

· 基础研究 ·

基于 N-糖基化修饰组学探究人参皂苷 Rb1 改善
高脂血症大鼠脂代谢紊乱机制马艺鑫¹ 宁顺宇² 陈 丝¹ 冷 雪¹ 贾连群¹ 杨关林¹

摘要 **目的** 通过研究人参皂苷 Rb1 对高脂血症大鼠血浆 N-糖基化修饰组学的影响,在蛋白质修饰水平探讨人参皂苷 Rb1 对脂代谢紊乱的作用机制。**方法** SPF 级 SD 大鼠 24 只,随机分为正常对照组、高脂组与 Rb1 组,每组 8 只。高脂组与 Rb1 组饲喂高脂饲料 4 周。Rb1 组从第 5~12 周给予人参皂苷 Rb1 200 mg/(kg·d) 灌胃,正常对照组与高脂组同期给予等体积生理盐水灌胃,给药期间高脂组与 Rb1 组继续给予高脂喂养。12 周后,全自动生化分析仪检测血清血脂[总胆固醇(TC)、总甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)]水平,HE 与油红 O 染色观测肝组织形态学变化与脂质沉积情况。N-糖基化修饰组学探究人参皂苷 Rb1 改善高脂血症大鼠脂代谢紊乱的作用机制。**结果** 与正常对照组比较,高脂组血清 TC、TG、LDL-C 水平升高, HDL-C 水平降低 ($P<0.01$); 与高脂组比较, Rb1 组血清 TC、TG 降低 ($P<0.01$, $P<0.05$), HDL-C 水平升高 ($P<0.05$)。形态学结果显示人参皂苷 Rb1 能够显著改善高脂血症大鼠肝脏组织结构与脂质沉积。N-糖基化修饰组学结果表明, 53 个糖基化修饰蛋白的 98 个位点在两个比较组中(高脂组与正常对照组比较及 Rb1 组与高脂组比较)发生共同改变,白蛋白(Alb)与 Serpinc1 是修饰位点改变最多的蛋白;基因本体(GO)功能分析发现差异修饰糖蛋白主要参与到炎症反应(Serpinc1)、细胞铁离子稳态[铜蓝蛋白(Cp)]和胆固醇流出的正向调节[对氧磷酶 1(PON1)和低密度脂蛋白受体相关蛋白 1(lrp1)]等生物学过程中;京都基因与基因组百科全书(KEGG)分析发现补体和凝血级联反应是富集差异修饰蛋白最多的通路。**结论** 人参皂苷 Rb1 可能通过调节胆固醇流出、细胞铁离子稳态、炎症反应以及补体和凝血级联反应等过程中相关蛋白的 N-糖基化修饰水平,调节血脂紊乱,改善肝脏脂质沉积。

关键词 人参皂苷 Rb1; N-糖基化修饰组学; 高脂血症; 血浆; 中药提取物

Mechanism of Ginsenoside Rb1 in Improving Lipid Metabolism Disorder in Hyperlipidemia Rats Based on N-glycoproteomic Analysis MA Yi-xin¹, NING Shun-yu², CHEN Si¹, LENG Xue¹, JIA Lian-qun¹, and YANG Guan-lin¹ 1 Key Laboratory of Ministry of Education for Traditional Chinese Medicine Viscera-State Theory and Applications, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang (110847); 2 Preventive Medicine Department, The Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang (110032)

ABSTRACT **Objective** To investigate the effect of ginsenoside Rb1 on N-glycosylation of plasma proteins in hyperlipidemia rats and to explore the mechanism of ginsenoside Rb1 on lipid metabolism disorder at protein modification level. **Methods** Totally 24 SPF SD rats were randomly divided into normal control group, hyperlipidemia group and Rb1 group, with 8 rats in each group. The hyperlipidemia group and Rb1 group were fed high fat diet for 4 weeks. Rb1 group was given ginsenoside Rb1 200 mg·kg⁻¹·d⁻¹ in gavage from week 5 to week 12, and normal control group and hyperlipidemia group were given equal volume of normal saline in gavage

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No. 82074145, No. 81974548); 国家自然科学基金青年基金项目(No. 82104552); 辽宁省教育厅一般项目(No. L201947, No. L202027); 辽宁省自然基金项目(No. 2020-BS-166)

作者单位: 1. 辽宁中医药大学中医脏象理论及应用教育部重点实验室(沈阳 110847); 2. 辽宁中医药大学附属医院治未病科(沈阳 110032)

通讯作者: 贾连群, Tel: 024-31207020, E-mail: jllq-8@163.com

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20230719.086

at the same time. The hyperlipidemia group and Rb1 group continued high fat diet during administration. After 12 weeks, serum lipid levels [total cholesterol (TG), total triglycerides (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C)] were detected by automatic biochemical analyzer, liver histomorphology and lipid deposition were observed by HE and oil red O staining. The mechanism of ginsenoside Rb1 in improving lipid metabolism disorder in hyperlipidemia rats was investigated by N-glycoproteomic analysis.

Results Compared with normal control group, serum TC, TG and LDL-C level in hyperlipidemia group increased, while HDL-C level decreased ($P<0.01$). Compared with hyperlipidemia group, serum TC and TG in Rb1 group decreased ($P<0.01$, $P<0.05$), and HDL-C level increased ($P<0.05$). Morphological results showed that ginsenoside Rb1 could significantly improve liver tissue structure and lipid deposition in hyperlipidemia rats. Analyses of N-glycosylation sites distribution found that 98 differential N-glycosylation sites on 53 glycoproteins between 2 comparison groups (hyperlipidemia group vs. normal control group, Rb1 group vs. hyperlipidemia group) were identified, and albumin (Alb) and Serpinc1 were most heavily modified. Gene Ontology enrichment analysis showed that differential modified glycoproteins were involved in inflammatory response (Serpinc1), cellular iron ion homeostasis (ceruloplasmin) and positive regulation of cholesterol efflux (paraonase 1 and LDL receptor-related protein 1) etc. biological process. Complement and coagulation cascades was the most significant enriched in the KEGG pathway enrichment analysis. **Conclusion** Ginsenoside Rb1 may regulate blood lipid disorders and improve liver lipid deposition by regulating cholesterol effluence, cell iron homeostasis, inflammatory response, complement and coagulation cascade and other related protein N-glycosylation modification levels.

KEYWORDS ginsenoside Rb1; N-glycoproteomic; hyperlipidemia; plasma; Chinese herbal extract

血脂异常是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 性心血管疾病的重要危险因素, 2016 年修订版《中国成人血脂异常防治指南》指出 2010—2030 年我国心血管病事件将增加约 920 万^[1]。人参皂苷 Rb1 是中药人参的一种重要活性成分, 具有具有调节血脂、抗肥胖、抗 AS 等多种生物学功能^[2, 3]。课题组前期研究发现, 人参皂苷 Rb1 能够通过抑制高脂血症大鼠肝脏细胞焦亡改善脂代谢紊乱^[4]; 多组学分析发现, 人参皂苷 Rb1 通过调节甘油磷脂代谢中磷脂酰胆碱的合成和分解调节血脂^[5]。本研究将从蛋白修饰层面探讨人参皂苷 Rb1 调节脂代谢的分子机制。蛋白质糖基化是蛋白质翻译后最常见的过程之一, 超过 50% 的哺乳动物蛋白被糖基化^[6]。血浆蛋白来自组织和器官, 多由聚糖修饰, 血浆蛋白及其聚糖是监测健康状况的良好指标^[7]。近年来研究发现, 蛋白质糖基化在维持脂质稳态中发挥重要作用^[8, 9]。本实验结合同位素串联质量标签 (tandem mass tags, TMT) 标记、亲和富集与高分辨率液相色谱-串联质谱法 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS) 分析等工作流程对高脂血症大鼠血浆进行 N-糖基化修饰组学定量分析, 旨在蛋白质修饰水平揭示人参皂苷 Rb1 调节脂代谢紊乱的作用机制。

材料与方法

1 动物 SPF 级健康 SD 大鼠 24 只, 雄性,

体重 (230 ± 10) g, 购买于辽宁长生生物科技股份有限公司提供, 动物合格证号: SCXK (辽) 2020-0001, 生产合格证号: SCXK (辽) 2013-0009。饲养于辽宁中医药大学实验动物中心, 自由摄食与饮水。本研究经辽宁中医药大学伦理委员会批准并监督研究方案 (No. 2019022)。

2 试剂与仪器 人参皂苷 Rb1 (500 mg, 纯度 $>98\%$, 批号: 41753-43-9) 购自西安天丰生物科技有限公司; 油红 O 染色试剂盒 (C0157M) 与 HE 染色试剂盒 (批号: C0105M) 均购自碧云天生物技术。全自动生化分析仪 (TBA-120FR, 日本东芝公司)、全自动脱水机 (Leica ASP 6025, 德国莱卡公司)、包埋机 (Leica EG 1150H, 德国莱卡公司)、冰冻切片机 (CM1850-1-1, 德国莱卡公司)、显微镜 (DFC320, 德国莱卡公司)。

3 模型制备及分组方法 将 24 只 SPF 级健康雄性 SD 大鼠按照随机数字表法随机分为 3 组: 正常对照组、高脂组 and Rb1 组。高脂血症大鼠模型采用经典高脂喂养法^[10]。正常对照组饲喂普通饲料, 高脂组 and Rb1 组饲喂高脂饲料 (10% 猪油、1% 胆固醇、0.5% 胆酸钠、0.2% 甲基氧嘧啶硫、5% 蔗糖、83.3% 普通饲料)。4 周后尾静脉采血血脂检测, 正常对照组大鼠均血脂正常, 高脂组 and Rb1 组大鼠均血脂升高判定为高脂血症模型造模成功, 将造模成功的大鼠纳入高脂组 and Rb1 组进行后续研究。Rb1 组第

5~12 周给予人参皂苷 Rb1 200 mg/(kg·d) 灌胃(根据成人剂量换算大鼠剂量,成人每日口服剂量为 2 g,标准成人体重 70 kg,按照单位剂量体重换算,大鼠等效剂量是人的 6.3 倍),正常对照组和高脂组同期给予等量生理盐水灌胃。实验 12 周后,所有大鼠 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉。腹主动脉取血 10 mL,置于抗凝管中,静置 30 min 后,3 500 r/min 离心 25 min,收集血清和血浆,-80 ℃ 保存。部分肝脏组织 4% 多聚甲醛溶液固定,部分 -80 ℃ 保存。

4 检测指标及方法

4.1 血脂检测 全自动生化分析仪检测血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、总甘油三酯(total triglycerides, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)水平。

4.2 HE 染色 4% 多聚甲醛溶液固定的肝脏置于全自动脱水机中脱水处理,包埋机包埋,切片 5 μm、展片、摊片、烘片后,采用 HE 染色试剂盒染色,中性树胶封片后在显微镜下观察肝脏形态学。

4.3 油红 O 染色 4% 多聚甲醛溶液固定的肝脏蔗糖置换后包埋,将包埋后的肝脏固定于冰冻切片机上切片 5 μm,油红 O 染色试剂盒染色,封片后在显微镜下观察肝脏中脂质沉积情况。

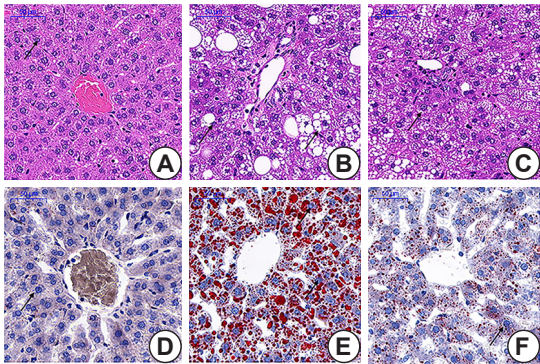
4.4 N-糖基化修饰组学检测 检测样本为大鼠血浆,N-糖基化修饰组学委托杭州景杰生物科技股份有限公司检测。依次进行蛋白质提取、胰蛋白酶消化、TMT 标记、高效液相色谱分离、亲和富集、LC-MS/MS 分析、数据库检索、质谱质量控制。本项目通过多次修饰定量重复实验,分别得到了每个样本在多次重复中的定量值以便排除可能的干扰。生物信息学分析用于构建注释和差异修饰蛋白。基因本体(Gene Ontology, GO)注释蛋白质组来源于 UniProt-GOA 数据库(<http://www.ebi.ac.uk/GOA/>)。使用京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)数据库对蛋白质通路进行注释。

5 统计学方法 采用 GraphPad Prism 5 软件进行统计分析,计数资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠血清血脂水平比较(表 1) 与正常对照组比较,高脂组 TC、TG 和 LDL-C 水平升高($P < 0.01$),HDL-C 水平降低($P < 0.01$);与高脂组比较,Rb1 组血清中 TC、TG 水平降低($P < 0.01$, $P < 0.05$),HDL-C 升高($P < 0.05$)。

2 各组大鼠肝脏形态学变化比较(图 1) HE 染色显示正常对照组肝索排列有序,肝细胞形态结构正常,细胞核位居中央等大正圆。胞浆内未见脂肪空泡样变性,小叶内未见炎症细胞浸润。高脂组肝细胞肿胀圆润,胞质变小,脂滴大。此外,还观察到脂肪空泡和炎症细胞。Rb1 组肝细胞脂肪变性和细胞肿胀程度减轻,脂肪空泡数量减少。油红 O 染色显示,与正常对照组比较,肝细胞中有大量的油红着色的脂质沉积,而 Rb1 组的脂滴染色明显减少。HE 和油红 O 染色显示人参皂苷 Rb1 显著缓解了高脂饮食诱导的肝脏脂质沉积。



注: A、D 为正常对照组; B、E 为高脂组; C、F 为 Rb1 组; A~C 为 HE 染色; D~F 为油红 O 染色; 箭头所指为肝细胞

图 1 各组大鼠肝脏形态学变化比较 (×200)

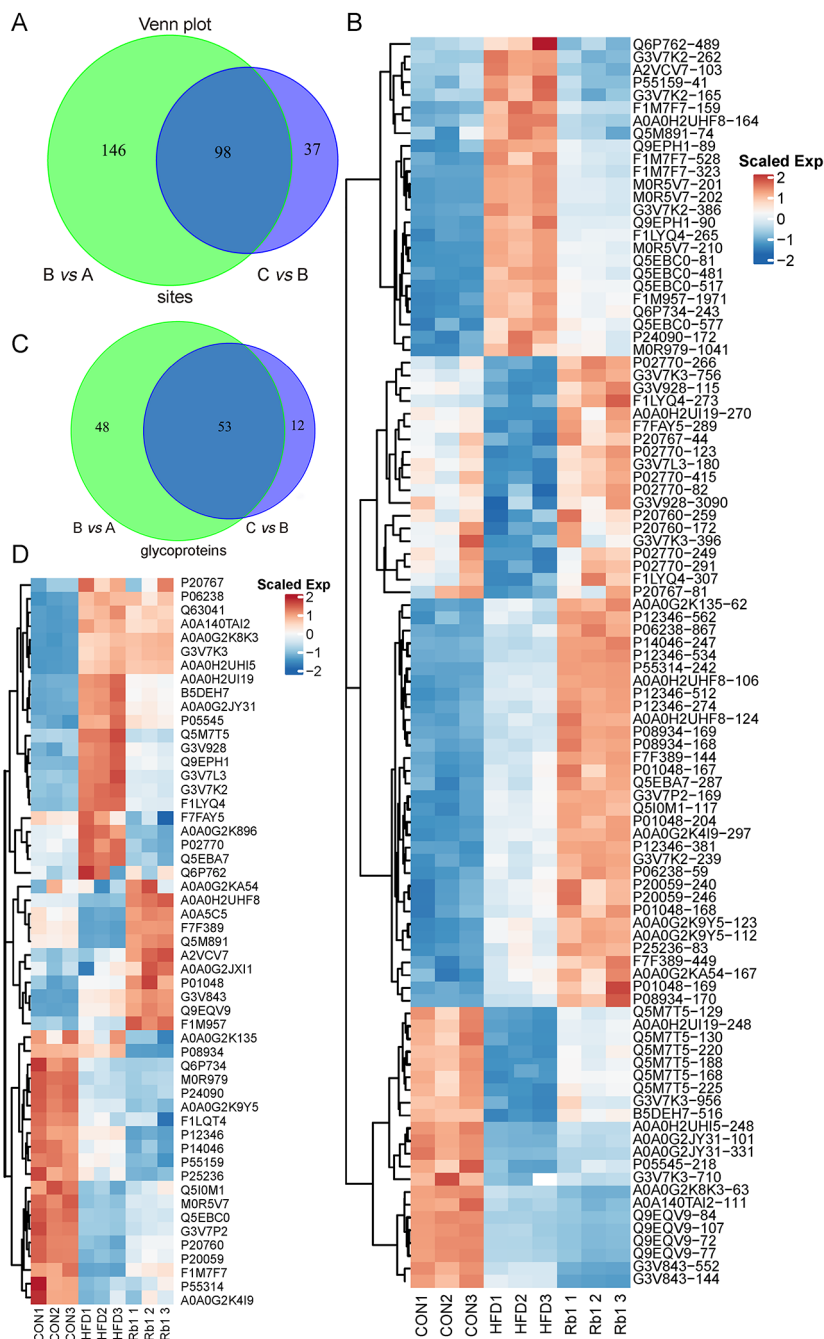
3 N-糖基化修饰组学结果

3.1 差异分析(图 2) 共鉴定到 603 个糖基化修饰位点,其中 576 个位点有定量信息。与正常对照组比较,高脂组中 244 个 N-糖基化位点发生变化,174 个上调,70 个下调;与高脂组比较,Rb1 组有 135 个 N-糖基化位点修饰发生变化,其中 88 个上调,47 个下调。继续对 2 个比较组的结果取交集进行分析,发现 53 个糖蛋白(图 2C 和 2D)上有 98 个差异 N-糖基化位点(图 2A 和图 2B)在 2 个比较组中发生变化。

表 1 各组大鼠血清血脂水平比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常对照	8	0.58 ± 0.07	1.61 ± 0.15	1.26 ± 0.13	0.40 ± 0.15
高脂	8	1.29 ± 0.24*	2.13 ± 0.10*	1.05 ± 0.09*	0.60 ± 0.13*
Rb1	8	1.08 ± 0.20 [△]	1.80 ± 0.13 ^{△△}	1.20 ± 0.17 [△]	0.52 ± 0.04

注:与正常对照组比较, * $P < 0.01$;与高脂组比较, $^{\Delta} P < 0.05$, $^{\Delta\Delta} P < 0.01$

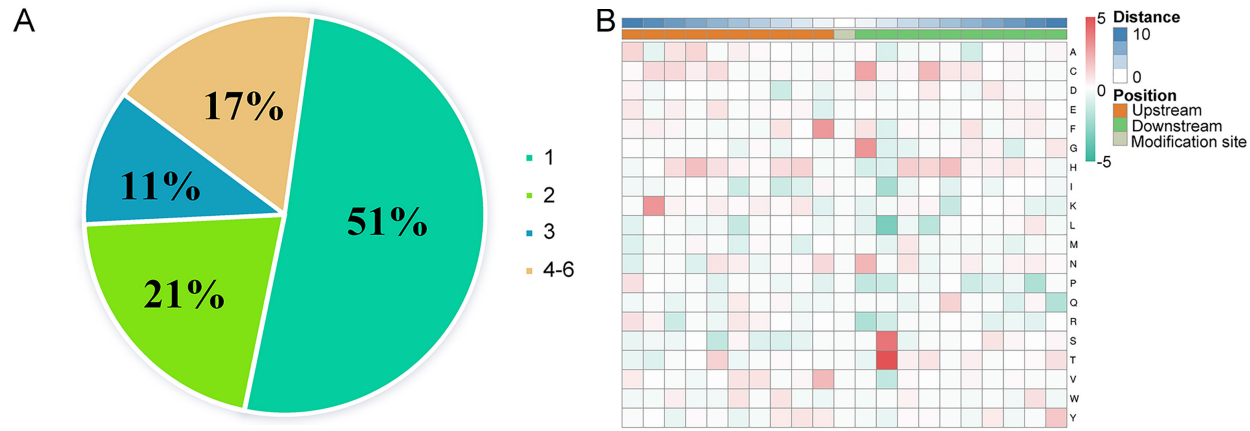


注:A为差异N-糖基化修饰位点韦恩图;B为差异N-糖基化修饰位点热图;C为差异N-糖基化修饰位点所属糖蛋白维恩图;D为差异N-糖基化修饰位点所属糖蛋白热图

图2 N-糖基化差异修饰位点和修饰的糖蛋白

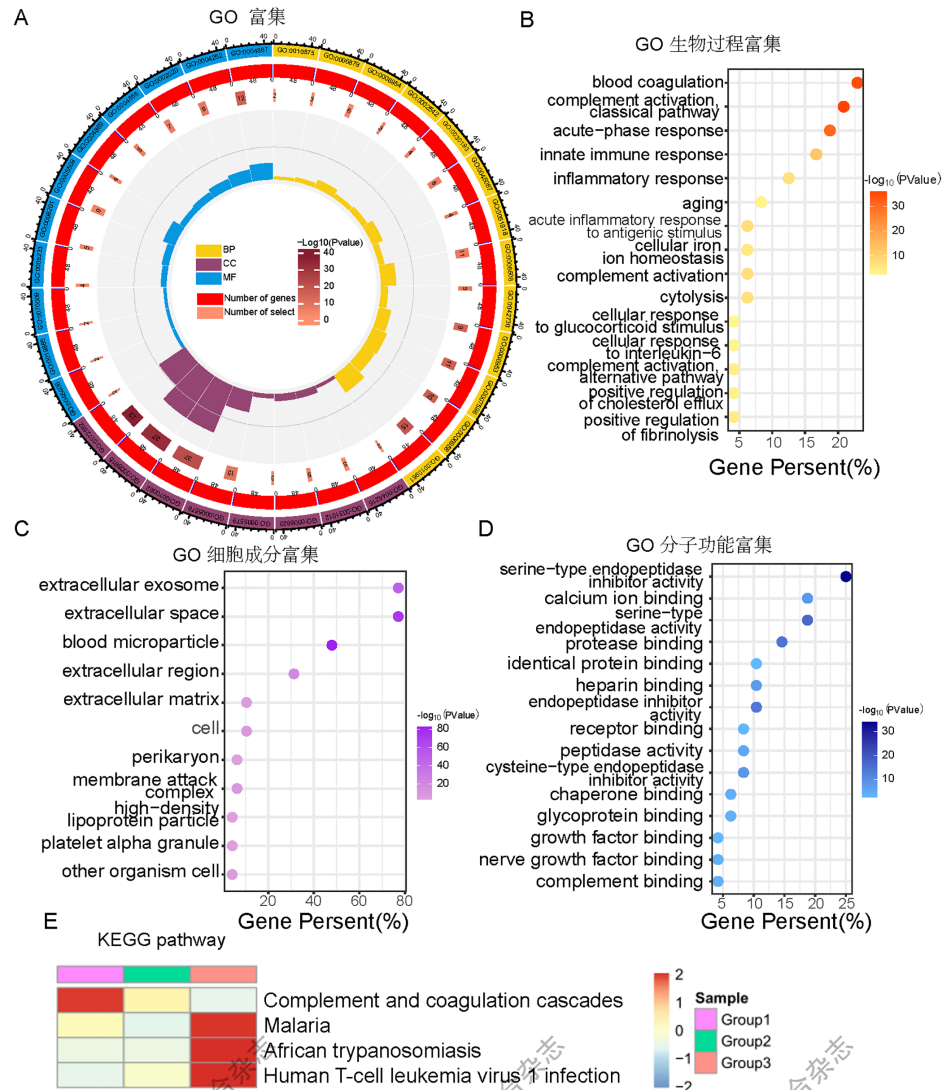
3.2 N-糖基化位点分布分析(图3)结果显示51%差异修饰糖蛋白只能找到一个差异修饰位点。21%、11%、17%的糖蛋白鉴定出2、3个或3个以上的位点(图3A)。Serpinc1和白蛋白(albumin, Alb)两个蛋白有6个N-糖基化位点发生变化,是改变位点最多的蛋白。Tf、Cpb2、Lifr、铜蓝蛋白(ceruloplasmin, Cp)、Map1和Itih4也鉴定出4个以上的N-糖基化位点。N-糖基化序列基序分析如图3B所示。

3.3 差异N-糖基化修饰位点所属糖蛋白功能分析(图4、5)在共同改变的53个差异修饰糖蛋白中有48个有明确的身份信息。GO细胞成分分析结果显示,这些糖蛋白主要分布在细胞外空间(77.08%)、细胞外泌体(77.08%)、血液微粒(47.92%)和细胞外区(31.25%)。在GO分子功能方面,主要富集到丝氨酸型内肽酶抑制剂活性、丝氨酸型内肽酶活性和糖蛋白结合活性等功能(图4C)。在GO生物过程中,富集到的胆固醇外排的正向调节、



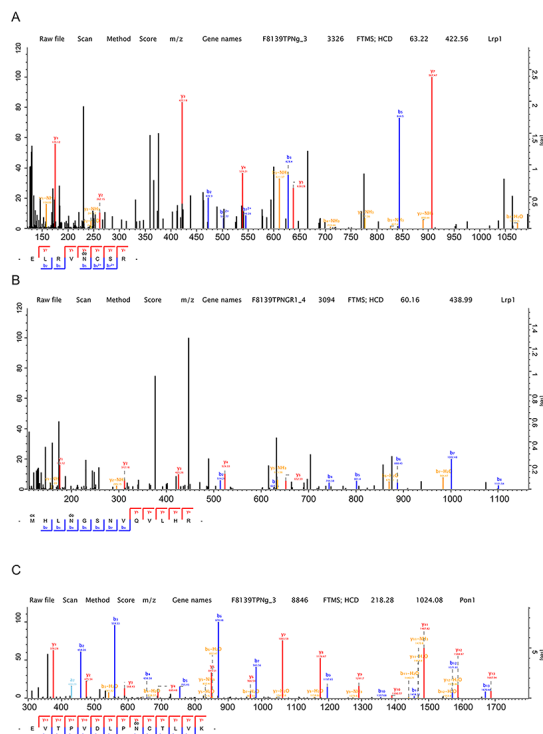
注: A 为单个和多个 N-糖基化的分布; B 为糖基化修饰位点上游和下游氨基酸基序富集的热图; 红色表示修饰位点附近的氨基酸显著富集, 绿色表示修饰位点附近的氨基酸显著减少

图 3 N-糖基化位点分布和氨基酸基序分析



注: A 为 GO 富集循环图; B 为 GO 生物过程; C 为 GO 细胞成分; D 为 GO 分子功能; E 为 KEGG 富集分析; B、C、D 图 y 轴表示富集项, x 轴表示基因百分比

图 4 N-糖基化差异修饰糖蛋白的 GO 与 KEGG 分析



注: A 为 PON1 (Asn 41) 质谱图; B 为 Lrp1 质谱图 (Asn 3090); C 为 Lrp1 (Asn 115) 质谱图

图 5 PON1 和 Lrp1 质谱图

炎症反应、细胞铁离子稳态脂代谢紊乱机制密切相关 (图 4D), 其中胆固醇外排的正向调节与脂代谢关系最为密切。对氧磷酶 1 (paraoxonase 1, PON1) 和低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 (LDL receptor-related protein 1, Lrp1) 是该过程中富集到的两个重要蛋白。与正常对照组比较, 高脂组中 PON1 的 Asn 41 位点修饰水平上调, Lrp1 的 Asn 3090 和 Asn 115 位点修饰水平下调, 而 Rb1 可以逆转上述差异修饰水平。PON1 和 LRP1 的质谱图如图 5 所示。

KEGG 分析显示, 补体和凝血级联通路是改变最显著的通路 (图 4E)。在这条途径中, 有 20 个蛋白质的 41 个位点发生了改变, 可能与样品是血浆组织密切相关。

讨 论

课题组前期研究发现, 人参皂苷 Rb1 对高脂血症大鼠以及 ApoE^{-/-} AS 小鼠模型脂代谢紊乱具有改善作用^[4, 5], 但目前尚缺乏更加全面机制的探讨。本实验在证实 Rb1 对高脂血症大鼠治疗作用的基础上, 通过结合 TMT 标记和亲水作用色谱富集建立了 N-糖蛋白组学的定量流程, 首次揭示了高脂饮食诱导的高脂血症大鼠血浆糖蛋白的异常 N-糖基化以及 Rb1 的干预机制, 确定了 53 个差异修饰蛋白和 98 个位点。

通过研究发现 Alb 和 Serpinc1 的修饰位点改变最多。Alb 是血液中脂肪酸的主要载体之一, 参与了长链脂肪酸从血液向细胞和线粒体的运输^[11]。Alb 与脂肪酸结合可以降低脂肪酸的毒性, 减少脂肪酸对细胞的损伤^[12]。本研究中, Alb 6 个修饰位点 (Asn123、Asn291、Asn266、Asn249、Asn415、Asn82) 的糖基化水平下调。这些变化可能会影响 Alb 与脂肪酸的结合能力, 从而影响脂质稳态。Serpinc1 又被称为 C1-INH, 是控制经典通路激活的主要因素, 研究发现 C1-INH 与慢性炎症、内皮功能障碍和心血管疾病之间存在线性关系^[13]。有报道称, C1-INH 可降低 ApoE^{-/-} 小鼠血清 TG 水平, 限制新内膜斑块的形成和炎症^[14]。本研究中, 高脂饲料显著下调了 C1-INH 的 Asn130、Asn225、Asn129、Asn188、Asn168、Asn220 的 N-糖基化修饰水平, 这可能对 C1-INH 的功能产生影响。在本实验中, 人参皂苷 Rb1 逆转了 12 个位点的下调, 提示 Rb1 可能通过增强 Alb 和 Serpinc1 的糖基化修饰水平发挥治疗作用。

根据 GO 富集分析结果, 发现胆固醇外排的正向调节、细胞铁离子稳态和炎症反应这 3 个生物学过程与脂质稳态密切相关。PON1 和 Lrp1 是参与正向调节胆固醇外排的重要蛋白, 它们的糖基化水平在维持脂质稳态中发挥重要作用^[15, 16]。PON1 是一种抗氧化和抗炎糖蛋白, 来自对氧磷酶家族。它主要在肝脏中表达, 并分泌到血液中与 HDL-C 结合。它可能是 HDL-C 功能障碍的一个重要决定因素^[17]。PON1 蛋白的糖基化影响 PON1 蛋白和 HDL-C 的正常功能^[18]。Marsillach J 等^[18]发现, 慢性肝病和脂肪肝患者血清中肝脏 HDL 中含有大量不活跃的 PON1, 且这些 PON1 蛋白具有高度糖基化, 这与本研究相一致。本研究发现高脂血症大鼠血浆 PON1 蛋白的 N-糖基化水平上调, 人参皂苷可以改善 PON1 的高糖基化水平。Lrp1 是一种多功能的细胞表面受体, 具有多种生理作用, 从细胞内吞摄取脂蛋白和其他物质, 到细胞外环境的传感器和多种信号机制的整合者^[15]。May P 等^[19]认为, 分化的和组织特异性的糖基化可以作为一种生理开关, 以细胞类型特异性的方式调节这些受体的多种生物功能。在本研究中, 高脂血症大鼠血浆中 Lrp1 的 N-糖基化水平下调, Rb1 可以改善 Lrp1 的低糖基化水平。细胞铁离子稳态与脂质稳态相互作用^[20, 21]。在泡沫细胞形成过程中, 铁和脂的生理相互作用阻碍铁的外排并加速巨噬细胞中脂的积累^[22]。Cp 在 3 组比较中有明显变化。与正常对照组比较, 高脂组中 Asn956、

Asn756、Asn710 和 Asn396 的糖基化水平显著下调, 且 Rb1 处理后 4 个位点的糖基化水平逆转。Cp 具有亚铁酶活性, 是细胞铁外排的重要因素。有报道称, Cp 通过调节铁稳态来抑制铁下垂, 并发现其在动脉粥样硬化斑块中下调^[23]。中心型肥胖患者血清中 Cp 水平较高, 且 Cp 浓度与血清 TG、TC 水平密切相关^[24]。Harazono A 等^[25]在人血浆中发现了 7 个 Cp N-糖基化位点。在实验动物水平上, 本研究可能是一种有价值的糖样补充。课题组前期研究发现^[4], 人参皂苷 Rb1 能够抑制脂血症大鼠肝脏炎症反应。在本研究 GO 生物过程炎症反应中, 笔者发现脂肪因子-血栓反应蛋白 1 (thrombospondin 1, THBS1)^[26]的修饰变化。最近的一项研究发现, THBS1 可能通过作用于 CD36 受体发挥抑制脂质过度合成的作用^[27]。本研究发现 Rb1 可以逆转高脂血症大鼠血浆中 THBS1 糖基化水平的上调。

KEGG 通路分析表明, 通路补体和凝血级联是最显著的富集途径。补体系统是先天免疫系统的一部分, 在炎症条件下可以被激活。高脂血症本身会增加一些炎症因子的表达^[28], 也会增加牙周炎和急性胰腺炎等炎症性疾病的风险^[11, 29]。Argilés JM 等^[30]甚至发现给大鼠注射 $\text{IL-1}\beta$ 引起高脂血症, 提示先天免疫系统和高脂血症相互影响。也有报道称高脂血症会激活凝血系统^[31]。事实上, 高脂血症引起的炎症和促凝反应是导致动脉粥样硬化发展的关键因素^[32]。因此, 补体和凝血级联途径中蛋白质 N-糖基化的改变可能是高脂血症引起炎症和促凝反应的重要机制, 而 Rb1 逆转这些修饰提示它可以改善高脂血症对机体的这些不良影响。

本研究对一组被人参皂苷 Rb1 改变的新型 N-糖蛋白进行了全面分析, N-糖蛋白组学结果提示人参皂苷 Rb1 对高脂饲料喂养大鼠的高脂血症有调节作用, 并能改善肝脏脂肪沉积。此外, Alb、Serpinc1、PON1、Lrp1、Cp 和 THBS1 的 N-糖基化以及补体和凝血级联中的差异修饰糖蛋白可能是人参皂苷 Rb1 调节高脂血症的潜在机制。本研究的局限性在于缺乏 N-糖基化抗体的进一步深入研究, 未来将通过体外实验对于发现的问题进行进一步验证。

利益冲突: 无。

参 考 文 献

[1] 诸骏仁, 高润霖, 赵水平, 等. 中国成人血脂异常防治指南 (2016 年修订版) [J]. 中华健康管理学杂志,

2017, 11 (1): 7-28.

[2] Yang X, Dong B, An L, et al. Ginsenoside Rb1 ameliorates glycemic disorder in mice with high fat diet-induced obesity via regulating gut microbiota and amino acid metabolism[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 756491.

[3] Zhou P, Xie W, Luo Y, et al. Inhibitory effects of ginsenoside Rb1 on early atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice via inhibition of apoptosis and enhancing autophagy[J]. Molecules, 2018, 23 (11): 2912.

[4] 于宁, 宋囡, 贾连群, 等. 人参皂苷 Rb1 对高脂血症大鼠肝脏细胞焦亡的影响及其可能机制 [J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35 (7): 1283-1288.

[5] Jia LQ, Ju X, Ma YX, et al. Comprehensive multiomics analysis of the effect of ginsenoside Rb1 on hyperlipidemia[J]. Aging (Albany NY), 2021, 13 (7): 9732-9747.

[6] Dai Z, Zhou J, Qiu SJ, et al. Lectin-based glycoproteomics to explore and analyze hepatocellular carcinoma-related glycoprotein markers[J]. Electrophoresis, 2009, 30 (17): 2957-2966.

[7] Miura Y, Hashii N, Tsumoto H, et al. Change in N-Glycosylation of plasma proteins in Japanese semisupercentenarians[J]. PLoS One, 2015, 10 (11): e0142645.

[8] van den Boogert MAW, Larsen LE, Ali L, et al. N-Glycosylation defects in humans lower low-density lipoprotein cholesterol through increased low-density lipoprotein receptor expression[J]. Circulation, 2019, 140 (4): 280-292.

[9] William JA, Ravi C, Srinivasan M, et al. Crosstalk between protein N-glycosylation and lipid metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Sci Rep, 2019, 9 (1): 14485.

[10] Jia L, Song N, Yang G, et al. Effects of Tanshinone II A on the modulation of miR-33a and the SREBP-2/Pcsk9 signaling pathway in hyperlipidemic rats[J]. Mol Med Rep, 2016, 13 (6): 4627-4635.

[11] Guo C, Zhou HX. Fatty acids compete with A β in binding to serum albumin by quenching its conformational flexibility[J]. Biophys J, 2019, 116 (2): 248-257.

- [12] Serhan CN. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology[J]. *Nature*, 2014, 510 (7503): 92–101.
- [13] Hertle E, Arts ICW, van der Kallen CJH, et al. Classical pathway of complement activation: longitudinal associations of C1q and C1-INH with cardiovascular outcomes: the CODAM study (cohort on diabetes and atherosclerosis maastricht) -brief report[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38 (5): 1242–1244.
- [14] Shagdarsuren E, Bidzhekov K, Djalali-Talab Y, et al. C1-esterase inhibitor protects against neointima formation after arterial injury in atherosclerosis-prone mice[J]. *Circulation*, 2008, 117 (1): 70–78.
- [15] Berrougui H, Loued S, Khalil A. Purified human paraoxonase-1 interacts with plasma membrane lipid rafts and mediates cholesterol efflux from macrophages[J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 52(8): 1372–1381.
- [16] Xian X, Ding Y, Dieckmann M, et al. LRP1 integrates murine macrophage cholesterol homeostasis and inflammatory responses in atherosclerosis[J]. *Elife*, 2017, 6: e29292.
- [17] Variji A, Shokri Y, Fallahpour S, et al. The combined utility of myeloperoxidase (MPO) and paraoxonase 1 (PON1) as two important HDL-associated enzymes in coronary artery disease: which has a stronger predictive role?[J]. *Atherosclerosis*, 2019, 280: 7–13.
- [18] Marsillach J, Aragonès G, Mackness B, et al. Decreased paraoxonase-1 activity is associated with alterations of high-density lipoprotein particles in chronic liver impairment[J]. *Lipids Health Dis*, 2010, 9: 46.
- [19] May P, Bock HH, Nimpf J, et al. Differential glycosylation regulates processing of lipoprotein receptors by gamma-secretase[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278 (39): 37386–37392.
- [20] Li D, Li Y. The interaction between ferroptosis and lipid metabolism in cancer[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5 (1): 108.
- [21] Forcina GC, Dixon SJ. GPX4 at the crossroads of lipid homeostasis and ferroptosis[J]. *Proteomics*, 2019, 19 (18): e1800311.
- [22] Wang Q, Ji J, Hao S, et al. Iron together with lipid downregulates protein levels of ceruloplasmin in macrophages associated with rapid foam cell formation[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2016, 23 (10): 1201–1211.
- [23] Shang Y, Luo M, Yao F, et al. Ceruloplasmin suppresses ferroptosis by regulating iron homeostasis in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Cell Signal*, 2020, 72: 109633.
- [24] Cignarelli M, DePergola G, Picca G, et al. Relationship of obesity and body fat distribution with ceruloplasmin serum levels[J]. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 1996, 20 (9): 809–813.
- [25] Harazono A, Kawasaki N, Itoh S, et al. Site-specific N-glycosylation analysis of human plasma ceruloplasmin using liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Anal Biochem*, 2006, 348 (2): 259–268.
- [26] Varma V, Yao-Borengasser A, Bodles AM, et al. Thrombospondin-1 is an adipokine associated with obesity, adipose inflammation, and insulin resistance[J]. *Diabetes*, 2008, 57 (2): 432–439.
- [27] Bai J, Xia M, Xue Y, et al. Thrombospondin 1 improves hepatic steatosis in diet-induced insulin-resistant mice and is associated with hepatic fat content in humans[J]. *EBioMedicine*, 2020, 57: 102849.
- [28] Papapanagiotou A, Siasos G, Kassi E, et al. Novel inflammatory markers in hyperlipidemia: clinical implications[J]. *Curr Med Chem*, 2015, 22 (23): 2727–2743.
- [29] Zhou X, Zhang W, Liu X, et al. Interrelationship between diabetes and periodontitis: role of hyperlipidemia[J]. *Arch Oral Biol*, 2015, 60 (4): 667–674.
- [30] Argilés JM, Lopez-Soriano FJ, Evans RD, et al. Interleukin-1 and lipid metabolism in the rat[J]. *Biochem J*, 1989, 259 (3): 673–678.
- [31] Karpe F. Mechanisms of postprandial hyperlipidaemia--remnants and coronary artery disease[J]. *Diabet Med*, 1997, 14 (3): S60–S66.
- [32] 方定志, 刘秉文. 高脂血症与血栓形成 [J]. 国外医学·临床生物化学与检验学分册, 2001, 22 (6): 285–286.

(收稿: 2022-06-20 在线: 2023-09-06)

责任编辑: 汤 静