

基于肠道菌群和代谢组学探讨衢枳壳治疗 功能性消化不良大鼠的作用机制

黄文康¹, 张其新¹, 刘晓彤¹, 田美子¹, 王海鸥¹, 陈佳卉¹, 高丽娟¹,
孙红祥², 屠珏^{3,4}, 汪丽霞^{5*}, 叶益萍^{1*}

(1. 杭州医学院 药学院/食品科学与工程学院, 浙江 杭州 310013; 2. 浙江大学 动物科学学院, 浙江 杭州 310058; 3. 浙江中医药大学 中医药科学院, 浙江 杭州 310053; 4. 浙江中医药大学 比较医学研究所, 浙江 杭州 310053; 5. 常山县胡柚产业发展中心, 浙江 衢州 324200)

[摘要] 评价和比较衢枳壳水提物(QAFA)和枳壳水提物(AFA)对功能性消化不良(FD)的治疗效果,并探讨其作用机制。以“夹尾+不规则饮食+稀酸水饮用”联合造模法构建FD大鼠模型。分别灌胃给予QAFA 2.05 g·kg⁻¹(相当于衢枳壳4 g·kg⁻¹)、AFA 1.93 g·kg⁻¹(相当于枳壳4 g·kg⁻¹),连续给药14 d后,测定胃排空率和小肠推进率;组织学分析胃窦和十二指肠组织的病理变化;ELISA法检测血清中胃泌素(GAS)和血管活性肠肽(VIP)的水平;利用16S rRNA测序和血清代谢组学探讨其潜在机制。结果显示,QAFA和AFA可增加胃肠动力;苏木精-伊红染色和免疫荧光分析显示,QAFA和AFA均可修复损伤的肠道屏障;ELISA结果显示均可调节血清中GAS和VIP水平,表明两者均可改善FD大鼠症状。肠道菌群分析显示,QAFA和AFA均降低了有害菌瘤胃球菌属 *Ruminococcus* 的丰度,而AFA同时增加了有益菌普雷沃菌属 *Prevotella* 和乳杆菌属 *Lactobacillus* 的丰度,QAFA则提高了 *Clostridia* UCG-014 的丰度。代谢组学分析显示,QAFA和AFA主要通过调节磷脂代谢来恢复血液中的代谢物水平。肠道菌群与代谢产物相关性分析显示QAFA和AFA均减少了 *Ruminococcus* 的丰度,AFA增加了 *Prevotella* 的丰度,从而恢复血清代谢物水平。QAFA和AFA可能通过调节特定的肠道菌群来恢复胃肠激素水平和磷脂代谢,从而改善大鼠的FD症状。然而,它们在调节的具体菌群方面存在一些差异。

[关键词] 功能性消化不良;衢枳壳;枳壳;肠道菌群;代谢组学

Mechanism of Quzhou Aurantii Fructus in treating rats with functional dyspepsia based on gut microbiota and metabolomics

HUANG Wen-kang¹, ZHANG Qi-xin¹, LIU Xiao-tong¹, TIAN Mei-zi¹, WANG Hai-ou¹, CHEN Jia-hui¹, GAO Li-juan¹,
SUN Hong-xiang², TU Jue^{3,4}, WANG Li-xia^{5*}, YE Yi-ping^{1*}

(1. School of Pharmacy/School of Food Science and Engineering, Hangzhou Medical College, Hangzhou 310013, China; 2. College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 3. School of Chinese Medical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 4. Institute of Comparative Medicine, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 5. Changshan Huyou Industry Development Center, Quzhou 324200, China)

[Abstract] The therapeutic effects of Quzhou Aurantii Fructus aqueous extract (QAFA) and Aurantii Fructus aqueous extract (AFA) on functional dyspepsia (FD) in rats were evaluated and compared, and their underlying mechanisms were investigated. The FD rat models were constructed by a combined method of "pinching tail + irregular diet + drinking dilute acidic water". The rats were

[收稿日期] 2025-07-22

[基金项目] 浙江省自然科学基金项目(LZ24H280006);浙江省中医药科技项目(2021ZX004);衢州乡村振兴专家工作站项目

[通信作者] *汪丽霞,高级农艺师,主要从事中药材技术研究,E-mail:wanglixia809@126.com; *叶益萍,研究员,主要从事中药药效物质基础研究,E-mail:yeyiping2005@163.com

[作者简介] 黄文康,助理研究员,主要从事中药质量控制与新药研发,E-mail:huangwenhawk@163.com

orally administered QAFA at a dose of $2.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (equivalent to $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ QAF) and AFA at a dose of $1.93 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (equivalent to $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ AF), respectively. After 14-day administration, the gastric emptying and intestinal propulsion were assessed. The pathological changes in the gastric antrum and duodenum were analyzed via histology, and the levels of serum gastrin (GAS) and vasoactive intestinal polypeptide (VIP) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. The underlying mechanisms were investigated by using 16S rRNA sequencing and serum metabolomics. The results showed that QAFA and AFA could increase gastrointestinal motility. Hematoxylin-eosin (HE) staining and immunofluorescence analysis showed that both QAFA and AFA repaired the damaged intestinal barrier, and ELISA analysis showed that they regulated GAS and VIP levels in serum. These results suggest that both can improve symptoms in FD rats. The intestinal microbiota analysis revealed that QAFA and AFA reduced the abundance of the harmful microbe *Ruminococcus*. AFA increased the abundance of the beneficial bacteria *Prevotella* and *Lactobacillus*, and QAFA increased the abundance of *Clostridia UCG-014*. Metabolomic analysis showed that both QAFA and AFA restored serum metabolites primarily through regulating phospholipid metabolism. Correlation analysis between metabolites and gut microbiota showed that both QAFA and AFA decreased the abundance of *Ruminococcus*, and AFA increased the abundance of *Prevotella*, thereby restoring serum metabolite levels. These findings suggest that QAFA and AFA may improve FD symptoms in rats by modulating specific gut microbiota to restore gastrointestinal hormones and phospholipid metabolism. However, there are some differences in the specific microbiotas they regulate.

[Key words] functional dyspepsia; Quzhou Aurantii Fructus; Aurantii Fructus; gut microbiota; metabolomics

DOI:10.19540/j.cnki.cjmm.20250905.703

功能性消化不良(FD)是一种常见的功能性胃肠疾病,属于中医“痞满”“胃脘痛”“纳呆”等范畴。其主要特征为上腹部疼痛或烧灼感、餐后饱胀和早饱等^[1]。尽管FD的发病机制尚未完全明确,但大量研究表明,胃肠动力障碍、肠-脑轴功能紊乱、肠道菌群改变、免疫功能异常以及幽门螺杆菌感染是FD的主要致病因素^[1-3],其中,肠道菌群失调在FD患者中尤为普遍。

衢枳壳为芸香科植物常山胡柚 *Citrus aurantium* “Changshan-huyou”的干燥未成熟果实,被收录于《浙江省中药炮制规范》(2015年版)。枳壳是历版《中国药典》中记载的酸橙 *C. aurantium* L. 及其栽培变种的干燥未成熟果实。功能主治均为理气宽中、行滞消胀。目前,衢枳壳因其与枳壳在外观、主要成分和功效上极其相似,已成为“枳壳”的主要商品规格之一^[4-7]。虽然已有文献报道了枳壳改善FD模型的胃肠动力障碍和激素水平及其机制^[8-9],然而,衢枳壳和枳壳针对FD的药效和机制的比较研究尚显不足。因此,本研究通过夹尾、不规则饮食和饮用稀盐酸水的联合造模方法建立大鼠FD模型,以枳壳提取物(AFA)为对照,比较衢枳壳提取物(QAFA)和其对FD大鼠的治疗效果,并通过分析盲肠内容物中的肠道菌群和血液中的代谢物来探讨其潜在机制。

1 材料

1.1 动物 60只SPF级Sprague-Dawley大鼠(雌雄各半),6~7周龄,体质量180~220g,购自上海必494

凯科益生物技术有限公司,许可证号SYXK(沪)2018-0006。所有大鼠在浙江中医药大学动物实验研究中心按照标准化条件饲养大鼠,自由摄食饮水,环境温度20~24℃,相对湿度50%±10%,12h/12h昼夜交替光照,许可证号SYXK(浙)2021-0012。本研究获得浙江中医药大学伦理委员会批准,批准编号IACUC-20230522-09。

1.2 药物与试剂 衢枳壳采自浙江省常山县、枳壳采自江西省樟树市,经浙江省食品药品检验研究院陈浩鉴定,分别为 *C. aurantium* “Changshan-hu-you”和 *C. aurantium* 的干燥未成熟果实。

柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷(中国食品药品检定研究院,货号分别为10722-201312、110721-201316、111857-201102,纯度分别为94.7%、95.3%、99.6%);芸香柚皮苷(成都普思生物科技有限公司,货号PS011543,纯度≥98%);L-2-氯苯丙氨酸(上海恒创生物科技有限公司,货号C2001);琥珀酸(美国Sigma-Aldrich公司,货号293075-1G);L-缬氨酸(上海皓元化学有限公司,货号HY-I1124);胆酸(上海源叶生物科技有限公司,货号S22155);乙腈、甲醇、甲酸(美国ThermoFisher公司,货号分别为A998-4、A452-4、A117-50);多潘立酮(DOM,西安杨森制药有限公司,批号NBJ150U);大鼠胃泌素(GAS)和血管活性肠肽(VIP)ELISA试剂盒(上海友科生物科技有限公司,货号分别为U96-3699E、U96-1158E);MagPure Soil DNA LQ Kit(广州美格生

物技术有限公司, 货号 D6356-020); Qubit dsDNA Assay Kit (美国 Life Technologies 公司, 货号 Q32854); AMPure XP (美国 Beckman Coulter 公司, 货号 A63881); Tks Gflex DNA Polymerase (日本 TaKaRa 公司, 货号 R060B); 过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)、 β -actin、密封蛋白 (occludin) 单抗, 闭锁连接蛋白-1 (ZO-1) 多抗 (武汉三鹰生物技术有限公司, 货号分别为 66826-1-Ig、66009-1-Ig、66378-1-Ig、21773-1-AP); 重组黏蛋白 (MUC2) 单抗 (英国 Abcam 公司, 货号 ab272692); BCA 蛋白浓度测定试剂盒、HRP 标记的山羊抗小鼠/兔 IgG (H+L)、PBS、蛋白酶抑制剂、RIPA 裂解液 (上海碧云天生物技术有限公司, 货号分别为 500 T-P0010、A0216/A0208、ST476、P1005、P0013C); TRIS-EDTA 修复液 (pH 8.0)、Flare520、Flare570、Flare620 (杭州浩克生物科技有限公司, 货号分别为 HKI0043、HKI0014、HKI0015、HKI0016)。

1.3 仪器 电子天平 (德国 Sartorius 公司, 型号 CPA225D); Simplicity UV 超纯水系统 (美国 Millipore 公司, 型号 SIMS V0001); 台式高速冷冻离心机 (上海卢湘仪离心机仪器有限公司, 型号 TGL-16 MS); 细胞成像多功能微孔板检测系统 (美国 Agilent 公司, 型号 BioTek Cytation 1 Cell Imaging Multimode Reader); 荧光倒置显微镜 (美国 Thermo Scientific 公司, 型号 EVOS M7000); PCR 热循环仪 (美国 Bio-Rad 公司, 型号 580BR10905); 电泳仪 (上海天能生命科学有限公司, 型号 HE-120); 全自动数码凝胶图像分析系统 (上海天能生命科学有限公司, 型号 2500); 生物分析仪 (美国 Agilent 公司, 型号 2100); 微量分光光度计 (美国 ThermoFisher 公司, 型号 NanoDrop 2000); 液相色谱-质谱联用仪 (美国 Waters 公司 & 美国 ThermoFisher 公司, 型号 Waters ACQUITY UPLC I-Class Plus & Thermo QE); 实时荧光定量 PCR 系统 (美国 ThermoFisher 公司, 型号 ABI QuantStudio3); 测序系统 (美国 Illumina 公司, 型号 NovaSeq 6000)。

2 方法

2.1 样品制备 藿枳壳和枳壳药材各 500 g, 在水中浸泡 12 h 后切成薄片, 加 10 倍量水回流提取 3 次, 每次 1.5 h, 过滤。将滤液浓缩至适当体积, 在 60 °C 下真空干燥, 分别得到 QAFA 257.1 g 和 AFA 241.1 g, 低温保存备用。

2.2 分组、造模和给药 60 只大鼠随机分为对照 (CON) 组、模型 (MOD) 组、多潘立酮 (DOM) 组、QAFA 组、AFA 组, 每组 12 只。采用夹尾、不规则饮食和饮用稀盐酸水的方法建立大鼠 FD 模型^[10]。大鼠每天自由饮用 0.1 mol·L⁻¹ 稀盐酸水, 隔日禁食。在不禁食的当天, 用手术钳夹住大鼠尾根部 30 min。对照组自由摄食饮水。14 d 后开始灌胃给药, 连续给药 14 d。参照文献[8], CON 组和 MOD 组均给予生理盐水, AFA 组给予 1.93 g·kg⁻¹ (相当于枳壳 4 g·kg⁻¹), QAFA 组给予 2.05 g·kg⁻¹ (相当于藿枳壳 4 g·kg⁻¹), 多潘立酮组 (DOM) 给予 3 mg·kg⁻¹。除 CON 组外, 所有大鼠在整个给药期间均自由摄食和饮用稀盐酸水。造模和给药方案见中国知网本文增强出版附加材料。各组随机选择 6 只大鼠, 雌雄各半, 末次给药后 24 h, 皮下注射阿托品 (0.04 mg·kg⁻¹) 和腹腔注射 Zoletil®50 (40 mg·kg⁻¹) 麻醉, 心脏穿刺取血, 4 °C 离心制备血清。颈椎脱臼法处死大鼠, 剖取胃窦和十二指肠, 以液氮快速冷冻, 并保存于 -80 °C, 用于蛋白免疫印迹分析。收集盲肠内容物, 以液氮快速冷冻, 并保存于 -80 °C 备用, 用于 16S rRNA 测序分析。

2.3 大鼠胃排空率和小肠推进率测定 每组剩余 6 只大鼠, 雌雄各半, 末次给药结束后禁食 24 h。每只大鼠给予炭末推进指示剂 (奶粉 16 g、糖 8 g、淀粉 8 g、活性炭粉末 2 g, 加入 2% CMC-Na 溶液中, 定容到 300 mL, 混合均匀) 2 g。30 min 后, 同 2.2 项麻醉、取血后, 处死大鼠, 打开腹腔, 结扎幽门和贲门, 剖取胃、十二指肠和小肠。去除胃内容物前后分别称重, 计算胃排空率 = $[1 - (\text{胃全重} - \text{胃净重}) / 2] \times 100\%$; 测量小肠总长度 L 及小肠前端到炭末推进指示剂前端的距离 L_0 , 小肠推进率 = $L_0 / L \times 100\%$ 。

2.4 苏木精-伊红 (HE) 染色观察组织病理变化 取十二指肠及胃窦组织, 用无菌生理盐水洗涤, 4% 多聚甲醛固定, 经脱水、石蜡包埋、切片, 染色后, 在显微镜下观察封闭的组织。

2.5 免疫荧光检测组织中 occludin、ZO-1 和 MUC2 表达 组织切片脱蜡、水化后, 使用 TRIS-EDTA 修复液进行抗原修复, 然后用 3% H₂O₂ 孵育以阻断内源性过氧化物酶活性。再用 3% 牛血清白蛋白 (BSA) 在室温下封闭, 然后分别加入稀释好的 occludin (1 : 100)、ZO-1 (1 : 200) 和 MUC2 (1 : 500) 抗体, 4 °C 孵育过夜。孵育完成后, 用 PBS 洗涤

切片,加入相应的二抗,在室温下避光孵育1 h。随后,用Flare520、Flare570和Flare620荧光染料染色5 min。洗涤3次后,用DAPI进行复染。最后封片在荧光显微镜下观察。

2.6 血清中胃肠激素检测 大鼠麻醉后心脏采血,4℃高速离心,取上清液。采用ELISA方法检测血清中胃泌素和血管活性肠肽,具体方法按照试剂盒说明书进行。

2.7 Western blot 分析胃窦组织中PPAR α 的表达

用RIPA裂解缓冲液(含磷酸酶抑制剂和蛋白酶抑制剂)于冰上裂解胃窦组织,离心收集上清液,取BCA试剂盒测定蛋白浓度。进行凝胶电泳,转膜,封闭,抗体孵化后,使用Fusion-FX6成像系统和Evolution-Capt Edge软件对蛋白条带进行可视化和定量分析。

2.8 肠道菌群测序和分析 取盲肠内容物样本进行16S rRNA基因V3~V4区高通量测序,测序工作由上海欧易生物医学科技有限公司完成。以提取的基因组DNA溶液为模板,使用带条形码的特异性引物343F(5'-TACGGRAGGCAGCAG-3')和798R(5'-AGGGTATCTAATCCT-3')以及Tks Gflex™ DNA聚合酶,对16S rRNA基因的V3~V4区进行PCR扩增。经2轮扩增后,产物以AMPure XP磁珠纯化,凝胶电泳检测后,对PCR产物进行Qubit定量,上机测序。将数据上传至欧易云平台进行分析。参照文献方法对测序数据进行生物信息学分析^[11]。

2.9 血清代谢组学检测和分析 采用Waters Q-Exactive Plus四极杆-轨道阱质谱仪的ACQUITY UPLC I-Class Plus系统,结合电喷雾电离源,以正、负离子模式分析血清样本中的代谢物。取血清100 μ L,加入400 μ L甲醇-乙腈混合溶液(甲醇-乙腈2:1,含4 μ g $\cdot$ mL⁻¹L-2-氯苯丙氨酸作为内标),涡旋振荡1 min,冰水浴超声提取10 min,4℃、12 000 r $\cdot$ min⁻¹离心10 min。取上清液200 μ L,挥干溶剂后用300 μ L甲醇水溶液(甲醇-水1:4)复溶,重复上述处理。取150 μ L上清液检测。所有样本的提取液等体积混合制备质控样本(QC)。

样品在ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(2.1 mm $\times$ 100 mm,1.8 μ m)上进行分离,柱温45℃。流动相为0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B),流速0.35 mL $\cdot$ min⁻¹,进样体积3 μ L。洗脱梯度:0~2 min,5% B;2~4 min,5%~30% B;4~8 min,30%~

50% B;8~10 min,50%~80% B;10~14 min,80%~100% B;14~15 min,100% B。喷雾电压3.8、-3.0 kV;毛细管温度320℃;碰撞能量10、20、40 eV;全扫描模式下分辨率70 000,HCD MS/MS扫描模式下分辨率17 500。数据采集范围 m/z 100~1 200,采用全扫描模式。

获取原始数据后,使用代谢组学处理软件Progenesis QI(v 3.0)对数据进行处理。根据保留时间、精确质量数和二级碎片等多个维度,利用HMDB、Lipidmaps(v 2.3)和METLIN数据库以及LuMet-Animal 3.0本地数据库进行化合物的鉴定。完成数据提取与处理后,进行生物信息学分析^[11]。

2.10 代谢组与肠道菌群的相关性分析 通过OECloud工具(<https://cloud.oebiotech.cn>)对盲肠内容物中的肠道菌群属水平与血清中的代谢物进行Spearman相关性分析,探索两者的相关性。

2.11 统计学分析 使用SPSS 23.0软件进行统计学分析处理,数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用单因素方差分析(One-way ANOVA)评估各组之间的显著性差异。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 QAFA和AFA减轻FD大鼠的胃肠动力障碍

与CON组相比,MOD组的小肠推进率和胃排空率均显著降低,表明FD模型存在胃肠动力障碍。DOM和AFA仅显著增加了小肠推进率,AFA有增加胃排空的趋势但差异无统计学意义,QAFA则显著促进了FD大鼠的胃排空率和小肠推进率,见表1。

表1 衢枳壳提取物和枳壳提取物对FD大鼠胃肠动力障碍的影响($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

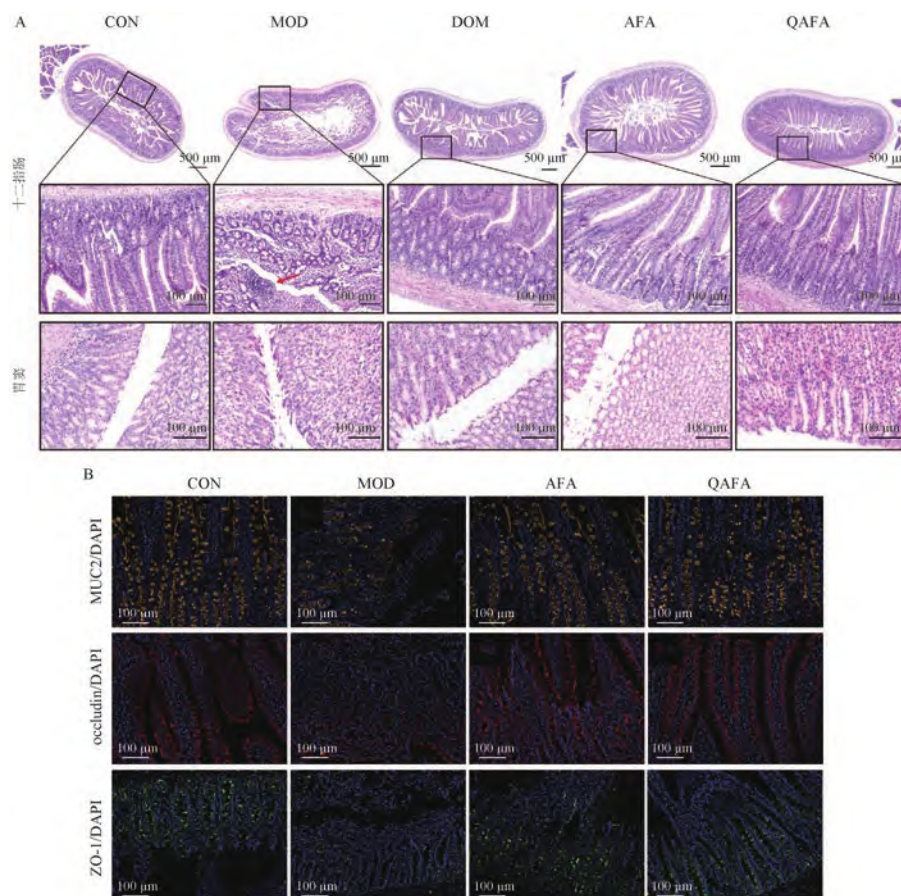
Table 1 Effects of Quzhou Aurantii Fructus aqueous extract and Aurantii Fructus aqueous extract on gastrointestinal motility disorders of FD in rats ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量/mg $\cdot$ kg ⁻¹	小肠推进率/%	胃排空率/%
CON	—	76.17 $\pm$ 6.05	85.00 $\pm$ 8.37
MOD	—	63.00 $\pm$ 2.61 ¹⁾	53.33 $\pm$ 15.38 ¹⁾
DOM	3	80.33 $\pm$ 10.65 ⁴⁾	53.33 $\pm$ 9.83
AFA	1 930	72.00 $\pm$ 3.16 ⁵⁾	72.50 $\pm$ 12.14
QAFA	2 050	77.83 $\pm$ 5.67 ⁶⁾	84.17 $\pm$ 7.36 ⁴⁾

注:CON.对照组;MOD.模型组;DOM.多潘立酮组;QAFA.衢枳壳提取物组;AFA.枳壳提取物组(图1~4,表2、3同)。与CON相比¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$,³⁾ $P<0.001$;与MOD相比⁴⁾ $P<0.05$,⁵⁾ $P<0.01$,⁶⁾ $P<0.001$ (表2、3同)。

3.2 QAFA 和 AFA 改善 FD 大鼠的胃肠损伤 HE 染色结果显示,MOD 组大鼠十二指肠出现炎症细胞浸润、坏死上皮细胞和脱落的肠绒毛,以及胃窦黏膜脱落,而 QAFA、AFA 和 DOM 均显著修复了 FD 大鼠的这些病理损伤。免疫荧光分析结果显示,与 CON

组相比,MOD 组大鼠十二指肠黏膜中 MUC2、ZO-1 和 occludin 蛋白的表达水平显著下调,提示 FD 大鼠的肠道屏障受损。QAFA 和 AFA 显著上调了 FD 大鼠中这些蛋白的表达水平,表明两者均可修复受损的肠道黏膜屏障,见图 1、表 2。



A. 十二指肠和胃窦组织的代表性 HE 染色切片,红色箭头指示炎症反应;B. 免疫荧光分析十二指肠组织中 MUC2、ZO-1 和 occludin 的蛋白表达代表性图。

图 1 衢枳壳提取物和枳壳提取物对 FD 大鼠胃肠损伤的影响

Fig. 1 Effects of Quzhou Aurantii Fructus extract and Aurantii Fructus extract on the gastrointestinal injuries of FD rats

表 2 定量分析十二指肠组织中 MUC2、ZO-1、occludin 蛋白免疫荧光相对表达($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 2 Quantitative analysis of relative expression of MUC2, ZO-1, and occludin proteins in duodenal tissue by immunofluorescence($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	MUC2	occludin	ZO-1
CON	—	1.35 ± 0.02	0.93 ± 0.10	1.27 ± 0.08
MOD	—	$1.03 \pm 0.01^{2)}$	$0.67 \pm 0.08^{1)}$	$0.87 \pm 0.06^{3)}$
AFA	1 930	1.30 ± 0.09	$0.96 \pm 0.03^{5)}$	$1.20 \pm 0.08^{5)}$
QAFA	2 050	$1.25 \pm 0.03^{4)}$	$0.95 \pm 0.02^{5)}$	$1.21 \pm 0.02^{5)}$

3.3 QAFA 和 AFA 调节 FD 大鼠血清胃肠激素水平 采用 ELISA 检测 FD 大鼠血清中 GAS 和 VIP 的水平。与 CON 组相比,MOD 组雌性大鼠血清中 GAS 水平显著降低,VIP 水平显著升高,但是,雄性 MOD 组与 CON 组之间的血清 GAS 和 VIP 水平均没有显著变化;QAFA、AFA 和 DOM 均显著逆转了雌性 FD 大鼠血清 GAS 和 VIP 的变化,但在雄性 FD 大鼠中无显著性变化,见表 3。

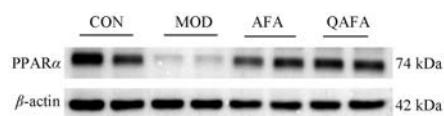
PPAR α 作为临床上治疗多种代谢紊乱的药物靶点,在调控脂质代谢通路中起关键作用^[12]。值得

表 3 衢枳壳提取物和枳壳提取物对 FD 大鼠血清胃肠激素水平和胃窦组织中 PPAR α 蛋白的影响($\bar{x}\pm s$)Table 3 Effect of Quzhou Fructus Aurantii extract and Aurantii Fructus extract on gastrointestinal hormone levels in serum and PPAR α protein expression in gastric antrum tissue of FD rats($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	雌鼠血清/pg·mL ⁻¹ (n=6)		雄鼠血清/pg·mL ⁻¹ (n=6)		PPAR α / β -actin(n=4)
		GAS	VIP	GAS	VIP	
CON	—	83.62 $\pm$ 12.97	51.02 $\pm$ 11.37	87.33 $\pm$ 14.88	34.28 $\pm$ 2.78	1.00 $\pm$ 0.20
MOD	—	51.08 $\pm$ 7.77 ²⁾	124.01 $\pm$ 7.71 ³⁾	57.08 $\pm$ 22.53	55.97 $\pm$ 8.72	0.22 $\pm$ 0.04 ²⁾
DOM	3	108.20 $\pm$ 7.96 ⁶⁾	32.41 $\pm$ 8.13 ⁶⁾	112.40 $\pm$ 5.81	20.41 $\pm$ 15.84	—
AFA	1 930	121.15 $\pm$ 19.45 ⁶⁾	73.67 $\pm$ 7.74 ⁶⁾	124.54 $\pm$ 42.40	29.50 $\pm$ 6.94	1.36 $\pm$ 0.51 ⁴⁾
QAFA	2 050	104.54 $\pm$ 9.83 ⁶⁾	71.08 $\pm$ 12.92 ⁶⁾	68.26 $\pm$ 10.48	19.24 $\pm$ 8.17	1.03 $\pm$ 0.23 ⁵⁾

注:—,未检测。

注意的是,胃窦部 PPAR α 的激活会促进 GAS 分泌^[13]。与对照组相比,MOD 组胃窦组织中 PPAR α 蛋白表达水平显著下调,而 QAFA 和 AFA 则显著上调了 FD 大鼠胃窦组织中 PPAR α 的表达,见图 2、表 3。结果表明,QAFA 和 AFA 可能通过激活 PPAR α 来促进 FD 大鼠胃泌素的分泌。

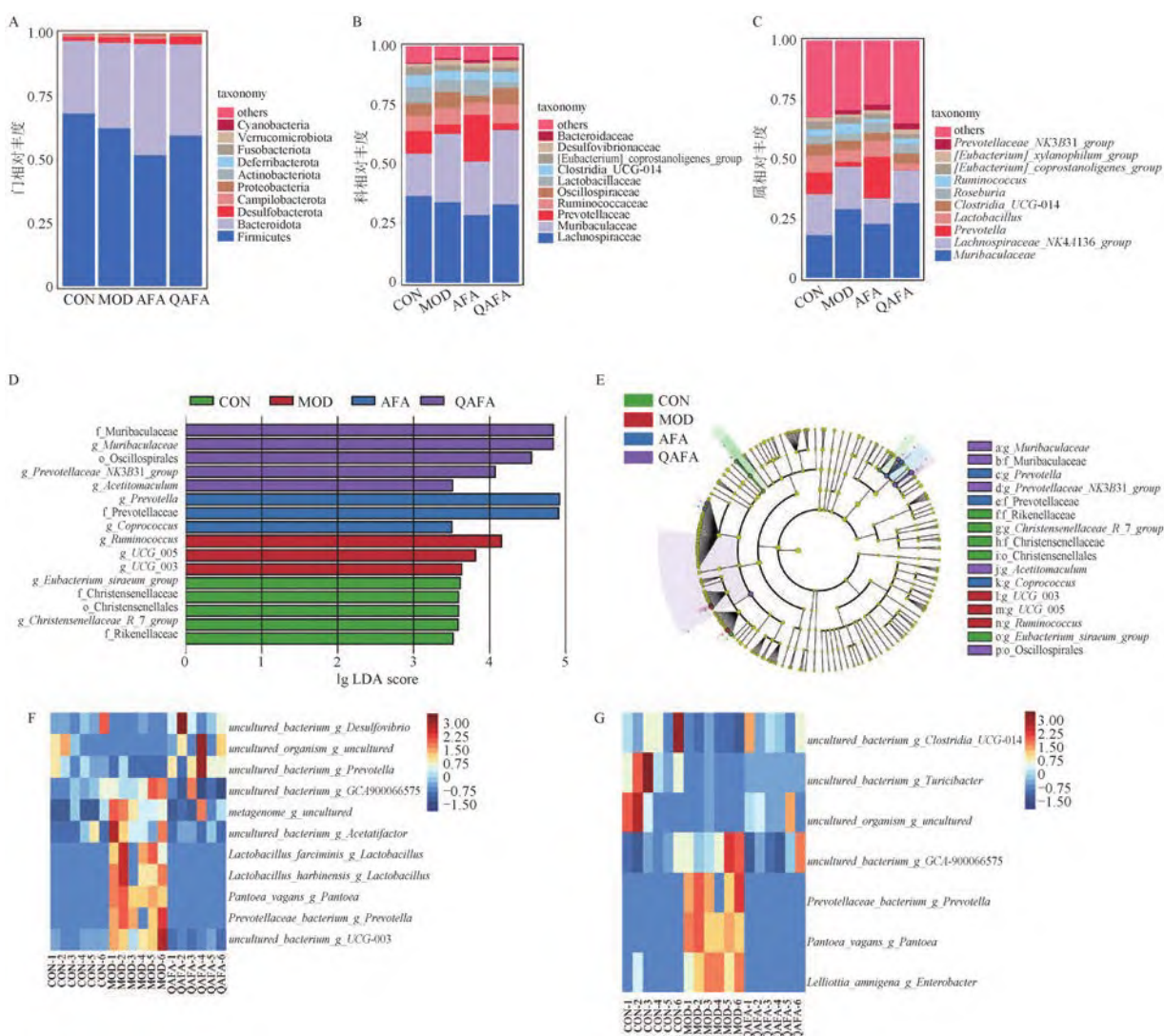
图 2 各组大鼠胃窦组织中 PPAR α 蛋白表达Fig. 2 PPAR α protein expression in gastric antrum tissue of rats in each group

3.4 QAFA 和 AFA 改善 FD 大鼠肠道菌群 在门水平上,各组的优势肠道菌群由厚壁菌门 Firmicutes 和拟杆菌门 Bacteroidetes 组成,两者的总相对丰度超过 95%,见图 3A。在科水平上,Lachnospiraceae 是一个优势种群,MOD 组与 CON 组之间没有显著差异。然而,与 CON 组相比,MOD 组中 Prevotellaceae、Lactobacillaceae 和 Clostridia UCG-014 的相对丰度显著降低,而 Muribaculaceae 和 Oscillospiraceae 的相对丰度显著增加。AFA 提高了 Prevotellaceae 和 Lactobacillaceae 的丰度,降低了 Oscillospiraceae 和 Muribaculaceae 的丰度,而 QAFA 则逆转了 FD 大鼠中 Clostridia_UCG-014 比例的降低,见图 3B。在属水平上,Muribaculaceae、Lachnospiraceae_NK4A136_group、Prevotella、Lactobacillus 和 Clostridia_UCG-014 在各组中丰度较高。与 CON 组相比,MOD 组中有益肠道菌群如 Prevotella、Clostridia_UCG-014 和 Lactobacillus 的丰度显著降低,而 Ruminococcus 和 Muri-

baculaceae 的丰度增加。AFA 显著提高了 Prevotella 和 Lactobacillus 的相对丰度,降低了 Muribaculaceae 和 Ruminococcus 的丰度。然而,QAFA 增加了 Clostridia_UCG-014 的丰度,降低了 Ruminococcus 的丰度,见图 3C。

进行 LEfSe 分析以识别组间显著差异的物种,结果显示,从门到属水平,共鉴定出 16 个差异分类单元,其中 CON、MOD、AFA 和 QAFA 组分别有 5、3 和 5 个分类单元。CON 组的 5 个差异分类单元包括 Christensenellales 目、Rikenellaceae 和 Christensenellaceae 科以及 Eubacterium siraeum group 和 Christensenellaceae_R_7_group 属。MOD 组中 Ruminococcus、UGG_003 和 UGG_005 属的丰度较高。AFA 组的优势菌群为 Prevotellaceae 科以及 Coprococcus 和 Prevotella 属。QAFA 组的优势种群为 Oscillospirales 目、Muribaculaceae 科以及 Acetitomaculum、Muribaculaceae 和 Prevotellaceae_NK3B31_group 属,见图 3D、3E。

为了最小化算法对结果的影响,使用 Wilcoxon 秩和检验比较了 MOD 组与 CON 组、AFA 组与 MOD 组以及 QAFA 组与 MOD 组之间种水平的特征菌株。值得注意的是,与 CON 组比较,MOD 组中 Pantoea vagans、Prevotellaceae_bacterium_g_Prevotella 和 uncultured bacterium_g_GCA-900066575 的相对丰度显著增加,而 uncultured organism_g_uncultured 的丰度降低。然而,这些菌株在 FD 大鼠中的变化在给予 AFA 和 QAFA 后得到逆转,见图 3F、3G。此外,与 MOD 组相比,AFA 还逆转了 FD 大鼠中 uncultured bacterium_g_Prevotella、uncultured bacterium_g_UCG-003、uncultured bacterium_g_Desulfovibrio、uncultured bacterium_g_Acetatifactor、metagenome_g_uncultured、Lactobacil-



A~C. 门、科、属水平物种结构分析; D. 基于 LDA 评分的差异菌种分布; E. LEfSe 分析富集微生物群分支; F. CON、MOD 和 AFA 之间显著差异菌种热图; G. CON、MOD 和 QAFA 之间显著差异菌种热图。

图 3 衢枳壳提取物和枳壳提取物改善 FD 大鼠肠道微生物菌群

Fig. 3 Amelioration of gut microbiota in FD rats by Quzhou Fructus Aurantii extract and Aurantii Fructus extract

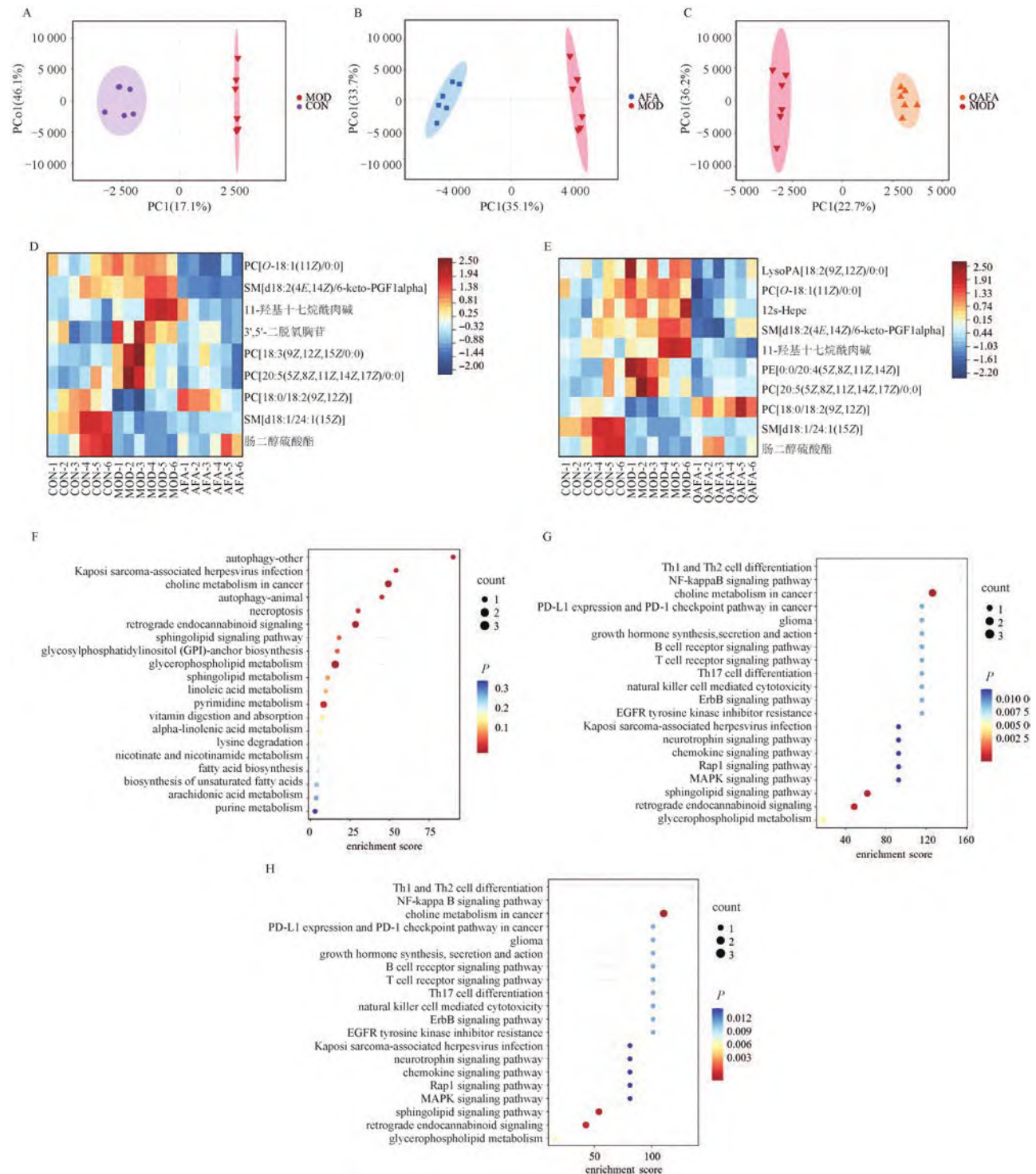
lus_harbinensis_g_Lactobacillus 和 *Lactobacillus_farcimnis_g_Lactobacillus* 等菌株的变化, 见图 3F。QAFA 逆转了 *uncultured_bacterium_g_Clostridia_UCG-014*、*uncultured_bacterium_g_Turicibacter* 和 *Lelliottia_amnigena_g_Enterobacter* 等菌株的变化, 见图 3G。上述结果表明, QAFA 和 AFA 通过调节一些相同和不同的菌株, 改善了 FD 大鼠中紊乱的肠道菌群。

3.5 QAFA 和 AFA 调节 FD 大鼠血清代谢组学

采用 UPLC-MS/MS 对大鼠血清进行非靶向代谢组学分析, 共鉴定出 2 356 种代谢物。正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA) 显示, 各组内代谢谱具有

良好的重复性, 且不同组间具有高度的区分度, 提示 FD 模型的建立成功以及 QAFA 和 AFA 对 FD 大鼠血清代谢物有调节作用, 见图 4A~4C。

通过变量重要性投影值 >1 和 $P < 0.05$ 筛选不同组间的差异代谢物。在 MOD 组与 CON 组之间鉴定出 45 个差异代谢物 (32 个上调和 13 个下调)。在 AFA 组与 MOD 组之间鉴定出 82 个差异代谢物 (36 个上调和 46 个下调)。在 QAFA 组与 MOD 组之间鉴定出 65 个差异代谢物 (34 个上调和 31 个下调)。MOD 组与 CON 组之间以及 AFA 组与 MOD 组之间的共同差异代谢物数量均为 14 个。韦恩图



A~C. MOD vs CON(A)、AFA vs MOD(B)、QAFA vs MOD(C)血清代谢物的 OPLS-DA;D、E. CON、MOD 和 AFA(D)、CON、MOD 和 QAFA(E) 差异代谢物热图;F~H. MOD vs CON(F)、AFA vs MOD(G)、QAFA vs MOD(H) 差异代谢物的 KEGG 代谢通路。

图 4 FD 大鼠的血清代谢组学分析

Fig. 4 Serum metabolomics analysis in FD rats

显示 4 个不同组间有 11 个共同差异代谢物,见中国知网本文增强出版附加材料。

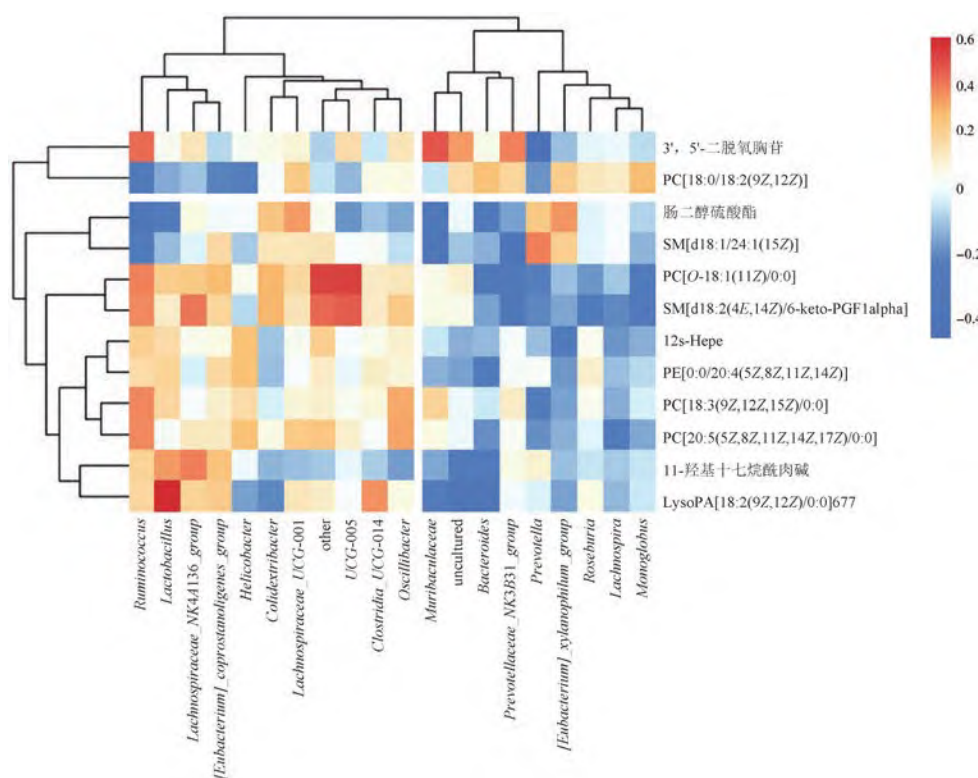
与 CON 组相比,FD 大鼠中多种磷脂水平发生变化,包括 4 种鞘磷脂(SM)、1 种磷脂酰丝氨酸

(PS)、2 种磷脂酰乙醇胺(PE)和 8 种磷脂酰胆碱(PC)。同时,FD 大鼠中嘧啶代谢物如 3',5'-二脱氧胸苷、脱氧尿苷和尿苷水平上调。QAFA 和 AFA 均显著逆转了 FD 大鼠血清中 SM[d18:1/24:1(15Z)]、肠二醇硫酸酯和 PC[18:0/18:2(9Z,12Z)]的下调以及 11-羟基十七烷酰肉碱、PC[O-18:1(11Z)/0:0]和 SM[d18:2(4E,14Z)/6-keto-PGF1 α]的上调。此外,AFA 降低了 PC[20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)/0:0]、PC[18:3(9Z,12Z,15Z)/0:0]和 3',5'-二脱氧胸苷的水平,而 QAFA 降低了 FD 大鼠中 LysoPA[18:2(9Z,12Z)/0:0]、PE[0:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)]、12s-Hepe 和 PC[20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)/0:0]的水平,见图 4D、4E。研究结果表明,QAFA 和 AFA 主要通过调节磷脂代谢来改善 FD 大鼠的症状。然而,QAFA 和 AFA 诱导的 FD 大鼠代谢物存在一定差异。

为了研究 QAFA 和 AFA 诱导的 FD 大鼠的潜在代谢途径,使用 MetaboAnalyst 对差异代谢物进行 KEGG 通路预测,3 组两两比较中共同富集的代谢

途径主要涉及磷脂代谢,包括胆碱代谢、甘油磷脂代谢和鞘磷脂信号通路。值得注意的是,AFA 和 QAFA 均能调节这些代谢途径,见图 4F~4H。

3.6 肠道菌群与血清代谢物的相关性分析 通过计算 Spearman 相关系数,系统分析了盲肠内容物中肠道菌群属水平与血清中代谢物之间的关系。血清代谢物被分为上下 2 个聚类。下聚类中的大多数代谢物在 FD 大鼠中显著升高,但在 AFA 和 QAFA 作用下显著降低。上聚类中仅有 2 种代谢物在 FD 大鼠中发生改变,并在 AFA 和 QAFA 作用下发生逆转。肠道菌群也被分为左右 2 个聚类。下聚类中的代谢物与左聚类中的菌群呈正相关,与右聚类中的菌群呈负相关。值得注意的是,有益菌 *Prevotella* 与下聚类中的代谢物呈负相关,而有害菌 *Ruminococcus* 与下聚类中的代谢物呈正相关。QAFA 和 AFA 均显著降低了 *Ruminococcus* 的水平,AFA 还增加了 *Prevotella* 的丰度。这些发现表明,QAFA 和 AFA 通过重塑肠道菌群的组成,特别是通过调节 *Ruminococcus* 和 *Prevotella* 的相对丰度,进而调节磷脂代谢,见图 5。



相关系数 R 以渐变颜色表示,其中红色和蓝色单元格分别表示正相关和负相关。

图 5 FD 大鼠盲肠肠道微生物群与血清代谢物的相关性热图

Fig. 5 Heat map of correlation between cecal gut microbiota and serum metabolites in FD rats

4 讨论

本研究评估并比较了 QAFA 和 AFA 对 FD 大鼠的治疗效果。此外,通过 16S rRNA 测序分析盲肠内容物中的肠道菌群以及血清代谢组学分析,探讨其治疗 FD 的作用机制。QAFA 和 AFA 可通过调节胃肠激素、肠道菌群和血液磷脂代谢来改善 FD 大鼠的症状。

胃排空和小肠推进率是 FD 模型的重要指标^[14-15]。QAFA 和 AFA 显著增强了肠推进率,QAFA 同时显著提高了胃排空率,而 AFA 仅表现出促进胃排空的趋势,这些发现提示,QAFA 的效果可能强于 AFA。

胃肠激素在调节胃肠动力中起着关键作用,是胃肠动力障碍药物开发的靶点^[16]。胃泌素是由十二指肠和胃窦部的 G 细胞加工修饰的胃肠激素,可促进胃肠黏膜生长和动力^[17]。VIP 是一种肠道肽类激素,作为胃肠道抑制性运动神经元的介质,向大脑传递饱腹信号以减少食欲^[18]。本研究发现 QAFA 和 AFA 逆转了雌性大鼠血清胃泌素和 VIP 水平的变化,而在雄性大鼠中虽然存在类似趋势,但效果并不显著。据报道,在质子泵抑制剂治疗期间,女性患者胃泌素水平高于男性患者,表明胃泌素升高存在性别特异性影响^[19-20]。有报道称患有腹泻型肠易激综合征(IBS)女性患者的 VIP 水平高于健康志愿者^[21]。这些发现提示,QAFA 和 AFA 可能通过性别依赖的方式调节胃肠激素的释放,从而改善 FD 大鼠的胃肠动力。

临床研究表明,肠道屏障完整性受损与 FD 的发生和持续有关^[22-23]。MUC2 和黏液层是维持肠道屏障完整性和功能的关键调控靶点^[24-25]。此外,ZO-1 和 occludin 作为经典的细胞间紧密连接蛋白,在屏障功能和调节肠道通透性中起着至关重要的作用^[22]。组织学检查显示,QAFA 和 AFA 显著减轻了 FD 大鼠黏膜脱落进入肠腔以及炎症细胞浸润的情况。同时,QAFA 和 AFA 上调了 FD 大鼠十二指肠组织中 MUC2、ZO-1 和 occludin 蛋白的表达水平。上述结果表明,QAFA 和 AFA 均可修复 FD 大鼠受损的肠道黏膜屏障。

FD 的病理机制涉及肠道菌群的失调^[26-28],肠道菌群在调节肠道黏膜屏障功能、肠道免疫系统和肠-脑轴方面发挥着关键作用^[29-30]。肠道菌群失调会导致肠道屏障异常和功能障碍,肠道免疫反应激

活,并引发包括 FD 在内的消化道疾病^[26-27]。菌群失调还会通过肠道菌群与激素之间的相互作用破坏肠-脑轴的稳态^[31]。肠-脑轴的紊乱会影响胃肠激素和神经活性物质的释放和功能,而这些物质对于调节包括 FD 在内的消化系统疾病中的食欲和情绪反应(如焦虑和抑郁)至关重要^[30]。因此,QAFA 和 AFA 可能通过纠正肠道菌群失调来改善胃肠动力、修复受损的肠道黏膜屏障以及调节胃肠激素的释放,从而缓解 FD。

肠道菌群失调的特征是肠道微生物的相对丰度、组成和功能的改变,这会破坏免疫和代谢稳态^[32]。QAFA 和 AFA 中的黄酮类化合物已被报道可通过调节肠道微生物群落来预防肥胖或结肠炎^[33-34]。本研究使用 16S rRNA 测序分析了 FD 大鼠盲肠内容物中的肠道菌群。观察到 FD 大鼠中 *Ruminococcus* 的丰度较高,而 *Prevotella*、*Lactobacillus* 和 *Clostridia_UCG-014* 的含量较低。在炎症性肠病(IBD)中,肠道氧化应激反应为 *Ruminococcus* 的生存和繁殖创造了有利环境,*Ruminococcus* 在 IBD 患者中显著富集,被认为是 IBD 中改变菌群群落的关键成员^[35]。肠道菌群产生的短链脂肪酸(SCFAs)有益于宿主健康。*Prevotella* 和 *Lactobacillus* 等有益菌可产生 SCFAs 以减轻炎症反应^[36-38]。研究表明,FD 患者中 *Prevotella* 的丰度降低,并且与产后抑郁症状的严重程度呈负相关^[39]。一些益生菌如 *Clostridia_UCG-014* 和 *Lactobacillus* 与色氨酸代谢相关,已被证明可改善 DSS 诱导的结肠炎中的肠道菌群失衡^[40]。因此,*Ruminococcus* 丰度的增加以及 *Prevotella*、*Lactobacillus* 和 *Clostridia_UCG-014* 丰度的降低可能会破坏肠道屏障,导致十二指肠炎症,最终引发 FD。QAFA 和 AFA 的给药降低了 FD 大鼠中有害菌 *Ruminococcus* 的百分比含量。此外,AFA 提高了有益菌 *Prevotella* 和 *Lactobacillus* 的相对含量,而 QAFA 提高了益生菌 *Clostridia_UCG-014* 的丰度。这些结果表明,QAFA 和 AFA 通过调节特定的肠道菌群恢复了 FD 大鼠的肠道菌群稳态,但在调节的肠道菌群方面存在一些差异。

肠道菌群可以代谢营养物质并产生特定的代谢物,这些代谢物会影响血清代谢组并干预疾病^[41-42]。血清代谢组学分析发现,QAFA 和 AFA 在 FD 大鼠中诱导的富集代谢途径包括甘油磷脂代谢、鞘磷脂代谢和胆碱代谢。磷脂是生物膜的主要成

分。FD 建模导致包括 4 种 SM、1 种 PS、2 种 PE 和 8 种 PC 在内的多种磷脂水平发生变化,这些变化大多被 QAFA 和 AFA 逆转。PC 是肠道黏液的基本成分,有助于屏障完整性^[43]。越来越多的证据表明,FD 患者中存在脂质代谢紊乱^[42,44-45]。在本研究中,进一步对血清代谢物和肠道菌群进行分析发现,QAFA 和 AFA 均降低了有害菌 *Ruminococcus* 的水平,AFA 还提高了有益菌 *Prevotella* 的水平,有助于恢复 FD 大鼠的血液代谢物水平。这提示 AFA 和 QAFA 可能通过调节 FD 大鼠中某些特定的肠道菌群来恢复血液磷脂水平。此外,PPAR α 被认为是调节脂质代谢的关键靶点,其在胃窦中的激活可促进胃泌素的释放^[12-13]。AFA 和 QAFA 显著逆转了 FD 大鼠胃窦组织中 PPAR α 蛋白表达的下调,这证实了 AFA 和 QAFA 可能通过激活 PPAR α 来调节磷脂代谢并促进胃泌素的释放,但这需要进一步研究。

综上所述,QAFA 和 AFA 可改善 FD 大鼠的胃肠动力障碍、修复肠道黏膜屏障。它们主要通过调节 *Ruminococcus*、*Prevotella*、*Lactobacillus* 和 *Clostridia*、*UCG-014* 等这些特定的肠道菌群来恢复胃肠激素和磷脂代谢,从而改善大鼠的 FD 症状。然而,QAFA 和 AFA 在调节的具体肠道菌群方面存在一些差异。该研究为促进 QAFA 在治疗 FD 中的应用提供了科学依据。

[参考文献]

- [1] FORD A C, MAHADEVA S, CARBONE M F, et al. Functional dyspepsia[J]. *Lancet*, 2020, 396(10263): 1689.
- [2] RODIÑO-JANEIRO B K, ALONSO-COTONER C, PIGRAU M, et al. Role of corticotropin-releasing factor in gastrointestinal permeability[J]. *J Neurogastroenterol*, 2015, 21(1): 33.
- [3] BROWN G, HOEDT E C, KEELY S, et al. Role of the duodenal microbiota in functional dyspepsia[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2022, 34(11): e14372.
- [4] 徐礼萍, 宋剑锋, 赵四清, 等. 常山胡柚与不同来源枳壳对理气宽中功能的药效差异比较[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(7): 156.
- [5] 赵维良, 郭增喜, 张文婷, 等. 药材枳壳基原植物种类及地理分布研究[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(21): 191.
- [6] 郑成, 赵维良, 宋剑锋, 等. 衢枳壳作为枳壳药用的论证和研究[J]. *中国现代应用药学*, 2022, 39(16): 2096.
- [7] ZHANG Q, SONG W, TAO G, et al. Comparison of chemical compositions and antioxidant activities for the immature fruits of *Citrus changshan-huyou* Y. B. Chang and *Citrus aurantium* L. [J]. *Molecules*, 2023, 28(13): 5057.
- [8] ZHU J, TONG H, YE X, et al. The effects of low-dose and high-dose decoctions of Fructus Aurantii in a rat model of functional dyspepsia [J]. *Med Sci Monitor*, 2020, 26: e919815.
- [9] FANG Y, HUANG Y, LI Q, et al. Integrated metabolomics and network pharmacology to reveal the mechanisms of processed aurantii fructus in the treatment of CUMS-induced functional dyspepsia[J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 337: 118765.
- [10] 刘倩, 沈晓萍, 王宇, 等. 枳壳陈皮饮治疗肝胃不和型功能性消化不良的临床效果[J]. *中国医药导报*, 2023, 20(22): 123.
- [11] YU Z, LI D, SUN H. Herba Origani alleviated DSS-induced ulcerative colitis in mice through remodeling gut microbiota to regulate bile acid and short-chain fatty acid metabolisms [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 161: 114409.
- [12] BOUGARNE N, WEYERS B, DESMET S J, et al. Molecular actions of PPAR α in lipid metabolism and inflammation [J]. *Endocr Rev*, 2018, 39(5): 760.
- [13] XU P, GILDEA J J, ZHANG C, et al. Stomach gastrin is regulated by sodium via PPAR- α and dopamine D1 receptor [J]. *J Mol Endocrinol*, 2020, 64(2): 53.
- [14] 赵薇, 张亚茜, 姜宇轩, 等. 柴胡疏肝散及其加减方治疗功能性消化不良的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(17): 248.
- [15] BANKS K P, REVELS J W, TAFTI D, et al. Scintigraphy of gastrointestinal motility: best practices in assessment of gastric and bowel transit in adults [J]. *Radio Graphics*, 2024, 44(6): e249005.
- [16] MORI H, VERBEURE W, SCHOL J, et al. Gastrointestinal hormones and regulation of gastric emptying [J]. *Curr Opin Endocrinol*, 2022, 29(2): 191.
- [17] SCHUBERT M L, REHFELD J F. Gastric peptides-gastrin and somatostatin [J]. *Compr Physiol*, 2019, 10(1): 197.
- [18] IWASAKI M, AKIBA Y, KAUNITZ J D. Recent advances in vasoactive intestinal peptide physiology and pathophysiology: focus on the gastrointestinal system [J]. *F1000 Res*, 2019, 8: 1629.
- [19] HELGADÓTTIR H, METZ D C, YANG Y X, et al. The effects of long-term therapy with proton pump inhibitors on meal stimulated gastrin [J]. *Digest Liver Dis*, 2014, 46(2): 125.
- [20] HELGADÓTTIR H, LUND S H, GIZURARSON S, et al. Predictors of gastrin elevation following proton pump inhibitor therapy [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2020, 54(3): 227.
- [21] SOHN W, LEE O Y, LEE S P, et al. Mast cell number, substance P and vasoactive intestinal peptide in irritable bowel syndrome with diarrhea [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2013, 49(1): 43.
- [22] VANHEEL H, VICARIO M, VANUYTSEL T, et al. Impaired duodenal mucosal integrity and low-grade inflammation in functional dyspepsia [J]. *Gut*, 2014, 63(2): 262.
- [23] PUTHANMADHOM NARAYANAN S, O' BRIEN D R,

- SHARMA M, et al. Duodenal mucosal barrier in functional dyspepsia[J]. Clin Gastroentero, 2022, 20(5): 1019.
- [24] LEON-CORIA A, KUMAR M, WORKENTINE M, et al. Muc2 mucin and nonmucin microbiota confer distinct innate host defense in disease susceptibility and colonic injury[J]. Cell Mol Gastroenter, 2021, 11(1): 77.
- [25] LIU Y, YU Z, ZHU L, et al. Orchestration of MUC2-the key regulatory target of gut barrier and homeostasis: a review[J]. Int J Biol Macromol, 2023, 236: 123862.
- [26] TZIATZIOS G, GKOLFAKIS P, PAPANIKOLAOU I S, et al. Gut microbiota dysbiosis in functional dyspepsia [J]. Microorganisms, 2020, 8(5): 691.
- [27] ZHOU L, ZENG Y, ZHANG H, et al. The role of gastrointestinal microbiota in functional dyspepsia: a review[J]. Front Physiol, 2022, 13:910568.
- [28] SHANAHAN E R, KANG S, STAUDACHER H, et al. Alterations to the duodenal microbiota are linked to gastric emptying and symptoms in functional dyspepsia[J]. Gut, 2023, 72(5): 929.
- [29] CANI P D. Interactions between gut microbes and host cells control gut barrier and metabolism[J]. Int J Obes Supp, 2016, 6(1): S28.
- [30] DING J H, JIN Z, YANG X X, et al. Role of gut microbiota via the gut-liver-brain axis in digestive diseases [J]. World J Gastroenter, 2020, 26(40): 6141.
- [31] SUN L J, LI J N, NIE Y Z. Gut hormones in microbiota-gut-brain cross-talk[J]. Chin Med J, 2020, 133(7): 826.
- [32] CHOW J, TANG H, MAZMANIAN S K. Pathobionts of the gastrointestinal microbiota and inflammatory disease [J]. Curr Opin in Immunol, 2011, 23(4): 473.
- [33] BAI Y F, WANG S W, WANG X X, et al. The flavonoid-rich Quzhou Fructus Aurantii extract modulates gut microbiota and prevents obesity in high-fat diet-fed mice[J]. Nutr Diabetes, 2019, 9(1):30.
- [34] CHEN S Y, ZHOU Q Y J, CHEN L, et al. The Aurantii Fructus immaturus flavonoid extract alleviates inflammation and modulate gut microbiota in DSS-induced colitis mice [J]. Front Nutr, 2022, 9: 1013899.
- [35] HALL A B, YASSOUR M, SAUK J, et al. A novel *Ruminococcus gnavus* clade enriched in inflammatory bowel disease patients[J]. Genome Med, 2017, 9(1):103.
- [36] CHEN Y, LIU Y, WANG Y, et al. *Prevotellaceae* produces butyrate to alleviate PD-1/PD-L1 inhibitor-related cardiotoxicity via PPAR α -CYP4X1 axis in colonic macrophages [J]. J Exp Clin Canc Res, 2022, 41(1): 1.
- [37] XU B, WANG Z, WANG Y, et al. Milk-derived *Lactobacillus* with high production of short-chain fatty acids relieves antibiotic-induced diarrhea in mice [J]. Food Funct, 2024, 15 (10): 5329.
- [38] ZHENG J, AHMAD A A, YANG C, et al. Orally administered *Lactobacillus rhamnosus* CY12 alleviates DSS-induced colitis in mice by restoring the intestinal barrier and inhibiting the TLR4-MyD88-NF- κ B pathway via intestinal microbiota modulation[J]. J Agric Food Chem, 2024,doi: 10.1021/acs.jafc.3c07279.
- [39] NAKAE H, TSUDA A, MATSUOKA T, et al. Gastric microbiota in the functional dyspepsia patients treated with probiotic yogurt [J]. BMJ Open Gastroenterol, 2016, 3 (1): e000109.
- [40] YANG C, DU Y, REN D, et al. Gut microbiota-dependent catabolites of tryptophan play a predominant role in the protective effects of turmeric polysaccharides against DSS-induced ulcerative colitis[J]. Food Funct, 2021, 12(20): 9793.
- [41] LIU R, HONG J, XU X, et al. Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention[J]. Nat Med, 2017, 23(7): 859.
- [42] FAN S, ZHU H, LIU W, et al. Comparing massa medicata fermentata before and after charred in terms of digestive promoting effect via metabolomics and microbiome analysis [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 327: 117989.
- [43] STREMMEL W, EHEHALT R, STAFFER S, et al. Mucosal protection by phosphatidylcholine [J]. Diges Dis, 2012, 30 (3): 85.
- [44] MOKHTARE M, MIRFAKHRAEE H, ARSHAD M, et al. The effects of *Helicobacter pylori* eradication on modification of metabolic syndrome parameters in patients with functional dyspepsia[J]. Diabetes Metab Syndr, 2017, 11: S1031.
- [45] KARPE A V, LIU J W, SHAH A, et al. Utilising lipid and arginine and proline metabolism in blood plasma to differentiate the biochemical expression in functional dyspepsia (FD) and irritable bowel syndrome (IBS) [J]. Metabolomics, 2022, 18 (6): 38.

[责任编辑 陈玲]