

加味芍药甘草汤对慢传输型便秘大鼠肠道传输功能、肠道菌群及代谢产物含量的影响^Δ

张紫麒^{1*},周鸿雲^{1#},赵琼¹,邓媛¹,占煜²(1.成都中医药大学附属医院/临床医学院儿科,成都 610075; 2.成都市中西医结合医院/成都市第一人民医院肛肠科,成都 610095)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)02-0154-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.02.04



摘要 目的 观察加味芍药甘草汤对慢传输型便秘(STC)大鼠肠道传输功能、肠道菌群及其代谢产物γ-氨基丁酸(GABA)和5-羟色胺(5-HT)含量的影响。方法 将SD大鼠随机分为空白组(10只)和造模组(30只),雌雄各半。造模组大鼠以复方地芬诺酯灌胃法构建STC模型。将造模成功的大鼠随机分为模型组、加味芍药甘草汤组[56 g/(kg·d),以生药量计]、阳性对照药组[乳果糖2.09 g/(kg·d)],每组10只。各药物组大鼠灌胃相应药液,空白组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水,每天1次,连续14 d。实验期间,观察各组大鼠的一般情况;末次给药后,称定其体重并对粪便性状进行Bristol评分,检测粪便含水率、肠道推进率和肠内容物中GABA、5-HT含量,考察肠内容物中肠道菌群的多样性,并分析GABA、5-HT含量与菌群相对丰度的关联性。结果 与模型组比较,加味芍药甘草汤组大鼠体形瘦小、皮毛稀疏粗糙、行动迟缓等一般情况均有所改善,体重、Bristol评分、粪便含水率、肠道推进率、5-HT含量、Chao1和Shannon指数均显著升高,GABA含量、Simpson指数均显著降低($P<0.05$)。该组大鼠的肠道菌群可与空白组归为一类,但与模型组相距较远;该组脱硫杆菌门、厚壁菌门、拟杆菌门的相对丰度虽有回调,但与模型组比较差异均无统计学意义($P>0.05$);脱硫杆菌门是组间差异因素($P<0.05$)。GABA含量与拟杆菌门、蓝菌门、骱骨菌门、放线菌门的相对丰度呈负相关($P<0.01$ 或 $P<0.05$),5-HT含量与弯曲杆菌门的相对丰度呈正相关($P<0.05$)。结论 加味芍药甘草汤可改善STC模型大鼠粪便性状和肠道动力,上述作用可能与改善肠道菌群,进而影响肠内容物中GABA、5-HT含量有关;此外,GABA、5-HT含量可能与拟杆菌门、弯曲杆菌门等特定菌门的相对丰度显著相关。

关键词 加味芍药甘草汤;慢传输型便秘;肠道菌群;γ-氨基丁酸;5-羟色胺

Effects of Modified shaoyao gancao decoction on intestinal transit function, intestinal flora and metabolite content in slow transit constipation rat

ZHANG Ziqi¹, ZHOU Hongyun¹, ZHAO Qiong¹, DENG Yuan¹, ZHAN Yu²(1. Dept. of Pediatrics, the Affiliated Hospital/College of Clinical Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China; 2. Dept. of Anorectum, Chengdu Integrated TCM & Western Medicine Hospital/Chengdu First People's Hospital, Chengdu 610095, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To observe the effects of Modified shaoyao gancao decoction on intestinal transit function, intestinal flora and the contents of metabolites [γ aminobutyric acid (GABA) and 5-hydroxytryptamine (5-HT)] in slow transit constipation (STC) rats. **METHODS** SD rats were randomly divided into blank group (10 rats) and modeling group (30 rats), with half male and half female. The STC model was established by intragastric administration of Compound diphenoxylate tablets in the modeling group. The successfully modeled rats were randomly divided into model group, Modified shaoyao gancao decoction group [56 g/(kg·d), calculated by crude drug] and positive control group [lactulose 2.09 g/(kg·d)], with 10 rats in each group. Each administration group was given relevant medicine intragastrically, the blank group and model group received an equivalent volume of normal saline, once a day, for 14 consecutive days. During the experiment, the general situation of rats was observed in each group. After the last medication, the body weight was measured, and the Bristol score was used to evaluate the fecal characteristics. The fecal moisture content, intestinal propulsion rate, and the contents of GABA and 5-HT in intestinal content were detected; the diversity

^Δ 基金项目 国家自然科学基金青年科学基金项目(No. 82405479, No. 82004173);成都中医药大学附属医院科研项目基金(No. 20ZJ20)

* 第一作者 博士研究生。研究方向:小儿脾胃系统疾病的中医防治。E-mail: 727821391@qq.com

通信作者 主治医师,博士。研究方向:小儿肺脾系统常见病的中医防治研究。E-mail: echohongyun@163.com

of intestinal flora in intestinal contents was investigated, and the correlation between the contents of GABA, 5-HT and relative abundance of microbiota was analyzed. **RESULTS** Compared with the model group, general conditions such as small body shape, sparse and rough fur, and slow movement were all improved in Modified shaoyao gancao decoction group; body weight, Bristol score, fecal moisture content,

intestinal propulsion rate, 5-HT content, Chao1 index and Shannon index were increased significantly, while GABA content and Simpson index were decreased significantly ($P < 0.05$). The intestinal flora of rats in the Modified shaoyao gancao decoction group could be classified as the same as the blank group, but was far from the model group; the relative abundances of Desulfobacterota, Firmicutes and Bacteroidota in this group showed a tendency of pull back, but the differences were not statistically significant compared to model group ($P > 0.05$). Desulfobacterota was an intergroup differential factor ($P < 0.05$). The content of GABA was negatively correlated with the relative abundance of Bacteroidota, Cyanobacteria, Patescibacteria and Actinobacteriota ($P < 0.05$). The content of 5-HT was positively correlated with the relative abundance of Campilobacterota ($P < 0.05$). **CONCLUSIONS** Modified shaoyao gancao decoction can improve the fecal properties and intestinal motility of STC rats. Its mechanism may be related to improving intestinal flora and then affecting the contents of GABA and 5-HT in intestinal contents. In addition, the contents of GABA and 5-HT may be significantly correlated with the relative abundance of specific bacterial phyla such as Bacteroidota and Campilobacterota.

KEYWORDS Modified shaoyao gancao decoction; slow transit constipation; intestinal flora; γ aminobutyric acid; 5-hydroxytryptamine

功能性便秘是临床多发病之一,根据病理生理改变分为正常传输型、慢传输型、排便障碍型和混合型。其中,慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)是一类以结肠传输减慢为特点的顽固性便秘,约占功能性便秘的45.5%,是功能性便秘的常见类型^[1-2]。目前,STC发病机制尚不明确,学界普遍认为与肠动力障碍、肠道菌群失调、肠神经系统和中枢神经系统异常、神经递质改变等密切相关^[3]。研究表明,STC的发生与肠道菌群及其与宿主的共代谢产物[如 γ 氨基丁酸(γ aminobutyric acid, GABA)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)]等有关^[4]。同时,有研究显示,STC患者存在明显的肠道菌群失调,其体内有害菌种(如大肠埃希菌等)明显增多,肠道益生菌(如双歧杆菌等)大幅减少^[5-6]。多项研究报道指出,双歧杆菌属和乳酸杆菌属成员均能通过生成GABA来影响肠道5-HT的含量,进而改善STC患者的肠道动力^[7-9]。

加味芍药甘草汤由白芍、麦冬、玄参、火麻仁、枳实、厚朴、太子参、生白术、甘草组成,是成都中医药大学赵琼教授根据酸甘化阴名方“芍药甘草汤”并结合长期临床实践化裁而来,具酸甘化阴、养阴增液、益气通便之功效。本课题组前期研究证实了加味芍药甘草汤改善小儿便秘的疗效,并对其理法方药及主要成分的通便活性进行了初步探索^[10]。近期药理学研究报道,加味芍药甘草汤活性成分可提高便秘模型动物的结肠推进率、粪便含水率及排便量,并可改善其便秘症状,上述作用可能是通过正向调节肠道菌群的方式来实现的^[11-12]。基于此,本研究拟采用复方地芬诺酯灌胃构建STC大鼠模型,从肠道菌群及产物(GABA、5-HT)含量角度出发,进一步探讨加味芍药甘草汤改善STC的潜在机制,以期为STC的临床治疗提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括 QuantiFluor™ ST 型蓝色荧光定量系统(美国 Promega 公司), A200 型聚合酶链式反应(PCR)仪(杭州朗基科学仪器有限公司), REPS300

型电泳仪(上海天能科技有限公司), 1290 Infinity II 型超高效液相色谱仪、6495 LC/TQ 型三重四极杆质谱仪(美国 Agilent 公司)等。

1.2 药品与试剂

白芍、麦冬、玄参、火麻仁、枳实、厚朴、太子参、生白术、甘草饮片(批号分别为 D2209079、2210048、2206147、2206142、2207091、2210036、2111091、D2207058、2206076)均购自四川新荷花中药饮片股份有限公司,经成都中医药大学中药学教研室黄勤挽副教授鉴定均为真品。

乳果糖口服溶液(批号 366197,规格 15 mL:10 g)由 Fresenius Kabi Austria GmbH 生产;复方地芬诺酯片(批号 220501,每片含盐酸地诺酚酯 2.5 mg、硫酸阿托品 25 μ g)由广西河丰药业有限责任公司生产;活性炭、阿拉伯树胶(批号分别为 C14358027、C14362403)均购自上海麦克林生化科技股份有限公司;AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒购自美国 Axygen Biosciences 公司;SMRTbell™ Template 制备试剂盒购自美国 Pacific Biosciences 公司;GABA、5-HT 对照品(批号分别为 1ST7512、1ST157682,纯度分别为 99.6%、99.9%)均购自天津阿尔塔科技有限公司;甲醇、乙腈、甲酸为色谱纯,其余试剂为分析纯或实验室常用规格,水为超纯水。

1.3 实验动物

SPF 级健康 SD 大鼠 40 只,雌雄各半,4 周龄,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,实验动物许可证号为 SCXK(京)2019-0010。所有实验动物均饲养于成都中医药大学温江校区药理学实验室动物饲养中心[相对湿度(55 \pm 10)%,温度(25 \pm 2)°C,每 12 h 明暗交替,定时通风换气],以普通饲料喂养并自由饮水。所有实验程序均经过四川省实验动物学会福利伦理委员会批准(批准文号 P202303201)。

2 方法

2.1 药液和墨汁的制备

2.1.1 加味芍药甘草汤

称取饮片白芍 15 g、麦冬 10 g、玄参 10 g、火麻仁 10 g、枳实 8 g、厚朴 8 g、太子参 8 g、生白术 8 g、甘草 5 g(共

82 g),混合,以10倍量水浸泡30 min后,武火煮沸,转文火煎煮30 min,过滤;取药渣,同法再煎煮1次。合并2次水煎液,过滤,浓缩,得质量浓度为5.6 g/mL(以生药量计)的加味芍药甘草汤煎液。

2.1.2 阳性对照药

取乳果糖口服溶液适量,用生理盐水制成质量浓度为208.44 mg/mL的溶液,即配即用。

2.1.3 复方地芬诺酯

将复方地芬诺酯片研磨为细粉,用生理盐水配制成质量浓度为1.5 mg/mL的混悬液,即配即用。

2.1.4 墨汁

取阿拉伯胶50 g,加水400 mL,混合,煮沸至澄清透明,再加活性炭25 g,混匀并煮沸3次,冷却,用水定容至500 mL,于4 °C下保存,使用前搅拌均匀。

2.2 分组、造模与给药

大鼠适应性饲养3 d后,按随机数字表法分为空白组(10只)和造模组(30只),雌雄各半。造模组大鼠参考相关文献^[12,13-14],采用复方地芬诺酯[15 mg/(kg·d),每天1次,连续14 d]灌胃的方式构建STC模型;空白组大鼠灌胃等体积生理盐水。造模后,若大鼠出现体形干瘪瘦小、毛发竖立、拱背、活动减少、粪便质量减轻及颗粒变细等症状,大便Bristol评分较空白组显著降低,且首粒黑便排出时间(造模结束后立即禁食24 h,经口灌入墨汁10 mL/kg。从灌胃完毕开始计时,记录首粒黑便排出时间)较空白组显著延长,则视为STC模型复制成功。

造模期间大鼠无死亡,全部存活。将造模成功的大鼠随机分为模型组(10只),加味芍药甘草汤组(10只),阳性对照药组(10只),雌雄各半。本课题组前期临床研究表明,加味芍药甘草汤常规剂量治疗STC的疗效显著,故参考此剂量,予加味芍药甘草汤组大鼠相应药液56 g/(kg·d)(以生药量计);同法予阳性对照药组大鼠相应药液2.09 g/(kg·d),空白组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水;每天1次,连续14 d。

2.3 大鼠一般情况观察及体重、Bristol评分、粪便含水率检测

2.3.1 一般情况观察

实验期间,观察各组大鼠的精神、活动、毛发、摄食、饮水等一般情况。

2.3.2 体重、Bristol评分、粪便含水率检测

(1)体重:观察各组大鼠实验期间的体重变化情况,并记录末次给药后各组大鼠的体重。

(2)粪便Bristol评分:末次给药后,将大鼠单笼饲养,收集其24 h粪便,并按Bristol评分标准评估其粪便性状,具体标准如下:粪便存在分散的硬块,似坚果,记1分;粪便呈腊肠状,且成块,记2分;粪便呈腊肠状,但表面有裂缝,记3分;粪便似腊肠或蛇状,光滑柔软,记4分;粪便为软团,边缘清楚,记5分;粪便似糊状、绒状物,边缘不清,记6分;粪便为水样,无固状物,记7分^[13]。

(3)粪便含水率:取各组大鼠上述24 h粪便,称定粪

便湿重;于60 °C下恒温烘干12 h后,称定其干重,按下式计算粪便含水率:粪便含水率=(粪便湿重-粪便干重)/粪便湿重×100%^[13]。

2.4 大鼠肠道推进功能检测

采用墨汁灌胃法检测。结束上述指标检测后,随机选取每组4只大鼠,禁食、不禁水24 h,以墨汁10 mL/kg灌胃,30 min后以戊巴比妥钠30 mg/kg腹腔注射麻醉,再以颈椎脱臼法处死,随后立即剖开腹部,快速取出其肠道,在无张力的状态下测量大鼠的肠道全长及墨汁在肠道内的推进长度,按下式计算肠道推进率:肠道推进率=墨染肠管长度/肠道全长×100%^[13]。

2.5 大鼠肠内容物中GABA、5-HT含量的检测

取每组剩余6只大鼠,按“2.4”项下方法麻醉、处死、解剖,快速取出其肠内容物,采用液相色谱-串联质谱法检测其中GABA、5-HT含量。

(1)色谱与质谱条件:色谱柱为Agilent Eclipse Plus C₁₈(3.0 mm×150 mm,1.8 μm),以0.6%甲酸溶液(A)-乙腈(B)为流动相进行梯度洗脱(0~0.3 min,98%A;0.3~5 min,98%A→90%A;5~10 min,90%A→10%A;10~14.5 min,10%A→98%A),柱温为35 °C,进样量为5 μL。采用电喷雾离子源以多反应监测模式进行正离子扫描,用于定量分析的离子对分别为m/z 104.1→87.1(GABA)、m/z 177.4→160.0(5-HT)。

(2)样品检测:精密称取各组大鼠的肠内容物50 mg,置于2 mL EP管中,加入-20 °C预冷的80%乙腈400 μL沉淀蛋白,涡旋提取20 min,于4 °C下以12 000 r/min离心10 min;取上清液,以氮气流吹干,残渣以初始流动相100 μL复溶,于4 °C下以12 000 r/min离心10 min;取上清液,按上述色谱与质谱条件进样测定,记录峰面积,以外标法计算肠内容物中GABA、5-HT含量。方法学考察结果显示,GABA、5-HT检测质量浓度的线性范围分别为1.00~50.0、2.00~100 ng/mL(*r*>0.999);精密度、重复性等结果均符合2020年版《中国药典》(四部)的相关要求。

2.6 大鼠肠道菌群检测

采用第三代16S rRNA高通量测序技术检测。取“2.5”项下各组大鼠的肠内容物样本适量,使用相应试剂盒对样本进行基因提取和定量后,使用特定引物(515正向引物为5'-AGRGTTYGATYMTGGCTCAG-3',806反向引物为5'-RGYTACCTTGTTACGACTT-3',由杭州联川生物技术股份有限公司设计、合成)扩增16S rRNA的V1~V9区域。所得产物经回收、纯化后,使用蓝色荧光定量系统定量;以SMRTbell™ Template制备试剂盒构建测序文库,并进行测序分析。采用DADA 2软件对测序数据进行去噪处理,得到扩增子序列变体(amplicon sequence variants,ASV)特征序列和丰度表格,使用SILVA数据库(<https://www.arb-silva.de>)进行分类学注释,通过Chao1、Goods_coverage、Shannon、Simpson指数(以Chao1指数表征群落丰度,Shannon、Simpson指数表征

群落多样性, Goods_coverage 指数反映测序深度)进行肠道菌群的 α 多样性分析, 通过计算 4 种距离 (weighted_unifrac、unweighted_unifrac、jaccard、bray_curtis) 以主成分分析 (principal component analysis, PCA) 法进行肠道菌群的 β 多样性评价; 同时, 从门水平分析肠道菌群的物种组成, 并通过方差分析进行组间比较。

2.7 GABA、5-HT 含量与肠道菌群相对丰度的相关性分析

对各组大鼠肠内容物中 GABA、5-HT 含量与肠道菌群相对丰度进行 Pearson 相关性分析, 并绘制热图。

2.8 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 t 检验 (方差齐) 或校正 t 检验 (方差不齐); 多组间比较采用单因素方差分析, 事后多重比较采用 LSD- t 检验 (方差齐) 或 Tamhane's T^2 检验 (方差不齐)。不符合正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示, 组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 加味芍药甘草汤对大鼠一般情况、体重、Bristol 评分、粪便含水率的影响

与空白组比较, 模型组大鼠形体瘦小, 皮毛稀疏粗糙, 行动变迟缓, 其体重、Bristol 评分、粪便含水率均显著降低 ($P<0.05$); 与模型组比较, 各药物组大鼠上述一般情况均有所改善, 其体重、Bristol 评分、粪便含水率均显著升高 ($P<0.05$)。结果见表 1。

表 1 各组大鼠体重、Bristol 评分及粪便含水率比较 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	体重/g	Bristol 评分/分	粪便含水率/%
空白组	251.50 ± 58.85	4.00 ± 0.01	50.12 ± 7.40
模型组	173.40 ± 22.94 ^a	2.67 ± 0.49 ^a	30.27 ± 9.52 ^a
阳性对照药组	218.00 ± 37.86 ^b	3.92 ± 0.29 ^b	52.64 ± 15.38 ^b
加味芍药甘草汤组	230.00 ± 38.25 ^b	3.92 ± 0.29 ^b	62.27 ± 6.26 ^b

a: 与空白组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$ 。

3.2 加味芍药甘草汤对大鼠肠道推进率的影响

与空白组 [(81.34 ± 11.19)%] 比较, 模型组大鼠的肠道墨汁推进长度明显缩短, 肠道推进率 [(33.51 ± 9.52)%] 显著降低 ($P<0.01$); 与模型组比较, 加味芍药甘草汤组和阳性对照药组大鼠的肠道墨汁推进长度均有所延长, 其推进率 [(75.57% ± 12.44)%、(52.64 ± 15.38)%] 均显著升高 ($P<0.05$)。结果见图 1。

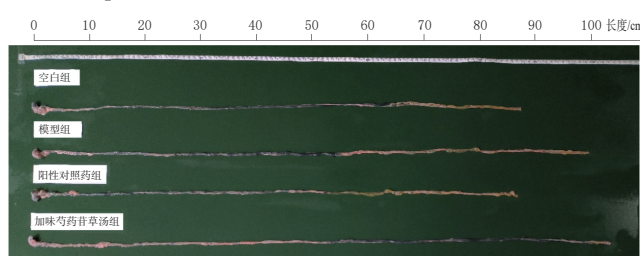
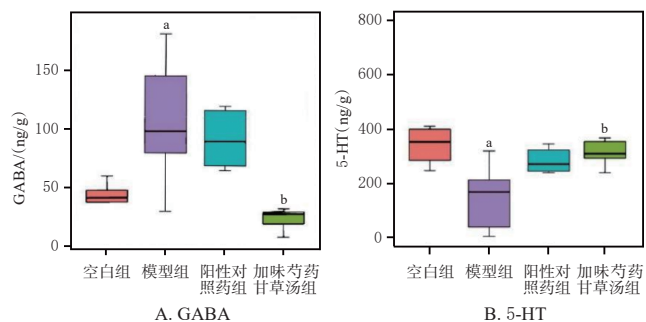


图 1 各组大鼠肠道墨汁推进情况比较

3.3 加味芍药甘草汤对大鼠肠内容物中 GABA、5-HT 含量的影响

与空白组比较, 模型组大鼠肠内容物中 GABA 含量显著升高, 5-HT 含量显著降低 ($P<0.05$); 与模型组比较, 加味芍药甘草汤组大鼠肠内容物中 GABA 含量显著降低, 5-HT 含量显著升高 ($P<0.05$), 而阳性对照药组大鼠肠内容物中上述指标含量的差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。结果见图 2。



a: 与空白组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$ 。

图 2 各组大鼠肠内容物中 GABA、5-HT 含量比较 [$M(P_{25}, P_{75}), n=6$]

3.4 加味芍药甘草汤对大鼠肠道菌群的影响

3.4.1 α 多样性

与空白组比较, 模型组大鼠的 Chao1、Shannon 指数均显著降低 ($P<0.05$); 与模型组比较, 加味芍药甘草汤组大鼠的 Chao1、Shannon 指数均显著升高 ($P<0.05$), 而阳性对照药组大鼠的 Chao1、Shannon 指数和加味芍药甘草汤大鼠的 Simpson 指数均显著降低 ($P<0.05$); 各组大鼠的 Goods_coverage 指数比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。结果见表 2。

表 2 各组大鼠肠道菌群的 α 多样性比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	Chao1 指数	Goods_coverage 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
空白组	189.333 ± 41.100	0.999 5 ± 0.000 5	6.148 ± 0.682	0.964 ± 0.032
模型组	108.833 ± 12.876 ^a	0.999 6 ± 0.000 7	5.739 ± 0.109 ^a	0.979 ± 0.005
阳性对照药组	87.167 ± 29.042 ^b	0.999 4 ± 0.000 1	5.193 ± 0.261 ^b	0.946 ± 0.012
加味芍药甘草汤组	172.000 ± 29.445 ^b	0.999 7 ± 0.000 3	6.383 ± 0.296 ^b	0.969 ± 0.002 ^b

a: 与空白组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$ 。

3.4.2 β 多样性

PCA 结果提示, 空白组与加味芍药甘草汤组肠道菌群可归为一类, 与模型组距离较远; 而阳性对照药组大鼠肠道菌群与模型组距离较近。结果见图 3。

3.4.3 物种组成

门水平上, 与空白组比较, 模型组大鼠肠内容物中脱硫杆菌门 Desulfobacterota 的相对丰度显著升高 ($P<0.05$); 厚壁菌门 Firmicutes 的相对丰度虽有所降低, 但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。与模型组比较, 加味芍药甘草汤组大鼠肠内容物中脱硫杆菌门、厚壁菌门、拟杆菌门 Bacteroidota 的相对丰度虽有回调, 但差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。方差分析结果显示, 脱硫杆菌门是组间差异因素 ($P<0.05$)。结果见图 4。

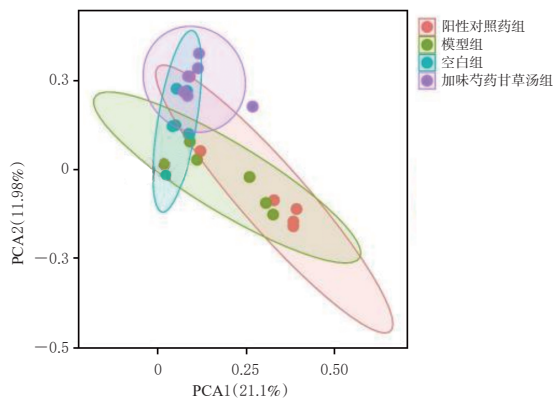


图3 各组大鼠肠道菌群β多样性的PCA图(n=6)

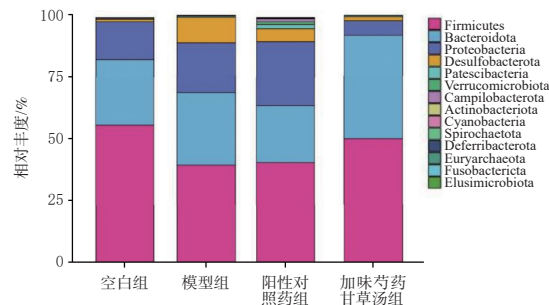


图4 各组大鼠肠道菌群(门水平)相对丰度比较

3.5 GABA、5-HT含量与肠道菌群相对丰度的相关性

Pearson分析结果提示,GABA的含量与拟杆菌门、蓝菌门Cyanobacteria、髌骨菌门Patescibacteria、放线菌门Actinobacteriota的相对丰度呈负相关($r < 0, P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);5-HT的含量与弯曲杆菌门Campilobacterota的相对丰度呈正相关($r > 0, P < 0.05$)。结果见图5。

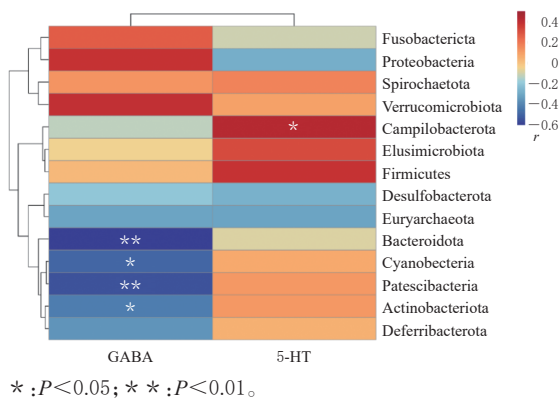


图5 GABA、5-HT含量与肠道菌群相对丰度的相关性分析

4 讨论

STC是一类以结肠传输减慢为特点的顽固性便秘,病情易反复且病程持久,严重影响患者的生活质量^[1-2]。现代医学治疗STC一般以基础治疗为主,手段有限且远期效果不佳^[15-16]。我国中医学认为,STC的病位在大肠,病机为大肠传输功能失常。研究证实,中医药治疗STC具有疗效确切、安全可靠、作用持久等优势^[5,17]。加味芍

药甘草汤由经典名方“芍药甘草汤”化裁而得,用于小儿STC的疗效确切^[10]。本方重用白芍化阴降下为君,与甘草配伍酸甘化阴、养阴增液,且《本经疏证》记载“芍药合甘草以破肠胃之结”,因此白芍、甘草合用既能滋阴润燥,也能破肠胃之结以通下;辅以玄参、麦冬,可滋阴润燥、清热生津;枳实清脾热且理脾气,使气机得以通畅;厚朴一则增强枳实理气下行之功,二则制约玄参、枳实寒性太过,使脾气既不为热约、又不为寒凝;火麻仁润肠通便;生白术、太子参益脾气,降阴浊,升清阳,消水谷;全方共奏酸甘化阴、养阴增液、益气通便之功^[10]。

GABA、5-HT是反映肠道功能的重要介质,在STC发生发展中具有特殊的作用。近期研究表明,GABA能系统在肠神经系统中广泛表达,可与其他神经递质协同作用以维持肠道稳态,并可参与调节肠神经系统功能及肠激素分泌^[11-12]。研究表明,GABA能激活肠道组织中的GABA A型受体(type A γ aminobutyric acid receptor, GABAAR),引起上皮细胞氯离子(Cl^-)外流,从而使肠道基底侧水、电解质向肠腔内流动,从而调节肠道的水液代谢;同时,GABAAR激活后,可刺激肠嗜铬细胞分泌5-HT,5-HT分泌的增加可有助于改善机体的肠道传导功能^[15-16]。此外,有研究指出,GABA具有一定的肠道动力促进作用,但高浓度GABA的作用可能与之相反;同时,GABA也是肠道菌群的营养来源之一,其在肠道菌群中的稳态是维持肠道动力正常的关键^[9]。本研究结果显示,经加味芍药甘草汤干预后,大鼠肠内容物中GABA含量较模型组显著降低,5-HT含量较模型组显著升高,提示加味芍药甘草汤可能通过调节肠内容物中GABA和5-HT含量,进而改善模型大鼠的粪便Bristol评分、粪便含水率、肠道推进率等STC相关指标。

研究指出,肠道菌群失调是STC等疾病的重要病因,而GABA和5-HT作为肠道菌群与宿主的共代谢产物,在胃肠道疾病的发生发展中具有关键作用^[18-20]。本研究结果表明,加味芍药甘草汤能够改善模型大鼠肠道菌群的多样性,使其接近空白组水平,且效果优于阳性对照药;同时,加味芍药甘草汤组拟杆菌门、厚壁菌门相对丰度均有增加趋势,且两者比例相较模型组更接近空白组;Pearson分析结果显示,GABA的含量与拟杆菌门、蓝菌门、髌骨菌门、放线菌门的相对丰度呈负相关,5-HT的含量与弯曲杆菌门的相对丰度呈正相关,提示肠道菌群与宿主共代谢产物GABA、5-HT的含量与特定菌门显著相关。以上结果表明,各组大鼠肠道菌群组成具有高度的特异性,STC大鼠肠道菌群中有害菌(厚壁菌门、脱硫杆菌门等)的相对丰度增加,而加味芍药甘草汤可改善大鼠的肠道菌群结构,并可一定程度地下调有害菌的相对丰度,进而影响大鼠肠道菌群中GABA、5-HT的含量^[21]。但本研究并未具体到菌属、菌种,这可能是药物组与模型组菌群丰度差异无统计学意义的原因,尚需后续实验予以完善。

综上所述,加味芍药甘草汤可改善STC模型大鼠粪

便性状和肠道动力,上述作用可能与改善肠道菌群,进而影响肠内容物中GABA、5-HT含量有关;GABA、5-HT含量可能与拟杆菌门、弯曲杆菌门等特定菌门的相对丰度显著相关。

参考文献

- [1] ROBIN S G, KELLER C, ZWIENER R, et al. Prevalence of pediatric functional gastrointestinal disorders utilizing the Rome IV criteria[J]. *J Pediatr*, 2018, 195: 134-139.
- [2] 许明敏. 基于肠道菌群探讨针刺改善FC小鼠胃肠传输功能的效应机制研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2020.
- XU M M. Study on the mechanism of acupuncture improving gastrointestinal transmission function in FC mice based on intestinal flora[D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2020.
- [3] 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组, 功能性胃肠病协作组. 中国慢性便秘专家共识意见: 2019, 广州[J]. *中华消化杂志*, 2019, 39(9): 577-598.
- Neurogastroenterology and Motility Committee, Chinese Society of Gastroenterology, Functional Gastrointestinal Disorder Group. Chinese expert consensus on chronic constipation: 2019, Guangzhou[J]. *Chin J Dig*, 39(9): 577-598.
- [4] CERESOLA E R, FERRARESE R, PRETI A, et al. Targeting patients' microbiota with probiotics and natural fibers in adults and children with constipation[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(20): 7045-7057.
- [5] ZHAO Y, YU Y B. Intestinal microbiota and chronic constipation[J]. *Springerplus*, 2016, 5(1): 1130.
- [6] KOPPEN I J N, BENNINGA M A, TABBERS M M. Is there a role for pre-, pro- and synbiotics in the treatment of functional constipation in children? A systematic review [J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2016, 63(Suppl. 1): S27-S35.
- [7] STRANDWITZ P. Neurotransmitter modulation by the gut microbiota[J]. *Brain Res*, 2018, 1693: 128-133.
- [8] CHEN M J, RUAN G C, CHEN L, et al. Neurotransmitter and intestinal interactions; focus on the microbiota-gut-brain axis in irritable bowel syndrome[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 817100.
- [9] SCHWÖRER H, RACKÉ K, KILBINGER H. GABA receptors are involved in the modulation of the release of 5-hydroxytryptamine from the vascularly perfused small intestine of the guinea-pig[J]. *Eur J Pharmacol*, 1989, 165(1): 29-37.
- [10] 万仕方. 芍药甘草汤加味治疗儿童功能性便秘肠燥津亏证的临床观察[D]. 成都: 成都中医药大学, 2023.
- WAN S F. Clinical observation on the treatment of functional constipation in children with intestinal dryness and fluid deficiency by Modified shaoyao gancao decoction [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2023.
- [11] DENG Y, ZHAO Q, ZHOU H Y, et al. Activation of ASIC3/ERK pathway by paeoniflorin improves intestinal fluid metabolism and visceral sensitivity in slow transit constipated rats[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2024, 40(6): 561-574.
- [12] NGO D H, VO T S. An updated review on pharmaceutical properties of gamma-aminobutyric acid[J]. *Molecules*, 2019, 24(15): 2678.
- [13] ZHAN Y, WEN Y, ZHANG L L, et al. Paeoniflorin improved constipation in the loperamide-induced rat model via TGR5/TRPA1 signaling-mediated 5-hydroxytryptamine secretion[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2021: 6076293.
- [14] 宋攀. 中药高位保留灌肠对STC大鼠结肠ICC与血清VIP的影响研究[D]. 南充: 川北医学院, 2017.
- SONG P. Effect of high retention enema with traditional Chinese medicine on colon ICC and serum VIP in STC rats[D]. Nanchong: North Sichuan Medical College, 2017.
- [15] KOH W, KWAK H, CHEONG E, et al. GABA tone regulation and its cognitive functions in the brain[J]. *Nat Rev Neurosci*. 2023, 24(9): 523-539.
- [16] LUND M L, EGEROD K L, ENGELSTOFT M S, et al. Enterochromaffin 5-HT cells: a major target for GLP-1 and gut microbial metabolites[J]. *Mol Metab*, 2018, 11: 70-83.
- [17] BARBARA G, FEINLE-BISSET C, GHOSHAL U C, et al. The intestinal microenvironment and functional gastrointestinal disorders[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(6): 1305-1318.e8.
- [18] DROSSMAN D A, HASLER W L. Rome IV: functional GI disorders: disorders of gut-brain interaction[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(6): 1257-1261.
- [19] HUNGIN A P S, MITCHELL C R, WHORWELL P, et al. Systematic review: probiotics in the management of lower gastrointestinal symptoms: an updated evidence-based international consensus[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2018, 47(8): 1054-1070.
- [20] 陈振海, 冯江毅, 胡淞, 等. 枯草芽孢杆菌通过TGR5/TRPA1信号通路调节慢性传输型便秘小鼠的肠蠕动[J]. *中国现代应用药学*, 2022, 39(7): 878-884.
- CHEN Z H, FENG J Y, HU S, et al. *Bacillus subtilis* regulates intestinal peristalsis in mice with slow transit constipation through the TGR5/TRPA1 signaling pathway[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2022, 39(7): 878-884.
- [21] 洪燕秋. 基于肠道微生态探讨运脾法治疗慢传输型便秘的临床和实验研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2022.
- HONG Y Q. Clinical and experimental study on the treatment of slow transit constipation by spleen-activating method based on intestinal microecology[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2022.

(收稿日期: 2024-05-29 修回日期: 2024-12-01)

(编辑: 张元媛)