

· 药理研究 ·

DOI: 10.26946/j.cnki.1000-3649.sczy.2502100004

参芪化痰方对2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝病大鼠肠道菌群的影响

田静^{1,2}, 陶妍敏³, 郑鸿^{1,2}, 刘桢⁴, 彭思涵^{4,△}

(1. 四川大学华西第二医院小儿心血管护理单元, 四川 成都 610041; 2. 出生缺陷与相关妇儿疾病教育部重点实验室, 四川 成都 610041; 3. 成都中医药大学护理学院, 四川 成都 611137; 4. 成都中医药大学附属医院内分泌科, 四川 成都 610075)

摘要: 目的 旨在探讨参芪化痰方对2型糖尿病(T2DM)合并非酒精性脂肪肝(NAFLD)大鼠肠道菌群的影响及作用机制。方法 以SD大鼠为研究对象, 通过注射链脲佐菌素以及高脂饮食诱导, 建立T2DM-NAFLD模型, 随机将24只大鼠分为空白组、模型组、参芪化痰方组(12.06g/kg·d), 每组8只。分别在给药前、给药后第4周和第8周测空腹血糖(FBG); 通过苏木素-伊红(HE)染色和油红O染色观察肝脏病理学形态变化; 采16S rDNA高通量测序技术分析粪便中的肠道菌群的组成和丰度。结果 与空白组相比, 模型组肝脏弥漫重度脂肪变性, 肝细胞中可见大量红色脂滴沉积且脂滴大小不等, 伴炎细胞浸润及水肿。参芪化痰干预后肝脏弥漫轻度脂肪变性, 肝细胞中可见少量红色脂滴沉积且脂滴较小, 伴轻度水肿, 接近空白组的状态。通过16S rDNA高通量测序分析发现, 参芪化痰方干预后改变了肠道菌群的组成和丰度。在门水平上, 拟杆菌门(*Bacteroidota*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、脱硫弧菌门(*Desulfobacterota*)是3组的主要门, 但在各组中组成不同。在属水平上, 参芪化痰方干预后布劳特氏菌属(*Blautia*)、乳梭菌属(*Lachnoclostridium*)、克里斯滕森菌属(*Christensenellaceae_R-7_group*)显著升高($P<0.05$); 普雷沃菌属(*Prevotellaceae_Ga6A1_group*)和UCG-003显著降低($P<0.05$)。结论 参芪化痰方可以降低T2DM-NAFLD大鼠的FBG水平, 修复肝脏病理损伤, 以改善炎性浸润、减轻水肿、降低脂质沉积为主, 其机制可能与调节大鼠的肠道菌群有关。

关键词: 参芪化痰方; 2型糖尿病; 非酒精性脂肪肝; 肠道菌群

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1000-3649(2025)07-0150-10

The effect of the Shenqi huatan formula on the intestinal flora of rats with type 2 diabetes mellitus combined with nonalcoholic fatty liver disease

TIAN Jing^{1,2}, TAO Yanmin³, ZHENG Hong^{1,2}, LIU Ya⁴, PENG Sihan^{4,△}

(1. Department of pediatric cardiovascular Nursing, West China Second University Hospital, Sichuan University/West China School of Nursing, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Key Laboratory of Birth Defects and Related Diseases of Women and Children (Sichuan University), Ministry of Education, Chengdu 610041, China; 3. Nursing College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 4. Endocrinology Department, Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China)

Abstract: Objective This study aimed to explore the therapeutic effects and underlying mechanisms of Shenqi Huatan Formula (SQHT) on gut microbiota modulation in rats with comorbid type 2 diabetes mellitus (T2DM) and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Methods** A T2DM-NAFLD comorbidity model was established in Sprague-Dawley rats through streptozotocin (STZ) injection combined with high-fat diet induction. Twenty-four rats were randomly allocated into three groups ($n=8/\text{group}$): control group, model group, and SQHT treatment group (12.06g/kg/d). Fasting blood glucose (FBG) levels were measured at baseline, 4 weeks, and 8 weeks post-intervention. Hepatic histopathological alterations were assessed through hematoxylin-eosin (HE) staining and Oil Red O staining. Gut

基金项目: 四川省博士后创新人才支持项目(BX202205); 四川省科技计划重点研发项目(2024YFFK0159); 中国博士后科学基金面上项目(2023MD734104)。

第一作者: 田静, 硕士, 护师, 研究方向: 中西医结合, E-mail: tianjing139811@163.com。

△通讯作者: 彭思涵, 博士, 讲师, 研究方向: 中医药防治内分泌及代谢性疾病的基础与临床研究, E-mail: pengsh310@163.com。

引用格式: 田静, 陶妍敏, 郑鸿, 等. 参芪化痰方对2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝病大鼠肠道菌群的影响[J]. 四川中医, 2025, 43(7): 150-159.

microbiota composition was analyzed using 16S rDNA gene high-throughput sequencing. **Results** Compared with controls, model group rats exhibited severe hepatic steatosis with numerous variably-sized lipid droplets, accompanied by inflammatory infiltration and marked edema. SQHT intervention significantly attenuated these pathological changes, demonstrating only mild diffuse steatosis with minimal lipid droplet deposition and edema, approaching normal histological status. 16S rDNA sequencing revealed SQHT-mediated modulation of gut microbiota composition. At the phylum level, while Bacteroidota, Firmicutes, and Desulfobacterota predominated across all groups, their relative abundances differed significantly between groups. Genus-level analysis showed SQHT administration significantly increased the abundance of *Blautia*, *Lachnoclostridium*, and *Christensenellaceae_R-7_group* ($P<0.05$), while reducing *Prevotellaceae_Ga6A1_group* and *UCG-003* populations ($P<0.05$). **Conclusion** The phlegm-resolving Shenqi Huatan Formula demonstrates hypoglycemic and hepatoprotective effects in T2DM-NAFLD comorbidity models, potentially mediated through gut microbiota modulation. Its therapeutic mechanisms appear associated with ameliorating inflammatory infiltration, reducing hepatic edema, and decreasing lipid deposition through intestinal flora regulation.

Keywords: Shenqi Huatan; Type 2 diabetes mellitus; Non-alcoholic fatty liver disease; Intestinal flora

2型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 是最常见的代谢性疾病,主要表现为代谢紊乱,如高血糖、胰岛素抵抗等^[1,2]。根据国际糖尿病联合会 (International Diabetes Federation, IDF) 2021 年的报告,全球成年人口中有超过 5.37 亿人患有 T2DM,预计到 2030 年这一数字将增长至 6.43 亿^[3,4],到 2045 年,八分之一的成年人将患有糖尿病^[2]。我国糖尿病患者的数量已居全球之首,其中超过 95% 的病例为 T2DM^[5]。此外,全球 80% 的 T2DM 患者患有非酒精性脂肪性肝病 (Nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)^[6,7]。NAFLD 影响全球四分之一的人口^[8]。《中国成人 2 型糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病管理专家共识 (2021)》^[9] 中建议应将 NAFLD 作为常见糖尿病慢性并发症之一纳入糖尿病的诊疗管理。然而,目前没有特定的批准治疗方法,其病理生理复杂性对开发潜在治疗靶点提出了挑战。

谢春光教授及其科研团队依托国家中医临床研究 (糖尿病) 基地,长期致力于糖尿病基础与临床研究,以经验方“参芪复方”为主方,对糖尿病及其并发症的防治具有良好疗效,已纳入国家中医临床研究 (糖尿病) 基地《糖尿病临床诊疗方案》,并在多地推广应用^[10]。前期临床研究证实,参芪复方可改善血糖、血脂、降脂减重、维持血糖稳态、改善肠道菌群、改善氧化应激指标、防治糖尿病大血管病变等功效^[11-13]。基础研究也发现该方能调节糖尿病大鼠胰腺组织生物中相关基因的表达、抑制炎症、调节肠道菌群的分布、改善胰岛细胞功能、维持血糖稳态等多重作用^[14,15]。

参芪化痰方是临床效方参芪复方的衍生方,临床应用 20 余年,前期多项临床研究证实其在改善

糖尿病患者糖脂代谢临床指标与预后结局方面显示出良好优势,但不清楚其效应机制,限制了该方的临床应用。肠道菌群作为代谢疾病的潜在靶标备受关注^[16]。研究表明,肠道菌群在 T2DM-NAFLD 的发生和发展中起关键作用^[17-19]。

为进一步探索参芪化痰方对 T2DM-NAFLD 的干预疗效,本研究通过 HE 染色、油红 O 观察肝脏病理变化以及采用 16S rDNA 高通量测序技术对 SD 大鼠肠道菌群的组成、丰度进行系统研究,以进一步验证我们基于参芪化痰方通过肠道菌群改善 T2DM-NAFLD 疾病相关假设的观点。

1 材料与方法

1.1 试验药物

参芪化痰方浸膏组成:人参 15g,黄芪 15g,天花粉 10g,生地黄 10g,丹参 10g,山药 10g,山茱萸 10g,制大黄 6g,陈皮 10g,半夏 10g,茯苓 10g (成人一日剂量)。1mL 浸膏中约含 12.06g 原生药。

1.2 动物

SPF 级 8 周龄雄性 SD 大鼠 24 只,体质量 (200±20) g,由成都达硕实验动物有限公司提供,动物生产合格证号:SYXK (JI) 2014-124。适应性饲养 10 天,环境温度: (20~25) °C,相对湿度: 40%~60%,自然昼夜节律光照,自由获取食物和饮用水。干预期间空白组给予普通饲料饲养,其余组给予高脂饲料饲养。本实验已通过成都中医药大学实验动物伦理委员会批准 (审批号: 2024159)。

1.3 主要试剂

高脂饲料 (45% 脂肪供能高脂) 购自江苏协同生物工程有限责任公司 (批号: 20221210); 链脲佐菌素 (Streptozotocin, STZ)、柠檬酸钠缓冲液 0.1mol/L, pH4.5, 无菌溶液均购自长沙仪贝加

生物科技有限公司(批号:S0130)。苏木素染液(Harris)(批号:BA4041)、伊红染液(水溶性)(批号:BA4024)、油红O染色液(批号:BA4081)均购自珠海贝索生物技术有限公司。MagPure Soil DNA LQ Kit 购自Magen(批号:D6356-02), Qubit dsDNA Assay Kit 购自Life Technologies(批号:Q32854), Tks Gflex DNA Polymerase 购自Takara(批号:R060B)。

1.4 主要仪器

GA-3型血糖仪(三诺生物传感股份有限公司);台式高速离心机来源于Eppendorf(型号:Centrifuge 5418),PCR仪来源于Bio-rad(型号:580BR10905),电泳仪来源于Tanon(型号:HE-120),凝胶成像仪来源于Tanon(型号:2500)。

1.5 模型的建立与给药

采用随机数字表法,将SD大鼠均等归入空白组、模型组、参芪化痰方组,空白组给予普通饲料,其余两组给予高脂饲料,高脂饲料诱导4周后,模型组和参芪化痰方组(禁食不禁水12h以上)将STZ溶解于 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 柠檬酸缓冲液中($\text{pH}4.5$),配制成 1% 溶液,按 $35\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量一次性腹腔注射,同时空白组以等体积柠檬酸缓冲液注射。72h后尾静脉采血测定随机血糖,随机血糖 $\geq 16.7\text{mmol/L}$ 或空腹血糖 $\geq 11.1\text{mmol/L}$ 视为造模成功。造模成功后参芪化痰方组给予 $12.06\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 灌喂参芪化痰方浸膏,空白组和模型组按 $5\text{mL}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 灌喂生理盐水,每3天称体质量1次,根据体质量变化调整剂量,连续给药8周,给药过程中无大鼠死亡。

1.6 指标检测

1.6.1 糖脂代谢相关指标检测 分别在给药前、给药后第4周和第8周测各组大鼠FBG。检测前大鼠禁食不禁水12h,使用酒精消毒尾部后,予一次性无菌采血针取血,通过血糖仪检测大鼠尾静脉血血糖并及时记录。

1.6.2 肝脏组织学检查 于离心管加入多聚甲醛,常温下固定肝组织,乙醇脱水,无水乙醇一二甲苯浸泡,将已处理的组织石蜡包埋,将蜡块切片至 $5\sim 8\mu\text{m}$ 厚度,脱蜡,HE染色后,于显微镜下观察肝组织形态学变化并拍照。

取部分新鲜肝脏置于冰冻切片机上切取冰冻组织,甲醛-钙固定10min,蒸馏水洗涤,60%异丙醇浸洗30s,油红O染液染色15min,60%异丙醇洗去多余染液,苏木素复染5min,蒸馏水洗涤3次,甘油明胶封片,光镜下观察病理改变。

1.6.3 16S rDNA测序 收集大鼠盲肠粪便,样本 -80°C 冷冻保存。外送大鼠粪便样品,提取总DNA并质检,筛选优质样本,取适量样本DNA对V3-V4区测序分析。对扩增产物进行测序得到有效序列,去除嵌合体,进一步获得样品原始数据的优化序列。对相似度达到97%的序列进行聚类分析,得到操作分类单元(Operational Taxonomic Units, OTU),在此基础上进行Alpha多样性、Beta多样性指数分析和门、属菌群相对丰度分析。本次测序由上海欧易生物医学科技有限公司完成。

1.7 统计学方法

所有数据采用SPSS 27.0进行数据处理和统计学分析,结果用($\bar{x}\pm s$)表示。采用单因素方差分析进行组间比较以及重复测量方差分析的方法进行组内比较,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 参芪化痰对大鼠血糖水平及胰岛素抵抗的影响

与空白组相比,模型组大鼠的FBG均显著升高($P<0.05$)。参芪化痰方干预后大鼠的FBG均显著降低($P<0.05$),详见表1。

表1 不同时间点各组大鼠血糖情况($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

组别	W0	W4	W8
空白组	$6.59\pm 0.40^{\#}$	$5.91\pm 0.30^{\#}$	$5.65\pm 0.26^{\#}$
模型组	$25.49\pm 5.64^{*}$	$25.23\pm 7.05^{* \#}$	$25.76\pm 5.67^{* \#}$
参芪化痰方组	$22.34\pm 4.26^{*}$	$17.23\pm 1.88^{* \#}$	$12.70\pm 2.05^{* \#}$

(注:与空白组比较: $^{\#}P<0.05$;与模型组比较: $^{*}P<0.05$;W0:给药前;W4:给药第4周;W8:给药第8周)

2.2 参芪化痰对大鼠肝脏组织病理学的影响

HE染色结果显示,空白组大鼠肝脏组织结构正常,肝细胞形态正常,边界清晰,排列有序,无脂肪变性、气球样变性及炎症浸润等;模型组大鼠肝脏组织可见肝细胞肿胀明显,边界模糊,排列紊乱,出现弥漫空泡状改变,细胞内可见大小不等的脂滴,细胞核被脂滴挤向细胞一侧或部分消失,肝脏组织呈中度脂肪变性,出现炎性浸润,弥漫水肿;与模型组相比,参芪化痰方组大鼠肝脏组织排列较整齐,细胞水肿、脂肪变性及炎细胞浸润明显减轻。HE染色显示肝脏损伤程度组间比较:空白组 $<$ 参芪化痰方组 $<$ 模型组,见图1。

油红O结果显示,空白组大鼠的肝脏中偶见散在肝细胞轻度脂肪变性且脂滴较小。模型组大鼠的肝脏弥漫重度脂肪变性,肝细胞中可见大量红色脂滴沉积且脂滴大小不等。参芪化痰方组大鼠的肝脏

弥漫轻度脂肪变性，肝细胞中可见少量红色脂滴沉积且脂滴较小，同空白组类似。油红 O 染色脂滴阳性信号平均 IOD 值组间比较：空白组 < 参芪化痰方组 < 模型组，见图 2。

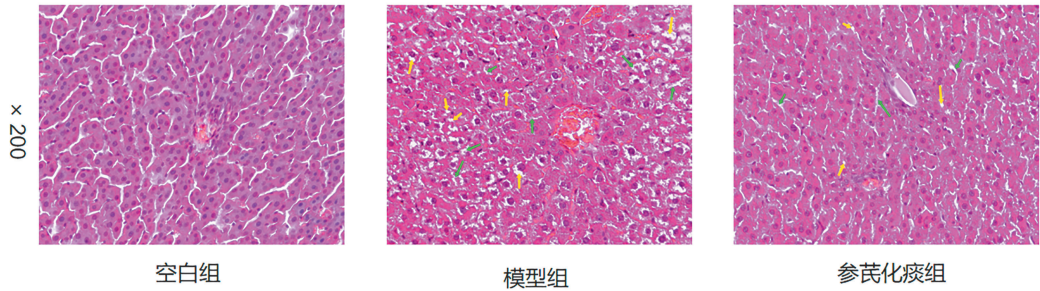


图 1 参芪化痰方对 T2DM-NAFLD 模型大鼠肝脏组织病理变化的影响 (HE×200)
注：黄色箭头为肝细胞弥漫空泡状改变，代表脂肪变性；绿色箭头代表水肿。

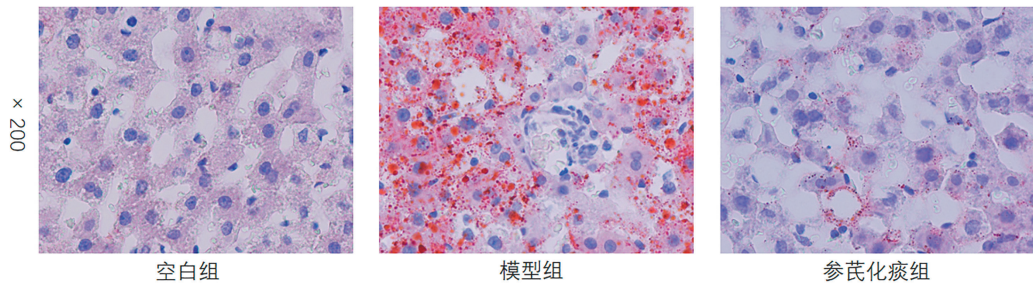


图 2 参芪化痰方对 T2DM-NAFLD 模型大鼠肝脏脂质情况理的影响 (油红 O 染色，×200)

2.3 参芪化痰方对大鼠肠道菌群测序生物信息学的影响

2.3.1 参芪化痰方对大鼠肠道菌群群落结构的影响 本实验根据 ASVs 聚类分析结果对不同分组之间共有、特有的菌群进行对比分析，并绘制成花瓣图进行展示。空白组、模型组和参芪化痰方组共有 121 种菌群，同时三个组分别有新的特有菌群产生，提示模型组以及参芪化痰方的干预会导致肠道菌群的数目发生变化，见图 3。

2.3.2 参芪化痰方对大鼠肠道菌群组成的影响 多样性分析结果显示，3 组之间存在较大差异。分别从门、属水平选取丰度最高的类群，分析 3 组间的物种差异。

在门水平上，TOP10 的肠道菌群如图 4 所示。其中，拟杆菌门 (*Bacteroidota*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*)、脱硫弧菌门 (*Desulfobacterota*) 是 3 组的主要门，但在各组中组成不同。在空白组中，*Bacteroidota* 拟杆菌门 (56.10%) 的相对丰度，明显高于模型组 (46.65%) 和参芪化痰方组 (42.13%)，三组间的差异有统计学意义 ($P<0.05$)。在参芪化痰方组中，厚壁菌门 (51.84%) 的相对丰度，明显高于模型组 (45.43%) 和空白组 (33.21%)。与空白

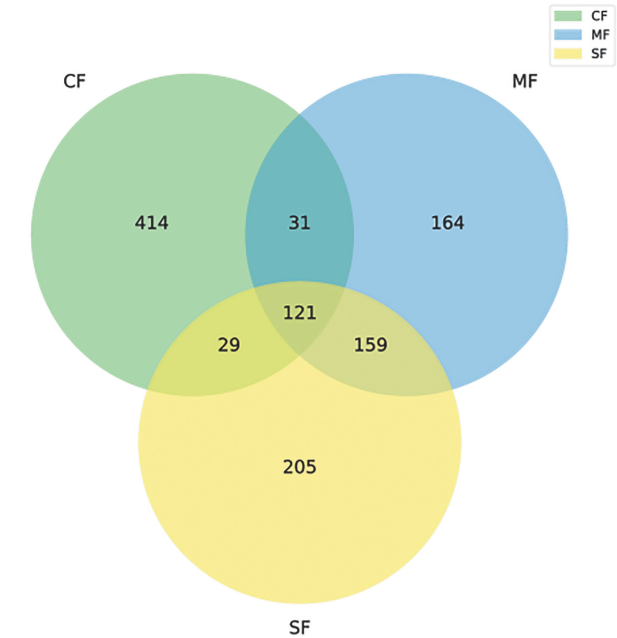


图 3 A-ASVs 聚类分析花瓣图
注：CF：空白组；MF：模型组；SF：参芪化痰方组，下同。

组 (8.99%) 相比，模型组 (3.51%) 的脱硫弧菌门，有所降低。但与模型组相比，参芪化痰方组 (3.97%) 的脱硫弧菌门，有所升高。因此，在参芪化痰方干预后厚壁菌门和脱硫弧菌门是具有回调作用的菌群。

在属水平上,选择丰度较高的前15个物种进行统计分析,结果表明,肠道菌群的分布在3组间发生显著变化,见图4。在 *Muribaculaceae* 方面,与空白组(28.65%)相比,模型组(18.14%)和参芪化痰方组(17.14%)均有所降低。在 *Prevotella* 方面,与空白组(14.12%)相比,模型组(16.12%)较高,参芪化痰方组(13.47%)降低。说明参芪化痰方的干预能使肠道菌群的组成发生改变。此外,布劳特氏菌属(*Blautia*)三组间的差异有统计学意义($P<0.05$),与空白组相比,参芪化痰方

组显著升高。乳梭菌属(*Lachnoclostridium*)三组间的差异有统计学意义($P<0.01$),与空白组和模型组相比,参芪化痰方组显著升高。克里斯滕森菌属(*Christensenellaceae_R-7_group*)三组间的差异有统计学意义($P<0.05$),与空白组和模型组相比,参芪化痰方组显著升高。普雷沃菌属(*Prevotellaceae_Ga6A1_group*)三组间的差异有统计学意义($P<0.001$),与空白组相比,参芪化痰方组显著降低。*UCG-003*三组间的差异有统计学意义($P<0.05$),与模型组相比,参芪化痰方组显著降低。

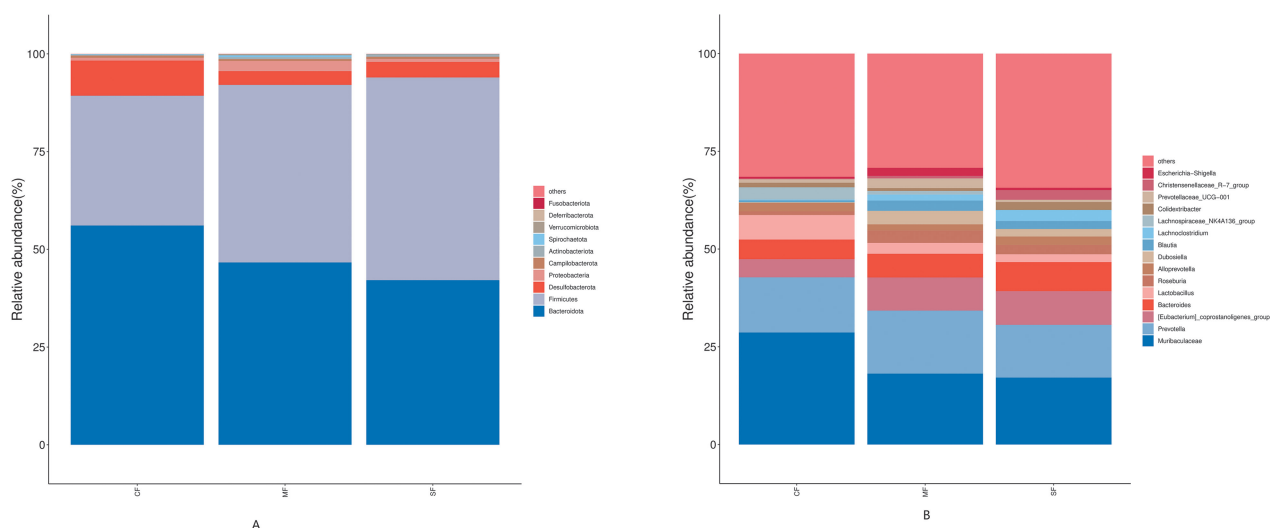


图4 A- 门水平肠道菌群 TOP10 相对丰度; B- 属水平肠道菌群 TOP15 相对丰度

2.3.3 参芪化痰方对糖尿病大鼠肠道菌群 Alpha 多样性的影响 Chao1 指数越大,说明物种丰富度越高。Shannon 指数越大,说明群落多样性越高,同时可以反映群落分布均匀度。Simpson 指数越高,表明群落多样性越高。ACE 指数越大,代表群落中物种数目越高。

由图5可知,与空白组相比,模型组的肠道菌群的丰富度、多样性、均匀度都有明显的降低,然而在参芪化痰方的干预后,肠道菌群的丰富度、多样性、均匀度都有明显的回升。此外,参芪化痰方组的 ACE 指数及 Chao1 指数均高于空白组,即参芪化痰方能显著增加肠道菌群的丰富度、多样性、均匀度。

Specaccum 物种累积曲线,用于描述随着抽样量的增大物种增加的状况,在生物多样性和群落调查中,被广泛用于抽样量充分性的判断以及物种丰富度估计。曲线趋于平缓(图6),提示 16S rDNA 扩增子测序中检测到的物种并不会随着样本量的增加而增多,本实验采集的样本量充分。

Rank Abundance 丰度曲线用于同时解释样品多

样性的两个方面,即样品所含物种的丰富程度(指一个群落中物种数目的多寡)和均匀程度(指一个群落中全部物种个体数目分配的均匀程度)。物种的丰富程度由曲线在横轴上的长度来反映,曲线越宽(横轴的跨度越大),表示物种的组成越丰富;物种组成的均匀程度由曲线的形状来反映,曲线越平坦(纵轴的跨度越小),表示物种组成的均匀程度越高。如图7可知,在水平方向上,物种组成丰富度:空白组>参芪化痰方组>模型组。在垂直方向上,与模型组相比,空白组与参芪化痰方组的曲线更加平缓,说明其样本中物种更加均匀。

2.3.4 参芪化痰方对糖尿病大鼠肠道菌群 β 多样性的影响 PCoA 结合 Adonis 来判断分组差异是否具有显著性。根据 Bray Curtis 距离算法,得到样本的分布情况,三组样本组内样本点相对聚集,而组间相对离散,说明三组的组间样本具有物种差异。如图7所示,组间差异显著, $P=0.002$ 。

2.3.5 参芪化痰方对糖尿病大鼠肠道菌群多元变量统计分析 LEfSe 是一种用于高维数据生物标

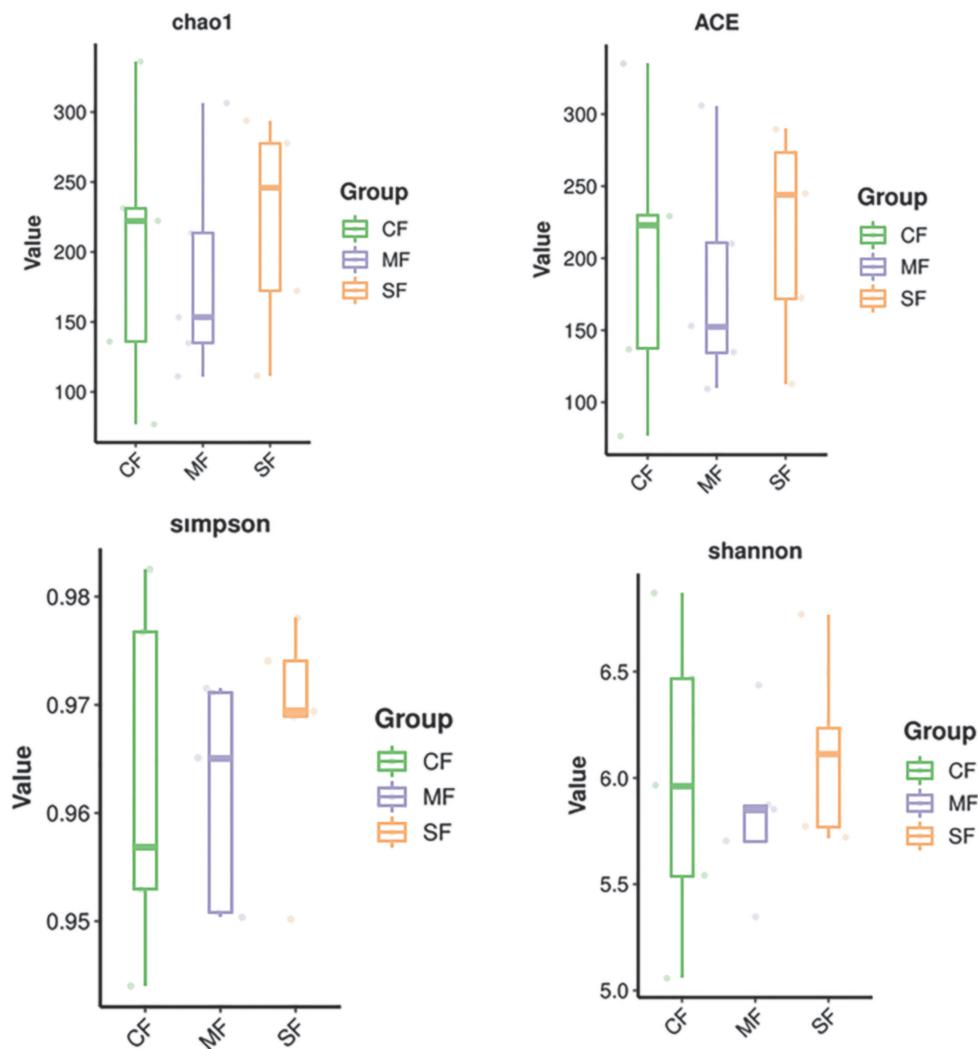


图5 各组大鼠肠道菌群 α 多样性分析

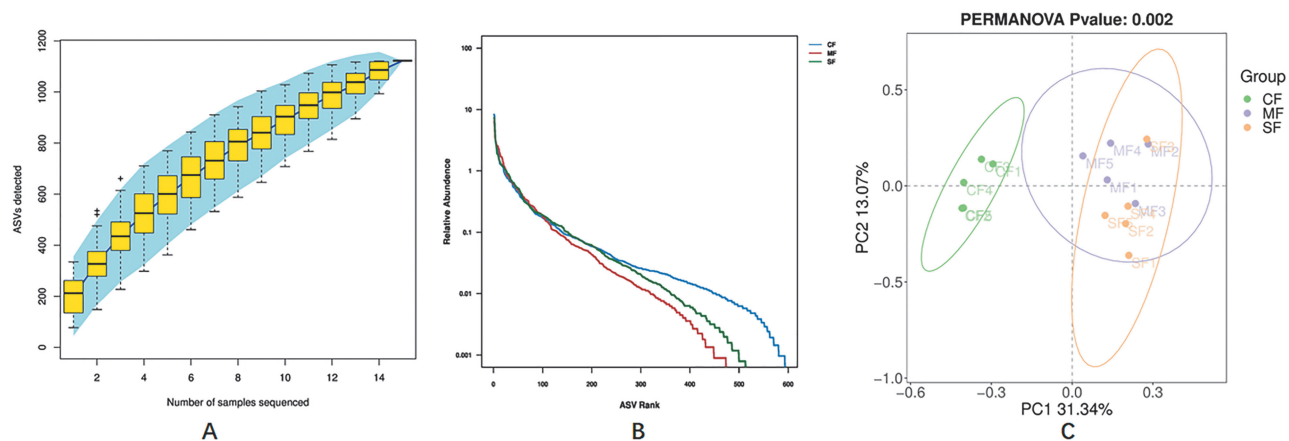


图6 各组大鼠肠道菌群稀释曲线及 β 多样性分析

注：A-Specaccum 物种累积曲线；B-Rank Abundance 丰度曲线；C-PCoA 分析。

识分析和揭示组间具有统计学差异的生物标志物，强调统计意义和生物相关性。为确定可能与改善T2DM-NAFLD大鼠相关的肠道菌群，本研究采用线性判别分析（LEfSe）比较3组间肠道菌群差

异，LDA 阈值 >3.5 。图7显示了经LEfSe分析后的组间差异物种展示。由图可知，三组间比较时，*c-Clostridia*、*o-Lachnospirales*、*f-Lachnospiraceae*的LDA值较大，可以作为参芪化痰方组菌群

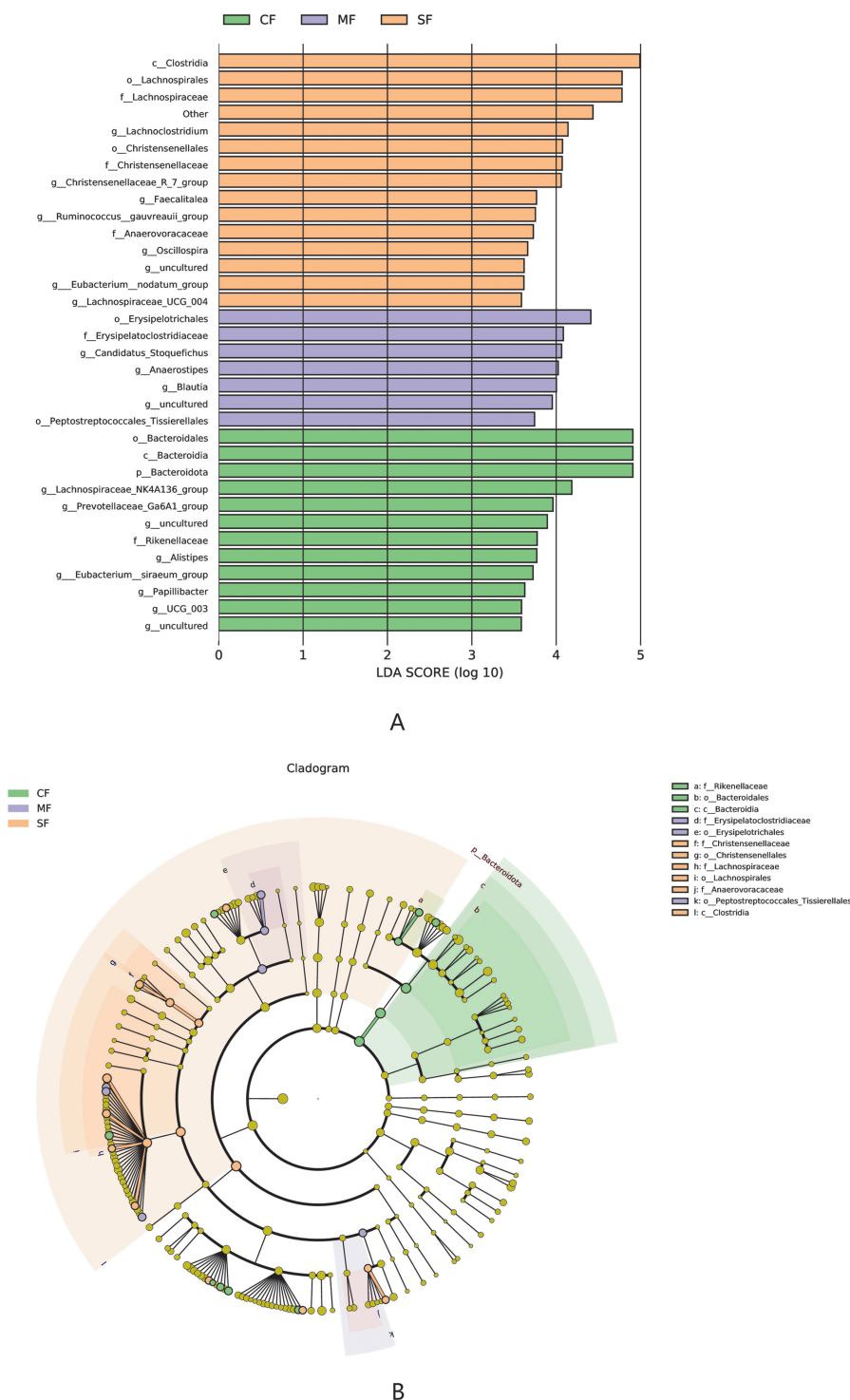


图7 各组大鼠肠道菌群 LefSe 分析

注：A：三组大鼠的 LDA 得分直方图，LDA 阈值 >3.5；B：用分支图表示三组大鼠之间的显著差异；从内到外的彩色节点代表从门到属的分类单元。

结构特征的细菌标志物；*o-Erysipelotrichales*、*f-Erysipelatoclostridiaceae*、*g-Candidatus_Stoquefichus* 的 LDA 值较大，可以作为模型组菌群结构特征的细菌标志物；*o-Bacteroidales*、*c-Bacteroidia*、*p-Bacteroidota* 的 LDA 值较大，可以作为空白组菌群结构特征的细菌标志物。

3 讨论

与前人的研究一致，SD 大鼠在高脂饲料诱导以及 STZ 注射后 FBG 水平出现显著异常；随着肝功能的损伤和血糖的升高，T2DM-NAFLD 模型组大鼠出现了胰岛素抵抗和葡萄糖耐受的现象；病理学研究还表明模型组肝脏见大量弥漫重度脂肪变

性,肝细胞中可见大量红色脂滴沉积且脂滴大小不等^[20]。本研究表明,参芪化痰方治疗改善了糖脂代谢,减少了肝脏中的脂滴沉积,修复了肝脏的病理损伤。总之,这些结果表明参芪化痰治疗改善了肝脏的脂质代谢功能和胰岛素抵抗。

随着对“肠肝轴”的了解增加和粪便扩增子测序的普及,肠道菌群在T2DM-NAFLD的发病机制中占据了无可争议的地位。肠道菌群可以影响微生物群-肠-肝轴以调节肠道代谢^[21]。与我们的研究类似,T2DM-NAFLD肠道菌群的组成和丰度在动物和人类研究中都显示出不同程度的变化^[22-24]。因此,通过调节肠道微生态,恢复“肠道菌群与宿主”的正常相互作用,调节血糖水平,促进糖脂代谢,修复肝脏病理损伤等手段,可能有助于T2DM-NAFLD的防治。

本研究发现,与模型组以及空白组比较,参芪化痰方组的肠道菌群 α 多样性无明显差异,但 β 多样性存在显著差异($P<0.05$)。值得注意的是,参芪化痰方对T2DM-NAFLD大鼠的肠道菌群有显著的影响。

在门水平上,与模型组相比,参芪化痰方组的厚壁菌门和脱硫弧菌门相对丰度显著增加。研究表明,厚壁菌门是产生丁酸的优势菌^[25]。乙酸、丙酸和丁酸占总短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFA)的90%~95%^[26]。其中,丁酸增加胰岛素敏感性^[27],发挥抗炎作用^[28],调节能量代谢,增加瘦素基因表达^[29],其丰度的增加可以减少能量摄入,从而影响碳水化合物发酵和脂多糖代谢^[30]。丁酸已被证明可以预防、减弱胰岛素抵抗。增加SCFAs的产生,减少脂肪堆积,缓解NAFLD相关的病理表型^[31,32]。在属水平上,与空白组和模型组相比,参芪化痰方组的*Blautia*、*Lachnoclostridium*、*Christensenellaceae_R-7_group*菌群丰度显著升高。这与之之前的相关研究一致^[20,33,34]。在人群研究中显示*Blautia*的相对丰度与内脏脂肪蓄积及肥胖相关的炎症水平呈负相关,其可能的作用机制与增加肠道中SCFA的生成有关^[35]。在一些研究中,*Blautia*已被证明是一种潜在的有益细菌可以改善NAFLD或肥胖^[36,37]。此外,*Lachnoclostridium*的升高,提示潜在有益菌属的增加,这已被大量的研究发现^[20,33,34]。优势细菌种类在很大程度上决定了肠道微生物群落的功能。因此,根据这些数据,我们大胆推断*Lachnoclostridium*可能会改善T2DM-NAFLD大鼠病情的发展和进展。已有研究表明,

增加*Christensenellaceae_R-7_group*的丰度可以抑制糖尿病的症状^[38]。几种产生SCFA的菌群的消耗是T2DM患者的另一个特征^[39]。在本研究中,通过参芪化痰方的干预增加产生SCFA的菌群的丰度,加强了肠道微生物组与宿主抗糖尿病作用之间的相互作用。前人已经证实,增加产生SCFA的细菌的丰度可以通过减少肠道内毒素释放来缓解炎症,胰岛素抵抗和T2DM症状^[40]。

与空白组相比,参芪化痰方干预后的*Prevotellaceae_Ga6A1_group*的菌群丰度显著降低。与shen^[41]的研究不一致,与Yue^[42]和Feng^[43]等人的研究一致。*Prevotellaceae_Ga6A1_group*是产生SCFA的细菌^[41,44]。与肥胖,糖尿病和心血管疾病等各种疾病呈负相关^[45]。与模型组相比,参芪化痰方干预后UCG-003显著降低,与Jinato^[46]和Hui^[47]的研究一致。UCG-003是肠道中的致病菌,其丰度降低,说明参芪化痰方的干预效果是可观的。因此,这些数据表明,参芪化痰方干预后可能发生T2DM-NAFLD大鼠肠道菌群的重组。

综上所述,本研究通过16SrDNA高通量测序发现SD大鼠存在不同程度的菌群紊乱,而参芪化痰方能在一定程度回调SD大鼠的肠道菌群,使肠道菌群趋向正常,改善肠道菌群紊乱的状态,同时调节血糖,修复肝脏病理损伤。因此,根据本研究结果推测,参芪化痰方可能通过调节肠道菌群来调节血糖,同时修复肝脏病理损伤。为中药复方治疗2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝提供了新的理论依据。

本研究仍然存在一定的局限,参芪化痰方对T2DM-NAFLD的干预时间相对较短,样本量较少,导致参芪化痰方干预后部分菌群差异不明显,恢复不完全。在随后的研究中,我们将扩大样本量,以进一步确认参芪化痰方对T2DM-NAFLD大鼠肠道菌群的影响。此外,我们仅观察参芪化痰方对T2DM-NAFLD大鼠肠道菌群不同分类水平的影响。在未来的研究中,我们将进一步研究不同菌株的潜在机制。

参考文献

- [1] Liu L, Zhang J, Cheng Y, et al. Gut microbiota: a new target for T2DM prevention and treatment[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2022, 13: 958218.
- [2] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF diabetes atlas: global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045[J]. Diabetes Res

- Clin Pract, 2022, 183: 109119.
- [3] Anon. Diabetes is "a pandemic of unprecedented magnitude" now affecting one in 10 adults worldwide[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2021, 181: 109133.
- [4] Ogurtsova K, Guariguata L, Barengo N C, *et al.* IDF diabetes atlas: global estimates of undiagnosed diabetes in adults for 2021[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2022, 183: 109118.
- [5] 赵芳, 张明霞, 武全莹. 从护理角度解读《2022年版中国老年2型糖尿病防治临床指南》[J]. 护理实践与研究, 2023, 20(9): 1263-1268.
- [6] Qin JH, Ling X, Wang QY, *et al.* Integrated gut microbiota and urine metabolite analyses of T2DM with NAFLD rat model[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2023(11): 6478-6494.
- [7] 张亚奇, 秦灵灵, 张程斐, 等. 糖痹康颗粒对2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝大鼠PI3K通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(9): 71-80.
- [8] Younossi Z, Tacke F, Arrese M, *et al.* Global perspectives on nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis[J]. Hepatology, 2019, 69(6): 2672-2682.
- [9] 中华医学会内分泌学分会, 中华医学会糖尿病学分会. 中国成人2型糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病管理专家共识[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2021, 37(7): 589-598.
- [10] 彭思涵, 谢子妍, 谢春光, 等. 谢春光教授以气阴两虚为糖尿病核心病机的学术思想探析[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(4): 83-85.
- [11] 张新霞, 刘万富, 熊冉, 等. 参芪复方对初诊2型糖尿病气阴两虚兼血瘀证患者肠道微生态的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(22): 72-77.
- [12] 张愿, 谢红艳, 周琳悦, 等. 加味参芪复方治疗初诊脾虚型2型糖尿病临床观察[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(12): 2967-2970.
- [13] 张愿, 谢红艳, 鄢然, 等. 参芪复方加味治疗脾虚型2型糖尿病及防治糖尿病大血管病变的临床观察[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(9): 2125-2127.
- [14] 龚光明, 刘桢, 张翕宇, 等. 参芪复方调控PI3K/AKT/mTOR信号通路改善糖尿病GK大鼠胰岛功能减少血糖波动的实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2020, 47(9): 173-176, 225.
- [15] 刘桢, 张翕宇, 康健, 等. 参芪复方对糖尿病血糖波动模型大鼠胰腺组织生物钟相关基因与肠道菌群的影响[J]. 中医杂志, 2020, 61(2): 152-156.
- [16] Zhang L, Chu J, Hao W, *et al.* Gut Microbiota and type 2 diabetes mellitus: association, mechanism, and translational applications[J]. Mediators Inflamm, 2021: 5110276.
- [17] Vallianou NG, Stratigou T, Tsagarakis S. Microbiome and diabetes: where are we now?[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2018, 146: 111-118.
- [18] Saltzman ET, Palacios T, Thomsen M, *et al.* Intestinal microbiome shifts, dysbiosis, inflammation, and non-alcoholic fatty liver disease[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 61.
- [19] Yao N, Yang Y, Li X, *et al.* Effects of dietary nutrients on fatty liver disease associated with metabolic dysfunction (MAFLD): based on the intestinal-hepatic axis[J]. Front Nutr, 2022, 9: 906511.
- [20] Cui H, Li Y, Wang Y, *et al.* Da-Chai-Hu decoction ameliorates high fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease through remodeling the gut microbiota and modulating the serum metabolism[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 584090.
- [21] Wang SZ, Yu YJ, Adeli K. Role of gut microbiota in neuroendocrine regulation of carbohydrate and lipid metabolism via the microbiota-gut-brain-liver axis[J]. Microorganisms, 2020, 8(4): 527.
- [22] 刘佳绣, 胡海霞, 林心君, 等. 石斛合剂对2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝大鼠糖脂代谢及PINK1/Parkin信号通路的影响[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(5): 1072-1075.
- [23] 钱方方, 戴梅清, 赵丽, 等. 血清碱性磷酸酶与2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝病的相关性分析[J]. 临床肝胆病杂志, 2023, 39(1): 83-88.
- [24] 项逸欣, 黄雅兰, 周敏, 等. 左归降糖清肝方通过调控FoxO1/MTP/APOB信号通路改善2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝糖脂代谢[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(16): 4438-4445.
- [25] Smith AB, Jenior ML, Keenan O, *et al.* Enterococci enhance *Clostridioides difficile* pathogenesis[J]. Nature, 2022, 611(7937): 780-786.
- [26] Cummings JH, Pomare EW, Branch WJ, *et al.* Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood[J]. Gut, 1987, 28(10): 1221-7.
- [27] Gao Z, Yin J, Zhang J, *et al.* Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice[J]. Diabetes, 2009, 58(7): 1509-17.
- [28] Säemann MD, Böhmig GA, Osterreicher CH, *et al.* Anti-inflammatory effects of sodium butyrate on human monocytes: potent inhibition of IL-12 and up-regulation of IL-10 production[J]. Faseb j, 2000, 14(15): 2380-2.
- [29] Soliman MM, Ahmed MM, Salah-Eldin AE, *et al.* Butyrate regulates leptin expression through different signaling pathways in adipocytes[J]. J Vet Sci, 2011, 12(4): 319-23.
- [30] Sharpton SR, Yong GJM, Terrault NA, *et al.* Gut microbial metabolism and nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatol Commun, 2019, 3(1): 29-43.
- [31] Ni Y, Ni L, Zhuge F, *et al.* The gut microbiota and its metabolites, novel targets for treating and preventing non-alcoholic fatty liver disease[J]. Mol Nutr Food Res, 2020, 64(17): e2000375.
- [32] Oliver A, Chase AB, Weihe C, *et al.* High-fiber, whole-food dietary intervention alters the human gut microbiome but not fecal short-chain fatty acids[J]. mSystems, 2021, 6(2): e00115-21.

- [33] Du Y, Neng Q, Li Y, *et al.* Gastrointestinal autonomic neuropathy exacerbates gut microbiota dysbiosis in adult patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 804733.
- [34] Burakova I, Smirnova Y, Gryaznova M, *et al.* The effect of short-term Consumption of Lactic acid bacteria on the gut microbiota in obese people[J]. *Nutrients*, 2022, 14(16): 3384.
- [35] Ozato N, Saito S, Yamaguchi T, *et al.* Blautia genus associated with visceral fat accumulation in adults 20-76 years of age[J]. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2019, 5(1): 28.
- [36] Zheng J, Zhang J, Guo Y, *et al.* Improvement on metabolic syndrome in high fat diet-induced obese mice through modulation of gut microbiota by sangguayin decoction[J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 246: 112225.
- [37] Fu X, Cao C, Ren B, *et al.* Structural characterization and in vitro fermentation of a novel polysaccharide from *Sargassum thunbergii* and its impact on gut microbiota[J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 183: 230-239.
- [38] Yang L, Dai Y, HE H, *et al.* Integrative analysis of gut microbiota and fecal metabolites in metabolic associated fatty liver disease patients[J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 969757.
- [39] Li ZR, Jia RB, Luo D, *et al.* The positive effects and underlying mechanisms of *Undaria pinnatifida* polysaccharides on type 2 diabetes mellitus in rats[J]. *Food Funct*, 2021, 12(23): 11898-11912.
- [40] Zheng J, Chen M, YE C, *et al.* BuZangTongLuo decoction improved hindlimb ischemia by activating angiogenesis and regulating gut microbiota in diabetic mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 248: 112330.
- [41] Shen J, Zhang L, Wang Y, *et al.* Beneficial actions of essential fatty acids in streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus[J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 890277.
- [42] Yue S, Zhao D, Peng C, *et al.* Effects of theabrownin on serum metabolites and gut microbiome in rats with a high-sugar diet[J]. *Food Funct*, 2019, 10(11): 7063-7080.
- [43] Feng Y, Gao X, Meng M, *et al.* Multi-omics reveals the mechanisms of antidepressant-like effects of the low polarity fraction of *Bupleuri Radix*[J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 256: 112806.
- [44] Gu X, Li S, Lu M, *et al.* Investigation of *Gynura segetum* root extract (GSrE) induced hepatotoxicity based on metabolomic signatures and microbial community profiling in rats[J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 947757.
- [45] Wei X, Tao J, Xiao S, *et al.* Xiexin Tang improves the symptom of type 2 diabetic rats by modulation of the gut microbiota[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 3685.
- [46] Jinato T, Chayanupatkul M, Dissayabutra T, *et al.* Litchi-derived polyphenol alleviates liver steatosis and gut dysbiosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized double-blinded, placebo-controlled study[J]. *Nutrients*, 2022, (14): 2921.
- [47] Hui D, Liu L, Azami N L B, *et al.* The spleen-strengthening and liver-draining herbal formula treatment of non-alcoholic fatty liver disease by regulation of intestinal flora in clinical trial[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 1107071.

(收稿日期: 2025-02-10; 本文编辑: 叶世英)