

基于网络药理学和肠道菌群的茯苓平喘功效探究

铁玓美^{1,2}, 曾梦楠^{1,2}, 张贝贝^{1,2}, 王茹^{1,2}, 肖超远^{1,2}, 樊如意¹, 胡颖博¹,
王梦雅¹, 冯卫生^{1,2,3}, 郑晓珂^{1,2,3*}

(1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046; 2. 河南省中药开发工程技术研究中心, 河南 郑州 450046;
3. 河南中医药大学 呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 河南 郑州 450046)

摘要 该研究从免疫炎症和肠道菌群(GM)的角度探究茯苓的平喘功效,为临床合理用药提供理论依据。首先将雄性 Balb/c 小鼠随机分为正常组、模型组、阳性药孟鲁斯特钠组($1.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、茯苓低剂量组($0.057\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、茯苓中剂量组($0.114\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和茯苓高剂量组($0.227\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),除正常组外其余采用卵清蛋白(OVA)腹腔注射联合雾化激发构建哮喘动物模型并给予相应药物,造模结束后检测各组小鼠的咳喘指标、肺功能以及哮喘特征指标免疫球蛋白 E(IgE)、干扰素- γ (IFN- γ)、白细胞介素(IL)4 和 IL10 水平;采用苏木精-伊红(HE)染色和马松染色观察肺组织病理变化;qRT-PCR 检测小鼠肺组织中气道炎症与重塑相关 mRNA 水平;多因子检测小鼠血清和肺泡灌洗液中 12 种炎症因子水平;接着通过网络药理学和 GM 16S rRNA 测序技术分析茯苓平喘的作用机制。结果显示茯苓可降低哮喘小鼠的咳喘次数,改善肺功能,减轻肺组织病理损伤,降低血清中 IgE、IL4 水平,升高 IL10、IFN- γ 水平,多靶点调控哮喘小鼠血清和肺泡灌洗液中相关炎症因子的水平,维持机体的免疫稳态。网络药理学预测茯苓可能通过炎症反应调节通路发挥平喘作用,且 GM 测序结果显示茯苓可以有效缓解 OVA 致敏后引起的菌群失调,显著下调肠鼠杆菌 *Muribaculum intestinale* 和另枝菌 *Alistipes inops* 水平,同时相关性分析结果显示二者与促炎因子正相关。因此推测茯苓可以通过减少肠鼠杆菌和另枝菌水平重建肠道微生态稳态,降低促炎因子的产生,阻断炎症级联反应进而发挥平喘功效。

关键词 茯苓;哮喘;肠道菌群;网络药理学;免疫炎症

Asthma-alleviating effects of *Poria cocos* based on network pharmacology and gut microbiota

TIE Qi-mei^{1,2}, ZENG Meng-nan^{1,2}, ZHANG Bei-bei^{1,2}, WANG Ru^{1,2}, XIAO Chao-yuan^{1,2}, FAN Ru-yi¹, HU Ying-bo¹,
WANG Meng-ya¹, FENG Wei-sheng^{1,2,3}, ZHENG Xiao-ke^{1,2,3*}

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;

2. Henan Engineering Research Center for Traditional Chinese Medicine Development, Zhengzhou 450046, China;

3. Provincial-Ministerial Collaborative Innovation Center for TCM Prevention and Treatment of Respiratory Diseases, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] This study investigated the asthma-alleviating effects of *Poria cocos* from the perspectives of immuno-inflammation and gut microbiota (GM), providing a theoretical basis for its rational clinical use. Male Balb/c mice were randomly divided into normal, model, positive control (montelukast sodium, $1.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), low-dose *P. cocos* ($0.057\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), medium-dose *P. cocos* ($0.114\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), and high-dose *P. cocos* ($0.227\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) group. Except for the normal group, the other groups were sensitized with ovalbumin (OVA) by intraperitoneal injection combined with nebulization to establish an asthma model, and treated with the corresponding drugs.

收稿日期 2025-06-12

基金项目 中央引导地方科技发展专项(豫财科[2016]149号);国家重点研发计划-中医药现代化研究专项(2019YFC1708802, 2017YFC1702800);国家自然科学基金项目(32200322);河南省科技研发计划联合基金项目(242301420082)

通信作者 * 郑晓珂,博士,教授,博士生导师,研究方向为中药活性成分及其作用机制研究,E-mail: zhengxk.2006@163.com

作者简介 铁玓美,硕士研究生,E-mail: 2933811393@qq.com

After modeling, cough and wheezing indices, lung function, and asthma characteristic indicators including immunoglobulin E (IgE), interferon- γ (IFN- γ), interleukin 4 (IL4), and interleukin 10 (IL10) levels were measured. Lung tissue pathology was observed by hematoxylin-eosin (HE) and Masson staining. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was used to detect airway inflammation- and remodeling-related mRNA levels in lung tissue. Levels of 12 inflammatory factors in serum and bronchoalveolar lavage fluid were detected by multiplex assay. Furthermore, the asthma-alleviating mechanism of *P. cocos* was analyzed by network pharmacology and GM 16S rRNA sequencing. Results showed that *P. cocos* reduced cough frequency in asthmatic mice, improved lung function, alleviated pathological damage in lung tissue, decreased serum IgE and IL 4 levels, increased IL 10 and IFN- γ levels, and multi-target regulated related inflammatory factors in serum and alveolar lavage fluid, maintaining immune homeostasis. Network pharmacology predicted that *P. cocos* exerts its asthma-alleviating effects via inflammation regulation pathways. GM sequencing showed that *P. cocos* effectively alleviated dysbiosis induced by OVA sensitization, significantly downregulated *Muribaculum intestinale* and *Alistipes inops*, and correlation analysis revealed both were positively correlated with pro-inflammatory factors. Therefore, it is speculated that *P. cocos* restores intestinal microecological homeostasis by reducing levels of *M. intestinale* and *A. inops*, decreases pro-inflammatory factor production, blocks the inflammatory cascade, and thereby exerts its asthma-alleviating effects.

[Key words] *Poria cocos*; asthma; gut microbiota; network pharmacology; immunoinflammation

DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20250730.701

哮喘在中医被称为“哮病”“喘病”，其主要病理特征为气道炎症、气道重塑和气道高反应，由多种炎症因子和细胞共同参与，现代医学主要通过糖皮质激素、 β_2 受体激动剂等药物对哮喘症状进行控制。近年来，从天然药物中挖掘多靶点、不良反应少的抗哮喘成分也同样具有重要科学意义和临床价值。

茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核，味甘、淡、平，归心、肺、脾、肾经，具有利水渗湿、健脾宁心的功效^[1]。中医常以茯苓为组方药治疗多种“哮病”“喘病”^[2-3]，茯苓性平，利水渗湿，在多种方剂中与其他药物协同发挥止咳平喘之效。现代药理学研究已证实，茯苓多糖和三萜类化合物具有抗炎、免疫调节及抗氧化作用，但其在哮喘治疗中的具体作用机制尚未完全阐明。

“肺与大肠相表里”是脏腑表里关系的核心理论，阐释了肺与大肠借由经络相互联络、生理功能协同配合、病理改变彼此影响的内在关联，而茯苓利水渗湿、健脾和胃的功效可能通过调节肠道功能间接改善肺部症状，与“肺肠同治”理念高度契合。哮喘作为以肺部气道炎症为典型病理特征的病症，临床实践与相关研究显示，当哮喘急性发作诱发气道炎症时，肺气壅滞不仅会引发喘息、气短等肺部症状，还会通过脏腑表里联系对大肠传导功能产生影响^[4-5]，出现便秘、腹部胀满等肠道表现^[6-7]。本研究以哮喘小鼠模型为实验对象，借助 16S rRNA 测序技术，结合网络药理学预测靶点对正常组、模型组及茯苓干预组小鼠的肠道菌群开展系统检测，通过

对不同组别肠道菌群多样性指数、优势菌属丰度差异等进行分析，结合肺部炎症指标，探究肺气壅滞影响肠道传导的潜在微生态调控机制。

1 材料

1.1 动物 60 只体重 18~22 g，6~7 周龄 SPF 级雄性 Balb/c 小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司，实验单位许可证号 SYXK(豫)2021-0015。动物饲养于清洁级动物实验室内，环境温度 18~22℃，相对湿度 60%，昼夜交替，自由饮食饮水。动物实验经河南中医药大学动物伦理委员会批准(伦理批准号 DWLL2018080003)。

1.2 药品与试剂 茯苓药材(采自安徽省铜陵市) 30 kg，经河南中医药大学药学院董诚明教授鉴定为多孔科植物真菌茯苓 *P. cocos* 的干燥菌核，药材标本保存于河南省中药开发工程技术研究中心；阳性药孟鲁司特钠(货号 W035255) 购自欧加隆(上海)医药科技有限公司；卵清蛋白(OVA) II 级(62%~88%)(货号 A5253)、卵清蛋白 V 级($\geq 98\%$)(货号 A5503) 购自美国 Sigma 公司；氢氧化铝佐剂(货号 vac-alu-250) 购自美国 InvivoGen 公司；氯化乙酰胆碱(货号 A6625-10MG) 购自德国 MERCK 公司；氯化乙酰甲胆碱(货号 A0084) 购自日本 TCI 公司；多因子试剂盒(货号 RK04386) 购自郑州麦斯凯生物技术开发有限公司；白细胞介素(IL) 4(货号 MM-0165M1)、IL10(货号 MM-0176M1)、免疫球蛋白 E(IgE, 货号 MM-0056M1)、干扰素- γ (IFN- γ , 货号 MM-0182M1) 购自江苏酶免实业有限公司；总 RNA

提取试剂盒(货号 R1200-100T) 购自北京索莱宝科技有限公司; cDNA 反转录试剂盒(货号 G3330) 购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.3 仪器 ABplex-100 多指标细胞因子联合分析系统(武汉爱博泰克生物科技有限公司); QuantStudio™ 5 实时荧光定量 PCR 系统(美国 ThermoFisher 公司); Easyscan NFC 60 数字切片扫描与应用系统(麦克奥迪实业集团有限公司); YLS-8A 型多功能诱咳引喘仪(济南益延科技发展有限公司); 402A1 型超声雾化器(江苏鱼跃医疗设备股份有限公司); FinePointe WBP 全身体积扫描仪(深圳市普生科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物模型的构建及给药 称取茯苓 30 kg, 采用 95% 乙醇加热回流提取 3 次, 每次分别回流 2、1、1 h, 提取液减压浓缩后得到总浸膏(680.97 g), 计算提取率为 2.27%。根据 2025 年版《中国药典》规定茯苓人用剂量折算茯苓总浸膏的给药剂量为茯苓低剂量(FL-L) 0.057 g·kg⁻¹, 茯苓中剂量(FL-M) 0.114 g·kg⁻¹, 茯苓高剂量(FL-H) 0.227 g·kg⁻¹。

将 60 只雄性 Balb/c 小鼠适应性喂养 1 周后随机分为正常组、模型组、阳性药孟鲁司特钠(1.5 mg·kg⁻¹) 组、茯苓低剂量(0.057 g·kg⁻¹) 组、茯苓中剂量(0.114 g·kg⁻¹) 组、茯苓高剂量(0.227 g·kg⁻¹) 组, 分别在小鼠适应性喂养结束后的第 0、7、14 天腹腔注射卵清蛋白(每只 50 μg) 和氢氧化铝佐剂(每只 0.2 mL) 进行致敏, 第 21~27 天进行 OVA 雾化激发, 联合构建过敏性哮喘模型, 自第 21 天雾化激发起, 每天灌胃给药 1 次, 持续至第 27 天激发结束, 共给药 1 周, 每次激发前 30 min 完成给药。末次激发 24 h 后进行各项指标检测。

2.2 FinePointe WBP 检测肺功能 末次激发 24 h 后, 使用 FinePointe WBP 全身体积描记系统对各组小鼠肺功能进行检测, 将实验动物依次置于体积描记腔中, 使用无菌 PBS 平衡系统后, 连续记录 2 min 基础呼吸参数。采用梯度浓度倍数递增(0、3、125、6.25、12.5、25、50 mg·mL⁻¹) 的氯化乙酰甲胆碱雾化吸入, 各剂量雾化 30 s, 同时收集各指标参数变化, 包括气道高反应、呼吸频率、吸气时间、呼气时间。

2.3 病理染色观察肺损伤 每组统一取小鼠未经灌洗的气管和左肺于 4% 多聚甲醛中固定, 脱水、透明、石蜡包埋, 制备组织切片后进行苏木精-伊红

(HE) 和马松(Masson) 染色、封片后, 于显微镜下观察气管和肺组织病理变化。

2.4 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR) 检测肺组织相关 mRNA 水平 选取小鼠干净肺组织, 使用总 RNA 提取试剂盒提取肺组织并定量、稀释, 加入 5×Reaction Buffer(4 μL)、Oligo(dT) 18 Primer(1 μL)、Script RT I Enzyme Mix(1 μL) 和无酶水, 配制为 20 μL 的反应体系进行反转录, 成为 cDNA 后, 加入相应的上下游引物和通用 SYBR qPCR 预混液, 以 GAPDH 为内参基因分析小鼠肺组织中相关 mRNA 肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、IL33、IL6、上皮型钙黏蛋白(E-cad)、母亲 DPP 同源物 3(SMAD3)、表皮生长因子受体(EGFR)、波形蛋白(vimentin)、原钙黏蛋白 1(PCDH1) 的表达水平, 通过 2^{-ΔΔC_t} 法计算 mRNA 的相对表达量(表 1)。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	引物序列(5'-3')
TNF-α-S	ACCCTCAGCTCACAACCA
TNF-α-A	ATAGCAAATCGGCTGACGGT
IL6-S	CCCCAATTCCAATGCTCTCC
IL6-A	CGCACTAGGTTTGCCGAGTA
IL33-S	ACCAGGTGCTACTACGCTACTATGA
IL33-A	GAGGACTTTTTGTGAAGGACGAA
SMAD3-S	AGCCCCAGAGCAATATTCCAG
SMAD3-A	GACATCGGATTCCGGGAGAG
PCDH1-S	CGGCAGCATAGGTGAAATGG
PCDH1-A	TGTAAGGCACGAAGGTGGAG
vimentin-S	TCCAGAGAGAGGAAGCCGAAA
vimentin-A	GCAAGGATTCCACTTTCCGTTC
E-cad-S	TCCAACAGGGACAAAGAAACAA
E-cad-A	TGACACGGCATGAGAATAGAGG
EGFR-S	TGACTGCTGCTCTGCCAAAAG
EGFR-A	ATGCCATCTTCTTCCACTTCCT
GAPDH-S	CCTCGTCCCGTAGACAAAATG
GAPDH-A	TGAGGTCAATGAAGGGTCCT

2.5 多指标细胞因子联合分析哮喘小鼠血清和肺泡灌洗液中炎症因子水平 检测完各种活体指标后对小鼠进行取血, 将全血样本 4 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清液, 得小鼠血清。对采血后的小鼠进行气管插管, 用无菌生理盐水灌洗全肺 3 次, 每次 0.5 mL, 4 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清液即得小鼠

肺泡灌洗液样本。将收集的样本加入多因子试剂盒中,按照步骤进行样本前处理,并按步骤操作,计算多种因子相应水平。

2.6 ELISA 试剂盒检测 向预先包被 IgE、IFN- γ 、IL4 和 IL10 抗体的包被微孔中依次加入将 2.5 项中得到的血清样本、对照品、HRP 标记的检测抗体,经过温育并彻底洗涤。用底物 TMB 显色,在酶标仪 450 nm 波长下测定吸光度并计算样品浓度。

2.7 网络药理学分析茯苓平喘功效 在 TCMSP 网站中查找茯苓中的单体化合物,以口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 和类药性 (DL) ≥ 0.18 为筛选条件,检索茯苓的有效成分,根据各成分的 PubChem ID 在 PubChem 数据库中进行检索,获得候选化合物的 SMILES 编号并将其导入到 SwissTargetPrediction 数据库、对化合物靶标进行预测,获得化合物的靶点 100 个。利用 GeneCards 数据库、DisGeNET 数据库,进行检索,获得哮喘相关靶点。利用 UniProt 数据库对靶点进行去重和规范化处理,最终得到 1 713 个哮喘相关靶点。利用 Venny 对规范后的疾病相关靶点与中药相关靶点进行交互映射,获得交集靶点,并将所得结果以 Venn 图的形式呈现。随后将其导入 Cytoscape,利用 CytoNCA 计算网络的 degree (DC)、betweenness (BC)、closeness (CC) 等筛选关键靶点。

2.8 16S rRNA 测序分析 小鼠解剖前取小鼠粪便于无菌取样管中,置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱暂存。使用磁珠法粪便基因组 DNA 提取试剂盒提取小鼠粪便中的 DNA,并进行 PCR 扩增和纯化,对纯化后的 PCR 产物使用 Agilent 2100 生物分析仪和 Illumina 文库定量试剂盒进行评估,将合格的各上机测序文库梯度稀释后,根据所需测序量按相应比例混合,并经 NaOH 变性为单链进行上机测序,后续的分析工作由杭州联川生物技术股份有限公司完成,实验结束后,在联川生物云平台进行数据分析和作图。

2.9 统计学分析 实验数据经 SPSS 26.0 统计软件处理,以均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示,并采用单因素方差分析进行组间差异的比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

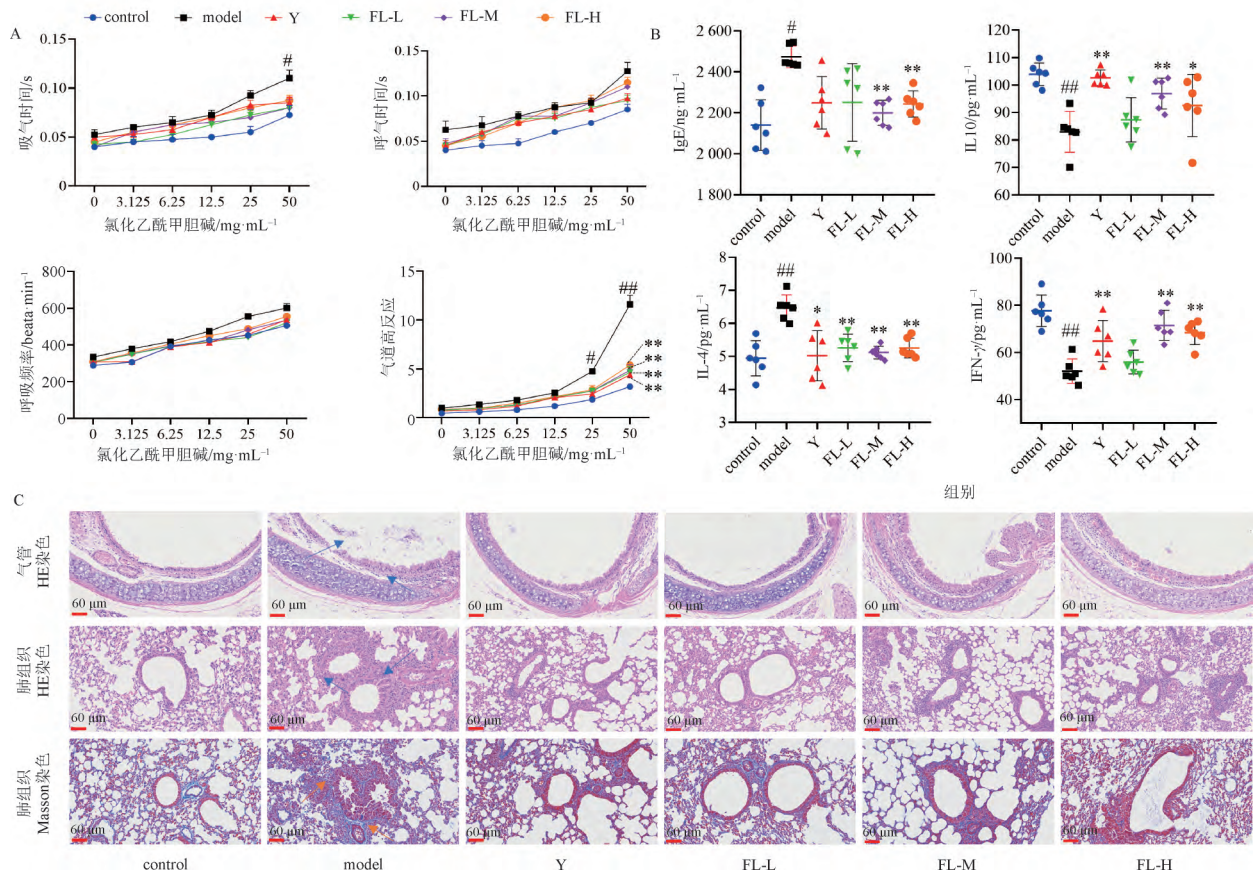
3 结果

3.1 茯苓缓解 OVA 致敏小鼠哮喘状态 结果显示,随着氯化乙酰甲胆碱的浓度增大,各组小鼠的吸气、呼气时间,呼吸频率均有一定的上升趋势,且当氯化乙酰甲胆碱 $25\sim 50\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时模型组小鼠气道

高反应显著升高,与模型组相比,阳性药孟鲁司特钠组对气道高反应和呼吸频率具有一定改善效果,茯苓各给药剂量组间的疗效指标比较差异均无统计学意义,提示本研究中不同剂量干预的效果相当(图 1A);ELISA 结果显示茯苓中、高剂量可显著降低促炎介质 IgE 和 IL4 的水平,并升高抗炎因子 IFN- γ 和 IL10 的水平(图 1B);HE 染色结果显示,哮喘小鼠气道黏膜下层炎性细胞增多且气道黏膜上层细胞部分发生脱落,肺泡壁增厚,但整体上各组小鼠气管病理变化不大,Masson 染色结果显示,模型组小鼠肺组织腺体周围及血管周围异常沉积,导致气道壁僵硬、弹性下降,气道发生重塑,阳性药孟鲁司特钠组的胶原纤维沉积面积缩小较为显著,茯苓低剂量对胶原纤维异常沉积有一定抑制趋势,但染色切片中显示气管周围仍可见有部分纤维沉积,茯苓中、高剂量可有效减少胶原纤维在腺体、血管周围的异常堆积,气道重塑进程被延缓(图 1C)。

3.2 茯苓调节哮喘小鼠肺组织中气道炎症和重塑相关 mRNA 水平 结果显示,OVA 致敏后,与促炎相关的 IL6、IL33、TNF- α 、EGFR、间充质标志物 vimentin 以及 SMAD3 的 mRNA 表达量显著升高,而与细胞黏附分化相关 E-cad、PCDH1 的 mRNA 表达量呈下降趋势;给药后,与模型组相比,阳性药孟鲁司特钠组对 IL6、IL33、TNF- α 、EGFR、vimentin、SMAD3 的 mRNA 表达显著下调;茯苓中剂量可显著降低 IL6、TNF- α 、EGFR、SMAD3 的 mRNA 表达;茯苓高剂量对促炎及重塑相关 mRNA (IL6、IL33、TNF- α 、EGFR) 具有显著下调作用,提示茯苓可缓解因 OVA 致敏引起的哮喘小鼠气道炎性浸润和气道重塑过程,且中、高剂量组作用更显著(表 2)。

3.3 茯苓降低哮喘小鼠血清和肺泡灌洗液中促炎细胞因子水平 气道炎症是哮喘的核心病理特征。为进一步评估茯苓抑制气道炎症从而发挥的平喘效果,以 2022—2025 年为时间范围,“哮喘”和“炎症因子”为主题词,将 1 140 篇中文文献和 1 249 篇英文文献做关键词可视化网络分析,最终确定了 12 种与哮喘的发生密切相关的细胞因子(见中国知网本文增强出版附加材料),并采用多指标细胞因子联合分析系统,系统评估其在哮喘模型中的基础表达特征,以及茯苓干预后在血清和肺泡灌洗液中的动态变化趋势(表 3)。结果显示,茯苓对血清和肺泡灌洗液中的大部分细胞因子均有一定的回调效果,



A.小鼠肺功能; B.哮喘标志性炎症因子; C.小鼠肺组织病理变化(蓝色箭头代表炎症细胞浸润,黄色箭头代表胶原纤维沉积)。control.正常组; model.模型组; Y. 阳性药孟鲁斯特钠组($1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); FL-L.茯苓低剂量组($0.057 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$); FL-M.茯苓中剂量组($0.114 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$); FL-H.茯苓高剂量组($0.227 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)组(表2、3,图2、3同)。与 control 比较 $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$;与 model 比较 $^{\ast}P<0.05$, $^{\ast\ast}P<0.01$ (图2A、3C同)。

图1 茯苓对OVA致敏小鼠哮喘状态的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig.1 Effect of *Poria cocos* on the asthmatic state of OVA-sensitized mice($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

表2 茯苓对哮喘小鼠肺组织中气道炎症和重塑相关 mRNA 水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 2 Effect of *Poria cocos* on mRNA levels related to airway inflammation and remodeling in lung tissue of asthmatic mice($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	IL6	IL33	TNF- α	EGFR	E-cad	PCDH1	vimentin	SMAD3
control	1.00 $\pm$ 0.01	1.00 $\pm$ 0.05	1.00 $\pm$ 0.09	1.00 $\pm$ 0.08	1.01 $\pm$ 0.05	1.04 $\pm$ 0.35	1.00 $\pm$ 0.03	1.00 $\pm$ 0.10
model	1.54 $\pm$ 0.07 ²⁾	1.69 $\pm$ 0.17 ²⁾	2.42 $\pm$ 0.22 ²⁾	1.86 $\pm$ 0.24 ²⁾	0.79 $\pm$ 0.01	0.77 $\pm$ 0.14	1.62 $\pm$ 0.06 ²⁾	1.47 $\pm$ 0.25 ²⁾
Y	1.13 $\pm$ 0.18 ⁴⁾	1.14 $\pm$ 0.27 ⁴⁾	1.56 $\pm$ 0.11 ⁴⁾	1.07 $\pm$ 0.24 ⁴⁾	1.06 $\pm$ 0.10	1.23 $\pm$ 0.08	0.83 $\pm$ 0.06 ⁴⁾	1.13 $\pm$ 0.15 ³⁾
FL-L	1.38 $\pm$ 0.14	1.45 $\pm$ 0.22	1.13 $\pm$ 0.01 ⁴⁾	1.61 $\pm$ 0.32	1.01 $\pm$ 0.23	1.09 $\pm$ 0.09	1.40 $\pm$ 0.28	1.21 $\pm$ 0.13 ³⁾
FL-M	1.17 $\pm$ 0.18 ⁴⁾	1.26 $\pm$ 0.09 ³⁾	1.50 $\pm$ 0.25 ⁴⁾	1.23 $\pm$ 0.05 ⁴⁾	1.10 $\pm$ 0.05	1.00 $\pm$ 0.38	1.41 $\pm$ 0.07	1.08 $\pm$ 0.01 ⁴⁾
FL-H	1.19 $\pm$ 0.13 ⁴⁾	1.28 $\pm$ 0.10 ³⁾	1.59 $\pm$ 0.05 ⁴⁾	1.43 $\pm$ 0.21 ³⁾	1.03 $\pm$ 0.21	1.27 $\pm$ 0.29	1.44 $\pm$ 0.22	1.25 $\pm$ 0.15

注:与 control 比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与 model 比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表3同)。

不同剂量的茯苓抑制炎症因子的水平以及在不同的样本中结果也有所不同,在小鼠血清样本中,3种剂量的茯苓均可显著下调趋化因子(CCL2、CCL11、

IL4、IL10、TNF- α 、重组人粒巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)的水平,而在小鼠肺泡灌洗液样本中,3种剂量的茯苓可显著降低IL2、IL4、IL13,综合血清

和肺泡灌洗液的结果,茯苓的平喘作用多与 IL4 和 IL10 相关,且茯苓原药材剂量为 $5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (即 FL-H)

时对于多种炎症因子具有显著回调效果,后续将选用该剂量进一步分析茯苓的平喘功效。

表 3 茯苓对哮喘小鼠血清和肺泡灌洗液中 12 种炎症细胞因子水平的影响($\bar{x}\pm s, n=5$)

Table 3 Effect of *Poria cocos* on the levels of 12 inflammatory cytokines in the serum and bronchoalveolar lavage fluid of asthmatic mice($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	血清							
	CCL2	CCL4	CCL11	CXCL1	IL2	IL4	IL6	IL10
control	55.25±2.27	220.78±2.46	1 050.74±52.58	1 462.85±54.53	38.33±2.21	37.40±4.35	44.99±2.95	64.66±2.81
model	67.46±1.85 ²⁾	234.81±2.33 ²⁾	1 229.47±79.78 ²⁾	1 607.47±93.04	46.43±1.44 ¹⁾	56.32±3.89 ²⁾	53.36±1.45 ²⁾	51.90±5.20 ²⁾
Y	56.85±3.02 ⁴⁾	222.65±1.38 ⁴⁾	996.28±84.65 ⁴⁾	1 413.63±46.06	39.87±2.36 ³⁾	41.05±4.16 ⁴⁾	44.73±2.34 ⁴⁾	64.45±1.79 ⁴⁾
FL-L	61.51±6.13 ³⁾	225.67±6.07	1 102.45±80.56 ³⁾	1 434.83±101.09	34.16±6.01 ⁴⁾	43.75±3.73 ⁴⁾	45.24±3.33 ⁴⁾	62.83±1.20 ⁴⁾
FL-M	56.22±5.19 ⁴⁾	220.69±1.90 ⁴⁾	1 007.98±81.25 ⁴⁾	1 423.29±116.73	40.17±4.43	37.74±4.53 ⁴⁾	46.62±2.46 ⁴⁾	61.90±4.21 ⁴⁾
FL-H	60.92±3.44 ³⁾	217.61±5.83 ³⁾	1 092.45±59.45 ⁴⁾	1 448.99±179.51	43.43±9.10	46.42±2.63 ⁴⁾	51.55±4.30	68.62±4.67 ⁴⁾

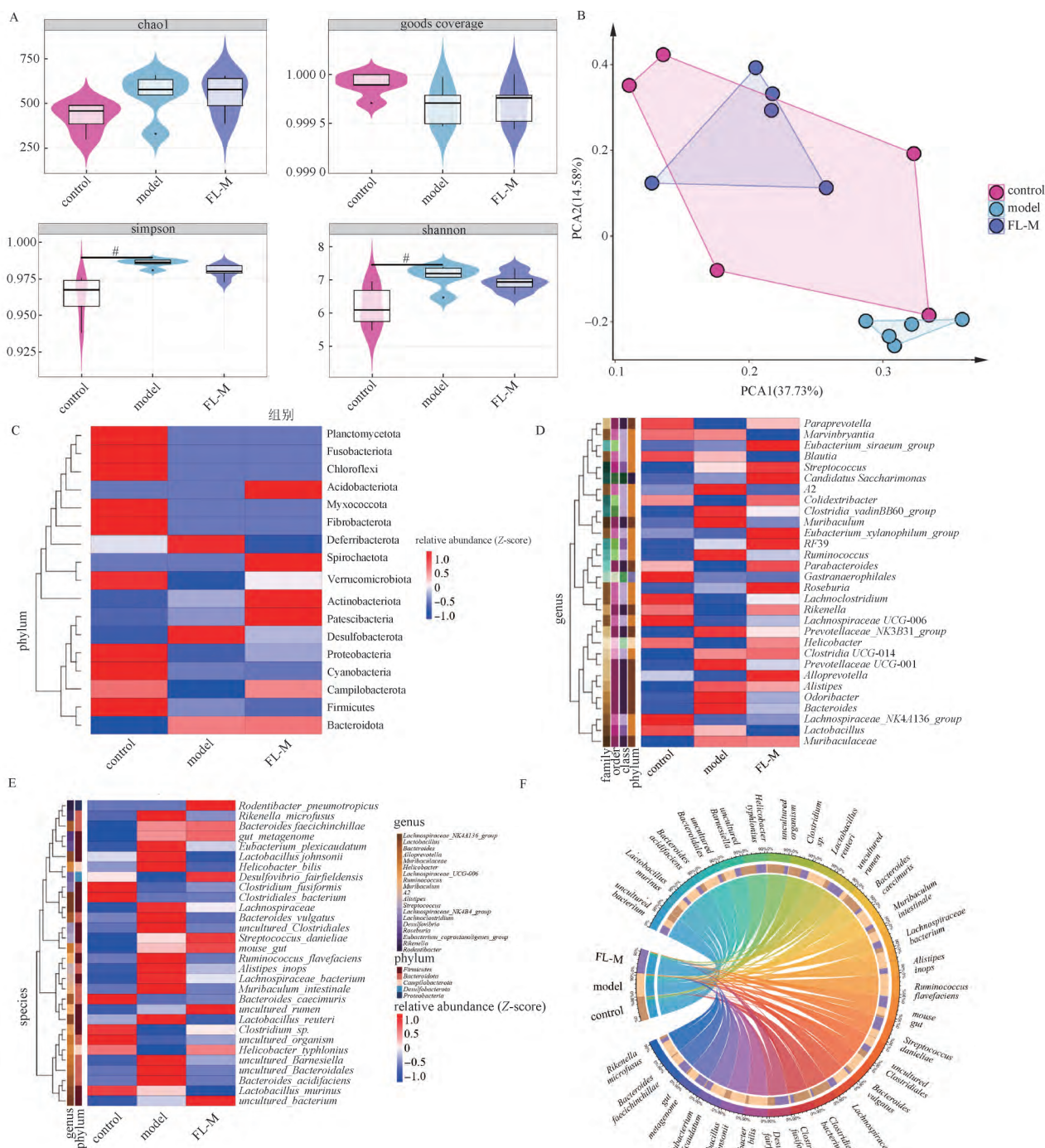
组别	血清				肺泡灌洗液			
	IL13	IL17A	TNF-α	GM-CSF	CCL2	CCL4	CCL11	CXCL1
control	76.68±1.32	31.63±1.34	24.05±1.11	58.66±2.19	79.37±9.44	184.56±1.79	453.72±93.06	614.29±195.20
model	83.91±1.18 ²⁾	35.46±1.12 ²⁾	27.75±0.49 ²⁾	64.22±2.88 ²⁾	127.80±3.31 ²⁾	203.13±10.90	690.11±35.33 ¹⁾	1 100.15±136.47 ²⁾
Y	78.39±2.01 ³⁾	31.31±1.32 ⁴⁾	23.25±0.52 ⁴⁾	60.03±2.63 ³⁾	89.74±5.44 ⁴⁾	184.14±1.95	435.21±87.54 ³⁾	786.93±84.81 ⁴⁾
FL-L	83.11±6.50	34.62±2.10	23.83±0.63 ⁴⁾	60.07±2.73 ³⁾	105.29±15.06	185.01±3.29	647.13±92.67	1 017.34±160.88
FL-M	76.97±1.53 ⁴⁾	32.07±2.21 ⁴⁾	24.15±0.42 ⁴⁾	59.14±4.31 ³⁾	83.15±3.90 ⁴⁾	183.58±1.46	497.55±114.75	788.69±78.66 ⁴⁾
FL-H	78.11±2.60	32.66±0.71 ⁴⁾	25.15±0.88 ⁴⁾	59.58±2.76 ³⁾	89.54±5.23 ⁴⁾	185.99±3.12	618.83±19.23	804.09±129.59 ⁴⁾

组别	肺泡灌洗液							
	IL2	IL4	IL6	IL10	IL13	IL17A	TNF-α	GM-CSF
control	30.07±6.72	76.48±2.69	23.55±3.23	60.86±6.26	59.90±3.91	15.41±1.15	18.29±2.17	80.40±5.23
model	56.06±7.38 ²⁾	104.33±19.96 ²⁾	40.42±3.06 ²⁾	50.44±5.78 ²⁾	72.80±4.66 ²⁾	26.71±2.07 ²⁾	24.17±1.12 ²⁾	92.99±6.47
Y	34.87±4.25 ⁴⁾	73.39±4.67 ⁴⁾	30.89±3.57 ³⁾	64.32±3.69 ⁴⁾	62.49±3.09 ⁴⁾	19.26±2.01 ⁴⁾	19.13±2.58 ⁴⁾	78.03±4.59
FL-L	46.72±7.52 ³⁾	88.82±6.23 ³⁾	35.72±2.19	51.06±5.03	64.02±3.78 ⁴⁾	22.25±3.96	21.99±1.57	89.67±7.19
FL-M	37.52±2.93 ⁴⁾	79.80±7.22 ⁴⁾	30.76±1.29 ³⁾	61.00±0.99 ⁴⁾	62.96±3.50 ⁴⁾	17.61±1.69 ⁴⁾	20.77±2.80 ³⁾	76.08±2.54
FL-H	34.74±5.86 ⁴⁾	76.51±5.40 ⁴⁾	26.99±6.08	61.42±4.83 ⁴⁾	54.27±7.81 ⁴⁾	19.24±1.21 ⁴⁾	19.09±1.59 ⁴⁾	75.95±3.16

3.4 基于网络药理学分析茯苓平喘功效 基于 SymMap v2 数据库查询茯苓可治疗的中医症状发现其多与“痰饮”之症相关可治疗“肺气不畅”,这与古籍记载的茯苓具有一定“平喘”功效相符,对“茯苓”和“哮喘”进行网络药理学分析发现有 46 个共同靶点,且 TNF、PPARG、ACTR1、MMP2、MMP9 这 5 个靶点可能是茯苓发挥抗哮喘作用的关键靶点,对这些基因进行 GO 和 KEGG 通路富集分析,发现这些基因多参与炎症反应的调节、IL4/IL13 信号传导等通路(见中国知网本文增强出版附加材料),后续将基于此并结合肠道菌群实验进一步分析茯苓平喘作用机制。

3.5 茯苓对哮喘小鼠肠道菌群的影响 借助肠道菌群 16S rRNA 方法对各组小鼠菌群的改变进行了

分析(图 2),结果显示茯苓干预后小鼠体内的菌群丰度提升,主成分分析结果显示模型组与其余 2 组在 PCA1 轴和 PCA2 轴均显著分离,正常组和茯苓组存在重合,提示哮喘小鼠的菌群结构与正常组和茯苓组相比存在显著差异,给药后有一定程度的回调。为探究菌群的具体改变,对“门、属、种”3 个水平的菌群丰度作热图分析,模型组的菌群发生了失调,且多集中在脱硫杆菌门 Desulfobacterota、弯曲菌门 Campilobacterota、普雷沃菌属 *Paraprevotella*、鼠杆菌属 *Muribaculum* 等,从热图和桑基图对种水平上的菌群进行分析,发生显著改变的菌为乳杆菌属 *Lactobacillus*、拟杆菌属 *Bacteroides*、鼠杆菌属 *Muribaculum*,且在和弦图中肠鼠杆菌 *Muribaculum intestinalis* 线宽较宽,提示其可能是各组的核心菌群。



A. α 多样性考察; B. 主成分分析; C. 门水平菌群丰度; D. 属水平菌群丰度; E. 种水平菌群丰度; F. 种水平下的微生物比例和弦图。

图2 茯苓对哮喘小鼠肠道菌群的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Fig.2 Effect of *Poria cocos* on the gut microbiota of asthmatic mice($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

3.6 相关性分析 为了具体探究在茯苓平喘作用中发挥作用的关键菌,对种水平下的菌群作簇状堆叠条形图进行相关性聚类分析(图3A)和Stamp分析(见中国知网本文增强出版附加材料),发现给药

组茯苓和正常组聚为一类,除未被鉴定的菌外,菌群丰度从高到低依次为鼠乳杆菌 *Lactobacillus_murinus*、鼠肠螺杆菌 *Helicobacter_typhlonius*、罗伊乳杆菌 *Lactobacillus_reuteri*、盲肠拟杆菌 *Bacteroides_caeci-*

muris、肠鼠杆菌 *Muribaculum intestinale*; 对 top 30 的菌群进行 ROC 曲线分析发现肠鼠杆菌的 ACU 值可达 1 (图 3B); 定量分析结果显示有 6 种菌的变化具有显著性 (见中国知网本文增强出版附加材料), 且仅有肠鼠杆菌在 3 组小鼠体内发生了显著变化 (图 3C, 其余见中国知网本文增强出版附加材料); 菌群

之间的热图相关性分析发现, 该菌与普通拟杆菌 *Bacteroides vulgatus*、丛尾真杆菌 *Eubacterium plexicaudatum*、小梭文肯菌 *Rikenella microfus*、毛丝鼠粪拟杆菌 *Bacteroides faecichinchillae*、惰性另枝菌 *Alistipes inops* 具有显著正相关, 与费尔菲尔德脱硫弧菌 *Desulfovibrio fairfieldensis* 有显著负相关 (图 3D)。

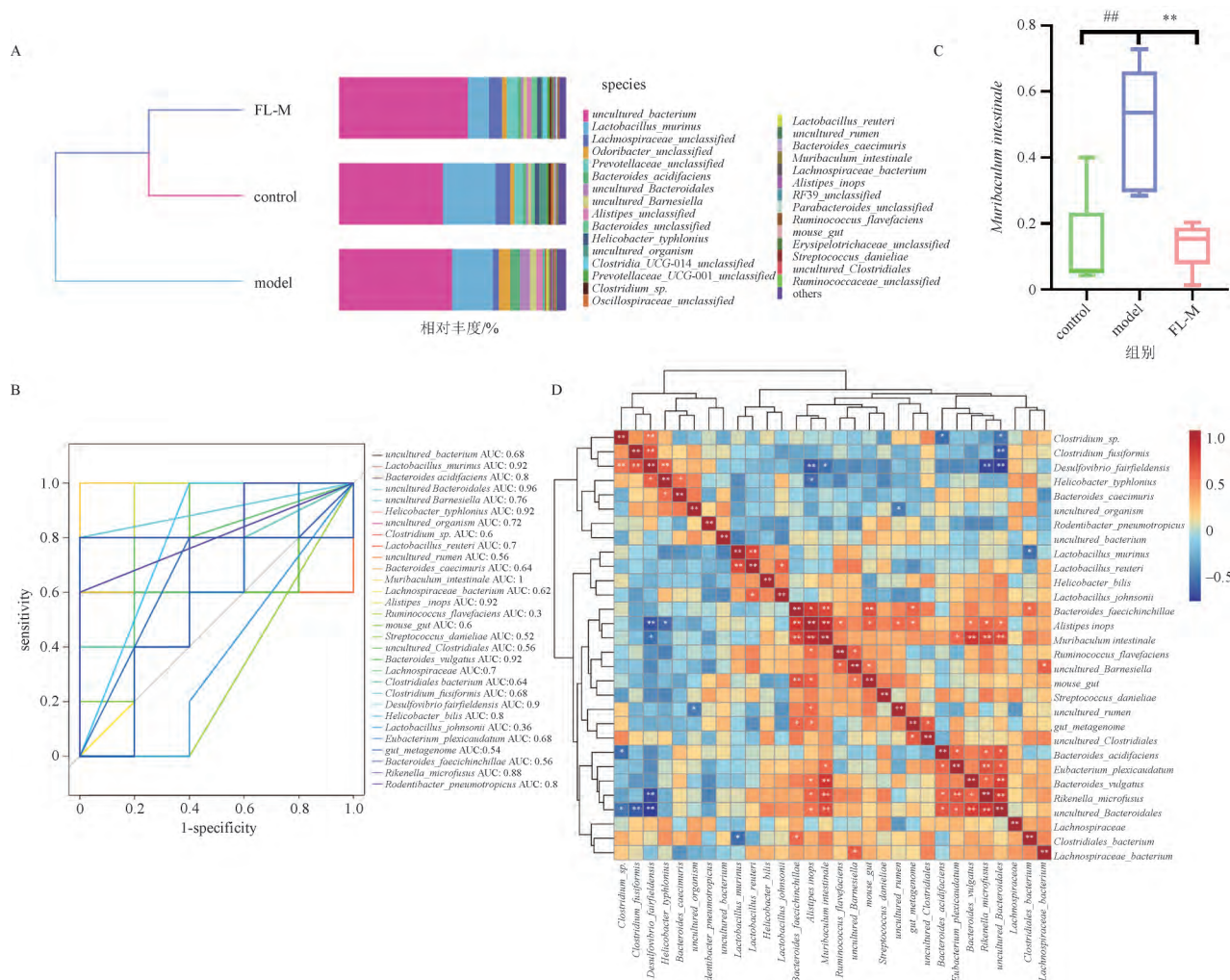
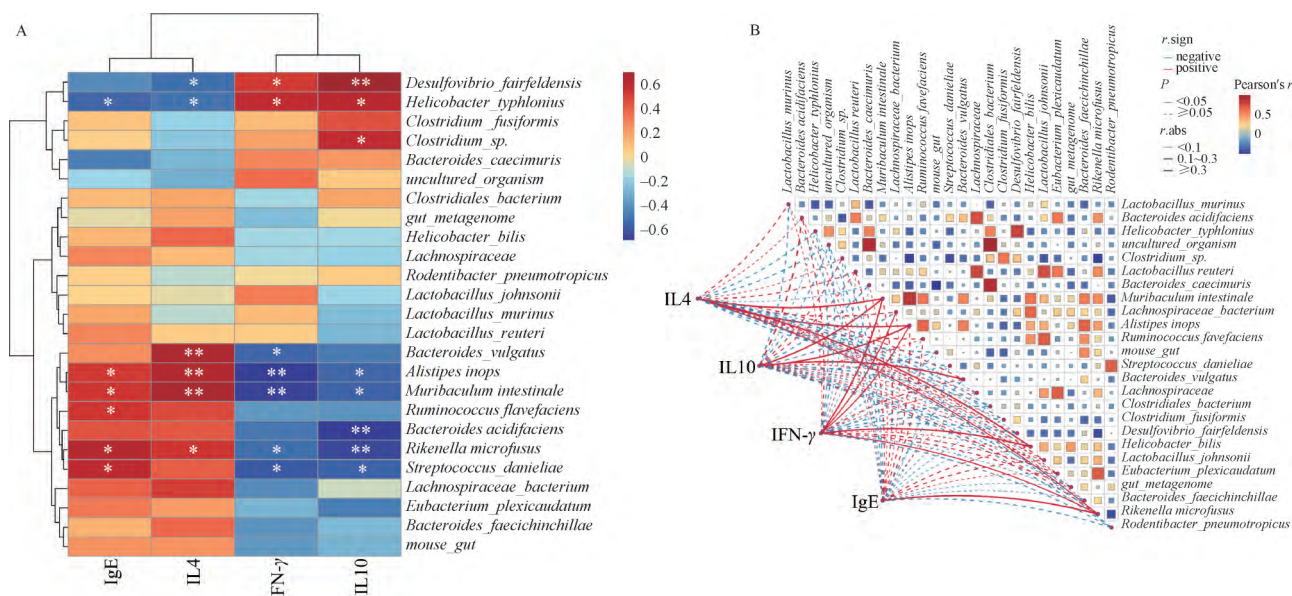


图 3 基于菌群丰度与相关性的关键菌筛选
Fig.3 Screening of key bacteria based on microbiota abundance and correlation

将哮喘疾病进程中的关键细胞因子 IgE、IFN- γ 、IL4、IL10 与种水平 top 30 的菌群作相关性分析, 挖掘茯苓发挥平喘功效中免疫应答与肠道菌群的内在关联。相关性网络结果显示 IL10 和 IL4 与多种菌群的相关性较高, IL4 与 *Muribaculum intestinale* 和 *Alistipes inops* 正相关, IL10 与二者负相关 (见中国知网本文增

强出版附加材料); 相关性聚类热图分析结果显示与促炎相关的 IgE 和 IL4 对多种菌的作用聚为一类, 而与抗炎相关的 IFN- γ 和 IL10 聚为一类 (图 4A); 相关性网络热图结果显示 *Muribaculum intestinale*、*Alistipes inops* 和 *Rikenella microfus* 这 3 种菌与 3 种炎症因子的作用密切 (图 4B)。



A. 种水平 top 30 菌群和哮喘特征因子聚类网络热图 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$) ; B. 种水平 top 30 菌群和哮喘特征因子相关性网络热图。

图 4 哮喘特征因子与肠道菌群相关性分析

Fig.4 Correlation analysis between asthma characterization factors and gut microbiota

4 讨论

茯苓作为传统中药材,在中医典籍中早有平喘化痰、祛湿健脾的记载。历代医家在治疗喘息类疾病时,常将茯苓配伍于方剂之中,用以调和肺脾、改善气机^[8-10]。相关研究表明,哮喘发作时,呼吸道症状的发生往往伴有免疫功能紊乱和炎症因子的异常表达^[11-13],在本研究中,以OVA作为致敏剂构建过敏性哮喘模型,变化最为显著的为IL10、IFN- γ 、IL4和IgE 4种炎症因子的水平,其中IFN- γ 和IL4分别作为Th1和Th2型细胞因子往往同时出现且相互拮抗^[13],在哮喘的进程中,IL4比例往往升高,致使Th2细胞比例增加,Th1细胞及其分泌的抗炎因子IL10等减少,Th1/Th2比例发生失衡^[14-15]。同时这些因子促进B细胞的分化、增殖,诱导IgE合成,气道上皮细胞产生内毒素^[16],大量炎症细胞浸润气道壁,加重气道炎症,损害气道组织,致使结构细胞异常增殖,进而发生气道重塑^[17],而IgE作为免疫的重要抗体,在正常人体内含量极低,但在过敏体质或寄生虫感染个体中显著升高^[18]。IgE的独特之处在于其可通过Fc段与肥大细胞和嗜碱性粒细胞表面的Fc ϵ RI受体结合,形成过敏状态^[19]。当再次接触过敏原时,过敏原与结合在细胞表面的IgE交联,触发肥大细胞和嗜碱性粒细胞脱颗粒,释放组胺、白三烯、IL4、IL13等生物活性物质和炎症介质^[20],与“痰

湿”“风痰”阻肺的慢性炎症状态相关,引发过敏反应^[21],而IL10、IFN- γ 的水平下降则对应“正虚邪恋”,与哮喘“迁延不愈、反复发作、脾肾两虚”的病情特点相呼应^[22]。

在本研究中,茯苓可以改善哮喘小鼠的肠道菌群失调。本实验通过对肠道菌群进行分析,发现3组中改变最为明显的为*Muribaculum intestinale*,查阅文献发现其为厌氧型革兰阴性菌,可以将琥珀酸转化为丙酸,增强宿主对沙门菌的定植抗性,有助于维持肠道稳态^[23],且对T细胞群具有较大影响,其产生的心磷脂(MiCL-1)可以诱导促炎因子TNF- α 、IL6等的产生^[24],在本实验中同样发现OVA致敏后小鼠肠道内该菌群的含量显著升高,这与网络药理学中预测的关键靶点TNF相对应,可能是茯苓平喘作用机制的关键通路,与此同时*Rikenella microfus*^[25]、*Bacteroides faecichinchillae*^[26]、*Alistipes inops*^[27]几种菌的含量同样发生了升高,给药后出现下降。研究表明,*Alistipes inops*丰度的增加可以导致肠道色氨酸降解,从而破坏了全身色氨酸(5-HT)的可用性,致使色氨酸代谢紊乱^[28],结合本实验相关性分析发现茯苓通过回调哮喘小鼠*Muribaculum intestinale*和*Alistipes inops*的异常升高进而调节肠道菌群代谢产物,促进丁酸盐生成,抑制IL4、IgE介导的气道黏液分泌,缓解“风痰阻肺”症状,通过调节肠道

菌群对色氨酸的代谢改善 Th1/Th2 失衡,缓解气道平滑肌痉挛,进而发挥平喘功效。

综上,本研究基于网络药理学预测的炎症通路,借助 16S rRNA 测序技术对各组小鼠肠道菌群进行分析,发现茯苓通过下调哮喘模型小鼠中 *Muribaculum intestinale*、*Alistipes inops* 等菌的水平,重建肠道微生态稳态,减少促炎因子和炎症介质的产生,阻断炎症级联反应进而发挥平喘功效,为中医理论提供现代科学佐证,也为哮喘治疗开拓新路径。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 251.
- [2] 李安琪, 林巧. 何庆勇主任医师运用茯苓杏仁甘草汤心悸 [J]. 环球中医药, 2020, 13(2): 239.
- [3] 武蕊, 史阳, 张嘉雯, 等. 苓甘五味姜辛汤治疗支气管哮喘的网络药理学和分子对接研究 [J]. 西部中医药, 2025, 38(2): 59.
- [4] 王晓君. 对大肠“传导之官”功能的再认识 [J]. 山东中医杂志, 2003, 22(5): 259.
- [5] 张玉. 从肺肠轴出发探讨大肠传导功能失常对支气管哮喘患者肺功能与理化指标的影响以及中医证型分析 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2024.
- [6] 郝欧美, 杨钦惠, 李莹, 等. 基于“肺与大肠相表里”理论探讨肺及肠道菌群与肺系疾病的相关性 [J]. 辽宁中医杂志, 2024, 7(24): 1.
- [7] 龙须, 刘涛, 张欢, 等. 基于“肺与大肠相表里”探讨“肺病治肠”与肠道微生物的关系 [J]. 江西中医药大学学报, 2023, 35(6): 12.
- [8] 宿英豪, 耿艳娜, 裴玉蕊, 等. 宣肺平喘化痰通络方中药离子导入治疗哮喘的临床研究 [J]. 中国处方药, 2020, 18(12): 161.
- [9] 周璟. 宣肺平喘汤治疗支气管哮喘 80 例 [J]. 河南中医, 2010, 30(3): 278.
- [10] 宿英豪, 耿立梅, 谷红霞, 等. 宣肺平喘化痰通络方治疗支气管哮喘慢性持续期(痰哮证)的临床研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(7): 1036.
- [11] JUNG M, LEE J Y, RYU G, et al. Beneficial effect of nasal saline irrigation in children with allergic rhinitis and asthma: a randomized clinical trial [J]. Asian Pac J Allergy Immunol, 2020, 38(4): 251.
- [12] 李平真, 李九英, 刘丹华. 孟鲁司特钠联合普米克令舒在小儿支气管哮喘急性发作中的疗效评估对炎症因子、免疫功能及气道高反应性的影响 [J]. 黑龙江医药科学, 2025, 48(4): 164.
- [13] 罗少华. 老年哮喘患者外周血淋巴细胞内 IFN γ 与 IL4 的变化 [J]. 现代临床医学生物工程杂志, 2004, 10(5): 400.
- [14] PAN X H, GUO K Y, SONG J G, et al. Modulation of the rate of CD158a⁺/b⁺ cells by Th1 and Th2 like cytokines [J]. Chin J Cell Mol Immunol, 2003, 19(1): 56.
- [15] 邓亚胜, 习兰花, 范燕萍, 等. 中药活性成分调节哮喘 Th1/Th2、Th17/Treg 免疫应答平衡的作用及机制研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2025, 50(4): 1000.
- [16] PENE J, ROUSSET F, BRIERE F, et al. IgE production by normal human lymphocytes is induced by interleukin 4 and suppressed by interferons gamma and alpha and prostaglandin E2 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1988, 85(18): 6880.
- [17] 邓亚胜, 林江, 郝域江, 等. 哮喘气道重塑发病机制及中药干预机制研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2025, 50(8): 2050.
- [18] 杜四, 丁春玲, 张宇. 润燥止痒胶囊联合枸地氯雷他定胶囊治疗慢性荨麻疹对炎症反应和血清总 IgE 及免疫功能的影响 [J]. 临床合理用药, 2025, 18(9): 143.
- [19] KAWAKAMI T, GALLI S J. Regulation of mast-cell and basophil function and survival by IgE [J]. Nat Rev Immunol, 2002, 2(10): 773.
- [20] 郑文雅, 彭华. 肥大细胞 Fc ϵ R I 受体介导的信号通路分子机制及影响因素的研究进展 [J]. 医学研究生学报, 2021, 34(6): 646.
- [21] 高娟, 陈桂芳, 谭伟, 等. 过敏煎通过 IgE/Fc ϵ R I 途径抑制肥大细胞脱颗粒改善特异性皮炎的作用机制 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(9): 135.
- [22] 邓亚胜, 范燕萍, 李汶玥, 等. 中医药调控 PI3K/Akt 信号通路干预哮喘的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(17): 262.
- [23] WANG Z, KANG S, WU Z, et al. Muribaculum intestinale restricts aalmonella typhimurium colonization by converting succinate to propionate [J]. ISME J, 2025, 19(1): wraf069.
- [24] BANG S, SHIN Y H, MA X, et al. A cardiolipin from muribaculum intestinale induces antigen-specific cytokine responses [J]. J Am Chem Soc, 2023, 145(43): 23422.
- [25] ZHANG Y, XING H, BOLOTNIKOV G, et al. Enriched aptamer libraries in fluorescence-based assays for Rikenella microfusum-specific gut microbiome analyses [J]. Microorga-nisms, 2023, 11(9): 2266.
- [26] KITAHARA M, SAKAMOTO M, TSUCHIDA S, et al. Bacteroides stercorisoris sp. nov. and Bacteroides faecichinchillae sp. nov., isolated from Chinchilla (Chinchilla lanigera) faeces [J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2012, 62(Pt 5): 1145.
- [27] ZHENG K Y, GAO B, WANG H J, et al. Melatonin ameliorates depressive-like behaviors in ovariectomized mice by improving tryptophan metabolism via inhibition of gut microbe alistipes inops [J]. Adv Sci (Weinh), 2024, 11(34): e2309473.

责任编辑 陈玲