

引用:陆芳洁,周著,黄翔,王忆梅,高锡坤,陈洁.人参皂苷Rg1通过上调miR-30e-5p改善脓毒症大鼠的肠损伤、炎症反应、细菌移位及肠道屏障[J].中医导报,2026,32(5):26-32,48.

# 人参皂苷Rg1通过上调miR-30e-5p改善脓毒症大鼠的肠损伤、炎症反应、细菌移位及肠道屏障\*

陆芳洁,周 著,黄 翔,王忆梅,高锡坤,陈 洁

(南京中医药大学常熟附属医院/常熟市中医院/常熟市新区医院,江苏 常熟 215500)

[摘要] 目的:探讨人参皂苷Rg1通过调控miR-30e-5p改善脓毒症相关肠损伤的作用机制。方法:采用脂多糖(LPS)诱导的肠黏膜上皮细胞(MEC)脓毒症体外模型及盲肠结扎穿孔术(CLP)构建脓毒症大鼠模型,在给予人参皂苷Rg1干预后,检测miR-30e-5p的表达。在体外细胞模型中,分别转染miR-30e-5p inhibitor后,再分别给予人参皂苷Rg1(15、30和60 μmol/L)处理48 h,流式细胞术检测细胞凋亡,酶联免疫吸附试验(ELISA)定量分析白介素-6(IL-6)、IL-1β和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平;蛋白质印迹(Western blotting)法检测闭锁小带蛋白-1(ZO-1)和闭合蛋白(Occludin)表达。在大鼠模型中,分别注射AAV-miR-30e-5p inhibitor后,再给予尾静脉注射人参皂苷Rg1(30 mg/kg)处理,通过全自动血细胞分析仪检测外周血白细胞及粒细胞亚群,ELISA测定血清炎症因子(IL-6、IL-1β、TNF-α)、肠屏障损伤标志物[内毒素、二胺氧化酶(DAO)、脂多糖和D-乳酸]水平,HE染色观察小肠损伤情况;免疫组化检测ZO-1和Occludin表达情况。结果:miR-30e-5p在脓毒症大鼠肠组织和LPS处理的MEC细胞中表达下调( $P<0.05$ ),给予人参皂苷Rg1干预后,上述肠组织和细胞中的miR-30e-5p表达上调( $P<0.05$ )。人参皂苷Rg1能抑制LPS诱导的MEC细胞凋亡( $P<0.05$ ),并降低促炎因子(IL-6、IL-1β、TNF-α)水平( $P<0.05$ ),恢复ZO-1和Occludin蛋白表达( $P<0.05$ )。敲低miR-30e-5p则能部分解除人参皂苷Rg1的上述保护效应( $P<0.05$ )。在大鼠模型中,注射AAV-miR-30e-5p inhibitor能部分消除人参皂苷Rg1对肠损伤、炎症反应、细菌移位及肠道屏障的改善作用( $P<0.05$ )。结论:人参皂苷Rg1通过上调miR-30e-5p,缓解脓毒症诱发的肠上皮细胞凋亡、全身炎症反应及肠道屏障功能障碍,其机制涉及紧密连接蛋白表达调控及细菌移位抑制。

[关键词] 人参皂苷Rg1;脓毒症;miR-30e-5p;肠损伤;炎症反应;肠道屏障功能;肠黏膜上皮细胞;大鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2026)05-0026-07

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2026.05.005

## Ginsenoside Rg1 Improves Intestinal Injury, Inflammatory Response, Bacterial Translocation, and Intestinal Barrier in Septic Rats by Up-Regulating miR-30e-5p

LU Fangjie, ZHOU Zhu, HUANG Xiang, WANG Yimei, GAO Xikun, CHEN Jie

(Changshu Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine / Changshu Hospital of Traditional Chinese Medicine / Changshu New District Hospital, Changshu Jiangsu 215500, China)

[Abstract] Objective: To investigate the mechanism of ginsenoside Rg1 in alleviating sepsis-associated intestinal injury by regulating miR-30e-5p. Methods: Lipopolysaccharide (LPS)-induced intestinal mucosal epithelial cell (MEC) sepsis *in vitro* model and cecal ligation and puncture (CLP)-induced sepsis rat model were established. After ginsenoside Rg1 intervention, miR-30e-5p expression was detected. In the cellular model, MECs were transfected with miR-30e-5p inhibitor followed by ginsenoside Rg1 treatment (15, 30, and 60 μmol/L) for 48 h. Cell apoptosis was assessed by flow cytometry. IL-6, IL-1β, and TNF-α levels were quantified by enzyme

\*基金项目:常熟市科技发展计划项目(CSWS202314)

通信作者:高锡坤,男,主任医师,研究方向为脓毒症与胃肠功能障碍相关的基础与临床研究

linked immunosorbent assay (ELISA), and ZO-1 and Occludin protein expression was analyzed via Western blotting. In rats, AAV-miR-30e-5p inhibitor was injected, followed by ginsenoside Rg1 (30 mg/kg) via tail vein. Peripheral blood leukocytes and granulocyte subsets were measured by automated hematology analyzer. Serum inflammatory factors (IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) and intestinal barrier injury markers [endotoxin, diamine oxidase (DAO), lipopolysaccharide, and D-lactate] were assessed by ELISA. Small intestinal injury was observed via HE staining, and ZO-1 and Occludin expression was detected by immunohistochemistry. Results: The miR-30e-5p was downregulated in septic rat intestinal tissues and LPS-treated MECs ( $P<0.05$ ), which was upregulated by ginsenoside Rg1 intervention in both models ( $P<0.05$ ). Ginsenoside Rg1 inhibited LPS-induced MEC apoptosis ( $P<0.05$ ), reduced pro-inflammatory cytokine (IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) levels ( $P<0.05$ ), and restored ZO-1 and Occludin expression ( $P<0.05$ ). miR-30e-5p knockdown partially reversed ginsenoside Rg1's protective effects ( $P<0.05$ ). In rats, AAV-miR-30e-5p inhibitor attenuated Rg1-mediated improvements in intestinal injury, inflammation, bacterial translocation, and barrier function ( $P<0.05$ ). Conclusion: Ginsenoside Rg1 can alleviate sepsis-induced intestinal epithelial apoptosis, systemic inflammation, and intestinal barrier dysfunction by up-regulating miR-30e-5p, involving regulation of tight junction protein expression and bacterial translocation suppression.

[Keywords] Ginsenoside Rg1; sepsis; miR-30e-5p; intestinal injury; inflammatory response; intestinal barrier function; intestinal mucosal epithelial cells; rat

脓毒症作为感染诱发的系统性炎症风暴,其高死亡率与继发性多器官功能障碍密切相关<sup>[1]</sup>。其中,肠道不仅是病原体入侵的“放大器”,更是免疫稳态失衡的“策源地”<sup>[2]</sup>。研究表明,脓毒症患者肠道通透性早期升高与预后不良直接相关,其核心机制涉及肠黏膜上皮细胞(mucosal epithelial cells, MEC)凋亡、紧密连接蛋白如闭锁小带蛋白-1(ZO-1)和闭合蛋白(Occludin)解体,以及细菌/内毒素移位诱发的“二次打击”<sup>[3]</sup>。尽管抗感染、液体复苏等治疗手段可暂时缓解症状,但针对肠屏障功能修复的特异性干预策略仍严重匮乏,成为当前脓毒症治疗的瓶颈之一。

近年来,天然产物的多靶点调控优势为脓毒症治疗提供了新方向。人参或人参提取物已被应用于脓毒症的治疗<sup>[4-5]</sup>。人参皂苷Rg1作为人参的主要活性成分,已证实具有抗炎[如抑制核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)活化]、抗凋亡[如调节B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)和Bcl-2相关X蛋白(Bax)平衡]及屏障保护(如维持黏蛋白分泌)作用<sup>[6-7]</sup>。人参皂苷Rg1对肠道疾病的保护效应在缺血再灌注损伤和结肠炎模型中已见报道<sup>[8-9]</sup>,但其在脓毒症肠损伤中的作用尚未完全阐明,特别是其对表观遗传调控因子如微小RNA(miRNA)的干预潜力有待挖掘。

miRNA作为基因表达的精细调控者,在脓毒症相关器官损伤中扮演“双刃剑”角色。近期研究<sup>[10-11]</sup>揭示,miR-30e-5p在急性肾损伤和心肌缺血中通过靶向ATG5、磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)等分子调控细胞自噬与凋亡,但其在肠屏障稳态中的作用尚不清楚。有趣的是,生物信息学预测提示miR-30e-5p可能靶向调控紧密连接蛋白相关基因,这为阐释肠道屏障破坏的分子机制提供了新线索。基于此,本研究提出创新性假设:人参皂苷Rg1可能通过抑制miR-30e-5p的异常表达,阻断“肠上皮凋亡-炎症风暴-屏障崩溃”恶性循环,从而缓解脓毒症肠损伤。为验证这一假说,本研究构建脂多糖(LPS)诱导的MEC体外脓毒症模型及盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and

puncture, CLP)大鼠体内模型,结合miRNA过表达/干预技术,系统解析人参皂苷Rg1的作用靶点与分子机制,以期为脓毒症肠损伤的精准治疗提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 细胞、试剂 MEC细胞(武汉赛奥斯生物科技有限公司);人参皂苷Rg1(货号:HY-N0045,纯度>99%)购自美国MCE公司;mirVana miRNA分离试剂盒(美国Invitrogen公司,货号:AM1561);MicroRNA逆转录试剂盒(美国Applied Biosystems公司,货号:A28007);膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)/碘化丙啶(PI)细胞凋亡试剂盒(货号:KGA1102-100)和Realtime PCR Master Mix(SYBR Green)试剂(货号:KGF2101-100)购自江苏凯基生物技术股份有限公司;内毒素(endotoxin)ELISA试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,货号:ml003197);IL-6(货号:CSB-E04640r)、TNF- $\alpha$ (货号:CSB-E11987r)、IL-1 $\beta$ (货号:CSB-E08055r)、D-乳酸(D-lactate,货号:CSB-E11722r)和LPS(货号:CSB-E14247r)ELISA试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司;FITC-葡聚糖(日本TDB公司,货号:FP40-100mg);闭锁小带蛋白-1(ZO-1,货号:RMX00002)、闭合蛋白(Occludin,货号:27260-1-AP)抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司; $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体(货号:AF5003)及HRP标记羊抗兔IgG二抗(货号:A0208)购自上海碧云天生物科技公司;AAV-miR-30e-5p inhibitor(货号:V027-241102)和对照AAV-miR-NC的AAV病毒载体(货号:V027)由武汉维诺赛生物技术有限公司构建。

1.1.2 实验动物 60只SPF级雄性SD大鼠,体质量215-235 g,购自杭州启真实验动物科技有限公司,动物生产许可证号:SCXK(浙)2022-0005,动物质量合格证号:QZ-SPF-R-20240401-0015,将其常规饲养在江苏博赛孚医疗科技有限公司SPF级屏障环境中,动物使用许可证号:SYXK(苏)2022-0003,饲养

条件为:温度22℃~24℃,湿度55%~65%,12 h/12 h光照和黑暗交替,可自由饮水、饮食。经7 d适应性饲养,进行后续实验。

1.2 方法

1.2.1 细胞实验

1.2.1.1 细胞培养与转染 MEC细胞常规于含10%胎牛血清的DMEM培养基中。取对数生长期的MEC细胞进行转染。转染前1d,将细胞接种在6孔板(1×10<sup>6</sup>孔),次日用无血清的培养基替换旧培养基,并分别加入AAV-miR-30e-5p inhibitor载体和对照AAV-miR-NC载体(均为5×10<sup>5</sup> vg/细胞),48 h后通过RT-qPCR法检测miR-30e-5p水平以评估转染效率。

1.2.1.2 细胞模型构建与人参皂苷Rg1干预 采用2 mg/mL LPS预处理MEC细胞30 min,随后分别给予人参皂苷Rg1低剂量(15 μmol/L)、中剂量(30 μmol/L)和高剂量(60 μmol/L)干预48 h。为明确miR-30e-5p敲低对人参皂苷Rg1在LPS诱导的MEC细胞模型中保护作用的影响,进一步将MEC细胞随机分为4组:(1)miR-NC组(转染AAV-miR-NC);(2)LPS+miR-NC组(转染AAV-miR-NC后,以2 mg/mL LPS预处理30 min);(3)LPS+Rg1+miR-NC组(转染AAV-miR-NC后,以2 mg/mL LPS预处理30 min,继而给予60 μmol/L Rg1处理48 h);(4)LPS+Rg1+miR-30e-5p inhibitor组(转染AAV-miR-30e-5p inhibitor后,以2 mg/mL LPS预处理30 min,继而给予60 μmol/L Rg1处理48 h)。

1.2.1.3 RT-qPCR法检测细胞中miR-30e-5p水平 用mirVana miRNA分离试剂盒提取总miRNA,定量后,取1 μg miRNA用MicroRNA逆转录试剂盒进行逆转录成cDNA。然后以cDNA为模板和目的基因引物,用Realtime PCR Master Mix (SYBR Green)试剂盒进行RT-qPCR法反应。目的引物序列见表1。反应条件95℃ 30 s(预变性),95℃ 5 s → 60℃ 30 s进行40循环。以2<sup>-ΔΔCt</sup>计算miR-30e-5p表达量。

表1 实验所用的引物序列

基因	引物序列	产物长度/bp
miR-30e-5p	正向:5'-TGTAACATCCTTGACTGGAAG-3'	72
	反向:5'-GTGCAGGCTCCGAGGT-3'	
U6	正向:5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'	94
	反向:5'-GTGTGCTGGAGTCGGCAA-3'	

1.2.1.4 细胞凋亡检测 按上述方法处理后的细胞重悬于结合缓冲液中,按试剂盒说明书步骤,在避光条件下分别依次加入5 μL Annexin V-FITC溶液(孵育5 min)和10 μL PI溶液(孵育5 min)。流式细胞仪上机测量细胞凋亡。

1.2.1.5 细胞中IL-6、IL-1β和TNF-α水平检测 按上述方法处理后的细胞,收集细胞上清液,按试剂盒说明书步骤检测IL-6、IL-1β和TNF-α水平。

1.2.1.6 细胞中ZO-1和Occludin蛋白表达检测 细胞处理后,用RIPA法提取总蛋白,并用BCA法对蛋白浓度定量和校准后,将蛋白按30 μg/样进行Western blotting电泳分离并转印至PVDF膜。封闭膜后,室温下依次孵育一抗ZO-1和Occludin(均1:2 000)及β-actin(1:6 000)过夜,HRP标记的羊抗兔IgG二抗(1:1 000)1 h。ECL化学发光底物反应后,采用e-Blot成像系统捕获特异性条带,Image J软件进行灰度值分析(目标蛋

白与内参β-actin的比值作为相对表达量)。

1.2.2 动物实验

1.2.2.1 动物模型构建与分组处理 SD大鼠随机分为5组:假手术组(Sham)(n=7)、CLP造模组(CLP)(n=16)、人参皂苷Rg1治疗组(Rg1)(n=10)、人参皂苷Rg1治疗+AAV-miR-NC组(Rg1+miR-NC)(n=11)和人参皂苷Rg1治疗+AAV-miR-30e-5p inhibitor组(Rg1+miR-30e-5p inhibitor)(n=16)。CLP操作如下:术前禁食12 h后,腹腔注射1%戊巴比妥钠(50 mg/kg)行全身麻醉,沿腹正中线常规备皮消毒并切开约1.5 cm切口;暴露盲肠后,距回盲瓣5 mm处结扎远端1/3肠段,采用18号针头贯通穿刺3次并轻压排出约1 mL肠内容物;复位盲肠后逐层缝合腹腔,术后皮下注射预热生理盐水(5 mL/100 g)补充体液,并在饮水中添加布洛芬(10 mg/kg)持续镇痛72 h。Sham组仅行开腹及盲肠暴露操作,不实施结扎穿刺。除Sham组外,其余组均进行了CLP造模。Rg1+miR-NC组和Rg1+miR-30e-5p inhibitor组于造模前1周分别通过尾静脉注射AAV-miR-NC和AAV-miR-30e-5p inhibitor,剂量为1×10<sup>12</sup> vg/只。人参皂苷Rg1治疗相关各组分别于CLP造模前30 min和术后1~7 d通过尾静脉注射30 mg/kg人参皂苷Rg1(人参皂苷Rg1剂量参阅预实验与文献[12-13]),1次/d。截至实验结束,CLP组与Rg1+miR-30e-5p inhibitor组各死亡9只,Rg1组死亡3只,Rg1+miR-NC组死亡4只,最终纳入统计为每组7只。

1.2.2.2 血清中炎症因子、肠屏障损伤标志物水平检测 收集眼眶静脉血,并以3 500 r/min(离心半径10 cm)离心15 min收集血清,按ELISA检测试剂盒说明书方法检测血清炎症因子(IL-6、IL-1β、TNF-α)、肠屏障损伤标志物[内毒素、二胺氧化酶(DAO)、脂多糖和D-乳酸]水平。

1.2.2.3 FITC-葡聚糖法检测肠通透性 实验大鼠禁食12 h后,以灌胃法给予FITC标记的葡聚糖(200 mg/kg)。给药后4 h,经眼眶静脉丛采集全血样本,按上述方法分离血清。使用多功能荧光酶标仪(激发波长485 nm,发射波长535 nm)定量检测血清中FITC-葡聚糖荧光强度,其浓度与肠道通透性呈正相关。

1.2.2.4 RT-qPCR法检测组织中miR-30e-5p水平 药物干预结束后,将大鼠麻醉后行断颈处死,取小肠组织,对小肠组织匀浆后,按照方法学“1.2.1.3”方法进行miRNA提取,以及RT-qPCR法检测组织中miR-30e-5p水平。

1.2.2.5 HE染色 将小肠组织采用4%多聚甲醛进行24 h固定,石蜡包埋后,进行5 μm切片。将切片烘干后脱蜡,采用梯度酒精、蒸馏水行水化及洗涤,之后使用HE染色,于光学显微镜下观察大鼠小肠组织病理形态变化情况。

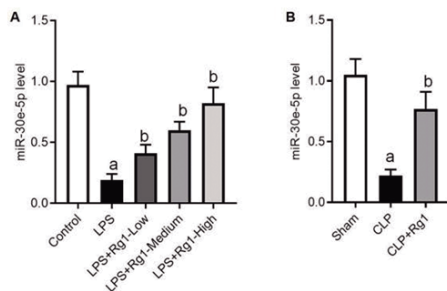
1.2.2.6 免疫组化染色 取小肠组织切片经梯度脱蜡、水化处理后,以3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>室温孵育30 min消除内源性过氧化物酶活性。经PBS洗涤后,切片采用5% BSA室温封闭1 h,随后采用SP法参照免疫组化试剂盒操作说明,检测肠组织切片的ZO-1、Occludin蛋白表达,并采用DAB显色系统进行可视化检测。经光学显微镜观察后,利用Image J软件基于阳性细胞率(≥10%视野覆盖率)与染色强度(0-3级评分)乘积值计算免疫组化积分,判定标准:积分值≥1判定为阳性表达(阳性阈

值 $>0$ ),且积分值与目标蛋白表达水平呈正相关<sup>[4]</sup>。

1.3 统计学方法 采用统计软件SPSS 29.0进行分析。计量资料以“均数 $\pm$ 标准差”( $\bar{x}\pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用Tukey检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

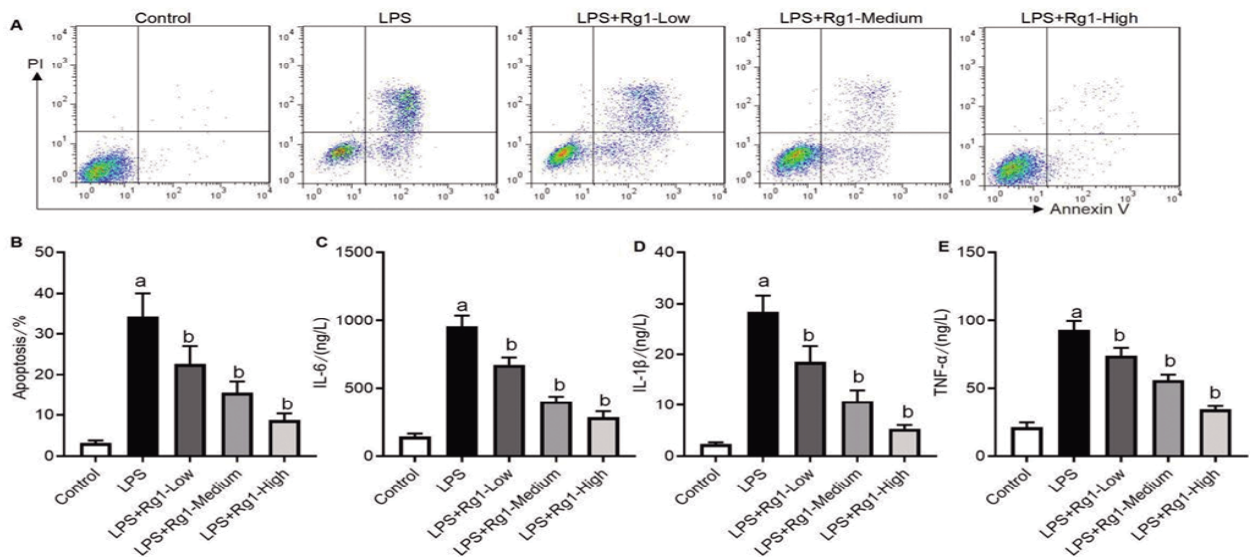
2.1 miR-30e-5p在实验模型中表达情况 在LPS诱导的MEC细胞模型中,定量分析显示LPS组miR-30e-5p表达水平较对照组显著降低( $P<0.05$ );而人参皂苷Rg1治疗可逆转这一变化,呈现剂量依赖性的表达上调( $P<0.05$ ) (见图1A)。此结果同样在CLP大鼠模型中得到验证,CLP组肠道组织miR-30e-5p表达量下降至Sham组的(0.22 $\pm$ 0.06)倍( $P<0.05$ ),而人参皂苷Rg1处理使其恢复至Sham组的(0.77 $\pm$ 0.14)倍( $P<0.05$ ) (见图1B)。



注:A.miR-30e-5p在LPS诱导的MEC细胞模型中表达情况;B.miR-30e-5p在CLP诱导的大鼠模型中表达情况。与Control组或Sham组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与LPS组或CLP组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

### 图1 人参皂苷Rg1对LPS/CLP诱导的MEC细胞及大鼠模型miR-30e-5p表达的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ (A)或 $n=7$ (B))

2.2 人参皂苷Rg1对LPS诱导的MEC细胞凋亡与炎症的影响 流式细胞术检测结果(图2A和2B)显示,与对照组比较,LPS组细胞凋亡率明显升高( $P<0.05$ );与LPS组比较,Rg1治疗组中细胞凋亡随着Rg1剂量依赖性降低( $P<0.05$ )。ELISA检测结果(图2C-2E)显示,与模型组比较,LPS组IL-6、IL-1 $\beta$ 和

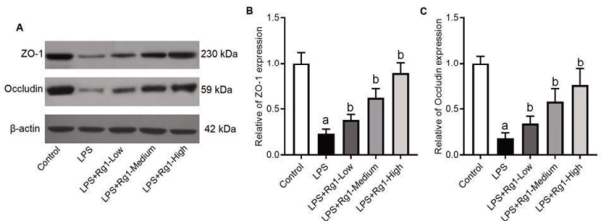


注:A-B.流式细胞术检测各组细胞凋亡;C-E.ELISA分析各组细胞IL-6、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 水平。与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与LPS组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

### 图2 人参皂苷Rg1对LPS诱导的MEC细胞凋亡与促炎因子分泌的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

TNF- $\alpha$ 水平( $P<0.05$ );与LPS组比较,Rg1治疗以剂量依赖性方式显著抑制这些炎症因子释放( $P<0.05$ )。

2.3 人参皂苷Rg1对LPS诱导的MEC细胞中紧密连接蛋白表达的影响 Western blotting检测结果显示,与对照组比较,LPS组细胞中ZO-1和Occludin蛋白明显降低( $P<0.05$ );人参皂苷Rg1治疗以剂量依赖性方式恢复细胞中ZO-1和Occludin蛋白表达( $P<0.05$ )。(见图3)

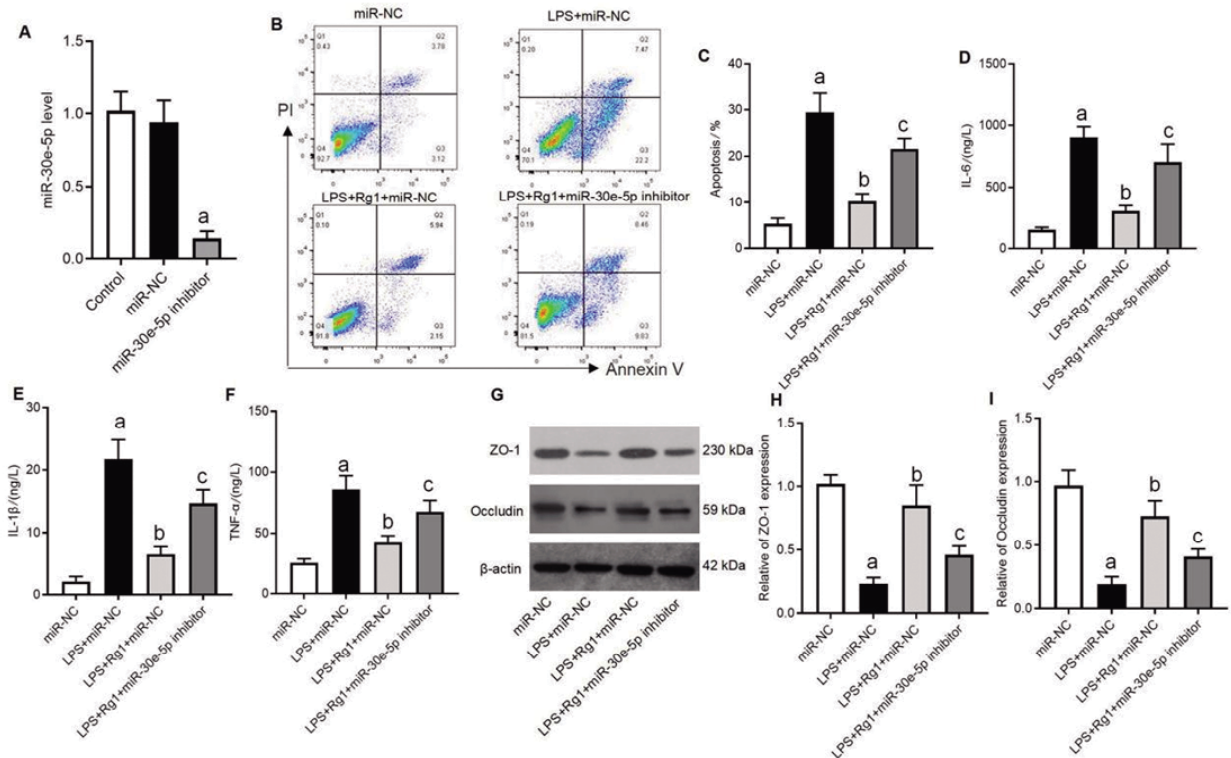


注:A.ZO-1和Occludin蛋白表达Western blotting图;B-C.ZO-1和Occludin蛋白表达水平的统计分析。与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与LPS组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

### 图3 人参皂苷Rg1对LPS诱导的MEC细胞中紧密连接蛋白表达的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

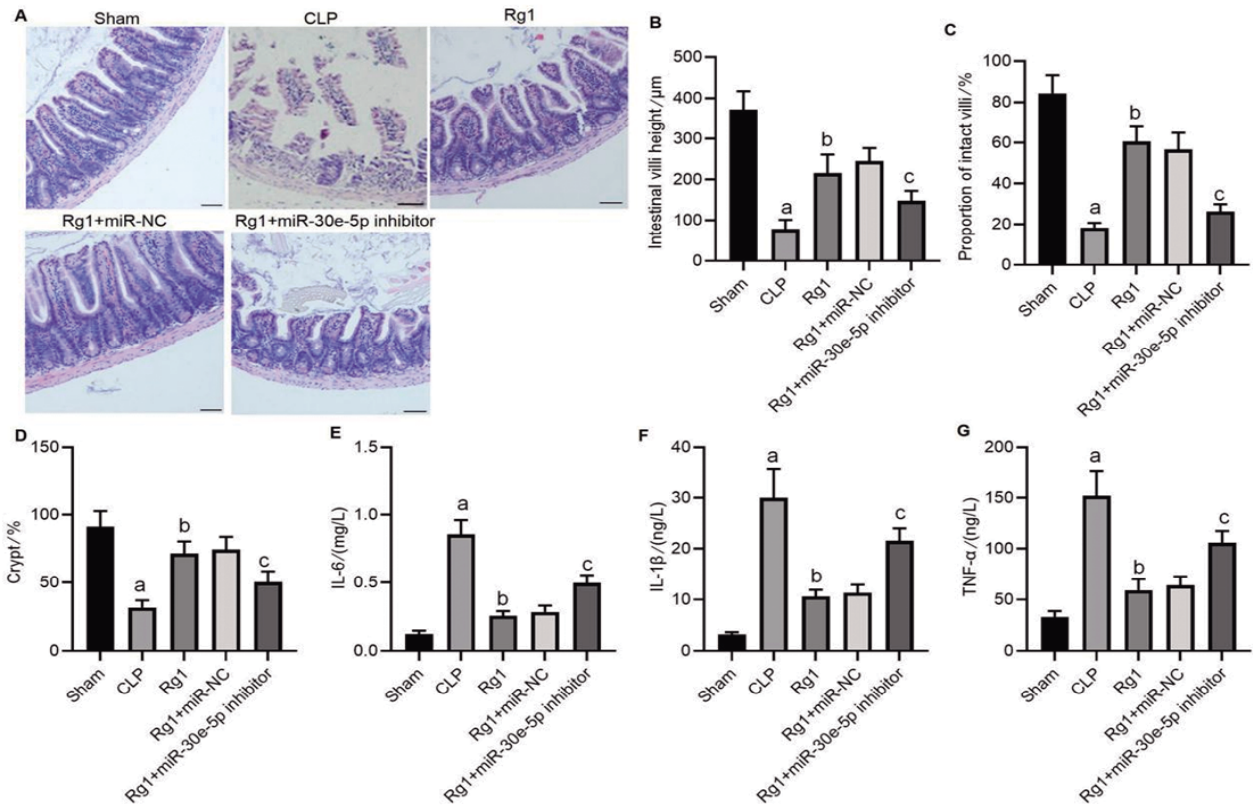
2.4 敲低miR-30e-5p对人参皂苷Rg1在LPS诱导的MEC细胞模型中作用的影响 通过miR-30e-5p inhibitor干预实验发现,敲低miR-30e-5p可部分消除Rg1的治疗效应,表现为:与LPS+Rg1+miR-NC组比较,LPS+Rg1+miR-30e-5p inhibitor组细胞凋亡与IL-6、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 水平均升高,ZO-1和Occludin蛋白均明显降低( $P<0.05$ )。(见图4)

2.5 人参皂苷Rg1与AAV-miR-30e-5p inhibitor对CLP大鼠肠组织形态与炎症反应的影响 小肠组织HE染色(见图5A~D)所示,Sham组肠绒毛完整;CLP组肠上皮细胞结构破坏,肠绒毛出现断裂或脱落,平均绒毛高度降低( $P<0.05$ ),隐窝减少( $P<0.05$ );Rg1组肠上皮细胞结构显著改善,平均绒毛高度增加( $P<0.05$ ),隐窝增多( $P<0.05$ );而Rg1+miR-30e-5p inhibitor组小肠组织形态趋向CLP组。循环炎症因子检测(见图5E~G)



注:A.敲低miR-30e-5p表达的MEC细胞构建的验证;B-C.流式细胞术检测各组细胞凋亡情况;D-F.ELISA分析各组细胞IL-6、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 水平;G-I.Western blotting检测各组细胞ZO-1和Occludin蛋白情况。与miR-NC组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与LPS+miR-NC组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与LPS+Rg1+miR-NC组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

图4 敲低miR-30e-5p对人参皂苷Rg1在LPS诱导的MEC细胞模型中作用的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )



注:A-D.各组小肠组织的代表性HE染色图像和绒毛高度、绒毛完整性及隐窝的统计分析,比例尺=100  $\mu\text{m}$ , $\times 100$ ;E-G.各组大鼠血清中IL-6、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 水平。与Sham组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与CLP组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与Rg1组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

图5 人参皂苷Rg1与AAV-miR-30e-5p inhibitor对CLP大鼠肠组织形态与炎症反应的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=7$ )

显示, AAV-miR-30e-5p inhibitor可部分逆转Rg1对CLP造模诱导的IL-6、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 的抑制效应( $P<0.05$ )。

**2.6 人参皂苷Rg1与AAV-miR-30e-5p inhibitor对CLP大鼠肠屏障作用的影响** 循环外周血肠屏障损伤标志物检测结果(见图6A-D)显示, 人参皂苷Rg1显著抑制CLP引发的外周血中内毒素、DAO、LPS和D-乳酸水平升高( $P<0.05$ )。此结果被肠渗透性和肠屏障相关蛋白表达的检测结果所佐证。FITC-dextran肠道通透性实验显示, 人参皂苷Rg1处理使CLP造模导致的肠FITC-葡聚糖渗透系数降低(见图6E)。免疫组化结果(见图6F-I)显示, 人参皂苷Rg1治疗可部分恢复CLP大鼠肠组织中ZO-1和Occludin表达( $P<0.05$ )。而人参皂苷Rg1的这些保护效应均被AAV-miR-30e-5p inhibitor显著削弱( $P<0.05$ )。

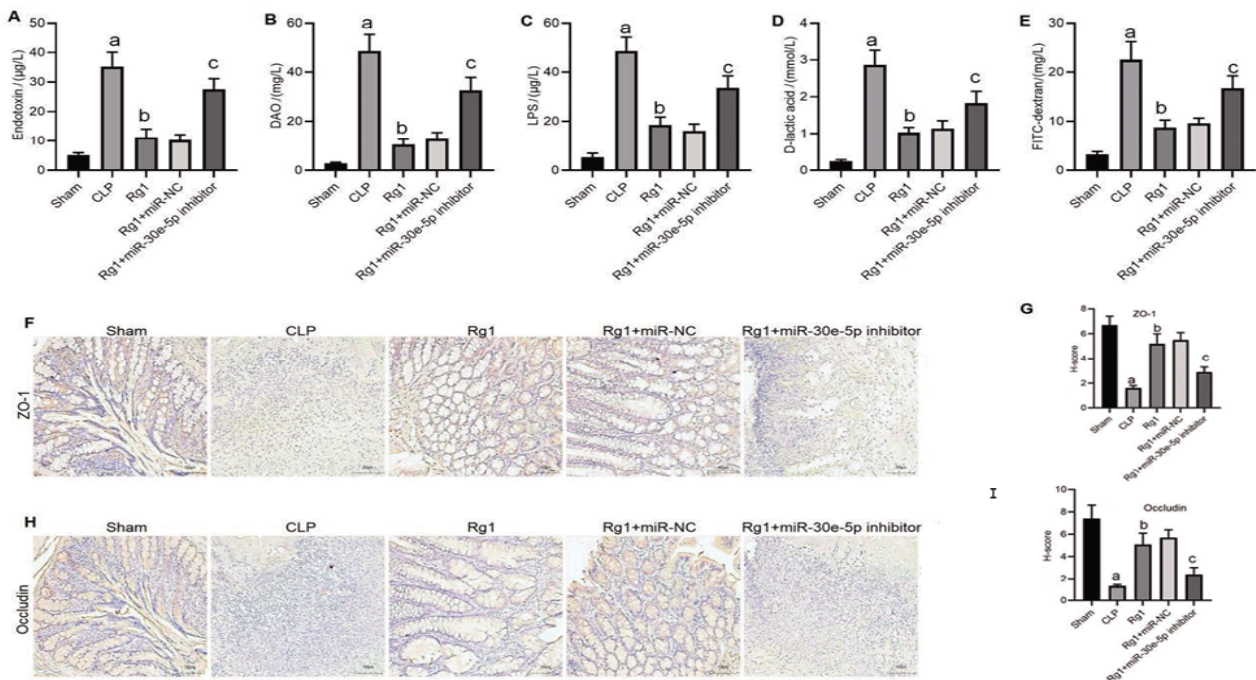
### 3 讨 论

脓毒症相关肠损伤的分子机制复杂, 涉及炎症、凋亡与屏障功能障碍的交互作用<sup>[1-3]</sup>。miRNA在多种疾病中发挥关键调控作用, 其中miR-30家族成员在心肌缺血和急性肾损伤中的作用已被报道<sup>[8-9]</sup>。如CHEN H等<sup>[9]</sup>发现miR-30e-5p通过PTEN缓解心肌细胞缺氧损伤。本研究揭示了人参皂苷Rg1通过激活miR-30e-5p表达, 对脓毒症相关肠损伤具有多维度保护作用。具体而言, 在LPS诱导的MEC细胞和CLP大鼠模型中miR-30e-5p表达下调, 人参皂苷Rg1在治疗脓毒症时伴随上调miR-30e-5p表达, 同时敲低miR-30e-5p表达能削弱Rg1的治疗效应, 这从功能增益/缺失的双向验证角度, 确证了miR-30e-5p是Rg1调控脓毒症肠损伤的核心分子靶标。这表明miR-30e-5p不仅可作为脓毒症相关肠损伤的潜在生物标志物, 其表达上调或成为抑制该病进展的关键策略。

从中医理论角度, 脓毒症肠损伤可归属于“肠痈”“暴泻”或“内陷”等范畴, 其核心病机多为正气亏虚、毒热内蕴、腑气不通。人参作为“补气第一要药”, 其活性成分人参皂苷Rg1具有大补气、扶正固脱之功。本研究显示人参皂苷Rg1通过上调miR-30e-5p表达发挥肠保护作用, 中医学理论可将其解释为“益气解毒、通腑护膜”的现代机制延伸——miR-30e-5p的上调可视为一种“调和阴阳、扶正祛邪”的微观体现, 其抑制炎症反应(清热)、减少细胞凋亡(固本)及修复肠道屏障(护膜)的多重效应, 与中医药治疗脓毒症强调“扶正与祛邪并举”的理念高度契合。

过度炎症反应是脓毒症肠损伤进展的核心驱动因素<sup>[11-2]</sup>。在脓毒症中, 过度释放的促炎因子如TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 等能通过激活NF- $\kappa$ B和MAPK信号通路来抑制肠上皮细胞中紧密连接蛋白(如ZO-1、occludin)的表达, 破坏肠黏膜屏障<sup>[3,15-16]</sup>, 还能诱发肠上皮细胞凋亡<sup>[17]</sup>, 导致菌群及内毒素易位, 进而加剧全身性炎症反应<sup>[18]</sup>。因此, 减轻肠道炎症是缓解脓毒症相关肠损伤的重要途径。本研究的发现与既往文献<sup>[6-9,18]</sup>形成重要呼应与延伸。一方面, Rg1的抗炎作用与既往研究<sup>[6-9,18]</sup>一致, 但本研究进一步揭示其通过miR-30e-5p抑制炎症级联反应, 展现多层次干预优势。另一方面, 本研究创新性发现miR-30e-5p的调控功能与Rg1的肠屏障保护效应存在因果关系, 其能通过调控紧密连接蛋白(如ZO-1、Occludin)的表达改善肠屏障并抑制细菌/内毒素移位, 这一机制可能与miR-30e-5p直接作用于相关mRNA 3'UTR区或间接调控下游信号通路(如PI3K/Akt或MAPK)有关, 但仍需进一步验证其具体靶标。

此外, 脓毒症相关肠损伤的发生与进展与肠通透性密切相关<sup>[3,16,19-20]</sup>。本研究通过FITC-葡聚糖实验证实人参皂苷Rg1



注: A-D. 各组外周血中内毒素、DAO、LPS和D-乳酸水平; E. FITC-dextran实验检测各组肠组织渗透性; F-I. 各组小肠组织中ZO-1(F-G)和Occludin(H-I)表达的免疫组化检测, 比例尺=100  $\mu$ m,  $\times 100$ 。与Sham组比较,  $^a P<0.05$ ; 与CLP组比较,  $^b P<0.05$ ; 与Rg1组比较,  $^c P<0.05$ 。

图6 人参皂苷Rg1与AAV-miR-30e-5p inhibitor对CLP大鼠肠屏障作用的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=7$ )

可改善CLP大鼠肠道通透性。肠道屏障完整性是阻止病原体进入体循环的关键,而CLP模型中肠道屏障功能受损表现为绒毛断裂、黏膜上皮损伤及ZO-1/Occludin表达下降<sup>[19-21]</sup>,这些病理改变均可被Rg1干预逆转。机制上,人参皂苷Rg1通过三重作用维持肠屏障功能:(1)上调miR-30e-5p抑制肠上皮细胞凋亡;(2)降低促炎因子(IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ )释放;(3)恢复ZO-1/Occludin表达水平,从而有效抑制细菌及代谢产物移位。

综上所述,本研究首次阐明人参皂苷Rg1通过激活miR-30e-5p表达,抑制肠上皮细胞凋亡、减轻炎症风暴并修复肠道屏障功能,从而缓解脓毒症相关肠损伤。这一发现不仅从表观遗传调控层面拓展了对脓毒症肠损伤机制的认知,也为开发以人参皂苷Rg1为核心的靶向治疗策略提供了实验依据。在临床转化方面,本研究为人参皂苷Rg1应用于脓毒症肠损伤的防治提供了实验依据。建议未来开展以下工作:其一,探索miR-30e-5p作为脓症患者肠损伤早期诊断或预后评估的生物标志物;其二,优化人参皂苷Rg1给药方案(如剂量、时机及剂型),推动其进入临床试验;其三,研究人参皂苷Rg1与现有抗感染药物或肠道微生物生态调节剂的协同效应,以形成多靶点治疗策略。此外,针对miR-30e-5p的开发也可能拓展至核酸类药物领域(如模拟物或抑制剂),但需进一步验证其安全性与特异性。未来研究可围绕miR-30e-5p的临床转化潜力(如作为诊断标志物或基因治疗靶点)及人参皂苷Rg1与其他抗脓毒症药物的协同效应展开深入探索。

参考文献

[1] CHEN F, CHU C N, WANG X Y, et al. Hesperetin attenuates sepsis-induced intestinal barrier injury by regulating neutrophil extracellular trap formation via the ROS/autophagy signaling pathway[J]. Food Funct,2023,14(9):4213-4227.

[2] YAN Z M, NIU L, WANG S Y, et al. Intestinal Piezo1 aggravates intestinal barrier dysfunction during sepsis by mediating Ca<sup>2+</sup> influx [J]. J Transl Med,2024,22(1):332.

[3] DU L W, JIANG W Q, ZHU X Q, et al. Rifaximin alleviates intestinal barrier disruption and systemic inflammation via the PXR/NF $\kappa$ B/MLCK pathway and modulates intestinal Lachnospiraceae abundance in heat-stroke mice[J]. Int Immunopharmacol,2024,143(Pt 2):113462.

[4] 姜彤伟,白晓烜,闻乃妍,等.人参治疗脓毒血症的研究进展[J].中华中医药杂志,2021,36(6):3495-3499.

[5] 刘福生,郭楠,黄坡,等.参附汤治疗脓毒症的动物实验及网络药理学研究[J].中国中医急症,2023,32(5):771-776.

[6] GUAN Y, CAO Y L, LIU J W, et al. Ginsenoside Rg1 attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury through inhibiting the inflammatory activation of microglia[J]. Exp Cell Res,2023,426(1):113552.

[7] LUO M, YAN D S, SUN Q S, et al. Ginsenoside Rg1

attenuates cardiomyocyte apoptosis and inflammation via the TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 pathway[J]. J Cell Biochem,2020,121(4):2994-3004.

[8] ZU G, GUO J, CHE N W, et al. Protective effects of ginsenoside Rg1 on intestinal ischemia/reperfusion injury-induced oxidative stress and apoptosis via activation of the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway[J]. Sci Rep,2016,6:38480.

[9] CHENG H, LIU J, ZHANG D D, et al. Ginsenoside Rg1 alleviates acute ulcerative colitis by modulating gut microbiota and microbial tryptophan metabolism[J]. Front Immunol,2022,13:817600.

[10] LIU X Q, LI Q Z, SUN L X, et al. miR-30e-5p regulates autophagy and apoptosis by targeting Beclin1 involved in contrast-induced acute kidney injury [J]. Curr Med Chem,2021,28(38):7974-7984.

[11] CHEN Y L, YIN Y, JIANG H. miR-30e-5p alleviates inflammation and cardiac dysfunction after myocardial infarction through targeting PTEN[J]. Inflammation,2021,44(2):769-779.

[12] ZHANG J W, ZHU C C, JIN Y, et al. Ginsenoside Rg1 improved learning and memory ability and reduces neuronal apoptosis in epileptic rats through ERK/CREB/BDNF signal pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun,2023,675:26-32.

[13] XUE L P, HU M, LI Y D, et al. Ginsenoside Rg1 inhibits angiogenesis in diabetic retinopathy through the miR-100-3p/FBXW7/c-MYC molecular axis[J]. J Diabetes Investig,2025,16(5):791-806.

[14] KUANG Z S, LENG Y X, YANG N, et al. Inhibition of visfatin alleviates sepsis-induced intestinal damage by inhibiting Hippo signaling pathway[J]. Inflamm Res,2022,71(7-8):911-922.

[15] NING W, GAO G, ZHOU Y, et al. Calcitonin gene-related peptide ameliorates sepsis-induced intestinal injury by suppressing NLRP3 inflammasome activation [J]. Int Immunopharmacol,2023,116:109747.

[16] CHEN S, ZHANG X J, SUN Y N, et al. Unfractionated heparin attenuates intestinal injury in mouse model of sepsis by inhibiting heparanase [J]. Int J Clin Exp Pathol,2015,8(5):4903-4912.

[17] 张瑜,吕小燕,苍耳亭通过ERK/JNK信号通路对溃疡性结肠炎大鼠肠道黏膜组织损伤的影响[J].中医导报,2022,28(8):12-16,21.

[18] ANSARI P, REBERIO A D, ANSARI N J, et al. Therapeutic potential of medicinal plants and their phytoconstituents in diabetes, cancer, infections, cardiovascular diseases, inflammation and gastrointestinal disorders[J]. Biomedicines,2025,13(2):454.

(下转第48页)

- Medicine, 2025, 8(3):379-388.
- [15] SHARMA K, MCCUE P, DUNN S R. Diabetic kidney disease in the db/db mouse[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2003, 284(6):F1138-F1144.
- [16] NAIR A, MORSY M A, JACOB S. Dose translation between laboratory animals and human in preclinical and clinical phases of drug development[J]. *Drug Dev Res*, 2018, 79(8):373-382.
- [17] 余江毅,倪青,刘苏.糖尿病肾病病证结合诊疗指南[J].*中医杂志*, 2022, 63(2): 190-197.
- [18] 冯辉,刘永林,陈益民.痰、瘀、毒与糖尿病肾病[J].*江西中医药大学学报*, 2016, 28(2): 11-12.
- [19] 程汉桥.糖尿病肾病从“痰瘀”辨治的中医治疗体会[J].*光明中医*, 2014, 29(11):2398, 2409.
- [20] 刘秀,武明珠,喻嵘,等.滋阴益气、活血解毒法在糖尿病肾病治疗中的应用[J].*中国中医急症*, 2017, 26(9): 1566-1568.
- [21] 于敏,张波,史耀勋,等.南征教授“毒损肾络”理论学说探析及临床运用[J].*中华中医药学刊*, 2010, 28(2):243-246.
- [22] 李娜,马钰,董奥,等.国医大师张大宁教授从“肾虚血瘀”辨证论治糖尿病肾脏病经验[J].*世界中西医结合杂志*, 2023, 18(4):668-670, 686.
- [23] 惠博平,易子漾,陈林,等.左归降糖益肾方HPLC指纹图谱及4种成分的含量测定研究[J].*湖南中医药大学学报*, 2023, 43(8):1421-1429.
- [24] 罗文娟,喻嵘,唐元,等.左归降糖益肾方对2型糖尿病肾病小鼠足细胞凋亡的影响[J].*中医杂志*, 2015, 56(6):511-514.
- [25] 印红爱,吴勇军,喻嵘,等.左归降糖益肾方对2型糖尿病肾病小鼠足细胞nephrin与podocin表达的影响[J].*中国中医药信息杂志*, 2014, 21(3):53-57.
- [26] GONZÁLEZ-MARISCAL L, BETANZOS A, AVILA-FLORES A. MAGUK proteins: Structure and role in the tight junction[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2000, 11(4): 315-324.
- [27] ITOH M, NAKADATE K, HORIBATA Y, et al. The structural and functional organization of the podocyte filtration slits is regulated by Tjp1/ZO-1[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9):e106621.
- [28] RINCON-CHOLES H, VASYLYEVA T L, PERGOLA P E, et al. ZO-1 expression and phosphorylation in diabetic nephropathy[J]. *Diabetes*, 2006, 55(4): 894-900.
- [29] TANG Y W, JIANG M Y, CAO J W, et al. Trip-tolide decreases podocytes permeability by regulating TET2-mediated hydroxymethylation of ZO-1[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2024, 249:10051.
- [30] ZHANG Y Q, JIN D, KANG X M, et al. Signaling pathways involved in diabetic renal fibrosis[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:696542.
- [31] WANG L, WANG H L, LIU T T, et al. TGF-beta as a master regulator of diabetic nephropathy[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(15):7881.
- [32] 陈彦旭,姜晓雪,张钦媛,等.TGF-beta/Smad信号通路在糖尿病肾病中的作用及中药干预的研究进展[J].*中国中药杂志*, 2023, 48(10):2630-2638.
- [33] XU B H, SHENG J Y, YOU Y K, et al. Deletion of Smad3 prevents renal fibrosis and inflammation in type 2 diabetic nephropathy[J]. *Metabolism*, 2020, 103:154013.
- [34] RUIZ-TORRES M P, PEREZ-RIVERO G, DIEZ-MARQUES M L, et al. Role of activator protein-1 on the effect of arginine-Glycine-aspartic acid containing peptides on transforming growth factor-beta1 promoter activity[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(1):133-145.
- [35] YI H A, JIANG Y B, LI W, et al. Scutellarin prevents obesity-induced renal fibrosis via reduced activation of AP-1[J]. *J Transl Med*, 2025, 23(1):611.
- [36] WEIGERT C, SAUER U, BRODBECK K, et al. AP-1 proteins mediate hyperglycemia-induced activation of the human TGF-beta1 promoter in mesangial cells[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2000, 11(11):2007-2016.
- [37] ZHOU P, WAN X X, ZOU Y, et al. Transforming growth factor beta (TGF-beta) is activated by the CtBP2-p300-API transcriptional complex in chronic renal failure[J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(2):204-215.
- [38] YAMAMURA Y, HUA X, BERGELSON S, et al. Critical role of Smads and AP-1 complex in transforming growth factor-beta-dependent apoptosis[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(46):36295-36302.
- [39] 张慧,罗进辉,杨柳,等.黄芪多糖调节TGF-beta1/Smad/AP-1信号通路对慢性肾衰竭大鼠肾纤维化的影响[J].*中国老年学杂志*, 2024, 44(16):4040-4044.

(收稿日期:2026-02-12 编辑:蒋凯彪)

(上接第32页)

- [19] CHEN L, LI L, HAN Y, et al. Tong-fu-li-Fei decoction exerts a protective effect on intestinal barrier of sepsis in rats through upregulating ZO-1/occludin/claudin-1 expression[J]. *J Pharmacol Sci*, 2020, 143(2):89-96.
- [20] TAN F, CAO Y L, ZHENG L, et al. Diabetes exacerbated sepsis-induced intestinal injury by promoting M1 macrophage polarization via miR-3061/Snail1 signaling[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:922614.
- [21] CHEN H Z, YU Z F, QI Z M, et al. Tongfu Lifei decoction attenuated sepsis-related intestinal mucosal injury through regulating Th17/treg balance and modulating gut microbiota[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2024, 44(5):208-220.

(收稿日期:2025-06-10 编辑:刘国华)