

党参炔苷对HepG2细胞胆固醇代谢的影响及机制研究^{*}

杨瑞玲^{1**}, 陈 强¹, 熊桂斌¹, 张小明¹, 李 杰², 吴发明³, 孙成新³

(1. 华中科技大学同济医学院附属梨园医院 武汉 430077; 2. 华中科技大学同济医学院附属协和医院 武汉 430056; 3. 遵义医科大学药学院 遵义 563000)

摘要:目的 探讨党参炔苷(Lobetyolin)干预HepG2细胞胆固醇代谢异常的作用机制。方法 该研究以油酸(Oleic acid, OA)刺激HepG2细胞为模型,利用MTT检测、油红O染色、生化试剂盒法检测、qRT-PCR检测、Western blot检测、NBD标记胆固醇外排实验检测等方法,研究党参炔苷对HepG2细胞胆固醇代谢的作用。结果 党参炔苷可降低OA刺激下HepG2细胞的脂滴含量以及甘油三酯(Triglyceride, TG)、总胆固醇(Total cholesterol, TC)水平,使胆固醇外排率升高,同时,上调细胞色素7A1(Cytochrome 7A1, CYP7A1)、肝x受体 α (Liver x receptor α , LXR α)、ATP结合盒转运体A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)、过氧化物酶体增殖物激活受体(Peroxisome proliferators-activated receptor, PPAR γ)等mRNA或蛋白表达水平。然而,使用PPAR γ 拮抗剂Mifobate(SR-202)联合干预,可明显抑制党参炔苷对HepG2细胞胆固醇代谢的促进作用。结论 该研究揭示党参炔苷可提高OA刺激下HepG2细胞的胆固醇外排率,促进胆固醇分解代谢,其作用机制可能与调控PPAR γ /CYP7A1途径有关。

关键词:党参炔苷 HepG2细胞 代谢 胆固醇 PPAR γ /CYP7A1

DOI: 10.11842/wst.20240415002 CSTR: 32150.14.wst.20240415002 中图分类号: R285.5 文献标识码: A

心血管疾病泛指心脏血管和脑血管疾病,与吸烟、高血压、高血脂等多种危险因素有关,目前已成为人类的首位死亡原因。心血管疾病多属慢性疾病,肥胖和血脂异常是常见病因,血脂异常一般指总胆固醇、甘油三酯等指标水平升高,高危人群通过药物干预,加速脂肪代谢是预防心血管疾病的重要措施^[1]。随着生活水平不断提高,人民的健康意识显著提升,养生保健需求逐渐增长,保健食品不以治疗疾病为目的,通过调节机体功能在预防疾病方面发挥作用,其中,中药保健食品在中国保健食品产业中占据重要位置。桔梗科植物党参(Codonopsis)具有补中益气、清肺、生津等功效,近年来,党参抗炎、抗氧化、抗疲劳等更多的生物学所用被发现并报道^[2-4]。Hu等^[5]研究表

明,党参提取物可通过抑制HepG2细胞中SQLE基因转录物的表达,促进细胞脂质代谢。然而,传统中药成分复杂,其功效多为经验或文献资料记载,并无明确的作用机制,对疾病的治疗效果也因人而异,中药中的单一活性成分(中药单体)化学结构明确,作用机制清晰,同时也具有广泛的药理活性。党参炔苷(Lobetyolin)是党参中重要的有效成分之一,具有健脾止泻、抗癌、改善心功能障碍等药理学活性,主要作为原料用于保健品中^[6-8]。而单体党参炔苷是否也保留党参促进脂质代谢的功能,目前尚未见报道。本研究拟采用油酸诱导HepG2细胞脂肪堆积,观察党参炔苷对胆固醇代谢的影响,并探讨其可能的作用机制。

收稿日期:2024-04-15

修回日期:2024-08-21

^{*} 国家自然科学基金委员会地区科学基金项目(81760679):党参应对干旱胁迫的生理机制与水分利用策略研究,负责人:吴发明;贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题(QZYY-2019-16):党参炔苷类化合物调控脂代谢的机制研究,负责人:孙成新。

^{**} 通讯作者:杨瑞玲(ORCID:0009-0006-2204-1382),硕士,主管药师,主要研究方向:药理学、医院药学。

1 材料与方

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

人肝癌细胞 HepG2 及其完全培养液:中国科学院细胞库(上海);党参炔苷(HPLC≥98%):上海源叶生物科技有限公司;Mifobate (SR-202):美国 MedChemExpress 公司;油酸(Oleic acid, OA)、NBD-胆固醇、载脂蛋白 A1(Apolipoprotein A1, ApoA1)及高密度脂蛋白(High-density lipoprotein, HDL):美国 Sigma 公司;过氧化物酶体增殖物激活受体(Peroxisome proliferators-activated receptor, PPAR γ)、细胞色素 7A1(Cytochrome 7A1, CYP7A1)及 ATP 结合盒转运体 A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)抗体:英国 Abcam 公司;RIPA 裂解液、MTT 噻唑蓝、油红 O 染色试剂盒:北京索莱宝科技有限公司;甘油三酯(Triglyceride, TG)、总胆固醇(Total cholesterol, TC)测定试剂盒:南京建成生物工程研究所有限公司;TransScript® II Multiplex Probe One-Step qRT-PCR SuperMix UDG 试剂盒:北京全式金生物技术股份有限公司。

1.1.2 主要仪器与设备

MCO-5M 型二氧化碳培养箱:日本松下公司;CKX53 倒置显微镜:日本 Olympus 公司;Varioskan LUX 多功能酶标仪、iBright 凝胶成像系统:美国赛默飞公司;5424R 离心机:德国 Eppendorf 公司;SH-Compact 523 化学发光成像系统:杭州申花科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 HepG2 细胞培养

使用含 10% 胎牛血清的 MEM 完全培养基,于 95% 氧气、5% 二氧化碳气相条件下培养细胞,环境温度 37℃,按 1:3 比例每 3 天传代一次,传代时换液。

1.2.2 细胞分组及处理

①采用不同浓度(0、1.25、2.5、5、10、20、40、80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)党参炔苷处理 HepG2 细胞 24 h,筛选党参炔苷最大无毒剂量进行后续实验。②采用 0.2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ OA 刺激 HepG2 细胞 24 h 构建脂肪堆积模型^[9],同时加入不同浓度(0、1.25、2.5、5、10、20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)党参炔苷处理,筛选党参炔苷对 OA 刺激下 HepG2 细胞增殖活性无显著影响的浓度进行后续实验。③空白、对照组:细胞不做任何处理;油酸组:0.2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ OA 刺激细胞 24 h;油酸+不同浓度(2.5、5、10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)党参炔苷组:

0.2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ OA 刺激细胞 24 h,同时加入 2.5、5、10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 党参炔苷处理;油酸+10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 党参炔苷+150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SR-202 组;0.2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ OA 刺激细胞 24 h,同时加入 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 党参炔苷及 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PPAR γ 拮抗剂 SR-202 处理。

1.2.3 MTT 检测细胞增殖活性

收集对数期细胞,调整细胞悬液浓度并铺板于 96 孔板中,每组设置 3 复孔,每孔 100 μL ,在培养箱内生长至细胞单层铺满孔底,设置 3 复孔,依次加入 0.5% MTT 溶液和二甲基亚砜,置于摇床上低俗震荡至结晶物充分溶解,设置空白孔和对照孔,于酶标仪 490 nm 处检测各孔 OD 值(A)。抑制率(%) = $[1 - (A_{\text{实验组平均}} - A_{\text{空白组平均}}) / (A_{\text{对照组平均}} - A_{\text{空白组平均}})] \times 100\%$ 。

1.2.4 油红 O 染色检测细胞脂滴含量

收集对数期细胞,调整细胞悬液浓度并铺板于 6 孔板中,在培养箱内生长至细胞单层铺满孔底,吸去培养基,加油红 O 固定液固定 20 min,弃固定液加入现配的油红 O 染色液染色 10 min,异丙醇洗去多余染液,加入苏木素染色液复染 2 min,于显微镜下观察细胞内脂滴染色情况。用 60% 异丙醇将细胞内被染色的脂滴溶出,于酶标仪 485 nm 处检测 OD 值,OD 值大小代表脂质含量。

1.2.5 生化试剂盒法检测细胞中 TG 和 TC 含量

收集对数期细胞,1000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,留细胞沉淀,加入 0.2 mL PBS 对细胞进行匀浆破碎,严格按照试剂盒说明书操作,设置空白孔和校准孔,每组 3 复孔,于酶标仪上读取各孔 OD 值,公式计算各组细胞中 TG 和 TC 含量。

1.2.6 qRT-PCR 检测细胞中胆固醇代谢相关基因 mRNA 表达水平

收集对数期细胞,使用试剂盒提取总 RNA,根据反转录试剂盒说明书操作,合成第一链 cDNA,设计并合成引物(表 1),以 cDNA 为模板进行 qRT-PCR 扩增反应,每组设置 3 复孔。反应条件:95℃预变性 60 s,60℃退火 25 s,72℃延伸 30 s,至 45 个循环,使用 qRT-PCR 仪检测荧光信号,导出 Ct 值,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算目的基因与内参基因的相对表达水平。

1.2.7 Western blot 检测细胞中 PPAR γ 、CYP7A1、ABCA1 蛋白表达水平

收集对数期细胞,加入 RIPA 裂解液于冰上充分裂解细胞提取总蛋白,沸水浴 5 min 使蛋白变性,于 12%

SDS-PAGE 中电泳分离蛋白,随后湿转至 PVDF 膜上,5% 脱脂牛奶室温封闭,加入 1:1000 稀释的一抗(兔抗 PPAR γ 、兔抗 CYP7A1、兔抗 ABCA1、兔抗 GAPDH),于 4℃ 摇床上孵育过夜,TBST 洗膜,加入 1:5000 稀释的辣根过氧化物酶标记二抗,室温孵育 1 h,TBST 洗膜。加

表 1 引物序列

基因	引物序列
CYP7A1-F	5'-AAACCTCCAGGAGATGCT-3'
CYP7A1-R	5'-AGGCATACATCCCTTCCGTG-3'
LXR α -F	5'-CAAGATGCAGGAGACCAGGG-3'
LXR α -R	5'-GCTGACTCCAACCCTATCCC-3'
ABCA1-F	5'-AACAGTTTGTGGCCCTTTTG-3'
ABCA1-R	5'-AGTTCCAGGCTGGGTACTT-3'
HMGCR-F	5'-TTCGCTGGCCTCTAGTGAGA-3'
HMGCR-R	5'-GATGGGAGGCCACAAAGAG-3'
LDLR-F	5'-GCTTGCTGTCTACCTGCAAA-3'
LDLR-R	5'-AACTGCCGAGAGATGCACTT-3'
NPC1L1-F	5'-CATTGAGGTCATCCCATTCC-3'
NPC1L1-R	5'-CAGCGTTTCTCTCTGAAGAC-3'
GAPDH-F	5'-TGAAGGTCGGAGTCAACGGATTGGT-3'
GAPDH-R	5'-CATCTGGGCCATGAGGTCCACCAC-3'

入化学发光剂并于凝胶成像仪下显影,软件分析条带灰度值,计算目的蛋白相对表达水平。

1.2.8 NBD 标记胆固醇外排实验检测细胞胆固醇外排率

使用含 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NBD-胆固醇和 10% FBS 的培养基孵育细胞 12 h,每组设置 3 复孔,弃培养基,PBS 洗涤细胞 3 次,加入含有 ApoA1 和 HDL 的诱导外流液处理细胞 8 h,收集外流液和细胞裂解液,分别测定荧光强度,胆固醇外流率(%)=外流液荧光强度/(外流液荧光强度+裂解液荧光强度) $\times$ 100%。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件统计分析数据,结果用均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,所有数据均符合正态分布,两组间比较采用独立样本 LSD- t 检验,多组间比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 党参炔苷对 OA 诱导的 HepG2 细胞增殖活性的影响

不同浓度的党参炔苷对 HepG2 细胞增殖活性的

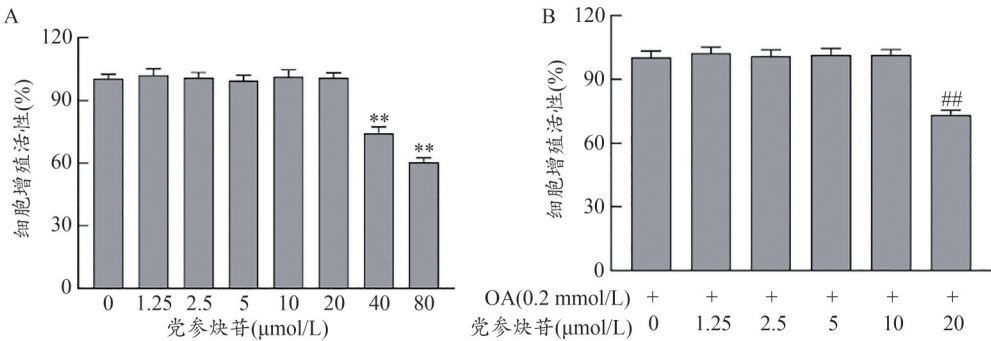


图 1 党参炔苷对 OA 诱导的 HepG2 细胞增殖活性的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

注:A:不同浓度党参炔苷对 HepG2 细胞增殖活性的影响;与 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 比较, ** $P<0.01$;B:不同浓度党参炔苷对 OA 刺激下 HepG2 细胞增殖活性的影响;与 0.2 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ OA 比较, ## $P<0.01$ 。

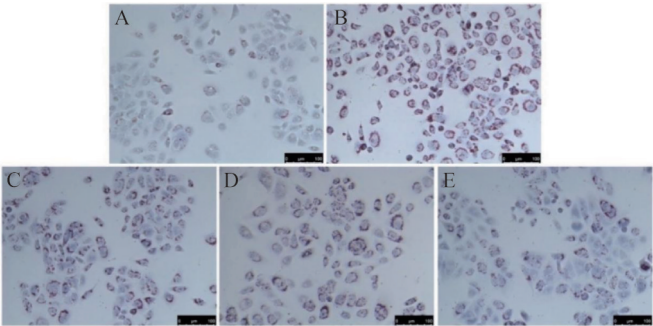


图 2 油红 O 染色检测细胞内脂滴含量(标尺:100 μm)

注:A:空白组;B:油酸组;C:油酸+2.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 党参炔苷组;D:油酸+5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 党参炔苷组;E:油酸+10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 党参炔苷组。

影响如图1A所示,40、80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度党参炔苷处理的HepG2细胞增殖活性显著降低($P<0.01$),故选用0、1.25、2.5、5、10、20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度党参炔苷进行后续实验。不同浓度的党参炔苷对OA刺激下HepG2细胞增殖活性的影响如图1B所示,20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度党参炔苷处理的OA刺激下HepG2细胞增殖活性显著降低($P<0.01$),故选用2.5、5、10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度党参炔苷继续探索其对细胞脂肪代谢的影响。

2.2 党参炔苷对OA诱导的HepG2细胞脂肪堆积的影响

如图2、图3所示,与空白组比较,油酸组细胞中脂质含量和TG、TC水平显著升高($P<0.01$);与油酸组比较,油酸+不同浓度(2.5、5、10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)党参炔苷组细胞中脂质含量和TG、TC水平显著降低($P<0.05$, $P<0.01$)。

2.3 党参炔苷对OA诱导的HepG2细胞中胆固醇代谢指标的影响

如表2所示,与空白组比较,油酸组细胞中CYP7A1、LXR α 、ABCA1 mRNA相对表达水平显著降

低($P<0.01$),HMGCR、LDLR、NPC1L1 mRNA相对表达水平无显著变化($P>0.05$);与油酸组比较,油酸+不同浓度(2.5、5、10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)党参炔苷组细胞中CYP7A1、LXR α 、ABCA1 mRNA相对表达水平显著升高($P<0.05$, $P<0.01$),HMGCR、LDLR、NPC1L1 mRNA相对表达水平无显著变化($P>0.05$)。

2.4 党参炔苷通过调控PPAR γ /CYP7A1途径对HepG2细胞中胆固醇分解代谢的影响

如图4所示,与对照组比较,油酸组细胞胆固醇外排率以及PPAR γ 、CYP7A1、ABCA1蛋白相对表达水平显著降低($P<0.01$),TC水平显著升高($P<0.01$);与油酸组比较,油酸+10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 党参炔苷组细胞胆固醇外排率以及PPAR γ 、CYP7A1、ABCA1蛋白相对表达水平显著升高($P<0.01$),TC水平显著降低($P<0.01$);与油酸+10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 党参炔苷组比较,油酸+10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 党参炔苷+150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SR-202组细胞胆固醇外排率以及PPAR γ 、CYP7A1、ABCA1蛋白相对表达水平显著降低($P<0.01$),TC水平显著升高($P<0.01$)。

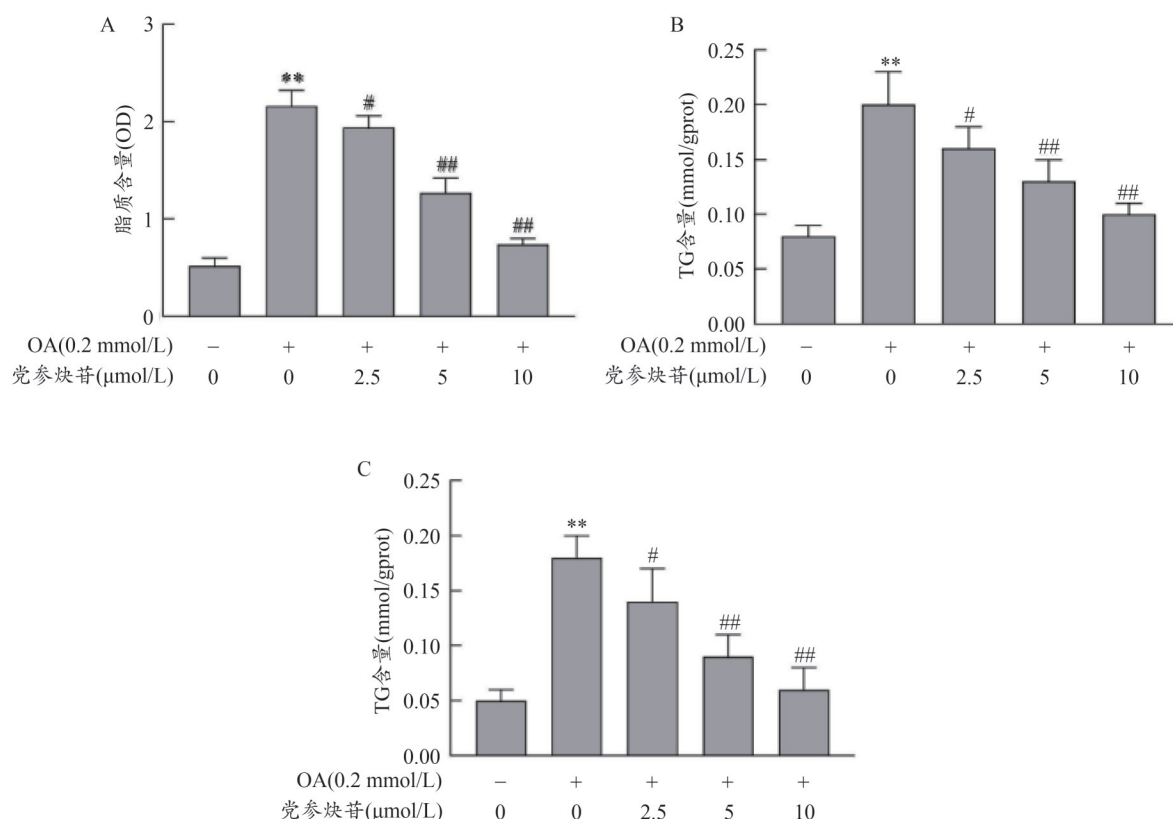


图3 党参炔苷对OA诱导的HepG2细胞脂肪堆积的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

注:A:各组细胞中脂滴含量;B:各组细胞中TG含量;C:各组细胞中TC含量;与空白组比较,** $P<0.01$;与油酸组比较,* $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

表2 qRT-PCR检测细胞中胆固醇代谢相关基因 mRNA 相对表达水平($\bar{x} \pm s, n=3$)

分组	HMGCR	LDLR	NPC1L1	CYP7A1	LXR α	ABCA1
空白组	1.02 $\pm$ 0.12	0.98 $\pm$ 0.12	1.03 $\pm$ 0.10	1.02 $\pm$ 0.07	0.99 $\pm$ 0.07	1.02 $\pm$ 0.05
油酸组	0.96 $\pm$ 0.09	1.01 $\pm$ 0.08	1.01 $\pm$ 0.09	0.35 $\pm$ 0.02**	0.41 $\pm$ 0.03**	0.28 $\pm$ 0.02**
油酸+2.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 党参炔萆组	0.99 $\pm$ 0.12	1.05 $\pm$ 0.11	0.98 $\pm$ 0.09	0.45 $\pm$ 0.04 [#]	0.50 $\pm$ 0.02 [#]	0.35 $\pm$ 0.02 [#]
油酸+5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 党参炔萆组	1.05 $\pm$ 0.10	0.97 $\pm$ 0.15	1.01 $\pm$ 0.13	0.57 $\pm$ 0.05 ^{##}	0.74 $\pm$ 0.05 ^{##}	0.57 $\pm$ 0.04 ^{##}
油酸+10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 党参炔萆组	0.97 $\pm$ 0.14	1.03 $\pm$ 0.10	0.99 $\pm$ 0.08	0.79 $\pm$ 0.04 ^{##}	0.88 $\pm$ 0.04 ^{##}	0.82 $\pm$ 0.06 ^{##}

注:与空白组比较,** $P < 0.01$;与油酸组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$ 。

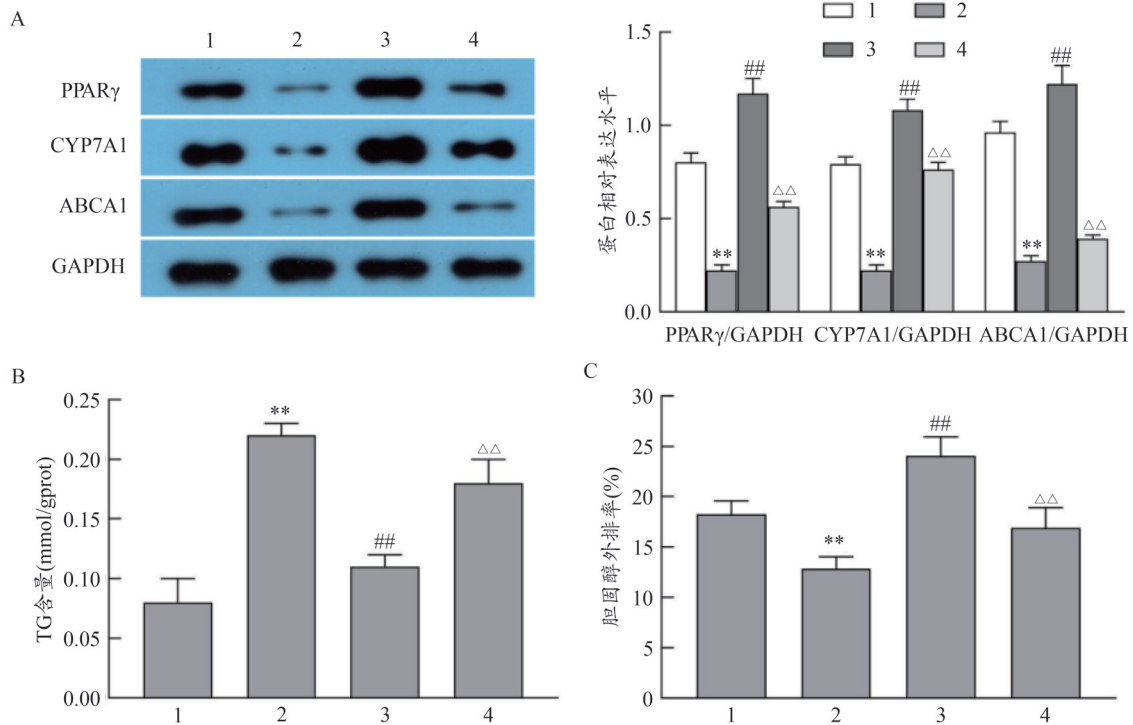


图4 党参炔萆通过调控PPAR γ /CYP7A1途径对HepG2细胞中胆固醇分解代谢的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

注:A:Western blot检测各组细胞中PPAR γ 、CYP7A1、ABCA1等蛋白相对表达水平;B:各组细胞中TC含量;C:各组细胞胆固醇外排率;1:空白组;2:油酸组;3:油酸+10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 党参炔萆组;4:油酸+10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 党参炔萆+150 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SR-202组;与空白组比较,** $P < 0.01$;与油酸组比较,[#] $P < 0.01$;与油酸+10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 党参炔萆组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

3 讨论

脂质代谢是机体通过消化吸收、合成与分解将脂肪转化为各组织器官所需物质的过程。脂肪代谢异常时,胆固醇和甘油三酯等脂类堆积,渗透入血管内膜损伤血管内皮,进而导致血管斑块的形成,影响心血管疾病的发生和进展^[10]。Yi等^[11]研究表明,调节CYP7A1、PPAR- α 、PPAR- γ 、CPT1等基因表达,可促进脂质代谢,缓解高脂饮食引起的小鼠血脂水平异常。郑洁琼等^[12]研究发现,调控PPAR γ 、LXR α 、CYP7A1、ABCA1等基因及蛋白的表达,可通过改善胆固醇逆转运及胆汁酸代谢,进而改善血脂异常,预防动脉粥样硬化。提示PPAR γ /CYP7A1途径可能是党

参炔萆影响细胞脂质代谢,预防心血管疾病的潜在靶点。本研究结果显示,党参炔萆干预可降低OA诱导下HepG2细胞中TG和TC水平、减少细胞中脂滴含量,促进胆固醇外排,其作用机制可能与激活PPAR γ /CYP7A1途径有关。

脂肪代谢是一个重要且复杂的生化反应过程,多种脂代谢酶参与其中并发挥不同作用。羟甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶(Hydroxy methyl glutarate monoyl CoA reductase, HMGCR)在机体内催化胆固醇的合成,其表达水平反映胆固醇的合成速度,HMGCR通过低密度脂蛋白受体(Low density lipoprotein receptor, LDLR)调节血液中的胆固醇水平,并通过酯

化反应储存、降解并转化成胆汁酸胆固醇影响机体脂质吸收^[13]。而 NPC1 样细胞内胆固醇转运体 1 (NPC1-Like intracellular cholesterol transporter 1, NPC1L1) 是影响胆固醇摄取的关键因子,其表达水平高低反映机体脂质吸收能力。龙俊科等^[14]研究表明,通过抑制小肠中的胆固醇吸收以及肝细胞内胆固醇合成可预防高血脂形成。同时, Hu 等^[15]研究发现,阿托伐他汀通过调节 PPAR 信号通路和 HMGCR 基因表达,改善高脂血症大鼠机体脂质代谢水平,从而达到降脂效果。然而,本研究结果显示,各组细胞中 HMGCR、LDLR、NPC1L1 mRNA 表达水平无显著差异,说明党参炔苷对 HepG2 细胞胆固醇代谢的作用并不是通过抑制胆固醇合成与摄取途径实现的。肝 x 受体 α (Liver x receptor α , LXR α) 是动脉粥样硬化形成的主要调节因子,其通过调控下游基因 CYP7A1 和 ABCA1 参与胆汁酸合成代谢,促进胆固醇的分解,并使胆固醇反向转运外排^[16]。LXR α 相关信号通路已被证实通过分解并清除主动脉中过多的胆固醇沉积和调节 TG、TC 水平,发挥抗动脉粥样硬化的作用^[17]。本研究结果显示,党参炔苷干预后,细胞中 CYP7A1、LXR α 、ABCA1 mRNA 表达水平显著升高,说明党参炔苷是通过胆固醇分解与外排途径发挥的对 HepG2 细胞胆固醇代谢促进作用,这与覃琴等^[18]研究发现的上调 CYP7A1、LXR α 、ABCA1 等基因可促进体内胆固醇代谢结果一致。

PPAR γ 是 PPARs 三种亚型之一,是脂质代谢的重要调节因子,能够控制脂肪的吸收、沉积和形成,在分化早期,多种参与脂肪转运和代谢的基因受其调控。PPAR γ 与配体结合后上调 ABCA1 蛋白表达水平,影

响细胞中脂质代谢,增加胆固醇和磷脂外排^[19]。而胆固醇的向外排泄主要是通过 CYP7A1 实现的,CYP7A1 表达升高可加速胆固醇向胆汁酸转化并外流。Han 等^[20]研究表明,在肝细胞中上调 PPAR γ 可抑制参与胆固醇生物合成相关基因的表达,激活参与胆汁酸合成的 CYP7A1,刺激胆固醇向胆汁中分泌,使细胞内外胆固醇减少。而 Wang 等^[21]采用高脂饮食喂养仓鼠,通过对其体内脂质代谢和氧化应激相关指标的检测发现,促进高脂饮食仓鼠肝脏内的 PPAR γ 、CYP7A1 活化,可显著减轻高脂饮食诱发的肥胖发生过程中的脂质代谢异常,并降低氧化应激水平。本研究结果显示,党参炔苷干预后,细胞中 PPAR γ 、CYP7A1、ABCA1 等蛋白表达水平以及细胞胆固醇外排率显著升高,TC 含量显著降低,推测党参炔苷促进细胞中胆固醇分解代谢可能是通过激活 PPAR γ /CYP7A1 途径实现的。为了证明这一结论,本研究采用 PPAR γ 拮抗剂 SR-202 联合干预,抑制 PPAR γ 活性后,细胞中 CYP7A1、ABCA1 等蛋白表达水平以及细胞胆固醇外排率显著降低,TC 含量显著升高,说明党参炔苷是通过激活 PPAR γ /CYP7A1 途径使细胞内胆固醇外排,从而促进 OA 刺激下 HepG2 细胞中胆固醇分解代谢。

综上所述,党参炔苷可加速细胞中胆固醇外排,具有促进胆固醇分解代谢的作用,其作用机制可能是通过激活 PPAR γ /CYP7A1 途径实现的,这为以党参炔苷为主要成分的保健食品研发提供了数据支持。但本文仅单一的从体外水平对其作用机制进行了说明,未在体内水平进行验证,后续将通过动物实验,从毒理学和功能学方面继续探索党参炔苷的毒性作用和可能的辅助降血脂功效。

参考文献

- 李旭阳,杨爽,郭子墨,等.富含甘油三酯的脂蛋白中的胆固醇对心血管疾病及全因死亡的影响.中国循环杂志,2022,37(9):920-927.
- 孟燕,徐玉洁,张宝徽,等.党参多糖不同组分的抗炎活性及机制研究.中国药房,2020,31(11):1348-1352.
- 马铭,白瑞斌,刘景龙,等.3种党参提取物体外抗氧化活性探究.中成药,2020,42(9):2514-2517.
- 崔恺,管雅琪,张钊,等.潞党参通过 PI3K/AKT/GSK3 β 通路缓解运动性疲劳的作用机制研究.中药材,2022,45(10):2471-2475.
- Hu X Y, Qin F Y, Lu X F, et al. Three new polyynes from *Codonopsis pilosula* and their activities on lipid metabolism. *Molecules*, 2018, 23(4):887.
- 帖晓燕,冯银平,张云鹤,等.党参米炒前后醇溶性浸出物、党参炔苷测定及其健脾止泻作用对比.中成药,2021,43(7):1941-1946.
- Bailly C. Anticancer properties of lobetyolin, an essential component of *Radix codonopsis* (Dangshen). *Nat Prod Bioprospect*, 2021, 11(2): 143-153.
- Ni S H, OuYang X L, Liu X, et al. A molecular phenotypic screen reveals that lobetyolin alleviates cardiac dysfunction in 5/6 nephrectomized mice by inhibiting osteopontin. *Phytomedicine*, 2022, 107:154412.
- Niu Y, Li S, Na L, et al. Mangiferin decreases plasma free fatty acids through promoting its catabolism in liver by activation of AMPK. *PLoS*

- One*, 2012, 7(1):e30782.
- 10 欧三桃, 李艳. 脂质代谢异常与慢性肾脏病合并心血管疾病的研究进展. *中国动脉硬化杂志*, 2022, 30(8):654–660.
 - 11 Yi R, Tan F, Zhou X, *et al.* Effects of *Lactobacillus fermentum* CQPC04 on lipid reduction in C57BL/6J mice. *Front Microbiol*, 2020, 11: 573586.
 - 12 郑洁琼, 王华文, 张立, 等. 健脾祛痰方通过调节 PPAR γ /LXR α /ABCA1 通路干预血脂异常的效应机制. *中华中医药学刊*, 2023, 41(4):191–195.
 - 13 Chen Y, Huang M, Xuan Y, *et al.* Association between lipid levels and risk for different types of aneurysms: a Mendelian randomization study. *J Pers Med*, 2021, 11(11):1171.
 - 14 龙俊科, 赵水平. 消痰降脂胶囊预防给药对高脂血症模型兔血脂及相关蛋白酶含量的影响. *中医杂志*, 2019, 60(6):527–531.
 - 15 Hu N, Chen C, Wang J, *et al.* Atorvastatin ester regulates lipid metabolism in hyperlipidemia rats via the PPAR-signaling pathway and HMGR expression in the liver. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(20):11107.
 - 16 Lu X, Yang B, Yang H, *et al.* MicroRNA-320b modulates cholesterol efflux and atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb*, 2022, 29(2):200–220.
 - 17 Zhang Y, Gu Y, Chen Y, *et al.* Dingxin Recipe IV attenuates atherosclerosis by regulating lipid metabolism through LXR- α /SREBP1 pathway and modulating the gut microbiota in ApoE $^{-/-}$ mice fed with HFD. *J Ethnopharmacol*, 2021, 266:113436.
 - 18 覃琴, 冯柏林, 唐丽清, 等. 五加科植物中药对胆固醇的调节作用及机制研究进展. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(10):197–204.
 - 19 Shen X, Zhang S, Guo Z, *et al.* The crosstalk of ABCA1 and ANXA1: a potential mechanism for protection against atherosclerosis. *Mol Med*, 2020, 26(1):84.
 - 20 Han T, Lv Y, Wang S, *et al.* PPAR γ overexpression regulates cholesterol metabolism in human L02 hepatocytes. *J Pharmacol Sci*, 2019, 139(1):1–8.
 - 21 Wang K, Liang C, Cao W, *et al.* Dietary sinapic acid attenuated high-fat diet-induced lipid metabolism and oxidative stress in male Syrian hamsters. *J Food Biochem*, 2022, 46(11):e14203.

Effect and Mechanism of Lobetyolin on Cholesterol Metabolism in HepG2 Cells

YANG Ruiling¹, CHEN Qiang¹, XIONG Guibin¹, ZHANG Xiaoming¹, LI Jie², WU Faming³, SUN Chengxin³

(1. Liyuan Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430077, China; 2. Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430056, China; 3. School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of lobetyolin's intervention in HepG2 cells abnormal cholesterol metabolism. Methods This study used oleic acid (OA) stimulation of HepG2 cells as a model. MTT assay, oil red O staining, biochemical kit assay, qRT-PCR assay, Western blot assay and NBD labeled cholesterol effection assay were used to study the effect of lobetyolin on cholesterol metabolism in HepG2 cells. Results The results showed that lobetyolin could reduce the content of lipid drops, the levels of triglyceride (TG) and total cholesterol (TC) in HepG2 cells stimulated by OA, increase cholesterol effection rate, and up-regulate cytochrome 7A1 (CYP7A1), liver x receptor α (LXR α), ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1), peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR γ) and other mRNA or protein expression levels. However, combined intervention with PPAR γ antagonist Mifobate (SR-202) can significantly inhibit the promoting effect of lobetyolin on cholesterol metabolism in HepG2 cells. Conclusion This study revealed that lobetyolin can improve the cholesterol effection rate of HepG2 cells stimulated by OA and promote cholesterol catabolism, and the mechanism of action may be related to the regulation of PPAR γ /CYP7A1 pathway.

Keywords: Lobetyolin, HepG2 cells, Metabolism, Cholesterol, PPAR γ /CYP7A1

(责任编辑: 李青)