基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003907

沙库巴曲缬沙坦对低氧性肺动脉高压右心室重构大鼠肠道菌群调控作用的宏基因组学分析

刘红娟[1]，杜　娟[2]，林　玥[2]，安小娟[1]，任　明[2]
（1.青海大学研究生院，西宁　810000；2.青海大学附属医院心血管内科，西宁　810000）

【摘　要】目的：探究沙库巴曲缬沙坦（sacubitril/valsartan，LCZ696）对低氧性肺动脉高压（hypoxic pulmonary hypertension，HPH）右心室重构大鼠肠道菌群及其衍生代谢物血清指标的影响。**方法：**24只雄性大鼠随机分为对照组（Control组）、低氧组（Hypoxia组）、沙库巴曲缬沙坦组（H-LCZ696组）。从第1天起，H-LCZ696组给予LCZ696灌胃，其余2组生理盐水灌胃，持续4周。实验结束后测定肺动脉压、心脏彩超和右心室重构等相关指标。病理染色及透射电镜观察组织结构。宏基因组学技术分析大鼠粪便肠道菌群特征及其功能注释。酶联免疫吸附试验（enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）法检测大鼠衍生代谢物血清指标。**结果：**3组大鼠平均肺动脉压（mean pulmonary arterial pressure，mPAP）差异有统计学意义（F=101.797，P<0.001）；与Control组相比，Hypoxia组mPAP升高、右心功能降低、肺血管重塑及右心室重构指标增加；与Hypoxia组相比，H-LCZ696组mPAP降低、右心功能改善、肺血管重塑及右心室重构指标降低。电镜结果显示Hypoxia组右心室心肌肌原纤维紊乱、线粒体肿胀，LCZ696干预后改善了上述超微结构损伤。宏基因组学分析显示，Hpoxia组肠道菌群多样性降低，致病菌（如变形菌门、普雷沃氏菌属、梭状芽孢杆菌）丰度升高，有益菌（如毛螺菌科属、乳杆菌属）减少，LCZ696干预后部分逆转上述变化：抑制梭菌目等致病菌增殖，但未能恢复菌群多样性，且部分有益菌（如乳杆菌属）丰度进一步降低。ELISA结果显示，与Control组相比，Hypoxia组血清促炎代谢物水平升高；与Hypoxia组相比，H-LCZ696组血清促炎代谢物水平降低。**结论：**LCZ696可缓解HPH右心室重构，调控致病菌与血清促炎代谢物，以心血管疗效为主，菌群调控为辅。

【关键词】低氧性肺动脉高压；右心室重构；沙库巴曲缬沙坦；肠道菌群；宏基因组学
【中图分类号】R544.1　　**【文献标志码】**A

The regulatory effect of sacubitril/valsartan on intestinal microbiota in rats with right ventricular remodeling induced by hypoxic pulmonary hypertension: a metagenomics analysis

Liu Hongjuan[1], Du Juan[2], Lin Yue[2], An Xiaojuan[1], Ren Ming[2]
(1. Graduate School of Qinghai University; 2. Department of Cardiology, The Affiliated Hospital of Qinghai University)

【Abstract】*Objective*: To explore the effect of sacubitril/valsartan (LCZ696) on intestinal microbiota and serological parameters associated with its derived metabolites in rats with right ventricular remodeling due to hypoxic pulmonary hypertension (HPH). ***Methods*:** A total of 24 male rats were randomly divided into Control group, Hypoxia group, and H-LCZ696 group. Since day 1, the rats in the H-LCZ696 group were given LCZ696 by gavage, while those in the other two groups were given normal saline by gavage, both for 4 consecutive weeks. Related indicators were measured after experiment, including hemodynamics, color Doppler ultrasound of right heart, and right ventricular remodeling. Histopathological staining and transmission electron microscopy were used to observe tissue structures; the metagenomics technique was used to analyze the characteristics and functional annotation of intestinal microbiota in the feces of the rats; ELISA was used to measure the serological parameters of the metabolites derived from intestinal microbiota. ***Results*:** There was a significant difference in mean pulmonary arterial pressure (mPAP) between the three groups of rats (F=101.797, P=0.000). Compared with the Control group, the Hypoxia group had an increase in mPAP, a reduction in right ventricular function, and increases in the indicators for pulmonary vascular remodeling and right ventricular remodeling. Compared with the Hypoxia group, the H-LCZ696 group had a reduction in mPAP, an improvement in right ventricular function, and reductions in the indicators for pulmonary vascular remodeling and right ventricular remodeling. Trans-

作者介绍：刘红娟，Email：904028020@qq.com，研究方向：心血管病学。
通信作者：任　明，Email：1104234597@qq.com。
基金项目：青海省中央引导地方科技发展资金资助项目（编号：2024ZY023）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20250804.0927.002（2025-08-04）

mission electron microscopy showed that the Hypoxia group had disordered myocardial myofibrils of the right ventricle and mitochondrial swelling, while such ultrastructural damage was improved after LCZ696 intervention. The metagenomics analysis showed that the Hypoxia group had a reduction in the diversity of intestinal microbiota, with increases in the abundance of pathogenic bacteria (such as Proteobacteria, Prevotella, and Clostridium) and reductions in the abundance of probiotic bacteria (such as Lachnospiraceae and Lactobacillus), and such changes were partially reversed after LCZ696 intervention, with inhibition of the proliferation of pathogenic bacteria such as Clostridiales, the failure to restore the diversity of intestinal microbiota, and a further reduction in the abundance of some probiotic bacteria (such as Lactobacillus). ELISA showed that compared with the Control group, the Hypoxia group had increases in the serum levels of pro-inflammatory metabolites, and compared with the Hypoxia group, the H-LCZ696 group had reductions in the serum levels of pro-inflammatory metabolites. ***Conclusion***: LCZ696 can alleviate right ventricular remodeling in HPH and regulate pathogenic bacteria and serum pro-inflammatory metabolites, with a main therapeutic effect on the cardiovascular system and a regulatory effect on intestinal microbiota.

【Key words】hypoxic pulmonary hypertension; right ventricular remodeling; sacubitril/valsartan; intestinal microbiota; metagenomics

肺动脉高压（pulmonary hypertension，PH）是一种以肺血管重塑和右心室重构为特征的血管疾病，最终引发右心衰竭和死亡[1]。PH分为5大类，其中，低氧性肺动脉高压（hypoxic pulmonary hypertension，HPH）是由于长期缺氧引起的肺动脉压持续升高，属于第3类[2]。1项澳大利亚PH患病率研究中，第3类PH患病率为37/100 000，从首次检测（通过超声心动图）到死亡时间为4.2年[3]。目前认为，PH致右心室重构分2阶段：①适应性右心室肥厚但维持充盈压与心功能；②非适应性右心室扩张、心排量下降及纤维化加剧，最终进展为右心衰竭[4]。N端B型利钠肽前体（N-terminal pro-B-type natriuretic peptide，NT-proBNP）水平与心功能呈正相关，可作为PH的诊断标志及预后指标[5]。右心衰竭为PH主要死因，右心功能降低患者5年生存率<30%[6]。因此，靶向治疗右心室重构为目前研究重点。

肠道菌群及其衍生代谢物在PH介导肺血管重塑和右心室重构中发挥重要作用[7]。肠道菌群通过调节营养代谢、免疫功能和屏障防御，抑制病原体入侵并维持机体稳态，能够合成并分泌多种代谢产物，主要包括三甲胺N-氧化物（trimethylamine N-Oxide，TMAO）、脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）、5-羟色胺（5-hydroxytryptamine，5-HT）和短链脂肪酸（short-chain fatty acid，SCFAs）等[8]。其中，肠道菌群失衡可能破坏肠道屏障功能，增加炎症反应及肠道渗透性，同时肠道菌群及其衍生代谢物的改变（如TMAO、LPS、5-HT和SCFAs等）可能进一步促发或减轻PH的肺血管重塑和右心室重构[9]。有研究表明，厄贝沙坦可能通过调节肠道菌群紊乱而改善HPH的肺血管重塑[10]。沙库巴曲缬沙坦（sacubitril/valsartan，LCZ696）由沙库巴曲（脑啡肽酶抑制剂）和缬沙坦（血管紧张素受体阻滞剂）组成，通过增强利钠肽系统（natriuretic peptide system，NPS）并拮抗肾素-血管紧张素-醛固酮系统（renin-angiotensin-aldosterone system，RAAS）[11]，从而减轻心脏肥大和心肌纤维化，临床用于射血分数降低的心力衰竭和高血压[12]。动物研究表明，LCZ696有血管舒张和抗肥厚作用，降低大鼠肺动脉压和右心室肥大[13]。目前，关于LCZ696在改善HPH右心室重构过程中对肠道菌群的调节作用，尚未见系统性研究报道。

因此，本研究基于宏基因组学技术探讨LCZ696对缺氧诱导的HPH右心室重构大鼠右心结构、功能和肠道菌群物种多样性、组成结构、基因功能及代谢通路的影响，同时，进一步分析肠道菌群衍生代谢物血清TMAO、LPS和5-HT水平变化。旨在从肠道菌群角度，为早期防治HPH右心室重构的发生提供理论依据，并探索潜在的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 24只SPF级雄性，体质量（body weight，BW）为（200±20）g，鼠龄为6~8周的SD大鼠，购自陕西新程隆远生物科技有限公司，动物合格质量编号：SCXK（陕）2023-002。饲养环境温度18~22 ℃，湿度40%~60%，通风，照明昼夜规律，喂养期间，提供标准实验室饲料与无菌水，定期更换垫料。本研究已获得青海大学附属医院伦理委员会的审批通过（编号：P-SL-2024-165）。

1.1.2 药品与试剂 LCZ696（北京诺华制药有限公司）（100 mg LCZ696溶于7 mL 0.9%氯化钠注射液）[60 mg/(kg·d)]；4%多聚甲醛、3%戊二醛、苏木素-伊红（Hematoxylin and Eosin，HE）染色试剂盒、马松（Masson）三色染色试剂盒（成

都睿琪生物科技有限公司）；大鼠NT-proBNP、TMAO、LPS和5-HT等ELISA检测试剂盒（青海莱茵尔生物科技有限责任公司）。

1.1.3 主要仪器 低压氧舱（贵州风雷氧舱有限公司，型号DYC-300）；小动物超声仪（加拿大VisualSonics公司，型号Vevo 3100LT）；信息数字化信号收集及处理体系（成都泰盟软件有限公司，型号BL-420N）；冷冻离心机（德国Eppendorf公司，型号5810 R）；透射电子显微镜（日本电子JEOL，型号JEM-1400FLASH）；微生物培养箱（德国Thermo Electron LED公司，型号Heratherm IGS60）；多功能酶标仪（瑞士TECAN公司，型号In-finite M200 Pro）。

1.2 方法

1.2.1 动物分组、造模、给药及样本采集 24只雄性SD大鼠适应性饲养5 d，随机分3组：对照组（Control组）、低氧组（Hypoxia组）、沙库巴曲缬沙坦组（H-LCZ696组），每组8只。Control组在青海大学高原医学研究中心动物房（海拔2 260 m）饲养，Hypoxia组和H-LCZ696组置于低压氧舱（模拟海拔6 000 m，O_2浓度为10%）饲养，从第1天起，H-LCZ696组大鼠给予LCZ696[60 mg/(kg·d)]灌胃，其余2组给予等量生理盐水灌胃，维持4周。实验结束后，每组随机取6只大鼠采集粪便（1~2 g/管），液氮速冻后-80 ℃保存，供宏基因组测序。

1.2.2 大鼠血流动力学检测 给药4周末，每组随机抽取6只大鼠根据大鼠BW腹腔注射20%乌来糖1 g/kg麻醉，固定大鼠四肢和头部，剪开大鼠颈部右侧皮肤，血管周围的组织和筋膜逐一分离，完全显露右颈静脉。将充有肝素的聚乙烯颈动脉导管经右颈外静脉插管抵达肺动脉，导管的另一端连接到信息化信号采集与处理系统以记录平均肺动脉压（mean pressure of pulmonary artery，mPAP）。连续测量6个心动周期，计算均值。

1.2.3 大鼠心脏彩超检测 给药4周末，每组随机抽取6只大鼠用小动物呼吸麻醉机进行麻醉，脱毛膏褪去大鼠胸部毛发，仰卧固定于恒温加热板上，持续吸入麻药，经胸超声心动图系统测量右心室游离壁厚度（right ventricular free wall thickness，RVFW）、右心室舒张末期内径（right ventricular end-diastolic diameter，RVEDD）、三尖瓣环收缩期位移（tricuspid annulus planesystolic excursion，TAPSE）、右室流出道内径（right ventricular outflow tract diameter，RVOT）和肺动脉加速时间/肺动脉射血时间（pulmonary acceleration time/pulmonary ejection time，PAT/PET）等，采用Vevo分析软件（版本号为5.6.0）来计算，持续测量6个心动周期，计算均值。

1.2.4 样本采集和右心肥厚相关指数测定 大鼠腹主动脉采血，腹部皮肤消毒，切开皮肤分离组织，使腹主动脉充分暴露，取血保存至促凝管内。分离血清：3 000 r/min离心15 min，取上清至1.5 mL EP管，保存-80 ℃冰箱备用。取血后取心脏，将右心室（right ventricle，RV）、左心室（left ventricle，LV）及室间隔（interventricular septum，IVS）分离并称重记录。右心肥厚指数（right ventricular hypertrophy index，RVHI）和右心质量指数（right ventricular mass index，RVMI）的计算公式为：RVHI=[RV/(LV+IVS)]×100%，RVMI=(RV/BW)×100%。

1.2.5 HE和Masson染色观察肺小动脉和右心组织病理变化 取大鼠右肺上叶和右心组织，经4%多聚甲醛固定24 h后脱水、包埋、切片，按HE和Masson染色流程对切片染色。染色后通过光学显微镜观察并分析肺小动脉和右心组织的病理形态学特征。

1.2.6 透射电镜检测大鼠右心室心肌超微结构 将新鲜右心室组织剪成约1 mm×1 mm×1 mm小块，立即放入3%戊二醛固定液，4 ℃环境固定24 h，用0.1 mol/mL PBS（pH值7.4）漂洗3次，再用1%四氧化锇固定，然后依次进行脱水、渗透、包埋、切片、染色后，透射电镜下观察右心室心肌超微结构的改变，采集图像并分析。

1.2.7 宏基因组学技术分析大鼠肠道菌群特征及其功能 用E.Z.N.A™ Mag-Bind Soil DNA Kit提取大鼠粪便样本总DNA，合格DNA样品用Hieff NGS® MaxUp Ⅱ试剂盒建库，经Covaris 220打断至500 bp片段后，通过磁珠纯化、末端修复、连接接头及PCR扩增优化文库，最终经Qubit®4.0质检合格后，在DNBSEQ-T7测序仪上机测序。用Fastp（V 0.36）过滤原始数据，去除接头序列和低质量碱基，进行宏基因组组装、分箱，进行基因预测及非冗余基因集的构建，再用DIAMOND（V 0.8.20）比对NR、KEGG等数据库，获取基因的物种和功能注释信息。分析物种/功能丰度及差异特征。针对组间微生物多样性，采用（Kruskal.Wallis）方法计算α多样性，基于Bray-Curtis距离主坐标分析（PCoA）方法，计算β多样性。使用R语言的vegan包（V 2.5~6.0）进行可视化，使用Metastats分析3组之间具有明显差异的微生物或功能。

1.2.8 ELISA检测血清NT-proBNP、TMAO、LPS、5-HT的含量 严格遵循大鼠NT-proBNP、TMAO、LPS、5-HT等ELISA试剂盒检测步骤，在450 nm波长条件下用酶标仪读取各孔吸光度，以标准品浓度及吸光度为轴绘制曲线，计算样品指标含量。

1.3 统计学方法

采用SPSS 20.0进行统计学分析，先行正态性（Shapiro-Wilk）与方差齐性（Levene）检验；计量资料以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，多组比较采用单因素方差分析，事后检验按方差齐性选择LSD法或Games-Howell法，检验水准α=0.05。

2 结 果

2.1 LCZ696对HPH右心室重构大鼠的影响

2.1.1 各组大鼠肺动脉压、右心室重构指标比较 结果显示，3组大鼠mPAP（F=101.797，P<0.001）、RVHI（F=24.928，P<0.001）和RVMI（F=29.061，P<0.001）差异有统计学意义。与Control组相比，Hypoxia组mPAP、RVHI、RVMI升高；与Hypoxia组相比，H-LCZ696组mPAP、RVHI、RVMI降低（表1）。提示HPH右心室重构大鼠模型建立成功，经LCZ696治疗后mPAP和右心室重构指标降低。

表1　各组大鼠肺动脉压、右心室重构指标比较（$\bar{x}\pm s$，n=8）

组别	mPAP（mmHg）	RVHI（g/g，%）	RVMI（mg/g，%）
Control组	17.146 ± 1.279	23.239 ± 2.191	62.075 ± 7.435
Hypoxia组	31.686 ± 2.152[a]	33.251 ± 3.255[a]	117.614 ± 19.799[b]
H-LCZ696组	22.778 ± 1.800[c]	29.545 ± 1.762[d]	86.948 ± 5.735[d]
F值	101.797	24.928	29.061
P值	<0.001	<0.001	<0.001

注：a，与Control组比较，P<0.001；b，与Control组比较，P<0.01；c，与Hypoxia组比较，P<0.001；d，与Hypoxia组比较，P<0.05

2.1.2　各组大鼠右心功能指标比较　心脏彩超结果显示，3组大鼠的RVFW（F=30.498，P<0.001）、TAPSE（F=59.566，P<0.001）、RVOT（F=14.050，P<0.001）和PAT/PET（F=16.200，P<0.001）差异有统计学意义，RVEDD（F=3.092，P=0.077）差异无统计学意义。与Control组相比，Hypoxia组TAPSE、PAT/PET降低，RVFW、RVEDD和RVOT升高；与Hypoxia组相比，H-LCZ696组TAPSE、PAT/PET升高，RVFW、RVOT降低，RVEDD有所降低，但差异无统计学意义（表2，图1），提示Hypoxia组大鼠右心功能降低，LCZ696治疗后改善了大鼠右心功能。

2.1.3　各组大鼠肺小动脉HE染色结果　肺小动脉HE染色结果显示，与Control组相比，Hypoxia组肺小动脉管壁增厚，中层平滑肌细胞增生，管腔狭窄；LCZ696干预后肺小动脉管壁厚度和管腔狭窄程度减轻（图2）。

2.1.4　各组大鼠右心室组织形态学比较　右心室组织HE和Masson染色显示，与Control组相比，Hypoxia组心肌纤维排列松散，间隙变宽，心肌细胞肥大，少量胶原纤维沉积；LCZ696干预后，心肌纤维间隙减小，排列整齐，心肌细胞肥大减轻，胶原纤维沉积变化不明显。透射电镜结果显示，与

表2　各组大鼠心脏彩超右心功能指标比较（$\bar{x}\pm s$，n=8）

组别	RVFW（mm）	RVEDD（mm）	TAPSE（mm）	RVOT（mm）	PAT/PET（ms/ms）
Control组	0.767 ± 0.083	2.296 ± 0.184	2.214 ± 0.063	2.621 ± 0.081	0.325 ± 0.022
Hypoxia组	1.267 ± 0.141[a]	2.648 ± 0.334[b]	1.540 ± 0.048[a]	2.923 ± 0.131[a]	0.242 ± 0.031[a]
H-LCZ696组	1.006 ± 0.078[c]	2.571 ± 0.165	1.872 ± 0.154[c]	2.752 ± 0.051[c]	0.273 ± 0.017[d]
F值	30.498	3.092	59.566	14.050	16.200
P值	<0.001	0.077	<0.001	<0.001	<0.001

注：a，与Control组比较，P<0.001；b，与Control组比较，P<0.05；c，与Hypoxia组比较，P<0.01；d，与Hypoxia组比较，P<0.05

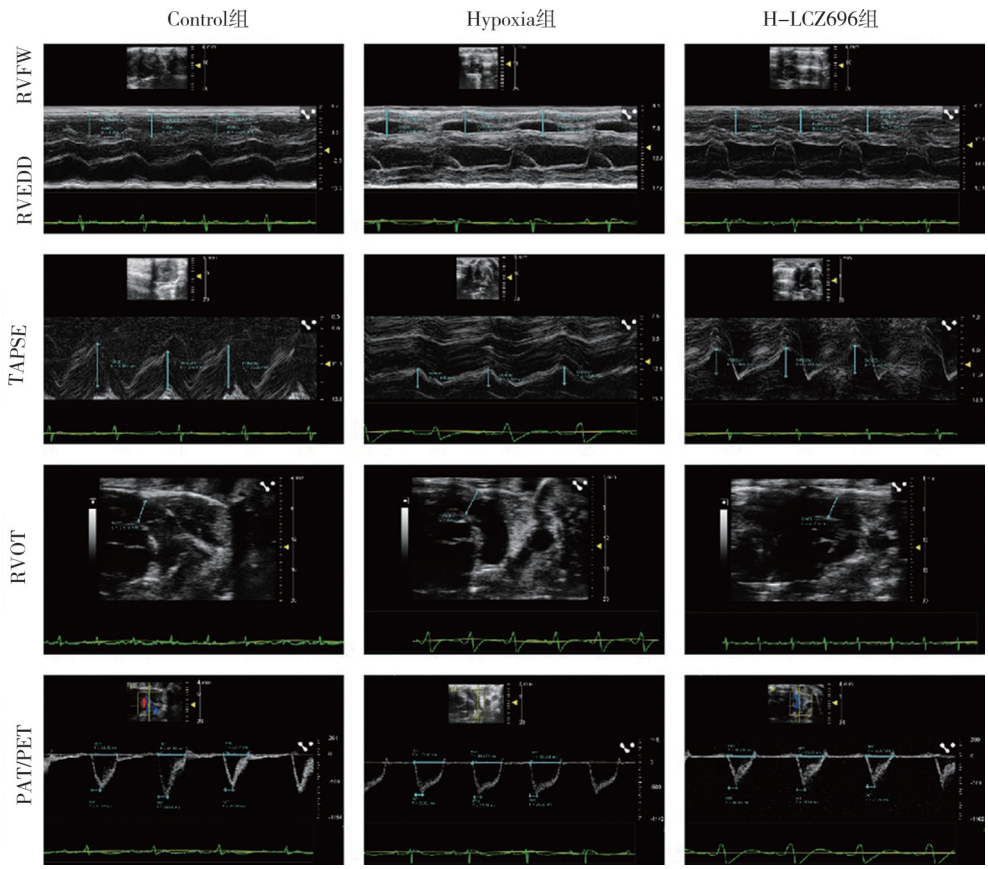


图1　各组大鼠心脏彩超

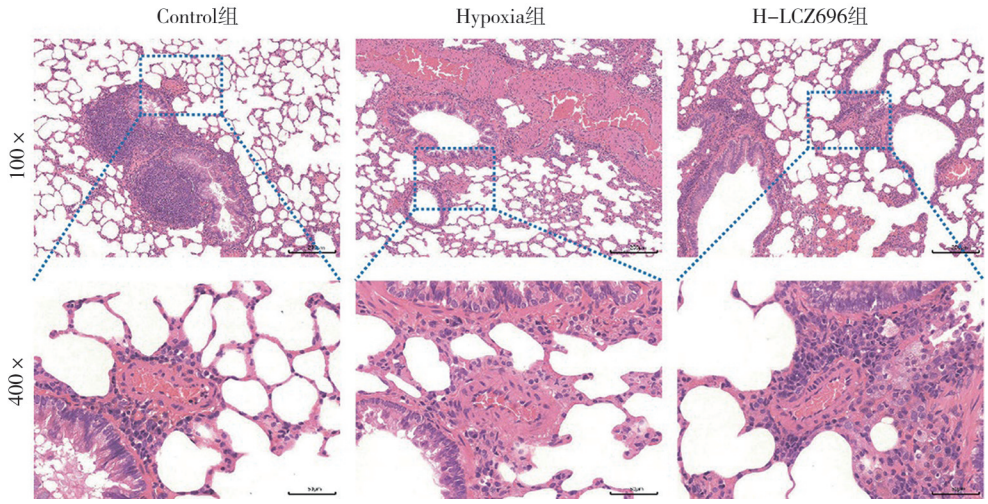
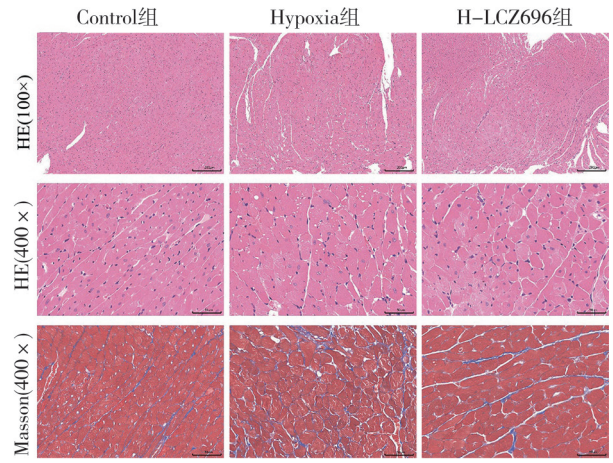
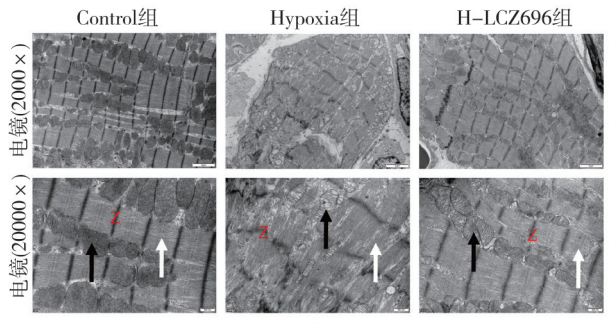


图2　各组大鼠肺小动脉HE染色图

Control组相比，Hypoxia组大鼠肌原纤维排列杂乱无章，Z线模糊、扭曲，线粒体肿胀呈圆形状；LCZ696干预后肌原纤维排列松散，Z线结构可辨，部分区域线粒体轻度水肿（图3）。



A. 右心室组织病理形态图（HE和Masson染色）



B. 右心室组织透射电镜图

注：黑色箭头所示线粒体；白色箭头所示肌原纤维；红色Z为肌原纤维中的Z线

图3　各组大鼠右心室组织形态学图

2.2　LCZ696对HPH右心室重构大鼠肠道菌群宏基因组学结果的影响

2.2.1　肠道菌群多样性分析　利用NR数据库进行肠道菌群物种多样性分析，α多样性体现肠道菌群的丰富程度与多样性。结果显示，与Control组相比，Hypoxia组的Shannon指数降低（t=3.934，P=0.004），LCZ696干预后Shannon指数进一步降低（t=3.363，P=0.010）。3组Coverage指数均高于0.997，表明粪便样本的测序覆盖率均大于99.7%。β多样性是衡量样本间物种群落的差异程度与距离的多样性指数。基于Bray Curtis距离矩阵进行主坐标分析（PCOA）来研究微生物群落间构成的差异，结果显示，3组样本在肠道菌群构成上差异有统计学意义（R^2=0.460，P=0.001），组内距离较为接近，组间距离较大（图4A~C）。

2.2.2　肠道菌群物种组成分析　为探索肠道菌群物种组成结构变化，对3组大鼠粪便样本进行门、属、种层级的相对丰度分析。结果显示，3组在门、属、种水平的优势物种相同，但相对丰度存在明显差异（图5）。门水平上，厚壁菌门和拟杆菌门为主要优势菌群，占比高达90%以上，其次为未分类菌门、变形菌门、疣微菌门、放线菌门。相较于Control组，Hypoxia组拟杆菌门、疣微菌门、变形菌门及放线菌门的相对丰度升高，厚壁菌门丰度降低，导致厚壁菌门/拟杆菌门（firmicutes/bacteroidetes，F/B）比值降低。LCZ696干预后，变形菌门与拟杆菌门丰度进一步升高，但厚壁菌门、疣微菌门及放线菌门丰度降低，F/B比值呈更明显下降趋势。属水平上，与Control组相比，Hypoxia组普雷沃氏菌属相对丰度比例升高，乳杆菌属相对丰度比例降低。LCZ696干预后普雷沃氏菌属、拟杆菌属相对丰度比例升高，而乳杆菌属、瘤胃球菌属相对丰度比例降低。种水平上，与Control组相比，Hypoxia组鼠杆菌科菌、颤螺菌科菌、梭菌目细菌、普氏菌、梭状芽孢杆菌相对丰度比例升高；毛螺菌科菌、鼠乳杆菌、拟杆菌相对丰度比例降低。LCZ696干预后鼠杆菌科菌、拟杆菌相对丰度比例升高；毛螺菌科菌、梭菌目细菌、普氏菌、梭状芽孢杆菌相对丰度比例降低。

2.2.3　肠道菌群功能注释分析　基于KEGG数据库的菌群差异功能注释进行预测分析，绘制基因数目Venn图（图6A），3组共有2 465个基因，Control组、Hypoxia组和H-LCZ696组特有基因分别为12个、26个、30个。KEGG通路注释热图（Level 1）显示（图6B），3组最主要的基因类别与代

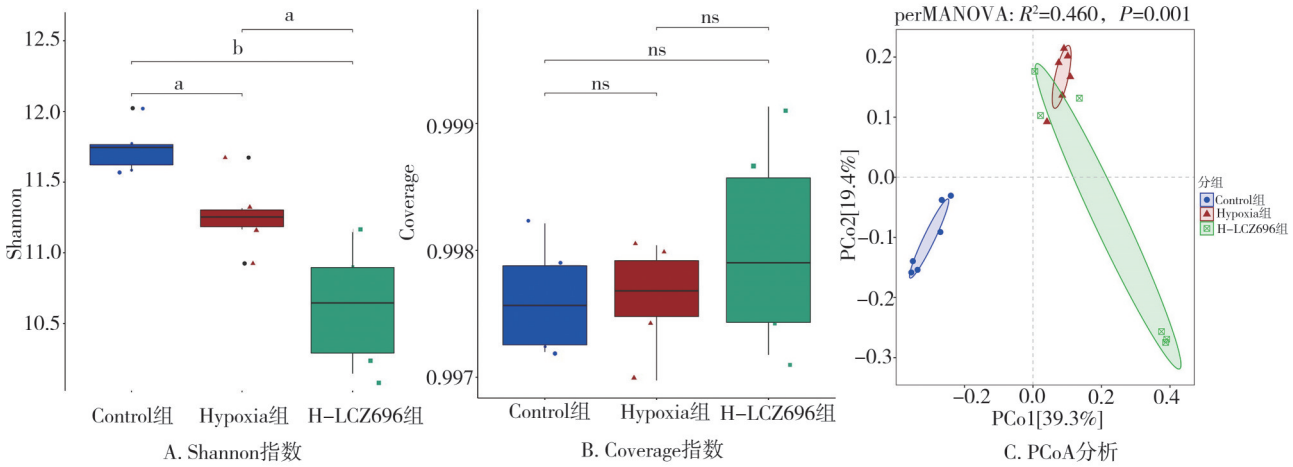


图4　肠道菌群多样性分析

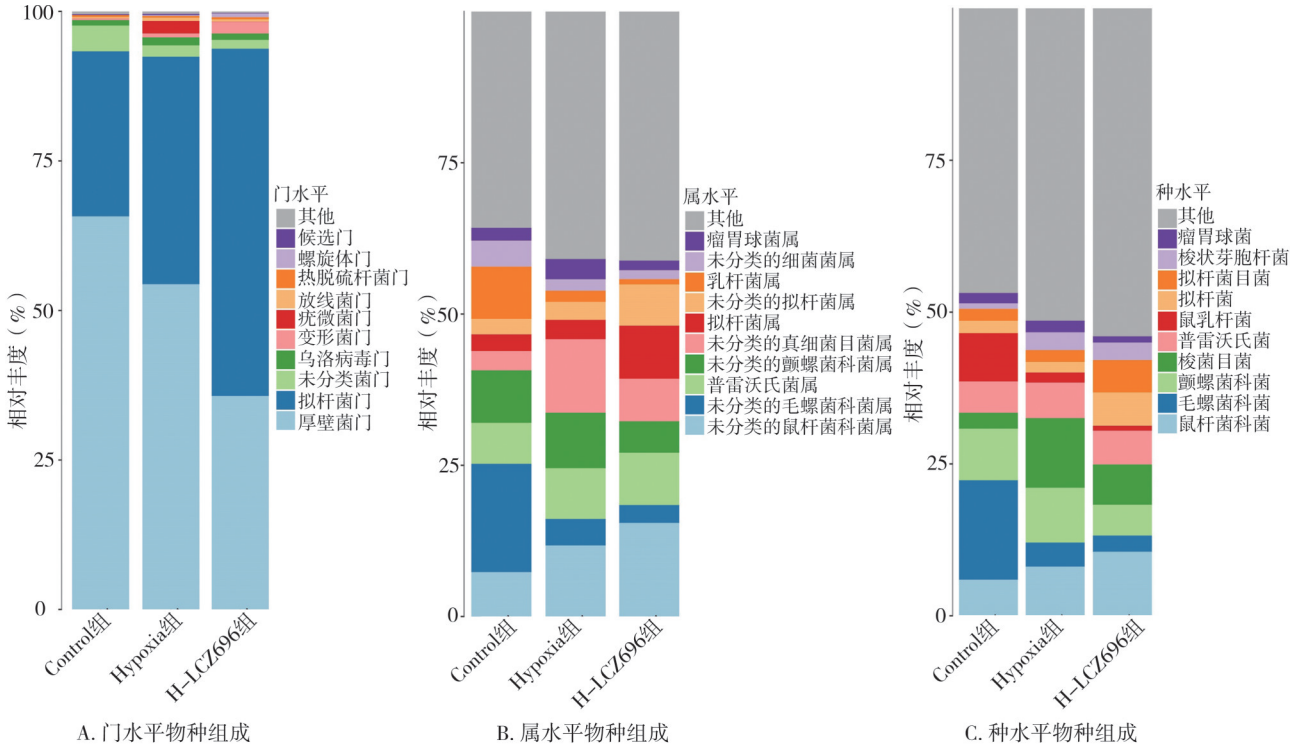


图5　不同层级物种组成相对丰度分布堆叠柱状图

谢相关，其次是基因信息处理、环境信息处理、人类疾病、细胞过程和有机系统等相关的基因。

基于随机森林模型分析KEGG Level 2代谢通路，依据平均基尼减少值（mean decrease gini，MDG）筛选对组间差异贡献最大的前20个关键通路（图6C），分析发现3组中丰度最高的是碳水化合物代谢途径。与Control组相比，Hypoxia组碳水化合物代谢通路丰度升高（P=0.037），氨基酸代谢、翻译和核苷酸代谢通路丰度降低（P=0.037；P=0.004；P=0.010）；LCZ696干预后碳水化合物代谢通路丰度升高（P=0.010），核苷酸代谢通路丰度降低（P=0.007）。

KEGG箱型图（Level 3）（图6D）3组样本中丰度前10的代谢通路为：ko01100（代谢通路）、ko01110（次级代谢产物的生物合成）、ko01120（不同环境中的微生物代谢）、ko01230（氨基酸的生物合成）、ko03010（核糖体）、ko01200（碳代谢）、ko01240（辅因子的生物合成）、ko00010（糖酵解/糖异生）、ko00970（氨酰-tRNA生物合成）和ko00230（嘌呤代谢）。进一步组间差异分析（Metastats），与Control组比较，Hypoxia组ko01100（代谢通路）和ko00061（脂肪酸生物合成）通路丰度升高（t=1.972，P=0.049；t=3.670，P<0.001），ko00250（丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢）通路丰度降低（t=2.006，P=0.045）；LCZ696干预后ko01100（代谢通路）丰度升高（t=1.993，P=0.046），ko00970（氨基酸酰基-tRNA生物合成）和ko00230（嘌呤代谢）通路丰度降低（t=1.978，P=0.048；t=2.340，P=0.019）。

2.3 LCZ696 对 HPH 右心室重构大鼠血清 NT-proBNP、TMAO、LPS、5-HT 含量测定的影响

3 组大鼠血清 NT-proBNP（F=19.353，P<0.001）、TMAO（F=17.003，P<0.001）、LPS（F=6.657，P=0.009）、5-HT（F=9.081，P=0.003）含量差异均有统计学意义。与 Control 组比较，Hypoxia 组血清 NT-proBNP、TMAO、LPS、5-HT 含量升高，LCZ696 干预后血清 NT-proBNP、TMAO、LPS、5-HT 含量降低（表 3）。

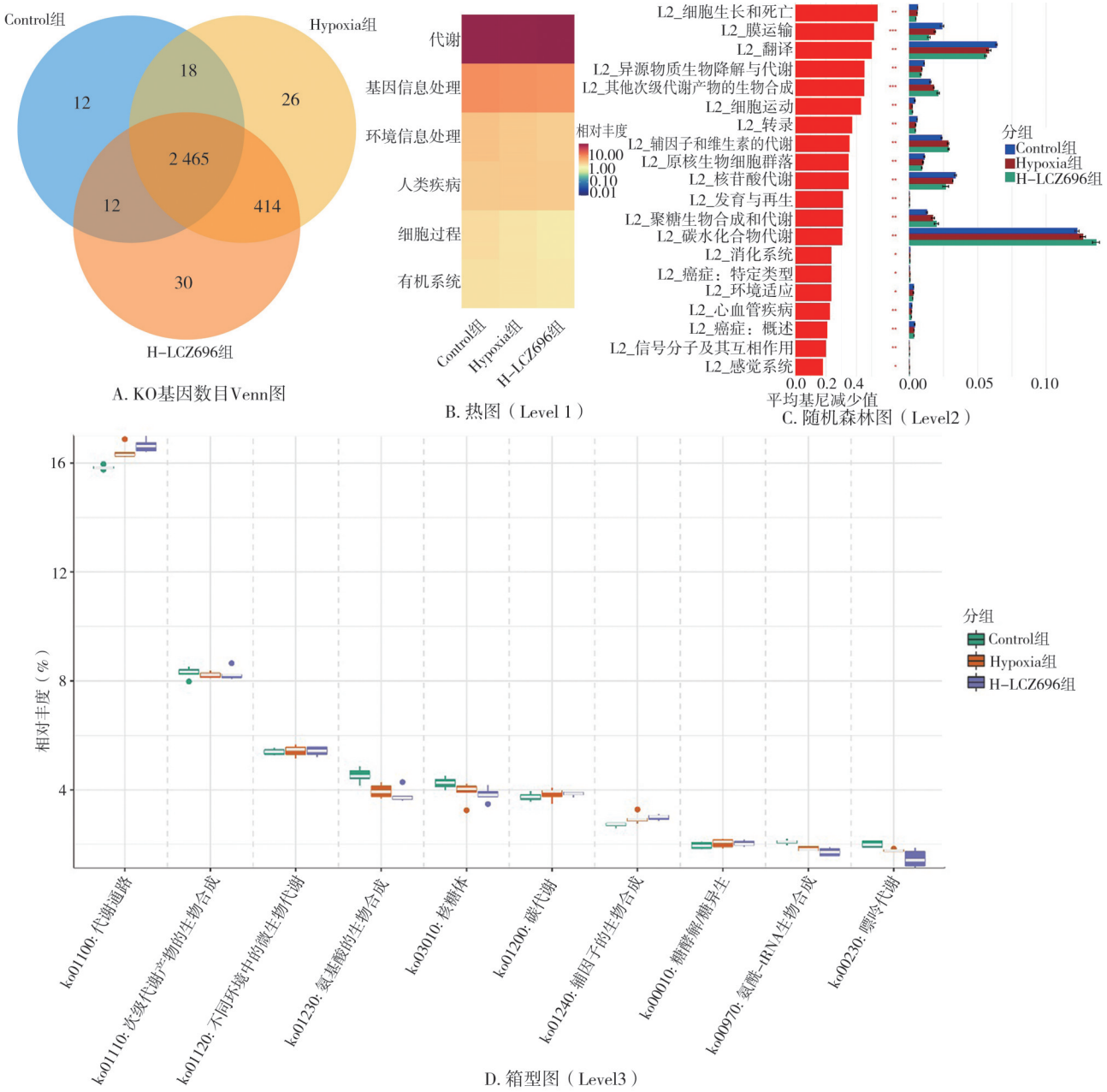


图 6 肠道菌群 KEGG 功能注释图

表 3 各组大鼠血清 NT-proBNP、TMAO、LPS、5-HT 含量比较（$\bar{x}\pm s$，n=8）

组别	NT-proBNP（pg/mL）	TMAO（ng/mL）	LPS（EU/mL）	5-HT（ng/mL）
Control 组	405.059 ± 55.712	116.880 ± 8.165	1.312 ± 0.095	133.001 ± 9.407
Hypoxia 组	632.419 ± 93.678[a]	141.193 ± 5.862[b]	1.498 ± 0.070[a]	148.893 ± 4.175[a]
H-LCZ696 组	439.440 ± 52.950[c]	124.982 ± 7.823[d]	1.415 ± 0.098	138.883 ± 4.695[c]
F 值	19.353	17.003	6.657	9.081
P 值	<0.001	<0.001	0.009	<0.010

注：a，与 Control 组比较，P<0.01；b，与 Control 组比较，P<0.001；c，与 Hypoxia 组比较，P<0.05；d，与 Hypoxia 组比较，P<0.01

3 讨 论

HPH是高原地区的常见疾病，目前各类型PH发病机制尚不明确，其中HPH发病机制可能通过持续低氧刺激、免疫炎症、氧化应激、基因调控以及环境因素的综合作用[14]。研究表明，肠道菌群失调与多种心血管疾病（高血压、动脉粥样硬化、心律失常和心力衰竭等）密切相关[15-16]。Wu PY等[8]指出，肠道菌群失调参与PH炎症过程。

本研究通过低压氧舱成功建立HPH右心室重构大鼠模型。Hypoxia组表现为mPAP升高、肺小动脉壁增厚伴管腔狭窄，右心室肥厚指标（RVHI、RVMI）增加，心脏彩超显示TAPSE、PAT/PET降低，RVFW、RVEDD和RVOT增加，证实右心室代偿性肥厚伴功能障碍，LCZ696干预后改善了mPAP和右心功能。本研究中，LCZ696干预后RVEDD有所降低，差异无统计学意义，考虑可能由于心肌重构逆转优先于形态学改变，且受治疗时间不足、测量变异性大及药物对后负荷/前负荷作用差异等多因素影响。PAT/PET比值越低，肺动脉压越高，这与临床PH患者右心衰竭的进展机制一致[17]。结构紊乱、胶原沉积、炎症是心肌纤维化的早期标志，在Hypoxia组右心室病理染色中仅见少量胶原沉积，可能与取材局限或病程较短有关。电镜证实Hypoxia组大鼠右心室心肌肌原纤维紊乱、线粒体肿胀，表明心肌超微结构损伤，而LCZ696干预后改善。与暴露于低压低氧环境会导致心肌细胞损伤，线粒体功能障碍的研究一致[18]，可能通过活性氧（reactive oxygen species，ROS）累积和氧化应激加剧心肌损伤，进而促进右心室重构。

宏基因组学分析显示，与Control组相比，Hypoxia组肠道菌群丰富度和多样性明显降低，与先前研究结论一致[19]。与Hypoxia组相比，H-LCZ696组菌群多样性减少，菌群组成改变，可能与未靶向核心菌群或干预周期不足有关。门水平上，Hypoxia组拟杆菌门、疣微菌门丰度升高，厚壁菌门减少致F/B比降低；LCZ696干预后拟杆菌门丰度升高，厚壁菌门、放线菌门减少，部分逆转菌群失调。F/B比值失衡是肠道菌群失调的关键标志[20]。与Moutsoglou DM等[21]研究结果一致，PH患者变形菌门和拟杆菌丰度升高，厚壁菌门降低。但与既往关于高原哺乳动物厚壁菌门丰度升高及HPH大鼠模型中F/B比值升高的研究结论存在矛盾[10,22]。这种矛盾或许是由模拟高海拔低氧和自然长期适应模型的不同、门水平分析局限及宿主特异性造成。王菲等[23]研究发现，高尿酸血症大鼠肠道拟杆菌属丰度升高，其LPS通过激活级联反应诱发全身慢性炎症。疣微菌门代表菌种嗜粘液阿克曼菌通过降解黏蛋白维持肠道黏液稳态，并生成SCFAs强化屏障功能，其丰度与糖脂代谢、抗炎相关[24]。研究表明，该菌可通过抑制肠道TMAO生成、减少促炎性M1巨噬细胞聚集，并下调细胞间黏附分子-1（intercellular adhesion molecule-1，ICAM-1）、肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-alpha，TNF-α）等炎症因子，减轻血管炎症及巨噬细胞黏附[25]。低氧抑制肠道需氧菌并刺激黏液分泌，促进嗜粘液阿克曼菌增殖形成适应性反馈，但其过度增殖可能过度消耗黏液层、破坏屏障，导致LPS入血诱发系统性炎症[26]。变形菌门和放线菌门丰度升高，与Hong W等[27]PH模型大鼠结果一致。变形菌门增加可导致血液中LPS和TMAO水平升高[28]。

属、种水平上，Hypoxia组普雷沃氏菌属、梭状芽孢杆菌丰度升高，毛螺菌科、乳杆菌减少；LCZ696干预后拟杆菌丰度升高，梭菌目、普雷沃氏菌及梭状芽孢杆菌减少，提示药物或通过抑制致病菌调节菌群失衡。本实验结果与Nijiati Y等[10]模拟高原低氧构建HPH模型结果一致，均显示低氧改变大鼠肠道菌群分布，使普雷沃氏菌科丰度增加，乳杆菌科和毛螺菌科丰度降低。普雷沃氏菌属为拟杆菌门，普雷沃氏菌擅长降解多糖，并产生丙酸等SCFAs，参与宿主能量代谢和免疫调节[29]。过度增殖可能导致黏液层降解、肠道通透性增加，并与促炎反应（如TH17细胞活化）相关[30]。有研究表明，肠道普雷沃氏菌定植引发微生物群的代谢改变，使白细胞介素（interleukin，IL）-18产生减少，进而加剧肠道炎症[31]。TMA/TMAO产生相关菌群（普雷沃菌、梭状芽孢杆菌等）在PH微生物组中明显升高[32]。而乳酸杆菌通过抗炎和抗氧化作用减轻氧化损伤[33]。研究指出，毛螺菌科通过产SCFAs（如丁酸）抑制促炎因子（IL-12、TNF-α等）、促进抗炎因子IL-10分泌，并抑制缺氧诱导因子-1α（hypoxia-inducible factor-1 alpha，HIF-1α）表达以改善低氧适应及肠道屏障，丁酸盐治疗可减轻HPH模型肺血管及右心室重构[34]。梭状芽孢杆菌属部分梭菌毒素会致病，在肠道菌群紊乱、过敏等疾病中丰度增加[35]，但具体机制不清楚。

基于KEGG进行功能注释差异分析，与Control组相比，Hypoxia组在能量代谢、碳水化合物代谢和脂肪酸生物合成通路中富集；与Hypoxia组相比，H-LCZ696组仅部分逆转了代谢异常。已有研究表

明，糖酵解、碳代谢增加，有氧代谢及脂肪酸β氧化减少是PH能量代谢异常特征[36]。Zhang W等[37]研究指出，处于高海拔缺氧环境时，参与碳水化合物消化吸收和能量代谢的基因丰度增加。MCT/SuHx诱导的右心衰模型中右心室转录组和代谢组学也揭示脂肪酸合成上调，氧化磷酸化下调，糖酵解通路活性增强[38-39]。低氧时脂肪酸作为重要供能物质，其合成相关基因表达上调以满足需求。

本研究中Hypoxia组血清TMAO、LPS、5-HT含量升高，LCZ696干预后降低了以上指标。TMAO是一种促炎代谢物，临床证实TMAO浓度升高与多种心血管疾病（如高血压、冠心病、心律失常、心力衰竭等）风险正相关[40]。TMA由肠道微生物利用胆碱等合成，在肝脏转化为TMAO，激活炎症小体，引发血管炎症和氧化应激，导致内皮功能障碍[8,41]。1项动物实验发现，补充胆碱能够产生更高水平的TMAO，能加剧心肌纤维化和心脏恶化[42]。低压低氧可破坏肠上皮紧密连接，增加通透性，使LPS入血引发全身炎症[43]。LPS的主要识别受体Toll样受体4（TLR4）在肺内皮细胞表达，与其结合后激活NF-κB等下游信号路径，释放IL-1β、IL-6、IL-8、IL-13以及TNF-α等多种细胞因子和趋化因子，参与PH的肺血管重构过程[44]。5-HT作为肠道细菌分解色氨酸的产物，多在消化道且被血小板吸收[8]。通过收缩肺小动脉、促肺动脉平滑肌增殖，介导肺动脉重构与右室肥厚，驱动PH进展[45]。1项调查显示，HPH患者血浆的5-HT含量要比一般人高出约30倍[46]。综上，高TMAO、LPS、5-HT水平可能会促进HPH发展并加重右心室重构，作为HPH潜在生物标志物，具有明显的临床价值。

综上，LCZ696通过改善血流动力学和抑制心肌重构明显缓解HPH右心室重构，但其对肠道菌群的调控呈现复杂性：Hypoxia组肠道菌群多样性明显降低，致病菌（如变形菌门、梭状芽孢杆菌）丰度升高，有益菌（如毛螺菌科属）减少，伴随血清促炎代谢物（TMAO、LPS、5-HT）水平上升。LCZ696干预后部分逆转上述变化：抑制梭菌目等致病菌增殖，但未能恢复菌群多样性，且部分有益菌（如乳杆菌属）丰度进一步降低，提示其对菌群的调控存在选择性且效果有限，LCZ696的治疗获益主要通过对心血管系统的直接作用实现，而肠道菌群调控可能作为协同调节途径。本研究的局限性在于样本量较小，且未结合代谢组学阐明菌群衍生代谢物的具体调控机制。未来需通过扩大队列、开展粪菌移植实验验证菌群-宿主互作的因果关系，并探索联合干预策略（如LCZ696+特定益生菌/膳食纤维）以协同改善心肺功能与菌群稳态。为开发基于肠道菌群调控的新型治疗策略提供理论依据。

参 考 文 献

[1] Cassady SJ, Ramani GV. Right heart failure in pulmonary hypertension[J]. Cardiol Clin, 2020, 38(2): 243-255.

[2] Olsson KM, Corte TJ, Kamp JC, et al. Pulmonary hypertension associated with lung disease: new insights into pathomechanisms, diagnosis, and management[J]. Lancet Respir Med, 2023, 11(9): 820-835.

[3] Mocumbi A, Humbert M, Saxena A, et al. Pulmonary hypertension [J]. Nat Rev Dis Primers, 2024, 10: 1.

[4] Southgate L, Machado RD, Gräf S, et al. Molecular genetic framework underlying pulmonary arterial hypertension[J]. Nat Rev Cardiol, 2020, 17(2): 85-95.

[5] Lewis RA, Durrington C, Condliffe R, et al. BNP/NT-proBNP in pulmonary arterial hypertension: time for point-of-care testing[J]. Eur Respir Rev, 2020, 29(156): 200009.

[6] Kuang MD, Chen YL, Xing Y, et al. Echocardiographic evaluation of right heart failure which might be associated with DNA damage response in SU5416-hypoxia induced pulmonary hypertension rat model [J]. Respir Res, 2023, 24(1): 202.

[7] Wilson Tang WH, Li DY, Hazen SL. Dietary metabolism, the gut microbiome, and heart failure[J]. Nat Rev Cardiol, 2019, 16(3): 137-154.

[8] Wu PY, Zhu TT, Tan Z, et al. Role of gut microbiota in pulmonary arterial hypertension[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 812303.

[9] Chen YH, Yuan W, Meng LK, et al. The role and mechanism of gut microbiota in pulmonary arterial hypertension[J]. Nutrients, 2022, 14 (20): 4278.

[10] Nijiati Y, Maimaitiyiming D, Yang T, et al. Research on the improvement of oxidative stress in rats with high-altitude pulmonary hypertension through the participation of irbesartan in regulating intestinal flora[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2021, 25(13): 4540-4553.

[11] Liu SY, Wang Y, Lu S, et al. Sacubitril/valsartan treatment relieved the progression of established pulmonary hypertension in rat model and its mechanism[J]. Life Sci, 2021, 266: 118877.

[12] Wang J, Ma YR, Chang YE, et al. Preventive effect of LCZ696 on hypoxic pulmonary hypertension in rats *via* regulating the PI3K/AKT signaling pathway[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2023, 82: 102229.

[13] Shen MJ, Zheng CK, Chen L, et al. LCZ696 (sacubitril/valsartan) inhibits pulmonary hypertension induced right ventricular remodeling by targeting pyruvate dehydrogenase kinase 4[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 162: 114569.

[14] 叶祥琳，古丽胡玛，岳 娇，等. 高原肺动脉高压的发病机制与药物治疗研究进展[J]. 暨南大学学报（自然科学与医学版），2022，43 (5)：467-479.
Ye XL, Guli HM, Yue J, et al. Research progress on the pathogenesis and pharmacological treatment of high altitude pulmonary hypertension [J]. J Jinan Univ (Nat Sci Med Sci), 2022, 43(5): 467-479.

[15] Yang ZH, Wang QC, Liu YX, et al. Gut microbiota and hypertension: association, mechanisms and treatment[J]. Clin Exp Hypertens, 2023, 45(1): 2195135.

[16] Zhang YX, Wang Y, Ke BB, et al. TMAO: how gut microbiota contributes to heart failure[J]. Transl Res, 2021, 228: 109-125.

[17] Huang HQ, Hu CW, Zhang R, et al. Global burden of pulmonary arterial hypertension and associated heart failure: global burden of disease 2021 analysis[J]. JACC Heart Fail, 2025: 102385.

[18] Xu HB, Song XN, Zhang XR, et al. SIRT1 regulates mitochondrial fission to alleviate high altitude hypoxia inducedcardiac dysfunction in rats *via* the PGC-1α-DRP1/FIS1/MFF pathway[J]. Apoptosis, 2024, 29(9/10): 1663-1678.

[19] 谭小翠，李 硕，高安然，等. 心阳片改善低压低氧致右心衰竭模型大鼠右心结构和功能及其可能的作用机制[J]. 中国药理学与毒理学杂志，2023，37(5)：321-330.
Tan XC, Li S, Gao AR, et al. Effects of Xinyang tablets on the structure and function of the right heart in rats with right heart failure induced by hypotension and hypoxia and its possible mechanisms[J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2023, 37(5): 321-330.

[20] Bai X, Liu GQ, Yang JX, et al. Changes in the gut microbiota of rats in high-altitude hypoxic environments[J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(6): e0162622.

[21] Moutsoglou DM, Tatah J, Prisco SZ, et al. Pulmonary arterial hypertension patients have a proinflammatory gut microbiome and altered circulating microbial metabolites[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2023, 207(6): 740-756.

[22] Liu K, Yang JS, Yuan HL. Recent progress in research on the gut microbiota and highland adaptation on the Qinghai-Tibet Plateau[J]. J Evol Biol, 2021, 34(10): 1514-1530.

[23] 王 菲，辛 凯，陈 丽，等. 基于TLR4/NF-κB信号通路探究涤浊汤对高尿酸血症大鼠肠道菌群紊乱的调节作用[J]. 中国微生态学杂志，2024，36(1)：10-17，28.
Wang F, Xin K, Chen L, et al. Regulatory effect of Dizhuo decoction on intestinal dysbiosis in hyperuricemic rats based on TLR4/NF-κB signaling pathway[J]. Chin J Microecol, 2024, 36(1): 10-17, 28.

[24] Passos FC, Oliveira LMG, Jesus FR, et al. Beneficial bacteria in the gut microbiota may lead to improved metabolic and immunological status in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Med Sci(Basel), 2024, 12(3): 41.

[25] Gofron K, Berezowski A, Gofron M, et al. *Akkermansia muciniphila* - impact on the cardiovascular risk, the intestine inflammation and obesity[J]. Acta Biochim Pol, 2024, 71: 13550.

[26] Jian HF, Liu YT, Wang XM, et al. *Akkermansia muciniphila* as a next-generation probiotic in modulating human metabolic homeostasis and disease progression: a role mediated by gut-liver-brain axes[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(4): 3900.

[27] Hong W, Mo QD, Wang LY, et al. Changes in the gut microbiome and metabolome in a rat model of pulmonary arterial hypertension[J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 5173-5183.

[28] Alhmoud T, Kumar A, Lo CC, et al. Investigating intestinal permeability and gut microbiota roles in acute coronary syndrome patients [J]. Hum Microb J, 2019, 13: 100059.

[29] Betancur-Murillo CL, Aguilar-Marín SB, Jovel J. *Prevotella*: *a* key player in ruminal metabolism[J]. Microorganisms, 2022, 11(1): 1.

[30] Larsen JM. The immune response to *Prevotella* bacteria in chronic inflammatory disease[J]. Immunology, 2017, 151(4): 363-374.

[31] Iljazovic A, Roy U, Gálvez EJC, et al. Perturbation of the gut microbiome by *Prevotella* spp. enhances host susceptibility to mucosal inflammation[J]. Mucosal Immunol, 2021, 14(1): 113-124.

[32] Kim S, Rigatto K, Gazzana MB, et al. Altered gut microbiome profile in patients with pulmonary arterial hypertension[J]. Hypertension, 2020, 75(4): 1063-1071.

[33] Wang N, Song GH, Yang Y, et al. Inactivated Lactobacillus promotes protection against myocardial ischemia-reperfusion injury through NF-κB pathway[J]. Biosci Rep, 2017, 37(6): BSR20171025.

[34] Karoor V, Strassheim D, Sullivan T, et al. The short-chain fatty acid butyrate attenuates pulmonary vascular remodeling and inflammation in hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(18): 9916.

[35] Zimmermann P, Messina N, Mohn WW, et al. Association between the intestinal microbiota and allergic sensitization, eczema, and asthma: a systematic review[J]. J Allergy Clin Immunol, 2019, 143(2): 467-485.

[36] Chen MH, Li H, Li Y, et al. Glycolysis modulation: New therapeutic strategies to improve pulmonary hypertension (Review)[J]. Int J Mol Med, 2024, 54(6): 115.

[37] Zhang W, Jiao LF, Liu RX, et al. The effect of exposure to high altitude and low oxygen on intestinal microbial communities in mice[J]. PLoS One, 2018, 13(9): e0203701.

[38] Banerjee S, Hong J, Umar S. Comparative analysis of right ventricular metabolic reprogramming in pre-clinical rat models of severe pulmonary hypertension-induced right ventricular failure[J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 935423.

[39] Park JF, Clark VR, Banerjee S, et al. Transcriptomic analysis of right ventricular remodeling in two rat models of pulmonary hypertension: identification and validation of epithelial-to-mesenchymal transition in human right ventricular failure[J]. Circ Heart Fail, 2021, 14(2): e007058.

[40] Zeisel SH, Warrier M. Trimethylamine N-oxide, the microbiome, and heart and kidney disease[J]. Annu Rev Nutr, 2017, 37: 157-181.

[41] Zhang Y, Jian WX. Signal pathways and intestinal flora through trimethylamine N-oxide in Alzheimer's disease[J]. Curr Protein Pept Sci, 2023, 24(9): 721-736.

[42] Organ CL, Otsuka H, Bhushan S, et al. Choline diet and its gut microbe-derived metabolite, trimethylamine N-oxide, exacerbate pressure overload-induced heart failure[J]. Circ Heart Fail, 2016, 9(1): e002314.

[43] Wang C, Li WB, Wang HY, et al. *Saccharomyces boulardii* alleviates ulcerative colitis carcinogenesis in mice by reducing TNF-α and IL-6 levels and functions and by rebalancing intestinal microbiota[J]. BMC Microbiol, 2019, 19(1): 246.

[44] Perros F, Lambrecht BN, Hammad H. TLR4 signalling in pulmonary stromal cells is critical for inflammation and immunity in the airways[J]. Respir Res, 2011, 12(1): 125.

[45] Crona D, Harral J, Adnot S, et al. Gene expression in lungs of mice lacking the 5-hydroxytryptamine transporter gene[J]. BMC Pulm Med, 2009, 9: 19.

[46] Marcos E, Fadel E, Sanchez O, et al. Serotonin-induced smooth muscle hyperplasia in various forms of human pulmonary hypertension [J]. Circ Res, 2004, 94(9): 1263-1270.

（收稿：2025-04-08；修回：2025-05-22；录用：2025-06-11）
（责任编辑：曾 玲）

本文引用格式：
刘红娟，杜 娟，林 玥，等. 沙库巴曲缬沙坦对低氧性肺动脉高压右心室重构大鼠肠道菌群调控作用的宏基因组学分析[J]. 重庆医科大学学报，2025，50(10)：1408-1417.