

补中益气汤调控肠道微生物群改善地塞米松致小鼠肌少症的实验研究

张菁婧¹ 潘 喆¹ 张禹杰¹ 林佳成² 刘 伟³ 元唯安¹

(1 上海中医药大学附属曙光医院临床研究中心, 上海, 201203; 2 上海中医药大学附属曙光医院科技实验中心, 上海, 201203; 3 上海中医药大学附属曙光医院药学部, 国家中医药管理局中药制剂三级实验室, 上海市中医临床重点实验室, 上海, 201203)

摘要 目的:探究补中益气汤通过调控肠道微生物群治疗地塞米松诱导的肌少症小鼠的药效及作用机制。方法:将35只小鼠随机分为对照组1、模型组1、维生素D组和补中益气汤低(8 g/kg)、高(16 g/kg)剂量组。腹腔注射地塞米松磷酸钠以诱导小鼠肌少症模型。造模14 d后收集小鼠抓力、跑步耐力数据;测量小鼠体重及体成分构成;苏木精-伊红(HE)染色观察肌肉组织病理变化;16S核糖体核糖核酸(16S rRNA)基因测序测定小鼠肠道微生物群的变化。另将35只小鼠随机分为对照组2、模型组2、补中益气汤组、肠道菌群耗竭组和肠道菌群耗竭补中益气汤组。给予小鼠抗生素鸡尾酒溶液14 d以耗竭肠道菌群后,收集小鼠抓力、跑步耐力数据,并用HE染色观察小鼠肌肉组织病理变化。结果:与对照组比较,补中益气汤可改善小鼠运动能力;提高小鼠肌肉组织占比;增加肌肉纤维横截面积,而肠道菌群耗竭后未出现上述明显改善。此外,补中益气汤可以提升小鼠产短链脂肪酸相关的菌群丰度,改善肠道微生物群构成。结论:补中益气汤对地塞米松诱导的小鼠肌少症有改善作用,且需要肠道微生物群的参与。

关键词 补中益气汤;肠道微生物;地塞米松;肌少症;小鼠;药效;作用机制;短链脂肪酸

Effects of Buzhong Yiqi Decoction on Mitigating Dexamethasone-induced Sarcopenia in Mice by Regulating the Intestinal Microbiota

ZHANG Jingjing¹, PAN Zhe¹, ZHANG Yujie¹, LIN Jiacheng², LIU Wei³, YUAN Weian¹

(1 Clinical Research Center, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2 Central Laboratory, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 3 Grade Three Laboratory of Traditional Chinese Medicine Preparations of National Administration of Traditional Chinese Medicine, Department of Pharmacy, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Abstract Objective: To investigate the efficacy and underlying mechanisms of Buzhong Yiqi Decoction in treating dexamethasone-induced sarcopenia in mice through modulation of the intestinal microbiota. **Methods:** Thirty-five mice were randomly assigned to the control group 1, model group 1, vitamin D group, and low-(8 g/kg) and high-dose (16 g/kg) Buzhong Yiqi Decoction groups. Sarcopenia was induced by intraperitoneal injection of dexamethasone sodium phosphate. After 14 days, grip strength and running endurance were measured, body weight and composition were assessed, hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to observe muscle tissue pathology, and 16S ribosomal RNA (16S rRNA) gene sequencing was used to analyze changes in the intestinal microbiota. In a parallel experiment, another 35 mice were randomly assigned to control group 2, model group 2, Buzhong Yiqi Decoction group, intestinal flora-depleted group, and Buzhong Yiqi Decoction with intestinal flora depletion group. Mice in the intestinal flora-depleted groups received a 14-day antibiotic cocktail, after which grip strength and running endurance were measured, and muscle tissue pathology was evaluated by HE staining. **Results:** Compared with the control group, Buzhong Yiqi Decoction improved motor performance, increased the proportion of muscle tissue, and enlarged the cross-sectional area of muscle fibers. These improvements were not observed after intestinal microbiota depletion. Additionally, Buzhong Yiqi Decoction increased the abundance of short-chain fatty acid-producing bacteria and improved the composition of the intestinal microbiota. **Conclusion:** Buzhong Yiqi Decoction ameliorates dexamethasone-induced sarcopenia in mice, and its therapeutic effects require the participation of the intestinal microbiota.

基金项目:国家自然科学基金面上项目(82575089);国家中医药管理局中药创新能力提升项目(BJTH2024-02F-0009);上海市进一步加快中医药传承创新发展三年行动计划(2025—2027年)资助项目[Z Y (2025-2027)-3-1-1];上海市卫健委医学新技术研究与转化种子计划项目(2024ZZ1006);上海市科委科技启明星项目(24QA2709200);上海市自然科学基金项目(25ZR1401335, 24ZR1467100);上海市东方英才计划青年项目(QNWS2024054)

作者简介:张菁婧(2001.03—),女,硕士研究生在读,研究方向:中医骨伤科学,E-mail:1833752651@qq.com

通信作者:元唯安(1980.12—),男,博士,主任医师,研究方向:中医骨伤科学,E-mail:weian_1980@163.com

nal microbiota.

Keywords Buzhong Yiqi Decoction; Intestinal microbiota; Dexamethasone; Sarcopenia; Mice; Efficacy; Mechanism of action; Short chain fatty acid

中图分类号: R255. 6; R274. 9; R285. 5 文献标识码: A doi: 10. 3969/j. issn. 1673 - 7202. 2025. 18. 006

肌少症 (Sarcopenia) 是一种以年龄增长和慢性疾病为诱因的进行性肌肉萎缩综合征, 中国老年人肌少症的总体患病率高达 14%^[1]。其病情进展隐匿, 常伴随代谢紊乱、免疫力下降及跌倒风险增加, 显著降低了患者的生命质量, 加重了医疗负担。肌少症的发病机制复杂, 主要包括蛋白质合成与分解失衡、慢性炎症反应、线粒体功能障碍、激素水平变化、支链氨基酸代谢障碍、神经系统退化、营养不良及慢性疾病等多种因素相互作用^[2]。由于其病理机制的复杂性, 目前尚未研发出治疗肌少症的特效药物。地塞米松是一种长效糖皮质激素类药物, 具有抗炎、免疫抑制等作用, 多用于治疗类风湿关节炎、红斑狼疮、急性白血病、严重支气管哮喘和皮炎等, 也用于某些严重感染及中毒性疾病的综合治疗。然而, 长期使用地塞米松会导致多种不良反应, 研究显示 60% 的患者在使用糖皮质激素治疗后会发肌无力、肌萎缩等肌肉相关疾病^[3]。发病机制可能是地塞米松通过减少蛋白质合成、增加蛋白质分解, 抑制肌肉生长相关信号通路如胰岛素样生长因子 1 (Insulin-like Growth Factor 1, IGF-1)/蛋白激酶 B (Protein Kinase B, AKT)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (Mammalian Target of Rapamycin, mTOR) 通路, 并上调肌肉萎缩相关基因如肌肉萎缩盒 F 基因 (Atrogin-1)、肌肉环状指基因 1 (Muscle RING-finger 1, MuRF-1) 和肌肉生长抑制素 (Myostatin, MSTN) 的表达, 从而导致骨骼肌萎缩和肌力下降^[4-5]。一方面, 糖皮质激素可以通过激活泛素-蛋白酶体系统促进肌肉分解, 抑制 mTOR 信号通路阻碍蛋白质合成^[6]; 另一方面, 其引起的代谢综合征如胰岛素抵抗、脂质代谢异常等会进一步加剧肌肉能量危机^[7]。

研究显示肠道微生物群失调与代谢紊乱及肌肉功能障碍密切相关。肠道菌群不仅参与营养物质的吸收与能量代谢, 还可通过短链脂肪酸 (Short Chain Fatty Acids, SCFAs) 等活性代谢产物、细胞因子及神经信号参与调控宿主代谢与免疫稳态^[8]。其失衡可诱发慢性低度炎症反应、线粒体功能障碍及肌肉纤维萎缩。然而, 上述机制的时序关联及精准调控靶点仍不明确。菌群失衡已被证实与多种疾病模型中的炎症反应^[9]、胰岛素抵抗及肌肉萎缩密切相关。

补中益气汤 (Buzhong Yiqi Decoction, BYD) 作为经典中医方剂, 常用于治疗气虚证相关疾病如疲劳、肌无力等, 其抗炎、免疫调节及代谢调控作用已获得现代药理学证实^[10-11]。同时, 近期研究发现 BYD 可通过重塑肠道菌群结构及恢复代谢稳态发挥疾病治疗作用^[12], 但其能否通过调节肠道菌群改善糖皮质激素诱导的肌少症尚未可知。因此, 本研究旨在探究 BYD 对地塞米松所致小鼠肌少症的治疗作用, 并结合 16S 核糖体核糖核酸 (16S Ribosomal Ribonucleic Acid, 16S rRNA) 基因测序及分子生物学技术, 探索 BYD 是否通过调节肠道菌群组成、促进 SCFAs 生成并抑制系统性炎症反应, 从而缓解肌肉萎缩及代谢异常, 以期基于肠道菌群的肌少症防治策略提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 无特定病原体 (Specific Pathogen Free, SPF) 级 10 周龄雄性 C57BL/6 小鼠 82 只, 体重 (22.0 ± 2.0) g, 均购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物生产许可证号: SCXK (京) 2021-0006。实验动物饲养于上海中医药大学实验动物中心, 环境温度 (26 ± 1) °C, 相对湿度 40% ~ 70%, 12 h 光照/黑暗昼夜循环, 给予无菌饲料及无菌水。本实验方案经上海中医药大学实验动物伦理委员会批准 (伦理审批号: PZSHUTCM2504250006)。

1.1.2 药物 BYD 组方: 黄芪 18 g (批号: 240828)、人参 6 g (批号: 240815)、白术 9 g (批号: 241007)、炙甘草 9 g (批号: 241106)、当归 3 g (批号: 241014)、升麻 6 g (批号: 240315) 购自上海虹桥中药饮片有限公司, 陈皮 6 g (上海养和堂中药饮片有限公司, 批号: 2024112707)、柴胡 6 g (上海华浦中药饮片有限公司, 批号: 2024072605), 上述饮片由上海中医药大学附属曙光医院药剂科提供。地塞米松磷酸钠 (上海源叶生物科技有限公司, 货号: S24442); 甲硝唑 (货号: MB2200)、氨苄青霉素钠 (货号: MB1378)、硫酸新霉素 (货号: MB1716)、盐酸万古霉素 (货号: MB1260) 购自大连美仑生物技术有限公司; 骨化三醇胶丸 (Catalent Germany Eberbach GmbH, 德国, 注册证号: H20140598, 货号: B4482B01, 规

格:0.25 $\mu\text{g}/\text{粒}$)。

1.1.3 试剂与仪器 磁珠法游离脱氧核糖核酸提取试剂盒(MagPure Circulating Deoxyribonucleic Acid LQ Kit)提取试剂盒(上海迈跟生物科技有限公司,货号:D6356-02);双链DNA超敏检测试剂盒(Qubit dsDNA)(赛默飞世尔科技公司,货号:Q32854);多功能PCR酶(Tks Gflex™ DNA Polymerase)(Takara Holding Inc,日本,货号:R060A);苏木精-伊红(Hematoxylin-eosin, HE)染液(武汉赛维尔生物科技有限公司,货号:G1005);4%多聚甲醛固定液[科量生物科技(上海)有限公司,货号:BL539A]。双能X线骨密度仪[通用电气医疗系统(中国)有限公司,型号:DPX-NT];小动物跑步机(北京众实迪科技发展有限公司,型号:ZS-PT-IV)、小鼠抓力测试仪(北京众实迪科技发展有限公司,型号:ZS-ZL);病理切片机、摊片机、正置双目生物显微镜(Leica公司,德国,型号分别为RM2125 RTS、HI1210、DM6);台式高速离心机(Eppendorf公司,德国,型号:5430R)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 实验1:参考文献[13]中地塞米松诱导肌少症模型的实验方法,进行预实验,适应性喂养小鼠7 d后,将12只小鼠按照体质量使用区组随机化法分为对照组和模型组,每组6只,模型组每天给予地塞米松磷酸钠(20 mg/kg)腹腔注射造模,自造模第8天开始,每2天使用简单随机化法随机抽取对照组和模型组各2只小鼠进行病理检查,判断造模是否成功。正式实验时,适应性喂养小鼠7 d,将35只小鼠按照体质量使用区组随机化法分为对照组1、模型组1、BYD低剂量(BYD-L)组、BYD高剂量(BYD-H)组、维生素D(Vit D)组,每组7只。除对照组外,其余各组每天给予地塞米松磷酸钠(20 mg/kg)腹腔注射造模,连续14 d。

实验2:参考文献[14]中耗竭小鼠肠道菌群的方法,适应性喂养小鼠7 d后,将35只小鼠随机分为对照组2、模型组2、BYD组、肠菌耗竭(ABX)组、肠菌耗竭BYD(ABX-BYD)组,每组7只。肠菌耗竭各组小鼠给予抗生素灌胃给药造模,2次/d,连续14 d,第15天起肠菌耗竭各组给予抗生素灌胃,1次/d。除对照组外,其余各组每天给予地塞米松磷酸钠(20 mg/kg)腹腔注射造模,连续14 d。

1.2.2 给药方法 药物制备。1)BYD:取1.1.2项下5倍量的中药饮片,第1次以1:10的比例加入3150 mL纯净水,浸泡30 min,武火煮沸后转文火再

煮45 min,煮好的药液用8号筛滤过。第2次以1:8的比例加入2520 mL纯净水,武火煮沸转文火30 min,煮好的药液用8号筛滤过。合并2次药液,旋转蒸发仪60 $^{\circ}\text{C}$, -0.09 MPa减压浓缩。2)抗生素鸡尾酒溶液:称取50 mg甲硝唑、50 mg氨苄青霉素钠、50 mg硫酸新霉素、25 mg盐酸万古霉素溶于50 mL生理盐水中配置成抗生素溶液。3)地塞米松磷酸钠溶液:称取0.1 g,溶于50 mL生理盐水中,配置成质量浓度为2 g/L的溶液。4)维生素D油溶液:取骨化三醇胶丸2粒,将胶丸内容物溶于50 mL玉米油中。

实验1:造模同时给予对照组1生理盐水(10 mL/kg)灌胃, Vit D组给予骨化三醇(0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$)灌胃, BYD-L、BYD-H组分别给予8、16 g/kg(相当于60 kg成人每天剂量的1、2倍)BYD灌胃,1次/d,连续14 d。见图1。

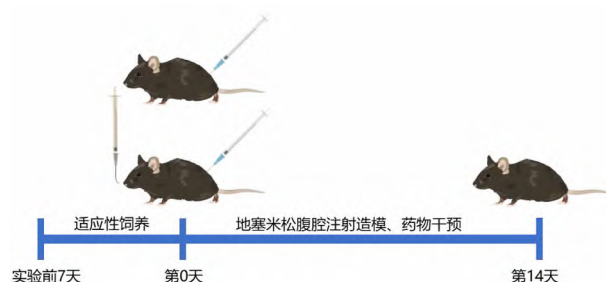


图1 实验1流程

实验2:第15天起给予NOR组2生理盐水(10 mL/kg)灌胃, BYD、ABX-BYD组给予16 g/kg(相当于60 kg成人每天剂量的2倍)BYD灌胃,1次/d,连续14 d。见图2。

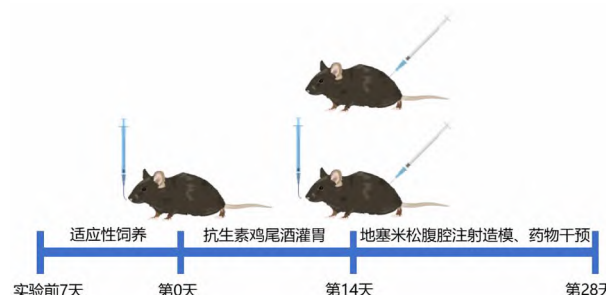


图2 实验2流程

1.2.3 检测指标与方法

1.2.3.1 BYD对肌少症小鼠运动能力的影响 小鼠运动能力通过小鼠抓力测试和跑步机测试进行评估。小鼠抓力测试:将小鼠放置在连接有力传感器的水平金属网格上,使小鼠四肢用力抓住网格,并轻轻向后拉小鼠的尾巴,直至小鼠离开网格,力传感器自动记录小鼠最大抓力值。重复此过程,测试间隔1 min,每只小鼠进行5次抓力测试,并计算其平均

值。小鼠跑步耐力测试:在实验开始前,对小鼠进行跑步机训练,以确保小鼠熟悉跑步机并配合跑步测试。正式实验时的跑步机时速如文献[15]所述,当小鼠连续 3 s 处于疲劳区则视为力竭,立即将小鼠从跑步机上移开,并记录跑步时间。

1.2.3.2 BYD 对肌少症小鼠体质量和体成分的影响 实验开始后每天记录小鼠体质量。处死动物前测量小鼠的身体成分,包括小鼠肌肉质量及含量、脂肪质量及含量,重复测量 3 次,取平均值。

1.2.3.3 BYD 对肌肉组织形态的影响 将肌肉组织固定于 4% 多聚甲醛溶液中,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,制备石蜡切片,予 HE 染色,后用中性树胶封片,使用光学显微镜对组织样本进行成像观察。用 ImageJ 软件对肌肉横截面积进行计算。

1.2.3.4 BYD 对小鼠肠道微生物群的影响 采用 MagPure Soil DNA LQ Kit 试剂盒,依照说明书对样本的基因组 DNA 进行提取。利用 NanoDrop 2000 和琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的浓度和纯度,将提取的 DNA 保存于 -20°C 备用。以提取的基因组 DNA 为模板,使用带 Barcode 的特异引物和 Takara Ex Taq 高保真酶进行细菌 16S rRNA 基因的聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)扩增。采用扩增 16S rRNA 基因的 V3-V4 可变区,用于细菌多样性分析。PCR 扩增产物使用琼脂糖凝胶电泳检测。然后使用 AMPure XP beads 磁珠纯化,纯化后作为 2 轮 PCR 模板,并进行 2 轮 PCR 扩增。并再次使用磁珠纯化,取纯化过的 2 轮产物进行 Qubit 定量,然后调整浓度进行测序。使用 Illumina NovaSeq 6000 测序平台进行测序,并生成 250 bp 双端 Reads。测序由上海欧易生物技术有限公司进行。通过主坐标分析(Principal Co-ordinates Analysis, PCoA)观察个体或群体间的差异,用于研究样本群落组成的相似性或差异性;Alpha 多样性分析反映生物环境内物种的多样性程度;系统发育多样性(Phylogenetic Diversity, PD)指数以衡量微生物群落的多样性。

1.3 统计学方法 采用 IBM SPSS Statistics 25.0 统计软件进行数据分析。计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较采用单因素方差分析,若方差齐性多重比较用 LSD 检验,不齐则用 Tamhane's 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用 GraphPad Prism 8、R studio 作图。

2 结果

2.1 BYD 改善肌少症小鼠的运动能力 模型组 1 小鼠在抓力测试中出现抓力下降的情况;在跑步机

耐力测试中,模型组 1 小鼠的最大跑步时间与对照组 1 比较下降。与模型组 1 比较,BYD-H 组小鼠的运动能力得到明显改善($P < 0.01$)。见图 3。

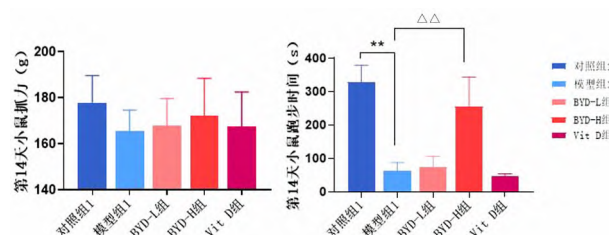


图3 第14天各组小鼠抓力及跑步时间($\bar{x} \pm s, n=7$)

注:与对照组 1 比较, ** $P < 0.01$; 与模型组 1 比较, $\Delta\Delta P < 0.01$

2.2 BYD 提高肌少症小鼠肌肉含量 对各组小鼠的体质量进行分析,发现对照组 1 小鼠的体质量显著高于模型组 1 ($P < 0.01$)。对各组小鼠的体成分进行分析,发现模型组 1 的肌肉含量相较于对照组 1 显著降低($P < 0.01$),而与模型组 1 比较,BYD-L、BYD-H 观察组小鼠的肌肉含量得到提高,且表现出剂量依赖性。第 14 天小鼠体质量及肌肉占比见图 4。

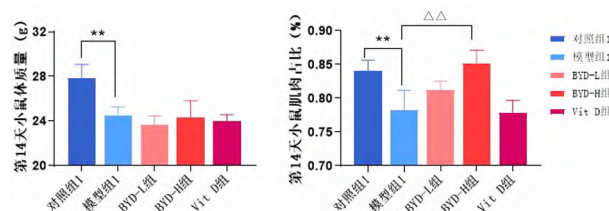
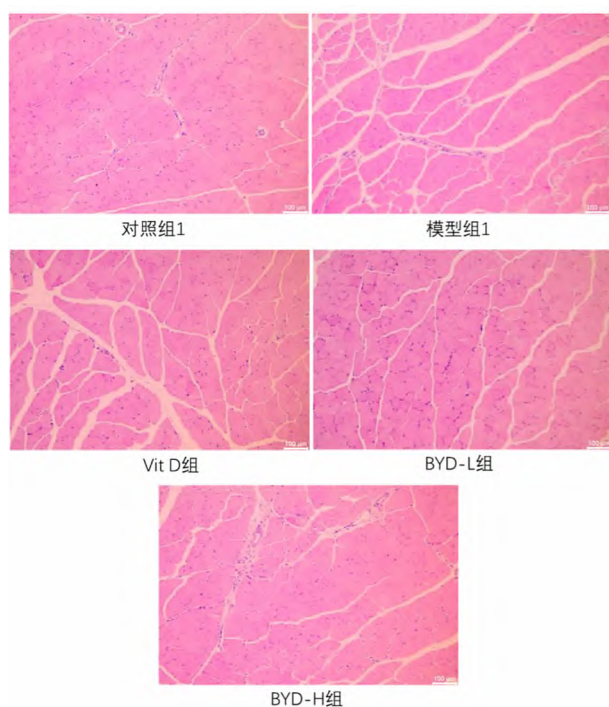
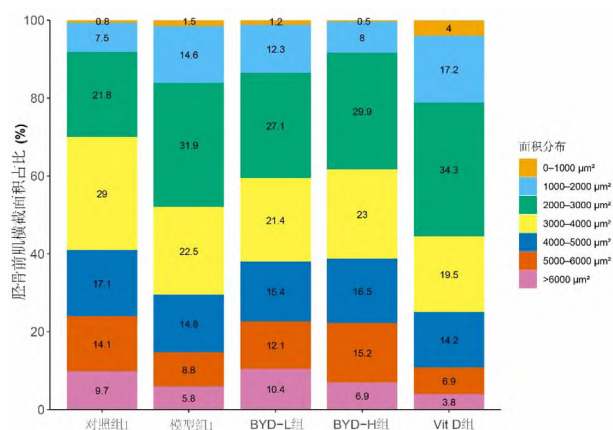


图4 第14天各组小鼠体质量及小鼠肌肉占比($\bar{x} \pm s, n=7$)

注:与对照组 1 比较, ** $P < 0.01$; 与模型组 1 比较, $\Delta\Delta P < 0.01$

2.3 BYD 对肌少症小鼠肌肉组织形态的影响 对小鼠胫骨前肌的病理切片进行 HE 染色后发现,对照组 1 小鼠具有正常的形态学特征,肌纤维呈多边形,大小较一致,排列紧密且规整,细胞核位于肌纤维边缘,呈扁平状,数量较多。而模型组 1 小鼠的肌纤维形态发生改变,为非正常的多边形,大小差异明显,部分肌纤维明显缩小,呈现出散在的空白间隙等,表现出肌肉萎缩的特点。BYD-L、BYD-H 组肌纤维形态趋于规则,原本缩小的肌纤维有所改善,缺失区域明显减少,肌纤维排列更为紧密有序。见图 5。对肌肉横截面积进行计算,发现对照组 1 主要集中于 $2\,000 \sim 4\,000\ \mu\text{m}^2$ 。模型组 1 的肌肉横截面积峰值左移,小纤维比例增加,大纤维比例下降,而 BYD-L、BYD-H 干预后部分好转。见图 6。

2.4 BYD 对肌少症小鼠肠道微生物多样性的分析 为了更直观地探究 BYD 治疗干预对疾病状态下肠道菌群的影响,对模型组 1 和 BYD-H 组进行了肠道微生物的比较。小鼠肠道微生物主坐标分析结

图5 各组胫骨前肌横切面积代表图(HE染色, $\times 100$)图6 各组胫骨前肌横切面积占比($\bar{x} \pm s, n=7$)

果见图7。图中每个点代表1个样本,相同颜色为相同分组,同一组的样本距离越近,并与其他组有明显距离,模型组1和BYD-H组样本点分布在不同区域,无明显重叠,且 $P < 0.01$,说明2组样本的特征差异显著。Alpha多样性分析可以反映生物环境内物种的多样性程度,系统发育多样性(Phylogenetic Diversity, PD)指数主要用于衡量微生物群落的多样性,BYD组的PD_{whole_tree}指数中位数更高。见图8。

2.5 BYD对肌少症小鼠肠道微生物群落结构的影响 在门分类水平,拟杆菌门、厚壁菌门、放线菌门、变形菌为优势菌。与模型组1比较,BYD组的厚壁菌门、变形菌门的相对丰度减少($P < 0.05$),拟杆菌门有所上升,厚壁菌门/拟杆菌门比值有所下降,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。在属水平,

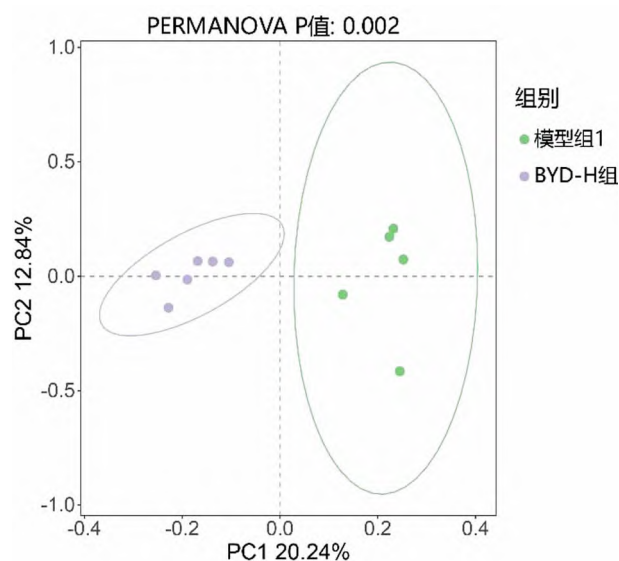
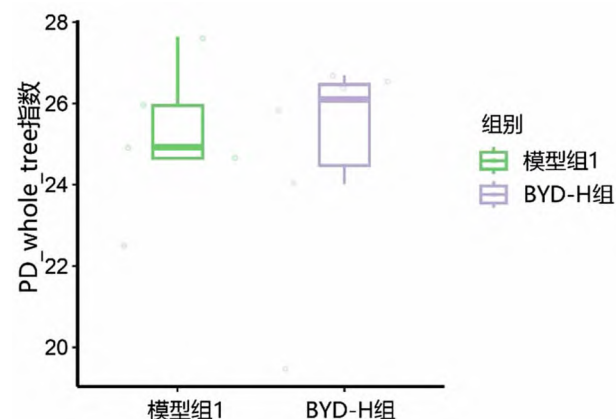


图7 PCoA分析结果

图8 PD_{whole_tree}分析结果

与模型组1比较,BYD-H组小鼠的毛螺菌属(S24-7)、普雷沃氏菌属、毛螺菌属(NK4A136)相对丰度提高($P < 0.05$),杜波氏菌属、副萨特菌属相对丰度减少($P < 0.05$)。见表2。LefSe分析生成的线性判别分析(Linear Discriminant Analysis, LDA)分布柱状图展示了不同观察组间具有显著性差异的微生物类群。不同颜色表示不同组别丰度相对较高的物种,LDA评分越高表明该物种对组间差异的贡献越大。见图9。在模型组1中高度富集的菌群有杜波氏菌属、副萨特氏菌属、瘤胃球菌属等,在BYD-H组中高度富集的菌群有Muribaculaceae、普雷沃氏菌属、毛螺菌属等。

2.6 肠道微生物耗竭抑制BYD改善肌少症小鼠运动能力 在肠道微生物耗竭后,小鼠的运动能力下降。补充与对照组2比较,** $P < 0.01$;与模型组2比较,* $P < 0.05$ 相关内容。与对照组2比较,模型组2及ABX组的小鼠跑步时间显著下降,** $P < 0.01$,与模型组2比较BYD组的跑步时间提升,

表 1 小鼠肠道菌群门水平相对丰度前 5 特征菌($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	拟杆菌门	厚壁菌门	放线菌门	变形菌门	脱铁杆菌门	厚壁菌门/拟杆菌门
模型组 1	0.50 ± 0.12	0.33 ± 0.05	0.10 ± 0.08	0.05 ± 0.01	0.02 ± 0.03	0.75 ± 0.41
BYD-H 组	0.61 ± 0.09	0.25 ± 0.04 *	0.11 ± 0.08	0.02 ± 0.01 *	0.01 ± 0.01	0.43 ± 0.11

注:与模型组比较, * $P < 0.05$

表 2 小鼠肠道菌群属水平相对丰度前 12 特征菌($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	毛螺菌属(S24-7)	双歧杆菌属	拟杆菌属	杜波氏菌属	乳杆菌属	副拟杆菌属
模型组 1	0.29 ± 0.05	0.09 ± 0.09	0.05 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.05 ± 0.03
BYD-H 组	0.36 ± 0.05 *	0.09 ± 0.08	0.06 ± 0.02	0.01 ± 0.01 *	0.05 ± 0.02	0.04 ± 0.06

组别	普雷沃氏菌属	毛螺菌属(NK4A136)	副萨特菌属	毛杆菌	另枝菌属	粘螺旋菌属
模型组 1	0.05 ± 0.02	0.02 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.04
BYD-H 组	0.10 ± 0.07 *	0.04 ± 0.01 **	0.02 ± 0.01 *	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

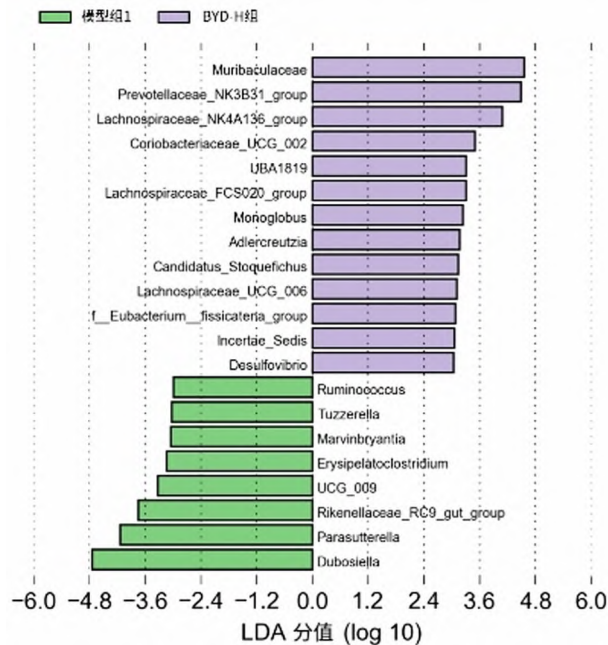


图 9 LDA 分布柱状图

* $P < 0.05$; 而 ABX-BYD 组与 ABX 组相比, 运动能力未出现提升。见图 10。在跑步机耐力测试中, BYD 组的跑步时间得到提升, 而肠道菌群耗竭后, 给予同等剂量的 BYD, 在相同的条件下 ABX-BYD 组小鼠的跑步时间并未改变, 且小鼠抓力情况相较于 ABX 组也未改善。

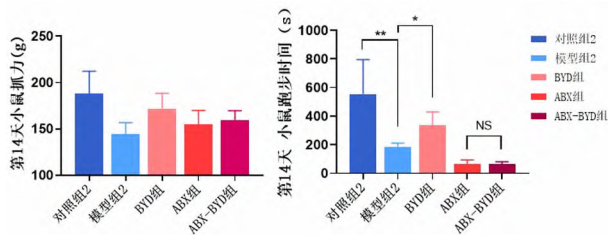


图 10 第 14 天各组小鼠抓力及跑步时间($\bar{x} \pm s, n = 7$)

注:与对照组 2 比较, ** $P < 0.01$; 与模型组 2 比较, * $P < 0.05$

2.7 肠道微生物耗竭抑制补中益气对肌少症小鼠

肌肉组织形态的影响 观察小鼠胫骨前肌的病理切片后发现, ABX 干预后, 可进一步导致小鼠肌肉萎缩和肌纤维形态发生改变, 肌纤维缺失的区域增大, 出现散在的空白间隙, 且给予 BYD 干预后 ABX-BYD 组的情况并未得到明显改善。见图 11。对肌肉横截面积进行计算。补充各组结果说明, 发现相较于对照组 2, 模型组 2 及 ABX 组的肌肉横截面积峰值左移, 小纤维比例增加, 大纤维比例下降, 而 BYD 干预后部分好转, 2 000 μm^2 以下的肌肉纤维占比下降, 主要集中在 3 000 ~ 6 000 μm^2 ; 而 ABX-BYD 组改善不显著。见图 12。发现肠道菌群耗竭后, ABX 组与 ABX-BYD 组的肌肉横截面积占比差异无统计学意义, BYD 改善肌肉组织横截面积的效果消失。

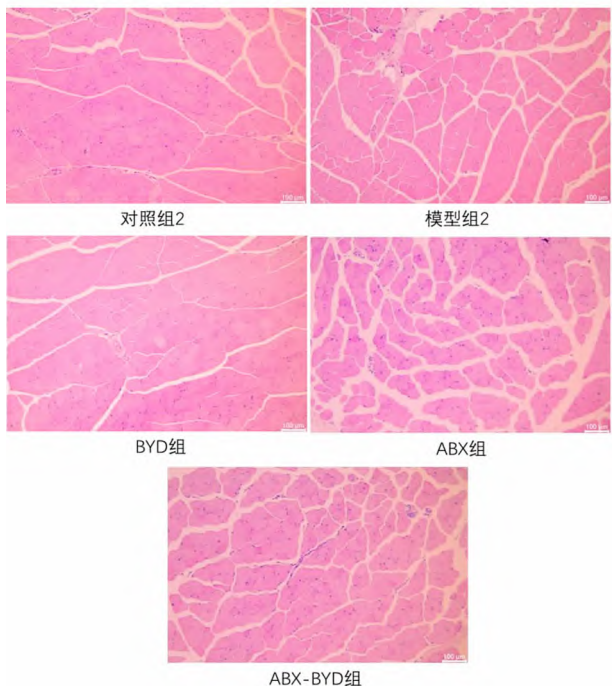


图 11 各组胫骨前肌横切面积代表图 (HE 染色, ×100)

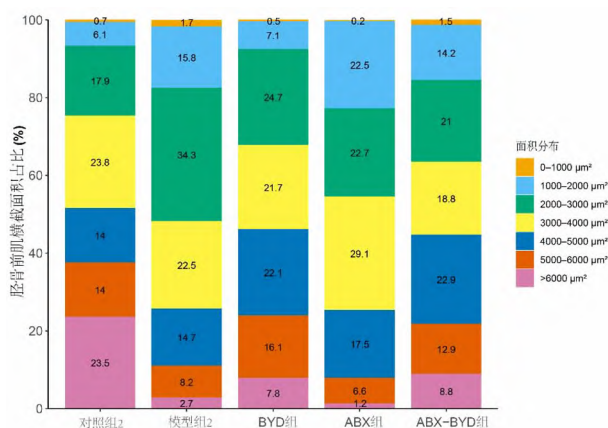


图 12 胫骨前肌横切面积占比分析 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

3 讨论

本研究发现,BYD显著缓解了地塞米松诱导的肌少症小鼠症状,包括小鼠肌肉力量下降、肌肉含量减少及肌纤维萎缩,而肠道微生物群在此过程中发挥了关键媒介作用。通过抗生素耗竭实验发现,清除肠道微生物群后,BYD的治疗效果被显著削弱,表明肠道微生物群是BYD治疗肌少症的必要条件。本结果与既往研究一致,即肠道菌群失衡可通过代谢紊乱、免疫失调及氧化应激加剧肌肉萎缩^[16-17]。

据统计,有1%~2%的人群需要长期应用糖皮质激素进行治疗^[18]。长期使用地塞米松已被证实会诱发多种不良反应,其中以肌少症多见,肌少症会增加跌倒和骨折的风险^[19],进而增加医疗负担。地塞米松可通过促进肌肉萎缩相关基因如Atrogin-1、MuRF1的转录,抑制肥大信号通路如mTOR通路,刺激蛋白质降解并导致肌肉质量下降。此外,长期使用地塞米松还会引发免疫抑制、葡萄糖代谢受损、胰岛素敏感性降低等不良反应^[20],也会影响肌肉的正常功能。因此,探索可以有效缓解地塞米松不良反应的药物对于改善患者的预后和生命质量十分重要。

肌少症多归属于中医学“虚劳”“痿证”等范畴,其核心病机为脾气亏虚,这与地塞米松患者治疗后常见的乏力、纳差、肌肉萎缩等症状高度契合。BYD作为中医经典方剂,源于李杲的《脾胃论》,具有补气健脾、升阳举陷之效,方中黄芪为君药,味甘微温,入脾、肺经,可补脾胃之气,亦能固表止汗;人参、白术、炙甘草为臣药,可增强补气健脾之力;升麻、柴胡升举清阳,协君药以升提下陷之中气;陈皮理气和胃,当归养血和营,共奏调理脾胃之功。研究发现,BYD治疗肌少症具有一定疗效,患者服用BYD后肌肉质量及力量得到提升,身体活动及日常生活能力均明显改善^[21]。实验研究表明,BYD还可以改善

癌症恶病质引起的小鼠肌少症,增加小鼠肌肉质量,协调肌萎缩相关基因和蛋白表达^[22]。此外,BYD可有效降低患者炎症介质如白细胞介素6、肿瘤坏死因子α等的水平^[23]。本研究发现BYD可有效改善地塞米松诱导肌少症小鼠的运动能力,显著缓解了小鼠的肌肉萎缩,恢复了肌肉纤维的形态和结构。从作用机制来看,BYD的疗效可能与其多成分、多靶点的协同作用密切相关。

BYD与肠道菌群之间的互作关系值得深入探讨,既往研究提示BYD可以通过调控肠道菌群治疗疾病^[24]。本研究通过肠道微生物群耗竭实验,证实了BYD需要通过介导肠道微生物群发挥治疗肌少症的作用。通过16S rRNA测序分析发现,在门水平上,BYD提高了拟杆菌门和厚壁菌门的相对丰度;在属水平上,BYD提高了以Muribaculaceae、普雷沃氏菌属、毛螺菌属等菌群为代表的相对丰度。这些菌群可以通过发酵膳食纤维产生乙酸、丙酸、丁酸等SCFAs^[25],其丰度上调与肌肉功能改善呈正相关。厚壁菌门中梭菌属、乳杆菌属、双歧杆菌属,拟杆菌门中拟杆菌属、普雷沃氏菌属这些菌群是肠道内产生SCFAs的主要菌群^[26],这些菌群的上调与肌肉功能的改善呈正相关^[27-28]。SCFAs作为肠道菌群的重要代谢产物,可通过激活G蛋白偶联受体促进肠道内分泌细胞释放胰高血糖素样肽-1(Glucagon-like Peptide-1, GLP-1)^[25, 29-30],进而增强胰岛素敏感性并抑制肌肉蛋白下降。BYD显著富集了产生SCFAs的菌群,这表明BYD可以通过调节肠道菌群结构,富集产生SCFAs菌群的丰度,提升SCFAs产量,从而对肌肉代谢和功能产生有益影响。

本研究发现BYD对地塞米松所致的小鼠肌少症有一定的治疗作用,且通过肠道微生物耗竭实验证实肠道微生物是BYD产生疗效的重要途径,但具体的作用机制仍有待深度探索。关于肠道微生物及其代谢产物是如何靶向肌肉组织,参与肌肉的合成分解过程仍未探明,这也是未来的重要研究方向。

综上所述,本研究为基于肠道菌群的肌少症防治策略提供了新思路,提示BYD可能通过调节肠道微生物群,成为治疗糖皮质激素相关性肌少症的潜在候选药物。

利益冲突声明:无。

参考文献

- [1] XIN C, SUN X, LU L, et al. Prevalence of sarcopenia in older Chinese adults: a systematic review and meta-analysis [J]. BMJ Open, 2021, 11(8): e041879.

- [2] WIEDMER P, JUNG T, CASTRO J P, et al. Sarcopenia-Molecular mechanisms and open questions [J]. *Ageing Res Rev*, 2021, 65: 101200.
- [3] KUZUYA M. Drug-related sarcopenia as a secondary sarcopenia[J]. *Geriatr Gerontol Int*, 2024, 24(2):195-203.
- [4] YOSHIDA T, DELAFONTAINE P. Mechanisms of IGF-1-Mediated Regulation of Skeletal Muscle Hypertrophy and Atrophy [J]. *Cells*, 2020, 9(9):1970.
- [5] LIN J W, HUANG Y M, CHEN Y Q, et al. Dexamethasone accelerates muscle regeneration by modulating kinesin-1-mediated focal adhesion signals[J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1):35.
- [6] LONG W, WEI L, BARRETT E J. Dexamethasone inhibits the stimulation of muscle protein synthesis and PHAS-I and p70 S6-kinase phosphorylation[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001, 280(4): E570-575.
- [7] NICOD N, GIUSTI V, BESSE C, et al. Metabolic adaptations to dexamethasone-induced insulin resistance in healthy volunteers[J]. *Obes Res*, 2003, 11(5):625-631.
- [8] MA J, PIAO X, MAHFUZ S, et al. The interaction among gut microbes, the intestinal barrier and short chain fatty acids[J]. *Anim Nutr*, 2022, 9:159-174.
- [9] PEÑA-DURÁN E, GARCÍA-GALINDO J J, LÓPEZ-MURILLO L D, et al. Microbiota and Inflammatory Markers; A Review of Their Interplay, Clinical Implications, and Metabolic Disorders [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(4):1773.
- [10] 邓逸菲, 李明达, 刘端勇, 等. 补中益气汤的免疫药理及其临床应用研究进展[J]. *中医临床研究*, 2023, 15(7):68-72.
- [11] 李冀, 尹柏坤, 邓夏烨, 等. 补中益气汤实验研究及临床应用进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2021, 23(8):6-10.
- [12] LIU L, HU L, YAO Z, et al. Mucosal immunomodulatory evaluation and chemical profile elucidation of a classical traditional Chinese formula, Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 228:188-199.
- [13] WANG B Y, HSHIAO A W, WONG N, et al. Is dexamethasone-induced muscle atrophy an alternative model for naturally aged sarcopenia model[J]. *J Orthop Translat*, 2023, 39:12-20.
- [14] ZARRINPAR A, CHAIX A, XU Z Z, et al. Antibiotic-induced microbiome depletion alters metabolic homeostasis by affecting gut signaling and colonic metabolism[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):2872.
- [15] DOUGHERTY J P, SPRINGER D A, GERSHENGORN M C. The Treadmill Fatigue Test: A Simple, High-throughput Assay of Fatigue-like Behavior for the Mouse[J]. *J Vis Exp*, 2016(111):54052.
- [16] CHEN S, ZHANG P, DUAN H, et al. Gut microbiota in muscular atrophy development, progression, and treatment: New therapeutic targets and opportunities [J]. *Innovation (Camb)*, 2023, 4(5):100479.
- [17] WANG Y, CHEN Y, ZHANG X, et al. New insights in intestinal oxidative stress damage and the health intervention effects of nutrients: A review[J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 75:104248.
- [18] LAUGESEN K, JØRGENSEN J, PETERSEN I, et al. Fifteen-year nationwide trends in systemic glucocorticoid drug use in Denmark [J]. *Eur J Endocrinol*, 2019, 181(3):267-273.
- [19] COMPSTON J. Glucocorticoid-induced osteoporosis; an update[J]. *Endocrine*, 2018, 61(1):7-16.
- [20] CEA L A, BALBOA E, PUEBLA C, et al. Dexamethasone-induced muscular atrophy is mediated by functional expression of connexin-based hemichannels[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1862(10):1891-1899.
- [21] 吕罗岩, 陈向民, 王建伟, 等. 补中益气汤加减辅助治疗老年肌少症的临床疗效观察[J]. *北方药学*, 2021, 18(11):29-31.
- [22] LI J, ZHANG Y, SU Z, et al. Bu-zhong-yi-qi decoction regulates JNK/c-JUN signaling pathway to improve skeletal muscle atrophy caused by cancer cachexia [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 351:120078.
- [23] 陈颖颖, 温春瑜, 焦其芸. 补中益气汤加减对老年肌少症患者炎症因子的影响[J]. *中国医药科学*, 2021, 11(16):13-16.
- [24] GUO X, YAN Z, WANG J, et al. Effect of traditional chinese medicine (TCM) and its fermentation using *Lactobacillus plantarum* on ceftriaxone sodium-induced dysbacteriotic diarrhea in mice[J]. *Chin Med*, 2022, 17(1):20.
- [25] TOLHURST G, HEFFRON H, LAM Y S, et al. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2[J]. *Diabetes*, 2012, 61(2):364-371.
- [26] FUSCO W, LORENZO M B, CINTONI M, et al. Short-Chain Fatty-Acid-Producing Bacteria; Key Components of the Human Gut Microbiota[J]. *Nutrients*, 2023, 15(9):2211.
- [27] ZHU Y, CHEN B, ZHANG X, et al. Exploration of the Muribaculaceae Family in the Gut Microbiota: Diversity, Metabolism, and Function[J]. *Nutrients*, 2024, 16(16):2660.
- [28] NSHANIAN M, GRUBER J J, GELLER B S, et al. Short-chain fatty acid metabolites propionate and butyrate are unique epigenetic regulatory elements linking diet, metabolism and gene expression[J]. *Nat Metab*, 2025, 7(1):196-211.
- [29] VAN DER HEE B, WELLS J M. Microbial Regulation of Host Physiology by Short-chain Fatty Acids [J]. *Trends Microbiol*, 2021, 29(8):700-712.
- [30] CHRISTIANSEN C B, GABE M B N, SVENDSEN B, et al. The impact of short-chain fatty acids on GLP-1 and PYY secretion from the isolated perfused rat colon [J]. *American Journal of Physiology*, 2018, 315(1 Pt. 1):G53-G65.

(2025-06-20 收稿 本文编辑: 袁伟琛, 张雄杰)