◇ 基础研究 ◇

http://www.cjcpt.com
2026 Aug; 31(8): 1016-1026

猪胆粉有效成分 HDCA 通过调控肠道胆汁酸代谢抑制胆固醇结石形成的实验研究

苏英洋[1,2]，邓　妍[1]，刘星羽[2]，杜玉珍[2]，宁　敏[2]，
吴　姗[2]，吴凯悦[2]，沈　双[2,3]

[1]上海海洋大学水产与生命学院，上海 201306；
[2]上海交通大学医学院附属第六人民医院，上海 201306；
[3]上海健康医学院附属第六人民医院，上海 201306

摘要　目的：探究猪去氧胆酸（hyodeoxycholic acid，HDCA）通过调控肠道胆汁酸代谢，影响法尼醇 X 受体（farnesoid X receptor，FXR）活性，抑制胆固醇结石生成。**方法**：将 C57BL/6J 小鼠随机分成对照组、胆固醇结石模型组、猪胆粉（pulvis fellis suis，PFS）（7%、10%）给药干预组，每组 6 只；将 C57BL/6J 小鼠随机分成对照组、胆固醇结石模型组、HDCA（0.1%、0.5%、1%）给药干预组，每组 6 只；对各组小鼠进行称重、拍照、收集各组织样本并进行胆囊结石等级评估；用总胆固醇（T-CHO）检测试剂盒和酶标仪检测样本中总胆固醇的含量；在体外细胞实验方面，通过实时定量聚合酶链反应（qPCR）分析 HDCA 对肠道细胞中 FXR 的直接调节作用；使用 16S 核糖体 RNA（16S ribosomal RNA，16S rRNA）测序技术检测各组小鼠粪便菌群的变化差异；液相色谱-质谱法（liquid chromatography-mass spectrometry，LC-MS/MS）测定回肠组织中胆汁酸池的变化。**结果**：与模型组相比，10%PFS 和 1%HDCA 给药干预组均显著降低小鼠胆囊胆固醇结石等级和血清胆固醇含量（P<0.01），并且 1%HDCA 组显著降低小鼠肝重与体质量的比值和肝脏胆固醇含量（P<0.01）；在体外实验中，HDCA 显著降低肠道细胞 Caco-2 中 FXR 的相对表达量（P<0.05、P<0.01）；HDCA 显著降低疣微菌门（*Verrucomicrobiota* 与激活 FXR 型胆汁酸呈显著正相关）的含量（P<0.05），显著升高拟杆菌门（*Bacteroidota* 与激活 FXR 型胆汁酸呈显著负相关）的含量（P<0.01）；并且 HDCA 显著改变肠道胆汁酸成分，降低激活 FXR 型胆汁酸含量占比，升高抑制 FXR 型胆汁酸含量占比（P<0.05）。**结论**：HDCA 可能通过调节肠道菌群提高抑制 FXR 型胆汁酸的含量，从而间接发挥抑制肠道 FXR，促进胆汁酸合成且降低胆固醇饱和度的作用，达到抑制胆固醇结石形成的效果。

关键词　猪去氧胆酸；猪胆粉；法尼醇 X 受体；胆汁酸；胆固醇结石

中图分类号：R965.2
文献标志码：A
文 章 编 号：1009-2501(2026)08-1016-11
doi: 10.12092/j.issn.1009-2501.2026.08.002

胆结石（又称胆石症）是一种常见疾病，全球约 6% 的人口患有胆结石，成年人中患病率高达 20%[1-2]。中国胆结石患病率为 5.13%，其中胆固醇结石最为常见，占 90% 以上，主要形成于胆囊[2-3]。随着胆结石的发病率持续上升，该疾病已成为全球范围内的重大健康问题[1]。熊去氧胆酸是目前常用的胆结石治疗药物，但其溶石效率仅 50% 左右并且价格较高[4-5]。而切除胆囊的治疗方法常会导致患者内分泌水平的异常变化，同时可能会增加消化系统癌症以及肝病的患病风险[6-7]。因

2025-08-26 收稿　2025-10-24 修回
国家自然科学基金项目（82200710）；上海健康医学院校院协同合作重点项目（XJJ2503-6）
苏英洋，女，硕士研究生，研究方向：胆固醇代谢与疾病。
E-mail: 17332515661@163.com
吴凯悦，男，共同通信作者，硕士，助理实验师，研究方向：线粒体代谢。
E-mail: fuyou_1995@163.com
沈双，男，通信作者，博士，副研究员，研究方向：代谢与疾病。
E-mail: shuangshen.no.1@163.com

此，仍需开发胆固醇结石的新型治疗方法。

研究表明，胆固醇在胆囊胆汁中过饱和是其形成胆结石的主要原因[8]。在中医领域关于胆结石的记载，《景岳全书》中提到："肝胆湿热，气滞血瘀，胆汁凝结，久而成石。"可见肝胆湿热是胆结石形成的重要原因。明代李时珍所著《本草纲目》中提到"方家用猪胆，取其寒能胜热，滑能润燥，苦能入心，又能祛肝胆之火也。"指出猪胆具有清热利胆的作用，这表明猪胆可能对胆结石具有潜在疗效。并且早在 20 世纪 80 年代，就有临床研究证实复方猪胆汁具有溶石作用[9]。由猪胆汁所得到的猪胆粉（pulvis fellis suis, PFS）已载入《中国药典》，其主要活性成分之一为猪去氧胆酸（hyodeoxycholic acid, HDCA）[10-11]。

HDCA 可抑制胆汁酸受体法尼醇 X 受体（farnesoid X receptor, FXR）的活性，发挥抑制胆固醇结石形成的作用[12-13]。胆汁酸是 FXR 的天然配体，不同类型的胆汁酸在调节 FXR 活性方面发挥不同的作用，包括激活作用或抑制作用。FXR 活性受到调节后又可以反向调控胆汁酸的合成和代谢，以此维持机体的代谢稳态[14]。但目前关于 HDCA 是如何通过调节肠道内胆汁酸的变化进一步影响 FXR 的活性，从而发挥抑制胆固醇结石作用的具体机制尚不明确。本研究主要探讨 HDCA 如何通过胆汁酸代谢途径调节肠道 FXR 活性，间接发挥抑制胆固醇结石形成的作用，旨在为胆固醇结石的防治提供参考。

1　材料与方法

1.1　细胞株及动物　人结直肠腺癌细胞 Caco-2 来源于上海交通大学医学院附属第六人民医院中心实验室。以普通饲料（LAD0011）适应性喂养雄性 6 周龄 C57BL/6J 小鼠 1 周。所有小鼠均在特定无病原体（specific pathogen-free, SPF）条件下饲养。将小鼠饲养在环境受控的房间中，温度 21 ~ 23 ℃，相对湿度 55% ~ 65%，同时保持 12 h 的光暗循环和自由进食饮水。所有动物实验均按照上海交通大学医学院附属第六人民医院动物护理与使用委员会批准的方案进行（编号：2024-0483，中国上海）。本研究是根据"3R"原则（减少、替代和细化）进行的。

1.2　药品与试剂　小鼠饲料均购自南通特洛菲饲料科技有限公司；PFS（批号：230501）购自中国河北安国振宇药业有限公司；HDCA（批号：C11727050）购自上海 Macklin 公司；总胆固醇（T-CHO）检测试剂盒（批号：20240709）购自南京建成生物工程研究所；胎牛血清（FBS）（批号：C20230423）购自上海语纯生物科技有限公司；胰蛋白酶（批号：2500020004）、青链霉素混合液 P/S（批号：240005011）购自北京索莱宝科技有限公司；最低必需培养基（MEM）非必需氨基酸溶液（NEAA）（批号：3118136）、MEM 培养基（批号：6124013）购自美国 Gibco公司；三氯甲烷（批号：20190408）、异丙醇（批号：20190319）、无水乙醇（批号：20250102）购自上海凌峰化学试剂有限公司；核糖核酸提取剂 RNA isolater Total RNA Extraction Reagent（批号：7E530A1）、反转录试剂 HiScript® II Q RT SuperMix for qPCR（+gDNA wiper）（批号：7E731J3）、实时定量聚合酶链反应试剂 ChamQ™ Universal 2 × SYBR qPCR Master Mix（批号：7E78213）、聚合酶链反应试剂 2×Rapid Taq Master（批号：7E2230L4）购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司；AxyPrep DNA凝胶提取试剂盒（货号：MAG-PLANT-GDNA-S）购自美国 Axygen 生物技术有限公司；DNA 提取试剂盒（批号：B0121A）购自北京天根生化科技有限公司；胆固醇 Cholesterol（批号：SLCF2561）购自美国 Sigma-Aldrich 公司。

1.3　仪器　细胞培养箱（日本 Panasonic 公司）；低速离心机（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；恒温水浴锅（上海析达仪器有限公司）；实时荧光定量 PCR 仪 LightCycler 480 系统（瑞士 Roche 公司）；定量 PCR 仪（美国 ABI 公司）；T100PCR 仪（美国 Bio-Rad 公司）；水平小型电泳槽（北京百普赛斯生物科技有限公司）；SpectraMax i3x 荧光酶标仪（美国 Molecular Devices 公司）；液相色谱—质谱（liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS/MS）（美国 Waters 公司）；测序平台：Illumina MiSeq PE300 平台/Nova SeqPE250 平台（美国 Illumina 公司）。

1.4　造模、分组与给药　实验一：小鼠随机分成 4 组（每组 6 只小鼠），正常组正常饮食（standard chow, Chow），模型组成石饮食（lithogenic diet, LD），给药组 PFS 饮食。4 组分别喂食普通饲料、LD 饲料（TP28900/Paigen，含 15% 脂肪、1.25% 胆固醇和 0.5% 胆盐）、含 7%、10%PFS 的 LD 饲料 6 周。

实验二：小鼠随机分成 5 组（每组 6 只小鼠），正常组（Chow 组），模型组（LD 组），给药组（0.1%、0.5%、1%HDCA 组）。5 组分别喂食普通饲料、LD 饲料、含 0.1%、0.5%、1%HDCA 的 LD 饲料 6 周。

1.5　动物样本收集　6 周后，收集小鼠样本。将每只小鼠单独置于铺有吸水纸的洁净盒中，收集新鲜粪便；小鼠禁食过夜，次日通过腹腔注射戊巴比妥钠麻醉后实施安乐死。采集血清、胆汁、肝脏、胆囊和回肠组织；称取肝脏重量，后续结合肝重与体质量的比值进行分析；对每组胆囊进行拍照，在肉眼及显微镜下观察分析每只小鼠的胆囊结石情况。结石等级评分及对应的肉眼观察胆囊外观标准如下：0 分：胆囊中胆汁澄清。1 分：胆囊中胆汁稍浑浊，可见少量胆固醇结晶。2 分：胆囊中胆汁浑浊，可见 10 余枚胆固醇结晶。3 分：胆囊中胆汁浑浊，胆固醇结晶占据不超过半个胆囊。4 分：胆囊中胆汁浑浊，胆固醇结晶超过半个胆囊。5 分：胆囊中胆汁浑浊，可见卵圆形或不规则块状结石形成。

1.6　胆汁酸分析　使用液相色谱-质谱 LC-MS/MS 测定每克回肠组织中每种胆汁酸的浓度（n=6）。使用 ACQUITY UPLC 系统（美国 Waters 公司）在 ACQUITY 超高压液相色谱（UPLC）BEH C_{18} 色谱柱（1.7 μm, 2.1 mm×100 mm, 美国 Waters 公司）上进行色谱分离。用甲醇将胆汁酸标准品稀释成一系列浓度梯度，制备标准曲线。样品进样体积为 5 μL，柱温保持在 40 ℃。洗脱液 A 为 0.01% 甲酸，洗脱液 B 为乙腈。梯度洗脱条件如下：0 ~ 4 min, 25% 洗脱液 B; 4 ~ 9 min, 25% ~ 30% 洗脱液 B; 9 ~ 14 min, 30% ~ 36% 洗脱液 B; 14 ~ 18 min, 36% ~ 38% 洗脱液 B; 18 ~ 24 min, 38% ~ 50% 洗脱液 B; 24 ~ 32 min, 50% ~ 75% 洗脱液 B; 32 ~ 33 min, 75% ~ 90% 洗脱液 B; 33 ~ 35.5 min, 90% ~ 25% 洗脱液 B。流速保持在 0.25 mL/min。电喷雾电离（electrospray ionization, ESI）采用负电离模式，离子源温度为 500 ℃，电压为–4 500 V。碰撞气体、气幕、雾化气体和辅助气体压力分别为 6、30、50、50 psi。使用多反应监测（multiple reaction monitoring, MRM）进行扫描。

1.7　菌群检测　使用 16S 核糖体 RNA（16S ribosomal RNA, 16S rRNA）（n=4）测序技术对粪便内容物进行测序。根据说明书使用 DNA 提取试剂盒，提取肠道菌群的总基因组 DNA。在 1% 琼脂糖凝胶上电泳分析基因组 DNA 的质量，并使用 SpectraMax i3x 酶标仪测定 DNA 浓度和纯度。以纯化的 DNA 为模板，通过聚合酶链反应 PCR 扩增 16S rRNA 基因中的可变区 V3-V4。使用 AxyPrep DNA 凝胶提取试剂盒回收和纯化 PCR 产物。使用 SpectraMax i3x 荧光酶标仪定量回收的产品。将纯化的 PCR 产物构建为测序文库。在测序平台上对纯化的扩增子进行双端测序。使用 Meiji Biological Cloud 平台（https://cloud.majorbio.com）处理测序数据。

1.8　总胆固醇检测　对于肝脏和血清中总胆固醇的检测，根据试剂盒说明书，使用总胆固醇检测试剂盒和 SpectraMax i3x 酶标仪进行检测分析。

1.9　细胞实验　本实验中所涉及的肠道细胞 Caco-2，使用 MEM 完全培养基（含 15%FBS+1%P/S+1%NEAA+83% 基础培养基）进行培养。培养条件：95% 空气，5%CO_2；温度：37 ℃。处理细胞的两种母液分别为：胆固醇母液（无水乙醇配制，8 mg/mL）和 HDCA 母液（二甲基亚砜配制，100 mmol/L）。

1.10　测定 Caco-2 细胞 FXR mRNA 表达水平　采用 Trizol 法提取 Caco-2 细胞总 RNA，将获得的 RNA 溶解在焦碳酸二乙酯（DEPC）水中。使用 SpectraMax i3x 酶标仪测定 RNA 的纯度和浓度。根据反转录试剂盒说明书将 RNA 反转录为 cDNA。使用实时定量聚合酶链反应试剂和实时荧光定量 PCR 仪进行实时定量聚合酶链反应 qPCR 分析。内参基因 β-actin 的引物序列如下（正向引物：GAGGTATCCTGACCCTGAAGTA；反向引物：CACGCAGCTCATTGTAGA），FXR 的引物序列如下（正向引物：CCCTAATTACACCTCCGGTTATG；反向引物：TCTCCTGCCAATGACCAATC）。采用 2^(−ΔΔCt) 法对数据进行定量分析，并做归一化处理。

1.11　统计分析　使用 GraphPad Prism 9.5 进行统计分析，数据以均数±标准差（$\bar{x}$±s）表示。两组间比较采用 t 检验；多组比较采用单因素方差分析（One-Way ANOVA），事后用 Tukey 检验进行多重比较。胆汁酸水平与肠道菌群相对丰度的相关性通过 Spearman 进行相关分析评估。显著性阈值设为 P<0.05。

2　结果

2.1　PFS 对小鼠胆囊胆固醇结石形成的抑制作用　按文献标准对不同组小鼠的胆囊结石进行等级

评估[15]。结果显示，LD 组小鼠胆囊结石等级显著高于 Chow 组，PFS 组小鼠胆囊结石等级显著低于 LD 组（*P*<0.01，Fig.1A）。并且 10%PFS 组小鼠胆囊结石等级显著低于 7%PFS 组，其抑制结石效果最佳（*P*<0.05，Fig.1A）。LD 组小鼠结石发生率为 100%，明显高于 Chow 组小鼠结石发生率 0%。7%PFS 组与 10%PFS 组小鼠结石发生率分别为 66.7% 和 33.3%，均低于 LD 组小鼠结石发生率（Fig.1B）。4 组小鼠的体质量在造模前 0 周时和造模后 6 周时均相近（*P*>0.05，Fig.1C-D）。Chow 组小鼠胆囊中无肉眼可见结石，LD 组小鼠胆囊被结石完全充满，7%PFS 组小鼠胆囊中含有极少量结石，10%PFS 组小鼠胆囊中几乎无结石（Fig.1E）。同时，LD 组小鼠肝重与体质量的比值显著高于 Chow 组，10%PFS 组小鼠血清总胆固醇显著低于 LD 组（*P*<0.01，Fig.1F；*P*<0.05，Fig.1G）。以上结果表明，LD 组相比于 Chow 组可以显著增加小鼠患胆固醇结石症的风险，同时 PFS 组相比于 LD 组可以显著抑制胆固醇结石的形成，并且 10%PFS 的抑制效果最为显著。

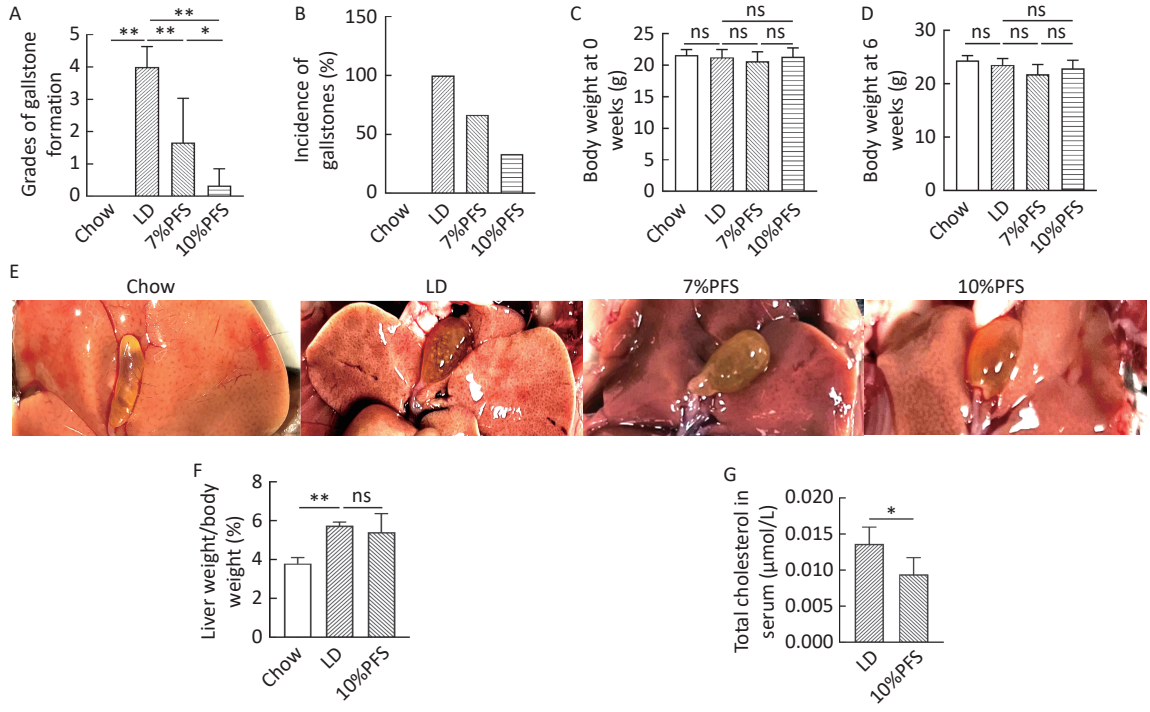


Fig.1　PFS has a significant preventive effect on cholesterol gallstones in mice ($\bar{x}\pm s$, *n*=6)

A: gallstone grades of the gallbladder in mice; B: incidence of gallstones in mice; C: body weight of mice before model induction; D: body weight of mice at model completion; E: appearance of the gallbladder in mice; F: ratio of liver weight to body weight in mice; G: total cholesterol content in mouse serum. *P<0.05; **P<0.01.

2.2　HDCA 可显著抑制小鼠胆囊胆固醇结石的形成　对小鼠胆囊进行结石等级评估，LD 组小鼠胆囊结石等级显著高于 Chow 组，0.5% 和 1%HDCA 组小鼠胆囊结石等级显著低于 LD 组（*P*<0.05、0.01，Fig.2A）。LD 组小鼠结石发生率为 100%，明显高于 Chow 组小鼠结石发生率 0%。0.1%HDCA 组小鼠结石发生率为 100%。0.5%HDCA 组与 1% HDCA 组小鼠结石发生率分别为 83.3% 和 16.7%，均低于 LD 组小鼠结石发生率（Fig.2B）。五组小鼠的体质量在造模前 0 周时和造模后 6 周时均相近（*P*>0.05，Fig.2C-D）。Chow 组小鼠胆囊中无肉眼可见结石，LD 组小鼠结石充满整个胆囊，1%HDCA 组小鼠胆囊中几乎无结石（Fig.2E）。同时，LD 组小鼠肝重与体质量的比值、血清总胆固醇以及肝脏总胆固醇均显著高于 Chow 组，而 1%HDCA 组均显著低于 LD 组（*P*<0.01，Fig.2F；*P*<0.01，Fig.2G；*P*<0.01，Fig.2H）。0.1%HDCA 组和 0.5%HDCA 组小鼠肝重与体质量的比值也显著低于 LD 组（*P*<0.01，Fig.2F）。以上结果表明，LD 组相比于 Chow 组可以显著增加小鼠患胆固醇结石症的风险，同时 HDCA 组相比于 LD 组可以显著抑制胆固醇结石的形成，并且 1%HDCA 的抑制效果最为显著。

2.3　HDCA 可抑制肠道细胞 Caco-2 中 FXR 的表达　实验结果表明，在给予相同浓度胆固醇处理的

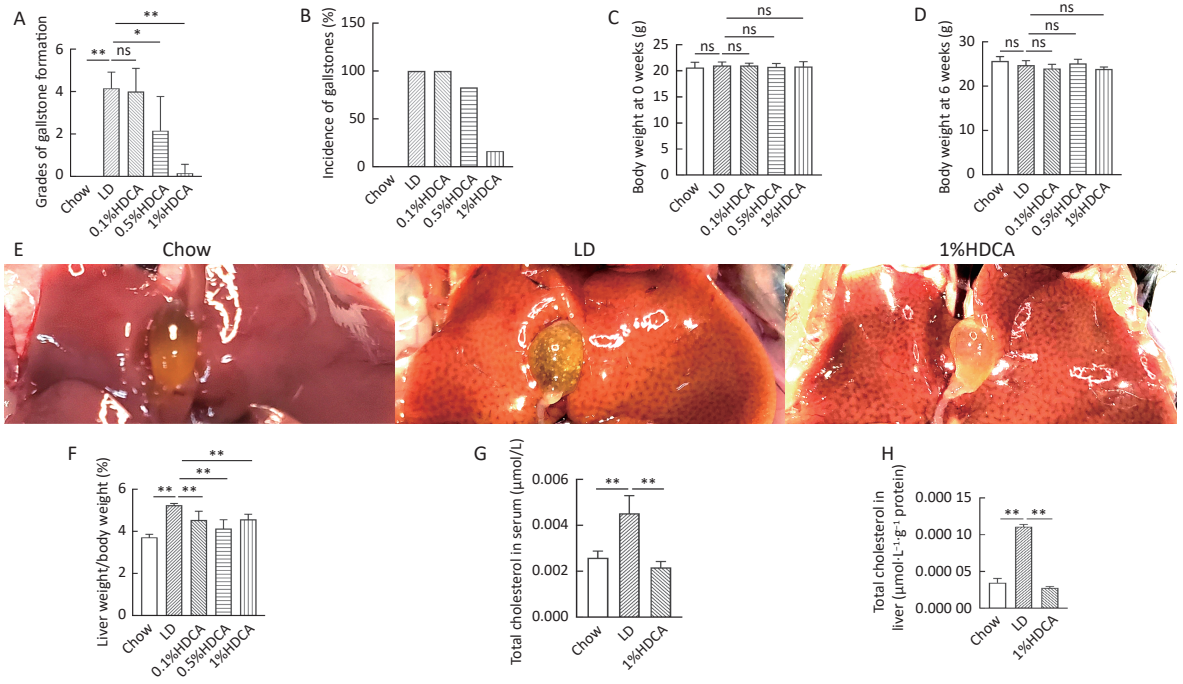


Fig.2 HDCA has a significant preventive effect on cholesterol gallstones in mice ($\bar{x}\pm s$, n=6)

A: gallstone grades of the gallbladder in mice; B: incidence of gallstones in mice; C: body weight of mice before model induction; D: body weight of mice at model completion; E: appearance of the gallbladder in mice; F: ratio of liver weight to body weight in mice; G: total cholesterol content in mouse serum; H: total cholesterol content in the liver. *P<0.05; **P<0.01.

条件下，HDCA 组与仅给予胆固醇处理组相比显著抑制 Caco-2 细胞 FXR 的表达（P<0.05、0.01，Fig.3）。

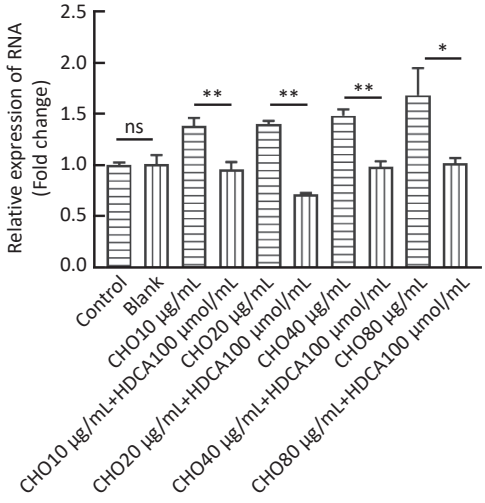


Fig.3 HDCA inhibits the expression of FXR in intestinal Caco-2 cells ($\bar{x}\pm s$, n=3). *P<0.05; **P<0.01.

2.4 HDCA 可能通过调节菌群上调抑制 FXR 型胆汁酸含量 主成分分析（principal component analysis, PCA）显示，Chow、LD、HDCA 三组小鼠肠道微生物群落的组成存在统计学差异（P=0.001，Fig.4B）。肠道菌群与胆汁酸的相关性分析结果显示：髌骨菌门（*Patescibacteria*）与胆酸（cholic acid, CA）和甘胆酸（glycocholic acid, GCA）（两种激活 FXR 型胆汁酸）呈显著负相关，相关系数分别为−0.67815（P<0.05）、−0.64903（P<0.05）；弯曲菌门（*Campilobacterota*）与 HDCA（抑制 FXR 型胆汁酸）呈显著负相关，相关系数为−0.58068（P<0.05）；疣微菌门（*Verrucomicrobiota*）与 CA、GCA、牛磺去氧胆酸（taurodeoxycholic acid, TDCA）、牛磺胆酸（taurocholic acid, TCA）（4 种激活 FXR 型胆汁酸）呈显著正相关，相关系数分别为 0.60839（P<0.05）、0.79720（P<0.01）、0.60140（P<0.05）、0.73427（P<0.01）；拟杆菌门（*Bacteroidota*）与去氧胆酸（deoxycholicacid, DCA）、GCA、TDCA、TCA（4 种激活 FXR 型胆汁酸）呈显著负相关，相关系数分别为−0.60140（P<0.05）、−0.86713（P<0.01）、−0.77622（P<0.01）、−0.84615（P<0.01）（Fig.4A）。LD 组相比于 Chow 组，不同菌门序列占比（含量占比）分析结果显示：*Patescibacteria* 与 *Campilobacterota* 含量呈下降趋势，*Verrucomicrobiota* 含量显著上升（P<0.01），*Bacteroidota* 含量显著下降（P<0.01）；HDCA 组相比于 LD 组，不同菌门序列占比分析结果显示：*Patescibacteria* 含量无明显变化，*Campilobacterota* 含量呈下降趋势，*Verrucomicrobiota* 含量显著下降（P<0.05），*Bacteroidota* 含量显著上升（P<0.01）（Fig.4C-K）。

以上结果显示，HDCA 降低 *Campilobacterota*（与抑制 FXR 型胆汁酸 HDCA 呈显著负相关）的平均含量；HDCA 显著降低 *Verrucomicrobiota*（与激活 FXR 型胆汁酸 CA、GCA、TDCA、TCA 呈显著正相关）的平均含量；HDCA 显著升高了 *Bacteroidota*（与激活 FXR 型胆汁酸 DCA、GCA、TDCA、TCA 呈显著负相关）的平均含量。即 HDCA 显著降低与激活 FXR 型胆汁酸呈正相关的菌群含量，显著升高与其呈负相关的菌群含量。

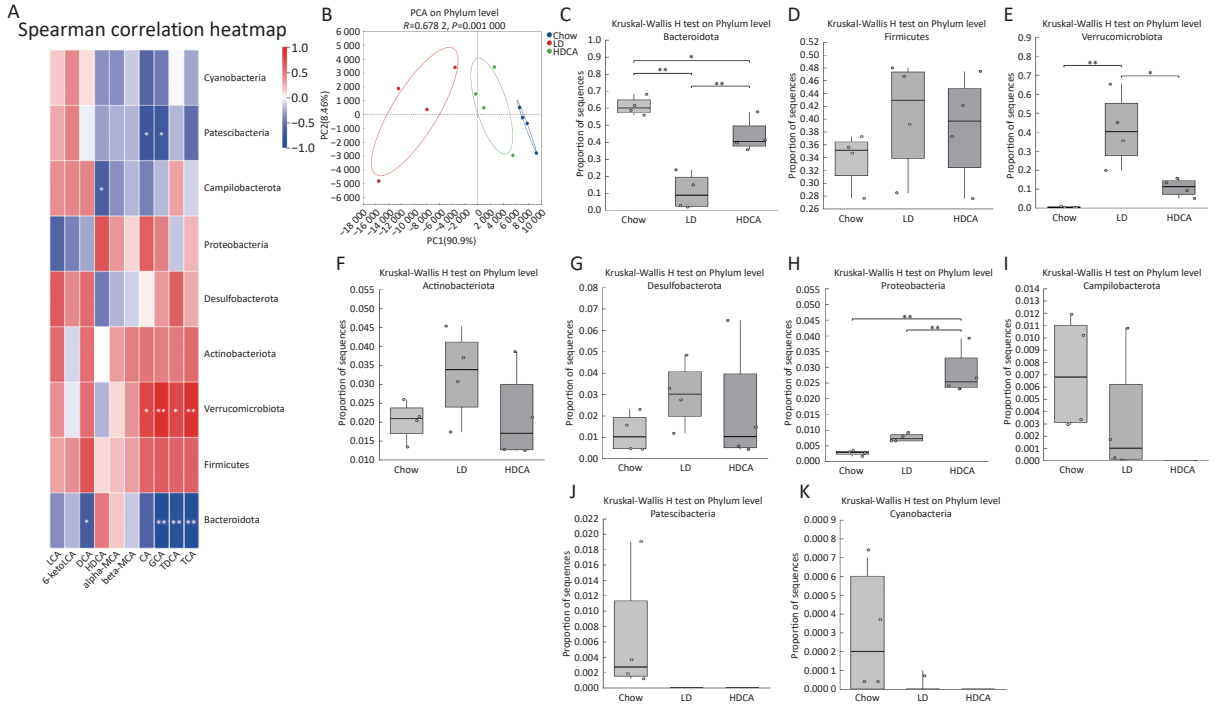


Fig.4　The situation of the intestinal microbiota in mice after HDCA intervention ($\bar{x}\pm s$, n=4)

A: heat map showing the relationship between the intestinal microbiota and bile acids; B: composition of the microbial community in the intestinal microbiota; C-K: content of different phyla of microbiota in the intestine. **P*<0.05; ***P*<0.01.

2.5　HDCA 通过改变具有不同 FXR 调节活性的胆汁酸水平，发挥抑制 FXR 的作用

2.5.1　HDCA 降低激活 FXR 型胆汁酸含量并升高抑制 FXR 型胆汁酸含量　对小鼠回肠中含量排名前 10 的胆汁酸进行统计，其中包含 7 种对 FXR 有激活作用的胆汁酸：CA、TCA、DCA、石胆酸（lithocholic acid, LCA）、TDCA、GCA、6-酮石胆酸（6-ketolithocholic acid, 6-ketoLCA）；3 种对 FXR 有抑制作用的胆汁酸：HDCA、β-鼠胆酸（beta-Muricholic Acid, beta-MCA）、α-鼠胆酸（alpha-muricholic acid, alpha-MCA）（Tab.1）。同时对每种胆汁酸的含量进行统计，结果显示，在激活 FXR 型胆汁酸中，LD 组相比于 Chow 组，胆汁酸含量基本呈现上升趋势；HDCA 组相比于 LD 组，胆汁酸含量均呈现下降趋势；在抑制 FXR 型胆汁酸中，HDCA 组相比于 LD 组，含量整体呈现上升趋势（*P*<0.05, Fig.5A-J）。以上结果表明，HDCA 干预小鼠后会降低激活 FXR 型胆汁酸含量，并且升高抑制 FXR 型胆汁酸含量。

2.5.2　HDCA 显著降低激活 FXR 型胆汁酸占比并显著升高抑制 FXR 型胆汁酸占比　LD 组相比于 Chow 组，激活 FXR 的胆汁酸总量显著升高；HD-

Tab.1　The top 10 bile acids in content after HDCA intervention in mice

Bile acid	Content (nmol/g)	Effect on FXR
CA	5 931.64	agonists
TCA	2 601.21	agonists
HDCA	2 598.39	antagonists
DCA	2 087.83	agonists
LCA	1 473.53	agonists
TDCA	1 079.37	agonists
GCA	552.98	agonists
6-ketoLCA	224.95	agonists
beta-MCA	178.26	antagonists
alpha-MCA	120.80	antagonists

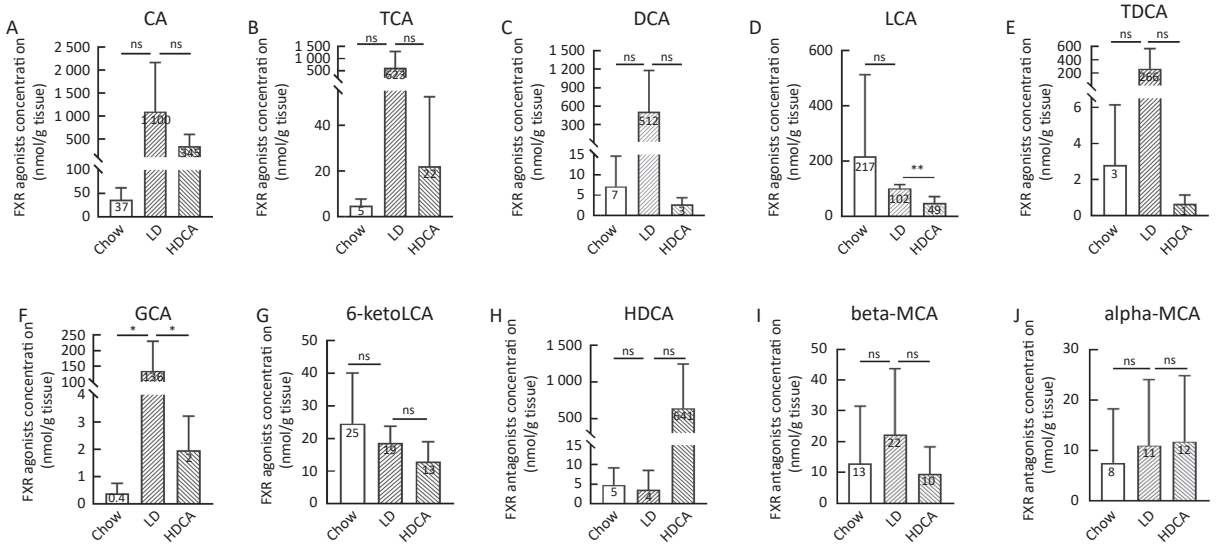


Fig.5　The content of different bile acids in mice after HDCA intervention ($\bar{x}\pm s$, n=4)

A-G: contents of FXR-activating bile acids; H-J: contents of FXR-inhibiting bile acids. *P<0.05; **P<0.01.

CA 组相比于 LD 组，激活 FXR 的胆汁酸总量显著降低（P<0.05，Fig.6A）。HDCA 组相比于 LD 组，抑制 FXR 的胆汁酸总量呈上升趋势（Fig.6B）。同时，HDCA 组相比于 LD 组，激活 FXR 的胆汁酸总量在总胆汁酸中的占比显著降低，抑制 FXR 的胆汁酸总量在总胆汁酸中的占比显著升高（P<0.05，Fig.6C）。以上结果表明，HDCA 显著降低激活 FXR 型胆汁酸总量和其在总胆汁酸中的占比，升高抑制 FXR 型胆汁酸总量并显著升高其在总胆汁酸中的占比。

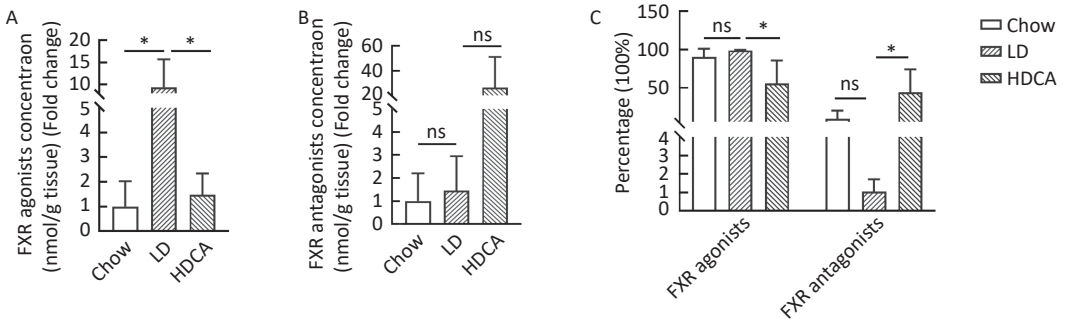


Fig.6　The bile acid conditions of activating or inhibiting FXR after HDCA intervention in mice ($\bar{x}\pm s$, n=4)

A: total FXR-activating bile acid content; B: total FXR-inhibiting bile acid content; C: proportion of FXR-activating/inhibiting bile acids. *P<0.05.

3　讨论

《本草纲目》记载猪胆具有清热利胆的功效，表明猪胆对胆结石有一定的治疗作用。在现代医学实践中，PFS 也常用于治疗消化系统疾病和代谢相关脂肪肝疾病等[10,16]。基于现代医学精准化理念，本研究实验结果表明，PFS 可通过其关键有效成分 HDCA 发挥抑制胆固醇结石形成的作用。

胆固醇转化为胆汁酸是其在机体内分解代谢的主要途径[17-18]。肝脏将胆固醇转化为初级胆汁酸，有助于调节体内的胆固醇水平，并抑制胆固醇结石的形成[19]。在肠道内，肠道菌群可进行水解、脱羟基化、差向异构化等反应过程，将初级胆汁酸转化为次级胆汁酸；胆汁酸同时也是肠道 FXR 的天然配体。FXR 被激活后诱导肠道上皮细胞分泌成纤维细胞生长因子（fibroblast growth factor 15/19, FGF15/FGF19），该生长因子和胆汁酸会通过门静脉循环共同到达肝脏，调节胆汁酸的稳态，并且在此过程中胆汁酸完成了肠肝循环[20]（Fig.7）。因此在维持胆汁酸稳态过程中，肠道菌群和 FXR 均发挥重要作用。

在胆汁酸的肠肝循环过程中，肠道微生物促进次级胆汁酸的合成，影响了胆汁酸池的大小和组成[21-22]。关于肠道菌群对胆汁酸的修饰，有研

究表明，肠道异常鞘脂代谢与 *Verrucomicrobiota* 增加相关的胆汁酸（TCA、TDCA、GCA）的增加有关，进而发展为肝脂肪变性[23]。该研究提示 *Verrucomicrobiota* 与 TCA、TDCA、GCA 呈正相关，在本研究实验结果中该相关性为显著正相关（$P<0.05$、$P<0.01$）。有关于黄精多糖对小鼠肠道菌群影响的研究表明，*Bacteroidota* 与 DCA 呈显著负相关，属于放线菌门（*Actinobacteriota*）的双歧杆菌（*Bifidobacterium*）与 LCA 呈显著正相关（$P<0.01$）[24]，本研究实验结果也呈现该相关性。有关于鸡脂肪肝模型中胆汁酸变化的研究表明，高胆固醇饮食可以增加 TDCA 和 TCA 的含量[25]，与本研究实验结果趋势相同。有关于胆汁酸胃肠道微生物的研究表明，*Bacteroidota* 可以发挥 C12 去羟基化的作用，将 CA 转化为鹅去氧胆酸（chenodeoxycholic acid, CDCA）。*Bacteroidota* 还在次级胆汁酸异构化途径中发挥作用，将 DCA 和 LCA 分别转化为别去氧胆酸（allo-deoxycholic acid, alloDCA）和别石胆酸（allo-lithocholic acid, alloLCA）[19]，表明 *Bacteroidota* 与 CA、DCA、LCA 呈负相关，支持本研究的实验结果；并且在本研究实验结果中，HDCA 显著降低 *Verrucomicrobiota* 的含量（$P<0.05$），显著升高 *Bacteroidota* 的含量（$P<0.01$）。有研究表明 *Bacteroidota* 等肠道细菌可以通过编码胆盐水解酶（bile salt thydrolase, BSH）对胆汁酸进行水解等代谢活动，影响胆汁酸的组成和功能，进而影响宿主的生理过程[26]。BSH 酶是研究最多的微生物胆汁酸代谢酶之一，并且其活性可减少胶束脂质和胆固醇的重吸收，增加胆汁酸随粪便的排泄，从而增加胆固醇向胆汁酸的转化率，降低体内胆固醇水平[19]。以上结果表明，HDCA 可能通过调节菌群发挥其上调抑制 FXR 型胆汁酸含量的作用，抑制胆固醇结石的形成。

FXR 是胆汁酸主要的内源性受体，可以控制胆汁酸的合成和分泌[27]。胆汁酸：CA[28-29]、TCA[30]、DCA[31-32]、LCA[29,31-32]、TDCA[29]、GCA[29]、6-ketoLCA[33]对 FXR 起到激活作用；HDCA[12,29]、beta-MCA[28]、alpha-MCA[28]对 FXR 起到抑制作用。在本研究的实验结果中，HDCA 显著降低激活 FXR 型胆汁酸占比，显著升高抑制 FXR 型胆汁酸占比。并且几乎每种激活 FXR 型胆汁酸含量呈现下降趋势，每种抑制 FXR 型胆汁酸含量呈现上升趋势。有研究表明，在肠道 FXR 受到抑制后，其诱导的 FGF15/FGF19 分泌量将减少，FGF15/FGF19 通过成纤维细胞生长因子受体（fibroblast growth factor receptor 4, FGFR4）及 β-Klotho 蛋白进入肝脏抑制胆汁酸合成的功能将减弱。FXR-FGF15/FGF19 通路主要抑制细胞色素 P4507A1（cytochrome P450 7A1, CYP7A1）和细胞色素 P450 8B1（cytochrome P450 8B1, CYP8B1）的表达，这两种酶参与经典胆汁酸生物合成途径[34-36]（Fig.7）。该通路受到抑制后，胆汁酸合成的负反馈抑制得以解除，从而促进胆汁酸的合成。以上结果表明，HDCA 通过改变具有不同 FXR 调节活性的胆汁酸水平，发挥抑制 FXR 的作用，进而抑制胆固醇结石的形成。

本研究表明了 HDCA 发挥抑制胆固醇结石的作用途径。有关胆汁酸的新型微生物修饰及其功能意义的研究指出，HDCA 具有抑制 FXR 的作用。本研究实验结果表明，HDCA 不仅可以直接发挥对肠道 FXR 的抑制作用，而且可能通过调节肠道菌群含量进而影响胆汁酸含量，间接发挥对肠道 FXR 的抑制作用。HDCA 通过直接和间接途径抑制 FXR，解除 FXR 对肝脏合成胆汁酸的抑制作用，促进胆汁酸的合成，进而提高胆固醇的溶解度，降低胆固醇结石形成的风险。本研究实验结果可为胆固醇结石的防治提供实验参考。

然而，HDCA 在体内的直接作用可能与本实验所研究的体外作用有所差异。HDCA 调控的多种与 FXR 活性相关的胆汁酸，如何单独发挥调控 FXR 活性的作用，以及每种胆汁酸激活或抑制 FXR 作用的效能差异还有待进一步探索。后续需通过受体–配体结合实验和剂量–效应曲线，系统评价各胆汁酸对 FXR 调节的效能差异。同时，本研究对于 HDCA 在体内发挥作用的具体药代动力学还有待深入阐明。对于 HDCA 本身如何发挥作用，目前仍缺少“暴露量–效应”层面的直接证据。现有研究多聚焦于膳食添加后的表型终点（结石等级、FXR 靶基因表达），但是达到 50%FXR 抑制率所需的回肠 HDCA 的阈浓度是多少，该阈浓度在单次或多次给药后能否稳定维持的问题还有待解决[37]。我们计划后续采用微透析联合超高效液相色谱-串联质谱（UPLC-MRM）技术，在清醒自由活动小鼠回肠腔、门静脉及肝组织同步采集 HDCA 连续透析液，同时利用核定位信号融合的 FXR-mNeonGreen 敲入小鼠实时记录 FXR 核转位荧光强度。将 HDCA 的动态样本与实时 FXR 核转位荧

光报告信号进行实时关联，建立 HDCA 与 FXR 之间的定量关系。另外，关于 HDCA 对胆固醇结石的长期干预效果本研究也有待进一步研究。本研究采用 6 周膳食方案验证 HDCA 对早期结石形成的预防作用，对于停药后是否复发和较大结石是否存在抑制结石效果减弱等问题尚不清楚。因此，我们计划开展一项 24 周长期干预加 12 周洗脱的扩展实验：24 周长期干预后和完全撤药后继续观察 12 周，用磁共振成像（magnetic resonance imaging，MRI）验证胆固醇结石的抑制情况和复发率，该数据将为后续临床维持剂量与疗程设计提供参考。

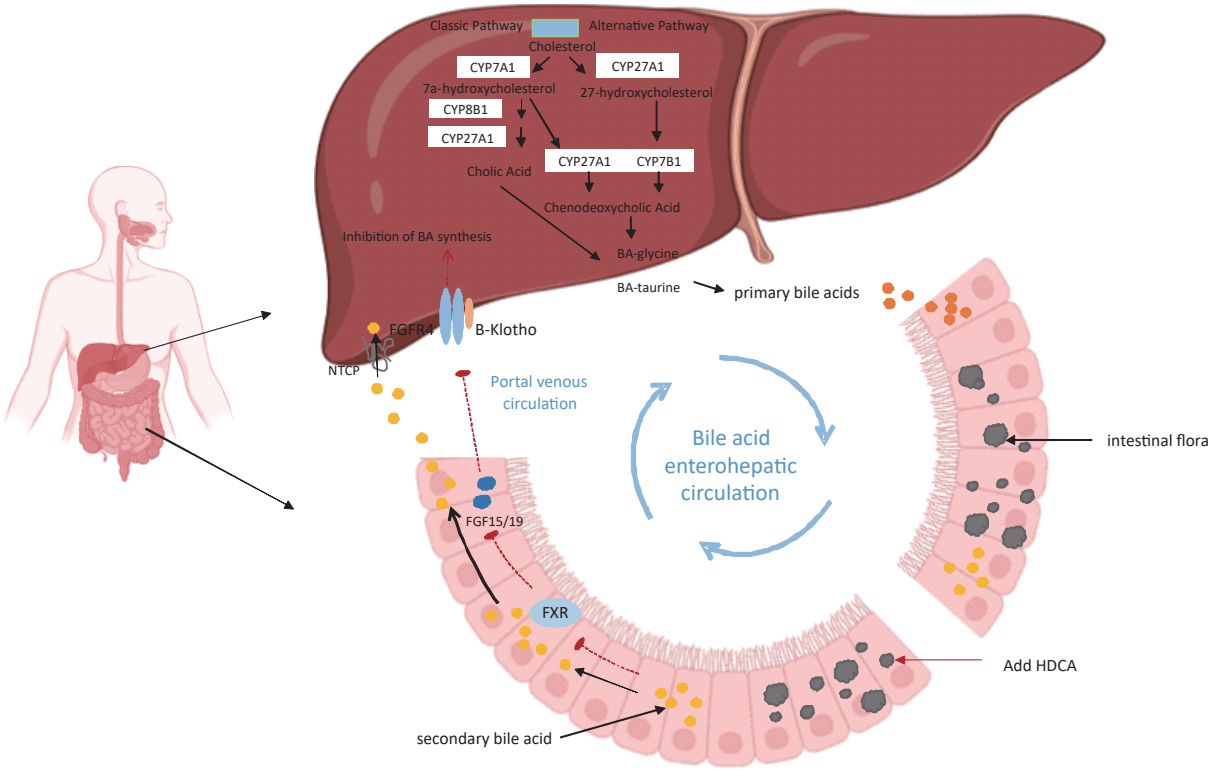


Fig.7 The enterohepatic circulation of bile acids

参考文献

[1] Wang X, Yu W, Jiang G, et al. Global epidemiology of gallstones in the 21st century: a systematic review and meta-analysis [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2024, 22(8): 1586-1595.

[2] Stokes CS, Lammert F. Excess body weight and gallstone disease [J]. Visc Med, 2021, 37(4): 254-260.

[3] Song Y, Ma Y, Xie FC, et al. Age, gender, geographic and clinical differences for gallstones in China: a nationwide study [J]. Ann Transl Med, 2022, 10(13): 735.

[4] Lee SY, Jang SI, Cho JH, et al. Gallstone dissolution effects of combination therapy with n-3 polyunsaturated fatty acids and ursodeoxycholic acid: a randomized, prospective, preliminary clinical trial [J]. Gut Liver, 2024, 18(6): 1069-1079.

[5] Jazzar A, Raja K, Fasseeh ON, et al. Cost-effectiveness of S-adenosyl-l-methionine for intrahepatic cholestasis in the united arab emirates [J]. Cureus, 2025, 17(6): e86124.

[6] Luo D, Chen XP, Dai Y, et al. Cholecystectomy and risk of liver disease: a systematic review and meta-analysis of 27 million individuals [J]. Int J Surg, 2023, 109(5): 1420-1429.

[7] Kim SB, Kim KO, Kim TN. Prevalence and risk factors of gastric and colorectal cancer after cholecystectomy [J]. J Korean Med Sci, 2020, 35(42): e354.

[8] Wang HH, Portincasa P, Liu M, et al. Effects of biliary phospholipids on cholesterol crystallization and growth in gallstone formation [J]. Adv Ther, 2023, 40(3): 743-768.

[9] 刘乃辉, 张超良, 张成全, 等. 溶解胆色素类结石的实验研究——Ⅰ、复方猪胆汁酸钠的溶石作用 [J]. 新医学, 1981, 12(11): 563-565.

[10] Sun YM, Kuang JL, Zhang HH, et al. Pig bile powder maintains blood glucose homeostasis by promoting glucagon-like peptide-1 secretion via inhibiting farnesoid X receptor [J]. World J Diabetes, 2025, 16(6):

103616.
[11] Zhang Y, Wei J, Li L, et al. Rapid identification of bear bile powder from other bile sources using chip-based nano-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2022, 36(15): e9326.
[12] Zheng D, Zhang H, Zheng X, et al. Novel microbial modifications of bile acids and their functional implications [J]. Imeta, 2024, 3(5): e243.
[13] Song M, Yang Q, Zhang F, et al. Hyodeoxycholic acid (HDCA) suppresses intestinal epithelial cell proliferation through FXR-PI3K/AKT pathway, accompanied by alteration of bile acids metabolism profiles induced by gut bacteria [J]. FASEB J, 2020, 34(5): 7103-7117.
[14] Han Y, Guo X, Du H, et al. Modulation of bile acids and farnesoid X receptor by dietary Polysaccharides: Critical roles in health and disease [J]. Trends Food Sci Technol, 2025, 162: 105075.
[15] Akiyoshi T, Uchida K, Takase H, et al. Cholesterol gallstones in alloxan-diabetic mice [J]. J Lipid Res, 1986, 27(9): 915-924.
[16] Kuang J, Wang J, Li Y, et al. Hyodeoxycholic acid alleviates non-alcoholic fatty liver disease through modulating the gut-liver axis [J]. Cell Metab, 2023, 35(10): 1752-1766.
[17] Chiang JYL, Ferrell JM. Bile acid receptors FXR and TGR5 signaling in fatty liver diseases and therapy [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2020, 318(3): G554-G573.
[18] 汪静静, 彭景华, 刘毓, 等. 高脂高糖高胆固醇饮食联合四氯化碳诱导的代谢相关脂肪性肝炎小鼠模型肝脏胆汁酸谱的变化 [J]. 临床肝胆病杂志, 2025, 41(4): 661-669.
[19] Ridlon JM, Gaskins HR. Another renaissance for bile acid gastrointestinal microbiology [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2024, 21(5): 348-364.
[20] 黄丹, 闫理姣, 万宛若, 等. 中药及其活性成分调节胆汁酸代谢抗动脉粥样硬化的研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56(11): 4069-4079.
[21] Cai J, Rimal B, Jiang C, et al. Bile acid metabolism and signaling, the microbiota, and metabolic disease [J]. Pharmacol Ther, 2022, 237: 108238.
[22] 雷榆, 胡亚欣, 余蕾, 等. 肝内胆汁淤积对小鼠回盲部胆汁酸谱及肠道菌群的影响 [J]. 实用医学杂志, 2023, 39(10): 1232-1236.
[23] Miao RR, Zhan S, Cui SX, et al. Intestinal aberrant sphingolipid metabolism shaped-gut microbiome and bile acids metabolome in the development of hepatic steatosis [J]. FASEB J, 2022, 36(8): e22398.
[24] 李宛容, 陶梦婷, 邹元锋, 等. 黄精多糖通过调控结肠内胆汁酸代谢改善慢性阻塞性肺疾病模型小鼠的结肠损伤 [J]. 中山大学学报 (医学科学版), 2025, 46(3): 431-443.
[25] Yang WY, Chang PE, Li SJ, et al. Exploring bile-acid changes and microflora profiles in chicken fatty liver disease model [J]. Animals (Basel), 2024, 14(7): 992.
[26] Mohanty I, Allaband C, Mannochio-Russo H, et al. The changing metabolic landscape of bile acids - keys to metabolism and immune regulation [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2024, 21(7): 493-516.
[27] Chiang JYL, Ferrell JM. Discovery of farnesoid X receptor and its role in bile acid metabolism [J]. Mol Cell Endocrinol, 2022, 548: 111618.
[28] Xiao F, Gao X, Hu H, et al. Exclusive enteral nutrition exerts anti-inflammatory effects through modulating microbiota, bile acid metabolism, and immune activities [J]. Nutrients, 2022, 14(21): 4463.
[29] Hu W, Gong W, Yang F, et al. Dual GIP and GLP-1 receptor agonist tirzepatide alleviates hepatic steatosis and modulates gut microbiota and bile acid metabolism in diabetic mice [J]. Int Immunopharmacol, 2025, 147: 113937.
[30] Liu Y, Zhu J, Jin Y, et al. Disrupting bile acid metabolism by suppressing Fxr causes hepatocellular carcinoma induced by YAP activation [J]. Nat Commun, 2025, 16(1): 3583.
[31] Kumari A, Pathak DP, Asthana S. Bile acids mediated potential functional interaction between FXR and FATP5 in the regulation of lipid metabolism [J]. Int J Biol Sci, 2020, 16(13): 2308-2322.
[32] Xu Z, Huang Z, Zhang Y, et al. Farnesoid X receptor activation inhibits pancreatic carcinogenesis [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2023, 1869(7): 166811.
[33] 许趁意, 岳仁宋, 吕雪莲, 等. 基于胆汁酸代谢轮廓研究半夏泻心汤通过 FXR/GLP-1 途径调控 2 型糖尿病血糖稳态的机制 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(8): 4394-4399.
[34] Collins SL, Stine JC, Bisanz JE, et al. Bile acids and the gut microbiota: metabolic interactions and impacts on disease [J]. Nat Rev Microbiol, 2023, 21(4): 236-247.
[35] Katafuchi T, Makishima M. Molecular basis of bile acid-FXR-FGF15/19 signaling axis [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(11): 6046.
[36] 段睿潇, 赵一帆, 叶永娟, 等. 胆汁酸代谢调节炎症性肠病的作用机制及药物研发 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2022, 27(10): 1171-1181.
[37] Watanabe S, Chen ZE, Fujita K, et al. Hyodeoxycholic acid (hdca) prevents development of dextran sulfate

sodium (DSS)-induced colitis in mice: possible role of synergism between DSS and HDCA in increasing fecal bile acid levels [J]. Biol Pharm Bull, 2022, 45(10): 1503-1509.

Experimental study on the inhibition of cholesterol gallstone formation by HDCA, the active component of Pulvis Fellis Suis, through regulation of intestinal bile acid metabolism

SU Yingyang[1,2], DENG Yan[1], LIU Xingyu[2], DU Yuzhen[2], NING Min[2], WU Shan[2], WU Kaiyue[2], SHEN Shuang[2,3]

[1] College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; [2] Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 201306, China; [3] Shanghai University of Medicine & Health Sciences Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai 201306, China

ABSTRACT **AIM**: To explore how hyodeoxycholic acid (HDCA) regulates intestinal bile acid metabolism and thereby modulates the activity of farnesoid X receptor (FXR) to inhibit the formation of cholesterol gallstones. **METHODS**: The C57BL/6J mice were randomly divided into a control group, a cholesterol gallstone model group, and a Pulvis fellis suis (PFS) (7%, 10%) administration intervention group (6 mice in each group). The C57BL/6J mice were also randomly divided into a control group, a cholesterol gallstone model group, and HDCA (0.1%, 0.5%, 1%) administration intervention groups (6 mice in each group). The mice in each group were weighed, photographed, and tissue samples were collected for gallstone grade assessment. The total cholesterol (T-CHO) content in the samples was detected using a total cholesterol detection kit and a microplate reader. In the in vitro cell experiments, the direct regulatory effect of HDCA on FXR in intestinal cells was analyzed by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). The differences in fecal microbiota among the groups were detected using 16S ribosomal RNA (16S rRNA) sequencing technology. The changes in the bile acid pool in the ileum tissue were determined by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS). **RESULTS**: Compared with the model group, both the 10% PFS and 1% HDCA intervention groups significantly reduced the grade of cholesterol gallstones in the gallbladder and the serum cholesterol content of mice (P<0.01), and the 1% HDCA group significantly decreased the ratio of liver weight to body weight and the cholesterol content in the liver of mice (P<0.01); in the in vitro experiments, HDCA significantly reduced the relative expression level of FXR in intestinal cells Caco-2 (P<0.05, P<0.01); HDCA significantly reduced the content of the *Verrucomicrobiota* (which was significantly positively correlated with activated FXR-type bile acids) (P<0.05) and significantly increased the content of the *Bacteroidota* (which was significantly negatively correlated with activated FXR-type bile acids) (P<0.01). Moreover, HDCA significantly changed the composition of intestinal bile acids, reducing the proportion of activated FXR-type bile acids and increasing the proportion of inhibitory FXR-type bile acids (P<0.05). **CONCLUSION**: HDCA may increase the inhibition of FXR-type bile acids by regulating the intestinal flora, thereby indirectly exerting the effect of inhibiting intestinal FXR, promoting bile acid synthesis and reducing cholesterol saturation, and achieving the goal of inhibiting the formation of cholesterol gallstones.

KEYWORDS hyodeoxycholic acid; Pulvis Fellis Suis; farnesoid X receptor; bile acids; cholesterol gallstones