◇ 基础研究 ◇

http://www.cjcpt.com
2026 Sep; 31(9): 1173-1181

黄芪甲苷通过调控 miR-340-5p、SMAD2 表达对盆底功能障碍大鼠的保护机制研究

李　捷，王占利，黄　瑶，姬　霞

河南省中医院（河南中医药大学第二附属医院），郑州 450000，河南

摘要　**目的：**探讨黄芪甲苷（ASIV）对盆底功能障碍（PFD）大鼠及微小 RNA（miR）-340-5p、Smad 同源物 2（SMAD2）表达的影响。**方法：**构建 PFD 大鼠模型，将造模成功大鼠随机分为 PFD 组、ASIV-L 组、ASIV-M 组、ASIV-H 组、ASIV-H+miR-NC 组、ASIV-H+miR-340-5p mimics 组，每组 12 只，另取 12 只正常健康大鼠作为 Control 组；检测各组大鼠盆底功能、尿流动力学（膀胱容积、排尿时膀胱内压、漏尿点压）、盆底肌肉表面电信号等相关指标；HE 染色及 Masson 染色观察肛提肌组织病理变化；免疫组化检测Ⅰ型胶原（Collagen Ⅰ）和弹性蛋白（Elastin）的相对表达；qRT-PCR 检测 miR-340-5p 水平；免疫印迹检测 SMAD2 蛋白表达；双荧光素酶报告基因系统验证 miR-340-5p 与 SMAD2 靶向关系。**结果：**PFD 组较 Control 组肛提肌呈肥厚状，肌纤维内可见细胞萎缩、肥大，大量肌纤维坏死、排列紊乱，偶见少量蓝色胶原纤维，肌纤维含量显著减少；膀胱容积、膀胱内压、漏尿点压、阴道静息压、阴道收缩压及Ⅰ类、Ⅱ类盆底肌纤维平均肌电位均下降；Collagen Ⅰ、Elastin、SMAD2 蛋白相对表达降低；而膀胱颈活动度、尿道旋转角度及 miR-340-5p 相对表达升高（*P*<0.05）。ASIV-L 组、ASIV-M 组、ASIV-H 组、ASIV-H+miR-340-5p mimics 组较 PFD 组肌纤维结构明显改善，坏死减少，无变性，排列较紧密，蓝色胶原纤维不同程度增多，肌纤维含量增加；膀胱容积、膀胱内压、漏尿点压、阴道静息压、阴道收缩压及Ⅰ类、Ⅱ类盆底肌纤维平均肌电位均升高；Collagen Ⅰ、Elastin、SMAD2 蛋白相对表达上调，膀胱颈活动度、尿道旋转角度及 miR-340-5p 相对表达降低（*P*<0.05）。ASIV-H+miR-340-5p mimics 组较 ASIV-H 组、ASIV-H+miR-NC 组肌纤维组织病理损伤进一步加重，胶原纤维显著减少，膀胱容积、膀胱内压、漏尿点压、阴道静息压、阴道收缩压及Ⅰ类、Ⅱ类盆底肌纤维平均肌电位均降低，Collagen Ⅰ、Elastin、SMAD2 蛋白相对表达降低，膀胱颈活动度、尿道旋转角度及 miR-340-5p 相对表达升高（*P*<0.05）；Starbase 数据库及双荧光素酶报告基因实验证实，miR-340-5p 可直接靶向并抑制 SMAD2 表达。**结论：**ASIV 可改善大鼠 PFD，其机制可能与抑制 miR-340-5p、促进 SMAD2 表达相关。

关键词　miR-340-5p；Smad 同源物 2；黄芪甲苷；盆底功能障碍；大鼠

中图分类号：R711.7；R332
文献标志码：A
文 章 编 号：1009-2501(2026)09-1173-09
doi: 10.12092/j.issn.1009-2501.2026.09.003

盆底功能障碍（pelvic floor dysfunction，PFD）广泛发生于中老年女性，主要包括骨盆器官脱垂、尿失禁、肛门失禁、性功能障碍等症状，不仅影响生活质量，还给患者身体及心理带来巨大痛苦，甚至引发抑郁等精神疾病的发生[1]。随着人口老龄化加剧，PFD 患者比例持续升高，治疗需求不断增加，目前主要通过盆底肌肉训练等保守治疗使大多数女性获得盆底护理，进而改善 PFD[2-3]。对于症状严重者仍需手术干预，然而术后易复发，且并发症多，因此寻求新的治疗药物与策略以恢

2025-08-06 收稿　2025-11-20 修回
河南省卫生健康委国家中医临床研究基地科研专项课题（2021JDZX2055）
李捷，女，硕士，主治医师，研究方向：妇科内分泌、妇科肿瘤、盆底功能障碍性疾病。
E-mail: ljfckz@126.com
姬霞，通信作者，女，主任医师，研究方向：妇科生殖内分泌及妇科肿瘤。
E-mail: jx.1120@163.com

复盆底功能至关重要[4]。作为中药黄芪的主要活性成分，黄芪甲苷（astragaloside IV，ASIV）具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、神经保护、器官保护等多重功效，研究表明，ASIV 可通过抑制炎症反应改善子宫组织病变和子宫黏连，对慢性盆腔炎大鼠子宫具有保护作用[5]。PFD 的发生与盆底支持组织结构破坏及缺失密切相关，成纤维细胞是构成盆底支持组织的主要细胞之一，Wei 等[6]发现，微小 RNA（miR）-340-5p 过表达可抑制成纤维细胞活化和增殖。Smad 同源物 2（SMAD family member 2，SMAD2）在转化生长因子-β（transforming growth factor-beta，TGF-β）信号缺失的情况下，其过度表达可刺激肌细胞生成素的表达，促进成肌细胞的分化和增殖[7]。Starbase 网站预测显示 miR-340-5p 与 SMAD2 之间存在靶向结合位点。故本研究拟通过探究 ASIV 对 PFD 大鼠作用机制及 miR-340-5p、SMAD2 表达的影响，丰富 ASIV 的作用机理研究。

1 材料与方法

1.1 动物、试剂 SPF 级 SD 大鼠，7～8 周龄，体质量（200±20）g，购自青海喜马拉雅动物实验中心有限公司，动物合格证号：SCXK（青）2024-0001。本研究已获得河南省中医院实验动物伦理委员会批准，批准号：PZ-HNSZYY-2024-009。人阴道壁成纤维细胞（上海中乔新舟生物科技有限公司，PRI-H-00201）；ASIV 标准品（上海纯优生物科技有限公司，纯度≥98%，P0140）；miR-NC、miR-340-5p mimics 慢病毒（上海吉凯基因医学科技股份有限公司）；兔源 Collagen Ⅰ、SMAD2 抗体（武汉菲恩生物科技有限公司，FNab01836、FNab07993）；兔源 Elastin 抗体（美国 GeneTex 公司，GTX37428）。倍益康 beoka 神经肌肉电刺激仪[企晟（上海）医疗器械有限公司]；S16 Pro 盆底康复治疗仪（四川千里倍益康医疗科技股份有限公司）。

1.2 分组、造模、给药 适应性喂养 1 周后，将实验大鼠分为 Control 组、PFD 组、ASIV-L 组、ASIV-M 组、ASIV-H 组、ASIV-H+miR-NC 组、ASIV-H+miR-340-5p mimics 组，每组 12 只。除 Control 组，其余组大鼠均进行 PFD 模型构建。造模过程：麻醉大鼠，将 18 F 导管插入大鼠阴道固定，向连接压力传感器的 Foley 球囊注水 3.0 mL，使其对盆底支持组织产生持续 4 h 的 0.15 kg 压力；放水取出压力传感器，14 d 后测定膀胱内压和漏尿点压，若造模大鼠膀胱容积、排尿时膀胱内压、漏尿点压较对照组显著降低，表明 PFD 大鼠造模成功[8]。对照组只插导管不注水。造模成功 10 d 后，ASIV-L 组、ASIV-M 组、ASIV-H 组[5]：分别给予 20、40、80 mg·kg^{-1}·d^{-1} ASIV 灌胃；ASIV-H+miR-NC 组、ASIV-H+miR-340-5p mimics：给予 80 mg·kg^{-1}·d^{-1} ASIV 灌胃及尾静脉分别注射 miR-NC、miR-340-5p mimics 慢病毒；Control 组、PFD 组：给予等量的生理盐水灌胃；连续 30 d。

1.3 尿流动力学检测 给药结束后麻醉大鼠，在其膀胱处插入膀胱导管并连接三通装置，其中一端连接压力传感器，另一端连接微量注射泵。先排空膀胱，记录膀胱基线压力值；再持续输注生理盐水（速度 5 mL/h）。当输注量达到 0.4 mL（约膀胱容量的一半），缓慢按压大鼠下腹增加膀胱内压力，直至出现漏尿现象。迅速松开，记录无张力收缩时漏尿的峰压力值。持续输注直至膀胱充满出现自发性排尿现象，此时记录膀胱最高收缩压力值、自发性收缩时的排尿容积及自发性收缩压力值。漏尿点压＝无张力收缩时漏尿的峰压力平均值－膀胱基线压力平均值。排尿时膀胱内压＝最高收缩压力平均值－膀胱基线压力平均值。

1.4 盆底功能检测 给药结束后麻醉大鼠，仰卧位固定于动物手术台上，剃除下腹部及会阴区的毛发。清洁皮肤，将定制的阴道压力探头插入大鼠阴道内 1～1.5 cm 处，静息 1～2 min，待压力曲线稳定后，记录至少 30 s 的稳定压力值即静息压。神经肌肉电刺激仪给予 5 s、1.0 mA 电刺激串，重复 3 次，每次间隔至少 1 min，记录压力曲线的峰值压力，取其均值即为收缩压。将彩色多普勒超声诊断仪高频线阵探头纵向放置于大鼠下腹部耻骨联合上方，采集静息状态下图像。轻柔、持续按压大鼠下腹部，直至观察到盆底下降或尿道口有轻微液体渗出，采集应力状态下图像。以耻骨联合后下缘为固定参考点，测量其到膀胱颈的距离，计算膀胱颈活动度（应力状态距离—静息状态距离）。测量贯穿尿道长轴的尿道轴线与平行于身体纵轴的参考垂线之间的夹角，计算尿道的旋转角度（应力状态下该夹角—静息状态下该夹角）。全程由专业医师操作。

1.5 盆底肌肉表面电信号水平检测 麻醉大鼠，仰卧位固定于动物手术台上，将定制的专用微型

双极阴道电极金属接触点分别置于大鼠阴道内约 3 点和 9 点钟方向，刺激电极连接电刺激输出通道。信号记录参数：带通滤波；采样率 2 000 Hz；信号增益 1 000 μV/V；屏幕扫描速度 300 ms/div，电刺激参数：双相矩形波；频率：Ⅰ类纤维 10 Hz，Ⅱ类纤维 40 Hz；脉宽 300 μs；强度从 0.1 V 起逐级递增，每级刺激 5 s、间隔 15 s。全程由专业医师操作盆底康复治疗仪，测定大鼠Ⅰ类、Ⅱ类盆底肌纤维电位。

1.6　肛提肌组织病理学观察　麻醉处死大鼠，取肛提肌组织，然后 4% 甲醛固定，浸蜡包埋制作石蜡切片。二甲苯脱蜡，复水，分别进行 HE 染色、Masson 染色。清洗后，干燥透明密封切片，光镜下观察组织病理变化。

1.7　Collagen Ⅰ和 Elastin 表达的免疫组化检测　取上述肛提肌组织石蜡切片脱蜡复水，抗原修复后灭活。封闭后，与一抗在 4 ℃下过夜反应，再与二抗在 37 ℃下反应 1 h。DAB 显色，苏木素复染，最后在荧光显微镜下观察 Collagen Ⅰ和 Elastin 相对表达情况。

1.8　qRT-PCR 检测 miR-340-5p 水平　取盆底组织研碎提取 RNA，反转录成 cDNA，然后以其为模板进行扩增反应，最后通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 miR-340-5p（内参 U6）相对表达。

1.9　免疫印迹检测 SMAD2 蛋白表达　取盆底组织研碎，蛋白裂解液充分裂解后提取总蛋白定量。将蛋白变性后电泳分离，并转入 PVDF 膜。脱脂奶粉封闭，与一抗在 4 ℃下过夜反应，再与二抗在 37 ℃下反应 1 h，显影后收集图像。使用 Image 软件进行灰度分析。

1.10　miR-340-5p 与 SMAD2 靶向关系验证　将野生型 SMAD2（SMAD2-WT）、突变型 SMAD2（SMAD2-MUT）与 miR-NC、miR-340-5p mimic 分别共转染至人成纤维细胞，然后通过双荧光素酶基因报告试剂盒检测荧光素酶活性。

1.11　统计学处理　采用 SPSS 25.0 软件分析数据，计量资料符合正态分布，使用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，单因素方差分析进行多组间比较，进一步组间两两比较采用 *SNK-q* 检验，$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　ASIV 对 PFD 大鼠尿流动力学的影响　PFD 组较 Control 组膀胱容积、膀胱内压、漏尿点压下降（$P<0.05$）；ASIV-L 组、ASIV-M 组、ASIV-H 组、ASIV-H+miR-340-5p mimics 组较 PFD 组膀胱容积、膀胱内压、漏尿点压升高（$P<0.05$）；ASIV-H 组与 ASIV-H+miR-NC 组差异无统计学意义（$P>0.05$）；ASIV-H+miR-340-5p mimics 组较 ASIV-H 组、ASIV-H+miR-NC 组膀胱容积、膀胱内压、漏尿点压下降（$P<0.05$）；见 Tab.1。

Tab.1　Comparisons of urodynamic parameters among different groups of rats ($\bar{x}\pm s$, n=12)

Group	Bladder volume (mL)	Intravesical pressure (mmHg)	Leak point pressure (mmHg)
Control	1.24±0.13	97.54±10.23	135.27±14.82
PFD	0.36±0.05^{b}	52.36±5.71^{b}	84.61±8.69^{b}
ASIV-L	0.54±0.06^{e}	63.32±6.75^{e}	100.25±10.54^{e}
ASIV-M	0.76±0.09^{eh}	76.55±8.02^{eh}	113.62±11.76^{eh}
ASIV-H	1.13±0.12^{ehk}	91.36±9.51^{ehk}	132.07±13.85^{ehk}
ASIV-H+miR-NC	1.09±0.12	90.24±9.38	130.43±13.62
ASIV-H+miR-340-5p mimics	0.62±0.07^{enq}	69.42±7.53^{enq}	105.38±10.97^{enq}

$^{b}P<0.05$, compared with control group; $^{e}P<0.05$, compared with PFD group; $^{h}P<0.05$, compared with ASIV-L group; $^{k}P<0.05$, compared with ASIV-M group; $^{n}P<0.05$, compared with ASIV-H group; $^{q}P<0.05$, compared with ASIV-H+miR-NC group.

2.2　ASIV 对 PFD 大鼠盆底功能的影响　PFD 组较 Control 组阴道静息压、阴道收缩压下降，膀胱颈活动度、尿道旋转角度升高（$P<0.05$）；ASIV-L 组、ASIV-M 组、ASIV-H 组、ASIV-H+miR-340-5p mimics 组较 PFD 组阴道静息压、阴道收缩压升高，膀胱颈活动度、尿道旋转角度降低（$P<0.05$）；

ASIV-H 组与 ASIV-H+miR-NC 组差异无统计学意义（*P*>0.05）；ASIV-H+miR-340-5p mimics 组较 ASIV-H 组、ASIV-H+miR-NC 组阴道静息压、阴道收缩压下降，膀胱颈活动度、尿道旋转角度升高（*P*<0.05）；见 Tab.2。

Tab.2　Comparisons of pelvic floor function-related parameters among different groups of rats ($\bar{x} \pm s$, *n*=12)

Group	Vaginal resting pressure (mmHg)	Vaginal squeeze pressure (mmHg)	Bladder neck mobility (cm)	Urethral rotation angle (°)
Control	57.36±5.96	69.85±7.26	0.65±0.08	30.15±3.26
PFD	30.12±3.35^{b}	32.01±3.39^{b}	1.34±0.14^{b}	51.72±5.39^{b}
ASIV-L	36.21±3.84^{e}	40.55±4.27^{e}	1.12±0.12^{e}	43.59±4.56^{e}
ASIV-M	44.35±4.73^{eh}	50.28±5.24^{eh}	0.91±0.10^{eh}	36.82±3.92^{eh}
ASIV-H	53.67±5.58^{ehk}	61.37±6.43^{ehk}	0.72±0.08^{ehk}	30.94±3.23^{ehk}
ASIV-H+miR-NC	51.09±5.41	60.14±6.28	0.73±0.08	31.25±3.31
ASIV-H+miR-340-5p mimics	40.26±4.32^{enq}	46.73±4.89^{enq}	1.06±0.12^{enq}	40.23±4.26^{enq}

^{b}P<0.05, compared with control group; ^{e}P<0.05, compared with PFD group; ^{h}P<0.05, compared with ASIV-L group; ^{k}P<0.05, compared with ASIV-M group; ^{n}P<0.05, compared with ASIV-H group; ^{q}P<0.05, compared with ASIV-H+miR-NC group.

2.3　ASIV 对 PFD 大鼠盆底肌肉表面电信号水平的影响　PFD 组较 Control 组Ⅰ类、Ⅱ类盆底肌纤维平均肌电位下降（*P*<0.05）；ASIV-L 组、ASIV-M 组、ASIV-H 组、ASIV-H+miR-340-5p mimics 组较 PFD 组Ⅰ类、Ⅱ类盆底肌纤维平均肌电位升高（*P*<0.05）；ASIV-H 组与 ASIV-H+miR-NC 组差异无统计学意义（*P*>0.05）；ASIV-H+miR-340-5p mimics 组较 ASIV-H 组、ASIV-H+miR-NC 组Ⅰ类、Ⅱ类盆底肌纤维平均肌电位下降（*P*<0.05）；见 Tab.3。

2.4　ASIV 对 PFD 大鼠肛提肌组织病理变化的影响　Control 组肛提肌组织结构正常，肌纤维排列整齐有序，无明显病理损伤；PFD 组较 Control 组肛提肌呈肥厚状，病理损伤明显（*P*<0.05），肌纤维可见萎缩的细胞、肥大细胞浸润，大量肌纤维坏死、排列紊乱；ASIV-L 组、ASIV-M 组、ASIV-H 组、ASIV-H+miR-340-5p mimics 组较 PFD 组肌纤维结构明显改善（*P*<0.05），坏死减少，无变性且排列较紧密；ASIV-H+miR-NC 组与 ASIV-H 组病理表现一致；ASIV-H+miR-340-5p mimics 组较 ASIV-H 组、ASIV-H+miR-NC 组肌纤维组织病理损伤加重（*P*<0.05）；见 Fig.1。

Tab.3　Comparisons of surface electromyographic signal levels of pelvic floor muscles among different groups of rats ($\bar{x} \pm s$, *n*=12)

Group	Mean myoelectric potential of Type Ⅰ muscle fibers (μV)	Mean myoelectric potential of Type Ⅱ muscle fibers (μV)
Control	17.36±1.85	19.48±2.54
PFD	8.04±0.86^{b}	10.13±1.15^{b}
ASIV-L	10.24±1.13^{e}	12.39±1.43^{e}
ASIV-M	13.57±1.46^{eh}	15.96±1.76^{eh}
ASIV-H	16.83±1.77^{ehk}	18.71±2.14^{ehk}
ASIV-H+miR-NC	16.72±1.71	18.53±1.97
ASIV-H+miR-340-5p mimics	12.65±1.39^{enq}	13.52±1.57^{enq}

^{b}P<0.05, compared with control group; ^{e}P<0.05, compared with PFD group; ^{h}P<0.05, compared with ASIV-L group; ^{k}P<0.05, compared with ASIV-M group; ^{n}P<0.05, compared with ASIV-H group; ^{q}P<0.05, compared with ASIV-H+miR-NC group.

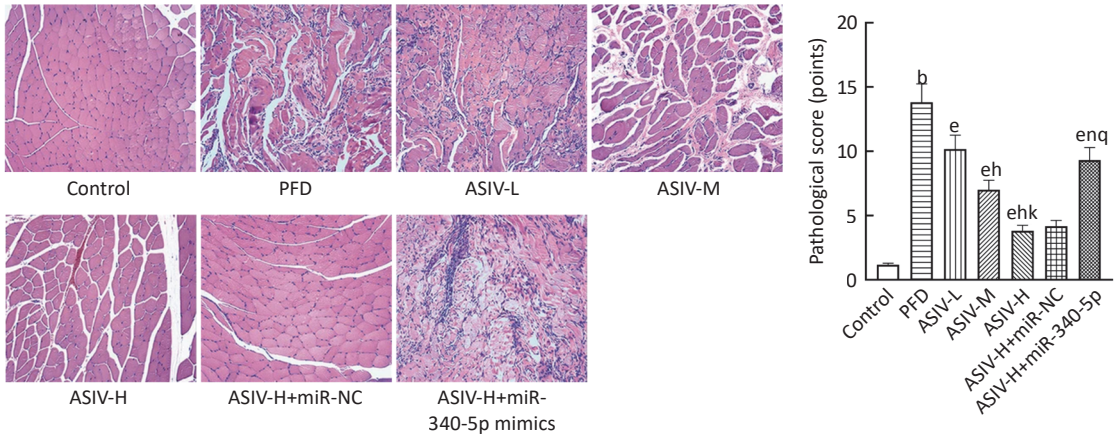


Fig.1　Histopathological changes of levator ani muscle tissue (HE staining, ×200)

[b]*P*<0.05, compared with control group; [e]*P*<0.05, compared with PFD group; [h]*P*<0.05, compared with ASIV-L group; [k]*P*<0.05, compared with ASIV-M group; [n]*P*<0.05, compared with ASIV-H group; [q]*P*<0.05, compared with ASIV-H+miR-NC group.

2.5　ASIV 对 PFD 大鼠肛提肌组织纤维化的影响　Control 组蓝色胶原纤维明显；PFD 组偶见少量蓝色胶原纤维，肌纤维含量显著减少（*P*<0.05）；ASIV-L 组、ASIV-M 组、ASIV-H 组、ASIV-H+miR-340-5p mimics 组较 PFD 组蓝色胶原纤维不同程度增多，肌纤维含量增加（*P*<0.05）；ASIV-H+miR-NC 组蓝色胶原纤维表现与 ASIV-H 组一致；ASIV-H+miR-340-5p mimics 组较 ASIV-H 组、ASIV-H+miR-NC 组蓝色胶原纤维显著减少（*P*<0.05）；见 Fig.2。

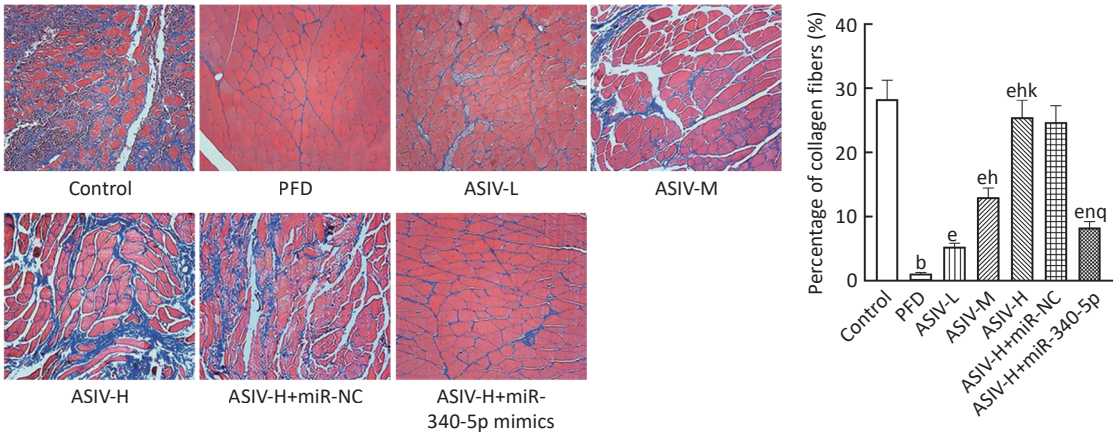


Fig.2　Fibrotic changes in levator ani muscle tissue (Masson staining, ×200)

[b]*P*<0.05, compared with control group; [e]*P*<0.05, compared with PFD group; [h]*P*<0.05, compared with ASIV-L group; [k]*P*<0.05, compared with ASIV-M group; [n]*P*<0.05, compared with ASIV-H group; [q]*P*<0.05, compared with ASIV-H+miR-NC group.

2.6　ASIV 对 PFD 大鼠肛提肌组织 Collagen Ⅰ、Elastin 相对表达的影响　PFD 组较 Control 组 Collagen Ⅰ、Elastin 相对表达降低（*P*<0.05）；ASIV-L 组、ASIV-M 组、ASIV-H 组、ASIV-H+miR-340-5p mimics 组较 PFD 组 Collagen Ⅰ、Elastin 相对表达上调（*P*<0.05）；ASIV-H 组与 ASIV-H+miR-NC 组差异无统计学意义（*P*>0.05）；ASIV-H+miR-340-5p mimics 组较 ASIV-H 组与 ASIV-H+miR-NC 组 Collagen Ⅰ、Elastin 相对表达降低（*P*<0.05）；见 Fig.3。

2.7　ASIV 对 PFD 大鼠盆底组织 miR-340-5p 及 SMAD2 相对表达的影响　PFD 组较 Control 组 miR-340-5p 相对表达升高，SMAD2 蛋白相对表达降低（*P*<0.05）；ASIV-L 组、ASIV-M 组、ASIV-H 组、ASIV-H+miR-340-5p mimics 组较 PFD 组 miR-340-5p 相对表达降低，SMAD2 蛋白相对表达升高（*P*<0.05）；ASIV-H 组与 ASIV-H+miR-NC 组差异无统计学意义（*P*>0.05）；ASIV-H+miR-340-5p mimics 组较 ASIV-H 组与 ASIV-H+miR-NC 组 miR-340-5p 相对表达升高，SMAD2 蛋白相对表达降低（*P*<0.05）；见 Fig.4。

2.8　miR-340-5p 与 SMAD2 靶向关系验证　Starbase 网站预测 miR-340-5p 与 SMAD2 之间存在靶

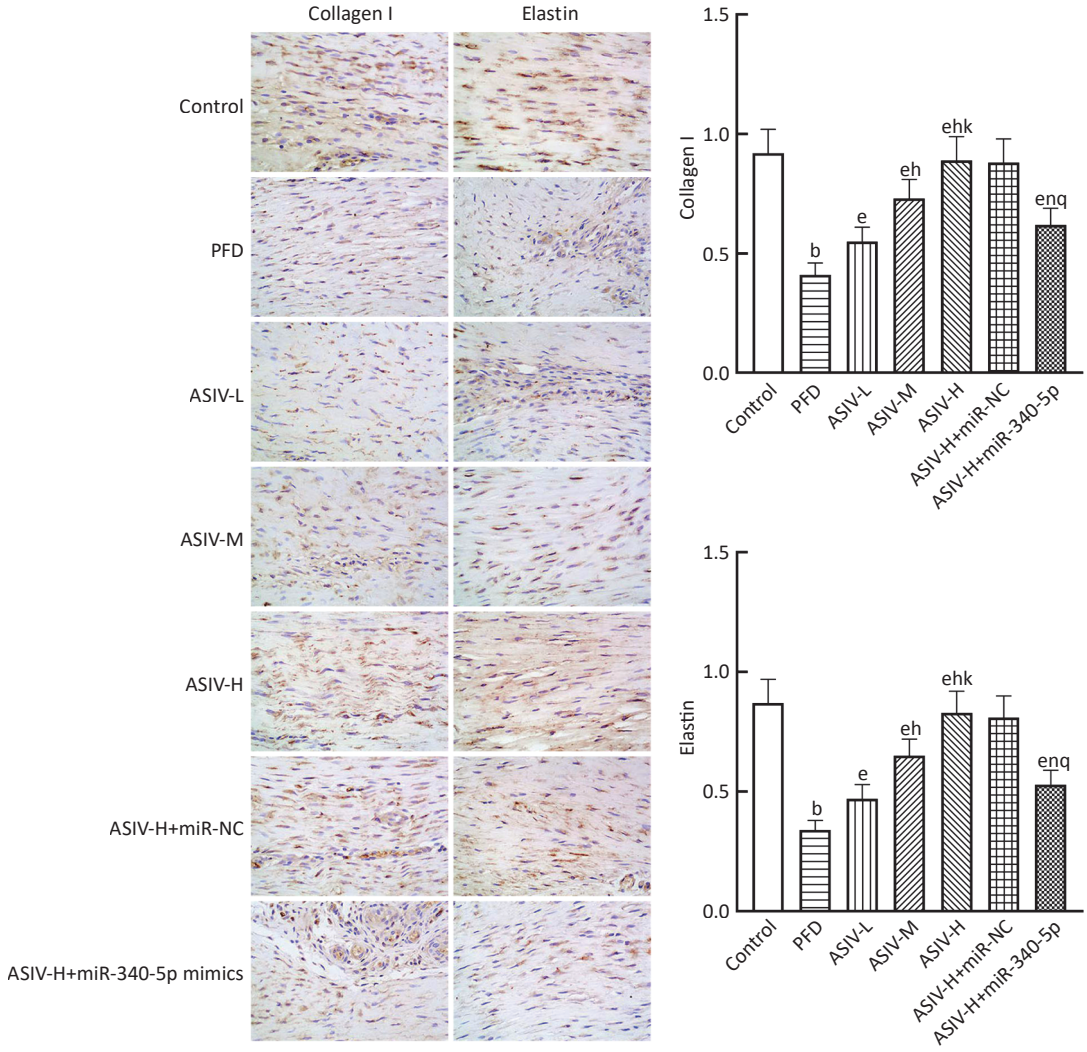


Fig.3 Relative expression levels of Collagen Ⅰ and Elastin in levator ani muscle tissue (Immunohistochemistry, ×400)
[b]*P*<0.05, compared with control group; [e]*P*<0.05, compared with PFD group; [h]*P*<0.05, compared with ASIV-L group; [k]*P*<0.05, compared with ASIV-M group; [n]*P*<0.05, compared with ASIV-H group; [q]*P*<0.05, compared with ASIV-H+miR-NC group.

向结合位点；与 SMAD2-WT 结合的 miR-340-5p mimic 细胞较 miR-NC 细胞的荧光素酶活性降低（*P*<0.05）；见 Fig.5。

3 讨论

PFD 的发生可能受阴道分娩、器械阴道分娩、年龄、胃肠道疾病等多种因素的影响，具有高患病率。女性患者常出现骨盆区域疼痛、子宫脱垂、性障碍、尿失禁、大便失禁等症状，严重威胁女性身心健康[9]。盆底肌肉训练是当前预防和治疗 PFD 的主要方式，但其机制尚未完善，且效果显现较为缓慢，因此，寻求新型高效的治疗方式仍是当前研究重点[10-11]。

本研究通过阴道扩张方式成功构建 PFD 大鼠模型，从盆底功能、尿流动力学、盆底肌肉表面电信号、肛提肌组织病理学变化、肌纤维相关蛋白表达等方面进行了研究。结果发现，PFD 大鼠的膀胱容积、膀胱内压、漏尿点压、阴道静息压、阴道收缩压、Ⅰ类、Ⅱ类盆底肌纤维平均肌电位、Collagen Ⅰ、Elastin 相对表达降低，膀胱颈活动度、尿道旋转角度升高，肛提肌组织病理损伤严重。盆底支持组织结构的破坏与缺失是 PFD 发生的关键因素。成纤维细胞作为这一过程的关键细胞，主要通过分泌胶原蛋白、弹性蛋白等维持细胞外基质及盆底致密结构的稳定[12]。Collagen Ⅰ是细胞外基质中重要的结构蛋白，可参与维持盆底支持组织的弹性和韧性。Elastin 是细胞外基质中弹性纤维的主要成分，能够促进

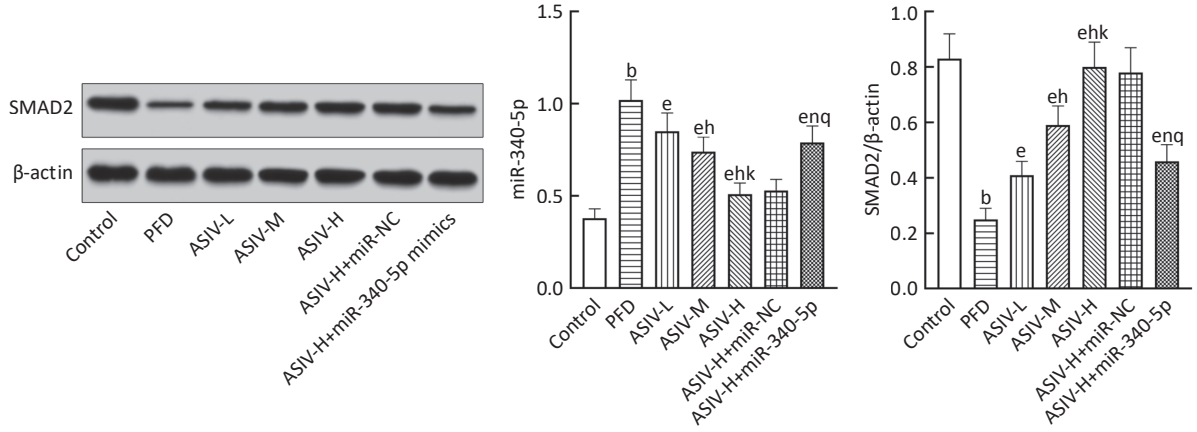


Fig.4　Relative expression levels of miR-340-5p and SMAD2 in pelvic floor tissue of different groups of rats ($\bar{x} \pm s$, n=6)

[b]P<0.05, compared with control group; [e]P<0.05, compared with PFD group; [h]P<0.05, compared with ASIV-L group; [k]P<0.05, compared with ASIV-M group; [n]P<0.05, compared with ASIV-H group; [q]P<0.05, compared with ASIV-H+miR-NC group.

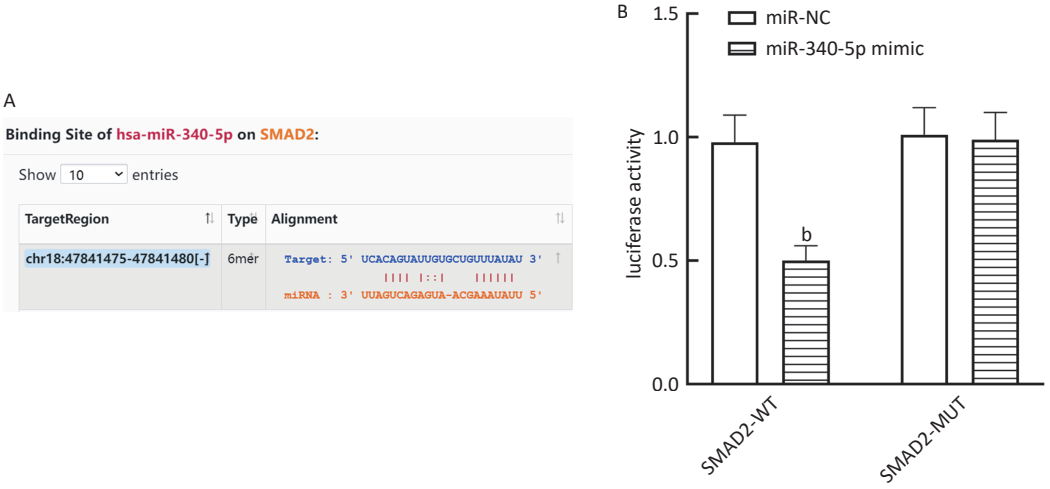


Fig.5　Verification of the targeting relationship between miR-340-5p and SMAD2

A: binding site of miR-340-5p on SMAD2; B: comparisions of luciferase activity. [b]P<0.05, compared with miR-NC+SMAD2-WT group.

多种支持组织的伸展，并使其恢复至原有状态。研究显示，恢复 PFD 大鼠阴道前壁中 Collagen Ⅰ、Elastin 等多种蛋白表达可缓解大鼠的 PFD 症状[13]。增加 Collagen Ⅰ、Elastin 表达可促进组织再生、结缔组织重建，改善骨盆支持不足，从而缓解体内阴道扩张诱导的 PFD[14]。ASIV 是从中药黄芪中提取的成分，具有多种生物活性[15]。已有研究表明，ASIV 可通过调控成纤维细胞的状态，改善洛哌丁胺诱导的小鼠慢传输型便秘[16]。本研究中，ASIV 干预可逆转 PFD 大鼠上述多种指标变化趋势，推测 ASIV 可潜在治疗大鼠 PFD。

miRNA 作为短链非编码 RNA，参与多种疾病的发生、发展。miR-340-5p 可通过靶向抑制 mRNA 调控下游基因表达，进而在多种纤维化相关疾病中发挥纤维抑制作用。Zhang 等[17]发现，miR-340-5p 通过靶向 SPP1 抑制 TGF-β1/Smads 信号通路，参与抑制成纤维细胞增殖、活化。本研究发现，PFD 大鼠盆底组织 miR-340-5p 相对表达上调，ASIV 干预则下调 miR-340-5p 相对表达，推测 ASIV 可能通过下调 miR-340-5p 对 PFD 大鼠发挥潜在治疗作用。

TGF-β1 是促进成纤维细胞活化的关键介质，SMAD2 作为其主要下游效应因子，可参与成纤维细胞激活。有研究显示，激活 TGF-β/Smad 信号通路可调节细胞外基质重塑，增强尿道括约肌功能、调节结缔组织结构、刺激成纤维细胞活性，改善压力性尿失禁引发的 PFD[18-19]。另有研究显示，促进 SMAD2 表达可促进成纤维细胞的增殖和迁移，抑制细胞凋亡，为改善盆腔器官脱垂提供新的理论依据[20]。本研究发现，在 PFD 大鼠体内 SMAD2 相对表达下调，ASIV 处理可上调 SMAD2 相对表达，推测 SMAD2 表达上调可激活成纤维细胞，

改善大鼠 PFD。进一步分子实验证实，miR-340-5p 与 SMAD2 之间存在靶向结合位点，miR-340-5p 过表达可部分逆转 ASIV 处理对 SMAD2 相对表达的促进作用，推测 ASIV 处理可能通过下调 miR-340-5p、上调 SMAD2 相对表达，激活成纤维细胞，进而促进分泌 Collagen Ⅰ、Elastin 等蛋白，以维持盆底结构的稳定及盆底支持组织的弹性和韧性，最终改善大鼠 PFD。

综上，ASIV 改善大鼠 PFD，可能与调控 miR-340-5p、SMAD2 表达相关。本研究丰富了 PFD 的治疗机制，但 ASIV 干预对 miR-340-5p、SMAD2 途径的具体机制有待进一步明确。此外，PFD 病理机制较为复杂，本研究仅从纤维化角度进行探究，分子层面证据尚显单薄，后期仍需系统设计，开展多维度验证，以充分阐明 ASIV 治疗 PFD 的潜力。

参考文献

[1] Braga A, Serati M. New advances in female pelvic floor dysfunction management [J]. Medicina (Kaunas), 2023, 59(6): 1010.

[2] Quaghebeur J, Petros P, Wyndaele JJ, et al. Pelvic-floor function, dysfunction, and treatment [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2021, 265: 143-149.

[3] Zhu H, Zhang D, Gao L, et al. Effect of pelvic floor workout on pelvic floor muscle function recovery of postpartum women: protocol for a randomized controlled trial [J]. Int J Environ Res Public Health, 2022, 19(17): 11073.

[4] Tunn R, Baessler K, Knüpfer S, et al. Urinary incontinence and pelvic organ prolapse in women [J]. Dtsch Arztebl Int, 2023, 120(5): 71-80.

[5] 刘莉, 李宗云, 刘志荣, 等. 黄芪甲苷对慢性盆腔炎大鼠子宫的保护作用及机制 [J]. 中药药理与临床, 2023, 39(9): 38-43.

[6] Wei YQ, Guo YF, Yang SM, et al. miR-340-5p mitigates the proliferation and activation of fibroblast in lung fibrosis by targeting TGF-β/p38/ATF1 signaling pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(11): 6252-6261.

[7] Lamarche É, AlSudais H, Rajgara R, et al. SMAD2 promotes myogenin expression and terminal myogenic differentiation [J]. Development, 2021, 148(3): e195495.

[8] 张小燕, 陈慧, 陈婧, 等. 敲减 miR-145 增强骨髓间充质干细胞对大鼠盆底功能障碍的修复作用 [J]. 南昌大学学报 (医学版), 2022, 62(1): 32-37.

[9] Peinado-Molina RA, Hernández-Martínez A, Martínez-Vázquez S, et al. Pelvic floor dysfunction: prevalence and associated factors [J]. BMC Public Health, 2023, 23(1): 2005.

[10] Romeikienė KE, Bartkevičienė D. Pelvic-floor dysfunction prevention in prepartum and postpartum periods [J]. Medicina (Kaunas), 2021, 57(4): 387.

[11] Jorge CH, Bø K, Chiazuto Catai C, et al. Pelvic floor muscle training as treatment for female sexual dysfunction: a systematic review and meta-analysis [J]. Am J Obstet Gynecol, 2024, 231(1): 51-66.

[12] Yin Y, Han Y, Shi C, et al. IGF-1 regulates the growth of fibroblasts and extracellular matrix deposition in pelvic organ prolapse [J]. Open Med (Wars), 2020, 15(1): 833-840.

[13] Zhou C, Wu Y, Wan S, et al. Exosomes isolated from TNF-α-treated bone marrow mesenchymal stem cells ameliorate pelvic floor dysfunction in rats [J]. J Cell Mol Med, 2024, 28(12): e18451.

[14] Hu L, Chen C. BMSCs-EVs alleviate pelvic floor dysfunction in mice by reducing inflammation and promoting tissue regeneration [J]. In Vivo, 2024, 38(6): 2680-2687.

[15] Liang Y, Chen B, Liang D, et al. Pharmacological effects of astragaloside IV: a review [J]. Molecules, 2023, 28(16): 6118.

[16] Chen H, Wan X, He Q, et al. Single-cell RNA sequencing reveals cellular dynamics and therapeutic effects of astragaloside IV in slow transit constipation [J]. Biomol Biomed, 2024, 24(4): 871-887.

[17] Zhang R, Wang M, Lu H, et al. A miR-340/SPP1 axis inhibits the activation and proliferation of hepatic stellate cells by inhibiting the TGF-β1/Smads pathway [J]. Adv Clin Exp Med, 2023, 32(4): 469-479.

[18] Fang C, Zeng Z, Ye J, et al. Progress of mesenchymal stem cells affecting extracellular matrix metabolism in the treatment of female stress urinary incontinence [J]. Stem Cell Res Ther, 2025, 16(1): 95.

[19] 李露, 李秀娟. 基于西洋参总皂苷调控 TGF-β1/Smad 信号通路对压力性尿失禁大鼠模型盆底功能恢复的影响 [J]. 实用医学杂志, 2023, 39(19): 2450-2455.

[20] 胡新明, 乔艳华, 王肖帆, 等. 长链非编码 RNA 浆细胞瘤变异性易位基因 1 参与盆腔器官脱垂的机制 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(5): 669-675.

Study on the mechanism of astragaloside IV in pelvic floor dysfunction rats by regulating the miR-340-5p and SMAD2 expression

LI Jie, WANG Zhanli, HUANG Yao, JI Xia

Department of Gynecology and Obstetrics, Henan Province Hospital of TCM (The Second Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine), Zhengzhou 450000, Henan, China

ABSTRACT **AIM**: To investigate the protective effect of astragaloside IV (ASIV) in pelvic floor dysfunction (PFD) rats and its effect on the expression of microRNA (miR)-340-5p and Smad homolog 2 (SMAD2). **METHODS**: PFD rat model was constructed. The successfully modeled rats were randomly divided into the PFD group, the ASIV-L group, the ASIV-M group, the ASIV-H group, the ASIV-H+miR-NC group, and the ASIV-H+miR-340-5p mimics group, with 12 rats in each group. Another 12 normal healthy rats were taken as the Control group. The relevant indicators such as pelvic floor function, urodynamics (bladder volume, intravesical pressure, leak point pressure), and mean myoelectric potential of muscle fibers of rats in each group were detected. HE staining and Masson staining were used to observe the pathological changes of the levator ANI muscle tissue. Immunohistochemical detection of the relative expressions of type Ⅰ Collagen (Collagen Ⅰ) and Elastin. qRT-PCR was used to detect the level of miR-340-5p. Western blot was used to detect the relative expression of SMAD2. The dual-luciferase reporter gene system was used to verify the targeting relationship between miR-340-5p and SMAD2. **RESULTS**: Compared with the Control group, the levator ani muscle in the PFD group exhibited hypertrophy, with atrophied cells and the presence of mast cells within the muscle fiber tissue. A large number of muscle fibers showed necrosis and disorganized arrangement. A small amount of blue collagen fibers was observed, and the overall muscle fiber content was significantly reduced (P<0.05). Bladder volume, intravesical pressure, leak point pressure, vaginal resting pressure, vaginal squeeze pressure, and the mean myoelectric potential of type Ⅰ and type Ⅱ muscle fibers were all decreased (P<0.05). The relative expressions of Collagen Ⅰ, Elastin, and protein SMAD2 were also decreased, while the bladder neck range of motion, urethral rotation angle, and relative level of miR-340-5p were increased (P<0.05). Compared with the PFD group, the ASIV-L, ASIV-M, ASIV-H, and ASIV-H+miR-340-5p mimics groups showed markedly improvements in muscle fiber tissues, with reduced necrosis, no apparent degeneration, and more orderly arranged fibers. Collagen fiber content increased to varying degrees, and the overall muscle fiber content was elevated (P<0.05). Bladder volume, intravesical pressure, leak point pressure, vaginal resting pressure, vaginal squeeze pressure, and the mean myoelectric potential of type Ⅰ and type Ⅱ muscle fibers were increased (P<0.05). The relative expressions of Collagen Ⅰ, Elastin and SMAD2 were also upregulated, whereas the bladder neck range of motion, urethral rotation angle, and relative level of miR-340-5p were decreased (P<0.05). In the ASIV-H+miR-340-5p mimics group, muscle fiber histopathological damage was more severe than in the ASIV-H, and ASIV-H+miR-NC groups, with a significant reduction in collagen fibers. Bladder volume, intravesical pressure, leak point pressure, vaginal resting pressure, vaginal squeeze pressure, and the mean myoelectric potential of type Ⅰ and type Ⅱ muscle fibers were decreased (P<0.05). The relative expressions of Collagen Ⅰ, Elastin and SMAD2 were decreased, while the bladder neck range of motion, urethral rotation angle and relative level of miR-340-5p were increased (P<0.05). Analysis using the Starbase database and dual-luciferase gene report assays indicated that miR-340-5p targeted and inhibited SMAD2 expression. **CONCLUSION**: ASIV improves PFD in rats through downregulation of miR-340-5p and upregulation of SMAD2.

KEYWORDS miR-340-5p; SMAD2; astragaloside IV; pelvic floor dysfunction; rat