠组织, 收集结肠内粪便样本至无菌 Ep 管中, 于 -80 °C 保存。参照 DNA 提取试剂盒说明书抽提基因组 DNA 后, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 扩增 16S rDNA 的 V3~4 可变区。引物序列: 338F 为 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3', 806R 为 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'。

2.4.2 Illumina Miseq 测序分析

用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物, 用 DNA 凝胶回收试剂盒纯化, Tris-HCl 洗脱, 2% 琼脂糖电泳检测, 用高灵敏荧光计检测定量, 在 Illumina MiSeq 平台将纯化后的扩增片段构建文库与测序。

2.5 统计学分析

通过可操作分类单元 (operational taxonomic unit, OUT) 分析、稀释曲线及等级聚类曲线分析, 对测序样本质量进行评估; 通过 Venn 图、 α 多样性、 β 多样性及组间差异显著性检验等, 对样本的

组成结构及丰度进行分析。采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组均数间采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 椎间盘核磁共振成像检测

如图 1 所示, 假手术组小鼠椎间盘形态完整, T2W1 呈均匀高信号; 终板形态完整, 与椎间盘有明显的分界, T2W1 呈均匀低信号。模型组小鼠椎间盘形态被破坏, T2W1 呈低信号; 终板表面毛糙, T2W1 呈点状高信号。布洛芬组小鼠椎间盘形态差, T2W1 呈低信号; 终板破裂, T2W1 点状高信号融合成片。人参固本口服液组小鼠椎间盘形态欠佳, T2W1 部分高信号; 终板表面欠平整, 与椎间盘分界尚可, T2W1 呈点状高信号。

3.2 组织学病理观察

3.2.1 肝、肾组织 HE 染色观察

如图 2 所示, 各组小鼠肝组织结构清楚, 肝细胞排列致密有序, 细胞膜及核膜完整, 胞质均匀, 中央静脉形态正常。各组小鼠肾组织结构清晰完整, 皮髓分界清晰, 肾小球、肾小管形态正常。

3.2.2 椎间盘 HE 与番红固绿染色观察

如图 3 所示, 假手术组小鼠髓核结构形态完整, 细胞排列正常, 纤维环有序层状排列, 未见炎性细胞浸润。模型组小鼠髓核结构丢失, 细胞明显减少, 分布散乱, 空泡样明显, 部分区域被纤维环组织填充侵占, 纤维环失去有序层状排列, 伴有明显的炎性细胞浸润。布洛芬组损坏的髓核结构有所修复, 细胞排列欠佳, 纤维环排列欠有序, 可见炎性细胞浸润。人参固本口服液组小鼠损坏的髓核结构尚可, 髓核细胞趋于整齐, 纤维环结构相对完整, 可见少量的炎性细胞浸润。

3.3 肠道微生物测序质量评价

各组小鼠各随机抽取 4 个结肠内粪便样本, 进行 16S rRNA 测序, 优化后序列数目为 4 013 568,

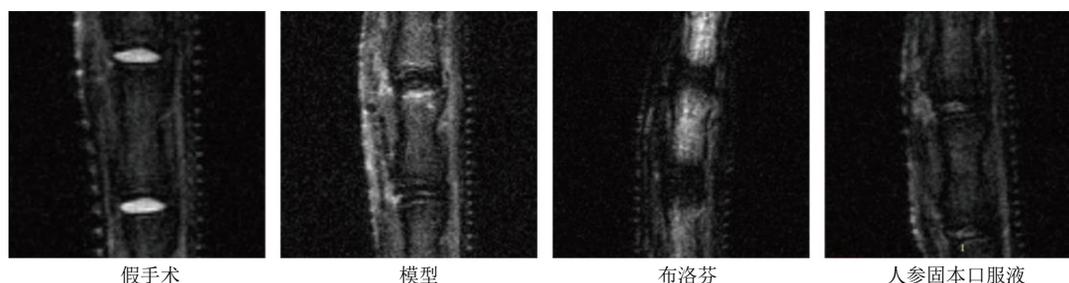


图 1 各组小鼠椎间盘的核磁共振成像检测

Fig. 1 Magnetic resonance imaging of intervertebral discs of mice in each group

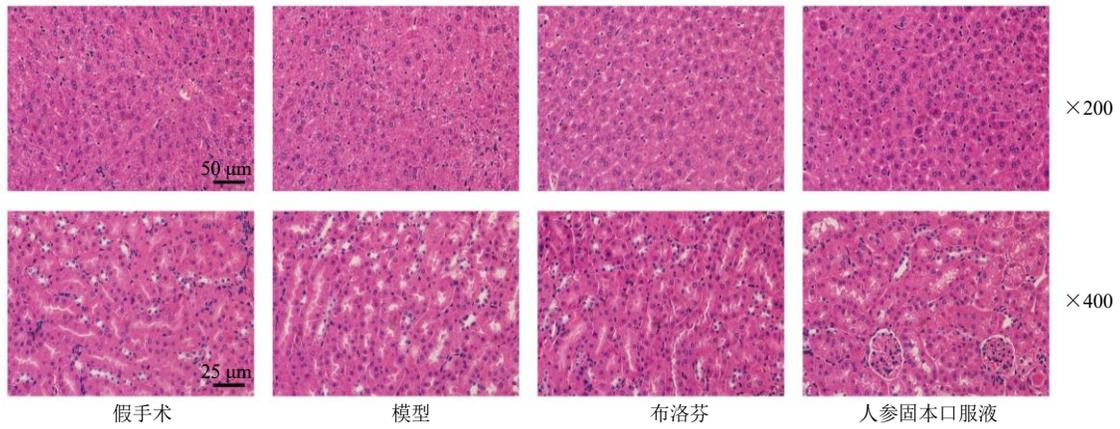


图 2 各组小鼠肝、肾组织 HE 染色

Fig. 2 HE staining of liver and kidney of mice in each group

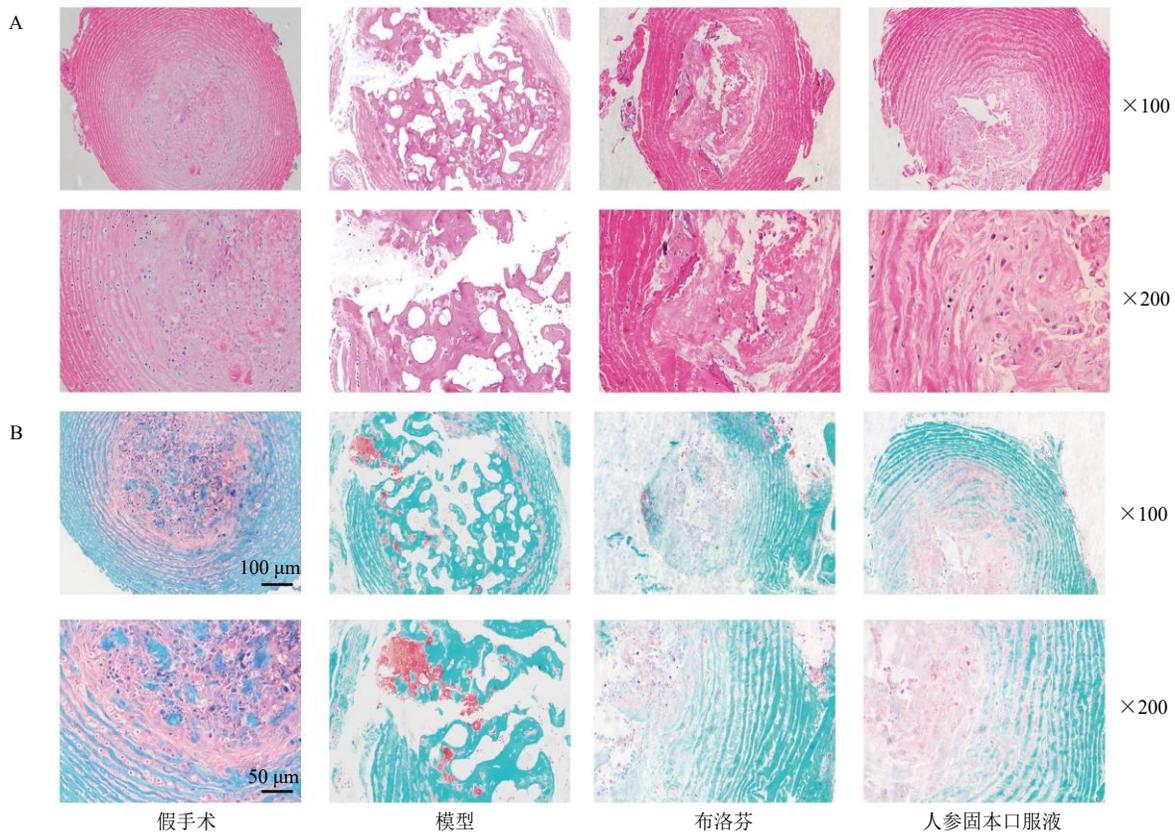


图 3 各组小鼠椎间盘的 HE (A) 与番红固绿 (B) 染色

Fig. 3 HE (A) and red solid green dyeing (B) staining of intervertebral disc of mice in each group

碱基数目为 1 699 712 622，平均长度为 423 bp。经过聚类分析，得到 12 个门、18 个纲、46 个目、77 个科、148 个属、225 个种和 610 个 OTU。

Shannon 指数稀释曲线直接或间接反映测序数据量的合理性及物种的丰富程度，等级聚类曲线的曲线宽度和平缓度分别代表了物种丰富度及均匀度。如图 4-A、B 所示，稀释曲线达到平台期，等级聚类曲线趋于平缓，表明数据量渐进合理，物种分

布较均匀，丰富度较高。与假手术组比较，模型组丰富度、均匀度无明显变化；与模型组比较，各给药组丰富度、均匀度上升，其中人参固本口服液组有明显差异。Venn 图可反映各组之间共有和独有的 OTU 数目及样本群落组成的相似度。如图 4-C 所示，4 组样本有 127 个重叠 OTU，假手术组、模型组、布洛芬组和人参固本口服液组分别独有 22、23、24、78 个 OTU。

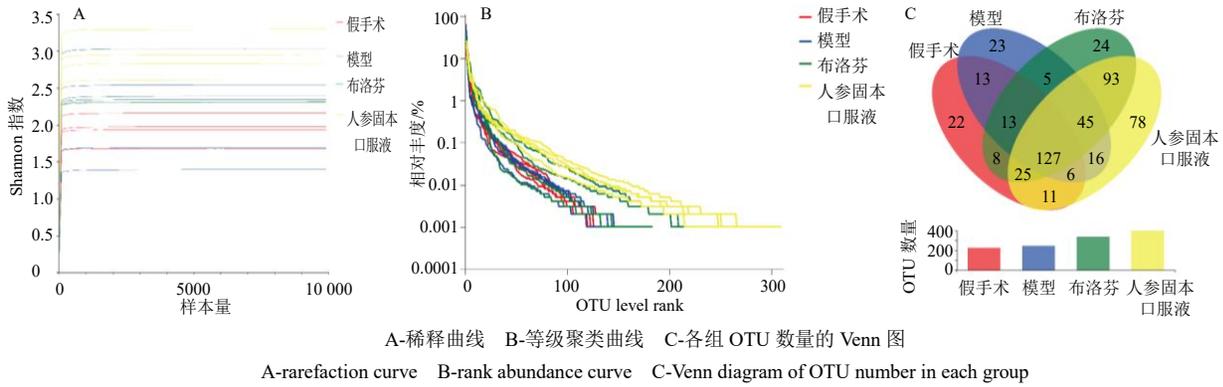


图 4 肠道菌群测序质量评估

Fig. 4 Intestinal flora sequencing quality assessment

3.4 α 多样性分析

α 多样性是指通过对单个样品的多样性分析, 来评估肠道群落物种的丰度及多样性, 其中 Chao 指数、Shannon 指数分别表示物种丰度、多样性。如图 5-A、B 所示, 与假手术组比较, 模型组 Chao 指数和 Shannon 指数无明显差异; 与模型组比较, 人参固本口服液组 Chao 指数和 Shannon 指数均显著升高 ($P < 0.05$)。如图 5-C 所示, 在种水平上, 与模型组比较, 各给药组 *Ileibacterium_valens* 的相对丰度明显升高, *uncultured_bacterium_g_Dubosiella* 的相对丰度明显降低。

3.5 β 多样性分析

β 多样性用于进一步评估组别间的微生物组成。主坐标分析 (principal co-ordinates analysis,

PCoA)、非度量多维尺度法 (non-metric multidimensional scaling analysis, NMDS) 是研究 Beta 多样性的可视化方法, 样本间的距离与菌群组成结构的相似值呈负相关, 即样本点越接近, 其物种组成越相似。如图 6 所示, 与假手术组比较, 模型组在 PC1、PC2 水平均有明显偏移, 表明模型组小鼠肠道菌群结构与组成明显改变; 与模型组比较, 各给药组在 PC1 水平更趋向于假手术组, 提示给药后肠道菌群的整体结构发生了实质性的变化。NMDS 分析结果与 PCoA 分析趋势一致。

3.6 菌群结构组成分析

如图 7-A 所示, 在门水平上, 厚壁菌门 (Firmicutes) 和拟杆菌门 (Bacteroidota) 为优势菌种, 与假手术组比较, 模型组放线菌门 (Actinobacteriota)

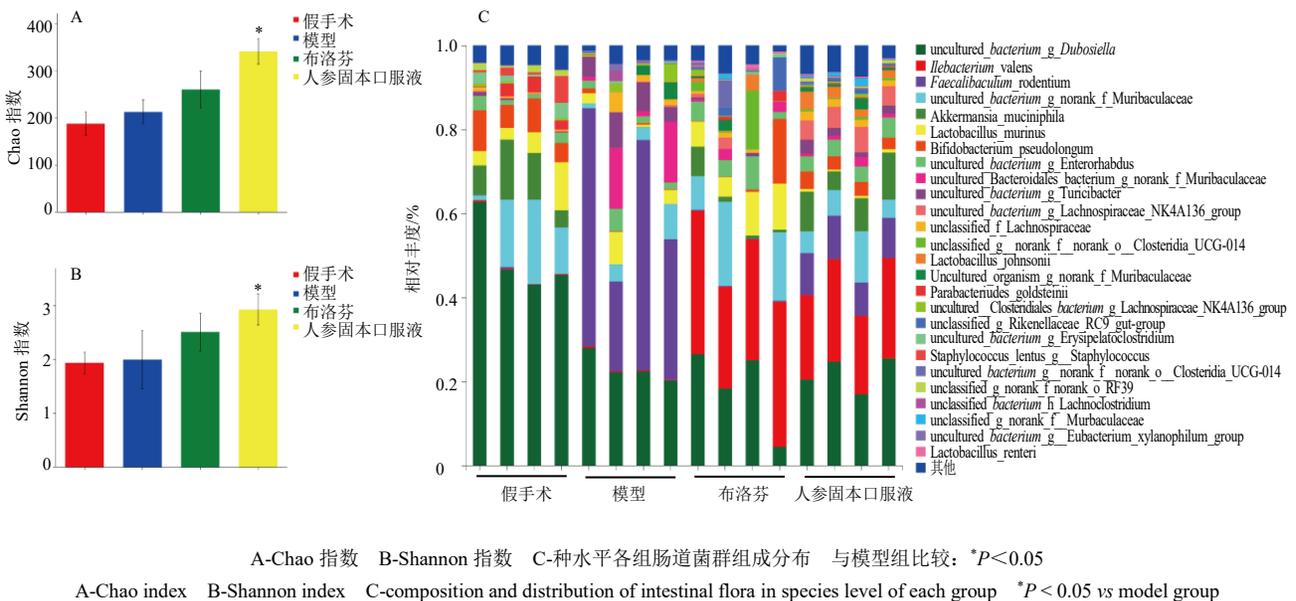


图 5 各组肠道菌群 α 多样性分析

Fig. 5 α Diversity analysis of intestinal flora in each group

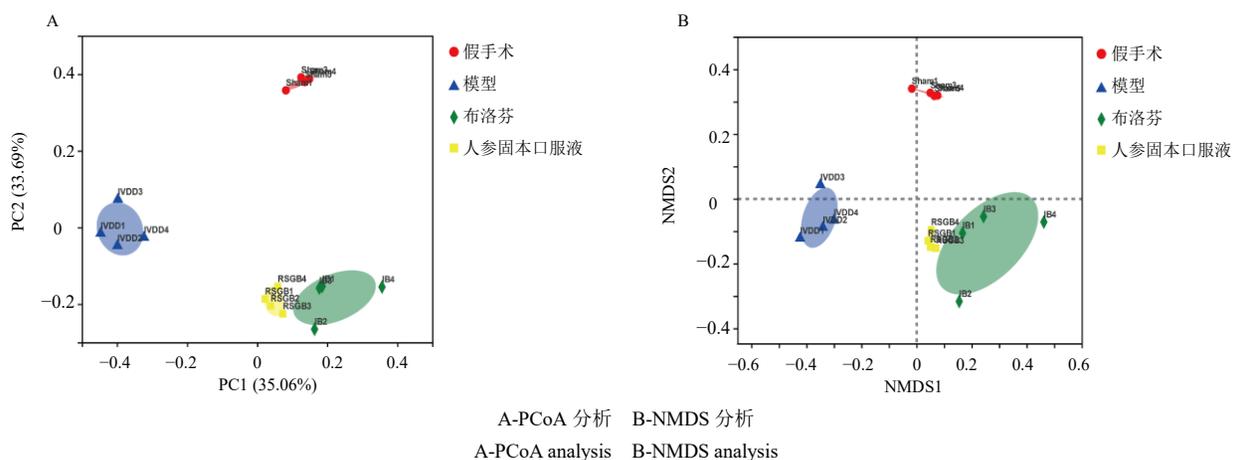


图 6 各组肠道菌群 β 多样性分析

Fig. 6 β Diversity analysis of intestinal flora in each group

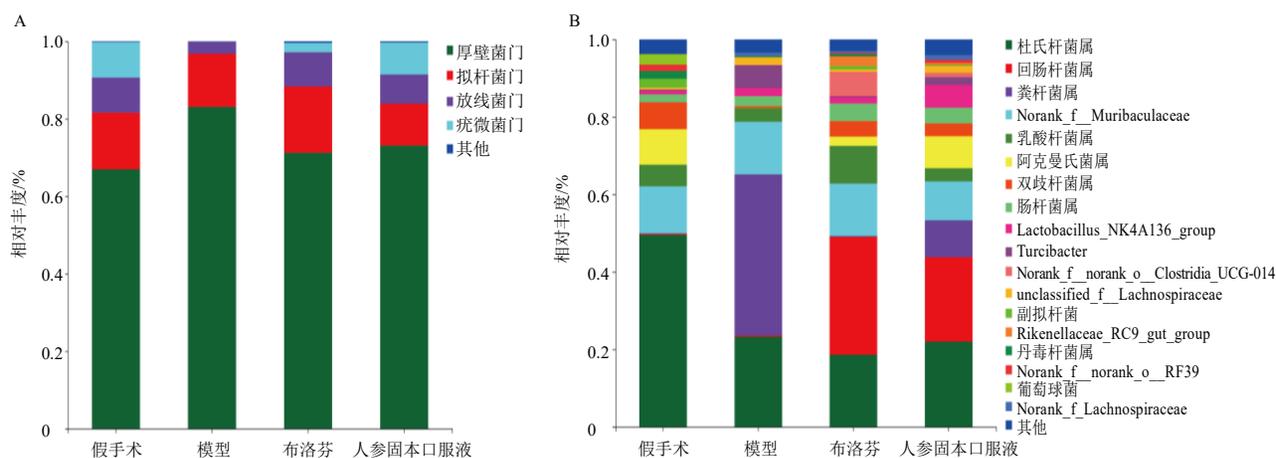


图 7 门水平 (A) 和属水平 (B) 各组肠道菌群结构组成

Fig. 7 Structure composition of intestinal flora in each group at phylum level (A) and genus level (B)

和疣微菌门 (Verrucomicrobiota) 的相对丰度明显降低; 与模型组比较, 人参固本口服液组菌群组成及丰度明显逆转。如图 7-B 所示, 在属水平上, 假手术组优势菌种为杜氏杆菌属 *Dubosiella*, 模型组的优势菌种为粪杆菌属 *Faecalibaculum*。与模型组比较, 各给药组回肠杆菌属 *Ileibacterium* 相对丰度明显升高, 粪杆菌属相对丰度明显降低。

组间差异显著性检验是利用样本检验得到的群落丰度数据, 通过统计学方法对不同群落微生物丰度差异种进行假设检验, 评价样本间差异的显著性。如图 8 所示, 门水平上, 与假手术组比较, 模型组菌群中的疣微菌门和巴氏杆菌门 (Patescibacteria) 相对丰度显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); 与模型组比较, 人参固本口服液组疣微菌门相对丰度显著升高 ($P < 0.05$)。在属水平上, 与假手术组比较, 模型组粪杆

菌属相对丰度显著升高 ($P < 0.001$), 为优势物种, 杜氏杆菌属和阿克曼氏菌属 *Akkermansia* 相对丰度显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 布洛芬组回肠杆菌属相对丰度显著升高 ($P < 0.001$), 人参固本口服液组 *Lachnospiraceae_NK4A136_group*、阿克曼氏菌属和回肠杆菌属相对丰度显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.001), 粪杆菌属相对丰度显著降低 ($P < 0.001$)。

4 讨论

椎间盘是软骨结构, 包含与上下椎体连接的终板、纤维环及髓核。正常情况下, 纤维环、髓核承担不同轴向的压力载荷, 维持脊柱多方向的运动。而椎间盘内组织细胞和生物化学改变, 导致结构失衡, 该过程即 IVDD。目前临床常用补益肝肾的药物治疗腰痛。人参固本口服液由人参、麦冬、天冬加六味地黄丸组成, 方中人参、熟地、山茱萸、山

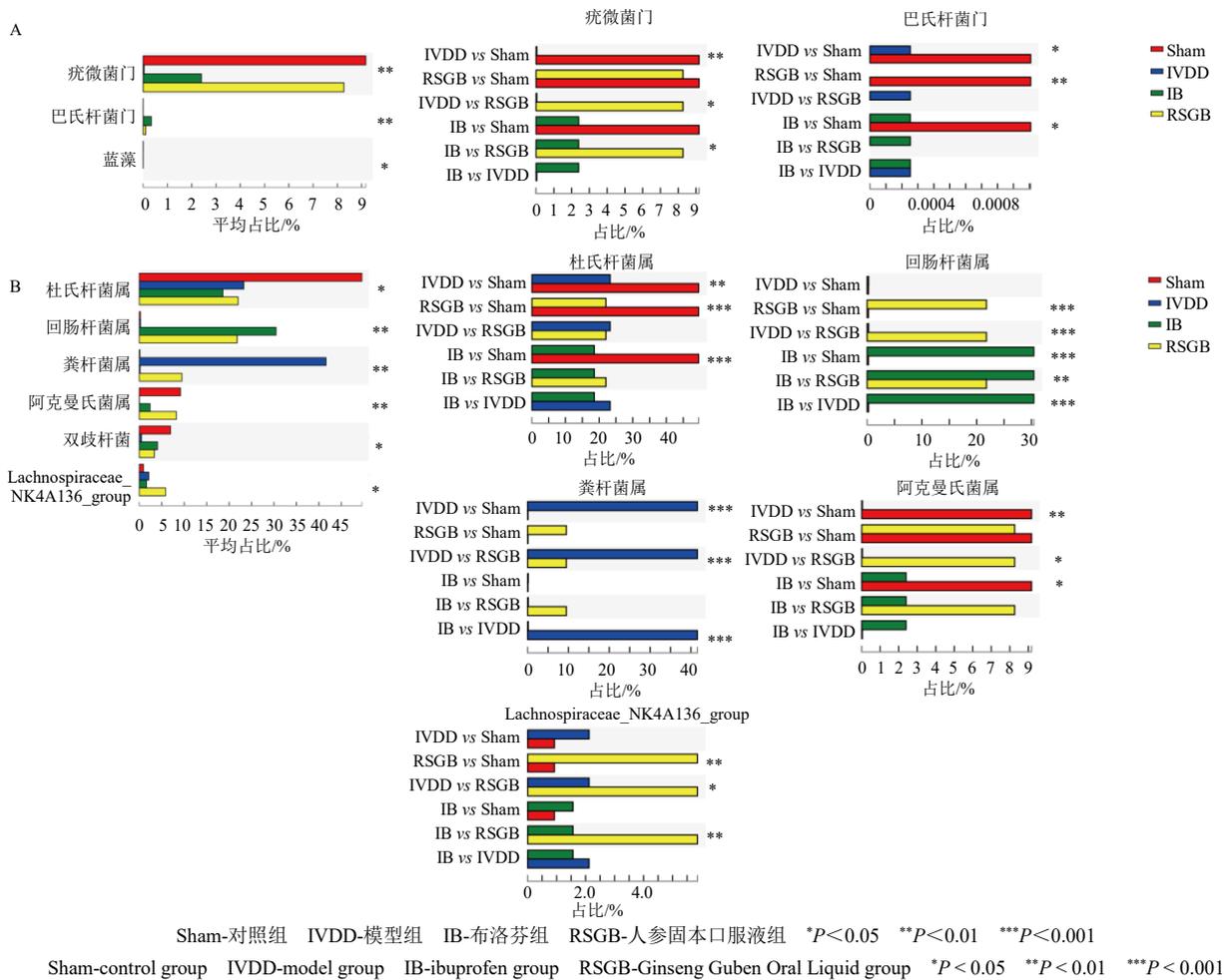


图 8 门水平 (A) 和属水平 (B) 各组肠道菌群差异分析

Fig. 8 Difference analysis of intestinal flora in each group at phylum level (A) and genus level (B)

药为君，填精益髓、补气养血；茯苓健脾益气；麦冬、天冬养阴益气；泽泻、牡丹皮补泻相宜，泻肾浊。椎间盘核磁共振成像及病理结果表明，人参固本口服液能够修复髓核、纤维环的结构，减轻炎性细胞浸润，从而延缓 IVDD 的病理过程。表明人参固本口服液能够有效改善 IVDD。

胃肠道微生物是人体内最丰富的微生物群，通常处于动态平衡状态。研究发现，肠道菌群在关节稳态中发挥重要作用。随着年龄增长，膝骨关节炎发病率的升高与肠道通透性的增加呈正相关^[8,10]。肠道菌群通过调节自身代谢产物，调节免疫应答系统，从而影响骨代谢如骨质疏松、股骨头坏死等^[11-12]。本研究基于 16S rRNA 技术发现模型组与假手术组小鼠肠道菌群 Alpha 多样性无明显差异，而 Beta 多样性存在差异，疣微菌门、巴氏杆菌门、杜氏杆菌属、阿克曼氏菌属的相对丰度降低，粪杆菌属相对丰度升高。与模型组比较，人参固本口服液组肠道菌群的

丰度和均匀度增加，疣微菌门、阿克曼氏菌属、Lachnospiraceae_NK4A136_group 和回肠杆菌属相对丰度升高，粪杆菌属相对丰度下降。

研究表明，杜氏杆菌属减少后，能够激活:核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3) 炎症小体，从而引起肠道及神经炎症^[13]，提示 IVDD 后，小鼠肠道内与炎症相关肠道微生物群增加，肠道菌群稳态遭到破坏。疣微菌门及该门中的阿克曼氏菌属在增强免疫力、抗肿瘤、抗衰老、维持肠道稳态和抗炎方面有重要作用^[14]。IVDD 小鼠给予人参固本口服液后，肠道内疣微菌门、阿克曼氏菌属为优势物种，其相对丰度显著升高。表明人参固本口服液可以调控 IVDD 小鼠肠道菌群微生态，改善菌群多样性及丰度，影响菌群代谢。

综上，人参固本口服液能够通过调控肠道菌群微环境，有效延缓 IVDD。人参固本口服液补肾机

制可能是通过调节肠道微生态实现的,符合“养后天以滋先天”的中医理论。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Hartvigsen J, Hancock M J, Kongsted A, *et al.* What low back pain is and why we need to pay attention [J]. *Lancet*, 2018, 391(10137): 2356-2367.
- [2] Kadow T, Sowa G, Vo N, *et al.* Molecular basis of intervertebral disc degeneration and herniations: What are the important translational questions? [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2015, 473(6): 1903-1912.
- [3] Lo W C, Chen Y T, Chen C C. The effects of elgucare on degenerated intervertebral disc-induced low back pain and disc regeneration: A clinical trial [J]. *Comput Math Methods Med*, 2021, 2021: 5824956.
- [4] Zhao L, Manchikanti L, Kaye A D, *et al.* Treatment of discogenic low back pain: Current treatment strategies and future options-a literature review [J]. *Curr Pain Headache Rep*, 2019, 23(11): 86.
- [5] 钟诚, 杨东亮, 姚景春, 等. UHPLC-ESI-QE-Orbitrap-MS 技术的人参固本口服液干预食蟹猴颈椎间盘置换术后的血清代谢组学研究 [J]. *中草药*, 2022, 53(6): 1776-1782.
- [6] Biver E, Berenbaum F, Valdes A M, *et al.* Gut microbiota and osteoarthritis management: An expert consensus of the European society for clinical and economic aspects of osteoporosis, osteoarthritis and musculoskeletal diseases (ESCEO) [J]. *Ageing Res Rev*, 2019, 55: 100946.
- [7] Wei J, Zhang C H, Zhang Y Q, *et al.* Association between gut microbiota and symptomatic hand osteoarthritis: Data from the Xiangya osteoarthritis study [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2021, 73(9): 1656-1662.
- [8] Li W T, Lai K T, Chopra N, *et al.* Gut-disc axis: A cause of intervertebral disc degeneration and low back pain? [J]. *Eur Spine J*, 2022, 31(4): 917-925.
- [9] Wang S Z, Sun G D, Fan P, *et al.* Distinctive roles of tumor necrosis factor receptor type 1 and type 2 in a mouse disc degeneration model [J]. *J Orthop Translat*, 2021, 31: 62-72.
- [10] Thevaranjan N, Puchta A, Schulz C, *et al.* Age-associated microbial dysbiosis promotes intestinal permeability, systemic inflammation, and macrophage dysfunction [J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 23(4): 570.
- [11] 何剑全, 林小梅, 林正坤, 等. 绝经后骨质疏松症患者中医证型与肠道菌群结构的相关性研究 [J]. *中医药临床杂志*, 2022, 34(3): 539-545.
- [12] de Sire A, de Sire R, Petit V, *et al.* Gut-joint axis: The role of physical exercise on gut microbiota modulation in older people with osteoarthritis [J]. *Nutrients*, 2020, 12(2): E574.
- [13] Xiao L L, Zheng H P, Li J, *et al.* Targeting NLRP3 inflammasome modulates gut microbiota, attenuates corticospinal tract injury and ameliorates neurobehavioral deficits after intracerebral hemorrhage in mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 149: 112797.
- [14] Everard A, Belzer C, Geurts L, *et al.* Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(22): 9066-9071.

[责任编辑 李亚楠]