

文章编号: 1005-376X(2012) 04-0324-03

【论 著】

口炎清颗粒对小鼠肠道菌群失衡的调节作用

姚小华^{1,2}, 唐立¹, 林青², 李卫华¹, 匡艳辉², 张国斌¹, 高菲¹, 刘银辉¹, 李华军¹, 袁杰力¹, 文姝¹

(1. 大连医科大学 微生物学教研室, 辽宁 大连 116044; 2. 广州白云山和记黄埔中药有限公司现代中药研究院, 广东 广州 510515)

【摘要】目的 探讨口炎清颗粒对肠道菌群失衡的调节作用。**方法** 小鼠随机分为6组: 正常对照组、重度失调组、自然恢复组、口炎清低剂量组、口炎清高剂量组和大豆低聚糖对照组。正常对照组小鼠灌服蒸馏水, 其他组以头孢曲松钠浓度为8 g/(kg·d)的剂量, 连续灌胃8 d, 建立小鼠菌群失衡模型, 自然恢复组在失衡模型建立后不使用任何药物, 自然恢复7 d; 口炎清低剂量组、高剂量组、大豆低聚糖对照组分别灌服相应剂量的药物7 d, 观察各组小鼠盲肠指数和肠道内双歧杆菌、类杆菌、韦荣球菌、乳酸杆菌、消化球菌、优杆菌、葡萄球菌、肠球菌、大肠埃希菌、链球菌和酵母菌11种菌群变化。**结果** 与菌群失衡组比较, 口炎清组与大豆低聚糖组盲肠指数均显著下降($P < 0.05$), 呈恢复趋势。自然恢复组肠道菌群种类和数量变化不明显, 口炎清组厌氧菌重新出现, 尤其是低剂量组双歧杆菌、优杆菌和类杆菌的出现预示着肠道菌群正在逐渐恢复正常。**结论** 一定浓度的口炎清可以明显促进菌群失衡小鼠盲肠大小的恢复, 对小鼠肠道菌群有调节作用, 具有类似大豆低聚糖的益生元功效。

【关键词】 口炎清; 肠道菌群; 厌氧菌**【中图分类号】**R378 **【文献标识码】**A

Effects of Kouyanqing granules on the intestinal dysbiosis of mice

YAO Xiao-hua^{1,2}, TANG Li¹, LIN Qing², LI Wei-hua¹, KUANG Yan-hui², ZHANG Guo-bin¹, GAO Fei¹, LIU Yin-hui¹, LI Hua-jun¹, YUAN Jie-li¹, WEN Shu¹

(1. Department of Microecology, Dalian Medical University, Dalian 116044, China; 2. Modern Chinese Medicine Institute, Hutchison Whampoa Guangzhou Baiyun Shan Chinese Medicine Co., Ltd., Guangzhou 510515, China)

【Abstract】Objective To investigate the effects of Kouyanqing Granules on the intestinal dysbiosis in mice. **Method** Mice were randomly divided into six groups: control group, intestinal dysbiosis group, spontaneous recovery group, low dose group, high dose group, and soybean oligosaccharides group. Mice in the experimental groups were treated with ceftriaxone sodium, 8 g/(kg·d) doses for 8 days, while those in the control group with distilled water for 8 days. The Spontaneous recovery group after the establishment of the intestinal dysbiosis model was allowed natural recovery without being given any drugs for 7 days. The low dose group, high dose group, and soybean oligosaccharides group were orally administered appropriate doses of drugs for 7 days. The intestinal flora, such as *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Veillonella*, *Lactobacillus*, *Peptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia coli* and *Yeast* were counted before and after administration, respectively. **Result** The caecal indice of both Kouyanqing and soybean oligosaccharide groups decreased significantly ($P < 0.05$), showing a recovery trend. Compared with intestinal dysbiosis group, Microbiota did not change significantly in spontaneous recovery group. Anaerobic bacteria re-appeared in Kouyanqing group, including the appearance of bifidobacteria, Eubacterium and Bacteroides which suggested that the microbiota was recovering. **Conclusion** Kouyanqing can promote the recovery of cecal size, and has a significant regulatory effect on intestinal microbiota in dysbiosis mice, which is similar to the efficacy of soybean oligosaccharides.

【Key words】 Kouyanqing; Intestinal microbiota; Anaerobic bacteria

人和动物的正常菌群在宿主的生命活动中起着

非常重要的作用。人体肠道内存在数量庞大、结构复杂的正常菌群, 对宿主具有营养、免疫和生物拮抗作用^[1]。肠道菌群失衡不仅会引起肠道的炎症反应而且会波及到肠外, 是许多慢性炎症的诱因。口炎清颗粒滋阴清热, 解毒消肿, 是一种纯中药制剂, 其主要成分为天冬、麦冬、玄参、山银花、甘草等, 对于阴虚火旺所致的口腔炎症具有显著效果。本研究以抗生素

【收稿日期】2012-02-26

【作者简介】姚小华(1983-), 女, 硕士, 制药工程师, 从事中药及其制剂质量标准研究, Email: yaoxiaohua@813zy.com; 文姝(1969-), 女, 通讯作者, 博士, 副教授, 从事菌群与免疫研究, Email: wsh2008_cn@sina.com

干预肠道菌群失衡小鼠为模型,探讨口炎清对肠道菌群失衡的调节作用,以期为从菌群调节的角度揭示口炎清治疗和保健应用的机制奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 实验动物 昆明小鼠,6~8 周龄,雄性,体重(18±2)g,购自大连医科大学实验动物中心。实验动物饲养温度 22~25℃,相对湿度 40%~70%。

1.2 药物与试剂 口炎清颗粒由广州白云山和记黄埔中药有限公司提供,4℃保存,灌胃前复温至 25~30℃。头孢曲松钠(河北石家庄中诺药业,批号 09018223),大豆低聚糖购于陕西森弗生物有限公司,双歧杆菌选择性培养基(BS)、伊红美兰培养基(EMB)、金黄色葡萄球菌选择性培养基(Baird-Paker 琼脂基础)、乳酸杆菌选择性培养基、酵母菌培养基(Ye)购自青岛海博生物科技有限公司。其余为实验室自制。

1.3 实验仪器 超净工作台、显微镜、电子分析天平、厌氧培养箱、漩涡振荡器、低速离心机、电热恒温培养箱、电热恒温水浴箱、立式压力蒸汽灭菌锅、自动双重纯水蒸馏器

1.4 实验方 法

1.4.1 动物分组及处理 实验分为正常对照组,重度失衡组,自然恢复组,口炎清低剂量组(5%),口炎清高剂量组(10%),大豆低聚糖对照组。昆明小鼠从动物实验中心取回后,先进行适应性培养 2 d;正常组小鼠用无菌水灌服,每次 0.2 mL,2 次/d,间隔 6 h,连续 8 d;菌群失衡组小鼠用 400 mg/mL 头孢曲松钠灌服,每次 0.2 mL,2 次/d,间隔 6 h,连续 8 d;自然恢复组在失衡模型建立后不使用任何药物,自然恢复 7 d;口炎清低剂量组及高剂量组在菌群失衡后灌服口炎清,每次 0.2 mL,2 次/d,连续 7 d;大豆低聚糖对照组在菌群失衡后灌服大豆低聚糖,每次 0.2 mL,2 次/d,连续 7 d。小鼠饲养条件清洁干净,室温 22~25℃。模型建立重复实验 3 次,具有稳定性。

1.4.2 小鼠盲肠指数和肠道菌群的检测 小鼠脱臼处死,称重;消毒小鼠腹部,手术剪剖开腹部皮肤,暴露腹腔,取出盲肠,称取盲肠重量。盲肠指数=盲肠重量/小鼠体重。

取盲肠内容物,置于含有玻璃珠的灭菌离心管内,对葡萄球菌、肠球菌、肠杆菌、链球菌、酵母菌、乳酸杆菌、消化球菌、优杆菌、类杆菌、韦荣球菌、双歧杆菌 11 种肠道菌进行分析。结果以每克粪便中的细菌数表示(CFU/g)。

1.5 统计方 法 实验数据结果采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,组间比较采用 t 检验,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 盲肠变化 与正常对照组小鼠比较,菌群失衡组盲肠体积增大、盲肠指数增高(P<0.05),并可见盲肠内容物稀薄。与菌群失衡组比较,自然恢复组盲肠指数变化不明显,口炎清与大豆低聚糖回灌组盲肠指数明显降低(P<0.05),呈恢复趋势(表 1)。

表 1 各组小鼠盲肠指数

组别	盲肠指数($\bar{x} \pm s$)
正常对照组	0.0207 ± 0.0035
重度失衡组	0.0550 ± 0.0039 ^a
自然恢复组	0.0479 ± 0.0111
口炎清低剂量组	0.0380 ± 0.00478 ^b
口炎清高剂量组	0.0400 ± 0.0047 ^b
大豆低聚糖组	0.0427 ± 0.0067

注:与正常组相比较,^aP<0.05;与重度失衡组比较,^bP<0.05。

2.2 菌群变化 用口炎清对失衡的鼠肠道菌群进行调整,菌群丰度(种类)有所回升。在粪便涂片中,重度失衡时仅有革兰阳性的链球菌、酵母菌出现,随着口炎清的灌服,粪便菌群中逐渐出现革兰阳性杆菌、革兰阴性杆菌等,细菌的丰度有很大恢复。

正常组小鼠肠道菌群种类多,其中厌氧菌占 90% 以上;与正常组相比,菌群失衡组厌氧菌被抑制,需氧菌大量繁殖;与菌群失衡组比较,自然恢复组菌群种类和数量变化不明显,主要是需氧菌的恢复;口炎清回灌组及大豆低聚糖厌氧菌重新出现,菌群种类增多(表 2)。

在菌群失衡和重建的过程中,厌氧菌变化十分显著。重度失衡组主要的优势厌氧菌群双歧杆菌、优杆菌、类杆菌、韦荣球菌及兼性厌氧菌乳酸杆菌均未检出,自然恢复组只有韦荣球菌得到部分恢复,5% 口炎清回灌组韦荣球菌、双歧杆菌、类杆菌、优杆菌有不同程度回升,10% 口炎清回灌组韦荣球菌基本恢复正常,其余厌氧优势菌没有恢复。5% 口炎清回灌组恢复情况好于 10% 口炎清组。大豆低聚糖回灌组韦荣球菌基本恢复正常,优杆菌、类杆菌有不同程度回升(图 1)。

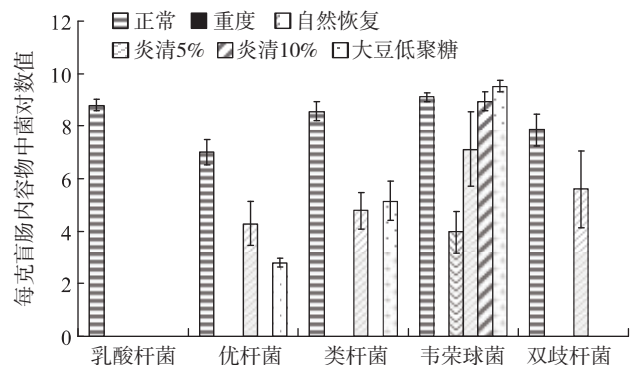


图 1 各组小鼠肠道优势厌氧菌群恢复情况

表2 口炎清颗粒对小鼠肠道优势菌群的影响情况

组别	葡萄球菌	肠球菌	肠杆菌	链球菌	酵母菌	乳酸杆菌	消化球菌	优杆菌	类杆菌	韦荣球菌	双歧杆菌
A	3.3967 ± 0.2089	8.6121 ± 0.7700	5.7192 ± 0.3099	8.9675 ± 0.1837	2.6581 ± 0.2878	8.8018 ± 0.2333	3.4388 ± 0.6888	6.9956 ± 0.4690	8.5628 ± 0.3440	9.1015 ± 0.1773	7.8507 ± 0.5798
B	2.699 ± 0.3298	10.099 ± 0.1804		10.2146 ± 0.1732	2.7092 ± 0.1950						
C	3.426 ± 0.6504	8.7133 ± 1.1414	8.6363 ± 1.1379	9.0001 ± 0.7926	3.8203 ± 0.5615		2.9634 ± 0.6341			3.9613 ± 0.8025	
D	2.3319 ± 0.2303	6.8716 ± 1.6801	5.8898 ± 0.6007	7.8496 ± 1.4061	4.7954 ± 0.3152		3.6713 ± 0.3189	4.2939 ± 0.8364	4.7946 ± 0.6927	7.1273 ± 1.3967	5.6012 ± 1.4581
E	2.2097 ± 0.2218	6.7644 ± 1.4142	5.9853 ± 0.2703	7.7226 ± 1.3615	7.7471 ± 1.3523					8.9504 ± 0.3722	
F	4.1053 ± 0.6614	7.2434 ± 1.4583	5.1878 ± 0.4198	7.7712 ± 1.1120	3.5688 ± 0.0718		4.4054 ± 0.0827	2.7946 ± 0.1640	5.1488 ± 0.7460	9.5249 ± 0.1973	

注: A: 正常对照组, B: 重度失衡组, C: 自然恢复组, D: 口炎清低剂量组(5%), E: 口炎清高剂量组(10%), F: 大豆低聚糖组。

3 讨论

菌群失衡会引起各种慢性炎症性疾病。微生态调节剂具有调节菌群失衡,从而防治菌群失衡相关疾病的作用。益生元由于易于保存、有效活性高等优点越来越受到关注^[2]。中医药的功效为人们所认可,但作用机制一直不是十分明确,近来有研究证明中药可以有效调节菌群失衡^[3],这可能是由于中药中含有益生元成份所致,这种调节作用可以作为中药作用机制之一。我们的研究表明,一定浓度的口炎清制剂对抗生素干预小鼠盲肠恢复有明显的促进作用,同时促进优势厌氧菌的生长,使肠道菌群逐渐恢复正常,说明口炎清制剂对小鼠抗生素引起的肠道菌群失衡有明显的调节作用,效果与益生元大豆低聚糖相当,由于肠道的炎症会波及到肠外,是许多慢性炎症的诱因,口炎清制剂对肠道菌群失衡的调节作用有可能是它清热解毒机制之一。

口炎清颗粒主要成份为天冬、麦冬、玄参、山银花、甘草等,现代药理学研究表明,天冬、麦冬可调节体液免疫,金银花有抗菌、抗病毒功效,玄参和金银花合用增加抗菌解毒作用^[4]。近年研究发现,金银花醇浸液对金黄色葡萄菌等多种革兰阳性菌和革兰阴性菌均有抑菌作用^[5]。口炎清制剂对肠道菌群失衡的调节作用可能是它各种成分综合作用的结果,哪一种成分更有效需要进一步证明。

现代药理学研究表明,天冬、麦冬可调节体液免疫,金银花有抗菌、抗病毒功效,玄参和金银花合用增

加抗菌解毒作用^[4]。近年研究发现,金银花醇浸液对金黄色葡萄菌等多种革兰阳性菌和革兰阴性菌均有一定的抑菌作用^[5]。本研究表明,口炎清制剂对抗生素干预小鼠盲肠恢复有明显的促进作用,同时促进优势厌氧菌的生长,使肠道菌群逐渐恢复正常,说明口炎清制剂对小鼠抗生素引起的肠道菌群失调和损伤有明显的治疗作用,效果与益生元大豆低聚糖相当,可能通过调整机体的免疫功能和营养状态起作用。

【参考文献】

- [1] MASLOWSKI K M, MACKAY C R. Diet, gut microbiota and immune responses [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(1): 5-9.
- [2] LOOIJER-VAN LANGEN M A, DIELEMAN L A. Prebiotics in chronic intestinal inflammation [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2009, 15(3): 454-62.
- [3] YAN Wei-lun, WANG Shuai-shuai, REN Xia. Experimental study of atractylodes on intestinal microflora in mice [J]. *Shandong J Trad Chin Med*, 2011, 30(6): 417-419. (in Chinese)
鄢伟伦,王帅帅,任霞.白术对小鼠肠道菌群调节作用的实验研究[J]. *山东中医杂志*, 2011, 30(6): 417-419.
- [4] WANG Ling-yin, WANG Wen-mei. Clinical observation of 34 cases recurrent aphthous treated by kouyanqing granules and microwave [J]. *Jiangsu J Trad Chin Med*, 2004, 25(5): 39-40. (in Chinese)
王令茵,王文梅.口炎消冲剂联合微波治疗复发性口腔溃疡34例临床研究观察[J]. *江苏中医药*, 2004, 25(5): 39-40.
- [5] KONG B, WANG J, XIONG Y L. Antimicrobial activity of several herb and spice extracts in culture medium and in vacuum-packaged pork [J]. *J Food Prot*, 2007, 70(3): 641-647.