·临床研究·

基于“肠-肾轴”理论探讨益肾化湿颗粒改善糖尿病肾病的临床疗效及作用机制

艾珊珊[1],崔涛[2],周乐[3],申振[4],李伟[3],韩聪[3]
(1. 济宁医学院中西医结合学院,山东 济宁 272067;2. 济南市章丘区中医医院肾病科,山东 济南 250200;3. 山东中医药大学附属医院,山东 济南 250014;4. 山东中医药大学第一临床医学院 山东 济南 250014)

摘要:目的 观察益肾化湿颗粒治疗糖尿病肾病(DKD)的临床疗效,探讨其通过“肠-肾轴”改善 DKD 的作用机制。**方法** 100 例 DKD 脾虚湿盛证患者随机分为试验组和对照组,每组 50 例。对照组予西医基础治疗,试验组在对照组治疗基础上加服益肾化湿颗粒。8 周后观察 2 组患者中医证候积分、尿蛋白肌酐比值(UACR)、空腹血糖(FBG)、糖化血红蛋白(HbA1C)、血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、肾小球滤过率(eGFR)、白蛋白(ALB)、超氧化物歧化酶(SOD)、白介素-6(IL-6)及尿 N-乙酰-β氨基葡萄糖苷酶(NAG)含量的变化。并随机收集其中 60 例患者(试验组和对照组各 30 例)治疗后的粪便样本行 16S rDNA V3+V4 区测序筛选益肾化湿颗粒的作用靶菌。**结果** 治疗后,试验组的总有效率明显优于对照组($P<0.05$);2 组中医证候积分明显改善,试验组优于对照组($P<0.05$,$P<0.01$);2 组 UACR、BUN、HbA1C、IL-6 水平较治疗前明显降低($P<0.05$,$P<0.01$),试验组优于对照组($P<0.05$,$P<0.01$);试验组 SOD 活性、ALB 水平明显升高($P<0.05$,$P<0.01$),优于对照组($P<0.05$,$P<0.01$);与对照组比较,试验组菌群多样性及丰度升高,菌群的聚合度增加,F/B 值下降;*LEfSe* 分析发现试验组的优势属种是副拟杆菌属、长双歧杆菌、黏膜乳杆菌。**结论** 益肾化湿颗粒可有效改善 DKD 脾虚湿盛证患者的中医临床证候,降低血糖,减少蛋白尿,整体调节氧化应激及炎症水平并稳定肾功能,影响肠道菌群的分布,为进一步研究益肾化湿颗粒通过肠道菌群评估 DKD 的发生、发展和治疗提供了依据。

关键词:益肾化湿颗粒;肠道菌群;糖尿病肾病;肠-肾轴;16S rDNA 测序
中图分类号:R587.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-0482(2022)12-1103-07
DOI:10.14148/j.issn.1672-0482.2022.1103
引文格式:艾珊珊,崔涛,周乐,等. 基于“肠-肾轴”理论探讨益肾化湿颗粒改善糖尿病肾病的临床疗效及作用机制[J]. 南京中医药大学学报,2022,38(12):1103-1109.

Clinical Efficacy and Mechanism of Yishen Huashi Granules in Treating Diabetic Kidney Disease Based on the "Gut-Kidney Axis" Theory

***AI Shan-shan*[1], *CUI Tao*[2], *ZHOU Le*[3], *SHEN Zhen*[4], *LI Wei*[3], *HAN Cong*[3]**
(1. School of Integrated Chinese and Western Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, China; 2. Department of Nephrology, Jinan Zhangqiu District Hospital of TCM, Jinan 250200, China; 3. The Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China; 4. The First School of Clinical Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the clinical efficacy of Yishen Huashi granules in the treating diabetic kidney disease (DKD), and to explore its mechanism of action on alleviating DKD through the "gut-kidney axis". **METHODS** A total of 100 patients suffering from DKD with syndrome of excessive dampness caused by spleen deficiency were randomly divided into the treatment and control group, with 50 cases in each group. In the control group, the patients were treated with basic western medicine, while the patient in the treatment group were given Yishen Huashi granules based on the treatment of the control group. After the 8-week treatment course, we observed the changes in both groups, including the traditional Chinese medicine (TCM) syndrome score, urinary al-

收稿日期: 2022-04-20
基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(82204886);中国博士后科学基金面上项目(2021M702039);山东省中医药科技项目(2020Q012);“益肾化湿颗粒”临床应用研究和基础研究开放课题(2020367)
第一作者: 艾珊珊,女,助理实验师,E-mail: Aishan97s@163.com
通信作者: 李伟,女,主任医师,从事中西医结合治疗肾系疾病的研究,E-mail: lweidw@163.com;
韩聪,男,主治医师,从事中西医结合治疗肾系疾病的研究,E-mail:1585285585@qq.com

bumin creatinine ratio (UACR), fasting blood glucose (FBG), glycosylated hemoglobin (HbA1C), serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), esti mated glomerular filtration rate (eGFR), albumin (ALB), superoxide dismutase (SOD), interleukin-6 (IL-6), and N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG). In addition, the fecal samples of 60 patients (30 in each group) were randomly collected to screen the target organisms of the granules by sequencing in the area of 16S rDNA V3 + V4. **RESULTS** The total effective rate of the treatment group was significantly higher than that of the control group ($P<0.05$). The TCM syndrome scores of both groups were significantly improved, but the result of the treatment group was better than that of the control group ($P<0.05$, $P<0.01$). Besides, the UACR, BUN, HbA1C and IL-6 levels of both groups were significantly reduced than those before treatment ($P<0.05$, $P<0.01$), but the results of the treatment group was better than those of the control group ($P<0.05$, $P<0.01$). The levels of SOD and ALB in the treatment group were significantly increased ($P<0.05$, $P<0.01$) and showed better results than those of the control group ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the control group, the diversity and abundance of flora in the treatment group increased, the aggregation degree of flora increased, and the F/B value reduced. Through LEfSe analysis, we found that the dominant genera in the treatment group were Parabacteroides, Bifidobacterium longum, and Lactobacillus mucosae. **CONCLUSION** Yishen Huashi granules can effectively alleviate the clinical TCM symptoms of DKD patients with syndrome of excessive dampness caused by spleen deficiency. Besides, it can also lower blood glucose, reduce proteinuria, regulate the overall level of oxidative stress and inflammation, and stabilize renal function by affecting the distribution of intestinal flora, which provides a basis for further study of Yishen Huashi granules to assess the occurrence, development, and treatment of DKD through intestinal flora.

KEYWORDS: Yishen Huashi granules; intreatmentinal flora; diabetic kidney disease; gut-kidney axis; 16S rDNA sequencing

糖尿病肾病(DKD)是由糖尿病(DM)引起的肾脏损伤,主要表现为蛋白尿、肾小球滤过率(eGFR)持续下降及微血管病变等[1]。临床多采用降糖、降压、饮食控制等常规治疗,可适当延缓疾病进展,但仍有部分患者疗效不甚明显,因此积极寻求有效的防治策略,具有重要的临床和社会意义。益肾化湿颗粒是一种广泛应用于治疗慢性肾小球肾炎的中成药,具有升阳补脾、益肾化湿、利水消肿的功效,多项临床研究表明益肾化湿颗粒可改善 DKD 患者的症状,抑制炎症反应,稳定肾功能[2-5]。近年来关于“肠-肾轴”的研究揭示了肠道菌群可通过影响糖脂代谢、内毒素积累、炎症反应、氧化应激等调节肾脏代谢进而影响 DKD 进程[6]。本团队的前期实验研究结果表明益肾化湿颗粒能通过“肠-肾轴”调节肠道菌群结构,降低肠道通透性,增加乳杆菌属等益生菌含量,降低厌氧螺菌属等条件致病菌含量,改善 DKD 大鼠糖脂代谢,减轻炎症水平,保护肾功能[7]。基于此,本研究拟通过研究益肾化湿颗粒治疗 DKD 的临床疗效及肠道菌群的变化,探讨其通过“肠-肾轴”改善 DKD 的作用机制。

1　临床资料

1.1　样本量计算

使用临床试验的样本量计算公式:$n=(u\alpha+u\beta)^2 2p(1-p)/(p1-p0)^2$,查阅相关文献报道[3-5],$p0$ 代表西医对症治疗后的达到疗效约为 60%,$p1$ 代表西医对症治疗加用益肾化湿颗粒后达到的疗效约为 88%,计算出 $n\approx42$,即每组的样本量为 42,考虑到 15% 的脱失率,拟每组的样本含量为 42/(1-15%)≈50 例。

1.2　一般资料

选取 2020 年 11 月至 2021 年 8 月于山东中医药大学附属医院肾病科就诊的 DKD 脾虚湿盛证患者 100 例,按随机数字表法分为试验组及对照组,对结局评估者进行设盲。试验组男 31 例,女 19 例;平均年龄(60.52±10.04)岁;平均收缩压(127.26±8.23)mmHg;平均舒张压(81.68±8.69)mmHg。对照组男 27 例,女 23 例;平均年龄(59.14±10.89)岁;平均收缩压(128.82±7.89)mmHg;平均舒张压(81.48±9.94)mmHg。2 组患者一般资料、慢性肾脏病分期及尿蛋白水平差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经山东中医药大学附属医院医学伦理委员会批准(伦理批号:KY2020-046)。

1.3　诊断标准

1.3.1　西医诊断标准　符合《中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)》[8]与《CKD 评估与管理临床实践指南,KDIGO,2012》[9]制定的 DKD 诊断标准:有确诊的糖尿病病史,根据尿蛋白肌酐比值(UACR)增高或肾小球滤过率(eGFR)下降、同时排除其他慢性肾脏病(CKD)。本研究选取患者分期为 G1A1-G3aA3,参照 2009 年 CKD 流行病学协作组提出的 CKD-EPI 公式[10],G1-G3a 即 eGFR>45 $mL\cdot min^{-1}\cdot 1.73\ m^{-2}$,A1 期:ACR<30 $mg\cdot g^{-1}$,A2 期:ACR 30~300 $mg\cdot g^{-1}$,A3 期:ACR>300 $mg\cdot g^{-1}$。

1.3.2　中医诊断标准　参考《中药新药临床研究指导原则》[11]中脾虚湿盛证诊断标准,主症:颜面部或肢体浮肿,疲倦乏力,食少纳呆,便溏;次症:畏寒肢冷,腰脊酸痛;舌脉:舌淡胖嫩,舌苔白或白腻,脉

沉细。具备主症 2 项加次症 2 项,结合舌脉即可诊断。

1.4　纳入及排除标准

1.4.1　纳入标准　①年龄 18~75 岁;②符合 CKD(G1A1-G3aA3 期)及中医脾虚湿盛证诊断标准;③患者同意并签署知情同意书。

1.4.2　排除标准　①其他继发性肾脏疾病;②合并有严重的心脑血管等原发性疾病或影响生存的其他严重疾病;③妊娠或哺乳期妇女;④近 1 月接受抗生素或微生物治疗;⑤正参与其他药物临床研究。

1.4.3　剔除及脱落标准　①出现过敏反应或严重不良事件;②依从性差,未按要求服药;③纳入后资料不完全;④主动退出研究。

2　方法

2.1　治疗方法

对照组:予医学营养治疗、生活方式干预等一般治疗。常规给与盐酸二甲双胍片(中美上海施贵宝制药有限公司,每片 0.5 g)口服,每次 0.25 g,每日 3 次;达格列净片(阿斯利康制药有限公司,每片 5 mg)口服,每次 5 mg,每日 1 次;缬沙坦胶囊(天大药业有限公司,每粒 80 mg)口服,每次 80 mg,每日 1 次。

试验组:在对照组治疗基础上加用益肾化湿颗粒(广州康臣药业,每袋 10 g),热水冲服,每次 10 g,每日 3 次。若血压控制不佳可加用非 ACEI/ARB 类药物,原有方案不再加量。

2 组患者均连续治疗 8 周。

2.2　观察指标及方法

2.2.1　实验室指标　采集患者治疗前后空腹静脉血各 5 mL,肝素抗凝,3 000 $r\cdot min^{-1}$ 离心 5 min 后取血清,置-80 ℃冰箱保存。采用 ELISA 法检测患者尿蛋白肌酐比值(UACR)、空腹血糖(FBG)、糖化血红蛋白(HbA1C)、血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、肾小球滤过率(eGFR)、白蛋白(ALB)、超氧化物歧化酶(SOD)、白介素-6(IL-6)、尿 N-乙酰-β 氨基葡萄糖苷酶(NAG)水平或活性。以上委托山东中医药大学附属医院检验科完成。

2.2.2　中医证候积分评估　参照《中药新药临床研究指导原则》[11],记录治疗前后 2 组患者的中医证候积分,主症:颜面部或肢体浮肿,疲倦乏力,食少纳呆,便溏,按轻、中、重分别记为 2、4、6 分;次症:畏寒肢冷,腰脊酸痛按轻、中、重分别记为 1、2、3 分。积分越高,症状越严重。

2.2.3　临床疗效判定　参照《中药新药临床研究指导原则》[11]拟定。显效:①中医证候积分减少≥60%;② UACR 值减少≥40%;③ FBG 控制在 7.0 $mmol\cdot L^{-1}$ 以下;④SCr、BUN 等指标值均减少≥10%。有效:①中医证候积分减少≥30%;②UACR 值减少,但没有达到显效标准;③FBG 下降但未控制在 7.0 $mmol\cdot L^{-1}$ 以下;④SCr、BUN 等指标减少未达显效标准。无效:患者各项临床症状均无改善或者恶化,UACR 等指标未下降甚至升高者。其中,①②③项为必备条件。

2.2.4　患者粪便 16S rDNA V3+V4 区测序　治疗 8 周后无菌随机收集 2 组各 30 例患者粪便 5 g 至 EP 管,存于-80 ℃冰箱保存。提取患者粪便基因组 DNA,对 16S V3+V4 区进行 PCR 扩增,使用 TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 建库试剂盒构建文库,经 Qubit 和 Q-PCR 定量检测合格后使用 NovaSeq6000 进行上机测序。

2.2.5　安全性指标　治疗前后检测患者血常规、大便常规、肝功能,监测心电图,观察研究期间不良反应的发生情况。

2.3　统计学方法

采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组内比较采用配对样本 t 检验,组间比较采用独立样本 t 检验。不符合正态分布的计量资料以 $M(P25,P75)$ 表示,组内比较采用配对样本秩和检验,组间比较采用独立样本秩和检验。计数资料以频数表示,采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。对于肠道测序,过滤拼接测序的原始数据,以 97%的一致性将序列聚类成为 Operational Taxonomic Units(OTUs),并用 *Mothur* 法进行物种注释,用 *R* 软件进行 *Alpha* 多样性差异分析(*Simpson*、*Shannon* 指数)与主坐标分析(*PCoA*),最终用 *LEfSe* 分析筛选差异物种。

3　结果

3.1　2 组患者治疗前后中医证候积分情况比较

结果见表 1。

3.2　2 组患者治疗前后各生化指标情况比较

结果见表 2、表 3。

3.3　2 组患者临床疗效比较

结果见表 4。

表 1　2 组患者治疗前后中医证候积分比较($\bar{x}\pm s$, $n=50$)

Table 1　Comparison of TCM syndrome scores between 2 groups before and after treatment($\bar{x}\pm s$, $n=50$)

组别	时间	浮肿	疲倦乏力	食少纳呆	便溏	畏寒肢冷	腰脊酸痛	总积分
试验组	治疗前	4.24±1.64	4.32±1.36	4.60±1.86	4.40±1.66	2.28±0.80	2.20±0.62	22.04±4.44
	治疗后	0.68±0.25$^{**\#}$	2.28±1.06$^{**\#}$	1.60±0.39$^{**\#}$	1.48±0.55$^{**\#}$	1.28±0.33$^{**\#}$	1.02±0.72**	8.60±3.12$^{**\#\#}$
对照组	治疗前	3.56±1.04	4.40±1.34	4.84±1.34	4.28±1.40	2.00±0.85	1.90±0.71	20.98±5.31
	治疗后	1.24±0.50**	2.88±1.21**	2.36±1.09**	2.26±1.08**	1.76±0.87**	1.06±0.63**	11.58±4.64**

注:组内比较,$^{**}P<0.01$;组间比较,$^{\#}P<0.05$,$^{\#\#}P<0.01$。

表 2　2 组患者治疗前后生化指标情况比较[$M(P25,P75)$, $n=50$]

Table 2　Comparison of biochemical indexes between 2 groups before and after treatment[$M(P25,P75)$, $n=50$]

组别	时间	UACR/(mg·g^{-1})	Scr/(μmol·L^{-1})	BUN/(mmol·L^{-1})	FBG/(mmol·L^{-1})	HbA1C/%
试验组	治疗前	540(90,1 120)	84.00(55.00,113.50)	6.84(5.53,9.79)	7.09(5.86,8.04)	7.10(6.50,8.23)
	治疗后	180(40,580)$^{**\#}$	71.00(55.75,109.00)	6.52(5.27,7.76)**	6.72(5.43,9.29)	6.75(6.20,7.73)$^{**\#}$
对照组	治疗前	350(80,2 330)	72.50(53.75,91.00)	6.74(5.92,8.92)	7.54(6.67,9.10)	7.70(7.00,9.23)
	治疗后	340(100,1 470)**	68.50(53.75,89.00)	6.55(4.77,8.31)*	7.44(5.97,8.95)	7.35(6.69,8.53)**

注:组内比较,$^{*}P<0.05$,$^{**}P<0.01$;组间比较,$^{\#}P<0.05$。

表 3　2 组患者治疗前后生化指标比较($\bar{x}\pm s$, $n=50$)

Table 3　Comparison of biochemical indexes between 2 groups before and after treatment($\bar{x}\pm s$, $n=50$)

组别	时间	eGFR/(mL·min^{-1}·1.73 m^{-2})	NAG/(U·L^{-1})	SOD/(U·mL^{-1})	IL-6/(ng·L^{-1})	ALB/(g·L^{-1})
试验组	治疗前	82.09±25.96	22.63±6.65	151.48±25.22	23.55±2.05	39.40±4.34
	治疗后	83.32±24.32	21.53±6.99	161.36±22.65$^{**\#}$	21.35±1.98$^{**\#}$	41.02±3.49$^{*\#\#}$
对照组	治疗前	87.68±23.63	22.30±6.80	147.72±20.09	23.53±1.73	37.54±5.49
	治疗后	87.55±23.31	21.06±5.70	152.14±23.39	22.21±2.15**	38.36±6.14

注:组内比较,$^{*}P<0.05$,$^{**}P<0.01$;组间比较,$^{\#}P<0.05$,$^{\#\#}P<0.01$。

表 4　2 组患者临床疗效比较($n=50$)

Table 4　Comparison of clinical efficacy between 2 groups ($n=50$)

组别	显效	有效	无效	总有效率/%
试验组	16	26	8	84$^{\#}$
对照组	17	15	18	64

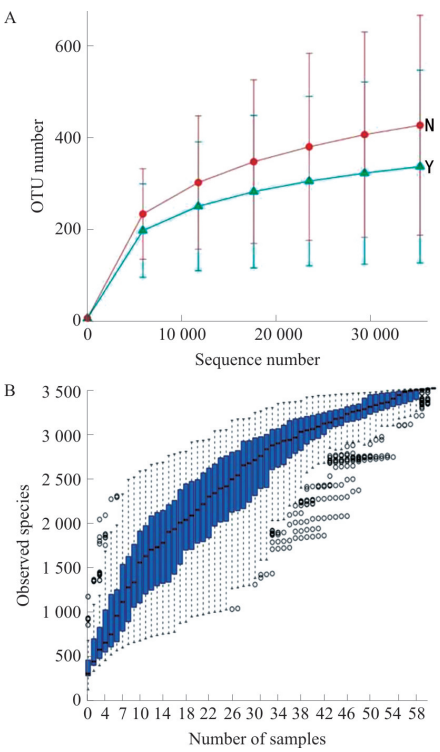
注:2 组比较,$\chi^2=5.198$,$^{\#}P<0.05$。

3.4　2 组患者安全性检测

2 组患者均无不良反应出现,治疗前后未出现血常规、大便常规、肝功能等指标的异常。

3.5　2 组治疗后肠道菌群 16S V3+V4 测序

3.5.1　测序质量评估及物种注释分析　当测序序列接近 40 000 时几乎无新的 OTUs 产生,表明测序深度足够,物种累积箱型图渐进平缓,提示样本量足够。见图 1。

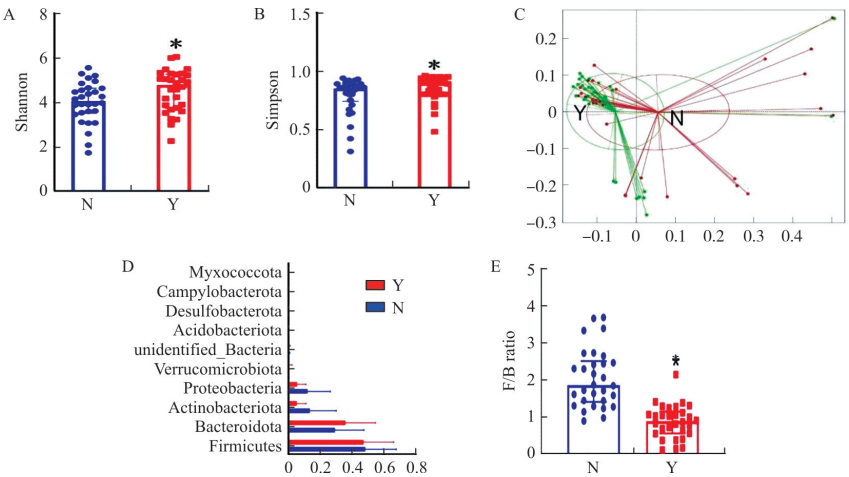


注:A. 样品稀释曲线;B. 物种累积箱型图;N. 对照组;Y. 试验组

图 1　测序质量及物种注释分析

Fig. 1　Analysis of sequencing quality and species annotation

3.5.2　肠道菌群多样性分析　通过 *Shannon*、*Simpson* 指数分析 2 组样本菌群群落,*Alpha* 多样性结果显示试验组患者肠道菌群较对照组显著升高($P<0.05$)。进一步对 2 组样本进行 *Beta* 多样性 *PCoA* 分析,结果试验组菌群样本聚合度明显优于对照组,提示组内患者间菌群构成差异较小。门水平条形图显示 2 组优势菌门均为拟杆菌门(Bacteroidota)和厚壁菌门(Firmicutes),且试验组 F/B 的值显著低于对照组($P<0.05$)。见图 2。

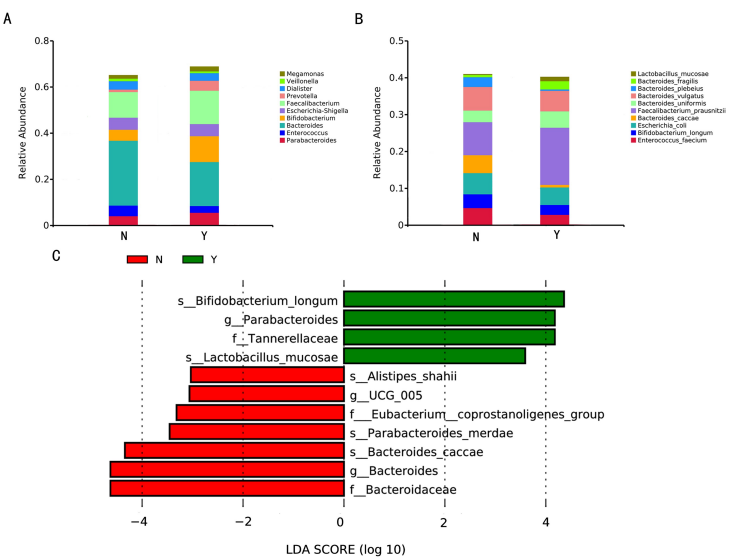


注:A. *Shannon* 指数组间差异条形图;B. *Simpson* 指数组间差异条形图;C. 组间 *PCoA* 比较图;D. 2 组前 10 菌门条形图;E. F/B 值组间差异条形图;N. 对照组;Y. 试验组;与对照组比较,* $P<0.05$。

图 2　菌群多样性分析

Fig. 2　Analysis of bacterial flora diversity

3.5.3　组间差异属种筛选　通过统计丰度前 10 的菌属发现拟杆菌属(*Bacteroides*)、粪杆菌属(*Faecalibacterium*)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、副拟杆菌属(*Parabacteroides*)占主要地位;统计丰度排名前 10 的菌种发现普氏粪杆菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)、普通拟杆菌(*Bacteroides vulgatus*)、大肠埃希菌(*Escherichia coli*)、长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*)、黏膜乳杆菌(*Lactobacillus mucosae*)占主要地位。在此基础上利用 *LEfSe* 分析组间丰度差异显著的物种,发现试验组的优势属种为副拟杆菌属、长双歧杆菌、黏膜乳杆菌,对照组优势属种为拟杆菌属、粪拟杆菌(*Bacteroides-caccae*)。见图 3。



注:A. 属水平物种相对丰度柱状图;B. 种水平物种相对丰度柱状图;C. *LEfSe* 差异物种;N. 对照组;Y. 试验组

图 3　组间差异比较

Fig. 3　Comparison of differences between 2 groups

4　讨论

近年来 DM 患病率急剧增加,DKD 的患病率亦迅速增长,因其低知晓率和高死亡率,现已成为 CKD 和终末期肾病(ESRD)的主要原因[12]。祖国传统医学认为 DKD 属于中医学“肾消”“水肿”“虚劳”等范畴[13]。其由消渴病迁延而成,根本病机在于气阴不足,燥热内生。内热灼阴,致使肾阴不足;内热伤脾,脾气不足失于运化。脾肾既亏,固摄失常,则见水液停聚,精微下注,发为本病。李东垣指出“地气者,人之脾胃也,脾主五脏之气,肾主五脏之精,皆上奉于天,二者俱主生化以奉升浮,是知春生夏长,皆从胃中出也”[14],重在调理脾肾二脏。益肾化湿颗粒方中重用黄芪为君药,臣以人参、白术健脾益肾补气,气行则中焦通达,气旺则升发有力;佐以羌活、独活、柴胡、防风等诸风药,味薄气轻而升散之力强,功可升举阳气,气升湿化,祛风除湿,可免滋补而恋邪之忧患;白芍养血和营敛阴,又可防诸风药辛燥太过耗气伤阴;黄连、半夏、陈皮清热燥湿;茯苓、泽泻利水渗湿,导湿热从小便排出,浊邪去,而清阳得升;炙甘草为使药,调和诸药。整方补泻有度,升降相宜,共奏健脾益肾、升阳化湿之效,为脾虚湿盛证之效方。本研究显示,试验组可明显改善患者浮肿,疲倦乏力,食少纳呆,便溏,畏寒肢冷等临床症状,且有效率为 84%,明显优于对照组。

研究表明[3, 15] IL-6 的释放增加,可以促进炎性巨噬细胞的浸润,导致肾小球基底膜增厚,加速肾小球的硬化,从而加快肾小球的损伤。SOD 可以催化超氧化物自由基转化为过氧化氢,其活性可反映机体抗氧化能力,通过减少自由基堆积、破坏足细胞,减少细胞外基质降解等保护肾脏。本研究显示益肾化湿颗粒可有效降低 DKD 患者 UACR、HbA1C、IL-6 水平,提高 SOD 活性和 ALB 水平,提示益肾化湿颗粒能一定程度降低 DKD 患者肠道通透性,减少毒素物质进入循环,降低尿蛋白水平,改善糖代谢,减轻炎症和氧化应激损伤,从而多靶点保护肾功能,延缓疾病进展。

Meijers、Ritz 等团队相继提出的“肠-肾轴”“肠肾综合征”[16-17],认为肠道菌群失衡与肾脏疾病相互影响。研究表明[18],肠道菌群失调可增加肠道通透性、黏膜免疫反应,促进肠内代谢废物和致病菌种进入血液循环,产生大量炎症介质,减少短链脂肪酸含量,加重氧化应激损伤,增加胰岛素抵抗,促进 DM 进展。进一步扰乱 RAS 系统、损伤肾单位,降低肾小球滤过率,恶化肾功能[19-20]。肾损害导致的循环代谢废物过度蓄积通过受损肠壁进入肠腔,进一步加重肠内菌群紊乱,形成肠-肾恶性循环[21]。江毅等[22]发现气虚证患者肠道菌群中厚壁菌门与拟杆菌门的比值较健康人群升高,肠道结构发生改变,表明肠道菌群的差异性改变可能是导致气虚证发生发展的生物学基础。内湿致病会使体内的肠道菌群稳态遭到破坏,出现肠道菌群失调,同时肠道菌群失调也是内湿致病的一个重要病理因素[23]。王卓等[24]发现脾虚湿盛证大鼠肠道较造模前菌群的数量及有益菌的种类明显减少,中药对症治疗后菌群逐渐恢复、中医症状减轻。故针对 DKD 脾虚湿盛证,肠道菌群的分布及丰度亦是重要的作用环节。

本研究通过高通量 16S rDNA 基因测序分析肠道微生物群,发现 2 组患者肠道微生物存在一定的差异性。试验组患者 *Shannon*、*Simpson* 指数高于对照组,F/B 的值远低于对照组。*Shannon* 指数、*Simpson* 指数与肠道菌群群落多样性成正比,F/B 的值与肠道菌群紊乱程度成正比。本研究结果显示益肾化湿颗粒在一定程度上纠正了 DKD 患者肠道菌群紊乱,稳定了菌群结构。进一步通过 *LEfSe* 分析发现试验组的优势属种为副拟杆菌属、长双歧杆菌和黏膜乳杆菌。有研究表明副拟杆菌属下的菌种狄氏副拟杆菌可以通过产琥珀酸和次级胆汁酸,降低糖代谢紊乱程度[25];长双歧杆菌可以降低血糖,缓解胰岛素抵抗,调节免疫,改善炎症状态[26-27];黏膜乳杆菌可以改善糖脂代谢,稳定屏障功能,减少“肠漏”及病原体在肠道的定植,降低疾病易感性,后二者都可代谢产生乳酸、乙酸及醋酸盐,降低肠道 pH 值,阻止病原体生长,与其他共生微生物群(例如粪杆菌)构建微生物生态网络,共同改善肾脏代谢[28-30]。

综上,益肾化湿颗粒可有效改善 DKD 脾虚湿盛证患者的中医临床证候,降低患者血糖、蛋白尿、炎症及氧化应激损伤水平,并可以引起肠道菌群分布及丰度的改变,主要是副拟杆菌属、长双歧杆菌及黏膜乳杆菌等益生菌的含量升高。我们接下来将进行更为深入的粪菌移植研究。

参考文献:

[1] 姜世敏,方锦颖. 糖尿病肾病多学科诊治与管理专家共识[J]. 中国临床医生杂志,2020,48(5):522-527.
JIANG SM, FANG JY. Expert consensus on multidisciplinary diagnosis, treatment and management of diabetic nephropathy[J]. Chin J Clin, 2020, 48(5): 522-527.

[2] 王耀献,杨洪涛,裴明. 益肾化湿颗粒治疗肾脏病临床应用专家共识[J]. 中华肾病研究电子杂志,2020,9(3):97-101.
WANG YX, YANG HT, PEI M. Expert consensus on clinical ap-

plication of Yishen Huashi Granules in the treatment of kidney diseases[J]. Chin J Kidney Dis Investig Electron Ed, 2020, 9(3): 97-101.

[3] 李国华,李宇丹,丁志胜,等. 益肾化湿颗粒联合厄贝沙坦治疗糖尿病肾病 30 例[J]. 江西中医学院学报,2013,25(6):25-27.
LI GH, LI YD, DING ZS, et al. The clinical investigation of the treatment of tonifying kidney and resolving dampness particle plus irbesartan for diabetic nephropathy[J]. J Jiangxi Univ Tradit Chin Med, 2013, 25(6): 25-27.

[4] 黄亚莲,琚枫,符茂雄. 益肾化湿颗粒治疗糖尿病性肾病早期蛋白尿 50 例[J]. 环球中医药,2015,8(S1):17.
HUANG YL, JU F, FU MX. 50 cases of treatment on Yishenhuashi granules of early diabetic nephropathy proteinuria[J]. Glob Tradit Chin Med, 2015, 8(S1): 17.

[5] 尹秀英. 益肾化湿颗粒治疗糖尿病肾病早期蛋白尿的临床观察[J]. 中国中医药现代远程教育,2017,15(1):94-95.
YIN XY. Clinical observation on Yishen Huashi Granules in the treatment of early proteinuria of diabetic nephropathy[J]. Chin Med Mod Distance Educ China, 2017, 15(1): 94-95.

[6] 艾珊珊,韩聪,崔涛,等. 基于肠-肾轴理论探讨糖尿病肾病作用机制及研究进展[J/OL]. 世界中医药:1-8. https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5529.R.20220407.0936.002.html.
AI SS, HAN C, CUI T, et al. Mechanism and research progress of diabetic nephropathy based on entero-renal axis theory[J/OL]. World Tradit Chin Med: 1-8. https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5529.R.20220407.0936.002.html.

[7] 崔涛,韩聪,申振,等. 基于“肠-肾轴”理论探讨益肾化湿颗粒改善糖尿病肾病的机制[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2022, 23(5):384-387,471.
CUI T, HAN C, SHEN Z, et al. Protective mechanism of Yishen Huashi Granule on diabetic kidney disease based on the theory of ´gut kidney axis´[J]. Chin J Integr Tradit West Nephrol, 2022, 23(5): 384-387, 471.

[8] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)[J]. 中国实用内科杂志,2018,38(4):292-344.
Chinese Diabetes Society. Guidelines for the prevention and control of type 2 diabetes in China(2017 Edition)[J]. Chin J Pract Intern Med, 2018, 38(4): 292-344.

[9] ANDRASSY KM. Comments on "KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease"[J]. Kidney international, 2013,84(3): 622-623.

[10] LEVEY AS, STEVENS LA, SCHMID CH, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate[J]. Ann Intern Med, 2009, 150(9): 597-604.

[11] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则:试行[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002:163-167,361-371.
ZHENG XY. Guiding Principles of Clinical Research on Noval Chinese Medicine: Trial Implementation[M]. Beijing: China medical science press, 2002: 163-167, 361-371.

[12] TUTTLE KR, BAKRIS GL, BILOUS RW, et al. Diabetic kidney disease: A report from an ADA consensus conference[J]. Diabetes Care, 2014,37(10): 2864-2883.

[13] 张蕾,刘旭生. 糖尿病肾病中医病名源流探索性研究[J]. 辽宁中医杂志,2012,39(1):52-54.
ZHANG L, LIU XS. Exploratory study of origin of traditional Chinese medicine name of diabetic nephropathy[J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2012, 39(1): 52-54.

[14] 李东垣. 脾胃论[M]. 北京:中国中医药出版社,2007:67.
LI DY. Treatise on the Spleen and Stomach[M]. Beijing: China press of traditional Chinese medicine, 2007: 67.

[15] PICKARD JM, ZENG MY, CARUSO R, et al. Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease[J]. Immunol Rev, 2017, 279(1): 70-89.

[16] MEIJERS BKI, EVENEPOEL P. The gut-kidney axis: Indoxyl sulfate, p-cresyl sulfate and CKD progression[J]. Nephrol Dial Transplant, 2011, 26(3): 759-761.

[17] RITZ E. Intestinal-renal syndrome: Mirage or reality?[J]. Blood Purif, 2011, 31(1/2/3): 70-76.

[18] CROMMEN S, SIMON MC. Microbial regulation of glucose metabolism and insulin resistance[J]. Genes, 2017, 9(1): 10.

[19] PICKARD JM, ZENG MY, CARUSO R, et al. Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease[J]. Immunol Rev, 2017, 279(1): 70-89.

[20] LI LZ, MA L, FU P. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids and kidney diseases[J]. Drug Des Dev Ther, 2017, 11: 3531-3542.

[21] 章磊,姚迪,陆卫平. 肠道菌群代谢物与糖尿病肾病[J]. 医学综述,2021,27(21):4292-4299.
ZHANG L, YAO D, LU WP. Gut microbiota metabolites and diabetic nephropathy[J]. Med Recapitul, 2021, 27(21): 4292-4299.

[22] 江毅,李非洲,左刚,等. 基于 16S rRNA 测序比较探讨气虚证患者与健康人的肠道菌群的结构特征[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2021,23(5):1347-1354.
JIANG Y, LI FZ, ZUO G, et al. Comparing the structural characteristics of gut microbiota in patients with qi deficiency syndrome and healthy individuals based on 16S rRNA sequencing[J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2021, 23(5): 1347-1354.

[23] 邵铁娟,李海昌,谢志军,等. 基于脾主运化理论探讨脾虚湿困与肠道菌群紊乱的关系[J]. 中华中医药杂志,2014,29(12): 3762-3765.
SHAO TJ, LI HC, XIE ZJ, et al. Relationship between the syndrome of water retention due to spleen deficiency and intestinal flora disturbance based on the theory of spleen governing transportation and transformation[J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2014, 29(12): 3762-3765.

[24] 王卓,彭颖,李晓波. 四君子汤对两种脾虚模型大鼠肠道菌群紊乱的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2009,29(9):825-829.
WANG Z, PENG Y, LI XB. Effect of Sijunzi Decoction on the intestinal flora disturbance in two rat models of pi-deficiency syndrome[J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2009, 29(9): 825-829.

[25] 刘双江,刘宏伟,汪锴,等. 狄氏副拟杆菌通过产生琥珀酸和次级胆汁酸减轻肥胖和代谢功能障碍[J]. 科学新闻,2020(2): 106.
LIU SJ, LIU HW, WANG K, et al. *Parabacteroides* distasonis alleviates obesity and metabolic dysfunctions via production of succinate and secondary bile acids[J]. Sci News, 2020(2): 106.

[26] GROEGER D, SCHIAVI E, GRANT R, et al. Intranasal *Bifidobacterium* longum protects against viral-induced lung inflammation and injury in a murine model of lethal influenza infection[J]. EBioMedicine, 2020, 60: 102981.

[27] SCHELLEKENS H, TORRES-FUENTES C, VAN DE WOUW M, et al. *Bifidobacterium* longum counters the effects of obesity: Partial successful translation from rodent to human[J]. EBio Medicine, 2021, 63: 103176.

[28] JIANG TY, WU H, YANG X, et al. *Lactobacillus* mucosae strain promoted by a high-fiber diet in genetic obese child alleviates lipid metabolism and modifies gut microbiota in $ApoE^{-/-}$ mice on a western diet[J]. Microorganisms, 2020, 8(8): 1225.

[29] KHATTAB RA, AHMED NA, RAGAB YM, et al. Bacteria producing antimicrobials against *Clostridium* difficile isolated from human stool[J]. Anaerobe, 2020, 63: 102206.

[30] SANDERS ME, MERENSTEIN DJ, REID G, et al. Author Correction: Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: From biology to the clinic[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(10): 642.

(编辑:周建英 祁晓霞)