仙方活命饮加减方减轻脓毒症致大鼠肝损伤的机制研究Δ

李自辉[1*]，刘静姝[1]，李东霞[2]，董　毅[3]，张宝文[2#]，高　明[2]（1.大连大学生命健康学院，辽宁 大连　116622；2.大连大学医学院，辽宁 大连　116622；3.大连大学附属新华医院中医科，辽宁 大连　116000）

中图分类号　R285.5　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）11-1343-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.11.11

摘　要　目的　从肠道菌群与代谢组学的角度探究仙方活命饮加减方防治脓毒症致肝损伤的作用机制。**方法**　采用体质量均衡分配法将60只SD大鼠分为空白组（生理盐水）、模型组（生理盐水）、阳性对照药组（地塞米松片，5.0 mg/kg）和仙方活命饮加减方高、中、低剂量组（以生药计分别为6.0、3.0、1.5 g/kg），每组10只。灌胃相应药物/生理盐水，灌胃体积均为10 mL/kg；每天给药1次，连续14 d。末次给药后，除空白组外，其余各组大鼠均腹腔注射脂多糖10 mg/kg建立脓毒症模型。造模12 h后，检测大鼠血清中炎症指标[白细胞介素1β（IL-1β）、IL-6、肿瘤坏死因子α（TNF-α）]和肝功能指标[总胆固醇（TC）、甘油三酯（TG）、天冬氨酸转氨酶（AST）、丙氨酸转氨酶（ALT）]水平；采用16S rRNA技术联合肝脏代谢组学分析大鼠肠道菌群及肝脏代谢产物的变化。**结果**　仙方活命饮加减方可显著改善脓毒症致肝损伤大鼠血清中炎症指标与肝功能指标（$P<0.05$或$P<0.01$），对5种优势菌门中11种菌属（如阿克曼氏菌属、乳杆菌属、沃氏嗜胆菌属等）的相对丰度有显著回调作用（$P<0.05$或$P<0.01$）。共鉴定出甘氨胆酸、磷脂酰胆碱、牛磺酸等12个与该方改善脓毒症致肝损伤相关的潜在生物标志物（$P<0.05$或$P<0.01$），主要涉及甘油磷脂代谢、嘌呤代谢和初级胆汁酸代谢等代谢通路。**结论**　仙方活命饮加减方可通过调节肠道菌群和肝脏代谢，改善脓毒症致肝损伤。

关键词　仙方活命饮加减方；脓毒症；肠道菌群；；代谢组学；16S rRNA技术；肝损伤

Study on the mechanism of modified Xianfang huoming decoction relieving sepsis-induced liver injury in rats

LI Zihui[1], LIU Jingshu[1], LI Dongxia[2], DONG Yi[3], ZHANG Baowen[2], GAO Ming[2] (1. College of Life and Health, Dalian University, Liaoning Dalian 116622, China; 2. Medical College, Dalian University, Liaoning Dalian 116622, China; 3. Dept. of Traditional Chinese Medicine, Xinhua Hospital Affiliated to Dalian University, Liaoning Dalian 116000, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To explore the mechanism of modified Xianfang huoming decoction in the treatment of sepsis-induced liver injury from the perspective of gut microbiota and metabolites. **METHODS** Sixty SD rats were divided into blank group (normal saline), model group (normal saline), positive control drug group (Dexamethasone tablet, 5.0 mg/kg), modified Xianfang huoming decoction high-dose, middle-dose and low-dose groups (6.0, 3.0, 1.5 g/kg, calculated by crude drug) according to equilibrium-partitioning approach of body mass, with 10 rats in each group. They were given relevant drug/normal saline 10 mL/kg, once a day, for consecutive 14 days. After the last medication, except for blank group, other groups were given intraperitoneal injection of lipopolysaccharide 10 mg/kg to induce sepsis model. Twelve hours after modeling, serum levels of inflammatory indexes in rats [interleukin-1β (IL-1β), IL-6, tumor necrosis factor-α (TNF-α)] and liver function indicators [total cholesterol (TC), triglyceride (TG), aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT)] were detected. The changes of gut microbiota and liver metabolites in rats were analyzed by 16S rRNA technology and liver metabolomics. **RESULTS** Modified Xianfang huoming decoction could significantly improve the indexes of serum inflammatory indexes and liver function in rats with sepsis-induced liver injury ($P<0.05$ or $P<0.01$); there was a significant callback effect on the relative abundance of 11 genera of bacteria (such as *Akkermansia*, *Lactobacillus* and *Bilophila*) among the 5 dominant phyla ($P<0.05$ or $P<0.01$). Twelve metabolites related to liver injury caused by sepsis were identified, such as glycine cholic acid, phosphatidylcholine, taurine ($P<0.05$ or $P<0.01$), mainly involving glycerol phospholipid metabolism, purine metabolism and primary bile acid metabolism. **CONCLUSIONS** Modified Xianfang huoming decoction can improve liver injury induced by sepsis

Δ**基金项目** 国家中医药管理局全国名老中医药专家传承工作室建设项目（No.国中医药人教函〔2022〕75号）

＊**第一作者** 讲师，博士。研究方向：中药药效物质基础。E-mail：1831794073@qq.com

＃**通信作者** 副教授，副主任医师，硕士生导师，博士。研究方向：中西医结合临床与基础。E-mail：zbw75 @126.com

by regulating gut microbiota and liver metabolites.

KEYWORDS modified Xianfang huoming decoction; sepsis; gut microbiota; metabonomics; 16S rRNA technology; liver injury

脓毒症已成为临床常见的高发性危重症，在我国重症监护病房患者中的发病率高达20%[1]。脓毒症是由于宿主受到感染后，机体免疫系统中部分器官的应激反应失调所引发的综合征，严重者会导致休克及多器官脏器功能衰竭，甚至危及生命[2]。肝脏具有调控免疫微循环、平衡代谢紊乱及感知炎症反应的功能，在脓毒症早期参与物质代谢与氧化应激反应，但也常因炎症反应失调而造成肝损伤[3]。虽然临床上可采用抗氧化、抗感染、抗炎等药物对脓毒症致肝损伤进行干预治疗，但治疗效果并不理想。因此，深入探究其发病机制，并寻找一种理想的药物是治疗脓毒症致肝损伤的关键。

现代中医学研究多将脓毒症归于“外感热病”范畴，认为其病机与“热、毒、瘀、虚”的形成及代谢循环密不可分[4]。仙方活命饮原方出自《校注妇人良方》，是治疗热毒痈肿的常用方[5]。大连大学附属新华医院凭借多年临床经验，在保留仙方活命饮原方中金银花、陈皮、白芷、赤芍、天花粉、皂角刺、甘草、贝母与防风这9味药配伍的基础上，添加了黄芩与桃仁，以增加其清热解毒、活血化瘀与保肝的功效。该方在临床用于脓毒症的治疗效果良好，尤其在缓解脓毒症致肝损伤方面的疗效显著。

16S rRNA技术是检测肠道菌群多样性的一种高通量经典方法[6]。李玮等[7]应用16S rRNA技术研究发现，肠道微生态的失调可诱发脓毒症机体内部潜在致病菌的生长，破坏肠道微环境的平衡，并导致肝损伤的发生。代谢组学是研究生物样本在特定时期内所含低分子量代谢产物的重要手段。如Thomaidou等[8]利用血清代谢组学研究发现，脓毒症新生儿血清中左旋肉碱的含量远低于正常新生儿。本研究拟采用16S rRNA技术，联合肝脏代谢组学分析方法，从肠道菌群与代谢组学的角度探究仙方活命饮加减方治疗脓毒症致肝损伤的作用机制，为其临床应用提供理论依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有1290型超高效液相色谱（UHPLC）仪、6460型质谱仪（美国Agilent公司）、5910R型高速冷冻型离心机（德国Eppendorf公司）、XPR226 CDR型电子分析天平（瑞士Mettler Toledo公司）、Indiko Plus型全自动生化分析仪（美国Thermo Fisher Scientific公司）。

1.2 主要药品与试剂

金银花、贝母、防风、白芷、陈皮、赤芍、天花粉、皂角刺、甘草、桃仁、黄芩饮片均购自辽宁省药材有限责任公司，经大连大学药用植物教研室苏明教授鉴定，均符合2020年版《中国药典》（一部）相关要求。地塞米松片（阳性对照药，批号14023304，规格0.75 mg）购自山西同达药业有限公司；脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）购自美国Sigma公司；白细胞介素1β（interleukin-1β，IL-1β）、IL-6和肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒（批号分别为EK-R36877、EK-R36902、EK-R38696）均购自上海酶研生物科技有限公司；总胆固醇（total cholesterol，TC）、甘油三酯（triglyceride，TG）、天冬氨酸转氨酶（aspartate aminotransferase，AST）、丙氨酸转氨酶（alanine aminotransferase，ALT）试剂盒（批号分别为XY-TG-Ra、XY-TG-Ra、XY-AST-Ra、XY-ALT-Ra）均购自上海信裕生物科技有限公司；DNA文库试剂盒（批号P7589）购自美国Invitrogen公司；乙腈、甲醇为色谱醇，水为超纯水。

1.3 动物

本研究所用动物为SPF级健康SD大鼠，共60只，4～5周龄，雄性，体质量（200±20）g，购自辽宁长生生物技术有限公司，实验动物生产许可证号为SCXK（辽）-2020-0001。大鼠购入后饲养于大连大学实验动物中心，室温为（23±2）℃，相对湿度为（50±5）%，自由饮水。所有实验大鼠的使用和喂养严格遵照动物保护协会所规定的有关条款。本研究通过了大连大学附属中山医院伦理委员会的伦理审查，伦理批号为20220307。

2 方法

2.1 仙方活命饮加减方的制备

取方中所有饮片（包含金银花15 g，贝母6 g，防风6 g，白芷3 g，陈皮9 g，赤芍12 g，天花粉15 g，皂角刺10 g，甘草10 g，桃仁10 g，黄芩10 g），加入8倍量水浸泡20 min，煮沸后文火煎煮30 min；煎煮2次，合并药液并过滤。将滤液减压浓缩至以生药计质量浓度为1 g/mL的复方药液。经UHPLC法测定，复方药液中绿原酸含量为0.57%、黄芩苷含量为1.13%、芍药苷含量为0.36%。

2.2 分组、造模与给药

大鼠先适应性喂养7 d，然后采用体质量均衡分配法将60只大鼠分为空白组、模型组、阳性对照药组（地塞米松片，5.0 mg/kg，为人临床等效剂量）和仙方活命饮加

减方高、中、低剂量组（以生药计分别为6.0、3.0、1.5 g/kg，分别为人临床等效剂量的4、2、1倍），每组10只。各给药组大鼠灌胃相应药物，给药体积均为10 mL/kg；空白组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水。每天给药1次，连续给药14 d。末次给药后，除空白组外，其余各组大鼠均腹腔注射LPS 10 mg/kg建立脓毒症模型[9]，空白组大鼠腹腔注射等体积生理盐水。造模后观察并记录各组大鼠的体征表现。通过大鼠体征表现及血清指标综合判断造模成功情况。

2.3 样本收集与处理

造模12 h后，将大鼠麻醉，腹主动脉取血后处死。血样凝固后取上层血清，于－80 ℃冻存；同时，迅速取出大鼠肝组织，用生理盐水洗去浮血后，滤纸吸干，在冰浴上取适量肝组织剪成碎片，加入9倍体积冰冷的甲醇进行匀浆。匀浆液在4 ℃条件下以13 000 r/min离心15 min，取上清液存于离心管中，重复上述条件离心1次，将上清液于－80 ℃冻存，用于代谢组学分析。取大鼠盲肠末端内容物存于冻存管中，用液氮速冻后，立即于－80 ℃冻存，用于菌群16S rRNA测序分析。

2.4 血清中炎症指标和肝功能指标检测

将“2.3”项下冻存的血清在室温条件下静置40 min后，在4 ℃下以3 500 r/min离心10 min，取上清液，采用ELISA法检测大鼠血清中IL-1β、IL-6与TNF-α水平，采用全自动生化分析仪检测大鼠血清中TC、TG、AST、ALT水平，实验操作步骤严格按照相应说明书规定执行。通过比较各给药组血清指标结果，选择效果最好的一个仙方活命饮加减方剂量组与空白组、模型组共同进行代谢组学与肠道菌群的检测。

2.5 大鼠肠道菌群16S rRNA测序分析

通过Illumina MiSeq测序平台进行高通量分析，经过双端数据连接与去除嵌合体等步骤之后，利用高灵敏度定量试剂盒及DNA文库试剂盒对文库做2100质检，并利用DNA文库试剂盒进行建库；运用荧光定量分析法对16S rRNA V4区有效序列进行Miseq的2×300 bp双端测序；使用QIIME软件、R软件及Mothur软件等对测序结果进行综合分析，通过高通量测序手段探寻大鼠肠道中的差异菌属[10]。

2.6 大鼠肝脏代谢组学分析

2.6.1 差异代谢物的检测 采用液质联用法测定大鼠肝组织中的代谢产物。色谱条件为：采用InfinityLab Poroshell C_{18}色谱柱（50 mm×2.1 mm，2.7 μm）；以含0.05%甲酸的乙腈溶液（A）-0.05%甲酸溶液（B）为流动性进行梯度洗脱（0～5 min，0→5%A；5～11 min，5%A→98%A；11～14 min，98%A；14～16 min，98%A→5%A）；流速为0.3 mL/min；柱温为45 ℃；进样量为5 μL。质谱条件为：采用电喷雾离子源，在正、负离子扫描模式下检测；毛细管电压与锥孔电压分别为2.5 kV、120 V；离子源温度为110 ℃；脱溶剂温度为350 ℃；扫描范围为质荷比（*m*/*z*）50～1 500；喷雾频率为30 s。

2.6.2 潜在生物标志物及通路分析 将“2.6.1”项下收集到的质谱数据通过Progenesis QI软件转换为文件数据，明确数据中代谢物的分子量，筛除所获数据中外源性干扰成分后导入SIMCA-P 13.0软件进行偏最小二乘判别分析（partial least squares discriminant analysis，PLS-DA）。采用变量重要性投影（variable importance in projection，VIP）＞2作为投射筛选条件[11]，找出重要生物标志物。运用MetaboAnalyst 5.0数据库、人类代谢组学数据库（human metabolome database，HMDB）（https://hmdb.ca）和京都基因与基因组百科全书数据库（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG），最终鉴定出相关代谢产物所对应的代谢通路[12]。

2.7 统计学方法

采用SPSS 20.0软件对数据进行统计分析。结果以$\bar{x} \pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用LSD-*t*检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 大鼠体征观察结果

与空白组比较，模型组大鼠出现反应迟钝、精神萎靡现象；而给予仙方活命饮加减方与阳性对照药干预后，各给药组大鼠上述症状均得到明显改善。

3.2 大鼠血清中炎症指标和肝功能指标的测定结果

与空白组比较，模型组大鼠血清中炎症指标（IL-1β、IL-6、TNF-α）和肝功能指标（TC、TG、AST、ALT）水平均显著升高（$P<0.01$）；与模型组比较，各给药组大鼠血清中炎症指标和肝功能指标水平均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。结果见表1。

3.3 大鼠肠道菌群差异性分析结果

通过门水平的比较发现，空白组、模型组与仙方活命饮加减方高剂量组大鼠肠道菌群主要分布于5个优势菌门，分别为厚壁菌门（Firmicutes）、放线菌门（Actinobacteria）、变形菌门（Proteobacteria）、拟杆菌门（Bacteroidetes）、疣微菌门（Verrucomicrobia），见图1。在属水平，通过对优势菌门所涉及的菌属进行比较发现，具有优势特征的菌属分别为阿克曼氏菌属（*Akkermansia*）、乳杆菌属（*Lactobacillus*）、沃氏嗜胆菌属（*Bilophila*）、丁酸弧菌属（*Butyricimonas*）、粪球菌属（*Coprococcus*）、罗斯

表1　各组大鼠血清中炎症指标和肝功能指标的测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	炎症指标			肝功能指标			
	TNF-α/(ng/L)	IL-1β/(ng/L)	IL-6/(ng/L)	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	AST/(U/L)	ALT/(U/L)
空白组	64.33±13.42	78.83±12.49	65.36±15.24	0.96±0.22	0.43±0.12	95.90±18.20	77.18±11.34
模型组	289.35±39.28[a]	146.43±35.92[a]	272.05±41.36[a]	2.64±0.37[a]	1.13±0.24[a]	201.82±25.22[a]	185.21±26.81[a]
阳性对照药组	171.53±24.68[b]	82.31±14.46[b]	174.33±20.48[b]	2.06±0.21[b]	0.91±0.20[c]	179.34±18.58[b]	150.31±21.45[b]
仙方活命饮加减方低剂量组	247.31±42.72[c]	115.36±24.53[c]	235.21±29.38[c]	2.19±0.35[c]	0.92±0.22[c]	177.90±25.25[c]	159.58±23.93[c]
仙方活命饮加减方中剂量组	229.40±36.56[b]	105.39±22.62[c]	198.37±34.04[b]	2.22±0.31[c]	0.88±0.21[c]	174.66±28.46[c]	164.46±14.23[c]
仙方活命饮加减方高剂量组	201.77±42.51[b]	89.43±22.81[b]	167.18±26.22[b]	1.88±0.15[b]	0.85±0.14[b]	165.81±25.39[b]	155.92±16.41[b]

a：与空白组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$；c：与模型组比较，$P<0.05$

氏菌属（*Roseburia*）、梭菌属（*Clostridium*）、考拉杆菌属（*Phascolarctobacterium*）、拟杆菌属（*Bacteroides*）、狄氏副拟杆菌属（*Parabacteroides*）、安德克氏菌属（*Adlercreutzia*），见图2。经统计分析发现，与空白组比较，模型组大鼠具有显著性差异的菌属有11个，其中3种菌属的相对丰度均显著升高、8种菌属的相对丰度均显著降低（$P<0.01$）；与模型组比较，仙方活命饮加减方高剂量组大鼠肠道中上述菌属的相对丰度均显著回调（$P<0.05$或$P<0.01$），见图3。

3.4　大鼠肝脏代谢组学分析

3.4.1　大鼠肝脏代谢产物的主成分分析　在正、负检测离子模式下，空白组、模型组与仙方活命饮加减方高剂量组大鼠代谢轮廓呈现出各自聚类的特点，表明3组之间的整体代谢轮廓可被很好地区分，见图4。

3.4.2　大鼠肝脏代谢产物的鉴定与给药后的变化　经鉴定和分析发现，与空白组比较，模型组大鼠肝组织中具有显著性差异的代谢产物有29个（$P<0.01$）；与模型组比较，仙方活命饮加减方高剂量组大鼠肝脏中7个代谢产物含量显著上调、5个代谢产物含量显著下调（$P<0.05$或$P<0.01$）。结果见图5、表2。

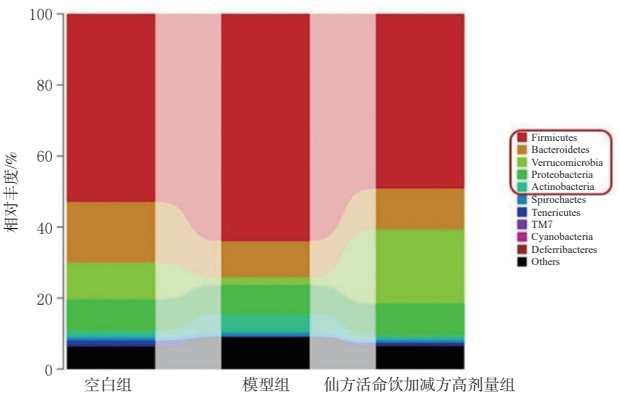


图1　各组大鼠肠道菌群的菌门分布图

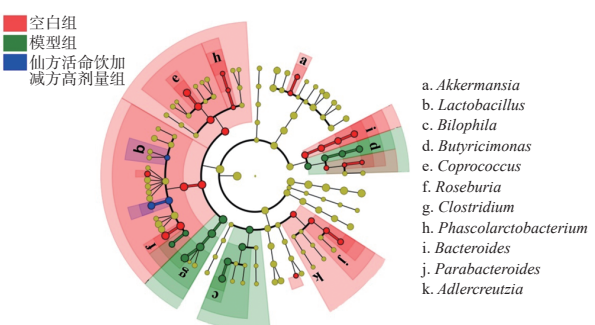
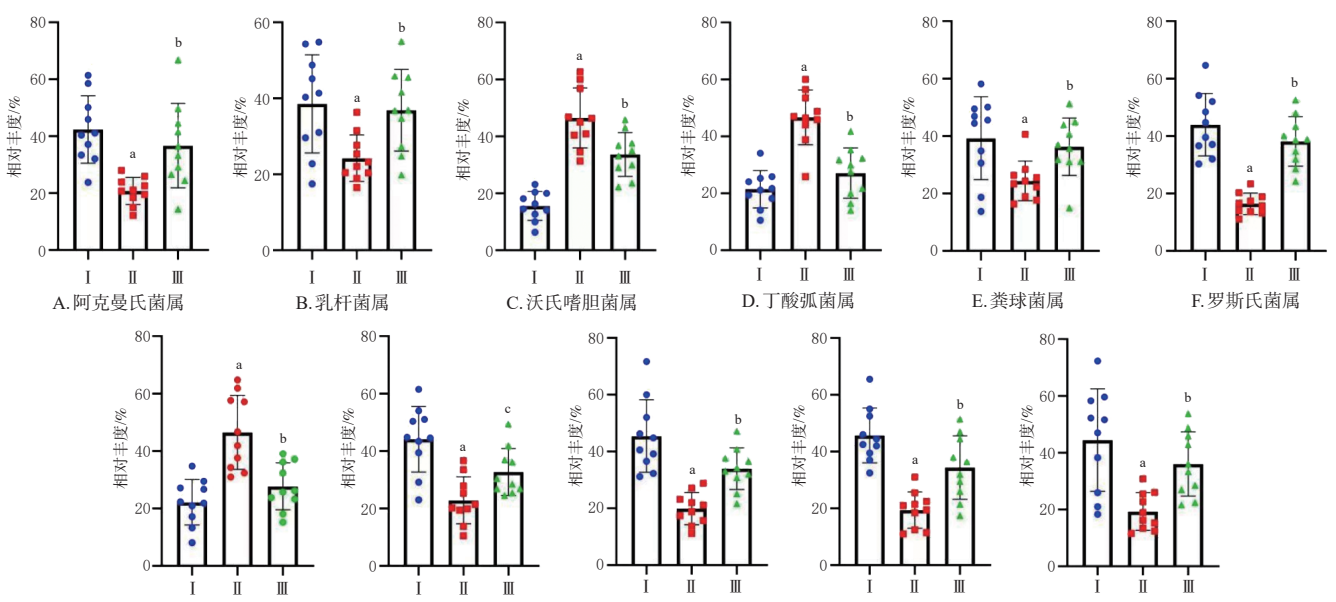
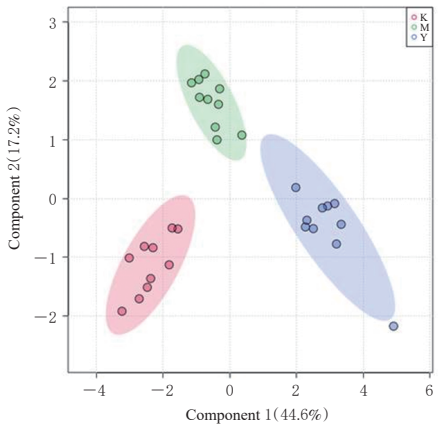


图2　各组大鼠肠道菌群差异菌属的系统等级分析图

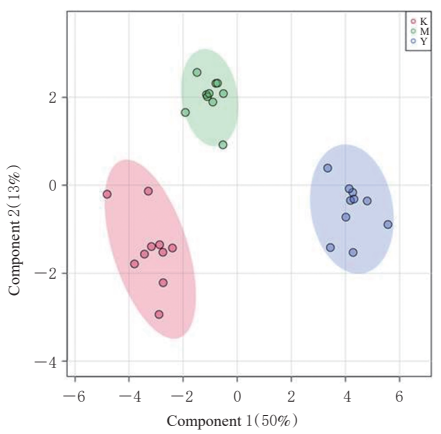


Ⅰ：空白组；Ⅱ：模型组；Ⅲ：仙方活命饮加减方高剂量组；a：与空白组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$；c：与模型组比较，$P<0.05$

图3　各组大鼠肠道中差异菌属的相对丰度变化



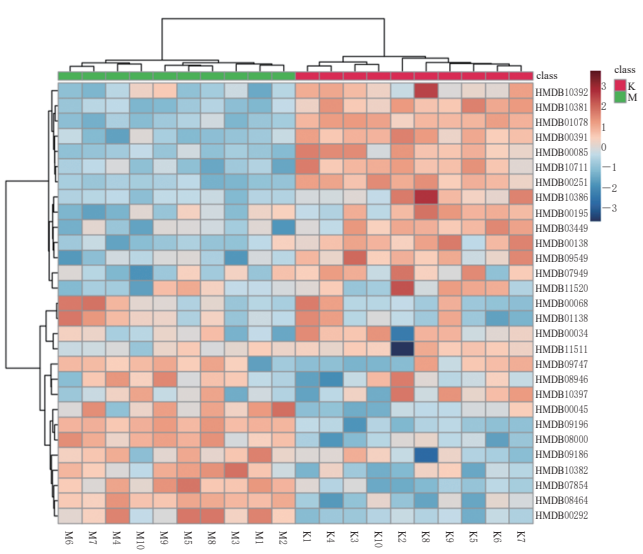
A. 正离子模式



B. 负离子模式

K:空白组;M:模型组;Y:仙方活命饮加减方高剂量组

图4　代谢产物主成分得分图



K:空白组;M:模型组

图5　空白组与模型组差异代谢产物相对强度分析热图

3.4.3　肝组织中代谢产物的代谢通路分析　将“3.4.2”项下筛选的12个共同生物标志物进行富集,通过MetaboAnalyst 5.0数据库靶向分析得到13个高度活跃的代谢通路,主要富集于甘油磷脂代谢、初级胆汁酸代谢、嘌呤代谢及牛磺酸代谢等代谢通路,见图6。

表2　仙方活命饮加减方对脓毒症致肝损伤大鼠肝脏潜在生物标志物变化的影响

HMDB号	中文名称	分子式	离子模式	*m/z*	保留时间/min	VIP	KEGG编号	模型组vs.空白组	仙方活命饮高剂量组vs.模型组
HMDB08000	磷脂酰胆碱	$C_{39}H_{76}NO_8P$	+	718.543 4	13.00	2.36	C00157	↑[a]	↓[b]
HMDB00292	黄嘌呤	$C_5H_4N_4O_2$	+	152.033 7	0.98	3.22	C00385	↑[a]	↓[b]
HMDB00138	甘氨胆酸	$C_{26}H_{43}NO_6$	+	465.309 1	6.76	4.41	C01921	↓[a]	↑[b]
HMDB10382	溶血磷脂酰胆碱	$C_{24}H_{50}NO_7P$	+	495.334 3	10.50	4.85	C04230	↑[a]	↓[b]
HMDB10711	半乳糖神经酰胺	$C_{46}H_{89}NO_8$	+	801.694 0	12.98	2.10	C02686	↓[a]	↑[b]
HMDB00391	7-酮脱氧胆酸	$C_{24}H_{38}O_5$	+	451.270 2	7.47	2.03	C04643	↓[a]	↑[b]
HMDB00251	牛磺酸	$C_2H_7NO_3S$	+	124.007 6	0.62	3.70	C00245	↓[a]	↑[b]
HMDB07854	溶血磷脂酸	$C_{21}H_{43}O_7P$	+	483.271 8	6.29	2.62	C00416	↑[a]	↓[b]
HMDB01078	甘露糖-6-磷酸	$C_6H_{13}O_9P$	−	243.018 2	0.20	2.91	C00275	↓[a]	↑[b]
HMDB03449	β-D-半乳糖	$C_6H_{12}O_6$	−	180.063 6	0.68	3.95	C00962	↓[a]	↑[b]
HMDB09549	磷脂酰乙醇胺	$C_{42}H_{80}NO_8P$	−	802.561 4	10.68	3.04	C00350	↓[a]	↑[c]
HMDB00045	单磷酸腺苷	$C_{10}H_{14}N_5O_7P$	−	347.064 0	1.24	2.58	C00020	↑[a]	↓[c]

a:与空白组比较,$P<0.01$;b:与模型组比较,$P<0.01$;c:与模型组比较,$P<0.05$

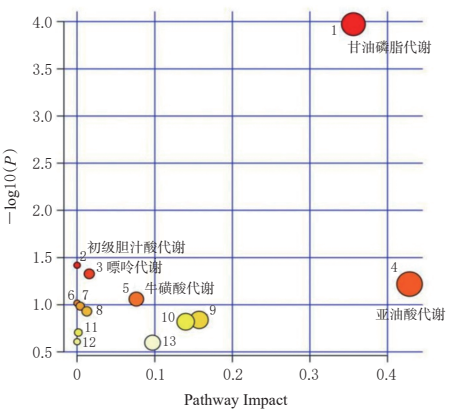


图6　仙方活命饮加减方调节脓毒症致肝损伤大鼠代谢通路的分析图

4　讨论

甘油磷脂代谢主要是指含磷脂类化合物在机体组织细胞中的生物合成与氧化分解过程,其与宿主能量代谢、血浆脂蛋白形成与细胞信号转导等生物过程密切相关。甘油磷脂代谢异常会造成肝脏中内源性毒素无法排出,导致肝肠循环功能与肠道菌群微环境的紊乱,导致肝内细胞有害物质堆积,可能是诱发脓毒症致肝损伤的重要途径之一[13]。本研究中,仙方活命饮加减方可对甘油磷脂通路上的磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、溶血磷脂酰胆碱、溶血磷脂酸这4种异常代谢产物进行回调,缓解肝脏的脂质代谢紊乱,恢复机体能量与物质代谢的平衡;同时,其还可升高乳杆菌属、阿克曼氏菌属、考拉杆菌属等益生菌属的相对丰度,降低梭菌属等致病菌的相对丰度。这说明仙方活命饮加减方能改善脓毒症致肝损伤大鼠甘油磷脂代谢通路的异常表达。

胆汁酸是肝脏消化和吸收膳食脂肪与油脂过程的重要物质。有研究表明,胆汁酸的合成与菌群微环境的状态关系密切[14]。初级胆汁酸代谢是肝细胞与微粒体

合成胆固醇及诱导胆汁酸的重要途径，由多种胆酰辅酶因子与甘氨胆酸共同调控。本研究结果显示，仙方活命饮加减方可增加脓毒症致肝损伤大鼠肝组织中甘氨胆酸与牛磺酸的含量，降低丁酸弧菌属的相对丰度。有研究发现，牛磺酸可促进肝脏内胆汁酸的平衡，缓解肠黏膜通透性的损伤，抑制肠道致病菌生长与肠毒素的产生，减少丁酸弧菌属诱导肠内毒素的产生，减轻肠黏膜通透性损伤[15]。以上结果提示，仙方活命饮加减方能有效改善脓毒症致肝损伤大鼠的初级胆汁酸代谢异常，降低脓毒症诱发肝损伤的风险。

嘌呤是含有嘌呤结构的核酸碱基衍生物，代谢分解后的产物为尿酸。人体中嘌呤含量急速升高或排出率减低，会造成免疫系统功能性障碍，引起高尿酸血症及痛风；同时，嘌呤也是诱发脓毒症并发症的重要因素之一[16]。本研究结果显示，仙方活命饮加减方能降低黄嘌呤与单磷酸腺苷的含量，恢复机体嘌呤代谢的稳态，减少体内尿酸的沉积。这提示仙方活命饮加减方可通过改善大鼠嘌呤代谢及免疫系统功能异常，减轻肝脏代谢负担，减少致病菌群内毒素的产生，从而对脓毒症致肝损伤起到保护作用。

综上所述，仙方活命饮加减方不仅能改善大鼠脓毒症后免疫系统与肝功能的异常，还能调节脓毒症所致肝脏代谢与肠道菌群的紊乱。但脓毒症的病理过程与合并症复杂，本研究鉴定出的关键性菌属与潜在生物标志物是否适用于脓毒症的其他并发症，仍有待于进一步研究。

参考文献

[1] 王建，程璐，周江，等. 圆运动理论在脓毒症诊疗中的应用研究进展[J]. 中华中医药杂志，2021，36(11)：6335-6339.

[2] 杨李旺，杨蓉，赵焕新，等. 黄连解毒汤通过诱导自噬减轻脓毒症小鼠肝损伤[J]. 中国实验方剂学杂志，2022，28(5)：71-76.

[3] 袁超，游莎，李鲲，等. 红芪醇提物对脓毒症所致大鼠肝损伤的影响[J]. 广州中医药大学学报，2021，38(7)：1447-1453.

[4] 庄燕，戴林峰，鲁俊. 基于网络药理学桃核承气汤防治脓毒症心肌功能障碍的作用机制探讨[J]. 现代药物与临床，2021，36(3)：421-427.

[5] 韦章雷，余家斌，王乐. 仙方活命饮联合黄连解毒汤对于肛周脓肿术后疼痛的治疗效果分析[J]. 四川中医，2021，39(1)：147-150.

[6] 秦百君，唐曦平，杨昕，等. 清解化攻方调节重症急性胰腺炎模型大鼠肠道菌群及对肠黏膜屏障的影响[J]. 中国药房，2022，33(15)：1825-1832.

[7] 李玮，林名瑞，陈怀宇，等. 脓毒症小鼠肠道菌群紊乱的研究[J]. 中国急救医学，2021，41(10)：887-892.

[8] THOMAIDOU A，DEDA OL，BEGOU O，et al. A prospective，case-control study of serum metabolomics in neonates with late-onset sepsis and necrotizing enterocolitis [J]. J Clin Med，2022，18(11)：5270.

[9] 潘振亚，赵娜，马晨瑜，等. 基于代谢组学探讨扶正祛瘀通下法治疗脓毒症大鼠心肌损伤作用机制[J]. 浙江中西医结合杂志，2021，31(9)：804-809.

[10] 李自辉，陈平平，王宇，等. 基于高通量测序技术的黄芩提取物对热证模型大鼠肠道菌群多样性的影响[J]. 中草药，2021，46(20)：422-431.

[11] 常虹，孟洪宇，王宇，等. 基于尿液代谢组学的黄芩抗肝纤维化作用研究[J]. 中国中药杂志，2018，43(10)：2140-2146.

[12] ZHANG N，LU F，LI Z H，et al. Effects of *Radix scrophulariae* on hyperthyroidism assessed by metabonomics and network pharmacology[J]. Front Pharmacol，2021，12：727735.

[13] YANG F，LIU M Y，QIN N K，et al. Lipidomics coupled with pathway analysis characterizes serum metabolic changes in response to potassium oxonate induced hyperuricemic rats[J]. Lipids Health Dis，2019，18(1)：112.

[14] WANG L F，WANG F，ZHANG X F，et al. Transdermal administration of volatile oil from *Citrus aurantium-Rhizoma atractylodis macrocephalae* alleviates constipation in rats by altering host metabolome and intestinal microbiota composition[J]. Oxid Med Cell Longev，2022，2022：9965334.

[15] ZHOU Y Q，LU W，YANG G R，et al. Bile acid metabolism and liver fibrosis following treatment with bifid triple viable capsules in nonalcoholic fatty liver disease[J]. Am J Transl Res，2021，13(12)：13485-13497.

[16] JI S，HAN S S，YU L，et al. Jia Wei Xiao Yao San ameliorates chronic stress-induced depression-like behaviors in mice by regulating the gut microbiome and brain metabolome in relation to purine metabolism[J]. Phytomedicine，2022，98：153940.

（收稿日期：2022-12-04　修回日期：2023-04-17）

（编辑：林　静）