

铁皮石斛对抗生素诱导小鼠肠道菌群紊乱的改善作用

陈文华¹, 李思琦¹, 宋佳¹, 於李龙¹, 沈晓霞^{1,2}, 朱波^{1,2*}, 秦路平^{1,2*}

1. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 311402

2. 浙江中医药大学 松阳研究院, 浙江 松阳 323400

摘要: 目的 探究铁皮石斛 *Dendrobium officinale* 对抗生素诱导小鼠肠道菌群紊乱的改善作用。方法 采用 UPLC-QTOF-MS/MS 对高压灭菌前后的铁皮石斛新鲜榨汁成分进行分析。C57 小鼠随机分为对照组、模型组、铁皮石斛新鲜榨汁组和铁皮石斛高压灭菌榨汁组, 抗生素干预 7 d 后给药 14 d, 收集粪便, 另取铁皮石斛鲜品, 用 Illumina MiSeq 高通量测序检测铁皮石斛内生细菌和各组小鼠肠道的菌群结构。结果 高压灭菌前后铁皮石斛新鲜榨汁的共有成分为 14 种, 占总成分的 95.84%。非度量多维标度分析发现铁皮石斛新鲜榨汁组小鼠肠道菌群结构与对照组小鼠肠道菌群更相似, 但铁皮石斛高压灭菌榨汁对抗生素诱导小鼠肠道菌群紊乱无明显作用; 与模型组比较, 铁皮石斛新鲜榨汁组优势菌群乳酸杆菌属 *Lactobacillus*、双歧杆菌属 *Bifidobacterium* 的丰度显著升高, 有害菌群脱硫弧菌属 *Desulfovibrio* 的丰度显著降低。结论 铁皮石斛通过提高有益菌丰度和降低有害菌群丰度来改善抗生素诱导小鼠肠道菌群紊乱。

关键词: 铁皮石斛; 抗生素; 肠道菌群; 乳酸杆菌属; 双歧杆菌属; 脱硫弧菌属

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253 - 2670(2023)19 - 6362 - 08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.19.017

Improvement of *Dendrobium officinale* on antibiotic-induced intestinal flora disorder in mice

CHEN Wen-hua¹, LI Si-qi¹, SONG Jia¹, YU Li-long¹, SHEN Xiao-xia^{1,2}, ZHU Bo^{1,2}, QIN Lu-ping^{1,2}

1. School of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311402, China

2. Songyang Institute, Zhejiang Chinese Medical University, Songyang 323400, China

Abstract: Objective To explore the improvement of *Dendrobium officinale* on antibiotic-induced gut microbiota disturbance in mice.

Methods UPLC-QTOF-MS/MS was used to analyze the fresh juice components of *D. officinale* before and after autoclaving. C57 mice were randomly divided into control group, model group, *D. officinale* fresh juice group and *D. officinale* high pressure sterilization juice group, after 7 d of antibiotic intervention, mice were administered for 14 d, then the feces were collected. In addition, fresh *D. officinale* samples were collected, and the structures of *D. officinale* endophytic bacteria and gut microbiota of mice were detected by Illumina MiSeq high throughput sequencing. **Results** There were 14 components in fresh juice of *D. officinale* before and after autoclaving, accounting for 95.84% of the total components. Non-metric multidimensional scaling (NMDS) analysis showed that the gut microbiota structure of mice in *D. officinale* fresh group was similar with that in control group, but *D. officinale* high pressure sterilization juice group had no obvious effect on the intestinal flora disorder induced by antibiotics in mice. Compared with model group, the abundance of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* were significantly increased in dominant flora of *D. officinale* fresh juice group, while the abundance of *Desulfovibrio* was significantly decreased in harmful bacteria group. **Conclusion** *D. officinale* can improve the antibiotic-induced gut microbiota disturbance in mice by increasing the abundance of beneficial bacteria and reducing the abundance of harmful bacteria while *D. officinale* endophytic bacteria may play a key role in the process.

Key words: *Dendrobium officinale* Kimura et Migo; antibiotic; gut microbiota; *Lactobacillus*; *Bifidobacterium*; *Desulfovibrio*

收稿日期: 2023-02-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82003896)

作者简介: 陈文华 (1994—), 女, 博士研究生, 研究方向为植物共生菌及肠道微生物。E-mail: cwh18363032223@163.com

*通信作者: 朱波, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为植物共生菌。E-mail: zhubo@zcmu.edu.cn

秦路平, 教授, 博士生导师, 研究方向为植物共生菌与肠道微生物。E-mail: lpqin@zcmu.edu.cn

铁皮石斛 *Dendrobium officinale* Kimura et Migo 为兰科石斛属多年生草本植物, 味甘、性微寒, 归胃、肾经, 具有益胃生津、滋阴清热的功效, 以新鲜或干燥茎入药^[1-2]。现代药理学研究发现, 铁皮石斛具有心脏保护^[3]、提高免疫力^[4]、抗肿瘤^[5]、保护胃肠道^[6-7]、降血糖^[8]、抗骨质疏松^[9]和抗衰老^[10]等作用。植物化学研究发现, 多糖、联苄类、菲类、黄酮和生物碱是铁皮石斛的主要生物活性成分^[2]。

肠道微生物群由数万亿微生物组成, 可以通过获取营养和调节能量代谢来维持人类健康^[6]。近年来研究表明, 肠道微生物群在调控宿主健康和疾病中发挥重要的作用^[11]。研究发现铁皮石斛可以联合西洋参通过增加乳杆菌属 *Lactobacillus*、萨特氏菌属 *Sutterella*、另枝菌属 *Alistipes* 等有益菌属的丰度来调节正常犬的肠道菌群^[6]; 铁皮石斛多糖通过提高正常小鼠肠道中阿克曼氏菌属 *Akkermansia*、副拟杆菌属 *Parabacteroides* 和双歧杆菌属 *Bifidobacterium* 等有益菌属的相对丰度来调节肠道菌群^[12]; 铁皮石斛水提物能够调节糖尿病所导致小鼠肠道菌群失调和菌群数量减少^[13]。临幊上, 肠道菌群紊乱会导致各种免疫类、代谢类等疾病^[14-17]。现有的铁皮石斛调节肠道菌群多集中在水提物或多糖, 鲜有新鲜药材相关报道。铁皮石斛鲜品多直接嚼服或榨汁食用, 鲜品中含有内生菌, 植物中的内生菌与小鼠肠道菌是否存在某些关联尚不清晰。本研究首先采用抗生素诱导小鼠肠道菌群紊乱, 然后分析铁皮石斛新鲜榨汁和高压灭菌榨汁对抗生素诱导小鼠肠道菌群结构变化, 进而为研究中药改善肠道菌群紊乱的作用机制提供实验依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 C57 小鼠 24 只, 6~8 周龄, 体质量 (20±2) g, 由上海斯莱克实验动物中心提供, 合格证号 SYXK (沪) 2018-0012。动物于浙江中医药大学动物实验中心适应性饲养 7 d, 每天接受 12 h 光照, 室温 (22±2) °C, 相对湿度 (50±10) %。动物实验遵循浙江中医药大学实验动物管理和使用的规定, 符合 3R 原则。

1.2 药材

铁皮石斛鲜品采集于浙江中医药大学富春百草园, 经浙江中医药大学张巧艳教授鉴定为兰科植物铁皮石斛 *D. officinale* Kimura et Migo。铁皮石斛新鲜榨汁经过 121 °C 高压灭菌 40 min, 即铁皮石斛高

压灭菌榨汁。

1.3 药品与试剂

盐酸万古霉素(批号 WXBD3403V)、氨苄青霉素(批号 BCCC0880)、硫酸新霉素(批号 WXBD3833V)、甲硝唑(批号 MKCJ4156)、两性霉素 B(批号 V900919)购自美国 Sigma-Aldrich 公司。

1.4 仪器

DYY-8C 型电泳仪(北京六一生物科技有限公司); 4375786 型 PCR 仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); GenoSens 1850 型凝胶成像仪器(上海勤翔科学仪器有限公司); CBM-40 型岛津超高效液相色谱仪(日本岛津公司); ZenoTOF 7600 型高分辨质谱(美国 SCIEX 公司)。

2 方法

2.1 铁皮石斛榨汁的 UPLC-QTOF-MS/MS 分析

2.1.1 供试品溶液的制备 称取铁皮石斛分离茎 10 g, 加 100 mL 蒸馏水榨汁, 抽滤得榨汁液。取一半榨汁液 121 °C 高压灭菌 40 min。榨汁液经 0.22 μm 的微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液, 每组平行设置 3 个重复, 放置 4 °C 冰箱备用。

2.1.2 色谱条件 Waters Acquity UPLC® HSST3 C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), 流动相为乙腈 (A)-0.1% 甲酸水溶液 (B), 梯度洗脱: 0~5.0 min, 5% A; 5.0~25.0 min, 5%~95% A; 25.0~30.0 min, 95% A; 30.0~30.1 min, 95%~5% A; 30.1~35.0 min, 5% A; 柱温 40 °C; 体积流量 1.3 mL/min; 进样量 2 μL。

2.1.3 质谱条件 正离子模式, 电喷雾离子源, IDA 扫描; 离子喷雾电压 5500 V; 去簇电压 60 V; 碰撞电压 35 eV; 碰撞能量扩展 10 eV; 雾化气压力 55 kPa; 辅助加热气压力 55 kPa; 气帘压力 35 kPa; 去溶剂温度 500 °C; 扫描范围 *m/z* 50~1200。

2.1.4 数据分析 采用 UPLC-QTOF-MS/MS 技术对高压灭菌前后的铁皮石斛新鲜榨汁成分进行定性分析, 通过查阅国内外文献、TCMSP 数据库, 建立铁皮石斛的质谱数据库, 在误差小于 5×10⁻⁶ 的条件下, 利用 QTOF/MS 提供的精确相对分子质量与数据库比对, 通过 MassHunter 数据软件和 Chemspider 网站进行数据的采集和分析。

2.2 肠道菌群紊乱小鼠模型的建立、分组与给药

将盐酸万古霉素、氨苄青霉素、硫酸新霉素、甲硝唑和两性霉素 B 分别用无菌水配制成质量浓度为 5.0、1.0、10.0、10.0、0.1 mg/mL 的溶液, 制成

抗生素混悬液。C57 小鼠随机分为对照组(6只)和造模组(18只),造模组 ig 抗生素混悬溶液(10 mL/kg),1次/d,连续7d^[17-18]。抗生素诱导肠道菌群紊乱后,造模小鼠随机分为模型组、铁皮石斛新鲜榨汁(0.5 g/kg,相当于临床等效剂量)组和铁皮石斛高压灭菌榨汁(0.5 g/kg,相当于临床等效剂量)组,每组6只。各给药组 ig 相应药物,对照组和模型组 ig 无菌水,1次/d,连续14 d。给药结束后,无菌采集每只小鼠的粪便,放入灭菌后的冻存管中并保存于-80 °C冰箱,用于16S rDNA测序。

2.3 生物信息学分析

取铁皮石斛鲜品4份和粪便样品24份(每组6份),送上海美吉生物医药科技有限公司进行16S rDNA测序。参照陈文华等^[19]方法进行DNA提取、PCR扩增及测序。采用Flash ver 1.2.3软件处理Paired-end Illumina MiSeq序列。有效数在97%相似

水平上的分类操作单元(operational taxonomic unit, OTU)聚类分析采用Usearch ver 5.2.236处理^[20]。采用Rver 3.2及Vegan软件对真菌群落的方差统计(ANOVA)、非度量多维标度(non-metric multidimensional scaling, NMDS)和线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)等分析^[18];采用PICRUSt1软件对内生细菌群落功能信息进行预测。

3 结果

3.1 铁皮石斛榨汁化学成分分析

采用UPLC-TOF-MS技术对高压灭菌前后的铁皮石斛新鲜榨汁成分进行定性分析,见表1、2。铁皮石斛新鲜榨汁检测出17种化合物,高压灭菌后铁皮石斛新鲜榨汁检测出14种化合物,这些成分在新鲜榨汁中均被检测出,共有成分峰面积占总成分的95.84%,缺失的成分为ephemeranthol A、erianthridin和densiflorol A。

表1 铁皮石斛新鲜榨汁成分分析

Table 1 Component analysis of fresh juice of *D. officinale*

编号	<i>t_R/min</i>	化合物	分子式	离子模式	相对分子质量	误差($\times 10^{-6}$)
1	1.18	对羟基肉桂酸	C ₉ H ₈ O ₃	[M+H] ⁺	165.054 4	-1.6
2	1.18	对香豆酸	C ₉ H ₈ O ₃	[M+H] ⁺	165.054 4	-1.6
3	1.18	3-羟基肉桂酸	C ₉ H ₈ O ₃	[M+H] ⁺	165.054 4	-1.6
4	1.18	2-羟基肉桂酸	C ₉ H ₈ O ₃	[M+H] ⁺	165.054 4	-1.6
5	1.31	鸟嘌呤	C ₅ H ₅ N ₅ O	[M+H] ⁺	152.056 5	-0.9
6	10.87	芦丁	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	[M+H] ⁺	611.161 7	1.7
7	10.88	槲皮素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M+H] ⁺	303.049 9	0
8	10.97	芹苷元-7-葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M+H] ⁺	433.113 3	0.8
9	10.97	异牡荆素	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M+H] ⁺	433.113 3	0.8
10	10.97	牡荆素	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M+H] ⁺	433.113 3	0.8
11	11.67	对羟基苯甲酸	C ₉ H ₁₀ O ₃	[M+H] ⁺	167.069 5	-4.5
12	11.67	4-羟基苯丙酸	C ₉ H ₁₀ O ₃	[M+H] ⁺	167.069 5	-4.5
13	12.93	ephemeranthol A	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	[M+H] ⁺	273.112 0	-0.4
14	12.93	erianthridin	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	[M+H] ⁺	273.112 0	-0.4
15	12.93	densiflorol A	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	[M+H] ⁺	273.112 4	-0.4
16	15.55	尿苷	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆	[M+H] ⁺	245.078 3	4.8
17	16.67	amoenylin	C ₁₇ H ₂₀ O ₄	[M+H] ⁺	289.143 7	-1.4

表2 铁皮石斛新鲜榨汁高压灭菌后成分分析

Table 2 Component analysis of fresh juice of *D. officinale* after autoclaving sterilizers

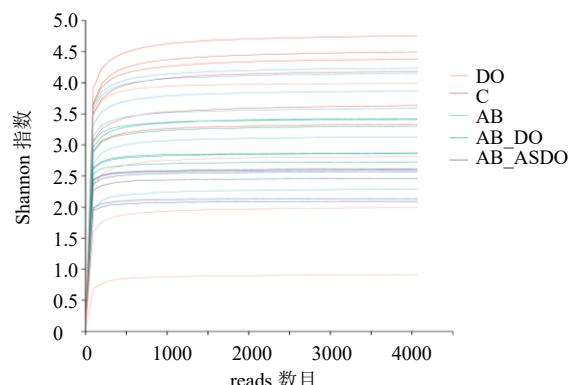
编号	<i>t_R/min</i>	化合物	分子式	离子模式	相对分子质量	误差($\times 10^{-6}$)
1	1.19	对羟基肉桂酸	C ₉ H ₈ O ₃	[M+H] ⁺	165.055 6	-1.5
2	1.19	对香豆酸	C ₉ H ₈ O ₃	[M+H] ⁺	165.055 2	-1.5
3	1.19	3-羟基肉桂酸	C ₉ H ₈ O ₃	[M+H] ⁺	165.055 0	-1.5
4	1.19	2-羟基肉桂酸	C ₉ H ₈ O ₃	[M+H] ⁺	165.055 1	-1.5
5	1.32	鸟嘌呤	C ₅ H ₅ N ₅ O	[M+H] ⁺	152.057 0	-0.9
6	10.87	芦丁	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M+H] ⁺	303.050 0	0.1
7	10.87	槲皮素	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	[M+H] ⁺	611.161 2	0.8
8	10.96	芹苷元-7-葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M+H] ⁺	433.113 2	0.8
9	10.96	异牡荆素	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M+H] ⁺	433.113 6	0.8
10	10.96	牡荆素	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M+H] ⁺	433.113 9	0.8
11	11.68	对羟基苯甲酸	C ₉ H ₁₀ O ₃	[M+H] ⁺	167.070 0	-2.4
12	11.68	4-羟基苯丙酸	C ₉ H ₁₀ O ₃	[M+H] ⁺	167.070 0	-2.4
13	15.54	尿苷	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆	[M+H] ⁺	245.077 8	4.9
14	16.68	amoenylin	C ₁₇ H ₂₀ O ₄	[M+H] ⁺	289.143 9	-1.9

3.2 测序结果

铁皮石斛鲜品、对照组、模型组、铁皮石斛新鲜榨汁组和铁皮石斛高压灭菌榨汁组检测到的平均有效片段分别为 16 025、17 561、25 284、20 595 和 20 620 个。从稀释曲线(图 1)分析,随着测序 reads 数目的增加,铁皮石斛鲜品和小鼠肠粪便样品 Shannon 多样性指数的稀释曲线均基本趋于平缓,表明测序的深度能够基本覆盖到样品中所有的细菌物种,测序数据合理。

3.3 铁皮石斛对抗生素诱导小鼠肠道菌群多样性的影响

采用 NMDS 分析考察铁皮石斛对抗生素诱导小鼠肠道菌群的 β 多样性,结果见图 2。样本坐标轴距离越接近,表明肠道菌群组成结构越相似。对



DO-铁皮石斛鲜品 C-对照组 AB-模型组 AB_DO-铁皮石斛新鲜榨汁组 AB_ASDO-铁皮石斛高压灭菌榨汁组,下图同
DO-D. officinale fresh product C-control group AB-model group AB_DO-D. officinale fresh juice group AB_ASDO-D. officinale fresh juice after autoclaving sterilizers group, same as below figures

图 1 稀释曲线

Fig. 1 Dilution curve

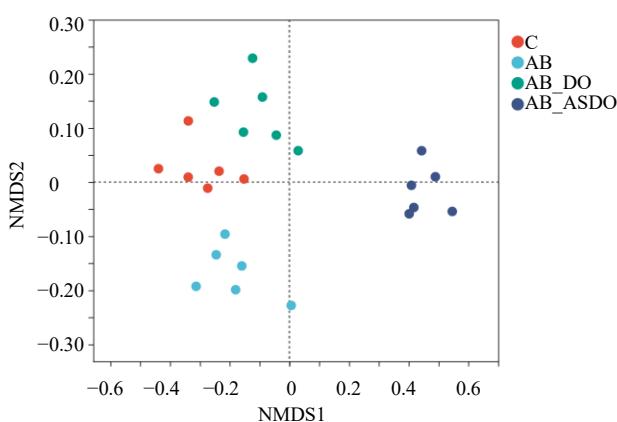


图 2 铁皮石斛对抗生素诱导小鼠肠道菌群属水平上的 NMDS 分析

Fig. 2 NMDS analysis of *D. officinale* on antibiotic-induced gut microbiota at genus level in mice

照组和铁皮石斛新鲜榨汁组的样品距离较近,但与模型组和铁皮石斛高压灭菌榨汁组样品距离相对较远,表明铁皮石斛新鲜榨汁对抗生素诱导小鼠肠道菌群紊乱有改善作用,但铁皮石斛高压灭菌榨汁对抗生素诱导小鼠肠道菌群紊乱无明显作用。

3.4 铁皮石斛对抗生素诱导小鼠肠道菌群群落组成的影响

如图 3-A 所示,在门水平上,小鼠肠道菌群组成为拟杆菌门 (Bacteroidota)、厚壁菌门 (Firmicutes)、变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteriota)、脱硫菌门 (Desulfobacterota)、Deferribacterota 和弯曲杆菌门 (Campylobacterota)。对照组和模型组主要以拟杆菌门和厚壁菌门为优势菌门,铁皮石斛新鲜榨汁组和铁皮石斛高压灭菌榨汁组主要以拟杆菌门、厚壁菌门和变形菌门为优势菌门。

如图 3-B 所示,在属水平上,对照组前 3 位的优势菌属分别为拟杆菌属 *Bacteroides* (4.79%)、瘤胃球菌属 *Ruminococcus* (7.39%) 和 *Eubacterium_xylanophilum_group* (4.70%); 模型组前 3 位的优势菌属分别为蓝绿藻菌属 *Lachnoclostridium* (12.60%)、脱硫弧菌属 *Desulfovibrio* (4.41%) 和拟杆菌属 (9.44%); 铁皮石斛新鲜榨汁组前 3 位的优势菌属分别为乳酸杆菌属 *Lactobacillus* (14.23%)、双歧杆菌属 *Bifidobacterium* (7.50%) 和蓝绿藻菌属 (6.34%); 铁皮石斛高压灭菌榨汁组前 3 位的优势菌属分别为蓝绿藻菌属 (10.84%)、副萨特氏菌属 *Parasutterella* (12.77%) 和 *Eubacterium_xylanophilum_group* (11.62%)。

3.5 铁皮石斛对抗生素诱导小鼠肠道优势菌群的差异性分析

铁皮石斛榨汁对抗生素诱导小鼠肠道优势菌群的 LEfSe 分析见图 4,4 个组别共有 20 个具有显著差异的细菌分类群,其中对照组 14 个、模型组 11 个、铁皮石斛新鲜榨汁组 12 个、铁皮石斛高压灭菌榨汁组 11 个。在属水平上,对照组的差异性优势菌属是瘤胃球菌属和 *Eubacterium_xylanophilum_group*; 模型组的差异性优势菌属是脱硫弧菌属、拟杆菌属和另枝菌属; 铁皮石斛新鲜榨汁组的差异性优势菌属是乳杆菌属、双歧杆菌属、肠球菌属 *Enterococcus* 和 *Clostridium_innocuum_group*; 铁皮石斛高压灭菌榨汁组的差异性优势菌属是副萨特氏菌属、*Escherichia-Shigella*、*Robinsoniella* 和摩根菌属 *Morganella*。

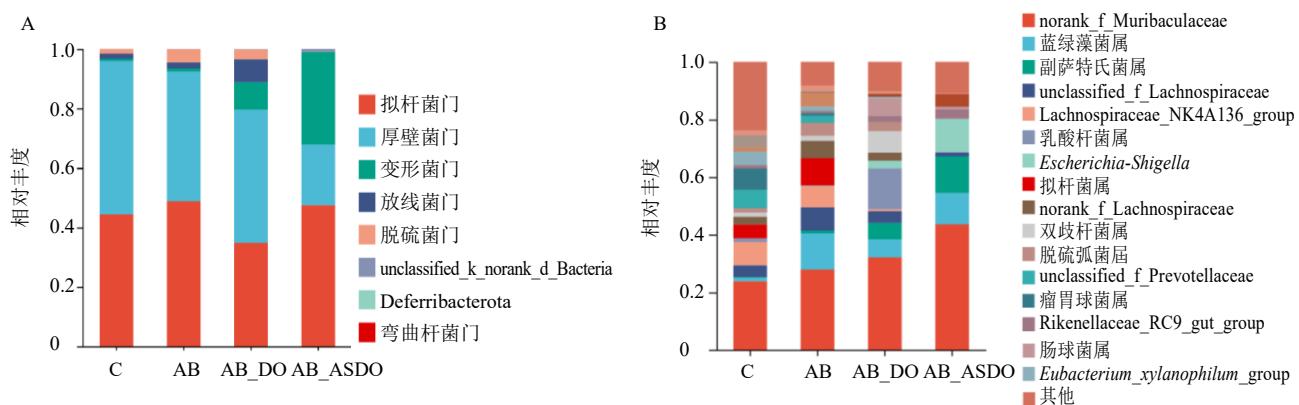


图 3 铁皮石斛对抗生素诱导小鼠肠道菌群在门 (A) 和属 (B) 水平上的相对丰度分析

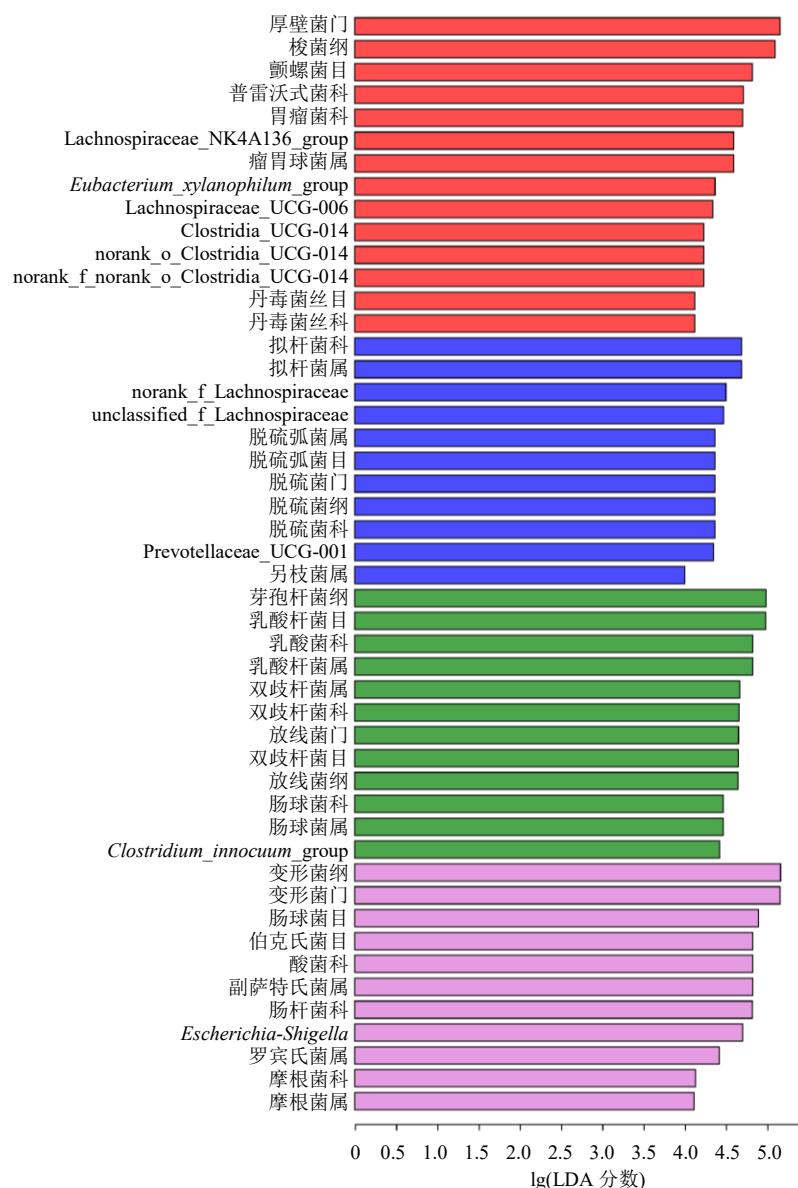
Fig. 3 Relative abundance of *D. officinale* on antibiotic-induced gut microbiota in mice at phylum (A) and genus (B) levels

图 4 铁皮石斛对抗生素诱导小鼠肠道菌群的 LEfSe 差异性分析

Fig. 4 LEfSe differential analysis of *D. officinale* on antibiotic-induced gut microbiota in mice

3.6 铁皮石斛对抗生素诱导小鼠肠道菌群的 PICRUSt1 功能预测分析

通过 GreenGene 数据库注释的 16S 测序对小鼠粪便样品进行 PICRUSt1 功能预测分析, 如图 5 所示, 与对照组比较, 模型组细胞周期控制、细胞分裂、染色体分裂, 核苷酸转运和代谢, 翻译、核糖体结构和生物发生, 复制、重组和修复, 细胞壁/膜/胞膜生物发生, 翻译后修饰、蛋白质转换、伴侣,

仅一般功能预测和细胞内运输、分泌和膀胱运输的相对丰度显著降低。与模型组比较, 仅铁皮石斛新鲜榨汁组相对丰度显著升高的是核苷酸转运和代谢, 翻译、核糖体结构和生物发生, 复制、重组和修复, 翻译后修饰、蛋白质转换、伴侣, 仅一般功能预测和细胞内运输、分泌和膀胱运输。表明铁皮石斛新鲜榨汁可能通过提高这些功能活性来改善抗生素诱导的小鼠肠道菌群紊乱。

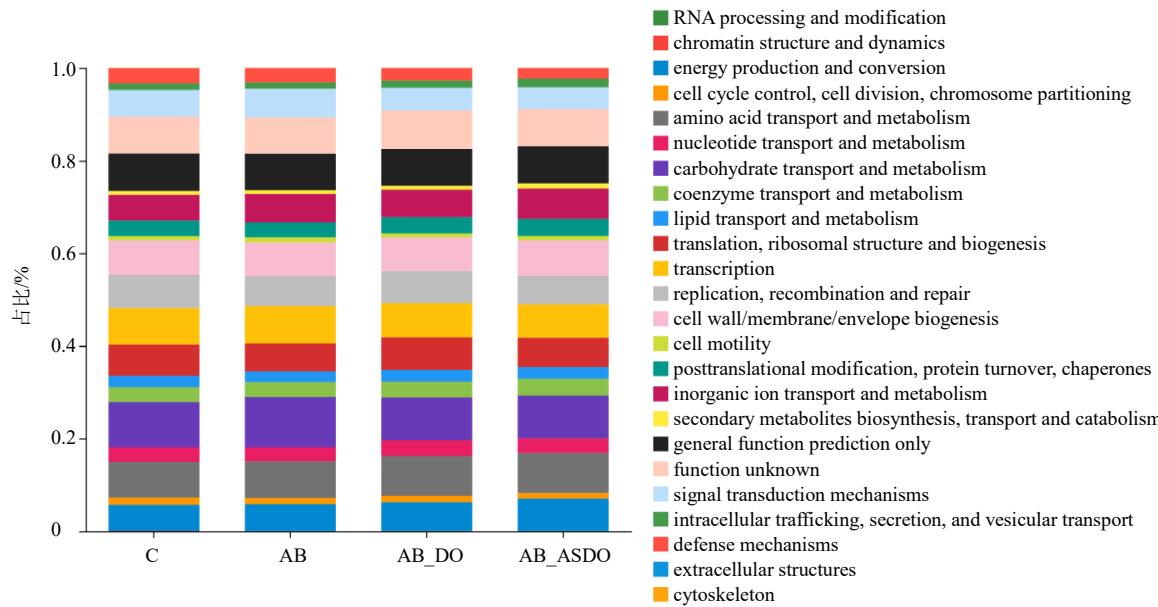


图 5 铁皮石斛对抗生素诱导小鼠肠道菌群的 PICRUSt1 功能预测分析

Fig. 5 PICRUSt1 function prediction analysis of *D. officinale* on antibiotic-induced gut microbiota in mice

4 讨论

本研究采用 UPLC-QTOF-MS/MS 技术对铁皮石斛新鲜榨汁灭菌前后化学成分进行分析, 发现灭菌后 ephemeronthol A、erianthridin 和 densiflorol A 缺失。ephemeronthol A、erianthridin 和 densiflorol A 的峰面积占铁皮石斛榨汁成分的 4.16%, 其余 14 个共有成分占到 95%以上。但是 ephemeronthol A、erianthridin 和 densiflorol A 目前没有调节肠道菌群的报道, 查阅文献发现 ephemeronthol A 具有抗癌和抗炎的活性^[21-22], erianthridin 具有抗癌作用^[23], 后续将进行验证 ephemeronthol A、erianthridin 和 densiflorol A 是否具有调节肠道菌群作用。

稳定而有益的肠道菌群环境, 有助于调节人体微环境平衡和相关免疫功能。肠道菌群失调会导致人体功能失调并伴发疾病, 如心血管疾病、癌症、呼吸道、胃肠道疾病等^[24]。本研究 PCoA 分析发现抗生素诱导小鼠肠道菌群与正常小鼠肠道菌群的群落组成差异明显, 说明成功建立了抗生素诱导肠道

菌群紊乱模型, 这与之前的研究一致^[15-18]。

近年来研究发现中药或益生菌可以通过增加有益菌群丰度和降低有害菌群丰度来调节肠道菌群, 进而治疗疾病。铁皮石斛可以通过增加阿克曼菌属和副拟杆菌属的相对丰度调节肠道菌群来缓解 II 型糖尿病^[25]。乳酸杆菌属 *Lactobacillus fermentum*_CQPC04 通过增加乳酸杆菌属和拟杆菌属等有益菌属的相对丰度来降低血栓性小鼠的氧化应激并缓解肠道炎症^[26]。

与模型组比较, 铁皮石斛新鲜榨汁组有益菌属乳酸杆菌属和双歧杆菌属的丰度显著升高, 有害菌属脱硫弧菌属的丰度显著降低。研究发现, 脱硫弧菌属是肠道中一种有害的致病菌, 可以诱发结肠炎和高脂血症等疾病^[27-28]; 乳酸杆菌属 *Lactobacillus rhamnosus*_GG 可以通过调节肠道屏障和 Treg/Th1 缓解酒精性脂肪肝^[29]; 乳酸杆菌属可以提高小鼠的免疫力^[30]; 乳酸杆菌属 *Lactobacillus salivarius*_CPU-01 可以通过调节肠道菌群、改善肠道屏障和

阻断促炎细胞因子来缓解替莫唑胺诱导的肠黏膜炎^[31]; 双歧杆菌属 *Bifidobacterium bifidum*-TMC3115 可以改善抗生素诱导小鼠肠道菌群紊乱引发的结肠炎^[27]; 双歧杆菌属作为肠道中有益菌群, 其丰度降低会造成肥胖和衰老性疾病^[32-33]。表明铁皮石斛新鲜榨汁可以通过提高有益菌属乳酸杆菌属、双歧杆菌属的丰度和降低有害菌属脱硫弧菌属的丰度改善抗生素诱导小鼠肠道菌群紊乱。

PICRUSt1 功能预测表明铁皮石斛改善抗生素诱导小鼠肠道菌群紊乱, 可能与核苷酸转运和代谢, 翻译、核糖体结构和生物发生, 复制、重组和修复, 翻译后修饰、蛋白质转换、伴侣, 仅一般功能预测和细胞内运输、分泌和膀胱运输等作用相关, 后续将进行相关分子验证。综上, 新鲜铁皮石斛可以通过上调有益菌群和下调有害菌群来改善抗生素诱导小鼠肠道菌群紊乱, 为铁皮石斛用于改善胃肠道菌群的临床应用提供了参考依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 195-196.
- [2] Chen W H, Lu J M, Zhang J H, et al. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and quality control of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 726528.
- [3] 奚航献, 刘晨, 刘京晶, 等. 铁皮石斛化学成分、药理作用及其质量标志物 (Q-Marker) 的预测分析 [J]. 中草药, 2020, 51(11): 3097-3109.
- [4] Huang Y P, He T B, Cuan X D, et al. 1,4- β -D-glucomannan from *Dendrobium officinale* activates NF- κ B via TLR4 to regulate the immune response [J]. *Molecules*, 2018, 23(10): 2658.
- [5] 牛壮伟, 颜美秋, 苏洁, 等. 铁皮石斛水提物对 4T1 乳腺癌荷瘤小鼠的抑瘤及免疫调节作用研究 [J]. 中草药, 2023, 54(1): 131-141.
- [6] Liu C Z, Chen W, Wang M X, et al. *Dendrobium officinale* Kimura et Migo and American ginseng mixture: A Chinese herbal formulation for gut microbiota modulation [J]. *Chin J Nat Med*, 2020, 18(6): 446-459.
- [7] 赵琦, 张飞, 刘杰民, 等. 基于网络药理学和分子对接方法探究铁皮石斛治疗慢性萎缩性胃炎的作用机制 [J]. 现代药物与临床, 2022, 37(4): 692-699.
- [8] Zeng J, Li D N, Li Z B, et al. *Dendrobium officinale* attenuates myocardial fibrosis via inhibiting EMT signaling pathway in HFD/STZ-induced diabetic mice [J]. *Biol Pharm Bull*, 2020, 43(5): 864-872.
- [9] Wang Q, Zi C T, Wang J, et al. *Dendrobium officinale* orchid extract prevents ovariectomy-induced osteoporosis *in vivo* and inhibits RANKL-induced osteoclast differentiation *in vitro* [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 966.
- [10] Liang C Y, Liang Y M, Liu H Z, et al. Effect of *Dendrobium officinale* on D-galactose-induced aging mice [J]. *Chin J Integr Med*, 2017, doi: 10.1007/s11655-016-2631-x.
- [11] Lai Y J, Dhingra R, Zhang Z F, et al. Toward elucidating the human gut microbiota-brain axis: Molecules, biochemistry, and implications for health and diseases [J]. *Biochemistry*, 2022, 61(24): 2806-2821.
- [12] 谢果珍, 唐圆, 宁晓妹, 等. 铁皮石斛多糖对正常小鼠肠道菌群的影响 [J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2021, 47(4): 449-454.
- [13] 周琪. 铁皮石斛水提物对糖尿病小鼠血糖和肠道菌群的影响 [D]. 大连: 大连医科大学, 2017.
- [14] 秦松康. 马源植物乳杆菌 A3 对肠道菌群紊乱小鼠结肠炎调节作用的研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2022.
- [15] 杨夏, 吕自力, 肖娟, 等. 抗生素暴露对小鼠肠道菌群的改变及结肠黏膜屏障功能的影响 [J]. 广西医科大学学报, 2022, 39(6): 866-873.
- [16] 郭航. 拟杆菌和双歧杆菌对抗生素破坏后肠道菌群重建的影响 [D]. 无锡: 江南大学, 2022.
- [17] 张映红, 戴丽蓉, 陈启明, 等. 半夏泻心汤及其不同拆方对抗生素诱导的菌群紊乱幼鼠结肠黏膜屏障的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2022, 29(5): 56-62.
- [18] Liu J, Wu M J, He J X, et al. Antibiotic-induced dysbiosis of gut microbiota impairs corneal nerve regeneration by affecting CCR2-negative macrophage distribution [J]. *Am J Pathol*, 2018, 188(12): 2786-2799.
- [19] 陈文华, 吴威, 於李龙, 等. ^{60}Co - γ 辐照对铁皮石斛内生菌种群结构的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(7): 3972-3976.
- [20] Edgar R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST [J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(19): 2460-2461.
- [21] Nonpanya N, Prakhongcheep O, Petsri K, et al. Ephemeranthol A suppresses epithelial to mesenchymal transition and FAK-Akt signaling in lung cancer cells [J]. *Anticancer Res*, 2020, 40(9): 4989-4999.
- [22] Kim J H, Oh S Y, Han S B, et al. Anti-inflammatory effects of *Dendrobium nobile* derived phenanthrenes in LPS-stimulated murine macrophages [J]. *Arch Pharm Res*, 2015, 38(6): 1117-1126.
- [23] Boonjing S, Pothongsrisit S, Wattanathamsan O, et al. Correction: Erianthrinidin induces non-small cell lung cancer cell apoptosis through the suppression of

- extracellular signal-regulated kinase activity [J]. *Planta Med*, 2021, 87(4): 283-293.
- [24] Hou K J, Wu Z X, Chen X Y, et al. Microbiota in health and diseases [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 135.
- [25] Wang S, Li X Y, Shen L. Modulation effects of *Dendrobium officinale* on gut microbiota of type 2 diabetes model mice [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2021, 368(5): fnab020.
- [26] 易若琨, 刘佳, 冯霞, 等. 发酵乳杆菌 CQPC04 减轻小鼠血栓形成和调节肠道菌群的效果 [J]. 食品科学, 2023, 44(1): 149-159.
- [27] 王斯杠, 彭晨芮, 李金星, 等. 两歧双歧杆菌 TMC3115 对生命早期抗生素暴露小鼠远期结肠炎的保护作用及机制 [J]. 卫生研究, 2022, 51(4): 624-631.
- [28] Guo C X, Han L, Li M P, et al. Seabuckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) freeze-dried powder protects against high-fat diet-induced obesity, lipid metabolism disorders by modulating the gut microbiota of mice [J]. *Nutrients*, 2020, 12(1): 265.
- [29] Zhu Y, Wang X Z, Zhu L J, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG combined with inosine ameliorates alcohol-induced liver injury through regulation of intestinal barrier and Treg/Th1 cells [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2022, 439: 115923.
- [30] Huang Q T, Niu T M, Zou B S, et al. *Lactobacillus plantarum* surface-displayed ASFV (p14.5) can stimulate immune responses in mice [J]. *Vaccines*, 2022, 10(3): 355.
- [31] Wang Z, Zhou Y H, Luo A X, et al. *Lactobacillus salivarius* CPU-01 ameliorates temozolamide-induced intestinal mucositis by modulating gut microbiota, maintaining intestinal barrier, and blocking pro-inflammatory cytokines [J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2022, doi: 10.1007/s12602-022-09955-z.
- [32] Gong H L, Gao H N, Ren Q Y, et al. The abundance of *Bifidobacterium* in relation to visceral obesity and serum uric acid [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 13073.
- [33] Derrien M, Turroni F, Ventura M, et al. Insights into endogenous *Bifidobacterium* species in the human gut microbiota during adulthood [J]. *Trends Microbiol*, 2022, 30(10): 940-947.

[责任编辑 李亚楠]