

基于脂质组学的绞股蓝总苷调血脂作用研究

曾迪^{1,2}, 周昌园^{1,3}, 龙健², 胡雪黎², 涂星², 文德鉴², 胡泽华², 杨宝^{1,2*}

1. 风湿性疾病发生与干预湖北省重点实验室(湖北民族大学), 湖北恩施 445000
2. 湖北民族大学医学部, 湖北恩施 445000
3. 湖北民族大学化学与环境工程学院, 湖北恩施 445000

摘要: **目的** 基于超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱的脂质组学技术研究绞股蓝总苷对高脂血症大鼠脂质代谢的影响。**方法** 采用高脂饲料制备高脂血症大鼠模型, 通过血清血脂指标和肝脏组织病理学评价绞股蓝总苷的调血脂活性, 应用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱技术检测血清和肝脏的脂质代谢物, 结合主成分分析、正交偏最小二乘-判别分析、火山图筛选差异脂质, 明确绞股蓝总苷干预前后血清和肝脏中脂质变化。**结果** 绞股蓝总苷显著调节高脂血症大鼠的血脂 ($P < 0.05, 0.01$)。从血清和肝脏中分别筛选了 17、17 个差异脂质, 主要为三酰甘油、磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰胆碱类。给予绞股蓝总苷干预后, 筛选的差异脂质均有回调至正常的趋势。**结论** 绞股蓝总苷的调血脂作用确切, 可能与调节三酰甘油、甘油磷脂、不饱和脂肪酸代谢有关。

关键词: 绞股蓝总苷; 高脂血症; 脂质组学; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱; 差异代谢物; 三酰甘油; 磷脂酰胆碱; 溶血磷脂酰胆碱

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)04-1149-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.04.014

Effect of gypenosides on regulating blood lipid based on lipidomics

ZENG Di^{1,2}, ZHOU Chang-yuan^{1,3}, LONG Jian², HU Xue-li², TU Xing², WEN De-jian², HU Ze-hua², YANG Bao^{1,2}

1. Hubei Provincial Key Laboratory of Occurrence and Intervention of Rheumatic Diseases (Hubei Minzu University), Enshi 445000, China
2. Medical School, Hubei Minzu University, Enshi 445000, China
3. School of Chemistry and Environmental Engineering, Hubei Minzu University, Enshi 445000, China

Abstract: Objective To study the antihyperlipidemic effects of gypenosides in hyperlipidemic rats using ultra-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS)-based lipidomics. **Methods** A hyperlipidemic rat model was induced by high-fat diet. The antihyperlipidemic effects of gypenosides were confirmed by serum lipid index and liver pathological examination. Lipid metabolites in serum and liver were detected by UPLC-Q-TOF/MS method. The MS data were processed by principle component analysis, orthogonal partial least squared discriminant analysis and volcanic map analysis to screen the differential lipids. **Results** Gypenosides significantly regulated the levels of serum lipids in hyperlipidemic rats ($P < 0.05, 0.01$). A total of 17, 17 differential lipids, mainly belonging to triglyceride, phosphatidylcholine and lysophosphatidylcholine, were screened and identified from the serum and liver, respectively. Those differential lipids showed a tendency of callback to normal level after gypenosides intervention. **Conclusion** Gypenosides possessed significant antihyperlipidemic activity. The mechanism may be related to the regulation of triglyceride, glycerophospholipid and unsaturated fatty acid metabolism.

Key words: gypenosides; hyperlipidemia; lipidomics; UPLC-Q-TOF/MS; differential metabolites; triglyceride; phosphatidylcholine; lysophosphatidylcholine

高脂血症由体内脂质代谢紊乱所致, 是多种心脑血管疾病的危险因素。研究脂质代谢对于明确调血脂药物的作用机制具有重要意义。脂质组学是系统分析细胞和组织中各种脂质及相互作用, 并阐明其

收稿日期: 2022-10-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81560703); 风湿性疾病发生与干预湖北省重点实验室(湖北民族大学)项目(PT022210)

作者简介: 曾迪, 硕士研究生, 研究方向为代谢组学研究。E-mail: 1015361275@qq.com

*通信作者: 杨宝, 博士, 讲师, 硕士研究生导师, 研究方向为代谢组学研究。E-mail: ybsept@qq.com

在不同生理条件下的功能和变化的一门学科^[1-2]。脂质组学与中药多靶点、多途径作用特点相契合,是研究中药调血脂作用的有力工具^[1]。超高效液相色谱-高分辨质谱技术为高通量分析脂质提供了可能,推动了脂质研究的进程^[2]。研究发现,绞股蓝总苷具有较好的调血脂、降血糖、保肝作用^[3-5]。目前绞股蓝总苷调血脂作用的研究主要集中在药效学,尚无脂质组学研究报道^[6-7]。肝脏是脂质代谢的重要场所,系统研究肝脏和血清中脂质代谢特征对于明确绞股蓝总苷的调血脂作用具有重要意义。基于此,本研究拟采用脂质组学探究绞股蓝总苷的调血脂作用。

1 材料

1.1 动物

SPF级雄性SD大鼠32只,体质量70~90g,购自湖北省实验动物研究中心(合格证号42000600046178)。动物饲养于相对湿度50%~65%、温度23~26℃、12h昼夜循环的环境,自由进食饮水,适应性喂养1周。动物实验经湖北民族大学医学伦理委员会批准(批准号2022006)。

1.2 药品与试剂

总胆固醇(total cholesterol, TC)试剂盒(批号22021819)、三酰甘油(triglycerides, TAG)试剂盒(批号22021706)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)试剂盒(批号22011711)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)试剂盒(批号22021107)购自武汉生之源公司;阿托伐他汀钙片(10mg/片,批号1L8454DL3)购自齐鲁制药有限公司;绞股蓝总苷片(每片含绞股蓝总苷20mg,批号K21A005)购自和记黄埔中药有限公司;水合氯醛(批号BMB3457)购自博美生物公司;高脂饲料(含蔗糖20%、猪油15%、胆固醇1.2%、胆酸钠0.2%、酪蛋白10%、磷酸氢钙0.6%、石粉0.4%、预混料0.4%、基础饲料52.2%)购自广东省医学实验动物中心;质谱级乙腈、异丙醇购自默克公司。

1.3 仪器

Acquity UPLC仪、Xevo G2-XS Q/TOF质谱仪(美国Waters公司);ME204型分析天平(梅特勒-托利多公司);Concentrator plus浓缩仪(德国Eppendorf公司);008AS型生化分析仪(日立公司)。

2 方法

2.1 动物分组与给药

32只SD大鼠随机分为对照组、模型组、阿托

伐他汀(10mg/kg)组和绞股蓝总苷(150mg/kg)组,每组8只。对照组给予普通饲料,其余各组给予高脂饲料。阿托伐他汀和绞股蓝总苷以羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液混悬,各给药组ig相应药物(10mL/kg),1次/d,连续8周。

2.2 样本收集与处理

第8周结束时各组大鼠空腹12h,ip 10%水合氯醛麻醉(3.5mL/kg),腹主动脉取血,静置2h后4000r/min离心10min,血清于-80℃保存。取肝脏组织,部分肝脏用于制作苏木素-伊红(HE)染色切片,剩余保存于-80℃。

2.3 脂质组学样品处理

2.3.1 血清样品的处理 吸取50μL血清,加入500μL二氯甲烷-甲醇(2:1)溶液,涡旋1min后15000r/min离心10min,吸取200μL下层溶液浓缩干燥。残渣加入200μL异丙醇-乙腈(2:1)复溶,15000r/min离心10min,取上清液分析。

2.3.2 肝脏组织样品的处理 称取0.1g肝脏组织,加入2000μL二氯甲烷-甲醇(2:1)溶液制备匀浆液,超声提取5min后15000r/min离心10min,吸取200μL上清液浓缩干燥。残渣加入400μL异丙醇-乙腈(2:1)复溶,15000r/min离心10min,取上清液分析。

2.3.3 质控样品的处理 由各样品取30μL混合。

2.4 色谱和质谱条件

Waters UPLC CSH C₁₈色谱柱(100mm×2.1mm,1.7μm),流动相A为乙腈-水(3:2),B为异丙醇-乙腈(9:1),均含5mmol/L醋酸铵,梯度洗脱:0~4.0min,65%~58%A;4.0~4.5min,58%~43%A;4.5~11.0min,43%~31%A;11.0~17.0min,31%~1%A;17.0~17.1min,1%~65%A;17.1~21.0min,65%A。体积流量0.35mL/min;柱温50℃;进样量2μL。

Xevo G2-XS Q/TOF质谱仪,电喷雾离子源,源温度110℃;毛细管电压2.5kV(-2.5kV);锥孔电压40V(-40V);脱溶剂气体积流量900L/h;温度550℃;扫描范围m/z 50~1000。

2.5 数据处理与统计

采用SPSS 20.0统计分析,各指标以 $\bar{x} \pm s$ 描述。两组之间的比较采用两独立样本t检验,多组之间采用单因素方差分析。首先对质谱数据降噪、归一化处理,然后导入Simca-P 14.0软件进行主成分(principle component analysis, PCA)和正交偏最小

二乘-判别分析 (orthogonal partial least squared-discriminant analysis, OPLS-DA), 根据变量权重投影值 (variable importance factor, VIP) >1.50、变化倍数 <0.67 或 >1.50 且 $P < 0.05$ 筛选差异脂质。

3 结果

3.1 绞股蓝总苷对高脂血症大鼠体质量、血脂、肝脏病理变化的影响

如图 1-A~E 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠体质量显著升高 ($P < 0.05$), 血清中 TC、TAG、LDL-C 水平均显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 阿托伐他汀组大鼠体质量显著降低 ($P < 0.05$), 各给药组大鼠血清中 TC、TAG 和 LDL-C 水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。如图 1-F 所示, 对照组大鼠肝细胞形态正常, 无油脂滴聚集; 模型组大鼠的肝细胞体积显著增大呈蜂窝状, 出现较多脂肪滴; 与

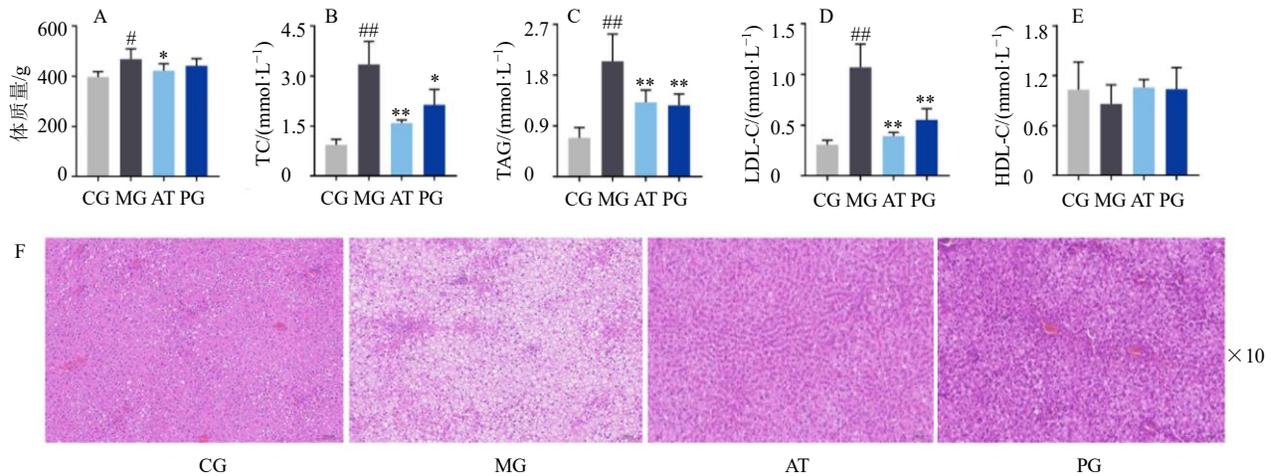
模型组比较, 各给药组大鼠肝细胞脂肪变性及空泡样病变显著改善, 油脂滴数量减少。

3.2 典型总离子流图

分析对照组、模型组、绞股蓝总苷组的血清和肝脏脂质样品, 典型总离子流图见图 2, 分离度及响应较好。

3.3 方法学验证

在正、负离子模式下各选择 6 个质控离子[正离子模式: m/z 544.34 ($t_R=1.22$ min)、 m/z 520.34 ($t_R=1.32$ min)、 m/z 782.57 ($t_R=6.65$ min)、 m/z 788.62 ($t_R=9.81$ min)、 m/z 876.80 ($t_R=15.30$ min)、 m/z 930.85 ($t_R=15.58$ min); 负离子模式: m/z 500.28 ($t_R=1.28$ min)、 m/z 327.23 ($t_R=2.44$ min)、 m/z 826.56 ($t_R=6.63$ min)、 m/z 854.59 ($t_R=7.89$ min)、 m/z 830.59 ($t_R=8.07$ min)、 m/z 856.61 ($t_R=8.33$ min)], 提取上述



与对照组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ CG-对照组 MG-模型组 AT-阿托伐他汀组 PG-绞股蓝总苷组, 下图同

$P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group CG-control group MG-model group AT-atorvastatin group PG-gypenosides group, same as below figures

图 1 绞股蓝总苷对高脂血症大鼠体质量 (A), 血清中 TC (B)、TAG (C)、LDL-C (D)、HDL-C (E) 和肝脏病理变化 (F) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 1 Effect of gypenosides on body weight (A), TC (B), TAG (C), LDL-C (D), HDL-C (E) levels in serum and pathological changes of liver (F) ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

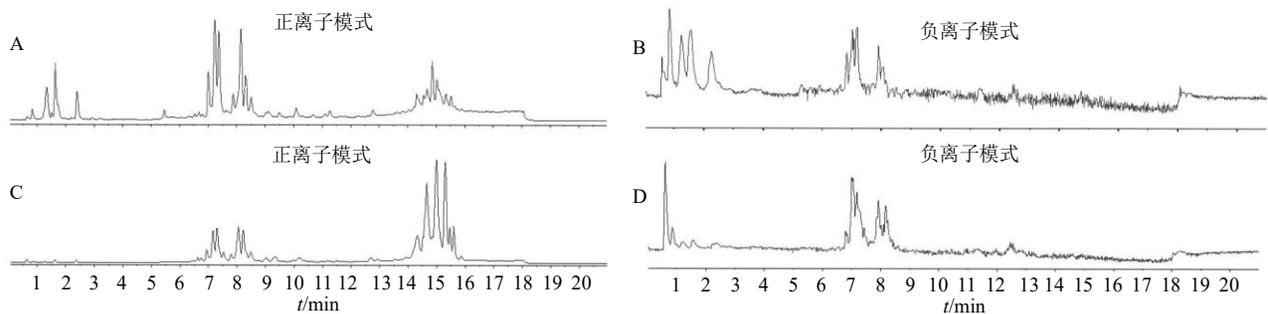


图 2 血清 (A、B) 和肝脏 (C、D) 脂质在正、负离子模式下的总离子流图

Fig. 2 Representative total ion chromatograms of serum (A, B) and liver (C, D) lipids in positive and negative ion modes

离子在质控样品中的峰面积和保留时间,结果显示 RSD 分别小于 1.5%和 11.0%,说明样品和仪器系统的稳定性良好。

3.4 PCA 分析

如图 3-A、D、G、J 所示,质控样本分布聚集,

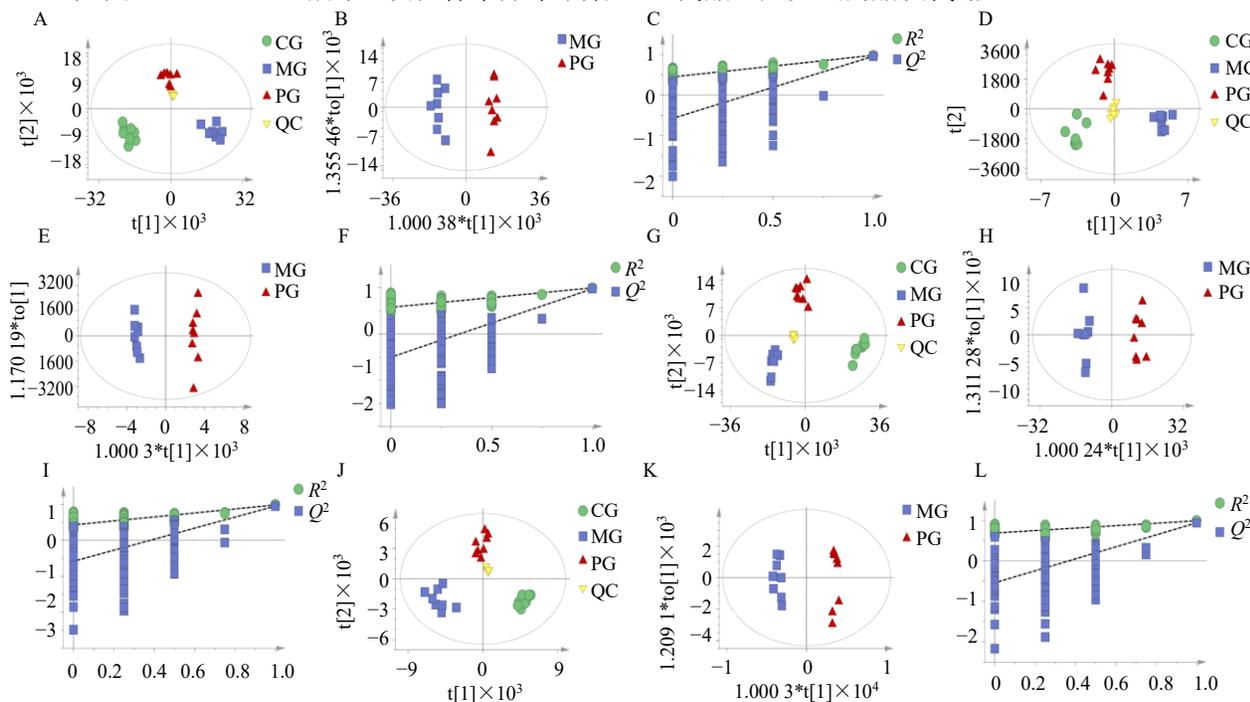


图 3 对照组、模型组、绞股蓝总苷组、质控组 (QC) 血清脂质 (A-正离子, D-负离子)、肝脏脂质 (G-正离子, J-负离子) 的 PCA 得分图,模型组和绞股蓝总苷组血清脂质 (B-正离子, E-负离子)、肝脏脂质 (H-正离子, K-负离子) 的 OPLS-DA 得分图及置换检验图 (C、F、I、L)

Fig. 3 PCA score plots for serum (A, positive ion; D, negative ion) and liver (G-positive ion, J-negative ion) lipids of control group, model group, gypenosides group and QC group, OPLS-DA score plots and permutation tests (C, F, I, L) between model group and gypenosides group for serum (B-positive ion, E-negative ion) and liver (H-positive ion, K-negative ion) lipids

3.5 OPLS-DA 分析

如图 3-B、E、H、K 所示,累计变量解释度 R^2_Y 和预测度 Q^2 均大于 0.96,提示模型的描述和预测能力良好,能区分对照和模型组之间的脂质代谢差异,以及解释绞股蓝总苷对高脂血症大鼠脂质代谢的调节作用。200 次置换检验结果见图 3-C、F、I、L, R^2 的截距均大于 0.50、 Q^2 的截距均小于 -0.50,提示各模型的预测能力较好且没有过拟合。然后进行变量权重投影分析,筛选出 $VIP > 1.50$ 的脂质。

3.6 差异脂质代谢物筛选与鉴定

根据 t 检验值和变化倍数制作火山图 (图 4),筛选 $P < 0.05$ 且变化倍数小于 0.67 或大于 1.50 的脂质,结合 VIP 值大于 1.50 筛选差异脂质。结构鉴定在 AB Sciex TripleTOF 5600 质谱仪 (含 LipidView 数据库) 上完成,结果见表 1、2。以 m/z 500.279 6

说明检测平台稳定性好。对照组和模型组分布在得分图两侧,模型组血清和肝脏的脂质代谢较对照组发生了显著变化,提示造模成功;绞股蓝总苷组分布在模型和对照组之间,说明绞股蓝总苷能够改善高脂血症大鼠的脂质代谢。

($t_R = 1.28$ min) 为例说明鉴定过程,首先检索 m/z 500.279 6,最匹配的是 LysoPE (20:4)。质谱图中主要产生 m/z 303.23、259.24、205.19、196.04 等碎片,与数据库中信息一致。 m/z 303.23 为脂肪链 FA (22:4) 片段, m/z 283.24 和 205.19 分别为 FA (22:4) 片段丢失 1 分子 CO_2 和 $C_5H_8O_2$ 后的碎片, m/z 196.04 为甘油磷酸乙醇胺脱水后的碎片。差异脂质相对峰强度的热图如图 5 所示,绞股蓝总苷显著回调高脂血症大鼠血清和肝脏中的差异脂质。

4 讨论

脂质扮演着能量储存、信号传导、细胞膜形成等重要角色,与疾病密切相关^[8]。本研究采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱的脂质组学技术考察了绞股蓝总苷对高脂血症大鼠血清和肝脏脂质代谢的影响,筛选出 17 个 TAG、10 个磷脂酰胆碱、

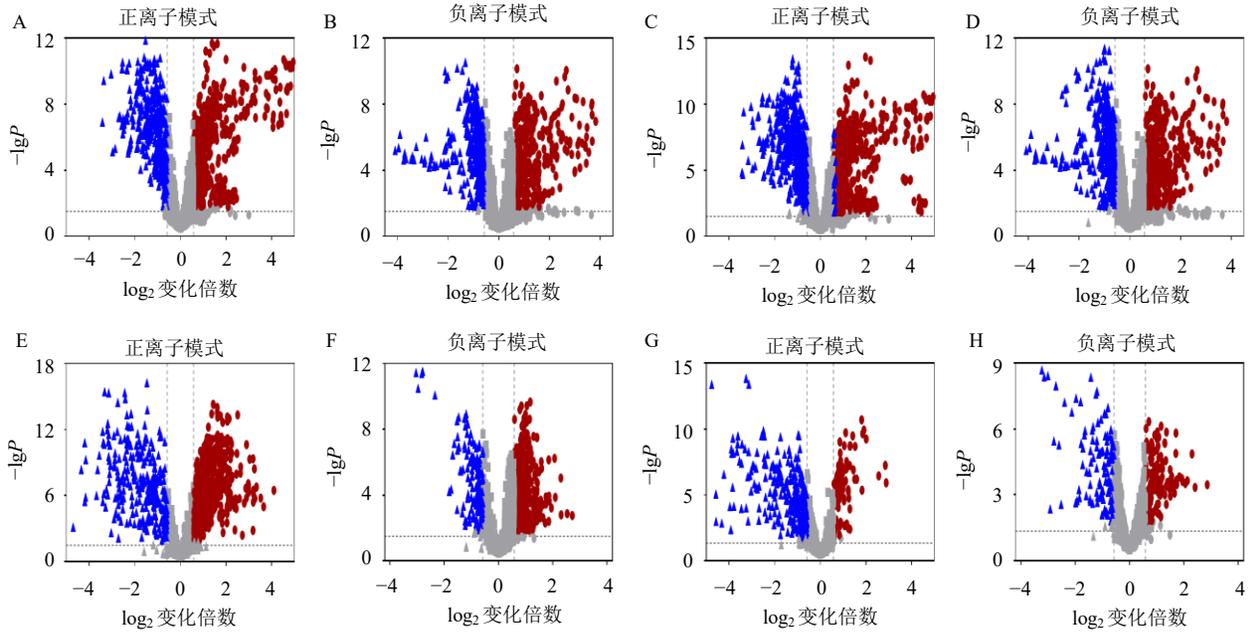


图4 对照组和模型组血清 (A、B) 和肝脏 (E、F) 脂质, 绞股蓝总苷组和模型组血清 (C、D) 和肝脏 (G、H) 脂质的火山图

Fig. 4 Volcano plot for serum (A, B) and liver (E, F) lipids between control group and model group, and serum (C, D) and liver (G, H) lipids between gypenosides group and model group

表1 血清中筛选的差异脂质及变化趋势

Table 1 Differential lipids screened in serum and their changing trends

| 代谢物 | t_R/min | 分子式 | 加合离子 | 计算值 (m/z) | 对照组 vs 模型组 | | | 绞股蓝总苷组 vs 模型组 | | |
|---------------|-----------|---|----------------------|------------------|------------|------|--------|---------------|------|--------|
| | | | | | VIP | Fold | P 值 | VIP | Fold | P 值 |
| LysoPC (18:2) | 1.34 | C ₂₆ H ₅₀ NO ₇ P | +H | 520.339 8 | 6.90 | 0.45 | <0.001 | 7.25 | 0.55 | <0.001 |
| LysoPC (20:3) | 1.47 | C ₂₈ H ₅₂ NO ₇ P | +H | 546.355 4 | 2.32 | 0.44 | <0.001 | 2.44 | 0.54 | <0.001 |
| PC (34:3) | 6.57 | C ₄₂ H ₇₈ NO ₈ P | +H | 756.553 8 | 1.77 | 0.54 | <0.001 | 2.46 | 0.42 | <0.001 |
| PC (38:7) | 6.73 | C ₄₆ H ₇₈ NO ₈ P | +H | 804.553 8 | 1.50 | 0.17 | <0.001 | 1.75 | 0.23 | <0.001 |
| PC (38:5) | 7.22 | C ₄₆ H ₈₂ O ₈ NP | +H | 808.585 1 | 3.37 | 1.73 | <0.001 | 3.19 | 1.51 | <0.001 |
| PC (38:3) | 8.44 | C ₄₆ H ₈₆ O ₈ NP | +H | 812.616 4 | 3.65 | 0.36 | <0.001 | 3.59 | 0.56 | <0.001 |
| TAG (48:4) | 11.11 | C ₅₁ H ₉₀ O ₆ | +NH ₄ | 816.707 6 | 2.00 | 2.25 | <0.001 | 2.17 | 2.11 | <0.001 |
| TAG (58:9) | 14.33 | C ₆₁ H ₁₀₀ O ₆ | +NH ₄ | 946.785 8 | 1.78 | 2.99 | <0.001 | 2.01 | 2.94 | <0.001 |
| TAG (56:8) | 14.36 | C ₅₉ H ₉₈ O ₆ | +NH ₄ | 920.770 2 | 3.65 | 3.95 | <0.001 | 3.11 | 2.78 | <0.001 |
| TAG (54:6) | 14.54 | C ₅₇ H ₉₈ O ₆ | +NH ₄ | 896.770 2 | 3.37 | 2.08 | <0.001 | 2.69 | 1.57 | 0.003 |
| TAG (52:2) | 15.30 | C ₅₅ H ₁₀₂ O ₆ | +NH ₄ | 876.801 5 | 8.83 | 0.30 | <0.001 | 8.95 | 0.53 | <0.001 |
| TAG (54:2) | 15.61 | C ₅₇ H ₁₀₆ O ₆ | +NH ₄ | 904.832 8 | 3.72 | 0.18 | <0.001 | 3.66 | 0.44 | <0.001 |
| TAG (52:1) | 15.62 | C ₅₅ H ₁₀₄ O ₆ | +NH ₄ | 878.817 1 | 4.29 | 0.18 | <0.001 | 4.85 | 0.27 | <0.001 |
| TAG (54:1) | 15.89 | C ₅₇ H ₁₀₈ O ₆ | +NH ₄ | 906.848 4 | 2.08 | 0.21 | <0.001 | 2.35 | 0.28 | <0.001 |
| LysoPC (17:2) | 1.27 | C ₂₅ H ₄₈ NO ₇ P | +CH ₃ COO | 564.329 6 | 6.71 | 0.43 | <0.001 | 7.49 | 0.49 | <0.001 |
| PC (35:4) | 6.63 | C ₄₃ H ₇₈ NO ₈ P | +CH ₃ COO | 826.559 3 | 2.72 | 0.15 | <0.001 | 3.21 | 0.18 | <0.001 |
| PC (37:3) | 8.33 | C ₄₅ H ₈₄ NO ₈ P | +CH ₃ COO | 856.606 2 | 2.04 | 0.35 | <0.001 | 2.15 | 0.48 | <0.001 |

LysoPC-溶血磷脂酰胆碱 PC-磷脂酰胆碱

LysoPC-lysophosphatidylcholine PC-phosphatidylcholines

表 2 肝脏中筛选的差异脂质及变化趋势

Table 2 Differential lipids screened in liver and their changing trends

| 代谢物 | <i>t_R</i> /min | 分子式 | 加合离子 | 计算值 (<i>m/z</i>) | 对照组 vs 模型组 | | | 绞股蓝总苷组 vs 模型组 | | |
|-----------------|---------------------------|---|----------------------|-----------------------|------------|------|------------|---------------|------|------------|
| | | | | | VIP | Fold | <i>P</i> 值 | VIP | Fold | <i>P</i> 值 |
| LysoPC (18 : 0) | 2.34 | C ₂₆ H ₅₄ NO ₇ P | +H | 524.371 1 | 1.50 | 1.55 | <0.001 | 2.63 | 1.74 | <0.001 |
| PC (38 : 6) | 6.95 | C ₄₆ H ₈₀ NO ₈ P | +H | 806.569 4 | 7.13 | 4.58 | <0.001 | 4.22 | 1.64 | <0.001 |
| PC (40 : 6) | 7.82 | C ₄₈ H ₈₄ NO ₈ P | +H | 834.600 7 | 4.70 | 3.83 | <0.001 | 3.40 | 1.75 | <0.001 |
| PC (32 : 0) | 7.92 | C ₄₀ H ₈₀ NO ₈ P | +H | 734.569 4 | 2.68 | 3.37 | <0.001 | 2.57 | 2.18 | <0.001 |
| PC (40 : 7) | 7.97 | C ₄₈ H ₈₂ NO ₈ P | +H | 832.585 1 | 2.29 | 2.65 | <0.001 | 2.42 | 1.85 | <0.001 |
| TAG (50 : 4) | 14.19 | C ₅₃ H ₉₄ O ₆ | +NH ₄ | 844.738 9 | 1.72 | 0.38 | <0.001 | 2.73 | 0.31 | <0.001 |
| TAG (52 : 5) | 14.28 | C ₅₅ H ₉₆ O ₆ | +NH ₄ | 870.754 5 | 2.82 | 0.44 | <0.001 | 4.51 | 0.35 | <0.001 |
| TAG (50 : 3) | 14.58 | C ₅₃ H ₉₆ O ₆ | +NH ₄ | 846.754 5 | 3.75 | 0.37 | <0.001 | 5.81 | 0.32 | <0.001 |
| TAG (52 : 4) | 14.65 | C ₅₅ H ₉₈ O ₆ | +NH ₄ | 872.770 2 | 6.59 | 0.47 | <0.001 | 8.89 | 0.54 | <0.001 |
| TAG (56 : 6) | 14.69 | C ₅₉ H ₁₀₂ O ₆ | +NH ₄ | 924.801 5 | 3.41 | 0.31 | <0.001 | 3.39 | 0.59 | 0.002 |
| TAG (51 : 2) | 15.12 | C ₅₄ H ₁₀₀ O ₆ | +NH ₄ | 862.785 8 | 2.21 | 0.34 | <0.001 | 3.22 | 0.36 | <0.001 |
| TAG (53 : 3) | 15.15 | C ₅₆ H ₁₀₂ O ₆ | +NH ₄ | 888.801 5 | 2.08 | 0.21 | <0.001 | 2.60 | 0.43 | <0.001 |
| TAG (56 : 5) | 15.22 | C ₅₉ H ₁₀₄ O ₆ | +NH ₄ | 926.817 1 | 3.21 | 0.17 | <0.001 | 3.02 | 0.56 | 0.001 |
| TAG (53 : 2) | 15.44 | C ₅₆ H ₁₀₄ O ₆ | +NH ₄ | 890.817 1 | 1.92 | 0.26 | <0.001 | 2.43 | 0.46 | <0.001 |
| LysoPE (20 : 4) | 1.28 | C ₂₅ H ₄₄ O ₇ NP | -H | 500.279 6 | 2.54 | 1.52 | <0.001 | 3.28 | 1.84 | <0.001 |
| FA (22 : 6) | 2.44 | C ₂₂ H ₃₂ O ₂ | -H | 327.233 0 | 1.53 | 1.85 | 0.004 | 3.48 | 2.86 | 0.001 |
| PC (37 : 3) | 8.36 | C ₄₅ H ₈₄ NO ₈ P | +CH ₃ COO | 856.606 2 | 3.01 | 0.34 | <0.001 | 2.69 | 0.54 | <0.001 |

LysoPE-溶血磷脂酰乙醇胺 FA-脂肪酸

LysoPE-lysophosphatidylethanolamine FA-fatty acid

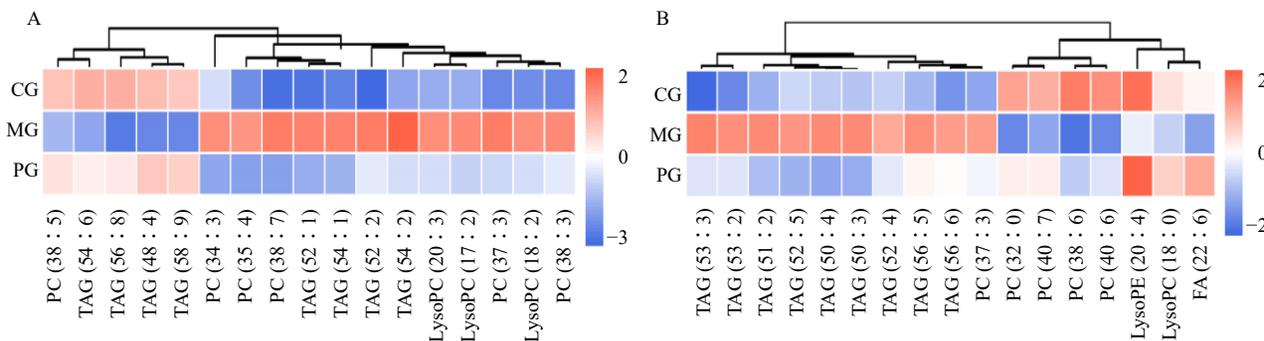


图 5 差异脂质在血清 (A) 和肝脏 (B) 中相对峰强度的热图

Fig. 5 Relative intensity of significantly differential lipids in serum (A) and liver (B)

4 个溶血磷脂酰胆碱、1 个溶血磷脂酰乙醇胺、1 个不饱和脂肪酸。根据组间差异脂质种类和已报道的脂质代谢通路拟合获得绞股蓝总苷的降血脂作用所涉及的脂质代谢通路 (图 6), 提示绞股蓝总苷可能通过调节 TAG、磷脂酰胆碱、脂肪酸的代谢与利用, 进而发挥调血脂作用。

TAG 是生物体的主要储能形式, 与能量代谢平衡密切相关。TAG 水平异常升高是高血脂症的典型特征, 显著增加肥胖、脑血栓、中风的风险^[9]。肝脏中 TAG 的水平过高还会导致脂肪肝、胰岛 B 细胞损伤和胰岛素抵抗^[10-11]。TAG 还可以通过甘油二酯途径合成磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺, 影响脂质代

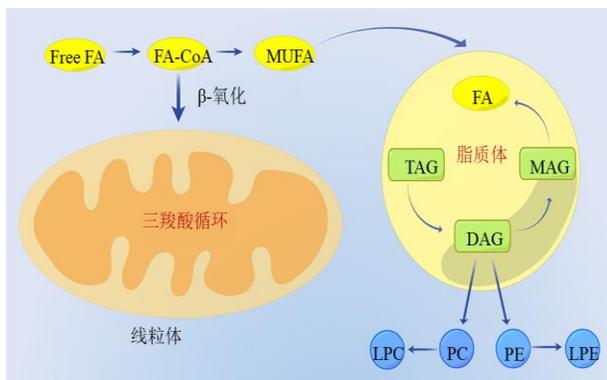


图 6 绞股蓝总苷调血脂作用涉及的脂质代谢通路

Fig. 6 Lipid metabolism pathway involved in anti-hyperlipidemic effect of gypenosides

谢, 以及分解为甘油和脂肪酸, 通过三羧酸循环途径影响能量代谢。在本研究中, 与对照组比较, 模型组血清中 TAG(52:2)、TAG(54:2)、TAG(52:1)、TAG(54:1)的水平显著升高, TAG(48:4)、TAG(58:9)、TAG(56:8)、TAG(54:6)的水平显著降低; 肝脏中 TAG(50:4)、TAG(52:5)、TAG(50:3)、TAG(52:4)、TAG(56:6)、TAG(51:2)、TAG(53:3)、TAG(56:5)的水平显著升高, 在绞股蓝总苷干预后都有回调至正常的趋势。统计血清和肝脏中差异 TAG 的总峰面积, 结果显示模型组较对照组显著升高, 在绞股蓝总苷干预后显著降低, 与生化指标趋势一致。

甘油磷脂是细胞膜的重要组成成分, 参与了细胞膜对蛋白质的识别和信号传导。甘油磷脂是胆汁的活性成分之一, 通过诱导炎症反应和免疫反应在高脂血症中扮演着重要角色^[12]。甘油磷脂主要分为磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺等。磷脂酰胆碱在维持细胞环境和胆固醇代谢稳态中起着重要作用, 扮演着血管“清道夫”角色, 能够减少胆固醇和 TAG 在血管中沉积, 调节血脂水平, 改善动脉粥样硬化^[13]。与对照组比较, 模型组血清中 PC(34:3)、PC(38:7)、PC(38:3)、PC(35:4)、PC(37:3)的水平显著升高, PC(38:5)的水平显著降低; 模型组肝脏中 PC(37:3)的水平显著升高, PC(38:6)、PC(40:6)、PC(32:0)、PC(40:7)的水平显著降低, 在绞股蓝总苷干预后均有回调至正常水平的趋势, 对磷脂酰胆碱代谢紊乱表现出了较好的调节作用。其中 PC(34:3)、PC(38:3)、PC(38:6)、PC(32:0)的变化趋势与文献报道^[14]一致, 可以作为绞股蓝总苷调血脂作用的潜在生物标志物。

溶血磷脂酰胆碱是由磷脂酶 A2 水解低密度脂蛋白中的氧化磷脂酰胆碱产生, 是氧化型低密度脂蛋白的主要活性成分^[15], 部分溶血磷脂酰胆碱还可以通过激活过氧化物酶体增殖物激活受体 γ , 调节血管内皮细胞的增殖和凋亡^[15]。过量的溶血磷脂酰胆碱还可能引发炎症和自身免疫反应, 影响高脂血症相关疾病的发展过程^[16]。与对照组相比, 模型组血清中 LysoPC(17:2)、LysoPC(18:2)、LysoPC(20:3)的水平显著升高, 肝脏中 LysoPC(18:0)的水平显著降低, 在绞股蓝总苷干预后均有回调至正常水平的趋势, 其中 LysoPC(20:3)、LysoPC(18:0)和 LysoPC(18:2)的变化趋势与文献^[8,17]一致, 可以作为绞股蓝总苷调血脂作用的潜在生物

标志物。溶血磷脂酰乙醇胺是磷脂酶 A1 水解磷脂酰乙醇胺的产物, 能够促进低密度脂蛋白胆固醇的清除, 参与合成多不饱和脂肪酸, 与心脑血管疾病负相关。与对照组相比, 模型组肝脏中 LysoPE(20:4)的水平显著降低, 在绞股蓝总苷干预后上升至正常水平, 可能在绞股蓝总苷调血脂作用中扮演了重要角色。

二十二碳六烯酸是重要的 ω -3 多不饱和脂肪酸, 长期摄入二十二碳六烯酸显著降低动脉粥样硬化、冠心病等高脂血症相关疾病发生的风险, 还能显著降低 TAG 的水平^[18]。在本研究中, 模型组肝脏中二十二碳六烯酸的水平显著降低, 在绞股蓝总苷干预后显著升高并超过对照组水平。

综上所述, 绞股蓝总苷的调血脂作用确切。本研究基于脂质组学技术初步明确了绞股蓝总苷的调血脂作用可能与调节 TAG、甘油磷脂、不饱和脂肪酸代谢有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Chen Y T, Li K P, Zhao H, *et al.* Integrated lipidomics and network pharmacology analysis to reveal the mechanisms of berberine in the treatment of hyperlipidemia [J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 412.
- [2] Yan L, Han P, Man J, *et al.* Discovery of lipid profiles of type 2 diabetes associated with hyperlipidemia using untargeted UPLC Q-TOF/MS-based lipidomics approach [J]. *Clin Chim Acta*, 2021, 520: 53-62.
- [3] 诸夔姝, 寿旗扬, 田雨闪, 等. 绞股蓝治疗糖尿病的效应成分群及作用机制研究进展 [J]. *中草药*, 2020, 51(8): 2248-2257.
- [4] 张瑶丹, 姜新宇, 操兰洁, 等. 绞股蓝总苷颗粒改善高脂血症 C57BL/6J 小鼠脂代谢的研究 [J]. *中国药科大学学报*, 2019, 50(6): 713-720.
- [5] 史琳, 王志成, 时圣明, 等. 绞股蓝皂苷水解产物化学成分和药理作用研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2017, 40(5): 711-716.
- [6] Wang M, Wang F, Wang Y N, *et al.* Metabonomics study of the therapeutic mechanism of *Gynostemma pentaphyllum* and atorvastatin for hyperlipidemia in rats [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e78731.
- [7] Song Y N, Dong S, Wei B, *et al.* Metabolomic mechanisms of gypenoside against liver fibrosis in rats: An integrative analysis of proteomics and metabolomics data [J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0173598.
- [8] Miao H, Chen H, Pei S W, *et al.* Plasma lipidomics reveal profound perturbation of glycerophospholipids, fatty acids,

- and sphingolipids in diet-induced hyperlipidemia [J]. *Chem Biol Interact*, 2015, 228: 79-87.
- [9] 刘欢欢, 吴勇, 李莹, 等. 血清甘油三酯水平与动脉粥样硬化性心血管疾病发生风险的前瞻性研究 [J]. *中国循环杂志*, 2019, 34(2): 122-127.
- [10] Chu C A, Sherck S M, Igawa K, *et al*. Effects of free fatty acids on hepatic glycogenolysis and gluconeogenesis in conscious dogs [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002, 282(2): E402-E411.
- [11] Rhee E P, Cheng S S, Larson M G, *et al*. Lipid profiling identifies a triacylglycerol signature of insulin resistance and improves diabetes prediction in humans [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(4): 1402-1411.
- [12] 周小理, 张欢, 周一鸣, 等. 基于代谢组学研究苦荞蛋白对高脂血症小鼠的干预作用 [J]. *食品科学*, 2019, 40(5): 149-155.
- [13] 张世明, 齐冬梅, 曹艺明, 等. 钩藤干预自发性高血压大鼠肝脏代谢紊乱的脂质组学研究 [J]. *药学学报*, 2019, 54(9): 1636-1644.
- [14] Castro-Perez J M, Roddy T P, Shah V, *et al*. Identifying static and kinetic lipid phenotypes by high resolution UPLC-MS: Unraveling diet-induced changes in lipid homeostasis by coupling metabolomics and fluxomics [J]. *J Proteome Res*, 2011, 10(9): 4281-4290.
- [15] Tsukahara T, Matsuda Y, Haniu H. Lysophospholipid-related diseases and PPAR γ signaling pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(12): E2730.
- [16] Ma N, Yang Y J, Liu X W, *et al*. UPLC-Q-TOF/MS-based metabonomic studies on the intervention effects of aspirin eugenol ester in atherosclerosis hamsters [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 10544.
- [17] Ma N, Liu X W, Kong X J, *et al*. Feces and liver tissue metabonomics studies on the regulatory effect of aspirin eugenol ester in hyperlipidemic rats [J]. *Lipids Health Dis*, 2017, 16(1): 240.
- [18] Schmocker C, Zhang I W, Kiesler S, *et al*. Effect of omega-3 fatty acid supplementation on oxylipins in a routine clinical setting [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1): 180.

[责任编辑 李亚楠]