

肠道菌群介导生脉方对脓毒症小鼠的治疗作用

侯竞一, 吴佳伟, 曹丽娟*

(中国药科大学天然药物国家重点实验室, 南京 210009)

摘要 探究生脉方(*Shengmai formula*, SMF)对脓毒症小鼠组织损伤、血清炎症因子和外周血固有免疫细胞比例的作用;考察肠道菌群在SMF治疗脓毒症中的作用。灌胃0.3, 0.6, 1.2 g/kg或腹腔注射0.6 g/kg SMF 4 d后腹腔注射20 mg/kg脂多糖(LPS)建立脓毒症模型,考察小鼠生存率,通过H&E染色观察小鼠肝、肺、肾组织病理改变,检测血清IL-6、TNF- α 、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、尿素氮(BUN)和肌酐(Cr)水平;建立LPS和盲肠结扎穿刺(CLP)脓毒症模型,通过流式细胞术检测SMF灌胃或腹腔注射对外周血单核细胞、巨噬细胞和中性粒细胞比例的影响;考察抗生素(ABX)处理对SMF灌胃治疗脓毒症的影响;考察SMF灌胃小鼠的粪便移植到伪无菌鼠,显著减轻其脓毒症症状。结果表明,SMF灌胃显著提高LPS模型小鼠生存率,减轻肝、肺、肾损伤和炎症浸润,降低血清IL-6、ALT、AST、BUN、Cr水平;显著降低LPS模型24 h外周血巨噬细胞比例,下调CLP模型24 h外周血单核、巨噬细胞和中性粒细胞比例。SMF腹腔注射对脓毒症模型上述指标均无显著作用。ABX处理逆转了SMF灌胃的脓毒症治疗作用;SMF灌胃小鼠的粪便移植到伪无菌鼠,显著减轻其脓毒症症状。结果表明,SMF通过调节肠道菌群,降低血清炎症因子,缓解组织损伤,发挥对脓毒症小鼠的治疗作用。本研究为SMF治疗临床脓毒症提供理论依据。

关键词 生脉方;脓毒症;组织损伤;炎症因子;免疫调节;肠道菌群

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2023)02-0218-08

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2023022701

引用本文 侯竞一, 吴佳伟, 曹丽娟. 肠道菌群介导生脉方对脓毒症小鼠的治疗作用[J]. 中国药科大学学报, 2023, 54(2): 218 - 225.

Cite this article as: HOU Jingyi, WU Jiawei, CAO Lijuan. Gut microbiota-mediated therapeutic effect of *Shengmai formula* (SMF) on sepsis in mice[J]. *J China Pharm Univ*, 2023, 54(2): 218 - 225.

Gut microbiota-mediated therapeutic effect of *Shengmai formula* (SMF) on sepsis in mice

HOU Jingyi, WU Jiawei, CAO Lijuan*

State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract To investigate the effects of *Shengmai formula* (SMF) on tissue damages, serum inflammatory factors and the proportion of innate immunocytes in peripheral blood, sepsis models using either intraperitoneal injection of 20 mg/kg lipopolysaccharide (LPS) or cecal ligation and puncture (CLP) were established. The role of gut microbiota in septic mice during SMF treatment was further investigated. LPS-induced sepsis model was carried out 4 days after daily gavage administration with 0.3 g/kg, 0.6 g/kg, 1.2 g/kg SMF or intraperitoneal injection with 0.6 g/kg SMF. Survival rates of septic mice were determined. Histological evaluations of liver, lung and kidney were analyzed by H&E staining. Serum IL-6, TNF- α , Alanine transaminase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST), Blood urea nitrogen (BUN) and Creatinine (Cr) levels were determined. LPS and CLP-induced sepsis models were established, and the proportion of monocytes, macrophages and neutrophils in peripheral blood were analyzed by flow cytometry after gavage administration or intraperitoneal injection of SMF. The therapeutic effects of SMF after antibiotics treatment were further determined, and the therapeutic effects of fecal microbiota from SMF-treated mice were investigated. The results show that LPS-induced sepsis caused death of mice, damages in liver, lung and kidney with increased infiltration of leukocytes and elevated levels of serum IL-6, ALT, AST,

BUN and Cr, which were all reversed by gavage administration of SMF. Gavage administration of SMF could significantly reduce the proportion of peripheral macrophages in LPS model and monocytes, macrophages, neutrophils in CLP model. Intraperitoneal injection of SMF showed no therapeutic benefits in septic mice. Depletion of gut microbiota using antibiotics cocktail reversed the therapeutic effects of SMF on sepsis, indicating the involvement of gut microbiota. Fecal microbiota from SMF-treated donors was transplanted into pseudo-sterile recipients, and we found FMT could significantly ameliorate sepsis of recipients. These results showed that gavage administration of SMF reduced serum inflammatory factors and alleviated tissue damages in septic mice by regulating gut microbiota. This study provides a theoretical basis for the treatment of clinical sepsis with SMF.

Key words Shengmai formula (SMF); sepsis; tissue damages; inflammatory factors; immune regulation; gut microbiota

脓毒症是指宿主对感染的反应失调,继而导致危及生命的器官功能障碍^[1]。脓毒症是ICU中死亡的主要原因,并与不良预后相关^[2]。据估计,全球每年有4 890万人被诊断为败血症,造成1 100万人死亡,占全球总死亡人数的19.7%^[3]。随着COVID-19大流行,发生多器官功能障碍的重症COVID-19患者进一步提高了全球脓毒症发生率^[4]。脓毒症已成为亟待解决的全球公共卫生问题,给全球医疗系统带来了严重负担。脓毒症表现为感染初期的全身促炎反应以及随后的淋巴细胞耗竭和继发感染^[5],以及由组织缺氧、线粒体功能障碍或细胞凋亡等导致的多器官衰竭^[6]。目前临床治疗脓毒症使用液体复苏、抗生素和移除感染灶的方法,但无法逆转多器官衰竭,患者预后较差,继发感染率高^[7]。因此开发免疫调节和抗多器官衰竭药物是脓毒症研究的重要课题。

生脉方(Shengmai formula, SMF)是临床治疗气阴两虚型冠心病和劳累型心绞痛的经典中药复方,包括生脉饮、生脉注射液、注射用益气复脉(冻干)和益气复脉片等品种^[8]。近年来发现SMF还具有一定的脓毒症治疗作用。临床研究表明,脓毒症患者在接受常规西医治疗的基础上合并注射用益气复脉(冻干),治愈率显著提高,外周血中CD4⁺T细胞比例显著回升^[9];合并生脉注射液可以提高休克复苏疗效,降低血清乳酸浓度^[10]。动物研究表明,注射用益气复脉(冻干)通过抑制TLR4-mTOR自噬通路,减轻脓毒症急性肺损伤^[11];生脉注射液上调肠道紧密连接蛋白表达抵抗脓毒症^[12]。但SMF能否改善脓毒症多器官衰竭,发挥免疫调节功能及其作用机制仍不明确。

肠道菌群与脓毒症之间存在紧密联系。肠道菌群失调可能导致致病菌丰度增加和肠道屏障通

透性增加,进而导致来源于肠道细菌的能够刺激TLR4的蛋白或脂质分子移位至体循环,增加脓毒症易感性^[13]。研究表明,生脉散通过提高大鼠肠道菌群 α 多样性和双歧杆菌、乳杆菌、芽孢杆菌科相对丰度,改善大鼠脾虚症状^[14];灯盏生脉通过调节肠道菌群组成,上调短链脂肪酸水平,通过调控PI3K/AKT/caspase-3通路抑制神经细胞凋亡,同时具有保护肠道屏障的功能^[15]。但SMF能否通过调节肠道菌群稳态治疗脓毒症尚不清楚。

本研究考察了SMF对脓毒症组织损伤、炎症响应和免疫调节的作用,探究SMF能否通过调节小鼠肠道菌群改善脓毒症,为中药复方防治脓毒症提供一定的研究基础和参考。

1 材料

1.1 试剂

红参提取物(吉林长青参业有限公司);麦冬提取物、五味子提取物(正大青春宝药业有限公司);脂多糖(LPS O111:B4)、2,2,2-三溴乙醇(美国Sigma公司);肝素钠、氨苄青霉素钠、甲硝唑、硫酸新霉素、盐酸万古霉素[阿拉丁试剂(上海)有限公司];小鼠IL-6 ELISA试剂盒、小鼠TNF- α ELISA试剂盒(杭州联科生物科技股份有限公司);谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素氮、肌酐测定试剂盒(南京建成生物工程研究所);红细胞裂解液、CD16/32、Ly6C-APC、Ly6G-PerCP-Cy5.5、CD11b-BV605、CD45-Pacific Blue、CD11c-AF700、F4/80-PE抗体(美国Biolegend公司);其他试剂均为市售分析纯。

1.2 仪器

SQP精密电子天平(德国Sartorius公司);DM6B正置显微镜(德国Leica公司);Synergy H1多功能酶标仪(美国BioTek公司);BD FACSelecta(美

国BD Bioscience公司)。

1.3 动物

SPF级C57BL/6, 5周龄(18~20 g), 雄性, 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司, 生产许可证号SCXK(沪)2022-0004。小鼠饲养于独立通风笼盒, 实验室温度24~26℃, 相对湿度60%~80%, 每小时空气交换次数10~12次, 保持12 h昼夜交替。所有动物实验均符合动物伦理委员会标准。

2 方法

2.1 分组与给药

红参、麦冬和五味子提取物按药材重量比1:1.5:3混合为SMF, 用生理盐水配制为澄清溶液。5周龄C57小鼠适应性饲养1周。对于小鼠随机分为6组: 对照组、模型组、低剂量SMF灌胃组(0.3 g/kg)、中剂量SMF灌胃组(0.6 g/kg)、高剂量SMF灌胃组(1.2 g/kg)和SMF腹腔注射组0.6 g/kg; 每组取14只进行生存率考察。中剂量换算自临床SMF用量(人体重按70 kg计算, 体表面积换算系数为9.1)。流式细胞术检测、抗生素处理和粪菌移植实验SMF给药剂量均为0.6 g/kg。SMY每日给药1次, 连续4 d。对照组和模型组给予等量生理盐水。

2.2 小鼠脓毒症模型构建

2.2.1 LPS模型 LPS用生理盐水配制为2 mg/mL。小鼠最后一次给药30 min后腹腔注射20 mg/kg LPS, 对照组给予等量生理盐水。24 h后眼眶取血, 室温静置1 h后6 000 r/min离心10 min收集血清; 收集左侧肝、肺、肾组织固定于4%多聚甲醛。对于流式检测, 全血使用1%肝素钠溶液抗凝。

2.2.2 盲肠结扎穿刺(CLP)模型 小鼠最后一次给药30 min后, 腹腔注射2.5%三溴乙醇溶液(0.01 mL/g体重)麻醉, 固定于37℃加热垫上, 腹部备皮, 沿腹中线剪开1 cm切口, 分离盲肠, 于盲肠50%处使用4-0缝合线结扎。21 G针头由血管侧向非血管侧刺穿盲肠1次, 避开血管, 轻轻挤压盲肠流出少量内容物, 将盲肠送回腹中缝合, 碘酒消毒。假手术组开腹取出盲肠后即送回并关腹缝合。小鼠术后于加热垫上苏醒, 移回鼠笼自由饮水和进食。术后24 h, 全血使用1%肝素钠溶液抗凝, 进行流式检测。

2.3 生存曲线的绘制

小鼠腹腔注射20 mg/kg LPS溶液后, 于6, 12, 24, 48, 72, 96 h记录各组生存情况, 绘制生存曲线。

2.4 H&E染色

4%多聚甲醛中固定的肝、肺、肾组织, 经梯度脱水、石蜡包埋、切片、复水和染色后, 使用正置显微镜(200×)观察组织病理改变并拍摄照片。

2.5 血清炎症因子检测

按制造商说明, 使用酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒检测小鼠血清IL-6、TNF-α水平。

2.6 血生化指标检测

按制造商说明, 使用生化指标测定试剂盒检测小鼠血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、尿素氮(BUN)和肌酐(Cr)水平。

2.7 流式细胞术检测外周血固有免疫细胞

1%肝素钠抗凝血加入20倍体积1X红细胞裂解液, 室温避光孵育10 min。2 300 r/min离心5 min, 弃上清液, PBS 1 mL重悬, 加入CD16/32抗体0.5 μL, 吹打混匀, 室温孵育10 min, 每管加入荧光抗体(Ly6C-APC、Ly6G-PerCP-Cy5.5、CD11b-BV605、CD45-Pacific Blue、CD11c-AF700、F4/80-PE)各0.5 μL, 避光孵育30 min, BD FACSelesta上机检测。画门策略: 中性粒细胞CD45⁺Ly6G⁺CD11b⁺; 巨噬细胞CD45⁺Ly6G⁻CD11b⁺F4/80⁺; 单核细胞CD45⁺Ly6G⁻F4/80⁻Ly6C⁺CD11b⁺CD11c⁻。

2.8 抗生素(ABX)处理

根据Wang等^[16]描述的方法改进, 对于图4, ABX组小鼠给予氨苄青霉素钠(100 mg/kg)、甲硝唑(100 mg/kg)、硫酸新霉素(100 mg/kg)和盐酸万古霉素(50 mg/kg), 使用超纯水配制, 每日灌胃1次, 直至模型结束; SPF组小鼠给予等量超纯水灌胃。对于图5, 各组受体鼠ABX灌胃7 d后自由饮水3 d, 清除抗生素残留效应。

2.9 粪菌移植(FMT)

根据Zhang等^[17]描述的方法改进, 供体鼠每天灌胃SMF 0.6 g/kg, 连续14 d; 对照组和模型组灌胃生理盐水。于第7天开始, 每天收集各组供体鼠粪便, 用生理盐水配制为100 mg/mL, 涡旋振荡5 min, 3 000 r/min离心5 min, 取上清液, 对应灌胃至ABX处理结束的受体鼠(0.01 mL/g), 每日1次; ABX组和ABX+LPS组灌胃生理盐水。各模型组于供体鼠最后一次给药和受体鼠最后一次FMT后

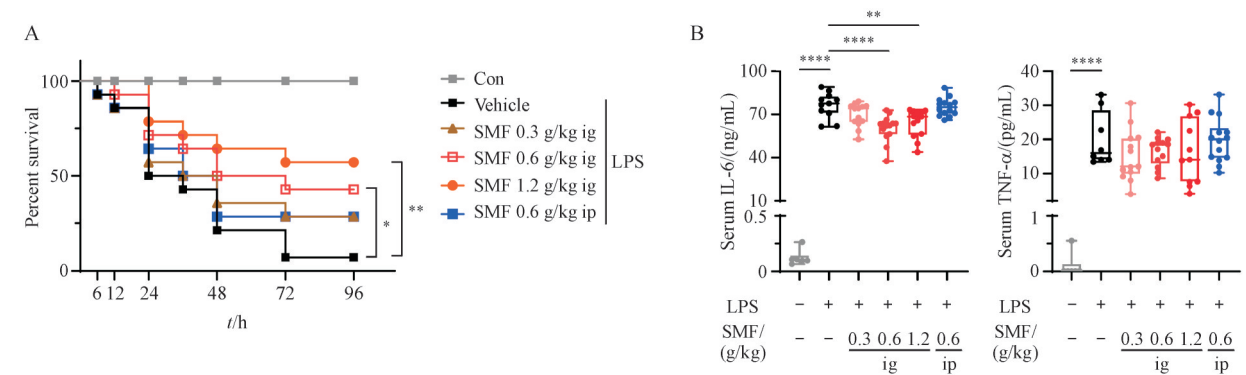


Figure 1 Gavage administration of *Shengmai* formula (SMF) improved the survival rate and reduced serum inflammatory factors of LPS-induced septic mice
A: Survival analyses of mice during 96 h after LPS injection; B: Levels of serum IL-6, TNF-α from each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 28$)
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$

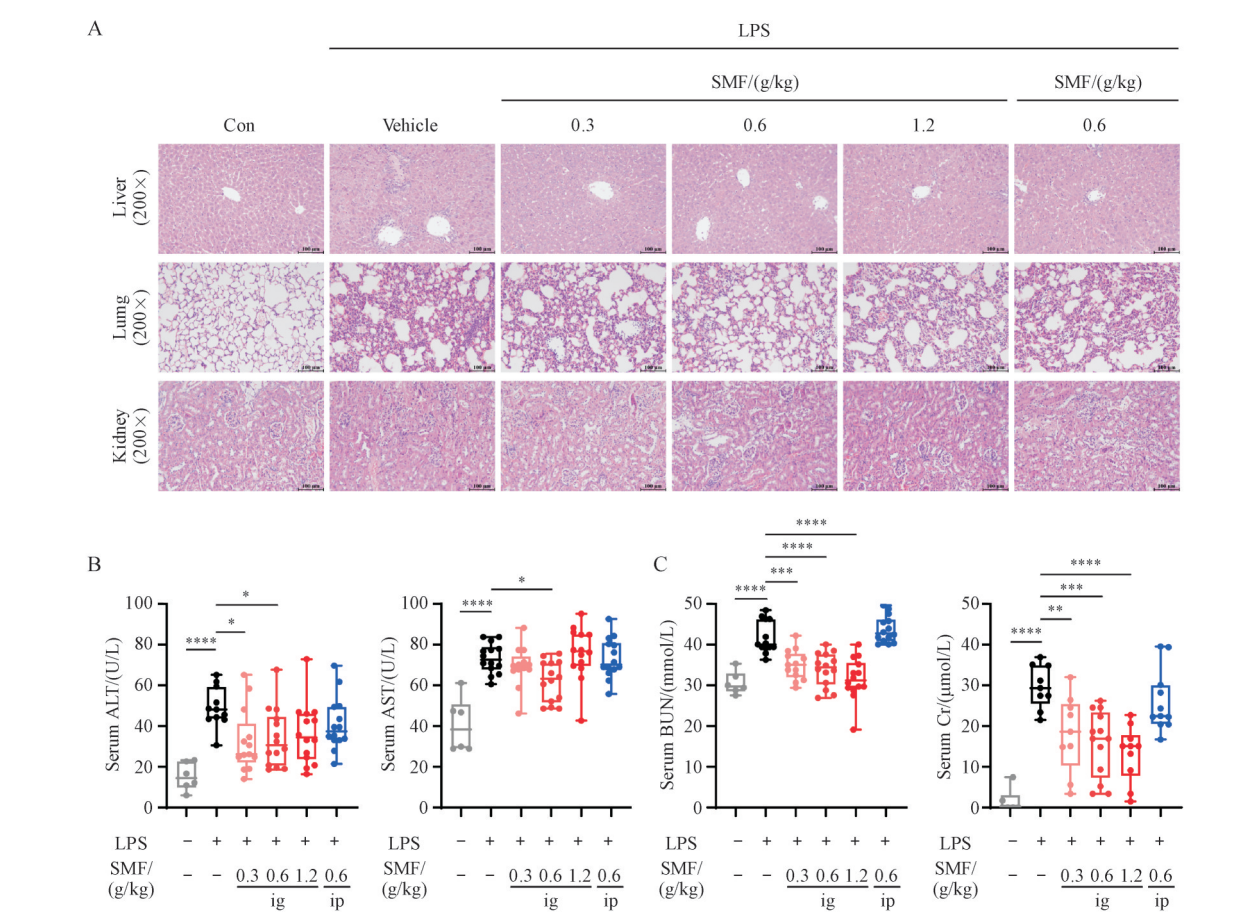


Figure 2 Gavage administration of SMF alleviated tissue damages of LPS-induced septic mice
A: Representative images of the hematoxylin and eosin-stained livers, lungs and kidneys (200 ×) from each group; B-C: Levels of serum ALT, AST, BUN and Cr from each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 28$)
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$

30 min腹腔注射LPS,考察24 h药效指标。

2.10 统计分析

所有数据统计分析均使用 GraphPad Prism 8.0,各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组样本之间采用单

因素方差分析(One-way ANOVA);对于图4,多组样本间采用双因素方差分析(Two-way ANOVA)。定义 $P < 0.05$ 具有统计学意义。

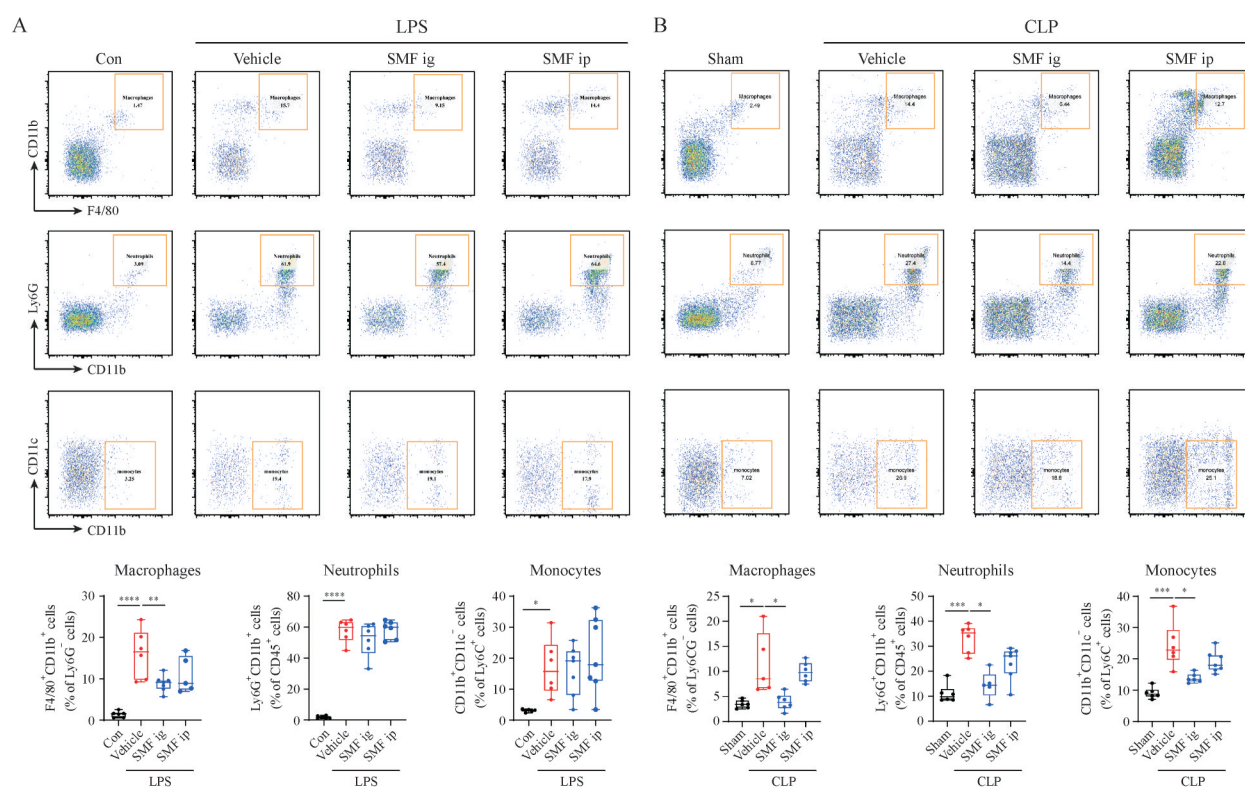


Figure 3 Gavage administration of SMF reduced the proportion of peripheral macrophages, neutrophils and monocytes of LPS (A) or CLP (B) induced septic mice. Representative flow cytometry scatter diagrams of each group are shown with gates ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$

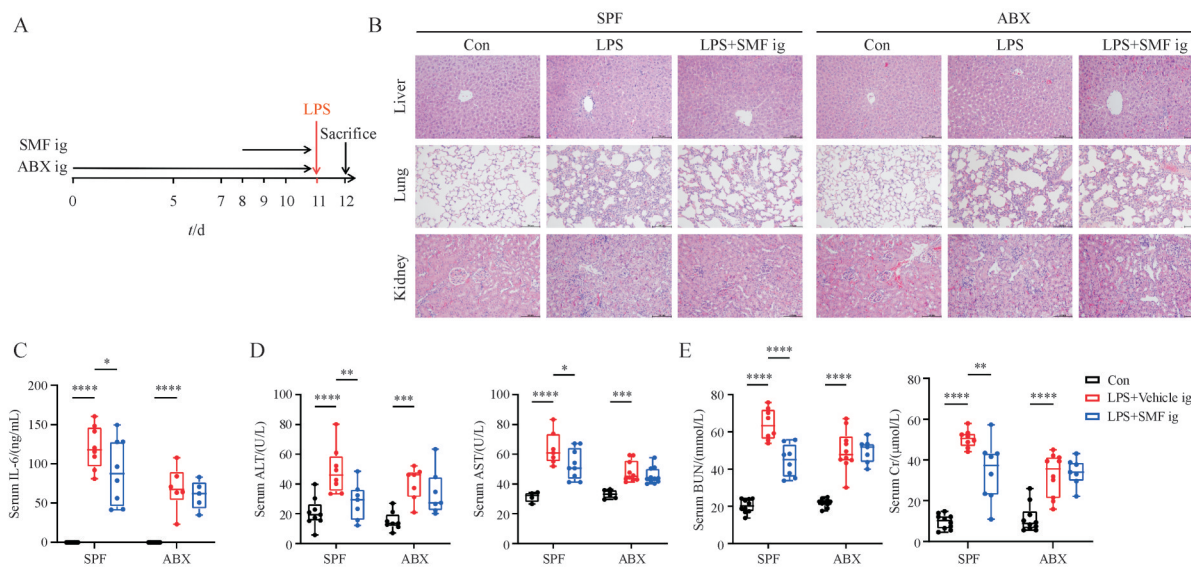


Figure 4 Gut microbiota mediates the therapeutic effect of SMF in septic mice

A: Schematic illustration of the experimental design; B: Representative images of the hematoxylin and eosin-stained livers, lungs and kidneys (200 $\times$) from each group; C-E: Serum levels of IL-6, ALT, AST, BUN and Cr from each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ SPF: Specific pathogen free; ABX: Antibiotic cocktail

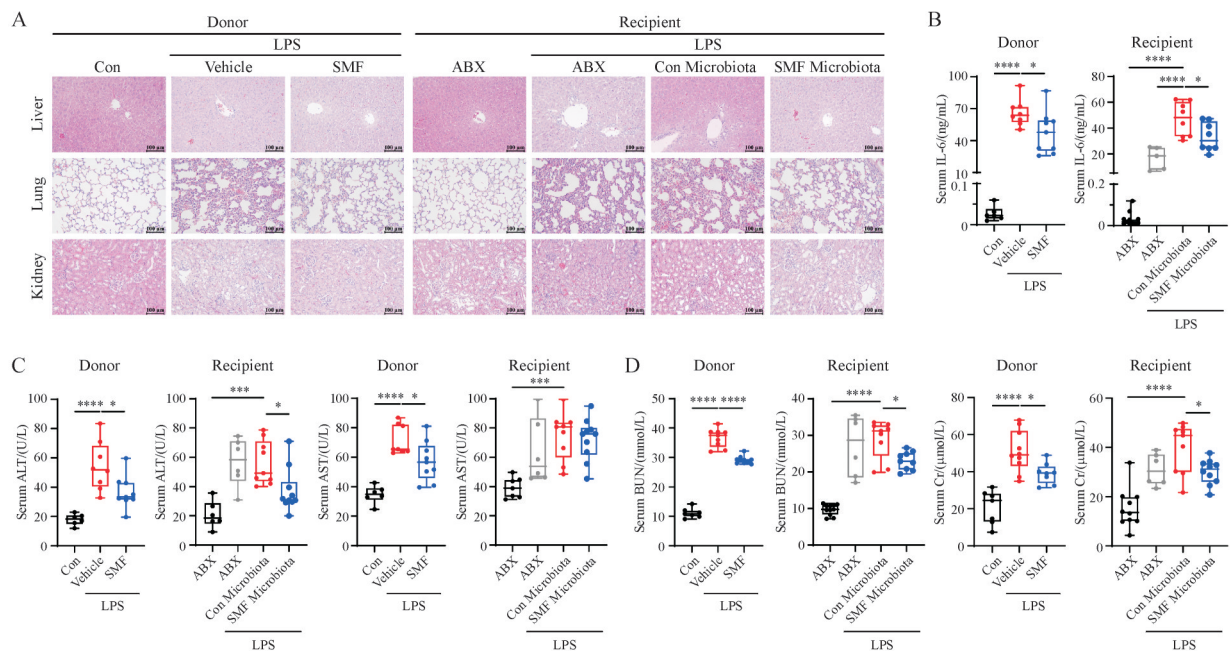


Figure 5 Fecal microbiota transplantation (FMT) ameliorates the LPS-induced sepsis in recipients

A: Representative images of the hematoxylin and eosin-stained livers, lungs and kidneys (200 ×) from each group; B-D: Serum levels of IL-6, ALT, AST, BUN and Cr from each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$

3 结果

3.1 灌胃 SMF 提高脓毒症小鼠生存率,降低血清炎症因子水平

构建小鼠 LPS 模型,考察 SMF 灌胃或腹腔注射对脓毒症小鼠生存率、血清炎症因子水平的影响。模型组给予 LPS 后 96 h 生存率为 7%,中、高剂量 SMF 灌胃小鼠 96 h 生存率为 43% 和 57%,与模型组相比显著提高(图 1-A)。给予 LPS 后 24 h 血清 IL-6、TNF- α 水平显著升高,中、高剂量 SMF 灌胃显著降低血清 IL-6 水平,对 TNF- α 无明显作用(图 1-B)。SMF 腹腔注射对脓毒症小鼠生存率和血清炎症因子均无显著影响。

3.2 灌胃 SMF 减轻脓毒症小鼠组织损伤

组织切片 H&E 染色结果显示,与对照组相比,给予 LPS 后 24 h 后模型组肝脏可见细胞坏死和细胞排列紊乱,中央静脉周围可见炎性浸润;肺脏可见肺泡水肿和周围炎性浸润;肾脏可见肾小球水肿和周围炎性浸润。中剂量 SMF 灌胃显著减轻肺泡水肿和周围炎性浸润,中、高剂量 SMF 灌胃显著减轻肝、肾损伤和炎性浸润(图 2-A)。给予 LPS 后 24 h 血清肝损伤指标(ALT、AST)和肾损伤指标(BUN、Cr)显著升高,低、中剂量 SMF 灌胃显著降

低血清 ALT、AST 活力,减轻肝损伤(图 2-B);SMF 灌胃显著降低血清 BUN、Cr 水平,缓解肾损伤,且具有剂量依赖性(图 2-C)。SMF 腹腔注射对脓毒症小鼠组织损伤无显著改善作用。

3.3 灌胃 SMF 降低脓毒症小鼠外周血中性粒细胞、单核细胞和巨噬细胞比例

为了考察 SMF 对脓毒症早期外周血固有免疫细胞的调控作用,采用流式细胞术测定 LPS 和 CLP 脓毒症模型小鼠外周血单核、巨噬细胞和中性粒细胞比例变化。LPS 模型小鼠 24 h 外周血单核、巨噬细胞和中性粒细胞比例显著上调,SMF 灌胃显著降低 24 h 外周血巨噬细胞比例,对单核细胞和中性粒细胞比例无显著影响(图 3-A)。CLP 模型小鼠 24 h 外周血单核、巨噬细胞和中性粒细胞比例亦显著升高,SMF 灌胃对单核、巨噬细胞和中性粒细胞均有显著降低作用(图 3-B)。SMF 腹腔注射对 LPS 和 CLP 模型外周血单核、巨噬细胞和中性粒细胞无显著影响。结果表明,SMF 灌胃显著降低脓毒症小鼠外周血固有免疫细胞水平,对脓毒症早期免疫过度激活状态具有潜在的抑制作用。

3.4 肠道菌群介导 SMF 对脓毒症小鼠的治疗作用

对脓毒症小鼠的药效考察发现,SMF 灌胃具

有显著的脓毒症治疗作用和免疫调节作用,而腹腔注射无显著作用。为了验证SMF是否依赖肠道菌群发挥抗脓毒症作用,使用ABX清除小鼠肠道细菌后灌胃给药,考察SMF抗脓毒症药效(图4-A)。组织切片H&E染色结果表明,与模型组相比,SPF组SMF灌胃可显著减轻LPS诱导的肝、肺、肾组织病理损伤和炎性细胞浸润,而ABX组SMF灌胃无显著改善作用(图4-B)。与模型组相比,SPF组SMF灌胃显著降低血清IL-6、ALT、AST、BUN、Cr水平,而ABX组SMF灌胃对上述指标无显著下调作用(图4-C~4-E)。ABX处理后SMF失去抗脓毒症药效,表明SMF灌胃的脓毒症保护作用可能由肠道菌群介导。

3.5 FMT缓解LPS诱导的小鼠脓毒症

为了进一步验证肠道菌群在SMF抗脓毒症中的作用,小鼠经ABX处理后作为受体鼠,移植预给药SMF供体鼠的粪菌后腹腔注射LPS,考察受体鼠是否获得了抗脓毒症表型。组织切片H&E染色结果表明,与模型组相比,SMF灌胃14 d显著的改善供体鼠肝、肺、肾组织损伤和炎性浸润;与移植对照粪菌相比,移植SMF粪菌显著缓解脓毒症受体鼠肝、肺、肾组织病理损伤和炎性细胞浸润(图5-A)。与模型组相比,SMF灌胃14 d显著降低供体鼠血清IL-6、ALT、AST、BUN、Cr水平;与此一致,与移植对照粪菌相比,移植SMF粪菌亦显著下调脓毒症受体鼠血清IL-6、ALT、AST、BUN、Cr水平(图5-B~5-D)。与仅给予ABX的模型组相比,给予对照粪菌并未改善LPS诱导的脓毒症,表明正常小鼠粪菌无脓毒症保护作用。SMF灌胃供体鼠粪菌移植使受体鼠获得抗脓毒症表型,表明SMF作用于肠道菌群,发挥对脓毒症小鼠的治疗作用。

4 讨论

SMF作为临床脓毒症常规西医疗法的辅助手段,能够一定程度增强治疗效果,改善患者预后,但其药理机制尚未完全阐明。本研究基于脓毒症动物模型考察SMF对脓毒症的药效,发现灌胃SMF能够显著提高脓毒症小鼠生存率,降低血清炎症因子,减轻肝、肺、肾组织病理损伤,下调血清组织损伤相关生化指标,且对于肾损伤的改善作用具有显著的剂量依赖性;而SMF腹腔注射不能改善LPS诱导的脓毒症。SMF主要活性成分皂苷

类经口给药生物利用度极低,却有较好的抗脓毒症作用。这表明SMF可能通过调节肠道菌群稳态,或经肠道菌群代谢后产生活性代谢物,发挥抗脓毒症作用。通过ABX处理和FMT初步验证了SMF抗脓毒症组织损伤和炎症风暴的作用由肠道菌群介导。后续将进一步验证SMF对脓毒症小鼠外周血固有免疫细胞比例的调节作用是否依赖于肠道菌群。

脓毒症状态下肠道菌群稳态破坏,菌群组成紊乱,表现为条件致病菌的相对丰度增高,进而导致肠道微生物代谢组的失调^[18-19]。越来越多的证据表明,肠道菌群通过调节肠道内源性代谢(胆汁酸、短链脂肪酸等)、屏障功能(紧密连接和内毒素移位)和免疫防御功能在脓毒症发生发展中发挥至关重要的作用^[20-23]。靶向肠道菌群是治疗脓毒症潜在治疗策略,SMF可能通过调节脓毒症状态下肠道菌群的稳态(包括有益菌和致病菌的相对丰度)、肠道屏障功能和肠道菌群所介导的内源性代谢,减轻组织损伤和炎症响应,发挥免疫调控功能,但目前这种关联缺乏直接的实验证据^[24]。因此未来的工作将集中于肠道微生物组和肠道代谢组的相关性分析,研究SMF主要调节的肠道菌和相关代谢物及其下游信号通路对脓毒症病理进程的影响,以及关联代谢物作为脓毒症不同病理阶段生物标志物的开发。

SMF的物质基础研究表明,复方中主要包括三萜皂苷、甾体皂苷、木脂素类、黄酮类、糖类和有机酸类等物质^[25]。三萜皂苷类物质的抗炎活性已被广泛报道^[26-27];五味子素类具有抗氧化应激活性^[28]。人参皂苷已被证实通过调节肠道菌群稳态改善结肠炎、关节炎等炎症性疾病^[29-30]。未来将重点关注SMF能否通过多种活性组分调节不同肠道菌的相对丰度,进而影响肠道代谢组和肠道免疫环境,发挥多靶点协同效应。这有助于阐明SMF作为抗脓毒症药物的物质基础和分子机制,对临床预防和治疗脓毒症具有重要的研究意义。

References

- [1] Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, *et al.* Developing a new definition and assessing new clinical criteria for septic shock: for the third international consensus definitions for Sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. *JAMA*, 2016, **315**(8): 775-787.

- [2] Xie JF, Wang HL, Kang Y, *et al.* The epidemiology of sepsis in Chinese ICUs: a national cross-sectional survey [J]. *Crit Care Med*, 2020, **48**(3): e209-e218.
- [3] Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, *et al.* Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990—2017: analysis for the Global Burden of Disease Study [J]. *Lancet*, 2020, **395** (10219): 200-211.
- [4] Shappell C, Rhee C, Klompas M. Update on Sepsis epidemiology in the era of COVID-19 [J]. *Semin Respir Crit Care Med*, 2023, **44**(1): 173-184.
- [5] Cecconi M, Evans L, Levy M, *et al.* Sepsis and septic shock [J]. *Lancet*, 2018, **392**(10141): 75-87.
- [6] Singer M. The role of mitochondrial dysfunction in sepsis-induced multi-organ failure [J]. *Virulence*, 2014, **5**(1): 66-72.
- [7] Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, *et al.* Surviving Sepsis campaign: international guidelines for management of Sepsis and septic shock 2021 [J]. *Crit Care Med*, 2021, **49**(11): e1063-e1143.
- [8] Zhang Y, Zhang L, Zhang Y, *et al.* YiQiFuMai Powder injection attenuates coronary artery ligation-induced heart failure through improving mitochondrial function via regulating ROS generation and CaMKII signaling pathways [J]. *Front Pharmacol*, 2019, **10**: 381.
- [9] Xie RF. Effects of early goal-directed therapy combined with *Yiqi Fumai* lyophilized powder on $P_{cv-a}CO_2$ and $ScvO_2$ in patients with septic shock [J]. *Chin J Integr Tradit West Med* (中国中西医结合杂志), 2016, **36**(3): 306-309.
- [10] Cheng C, Yu X. Research progress in Chinese herbal medicines for treatment of Sepsis: pharmacological action, phytochemistry, and pharmacokinetics [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, **22** (20): 11078.
- [11] Pan XW, Xue LX, Zhang JZ, *et al.* Yiqifumai lyophilized injection attenuates Sepsis-induced acute lung injury in mice [J]. *J Emerg Tradit Chin Med* (中国中医急症), 2021, **30**(7): 1129-1133, 1168.
- [12] Lu J, Yu Y, Wang XJ, *et al.* Mechanism of Shengmai injection on anti-Sepsis and protective activities of intestinal mucosal barrier in mice [J]. *Chin J Integr Med*, 2022, **28**(9): 817-822.
- [13] Adelman MW, Woodworth MH, Langelier C, *et al.* The gut microbiome's role in the development, maintenance, and outcomes of sepsis [J]. *Crit Care*, 2020, **24**(1): 278.
- [14] You Y, Luo L, You YY, *et al.* Shengmai Yin formula modulates the gut microbiota of spleen-deficiency rats [J]. *Chin Med*, 2020, **15**: 114.
- [15] Guo HH, Shen HR, Tang MZ, *et al.* Microbiota-derived short-chain fatty acids mediate the effects of Dengzhan Shengmai in ameliorating cerebral ischemia via the gut-brain axis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, **306**: 116158.
- [16] Wang Y, Xu YY, Xu XW, *et al.* *Ginkgo biloba* extract ameliorates atherosclerosis via rebalancing gut flora and microbial metabolism [J]. *Phytother Res*, 2022, **36**(6): 2463-2480.
- [17] Zhang YY, Fan QL, Hou YL, *et al.* *Bacteroides* species differentially modulate depression-like behavior via gut-brain metabolic signaling [J]. *Brain Behav Immun*, 2022, **102**: 11-22.
- [18] Yuan YY, Liu SH, Ding XF, *et al.* Early intestinal microbiota changes in aged and adult mice with sepsis [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, **12**: 1061444.
- [19] Peng YH, Wei JL, Jia XN, *et al.* Changes in the microbiota in different intestinal segments of mice with sepsis [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, **12**: 954347.
- [20] Pan HB, Huo LX, Shen WY, *et al.* Study on the protective effect of berberine treatment on sepsis based on gut microbiota and metabolomic analysis [J]. *Front Nutr*, 2022, **9**: 1049106.
- [21] Lou XR, Xue JF, Shao RF, *et al.* Fecal microbiota transplantation and short-chain fatty acids reduce sepsis mortality by remodeling antibiotic-induced gut microbiota disturbances [J]. *Front Immunol*, 2022, **13**: 1063543.
- [22] Li JX, Chen YQ, Li R, *et al.* Gut microbial metabolite hyodeoxycholic acid targets the TLR4/MD2 complex to attenuate inflammation and protect against sepsis [J]. *Mol Ther*, 2023, **31**(4): 1017-1032.
- [23] Kalra SJS, Shankar H, Mansoori N, *et al.* Antibiotic-resistant bacteria originating from the gut may modulate the mucosal immune response during sepsis and septic shock [J]. *Drug Target Insights*, 2022, **16**: 81-87.
- [24] Klingensmith NJ, Coopersmith CM. The gut as the motor of multiple organ dysfunction in critical illness [J]. *Crit Care Clin*, 2016, **32**(2): 203-212.
- [25] Liu CH, Ju AC, Zhou DZ, *et al.* Simultaneous qualitative and quantitative analysis of multiple chemical constituents in YiQi-FuMai injection by ultra-fast liquid chromatography coupled with ion trap time-of-flight mass spectrometry [J]. *Molecules*, 2016, **21**(5): 640.
- [26] Luo M, Yan DS, Sun QS, *et al.* Ginsenoside Rg1 attenuates cardiomyocyte apoptosis and inflammation via the TLR4/NF- κ B/NLRP3 pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2020, **121**(4): 2994-3004.
- [27] Ma R, Tian JH, Jiang J, *et al.* Inhibitory activities of ginsenosides on the activation of NLRP3 inflammasome [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2016, **47**(5): 614-618.
- [28] Guo LY, Hung TM, Bae KH, *et al.* Anti-inflammatory effects of schisandrin isolated from the fruit of *Schisandra chinensis* Baill [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, **591**(1/2/3): 293-299.
- [29] Sun HJ, Guo YK, Wang HD, *et al.* Gut commensal *Parabacteroides distasonis* alleviates inflammatory arthritis [J]. *Gut*, 2023. doi:10.1136/gutjnl-2022-327756.
- [30] Liu DC, Tian QQ, Liu KJ, *et al.* Ginsenoside Rg3 ameliorates DSS-induced colitis by inhibiting NLRP3 inflammasome activation and regulating microbial homeostasis [J]. *J Agric Food Chem*, 2023, **71**(7): 3472-3483.