

梓树籽油和石榴籽油对小鼠肝脏糖脂代谢的影响

陈箱宇¹, 王 晗², 蔡燕雪^{1*}, 曹 潇¹, 李福香¹, 王 波¹, 王际辉^{1*}

(1. 东莞理工学院生命健康技术学院/中国轻工业健康食品开发与营养调控重点实验室, 东莞 523808;

2. 大连工业大学生物工程学院, 大连 116034)

摘 要: 目的 考察不同添加量梓树籽油(catalpa seed oil, CSO)和石榴籽油(pomegranate seed oil, PSO)对小鼠肝脏糖脂代谢的影响作用。**方法** 使用 3 周龄 SPF 级昆明纯系雄性小鼠, 将鼠粮标准配方的 7%油脂含量提高到 20%, 作为高脂饮食配比, 大豆油为小鼠正常生长的油脂, 根据饲料配比分为对照组、5%和 10% CSO 组、5%和 10%PSO 组, 7 周饲养期结束后, 采用腹腔注射葡萄糖耐量检测(intraperitoneal glucose tolerance test, IP-GTT)法检测小鼠糖耐量, 并考察其血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triacylglycerol, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)及低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)水平及肝脏过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferators-activated receptors α , PPAR α)与 PPAR γ 表达水平, 并对小鼠肝脏进行病理学观察。**结果** 5% CSO、10% CSO 与 10% PSO 对高脂饮食小鼠空腹糖耐量均具有显著的提高作用, 同时可降低其血清 TC、TG 含量, 也可在一定程度上提高血清 HDL-C 含量, 对 PPAR α 的蛋白和 mRNA 表达也具有显著提高作用, 且对肝脏脂肪变性有缓解作用。另外, CSO 和 PSO 的添加对小鼠血清中 LDL-C 含量及肝脏组织里 PPAR γ 的蛋白表达无显著影响。**结论** 相同添加量的 CSO 比 PSO 对高脂饮食小鼠的肝脏糖脂代谢调节作用更为显著。

关键词: 梓树籽油; 石榴籽油; 肝脏糖脂代谢; 过氧化物酶体增殖物激活受体 α

Effects of catalpa seed oil and pomegranate seed oil on hepatic glucose and lipid metabolism in mice

CHEN Xiang-Yu¹, WANG Han², CAI Yan-Xue^{1*}, CAO Xiao¹, LI Fu-Xiang¹,
WANG Bo¹, WANG Ji-Hui^{1*}

(1. School of Life and Health Technology/China National Light Industry Key Laboratory of Healthy Food Development and Nutrition Regulation, Dongguan University of Technology, Dongguan 523808, China; 2. College of Food Science, South China Agricultural University, Dalian 116034, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of different concentrations of catalpa seed oil (CSO) and pomegranate seed oil (PSO) on hepatic glucose and lipid metabolism in mice. **Methods** Three weeks-old SPF grade

基金项目: 国家自然科学基金项目(31901682)、广东省自然科学基金面上项目(2019A1515010630)、广东省创新强校创新团队项目(2021KCXTD035)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31901682), the Natural Science Foundation of Guangdong Province (2019A1515010630), and the Foundation for Innovation Team in Higher Education of Guangdong, China (2021KCXTD035)

*通信作者: 蔡燕雪, 副研究员, 主要研究方向为天然产物化学。E-mail: Caiyanxue@dgut.edu.cn

王际辉, 教授, 主要研究方向为功能性油脂。E-mail: Wangjh@dgut.edu.cn

*Corresponding author: CAI Yan-Xue, Associate Professor, School of Life and Health Technology/China National Light Industry Key Laboratory of Healthy Food Development and Nutrition Regulation, Dongguan University of Technology, Dongguan 523808, China. E-mail: Caiyanxue@dgut.edu.cn

WANG Ji-Hui, Professor, School of Life and Health Technology/China National Light Industry Key Laboratory of Healthy Food Development and Nutrition Regulation, Dongguan University of Technology, Dongguan 523808, China. E-mail: Wangjh@dgut.edu.cn

Kunming male mice were fed with standard formula of 7% oil content increased to 20% as high fat diet ratio, and soybean oil was the oil for normal growth of mice. According to the diet ratio, the mice were divided into control group, 5% and 10% CSO groups, 5% and 10% PSO groups. Intraperitoneal glucose tolerance test (IP-GTT) method was used to detect the glucose tolerance, and the serum total cholesterol (TC), triacylglycerol (TG), high-density lipoproteincholesterol (HDL-C) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) levels, and the expression levels of peroxisome proliferators-activated receptors α (PPAR α) and PPAR γ in the liver were detected. The pathological changes of fractional liver were observed. **Results** 5% CSO, 10% CSO and 10% PSO significantly improved the fasting glucose tolerance of high-fat diet mice, decreased the serum TC and TG content, increased the serum HDL-C content to a certain extent, and also significantly improved the protein and mRNA expression of PPAR α , and had the alleviation effect to the liver steatosis. In addition, the addition of CSO and PSO had no significant effect on the content of LDL-C in serum and the protein expression of PPAR γ in liver tissue of mice. **Conclusion** Compared with PSO, the same dosage of CSO has a more significant effect on the regulation of liver glucose and lipid metabolism in mice with high-fat diet.

KEY WORDS: catalpa seed oil; pomegranate seed oil; hepatic glucose and lipid metabolism; peroxisome proliferators-activated receptors α

0 引 言

功能性油脂因含有多种特殊生物活性物质, 具有抗氧化、抗炎、补充微量元素等功效, 一直是特膳食品与预制食品的研究热点。其中, 共轭亚麻酸(conjugated linolenic acid, CLnA)作为功能性油脂中的一种重要功能因子, 存在多种同分异构体, 包括 α -桐酸、石榴酸、梓树酸、 α -金盏花酸等^[1]。FRANCZYK-ŻARÓW 等^[2]研究发现, CLnA 影响小鼠的脂质代谢, 能够上调氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferators-activated receptors α , PPAR α)和乙酰辅酶 A 氧化酶(acyl CoA oxidase, ACO)的表达, 胆固醇调节元件结合蛋白-1 (sterol regulatory element-binding protein-1, SREBP-1)表达增加了 7 倍。对石榴籽油(pomegranate seed oil, PSO)的研究发现, PSO 可以通过提高胰岛素敏感性^[3]、上调肥胖介导的肝脏胰岛素受体磷酸化 Tyr-972、*p*-IRB tyr1146 和 *p*AMPK^[4]等机制预防肥胖, 同时 PSO 可降低小鼠血脂中的低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)和总胆固醇(total cholesterol, TC)含量^[5], 而富含亚麻酸的杜仲籽油对高脂饮食引起的 KKAY 小鼠糖脂代谢及肠道菌群紊乱有一定的调节作用^[6], 综上所述, CLnA 及富含 CLnA 的功能性油脂均对糖脂代谢有一定的调节作用。

CLnA 异构体的功能与结构具有明显的构效关系^[7], 例如, 含有 α -桐酸的苦瓜提取物和 PSO 对于心脏和肝脏组织均表现出不同的抗氧化作用^[8-9]。在膳食补充研究中发现, α -桐酸、石榴酸和 α -亚麻酸对小鼠肝脏中甘油三酯(triacylglycerol, TG)的集聚具有不同程度的抑制作用^[10]。PSO 和苦瓜籽油中的共轭亚麻酸在被吸收代谢后对肾脏脂肪的形成也具有差异影响, 其中, 石榴酸可以通过上调脂

肪酸的 β -氧化作用抑制肾脏脂肪的形成^[11]。

综上, 虽已有研究证明功能性油脂对小鼠的糖脂代谢具有一定的调节作用, 但不同的 CLnA 的同分异构体对机体的糖脂代谢调节作用机制尚不明晰。PSO 和梓树籽油(catalpa seed oil, CSO)所分别富含的石榴酸和梓树酸是 CLnA 的同分异构体, 本研究拟探讨不同添加量的 CSO 和 PSO 对小鼠肝脏糖脂代谢调节作用机制, 为含有不同 CLnA 同分异构体的功能性油脂对调节小鼠糖脂代谢的研究提供理论依据, 同时也为 CSO 和 PSO 的功能性研究与深度开发提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

梓树籽油、石榴籽油(纯度 98%, 上海源叶生物有限公司), 主要脂肪酸组成见表 1; AIN-93 标准无脂饲料(江苏南通特洛菲公司)。

表 1 实验用油主要脂肪酸组成(%)
Table 1 Compositions of major fatty acids in experimental oil (%)

脂肪酸	大豆油	CSO	PSO
棕榈酸	12.59±0.07	2.8±0.16	8.10±0.05
硬脂酸	5.18±0.13	2.2±0.04	7.90±0.12
油酸	23.55±0.16	7.6±0.21	13.50±0.04
z9,z12-亚油酸	46.28±0.21	42.5±0.98	15.70±0.01
花生酸	0.71±0.09	-	1.90±0.02
CLnA	-	40.2±0.65	51.20±0.18
其他	9.86±0.26	4.7±0.3	1.7±0.06

注: 数据由上海源叶生物有限公司提供, 表示为平均值±标准偏差(n=4), -代表未检出。

TC、TG、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoproteincholesterol, HDL-C)、LDL-C 测定试剂盒(江苏南京建成有限公司); PrimeScripTM II 1st Strand cDNA Synthesis Kit、TB Green® Premix Ex TaqTM II [宝生物工程(大连)有限公司]; 兔抗鼠 PPAR α 抗体、兔抗鼠 PPAR γ 抗体(美国 Proteintech 生物技术公司); 辣根酶标记山羊抗兔 IgG(巴傲得生物科技有限公司); 辣根酶标记山羊抗鼠 IgG(北京中杉金桥生物技术有限公司); 蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂[赛默飞世尔科技(中国)公司]; 增强型 ECL 化学发光试剂盒(美国 Advansta 公司); 苯甲基磺酰氟 (phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF)、10X TBST WB 漂洗液、Trizol 试剂[生工生物工程(上海)股份有限公司]。

内参基因甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)及 PPAR α 引物(表 2), 经查阅文献^[12]和 Gene Bank 确认无误后向宝生物工程(大连)有限公司订制。

表 2 GAPDH 和 PPAR α 引物序列			
Table 2 Primer sequences of GAPDH and PPAR α			
名称	上游	下游	片段长度/bp
GAPDH	GGTTGTCTCCT GCGACTTCA	TGGTCCAGGGT TTCTTACTCC	183
PPAR α	TACCACTACGG AGTTCACGCA	GACAGACAGGC ACTTGTGAAAAC	159

1.2 仪器与设备

T100 PCR 反应扩增仪、165-8003 小型垂直电泳槽(美国 Bio-rad 公司); Tanon 6600 凝胶成像系统(上海天能科技有限公司); IX81 倒置荧光相差显微镜[日本奥林巴斯(OLYMPUS)公司]; Spark 酶标仪(帝肯奥地利有限责任公司); Lightcycler480II定量 PCR 仪[罗氏诊断产品(上海)有限公司]; RC3BP PLUS 高速冷冻离心机[赛默飞世尔科技(中国)公司]; 电动搅拌器 JJ-1(常州智博瑞仪器制造有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 小鼠分组和实验设计

使用 3 周龄 SPF 级昆明纯系雄性小鼠(大连医科大学实验动物中心)。根据前期预实验结果, 将 1 周的预饲适应期后随机分成 5 组($n=4$), 分别为对照组、5%和 10% CSO 组、5%和 10% PSO 组。

AIN-93 标准无脂饲料添加 7%油脂作为 AIN-93 标准饲料, 添加 20%作为高脂饮食饲料。大豆油为小鼠正常生长的油脂, 按照表 3 将 CSO 和 PSO 以不同比例替换大豆油, 将油脂与饲料经电动搅拌机充分混合拌匀, 等量分装在冻存盒后冻存, 饲喂前放置至室温, 每日定时定量投喂。分所有实验小鼠在同样环境下分笼再饲养 7

周。7 周饲养期结束后, 采用腹腔注射葡萄糖耐量检测 (intraperitoneal glucose tolerance test, IP-GTT)法^[13]检测小鼠糖耐量, 眼球采血, 并颈椎脱臼处死解剖, 取出肝脏等样品, 经预冷生理盐水漂洗分割后分装于冻存管中-80℃保存待用, 血液经过冷藏静置 0.5 h 后以 3000 r/min 低温离心 15 min, 分装血清和红细胞, -80℃保存待用。

表 3 实验小鼠饲料配比(100 g)				
Table 3 Feed ratio of test mice (100 g)				
组别	无脂饲/g	大豆油/g	CSO/g	PSO/g
对照组	80	20	-	-
5% CSO 组	80	15	5	-
10% CSO 组	80	10	10	-
5% PSO 组	80	15	-	5
10% PSO 组	80	10	-	10

注: -表示无此项。

1.3.2 葡萄糖耐量检测

采用 IP-GTT 法, 测试时间稍作调整, 检测小鼠糖耐量的变化, 绘制血糖-时间变化曲线, 并按照公式(1)计算变化葡萄糖曲线下面积(area under the curve, AUC)。

$$\text{AUC} = \frac{(0\text{ h 血糖} + 1.0\text{ h 血糖}) \times 0.5}{2} + \frac{(1.0\text{ h 血糖} + 2.0\text{ h 血糖}) \times 0.5}{2}$$

(1)

1.3.3 TC、TG、HDL-C 及 LDL-C 测定

将-80℃冷冻保存的血清样品取出, 4℃放置 30 min 后, 室温静置至其融化, 使用酶标仪测定吸光度, 具体检测步骤参照试剂盒使用说明。

1.3.4 蛋白免疫印迹法测定 PPAR α 与 PPAR γ 蛋白的表达量

取约 150 mg 肝脏组织低温下剪碎转移至预装有 1 mL 预冷的裂解液(预混蛋白酶/磷酸酶抑制剂、新鲜的 PMSF)中, 冰水浴条件下匀浆破碎后冰上静置 0.5 h 继续裂解并间断涡旋振荡, 以 13000 r/min 低温离心 10 min, 收集上清, 通过 Bradford 法测定蛋白浓度后, 用 loading buffer 上样缓冲液与电泳缓冲液调整各组蛋白样品浓度至一致, 煮沸变性。60 V、0.5 h 后 100 V 1.5 h 电泳分离蛋白条带, 转膜, 5%脱脂奶粉封闭, 一抗孵育过夜后 TBST 洗脱进行二抗孵育、洗脱, 用 ECL 显影液在成像系统里显影观察、拍照, 利用 ImageJ 软件对条带灰度值分析, 以 GAPDH 为内参, 计算目的蛋白 PPAR α 的相对表达量。

1.3.5 荧光定量 PCR

按照 Trizol 试剂使用说明书, 取大约 50 mg 肝脏样品, 低温环境提取 RNA 样品, 检测所得 RNA 溶液的浓度, 使用反转录试剂盒合成 cDNA 后(预先调整每组总 RNA 的含量一致), 最后利用 TB Green® Premix Ex TaqTM II 试剂盒、设计引物与 Lightcycler480II定量 PCR 仪, 经过设置程序 95℃预变性 30 s, 95℃变性 5 s, 退火延伸: GAPDH, 64℃; PPAR α ,

61℃, 变性与退火延伸的循环数: GAPDH, 45 个; PPAR α , 50 个。根据得出的循环交叉点(crossing point, CP)值, 采用相对定量方法分析各组目的基因 PPAR α 的含量变化。

1.3.6 苏木精-伊红染色

参考文献[13]方法, 将做成石蜡切片的小鼠肝脏样品, 经两次各 20 min 二甲苯、梯度乙醇(浓度从高到低的 100%、95%、80%、75%, 每个梯度浸泡 2 min)、二甲苯浸后, 蒸馏水清洗, 以上连续步骤脱蜡至水, 苏木精染色液浸泡 5 min, 镜检染色效果, 盐酸乙醇浸泡分化 30 s, 期间每 5 s 拿出一块, 自来水浸泡 15 min, 吸干水后伊红液浸泡 2 min, 镜检染色效果, 保存染色后的切片, 再经过梯度乙醇(浓度从低到高, 95%、100%, 每个梯度浸泡两次, 2 min/次)和两次二甲苯 1 min/次脱水、透明, 中性树脂一滴后盖玻片封片, 晾干后镜检效果并拍片。

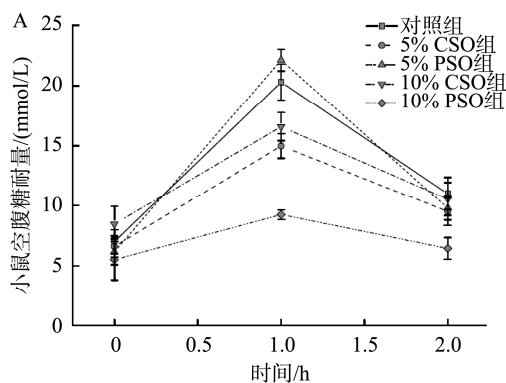
1.4 数据分析

检测数据以平均值 $\pm$ 标准偏差表示, 通过 SPSS 19.0 软件进行显著性分析, 使用独立样本 *T* 检验进行比较, 组间对比结果分析中以 **P*<0.05, ***P*<0.01 表示差异显著, *P*>0.05 表示无显著性差异。

2 结果与分析

2.1 CSO 与 PSO 对小鼠葡萄糖耐量的影响

由图 1 可知, 各组小鼠 1.0 h 后血糖均升至最高, 除 5% PSO 组外, 其余 3 组血糖含量均低于对照组。计算葡萄糖 AUC 发现, 5%和 10% CSO 组 AUC 均显著低于对照组(*P*<0.05、*P*<0.01), 而 10% PSO 组小鼠控制血糖的作用最为显著(*P*<0.01), 表明 CSO 和 PSO 可使高脂饮食的小鼠葡萄糖耐受性得到显著改善。事实上, 血糖稳态依赖于 PPAR γ 或 PPAR α 的活性, 而 CLnA 作为 PPAR α 的激动剂, 具有保持血糖稳态的作用^[14]。同时有研究表明喂食含 3.5 mg/g PSO 的高脂饮食 7 周后, 小鼠的空腹糖耐量和胰岛素水平均有所改善^[15], 这与本研究结果一致。故推测本研究 CSO 和 PSO 改善高脂饮食小鼠葡萄糖耐受性作用与两者均富含 CLnA 有关。

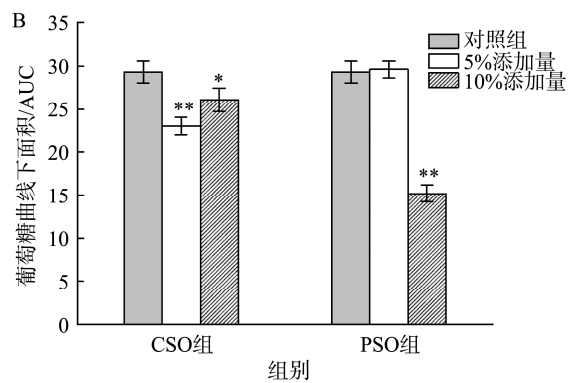


2.2 CSO 与 PSO 对小鼠 TC、TG、HDL-C 及 LDL-C 含量的影响

各组小鼠血脂类指标结果如图 2 所示, 5%和 10% CSO 组均显著降低了小鼠血清 TC 和 TG 的含量, 同时能够显著提高 HDL-C 的含量, 而 PSO 组中, 5% PSO 组对 TC、TG 的含量均无明显影响(*P*>0.05), 与以往研究中 20 mg/g 的苦瓜子油和 1.5 mg/g PSO 的研究结果较为一致^[16-17]。值得注意的是, 5% PSO 组 HDL-C 含量虽无显著性变化, 但有上升趋势, 10% PSO 组对降低 TG 的含量与提高 HDL-C 的含量具有明显效果。虽然两种功能性油脂组均对 LDL-C 含量无明显影响, 但根据 HDL-C 含量的变化推测两种功能性油脂可能通过上调血液中的 HDL-C 含量调节小鼠的糖脂代谢。另外, 随着功能性油脂添加量的增加, 其改善血脂指标的效果越明显, 即具有一定的剂量依赖性。研究显示, 血清 TG、HDL-C 含量与血清脂肪因子脂联素和瘦素水平有关, 脂联素和瘦素参与能量代谢和胰岛素调节的机制尚不明确, 但富含 CLnA 的油脂可能通过调节脂联素和瘦素的水平调节脂代谢^[18-19]。CSO 和 PSO 中虽含有维生素 E、黄酮类化合物、植物甾醇、多酚类化合物、胡萝卜素等脂质衍生物等多种活性成分, 但两者中的梓树籽酸、石榴酸含量分别约为 40%、51%, CLnA 是其活性成分的主要区别, 因此推测其在糖脂代谢的调节中发挥着关键性作用^[20-21]。

2.3 CSO 与 PSO 对小鼠 PPAR α 与 PPAR γ 蛋白表达的影响

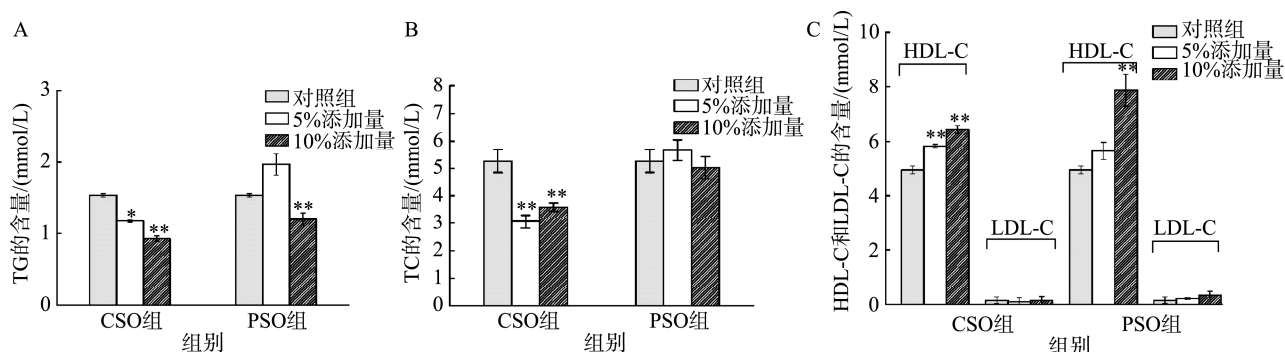
PPAR 是一类核内超家族转录因子, 参与脂质能量代谢过程, 同时对脂肪细胞分化和炎症反应都具有影响。CSO 与 PSO 对小鼠肝脏中 PPAR α 与 PPAR γ 蛋白表达的影响结果见图 3。5%、10% CSO 与 10% PSO 均能明显提高小鼠 PPAR α 蛋白表达(*P*<0.01), 分别为对照组的 1.35、1.88 和 1.32 倍, 且随着功能性油脂添加量的增加, 小鼠肝脏 PPAR α 的蛋白表达量也随之提高。PPAR α 作为脂质代谢的调节因子, 能够调节 β -氧化、皮下白色脂肪组织(subcutaneous white adipose tissue, sWAT)通路的脂肪米色化等^[22-23]。



注: A 为小鼠空腹血糖变化; B 为葡萄糖曲线下面积值; 与对照组相比, **P*<0.05, ***P*<0.01, 下同。

图 1 CSO 与 PSO 对小鼠血糖的影响

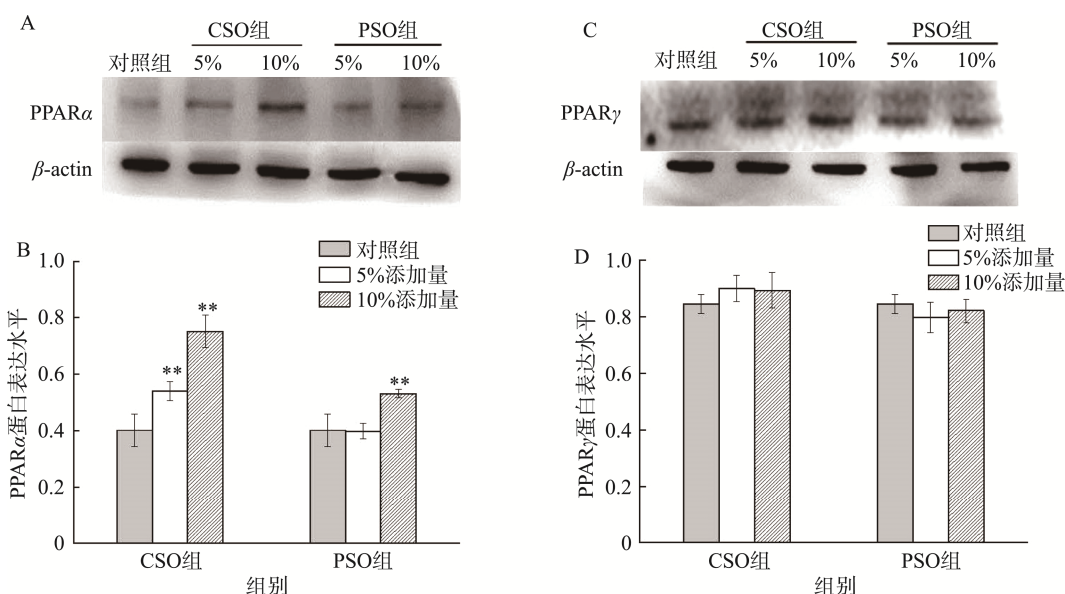
Fig.1 Effects of CSO and PSO on blood sugar in mice



注: A 为 TG; B 为 TC; C 为 HDL-C 和 LDL-C 含量。

图 2 CSO 和 PSO 对小鼠血清中 TC、TG、HDL-C 及 LDL-C 含量的影响

Fig.2 Effects of CSO and PSO on the content of TC, TG, HDL-C and LDL-C in the serum of mice



注: A 为 PPARα 蛋白电泳图; B 为 PPARα 蛋白表达水平; C 为 PPARγ 蛋白电泳图; D 为 PPARγ 蛋白表达水平。

图 3 CSO 和 PSO 对小鼠肝脏 PPARs 家族蛋白表达的影响

Fig.3 Effects of CSO and PSO on PPARs family protein expression in mouse liver

PPAR γ 是参与调节肝脏细胞脂质代谢的最重要的主核受体^[24], 在调节原代奶牛乳腺上皮细胞(primary bovine mammary epithelial cells, pBMECs)细胞中脂肪生成基因表达、脂质合成和分泌中起关键作用^[25], 但本研究功能性油组小鼠肝脏的 PPAR γ 蛋白表达量无明显变化。故还需要通过肝脏耗氧率实验结合 PPAR α 蛋白和基因的结果更进一步验证两种共轭亚麻酸油脂是否通过提高肝脏脂肪氧化缓解脂肪变性, 而 PPAR γ 可能主要激活棕色脂肪的褐变效应^[22,26], 而非脂肪分解。

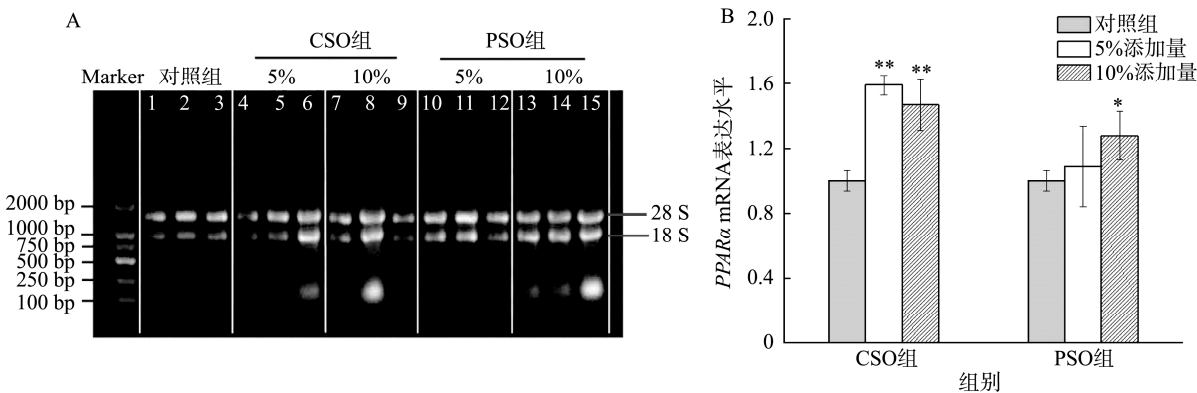
2.4 CSO 与 PSO 对小鼠肝脏中 PPAR α mRNA 表达的影响

为了进一步阐明 CSO 与 PSO 上调 PPAR α 的机制, 本研究考察了 CSO 与 PSO 对小鼠肝脏中 PPAR α mRNA 表达的影响。小鼠肝脏组织总 RNA 琼脂糖凝胶电泳结果如图 4A 所示, 每组总 RNA 提取物 28S 和 18S 条带明亮、清晰,

符合荧光定量 PCR 的要求。图 4B 结果显示, 5%、10% CSO 及 10% PSO 对 PPAR α mRNA 的表达水平上调作用明显 ($P<0.05$ 、 $P<0.01$), 分别提高到了 1.59、1.47 和 1.28 倍。PPAR α 激活能够上调肝脏中 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, Tlr4)蛋白的表达从而促进 β -氧化, 最终抑制脂肪的生成^[27], 而 PPAR α 基因敲除后导致脂质代谢的紊乱, 可引发脂肪肝^[28], 本研究中 CSO 与 PSO 均可能通过不同程度上调 PPAR α mRNA 的含量提高 PPAR α 蛋白的表达, 从而影响小鼠肝脏的糖脂代谢。

2.5 小鼠肝脏组织形态学观察

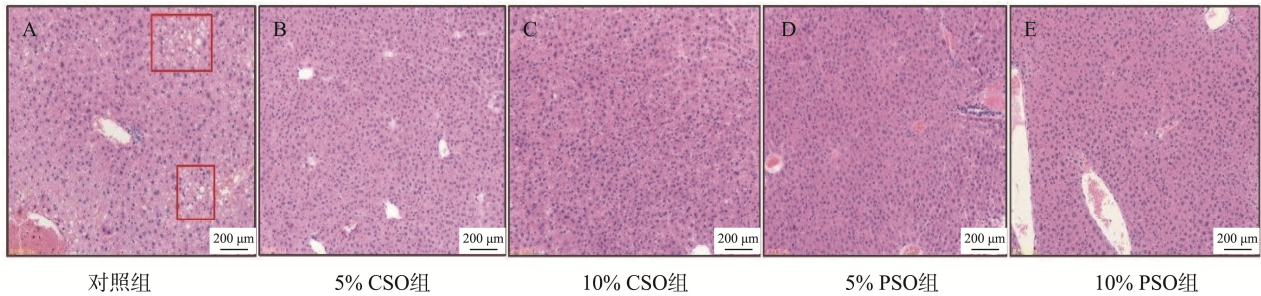
组织学观察是一种验证研究目标对肝脏组织影响最直观的方法, 由图 5 可知, 对照组小鼠肝细胞出现明显的白色脂滴(图 5A 红框内), 出现了轻微脂肪变性, 而添加了 CSO 和 PSO 的小鼠肝细胞排列紧密且有序, 未见明显的脂肪变性(图 5B、C、D、E)。类似的研究发现, 富含 CLnA



注: A 为总 RNA 电泳图; B 为 *PPARα* mRNA 转录水平。

图 4 CSO 和 PSO 对小鼠肝脏 *PPARα* mRNA 表达的影响

Fig.4 Effects of CSO and PSO on *PPARα* mRNA expression in mouse liver



注: A 为对照组(红框内为聚集的白色脂滴); B 为 5% CSO 组; C 为 10% CSO 组; D 为 5% PSO 组; E 为 10% PSO 组。

图 5 小鼠肝脏组织染色结果

Fig.5 Staining results of mouse liver tissues

异构体的苦木籽油通过调控 WAT 中 PKA 激活和瘦素水平介导了降低脂肪生成和促进脂肪分解,从而减轻了脂肪的积累^[29]。结合本研究结果中 *PPARα* 蛋白表达和 *PPARα* mRNA 表达结果,推测 *PPARα* 的上调促使肠道菌膜屏障抗炎信号降低,从而减轻肝脏脂肪变性^[30]。同时根据 CSO、PSO 的抗氧化能力检测发现,CSO、PSO 具有一定的自由基清除能力^[31-32],可以推测具有抗氧化潜力的 CSO 的摄入能够降低机体炎症反应导致的肝脏脂肪生成^[33-34],同时 PSO 也可能通过对肝脏脂肪酸、共轭脂肪酸和胆固醇含量的影响调节肝脏脂质代谢^[35]。

3 结 论

本研究通过在无脂饲料中添加 CSO (5%和 10%)和 PSO (5%和 10%),探究两种功能性油脂对小鼠肝脏糖脂代谢的影响,发现 5%、10% CSO 与 10% PSO 组对小鼠空腹糖耐量表现出明显的提高作用,同时 5%、10% CSO 能够有效降低血清中 TC 和 TG 含量,提高 HDL-C 的含量,但对 LDL-C 的含量无明显影响,10% PSO 组对降低 TG 的含量与提高 HDL-C 的含量具有明显效果。其中,CSO 和

PSO 可通过上调 *PPARα* mRNA 表达促进 *PPARα* 蛋白的表达,但对于 *PPARγ* 蛋白没有显著的调节作用,肝脏组织的形态学观察中也发现 CSO 和 PSO 对脂肪变性有缓解现象。综合比较发现,在高脂饮食中,油脂添加量相同的情况下,CSO 比 PSO 对小鼠糖脂代谢的调节作用更为明显。而 5% PSO 对控制血糖、血脂指标、*PPARα* 蛋白和基因表达等方面的影响需要在后期梯度剂量实验的进一步研究和讨论。本研究的开展为 CSO 和 PSO 的功能性研究提供新的见解,同时为共轭亚麻酸的深度开发与应用提供理论支持。

参考文献

- [1] EDGAR BC, YONGHUA LB. Plant unusual fatty acids: learning from the less common [J]. Curr Opin Plant Biol, 2020, 55: 66-73.
- [2] FRANCZYK-ZARÓW M, CZYŻYŃSKA I, DRAHUN A, et al. Margarine supplemented with conjugated linolenic acid (CLnA) has no effect on atherosclerosis but alleviates the liver steatosis and affects the expression of lipid metabolism genes in apoE/LDLR^{-/-} mice [J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2015, 117(5): 589-600.
- [3] HARZALLAH A, HAMMAMI M, KĘPCZYŃSKA MA, et al.

- Comparison of potential preventive effects of pomegranate flower, peel and seed oil on insulin resistance and inflammation in high-fat and high-sucrose diet-induced obesity mice model [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2016, 122(2): 75–87.
- [4] RAFFAELE M, LICARI M, AMIN S, *et al.* Cold press pomegranate seed oil attenuates dietary-obesity induced hepatic steatosis and fibrosis through antioxidant and mitochondrial pathways in obese mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(15): 5469.
- [5] SHAGHOLIAN M, GOLI S, SHIRVANI A, *et al.* Liver and serum lipids in Wistar rats fed a novel structured lipid containing conjugated linoleic acid and conjugated linolenic acid [J]. *Grasas Y Aceites*, 2019, 70(2): e307.
- [6] 武毅楠, 高梦珂, 李攀峰, 等. 杜仲籽油对 2 型糖尿病 KKAY 小鼠糖脂代谢及肠道菌群的影响[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(3): 728–736.
- WU YN, GAO MK, LI PF, *et al.* Effects of *Eucommia ulmoides* seed oil on glycolipid metabolism and gut microbiota in KKAY mice with type 2 diabetes mellitus [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(3): 728–736.
- [7] TARLING EJ, RYAN KJ, BENNETT AJ, *et al.* Effect of dietary conjugated linoleic acid isomers on lipid metabolism in hamsters fed high-carbohydrate and high-fat diets [J]. *Brit J Nutr*, 2008, 101(11): 1630–1638.
- [8] BIALEK A, BIALEK M, LEPIONKA T, *et al.* Oxysterols and lipidomic profile of myocardium of rats supplemented with pomegranate seed oil and/or bitter melon aqueous extract-cardio-oncological animal model research [J]. *Chem Phys Lipids*, 2021, 235: 105057.
- [9] LEPIONKA T, BIALEK M, CZAUDERNA M, *et al.* Pomegranate seed oil and bitter melon extract supplemented in diet influence the lipid profile and intensity of peroxidation in livers of SPRD rats exposed to a chemical carcinogen [J]. *Prostag Oth Lipid Mediat*, 2021, 152: 106495.
- [10] 孙海燕, 袁高峰, 李铎. 共轭亚麻酸在体外细胞中的代谢与整合研究[J]. *营养学报*, 2012, 34(5): 4.
- SUN HY, YUAN GF, LI Z. Incorporation and metabolism of conjugated linolenic acid *in vitro* [J]. *Acta Nutr Sin*, 2012, 34(5): 4.
- [11] KOBAYASHI K, AKAHOSHI A, YAMASAKI M, *et al.* Dietary conjugated linolenic acid in relation to CLA differently modifies body fat mass and serum and liver lipid levels in rats [J]. *Lipids*, 2002, 37(4): 343–350.
- [12] 简路洋. 不同食用油脂摄入对小鼠肝脏和血液脂肪酸组成及脂代谢的影响[D]. 大连: 大连工业大学, 2017.
- JIAN LY. Effects of different edible oils intake on liver and blood fatty acid profile and lipid metabolism in mice [D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2017.
- [13] 陈琨, 王晗, 郭琦, 等. 氢化大豆油对小鼠糖脂代谢和脂肪酸组成及 UCP-1 表达的影响[J]. *大连工业大学学报*, 2019, 38(3): 4.
- CHEN J, WANG H, GUO Q, *et al.* Effects of hydrogenated soybean oil on glycolipid metabolism, fatty acid composition and UCP1 expression in mice [J]. *J Dalian Polytech Univ*, 2019, 38(3): 4.
- [14] HONTECILLAS R, DIGUARDO M, DURAN E, *et al.* Catalpic acid decreases abdominal fat deposition, improves glucose homeostasis and upregulates PPAR α expression in adipose tissue [J]. *Clin Nutr*, 2008, 27(5): 764–772.
- [15] ZAMORA LK, NORIEGA LG, ESTANES HA, *et al.* Punicagranatum L.-derived omega-5 nanoemulsion improves hepatic steatosis in mice fed a high fat diet by increasing fatty acid utilization in hepatocytes [J]. *Sci Rep-UK*, 2020, 10(1): 1–11.
- [16] SENGUPTA A, GUPTA SS, NANDI I, *et al.* Conjugated linolenic acid nanoparticles inhibit hypercholesterolemia induced by feeding a high-fat diet in male albino rats [J]. *J Food Sci Technol*, 2015, 52(1): 458–464.
- [17] FAGHIHIMANI Z, MIRMIRAN P, SOHRAB G, *et al.* Effects of Pomegranate seed oil on metabolic state of patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Int J Prev Med*, 2016, 7(1): 124.
- [18] DEMIZIEUX L, PISCITELLI F, TROY-FIORAMONTI S, *et al.* Early low-fat diet enriched with linolenic acid reduces liver endocannabinoid tone and improves late glycemic control after a high-fat diet challenge in mice [J]. *Diabetes*, 2016, 65(7): 1824–1837.
- [19] ZHANG M, DU N, WANG L, *et al.* Conjugated fatty acid-rich oil from *Gynostemma pentaphyllum* seed can ameliorate lipid and glucose metabolism in type 2 diabetes mellitus mice [J]. *Food Funct*, 2017, 8(10): 3696–3706.
- [20] 郭琦, 于志洋, 陈琨, 等. 石榴籽油对高脂饮食小鼠体重及解偶联蛋白 1 表达的影响[J]. *大连工业大学学报*, 2019, 38(4): 244–247.
- GUO Q, YU ZY, CHEN J, *et al.* Effects of pomegranate seed oil on body weight and UCP1 expression of mice fed with high fat diet [J]. *J Dalian Polytech Univ*, 2019, 38(4): 244–247.
- [21] 袁高峰. 共轭亚麻酸的分析、代谢和功能研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
- YUAN GF. Analysis, metabolism and physiological roles of conjugated linolenic acid [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008.
- [22] RACHID TL, SILVA VFM, GRAUS NF, *et al.* Differential actions of PPAR α and PPAR β/δ on beige adipocyte formation: A study in the subcutaneous white adipose tissue of obese male mice [J]. *PLoS One*, 2018, 13(1): e191365.
- [23] BARBOSA SS, SOUZA MV, MARINHO T, *et al.* Singular effects of PPAR agonists on nonalcoholic fatty liver disease of diet-induced obese mice [J]. *Life Sci*, 2015, 127: 73–81.
- [24] BORT A, SÁNCHEZ BG, MATEOS GPA, *et al.* Capsaicin targets lipogenesis in HepG2 cells through AMPK activation, AKT inhibition and PPARs regulation [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(7): 1660.
- [25] GUO ZX, ZHAO KY, FENG X, *et al.* mTORC2 regulates lipogenic gene expression through PPAR γ to control lipid synthesis in bovine mammary epithelial cells [J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 1–11.
- [26] OHNO H, SHINODA K, SPIEGELMAN BM, *et al.* PPAR γ agonists induce a white-to-brown fat conversion through stabilization of PRDM16 protein [J]. *Cell Metab*, 2012, 15(3): 395–404.

- [27] SILVA FM, MIRANDA CS, MARTINS FF, *et al.* Gut-liver axis modulation in fructose-fed mice: A role for PPAR- α and linagliptin [J]. *J Endocrinol*, 2020, 247(1): 11–24.
- [28] CHEN X, ACQUAAH GK, DENNING KL, *et al.* High-fat diet induces fibrosis in mice lacking CYP2A5 and PPAR α : A new model for steatohepatitis-associated fibrosis [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2020, 319(5): G626–G635.
- [29] CHEN P, CHEN G, YANG M, *et al.* Bitter melon seed oil-attenuated body fat accumulation in diet-induced obese mice is associated with cAMP-dependent protein kinase activation and cell death in white adipose tissue [J]. *J Nutr*, 2012, 142(7): 1197–1204.
- [30] SILVA FM, MIRANDA CS, VASQUES IML, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor- α activation and dipeptidyl peptidase-4 inhibition target dysbiosis to treat fatty liver in obese mice [J]. *World J Gastroenterol*, 2022, 28(17): 1814.
- [31] XU H, ZHU L, DONG J, *et al.* Composition of *Catalpa ovata* seed oil and flavonoids in seed meal as well as their antioxidant activities [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2015, 92(3): 361–369.
- [32] BOZKURT T, ERGÜN Z. Fatty acid composition and antioxidant capacity of pomegranate seed oil [J]. *GSC Biol Pharmaceut Sci*, 2021, 15(2): 103–110.
- [33] AHMAD MI, ZOU X, IJAZ MU, *et al.* Processed meat protein promoted inflammation and hepatic lipogenesis by upregulating Nrf2/Keap1 signaling pathway in Glrx-deficient mice [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(32): 8794–8809.
- [34] WANG JH, CHEN XY, WANG H, *et al.* Effects of catalpa seed oil and pomegranate seed oil on body weight and intestinal flora in mice [J]. *Food Sci Technol*, 2022, 42: e85622
- [35] LEPIONKA M. Pomegranate seed oil and bitter melon extract supplemented in diet influence the lipid profile and intensity of peroxidation in livers of SPRD rats exposed to a chemical carcinogen [J]. *Prostag Other Lipid Mediat*, 2021, 152(1): 106495.

(责任编辑: 郑 丽 张晓寒)

作者简介



陈箱宇, 硕士, 助理实验员, 主要研究方向为功能性油脂与检测技术。

E-mail: rainchen03@foxmail.com

蔡燕雪, 副研究员, 主要研究方向为天然产物化学。

E-mail: Caiyanxue@dgut.edu.cn

王际辉, 教授, 主要研究方向为功能性油脂。

E-mail: Wangjh@dgut.edu.cn