

基于肠道菌群和代谢组学技术研究芍药苷抗高泌乳素血症的作用机制^Δ

林冰淇^{1*}, 魏媛怡², 易云¹, 王春霞^{1#} (1. 南方医科大学南方医院药学部, 广州 510080; 2. 广州医科大学附属妇女儿童医疗中心药学部, 广州 510623)

中图分类号 R965; R285

文献标志码 A

文章编号 1001-0408(2025)13-1610-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.13.10



摘要 **目的** 探讨芍药苷抗高泌乳素血症(HPRL)的作用机制。**方法** 将24只雌性SD大鼠分为空白对照组(灌胃5%阿拉伯胶溶液)、奥氮平组(模型组,灌胃5 mg/kg奥氮平混悬液)、芍药苷组(灌胃5 mg/kg奥氮平混悬液,2 h后再灌胃50 mg/kg芍药苷溶液),每组8只。每天1次,连续造模/给药至奥氮平组血浆泌乳素(PRL)水平高于空白对照组2倍。末次给药后,检测各组大鼠的血浆PRL水平,分析其肠道菌群变化[包括 α 多样性(Simpson、Chao1、Shannon指数)、 β 多样性和物种组成(门/属水平)分析、微生物组学LEfSe分析];进行粪便非靶向代谢组学技术分析(包括多元统计分析、差异代谢物筛选及通路富集分析);采用Spearman相关分析探究差异菌群与粪便差异代谢物的相关性。**结果** 与奥氮平组比较,芍药苷组大鼠血浆PRL水平显著降低($P<0.05$)。16S rRNA高通量测序结果显示,芍药苷可显著改善HPRL大鼠肠道菌群的 α 多样性和 β 多样($P<0.05$),使其趋向于空白对照组。在门水平上,芍药苷可显著降低HPRL大鼠厚壁菌门、脱硫弧菌门的相对丰度,显著升高疣微菌门的相对丰度($P<0.05$);在属水平上,芍药苷可显著逆转HPRL大鼠脱硫弧菌属、异杆菌属、普雷沃氏菌属NK3B31组等相对丰度的变化($P<0.05$)。LEfSe分析结果显示,芍药苷可显著富集放线菌门、葡萄球菌目、棒状杆菌目等菌群($P<0.05$)。共筛选出51个差异代谢物,代谢产物显著聚集于类固醇激素生物合成、前列腺癌、卵巢类固醇生成等代谢通路。相关性分析显示,肠道差异菌属如脱硫弧菌属、气球菌属等的相对丰度与四氢皮质醇、肾上腺甾酮等类固醇激素代谢物含量显著相关($P<0.05$)。**结论** 芍药苷可能通过调节HPRL大鼠肠道菌群结构(包括显著降低脱硫弧菌属、异杆菌属、气球菌属的相对丰度,显著上调瘤胃球菌科UBA1819组、鼠肠杆菌属的相对丰度)、调控类固醇激素生物合成代谢通路来降低PRL水平,从而发挥抗HPRL的作用。

关键词 芍药苷;高泌乳素血症;代谢组学;肠道菌群;泌乳素;差异代谢物

Mechanisms of paeoniflorin in treating hyperprolactinemia based on gut microbiota and metabolomics

LIN Bingqi¹, WEI Yuanyi², YI Yun¹, WANG Chunxia¹ (1. Dept. of Pharmacy, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510080, China; 2. Dept. of Pharmacy, Women and Children's Medical Center Affiliated to Guangzhou Medical University, Guangzhou 510623, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the mechanisms of paeoniflorin (PF) in anti-hyperprolactinemia (HPRL). **METHODS** Twenty-four female SD rats were divided into blank control group (intragastric administration of 5% gum arabic solution), olanzapine group (model group, intragastric administration of 5 mg/kg olanzapine suspension), and PF group (intragastric administration of 5 mg/kg olanzapine suspension, followed by gavaging with 50 mg/kg PF solution 2 hours later) with 8 rats in each group. Once a day, continuously model/administer until the plasma prolactin (PRL) levels in the olanzapine group were twice as high as those in the blank control group. PRL levels were measured. The changes in gut microbiota of rats were analyzed, including assessments of α -diversity (Simpson, Chao1, and Shannon indexes), β -diversity, species composition analysis (at the phylum and genus levels), and microbiome LEfSe analysis. Fecal untargeted metabolomics technology was employed to analyze the effects of PF on the fecal metabolomics of rats, including multivariate statistical analysis, screening of differential metabolites, and pathway enrichment analysis. Spearman correlation analysis was performed to examine the correlations between differential microbiota and differential fecal metabolites. **RESULTS** PF significantly reduced serum PRL levels of rats in olanzapine group ($P<0.05$). 16S rRNA sequencing revealed that PF improved the α -diversity and β -diversity of gut microbiota in HPRL rats ($P<0.05$), restoring them to levels similar to the blank control group. At the phylum level, PF significantly reduced the relative abundance of Firmicutes and Desulfobacterota, while increasing the relative abundance of Verrucomicrobiota in HPRL rats (all $P<0.05$). At the genus level, PF reversed the relative abundance of *Desulfovibrio*, *Allobaculum*, and *Prevotellaceae_NK3B31_group*, etc (all $P<0.05$). The results of LEfSe analysis revealed that PF significantly enriched microbial taxa such as Actinobacteriota,

^Δ 基金项目 国家自然科学基金项目(No.82204702);广州市科技计划项目(No.2025A04J5318)

* 第一作者 硕士研究生。研究方向:中医药治疗高泌乳素血症的药理学研究。E-mail: 805114257@qq.com

通信作者 主任药师,博士生导师,博士。研究方向:中医药防治内分泌代谢疾病的临床与药理学研究。E-mail: wangcx@smu.edu.cn

Staphylococcales, Corynebacteriales, etc (all $P < 0.05$). Metabolomics analysis identified 51 differential metabolites, with key metabolic pathways enriched in steroid hormone biosynthesis, prostate cancer, ovarian steroidogenesis, etc. Correlation analysis showed that the relative abundance of gut microbiota such as *Desulfovibrio* and *Aerococcus* was significantly correlated with the levels of steroid hormone metabolites such as tetrahydrocortisol and adrenosterone ($P < 0.05$). **CONCLUSIONS** PF alleviates PRL by modulating gut microbiota structure in HPRL rats (including significantly reducing the relative abundance of *Desulfovibrio*, *Allobaculum* and *Aerococcus*, as well as significantly increasing the relative abundance of *Ruminococcaceae_UBA1819* and *Muribaculum*), and regulating steroid hormone pathways, then exerting its anti-HPRL effect.

KEYWORDS paeoniflorin; hyperprolactinemia; metabolomics; gut microbiota; prolactin; differential metabolites

高泌乳素血症(hyperprolactinemia, HPRL)是一种常见的危害女性生殖健康的内分泌疾病,可引起异常泌乳、排卵抑制、月经紊乱和骨质疏松等^[1-2]。临床把血清泌乳素(prolactin, PRL)水平 > 25 ng/mL定义为HPRL^[1]。目前,临床治疗HPRL的一线药物主要包括多巴胺D2受体(dopamine D2 receptor, DRD2)激动剂(如溴隐亭及卡麦角林)^[2],但仍有高达25%的HPRL患者对溴隐亭存在抵抗,导致溴隐亭疗效不佳^[3]。

芍药甘草汤源自《伤寒论》,是调理肝脾的著名古方,由白芍和甘草组成,主治津液受损、阴血不足、筋脉失濡所致诸证。国内外专家常用该方加减治疗HPRL,疗效较好,副作用小^[4-5]。本课题组前期研究发现,芍药苷是加味芍药甘草汤中含量最高的有效成分,可以通过调节DRD2以外的靶点来降低PRL水平,从而改善抗精神病药物奥氮平引起的HPRL,但具体机制尚不明确^[6]。近年来有研究表明,肠道菌群失调与HPRL及相关内分泌代谢紊乱的发生密切相关^[7];此外,长期使用奥氮平可导致肠道菌群失调,并进一步促进HPRL^[8],而芍药苷可调节肠道菌群的结构和功能^[9],提示肠道菌群可能是芍药苷治疗HPRL的潜在靶点。基于此,本研究采用奥氮平诱导构建大鼠HPRL模型,结合肠道菌群16S rRNA高通量测序技术和粪便非靶向代谢组学技术,探讨芍药苷治疗HPRL的潜在药效机制,以期为HPRL的治疗提供新策略。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括PowerPac Basic型电泳仪、100™ Thermal Cycler型聚合酶链式反应(PCR)仪(美国Bio-Rad公司),Spark®型多功能酶标仪(瑞士Tecan公司),Q Exactive HF-X型质谱仪、Vanquish™型超高效液相色谱仪、Qubit 3.0型荧光定量仪(美国Thermo Fisher Scientific公司),D3024R型低温离心机(美国Scilogex公司),Illumina Miseq型高通量测序仪(广州基迪奥生物科技有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

芍药苷(原料药,货号P815485,纯度 $\geq 98\%$)、奥氮平(原料药,货号O830525,纯度98%)均购自上海麦克林

生化科技股份有限公司;大鼠PRL酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(货号E-EL-R3006)购自武汉伊莱瑞特科技股份有限公司;BCA蛋白定量试剂盒(货号P0010)购自上海碧云天生物技术有限公司;HiPure Soil DNA提取试剂盒(货号D3143B)购自广州美基生物科技有限公司;5%阿拉伯胶(货号MB1728)购自大连美仑生物技术有限公司;Illumina DNA建库试剂盒(货号13577ES24)购自上海翌圣生物科技有限公司。

1.3 实验动物

SPF级雌性SD大鼠24只,体重180~200 g,购自珠海百试通生物科技有限公司,生产许可证号为SCXK(粤)2020-0051。实验动物饲养于南方医科大学南方医院实验动物中心,环境温度为22~25℃,相对湿度为50%~60%,遵循12 h光照/12 h黑暗的昼夜规律,使动物自由摄食和饮水,以标准实验动物饲料喂养。所有实验符合南方医院实验动物伦理委员会的规定和要求,伦理号为IACUC-LAC-20240508-005。

2 方法

2.1 溶液的配制

芍药苷溶液的制备:精密称取芍药苷1.0 g,加水定容至100 mL,即得。

奥氮平混悬液的制备:精密称取奥氮平原料药100 mg与阿拉伯胶粉末5 g,采用等量递加法混匀后,加水适量研磨至形成均质混悬液,再用水定容至100 mL,即得。

2.2 分组、造模与给药

基于本课题组前期药效学研究结果,50 mg/kg芍药苷可显著改善5 mg/kg奥氮平诱导的HPRL^[10],故本研究采用50 mg/kg芍药苷、5 mg/kg奥氮平进行实验。

适应性饲养后,将24只大鼠随机分为空白对照组、奥氮平组(即模型组)、芍药苷组,每组8只。干预方案如下:每天上午9:00,空白对照组大鼠灌胃等体积5%阿拉伯胶溶液,奥氮平组和芍药苷组大鼠灌胃奥氮平混悬液5 mg/kg;同一天上午11:00,空白对照组和奥氮平组大鼠灌胃等体积水,芍药苷组大鼠灌胃芍药苷溶液50 mg/kg。当奥氮平组大鼠血清PRL水平高于空白对照组2倍时,认为HPRL大鼠模型诱导成功^[1,10]。

2.3 大鼠血浆中PRL水平测定

采用ELISA法测定。末次给药后,将大鼠麻醉(腹腔注射戊巴比妥钠),收集其腹主动脉血5 mL,置于抗凝管中,在4℃下以3 000 r/min离心10 min,分离血浆,使用酶标仪于450 nm波长处检测血浆中PRL水平,严格按照试剂盒说明书操作。

2.4 大鼠肠道菌群分析

2.4.1 样本采集与DNA提取

末次给药后,随机选择每组6只大鼠,轻挤其尾巴根部取粪便,置于无菌冻存管中,经液氮速冻后于-80℃下保存。取上述粪便样品,采用DNA试剂盒提取肠道菌群DNA,经2%琼脂糖凝胶电泳分析测定DNA纯度。

2.4.2 PCR扩增、文库构建及高通量测序

以所提DNA作为模板,扩增16S rRNA基因的V3+V4区。V3上游引物序列为5'-ACTCCTACGGGNGGC-WGCAG-3',V4下游引物序列为5'-GGACTACHVGGTATCTAAT-3'。产物经纯化、定量后,使用Illumina DNA建库试剂盒构建测序文库,并进行高通量测序分析。测序分析由广州基迪奥生物科技有限公司完成。

2.4.3 生物信息学分析

采用R 4.2.3软件对测序数据进行肠道菌群的 α 多样性、 β 多样性、物种组成(门/属水平)、微生物组学LEfSe分析。其中, α 多样性以Simpson、Chao1、Shannon指数为检测指标, β 多样性采用主坐标分析(principal co-ordinates analysis,PCoA),物种组成以相对丰度作为检测指标,以线性判别分析(linear discriminant analysis,LDA)效应值(LDA阈值为2, $P<0.05$)筛选各组间差异具有统计学意义的菌群标志物^[11]。

2.5 粪便非靶向代谢组学分析

2.5.1 样品制备

取“2.4.1”项下冻存的各组大鼠的粪便样本,称取50 mg,置于含有80%甲醇300 μ L的EP管中,以液氮速冻5 min后,在冰上融化、涡旋30 s,再超声6 min;于4℃下以5 000 r/min离心1 min,取上清液至另一EP管中,冻干成粉;取上述冻干粉适量,以10%甲醇溶液溶解,进行液相色谱-串联质谱分析。

2.5.2 色谱与质谱条件

色谱柱为Hypersil Gold C₁₈(100 mm $\times$ 2.1 mm,1.9 μ m);流动相A为水、25 mmol/L乙酸铵、25 mmol/L氨水混合溶液(体积比为94:5:1),流动相B为乙腈,进行梯度洗脱(0~0.5 min,95%B;0.5~7 min,95%B $\rightarrow$ 65%B;7~9 min,65%B $\rightarrow$ 40%B;9~9.1 min,40%B $\rightarrow$ 95%B;9.1~12 min,95%B);柱温为25℃;流速为0.5 mL/min;进样量为2 μ L。

采用电喷雾离子源进行正负离子扫描,扫描范围为 m/z 100~1 500;正离子模式喷雾电压为3.2 kV,负离子

模式喷雾电压为-3.0 kV;包覆气压力为40 arb;辅助气流压力为10 arb;毛细管温度为320℃;二级扫描为数据依赖性扫描。

2.5.3 代谢组学分析

取“2.5.1”项下样品溶液,按“2.5.2”项下条件进样分析,所得质谱数据通过Compound Discoverer 3.1软件进行处理,并进行偏最小二乘法-判别分析(partial least squares-discriminant analysis,PLS-DA)和正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis,OPLS-DA),以变量投影重要性(variable importance in projection,VIP) >1 且 $P<0.05$ 为标准筛选差异代谢物^[12]。

2.5.4 通路富集分析

对“2.5.3”项下所得差异代谢物进行京都基因和基因组数据库(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes,KEGG)代谢通路富集分析,以 $P<0.05$ 表示通路显著富集。

2.6 粪便差异代谢物与差异菌群的相关性分析

采用R 4.2.3软件对大鼠肠道差异菌群与类固醇差异代谢产物进行Spearman相关性分析,探讨肠道微生物与其代谢物之间的相关性,结果以热图呈现。

2.7 统计学分析

采用SPSS 26.0软件对数据进行统计分析。满足正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,进一步两两比较采用Tukey事后检验;不满足正态分布的计量资料以 $M(P_{25},P_{75})$ 表示,多组间比较采用非参数Kruskal-Wallis H 检验,进一步两两比较采用Mann-Whitney U 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

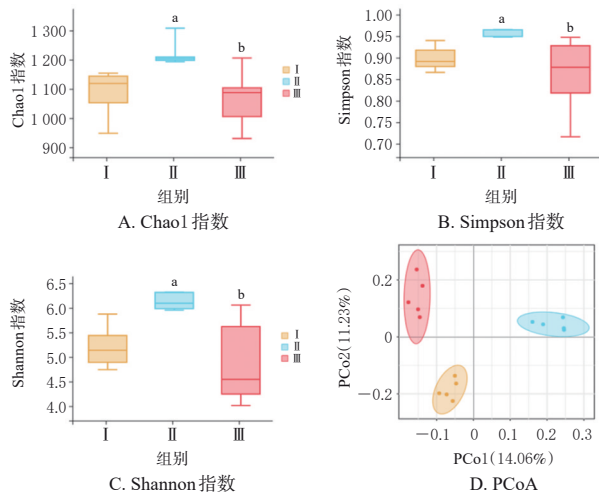
3.1 芍药苷对HPRL大鼠血清PRL水平的影响

与空白对照组[(20.42 $\pm$ 1.38)ng/mL]比较,奥氮平组大鼠血清PRL水平[(53.54 $\pm$ 4.71)ng/mL]显著升高($P<0.05$),表明造模成功。与奥氮平组比较,芍药苷组大鼠血清PRL水平[(24.66 $\pm$ 3.15)ng/mL]显著降低($P<0.05$)。

3.2 芍药苷对HPRL大鼠肠道菌群的影响

3.2.1 肠道菌群多样性分析结果

α 多样性分析结果(图1A~C)显示,奥氮平组大鼠Chao1、Simpson、Shannon指数均显著高于空白对照组($P<0.05$);芍药苷组大鼠上述指数均显著低于奥氮平组($P<0.05$)。PCoA结果(图1D)显示,与空白对照组比较,奥氮平组大鼠的肠道菌群分布发生了明显偏移($P<0.05$);而芍药苷组大鼠的肠道菌群分布更趋向于与空白对照组一致($P>0.05$)。上述结果表明,芍药苷的干预能够恢复奥氮平所致HPRL大鼠的肠道菌群失调,使其 α 多样性和 β 多样性向空白对照组趋近。



a: 与空白对照组比较, $P < 0.05$; b: 与芍药苷组比较, $P < 0.05$; I: 空白对照组; II: 奥氮平组; III: 芍药苷组。

图1 芍药苷对HPRL大鼠肠道菌群 α 、 β 多样性的影响

3.2.2 肠道菌群物种组成分析结果

在门水平(图2A)上,与空白对照组比较,奥氮平组大鼠厚壁菌门(Firmicutes)、脱硫菌门(Desulfobacterota)的相对丰度均显著升高,而疣微菌门(Verrucomicrobiota)的相对丰度显著降低($P < 0.05$);与奥氮平组比较,芍药苷组大鼠厚壁菌门、脱硫菌门的相对丰度均显著降低,而疣微菌门的相对丰度显著升高($P < 0.05$)。在属水平(图2B)上,与空白对照组比较,奥氮平组脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*)、异杆菌属(*Allobaculum*)、普雷沃氏菌属NK3B31组(*Prevotellaceae_NK3B31_group*)、气球菌属(*Aerococcus*)的相对丰度均显著升高,而瘤胃球菌科UBA1819组(*Ruminococcaceae_UBA1819*)、鼠肠杆菌属(*Muribaculum*)的相对丰度均显著降低($P < 0.05$);与奥氮平组比较,芍药苷组脱硫弧菌属、异杆菌属、普雷沃氏菌属NK3B31组、气球菌属的相对丰度均显著降低,而瘤胃球菌科UBA1819组与鼠肠杆菌属的相对丰度均显著升高($P < 0.05$)。

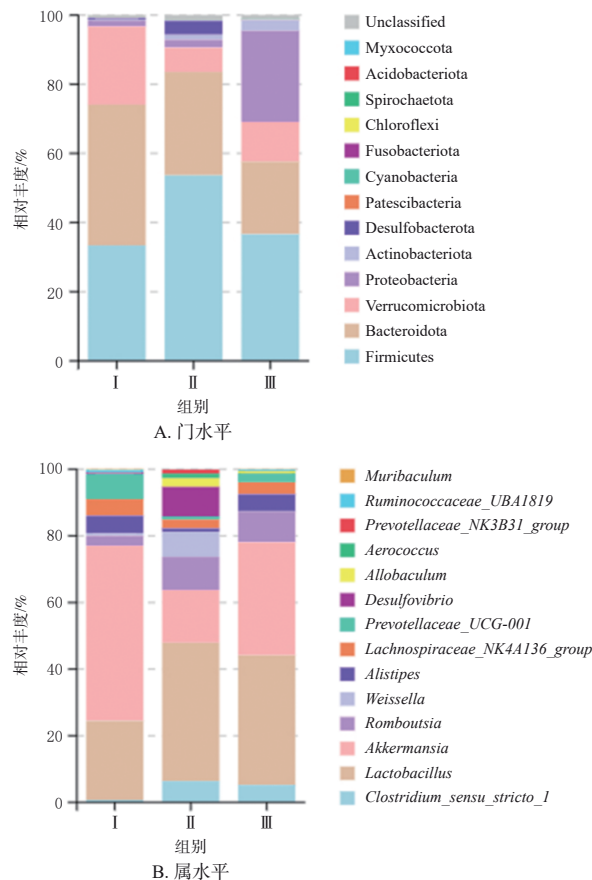
3.2.3 肠道菌群微生物组学LEfSe分析结果

LDA分布直方图(图3)显示,空白对照组可显著富集拟杆菌门(Bacteroidota)、疣微菌纲(Verrucomicrobiales)、单球菌目(Monoglobales)等菌群($P < 0.05$);奥氮平组可显著富集棒状厚壁菌门、芽孢杆菌纲(Bacilli)、乳酸杆菌目(Lactobacillales)等菌群($P < 0.05$);芍药苷组芍药苷可显著富集放线菌门(Actinobacteriota)、葡萄球菌目(Staphylococcales)、棒状杆菌目(Corynebacteriales)等菌群($P < 0.05$)。

3.3 芍药苷对HPRL大鼠粪便代谢组学的影响

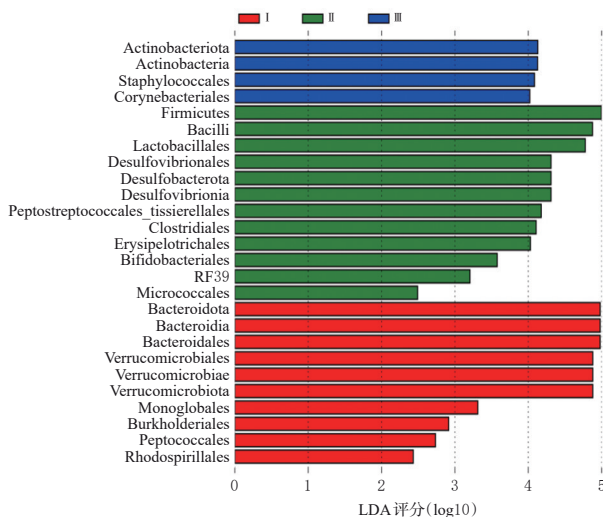
3.3.1 各组间粪便代谢物的多元统计分析结果

PLS-DA得分图(图4A)显示,在正、负离子混合模式下,空白对照组、奥氮平组和芍药苷组之间呈现良好的分离效果;OPLS-DA结果(图4B~E)显示,空白对照



I: 空白对照组; II: 奥氮平组; III: 芍药苷组。

图2 芍药苷对HPRL大鼠肠道菌群门属水平的影响



I: 空白对照组; II: 奥氮平组; III: 芍药苷组。

图3 芍药苷对HPRL大鼠肠道菌群微生物组学的影响

组与奥氮平组的模型参数为 $R^2Y=0.984$ 、 $Q^2=0.726$,奥氮平组与芍药苷组的模型参数为 $R^2Y=0.992$ 、 $Q^2=0.784$;经过200次置换检验验证,正、负离子混合模式下的 R^2 和 Q^2 值均低于原始模型值(空白对照组与奥氮平组的 $R^2=0.940$ 、 $Q^2=0$;奥氮平组与芍药苷组的 $R^2=0.970$ 、 $Q^2=0.080$),表明模型未出现过拟合且预测能力良好^[13]。以上表明,所构建的模型具有较高的稳定性和可靠性,

能够有效区分不同组别间的代谢物差异。根据多元统计结果,以 $P<0.05$ 且 $VIP>1$ 为标准筛选得到51个潜在的差异代谢物。与空白对照组比较,奥氮平组有32个差异代谢物水平显著降低,19个差异代谢物水平显著升高;与奥氮平组比较,芍药苷显著回调了以上差异代谢物的水平。差异代谢物如雄烯二酮(androstendione)、反式脱氢表雄酮(trans-dehydroandrosterone)、 $11\beta, 21$ -二羟基- 5β -孕酮-3, 20-二酮($11\beta, 21$ -dihydroxy- 5β -pregnane-3, 20-dione)、四氢皮质醇(tetrahydrocortisol)、肾上腺甾酮(adrenosterone)、雌激素葡萄糖苷酸(estrone glucuronide)的二级质谱图见图5(仅展示6个代表性的差异代谢物)。

3.3.2 差异代谢物的KEGG通路富集分析

KEGG通路富集分析结果(图6)显示,差异代谢物显著聚集的前5个信号通路为类固醇激素生物合成(steroid hormone biosynthesis)、前列腺癌(prostate cancer)、卵巢类固醇生成(ovarian steroidogenesis)、癌症相关信号通路(pathways in cancer)、羟甲基戊二酰辅酶A(hydroxy methylglutaryl coenzyme A, HMG-CoA)还原酶抑制剂(HMG-CoA reductase inhibitors),其中差异代谢物对类固醇激素生物合成通路的影响最为显著。上述提示,芍药苷可能通过调控类固醇激素的生物合成及其相关代谢途径,发挥对HPRL的干预作用。

3.4 粪便差异代谢物与差异菌群的相关性分析

由图7可知,脱硫弧菌属、气球菌属的相对丰度与 $11\beta, 21$ -二羟基- 5β -孕酮-3, 20-二酮、四氢皮质醇、肾上腺

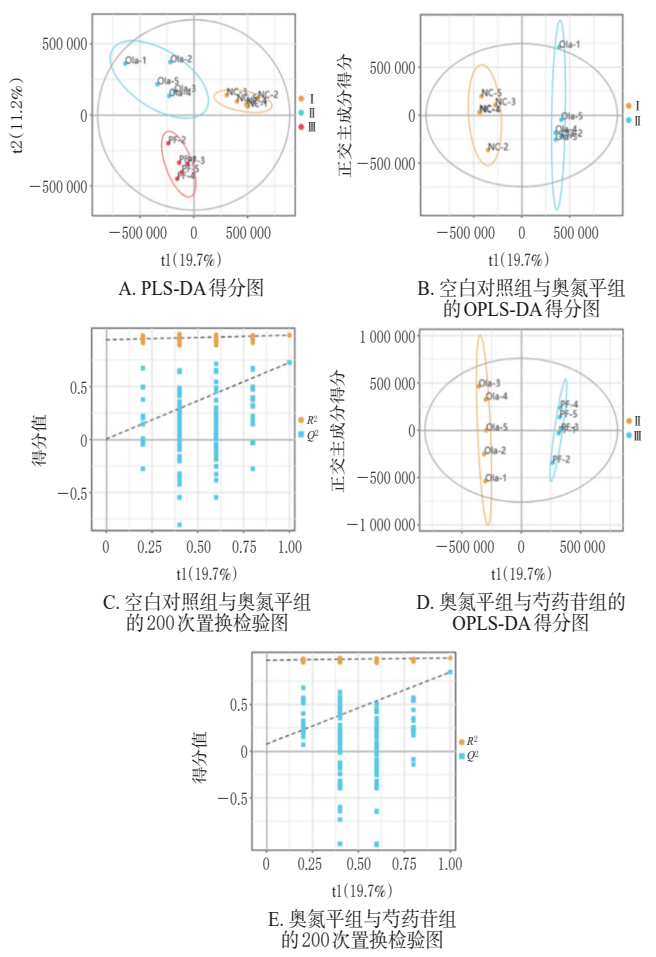


图4 各组间粪便代谢物的多元统计分析结果

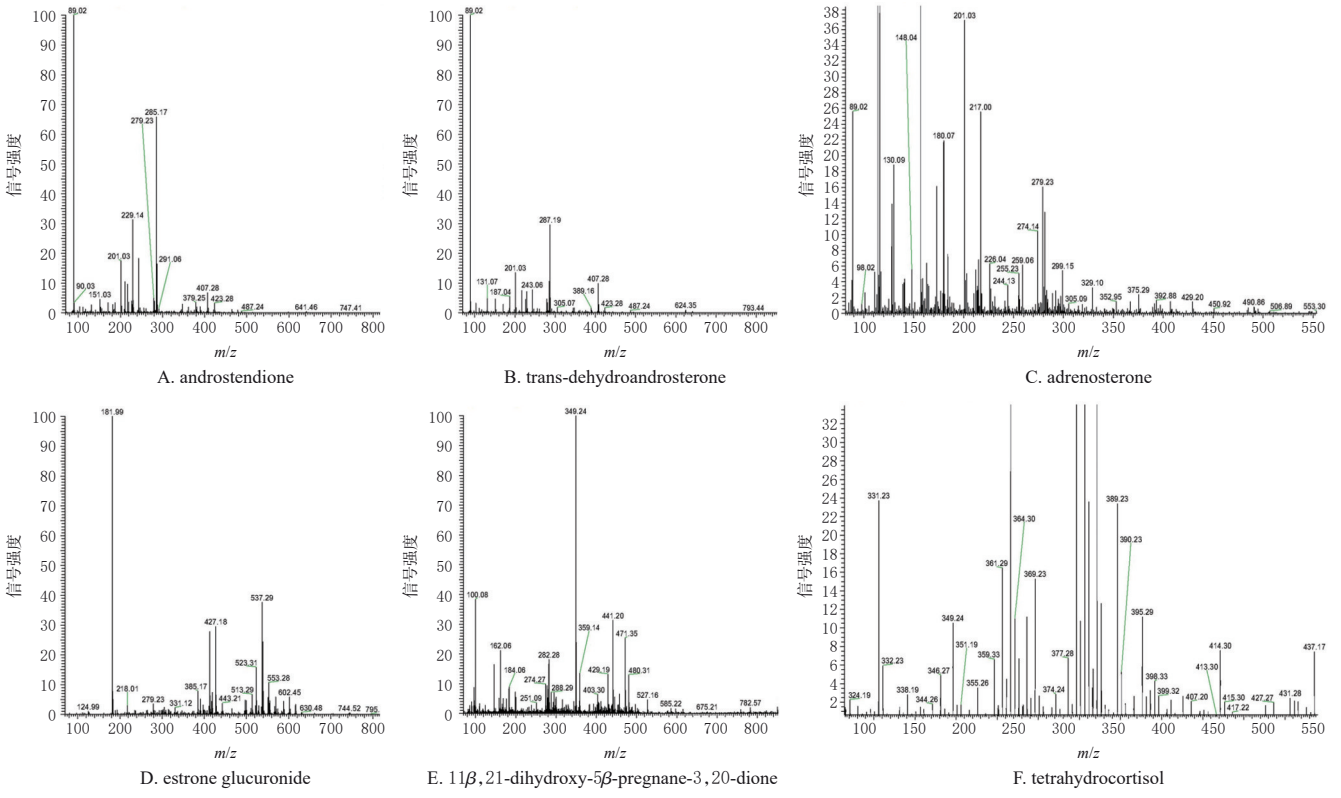


图5 差异代谢物的二级质谱图(仅展示6个代表性的差异代谢物)

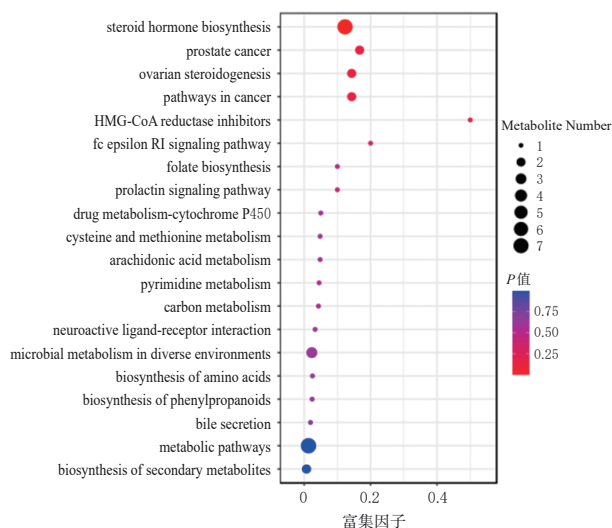


图6 KEGG通路富集分析气泡图(按P值排序前20位)甾酮、雌激素葡萄糖苷酸含量呈显著正相关,与反式脱氢雄酮、雄烯二酮含量呈显著负相关($P<0.05$)。异杆菌属的相对丰度与肾上腺甾酮含量呈显著正相关($P<0.05$)。瘤胃球菌科 UBA1819 组、鼠肠杆菌属的相对丰度与四氢皮质醇含量呈显著负相关($P<0.05$)。上述结果表明,特定菌属与类固醇激素代谢物间存在显著相关性,这为阐明肠道微生物群调控类固醇激素代谢的机制提供了依据。

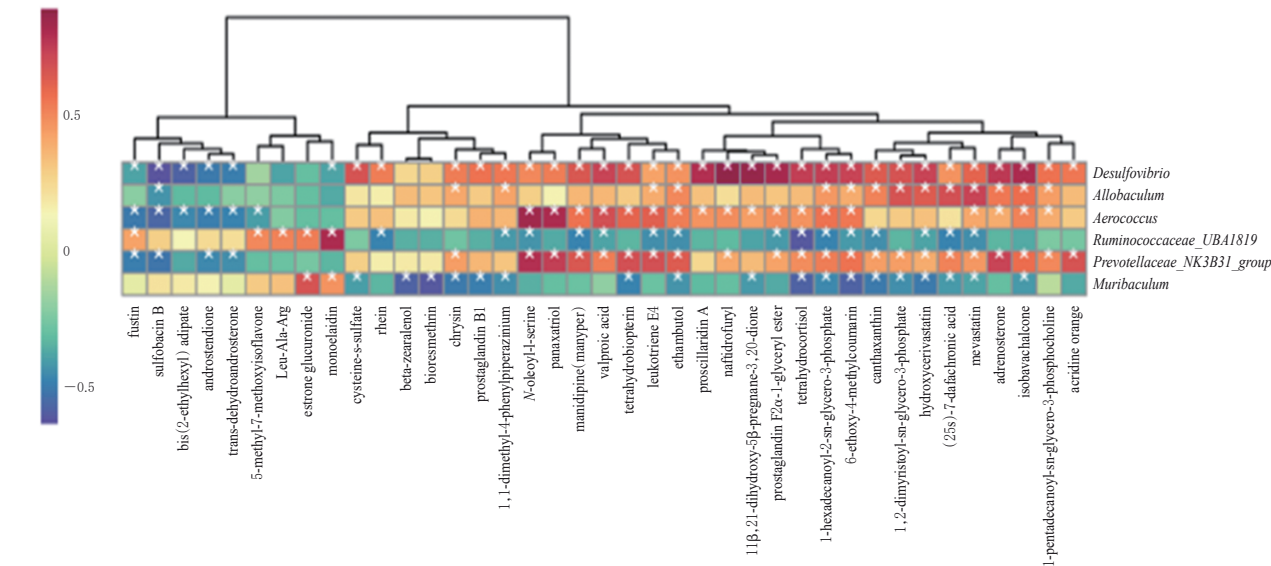
4 讨论

肠道菌群结构组成的改变会影响机体的代谢表型,其可通过发酵膳食成分、生成代谢物(如短链脂肪酸、胆汁酸、神经递质前体、类固醇代谢物等)、调节宿主代谢酶活性等多种方式,直接或间接调控包括内分泌稳态在内的多种生理与病理过程^[7,14]。代谢组学分析能够揭示肠道微生物代谢物对机体的影响,明确宿主-肠道微生物群的代谢相互作用^[15]。因此,肠道菌群分析联合代谢

组学技术可以揭示菌群结构变化如何通过调控代谢物水平来参与疾病的发生发展^[16]。越来越多的证据表明,肠道菌群失调与包括 HPRL 在内的多种内分泌代谢疾病的发生发展密切相关^[7-8]。芍药苷是一种天然植物成分,具有抗炎、抗氧化、调节免疫等多种生理活性^[17-18]。本研究通过构建奥氮平诱导的 HPRL 大鼠模型,结合 16S rRNA 高通量测序及非靶向代谢组学技术,初步探讨了芍药苷改善 HPRL 的潜在分子机制。

本研究结果显示,奥氮平可使大鼠血浆 PRL 水平显著升高;经芍药苷干预后,大鼠血浆 PRL 水平显著降低,证实该成分具有降 PRL 分泌的作用。肠道菌群是内分泌与代谢免疫调控的关键参与者^[10]。本研究通过 16S rRNA 高通量测序发现,HPRL 模型大鼠肠道菌群的 α 多样性和 β 多样性均发生显著改变;同时,奥氮平诱导的 HPRL 模型大鼠厚壁菌门、脱硫菌门的相对丰度均显著升高,而疣微菌门的相对丰度显著降低;经芍药苷干预后,上述菌群的相对丰度均显著回调,提示芍药苷能够逆转奥氮平诱导的 HPRL 模型大鼠的肠道菌群失调。微生物组学 LEfSe 分析进一步揭示,芍药苷的干预显著富集了放线菌门、葡萄球菌目、棒状杆菌目等有益菌群,提示上述菌群的变化可能与芍药苷的降 PRL 作用密切相关。

本研究采用液相色谱-串联质谱技术分析了芍药苷降低 PRL 的相关代谢效应,探索其对 HPRL 模型大鼠粪便代谢物的调控作用。PLS-DA 与 OPLS-DA 结果显示,各组大鼠的代谢谱能够明显区分,且未发生过拟合,证明所建模型有效。本研究共筛选出了 51 个潜在差异代谢物,这些代谢物富集的代谢通路主要包括类固醇激素生物合成、前列腺癌、卵巢类固醇生成等,其中类固醇激素生物合成是最主要的代谢途径。诸多研究表明,类固



注:红色代表正相关,蓝色代表负相关。

图7 大鼠肠道差异菌群与粪便差异代谢物的关联分析热图

醇激素与PRL的分泌调节密切相关:雌激素可作用于垂体前叶雌激素受体刺激PRL的分泌^[19];孕激素通过下丘脑和垂体膜上的孕激素受体抑制PRL的分泌^[20];在应激条件下,皮质醇的增加能够通过调节垂体的分泌功能,从而抑制PRL的分泌^[21]。Spearman相关性分析结果显示,脱硫弧菌属、气球菌属等菌群的相对丰度与类固醇激素代谢物(如四氢皮质醇、肾上腺甾酮)含量呈显著正相关,而瘤胃球菌科UBA1819组、鼠肠杆菌属等菌群的相对丰度与四氢皮质醇含量呈显著负相关。这一结果提示,芍药苷可能通过调控肠道菌群、改变肠道菌群相关的代谢物含量来发挥降低PRL水平的作用。后续本研究团队将使用抗菌药物干预及粪菌移植实验进一步明确肠道菌群与PRL之间的关系,以期芍药苷治疗HPRL的具体机制提供理论依据。

综上所述,芍药苷可能通过调节HPRL大鼠肠道菌群结构(包括显著降低脱硫弧菌属、异杆菌属、气球菌属的相对丰度,显著上调瘤胃球菌科UBA1819组、鼠肠杆菌属的相对丰度)、调控类固醇激素生物合成代谢通路来降低PRL水平,从而发挥抗HPRL的作用。

参考文献

- [1] JUNQUEIRA D R, BENNETT D, HUH S Y, et al. Clinical presentations of drug-induced hyperprolactinaemia: a literature review[J]. *Pharmaceut Med*, 2023, 37 (2): 153-166.
- [2] BERNARD V, YOUNG J, BINART N. Prolactin: a pleiotropic factor in health and disease[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2019, 15(6): 356-365.
- [3] VASILEV V, DALY A F, VROONEN L, et al. Resistant prolactinomas[J]. *J Endocrinol Invest*, 2011, 34(4): 312-316.
- [4] 王春霞,潘斌,刘静,等. 抑乳调经颗粒治疗肾虚肝郁型高泌乳素血症的临床疗效观察[J]. *中国药房*, 2009, 20(18): 1421-1423.
- [5] WANG Z B, ZHENG Y S, FAN Y L, et al. Peonyglycyrrhiza decoction for antipsychotic-related hyperprolactinemia in patients with schizophrenia: a randomized controlled trial[J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2023, 19: 929-938.
- [6] WEI Y Y, LA L, WANG L L, et al. Paeoniflorin and liquiritin, two major constituents in Chinese herbal formulas used to treat hyperprolactinemia-associated disorders, inhibits prolactin secretion in prolactinoma cells by different mechanisms[J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 204: 36-44.
- [7] RONG B H, XIA T Y, ZHANG T T, et al. Gut microbiota: a potential manipulator for host adipose tissue and energy metabolism[J]. *J Nutr Biochem*, 2019, 64: 206-217.
- [8] QIAN L, HE X Y, LIU Y X, et al. Longitudinal gut micro-

biota dysbiosis underlies olanzapine-induced weight gain[J]. *Microbiol Spectr*, 2023, 11(4): e0005823.

- [9] LUO S, WEN R Y, WANG Q, et al. Rhubarb peony decoction ameliorates ulcerative colitis in mice by regulating gut microbiota to restoring Th17/Treg balance[J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 231: 39-49.
- [10] HUANG X Q, REN L Y, HOU L B, et al. Paeoniflorin ameliorates antipsychotic-induced hyperprolactinemia in rats by attenuating impairment of the dopamine D2 receptor and TGF- β_1 signaling pathways in the hypothalamus and pituitary[J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 257: 112862.
- [11] SEGATA N, IZARD J, WALDRON L, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation[J]. *Genome Biol*, 2011, 12(6): R60.
- [12] WIKLUND S, JOHANSSON E, SJÖSTRÖM L, et al. Visualization of GC/TOF-MS-based metabolomics data for identification of biochemically interesting compounds using OPLS class models[J]. *Anal Chem*, 2008, 80(1): 115-122.
- [13] TRYGG J, WOLD S. Orthogonal projections to latent structures (OPLS)[J]. *J Chemom*, 2002, 16(3): 119-128.
- [14] TREMAROLI V, BÄCKHED F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism[J]. *Nature*, 2012, 489(7415): 242-249.
- [15] NICHOLSON J K, HOLMES E, KINROSS J, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions[J]. *Science*, 2012, 336(6086): 1262-1267.
- [16] ROOKS M G, GARRETT W S. Gut microbiota, metabolites and host immunity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(6): 341-352.
- [17] REN S, WANG Y G, ZHANG Y Y, et al. Paeoniflorin alleviates Ang II-induced cardiac hypertrophy in H9c2 cells by regulating oxidative stress and Nrf2 signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 165: 115253.
- [18] ZHANG L L, WEI W. Anti-inflammatory and immunoregulatory effects of paeoniflorin and total glucosides of paeony[J]. *Pharmacol Ther*, 2020, 207: 107452.
- [19] BEN-JONATHAN N, CHEN S L, DUNCKLEY J A, et al. Estrogen receptor- α mediates the epidermal growth factor-stimulated prolactin expression and release in lactotrophs[J]. *Endocrinology*, 2009, 150(2): 795-802.
- [20] CAMILLETI M A, FERRARIS J, ABELEDO-MACHADO A, et al. Participation of membrane progesterone receptor α in the inhibitory effect of progesterone on prolactin secretion[J]. *J Neuroendocrinol*, 2018, 30(9): e12614.
- [21] SPANGLER P R, DELIDOW B C. Co-regulation of pituitary tumor cell adhesion and prolactin gene expression by glucocorticoid[J]. *J Cell Physiol*, 1998, 174(1): 115-124.

(收稿日期:2025-03-11 修回日期:2025-06-27)

(编辑:舒安琴)