

本文引用: 朱媛媛, 潘 龙, 韩 曼, 宋延平. 基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路肠道菌群探究仲叶止泻合剂对脾虚泄泻小鼠的作用机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(11): 2044–2053.

基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路肠道菌群探究仲叶止泻合剂对脾虚泄泻小鼠的作用机制

朱媛媛¹, 潘 龙², 韩 曼^{3*}, 宋延平^{1*}

1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西怡柏源生物医药科技有限公司, 陕西 西安 710061;

3. 陕西省中医药研究院, 陕西 西安 710003

[摘要] **目的** 基于 Toll 样受体 4/髓样分化初级反应蛋白 88/核因子- κ B (TLR4/MyD88/NF- κ B) 通路肠道菌群探讨仲叶止泻合剂对脾虚泄泻小鼠的作用及机制。**方法** 灌胃大黄水煎液以制备脾虚泄泻模型; 随机将 60 只雄性 KM 小鼠分为 6 组, 包括空白组, 模型组, 阳性药组及仲叶止泻合剂高、中、低剂量组, 每组 10 只; 造模成功后, 各给药组灌胃对应药物治疗 7 d。对比治疗前后小鼠体重、腹泻情况、脾脏指数; HE 染色观察各组小鼠结肠组织形态学变化; 16S rDNA 高通量测序检测各组小鼠肠道菌群结构变化; ELISA 检测各组小鼠血清中白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 含量; Western blot 检测各组小鼠结肠组织中 TLR4、MyD88 蛋白表达水平; 免疫荧光检测各组小鼠结肠组织中核因子- κ B (NF- κ B) p-p65 蛋白入核情况。**结果** 与空白组比较, 模型组小鼠体重、脾脏指数均降低 ($P < 0.05$); 粪便含水率、腹泻指数、血清中 IL-6 及 TNF- α 含量、结肠组织中 TLR4 及 MyD88 蛋白表达水平、结肠组织核内 NF- κ B p-p65 相对荧光强度均升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 阳性药组及仲叶止泻合剂不同剂量组小鼠体重、脾脏指数均升高 ($P < 0.05$); 粪便含水率、腹泻指数、血清中 IL-6 及 TNF- α 含量、结肠组织中 TLR4 及 MyD88 蛋白表达水平、结肠组织核内 NF- κ B p-p65 相对荧光强度均降低 ($P < 0.05$)。与阳性药组及仲叶止泻合剂高、中剂量组比较, 仲叶止泻合剂低剂量组小鼠粪便含水率、腹泻指数、血清中 IL-6 及 TNF- α 含量、结肠组织中 TLR4 及 MyD88 蛋白表达水平、结肠组织核内 NF- κ B p-p65 相对荧光强度均降低 ($P < 0.05$)。16S rDNA 结果显示, 仲叶止泻合剂可调控小鼠肠道菌群结构, 恢复 α 和 β 多样性, 提高有益菌相对丰度, 降低有害菌相对丰度。**结论** 仲叶止泻合剂能缓解脾虚泄泻小鼠的腹泻症状, 改善结肠组织病理损伤, 这一作用可能是通过下调 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路蛋白表达, 并改善肠道菌群实现的。

[关键词] 腹泻; 仲叶止泻合剂; 脾虚泄泻; 绿原酸; TLR4/MyD88/NF- κ B 通路; 肠道菌群

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.11.004

Exploring the mechanism of action of Zhongye Zhixie Mixture on mice with spleen-deficiency diarrhea based on the TLR4/MyD88/NF- κ B pathway and gut microbiota

ZHU Yuanyuan¹, PAN Long², HAN Man^{3*}, SONG Yanping^{1*}

1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi 712046, China; 2. Shaanxi Yibaiyuan Biomedical Technology Co., Ltd., Xi'an, Shaanxi 710061, China; 3. Shaanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effects and mechanism of Zhongye Zhixie Mixture (ZYZXM) on mice with spleen-deficiency diarrhea based on the Toll-like receptor 4/myeloid differentiation primary response protein 88/nuclear factor- κ B (TLR4/MyD88/NF- κ B) pathway and gut microbiota. **Methods** Gavage administration of rhubarb decoction was performed to establish a spleen-deficiency diarrhea model. Sixty male KM mice were randomly divided into six groups, including a blank group, a model group, a positive drug group, and high-, medium-, and low-dose groups of ZYXZM, with 10 mice in each group. After successful

[收稿日期] 2025-07-18

[基金项目] 陕西省中医药管理局项目 (ZYJXG-Y23009)。

[通信作者] * 韩 曼, 女, 硕士, 主管中药师, E-mail: hmmm1020@163.com; 宋延平, 男, 研究员, 硕士研究生导师, E-mail: sypdd2003@163.com。

model establishment, each drug administration group received corresponding medication via gavage for 7 days. The body weight, diarrhea condition, and spleen index of the mice were compared before and after treatment. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the morphological changes in the colon tissues of mice in each group. 16S rDNA high-throughput sequencing was employed to check alterations in the gut microbiota structure of mice in each group. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was utilized to measure the levels of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the serum of mice in each group. Western blot analysis was performed to examine the protein expression levels of TLR4 and MyD88 in the colon tissues of mice in each group. Immunofluorescence was used to check the nuclear translocation of nuclear factor-kappa B (NF- κ B) p-p65 protein in the colon tissues of mice in each group. **Results** Compared with the blank group, the mice in the model group exhibited decreases in body weight and spleen index ($P<0.05$), while increases were observed in fecal water content, diarrhea index, serum levels of IL-6 and TNF- α , protein expression levels of TLR4 and MyD88 in colon tissues, and relative fluorescence intensity of nuclear NF- κ B p-p65 in colon tissues ($P<0.05$). In comparison with the model group, the mice in the positive drug group and different-dose groups of ZYZXM showed increases in body weight and spleen index ($P<0.05$), along with decreases in fecal water content, diarrhea index, serum levels of IL-6 and TNF- α , protein expression levels of TLR4 and MyD88 in colon tissues, and relative fluorescence intensity of nuclear NF- κ B p-p65 in colon tissues ($P<0.05$). When compared with the positive drug group and the high- and medium-dose groups of ZYZXM, the low-dose group of ZYZXM demonstrated decreases in fecal water content, diarrhea index, serum levels of IL-6 and TNF- α , protein expression levels of TLR4 and MyD88 in colon tissues, and relative fluorescence intensity of nuclear NF- κ B p-p65 in colon tissues ($P<0.05$). The results of 16S rDNA sequencing indicated that ZYZXM could regulate the gut microbiota structure in mice, restore α and β diversity, increase the relative abundance of beneficial bacteria, and decrease the relative abundance of harmful bacteria. **Conclusion** ZYZXM can alleviate diarrhea symptoms in mice with spleen-deficiency diarrhea and improve pathological damage in colon tissues. This effect may be achieved by down-regulating the expression of proteins in the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway and improving the gut microbiota.

[**Keywords**] diarrhea; Zhongye Zhixie mixture; spleen-deficiency diarrhea; chlorogenic acid; TLR4/MyD88/NF- κ B; gut microbiota

腹泻是消化系统多发病症,中医学将其归为“泄泻”范畴,其主要临床表现包括粪便稀薄或水样便及排便频次增多,轻症常伴呕吐,重症可致脱水甚至昏迷休克,严重影响身体健康,已被列入国家卫生健康委员会重点防治的疾病之一^[1]。《素问·阴阳应象大论篇》中有“湿盛则濡泻”的记载,强调外感湿邪常为其致病关键^[2]。脾为后天之本,主司运化升清,喜燥恶湿;饮食失节、劳倦过度或寒湿侵袭等因素易致脾虚湿困,中焦气机失调,水谷精微运化失常,终成泄泻,故脾虚湿滞为其核心病理基础^[3]。

当前临床用于腹泻治疗的常用药物如左氧氟沙星、利福昔明及蒙脱石等,虽具有一定疗效,但常伴随便秘、肠道菌群失调等不良反应^[4]。现代药理学研究证实,中药可以多靶点、多途径治疗腹泻,包括调节肠道免疫应答、促进黏膜修复及抑制炎症介质释放等^[5]。绿原酸作为多种中药的主要多酚类物质,具有免疫保护、抗炎、抗菌、抗氧化及调节肠道菌群等多种药理活性^[6]。杜仲叶为其重要来源,《中华人民共和国药典》(2020 年版)明确将绿原酸列为该药材质量控制的关键指标^[7]。而仲叶止泻合剂是杜仲叶的提取物,因此,本研究以仲叶止泻合剂为研究对象,以具有健脾益气、渗湿止泻之功的参苓白术散

为阳性药组^[8],重点探讨仲叶止泻合剂对肠道菌群平衡及 Toll 样受体 4/髓样分化初级反应蛋白 88/核因子 κ B(toll-like receptor 4/myeloid differentiation primary response protein 88/nuclear factor- κ B, TLR4/MyD88/NF- κ B)通路的调控作用,旨在阐明其改善脾虚泄泻的分子机制,为临床应用提供理论依据及潜在干预靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性 KM 小鼠,体质量 18~22 g,由西安交通大学医学部实验动物中心提供,动物合格证号: NO3703,生产许可证号: SCXK(陕)2023-002。小鼠饲养条件为: 温度 20~24 ℃、相对湿度 40%~70%、每日光照/避光各 12 h、自由进食饮水。本实验经西北大学伦理委员会审批通过(伦理批准号: NWU-AWC-20250102R)。

1.2 药品及试剂

仲叶止泻合剂(批号: 20230921,陕西怡柏源生物医药科技有限公司);参苓白术散(批号: 20230709,山西华康药业股份有限公司);TLR4 生物抗体(批号: 6350-1-lg,美国 Proteintech 公司);NF- κ B p-p65 抗体(批号: Q04206,成都正能生物技术有限责

任公司); MyD88、 β -actin、山羊抗兔 IgG 抗体(批号:R5983、D92387、R00001,杭州芸丹生物科技有限公司); DAPI 溶液(批号:BL105A,北京兰杰柯科技有限公司); 柠檬酸盐修复液(批号:ZLI-9064,北京中杉金桥生物技术有限公司); MARKER、PBS、脱脂牛奶(批号:1018062741、7208081441、7861112241,北京兰博利德生物技术有限公司); SDS-PAGE 凝胶快速配制试剂盒(批号:A035240805,上海碧云天生物技术有限公司); 抗体稀释剂(批号:02704202,西安米鼠生物科技有限公司); 抗体洗脱液、TBST、SWE 快速高分辨电泳液缓冲液、免冰浴转膜缓冲液(批号:CR2409013、7209080741、GA2410105、GA2409101,武汉赛维尔生物技术有限公司); 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)试剂盒(批号:20240510、20241024,武汉贝莱茵生物技术有限公司)。

1.3 主要仪器

TS100-F 型倒置显微镜(日本尼康公司); HH-S6A 型电热恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器有限公司); YX-18HDD 型手提式压力蒸汽灭菌锅(江阴滨江医疗设备有限公司); TDZ4-WS 型低速台式离心机(湖南迈克实验仪器有限公司); LT1001 型电子天平(常熟市天量仪器有限责任公司); SQP 型电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司); LEICA RM2235 型组织切片机(德国徕卡公司); YB-7LF 型包埋机(孝感市亚光医用电子技术有限公司); MULTISKAN SKY 型酶标仪(美国赛默飞公司); PowerPac Basic 型电泳仪、ChemiDoc Touch 型化学发光成像仪[伯乐生命科学产品(上海)有限公司]。

2 方法

2.1 大黄水煎液的制备

称取生大黄,根据生大黄重量于烧杯中加入 10 倍量纯水,待水煮沸后,加入生大黄,煎煮 20 min,过滤,浓缩至相当于生药 1 g/mL 的药液。

2.2 仲叶止泻合剂及参苓白术散的剂量设置

仲叶止泻合剂临床人建议用量为 1 mL,人体质量以 60 kg 计,故临床用量为 1 mL/60 kg^[9]。根据人与小鼠的体表面积等效剂量比 12.3:1,设计小鼠给药剂量^[10],小鼠中剂量为 0.205 mL/kg;低剂量取其半量,为 0.103 mL/kg;高剂量加倍,为 0.410 mL/kg。

阳性药组采用参苓白术散,临床人用量为 12~27 g/d,本试验临床人用量以 20 g/d 计,人体质量以 60 kg 计,故临床人用剂量为 20 g/60 kg^[9]。根据人与小鼠的体表面积等效剂量比 12.3:1^[10],故小鼠给药量为 4.1 g/kg;小鼠的给药体积为 20 mL/kg,故阳性药组的给药浓度为 0.205 g/mL。

2.3 造模、分组及给药

将 60 只雄性昆明小鼠适应性喂养 3 d 后,按体质量分层分为 6 组,每组 10 只,分别为:空白组、模型组、阳性药组、仲叶止泻合剂高剂量组、仲叶止泻合剂中剂量组、仲叶止泻合剂低剂量组。除空白组灌胃纯水 20 mL/kg 外,其他各组小鼠每天上午 9 点灌胃生大黄水煎剂,剂量为 20 mL/kg,以制备脾虚泄泻动物模型,持续 21 d^[11]。造模结束可见小鼠精神萎靡、摄食量减少、大便质软或稀溏、肛周污秽、体质量降低等症状,提示造模成功^[12]。

造模成功后,空白组、模型组灌胃纯水,阳性药组灌胃对应浓度的参苓白术散溶液,仲叶止泻合剂不同剂量组按对应浓度给药,灌胃容量均为 20 mL/kg,持续 7 d。

2.4 检测指标

2.4.1 小鼠体质量观察 在给药期间内,每天定时称量并记录各组小鼠体质量。

2.4.2 腹泻指标检测 粪便含水率:给药第 7 天,将各组第 2 笼小鼠置于代谢笼中,收集 4 h 内小鼠粪便于干净的纱布上,记录湿重,置于 105 °C 烘箱中烘干至恒重,记录干重,计算小鼠的粪便含水率:粪便含水率=(湿重-干重):湿重 $\times$ 100%^[13]。

腹泻指数:给药第 7 天,将各组第 1 笼小鼠置于铺有洁净滤纸的代谢笼中,记录小鼠 4 h 内腹泻的发生情况,每 1 h 更换 1 次滤纸直至观察结束;根据小鼠粪便在下方滤纸上形成的污渍直径大小,评估其是否存在稀便以及稀便的程度。健康小鼠产生的粪便呈椭圆形,且不会黏附在滤纸上^[14];脾虚泄泻组小鼠产生的粪便形态不规则、质地松散以及含水量显著升高,易于黏附在滤纸表面,并在滤纸上形成圆形污迹,测量并记录污迹的直径,按直径大小将稀便级分为 3 个不同等级:<1 cm 为 1 级,<2 cm 为 2 级,>2 cm 为 3 级^[15]。稀便率为每只小鼠排稀便次数与总排便次数之比;根据公式计算小鼠腹泻指数:腹泻指数=稀便率 $\times$ 平均稀便级;平均稀便级=总稀便级 $\div$ 稀便次数^[16]。

2.4.3 脾脏指数检测 摘取脾脏组织,用生理盐水清洗干净后吸干水分称重。脾脏指数=脾脏重量(mg)÷小鼠体质量(g)×100%^[17]。

2.4.4 HE 染色检查结肠病理情况 将取出的结肠组织在自然光下拍照,截取一段长约 1 cm 的结肠组织,浸泡于 4%多聚甲醛中 24 h 固定形态,随后经过脱水、浸泡、包埋、切片、染色后制备病理切片,于光学显微镜下检查各组小鼠结肠一般组织学表现,并采集病理切片图像。

2.4.5 16S rDNA 高通量测序技术检测肠道菌群结构变化 无菌条件下取小鼠结肠内容物于无酶 EP 管中,−80 ℃冻存,先进行基因组 DNA 提取,利用 1%琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA,再进行 PCR 扩增与 PCR 产物的混样和纯化,PCR 产物使用 1%琼脂糖凝胶电泳检测扩增目的条带大小,并用核酸纯化试剂盒纯化,制备测序文库,最后在 Illumina Miseq 平台测序。

2.4.6 ELISA 测定血清中炎症因子 IL-6、TNF-α 的含量 眼眦静脉丛采血,放置于 4 ℃冰箱中,静置 2~3 h,4 ℃,离心 10 min,收集上清液(血清),按照试剂盒说明书检测小鼠血清中 IL-6、TNF-α 含量。

2.4.7 Western blot 检测结肠组织中 TLR4、MyD88 蛋白表达 称取 20 mg 小鼠结肠组织于 2 mL 灭菌 EP 管中,加入 2 颗 3 mm 钢珠及 180 μL 含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液,充分研磨,−4 ℃,离心 20 min,取上清液,使用 BCA 蛋白定量试剂盒,按照说明书测定样本浓度。TLR4 选择 8%分离胶,MyD88 选择 10%分离胶进行 SDS-PAGE 电泳,80 V 恒压持续电泳,待蛋白 maker 跑到分离胶,将电压调至 120 V 继续电泳,待溴酚蓝电泳至底部时停止,100 V 恒压湿转至 PVDF 膜上,5%脱脂奶粉封闭 2 h,1×TBST 洗膜 3 次,每次 10 min;加入一抗(TLR4、MyD88 稀释比例分别为 1:1 000、1:1 500),4 ℃孵育过夜;1×TBST 洗膜 3 次,每次 10 min;加入二抗(稀释比例为 1:5 000),室温孵育 1 h;1×TBST 洗膜 3 次,每次 10 min;滴加 ECL 显影液显影;最后用 ImageJ Pro 软件对条带灰度值进行统计分析。

2.4.8 免疫荧光观察小鼠结肠组织 NF-κB p-p65 入核情况 结肠标本经脱水、包埋、切片、脱蜡、水合后,进行抗原修复,将切片架置于耐温玻璃容器内,10 mmol/L 枸橼酸钠缓冲液淹没切片,于微波炉中

加热,待缓冲液微沸腾后取出等待 5 min,重复 3 次后自然冷却至室温,PBS 洗 2 次,每次 5 min;轻轻甩干,在 37 ℃下用山羊血清封闭 30 min;用滤纸吸去血清,滴加一抗(稀释比例为 1:100),4 ℃过夜;PBS 洗 3 次,每次 5 min;滴加相应种属的荧光二抗(稀释比例为 1:5 000),37 ℃孵育 50 min;PBS 洗 3 次,每次 5 min;滴加 DAPI 染液,室温避光孵育 5 min;PBS 洗 3 次,每次 5 min;滴加适量的抗荧光淬灭剂于组织上,盖玻片封片,荧光显微镜下观察;最后用 ImageJ Pro 软件进行共定位分析及归一化荧光强度分析。

2.5 统计学分析

实验数据使用 SPSS 26.0 统计软件进行处理,使用 GraphPad Prism 9.5.1 进行绘图。计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,符合正态分布且方差齐,多组间比较采用单因素方差分析,两两组间比较采用 *LSD-t* 检验;不符合正态分布,采用非参数检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 仲叶止泻合剂对小鼠体质量的影响

与空白组比较,模型组小鼠体质量降低(*P*<0.05);与模型组比较,阳性药组及仲叶止泻合剂不同剂量组小鼠体质量均升高(*P*<0.05);阳性药组及仲叶止泻合剂不同剂量组之间,小鼠体质量差异均无统计学意义(*P*>0.05)。详见表 1。

表 1 各组小鼠体质量比较($\bar{x}\pm s$, *n*=10)

Table 1 Comparison of body weight among different groups of mice ($\bar{x}\pm s$, *n*=10)

组别	体质量/g
空白组	42.68±3.12
模型组	37.07±1.90 [#]
阳性药组	38.66±0.98 ^{**}
仲叶止泻合剂高剂量组	38.71±0.80 ^{**}
仲叶止泻合剂中剂量组	38.52±1.00 ^{**}
仲叶止泻合剂低剂量组	38.46±0.75 ^{**}

注:与空白组比较,[#]*P*<0.05;与模型组比较,^{*}*P*<0.05。

3.2 仲叶止泻合剂对粪便含水率和腹泻指数的影响

与空白组比较,模型组小鼠粪便含水率、腹泻指数均升高(*P*<0.05);与模型组比较,阳性药组及仲叶止泻合剂不同剂量组小鼠粪便含水率、腹泻指数均

降低($P<0.05$);与阳性药组及仲叶止泻合剂高、中剂量组比较,仲叶止泻合剂低剂量组小鼠粪便含水率、腹泻指数均降低($P<0.05$)。详见表 2。

表 2 各组小鼠粪便含水率与腹泻指数比较($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 2 Comparison of fecal moisture content and diarrhea index among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	粪便含水率/%	腹泻指数
空白组	0.45±0.05	0.00±0.00
模型组	0.88±0.03 [#]	0.93±0.44 [#]
阳性药组	0.55±0.04 ^{#*}	0.44±0.05 ^{#*}
仲叶止泻合剂高剂量组	0.60±0.08 ^{#*}	0.45±0.10 ^{#*}
仲叶止泻合剂中剂量组	0.56±0.05 ^{#*}	0.44±0.07 ^{#*}
仲叶止泻合剂低剂量组	0.50±0.00 ^{#*▲◆}	0.30±0.09 ^{#*▲◆}

注:与空白组比较,[#] $P<0.05$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$;与阳性药组比较,[▲] $P<0.05$;与仲叶止泻合剂高剂量组比较,[■] $P<0.05$,与仲叶止泻合剂中剂量组比较,[◆] $P<0.05$ 。

3.3 仲叶止泻合剂对脾脏指数的影响

与空白组比较,模型组小鼠脾脏指数降低($P<0.05$);与模型组比较,阳性药组及仲叶止泻合剂各剂量组小鼠脾脏指数均升高($P<0.05$);阳性药组及仲叶止泻合剂各剂量组之间,小鼠脾脏指数差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见表 3。

3.4 仲叶止泻合剂对小鼠结肠病理变化的影响

空白组结肠组织结构完整,未见充血或血丝;模型组结肠黏膜上皮细胞脱落,杯状细胞大量减少,腺体萎缩,并伴有炎症细胞浸润,黏膜下层偶见出血,较多组织样本肌层变薄;阳性药组及仲叶止泻合剂各剂量组结肠黏膜病理损伤均减轻,其中仲叶止泻

表 3 各组小鼠脾脏指数比较($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 3 Comparison of spleen index among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	脾脏指数/(mg/g)
空白组	4.78±0.76
模型组	1.86±0.29 [#]
阳性药组	4.13±0.98 [*]
仲叶止泻合剂高剂量组	3.65±1.38 ^{#*}
仲叶止泻合剂中剂量组	3.90±1.49 [*]
仲叶止泻合剂低剂量组	4.25±1.12 [*]

注:与空白组比较,[#] $P<0.05$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$ 。

合剂低剂量组结肠黏膜结构最为完整,仅见少量上皮细胞脱落与杯状细胞减少,在恢复结肠组织形态方面疗效最为显著。详见图 1。

3.5 仲叶止泻合剂对小鼠肠道菌群的影响

3.5.1 各组分类操作单元(operational taxonomic unit, OTU)组成相似性 与空白组比较,模型组独有的物种数量降低。与模型组比较,阳性药组及仲叶止泻合剂不同剂量组独有的物种数量均升高,且仲叶止泻合剂低剂量组物种数量最接近空白组。详见图 2A。

3.5.2 α 多样性分析 与空白组比较,模型组 Chao1 指数、Observed species 指数、Simpson 指数及 Shannon 指数均降低($P<0.05$);与模型组比较,阳性药组和仲叶止泻合剂不同剂量组 Chao1 指数、Observed species 指数、Simpson 指数及 Shannon 指数均升高($P<0.05$);与阳性药组及仲叶止泻合剂高、中剂量组比较,仲叶止泻合剂低剂量组 Chao1 指数上升($P<0.05$)。详见表 4。

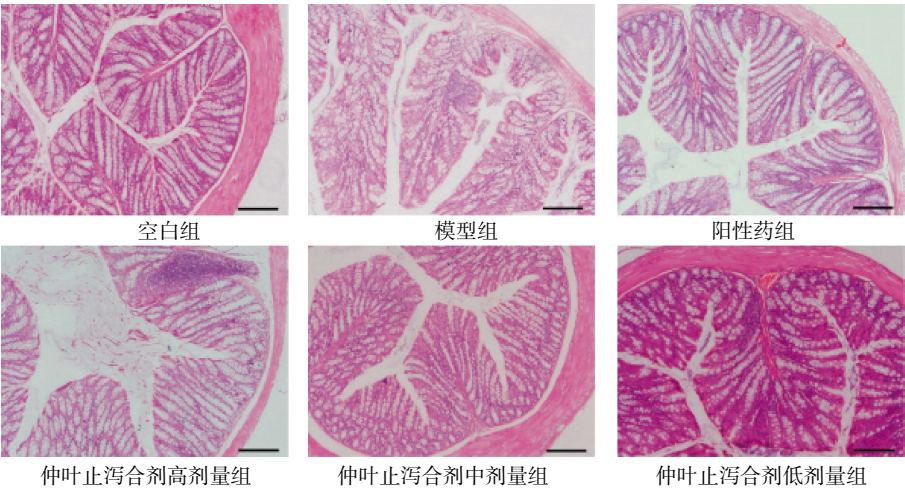


图 1 各组小鼠结肠组织 HE 染色结果(标尺=200 μm , $\times 100$)

Fig.1 HE staining results of colon tissue of mice among different groups of mice (scale bar=200 μm , $\times 100$)

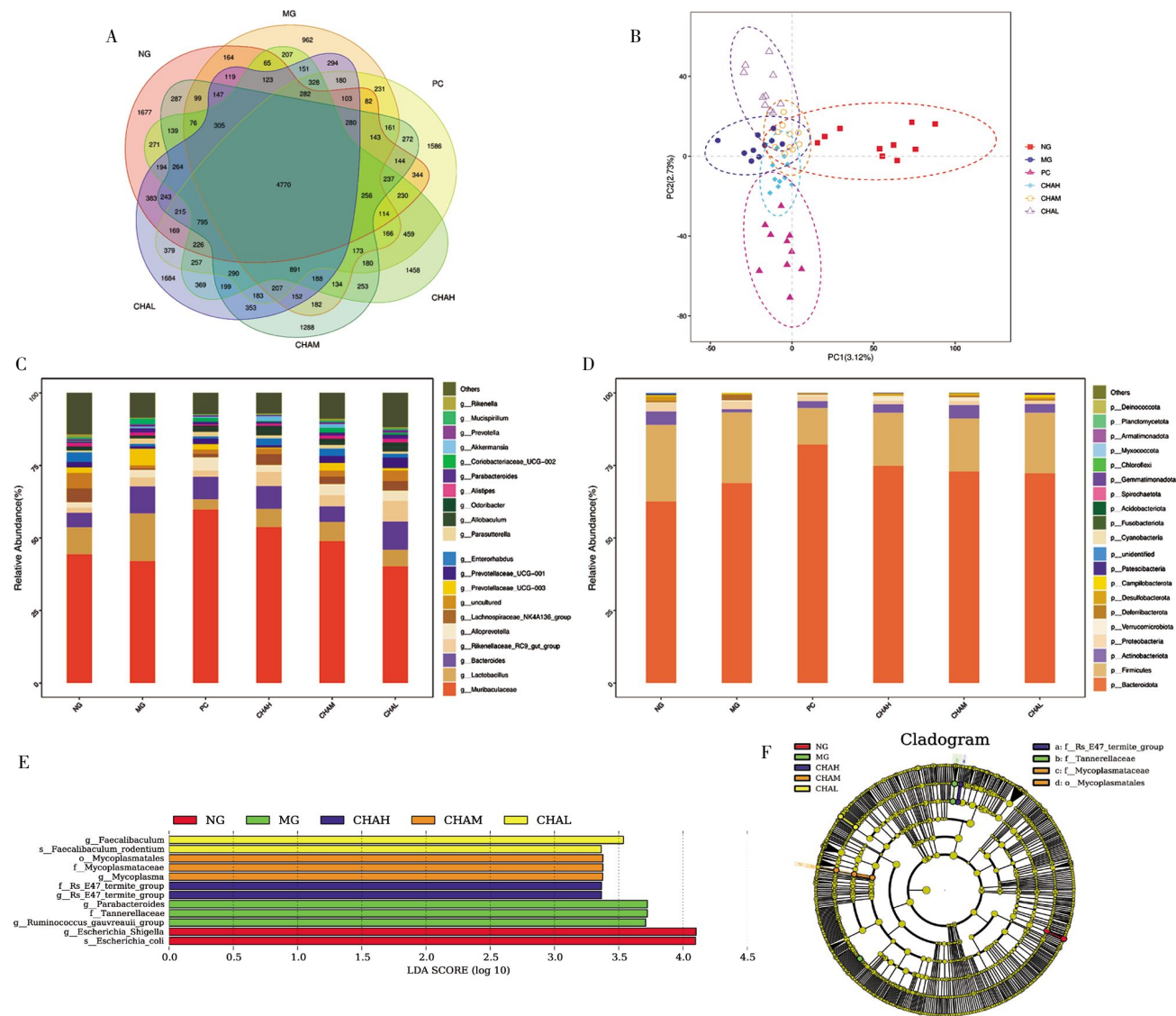


图 2 各组小鼠肠道菌群的变化

Fig.2 Changes in gut microbiota among different groups of mice

注:A.OTU 分布 Venn 图;B.基于 PLS-DA 的 β 多样性分析;C.门水平上物种分布;D.属水平上物种分布;E.LDA 分数可视化;F.LEfSe 进化分支图。NG.空白组;MG.模型组;PC.阳性药组;CHAH.仲叶止泻剂高剂量组;CHAM.仲叶止泻剂中剂量组;CHAL.仲叶止泻剂低剂量组。

表 4 各组小鼠肠道菌群 α 多样性比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 4 Comparison of α diversity among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	Chao1 指数	Simpson 指数	Shannon 指数	Observed species 指数
空白组	5 810.41 $\pm$ 435.80	0.97 $\pm$ 0.03	8.26 $\pm$ 1.03	3 845.00 $\pm$ 697.27
模型组	4 353.20 $\pm$ 699.91 [#]	0.94 $\pm$ 0.03 [#]	7.28 $\pm$ 0.94 [#]	3 189.00 $\pm$ 683.26 [#]
阳性药组	5 005.86 $\pm$ 761.11 ^{*#}	0.98 $\pm$ 0.01 [*]	8.56 $\pm$ 0.48 [*]	3 974.20 $\pm$ 925.68 [*]
仲叶止泻剂高剂量组	4 804.10 $\pm$ 1 061.68 ^{*#}	0.98 $\pm$ 0.02 [*]	8.16 $\pm$ 0.44 [*]	3 837.50 $\pm$ 535.84 [*]
仲叶止泻剂中剂量组	5 171.19 $\pm$ 919.84 ^{*#}	0.98 $\pm$ 0.01 [*]	8.11 $\pm$ 0.53 [*]	3 846.70 $\pm$ 647.00 [*]
仲叶止泻剂低剂量组	5 406.51 $\pm$ 480.19 ^{*▲◆}	0.99 $\pm$ 0.01 [*]	8.53 $\pm$ 0.69 [*]	3 931.50 $\pm$ 708.81 [*]

注:与空白组比较,[#] $P<0.05$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$;与阳性药组比较,[▲] $P<0.05$;与仲叶止泻剂高剂量组比较,[■] $P<0.05$,与仲叶止泻剂中剂量组比较,[◆] $P<0.05$ 。

3.5.3 β 多样性分析 最小二乘法判别分析(partial least squares discrimination analysis, PLS-DA)通过样本在坐标空间中的距离度量菌群结构的相似性。

距离越近,结构越相似;距离越远,差异越显著。基于 PLS-DA 的 β 多样性结果显示,空白组与模型组沿 PC1 轴明显分离,提示二者菌群结构差异显著;而

阳性药组及各剂量组仲叶止泻合剂均向空白组方向偏移,表明干预有效。详见图 2B。

3.5.4 小鼠肠道菌群门及属水平生物物种组成分析

对各组小鼠肠道菌群在门水平上的物种组成进行分析,结果显示优势菌门为:厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidota)、放线菌门(Actinobacteria)、变形杆菌门(Proteobacteria)、脱铁杆菌门(Deferribacterota)、疣微菌门(Verrucomicrobiota)、髌骨细菌门(Patescibacteria)。其中,模型组小鼠肠道内的有益菌放线菌门、髌骨细菌门相对丰度均下降,有害菌脱铁杆菌门、疣微菌门相对丰度均增加;阳性药组及仲叶止泻合剂不同剂量组有益菌拟杆菌门、放线菌门、髌骨细菌门的相对丰度均上升,有害菌厚壁菌门、变形杆菌门、脱铁杆菌门及疣微菌门的相对丰度均降低。拟杆菌门与厚壁菌门的比值(B/F 值)是反映肠道菌群紊乱的重要指标^[18]。模型组 B/F 值有所下降,阳性药组及仲叶止泻合剂不同剂量组 B/F 值均有所上升。详见图 2C。

对各组小鼠肠道菌群在属水平上的物种组成进行分析,结果显示优势菌属为:*Muribaculaceae*、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)、*Rikenellaceae_RC9_gut_group*、拟普雷沃菌属(*Alloprevotella*)、毛螺菌属(*Lachnospiraceae_NK4A136_group*)、普雷沃氏菌科 UCG-001(*Prevotellaceae_UCG-001*)等。其中,模型组小鼠肠道内的 *Muribaculaceae*、毛螺菌属相对丰度下降,拟杆菌属、*Rikenellaceae_RC9_gut_group*、拟普雷沃菌属、*Prevotellaceae_UCG-001* 相对丰度增加;阳性药组与仲叶止泻合剂不同剂量组拟杆菌属、*Rikenellaceae_RC9_gut_group*、拟普雷沃菌属、*Prevotellaceae_UCG-001* 相对丰度均降低,*Muribaculaceae*、毛螺菌属相对丰度均增加。详见图 2D。

3.5.5 小鼠肠道菌群群落组间差异性分析 采用线性判别分析效应量(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)方法比较组间差异,筛选在丰度上具有显著差异的物种。结果表明,模型组以坦纳菌科(Tannerellaceae)、副拟杆菌属(*Parabacteroides*)和瘤胃球菌属(*Ruminococcus_gauvreauii_group*)为主,均为肠道有害菌。仲叶止泻合剂高剂量组以 *Rs-E47-termite_group* 科和 *Rs-E47-termite_group* 属为主,提示菌群失调;仲叶止泻合剂中剂量组以潜在有害的支原体目(Mycoplasmatales)、支原体科(Mycoplas-

mataceae)和支原体属(*Mycoplasma*)为主;而仲叶止泻合剂低剂量组则建立了以有益菌粪杆菌属(*Faecalibaculum*)为优势菌的群落,表明仲叶止泻合剂能够有效调节肠道菌群结构。详见图 2E-F。

3.6 仲叶止泻合剂对小鼠血清中炎症因子 IL-6、TNF-α 的影响

与空白组比较,模型组小鼠血清中 IL-6、TNF-α 含量均升高($P<0.05$);与模型组比较,阳性药组及仲叶止泻合剂不同剂量组血清中 IL-6、TNF-α 含量均降低($P<0.05$);与阳性药组及仲叶止泻合剂高、中剂量组比较,仲叶止泻合剂低剂量组小鼠血清中 IL-6、TNF-α 含量均降低($P<0.05$)。详见表 5。

表 5 各组小鼠血清中 IL-6、TNF-α 含量比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 5 Comparison of IL-6 and TNF-α levels in serum among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	IL-6/(pg/mL)	TNF-α/(pg/mL)
空白组	119.26±9.02	81.96±17.96
模型组	138.97±9.10 [#]	155.18±8.42 [#]
阳性药组	125.99±7.78 ^{*#}	134.39±16.45 ^{*#}
仲叶止泻合剂高剂量组	126.65±2.39 ^{*#}	141.68±9.56 ^{*#}
仲叶止泻合剂中剂量组	122.00±4.66 ^{*#}	131.92±6.48 ^{*#}
仲叶止泻合剂低剂量组	111.07±7.94 ^{*#▲◆}	104.68±19.33 ^{*▲◆}

注:与空白组比较,[#] $P<0.05$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$;与阳性药组比较,[▲] $P<0.05$;与仲叶止泻合剂高剂量组比较,[■] $P<0.05$;与仲叶止泻合剂中剂量组比较,[◆] $P<0.05$ 。

3.7 仲叶止泻合剂对小鼠结肠组织中 TLR4、MyD88 蛋白表达水平的影响

与空白组比较,模型组结肠组织中 TLR4、MyD88 蛋白表达水平均升高($P<0.05$);与模型组比较,阳性药组及仲叶止泻合剂不同剂量组结肠组织中 TLR4、MyD88 蛋白表达水平均降低($P<0.05$);与阳性药组及仲叶止泻合剂高、中剂量组比较,仲叶止泻合剂低剂量组结肠组织中 TLR4、MyD88 蛋白表达水平均降低($P<0.05$)。详见图 3。

3.8 仲叶止泻合剂对小鼠结肠组织中 NF-κB p-p65 蛋白入核的影响

与空白组比较,模型组结肠组织核内 NF-κB p-p65 相对荧光强度升高($P<0.05$);与模型组比较,阳性药组及仲叶止泻合剂不同剂量组结肠组织核内 NF-κB p-p65 相对荧光强度均降低($P<0.05$);与阳性药组及仲叶止泻合剂高、中剂量组比较,仲叶止泻合剂低剂量组结肠组织核内 NF-κB p-p65 相对荧光强度降低($P<0.05$)。详见图 4。

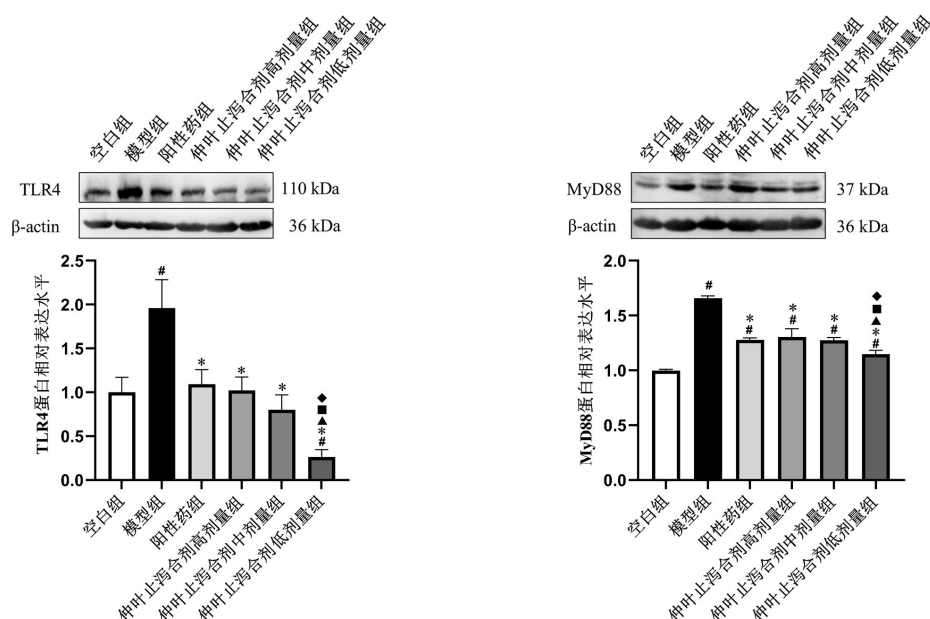


图3 各组小鼠结肠组织中 TLR4、MyD88 蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.3 Comparison of TLR4 and MyD88 protein expression levels in colon tissues among different groups of mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

注:与空白组比较, $^{\#}P<0.05$;与模型组比较, $^{*}P<0.05$;与阳性药组比较, $^{\Delta}P<0.05$;与仲叶止泻合剂高剂量组比较, $^{\blacksquare}P<0.05$;与仲叶止泻合剂中剂量组比较, $^{\blacklozenge}P<0.05$ 。

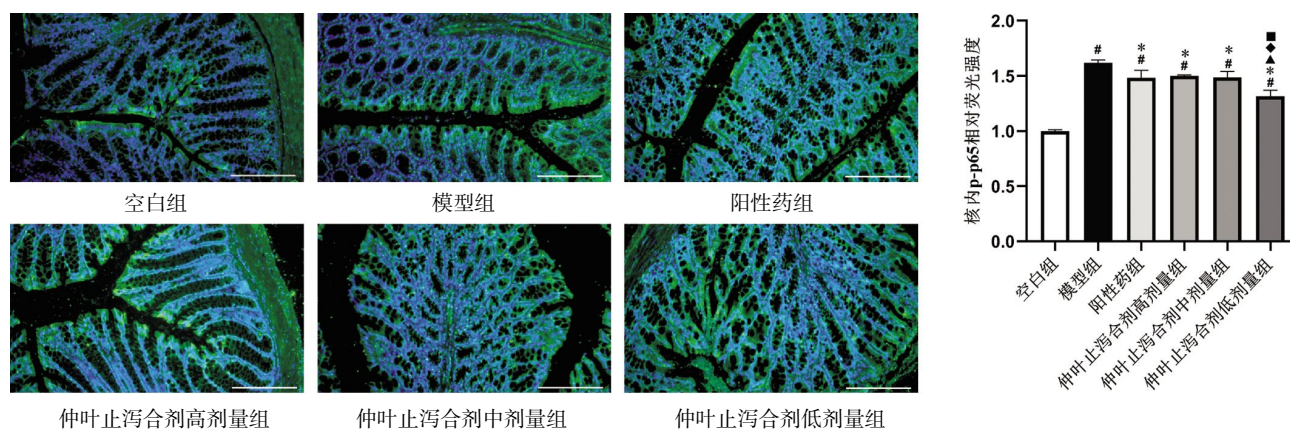


图4 各组小鼠结肠组织核内 NF- κ B p-p65 蛋白表达水平比较(标尺=200 μ m, $\times 200$)

Fig.4 Comparison of nuclear p-p65 protein expression levels in colonic tissues among different groups of mice (scale bar = 200 μ m, $\times 200$)

注:与空白组比较, $^{\#}P<0.05$;与模型组比较, $^{*}P<0.05$;与阳性药组比较, $^{\Delta}P<0.05$;与仲叶止泻合剂高剂量组比较, $^{\blacksquare}P<0.05$;与仲叶止泻合剂低剂量组比较, $^{\blacklozenge}P<0.05$ 。

4 讨论

泄泻以排便次数增多、粪质溏薄为主要特征,始载于《黄帝内经》^[19]。近年来,随着生活方式、饮食结构等环境因素的变化,泄泻的全球发病率呈现上升趋势^[20]。中药可通过调节肠道免疫、修复肠道黏膜、抑制炎症等多种途径达到止泻目的^[21]。绿原酸作为天然抗炎成分,在炎症相关疾病中疗效显著^[22]。在溃疡性结肠炎模型中,绿原酸可以降低 TNF- α 、IL-6

等促炎性细胞因子的表达,改善结肠损伤,其机制可能与 NF- κ B 信号通路抑制相关^[23]。张文静等^[24]发现,绿原酸可下调糖尿病肾病模型中 TLR4 蛋白表达,阻断 I κ B 与 NF- κ B p65 磷酸化进程,从而阻断炎症信号传导及炎症因子级联反应^[25-26]。此外,肠道微生态紊乱是导致腹泻的重要原因之一^[27]。绿原酸可以调节肠道菌群,如降低拟杆菌属以缓解结肠炎^[28];或提高乳杆菌属丰度,恢复微生物多样性,改善结肠损伤^[29]。

本研究采用大黄苦寒泻下法建立脾虚泄泻小鼠模型,以体质量、粪便含水率及腹泻指数作为评价指标。结果显示,仲叶止泻合剂可以显著改善小鼠体质量增长缓慢,降低小鼠粪便含水率及腹泻指数,改善腹泻症状。

脾虚泄泻与肠道菌群失调密切相关。中医学认为,脾主运化水湿,脾虚则水湿不化,导致纳差、便溏等症状,进而引起菌群失调;而肠道菌群的失调又加重脾虚,二者互为因果^[30]。肠道作为引起脾虚泄泻的主要器官,其功能依赖于完整的肠道屏障与健康的微生物群水平^[31-32]。菌群失衡可损伤肠黏膜屏障^[33],破坏黏液层,并激活免疫系统,引发肠道炎症,最终导致泄泻^[34-35];且病原菌及毒素可穿过肠壁侵入肠系膜淋巴结、肝、脾及血液,激活全身免疫系统,释放大炎症因子与氧自由基,进一步加剧肠黏膜损伤^[36],因此,维持肠道屏障与菌群平衡至关重要。肠道菌群的多样性及结构研究是复杂微生态系统分析的基础^[37]。本研究采用 16S rDNA 测序技术,考察仲叶止泻合剂对小鼠肠道菌群结构的调节作用。结果显示,模型组小鼠肠道菌群丰富度和多样性下降,有益菌如放线菌门、酸杆菌门、*Muribaculaceae*、毛螺菌属等相对丰度下降,而有害菌如脱铁杆菌门、疣微菌门、拟杆菌属、*Rikenellaceae_RC9_gut_group*、拟普雷沃菌属、*Prevotellaceae_UCG-001* 等相对丰度增加,且 B/F 值有所下降;经仲叶止泻合剂干预后,物种丰富度和多样性显著提升,有害菌丰度降低,有益菌丰度增加,且 B/F 值有所回升,提示仲叶止泻合剂可有效改善肠道微生态紊乱。此外,HE 结果表明,模型组小鼠肠道上皮细胞脱落,杯状细胞减少,并伴有炎症;而仲叶止泻合剂治疗后,小鼠结肠组织中杯状细胞与上皮细胞数量增加,腺体萎缩、肌层变薄及炎症浸润等情况明显减少,提示仲叶止泻合剂可以修复肠道损伤,改善肠道病理情况。

脾脏是机体最大的外周淋巴器官,在炎症反应中起着重要作用^[38]。本研究表明,模型组小鼠脾脏指数较空白组减轻,可能与淋巴细胞参与炎症反应有关^[39];给药后脾脏指数回升,提示仲叶止泻合剂可缓解脾脏炎症,促进其功能恢复。

TLR4/NF- κ B 通路是机体调节炎症的重要途径。TLR4 识别脂多糖等配体后,通过 MyD88 依赖途径激活 IKK,促使 I κ B 磷酸化,进而活化 NF- κ B 入核,启动 TNF- α 、IL-6 等炎症因子转录,破坏肠黏膜屏障^[25,40]。本研究显示,模型组结肠组织中 TLR4、

MyD88 蛋白表达水平均上升,NF- κ B p-p65 入核增加,血清中 TNF- α 、IL-6 含量均上升,提示 TLR4 通路被激活;而仲叶止泻合剂干预后,TLR4、MyD88 蛋白表达水平均降低,NF- κ B p-p65 入核减少,TNF- α 、IL-6 含量均降低,说明仲叶止泻合剂可抑制 TLR4/NF- κ B 通路激活,缓解炎症,保护肠黏膜。

研究结果显示,仲叶止泻合剂低剂量组疗效优于高、中剂量组,其原因可能是绿原酸对胃肠道平滑肌功能具有浓度依赖性的双重调节作用。绿原酸低剂量时,主要通过保护肠道黏膜和调节菌群发挥作用;而高剂量可能刺激肠蠕动或诱发痉挛^[41]。此外,高剂量绿原酸的广谱抗菌效应可能导致肠道菌群生态失调,从而破坏肠道微生物屏障功能与代谢稳态,降低疗效^[42]。

综上所述,仲叶止泻合剂能有效减轻腹泻症状,修复肠道损伤,其作用机制可能与抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路,调节肠道菌群结构并恢复微生态平衡有关。本研究仅聚焦于 TLR4/NF- κ B 信号通路,阐述了仲叶止泻合剂的抗炎作用,但对其他可能涉及的通路尚未深入探讨。未来工作将进一步探究“脾主运化”与“菌群-免疫-炎症”轴的关联,系统阐明仲叶止泻合剂治疗脾虚泄泻的机制。

参考文献

- [1] 陈涛,张金虎,史艳平,等.七味白术散联合蒙脱石散对腹泻幼鼠肠道菌群及免疫功能影响的研究[J].现代生物医学进展,2023,23(9):1636-1641.
- [2] 郝洪丹,刘冠慧,李琴,等.加味理中汤方对脾虚泄泻小鼠疗效、免疫及肠道菌群的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2024(10):81-88.
- [3] 中华中医药学会脾胃病分会.泄泻中医诊疗专家共识(2023)[J].中华中医药杂志,2024,39(11):5983-5988.
- [4] 谢伟锋,王祖棣.葛根芩连汤联合左氧氟沙星治疗湿热下注型感染性腹泻的效果分析[J].北方药学,2021,18(5):30-31.
- [5] 张儒奇,董晓婕,林子悦,等.中药复方靶向菌群治疗腹泻型肠易激综合征的研究进展[J].中医药信息,2023,40(8):78-83,89.
- [6] 姚银乐,王春梅.绿原酸改善阿尔茨海默病研究进展[J].医药导报,2017,36(11):1287-1290.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2020年版一部[M].北京:中国医药科技出版社,2020:203.
- [8] 朱云飞,刘传国,赵楠,等.基于 miR-130a/PPAR γ /Occludin 信号通路的参苓白术散对溃疡性结肠炎小鼠肠道屏障功能影响的探究[J/OL].时珍国医国药,2025[2025-08-26].<https://link.cnki.net/urlid/42.1436.R.20250801.1502.006>.

- [9] 周玉, 刘国涛, 卢增珍, 等. 中药桃仁对糖尿病大鼠血管纤维化大鼠 TRIB3 基因及 Toll 样受体信号通路的影响[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(12): 5670–5674.
- [10] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 205.
- [11] 施旭光, 施家希, 刘海涛, 等. 补中益气汤对脾虚泄泻大鼠 SGLT1/NHE3 通路的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(1): 8–12.
- [12] 葛文静, 单朋涛, 李兵杰, 等. 补中益气汤加减小柴胡对脾虚泄泻大鼠胃肠、免疫功能及肠黏膜屏障的影响差异[J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(6): 722–729.
- [13] 张森. 人参不同炮制品对脾肾阳虚大鼠的作用及机制研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2024.
- [14] DAI X Y, GE B G, ZHU M Z, et al. Anti-inflammatory properties of Fu brick tea water extract contribute to the improvement of diarrhea in mice[J]. Beverage Plant Research, 2022, 2(1): 1–7.
- [15] 许静. 基于肠道菌群与 TLR4/NF- κ B 通路研究苍术苷 A 对脾虚泄泻小鼠的药效机制[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2022.
- [16] 张金雪, 刘俊宏, 苏李宁, 等. 基于网络药理学及实验验证探究疏肝止泻方治疗腹泻型肠易激综合征作用机制[J/OL]. 中国中医药信息杂志, 2025[2025-09-25]. <https://doi.org/10.19879/j.cnki.1005-5304.202504233>.
- [17] 许琳琳, 张豆, 丁朋涛, 等. 基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路探讨过敏煎对特异性皮炎小鼠的保护机制[J/OL]. 中国临床药理学与治疗学, 2025[2025-10-10]. <https://link.cnki.net/urlid/34.1206.R.20250909.1734.002>.
- [18] 彭川, 胡学芳, 陈正涛, 等. 基于 16S rRNA 技术研究姜连丸对 2 型糖尿病 db/db 小鼠肠道菌群的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(12): 63–70.
- [19] 徐旻灏, 张文彦, 高源锴, 等. 黄连-干姜药对治疗泄泻的理论研究及临床应用探讨[J]. 中国中医基础医学杂志, 2024, 30(12): 2091–2094.
- [20] 叶桂芳, 于舒婷, 胡英还, 等. 中药复方调控肠道菌群改善泄泻的作用及机制研究进展[J]. 中草药, 2024, 55(22): 7889–7896.
- [21] 陈影, 李硕, 苏萍, 等. 中药抗腹泻的药效作用及机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(21): 203–211.
- [22] 凌鑫萍, 晏伟, 杨芬, 等. 绿原酸改善炎症性疾病的研究进展[J]. 中南大学学报(医学版), 2023, 48(10): 1611–1620.
- [23] GAO W Y, WANG C H, YU L, et al. Chlorogenic acid attenuates dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis in mice through MAPK/ERK/JNK pathway[J]. BioMed Research International, 2019, 2019(1): 6769789.
- [24] 张文静, 徐新禹. 基于 TLR4/NF- κ B 信号通路探讨绿原酸对糖尿病肾病大鼠肾组织炎症和凋亡的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2022, 31(19): 2629–2635.
- [25] GAO R F, YANG H D, JING S F, et al. Protective effect of chlorogenic acid on lipopolysaccharide-induced inflammatory response in dairy mammary epithelial cells[J]. Microbial Pathogenesis, 2018, 124: 178–182.
- [26] 王同壮, 王尚, 马朋, 等. 绞股蓝水提物对糖尿病大鼠降血糖作用研究[J]. 中草药, 2020, 51(10): 2828–2834.
- [27] 陈琳琳, 李后开. 靶向肠道微生态: 中药药效机理研究的新机遇与挑战[J]. 上海中医药杂志, 2020, 54(2): 15–20, 14.
- [28] YAN Y W, ZHOU X, GUO K X, et al. Chlorogenic acid protects against indomethacin-induced inflammation and mucosa damage by decreasing Bacteroides-derived LPS[J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11: 1125.
- [29] 郑辞华. 绿原酸通过调控肠道菌群胞外囊泡改善感染后肠易激综合征的机制研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2024.
- [30] 边甜甜, 司昕蕾, 牛江涛, 等. 脾虚证与肠道菌群的相关性及健脾益气中药对肠道菌群的调节作用研究进展[J]. 中药药理与临床, 2022, 38(5): 212–217.
- [31] WU Y P, TANG L, WANG B K, et al. The role of autophagy in maintaining intestinal mucosal barrier[J]. Journal of Cellular Physiology, 2019, 234(11): 19406–19419.
- [32] XU J, CHEN H B, LI S L. Understanding the molecular mechanisms of the interplay between herbal medicines and gut microbiota[J]. Medicinal Research Reviews, 2017, 37(5): 1140–1185.
- [33] 陈红琴, 徐俊杰. 肠道菌群变化对肠道免疫的影响及与小儿迁延性、慢性腹泻的关系[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(7): 1690–1692.
- [34] 凌霄, 李春晓, 赵娅, 等. 生、熟大黄对湿热泄泻大鼠炎症细胞因子、胃肠激素与肠道菌群的影响[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(11): 53–57, 后插 8–后插 9.
- [35] 王英南, 张瑞星. 浅谈对腹泻的再认识[J]. 临床荟萃, 2018, 33(3): 265–266.
- [36] 王艳婷, 金延春, 任科雨, 等. 肠道微生物-免疫轴与疾病[J]. 中国免疫学杂志, 2023, 39(5): 1112–1115, 封 4.
- [37] 阿卜力克木·买买提吐尔逊, 古力孜热木·艾尼瓦尔, 骆新, 等. 基于肠道菌群探讨黄诺玛甘对脾虚泄泻小鼠肠道功能的影响[J]. 中南药学, 2024, 22(3): 699–707.
- [38] 邓义佳, 王润东, 崔方超, 等. 虾酱源枯草芽胞杆菌 JZXJ-7 对组胺中毒小鼠的保护作用[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(7): 32–40.
- [39] 江洋. 基于“肠-脑”IL-23/IL-17 轴探索虫草多糖干预缺血性中风的机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2023.
- [40] 李丽. 磷酸化 RelA/p65 Ser536 在胃癌中的表达及作用[D]. 衡阳: 南华大学, 2018.
- [41] YE X L, LI J, GAO Z, et al. Chlorogenic acid inhibits lipid deposition by regulating the enterohepatic FXR-FGF15 pathway[J]. BioMed Research International, 2022, 2022(1): 4919153.
- [42] 徐苏微. 杜仲叶提取物的生物学功能及其在动物生产中的应用[J]. 当代畜牧, 2025(1): 42–45.