

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research人参皂苷 Rb1 对缺氧/复氧诱导的人肺血管
内皮细胞损伤的作用及机制研究Research on the effects and mechanism of ginsenoside Rb1 against hypoxia/
reoxygenation – induced human pulmonary endothelial cell injury李 虹, 李欣怡, 刘钟桢,
欧阳雨晴, 付志方, 焦红梅

(北京大学 第一医院 老年病内科, 北京, 100034)

LI Hong, LI Xin – yi,
LIU Zhong – hui,
OUYANG Yu – qing,
FU Zhi – fang, JIAO Hong – mei(Department of Geriatrics, Peking
University First Hospital, Beijing 100034,
China)

基金项目: 北京大学第一医院青年临床研究专
项基金资助项目; 北京大学第一医院
中西医协同旗舰医院建设试点项
目—中西医协同团队立项基金资助
项目

作者简介: 李虹(1975 –), 女, 副主任医师, 主要
从事老年医学方面的工作和研究

通信作者: 付志方, 副主任医师

MP: 15010673913

E – mail: fuzhifang@126. com

摘要:目的 观察人参皂苷 Rb1 对缺氧/复氧(H/R)诱导的人肺血管内皮细胞(HPECs)损伤的作用及其潜在机制。**方法** 将 HPECs 随机分为对照组(正常培养)、模型组(予 3 h 缺氧处理后再进行 7 h 复氧)和实验组(H/R 处理前 1 h 分别加入 0.1、1.0、10.0 和 100.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的人参皂苷 Rb1), 用细胞计数试剂盒-8(CCK-8)检测法评估各组的细胞活力, 用酶联免疫吸附实验法(ELISA)检测白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等炎症因子含量, 及线粒体呼吸链复合体 I 与三磷酸腺苷(ATP)合酶活性和 ATP 含量; 用蛋白质印迹法检测葡萄糖调节蛋白 78(GRP78)和 C/EBP 同源蛋白(CHOP)等内质网应激标志蛋白、紧密连接蛋白 1(ZO-1)、血管内皮钙黏蛋白(VE-cadherin)、ATP 合酶 F1 亚基 δ (ATP5D)的蛋白相对表达水平。**结果** 对照组、模型组、实验组(0.1、1.0、10.0 和 100.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的细胞活性分别为 1.07 ± 0.04 , 0.61 ± 0.06 , 0.68 ± 0.07 , 0.80 ± 0.06 , 0.96 ± 0.08 和 0.95 ± 0.09 , 其中 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的保护效果最佳, 后续实验均用此浓度。对照组、模型组、实验组的炎症因子 IL-1 β 水平分别为 (136.25 ± 3.61) , (200.12 ± 8.56) 和 (149.50 ± 9.20) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, IL-6 水平分别为 (4.95 ± 0.26) , (8.96 ± 0.60) 和 (6.23 ± 0.34) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, TNF- α 水平分别为 (328.66 ± 19.14) , (461.54 ± 26.39) 和 (391.77 ± 17.22) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$; 内质网应激通路标志蛋白 GRP78 蛋白相对表达水平分别为 0.84 ± 0.15 , 1.45 ± 0.13 和 0.82 ± 0.15 , CHOP 蛋白相对表达水平分别为 0.66 ± 0.11 , 1.20 ± 0.41 和 0.76 ± 0.14 , 连接蛋白 ZO-1 相对表达水平分别为 0.81 ± 0.11 , 0.25 ± 0.07 和 0.84 ± 0.13 , VE-cadherin 蛋白相对表达水平分别为 0.75 ± 0.12 , 0.32 ± 0.09 和 0.73 ± 0.14 , ATP5D 蛋白相对表达水平分别为 0.88 ± 0.16 , 0.26 ± 0.08 和 0.83 ± 0.17 , 线粒体呼吸链复合体 I 活性分别为 2.12 ± 0.26 , 1.40 ± 0.17 和 1.82 ± 0.15 , ATP 合酶活性分别为 2.14 ± 0.25 , 1.32 ± 0.17 和 1.81 ± 0.18 , 细胞内 ATP 含量分别为 (86.32 ± 8.50) , (52.21 ± 5.62) 和 (91.12 ± 6.10) $\mu\text{mol} \cdot \text{ug}^{-1} \text{protein}$, 模型组的上述指标与对照组相比, 实验组与模型组相比, 在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。**结论** 人参皂苷 Rb1 可能通过改善线粒体功能、增加细胞内 ATP 含量, 减轻 H/R 诱导的 HPECs 损伤、炎症反应和内质网应激, 最终恢复细胞正常功能。

关键词: 人参皂苷 Rb1; 人肺血管内皮细胞损伤; 内质网应激; 线粒体功能; 三磷酸腺苷含量

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2026.08.016

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2026)08-1151-06

Abstract: Objective To investigate the effects of ginsenoside Rb1 on hypoxia/reoxygenation (H/R) – induced injury in human pulmonary endothelial cells (HPECs) and its underlying mechanism. **Methods**

HPECs were randomly divided into control group(normal culture), model group(subjected to 3 h of hypoxia followed by 7 h of reoxygenation), and experimental group(pretreated with $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $1.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $10.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ and $100.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ginsenoside Rb1 for 1 h prior to H/R). Cell viability was assessed using the CCK-8 assay. The levels of inflammatory factors including interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The intracellular adenosine triphosphate (ATP) content and the activities of mitochondrial respiratory chain complex I (complex I) and ATP synthase were detected by ELISA. The protein relative expression levels of glucose-regulated protein 78 (GRP78), C/EBP homologous protein (CHOP), zonula occludens-1 (ZO-1), vascular endothelial cadherin (VE-cadherin) and ATP synthase F1 subunit delta (ATP5D) were measured by Western blot. **Results** The cell viability of the control group, model group and experimental group (0.1 , 1.0 , 10.0 and $100.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) were 1.07 ± 0.04 , 0.61 ± 0.06 , 0.68 ± 0.07 , 0.80 ± 0.06 , 0.96 ± 0.08 and 0.95 ± 0.09 , respectively, among which $10.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ showed the optimal protective effect and this concentration was therefore used for subsequent experimental group. The levels of IL-1 β in the control group, model group and experimental group were (136.25 ± 3.61), (200.12 ± 8.56) and (149.50 ± 9.20) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively; the levels of IL-6 were (4.95 ± 0.26), (8.96 ± 0.60) and (6.23 ± 0.34) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively; the levels of TNF- α were (328.66 ± 19.14), (461.54 ± 26.39) and (391.77 ± 17.22) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively; the relative expression levels of GRP78 were 0.84 ± 0.15 , 1.45 ± 0.13 and 0.82 ± 0.15 , respectively; the relative expression levels of CHOP were 0.66 ± 0.11 , 1.20 ± 0.41 and 0.76 ± 0.14 , respectively; the relative expression levels of ZO-1 were 0.81 ± 0.11 , 0.25 ± 0.07 and 0.84 ± 0.13 , respectively; the relative expression levels of VE-cadherin were 0.75 ± 0.12 , 0.32 ± 0.09 and 0.73 ± 0.14 , respectively; the relative expression levels of ATP5D were 0.88 ± 0.16 , 0.26 ± 0.08 and 0.83 ± 0.17 , respectively; the activities of mitochondrial respiratory chain complex I were 2.12 ± 0.26 , 1.40 ± 0.17 and 1.82 ± 0.15 , respectively; the activities of ATP synthase were 2.14 ± 0.25 , 1.32 ± 0.17 and 1.81 ± 0.18 , respectively; the contents of ATP were (86.32 ± 8.50), (52.21 ± 5.62) and (91.12 ± 6.10) $\mu\text{mol} \cdot \text{ug}^{-1}$ protein, respectively; there were statistically significant differences in the above indicators between the model group and the control group, between the experimental group and the model group (all $P < 0.05$). **Conclusion** Ginsenoside Rb1 may alleviate H/R-induced HPECs injury, inflammatory response, and endoplasmic reticulum stress by improving mitochondrial function and increasing intracellular ATP content, thereby restoring normal cellular function.

Key words: ginsenoside Rb1; human pulmonary endothelial cell injury; endoplasmic reticulum stress; mitochondrial function; adenosine triphosphate content

肺移植是治疗终末期肺部疾病的有效手段,但肺缺血再灌注损伤(ischemia reperfusion injury, IRI)会增加移植排斥反应和慢性移植植物功能障碍的发生风险,严重威胁受者的生存预后^[1]。肺 IRI 以血管内皮功能障碍、毛细血管渗漏和炎症反应为主要特征,常伴随肺血管阻力升高和气道顺应性下降^[2],其发病机制复杂,活性氧(reactive oxygen species, ROS)过量、炎症反应失控、细胞凋亡异常激活以及内质网应激过度等,均参与其中^[3-4]。线粒体在 IRI 的发病机制中处于核心地位^[5-6],其功能障碍主要表现为呼吸链复合体活性降低、三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)合成减少,这些变化会进一步加重 IRI。人参皂苷 Rb1 是人参的主要活性成分之一,具有抗氧化、抗炎和抗凋亡等药理活性。研究表明,人参皂苷 Rb1 可

减轻大鼠肠缺血再灌注诱导的肺损伤^[7],并通过过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)通路修复脑、肺和肠道屏障损伤^[8],但其在肺 IRI 中的作用仍不清楚。本研究通过缺氧/复氧(hypoxia/reoxygenation, H/R)处理诱导人肺血管内皮细胞(human pulmonary endothelial cells, HPECs)损伤,从细胞和分子水平探讨人参皂苷 Rb1 对 HPECs 的保护作用。

材料与方法

1 材料

细胞 HPECs,购自美国卡尔斯巴德公司。

药品与试剂 人参皂苷 Rb1,规格:每瓶 5 mg,纯

度:99.75%,批号:HY-N0039,美国MCE公司生产;细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8,CCK-8)溶液,湖北武汉菲恩生物科技有限公司生产;白细胞介素-1 β (interleukin-1 β ,IL-1 β)、IL-6和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α)酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)试剂盒,均为北京博尔森生物科技有限公司生产;三磷酸腺苷(adenosine triphosphate,ATP)含量ELISA试剂盒,上海碧云天生物技术股份有限公司生产;线粒体呼吸链复合体I和ATP合酶活性ELISA试剂盒,均为美国Andygene公司生产;放射性免疫沉淀测定分析(radioimmunoprecipitation assay,RIPA)裂解液,北京普利莱基因技术有限公司生产;葡萄糖调节蛋白78(glucose-regulated protein,GRP78)、C/EBP同源蛋白(C/EBP homologous protein,CHOP)、紧密连接蛋白1(zonula occludens-1,ZO-1)、血管内皮钙黏蛋白(vascular endothelial cadherin,VE-cadherin)、ATP合酶F1亚基 δ (ATP synthase F1 subunit delta,ATP5D)抗体,均为美国Proteintech公司生产;二喹啉甲酸(bicinchoninic acid assay,BCA)蛋白检测试剂盒、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis,SDS-PAGE)蛋白上样缓冲液(5 $\times$),均为上海碧云天公司生物技术股份有限公司生产。

仪器 Varioskan LUX酶标仪,美国Thermo公司产品;Forma Steri-Cycle i160 CO₂培养箱,美国Thermo公司产品;PowerPac HC高电流电泳仪电源,美国Bio-Rad公司产品;Quantity One图像分析软件,美国Bio-Rad公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养、分组与处理方法^[2]

HPECs培养于含10%胎牛血清和双抗溶液的杜氏改良伊格尔培养基(Dulbecco's Modified Eagle Medium,DMEM)中,置于37℃、5%CO₂的恒温培养箱内培养,将细胞接种于明胶包被的培养板或Transwell小室中,培养至细胞融合成单层,随机分为对照组、模型组和实验组。对照组细胞全程置于常氧环境(5%CO₂、21%O₂)中培养;模型组将细胞置于无血清低糖(1000 mg·L⁻¹)DMEM中,在缺氧环境(5%CO₂、1%O₂)下培养3 h,随后转移至正常培养基中,在常氧环境(5%CO₂、21%O₂)下复氧7 h;实验组分别将0.1、1.0、10.0和100.0 μ mol·L⁻¹的人参皂苷Rb1于H/R处理前1 h加入培养基中。检测各组的细胞活力后,后续实验组均给予最佳保护浓度的

人参皂苷Rb1。

2.2 细胞活力检测

将HPECs接种于明胶包被的96孔板中,分为6组,对照组,模型组,实验组(0.1、1.0、10.0和100.0 μ mol·L⁻¹)。另设空白组(不含细胞、仅含培养基)。每孔加入CCK-8溶液,置于37℃培养箱孵育1 h,使用酶标仪在450 nm波长处检测吸光度值。细胞活力(%)=(实验组OD值-空白OD值)/(对照组OD值-空白OD值) $\times$ 100%。

2.3 ELISA法检测IL-1 β 、IL-6和TNF- α 含量

将HPECs接种于明胶包被的6孔板中。复氧结束后,收集细胞上清液,在4℃条件下以13500 r·min⁻¹转速离心25 min。采用RIPA裂解液提取细胞总蛋白,4℃、13500 r·min⁻¹条件下离心20 min,取上清液即为总蛋白样品。使用ELISA试剂盒,严格按照试剂盒说明书操作,检测细胞内IL-1 β 、IL-6和TNF- α 的含量。

2.4 ELISA法检测ATP含量及线粒体呼吸链复合体I和ATP合酶活性

将HPECs接种于明胶包被的6孔板中。收集细胞后,反复吹打制成细胞悬液。采用ELISA试剂盒检测ATP含量以及线粒体呼吸链复合体I和ATP合酶的活性。操作步骤如下:将样品匀浆后离心,调整蛋白浓度至5.50 mg·mL⁻¹;经去垢剂提取后,检测ATP含量的样品在13000 r·min⁻¹条件下离心20分钟,检测线粒体呼吸链复合体I的样品在16000 r·min⁻¹条件下离心20 min,检测ATP合酶的样品在20000 r·min⁻¹条件下离心20 min;取上清液加入酶标板中,孵育3 h;洗涤3次后加入检测液,在450 nm波长处检测吸光度值变化速率。酶活性以吸光度变化速率(Δ OD·min⁻¹)表示。

2.5 蛋白质印迹法检测内质网应激标志物及连接蛋白含量

将HPECs接种于明胶包被的6孔板中。处理结束后,采用RIPA裂解液提取细胞总蛋白,使用BCA蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。将蛋白样品与5 $\times$ 上样缓冲液混合,经8%或10%SDS-PAGE分离后,转移至聚偏氟乙烯(polyvinylidene fluoride,PVDF)膜上。将膜置于5%脱脂奶粉溶液中,室温封闭1 h;随后加入一抗(GRP78、CHOP、VE-cadherin、ZO-1、ATP5D抗体,稀释比例1:1000;内参GAPDH抗体,稀释比例1:2000),4℃孵育过夜。用含吐温-20的Tris盐酸缓冲液(tris-buffered saline with tween 20,TBST)洗涤膜3次,每次10 min;加入二抗,室温孵育1 h;再次洗

涤3次后,采用化学发光法显影,使用 Quantity One 图像分析软件对条带灰度值进行定量分析。

3 统计学处理

用 Prism 进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 结合 Bonferroni 事后检验进行统计学分析。

结 果

1 人参皂苷 Rb1 对 H/R 诱导的 HPECs 活力和炎症反应的影响

采用 CCK-8 法检测 HPECs 的活力。结果显示,对照组、模型组、实验组 (0.1、1.0、10.0 和 100.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 细胞活力分别为 1.07 ± 0.04 , 0.61 ± 0.06 , 0.68 ± 0.07 , 0.80 ± 0.06 , 0.96 ± 0.08 和 0.95 ± 0.09 , 模型组与对照组相比,实验组与模型组相比,在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 其中 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的保护效果最佳,后续实验均用此浓度。通过 ELISA 法检测炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的含量,与对照组相比,模型组 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的含量均显著增加 ($P < 0.05$)。与模型组相比,实验组的上述炎症因子水平均明显下降 (均 $P < 0.05$),见表 1。

表 1 各组人肺血管内皮细胞 (HPECs) 白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的比较 ($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, $\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in human pulmonary endothelial cells (HPECs) among different groups ($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, $\bar{x} \pm s$)

Group	IL-1 β	IL-6	TNF- α
Control	136.25 ± 3.61	4.95 ± 0.26	328.66 ± 19.14
Model	$200.12 \pm 8.56^*$	$8.96 \pm 0.60^*$	$461.54 \pm 26.39^*$
Experimental	$149.50 \pm 9.20^\#$	$6.23 \pm 0.34^\#$	$391.77 \pm 17.22^\#$

Control group: Without any treatment; Model group: Treated with 3 h of hypoxia followed by 7 h of reoxygenation; Experimental group: Treated with 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ginsenoside Rb1 for 1 h prior to H/R. Compared with control group, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$.

2 人参皂苷 Rb1 对 H/R 诱导的 HPECs 内质网应激的抑制作用

GRP78 和 CHOP 蛋白是反映内质网应激的标志性蛋白。与对照组相比,模型组 GRP78 和 CHOP 的蛋白相对表达水平均显著上调 ($P < 0.05$); 与模型组相

比,实验组两种蛋白的相对表达水平均显著下调 (均 $P < 0.05$),见图 1 I 和表 2。

3 人参皂苷 Rb1 对 H/R 诱导的 HPECs 连接蛋白降解的保护作用

ZO-1 和 VE-cadherin 等细胞连接蛋白是一类动态结构蛋白,其表达和功能变化与多种疾病密切相关。与对照组相比,模型组 ZO-1 和 VE-cadherin 的蛋白相对表达水平均显著下调 ($P < 0.05$); 与模型组比较,实验组 2 种蛋白的相对表达水平均显著上调 (均 $P < 0.05$),见图 1 II 和表 3。

4 人参皂苷 Rb1 对 H/R 诱导的 HPECs 线粒体功能及 ATP 含量的调控作用

与对照组相比,模型组的线粒体呼吸链复合体 I 和 ATP 合酶活性均显著降低 ($P < 0.05$); 与模型组相比,实验组 2 种酶的活性均显著提升 (均 $P < 0.05$),见表 4。对照组、模型组、实验组的 ATP5D 蛋白相对表达水平分别为 0.88 ± 0.16 , 0.26 ± 0.08 和

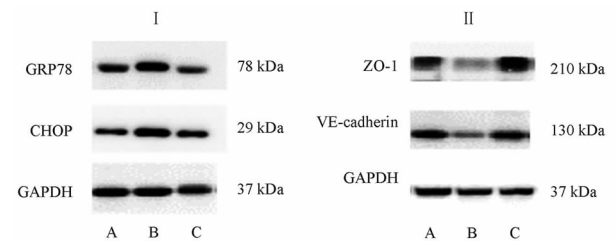


图 1 蛋白质印迹法检测各组 HPECs 内质网应激标志蛋白 (I) 和连接蛋白 (II) 相对表达水平

Figure 1 Western blot assay to detect the relative expression level of endoplasmic reticulum stress marker proteins (I) and junction proteins (II) in HPECs of each group

GRP78: Glucose-regulated protein 78; CHOP: C/EBP homologous protein; ZO-1: Zonula occludens-1; VE-cadherin: Vascular endothelial cadherin; A: Control group; B: Model group; C: Experimental group.

表 2 人参皂苷 Rb1 对缺氧/复氧 (H/R) 诱导的内质网应激相关蛋白葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78) 和 C/EBP 同源蛋白 (CHOP) 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of ginsenoside Rb1 on levels of hypoxia/reoxygenation (H/R)-induced endoplasmic reticulum stress related proteins glucose-regulated protein 78 (GRP78) and C/EBP homologous protein (CHOP) in HPECs of each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	GRP78	CHOP
Control	0.84 ± 0.15	0.66 ± 0.11
Model	$1.45 \pm 0.13^*$	$1.20 \pm 0.41^*$
Experimental	$0.82 \pm 0.15^\#$	$0.76 \pm 0.14^\#$

Compared with control group, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$.

0.83 ± 0.17; 细胞内 ATP 含量分别为 (86.32 ± 8.50), (52.21 ± 5.62) 和 (91.12 ± 6.10) $\mu\text{mol} \cdot \text{ug}^{-1}$ protein。模型组与对照组相比, 实验组与模型组相比, 以上结果在统计学上均有统计学差异 ($P < 0.05$)。

表 3 人参皂苷 Rb1 对 H/R 诱导的紧密连接蛋白 1 (ZO-1) 和血管内皮钙黏蛋白 (VE-cadherin) 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of ginsenoside Rb1 on levels of zonula occludens-1 (ZO-1) and vascular endothelial cadherin (VE-cadherin) in HPECs of each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	ZO-1	VE-cadherin
Control	0.81 ± 0.11	0.75 ± 0.12
Model	0.25 ± 0.07 *	0.32 ± 0.09 *
Experimental	0.84 ± 0.13 [#]	0.73 ± 0.14 [#]

Compared with control group, * $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$.

表 4 各组 HPECs 线粒体呼吸链复合体 I 和 ATP 合酶活性的比较

Table 4 Comparison of the activities of mitochondrial respiratory chain complex I (Complex I) and adenosine triphosphate (ATP) synthase in HPECs among different groups

Group	Complex I	ATP synthase
Control	2.12 ± 0.26	2.14 ± 0.25
Model	1.40 ± 0.17 *	1.32 ± 0.17 *
Experimental	1.82 ± 0.15 [#]	1.81 ± 0.18 [#]

Compared with control group, * $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$.

讨 论

体外 H/R 细胞模型是研究 IRI 的理想工具, 该模型可模拟体内器官缺血再灌注的病理过程, 同时排除体内神经和体液因素的干扰, 能够直接观察不同研究因素对细胞形态、结构和生理功能的影响^[2]。H/R 过程会激活核因子 κB (nuclear factor - kappa B, NF - κB) 通路, 促使 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等炎症因子大量释放, 进而引发全身性炎症反应^[9]。ATP 具有抗炎作用, 细胞外 ATP 可被胞外核苷三磷酸二磷酸水解酶 (ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1, CD39)/外切 5'-核苷酸酶 (ecto-5'-nucleotidase, CD73) 降解为腺苷, 腺苷通过作用于腺苷 2A 受体 (adenosine 2A receptor, A2A) 抑制 NF - κB 通路减轻炎症反应^[10]。ATP 还可通过改善线粒体功能减少炎症因子的过度分泌^[11]。ATP 是内质网应激信号通路的能量基础。内质网应激激活的未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR) 依赖于 ATP 的供应。

ATP 缺乏会降低内质网蛋白折叠效率, 导致错误折叠蛋白积累, 从而进一步激活 UPR^[12]。复氧过程中 ROS 爆发会直接损伤内质网结构, 加重内质网应激^[13]。目前, 疾病中“内质网应激 - ATP 轴”的动态平衡机制已成为研究热点, 靶向未折叠蛋白反应通路或 ATP 代谢的药物, 如 4-苯基丁酸 (4-phenylbutyric acid, 4-PBA) 和牛磺熊去氧胆酸 (tauroursodeoxycholic acid, TUDCA), 已进入临床试验阶段^[14]。人参皂苷 Rb1 属于人参二醇型皂苷, 是人参的主要活性成分之一, 具有抗炎、抗氧化、调节脂代谢紊乱、抗凋亡和恢复自噬稳态的药理作用^[15-18]。已有研究证实, 人参皂苷 Rb1 可改善脓毒症诱导的小鼠急性肺损伤、减轻小鼠脑缺血再灌注损伤^[19-20]。本研究中, 人参皂苷 Rb1 可以显著降低 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 以及内质网应激蛋白 GRP78 和 CHOP 的表达水平, 考虑人参皂苷 Rb1 可能通过 ATP 途径减轻炎症反应和内质网应激。

ATP 可为细胞连接蛋白的动态调控提供能量, 维持屏障功能。在内皮细胞 H/R 过程中, 缺氧导致细胞损伤, 线粒体氧化磷酸化受抑制, ATP 生成减少, 细胞膜完整性破坏, 引发细胞水肿和功能障碍^[21]。ZO-1 蛋白和 VE-cadherin 蛋白的功能同样依赖于 ATP^[22], 若 ATP 缺乏会导致其构象稳定性下降、磷酸化异常, 引起细胞间连接松弛、通透性增加^[23]。本研究中, 人参皂苷 Rb1 可显著改善 H/R 诱导的 ZO-1 蛋白和 VE-cadherin 蛋白水平下降, 维持细胞间连接功能。线粒体呼吸链复合体 I、III、IV 可将质子泵入线粒体内膜间隙, 而 ATP 合酶利用质子梯度驱动二磷酸腺苷 (ADP) 磷酸化生成 ATP, 是能量转换的直接执行者^[24]。ATP5D 是线粒体 ATP 合酶的关键亚基之一, 与 ATP5A1、ATP5B 等其他亚基协同作用, 维持 F₁/F₀ 复合体的组装, 参与 ATP 的合成、水解、催化、组装和信号调控, 在 ATP 生成中发挥关键作用, 直接调控细胞能量代谢^[25]。本研究发现, H/R 条件下, 细胞 ATP 含量下降, 同时伴随线粒体呼吸链复合体 I 和 ATP 合酶活性降低、ATP5D 表达减少, 而人参皂苷 Rb1 干预可逆转上述所有变化, 提示人参皂苷 Rb1 增加细胞 ATP 含量的作用, 可能是通过改善 H/R 诱导的线粒体功能障碍介导的。

本研究提示: 人参皂苷 Rb1 可通过增强线粒体呼吸链复合体 I 和 ATP 合酶的活性、上调 ATP5D 的表达, 增加细胞内 ATP 含量, 进而减轻 H/R 诱导的细胞损伤、炎症反应和内质网应激, 维持细胞间连接功能, 最终恢复细胞正常生理功能。本研究结果为人参皂

昔 Rb1 作为肺 IRI 治疗药物的潜在应用提供了实验依据,目前尚存在一定的局限性:未探究人参皂昔 Rb1 调控 ATP5D 表达的上游通路、未检测细胞凋亡/自噬指标;未开展动物体内实验,细胞实验结果与体内真实病理生理环境仍存在一定差异。以上均有待在未来研究中进一步完善。

参考文献:

- [1] GOUCHOE D A, VIJAYAKUMAR A, ALY A H, *et al.* The role of CD38 in ischemia reperfusion injury in cardiopulmonary bypass and thoracic transplantation: A narrative review[J]. *J Thorac Dis*, 2023, 15(10):5736—5749.
- [2] DING J, ZHANG H, YAN F X, *et al.* Application progress of *in vitro* lung ischemia/reperfusion injury models[J]. *Int J Anesthesiol Resuscit*, 2014, 35(6): 562—566.
- [3] CUI R, LIU S, WANG C, LIU T, *et al.* Methane - rich saline alleviates CA/CPR brain injury by inhibiting oxidative stress, microglial activation - induced inflammatory responses, and ER stress - mediated apoptosis[J/OL]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020; 1—13. 2020 - 10 - 14 [2026 - 02 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33149813/>.
- [4] TAN X, YU L, YANG R, *et al.* Fibroblast growth factor 10 attenuates renal damage by regulating endoplasmic reticulum stress after ischemia - reperfusion injury [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 39. 2020 - 02 - 07 [2026 - 02 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32116715/>.
- [5] JASSEM W, FUGGLE S V, RELA M, *et al.* The role of mitochondria in ischemia/reperfusion injury[J]. *Transplantation*, 2002, 73(4):493—499.
- [6] PANCONESI R, WIDMER J, CARVALHO M F, *et al.* Mitochondria and ischemia reperfusion injury[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2022, 27(5):434—445.
- [7] WANG J, QIAO L, LI S, *et al.* Protective effect of ginsenoside Rb1 against lung injury induced by intestinal ischemia - reperfusion in rats[J]. *Molecules*, 2013, 18(1):1214—1226.
- [8] SU L J, REN Y C, CHEN Z, *et al.* Ginsenoside Rb1 improves brain, lung, and intestinal barrier damage in middle cerebral artery occlusion/reperfusion (MCAO/R) mice via the PPARgamma signaling pathway[J]. *Chin J Nat Med*, 2022, 20(8):561—571.
- [9] SAIKUMAR P, DONG Z, WEINBERG J M, *et al.* Mechanisms of cell death in hypoxia/reoxygenation injury[J]. *Oncogene*, 1998, 17(25):3341—3349.
- [10] WANG Y, ZHU Y, WANG J, *et al.* Purinergic signaling: A gatekeeper of blood - brain barrier permeation [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2023, 14:1112758. 2023 - 02 - 07 [2026 - 02 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36825149/>.
- [11] LU C, YANG B, LIU Y, *et al.* Carvacrol regulates the expression of SLC25A6 by inhibiting VDAC1 to improve mitochondrial function and reduce LPS - induced inflammatory injury in HMEC - 1 cells [J]. *ACS Omega*, 2025, 10(8):8512—8522.
- [12] HIRAMATSU N, CHIANG K, AIVATI C, *et al.* PERK - mediated induction of microRNA - 483 disrupts cellular ATP homeostasis during the unfolded protein response[J]. *J Biol Chem*, 2019, 295(1):237—249.
- [13] ZEESHAN H M, LEE G H, KIM H R, *et al.* Endoplasmic reticulum stress and associated ROS[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(3):327.
- [14] SILVA R C, LINDOSO R S, DIAS W B, *et al.* What does not kill mesangial cells makes it stronger? The response of the endoplasmic reticulum stress and the O - GlcNAc signaling to ATP depletion [J]. *Life Sci*, 2022, 311(Pt A):121070.
- [15] JIANG N, ZHANG Y, YAO C, *et al.* Ginsenosides Rb1 attenuates chronic social defeat stress - induced depressive behavior via regulation of SIRT1 - NLRP3/Nrf2 pathways[J/OL]. *Front Nutr*, 2022, 9:868833. 2022 - 05 - 12 [2026 - 02 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35634375/>.
- [16] NI X C, WANG H F, CAI Y Y, *et al.* Ginsenoside Rb1 inhibits astrocyte activation and promotes transfer of astrocytic mitochondria to neurons against ischemic stroke[J/OL]. *Redox Biol*, 2022, 54: 102363. 2022 - 06 - 08 [2026 - 02 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35696763/>.
- [17] KIM H J, JUNG S W, KIM S, *et al.* Panax ginseng as an adjuvant treatment for Alzheimer's disease. [J]. *J Ginseng Res*, 2018, 42(4):401—411.
- [18] KIM J H. Pharmacological and medical applications of Panax ginseng and ginsenosides: A review for use in cardiovascular diseases. [J]. *J Ginseng Res*, 2018;42(3), 264—269.
- [19] ZHENG F, WANG W, Gao L, *et al.* Targeted metabolomics reveals the role of ginsenoside Rb1 in modulating inflammation and cellular senescence in sepsis - induced acute lung injury[J]. *Food Sci Hum Wellness*, 2025, 14(6): 9250658.
- [20] 刘若静, 赵雪, 朱毅祯等. 人参皂昔 Rb1 调控小胶质细胞极化减轻小鼠脑缺血损伤[J]. *中国组织工程研究*, 2025, 29(29): 6219—6227.
- [21] HARRINGTON J S, RYTER S W, PLATAKI M, *et al.* Mitochondria in health, disease, and aging [J]. *Physiol Rev*, 2023, 103(4):2349—2422.
- [22] ZHAO Y, HUANG S, XIE R, *et al.* Extracellular ATP accelerates cell death and decreases tight junction protein ZO - 1 in hypoxic cochlear stria marginal cells in neonatal rats[J/OL]. *Cell Signal*, 2023, 108:e110732. 2023 - 05 - 26 [2026 - 02 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37245680/>.
- [23] ZHAO Y, GAN L, REN L, *et al.* Factors influencing the blood - brain barrier permeability [J/OL]. *Brain Res*, 2022, 1788: e147937. 2022 - 05 - 21 [2026 - 02 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35568055/>.
- [24] SOUSA J S, D'IMPRIMA E, VONCK J. Mitochondrial respiratory chain complexes[J/OL]. *Subcell Biochem*, 2018, 87:167—227. 2018 - 02 - 21 [2026 - 02 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29464561/>.
- [25] OLÁHOVÁ M, YOON W H, THOMPSON K, *et al.* Biallelic mutations in ATP5F1D, which encodes a subunit of ATP synthase, cause a metabolic disorder[J]. *Am J Hum Genet*, 2018, 102(3): 494—504. (本文编辑:王珊 收稿日期 2026 - 02 - 28)