

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.003828

基于 miRNA-mRNA 表达谱分析增液汤对功能性便秘大鼠结肠组织功能的调节作用

陈思敏¹, 唐诗宇², 关丽娜¹, 庞峻¹, 吴青峰¹, 王秋晓², 张智彬³, 唐学贵⁴

(1.川北医学院肛肠疾病研究所,南充 637000;2.川北医学院中西医结合临床医学院,南充 637000;

3.川北医学院附属医院中西医结合肛肠科,南充 637000;4.成都中医药大学附属医院肛肠科,成都 610075)

【摘要】目的:探讨增液汤对功能性便秘大鼠结肠组织微小核糖核酸 MicroRNA(miRNA)-信使核糖核酸(messenger ribonucleic acid, mRNA)表达的影响。**方法:**将 18 只 SPF 级 SD 大鼠随机分为对照组、模型组和治疗组。模型组和治疗组均给予复方地芬诺酸混悬液治疗便秘。治疗组造模后给予增液汤治疗 7 d,记录大鼠粪便情况和收集大鼠结肠组织。苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色观察大鼠结肠病变,结肠组织进行转录组测序,实时荧光定量逆转录聚合酶链反(real time quantitative reverse transcription PCR, RT-qPCR)验证测序结果。**结果:**与对照组比较,模型组大鼠首粒黑便排出时长明显延长($F=341.909, P<0.001$),粪便颗粒数明显减少($F=116.800, 86.502, P<0.001$),粪便含水量明显降低($F=234.897, 388.500, P<0.001$);小肠推进率明显降低($F=5\ 249.009, P<0.001$);大鼠结肠组织病变明显。与模型组比较,治疗组大鼠首粒黑便排出时长明显缩短($F=341.909, P<0.001$),14 d 粪便颗粒数明显增加($F=116.800, 86.502, P<0.01$),粪便含水量明显增加($F=234.897, 388.500, P<0.001$);小肠推进率明显上升($F=5\ 249.009, P<0.001$),结肠组织未见明显病变。增液汤导致结肠 miRNA-mRNA 网络表达谱的改变。转录组测序共筛选出 541 个差异表达的 mRNA(241 个下调和 300 个上调),17 个差异表达的 miRNA(12 个下调和 5 个上调)($P<0.05$)。基因本体(gene ontology, GO)功能分析发现差异表达的 mRNA-miRNA 主要富集在细胞内。京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)富集通路分析发现差异表达的 mRNA 主要富集于 cGMP-PKG 信号通路和 cAMP 信号通路。**结论:**增液汤治疗减少了大鼠排便时间,增加了大鼠排便颗粒数,增加了大鼠粪便含水量,增加了大鼠肠道蠕动,改变了大鼠结肠 miRNA-mRNA 表达谱,改善大鼠便秘症状。

【关键词】增液汤;miRNA-mRNA 表达谱;功能性便秘

【中图分类号】R574.62

【文献标志码】A

Regulatory effect of Zengye Decoction on colonic tissue function in rats with functional constipation: a study based on microRNA-messenger ribonucleic acid expression profile

Chen Simin¹, Tang Shiyu², Guan Lina¹, Pang Jun¹, Wu Qingfeng¹, Wang Qiuxiao², Zhang Zhibin³, Tang Xuegui⁴

(1. Institute of Anorectal Diseases, North Sichuan Medical College; 2. Clinical College of Integrated Traditional

Chinese and Western Medicine, North Sichuan Medical College; 3. Department of Integrated Traditional

Chinese and Western Medicine for Coloproctology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College;

4. Anorectal Department, Hospital of Chengdu University of TCM)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of Zengye Decoction on the expression of microRNA(miRNA)-messenger ribonucleic acid(mRNA) in colon tissue of rats with functional constipation. **Methods:** A total of 18 specific pathogen-free Sprague-Dawley rats

were randomly divided into control group, model group, and treatment group. The rats in the model group and the treatment group

were given compound diphenoxylate suspension for constipation treatment, and those in the treatment group were treated with

Zengye Decoction for 7 days after modeling. The condition of feces

was recorded, and colon tissue samples were collected. HE staining

作者介绍:陈思敏, Email: chensiminlover@163.com,

研究方向:胃肠疾病的中西医防治研究。

通信作者:唐学贵, Email: Txg668nc@sohu.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:82074429); 充市 2020 年

市校科技战略合作专项资助项目(编号:20SXQT0084)。

优先出版: <https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20250409.1519.002>

(2025-04-10)

作者介绍:陈思敏, Email: chensiminlover@163.com, 研究方向:胃肠疾病的中西医防治研究。通信作者:唐学贵, Email: Txg668nc@sohu.com。基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:82074429); 充市 2020 年市校科技战略合作专项资助项目(编号:20SXQT0084)。优先出版: <https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20250409.1519.002> (2025-04-10)

was used to observe the colonic lesions of rats, transcriptome sequencing was performed for colonic tissue, and RT-qPCR was used to verify the results of sequencing. **Results:** Compared with the control group, the model group had a significantly longer time for first black stool excretion ($F=341.909, P<0.001$) and significant reductions in the number of fecal particles ($F=116.800, 86.502, P<0.001$), fecal water content ($F=234.897, 388.500, P<0.001$), and small intestine propulsion rate ($F=5249.009, P<0.001$), with marked pathological changes of colon tissue. Compared with the model group, the treatment group had a significant reduction in the time for first black stool excretion ($F=341.909, P<0.001$) and significant increases in the number of fecal particles on day 14 ($F=116.800, 86.502, P<0.01$), fecal water content ($F=234.897, 388.500, P<0.001$), and small intestine propulsion rate ($F=5249.009, P<0.001$), with no marked pathological changes of colon tissue. Zengye Decoction induced the change in the miRNA-mRNA network expression profile in colon tissue. Transcriptome sequencing identified 541 differentially expressed mRNAs (241 downregulated mRNAs and 300 upregulated mRNAs) and 17 differentially expressed miRNAs (12 downregulated miRNAs and 5 upregulated miRNAs) ($P<0.05$). The GO functional analysis showed that the differentially expressed mRNAs-miRNAs were mainly enriched in cells, and the KEGG pathway enrichment analysis showed that the differentially expressed mRNAs were mainly enriched in the cGMP-PKG signaling pathway and the cAMP signaling pathway. **Conclusion:** Zengyou Decoction can reduce the defecation time of rats, increase the number of fecal particles and fecal water content, improve the intestinal motility of rats, and change the miRNA-mRNA network expression in the colon, thereby improving constipation in rats.

[Key words] Zengye Decoction; microRNA-messenger ribonucleic acid expression profile; functional constipation

功能性便秘是一种常见的胃肠道疾病,影响所有年龄段人群。其特征为便秘和排便不完全^[1],且女性的患病率略高于男性^[2]。老年人是慢性便秘的主要人群,功能性便秘的患病率随着年龄的增长而增加^[3]。有研究表明,改善胃肠蠕动是治疗便秘的有效方法^[4]。

在现代医学中,功能性便秘与饮食习惯、肠道微生物、肠道转运动力学、肠神经系统异常等因素有关^[5-6]。在中医中,将便秘归因于胃肠热、肠湿等原因^[7-8]。增液汤是一种中药配方的名称,摘自《文治转志》第二卷,这是治疗干燥的药。它有增加水流的作用,用于治疗阳明温病,无上焦证,在人阴虚、程气不可行的情况下,服用后数日可大便^[9]。症状表现为便秘、口渴、舌干、脉细或凹陷无力,临床上多用于温热病液虚、肠干便秘^[10]。

MiRNA 是生物体内的一种非编码小 RNA。通过与靶基因 mRNA 的互补配对,在转录后水平调控基因表达^[11],并广泛参与细胞内信号和功能调控^[12]。由于每个 miRNA 具有多个靶基因,且同一基因受到多个 miRNA 的调控,形成了一个复杂的调控网络^[13]。中医治疗具有多靶点、多机制的特点,通过构建中药治疗后的 miRNA-mRNA 网络图谱,可以更全面、更广泛地解释中药对细胞功能和信号通路的

调控机制。本研究旨在探讨增液汤对功能性便秘大鼠结肠组织 miRNA 表达的影响,构建增液汤调控的 miRNA-mRNA 网络图谱,为解释增液汤改善功能性便秘提供新的靶点和调控机制。

1 材料与方法

1.1 增液汤药物制备

增液汤成分为玄参 30 g、细生地 24 g、麦冬 24 g,常法煎制、滤渣、浓缩药液,用超纯水调配成含生药 0.51 g/mL 的药液。

1.2 动物分组与设计

SPF 级雄性 SD 大鼠 18 只 (160 ± 20) g,购自成都达硕实验动物有限公司[SCXK(川)2021-0036]。实验在川北医学院附属医院进行,实验动物在 SPF 级动物设施中饲养,室温为 $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$,湿度为 65%~75%,12 h 的光暗循环,自由饮食进水。所有实验程序均经华西医院伦理委员会批准(批准编号:2022216001)。适应喂养 7 d 后,将大鼠随机分为 3 组:对照组 ($n=6$)、模型组 ($n=6$) 和治疗组 ($n=6$),模型组和治疗组分别给予复方地芬诺酯混悬液 4 mL (10 mg/kg) 灌胃 7 d,对照组灌胃相应体积生理盐水。模型组大鼠干便较少时,功能性便秘大鼠模型成功建立。从第 8 天起,试验组小鼠灌胃增液汤 2 mL (0.51 g/mL),连续 7 d,对照组和模型组小鼠灌胃等量生理盐水。

1.3 样品收集

实验第 14 天时, 每组大鼠灌胃 2 mL 墨汁, 并将每组大鼠置于代谢笼中 6 h。在此期间, 仔细收集并记录 6 h 窗口内产生的粪便颗粒数, 测量并记录粪便重量。随后, 粪便样品在 60 °C 下进行 12 h 的干燥过程, 再次称重以确定其干重。粪便含水量=(湿重-干重)/湿重×100%。6 h 后, 大鼠注射 1% 戊巴比妥钠 (300 mg/kg) 麻醉处死。打开腹腔, 取出从幽门至回盲的肠管, 平放于检查台上。测量墨水推进长度和小肠总长度 (cm)。墨水推进率计算公式为: 墨水推进长度/小肠总长度×100%。取肛门上端 5 cm 处结肠组织, 用生理盐水洗涤, 保存在 -80 °C 的低温冰箱中。

1.4 HE 染色

经脱水透明处理后, 将大鼠结肠组织包埋于石蜡中, 制备厚度为 5 μm 的薄石蜡切片。切片用二甲苯脱蜡, 然后进行梯度乙醇处理再水化。然后按照 HE 染色方案提供的说明, 按照顺序程序对切片进行染色。切片常规脱水, 使其透明并密封, 然后在显微镜下观察评估结肠组织的形态特征。

1.5 转录组测序

转录组测序由北京诺禾致源科技有限公司完成。在提取、纯化和构建 RNA 文库后, 使用 Illumina NovaSeq 6000 测序平台进行测序。通过转录组分析进行差异基因表达 (differential expression analysis, DEG) 分析, 并将结果进行 GO 分析和 KEGG 富集分析。筛选标准设置在 $P \leq 0.05$ 的显著性水平。通过 GO 功能富集鉴定差异表达基因的生物学功能, 通过 KEGG 代谢途径分析鉴定差异表达基因的主要生物学代谢途径。

1.6 RT-qPCR

本研究采用 RT-qPCR 对差异表达基因进行分析, 取 10~20 mg 结肠组织于 EP 管中并加入 350 μL 裂解液 LB, 用高速低温组织研磨仪捣碎。按照制造商的说明, 分别用 Trizol 试剂提取总 RNA。取 5 μg 的总 RNA, 通过反转录反应合成 cDNA。纯化的 RNA 作为模板, 使用 Mir-X miRNA 第一链合成试剂盒合成 cDNA。用 cDNA、Mir-X miRNA RT-qPCR TB Green® 试剂盒和 U6 的基因特异引物进行 RT-

qPCR。所有引物都是由生工生物技术 (上海) 有限公司合成。反应结束后, 计算机自动分析每个样品的 Ct 值, 通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算相对 mRNA 表达量。引物序列见补充文件。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。计量资料符合正态分布, 用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 增液汤对便秘大鼠肠道功能的影响

经过 14 d 的排便观察, 与对照组比较, 模型组大鼠首粒黑便排出时长明显延长 ($P < 0.001$), 粪便颗粒数明显减少 ($P < 0.001$), 粪便含水量明显降低 ($P < 0.001$); 小肠推进率明显降低 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 治疗组大鼠首粒黑便排出时长明显缩短 ($P < 0.001$), 14 d 粪便颗粒数明显增加 ($P < 0.01$), 粪便含水量明显增加 ($P < 0.001$); 小肠推进率明显上升 ($P < 0.001$)。见表 1。

2.2 增液汤对便秘大鼠结肠组织形态的影响

HE 结果显示, 对照组大鼠结肠组织结构较完整, 未见明显变性、坏死或脱落; 模型组大鼠结肠组织损伤, 肌层肌纤维萎缩, 黏膜固有层局部炎性细胞浸润, 与对照组比较黏膜厚度明显降低 ($P < 0.001$); 治疗组大鼠结肠组织结构较为完整, 未见上皮细胞变性、坏死、脱落, 未见明显病理改变, 与模型组比较结肠厚度明显增加 ($P < 0.001$)。见图 1。

2.3 增液汤对大鼠结肠组织 mRNA-miRNA 的影响

为了进一步了解增液汤的作用机制, 通过 RNA-seq 鉴定了各组的差异 mRNA 和 miRNA 水平。通过 RNA-seq 数据和 miRNA-seq 数据共筛选出 541 个基因, 其中差异上调基因 300 个, 差异下调基因 241 个。其中, 显示明显上调的基因包括 Hoxb13、LOC286960、LOC103690354、Cela3b 和 Cpa1 (表 2; 图 2A~C); 表现出下调的前 5 个 deg 为 LOC103690108、Gpat2、Scn4a、Cyp2c23 和 Il13 (表 3; 图 2A~C)。

此外, 本研究鉴定了 17 个差异 miRNA, 分别为 5 个上调的差异基因和 12 个下调的差异基因。负责上调差异基因表

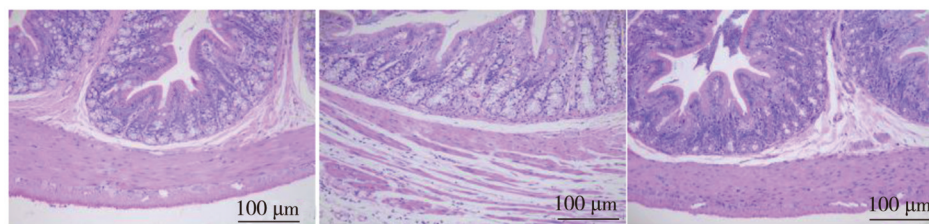
表 1 增液汤对便秘大鼠肠道功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	首粒黑便排出时 长 (min)	粪便颗粒计数 (个)		粪便含水量 (g)		小肠推进率 (%)
		7 d	14 d	7 d	14 d	
对照组	245.00 ± 11.31	30.00 ± 1.14	36.67 ± 2.16	27.83 ± 0.75	15.00 ± 1.26	92.66 ± 1.03
模型组	423.00 ± 11.51 ^a	18.00 ± 1.41 ^a	24.50 ± 1.64 ^a	31.83 ± 0.75 ^a	17.67 ± 0.81 ^a	28.50 ± 1.04 ^a
治疗组	364.00 ± 13.12 ^b	19.33 ± 1.63	27.33 ± 1.03 ^b	19.67 ± 1.03 ^b	25.50 ± 1.04 ^b	58.83 ± 1.16 ^b
F 值	341.909	116.800	86.502	234.897	388.500	5 249.009
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: a, 与空白组对比, $P < 0.001$; b, 与模型组对比, $P < 0.01$

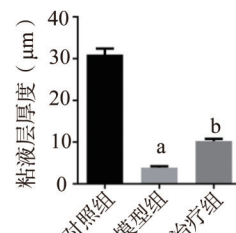
达的 miRNA 为: rno-miR-1298、rno-miR-216b-5p、rno-miR-216b-3p、rno-miR-217-5p、rno-miR-547-3p、rno-miR-216a-5p、rno-miR-216a-3p、rno-miR-1193-3p、rno-miR-144-3p

(表 4; 图 2D~F)。下调差异表达 miRNA 包括 rno-miR-18a-5p、rno-miR-10a-5p、rno-miR-10b-5p、rno-miR-1298(表 5; 图 2D~F)。同时, 本研究进行了 RT-qPCR 验证(图 3)。



对照组 模型组 治疗组

A. 大鼠结肠组织 HE 染色



粘液层厚度 (μm)
注: a, 与对照组对比, $P < 0.001$;
b, 与模型组对比, $P < 0.001$
B. 大鼠结肠组织黏膜厚度

图 1 对便秘大鼠结肠组织学形态的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

表 2 对照组/模型组差异基因表达

id	baseMean	baseMean_对照组	baseMean_模型组	foldChange(模型组/对照组)	log2FoldChange
Hoxb13	167.583023	334.995268	0.17077802	0.000509792	-10.93780269
LOC286960	3411.33907	6818.552172	4.125967495	0.000605109	-10.69051726
LOC103690354	1271.404178	2541.251128	1.557227765	0.00061278	-10.67234326
Cela3b	14040.35445	28063.16774	17.54116445	0.00062506	-10.64371763
Rag1	5.756361283	0.259459269	11.2532633	43.37198409	5.438691537
Slc10a2	8.230000048	0.389188904	16.07081119	41.29308681	5.367828364
Defal1	2.613383814	0.129729635	5.097037994	39.28969668	5.296079125
Muc20	2.868533627	0.170305905	5.56676135	32.68683705	5.030637876

表 3 治疗组/模型组差异基因表达

id	baseMean	baseMean_模型组	baseMean_治疗组	foldChange(治疗组/模型组)	log2FoldChange
LOC103690108	240.6652456	480.9834543	0.347036913	0.000721515	-10.43668243
Ly49s7	3.29319207	0.17210019	6.41428395	37.27063833	5.219967623

表 4 对照组/模型组差异基因表达

id	baseMean	baseMean_对照组	baseMean_模型组	foldChange(模型组/对照组)	log2FoldChange
rno-miR-1298	8.528890641	14.68627167	2.371509617	0.161477989	-2.630590568
rno-miR-216b-5p	87.96126367	175.6353481	0.28717923	0.001635088	-9.256416102
rno-miR-217-5p	674.663666	1342.044581	7.282751792	0.005426609	-7.525733205
rno-miR-547-3p	9.85815143	14.27919766	5.437105208	0.380771059	-1.393004267
rno-miR-216a-5p	48.6976923	96.81696574	0.578418814	0.005974354	-7.387001592
rno-miR-216a-3p	25.7973244	51.40963102	0.18501778	0.003598893	-8.118230931
rno-miR-1193-3p	5.47608961	7.554429298	3.397749926	0.44976924	-1.152743096
rno-miR-18a-5p	19.6005572	12.97093095	26.23018346	2.022228285	1.015945869
rno-miR-10a-5p	110005.419	63219.51788	156791.3211	2.480109409	1.310403766
rno-miR-10b-5p	107459.454	64115.66099	150803.2473	2.352050108	1.233918795

表 5 治疗组/模型组差异基因表达

id	baseMean	baseMean_模型组	baseMean_治疗组	foldChange(治疗组/模型组)	log2FoldChange
rno-miR-144-3p	6.06521573	9.190567687	2.939863773	0.319878366	-1.644404672
rno-miR-1298	7.822784199	2.985631632	12.65993677	4.240287592	2.084162117

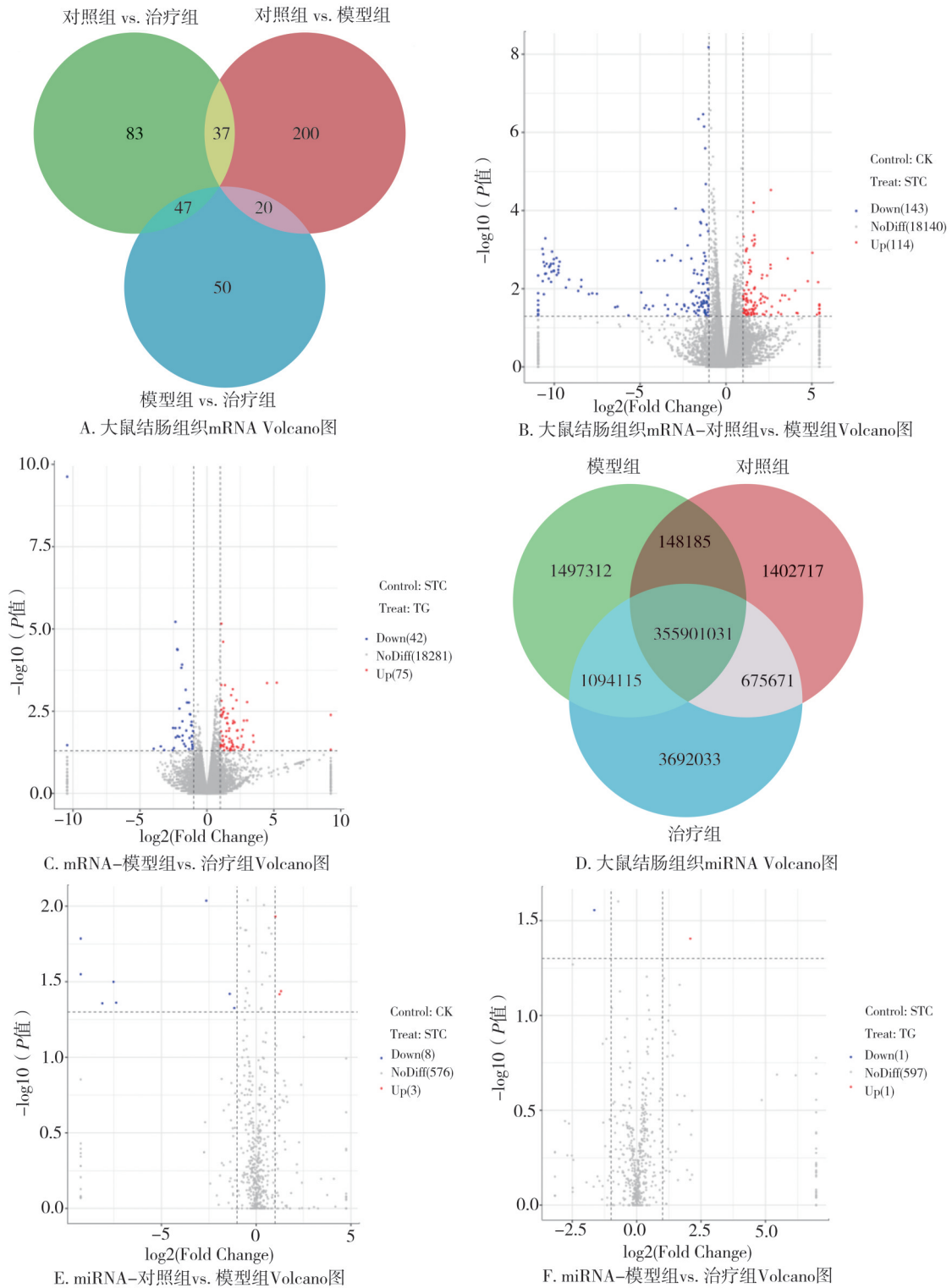
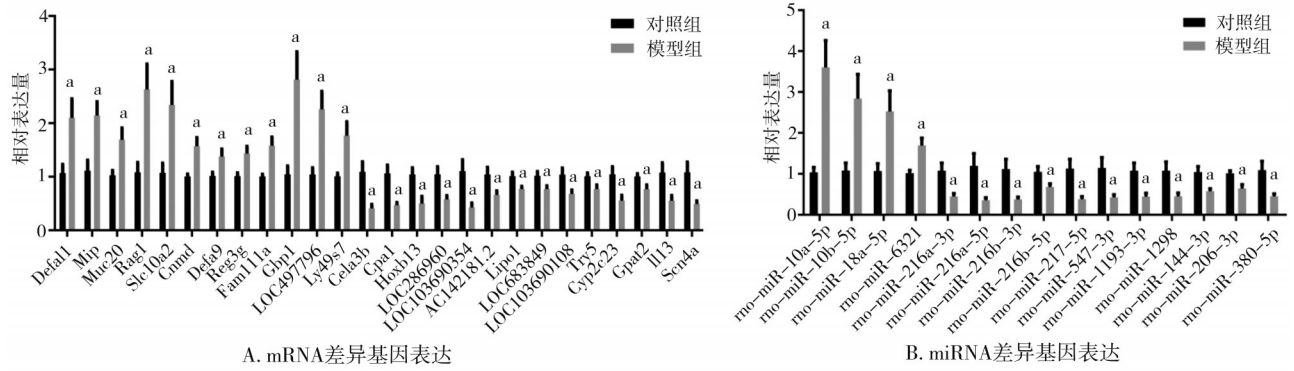


图2 增液汤对大鼠结肠组织 mRNA-miRNA 的影响

在 mRNA 的 GO 分析结果中,在对照组和模型组中,细胞成分(CC)分析表明,靶基因主要富集于细胞外区域(GO:0005576)和细胞外空间(GO:0005615)(图 4A)。在治疗组中,生物过程(BP)分析表明,靶基因富集在免疫系统过程(GO:0002376)相关(图 4B)。在 miRNA 靶基因的 GO 分析中,对照组和模型组中,细胞组分(CC)分析显示,靶基因主

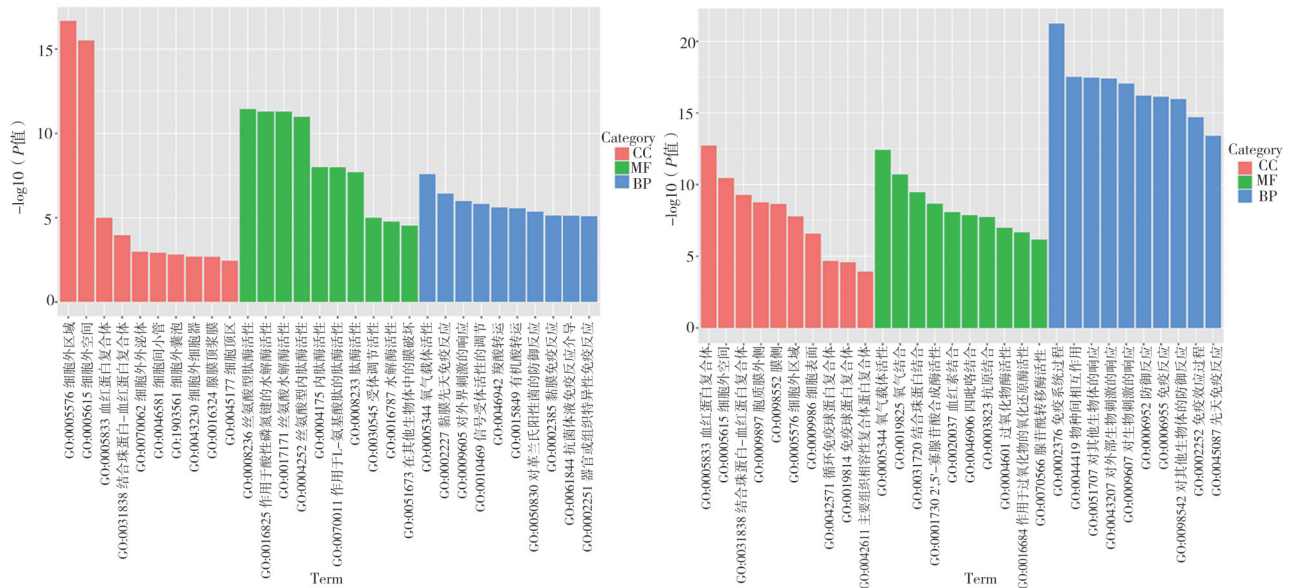
要富集于膜结合细胞器(GO:0043227)和细胞内膜结合细胞器(GO:0043231)(图 4C),而模型组和治疗组细胞组分 CC 分析显示靶基因主要富集于细胞内(GO:0005622)(图 4D)。

mRNA-miRNA KEGG 分析结果显示,增液汤治疗前后 cGMP-PKG 信号通路和 cAMP 信号通路靶基因显著富集(图 5)。



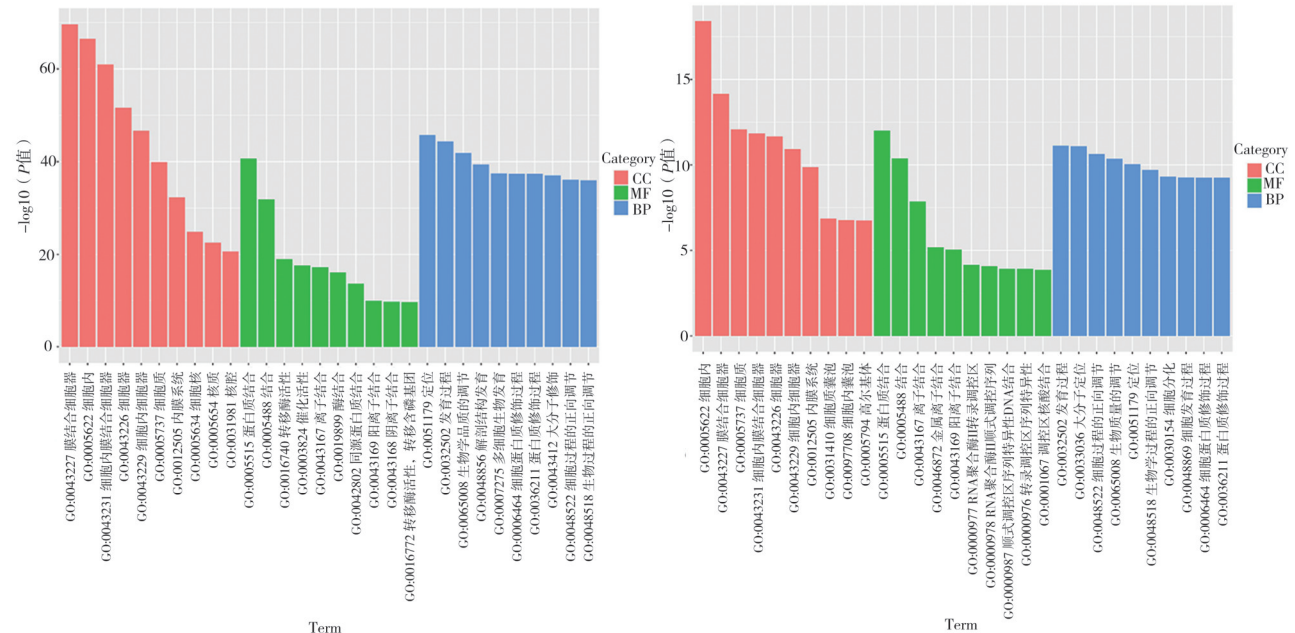
注:a,与对照组对比, $P < 0.05$

图3 差异基因表达的RT-qPCR验证($\bar{x} \pm s, n=3$)



A. mRNA-对照组 vs. 模型组GO

B. mRNA-模型组 vs. 治疗组GO



C. miRNA-对照组 vs. 模型组GO

D. miRNA-模型组 vs. 治疗组GO

图4 大鼠结肠组织GO分析图

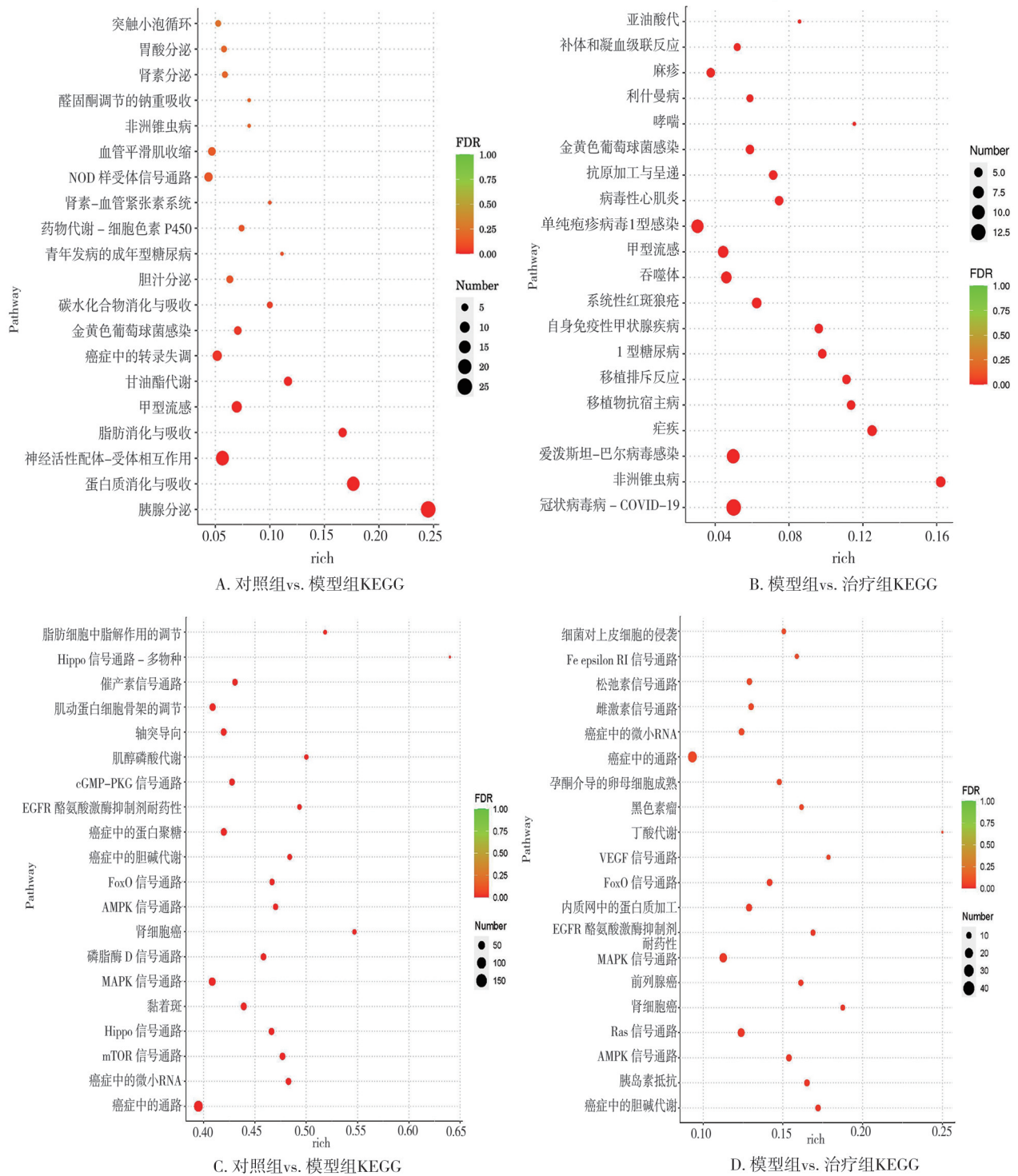


图5 大鼠结肠组织 KEGG 通路图

3 讨论

增液汤是临床上常用的一种中药,因其治疗消化不良和便秘的疗效而受到好评^[14]。本研究结果进一步验证了它的潜力,证明了其对复方地芬诺酯所

致功能性便秘大鼠的排便促进作用。此外,本研究观察到增液汤增加了粪便的含水量,增强了小肠推进率,并增强了结肠收缩的频率。上述结果提示增液汤具有缓解便秘的作用。

功能性便秘的发病率每年都在增加。目前,西医主要依靠对症治疗,如刺激性泻药、渗透性泻药

和润滑泻药^[15]。虽然这些治疗提供了缓解,但其疗效远非理想,往往伴随着明显的不良反应^[15]。相比之下,中医在治疗功能性便秘方面具有明显的优势^[16]。增液汤在临床上广泛用于治疗津液不足引起的便秘。实验研究证实增液汤能兴奋肠道平滑肌,促进肠道蠕动,促进排便^[17]。本研究结果显示,复方地芬诺酯灌胃后,模型组大鼠第一次黑便排泄时间延长,粪便颗粒数量减少,粪便含水量降低。经过增液汤治疗后,大鼠首黑便排泄时间缩短,大便颗粒数增加,大便含水量增加,说明增液汤改善了大鼠的排便功能,恢复了肠道转运功能。

miRNA 能够靶向调控细胞,改善靶细胞的生理病理活动,参与疾病的发生发展过程^[18]。在基因调控网络中,miRNA 具有准确传递和放大信号的能力^[19]。最新研究表明,miRNAs 在调节胃肠运动相关细胞的形态和功能方面发挥着重要作用,是功能性便秘研究的重要靶点^[20]。有研究证实,miRNA 及其相关网络参与肠道菌群失衡,是功能性便秘发病的关键^[13,20-21]。相关 miRNA 缺乏可能导致肠道微生物紊乱,粪便 miRNA 移植可重建肠道菌群,缓解胃肠道症状^[21]。差异表达的 miRNAs 可以通过靶向和调控相关基因的转录水平来改变肠道微生物的代谢途径^[22]。肠道疾病患者的肠道组织和外周循环中部分 miRNA 表达明显改变^[23-24],对于部分患者的肠道病理改变如肠道通透性增加,有确切的证据证明 miRNA-29a 在对其进行调控,而且 Zhu H 等^[25]通过大样本的临床研究和实验研究表明 miRNA-29a 的下游调控因子是紧密连接蛋白 ZO-1 和 claudin-1 (CLDN 1),在腹泻患者肠道内,miRNA-29a 出现上调,ZO-1 和 CLDN 1 表达则明显下调,从而导致了患者的肠道通透性显著增高,进而导致最终的腹痛腹泻等症状。miRNA-29a-肠道通透性及内脏高敏感完整通路的探明^[26],将在很大程度上有利于未来将 miRNA 用于肠道疾病的诊断,并将特异性的 miRNA 作为治疗靶点,例如可以利用 miRNA 类似物或抑制剂对下游效应因子进行调控从而达到治疗效果。而在功能性便秘小鼠的结肠中,miR-128 的表达明显升高,p38 / mcf 信号通路受到抑制^[29]。本研究结果表明,增液汤处理可以增加大鼠结肠 rno-miR-18a-5p,rno-miR-10a-5p,rno-miR-10b-5p

等的表达。通过转录组测序发现,mRNA-miRNA 的靶基因在 cGMP-PKG 信号通路和 cAMP 信号通路中富集。这表明增液汤调控了便秘大鼠结肠中 mRNA-miRNA 的表达。综上所述,增液汤能缓解 Lop 诱导的功能性大鼠便秘症状,促进肠道蠕动,改善结肠组织形态,改变结肠 miRNA-mRNA 的表达。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 陈思敏:研究方案设计、实施研究、分析数据、论文撰写;唐诗宇:数据收集、样本处理;关丽娜:组织病理、RT-qPCR 验证实验;庞峻:转录组测序、生信分析;吴青峰:动物实验实施及指导;王秋晓:动物实验实施;张智彬:动物实验协作;唐学贵(通信作者):论文修改与审阅、研究经费获取与项目管理

参 考 文 献

- [1] Fuchs KH, Schulz T, Broderick R, et al. Transanal hybrid colon resection: techniques and outcomes for benign colorectal diseases[J]. Surg Endosc, 2020, 34(8):3487-3495.
- [2] Ann Y. Transanal irrigation: is it the magic intervention for bowel management in individuals with bowel dysfunction?[J]. Br J Nurs, 2020, 29(7):393-398.
- [3] Dimidi E, Christodoulides S, Fragkos KC, et al. The effect of probiotics on functional constipation in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Am J Clin Nutr, 2014, 100(4):1075-1084.
- [4] 胡露楠,刘启鸿,柯晓,等.基于16S测序技术分析功能性便秘患者不同结肠传输动力肠道菌群的差异性研究[J].中国中西医结合消化杂志,2024,32(10):910-915,921.
Hu LN, Liu QH, Ke X, et al. Analysis of different colonic transport dynamics in patients with functional constipation based on 16S sequencing technology differential study of intestinal flora in patients with functional constipation[J]. Chin J Integr Tradit West Med Dig, 2024, 32(10):910-915, 921.
- [5] Kim SE, Choi SC, Park KS, et al. Change of fecal flora and effectiveness of the short-term VSL#3 probiotic treatment in patients with functional constipation[J]. J Neurogastroenterol Motil, 2015, 21(1):111-120.
- [6] Parthasarathy G, Chen J, Chen XF, et al. Relationship between microbiota of the colonic mucosa vs feces and symptoms, colonic transit, and methane production in female patients with chronic constipation[J]. Gastroenterology, 2016, 150(2):367-379.
- [7] 毛帼粟,石腾腾,林雪娇,等.李鲜教授运用温下法治疗便秘临证经验[J].中国民族民间医药,2018,27(16):69-70.
Mao GS, Shi TT, Lin XJ, et al. Professor Li Xian's clinical experience in treating constipation by warming down[J]. Chin J Ethnomed Ethnopharmacology, 2018, 27(16):69-70.

- [8] 胡 昕. 王文友从湿论治“便秘”经验浅析[J]. 中国实用医药, 2018, 13(34): 187-189.
- Hu X. Analysis of Wang wenyou's experience in treating constipation from dampness[J]. *China Pract Med*, 2018, 13(34): 187-189.
- [9] 刘鸣昊, 段卫娜, 张振凌. 增液汤临床研究进展[J]. 中医学报, 2016, 31(10): 1525-1528.
- Liu MH, Duan WN, Zhang ZL. Research progress in clinical application of zengyetang[J]. *Acta Chin Med*, 2016, 31(10): 1525-1528.
- [10] 毕继发. 增液汤加减方治疗慢传输型便秘(气阴两虚型)的临床观察[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2020.
- Bi JF. Clinical observation on the treatment of slow transit constipation (deficiency of both qi and yin) with Zengye Decoction[D]. Shenyang: Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2020.
- [11] Stavast CJ, Erkeland SJ. The non-canonical aspects of microRNAs: many roads to gene regulation[J]. *Cells*, 2019, 8(11): 1465.
- [12] Saliminejad K, Khorram Khorshid HR, Soleymani Fard S, et al. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 5451-5465.
- [13] Zhao SP, Chen Q, Kang XW, et al. Aberrantly expressed genes and miRNAs in slow transit constipation based on RNA-seq analysis[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 2617432.
- [14] 苏红利, 王 丽, 周 华, 等. 健脾益肾增液汤联合常规治疗对高龄慢性功能性便秘患者的临床疗效[J]. 中成药, 2023, 45(6): 1849-1853.
- Su HL, Wang L, Zhou H, et al. Clinical effects of Jianpi Yishen Zengye Decoction combined with conventional treatment on patients with elderly chronic functional constipation[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2023, 45(6): 1849-1853.
- [15] 曹冬兴, 王震华, 张 晔, 等. 腹腔镜直肠前固定术治疗合并重度盆底结构异常出口梗阻型便秘的远期疗效[J]. 中华消化外科杂志, 2022, 21(6): 796-801.
- Cao DX, Wang ZH, Zhang Y, et al. Long-term outcomes of laparoscopic ventral rectopexy for obstructive defecation with overt pelvic structural abnormalities[J]. *Chin J Dig Surg*, 2022, 21(6): 796-801.
- [16] 杨 婷, 皮 茂. 芪术增液汤治疗气阴两虚型慢传输型便秘 35 例临床观察[J]. 湖南中医杂志, 2022, 38(9): 9-11, 16.
- Yang T, Pi M. Clinical effect of Qizhu Zengye Decoction in treatment of slow transit constipation with deficiency of both qi and Yin: an analysis of 35 cases[J]. *Hunan J Tradit Chin Med*, 2022, 38(9): 9-11, 16.
- [17] 于 凡, 熊洪艳, 梁 玲, 等. 增液汤对实验动物排便及离体肠管的影响研究[J]. 中医药导报, 2017, 23(22): 39-41.
- Yu F, Xiong HY, Liang L, et al. Effect of Zengye Decoction on defecation and isolated intestine in experimental animal[J]. *Guid J Tradit Chin Med Pharm*, 2017, 23(22): 39-41.
- [18] 吕子初. 探讨蛋白质组学研究方法在针灸治病机理上的应用[D]. 广州: 广州中医药大学, 2010.
- Lv ZC. To explore the application of protein's omics research method in the mechanism of acupuncture and moxibustion[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2010.
- [19] Yao JP, Yan XY, Chen LP, et al. Efficacy and microRNA-gut microbiota regulatory mechanisms of acupuncture for severe chronic constipation: study protocol for a randomized controlled trial[J]. *Front Med*, 2022, 9: 906403.
- [20] Yu CR, Zang L, Feng B, et al. Co-expression network analysis identified specific miRNAs and genes in association with slow-transit constipation[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(6): 4696-4706.
- [21] Mazzone A, Strega PR, Gibbons SJ, et al. microRNA overexpression in slow transit constipation leads to reduced Nav1.5 current and altered smooth muscle contractility[J]. *Gut*, 2020, 69(5): 868-876.
- [22] Liu WC, Zhang QL, Li S, et al. The relationship between colonic macrophages and microRNA-128 in the pathogenesis of slow transit constipation[J]. *Dig Dis Sci*, 2015, 60(8): 2304-2315.
- [23] Kapeller J, Houghton LA, Mönnikes H, et al. First evidence for an association of a functional variant in the microRNA-510 target site of the serotonin receptor-type 3E gene with diarrhea predominant irritable bowel syndrome[J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(19): 2967-2977.
- [24] Vickers KC, Rye KA, Tabet F. MicroRNAs in the onset and development of cardiovascular disease[J]. *Clin Sci*, 2014, 126(3): 183-194.
- [25] Zhu H, Xiao X, Shi Y, et al. Inhibition of miRNA-29a regulates intestinal barrier function in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome by upregulating ZO-1 and CLDN1[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(6): 155.
- [26] Croce CM, Calin GA. miRNAs, cancer, and stem cell division[J]. *Cell*, 2005, 122(1): 6-7.
- [27] Hong YT, Ren XH, Liu WC, et al. miR-128 participates in the pathogenesis of chronic constipation by regulating the p38 α /M-CSF inflammatory signaling pathway[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2021, 321(4): 436-447.

(收稿: 2024-05-22; 修回: 2024-11-14; 录用: 2024-11-24)

(责任编辑: 李青颖)

本文引用格式:

陈思敏, 唐诗宇, 关丽娜, 等. 基于 miRNA-mRNA 表达谱分析增液汤对功能性便秘大鼠结肠组织功能的调节作用[J]. 重庆医科大学学报, 2026, 51(1): 100-108.