

doi: 10.3969/j.issn.1000-484X.2022.09.002

人参皂苷 G-Rh2 通过调节脂质代谢与免疫改善小鼠代谢综合征^①

黄容容^② 张子君 解梦园 荀 静 李 晴 马 坤 向 明

(华中科技大学同济医学院药学院生物药学系, 武汉 430030)

中图分类号 R967 文献标志码 A 文章编号 1000-484X(2022)09-1030-07

[摘要] 目的: 研究人参皂苷 G-Rh2 对高脂饮食(HFD)诱导小鼠代谢综合征(MS)的治疗效果和作用机制。方法: 从小鼠体质量、胰岛素敏感性、血脂水平和肝脏功能方面评价 G-Rh2 对 MS 小鼠的治疗效果, 广靶脂质代谢组学检测肝脏中脂质代谢物变化, ELISA 检测血清中 TNF- α 、IL-6 水平, 流式细胞术检测脾脏、胸腺中 CD4 $^+$ T、CD8 $^+$ T 细胞、NK 细胞和骨髓来源的抑制性细胞(MDSCs)数量。结果: G-Rh2 明显减少 MS 小鼠的体质量和脂肪量, 提高胰岛素敏感性, 降低血脂总胆固醇(TC)、游离脂肪酸(NEFA)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平, 防止肝脏脂质堆积。G-Rh2 改变肝脏中脂质代谢模式, 下调 74 种脂质代谢物, 主要包括三酰甘油(TGs)和磷脂酰胆碱(PCs)两大类。G-Rh2 降低血清中 TNF- α 和 IL-6 含量, 平衡脾脏中 CD4 $^+$ T/MDSCs 比例, 减少肝脏中炎症细胞浸润。结论: G-Rh2 对 HFD 诱导的小鼠 MS 有治疗作用, 通过调节肝脏脂质代谢和抑制炎症双重途径实现。

[关键词] 代谢综合征; 人参皂苷 G-Rh2; 脂质代谢; 免疫

Ginsenoside Rh2 ameliorates metabolic syndrome in high-fat diet induced obese mice by regulating lipid metabolism and immunity

HUANG Rongrong, ZHANG Zijun, XIE Mengyuan, GOU Jing, LI Qing, MA Kun, XIANG Ming. Department of Biological Medicine, School of Pharmacy, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

[Abstract] **Objective:** To explore the therapeutic effect and mechanism of G-Rh2 on metabolic syndrome (MS) in high-fat diet (HFD) induced obese mice. **Methods:** The therapeutic effect of G-Rh2 on MS mice was evaluated by body weight, insulin sensitivity, blood lipid level and liver function. The changes of lipid metabolites in liver were investigated by non-targeted lipid metabolomics technology. ELISA kits were used to detect TNF- α and IL-6 in serum. Immune cells CD4 $^+$ T, CD8 $^+$ T, NK cells and bone marrow-derived suppressor cells (MDSCs) in spleen and thymus were detected by flow cytometer. **Results:** G-Rh2 significantly reduced body weight, and serum lipids level especially TC, NEFA, LDL-C of MS mice. It simultaneously alleviated insulin resistance and protected liver from steatohepatitis. Further, G-Rh2 down-regulated 74 lipid metabolites in liver, mainly including triglycerides (TGs) and phosphatidylcholine (PCs), which suggested G-Rh2 changed the liver metabolism pattern. On the other hand, G-Rh2 reduced the inflammatory cells infiltration in liver and TNF- α , IL-6 in serum. And it balanced the ratio of CD4 $^+$ T cells/MDSCs in spleen, which played an anti-inflammatory effect. **Conclusion:** G-Rh2 has a therapeutic effect on MS in HFD induced obese mice by regulating liver lipid metabolism and inhibiting regional inflammation.

[Key words] Metabolic syndrome; Ginsenoside Rh2; Lipid metabolism; Immunity

代谢综合征(metabolic syndrome, MS)是多种代谢紊乱症候群在同一个体聚集的慢性疾病, 表现为高血糖、高血压、血脂异常、腹部肥胖等, 易诱发糖

尿病、脂肪肝病以及心血管疾病^[1-2]。近年来 MS 患者大量增加, 亟需开发治疗 MS 的药物^[3]。MS 发病机制是代谢紊乱和慢性炎症相互影响: 肝脏和脂肪组织代谢异常易出现胰岛素抵抗, 导致肥胖、高血脂^[4]; 肥胖环境下脂肪扩张引发 Th1 细胞、M1 型巨噬细胞以及 IL-6、TNF- α 等过度产生, 形成慢性炎症, 促进脂肪分解, 引起血浆脂肪酸升高^[5-6]。据报道人参皂苷 G-Rh2 具有抗糖尿病、肥胖、炎症等药理活性, 本课题组前期研究也发现 G-Rh2 对肝脏脂肪

①本文为国家自然科学基金面上项目(82071749); 湖北省科技厅 2020 年重点研发计划一般项目(2020BHB019)。

②华中科技大学同济医学院附属协和医院药学部, 武汉 430022。

作者简介: 黄容容, 女, 硕士, 药师, 主要从事代谢与免疫药理方面的研究, E-mail: 1105887072@qq.com。

通信作者及指导教师: 向明, 女, 教授, 博士生导师, 主要从事抗炎免疫药理研究, E-mail: xiangming@tjmu.edu.cn。

酸代谢和免疫有调节作用^[7-9]。本文旨在探究 G-Rh2 对 MS 的治疗作用, 并通过代谢和免疫调节途径探究其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 6 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠 40 只, SPF 级, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 合格证号: 42000600036134。饲养于华中科技大学实验动物中心(温度 25 °C, 相对湿度 60%), 许可证号 SYXK(鄂)2016-0057, 适应性喂养 1 周后进行实验。本研究经过华中科技大学实验动物伦理委员会批准。

1.1.2 试剂 高脂饲料(北京华阜康生物科技股份有限公司, 批号:D12492); 人参皂苷 G-Rh2(商品名: 今幸胶囊, 浙江亚克药业有限公司, 每 100 g 含 16.2 g 人参皂苷 G-Rh2, 批号: 190801); 二甲双胍盐酸盐、洛伐他汀(上海 TCI 化成工业发展有限公司, 批号 POW6L-QH、55FIB-JP); 总胆固醇(total cholesterol, TC)、总三酰甘油(total triglycerides, TG)、游离脂肪酸(nonesterified fatty acid, NEFA)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)(南京建成生物工程研究所, 批号: A111-1、A110-1、A112-1、A113-1、A042-2、C009-2、C010-2); BCA 蛋白测定试剂盒(Beyotime 公司, 批号: P0010S); PE-Cy5 标记的小鼠 CD3 流式抗体(美国 BD 公司, 批号: 7069621); PE 标记的小鼠 CD8 流式抗体(美国 BD 公司, 批号: 7132789); FITC 标记的小鼠 CD4 流式抗体(天津三箭生物科技有限公司, 批号: AD605); PE 标记的小鼠 NK1.1 流式抗体(上海 Biolegend 公司, 批号: B190158); PE 标记的小鼠 CD25 抗体(美国 BD 公司, 批号: E021463); PE-Cy5 标记的小鼠 Foxp3 抗体(美国 BD 公司, 批号: 8025968); PE 标记抗小鼠 Gr-1 流式抗体(美国 BD 公司, 批号: 4277720); APC 标记的小鼠 CD11b 流式抗体(美国 BD 公司, 批号: 2010622)。

1.1.3 仪器 血糖仪(湖南三诺生物传感股份有限公司); 多功能酶标仪(美国 BioTek 公司); C6 型流式细胞仪(美国 BD 公司); 液相色谱串联质谱仪(LC-MS/MS, 美国 AB SCIEX 公司); 球磨匀浆机、超声仪、真空干燥机(武汉迈特维尔生物科技有限公司)

司); HE 染色、油红 O 染色分析仪(湖北百奥斯生物科技有限公司); 高速冷冻离心机(上海力新仪器有限公司); 恒温振荡器(太仓豪城实验仪器制造有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物造模、分组及给药 随机挑取 8 只正常小鼠, 给予标准饲料喂养, 作为正常对照组(Con); 其余 32 只小鼠作为模型组, 给予高脂饲料(high-fat diet, HFD, 含 60% 脂肪、20% 蛋白质、20% 碳水化合物)喂养。喂养期间, 每周称量一次小鼠体质量并记录其状态。喂养 12 周后, 小鼠禁食 6 h(自由饮水), 尾尖微创采血测定空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)值, 眼眶静脉丛取全血 200 μl, 分离血清检测 TC、TG、HDL-C、LDL-C 水平。取同时符合下列标准的小鼠作为 MS 模型: ① 体质量高于同期饲养的正常组小鼠平均值; ② FBG ≥ 7.0 mmol/L; ③ 血脂 TG ≥ 1.55 mmol/L、TC ≥ 2.22 mmol/L、LDL-C ≥ 0.35 mmol/L、HDL-C ≤ 1.20 mmol/L 或与正常组相比有显著性差异^[10-12]。

根据造模标准取造模成功的小鼠 20 只, 随机分为 4 组(每组 5 只): 模型组(Mod), 二甲双胍组(阳性对照, Met, 250 mg/kg), 洛伐他汀组(阳性对照, Lova, 10 mg/kg), G-Rh2 组(10 mg/kg 该剂量依据本课题组前期研究^[9]和参考文献[13]确定)。正常对照组和模型组按 0.2 ml/只灌胃蒸馏水, 各给药组按相应剂量灌胃药物混悬液(蒸馏水配制), 1 次/d, 连续 4 周。给药期间每周称量 1 次体质量, 末次给药后处死小鼠, 剥取小鼠皮下和腹部脂肪, 称重并计算脂肪指数。

1.2.2 胰岛素耐量实验(insulin tolerance test, ITT) 给药 2 周后, 小鼠禁食 6 h(自由饮水), 皮下注射胰岛素溶液(0.4 U/kg), 分别于胰岛素注射后 0 min、20 min、40 min 和 90 min 采血测定 FBG 值, 记录所得数据并计算曲线下面积(AUC)。

1.2.3 口服葡萄糖耐量实验(oral glucose tolerance test, OGTT) 给药 2 周后, 小鼠禁食 6 h(自由饮水), 灌胃葡萄糖溶液(2 g/kg), 分别于葡萄糖负荷后 0 min、30 min、60 min、90 min、120 min 采血测定 FBG 值, 记录所得数据并计算 AUC。

1.2.4 胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment, HOMA-IR) 评估 末次给药后, 眼眶取血, 4 °C 放置 3~4 h, 高速冷冻离心(6 000 r/min, 4 °C, 10 min) 收集血清。采用胰岛素试剂盒检测血清中胰岛素含量, 通过稳态模型评估 HOMA-IR, 具体计算公式: HOMA-IR=空腹血糖×空腹胰岛素/22.5。

1.2.5 生化检测 取血清,采用生化试剂盒检测TC、TG、NEFA、HDL-C、LDL-C水平。取肝脏匀浆,采用生化试剂盒检测肝脏组织中ALT、AST含量,并用蛋白试剂盒进行均一化。

1.2.6 ELISA检测炎症因子 取血清,采用ELISA试剂盒检测炎症因子TNF- α 、IL-6水平。

1.2.7 肝脏组织病理学分析 末次给药后,脱臼处死小鼠,取肝脏组织同一部位的样本固定于4%的多聚甲醛中,行HE染色。另取一份肝脏组织迅速冻于液氮中,行油红O染色。

1.2.8 非靶向脂质代谢组学分析 取小鼠肝脏组织同一部位的样本装在预冷的离心管中,迅速转移到-80℃冰箱冻存,采用非靶向脂质代谢组学技术检测八大类脂质代谢物含量,并对脂质代谢组学数据进行解析。

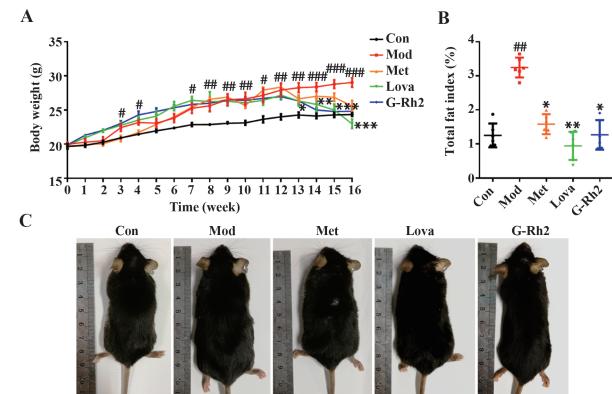
1.2.9 流式细胞仪(FACS)检测免疫细胞 末次给药后,脱臼处死小鼠,取出新鲜的脾脏和胸腺组织,置于PBS中保持湿润,碾磨消化后制备单细胞悬液,分装于EP管中(每管约 2×10^6 个细胞),分别加入不同的流式抗体:T细胞加入PE-Cy5标记的小鼠CD3抗体、FITC标记的小鼠CD4抗体或PE标记的小鼠CD8抗体;调节性T细胞(Treg)加入FITC标记的小鼠CD4抗体、PE标记的小鼠CD25抗体和PE-Cy5标记的小鼠Foxp3抗体;NK细胞加入PE-Cy5标记的小鼠CD3抗体、PE标记的小鼠NK1.1流式抗体;骨髓来源的抑制性细胞(bone marrow-derived suppressor cells, MDSCs)加入APC标记的小鼠CD11b抗体、PE标记抗小鼠Gr-1流式抗体;4℃避光孵育50 min,加入1 ml PBS,1 200 r/min离心5 min,重复1次,用300 μ L PBS重悬,流式细胞仪检测细胞百分比。

1.3 统计学分析 所有数据录入Excel表格,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用Graph Prism6.0软件作图。通过非配对双尾学生t检验计算统计学差异(P 值), $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 G-Rh2对MS小鼠肥胖体征的影响 喂养12周后,与正常组比较,HFD饲养小鼠体质量快速增加且明显高于正常组($P<0.01$),呈现出肥胖体型。给药4周后,与模型组比较,G-Rh2组小鼠体质量明显下降($P<0.01$),恢复至正常组水平,呈瘦型(图1A、C)。与正常组比较,模型组小鼠脂肪指数显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,G-Rh2组、二甲双胍组和洛伐他汀组小鼠脂肪指数均明显降低($P<0.05$ 或 0.01 ,图1B)。

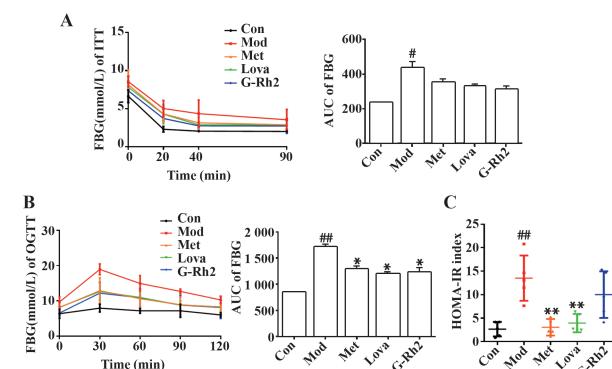
2.2 G-Rh2对MS小鼠胰岛素敏感性的影响 给药2周后,ITT结果显示:与正常组比较,模型组小鼠AUC增大($P<0.05$);与模型组比较,G-Rh2组注射胰岛素后FBG值下降,AUC减小(图2A)。OGTT结果显示:与正常组比较,模型组小鼠口服葡萄糖30 min后FBG值迅速上升,至120 min时才恢复到初始水平,同时AUC显著增大($P<0.01$);与模型组比较,G-Rh2组小鼠葡萄糖负荷后FBG值变化幅度小,90 min时恢复至初始水平,且AUC明显减小($P<0.05$,图2B)。给药4周,与正常组比较,模型组



Note: A. Body weights of mice for 16 weeks; B. Total fat index in mice; C. Physical pictures of the body size of mice. Compared with control group, #, $P<0.05$, ##, $P<0.01$, ###, $P<0.001$; compared with model group, *, $P<0.05$, **, $P<0.01$, ***, $P<0.001$.

图1 G-Rh2对MS小鼠肥胖体征的影响($n=5$)

Fig. 1 Effects of G-Rh2 on obesity symptom in MS mice ($n=5$)



Note: A. Insulin tolerance test in mice after 2 weeks of administration; B. Oral glucose tolerance test in mice after 2 weeks of administration; C. HOMA-IR index in mice after 4 weeks of administration. Compared with control group, #, $P<0.05$, ##, $P<0.01$; compared with model group, *, $P<0.05$, **, $P<0.01$.

图2 G-Rh2对MS小鼠胰岛素敏感性的影响($n=5$)

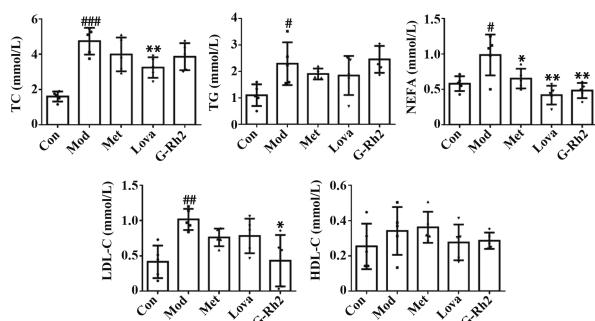
Fig. 2 Effects of G-Rh2 on insulin sensitivity in MS mice ($n=5$)

小鼠 HOMA-IR 显著升高($P<0.01$)；与模型组比较，G-Rh2 组小鼠 HOMA-IR 指数有一定程度的降低(图 2C)。

2.3 G-Rh2 对 MS 小鼠血脂的影响 给药 4 周，与正常组比较，模型组小鼠血清中 4 种脂质 TC、TG、NEFA、LDL-C 水平均升高；与模型组比较，G-Rh2 组小鼠血清中 NEFA 和 LDL-C 水平明显降低($P<0.01$ 或 0.05)，TC 水平也下降($P=0.105$)；洛伐他汀组 TC 和 NEFA 水平明显降低($P<0.01$)；二甲双胍组 NEFA 水平下降，其余 4 种脂质水平无显著变化(图 3)。

2.4 G-Rh2 对 MS 小鼠肝脏脂质代谢的影响 给药 4 周后，与正常组比较，模型组有 28 种脂质代谢物水平明显下调，222 种脂质代谢物水平明显上调；G-Rh2 组 74 种脂质代谢物水平明显下调，8 种脂质代谢物水平明显上调(图 4A)。差异倍数柱状图展示：与正常组比较，模型组小鼠肝脏中上调最显著的 10 种脂质代谢物包括 6 种三酰甘油(TGs)、2 种神经酰胺(Cer)、1 种磷脂酰胆碱(PC)和 1 种二酰甘油(DG)；与模型组比较，G-Rh2 组小鼠肝脏中下调最显著的脂质代谢物有 12 种，包括 4 种 TGS、2 种 DGs、1 种 Cer、2 种 PCs、1 种磷脂酰乙醇胺(PE)、1 种溶血磷脂酰乙醇胺(LPE)和 1 种溶血磷脂酰胆碱(LPC)；上调最显著的代谢物有 8 种，分别是 1 种羟基花生四烯酸(HETE)、2 种环氧十八碳烯酸(EpOME)、1 种 PC、1 种棕榈酸肉碱(palmitoleoylcarnitine)、1 种环氧二十碳三烯甘油酸(EET)、1 种血栓素 B₂(TXB₂)、1 种油酰基肉碱(oleyl-carnitine)(图 4B)。

聚类分析结果显示，模型组与 G-Rh2 组之间共有 90 种脂质代谢物参与了聚类，其中 G-Rh2 组较模



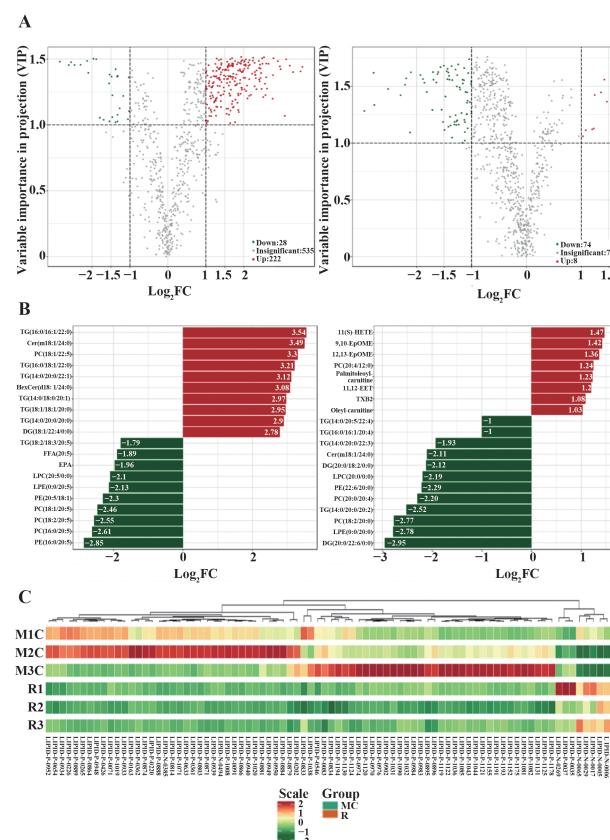
Note: Compared with control group, #. $P<0.05$, ##. $P<0.01$, ###. $P<0.001$; compared with model group, *. $P<0.05$, **. $P<0.01$.

图 3 G-Rh2 对 MS 小鼠血脂的影响($n=5$)

Fig. 3 Effects of G-Rh2 on serum lipid levels in MS mice ($n=5$)

型组减少的脂质代谢物有 82 种，大多数是 TGS 和磷脂酰胆碱类(PCs)，与差异倍数柱状图结果一致。G-Rh2 组较模型组增多的脂质代谢物有 8 种，分别是 3 种 LPCs、3 种胆固醇脂和 2 种 LPEs(图 4C)。

2.5 G-Rh2 对 MS 小鼠脂肪性肝炎的影响 给药 4 周后，HE 切片结果显示：正常组小鼠肝脏形态结构完整，中央静脉血管清晰，肝小叶规则，肝索排列整齐；模型组小鼠肝窦萎缩变形，肝窦周围细胞散乱，存在多处炎症细胞聚集区域(黑色箭头所指)；G-Rh2 组小鼠肝脏形态恢复正常，肝小叶呈规则的多面棱柱状，仅中央静脉管周围存在少许炎症细



Note: A. Differential metabolite volcano map (comparison between control group and model group on the left, comparison between model group and G-Rh2 group on the right; green dots represent down-regulated metabolites of differential expression, red dots represent up-regulated metabolites of differential expression, and black dots represent metabolites detected but not significantly different); B. The differential multiple bar chart (comparison between control group and model group on the left, comparison between model group and G-Rh2 group on the right; green represents down-regulated metabolites of differential expression, red represents up-regulated metabolites of differential expression); C. Differential metabolite clustering heat map. NC. Control; MC. Model; R. G-Rh2.

图 4 G-Rh2 对 MS 小鼠脂质代谢物的影响($n=5$)

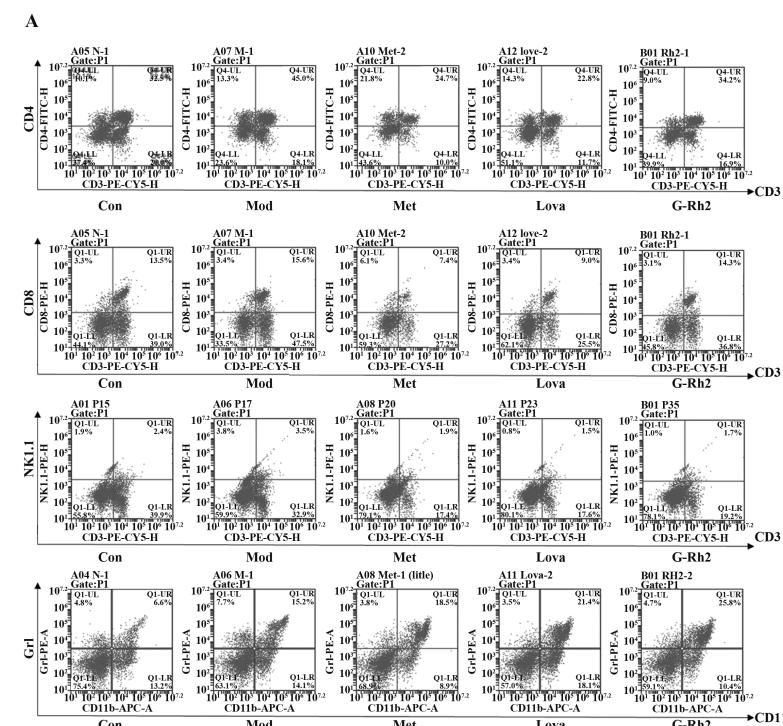
Fig. 4 Effects of G-Rh2 on lipid metabolites in MS mice ($n=5$)

胞, 其他肝实质区的炎症细胞较模型组明显减少(图5A)。油红O染色结果显示:正常组小鼠肝脏油红O染色呈阴性, 蓝色的细胞核清晰, 无红色;模型组小鼠肝脏油红O染色呈阳性, 有较多红色的脂肪, 蓝色的细胞核少, 排列疏松并出现大量裂隙;G-Rh2组小鼠肝脏油红O染色基本呈阴性, 细胞核清晰, 细胞内脂滴聚集少, 红色染色比模型组明显减轻(图5B)。

给药4周后,与正常组比较,模型组小鼠肝脏指数增大,ALT、AST含量显著升高($P<0.01$);与模型组比较,G-Rh2组小鼠肝脏指数和ALT、AST含量明显降低($P<0.05$ 或 0.01 ,图5C,D)。与正常组比较,模型组血清中TNF- α 、IL-6含量升高;与模型组比较,G-Rh2组TNF- α 、IL-6含量明显降低($P<0.05$,图5E)。

2.6 G-Rh2对MS小鼠免疫系统的影响

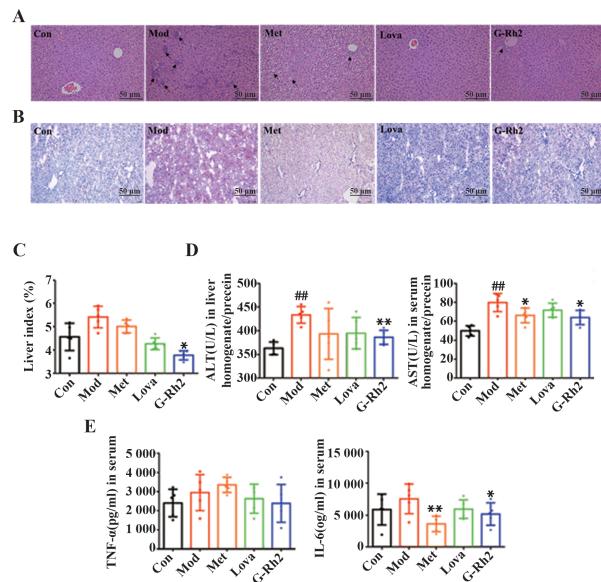
与正常组比较,模型组小鼠脾脏中CD4 $^+$ T和CD8 $^+$ T细胞比例明显升高($P<0.05$),MDSCs细胞数量有一定程度的下降。与模型组比较,G-Rh2组小鼠脾脏中CD4 $^+$ T细胞数量明显减少($P<0.05$);CD8 $^+$ T细胞和NK细胞数量有一定程度地下降,MDSCs细胞数量明显升高($P<0.01$,图6A)。胸腺组织中CD4 $^+$ T、CD8 $^+$ T、NK和Treg细胞均无明显变化(图6B)。



Note: A. Frequency of positive CD4 $^+$ T, CD8 $^+$ T, NK cells and MDSCs from the spleen; B. Frequency of positive CD4 $^+$ T, CD8 $^+$ T, NK cells and MDSCs from the thymus. Compared with control group, #. $P<0.05$; compared with model group, *. $P<0.05$.

图6 G-Rh2对MS小鼠体内免疫环境的影响(n=5)

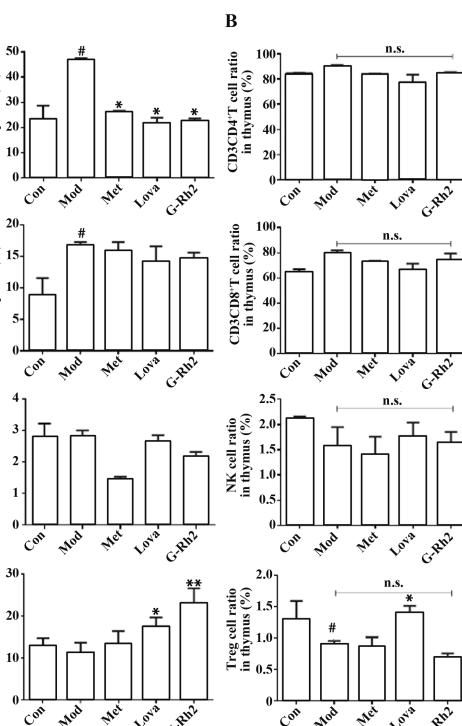
Fig. 6 Effects of G-Rh2 on immune function in MS mice (n=5)



Note: A. Histopathologic changes of mice livers checked by HE staining ($\times 200$, 50 μm , the black arrows indicate areas of fat vacuoles and inflammatory infiltrates); B. Histopathologic changes of mice livers checked by Oil red staining ($\times 200$, 50 μm); C. The livers index (The livers index=Liver weight/body weight $\times 100\%$); D. ALT and AST contents in livers homogenate; E. Serum levels of TNF- α and IL-6. Compared with control group, #. $P<0.01$; compared with HFD group, *. $P<0.05$, **. $P<0.01$.

图5 G-Rh2对MS小鼠脂肪性肝炎的影响(n=5)

Fig. 5 Effects of G-Rh2 on steatohepatitis in MS mice (n=5)



Note: A. Frequency of positive CD4 $^+$ T, CD8 $^+$ T, NK cells and MDSCs from the spleen; B. Frequency of positive CD4 $^+$ T, CD8 $^+$ T, NK cells and MDSCs from the thymus. Compared with control group, #. $P<0.05$; compared with model group, *. $P<0.05$.

图6 G-Rh2对MS小鼠体内免疫环境的影响(n=5)

Fig. 6 Effects of G-Rh2 on immune function in MS mice (n=5)

3 讨论

诸多研究报道人参皂苷 G-Rh2 具有治疗代谢性疾病的作用,可提高糖尿病大鼠胰岛素敏感性和葡萄糖代谢能力,促进前脂肪细胞 3T3-L1 脂质分解代谢预防肥胖^[14-16],但是作用机制尚不清楚。本研究同样证实 G-Rh2 明显抑制 MS 小鼠肥胖和脂肪肝,并降低血脂 TC、NEFA、LDL-C 水平。肝脏脂质代谢紊乱是引发高血糖、高血脂和肥胖等 MS 系列症状的关键原因,一些药物可通过重编程肝脏脂质代谢治疗 MS^[17-18]。因此,本课题组利用脂质代谢组学探究 G-Rh2 如何影响肝脏脂质代谢发挥治疗小鼠 MS 的作用。结果表明经 HFD 诱导的 MS 小鼠肝脏中有大量脂质代谢物升高,最为显著的是 TGs,而 G-Rh2 降低 MS 小鼠肝脏中多种脂质代谢物,包括 TGs、DGs 和 PCs 等,说明 G-Rh2 对脂肪肝的抑制与重塑肝脏脂质代谢模式有关。另外,有报道称与胰岛素抵抗患者相比,胰岛素敏感性患者的代谢产物中 LPCs (C16:0) 水平较高^[19];本研究同样观察到 G-Rh2 升高肝脏中 LPCs,推测 G-Rh2 改善 MS 小鼠胰岛素抵抗效应可能通过升高 LPCs 实现。

除机体代谢紊乱外,MS 和肥胖患者通常还伴随慢性低度炎症,他们的代谢器官肝脏和脂肪组织中存在大量的免疫细胞和细胞因子,如巨噬细胞、T 细胞、肥大细胞,炎症因子 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 和趋化因子 CCL2、CXCL10^[20-23]。MDSCs 在 MS 疾病环境中具有降低免疫反应的作用,CD11b $^+$ Gr-1 $^+$ 髓样细胞在高血压小鼠外周血中增加,通过产生过氧化氢来抑制 T 细胞活化,从而限制炎症反应和血压升高^[24-26]。据报道 G-Rh2 具有较强的抗炎活性,通过阻断 MAPK 和 NF- κ B 信号通路抑制巨噬细胞激活和炎症因子产生^[27]。本课题组也探究了 G-Rh2 对 MS 小鼠组织炎症及免疫系统的影响:给予 G-Rh2 后,MS 小鼠肝脏中炎症细胞浸润减少,血清中炎症因子 TNF- α 、IL-6 水平降低,脾脏中 CD4 $^+$ T 细胞数量恢复至正常水平,MDSCs 数量增加。研究证实肝脏炎症与脾脏免疫状态密切相关,HFD 喂养的小鼠脾脏中 T 细胞增殖加速和数量增加会导致脂肪性肝炎加重^[28]。本研究观察到 MS 小鼠脾脏中 CD4 $^+$ T 细胞和 CD8 $^+$ T 细胞均明显升高,而 G-Rh2 减少脾脏中 CD4 $^+$ T 细胞数量,增加 MDSCs 数量,说明 G-Rh2 限制脾脏中 T 细胞过度激活和增加 MDSCs 细胞,有利于肝脏恢复免疫平衡。

MS 患者脂质代谢和免疫相互影响,脂质代谢紊乱易导致免疫失衡引发肝脏炎症,而炎症反过来造

成肝损伤,干扰其代谢功能,形成恶性循环^[29]。有研究报道暴露于断奶后肥胖饮食的雌性 C57BL/6J 小鼠后代显示出肝损伤的迹象,暴露于母体肥胖会加剧肝脏炎症性损伤,ALT、TGs、IL-6、TNF- α 在肝脏中的含量增加^[30]。G-Rh2 减少肝脏炎症细胞聚集,调节脾脏中 CD4 $^+$ T/MDSCs 细胞比例平衡并降低炎症因子 IL-6、TNF- α 水平,这对抑制肝脏炎症性损伤有重要意义,同时 G-Rh2 改变了肝脏的脂质代谢模式,尤其是减少 TGs、DGs 和 PCs 的过度堆积,有利于防止脂肪肝的形成。但是由于脂质代谢和炎症存在相互影响的关系,本研究尚不能确定 G-Rh2 是通过解除代谢紊乱环境避免了炎症反应,还是通过抑制炎症进而改善肝脏代谢紊乱及高血脂、胰岛素抵抗、肥胖等 MS 症状。

综上所述,本研究发现 G-Rh2 有改善胰岛素抵抗、肥胖和降血脂的作用,可用于治疗 MS 的高血糖、高血脂、肥胖、脂肪肝等系列症状,机制可能是通过调控 MS 小鼠免疫失衡阻止肝脏炎症性损伤,同时重塑脂质代谢从而发挥治疗 MS 的作用。

参考文献:

- [1] SILVA FIGUEIREDO P, INADA A C, RIBEIRO FERNANDES M, et al. An overview of novel dietary supplements and food ingredients in patients with metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Molecules*, 2018, 23 (4) : 877. DOI: 10.3390/molecules23040877.
- [2] GONZALEZ-CHAVEZ A, CHAVEZ-FERNANDEZ J A, ELIZONDO-ARGUETA S, et al. Metabolic syndrome and cardiovascular disease: a health challenge [J]. *Arch Med Res*, 2018, 49 (8) : 516-521. DOI: 10.1016/j.arcmed.2018.10.003.
- [3] TIAN S, LIU Y, FENG A, et al. Metabolically healthy obesity and risk of cardiovascular disease, cancer, and all-cause and cause-specific mortality: a protocol for a systematic review and meta-analysis of prospective studies [J]. *BMJ Open*, 2019, 9 (10) : e032742. DOI: 10.1136/bmjopen-2019-032742.
- [4] CARROBBIO S, PELLEGRINELLI V, AND VIDAL-PUIG A. Adipose tissue function and expandability as determinants of lipotoxicity and the metabolic syndrome [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 960: 161-196. DOI: 10.1007/978-3-319-48382-5_7.
- [5] LEISEGANG K, HENKEL R, AGARWAL A. Obesity and metabolic syndrome associated with systemic inflammation and the impact on the male reproductive system [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2019, 82 (5) : e13178. DOI: 10.1111/aji.13178.
- [6] CHIESA S T, CHARAKIDA M, MCLOUGHLIN E, et al. Elevated high-density lipoprotein in adolescents with Type 1 diabetes is associated with endothelial dysfunction in the presence of systemic inflammation [J]. *Eur Heart J*, 2019, 40 (43) : 3559-3566. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz114.
- [7] LV D L, CHEN L, DING W, et al. Ginsenoside G-Rh2 synergizes with SMI-4a in anti-melanoma activity through autophagic cell death [J]. *Chin Med*, 2018, 13: 11. DOI: 10.1186/s13020-018-0168-y.

- [8] BAI L, GAO J, WEI F, et al. Therapeutic potential of ginsenosides as an adjuvant treatment for diabetes[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:423. DOI:10.3389/fphar.2018.00423.
- [9] QIAN Y, HUANG R, LI S, et al. Ginsenoside Rh2 reverses cyclophosphamide-induced immune deficiency by regulating fatty acid metabolism[J]. *J Leukoc Biol*, 2019, 106(5) : 1089-1100. DOI:10.1002/jlb.2A0419-117R.
- [10] GAHLAN D, RAJPUT R, SINGH V. Metabolic syndrome in north Indian type 2 diabetes mellitus patients: a comparison of four different diagnostic criteria of metabolic syndrome [J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2019, 13(1) : 356-362. DOI:10.1016/j.dsx.2018.10.011.
- [11] WANG C, NIEDERSTRASSER H, DOUGLAS P M, et al. Small-molecule TFEB pathway agonists that ameliorate metabolic syndrome in mice and extend *C. elegans* lifespan[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1):2270. DOI:10.1038/s41467-017-02332-3.
- [12] NATIVIDAD J M, LAMAS B, PHAM H P, et al. Bilophila wadsworthia aggravates high fat diet induced metabolic dysfunctions in mice [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1) : 2802. DOI: 10.1038/s41467-018-05249-7.
- [13] LU C, WANG Y, LV J, et al. Ginsenoside Rh2 reverses sleep deprivation-induced cognitive deficit in mice [J]. *Behav Brain Res*, 2018, 349:109-115. DOI:10.1016/j.bbr.2018.03.005.
- [14] LO S H, HSU C T, NIU H S, et al. Ginsenoside Rh2 improves CARDIAC FIBROSIS VIA PPAR delta-STAT3 signaling in type 1-like diabetic rats[J]. *Inter J Mol Sci*, 2017, 18(7) : 1364. DOI:ARTN 136410. 3390/ijms18071364.
- [15] ABDELAZIM A, KHATER S, ALI H, et al. Panax ginseng improves glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats through 5' adenosine monophosphate kinase up-regulation [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2019, 26(7) : 1436-1441. DOI:10.1016/j.sjbs.2018.06.001.
- [16] ZHANG L, VIRGOUS C, SI H. How does ginsenoside Rh2 mitigate adipogenesis in cultured cells and obese mice? [J]. *Molecules*, 2020, 25(10):2412. DOI:10.3390/molecules25102412.
- [17] KAIKKONEN J E, WURTZ P, SUOMELA E, et al. Metabolic profiling of fatty liver in young and middle-aged adults: cross-sectional and prospective analyses of the Young Finns Study[J]. *Hepatology*, 2017, 65(2):491-500. DOI:10.1002/hep.28899.
- [18] REN L, SUN Y, LU H, et al. (Pro)renin receptor inhibition reprograms hepatic lipid metabolism and protects mice from diet-induced obesity and hepatosteatosis [J]. *Circ Res*, 2018, 122 (5):730-741. DOI:10.1161/CIRCRESAHA.117.312422.
- [19] LEHMANN R, FRANKEN H, DAMMEIER S, et al. Circulating lysophosphatidylcholines are markers of a metabolically benign nonalcoholic fatty liver[J]. *Diabetes Care*, 2013, 36(8) : 2331-2338. DOI:10.2337/dc12-1760.
- [20] CRUZ K J C, DE OLIVEIRA A R S, MORAIS J B S, et al. Role of microRNAs on adipogenesis, chronic low-grade inflammation, and insulin resistance in obesity [J]. *Nutrition*, 2017, 35:28-35. DOI:10.1016/j.nut.2016.10.003.
- [21] WU D, MOLOFSKY A B, LIANG H E, et al. Eosinophils sustain adipose alternatively activated macrophages associated with glucose homeostasis [J]. *Science*, 2011, 332 (6026) : 243-247. DOI:10.1126/science.1201475.
- [22] WINER D A, WINER S, SHEN L, et al. B cells promote insulin resistance through modulation of T cells and production of pathogenic IgG antibodies[J]. *Nat Med*, 2011, 17(5) : 610-617. DOI:10.1038/nm.2353.
- [23] RAKOTOARIVELO V, LACRAZ G, MAYHUE M, et al. Inflammatory cytokine profiles in visceral and subcutaneous adipose tissues of obese patients undergoing bariatric surgery reveal lack of correlation with obesity or diabetes[J]. *EBio Med*, 2018, 30:237-247. DOI:10.1016/j.ebiom.2018.03.004.
- [24] SICA A, STRAUSS L. Energy metabolism drives myeloid-derived suppressor cell differentiation and functions in pathology [J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 102 (2) : 325-334. DOI: 10.1189/jlb.4MR1116-476R.
- [25] YEAGER M E, NGUYEN C M, BELCHENKO D D, et al. Circulating myeloid-derived suppressor cells are increased and activated in pulmonary hypertension[J]. *Chest*, 2012, 141(4) : 944-952. DOI:10.1378/chest.11-0205.
- [26] SHAH K H, SHI P, GIANI J F, et al. Myeloid suppressor cells accumulate and regulate blood pressure in hypertension[J]. *Circ Res*, 2015, 117 (10) : 858-869. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306539.
- [27] BI W Y, FU B D, SHEN H Q, et al. Sulfated derivative of 20 (S)-ginsenoside Rh2 inhibits inflammatory cytokines through MAPKs and NF-kappa B pathways in LPS-induced RAW264.7 macrophages [J]. *Inflammation*, 2012, 35 (5) : 1659-1668. DOI: 10.1007/s10753-012-9482-1.
- [28] TARANTINO G, SCALERA A, FINELLI C. Liver-spleen axis: Intersection between immunity, infections and metabolism[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19 (23) : 3534-3542. DOI: 10.3748/wjg.v19.i23.3534.
- [29] CARAMBIA A, HERKEL J. Dietary and metabolic modulators of hepatic immunity [J]. *Semin Immunopathol*, 2018, 40 (2) : 175-188. DOI:10.1007/s00281-017-0659-4.
- [30] MOURALIDARANE A, SOEDA J, VISCONTI-PUGMIRE C, et al. Maternal obesity programs offspring nonalcoholic fatty liver disease by innate immune dysfunction in mice [J]. *Hepatology*, 2013, 58(1):128-138. DOI:10.1002/hep.26248.

〔收稿 2021-01-08 修回 2021-03-12〕

(编辑 魏 峰 张晓舟)