

本文引用: 肖孟霞, 刘超, 田安哲, 郭城, 刘红华, 陈昕羽, 易洪芬, 葛君芸, 刘迈兰. 针刺对动脉粥样硬化兔脂质代谢及肠道菌群的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(11): 2116–2124.

针刺对动脉粥样硬化兔脂质代谢及肠道菌群的影响

肖孟霞¹, 刘超², 田安哲¹, 郭城³, 刘红华⁴, 陈昕羽¹, 易洪芬¹, 葛君芸^{1*}, 刘迈兰^{1*}

1. 湖南中医药大学针灸推拿与康复学院, 湖南长沙 410208; 2. 湖南中医药大学第二附属医院, 湖南长沙 410005;
3. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南长沙 410007; 4. 湖南中医药大学护理学院, 湖南长沙 410208

〔摘要〕 **目的** 探讨针刺对高脂饮食诱导的动脉粥样硬化(AS)兔脂质代谢和肠道菌群的影响及其作用机制。**方法** 24只新西兰兔随机分为空白组、模型组与针刺组, 每组8只。空白组正常饲料喂养; 模型组高脂饲料喂养; 针刺组高脂饲料喂养并针刺干预, 每天干预1次, 连续12周。全自动生化仪检测血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)以及高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量; HE染色和油红O染色观察兔主动脉病理变化及斑块面积; 16S rDNA测序分析肠道菌群结构及功能。**结果** 与空白组比较, 模型组TC、TG、LDL-C含量均升高($P<0.01$), HDL-C含量降低($P<0.01$); 胸主动脉斑块面积比升高($P<0.05$)。与模型组比较, 针刺组TC、TG、LDL-C含量均下降($P<0.01$), HDL-C含量升高($P<0.05$); 胸主动脉斑块面积比降低($P<0.05$)。16S rDNA测序结果表明, 针刺可调节AS兔的肠道菌群结构, 并影响菌群 α 和 β 多样性。与空白组比较, 模型组厚壁菌门(Firmicutes)、NK4A214_group菌属相对丰度升高($P<0.05$); 拟杆菌门(Bacteroidota)、蓝藻菌门(Cyanobacteria)、穆里杆菌属(*Muribaculacea*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)相对丰度降低($P<0.05$)。与模型组比较, 针刺组拟杆菌门、蓝藻菌门、穆里杆菌属、拟杆菌属相对丰度升高($P<0.05$); NK4A214_group菌属相对丰度下降($P<0.05$)。KEGG功能预测显示, 与空白组比较, 模型组其他次级代谢产物的生物合成(Biosynthesis of other secondary metabolites)和糖链生物合成与代谢(Glycan biosynthesis and metabolism)相对丰度均降低($P<0.05$)。与模型组比较, 针刺组糖链生物合成与代谢相对丰度升高($P<0.05$)。**结论** 针刺可能通过调节肠道菌群多样性和结构, 改善AS兔脂质代谢及主动脉损伤; 同时通过影响糖链生物合成与代谢功能, 促进内皮功能恢复, 从而发挥抗AS作用。

〔关键词〕 动脉粥样硬化; 针刺; 16S rDNA测序; 肠道菌群; 脂质代谢

〔中图分类号〕 R245

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.11.012

Influence of acupuncture on lipid metabolism and gut microbiota in rabbits with atherosclerosis

XIAO Mengxia¹, LIU Chao², TIAN Anzhe¹, GUO Cheng³, LIU Honghua⁴, CHEN Xinyu¹, YI Hongfen¹,

GE Junyun^{1*}, LIU Mailan^{1*}

1. School of Acupuncture-moxibustion, Tuina and Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The Second Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410005, China; 3. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China; 4. School of Nursing, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

〔Abstract〕 **Objective** To explore the effects of acupuncture on lipid metabolism and gut microbiota in rabbits with atherosclerosis (AS) induced by a high-fat diet and its mechanism of action. **Methods** Twenty-four New Zealand rabbits were randomly divided into blank group, model group, and acupuncture group, with 8 rabbits in each group. The blank group was fed with a normal diet, the model group was fed with a high-fat diet, and the acupuncture group was fed with high-fat diet combined

〔收稿日期〕 2025-07-03

〔基金项目〕 国家自然科学基金项目(82074559); 湖南省重点研发计划项目(2024JK2130); 湖南省青年科技创新人才项目(2022RC1222); 长沙市杰出创新青年培养计划项目(kq1905036); 湖南省教育厅重点研发项目(24A0282)。

〔通信作者〕 * 刘迈兰, 女, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: 445007305@qq.com; 葛君芸, 女, 硕士, 讲师, E-mail: 1320125145@qq.com。

with daily acupuncture intervention, once daily for 12 weeks. Serum levels of total cholesterol (TC), triglycerides (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were measured using a fully automated biochemistry analyzer. Pathological changes in the rabbit aortas and plaque areas were observed through hematoxylin-eosin (HE) staining and oil red O staining. The structure and function of the gut microbiota were analyzed by 16S rDNA sequencing. **Results** Compared with the blank group, the levels of TC, TG, and LDL-C increased ($P<0.01$), the HDL-C levels decreased ($P<0.01$), and the ratio of thoracic aortic plaque area increased ($P<0.05$) in the model group. Compared with the model group, the levels of TC, TG, and LDL-C decreased ($P<0.01$), the HDL-C levels increased ($P<0.05$), and the ratio of thoracic aortic plaque area decreased ($P<0.05$) in the acupuncture group. The results of 16S rDNA sequencing indicated that acupuncture could modulate the gut microbiota structure and influence both α and β diversity in AS rabbits. Compared with the blank group, the model group demonstrated increased relative abundances of Firmicutes and the NK4A214_group genus ($P<0.05$), while showing decreased relative abundances of Bacteroidota, Cyanobacteria, *Muribaculacea*, and *Bacteroides* ($P<0.05$). In comparison with the model group, the acupuncture group exhibited increased relative abundances of Bacteroidota, Cyanobacteria, *Muribaculacea*, and *Bacteroides* ($P<0.05$), along with a decreased relative abundance of the NK4A214_group genus ($P<0.05$). KEGG functional predictions revealed that, compared with the blank group, the model group had reduced relative abundances of Biosynthesis of other secondary metabolites and Glycan biosynthesis and metabolism ($P<0.05$). Conversely, compared with the model group, the acupuncture group showed an increased relative abundance of Glycan biosynthesis and metabolism ($P<0.05$). **Conclusion** Acupuncture may improve lipid metabolism and alleviate aortic injury in AS rabbits by modulating the diversity and structure of the gut microbiota. Meanwhile, it may promote endothelial function recovery by influencing carbohydrate chain biosynthesis and metabolic functions, thereby exerting anti-atherosclerotic effects.

[**Keywords**] atherosclerosis; acupuncture; 16S rDNA sequencing; gut microbiota; lipid metabolism

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是心血管疾病的主要病理基础,而心血管疾病是城乡居民疾病的首要死因,严重威胁人类健康^[1]。AS是一种由动脉内皮损伤和泡沫细胞浸润引起的血管病变,脂质代谢异常是其发病基础,表现为血脂异常、动脉中层钙化、管腔狭窄等^[2]。肠道菌群在AS的发生发展中扮演重要角色,主要通过维持肠道稳态、调节免疫反应、影响脂质代谢等途径发挥作用^[3]。研究表明,AS患者肠道菌群失衡表现为厚壁菌门(Firmicutes)与变形菌门(Proteobacteria)相对丰度升高,而拟杆菌门(Bacteroidota)相对丰度降低^[4-5]。这种菌群结构的改变通过调节脂质代谢,引发代谢紊乱和炎症反应;同时影响宿主免疫功能,激活炎症信号通路,导致内皮损伤并加剧炎症,从而促进AS斑块的形成^[6-8]。因此,肠道菌群的改变不仅是AS的一个重要特征,也可能是其发病机制中的关键环节。

目前,AS的常规治疗以抗血小板药物和他汀类药物为主,虽疗效显著,但可能引起肝肾损害、肌肉疼痛等不良反应^[9]。基于文献可视化分析及相关研究报道,针灸因其安全性高、疗效确切及操作简便等特点,被广泛应用于临床^[10]。课题组前期研究表明,取“巨阙、天枢、丰隆”与“心俞、肝俞、脾俞”两组腧穴进行针灸干预,可有效降低总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol,

LDL-C)含量,升高高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)含量,改善斑块面积,并对AS兔肠道菌群的结构及菌群丰度具有一定的调节作用^[11]。但针刺如何通过肠道菌群调节AS的机制仍不明确。

因此,为进一步阐明肠道菌群在针刺调节AS脂质代谢与免疫中的作用,本研究采用高脂饮食构建AS兔模型,并通过16S rDNA测序,探讨针刺对肠道菌群多样性和组成的影响,为揭示针刺治疗AS的机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康雄性普通级新西兰兔24只,3个月龄,体质量2.0~2.5 kg,购自湖南太平生物科技有限公司,动物生产许可证号:SCXK(湘)2023-0011,动物质量合格证号:430730241100147264。分笼饲养于湖南中医药大学动物实验中心,环境温度20~25℃,湿度保持50%~70%,12 h/12 h明暗交替,自由饮水与进食。动物使用许可证号:SYXK(湘)2019-0009,实验已由湖南中医药大学伦理委员会审批通过,批准编号:HNUCM21-2405-28。

1.2 主要试剂与仪器

ELISA试剂盒(江莱生物科技有限公司,批号:202409);异丙醇、无水乙醇、二甲苯、中性树胶(国药

集团化学试剂有限公司,批号:80109218、100092683、10023418、10004160);高脂饲料(配方:1%胆固醇、5%猪油、10%蛋黄粉、84%基础饲料,科澳协力天津饲料有限公司,批号:2024051309)。

“华佗牌”一次性无菌针灸针(苏州医疗用品厂有限公司,型号:0.30 mm×25 mm);全自动生化仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,型号:BS-360S);冰冻切片机(武汉俊杰电子有限公司,型号:JB-P5);正置光学显微镜、成像系统(日本尼康公司,型号:Nikon Eclipse E100、Nikon DS-U3);脱水机、包埋机(武汉俊杰电子有限公司,型号:JJ-12J、JB-P5);病理切片机(上海徕卡仪器有限公司,型号:RM2016);冻台(武汉俊杰电子有限公司,型号:B-L5);组织摊片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司,型号:KD-P);烤箱(天津市莱玻瑞仪器设备有限公司,型号:GFL-230)。

1.3 分组与造模方法

1.3.1 分组 适应性喂养1周后,将24只兔随机分为正常组、模型组和针刺组,每组8只。正常组喂养普通饲料,模型组喂养高脂饲料,两组兔每日捆绑20 min,不进行针刺干预;针刺组喂养高脂饲料,捆绑20 min,进行针刺干预。3组观察或者干预,连续12周。

1.3.2 造模方法 本研究根据王园园等^[12]的方法采用高胆固醇、高脂饮食诱导制备AS模型;除空白组外,其余各组喂食定制的高胆固醇饲料,并加入丙基硫氧嘧啶10 mg/kg·d,每只兔每天总食量约120 g,持续8周;8周高脂饮食干预结束后,模型组兔血清TC、TG、LDL-C水平均高于空白组,且主动脉出现典型AS病理改变,即可判定模型制备成功。

1.4 穴位选择与针刺干预方法

1.4.1 穴位选择 参照《实验针灸学》^[13]和拟人比照法,并基于前期机制与临床研究^[14-15],选取2组腧穴进行干预,I组:丰隆、天枢、巨阙,II组:肝俞、心俞、脾俞。

1.4.2 针刺干预 取穴定位后剪毛,穴位用75%乙醇消毒,然后使用0.30 mm×25 mm规格的针具进行针刺,腹部及下肢采用直刺法进针,背部采用斜刺法进针,平补平泻法行针1 min后留针,10 min后行针1次,20 min后取针。1次/d,I组、II组穴位隔日交替针刺,连续治疗12周。

1.5 取材

12周干预后,禁食24 h(不禁水),以1%戊巴比妥钠按4 mL/kg剂量耳缘静脉注射,麻醉实验兔,

取腹主动脉血样4~5 mL,静置2 h后,4 ℃,离心15 min,取上清液,-80 ℃保存备用。分离胸主动脉,PSB冲洗后分两段,一段固定于4%多聚甲醛,另一段冻存于液氮后转移至-80 ℃冰箱。收集各组兔粪便(约0.25 g)于无菌EP管中,放置-80 ℃冰箱保存备用。

1.6 指标检测

1.6.1 血脂检测 采用全自动生化仪检测兔血清TC、TG、LDL-C、HDL-C含量,试剂严格按照说明书配制混匀,设置好相应参数,上样测定。

1.6.2 HE染色 将石蜡切片依次脱蜡至水(二甲苯I 20 min、二甲苯II 20 min、无水乙醇I 5 min、无水乙醇II 5 min、75%乙醇5 min,自来水洗),然后进行苏木素染色(染色3~5 min,自来水洗、分化、返蓝、流水冲洗),接着用伊红染色(85%、95%乙醇梯度脱水5 min,伊红染色液染色5 min),最后脱水封片(无水乙醇I 5 min、无水乙醇II 5 min、无水乙醇III 5 min、二甲苯I 5 min、二甲苯II 5 min,使用中性和树胶封片),显微镜下观察主动脉组织的病理变化。

1.6.3 油红O染色 冰冻切片常温晾干,浸入油红O染液染色7~10 min(避光),分化液B分化5~10 s,蒸馏水浸洗2次,接着,切片浸入苏木素染色液C染色2~4 min,苏木素分化液D分化2~3 s,返蓝液E返蓝2~3 s,自来水冲洗,甘油明胶封固,显微镜下观察胸主动脉斑块面积。

1.6.4 肠道菌群16S rDNA测序 采用Power Fecal DNA提取试剂盒提取兔粪便样品总DNA,并检测DNA浓度、纯度及完整性。使用特异性引物扩增16S rDNA的V3-V4可变区,随后对扩增产物进行纯化和文库制备,最后利用Illumina NovaSeq 6000平台高通量测序。

1.7 统计学方法

采用Graph Pad Prism 8.0和SPSS 22.0软件进行数据作图及统计分析。计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”,数据符合正态分布且方差齐,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD检验;数据不符合正态分布,采用非参数检验。菌门丰度的组间比较采用Wilcoxon检验。均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

实验过程中,共有5只兔死亡。空白组因骨折感染死亡1只,模型组因跌落导致瘫痪死亡1只、不明原因瘫痪死亡1只,针刺组因腹泻死亡1只、不明原因死亡1只。最终,空白组纳入7只,模型组纳入6只,针刺组纳入6只。因3份粪便样本质检不合格,

最终纳入 16S rDNA 测序的样本为:空白组 6 只、模型组 6 只、针刺组 4 只。

2.1 各组兔血脂水平的变化

与空白组比较,模型组兔血清 TC、TG、LDL-C 含量均升高($P<0.01$),HDL-C 含量降低($P<0.01$);与模型组比较,针刺组兔血清 TC、TG、LDL-C 含量均降低($P<0.01$),HDL-C 含量升高($P<0.05$)。详见表 1。

表 1 各组兔血清中 TC、TG、LDL-C、HDL-C 含量比较
($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

Table 1 Comparison of TC, TG, LDL-C, and HDL-C levels in serum among different groups of rabbits ($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

组别	n	TC	TG	LDL-C	HDL-C
空白组	7	1.05±0.12	0.50±0.59	0.53±0.12	0.70±0.39
模型组	6	20.47±0.90**	9.29±2.03**	10.78±1.64**	0.29±0.41**
针刺组	6	12.04±1.16***	2.73±0.29***	6.55±0.53***	0.46±0.62***

注:与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

2.2 各组兔胸主动脉病理形态的变化

HE 染色结果显示:空白组兔胸主动脉血管壁平滑均匀,具有良好弹性,未见脂质沉积;模型组兔血管壁增厚,内膜有脂质沉积和斑块,血管弹性下降;针刺组兔胸主动脉血管壁增厚有所改善,结构清

晰,脂质沉积减少。详见图 1。

油红 O 染色结果显示:空白组兔胸主动脉血管壁光滑完整,内膜无明显增厚,管腔内无脂质堆积和泡沫细胞;模型组兔胸主动脉内膜增厚明显,伴有破裂出血现象,管腔内大量脂质沉积和泡沫细胞聚集;针刺组兔胸主动脉内膜完整,无破裂出血现象,脂质堆积和泡沫细胞聚集明显改善。通过 ImageJ 计算,与空白组比较,模型组兔胸主动脉斑块面积比升高($P<0.05$);与模型组比较,针刺组兔胸主动脉斑块面积比降低($P<0.05$)。详见图 2—3。

2.3 各组兔肠道菌群的变化

2.3.1 α 多样性分析 α 多样性可用于评估单个样本内物种的丰富度和多样性,多样性指数包括 Observed_species、ACE、Chao1、Shannon、PD_whole_tree 和 goods_Coverage。与空白组比较,模型组兔肠道中以上指数均呈下降趋势,但差异均无统计学意义($P>0.05$);与模型组比较,针刺组兔肠道中 Observed_species、ACE、Chao1 升高($P<0.05$),Shannon、PD_whole_tree、goods_Coverage 呈升高趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$)。其中,goods_Coverage 指数用于评估样本微生物覆盖率,3 组样本均值在 0.998 以上,表明测序结果能真实反映各组样本菌群种类和结构多样性。详见表 2、图 4。

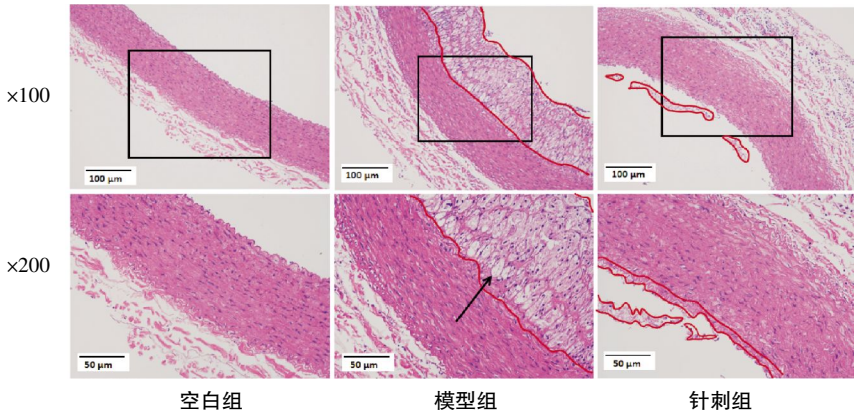


图 1 各组兔胸主动脉 HE 染色结果

Fig.1 HE staining results of the thoracic aorta in each group of rabbits

注:红色部分为增厚的血管内膜,黑色箭头所示为泡沫细胞,黑色框为 200 倍镜下所取部分。

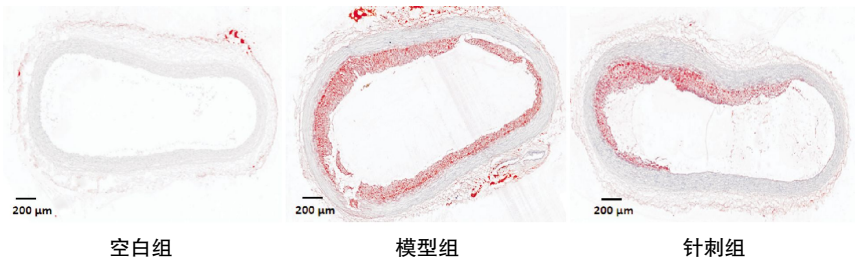


图 2 各组兔胸主动脉油红 O 染色结果($\times 3.5$)

Fig.2 Oil red O staining results of the thoracic aorta in each group of rabbits ($\times 3.5$)

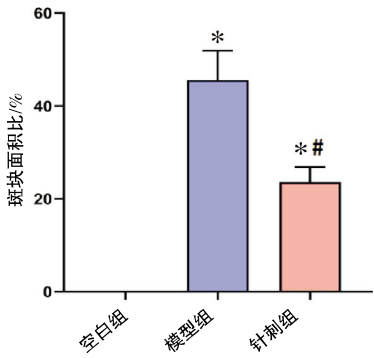


图 3 各组兔胸主动脉斑块面积比比较(油红 O)

Fig.3 Comparison of the proportion of thoracic aortic plaque area among different groups of rabbits (Oil Red O)

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

2.3.2 β 多样性分析 基于 Bray-Curtis 距离的 β 多样性分析结果显示, $R=0.647$, $P=0.001$,表明各组间差异显著大于组内差异,且差异有统计学意义,分组效果良好。空白组和针刺组的数据分布形状和宽度较为相似,而模型组的分布明显不同,提示模型组与其他两组之间存在较大差异。详见图 5。

根据主成分分析结果显示,空白组和针刺组的样本点相对集中,表明这两组组内的样本在所分析的特征上具有较高的一致性;模型组样本点分布较为分散,提示组内菌群差异较大。详见图 6。

2.3.3 各组兔菌群结构及差异分析 在门水平上,厚壁菌门、拟杆菌门、疣微菌门(Verrucomicrobiota)、放线菌门(Actinobacteriota)、脱硫杆菌门(Desulfobacterota)、变形菌门、蓝藻菌门(Cyanobacteria)是各组兔肠道菌群主要组成部分。与空白组比较,模型组兔肠道中厚壁菌门相对丰度升高($P<0.05$),拟杆菌门和蓝藻菌门相对丰度降低($P<0.05$);与模型组比较,针刺组兔肠道中拟杆菌门和蓝藻菌门相对丰度上升($P<0.05$)。详见图 7—8。

在属水平上,各组兔肠道菌群主要由真杆菌属(*Eubacteriaceae*)和毛螺菌科(Lachnospiraceae)下未归类菌属、NK4A214_group 菌属、穆里杆菌属(*Muribaculaceae*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)、梭菌属 _UCG014(*Clostridia_*

表 2 各组兔肠道菌群 α 多样性比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of α -diversity of gut microbiota among different groups of rabbits ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	Observed_species	ACE	Chao1	Shannon	PD_whole_tree	goods_Coverage
空白组	6	1 190.33±141.47	1 202.42±146.10	1 201.08±146.53	8.49±0.26	85.38±4.12	0.999 4±0.000 2
模型组	6	1 068.67±103.51	1 083.30±106.40	1 087.60±106.31	8.19±0.22	85.17±4.22	0.999 1±0.000 2
针刺组	4	1 281.33±44.80*#	1 276.05±37.41*	1 329.55±49.94*	8.42±0.17	89.70±4.34	0.999 5±0.000 2

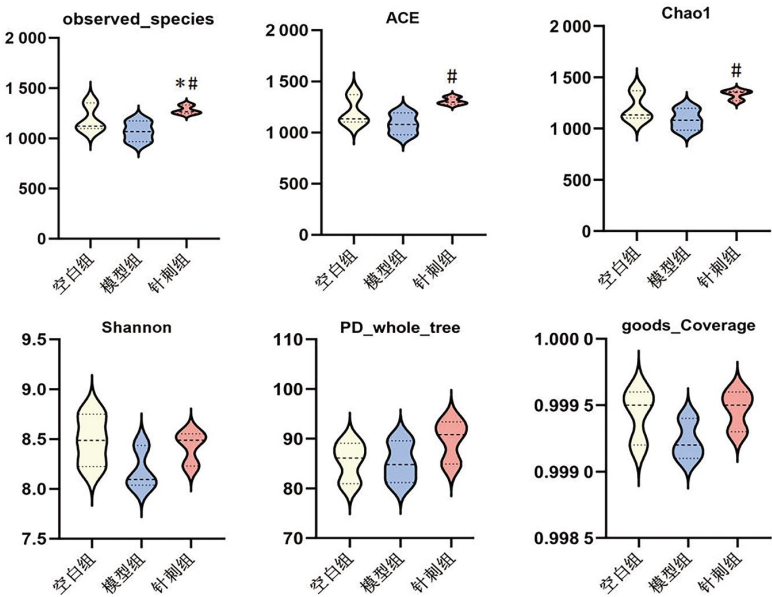


图 4 各组兔肠道菌群 α 多样性比较

Fig.4 Analysis of α -diversity of gut microbiota in each group of rabbits

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

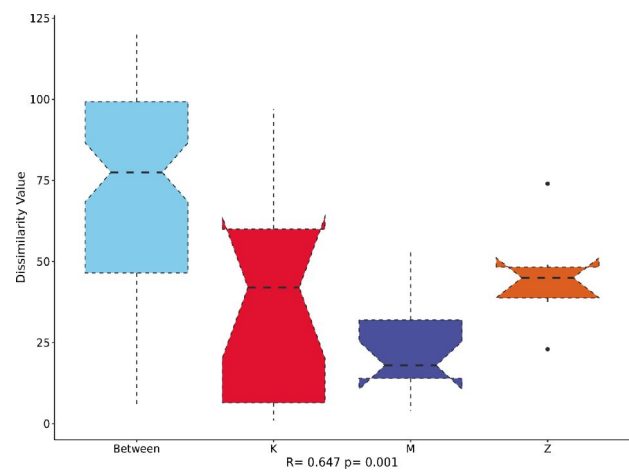


图5 各组兔肠道菌群基于 Bray-Curtis 距离的β多样性分析

Fig.5 β-diversity analysis of gut microbiota based on Bray-Curtis distance in each group of rabbits

注:K.空白组;M.模型组;Z.针刺组。

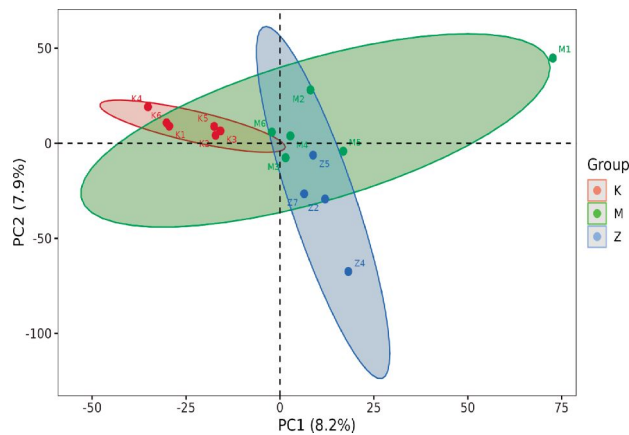


图6 各组兔肠道菌群主成分分析

Fig.6 Principal component analysis of gut microbiota in each group of rabbits

注:K.空白组;M.模型组;Z.针刺组。

UCG-014)、嗜黏蛋白阿克曼菌属(*Akkermansia*)组成。与空白组比较,模型组兔肠道中 NK4A214_group 菌属相对丰度升高($P<0.05$),穆里杆菌属、拟杆菌属相对丰度降低($P<0.05$);与模型组比较,针刺组兔肠道中 NK4A214_group 菌属相对丰度降低($P<0.05$),穆里杆菌属和拟杆菌属相对丰度升高($P<0.05$)。详见图 9—10。

2.3.4 基因功能预测分析 与空白组比较,模型组兔肠道中其他次级代谢产物的生物合成(Biosynthesis of other secondary metabolites)、糖链生物合成与代谢(Glycan biosynthesis and metabolism)相对丰度均降低($P<0.05$);与模型组比较,针刺组兔肠道中糖链生物合成与代谢相对丰度升高($P<0.05$)。详见图 11。

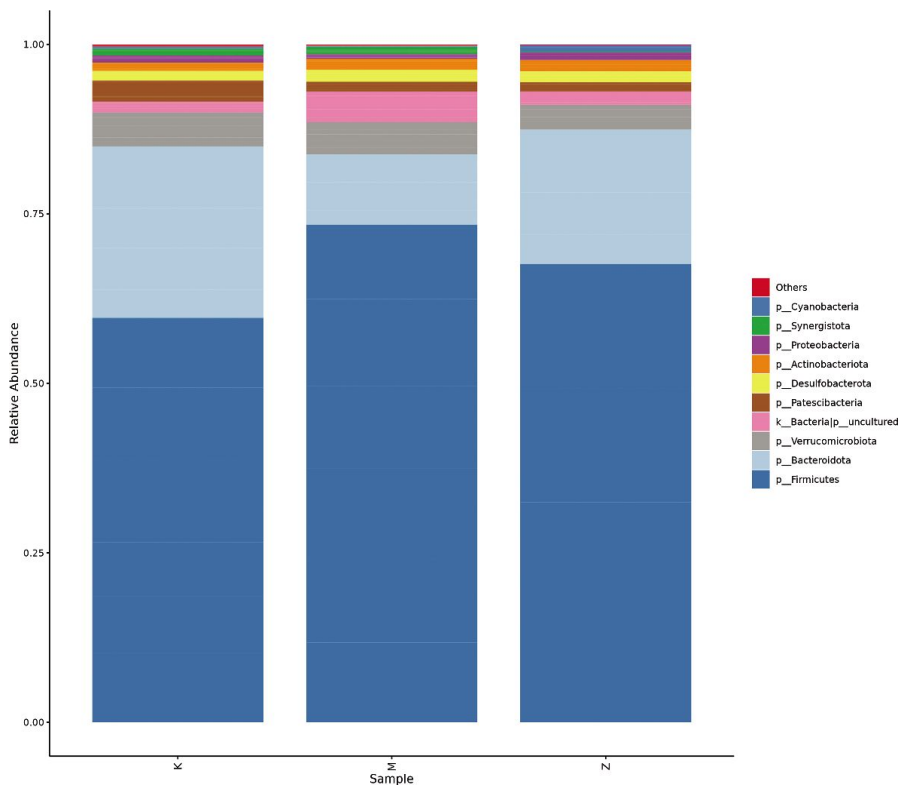


图7 各组兔肠道菌群在门水平的相对丰度

Fig.7 Relative abundance of gut microbiota at the phylum level in each group of rabbits

注:K.空白组;M.模型组;Z.针刺组。

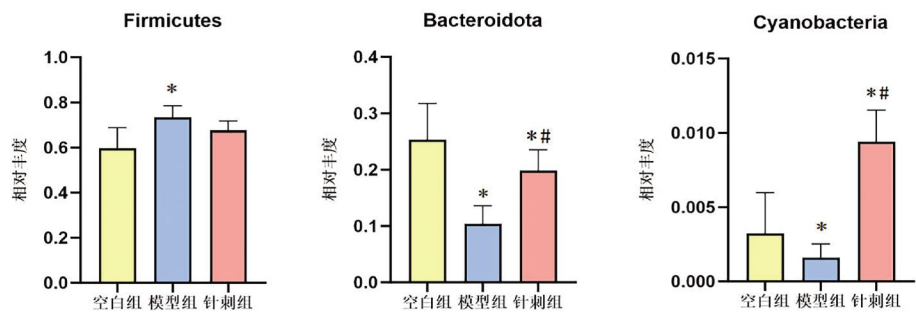


图 8 各组兔肠道菌群在门水平关键物种的相对丰度比较

Fig.8 Comparison of the relative abundance of key gut microbiota species at the phylum level among different groups of rabbits

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

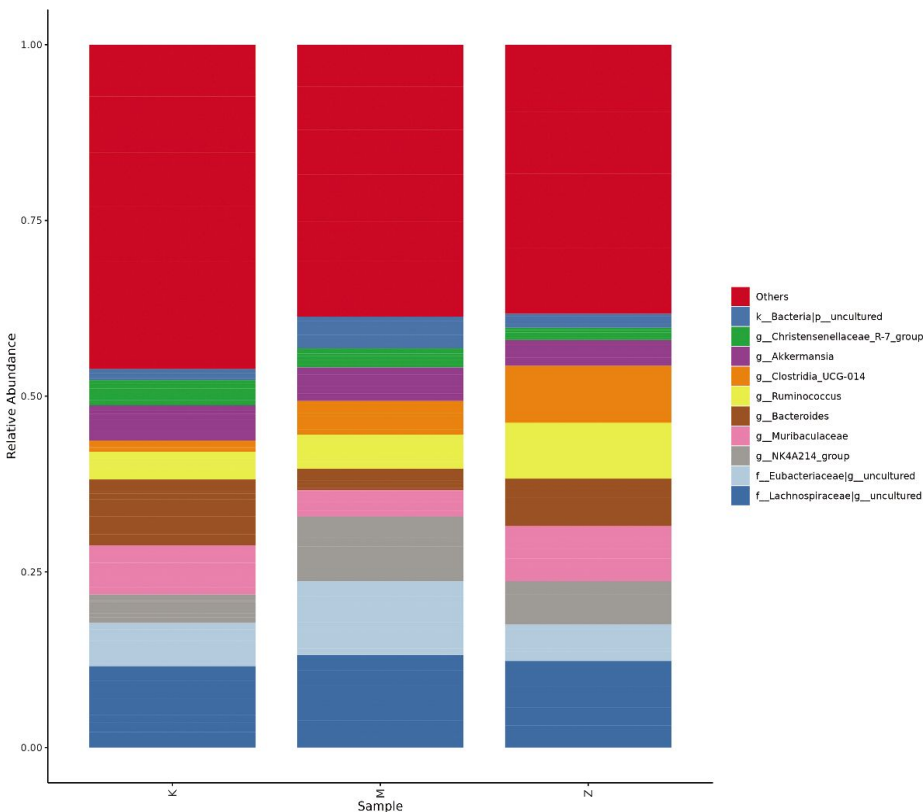


图 9 各组兔肠道菌群在属水平的相对丰度

Fig.9 Relative abundance of gut microbiota at the genus level among different groups of rabbits

注:K.空白组;M.模型组;Z.针刺组。

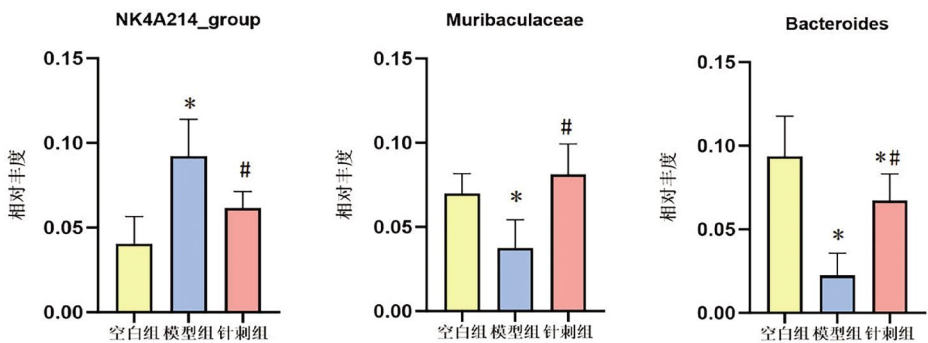


图 10 各组兔肠道菌群在属水平关键物种的相对丰度比较

Fig.10 Comparison of the relative abundance of key gut microbiota species at the genus level among different groups of rabbits

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

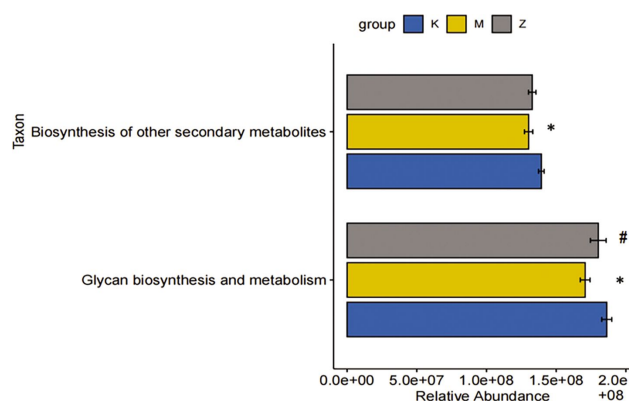


图 11 各组兔肠道菌群基于 KEGG 功能丰度的

Kruskal-Wallis 分析

Fig.11 Kruskal-Wallis analysis of the gut microbiota based on KEGG functional abundance in each group of rabbits

注:K.空白组;M.模型组;Z.针刺组;与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

3 讨论

AS 属中医“眩晕”“中风”“胸痹”“痰饮”等范畴,《动脉粥样硬化中西医结合诊疗专家共识》^[16]认为其病机为“本虚标实”,心、肝、脾虚为“本”,痰浊、瘀血、毒邪为“标”。AS 多因痰瘀互结,脉络失养所致,根据“久病入络,络病治血”理论,治疗应从治血着手。心主血脉、脾主统血、肝主藏血,故取心俞、肝俞、脾俞以调和心脾肝功能;巨阙益气活血、通利脉道,天枢、丰隆可健脾化痰、祛浊通络。两组穴相配,旨在强心益气、调肝健脾、化痰祛瘀、通畅脉络。本研究表明,高脂饮食可导致 AS 兔主动脉脂质堆积和斑块面积比升高,同时引起肠道菌群多样性和结构失衡,而针刺干预可显著改善上述病理变化及菌群结构。 α 和 β 多样性分析结果显示,针刺可调节 AS 兔肠道菌群的丰富度及门、属水平的微生物组成,提示其可能通过维持肠道微生态平衡从而减缓 AS 进程。申永艳等^[17]研究发现,针刺 ApoE^{-/-}小鼠俞募穴能有效改善 AS 小鼠菌群丰度及多样性,从而改善 AS 症状。SHEN 等^[18]发现,电针可调节肠道菌群及宿主代谢物组成,影响代谢物介导的信号通路和心血管酶的活性,从而改善脂质代谢并逆转 AS 进程。

肠道菌群差异分析显示,与模型组相比,针刺干预后兔肠道中厚壁菌门相对丰度呈下降趋势,拟杆菌门、蓝藻菌门及穆里杆菌属相对丰度上升。研究表明,厚壁菌门/拟杆菌门(F/B)比值升高与代谢综合征、肥胖和 AS 等密切相关^[19]。厚壁菌门增加可促进能量摄取和脂质合成^[4],而拟杆菌门可通过产生短

链脂肪酸抑制胆固醇合成、降低血脂水平^[20]。蓝藻菌门富含多种生物活性代谢产物,如多糖、藻胆蛋白和类胡萝卜素等,具有抗炎、抗氧化和调脂作用^[21-22]。其代表菌螺旋藻可激活抗氧化酶,抑制脂质过氧化,调控炎症因子,从而减轻氧化应激,缓解高脂血症等代谢紊乱^[23-26]。此外,LI 等^[27]发现,肠道蓝藻菌门相对丰度增加可降低盲肠胆固醇积聚和血浆中溶血磷脂酰胆碱水平,提示其可能通过调节胆固醇吸收与转运发挥抗 AS 作用。穆里杆菌属为拟杆菌门的重要成员,可通过产丁酸等短链脂肪酸激活 G 蛋白偶联受体 43 信号通路,促进调节性 T 细胞增殖、抑制辅助性 T 细胞分化,减轻炎症反应,改善血脂代谢和血管内皮功能^[28]。本研究中,针刺干预可改善 AS 兔血脂水平,且菌群变化趋势与血脂改善一致,提示针刺可能通过调控 F/B 比值、提高蓝藻门和穆里杆菌属的相对丰度,在调节脂质代谢、抑制炎症等方面发挥抗 AS 作用。

KEGG 富集分析结果发现,与空白组相比,模型组兔肠道中糖链生物合成与代谢相对丰度下降,而与模型组相比,针刺组兔肠道中糖链生物合成与代谢相对丰度上升,提示针刺干预可能通过促进糖链生物合成与代谢,修复内皮细胞的糖链结构,从而恢复其屏障功能,减轻炎症反应,缓解 AS 进展。糖链生物合成与代谢在维持血管内皮功能中具有重要作用,AS 初期,内皮损伤导致其表面糖链结构异常,激活核因子- κ B 和丝裂原活化蛋白激酶等信号通路,进一步加重炎症反应^[29-31]。

本研究选取“丰隆、天枢、巨阙”和“肝俞、心俞、脾俞”两组穴交替治疗,结果显示,针刺可有效调节 AS 兔血脂水平,减轻主动脉病变,并显著改善肠道菌群多样性和结构;同时,针刺可能通过影响糖链生物合成与代谢功能,促进内皮功能恢复,从而发挥抗 AS 作用。综上,本研究揭示了针刺多途径调节 AS 发生发展的可能机制,为其防治 AS 提供了新思路 and 科学依据。然而,本研究亦存在一定局限:目前的研究主要基于针刺干预前后表型变化及菌群丰度差异的观察,尚未明确肠道菌群在针刺干预中的因果关系。未来可结合代谢组学、菌群移植或消除模型,进一步阐明“针刺-肠道菌群-代谢通路-AS 改善”作用链,探索特定菌属是否为针刺干预的效应中介,为揭示其抗 AS 机制提供更直接的实验依据。

参考文献

- [1] 刘明波, 何新叶, 杨晓红, 等. 《中国心血管健康与疾病报告 2023》概要(心血管疾病流行及介入诊疗状况)[J]. 中国介入心脏病学杂志, 2024, 32(10): 541–550.
- [2] LIBBY P, BURING J E, BADIMON L, et al. Atherosclerosis[J]. Nature Reviews Disease Primers, 2019, 5: 56.
- [3] 陈 倩, 唐子淇, 丁银元, 等. 肠道菌群影响代谢性疾病血管钙化的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2025, 33(3): 194–201.
- [4] LIU Y R, DAI M. Trimethylamine N-oxide generated by the gut microbiota is associated with vascular inflammation: New insights into atherosclerosis[J]. Mediators of Inflammation, 2020, 2020: 4634172.
- [5] SHEN X Y, LI L H, SUN Z, et al. Gut microbiota and atherosclerosis—focusing on the plaque stability[J]. Frontiers in Cardiovascular Medicine, 2021, 8: 668532.
- [6] 王 雪, 王凯华, 王 荔, 等. 肠道微生物群参与动脉粥样硬化相关机制的研究进展[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2023, 26(8): 1041–1045.
- [7] 欧阳雨欣, 胡 密, 张杨恺, 等. 肠道菌群及其代谢产物在动脉粥样硬化发展中的作用[J]. 生命的化学, 2025, 45(1): 43–54.
- [8] WILSON TANG W H, KITAI T, HAZEN S L. Gut microbiota in cardiovascular health and disease [J]. Circulation Research, 2017, 120(7): 1183–1196.
- [9] 王增武, 郭远林. 中国血脂管理指南(基层版 2024 年)[J]. 中国循环杂志, 2024, 39(4): 313–321.
- [10] 车梦竹, 成泽东. 针灸治疗动脉粥样硬化的知识图谱可视化分析[J]. 辽宁中医杂志, 2023, 50(4): 160–164, 226.
- [11] 方 园, 黄 河, 谭舒怀, 等. 隔药饼灸对动脉粥样硬化兔肠道菌群的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2022, 29(3): 72–78.
- [12] 王园园, 龙民慧, 周磊磊, 等. 兔动脉粥样硬化动物模型的建立和评价[J]. 实验动物科学, 2008, 25(3): 18–21.
- [13] 余曙光, 郭 义. 实验针灸学[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2014: 148–152.
- [14] 范丽红, 黄 河, 方 园, 等. 隔药饼灸对高脂血症合并动脉粥样硬化兔 ADPN、MMP-3 的影响[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(1): 117–121.
- [15] 彭 涵, 李 芊, 刘红华, 等. 隔药饼灸修复血管内皮功能调节血脂治疗高脂血症的临床机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(8): 1478–1485.
- [16] 安冬青, 吴宗贵. 动脉粥样硬化中西医结合诊疗专家共识[J]. 中国全科医学, 2017, 20(5): 507–511.
- [17] 申永艳, 何贵新. 针刺小肠俞募穴对动脉粥样硬化小鼠肠道菌群的影响[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(11): 2659–2666.
- [18] SHEN Y P, CHENG Z D, CHEN Y G, et al. Electroacupuncture inhibits atherosclerosis through regulating intestinal flora and host metabolites in rabbit[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2020, 2020(1): 5790275.
- [19] LEY R E, TURNBAUGH P J, KLEIN S, et al. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity[J]. Nature, 2006, 444(7122): 1022–1023.
- [20] STOJANOV S, BERLEC A, ŠTRUKELJ B. The influence of probiotics on the firmicutes/bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease[J]. Microorganisms, 2020, 8(11): 1715.
- [21] TABARZAD M, ATABAKI V, HOSSEINABADI T. Anti-inflammatory activity of bioactive compounds from microalgae and cyanobacteria by focusing on the mechanisms of action [J]. Molecular Biology Reports, 2020, 47(8): 6193–6205.
- [22] PÉREZ GALLEGO R, BALE N J, SINNINGHE DAMSTE J S, et al. Developing a genetic approach to target cyanobacterial producers of heterocyte glycolipids in the environment[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1257040.
- [23] PAGELS F, GUEDES A C, AMARO H M, et al. Phycobiliproteins from cyanobacteria: Chemistry and biotechnological applications[J]. Biotechnology Advances, 2019, 37(3): 422–443.
- [24] PAGELS F, VASCONCELOS V, GUEDES A C. Carotenoids from cyanobacteria: Biotechnological potential and optimization strategies[J]. Biomolecules, 2021, 11(5): 735.
- [25] HWANG J H, LEE I T, JENG K C, et al. *Spirulina* prevents memory dysfunction, reduces oxidative stress damage and augments antioxidant activity in senescence-accelerated mice [J]. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 2011, 57(2): 186–191.
- [26] DOMINGUETI C P, DUSSE L M S, DAS GRAÇAS CARVALHO M, et al. Diabetes mellitus: The linkage between oxidative stress, inflammation, hypercoagulability and vascular complications[J]. Journal of Diabetes and Its Complications, 2016, 30(4): 738–745.
- [27] LI R S, YANG J P, SAFFARI A, et al. Ambient ultrafine particle ingestion alters gut microbiota in association with increased atherogenic lipid metabolites [J]. Scientific Reports, 2017, 7: 42906.
- [28] SUN B Y, WANG Y H, BAI J J, et al. Litchi Procyanidins ameliorate DSS-induced colitis through gut microbiota-dependent regulation of treg/Th17 balance[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(44): 24823–24832.
- [29] AHN S J, LE MASTER E, GRANADOS S T, et al. Impairment of endothelial glycocalyx in atherosclerosis and obesity[J]. Current Topics in Membranes, 2023, 91: 1–19.
- [30] CHEN Q Q, XU X H, XIE S S, et al. Improving impact of heparan sulfate on the endothelial glycocalyx abnormalities in atherosclerosis as revealed by glycan-protein interactome [J]. Carbohydrate Polymers, 2024, 330: 121834.
- [31] YOU N, CHU S S, CAI B G, et al. Bioactive hyaluronic acid fragments inhibit lipopolysaccharide-induced inflammatory responses via the Toll-like receptor 4 signaling pathway [J]. Frontiers of Medicine, 2021, 15(2): 292–301.

(本文编辑 陈 晨)