DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.01.030

基于“肾为胃之关”理论阳虚便秘患者肠道微生态联合粪便代谢特征分析

张轩[1],张尹[2],隋楠[1,3]
(1.辽宁中医药大学,辽宁 沈阳 110847;2.中国人民解放军北部战区总医院,辽宁 沈阳 110003;
3.辽宁中医药大学附属第三医院,辽宁 沈阳 110003)

摘要:目的 探讨阳虚便秘患者肠道菌群结构组成、肠道微生物代谢通路及粪便短链脂肪酸的特征,为阳虚便秘的诊治提供依据。方法 选取20例阳虚便秘患者和20例健康志愿者为研究对象,运用16S rRNA测序技术分析肠道菌群结构组成,气相色谱-质谱联用法测定粪便短链脂肪酸水平,分析显著差异菌群与短链脂肪酸的相关性,最后运用宏基因测序技术分析肠道微生物的差异代谢通路。结果 与健康对照者相比,阳虚便秘患者肠道菌群α多样性指数显著升高,β多样性显著改变,在门水平,拟杆菌门(Bacteroidota)、疣微菌门(Verrucomicrobiota)、梭杆菌门(Fusobacteriota)等丰度显著增加($P<0.05$),厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)等丰度显著降低($P<0.05$);在属水平,副拟杆菌属(*Parabacteroides*)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)及柯林斯氏菌属(*Collinsella*)等丰度显著增加($P<0.05$);戴阿利斯特杆菌属(*Dialister*)、*Fusicatenibacter*、罗氏菌属(*Roseburia*)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)、普拉梭菌属(*Faecalibacterium*)等丰度显著降低($P<0.05$)。阳虚便秘患者粪便短链脂肪酸乙酸、丙酸、己酸水平显著降低($P<0.001$);丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸水平显著升高($P<0.001$),相关性分析结果表明短链脂肪酸与差异菌群存在相关性,宏基因组测序的功能分析表明阳虚便秘患者肠道微生物碳水化合物代谢(Carbohydrate metabolism)、氨基酸代谢(Amino acid metabolism)、辅助因子和维生素代谢(Metabolism of cofactors and vitamins)等通路的相关基因丰度显著减少($P<0.05$),基因翻译(Translation)、神经退行性疾病(Neurodegenerative disease)等通路的相关基因丰度显著增加($P<0.05$)。结论 阳虚便秘患者肠道菌群结构组成、微生物代谢通路及粪便短链脂肪酸水平发生显著性改变,这些改变可能是导致便秘的重要原因。

关键词:功能性便秘;阳虚便秘;肠道菌群;短链脂肪酸;代谢通路
中图分类号:R256.35 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)01-0146-10

Analysis of Intestinal Microecology and Fecal Metabolism Characteristics in Patients with Yang Deficiency Constipation Based on Theory of “Relationship Between Kidney and Stomach”

ZHANG Xuan[1], ZHANG Yin[2], SUI Nan[1,3]
(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, Liaoning, China;
2. General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110003, Liaoning, China;
3. The Third Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110003, Liaoning, China)

Abstract: *Objective* To explore the structure of intestinal flora, intestinal microbial metabolism pathways and the characteristics of fecal short-chain fatty acids in patients with Yang deficiency constipation, so as to provide a basis for the diagnosis and treatment of Yang deficiency constipation. *Methods* Twenty patients with constipation due to Yang deficiency and 20 healthy volunteers were selected as the research objects. The 16S rRNA sequencing was used to analyze the structure of intestinal flora, gas chromatography-mass spectrometry was used to determine the levels of fecal short-chain fatty acids, and the correlation between significantly different flora and short-chain fatty acids was analyzed. Finally, the macrogene sequencing technology was used to analyze the differential metabolic pathways of intestinal microorganisms. *Results* Compared with those of the healthy controls, the α diversity index of intestinal flora in the patients with constipation due to Yang deficiency was significantly increased and the β diversity was significantly changed. At the phylum level, the abundances of Fusobacteriota, Verrucomicrobiota and Bacteroidota increased significantly ($P<0.05$), while the abundances of Proteobacteria and Firmicutes decreased significantly ($P<0.05$). At the genus level, the abundances of *Parabacteroides*, *Ruminococcus* and *Collintella* were significantly increased ($P<0.05$), while

基金项目:国家自然科学基金面上项目(82174370);国家中医药管理局青年岐黄学者培养项目(国中医药人教函〔2022〕256号);辽宁省自然科学基金项目(2020-MS-229);辽宁省中医药(临床)优秀人才项目(辽卫办发〔2021〕29号)
作者简介:张轩(1998-),男,内蒙古呼和浩特人,硕士在读,研究方向:中医外科学肛肠疾病。
通讯作者:隋楠(1978-),女,辽宁大连人,主任中医师,博士研究生导师,博士,研究方向:肛肠疾病中西医临床及基础。E-mail:suinan2226@163.com。

the abundances of *Dialister*, *Fusicatenibacter*, *Roseburia*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Faecalibacterium* were significantly decreased ($P<0.05$). The levels of fecal acetic acid, propionic acid and caproic acid were significantly decreased ($P<0.001$), but the levels of butyric acid, isobutyric acid, valeric acid and isovaleric acid were significantly increased ($P<0.001$), and the correlation analysis results showed that there was a correlation between short-chain fatty acids and different flora. Functional analysis showed that the abundance of genes related to amino acid metabolism, carbohydrate metabolism, metabolism of cofactors and vitamins decreased significantly ($P<0.05$), while the abundances of genes related to translation and neurodegenerative disease increased significantly ($P<0.05$). *Conclusion* The structure of intestinal flora, microbial metabolism pathways and fecal short-chain fatty acids in patients with Yang deficiency constipation changed significantly, which may be the important reasons for constipation.

Keywords: functional constipation; Yang deficiency constipation; intestinal flora; short-chain fatty acids; metabolic pathways

功能性便秘(Functional constipation,FC)是临床常见的消化系统疾病,主要表现为排便次数少、排便不尽感、肛门直肠阻塞感、粪便干结等症状[1],严重影响患者的生活质量及身心健康。FC的发病机制尚未完全明确,目前愈来愈多的研究表明,FC的发生同肠道微生态二者之间有密切而又复杂的关系,肠道菌群分布、数量及种类发生紊乱均会引发FC[2-3]。

肠道微生态源自先天,作用于后天,同时其状态受内外环境的影响,有着与中医类似的阴阳、脏腑以及正邪属性[4]。中医理论中肾乃先天之本,是人一身元气之源,元气生则脾胃运化精微,营养五脏六腑,使机体的生理功能得到正常发挥,其机制与肠道微生物对宿主的营养代谢机制具有相似性[5]。肾的阴阳平衡对维持机体阴阳平衡状态至关重要,尤其是肾的阳气充盛既能增强机体抵御外邪的能力,又能增强机体自我功能调节能力。故本研究以“肾为胃之关”理论为指导,通过对阳虚便秘患者肠道菌群结构组成、菌群代谢通路及短链脂肪酸水平的分析,深入探讨肠道微生物稳态失衡与阳虚便秘的关系及阳虚便秘的潜在发病机制,将有助于从肠道微生态角度为中医“从肾论治”便秘提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究纳入2021年12月—2022年12月就诊于辽宁中医药大学附属第三医院的阳虚便秘患者20例作为阳虚便秘组(FC组)。FC组入组标准:①符合罗马Ⅳ功能性便秘诊断标准[6]和中医阳虚便秘诊断标准[7];②年龄18~75岁,男女均可;③签署知情同意书。FC组排除标准:①妊娠期或哺乳期妇女;②有严重的认知障碍,精神状态异常;③伴有某些重要脏器器质性疾病,或患有梅毒等性病者。

选取同期20例健康志愿者为健康对照组(NC组),NC组入选标准:①年龄、性别、体质量指数(Body mass index,BMI)与FC组相匹配;②无烟酒史;③4周内未使用益生菌类、抗生素及抑酸剂等药物。NC组排除标准:①既往被确诊为便秘的患者;②怀孕或哺乳期妇女;③精神障碍及认知障碍者。

1.2 基线资料收集

收集阳虚便秘患者和健康志愿者的年龄、性别、BMI,入组患者及健康对照组成员均清楚本研究的相关内容并签署知情同意书。本研究已通过辽宁中医药大学附属第三医院伦理委员会的审核批准(LLPJ-ZY-GC-2021-001-01),并遵循《赫尔辛基宣言》伦理准则。

1.3 粪便样本的收集和处理

采集入组成员的粪便标本,嘱咐受试者便前在便池内垫上硫酸纸避免污染,然后用无菌采集棒采集新鲜粪便(不少于3 g)后迅速放入肠道菌群检测专用粪便收集器。标本收集完成后液氮速冻,并在3 h内转运至实验室并放置于-80 ℃低温冰箱保存。

1.4 16S rRNA测序

1.4.1 DNA提取及PCR扩增 严格按照DNA提取试剂盒说明提取粪便样本的基因组DNA,DNA质量经1%琼脂糖凝胶电泳检验合格后,使用通用引物对细菌16S高变区V3~V4进行PCR扩增,PCR产物经进一步检测后用Agencourt AMPure XP(Beckman Coulter,Inc.,USA)核酸纯化试剂盒纯化。最后将纯化后的扩增片段建立测序文库,应用Miseq PE300(Illumina,USA)平台进行高通量测序。Miseq PE300测序得到的是双端序列数据,需要进一步处理得到高质量序列clean tags。最后将clean tags用uparse、uclust聚类方式生成97%相似度的分类单元(Operational taxonomic units,OTU),应用QIIME提取各OTU的代表序列,并与数据库比较注释。

1.4.2 生物信息学分析 基于OTU聚类及注释结果,绘制Venn图。根据物种丰度进行α多样性分析,α多样性能够反映一个特定生态系统内的物种多样性水平;β多样性分析可将各组肠道菌群差异可视化;使用Phython(v2.7)软件进行线性判别分析(Linear discriminant analysis effect size,LEfSe),在不同分类水平找出差异有统计学意义的菌群。

1.5 粪便短链脂肪酸(Short-chain fatty acids,SCFAs)的检测

参照文献[8]进行取样,根据PCA分析结果,选择FC组和NC组受试者粪便标本各6例进行短链脂肪酸检测。取粪便2 mL于EP管中,加入1 mL纯水,涡旋10 s后进一步研磨、离心,加入0.1 mL 50%硫酸、0.8 mL提取液(含内标2-甲基戊酸,25 mg/L,甲基叔丁基醚),涡旋10 s,振荡10 min,超声10 min(冰水浴)再将样本4 ℃离心,10 000 r/min离心15 min;-20 ℃静置30 min;取出上清液于进样瓶中上机检测。检测仪器:岛津GC2030-QP2020NX气相色谱质谱联用仪。

1.6 宏基因组测序

1.6.1 基因组DNA组装及测序 宏基因组测序选取样本与短链脂肪酸检测样本一致。提取粪便基因组DNA之后,经质检、打断、打断产物纯化,将纯化后的DNA打断产物用2%琼脂糖凝胶对文库片段进行筛选,之后进行PCR富集完成Hiseq文库构建,最终把不同文库按照有效浓度及目标下机数据量的需求在Illumina Hiseq平台上机测序。

1.6.2 测序数据处理 原始下机数据为Illumina fastq格式,对原始数据进行拆分、质量剪切去除宿主污染等操作,得到优

质序列，使用拼接软件对优质序列进行拼接组装，并进行基因预测。对预测出的基因进行功能注释分类，在此基础上，进行样本相似性聚类、排序检验以及差异统计分析。

1.7 统计学方法

数据统计采用SPSS 24.0软件，计量资料进行正态检验，服从正态分布的计量资料采用均数±标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，采用独立样本T检验进行分析；不服从正态分布用中位数与四分位距（median，Q1－Q3）表示，采用Tukey检验或Wilcoxon秩和检验来比较组间差异，$P<0.05$差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基线资料比较

见表1。本研究共纳入40例受试者，其中包括阳虚便秘患者（FC组）20例和健康对照者（NC组）20例。结果显示，FC组和NC组的年龄、性别及BMI差异均无统计学意义（$P>0.05$）。

表1 两组基线资料比较

组别	例数	性别（男/女）	年龄/（岁，$\bar{x} \pm s$）	BMI/（kg/m^2，$\bar{x} \pm s$）
FC组	20	6/14	47.25±16.84	22.43±4.24
NC组	20	5/15	48.30±15.64	21.64±3.95
χ^2或t值		0.125	0.375	0.671
P值		0.723	0.870	0.512

2.2 OTU聚类分析

如插页Ⅷ图1。本次实验结果显示FC组与NC组共同拥有的OTU为3008个，NC组特有OTU数为1621个，FC组特有OTU数为2472个。

2.3 α多样性分析

比较两组间α多样性指数，结果见插页Ⅷ图2。除PD_whole_tree指数，FC组chao1指数、shannon指数及simpson指数均显著高于NC组，说明FC组肠道菌群的丰富度及多样性高于NC组。

2.4 β多样性分析

通过主成分分析（Principal component analysis，PCA）、偏最小二乘判别分析（Partial least squares discriminant analysis，PLS－DA）和非度量多维标度分析法（Non－metric multidimensional scaling，NMDS）评估β多样性，结果见插页Ⅷ图3。NC组和FC组组间的距离较远，而各组组内样本之间的距离较近，说明两组内样本的肠道菌群结构趋于一致，而组间差异性较大。

2.5 菌群结构组成比较

2.5.1 门水平的菌群结构组成及差异菌群分析 如插页Ⅷ图4A所示，在门水平，两组菌群的相对丰度均以厚壁菌门（Firmicutes）、拟杆菌门（Bacteroidota）、放线菌门（Actinobacteriota）为主，其中厚壁菌门（Firmicutes）和拟杆菌门（Bacteroidota）在两组中占比均达89%。比较两组肠道菌群在门水平的差异性，绘制差异物种热图，如插页Ⅸ图5A所示，NC组与FC组共有12个差异菌群（均$P<0.05$）。与NC组相比，FC组梭杆菌门（Fusobacteriota）、拟杆菌门（Bacteroidota）、疣微菌门（Verrucomicrobiota）、Synergistota等菌群相对丰度显著升高（$t=4.621$，$P<0.001$；$t=3.474$，$P=0.003$；$t=3.681$，$P=0.002$；$t=7.182$，$P<0.001$）；厚壁菌门（Firmicutes）、变形菌门（Proteobacteria）、Deferribacterota、Cyanobacteria等相对丰度显著降低（$t=3.467$，$P=0.003$；$t=3.149$，$P=0.005$；$t=2.298$，$P=0.033$；$t=3.882$，$P=0.001$）。

2.5.2 属水平的菌群结构组成及差异菌群分析 如插页Ⅷ图4B所示，在属水平，戴阿利斯特杆菌属（*Dialister*）、拟杆菌属（*Bacteroides*）、*Blautia*及*Eubacterium_coprostanoligenes*_group等为两组的优势菌群。对比两组肠道菌群在属水平的差异性，选取菌群相对丰度top20且有显著差异的物种绘制热图（均$P<0.05$），如插页Ⅸ图5B所示，相比于NC组，FC组副拟杆菌属（*Parabacteroides*）、瘤胃球菌属（*Ruminococcus*）、脱硫弧菌属（*Desulfovibrio*）及柯林斯氏菌属（*Collinsella*）等菌群相对丰度显著上调（$t=4.665$，$P<0.001$；$t=2.761$，$P=0.012$；$t=6.378$，$P<0.001$；$t=2.383$，$P=0.028$）；而戴阿利斯特杆菌属（*Dialister*）、*Fusicatenibacter*、罗氏菌属（*Roseburia*）、双歧杆菌属（*Bifidobacterium*）、普拉梭菌属（*Faecalibacterium*）等菌群相对丰度显著降低（$t=3.212$，$P=0.005$；$t=6.439$，$P<0.001$；$t=7.518$，$P<0.001$；$t=4.718$，$P<0.001$；$t=6.646$，$P<0.001$）。

2.6 特异性差异菌群分析

通过LEfSe分析并绘制线性判别（Linear discriminant analysis，LDA）分布柱状图，见插页Ⅹ图6，在不同分类水平找出具有统计学意义的差异菌群。结果显示，FC组共有Oscillospirales、*Eubacterium_coprostanoligenes*_group、梭菌纲（Clostridia）、拟杆菌门（Bacteroidota）等59个菌群显著富集，NC组共有负菌纲（Negativicutes）、毛螺菌科（Lachnospiraceae）、双歧杆菌属（*Bifidobacterium*）、乳酸杆菌属（*Lactobacillus*）等58个菌群显著富集。

2.7 短链脂肪酸水平检测

结果见插页Ⅺ图7，气相色谱质谱法测定NC组（$n=6$）及FC组（$n=6$）的短链脂肪酸水平。与NC组相比，FC组粪便乙酸、丙酸、己酸含量显著降低（$t=48.604$，$P<0.001$；$t=407.697$，$P<0.001$；$t=167.909$，$P<0.001$），而异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸含量显著升高（$t=295.427$，$P<0.001$；$t=56.026$，$P<0.001$；$t=607.215$，$P<0.001$；$t=663.041$，$P<0.001$）。

2.8 差异菌群与短链脂肪酸的相关性

如插页Ⅻ图8所示，门水平选取拟杆菌门（Bacteroidota）和厚壁菌门（Firmicutes），属水平选取双歧杆菌属（*Bifidobacterium*）等菌属与7种短链脂肪酸进行关联性分析，分析结果显示，异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸水平与拟杆菌门（Bacteroidota）、*Eubacterium_coprostanoligenes*_group、*Romboutsia*呈正相关，与戴阿利斯特杆菌属（*Dialister*）、双歧杆菌属（*Bifidobacterium*）、普拉梭菌属（*Faecalibacterium*）、乳酸杆菌属（*Lactobacillus*）、厚壁菌门（Firmicutes）、*Blautia*呈负相关。

2.9 宏基因组测序的功能分析

如插页ⅩⅢ图9A所示，根据京都基因与基因组百科全书（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG）数据库的注释结果绘制FC组（$n=6$）与NC组（$n=6$）在KEGG Level 2级top30的相对功能丰度柱形图。结果显示，FC组与NC组的代谢通路均以碳水化合物代谢（Carbohydrate metabolism）、氨基酸代谢（Amino acid metabolism）、基因翻译（Translation）、辅助因子和维生素代谢（Metabolism of cofactors and vitamins）等为主。如图9B所示，与NC组相比，FC组氨基酸代谢（Amino acid metabolism）（$z=2.201$，$P=0.004$）、碳水化合物代谢（Carbohydrate metabolism）（$z=2.232$，$P=0.004$）、内分泌和代谢疾病（Endocrine and metabolic disease）（$z=2.201$，$P=$

0.004)、辅助因子和维生素代谢(Metabolism of cofactors and vitamins)($z=2.201$,$P=0.004$)等代谢通路相关基因丰度显著减少;基因翻译(Translation)($z=1.572$,$P=0.037$)、神经退行性疾病(Neurodegenerative disease)($z=1.363$,$P=0.037$)等通路的相关基因丰度显著增加。

3 讨论

3.1 阳虚便秘患者肠道菌群结构特征

肠道菌群在影响宿主生理功能上有着重要作用,因此有学者将肠道菌群称作宿主的"功能器官"[9],研究指出阳虚患者体内存在肠道菌群紊乱,且肠道菌群失衡会损伤脾胃阳气,化生内寒进而导致脾肾阳虚[10]。本次研究 α 多样性及 β 多样性分析结果显示,FC 组肠道菌群丰富度及多样性显著高于 NC 组,且二者的菌群结构组成有明显差异。在门水平,FC 组拟杆菌门的相对丰度显著增加,前人的研究结果[11]也表明 FC 患者的拟杆菌门丰度水平约为健康受试者的 2 倍,并且拟杆菌门水平可能与 FC 的严重程度呈正相关,事实上有研究指出拟杆菌门相对丰度增加可能是肠内容物通过肠道速度变缓的原因之一[12]。在属水平,FC 组脱硫弧菌属相对丰度显著上调,而罗氏菌属、双歧杆菌属、乳酸杆菌属等有益菌属相对丰度显著下降。研究指出脱硫弧菌属可将结肠中的硫酸盐还原,产生高浓度的硫化氢,不仅对肠黏膜的屏障功能造成损伤,还会抑制肠道蠕动,可看作是 FC 的潜在致病菌属[13]。双歧杆菌属和乳酸杆菌属是我们熟知的肠道有益菌群,二者可酵解寡糖产生乳酸和醋酸,从而降低肠腔内的 pH 值,促进肠的蠕动促使大便排出,同时乳酸、醋酸等有机酸还可增加肠管内渗透压,促进水分吸收来软化粪便[14]。此外,DESBORNET L 等[15]研究发现双歧杆菌能促使大鼠释放更多 5-羟色胺(5-Hydroxytryptamin,5-HT)等神经递质,通过与相应受体结合,使肠道平滑肌加速收缩、加快肠蠕动,可有效改善 FC 症状。另有研究表明罗氏菌属可产生多种对肠道健康有益的短链脂肪酸[16],近期的研究更是直接指出该菌属丰度的降低可能是导致 FC 的主要原因[17]。综合上述分析结果推测在门水平拟杆菌门的高丰度可能是导致阳虚便秘的原因之一;在属水平,脱硫弧菌属、罗氏菌属、双歧杆菌属及乳酸杆菌属相对丰度的改变可能与阳虚便秘的发生密切相关。

3.2 阳虚便秘患者肠道菌群代谢产物的特征

短链脂肪酸是肠道菌群的代谢产物,可分为乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸等,在维持肠道黏膜屏障、调节肠道免疫反应、促进肠道蠕动和吸收等方面发挥着重要作用,与 FC 的发生发展有着密切联系[18-19],不同的短链脂肪酸对阳虚便秘患者肠道功能的干预作用是有差异的。本次研究结果显示 FC 组乙酸、丙酸水平较 NC 组显著降低,而丁酸、异戊酸水平显著增加。乙酸可以促进结肠内免疫球蛋白 A(Immunoglobulin A,IgA)的产生,影响 IgA 与特定肠道细菌的结合能力,可通过调节这些细菌在结肠内的生长定植,从而加强肠黏膜的免疫屏障功能[20]。丙酸可通过肠黏膜上皮中的 G 蛋白偶联受体引起大鼠结肠低频率、高振幅的收缩,对结肠内容物的推动起到重要作用[21]。异戊酸浓度升高会引起结肠平滑肌松弛,抑制肠道蠕动[22]。丁酸可抑制结肠黏蛋白分泌,刺激结肠水和电解质吸收使粪便干燥坚硬,同时还可能抑制结肠平滑肌收缩引起 FC[23-24],此外丁酸盐水平升高会导致神经元氧化磷酸化途径上调,而细胞周期和内源性重组途径下调,进而引起一系列细胞损伤和细胞周期紊乱,阻碍肠神经系统的修复从而加重便秘的症状[25]。可见短链脂肪酸的含量变化可能是导致阳虚便秘的主要原因,但具体的机制尚不够明确,仍有待进一步深入研究。

课题组通过对阳虚便秘患者肠道菌群特征及短链脂肪酸代谢产物的联合分析,发现乙酸、丙酸水平与双歧杆菌属、乳酸杆菌属丰度呈正相关,也有研究[26]证实,受试者口服乳酸杆菌 4 周后,双歧杆菌和其他有益菌增加,而脱硫弧菌和其他机会致病菌减少,所有年龄组的乙酸盐和丙酸盐水平均出现显著性增加。推测阳虚便秘患者乙酸、丙酸水平的显著降低可能是由双歧杆菌属、乳酸杆菌属丰度显著下降导致的。肠道菌群与短链脂肪酸之间存在的"协同"或"拮抗"关系,可能是阳虚便秘患者肠道微生态失衡的潜在机制,因此,调节阳虚便秘患者肠道特定菌群的丰度进而改善短链脂肪酸代谢产物的水平可作为阳虚便秘防治的重要方法。

3.3 阳虚便秘患者肠道微生物代谢通路的特征

本研究通过宏基因组测序的功能分析表明:阳虚便秘患者在碳水化合物代谢、氨基酸代谢、辅助因子和维生素代谢等通路丰度明显减少,而这些代谢通路涉及了肠道微生物对人体最普遍的生理功能,碳水化合物代谢与短链脂肪酸的生成密切相关[16]。肠道菌群可通过氨基酸代谢生成另一类代谢产物氨基酸,在维持肠道健康方面有许多积极作用,如缬氨酸、异亮氨酸和苯丙氨酸,可以通过糖异生进一步转化为葡萄糖,从而为身体补充能量,苏氨酸可促进上皮屏障功能恢复[27]。肠道微生物通过辅助因子和维生素代谢影响维生素等的生成和吸收[28]。因此我们推测肠道微生物代谢通路的改变可能是肠道微生态失衡导致阳虚便秘的内在机理,可作为后续研究的重要方向。

综上所述,肠道微生物稳态失衡是阳虚便秘发生的重要因素,推测肠道罗氏菌属、双歧杆菌属、乳酸杆菌属等丰度相对减少,以及肠道微生物对碳水化合物的代谢能力减弱,可能会导致短链脂肪酸水平的改变,使肠道功能受损,从而进一步耗伤脾肾之阳导致阳虚便秘的发生。因此,从调整肠道菌群入手,结合中医药防治便秘的独特优势,在中医理论的指导下,探索中医药通过调整肠道微生态治疗阳虚便秘的途径和方法具有重要的临床意义。

3.4 基于中医"肾为胃之关"理论对阳虚便秘的认识

中医将便秘的病位归于大肠,《灵枢·本输》云:"大肠小肠,皆属于胃"。大肠、小肠均属于六腑,实属胃家,与胃的功能密切关联,实际上大肠主传化、传导的功能从整体观念考虑,可以看作是胃主降浊功能的延伸,二者均需通过"通""降"功能使机体保持正常运转的状态。

"肾为胃之关"首见于《内经》,《素问·水热穴论篇》中称:"肾者,胃之关也。关门不利,故聚水而从其类也"。后世医家对于此不断发挥应用,尤其在二便失常疾病的病机阐述和指导治疗方面的论述较为多见,丰富了"肾为胃之关"的理论内涵。明·张景岳在《类经·针刺类》中所注:"肾主下焦,开窍于二阴,水谷入胃,清者由前阴而出,浊者由后阴而出,肾气化则二阴通,肾不气化,则二阴闭;肾气壮,则二阴调,肾气虚则二阴不禁,故曰肾为胃之关"。《景岳全书·泄泻》中也写道:"肾为胃之关,开窍于二阴,所以二便之开闭皆肾脏之所主"。《景岳全书·秘结》曰:"凡下焦阳虚,则阳气不行,阳气不行则

不能传送，而阴凝于下，此阳虚而阴结也”。肾阳虚，命门火衰，不足以蒸化津液来温助大肠发挥正常的推动传导功能，故可见大便的排出困难。“肾为胃之关”理论阐释了便秘的病因病机多与肾阳虚衰密切相关。肾藏精，化为肾气，其中在机体的各个脏腑、组织、器官发挥推动及温煦等作用的肾中精气被称为肾阳。大肠排便功能正常，需要阳气发挥其温煦作用和推动作用来保障大肠的运化功能。阳气主要来自先天之本——肾阳。肾阳不足，命门火衰，气化无权，脾胃失于温煦、大肠传导推动无力，且肠道失于濡润，糟粕内停是阳虚便秘发生的主要病机。

同时，“肾为胃之关”理论为临床上从肾治疗阳虚便秘奠定了重要基础。《景岳全书·秘结》曰：“便秘有不得不通者，若察其元气已虚，……，但用济川煎主之，则无有不达。”济川煎具有温肾阳、润大便的功用，在治疗肾阳虚之便秘上发挥其功效，疗效显著。有研究[29]表明应用济川煎治疗慢性功能性便秘的老年患者，能促进肠道菌群平衡，使肠道厌氧菌群中的乳酸菌和双歧杆菌数量出现明显升高，其需氧菌群中的酵母菌和大肠杆菌数量出现明显回落，便秘症状明显缓解。

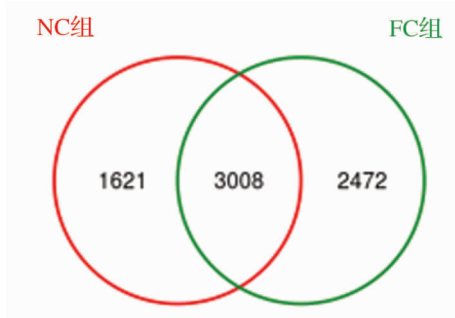
综上所述，肾为先天之本，肠道微生物来源于先天，肾的功能正常是肠道微生物达到平衡和稳态的重要保障，肠道菌群失调是便秘发生的关键环节。以“肾为胃之关”理论为指导，以肠道微生物稳态作为切入点，进一步深入探讨肠道微生物稳态失衡与便秘的相关性及其机制，阐明“肾为胃之关”与便秘的现代科学内涵，使中医理论在未来的研究探索中进一步得以继承和创新，同时为临床“从肾论治”便秘奠定一定的理论基础，对进一步优化治疗具有重要意义。

参考文献

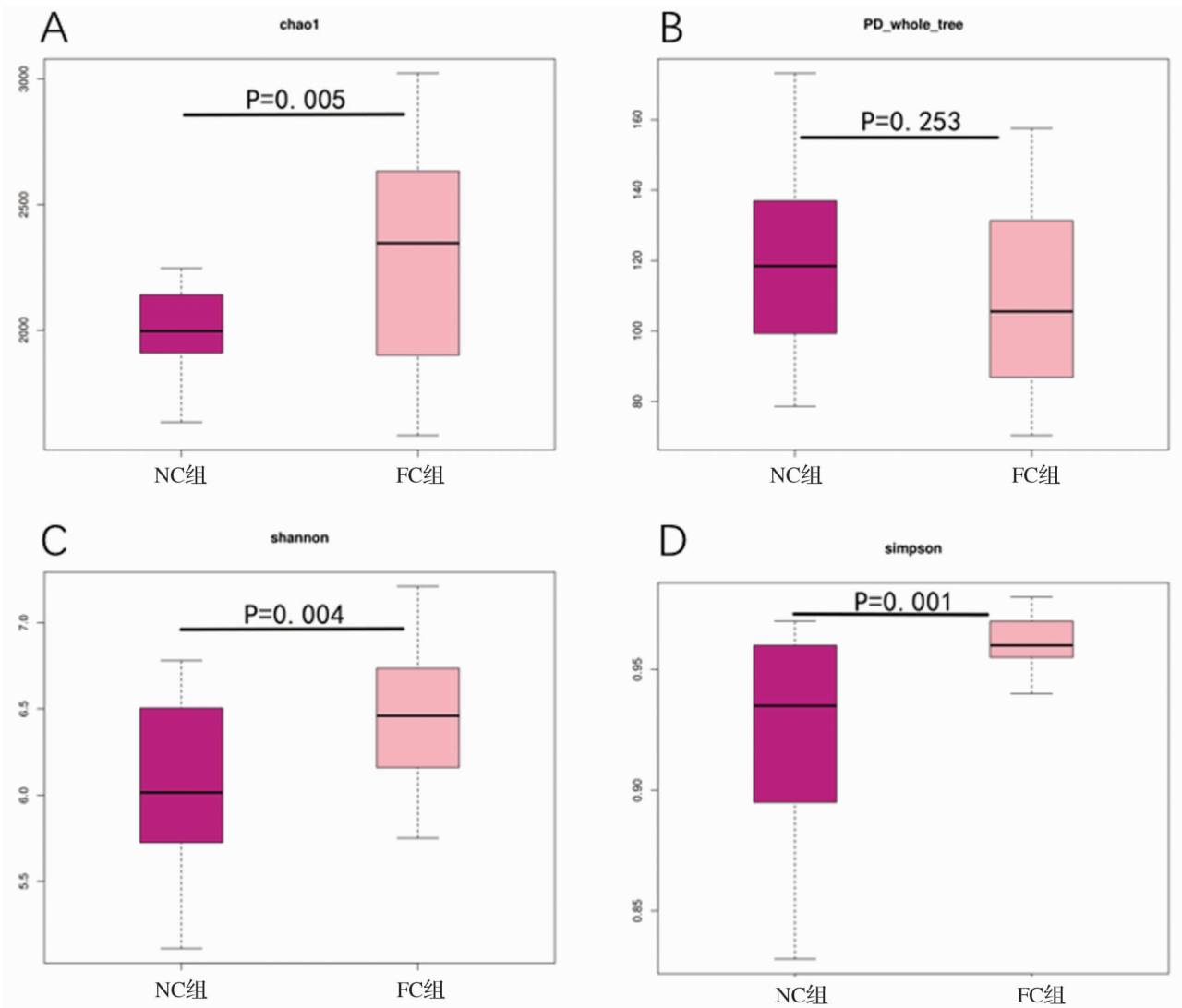
[1] 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组，功能性胃肠病协作组. 中国慢性便秘专家共识意见(2019，广州)[J]. 中华消化杂志，2019，39(9)：577－598.
[2] 马志发，韩云蕾，孙敬平. 老年性功能性便秘与肠道菌群及代谢产物的关系[J]. 成都医学院学报，2024，19(1)：182－186.
[3] 李勇骑，王晓雯，唐诚馨，等. 基于肠道菌群探讨短链脂肪酸与功能性便秘的相关性[J]. 中国肛肠病杂志，2024，44(2)：70－74.
[4] 罗珮艺，祁先伟，吴建英. 基于中医体质学原理探讨肠道微生态与代谢综合征的关系[J]. 中国民族民间医药，2023，32(10)：1－6.
[5] 王俞铧，梁笑妍，陈昊昱，等. 基于病因学理论探讨肠道菌群失调之六淫属性[J]. 北京中医药大学学报，2023，46(12)：1658－1664.
[6] 中国医师协会肛肠医师分会. 便秘外科诊治指南(2017)[J]. 中华胃肠外科杂志，2017，20(3)：241－243.
[7] 张声生，沈洪，张露，等. 便秘中医诊疗专家共识意见(2017)[J]. 中医杂志，2017，58(15)：1345－1350.
[8] MANCABELLI L，MILANI C，LUGLI G A，et al. Unveiling the gut microbiota composition and functionality associated with constipation through metagenomic analyses[J]. Sci Rep，2017，7(1)：9879.
[9] CORREALE J，HOHLFELD R，BARANZINI S E. The role of the gut microbiota in multiple sclerosis[J]. Nat Rev Neurol，2022，18(9)：544－558.
[10] 沈明霞，丁文君，谢海彬，等. 肾阳虚COPD合并骨质疏松大鼠肠道菌群、OPG/RANKL/RANK通路变化及益生菌的治疗作用[J]. 中国微生态学杂志，2024，36(5)：535－539.
[11] GUO M Q，YAO J F，YANG F，et al. The composition of intestinal microbiota and its association with functional constipation of the elderly patients[J]. Future Microbiol，2020，15：163－175.
[12] PARTHASARATHY G，CHEN J，CHEN X F，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.
[13] MURROS K E，HUYNH V A，TAKALA T M，et al. Desulfovibrio bacteria are associated with Parkinson's disease[J]. Front Cell Infect Microbiol，2021，11：652617.
[14] 刘四香，黄永坤，王明英，等. 功能性便秘患儿的肠道菌群分析及治疗干预[J]. 昆明医科大学学报，2022，43(3)：123－127
[15] DESBONNET L，GARRETT L，CLARKE G，et al. Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression[J]. Neuroscience，2010，170(4)：1179－1188.
[16] PORTINCASA P，BONFRATE L，VACCA M，et al. Gut microbiota and short chain fatty acids：implications in glucose homeostasis[J]. Int J Mol Sci，2022，23(3)：1105.
[17] TIAN H L，YE C，YANG B，et al. Gut metagenome as a potential diagnostic and predictive biomarker in slow transit constipation[J]. Front Med(Lausanne)，2022，8：777961.
[18] JEONG J J，GANESAN R，JIN Y J，et al. Multi－strain probiotics alleviate loperamide－induced constipation by adjusting the microbiome，serotonin，and short－chain fatty acids in rats[J]. Front Microbiol，2023，14：1174968.
[19] CHEN Q，CHEN D，GAO X Y，et al. Association between fecal short－chain fatty acid levels and constipation severity in subjects with slow transit constipation[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol，2024，36(4)：394－403.
[20] 平易，魏艳玲，陈东风，等. 肠道短链脂肪酸与肠黏膜屏障[J]. 胃肠病学和肝病学杂志，2022，31(5)：508－512.
[21] LIU Q H，KE D F，CHEN Y Q，et al. Effects of Liqi Tongbian decoction on gut microbiota，SCFAs production，and 5－HT pathway in STC rats with Qi Stagnation Pattern[J]. Front Microbiol，2024，15：1337078.
[22] NGUYEN T D，HÅLLENIUS F F，LIN X，et al. Monobutyrin and monovalerin affect brain short－chain fatty acid profiles and tight－junction protein expression in ApoE－knockout rats fed high－fat diets[J]. Nutrients，2020，12(4)：1202.
[23] BACH KNUDSEN K E，LÆRKE H N，HEDEMANN M S，et al. Impact of diet－modulated butyrate production on intestinal barrier function and inflammation[J]. Nutrients，2018，10(10)：1499.
[24] XU M M，GUO Y，CHEN Y，et al. Electro－acupuncture promotes gut motility and alleviates functional constipation by regulating gut microbiota and increasing butyric acid generation in mice[J]. J Integr Med，2023，21(4)：397－406.
[25] WANG L，LV W Q，YANG J T，et al. Enteric nervous system damage caused by abnormal intestinal butyrate metabolism may lead to functional constipation[J]. Front Microbiol，2023，14：1117905.
[26] WANG L F，ZHANG J C，GUO Z，et al. Effect of oral consumption of probiotic *Lactobacillus* planatarum P－8 on fecal microbiota，SIgA，SCFAs，and TBAs of adults of different ages[J]. Nutrition，2014，30(7－8)：776－783.
[27] TANG Q，TAN P，MA N，et al. Physiological functions of threonine in animals：beyond nutrition metabolism[J]. Nutrients，2021，13(8)：2592.
[28] 王乐. 基于多组学对中国女性功能性便秘人群的病因及致病机制研究[D]. 长沙：中南大学，2023.
[29] 张双喜，张相安，安永康. 济川煎对老年慢性功能性便秘患者胃肠功能、血清肠神经递质及肠道菌群的影响[J]. 中国实验方剂学杂志，2018，24(22)：169－174.

基于“肾为胃之关”理论阳虚便秘患者肠道微生态联合粪便代谢特征分析

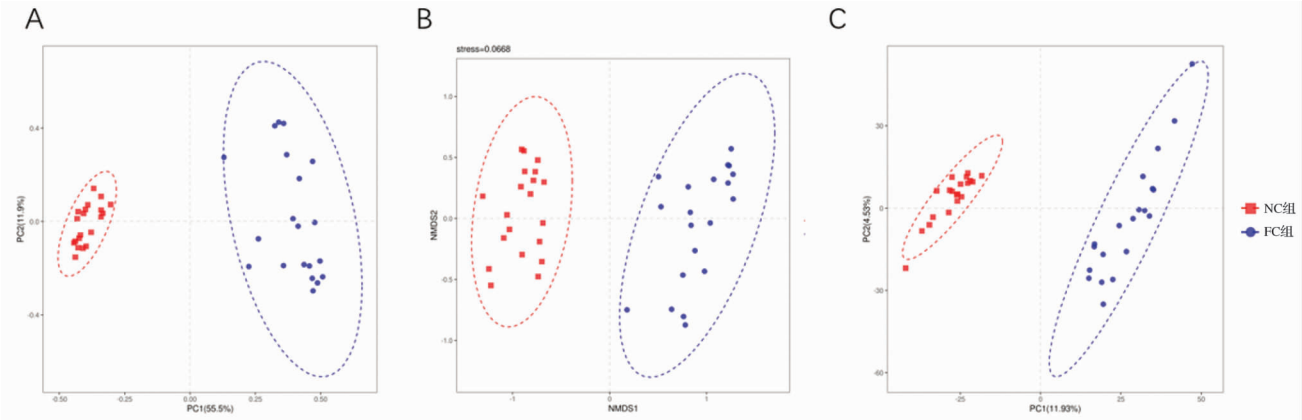
（正文见 146－150 页）



注：NC. 健康对照组，FC. 阳虚便秘组。
图 1　两组 OTU 韦恩图

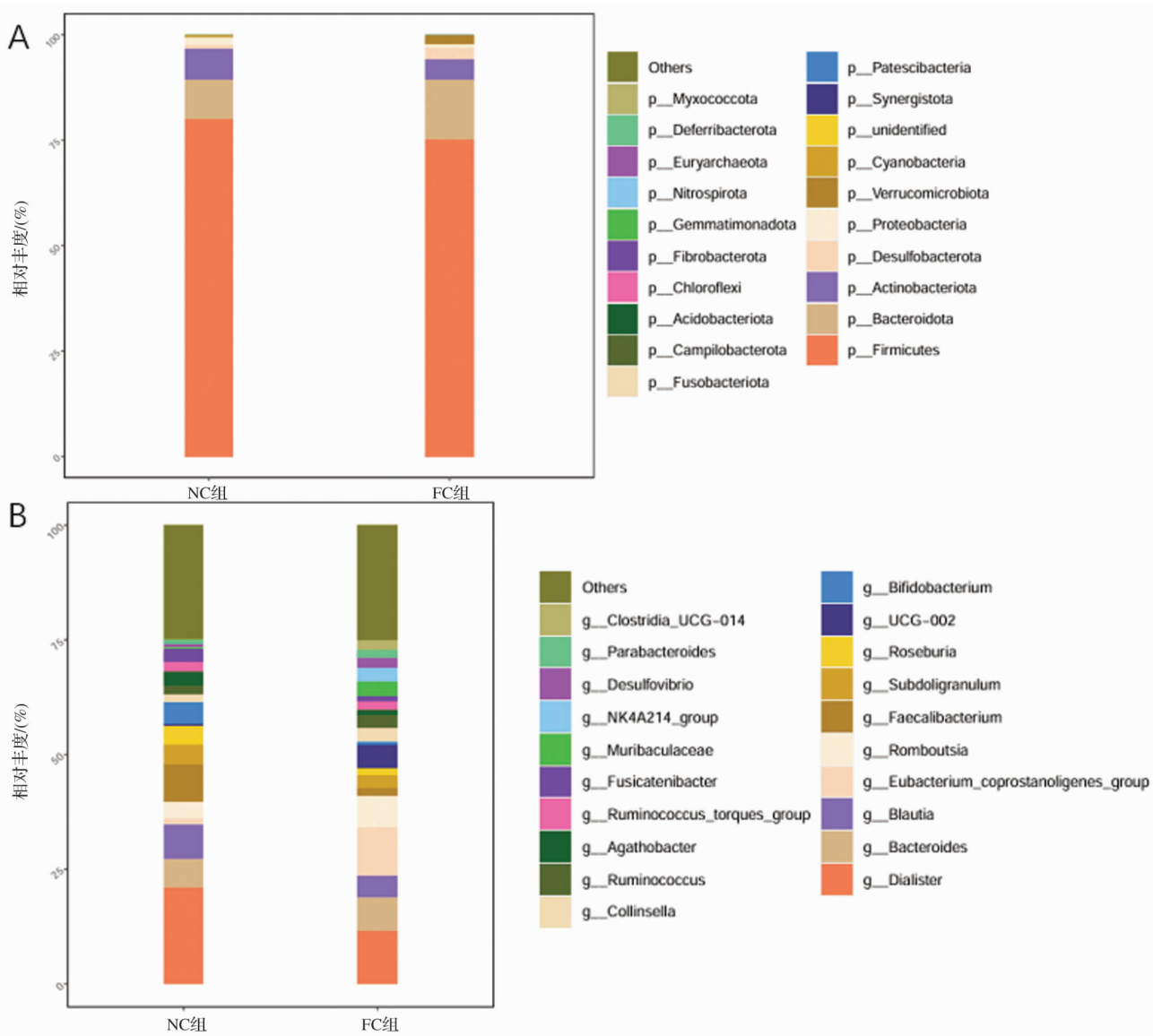


注：NC. 健康对照组，FC. 阳虚便秘组；A 为 chao1 指数，B 为 PD_whole_tree 指数，C 为 shannon 指数，D 为 simpson 指数。
图 2　两组 α 多样性指数分析



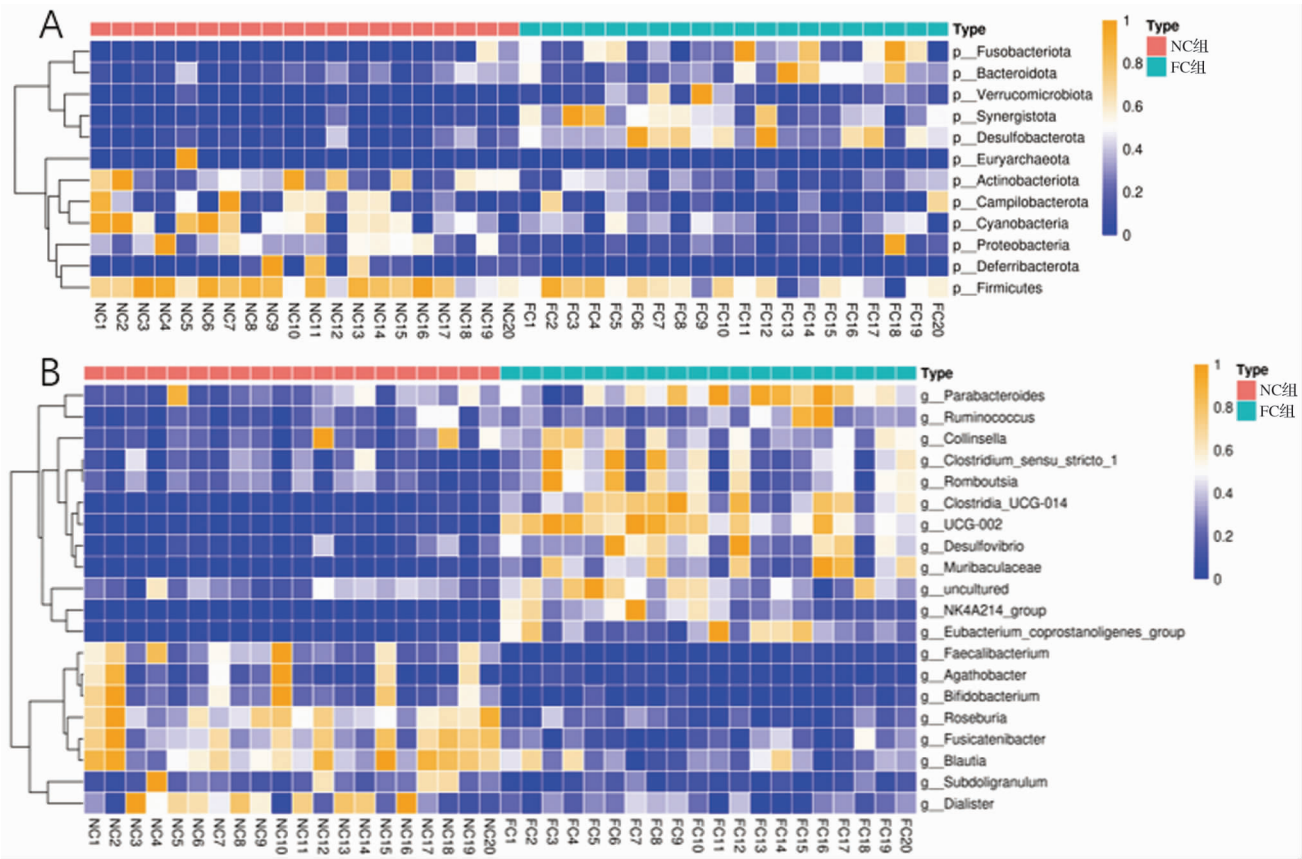
注：NC. 健康对照组，FC. 阳虚便秘组；A 为 PCA 分析，B 为 NMDS 分析，C 为 PLS－DA 分析；不同颜色或图形的点代表不同的样本分组，横、纵坐标轴的刻度是相对距离，无实际意义。

图 3　两组 β 多样性分析



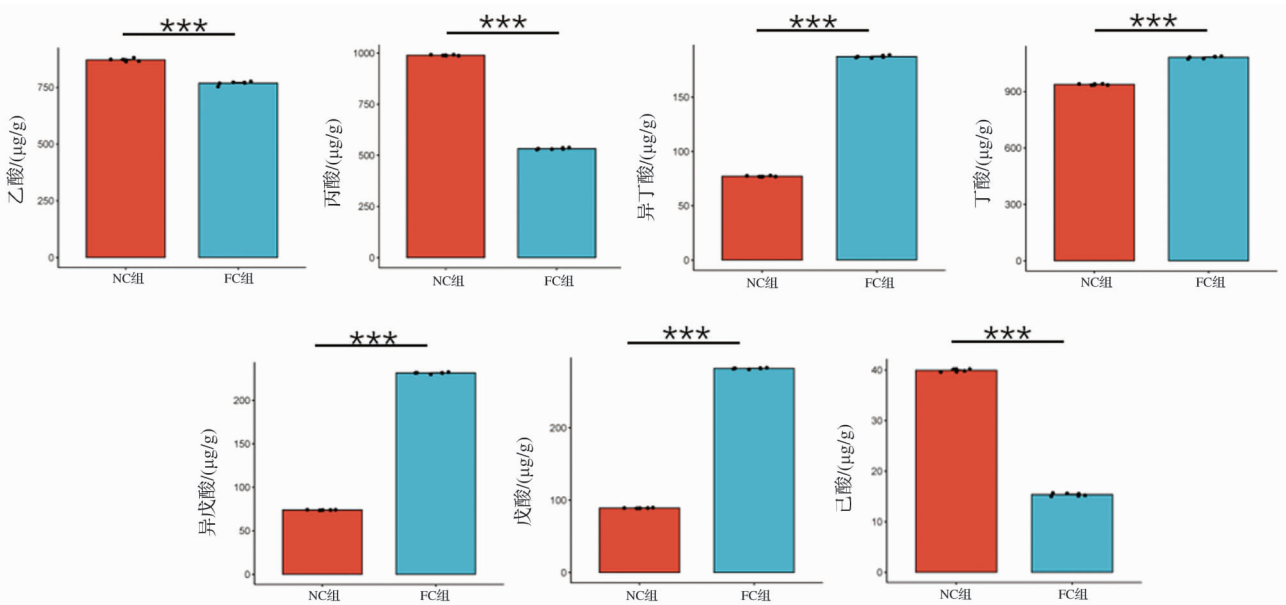
注：NC. 健康对照组，FC. 阳虚便秘组；A 为门水平菌群结构组成，B 为属水平菌群结构组成。

图 4　两组菌群结构组成比较



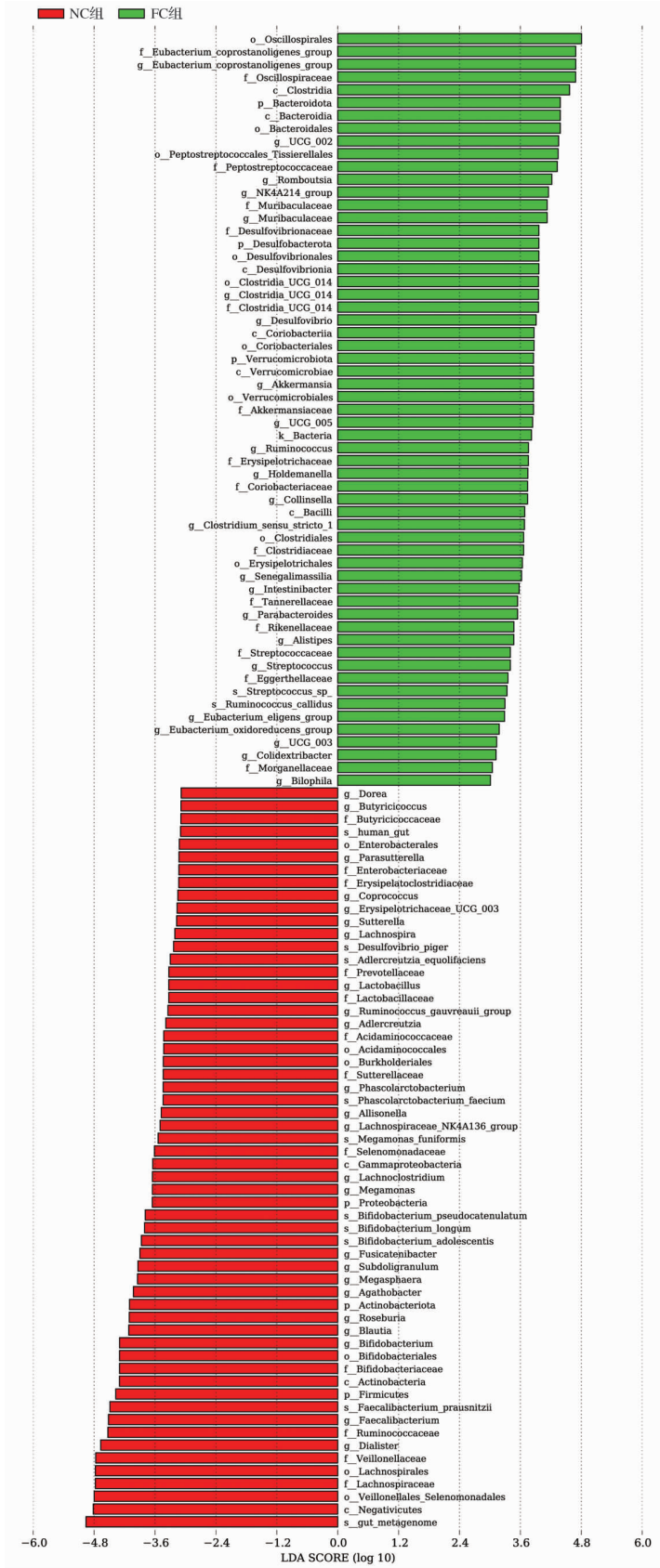
注：NC. 健康对照组，FC. 阳虚便秘组；A 为门水平差异菌群相对丰度比较，B 为属水平差异菌群相对丰度比较。

图 5 两组差异菌群分析



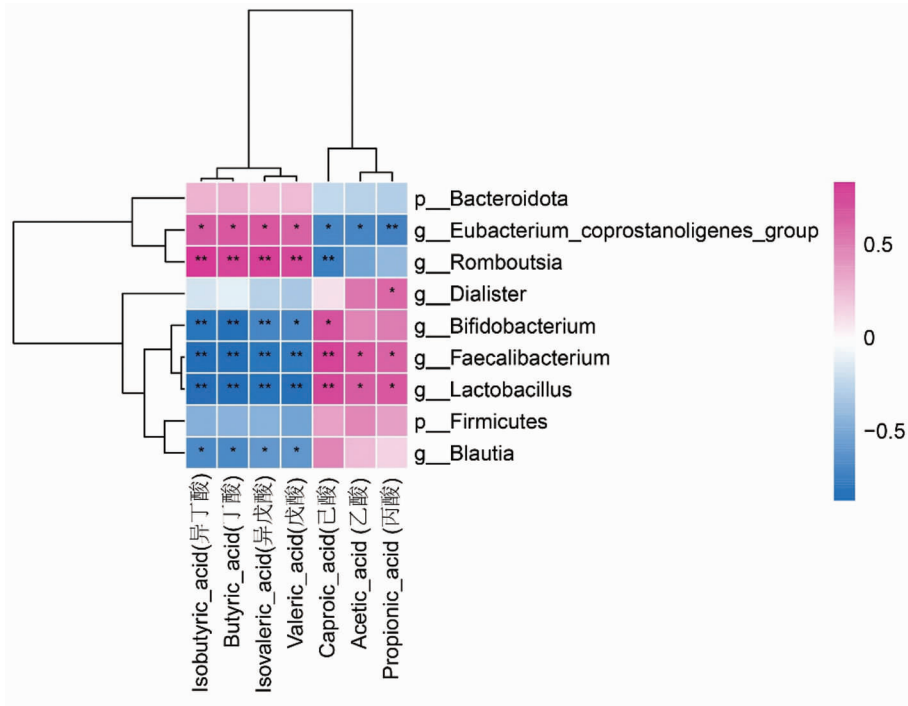
注：NC. 健康对照组，FC. 阳虚便秘组；* * * $P<0.001$。

图 7 两组短链脂肪酸含量比较



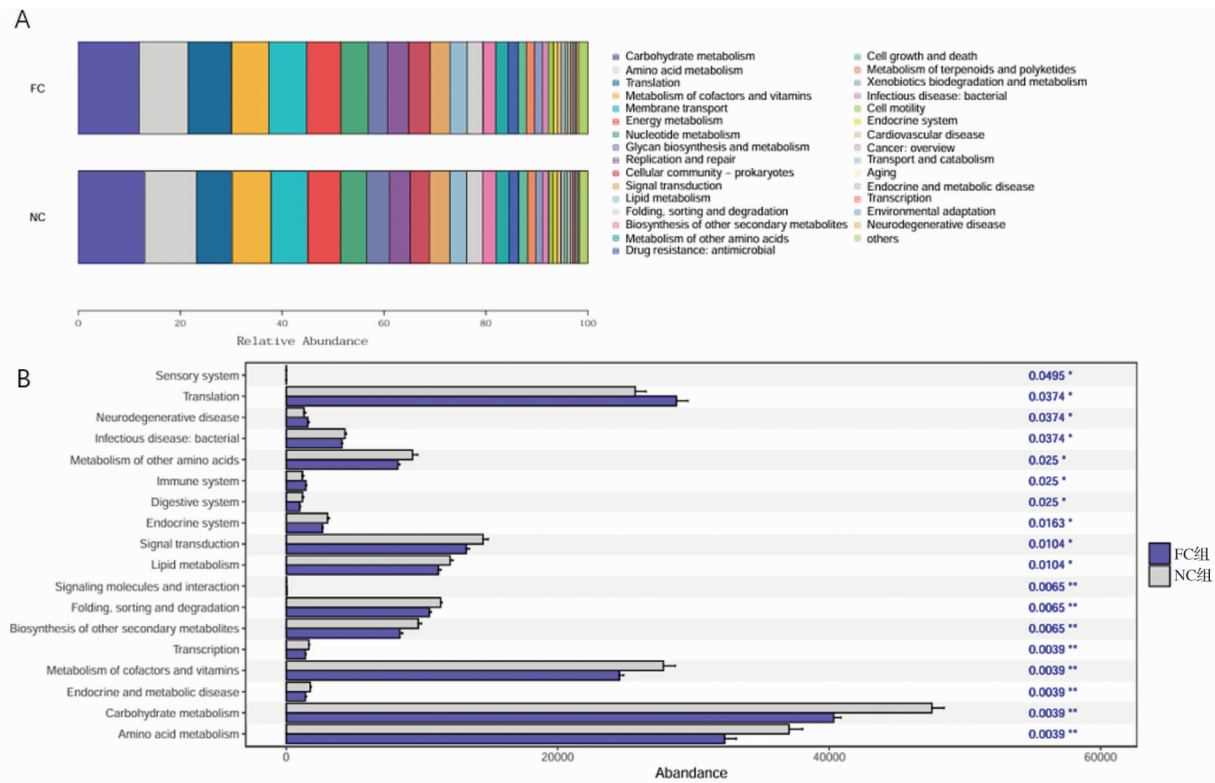
注：NC. 健康对照组，FC. 阳虚便秘组；展示了 LDA score >3 的有统计学差异的菌群，柱状图的长度代表显著差异物种的影响力大小，长度越长，差异越显著。

图 6 两组差异菌群 LEfSe 分析



注：$*P<0.05$；$**P<0.01$。

图 8 差异菌群与短链脂肪酸的相关性热图



注：A 为肠道微生物功能丰度比较；B 为代谢通路相关基因丰度比较；NC. 健康对照组，FC. 阳虚便秘组。

图 9 两组肠道微生物功能特征比较