

· 临床研究 ·

理肠饮治疗腹泻型肠易激综合征肝郁脾虚证的临床疗效及机制研究

尹德菲¹, 魏秀楠², 刘佳卉³, 程艳¹, 刘彤², 迟莉丽¹

(1. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250014; 2. 山东中医药大学中医学院, 山东 济南 250014; 3. 山东中医药大学第一临床医学院, 山东 济南 250014)

摘要:目的 基于菌-脑-肠轴观察理肠饮治疗腹泻型肠易激综合征(IBS-D) 肝郁脾虚证的临床疗效及对血清脑肠肽、肠道菌群的影响, 探讨其可能的疗效机制。方法 纳入 66 例 IBS-D 肝郁脾虚证患者, 以 2:1 比例随机分为中药组 44 例和西药组 22 例, 中药组予理肠饮口服, 西药组予培菲康联合得舒特口服, 疗程均为 4 周, 评估治疗前、治疗 2 周、治疗 4 周 2 组患者的 IBS 症状严重程度量表(IBS-SSS) 评分变化, 治疗前后观察 2 组患者中医症状积分变化情况, 检测血清脑肠肽指标[血清 P 物质(Substance P, SP) 及 5-羟色胺(Serotonin, 5-HT)] 表达水平及肠道菌群的组成情况。结果 ①治疗 2 周、治疗 4 周, 2 组 IBS-SSS 评分均显著降低($P < 0.01$), 中药组优于西药组($P < 0.01$); 治疗 4 周后, 2 组患者中医证候总积分均显著降低($P < 0.01$), 中药组优于西药组($P < 0.01$), 且中药组临床愈显率及总有效率均高于西药组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。②治疗后, 2 组患者血清 SP 含量均明显下降($P < 0.05$), 中药组血清 5-HT 含量显著下降($P < 0.01$), 2 组比较无显著性差异($P > 0.05$)。③ α 多样性分析提示, 治疗后 2 组肠道菌群的丰富度不同程度下降($P < 0.05$, $P < 0.01$), 西药组菌群多样性较前下降($P < 0.05$), 而中药组较前无明显差异($P > 0.05$); PCoA 分析提示 2 组微生物群落构成均发生明显改变($P < 0.05$), 且组间比较具有显著差异($P < 0.01$)。其中, 中药组治疗后有显著优势的 Biomarker 为 *Clostridium_sensu_stricto_1*、*Bacteroides_plebeius* 等; 西药组治疗后有显著优势的 Biomarker 为 *ruminococcus_gnavus_group*。菌群功能预测提示, 理肠饮治疗 IBS-D 的主要途径为糖代谢相关途径。④治疗期间 2 组患者均未出现与药物相关的不良反应。结论 中药复方理肠饮治疗 IBS-D 肝郁脾虚证疗效确切、安全, 其机制可能与调节血清脑肠肽水平、调整肠道菌群结构、纠正菌群失衡状态、调控糖代谢相关菌群有关。

关键词: 腹泻型肠易激综合征; 菌-脑-肠轴; 理肠饮; 肠道菌群; 脑肠肽

中图分类号: R259

文献标志码: A

文章编号: 1672-0482(2022)08-0687-09

DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2022.0687

引文格式: 尹德菲, 魏秀楠, 刘佳卉, 等. 理肠饮治疗腹泻型肠易激综合征肝郁脾虚证的临床疗效及机制研究[J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(8): 687-695.

Clinical Efficacy and Mechanism of Lichang Beverage in the Treatment of Diarrhea-Type Irritable Bowel Syndrome with Liver Depression and Spleen Deficiency

YIN De-fei¹, WEI Xiu-nan², LIU Jia-hui³, CHENG Yan¹, LIU Tong², CHI Li-li¹

(1. The Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China; 2. School of Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China; 3. The First School of Clinical Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the clinical efficacy of Lichang beverage in the treatment of diarrhea-type irritable bowel syndrome (IBS-D) based on the bacteria-brain-intestine axis and its effects on serum brain-gut peptide and intestinal flora, and to explore the possible mechanism of efficacy. **METHODS** A total of 66 IBS-D patients with liver depression and spleen deficiency were randomly divided into the Chinese medicine group (44 patients) and the western medicine group (22 patients) in a 2:1 ratio. In the Chinese medicine group, Lichang beverage was given orally. However, the patients in the western medicine group were administered with Bifico combination with Dicetel. The treatment course lasted four weeks. Besides, the changes in the IBS-SSS scores of both groups were evaluated before treatment, as well as after two weeks and four weeks of treatment. The changes in the traditional Chinese medicine (TCM) syndrome scores of both groups were observed before and after treatment. In addition, the expression levels of serum

收稿日期: 2022-02-26

基金项目: 国家重点研发计划(2019YFC1712103); 山东省中医药科技发展计划(2019-1058)

第一作者: 尹德菲, 女, 主治医师, E-mail: 750980361@qq.com

通信作者: 迟莉丽, 女, 教授, 主要从事中西医结合治疗消化系统疾病的研究, E-mail: chililiyl@163.com

brain-gut peptide indexes [substance P (SP) and serotonin (5-HT)] and the composition of intestinal flora were measured. **RESULTS** The IBS-SSS scores of both groups were reduced significantly after two weeks and four weeks of treatment ($P < 0.01$), but the results in the Chinese medicine group were better than those in the western medicine group ($P < 0.01$). After four weeks of treatment, the total TCM syndrome scores of both groups were reduced significantly ($P < 0.01$), while the results in the Chinese medicine group were better than those in the western medicine group ($P < 0.01$). In addition, the clinical healing rate and total effective rate of the Chinese medicine group were higher than those of the western medicine group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). After treatment, the serum SP level in both groups were reduced significantly ($P < 0.05$), and the serum 5-HT level in the Chinese medicine group were reduced notably ($P < 0.01$), but there was no significant difference between the two groups ($P > 0.05$). The α diversity analysis indicated that the richness of intestinal flora in both groups decreased to different degrees after treatment ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the diversity of flora in the western medicine group was reduced compared with that before ($P < 0.05$), while there was no significant difference in the Chinese medicine group ($P > 0.05$). The PCoA analysis showed that the composition of microbial community in both groups changed significantly ($P < 0.05$), and there were significant differences between groups ($P < 0.01$). Among them, the biomarkers with significant advantages after treatment in the Chinese medicine group were *Clostridium_sensu_stricto_1* and *Bacteroides_plebeius*. However, the Biomarkers with significant advantages after treatment in the western medicine group were *ruminococcus_gnavus_group*. The functional prediction of the flora suggested that the main pathway of IBS-D treatment by Lichang beverage was glucose metabolism-related. Besides, no drug-related adverse reactions were observed in either group during the treatment course. **CONCLUSION** The efficacy of Chinese herbal medicine compound — Lichang beverage in treating IBS-D with liver depression and spleen deficiency is accurate and safe. Its mechanism may be related to the regulation of serum brain-gut peptide level, adjustment of intestinal flora structure, correction of flora imbalance, and regulation of glucose metabolism-related flora.

KEYWORDS: diarrhea-type irritable bowel syndrome; microbiota-gut-brain axis; Lichang beverage; intestinal flora; brain-gut peptide

肠易激综合征 (Irritable bowel syndrome, IBS) 是一种常见的功能性肠病,其全球发病率高达 11.2%^[1],其中,以腹泻型肠易激综合征 (IBS-D) 亚型最为常见,约占 IBS 的 74.1%^[2]。IBS-D 的发病机制尚未完全阐明,目前认为是多种因素共同作用引起的脑-肠互动异常^[3]。脑-肠轴是大脑和胃肠道之间进行双向调节的复杂神经体液通信网络,脑肠肽在脑和肠呈双重分布,是脑-肠轴运转的关键物质,其分泌或表达异常可致内脏高敏和胃肠动力紊乱^[4-5],而内脏高敏感和胃肠动力异常是 IBS 的病理生理基础^[6-7]。随着微生物组学的发展与应用,肠道菌群在 IBS-D 发病中发挥重要作用也逐渐被证实^[8-9],肠道菌群作为人体的“第二大脑”,与脑-肠互动关系密切,可通过神经、内分泌、免疫和信号传导等途径参与构成菌-脑-肠轴,肠道微生态失衡如菌群结构失调、代谢产物活性改变、小肠细菌过度生长 (Small intestinal bacterial overgrowth, SIBO) 均可诱导 IBS-D 的发生发展^[4,10-12],肠道菌群与脑-肠互动之间的交互调控异常可能是 IBS-D 发病的关键机制。目前西医针对 IBS 的治疗方法主要是对症治疗,尚无特效药,中医治疗本病显示了其独特优势,已成为研究热点,但存在具体疗效机制、作用靶点尚不明确等问题^[13]。

山东省名中医药专家迟莉丽教授及其团队根据本病的主要临床表现及证候演变规律,认为肝郁脾虚是 IBS-D 的基本病机,运用自拟方理肠饮治疗,临床疗效显著。前期临床及基础研究显示该方可降低 IBS-D 患者内脏高敏感、调节结肠动力、改善焦

虑抑郁状态,且具有调控 IBS-D 模型大鼠脑肠肽的作用^[14-18]。为进一步探索及阐释理肠饮治疗 IBS-D 的深层机制,本研究基于菌-脑-肠轴理论,进一步观察理肠饮治疗 IBS-D 肝郁脾虚证患者的临床疗效及其对血清脑肠肽[血清 P 物质 (Substance P, SP)、5-羟色胺 (Serotonin, 5-HT)] 及肠道菌群的影响,分析理肠饮的效应机制及作用靶点。

1 临床资料

1.1 一般资料

收集 2020 年 9 月至 2021 年 10 月山东中医药大学附属医院脾胃病科门诊及住院的 IBS-D 肝郁脾虚证患者 66 例。基于课题组前期研究表明理肠饮治疗 IBS-D 效果显著^[14-18],本研究采用 2:1 反应适应性随机化方法^[19],目的在于将受试者以较大概率分配到疗效更好的组别,保证受试者利益最大化。其中,中药组 44 例(脱落 2 例,失访 1 例);西药组共 22 例(脱落 2 例)。2 组患者基线资料比较无统计学差异 ($P > 0.05$),具有可比性,见表 1。本研究已通过山东中医药大学附属医院伦理委员会审批[审批号:(2020)伦审第(030)号-KY]。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 参照罗马 IV^[20] IBS-D 的诊断标准。反复发作的腹痛,近 3 个月内平均发作至少每周 1 次,至少伴有以下 2 项:①与排便相关;②伴有排便频率的改变;③伴有粪便性状(外观)的改变,>1/4 的排便为 Bristol 粪便性状 6 或 7 型,且 <1/4 的排便为 Bristol 粪便性状 1 或 2 型。以上症状出现至少 6 个月,且近 3 个月符合以上标准方可诊断。

表1 2组患者基线资料比较($\bar{x}\pm s$)Table 1 Comparison of general data of the two groups of patients ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	性别		年龄/ 岁	BMI/ ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$)	婚姻状况		工作性质		学历		病程分布/月		
		男	女			已婚	未婚	体力	脑力	高中以下	专科以上	≤24	24~60	≥60
中药组	41	31	10	38.71±10.16	22.24±3.21	33	8	6	35	9	32	19	9	13
西药组	20	13	7	35.45±13.61	21.54±2.80	13	7	3	17	4	16	7	7	6

1.2.2 中医诊断及辨证标准 中医泄泻的诊断标准参考《中药新药临床研究指导原则》^[21]:大便次数增多,每日3次以上,便质稀溏或水样便。

中医辨证标准参照《中国肠易激综合征中医诊疗专家共识意见(2017年)》^[22]中肝郁脾虚证标准。主症:①腹痛即泻,泻后痛减;②急躁易怒。次症:①两胁胀满;②纳呆;③身倦乏力。舌脉:舌淡胖,可有齿痕,苔薄白;脉弦细。符合主症2项及次症2项,结合舌脉,即可辨证。

1.3 纳入标准

①年龄18~75岁,男女不限;②符合以上中西医诊断标准及辨证标准;③近1周排便日记报告Bristol粪便性状6型或7型 ≥ 4 d且Bristol粪便性状1型或2型 < 4 d;近1周平均每日腹痛评分 ≥ 3 分;④治疗前2周内未服用抗生素、益生菌制剂、抗抑郁药物及对肠易激综合征症状有治疗作用的药物;⑤签署知情同意书,自愿受试。

1.4 排除标准

①糖尿病、甲状腺功能异常者;②严重的急/慢性器质性疾病及肾病或肝病者;③既往腹部手术史者;④孕期或哺乳期妇女;⑤有酒精、药物滥用史者;⑥智力或行为障碍不能给予充分知情同意者。

1.5 脱落及终止标准

未完成本方案所规定的疗程($\leq 80\%$)及观察周期,作为脱落病例;治疗过程中发生严重不良事件或者发生严重不良反应及并发症,或自行加用对肠易激综合征症状有治疗作用的药物者,予终止试验。

2 方法

2.1 治疗方法

西药组给予口服双歧杆菌三联活菌胶囊(培菲康,上海信谊药厂有限公司,生产批号:0420200936,药品规格:210 mg·粒⁻¹),每日2次,每次630 mg,早、晚餐后0.5 h服用,匹维溴铵片(得舒特,法国Abbott Products SAS公司,生产批号:712407,药品规格:50 mg·片⁻¹),每日3次,每次50 mg,餐中吞服。

中药组予理肠饮水煎剂口服,药物组成:炒白术

30 g,党参15 g,茯苓15 g,白芍15 g,柴胡12 g,香附15 g,高良姜6 g,桂枝9 g,陈皮9 g,防风9 g,炙甘草6 g。中药饮片由山东中医药大学附属医院中药房提供,每日1剂,水煎400 mL,分早、晚餐后0.5 h温服。

2组均连续治疗4周。

2.2 观察指标及方法

2.2.1 临床疗效观察 于治疗前、治疗2周、治疗4周采用IBS症状严重程度量表(IBM-SSS)从腹痛程度、腹痛频率、腹胀程度、排便满意度及生活困扰度5个方面评分。采用IBM-SSS等级疗效评定法^[23]评估2组患者临床疗效,痊愈:IBM-SSS总积分 < 75 分;显效:总积分好转2个级别;有效:总积分好转1个级别;无效:总积分无改善或变差。愈显率=(痊愈例数+显效例数)/总例数 $\times 100\%$;总有效率=(痊愈例数+显效例数+有效例数)/总例数 $\times 100\%$ 。

2.2.2 中医证候积分评估 于治疗前后参照《中药新药临床研究指导原则》^[21]中泄泻肝郁脾虚证评分标准进行评分,总积分为主症和次症各积分相加,见表2。

2.2.3 血清脑肠肽指标检测 随机选取2组各10例患者,于治疗前后早晨空腹抽取静脉血5 mL,3 500 r·min⁻¹离心10 min取血清,置于-80℃冰箱中保存。采用ELISA法检测患者血清SP及5-HT水平变化,试剂盒购自上海将来实业股份有限公司,货号分别为JL11060、JL10725,检测仪器为Rayto RT-6100酶标分析仪。

2.2.4 粪便菌群检测 治疗前后取上述2组20例患者粪便样本,置于2 mL无菌冻存管中,于-80℃冰箱内保存,使用NovaSeq PE250测序平台,采用16S rDNA测序技术进行比较分析,由北京诺禾致源生物科技有限公司完成检测。

2.2.5 安全性评价 治疗前后检测2组患者血、尿、粪常规,检测血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)及尿素氮(BUN),记录药物不良反应。

表 2 中医泄泻肝郁脾虚证积分评分标准

Table 2 Evaluation standard of TCM syndrome score

症状	0 级	1 级	2 级	3 级
腹胀腹痛	0 分:无症状	3 分:偶有轻微腹胀腹痛	6 分:腹胀腹痛较重,但能忍受	9 分:剧烈腹胀腹痛,不能忍受,需要药物控制
大便泄泻	0 分:无症状	3 分:大便不成形,每日 3~4 次	6 分:大便稀溏,每日 5~10 次	9 分:大便如水样,每日 10 次以上
腹痛欲泻泻后痛减	0 分:无症状	3 分:偶有发生	6 分:经常发作,遇精神刺激加重	9 分:每日发作
情志抑郁烦躁易怒	0 分:无症状	3 分:偶有情绪抑郁或急躁	6 分:易发情绪抑郁低落或烦躁易怒	9 分:经常情绪抑郁低落或烦躁易怒难以自控
胸胁胀痛	0 分:无症状	1 分:偶尔胀痛,0.5 h 内可自行缓解	2 分:每天疼痛时间<2 h	3 分:呈持续痛,需服止痛药
嗝气	0 分:无症状	1 分:每日<4 次	2 分:每日 4~10 次	3 分:每日>10 次
食欲不振	0 分:无症状	1 分:食欲较差,食量较平时少 1/3	2 分:食欲不佳,食量较平时少 1/3 以上	3 分:终日不欲进食,食量不到平时 1/2
倦怠乏力	0 分:无症状	1 分:肢体稍倦,可坚持轻体力工作	2 分:四肢乏力,勉强坚持日常活动	3 分:全身无力,终日不愿活动

2.3 统计学方法

采用 IBM SPSS Statistics 23.0 软件进行统计分析。计数资料以频数描述,采用 χ^2 检验;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,符合正态分布的采用 t 检验,不符合正态分布的计量资料及有序等级资料采用秩和检验。多个观察时点的总积分数据资料,若符合正态分布、

方差齐,则采用重复测量资料方差分析;不符合正态分布的采用秩和检验。所有统计推断为双侧检验,检验水准以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 2 组患者治疗前后 IBS-SSS 积分情况比较
结果见表 3~4。

表 3 2 组患者治疗前后 IBS-SSS 积分比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of IBS-SSS scores between 2 groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	治疗前	治疗 2 周	治疗 4 周
中药组	41	360.12±50.14	212.93±72.89 ^{***}	126.46±70.76 ^{**△△##}
西药组	20	339.50±45.48	264.00±53.60 ^{**}	208.00±79.68 ^{**△△}

注:组内比较,与治疗前比较,^{**} $P < 0.01$,与治疗 2 周比较,^{△△} $P < 0.01$;组间比较,^{##} $P < 0.01$ 。

表 4 2 组患者 IBS-SSS 积分临床疗效比较

Table 4 Comparison of clinical efficacy between 2 groups of patients

组别	例数	治愈	显效	有效	无效	愈显率/%	总有效率/%
中药组	41	8	17	14	2	60.98 ^{##}	95.12% [#]
西药组	20	1	3	11	5	20.00	75.00%

注:组间比较, $\chi^2_{愈显率} = 9.050$,^{##} $P < 0.01$; $\chi^2_{总有效率} = 5.358$,[#] $P < 0.05$ 。

3.2 2 组患者治疗前后中医证候积分情况比较
结果见表 5。

3.3 2 组患者治疗前后血清脑肠肽检测结果比较
结果见表 6。

3.4 2 组患者治疗前后肠道菌群 16S rDNA 测序分析

3.4.1 样本测序量及深度 40 份样本经 16S rDNA

测序后,共获得 2 736 201 条高质量序列,平均 68 405 条序列/样本(序列范围 56 081~81 580 条),共生成 3 629 个 ASV。物种稀释曲线随着测序深度的增加曲线逐渐平坦,提示测序深度足够。物种累计箱形图曲线随着样品量的增加而逐渐平坦,提示样品量足够,见图 1。

表5 2组患者治疗前后中医证候积分情况比较[$M(P_{25}, P_{75})$]Table 5 Comparison of TCM syndrome scores between 2 groups before and after treatment [$M(P_{25}, P_{75})$]

组别	时间	腹胀腹痛	大便泄泻	腹痛欲泻,泻后痛减	情志抑郁,烦躁易怒
中药组 (n=41)	治疗前	6.00(6.00,7.50)	3.00(3.00,6.00)	6.00(6.00,9.00)	6.00(6.00,6.00)
	治疗后	3.00(3.00,3.00)**	0.00(0.00,3.00)**##	3.00(3.00,3.00)**##	3.00(3.00,3.00)**##
西药组 (n=20)	治疗前	6.00(6.00,6.00)	6.00(6.00,6.00)	9.00(9.00,9.00)	6.00(6.00,8.25)
	治疗后	3.00(3.00,3.00)**	3.00(3.00,3.00)**	4.00(4.50,6.00)**	3.00(3.00,6.00)**

组别	时间	胸胁胀痛	暖气	食欲不振	倦怠乏力	总积分
中药组 (n=41)	治疗前	1.00(1.00,2.00)	2.00(2.00,3.00)	1.00(1.00,1.00)	1.00(1.00,1.50)	29.90±5.15
	治疗后	0.00(0.00,1.00)**	1.00(1.00,1.00)**##	0.00(0.00,0.00)**##	0.00(0.00,1.00)**#	9.20±4.95**##
西药组 (n=20)	治疗前	1.00(1.00,1.00)	2.00(2.00,2.00)	1.00(1.00,1.00)	1.00(1.00,1.00)	30.20±5.22
	治疗后	0.00(0.00,1.00)*	2.00(2.00,2.00)	1.00(1.00,1.00)	1.00(1.00,1.00)*	18.05±6.68**##

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

表6 2组患者治疗前后血清SP、5-HT含量比较

($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 6 Comparison of serum SP and 5-HT levels in 2 groups before and after treatment ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	时间	SP/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	5-HT/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)
中药组	治疗前	22.75±2.77	135.79±12.48
	治疗后	19.07±2.47*	105.64±12.66**
西药组	治疗前	22.48±2.71	125.76±13.44
	治疗后	18.25±2.36*	106.99±18.38

注:组内比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

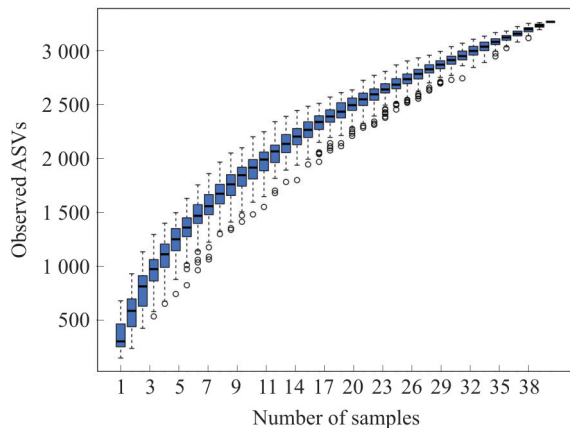


图1 物种累计箱型图

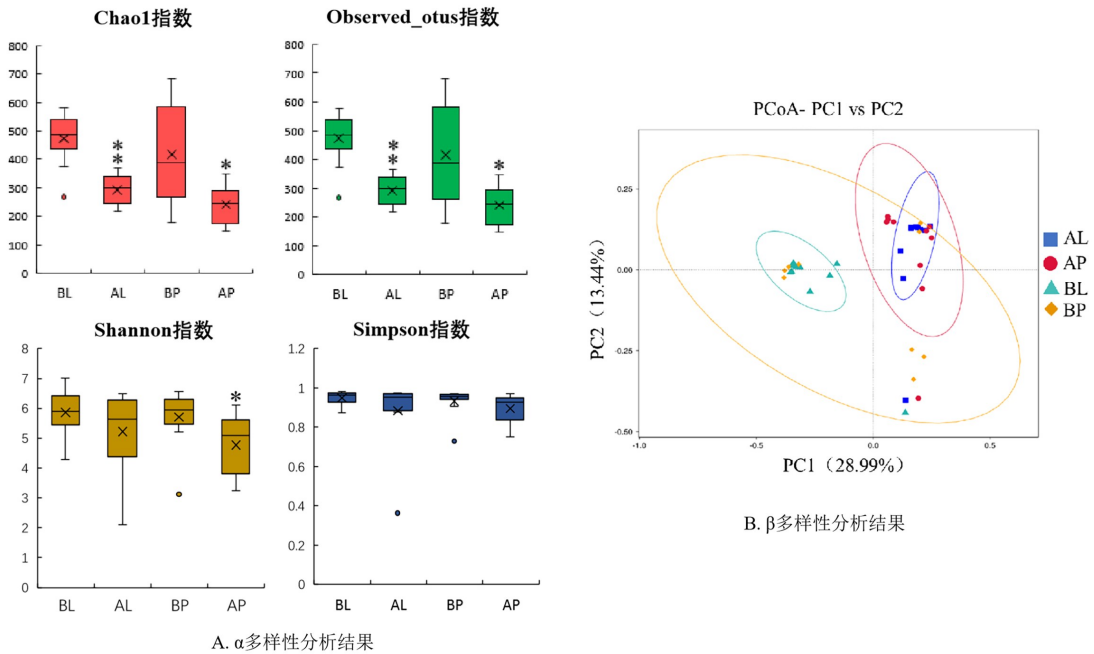
Fig. 1 Cumulative box plot of species

3.4.2 肠道菌群多样性分析 α 多样性分析可以反映样本内的微生物群落的丰富度和多样性。结果显示,治疗后,2组反映物种丰富度的指数 Chao1 指数、Observed_otus 指数均明显下降($P<0.05$, $P<$

0.01)。西药组反映肠道菌群物种多样性的 Shannon 指数较治疗前下降($P<0.05$),中药组 Shannon 指数无明显变化($P>0.05$),见图 2A。

β 多样性分析可以反映不同样本微生物群落构成的差异。通过主坐标分析(PCoA)对样品进行聚类,结果显示 2 组患者治疗前和治疗后被明显区分开,经 Permutational MANOVA 检验证明 2 组患者治疗前组间比较无统计学意义($P>0.05$),治疗后,2 组微生物群落构成均发生明显改变($P<0.05$),且组间比较具有显著差异($P<0.01$),见图 2B。

3.4.3 LEfSe 物种差异分析 为进一步分析肠道菌群特异性物种,本研究对中药组和西药组治疗前后多级物种进行线性判别分析(LEfSe),LDA 值分布柱状图中展示了 LDA score>设定值(默认设置为 4)的物种,即组间具有显著差异的 Biomarker。柱状图的长度代表差异物种的影响大小(即为 LDA score)。在进化分支图中,由内至外辐射的圆圈代表了由门至属(或种)的分类级别。在不同分类级别上的每一个小圆圈代表该水平下的一个分类,小圆圈直径大小与相对丰度大小呈正比。通过 LEfSe 对 2 组患者治疗后的 Biomarker 进行了初步筛选,发现 *Clostridium_sensu_stricto_1*、*Megamonas*、*Bacteroides_plebeius*、*Veillonella_magna* 等菌属/种为中药组治疗后优势菌群($P<0.05$),见图 3A~B。*Ruminococcus_gnavus_group* 菌属为西药组治疗后优势菌群($P<0.05$),见图 3C~D。



注: BL. 中药组治疗前; AL. 中药组治疗后; BP. 西药组治疗前; AP. 西药组治疗后;
与本组治疗前相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 2 2 组患者治疗前后肠道菌群多样性比较

Fig. 2 Comparison of the diversity of intestinal flora in 2 groups before and after treatment

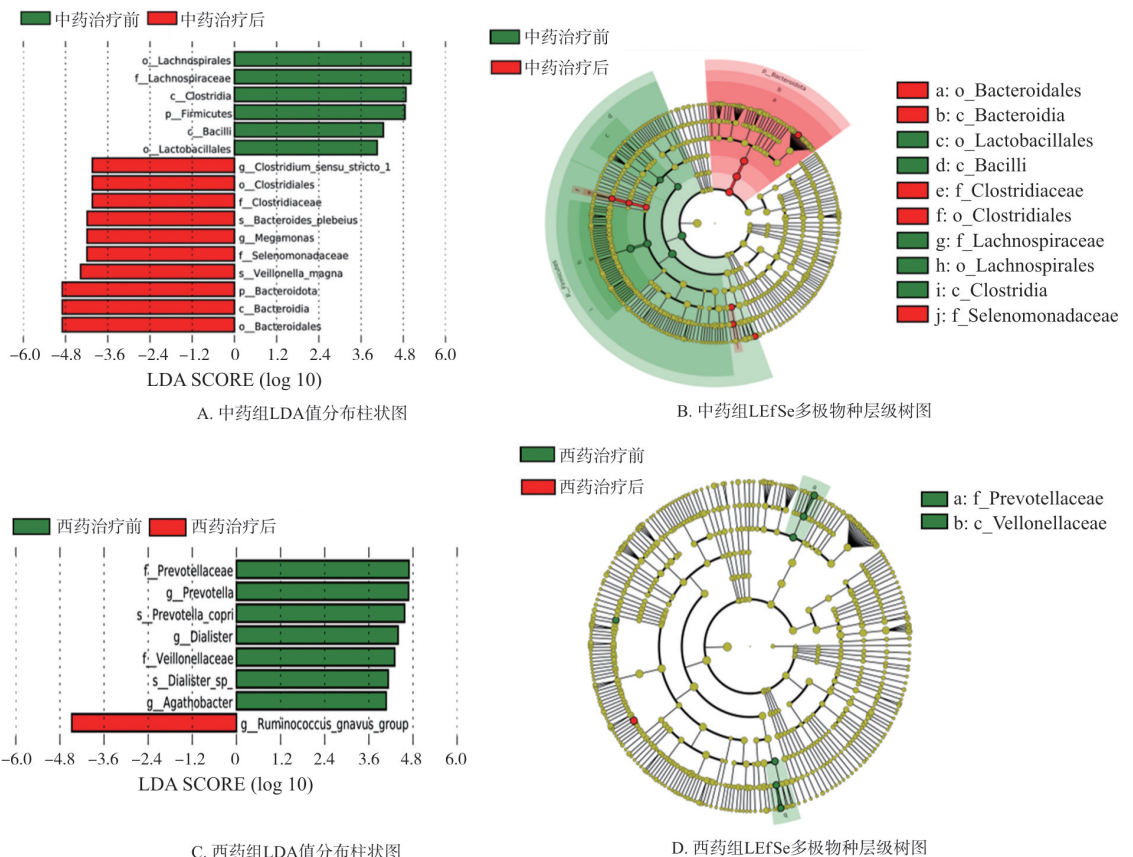


图 3 肠道菌群 LefSe 分析

Fig. 3 LefSe analysis of intestinal flora

3.4.4 功能预测 差异菌群在 GO 数据库比对到的基因有 6 906 个,利用单因素方差分析对不同组功能丰度进行统计。在二级水平上基于功能丰度的组间差异分析表明,中药组治疗前后有统计学差异的功能蛋白有 440 项($P<0.05$),其中有极显著差异的功能蛋白有 103 项($P<0.01$)。中药组治疗后显著下调的蛋白主要有 LacI 家族转录调节因子(LacI-TFs)、多糖转运系统通透酶蛋白、转酮醇酶(TK)、响应调节因子 YesN 等。西药组治疗前后有统计学差异的功能蛋白有 43 项($P<0.05$),其中有极显著差异的有 10 项($P<0.01$),西药组治疗后显著下调的蛋白主要有苏氨酸醛缩酶(TAs)、辅助基因调节子 B(Agr B)、趋化蛋白 CheY、鞭毛钩相关蛋白 2

(HAP2)、趋化偶联蛋白 CheW 等。

本研究通过 Picrust2 对代表性序列进行功能预测,挖掘其潜在作用靶点及代谢通路,在 KEGG 数据库比对得到的通路有 400 个。在二级水平上基于功能丰度的差异分析表明,与治疗前比较,中药组治疗后有统计学差异的通路有 57 项($P<0.05$),其中有显著差异的有 7 项($P<0.01$),芳香族氨基酸生物合成的超通路、N10-甲酰四氢叶酸生物合成明显减少,见图 4A。与治疗前比较,西药组治疗后有统计学差异的通路有 8 项($P<0.05$),甲基赤藓糖醇磷酸盐途径 I/II (MEP I/II)、香叶酰二磷酸生物合成 II、异丙醇生物合成等明显减少,见图 4B。

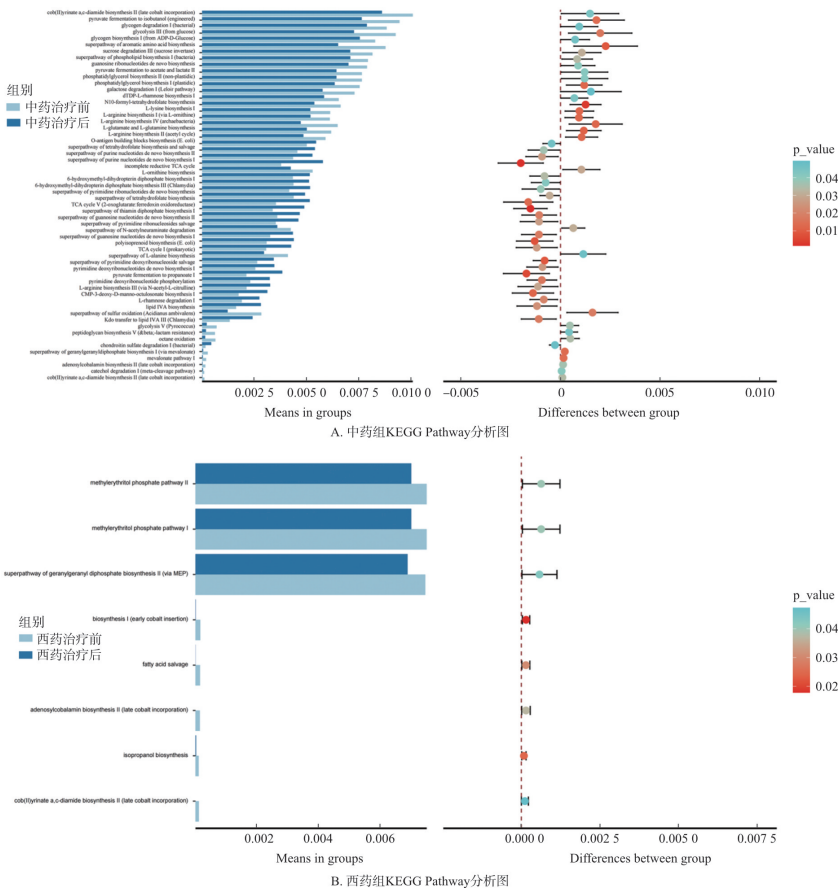


图 4 KEGG Pathway 差异分析

Fig. 4 KEGG Pathway difference analysis

3.5 安全性评价

2 组患者均未出现与药物相关的不良反应,治疗前后三大常规、ALT、BUN 无明显差异,表明 2 种治疗方法均具有安全性。

4 讨论

理肠饮是迟莉丽教授治疗 IBS-D 的经验方,由

痛泻要方合柴芍六君子汤加减化裁而来,方中炒白术补脾燥湿以培土,为君药;党参健脾益气、茯苓健脾利湿,二者与炒白术配伍,培土扶脾,白芍柔肝缓急、柴胡辛开苦降,二者一散一收、疏达肝气,与健脾药相配,土中泻木,共奏柔肝补脾之功,共为臣药;香附疏肝理气,高良姜、桂枝温阳化气、散寒化饮,陈皮

理气和胃、醒脾化湿,使全方补而不滞,防风气味辛散,舒达肝脾,引药入脾经,共为佐使;炙甘草补益脾气为使药。诸药合用,共奏疏肝解郁安神,健脾化湿止泻、解痉止痛安肠之效,以期达到心身同治、脑肠同调之功。本研究结果显示,治疗后,中药组 IBS-SSS 积分、中医证候积分均显著改善,且临床整体疗效及中医证候总积分均优于西药组。既往研究表明,IBS 与功能性消化不良、胃食管反流病等多种消化系统功能性疾病存在症状群的重叠,且彼此之间可以互相转换,增加了临床诊断与治疗的难度。中医证候单项积分改善情况,显示出理肠饮可全面改善 IBS-D 患者的多重症状。

脑肠肽如 SP、5-HT 的分泌和表达异常可致内脏高敏和胃肠动力紊乱^[4-5]。SP 是最早发现的具有神经递质和激素双重作用的脑肠肽,可通过脑-肠轴促进肥大细胞脱颗粒并释放组胺,增加痛觉传递,导致内脏高敏,同时能促进肠蠕动,增加结肠动力^[24-26]。5-HT 是肠道痛觉传导的重要调节物质,其表达增加,可使内脏过敏感,导致腹痛^[27]。有研究表明,5-HT 异常表达可能是 IBS-D 肝郁脾虚证的物质基础。本研究发现理肠饮可不同程度降低血清 5-HT、SP 含量。结合疗效评价结果及课题组前期研究,表明理肠饮可通过下调 SP、5-HT 水平改善内脏高敏、调节肠动力,从而减轻腹痛腹泻等症状。

此外,本研究分析了 IBS-D 患者治疗前后肠道菌群多样性及菌群结构的差异。综合 α 及 β 多样性分析结果表明经过治疗,2 组患者肠道菌群丰度下降,整体菌群结构发生了显著变化。本研究中的差异菌属 *Ruminococcus_gnavus_group*、*Clostridium_sensu_stricto_1* 均为产丁酸菌属,丁酸为短链脂肪酸(SCFAs)之一,是肠上皮细胞的主要营养物质,对 IBS-D 患者存在的肠道低度炎症具有修复作用^[28-29],同时,SCFAs 可以和次级胆汁酸协同调节 5-HT 肠道水平^[30]。进一步对肠道菌群进行功能预测结果发现,中药组治疗后具有显著差异的功能蛋白及通路主要与糖代谢有关。既往研究表明可发酵的寡糖、二糖、单糖和多元醇(FODMAPs)容易被肠道菌群发酵产生气体,增加液体负荷和内脏高敏感^[31],而引起 5-HT 等脑肠肽的代谢紊乱,并上传至中枢系统,从而加重 IBS 的症状^[32]。理肠饮可能通过降低糖类合成、降解,降低内脏敏感性,调节脑肠肽从而缓解 IBS-D 症状。此外,氨基酸类神经递质在 IBS-D 发病中有调节作用,肠道菌群对宿主蛋

白质过度分解产生各种生物活性化合物,如色氨酸作为 5-HT 代谢产物的前体,其代谢中断和氧化应激增加都会影响脑肠肽的产生和释放,诱导 IBS-D 的发生发展,并且导致焦虑或抑郁的发生^[33-35]。中药组治疗后芳香族氨基酸通路丰度明显降低,提示理肠饮可能通过作用于肠道菌群改善氨基酸的代谢,调节脑肠肽,以发挥治疗作用。由此可见,肠道菌群在菌-脑-肠轴的运转中发挥着重要的媒介作用,可能是理肠饮发挥作用的关键靶点^[36-38]。

综上所述,理肠饮治疗 IBS-D 肝郁脾虚证可有效减轻患者临床症状、改善生活质量,安全有效。其机制可能是通过纠正肠道菌群紊乱,增加有益菌、减少致病菌,协调糖酵解与代谢相关菌群的功能,通过菌-脑-肠轴调控血清 SP 及 5-HT 水平,从而缓解内脏高敏及动力紊乱,达到治愈 IBS-D 的作用。由于微生物系统庞大、IBS-D 发病机制复杂,诸多肠道菌群、脑肠肽与相关调节蛋白及代谢通路的关系仍不明确,其生物学机制还有待进一步研究。后续研究中,本课题组将脑肠肽与肠道菌群的相关性进行分析,继续挖掘二者深层关系;并纳入健康志愿者,增加样本量,进一步筛选 IBS-D 发病与治疗相关的靶菌做更深入研究,以期找到 IBS-D 新的治疗靶点和特异性的生物学标志物。

参考文献:

- [1] ENCK P, AZIZ Q, BARBARA G, et al. Irritable bowel syndrome [J]. Nat Rev Dis Primers, 2016, 2: 16014.
- [2] XIONG LS, CHEN MH, CHEN HX, et al. A population-based epidemiologic study of irritable bowel syndrome in Guangdong province [J]. Nat Med J Chin, 2004, 84(4): 278-281.
- [3] 方秀才. 肠易激综合征发病机制研究进展 [J]. 胃肠病学, 2020, 25(6): 321-325.
FANG XC. Advances in study on pathogenesis of irritable bowel syndrome [J]. Chin J Gastroenterol, 2020, 25(6): 321-325.
- [4] MARGOLIS KG, CRYAN JF, MAYER EA. The microbiota-gut-brain axis: From motility to mood [J]. Gastroenterology, 2021, 160(5): 1486-1501.
- [5] BENNETT G, TALLEY NJ. Irritable bowel syndrome in the elderly [J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2002, 16(1): 63-76.
- [6] 熊理守, 彭德, 陈为, 等. 肠易激综合征患者的就医行为及其影响因素 [J]. 中华全科医师杂志, 2010, 9(12): 829-832.
XIONG LS, PENG S, CHEN W, et al. Correlates of health-care seeking behavior in patients with irritable bowel syndrome [J]. Chin J Gen Pract, 2010, 9(12): 829-832.
- [7] 杨焱麟, 陈敏, 周彦妮, 等. P 物质与肝郁脾虚型腹泻型肠易激综合征关系及中医药调控的研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(9): 82-85.
YANG YL, CHEN M, ZHOU YN, et al. Research progress of substance P, liver stagnation and spleen deficiency type of IBS-D and traditional Chinese medicine regulation [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2021, 39(9): 82-85.
- [8] 陈立亚, 刘畅, 汪芳裕. 肠易激综合征与肠道微生态及脑-肠轴关系的研究进展 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2017, 26(5): 491-495.
- [9] CHEN LY, LIU C, WANG FY. Research progress of the relationship of gut microbiota, gut-brain axis with irritable bowel syndrome [J]. Chin J Gastroenterol Hepatol, 2017, 26(5): 491-495.
- [9] TAP J, DERRIEN M, TÖRNBLÖM H, et al. Identification of an

- intestinal microbiota signature associated with severity of irritable bowel syndrome[J]. *Gastroenterology*, 2017, 152(1): 111-123.
- [10] LABUS JS, OSADCHIY V, HSLAO EY, et al. Evidence for an association of gut microbial Clostridia with brain functional connectivity and gastrointestinal sensorimotor function in patients with irritable bowel syndrome, based on tripartite network analysis[J]. *Microbiome*, 2019, 7: 45.
- [11] BARBARA G, FEINLE-BISSET C, GHOSHAL UC, et al. The intestinal microenvironment and functional gastrointestinal disorders[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(6): 1305-1318.
- [12] 李兆龙, 张有成, 韩文峰, 等. 粪菌移植治疗肠易激综合征研究进展[J]. *中国微生态学杂志*, 2021, 33(2): 231-235.
- LI ZL, ZHANG YC, HAN WF, et al. Advances in the treatment of irritable bowel syndrome with fecal bacteria transplantation[J]. *Chin J Microecol*, 2021, 33(2): 231-235.
- [13] 赵鲁卿, 张声生, 卢小芳, 等. 疏肝健脾方对腹泻型肠易激综合征大鼠的治疗作用及对肥大细胞 5-HT 通路的影响[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2017, 25(8): 589-594.
- ZHAO LQ, ZHANG SS, LU XF, et al. Effect of Shugan Jianpi formula on mast cell and 5-HT pathway in D-IBS rats[J]. *Chin J Integr Tradit West Med Dig*, 2017, 25(8): 589-594.
- [14] 孙大娟, 由新鹏, 迟莉丽. 基于“土中泻木”理论论治肝郁脾虚型腹泻型肠易激综合征疗效观察及机制探讨[J]. *南京中医药大学学报*, 2020, 36(2): 193-196.
- SUN DJ, YOU XP, CHI LL. Discussion on curative effect and mechanism of treating diarrhea predominant irritable bowel syndrome with liver-stagnation and spleen-deficiency based on “purging wood from earth” [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*, 2020, 36(2): 193-196.
- [15] 孙大娟, 梁峻尉, 闫华, 等. 腹泻型肠易激综合征患者直肠动力学变化及中药复方的干预作用[J]. *中国中医药科技*, 2019, 26(3): 423-424.
- SUN DJ, LIANG JW, YAN H, et al. Rectal dynamic change in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome and that intervention effect of chinese herbal compound [J]. *Chin J Tradit Med Sci Technol*, 2019, 26(3): 423-424.
- [16] 孙大娟, 迟莉丽, 梁峻尉, 等. 焦虑状态与 IBS-D 的相关性研究及中药复方的干预作用[J]. *光明中医*, 2018, 33(17): 2473-2475.
- SUN DJ, CHI LL, LIANG JW, et al. Study on the correlation between anxiety state and IBS-D and intervention effect of compound traditional Chinese medicine [J]. *Guangming J Chin Med*, 2018, 33(17): 2473-2475.
- [17] 梁峻尉, 白文筠, 迟莉丽, 等. 加味理肠饮对腹泻型肠易激综合征大鼠 5-HT、NPY 及肥大细胞的影响[J]. *山东中医药大学学报*, 2018, 42(4): 346-350.
- LIANG JW, BAI WY, CHI LL, et al. Effects of Jiawei lichang decoction on 5-HT, NPY, and mast cells in rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. *J Shandong Univ Tradit Chin Med*, 2018, 42(4): 346-350.
- [18] 梁峻尉, 白文筠, 迟莉丽, 等. 中药加味理肠饮对腹泻型肠易激综合征大鼠 SP、VIP、CORT 含量的影响[J]. *中医药学报*, 2018, 46(3): 54-57.
- LIANG JW, BAI WY, CHI LL, et al. Effect of modified Jiawei lichang Yin on SP, VIP and CORT in IBS rats of diarrhea type [J]. *Acta Chin Med Pharmacol*, 2018, 46(3): 54-57.
- [19] 王雨宁, 徐畅, 邹康, 等. 临床试验中适应性随机化的应用[J]. *中国循证医学杂志*, 2020, 20(5): 616-620.
- WANG YN, XU C, ZOU K, et al. Application of adaptive randomization in clinical trials [J]. *Chin J Evid Based Med*, 2020, 20(5): 616-620.
- [20] DROSSMAN DA, HASLER WL. Rome IV—functional GI disorders: Disorders of gut-brain interaction [J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(6): 1257-1261.
- [21] 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: 134-151.
- Guiding Principles for Clinical Research of New Chinese Medicine; Trial Implementation [M]. Beijing: China medical science press, 2002: 134-151.
- [22] 张声生, 魏玮, 杨俭勤. 肠易激综合征中医诊疗专家共识意见(2017)[J]. *中医杂志*, 2017, 58(18): 1614-1620.
- ZHANG SS, WEI W, YANG JQ. Consensus of TCM diagnosis and treatment experts on irritable bowel syndrome(2017) [J]. *J Tradit Chin Med*, 2017, 58(18): 1614-1620.
- [23] 卞立群. 肠安 I 号方治疗 IBS-D 的临床疗效评价暨临床疗效评价指标的比较研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2011.
- BIAN LQ. Clinical effect evaluation of Chang'anyihao decoction in treating IBS-D and research of IBS clinical effect assessment indices [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2011.
- [24] GROS M, GROS B, MESONERO JE, et al. Neurotransmitter dysfunction in irritable bowel syndrome: Emerging approaches for management [J]. *J Clin Med*, 2021, 10(15): 3429.
- [25] MISHIMA Y, ISHIHARA S. Enteric microbiota-mediated serotonergic signaling in pathogenesis of irritable bowel syndrome [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 10235.
- [26] 胡莹, 郑依玲, 梅全喜, 等. 痛泻要方破壁饮片对腹泻型肠易激综合征大鼠脑肠肽的影响[J]. *中药材*, 2020, 43(7): 1726-1731.
- HU Y, ZHENG YL, MEI QX, et al. Effect of Tongxieyaofang ultrafine granular powder on intestine propulsion and vasoactive intestinal peptide in diarrhea-predominant of irritable bowel syndrome model rats [J]. *J Chin Med Mater*, 2020, 43(7): 1726-1731.
- [27] BOSI A, BANFI D, BISTOLETTI M, et al. Tryptophan metabolites along the microbiota-gut-brain axis: An interkingdom communication system influencing the gut in health and disease [J]. *Int J Tryptophan Res*, 2020, 13: 1178646920928984.
- [28] KONG C, GAO RY, YAN XB, et al. Probiotics improve gut microbiota dysbiosis in obese mice fed a high-fat or high-sucrose diet [J]. *Nutrition*, 2019, 60: 175-184.
- [29] PÉREZ-BURILLO S, PASTORIZA S, FERNÁNDEZ-ARTEAGA A, et al. Spent coffee grounds extract, rich in mannoooligosaccharides, promotes a healthier gut microbial community in a dose-dependent manner [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(9): 2500-2509.
- [30] XIAO L, LIU Q, LUO M, et al. Gut microbiota-derived metabolites in irritable bowel syndrome [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 729346.
- [31] HALMOS EP, POWER VA, SHEPHERD SJ, et al. A diet low in FODMAPs reduces symptoms of irritable bowel syndrome [J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(1): 67-75.
- [32] CREMON C, CARINI G, WANG BX, et al. Intestinal serotonin release, sensory neuron activation, and abdominal pain in irritable bowel syndrome [J]. *Am J Gastroenterol*, 2011, 106(7): 1290-1298.
- [33] 唐洪梅, 涂星, 柴玉娜, 等. 两种亚型肠易激综合征中氨基酸神经递质及其受体变化[J]. *世界华人消化杂志*, 2014, 22(30): 4559-4565.
- TANG HM, TU X, CHAI YN, et al. Contents of amino acid neurotransmitters and expression of γ -aminobutyric acid receptor in two subtypes of irritable bowel syndrome [J]. *World Chin J Dig*, 2014, 22(30): 4559-4565.
- [34] 赵莹. 抗生素诱导小鼠菌群变化与宿主代谢组相关性的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2013.
- ZHAO Y. Antibiotics-induced mice microbial alteration and their relationship with host metabolic profiles [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2013.
- [35] CHAVES FILHO AJM, LIMA CNC, VASCONCELOS SMM, et al. IDO chronic immune activation and tryptophan metabolic pathway: A potential pathophysiological link between depression and obesity [J]. *Prog Neuro Psychopharmacol Biol Psychiatry*, 2018, 80: 234-249.
- [36] HATA T, ASANO Y, YOSHIHARA K, et al. Regulation of gut luminal serotonin by commensal microbiota in mice [J]. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0180745.
- [37] ALEMI F, POOLE DP, CHIU J, et al. The receptor TGR5 mediates the prokinetic actions of intestinal bile acids and is required for normal defecation in mice [J]. *Gastroenterology*, 2013, 144(1): 145-154.
- [38] REIGSTAD CS, SALMONSON CE, RAINEY JF, et al. Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells [J]. *FASEB J*, 2015, 29(4): 1395-1403.

(编辑:周建英 董盈妹)