

· 基础研究 ·

益智清心方对自然衰老大鼠学习记忆能力和肠道菌群的影响

马丽娜 曹 宇 刘南阳 王慧婵 魏 微 裴 卉 李 浩[△]

摘要 **目的** 观察益智清心方对自然衰老大鼠学习记忆能力和肠道菌群的影响。**方法** 采用 Morris 水迷宫筛选出认知功能障碍的自然衰老大鼠。按照分层随机的方法分为模型组、盐酸多奈哌齐组 (0.45 mg/kg)、益智清心方低剂量组 (0.3 mg/kg)、益智清心方高剂量组 (0.6 mg/kg), 每组 10 只, 并选用 10 只认知功能正常的自然衰老大鼠作为空白对照组, 分别给予相应的药物或相同体积的蒸馏水灌胃 8 周。通过 Morris 水迷宫测评大鼠的空间学习记忆能力; 采用 16S rDNA 生物信息技术分析肠道菌群结构。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠逃避潜伏期延长, 在原平台象限活动路程比降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较, 盐酸多奈哌齐组、益智清心方组的逃避潜伏期均缩短 ($P<0.01$), 益智清心方组在原平台象限活动路程比均增加 ($P<0.01$); 益智清心方组 OTU 指数、Chao1 指数和进化距离指数均降低, 覆盖度指数升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较, 盐酸多奈哌齐组未检测到蓝藻菌; 益智清心方组肠道菌群群落丰度、多样性及结构都发生了显著改变, 特别是降低蓝藻细菌的丰度、下调厚壁菌门/拟杆菌门相对丰度的比例, 促进变形菌门和放线菌门富集。**结论** 益智清心方能够提高自然衰老大鼠的空间学习记忆能力, 其机制可能与调节肠道菌群结构, 保持肠道微生态平衡相关。

关键词 益智清心方; 自然衰老大鼠; 认知功能障碍; 学习记忆能力; 肠道菌群

Effects of Yizhi Qingxin Formula on Learning and Memory Ability and Intestinal Flora of Naturally Aged Rats MA Li-na, CAO Yu, LIU Nan-yang, WANG Hui-chan, WEI Wei, PEI Hui, and LI Hao *Institute of Geriatrics, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100091)*

ABSTRACT **Objective** To investigate the effects of Yizhi Qingxin Formula (YZQXF) on learning and memory ability and intestinal flora of naturally aged rats. **Methods** The natural aged rats with cognitive impairment were screened by Morris water maze (MWM). According to the method of stratified random, rats were divided into model group, donepezil hydrochloride group (0.45 mg/kg), YZQXF low-dose group (0.3 mg/kg), and YZQXF high-dose group (0.6 mg/kg), 10 in each group. Meanwhile, 10 naturally aged rats with normal cognitive function were selected as control group. The corresponding drugs or distilled water of equal volume were given intragastrically for 8 weeks. The learning and cognitive ability was detected by MWM, and the intestinal flora was analyzed by 16S ribosomal DNA (16S rDNA). **Results** Compared with the control group, the escape latency of model group was prolonged, and the swimming distance ratio in the platform quadrant was decreased ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the model group, the escape latency of donepezil hydrochloride group and YZQXF groups shortened ($P<0.01$), and the swimming distance ratio of YZQXF groups in the platform quadrant increased ($P<0.01$); the OTU index, Chao1 index and Phylogenetic diversity index of YZQXF groups decreased, while the Good coverage index increased ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the model group, no cyanobacteria was detected in the donepezil hydrochloride group. The abundance, diversity and structure of intestinal flora in

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81873350, No. 81603616); 中国博士后科学基金面上资助项目 (No. 2017M621038)

作者单位: 中国中医科学院西苑医院老年医学研究所 (北京 100091)

通讯作者: 李 浩, Tel: 010-62835088, E-mail: xyhplihao1965@126.com

[△]现单位中国中医科学院望京医院综合科 (北京 100102)

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20210220. 036

YZQXF groups were significantly changed, especially the abundance of cyanobacteria decreased, the relative abundance ratio of firmicutes/bacteroidetes down-regulated, and the proteobacteria and actinobacteria were enrichment. **Conclusion** YZQXF can improve spatial learning and memory ability of naturally aged rats, and its mechanism may be related to regulating intestinal flora and maintaining intestinal microecological balance.

KEYWORDS Yizhi Qingxin Formula; naturally aged rats; cognitive impairment; learning and memory ability; intestinal flora

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 属于神经系统退行性疾病, 主要表现为脑组织萎缩、神经纤维缠结和老年斑等^[1]。AD 发病机制十分复杂, 有研究报道肠道菌群紊乱是其重要的诱发因素之一^[2]。近年来越来越多的研究证实中药复方、组分或单体在治疗疾病的同时也参与调节肠道菌群结构, 表明肠道菌群可能是中药发挥疗效的重要靶点之一^[3-6]。益智清心方是本院老年病科制定的临床协定方, 不仅能有效改善痴呆患者的认知功能, 还能显著提高模型动物的空间学习记忆能力^[7-9], 但其作用机制尚不明确。本研究通过观察益智清心方对自然衰老大鼠学习记忆能力和肠道菌群的影响, 旨在探讨其治疗 AD 的可能机制。

材料与方法

1 动物 自然衰老 Wistar 大鼠 50 只, 体重为 650~750 g, 雄性, 购买于北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证编号: SCXK (京) 2016-0011。饲养于中国中医科学院西苑医院 SPF 级动物房, 实验环境温度 20~25 ℃, 相对湿度 40%~60%。实验动物及实验条件均符合国家科学技术委员会颁布的《实验动物管理条例》。本实验经中国中医科学院西苑医院医学伦理委员会批准 (No. 2018XLC008-2)。

2 药物 益智清心方药物组成: 人参 9 g 黄连 5 g 川芎 6 g。本研究选用其有效组分进行配伍: 人参总皂苷 1 g、黄连总生物碱 5 g、川芎醇提物 12 g。人参总皂苷 (批号: K177215) 和黄连总生物碱 (批号: K173559), 均购自西安开来生物工程有限公司。川芎醇提物 (批号: 20170612) 由中国中医科学院西苑医院制剂室制备。盐酸多奈哌齐 (批号: 1512046) 由卫材 (中国) 药业有限公司制造。称取不同重量的各药品, 加蒸馏水配制成本研究设定的给药浓度, 4 ℃冰箱保存, 备用。

3 主要试剂及仪器 主要试剂: TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 建库试剂盒, 批号: FC-121-3001, 美国 Illumina 公司; Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer, 批号:

F531S, 美国 New England Biolabs 公司; TransStart FastPfu DNA polymerase, 批号: AP221-03, 北京全式金生物技术有限公司。主要仪器: DMS-2 型 Morris 水迷宫系统, 中国医学科学院药物研究所; 高通量测序仪, 美国 Illumina 公司。

4 动物分组及干预方法 采用 Morris 水迷宫检测大鼠的学习记忆能力^[10], 分为学习记忆减退组和学习记忆正常组。结合体重按照分层随机的方法又将学习记忆减退大鼠分为模型组、盐酸多奈哌齐组 (0.45 mg/kg)、益智清心方低剂量组 (0.3 mg/kg, 相当于临床成人剂量的等效剂量) 和益智清心方高剂量组 (0.6 mg/kg, 相当于临床成人剂量的等效剂量的 2 倍), 每组 10 只。将 10 只学习记忆正常的老年大鼠作为空白对照组。空白对照组和模型组予同等体积的蒸馏水灌胃, 连续灌胃 8 周。

5 检测指标与方法

5.1 行为学测试—Morris 水迷宫 整个实验过程包括定位航行实验和空间探索实验。定位航行实验: 每天 1 次, 连续训练 5 天, 分别从不同入水点将大鼠放入水池, 记录大鼠找到平台所需时间 (escape latency, EL), 即逃避潜伏期。若大鼠在 90 s 结束时仍未找到平台, 则逃避潜伏期记为 90 s。空间探索实验: 实验第 6 天, 撤除原有平台, 将大鼠从固定入水点放入水池, 摄像自动记录 60 s 内大鼠穿过原平台区域的次数及在原平台象限的游泳路程和时间。

5.2 16S rDNA 生物信息分析 针对 16S rDNA 基因 V3~V4 区, 合成带有 barcode 的特异引物。利用 343F (5'-TACGGRAGGCAGCAG-3') 和 789R (5'-AGGGTATCTAATCCT-3') 两种引物进行 PCR 扩增, 并进行定量分析。在微生物多样性测序分析中, 对原始双端测序数据去杂拼接, 得到更优质的序列, 即 valid tags 进行下游分析。首先进行人为操作分类单元 (operational taxonomic units, OTU) 划分, 即对所有的优质序列使用 VSEARCH (v2.4.2) 软件以 97% 相似度进行 OTU 划分。挑选丰度最大的序列作为代表序列, 与 Silva 数据库 (v123) 进行比对后得到系统发育树和 OTU 分类表格。最终执行下游的 α

以及 β 多样性分析。每组选取 5 只进行肠道菌群分析。

6 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析, 计量资料进行正态性检验, 符合正态分布者采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计数资料采用 χ^2 检验。定位航行实验采用重复测量方差分析, 其他数据采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠定位航行实验比较 (表 1) 第 5 天时与空白对照组比较, 模型组大鼠逃避潜伏期延长 ($P < 0.01$): 与模型组比较, 盐酸多奈哌齐组、益智清心方各组大鼠逃避潜伏期均缩短 ($P < 0.01$)。

2 各组大鼠空间探索能力比较 (表 2) 与空白对照组比较, 模型组原平台象限活动路程比降低, 穿台次数减少 ($P < 0.01, P < 0.05$)。与模型组比较, 益智清心方高、低剂量组大鼠原平台象限活动路程比均增加 ($P < 0.01$), 各组大鼠原平台象限活动时间比和

穿台次数差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 各组间 α 多样性分析指数比较 (表 3, 图 1) 与空白对照组比较, 模型组 α 多样性分析指数差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。与模型组比较, 益智清心方高、低剂量组 OTU 指数、Chao1 指数和进化距离指数均降低 ($P < 0.05, P < 0.01$), Shannon 指数及 Simpson 指数差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 益智清心方高、低剂量组覆盖度指数升高 ($P < 0.01$), 表明测序深度充分。

物种累积曲线常用于抽样量充分性的判断以及物种丰富度的估计。如图 1 所示, 在一定范围内, 随着样本量的增加, 物种累积曲线趋于平缓, 物种量不再增加, 表明该实验样本量充分, 符合数据分析要求。

4 益智清心方对大鼠肠道菌群分布的影响

4.1 门水平肠道菌群相对丰度比较 (表 4) 在

表 2 各组大鼠空间探索能力比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	空间探索实验		
		穿台次数 (次)	原平台象限路程比	原平台象限时间比
空白对照	10	5.90 $\pm$ 4.68	0.26 $\pm$ 0.07	0.26 $\pm$ 0.07
模型	10	3.00 $\pm$ 2.11*	0.19 $\pm$ 0.04**	0.21 $\pm$ 0.06
盐酸多奈哌齐	10	4.20 $\pm$ 1.69	0.22 $\pm$ 0.07	0.23 $\pm$ 0.08
益智清心方低剂量	10	3.09 $\pm$ 1.70	0.25 $\pm$ 0.07 [△]	0.23 $\pm$ 0.07
益智清心方高剂量	10	3.78 $\pm$ 2.11	0.24 $\pm$ 0.05 [△]	0.23 $\pm$ 0.05

注: 与空白对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.01$

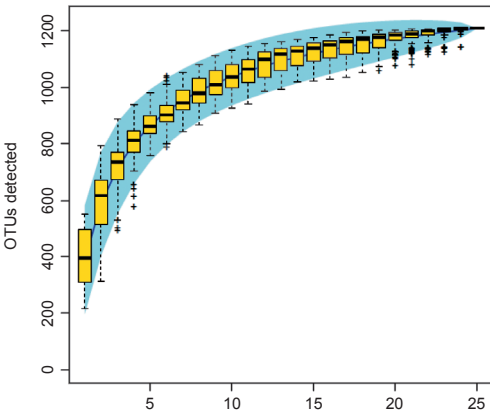


图 1 物种累积曲线

表 1 各组大鼠定位航行实验比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	定位航行训练 (min)				
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
空白对照	10	53.53 $\pm$ 33.50	30.13 $\pm$ 27.94	28.89 $\pm$ 27.39	22.81 $\pm$ 23.41	20.85 $\pm$ 26.27
模型	10	63.30 $\pm$ 33.89	45.60 $\pm$ 34.59	46.07 $\pm$ 33.85	41.52 $\pm$ 35.46	41.47 $\pm$ 29.74*
盐酸多奈哌齐	10	63.24 $\pm$ 30.28	33.07 $\pm$ 30.37	29.54 $\pm$ 31.46	32.08 $\pm$ 31.66	38.26 $\pm$ 32.11 [△]
益智清心方低剂量	10	69.54 $\pm$ 33.26	42.72 $\pm$ 34.31	33.44 $\pm$ 28.65	24.03 $\pm$ 23.75	23.12 $\pm$ 24.17 [△]
益智清心方高剂量	10	59.74 $\pm$ 31.71	24.30 $\pm$ 26.43	17.06 $\pm$ 17.21	11.65 $\pm$ 10.71	9.06 $\pm$ 7.54 [△]

注: 与空白对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.01$

表 3 各组间 α 多样性分析指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	OTU 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	Chao1 指数	进化距离指数	覆盖度指数
空白对照	5	438 $\pm$ 97	6.01 $\pm$ 0.83	0.937 $\pm$ 0.040	544 $\pm$ 120	17.45 $\pm$ 2.60	0.990 $\pm$ 0.002
模型	5	393 $\pm$ 101	5.32 $\pm$ 1.59	0.865 $\pm$ 0.181	496 $\pm$ 110	16.61 $\pm$ 3.00	0.991 $\pm$ 0.002
盐酸多奈哌齐	5	407 $\pm$ 108	5.56 $\pm$ 1.27	0.900 $\pm$ 0.099	504 $\pm$ 106	16.63 $\pm$ 2.49	0.990 $\pm$ 0.001
益智清心方低剂量	5	290 $\pm$ 37*	5.11 $\pm$ 0.37	0.929 $\pm$ 0.018	363 $\pm$ 32*	13.55 $\pm$ 1.41*	0.993 $\pm$ 0.001**
益智清心方高剂量	5	242 $\pm$ 77	4.81 $\pm$ 1.06	0.892 $\pm$ 0.060	290 $\pm$ 67*	12.22 $\pm$ 3.30*	0.995 $\pm$ 0.001**

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 4 差异菌群在门分类水平上相对丰度比较

组别	n	拟杆菌门	厚壁菌门	变形菌门	软壁菌门	放线菌门	蓝藻菌门
空白对照	5	0.57362	0.36645	0.04447	0.00479	0.00117	0.00000
模型	5	0.60833	0.34990	0.02524	0.01275	0.00033	0.00003*
盐酸多奈哌齐	5	0.47833	0.48494	0.02356	0.00535	0.00111	0.00000
益智清心方低剂量	5	0.72147	0.24137	0.03335	0.00081 [△]	0.00223	0.00001 ^{△△}
益智清心方高剂量	5	0.68798	0.22074	0.06333	0.00095 [△]	0.01940	0.00001 ^{△△}

注：与空白对照组比较，* $P<0.05$ ；与模型组比较，[△] $P<0.05$ ，^{△△} $P<0.01$

门水平上，益智清心方高、低剂量组厚壁菌门与拟杆菌门相对丰度的比率分别为 0.32 和 0.33，均低于模型组的 0.64，表明益智清心方能够调节大鼠的肠道菌群结构。变形菌门在模型组的相对丰度为 0.02524，低于空白对照组的 0.04447 ($P=0.089$)，而益智清心方高剂量干预后为 0.06333，表现出了较明显的上升趋势 ($P=0.059$)。软壁菌门在模型组中的相对丰度为 0.01275，益智清心方高、低剂量干预后的其相对丰度降低，分别为 0.00095、0.00081，差异均有统计学意义 ($P=0.047$, 0.045)。放线菌门作为益生菌的一类，在模型中的相对丰度为 0.00033，而益智清心方高剂量干预后的其相对丰度升高，分别为 0.00223、0.01940，但差异无统计学意义 ($P=0.092$, 0.146)。蓝藻菌门作为有害菌类，在空白对照组中未检测到，在模型组中可检测到其存在，当益智清心方高、低剂量干预后，蓝藻菌门的相对丰度均出现不同程度的降低 ($P=0.287$, 0.302)。

4.2 属水平肠道菌群丰度聚类分析 (图 2) 根据样品在属水平上的物种注释及丰度信息，选取前 15 的属绘制成热图。如图 2 所示，益智清心方高、低剂量组所在分支距离最近，聚类较好，表明两组间

的微生物群落构成在属分支水平上最接近，且与其他三组间的差异较大。

5 益智清心方对大鼠肠道微生物菌落构成的影响 (图 3) 模型组及盐酸多奈哌齐组间的距离较近，说明微生物群落构成差异较小，菌群结构相似。与模型组比较，不同剂量的益智清心方组均明显分开，表明组间菌群结构具有显著性差异；而益智清心方高、低剂量组之间距离接近，说明两组间的微生物群落构成最相似。

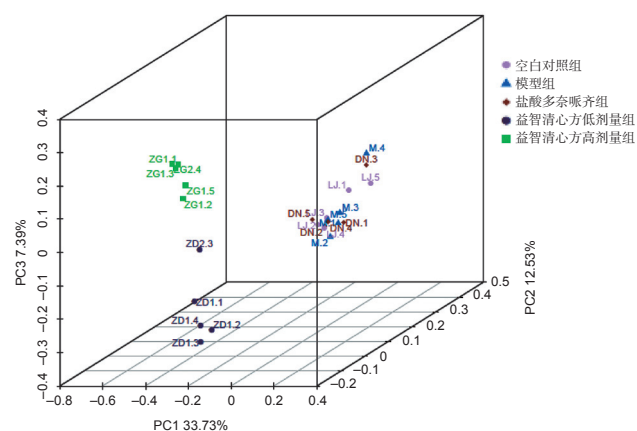
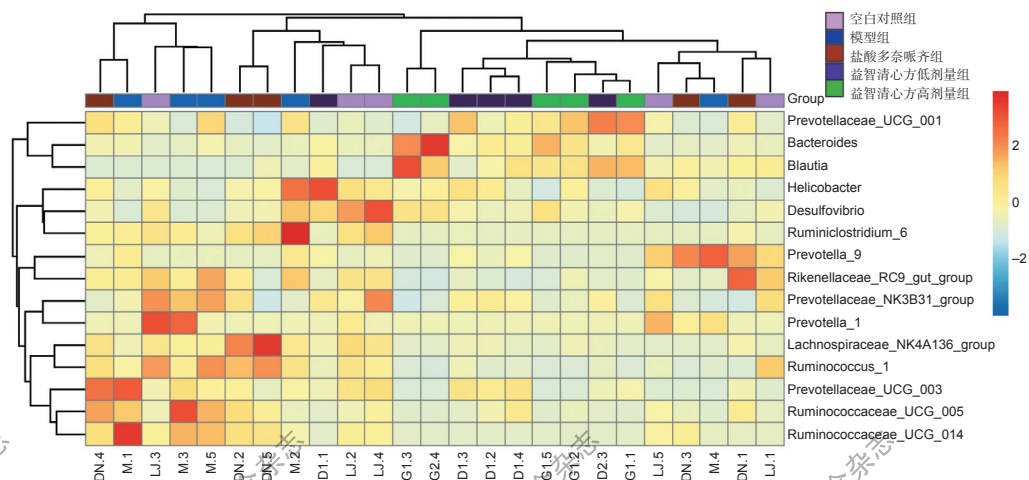


图 3 样品 OUT PCoA 分析 (3D)



注：纵向为样品信息，横向为物种注释信息，左侧为物种聚类树，上方为样品组间聚类树；中间热图对应的值为每一行物种相对丰度经过标准化处理后得到的 Z 值；标尺颜色越红表明菌群聚集较多，颜色越蓝表明菌群含量较低

图 2 肠道菌群在属分类水平上物种丰度聚类图

讨 论

中医学将 AD 归属“善忘”“呆病”等范畴,属本虚标实证,肾气不足为其本,痰浊、血瘀、毒邪互结为其标,临床上多以益气解毒,活血化瘀等立法治疗 AD。近年来,中医药在胃肠道微生态领域有了初步发展,理论体系日趋成熟。与以往研究不同,本研究选用益智清心方进行组分配伍,探讨其对自然衰老大鼠学习记忆能力和肠道菌群的影响。Morris 水迷宫结果显示,模型组大鼠学习记忆功能障碍,与前期文献报道一致^[11],提示学习记忆功能下降是最为常见的与年龄相关的中枢系统退行性病理特征。定位航行训练后,盐酸多奈哌齐组和益智清心方组大鼠的逃避潜伏期较模型组均明显缩短,且益智清心方组大鼠在原平台象限活动路程比显著增加,表明益智清心方可以明显改善大鼠的空间学习和认知能力。既往研究报道,人参皂苷类和黄连生物碱类成分均具有神经保护作用^[12,13],这可能是益智清心方发挥作用的重要物质基础。 α 多样性反映生境内物种的多样性,常用来表示单个样本的物种多样性^[14]。在本研究的 α 多样性分析中,与模型组比较,益智清心方组的 OTU 指数、Chao1 指数及进化距离指数均降低;覆盖度指数升高;而 Shannon 指数及 Simpson 指数在各组间的差异不显著。表明益智清心方干预后大鼠肠道菌群的多样性降低,且益智清心方干预组的测序深度较高。物种累积曲线结果表明,随着样本数量与相应等级值的增加,菌群数量及相对丰度趋于恒定值,提示测序深度充分,能够较好的反映群落丰富度的水平,OTUs 的数量接近实际情况,群落组成的均匀度较高。

门水平上的相对丰度分析结果显示,拟杆菌门、厚壁菌门和变形菌门是自然衰老大鼠肠道菌群中的绝对优势菌。厚壁菌门是一类与肥胖有关的肠道菌,能够降解不溶性纤维。有文献研究报道,在肥胖或是高脂饮食中,拟杆菌门与厚壁菌门的比率降低^[15],对食物中热量的吸收会更有效,从而导致机体肥胖^[16],而肥胖或高脂饮食也是 AD 发病的危险因素之一。短链脂肪酸(如乙酸、丙酸和 T 酸)作为信使物质,能够促进细胞的增值和分化,保护血脑屏障,而拟杆菌门可将多糖等物质发酵成短链脂肪酸,不仅影响宿主神经系统,还可缓解慢性炎症疾病、预防结肠癌^[17]。本研究显示各组大鼠粪便菌群丰度均发生了一定的变化。与模型组比较,益智清心方组厚壁菌门与拟杆菌门相对丰度的比率显著降低,提示益智清心方能够调节大鼠肠道菌群紊乱,有利于维持肠道微生态的平

衡。这可能与人参和川芎提取物可以降低厚壁菌门与拟杆菌门相对丰度的比率,改善肠道菌群结构有关^[18]。蓝藻细菌作为有害菌类,可产生神经毒性物质 β -N-甲基氨基-L-丙氨酸(β -N-methylamino-L-alanine, BMAA),一方面 BMAA 通过激活 NMDA 受体,引发氧化应激反应,并降解谷胱甘肽,引起神经元凋亡;另一方面还可以参与突触蛋白质的错误折叠,诱导包括 AD 在内的神经退行性病变^[19,20]。空白对照组大鼠中未检测到蓝藻菌门,而在模型组中可检测到其存在;当益智清心方干预后,蓝藻菌门的相对丰度均出现不同程度的降低,表明益智清心方肠道菌群多样性下降可能与减少有害菌群有关。提示益智清心方可能通过控制肠道菌群中蓝细菌及其产生的神经毒素的量,对 AD 的防治具有重要意义。放线菌能产生丰富的生物活性物质,具有抗菌、抗肿瘤、抗病毒等活性,是天然药物的重要来源^[21]。当益智清心方干预后,变形菌门和放线菌门的相对丰度均表现出不同程度的升高,提示益智清心方能够促进变形菌门和放线菌门富集。既往研究表明长期服用人参提取物有助于促进益生菌生长而抑制致病菌生长^[22]。此外,黄连提取物生物碱类成分能够调节肠道菌群,改善肠道微生态^[23]。在属水平上,益智清心方高、低剂量组所在分支距离最近,且与其他三组间的距离较远,表明益智清心方组的微生物群落构成在属分支水平上最接近。因此推测益智清心方可能通过调节肠道菌群的种类、数量及比例等影响肠道微生物的稳态,进而改善大鼠的认知功能。

综上所述,益智清心方能够改善自然衰老大鼠的空间学习记忆能力,其作用机制可能与调节大鼠肠道菌群群落丰度、多样性及结构,维持脑—肠—微生物菌群轴之间的动态平衡有关,提示益智清心方可作为潜在的益生元用于预防和缓解 AD。但目前关于肠道微生物的研究尚处于早期探索阶段,在今后的研究中应深入探讨其在中医药治疗 AD 中的重要作用及机制,更好的为中医临床服务。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] Lane CA, Hardy J, Schott JM. Alzheimer's disease[J]. Eur J Neurol, 2018, 25(1): 59-70.
- [2] Burokas A, Arboleya S, Moloney RD, et al. Targeting the microbiota-gut-brain axis: prebiotics have anxiolytic and antidepressant-like effects and

- reverse the impact of chronic stress in mice[J]. *Biol Psychiatry*, 2017, 82 (7): 472-487.
- [3] 马丽娜, 刘剑刚, 李浩. 肠道微生物与阿尔茨海默病的相关性研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2017, 33 (7): 893-896.
- [4] 马晓聪, 熊兴江, 莫毅, 等. 基于 16S rDNA 测序技术的自发性高血压大鼠肠道菌群结构变化及中药干预作用 [J]. *中华中医药学刊*, 2020, 38 (8): 71-74, 265-266.
- [5] 段晓梅, 闫爽, 倪连丽, 等. 复方蜚蠊提取物对大鼠溃疡性结肠炎肠道菌群的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2019, 35 (4): 591-592.
- [6] 杨家彬, 朱道琦, 邵萌, 等. 生脉姜黄散对鼻咽癌放射抗拒株细胞移植瘤裸鼠肠道菌群的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2019, 44 (3): 553-558.
- [7] Yang Y, Jia X, Feng J, et al. Fuzheng Quxie Decoction ameliorates learning and memory impairment in SAMP8 mice by decreasing Tau hyperphosphorylation[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 5934254.
- [8] Wang F, Feng J, Yang Y, et al. The Chinese herbal formula, Fuzheng Quxie Decoction, attenuates cognitive impairment and protects cerebrovascular function in SAMP8 mice[J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2018, 14: 3037-3051.
- [9] Yang Y, Wang Z, Cao Y, et al. Yizhi Qingxin Formula alleviates cognitive deficits and enhances autophagy via mTOR signaling pathway modulation in early onset Alzheimer's disease mice[J]. *Pharmacol*, 2019, 10: 1041.
- [10] 王晓宇, 李浩, 刘剑刚, 等. 还脑益聪方对老年认知障碍大鼠学习记忆及脑组织 β 淀粉样蛋白和 Tau 蛋白表达的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35 (9): 2336-2339.
- [11] 张小毅, 李生莹, 刘巨源, 等. 丹黄通络胶囊对自然衰老大鼠学习记忆能力的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34 (2): 435-437.
- [12] 刘琳, 张凯, 何勐, 等. 人参皂苷 Rg₁ 对阿尔茨海默病转基因小鼠的神经保护作用 [J]. *中草药*, 2020, 51 (5): 1264-1272.
- [13] 陈魁敏, 周恒伟, 李玉芳, 等. 小檗碱改善 AD 模型小鼠认知障碍作用 [J]. *中国公共卫生*, 2015, 31 (5): 614-616.
- [14] McGovern E, Kenny DA, McCabe MS, et al. 16S rRNA sequencing reveals relationship between potent cellulolytic genera and feed efficiency in the rumen of Bulls[J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1842.
- [15] Neyrinck AM, Possemiers S, Druart C, et al. Prebiotic effects of wheat arabinoxylan related to the increase in *Bifidobacteria*, *Roseburia* and *Bacteroides/Prevotella* in diet-induced obese mice[J]. *PLoS One*, 2011, 6 (6): e20944.
- [16] Daniel H, Gholami AM, Berry D, et al. High-fat diet alters gut microbiota physiology in mice[J]. *ISME J*, 2014, 8 (2): 295-308.
- [17] Zhai X, Lin D, Zhao Y, et al. Effects of dietary fiber supplementation on fatty acid metabolism and intestinal microbiota diversity in C57BL/6J mice fed with high fat diet[J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66 (48): 12706-13718.
- [18] 王佳丽, 修成奎, 杨静, 等. 人参三七川芎提取物对高糖高脂诱导血管衰老小鼠肠道菌群的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 28 (6): 2938-2946.
- [19] Schwartz K, Boles BR. Microbial amyloids-functions and interactions within the host[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2013, 16 (1): 93-99.
- [20] Banack SA, Callier TA, Stommel EW. The cyanobacteria derived toxin Beta-N-methylamino-L-alanine and amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Toxins (Basel)*, 2010, 2 (12): 2837-2850.
- [21] Landwehr W, Wolf C, Wink J. Actinobacteria and Myxobacteria-Two of the most important bacterial resources for novel antibiotics[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2016, 398: 273-302.
- [22] 孙艺凡, 张霞, 王晓艳, 等. 长期服用人参提取物对大鼠肠道菌群结构的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43 (19): 3927-3932.
- [23] 文永均, 黄璜, 马中刚, 等. 黄连生物碱复合物及其单体通过调节肠道菌群改善小鼠肥胖病症的研究 [J]. *食品与发酵科技*, 2020, 56 (5): 7-14, 21.

(收稿: 2020-01-03 在线: 2021-04-27)

责任编辑: 白霖霞