DOI:10.16016/j.2097-0927.202411071

胆囊切除术与肠道菌群组成及其功能变化关系的研究

蒋洪飞,杨 敏,简金呈,刁 华,周健春,戈宇松,侯占杰,唐 波 陆军军医大学(第三军医大学)第二附属医院消化内科,重庆

[摘要] **目的** 结合差异菌群的功能特征,分析胆囊切除术与肠道菌群组成变化及其功能改变的相关性。**方法** 采用横断面研究设计方案,以2020-2021年在陆军军医大学第二附属医院就诊的胆囊切除术后的患者为观察组(PC组,n=73),以年龄性别相匹配的无胆囊切除史的健康人群为对照组(HC组,n=56),收集2组患者的粪便标本行16S rRNA测序分析,解析肠道菌群组成变化及其功能差异。**结果** 2组人群在性别、年龄、BMI、吸烟饮酒史、血压、心率、合并症等基线指标无统计学差异,PC组的总胆红素(TBIL)与HC组相比有明显差异(P<0.01)。α多样性显示2组Chao1、Shannon、Simpson指数均无统计学差异,以Braycurtis距离算法进行β多样性分析显示2组在纲目及属水平上有统计学差异(P<0.05)。菌群相对丰度及LEFSE分析显示在PC组上调的有肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)、乳杆菌目(*Lactobacillales*)、柠檬酸杆菌属(*Citrobacter*)、巨球形菌属(*Megasphaera*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、阿克曼氏菌(*Akkermansia*)、链球菌属(*Streptococcus*)、克雷伯菌属(*Klebsiella*)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus_gnavus*)等。在PC组下调的有毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)、萨特氏菌科(*Sutterellaceae*)、毛螺菌目(*Lachnospirales*)、毛螺菌属(*Lachnospira*)、萨特氏菌(*Sutterella*)等。KEGG功能预测分析显示2组在抗坏血酸(维生素C)和醛糖酸代谢(P<0.05)、三羧酸循环(TCA循环)(P<0.05)、谷胱甘肽代谢(P<0.05)、谷氨酸代谢(P<0.05)、次级胆汁酸代谢(P<0.05)、磷酸戊糖途径(P<0.01)等代谢通路中有显著差异。**结论** 胆囊切除术与肠道菌群组成的改变密切相关,菌群组成及功能的差异可能引起TCA循环、谷胱甘肽、谷氨酸以及次级胆汁酸代谢、磷酸戊糖途径等代谢通路的改变。

[关键词] 胆囊切除术;肠道菌群;16S rRNA

[中图法分类号] R322.45;R372;R657.4 [文献标志码] A

Changes in composition and function of intestinal microbiota after cholecystectomy

JIANG Hongfei, YANG Min, JIAN Jincheng, DIAO Hua, ZHOU Jianchun, GE Yusong, HOU Zhanjie, TANG Bo
Department of Gastroenterology, Second Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, China

[**Abstract**] **Objective** To analyze the correlation of cholecystectomy and changes in intestinal microbiota composition and function by observing functional characteristics of differential microbial communities. **Methods** A cross-sectional study was conducted on the patients (PC group, n=73) undergoing cholecystectomy in our hospital from 2020 to 2021. Another 56 healthy age- and gender-matched individuals (HC group) without a history of cholecystectomy were subjected and served as the control group. Fecal

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82172958)

[通信作者] 唐 波,E-mail:botangxq@tmmu.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2025,陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

引用格式:蒋洪飞,杨敏,简金呈,等.胆囊切除术与肠道菌群组成及其功能变化关系的研究[J].陆军军医大学学报,2025,47(8):826-835.DOI:10.16016/j.2097-0927.202411071.

Citation:JIANG H F,YANG M,JIAN J C,*et al*.Changes in composition and function of intestinal microbiota after cholecystectomy[J].J Army Med Univ,2025,47(8):826-835.DOI:10.16016/j.2097-0927.202411071.

specimens were collected from the 2 groups. 16S rRNA sequencing analysis was performed to examine the changes in composition and function of intestinal microbiota. **Results** There were no statistical differences between the 2 groups in baseline indicators, such as gender, age, BMI, smoking and drinking history, blood pressure, heart rate, and comorbidities, but significant difference was observed in total bilirubin (TBIL) between them ($P<0.01$). Alpha diversity analysis showed no significant difference in Chao1, Shannon, and Simpson indices between the 2 groups. Beta diversity analysis using the Bray-Curtis distance algorithm revealed a significant difference between the 2 groups at the class and genus levels ($P<0.05$). The analysis of microbiota relative abundance using LEFSE showed that *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillales*, *Citrobacter*, *Megasphaera*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Akkermansia*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, and *Ruminococcus_gnavus* were up-regulated in the PC group, and *Lachnospiraceae*, *Sutterellaceae*, *Lachnospirales*, *Lachnospira*, and *Sutterella* were down-regulated. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) functional prediction analysis indicated that significant differences were seen between the 2 groups in metabolic pathways, including ascorbic acid (vitamin C) metabolism and aldonic acid metabolism ($P<0.05$), tricarboxylic acid cycle (TCA cycle) ($P<0.05$), glutathione metabolism ($P<0.05$), glutamic acid metabolism ($P<0.05$), secondary bile acid metabolism ($P<0.05$), and pentose phosphate pathway ($P<0.01$). **Conclusion** Cholecystectomy is closely associated with the structural alterations in the composition of intestinal microbiota. Variations in microbiota composition and function may induce perturbations in TCA cycle and glutathione metabolism, glutamate metabolism, secondary bile acid metabolism, and pentose phosphate pathways.

[**Key words**] cholecystectomy; gut microbiota; 16S rRNA

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (82172958). Corresponding author: TANG Bo, E-mail: botangxq@tmmu.edu.cn

近年来,随着微创外科技术的进步,胆囊切除术已成为治疗胆囊结石、急慢性胆囊炎以及胆囊息肉等常见胆囊疾病的标准术式,其临床应用日益广泛[1]。作为胆汁酸代谢的核心器官,胆囊不仅具备浓缩和储存胆汁的功能,还可通过周期性收缩响应摄食刺激,调控胆汁酸向肠道的脉冲式释放从而促进脂质及脂溶性维生素的消化吸收[2-3]。

胆囊切除术后,胆汁酸失去节律性分泌从而持续地排入十二指肠,这种持续排放将引发胆汁酸浓度变化以及相关代谢平衡的紊乱,进一步导致肠道脂质乳化效率降低以及营养吸收模式的改变。同时,胆囊切除术后胆汁酸谱系组成发生了显著变化(如疏水性胆汁酸比例升高),肠道表面活性蛋白水平亦随之改变。这些变化通过调节肠道菌群的代谢底物以及生存微环境成为驱动肠道菌群组成重构的关键因素[4-5]。此外,饮食在塑造肠道菌群方面也具有重要作用,胆囊切除术后部分患者的饮食习惯发生了改变,这也可能是导致肠道菌群变化的原因之一[6]。肠道菌群在维护肠道屏障功能、调节宿主代谢和免疫途径中具有重要作用[7-8],研究表明,与宿主共生的肠道微生物群可能介导人类健康和疾病的发生发展。胆囊切除术导致肠道微生态平衡被打破,肠道微生态失衡将进一步增加消化系统、免疫系统以及神经系统等疾病的发病风险[9-11]。

目前,胆囊切除术与肠道菌群变化之间的关系、术后菌群变化与疾病的关联及其内在机制尚不明晰。本研究旨在明确胆囊切除术对肠道微生态所产生的影响,解析胆囊切除术后肠道菌群的差异特征及其功能改变情况,为深入剖析术后菌群改变的调控机制及其靶向干预提供理论基础,为基于肠道菌群开展胆囊切除术后相关疾病的预防工作提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象

以2020年3月至2021年3月期间,在陆军军医大学第二附属医院消化内科就诊的胆囊切除术患者为观察组。纳入标准:(1)年龄18~75岁,性别不限;(2)B超或CT明确诊断胆囊已切除,且术后无胆管损伤、伤口感染、残留胆结石、脓肿形成或胆管狭窄的患者;(3)近1个月无抗生素或益生菌服用史;(4)无其他器质性疾病或胃肠道手术史;(5)自愿参加并遵守临床试验方案。排除标准:(1)术前合并其他器质性疾病的患者,如神经退行性疾病、慢性肝病、糖尿病、甲亢及小肠或结肠慢性炎症;(2)月经期、孕期、哺乳期者;(3)病情

危重或患有身心疾病,无法配合试验者;(4)研究者认为有其他不适合纳入因素的患者。

以与上述年龄性别相匹配,在陆军军医大学第二附属医院体检的健康人群为对照组。纳入标准:(1)年龄18~75岁,性别不限;(2)未行胆囊切除术且有B超或CT相关影像学证据;(3)近1个月无抗生素或益生菌服用史;(4)无其他器质性疾病或胃肠道手术史;(5)自愿参加并遵守临床试验方案。排除标准:(1)术前合并其他器质性疾病的患者,如神经退行性疾病、慢性肝病、糖尿病、甲亢及小肠或结肠慢性炎症;(2)月经期、孕期、哺乳期者;(3)病情危重或患有身心疾病,无法配合试验者;(4)研究者认为有其他不适合纳入因素的患者。本研究获得陆军军医大学第二附属医院伦理委员会批准(2024-研第250-01)。

1.2 样本数据收集

患者在医院就诊时,通过纳入排除标准进行入组,而后收集患者性别、年龄、体质量、身高、吸烟史、饮酒史、血压、心率、合并症以及肝功能指标等基本情况,用无菌采样管采集患者新鲜大便样本放于-80 ℃环境保存待检。

1.3 16S rRNA基因扩增

收集的大便样本使用粪便基因组DNA提取试剂盒(北京天根生物技术有限公司)提取总DNA,提取DNA后使用2×Hieff® Robust PCR Master Mix(Yeasen,10105 ES 03,China)以及通用细菌16 S rRNA基因扩增子PCR引物(PAGE纯化)对V3~V4可变区的基因片段进行PCR扩增。引物序列为:正向引物 5′-CCTACGGGNGGCWGCAG-3′,反向引物 5′-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3′。扩增产物进行2%琼脂糖凝胶电泳。使用Qubit® 4.0绿色双链DNA测定法测定每个PCR产物的DNA浓度,并使用生物分析仪(Agilent 2100,USA)对其进行质控。

1.4 测序及基因序列分析

首先采用Illumina MiSeq系统(USA)开展测序工作。在完成测序之后,对所得到的数据进行一系列的处理操作,包括去嵌合体,将那些可能存在嵌合情况的序列去除或修正。接着进行拼接操作,把分散的序列片段拼接成相对完整的序列。再经过过滤处理,筛除掉不符合要求的序列,通过这些步骤之后得到有效序列。运用Usearch软件(11.0.667)对这些有效序列进行聚类操作,即将相似性达到97%及以上的序列归为一类,如此便形成操作分类单元(operational taxonomic units,OTU)。最后,利用RDP数据库针对细菌的OTU代表序列展开分类工作,以便进一步明确这些序列所属的类别。

1.5 KEGG功能预测

使用PICRUSt(v1.1.4)软件进行细菌的功能预测分析,通过将现有的16S rRNA基因测序数据与已知代谢功能的微生物参考基因组数据库进行比较,预测细菌的代谢功能。

1.6 统计学分析

采用GraphPad Prism 8.0.2软件进行数据处理和分析。对符合正态分布的计量资料采用$\bar{x}\pm s$表示,不符合正态分布的计量资料采用$M(P_{25},P_{75})$表示,组间比较根据样本分布状况采用独立样本 t 检验或Mann-Whitney U检验;对2组性别、合并症等分类资料采用n(%)表示,组间比较采用卡方检验或连续性校正。对每个样本的测序数量和OTU数目进行统计,使用Mothur软件(版本3.8.31)计算菌群α多样性指数(Chao1、Shannoo、Simpson)。使用R vegan软件包(版本2.5-6)分析β多样性评估样本间微生物组的差异。采用线性判别分析效应(linear discriminant analysis effect size,LEFSE)检测组间差异,并选取LDA分数>3的菌群进行绘图。使用SparCC(版本1.1.0)计算群落/OTU之间的相关系数和P值,使用QIIME2软件,将LEFSE分析得到的差异物种根据分类等级(从内圈到外圈分别为界门纲目科属)绘制进化分支图,采用双侧检验,P<0.05被认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象一般情况

本研究共收集73名胆囊切除术后患者(PC组)以及56名健康志愿者(HC组)粪便样本,2组在性别、年龄、BMI、吸烟史(吸烟史定义:≥1支/d,连续吸烟>6个月;或以前达到吸烟标准,戒烟<半年)、饮酒史(饮酒史定义:平均每周≥1次,连续饮酒>6个月;或以前达到饮酒标准,戒酒<半年)、血压、心率、合并症等基线指标方面无统计学差异,肝功能统计分析显示PC组的总胆红素(TBIL)较HC组有统计学差异(P<0.01,表1)。

2.2 胆囊切除术后肠道菌群多样性及组成结构变化

采用Chao1、Shannon、Simpson指数分析菌群的α多样性,结果表明HC组与PC组在α多样性方面无统计学差异(图1A)。通过Braycurtis距离算法评估2组之间在门、目、属水平的β多样性,结果显示,在门水平上,2组间无统计学差异,但在目及属水平上2组间β多样性的ASV聚类显著分离,提示差异有统计学意义(P<0.05,图1B)。在组成方面,PC组与HC组的肠道

表1 研究对象基线资料[$\bar{x}\pm s$,n(%),$M(P_{25},P_{75})$]

指标	PC组(n=73)	HC组(n=56)	检验值	P值
男/女	41/32	35/21	0.526	0.468
年龄/岁	54.26±9.78	54.14±9.59	0.068	0.946
BMI/(kg/m^2)	22.02±2.12	22.40±2.05	−1.039	0.301
吸烟史				
有	29(39.73)	19(33.93)	0.456	0.500
无	44(60.27)	37(66.07)		
饮酒史				
有	23(31.51)	18(32.14)	0.006	0.939
无	50(68.49)	38(67.86)		
舒张压/mmHg	82.85±12.08	81.34±10.27	0.750	0.455
收缩压/mmHg	117.93±14.48	116.38±13.41	0.625	0.533
心率/(次/min)	77.79±10.17	78.84±9.36	−0.599	0.551
肝功能				
谷丙转氨酶(ALT)	31.56(22.77,39.44)	31.50(26.63,37.53)	−0.211	0.833
谷草转氨酶(AST)	32.24(27.18,37.00)	31.54(25.43,37.32)	−0.164	0.870
碱性磷酸酶(ALP)	98.51(77.10,130.02)	95.95(73.56,129.00)	−0.499	0.618
γ-谷氨酰转肽酶(GGT)	42.16(29.66,68.22)	39.36(29.31,51.65)	−0.929	0.353
总胆红素(TBIL)	17.23(11.84,19.73)	14.05±4.12	−2.716	0.007
白蛋白(ALB)	44.12(41.23,50.45)	46.73(42.55,49.51)	−0.977	0.329
合并症				
高脂血症	8(10.96)	5(8.93)	0.144	0.704
糖尿病	7(9.59)	7(12.50)	0.278	0.598
脂肪肝	9(12.33)	6(10.71)	0.080	0.777
炎症性肠病	4(5.48)	2(3.57)	0.008	0.930
结直肠癌	3(4.11)	1(1.79)	0.059	0.809
神经退行性疾病	2(2.74)	1(1.79)	<0.001	1.000

表2 PC组与HC组的肠道菌群门类分布比较

指标	PC组(n=73)	HC组(n=56)	P值
厚壁菌门(*Firmicutes*)	45.242 523 26	46.081 847 54	0.900 1
拟杆菌门(*Bacteroidota*)	38.019 822 91	41.881 465 44	0.260 1
变形菌门(*Proteobacteria*)	12.624 004 68	7.587 730 19	0.009 2
梭杆菌门(*Fusobacteriota*)	1.183 435 48	2.681 022 13	0.325 4
疣微菌门(*Verrucomicrobiota*)	1.515 171 72	0.938 106 90	0.001 3

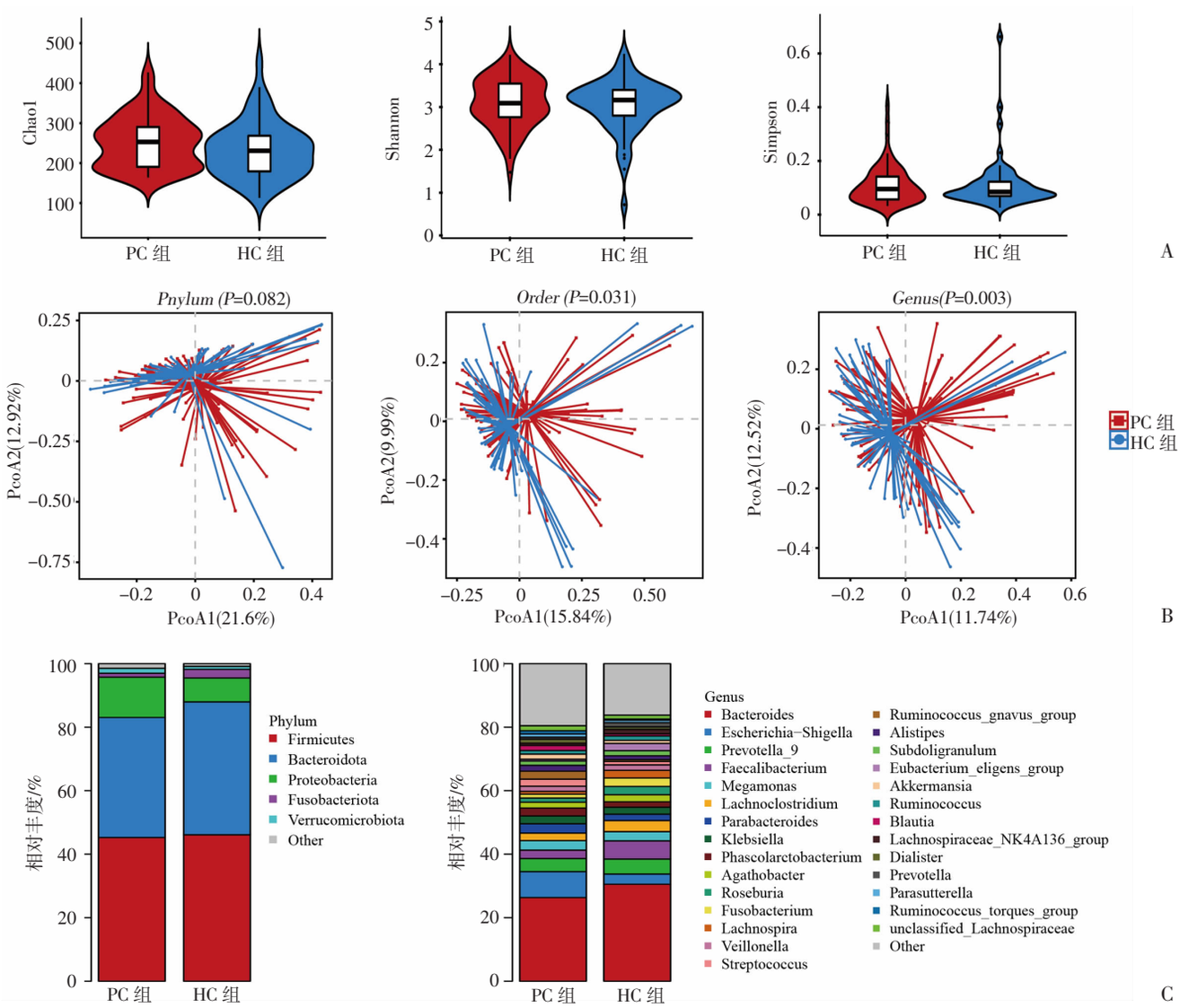
细菌均以厚壁菌门(*Firmicutes*)(45.24%、46.08%)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)(38.02%、41.88%)、变形菌门(*Proteobacteria*)(12.62%、7.59%)、梭杆菌门(*Fusobacteriota*)(1.18%、2.68%)以及疣微菌门(*Verrucomicrobiota*)(1.52%、0.94%)为主(表2,图1C)。这些主要组成的门中PC组的*Proteobacteria*较HC组明显增多(P<0.01),*Verrucomicrobiota*丰度在2组中差异有统计学意义(P<0.01),但相对含量较低。在目水平,2组间具有统计学差异的有放线菌目(*Actinomycetales*)、伯克霍尔德氏菌目(*Burkholderiales*)、肠杆菌目(*Enterobacterales*)、乳杆菌目(*Lactobacillales*)、葡萄球菌目(*Staphylococcales*)、疣微菌目(*Verrucomicrobiales*),其中*Actinomycetales*(P<0.01)、*Enterobacterales*(P<0.01)、*Lactobacillales*(P<0.01)、*Staphylococcales*(P<0.01)在PC组中显著上调。

基于16S rRNA测序结果,相对含量>1%的有28个菌属被检出,其中包括拟杆菌属(*Bacteroides*)、埃希志贺氏菌(*Escherichia-Shigella*)、普氏菌属(*Prevotella*)、粪

杆菌属(*Faecalibacterium*)、巨单胞菌属(*Megamonas*)、副拟杆菌属(*Parabacteroides*)、克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)、罗斯氏菌属(*Roseburia*)、梭杆菌属(*Fusobacterium*)、阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)等(图1C)。

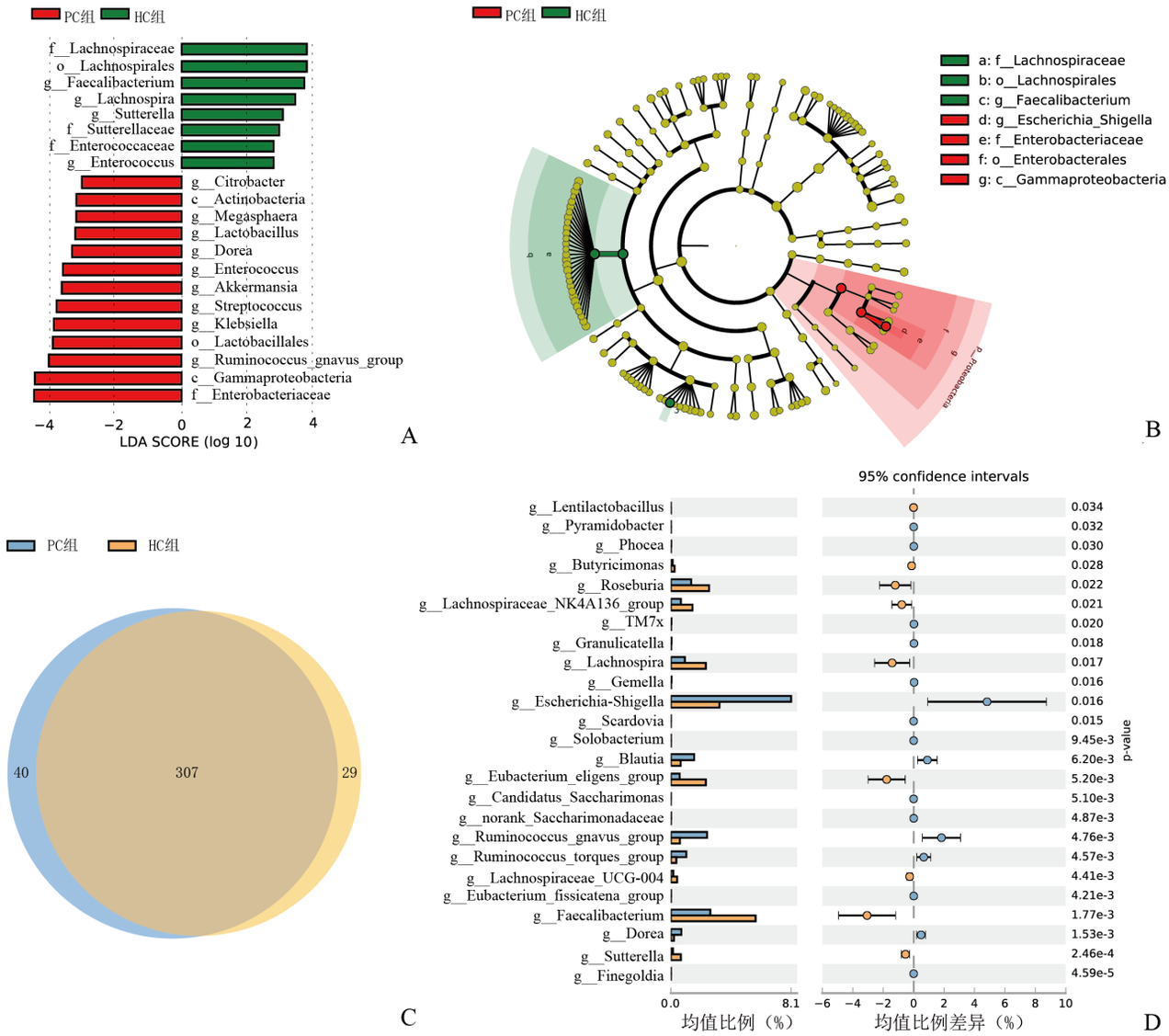
2.3 基于LEFSE分析的细菌组成性变化及差异统计

为进一步观察在胆囊切除后肠道菌群的变化,对主要检出菌群进行线性判别分析(LEFSE分析),以LDA评分(Log10)=3为截断进行筛选,结果显示在PC组显著上调的关键菌群有放线菌门(*Actinobacteria*)、肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)、乳杆菌目(*Lactobacillales*)、柠檬酸杆菌属(*Citrobacter*)、巨球形菌属(*Megasphaera*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、阿克曼氏菌(*Akkermansia*)、链球菌属(*Streptococcus*)、克雷伯菌属(*Klebsiella*)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus_gnavus*)等。在HC组显著上调的有毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)、萨特氏菌科(*Sutterellaceae*)、毛螺菌目(*Lachnospirales*)、毛螺菌属(*Lachnospira*)、萨特氏菌(*Sutterella*)等($P<0.05$,图2A、B)。在菌属水平,PC组与HC组均有的菌属为307种,由于胆囊切除后菌群丰度的变化,PC组较HC组新有检出菌属40种(图2C),29种在HC组中检出的菌属在PC组中未被检出,其中埃希志贺菌属(*Escherichia-Shigella*)、布劳特氏菌属(*Blautia*)、萨特氏菌属(*Sutterella*)、瘤胃球菌(*Ruminococcus_gnavus*)等菌属在2组中相对含量有统计学差异($P<0.05$,$P<0.01$,图2D)。



A:以Chao1、Shannon、Simpson多样性指数表示肠道菌群的α多样性;B:以Braycurtis距离算法分别在门、目、属水平表示肠道菌群的β多样性;C:门及属水平的组成成分分析

图1 PC组与HC组的肠道菌群多样性及组成成分分析



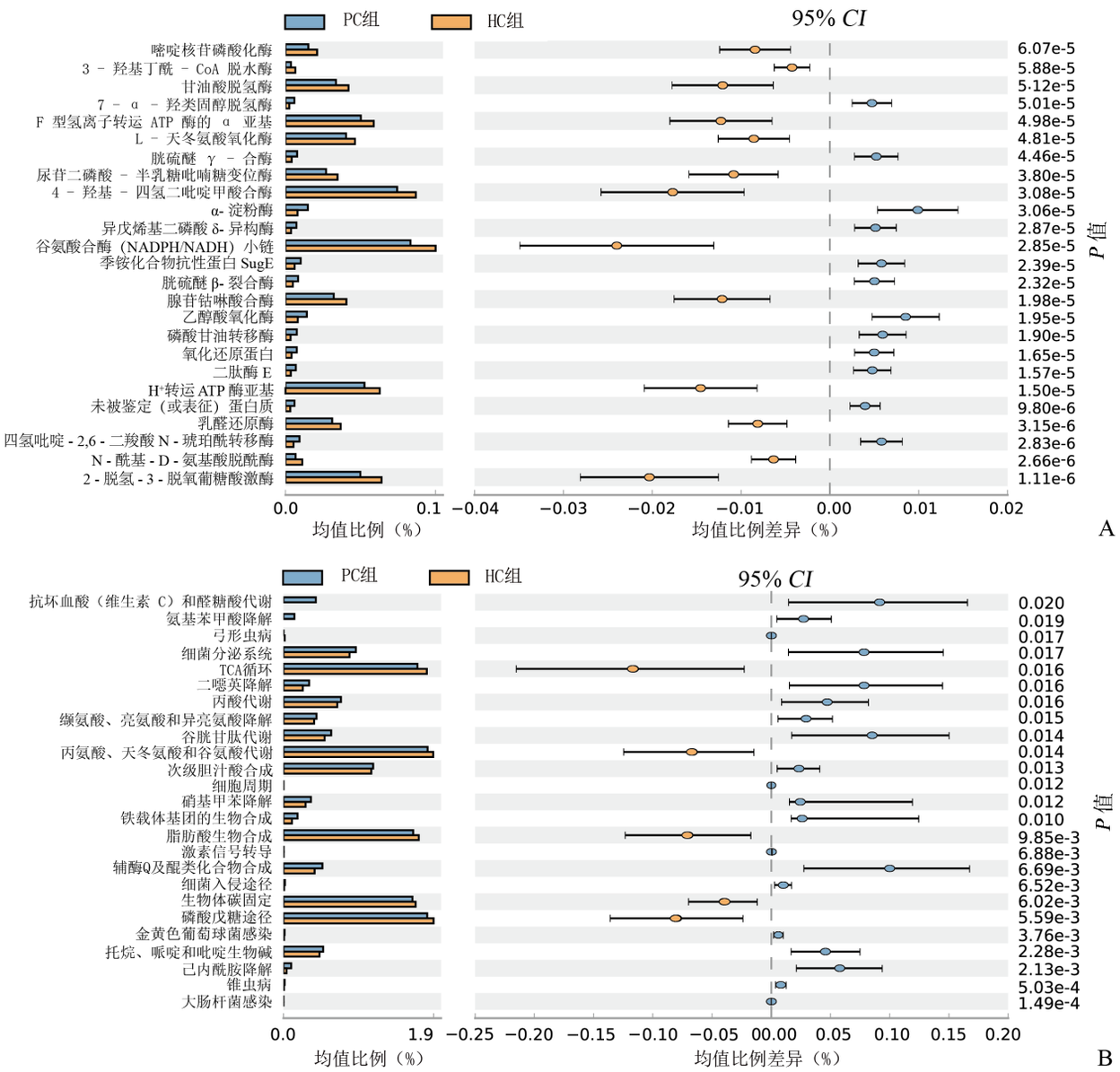
A：基于分类层级的线性判别模型(LDA)效应值分布结果,横坐标对应LDA判别得分的对数转换值(log10),纵坐标展示具有统计学差异的微生物分类单元(P<0.05,LDA阈值>3.0);B:2组显著差异菌群的进化分支图,红色区域为PC组差异菌群分布区域,绿色区域为HC组差异菌群分布区域;C:2组在属水平的肠道菌群韦恩图;D:2组间具有显著差异的菌属

图2　PC组与HC组的肠道菌群差异及重要性分析

2.4　胆囊切除术后肠道菌群功能差异分析

通过对PC组与HC组的关键变化菌群进行代谢酶类的预测分析发现,在PC组显著上调的有7-α-羟类固醇脱氢酶、胱硫醚-γ-合酶、α-淀粉酶、异戊烯基二磷酸δ异构酶、季铵化合物抗性蛋白SugE、胱硫醚β-裂合酶、乙醇酸氧化酶、磷酸甘油转移酶、氧化还原蛋白、四氢吡啶-2,6-二羧酸-琥珀酰转移酶。PC组显著下调的有嘧啶核苷磷酸化酶、3-羟基丁酰-CoA脱水酶、甘油酸脱氢酶、L-天冬氨酸氧化酶、尿苷二磷酸-半乳糖吡喃糖变位酶、4-羟基-四氢二吡啶甲酸合酶、谷氨酸合酶(NADPH/NADH)小链、腺苷钴啉酸合酶、H^+转运ATP酶亚基、乳醛还原酶、N-酰基-D-氨基酸脱酰酶、2-脱氢-3-脱氧葡糖酸激酶等(P<0.05,图3A,图中仅列出差异较大的前25种酶类物质)。

基于酶改变的代谢通路进一步分析发现2组在抗坏血酸(维生素C)和醛糖酸代谢(P<0.05)、氨基苯甲酸降解(P<0.05)、细菌分泌系统(P<0.05)、三羧酸循环(TCA循环,P<0.05)、丙酸代谢(P<0.05)、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解(P<0.05)、谷胱甘肽代谢(P<0.05)、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(P<0.05)、次级胆汁酸代谢(P<0.05)、脂肪酸生物合成(P<0.01)、激素信号转导(P<0.01)、磷酸戊糖途径(P<0.01)等代谢通路有统计学差异(图3B)。



A:2组间不同酶的均值比例及其差异预测分析;B:2组间不同代谢通路的均值比例及其差异预测分析

图3 PC组与HC组的肠道菌群功能差异预测分析

3 讨论

胆囊作为胆汁酸储存与浓缩的功能性器官,通过周期性收缩调控胆汁的脉冲式分泌,参与脂质的代谢调节。胆囊切除术可导致胆汁酸池构成重塑、肠腔表面活性蛋白浓度改变、肠道营养微环境失衡等病理生理变化。文献报道,对胆囊切除患者在手术前后的饮食习惯以及营养摄入情况的统计结果未见明显差异[12-13]。本研究纳入西南地区单中心胆囊切除患者以及人口学相匹配的健康对照人群为研究对象,2组间除TBIL外其余基线资料未见统计学差异。本研究采用16S rRNA高通量测序方法检测了2组人群的粪菌组成情况,结果显示,胆囊切除组肠道菌群的β多样性以及组成成分较对照组均有较大变化,提示胆囊切除术可能通过胆汁酸代谢重构等途径驱动肠道的菌群稳态失衡。

在2组间的肠道菌群组成结构差异方面,变形菌门以及放线菌门的相对丰度在PC组显著上调($P<0.01$)。变形菌门在物质循环与能量转换中具有重要作用,且部分菌种具有机会致病性,其中埃希志贺氏

菌在PC组上调,其部分菌株是引起细菌性痢疾的主要病原菌,可导致严重的肠道疾病甚至败血症等严重并发症。在2组间的差异菌属方面,柠檬酸杆菌、瘤胃球菌、阿克曼氏菌、乳杆菌、肠球菌、克雷伯菌属在PC组显著上调(P<0.05)。柠檬酸杆菌属可通过糖类发酵参与肠道营养代谢,其代谢产物包括乙酸、丙酸及丁酸等短链脂肪酸,这些物质在生理浓度下对维持肠黏膜屏障功能及免疫稳态具有重要作用。然而,该菌属异常增殖可导致肠道黏膜的细胞损伤从而引发以腹痛、腹泻为特征的肠道炎症反应[14]。在动物模型中,胆囊切除术后血清素水平升高,这可能是导致胆囊切除术后腹泻的原因之一,其患病率高达35.6%[15]。本研究发现,胆囊切除术后患者瘤胃球菌丰度显著高于对照组,该菌属可通过代谢途径将膳食来源的苯丙氨酸和色氨酸转化为苯乙胺与色胺,上述代谢产物可能通过促进5-羟色胺(血清素)的生物合成,间接参与胆囊切除术后腹泻的病理过程[16-17]。基于Braak假说,神经退行性疾病的发病机制可能与肠道起源密切相关[18],现有研究表明,阿克曼氏菌属和乳杆菌属的相对丰度与帕金森病等神经退行性疾病存在正相关性[19]。本研究发现胆囊切除术后患者肠道中阿克曼氏菌及乳杆菌属丰度显著高于对照组,值得注意的是,临床实践中常通过多联益生菌调节肠道菌群来缓解胆囊切除术后腹泻。然而,尽管乳杆菌、双歧杆菌等菌属通常被归为益生菌范畴,其过度增殖可能通过竞争性抑制机制破坏肠道微生态平衡。这提示在胆囊切除术后患者中,益生菌制剂的临床应用需审慎评估其必要性及潜在风险。帕金森病患者常伴发以便秘、胃排空延迟及食道功能障碍为特征的胃肠道非运动症状。值得注意的是,约75%病例的消化道症状可早于震颤、强直等典型运动障碍数年出现,这种时序特征为帕金森病的发病机制研究提供了重要的临床线索[20-21]。肠球菌属携带的酪氨酸脱羧酶(TyrDC)同源基因可催化左旋多巴在肠道内脱羧生成多巴胺,这种外周代谢会显著降低帕金森病患者左旋多巴的生物利用度,且生成的多巴胺因无法通过血脑屏障,可能在肠道局部蓄积并引发胃肠道不良反应[22]。克雷伯菌属可在肠道中定植,当其达到一定丰度后可能介导炎症性肠病、肠外定植等引发疾病[23-24]。克雷伯氏菌属的异常增加可减少丁酸等有益短链脂肪酸的产生,进而影响肠道屏障的完整性,使更多的内毒素进入血液循环,加重炎症反应和胰岛素抵抗,从而促进糖尿病的发展[25]。此外,肠球菌属的增加会影响肠道的代谢环境,产生的有机酸等代谢产物会干扰肠道的正常生理功能从而对糖尿病的发展产生潜在的促进作用[26]。

微生物群落在疾病中的调节功能主要源于其代谢中间产物及酶类物质的差异性表达[27]。在胆囊切除术后肠道菌群变化导致的菌群功能差异方面,本研究通过KEGG分析发现7-α-羟类固醇脱氢酶等酶类在PC组显著上调,基于酶改变的代谢通路分析进一步发现,2组在抗坏血酸(维生素C)和醛糖酸代谢、三羧酸循环(TCA循环)、谷胱甘肽代谢、谷氨酸代谢、次级胆汁酸代谢、磷酸戊糖途径等代谢通路差异明显。抗坏血酸可以增强肝脏中葡萄糖醛酸转移酶的活性,抗坏血酸和醛糖酸代谢异常可能导致胶原蛋白等细胞外基质成分的合成和降解失衡,促进肝纤维化的形成[28]。另外,醛糖酸代谢异常可能导致组织中晚期糖基化终末产物(AGEs)的积累,这些产物与糖尿病并发症的发生发展密切相关[29]。三羧酸循环(TCA)功能障碍可引发脑内活性氧(ROS)蓄积,导致线粒体氧化磷酸化障碍、乳酸代谢紊乱以及神经递质稳态失衡,这可能是帕金森病等神经退行性疾病的重要病理机制[30-31]。谷氨酸作为中枢神经系统主要的兴奋性神经递质,其系统功能障碍可导致突触间隙谷氨酸异常蓄积,这种蓄积可引发神经元过度激活及程序性死亡,在帕金森等神经退行性疾病的发展进程中发挥着重要作用[32]。胆囊切除术后患者次级胆汁酸合成途径呈现显著激活特征,由于胆汁持续释放入肠腔,初级胆汁酸与肠道菌群接触时间延长,进而促进脱羟基化代谢。高浓度次级胆汁酸可诱导肠上皮细胞毒性反应,通过DNA损伤机制加剧肠道屏障功能障碍,并激活肝脏TLR4等炎症信号通路,这种病理状态与结直肠癌、炎症性肠病及非酒精性脂肪性肝病的发病机制存在显著关联[33-34]。文献报道,胆囊切除术后肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)、阿克曼菌(*Akkermansia*)和乳酸杆菌(*Lactobacillus*)等丰度上调,毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)等丰度下调,次级胆汁酸合成途径显著增加[35],这与本研究结果一致。肠道菌群可通过多种途径影响次级胆汁酸的生物合成,而次级胆汁酸的增加可通过抑制胆红素的葡萄糖醛酸化过程[36],增加肠道通透性使得胆红素从肠道直接入血增多[37],干扰胆红素肠肝循环等途径使得胆红素代谢紊乱[38],这可能是我们在肝功能指标统计中发现PC组的总胆红素升高的原因之一。磷酸戊糖途径生成的关键代谢产物NADPH可通过中和活性氧维持细胞氧化还原稳态,NADPH生物合成受限将导致氧化应激防御系统失调,致使自由基清除能力显著下降,这种氧化损伤

的级联放大效应与神经退行性病变及肿瘤发生的病理进程密切相关[39]。

综上所述,本研究结果显示胆囊切除术与肠道菌群组成及其功能改变密切相关,这些变化可能在胆囊切除术后腹泻、炎症性肠病、神经退行性疾病、肠道肿瘤、糖尿病等疾病的发生发展中发挥重要作用,研究结果为胆囊切除术后肠道菌群的调控以及基于肠道菌群的相关疾病预防干预提供了重要参考价值。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献:

[1] CHEN Y S, WU S D, TIAN Y. Cholecystectomy as a risk factor of metabolic syndrome: from epidemiologic clues to biochemical mechanisms[J]. Lab Invest, 2018, 98(1): 7-14. DOI:10.1038/labinvest.2017.95.

[2] HOUSSET C, CHRÉTIEN Y, DEBRAY D, *et al*. Functions of the gallbladder[J]. Compr Physiol, 2016, 6(3): 1549-1577. DOI:10.1002/cphy.c150050.

[3] JIA W, XIE G X, JIA W P. Bile acid-microbiota crosstalk in gastrointestinal inflammation and carcinogenesis[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2018, 15(2): 111-128. DOI: 10.1038/nrgastro.2017.119.

[4] SARASHINA-KIDA H, NEGISHI H, NISHIO J, *et al*. Gallbladder-derived surfactant protein D regulates gut commensal bacteria for maintaining intestinal homeostasis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017, 114(38): 10178-10183. DOI:10.1073/pnas.1712837114.

[5] QI L, DAI W L, KONG J, *et al*. Cholecystectomy as a risk factor for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: unveiling the metabolic and chronobiologic clues behind the bile acid enterohepatic circulation[J]. J Physiol Biochem, 2021, 77(4): 497-510. DOI:10.1007/s13105-020-00782-w.

[6] KOMORNIAK N, PAWLUS J, GAWEŁ K, *et al*. Cholelithiasis, gut microbiota and bile acids after bariatric surgery-can cholelithiasis be prevented by modulating the microbiota? A literature review[J]. Nutrients, 2024, 16(15): 2551. DOI:10.3390/nu16152551.

[7] LIU Y, XU J, REN X H, *et al*. Cholecystectomy-induced secondary bile acids accumulation ameliorates colitis through inhibiting monocyte/macrophage recruitment [J]. Gut Microbes, 2022, 14(1): 2107387. DOI: 10.1080/19490976.2022.2107387.

[8] XU Y Y, WANG J F, WU X B, *et al*. Gut microbiota alteration after cholecystectomy contributes to post-cholecystectomy diarrhea *via* bile acids stimulating colonic serotonin[J]. Gut Microbes, 2023, 15(1): 2168101. DOI: 10.1080/19490976.2023.2168101.

[9] FAN Y, PEDERSEN O. Gut microbiota in human metabolic health and disease[J]. Nat Rev Microbiol, 2021, 19(1): 55-71. DOI:10.1038/s41579-020-0433-9.

[10] 李胜鹏, 肖续, 周安, 等. 肝硬化患者TIPS术后肠道菌群特征性改变及其与临床指标的相关性研究[J]. 陆军军医大学学报, 2024, 46(12): 1425-1433. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202309122.
LI S P, XIAO X, ZHOU A, *et al*. Changes in characteristics of gut microbiota and their correlation with clinical indicators in cirrhosis patients after transjugular intrahepatic portosystemic shunt[J]. J Army Med Univ, 2024, 46(12): 1425-1433. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202309122.

[11] 李莉莎, 熊大迁. 肠道细菌 *Phascolarctobacterium/Phascolarctobacterium* faecium与2型糖尿病中代谢紊乱的关联分析[J]. 陆军军医大学学报, 2024, 46(13): 1561-1568. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202310036.
LI L S, XIONG D Q. Correlation between intestinal bacteria *Phascolarctobacterium/Phascolarctobacterium faecium* and metabolic disorder in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. J Army Med Univ, 2024, 46(13): 1561-1568. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202310036.

[12] MOROZOV S V. Medical nutrition after cholecystectomy[J]. Vopr Pitan, 2024, 93(2): 73-82. DOI: 10.33029/0042-8833-2024-93-2-73-82.

[13] HEARING S D, THOMAS L A, HEATON K W, *et al*. Effect of cholecystectomy on bowel function: a prospective, controlled study[J]. Gut, 1999, 45(6): 889-894. DOI: 10.1136/gut.45.6.889.

[14] MULLINEAUX-SANDERS C, SANCHEZ-GARRIDO J, HOPKINS E G D, *et al*. *Citrobacter rodentium*-host-microbiota interactions: immunity, bioenergetics and metabolism[J]. Nat Rev Microbiol, 2019, 17(11): 701-715. DOI:10.1038/s41579-019-0252-z.

[15] FISHER M, SPILIAS D C, TONG L K. Diarrhoea after laparoscopic cholecystectomy: incidence and main determinants[J]. ANZ J Surg, 2008, 78(6): 482-486. DOI:10.1111/j.1445-2197.2008.04539.x.

[16] ZHAI L X, HUANG C H, NING Z W, *et al*. *Ruminococcus gnavus* plays a pathogenic role in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome by increasing serotonin biosynthesis [J]. Cell Host Microbe, 2023, 31(1): 33-44.e5. DOI: 10.1016/j.chom.2022.11.006.

[17] HALL A B, YASSOUR M, SAUK J, *et al*. A novel *Ruminococcus gnavus* clade enriched in inflammatory bowel disease patients[J]. Genome Med, 2017, 9(1): 103. DOI: 10.1186/s13073-017-0490-5.

[18] WANG Q, LUO Y Q, RAY CHAUDHURI K, *et al*. The role of gut dysbiosis in Parkinson's disease: mechanistic

insights and therapeutic options[J]. Brain, 2021, 144(9): 2571-2593. DOI:10.1093/brain/awab156.

[19] WALLEN Z D, DEMIRKAN A, TWA G, *et al*. Metagenomics of Parkinson's disease implicates the gut microbiome in multiple disease mechanisms [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 6958. DOI:10.1038/s41467-022-34667-x.

[20] CERSOSIMO M G, BENARROCH E E. Neural control of the gastrointestinal tract: implications for Parkinson disease [J]. Mov Disord, 2008, 23(8): 1065-1075. DOI:10.1002/mds.22051.

[21] CERSOSIMO M G, RAINA G B, PECCI C, *et al*. Gastrointestinal manifestations in Parkinson's disease: prevalence and occurrence before motor symptoms [J]. J Neurol, 2013, 260(5): 1332-1338. DOI: 10.1007/s00415-012-6801-2.

[22] MAINI REKDAL V, BESS E N, BISANZ J E, *et al*. Discovery and inhibition of an interspecies gut bacterial pathway for Levodopa metabolism[J]. Science, 2019, 364(6445): eaau6323. DOI:10.1126/science.aau6323.

[23] ZHANG Q J, SU X M, ZHANG C Z, *et al*. *Klebsiella pneumoniae* induces inflammatory bowel disease through Caspase-11-mediated IL18 in the gut epithelial cells [J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2023, 15(3): 613-632. DOI:10.1016/j.jcmgh.2022.11.005.

[24] DE PALMA G, SHIMBORI C, REED D E, *et al*. Histamine production by the gut microbiota induces visceral hyperalgesia through histamine 4 receptor signaling in mice [J]. Sci Transl Med, 2022, 14(655): eabj1895. DOI: 10.1126/scitranslmed.abj1895.

[25] LINH H T, IWATA Y, SENDA Y, *et al*. Intestinal bacterial translocation contributes to diabetic kidney disease [J]. J Am Soc Nephrol, 2022, 33(6): 1105-1119. DOI:10.1681/ASN.2021060843.

[26] HE Q L, WANG H C, MA Y K, *et al*. Changes in the microbiota and their roles in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Curr Microbiol, 2023, 80(4): 132. DOI: 10.1007/s00284-023-03219-x.

[27] LEVIN B J, HUANG Y Y, PECK S C, *et al*. A prominent glycyl radical enzyme in human gut microbiomes metabolizes trans-4-hydroxy-l-proline [J]. Science, 2017, 355(6325): eaai8386. DOI:10.1126/science.aai8386.

[28] ARENDT B M, ALLARD J P. Effect of atorvastatin, vitamin E and C on nonalcoholic fatty liver disease: is the combination required?[J]. Am J Gastroenterol, 2011, 106(1): 78-80. DOI:10.1038/ajg.2010.310.

[29] LIU H R, FENG C Y, YANG T, *et al*. Combined metabolomics and gut microbiome to investigate the effects and mechanisms of Yuquan Pill on type 2 diabetes in rats [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2023, 1222: 123713. DOI:10.1016/j.jchromb.2023.123713.

[30] SCHMIDT S, STAUTNER C, VU D T, *et al*. A reversible state of hypometabolism in a human cellular model of sporadic Parkinson's disease[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 7674. DOI:10.1038/s41467-023-42862-7.

[31] ZHU J G, XU F X, LAI H, *et al*. ACO_2 deficiency increases vulnerability to Parkinson's disease *via* dysregulating mitochondrial function and histone acetylation-mediated transcription of autophagy genes[J]. Commun Biol, 2023, 6(1): 1201. DOI:10.1038/s42003-023-05570-y.

[32] WANG J, WANG F S, MAI D M, *et al*. Molecular mechanisms of glutamate toxicity in Parkinson's disease[J]. Front Neurosci, 2020, 14: 585584. DOI: 10.3389/fnins.2020.585584.

[33] BARRASA J I, OLMO N, LIZARBE M A, *et al*. Bile acids in the colon, from healthy to cytotoxic molecules[J]. Toxicol In Vitro, 2013, 27(2): 964-977. DOI: 10.1016/j.tiv.2012.12.020.

[34] CONG J J, LIU P P, HAN Z L, *et al*. Bile acids modified by the intestinal microbiota promote colorectal cancer growth by suppressing $CD8^+$ T cell effector functions [J]. Immunity, 2024, 57(4): 876-889. e11. DOI: 10.1016/j.immuni.2024.02.014.

[35] GUZIOR D V, QUINN R A. Review: microbial transformations of human bile acids[J]. Microbiome, 2021, 9(1): 140. DOI:10.1186/s40168-021-01101-1.

[36] CAO H L, XU M Q, DONG W X, *et al*. Secondary bile acid-induced dysbiosis promotes intestinal carcinogenesis [J]. Int J Cancer, 2017, 140(11): 2545-2556. DOI: 10.1002/ijc.30643.

[37] SHI L, JIN L, HUANG W. Bile acids, intestinal barrier dysfunction, and related diseases [J]. Cells, 2023, 12(14): 1888. DOI:10.3390/cells12141888.

[38] WAHLSTRÖM A, SAYIN S I, MARSCHALL H U, *et al*. Intestinal crosstalk between bile acids and microbiota and its impact on host metabolism[J]. Cell Metab, 2016, 24(1): 41-50. DOI:10.1016/j.cmet.2016.05.005.

[39] TIWARI M. Glucose 6 phosphatase dehydrogenase (G6PD) and neurodegenerative disorders: Mapping diagnostic and therapeutic opportunities[J]. Genes Dis, 2017, 4(4): 196-203. DOI:10.1016/j.gendis.2017.09.001.

(收稿:2024-11-15;修回:2025-02-28)

(编辑 邓强庭)