

大黄灵仙方对胆囊结石豚鼠模型肠道菌群的影响

陈金梅^{1,2}, 甘苾榕³, 俞渊^{1*}, 付军¹, 覃毅¹, 唐乾利²

1. 广西中医药大学第一附属医院, 广西 南宁 530299; 2. 广西中医药大学, 广西 南宁 530299;
3. 防城港市中医医院, 广西 防城港 538000

摘要 目的:探讨大黄灵仙方对胆囊结石豚鼠模型肠道菌群结构与功能的影响。方法:50 只豚鼠按随机数字表法分为空白组 15 只、模型组 20 只、中药组 15 只。空白组给予豚鼠正常饲料喂养,每日予以 0.9% 生理盐水灌胃;模型组给予高脂致石饲料喂养,每日予以 0.9% 生理盐水灌胃;中药组给予高脂致石饲料喂养,每日予以 1 g/mL 大黄灵仙方灌胃。共干预 8 周。收集第 8 周的结肠粪便,利用 16SrDNA 测序分析肠道菌群的组成、多样性及功能预测。结果:①空白组 OTUs 数为 4 623,模型组为 3 970,中药组为 4 335;3 组共有 OTUs 为 474;②主要优势菌门包括 Bacteroidetes、Firmicutes、Proteobacteria、Verrucomicrobia 和 Spirochaetes;模型组中 Bacteroidetes 和 Verrucomicrobia 增加,而 Firmicutes 和 Spirochaetes 减少,中药组 Bacteroidetes、Firmicutes、Verrucomicrobia 减少,但 Proteobacteria 和 Spirochaetes 增加;③各组间肠道菌群的多样性指数(Ace、Chao1、Shannon、Simpson)无明显差异($P > 0.05$);④模型组与空白组菌群分布差异显著($P < 0.01$),中药组肠道菌群部分重叠于模型组;⑤空白组中 Ruminococcus、Rikenellaceae 和其他属高表达,模型组 Paludibacteraceae 和 Verrucomicrobia 表现突出,中药组 Alphaproteobacteria 和 Desulf vibrio 高表达;⑥空白组肠道菌群呈厌氧和生物膜合成特征,模型组中革兰氏阴性菌增加,可移动基因原件和生物膜合成减少,而中药组则表现出革兰氏阴性和生物膜合成特征的恢复。结论:胆囊结石形成过程中肠道菌群结构变化明显,而大黄灵仙方能够有效调节菌群趋向正常稳态。

关键词 大黄灵仙方;胆囊结石;肠道菌群;16SrDNA

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1002-2392(2026)01-0019-07

DOI:10.19664/j.cnki.1002-2392.260004

胆囊结石是一种常见的消化系统疾病,流行病学研究显示,其发生率与年龄、性别、肥胖及饮食习惯等因素密切相关,胆囊结石的发病率在欧洲成年人中约为 10%~20%,亚洲人约为 5%~8%^[1],临床以剑突下或右上腹绞痛为主要表现^[2-4]。近年来的研究^[5]表明,肠道微生态在胆囊结石的形成和发展中扮演着重要的角色,肠道菌群的失衡可能会影响胆汁酸代谢,从而促进胆结石的形成。此外,肠道微生态的改变也可能与胆囊的功能状态相关,这进一步揭示了肠道健康与胆囊结石之间的潜在关联。大黄灵仙方是唐乾利教

授 30 余年研究胆石病防治的经验方,经长期临床及基础研究发现该方具有促进胆汁排泄、调节胆汁成分、抑制炎症反应、调节胆道微生态等作用^[6-9],推测其具有调节肠道菌群的潜力,因此,本研究旨在探讨大黄灵仙方对胆囊结石豚鼠模型肠道菌群的影响,以期对胆囊结石的预防和治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 动物

CV 级雄性 Hartly 豚鼠 50 只,体质量 220~250 g,由广西广得生物科技有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK 桂 2017-0001。所有豚鼠均饲养于广西中医药大学第一附属医院分子生物实验室动物房内,饲养环境温度为 21~24℃,自由进食进水,隔日更换垫料。适应性喂养 1 周后,分组进行实验。所有动物饲养方法及动物实验流程均严格按照动物伦理委员会规定的相关准则执行。本研究经广西中医药大学实验动物福利委员会审核(DW202403-19-037),符合国家实验动物福利伦理的相关规定。

收稿日期:2024-11-15 修回日期:2025-08-03

基金项目:国家自然科学基金地区科学基金项目(82360889);广西中医药大学校级科研项目青年基金项目(2023QN008);广西中医药大学引进博士科研启动基金项目(2023BS020);广西中医药大学第一附属医院院级科研项目(2021QN001)

作者简介:陈金梅(1992-),女,博士研究生,住院医师,从事肝胆疾病的中医防治研究。

***通信作者:**俞渊(1981-),男,博士,教授,主任医师,博士生导师,从事肝胆疾病的中医防治研究。

1.2 高脂饲料与药物

高脂致石饲料组成:82.5% 普通饲料 + 15% 脂肪 + 2% 胆固醇 + 0.5% 胆酸(上海成大饲料有限公司)。大黄灵仙方组方:生大黄 15 g,威灵仙 30 g,芒硝 10 g,金钱草 30 g,枳壳 12 g,鸡内金 12 g,泽兰 15 g,柴胡 12 g,郁金 12 g,磁石 10 g,黄芪 30 g,炙甘草 5 g;中药饮片颗粒剂由广西中医药大学第一附属医院药剂科提供,每剂相当于颗粒剂 26.4 g,将颗粒溶于 200 mL 纯水,配制成 0.12 g/mL 药液。

1.3 动物分组与干预

将 50 只豚鼠适应性喂养 1 周后,按随机数字表法分为空白组(FN)15 只、模型组(FM)20 只、中药组(FZ)15 只,并做好标记,各组分别干预。空白组给予豚鼠正常饲料喂养,每日予以 0.9% 生理盐水灌胃;模型组给予高脂致石饲料喂养,每日予以 0.9% 生理盐水灌胃;中药组给予高脂致石饲料喂养,每日予以 0.12 g/mL 大黄灵仙方灌胃。各组每日 1 次,连续灌胃 8 周。

1.4 采样

末次给药 24 h 后,将豚鼠放置于密闭的麻醉诱导盒内,采用浓度为 3% (流量约 0.8 L/min) 异氟烷诱导麻醉,待无明显应激反应后,取出豚鼠,在生物安全柜中采用无菌操作解剖豚鼠,暴露结肠,取结肠中上段内粪便放入无菌 EP 管内,−80 ℃ 冰箱保存待检。

1.5 16SrDNA 高通量测序检测肠道菌群

随机选取 7 只豚鼠,对肠道菌群 V3 – V4 区进行 PCR 扩增。上游扩增序列:341F(5′ – CCTACGGGNG-GCWGCAG – 3′);下游扩增序列:805R(5′ – GAC-TACHVGGGTATCTAATCC – 3′)。PCR 反应条件为:98 ℃,30 s;98 ℃,10 s;54 ℃,30 s;72 ℃,45 s;72 ℃,10 min;4 ℃。将扩增产物进行纯化、定量、建库,使用 NovaSeq 6000 测序仪进行 2 × 250 bp 的双端测序,采用生信分析的方法对测序结果进行分析。

1.6 统计学方法

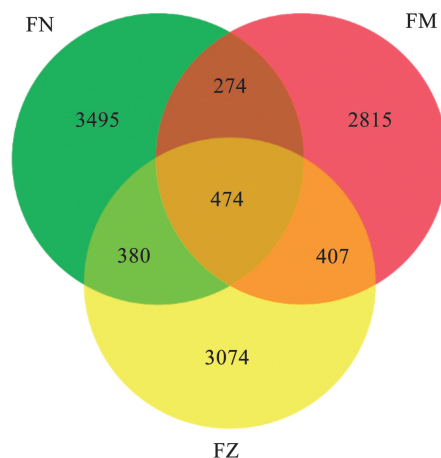
采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。计量资料符合正态分布者以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,符合正态分布,采用两两比较,若方差齐采用 LSD 法,若方差不齐则采用 Dunnett's T3 法,相关性分析采用 Pearson 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大黄灵仙方对豚鼠肠道菌群 OUTs 的影响

Venn 图可用于统计多组和多个样本中共有和独有的物种(OUTs)数目,更直观地展现不同环境样本中

物种的 OTUs 或者样本之间组成的相似性及重叠情况。结果显示,空白组 OTUs 数目为 4 623、模型组 OTUs 数目为 3 970、中药组 OTUs 数目为 4 335,特异性 OTUs 数目为空白组 3 495、模型组 2 815、中药组 3 074,3 组间共有的 OTUs 数目为 474,说明胆囊结石形成的过程中肠道菌群 OTUs 数目减少,大黄灵仙方可以增加肠道菌群的 OTUs 数目。见图 1。



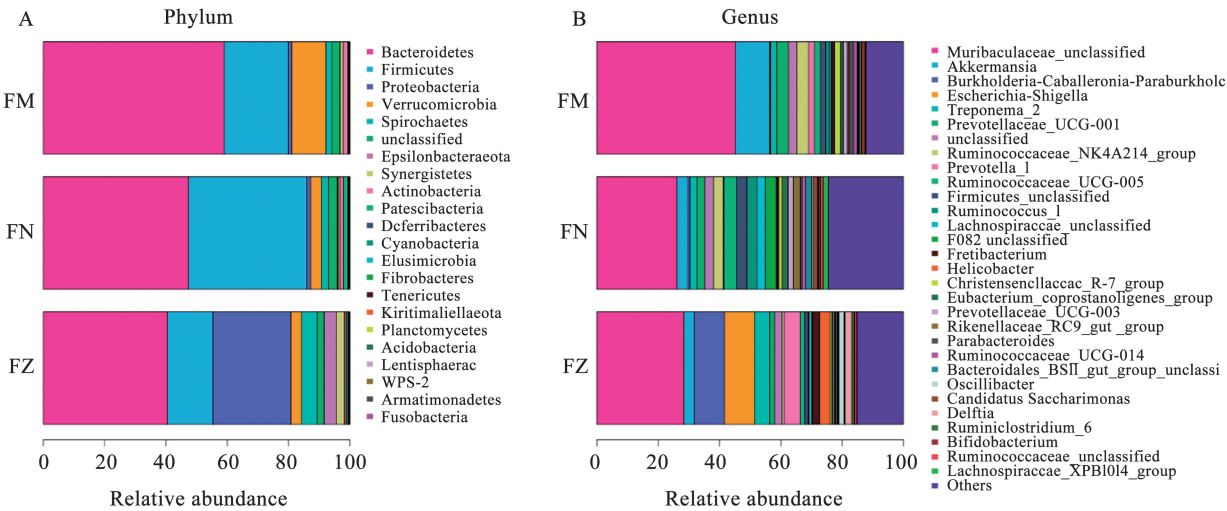
注:FN. 空白组;FM. 模型组;FZ. 中药组。

图 1 肠道菌群的 Venn 图分析

2.2 大黄灵仙方对豚鼠肠道菌群结构组成的影响

在门水平上,Bacteroidetes(拟杆菌门)、Firmicutes(厚壁菌门)、Proteobacteria(变形菌门)、Verrucomicrobia(疣微菌门)、Spirochaetes(螺旋体门)为肠道的优势菌群;与空白组相比,模型组中 Bacteroidetes(拟杆菌门)、Verrucomicrobia(疣微菌门)呈升高趋势,Firmicutes(厚壁菌门)、Spirochaetes(螺旋体门)呈降低趋势;与模型组相比,中药组中 Bacteroidetes(拟杆菌门)、Firmicutes(厚壁菌门)、Verrucomicrobia(疣微菌门)呈降低趋势,Proteobacteria(变形菌门)、Spirochaetes(螺旋体门)呈升高趋势。

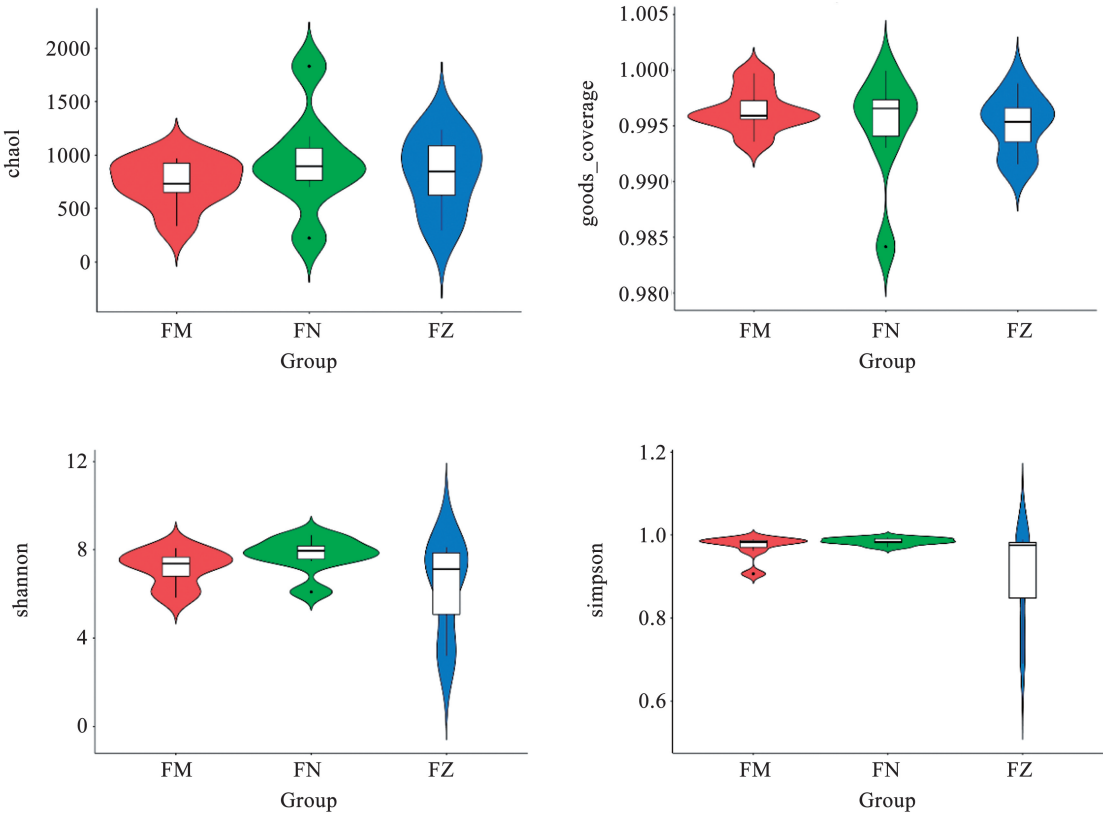
在属水平上,与空白组相比,模型组中 Muribaculaceae_unclassified、Akkermansia(阿克曼氏菌)、Prevotellaceae_UCG – 001、Ruminococcaceae_NK4A214_group 呈升高趋势,Burkholderia – Caballeronia – Paraburkholderia、Ruminococcaceae_UCG – 005 呈降低趋势;与模型组相比,中药组中 Muribaculaceae_unclassified、Akkermansia(阿克曼氏菌)、Prevotellaceae_UCG – 001、Ruminococcaceae_NK4A214_group 呈降低趋势,而 Burkholderia – Caballeronia – Paraburkholderia、Escherichia – Shigella、Treponema_2、Prevotella_1 呈升高趋势。提示在胆囊结石形成过程中肠道菌群组成结构发生变化,而大黄灵仙方能够调节菌群趋向正常稳态。见图 2。



注:A. 门水平;B. 属水平;FN. 空白组;FM. 模型组;FZ. 中药组。
图 2 肠道菌群门水平及属水平物种组成

2.3 大黄灵仙方对豚鼠肠道菌群 Alpha 多样性的影响
与空白组相比,模型组肠道菌群 Ace 指数、Chao1 指数、Shannon 指数、Simpson 指数均无明显差异;与模

型组相比,中药组肠道菌群 Ace 指数、Chao1 指数、Shannon 指数、Simpson 指数亦无明显差异($P > 0.05$)。见图 3。

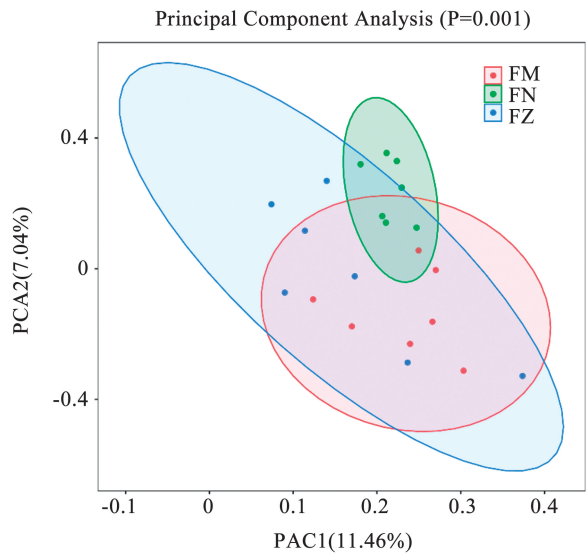


注:FN. 空白组;FM. 模型组;FZ. 中药组。
图 3 肠道菌群 Alpha 多样性分析

2.4 大黄灵仙方对豚鼠肠道菌群 Bate 多样性的影响
结果表明,模型组肠道菌群与空白组肠道菌群分

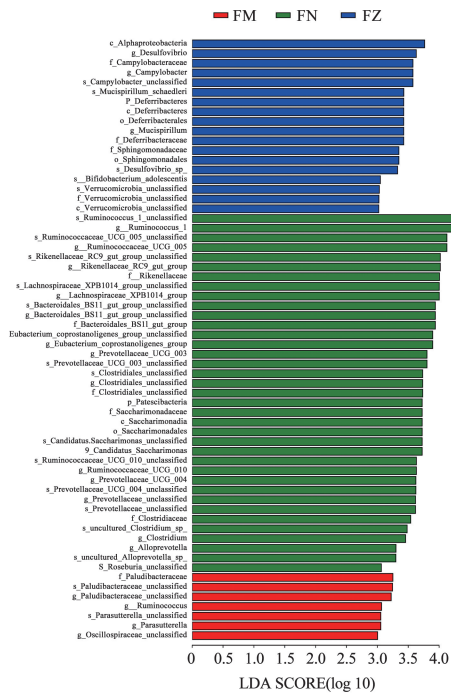
布无交叉混合,说明胆囊结石形成的过程中出现肠道菌群稳态的变化;而中药组肠道菌群的分布较为离散,

与模型组部分重合,由此推测大黄灵仙方能够影响肠道菌群的分布。见图 4。



注:FN. 空白组;FM. 模型组;FZ. 中药组。

图 4 肠道菌群 Bate 多样性分析



注:FN. 空白组;FM. 模型组;FZ. 中药组。

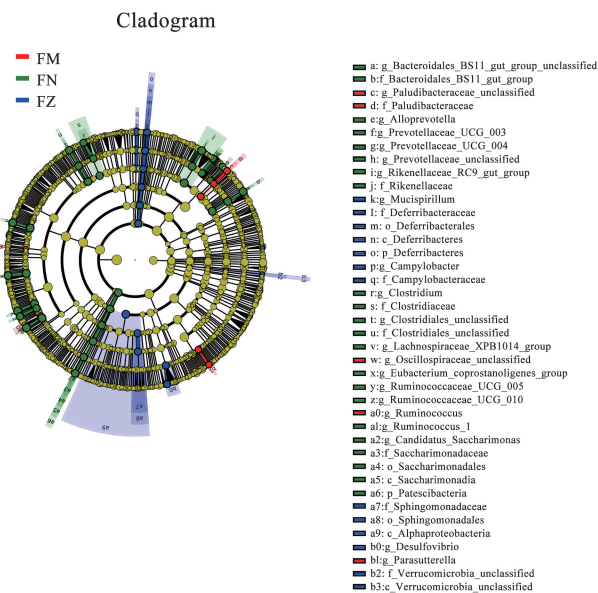
图 5 肠道菌群 LDA 分析及 LEfSe 分析

2.6 肠道菌群的表型预测

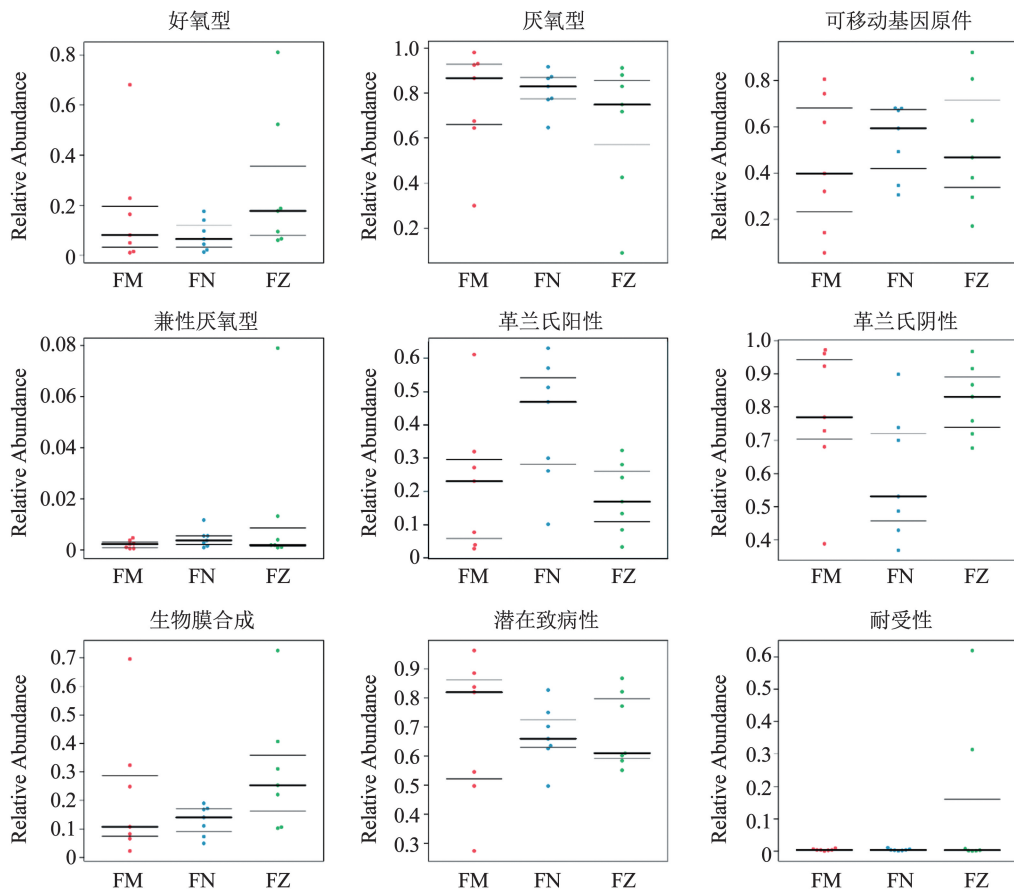
结果显示,空白组肠道菌群具有厌氧、可移动基因原件、革兰氏阳性、生物膜合成、潜在致病性表型,而模型组肠道菌群厌氧、革兰氏阴性、潜在致病性表型较

2.5 肠道菌群差异分析

结果表明,在空白组中 Ruminococcus (瘤胃球菌属)、Rikenellaceae、Lachnospiraceae (毛螺旋菌科)、Bacteroidales(拟杆菌目)、Eubacterium (真杆菌属)、Prevotellaceae(普雷沃氏菌科)、Clostridiales(梭状芽孢杆菌)、Patescibacteria、Saccharimonadaceae、Alloprevotella(普雷沃氏菌属)、Roseburia(罗氏菌属)高表达;模型组中 Paludibacteraceae、Ruminococcus (瘤胃球菌属)、Parasutterella、Oscillospiraceae (颤螺旋菌科)、Sphingomonadaceae (鞘脂单胞菌科)、Verrucomicrobia (疣微菌门)、Desulfovibrio(脱硫弧菌属)表达量最高;中药组中 Alphaproteobacteria(变形菌纲)、Desulfovibrio (脱硫弧菌属)、Campylobacter(弯曲菌属)、Mucispirillum_schaedleri、Deferribacteres(脱铁杆菌门)高表达。见图 5。



空白组升高,而可移动基因原件、生物膜合成表型较空白组降低,而大黄灵仙方干预后革兰氏阴性、可移动基因原件、生物膜合成表型升高,肠道菌群潜在致病性降低。见图 6。



注:FN. 空白组;FM. 模型组;FZ. 中药组。

图6 肠道菌群的表型预测

3 讨论

胆囊结石是一种常见的消化系统疾病。胆囊结石的形成与多种因素相关,包括胆固醇过饱和、胆盐代谢异常以及肠道微生态失衡等^[10]。近年来,越来越多的研究者开始关注肠道微生物群在胆囊结石形成中的作用,这一领域的探索为该疾病的发病机制提供了新的视角。研究^[11]表明,肠道微生物群的组成与功能可能影响胆囊结石的发展,与健康对照组相比,胆囊结石患者的肠道微生物多样性显著降低,而某些特定细菌如 *Desulfovibrionales* 在患病个体中富集,这可能与胆盐代谢及胆固醇吸收有关。另一项研究^[12]指出,高脂饮食会导致小鼠模型中平滑肌细胞外基质的变化,从而影响其收缩能力,这也可能间接促进胆囊结石的形成。肠道菌群失衡被认为是胆囊结石形成的重要因素之一。SONG 等^[10]发现,在正常情况下,健康个体的肠道主要由拟杆菌门 (*Bacteroidetes*) 和厚壁菌门 (*Firmicutes*) 等优势菌群组成,然而,在胆囊结石患者中,这些优势菌群的组成发生了显著变化。与健康对照组相比,胆囊结石患者的肠道中拟杆菌门和疣微菌门 (*Verru-*

rucomicrobia) 呈现升高趋势,而厚壁菌门和螺旋体门 (*Spirochaetes*) 的丰度则显著降低,此外,肠道微生物群的多样性也受到影 响,这可能导致代谢功能障碍,从而进一步促进胆囊结石的形成^[13-14]。

通过中药干预改变肠道微生物群来影响宿主代谢状态,从而为治疗和预防胆囊结石提供新的思路^[15]。大黄作为一种传统中药,具有调节肠道微生态和改善代谢功能的潜力^[16]。金钱草具有利湿退黄、解毒消肿的作用,有研究表明,金钱草能够显著改善小鼠模型中的胆固醇结石形成,并且这种效果可能与其对肠道微生物群的调节有关^[17]。唐乾利教授经过 30 余年的潜心研究,提出了“胆石病从肝论治”的诊治原则,在证实了大黄灵仙方的疗效作用的基础上,发现该方具有促进胆汁排泄、调节胆汁成分、抑制炎症反应、调节胆道微生态等作用^[6-9],研究者在导师唐乾利教授指导下,提出假设:通过调节肠道菌群,大黄灵仙方或许能够改善胆汁酸代谢,从而降低胆固醇饱和度,并减少结石形成风险。基于此,本研究通过实验验证大黄灵仙方对胆囊结石形成过程中的肠道菌群的影响,以期深

入理解其防治胆囊结石的潜在机制。

通过本次实验研究发现,空白组豚鼠以拟杆菌及厚壁杆菌为优势菌群,胆囊结石形成的过程中肠道菌群 OTUs 数目减少,大黄灵仙方可以增加肠道菌群的 OTUs 数目。在门水平上, Bacteroidetes (拟杆菌门)、Firmicutes (厚壁菌门)、Proteobacteria (变形菌门)、Verrucomicrobia (疣微菌门)、Spirochaetes (螺旋体门) 为肠道的优势菌群;与空白组相比,模型组中 Bacteroidetes (拟杆菌门)、Verrucomicrobia (疣微菌门) 呈升高趋势, Firmicutes (厚壁菌门)、Spirochaetes (螺旋体门) 呈降低趋势;与模型组相比,中药组中 Bacteroidetes (拟杆菌门)、Firmicutes (厚壁菌门)、Verrucomicrobia (疣微菌门) 呈降低趋势, Proteobacteria (变形菌门)、Spirochaetes (螺旋体门) 呈升高趋势。在属水平上,与空白组相比,模型组中 Muribaculaceae_unclassified、Akkermansia (阿克曼氏菌)、Prevotellaceae_UCG - 001、Ruminococcaceae_NK4A214_group 呈升高趋势, Burkholderia - Caballeronia - Paraburkholderia、Ruminococcaceae_UCG - 005 呈降低趋势;与模型组相比,中药组中 Muribaculaceae_unclassified、Akkermansia (阿克曼氏菌)、Prevotellaceae_UCG - 001、Ruminococcaceae_NK4A214_group 呈降低趋势,而 Burkholderia - Caballeronia - Paraburkholderia、Escherichia - Shigella、Treponema_2、Prevotella_1 呈升高趋势,这一过程涉及对肠道细菌多样性的影响,大黄灵仙方通过调节细菌丰度来改善代谢状态。

通过大黄灵仙方对豚鼠肠道菌群 Bate 多样性的影响结果显示,模型组肠道菌群与空白组肠道菌群分布差异较大,无交叉混合,说明胆囊结石形成的过程中出现肠道菌群的变化;而中药组肠道菌群的分布较为离散,与模型组部分重合,由此推测大黄灵仙方能够影响肠道菌群的分布。通过肠道菌群的差异分析结果表明,在空白组中 Ruminococcus (瘤胃球菌属)、Rikenellaceae、Lachnospiraceae (毛螺旋菌科)、Bacteroidales (拟杆菌目)、Eubacterium (真杆菌属)、Prevotellaceae (普雷沃氏菌科)、Clostridiales (梭状芽孢杆菌)、Patescibacteria、Saccharimonadaceae、Alloprevotella (普雷沃氏菌属)、Roseburia (罗氏菌属) 高表达;模型组中 Paludibacteraceae、Ruminococcus (瘤胃球菌属)、Parasutterella、Oscillospiraceae (颤螺旋菌科)、Sphingomonadaceae (鞘脂单胞菌科)、Verrucomicrobia (疣微菌门)、Desulfovibrio (脱硫弧菌属) 表达量最高;中药组中 Alphaproteobacteria (变形菌纲)、Desulfovibrio (脱硫弧菌属)、Campylobacter (弯曲菌属)、Mucispirillum_schaedleri、Deferribacteres (脱铁杆菌门) 高表达。通过肠道菌群

的表型预测结果显示,空白组肠道菌群具有厌氧、可移动基因原件、革兰氏阳性、生物膜合成、潜在致病性表型,而模型组肠道菌群厌氧、革兰氏阴性、潜在致病性表型较空白组升高,而可移动基因原件、生物膜合成表型较空白组降低,大黄灵仙方干预后革兰氏阴性、可移动基因原件、生物膜合成表型升高,肠道菌群潜在致病性降低。

综上所述,胆囊结石的形成与肠道菌群失衡密切相关,大黄灵仙方通过调节这些微生物群落,有望为治疗和预防该疾病提供新的思路。未来需要更多针对性研究,以进一步阐明不同类型肠道细菌在胆囊结石形成中的具体作用机制,并探索有效的干预策略以恢复健康的微生物生态平衡,从而降低胆囊结石的风险。

参考文献:

- [1] KHARAZMI E, SCHERER D, BOEKSTEGERS F, et al. Gallstones, cholecystectomy, and kidney cancer: observational and mendelian randomization results based on large cohorts[J]. Gastroenterology, 2023, 165(1): 218 - 227, e8.
- [2] GUTT C, SCHLÄFER S, LAMMERT F. The treatment of gallstone disease[J]. Dtsch Arztebl Int, 2020, 117(9): 148 - 158.
- [3] MULLIRI A, MENAHEM B, ALVES A, et al. Ursodeoxycholic acid for the prevention of gallstones and subsequent cholecystectomy after bariatric surgery: a meta - analysis of randomized controlled trials[J]. J Gastroenterol, 2022, 57(8): 529 - 539.
- [4] 张杰, 凌晓峰. 胆囊结石规范化诊治的现状与争议[J]. 中国微创外科杂志, 2022, 22(10): 829 - 833.
- [5] 郝志远, 曾欣, 林勇. 肠道微生态与肝胆疾病诊治[J]. 中华消化杂志, 2020, 40(1): 69 - 70.
- [6] 甘苡榕, 桂雄斌, 俞渊, 等. 大黄灵仙方调控 TAK1 与 TRAF6 相互作用及其定位对胆管细胞炎症反应的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(6): 92 - 99.
- [7] 张曼, 戴建业, 俞渊, 等. 大黄灵仙方对 LPS 诱导的肝内胆管组织损伤大鼠炎症反应及 Wnt5a - Ca²⁺ - PKC 信号转导通路的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(1): 39 - 44.
- [8] 居燕飞, 陈雅璐, 蒙健林, 等. 大黄灵仙方对胆道炎症模型大鼠胆管组织 miRNA - 30b 表达及炎症 - 纤维化相关因子的影响[J]. 中医杂志, 2023, 64(18): 1908 - 1915.
- [9] 甘苡榕. 大黄灵仙方调节胆道微生态与胆囊结石形成的相关性研究[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2022.
- [10] SONG S T, CAI L Y, ZENG X, et al. Gut microbial profile in asymptomatic gallstones[J]. Front Microbiol, 2022, 13: 882265.
- [11] HU H, SHAO W T, LIU Q, et al. Gut microbiota promotes cholesterol gallstone formation by modulating bile acid composition and biliary cholesterol secretion[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 252.
- [12] ZHONG X G, WU F Y, GAO W C, et al. Effects of extracellular matrix changes induced by a high - fat diet on gallbladder smooth muscle dysfunction[J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2024, 29(12): 401.
- [13] ZHANG D Y, WU C, LIU Y, et al. Microplastics are detected in human gallstones and have the ability to form large cholesterol - microplastic heteroaggregates[J]. J Hazard Mater, 2024, 467: 133631.

- [14] WANG Q, HAO C J, YAO W C, et al. Intestinal flora imbalance affects bile acid metabolism and is associated with gallstone formation [J]. BMC Gastroenterol, 2020, 20(1): 59.
- [15] AMAGASE Y, HOSHIYAMA M, HASEGAWA S, et al. Spasmolytic effect of flopropione does not involve catechol - O - methyltransferase (COMT) inhibition [J]. Biol Pharm Bull, 2024, 47(3): 660 - 668.
- [16] 韩思琪, 哈伟, 师彦平. 大黄及其有效成分抗炎作用的研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(1): 303 - 316.
- [17] LIU S J, LUORONG Q J, HU K Z, et al. Aqueous extract of *Lysimachia christinae* hance prevents cholesterol gallstone in mice by affecting the intestinal microflora [J]. J Microbiol Biotechnol, 2021, 31(9): 1272 - 1280.

Effect of Dahuang Lingxian Formula on the Intestinal Microbiota in Guinea Pig Model of Gallstones

CHEN Jinmei^{1,2}, GAN Yirong³, YU Yuan¹, FU Jun¹, QIN Yi¹, TANG Qianli²

1. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530299, China;

2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530299, China;

3. Fangchenggang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Fangchenggang 538000, China

Abstract Objective: To investigate the impact of Dahuang Lingxian Formula (Rheum Officinale and Radix Clematidis Formula, DHLX) on the intestinal microbiota's structure and function in guinea pigs suffering from gallbladder stones. Methods: Fifty guinea pigs were randomly assigned to a blank group, a model group, and a traditional Chinese medicine (TCM) group. The model group consumed a high - fat diet to induce gallbladder stones, while the TCM group received DHLX for 8 weeks alongside the same high - fat diet. Colon fecal samples were collected at the 8th week and subjected to 16S rDNA sequencing for analyzing intestinal flora composition, diversity, and functional predictions. Results: ①The OTU count was 4623 in the normal group, 3970 in the model group, and 4335 in the TCM group; 474 OTUs were common to all three groups. ②Major dominant phyla encompassed Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria, Verrucomicrobia, and Spirochaetes. In the model group, Bacteroidetes and Verrucomicrobia increased, while Firmicutes and Spirochaetes decreased. Conversely, in the TCM group, Bacteroidetes, Firmicutes, and Verrucomicrobia decreased, while Proteobacteria and Spirochaetes increased. ③The intestinal flora diversity index (Ace, Chaol, Shannon, Simpson) showed no significant difference between groups. ④The intestinal flora distribution of the model group significantly diverged from the normal group, with partial overlap observed between the TCM and model groups. ⑤In the blank group, Ruminococcus, Rikenellaceae, and other genera were highly expressed; Paludibacteraceae and Verrucomicrobia were prominent in the model group; Alphaproteobacteria and Desulfovibrio were highly expressed in the TCM group. ⑥The intestinal microbiota of the blank group exhibited anaerobic and biofilm synthesis traits. In the model group, Gram - negative bacteria increased, while mobile genetic elements and biofilm synthesis decreased. However, in the TCM group, the characteristics of Gram - negative bacteria and biofilm synthesis were restored. Conclusion: The intestinal microbiota structure undergoes significant changes during gallbladder stone formation, and DHLX effectively regulates the flora, restoring it to a normal steady state.

Key words Dahuang Lingxian Formula; Gallstones; Intestinal microbiota; 16SrDNA