

土家药三颗针对溃疡性结肠炎小鼠肠道菌群的影响

胡雪黎^{1,2,3}, 田力⁴, 李鸿^{3,4},
涂星⁴, 聂娟^{3,4}, 杨宝^{2,3,4}, 刘可云³, 胡泽华^{1,2,3,4*}

¹湖北民族大学生物资源保护与利用湖北省重点实验室; ²湖北民族大学风湿性疾病发生与干预湖北省重点实验室;
³湖北民族大学医学部; ⁴湖北民族大学武陵山中药材检验检测中心, 恩施 445000

摘要:本研究旨在探讨土家药三颗针对葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)诱导的溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)小鼠肠道菌群的影响,为其开发利用提供科学依据。60只c57BL/6J小鼠随机分为空白组、模型组、美沙拉嗪组以及三颗针低、中、高剂量组,自由饮用7d 2.5%的葡聚糖硫酸钠溶液构建小鼠UC模型,同时给予药物干预,连续10d,记录小鼠体重变化、疾病活动指数(disease activity index, DAI)。采用苏木精-伊红染色观察小鼠结肠病理变化,基于16S rRNA基因测序技术分析三颗针对UC小鼠肠道菌群的组成和多样性的影响。结果显示,与模型组相比,三颗针组DAI评分显著降低($P < 0.05$),结肠病理损伤减轻,肠黏膜结构较完整,炎性细胞浸润减少。三颗针改善了溃疡性结肠炎小鼠肠道菌群结构和多样性,且趋近于正常组。本实验揭示了调节肠道菌群多样性及菌群结构可能是三颗针干预UC的重要途径之一,通过肠道菌群的角度为三颗针的临床用药提供理论依据。

关键词:土家药;三颗针;肠道菌群;溃疡性结肠炎;16S rRNA基因测序

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)12-2069-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.12.011

Effect of Tujia medicine Berberidis Radix on intestinal flora in mice with ulcerative colitis

HU Xue-li^{1,2,3}, TIAN Li⁴, LI Hong^{3,4},
TU Xing⁴, NIE Juan^{3,4}, YANG Bao^{2,3,4}, LIU Ke-yun³, HU Ze-hua^{1,2,3,4*}

¹Hubei Key Laboratory of Biologic Resources Protection and Utilization, Hubei Minzu University;

²Hubei Provincial Key Laboratory of Occurrence and Intervention of Rheumatic Diseases, Hubei Minzu University;

³Medical School, Hubei Minzu University; ⁴Chinese Medicinal Materials Products Quality Supervision and Inspection Center in Wuling Mountainous Area, Hubei Minzu University, Enshi 445000, China

Abstract: This study aims to investigate Tujia medicine Berberidis Radix on intestinal flora of mice with ulcerative colitis induced by dextran sodium sulfate and provide the scientific basis for its development and utilization. c57BL/6J mice were randomly divided into normal group, model group, mesalazine group, and low-, medium-, and high-dose Berberidis Radix groups. Except for the normal group, 2.5% dextran sodium sulfate drinking water was given to each group for seven days. At the same time, the administration group was gavaged with the mesalazine group and Berberidis Radix group for ten days. Body weight changes and disease activity index were measured. Hematoxylin-eosin staining was used to observe the pathological changes in colon tissue. The composition and diversity of the intestinal flora were detected by 16S rRNA gene sequencing. The results demonstrated that Berberidis Radix could significantly decrease disease activity index score ($P < 0.05$). Berberidis Radix improved species richness and diversity in the intestinal flora of mice with ulcerative colitis and adjusted the abundance of the dysregulated bacteria closer to that of the normal group. This study reveals that regulating the diversity of intestinal flora and the structure of flora may be one of the essential ways for Berberidis Radix to intervene in ulcerative colitis and provides a the-

收稿日期:2022-06-15 接受日期:2022-10-24

基金项目:国家自然科学基金(81560703);生物资源保护与利用湖北省重点实验室基金(PT012103);风湿性疾病发生与干预湖北省重点实验室基金(PT022210)

*通信作者 Tel:86-018671818165; E-mail:hzh75418427@126.com

oretical basis for the clinical use of *Berberidis Radix* through the perspective of intestinal flora.

Key words: *Tujia* medicine; *Berberidis Radix*; intestinal flora; ulcerative colitis; 16S rRNA gene sequencing

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种慢性非特异性的炎症性疾病, 临床主要表现为腹痛、腹泻、粘液脓血便等^[1]。溃疡性结肠炎的中医证型主要分为大肠湿热、肝郁脾虚、阴虚肠燥、脾胃虚弱、脾肾阳虚、血瘀肠络、寒热错杂等, 各医家多遵循“因证立法、循法遣方”的治疗原则, 多选用清热、利湿、益气、健脾之品来治疗^[2]。三颗针 (*Berberidis Radix*) 为小檗科植物蠟猪刺 *Berberis julianae* Schneid、小黄连刺 *Berberis wilsonae* Hemsl、细叶小檗 *Berberis poiretii* Schneid 或匙叶小檗 *Berberis verna* Schneid 等同属数种植物的干燥根^[3], 性寒、味苦, 归肝、胃、大肠经, 具有败火燥湿、清热解毒的功效^[4], 是恩施土家族苗族自治州道地药材。土家医常单用三颗针或与映山红根、石榴皮、吴茱萸等配伍治疗泄泻、痢疾, 疗效显著, 但其具体作用机制尚未明确。

肠道菌群数量庞大、种类繁多, 在宿主的免疫应答、新陈代谢及疾病进程中扮演着重要角色^[5]。肠道菌群参与了肠黏膜屏障、物质吸收、代谢与营养等功能, 同时介导 T 淋巴细胞的增殖与分化, 调节肠道免疫应答^[6]。大量研究表明, 肠道菌群的失调与溃疡性结肠炎、肠易激综合征及结直肠癌息息相关^[7-9]。目前常采用氨基水杨酸类药物、类固醇类药物、免疫抑制剂或手术来治疗溃疡性结肠炎, 疗效一般且易反复^[1]。近年来, 相关文献^[10-13]报道了中药通过调节肠道菌群结构、恢复菌群多样性治疗溃疡性结肠炎, 且效果确切。基于此, 我们拟考察三颗针对溃疡性结肠炎小鼠肠道菌群的影响, 以期从肠道菌群介导的角度初步探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物

60 只 SPF 级 c57BL/6J 小鼠, 19~21 g, 8 周龄, 雌雄各半, 购自辽宁长生生物技术股份有限公司, 许可证号 SCXK (辽) 2020-0001。饲养于温度 24~26 °C, 相对湿度 50%~70% 的清洁级动物房中, 光暗周期 12 h。本实验经湖北民族大学医学伦理委员会批准 [(2021) 第 46 号]。

1.2 药物与试剂

右旋葡聚糖硫酸钠 (批号 116570400, 美国 MP 公司); 美沙拉嗪肠溶片 (批号 210728, 葵花药业佳木斯鹿灵制药有限公司); 粪便隐血试剂盒 (批号

C027-1-1, 南京建成生物科技有限公司); 4% 多聚甲醛 (批号 20210506, 飞净生物科技有限公司); Mag Pure Soil DNA LQ Kit 试剂盒 (批号 D6356-02, Magen 公司); 1 × ds DNA HS Assay Kit for Qubit 试剂盒 (批号 12642ES76, 上海翌圣 (Yeasen) 生物科技有限公司); Takara Ex Taq 试剂盒 (批号 RR001Q, Takara 公司); 其余试剂均为分析纯。

三颗针药材采自湖北建始, 经湖北民族大学武陵山中药材检验检测中心涂星博士鉴定为蠟猪刺 *Berberis julianae* Schneid 根。取三颗针药材粉碎, 加入 10 倍量 70% 乙醇浸泡 12 h 后加热回流提取 2 次, 共 3 h。将两次滤液合并后浓缩成浸膏 (出膏率为 14.35%, 1 g 浸膏 ≈ 6.67 g 生药), 4 °C 保存备用。

1.3 仪器

RE-2000A 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); BSA224S-CW 分析天平 (德国赛多利斯公司); 5810R 高速冷冻离心机 (德国艾本德公司); TC-120 组织自动脱水机、TB-718E 组织包埋机、R139 轮转式切片机、TK-218II 摊片机 (泰维科技实业公司); 显微镜 (Nikon 公司); KBF240 电热恒温培养箱 (德国宾得公司); MY-20 组织匀浆机 (上海净信公司); 580BR10905 PCR 仪 (Bio-rad 公司); SN 002358 QIAxtractor 高通量测序仪 (QIAGEN 公司); 2500 凝胶成像仪、HE-120 电泳仪 (Tanno 公司)。

1.4 造模、分组及给药

小鼠适应性喂养 7 d 后随机分为正常对照组 (normal, N)、模型组 (model, M)、美沙拉嗪组 (mesalazine, ME)、三颗针低剂量组 (BJ-L)、三颗针中剂量组 (BJ-M)、三颗针高剂量组 (BJ-H) ($n=10$)。正常对照组每天饮用蒸馏水, 其余组每天自由饮用 2.5% DSS 溶液, 连续 7 d 诱导溃疡性结肠炎模型。

根据《中国药典》2020 版^[3] 中三颗针剂量 15 g 经体表面积等效剂量换算得到 2.28 g/(kg·d), 以该剂量作中剂量, 1/2 作低剂量, 2 倍作高剂量。精密称量三颗针浸膏分散于蒸馏水中, 分别配制成浓度为 8.5、17.0、34.0 mg/mL 的混悬液, 混匀后置于 4 °C 保存备用; 将美沙拉嗪肠溶片去除包衣, 用研钵研成粉末, 精密称取美沙拉嗪粉末分散于蒸馏水中, 根据 200 mg/kg 剂量配制成浓度为 10 mg/mL 的混悬液并定容, 混匀后置于 4 °C 保存备用。

从造模的第 1 d 起,美沙拉嗪组和三颗针组按照 0.2 mL/10 g 的灌胃体积灌胃;正常组和模型组灌胃等体积蒸馏水。连续灌胃 10 d。每日记录体质量、精神活动状态、毛发光泽、大便性状和便血情况,根据 Cooper 评分改良法^[14]进行疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分。末次给药后,小鼠禁食不禁水 24 h,处死后迅速取出结肠,记录长度并拍照,取肛门前 2~3 cm 处(约 1 cm)结肠采用 4% 多聚甲醛固定。

1.5 苏木精-伊红染色及组织病理学分析

将固定好的组织经过修整、脱水、浸蜡、包埋、切片、染色及封片后,在显微镜下观察并拍摄记录。

1.6 肠道菌群测序

根据药效学分析三颗针高剂量组疗效最佳,因此选用三颗针高剂量组肠道菌群测序。取各组小鼠盲肠内容物,参照试剂盒说明书提取和纯化肠道菌群总 DNA,根据 16S rRNA 编码基因 V3-V4 目标序列进行 PCR 扩增, V3-V4 前端引物为 343F-5'-TACGGRAGGCAGCAG-3', 后端引物为 798R-5'-AGGGTATCTAATCCT-3'。PCR 扩增程序为 94 °C 预变性 4 min;94 °C 预变性 30 s,56 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 20 s,共 26 次循环;然后于 72 °C 复性 5 min,扩增产物于 4 °C 条件下保存。

1.7 生信学分析

基于 Illumina 高通量测序平台获得原始数据,然后对原始数据进行处理及质控后得到较为优质的序列,对优质序列进行操作分类单元(operational taxonomic units, OUT)分类并挑选丰度最强的序列

作为该 OTU 的代表序列,最后进行物种注释、群落结构、Alpha 多样性、Beta 多样性、线性判别分析(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)等生信学分析。

1.8 基于 PICRUSt 的功能预测

使用 PICRUSt2 软件将基于 Greengenes 数据库注释的测序数据进行数量标准化,并与 COG 数据库、KEGG 数据库进行对比,预测已知微生物基因功能构成,统计不同样本和分组之间在功能上的差异。

1.9 统计学分析

采用 SPSS 24.0 分析数据,两组之间采用 T-test、Wilcoxon test 分析,三组及以上采用 ANOVA、Kruskal Wallis 分析,使用 GraphPad Prism 8 软件及 R 软件包作图。

2 结果

2.1 三颗针对体重、DAI 评分及结肠长度的影响

正常组小鼠活动敏捷、毛发光亮、进食正常、体重呈上升趋势;与正常组相比,模型组小鼠精神懈怠、少食懒动,出现稀便、便血等症状,体重显著降低($P < 0.05$),DAI 评分显著升高($P < 0.05$),表明成功建立了 UC 模型。如图 1A、1B 所示,经美沙拉嗪和三颗针干预后,小鼠体重显著升高($P < 0.05$),DAI 评分显著降低($P < 0.05$)。如图 1C 所示,与正常组相比,UC 小鼠结肠长度显著缩短($P < 0.05$);与模型组相比,美沙拉嗪组及三颗针中、高剂量组结肠长度明显趋向于正常组($P < 0.05$),综合提示三颗针能够显著改善 UC 小鼠的疾病状态。

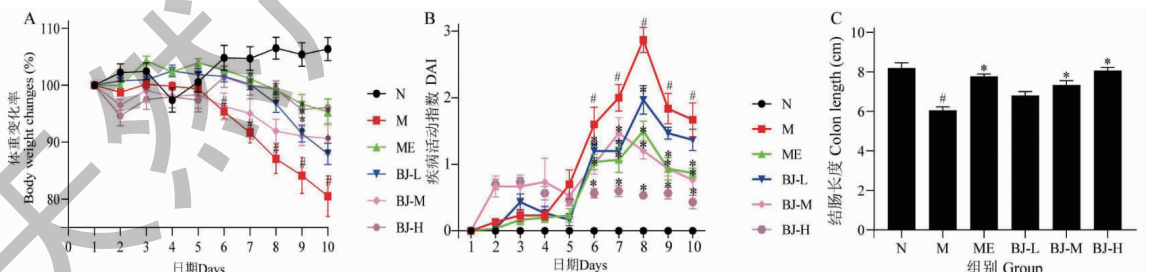


图 1 三颗针对小鼠体重变化(A)、DAI 评分(B)、结肠长度(C)的影响($n = 10$)

Fig. 1 The effect of BJ on the weight of mice (A), DAI score (B), colon length (C) ($n = 10$)

注:与正常组相比, # $P < 0.05$;与模型组相比, * $P < 0.05$ 。Note: Compared with N, # $P < 0.05$; Compared with M, * $P < 0.05$ 。

2.2 三颗针对溃疡性结肠炎小鼠组织病理学的影响

如图 2 所示,正常组小鼠肠黏膜结构完整,杯状细胞正常分化。模型组小鼠结肠组织结构基本消

失,黏膜层可见充血、水肿,炎性细胞弥漫性浸润,杯状细胞可见明显变形、减少。与模型组相比,美沙拉嗪组和三颗针中、高剂量组结构均较为完整,炎性细胞浸润较少,杯状细胞结构比较完整。

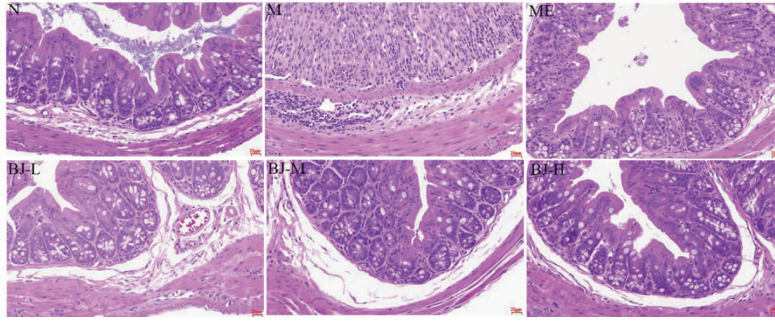


图2 组织病理切片 HE 染色图(400 ×)

Fig. 2 Pathological sections of tissues HE staining (400 ×)

2.3 三颗针对小鼠肠道菌群的影响

2.3.1 肠道菌群的物种注释

如图 3C 所示,本实验共得到 1 447 个 OTUs, 组间共有 OTUs 为 226 个。其中正常组独有 374 个 OTUs,模型组独有 284 个 OTUs,三颗针给药组独有 259 个 OTUs,提示各组肠道菌群结构在整体相似的基础上存在一定的差异。经鉴定,1 447 个 OTUs 分别属于 14 个门和 166 个属。

2.3.2 Alpha 多样性分析

如图 3A、3B 所示,随着测序深度和样本量的增加,曲线趋于平缓,表明本次实验样本测序深度和样本量足够。经 DSS 诱导后,Shannon 指数和 Simpson 指数显著下降($P < 0.05$),提示 UC 小鼠肠道菌群

物种均匀度和丰富度下调,经三颗针干预后,Shannon 指数和 Simpson 指数升高($P > 0.05$),差异无统计学意义,表明三颗针可以改善肠道菌群多样性。

2.3.3 Beta 多样性分析

Pcoa 分析(图 3D)中第一主成分和第二主成分对模型的解释率分别为 33.98% 和 20.18%,提示该模型的解释能力和预测能力较好。模型组在 Pcoa 分析中距离正常组较远,说明模型组小鼠肠道菌群结构较正常组发生了显著变化。三颗针给药组则向正常组靠近,且远离模型组,表明三颗针给药后,小鼠肠道菌群结构逐渐向正常组恢复。其次在聚类分析(图 3E)中,各组样本可以聚类到一起,说明本次实验中同组样本间的差异较小。

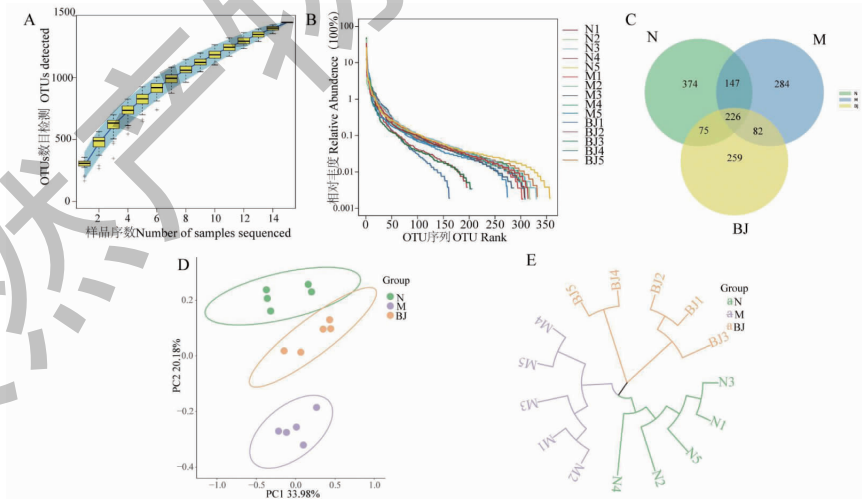


图3 样品序数(A)、OUT序列(B)、韦恩图(C)、Pcoa分析(D)及聚类分析(E)

Fig. 3 Number of sample sequenced(A), OUT Rank(B), Venn plot(C), Pcoa analysis(D) and UPGMA analysis(E)

2.3.4 肠道菌群结构分析

如图 4A 所示,各组小鼠肠道菌群在门水平主要由拟杆菌门、厚壁菌门、弯曲杆菌门、放线菌门、脱硫杆菌门、变形菌门、脱硫菌门等构成,占比达到

99.00%。与正常组相比,模型组厚壁菌门和脱硫菌门相对丰度显著上调($P < 0.05$),弯曲菌门丰度显著下调($P < 0.05$),拟杆菌门、放线菌门、变形菌门相对丰度下调,但差异无统计学意义;与模型组相

比,三颗针组弯曲杆菌门相对丰度显著上调($P < 0.05$),厚壁菌门相对丰度显著下调($P < 0.05$),脱硫菌门相对丰度下调,拟杆菌门和变形菌门相对丰度上调,差异无统计学意义。提示三颗针在门水平能够显著恢复小鼠肠道菌群结构。

如图4B、4C所示,小鼠肠道菌群在属水平上主要由螺杆菌属、*Muribaculaceae*属、拟杆菌属、毛螺旋菌属NK4A136_group、*Mucispirillum*属、普雷沃氏菌属UCG-001、另枝菌属、*Parabacteroides*属、*Odoribacter*

属组成。与正常组相比,模型组螺杆菌属、*Muribaculaceae*属、理研菌属相对丰度显著下调($P < 0.05$),*Odoribacter*属相对丰度显著上调($P < 0.05$)。与模型组相比,三颗针组螺杆菌属相对丰度显著上调($P < 0.05$),*Odoribacter*、另枝菌属、*Rikenellaceae_RC9_gut_group*相对丰度显著下调($P < 0.05$)。提示在属水平上,三颗针干预溃疡性结肠炎可能与回调螺杆菌属、*Odoribacter*等菌属的相对丰度有关。

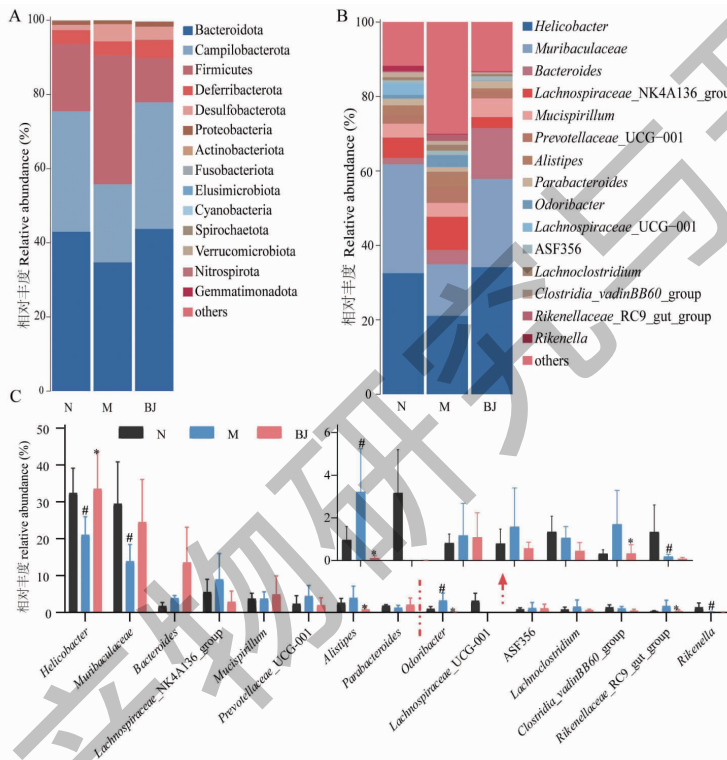


图4 三颗针对门(A)和属(B、C)水平小鼠肠道菌群结构的影响

Fig. 4 The effects of BJ on the relative abundance of murine gut microbiota at phylum (A) and genus(B,C) level

注:与正常组相比, # $P < 0.05$;与模型组相比, * $P < 0.05$ 。Note: Compared with N, # $P < 0.05$; Compared with M, * $P < 0.05$

2.3.5 LEfSe 分析

如图5所示,本实验展示了LDA得分大于2的差异物种。如图5A、5C所示,与模型组相比,正常组的优势菌种包括Muribaculaceae科、*Muribaculaceae*属、螺杆菌属、螺杆菌科、弯曲杆菌目、弯曲杆菌纲、弯曲杆菌门、毛螺菌属UCG_001、*Tyzzera*属、鞘脂单胞菌属、肠杆菌属、理研菌属、*Alloprevotella*属、链霉菌A2属、罗氏菌属、*Marvinbryantia*属、支原体属、支原体科、支原体目、*Anaerotruncus*、乳酸杆菌科、乳酸杆菌目、乳酸杆菌属($P < 0.05$)。模型组的优势菌种包括瘤胃球菌属、*Harryflintia*属、GCA_

900066575属、厌氧原体属、无胆甾原体目、无胆甾原体科、醋酸菌属、*Oscillibacte*属、螺旋藻属、*Colidextribacter*属、惰性真杆菌属、UBA1819、颤螺旋菌科、拟杆菌属、拟杆菌科、*Odoribacter*属、Marinifilaceae科、颤螺菌纲、脱硫弧菌目、脱硫杆菌属、脱硫弧菌科、脱硫弧菌纲、毛螺菌科、毛螺菌属、厚壁菌属、梭菌纲($P < 0.05$)。如图5B、5D所示,与模型组相比,三颗针组的优势菌种包括丹毒丝菌目、乳酸杆菌科、乳酸杆菌属、乳酸杆菌目、*Erysipelatoclostridiaceae*科、*Erysipelatoclostridium*属、布劳特氏菌属、*Sutterellaceae*科、副沙门氏菌属、脱硫弧菌属、罗氏菌

属、*Clostridium_innocuum_group* 无害芽孢梭菌属、*Alloprevotella* 属、拟杆菌属、拟杆菌科、螺杆菌属、螺杆菌科、弯曲杆菌目、弯曲杆菌属、弯曲杆菌纲 ($P <$

0.05)。综上所述,三颗针组和正常组的优势菌种在组成上相似,说明三颗针可以改变肠道菌群结构的组成,并抑制某些细菌的增殖。

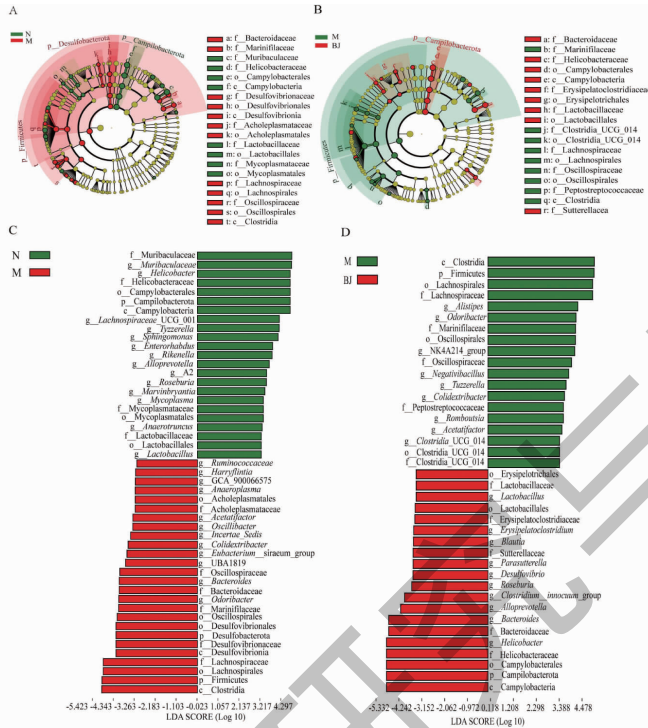


图5 不同组别肠道菌群的 LefSe 分析图

Fig. 5 LefSe analysis of gut microbiota community of different groups

2.4 基因功能预测分析

如图6所示,基于KEGG数据库三级功能层,与正常组相比,模型组 ABC 转运蛋白、群体感应、嘧啶代谢、糖酵解/糖异生、半胱氨酸和蛋氨酸代谢、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、同源重组、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢、肽聚糖的生物合成、淀粉和蔗糖代谢

酸和苏氨酸代谢、肽聚糖的生物合成、淀粉和蔗糖代谢等基因功能上调 ($P < 0.05$),大部分属于 KEGG 中 L1 水平的代谢功能,推测当小鼠出现腹泻、便血等溃疡性结肠炎症状时,消化吸收功能出现障碍,无法提供小鼠日常活动所需能量,机体需通过更多的

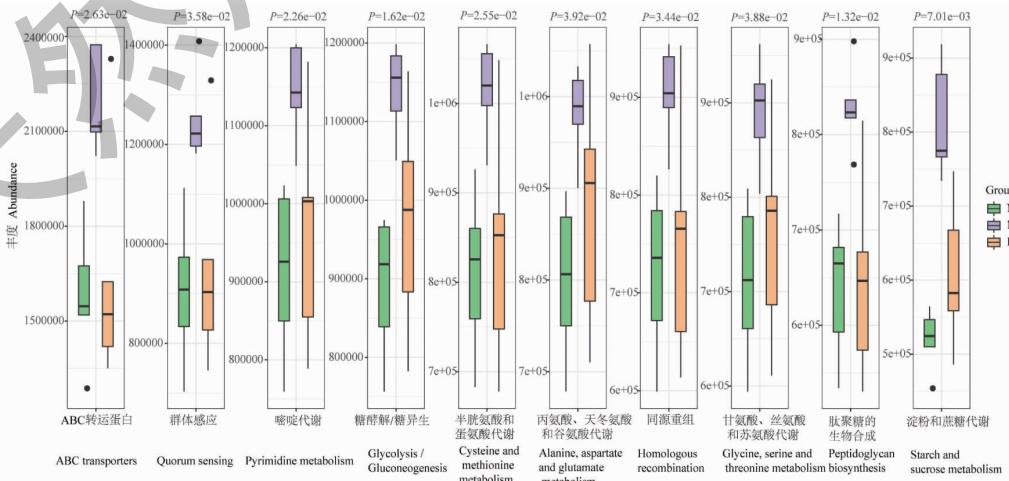


图6 基于三级功能层的 PICRUSt 功能预测分析

Fig. 6 PICRUSt functional prediction analysis based on hierarchy level 3

其他代谢补偿。醚脂质代谢、亚油酸代谢、黄酮和黄酮醇的合成、异黄酮的生物合成功能则显著下调($P < 0.05$)。三颗针干预后,上述基因功能均逐渐恢复至正常水平($P < 0.05$),提示调节与肠道菌群代谢相关的基因功能可能是三颗针干预溃疡性结肠炎的途径之一。

3 讨论与结论

本实验首先从小鼠体重变化、DAI 评分、结肠长度与组织形态方面验证了三颗针对 UC 小鼠的干预作用,其次考察了三颗针对 UC 小鼠肠道菌群的影响。结果显示,三颗针显著改善小鼠体重、DAI 评分及结肠长度,减少炎症浸润,修复肠黏膜损伤。测序结果显示,三颗针能够显著恢复 DSS 诱导下紊乱的菌群结构,提示三颗针对 UC 的干预作用可能与肠道菌群高度相关。在对正常组、模型组、三颗针组肠道菌群的 Pcoa 和聚类分析中发现,模型组的肠道菌群结构与正常组小鼠存在显著差异,而经过三颗针干预后,其肠道菌群被显著改变并接近正常组,这在群落结构分析和 LEfSe 分析中得以证实。通过基因功能预测发现,三颗针干预 UC 还可能与肠道菌群代谢功能相关,这为后续研究提供了新的方向。

肠道微生物群作为肠黏膜屏障中的生物屏障,对维持健康和疾病的体内平衡至关重要,是脑-肠轴的一部分^[15]。肠道菌群的失调会导致有害菌大量增殖,有益菌减少,导致肠道菌群结构紊乱,多样性减少,从而使肠黏膜损伤。有研究^[16]认为由肠道菌群失调介导的肠道异常免疫炎症反应是 UC 发病的重要原因之一,因此通过微生物制剂恢复肠道菌群的稳态治疗 UC 逐渐成为新热点。传统中药给药途径主要是口服汤剂,在生物体内势必会与肠道菌群接触,产生双向的调节作用,部分中药通过恢复肠道菌群的结构和多样性保持肠道菌群的稳态达到治疗作用^[17]。现代药理学研究表明,三颗针主要含小檗碱、巴马汀、药根碱、掌叶防己碱等多种生物碱类成分^[18-19]。研究证明^[20]小檗碱可以上调拟杆菌门丰度,下调厚壁菌门丰度,通过肠道菌群相关色氨酸代谢产物激活芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR)治疗 DSS 诱导的大鼠溃疡性结肠炎。Zhang 等^[21]通过高通量测序结果表明,巴马汀通过上调拟杆菌门相对丰度,增加有益菌、减少有害菌,并通过恢复菌群多样性、抑制色氨酸分解改善了 DSS 诱导的溃疡性结肠炎。上述研究报告与本实验的研究结果基本一致,同时在本实验的 LEfSe 分析中,与模型

组相比,乳酸杆菌目、乳酸杆菌属、乳酸杆菌科为正常组和三颗针组共有的优势菌种,且乳酸杆菌已被证明可以改善腹泻^[22],另外乳酸杆菌可以通过抑制人结肠上皮细胞中细胞因子诱导的凋亡以及增加黏蛋白-2(MUC-2)的含量从而改善小鼠的结肠黏膜屏障功能^[23]。梭菌是专性厌氧菌,分泌外毒素威胁人体健康,梭菌的增多促进肠道疾病的发生^[24]。三颗针同科植物黄连可以抑制梭菌的生长,通过降低梭菌的数量来防治肠道癌症^[25],本实验中梭菌属、梭菌纲、梭菌目是模型组的优势菌种,而正常组和三颗针组均丰度较低,与文献研究结果相对一致。

参考文献

- 1 Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, et al. Ulcerative colitis [J]. *Lancet*, 2017, 389:1756-1770.
- 2 Li PF, Dou DB. Research progress on Chinese medical syndrome of ulcerative colitis [J]. *Acad J Shanghai Univ Tradit Chin Med*(上海中医药大学学报), 2020, 34:107-112.
- 3 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 14.
- 4 Yuan DP, Peng FS. Chinese Tujia medicine(中国土家族医药学) [M]. Beijing: Science Press, 2014:91
- 5 Milani C, Duranti S, Bottacini F, et al. The first microbial colonizers of the human gut: composition, activities, and health implications of the infant gut microbiota [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2017, 81:e00036-17.
- 6 Su HX, Fu ZY. Research progress of Chinese medicine regulating intestinal microecology to prevent and treat ulcerative colitis [J]. *Clin J Tradit Chin Med*(中医药临床杂志), 2022, 34:564-567.
- 7 Wong SH, Yu J. Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16:690-704.
- 8 Glassner KL, Abraham BP, Quigley EMM, et al. The microbiome and inflammatory bowel disease [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2020, 145:16-27.
- 9 Margolis KG, Cryan JF, Mayer EA, et al. The microbiota-gut-brain axis: from motility to mood [J]. *Gastroenterology*, 2021, 160:1486-1501.
- 10 Chen XQ, Lv XY, Liu SJ, et al. Baitouweng decoction alleviates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis by regulating intestinal microbiota and the IL-6/STAT3 signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 265:113357.
- 11 Yang Y, Chen G, Yang Q, et al. Gut microbiota drives the at-

- tenation of dextran sulphate sodium-induced colitis by Huangqin decoction[J]. *Oncotarget*,2017,8:48863-48874.
- 12 Yuan ZW. Therapeutic effect and mechanism of huanglian-jiedu decoction on acute ulcerative colitis in mice [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University (甘肃农业大学), 2020.
 - 13 Liang YN, Cheng W, Wu KN, et al. Effect of indirubin on intestinal flora in mice with ulcerative colitis based on high-throughput sequencing technology [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs (中草药)*, 2021, 52:3896-3904.
 - 14 Cooper HS, Murthy SN, Shah RS, et al. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis [J]. *Lab Invest*, 1993, 69:238-249.
 - 15 Camara-Lemarroy CR, Metz L, Meddings JB, et al. The intestinal barrier in multiple sclerosis: implications for pathophysiology and therapeutics[J]. *Brain*, 2018, 141:1900-1916.
 - 16 Liu HC, Song G. Research progress of intestinal flora in ulcerative colitis [J]. *Med Recapit (医学综述)*, 2020, 26:2819-2823.
 - 17 Li L, Feng ZZ, Wang H, et al. Effect of *Sanguisorbae Radix* on gut microbiota in acute ulcerative colitis rats [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2021, 33:1274-1281.
 - 18 Wang LB, Jia XS, Hu CG, et al. Determination of berberine hydrochloride, jatrorrhizine hydrochloride and palmatine hydrochloride in Sankezhen [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药)*, 2011, 22:175-177.
 - 19 Li LY, Long WF, Wan DR, et al. Quantitative determination of total alkaloids and berberine in five medicinal berberis plants [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志)*, 2014, 20:91-94.
 - 20 Jing WH, Dong SJ, Luo XL, et al. Berberine improves colitis by triggering AhR activation by microbial tryptophan catabolites [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 164:105358.
 - 21 Zhang XJ, Yuan ZW, Qu C, et al. Palmatine ameliorated murine colitis by suppressing tryptophan metabolism and regulating gut microbiota [J]. *Pharmacol Res*, 2018, 137:34-46.
 - 22 Berni CR. *Lactobacillus* for gastroenteritis in children [J]. *N Engl J Med*, 2019, 380:e36.
 - 23 Morampudi V, Dalwadi U, Bhinder G, et al. The goblet cell-derived mediator RELM- β drives spontaneous colitis in Muc2-deficient mice by promoting commensal microbial dysbiosis [J]. *Mucosal Immunol*, 2016, 9:1218-1233.
 - 24 Tamock GW. Molecular methods for exploring the intestinal ecosystem [J]. *Br J Nutr*, 2002, 87:S199-S201.
 - 25 Duan XQ, Chen R, Zhu C, et al. Effect of *Rhizoma coptidis* (Huang Lian) on intestinal flora of rats [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药)*, 2021, 32:1065-1070.
-
- (上接第 2010 页)
- 20 Gunasena MT, Rafi A, Mohd Zobir SA, et al. Phytochemicals profiling, antimicrobial activity and mechanism of action of essential oil extracted from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe cv. Bentong) against *Burkholderia glumae* causative agent of bacterial panicle blight disease of rice [J]. *Plants (Basel)*, 2022, 11:1466.
 - 21 Yu H, Ren X, Liu Y, et al. Extraction of *Cinnamomum camphora* chvar. Borneol essential oil using neutral cellulase assisted-steam distillation; optimization of extraction, and analysis of chemical constituents [J]. *Ind Crops Prod*, 2019, 141:111794.
 - 22 Fu X, Wang Y, Wei L. Optimization in ultrasonic-assisted hydro-distillation extraction process of essential oil from *Hys-sopus cuspidatus* Boris [J]. *Chem Bioeng (化学与生物工程)*, 2022, 39:19-22.
 - 23 Peng XJ, Liu N, Wang MX, et al. Recent advances of kinetic model in the separation of essential oils by microwave-assisted hydrodistillation [J]. *Ind Crops Prod*, 2022, 187:115418.
 - 24 Huang YT, Sun Y, Meng J, et al. Quality markers of *Zingiberis Rhizoma Carbonisata* before and after processing [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2022, 47:1765-1775.
 - 25 Ghasemzadeh A, Jaafar HZE, Baghdadi A, et al. Formation of 6-, 8- and 10-shogaol in ginger through application of different drying methods; altered antioxidant and antimicrobial activity [J]. *Molecules*, 2018, 23:1646.