

· 基础研究 ·

益心化浊方对慢性心力衰竭大鼠
肠道菌群结构与功能的影响陈 婵¹ 赵博文² 吕铮天² 李心怡² 娄 洋² 毛 威^{2, 3△}

摘要 **目的** 探讨益心化浊方对慢性心力衰竭大鼠肠道菌群结构与功能的作用。**方法** 采用左冠状动脉结扎术建立慢性心力衰竭模型,将造模成功的 14 只大鼠随机分为模型组、益心化浊方组,每组 7 只,另设 7 只 SD 大鼠为假手术组,只穿线不结扎。益心化浊方组给予益心化浊方 2.40 mg/mL 灌胃,假手术组和模型组动物给予等量生理盐水灌胃,干预 4 周。采用 16S rRNA 基因测序技术测定大鼠肠道细菌,应用 Alpha、LEfSe、PLS-DA 对数据进行分析,并将基因序列在 KEGG 功能谱数据库中进行功能预测。**结果** 与模型组比较,益心化浊方组乳杆菌目、气球菌科、乳酸菌科、草酸杆菌科、假单胞菌科、假单胞菌属、贪铜菌属、沙雷氏菌属、费克蓝姆氏菌属上调 ($P<0.05$),梭杆菌门、梭杆菌纲、腐生螺旋菌纲、梭杆菌目、腐螺旋菌目、噬几丁质杆菌属、克里斯滕森菌科、明串珠菌科、孪生菌科、沉积物杆状菌属、02d06 菌、拟无枝酸菌下调 ($P<0.05$)。益心化浊方组富集于分节丝状菌属。在代谢层面上益心化浊方组与异源生物降解和代谢、核苷酸代谢、萜类和聚酮类代谢、氨基酸代谢、辅因子和维生素代谢、脂质代谢、聚糖生物合成和代谢关联;在细胞功能层面上与运输和分解、细胞生长和死亡密切相关;在生物系统层面上与神经系统、排泄系统、内分泌系统及循环系统相关。**结论** 益心化浊方具有促进慢性心力衰竭大鼠肠道正常菌群增殖、改善肠道功能的调控作用。

关键词 心力衰竭;肠道菌群;益心化浊方;中药复方

Effect of Yixin Huazhuo Formula on Structure and Function of Intestinal Flora in Rats with Chronic Heart Failure CHEN Chan¹, ZHAO Bo-wen², LU Zheng-tian², LI Xin-yi², LOU Yang², and MAO Wei^{2, 3}

1 Department of Chinese Internal Medicine, Jiangnan Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University Hangzhou Xiaoshan District Hospital of TCM, Hangzhou (311201); 2 Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou (310006); 3 Key Laboratory of Integrative Chinese and Western Medicine for the Diagnosis and Treatment of Circulatory Diseases of Zhejiang Province, Hangzhou (310006)

ABSTRACT **Objective** To explore the effect of Yixin Huazhuo Formula (YXHZF) on the structure and function of intestinal flora in rats with chronic heart failure. **Methods** The chronic heart failure rat model was established by left coronary artery ligation. Totally 14 SD rats with chronic heart failure were randomly divided into model group and YXHZF group, 7 rats in each group. Another 7 SD rats in sham group were thread only without ligation. The rats in YXHZF group were intragastric administration 2.40 mg/mL YXHZF, the rats in sham and model group were intragastric administration same amount of normal saline, the intervention time was 4 weeks. The 16S rRNA gene sequencing technology was used to determine the intestinal bacteria of rats. The data was analyzed by Alpha, Lefse and PLS-DA. Gene sequence was predicted in KEGG functional spectrum

基金项目:国家自然科学基金面上项目(No. 81973579);浙江省医药卫生科技计划项目(No. 2020RC104)

作者单位:1. 浙江中医药大学附属江南医院杭州市萧山区中医院中医内科(杭州 311201); 2. 浙江中医药大学附属第一医院心内科(杭州 310006); 3. 浙江省中西医结合循环系统疾病诊治重点实验室(杭州 310006)

通讯作者:毛 威, Tel: 0531-87377402, E-mail: maoweilw@163.com

△现在浙江医院心内科(杭州 310030)

DOI: 10.7661/j.cjim.20230603.280

database. **Results** Compared with the model group, *Lactobacillales*, *Aerococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Oxalobacteraceae*, *Pseudomonadaceae*, *Pseudomonas*, *Cupriavidus*, *Serratia*, and *Facklamia* increased ($P<0.05$), *Fusobacteria*, *Fusobacteriia*, *Saprospirae*, *Fusobacteriales*, *Saprospirales*, *Chitinophagaceae*, *Christensenellaceae*, *Leuconostocaceae*, *Gemellaceae*, *Sediminibacterium*, 02d06, and *Amycolatopsis* decreased in YXHZF group ($P<0.05$). YXHZF group was enriched in *Candidatus Arthromitus*. At the metabolic level, YXHZ group was significantly associated with metabolism of xenobiotics biodegradation, nucleotide, terpenoids, polyketides, amino acids, cotactors, vitamins, lipid, and glycan biosynthesis. At the cell function level, YXHZF group was significantly associated with transportation, decomposition, cell growth and death. At the level of biological system, YXHZ group was significantly associated with nervous system, excretory system, endocrine system and circulatory system. **Conclusions** YXHZF can promote the proliferation of normal intestinal flora and improve intestinal function in rats with chronic heart failure.

KEYWORDS heart failure; intestinal flora; Yixin Huazhuo Formula; Chinese herbal compound

肠道表面积约 400 m^2 , 有着机械屏障和免疫屏障双重屏障的双重作用, 肠道持续暴露在各种细菌环境中, 存在数量众多的细菌, 细菌总数多达 10^{14} 个, 是人体细胞数的 10 倍, 肠道免疫系统在共生菌的耐受性和致病菌的免疫力之间产生微妙的平衡^[1]。心力衰竭(简称心衰)可打破上述动态平衡, 由于心输出量减少, 组织充血增多, 引发外周血管收缩, 可能直接损害肠道上皮细胞的功能, 导致营养不良和恶病质进而加重心功能不全, 也可能引起内源性毒素穿过肠上皮屏障致细菌易位, 从而诱发全身炎症反应加重心衰^[2-5]。研究表明慢性心衰患者菌群改变的基本特征为普拉梭菌减少, 活泼瘤胃球菌增多^[6]。心衰发生时致病性肠道细菌如弯曲杆菌、志贺氏菌、沙门氏菌、小肠结肠炎耶尔森菌和念珠菌均显著增加, 且与心衰严重程度呈正相关^[7]。研究证实口服益生菌能显著改善心衰患者左心房内径和左室射血分数, 同时能显著抑制心肌梗死后心衰大鼠左心室肥厚、并改善其血流动力学参数^[8, 9]。纠正患者肠道菌群失调、改善肠道微生态可能成为心衰治疗的新方向。

益心化浊方由中医经典方剂五苓散加党参、黄芪、丹参、三七、化橘红、白芍, 减猪苓而成, 笔者团队前期实验表明, 益心化浊方具有改善慢性心衰大鼠肠道免疫炎症反应、提高心肌收缩力的作用^[10], 该方对肠道功能的调控机制是否与肠道菌群相关尚不明确。本研究拟采用慢性心衰大鼠模型, 从心-肠菌轴角度, 探讨益心化浊方对肠道菌群结构与功能的影响作用。

材料与方法

1. 动物 70 只健康 SPF 级 6 周龄雄性 SD 大鼠, 体重 $(160 \pm 10)\text{ g}$, 购于上海西普尔-必凯实验动物有限公司, 许可证号: SCXK(沪)2013-0016。大

鼠饲养于浙江中医药大学动物实验研究中心 SPF 级动物房, 动物实验条件合格证号: SYXK(浙)2018-0012, 造模前适应性饲养 2 周, 常规饲料饲养, 自由饮水。本研究经浙江中医药大学实验动物管理与伦理委员会审批(No. IACUC-20181022-06)。

2 药物 益心化浊方颗粒组成(成人每日用量): 黄芪 7.5 g(批号: K1806020) 党参 9 g(批号: K1810067) 丹参 6 g(批号: K1808018) 三七 2 g(批号: K1810001) 炒白术 6 g(批号: K1807066) 茯苓 3g(批号: K1808029) 桂枝 2 g(批号: K1805003) 泽泻 2 g(批号: K1804054) 白芍 1.2 g(批号: K1805043) 化橘红 2.7 g(批号: K1808099), 均购于浙江景岳堂药业有限公司。

3 试剂与仪器 Q5 DNA 聚合酶(批号: M0491L, 美国 NEB 公司), DNA 定量检测试剂盒(批号: P7589, 美国 Invitrogen 公司), DNA 标记试剂盒(批号: DL2000, 日本 TaKaRa 公司), DNA 电泳缓冲液(批号: AM9870, 美国 Invitrogen 公司)。小动物超声成像系统(型号: vevo1100, 日本 FUJIFILM 公司), PCR 扩增仪(型号: 2720, 美国 ABI 公司), 酶标仪(型号: FLX800T, 美国 BioTek 公司), 电泳仪(型号: DYY-6C, 北京六一仪器厂), 凝胶成像系统[型号: BG-gdsAUTO(130), 北京百晶生物技术有限公司], MiSeq 测序仪(型号: MS-102-3003, 美国 Illumina 公司)。

4 造模及分组 依据本课题组前期实验方法^[10], 70 只大鼠随机分为造模组($n=60$)和假手术组($n=10$)。模型动物行左冠状动脉结扎术, 假手术组穿线不结扎, 其他步骤与模型组相同。造模组造模过程中有 2 只模型大鼠死亡, 考虑冠状动脉结扎引起。术后第 4 周行心脏彩超检测, 左心室射血分数(left ventricular ejection fraction)值 $<50\%$ 的模型组

大鼠为心肌梗死后心衰造模成功^[10], 共计造模成功 14 只。将 14 只大鼠采用数字表法随机分为模型组、益心化浊方组每组 7 只。依据本课题组前期研究^[10], 益心化浊方组, 给与益心化浊方 2.40 mg/mL 灌胃 (相当于临床用药量的 0.5 倍), 2 mL/只, 每天 1 次。另随机取 7 只正常大鼠为假手术组, 仅开胸不接扎。假手术组和模型组动物给予等量生理盐水灌胃, 干预周期为 4 周。

5 基因测序 大鼠处死后, 分别取假手术组、模型组及益心化浊方组大鼠回肠组织内容物, 置于无菌采样管中, -80℃冻存用于后期测序, 按照试剂盒说明书提取肠道基因组 DNA, 并对目标片段进行 PCR 扩增, 标准细菌 V3V4 区 PCR 反应体系: Q5 high-fidelity DNA polymerase 0.25 μL, 5× Reaction Buffer 5 μL, 5× High GC Buffer 5 μL, dNTP (10mmol) 2 μL, 模板 DNA 2 μL, 正向引物 (10 μmol) 1 μL, 反向引物 (10 μmol) 1 μL, 超纯水 8.75 μL。PCR 反应条件: 98℃ 30 s, 98℃ 15 s, 50℃ 30 s, 72℃ 30 s, 72℃ 5min, 4℃ Hold, 25~27 Cycles。应用 MiSeq 测序仪对扩增产物进行高通量测序, 目标片段的最佳测序长度为 200~450 bp。

5.1 Alpha 多样性分析 Alpha 多样性是对样本中物种多样性的分析, 常用的度量指数主要包括侧重于体现群落丰富度 Chao1 和 ACE, 以及兼顾群落均匀度的 Shannon 和 Simpson。Chao1 或 ACE 指数越大, 表明群落的丰富度越高; Shannon 或 Simpson 指数值越高, 表明群落多样性越高。

5.2 菌群分类组成分析 应用 Metastats 统计学算法^[11], 对门、纲、目、科、属五个分类水平下的菌种在各组之间的绝对丰度值差异进行两两比较检验。

5.3 线性判别分析 (linear discriminant analysis effect size, LefSe) 分析 LefSe 分析是一种将线性判别分析与非参数的 *Kruskal-Wallis* 以及 *Wilcoxon* 秩和检验相结合分析方法^[12], 分析各组肠道菌群富集情况。

5.4 偏最小二乘判别分析 (partial least-squares discriminant analysis, PLS-DA) 分析 PLS-DA 分析是以偏最小二乘回归模型为基础, 作为一种有监

督的模式识别方法, 根据给定的样本分布信息, 对群落结构数据进行判别分析。

5.5 菌群代谢分析 采用 PICRUST 工具, 将现有的基因测序数据与代谢功能已知的微生物参考基因组数据库相对比, 从而实现对细菌代谢功能的预测, 预测过程中还考虑了不同物种 16S rRNA 基因拷贝数的差异, 并对原始数据中的物种丰度数据进行校正, 使预测结果更准确可靠^[13]。将基因序列在 KEGG 功能谱数据库中进行预测, 根据预测得到的各功能类群在各样本中的丰度分布进行展示。

6 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件包进行处理, 计量数据符合正态分布采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组肠道微生物 Alpha 多样性分析结果比较 (表 1) 与假手术组比较, 模型组 Chao1 和 ACE 指数减低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 益心化浊方组 ACE、Chao1、Simpson 及 Shannon 指数均有升高趋势, 但差异无统计学意义 ($P < 0.05$)。

2 各组在门和属水平上菌群分类组成 (图 2、3, 表 2、3) 在门水平上, 与假手术组比较, 模型组柔壁菌门、拟杆菌门、变形菌门呈增高趋势, 厚壁菌门、放线菌门呈减低趋势。与模型组比较, 益心化浊方组厚壁菌门、变形菌门、TM7 门、放线菌门、蓝细菌门呈增高趋势, 柔壁菌门、拟杆菌门呈减低趋势。在属水平上, 与假手术组比较, 模型组乳杆菌属、支原体属、凝聚杆菌属、梭菌属、普雷沃氏菌属、萨特氏菌属呈增高趋势, 分节丝状菌属呈减低趋势。与模型组比较, 益心化浊方组乳杆菌属、阿洛巴氏菌属、分节丝状菌属、双歧杆菌属、乳酸乳球菌属、贪铜菌属、安德克氏菌属、嗜热脂肪地芽孢杆菌属、布劳特氏菌属、呈脱硫弧菌属呈增高趋势, 苏黎世杆菌属、支原体属、凝聚杆菌属、普雷沃氏菌属、萨特氏菌属呈减低趋势。

在门、纲、目、科、属水平上, 与假手术组比较, 模型组肠内微生物梭菌属、支原体属显著上调

表 1 各组 Alpha 多样性分析结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Simpson	Chao1	ACE	Shannon
假手术	7	0.92 ± 0.01	1 448.01 ± 62.25	1 512.02 ± 56.48	6.48 ± 0.17
模型	7	0.90 ± 0.03	1 181.66 ± 89.38*	1 230.22 ± 93.62*	6.15 ± 0.29
益心化浊方	7	0.92 ± 0.02	1 127.03 ± 68.48	1 172.02 ± 82.90	6.41 ± 0.25

注: 与假手术组比较, * $P < 0.05$

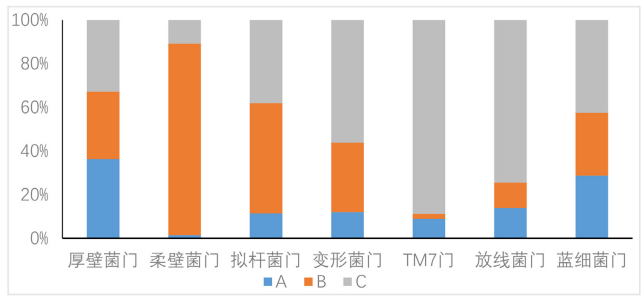
($P<0.05$), 栖热菌门、异常球菌纲、栖热菌目、栖热菌科、分节丝状菌属、柯林斯氏菌、栖热菌属显著下调 ($P<0.05$)。与模型组比较, 益心化浊方组乳杆菌目、气球菌科、乳酸菌科、草酸杆菌科、假单胞菌科、假单胞菌属、贪铜菌属、沙雷氏菌属、费克蓝姆氏菌

属显著上调 ($P<0.05$), 梭杆菌门、梭杆菌纲、腐生螺旋菌纲、梭杆菌目、腐螺旋菌目、噬几丁质菌科、克里斯滕森菌科、明串珠菌科、孪生菌科、沉积物杆状菌属、02d06、拟无枝酸菌显著下调 ($P<0.05$)。

3 各组 LEfSe 分析结果比较 (图 4) 假手术组富集于叶绿体纲和链形植物目, 模型组富集于支原体科、支原体属、支原体目、柔膜菌纲及软壁菌门, 益心化浊方组富集于分节丝状菌属。

4 PLS-DA 分析结果比较 (图 5) 三组聚类有重叠、组间数据各具特点。假手术组组内菌群差异不明显, 菌种数量分布均匀, 益心化浊方组与模型组组内、组间均差异明显, 益心化浊方组数据范围涵盖假手术组数据范围。

5 菌群代谢功能预测 (图 6~8) 在代谢层面上益心化浊方组与异源生物降解代谢、核苷酸代谢、



注: A 为假手术组, B 为模型组, C 为益心化浊方组; 下图同
图 2 三组门水平上主要细菌分布结果

表 2 假手术组与模型组相对丰度存在显著差异的微生物群系 (%)

组别	n	栖热菌门	异常球菌纲	栖热菌目	栖热菌科	梭菌属	分节丝状菌属	柯林斯氏菌	支原体属	栖热菌属
假手术	7	0.000 138	0.000 138	0.000 138	0.000 145	0.005 685	0.014 193	0.000 267	0.007 565	0.000 691
模型	7	0.000 043	0.000 043	0.000 043	0.000 044	0.019 009	0.002 424	0.000 001	0.220 780	0.000 152
P		0.008 400	0.010 167	0.007 667	0.007 081	0.003 911	0.004 111	0.023 733	0.027 244	0.001 444

表 3 模型组与益心化浊方组相对丰度存在显著差异的微生物群系 (%)

组别	n	梭杆菌门	梭杆菌纲	腐生螺旋菌纲	梭杆菌目	腐螺旋菌目	乳杆菌目	气球菌科	乳酸菌科	噬几丁质菌科	克里斯滕森菌科	明串珠菌科
模型	7	0.000 130	0.000 130	0.000 043	0.000 130	0.000 043	0.071 728	0.000 133	0.000 009	0.070 469	0.000 048	0.000 048
益心化浊方	7	0.000 010	0.000 010	0.000 001	0.000 010	0.000 001	0.307 258	0.000 268	0.315 087	0.001 000	0.000 001	0.000 001
P		0.017 909	0.021 632	0.030 775	0.029 679	0.030 775	0.031 714	0.019 690	0.023 690	0.026 524	0.030 832	0.030 832

组别	n	草酸杆菌科	孪生菌科	假单胞菌科	假单胞菌属	沉积物杆状菌属	贪铜菌属	沙雷氏菌属	费克蓝姆氏菌属	02d06	拟无枝酸菌
模型	7	0.000 048	0.001 343	0.000 054	0.000 103	0.000 063	0.003 289	0.000 001	0.000 032	0.000 085	0.000 050
益心化浊方		0.006 318	0.000 214	0.000 494	0.000 702	0.000 001	0.012 002	0.000 165	0.000 371	0.000 001	0.000 010
P		0.030 832	0.036 976	0.048 048	0.008 055	0.015 132	0.026 255	0.027 891	0.029 273	0.034 990	0.034 990

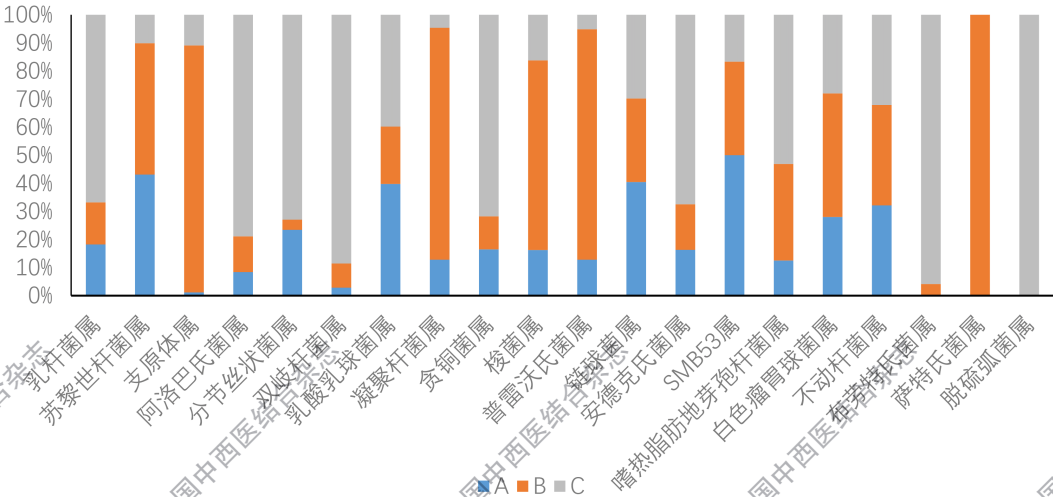
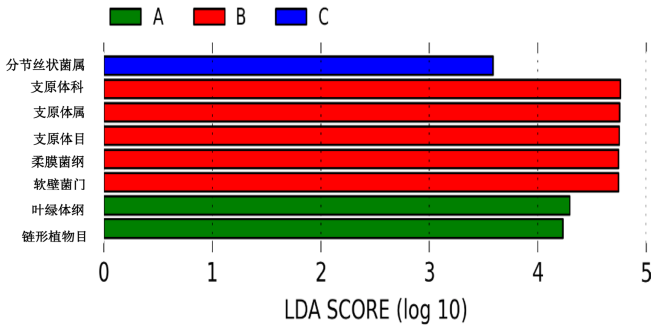
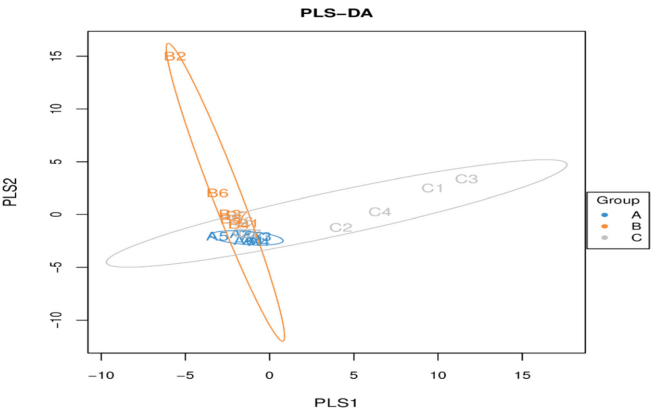


图 3 三组属水平上细菌分布结果



注：纵坐标为组间具有显著差异的分类单元，横坐标以条形图直观地展示对应分类单元的 LDA 差异分析对数得分值，长度越长表明该分类单元的差异越显著

图 4 各组 LEfSe 分析结果比较



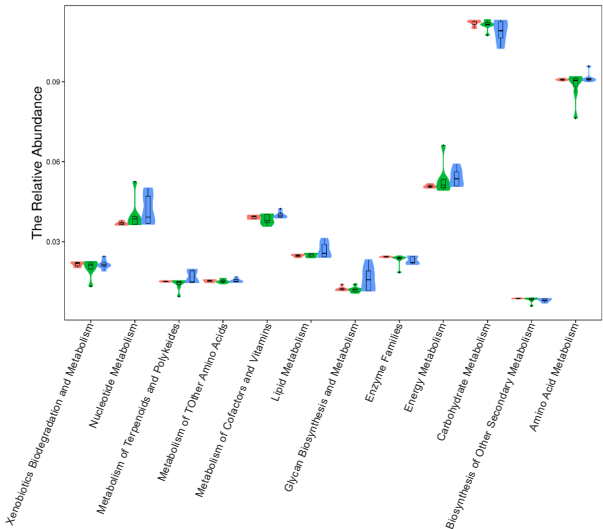
注：横坐标和纵坐标分别代表每个样品在主成分 PLS1、PLS2 上投影的得分值；每个点代表一个样本，颜色相同的点属于同一组，相同分组的点以椭圆标出；属于同一分组的样本彼此之间距离越近，不同分组的点之间的距离越远

图 5 PLS-DA 分析结果

萜类 / 聚酮类代谢、氨基酸代谢、辅因子 / 维生素代谢、脂质代谢、聚糖生物合成代谢显著关联。在细胞功能层面上益心化浊方组与运输 / 分解、细胞生长 / 死亡密切相关。在生物系统层面上益心化浊方组与神经系统、排泄系统、内分泌系统及循环系统显著关联。

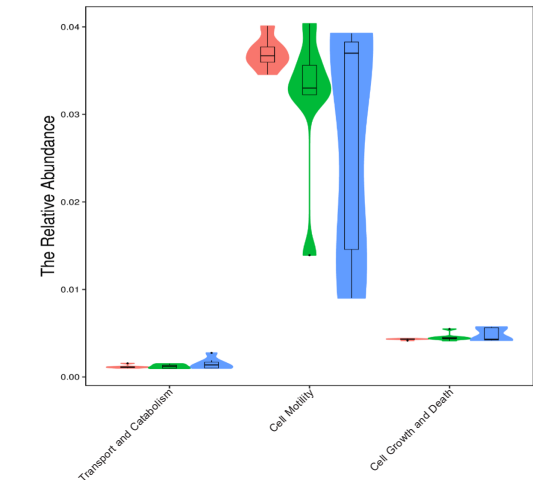
讨 论

益心化浊方由党参、黄芪、丹参、三七、白术、茯苓、桂枝、泽泻、白芍等构成，该方从心、脾入手，治以益气活血、化湿利水。实验表明白术多糖通过维持小肠形态和免疫球蛋白相对稳定，改善肠道菌群紊乱、减轻内毒素诱导的肠炎^[14]。茯苓有效成分可以靶向特定菌属恢复肠道微生物群^[15]，通过调节肠道微生物代谢谱，保护顺铂诱导的肠道损伤^[16]。笔者前期研究亦证实，益心化浊方可以有效抑制慢性心衰时心肌^[17]与肠道^[10]免疫炎症反应、减低肠道内毒素的释放，改善心功能。本研究通过对慢性心衰大鼠假



注：图中横坐标为 KEGG 第二等级功能类群，从左至右依次为异源生物降解与代谢、核苷酸代谢、萜类和聚酮类代谢、氨基酸代谢、辅因子与维生素代谢、脂质代谢、聚糖生物合成与代谢、酶家族、能量代谢、碳水化合物代谢、其他次生生物合成代谢、氨基酸代谢；纵坐标为各功能类群在各样本的相对丰度

图 6 各组 KEGG 代谢功能分析结果

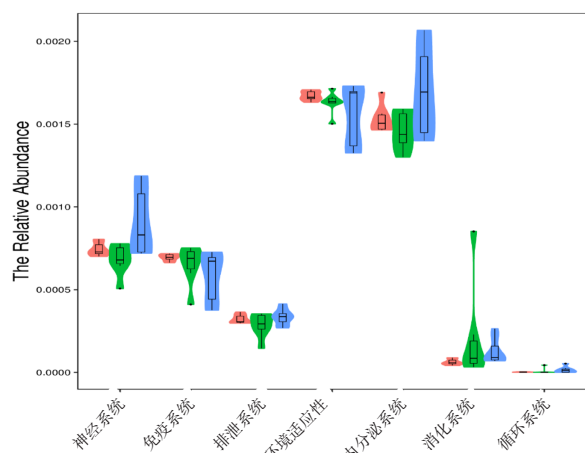


注：图中横坐标为 KEGG 第二等级功能类群，从左至右依次为：运输与分解、细胞运动、细胞生长与死亡；纵坐标为各功能类群在各样本的相对丰度

图 7 各组 KEGG 细胞功能分析结果

手术组、模型组和益心化浊方组肠内容物丰度 Alpha 多样性进行比较，发现模型组动物 ACE、Chao1、Simpson、Shannon 指数较假手术组均有明显减低，益心化浊方组较模型组均有升高，提示心衰时大鼠肠道菌群的物种丰度和多样性相应减少，经中药治疗后肠道物种丰度具有回升趋势。

本实验中模型组肠内微生物梭菌属、支原体属显著上调，模型组富集于支原体科、支原体属、支原体目、柔膜菌纲、软壁菌门。研究表明支原体为常见有害菌，通过黏附宿主细胞表面浸染细胞，引起细胞凋



注：图中横坐标为 KEGG 第二等级功能类群，纵坐标为各功能类群在各样本的相对丰度

图 8 各组 KEGG 生物系统功能分析结果

亡，有利于菌体的入侵和毒素的释放，为支原体的定植和致病提供有利条件^[18]。荚膜是多种支原体细胞膜外的一层黏性结构，其化学成分主要是多糖，支原体的荚膜结构与其致病性密切相关，是致病支原体重要的毒力因子^[19]，具有很强的抗原性，在很大程度上决定着支原体对细胞的毒害作用^[20]。

益心化浊方组乳杆菌目、气球菌科、乳酸菌科、草酸杆菌科、假单胞菌科、假单胞菌属、贪铜菌属、沙雷氏菌属、费克蓝姆氏菌属显著上调，该组富集于分节丝状菌属。乳杆菌通常定制于人或动物的口腔与肠道中，调节机体免疫力，并预防某些胃肠道疾病的发生^[21]，乳杆菌的主要发酵产物是乙酸、乳酸和琥珀酸等短链脂肪酸^[22]，这些短链脂肪酸能减少机体对碱性细胞毒性化合物的利用率，并抑制 PH 敏感性病菌的增殖。此外，短链脂肪酸还能被其他细菌进一步利用产生丁酸盐，丁酸盐在肠道生理代谢方面扮演着重要角色^[23]。

分节丝状菌 (segmented filamentous bacteria, SFB)，是一种不可繁殖、孢子形成、梭菌相关的共生细菌，在许多动物物种的消化道中定植^[24]。SFB 已被证明能够刺激宿主辅助性 T 细胞 17 和 IgA 反应的成熟，从而提高宿主抵御入侵病原体的能力^[25]。SFB 是具有免疫调节功能的肠道菌，其基因组较少，属于微需氧异养微生物^[26, 27]。结果提示，心衰进程中肠道菌群发生变化，肠内致病菌相应增多，经中药治疗后，肠道有益菌显著增加。

KEGG 结果显示，益心化浊方通过代谢、细胞功能等多途径调节肠道菌群，如核苷酸代谢、氨基酸代谢、萜类和聚酮类代谢、辅因子和维生素代谢、脂质代谢、聚糖生物合成和代谢等。通过 KEGG 疾病与

生物系统密切关联度数据进行分析，结果提示慢性心衰易出现神经系统、排泄系统、内分泌系统及循环系统病症，益心化浊方对改善上述病症或有作用。

本研究表明，益心化浊方在调控心衰大鼠肠道菌群、改善肠道功能发挥着积极有效的作用，但由于本实验样本数量有限，所筛选出的差异菌群有待于进一步验证。

利益冲突：无。

参 考 文 献

- [1] Chang PV, Hao L, Offermanns S, et al. The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111 (6): 2247–2252.
- [2] Verbrugge FH, Dupont M, Steels P, et al. Abdominal contributions to cardiorenal dysfunction in congestive heart failure[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62 (6): 485–495.
- [3] Rogler G, Rosano G. The heart and the gut[J]. *Eur Heart J*, 2014, 35 (7): 426–300.
- [4] Nagatomo Y, Tang WH. Intersections between microbiome and heart failure: revisiting the gut hypothesis[J]. *J Card Fail*, 2015, 21 (2): 973–980.
- [5] Sundaram V, Fang JC. Gastrointestinal and liver issues in heart failure[J]. *Circulation*, 2016, 133(17): 1696–1703.
- [6] Cui X, Ye L, Li J, et al. Metagenomic and metabolomic analyses unveil dysbiosis of gut microbiota in chronic heart failure patients[J]. *Sci Rep*, 2018, 8 (1): 635.
- [7] Pasini E, Aquilani R, Testa C, et al. Pathogenic gut flora in patients with chronic heart failure[J]. *JACC Heart Fail*, 2016, 4 (3): 220–227.
- [8] Gan XT, Ettinger G, Huang CX, et al. Probiotic administration attenuates myocardial hypertrophy and heart failure after myocardial infarction in the rat[J]. *Circ Heart Fail*, 2014, 7: 491–499.
- [9] Costanza AC, Moscovitch SD, Faria Neto HC, et al. Probiotic therapy with *saccharomyces boulardii* for heart failure patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial[J]. *Int J Cardiol*, 2015,

- 179: 348–50.
- [10] 陈婵, 姜洋, 吕铮天, 等. 益心化浊方对慢性心力衰竭大鼠肠道 TLR4/Treg 信号通路的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2021, 41 (10): 1214–122.
- [11] White JR, Nagarajan N, Pop M. Statistical methods for detecting differentially abundant features in clinical metagenomic samples[J]. PLoS Comput Biol, 2009, 5 (4): e1000352.
- [12] Segata N, Izard J, Waldron L, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation[J]. Genome Biol, 2011, 12 (6): R60.
- [13] Langille MGI, Zaneveld J, Caporaso JG, et al. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences[J]. Nat Biotechnol, 2013, 31 (9): 814–821.
- [14] Li W, Xiang X, Li B, et al. PAMK Relieves LPS-Induced enteritis and improves intestinal flora disorder in goslings[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021: 9721353.
- [15] Liu J, Liu L, Zhang G, et al. Poria cocos polysaccharides attenuate chronic nonbacterial prostatitis by targeting the gut microbiota: Comparative study of Poria cocos polysaccharides and finasteride in treating chronic prostatitis[J]. Int J Biol Macromol, 2021, 189: 346–355.
- [16] Zou YT, Zhou J, Wu CY, et al. Protective effects of Poria cocos and its components against cisplatin-induced intestinal injury[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 269: 113722.
- [17] 陈婵, 姜洋, 吕铮天, 等. 益心化浊方对急性心梗后心力衰竭大鼠心肌 TLR4/Treg 信号通路影响的实验研究 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36 (8): 4578–4582.
- [18] Touati A, Cazanave C, Bebear C. Strain typing of Mycoplasma pneumoniae and its value in epidemiology[J]. Curr Pediatr Rev, 2013, 9 (4): 334–342.
- [19] Bansal P, Adegboye DS, Rosenbusch RF. Immune responses to the capsular polysaccharide of mycoplasma dispar in calves and mice[J]. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 1995, 18 (4): 259–268.
- [20] Archer DB. The structure and functions of the mycoplasma membrane[J]. Int Rev Cytol, 1981, 69: 1–44.
- [21] Rubio R, Jofre A, Martin B. Characterization of lactic acid bacteria isolated from infant faces as potential probiotic starter cultures for fermented sausages[J]. Food Microbiol, 2014, 38: 303–311.
- [22] Zalan Z, Hudatck J, Toth-markus M, et al. Sensorically and antimicrobially active metabolite production of lactobacillus strains on jerusalem artichoke juice[J]. J Sci Food Agric, 2011, 91 (4): 672–679.
- [23] Beleguer A, Holtrop G, Duncan SH, et al. Rates of production and utilization of lactate by microbial communities from the human colon[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2011, 77 (1): 107–119.
- [24] Snel J, Heinen PP, Blok HJ, et al. Comparison of 16S rRNA sequences of segmented filamentous bacteria isolated from mice, rats, and chickens and proposal of "Candidatus Arthromitus"[J]. Int J Syst Bacteriol, 1995, 45 (4): 780–782.
- [25] Hedblom GA, Reiland HA, Sylte MJ, et al. Segmented filamentous bacteria - metabolism meets immunity[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 1991.
- [26] Sczesnak A, Segata N, Qin X, et al. The genome of Th17 cell-inducing segmented filamentous bacteria reveals extensive auxotrophy and adaptations to the intestinal environment[J]. Cell Host Microbe, 2011, 10 (3): 260–272.
- [27] Kuwahara T, Ogura Y, Oshima K, et al. The lifestyle of the segmented filamentous bacterium: a non-culturable gut-associated immunostimulating microbe inferred by whole-genome sequencing[J]. DNA Res, 2011, 18 (4): 291–303.
- (收稿: 2022-04-14 在线: 2023-08-04)
- 责任编辑: 邱 禹