◆实验研究◆

绞股蓝总苷对非酒精性脂肪性肝病小鼠肝脏脂质代谢物的干预作用

李德周[1]，奚瑛斐[1]，辛鑫[2]，李红山[1,3]

1. 宁波市第二医院肝病科，浙江 宁波 315010
2. 上海中医药大学附属曙光医院肝病研究所，上海 201203
3. 浙江省消化系统肿瘤诊治及研究重点实验室，浙江 宁波 315010

［摘要］**目的：**基于脂质组学技术探讨绞股蓝总苷对非酒精性脂肪性肝病小鼠肝脏脂质代谢物的干预作用。**方法：**采用高脂饮食14周诱导小鼠（24只）非酒精性脂肪性肝病模型。在造模第11周起，随机分为模型组、绞股蓝总苷组、奥贝胆酸组，灌胃给药4周。8只小鼠作为正常组给予正常对照饲料。观察肝脏甘油三酯（TG）含量，肝组织病理变化[行苏木精-伊红染色法（HE）染色并计算非酒精性脂肪性肝病活动性评分（NAS）积分]，血清丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天冬氨酸氨基转移酶（AST）、总胆固醇（TC）、TG、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）、高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）、空腹血糖、空腹胰岛素以及胰岛素抵抗指数的变化。应用液相色谱-质谱法（LC-MS）检测小鼠肝脏脂质代谢物。**结果：**模型组肝组织脂肪变性显著，肝组织TG、NAS积分、血清ALT、AST、TC、TG、LDL-C、空腹血糖、空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数较正常组均上升（$P<0.05$）；绞股蓝总苷组与奥贝胆酸组肝组织病理改变明显减轻，肝组织TG、NAS积分、血清AST、ALT、TC、空腹血糖、空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数较模型组均降低（$P<0.05$）；脂质组学结果显示，经绞股蓝总苷干预后，非酒精性脂肪性肝病小鼠FA、MGDG、PA、PC、PE、PS、LPE、LPC、SM等共17种肝脏脂质代谢物发生显著变化。**结论：**绞股蓝总苷可改善非酒精性脂肪性肝病脂质代谢紊乱。

［关键词］非酒精性脂肪性肝病；绞股蓝总苷；脂质代谢；脂质组学
［中图分类号］R528.5 ［文献标志码］A ［文章编号］0256-7415（2023）16-0001-09
DOI：10.13457/j.cnki.jncm.2023.16.001

Interventional Effect of Gypenosides on Liver Lipid Metabolism in Non-alcoholic Fatty Liver Disease Mice

LI Dezhou[1], *XI Yingfei*[1], *XIN Xin*[2], *LI Hongshan*[1,3]

1. Department of Liver Disease, Ningbo No. 2 Hospital, Ningbo Zhejiang 315010, China; 2. Institute of Liver Disease, Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 3. Zhejiang Provincial Key Laboratory for Diagnosis, Treatment and Research of Digestive System Tumors, Ningbo Zhejiang 315010, China

Abstract: Objective: To explore the interventional effect of gypenosides on liver lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease mice based on lipidomics technology. **Method:** A high-fat diet was used to induce a mouse model (n=24) of non-alcoholic fatty liver disease for 14 weeks. Starting from the eleventh week of modeling, they were randomly divided into model group, gypenosides group and obeticholic acid group, and administered by gavage for 4 weeks. Eight mice were given normal control feed as a normal

［收稿日期］2023-03-06
［修回日期］2023-05-10
［基金项目］国家自然科学基金资助项目（81873109）；宁波市重大科技专项项目（2022Z128）
［作者简介］李德周（1980-），男，副主任医师，E-mail：lidezhou1980@163.com。
［通信作者］李红山（1981-），男，主任医师，E-mail：lihongshan_1982@126.com。

group. Observe the content of triglycerides (TG) in the liver and the pathological changes in liver tissue [HE staining and calculate the non-alcoholic fatty liver disease Activity Score (NAS)], changes of serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total cholesterol (TC), TG, low- density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), fasting blood glucose, fasting insulin and insulin resistance index. Application of liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) was used to detect lipid metabolism in mouse liver. **Results**: The steatosis of liver tissue in the model group was significant. The TG and NAS scores of liver tissue, serum ALT, AST, TC, TG, LDL-C, fasting blood glucose, fasting insulin, and insulin resistance index were significantly higher than those in the normal group ($P<0.05$). The pathological changes of liver tissue in the gypenosides group and the obeticholic acid group were significantly reduced, and the TG and NAS scores of liver tissue, serum AST, ALT, TC, fasting blood glucose, fasting insulin, and insulin resistance index were significantly reduced compared to the model group ($P<0.05$). Lipidomics results showed that after intervention with gypenosides, there were significant changes in 17 liver lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease mice, including FA, MGDG, PA, PC, PE, PS, LPE, LPC, and SM, etc. **Conclusion**: Gypenosides can improve lipid metabolic disorders in non-alcoholic fatty liver disease.

Keywords: Non-alcoholic fatty liver disease; Gypenosides; Lipid metabolism; Lipidomics

非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)是世界上常见的慢性肝病，全球患病率约为25%，我国患病率约为6%～38%[1-2]。其疾病谱广，包括单纯脂肪变性、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)和肝硬化，后者可进展为肝细胞癌。目前，NAFLD的主要治疗措施为生活方式干预，尚缺乏安全有效的药物[3]。NAFLD给社会带来了严重的医疗和经济负担，积极防治具有重要意义。绞股蓝总苷为中药草质攀援植物绞股蓝的主要成分，既往研究表明，绞股蓝总苷可通过调节脂质代谢治疗NAFLD[4-5]，但其具体作用机制尚未完全阐明。为进一步探讨绞股蓝总苷对NAFLD脂代谢的调节机制，本研究拟采用高脂饮食诱导的小鼠NAFLD模型，以奥贝胆酸为对照，应用液相色谱-质谱法(LC-MS)技术，探讨绞股蓝总苷对NAFLD脂质代谢的干预作用，研究结果将进一步揭示绞股蓝总苷治疗NAFLD的作用机制，为研制作用机制清晰、效应物质明确的抗NAFLD中药成分复方制剂奠定基础。

1 材料与方法

1.1 动物饲养及分组给药 C57BL/6雄性小鼠32只，16～20 g，清洁级，购自上海斯莱克实验动物有限责任公司，实验动物批号：SCXK(沪)2017-0003。动物饲养于上海中医药大学实验动物中心，温度24～26 ℃，湿度50%～60%，明暗各12 h，饲喂正常饲料，自由进食进水。自造模之日起，32只小鼠随机分为正常组8只，造模组24只。正常组予正常对照饲料(10%脂肪，3.82 kcal/g)；造模组饲以高脂饲料(60%脂肪，5.21 kcal/g)喂养10周。造模11周将造模组小鼠随机分为模型组、绞股蓝总苷组、奥贝胆酸组，每组8只。绞股蓝总苷组及奥贝胆酸组分别采用绞股蓝总苷[100 mg/(kg·d)]和奥贝胆酸[10 mg/(kg·d)]灌胃4周，药物剂量和方法参考文献[5-6]，正常组和模型组给予等体积0.9%氯化钠溶液灌胃4周。

1.2 饲料与药物 高脂饲料(货号D12492i)、正常对照饲料(货号D12450B)均购于美国Research Diets(New Brunswick)。绞股蓝总苷(中国上海荣合药业技术发展有限公司，批号171019)；奥贝胆酸(美国，BioVision，批号3J28B18980)。

1.3 试剂与仪器 甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、葡萄糖测定试剂盒(南京建成生物工程研究所)；小鼠超敏胰岛素酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒(美国，Crystal chem)。LC-MS(美国，赛默飞

世尔科技，Q Exactive hybrid quadrupole-Orbitrap mass spectrometer）。

1.4 标本留取 第14周，禁食12 h，不禁水，称体质量，以3%戊巴比妥钠（3 mL/kg）腹腔注射麻醉，下腔动脉取血5~10 mL，静置30 min后离心（3 000 r/min，15 min，离心半径13.5 cm），取上清液置于-80 ℃超低温保存。分离小鼠肝脏，在同一肝叶的相同位置切取2小块组织，分别予10%福尔马林缓冲液固定及冷冻。

1.5 肝脏病理学检测 根据已发表的标准方案，对4 μm厚的切片进行苏木精-伊红染色法（HE）染色[7]。NAFLD活动性标准（NAS）由有经验的肝脏病理学家测定。NAS据以下评分确定：脂肪变性（0分为<5%；1为5%~33%；2为34%~66%；3为>66%）；小叶内炎症（0分为无病变；1分为<2个病变/视野；2分为2~4个病变/视野；3分为>4个病变/视野）；气球变性（0分为无；1分为少见；2分为多见）。

1.6 肝脏TG含量测定 取200 mg湿肝，加入3 mL乙醇-丙酮（1∶1），匀浆（10 000 r/min，20 s，2次），静置过夜后离心（3 000 r/min，20 min，4 ℃，离心半径13.5 cm），取上清液采用试剂盒检测。

1.7 生化指标测定 血清TC、TG、AST、ALT、LDL-C、HDL-C、空腹血糖、空腹胰岛素采用试剂盒测定，均按说明书进行操作。胰岛素抵抗指数=空腹血糖×空腹胰岛素/22.5。

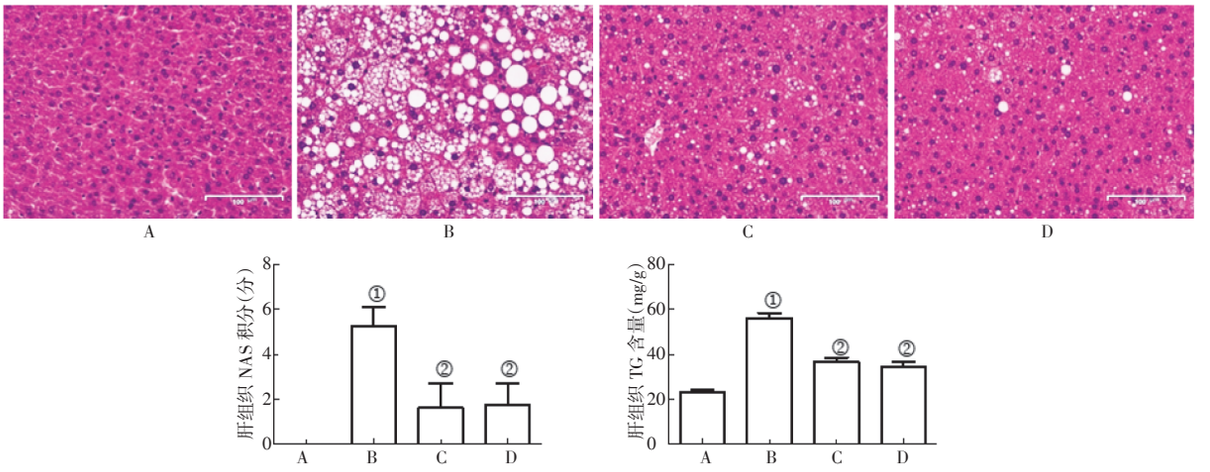
1.8 肝脏脂质代谢物检测 取50 mg冷冻肝脏样本，加入800 μL甲醇/水（1/1，*v/v*），匀浆；将匀浆液转移到玻璃进样瓶中，加入800 μL氯仿，漩涡震荡30 s；冰水浴中超声提取10 min；4 ℃静置30 min后，离心（2 000 r/min，15 min，离心半径13.5 cm，4 ℃）；取下层液体（氯仿层），转移至高回收率进样瓶，真空挥干；挥干后的脂质残渣用300 μL异丙醇/甲醇（1/1，*v/v*）复溶（涡旋震荡30 s，超声3 min），离心（12 000 r/min，15 min，离心半径16 cm，4 ℃），取200 μL上清液用于LC-MS分析。色谱条件：柱温为45 ℃，流速为0.4 mL/min，进样量为5 μL。流动相为：（A）乙腈-水（6∶4，*v/v*），含10 mmol/L甲酸铵和0.1%甲酸；（B）乙腈-异丙醇溶液（1∶9，*v/v*），含10 mmol/L甲酸铵和0.1%甲酸。线性梯度为：0~4 min，5%B；4~25 min，5%~95%B；25~35 min，95%B。质谱条件，电喷雾电离（ESI）正离子模式：加热器温度300 ℃；护套气体流量45 arb；辅气流量15 arb；尾气流量1 arb；喷雾电压3.0 kV；毛细管温度350 ℃；S-Lens射频电平50%；扫描范围135~2 000 m/z。ESI负离子模式：加热器温度300 ℃，护套气体流量45 arb；辅气流量15 arb；尾气流量1 arb；喷雾电压2.5 kV；毛细管温度350 ℃；S-Lens射频电平60%；扫描范围：135~2 000 m/z。获得的原始数据采用Progenesis QI软件（美国，沃特斯公司）进行预处理。将标准化数据导入SIMCA 14.1软件（瑞典，Umetrics）进行多元分析，包括主成分分析（PCA）、偏最小二乘判别分析（PLS-DA）和正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA）。根据OPLS-DA的变量权重值（VIP）和*P*值（*t*检验），确定各组之间的差异脂质（VIP>1并且$P<0.05$）。

1.9 统计学方法 使用SPSS26.0软件进行统计分析，计量资料采用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。服从正态分布与方差齐性的2组比较采用*t*检验。$P<0.05$表示差异有统计学意义。脂质数据运用SIMCA 14.1软件进行多元分析，包括PCA、PLS-DA、OPLS-DA分析，以VIP>1并且$P<0.05$确定各组的差异脂质。

2 结果

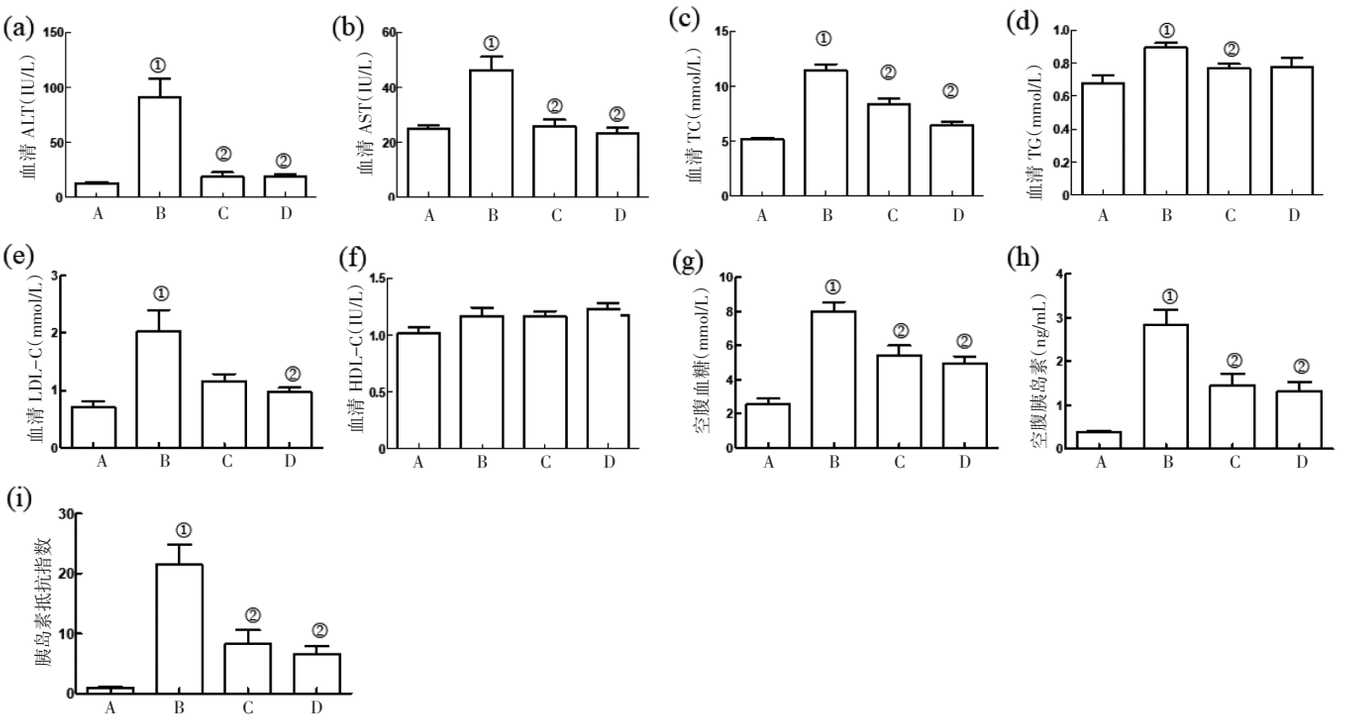
2.1 各组小鼠HE染色、NAS积分、肝组织TG含量改变 见图1。正常组小鼠肝细胞形态正常，未见脂肪变性；模型组小鼠肝细胞体积增大，呈弥漫性脂肪变性，伴炎细胞浸润和气球样变；绞股蓝总苷组及奥贝胆酸组肝细胞上述表现减轻。此外，检测了各组NAS积分、肝组织TG含量。与正常组比较，模型组NAS积分、肝组织TG含量均升高（$P<0.05$）；与模型组比较，绞股蓝总苷组与奥贝胆酸组NAS积分、肝组织TG含量均降低（$P<0.05$）。

2.2 各组小鼠生化指标改变 见图2。与正常组比较，模型组血清ALT、AST、TC、TG、LDL-C、空腹血糖、空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数均上升（$P<0.05$）；与模型组比较，血清AST、ALT、TC、空腹血糖、空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数在绞股蓝总苷组与奥贝胆酸组均下降（$P<0.05$）；血清TG在绞股蓝总苷组下降（$P<0.05$），在奥贝胆酸组无明显差异；血清LDL-C在奥贝胆酸组下降（$P<0.05$），在绞股蓝总苷组无明显差异。血清HDL-C在各组间差异无统计学意义。



注：A. 正常组；B. 模型组；C. 绞股蓝总苷组；D. 奥贝胆酸组。①与正常组比较，$P<0.05$；②与模型组比较，$P<0.05$

图 1　各组小鼠 HE 染色、NAS 积分、肝组织 TG 含量改变



注：A. 正常组；B. 模型组；C. 绞股蓝总苷组；D. 奥贝胆酸组。①与正常组比较，$P<0.05$；②与模型组比较，$P<0.05$

图 2　各组小鼠生化指标改变

2.3　绞股蓝总苷对 NAFLD 小鼠肝脏脂质代谢物的影响

2.3.1　多元统计分析　一般认为 PCA 模型 R2X＞0.5 说明该模型效果较好，根据 PCA 结果（见表 1、图 3a～c），3 个 PCA 模型 R2X 均大于 0.5，提示该模型解释能力尚可。PCA 是一种无监督的降维分析法，需进行有监督的 PLS-DA、OPLS-DA 分析。R2 和 Q2 越接近 1，表明模型越稳定可靠，Q2＞0.5 表明模型预测能力较好。根据 PLS-DA 结果（见表 1、图 3d～f），模型组 VS 正常组及模型组 VS 奥贝胆酸组 PLS-DA 模型解释能力及预测能力较好，模型组 VS 绞股蓝总苷组 PLS-DA 模型解释能力及预测能力一般。根据 OPLS-DA 结果（见表 1、图 3 g～i），3 个 OPLS-DA 模型解释能力与预测能力均较好。置换检验结果表明 OPLS 模型未发生过度拟合，结果可靠（见图 4）。

表 1　模型具体参数

模　型	组　别	主成分	R2X(cum)	R2Y(cum)	Q2(cum)
PCA	模型组 VS 正常组	p1	0.457	–	–
		p2	0.678	–	–
	模型组 VS 绞股蓝总苷组	p1	0.331	–	–
		p2	0.557	–	–
	模型组 VS 奥贝胆酸组	p1	0.340	–	–
		p2	0.538	–	–
PLS-DA	模型组 VS 正常组	p1	0.596	0.905	0.896
		p2	0.742	0.928	0.877
	模型组 VS 绞股蓝总苷组	p1	0.218	0.763	0.428
		p2	0.443	0.871	0.440
	模型组 VS 奥贝胆酸组	p1	0.412	0.797	0.721
		p2	0.564	0.897	0.745
OPLS-DA	模型组 VS 正常组	p1+o1	0.742	0.928	0.877
	模型组 VS 绞股蓝总苷组	p1+o1-5	0.908	0.995	0.909
	模型组 VS 奥贝胆酸组	p1+o1	0.564	0.897	0.772

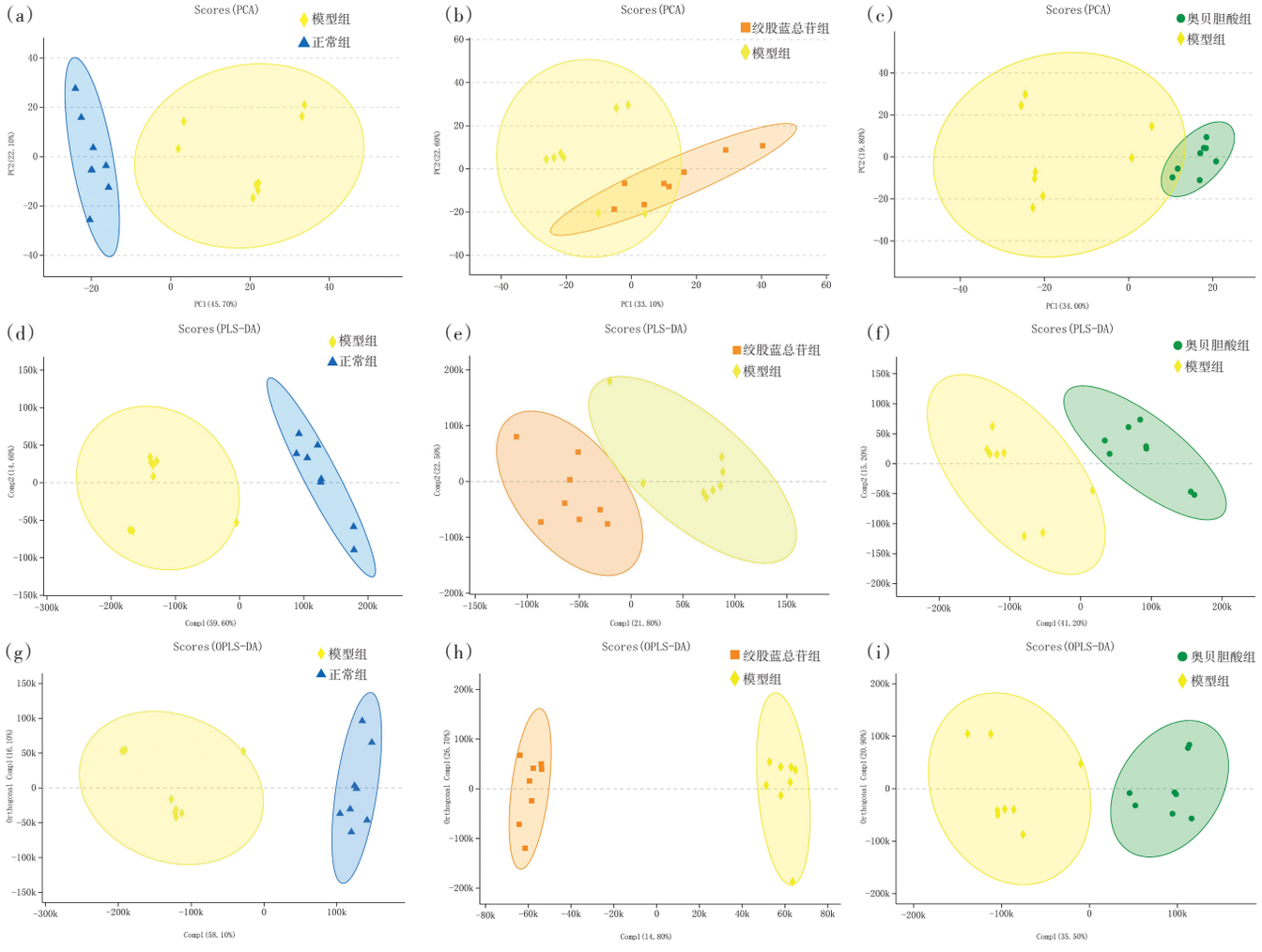


图 3　各组 PCA、PLS-DA、OPLS-DA 结果

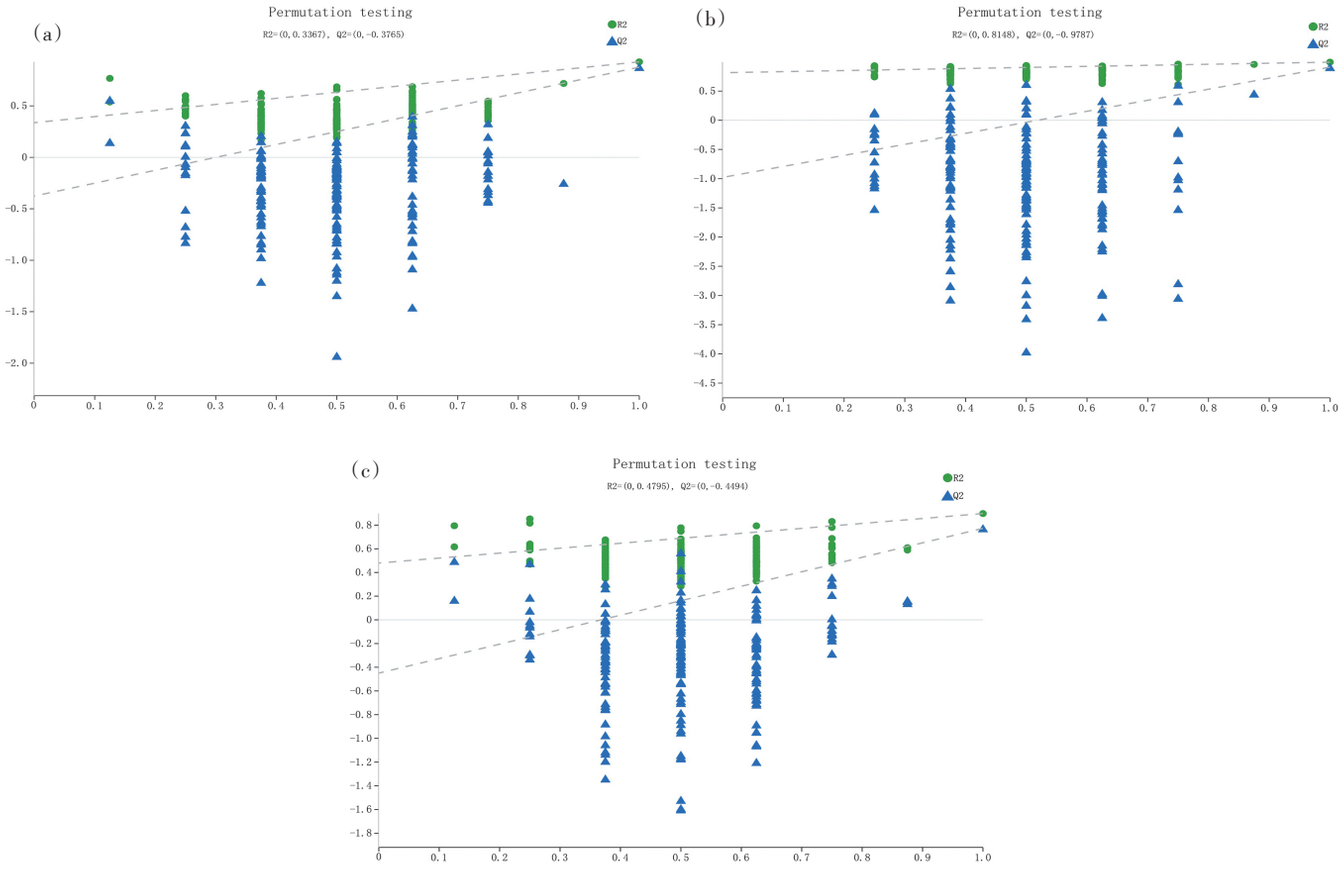
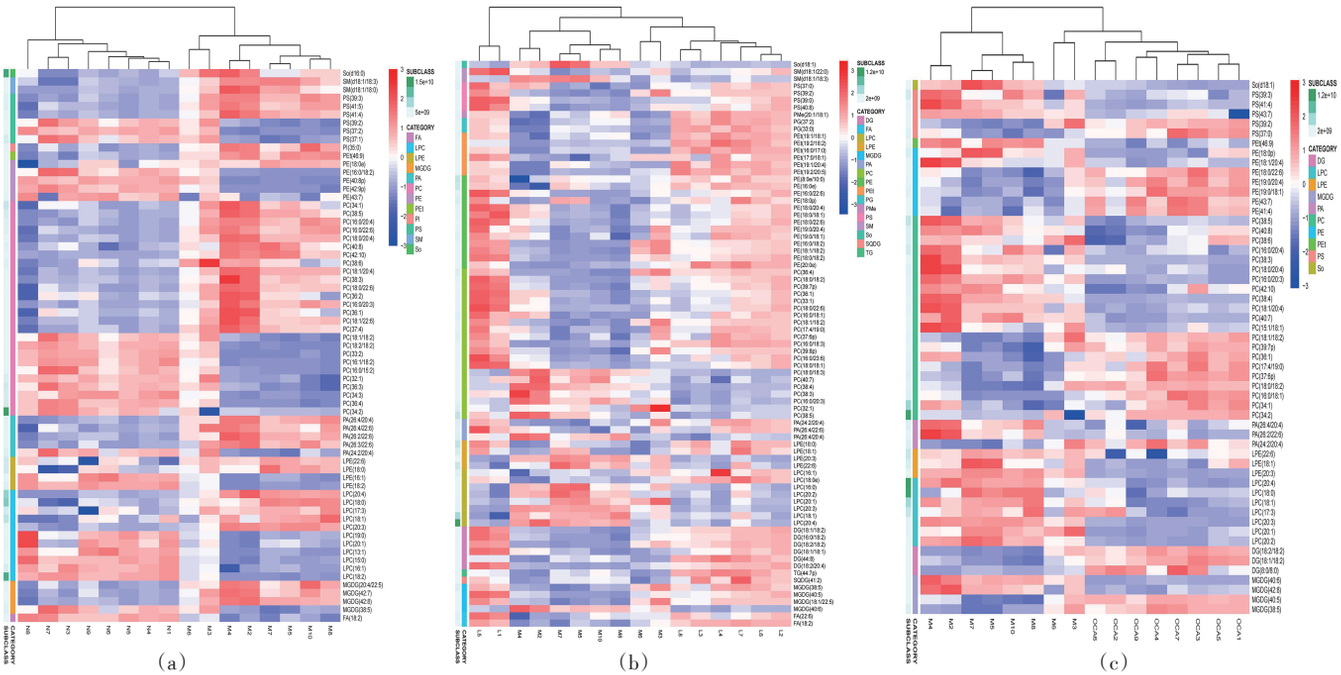


图 4　各组置换检验结果

2.3.2　肝脏脂质代谢物变化　见图 5。研究以 OPLS-DA 模型的 VIP＞1 联合 t 检验 $P＜0.05$ 筛选差异脂质。模型组与正常组相比时，筛选出甘油酯类(GL)、甘油磷脂类(GP)、鞘脂类(SP)、脂肪酸类共 67 种脂质，包括 1 种鞘氨醇(So)、2 种鞘磷脂(SM)、6 种磷脂酰丝氨酸(PS)、1 种磷脂酰肌醇(PI)、1 种磷脂酰乙醇(PEt)、5 种磷脂酰乙醇胺(PE)、26 种磷脂酰胆碱(PC)、5 种磷脂酸(PA)、4 种溶血磷脂酰乙醇胺(LPE)、11 种溶血磷脂酰胆碱(LPC)、4 种单半乳糖二酰甘油(MGDG)和 1 种脂肪酸(FA)，其中 39 种上调，28 种下调(见图 5a)。绞股蓝总苷组与模型组对比时，筛选出 GL、GP、SP、脂肪酸类共 79 种脂质，包括 1 种 So，2 种 SM，4 种 PS，1 种磷脂酰甲醇(PMe)，2 种 PG，6 种 PEt，13 种 PE，21 种 PC，3 种 PA，4 种 LPE，8 种 LPC，6 种甘油二酯(DG)，1 种 TG，1 种代异鼠李糖甘油二酯(SQDG)，4 种 MGDG，2 种 FA，其中 60 种上调，19 种下调(见图 5b)。奥贝胆酸组与模型组对比时，筛选出 GL、GP、SP 类共 55 种脂质，1 种 So，5 种 PS，1 种 PEt，7 种 PE，21 种 PC，3 种 PA，3 种 LPE，7 种 LPC，3 种 DG，4 种 MGDG，其中 22 种脂质上调，33 种脂质下调(见图 5c)。

2.3.3　各组共同差异脂质　见表 2。为了排除绞股蓝总苷组与模型组同向变化以及缺乏比对的脂质，本研究筛选了绞股蓝总苷组与模型组对比时以及模型组与正常组对比时的共同差异脂质。其中 6 种脂质同向变化，17 种脂质反向变化。FA(18∶2)、LPC(16∶1)、MGDG(38∶5)、PA(24∶2/20∶4)、PC(36∶4，18∶1/18∶2)、PE(16∶0/18∶2)、PS(39∶2)水平在模型组中下降，在绞股蓝总苷组中升高；LPC(18∶1，20∶3，20∶4)、LPE(22∶6)、PA(26∶4/20∶4)、PC(38∶5，38∶3，16∶0/20∶3)、SM(d18∶1/18∶3)水平在模型组中上升，在绞股蓝总苷组中表达下降。同时，14 种脂质在奥贝胆酸组与模型组对比时也发生显著变化，其变化趋势与绞股蓝总苷组相同。



（a）　（b）　（c）

注：（a）正常组 VS 模型组肝脏差异脂质代谢物热图；（b）模型组 VS 绞股蓝总苷组肝脏差异脂质代谢物热图；（c）模型组 VS 奥贝胆酸组肝脏差异脂质代谢物热图。红色表示上调，蓝色表示下调

图 5　各比对组热图

表 2　各组共同差异脂质

差异脂质	分类	模型组 VS 正常组			绞股蓝总苷组 VS 模型组			奥贝胆酸组 VS 模型组		
		VIP 值	FC 值	变化趋势	VIP 值	FC 值	变化趋势	VIP 值	FC 值	变化趋势
FA（18：2）	FA	1.26	0.51	↓①	2.52	1.77	↑②	–	–	–
LPC（18：1）	GP	2.47	1.08	↑①	6.98	0.88	↓②	6.14	0.82	↓②
LPC（20：1）	GP	1.01	0.73	↓①	2.03	0.73	↓②	1.54	0.58	↓②
LPC（20：3）	GP	1.33	1.64	↑①	3.41	0.42	↓②	2.50	0.22	↓②
LPC（16：1）	GP	4.31	0.46	↓①	4.32	1.50	↑②	–	–	–
LPC（20：4）	GP	11.35	1.52	↑①	17.09	0.79	↓②	16.91	0.60	↓②
LPE（22：6）	GP	3.34	1.55	↑①	4.79	0.87	↓②	4.86	0.63	↓②
LPE（18：0）	GP	2.38	1.18	↑①	7.27	1.20	↑②	–	–	–
MGDG（38：5）	GL	1.60	0.83	↓①	2.73	1.15	↑②	2.42	1.23	↑②
PA（26：4/22：6）	GP	1.76	1.33	↑①	2.14	1.12	↑②	–	–	–
PA（26：4/20：4）	GP	2.54	1.59	↑①	2.62	0.87	↓②	1.87	0.86	↓②
PA（24：2/20：4）	GP	1.75	0.79	↓①	3.36	1.24	↑②	2.24	1.25	↑②
PC（36：4）	GP	5.16	0.46	↓①	5.63	1.45	↑②	–	–	–
PC（18：1/18：2）	GP	1.07	0.74	↓①	1.82	1.25	↑②	1.15	1.23	↑②
PC（32：1）	GP	2.10	0.79	↓①	2.88	0.84	↓②	–	–	–
PC（38：5）	GP	5.41	1.68	↑①	4.87	0.86	↓②	5.59	0.72	↓②
PC（38：3）	GP	1.44	2.32	↑①	1.80	0.68	↓②	1.95	0.39	↓②
PC（18：0/22：6）	GP	1.26	1.55	↑①	2.18	1.33	↑②	–	–	–
PC（16：0/20：3）	GP	1.28	1.80	↑①	2.34	0.62	↓②	1.87	0.42	↓②
PC（36：1）	GP	1.06	1.39	↑①	2.24	1.37	↑②	1.03	1.28	↑②
PE（16：0/18：2）	GP	1.25	0.43	↓①	1.36	1.51	↑#	–	–	–
PS（39：2）	GP	1.07	0.74	↓①	1.89	1.27	↑②	1.18	1.25	↑②
SM（d18：1/18：3）	SP	1.40	1.77	↑①	1.63	0.82	↓②	–	–	–

注：①与正常组比较，$P<0.01$；②与模型组比较，$P<0.05$

3 讨论

NAFLD是一种复杂的代谢性疾病，其发病机制尚不完全清楚，但肝脏脂质代谢异常已被证实与NAFLD发生发展密切相关[8]。脂质组学是代谢组学的一个分支，被广泛应用于NAFLD的药效学评价以及作用机制的研究。本研究应用LC-MS技术进行脂质组学分析，发现NAFLD小鼠经绞股蓝总苷干预后17种脂质发生逆转，绞股蓝总苷主要影响NAFLD小鼠脂肪酸类、GP、SP、GL的代谢。

脂肪酸与NAFLD发生发展密切相关，其摄取、转运、氧化、输出过程中任意一条途径受损均可引起或加重NAFLD[9]。同时，先前研究表明绞股蓝总苷治疗可提高NAFLD小鼠肝组织小异二聚体伴侣(SHP)水平，下调靶基因固醇调节元件结合蛋白的表达，降低脂肪酸合成相关酶的水平，抑制肝脂合成。此外，绞股蓝总苷还上调了肝组织中过氧化物酶体增殖物激活受体α和肉碱棕榈酰转移酶表达，增强脂肪酸氧化，促进脂质的分解[5]。本实验中，经绞股蓝总苷干预后，NAFLD小鼠1种FA水平升高，这可能是绞股蓝总苷减少FA(18∶2)的氧化或者增加其合成。

GP是生物细胞膜的重要组成部分，在NAFLD的进展中起着重要作用。PC与PE是哺乳动物细胞膜中最为丰富的磷脂[10]。在肝细胞中，高达30%的PC由PE经磷脂酰乙醇胺N-甲基转移酶(PEMT)催化生成，同时PC可通过PS合成酶合成PS，PS通过PS脱羧酶合成PE[11]。在NAFLD中，随着疾病进展，细胞内脂肪积累，诱导内质网应激，PE水平下降[12]。本实验中，NAFLD小鼠1种PE经绞股蓝总苷干预后水平升高。这可能由于绞股蓝总苷减轻NAFLD脂肪变性，改善内质网应激，使PE增加。此外，PC是一种亲水性脂质，将TG(中性脂质)包装成极低密度脂蛋白胆固醇(VLDL)从肝脏输出，PC合成减少会影响VLDL的合成与分泌，进而导致肝内脂质堆积[13]。经绞股蓝总苷干预后，NAFLD小鼠2种PC、1种PS水平升高，3种PC水平降低。在肝脏内，PC与PE的比例反映了PEMT的活性。笔者猜测绞股蓝总苷改善了PEMT的功能，促进PE向PC转换，PC升高促进PC向PS转换，同时增加VLDL输出，减轻肝内TG堆积。同时，笔者还发现2种PA经绞股蓝总苷干预后发生了显著变化。先前研究显示，PA可通过调节哺乳动物雷帕霉素复合体的靶点来损害胰岛素信号转导[13]。此外，PA(di16∶0)可下调胰岛素信号转导[14]。这些发现表明，一些PA可引起肝脏胰岛素抵抗，并加重NAFLD。本实验中，绞股蓝总苷可能通过调节PA，减轻胰岛素抵抗，进而减轻NAFLD。

SM是SP中含量最丰富的脂质。与野生型对照相比，SGMS2基因(SM合成酶基因)缺乏的小鼠饲以高脂饮食后，降低了SM水平和体质量，并提高了胰岛素敏感性[15]。许多参与SM合成的酶可能是治疗代谢紊乱潜在的治疗靶点[14]。本实验中，绞股蓝总苷逆转了NAFLD小鼠SM(d18∶1/18∶3)水平。绞股蓝总苷可能通过影响相关酶的活性，降低了SM水平，进而改善NAFLD。

除GP、SP外，GL在NAFLD的发展中也起着重要作用。甘油脂代谢中的甘油脂/游离脂肪酸循环在面对高脂血症时通过脂解和β氧化来分解脂类，从而防止肝脏脂肪变性。NAFLD的特点是肝细胞中TG的过度沉积。临床研究表明，NAFLD患者的TG水平显著高于正常人，且升高水平与胰岛素抵抗正相关[16]。尽管本研究4组动物的TG种类差异不大，但模型组肝脏TG含量显著升高，绞股蓝总苷组与奥贝胆酸组显著降低。在本研究中，绞股蓝总苷干预后NAFLD小鼠MGDG(38∶5)显著升高。然而，不同种类的MGDG如何影响脂代谢或涉及的作用机制知之甚少。本实验中绞股蓝总苷对NAFLD小鼠相关脂质调节作用的机制也不清楚，需今后开展相关研究进一步论证。

奥贝胆酸是法尼醇X受体(FXR)激动剂，越来越多的证据提示NAFLD的发生与FXR功能异常密切相关，FXR为NAFLD的重要治疗靶点[17]，有研究发现，奥贝胆酸能明显改善NAFLD患者的病理学特征，显示出治疗NAFLD的潜在价值[18]。本研究结果显示，绞股蓝总苷和奥贝胆酸均能有效改善NAFLD小鼠的肝组织病理变化，降低肝脏TG含量和血清ALT、AST活性，能有效改善NAFLD。绞股蓝总苷治疗NAFLD的效果与奥贝胆酸相当，提示绞股蓝总苷是一个有效治疗NAFLD的候选药物，值得今后进一步深入研究。

[参考文献]

[1] YOUNOSSI Z, TACKE F, ARRESE M, et al. Global Perspectives on Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis[J]. Hepatology, 2019, 69(6): 2672-2682.

[2] FAZEL Y, KOENIG A B, SAYINER M, et al. Epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease[J]. Metabolism, 2016, 65(8): 1017-1025.

[3] HUNG C K, BODENHEIMER H C. Current Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis[J]. Clinics in Liver Disease, 2018, 22(1): 175-187.

[4] LI H, YING H, HU A, et al. Therapeutic Effect of Gypenosides on Nonalcoholic Steatohepatitis via Regulating Hepatic Lipogenesis and Fatty Acid Oxidation[J]. Biol Pharm Bull, 2017, 40(5): 650-657.

[5] LI H, XI Y, XIN X, et al. Gypenosides regulate farnesoid X receptor-mediated bile acid and lipid metabolism in a mouse model of non- alcoholic steatohepatitis[J]. Nutrition & Metabolism, 2020, 17: 34.

[6] MASSAFRA V, MILONA A, VOS H R, et al. Farnesoid X Receptor Activation Promotes Hepatic Amino Acid Catabolism and Ammonium Clearance in Mice[J]. Gastroenterology, 2017, 152(6): 1462-1476.

[7] 王园园, 王涛, 李新, 等. 小鼠不同组织冰冻切片技术探讨[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(9): 59-63.

[8] KOO S H. Nonalcoholic fatty liver disease: molecular mechanisms for the hepatic steatosis[J]. Clinical and Molecular Hepatology, 2013, 19(3): 210-215.

[9] XI Y, LI H. Role of farnesoid X receptor in hepatic steatosis in nonalcoholic fatty liver disease[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 121: 109609.

[10] VEEN J N V D, KENNELLY J P, WAN S, et al. The critical role of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine metabolism in health and disease[J]. Biochim Biophys Acta Biomembr, 2017, 1859(9 Pt B): 1558-1572.

[11] CALZADA E, ONGUKA O, CLAYPOOL S M. Phosphatidylethanolamine Metabolism in Health and Disease[J]. International Review of Cell and Molecular Biology, 2016, 321: 29-88.

[12] YAMAMOTO Y, SAKURAI T, CHEN Z, et al. Analysis of serum lysophosphatidylethanolamine levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2021, 413(1): 245-254.

[13] KAWANO Y, NISHIUMI S, SAITO M, et al. Identification of Lipid Species Linked to the Progression of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease[J]. Current Drug Targets, 2015, 16(12): 1293-1300.

[14] ZHANG C, WENDEL A A, KEOGH M R, et al. Glycerolipid signals alter mTOR complex 2 (mTORC2) to diminish insulin signaling[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012, 109(5): 1667-1672.

[15] MEIKLE P J, SUMMERS S A. Sphingolipids and phospholipids in insulin resistance and related metabolic disorders[J]. Nature Reviews Endocrinology, 2017, 13(2): 79-91.

[16] LOMONACO R, ORTIZ LOPEZ C, ORSAK B, et al. Effect of adipose tissue insulin resistance on metabolic parameters and liver histology in obese patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology, 2012, 55(5): 1389-1397.

[17] SUN GI K, BYUNG KWON K, KYUMIN K, et al. Bile Acid Nuclear Receptor Farnesoid X Receptor: Therapeutic Target for Nonalcoholic Fatty Liver Disease[J]. Endocrinology and Metabolism, 2016, 31(4): 500-504.

[18] NEUSCHWANDER TETRI B A, LOOMBA R, SANYAL A J, et al. Farnesoid X nuclear receptor ligand obeticholic acid for non-cirrhotic, non-alcoholic steatohepatitis (FLINT): a multicentre, randomised, placebo-controlled trial[J]. Lancet, 2015, 385(9972): 956-965.

(责任编辑：吴凌，李海霞)