

生物工程

中长链脂肪酸对 3T3 - L1 脂肪细胞凋亡和脂肪生成的作用

张园, 吴逸宽, 郭洋, 何钊

(江南大学食品学院, 食品科学与技术国家重点实验室, 江苏无锡 214122)

摘要:为了探究不同种类、不同浓度脂肪酸对 3T3 - L1 脂肪细胞凋亡和脂肪生成的影响,以 3T3 - L1 脂肪细胞为研究对象,用不同种类、不同浓度的中长链脂肪酸处理细胞,观察细胞凋亡和脂肪生成情况。结果发现:中长链脂肪酸可以抑制 3T3 - L1 脂肪细胞增殖,并且存在剂量依赖性,C16:0、C18:0、C18:3c6,9,12、EPA 处理组与对照组相比,具有显著性差异,而 DHA 处理组与对照组相比具有极显著性差异;C18:3c6,9,12 和 EPA 处理后,剪切形式 PARP 增加,说明 C18:3c6,9,12 和 EPA 能诱导细胞凋亡;油红 O 染色结果表明两种浓度(150 $\mu\text{mol/L}$ 和 180 $\mu\text{mol/L}$)的 EPA 和 DHA 均能显著促进脂肪细胞的脂肪生成。综上可知,不同脂肪酸对细胞生长、增殖和凋亡有不同作用,特别是 EPA 能诱导细胞凋亡,EPA 和 DHA 可显著促进细胞的脂肪生成。

关键词: 中长链脂肪酸;前脂肪细胞;细胞凋亡;脂肪生成

中图分类号:TS225.6;R285.5 文献标识码:A 文章编号:1003 - 7969(2018)09 - 0093 - 08

Effects of medium - and long - chain fatty acids on apoptosis and lipogenesis of 3T3 - L1 adipocyte

ZHANG Yuan, WU Yikuan, GUO Yang, HE Zhao

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

Abstract: To investigate the effects of different types and concentrations of free fatty acids on apoptosis and lipogenesis of 3T3 - L1 adipocyte, 3T3 - L1 adipocyte was treated by different types and concentrations of medium - and long - chain fatty acids to observe the apoptosis and lipogenesis of the cell. The results indicated that medium - and long - chain fatty acids inhibited the proliferation of 3T3 - L1 cells in a dose - dependent manner. C16:0, C18:0, C18:3c6,9,12 and EPA showed significantly different inhibitory effect on cell proliferation compared with the control group, particularly DHA showed dramatical roles on inhibition of cell proliferation. Moreover, C18:3c6,9,12 and EPA significantly increased the production of cleaved PARP protein, indicating that C18:3c6,9,12 and EPA could induce cell apoptosis. Oil red staining results showed that the EPA and DHA at the concentrations of 150 $\mu\text{mol/L}$ and 180 $\mu\text{mol/L}$ significantly enhanced lipogenesis of adipocyte. In conclusion, different fatty acids had different effects on cell growth, proliferation and apoptosis, in particular, EPA could significantly induce apoptosis and EPA and DHA could promote lipogenesis of 3T3 - L1 adipocyte.

Key words: medium - and long - chain fatty acid; pre - adipocyte; apoptosis; lipogenesis

收稿日期:2017 - 12 - 25;修回日期:2018 - 06 - 07

基金项目:国家自然科学基金项目(31471321)

作者简介:张园(1991),女,硕士研究生,主要从事肥胖及相关代谢疾病研究及特殊医学用途食品的开发工作(E-mail) lanyuyuan@163.com。

通信作者:何钊,教授,博士生导师,博士(E-mail) 87425764@qq.com。

随着经济的发展和水平的提高,肥胖的患病率急剧上升,由肥胖导致的代谢紊乱疾病(如 2 型糖尿病、心血管疾病、高血压、高血脂等)也日益增多。脂肪组织不仅是主要能量储存器官,更是机

体重要的内分泌器官,脂肪过多积累,导致大量脂肪酸溢出,并异位沉积,继而引起脂质代谢紊乱和相关代谢疾病的发生^[1]。脂肪过度沉积是肥胖病理生理过程的核心^[2],因此理解脂肪酸在脂肪细胞中沉积过程显得尤为重要。3T3-L1 脂肪细胞是目前研究脂肪细胞增殖、分化应用最广泛的细胞系之一,也被用于化合物调节脂肪生成的多项研究^[3-4]。

脂肪酸具有多种重要的生理活性,根据碳原子数目的不同,通常被分为短链脂肪酸(碳原子数少于6个)、中链脂肪酸(碳原子数6~12个)和长链脂肪酸(碳原子数多于12个)。有研究表明,辛酸酯和癸酸盐会减少诱导分化的3T3-L1脂肪细胞的脂肪生成,但是会增加基础培养基培养的3T3-L1脂肪细胞的脂肪生成^[5]。并且辛酸与地塞米松共同作用会诱导3T3-L1脂肪细胞脂质积累^[6]。然而,也有研究证明辛酸会减弱3T3-L1脂肪细胞的脂肪积累^[7]。有研究报道长链脂肪酸通过Elovl3和PPAR γ 增加脂肪生成^[8],增加长链脂肪酸的摄入会增加胰岛素抵抗的3T3-L1脂肪细胞脂肪过度积累^[9]。已有研究表明增加n-3多不饱和脂肪酸的摄入量,尤其是ALA、EPA、DHA,能够显著降低心血管疾病的风险,改善代谢综合征,并有潜在的抗肥胖作用^[10]。不同脂肪酸对3T3-L1脂肪细胞的调

亡和脂肪生成影响不同,但是到目前为止,未有对各种脂肪酸对3T3-L1脂肪细胞作用的系统研究。本文选用19种中长链脂肪酸分别处理3T3-L1脂肪细胞,在低(100 $\mu\text{mol/L}$)、高(180 $\mu\text{mol/L}$)两个浓度梯度,12、24 h两个时间梯度条件下,探究不同脂肪酸对3T3-L1脂肪细胞增殖和凋亡的影响,并在150 $\mu\text{mol/L}$ 和180 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下探究不同脂肪酸对细胞脂肪生成的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

3T3-L1脂肪细胞,美国菌种保藏中心(ATCC);小牛血清(CS)、胎牛血清(FBS)、DMEM基础培养基,美国Gibco公司;油红O粉末,美国Sigma公司;蛋白酶和磷酸酶抑制剂、40%丙烯酰胺、TEMED,上海生工生物工程有限公司;PMSF和BCA蛋白浓度测定试剂盒,上海碧云天生物技术有限公司;蛋白质Maker,美国Thermo Fisher Scientific公司;脱脂乳粉,瑞士雀巢公司;GAPDH抗体,Santa Cruz Biotechnology公司;PARP抗体,Cell Signaling Technology公司;二抗,南京金斯瑞生物科技有限公司;ECL化学发光液,PerkinElmer公司;19种中长链脂肪酸,NU-CHEK-PREP公司,脂肪酸信息见表1。

表1 中长链脂肪酸基本信息

序号	脂肪酸	纯度	序号	脂肪酸	纯度
1	辛酸(C8:0)	99%+	11	反11十八碳烯酸(C18:1t11)	99%+
2	癸酸(C10:0)	99%+	12	亚油酸(C18:2c9,12)	99%+
3	月桂酸(C12:0)	99%+	13	反式亚油酸(C18:2t9,12)	99%
4	肉豆蔻酸(C14:0)	99%+	14	顺9反11共轭亚油酸(C18:2c9t11)	99%
5	棕榈酸(C16:0)	99%+	15	反10顺12共轭亚油酸(C18:2t10c12)	99%
6	棕榈油酸(C16:1c9)	99%+	16	γ -亚麻酸(C18:3c6,9,12)	99%+
7	反式棕榈油酸(C16:1t9)	99%+	17	α -亚麻酸(C18:3c9,12,15)	99%+
8	硬脂酸(C18:0)	99%+	18	二十碳五烯酸(C20:5)	99%+
9	油酸(C18:1c9)	99%+	19	二十二碳六烯酸(C22:6)	99%+
10	反油酸(C18:1t9)	99%+			

注:所有的脂肪酸均为色谱级。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养

将3T3-L1脂肪细胞置于含10%小牛血清的DMEM高糖培养基中,在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂的条件下培养,细胞融合到90%时,用0.25%胰蛋白酶消化,10%胎牛血清传代至6孔板。

1.2.2 分组及处理

将脂肪酸溶于无水乙醇中,配成终浓度为100 mmol/L的溶液。

细胞凋亡实验分组:0(对照组),100、180 $\mu\text{mol/L}$

的各种脂肪酸分别处理3T3-L1脂肪细胞12 h和24 h后,显微镜拍照,RIPA细胞裂解液收集细胞备用。

脂肪生成实验分组:0(对照组),150、180 $\mu\text{mol/L}$ 的各种脂肪酸分别处理3T3-L1脂肪细胞72 h后,进行油红O染色。

1.2.3 细胞计数

脂肪酸处理后,观察细胞形态,洗掉旧培养基,PBS洗涤细胞2次,然后每孔用200 μL 胰酶进行消化,待细胞形态变圆,每孔立即加入1 mL培养基终

止消化,将细胞吹散至单个细胞后将细胞悬液吸入1.5 mL EP管中,混合均匀吸取少量细胞悬液用血球计数器于显微镜下观察计数。每组实验重复3次。

1.2.4 油红O染色

PBS冲洗细胞3次,4%多聚甲醛固定30 min, PBS冲洗细胞3次,0.5%油红O-去离子水(3:2)稀释液50℃水浴45 min, PBS冲洗细胞3次,每孔加1 mL的PBS,显微镜下观察拍照,并用Image Pro-plus软件分析细胞中脂滴含量。

1.2.5 蛋白质提取和测定

6孔板里细胞用PBS洗3遍,加入RIPA裂解液裂解15 min,超声至澄清,BCA试剂盒测定蛋白质浓度,37℃孵育30 min;测定波长562 nm吸光度,通过标准曲线和样品体积计算蛋白质的浓度。蛋白样品与5×loading buffer(体积比4:1)均匀混合,95℃金属浴15 min,于-80℃保存待用。

1.2.6 蛋白质免疫印迹

取30 μg蛋白质样品(根据蛋白质浓度计算上样体积)加入到10%分离胶(5%浓缩胶)80 V恒压跑胶,待样品跑至浓缩胶与分离胶分界线时,电压调至120 V,直至样品跑至分离胶底部;将分离胶转至PVDF膜,放置转膜槽中,加入含20%甲醇的1×转膜液,4℃(加冰)湿转法恒流200 mA,2 h;5%脱脂乳室温下孵育1 h;用TBST洗膜,5 min/次,重复3次,加入目标一抗(1:1 000),4℃孵育过夜;一抗孵育后用TBST洗膜,5 min/次,重复3次,选择一抗来源的二抗(1:5 000)室温孵育2 h;二抗孵育后同样用TBST洗膜,5 min/次,重复3次,滴加显影液暗室1 min,用化学发光成像仪显色拍照。

1.2.7 数据统计学分析

所有实验均重复3次,数据采用Prism 5(Graph Pad, San Diego, CA)统计学软件处理,两组数据采用*t*检验,多组数据间比较采用单因素方差分析(One Way ANOVA)。 $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 不同中长链脂肪酸对3T3-L1脂肪细胞增殖的影响

有研究表明,脂肪酸能有效抑制前脂肪细胞的增殖和分化。为了确定不同脂肪酸对3T3-L1脂肪细胞增殖作用的有效浓度,本文使用不同浓度梯度脂肪酸分别处理细胞12、24 h,运用倒置显微镜观察细胞形态,通过细胞计数实验分析脂肪酸对细胞增殖的影响。结果如图1、图2所示。由图1、图2可知,正常的脂肪细胞是紧贴细胞培养皿的梭状细胞,经100 μmol/L的脂肪酸处理后,脂肪细胞开始

皱缩,细胞数目减少,当脂肪酸EPA、DHA浓度达到180 μmol/L,细胞变圆,出现死亡已经不再贴壁。

细胞计数是检测活细胞数目的一种手段,直接反映药物处理后细胞的存活情况,因此本实验对脂肪酸处理后的细胞进行计数。图3为180 μmol/L的不同脂肪酸处理12 h对活细胞数目的影响。

由图3可知,不同的脂肪酸对活细胞数目的影响不同,其中C16:0、C18:0、C18:3c6,9,12、EPA处理组与对照组相比,活细胞数目显著减少。DHA处理组与对照组相比,活细胞数目极显著减少。以上实验结果与细胞形态图结果基本一致,证明不同中长链脂肪酸可不同程度地抑制细胞增殖并诱导细胞死亡。

2.2 不同中长链脂肪酸对3T3-L1脂肪细胞凋亡的影响

凋亡,一般是指细胞在外界因素影响下,通过基因及其产物的调控而发生的一种主动破坏自身细胞的现象^[11-12]。PARP蛋白是一种DNA修复酶,通过识别结构损伤的DNA片段而被激活,被认为是DNA损伤的感受器。另外PARP也是半胱天冬酶(Caspase)的切割底物,在体外可以被多种Caspase剪切,其剪切形式被认为是细胞凋亡的一个重要指标。本实验通过蛋白质印迹方法检测3T3-L1脂肪细胞中PARP蛋白在不同脂肪酸处理不同时间(12、24 h)下的表达水平。结果如图4所示。

由图4可知,当脂肪酸处理细胞12 h时,PARP基本没有变化,当100 μmol/L脂肪酸处理24 h时,PARP出现剪切形式,其中C18:3c6,9,12和EPA处理后PARP剪切形式条带较为明显,表明C18:3c6,9,12和EPA可显著促进细胞凋亡。而DHA处理组PARP剪切形式并不明显,与显微镜下观察到的现象不一致,还需要进一步探究。当180 μmol/L脂肪酸处理细胞24 h时,C18:3c6,9,12和DHA处理组因浓度过高导致细胞全部死亡,其他处理组PARP剪切形式不明显,还需进一步探究。

2.3 不同中长链脂肪酸对3T3-L1脂肪细胞脂肪生成的影响

脂肪生成是导致肥胖的主要原因之一,是游离脂肪酸和甘油缩合成甘油三酯的过程。油红O是一种很强的脂溶剂和染脂剂,与甘油三酯结合呈红色小脂滴状^[13],可用于观察细胞内甘油三酯的含量。本实验采用150 μmol/L和180 μmol/L的多种不同中长链脂肪酸处理3T3-L1脂肪细胞,72 h后利用油红O染色观察脂滴积累情况,并用Image Pro-Plus软件分析细胞中脂滴含量。结果如图5

所示。由图 5 可知,两种处理浓度下 EPA 和 DHA 可明显增加 3T3-L1 脂肪细胞的脂肪生成。

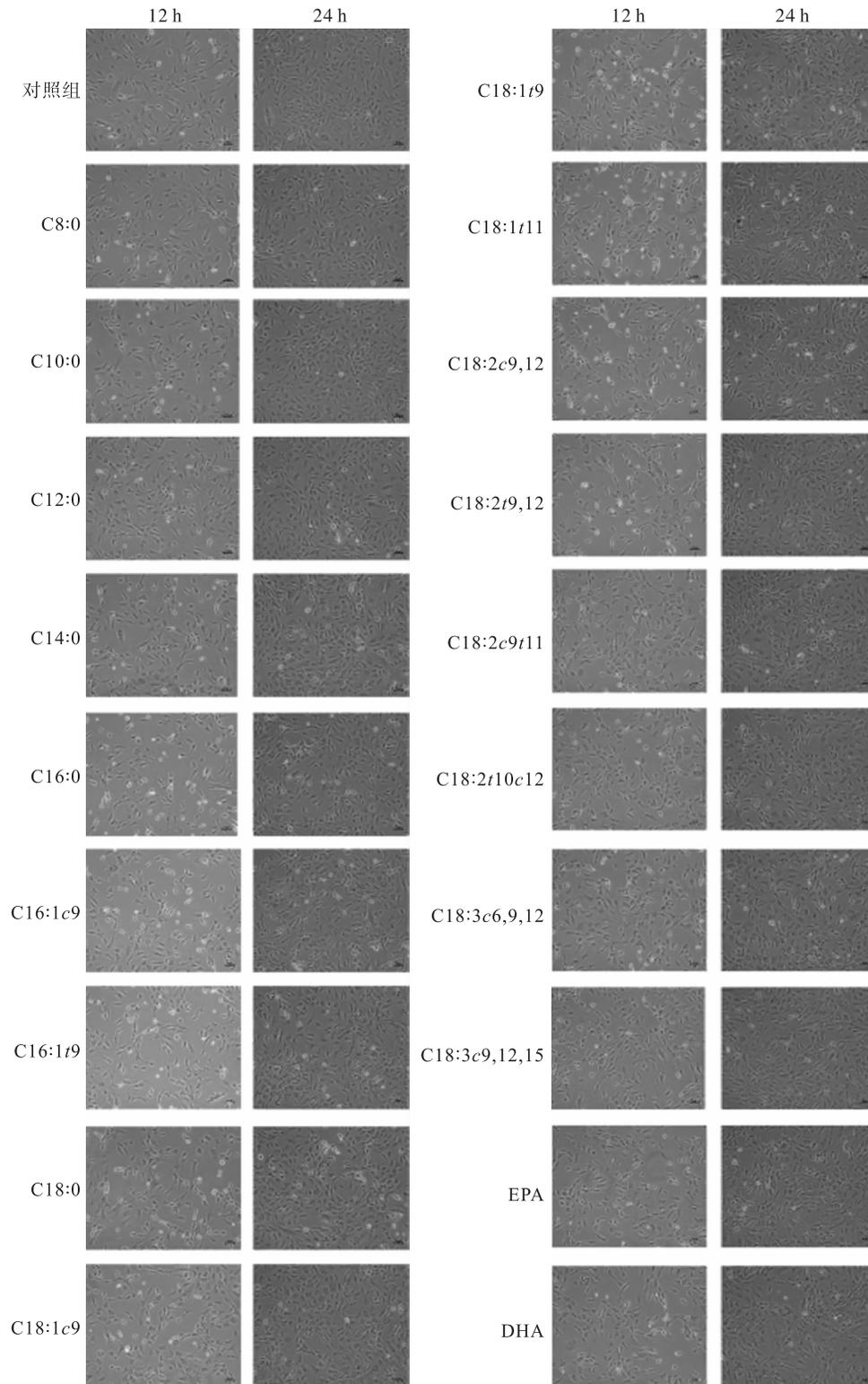


图 1 不同中长链脂肪酸对 3T3-L1 脂肪细胞形态的影响(100 $\mu\text{mol/L}$)

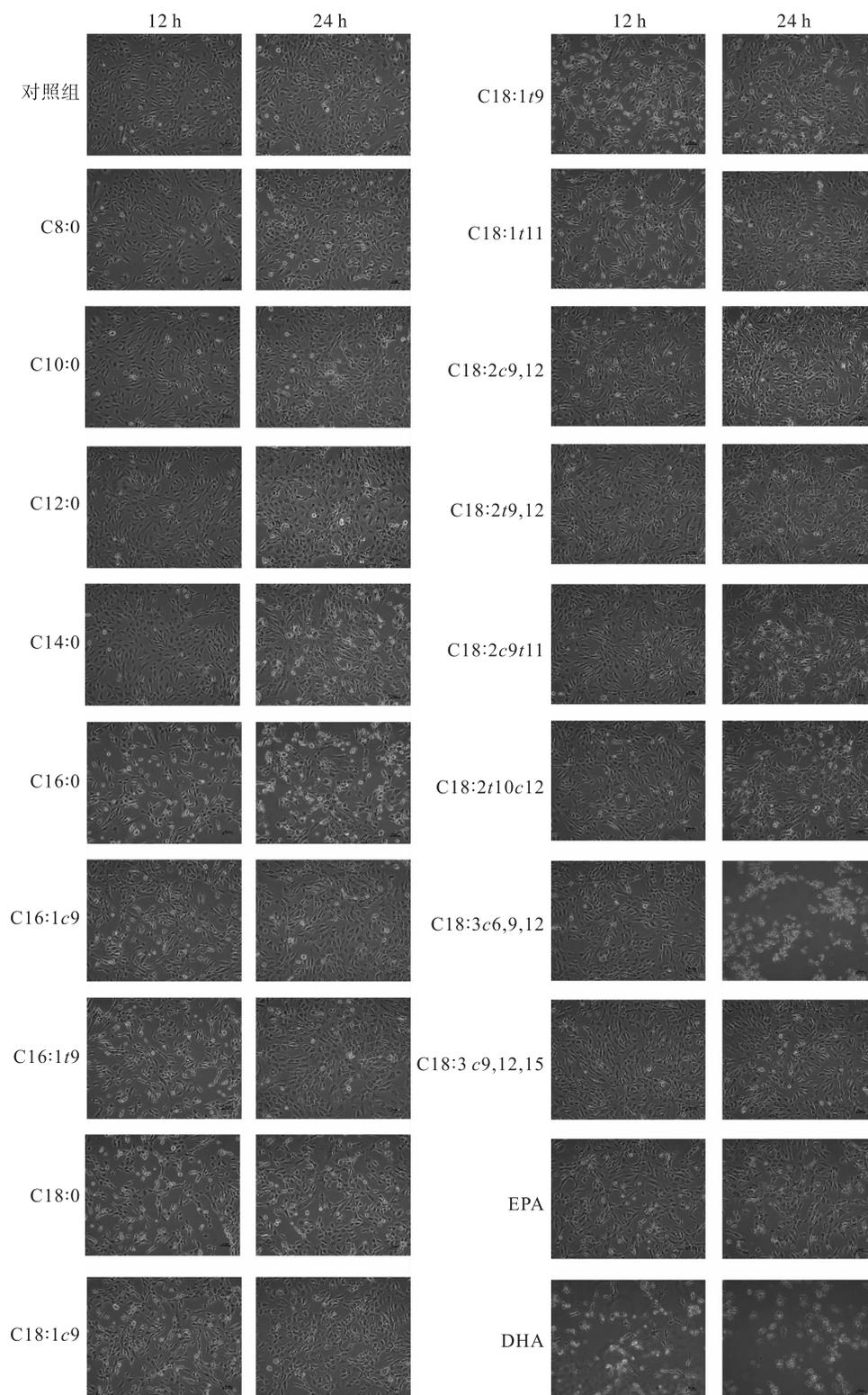
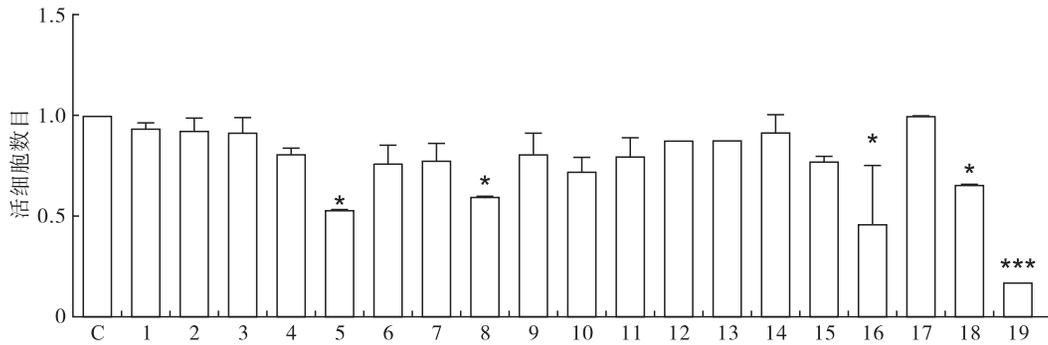


图2 不同中长链脂肪酸对3T3-L1脂肪细胞形态的影响(180 μmol/L)



注:C. 对照组;1. C8:0 组;2. C10:0 组;3. C12:0 组;4. C14:0 组;5. C16:0 组;6. C16:1 ω 9 组;7. C16:1 ω 7 组;8. C18:0 组;9. C18:1 ω 9 组;10. C18:1 ω 7 组;11. C18:1 ω 11 组;12. C18:2 ω 9,12 组;13. C18:2 ω 7,12 组;14. C18:2 ω 11 组;15. C18:2 ω 10,12 组;16. C18:3 ω 6,9,12 组;17. C18:3 ω 9,12,15 组;18. EPA 组;19. DHA 组。数据用“均值 \pm SEM”表示,以相对对照组的相对值计;各组与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ 。下同。

图3 不同中长链脂肪酸对活细胞数目的影响

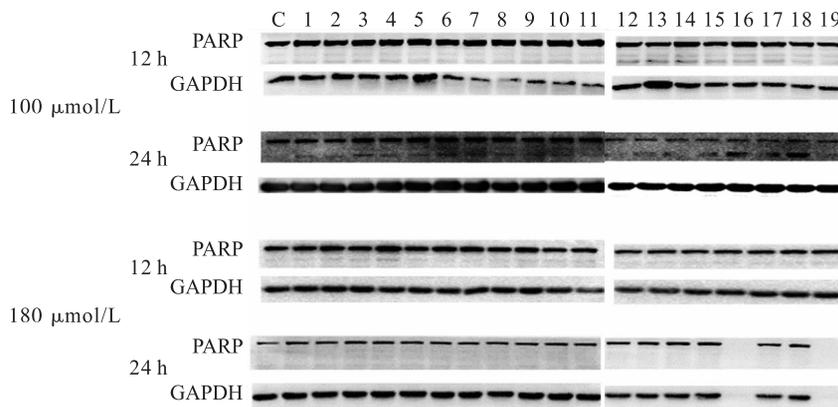


图4 不同浓度中长链脂肪酸对脂肪细胞凋亡相关蛋白的影响

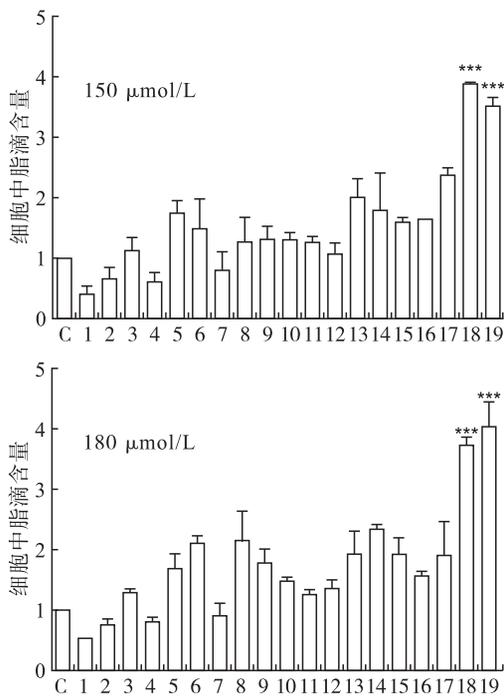


图5 不同浓度中长链脂肪酸对脂肪细胞脂肪生成的影响

3 讨论

在本研究中,比较了多种不同中长链脂肪酸对 3T3-L1 脂肪细胞的形态、凋亡及脂肪生成的影响,

这在以往的研究中未曾全面分析过。研究发现不同的中长链脂肪酸对 3T3-L1 脂肪细胞的影响是不同的,不仅饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸的效果存在差异,而且饱和脂肪酸之间也存在很大差别。结果显示,C8:0、C10:0、C12:0、C14:0 处理组与对照组相比活细胞数目无明显变化,而 C16:0 和 C18:0 处理组活细胞数明显减少,发生死亡,这可能是由于碳原子数目的不同导致的,C16:0 和 C18:0 拥有更多的碳原子和亚甲基,因此极性更小从而与细胞更好地反应。有研究显示,棕榈酸(C16:0)可以加速视网膜神经节细胞的凋亡^[14],同时还可以诱导足细胞凋亡^[15]。也有研究表明,硬脂酸(C18:0)可以诱导人胰腺 β 细胞 NES2Y 凋亡^[16]。不饱和脂肪酸分为单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸,双键的数目会影响脂肪酸的功能。普通膳食中的不饱和脂肪酸一般有两种构型,分别是顺式脂肪酸和反式脂肪酸(TFA)^[17]。反式脂肪酸可以通过激活凋亡信号调节激酶 1(ASK1)-p38 通路促进促炎信号和细胞死亡^[18]。研究发现 C18:3 ω 9t11 可诱导 3T3-L1 脂肪细胞凋亡并激活 ERK 磷酸化^[19]。迄今为止,有大

量关于多不饱和脂肪酸的报道,主要涉及 $n-3$ 长链多不饱和脂肪酸对肥胖、代谢以及心血管疾病的影响。大量研究表明, $n-3$ 长链多不饱和脂肪酸,尤其是 EPA 和 DHA 能有效抑制脂滴生成^[20]。此外,研究也发现在男性患者中,服用鱼油的患者体重降低更多,腰围更小^[21]。还有研究显示 ALA 可以提高分化过程中的棕色脂肪细胞 DHA 的聚积,DPA 可以提高棕色脂肪细胞逆向聚积 EPA 的能力,降低白色脂肪细胞中 EPA 含量^[22]。尽管有大量的研究表明 $n-3$ 多不饱和脂肪酸对健康有益,但仍存在一些争议,认为 $n-3$ 多不饱和脂肪酸膳食补充剂存在一定的风险。还有一些研究表明鱼类摄入的有益作用可能是通过鱼类丰富的营养物质相互作用来调节的^[23-27]。而本文的研究结果表明 EPA 和 DHA 能够促进 3T3-L1 脂肪细胞的脂肪生成,这与以往的研究结果不符。这可能是因为实验方法的不同,在本实验中,采用脂肪酸直接处理 3T3-L1 脂肪细胞,而没有将其诱导分化成成熟脂肪细胞,从而排除了诱导剂对细胞脂肪生成的影响。本文研究结果显示 EPA 和 DHA 可以促进 3T3-L1 脂肪细胞的脂肪生成,从而减少游离脂肪酸的含量,进而降低其引起的慢性炎症的发生及脂肪异位沉积。但是不同脂肪酸对脂肪生成的体内作用及作用机制还需要进一步研究。

4 结论

研究表明不同的中长链脂肪酸对 3T3-L1 脂肪细胞的增殖、凋亡和脂肪生成的影响不同,饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸之间存在很大的差异。结果显示,中长链脂肪酸可以抑制 3T3-L1 脂肪细胞增殖,并且存在剂量依赖性,C8:0、C10:0、C12:0、C14:0 对活细胞数目无明显影响,而 C16:0、C18:0、C18:3c6,9,12、EPA、DHA 处理组与对照组相比可显著或极显著降低活细胞数目;C18:3c6,9,12、EPA 处理后,剪切形式 PARP 增加,诱导细胞凋亡;油红 O 染色结果表明 150 $\mu\text{mol/L}$ 和 180 $\mu\text{mol/L}$ 的 EPA 和 DHA 均能显著促进脂肪细胞的脂肪生成。

参考文献:

[1] FARA J M, LU H L, CIANFLONE K. Diabetes, lipids, and adipocyte secretagogues[J]. *Biochem Cell B*, 2004,82(1):170.
 [2] LEFTEROVA M I, LAZAR M A. New developments in adipogenesis[J]. *Trends Endocrin Met*,2009,20(3):107-114.
 [3] ROSEN E D, WALKEY C P, SPIEGELMAN B. Transcriptional regulation of adipogenesis[J]. *Gene Dev*,2000, 14

(11):1293.

- [4] 杨昕,杨继红. 3T3-L1 前脂肪细胞与肥胖的相关性研究进展[J]. *中国民族民间医药*, 2011, 20(22):19-20.
 [5] YANG J Y, DELLA-FERA M A, RAYALAM S, et al. Regulation of adipogenesis by medium-chain fatty acids in the absence of hormonal cocktail[J]. *J Nutr Biochem*, 2009,20(7):537-543.
 [6] TAKENOUCHI T, TAKAYAMA Y, TAKEZAWA T. Co-treatment with dexamethasone and octanoate induces adipogenesis in 3T3-L1 cells[J]. *Cell Biol Int*,2004,28(3):209-216.
 [7] HAN J, FARMER S R, KIRKLAND J L, et al. Octanoate attenuates adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes[J]. *J Nutr*, 2002,132(5):904-910.
 [8] KOBAYASHI T, FUJIMORI K. Very long-chain-fatty acids enhance adipogenesis through coregulation of Elov3 and PPAR γ in 3T3-L1 cells[J]. *Am J Physiol-Endocrinol Metabol*,2012,302(12):E1461-E1471.
 [9] LAI Y H, CHIEN Y, KWOK C F, et al. Enhanced long-chain fatty acid uptake contributes to overaccumulation of triglyceride in hyperinsulinemic insulin-resistant 3T3-L1 adipocytes[J]. *Metabolism*,2010,59(12):1784-1793.
 [10] ABETE I, GOYENECHEA E, ZULET M, et al. Obesity and metabolic syndrome: potential benefit from specific nutritional components[J]. *Nutr Metab Cardiovas*, 2011, 21:B1-B15.
 [11] GREEN D R, REED J C. Mitochondria and apoptosis[J]. *Science*, 1998,281(5381):1309-1312.
 [12] HENGARTNER M O. The biochemistry of apoptosis[J]. *Nature*, 2000,407(6805):770-776.
 [13] 屈长青,李东伟,朱茂英. 一种改进的培养脂肪细胞染色法[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*,2008,17(3):329-330.
 [14] YAN P S, TANG S, ZHANG H F, et al. Palmitic acid triggers cell apoptosis in RGC-5 retinal ganglion cells through the Akt/FoxO1 signaling pathway[J]. *Metab Brain Dis*, 2017,32(2):453-460.
 [15] JIANG X S, CHEN X M, WAN J M, et al. Autophagy protects against palmitic acid-induced apoptosis in podocytes in vitro[J]. *Sci Rep-UK*,2017,7:42764.
 [16] ŠRMEK J, NĚMCOV-FRSTOV V, BALUŠ KOV K, et al. p38 MAPK is activated but does not play a key role during apoptosis induction by saturated fatty acid in human pancreatic β -cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2016,17(2):159.
 [17] ARANCETA J, P REZ-RODRIGO C. Recommended dietary reference intakes, nutritional goals and dietary guidelines for fat and fatty acids: a systematic review[J]. *Brit J Nutr*, 2012,107(Suppl 2):S2-S8.

(下转第 120 页)

(980.82 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 贵州核桃油中维生素 E 总量为 662.24 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 居 8 种核桃的第 3 位。

通过比较, 贵州核桃不仅可以制得营养价值高、氧化稳定性好的核桃油, 其饼粕蛋白质含量高, 是优质蛋白质的良好来源。贵州核桃油中金属元素含量和维生素 E 含量较高, 是补充金属元素和维生素 E 的健康食源。总之, 贵州核桃不论作为坚果, 还是制取油脂、加工蛋白产品均是良好的原料。

参考文献:

- [1] OFFIA - OLUA B I. Chemical, functional and pasting properties of wheat (*Triticum* spp.) - walnut (*Juglans regia*) flour[J]. *Food Nutr Sci*, 2014, 16(5):1591 - 1604.
- [2] 朱振宝, 刘梦颖, 易建华, 等. 不同产地核桃油理化性质、脂肪酸组成及氧化稳定性比较研究[J]. *中国油脂*, 2015, 40(3):87 - 90.
- [3] 万本屹, 董海洲, 李宏, 等. 核桃油的特性及营养价值的研究[J]. *西部粮油科技*, 2001, 26(5):18 - 20.
- [4] COSTA T. Characterization and fatty acids profile of the oils from Amazon nuts and walnuts[J]. *Nutr Food Sci*, 1971, 42(4):279 - 287.
- [5] 姜莉. 核桃渣制备核桃蛋白和多肽的研究[D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学, 2007.
- [6] GHARIBZAHEDI S M T, MOUSAVI S M, HAMED M, et al. Determination and characterization of kernel biochemical composition and functional compounds of Persian walnut oil[J]. *Food Sci Technol*, 2014, 51(1):34 - 42.
- [7] TAPIA M I, GARCIA - PARRA J, RAMIREZ R, et al. Comparative study of the nutritional and bioactive compounds content of four walnut (*Juglans regia* L.) cultivars[J]. *Food Compos Anal*, 2013, 31(2):232 - 237.
- [8] 王红梅. 核桃油、核桃乳、速溶脱脂核桃粉综合加工技术[J]. *粮食与油脂*, 2001(1):44 - 45.
- [9] LABUCKAS D, MAESTRI D, LAMARQUE A. Lipid and protein stability of partially defatted walnut flour (*Juglans regia* L.) during storage[J]. *Int J Food Sci Technol*, 2011, 46(7):1388 - 1397.
- [10] COLIN C, PATRICK H, JOHN G, et al. Study of the main constituents of some authentic hazelnut oils[J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(12):4843 - 4852.
- [11] 陈焱, 方学智, 费学谦. 油茶籽油脱臭馏出物维生素 E 的分子蒸馏工艺研究[J]. *江西农业大学学报*, 2012, 34(1):175 - 178.
- [12] VAIDYA B, EUN J B. Effect of roasting on oxidative and tocopherol stability of walnut oil during storage in the dark[J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2013, 115(3):348 - 355.
- [13] ... and meta - analysis[J]. *J Am Med Assoc*, 2012, 308(10):1024 - 1033.
- [14] ENNS J E, YEGANEH A, ZARYCHANSKI R, et al. The impact of ω -3 polyunsaturated fatty acid supplementation on the incidence of cardiovascular events and complications in peripheral arterial disease; a systematic review and meta - analysis[J]. *Bmc Cardiovas Disor*, 2014, 14(1):1 - 10.
- [15] KWAK S M, MYUNG S K, LEE Y J, et al. Efficacy of ω -3 fatty acid supplements (eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid) in the secondary prevention of cardiovascular disease; a meta - analysis of randomized, double - blind, placebo - controlled trials[J]. *Arch Intern Med*, 2012, 172(9):686 - 694.
- [16] WALZ C P, BARRY A R, KOSHMAN S L. Ω -3 polyunsaturated fatty acid supplementation in the prevention of cardiovascular disease[J]. *Can Pharm J*, 2016, 149(3):166.
- [17] CHOWDHURY R, STEVENS S, GORMAN D, et al. Association between fish consumption, long chain ω 3 fatty acids, and risk of cerebrovascular disease; systematic review and meta - analysis[J]. *BMJ*, 2012, 345:e6698 - e6707.
- [18] HIRATA Y, TAKAHASHI M, KUDOH Y, et al. *Trans* - fatty acids promote proinflammatory signaling and cell death by stimulating the apoptosis signal - regulating kinase 1 (ASK1) - p38 pathway[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(20):8174 - 8185.
- [19] CHOU Y C, SU H M, LAI T W, et al. *cis* - 9, *trans* - 11, *trans* - 13 - Conjugated linolenic acid induces apoptosis and sustained ERK phosphorylation in 3T3 - L1 preadipocytes[J]. *Nutrition*, 2012, 28(7/8):803 - 811.
- [20] BARBER E, SINCLAIR A J, CAMERON - SMITH D. Comparative actions of ω -3 fatty acids on in - vitro lipid droplet formation[J]. *Prostag Leukotr Essent*, 2013, 89(5):359 - 366.
- [21] THORSODOTTIR I, TOMASSON H, GUNNARSDOTTIR I, et al. Randomized trial of weight - loss - diets for young adults varying in fish and fish oil content[J]. *Int J Obesity*, 2007, 31(10):1560.
- [22] 秦霞. 18:3n-3 和 22:5n-3 对小鼠脂肪细胞中 ω -3 多不饱和脂肪酸代谢的影响[D]. 长春:吉林大学, 2015.
- [23] RIZOS E C, NTZANI E E, BIKA E, et al. Association between ω -3 fatty acid supplementation and risk of major cardiovascular disease events; a systematic review

(上接第 99 页)