

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241120002

引用格式: 罗广怡, 温叶杰, 张瑞芬, 等. 荔枝果肉 B 型原花青素三聚体调节肝细胞脂代谢作用研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(5): 69–75.

LUO GY, WEN YJ, ZHANG RF, *et al.* Effects of B-type proanthocyanidins trimer from *Litchi chinensis* Sonn pulp on regulating lipid metabolism in hepatocytes [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(5): 69–75. (in Chinese with English abstract).

# 荔枝果肉 B 型原花青素三聚体调节肝细胞脂代谢作用研究

罗广怡<sup>1</sup>, 温叶杰<sup>2</sup>, 张瑞芬<sup>2</sup>, 邓梅<sup>2</sup>, 张名位<sup>2</sup>, 贾栩超<sup>2</sup>, 胡坤<sup>1\*</sup>

(1. 广东药科大学食品科学学院, 中山 528400; 2. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业农村部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广州 510000)

**摘要:** **目的** 探究荔枝果肉多酚主要活性组分 B 型原花青素三聚体抑制肝细胞甘油三酯(triglyceride, TG)沉积的剂量效应及其分子机制。**方法** 采用不同质量浓度(0.5~10.0  $\mu\text{g/mL}$ ) B 型原花青素三聚体处理油酸(oleic acid, OA)诱导的 HepG2 细胞脂肪变性模型, 检测 OA 负荷肝细胞内 TG 含量及其与脂质吸收、转运、氧化和肝细胞凋亡相关基因表达。**结果** 0.5~10.0  $\mu\text{g/mL}$  B 型原花青素三聚体均能显著抑制 OA 负荷肝细胞内 TG 沉积, 但不呈现剂量依赖性; 低剂量(1.0  $\mu\text{g/mL}$ ) B 型原花青素三聚体主要通过增强肝细胞 *Bcl-2* 和 *Bax* 表达量的比值, 抑制肝细胞凋亡进而减轻细胞 TG 沉积; 除上述途径外, 中、高剂量(5.0  $\mu\text{g/mL}$ 、10.0  $\mu\text{g/mL}$ ) B 型原花青素三聚体还可通过下调肝细胞 *CD36* 和 *FATP2* 的表达抑制细胞脂质吸收, 同时上调肝细胞 *ACSL1* 和 *CPT1a* 的表达促进细胞脂质分解, 进而减轻肝细胞 TG 沉积。**结论** 荔枝果肉 B 型原花青素三聚体可以通过抑制肝细胞脂质吸收, 促进脂肪酸的  $\beta$  氧化以及抑制肝细胞过度凋亡, 进而改善肝脏脂质代谢紊乱。

**关键词:** 荔枝; B 型原花青素三聚体; 肝细胞脂肪变性; 分子机制

## Effects of B-type proanthocyanidins trimer from *Litchi chinensis* Sonn pulp on regulating lipid metabolism in hepatocytes

LUO Guang-Yi<sup>1</sup>, WEN Ye-Jie<sup>2</sup>, ZHANG Rui-Fen<sup>2</sup>, DENG Mei<sup>2</sup>, ZHANG Ming-Wei<sup>2</sup>, JIA Xu-Chao<sup>2</sup>, HU Kun<sup>1\*</sup>

(1. College of Food Science, Guangdong Pharmaceutical University, Zhongshan 528400, China; 2. Sericultural & Agri-food Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture, Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510000, China)

**ABSTRACT: Objective** To explore the dose effects and molecular mechanism of B-type proanthocyanidins trimer, the main active component of *Litchi chinensis* Sonn pulp phenolics, on hepatocyte triglyceride (TG) deposition. **Methods** HepG2 cell steatosis model induced by oleic acid (OA) was treated with different mass

收稿日期: 2024-11-20

基金项目: 2024 年广东省级乡村振兴战略专项(2024KJ15); 广东省特支计划本土创新团队项目(2019BT02N112)

第一作者: 罗广怡(1999—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为功能性食品。E-mail: 604746271@qq.com

\*通信作者: 胡坤(1975—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为功能性食品。E-mail: huk88@126.com

concentrations (0.5–10.0  $\mu\text{g/mL}$ ) of B-type proanthocyanidins trimer. The content of TG and the expressions of genes related to lipid absorption, transport and oxidation, together with apoptosis of hepatocytes, were detected in oleic acid loaded hepatocytes. **Results** B-type proanthocyanidins trimer (0.5–10.0  $\mu\text{g/mL}$ ) all significantly inhibited TG accumulation in oleic acid-loaded hepatocytes, while no dose dependence was observed. Low-dose (1.0  $\mu\text{g/mL}$ ) B-type proanthocyanidins trimer inhibited hepatocyte apoptosis by increasing the relative expression ratio of *Bcl-2* to *Bax*, thereby reducing TG accumulation in hepatocytes. In addition to the above-mentioned pathway, medium/high-dose (5.0  $\mu\text{g/mL}$ , 10.0  $\mu\text{g/mL}$ ) B-type proanthocyanidins trimer also inhibited lipid absorption in hepatocytes by down-regulating *CD36* and *FATP2* expression, and promoted hepatocytes lipolysis by up-regulating *ACSL1* and *CPT1a* expression, hence reducing TG accumulation in hepatocytes. **Conclusion** B-type proanthocyanidins trimer of *Litchi chinensis* Sonn pulp can inhibit lipid absorption, promote  $\beta$ -oxidation of fatty acids and inhibit excessive apoptosis of liver tissue cells, thereby improving lipid metabolism and preventing fatty liver.

**KEY WORDS:** *Litchi chinensis* Sonn; B-type proanthocyanidins trimer; steatosis of hepatocytes; molecular mechanism

## 0 引言

随着社会节奏的加快和人民生活水平的提高,我国非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)的患病率逐年攀升,且从2016年到2030年,我国NAFLD相关死亡率将增加22%,NAFLD已成为严重威胁人类健康的公共卫生事件<sup>[1-2]</sup>。NAFLD是一种进行性疾病,其发病机制尚未完全阐明,缺乏特异性治疗药物,因此寻找安全高效的防治方法已成为公共卫生目标。越来越多的证据表明,植物膳食中的多酚<sup>[3-4]</sup>、多糖<sup>[5]</sup>、皂苷<sup>[6]</sup>、生物碱<sup>[7]</sup>等活性成分在调节NAFLD中呈现积极作用。CUI等<sup>[8]</sup>采用葡萄果皮酚处理棕榈酸(palmitic acid, PA)诱导的HepG2细胞脂质变性模型,结果表明葡萄果皮多酚能显著降低PA刺激HepG2细胞内甘油三酯(triglyceride, TG)水平并上调脂质分解因子*CPT1a*和*PPARA*的mRNA表达,进而减轻HepG2细胞内脂质蓄积。SU等<sup>[9]</sup>采用原花青素B2处理游离脂肪酸(free fatty acid, FFAs)诱导的HepG2细胞脂质积累模型,发现原花青素B2可减轻FFAs引发的细胞内活性氧自由基(reactive oxide species, ROS)及超氧阴离子(superoxide anion,  $\text{O}_2^-$ )的水平,提高超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)与过氧化氢酶(catalase, CAT)的活性。这表明,原花青素B2通过调控抗氧化酶体系,有效抑制了FFAs引起的细胞氧化应激反应,进而减轻HepG2细胞内脂质蓄积。可见,不同类型的多酚改善NAFLD作用机制并不相同。

荔枝(*Litchi chinensis* Sonn)属无患子科植物,是亚热带地区特色水果,也是广东省最主要的经济作物水果。荔枝果肉富含酚类物质,主要为原花青素类物质<sup>[10]</sup>。荔枝果肉原花青素主要包括B型原花青素二聚体和三聚体,其中三聚体在果肉中含量较高。课题组前期研究发现,荔枝果

肉原花青素具有抗氧化<sup>[11]</sup>、调节脂质代谢<sup>[3,12]</sup>等多种生物活性;进一步通过半制备液相分离制备荔枝果肉多酚提取物中主要酚类成分群,比较各酚类成分群对油酸(oleic acid, OA)负荷肝细胞内TG含量的影响,进而结合高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)对活性酚类成分群进行结构解析,发现荔枝果肉B型原花青素三聚体为其抑制肝细胞TG沉积的主效成分,但B型原花青素三聚体调节肝细胞脂质代谢的具体机制尚未可知。因此,本研究拟通过OA诱导的肝细胞脂肪变性模型,探究荔枝果肉主要活性成分(即B型原花青素三聚体)改善肝细胞脂肪变性的分子机制。研究结果有助于阐明荔枝的健康效应机制,亦为荔枝的精准营养加工提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

荔枝果肉B型原花青素三聚体由课题组前期分离制备<sup>[13]</sup>; HepG2细胞(中国科学院细胞库);磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline, PBS)、胰酶、必需基础培养基(minimum essential medium, MEM)、非必需氨基酸溶液及胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(美国Thermo Fisher Scientific公司);噻唑蓝[3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide, MTT]细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒、甘油三酯检测试剂盒、二辛可酸(bicinchoninic acid, BCA)法蛋白质浓度测定试剂盒(南京建成生物工程研究所);M-MLV逆转录酶(reverse transcriptase M-MLV, RNase H-)试剂盒(北京TAKARA公司);OA及牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)(美国Sigma公司)二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)(天津大茂化学试剂厂)。

## 1.2 仪器与设备

UV-1800 型紫外可见分光光度计(日本岛津公司); Infinite M200pro 酶标仪(瑞士 Tecan 公司); HeraCell 240i CO<sub>2</sub> 培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); DMI 3000B 型倒置荧光显微镜(德国 Leica 公司); ABI ViiA7 荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)仪(美国 ABI 公司); 5702R 台式低速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 细胞培养

在 37 °C、5% (V:V) CO<sub>2</sub> 的细胞培养条件下, 将 HepG2 细胞培养于含有 10% FBS 的 MEM 培养基中。待细胞贴壁生长融合接近 80% 后, 弃去培养液, 用 PBS 清洗后加入一定量的胰酶消化, 当显微镜下细胞慢慢皱缩出现间隙时, 立即向培养瓶中加入培养液终止消化, 1000 r/min 离心 5 min, 取适量细胞进行传代或实验, 每次传代或实验均使用对数生长期的细胞。

### 1.3.2 MTT 法测定细胞活力

取 100 μL 对数生长期的细胞, 将浓度为 5×10<sup>4</sup> 个/mL 的细胞接种至 96 孔培养板, 随后在 37 °C、5% (V:V) CO<sub>2</sub> 的细胞培养环境中孵育 24 h, 吸去培养液, PBS 清洗后, 分别加入含不同质量浓度 B 型原花青素三聚体(0、10、50、80、100、200、400、600、1000 μg/mL)的 1% BSA 无血清培养液, 在 37 °C、5% (V:V) CO<sub>2</sub> 的细胞培养环境中孵育 24 h 后, 向各孔添加 50 μL MTT 试剂, 继续在 37 °C 条件下培养 4 h。随后, 移除培养液, 每孔加入 150 μL DMSO, 振荡使其形成的结晶完全溶解后在 570 nm 的波长下测定每孔的吸光值。B 型原花青素三聚体对细胞的毒性用细胞存活率表示, 计算公式如公式(1)所示。

$$\text{细胞存活率}/\% = \frac{(\text{OD}_{\text{加样细胞}} - \text{OD}_{\text{空白}})}{(\text{OD}_{\text{对照细胞}} - \text{OD}_{\text{空白}})} \times 100\% \quad (1)$$

### 1.3.3 B 型原花青素三聚体对 OA 刺激的 HepG2 细胞内 TG 含量的影响

参照董丽红等<sup>[14-15]</sup>的方法, 采用 OA 诱导肝细胞脂肪变性模型, 进而探究 B 型原花青素三聚体对脂肪变性肝细胞内 TG 含量的影响。以 5×10<sup>5</sup> 个/mL 的浓度, 将 HepG2 细胞接种至 12 孔培养板内, 并置于培养箱中孵育 24 h。移除原有培养液, 经 PBS 洗涤后, 加入含有 1% BSA 的无血清培养基, 继续培养 14 h 后, 弃去培养液。空白组(NC)加入 1 mL 1% BSA 无血清培养液、模型组(MC)加入 1 mL 含有 40 mmol/L OA 的 1% BSA 无血清培养液、样品组加入 1 mL 含有 40 mmol/L OA 和不同质量浓度 B 型原花青素三聚体的 1% BSA 无血清培养液, 置于培养箱中培养 24 h, 弃去培养液, PBS 清洗后, 按照测定 TG 试剂盒的操作方法, 每孔加入 130 μL 细胞裂解液, 裂解 10 min, 取裂解液用于 TG 和蛋白含量的测定, 其中蛋白含量的测定遵循 BCA 蛋

白浓度测定试剂盒的操作指南进行。以每 mg 蛋白浓度为基准, 对细胞内的 TG 含量进行校正, 并选取 OA 模型组作为参照, 进一步计算各组中 TG 的相对含量。

### 1.3.4 实时荧光定量聚合酶链式反应测定脂代谢相关基因的表达

参照赵广河<sup>[16]</sup>的方法, 收集细胞, 用 Trizol 试剂提取总 RNA。通过分光光度计检测 RNA 的浓度及其纯度, 当 A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> 的比值落在 1.8 至 2.0 区间时, RNA 适合进行荧光定量检测。随后, 依据 RNase H-试剂盒的说明书执行逆转录步骤并开展实时荧光定量 PCR 分析。

逆转录体系的配制方法如下: 准备 1.0 μg RNA、0.5 μL Oligo (dT) 18 引物、0.5 μL 随机引物, 以及 10 μL 无 RNase 的 ddH<sub>2</sub>O。混合以上成分, 在 70 °C 下加热 10 min, 然后迅速冷却 1 min。向体系中依次加入 0.5 μL 10 mmol/L 的 dNTP 混合物、0.25 μL 40 U/μL 的 RNase 抑制剂、4.0 μL 5 倍浓度的 M-MLV 缓冲液、以及 0.5 μL RNase H-。用 ddH<sub>2</sub>O 将总体积调整至 20 μL, 充分混匀。在 42 °C 下恒温孵育 60 min, 然后在 72 °C 下处理 15 min 以灭活酶。将反应产物置于 -20 °C 保存, 以备后续使用。

设计特异性的正反向引物, 以 18S rRNA 为内源参照基因(引物见表 1)。采用荧光染料 SYBR Green I 方法, 其反应组成为: 正向引物、反向引物各 0.5 μL, 10 μL AceQ™ PCR SYBR® Green Master Mix, 2 μL 稀释 10 倍的 cDNA, 7 μL ddH<sub>2</sub>O。使用 ViiA7 系统软件设定反应程序: 95 °C 1 min, 95 °C 10 s, 59 °C 20 s, 45 个循环; 60-95 °C 进

表 1 引物序列  
Table 1 Primer sequence

基因名称	引物(5'-3')	引物长度 /bp
18S rRNA (内源参照 基因)	正向 CGCGGCTTTGGTGACTCTAGA	201
	反向 CCTGCTGCCTTCCTTGGATGTG	
FATP2	正向 GTGAGACTGGCACTGGGAAATGG	105
	反向 GCCTTCAGTGGCAGCATAGAAGT	
FATP5	正向 GGGTAGGGATCAAAGCCAGCCA	107
	反向 CAGCCCACTGAGGTTGAGGGTA	
CPT1α	正向 GCGATGGCTGAACTGTTGGAGT	216
	反向 GGCAATGGTGTGGGCGTGAAT	
BAX	正向 TCCACCAAGAAGCTGAGCGAGT	95
	反向 TCTGTGTCCACGGCGGCAAT	
ACSL1	正向 CGTGCCTACTCTCCGACCAAC	138
	反向 CTACCCGCCACTTCCACTGACT	
CD36	正向 TAACCCAGGACGCTGAGGACAAC	122
	反向 TGCCACAGCCAGATTGAGAAGT	
BCL-2	正向 TGGACAACATCGCCCTGTGGAT	110
	反向 TCAGCCCACTCACATCACCA	

行溶解曲线分析。利用 Applied Biosystems ViiA7 实时荧光定量 PCR 仪检测各个基因的循环阈(cycle threshold, Ct)值,所有反应均设 3 个复孔。根据 Comparative Delta-Delta Ct 法 $\Delta\Delta Ct=(Ct_{\text{处理组基因}}-Ct_{\text{内参基因}})-(Ct_{\text{对照组基因}}-Ct_{\text{内参基因}})$ ,使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算各个处理组基因相对于 MC 组的表达量。

#### 1.4 数据处理

实验数据以平均值 $\pm$ 标准偏差表示,采用 SPSS 18.0 软件和 Origin 8.0 软件进行统计分析和绘图。利用单因素方差分析进行组间比较, $P<0.05$  将认为有统计学差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 B 型原花青素三聚体的细胞毒性

采用 MTT 法测定 B 型原花青素三聚体的细胞毒性,结果如图 1 所示。采用 0~1000  $\mu\text{g/mL}$  质量浓度范围的 B 型原花青素三聚体处理 HepG2 细胞 24 h,细胞存活率均在 90%以上,说明该质量浓度范围内 B 型原花青素三聚体对 HepG2 细胞增殖无明显影响和毒性作用。

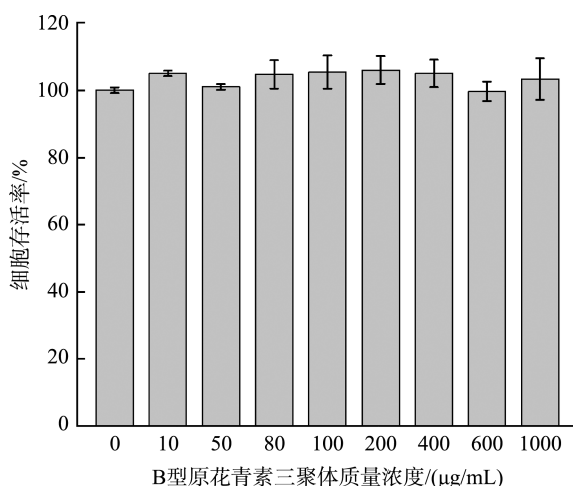
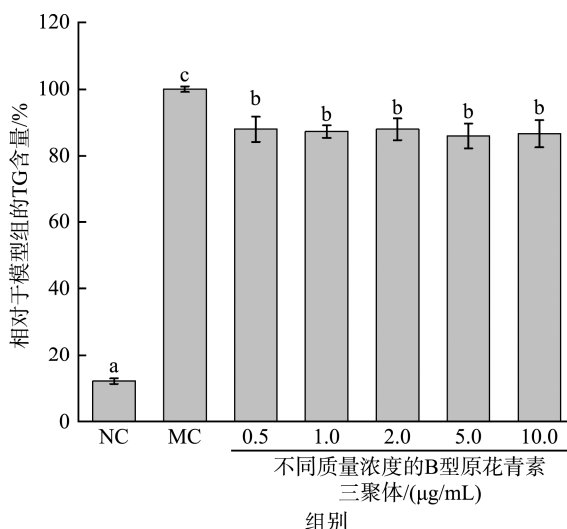


图 1 B 型原花青素三聚体对 HepG2 细胞存活率的影响  
Fig.1 Effects of B-type proanthocyanidins trimer on the cell viability of HepG2 cells

### 2.2 B 型原花青素三聚体对 OA 刺激的 HepG2 细胞内 TG 含量的影响

B 型原花青素三聚体对 OA 刺激的 HepG2 细胞内 TG 含量的影响如图 2 所示,与 NC 组相比,OA 刺激的 HepG2 细胞内 TG 含量显著增加( $P<0.05$ ),是前者的 9.23 倍,而不同质量浓度的 B 型原花青素三聚体处理均能显著降低 OA 刺激的 HepG2 细胞内 TG 含量( $P<0.05$ ),但不呈现剂量效应。PARK 等<sup>[17]</sup>采用荔枝果肉原花青素低聚体处理 PA 诱导的脂肪变性的 HepG2 细胞,发现荔枝果肉原花青素低聚体显著减轻了 PA 刺激的 HepG2 细胞内 TG 的沉积。LI 等<sup>[18]</sup>

采用苹果多酚提取物处理 OA+PA 诱导的 HepG2 细胞脂质蓄积,结果显示苹果多酚提取物可以显著降低细胞内 TG 含量,改善细胞脂滴沉积。在剂量上,LI 等<sup>[18]</sup>使用的浓度为 2.0  $\text{mg/mL}$ ,本研究使用最大浓度为 10.0  $\mu\text{g/mL}$  即可明显改善脂质沉积。



注:不同字母表示组间具有显著性差异( $P<0.05$ ),下同。  
图 2 不同质量浓度的 B 型原花青素三聚体对 OA 刺激的 HepG2 细胞内 TG 含量的影响

Fig.2 Effects of different mass concentrations of B-type proanthocyanidins trimer on TG content in HepG2 cells stimulated by OA

### 2.3 B 型原花青素三聚体调节肝细胞脂质代谢的分子机制

#### 2.3.1 B 型原花青素三聚体对 HepG2 细胞脂质吸收和转运的影响

如前所述,0.5~10.0  $\mu\text{g/mL}$  荔枝果肉 B 型原花青素三聚体均能显著抑制 OA 刺激的肝细胞内 TG 沉积,本研究进一步选取了 1.0、5.0、10.0  $\mu\text{g/mL}$  B 型原花青素三聚体处理组,分别为低(L-PC)、中(M-PC)、高剂量(H-PC)处理组,探究 B 型原花青素三聚体改善肝细胞脂质代谢的分子机制。*CD36*、*FATP* 是脂肪酸吸收的相关基因<sup>[19]</sup>。*CD36* 是一种重要的脂肪酸转运体,其在肿瘤细胞中高表达,通过参与脂肪酸摄取、脂质从头合成等促进脂质沉积<sup>[20]</sup>。NAFLD 患者肝脏中 *CD36* 表达及胞膜定位相较于健康人群显著增加<sup>[21]</sup>。脂肪酸转运蛋白(fatty acid transport protein, *FATP*)家族是重要的脂肪摄取蛋白质家族,主要是将外周循环中的脂肪酸转入细胞内,*FATP2* 和 *FATP5* 基因主要在肝细胞中表达,其中 *FATP2* 在 HepG2 细胞中具有较高的表达<sup>[22]</sup>。不同剂量 B 型原花青素三聚体处理 OA 负荷的 HepG2 细胞后,与脂质吸收转运相关基因表达结果如图 3 所示。与 MC 组相比,低剂量 B 型原花青素三聚体显著上调了 *CD36* 和 *FATP2* 的表达,中、高剂量 B 型原花青素三

聚体则显著下调了 *CD36* 和 *FATP2* 的表达( $P<0.05$ ), 但上述剂量 B 型原花青素三聚体对 *FATP5* 的表达无显著影响, 说明中、高剂量 B 型原花青素三聚体可以有效下调 OA 刺激的脂肪变性肝细胞中 *CD36* 和 *FATP2* 的表达, 进而抑制肝细胞脂质吸收。TANAKA 等<sup>[23]</sup>采用没食子酸处理 PA 诱导的 HepG2 细胞脂肪变性模型, 发现低(8.5  $\mu\text{g/mL}$ )、中剂量(17.0  $\mu\text{g/mL}$ )没食子酸处理不能显著下调脂肪变性肝细胞中 *FATP2* 基因表达, 而高剂量(34.0  $\mu\text{g/mL}$ )没食子酸能显著下调 *FATP2* 基因表达。钟艳花等<sup>[24]</sup>采用厚朴酚处理 OA+PA 诱导的 HepG2 细胞脂肪变性模型, 发现中剂量(2.7  $\mu\text{g/mL}$ )、高剂量(10.7  $\mu\text{g/mL}$ )厚朴酚可显著抑制 *CD36*、*FATP2* 等脂质合成和转运相关基因表达, 低剂量(0.7  $\mu\text{g/mL}$ )无此作用, 由此可知, 酚类物质需达到一定剂量才能发挥调节肝细胞脂质代谢相关基因表达的作用, 这与本研究结果相一致。

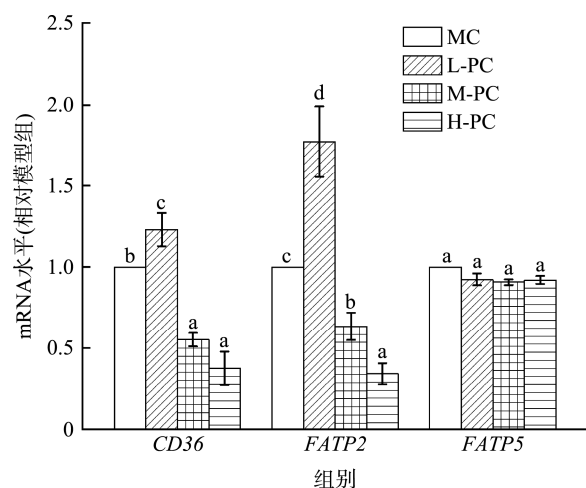


图 3 不同质量浓度的 B 型原花青素三聚体对 OA 刺激的 HepG2 细胞内脂质吸收和转运相关基因表达的影响

Fig.3 Effects of different mass concentrations of B-type proanthocyanidins trimer on the expression of genes involved in lipid uptake and transport in HepG2 cells stimulated by OA

### 2.3.2 B 型原花青素三聚体对 HepG2 细胞脂质 $\beta$ 氧化的影响

组织中脂肪酸  $\beta$  氧化是脂质分解转化的重要途径。在脂质  $\beta$  氧化途径中, 首要步骤涉及脂肪酸向脂酰辅酶 A (coenzyme A, CoA) 的活化过程。随后, 该活化产物进入线粒体基质内, 并在脂肪酸  $\beta$  氧化酶系的逐步催化作用下, 经历脱氢、加水、再次脱氢及硫解这一系列反应。此过程最终导致一分子乙酰 CoA 与一分子碳链缩短两个碳单位的脂酰 CoA 的生成与释放。当这一过程出现异常时, 可能会导致脂肪肝的形成。*ACSL1* 和 *CPT1 $\alpha$*  是脂质  $\beta$  氧化的相关基因<sup>[25]</sup>。*ACSL1* 主要把细胞内的长链脂肪酸活化进而生成脂酰 CoA<sup>[22]</sup>。*CPT1 $\alpha$*  则是脂肪酸  $\beta$ -氧化的限速酶, 可以和脂酰辅酶 A 合成酶(acyl-CoA synthetase, ACS)共同作用,

将脂酰 CoA 转移到线粒体中完成脂肪酸的  $\beta$  氧化<sup>[26]</sup>。不同剂量 B 型原花青素三聚体处理 OA 负荷的 HepG2 细胞后, 细胞 *ACSL1* 和 *CPT1 $\alpha$*  基因表达结果如图 4 所示。与 MC 组相比, 低剂量 B 型原花青素三聚体显著下调 *ACSL1* 的表达, 而中、高剂量 B 型原花青素三聚体显著上调 *ACSL1* 的表达( $P<0.05$ )。低、中剂量 B 型原花青素三聚体对 *CPT1 $\alpha$*  表达无显著影响, 但高剂量 B 型原花青素三聚体能显著上调 *CPT1 $\alpha$*  表达( $P<0.05$ )。由此可知, 中、高剂量 B 型原花青素三聚体可通过上调 *ACSL1* 和 *CPT1 $\alpha$*  等参与肝细胞脂质  $\beta$  氧化基因的表达, 促进肝细胞脂质分解转化, 进而减轻细胞内 TG 沉积。前人研究指出, 芒果苷<sup>[27]</sup>、槲皮素<sup>[28]</sup>等酚类物质也可以通过上调肝脏组织和细胞中 *PPAR $\alpha$*  及 *CPT1 $\alpha$*  等基因的表达来促进脂质分解转化, 进而调节脂质代谢平衡, 上述研究结果与本研究相一致。

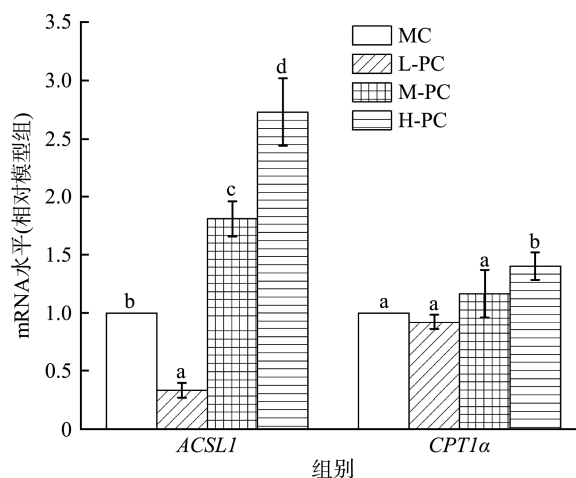


图 4 不同质量浓度的 B 型原花青素三聚体对 OA 刺激的 HepG2 细胞内脂质  $\beta$  氧化相关基因表达的影响

Fig.4 Effects of different mass concentrations of B-type proanthocyanidins trimer on the expression of genes related to lipid  $\beta$ -oxidation in HepG2 cells stimulated by OA

### 2.3.3 B 型原花青素三聚体对 HepG2 细胞凋亡的影响

肝细胞凋亡与肝损伤、炎症和纤维化有关, 是造成脂肪肝发生发展的重要因素<sup>[29]</sup>。*Bax* 和 *Bcl-2* 是控制细胞凋亡的基因, 在哺乳动物细胞凋亡过程中, *Bax* 和 *Bcl-2* 是一对正、负调控剂。在正常情况下, 位于胞质的 *Bax* 在接收到死亡信息后, 可以通过改变自身的构象穿插到线粒体膜中进而形成 *Bax-Bax* 二聚体, 开启线粒体通透性的转换孔, 从而影响线粒体跨膜电位和细胞色素 C, 细胞色素 C 与凋亡蛋白活化因子结合形成凋亡小体完成凋亡, 而凋亡的肝细胞将会促进肝纤维化的发生。位于线粒体外膜上的 *Bcl-2* 可以与 *Bax* 蛋白竞争性结合进而形成 *Bax-Bcl-2* 二聚体, 终止凋亡。*Bcl-2* 和 *Bax* 基因表达量的比值(*Bcl-2/Bax*)可以用于评价细胞凋亡<sup>[30]</sup>。若 *Bcl-2/Bax* 比值上升, 表明抑制细胞凋亡, 反之则促进细胞凋亡。不同剂量 B 型原花青素三

聚体处理 OA 负荷的 HepG2 细胞后, *Bcl-2* 和 *Bax* 表达量的比值结果如图 5 所示。与 MC 组相比, 不同剂量 B 型原花青素三聚体均能显著增加 *Bcl-2/Bax* 的比值( $P < 0.05$ ), 但低剂量和中剂量组效果相当, 均显著强于高剂量组( $P < 0.05$ ), 说明不同剂量 B 型原花青素三聚体可以通过抑制 HepG2 细胞凋亡减轻肝细胞脂质蓄积。禹萍<sup>[31]</sup>采用蓝莓提取原浆灌胃 NAFLD 大鼠, 发现蓝莓提取原浆能够有效增加 NAFLD 大鼠肝组织 *Bcl-2* 表达, 降低 *Bax* 表达, 增加 *Bcl-2/Bax* 的比值, 提高机体的抗氧化应激能力从而抑制肝细胞凋亡, 研究结果与本研究相一致。

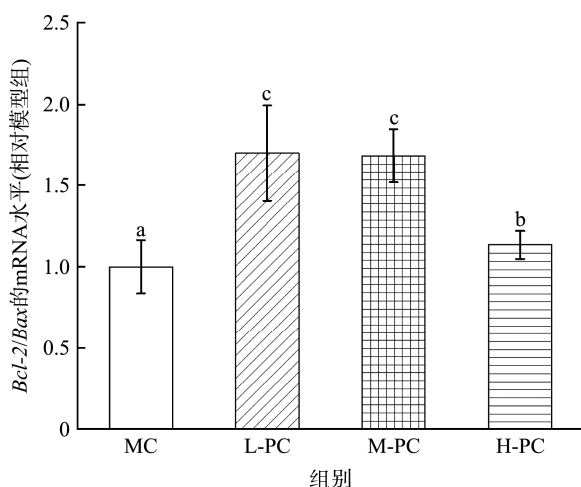


图 5 不同质量浓度的 B 型原花青素三聚体对 OA 刺激的 HepG2 细胞凋亡相关基因表达的影响

Fig.5 Effects of different mass concentrations of B-type proanthocyanidins trimer on the expression of apoptosis-related genes in HepG2 cells stimulated by OA

### 3 结论

本研究以 40 mmol/L OA 诱导人肝癌 HepG2 细胞发生脂质沉积, 建立单纯性肝细胞脂肪变性模型, 探究了荔枝果肉多酚主要活性成分 B 型原花青素三聚体改善肝细胞脂肪变性的分子机制。研究表明, 0.5~10.0  $\mu\text{g/mL}$  B 型原花青素三聚体均能显著抑制 OA 负荷肝细胞内 TG 沉积, 但不呈现剂量依赖性; 低剂量 B 型原花青素三聚体主要通过增强肝细胞 *Bcl-2* 和 *Bax* 表达量的比值, 抑制肝细胞凋亡进而减轻细胞 TG 沉积; 除上述途径外, 中、高剂量 B 型原花青素三聚体还可通过下调肝细胞 *CD36* 和 *FATP2* 的表达抑制细胞脂质吸收, 同时上调肝细胞 *ACSL1* 和 *CPT1 $\alpha$*  的表达促进细胞脂质分解, 进而减轻肝细胞 TG 沉积。本研究结果将丰富酚类成分改善脂质代谢紊乱的理论基础, 并为荔枝的精准营养加工提供理论依据。

### 参考文献

[1] MAN S, DENG Y, MA Y, *et al.* Prevalence of liver steatosis and fibrosis

in the general population and various high-risk populations: A nationwide study with 5.7 million adults in China [J]. *Gastroenterology*, 2023, 165(4): 1025–1040.

[2] YIP CF, FAN JG, WONG WS. China's fatty liver crisis: A looming public health emergency [J]. *Gastroenterology*, 2023, 165(4): 825–827.

[3] 赵钜阳, 李玉奇, 徐朔, 等. 膳食多酚对高脂饮食诱导脂代谢紊乱及相关疾病作用研究进展[J/OL]. *食品与发酵工业*, 1–14. [2024-07-20]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.039497>

ZHAO JY, LI YQ, XU S, *et al.* Research progress on the effects of dietary polyphenols on high-fat diet induced lipid metabolism disorders and related diseases [J/OL]. *Food and Fermentation Industries*, 1–14. [2024-07-20]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.039497>

[4] LI S, YIN S, DING H, *et al.* Polyphenols as potential metabolism mechanisms regulators in liver protection and liver cancer prevention [J]. *Cell Proliferation*, 2023, 56(1): e13346.

[5] HU YL, MA Q, DONG X, *et al.* Research progress on the therapeutic effects of polysaccharides on non-alcoholic fatty liver diseases [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2023, 10: 1107551.

[6] GU D, YI H, JIANG K, *et al.* Transcriptome analysis reveals the efficacy of ginsenoside-Rg1 in the treatment of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Life Sciences*, 2021, 267: 118986.

[7] SUN J, FAN J, LI T, *et al.* Nuciferine protects against high-fat diet-induced hepatic steatosis via modulation of gut microbiota and bile acid metabolism in rats [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(38): 12014–12028.

[8] CUI W, XU B, CHEN F, *et al.* Effects of grape peel phenolics on lipid accumulation in sodium palmitate-treated HepG2 cells [J]. *Journal of Functional Foods*, 2024, 112: 105923.

[9] SU H, LI Y, HU D, *et al.* Procyanidin B2 ameliorates free fatty acids-induced hepatic steatosis through regulating TFEB-mediated lysosomal pathway and redox state [J]. *Free Radical Biology And Medicine*, 2018, 126: 269–286.

[10] 张名位, 董丽红, 张瑞芬. 荔枝果肉的主要活性物质及其健康效应研究进展[J]. *食品科学技术学报*, 2019, 37(3): 1–12.

ZHANG MW, DONG LH, ZHANG RF. Research progress on main bioactive substances and their health benefits of lychee pulp [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2019, 37(3): 1–12.

[11] 谢翀, 林琳, 吴戈仪, 等. 荔枝生理落果中 A 型原花青素提取纯化鉴定及抗氧化活性研究[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(3): 81–87.

XIE C, LIN L, WU GY, *et al.* Extraction, purification, identification of A-type procyanidine from *Litchi* fruitlet and its antioxidant activity [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(3): 81–87.

[12] RAUF A, IMRAN M, ABU-IZNEID T, *et al.* Proanthocyanidins: A comprehensive review [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 116: 108999.

[13] 温叶杰, 肖娟, 董丽红, 等. 荔枝果肉多酚不同极性分部的构成谱及其抗氧化活性比较[J]. *食品科学技术学报*, 2016, 34(3): 31–39.

WEN YJ, XIAO J, DONG LH, *et al.* Polyphenol components and antioxidant activities of three fractions extracted by different polar solvents from litchi pulp polyphenol extract [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2016, 34(3): 31–39.

[14] 董丽红, 张瑞芬, 黄菲, 等. 油酸诱导单纯性肝脂肪变性细胞模型的建

- 立及应用[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(11): 1622–1626.
- DONG LH, ZHANG RF, HUANG F, *et al.* Establishment and application of hepatocyte steatosis models induced by oleic acid [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2017, 33(11): 1622–1626.
- [15] 董丽红. 荔枝果肉不同酚类成分体外抑制肝细胞脂肪变性的活性差异及其机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.
- DONG LH. Study on differences in the Inhibitory effects of different phenolic compound fractions from *Litchi* pulp on hepatocyte steatosis *in vitro* and the mechanism [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2016.
- [16] 赵广河. 米糠膳食纤维中结合态酚类物质的模拟消化释放特征及其改善脂质代谢作用[D]. 武汉: 华中农业大学, 2018.
- ZHAO GH. *In vitro* releasing characteristics of bound phenolics in insoluble dietary fiber from defatted rice bran and its role in regulating lipid metabolism [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2018.
- [17] PARK JY, KIM Y, IM JA, *et al.* Oligonol suppresses lipid accumulation and improves insulin resistance in a palmitate-induced in HepG2 hepatocytes as a cellular steatosis model [J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2015, 15(1): 185.
- [18] LI D, CUI Y, WANG X, *et al.* Apple polyphenol extract alleviates lipid accumulation in free-fatty-acid-exposed HepG2 cells via activating autophagy mediated by SIRT1/AMPK signaling [J]. Phytotherapy Research, 2021, 35(3): 1416–1431.
- [19] SCHWENK RW, HOLLOWAY GP, LUIKEN JJFP, *et al.* Fatty acid transport across the cell membrane: Regulation by fatty acid transporters [J]. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 2010, 82(4-6): 149–154.
- [20] 谢秀龙, 牛振岚, 杨毅. CD36: 生物学功能、作用机理及其相关的人类疾病[J]. 中国细胞生物学学报, 2023, 45(2): 298–308
- XIE XL, NIU ZL, YANG Y. CD36: Biological functions, mechanism of action and its associated human diseases [J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2023, 45(2): 298–308
- [21] 潘雨晴, 李晓静, 涂天智, 等. 基于 CD36 探究中医药防治非酒精性脂肪性肝病的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(12): 5937–5941.
- PAN YQ, LI XJ, TU TZ, *et al.* Discussion on research progress of traditional Chinese medicine treating non-alcoholic [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2023, 38(12): 5937–5941.
- [22] 魏苏宁, 苏雪莹, 徐国恒. 肝细胞甘油三酯代谢途径异常与脂肪肝[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2016, 32(2): 123–132.
- WEI SN, SU XY, XU GH. Anomaly of triglyceride metabolism in liver lead to NAFLD [J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2016, 32(2): 123–132.
- [23] TANAKA M, SATO A, KISHIMOTO Y, *et al.* Gallic acid inhibits lipid accumulation via AMPK pathway and suppresses apoptosis and macrophage-mediated inflammation in hepatocytes [J]. Nutrients, 2020, 12(5): 1479.
- [24] 钟艳花, 林重, 钟映芹, 等. 厚朴酚对脂肪酸诱导 HepG2 细胞脂质积蓄的作用及机制研究[J]. 山西中医药大学学报, 2021, 22(3): 171–177, 181.
- ZHONG YH, LIN Z, ZHONG YQ, *et al.* Magnolol stimulates PPAR $\alpha$  and improves free fatty acid-induced lipid accumulation in HepG2 cells [J]. Journal of Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, 2021, 22(3): 171–177, 181.
- [25] COLEMAN RA, LEWIN TM, MUOIO DM. Physiological and nutritional regulation of enzymes of triacylglycerol synthesis [J]. Annual Review of Nutrition, 2000, 20(1): 77–103.
- [26] MARTIN-PEREZ M, URDIROZ-URRICALQUI U, BIGAS C, *et al.* The role of lipids in cancer progression and metastasis [J]. Cell Metabolism, 2022, 34(11): 1675–1699.
- [27] GUO F, HUANG C, LIAO X, *et al.* Beneficial effects of mangiferin on hyperlipidemia in high-fat-fed hamsters [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2011, 55(12): 1809–1818.
- [28] GNONI GV, PAGLIALONGA G, SICULELLA L. Quercetin inhibits fatty acid and triacylglycerol synthesis in rat-liver cells [J]. European Journal of Clinical Investigation, 2009, 39(9): 761–768.
- [29] 王迎春, 孔维宗, 金青梅, 等. 丹酚酸 B 对非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝细胞凋亡的影响[J]. 临床肝胆病杂志, 2014, 30(12): 1325–1329.
- WANG YC, KONG WZ, JIN QM, *et al.* Effect of salvianolic acid B on hepatocyte apoptosis in rats with nonalcoholic steatohepatitis [J]. Journal of Clinical Hepatol, 2014, 30(12): 1325–1329.
- [30] 解燕茹. 凋亡调控蛋白 Bcl-2、Bax 与非酒精性脂肪性肝病的关系及药物干预研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2010.
- XIE YR. The relationship and medication between apoptosis-regulated proteins Bcl-2, Bax and nonalcoholic steatohepatitis [D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2010.
- [31] 禹萍. 蓝莓对非酒精性脂肪性肝病大鼠 Bcl-2、Bax 表达的影响[D]. 贵州: 贵州医科大学, 2017.
- YU P. Effects of blueberry on expression of Bcl-2 and Bax in non-alcoholic fatty liver disease in rats [D]. Guizhou: Guizhou Medical University, 2017.

(责任编辑: 安香玉 于梦娇)