

文章编号: 1005-0957 (2024) 07-0791-08

• 动物实验 •

电针对功能性消化不良大鼠肠道菌群的影响

康朝霞¹, 司原成¹, 韩永丽², 张二伟¹, 崔冬梅¹

(1. 贵州中医药大学, 贵阳 550025; 2. 湖北中医药大学, 武汉 430061)

【摘要】 目的 观察电针对功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 大鼠胃肠动力及肠道菌群的影响。**方法** 将 40 只 SD 雄性大鼠随机分为空白组 10 只和造模组 30 只。造模组大鼠根据多种因素综合干预方法复制 FD 模型, 选取 20 只造模成功的大鼠, 随机分为模型组和电针组, 每组 10 只。电针组针刺足三里和太冲穴, 并在足三里穴接电针仪, 共干预 14 d。观察各组大鼠体质量、胃内残留率、小肠推进率变化, 利用 16SrRNA 测序分析大鼠肠道菌群的变化。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠体质量增长缓慢, 胃内残留率增加, 小肠推进率下降; 干预后, 与模型组比较, 电针组大鼠体质量增加, 胃内残留率降低, 小肠推进率增加 ($P < 0.01$)。Adonis、NMDS、PCoA 结果显示, 空白组与模型组之间大鼠肠道菌群结构组成存在明显的差异, FD 模型组大鼠肠道菌群结构发生改变。Chao1 指数、Shannon 指数显示 3 组之间物种总数无统计学差异, 模型组大鼠肠道菌群的多样性和均匀性与空白组存在明显差别, 而电针组大鼠肠道菌群的多样性和均匀性更接近于空白组。模型组大鼠粪便样本中缺失酸杆菌门, 而电针增加了 FD 大鼠酸杆菌门的相对丰度, 更接近于空白组。**结论** FD 模型大鼠肠道菌群结构与正常大鼠存在明显差异, FD 大鼠肠道菌群结构及物种组成发生改变。电针可调节 FD 大鼠肠道菌群的结构, 同时改善 FD 大鼠胃肠动力。

【关键词】 针刺疗法; 电针; 功能性消化不良; 肠道菌群; 大鼠**【中图分类号】** R2-03 **【文献标志码】** A

DOI: 10.13460/j.issn.1005-0957.2024.07.0791

Effect of electroacupuncture on intestinal microbiota in functional dyspepsia rats KANG Zhaoxia¹, SI Yuancheng¹, HAN Yongli², ZHANG Erwei¹, CUI Dongmei¹. 1. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China; 2. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061, China

[Abstract] Objective To observe the effect of electroacupuncture on intestinal microbiota in functional dyspepsia (FD) rats. **Method** Forty male SD rats were randomized into a blank group (10 rats) and a modeling group (30 rats). Rats in the modeling group were prepared as FD models using a multi-factor combination method. Twenty successful models were then randomly divided into a model group and an electroacupuncture group, each consisting of 10 rats. The electroacupuncture group received acupuncture at Zusanli (ST36) and Taichong (LR3) with Zusanli connected with the electroacupuncture device. The intervention lasted 14 d. Each group was observed for changes in the rat's body mass, gastric residual rate, and small intestine propulsion rate, and the 16SrRNA sequencing technique was used to analyze changes in the rat's intestinal microbiota. **Result** Compared with the blank group, the rat's body mass grew more slowly, the gastric residual rate increased, and the intestine propulsion rate dropped in the model group; after the intervention, the rat's body mass increased, the gastric residual rate decreased, and the intestine propulsion rate increased in the electroacupuncture group compared to the model group ($P < 0.01$). The Adonis, NMDS, and PCoA

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82060897); 贵州省科技计划项目 [黔科合基础-ZK (2022) 一般 466]; 贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究项目 (QZYY-2022-007); 贵州省教育厅高等学校科学研究项目青年项目 [黔科技 (2022) 211]; 贵州中医药大学博士启动基金 [贵中医博士启动 (2020) 27 号]

作者简介: 康朝霞 (1989—), 女, 讲师, 博士, Email: 313191938@qq.com

showed significant differences between the blank and model groups when comparing the rat's intestinal microbiota structural composition, and the intestinal microbiota structure changed in the model group rats. Chao1 index and Shannon index revealed that there were insignificant differences among the three groups in comparing the total number of species, though significant differences existed between the model and blank groups in the diversity and uniformity of intestinal microbiota, and the electroacupuncture group was closer to the blank group in comparing the diversity and uniformity of intestinal microbiota. The fecal samples lacked Acidobacteria in the model group rats, while electroacupuncture increased the relative abundance of Acidobacteria in FD rats, more approaching to that in the blank group. **Conclusion** FD model rats have significant differences in the intestinal microbiota structure compared to normal rats, and the intestinal microbiota structure and species composition have undergone changes in FD rats. Electroacupuncture can regulate the gut microbiota structure in FD rats and improve their gastrointestinal motility.

[Key words] Acupuncture therapy; Electroacupuncture; Functional dyspepsia; Intestinal microbiota; Rats

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是一种以上腹部疼痛或烧灼感、早饱、餐中或餐后饱胀为特征的临床综合征^[1]。以往的研究认为胃肠动力异常、内脏高敏性、神经系统功能障碍等是FD的主要发病因素^[2-3],但Rome IV标准提出低度炎症、肠道微生物组成改变在FD发病过程中发挥了更为重要的作用^[4-6]。研究表明,肠道菌群通过多种致病机制(包括肠胃蠕动受损、内脏超敏性、免疫激活、黏膜通透性增加和中枢神经系统疾病)发挥作用,肠道菌群的失衡是FD发生发展的重要环节^[7],但目前关于电针对其调节作用的机制研究较少。鉴于电针治疗FD疗效显著,且本课题组前期研究也证实电针可以促进FD大鼠胃肠动力,改善FD相关症状^[8-11],因此为明确电针对FD大鼠肠道菌群的影响,本研究建立FD大鼠模型,运用电针进行干预,采用16sRNA技术检测各组大鼠肠道菌群的结构与组成变化,旨在从肠道微生物角度阐释FD的发病机制及电针治疗FD的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级Sprague Dawley雄性大鼠40只,均来自中国三峡大学动物中心实验室,合格证号[syxk(鄂)2017-0067],大鼠体质量(200±20)g,室温保持在22℃~25℃,湿度维持在50%~60%,12h进行光照与黑暗交替,自由进食和饮水。大鼠适应1周后正式启动实验研究。

1.2 主要试剂与仪器

0.9%氯化钠注射液(68636,四川科伦药业股份有限公司);粉状活性炭(上海吉宝活性炭有限公司);羧

甲基纤维素钠[419338,西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司];DNA Miniprep Kit(R2002,美国ZYMO RESEARCH公司)。测序试剂MiSeq Reagent Kit V3(600 cycles);TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit(美国Illumina公司),荧光定量仪器Microplate reader(FLx800, BioTek);0.30 mm×25 mm 环球牌无菌针灸针(苏州针灸用品有限公司);HANS-200A型韩式穴位神经刺激仪(南京济生医疗科技有限公司)。

1.3 动物分组及造模

将40只SD雄性大鼠随机分为空白组10只和造模组30只。空白组常规饲养。造模组采用郭氏夹尾刺激法+不规则饮食法+冰生理盐水灌胃法的复合造模方法建立FD模型^[12-13],即用纱布缠绕的血管钳夹大鼠尾巴末端,令其暴怒、尖叫、挑衅或与同笼其他大鼠相互厮打,每次30 min,每日2次;同时进食与禁食每24 h进行交替(即隔日给予每笼220 g饲料),正常给予每日每笼400 mL饮水;配制0.9%氯化钠溶液,置于-4℃冰箱中冰冻,每次取用前先置于常温中融化至冰水混合物后灌胃,每次灌胃2 mL,每日2次;造模14 d。造模成功标志是大鼠体质量增长缓慢甚至负增长、毛发枯乱发黄、便溏、饮食量显著减少、活跃程度减弱、抓捕反应迟钝,情绪由开始的易怒烦躁转为情绪低落等。选取20只造模成功的大鼠随机分为模型组和电针组,每组10只^[12-13]。

1.4 干预方法

造模结束24 h后,电针组大鼠进行电针干预。抓取大鼠套上自制的鼠衣并固定在架子上,参照《实验针灸学》取足三里(即大鼠后三里穴,后肢前外侧,腓骨小头外下方5 mm处)、太冲(后肢足背侧,第1、2跖骨间

凹陷处)穴。常规消毒后,选用 0.30 mm×25 mm 毫针分别针刺足三里(直刺 7 mm)、太冲(直刺 3 mm)。由于太冲穴肌肉浅薄,针刺后仅做留针处理,不接电针;双侧足三里接韩氏穴位神经刺激仪,选用连续波,频率 2 Hz,强度 1 mA,每次干预 30 min(每日针刺时间固定在早上 10 点至 12 点之间)。共干预 14 d,空白组、模型组大鼠干预期间在电针组治疗同时时间段内进行抓取、固定及穿自制鼠衣固定,其抓取及固定方式、持续时间均与电针组保持一致。

1.5 取材及观察指标

1.5.1 取材

粪便样本在电针干预结束当天用 EP 管收集大鼠粪便 2~3 颗, -80 ℃ 保存。

电针干预结束后,大鼠禁食 24 h,正常饮水,用含有活性炭的营养性半固体糊 1 g/100 g 灌胃,灌胃 30 min 后,用 10%浓度的乌拉坦(0.5 mL/100 g)腹腔注射麻醉大鼠。打开腹腔,结扎胃贲门和幽门,取出胃,滤纸吸干多余水分,称取大鼠胃全重,再沿胃大弯剪开胃体,用生理盐水洗净,滤纸吸干多余水分,称取胃净重。取出小肠,测量整个小肠长度,再测量小肠黑染长度。

1.5.2 各组大鼠体质量变化

分别于造模前、造模后、干预后称量各组大鼠体质量,并比较各组大鼠在不同时间阶段的体质量变化。

1.5.3 胃内残留率测、小肠推进率测定

用电子天平秤胃全重和胃净重后计算胃内残留率,胃内残留率=[(胃全重-胃净重)/所灌半固体糊的重量]×100%。剪取肠管,测幽口至回盲部的长度,即小肠总长度;测小肠黑染的长度,即固体糊在小肠内推进距离,小肠推进率=[活性炭黑染肠管长度/小肠全长]×100%。

1.5.4 16S 检测各组大鼠肠道菌群

取出粪便样本,每组随机抽取 4 个样本进行检测。用 DNA 试剂盒提取粪便中样本中 DNA,采用 Nanodrop 对 DNA 进行定量,并通过 1.2%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量。运用引物对 rRNA 进行 PCR 扩增,PCR 扩增产物回收,将 PCR 扩增回收产物进行荧光定量,荧光试剂为 Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit,定量仪器为 Microplate reader(FLx800, BioTek),采用 Illumina 公司的 TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 制备测序文库,对文库在 Agilent Bioanalyzer 上

进行质检,采用 Agilent High Sensitivity DNA Kit,再采用 Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit 在 Promega QuantiFluor 荧光定量系统上对文库进行定量, MiSeq 测序仪进行双端测序。

1.6 统计学方法

采用 SPSS26.0 统计软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以均数±标准差表示,本研究中各组大鼠各阶段体质量均数组间比较采用重复测量设计资料方差分析,两两组间比较采用 Bonferroni 方法,采用 Mauchly's 方法进行球对称检验;如不满足球对称性,则采用 Greenhouse-Geisser、Lower-bound 进行校正。胃内残留率、小肠推进率数据均符合正态性及方差齐性,采用单因素方差分析进行多组间比较,两组间的两两比较采用 LSD 检验。分别采用 student *T* 检验、Wilcoxon 秩和检验分析两组间多样性指数;对于物种组成差异检验,多组间比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验,两组间比较采用 student *T* 检验。以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠各阶段体质量比较

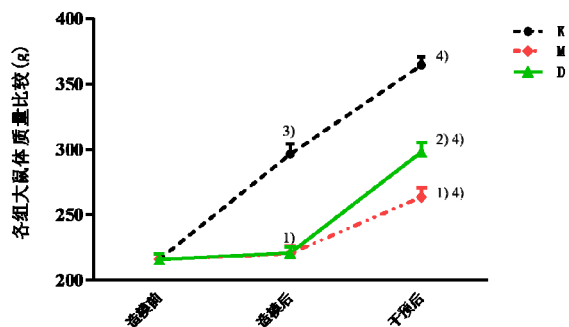
经 Mauchly's 检验,数据资料不满足球对称性条件($P<0.01$),校正后选择 Greenhouse-Geisser 对应的结果。采用重复测量设计资料方差分析,发现组别和时间存在交互作用($P<0.01$),需进行不同组别和不同时间阶段的单独效应分析。

2.1.1 不同时间阶段各组大鼠体质量组间比较

在造模前,各组大鼠体质量无明显差别;造模后模型组、电针组大鼠体质量较空白组显著降低(均 $P<0.01$),但模型组、电针组之间大鼠体质量无明显差异($P>0.05$)。干预后,模型组大鼠体质量显著低于空白组($P<0.01$);电针组大鼠体质量较模型组明显增加,显著高于模型组($P<0.01$)。详见图 1。

2.1.2 不同时间阶段各组大鼠体质量组内比较

空白组大鼠造模后阶段的体质量高于造模前阶段体质量($P<0.01$),空白组大鼠干预后阶段的体质量高于造模后阶段体质量($P<0.01$)。模型组、电针组大鼠造模后体质量与造模前体质量无明显差异($P>0.05$),提示造模期间大鼠体质量增长缓慢;干预后两组大鼠体质量明显高于造模后体质量(均 $P<0.01$)。详见图 1。

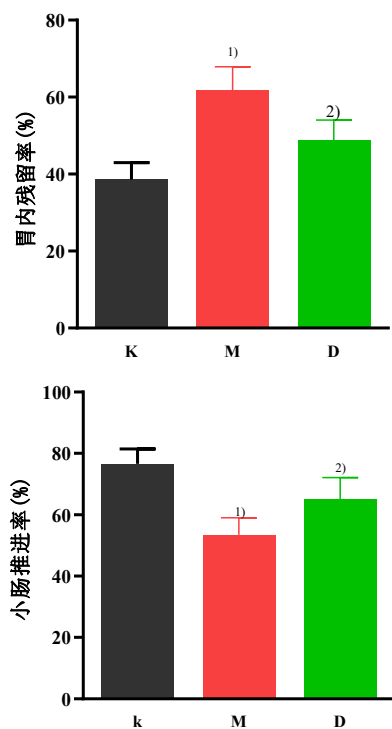


注:K 为空白组;M 为模型组;D 为电针组。与同时段空白组比较¹⁾ $P<0.01$;与同时段模型组比较²⁾ $P<0.01$;与同组造模前比较³⁾ $P<0.01$;与同组造模后比较⁴⁾ $P<0.01$ 。

图1 各组大鼠各阶段体质量变化情况

2.2 各组大鼠胃内残留率、小肠推进率比较

模型组大鼠的胃内残留率较空白组明显上升($P<0.01$);与模型组比较,电针组大鼠胃内残留率均大幅度下降($P<0.01$)。模型组大鼠的小肠推进率较空白组显著下降($P<0.01$),电针组大鼠小肠推进率较模型组明显增加($P<0.01$)。详见图2。



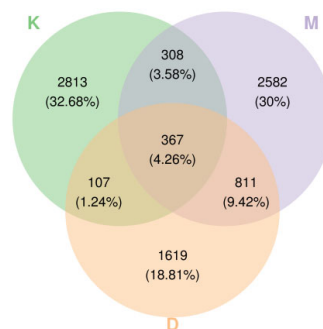
注:K 为空白组;M 为模型组;D 为电针组。与空白组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.01$ 。

图2 各组大鼠胃内残留率、小肠推进率比较

2.3 各组大鼠的肠道菌群分类操作单元 (operational taxonomic unit, OTU) 注释情况

上机测序的样品共 12 例,共得到 805 305 条原始序列,然后通过 qiime dada2 denoise-paired 调用

DADA2 进行质控、去噪后,得到 721 275 条有效序列。3 组相同的 OTU 共有 367 个,空白组独有 2 813 个,模型组独有 2 582 个,电针组独有 1 619 个。详见图3。

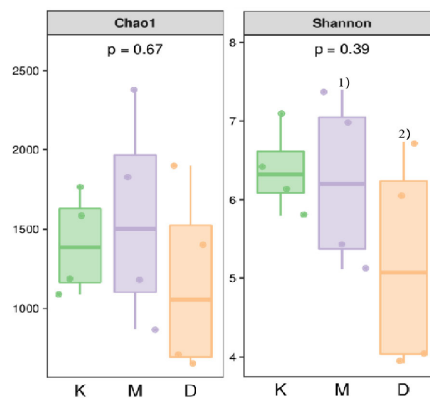


注:K 为空白组;M 为模型组;D 为电针组。

图3 组间 OTU 数目韦恩图

2.4 各组大鼠肠道菌群 alpha 多样性分析

alpha 多样性对生境内的物种丰富度 (richness)、多样性 (diversity) 和均匀度 (evenness) 等方面进行评估。Chao1 指数不考虑每个物种的相对丰度,只关注物种总数;Shannon 指数可反应菌群的多样性和均匀性。与空白组比较,模型组 Chao1 指数升高,电针组 Chao1 指数下降,但无统计学意义($P>0.05$)。与空白组比较,模型组 Shannon 指数升高($P<0.05$),电针组 Shannon 指数较模型组下降($P<0.05$),更接近于空白组。详见图4。



注:K 为空白组;M 为模型组;D 为电针组。与空白组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.01$ 。

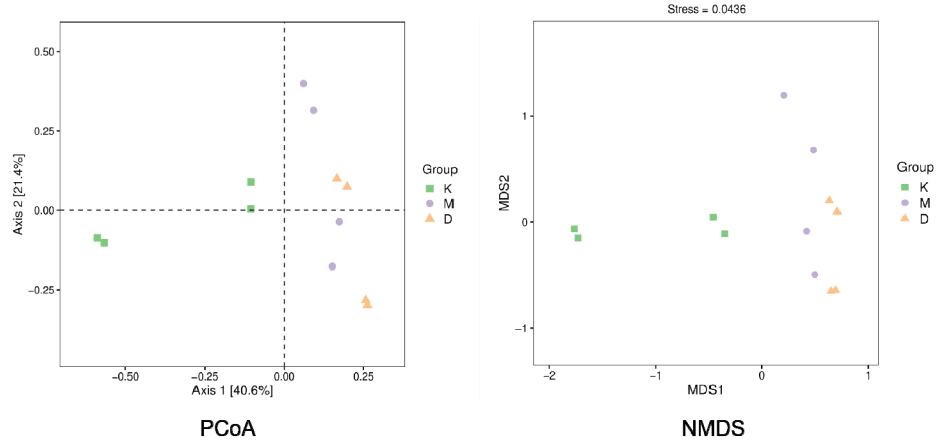
图4 各组大鼠肠道菌群 alpha 多样性

2.5 各组大鼠肠道菌群 Beta 多样性分析

Adonis 分析显示各组大鼠肠道菌群结构具有明显的差异($P=0.008$)。基于 Bray-Curtis 距离进行非度量多维尺度法 (non-metric multidimensional scaling, NMDS) 与主坐标分析 (principal coordinates analysis, PCoA)。PCoA 结果发现,空白组

分布在坐标轴左侧,与模型组基本分开,没有重叠,表明空白组与模型组大鼠之间肠道菌群结构组成存在明显的差异,FD 模型组大鼠肠道菌群结构发生改变。PCoA 通过样品之间的 Bray-Curtis 距离解释了第一轴

中 40.6%的变化,表明疾病状态是影响群体间细菌群落总体差异的主要因素。NMDS 结果与 PCoA 一致,空白组与模型组距离较远,基本分开。详见图 5。



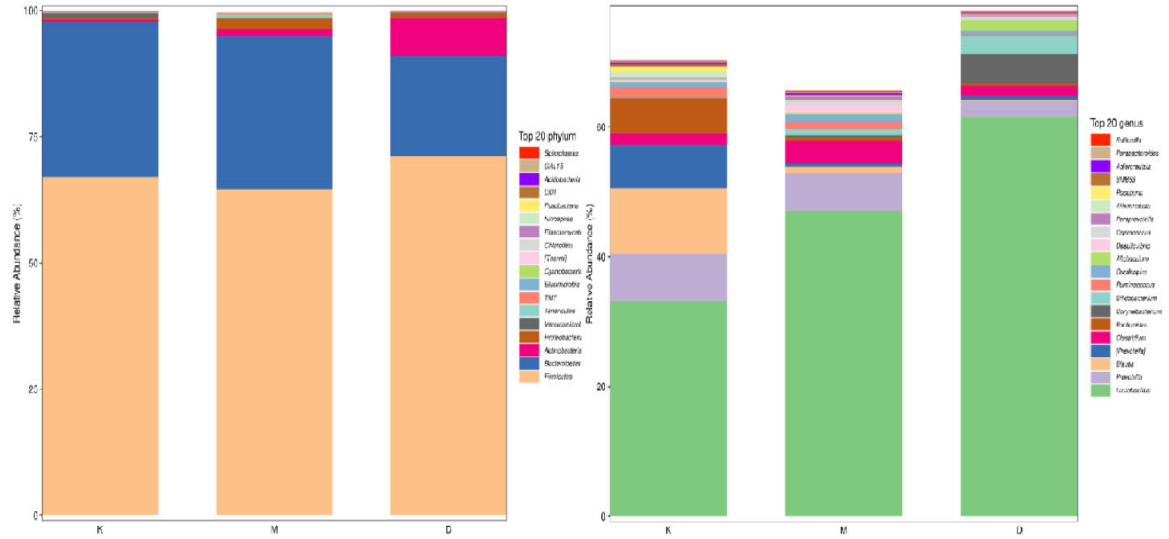
注:K 为空白组;M 为模型组;D 为电针组。

图 5 各组大鼠肠道菌群 Beta 多样性

2.6 各组大鼠肠道菌群物种组成及差异性分析

在门水平上,对各组肠道菌群群落组成的相对丰度进行统计分析,厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)是最主要的 4 个门,占有组微生物的 98%以上。与空白组比较,在模型组大鼠的肠道菌群中,厚壁菌门、拟杆菌门、疣微菌门

(Verrucomicrobia)相对丰度减少,放线菌门、变形菌门、软壁菌门(Tenericutes)、TM7 相对丰度增加。与模型组相比,电针组的变形菌门、软壁菌门、TM7、拟杆菌门相对丰度减少,厚壁菌门、疣微菌门、放线菌门相对丰度增加。此外,与空白组相比,模型组大鼠未检测到酸杆菌门(Acidobacteria),而电针增加了 FD 大鼠酸杆菌门的相对丰度。详见图 6。



注:K 为空白组;M 为模型组;D 为电针组。

图 6 门、属水平下各组大鼠肠道菌群相对丰度

在属水平上,乳杆菌属(Lactobacillus)、普雷沃氏菌属(Prevotella)、经黏液真杆菌属(Blautia)、梭菌属(Clostridium)、拟杆菌属(Bacteroides)是各组

大鼠肠道菌群菌属的主要组成部分。详见图 6。为进一步比较各组大鼠在的物种组成差异,选用平均丰度前 50 位的属的丰度数据绘制热图,与空白组相比,模

芽胞杆菌科-芽胞杆菌属(f_Bacillaceae_g_Bacillus)(LDA = 4.0, $P < 0.05$)、假单胞菌科(Pseudomonadaceae)(LDA=3.94, $P < 0.05$)。电针组的差异物种为放线菌纲(Actinobacteria)(LDA=4.54, $P < 0.05$)、放线菌门(Actinobacteria)(LDA=4.53, $P < 0.05$)、棒杆菌科(Corynebacteriaceae)(LDA = 4.36, $P < 0.05$)、棒杆菌属(Corynebacterium)(LDA = 4.35, $P < 0.05$)、放线菌目(Actinomycetales)(LDA = 4.33, $P < 0.05$)、双歧杆菌属(Bifidobacterium)(LDA = 4.15, $P < 0.05$)、乳酸球菌属(Lactococcus)(LDA = 4.15, $P < 0.05$)、双歧杆菌目(Bifidobacteriales)(LDA = 4.14, $P < 0.05$)、双歧杆菌科(Bifidobacteriaceae)(LDA=4.13, $P < 0.05$)、假单胞菌目(Pseudomonadales)(LDA=3.83, $P < 0.05$)、Jeotgalicoccus菌属(LDA = 3.65, $P < 0.05$)、气球菌科(Aerococcaceae)(LDA=3.58, $P < 0.05$)、气球菌属(Aerococcus)(LDA=3.56, $P < 0.05$)、葡萄球菌科(Staphylococcaceae)(LDA=3.53, $P < 0.05$)、变形菌纲(Gammaproteobacteria)(LDA=3.46, $P < 0.05$)。空白组差异物种为厚壁菌门(Firmicutes),模型组差异物种主要来自厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria),电针组差异物种来自放线菌门(Actinobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)。提示FD可能与厚壁菌门、变形菌门的失衡有关。详见图8。



图 7 物种聚类的属水平物种组成热图

Horizontal bar chart showing LDA scores (log 10) for various bacterial taxa across three groups: K (green), M (purple), and D (orange). The x-axis represents the LDA Score (log 10) from 0 to 5. The y-axis lists 25 bacterial taxa. The chart shows that Group K is enriched in Clostridiales and Peptostreptococaceae, Group M is enriched in Enterobacteriaceae and Pseudomonadaceae, and Group D is enriched in Actinobacteria and Bifidobacteriales.

Taxa	Group	LDA Score (log 10)
f_Enterobacteriaceae	M	4.6
g_Pseudomonas	M	4.2
f_Pseudomonadaceae	M	4.1
g_p_75_a5	M	4.0
f_Bacillaceae	M	3.9
g_Bacillus	M	3.8
f_Pseudomonadaceae	M	3.8
o_Clostridiales	K	4.9
c_Clostridia	K	4.9
f_Peptostreptococaceae	K	4.5
g_Ruminococcus	K	3.8
g_Turicibacter	K	3.8
o_Turicibacteriales	K	3.8
f_Turicibacteraceae	K	3.8
g_Coprobacillus	K	3.7
g_SMB53	K	3.7
c_Actinobacteria	D	4.5
p_Actinobacteria	D	4.4
f_Corynebacteriaceae	D	4.3
g_Corynebacterium	D	4.3
o_Actinomycetales	D	4.3
g_Bifidobacterium	D	4.2
g_Lactococcus	D	4.2
o_Bifidobacteriales	D	4.2
f_Bifidobacteriaceae	D	4.2
o_Pseudomonadales	D	3.8
g_Jeotgallcoccus	D	3.7
f_Aerococcaceae	D	3.6
g_Aerococcus	D	3.6
f_Staphylococcaceae	D	3.6
c_Gammaproteobacteria	D	3.5

图 8 各组大鼠肠道菌群标志物种的 LDA 效应值柱状图

LEfSe(LDA Effect Size)分析可以直接对所有分类水平同时进行差异分析,同时寻找分组之间稳健的差异物种,即标志物种(Biomarker)。空白组的差异物种为梭菌目(Clostridiales)(LDA=5.09, $P<0.05$)、梭菌纲(Clostridia)(LDA=5.05, $P<0.05$)、消化链球菌科(Peptostreptococcaceae)(LDA = 4.52, $P<0.05$)、瘤胃球菌属(Ruminococcus)(LDA=3.81, $P<0.05$)、Turicibacter 菌属(LDA=3.78, $P<0.05$)、Turicibacterales 菌目(LDA = 3.76, $P<0.05$)、Turicibacteraceae 菌科(LDA=3.75, $P<0.05$)、粪芽孢菌属(Coprobacillus)(LDA=3.64, $P<0.01$)、SMB53 菌属(LDA=3.58, $P<0.05$)。模型组差异物种为肠杆菌科-假单胞菌属(f_Enterobacteriaceae_g_Pseudomonas)(LDA=4.68, $P<0.05$)、假单胞菌科-假单胞菌属(f_Pseudomonadaceae_g_Pseudomonas)(LDA = 4.18, $P<0.05$)、p 75 a5 菌属(LDA=4.10, $P<0.05$)、

3 讨论

根据功能性消化不良 (FD) 的相关症状, 本病属中医学“胃脘痛”“嘈杂”“痞满”等范畴。饮食、作息失节, 损伤脾胃, 或情志失调, 肝气疏泄功能失常, 横逆犯胃, 最终导致中焦气机阻滞、脾胃升降失常是其关键病因病机。根据其发病因素, 本研究采用夹尾+冰生理盐水灌胃+隔日进食模拟饮食失节、情志失调的病理因素构建 FD 模型。治疗首取胃经之足三里穴, 其为足阳明经合穴, 同时还是胃的下合穴, 可健运中焦, 是治疗胃肠道疾病的要穴; 太冲穴是足厥阴肝经原穴, 可以疏肝理脾, 使气机升降正常。两穴相配, 可疏肝、健脾、和胃, 诸症可消。本研究结果显示, FD 模型大鼠体质量增长缓慢, 胃内残留率升高, 小肠推进率降低, FD 模型大鼠出现胃肠动力障碍。而电针干预后, 大鼠体质量明显增加, 胃肠动力增强, 这一结果与近年来一系列电针研究^[8-11, 14-16]得出的结论相一致, 均证实电针治疗 FD 疗效肯定, 不良反应较少。

电针治疗 FD 疗效确切^[14-16], 但 FD 发病机制复杂, 目前电针治疗 FD 的具体作用机制尚未完全阐明。最新的研究表明, 肠道菌群失衡可能在 FD 中发挥重要作用^[7]。人体中数以万亿计的微生物绝大多数在肠道中, 肠道菌群的平衡对于胃肠道稳态至关重要, 可调节肠道黏膜屏障, 促进能量摄入、吸收和储存, 介导宿主免疫系统的发育, 阻止病原微生物的繁殖^[17-19]。肠道菌群失调会导致多种疾病, 如炎症性肠病、肥胖症、1 型糖尿病、FD 等^[20-22]。已有许多研究表明肠道菌群的失衡是 FD 发生发展的重要环节, 肠道菌群通过多种致病机制在 FD 中起着重要的作用^[7]。鉴于肠道菌群在 FD 中的重要作用, 本研究使用 16SrRNA 扩增子测序来确定电针干预对 FD 大鼠微生物组成及变化的影响。本研究结果显示, 空白组和 FD 大鼠的肠道菌群结构存在一定差异, 这与之前的研究一致^[23-24]。Adonis、NMDS 与 PCoA 结果显示, 模型组大鼠与空白组大鼠肠道菌群结构组成存在明显的差异, FD 模型组大鼠肠道菌群结构发生改变。Chao1 指数不考虑每个物种的相对丰度, 只关注物种总数, 本研究结果显示 3 组之间 Chao1 指数无统计学差异, 表明 3 组之间物种总数无统计学差异。Shannon 指数可反应菌群的多样性和均匀性, 模型组菌群的多样性和均匀性与空白组有明显差异, 而电针组菌群的多样性和均匀性更接近于空白组。进一步对各组大鼠肠道菌群物种组成进行分析, 厚壁菌门、拟杆

菌门是门水平的主要分类群, 其次是放线菌门、变形菌门。与空白组比较, 在模型组大鼠的肠道菌群中, 厚壁菌门、疣微菌门相对丰度减少, 而电针增加了厚壁菌门、疣微菌门的相对丰度; 模型组中变形菌门、软壁菌门、TM7 相对丰度较空白组增加, 电针减少了变形菌门、软壁菌门、TM7 的相对丰度。此外, 本研究还发现, 与空白组相比, 模型组大鼠粪便样本中不存在酸杆菌门, 这与前期研究结果一致, 有研究发现 FD 患者酸杆菌门缺失, 相比之下, 健康志愿者存在酸杆菌^[25]。而电针增加了 FD 大鼠酸杆菌门的相对丰度, 说明经过电针干预后, 肠道菌群结构更接近于空白组。根据 LEfSe 分析, 空白组差异物种来自厚壁菌门, 模型组差异物种主要来自变形菌门, 其次是厚壁菌门, 电针组优势菌来自放线菌门、厚壁菌门、变形菌门, 提示 FD 可能与厚壁菌门、变形菌门的失衡有关。

综上所述, 本研究表明肠道菌群与 FD 之间存在一定的联系, 电针对 FD 大鼠肠道菌群具有调节作用, 但本研究存在一定局限性。首先, 在一定程度上样本量较小, 尤其是在面对 FD 等复杂疾病时, 更需要大量样本; 其次, 本研究缺乏更深入的微生物组数据分析、功能预测和关联分析等, 未能更全面了解肠道微生物的功能变化。此外, 本研究检测了各组大鼠体质量及胃肠动力的变化, 采用 16S rRNA 测序检测了大鼠粪便中肠道菌群在各组小鼠的变化情况, 而肠道菌群与肠道动力间的关系复杂, 在今后的研究中还需要进一步研究出现变化的菌群在 FD 中的具体作用以及发挥作用的方式, 从而探讨电针调节肠道菌群的潜在机制。

参考文献

- [1] ENCK P, AZPIROZ F, BOECKXSTAENS G, *et al.* Functional dyspepsia[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2017(3): 17081.
- [2] TALLEY NJ, FORD AC. Functional dyspepsia[J]. *N Engl J Med*, 2015(19): 1853-1863.
- [3] TOMITA T, OSHIMA T, MIWA H. New approaches to diagnosis and treatment of functional dyspepsia[J]. *Curr Gastroenterol Rep*, 2018(12): 55.
- [4] KODURU P, IRANI M, QUIGLEY EMM. Definition, pathogenesis, and management of that cursed dyspepsia[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2018(4): 467-479.

- [5] DROSSMAN DA, HASLER WL. Rome IV-Functional GI Disorders: Disorders of Gut-Brain Interaction[J]. *Gastroenterology*, 2016 (6) :1257-1261.
- [6] VANHEEL H, VICARIO M, VANUYTSEL T, *et al.* Impaired duodenal mucosal integrity and low-grade inflammation in functional dyspepsia[J]. *Gut*, 2014 (2) : 262-271.
- [7] BARBARA G, FEINLE-BISSET C, GHOSHAL UC, *et al.* The intestinal microenvironment and functional gastrointestinal disorders[J]. *Gastroenterology*, 2016: S0016-5085(16)00219-5.
- [8] 康朝霞, 张红星, 唐雷, 等. 电针对功能性消化不良大鼠胃肠动力及血浆胃饥饿素的影响[J]. 湖北中医药大学学报, 2018 (5) :5-8.
- [9] 康朝霞, 张红星, 徐派的, 等. 电针对功能性消化不良大鼠胃窦 ghrelin 及 mTOR 的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2017 (17) :1553-1557.
- [10] 潘小丽, 康朝霞, 毛玮, 等. 电针对功能性消化不良肝郁脾虚模型大鼠胃电节律及胃窦 Cajal 间质细胞表达的影响[J]. 中医杂志, 2018 (17) :1503-1506.
- [11] 杨云, 徐派的, 辛玉, 等. 电针对功能性消化不良大鼠胃排空功能及 NT 的影响[J]. 湖北中医杂志, 2015 (9) :1-3.
- [12] 刘乐平, 朱洁, 郭璇, 等. 功能性消化不良肝郁脾虚证模型的建立[J]. 中华中医药杂志, 2019 (7) :2944-2948.
- [13] 郭海军, 林洁, 李国成. 等. 功能性消化不良的动物模型研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2001 (3) :141-142.
- [14] ZHENG H, XU J, SUN X, *et al.* Electroacupuncture for patients with refractory functional dyspepsia: A randomized controlled trial[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2018 (7) :e13316.
- [15] GUO L, HUANG X, HA LJ, *et al.* Efficacy of compatible acupoints and single acupoint versus sham acupuncture for functional dyspepsia: study protocol for a randomized controlled trial[J]. *Trials*, 2020 (1) :77.
- [16] ZHANG S, LI S, LIU Y, *et al.* Electroacupuncture via chronically implanted electrodes improves gastric dysmotility mediated by autonomic-cholinergic mechanisms in a rodent model of functional dyspepsia[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2018 (10) :e13381.
- [17] SANDERS ME, MERENSTEIN DJ, REID G, *et al.* Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019 (10) :605-616.
- [18] KOŁODZIEJCZYK AA, ZHENG D, ELINAV E. Diet-microbiota interactions and personalized nutrition[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019 (12) :742-753.
- [19] KOH A, BÄCKHED F. From association to causality: the role of the gut microbiota and its functional products on host metabolism[J]. *Mol Cell*, 2020 (4) :584-596.
- [20] PETERSON CT, SHARMA V, ELMÉN L, *et al.* Immune homeostasis, dysbiosis and therapeutic modulation of the gut microbiota[J]. *Clin Exp Immunol*, 2015 (3) :363-377.
- [21] ROSCA AE, IESANU MI, ZAHIU CDM, *et al.* Capsaicin and Gut Microbiota in Health and Disease[J]. *Molecules*, 2020 (23) :5681.
- [22] AL BANDER Z, NITERT MD, MOUSA A, *et al.* The gut microbiota and inflammation: an overview[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020 (20) :7618.
- [23] ZHONG L, SHANAHAN ER, RAJ A, *et al.* Dyspepsia and the microbiome: time to focus on the small intestine[J]. *Gut*, 2017 (6) :1168-1169.
- [24] TAN VP, LIU KS, LAM FY, *et al.* Randomised clinical trial: rifaximin versus placebo for the treatment of functional dyspepsia[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2017 (6) :767-776.
- [25] IGARASHI M, NAKAE H, MATSUOKA T, *et al.* Alteration in the gastric microbiota and its restoration by probiotics in patients with functional dyspepsia[J]. *BMJ Open Gastroenterol*, 2017 (1) :e000144.

收稿日期 2024-02-12