

引用:杨永琴,魏本君,申剑,王帅哲,马睿玲,胡杨,杨燕.护卵汤加减方对多囊卵巢综合征模型大鼠肠道菌群的影响[J].中医药导报,2026,32(1):48-56,86.

护卵汤加减方对多囊卵巢综合征模型大鼠肠道菌群的影响*

杨永琴,魏本君,申 剑,王帅哲,马睿玲,胡 杨,杨 燕
(甘肃中医药大学,甘肃 兰州 730000)

[摘要] 目的:分析护卵汤加减方对多囊卵巢综合征(PCOS)模型大鼠肠道菌群的影响及其可能机制。方法:62只SD大鼠随机取8只为白色组,余54只每日予来曲唑灌胃诱导建立PCOS模型。将造模成功的54只大鼠分为模型组、西药组和中药组,每组18只。白色组及模型组给予0.9%NaCl注射液2 mL灌胃,西药组给予达英-35(0.339 2 mg/kg)灌胃,中药组给予护卵汤2 mL(含生药1.937 5 g/mL)灌胃,各组均连续治疗21 d。采集大鼠结肠内粪便进行16S rDNA检测,分析样本菌群的多样性与丰度,探讨其门、纲、属、种、科水平的物种组成。结果:与白色组比较,模型组大鼠空腹血糖升高($P<0.05$);与模型组比较,中药组和西药组大鼠空腹血糖均降低($P<0.05$);与西药组比较,中药组大鼠空腹血糖降低($P<0.05$);与白色组比较,模型组大鼠卵巢湿质量、子宫湿质量、肝脏指数显著升高($P<0.01$);与模型组比较,中药组大鼠卵巢湿质量、子宫湿质量显著降低($P<0.01$);与白色组比较,模型组大鼠胆固醇酯(CHO)、甘油三酸酯(TG)和低密度脂蛋白(LDL)水平均上升,高密度脂蛋白(HDL)下降($P<0.01$);与模型组比较,中药组TG、CHO和LDL均降低,HDL水平升高($P<0.01$);与西药组比较,中药组在升高HDL上更具优势($P<0.05$);与白色组比较,模型组大鼠血清激素所有指标差异均有统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,中药组大鼠血清FSH和E₂含量上升($P<0.01$),LH、AMH、T及INS含量显著降低($P<0.01$);与白色组比较,模型组大鼠可见卵巢中多个囊性扩张卵泡,卵泡颗粒层可见明显变薄,间质明显增生,卵母细胞未见;与模型组比较,中药组大鼠卵巢形态改变可见部分恢复,颗粒细胞层数增多,出现卵母细胞,囊性卵泡减少。白色组、模型组、中药组与西药组大鼠菌群α多样性水平差异均无统计学意义($P>0.05$),肠道菌群β多样性的主坐标分析(PCoA)结果显示,PCoA 1和PCoA 2轴的累计解释度为54.3%(PCoA 1:32.5%;PCoA 2:21.8%),能够较好地反映各组间菌群结构的差异特征。中药组与模型组的显著分离,证实了药物的菌群调控效果。与白色组比较,模型组弯曲菌属差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,中药组在门、纲、属、种、科水平的菌种差异有统计学意义($P<0.05$)。结论:护卵汤加减方对PCOS模型大鼠肠道菌群多样性改变有明显的调节作用,并且其作用机制与调节特定菌群有关。

[关键词] 多囊卵巢综合征;护卵汤加减方;颗粒细胞;细胞凋亡;PI3K/Akt信号通路;16S rDNA;大鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2026)01-0048-09

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2026.01.008

Effects of Modified Huluan Decoction (护卵汤) on Gut Microbiota in Rat Model of Polycystic Ovary Syndrome

YANG Yongqin, WEI Benjun, SHEN Jian, WANG Shuaizhe, MA Ruiling, HU Yang, YANG Yan

(Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou Gansu 730000, China)

[Abstract] Objective: To analyze the effects of the modified Huluan decoction on the gut microbiota and its possible mechanisms in rat model of polycystic ovary syndrome (PCOS). Methods: Totally 62 SD rats were randomly assigned, with 8 in the blank group. The remaining 54 rats were administered letrozole daily via gavage to induce PCOS. The 54 successfully modeled rats were subsequently divided into the model group, Western medicine group, and traditional Chinese medicine (TCM) group, with 18 rats in each. The blank and model groups received 2 mL of 0.9% NaCl solution via gavage. The Western medicine group received Diane-35

*基金项目:甘肃省中医药管理局科研课题项目(GZK-2018-10);敦煌医学与转化教育部重点实验室开放基金项目(DHYX17-03);甘肃省高等学校创新基金科研课题(2022B-120);甘肃中医药大学引进人才项目(2018YJRC-05)

通信作者:杨永琴,女,副教授,研究方向为中西医结合诊疗妇科生殖内分泌疾病

(0.339 2 mg/kg), and the TCM group received 2 mL of modified Huluan decoction (containing 1.937 5 g/mL of crude drug) via gavage for 21 consecutive days. Fecal samples from the rat colon were collected for 16S rDNA sequencing to analyze the diversity and abundance of the microbial community and to investigate the species composition at the phylum, class, family, genus, and species levels. Results: The model group showed higher fasting blood glucose than blank group ($P<0.05$). Compared with the model group, both the TCM group and Western medicine group showed decreased fasting blood glucose ($P<0.05$). Furthermore, the TCM group showed lower fasting blood glucose than the Western medicine group ($P<0.05$). Compared with the blank group, ovarian wet weight, uterine wet weight, and liver index were significantly increased in the model group ($P<0.01$). Compared with the model group, ovarian and uterine wet weights were significantly decreased in the TCM group ($P<0.01$). Compared with the blank group, cholesterol (CHO), triglycerides (TG), and low-density lipoprotein (LDL) levels increased, while high-density lipoprotein (HDL) decreased in the model group ($P<0.01$). Compared with the model group, the TCM group showed decreased TG, CHO, and LDL, while increased HDL levels ($P<0.01$). The TCM group was superior to the Western medicine group in increasing HDL ($P<0.05$). All serum hormone levels differed significantly between the model and blank groups ($P<0.01$). Compared with the model group, the TCM group showed increased FSH and E₂ ($P<0.01$), and significantly decreased LH, AMH, T, and INS ($P<0.01$). Compared with the blank group, the model group rats showed multiple cystically dilated follicles in the ovaries, markedly thinned granulosa cell layers, significant stromal hyperplasia, and no oocytes were observed. Compared with the model group, the TCM group exhibited partial restoration of ovarian morphology, increased layers of granulosa cells, presence of oocytes, and a reduction in cystic follicles. No significant difference in α -diversity was found among the blank group, model group, Western medicine group, and TCM group ($P>0.05$). Principal coordinate analysis (PCoA) of gut microbiota β -diversity showed that the cumulative explanation of PCoA1 and PCoA2 axes was 54.3% (PCoA1: 32.5%; PCoA2: 21.8%), which could effectively reflect the structural differences in microbiota among the groups. The significant separation between the TCM group and the model group confirmed the regulatory effect of the drug on the microbiota. Compared with the blank group, the model group showed a statistically significant difference in the genus *Campylobacter* ($P<0.05$). Compared with the model group, the TCM group showed statistically significant differences in bacterial species at the phylum, class, genus, species, and family levels ($P<0.05$). Conclusion: The modified Huluan decoction can significantly modulate gut microbiota diversity in PCOS model rats, and its mechanism is related to regulating specific microbial communities.

[Keywords] polycystic ovary syndrome; modified Huluan decoction; granulosa cells; apoptosis; PI3K/Akt signaling pathway; 16S rDNA; rat

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是育龄期女性最常见的生殖内分泌代谢性疾病,也是导致排卵障碍性不孕、月经失调和高雄激素血症的重要原因^[1]。磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)通路是细胞内的一条重要信号转导通路,在细胞生长、增殖、分化和蛋白合成等过程中起重要作用^[2]。目前,PCOS的发病机制仍不清楚,缺乏病因学治疗手段。近年来,肠道菌群与PCOS的关系备受关注。研究发现,肠道菌群紊乱作为重要危险因素,可促发PCOS。有研究成果揭示了肠道菌群-胆汁酸-IL22轴调控PCOS发病的新机制^[3]。护卵汤在临床治疗排卵障碍性不孕及辅助体外受精-胚胎移植过程中取得了较好的临床疗效。本研究构建PCOS大鼠模型,观察血糖、血脂和性激素等指标的变化,基于16S rDNA测序^[4-6]分析护卵汤加减方对PCOS模型大鼠肠道菌群的影响,从而探索护卵汤加减方可能的作用机制。

1 材 料

1.1 实验动物 6~8周龄SPF级SD大鼠62只,体质量(200±

20)g,购自甘肃中医药大学实验动物中心。实验动物生产许可证号:SYXK(甘)2021-0004;质量合格证号:62001000000842。饲养于甘肃中医药大学实验动物中心,相对湿度(60±10)%,温度(23±2)℃,自由饮水、进食,12 h/12 h明暗光照。该动物实验经甘肃中医药大学伦理委员会审批(编号:SY2023-969)。

1.2 实验药物 护卵汤加减方(尤昭玲教授自拟经验方)^[7-14]

组成:党参12 g,黄芪12 g,白术12 g,山药15 g,百合10 g,白莲子15 g,炒菟丝子10 g,桑椹10 g,月季花5 g,橘叶10 g,柴胡9 g,粉葛根10 g,赤小豆10 g,炒薏苡仁12 g,大腹皮10 g,土贝母9 g,土茯苓15 g。将上述中药材用水浸泡20 min后煎煮,制备含生药1.937 5 g/mL的中药浓缩液。来曲唑片(浙江海正药业股份有限公司,2.5 mg/片,批号:H201330 109);达英-35(每片含醋酸环丙孕酮2 mg和炔雌醇0.035 mg,拜耳医药保健有限公司广州分公司,进口药品注册证号:H20 170209)。

1.3 主要试剂 卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay,

ELISA)试剂盒(批号:E20230623-66523B)、雌二醇(estriadiol,E₂)ELISA试剂盒(批号:E20230618-88523B)、黄体生成素(luteinizing hormone,LH)ELISA试剂盒(批号:E20230608-52126B)、抗米勒管激素(anti-Müllerian hormone,AMH)ELISA试剂盒(批号:E20230621-87425B)、睾酮(testosterone,T)ELISA试剂盒(批号:E20230612-21569B)、胰岛素(insulin,INS)ELISA试剂盒(批号:E20230604-55214B)均购自上海酶联生物科技有限公司;PI3K抗体(批号:AF6241)、Akt抗体(批号:AF0836)均购自成都正能生物技术有限责任公司;山羊抗兔IgG(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号:RS 0002)。

1.4 主要仪器 高通量冷冻组织研磨仪(宁波新芝生物科技股份有限公司,型号:Scientz-48L);全自动酶标仪[美谷分子仪器(上海)有限公司,型号:SpectraMax i3x];凝胶成像分析系统(广州博鹭腾生物科技有限公司,型号:Gel View 6000Plus);电泳转印系统(美国伯乐公司,型号:041BR111152)。

2 方 法

2.1 分组及造模方法

2.1.1 动物分组及模型构建 62只大鼠随机选8只为白色组,余54只每日给予1 mg/kg来曲唑溶液[溶于1%羧甲基纤维素(CMC)中]灌胃,连续灌胃21 d,诱导PCOS模型。白色组灌胃1%CMC。成模测定:从第16天开始,持续进行1个周期的阴道涂片检测,阴道上皮细胞出现持续角化现象则表明造模成功。将造模成功的54只大鼠随机分成模型组、西药组、中药组,每组18只。

2.1.2 实验给药 根据体表面积法,给予大鼠的药物剂量是人类的10倍,经过计算得出大鼠的用药量。白色组、模型组采用0.9%NaCl注射液2 mL灌胃,西药组给予达英-35(0.339 2 mg/kg)溶液2 mL,中药组给予护卵汤加减方灌胃(19.375 g/kg)。连续干预21 d。

2.2 标本采集 在末次给药操作完成之后,大鼠整夜禁食不禁水。次日,测量大鼠的体质量。腹主动脉采血,同时摘取大鼠的双侧卵巢、子宫、肝脏。将所采集的血液样本在4 ℃条件下静置1 h,3 000 r/min(离心半径为16 cm)离心10 min,分离血清置于EP管中,-20 ℃冰箱保存备用。随后,将卵巢、子宫、肝脏等完整地游离出来;取其大肠盲肠段的内容物置于冻存管中,立即放入液氮中,-80 ℃超低温冰箱保存。

2.3 观察指标

2.3.1 体质量和行为 在开始造模至实验最后的取材期间,记录大鼠每日体质量,并观察各组大鼠的精神状态、反应性、皮毛、进食情况、大便次数与便质的变化。

2.3.2 空腹血糖 在末次给药操作完成之后,大鼠整夜禁食不禁水。次日,测量大鼠的体质量。腹主动脉采血,检测各组大鼠的空腹血糖。

2.3.3 大鼠卵巢湿质量、子宫湿质量、肝脏指数 在末次给药操作完成之后,大鼠整夜禁食不禁水。次日,摘取并完整剥离各组大鼠的卵巢、子宫及肝脏组织,称取其质量,计算脏器指数。各组随机选取6只大鼠,测量其卵巢湿质量、子宫湿质量和肝脏湿质量,然后根据体质量计算出卵巢指数、子宫指数和肝脏指数。计算公式:卵巢指数=卵巢湿质量/体质量×100%,子宫指数=子宫湿质量/体质量×100%,肝脏指数=肝脏湿质量/体质量×100%。

体质量×100%。

2.3.4 大鼠血脂各项指标 在末次给药操作完成之后,大鼠整夜禁食不禁水。次日腹主动脉采血,检测大鼠血清TG、CHO、LDL、HDL水平。

2.3.5 ELISA检测血清激素水平 检测大鼠血清激素FSH、LH、T等水平,严格遵循ELISA试剂盒所提供的说明步骤开展操作。在450 nm波长条件下,测定大鼠血清中FSH、LH、T等的吸光度(optical density,OD)值。依据所测定的数据绘制标准曲线图,进而计算得出FSH、LH、T等的水平。

2.3.6 HE染色观察大鼠卵巢、子宫、肝脏形态学变化 将获取的子宫、卵巢、肝脏组织置于4%多聚甲醛溶液中,使其充分固定,以保持组织的形态与结构完整性。固定完成后,采用苏木素-伊红(Hematoxylin-eosin,HE)染色技术对组织切片进行染色处理,通过显微镜对染色后的卵巢、子宫切片进行细致观察,重点关注其形态结构特征,包括细胞的形态、排列方式、组织的分层结构以及是否存在病理改变等方面的情况。

2.3.7 肠道细菌16S rDNA测序 大肠盲肠段的内容物样本送上海派森诺生物科技股份有限公司采用PacBio测序平台进行肠道菌群16S rDNA测序。

2.4 统计学方法 所有数据采用SPSS 25.0进行统计学分析。计量资料满足正态分布以“均数±标准差”($\bar{x}\pm s$)表示,多组比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用Kruskal-Wallis检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结 果

3.1 PCOS模型大鼠动情周期变化 动情周期正常是大鼠性成熟的标志,反映卵巢功能正常。大鼠的动情周期为4~5 d。动情前期,有大量的有核上皮细胞出现;动情期,有大量的角化上皮细胞出现;动情间期,有大量的白细胞出现;动情后期,同时存在前述3种细胞。阴道上皮细胞持续角化,说明造模成功。(见图1)

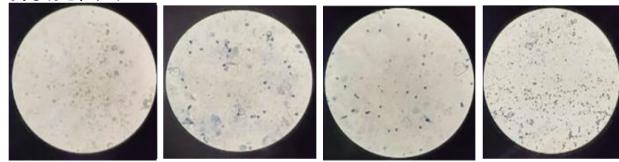


图1 模型组大鼠动情周期的变化(阴道涂片, $\times 200$)

3.2 各组大鼠空腹血糖比较 与空白组比较,模型组大鼠空腹血糖显著升高($P<0.05$);与模型组比较,中药组和西药组大鼠空腹血糖降低($P<0.01$);与西药组比较,中药组大鼠空腹血糖降低($P<0.05$)。(见表1)

表1 各组大鼠空腹血糖比较 ($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

组别	n	给药剂量	空腹血糖
空白组	6		2.99±0.61
模型组	6		3.66±0.19 ^a
西药组	6	0.339 2 mg/kg	3.22±0.17 ^b
中药组	6	1.937 5 mg/kg	2.89±0.19 ^{bc}
		F	8.346
		P	0.000

注:与空白组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.01$;与西药组比较,^c $P<0.05$ 。

3.3 各组大鼠卵巢湿质量、子宫湿质量、肝脏指数比较 与空白组比较,模型组大鼠卵巢湿质量、子宫湿质量显著升高($P<0.01$),肝脏指数显著降低($P<0.01$);与模型组比较,西药组、中药组大鼠卵巢湿质量、子宫湿质量显著降低($P<0.01$),肝脏指数差异无统计学意义($P>0.05$);与西药组比较,中药组大鼠卵巢湿质量、子宫湿质量增加($P<0.01$),肝脏指数差异无统计学意义($P>0.05$)。(见表2)

表2 各组大鼠脏器质量比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	给药剂量	卵巢湿质量/g	子宫湿质量/g	肝脏指数/(%体质量)
空白组	6		0.10±0.01	0.35±0.04	3.42±0.36
模型组	6		0.32±0.01 ^a	0.87±0.04 ^a	2.63±0.20 ^a
西药组	6	0.3392 mg/kg	0.14±0.01 ^b	0.55±0.02 ^b	2.67±0.19
中药组	6	1.9375 mg/kg	0.20±0.02 ^{bc}	0.66±0.02 ^{bc}	2.78±0.14
F			316.800	292.200	14.450
P			0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$;与西药组比较,^c $P<0.01$ 。

3.4 各组大鼠血脂指标比较 与空白组比较,模型组大鼠胆固醇酯(CHO)、甘油三酸酯(TG)和低密度脂蛋白(LDL)水平均上升($P<0.01$),高密度脂蛋白(HDL)下降($P<0.01$)。与模型组比较,中药组TG、CHO和LDL水平均降低($P<0.01$),而HDL水平升高($P<0.01$);中药组大鼠HDL水平高于西药组,西药组大鼠TG水平低于中药组($P<0.05$ 或 $P<0.01$);中药组与西药组大鼠血脂CHO和LDL水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。(见表3)

表3 各组大鼠血脂指标比较 ($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

组别	n	给药剂量	TG	CHO	LDL	HDL
空白组	6	0.28±0.03	2.27±0.16	0.26±0.02	1.19±0.09	
模型组	6	0.88±0.11 ^a	3.12±0.44 ^a	0.39±0.04 ^a	0.56±0.05 ^a	
西药组	6	0.3392 mg/kg	0.42±0.01 ^b	2.14±0.20 ^b	0.30±0.02 ^b	0.77±0.07 ^b
中药组	6	1.9375 mg/kg	0.49±0.03 ^{bc}	2.19±0.19 ^b	0.33±0.01 ^b	0.87±0.07 ^{bd}
F			115.800	17.460	24.290	75.910
P			0.000	0.000	0.000	0.000

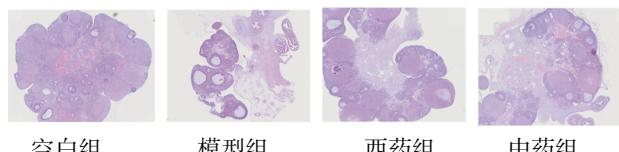
注:与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$;与西药组比较,^c $P<0.01$,^d $P<0.05$ 。

3.5 各组大鼠血清性激素水平比较 与空白组比较,模型组大鼠血清FSH、E₂水平均降低,而LH、AMH、T及INS水平均升高($P<0.01$)。与模型组比较,中药组及西药组大鼠血清FSH和E₂

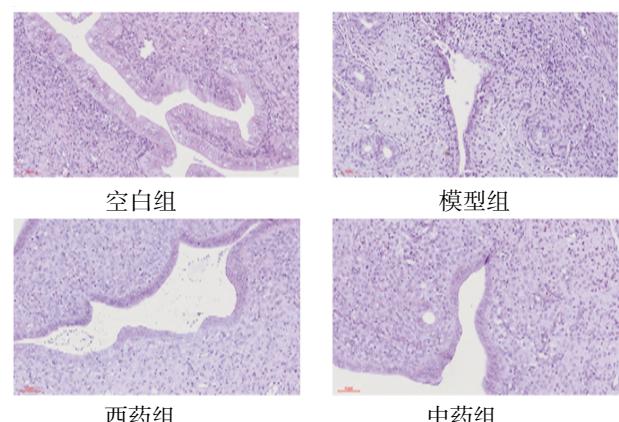
水平升高($P<0.01$),LH、AMH、T及INS水平降低($P<0.01$)。与西药组比较,中药组大鼠血清FSH、E₂水平降低($P<0.01$),而LH、AMH、T及INS水平均升高($P<0.01$)。(见表4)

3.6 各组大鼠组织HE染色结果

3.6.1 卵巢组织 空白组大鼠卵巢组织结构清晰可辨,各个生长周期的卵泡都存在,其颗粒细胞呈现有序且密集的分布,并且颗粒层较为丰满,表现出良好的发展状况。与空白组比较,模型组大鼠卵巢组织中观察到许多囊性扩张卵泡,而这些卵泡的颗粒层显著变薄,同时间质也明显增长,但并未看到有成熟的卵母细胞。与模型组比较,西药组及中药组都能有效地改善卵巢的形状,使得颗粒细胞层变得更加丰富,并保持着有序的排布。中药组可见成熟的卵母细胞,而且颗粒细胞层的数量有所上升,与此同时,囊状卵泡的数量也有所下降。(见图2)

图2 各组大鼠卵巢组织病理学改变 (HE染色, $\times 20$)

3.6.2 子宫组织 空白组大鼠子宫内膜中有多个成簇分布的腺体,其体积和数量都较大且有许多折叠。模型组大鼠子宫内膜中的腺体数量有所下降,主要以单独的腺体形式散布于各处,且尺寸相对较小并呈直线型,没有明显的折叠现象。比较之下,西药组与中药组大鼠子宫内膜中,虽然仍能看到一些聚集在一起的腺体,但是体积仍然偏小,而且有些地方出现了少量的折叠,但并未完全恢复到健康的状态。(见图3)

图3 各组大鼠子宫组织病理学改变 (HE染色, $\times 200$)表4 各组大鼠血清FSH、E₂、LH、AMH、T及INS水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	给药剂量	FSH/(IU/L)	E ₂ /(pmol/L)	LH/(mIU/mL)	AMH/(pg/mL)	T/(pg/mL)	INS/(mU/L)
空白组	6		12.54±0.59	62.22±1.96	19.24±1.36	1 658.83±174.61	84.96±12.15	7.79±0.84
模型组	6		5.72±0.54 ^a	28.30±2.35 ^a	49.07±2.48 ^a	3 964.33±231.28 ^a	233.54±8.83 ^a	17.00±0.31 ^a
西药组	6	0.3392 mg/kg	10.07±0.34 ^b	49.39±3.30 ^b	27.62±2.24 ^b	2 312.00±93.94 ^b	126.01±17.29 ^b	10.44±0.92 ^b
中药组	6	1.9375 mg/kg	7.48±0.42 ^{bc}	37.59±2.87 ^{bc}	38.78±1.40 ^{bc}	3 171.67±204.73 ^{bc}	203.62±10.57 ^{bc}	13.88±0.96 ^{bc}
F			228.300	182.000	271.300	180.100	177.100	151.100
P			0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$;与西药组比较,^c $P<0.01$ 。

3.7 大鼠肠道菌群OTU水平 α 和 β 多样性变化

3.7.1 OTU水平 α 多样性分析 4组大鼠肠道菌群 α 多样性比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。说明当前样本量下,各组干预未导致肠道菌群多样性出现差异。(见表5)

表5 对PCOS大鼠肠道菌群 α 多样性的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	给药剂量	Shannon	Chao	Ace	Simpson
空白组	6		4.41±0.35	1 480.96±165.41	1 535.16±175.55	0.06±0.04
模型组	6		4.38±0.51 ^a	1 462.42±191.55 ^a	1 516.91±202.57 ^a	0.05±0.03 ^a
西药组	6	0.339 2 mg/kg	4.34±0.33 ^b	1 372.76±145.23 ^b	1 430.66±153.56 ^b	0.04±0.02 ^b
中药组	6	1.937 5 mg/kg	4.69±0.18 ^b	1 442.07±252.02 ^b	1 488.16±269.12 ^b	0.03±0.01 ^b
F			1.171	0.361	0.298	0.141
P			0.346	0.782	0.826	0.934

注:与空白组比较,^a $P>0.05$;与模型组比较,^b $P>0.05$;与西药组比较,^c $P>0.05$ 。

3.7.2 β 多样性的PCoA分析 肠道菌群 β 多样性的主坐标分析(PCoA)结果显示(见图4),PCoA 1和PCoA 2轴的累计解释度为54.3%(PCoA 1:32.5%;PCoA 2:21.8%),能够较好地反映各组间菌群结构的差异特征。PERMANOVA分析表明,4组大鼠肠道菌群 β 多样性存在差异($R^2=0.48$, $P=0.001$)。空间分布显示,与空白组比较,模型组在PCoA空间中已呈现明显分离(组间距离1.317),且模型组的组内离散度(0.465)显著高于空白组(0.302),提示两种模型构建方式对肠道菌群的扰动效应存在差异。药物干预组与空白组、模型组实现有效分离,其中西药组与模型组的组间距离最大(2.274),且西药组的组内离散度最低(0.299),表明西药对肠道菌群结构的调控作用最为显著且稳定。中药组与空白组表现出显著分离(与空白组距离1.875),与模型组表现出显著分离(距离1.578),中药组内离散度为0.344,显示中药也具有良好的菌群调控效果。此外,西药组与中药组在PCoA空间中虽有部分重叠但整体分离(组间距离1.394),提示两种药物可能通过不同机制调控肠道菌群结构。中药组与模型组的显著分离,证实了中药组的菌群调控效果。(见图4)

3.7.3 肠道菌群分析

3.7.3.1 门水平 DEseq2分析,空白组、模型组大鼠肠道菌群中相对丰度最高的为厚壁菌门(Firmicutes),其次是拟杆菌门(Bacteroidetes)。(见图5、表6)

3.7.3.2 纲水平 DEseq2分析显示,空白组及模型组相对

丰度最高的为梭状芽孢杆菌纲(Clostridia),其次是拟杆菌纲(Bacteroidia)、丹毒丝菌纲(Erysipelotrichia)。与模型组比较,酸氨基球菌科(Acidaminococcaceae)、巴斯德菌科(Pasteurellaceae)、卟啉单胞菌科(Porphyrimonadaceae)、梭菌科1(Clostridiaceae_1)、普雷沃菌科(Prevotellaceae)、肠杆菌科(Enterobacteriaceae)及科里奥杆菌科(Coriobacteriaceae)差异均有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。与西药组比较,巴斯德菌科(Pasteurellaceae)、拟杆菌科(Bacteroidaceae)及放线菌科(Acidaminococcaceae)差异均有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。(见图6、表7)

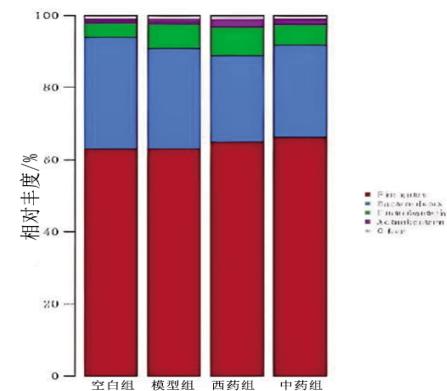


图5 门水平组成柱状图

表6 各组大鼠门水平菌的丰度比较

组别	Firmicutes	Bacteroidetes	Proteobacteria	Actinobacteria	Other
空白组	62.940 01	30.914 63	4.123 830	0.924 881	1.096 654
模型组	63.008 71	27.817 09	6.885 353	1.025 407	1.263 435
西药组	64.875 40	23.923 69	8.031 962	1.762 118	1.406 835
中药组	66.179 02	25.538 37	5.783 713	1.336 611	1.162 285

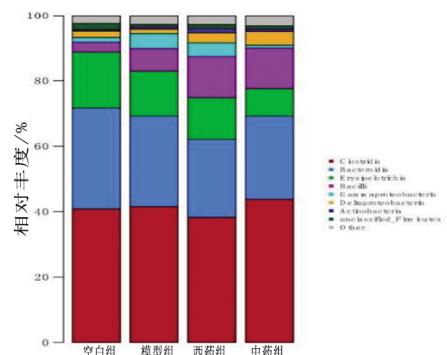
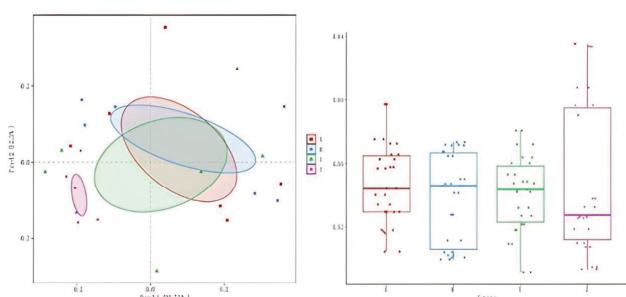


图6 纲水平组成柱状图



注:红色K是空白组,蓝色M模型组,绿色Y是西药组,紫色Z是中药组。

图4 大鼠肠道菌群 β 多样性的PCoA和NMDS分析

3.7.3.3 目水平 DEseq2分析,空白组及模型组相对丰度最高的为梭菌目(Clostridiales),其次是拟杆菌目(Bacteroidales)、丹毒丝菌目(Erysipelotrichales)。与模型组比较,中药组大鼠酸氨基球菌目(Acidaminococcales)、巴斯德菌目(Pasteurellales)及肠杆菌目(Enterobacteriales)差异均有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。与西药组比较,中药组大鼠巴斯德菌目(Pasteurellales)及酸氨基球菌目(Acidaminococcales)差异均有统计学意义($P<0.05$)。(见图7、表8)

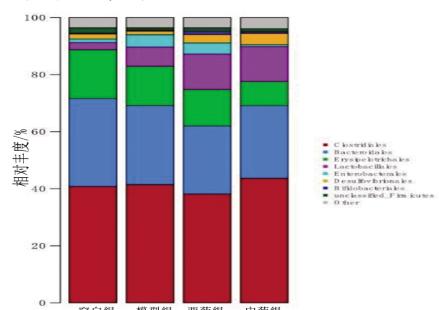


图7 目水平组成柱状图

3.7.3.4 属水平 DEseq2分析,空白组及模型组相对丰度最高的为梭菌目(Duncaniella),其次是布劳特氏菌属(Blautia)、普雷沃氏菌属(Prevotella)。与模型组比较,中药组乳杆菌属(Lactobacillus)、袋熊杆菌属(Phascolarctobacterium)、海豹菌属(Phocaeicola)、梭菌属第十八群(Clostridium_XVIII)、福赛坦纳菌属(Fusicatenibacter)、布劳特菌属(Blautia)、鼠杆菌属(Muribaculum)、嗜齿菌属(Rodentibacter)、拟杆菌属(Parabacteroides)、梭菌属(Clostridium_sensu_stricto)、肠螺旋菌属(Enteroscipio)、厌氧丁酸菌属(Aerobutyricum)、寡养菌属(Oligella)、霍尔德曼菌属(Holdemania)、未分类的苏特菌科(unclassified_Sutterellaceae)、厌氧菌属(Aerostipes)、长杆菌属(Longibaculum)、拟杆菌属(Bacteroides)、埃希氏菌属/志贺氏菌属(Escherichia_Shigella)比较,差异均有统计学意义($P<0.01$);普雷沃菌属(Prevotella)柯林斯菌属(Collinsella)、邓卡尼菌属(Duncaniella)、弗里辛吉菌属(Fringicoccus)、粪球菌属(Coprococcus)、未分类的δ-变形菌纲(unclassified_Deltaproteobacteria)、泪球菌属(Lacrimispora)、未分类的乳杆菌科(unclassified_Lactobacillaceae)、粪便拟杆菌属(Faecalibacillus)比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与西药组比较,中药组大

鼠粪球菌属(Coprococcus)、布劳特菌属(Blautia)、海豹菌属(Phocaeicola)、嗜齿菌属(Rodentibacter)、福赛坦纳菌属(Fusicatenibacter)比较,差异均有统计学意义($P<0.01$),厌氧菌属(Aerostipes)、厌氧丁酸菌属(Aerobutyricum)、未分类的拟杆菌科(unclassified_Bacteroidaceae)、袋熊杆菌属(Phascolarctobacterium)、拟杆菌属(Bacteroides)、肠螺旋菌属(Enteroscipio)比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。(见图8、表9)

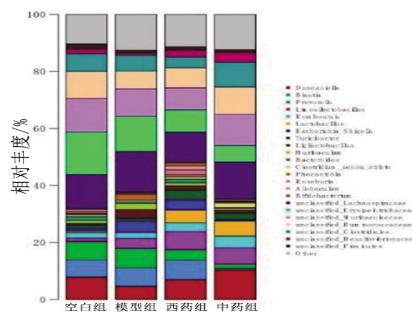


图8 属水平组成柱状图

3.7.3.5 科水平 空白组及模型组相对丰度最高的为鼠杆菌科(Muribaculaceae)、毛螺菌科(Lachnospiraceae)、丹毒丝菌科(Erysipelotrichaceae)、瘤胃菌科(Ruminococcaceae)。与模型组比较,经中药组治疗后酸氨基球菌科(Acidaminococcaceae)、拟杆菌科(Bacteroidaceae)、巴斯德菌科(Pasteurellaceae)、卟啉单胞菌科(Porphyrimonadaceae)、梭菌科1群(Clostridiaceae_1)、普雷沃菌科(Prevotellaceae)、肠杆菌科(Enterobacteriaceae)差异均有统计学意义($P<0.01$);科里巴克菌科(Coriobacteriaceae)、臭味杆菌科(Odoribacteraceae)差异均有统计学意义($P<0.05$)。(见图9、表10)

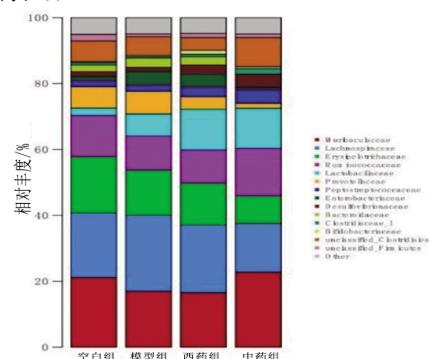


图9 科水平组成柱状图

表7 各组大鼠纲水平菌的丰度比较

组别	Clostridia	Bacteroidia	Erysipelotrichia	Bacilli	Gammaproteobacteria	Deltaproteobacteria	Actinobacteria	unclassified_Firmicutes	Other
空白组	40.890 59	30.754 07	17.133 700	2.985 835	1.451 737	1.896 552	0.468 850	1.928 919	2.489 745
模型组	41.535 35	27.670 51	13.751 210	6.888 042	4.558 520	1.362 614	0.616 253	0.834 109	2.783 390
西药组	38.268 71	23.782 12	12.792 880	12.558 410	4.173 203	3.062 096	1.291 811	1.253 356	2.817 414
中药组	43.774 67	25.416 89	8.446 946	12.376 550	0.858 099	4.116 493	0.785 275	1.044 026	3.181 058

表8 各组大鼠目水平菌的丰度比较

组别	Clostridiales	Bacteroidales	Erysipelotrichales	Lactobacillales	Enterobacteriales	Desulfovibrionales	Bifidobacteriales	unclassified_Firmicutes	Other
空白组	40.845 40	30.754 07	17.133 700	2.544 546	1.216 511	1.760 992	0.283 938	1.928 919	3.531 919
模型组	41.489 97	27.670 51	13.751 210	6.773 735	4.296 285	1.255 367	0.365 784	0.834 109	3.563 036
西药组	38.218 69	23.782 12	12.792 880	12.431 470	3.907 422	2.937 883	1.128 463	1.253 356	3.547 716
中药组	43.726 34	25.416 89	8.446 946	12.229 610	0.674 106	3.975 356	0.599 993	1.044 026	3.886 742

3.7.4 LEfSe差异菌群分析 通过LEfSe分析共鉴定到35个显著差异的微生物类群(LDA score>3.0, P<0.05),涉及6个菌门,14个已知菌属和2个未分类菌属,其在不同分组的分布呈现显著异质性。

模型组vs空白组:模型组中弯曲菌门(Campylobacterota, LDA=3.20, P=0.037)的弯曲菌目(Campylobacterales, LDA=3.20, P=0.037)显著富集;空白组中放线菌门(Actinobacteria)的艾格特菌科(Eggerthellaceae, LDA=3.03, P=0.025)显著富集。

西药组vs模型组:西药组中厚壁菌门(Firmicutes)的乳杆菌属(Lactobacillus, LDA=4.66, P=0.004)和图里奇菌属(Turicibacter, LDA=4.35, P=0.037)的显著上调;变形菌门(Proteobacteria)的一种未分类萨特氏菌科菌属(unclassified_Sutterellaceae, LDA=3.25, P=0.036)显著上调;疣微菌门(Verrucomicrobia)的艾克曼菌属(Akkermansia, LDA=3.037, P=0.016)显著上调。模型组中厚壁菌门(Firmicutes)的梭菌属(XVIII型)(Clostridium XVIII, LDA=3.26, P=0.037)在显著上调。

中药组vs模型组:中药组中厚壁菌门(Firmicutes)的乳杆菌属(Lactobacillus, LDA=4.76, P=0.004)、罗姆布茨菌属(Romboutsia, LDA=4.36, P=0.025),梭菌属(Clostridium sensu stricto, LDA=4.06, P=0.004),图里奇菌属(Turicibacter, LDA=4.06, P=0.037)和考拉杆菌属(Phascolarctobacterium, LDA=3.63, P=0.022)显著富集;拟杆菌门(Bacteroidetes)的邓肯菌属(Duncaniella, LDA=4.79, P=0.010)显著富集;放线菌门(Actinobacteria)的阿德勒菌属(Adlercreutzia, LDA=3.08, P=0.025)显著富集。

模型组中厚壁菌门(Firmicutes)的布劳特菌属(Blautia, LDA=4.76, P=0.010),融合丝杆菌属(Fusicatenibacter, LDA=3.87, P=0.010)和梭菌属XVIII(Clostridium XVIII, LDA=3.26,

P=0.010)的显著富集;拟杆菌门(Bacteroidetes)的普雷沃菌属(Prevotella, LDA=4.76, P=0.016),海豹杆菌属(Phocaeicola, LDA=4.28, P=0.006),鼠杆菌属(Muribaculum, LDA=4.20, P=0.006),拟杆菌属(Bacteroides, LDA=3.71, P=0.004)和副拟杆菌属(Parabacteroides, LDA=3.25, P=0.006)显著富集;变形菌门(Proteobacteria)的梅尔氏菌属(Mailhella, LDA=3.22, P=0.037)显著富集。

中药组vs西药组:中药组中厚壁菌门(Firmicutes)的梭菌属(Clostridium sensu stricto, LDA=3.89, P=0.037),肠单胞菌属(Intestinimonas, LDA=3.76, P=0.037),颤螺菌属(Oscillibacter, LDA=3.40, P=0.025)和梭菌属XIVa(Clostridium_XIVa, LDA=3.02, P=0.016)显著富集;拟杆菌门(Bacteroidetes)的鼠杆菌科一种未分类属(unclassified_Muribaculaceae, LDA=4.58, P=0.037)显著富集;放线菌门(Actinobacteria)的阿德勒菌属(Adlercreutzia, LDA=3.13, P=0.037)显著富集。

西药组中变形菌门(Proteobacteria)的梅尔氏菌属(Mailhella, LDA=3.57, P=0.037)显著富集。

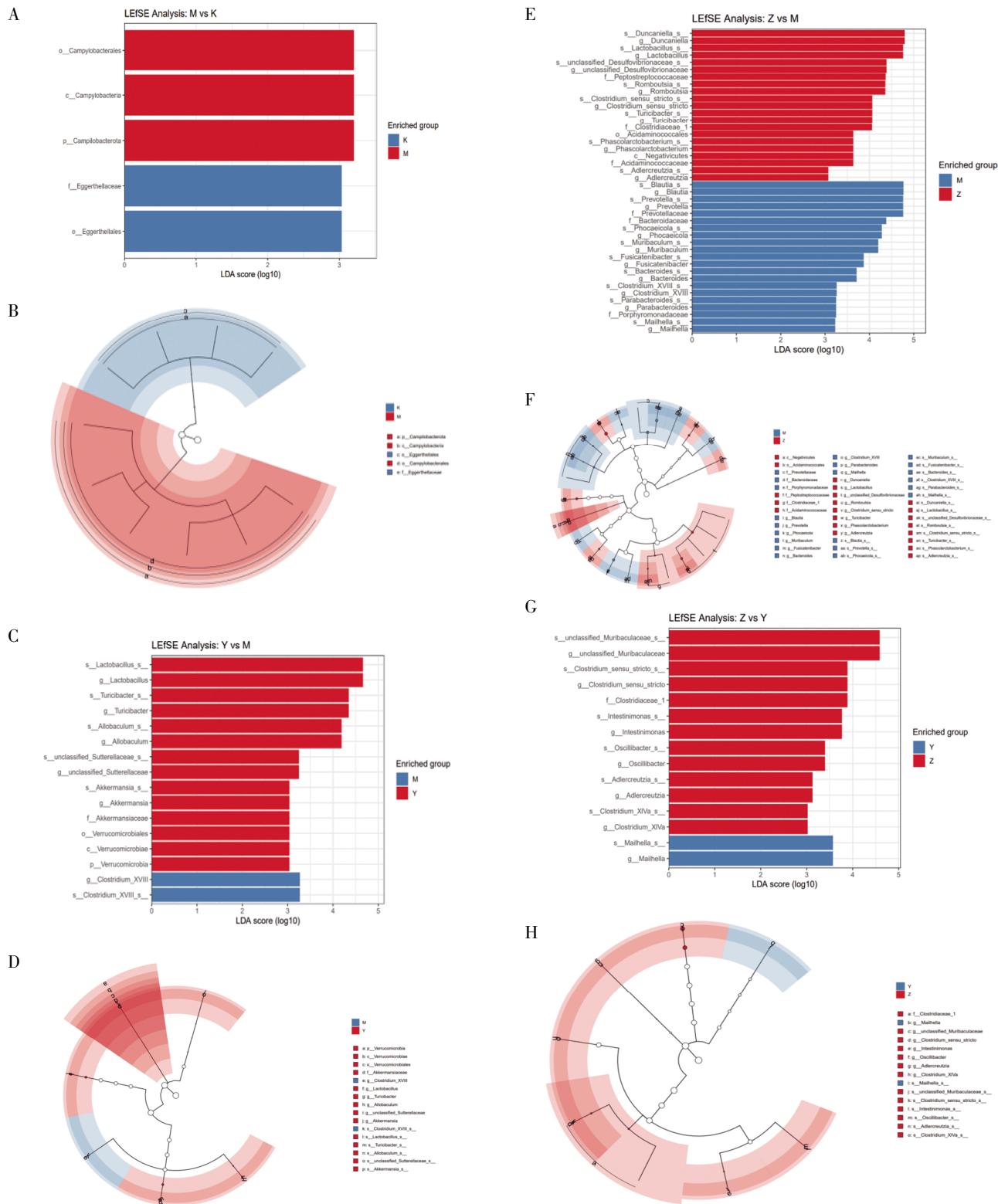
绘制比较模型组vs空白组(见图10A~B)、西药组vs模型组(见图10C~D)、中药组vs模型组(见图10E~F)和中药组vs西药组(见图10G~H)的差异菌群柱状图和系统发育分支图。其中,西药组和中药组中厚壁菌门(Firmicutes)的乳杆菌属(Lactobacillus),图里奇菌属(Turicibacter)相较于模型组均显著上调,而梭菌属XVIII型(Clostridium XVIII)则相较于模型组显著下调;中药组的放线菌门(Actinobacteria)的阿德勒菌属(Adlercreutzia)相较于模型组和西药组均显著上调,而变形菌门(Proteobacteria)的梅尔氏菌属(Mailhella)相较于模型组和西药组均显著下调。

表9 各组大鼠属水平菌的丰度比较

组别	Duncaniella	Blautia	Prevotella	Limosilactobacillus	Romboutsia	Lactobacillus	Escherichia_Shigella	Turicibacter	Liglactobacillus	Muribaculum	Bacteroides	Clostridium_sensu_stricto
空白组	7.923 023	6.038 969	6.449 814	1.197 603	1.829 894	0.492 245	1.038 649	1.200 808	0.567 235	1.012 370	1.393 411	0.699 910
模型组	4.695 690	6.446 613	6.834 251	3.583 544	1.948 945	0.085 731	4.018 921	0.963 210	3.006 626	2.090 148	0.771 576	0.458 575
西药组	7.054 255	6.725 517	3.751 901	6.400 182	3.008 668	4.461 104	3.630 752	3.418 739	1.478 641	1.021 266	1.312 230	0.756 166
中药组	10.469 590	0.504 613	1.498 693	5.701 222	4.118 748	5.274 266	0.539 736	2.201 800	1.118 462	0.570 670	0.254 884	1.601 163
组别	Phocaeicola	Roseburia	Allobaculum	Bifidobacterium	unclassified_Lachnospiraceae	unclassified_Erysipelotrichaceae	unclassified_Muribaculaceae	unclassified_Ruminococcaceae	unclassified_Clostridiaceae	unclassified_Desulfovibrionaceae	unclassified_Firmicutes	Other
空白组	0.428 150	0.631 650	0.801 500	0.282 977	11.965 130	14.823 740	11.770 930	9.510 319	6.214 267	1.535 060	1.928 919	10.263 430
模型组	1.956 341	0.434 033	0.114 644	0.365 784	14.241 720	12.330 770	9.575 952	6.269 773	5.581 910	0.822 006	0.834 109	12.569 130
西药组	0.864 724	1.619 188	1.439 165	1.128 463	10.742 180	7.728 407	7.739 637	7.032 816	3.814 178	2.324 307	1.253 356	11.294 160
中药组	0.052 524	0.300 641	0.375 076	0.599 993	13.144 740	5.742 145	10.893 000	9.629 854	8.704 731	3.348 940	1.044 026	12.310 490

表10 各组大鼠科水平菌的丰度比较

组别	Muribaculaceae	Lachnospiraceae	Erysipelotrichaceae	Ruminococcaceae	Lactobacillaceae	Prevotellaceae	Peptostreptococcaceae	Enterobacteriaceae	Desulfovibrionaceae	Bacteroidaceae	Clostridiaceae	Bifidobacteriaceae	unclassified_Clostridiaceae	unclassified_Firmicutes	Other
空白组	21.273 880	19.457 120	17.133 700	12.455 770	2.263 492	6.452 698	1.896 231	1.215 870	1.757 147	1.984 361	0.721 702	0.283 938	6.214 267	1.928 919	4.960 902
模型组	17.053 020	22.995 670	13.751 210	10.326 680	6.678 591	6.835 595	1.992 651	4.296 285	1.255 030	2.753 469	0.479 083	0.365 784	5.581 910	0.834 109	4.800 920
西药组	16.599 570	20.459 350	12.792 880	10.020 040	12.346 730	3.753 943	3.065 159	3.907 422	2.935 842	2.494 461	0.780 327	1.128 463	3.814 178	1.253 356	4.648 274
中药组	22.828 730	14.727 540	8.446 946	14.398 220	12.107 810	1.504 494	4.187 061	0.673 139	3.971 489	0.332 219	1.617 919	0.599 993	8.704 731	1.044 026	4.855 689



注:A~B.微生物16s中M组(PCOS组)样本和K组(空白对照组)样本的LEfSe差异菌群分析柱状图(A)和系统发育分支图(B);红色为两组对比中实验组富集的菌群,蓝色为两组对比中对照组富集的菌群。C~D.微生物16s中Y组(需要组)样本和M组(PCOS组)样本的LEfSe差异菌群分析柱状图(C)和系统发育分支图(D);红色为两组对比中实验组富集的菌群,蓝色为两组对比中对照组富集的菌群。E~F.微生物16s中药组样本和模型组样本的LEfSe差异菌群分析柱状图(E)和系统发育分支图(F);红色为两组对比中实验组富集的菌群,蓝色为两组对比中对照组富集的菌群。G~H.微生物16s中药组样本和西药组样本的LEfSe差异菌群分析柱状图(G)和系统发育分支图(H);红色为两组对比中实验组富集的菌群,蓝色为两组对比中对照组富集的菌群。

图10 通过LEfSe分析和系统发育树图揭示肠道微生物群的差异

4 讨 论

PCOS可归属于中医学“闭经”“不孕”等范畴。《丹溪心法》记载：“若是肥盛妇人禀受甚厚，恣于酒食之人，经水不调，不能成胎，谓之躯脂满溢，闭塞子宫。”^[15]《万氏妇人科》记载：“惟彼肥硕者，膏脂充满，元室之户不开；挟痰者，痰涎壅滞，血海之波不流，故有过期而经始行，或数月经一行，及为浊，为带，为经闭，为无子之病。”^[15]《女科切要·调经门》中载“肥白妇人，经闭而不通者，必是痰湿与脂膜壅塞之故”。综上，痰湿内盛是肥胖型PCOS的重要病机^[16-19]。

护卵汤加减方以补肾健脾化湿为首要调治原则。肾藏精，主生殖；脾主运化升清。两者分别为先、后天之本。方中党参、黄芪、白术、山药、百合、白莲子、炒菟丝子等调补脾肾，助卵泡得先后天之精微生长，同时使胞宫得精微物质濡养。赤小豆、炒薏苡仁、大腹皮、土贝母、土茯苓化湿；月季花、橘叶、柴胡疏肝；桑椹、粉葛根重在滋阴增液，助卵泡液增加，协同补肾益阴。这种对生殖系统的调节作用可能间接影响肠道菌群。现代研究表明，肠道菌群与内分泌系统密切相关。护卵汤加减方可能通过调节肾、脾功能，改善内分泌状态，进而调节肠道菌群的平衡。此外，护卵汤加减方中的药物可能具有调节免疫功能的作用。现代药理研究表明，山药、莲子肉等药物能够增强机体的抵抗力^[20-21]。肠道菌群与免疫系统密切相关，免疫系统的调节可能影响肠道菌群的组成和功能^[22]。护卵汤加减方可能通过调节免疫功能，增强肠道的免疫屏障，抑制有害菌群的生长，促进有益菌群的定植，从而改善肠道菌群失调的状态。

肠道菌群在维持机体代谢、免疫和内分泌平衡方面发挥着重要作用，而PCOS的发生与肠道菌群的失衡密切相关。本研究结果表明，护卵汤加减方对PCOS模型大鼠的肠道菌群具有显著的调节作用，能够有效改善肠道菌群的失衡。这一发现为护卵汤在PCOS治疗中的潜在应用提供了重要的实验依据。首先，明确了护卵汤加减方能够调节PCOS模型大鼠肠道菌群的多样性。实验结果显示，与模型组比较，护卵汤加减方治疗组Chao1、Ace、Shannon、Simpson等指数有明显变化，反映出肠道菌群的丰富度和多样性得到改善。这表明护卵汤加减方对PCOS模型大鼠肠道菌群的物种丰度和均匀度产生了积极影响。其次，分析了护卵汤加减方对PCOS模型大鼠肠道菌群组成的改变。在门水平上，治疗组拟杆菌门相对丰度增加，厚壁杆菌门相对丰度降低；在特定菌群方面，副萨特菌属等菌群的相对丰度发生明显变化。这些变化可能有助于改善PCOS大鼠的代谢状态、减轻肠道炎症。最后，探讨了护卵汤加减方对PCOS模型大鼠肠道菌群功能的调节作用。现代药理研究表明，护卵汤加减方中的药物具有调节内分泌、改善代谢状态、调节免疫功能和抗氧化、抗炎等作用。这些作用可能通过影响肠道菌群的组成和功能，进而改善PCOS的症状。而护卵汤加减方除了通过多靶点、整体调节的作用方式来调节肠道菌群，同时还能改善PCOS大鼠的卵巢质量、动情周期等症状。

综上所述，护卵汤加减方可调节PCOS大鼠的肠道菌群，

改善肠道菌群与PCOS糖代谢通路的关系，为PCOS的治疗提供了新的证据和思路。然而，本研究仍存在一些局限性，如样本量较小、研究时间较短等。未来的研究可以进一步扩大样本量，延长研究时间，深入探讨护卵汤加减方对PCOS患者肠道菌群的影响及作用机制，为PCOS的临床治疗提供更加科学、有效的方法。

参考文献

- [1] 乔杰,齐新宇,徐雅兰,等.关注影响女性健康的重要生殖内分泌疾病多囊卵巢综合征[J].中国实用妇科与产科杂志,2020,36(1):1-9.
- [2] 刘俐伶,植枝福,庞丽红.PI3K/Akt/mTOR信号通路在常见妇科疾病中的研究进展[J].中国现代医学杂志,2016,26(9):59-62.
- [3] QI X Y, YUN C Y, SUN L L, et al. Gut microbiota-bile acid -interleukin -22 axis orchestrates polycystic ovary syndrome[J]. Nat Med, 2019, 25(8):1225-1233.
- [4] 肖慧,刘艳霞,征征,等.基于16S rRNA测序技术初步探讨多囊卵巢综合征大鼠肠道菌群多样性[J].疑难病杂志,2020,19(4):399-405.
- [5] 孙瑞莲,赵敏.基于16S rDNA测序的多囊卵巢综合征患者肠道菌群特征[J].中国临床研究,2021,34(9):1181-1184,1189.
- [6] 赵粉琴,丁晓南,安明霞,等.应用16S rDNA测序法探讨半夏泻心汤对多囊卵巢综合征肠道菌群的影响[J].中国微生态学杂志,2022,34(10):1151-1157.
- [7] 杜清,梁惠珍.尤昭玲治疗多囊卵巢综合征经验拾萃[J].山西中医,2023,39(1):6-8.
- [8] 王桂云,刘慧萍,吴冷钰,等.尤昭玲治疗多囊卵巢综合征临证经验[J].中国中医药信息杂志,2024,31(10):181-185.
- [9] 李涵,刘慧萍,肖贾丽珏,等.尤昭玲运用时空观和调泡六法调理多囊卵巢综合征不孕的经验[J].时珍国医国药,2023,34(1):203-205.
- [10] 田野梅,谈珍瑜,杨硕.尤昭玲“巢泡膜”三位一体诊治多囊卵巢综合征经验[J].河南中医,2020,40(4):533-537.
- [11] 杜玉,刘慧萍,鄢然,等.尤昭玲“暖巢-助泡-离巢”三部曲论治多囊卵巢综合征不孕症经验[J].中医药临床杂志,2024,36(3):423-427.
- [12] 杨永琴,尤昭玲.尤昭玲教授对PCOS患者行IVF-ET的中医辅助治疗经验[J].湖南中医药大学学报,2015,35(7):21-24.
- [13] 杨永琴,尤昭玲.尤昭玲治疗多囊卵巢综合征合并亚临床甲减先兆流产经验[J].湖南中医杂志,2016,32(8):38-40.
- [14] 杨永琴,尤昭玲.尤昭玲教授诊治多囊卵巢综合征性不孕症的经验[J].中医药导报,2015,21(23):25-28,31.
- [15] 万全.万氏妇人科[M].罗田县卫生局,校注.武汉:湖北人民出版社,1983.

(下转第86页)

一步证实脾虚模型免疫低下、易感染、胃动力不足等特点。此外,采用生大黄苦寒泻下法的模型小鼠胃肠蠕动减慢,血清VIP水平增加,血清MTL含量减低,与脾虚证更相合,而采用利血平注射法的模型小鼠易激惹,相互撕咬,肠蠕动加快,血清VIP水平、5-HT含量降低,血清MTL含量增加,兼有肝郁证特点。因此,本团队认为采用生大黄苦寒泻下法建模更符合脾虚证特点,采用利血平注射法建模倾向于脾虚肝郁证,而采用生大黄苦寒泻下法联合利血平注射法建模脾虚肝郁证表现更为显著。

本实验尚有不足,首先,建模时间尚短(1周),后续仍需适当延长建模时间及进行观察脾虚症状是否存在自愈性来探究脾虚证模型的稳定性。其次,需以方测证,反证法验证模型是否成立,从而为提高药物评价的可靠性奠定基础。最后,至于生大黄苦寒泻下法联合利血平注射法构建脾虚肝郁证动物模型,还需进一步完善肝郁证相关验证,如动物模型脑组织中相关指标检测等。

参考文献

- [1] 胡玲,唐旭东.脾虚证中医诊疗专家共识(2023)[J].中医杂志,2024,65(12):1300-1308.
- [2] 卢梦雄,薛红,张北华,等.脾虚证动物模型研究述评[J].世界科学技术-中医药现代化,2024,26(3):652-658.
- [3] 中华人民共和国科学技术部.关于发布《关于善待实验动物的指导性意见》的通知[EB/OL].(2006-09-30)[2025-02-01].https://www.most.gov.cn/xsgk/xinxifenlei/fdzdgknr/gzgc/gfxwj/gfxwj2010before/201712/l20171222_137025.html.
- [4] 孙广仁,郑洪新.中医基础理论[M].北京:中国中医药出版社,2012:108.
- [5] 吴天石,张会永,张哲,等.脾虚证动物模型造模方法述评[J].中医杂志,2015,56(11):978-983.
- [6] 王凤,张会永,杨关林.肝郁证动物模型研究进展及实验应用现状[J].辽宁中医药大学学报,2021,23(10):68-73.
- [7] 乔大伟.基于Hippo信号通路探讨结直肠癌肝转移脾虚证及中药干预机制[D].扬州:扬州大学,2020.
- [8] 王启航,陆瑞敏,陈萌,等.4种脾虚造模法的横向对比研究[J].天津中医药,2022,39(2):238-243.
- [9] 张永龙,马唯刚,钱星羽,等.脾虚证实验动物模型构建及评价方法的研究述评[J].中国实验动物学报,2024,32(3):385-396.
- [10] 陈秋霞,张书侨,王雄文,等.中医脾胃理论指导下的脾虚造模方法多维度评估[J].中国中西医结合消化杂志,2023,31(3):228-232.
- [11] 马玉朋,袁亚茹,邸志权,等.功能性消化不良动物模型的中医证型及其评价指标研究进展[J].药物评价研究,2024,47(4):889-896.
- [12] 刘学松,黄树明,李织,等.利血平致动物脾虚模型机制的研究[J].中国医药学报,1989,4(5):68-70.
- [13] 孟静一.基于苦寒泻下脾虚小鼠模型的党参多糖补脾作用研究[D].太原:山西医科大学,2021.
- [14] 罗琥捷,杨宜婷,刘硕.中草药与蛋白复配物对利血平所致脾虚消瘦动物模型的影响[J].中国民族民间医药,2012,21(8):57-58.
- [15] 赵兢业,杨菁华,张晓晨,等.肝郁脾虚外感小鼠模型的建立及评价[J].中华中医药杂志,2020,35(7):3602-3607.
- [16] 北京市中医研究所,北京中医医院.有关脾气虚实质的临床观察和实验研究[J].中华医学杂志,1982,62(1):22-26.
- [17] 张帆,伍春,明海霞,等.参苓白术散对利血平所致脾虚小鼠血清蛋白质组影响[J].中成药,2013,35(12):2586-2591.
- [18] 刘志恒,袁霞红,刘林,等.抑郁症动物模型及其在中医药研究运用进展[J].中国比较医学杂志,2022,32(9):109-114.
- [19] 宗阳,朱立静,孙冰婷,等.利血平诱导的抑郁模型的研究进展[J].中国药房,2016,27(19):2697-2699.
- [20] 刘佳,许可,张兰.肝郁脾虚证动物模型评价方法[J].中医药导报,2019,25(23):120-122.
- [21] BUKOWSKI L, STRØM M E, ANDERSEN J L, et al. 5-HT_FAsTR: A versatile, label-free, high-throughput, fluorescence-based microplate assay to quantify serotonin transport and release[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 6541.
- [22] WANG M L, SONG Z Q, LAI S R, et al. Depression-associated gut microbes, metabolites and clinical trials[J]. Front Microbiol, 2024, 15: 1292004.
- [23] 王雪雪,陶柱萍,厉颖,等.抑郁动物模型的研究进展及在中医药中的应用[J].中国中药杂志,2020,45(11):2473-2480.

(收稿日期:2025-03-01 编辑:罗英姣)

(上接第56页)

- [16] 胡祥翔,张苇航.清代名医秦之桢《女科切要》研究述要[J].江苏中医药,2019,51(7):78-80.
- [17] 林姝彤,李军,郭志强.基于“卵巢微瘤”理论探讨多囊卵巢综合征卵泡发育障碍相关性不孕症的防治思路[J].中医药导报,2025,31(3):204-207.
- [18] 王慧颖,张彩凤,向阳.青春期PCOS患者内分泌、代谢指标与中医证型的相关性研究[J].中医药导报,2018,24(18):86-88,92.
- [19] 周彤艺,杨正望,周芳,等.健脾化痰方结合二甲双胍治疗

脾虚痰湿证多囊卵巢综合征合并胰岛素抵抗的临床研究[J].中医药导报,2021,27(11):95-99.

- [20] 杨雁,孙羽灵,孙建梅,等.山药活性成分药理作用研究进展[J].中国野生植物资源,2022,41(12):55-60.
- [21] 闫庆康,李向,杨东杰,等.莲子活性成分及其应用研究进展[J].食品安全导刊,2025(8):120-123.
- [22] 杨月莲.肠道菌群在多囊卵巢综合征发生和胰岛素抵抗中的作用及其机制研究[D].广州:南方医科大学,2019.

(收稿日期:2025-01-24 编辑:罗英姣)