DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.05.033

醒脾胶囊对功能性消化不良大鼠十二指肠黏膜屏障和肠道菌群的影响

黄明月[1],朱镕鑫[1],王港[1],刘相凝[1],芮芳芳[1],王可妍[1],吕迎兰[1],李春[1,2]
(1.北京中医药大学中医学院,证候与方剂基础研究北京市重点实验室,证候与方剂基础研究教育部重点实验室,北京 100029;
2.北京中医药大学中医药研究院中药现代研究中心,北京 100029)

摘要:目的 探讨醒脾胶囊治疗功能性消化不良(Functional dyspepsia,FD)的药效研究。方法 将60只SPF级大鼠随机分成正常组、模型组、醒脾胶囊低剂量组[0.135 g/(kg·d)]、醒脾胶囊高剂量组[0.54 g/(kg·d)]和多潘立酮组[3 mg/(kg·d)],每组12只。除正常组灌胃2%蔗糖0.2 mL外,其余各组采用碘乙酰胺灌胃法制备功能性消化不良大鼠模型,连续6 d。后续正常饲养至第8周。第8周开始,正常组和模型组给予同体积蒸馏水灌胃,给药组给予相应药物灌胃,连续1周。检测各组大鼠宏观体征、胃排空率、小肠推进率;酶联免疫吸附测定法(Enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)检测血清中血管活性肠肽(Vasoactive intestinal peptide,VIP)和P物质(Substance P,SP)含量;苏木精-伊红染色法(Hematoxylin-eosin,HE)观察胃、十二指肠组织形态;免疫组化检测紧密连接蛋白(Zonula occludens-1,ZO-1)表达;聚合酶链式反应(Real-time reverse transcription-polymerase chain reaction,RT-PCR)检测ZO-1、紧密连接蛋白(Occludin)mRNA表达;蛋白质免疫印迹法(Western blot,WB)检测Occludin蛋白表达;通过16S rRNA测序分析肠道菌群的种类和丰度的变化。结果 与正常组相比,模型组的体质量降低,大鼠皮毛枯泽,抓力减弱,旷场总路径、胃排空率、小肠推进率降低($P<0.01$),HE染色部位可见杯状细胞排列紊乱,Elisa结果显示VIP含量升高,SP含量降低($P<0.01$),免疫组化结果显示ZO-1表达降低($P<0.01$),PCR结果显示ZO-1、Occludin mRNA表达降低($P<0.01$),WB结果显示Occludin蛋白表达降低($P<0.01$);与模型组相比,醒脾胶囊组和多潘立酮组大鼠精神状态明显改善,胃排空率、小肠排空率升高($P<0.05$,$P<0.01$),Elisa结果显示血清VIP含量降低,SP含量升高($P<0.05$,$P<0.01$),免疫组化结果显示ZO-1表达升高($P<0.05$,$P<0.01$),PCR结果显示ZO-1、Occludin mRNA表达升高($P<0.05$,$P<0.01$),WB结果显示Occludin蛋白表达升高($P<0.01$),且高剂量醒脾胶囊干预大鼠治疗效果显著;16S rRNA测序分析显示,与正常组相比,模型组肠道菌群整体结构发生显著变化;与模型组相比,醒脾胶囊高剂量组和多潘立酮组的肠道菌群整体结构更接近正常组,Chao1、Shannon指数降低($P<0.01$);通过物种组成分析,与正常组相比,模型组*Firmicutes*门相对丰度降低;与模型组相比,醒脾胶囊高剂量组和多潘立酮组*Firmicutes*门相对丰度升高;组间差异显著性分析发现醒脾胶囊高剂量组对肠道菌群稳态具有积极作用。结论 醒脾胶囊通过改善十二指肠黏膜屏障受损情况并调控肠道菌群稳态,以达到治疗功能性消化不良的作用。

关键词:FD;醒脾胶囊;肠道菌群;16S rRNA基因测序
中图分类号:R289.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)05-0177-11

Effects of Xingpi Capsules(醒脾胶囊) on Duodenal Mucosal Barrier and Gut Microbiota in Rats with Functional Dyspepsia

HUANG Mingyue[1],ZHU Rongxin[1],WANG Gang[1],LIU Xiangning[1],RUI Fangfang[1],WANG Keyan[1],LYU Yinglan[1],LI Chun[1,2]
(1. Beijing Key Laboratory of Syndrome and Prescription Basic Research,Key Laboratory of Syndrome and Prescription Basic Research,Ministry of Education,School of Traditional Chinese Medicine,Beijing University of Chinese Medicine,Beijing 100029,China;
2. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine,Beijing Academy of Traditional Chinese Medicine,Beijing University of Chinese Medicine,Beijing 100029,China)

Abstract:*Objective* To explore the efficacy and possible mechanism of Xingpi Capsule(醒脾胶囊) in the treatment of functional dyspepsia(FD). *Methods* Sixty SPF grade rats were randomly divided into normal group, model group, low-dose Xingpi Capsule group[0.135 g/(kg·d)], high-dose Xingpi Capsule group[0.54 g/(kg·d)] and domperidone group[3 mg/(kg·d)], with 12 rats in each group. Except for the normal group, which was given 0.2 mL of 2% sucrose by gavage, the other groups were used to prepare the functional dyspepsia rat models by gavage with iodoacetamide for 6 consecutive days. Then the rats were normally fed until the 8th week. Starting from the 8th week, the normal group and the model group were given the

基金项目:国家自然科学基金项目(8222200821);北京中医药大学校企合作项目(JXHT-202012-011)
作者简介:黄明月(2001-),女,四川广安人,硕士在读,研究方向:中西医结合防治心血管疾病。
通讯作者:李春(1985-),女,内蒙古鄂尔多斯人,研究员,博士研究生导师,博士,研究方向:中西医结合防治心血管疾病。E-mail:lichun19850204@163.com。

same volume of distilled water by gavage, while the treatment groups were given the corresponding medication by gavage for one week. The macroscopic signs, gastric emptying rate, small intestine propulsion rate, serum levels of vasoactive intestinal peptide (VIP) and substance P(SP) were detected by using enzyme - linked immunosorbent assay(ELISA). The morphology of gastric and duodenal tissues were observed using hematoxylin eosin staining(HE). The ZO - 1 protein expression was observed using immunohistochemistry method. The mRNA expressions of ZO - 1 and Occludin were detected using polymerase chain reaction (RT - PCR), and Occludin protein expression was detected using Western blot(WB). The changes in the types and abundance of gut microbiota were analyzed through 16S rRNA sequencing. *Results* Compared with the normal group, the model group showed a decrease in body weight, rat fur withered and discolored, reduced grip, decreased open field total pathway, gastric emptying rate and small intestine propulsion rate($P < 0.01$). The HE staining site showed disordered arrangement of goblet cells. ELISA results showed an increase in VIP content and a decrease in SP content($P < 0.01$), while immunohistochemistry results showed a decrease in ZO - 1 expression($P < 0.01$). PCR results showed a decrease in mRNA expressions of ZO - 1 and Occludin ($P < 0.01$), and WB result showed a decrease in Occludin protein expression. Compared with those in the model group, the mental state of the rats in the Xingpi Capsule groups and the domperidone group was significantly improved, with increased gastric emptying rate and small intestinal emptying rate($P < 0.05$, $P < 0.01$). ELISA results showed a decrease in serum VIP content and an increase in SP content($P < 0.05$, $P < 0.01$). Immunohistochemistry results showed an increase in ZO - 1 expression($P < 0.05$, $P < 0.01$). RT - PCR results showed an increase in mRNA expressions of ZO - 1 and Occludin($P < 0.05$, $P < 0.01$). WB results showed an increase in Occludin protein expression($P < 0.01$), and high - dose Xingpi Capsule group had a significant therapeutic effect on the rats. 16S rRNA sequencing analysis showed significant changes in the overall structure of the gut microbiota in the model group compared to those in the normal group. Compared with that in the model group, the overall structure of gut microbiota in the high - dose Xingpi Capsule group and the domperidone group was closer to that in the normal group, with decreased Chao1 and Shannon indices($P < 0.01$). Through species composition analysis, the relative abundance of *Firmicutes* phylum in the model group decreased compared to that in the normal group. Compared with that in the model group, the relative abundance of *Firmicutes* phylum increased in the high - dose Xingpi Capsule group and the domperidone group. The significant difference analysis among groups found that the high - dose Xingpi Capsule group had a positive effect on the homeostasis of intestinal microbiota. *Conclusion* Xingpi Capsule can improve the damage of duodenal mucosal barrier and regulate the steady state of intestinal microbiota to achieve the effect of treating functional dyspepsia.

Keywords: FD; Xingpi Capsule(醒脾胶囊); gut microbiota; 16S rRNA gene sequencing

功能性消化不良(Functional dyspepsia,FD)是消化系统中最常见的功能性胃肠道疾病之一,发病部位主要在胃和十二指肠区域,具有缓慢性、反复性等特点,症状多表现为上腹部疼痛或灼烧感,餐后饱胀感、早饱感,可伴有嗳气、恶心呕吐等症状,但通常无器质性病变,严重影响着患者身心健康和生活质量,并造成沉重的社会经济负担[1-2]。FD在全球患病率高达21.8%[3],但目前其发病机制尚不明确,以往研究多与胃肠动力障碍、内脏高敏感性、脑肠轴、十二指肠黏膜改变、幽门螺杆菌感染等方面有关[4-5]。近年来越来越多的研究发现肠道菌群稳态影响着FD[6-7]。中医学认为该病主要是由寒凝食积,耗伤正气,脾虚气滞,胃失和降,导致肠内容物蓄积,引起肠道菌群失调,防御功能减弱,表现为肠道屏障功能受损等,从而引发消化系统疾病[8]。治疗应以健脾疏肝理气为主,但目前临床上针对FD治疗采用H2受体拮抗剂和抗焦虑药等,长期服用给患者带来许多不良反应,因此探索治疗功能性消化不良的药物尤为重要[9-10]。

醒脾胶囊由毛大丁草、蜘蛛香、一点红及山栀茶组成。其中毛大丁草在传统用药中,常被用来治疗消化不良、肠炎等疾病,具有抗菌、提高免疫、清热解毒等活性作用[11-12];山栀茶在《福建药物志》中被记载[13],具有清热利湿、解痉止痛的功效;一点红具有气血双补、清热解毒、抗炎抗菌的功效[14-15];蜘蛛香具有止呕止泻、健脾消食的功效,研究表明蜘蛛香能明显改善大鼠肠易激综合征[16]。醒脾胶囊在临床上对食欲不振、腹痛等症状有改善作用,且具有"醒脾开胃,养血安神"功效[17-18]。

综上,本研究通过建立FD型的大鼠模型,并结合16S rRNA测序,探究醒脾胶囊是否可以通过调控肠道菌群的种类,改善指肠黏膜屏障受损,从而缓解FD症状的一种安全有效的治疗方式。

1 材料

1.1 实验动物

SPF级SD新生大鼠60只,母鼠12只,用于提供母乳喂养乳鼠,购自北京斯贝福生物科技有限公司,动物合格证号:SCXK[京]2021-0006。该动物研究方案已获得北京中医药大学实验动物伦理委员会的批准(批准号:BUCM-4-2021071602-3120)。

1.2 药品与试剂

蔗糖(PHR1001,SIGMA-ALDRICH,美国);碘乙酰胺(A3221,SIGMA-ALDRICH,美国);醒脾胶囊(国药准字Z20028021,贵州健兴药业有限公司,中国);多潘立酮(LDJ0272,西安杨森制药有限公司,中国);HE染液套装(G1003,Servicebio,中国);VIP ELISA试剂盒(RX302215R,泉州睿信生物科技有限公司,中国);SP ELISA试剂盒(RA20646,武汉贝茵莱生物科技,中国);戊巴比妥钠粉末(Merck,德国);Occludin抗体(27260-1-AP,Proteintech,美国);Goat Anti-Rabbit IgG(H+L)HRP抗体(AB0101,Abways,中国);ZO-1抗体(GB111402,Servicebio,中国)。

1.3 主要仪器

电子天平(SPT-ALC-V8S,豪洋,中国);医用低温冰箱(-80 ℃)(MDF-U33V,SANYO,日本);制冰机(NO.200186,ANYO SIM-F140AY65,日本);低温高速离心机(75004250,Thermo Fisher,德国);大小鼠抓力测定仪(YLS-13A,济南益延科技发展有限公司,中国);包埋机、冻台(JB-P5、JB-L5,

武汉俊杰电子有限公司,中国);病理切片机(RM2016,上海徕卡仪器有限公司,中国);4 ℃实验室冰箱(TSX5005SV ,Thermo,美国);酶标仪[SpectraMax i3x,普思百得(北京)科技发展有限公司,中国];正置光学显微镜、成像系统(Nikon Eclipse E100、NIKON DS-U,北京创诚致佳科技有限公司,中国);凝胶成像仪(ChemiDoc™ XRS +,Bio-Rad,美国);组织研磨仪(QIAGEN,TissueLyuer Ⅱ 40714,德国);旷场平台(ZS-KC,北京众实迪创科技,中国)。

2 方法

2.1 FD大鼠模型制备及分组

实验动物适应性喂养3 d后,随机选取12只SD新生大鼠作为对照组,持续6 d灌胃0.2 mL 2%蔗糖,其余48只SD新生大鼠为造模组,持续6 d给予0.1%碘乙酰胺和2%蔗糖的混合液0.2 mL灌胃构建FD大鼠模型[19]。后正常饲养至第8周,将造模组按照随机数字表均分为模型组、醒脾胶囊低剂量组[0.135 g/(kg·d)]、醒脾胶囊高剂量组[0.54 g/(kg·d)]和多潘立酮组[3 mg/(kg·d)],各给药组动物给予相应药物,对照组和模型组动物则给予同体积生理盐水(10 mL/kg)。每天同一时间对动物进行灌胃给药,持续7 d。

2.2 观察指标与检测方法

2.2.1 大鼠宏观体征采集 造模后,每日定时观察并记录各组大鼠体质量、进食量、活动度、大便干燥度以及毛发光泽度等变化。

2.2.2 行为学 通过抓力实验、旷场实验指标变化判断大鼠精神状态、行动能力。(1)抓力实验:实验开始前需将仪器水平放置并校准仪器,将大鼠轻轻放置于抓力板上,抓住鼠尾轻轻向后拉,待动物抓牢抓力板后,均匀用力向后拉,直到动物松开抓力板,记录其最大抓力值,每只大鼠重复操作3次取其平均值。(2)旷场实验:准备四周壁为蓝色、底面为黑色的100 cm×100 cm×40 cm的空旷箱,将其分成若干个网格,调准摄像头对准旷场。实验开始前,提前将大鼠放入箱内2 h适应环境。每次都需从相同角落放鼠,并让其在箱子中自由运动5 min,观察并记录大鼠的运动总路径。

2.3 胃排空率和小肠排空率

给药治疗结束后,将各组大鼠禁食24 h后,给予碳素墨水1 mL/100 g,30 min后,腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,采血后,分离出胃和肠。胃:取出后,称其全质量(M1),再剪开胃,使用生理盐水清洗内容物,用滤纸将其拭干后,称取胃净质量(M2)。胃排空率(%)=[1-(M1-M2)/灌胃量]×100%。肠:将肠道平铺于实验台上,避免拉拽。再轻柔地将小肠伸展成一条直线,并使用直尺测量小肠长度(L1)及碳素墨水所达的长度(L2)。小肠推进率(%)=L2/L1×100%。

2.4 Elisa

采用真空采血管进行腹主动脉取血,取血后,静置2 h。提前冷却离心机并设置好参数,3000 r/min离心10 min ,离心后取其上清液测定VIP、SP含量,严格按照试剂盒说明书操作具体步骤,在酶标仪450 nm波长上测定吸光度,根据拟合的标品曲线计算样本中VIP、SP浓度,单位为ng·mL^{-1}。

2.5 HE染色观察胃和十二指肠组织病理学变化

将各组大鼠取出的胃和十二指肠组织置于4%多聚甲醛组织固定液中固定48 h,固定后,使用双蒸水清洗组织样本后,再进行酒精梯度脱水、浸蜡、包埋,将蜡块切成4 μm切片贴附于载玻片上,再脱蜡、苏木素-伊红染色、脱水、透明、中性树胶封片后,将切片置于显微镜上,调整参数观察各组大鼠组织病理学变化情况并采集图像。

2.6 免疫组化法检测十二指肠ZO-1表达

十二指肠石蜡切片脱蜡至水,抗原修复,切片放入3%双氧水溶液室温避光孵育25 min,PBS清洗3次,每次5 min,室温血清封闭30 min,加入一抗(ZO-1 1∶500),二抗,滴加新鲜配制的DAB显色液显色,苏木素复染细胞核3 min左右,脱水封片,镜检拍照,采用CaseViewer及ImageJ软件统计分析。

2.7 RT-PCR

RT-PCR检测大鼠十二指肠组织相关mRNA表达,取大鼠十二指肠30 mg;加裂解液匀浆,冰上裂解5 min,提取总RNA。并通过NanoDrop 2000进行测定。随后,使用耐高温完全预混的第一链cDNA合成试剂盒将RNA逆转录为cDNA。使用PCR SuperMix试剂盒将cDNA扩增,按照94 ℃ 10 min进行40次循环,94 ℃ 15 s,60 ℃ 60 s。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计合成,引物序列见表1。

表1 实时荧光PCR引物序列

基因	引物序列	长度/(bp)
GAPDH	Forward:5′-GGAGAAACCTGCCAAGTATGA-3′	21
	Reverse:3′-TTGAAGTCACAGGAGACAACC-5′	21
Occludin	Forward:5′-AACGGCAAAGTGAATGGCAAGAG-3′	23
	Reverse:3′-CCACGGACAAGGTCAGAGGAATC-5′	23
ZO-1	Forward:5′-CGCAGCCAGTTCAAACAAAGTTCC-3′	24
	Reverse:3′-GCAACATCAGCAATCGGTCCAAAG-5′	24

2.8 WB检测十二指肠组织Occludin蛋白表达

称取50 mg的十二指肠组织放入提前预冷的装有钢珠的EP管中,并向其加入RIPA裂解液,用剪刀将其剪碎后,于组织破碎仪中破碎10 min后,静置30 min。将其放入提前预冷的离心机中,并设置好参数,离心后收集管中上清液于新的EP管中,使用BCA法蛋白定量,依据蛋白样品浓度进行配制。将配制好的蛋白样品变性,放入煮沸的水中10 min后取出。按照说明书配制10%的凝胶、电泳液、电转液。上样后,让其在100 V恒压下电泳1.5 h,再在300 mA恒流下电转30 min后,于5%脱脂奶粉中封闭2 h,TBST洗涤3次,用一抗在4 ℃下孵育过夜,使用TBST洗去未结合一抗(β-actin 1∶10 000、Occludin 1∶1000),重复3次后,加入二抗[Goat Anti-Rabbit IgG(H+L)HRP,1∶10 000],并室温摇床孵育2 h,再使用TBST洗涤3次,暗室曝光。采用Image J软件对条带进行分析。

2.9 肠道菌群检测

给药结束后,对各组大鼠粪便进行收集,约2 g,收集的粪便置于冰上无菌EP管中,使用粪便基因组DNA提取试剂盒(TianGen)提取粪便细菌DNA,通过1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA的纯度和浓度后,取适量的样本DNA于离心管中,使用无菌水稀释样本至1 ng/μL。

2.10 16S rRNA测序数据分析

使用Quantitative Insights Into Microbial Ecology 2(QIIME2 V.2021.04)平台对序列进行处理和注释。首先,使用DADA2过滤掉低质量测序读数(Q<30)。然后将高质量读数去噪并聚类为具有100%精确序列匹配的扩增子序列变体(Amplicon sequence variant,ASV)。其次,使用基于greengene2参考数据库序列训练的朴素贝叶斯分类器确定ASV的分类分配。随后,使用q2-phylogeny插件中的多重比对快速傅里叶变换(Multiple alignment using fast fourier transform,MAFFT)对每个ASV的代表性序列进行比对。根据稀疏计数表计算alpha多样性。

2.11 统计学方法

所有数据使用 Graph Pad Prism 8.4.0 软件进行统计分析作图，数据均符合正态分布、方差齐性以均值±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，组间差异用单因素方差分析（One-way ANOVA），且$P<0.05$为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 醒脾胶囊对大鼠宏观体征的影响

给药后对其体质量进行称量，与正常组相比，模型组在造模后体质量明显降低（$P<0.01$）；与模型组相比，给药组体质量均增加，其中醒脾胶囊高剂量组体质量显著增加，差异有统计学意义（$P<0.01$）。进一步，通过抓力、旷场实验反映大鼠自主运动和精神状态。结果显示，与正常组相比，模型组的抓力和旷场总路径明显降低（$P<0.01$），提示模型组大鼠的自主运动能力减弱且焦虑程度增加；与模型组相比，醒脾胶囊低、高剂量组抓力明显升高，醒脾胶囊高剂量组旷场总路径明显升高，差异均有统计学意义（$P<0.01$）；与模型组相比，多潘立酮组抓力、旷场总路径明显升高，差异有统计学意义（$P<0.01$）。见表2、插页XXXVI图1。以上实验结果表明醒脾胶囊对大鼠自主运动具有改善作用。

表2 各组大鼠给药后体质量、抓力值、旷场总路径比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	体质量/(g)	抓力值/(N)	旷场总路径/(cm)
正常组	6	371.500±26.370	0.076 0±0.001	1 945.00±822.700
模型组	6	231.300±12.040##	0.055 3±0.001##	436.200±197.200##
醒脾胶囊低剂量组	6	308.300±40.930**	0.069 0±0.003**	1 121.000±509.500
醒脾胶囊高剂量组	6	377.200±16.800**	0.075 9±0.002**	1 737.000±471.800**
多潘立酮组	6	326.500±20.620**	0.073 2±0.003**	1 733.000±465.900**

注：##与正常组相比，$P<0.01$；**与模型组相比，$P<0.01$。

3.2 各组大鼠胃排空率和小肠推进率比较

与正常组相比，模型组大鼠胃排空率和小肠推进率显著降低（$P<0.01$）；与模型组相比，醒脾胶囊低、高剂量组和多潘立酮组大鼠的胃排空率和小肠推进率显著升高（$P<0.05$，$P<0.01$）；与模型组相比，多潘立酮组大鼠的胃排空率和小肠推进率显著升高，差异有统计学意义（$P<0.01$）。见表3。以上实验结果表明醒脾胶囊能有效促进大鼠的胃动力。

表3 各组大鼠胃排空率和小肠推进率比较（$\bar{x}\pm s$） 单位：%

组别	n	胃排空率	小肠推进率
正常组	6	66.580±3.670	73.250±2.252
模型组	6	43.200±4.750##	44.310±3.618##
醒脾胶囊低剂量组	6	50.270±2.870*	55.810±5.952**
醒脾胶囊高剂量组	6	64.930±4.000**	65.780±7.211**
多潘立酮组	6	58.120±3.890**	56.730±8.430**

注：##与正常组相比，$P<0.01$；*与模型组相比，$P<0.05$；**与模型组相比，$P<0.01$。

3.3 血清 VIP 和 SP

VIP 对胃肠运动有抑制作用，而 SP 是胃肠道中主要的兴奋性神经递质，主要通过激活肌肉细胞途径，发挥对胃肠运动功能调控的作用。与正常组相比，模型组中的血清 VIP 含量明显增加（$P<0.01$）；与模型组相比，醒脾胶囊低、高剂量组和多潘立酮组中的 VIP 含量均明显降低（$P<0.01$）。与正常组相比，模型组中的 SP 含量明显降低（$P<0.01$）；与模型组相比，醒脾胶囊低、高剂量组的 SP 含量均明显升高（$P<0.05$，$P<0.01$）；与模型组相比，多潘立酮组 SP 含量升高，但差异无统计学意义。见表4。上述结果提示功能性消化不良对胃肠运动有明显抑制作用，醒脾胶囊能明显改善胃肠运动功能。

表4 各组大鼠血清 VIP 和 SP 比较（$\bar{x}\pm s$）

单位：ng·mL^{-1}

组别	n	VIP	SP
正常组	6	132.900±9.811	351.300±18.720
模型组	6	203.100±10.390##	268.700±4.138##
醒脾胶囊低剂量组	6	173.500±9.181**	304.900±8.358*
醒脾胶囊高剂量组	6	150.400±10.040**	328.800±6.703**
多潘立酮组	6	165.500±10.840**	292.200±17.830

注：##与正常组相比，$P<0.01$；*与模型组相比，$P<0.05$；**与模型组相比，$P<0.01$。

3.4 各组大鼠胃组织病理学情况

由插页XXXVII图2所示，各组大鼠胃组织黏膜上皮细胞形态结构正常，黏膜下层结缔组织均未见明显坏死及炎性细胞浸润等异常。

3.5 各组大鼠十二指肠组织病理学情况

由插页XXXVIII图3所示，正常组大鼠十二指肠组织结构完整，绒毛表面光滑，形态清晰，杯状细胞排列整齐，固有层未见腺体萎缩。与正常组相比，模型组大鼠十二指肠组织结构紊乱，上皮绒毛断裂肥大较多，杯状细胞排列紊乱，可见大量炎性细胞浸润。与模型组相比，醒脾胶囊高剂量组和多潘立酮组大鼠十二指肠组织结构完整，绒毛表面光滑，排列整齐，炎性细胞浸润减少，单位长度杯状细胞数增加且排列整齐。提示醒脾胶囊具有改善十二指肠组织结构的功能。

3.6 各组大鼠十二指肠组织中 ZO-1 蛋白表达免疫组化结果比较

由插页XXXIX图4所示，ZO-1蛋白主要在十二指肠肠绒毛上皮、肠腺、纹状缘、肠隐窝等处表达。如表5所示，与正常组比较，模型组 ZO-1 蛋白的平均光密度值降低（$P<0.01$）；与模型组相比，醒脾胶囊低、高剂量组和多潘立酮组 ZO-1 蛋白的平均光密度值升高（$P<0.05$，$P<0.01$）。

表5 各组大鼠十二指肠组织中 ZO-1 蛋白平均光密度值比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	ZO-1
正常组	3	25.400±3.620
模型组	3	4.842±0.218##
醒脾胶囊低剂量组	3	13.510±1.991*
醒脾胶囊高剂量组	3	17.580±4.368**
多潘立酮组	3	13.390±2.213*

注：##与正常组相比，$P<0.01$；*与模型组相比，$P<0.05$；**与模型组相比，$P<0.01$。

3.7 PCR 法检测十二指肠中 ZO-1、Occludin 表达

ZO-1 和 Occludin 作为肠道紧密连接蛋白，影响肠黏膜上皮屏障的完整性。由表6可知，与正常组相比，模型组大鼠十二指肠组织中 ZO-1、Occludin 蛋白表达均降低（$P<0.01$）；与模型组相比，醒脾胶囊低、高剂量组和多潘立酮组 ZO-1、Occludin 蛋白表达均升高（$P<0.05$，$P<0.01$）。提示功能性消化

表6 各组大鼠十二指肠中 ZO-1、Occludin 表达（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	ZO-1	Occludin
正常组	3	1.000±0.000	1.000±0.000
模型组	3	0.556±0.058##	0.568±0.042##
醒脾胶囊低剂量组	3	0.788±0.122*	0.723±0.028**
醒脾胶囊高剂量组	3	0.878±0.080**	0.924±0.019**
多潘立酮组	3	0.834±0.113*	0.825±0.027**

注：##与正常组相比，$P<0.01$；*与模型组相比，$P<0.05$；**与模型组相比，$P<0.01$。

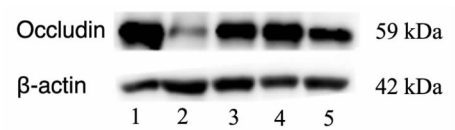
不良对肠黏膜屏障有损伤作用,醒脾胶囊对受损肠黏膜屏障具有改善作用。

3.8 WB 检测十二指肠中 Occludin 表达

与正常组相比,模型组大鼠十二指肠组织中 Occludin 蛋白表达降低($P<0.01$);与模型组相比,醒脾胶囊低、高剂量组和多潘立酮组 Occludin 蛋白表达升高($P<0.01$)。提示醒脾胶囊对受损肠黏膜屏障有改善作用。见图 5、表 7。

3.9 16S rRNA 测序揭示醒脾胶囊对肠道菌群紊乱的调控作用

3.9.1 多样性分析 基于 16S rRNA 测序数据评估微生物群落丰富度与多样性,主要通过 observed_features 图和 Chao1、Shannon 指数进行观测。由插页XXXVI图 6 所示 observed features 曲线图,随着测序深度增加,曲线趋向平坦,表明数据量饱和,测序深度足以捕获绝大多数的物种数目。由表 8 所示,与正常组相比,模型组 Chao1、Shannon 指数均升高($P<0.01$);与模型组相比,醒脾胶囊高剂量组与多潘立酮组 Chao1、Shannon 指数降低($P<0.01$)。



注:1. 正常组;2. 模型组;3. 醒脾胶囊低剂量组;4. 醒脾胶囊高剂量组;5. 多潘立酮组。

图 5 各组大鼠十二指肠组织中 Occludin 蛋白表达

表 7 各组大鼠十二指肠组织中 Occludin 蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Occludin
正常组	3	1.000 ± 0.000
模型组	3	0.373 ± 0.055##
醒脾胶囊低剂量组	3	0.749 ± 0.154**
醒脾胶囊高剂量组	3	0.954 ± 0.047**
多潘立酮组	3	0.746 ± 0.100**

注:##与正常组相比,$P<0.01$;**与模型组相比,$P<0.01$。

表 8 各组大鼠 Chao1、Shannon 指数比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Chao1	Shannon
正常组	6	2.280 ± 0.825	403.400 ± 70.480
模型组	6	4.151 ± 0.618##	749.300 ± 79.940##
醒脾胶囊高剂量组	6	2.700 ± 0.456**	417.500 ± 67.600**
多潘立酮组	6	2.822 ± 0.260**	500.500 ± 47.180**

注:##与正常组相比,$P<0.01$;**与模型组相比,$P<0.01$。

3.9.2 物种丰度变化 由插页XXXVI图 7 所示,我们选取了各组肠道菌群丰度排名前 12 的门,生成物种相对丰度柱状图,其中 *Firmicutes* 门在肠道菌群中占据绝对优势。与正常组相比,模型组中 *Firmicutes* 门的丰度减少;与模型组相比,醒脾胶囊高剂量组中 *Firmicutes* 门的丰度增加。

3.9.3 组间差异显著性 如插页XL图 8、插页XL图 9 所示,为了揭示肠道微生物在各组间的变化,我们通过 LefSe 分析鉴定了模型组与正常组、醒脾胶囊高剂量组与模型组之间属水平的差异。结果显示,与正常组相比,模型组中 *g__UBA1436*、*g__CCUG_7971*、*g__Limivicinus*、*g__UBA7173*、*g__Corynebacterium*、*g__Lactobacillus*、*g__Hydrogeniiclostridium*、*g__CAG_485* 等属丰度升高;与模型组相比,醒脾胶囊高剂量组 *g__Dysosmobacter*、*g__Ornithospirochaeta*、*f__QAKW01*、*g__Enterenecus*、*g__Bacteroides_H* 等属菌群丰度显著升高。这些丰度升高的属,如 *Bacteroides* 属是一种常见的肠道共生菌,其对于维持肠道稳态平衡具有重要作用;*Dysosmobacter* 属能显著改善代谢紊乱,加强肠道屏障,增强免疫作用,减少炎症反应。在高剂量醒脾胶囊处理后,相对于模型组的上调说明了醒脾胶囊对于回调肠道稳态有积极作用。

4 讨论

在中医学中,FD 又名痞满,最早起源于《黄帝内经》,称为“否”“满”“否塞”“否膈”等。本病病位在脾胃,其基本病机为脾胃功能失调,升降失司,气机不畅引起脘腹满闷不舒,多与肝、肾二脏密切相关,因此治疗多以疏肝理气、健脾和胃为主[20-21]。醒脾胶囊由毛大丁草、山栀茶、一点红、蜘蛛香组成。醒脾胶囊具有“醒脾开胃,养血安神”功效,在临床常用于治疗脾气虚弱导致的食欲不振。FD 作为一种具有缓慢性,反复性等特点的功能性胃肠病,其发病机制常与胃肠动力紊乱、胃肠黏膜受损、肠道菌群改变等有关[4-5]。模型组大鼠经醒脾胶囊干预后,大鼠体质量、抓力、旷场总路径显著增加,说明醒脾胶囊具有改善大鼠自主运动的药效作用。且醒脾胶囊能促进模型组大鼠胃排空率和小肠推进率,表明醒脾胶囊对大鼠胃肠动力有明显改善作用。

FD 大鼠症状的发展与 VIP 含量升高具有相关性,VIP 是一种重要的神经递质和激素,它在人体的胃肠道肌肉层和结肠区域等部位较为集中,对胃肠道的运动功能起到抑制效果[22-23]。已有研究指出,通过调控肠道菌群的稳态,可以间接调节 VIP 的含量,从而改善肠黏膜屏障[24]。SP 是胃肠道中主要的兴奋性神经递质,主要通过激活肌肉细胞途径,发挥对胃肠运动功能调控的作用[25]。本研究结果表明,醒脾胶囊通过调节 VIP、SP 含量,改善大鼠的精神状态和胃肠动力。

FD 与肠黏膜屏障密切相关,肠黏膜屏障由肠道上皮细胞与相邻肠道上皮细胞连接组成,是防御有害物质穿过肠道黏膜进入人体组织、器官和血液中的重要防线[26-27]。肠黏膜屏障损伤将导致微生物菌群失调、免疫功能异常、炎症因子增加等影响[28]。在给予醒脾胶囊后,HE 结果显示黏膜屏障得到明显改善,提示醒脾胶囊对十二指肠炎症状态具有改善作用。ZO-1 和 Occludin 作为紧密连接的关键蛋白,在肠道上皮屏障中发挥着至关重要的作用,有助于调控肠道上皮屏障选择性通透和免疫反应,防止病原体和有害抗原从肠腔渗透至黏膜下层,减少肠道及全身性的炎症和免疫应答,通过上调 ZO-1 和 Occludin 蛋白表达可以改善上皮屏障功能[29-30]。本研究结果发现,醒脾胶囊通过上调 ZO-1、Occludin 表达,改善十二指肠黏膜屏障,其疗效与多潘立酮相似。

肠道菌群失调作为 FD 发病机制之一,仍然需要大量研究证实。肠道微生物群是人体内部最为错综复杂的微生物体系之一,且构成了一个庞大的微生物家族[31]。研究表明,肠道微生物群通过影响胃肠动力和干扰肠-脑轴的信号传导等方式促进 FD 的形成与进展,且肠道菌群是最关键的环节[6]。目前已证实肠道菌群的种类和丰度在疾病状态下会出现明显变化[32-34]。本研究探讨了醒脾胶囊对 FD 肠道菌群的影响,对 16S rRNA 基因序列分析,结果表明醒脾胶囊能调控肠道菌群稳态。已有研究指出,肠道菌群与十二指肠黏膜屏障之间存在密切联系[35]。研究发现 ZO-1、Occludin 蛋白表达量与 *Firmicutes* 门呈正相关,提示 *Firmicutes* 门相对丰度升高与肠黏膜屏障改善密切相关。通过组间差异显著性分析,*Lactobacillus* 属丰度在模型组中显著增加,有文献报道,*Lactobacillus* 属丰度与 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine,5-HT)的表达呈负相关性,其有抑制胃肠运动的作用[36]。*Bacteroides* 属丰度和 *Dysos-*

mobacter 属丰度在醒脾胶囊高剂量组中升高。有文献报道，*Bacteroides* 属作为肠道丰度较高的肠道菌群，与炎性因子密切相关，具有促进抗炎因子分泌作用[37]。据报道，*Dysosmobacter* 属具有调控代谢紊乱，减轻炎症，加强肠道菌群屏障的作用[38]。这些菌群丰度变化，说明醒脾胶囊具有调控肠道菌群稳态的积极作用。

综上所述，本工作基于 FD 大鼠模型探究醒脾胶囊治疗功能性消化不良的药效和表型研究，通过大鼠体质量、抓力、旷场总路径、HE 染色、Elisa 等实验证明醒脾胶囊具有促进胃肠蠕动、改善十二指肠黏膜状态、调节肠道菌群紊乱的作用，并通过 16S rRNA 测序揭示了醒脾胶囊对肠道菌群的整体调控。最终，我们证明了醒脾胶囊可以通过改善十二指肠黏膜屏障损伤并调控肠道菌群稳态，以达到治疗功能性消化不良的目的。为中医药在治疗胃肠道疾病方面提供了坚实的实验依据。

参考文献

[1] FORD A C, MAHADEVA S, CARBONE M F, et al. Functional dyspepsia[J]. Lancet, 2020, 396(10263): 1689 - 1702.
[2] NEE J, ZAKARI M, LEMBO A J. Novel therapies in IBS - D treatment [J]. Curr Treat Options Gastroenterol, 2015, 13(4): 432 - 440.
[3] 王治铭, 伍丽萍, 孙晓滨, 等. 功能性消化不良发病机制研究进展[J]. 医学研究杂志, 2021, 50(6): 161 - 164.
[4] 卢小芳, 张声生. 中医药治疗功能性消化不良研究进展[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2023, 31(6): 405 - 410.
[5] 付郁,单国顺,尹爱凝,等.中西医治疗功能性消化不良研究进展[J].中华中医药学刊,2021,39(10):82 - 85,270.
[6] 周丽免, 赵雯, 刘伟贤, 等. 益生菌调节肠道菌群改善功能性消化不良研究进展[J]. 中国食品学报, 2023, 23(8): 417 - 427.
[7] 罗月, 李开杨, 赵琦. 基于肠道菌群紊乱探讨中医药干预功能性消化不良的研究进展[J]. 基层中医药, 2024, 3(1): 99 - 104.
[8] 尹晓岚, 唐旭东, 王凤云, 等. 脾失健运与功能性消化不良发病机制探讨[J]. 世界中医药, 2017, 12(1): 207 - 210.
[9] MIWA H, KUSANO M, ARISAWA T, et al. Evidence - based clinical practice guidelines for functional dyspepsia[J]. J Gastroenterol, 2015, 50(2): 125 - 139.
[10] 张旭, 张声生. 张声生从升清降浊论治功能性消化不良[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(3): 476 - 479.
[11] 张贝西, 王建军, 雷启义, 等. 民族药用植物毛大丁草的化学成分及药理作用研究进展[J]. 南京中医药大学学报, 2019, 35(3): 351 - 355.
[12] 严晓华, 万璐, 王杰民. 醒脾养儿颗粒治疗小儿轮状病毒性肠炎 70 例[J]. 陕西中医, 2014, 35(3): 291 - 292.
[13] 福建省中医药研究院福建药物志[M]. 福州:福建科学技术出版社,1994.
[14] 李文玲, 杨洁, 李红云, 等. 醒脾养儿颗粒联合西药对小儿消化不良性腹泻免疫功能的影响及临床疗效分析[J]. 世界中医药, 2019, 14(2): 466 - 468, 472.
[15] 梁丽清, 陈少锋, 卢苇, 等. 壮药一点红的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国民族医药杂志, 2021, 27(6): 75 - 78.
[16] 樊江波. 蜘蛛香治疗肠易激综合征的作用和机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2008.
[17] 王港, 崔伶雯, 刘相凝, 等. 醒脾胶囊调控血管活性肠肽干预功能性腹泻脾虚证大鼠机制研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2023, 25(3): 19 - 26.
[18] 李洪皎, 李凌香, 王渊, 等. 醒脾胶囊临床适宜病症的横断面调查研究[J]. 中医杂志, 2022, 63(18): 1753 - 1759.
[19] LIU L S, WINSTON J H, SHENOY M M, et al. A rat model of chronic gastric sensorimotor dysfunction resulting from transient neonatal gastric irritation[J]. Gastroenterology, 2008, 134(7): 2070 - 2079.
[20] 田锋亮,李延萍,刘凤斌,等.痞满中医诊疗专家共识(2023)[J].中国中西医结合消化杂志,2024,32(5):363 - 369.
[21] 甘海苹, 伍建新, 吴红彦, 等. 中医药辨证治疗痞满证研究进展[J]. 亚太传统医药, 2017, 13(8): 74 - 75.
[22] 严子兴, 林晓英, 刘幼妹, 等. 安中汤对肝胃不和型功能性消化不良大鼠胃肠功能的影响[J]. 福建中医药, 2022, 53(10): 23 - 27.
[23] IVANOVA M, BELCHEVA S, BELCHEVA I, et al. Modulatory effect of VIP injected into hippocampal CA1 area on anxiety in olfactory bulbectomized rats[J]. Acta Neurobiol Exp, 2014, 74(3): 317 - 327.
[24] TALBOT J, HAHN P, KROEHLING L, et al. Feeding - dependent VIP neuron - ILC3 circuit regulates the intestinal barrier[J]. Nature, 2020, 579(7800): 575 - 580.
[25] 杜晓娟. 基于脑肠轴探讨平胃胶囊对肝郁脾虚型 FD 大鼠 SP、VIP 及 CGRP 的影响[D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2017.
[26] 陈菲, 张小卿, 董佳梓. 针灸调控功能性消化不良与肠黏膜屏障及炎症反应研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(11): 126 - 129.
[27] LONARDO A, BALLESTRI S, MARCHESINI G, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a precursor of the metabolic syndrome[J]. Dig Liver Dis, 2015, 47(3): 181 - 190.
[28] MAO J W, TANG H Y, ZHAO T, et al. Intestinal mucosal barrier dysfunction participates in the progress of nonalcoholic fatty liver disease[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(4): 3648 - 3658.
[29] 谭悦, 郑长清. 紧密连接蛋白 occludin、ZO - 1 在溃疡性结肠炎中的表达及其临床意义[J]. 现代药物与临床, 2018, 33(7): 1803 - 1808.
[30] ENGEVIK M A, YACYSHYN M B, ENGEVIK K A, et al. Human*Clostridium difficile*infection: altered mucus production and composition[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2015, 308(6): G510 - G524.
[31] LI J H, JIA H J, CAI X H, et al. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome[J]. Nat Biotechnol, 2014, 32(8): 834 - 841.
[32] WAUTERS L, TALLEY N J, WALKER M M, et al. Novel concepts in the pathophysiology and treatment of functional dyspepsia[J]. Gut, 2020, 69(3): 591 - 600.
[33] 韩娟, 荣培晶, 王宏才, 等. 基于脑肠互动学说探析针刺治疗功能性消化不良[J]. 中医杂志, 2021, 62(10): 845 - 849.
[34] 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.
[35] 杨珂鸣, 贾越博, 叶丽亚·叶尔太, 等. 柴胡疏肝散对功能性消化不良模型大鼠十二指肠黏膜屏障和肠道菌群的影响[J]. 中医杂志, 2023, 64(23): 2443 - 2453.
[36] 胡露楠, 刘启鸿, 柯晓, 等. 基于 16S 测序技术分析功能性便秘患者不同结肠传输动力肠道菌群的差异性研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2024, 32(10): 910 - 915, 921.
[37] 陈孜旋, 佟苗苗, 吴庆林, 等. 薏苡仁对葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠肠道菌群的影响[J]. 食品工业科技, 2025, 46(6): 369 - 376.
[38] LE ROY T, MOENS DE HASE E, VAN HUL M, et al. Dysosmobacter welbionis is a newly isolated human commensal bacterium preventing diet - induced obesity and metabolic disorders in mice [J]. Gut, 2022, 71(3): 534 - 543.

醒脾胶囊对功能性消化不良大鼠十二指肠黏膜屏障和肠道菌群的影响

（正文见 177－182 页）

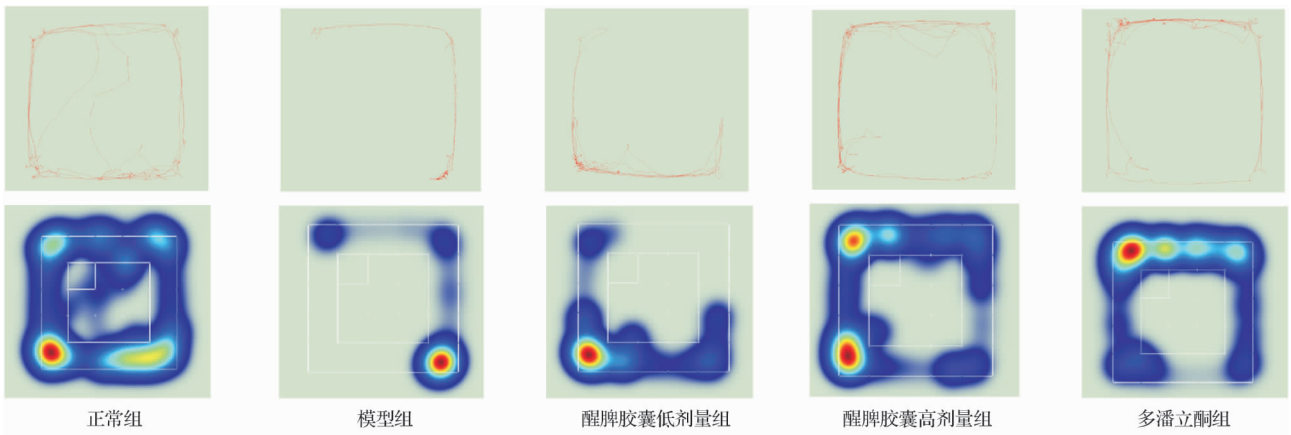


图 1　各组大鼠旷场总路径

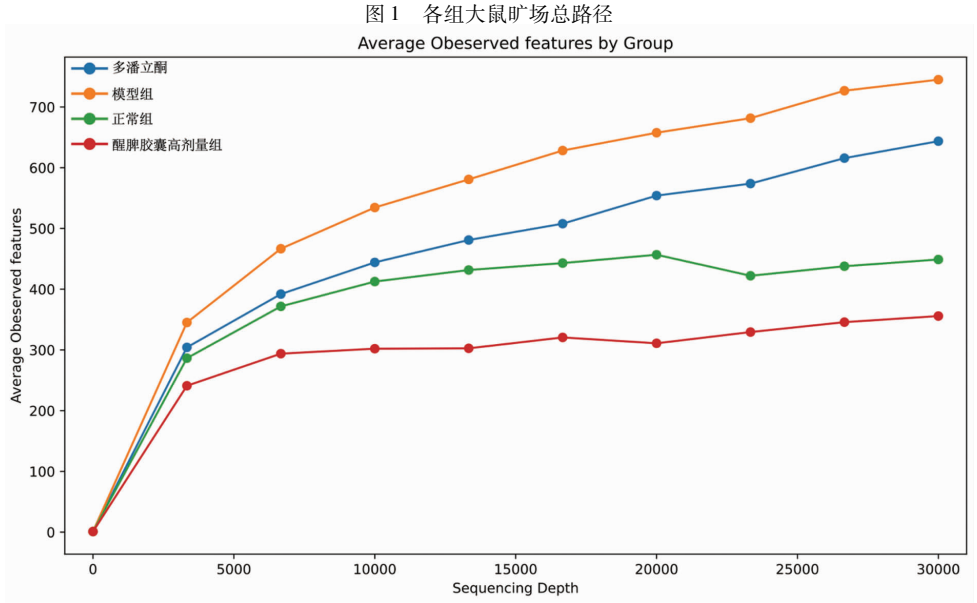


图 6　各组大鼠 observed features 图

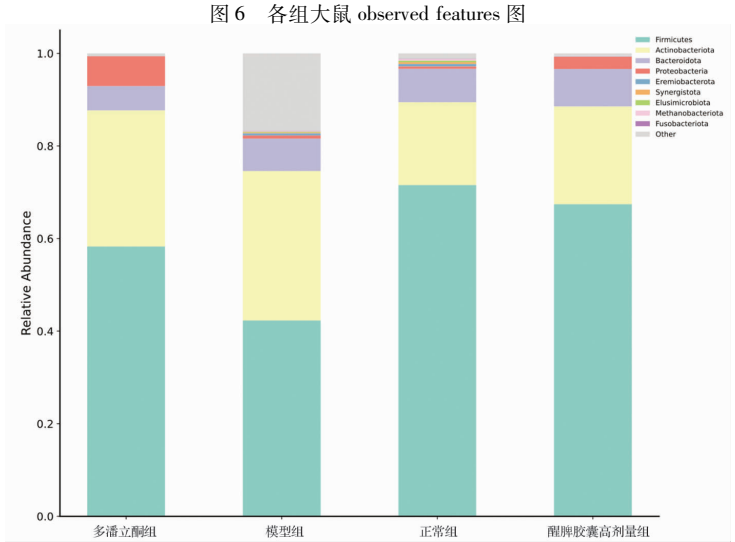
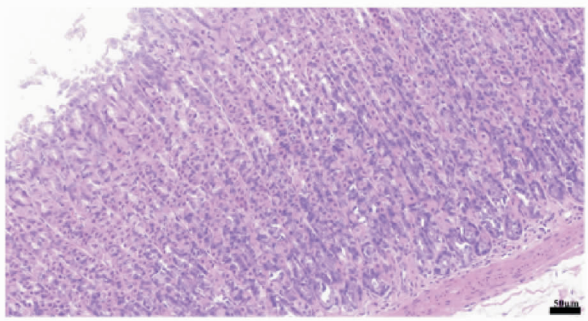
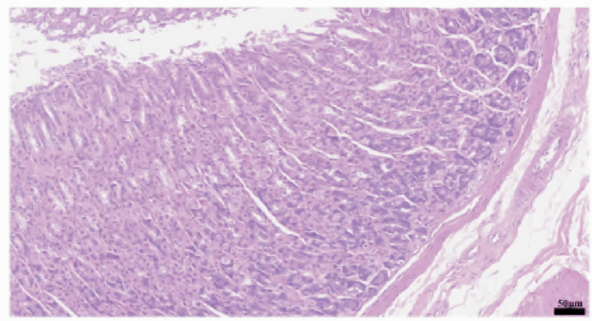


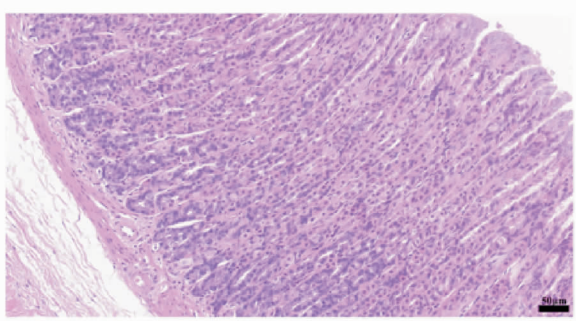
图 7　菌群物种组成分类图



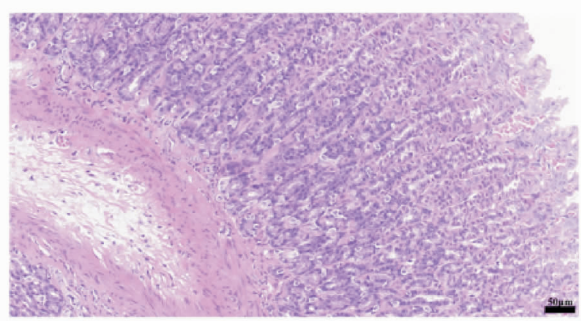
正常组



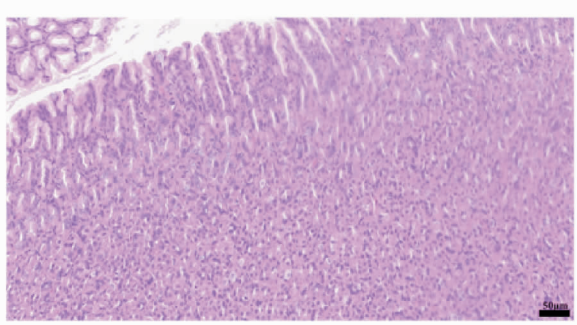
模型组



醒脾胶囊低剂量组

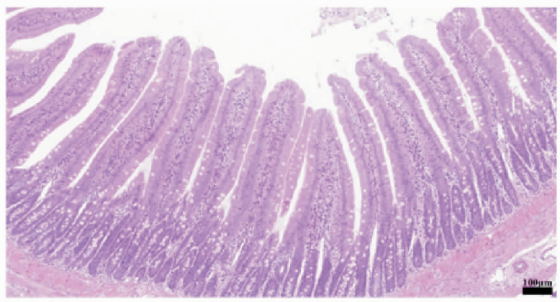


醒脾胶囊高剂量组

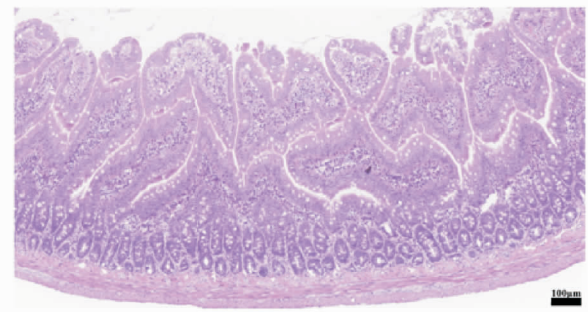


多潘立酮组

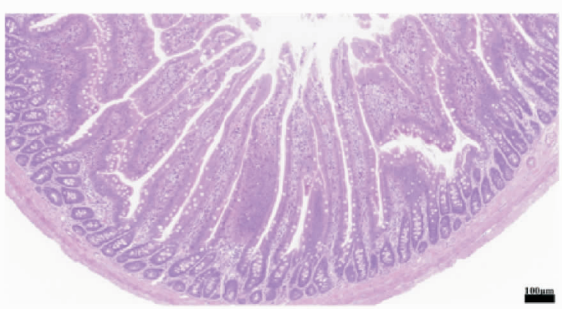
图 2 各组大鼠胃组织病理变化(HE, ×200)



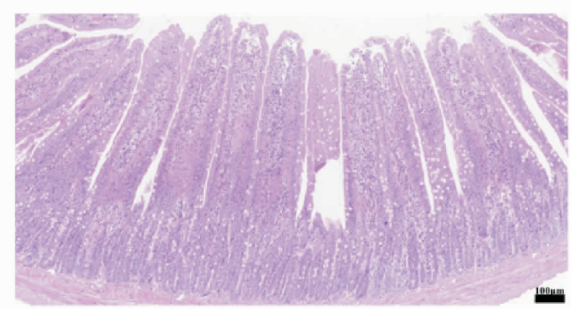
正常组



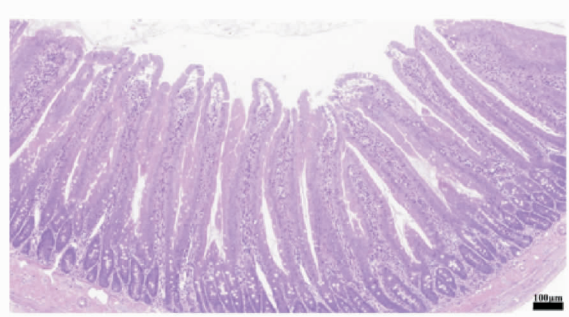
模型组



醒脾胶囊低剂量组



醒脾胶囊高剂量组



多潘立酮组

图3 各组大鼠十二指肠组织病理变化(HE,×100)

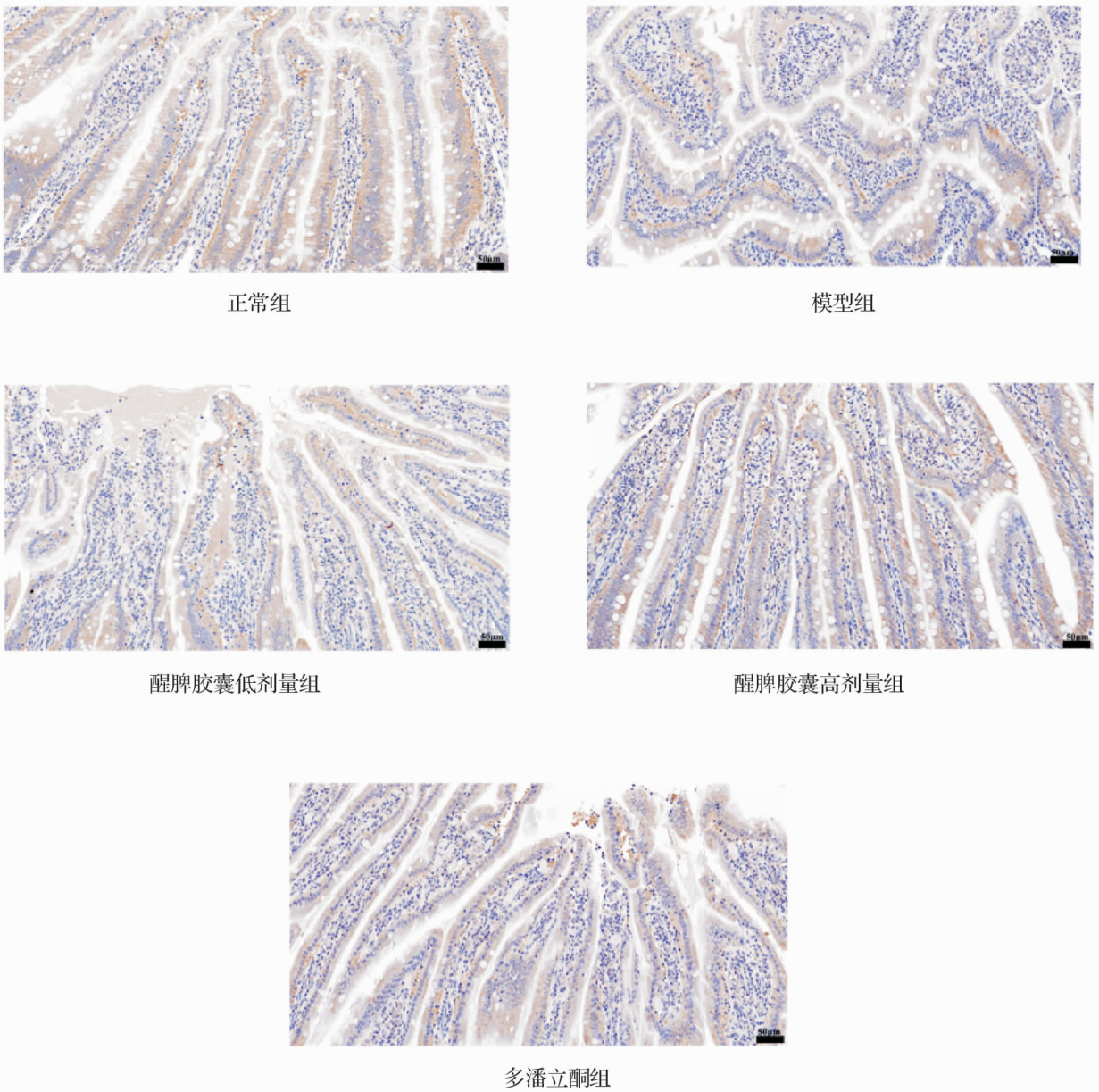


图 4　各组大鼠十二指肠组织中 ZO－1 表达(IHC，×200)

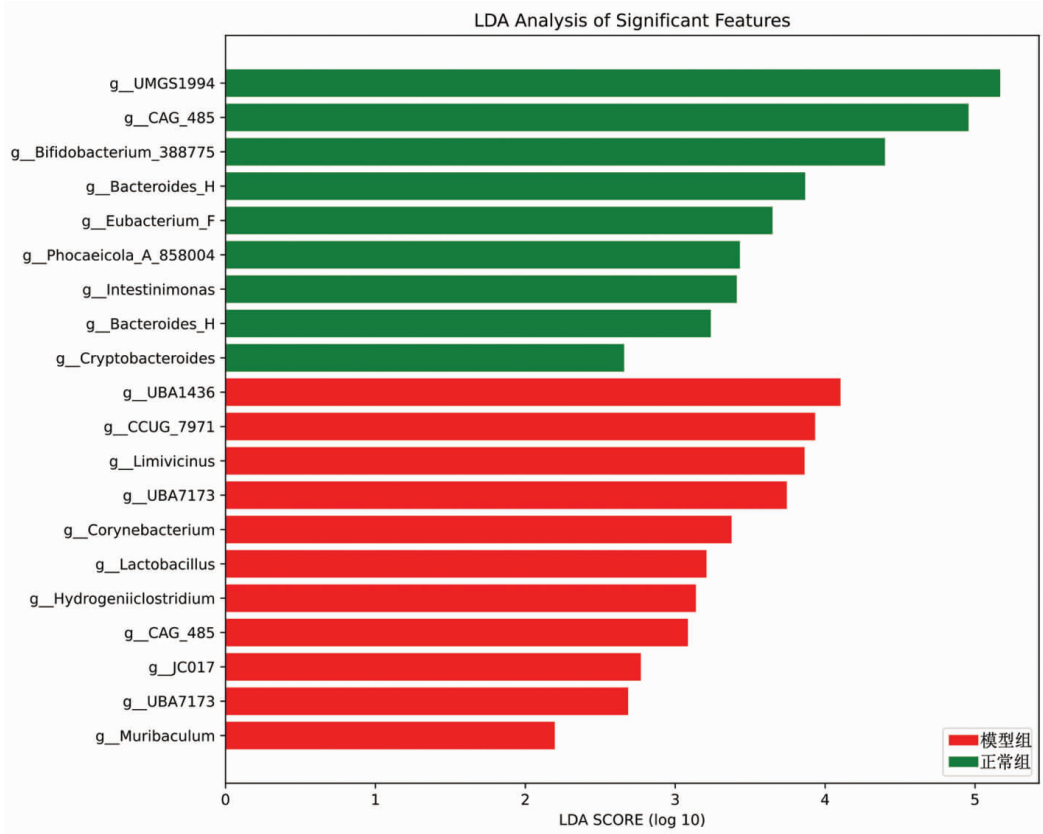


图 8 正常组与模型组大鼠组间差异显著性比较

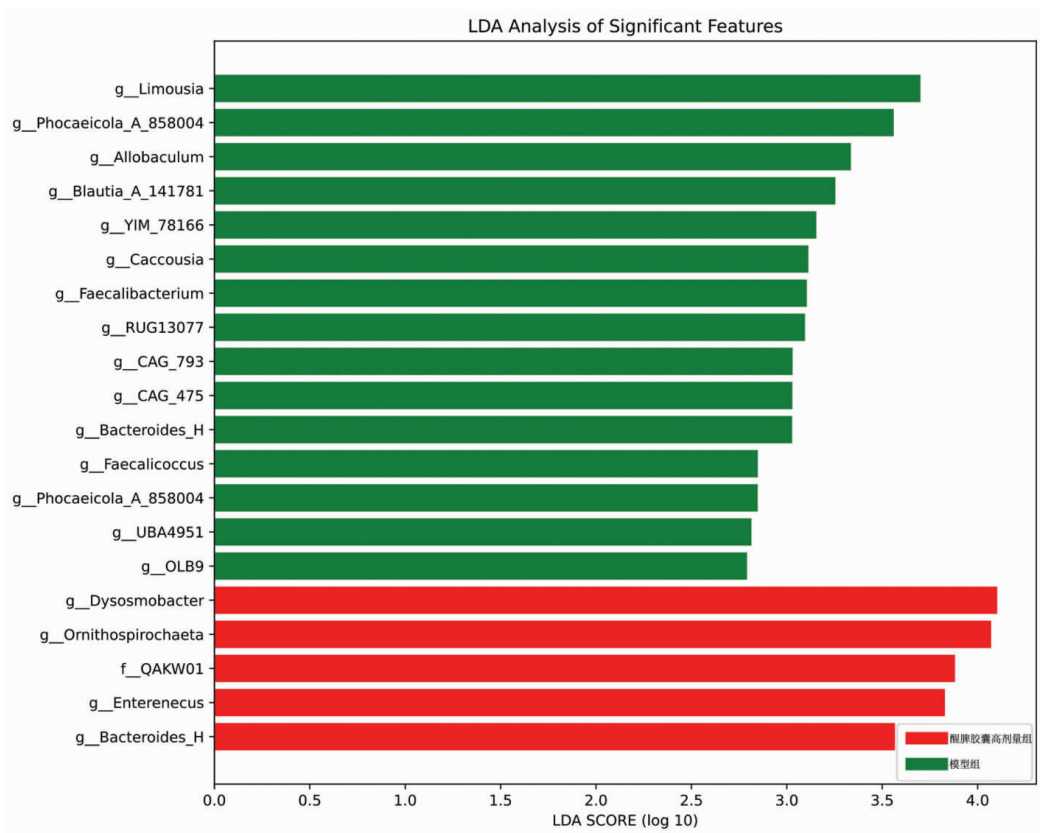


图 9 模型组与醒脾胶囊高剂量组大鼠组间差异显著性比较