

[11] 高纯. 载脂蛋白 C2 研究进展 [J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册, 2000, 21 (6): 285-286.

[12] 刘绪青, 徐家喻, 张小玲. 高脂血症患者血载脂蛋白 E 水平的观察 [J]. 中国医师杂志, 2005, 7 (2): 266-267.

中链脂肪酸改善高脂饲料短期和长期喂养 C57BL/6J 小鼠的脂蛋白水平的作用

刘英华 张永 于晓明 张新胜 徐庆 王艷 杨雪艳 张荣欣 薛长勇
 (解放军总医院营养科, 北京 100853)

摘要: **目的** 观察中链脂肪酸 (MCFA) 对高脂饲料短期和长期喂养的 C57BL/6J 小鼠血清和肝脏脂蛋白水平的影响。**方法** 长期实验将 36 只 C57BL/6J 雄性小鼠随机分 2% MCFA + 高脂组、4% MCFA + 高脂组和 4% 长链脂肪酸 (LCFA) + 高脂组 3 组, 喂饲 16 周。短期实验对 36 只 C57BL/6J 雄性小鼠喂饲高脂饲料, 随机分 2mg/kg MCFA 组、4mg/kg MCFA 组和 4mg/kg LCFA 组, 灌胃 2 周。长期和短期实验结束时, 测定小鼠体重、体脂肪重和肝脏重, 观察小鼠血清和肝脏脂蛋白水平的变化。**结果** 长期研究结束时, 2% MCFA 组小鼠体重、附睾周围脂肪垫重及肝脏重、血清甘油三酯 (TG)、胆固醇 (TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平均显著低于 LCFA 组 ($P < 0.05$), 高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 及 HDL-C/LDL-C 比值显著高于 LCFA 组 ($P < 0.05$)。4% MCFA 组小鼠体重、附睾周围脂肪垫重及肝脏重显著低于 LCFA 组 ($P < 0.05$), 肝脏匀浆载脂蛋白 A1 (ApoA1) 水平显著高于 LCFA 组 ($P < 0.05$)。短期研究结束时, 低剂量 MCFA 组肝脏重及肝脏匀浆中载脂蛋白 B (ApoB) 水平显著低于 LCFA 组 ($P < 0.05$), 血清 HDL-C/LDL-C 比值显著高于 LCFA 组 ($P < 0.05$)。无论长期还是短期实验, 低剂量和高剂量 MCFA 两组小鼠肝脏匀浆的 ApoA1/ApoB 比值均显著高于 LCFA 组 ($P < 0.05$)。**结论** MCFA 可降低长期高脂饲料喂养的 C57BL/6J 小鼠体重、体脂肪重、肝脏重及血清甘油三酯浓度, 且长期、短期内均可改善小鼠血清和肝脏脂蛋白水平。

关键词: 中链脂肪酸; 脂蛋白; 高脂饲料; C57BL/6J 小鼠

Effects of medium-chain fatty acids on lipoproteins in C57BL/6J mice fed high fat diet for short and long duration

Liu Ying-hua Zhang Yong Yu Xiao-ming Zhang Xin-sheng Xu Qing

Wang Jin Yang Xue-yan Zhang Rong-xin Xue Chang-yong

(Department of Nutrition, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of medium-chain fatty acid (MCFA) on serum and liver lipoprotein in C57BL/6J fed high fat diet for short and long duration. **Methods** 36 male C57BL/6J mice were divided into 3 groups randomly, i. e., 2% MCFA, 4% MCFA and 4% long-chain fatty acid (LCFA) group, and were fed high fat diet for 16 weeks. Another 36 male C57BL/6J mice were fed high fat diet and divided into 3 groups randomly, i. e., 2mg/kg MCFA, 4mg/kg MCFA and 4mg/kg LCFA. The fatty acids were orally administered once a day for 2 weeks. Body weight, epididymal fat pad and liver, the level of lipoprotein in serum and liver in the C57BL/6J mice were measured. **Results** In the long duration experiment, body weight, epididymal fat pad and liver weight, serum triglyc-

eride (TG), serum cholesterol (TC) and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) decreased significantly, the level of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and HDL-C/LDL-C increased significantly in 2% MCFA group as compared with LCFA group ($P < 0.05$). The level of apolipoproteinA1 (ApoA1) in livers in 4% MCFA group was increased significantly ($P < 0.05$). In the short duration experiment, liver weight and the level apolipoproteinB (ApoB) in liver lowered significantly, and serum HDL-C/LDL-C increased significantly in 2mg/kg MCFA group ($P < 0.05$). Moreover, in both long and short duration experiments, ApoA1/ApoB in liver in both lower and higher concentration MCFA group was increased significantly compared with LCFA group ($P < 0.05$). **Conclusion** MCFA can reduce body weight, liver weight, body fat weight and the levels of TG in C57BL/6J mice fed high fat diet for long term, and improve the level of lipoproteins in serum and liver in both short and long term feeding.

Keywords: medium-chain fatty acid; lipoprotein; high fat diet; mouse

中链脂肪酸 (MCFA) 是含有 8 - 12 个碳原子的脂肪酸, 因其在体内的转运代谢机制不同于长链脂肪酸 (LCFA), 实验证实 MCFA 可减少体内脂质蓄积, 有防治肥胖的作用^[1]。本课题组进行的临床研究结果表明, 含有 MCFA 的油脂可明显降低高甘油三脂血症患者体重、血脂浓度, 且可改善脂蛋白水平^[2-3]。为了从基础研究上进一步证实 MCFA 改善机体脂代谢的作用, 本研究拟选择 C57BL/6J 雄性小鼠为研究对象, 通过高脂饲料慢性喂养和脂肪酸短期灌胃的实验, 观察 MCFA 对小鼠血清及肝脏脂蛋白水平的影响, 并选择两种 MCFA 浓度进行实验, 为进一步的研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物

分别选择健康雄性 C57BL/6J 小鼠 36 只进行慢性长期高脂饲料喂养实验和短期脂肪酸灌胃实验, 平均质量分别为 (14.16 ± 0.48) g 和 (19.57 ± 0.92) g。均由中国医学科学院实验动物研究所提供, 许可证号 SCXK 京 2009 - 0007。

1.2 研究用脂肪酸

MCFA 及 LCFA 均由日清奥利友 (中国) 投资有限公司提供, 脂肪酸组成见表 1, 名称用碳的数目和不饱和双键的数目来表示, 如 8:0 代表 8 个碳的饱和脂肪酸, 没有不饱和双键。

1.3 动物分组、饲养及灌胃

长期饲养和短期灌胃研究的实验动物由普通饲料适应喂养 1 周后, 均按空腹体重随机分为 3 组, 每组 12 只。长期实验饲料配方参考 AIN - 96G, 添加 10% 猪油、10% 蛋黄粉制成基础高脂饲料, 分 2% MCFA + 2% LCFA 组、4% MCFA 组及 4% LCFA 组 (表 2), 喂饲 16 周。短期灌胃实验以基础高脂饲料喂饲动物, 分 2mg/kg MCFA + 2mg/kg LCFA 灌胃

组、4mg/kg MCFA 灌胃组及 4mg/kg LCFA 灌胃组, 每日灌胃 1 次, 2 周后结束实验。

表 1 实验用脂肪酸组成

fatty acids	Composition (g/100g fatty acid)	
	LCFA	MCFA
8 : 0		75.4
10 : 0		24.6
16 : 0	6.2	
16 : 1	0.2	
18 : 0	2.5	
18 : 1	48.8	
18 : 2	30.2	
18 : 3	9.4	
20 : 0	0.6	
20 : 1	1.1	
22 : 0	0.4	
22 : 1	0.2	
24 : 0	0.2	
24 : 1	0.2	
total	100	100

表 2 饲料成份表

Ingredients	2%MCFA	4%MCFA	4%LCFA
Basal high fat diet (%)	90	90	90
MCFA (%)	2	4	
LCFA (%)			4
Casein (%)	6	6	6
Energy (KJ/g)	18.98	18.98	18.98

1.4 观察指标

1.4.1 小鼠空腹体重、体脂肪及肝脏重量

研究结束前一夜禁食不禁水, 第 2 天清晨进行小鼠空腹质量称量并记录。小鼠处死, 立即分离肝

脏, 左右双侧附睾周围脂肪组织垫, 用滤纸吸干组织液后, 用万分之一电子天平称重。

1.4.2 血清学指标

小鼠麻醉后取腹主动脉血, 1600g/min 离心 10min, 取上清液待测。血清甘油三酯 (TG), 胆固醇 (TC) 测定采用 GPO-PAP 酶法, 高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 和低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 测定采用 PEG-6000 沉淀法。并计算 HDL-C/LDL-C 比值。

1.4.3 肝脏载脂蛋白测定

小鼠处死后取肝脏, 用 0.9% 氯化钠注射液按 10% 浓度制作肝脏匀浆, 700g/min 离心 15min, 去除沉淀, 取上清液, 采用 BCA 法测定肝脏蛋白浓度 (美国 Pierce 公司), 采用 ELISA 方法, 按照载脂蛋白 A1 (ApoA1) 和载脂蛋白 B (ApoB) 测定试剂盒 (上海 BlueGene 公司, E03A0013 和 E03A0046) 说明书进行检测。并计算 ApoA1/ApoB 比值。

1.5 统计学分析

采用 SPSS17.0 统计软件包进行数据处理, 所有数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 方差齐时组间比较采用 LSD 法, 方差不齐时组间比较采用 Tamhane's T2 法。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体重、体脂肪及肝脏重

长期研究结束时, 2% MCFA 组小鼠体重显著低于 LCFA 组; 2% MCFA 及 4% MCFA 组小鼠附睾周围脂肪垫重及肝脏重均显著低于 LCFA 组, 差异有统计学意义 (P < 0.05); 2% MCFA 组与 4% MCFA 组比较, 三项指标均无显著性差异 (P > 0.05)。短期研究结束时, 仅肝脏重低剂量 MCFA 组低于 LCFA 组, 差异有显著性 (P < 0.05) (见表 3)。

表 3 MCFA 对 C57BL/6J 小鼠体重、体脂肪重及肝脏重的影响 ($\bar{x} \pm s$, n = 12)

	Groups	Body weight (g)	Epididymal fat pad (g)	Liver weight (g)
Long term	2% MCFA	29.58 ± 1.03 *	0.65 ± 0.15 *	1.49 ± 0.15 *
	4% MCFA	30.29 ± 0.95	0.79 ± 0.20 *	1.50 ± 0.10 *
	4%LCFA	30.81 ± 1.00	1.02 ± 0.27	1.62 ± 0.09
Short term	2mg/kg MCFA	21.53 ± 1.47	0.25 ± 0.04	0.99 ± 0.09 **
	4mg/kg MCFA	21.85 ± 1.16	0.26 ± 0.06	1.13 ± 0.13
	4mg/kg LCFA	22.46 ± 1.33	0.27 ± 0.05	1.13 ± 0.07

*: P < 0.05 compared to 4%LCFA, #: P < 0.05 compared to 4% MCFA

2.2 血清指标变化

长期研究结束时, 2% MCFA 组小鼠血清 TG、TC、LDL-C 水平均显著低于 LCFA 组, HDL-C 及 HDL-C/LDL-C 比值均显著高于 LCFA 组, 且 TG、HDL-C、LDL-C 水平和 HDL-C/LDL-C 比值在 2%

MCFA 组和 4% MCFA 组之间的差异有统计学意义 (P < 0.05)。另外, 短期研究结束时, 低剂量 MCFA 组 HDL-C/LDL-C 比值也显著高于 LCFA 组, 差异有统计学意义 (P < 0.05) (见表 4)。

表 4 MCFA 对 C57BL/6J 小鼠血清指标的影响 ($\bar{x} \pm s$, n = 12)

Group	TG (mmol/L)	CH (mmol/L)	HDL-c (mmol/L)	LDL-c (mmol/L)	HDL-C/LDL-C
Long term	2% MCFA	0.84 ± 0.26 **	2.72 ± 0.39 *	2.49 ± 0.24 #	0.35 ± 0.15 **
	4% MCFA	1.18 ± 0.22	3.03 ± 0.57	2.92 ± 0.50 *	0.59 ± 0.17
	4%LCFA	1.31 ± 0.30	3.13 ± 0.39	2.09 ± 0.51	0.62 ± 0.20
Short term	2mg/kg MCFA	0.71 ± 0.19	2.79 ± 0.42	2.42 ± 0.30	0.35 ± 0.18
	4mg/kg MCFA	0.73 ± 0.16	2.80 ± 0.40	2.64 ± 0.22 *	0.38 ± 0.10
	4mg/kg LCFA	0.79 ± 0.17	3.03 ± 0.36	2.28 ± 0.42	0.44 ± 0.15

*: P < 0.05 compared to 4%LCFA, #: P < 0.05 compared to 4%MCFA

2.3 肝脏脂蛋白指标变化

长期研究结束时, 4% MCFA 组小鼠肝脏匀浆中 ApoA1 水平显著高于 LCFA 组, 而在短期研究结束时, 2% MCFA 组小鼠肝脏匀浆中 ApoB 水平显著低

于 LCFA 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。无论长期还是短期实验, 2% 和 4% MCFA 两组小鼠肝脏匀浆的 ApoA1/ApoB 比值均显著高于 LCFA 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (见表 5)。

表 5 MCFA 对 C57BL/6J 小鼠肝脏中脂蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

	Group	Protein (mg/ml)	ApoA1 (ng/mg protein)	ApoB (ng/mg protein)	ApoA1/ApoB
Long term	2% MCFA	121.88 ± 38.01	18.72 ± 4.26	29.50 ± 7.41 [#]	0.67 ± 0.21 [*]
	4% MCFA	105.75 ± 24.01	28.36 ± 12.90 [*]	38.62 ± 5.78	0.72 ± 0.29 [*]
	4% LCFA	118.33 ± 39.74	13.13 ± 6.35	36.18 ± 9.07	0.36 ± 0.15
Short term	2mg/kg MCFA	105.70 ± 17.45	29.53 ± 6.30	56.54 ± 22.07 [*]	0.56 ± 0.15 [*]
	4mg/kg MCFA	103.37 ± 13.88	29.39 ± 4.95	60.51 ± 18.61	0.54 ± 0.20 [*]
	4mg/kg LCFA	104.21 ± 10.60	25.53 ± 7.81	75.13 ± 17.42	0.36 ± 0.15

*: $P < 0.05$ compared to 4% LCFA, #: $P < 0.05$ compared to 4% MCFA

3 讨论

MCFA 在体内与长链脂肪酸 (LCFA, 含 12 个以上碳原子) 代谢途径和机制不同, 进入机体后迅速进入肝细胞快速氧化提供能量, 不易在器官和肝脏储存, 不增加肝脏负担。因此, 自 20 世纪 50 年代起, 临床上便开始使用含有 MCFA 的中链甘油三酯 (MCT) 治疗吸收不良综合征。目前, MCT 脂肪乳已成为临床营养上对于乳糜泄、脂肪肝、慢性胰腺腺功能不全、胆管阻塞和其他相关病症患者的有效的营养辅助剂。近年来 MCFA 被认为是控制肥胖症的有效脂质, 且可以降低血清甘油三酯^[4-5], 但是有关 MCFA 调节脂蛋白代谢的报道很少。本课题组的临床研究结果显示 MCT 能减轻高甘油三酯血症患者的体重、体脂肪量, 还能降低血甘油三酯、LDL-C、ApoB、ApoC2、ApoC3 水平, 同时也观察到了 MCT 组的男性和超重合并高甘油三酯血症的患者 HDL-C 升高、LDL-C 降低, HDL-C/LDL-C 和 ApoA1/apoB 比值升高^[2,3,6]。为了进一步证实中链脂肪酸改善脂蛋白水平的作用, 本研究以 C57BL/6J 小鼠为研究对象, 从慢性高脂饲料喂养的长期实验和脂肪酸灌胃的短期实验两方面观察 MCFA 的效应。另外, 由于 MCT 分子量小, 烟点低, 烹调时易发泡, 因此本课题组的临床研究使用的是 MCT 与 LCT 经酯交换作用形成的中长链脂肪酸混合油脂与 LCT 油脂进行的比较, 为了观察 MCFA 的独立效应, 本基础研究中设计了低剂量 (MCFA 与 LCFA 混合) 和高剂量的 MCFA 组。

大量流行病学调查表明, HDL-C 的浓度和动脉粥样硬化发生的危险性呈负相关, LDL-C 呈正相

关^[7]。ApoA 是高密度脂蛋白主要的载脂蛋白, ApoB 是低密度脂蛋白主要的载脂蛋白, ApoA 水平下降和 ApoB 水平升高是冠心病的危险因素^[8]。且因为载脂蛋白是血浆脂蛋白含有的蛋白质组分, 直接参与血浆脂质的转运、清除和代谢, 因而无论载脂蛋白缺乏或缺陷或血中载脂蛋白含量与血脂增加的比例不相适应均是引起脂代谢紊乱的重要原因^[9]。因此, 本研究不仅观察了血清中脂蛋白的水平, 对小鼠肝脏匀浆中的载脂蛋白浓度也进行了测定。

本研究结果显示, MCFA 可降低长期高脂饲料喂养的 C57BL/6J 小鼠体重、体脂肪重、肝脏重及血清 TG、TC、LDL-C 水平, 升高 HDL-C 浓度, 肝脏 ApoA1 浓度和 HDL-C/LDL-C 及 ApoA1/ApoB 比值, 而在短期实验中仅表现出小鼠肝脏重和肝脏匀浆中 ApoB 水平的下降以及血清 HDL-C/LDL-C 和肝脏 ApoA1/ApoB 比值的升高, 说明 MCFA 对小鼠长期高脂饲料诱导的慢性脂代谢紊乱的改善作用是稳定有效的, 而在短期内亦可发挥其改善脂蛋白水平的作用, 尤其对肝脏脂代谢有益, 这可能由于 MCFA 在肝脏的代谢途径不同于 LCFA 之故。

然而, 本研究结果未显示高剂量 MCFA 组的效果更佳, 各指标测定结果也未显示出低剂量 MCFA 组与高剂量 MCFA 组之间存在明显的效应关系, 因此从实用性的角度分析, 初步认为 MCFA 与 LCFA 的有机结合可能对脂代谢紊乱的调节作用更适宜。

因此, 本课题组的临床和基础研究结果均显示出 MCFA 在降低体重, 血清甘油三酯浓度的同时具有调节脂蛋白水平的作用, 而近些年的临床研究提示, 在改善血脂的同时升高 HDL-C 水平或改善 HDL 的功能, 对预防和治疗动脉粥样硬化及心血管疾病

具有重要意义^[10]，为此，本研究为进一步研究 MC-FA 调节 HDL 的作用提供了依据和奠定了基础。

参考文献

[1] Aoyama T, Nosaka N, Kasai M. Research on the nutritional characteristics of medium-chain fatty acids [J]. *J Med Invest*, 2007, 54: 385–388.

[2] Xue CY, Liu YH, Wang J, et al. Consumption of medium- and long-chain triacylglycerols decreases body fat and blood triglyceride in Chinese hypertriglyceridemic subjects [J]. *Euro J Clin Nutr*, 2009, 6: 879–886.

[3] Liu YH, Wang J, Zhang RX, et al. A good response to oil with medium- and long-chain fatty acids in body fat and blood lipid profiles of male hypertriglyceridemic subjects [J]. *Asia Pac J Clin Nutr*, 2009, 18 (3): 351–358.

[4] Ogawa A, Nosaka N, Kasai M, et al. Dietary medium- and long-chain triacylglycerols accelerate diet-induced thermogenesis in humans [J]. *J Oleo Sci*, 2007, 56 (6): 283–287.

[5] Nagao K, Yanagita T. Medium-chain fatty

acids: functional lipids for the prevention and treatment of the metabolic syndrome [J]. *Pharmacol Res*, 2010, 61 (3): 208–212.

[6] Xue CY, Liu YH, Wang J, et al. Chinese hypertriglyceridemic subjects of different ages responded differently to consuming oil with medium- and long-chain fatty acids [J]. *Biosci Biotech Bioch*, 2009, 73 (8): 1711–1717.

[7] Toth PP. High-density lipoprotein as a therapeutic target: clinical evidence and treatment strategies [J]. *Am J Cardiol*, 2005, 96 (9A): 50K–58K.

[8] Tardif JC, Grégoire J, L'Allier PL, et al. Effects of reconstituted high-density lipoprotein infusions on coronary atherosclerosis: a randomized controlled trial [J]. *JAMA*, 2007, 297 (15): 1675–1682.

[9] Shi W, Wang X, Wong J, et al. Effect of macrophage-derived apolipoprotein E on hyperlipidemia and atherosclerosis of LDLR-deficient mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 317 (1): 223–229.

[10] Toth PP. The “Good Cholesterol” High-Density Lipoprotein [J]. *Circulation*, 2005, 111: e89–e91.

17 种常见蔬菜不同部位抗氧化活性的比较研究

吉琳琳 吴健全 高蔚娜 韦京豫 杨继军 郭长江

(卫生学环境医学研究所, 天津 300050)

摘要: 目的 比较蔬菜不同部位的抗氧化活性。方法 采用 FRAP 法、2, 4-二硝基苯肼法、Folin-Ciocalteu 法、铝离子显色法分别测定 17 种常见蔬菜不同部位的 FRAP 值及 VC、总多酚、总黄酮的含量, 并分析了总抗氧化活力与抗氧化物质含量之间的相关性。结果 蔬菜叶子、皮的抗氧化活性高于其对应的茎和肉质部分; 藕皮的总抗氧化活性最高, 其次为藕肉、茴香叶、香菜叶、姜肉等, 黄瓜肉的总抗氧化活性最弱; 所有水提取物的总抗氧化活力均高于丙酮提取物; 水提取物中, 蔬菜抗氧化活性与 VC、多酚、黄酮含量的相关性具有统计学意义, 多元回归分析结果显示多酚对蔬菜总抗氧化活力的贡献最大。结论 蔬菜不同部位的抗氧化活性差异较大, 多酚类物质在蔬菜体外抗氧化活性方面可能起主要作用。

关键词: 蔬菜; 抗氧化活性; FRAP 值; VC; 总多酚; 总黄酮