

理中汤改善抗生素相关性腹泻及对肠道菌群的干预作用研究[△]

章从恩^{1*}, 陈 熹¹, 张学强^{1,2}, 于小红¹, 李 萌¹, 崔宇涛^{1,3}, 马雨晴¹, 马致洁^{1#} (1. 首都医科大学附属北京友谊医院中药剂科, 北京 100050; 2. 宁波市第一医院药学部, 浙江 宁波 315010; 3. 山西大学中医药现代研究中心, 太原 030006)

中图分类号 R932 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2022)05-0513-08

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2022.05.001

摘 要 目的: 研究理中汤对抗生素相关性腹泻(AAD)大鼠的干预作用及对肠道菌群的作用。方法: 建立AAD大鼠模型, 以双歧杆菌三联活菌胶囊为阳性药(Bif, 70 mg/d), 理中汤分别以3.75、7.5 g/kg(按生药量计算)给药进行干预。观察大鼠一般状况, 通过120 min粪便重量、粪便含水量及粪便评分评价大鼠腹泻程度; 对大鼠结肠组织进行苏木精-伊红染色(HE染色), 观察其病理变化; 采用16S rRNA高通量测序技术分析大鼠肠道菌群。结果: Bif给药后, 大鼠腹泻程度有一定程度改善; 理中汤高、低剂量治疗组大鼠粪便含水量、粪便评分及120 min粪便重量均有明显改善, 其中低剂量组药效略优于高剂量组。大鼠结肠组织HE染色结果显示, 理中汤高、低剂量治疗可以改善大鼠结肠炎症等病理改变。肠道菌群分析结果显示, Bif及理中汤干预后, AAD大鼠肠道菌群丰度和多样性均轻微改善, 两者的差异无统计学意义($P>0.1$); 但理中汤在门水平上可显著恢复厚壁菌门丰度($P<0.05$), 在属水平上可显著恢复克雷伯菌属菌群($P<0.05$)及 *Parasutterella* 属菌群($P<0.05$)丰度, 与AAD模型组比较, 差异均有统计学意义; 理中汤在属水平上可恢复拟杆菌属菌群, 但与AAD模型组比较, 差异无统计学意义($0.05<P<0.1$)。结论: 理中汤可显著改善AAD, 并在一定程度上恢复肠道菌群。

关键词 理中汤; 抗生素相关性腹泻; 肠道菌群

Modulation of Gut Microbiota During Alleviation of Antibiotic-Associated Diarrhea with Lizhong Decoction[△]

ZHANG Congen¹, CHEN Xi¹, ZHANG Xueqiang^{1,2}, YU Xiaohong¹, LI Meng¹, CUI Yutao^{1,3}, MA Yuqing¹, MA Zhijie¹ (1. Dept. of Traditional Chinese Medicine Pharmacy, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China; 2. Dept. of Pharmacy, Ningbo First Hospital, Zhejiang Ningbo 315010, China; 3. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the intervention effects of Lizhong decoction on antibiotic-associated diarrhea (AAD), and to reveal the modulation of gut microbiota during the alleviation of AAD. **METHODS:** AAD rat model was established, and *Bifidobacterium* triple viable capsules were used as the positive control (Bif, 70 mg/d). Lizhong decoction was administered at 3.75 g/kg and 7.5 g/kg (measured as the quantity of crude material). The general condition of the rats was observed, and the diarrhea degree of the rats was evaluated by 120 min fecal weight, fecal water content and fecal score. Colon tissues for histopathological examination were stained with hematoxylin and eosin (HE) staining, and 16S rRNA sequencing analysis of gut microbiota was performed. **RESULTS:** After administration of Bif, the degree of diarrhea in rats was alleviated. The fecal water content, fecal score and 120 min fecal weight of rats in the high-and low-dose Lizhong decoction groups showed significant improvements, with the low-dose group being slightly more effective than the high-dose group. Results of HE staining of rat colon tissue showed that the treatment of high-and low-dose Lizhong decoction could improve the pathological changes such as colon inflammation in rats. Results of gut microbiota analysis showed that after the intervention of Bif and Lizhong decoction, the abundance and diversity of gut microbiota in AAD rats were slightly improved, and there was no significant difference between them

[△] 基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 82004032); 北京市医管中心青苗计划项目(No. QML20210107); 中华中医药学会“青年人才托举工程”项目(No. QNRC2-C13)

* 主管药师。研究方向: 中药消化药理与毒理。E-mail: zce820@163.com

通信作者: 副主任药师, 博士。研究方向: 中药消化药理与毒理。E-mail: 13811647091@163.com

($P>0.1$)。However, compared with the AAD model group, Lizhong decoction significantly restored the abundance of *Firmicutes* at the phylum level ($P<0.05$), *Klebsiella spp.* at the genus level ($P<0.05$) and *Parasutterella spp.* at the genus level ($P<0.05$), the differences were statistically significant. Lizhong decoction restored the *Bacteroides spp.* at the genus level, yet the difference was not statistically significant compared with the AAD model group ($0.05<P<0.1$)。CONCLUSIONS: Lizhong decoction could significantly improve AAD and positively affected the gut microbiota of rats with AAD.

KEYWORDS Lizhong decoction; Antibiotic-associated diarrhea; Gut microbiota

抗生素相关腹泻 (antibiotic-associated diarrhea, AAD) 是抗菌药物治疗中常见的药品不良事件, 发生率为 5%~39%, 是一个全球性的公共健康问题。流行病学研究结果表明, AAD 的高发病率与近年来抗菌药物的广泛使用密切相关, 几乎所有的抗菌药物, 特别是对厌氧菌有抗菌活性的药物, 如氨基青霉素类、头孢菌素类和克林霉素, 都与 AAD 的发病有关^[1-3]。AAD 的临床表现从轻度、自限性腹泻到严重腹泻并伴有艰难梭菌感染 (约占 25%) 或假膜性结肠炎, 甚至死亡^[4]。AAD 目前尚无特效治疗方法, 其治疗主要包括停用或更换诱发 AAD 的抗菌药物^[5]。此外, 基于随机对照试验的 Meta 分析结果显示, 益生菌可使 AAD 的发病率降低 38%^[6]; 但部分研究表明其证据不足, 特别是对艰难梭菌相关腹泻的影响^[7]。因此, 开发治疗 AAD 的新药和治疗方案非常重要。

目前, 中医对 AAD 尚无统一认识, 主流观点根据其临床表现, 将 AAD 归入“泄泻”范畴^[8]。使用抗菌药物易损伤脾胃之阳, 脾胃亏虚, 脾阳虚则不能运化水湿, 清气不升, 浊气不降, 清浊相混而成泄泻。理中汤出自《伤寒论》, 原方为“理中丸”, 后世医家多以汤剂用之, 其中成药也有“理中丸”供临床选用。理中汤由人参、白术、炙甘草及干姜 4 味药物组成, 为常用温中方剂, 具有温中祛寒、补气健脾的功效, 用于治疗脾胃虚寒, 自利不渴, 呕吐腹痛腹泻等^[9]。理中汤及其加减方被广泛用于腹泻的治疗^[10-11]。另外, 课题组前期研究结果显示, 干姜可以显著改善 AAD 肠道菌群并改善 AAD^[12]。分析认为理中汤对 AAD 可能有一定疗效。同时, 已有临床研究结果显示, 理中汤对抗生素相关性假膜性结肠炎有治疗作用^[13]。本研究进一步基于大鼠动物实验, 探讨理中汤对 AAD 的治疗效果及其干预 AAD 过程中对肠道菌群的作用, 为临床使用理中汤治疗 AAD 提供参考。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 SD 大鼠 50 只, 约 5 周龄, 平均体重 (165±15) g, 雌雄各半, 购自维通利华公司, 许可证号为 SCXK (京)-2017-0033。动物饲养于维通利华公司, 温度保持在 (20±2) °C, 湿度为 60%~70%, 每日黑暗/光照 12 h 循环。所有动物实验按照首都医科大学附属北京友谊医院动物伦理委员会相关规定进行 (伦理批号: 21-2004)。

1.2 仪器

ABI GeneAmp® 9700 型聚合酶链反应 (PCR) 仪 (美国 Applied Biosystems 公司); PL-203 型电子分析天平 (美国 Mettler-Toledo 公司); DYY-6C 型电泳仪 (北京市六一仪器厂); 101-1A 型电热鼓风干燥箱 (天津市泰斯特仪器有限公司);

Nikon Eclipse CI 正置光学显微镜 (日本 Nikon 公司); Illumina MiSeq 平台 (美国 Illumina 公司)。

1.3 药品与试剂

人参 (批号为 1906005, 产地吉林, 购自北京同春堂药业有限公司), 白术 (批号为 H0091, 产地安徽, 购自北京均大制药有限公司), 干姜 (批号为 200930003, 产地四川, 购自北京仟草中药饮片有限公司), 炙甘草 (批号为 200516, 产地内蒙古, 购自北京燕北饮片厂); 经厂家检验, 上述药材均符合《中华人民共和国药典: 一部》(2020 年版) 中的质量标准。双歧杆菌三联活菌胶囊 (Bif, 华润医药集团有限公司, 批号为 22120210319); 盐酸克林霉素 (山东方明药业, 批号为 181011)。

2 方法

2.1 实验药物的制备

理中汤水煎液的制备参考相关文献^[14]及《伤寒论》159 条理中汤的记载, 按照 1:1:1:1 的比例取人参、白术 (生)、干姜及甘草 (炙) 4 种药材, 加 6 倍量水浸泡 20 min, 提取 30 min, 过滤; 残渣加 4 倍量水煎煮第 2 次, 第 2 次煎煮 20 min。合并两次煎煮液, 采用旋转蒸发仪 60 °C 下浓缩至 1.0 g/mL (相当于原药材), 4 °C 存储备用。双歧杆菌三联活菌胶囊的制备参考相关文献^[15], 灌胃前取双歧杆菌三联活菌胶囊中内容物, 迅速溶于 0.9% 氯化钠溶液中, 立刻灌胃。

2.2 AAD 大鼠模型的制作、动物实验分组及给药

将 50 只大鼠随机分为 5 组, 每组 10 只, 分别为空白对照组 (Con 组)、AAD 模型组 (Mod 组)、阳性对照组 (Bif 组)、理中汤低剂量治疗组 (LZD_L 组) 及理中汤高剂量治疗组 (LZD_H 组)。造模期间, Con 组大鼠每日灌胃 0.9% 氯化钠溶液 2 mL, Mod 组及其他给药治疗组大鼠均灌胃抗菌药物混合溶液 (克林霉素 50 mg/mL、氨苄西林 55.5 mg/mL 及链霉素 27.75 mg/mL) 2 mL, 连续灌胃 7 d 完成 AAD 模型的制作^[15-16]。

模型制作完成后, 实验第 8—14 日, 按照分组连续给药 7 d。Con 组和 Mod 组大鼠每日给予 0.9% 氯化钠溶液 2 mL, Bif 组大鼠每日给予 Bif 70 mg/kg, LZD_L 组、LZD_H 组大鼠分别给予理中汤水煎液 3.75、7.5 g/kg (按生药量计算)^[17]。实验第 14 日治疗期结束, 每组处死 5 只大鼠, 取全结肠及结肠粪便, 结肠制作为“Swiss roll”^[18], 固定后做成石蜡切片, 进行苏木精-伊红染色 (HE 染色), 粪便用于菌群分析。实验第 21 日恢复期结束, 处死剩余大鼠, 取结肠组织进行 HE 染色分析。

2.3 大鼠一般状况分析

实验过程中, 每日观察大鼠精神状况、毛色、粪便状况及尾部肛口干净程度等。实验第 4、7、10、14、17 及 21 日, 重点观察小鼠粪便及体重的变化, 测量大鼠的饮水量及摄食量。

2.4 腹泻程度分析

2.4.1 120 min 粪便重量:实验第 4、7、10、14、17 及 21 日上午 9:00,将大鼠放入独立代谢笼,上午 11:00 收集粪便,称重。

2.4.2 粪便含水量:将各时间收集到的粪便放在鼓风干燥箱中完全烘干(完全烘干指在 95 ℃ 下烘 0.5 h,粪便质量的变化<1%),再进行称重,计算粪便含水量。

2.4.3 腹泻程度评分:褐色、成型干燥的硬粪便为 1 分;黄色或褐色、成形湿润的软粪便为 2 分;黄色或褐色、稀烂不成形的水状粪便为 3 分。

2.5 结肠组织病理学检测

取大鼠结肠,制作成“Swiss-roll”后,放入 4%的多聚甲醛进行固定,石蜡包埋、切片,并进行 HE 染色,观察结肠炎症、水肿等病理特征。

2.6 粪便的采集

解剖大鼠结肠,无菌采集结肠粪便(内容物),迅速放入液氮中淬灭 30 min,随后于-80 ℃ 保存,每组 5 份样本。

2.7 微生物 DNA 提取和 16S rRNA 基因测序及数据分析

按照说明书的规定,采用 OMEGA-soil DNA Kit 提取肠道菌群 DNA,采用 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')及 806R(5'-GGACTACVGGGTW TCTAAT-3')引物对细菌 16S rRNA V3-V4 可变区进行 PCR 扩增。使用 2%琼脂糖凝胶回收 PCR 产物,利用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒进一步纯化,利用 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统进行检测定量。纯化的扩增产物根据标准操作规程在 Illumina MiSeq 平台上混合并配对测序。基于测序数据进行扩增子序列变异体(ASV)聚

类和物种分类分析。基于数据均一化后的 ASV 物种丰度谱,再对 ASV 进行丰度分析、多样性分析等,并对各水平上物种群落结构进行统计分析。然后进行物种组成的聚类分析和比较分析,研究各组样品之间的物种组成差异。数据采用 Majorbio 云平台(<http://www.majorbio.com>)进行分析。

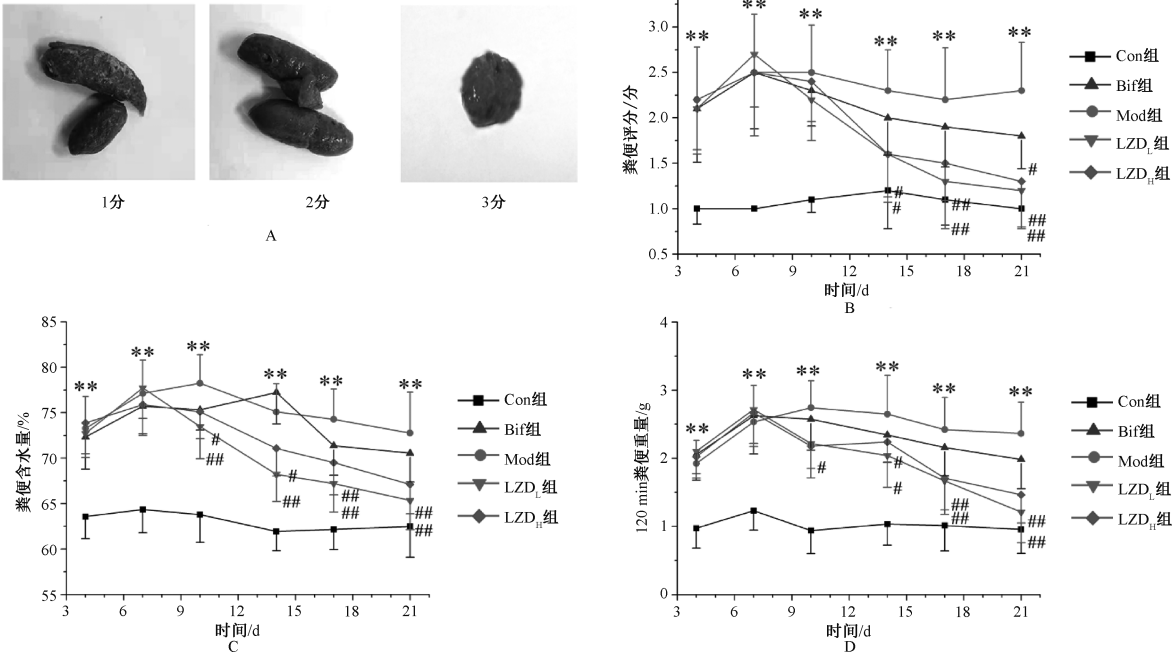
2.8 统计学方法

除另有说明外,连续正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 SPSS 23.0 软件进行单因素方差分析,然后进行 Tukey Kramer 事后检验或非参数检验来比较四组数据的平均值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠腹泻程度的变化

模型制作期间,实验第 3 日及第 7 日,除 Con 组外,Mod 组及各给药组大鼠均出现明显腹泻症状。相对于 Con 组,其他各组大鼠 120 min 粪便重量、粪便含水量及粪便评分均显著升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。给药期间,Bif 组大鼠腹泻程度有一定改善,120 min 粪便重量及粪便评分较 Mod 组有一定的降低,但差异均无统计学意义($P>0.05$)。理中汤治疗组中,LZD_L 组及 LZD_H 组大鼠腹泻症状均显著改善,120 min 粪便重量、粪便含水量及粪便评分均显著降低;治疗期结束(实验第 14 日),LZD_L 组及 LZD_H 组大鼠的 120 min 粪便重量、粪便含水量及粪便评分均较 Mod 组显著降低,其中 LZD_L 组的降低效果略优于 LZD_H 组;治疗恢复期,Bif 组与 Mod 组大鼠腹泻状况的差异仍无统计学意义($P>0.05$),LZD_L 组及 LZD_H 组大鼠 120 min 粪便重量、粪便含水量及粪便评分均进一步降低,见图 1。



A. 大鼠粪便评分;B. 大鼠粪便评分变化曲线图;C. 大鼠粪便含水量变化曲线图;D. 大鼠 120 min 粪便重量变化曲线图;与空白对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$

A. fecal score of rats; B. curve of fecal score in rats; C. curve of fecal water content in rats; D. curve of 120 min fecal weight in rats; vs. the blank control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; vs. the model group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$

图 1 理中汤对 AAD 大鼠腹泻症状的作用。

Fig 1 Effects of Lizhong decoction on diarrhea symptoms in AAD rats

3.2 大鼠结肠组织病理学分析

大鼠结肠 HE 染色结果见图 2,其中包括治疗期结束(第 14 日)及恢复期结束(第 21 日)的结肠组织病理学分析。由图 2 可知,治疗期及恢复期结束后,Con 组大鼠结肠固有层可见少量炎症细胞,其余未见显著病理改变;而 Mod 组大鼠固有层可见明显的炎症细胞浸润,并有一定程度的水肿及上皮细胞脱落;Bif 组大鼠在治疗期及恢复期结束后,与 Mod 组相比,炎症细胞浸润等病理改变有一定程度的改善;LZD_L 组及 LZD_H 组大鼠在治疗期及恢复期结束后,均可见上述病理改变显著改善,尤其 LZD_L 组病理结构与 Con 组更为接近,其肠腺正常,黏膜层结构完整。

3.3 理中汤对肠道菌群多样性的影响

由上述药效学实验结果可知,理中汤对 AAD 大鼠有一定的治疗作用。肠道菌群在 AAD 发病机制中有至关重要的作用。因此,本研究进一步进行肠道菌群分析,探讨理中汤治疗 AAD 可能的作用机制。前述结果显示,理中汤低剂量(LZD_L 组)药效略优于高剂量(LZD_H 组),因此,后续采用 Con 组、Mod 组、Bif 组和 LZD_L 组四组进行肠道菌群分析。

α 多样性主要用于研究均匀生境下的群落多样性,其可通过一系列 α 多样性指数进行物种丰度及多样性等的分析。本研究采用 Sobs、ACE、Shannon 及 Coverage 指数 4 项指标,其中 Sobs 及 ACE 指数常用以刻画群落丰度,Shannon 指数常用以反映群落多样性,Coverage 指数可以反映测序的群落覆盖度^[19-20]。本研究中,Sobs 及 ACE 指数显示,Mod 组大鼠肠道菌群

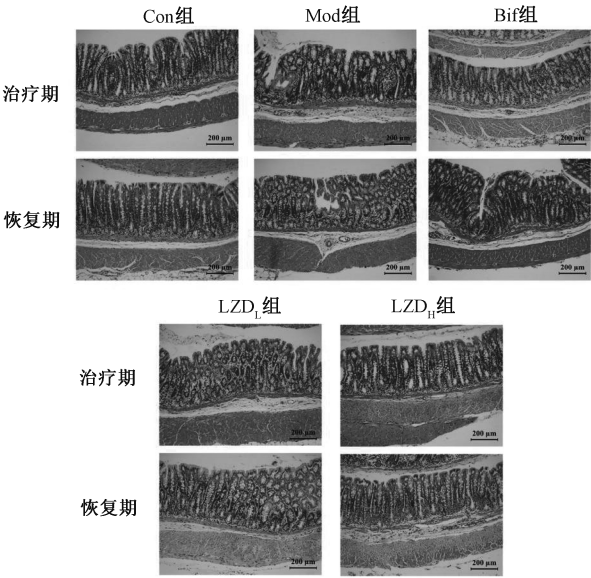
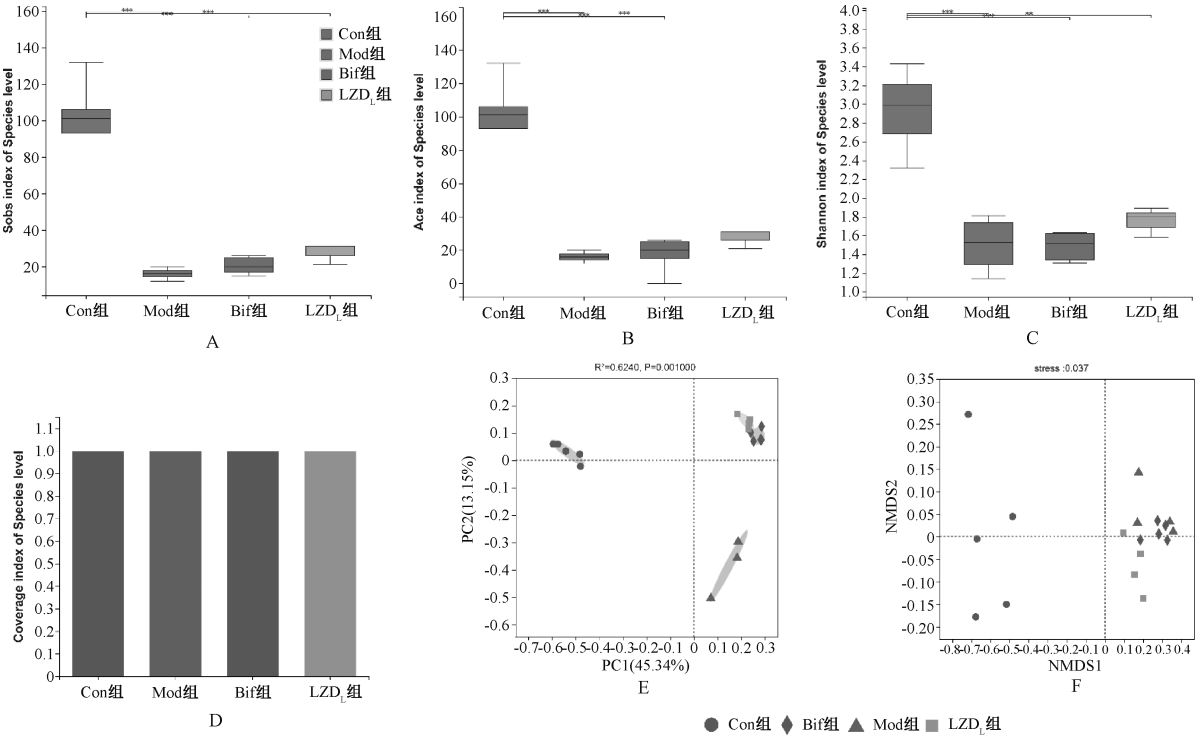


图 2 大鼠结肠组织代表性视野图(HE,×200,n=5)
Fig 2 Typical histopathological section photographs of colon tissue in rats (HE, ×200, n=5)

丰度较 Con 组显著降低,差异有统计学意义($P<0.001$);Bif 组及理中汤治疗组(LZD_L 组)大鼠肠道菌群丰度有一定程度的恢复,理中汤治疗后菌群丰度略优于 Bif 组,见图 3(A—B)。Shannon 指数显示,Mod 组大鼠肠道菌群多样性较 Con 组显著降低,差异有统计学意义($P<0.001$);Bif 组及理中汤治疗组



A. Sobs 指数;B. ACE 指数;C. Shannon 指数;D. Coverage 指数;E. PCoA 分析; F. NMDS 分析;组间比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$
A. Sobs index; B. ACE index; C. Shannon index; D. Coverage index; E. PCoA; F. NMDS; comparison between groups, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

图 3 理中汤对 AAD 大鼠肠道菌群 α 多样性及 β 多样性的影响
Fig 3 Effects of Lizhong decoction on α-diversity and β-diversity of gut microbiota in rats

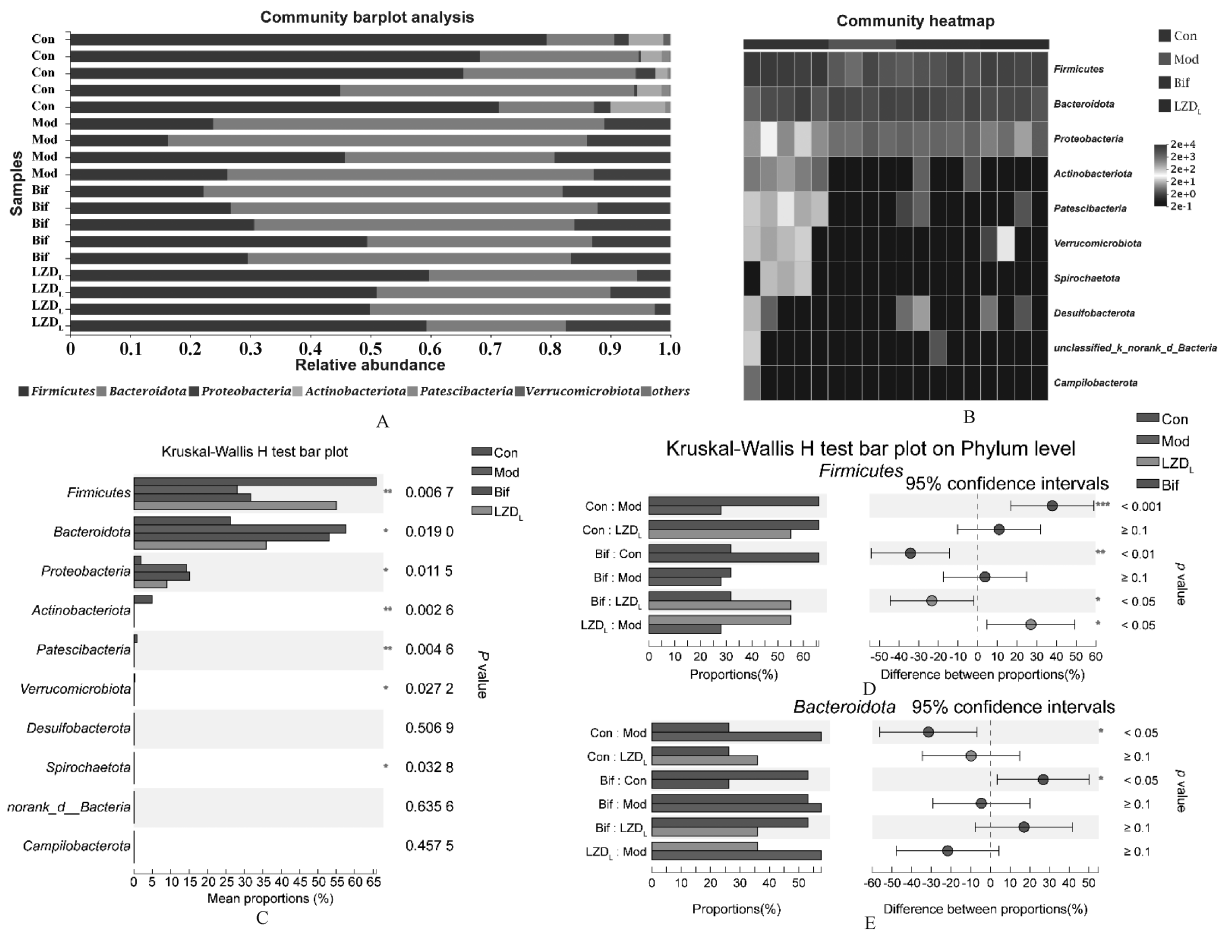
(LZD_L 组)大鼠肠道菌群多样性有一定程度的恢复,但两组的差异无统计学意义($P>0.05$),见图 3(C—D)。可见,Bif 及理中汤对 AAD 大鼠肠道菌群丰度及多样性均有一定程度的改善,两者作用相当。

β 多样性分析是对不同样品间微生物群落的构成进行比较。本研究通过主坐标分析(PCoA)和非度量多维尺度分析(NMDS)2 种分析方法对比各组大鼠的菌群构成。PCoA 分析及 NMDS 分析可研究样本群落组成的相似性或差异性,不同颜色或形状的点代表不同分组的样本,两样本点越接近,表明两样本物种组成越相似^[21]。本研究中,PCoA 分析和 NMDS 分

析结果显示,Con 组、Mod 组与各治疗组明显分为不同类群,相对于 Bif 组及 Mod 组,LZD_L 组各样本与 Con 组更为接近,见图 3(E—F)。表明理中汤治疗后大鼠肠道菌群多样性与正常组更为接近,而 Bif 的作用稍弱。

3.4 理中汤对菌群组成的影响分析

基于 ASV 的绝对丰度及注释信息,在门水平上,根据群落 Bar 图分别对占比最多的厚壁菌门(*Firmicutes*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、变形菌门(*Proteobacteria*)及放线菌门(*Actinobacteria*)进行分析,见图 4;并进一步分析属水平上肠道菌群的组成,见图 5。



A. 大鼠肠道菌群门水平群落组成 bar 图; B. 大鼠肠道菌群门水平群落组成 heatmap 图; C. Con、Mod、Bif 及 LZD_L 四组大鼠肠道菌群门水平各菌群类群相对丰度差异; D. 厚壁菌门多样本 Kruskal-Wallis H 检验结果; E. 拟杆菌门多样本 Kruskal-Wallis H 检验结果

A. bar chart of rat gut microbiota at the phylum level; B. heatmap of rat gut microbiota at phylum level; C. differences of relative abundance of gut microbiota in Con, Mod, Bif and LZD_L groups; D. Kruskal-Wallis H test for pairwise comparison of relative abundance of *Firmicutes* in each group; E. Kruskal-Wallis H test for pairwise comparison of relative abundance of *Bacteroidota* in each group

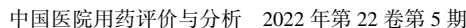
图 4 理中汤在门水平上对大鼠肠道菌群的影响

Fig 4 Effects of Lishong decoction on gut microbiota in rats at phylum level

由图 4(A—C)可知,AAD 模型制作完成后,厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门及放线菌门菌群丰度具有显著改变。由图 4(A)及图 5(B)可知,四组大鼠肠道菌群组成在门水平上有较明显的分类趋势。Con 组厚壁菌门平均比例为(65.91±12.79)%;Mod 组厚壁菌门平均比例为(28.02±12.57)%,与 Con 组比较,差异有统计学意义($P<0.001$);LZD_L 组厚壁菌门平均比例为(55.03±5.27)%,较 Mod 组显著升高,差异有统计

学意义($P<0.05$);Bif 组与 Mod 组厚壁菌门平均比例差异无统计学意义($P>0.05$),见图 4(C—D)。另外,Mod 组与 Con 组大鼠拟杆菌门、变形菌门及放线菌门等菌群比例比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);但 Bif 组与 LZD_L 组大鼠拟杆菌门、变形菌门及放线菌门等菌群比例比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见图 4(E)。

由图 5(A—B)可知,在属水平上,Con 组、Mod 组、Bif 组及



可加快肠道菌群的恢复,对缓解AAD有益。

理中汤为温中祛寒、补气健脾的代表方剂。本研究中发现,理中汤可以显著改善AAD大鼠的腹泻程度,可在一定程度上提高AAD大鼠肠道菌群的丰度和多样性,其作用在短期内优于Bif。值得注意的是,Bif并未对AAD大鼠有显著的治疗作用,可能与Bif使用时间有关,Bif的疗程一般为2周。临床研究结果显示,使用Bif 3个月可建立新的肠道稳态^[28]。

本研究中,AAD大鼠经理中汤治疗后,在门水平上,厚壁菌门菌群显著恢复,而Bif干预后大鼠的厚壁菌门比例没有明显改变。在属水平上,AAD大鼠中拟杆菌属、克雷伯菌属及*Parasutterella*属菌群比例显著升高,而理中汤低剂量可较为显著地降低上述菌群的比例。拟杆菌为利害兼备菌,其有助于分解食物并产生身体所需的营养和能量、维持肠道免疫稳态,但当其易位至肠道以外的身体其他部位时,其会充当致病菌,导致脓肿和其他感染^[29]。理中汤治疗AAD可能与拟杆菌属菌群的改变有关。值得注意的是,本研究结果显示,理中汤可显著降低克雷伯菌属菌群的比例。克雷伯菌属广泛被认为是有害菌,其主要可导致肺部的感染,另外,研究结果表明克雷伯菌属细菌如产酸克雷伯菌(*Klebsiella oxytoca*)可导致AAD^[30-31]。本研究结果显示,理中汤还可降低*Parasutterella*属菌群比例。目前关于*Parasutterella*属的研究较少,有研究结果表明,*Parasutterella*属与炎症性肠病及肠道炎症的发生密切相关^[32]。其可能与AAD的发生发展存在正相关关系。综上,推测理中汤可能通过降低拟杆菌属、克雷伯菌属及*Parasutterella*属菌群而改善AAD大鼠的腹泻程度。

参考文献

[1] ABAD C L R, SAFDAR N. A review of *Clostridioides difficile* infection and antibiotic-associated diarrhea[J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2021, 50(2): 323-340.

[2] CHEN Y, XIANG Q L, LIU L. Comparison of antibiotic-associated diarrhea caused by cefoperazone/sulbactam or piperacillin/tazobactam in neurosurgery patients[J]. *J Int Med Res*, 2021, 49(5): 3000605211019661.

[3] MOTAMEDI H, FATHOLLAHI M, ABIRI R, et al. A worldwide systematic review and meta-analysis of bacteria related to antibiotic-associated diarrhea in hospitalized patients[J]. *PLoS One*, 2021, 16(12): e0260667.

[4] BHATTACHARYYA M, DEBNATH A K, TODI S K. *Clostridium difficile* and Antibiotic-associated Diarrhea[J]. *Indian J Crit Care Med*, 2020, 24(Suppl 4): S162-S167.

[5] ELSEVIERS M M, VAN CAMP Y, NAYAERT S, et al. Prevalence and management of antibiotic associated diarrhea in general hospitals[J]. *BMC Infect Dis*, 2015, 15: 129.

[6] LIAO W Q, CHEN C X, WEN T M, et al. Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in adults: a metaanalysis of randomized placebo-controlled trials[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2021, 55(6): 469-480.

[7] PATTANI R, PALDA V A, HWANG S W, et al. Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infection among hospitalized patients: systematic review and meta-analysis[J]. *Open Med*, 2013, 7(2): e56-e67.

[8] 马晓宇, 莫颖宁. 抗生素相关性腹泻的中药新药治疗研究探讨[J]. *中国医药导刊*, 2014, 16(10): 1318-1319.

[9] 祁琪, 朱红梅. 从脾胃为枢看理中汤的临床运用[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2012, 18(3): 294-295.

[10] 刘志颖, 张会转. 理中汤联合益生菌制剂治疗腹泻型肠易激综合征疗效分析[J]. *首都食品与医药*, 2020, 27(14): 192.

[11] 张鹏, 蒋华. 附子理中汤为主方治疗腹泻型肠易激综合征的 Meta 分析[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2020, 28(11): 821-824, 831.

[12] 张学强, 章从恩, 于小红, 等. 干姜改善抗生素相关性腹泻及对肠道菌群的作用研究[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(5): 1316-1326.

[13] CHOI W W, KIM M Y, KIM Y J, et al. A case study of the anti-biotics-associated pseudomembranous colitis treated with Yijoong-tang(Lizhong-tang)[J]. *The Journal of the Society of Stroke on Korean Medicine*, 2007, 8(1): 58-62.

[14] ZOU J F, SHEN Y M, CHEN M J, et al. Lizhong decoction ameliorates ulcerative colitis in mice via modulating gut microbiota and its metabolites[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, 104(13): 5999-6012.

[15] ZHANG W D, ZHU B, XU J H, et al. *Bacteroides fragilis* protects against antibiotic-associated diarrhea in rats by modulating intestinal defenses[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1040.

[16] MA Z J, WANG H J, MA X J, et al. Modulation of gut microbiota and intestinal barrier function during alleviation of antibiotic-associated diarrhea with *Rhizoma Zingiber officinale* (Ginger) extract[J]. *Food Funct*, 2020, 11(12): 10839-10851.

[17] SONG H P, ZENG M Y, CHEN X J, et al. Antiulcerogenic activity of Li-Zhong decoction on duodenal ulcers induced by indomethacin in rats: involvement of TLR-2/MyD88 signaling pathway[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 6538156.

[18] MOOLENBEEK C, RUITENBERG E J. The “Swiss roll”: a simple technique for histological studies of the rodent intestine[J]. *Lab Anim*, 1981, 15(1): 57-59.

[19] YANG W B, SHAO L, HEIZHATI M, et al. Oropharyngeal microbiome in obstructive sleep apnea: decreased diversity and abundance[J]. *J Clin Sleep Med*, 2019, 15(12): 1777-1788.

[20] LIU J, WANG H W, LIN L, et al. Intestinal barrier damage involved in intestinal microflora changes in fluoride-induced mice[J]. *Chemosphere*, 2019, 234: 409-418.

[21] QIAN X B, CHEN T, XU Y P, et al. A guide to human microbiome research: study design, sample collection, and bioinformatics analysis[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 133(15): 1844-1855.

[22] SHAO H Q, ZHANG C Y, XIAO N Q, et al. Gut microbiota characteristics in mice with antibiotic-associated diarrhea[J]. *BMC Microbiol*, 2020, 20(1): 313.

[23] MEKONNEN S A, MERENSTEIN D, FRASER C M, et al. Molecular mechanisms of probiotic prevention of antibiotic-associated diarrhea[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2020, 61: 226-234.

[24] CUI M X, WANG Y, ELANGO J, et al. *Cereus sinensis* polysaccharide alleviates antibiotic-associated diarrhea based on modulating the gut microbiota in C57BL/6 mice[J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 751992.

[25] LI S S, QI Y L, CHEN L X, et al. Effects of *Panax ginseng* polysaccharides on the gut microbiota in mice with antibiotic-associated diarrhea[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 124: 931-937.

[26] ZHANG N, LIANG T S, JIN Q, et al. Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) alleviates antibiotic-associated diarrhea, modifies intestinal microbiota, and increases the level of short-chain fatty acids in mice[J]. *Food Res Int*, 2019, 122: 191-198.

(下转第 526 页)