

ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)

# 世界华人消化杂志®

## WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2021 年 5 月 8 日      第 29 卷      第 9 期      (Volume 29 Number 9)



## 9/2021

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议、开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录。



### 述评

- 449 中医药对肠道微生态的影响  
朱佳源, 肖嫩群, 谭周进

### 基础研究

- 455 基于全基因组测序对双重耐药幽门螺杆菌外排泵基因变异的研究  
叶淑芳, 张剑美, 代飞, 蓝陈菊, 章小君, 周丽珍, 汤清清, 孟飞

### 临床研究

- 461 影响原发性腹膜后肿瘤手术患者预后的危险因素分析  
郭丽娜, 李云超, 孙占峰, 闫海洋, 李辉, 王月明
- 467 老年非酒精性脂肪性肝病的营养状况及能量代谢特点  
刘芳, 叶青, 梁静, 曹影影, 史利利, 赵雪, 向慧玲
- 474 直肠癌动态增强磁共振成像定量灌注参数与血管内皮生长因子、微血管密度的相关性  
陈抚标, 唐鸿, 张心荣

### 文献综述

- 479 中医药调节肠道微生态研究技术进展  
李小雅, 谭周进

### 临床实践

- 488 结肠癌患者谷胱甘肽巯基转移酶P1(GSTP1)基因多态性与奥沙利铂敏感性和中医证型的相关性研究  
查华英, 吴岩, 尚洛南, 孙方

### 病例报告

- 496 经内镜下分次黏膜切除术诊断结肠子宫内异位症1例并文献复习  
王超, 郑末, 李甜甜, 王珏磊, 孙光斌

## 消 息

- 460 《世界华人消化杂志》栏目设置  
487 《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯  
495 《世界华人消化杂志》参考文献要求  
500 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

## 封面故事

张力为, 主任医师, 教授, 医学博士, 硕士/博士研究生导师, 新疆医科大学第一附属医院, 主持国家及省部级自然科学基金课题4项, 参与国家及自治区自然科学基金4项; 近5年发表中文核心50余篇、SCI 3篇、获得省部级科技一等奖、二等奖; 参编教材3部; 任新疆食管癌研究所所长, 新疆抗癌协会副理事长, 新疆医科大学一附院器官移植中心副主任. 还担任新疆医学会胸心外血管外科学专业委员会主任委员, 新疆抗癌协会食管癌专业委员会主任委员, 中华医学会胸心外血管外科学专业委员会第八、九届青年委员, 中华医学会气管纵隔学组委员会委员, 中华医学会胸腔镜学组委员会委员, 中国抗癌协会食管癌专业委员会委员, 中国医师协会胸外科专业委员会委员等协会职务.

## 本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇;  
形式规范审核编辑部主任 李香; 最终清样审核总编辑 马连生

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2021-05-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

王金磊, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,

CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,

CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路  
62号, 远洋国际中心D座903室  
电话: +86-10-85381892

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



## Contents

Volume 29 Number 9 May 8, 2021

### EDITORIAL

- 449 Research progress on intestinal mucosal injury induced by traditional Chinese medicine  
*Zhu JY, Xiao NQ, Tan ZJ*

### BASIC RESEARCH

- 455 Investigation of mutation of multidrug resistant *Helicobacter pylori* efflux pump gene based on whole genome sequencing  
*Ye SF, Zhang JM, Dai F, Lan CJ, Zhang XJ, Zhou LZ, Tang QQ, Meng F*

### CLINICAL RESEARCH

- 461 Risk factors influencing prognosis of patients undergoing primary retroperitoneal tumor surgery  
*Guo LN, Li YC, Sun ZF, Yan HY, Li H, Wang YM*
- 467 Nutritional status and energy metabolism in elderly patients with nonalcoholic fatty liver disease  
*Liu F, Ye Q, Liang J, Cao YY, Shi LL, Zhao X, Xiang HL*
- 474 Correlation of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance quantitative perfusion parameters with vascular endothelial growth factor and microvessel density in rectal cancer  
*Chen FB, Tang H, Zhang XR*

### REVIEW

- 479 Advances in research technology of regulation of intestinal microecology by traditional Chinese medicine  
*Li XY, Tan ZJ*

### CLINICAL PRACTICE

- 488 Association of glutathione thioltransferase P1 (*GSTP1*) gene polymorphism with sensitivity to oxaliplatin and traditional Chinese medicine syndrome types in colon cancer patients  
*Cha HY, Wu Y, Shang LN, Sun F*

### CASE REPORT

- 496 Colonic endometriosis diagnosed by endoscopic piecemeal mucosal resection: A case report and literature review  
*Wang C, Zheng M, Li TT, Wang JL, Sun GB*

## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 29 Number 9 May 8, 2021

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Li-Wei Zhang, Chief Physician, Professor, Doctor of Medicine, Master and Doctoral Supervisor, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, No. 137 Liyushan South Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zhangliwei@163.com

### Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang*

Review Editor: *Yan-Liang Zhang*

Production Editor: *Yan-Liang Zhang*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Xiang Li*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** May 8, 2021

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

#### EDITOR-IN-CHIEF

**Shuang-Suo Dang, Professor**, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

**Jun-Ping Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi,

Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

**Xiao-Zhong Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

**Deng-Fu Yao, Professor**, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

#### EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

#### EDITORIAL OFFICE

Jin-Lei Wang, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

#### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China  
Telephone: +86-10-85381892

#### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

#### COPYRIGHT

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

#### SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

#### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.



## 中医药调节肠道微生态研究技术进展

李小雅, 谭周进

李小雅, 谭周进, 湖南中医药大学, 湖南省长沙市 410208

李小雅, 博士研究生, 研究方向方剂配伍疗效的微生物生态学机理研究.

**基金项目:** 国家自然科学基金项目, No.81874460.

**作者贡献分布:** 本论文由李小雅负责文献查阅及文献综述写作; 谭周进负责论文选题, 修改及审核.

**通讯作者:** 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市岳麓区学士路300号, 湖南中医药大学. [tanzhjin@sohu.com](mailto:tanzhjin@sohu.com)

**收稿日期:** 2021-02-05

**修回日期:** 2021-03-10

**接受日期:** 2021-03-26

**在线出版日期:** 2021-05-08

### Advances in research technology of regulation of intestinal microecology by traditional Chinese medicine

Xiao-Ya Li, Zhou-Jin Tan

**Xiao-Ya Li, Zhou-Jin Tan,** Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan Province, China

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China, No. 81874460.

**Corresponding author:** Zhou-Jin Tan, Professor, Hunan University of Chinese Medicine, No. 300 Xueshi Road, Hanpu Science and Education Park, Changsha 410208, Hunan Province, China. [tanzhjin@sohu.com](mailto:tanzhjin@sohu.com)

**Received:** 2021-02-05

**Revised:** 2021-03-10

**Accepted:** 2021-03-26

**Published online:** 2021-05-08

### Abstract

The intestine is a diversified microecosystem whose

structure and function are research hotspots in the fields of life sciences and medicine. The research on the regulation of intestinal microecology by traditional Chinese medicine is of great significance to the elucidation of the basic theories and the mechanism of therapeutic effects of traditional Chinese medicine. The microecological research technology is very important for the research in this field. We, by reviewing the relevant literature, summarize the related technologies for the intestinal micro-ecological research of traditional Chinese medicine, such as microbial culture counting method, molecular biology techniques (denaturing/temperature gradient gel electrophoresis (DGGE/TGGE), gene chip, real-time quantitative polymerase chain reaction (PT-PCR), terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP), amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA), fluorescent *in situ* hybridization (FISH), high-throughput sequencing (HTS), metabolic level analysis techniques, and proteomics), intestinal enzyme activity detection, microbial activity detection technology, and *in vitro* simulated gastrointestinal environment experiments, with an aim to provide reference for the intestinal microecological research of traditional Chinese medicine and the application of related technologies.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Intestinal microecology; Traditional Chinese medicine; Research technology; Microbial culture counting method; Molecular biology techniques

**Citation:** Li XY, Tan ZJ. Advances in research technology of regulation of intestinal microecology by traditional Chinese medicine. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(9): 479-487

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/479.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.479>

## 摘要

肠道是一个多元化的微生态系统, 其结构及功能是生命科学及医学领域的研究热点, 中医药调节肠道微生态的研究对中医基础理论、中医药疗效机制等的阐明具有重要意义。肠道微生态研究技术对该领域研究至关重要, 笔者通过查阅相关资料, 对中医药调节肠道微生态研究的相关技术如微生物培养技术、分子生物学技术(变性/温度梯度凝胶电泳技术(DGGE/TGGE)、基因芯片技术(Gene chip)、实时荧光定量PCR技术(PT-PCR)、末端限制性片段长度的多态性技术(T-RFLP)、扩增核糖体DNA限制性酶切片分析技术(ARDRA)、荧光原位杂交技术(FISH)、高通量测序技术(HTS)、代谢水平分析技术、蛋白质组学技术)、肠道酶活性检测、肠道微生物活度检测技术以及体外模拟胃肠道环境实验进行总结, 对中医药肠道微生态的研究及相关技术的应用提供参考。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**关键词:** 肠道微生态; 中医药; 研究技术; 微生物培养计数法; 分子生物学技术

**核心提要:** 随着现代分子生物学技术的快速发展, 中医药肠道微生态领域研究取得突破性进展, 为中医药治疗肠道微生态相关疾病提供理论依据, 对推动中药现代化研究进程具有重要的意义。

**文献来源:** 李小雅, 谭周进. 中医药调节肠道微生态研究技术进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(9): 479–487

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/479.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i9.479>

## 0 引言

近年来, 中医药在调节肠道微生态治疗疾病中发挥重要作用, 以中医药为靶点, 选择合理的研究技术有利于全面了解肠道微生物群落结构和作用, 充分挖掘其潜在价值。谢果珍等<sup>[1]</sup>对小鼠肠内容物中乳酸菌、双歧杆菌及大肠杆菌进行微生物培养时发现, 铁皮石斛多糖可调节小鼠肠道菌群发挥“益生元”作用。王永安等<sup>[2]</sup>发现大承气汤可调节小鼠肠道菌群结构及多样性, 恢复肠道细菌群落, 达到治疗过敏性哮喘的效果。何云山等<sup>[3]</sup>发现保和丸治疗后食积小鼠肠道内容物及肠黏膜中木聚糖酶、淀粉酶以及蛋白酶的活性下降, 揭示保和丸对食积小鼠的肠道酶活性的调节作用。唐圆等<sup>[4]</sup>发现痛泻要方能够使小鼠肠道内容物中微生物活度降低, 肠黏膜微生物活度增加, 初步阐明痛泻要方对肝气乘脾泄泻小鼠肠道微生物活度的作用机制。体外模拟实验可在一定程度

上还原胃肠道状态, 在探究葛根芩连汤在模拟胃肠液中对微生物生长的影响时发现<sup>[5]</sup>, 葛根芩连汤在模拟胃肠液中对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和沙门菌均有较好的抑制效果, 且随消化时间延长对各个细菌的抑制效果发生变化。本文将从微生物培养技术、分子生物学技术、酶学技术等方面概述中医药在调节肠道微生态领域的应用进展, 为利用肠道微生态研究中医药理论及其应用提供方法学思路(见表1)。

## 1 微生物培养计数法在中医药调节肠道微生态研究中的应用

肠道微生物培养是较为传统的微生物鉴定方法。中医药利用微生物培养技术在调节肠道微生态治疗疾病过程中发挥关键作用。龙承星等<sup>[19]</sup>对脾虚便秘及灌胃铁皮石斛多糖后小鼠肠内容物中乳酸菌、双歧杆菌、大肠杆菌进行微生物培养, 发现铁皮石斛多糖明显恢复了大肠杆菌的菌落数, 乳酸菌和双歧杆菌明显减少, 总数显著超过正常组, 提示铁皮石斛多糖在一定程度上能扶植乳酸菌和双歧杆菌等有益菌, 抑制大肠杆菌等有害菌, 调控脾虚便秘小鼠肠道微生态平衡, 优化肠道环境, 改善脾虚便秘症状。唐标等<sup>[20]</sup>在探究降脂理肝汤对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝大鼠肠道微生物的影响时, 发现降脂理肝汤能够抑制肠道细菌、大肠杆菌及乳酸菌的生长, 使细菌总数和乳酸菌数量恢复至正常组水平, 表明降脂理肝汤能调整非酒精性脂肪肝大鼠肠道菌群种群, 改善肠道微环境紊乱的现象, 达到治疗效果。肠道微生物培养技术已经逐渐深入到中医药调节肠道微生态治疗疾病的各个方面, 选择符合培养条件的培养基对肠道中的细菌进行培养, 通过检测肠道细菌数量变化初步衡量肠道菌群是否在疾病发生发展过程中及中药干预治疗后发挥作用, 明确中医药作用的可培养菌类, 为进一步从微观角度探索中医药调节肠道菌群治疗疾病的机制研究, 为相关纯化及菌剂研究提供更为直接的证据。另外, 微生物培养过程复杂, 对分离物很难进行精确鉴定, 导致研究微生物多样性的真实概况受到限制。鉴于此, 我们可通过优化培养条件、改善培养基营养并综合其他分子技术, 有助于评定特定肠道共生菌的功能, 进一步阐述有益菌和致病菌之间的相互作用, 为挖掘肠道微生物益生功能及抗病功能奠定基础。

## 2 分子生物学技术在中医药调节肠道微生态研究中的应用

### 2.1 基于核酸的分析技术

**2.1.1 变性/温度梯度凝胶电泳技术:** 变性/温度梯度凝胶电泳(denaturing/temperature gradient gel electrophoresis,

表 1 肠道微生态研究技术

研究技术	技术原理	优点	缺点	技术要点
微生物培养技术	在一定培养条件下, 选择适 合菌种生长的培养基进行培 养, 通过倍比稀释和培养来 测定菌的数量和分离微生物 <sup>[6]</sup>	显示不同细菌对宿主肠道系统 中各种营养物质的利用情况	(1)可培养的微生物菌株数量较 少; (2)严格厌氧菌培养要求高; (3)过程复杂, 难以精确鉴定; (4)分辨水平低, 不能充分反映 微生物群落的多样性	(1)根据菌种特性选择培 养基; (2)严格控制培养 条件; (3)把控稀释过程 的稀释比例
基于核 酸分析 的技术	变性/温度梯 度凝胶电泳 技术 碱基序列存在差异的不同等 长 DNA 通过递增的化学变 性剂浓度/温度梯度把长度相 近碱基组成不同的DNA片段 区分开, 根据凝胶上形成条 带的数目和丰度信息反应微 生物的多样性 <sup>[7]</sup>	(1)分辨率高, 检测可达到一个 碱基; (2)可以保证电泳的重现 性以及结果的重复性; (3)快速 对大量混合标本进行分析; (4) 无须对引物标记; (5)节约样 品; (6)在揭示微生物群落遗传 多样性和种群差异方面具有 明显优越性	(1)只对优势种群进行分析; (2) 受到电泳条件诸多因素的影 响, 出现“共迁移”现象; (3) 对微生物鉴定, 仅限于基因数 据库中菌种	(1)选择最佳变性梯度/ 温度梯度范围; (2)确定 电泳时间及温度; (3)严 格“GC夹板”操作步 骤; (4)染色方法的选择 体现灵敏度
末端限制性 多态性技术	利用琼脂或聚丙烯酰胺凝胶对 限制性酶切片断电泳分离, 对微生物种类可以定性定量 经染色后不同长度的DNA片 段停留在不同的凝胶位置上, 例为1%的细菌; (4)灵敏度高, 呈现多态性的电泳图谱 <sup>[8]</sup>	(1)结果数据化, 重复性好; (2) 对微生物种类可以定性定量 分析; (3)能检测到群落中比 据量大分析较困难; (3)酶切后 TRF长度分布会造成对复杂群 落多样性的低估 一种高效微生物群落结构 分析方法; (5)适合对微生物多 样性进行灵敏的分析评价	(1)只能检测带荧光标记的末 端限制性片段; (2)所需DNA数 (如上下游引物序列的特 异性、上下游引物之间 序列长度等); (2)避免选 择酶切位点在序列保守 区限制性内切酶	(1)考虑引物的特异性 (如上下游引物序列的特 异性、上下游引物之间 序列长度等); (2)避免选 择酶切位点在序列保守 区限制性内切酶
扩增核糖体 DNA限制性 酶切片段分 析技术	依据原核生物rDNA序列的 保守性, 将扩增的rDNA片段 进行酶切, 通过酶切图谱来 分析菌间的多样性 <sup>[9]</sup>	(1)特异性强, 效率高; (2)不受宿主干扰	(1)对于大样本的检测分析费时 费力; (2)对图谱进行定量分析 困难	严格把握引物设计、扩 增过程以及酶切位点
基因芯片技 术	将大量DNA探针有序地固定 在载体表面, 形成储存大量 信息的DNA微阵列与标记的 核酸样品杂交后获取样品核 酸序列信息 <sup>[10]</sup>	(1)快速对成百上千基因进行 分析; (2)高通量、自动化; (3) 所需样品量少、成本低	(1)探针的合成和固定较为复 杂, 特别针对于高密度的探针 阵列; (2)探针杂交存在一定的 错配率; (3)信号的获取和分析 时, 灵敏度较低, 分析范围窄	(1)考虑探针的设计及布 局, 确定芯片所需的检 测对象; (2)杂交之前需 进行分离、扩增和标记 杂交反应; (3)确定杂交 信号在芯片上的位置
荧光原位杂 交技术	荧光标记已知序列的单链核 酸作为探针, 与待检测样本 中互补的单链核酸特异性结 合, 通过荧光显微镜观察带 有杂交荧光标记探针细胞, 系 计算杂交率来定量检测和鉴 定细菌 <sup>[11]</sup>	(1)探针稳定, 一次标记后两年 之内可以使用; (2)特异性好, 实验周期短; (3)特异性显示检 测目标与组织细胞的结构关 系	(1)无法对序列未知的微生物检 测; (2)操作时很容易受到各种污 染的干扰; (3)样品自身产生的荧 光, 以及探针的特异性等因素, 容易产生假阳性实验结果; (4) 探针设计不合理、细菌细胞中 rRNA含量、荧光褪色等因素, 容易产生假阴性的实验结果	(1)考虑多种探针的利 弊; (2)杂交前的需要对 细胞通透性、杂交背景 等进行处理; (3)杂交过 程中环境保持黑暗、潮 湿, 控制杂交时间、温 度以及探针浓度和长度
实 时 荧 光 PCR技术	利用荧光信号变化实时检测 PCR扩增反应中每个循环扩 增产物的变化, 通过Ct值 和标准曲线实现对起始模板 的定量分析 <sup>[12]</sup>	(1)直接监测扩增中荧光信号 变化获得定量结果, 精确性和 灵敏度; (2)检测速度快, 可 同时进行几个反应; (3)特异 性、重复性强	(1)引物二聚体、单链二级结构 及扩增产物错误, 会出现假阳性 结果; (2)荧光素种类及检测光源 的局限性会限制 RT-PCR的复 合式检测应用能力; (3)无法得到 整个微生物群落的信息	(1)设计合适引物, 防止 非特异性扩增; (2)设计 合适的探针温度、浓度 等, 保证探针的灵敏度 和特异性; (3)PCR体系 反应参数的设定
高通量检测 技术	当引物与模板DNA 在酶的协同作用下, dNTP 聚 合与荧光信号的释放偶联, 以荧光信号的形式实时记录 模板 DNA 的核苷酸序列 <sup>[13]</sup>	复性后, (1)测序片段短、无需构建基 因文库; (2)高输出量和高解析 度; (3)同时对样品中的优势物 种、稀有物种及一些未知的 物种检测	(1)设备昂贵、测序成本高; (2) 大数据量的DNA样本, 缺乏匹 配的参考数据库, 许多数据无 法进行功能注释; (3)无法确定 样品中特定微生物的具体数量	(1)选择适合的测序平台和 可变区



基于蛋白质的分析	蛋白质组学技术	基于质谱技术, 对完整的细胞、组织、体液等样品的全部蛋白质进行定性、定量的分析 <sup>[14]</sup>	在整体水平上对基因组表达的全部蛋白质进行大规模研究, 直接说明肠道菌群的功能	(1)对于一些低丰度蛋白质的检测能力有限; (2)容易受到饮食等其他因素干扰	(1)尽可能完整地将所有蛋白质从细胞或者组织中提取; (2)蛋白质组样品的分离方法的选择
基于代谢产物的分析	色谱技术	利用带分离的各种物质在两相中(固体相、流动相)的分配系数、吸附能力等亲和力不同进行分离 <sup>[15]</sup>	(1)具有高分离能力的色谱技术能够提高检测效率, 准确获得样品中目标化合物的相关信息; (2)分析灵敏度高, 重复性好	(1)样品前处理技术复杂, 容易影响实验结果; (2)检测条件受检测器制约, 存在局限	(1)色谱条件的设定(包括色谱柱、柱温、检测波长等); (2)检测器的选择
肠道酶活性检测技术		将酶液与底物混合, 通过水浴、终止反应、定容等步骤, 最后利用紫外分光光度计在特定波长下测定吸光度 <sup>[16]</sup>	(1)快速简便; (2)样本用量较少	(1)检测通过对代谢产物进行间接地证明酶的活性高, 可靠性受到影响; (2)侵入性手段影响实验的准确性	(1)酶液、底物的配置; (2)水浴温度、时间; (3)显色温度、时间; (4)波长的设定
肠道微生物活性检测技术		利用荧光素二乙酸与磷酸缓冲液混合, 加入待测样液充分混合后, 丙酮终止反应, 利用紫外分光光度计测定吸光度 <sup>[17]</sup>	(1)快速简便; (2)灵敏度高	(1)丙酮加入终止反应后, 放置时间过长, 影响实验结果; (2)实验过程中稀释和定容不准确, 对于实验结果影响较大	(1)FDA反应液制备; (2)丙酮加入的先后顺序; (3)把握实验过程中的稀释和定容
体外模拟胃肠道环境		活化的菌种按比例接种至人工胃液和人工肠液中培养一段时间后进行活菌计数 <sup>[18]</sup>	(1)操作简单快速; (2)不受伦理限制; (3)较直观的看到实验结果	(1)选择接种液与接种方式的不同, 对结果呈现很大影响; (2)与人体胃肠道人工胃肠液的浓度配比	(1)菌种接种至已灭菌的斜面培养基上进行活化; (2)人工胃肠液的浓度配比

DGGE/TGGE)技术可直接分析样品总DNA的微生物多样性, 在揭示微生物群落遗传多样性和种群差异方面具有明显优越性<sup>[21]</sup>。邝枣园等<sup>[22]</sup>应用DGGE分析探讨黄连解毒汤对高脂血症小鼠肠道微生态的影响时, 对各组小鼠肠道粪便的细菌群落进行聚类分析发现各组小鼠肠道菌群都建立了新的细菌群落结构, 但部分组别细菌群落结构仍不稳定。而黄连解毒汤组可能从抑制肠道中某些细菌的生长方面, 调节肠道形成新的、相对稳定的细菌群落结构, 从而干预脂质代谢过程治疗高脂血症。杨泽锐等<sup>[23]</sup>从相似性系数角度分析红景天破壁饮片对小鼠肠道菌群影响时, 发现在聚类分析中, 各剂量组破壁饮片以及常规饮片组的组内相似度都会明显改变, 说明服用破壁饮片和常规饮片之后比较有可能形成稳定的肠道菌群环境。应用DGGE/TGGE技术我们可以从对比不同微生物群落之间的差异变化方面, 探究中医药在疾病的治疗过程可能的机制研究, 对肠道微生物的群落的结构、功能和动态变化有着更好的阐述, 为全面、快速、准确分析和鉴定复杂的肠道微生物提供新的方向。

2.1.2 末端限制性片段长度的多态性技术: 末端限制性片段长度的多态性(terminal-restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)技术以分子系统学原理为基础, 运用了PCR、限制性酶切、荧光标记和DNA序列分析等技术, 通过对特定核酸片段长度多态性的测定来分析微生物群落结构和功能<sup>[24]</sup>。Wu等<sup>[25]</sup>采用T-RFLP技术

研究甘草中类黄酮异黄酮苷元调节结肠炎相关大肠癌(colitis-associated colorectal cancer, CAC)肠道菌群影响时, 发现甘草中类黄酮异黄酮苷元改变了小鼠肠道菌群群落结构, 其中*Lachnospiraceae*、*Rikenellaceae*含量降低、*Helicobacteraceae*含量增加, 证明甘草中类黄酮异黄酮苷元可保护小鼠免受CAC的侵害, 且它和肠道菌群可能具有协同的抗癌作用。与定性分析的DGGE/TGGE技术不同, T-RFLP技术可定性、定量分析微生物群落结构和功能。应用T-RFLP技术在短时间内对肠道中细菌群落以及群落中细菌组成定量分析, 证实中药对疾病主要调控作用的肠道细菌靶点, 为中药可能通过调节肠道微生物群来预防疾病发生发展提供新的证据。

2.1.3 扩增核糖体DNA限制性酶切片片段分析技术: 扩增核糖体DNA限制性酶切片片段分析(amplified ribosomal DNA restriction analysis, ARDRA)技术是一种快速、有效的现代生物鉴定方法, 在微生物遗传多样性及其分类研究中应用广泛<sup>[26]</sup>。郭抗萧等<sup>[27]</sup>采用ARDRA技术研究七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道菌群多样性的影响时发现, 乳酸杆菌16S rDNA的PCR产物经酶切后传统汤药(七味白术散)组与模型组相比ARDRA条带增加, 且接近于正常组, 提示造模后小鼠肠道菌群失调, 乳酸杆菌量减少, 多样性下降; 七味白术散治疗后可改变小鼠肠道菌群多样性, 与正常组群落结构的相似性系数接近。根据ARDRA条带的丰富程度, 我们可以看出肠道

菌群群落的多样性, 且ARDRA条带信号越强, 表示肠道菌群中该物种的数量越多. 从实验结果中证实了七味白术散能够促进乳酸杆菌的生长, 增加乳酸杆菌的丰富度, 为今后七味白术散应用于临床提供了新的方向. ARDRA技术能够在一定程度上反映出核糖体DNA的遗传多样性, 通过ARDRA技术应用中医药领域的肠道微生态研究对微生物鉴定、共生菌、病原菌的微生物遗传多样性的检测, 了解疾病过程中破坏肠道微生态的主要影响因素, 以及建立中医药良性、稳定的肠道微生态结构具有重要意义, 为今后开发有利于特异性中药抑制剂具有重要的实际应用价值.

**2.1.4 基因芯片技术:** 基因芯片(Gene chip)技术又称DNA微阵列, 能快速、准确、大规模地对获取样品核酸序列信息进行定性分析. Gene chip技术已应用于粪便、环境样本等的众多领域中, 主要应用于基因表达分析、基因组测序、疾病诊断及药物筛选等方面<sup>[28]</sup>. 周鸿云<sup>[29]</sup>在用Gene chip技术探索人参乌梅汤加味对腹泻模型大鼠结肠差异基因的分子调控机制发现, 有17个基因表达上调, 34个基因表达下调, 提示中药对腹泻的调控是多层次、多靶点的. Gene chip技术不仅可以从基因层面初步揭示中医药应用肠道微生态治疗疾病的分子机制. 而且由于不同基因存在不同功能, 参与不同的信号通路, 涉及疾病的多个阶段多个环节, 互相之间存在着复杂的交互网络作用关系, 它们可能单个发挥作用, 可能需要多个基因同时参与某条通路或表达某项功能. 基于此, 我们也可以深入“中药组分-信号通路-调控”的新视角, 宏观与微观结合系统研究中药复方多成分、多靶点、多途径作用机制, 为进一步诠释中医药应用肠道微生态治疗疾病的现代科学内涵奠定基础.

**2.1.5 荧光原位杂交技术:** 荧光原位杂交(fluorescent in situ hybridization, FISH) 技术对不同类群的微生物在细胞水平上进行原位的定性定量分析, 描述微生物的形态特征、丰度以及在样品上的空间分布和动态<sup>[30]</sup>. 应用FISH技术探究中药多糖调节抗生素菌群失调小鼠肠道菌群变化时发现<sup>[31]</sup>, 中药多糖组中小鼠肠道双歧杆菌的含量较模型组升高, 大肠杆菌的含量降低, 提示中药多糖具有扶植肠道正常菌群生长的作用. 实验中经中药多糖干预后快速有效地通过大肠杆菌探针针对金葡菌、双歧杆菌等进行杂交检测, 得到中药多糖可通过调节肠道菌群结构及丰度达到治疗抗生素引起菌群失调的现象. FISH方法在检测中医药调节菌群失调的应用较传统微生物培养法具有明显的优势, 不仅能够对多种微生物进行定性定量检测, 而且能够分析微生物群落及对特定菌群进行空间定位和原位生理学研究, 提高了肠道菌群检测的速度和种类变化的准确度, 有助于对中药发挥疗效功能

进行准确、客观的评价, 对中药的开发提供技术支持.

**2.1.6 实时荧光定量PCR技术:** 实时荧光定量PCR(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-PCR)技术即应用RT-PCR检测系统对实验反应过程中荧光信号的强度进行检测, 通过标准曲线对未知模板进行定量分析. 该技术能够分析明确肠道中某类有益菌和致病菌的定植规律, 逐渐应用于人类以及动物肠道特定菌群的分析检测<sup>[32]</sup>. 在探究安肠汤治疗溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)作用机制过程中, 孙平良<sup>[33]</sup>应用RT-PCR技术检测大鼠肠内容物中各菌属基因表达, 发现安肠汤对UC大鼠肠道菌属有明显的调节作用. 曾艺鹏等<sup>[34]</sup>在探究葛根芩连汤治疗2型糖尿病湿热证对患者肠道菌群影响时发现, 葛根芩连汤在一定程度上改善了肠道微生态, 能有效抑制致炎细菌、促进益生菌的生长, 从而达到治疗2型糖尿病湿热证的效果. RT-PCR技术不仅可以从基因水平的量化检测来描述中药对肠道微生物的特定效应, 而且可以对中药干预治疗后肠道中某些有益菌和致病菌的定植规律进行定量分析, 这充分显现出肠道菌群中医药治疗疾病过程中的重要地位, 日益凸显中医药在肠道菌群结构及细菌定量、病原检测、基因表达等方面的优越性.

**2.1.7 高通量测序技术:** 高通量测序(high-throughput sequencing, HTS)技术能够以样品中各微生物基因组信息作为研究对象直接进行微生物组成的分析, 可准确获得肠道微生物群落信息<sup>[35]</sup>. 而测序技术的发展由于测序原理、测序平台的不同也出现了较大的差异. 其中二代测序可对多个样本进行测序, 在单位时间内数据测序通量及产出量增长. 与二代测序不同的是, 三代测序技术测序过程更加简化, 读长变长, 可对16S rRNA基因全长进行测序, 直接对给定的模板DNA或者RNA进行测序, 实现真正意义上的实时测序<sup>[36]</sup>. 张晨阳等<sup>[37]</sup>应用高通量二代测序技术对小鼠肠内容物菌群16S rRNA基因V3-V4可变区进行扩增, 探究番泻叶灌胃对小鼠肠内容物菌群的影响. 结果发现番泻叶灌胃后可改变小鼠肠内容物菌群中*Streptococcus*, *Sutterella*和*Dorea*的变化. 之后又利用高通量三代测序技术获取小鼠肠黏膜16S rRNA基因全长序列信息, 分析小鼠肠黏膜微生物对肝气乘脾证泄泻的影响发现<sup>[38]</sup>, 模型组小鼠肠黏膜菌群多样性与空白组相比明显升高. 其中*Stigmatella aurantiaca*、*Candidatus arthromitus sp. SFB-mouse*、*Erythrobacter gaetbuli*、*Desulfobacterium hafniense*、*Ochrobactrum pituitosum*和*Candidatus arthromitus sp. SFB-mouse-NL*明显降低, 提示肝气乘脾证泄泻的发生与肠黏膜菌群多样性、群落结构以及相对丰度相关. 虽然测序技术在短短几十年的时间里



取得了突飞猛进的发展,但仍存在亟待完善的地方,二代测序在大基因检测时,其测序读长较短会产生大量高度碎片化的重复片段,对于后续测序拼接成为较大困扰;同时在测序读长时针对某一可变区域进行,读长长度较短;并且测序时间长,无法完全满足临床样本快速诊断的需要<sup>[39]</sup>.而三代测序平台读长较长,测序错误率较高,后续数据处理分析较依赖处理软件与数据库的选择<sup>[40]</sup>.基于HTS的宏基因组学技术通过提取肠道中的微生物总DNA、构建文库,可获得大量肠道微生物群落种类、丰度及相关生物学信息,为人类研究肠道营养健康提供支持<sup>[41]</sup>.郭抗萧等<sup>[42]</sup>基于宏基因组技术评估七味白术散对肠道菌群失调腹泻的治疗机理发现,经七味白术散治疗后小鼠肠道菌群菌属结构以及多样性等发生明显改变,说明七味白术散可能对菌群失调腹泻小鼠肠道细菌群落有恢复的作用.

HTS技术不仅能够反映环境中微生物的群落结构,而且在以功能基因为核心的分子生态学研究也备受青睐<sup>[43]</sup>.*mcrA*基因编码mcr的A亚基,可作为肠道甲烷产量的生物标记物检测产甲烷菌的多样性和系统发育情况,对于研究针对性减少甲烷的方法具有积极作用<sup>[44]</sup>.硫酸盐还原细菌(sulphate-reducing bacteria, SRB)的功能基因*dsrB*可鉴定SRB物种信息来探究炎症性肠病与SRB之间的可能联系,为之后中医药治疗提供指导性建议<sup>[45]</sup>.贺璐等<sup>[46]</sup>探讨四磨汤对脾虚便秘小鼠肠道细菌功能基因的影响时,发现四磨汤可通过提高肠道细菌能量和营养物质的代谢,提高遗传信息的复制、转录、翻译和跨膜转运水平来达到治疗脾虚便秘的效果.微生物的各种转化功能主要依赖酶来完成,通过编码相关酶的功能基因作为微生物功能标记物,成为了微生物多样性研究的新方向<sup>[47]</sup>.在探究七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道黏膜细菌乳糖酶基因多样性的影响时,龙承星<sup>[48]</sup>发现七味白术散对小鼠肠道黏膜细菌乳糖酶基因的多样性和丰度有明显恢复作用,能够修复小鼠肠道黏膜细菌产乳糖酶基因的群落结构.实验试从肠道黏膜细菌乳糖酶基因多样性层面进一步探讨七味白术散对菌群失调腹泻疗效的认识,为阐明七味白术散对菌群失调腹泻疗效的现代生物学机理提供佐证.由此可以看出,中医药发挥疗效时可通过借助高通量测序技术从肠道菌群中的物种组成分析、多样性分析、物种差异分析、功能基因等方面准确获取肠道微生物信息,揭示多种肠道疾病相关的分子机制,为之后进一步挖掘中医药作用的具体作用靶点(如针对某一通路或功能预测)埋下伏笔,也为更好探究中医药与肠道微生物的关系提供研究基础.

2.2 基于蛋白质的分析技术 随着蛋白质组学技术日趋成熟,蛋白质组学在促进中医药肠道微生态领域发展的

同时,中医药研究也为蛋白质组学提供方向与动力,已成为蛋白质组学的重要研究领域之一<sup>[49]</sup>.王佳等<sup>[50]</sup>探讨健脾祛痰化痰法对脾虚痰浊动脉粥样硬化巴马猪小肠差异蛋白的影响时发现,健脾祛痰化痰中药方影响脾虚痰浊动脉粥样硬化巴马猪小肠多种蛋白表达,涉及细胞黏附分子、脂肪消化和吸收、胆汁酸分泌等通路,提示该方通过调控这些关键通路蛋白的表达改善巴马猪小肠消化吸收功能异常,进而改善脾虚痰浊动脉粥样硬化.蛋白质组学的快速发展为我们深入研究疾病过程中蛋白质表达和功能作用提供了可能.蛋白质组学技术可以在整体水平上检测出疾病中一些特异蛋白的表达,明确疾病过程中相关蛋白的表达和功能变化,加快对疾病病理改变的认识.将中医药现代化研究与蛋白质组学研究结合,从微观角度探讨中药复方作用机制,为中医药的证候治疗提供准确分子标志物,以此针对性的达到治疗的效果.

2.3 基于代谢产物的分析技术 肠道细菌代谢产物如短链脂肪酸(short chain fatty acids, SCFAs)在机体生理和病理过程中扮演着重要角色.随着关于SCFAs在机体中的作用研究的不断深入,越来越多的实验要求对人或实验动物粪便或肠内容物中短链脂肪酸含量进行方便、快捷的测定<sup>[51]</sup>.目前的检测方法以色谱技术较为常见.在探究肺系调治方治疗小儿反复呼吸道感染的实验中,吴月滢<sup>[52]</sup>发现肺系调治方可促进大鼠肠内容物中乙酸、丙酸、正丁酸的表达,提示肺系调治方治疗小儿反复呼吸道感染的作用机制可能与大鼠肠内容物中增加的SCFAs有关.李慧等<sup>[53]</sup>探讨黄连解毒汤对小鼠粪便中SCFAs代谢的影响时发现,灌胃黄连解毒汤后小鼠粪便中乙酸、丙酸和丁酸含量显著升高,提示黄连解毒汤可能促进了肠道菌群代谢,从而导致其代谢产物短链脂肪酸增加.通过应用色谱技术检测SCFAs的含量变化可以间接的反映出机体肠道细菌的变化,有利于挖掘肠道中产乙酸、丙酸、丁酸的肠道有益细菌,是中医药通过促进这些有益细菌生长及靶向调控防治多种人体疾病的潜在重要方法,以此为中医药防治疾病及药物研发提供新的研究思路.

### 3 肠道酶活性检测技术在中医药调节肠道微生态研究中的应用

酶能在温和的条件下,高效率促进生物体的新陈代谢.肠道功能酶是机体肠道内重要组成部分,影响机体营养物质吸收、免疫以及生长发育<sup>[54]</sup>.酶活性检测技术已逐渐应用于肠道内容物以及肠黏膜各种功能酶活性的检测中.吴仪等<sup>[55]</sup>用痛泻要方治疗肝气乘脾泄泻小鼠,应用酶活性检测小鼠肠黏膜前、中、后段及肠内容物中

消化酶活性发现, 与自然恢复组比, 中药干预组小鼠肠内容物中乳糖酶活性升高, 肠道前段黏膜纤维素酶活性显著降低, 肠道中段黏膜蛋白酶、淀粉酶以及纤维素酶活性升高, 肠道后段黏膜乳糖酶、蔗糖酶活性显著升高, 提示痛泻要方对肝气乘脾泄泻小鼠肠道消化酶活性具有调节作用, 但对于肠道不同部位消化酶活性调节作用有所不同。谭周进等<sup>[56]</sup>发现七味白术散对菌群紊乱腹泻的肠道微生态环境具有调整作用, 之后在探究七味白术散对抗生素所致腹泻小鼠肠道乳糖酶活性的影响时发现, 七味白术散治疗后小鼠肠道黏膜乳糖酶活性恢复且提高, 说明七味白术散可促进腹泻小鼠肠道黏膜乳糖酶活性恢复而治疗腹泻<sup>[16]</sup>。基于此, 通过检测肠道中各种消化酶活性发现, 中药不仅可以通过肠道黏膜影响肠道消化酶的分泌量, 使肠道消化酶活性发生变化, 而且还会影响肠道微生物使肠道酶的来源受到影响, 进一步阐明中药对肠道消化酶活性的调节机理, 为之后从酶活性角度探索中药调节肠道菌群治疗疾病提供思考。

#### 4 肠道微生物活度检测技术在中医药调节肠道微生态研究中的应用

微生物活度检测技术最早应用于土壤微生物检测当中, 肠道中不同种类的酶能够反映微生物参与生化反应的活跃程度, 也是微生物活度检测的重要指标<sup>[57]</sup>。荧光素二乙酸(fluorescein diacetate, FDA)能够被细菌及真菌中的非专一性酶水解, 我们常通过测定样品FDA水解程度体现肠道中微生物的总体活度<sup>[58]</sup>。惠华英等<sup>[17]</sup>在研究葛根芩连汤对肠道湿热证泄泻小鼠肠内容物及肠黏膜微生物活度影响时发现, 治疗组小鼠肠内容物及黏膜微生物活度降低向正常组水平变化, 提示葛根芩连汤治疗肠道湿热证泄泻可能与肠道微生物活度有关。肠道微生物活度可在一定程度上反映肠道微生物的总体代谢能力, 肠内容物以及肠黏膜中微生物活度的不同提示处于此处的肠道微生物的种类、丰度等有所差异, 不同种类、丰度的肠道微生物必然会影响微生物总体代谢能力。通过肠道微生物活度检测可明确中药治疗疾病过程中对于肠道微生物总体代谢能力的调控作用, 丰富了中医药治疗与肠道微生物的关系, 也为今后从肠道微生态出发探讨中医药治疗临床疾病的机理打开一扇新的大门。

#### 5 其他检测技术在中医药调节肠道微生态研究中的应用

体外模拟胃肠系统是一种基于生理学模拟生物体进行生物学研究的创新技术。针对肠道益生菌的开发与应用, 胃肠道环境耐受性试验已成为一个主要内容。我们通常采用体外模拟胃肠道环境模型对其进行评价, 为更

好的评估益生菌的适应性及其科学有效的使用提供依据。刘艳平等<sup>[59]</sup>在探究知母皂苷B II 模拟人体胃肠道环境的稳定性研究时, 发现知母皂苷B II 在人工胃液、人工肠液中能稳定生存, 不会发生明显降解, 这对于知母皂苷B II 剂型选择和生物利用度改善具有重要意义, 也为进一步阐明知母的体内药效物质提供参考。

#### 6 结论

肠道微生物的平衡与宿主的健康和疾病有着密切的关联。中医药通过调控肠道微生物中菌种结构组成, 从而维持肠道微生态平衡, 对疾病的治疗有显著效果。目前, 分子生物学技术被广泛运用于中医药调节肠道微生态研究中, 通过分子生物学技术来探讨肠道微生态的平衡与紊乱, 阐释肠道微生物与宿主的生理及病理相关性, 揭示多种肠内外疾病中医症候表现的分子机制, 为中医药治疗肠道微生态相关疾病提供理论依据和研究基础, 这对于全面了解中药药效物质基础, 为中医药在调节肠道菌群方面取得新的突破性进展, 推动中药现代化研究进程具有重要的意义。相较于传统的肠道微生物研究方法, 目前的技术手段已经取得了非常大的进步。但是这些技术仍然存在缺陷, 对于研究肠道微生物来说仍显不足, 如对于样品的处理方式应有所突破, 样品信息的处理仍需优化。在未来, 随着分子生物学自身的发展, 期待有更简便快捷的方法出现, 并结合目前已有的研究技术, 按照需求进行选取以更有效地达到实验目的, 而借助生物大数据的方法可能会是未来研究的发展方向。

#### 7 参考文献

- 1 谢果珍, 惠华英, 于子真, 彭买姣, 谭周进. 铁皮石斛多糖对肠道微生态的影响研究. 时珍国医国药 2019; 30: 2603-2605 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2019.11.015]
- 2 王永安, 李亚兰, 吴佳佳, 葛东宇, 彭桂英. 基于高通量测序分析大承气汤对过敏性哮喘小鼠肠道菌群的影响. 中国中医药信息杂志 2021; 28: 1-5 [DOI: 10.19879/j.cnki.1005-5304.202008445]
- 3 何云山, 谭周进, 李丹丹, 惠华英. 保和丸对食积小鼠的肠道微生物及酶活性的影响. 中国微生态学杂志 2019; 31: 763-767 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201907004]
- 4 唐圆, 吴仪, 惠华英, 谭周进. 痛泻要方对肝气乘脾泄泻小鼠肠道微生物活度的影响. 中国微生态学杂志 2020; 32: 17-20 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202001004]
- 5 何云山, 唐圆, 肖奕菲, 肖嫩群, 惠华英. 葛根芩连汤在模拟胃肠液中对微生物生长的影响. 中国微生态学杂志 2020; 32: 125-130+137 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202002001]
- 6 黄皓, 郝丽, 肖向红, 张晶钰, 柴龙会, 刘畅. 肠道菌群功能及检测技术研究进展. 黑龙江畜牧兽医 2018; 13 45-48 [DOI: 10.13881/j.cnki.hljxmsy.2017.08.0266]
- 7 于文雅, 孙泽威. 动物胃肠道微生物研究技术的应用进展. 黑龙江畜牧兽医 2015; 3: 53-56 [DOI: 10.13881/j.cnki.hljxmsy.2015.0172]
- 8 方治国, 郝翠梅, 姚文冲, 欧阳志云. 空气微生物群落解析方法: 从培养到非培养. 生态学报 2016; 36: 4244-4253 [DOI: 10.5846/stxb201411272355]
- 9 周建波, 姜亚, 宁俊平, 曹晓燕, 黄怡, 王士长. 应用扩增性DNA



- 限制性酶切片段多态性分析技术研究竹鼠盲肠细菌菌群的多样性. 动物营养学报 2013; 25: 2504-2508 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-267x.2013.10.035]
- 10 刘玉婷, 郝微微, 温红珠, 邵兰君. 肠道菌群的检测方法及其研究进展. 世界华人消化杂志 2016; 24: 3142-3148 [DOI: 10.11569/wjcd.v24.i20.3142]
  - 11 李景, 王素英, 周鑫. 分子生物学技术在肠道微生态研究中的应用. 黑龙江畜牧兽医 2009; 19: 14-16 [DOI: 10.13881/j.cnki.hljxmsy.2009.19.004]
  - 12 黄卫强, 张和平. 分子生物学技术在肠道菌群研究中的进展. 微生物学通报 2014; 41: 1195-1202 [DOI: 10.13344/j.microbiol.china.130449]
  - 13 刘莹, 韩钰, 王文磊, 马成玉, 张沛. 高通量技术在微生物培养中的应用进展及分子测序对比分析. 安徽农业科学 2020; 48: 16-19 [DOI: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.15.005]
  - 14 刘璇, 岳庆喜, 果德安. 蛋白质组学技术及其在中药复杂体系研究中的应用. 中国天然药物 2009; 7: 260-269 [DOI: 10.3724/SP.J.1009.2009.00260]
  - 15 高冰, 于秋颖, 贾海莲, 苏军, 邵大鹏, 李梦格, 戈娜. 短链脂肪酸提取与检测的研究进展. 包头医学院学报 2019; 35: 116-117+145 [DOI: 10.16833/j.cnki.jbmc.2019.12.042]
  - 16 惠华英, 申可佳, 李丹丹, 谭周进. 七味白术散对庆生素所致腹泻小鼠肠道乳糖酶活性的影响. 中国微生态学杂志 2018; 30: 1126-1129 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201810003]
  - 17 惠华英, 何云山, 罗成宇, 谭周进. 葛根苓连汤对肠道湿热证泻泄小鼠肠道微生物活度和酶活性的影响. 应用与环境生物学报 2020; 2: 1-8 [DOI: 10.19675/j.cnki.1006-687x.2020.02032]
  - 18 肖新云, 刘又嘉, 邓艳玲, 谭周进. 汉逊德巴利酵母菌在胃酸、肠胆盐环境的耐受性研究. 湖南农业科学 2016; 6: 6-8 [DOI: 10.16498/j.cnki.hnnykx.2016.06.003]
  - 19 龙承星, 贺璐, 郭艳芳, 刘又嘉, 于子真, 任婷, 谭周进. 铁皮石斛多糖对脾虚便秘小鼠免疫、肠道微生物及酶活性的影响. 天然产物研究与开发 2017; 29: 1020-1024+1034 [DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.6.020]
  - 20 唐标, 肖新云, 刘又嘉, 姚天振, 尹抗抗, 谭周进. 降脂理肝汤对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝大鼠肠道微生物及酶活性的影响. 应用与环境生物学报 2016; 22: 442-445
  - 21 杨翠, 李祖明. 分子生物学技术在肠道微生物研究中的应用进展. 中国微生态学杂志 2017; 29: 229-233+238 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201702029]
  - 22 邝枣园, 马嫫, 宋梦微, 李岩, 张韧, 李明. 黄连解毒汤对高脂血症形成过程中小鼠肠道微生态的影响. 中国医药指南 2013; 11: 85-87 [DOI: 10.15912/j.cnki.gocm.2013.09.067]
  - 23 杨泽锐, 曾桂梅, 彭丽华, 张苗苗, 成金乐, 詹若挺. 红景天破壁饮片对小鼠肠道菌群影响的初步研究. 中国中药杂志 2015; 40: 3053-3058 [DOI: 10.4268/cjcm.20151526]
  - 24 邱浩然, 赵霞, 王晓春, 孔秀琴, 陈吉祥. 现代分子生物学技术在活性污泥微生物菌群多样性研究中的应用. 四川环境 2013; 32: 129-132 [DOI: 10.14034/j.cnki.schj.2013.06.002]
  - 25 Wu M, Wu Y, Deng B, Li J, Cao H, Qu Y, Qian X, Zhong G. Isoliquiritigenin decreases the incidence of colitis-associated colorectal cancer by modulating the intestinal microbiota. *Oncotarget* 2016; 7: 85318-85331 [PMID: 27863401 DOI: 10.18632/oncotarget.13347]
  - 26 宁华, 张荣先, 陈浩, 杨志荣, 孙群. 滇池中芽孢杆菌的ARDRA分类及溶藻特性. 湖泊科学 2008; 05: 675-680 [DOI: 10.18307/2008.0518]
  - 27 郭抗萧, 肖新云, 刘又嘉, 龙承星, 谭周进. 七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道乳酸杆菌多样性的影响. 应用与环境生物学报 2015; 21: 1071-1075 [DOI: 10.3724/sp.j.1145.2015.04030]
  - 28 Niewold TA, Kerstens HH, van der Meulen J, Smits MA, Hulst MM. Development of a porcine small intestinal cDNA microarray: characterization and functional analysis of the response to enterotoxigenic E. coli. *Vet Immunol Immunopathol* 2005; 105: 317-329 [PMID: 15808309 DOI: 10.1016/j.vetimm.2005.02.010]
  - 29 周鸿云. 基于“五味合化”理论研究人参乌梅汤加味及其性味折方对腹泻模型大鼠结肠差异基因表达的影响. 四川省: 成都中医药大学 2019
  - 30 何世斌, 柴连琴, 沈尧, 周萍, 马云峰, 李立家. 荧光原位杂交技术的研究进展. 植物科学学报 2014; 32: 199-204 [DOI: 10.1016/10.3724/SP.J.1142.2014.20199]
  - 31 郭建壮. 用中药调节剂采取边抗边调等方式对抗生素所致菌群失调进行防治的研究. 新疆: 佳木斯大学 2012
  - 32 周良云, 刘谈, 王升, 唐金富, 康利平, 郭兰萍. 实时荧光定量PCR研究进展及其在中药领域的应用. 中国现代中药 2016; 18: 246-251+262 [DOI: 10.13313/j.issn.1673-4890.2016.2.027]
  - 33 孙平良. 基于代谢组学的溃疡性结肠炎大鼠肠道微生态变化及安肠汤干预机制研究. 广西省: 广西医科大学 2017
  - 34 曾艺鹏, 冯新格, 谷成英, 郭亚芳, 许迎烈. 葛根苓连汤治疗对2型糖尿病湿热证肠道菌群影响. 河北医学 2016; 22: 1731-1734 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-6233.2016.10.064]
  - 35 彭买蛟, 惠华英, 肖嫩群, 谭周进. 芦笋对高脂饮食小鼠肠道内容物细菌多样性的影响. 核农学报 2019; 33: 2229-2236 [DOI: 10.11869/j.issn.100-8551.2019.11.2229]
  - 36 王玉静, 陆梓滢, 陈俊煌, 陈毅歆. 高通量测序技术的发展及其在临床检测中的应用现状. 厦门大学学报(自然科学版) 2020; 6: 1-11 [DOI: 10.6043/j.issn.0438-0479.202006033]
  - 37 Zhang C, Shao H, Li D, Xiao N, Tan Z. Role of tryptophan-metabolizing microbiota in mice diarrhea caused by Folium sennae extracts. *BMC Microbiol* 2020; 20: 185 [PMID: 32600333 DOI: 10.1186/s12866-020-01864-x]
  - 38 Zhang C, Shao H, Peng X, Liu T, Tan Z. Microbial characteristics colonized in intestinal mucosa of mice with diarrhoea and repeated stress. *3 Biotech* 2020; 10: 372 [PMID: 32832332 DOI: 10.1007/s13205-020-02368-1]
  - 39 Schatz MC, Delcher AL, Salzberg SL. Assembly of large genomes using second-generation sequencing. *Genome Res* 2010; 20: 1165-1173 [PMID: 20508146 DOI: 10.1101/gr.101360.109]
  - 40 Rhoads A, Au KF. PacBio Sequencing and Its Applications. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2015; 13: 278-289 [PMID: 26542840 DOI: 10.1016/j.gpb.2015.08.002]
  - 41 吴森, 张莺莺, 答林森. 基于高通量测序的宏基因组学技术在动物胃肠道微生物方面的研究进展. 生物技术进展 2015; 5: 77-84 [DOI: 10.3969/j.issn.2095-2341.2015.02.01]
  - 42 郭抗萧, 彭买蛟, 彭昕欣, 惠华英, 谭周进. 七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道细菌多样性的影响. 微生物学通报 2018; 45: 1470-1478 [DOI: 10.13344/j.microbiol.china.170751]
  - 43 Xie G, Tan K, Peng M, Long C, Li D, Tan Z. Bacterial diversity in intestinal mucosa of antibiotic-associated diarrhea mice. *3 Biotech* 2019; 9: 444 [PMID: 31763122 DOI: 10.1007/s13205-019-1967-2]
  - 44 McGovern E, McCabe MS, Cormican P, Popova M, Keogh K, Kelly AK, Kenny DA, Waters SM. Plane of nutrition affects the phylogenetic diversity and relative abundance of transcriptionally active methanogens in the bovine rumen. *Sci Rep* 2017; 7: 13047 [PMID: 29026096 DOI: 10.1038/s41598-017-13013-y]
  - 45 Jia W, Whitehead RN, Griffiths L, Dawson C, Bai H, Waring RH, Ramsden DB, Hunter JO, Cauchi M, Bessant C, Fowler DP, Walton C, Turner C, Cole JA. Diversity and distribution of sulphate-reducing bacteria in human faeces from healthy subjects and patients with inflammatory bowel disease. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2012; 65: 55-68 [PMID: 22309113 DOI: 10.1111/j.1574-695X.2012.00935.x]
  - 46 贺璐, 龙承星, 李丹丹, 张雪, 彭买蛟, 谭周进. 四磨汤对脾虚便秘小鼠肠道细菌丰度及功能基因的影响. 中国微生态学杂志 2017; 29: 133-138 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201702003]
  - 47 He L, Liu Y, Guo Y, Shen K, Hui H, Tan Z. Diversity of intestinal bacterial lactase gene in antibiotics-induced diarrhea mice treated with Chinese herbs compound Qi Wei Bai Zhu San. *3 Biotech* 2018; 8: 4 [PMID: 29242764 DOI: 10.1007/s13205-017-1024-y]
  - 48 龙承星. 七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道黏膜细菌及乳糖

- 49 酶基因多样性的影响. 湖南省: 湖南中医药大学 2019
- 49 刘宁宁, 张铁军, 郝非凡, 徐霞, 苗华, 王艳炜. 半夏白术天麻汤治疗痰湿壅盛型高血压机制探讨. 河北中医学报 2020; 35: 40-43+57 [DOI: 10.16370/j.cnki.13-1214/r.2020.04.011]
- 50 王佳. 基于蛋白组学探讨健脾祛痰化痰法对脾虚痰浊AS巴马猪小肠差异蛋白及能量代谢变化的影响. 辽宁中医药大学 2020
- 51 邵玉健, 沈红, 徐金娣, 康东周, 李松林. 粪便中短链脂肪酸测定方法研究进展. 药物分析杂志 2019; 39: 967-974 [DOI: 10.16155/j.0254-1793.2019.06.02]
- 52 吴月滢. 肺系调治方干预肠黏膜屏障防治小儿反复呼吸道感染的实验研究. 云南省: 云南中医药大学 2019
- 53 李慧, 杨光勇, 刘茜明, 陈瑞, 何光志, 王文佳, 田维毅, 蔡琨, 王平, 黄高, 梁建东. 黄连解毒汤对小鼠血清中Trp、Kyn、5-HT及粪便中短链脂肪酸代谢的影响. 黑龙江畜牧兽医 2019; 9: 126-129 [DOI: 10.13881/j.cnki.hljxmsy.2018.06.0060]
- 54 刘又嘉, 肖新云, 邓艳玲, 郭抗萧, 余颜, 谭周进. 七味白术散与酵母菌联用对菌群失调腹泻模型小鼠肠道乳酸杆菌多样性的影响. 航天医学与医学工程 2016; 29: 175-180
- 55 吴仪, 唐圆, 刘娅薇, 惠华英, 谭周进. 痛泻要方对“肝气乘脾”泄泻小鼠肠黏膜及肠内容物消化酶活性的影响. 中国微生态学杂志 2020; 32: 745-749 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202007001]
- 56 谭周进, 吴海, 刘富林, 蔡莹, 蔡光先, 张华玲, 曾奥. 超微七味白术散对肠道微生物及酶活性的影响. 生态学报 2012; 32: 6856-6863 [DOI: 10.5846/stxb201109271422]
- 57 王佳佳, 周桦, 张进. 土壤样品中微生物活性的荧光分析方法. 环境化学 2012; 31: 1637-1644
- 58 许云翔, 何莉莉, 刘玉学, 吕蒙蒙, 汪玉瑛, 陈金媛, 杨生茂. 施用生物炭6年后对稻田土壤酶活性及肥力的影响. 应用生态学报 2019; 30: 1110-1118 [DOI: 10.13287/j.1001-9332.201904.002]
- 59 刘艳平, 余自成. 知母皂苷BII在模拟人体胃肠道环境及生物样品中的稳定性研究. 中国现代应用药学 2018; 35: 653-656 [DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.05.007]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc.  
All rights reserved.

## • 消息 •

## 书 讯

本刊讯 由池肇春教授主编的《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》已由人民卫生出版社出版发行。

腹痛是消化系统最常见的症状之一,可引起腹痛的疾病很多,容易发生误诊或漏诊,以致患者得不到及时的诊治。本书由全国著名消化内科及相关学科专业学者共同执笔,为近年在腹痛诊疗方面的最新代表作。精装,图文并茂,内容新颖实用,全书2014千字,分上下两篇,上篇为总论,包括腹痛的病理生理学、腹痛的病因与发病机制、腹痛的临床诊断、腹痛的内镜与影像诊断与鉴别诊断、腹痛的实验室诊断、腹痛的治疗等11章。下篇为各论,分别介绍腹痛疾病的鉴别诊断与治疗。从第12章至第15章分别介绍腹腔脏器炎症、阻塞、扭转、穿孔、破裂、血管疾病、心肺疾病、妇科疾病、急性中毒等引起急性腹痛的鉴别诊断与治疗。从第17章至第29章分别介绍胃肠、胰、肾、感染、肿瘤引起的慢性腹痛鉴别诊断与治疗。从第30章至第36章分别介绍肝胆系统疾病和系统疾病引起腹痛的鉴别诊断与治疗。最后一章为经典案例53例,分别介绍了不同案例的诊治体会、经验与教训。

全书以症状鉴别诊断为中心,与治疗并重,均作了全面与详尽的阐述,是一部有关腹痛诊治的新作,有较高的学术水平和参考价值,可为消化内科、普外科、小儿科、感染科、肿瘤科、影像科和妇产科等学科医师学习与参考。每册定价188元,购书热线 010-59787592, 010-59787584, 010-65264830, 人卫智慧服务商城(人卫社官方购书网站)、当当、京东、天猫等网店均可搜索购书,欢迎选购。



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,  
CA 94566, USA  
**Telephone:** +1-925-3991568  
**E-mail:** [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
**https://**[www.wjgnet.com](https://www.wjgnet.com)



ISSN 1009-3079

