论著·基础医学

人参皂苷Rb1通过调节肠-肝轴改善非酒精性脂肪性肝炎的作用及机制研究

付 慧[1,2],徐本锦[1],卫宇阳[1],张一弢[1],刘一燕[1],路程博[1],郝 静[1],宋彬妤[2] 山西医药学院:[1]医学检验系,[2]科技中心,山西汾阳

[摘要] **目的** 探讨人参皂苷Rb1对非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)的治疗作用及其通过调节肠道菌群、修复肠屏障改善肝脏炎症和代谢紊乱的机制。**方法** 建立高脂高胆固醇饮食(high-fat, high-cholesterol diet, HFHCD)诱导的NASH小鼠模型,并给予Rb1腹腔注射干预;构建油酸+胆固醇诱导的HepG2细胞NASH模型进行验证。采用血清生化、组织病理(HE、Oil Red O、Masson、天狼星红染色)、Western blot检测炎症及紧密连接蛋白表达;16S rRNA基因测序分析肠道菌群结构;Spearman相关性分析和可解释机器学习(SHapley Additive exPlanations, SHAP)识别关键菌群与代谢表型的关联。**结果** Rb1显著降低NASH小鼠血清TC、TG、ALT、AST及LDL-C水平($P<0.05$),减少肝脏脂滴积累和纤维化,抑制TNF-α和IL-1β表达,提升闭锁小带蛋白-1(zonula occludens-1, ZO-1)和闭合蛋白(Occludin)水平($P<0.05$);增加乳杆菌属、双歧杆菌属等有益菌丰度,减少脱硫弧菌属等有害菌;肠道菌群多样性显著提高($P<0.05$)。相关性分析显示,Rb1富集的有益菌属与代谢改善指标呈显著正相关($P<0.05$),与炎症及肝损伤标志物呈强负相关($P<0.05$)。机器学习模型中ALT为NASH预测的最核心驱动因子。**结论** Rb1可通过调节肠道菌群结构、修复肠屏障功能,抑制炎症反应,改善脂质代谢,显著缓解NASH的病理进展。

[关键词] 人参皂苷Rb1;肠道菌群;非酒精性脂肪性肝炎;闭锁小带蛋白-1;闭合蛋白;肠-肝轴
[中图法分类号] R282.71;R285.5;R575.5 [文献标志码] A

Effects and underlying mechanisms of ginsenoside Rb1 in improving non-alcoholic steatohepatitis *via* modulation of the gut-liver axis

FU Hui[1,2], XU Benjin[1], WEI Yuyang[1], ZHANG Yitao[1], LIU Yiyan[1], LU Chengbo[1], HAO Jing[1], SONG Binyu[2]
[1]Department of Laboratory Medicine, [2]Science and Technology Center, Shanxi University of Medicine, Fenyang, Shanxi, China

[**Abstract**] Objective To investigate the therapeutic effects of ginsenoside Rb1 on non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and its mechanisms through modulating gut microbiota and repairing intestinal barriers in liver inflammation and metabolic disorders. Methods A model NASH mouse was established by high-fat, high-cholesterol diet (HFHCD) feeding. After modeling, the NASH mice were treated with Rb1 *via* intraperitoneal injection. An *in vitro* NASH model was induced with oleic acid+cholesterol in HepG2 cells. Serum biochemistry, histopathological observation (HE, Oil Red O, Masson, Sirius Red staining), and Western blotting (inflammatory and tight junction proteins) were performed. Gut microbiota was analyzed with 16S

[基金项目] 山西省高等学校科技创新项目(2024L488);山西省高等学校大学生创新训练计划项目(S20241011401007)
[通信作者] 付 慧,E-mail: fuhui132@163.com

2097-0927/Copyright © 2026, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)
引用格式:付慧,徐本锦,卫宇阳,等. 人参皂苷Rb1通过调节肠-肝轴改善非酒精性脂肪性肝炎的作用及机制研究[J]. 陆军军医大学学报,2026,48(02):158-168. DOI:10.16016/j.2097-0927.202512059.

Citation: FU H, XU B J, WEI Y Y, *et al*. Effects and underlying mechanisms of ginsenoside Rb1 in improving non-alcoholic steatohepatitis *via* modulation of the gut-liver axis[J]. J Army Med Univ, 2026, 48(02): 158-168. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202512059.

rRNA gene sequencing. The correlations between key microbiota and metabolic phenotypes were analyzed using Spearman correlation analysis and SHapley Additive exPlanations (SHAP) analysis. **Results** Rb1 significantly reduced serum levels of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), alanine transaminase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and low-density lipid-cholesterol (LDL-C) in the NASH mice ($P<0.05$), decreased lipid accumulation and fibrosis in liver tissues, inhibited TNF-α and IL-1β expression, and increased zonula occludens-1 (ZO-1) and Occludin levels ($P<0.05$). It also boosted beneficial bacteria like *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, reduced harmful bacteria such as *Desulfovibrio*, and enhanced gut microbiota diversity ($P<0.05$). Correlation analysis showed that beneficial bacteria enriched by Rb1 were positively correlated with the improvements of metabolic indicators and negatively with inflammatory factors and liver injury markers ($P<0.05$). The machine learning model identified ALT as the key predictor for NASH. **Conclusion** Rb1 can inhibit inflammatory response and improve lipid metabolism by modulating gut microbiota and repairing the intestinal barrier, and thus significantly alleviate NASH progression.

[**Key words**] ginsenoside Rb1; gut microbiota; non-alcoholic steatohepatitis; zonula occludens-1; Occludin; gut-liver axis

Supported by the Science and Technology Innovation Project of Higher Education Institutions of Shanxi Province (2024L488), and the Innovation Training Program for College Students of Higher Education Institutions of Shanxi Province (S202410114010007). Corresponding author: FU Hui, E-mail: fuhui132@163.com

非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)是非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的进展型,其特征为肝细胞脂质沉积、慢性炎症和不同程度的纤维化,可显著增加肝硬化、肝癌等结局风险,并与心血管疾病、糖尿病密切相关[1-2]。在高脂饮食、作息不规律及高强度训练等环境下,从事军事活动人群代谢性肝病发生率呈上升趋势,早期干预具有重要意义。近年来,"肠-肝轴"在NASH发生发展中的作用受到关注。肠道菌群失衡可破坏肠屏障,使脂多糖等有害产物经门静脉入肝,引发炎症反应和纤维化进程[3]。研究显示,有益菌如乳杆菌、双歧杆菌减少,促炎菌如脱硫弧菌增加,与血脂异常和炎症水平升高密切相关[4-5]。因此,重塑菌群结构、修复肠屏障是防治NASH的重要策略[6-7]。传统中药因多靶点、低毒性在代谢性肝病治疗中具有优势[8-9]。人参皂苷Rb1作为人参主要活性成分,具抗炎、抗氧化及改善胰岛素抵抗等作用,可调节能量代谢并促进乳杆菌、双歧杆菌等益生菌生长,降低有害菌丰度,从而改善炎症和代谢紊乱[7, 10]。然而,Rb1在NASH防治的系统机制研究,尤其是基于"肠-肝轴"的作用机制仍较缺乏。本研究采用高脂高胆固醇饮食诱导NASH小鼠及油酸-胆固醇诱导的HepG2细胞模型,综合评估Rb1对肝脏脂代谢、炎症、纤维化及肠屏障功能的影响,结合16S rRNA基因测序分析菌群多样性和丰度变化,并运用Spearman相关性分析与可解释机器学习(SHapley Additive exPlanations, SHAP)识别与代谢改善密切相关的关键菌群特征,旨在系统揭示Rb1通过"肠道菌群-肠屏障-肝炎症链条"缓解NASH的机制,为中药防治NASH及从事军事活动的人群代谢性肝病干预提供新思路和理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物与细胞

SPF级雄性C57BL/6J小鼠,4~6周龄,体质量16~18 g,购自山西省人民医院[动物许可证号:SCXK(晋)2019-0004]。本实验经山西医药学院科学研究伦理委员会批准(2024022)。人肝癌细胞(HepG2细胞)由山西医药学院宋维芳课题组惠赠。

1.2 药品与试剂

人参皂苷Rb1(规格:每瓶1 g,纯度:90%),购自上海源叶生物科技有限公司。油酸,购自罗恩试剂,胆固醇,购自MedChemExpress。油红O染色试剂盒、改良Masson三色染色试剂盒和天狼星红染色试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglycerides, TG)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)和低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)检测试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所。β-actin抗体、TNF-α抗体、IL-1β抗体、闭锁小带蛋白-1(zonula occludens-1, ZO-1)抗体和闭合蛋白(Occludin)抗体购自武汉爱博泰克生物科技有限公

司。CCK-8试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组、模型构建与给药方法 经过1周适应性喂养后,根据体质量进行分层随机化,将小鼠分为2组:对照组(ND组,n=8)和模型组(n=16)。ND组每日喂食普通饲料,而模型组则喂食高脂高胆固醇饲料以诱导NASH模型建立。8周后,模型组小鼠根据体质量进行分层随机化,进一步分为HFHCD组和实验组(HFHCD+Rb1),每组8只。按文献[11]的方法,HFHCD+Rb1组小鼠每日腹腔注射Rb1(120 mg/kg),而HFHCD组小鼠则接受等量0.9%生理盐水,干预持续4周。整个实验周期为12周,在此期间,定期记录小鼠体质量和摄食量。实验结束时,通过摘眼球法采集血清用于生化指标检测。小鼠肝脏右叶和回肠末端组织被置于4%多聚甲醛中固定,其余肝脏和回肠组织则经液氮速冻保存,用于后续实验。此外,收取小鼠回肠末端粪便样本,置于-80 ℃冰箱中冻存,以备后续使用。

1.3.2 细胞培养 将处于对数生长期的HepG2细胞接种于T25培养瓶,用完全培养液(按照DMEM:胎牛血清:青霉素/链霉素=89∶10∶1的比例配制)孵育,在37 ℃、5% CO_2培养箱进行培养。

1.3.3 细胞分组、模型构建和给药方法 细胞处于良好的生长状态时,用胰酶将细胞从T25培养瓶消化下来,接种到6孔板中继续培养,待细胞长到合适密度后,将细胞分为NC组、Model组、Rb1-L和Rb1-H组。NC组细胞不做任何处理,Model组细胞用200 μmol/L油酸+50 μg/mL胆固醇处理24 h构建肝细胞损伤模型,Rb1-L组和Rb1-H组分别用5 μmol/L和10 μmol/L人参皂苷预处理2 h,再进行油酸和胆固醇处理构建模型。收集细胞沉淀用于后续实验。

1.3.4 生化指标检测 将各组细胞用磷酸盐缓冲液清洗后,加入适量放射免疫沉淀试验缓冲液(RIPA)进行匀浆并超声破碎得到细胞检测液,细胞检测液和小鼠血清中的TC、TG、ALT、AST和LDL-C水平按照说明书要求进行检测。

1.3.5 CCK-8测定 将处于对数生长期的HepG2细胞加入96孔板中,每孔含有10^4个细胞,置于培养箱中孵育24 h;分别加入0、2.5、5、10 μmol/L的Rb1,继续孵育24 h;每孔加入10 μL的CCK-8溶液,孵育4 h;最后使用酶标仪在450 nm处测定光密度。

1.3.6 组织病理学检测 将固定后的组织进行脱水,分别进行石蜡包埋和OCT包埋,石蜡切片烤片后按照试剂盒说明书要求进行苏木精-伊红(HE)染色、马松(Masson)染色和天狼星红染色。冰冻切片按照试剂盒说明书要求进行油红O染色。

1.3.7 蛋白印迹法 取适量组织(或细胞)加入RIPA裂解液(RIPA∶PMSF=100∶1),并在超声破碎仪中进行破碎,冰上裂解20 min,离心后收集上清即为总蛋白溶液,用BCA测定蛋白浓度,加入5×loading buffer并金属浴进行变性。经SDS-PAGE电泳、转膜、5%脱脂牛奶封闭后一抗4 ℃孵育过夜,TBST洗膜,二抗室温孵育2 h,TBST洗膜,显影,条带用Image J软件分析灰度值。

1.3.8 肠道微生物群16S rRNA基因测序 粪便样本在干冰条件下被运送至三黍生物科技有限公司进行16S rRNA基因(即16S rDNA)扩增子测序。原始序列读取被合并、质量过滤,并被聚类为操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)或扩增子序列变异(amplicon sequence variants, ASVs),用于分类注释。进行了α和β多样性分析,并评估了微生物组成和样本间结构差异。

1.3.9 基于SHAP与Spearman相关性分析的NASH推动和缓解的关键特征鉴定 本研究首先对肠道微生物组数据进行预处理,在属水平上筛选出平均相对丰度>0.1%且在干预组与模型组间差异显著的17个特征分类单元(包括*Muribaculaceae*、*Lachnospiraceae_NK4A136_group*、*Lachnospiraceae_unclassified*等)。随后,将这些菌属与6项NASH相关宿主表型指标(血清炎症标志物、脂质谱及肝酶活性)进行Spearman等级相关分析,初步阐明微生物与宿主表型之间的线性关联模式。在此基础上,为构建可综合评估上述特征对推动和缓解NASH的预测模型,本研究将上述菌属及宿主指标共同作为自变量,训练二分类模型。数据预处理阶段:宿主表型缺失值以中位数填充,连续型自变量经z-score标准化;随后采用随机森林(600棵树)与L1正则逻辑回归两种算法进行模型训练与验证。为避免信息泄露,所有模型性能评估与解释均仅在独立测试集上完成。进一步解析模型决策机制并量化各特征贡献时,引入SHAP框架(随机森林用TreeExplainer,逻辑回归用LinearExplainer)。通过平均绝对SHAP值评估全局特征重要性,并以summary plot解读影响方向。此外,微生物组数据经中心对数比转换(centered log-ratio transformation, CLR)以符合成分数据特性,并通过自助重采样验证特征重要性排序,确保结果稳健。

1.4　统计学处理

采用GraphPad Prism 8.3软件进行统计分析。数据均采用$\bar{x}\pm s$表示,采用单因素方差分析或独立样本双尾t检验评估差异显著性,Tukey多重比较事后检验来评估统计学意义。P<0.05认为差异具有统计学意义,所有实验均独立重复3次。

2　结果

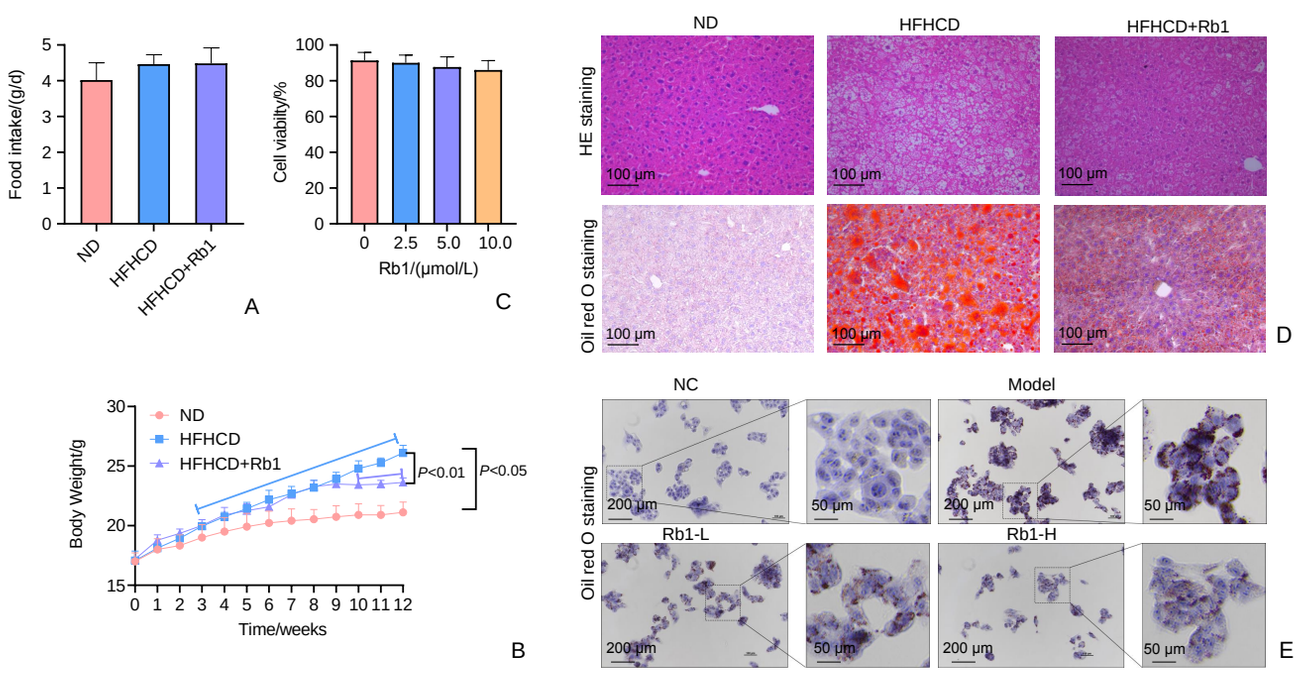
2.1　Rb1可改善NASH代谢与组织学表型

在动物实验中,ND组、HFHCD组和HFHCD+Rb1组小鼠的摄食量差异无统计学意义(图1A)。与ND组相比,HFHCD组小鼠自第3周起体质量显著升高(P<0.05);而HFHCD+Rb1组自第10周起体质量较HFHCD组显著下降(P<0.01,图1B)。

在细胞毒性实验中,CCK-8结果显示,2.5、5和10 μmol/L的Rb1处理细胞后不具有细胞毒性,不影响细胞活力(图1C)。

组织学实验中,HE染色结果显示ND组肝小叶结构完整,肝索排列整齐,无明显脂滴,细胞核居中,染色质分布均匀;HFHCD组较ND组肝小叶结构紊乱,肝细胞内出现大量脂滴,表现为大的空泡,肝细胞体积增大,细胞核固缩并被挤压到一边;与HFHCD组相比,HFHCD+Rb1组空泡减少,空泡面积变小,脂肪变性程度降低(图1D)。油红O染色显示,ND组整体染色较为均匀,细胞质中几乎没有红色的脂滴,无明显脂肪变性;HFHCD组与ND组相比,细胞质中出现大量红色的脂滴,肝细胞因脂滴积累而肿大;HFHCD+Rb1组较HFHCD组脂滴较小,分布减少,肝细胞紊乱程度降低。在细胞实验中(图1E),Model组较NC组出现大量脂滴,分布广泛呈红色;Rb1-L组较Model组脂滴数量减少;Rb1-H组较Model组和Rb1-L组脂滴数量均有显著减少。

生化指标检测结果显示,HFHCD组的TC、TG、ALT、AST和LDL-C水平较ND组显著升高;HFHCD+Rb1组的TC、TG、ALT、AST和LDL-C水平均较HFHCD组显著下降(P<0.01)。在细胞实验中,与NC组相比,Model组的TC、TG、ALT、AST和LDL-C水平显著升高;Rb1-L的TC、TG、ALT、AST和LDL-C水平较Model组显著降低;Rb1-H的TC、TG、ALT、AST和LDL-C水平较Model组和Rb1-L组显著降低(P<0.05,表1、2)。



A: Food intake comparison among 3 mouse groups; B: Weight change trends of 3 mouse groups; C: Effects of Rb1 with different concentrations on HepG2 cell viability by CCK-8 assay; D: HE and Oil red O staining of liver tissues; E: Oil Red O staining of HepG2 cells; ND: Normal diet; HFHCD: high-fat, high-cholesterol diet; Rb1: Ginsenoside Rb1; NASH: Non-alcoholic steatohepatitis; NC: Normal control

图1　Rb1改善NASH小鼠代谢表型与肝脏脂质积累

Figure 1　Rb1 amelioration of metabolic phenotypes and hepatic lipid accumulation in NASH mice

表1 3组小鼠血清ALT、AST、TC、TG和LDL-C水平的比较($\bar{x}\pm s$, n=8)

Table 1 Comparison of serum ALT, AST, TC, TG and LDL-C levels among 3 groups of mice ($\bar{x}\pm s$, n=8)

Group	Dose/[mg/(kg·d)]	ALT	AST	TC	TG	LDL-C
ND	-	5.24±1.17	7.04±0.84	2.15±0.21	0.56±0.08	1.58±0.17
HFHCD	-	14.15±1.41[a]	20.05±2.56[a]	7.3±0.33[a]	1.39±0.14[a]	5.37±0.36[a]
HFHCD+Rb1	100	7.93±0.88[b]	12.3±2.03[b]	4.45±0.33[b]	0.92±0.12[b]	4.29±0.36[b]

ALT: Alanine aminotransferase; AST: Aspartate aminotransferase; TC: Total cholesterol; TG: Triglyceride; LDL-C: Low-density lipoprotein-cholesterol; ND: Normal diet; HFHCD: High-fat, high-cholesterol diet; Rb1: Ginsenoside Rb1. a: P<0.01, compared with the ND group; b: P<0.01, compared with the HFHCD group

表2 各组细胞ALT、AST、TC、TG和LDL-C水平的比较($\bar{x}\pm s$, n=3)

Table 2 Comparison of serum ALT, AST, TC, TG and LDL-C levels among different groups of cells ($\bar{x}\pm s$, n=3)

Group	Dose/[mg/(kg·d)]	ALT	AST	TC	TG	LDL-C
NC	-	13.56±1.03	5.31±0.82	0.044±0.002	0.022±0.002	1.67±0.23
Model	-	26.42±0.8[a]	13.25±0.82[a]	0.571±0.047[a]	0.22±0.024[a]	5.16±0.21[a]
Rb1-L	5	21.48±0.78[b]	9.48±0.65[b]	0.31±0.012[b]	0.153±0.016[b]	4.28±0.22[b]
Rb1-H	10	17.42±0.91[c]	7.75±0.37[c]	0.197±0.016[c]	0.085±0.007[c]	3.25±0.19[c]

ALT: Alanine aminotransferase; AST: Aspartate aminotransferase; TC: Total cholesterol; TG: Triglyceride; LDL-C: Low-density lipoprotein-cholesterol; NC: Normal control; Rb1: Ginsenoside Rb1. a: P<0.05, compared with the NC group; b: P<0.05, compared with the Model group; c: P<0.05, compared with the Rb1-L group

2.2 Rb1可减轻肝脏炎症与纤维化

在炎症因子表达方面,与ND组比较,HFHCD组TNF-α/β-actin和IL-1β/β-actin的比值显著升高(P<0.05);相较HFHCD组,HFHCD+Rb1组的TNF-α和IL-1β蛋白相对表达水平较HFHCD+Rb1组显著降低(P<0.05),图2A。

在细胞实验中,与NC组相比,Model组的IL-1β和TNF-α的蛋白相对表达水平显著升高(P<0.01);与Model组相比,Rb1-L组的IL-1β和TNF-α的蛋白相对表达水平显著降低(P<0.01);Rb1-H组的IL-1β和TNF-α的蛋白相对表达水平较Rb1-L组均显著降低(P<0.05,图2B)。

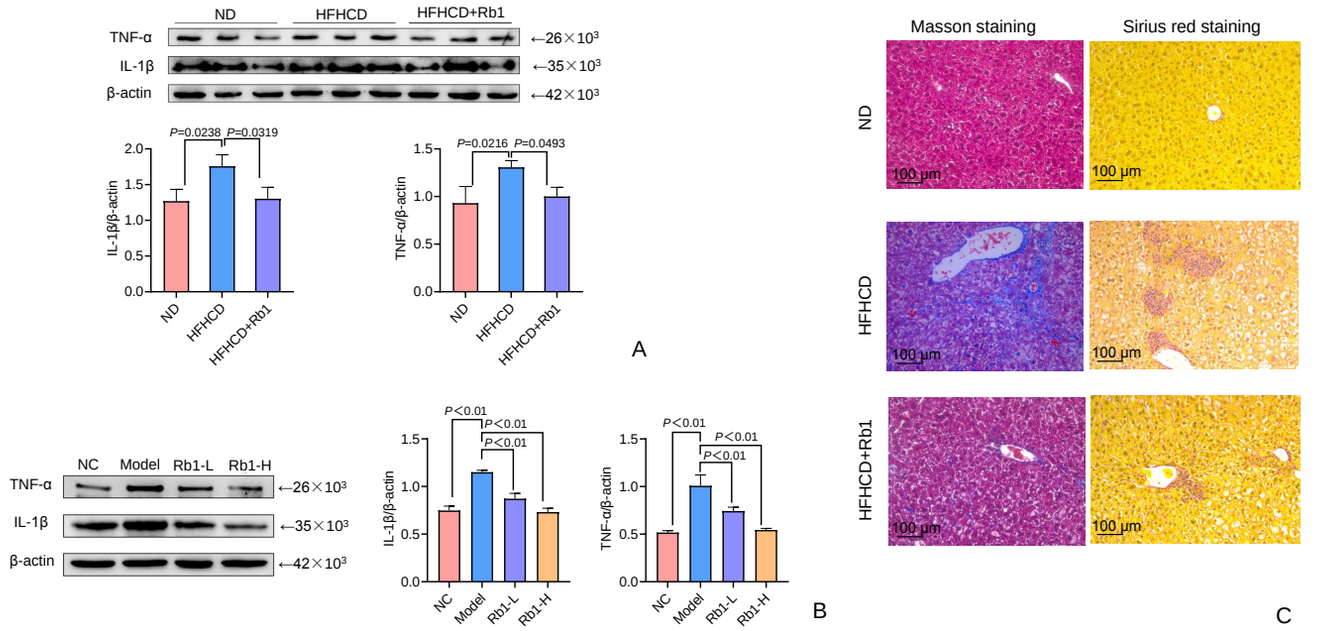
在肝脏纤维化评估中,Masson染色显示,HFHCD组较ND组出现显著胶原纤维沉积且分布广泛,呈现大量的蓝色;HFHCD+Rb1组较HFHCD组胶原纤维显著减少。天狼星红染色显示,HFHCD组较ND组肝脏细胞排列紊乱,胶原纤维显著增多,呈红色;HFHCD+Rb1组较HFHCD组肝脏细胞结构紊乱程度显著降低,红色分布减少。见图2C。

2.3 Rb1可增强回肠屏障紧密连接蛋白表达

HE染色显示(图3A),ND组回肠组织结构清晰而完整,肠绒毛排列规整,紧密连接,无绒毛破损;与ND组相比,HFHCD组肠黏膜结构轻度破坏,绒毛变短;与HFHCD组相比,HFHCD+Rb1组肠黏膜结构破坏程度较轻,绒毛部分脱落变短。小鼠回肠组织中的紧密连接蛋白(ZO-1和Occludin)的蛋白表达水平如图3B所示,与ND组相比,HFHCD组中ZO-1和occludin的表达水平显著降低(P<0.01);HFHCD+Rb1组的ZO-1和Occludin蛋白表达水平较HFHCD组显著升高(P<0.05)。

2.4 Rb1可调节肠道菌群结构与多样性

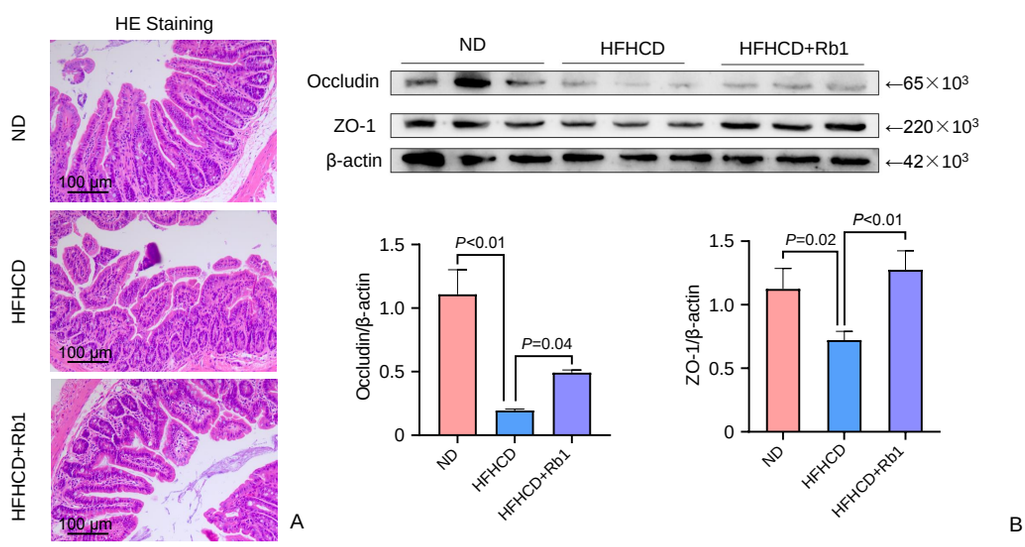
如图4A所示,与ND组相比,HFHCD组肠道微生物群的物种丰富度较低;HFHCD+Rb1组的肠道菌群丰富度明显增加。Alpha多样性分析显示,HFHCD组的4个指数(Chao1指数、observed otus、Shannon指数和Simpson指数)显著低于ND组;与HFHCD组相比,HFHCD+Rb1组的Chao1指数、observed otus、Shannon指数和Simpson指数显著升高(P<0.05)。如图4B所示,主坐标分析显示HFHCD组与ND组的微生物群落结构存在明显分离,而HFHCD+Rb1组的微生物群落结构则偏离HFHCD组、向ND组靠拢,Adonis检验进一步证实组间差异显著(R^2=0.69,P=0.000 167)。在门水平上,如图4C所示,与ND组相比,HFHCD组拟杆菌门和放线菌门丰度下降,厚壁菌门丰度升高;与HFHCD组相比,HFHCD+Rb1组拟杆菌门和放线菌门丰度升高,厚壁菌门丰度下降(P<0.05)。在属水平上,与ND组相比,HFHCD组的双歧杆菌属、乳杆菌属、



A: TNF-α and IL-1β protein expression in mouse liver tissue; B: TNF-α and IL-1β protein expression in HepG2 cells; C: Masson and Sirius Red staining of liver tissue; ND: Normal diet; HFHCD: High-fat, high-cholesterol diet; Rb1: Ginsenoside Rb1; NC: Normal control

图2 Rb1抑制肝脏炎症与纤维化

Figure 2 Rb1-mediated inhibition of hepatic inflammation and fibrosis



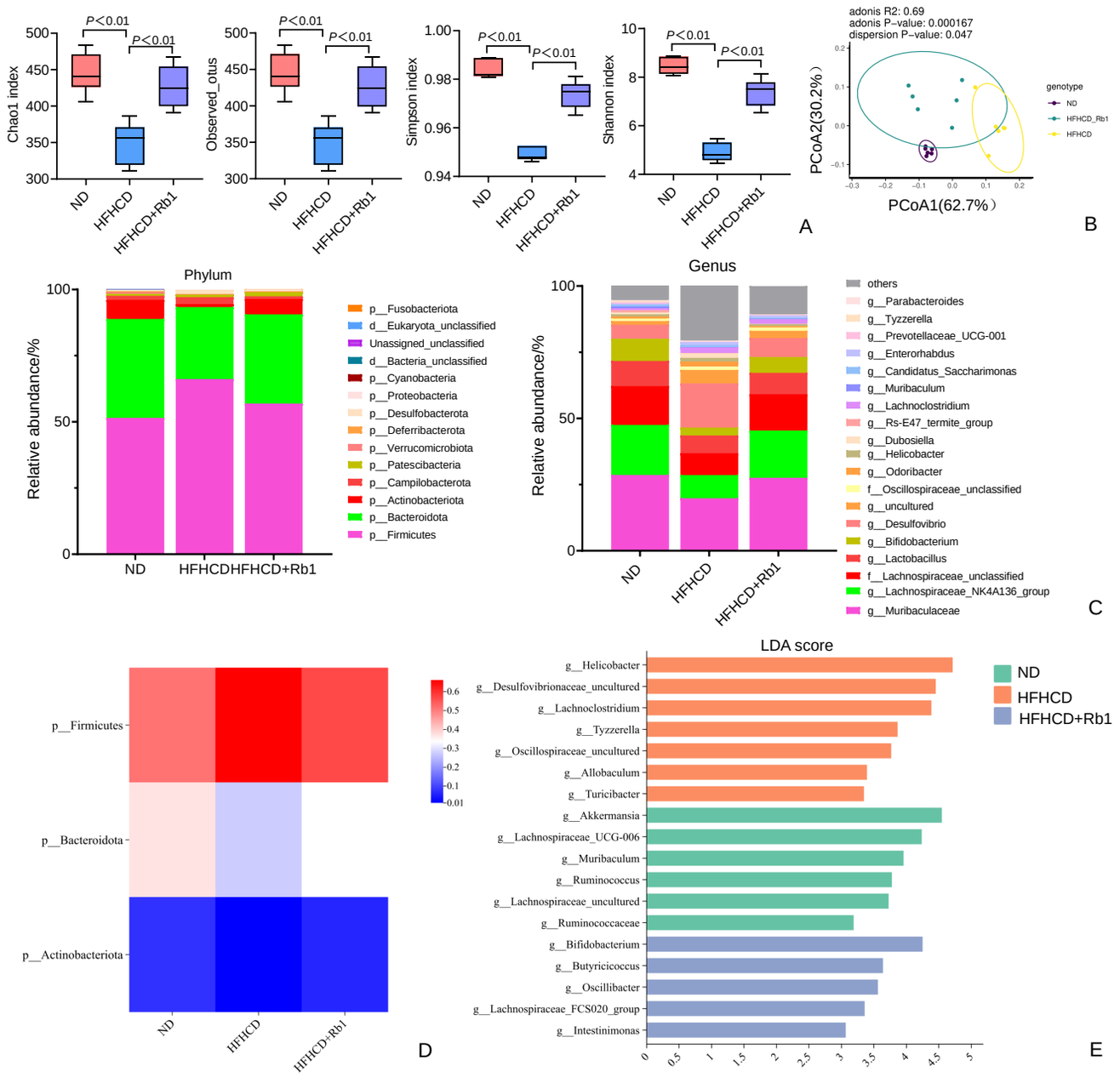
A: HE staining of ileal tissues; B: Western blotting showing ZO-1 and Occludin expression in ileal tissues; ZO-1: Zonula occludens-1; ND: Normal diet; HFHCD: High-fat, high-cholesterol diet; Rb1: Ginsenoside Rb1

图3 Rb1修复回肠屏障结构与紧密连接蛋白表达

Figure 3 Rb1 restoration of ileal barrier structure and enhancing expression of tight junction proteins

毛螺菌科NK4A136群和*Muribaculaceae*的丰度减少,脱硫弧菌属的丰度增加;HFHCD+Rb1组与HFHCD组比较,*Muribaculaceae*、双歧杆菌属和乳杆菌属的丰度增加,脱硫弧菌属的丰度减少(P<0.05)。

通过LEfSe分析,可以对比不同样本组的多样性,识别出在组间存在显著差异的物种,并进一步研究各组中优势菌的变化。如图4D所示,物种组成聚类热图展示了门水平上丰度较高的几个物种,按顺序分别



A, B: Alpha (A) and beta (B) diversity analyses of the abundance of gut microbiota among 3 groups of mice; C: Gut microbiota comparison at phylum and genus levels among 3 groups; D: Clustered heatmap of species composition with high abundance variation at the phylum level; E: LDA score analysis at the genus level across the 3 groups. LDA: Linear discriminant analysis; ND: Normal diet; HFHCD: High-fat, high-cholesterol diet; Rb1: Ginsenoside Rb1

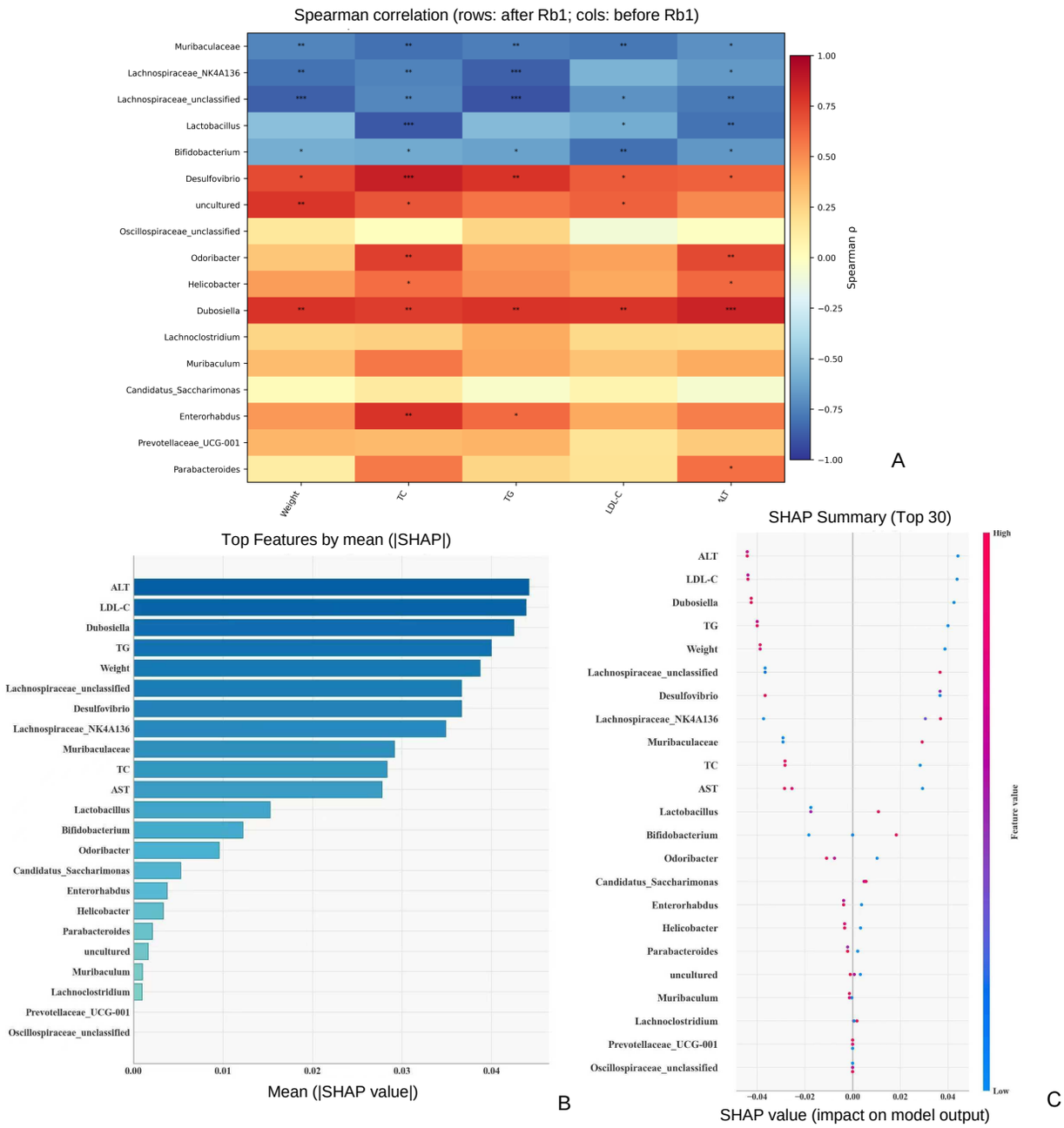
图4 Rb1调节肠道菌群组成与多样性

Figure 4 Rb1 modulation of gut microbiota composition and diversity

为厚壁菌门、拟杆菌门和放线菌门。颜色从蓝色到红色的渐变表示物种丰度从低到高。在ND组、HFHCD组和HFHCD+Rb1组中,丰度最高的物种均为厚壁菌门。图4E则反映了属水平上各组的优势菌属:ND组的优势菌属包括阿克曼菌属和毛螺菌科UCG006群;HFHCD组的优势菌属为螺杆菌属、脱硫弧菌科uncultured群和毛螺菌属;而在HFHCD+Rb1组中,优势菌属为双歧杆菌属。

2.5 基于可解释机器学习识别Rb1调控NASH的关键肠道菌群驱动特征

如图5A所示,Spearman相关性分析显示了特征肠道菌群属水平与NASH小鼠相关表型之间的关联网



A: Spearman correlation heatmap between bacterial genera and metabolic indicators; B: Feature importance ranking based on mean SHAP absolute values; C: SHAP summary plot (top 30 features). NASH: Non-alcoholic steatohepatitis; SHAP: SHapley additive exPlanations

图5 基于相关性分析与SHAP模型识别NASH关键菌群特征

Figure 5 Key microbial feature identification of NASH via correlation analysis and SHAP model

络。结果显示,Rb1富集的有益菌属,如双歧杆菌属、毛螺菌科NK4A136群及*Muribaculaceae*与多项代谢改善指标呈显著正相关,包括体质量、TC、TG、LDL-C的降低,以及ALT水平的下降;同时,这些菌属与NASH风险标志物,如血清ALT、AST、LDL-C及体质量升高呈强负相关。应用SHAP框架对随机森林预测模型进行解释(图5B),基于平均绝对SHAP值的全局特征重要性排序显示,ALT指数是对NASH影响最大的预测因子。SHAP汇总图进一步展示了ALT在NASH预测中的核心驱动作用,ALT升高持续将模型预测结果推向NASH阳性侧(图5C),提示其在非酒精性脂肪性肝炎风险判定中具有关键指向作用。

3 讨论

3.1 Rb1通过调控肠-肝轴多维度改善NASH病理表型

本研究证实,Rb1对HFHCD诱导的NASH具有显著的综合治疗效果,主要通过重塑“肠-肝轴”的稳态来实现。在宏观表型上,Rb1有效逆转了肝脏的脂质过载、炎症浸润和纤维化进程,并纠正了血清ALT、AST及脂代谢紊乱。机制层面,这种改善是多通路协同的结果:一方面,Rb1直接发挥抗炎和抗纤维化作用,其对TNF-α和IL-1β的下调,直接削弱了肝内促炎信号;另一方面,观察到Rb1显著修复了肠道屏障,使ZO-1和Occludin蛋白表达上调,这提示Rb1有效阻断了肠源性内毒素(如LPS)进入肝脏的途径。在单一靶点治疗受限的NASH领域,Rb1这种同时作用于肝脏炎症和肠道源头的特性,是其疗效显著的关键所在。

3.2 肠道菌群的结构性重塑与功能关联

Rb1对肠道菌群的调控是理解其肝脏保护作用的关键机制。NASH模型显示出典型的菌群“失调”特征,即菌群多样性下降、厚壁菌门/拟杆菌门比值失衡,以及关键益生菌的衰减[12-14]。本研究数据明确显示,Rb1干预使菌群生态恢复到更接近健康对照组的状态,尤其富集了*Muribaculaceae*、毛螺菌科NK4A136群、双歧杆菌属和乳杆菌属。这些菌群的恢复意义十分重要,因为它们是短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)的主要生产者[15-17]。SCFAs(如丁酸盐)作为关键的肠道上皮细胞能量底物,不仅直接参与营养代谢,还能通过激活GPR43/GPR41等受体,在肝脏发挥抗炎和改善胰岛素敏感性的信号调节作用[18-19]。因此本课题组推断,Rb1的抗炎效果部分是通过重塑菌群,增加SCFAs等代谢物,进而协同修复肠屏障和抑制肝脏炎症所致。

3.3 基于可解释机器学习的菌群-表型关联量化

传统研究多依赖相关性分析,难以判断菌群变化的相对重要性。本研究创新性地引入SHAP模型,实现了对菌群特征驱动NASH状态的量化解析[20]。SHAP分析的全局重要性排序显示,血清ALT水平作为宿主表型指标,是对NASH状态预测贡献最大的单一因子,这印证了ALT在临床诊断中的核心地位。更具机制深度的是发现有益菌属如乳杆菌属和*Muribaculaceae*的丰度与ALT水平之间存在高度负相关。这意味着,Rb1通过提升这些菌属丰度,直接驱动了肝功能指标的改善。本研究初步建立了从菌群状态到核心病理指标的可预测模型,为筛选干预靶点提供了精确的生物学参数。尽管本研究构建了这一预测工具,但研究受限于单一剂量,且相关性分析尚未达到因果论证的级别。后续须通过梯度剂量设计和粪菌移植实验,进一步验证菌群变化与NASH改善的因果链条,并深入追踪SCFAs等代谢物在其中的分子信号通路。

3.4 Rb1可能通过多种代谢产物协同调节肠-肝轴

本研究结果表明,Rb1能显著富集已知的SCFAs产生菌(如乳杆菌属、双歧杆菌属),SCFAs无疑是介导其改善肠屏障与肝脏炎症的关键代谢物[21]。然而,肠道菌群是一个复杂的生态系统,其结构重塑必然伴随多种代谢产物的变化[22]。除SCFAs外,胆汁酸代谢是连接肠道菌群与肝脏功能的另一核心通路。研究表明,乳杆菌、双歧杆菌等益生菌能通过调节胆汁酸的肠肝循环,影响法尼醇X受体和G蛋白偶联胆汁酸受体5的活性,进而调控肝脏的脂质代谢、葡萄糖稳态和炎症反应[23-24]。此外,菌群代谢产生的吲哚类化合物(如吲哚-3-丙酸)具有抗氧化和抗炎特性,而三甲胺-N-氧化物(TMAO)的前体则与心血管代谢风险相关[25]。本研究观察到Rb1干预后脱硫弧菌属(参与TMAO生成的有害菌)丰度下降,提示其可能同时调节了TMAO相关通路。尽管本研究未对上述代谢物进行定量分析,但结合菌群结构变化与已有文献,推测Rb1对NASH的改善作用可能是通过协同调节SCFAs、胆汁酸谱及其他菌群代谢产物,共同作用于肠屏障与肝脏靶点而实现的。未来利用代谢组学等技术,系统揭示Rb1干预下的代谢物网络变化,将能更完整地阐明其多靶点作用机制。

3.5 Rb1在军事医学中的转化前景

从军事医学角度来看,高负荷训练、不规律作息及高能量摄入是导致军事人员代谢紊乱和NASH高发的重要诱因。Rb1因其多靶点、系统性的调控能力,在改善脂质代谢、抗炎及平衡肠道微生态方面展现出良好的安全性与干预潜力[26-27]。本研究深入阐明了Rb1作用于肠-肝轴的机制,为探索新型的中医药预防和治疗策略奠定了数据基础。未来,Rb1或其核心成分有望开发成针对高风险军事人群的膳食补充剂或辅助治疗药物,以有效控制代谢性肝病的发生率。

综上所述,Rb1可通过重塑肠道菌群、修复肠屏障、抑制炎症反应和改善脂代谢紊乱,从多维机制显

著减缓NASH病理进展。该研究结果不仅深化了对中药调节肠-肝轴机制的理解,也为NASH的临床与军事医学防控提供了新的应用方向。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献:

[1] SAIGO Y, UNO K, ISHIGURE T, *et al*. Pathophysiological features of rat models of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis[J]. In Vivo, 2024, 38(3): 990-999. DOI:10.21873/invivo.13532.

[2] WANG G G, SHEN X W, WANG Y C, *et al*. Analysis of risk factors related to nonalcoholic fatty liver disease: a retrospective study based on 31, 718 adult Chinese individuals [J]. Front Med, 2023, 10: 1168499. DOI: 10.3389/fmed.2023.1168499.

[3] CHEN Z J, LIAO S Q, WU S H, *et al*. The gut-liver axis in liver disease: molecular mechanisms and therapeutic targets [J]. MedComm, 2025, 6(11): e70458. DOI: 10.1002/mco2.70458.

[4] LI J X, YANG M Y, HUANG W, *et al*. The mediating role of inflammatory factors in the association between dietary index for gut microbiota and hypertension[J]. Sci Rep, 2025, 15(1): 36099. DOI:10.1038/s41598-025-19929-0.

[5] MENG X, ZHANG G, CAO H, *et al*. Gut dysbacteriosis and intestinal disease: mechanism and treatment [J]. J Appl Microbiol, 2020, 129(4): 787-805. DOI:10.1111/jam. 14661.

[6] LI X, WU D, NIU J J, *et al*. Intestinal flora: a pivotal role in investigation of traditional Chinese medicine[J]. Am J Chin Med, 2021, 49(2): 237-268. DOI:10.1142/S0192415X21500130.

[7] ZHU L R, LI S S, ZHENG W Q, *et al*. Targeted modulation of gut microbiota by traditional Chinese medicine and natural products for liver disease therapy[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1086078. DOI:10.3389/fimmu.2023.1086078.

[8] LAN T, YU Y, ZHANG J, *et al*. Cordycepin ameliorates nonalcoholic steatohepatitis by activation of the AMP-activated protein kinase signaling pathway [J]. Hepatology, 2021, 74(2): 686-703. DOI:10.1002/hep.31749.

[9] LI C L, YU S Y, LI X X, *et al*. Medicinal formula Huazhi-Rougan attenuates non-alcoholic steatohepatitis through enhancing fecal bile acid excretion in mice [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 833414. DOI: 10.3389/fphar. 2022.833414.

[10] YU X Z, YE L F, ZHANG H, *et al*. Ginsenoside Rb1 ameliorates liver fat accumulation by upregulating perilipin expression in adipose tissue of db/db obese mice [J]. J Ginseng Res, 2015, 39(3): 199-205. DOI: 10.1016/j.jgr.2014.11.004.

[11] ZOU H, ZHANG M, ZHU X T, *et al*. Ginsenoside Rb1 improves metabolic disorder in high-fat diet-induced obese mice associated with modulation of gut microbiota[J]. Front Microbiol, 2022, 13: 826487. DOI: 10.3389/fmicb. 2022.826487.

[12] MANZOOR R, AHMED W, AFIFY N, *et al*. Trust your gut: the association of gut microbiota and liver disease[J]. Microorganisms, 2022, 10(5): 1045. DOI: 10.3390/microorganisms10051045.

[13] MAO Q Y, LIN B B, ZHANG W L, *et al*. Understanding the role of ursodeoxycholic acid and gut microbiome in non-alcoholic fatty liver disease: current evidence and perspectives [J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1371574. DOI:10.3389/fphar.2024.1371574.

[14] FAN Y, LIU Y H, SHAO C Y, *et al*. Gut microbiota-targeted therapeutics for metabolic disorders: mechanistic insights into the synergy of probiotic-fermented herbal bioactives[J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(12): 5486. DOI: 10.3390/ijms26125486.

[15] ILYASKINA D, ALTVEŞ S, DONG L M, *et al*. Adaptive and metabolic convergence in rhizosphere and gut microbiomes [J]. Microbiome, 2025, 13(1): 173. DOI: 10.1186/s40168-025-02179-7.

[16] MA S B, ZHANG Z, WEI Z Q, *et al*. SADI-S and SG surgeries induce distinct bile acid profiles linked to improved glucose metabolism *via* microbiota interactions[J]. Front Microbiol, 2025, 16: 1579149. DOI: 10.3389/fmicb.2025.1579149.

[17] YUAN S J, JIA W T, LIU X M, *et al*. Therapeutic effect of fecal microbiota transplantation on hyperuricemia mice by improving gut microbiota [J]. Front Microbiol, 2025, 16: 1599107. DOI:10.3389/fmicb.2025.1599107.

[18] DANG A T, MARSLAND B J. Microbes, metabolites, and the gut-lung axis[J]. Mucosal Immunol, 2019, 12(4): 843-850. DOI:10.1038/s41385-019-0160-6.

[19] ZHANG Q Z, CHEN D P, DING H T, *et al*. *Lactobacillus amylovorus* extracellular vesicles mitigate mammary gland ferroptosis *via* the gut-mammary gland axis[J]. NPJ Biofilms Microbiomes, 2025, 11(1): 113. DOI: 10.1038/s41522-025-00752-4.

[20] 孙义竹, 李雨捷, 梁浩, 等. 基于机器学习算法建立非肝脏手术术后肝损伤风险预测模型[J]. 陆军军医大学学报, 2024, 46(7): 760-767. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202312018.

SUN Y Z, LI Y J, LIANG H, *et al*. Establishment of risk prediction model for postoperative liver injury after non-liver surgery based on different machine learning algorithms[J]. J Army Med Univ, 2024, 46(7): 760-767. DOI:10.16016/j.2097-0927.202312018.

[21] MARTIN-GALLAUSIAUX C, MARINELLI L, BLOTTIÈRE H M, *et al*. SCFA: mechanisms and functional importance in the gut[J]. Proc Nutr Soc, 2021, 80(1): 37-49. DOI:10.1017/S0029665120006916.

[22] 李胜鹏, 肖续, 周安, 等. 肝硬化患者TIPS术后肠道菌群特征性改变及其与临床指标的相关性研究[J]. 陆军军医大学学报, 2024, 46(12): 1425-1433. DOI:10.16016/j.2097-0927.202309122.
LI S P, XIAO X, ZHOU A, *et al*. Changes in characteristics of gut microbiota and their correlation with clinical indicators in cirrhosis patients after transjugular intrahepatic portosystemic shunt[J]. J Army Med Univ, 2024, 46(12): 1425-1433.DOI:10.16016/j.2097-0927.202309122.

[23] HU J, HOU Q L, ZHENG W Y, *et al*. *Lactobacillus gasseri* LA39 promotes hepatic primary bile acid biosynthesis and intestinal secondary bile acid biotransformation [J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2023, 24(8): 734-748. DOI:10.1631/jzus.B2200439.

[24] RODRIGUES R R, GURUNG M, LI Z P, *et al*. TransKingdom interactions between Lactobacilli and hepatic mitochondria attenuate western diet-induced diabetes [J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 101. DOI:10.1038/s41467-020-20313-x.

[25] LENG X H, WEI X N, WANG J, *et al*. Impacts of intestinal microbiota metabolite trimethylamine N-oxide on cardiovascular disease: a bibliometric analysis [J]. Front Microbiol, 2025, 15: 1491731. DOI:10.3389/fmicb.2024.1491731.

[26] YIN Y S, WANG Z L, YANG Y A, *et al*. Ginsenoside Rb1 regulates CPT1A deacetylation to inhibit intramuscular fat infiltration after rotator cuff tear [J]. iScience, 2024, 27(7): 110331. DOI:10.1016/j.isci.2024.110331.

[27] SHEN L, XIONG Y, WANG D Q, *et al*. Ginsenoside Rb1 reduces fatty liver by activating AMP-activated protein kinase in obese rats[J]. J Lipid Res, 2013, 54(5): 1430-1438. DOI:10.1194/jlr.M035907.

(**收稿**:2025-12-11;**修回**:2026-01-04)

(编辑 邓强庭)