生物信息学分析 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.003382

# 16s rRNA测序联合代谢组学技术探究逍遥抑激汤治疗IBS-D的作用机制

陈 楚[1],王洋洋[2],马 芳[2],王孟飞[3]
（1.陕西省中医医院检验科,西安 710004;2.陕西中医药大学第一临床学院,咸阳 712046;
3.西安交通大学附属红会医院检验科,西安 710054）

**【摘 要】目的:**通过 16s rRNA 测序联合代谢组学探讨逍遥抑激汤治疗腹泻型肠易激综合征（diarrhea-predominant irritable bowel syndrome,IBS-D）的作用机制。**方法:**招募10例就诊于陕西省中医医院且符合纳入标准的IBS-D患者,收集患者逍遥抑激汤治疗前后的粪便样本,进行16s rRNA测序,多样性分析肠道菌群组成和群落结构的差异,筛选差异性菌群;通过粪便代谢组学分析筛选分析差异性表达代谢产物和通路。**结果:**IBS-D患者在逍遥抑激汤治疗后,门水平上肠道菌群中的厚壁菌门、变形菌门、放线菌门、拟杆菌门发生明显改变,厚壁菌门明显上调,属水平上巨单胞菌、志贺氏埃希氏菌、双歧杆菌、普拉梭菌是优势菌群,多样性分析表明治疗后肠道菌群物种丰富度减低,但均匀度和多样性均增加,群落结构和组成基本一致,Negativicutes、韦荣球菌属是组间具有统计学差异的特异性菌群。筛选出21种疾病相关的差异代谢产物,涉及16条代谢相关通路,苯丙氨酸代谢影响最显著。**结论:**逍遥抑激汤可能通过调控厚壁菌门、韦荣球菌等肠道菌群,调控苯丙氨酸代谢和组氨酸代谢等通路以达到治疗IBS-D的作用。

**【关键词】**逍遥抑激汤;腹泻型肠易激综合征;肠道菌群;16s rRNA;代谢组学
**【中图分类号】**R256.34;R574.4 **【文献标志码】**A **【收稿日期】**2023-10-02

# To explore the mechanism of Xiaoyao Yiji decoction in the treatment of IBS-D by the 16s rRNA sequencing combined with metabolomics

*Chen Chu[1], Wang Yangyang[2], Ma Fang[2], Wang Mengfei[3]*
*(1. Department of Clinical Laboratory, Shaanxi Hospital of Traditional Chinese Medicine;*
*2.The First Clinical Medical College of Shaanxi University of Chinese Medicine;*
*3. Department of Clinical Laboratory, Honghui Hospital, Xi'an Jiaotong University)*

**【Abstract】*Objective*:** To investigate the mechanism of action of Xiaoyao Yiji decoction in the treatment of Diarrhea-predominant irritable bowel syndrome(IBS-D) by 16s rRNA sequencing combined with metabolomics. ***Methods*:** A total of 10 IBS-D patients who met the inclusion criteria in the outpatient clinic of the Department of Shaanxi Hospital of Chinese Medicine were enrolled, feces samples were collected before and after treatment by Xiaoyao Yiji decoction, the differences of intestinal flora composition and community structure, and screened differential flora were analyzed by the 16S rRNA. The differential expressed metabolites and pathways were screened and analyzed by fecal metabolomics analysis. ***Results*:** Xiaoyao Yiji decoction can significantly regulate the abundance of intestinal firmicutes, proteobacteria, actinomycetes, Bacteroides, Megamonas, Escherichia shigella, Bifidobacterium, P. pristrilla, and other flora in IBS-D patients and identify 21 disease-related differential metabolites involving 16 metabolism-related pathways, among which the pathway affects phenylalanine metabolism the most and histidine metabolism followed. With the Xiaoyao Yiji decoction treatment, the gut microbiota in IBS-D patients had been changed as Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes in the phylum level and Firmicutes increased significantly. Monelensis, Escherichia-Shigella, Bifidobacterium, Faecalibacterium, Blautia were the dominant flora. The diversity analysis showed that the species richness of the intestinal flora group decreased after the treatment, but the evenness and diversity increased, and the community structure and composition were basically consistentdiversity. Negativicutes, Veillonellales_Selenomonadales is specific flora with statistical differences between groups. Twenty-one disease-related differential metabolites were selected, involving in 16 metabolism-related pathways, with the most prominent effects on phenylalanine metabolism. ***Conclusion*:** Xiaoyao Yiji decoction may achieve the therapeutic effect of IBS-D by regulating the intestinal flora of Fir-

**作者介绍:**陈 楚,Email:chuchen09cqmu@163.com,研究方向:分子诊断。
**通信作者:**王孟飞,Email:261340994@qq.com。
**优先出版:**https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20231227.1611.006（2023-12-29）

micutes and Veillonellales, regulating phenylalanine metabolism and histidine metabolism pathways.

【Key words】Xiaoyao Yiji decoction; Diarrhea-predominant irritable bowel syndrome; Intestinal flora; 16s rRNA; metabolomics

肠易激综合征（irritable bowel syndrome，IBS）作为一种功能性肠病，常表现为反复发作的腹痛，与排便相关或伴随排便习惯改变[1]，腹泻型肠易激综合征（diarrhea-predominant irritable bowel syndrome，IBS-D）是罗马Ⅳ标准中最常见亚型[2]。IBS发病机制尚不明确，但肠道菌群在其发生发展中起重要作用，IBS-D患者肠道菌紊乱以乳酸杆菌、双歧杆菌等有益菌的减少为主，条件致病菌如大肠杆菌，有害菌如梭菌，以及拟杆菌门的相对丰度显著增加，厚壁菌门相对减少，具体机制主要是通过破坏肠黏膜屏障、激活黏膜免疫炎症反应、改变胃肠道动力、影响脑-肠轴、增加内脏敏感、影响胆汁酸代谢等[3]。

黄柳向等[4]探讨痛泻安脾汤对IBS-D（肝郁脾虚证）大鼠肠道菌群的影响，发现经治疗的大鼠粪便中变形菌门、类杆菌门数量降低，厚壁菌门、放线菌门、双歧杆菌属数量增加。连秋华等[5]用健脾合剂治疗IBS-D（脾虚型）小鼠，能使小鼠肠道菌群多样性增加。上述研究表明，中医内治法可以促进IBS-D患者肠道内有益菌生长，恢复肠道菌群稳态，改善肠道功能，但具体的作用机制还有待进一步研究。

课题组研制的逍遥抑激汤由痛泻要方和逍遥散加味而成，前期临床研究发现逍遥抑激汤治疗IBS-D的总有效率为87.36%，明显优于马来酸曲美布汀片，具有临床疗效好、不良反应少等优势[6]，但具体作用机制尚未完全阐明。本研究拟应用16s rRNA测序技术联合粪便代谢组学，从肠道菌群与代谢产物的层面探究逍遥抑激汤治疗IBS-D的作用机制。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

本研究经陕西省中医医院伦理委员会审查批准，招募的10例患者均来自2021年6月至2022年6月就诊于陕西省中医医院脾胃科的IBS-D患者。所有患者均已签署知情同意书。IBS-D患者符合罗马Ⅳ-IBS诊断标准[7]，腹泻型（IBS-D）为：≥25%的排便为松散（糊状）粪或水样便，硬粪或球粪<25%的排便。

### 1.2 纳入与排除标准

纳入标准：年龄18~85岁，符合中度至重度IBS-D症状，IBS严重程度评分系统（IBS-SSS）评分≥175，患者接受胃肠镜检查并排除其他胃肠道器质性疾病。排除标准：①存在全身性疾病、免疫缺陷或使用免疫调节药物治疗；②怀孕、计划怀孕或哺乳期；③接受过腹部手术，如阑尾切除术、胆囊切除术、剖腹产子宫切除术；④严重的精神障碍，或酗酒或滥用药物；⑤研究开始前8周内使用益生菌或抗生素治疗；⑥在过去3个月内使用过治疗IBS-D的药物；⑦因故未完成本方案所规定的疗程及观察周期。

### 1.3 样本的收集与制备

采集患者治疗前后的粪便各2~3 g，2 h内送至实验室，于-80 ℃低温冰箱保存；取1~2 g粪便样本冻干，加入100 μL的80%甲醇水溶液匀浆，4 ℃，13 000 r/min，离心15 min，取上清稀释至甲醇含量为53%；重复离心1次，上清液-80 ℃保存。

### 1.4 药品、来源及服用方法

逍遥抑激汤（白芍15 g，椿皮12 g，白术15 g，泽兰12 g，茯苓15 g，诃子12 g，柴胡12 g，山药20 g，防风12 g，芡实20 g，白芥子12 g，薏苡仁20 g，陈皮12 g，甘草6 g）。所有招募患者予以口服逍遥抑激汤，1天1剂，每次200 mL，水煎早晚分服，疗程4周。

### 1.5 16s rRNA测序及分析

实验包括粪便DNA提取和聚合酶链反应扩增、Illumina高通量测序仪测序等，以97%的一致性进行操作性分类单元（operational taxonomic units，OTUs）聚类，对OTUs的序列进行物种注释，得到对应的物种信息和基于物种的丰度分布情况。①α多样性分析：评价指数包括Chao1指数用于评估菌群丰度、Shannon指数和Simpson指数用于评估菌群的均匀度和丰度。②β多样性分析：β多样性用于不同生态系统之间多样性的比较，通过对样本距离矩阵进行聚类分析，构建样本层级可视化差异。选用LEfSe分析对分组样本的物种组成和群落结构进行差异显著性检验，在门和属水平上进一步分析两组的微生物群落组成，确定丰度差异显著的物种。

### 1.6 非靶向代谢组学分析

实验基于液质联用液相色谱-质谱联用仪（liquid chromatograph mass spectrometer，LC-MS）技术进行非靶向代谢组学研究，实验流程主要包括：样本的代谢物提取、LC-MS/MS检测以及数据分析等（图1）。质谱仪：Q Exactive™ HF Thermo Fisher Germany；色谱仪：Vanquish UHPLC Thermo Fisher Germany；色谱柱：Hypesil Gold column（100 mm×2.1 mm，1.9 μm）Thermo Fisher USA。代谢物进行多元统计分析，包括主成分分析（PCA）、偏最小二乘法判别分析（PLS-DA）等，揭示不同组别的代谢模式差异。利用层次聚类（HCA）和代谢物相关性分析，揭示样本之间及代谢物和代谢物之间的关系，通过代谢通路等功能分析解释代谢物相关的生物学意义。

## 2　结　果

### 2.1　16s RNA 测序及肠道微生物群特征分析

高通量测序对IBS-D治疗前、后组的肠道菌群组成结构分别从菌门和菌属水平进行分析。门水平上厚壁菌门、变形菌门、放线菌门、拟杆菌门发生明显改变，其中厚壁菌门是2组中最丰富的群落，占整个肠道菌的90%以上（图2A）；属水平上巨单胞菌、志贺氏埃希氏菌、双歧杆菌、普拉梭菌、经黏液真杆菌是2组中的优势菌属，约占整个肠道菌的40%以上（图2B）。Venn图直观展示样本中OTUs组成的相似性和特异性（图2C），IBS-D患者经逍遥抑激汤治疗前后的核心OTUs分别由1 310个和1 185个OTUs组成，其中674个OTUs为两组共有。

2.1.1　α多样性分析　与治疗前组比较，治疗后组的Chao1指数有降低趋势，Simpson和Shannon指数有增加趋势，但Simpson指数差异无统计学意义，提示与治疗前组相比，治疗后肠道菌群物种丰富度有所减低，但均匀度和多样性均有所增加（图3A~C）。

2.1.2　β多样性分析　通过主坐标分析（principal co-ordinates analysis，PCoA）评估了2组样本菌群结构和组成中的β多样性，前2个主成分分别解释了总变量的40.74%和

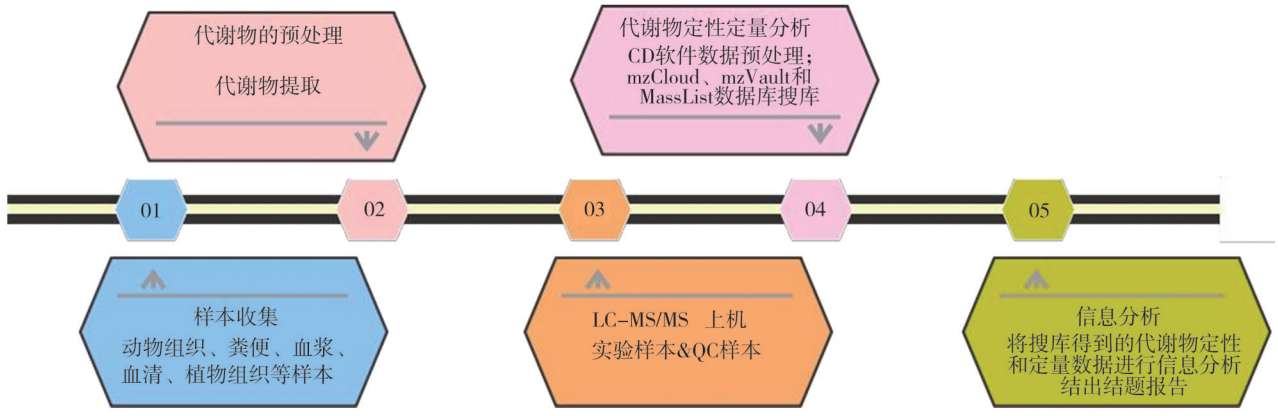



图1　LC-MS/MS实验流程图

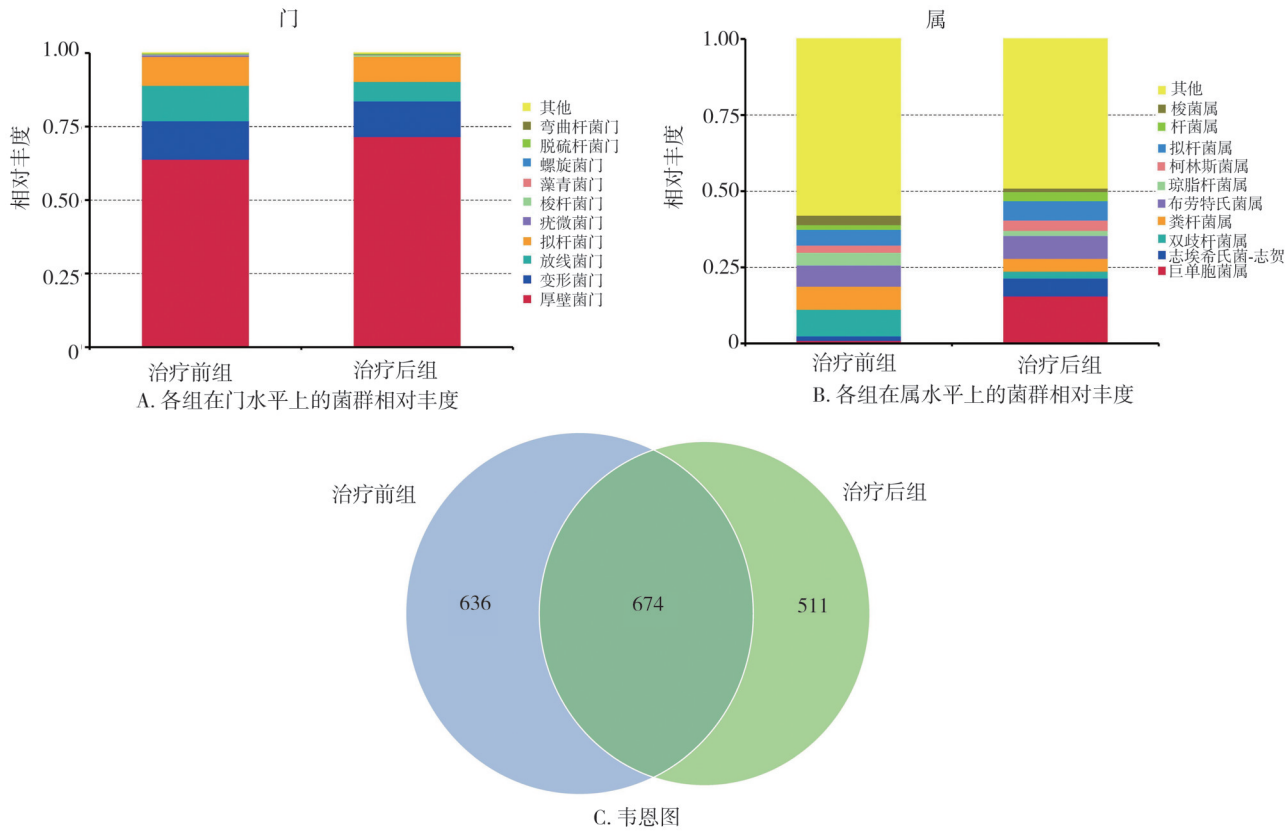



图2　各组菌群相对丰度及OTUs的比较

20.93%的菌落结构在治疗前后的差异（图3D）。β多样性指数组间差异检验和PCoA结果表明，治疗前组与治疗后组在群落结构和组成上基本一致。

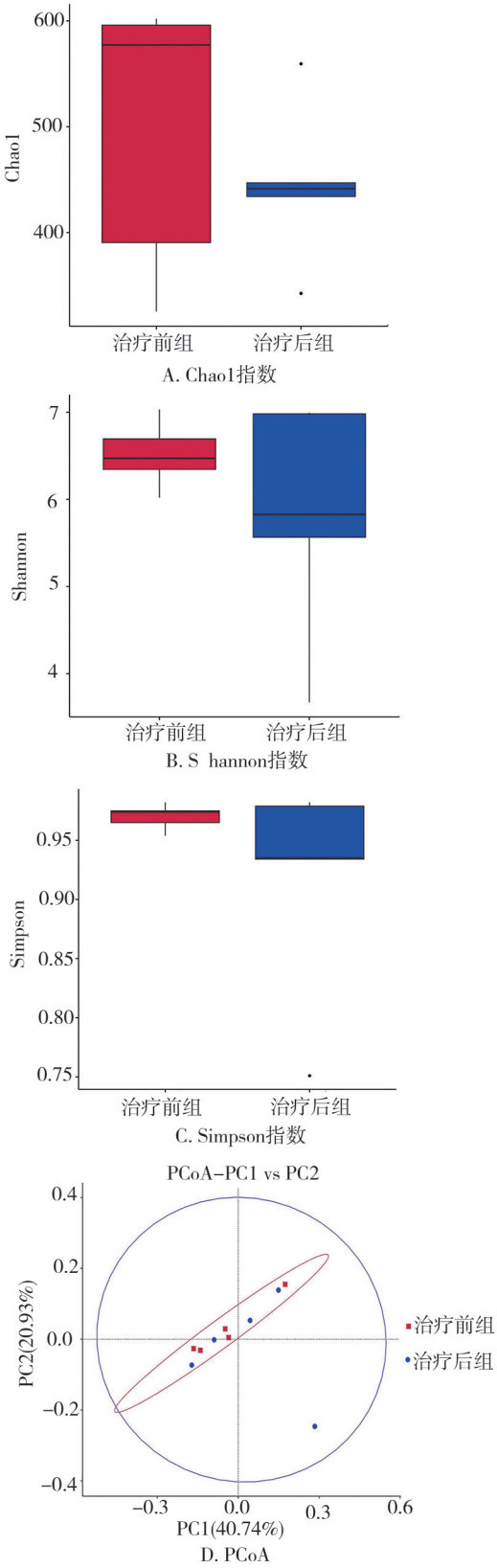



**图3　IBS-D患者肠道菌群α、β多样性分析**

2.1.3　物种差异性分析　根据LDA值筛选出组间具有统计学差异的特异性菌群并将结果进行可视化处理，制作LDA值分布柱状图（图4A）和LefSe进化分支图（图4B）。在属水平上，与治疗前组相比，Negativicutes、韦荣氏球菌属的相对丰度增多（图4A），与LefSe进化分支图（图4B）的分析结果一致。

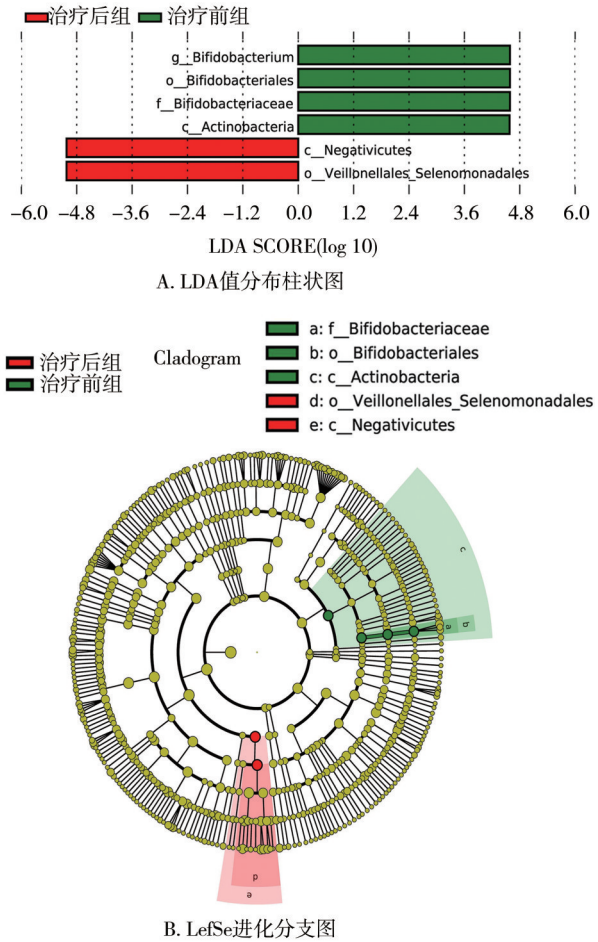



**图4　LDA值分布柱状图和LefSe 进化分支图**

2.2　IBS-D患者代谢组学分析

2.2.1　筛选差异代谢产物　初步筛选出IBS-D患者逍遥抑激汤治疗前后的21种肠道差异代谢产物，其中γ-谷氨酰蛋氨酸、3-羟基-$N^6$,$N^6$,$N^6$-三甲基-L-赖氨酸、2-苯乙胺、肉桂烯、肌苷等含量上升，顺式N-乙酰基-L-羟脯氨酸、茄碱、6-酮前列腺素F1α、5-羟基苯甲酸、雄甾酮、甲基丙二酸、二羟乙基甘氨酸、L-亮氨酸、3-羟基苯甲醇含量下降（表1）。

2.2.2　代谢物通路分析　将筛选出的21种显著差异代谢物导入MetaboAnalyst数据库中进行通路分析，获取到16条代谢通路，主要涉及抗坏血酸和醛酸代谢、苯丙氨酸代谢、嘌呤代谢、组氨酸代谢、柠檬酸盐循环（TCA循环）、β-丙氨酸代谢等通路，其中苯丙氨酸代谢影响因子最高，组氨酸代谢次之（图5）。

表 1 IBS-D 治疗前组与治疗后组差异代谢产物

| 模式 | 差异代谢产物 | 分子式 | RT/min | *m/z* | FC | *P* 值 | VIP | up/down |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 正离子 | γ-谷氨酰蛋氨酸 | $C_{10}H_{18}N_2O_5S$ | 4.859 | 279.100 6 | 6.833 864 | 0.000 243 | 2.371 967 | up |
| 正离子 | 3-羟基-$N^6$,$N^6$,$N^6$-三甲基-L-赖氨酸 | $C_9H_{20}N_2O_2$ | 1.240 | 189.159 2 | 9.247 846 | 0.000 871 | 2.240 063 | up |
| 正离子 | N-乙酰基-L-羟脯氨酸 | $C_7H_{11}NO_4$ | 1.504 | 174.075 8 | 0.069 040 | 0.007 585 | 2.085 196 | down |
| 正离子 | 2-苯乙胺 | $C_8H_{11}N$ | 5.039 | 122.096 5 | 17.578 690 | 0.014 666 | 1.884 990 | up |
| 正离子 | 肉桂烯 | $C_8H_8$ | 5.039 | 105.070 1 | 17.471 760 | 0.014 916 | 1.884 070 | up |
| 正离子 | 肌苷 | $C_{10}H_{12}N_4O_5$ | 3.168 | 269.087 5 | 2.951 667 | 0.017 664 | 1.944 543 | up |
| 正离子 | 茄碱 | $C_{27}H_{43}N_O$ | 5.834 | 398.340 9 | 0.066 144 | 0.018 855 | 1.863 329 | down |
| 正离子 | L-组氨酸 | $C_6H_9N_3O_2$ | 1.188 | 156.076 4 | 26.090 200 | 0.021 095 | 1.965 289 | up |
| 正离子 | 6-酮前列腺素 F1α | $C_{20}H_{34}O_6$ | 6.232 | 371.241 5 | 0.676 930 | 0.025 759 | 1.931 162 | down |
| 正离子 | 胆碱 | $C_5H_{13}NO$ | 1.288 | 104.107 2 | 4.604 497 | 0.028 403 | 1.866 697 | up |
| 正离子 | 7-甲基鸟嘌呤 | $C_6H_7N_5O$ | 1.868 | 166.072 0 | 2.671 757 | 0.031 870 | 1.726 592 | up |
| 正离子 | 5-羟基苯甲酸 | $C_{10}H_9NO_3$ | 5.554 | 192.065 1 | 0.046 356 | 0.032 463 | 1.825 829 | down |
| 正离子 | 雄甾酮 | $C_{19}H_{30}O_2$ | 10.454 | 273.220 6 | 0.362 630 | 0.032 570 | 1.716 735 | down |
| 正离子 | 甲基丙二酸 | $C_4H_6O_4$ | 1.468 | 254.087 6 | 0.149 024 | 0.042 238 | 1.682 944 | down |
| 正离子 | 二羟乙基甘氨酸 | $C_6H_{13}NO_4$ | 1.335 | 164.091 4 | 0.264 889 | 0.044 404 | 1.651 507 | down |
| 正离子 | L-亮氨酸 | $C_6H_{12}O_3$ | 5.698 | 133.085 5 | 0.477 627 | 0.048 574 | 1.615 987 | down |
| 负离子 | 3-羟基苯甲醇 | $C_7H_8O_2$ | 5.177 | 123.045 2 | 0.255 030 | 0.008 525 | 2.172 820 | down |
| 负离子 | 顺式乌头酸 | $C_6H_6O_6$ | 5.187 | 173.009 1 | 2.978 449 | 0.018 641 | 2.038 900 | up |
| 负离子 | 二磷酸腺苷核糖 | $C_{15}H_{23}N_5O_{14}P_2$ | 1.499 | 558.064 4 | 8.712 523 | 0.032 521 | 2.034 604 | up |
| 负离子 | D-葡萄糖酸 | $C_6H_{10}O_8$ | 1.396 | 209.030 1 | 2.510 342 | 0.037 290 | 1.861 331 | up |
| 负离子 | 假尿苷 | $C_9H_{12}N_2O_6$ | 2.033 | 243.062 1 | 3.307 353 | 0.039 454 | 1.840 557 | up |

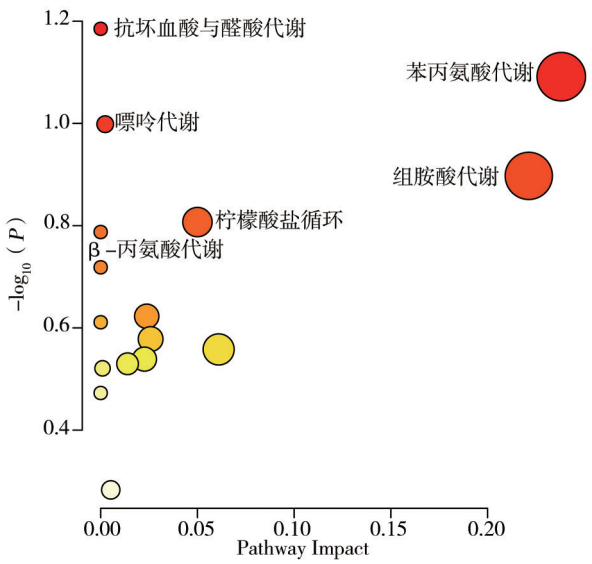



图 5 逍遥抑激汤调节 IBS-D 代谢通路分析图

## 3 讨 论

IBS-D 是一种常见的慢性功能性疾病，其病因和发病机制尚不清楚，一般认为是胃肠动力异常、内脏感觉异常、脑肠轴异常和精神心理等多种因素共同作用的结果。研究表明中医药能够通过改变肠道菌群丰度、调节机体免疫反应、增强肠道黏膜屏障、降低肠道高敏感性、缓解肠道痉挛状态、改变肠道代谢产物等途径起到治疗 IBS-D 的作用[8]。

中医学研究表明 IBS-D 的基本致病机制多为肝郁脾虚，与现代医学的肠道菌群失调、内脏高敏感性等机制存在相关性。逍遥抑激汤由痛泻要方合逍遥散加味而成，痛泻要方出自《丹溪心法》，具有调和肝脾、补脾柔肝、祛湿止泻之功效，而经典名方逍遥散出自《太平惠民和剂局方》，由柴胡、当归、白芍、白术、茯苓、炙甘草、薄荷等 8 味药组成，治疗抑郁症疗效确切[9-10]。

张建峰等[9]以 IBS-D 大鼠为研究对象，检测大鼠肠道菌群在痛泻要方治疗前后的变化，在门水平上，痛泻要方组增加了厚壁菌门、拟杆菌门的种群丰度，有效降低含较多致病菌的变形菌门丰度，且改善程度大于双歧杆菌组，而在属水平上，痛泻要方组较模型组增加了巨单胞菌属、劳特氏菌属种群丰度，有效降低了寡养单胞菌属丰度。张静宜[11]使用双歧杆菌三联活菌胶囊与加味逍遥散联合治疗

肠易激综合征患者治疗后，观察组乳酸杆菌、双歧杆菌水平高于对照组，肠杆菌、肠球菌与酵母菌水平低于对照组。

逍遥抑激汤治疗的IBS-D患者肠道菌群在门水平上厚壁菌门、变形菌门、放线菌门、拟杆菌门有显著变化，在属水平上巨单胞菌、志贺氏埃希氏菌、双歧杆菌、普拉梭菌、经黏液真杆菌是优势菌属。拟杆菌门与厚壁菌门不仅能够促进碳水化合物的代谢与能量的吸收[12]，还能够生成肠道自由基清除剂及炎症调节因子，抑制肠道的氧化应激与炎症反应，有效阻止胃肠疾病的发生与发展[13]。巨单胞菌属相对丰度与结直肠息肉发病风险增大呈负相关[14]。赵悦等[15]发现脾虚型IBS-D小鼠肠道乳酸菌属减少，拟杆菌属、志贺氏埃希氏菌属、克雷伯氏菌属增多。Miquel S等[16]通过实验发现普拉梭菌能够增加IBS患者肠上皮细胞中水闸蛋白-2的表达强化肠上皮屏障，缓解IBS患者肠道症状。经黏液真杆菌、普拉梭菌均为有益肠道共生菌的重要成员，在健康人肠道中含量最高，占肠菌总数5%以上[17]，是最重要的产生丁酸盐的细菌，经黏液真杆菌亦可利用碳水化合物代谢产生丁酸[18]，而丁酸是肠上皮细胞修复重要的能量来源，可通过调控肠上皮细胞增殖保持肠黏膜屏障的完整性。乳酸菌是人肠道数量庞大、功能重要的一类细菌，它们通常被视为益生菌的主要群体[19]，在某些病理条件下，在腹泻病人粪便中乳酸含量增高，浓度可达20 mmol/g[20]，而乳酸利用菌群容易紊乱，容易导致乳酸积累，乳酸积累又进一步加重恶化肠炎，并且可能诱发其他疾病。乳酸利用菌种类繁多，目前已经发现的主要有巨球型菌属、韦荣球菌属、月形单胞菌属、丙酸杆菌属和厌氧弧菌属，而本研究中逍遥抑激汤能增加韦荣氏球菌的丰度，并且具有明显差异。

代谢组学可用于研究生物体内源性代谢产物的种类、数量以及其在内外因素作用下的变化规律，反映生物体代谢物动态变化的规律[21]。陈璇等[22]探索痛泻要方对IBS-D肝郁脾虚证大鼠粪便中内源性代谢产物的影响的实验中发现痛泻要方治疗IBS-D的作用可能是通过调节脱氧胆酸、γ-生育三烯醇、羧异环磷酰胺、25-乙酰基葡萄糖苷、次黄嘌呤、黄嘌呤等代谢物质水平，影响精氨酸生物合成、色氨酸代谢、次级胆汁酸生物合成、泛醌和其他萜类醌生物合成、胆汁分泌、嘌呤代谢等相关代谢途径实现的。而在大鼠抑郁模型中，与模型组相比，逍遥散能显著升高苯丙氨酸、酪氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺和脯氨酸的水平，显著降低天冬酰胺、乳酸和丙酸的水平[11]。逍遥抑激汤治疗IBS-D主要涉及苯丙氨酸代谢通路、组氨酸代谢通路等。苯丙氨酸是宿主所必需的8种氨基酸之一，除参与构成组织蛋白外，也是宿主和微生物代谢的主要前体，对宿主的生长发育以及新陈代谢起重要作用[23]。蛋氨酸的一碳代谢物S-腺苷甲硫氨酸是控制肠道代谢稳态的关键介质，同时也是维持肠道干细胞活性的重要调节因子[24]。蛋氨酸通过调控Wnt/β-catennin和mTORC1等信号通路的转导，保护肠上皮结构和功能的完整性[25]，其代谢产物可以促进细胞增殖，增强细胞免疫功能，加速肠黏膜的快速更新和再生[26]。

综上所述，逍遥抑激汤可能通过调控厚壁菌门、变形菌门、放线菌门、拟杆菌门及巨单胞菌、志贺氏埃希氏菌、双歧杆菌、普拉梭菌的分布和丰度，影响苯丙氨酸代谢等物质的代谢，进而达到治疗IBS-D的作用。

## 参 考 文 献


[1] 2020年中国肠易激综合征专家共识意见[J]. 中华消化杂志，2020，40(12)：803-818.

Chinese expert consensus of irritable bowel syndrome in 2020[J]. Chin J Dig，2020，40(12)：803-818.

[2] Lee KN，Lee OY. Intestinal microbiota in pathophysiology and management of irritable bowel syndrome[J]. World J Gastroenterol，2014，20(27)：8886-8897.

[3] 白燕鸥，刘 旭. 肠易激综合征与肠道菌群失调相关性研究进展[J]. 临床军医杂志，2023，51(3)：327-330.

Bai YO，Liu X. Research progress on the correlation between irritable bowel syndrome and intestinal flora imbalance[J]. Clin J Med Off，2023，51(3)：327-330.

[4] 黄柳向，旷思敏，朱楚月. 痛泻安脾汤对腹泻型肠易激综合征大鼠肠道菌群的影响[J]. 中医药导报，2020，26(9)：1-6.

Huang LX，Kuang SM，Zhu CY. Effects of Tongxie anpi decoction on intestinal flora of rats with diarrhea-type irritable bowel syndrome[J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm，2020，26(9)：1-6.

[5] 连秋华，朱惠萍，梁国强，等. 健脾合剂对脾虚腹泻型肠易激综合征小鼠肠道菌群的干预研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化，2020，22(3)：770-780.

Lian QH，Zhu HP，Liang GQ，et al. Intervention study of Jianpi mixture on intestinal flora of mice with spleen deficiency and diarrhea-type irritable bowel syndrome[J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol，2020，22(3)：770-780.

[6] 于辉瑶，闻新丽. 逍遥抑激汤治疗肠易激综合征腹泻型55例[J]. 陕西中医，2012，33(9)：1130-1132.
Yu HY，Wen XL. Xiaoyao yiji decoction in treating 55 cases of diarrhea type of irritable bowel syndrome[J]. Shaanxi J Tradit Chin Med，2012，33(9)：1130-1132.
[7] Brian EA，Fermin M，Lin C，et al. Bowel disodrers [J]. Gastroenterology，2016，150(5)：1393-1407.
[8] 王洋洋，陈 楚，郑 烈，等. 中药调控肠道菌群治疗腹泻型肠易激综合征的研究进展[J]. 中国中医急症，2022，31(8)：1303-1306.
Wang YY，Chen C，Zheng L，et al. Research progress on the treatment of diarrhea irritable bowel syndrome by regulating intestinal flora with traditional Chinese medicine[J]. J Emerg Tradit Chin Med，2022，31(8)：1303-1306.
[9] 张建峰，陈 婕，赵双梅，等. 痛泻药方对肝郁脾虚型IBS-D大鼠肠道菌群的影响研究[J]. 湖南中医杂志，2020，36(10)：154-159，187.
Zhang JF，Chen J，Zhao SM，et al. Effect of Tongxieyaofang on gut microbiota in rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome with liver depression and spleen deficiency[J]. Hunan J Tradit Chin Med，2020，36(10)：154-159，187.
[10] 吕 梦，王雅泽，赵 迪，等. 基于粪便代谢组学技术的逍遥散抗抑郁作用机制研究[J]. 中草药，2020，51(13)：3482-3492.
Lü M，Wang YZ，Zhao D，et al. Anti-depression mechanisms of Xiaoyao Powder based on fecal metabolomics[J]. Chin Tradit Herb Drugs，2020，51(13)：3482-3492.
[11] 张静宜. 双歧杆菌三联活菌胶囊结合加味逍遥散治疗对肠易激综合征患者肠道微生态功能的影响[J]. 实用中西医结合临床，2020，20(15)：53-54.
Zhang JY. Effect of Bifidobacterium triple viable capsule combined with Jiawei Xiaoyao Powder on intestinal microecological function of patients with irritable bowel syndrome[J]. Pract Clin J Integr Tradit Chin West Med，2020，20(15)：53-54.
[12] Porter NT，Martens EC. The critical roles of polysaccharides in gut microbial ecology and physiology[J]. Annu Rev Microbiol，2017，71：349-369.
[13] 丁姮月，孙宏文. 肠道菌群与腹泻型肠易激综合征相关性的研究进展[J]. 中国微生态学杂志，2019，31(1)：119-125.
Ding HY，Sun HW. The progress of the relationship between intestinal microbiota and diarrhea-predominant irritable bowel syndrome[J]. Chin J Microecol，2019，31(1)：119-125.
[14] Ren XH，Xu J，Zhang YY，et al. Bacterial alterations in post-cholecystectomy patients are associated with colorectal cancer[J]. Front Oncol，2020，10：1418.
[15] 赵 悦，牛若楠，马雅鸽，等. 脑肾肠轴研究进展[J]. 中医药学报，2022，50(8)：88-95.
Zhao Y，Niu RN，Ma YG，et al. Research progress of brain-kidney-gut axis[J]. Acta Chin Med Pharmacol，2022，50(8)：88-95.
[16] Miquel S，Martín R，Lashermes A，et al. Anti-nociceptive effect of Faecalibacterium prausnitzii in non-inflammatory IBS-like models [J]. Sci Rep，2016，6：19399.
[17] Louis P，Flint HJ. Diversity，metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine[J]. FEMS Microbiol Lett，2009，294(1)：1-8.
[18] Shin NR，Kang W，Tak EJ，et al. Blautia hominis sp. nov. ，isolated from human faeces[J]. Int J Syst Evol Microbiol，2018，68(4)：1059-1064.
[19] Douillard FP，de Vos WM. Functional genomics of lactic acid bacteria：from food to health[J]. Microb Cell Fact，2014，13(Suppl 1)：S8.
[20] Hove H，Nordgaard-Andersen I，Mortensen PB. Faecal DL-lactate concentration in 100 gastrointestinal patients[J]. Scand J Gastroenterol，1994，29(3)：255-259.
[21] 张改君，苗 静，郭丽颖，等. 多组学联用在中药作用机制研究中的应用[J]. 中草药，2021，52(10)：3112-3120.
Zhang GJ，Miao J，Guo LY，et al. Application of multi-omics combination in mechanism studies of traditional Chinese medicine[J]. Chin Tradit Herb Drugs，2021，52(10)：3112-3120.
[22] 陈 璇，杨 欣，于晓雯，等. 痛泻药方对腹泻型肠易激综合征大鼠粪便代谢组学的影响[J]. 现代中西医结合杂志，2023，32(1)：38-44.
Chen X，Yang X，Yu XW，et al. Effect of prescription of importance for diarrhea with pain on fecal metabonomics of rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome[J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med，2023，32(1)：38-44.
[23] 白新书，胡天骄，薛 鑫，等. 苯丙氨酸在宿主和肠道微生物中的代谢研究进展[J]. 中国微生态学杂志，2023，35(7)：857-859，863.
Bai XS，Hu TJ，Xue X，et al. Metabolism of phenylalanine in host and intestinal microorganism：research progress[J]. Chin J Microecol，2023，35(7)：857-859，863.
[24] Shoveller AK，Stoll B，Ball RO，et al. Nutritional and functional importance of intestinal sulfur amino acid metabolism[J]. J Nutr，2005，135(7)：1609-1612.
[25] Yan SL，Long LN，Zong EY，et al. Dietary sulfur amino acids affect jejunal cell proliferation and functions by affecting antioxidant capacity，Wnt/β-catenin，and the mechanistic target of rapamycin signaling pathways in weaning piglets[J]. J Anim Sci，2018，96(12)：5124-5133.
[26] Withers HR. Regeneration of intestinal mucosa after irradiation [J]. Cancer，1971，28(1)：75-81.

（责任编辑：周一青）