

基于“碳源”研究参苓白术散中药多糖对二株肠道拟杆菌体外生长的影响

张丽萍[#], 伍荷洁[#], 舒青龙^{*}

江西中医药大学基础医学院, 南昌 330004

摘要:为研究参苓白术散多糖成份基于碳源调节拟杆菌的体外机制,以不同碳源(1-40% 中药多糖、葡萄糖、BHI)对二株拟杆菌进行体外培养(以厚壁菌为对照),通过连续取样法测定不同碳源对其体外生长的影响。结果表明,不同浓度中药多糖均可影响拟杆菌的体外生长,以20%为最佳浓度;不同碳源,对 *Bacteroides thetaiotaomicron* 的生长影响:BHI组 > 最佳中药多糖组 > 葡萄糖组;对于 *Bacteroides fragilis* 的生长影响:最佳中药多糖组 > BHI组 > 葡萄糖;中药多糖对不同菌的影响:拟杆菌 > 厚壁菌。综上,中药多糖可作为拟杆菌的优势碳源调节肠道菌群平衡,这很可能是参苓白术散临床取效的微生态机制之一。

关键词:参苓白术散;多糖;拟杆菌;厚壁菌;碳源

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.1.013

Study on the *in vitro* Growths of Two Typical Intestinal Bacteroides under Influence of Shenlingbaizhu Powder Polysaccharide as “Carbon Source”

ZHANG Li-Ping[#], WU He-Jie[#], SHU Qing-Long^{*}

School of Basic Medicine Sciences, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: Shenlingbaizhu powder is a classical prescription with the function of tonifying spleen. Modern researches have found that its clinical efficacy is closely related to the regulation of intestinal flora; however, it is not clear which ingredient works and which bacteria are regulated. Since polysaccharide is a main ingredient of traditional Chinese medicine, and Bacteroides is the most abundant bacterial group which occupied the advantages in the utilization of polysaccharides, we proposed that Shenlingbaizhu powder polysaccharide may play roles in regulating the intestinal flora (Bacteroides as the most significant target) as bacterial competitive carbon source. In this study, we explored the *in vitro* growth of two typical Bacteroides under the influence of Shenlingbaizhu powder polysaccharide as “carbon source”. Two typical Bacteroides strains were cultured under different carbon sources (1-40% concentration of traditional Chinese medicine polysaccharides, glucose, BHI), with two Firmicutes as control. The *in vitro* growth rates on different carbon sources were determined by continuous samplings. The results showed that the *in vitro* growths of Bacteroides were influenced by Shenlingbaizhu powder polysaccharide under different concentrations (the optimal concentration of polysaccharide is 20%). As for the *in vitro* growth of *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 under different carbon sources on, the result as below: BHI group > the optimal concentration of polysaccharide group > Glucose group, while that of *Bacteroides fragilis* ATCC25285 is: the optimal concentration of polysaccharide > BHI group > Glucose group. As for the *in vitro* growth of different bacteria under influences of Shenlingbaizhu powder polysaccharide, the result is: Bacteroides > Firmicutes. In conclusion, the traditional Chinese medicine polysaccharide can be used regulate the balance of intestinal flora as carbon prebiotics for Bacteroidetes, which may be one of the micro ecological mechanisms related to the clinical effect of Shenlingbaizhu powder.

Key words: Shenlingbaizhu powder; polysaccharide; Bacteroides; Firmicutes; carbon source

收稿日期:2017-08-28

接受日期:2017-11-02

基金项目:国家自然科学基金(81473455, 31560038);江西省自然科学基金(20171BAB205087)

* 通信作者 Tel:86-791-87118921; E-mail:shuqinglong@126.com

共同第一作者

肠道菌群与人体健康关系密切且菌群结构复杂,其种类可达1000多种,优势菌种达上百种,丰度最高的二类细菌为拟杆菌和厚壁菌,超过含量的90%^[1],这二类细菌在维持正常生理机能方面发挥

了重要作用,如调节免疫机能^[2],促进难分解膳食的消化吸收,抑制病原菌定植^[3]等。

现代医学认为肠道正常菌群具有促进消化吸收、刺激免疫和防御疾病的功能,与中医脾的后天之本,气血生化之源的地位极为吻合^[4]。许多微生态实验论证了中医药取效与调整菌群健脾的密切联系,如小鼠脾虚模型的肠道菌群失调^[5],健脾复方四君子汤和参苓白术散对益生菌明显的增菌作用等^[6],因此,人体肠道菌群平衡对应于中医的脾胃健运^[7],维持肠道菌群平衡是中药“调理脾胃”的重要内容。

但中药成分复杂,在调节肠道菌群的过程中,中药究竟是通过哪种成分、调节哪种主要菌群的呢?这是中药微生态药理机制亟待阐明的科学问题。中药成分中,多糖含量最为丰富,而肠道菌群在利用中药多糖上有明显的差异,即中药多糖很可能通过作为碳源因素影响肠道菌群的结构。肠道细菌基因组数据表明拟杆菌在多糖分解具有优势,如多形拟杆菌拥有 88 种多糖利用的相关基因簇,其多糖利用位点(Polysaccharides Utilization Locus, PULs) 约由 866 个基因组成,占其基因组的 18%^[8]。这些特点决定了拟杆菌可能在中药多糖利用上具有竞争优势,从而达到基于中药多糖碳源获得竞争优势,从而达到调节肠道菌群的作用。另一方面,除了拟杆菌突出利用多糖的能力外,拟杆菌是人体内大量存在的正常优势菌群之一,约占成年个体肠道菌群的 1/4 以上。拟杆菌作为中药复方最主要的菌群靶点,丰度最大且变化最为明显,故选择拟杆菌作为复方取效的研究对象,即抓住菌群调节的主要变量。

本研究拟选用的健脾中药复方为参苓白术散,其出自宋代的《太平惠民合剂局方》,为治疗脾虚泄泻的常用方剂,具有益气健脾、渗湿止泻之功效,临床上已应用于多科疾病的治疗,如内科疾病,儿科疾病,五官科疾病等^[9],尤其在肠道疾病的治疗上,疗效显著。

参苓白术散对于肠道疾病的治疗与调节肠道菌群平衡密切相关。已有报道参苓白术散能调节动物模型及临床病例中的肠道菌群失调,而其调节菌群平衡的主要方式包括:扶植益生菌、抑制需氧菌、致病菌以及调节肠上皮细胞间的紧密连接^[10,11]等,但参苓白术散基于中药复方多糖调节肠道菌群的机制研究尚属空白。

基于以上,本研究旨在从体外实验考察参苓白

术散是否能基于中药复方的多糖成份调节典型拟杆菌(多形拟杆菌 *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148、脆弱拟杆菌 *Bacteroides fragile* ATCC25285)的生长,以期获得参苓白术散基于碳源调节肠道拟杆菌的体外机制。

1 材料与仪器

1.1 药材

参苓白术散(莲子、薏苡仁、砂仁、桔梗、白扁豆、茯苓、党参、炙甘草、白术、山药,质量比为:50:50:50:50:75:100:100:100:100:100),购于江西中医药大学附属医院。

1.2 菌株

多形拟杆菌(*Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148),脆弱拟杆菌(*Bacteroides fragile* ATCC25285),梭菌 *Clostridium* sp. C6(分离于淡豆豉),艰难梭菌 *Clostridium difficile* SH186。

1.3 主要试剂与仪器

BHI 固体培养基(Oxoid 公司),BHI 液体培养基(Oxoid 公司),MM 液体培养基[KH_2PO_4 , NaCl, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, L-半胱氨酸, L-组氨酸, MgCl_2 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 血红素, CaCl_2 , 维生素 K3, 维生素 B12], 葡萄糖(西陇化工股份有限公司),95% 乙醇(天津大茂化学试剂厂),正丁醇(天津大茂化学试剂厂),三氯甲烷(南昌鑫光精细化工厂),D101 大孔弱碱性阴离子交换树脂(天津波鸿树脂有限公司);厌氧工作站(Mark II, 荷兰 Mark 公司),超净工作台(SW-CJ-2D, 苏州净化设备有限公司),紫外可见分光光度计(WFJ 7200 型,尤尼柯(上海)仪器有限公司),生化培养箱(SPX-150B-Z, 上海光都仪器设备有限公司),高速离心机(H1650 型,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司),旋转蒸发器(EV311, 北京莱伯泰科仪器有限公司)等。

2 实验方法

2.1 参苓白术散多糖的提取及含量测定

采用水提醇沉法提取参苓白术散药材中的多糖,通过 Sevage 试剂去除蛋白,再通过大孔弱碱性阴离子交换树脂去除色素,最后通过透析膜透析去除小分子以纯化参苓白术散多糖,得到的多糖通过苯酚硫酸比色法测定其多糖含量^[8,12]。

2.2 菌株鉴定

对多形拟杆菌(*Bacteroides thetaiotaomicron*

ATCC29148) 和脆弱拟杆菌 (*Bacteroides fragile* ATCC25285) 培养并提取其 DNA, 通过 16S rRNA 通用引物 27f (5'-GAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492r (5'-GGTTACCTGTTACGACTT-3') 分别对多形拟杆菌和脆弱拟杆菌的 16S rRNA 基因进行 PCR 扩增并测序, 将所得序列与 NCBI 数据库比对^[13,14]。

2.3 细菌厌氧培养

2.3.1 培养基配制

配制 BHI 液体培养基, MM (Minimal Medium) 培养基, 质量比为 10% 的葡萄糖溶液, 质量比为 10% 的参苓白术散多糖溶液, 对 BHI 培养基和 MM 培养基进行分装, 按比例分别向分装后的 MM 培养基中加入不同体积的葡萄糖溶液和参苓白术散多糖溶液, 使每组培养基最终体积为 10 mL。最终配制成为 BHI 液体培养基, 葡萄糖培养基 (10% 浓度), 参苓白术散多糖培养基 (1%、5%、10%、20%、30%、40% 浓度), 调节各培养基 pH 值至 7.4 ± 0.2 。最终分组结果: BHI 组, 10% 葡萄糖组, 1%、5%、10%、20%、30%、40% 的中药多糖组, 每组留取相应空白组以作对照 (不接种)。每组做 3 个生物学重复。

2.3.2 细菌厌氧培养

向以上培养基中接入相同比例的菌悬液并摇匀, 空白组不接种, 将接种后的培养基移入厌氧罐并充入无氧混合气 (N_2 80%, CO_2 10%, H_2 10%), 37 °C 培养。

2.3.3 体外生长曲线测定

在厌氧培养的第 8 h 完成第一次取样, 之后每隔 6 h 取样一次, 600 nm 波长处测定吸光度。

2.3.4 细菌含量测定

取 BHI 液体培养基中细菌生长至稳定期的菌悬液 1 mL 并测定其 OD 值, 将其等梯度稀释至 10^{-7} ~ 10^{-9} 后, 取稀释后的菌悬液 0.1 mL 涂布至 BHI 固体培养 (3 组生物学重复), 厌氧处理后进行 37 °C 恒温培养, 对生成的菌落进行计数并换算 1 OD 值所对应的细菌数。

3 实验结果

3.1 多糖含量测定结果

经测定, 提取的参苓白术散多糖含量测定为 83.1%。

3.2 菌株鉴定结果

多形拟杆菌 (*Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148) 和脆弱拟杆菌 (*Bacteroides fragile*

ATCC25285) 的 16S rRNA 基因扩增序列与 NCBI 数据库序列比对结果: 多形拟杆菌与模式菌株 VPI-5482 相似度为 100%, 脆弱拟杆菌与模式菌株 NCTC 9343 相似度为 100%, 确定为用于实验的目的菌株。

3.3 基于不同碳源对不同菌株体外生长的影响结果

3.3.1 不同碳源对 *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 体外生长的影响

Bacteroides thetaiotaomicron ATCC29148 在不同碳源作为培养基的条件下体外生长情况为 (如图 1): 第 8 ~ 14 h 检测到细菌生长。BHI 组中, 20 h 达到生长的最大值, 细菌浓度为 $(2.789 \pm 0.095) \times 10^9$ CFU/mL; 葡萄糖组中, 50 h 细菌生长达到的最大值, 细菌浓度为 $(1.883 \pm 0.030) \times 10^9$ CFU/mL; 40% 中药多糖组中, 44 h 细菌生长达到最大值, 细菌浓度为 $(1.875 \pm 0.144) \times 10^9$ CFU/mL; 30% 中药多糖组中, 44 h 细菌生长达到最大值, 细菌浓度为 $(2.060 \pm 0.072) \times 10^9$ CFU/mL; 20% 中药多糖组中, 44 h 细菌生长达到最大值, 细菌浓度为 $(2.192 \pm 0.020) \times 10^9$ CFU/mL; 10% 中药多糖组中, 44 h 细菌生长达到最大值, 细菌浓度为 $(1.616 \pm 0.051) \times 10^9$ CFU/mL; 5% 中药多糖组中, 44 h 细菌生长达到最大值, 细菌浓度为 $(0.777 \pm 0.014) \times 10^9$ CFU/mL; 1% 中药多糖组中, 50 h 细菌生长达到最大值, 其细菌浓度为 $(0.099 \pm 0.008) \times 10^9$ CFU/mL。BHI 组, *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 的迟缓期为 8 h, 对数生长期为 12 h, 稳定期 6 h, 后进入衰亡期; 中药多糖组 (5% ~ 40%), *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 的迟缓期为 20 h, 对数生长期为 24 h, 稳定期 ≤ 6 h, 后进入衰亡期; 葡萄糖组, *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 的迟缓期为

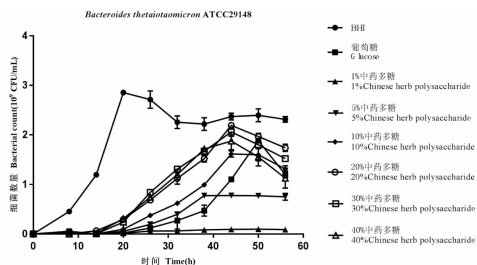


图 1 基于不同碳源 *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 体外生长曲线

Fig. 1 The *in vitro* growth curves of *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 based on different carbon sources

20 h,对数生长期为 30 h,稳定期 <6 h,后进入衰亡期。

3.3.2 不同碳源对 *Bacteroides fragile* ATCC25285 体外生长的影响

Bacteroides fragile ATCC25285 在不同碳源作为培养基的条件下体外生长情况为(如图 2):第 8~14 h 检测到细菌生长。BHI 组中,26 h 细菌生长达到最大值,细菌浓度为 $(7.090 \pm 0.054) \times 10^{10}$ CFU/mL;葡萄糖组中,38 h 细菌生长达到最大值,细菌浓度为 $(6.497 \pm 0.174) \times 10^{10}$ CFU/mL;40% 中药多糖组中,26 h 细菌生长达到最大值,细菌浓度为 $(4.899 \pm 0.345) \times 10^{10}$ CFU/mL;30% 中药多糖组中,32 h 细菌生长达到最大值,细菌浓度为 $(6.784 \pm 0.398) \times 10^{10}$ CFU/mL;20% 中药多糖组中,32 h 细菌生长达到最大值,细菌浓度为 $(8.096 \pm 0.264) \times 10^{10}$ CFU/mL;10% 中药多糖组中,44 h 细菌生长达到最大值,细菌浓度为 $(6.262 \pm 0.164) \times 10^{10}$ CFU/mL;5% 中药多糖组中,44 h 细菌生长达到最大值,细菌浓度为 $(3.529 \pm 0.100) \times 10^{10}$ CFU/mL;1% 中药多糖组中,44 h 细菌生长达到最大值,细菌浓度为 $(0.994 \pm 0.068) \times 10^{10}$ CFU/mL。BHI 组中,*Bacteroides fragile* ATCC25285 的迟缓期为 8 h,对数生长期为 18 h,稳定期 6 h,后进入衰亡期;中药多糖组(1%~40%),*Bacteroides fragile* ATCC25285 的迟缓期为 8 h,对数生长期为 18-36 h,稳定期 ≤ 6 h,后进入衰亡期;葡萄糖组,*Bacteroides fragile* ATCC25285 的迟缓期为 8 h,对数生长期为 30 h,稳定期 <6 h,后进入衰亡期。

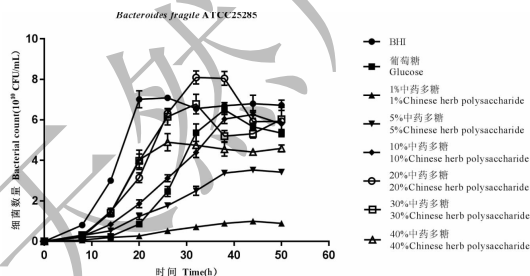


图 2 基于不同碳源 *Bacteroides fragile* ATCC25285 体外生长曲线

Fig.2 The *in vitro* growth curves of *Bacteroides fragile* ATCC25285 based on different carbon sources

3.3.3 不同碳源对 *Clostridium* sp. C6 和 *Clostridium difficile* SH186 体外生长的影响

Clostridium sp. C6 在不同碳源作为培养基的条

件下体外生长情况为(如图 3):除 1% 多糖浓度组未检测到细菌生长和葡萄糖组在第 14 h 检测到 *Clostridium* sp. C6 生长外,其余组第 8 h 检测到 *Clostridium* sp. C6 生长。BHI 组中,20 h 细菌生长达到最大值,细菌浓度为 $(23.005 \pm 1.016) \times 10^{10}$ CFU/mL;葡萄糖组中,38 h 细菌生长达到最大值,细菌浓度为 $(0.066 \pm 0.065) \times 10^{10}$ CFU/mL;40% 中药多糖组中,32 h 细菌生长达到最大值,细菌浓度为 $(0.479 \pm 0.14) \times 10^{10}$ CFU/mL;30% 中药多糖组中,32 h 细菌生长达到最大值,细菌浓度为 $(0.331 \pm 0.174) \times 10^{10}$ CFU/mL;20% 中药多糖组中,32 h 细菌生长达到最大值,细菌浓度为 $(0.633 \pm 0.126) \times 10^{10}$ CFU/mL;10% 中药多糖组中,32 h 细菌生长达到最大值,细菌浓度为 $(0.331 \pm 0.126) \times 10^{10}$ CFU/mL;5% 中药多糖组中,26 h 细菌生长达到最大值,细菌浓度为 $(0.059 \pm 0.028) \times 10^{10}$ CFU/mL;1% 中药多糖组中,*Clostridium* sp. C6 未增长。BHI 组,*Clostridium* sp. C6 的迟缓期为 8 h,对数生长期为 12 h,稳定期 6 h,后进入衰亡期;中药多糖组(5%~40%),*Clostridium* sp. C6 的迟缓期为 8 h,对数生长期为 18~24 h,稳定期 ≤ 6 h,后进入衰亡期;葡萄糖组,*Clostridium* sp. C6 的迟缓期为 14 h,对数生长期为 24 h,稳定期 <6 h,后进入衰亡期。

Clostridium difficile SH186 在 BHI 组中,第 8 h 检测到生长,20 h 细菌生长达到最大值,其细菌浓度为 $(20.010 \pm 0.992) \times 10^{10}$ CFU/mL,在葡萄糖组和中药多糖组中未见生长。

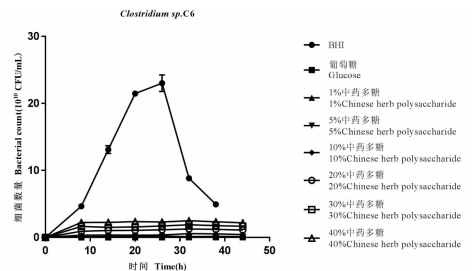


图 3 基于不同碳源 *Clostridium* sp. C6 体外生长曲线

Fig.3 The *in vitro* growth curves of *Clostridium* sp. C6 based on different carbon sources

4 讨论与结论

现代医学认为肠道正常菌群与中医脾为后天之本,气血生化之源的地位极为吻合^[4],是中医药微生态研究的重要靶点,微生态机制的研究也成为了中医健脾及中药复方药理机制研究的新领域。

参苓白术散为沿用数百年的经方,临床“健脾”治疗肠道菌群失调症疗效显著,现已发现其对许多疾病的治疗和调节肠道菌群有关,如参苓白术散可通过扶植厌氧菌同时抑制需氧菌来调节脾虚模型的肠道菌群失衡情况,通过促进有益菌的增长、抑制主要致病菌艰难梭菌生长以调节抗生素引起的肠道菌群失调等^[6,10,13];但遗憾的是,对于参苓白术散基于何种成分在调节肠道菌群却并不清楚。基于参苓白术散调节肠道菌群结构的特点、肠道典型拟杆菌基因组分析及中药复方多糖在不同细菌间的差异性竞争利用,我们提出“中药复方多糖在拟杆菌等肠道菌群中基于碳源的差异性利用”,这可能是中药复方参苓白术散调节肠道菌群的更深层次的机制,但需要进一步的验证。

由此,基于细菌“碳源”的营养素,在中药复方参苓白术散诸多的有效成份上,我们选择多糖为研究对象;在典型肠道菌的选择上,我们选择了具有超强多糖利用能力的二株典型的拟杆菌为主要研究对象(*Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 和 *Bacteroides fragilis* ATCC25285),同时以厚壁菌门中的 *Clostridium* sp. C6 和 *Clostridium difficile* SH186 作为对照,应用体外厌氧培养及连续取样技术,通过测定其生长曲线以研究参苓白术散多糖成份是否可以基于碳源影响典型拟杆菌的体外生长,以期参苓白术散调节肠道菌群的机制提供参考。

4.1 基于不同碳源 *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 生长结果分析

4.1.1 中药多糖组组间比较

在浓度为 1%、5%、10%、20%、30%、40% 的中药多糖组中,*Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 均有增长,*Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 体外生长的最大值的范围变化为: $0.099 \pm 0.008 \sim 2.192 \pm 0.020$ ($\times 10^9$ CFU/mL),其中质量百分比为 20% 的中药多糖最适宜多形拟杆菌的生长。不同浓度的参苓白术散多糖均能影响 *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 的体外生长,提示参苓白术散多糖可基于碳源促进 *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 的体外生长,且 20% 为促进其增长的最佳多糖浓度。

4.1.2 不同碳源组间比较

比较 *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 在不同碳源中的所达到的最大生长值:BHI 组 > 最佳中药多糖组 (20% 浓度) > 葡萄糖组。BHI 复合碳

源比参苓白术散多糖更有利于 *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 的生长,而多糖达到一定浓度后比葡萄糖更有利于 *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 的生长。

4.2 基于不同碳源 *Bacteroides fragilis* ATCC25285 生长结果分析

4.2.1 中药多糖组组间比较

在浓度为 1%、5%、10%、20%、30%、40% 中药多糖组中,*Bacteroides fragilis* ATCC25285 均有增长,*Bacteroides fragilis* ATCC25285 体外生长的最大值的范围变化为: $0.994 \pm 0.068 \sim 8.096 \pm 0.264$ ($\times 10^{10}$ CFU/mL),其中质量百分比为 20% 的中药多糖最适宜二株拟杆菌的生长。不同浓度的参苓白术散多糖均能影响 *Bacteroides fragilis* ATCC25285 的体外生长,提示参苓白术散多糖可基于碳源促进 *Bacteroides fragilis* ATCC25285 的体外生长,且 20% 为促进其增长的最佳多糖浓度。

4.2.2 不同碳源组间比较

比较 *Bacteroides fragilis* ATCC25285 在不同碳源中的所达到的最大生长值:最佳中药多糖组 (20% 浓度) > BHI 组 > 葡萄糖组。合适浓度的参苓白术散多糖比 BHI 复合碳源和葡萄糖糖更有利于 *Bacteroides fragilis* ATCC25285 的生长。

4.3 基于参苓白术散多糖碳源不同细菌生长结果分析

相比于 2 株典型拟杆菌,*Clostridium* sp. C6 在 BHI 组的生长最大值远高于其它组 (36-442 倍),而 *Clostridium difficile* SH186 只在 BHI 组中有生长,在葡萄糖组和中药多糖组中未见增长,说明中药多糖能选择性的促进二株拟杆菌的体外增长,但对厚壁菌 *Clostridium* sp. C6 和 *Clostridium difficile* SH186 的体外增长无促进甚至是抑制。

综上所述,不同浓度中药多糖均可影响拟杆菌的体外生长,以 20% 为最佳浓度;不同碳源,对 *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29148 的生长影响: BHI 组 > 最佳中药多糖组 > 葡萄糖组;对于 *Bacteroides fragilis* ATCC25285 的生长影响:最佳中药多糖组 > BHI 组 > 葡萄糖组;中药多糖对不同菌的影响:拟杆菌 > 厚壁菌。基于不同碳源对典型拟杆菌和厚壁菌的体外培养实验证明,参苓白术散基于多糖成份能明显促进典型拟杆菌的体外生长,对厚壁菌的促进作用不明显甚至有抑制作用(相对 BHI 碳源),因此,多糖成份基于碳源促进典型拟杆菌的生长可

能是参苓白术散调节肠道菌群的微生态机制之一。当然,本实验只是基于少数典型拟杆菌的体外实验,基于碳源研究参苓白术散的微生态调节机制尚不全面,后期可以结合更多细菌的纯培养及动物实验,分别从肠道菌群的转录组、宏基因组、代谢组等实验^[13-15],进一步揭示其基于多糖碳源调节肠道菌群的机制。

参考文献

- Guo HL(郭慧玲),Shao YY(邵玉宇),Menghe BLG(孟和毕力格),*et al.* Research on the relation between gastrointestinal microbiota and disease[J]. *Microbiol China*(微生物学通报),2015,42:400-410.
- Round JL,Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease[J]. *Nat Rev Immunol*,2009,9:313-323.
- Wardwell LH, Huttenhower C, Garrett WS. Current concepts of the intestinal microbiota and the pathogenesis of infection[J]. *Curr Infect Dis Rep*,2011,13:28-34.
- Wang ZG(王占国). The spleen of traditional Chinese medicine and the normal flora of digestive tract[J]. *Chin J Micro-ecol* (中国微生态学杂志),1991,2:65-68.
- He K(贺克),Liu J(刘姣),Li Q(李清). Effect of replenishing qi to invigorate the spleen on spleen deficiency model mice[J]. *J Hebei Univ Trad Chin Pharmacol* (河北中医药学报),2011,26(4):3-5.
- Ding WJ(丁维俊),Zhou BJ(周邦靖),Zhai MD(翟慕东),*et al.* Influence of shenlinbaizhu powder in enteric bacteria flora in mouse model with spleen-insufficiency syndrome[J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med*(北京中医药大学学报),2006,29:530-533.
- Zhao L, Nicholson JK. Tapping into ancient medicine for today's problem with functional metagenomics [J]. *Microb Biotechnol*,2011,4:134-135.
- Teravest MA,He Z,Rosenbaum MA,*et al.* Regulated expression of polysaccharide utilization and capsular biosynthesis loci in biofilm and planktonic *Bacteroides thetaiotaomicron* during growth in chemostats [J]. *Biotechnol Bioeng*,2014,111:165-173.
- Song HF(宋惠凤),Jin HX(金火星). An overview of the clinical application of modern Shenlingbaizhu powder [J]. *Chin Tradit Pat Med*(中成药),2013,35:379-383.
- Dong KZ(董开忠),Gao YS(高永盛),Qin NE(秦宁恩),*et al.* Effects of Senlin Baizhu san on the dysbacteriosis induced by antibiotics in mice [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志),2015,21:154-157.
- Shu QL(舒青龙),Xu G(徐刚),Ye HP(叶荷平),*et al.* Influences of Shenglin baizhu powder on *in vitro* growth of *Clostridium difficile* [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志),2013,19:258-26.
- Zhang LM(张黎明),Zhu L(朱丽),Li X(李雪),*et al.* Optimization of water-extracting and alcohol-precipitating conditions of total polysaccharides of Yupingfeng [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志),2011,17:24-26.
- Shu QL(舒青龙),Wang P(王萍),Feng Y(封勇),*et al.* Micro-ecological research progress on Chinese herbal medicine in treatment of antibiotic associated diarrhea [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志),2015,21:82-87.
- Zhu FZ(朱飞舟),Chen LY(陈利玉),Chen HC(陈汉春),*et al.* Identification of pathogenic microorganism by sequencing 16S rRNA gene [J]. *J Central South Univ, Med Ed*(中南大学学报,医学版),2013,38:1035-1041.
- Qin J,Li R,Raes J,*et al.* A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing [J]. *Nature*,2010,464(7285):59-65.