

# 支链、奇数链脂肪酸与肠道健康的关联性研究

张颖, 张杏芳, 闫雨蒙, 张颖, 沈漪凝, 闫媛媛, 李晓光

(上海交通大学医学院 公共卫生学院, 上海 200025)

**摘要:**为明确支链脂肪酸(BCFA)与奇数链脂肪酸(OCFA)对肠道健康的影响,利用气相色谱-质谱联用分析健康人群与肠道疾病患者血液中脂肪酸含量的差异,并应用正交偏最小二乘-判别分析(OPLS-DA)鉴定肠道健康人群的特征脂肪酸。结果表明:健康对照组、肠道息肉组、结直肠癌组3组人群中共检测出9种BCFA和4种OCFA;BCFA、OCFA含量在健康人群中显著偏高( $p < 0.05$ ),其中 $anteiso-C17:0$ 、 $C17:0$ 含量随肠道健康状态恶化呈梯度下降趋势( $p < 0.05$ );OPLS-DA共鉴定出 $anteiso-C17:0$ 、 $iso-C17:0$ 、 $C18:1$ 、 $C18:0$ 、 $C16:0$ 、 $C14:0$ 6种特征脂肪酸标志物。综上,BCFA和OCFA对肠道健康有潜在的保护作用。

**关键词:**支链脂肪酸;奇数链脂肪酸;肠道健康

中图分类号:TS201.4;TS201.2 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2024)07-0054-08

## Association between branched/odd-chain fatty acids and intestinal health

ZHANG Ying, ZHANG Xingfang, YAN Yumeng, ZHANG Ying, SHEN Yining, YAN Yuanyuan, LI Xiaoguang

(School of Public Health, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

**Abstract:** To ascertain the effects of branched-chain fatty acids (BCFA) and odd-chain fatty acids (OCFA) on intestinal health, serum fatty acid contents in healthy population and patients with intestinal diseases were measured by gas chromatography-mass spectrometry. Orthogonal partial least-squares discrimination analysis (OPLS-DA) was used to identify characteristic fatty acid of intestinal healthy population. The results showed that 9 kinds of BCFA and 4 kinds of OCFA were detected in the healthy control group, intestinal polyp group and colorectal cancer group. The contents of BCFA and OCFA were significantly higher in healthy population ( $p < 0.05$ ), and the contents of  $anteiso-C17:0$  and  $C17:0$  showed a gradient decreasing trend with the deterioration of intestinal health status ( $p < 0.05$ ). OPLS-DA identified six characteristic fatty acid markers of  $anteiso-C17:0$ ,  $iso-C17:0$ ,  $C18:1$ ,  $C18:0$ ,  $C16:0$  and  $C14:0$ . To sum up, BCFA and OCFA have a potential protective effect on intestinal health.

**Key words:** branched-chain fatty acids; odd-chain fatty acids; intestinal health

支链脂肪酸 (Branched-chain fatty acids, BCFA) 和奇数链脂肪酸 (Odd-chain fatty acids, OCFA) 是一类微量活性脂肪酸,可以调节生物膜脂

的流动性并增强其抗氧化能力<sup>[1]</sup>。

BCFA 是碳链上含有一个或多个支链 (以甲基支链为主) 的脂肪酸,通常为饱和脂肪酸 (SFA),单支链为其主要构型,甲基支链位于碳链骨架倒数第二位碳原子上称为异构型 BCFA ( $iso-BCFA$ ),若位于碳链骨架倒数第三位碳原子上则称为反异构型 BCFA ( $anteiso-BCFA$ )。BCFA 一直被认为是初乳和母乳中的天然生物活性成分<sup>[2]</sup>,人乳脂中的 BCFA 含量可达到 1.5%<sup>[3]</sup>。BCFA 对婴儿健康尤

收稿日期:2023-04-03;修回日期:2024-03-28

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81972820)

作者简介:张颖(1996),女,硕士研究生,研究方向为营养与食品卫生(E-mail) zysuda139@163.com。

通信作者:闫媛媛,讲师(E-mail) yanyuanyuan0801@outlook.com;李晓光,研究员(E-mail) lixg@shsmu.edu.cn。

其是早产儿的肠道健康有着重要意义,在人类胎儿皮脂中 BCFA 含量可达25%~30%<sup>[4]</sup>,胎儿通过吞食羊水来摄入 BCFA,推测 BCFA 在胎儿发育后期起到保护肠道的重要作用<sup>[2]</sup>。膳食摄入是人体中 BCFA 的主要来源<sup>[5]</sup>。作为人类食物的反刍动物的奶和肉中的 BCFA 碳链长度主要为 C14~C18<sup>[6]</sup>,奶牛和山羊乳脂中 BCFA 含量分别约为3%和2%<sup>[7]</sup>,牦牛乳脂中 BCFA 含量可达8%<sup>[8]</sup>。

OCFA 是含有奇数个碳原子的脂肪酸,其食物来源主要为乳制品、反刍动物脂肪、海鱼等<sup>[9]</sup>。牛乳脂中 OCFA 的来源主要是瘤胃细菌,这些细菌通过 $\alpha$ -氧化将偶数链脂肪酸(ECFA)合成为 OCFA,一般牛乳脂中含有0.62%~1.27%的十五烷酸(C15:0)<sup>[10-11]</sup>和0.46%~2.52%的十七烷酸(C17:0)<sup>[10,12]</sup>,而经特定微生物发酵的酸奶中C15:0含量可达17.50%<sup>[11]</sup>。摄入乳制品是人类从食物中获取 OCFA 的主要途径。OCFA 也在人的血清、肝脏、脑组织、脂肪、红细胞等部位被检测到<sup>[13-14]</sup>。因此,有研究建议将 OCFA 作为乳脂肪摄入的生物标志物<sup>[15-16]</sup>。在一项涉及14 000多人的前瞻性队列研究中发现,高水平 OCFA 摄入量与人群总死亡率降低相关<sup>[17]</sup>,提示 OCFA 对人体健康有益。

BCFA 和 OCFA 对人体健康具有潜在的保护效应,目前对于这两类微量脂肪酸的研究主要集中在各类食物如反刍动物乳脂、人乳脂以及肉制品上,很少有基于人群健康效应关联性的研究报道。因此,本研究利用气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析了健康人群与肠道疾病患者人群 BCFA、OCFA 含量的差异,并进行正交偏最小二乘-判别分析(OPLS-DA)鉴定不同人群中的特征脂肪酸标志物,分析 BCFA 和 OCFA 作为脂肪酸标志物与人体肠道健康的关联性。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

血液样本,均由上海交通大学医学院附属瑞金医院消化内科提供,均在患者接受手术、化疗或放疗等治疗前采集。取样经患者及家属同意,并遵守上海交通大学医学院附属瑞金医院的道德规范,所有与人有关的实验都经过伦理委员会审查批准,均遵守1975年《赫尔辛基宣言》中规定的伦理标准。健康人群通过血液生物标志物检测、X射线、超声、CT检查、粪便潜血、结肠镜等检查,排除了糖尿病、冠心病和肿瘤等患者。肠道疾病患者根据综合临床标准诊断,包括影像学数据、血清肿瘤标志物,并通过组

织病理学分析进一步确认。共采集血液样本106例,其中健康人群41例(38.7%)、结直肠癌患者37例(34.9%)、肠道息肉患者28例(26.4%)。3组人群的基本特征见表1。所有样本均尽快提取脂质,将提取的脂质储存在-80℃超低温冰箱内以待分析。

表1 3组人群的基本特征

项目	占比/%		
	健康对照组	肠道息肉组	结直肠癌组
年龄			
<60岁	27.4 <sup>a</sup>	16.0 <sup>a</sup>	17.0 <sup>a</sup>
≥60岁	11.3 <sup>a</sup>	10.4 <sup>a</sup>	17.9 <sup>a</sup>
性别			
男	19.8 <sup>a</sup>	19.8 <sup>a</sup>	22.6 <sup>a</sup>
女	18.9 <sup>a</sup>	6.6 <sup>a</sup>	12.3 <sup>a</sup>

注:同一行不同字母表示具有显著差异( $p < 0.05$ )。下同

甲醇、正己烷、甲苯、三氯甲烷,色谱级,上海安谱实验科技股份有限公司;2,2-二甲氧基丙烷,上海罗恩化学技术有限公司;氯化钠、三氟化硼甲醇溶液、硫酸,西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;氢氧化钠,上海麦克林生化科技股份有限公司;37种脂肪酸甲酯混标,北京索莱宝科技有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

Mettler-Toledo New Classic MF 电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;MK2000-2干式恒温器、MTV-100多管旋涡混合仪,杭州奥盛仪器有限公司;NDK200-2N氮吹仪,杭州米欧仪器有限公司;7890B气相色谱质谱联用仪(三重四极杆),美国安捷伦科技公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 总脂提取

将400 $\mu$ L样品用1.4 mL蒸馏水稀释,加入氯仿-甲醇(体积比2:1)混合溶液,振荡30 min,再加入2 mL氯仿,振荡混匀后加入2 mL饱和食盐水,充分振荡混匀,3 500 r/min离心10 min,吸取下层液体于玻璃试管内,氮吹除去溶剂至恒重,将得到的脂质储存在玻璃试管中。

#### 1.2.2 脂肪酸组成分析

参照 Bligh & Dyer 法<sup>[18]</sup>进行脂肪酸组成测定。将脂质样品溶解在0.5 mol/L氢氧化钠-甲醇溶液中,于65℃金属浴中助溶,加入1 mL 10%三氟化硼-甲醇溶液,于100℃金属浴中反应10 min,加入2 mL正己烷提取,再加入2 mL NaCl饱和溶液,充分振荡后进行离心,吸取上清液,重复提取2次,合并上清液,将上清液采用氮吹法干燥,得脂肪酸甲酯

(FAME)。用正己烷重新溶解 FAME, 过 0.22  $\mu\text{m}$  PES 膜后进行 GC-MS 分析。

GC 条件: HP-5MS 色谱柱 (30 m  $\times$  0.32 mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ ); 升温程序为初温 50  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 1 min, 以 10  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 210  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 1 min, 最后以 3  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 240  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 18 min; 传输线温度 250  $^{\circ}\text{C}$ ; 载气为高纯 He (99.999%), 流速 1.0 mL/min; 进样量 0.5  $\mu\text{L}$ 。

MS 条件: 电子电离源; 电子能量 70 eV; 离子源温度 230  $^{\circ}\text{C}$ ; 全扫描模式, 质量扫描范围 ( $m/z$ ) 50 ~ 330。

通过质谱库 NIST 2011.37 结合 37 种脂肪酸甲酯混标进行脂肪酸定性分析<sup>[19-20]</sup>, 在 SIM 模式校正后用峰面积归一化法定量<sup>[21]</sup>。

### 1.2.3 数据处理

所有统计分析均使用 IBM SPSS 22.0 进行, 脂肪酸含量结果以“平均值  $\pm$  标准差”表示。采用 Bonferroni 校正的单因素方差分析评估各组间脂肪酸水平的差异。分类变量间的比较使用卡方检验。将各脂肪酸含量等连续变量进行线性趋势性检验,  $p < 0.05$  为差异有统计学意义。采用 MetaboAnalyst 5.0 软件进行 OPLS-DA, 通过 OPLS-DA 得分图观察脂肪酸在 3 组人群中的分布, 再结合 OPLS-DA 模型中脂肪酸的 VIP 值鉴定能区分 3 组人群差异的脂肪酸。

## 2 结果与讨论

### 2.1 3 组人群的脂肪酸组成与含量

#### 2.1.1 3 组人群的 SFA (ECFA 和 OCFA) 组成及含量比较

健康对照组、肠道息肉组、结直肠癌组 3 组人群的 SFA (ECFA 和 OCFA) 含量结果如表 2 所示。

表 2 3 组人群的 SFA 组成及含量 %

脂肪酸	健康对照组	肠道息肉组	结直肠癌组
ECFA	37.95 $\pm$ 5.04 <sup>b</sup>	43.16 $\pm$ 5.78 <sup>a</sup>	41.05 $\pm$ 3.81 <sup>a</sup>
C12:0	2.38 $\pm$ 2.07 <sup>a</sup>	1.60 $\pm$ 1.58 <sup>a</sup>	1.74 $\pm$ 1.07 <sup>a</sup>
C14:0	0.82 $\pm$ 0.26 <sup>ab</sup>	0.66 $\pm$ 0.40 <sup>b</sup>	0.95 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>
C16:0	26.11 $\pm$ 4.06 <sup>b</sup>	27.97 $\pm$ 3.84 <sup>ab</sup>	28.46 $\pm$ 3.05 <sup>a</sup>
C18:0	8.65 $\pm$ 2.06 <sup>c</sup>	12.92 $\pm$ 3.80 <sup>a</sup>	9.89 $\pm$ 2.01 <sup>b</sup>
OCFA	0.61 $\pm$ 0.30 <sup>a</sup>	0.41 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	0.38 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>
C11:0	0.04 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	0.03 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.03 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
C13:0	0.04 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.03 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.02 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
C15:0	0.24 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	0.11 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.13 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>
C17:0	0.29 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	0.24 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	0.19 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>
合计	38.56 $\pm$ 5.06 <sup>b</sup>	43.56 $\pm$ 5.80 <sup>a</sup>	41.42 $\pm$ 3.79 <sup>a</sup>

由表 2 可知, 3 组人群中 SFA 含量为 38.56% ~ 43.56%。其中, ECFA 含量为 37.95% ~ 43.16%, OCFA 含量为 0.38% ~ 0.61%。健康人群与肠道疾病患者的 ECFA 含量具有显著差异 ( $p < 0.05$ ): 健康对照组的 ECFA 含量相对较低, 为 (37.95  $\pm$  5.04)%; 其次是结直肠癌组, 为 (41.05  $\pm$  3.81)%; 肠道息肉组 ECFA 含量最高, 为 (43.16  $\pm$  5.78)%。结直肠癌组中 C16:0 和 C18:0 含量显著高于健康对照组 ( $p < 0.05$ ), 同时, 肠道息肉组中 C18:0 含量显著高于健康对照组 ( $p < 0.05$ )。一项孟德尔随机化分析也指出 C18:0 含量与结直肠癌风险增加呈正相关<sup>[22]</sup>, 同样, 有研究显示家族性腺瘤性息肉病患者的 C16:0、C18:0 含量显著高于健康人群<sup>[22]</sup>。本研究中, 结直肠癌患者 C14:0 含量显著高于肠道息肉组 ( $p < 0.05$ ), C18:0 含量显著低于肠道息肉组 ( $p < 0.05$ )。Sidahmed 等<sup>[24]</sup> 发现膳食摄入高水平 SFA 能激活前列腺素 E2 (PGE2) 途径, 从而诱导肠道炎症和促进肿瘤发生。结合先前的研究, 推测 ECFA 作为 SFA 的主要成分, 可能与结直肠癌患病风险增加有关。

人体中 OCFA 的含量较低, 来自 12 个国家的 16 项前瞻性队列研究表明, 人体组织中 OCFA 的总含量不超过总脂肪酸的 1%<sup>[17]</sup>, 但 OCFA 潜在的抗肿瘤功能是人们关注的重点<sup>[25]</sup>。由表 2 可知, 3 组人群中共检测出 4 种 OCFA, 分别为 C11:0、C13:0、C15:0 和 C17:0。健康人群与肠道疾病患者的 OCFA 含量存在显著差异 ( $p < 0.05$ ): 健康对照组的 OCFA 含量相对较高, 为 (0.61  $\pm$  0.30)%; 其次是肠道息肉组, 为 (0.41  $\pm$  0.13)%; 结直肠癌组 OCFA 含量最低, 为 (0.38  $\pm$  0.16)%。值得注意的是, C15:0 和 C17:0 是人体中的主要 OCFA, 约占 OCFA 总含量的一半, Mika<sup>[1]</sup>、Imamura<sup>[26]</sup> 等的研究也发现研究对象血清中 C15:0 和 C17:0 为主要的 OCFA。本研究中肠道息肉组和结直肠癌组中 C15:0 和 C17:0 含量显著低于健康对照组 ( $p < 0.05$ ), 结直肠癌组 C17:0 含量显著低于肠道息肉组 ( $p < 0.05$ )。C11:0 和 C13:0 的含量在 3 组人群中无显著差异 ( $p > 0.05$ )。综上, 进一步提示 OCFA 是影响人体健康的重要脂肪酸。

#### 2.1.2 3 组人群的 BCFA 组成及含量比较

有研究证明 BCFA 具有抗肿瘤和抗炎的作用<sup>[27]</sup>, 但是缺乏基于人群证据的 BCFA 与健康关系的报道。3 组人群的 BCFA 组成及含量如表 3 所示。

表3 3组人群的BCFA组成及含量 %

脂肪酸	健康对照组	肠道息肉组	结直肠癌组
<i>iso</i> -C13:0	0.04 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.04 <sup>a</sup>
<i>anteiso</i> -C13:0	0.05 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.04 <sup>a</sup>
<i>iso</i> -C14:0	0.04 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.04 <sup>a</sup>
<i>iso</i> -C15:0	0.05 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.04 <sup>a</sup>
<i>anteiso</i> -C15:0	0.05 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.03 ± 0.04 <sup>a</sup>
<i>iso</i> -C16:0	1.44 ± 0.41 <sup>a</sup>	0.73 ± 0.26 <sup>b</sup>	1.18 ± 0.52 <sup>a</sup>
<i>anteiso</i> -C17:0	3.45 ± 2.45 <sup>a</sup>	2.06 ± 2.36 <sup>b</sup>	1.04 ± 0.95 <sup>b</sup>
<i>iso</i> -C17:0	0.19 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.06 ± 0.04 <sup>ab</sup>	0.06 ± 0.06 <sup>b</sup>
<i>iso</i> -C18:0	0.40 ± 0.44 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.19 <sup>b</sup>	0.22 ± 0.18 <sup>b</sup>
合计	5.72 ± 1.15 <sup>a</sup>	3.20 ± 0.68 <sup>b</sup>	2.65 ± 0.47 <sup>b</sup>

由表3可知,3组人群中发现了9种BCFA,以*anteiso*-C17:0、*iso*-C16:0和*iso*-C18:0居多。健康人群与肠道疾病患者的总BCFA含量具有显著差异( $p < 0.05$ ):健康对照组中的总BCFA含量相对较高,为(5.72 ± 1.15)%;其次是肠道息肉组,为(3.20 ± 0.68)%;结直肠癌组总BCFA含量最低,为(2.65 ± 0.47)%。BCFA在人体内部组织中含量很少,主要存在于婴儿皮脂和正常健康新生儿的胃肠道中<sup>[28]</sup>,目前已有研究证明BCFA在胎儿发育后期对肠道有着重要的保护作用<sup>[2]</sup>。

由表3还可知:肠道息肉组*iso*-C16:0、*anteiso*-C17:0和*iso*-C18:0含量显著低于健康对照组( $p < 0.05$ ),其中健康对照组的*iso*-C16:0含量约为肠道息肉组的2倍;结直肠癌组*iso*-C17:0、*anteiso*-C17:0和*iso*-C18:0含量显著低于健康对照组( $p < 0.05$ ),其中健康对照组*anteiso*-C17:0的含量约为结直肠癌组的3倍;结直肠癌组*iso*-C16:0含量显著高于肠道息肉组( $p < 0.05$ ),但与健康对照组无显著差异,而Wongtangintharn等<sup>[29]</sup>研究显示*iso*-C16:0与乳腺癌有显著相关性。同样地,有体内实验也表明BCFA在癌细胞共移植的小鼠异种移植瘤模型<sup>[30]</sup>和家兔VX2鳞癌原位移植瘤模型<sup>[31]</sup>中均能抑制肿瘤生长。本研究揭示了BCFA含量与肠道疾病(肠道息肉和结直肠癌)呈现负相关,但本研究为横断面设计,尚无法建立两者间的因果联系,其中的作用机制需要进一步探究。

### 2.1.3 3组人群的MUFA和PUFA组成及含量比较

3组人群的MUFA和PUFA组成及含量如表4所示。

由表4可以看出,3组人群中总MUFA含量为18.11%~19.47%。其中,C16:1含量为0.08%~0.12%,C18:1含量为18.02%~19.39%。总MUFA以及C16:1和C18:1含量在3组人群间均无显著差

异( $p > 0.05$ ),这与在美国和丹麦进行的一项临床<sup>[32]</sup>和两项病例对照研究<sup>[33-34]</sup>均未发现C18:1对结直肠癌有显著风险的研究结果相似。

表4 3组人群的MUFA和PUFA组成及含量 %

脂肪酸	健康对照组	肠道息肉组	结直肠癌组
MUFA	18.18 ± 4.12 <sup>a</sup>	18.11 ± 2.68 <sup>a</sup>	19.47 ± 3.46 <sup>a</sup>
C16:1	0.12 ± 0.15 <sup>a</sup>	0.10 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.08 ± 0.09 <sup>a</sup>
C18:1	18.06 ± 4.10 <sup>a</sup>	18.02 ± 2.68 <sup>a</sup>	19.39 ± 3.46 <sup>a</sup>
<i>n</i> -3 PUFA	3.28 ± 0.99 <sup>a</sup>	2.17 ± 0.38 <sup>b</sup>	1.58 ± 0.52 <sup>c</sup>
C18:3	0.31 ± 0.25 <sup>a</sup>	0.16 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.26 ± 0.23 <sup>ab</sup>
C20:5	0.83 ± 0.48 <sup>a</sup>	0.49 ± 0.25 <sup>b</sup>	0.45 ± 0.31 <sup>b</sup>
C22:6	2.14 ± 0.54 <sup>a</sup>	1.52 ± 0.17 <sup>b</sup>	0.87 ± 0.27 <sup>c</sup>
<i>n</i> -6 PUFA	34.26 ± 4.26 <sup>a</sup>	32.96 ± 5.4 <sup>a</sup>	34.88 ± 3.87 <sup>a</sup>
C18:2	26.87 ± 3.70 <sup>a</sup>	23.30 ± 5.45 <sup>b</sup>	28.07 ± 4.53 <sup>a</sup>
C20:4	5.87 ± 3.02 <sup>b</sup>	8.91 ± 3.74 <sup>a</sup>	6.28 ± 2.47 <sup>b</sup>
C20:2	1.52 ± 2.06 <sup>a</sup>	0.75 ± 0.85 <sup>ab</sup>	0.53 ± 0.64 <sup>b</sup>

注:MUFA为单不饱和脂肪酸;PUFA为多不饱和脂肪酸

由表4还可以看出,3组人群中总*n*-3 PUFA含量普遍较低,在1.58%~3.28%之间,且主要为C22:6,占*n*-3 PUFA总量的55.06%~70.05%。肠道息肉组C18:3含量显著低于健康对照组( $p < 0.05$ ),肠道息肉组和结直肠癌组总*n*-3 PUFA、C20:5、C22:6含量也显著低于健康对照组( $p < 0.05$ ),其中结直肠癌组总*n*-3 PUFA、C22:6含量显著低于肠道息肉组( $p < 0.05$ )。一项前瞻性实验结果表明在结直肠癌患者中*n*-3 PUFA摄入量越高,结直肠癌特异性死亡风险越低( $p < 0.05$ )<sup>[35]</sup>。本研究发现*n*-3 PUFA含量与肠道疾病(肠道息肉和结直肠癌)呈负相关,为进一步明确*n*-3 PUFA与结直肠癌发生风险的关系提供了理论支持。

由表4可以看出,3组人群的*n*-6 PUFA含量均较高,为32.96%~34.88%,其中C18:2含量最高,为23.30%~28.07%。与健康对照组相比,肠道息肉组中C18:2含量较低( $p < 0.05$ ),C20:4含量较高( $p < 0.05$ );结直肠癌组的C20:2含量显著低于健康对照组( $p < 0.05$ )。与肠道息肉组相比,结直肠癌组中C20:4含量较低( $p < 0.05$ ),C18:2含量较高( $p < 0.05$ )。May-Wilson等<sup>[22]</sup>采用孟德尔随机化法评估脂肪酸与结直肠癌的关系,发现C18:2和C20:4与结直肠癌发展有关,分别呈负相关和正相关。

### 2.2 脂肪酸含量变化与肠道健康状态的趋势性检验

人类结直肠癌自然史较长,人体内脂肪酸的异常分布可能在结直肠癌的发生中起作用,但特定脂肪酸与结直肠癌风险之间的关联尚待明确。研究发

现肠道息肉患者发生结直肠癌的风险更高<sup>[36]</sup>,因此对肠道息肉患者、结直肠癌患者与健康人群的各脂

肪酸含量进行趋势性检验,图1为存在显著差异脂肪酸的趋势性检验结果。

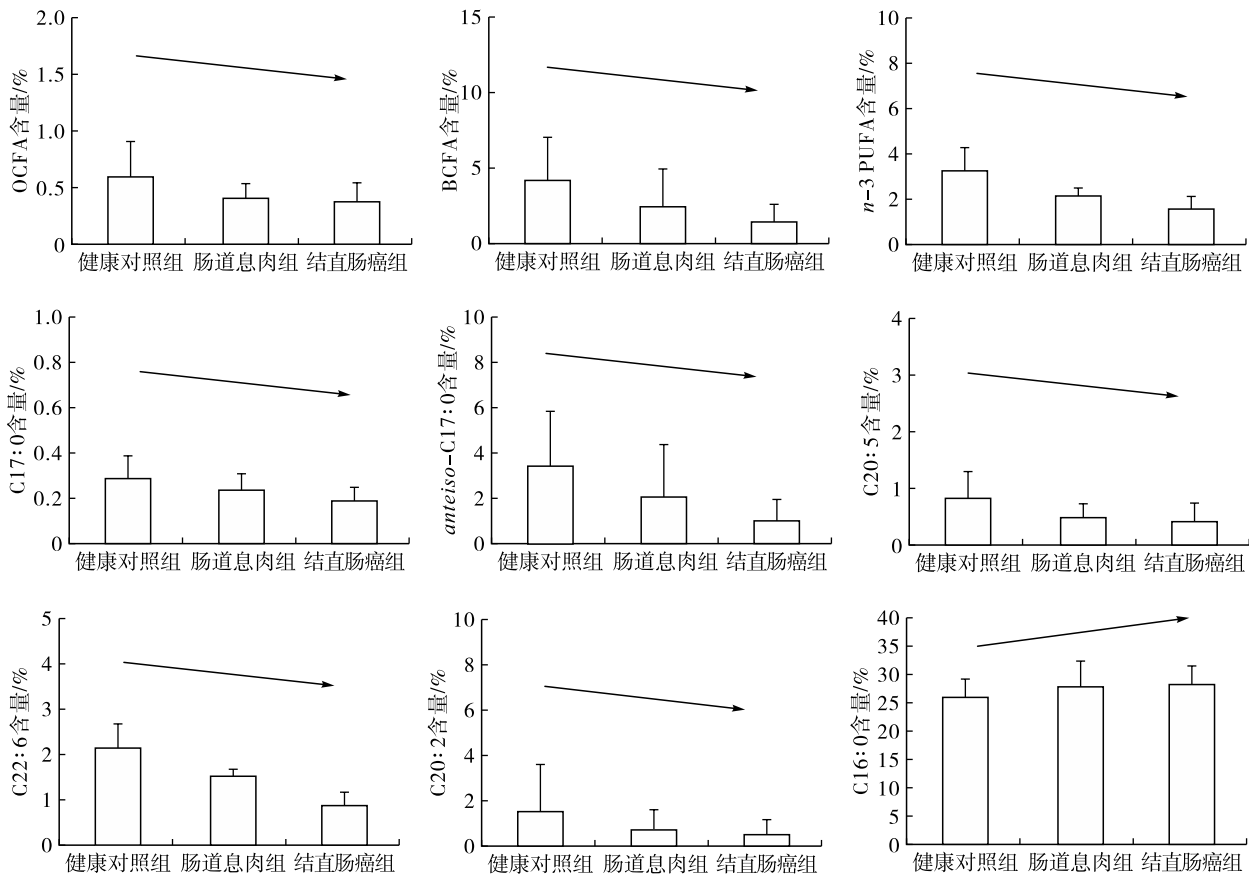


图1 各脂肪酸含量变化与肠道疾病状态的趋势性检验

由图1可知,OCFA、BCFA、 $n-3$  PUFA 含量在3组人群中随着肠道健康状态的恶化呈下降趋势 ( $p < 0.05$ ),尤其在 C17:0、*anteiso*-C17:0、C20:5、C22:6 和 C20:2 这几种特定脂肪酸中,而 C16:0 含量随着肠道健康状态的恶化呈上升的趋势 ( $p < 0.05$ )。Pascual 等<sup>[37]</sup>的研究揭示了 C16:0 可以促进小鼠口腔癌和黑色素瘤的转移,其在结直肠癌发生进展过程中的促进作用不容忽视。尽管在3组人群中发现了特定脂肪酸趋势性变化的现象,但还需进一步收集人群饮食、生活习惯等方面的信息进行综合的多因素分析。

### 2.3 OPLS-DA 鉴定肠道疾病的特征脂肪酸标志物

OPLS-DA 是一种有监督的识别模型,它使用不同的预测和正交分量来解释组间和组内的变化,更容易排除与分类无关的自变量<sup>[38]</sup>。采用 OPLS-DA 模型,观察3组人群的脂肪酸谱变化。VIP 值是用于衡量各脂肪酸累积差异对各组样本分类判别的影响强度和解释能力的指标,VIP 值大于或等于1为常见的筛选标准<sup>[39]</sup>。本研究以 OPLS-DA 模型

中所有种类脂肪酸的 VIP 值作为差异脂肪酸选择的标准,筛选出 VIP 值大于 1.5 的脂肪酸。25 种脂肪酸的 OPLS-DA 得分图如图 2 所示,VIP 值如图 3 所示。

在健康对照组与肠道息肉组的 OPLS-DA 模型中,模型解释率  $R_x^2$  和  $R_y^2$  分别为 0.152 和 0.559,模型验证率 ( $Q^2$ ) 为 0.501,表明此模型稳定性和预测性较好。由图 2、图 3 可知,OPLS-DA 得分图显示健康对照组与肠道息肉组存在较大程度分离,其中 VIP 值大于 1.5 的脂肪酸包括 C18:0、C16:0、C18:1 以及 C20:4,这与一项关于家族性腺瘤性息肉病 (FAP) 的研究中所发现的 C16:0、C18:0 和 C20:4 等脂肪酸可用于区分 FAP 患病组与对照组<sup>[23]</sup>的结果相似,提示了特定脂肪酸可用于肠道疾病的早期诊断。

在健康对照组与结直肠癌组的 OPLS-DA 模型中,模型参数  $R_x^2$  和  $R_y^2$  分别为 0.132 和 0.581, $Q^2$  为 0.498。由图 2、图 3 可知,OPLS-DA 得分图显示健康对照组与结直肠癌组已完全分离,VIP 值大于 1.5 的脂肪酸包括 C18:0、C16:0、C14:0、*anteiso*-C17:0、*iso*-C17:0、C18:1,很大程度上可区分结直

肠癌患者与健康人群。Kondo 等<sup>[40]</sup>利用 PLS - DA 模型表明 C18:3、C18:0、C20:0、C24:0 和 C28:0 是结直肠癌的候选脂肪酸生物标志物。

由图 2、图 3 可知,肠道息肉组与结直肠癌组的 OPLS - DA 模型未能将两组人群很好地分离,其中 VIP 值大于 1.5 的脂肪酸包括 *iso* - C16:0、C14:0 和 C22:6。在本研究中,结直肠癌患者中的 *iso* - C16:0、

C14:0 含量较肠道息肉患者有升高的趋势(表 2),可能是由于脂肪酸合成酶在人类癌症组织中过度表达<sup>[41]</sup>。此外,我们还发现 BCFA 在结直肠癌发病中具有潜在的保护作用,因此进一步研究 BCFA 与体内重要代谢酶的表达和活性之间的联系十分有必要。由于样本量的限制,该模型还需扩大研究人群来进行验证。

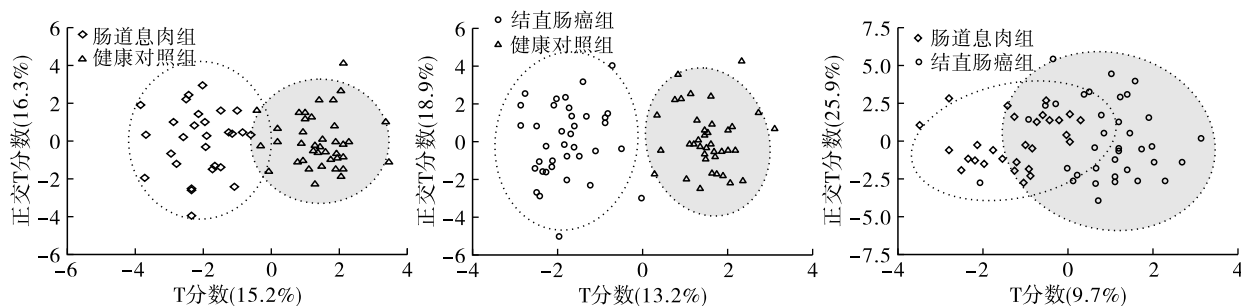


图 2 3 组人群脂肪酸的 OPLS - DA 得分图

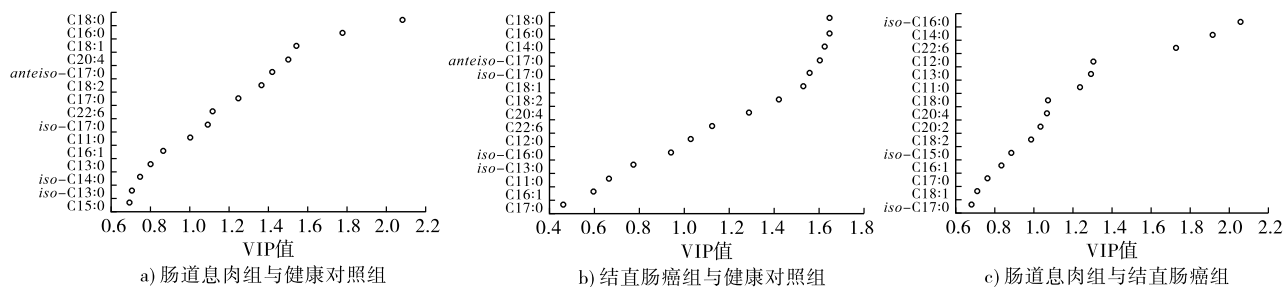


图 3 3 组人群脂肪酸的 VIP 值

### 3 结论

本研究利用 GC - MS 分析了不同人群中的脂肪酸分布,共检测出 9 种 BCFA 和 4 种 OCFA,并揭示了肠道健康人群中 BCFA 和 OCFA 含量较高,同时 *n* - 3 PUFA 也是有益肠道健康的脂肪酸。C17:0、*anteiso* - C17:0 含量随着肠道健康状态的恶化呈梯度下降趋势,OPLS - DA 鉴定表明,*anteiso* - C17:0、*iso* - C17:0、C18:1、C18:0、C16:0、C14:0 对于区分健康人群和结直肠癌人群具有重要作用,认为其是肠道健康人群的特征脂肪酸。以上结果提示 BCFA 和 OCFA 对肠道健康有潜在的保护作用。

### 参考文献:

- [1] MIKA A, STEPNOWSKI P, KASKA L, et al. A comprehensive study of serum odd - and branched - chain fatty acids in patients with excess weight [J]. *Obesity*, 2016, 24(8): 1669 - 1676.
- [2] GIBSON R A, KNEEBONE G M. Fatty acid composition of human colostrum and mature breast milk [J]. *Am J Clin Nutr*, 1981, 34(2): 252 - 257.
- [3] RAN - RESSLER R R, SIM D, O'DONNELL - MEGARO A M, et al. Branched chain fatty acid content of United States retail cow's milk and implications for dietary intake [J]. *Lipids*, 2011, 46(7): 569 - 576.
- [4] RAN - RESSLER R R, KHAILOVA L, ARGANBRIGHT K M, et al. Branched chain fatty acids reduce the incidence of necrotizing enterocolitis and alter gastrointestinal microbial ecology in a neonatal rat model [J/OL]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e29032 [2024 - 03 - 28]. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0029032>.
- [5] RAN - RESSLER R R, BAE S, LAWRENCE P, et al. Branched - chain fatty acid content of foods and estimated intake in the USA [J]. *Br J Nutr*, 2014, 112(4): 565 - 572.
- [6] YAN Y, WANG X, LIU Y, et al. Combined urea - thin layer chromatography and silver nitrate - thin layer chromatography for micro separation and determination of hard - to - detect branched chain fatty acids in natural lipids [J]. *J Chromatogr A*, 2015, 1425: 293 - 301.
- [7] MASSART - LEËN A M, DE POOTER H, DECLOEDT M, et al. Composition and variability of the branched - chain fatty acid fraction in the milk of goats and cows [J]. *Lipids*, 1981, 16(5): 286 - 292.
- [8] 孙万成, 罗毅皓, 刘祥军. 不同泌乳期牦牛乳中奇数与支链脂肪酸的分布 [J]. *食品科学*, 2015, 36(6): 198 - 201.
- [9] PASZCZYK B. Cheese and butter as a source of health - promoting fatty acids in the human diet [J/OL]. *Animals*, 2022, 12(23): 3424 [2024 - 03 - 28]. <http://doi.org/>

- 10.3390/ani12233424.
- [10] BODKOWSKI R, CZYZ K, WYROSTEK A, et al. The effect of CLA – rich isomerized poppy seed oil on the fat level and fatty acid profile of cow and sheep milk[J/OL]. *Animals*, 2020, 10(5): 912[2024 – 03 – 28]. <https://doi.org/10.3390/ani10050912>.
- [11] VIEIRA C P, CABRAL C C, DA COSTA LIMA B R C, et al. *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* MRS47, a potential probiotic strain isolated from kefir grains, increases *cis* – 9, *trans* – 11 – CLA and PUFA contents in fermented milk [J]. *J Funct Foods*, 2017, 31: 172 – 178.
- [12] FONTES A L, PIMENTEL L, RODRÍGUEZ – ALCALÁ L M, et al. Effect of Pufa substrates on fatty acid profile of *Bifidobacterium breve* Neimb 702258 and CLA/CLNA production in commercial semi – skimmed milk [J/OL]. *Sci Rep*, 2018, 8 ( 1 ): 15591 [2024 – 03 – 28]. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33970-2>.
- [13] HODSON L, SKEAFF C M, FIELDING B A. Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake[J]. *Prog Lipid Res*, 2008, 47(5): 348 – 380.
- [14] HODSON L, EYLES H C, MCLACHLAN K J, et al. Plasma and erythrocyte fatty acids reflect intakes of saturated and *n* – 6 PUFA within a similar time frame[J]. *J Nutr*, 2014, 144(1): 33 – 41.
- [15] LANKINEN M, SCHWAB U. Biomarkers of dairy fat[J]. *Am J Clin Nutr*, 2015, 101(5): 1101 – 1102.
- [16] SANTAREN I D, WATKINS S M, LIESE A D, et al. Serum pentadecanoic acid (15:0), a short – term marker of dairy food intake, is inversely associated with incident type 2 diabetes and its underlying disorders[J]. *Am J Clin Nutr*, 2014, 100(6): 1532 – 1540.
- [17] ZHUANG P, CHENG L F, WANG J, et al. Saturated fatty acid intake is associated with total mortality in a nationwide cohort study[J]. *J Nutr*, 2019, 149(1): 68 – 77.
- [18] GARCÉS R, MANCHA M. One – step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissues[J]. *Anal Biochem*, 1993, 211(1): 139 – 143.
- [19] ALONSO L, FONTECHA J, LOZADA L, et al. Fatty acid composition of caprine milk: Major, branched – chain, and *trans* fatty acids[J]. *J Dairy Sci*, 1999, 82(5): 878 – 884.
- [20] MASSART – LEËN A M, DE POOTER H, DECLOEDT M, et al. Composition and variability of the branched – chain fatty acid fraction in the milk of goats and cows[J]. *Lipids*, 1981, 16(5): 286 – 292.
- [21] HAUFF S, VETTER W. Quantification of branched chain fatty acids in polar and neutral lipids of cheese and fish samples[J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(2): 707 – 712.
- [22] MAY – WILSON S, SUD A, LAW P J, et al. Pro – inflammatory fatty acid profile and colorectal cancer risk: A Mendelian randomisation analysis[J]. *Eur J Cancer*, 2017, 84: 228 – 238.
- [23] SUN L, KANG Q, PAN Y, et al. Serum metabolite profiling of familial adenomatous polyposis using ultra performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry[J]. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20(7): 1017 – 1028.
- [24] SIDAHMED E, SEN A, REN J, et al. Colonic saturated fatty acid concentrations and expression of COX – 1, but not diet, predict prostaglandin E<sub>2</sub> in normal human colon tissue[J]. *Nutr Cancer*, 2016, 68(7): 1192 – 1201.
- [25] TO N B, NGUYEN Y T K, MOON J Y, et al. Pentadecanoic acid, an odd – chain fatty acid, suppresses the stemness of MCF – 7/SC human breast cancer stem – like cells through JAK2/STAT3 signaling [ J/OL ]. *Nutrients*, 2020, 12 ( 6 ): 1663 [2024 – 03 – 28]. <https://doi.org/10.3390/nu12061663>.
- [26] IMAMURA F, FRETTS A, MARKLUND M, et al. Fatty acid biomarkers of dairy fat consumption and incidence of type 2 diabetes: A pooled analysis of prospective cohort studies[J/OL]. *PLoS Med*, 2018, 15(10): e1002670 [2024 – 03 – 28]. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002670>.
- [27] YANG Z, LIU S, CHEN X, et al. Induction of apoptotic cell death and *in vivo* growth inhibition of human cancer cells by a saturated branched – chain fatty acid, 13 – methyltetradecanoic acid [ J ]. *Cancer Res*, 2000, 60(3): 505 – 509.
- [28] RAN – RESSLER R R, DEVAPATLA S, LAWRENCE P, et al. Branched chain fatty acids are constituents of the normal healthy newborn gastrointestinal tract[J]. *Pediatr Res*, 2008, 64(6): 605 – 609.
- [29] WONGTANGTINTHARN S, OKU H, IWASAKI H, et al. Effect of branched – chain fatty acids on fatty acid biosynthesis of human breast cancer cells[J]. *J Nutr Sci Vitaminol*, 2004, 50(2): 137 – 143.
- [30] LIN T, YIN X, CAI Q, et al. 13 – Methyltetradecanoic acid induces mitochondrial – mediated apoptosis in human bladder cancer cells[J]. *Urol Oncol*, 2012, 30(3): 339 – 345.
- [31] WRIGHT K C, YANG P, VAN PELT C S, et al. Evaluation of targeted arterial delivery of the branched chain fatty acid 12 – methyltetradecanoic acid as a novel therapy for solid tumors[J]. *J Exp Ther Oncol*, 2005, 5(1): 55 – 68.
- [32] NEOPTOLEMOS J P, HUSBAND D, IMRAY C, et al. Arachidonic acid and docosahexaenoic acid are increased in human colorectal cancer[J]. *Gut*, 1991, 32(3): 278 – 281.

- MEDINA - JUÁREZ L A, et al. Concentration of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid from fish oil by hydrolysis and urea complexation [J]. *Food Res Int*, 2003, 36(7): 721 - 727.
- [19] AKANBI T O, ADCOCK J L, BARROW C J. Selective concentration of EPA and DHA using *Thermomyces lanuginosus* lipase is due to fatty acid selectivity and not regioselectivity [J]. *Food Chem*, 2013, 138(1): 615 - 620.
- [20] 宋朝霞, 慕鸿雁. 基于壳聚糖 - 三聚磷酸盐的鱼油纳米颗粒制备及性能表征 [J]. *食品科技*, 2022, 47(6): 278 - 283.
- [21] 梅德清, 张永涛, 谭文兵, 等. 脂肪酸酯在 TG - DSC 下的挥发与氧化特性 [J]. *林产化学与工业*, 2014, 34(5): 133 - 138.
- [22] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 动植物油脂水分及挥发物的测定: GB 5009.236—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [23] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中过氧化值的测定: GB 5009.227—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [24] *p* - Anisidine value: AOCS official method Cd 18 - 90 [S]. Champaign, IL: AOCS, 2021.
- [25] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 动植物油脂 2 - 硫代巴比妥酸值的测定 直接法: GB/T 35252—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
- [26] 李梦凡, 陶宁萍, 刘承初, 等. 酶解法制备罗非鱼油工艺研究 [J]. *中国油脂*, 2015, 40(7): 6 - 11.
- [27] 陈焯, 黄璟雯, 王熠璠, 等. 甘油酯型 *n* - 3 多不饱和脂肪酸富集方法研究进展 [J]. *中国油脂*, 2022, 47(2): 74 - 78.
- [28] 贺延苓, 黄若安, 蔡昌兰. *n* - 3 多不饱和脂肪酸的抗癌功效及其生物学机制的研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(24): 4025 - 4028.
- [29] 袁小武, 邓泽元, 李静, 等. 胰脂肪酶法测定食用甘油三酯中脂肪酸的位置分布 [J]. *食品科学*, 2008, 29(11): 544 - 547.
- [30] GUO T, WAN C, HUANG F, et al. Evaluation of quality properties and antioxidant activities of tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) oil produced by mechanical expression or/with critical fluid extraction [J/OL]. *LWT - Food Sci Technol*, 2021, 141: 110915 [2023 - 03 - 18]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110915>.
- [31] ENGELMANN J I, SILVA P P, IGANSI A V, et al. Structured lipids by swine lard interesterification with oil and esters from common carp viscera [J/OL]. *J Food Process Eng*, 2018, 41(4): e12679 [2023 - 03 - 18]. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12679>.
- [32] TIMILSENA Y P, VONGSVIVUT J, ADHIKARI R, et al. Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil [J]. *Food Chem*, 2017, 228: 394 - 402.
- [33] 黄雨洋, 齐宝坤, 赵城彬, 等. 加速氧化过程中不同植物油的稳定性研究 [J]. *中国食品学报*, 2019, 19(1): 243 - 248.
- 
- (上接第 60 页)
- [33] SLATTERY M L, POTTER J D, DUNCAN D M, et al. Dietary fats and colon cancer: Assessment of risk associated with specific fatty acids [J]. *Int J Cancer*, 1997, 73(5): 670 - 677.
- [34] HIETANEN E, BARTSCH H, BÉRÉZIAT J C, et al. Diet and oxidative stress in breast, colon and prostate cancer patients: A case - control study [J]. *Eur J Clin Nutr*, 1994, 48(8): 575 - 586.
- [35] SONG M, ZHANGX, MEYERHARDT J A, et al. Marine  $\omega$  - 3 polyunsaturated fatty acid intake and survival after colorectal cancer diagnosis [J]. *Gut*, 2017, 66(10): 1790 - 1796.
- [36] LONG Y, SANCHEZ - ESPIRIDION B, LIN M, et al. Global and targeted serum metabolic profiling of colorectal cancer progression [J]. *Cancer*, 2017, 123(20): 4066 - 4074.
- [37] PASCUAL G, DOMÍNGUEZ D, ELOSÚA - BAYES M, et al. Dietary palmitic acid promotes a prometastatic memory via Schwann cells [J]. *Nature*, 2021, 599(7885): 485 - 490.
- [38] BHUMIREDDY S R, ROCCHETTI G, PALLERLA P, et al. A combined targeted/untargeted screening based on GC/MS to detect low - molecular - weight compounds in different milk samples of different species and as affected by processing [J/OL]. *Int Dairy J*, 2021, 118: 105045 [2024 - 03 - 28]. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105045>.
- [39] KANG C, ZHANG Y, ZHANG M, et al. Screening of specific quantitative peptides of beef by LC - MS/MS coupled with OPLS - DA [J/OL]. *Food Chem*, 2022, 387: 132932 [2024 - 03 - 28]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132932>.
- [40] KONDO Y, NISHIUMI S, SHINOHARA M, et al. Serum fatty acid profiling of colorectal cancer by gas chromatography/mass spectrometry [J]. *Biomark Med*, 2011, 5(4): 451 - 460.
- [41] ORITA H, COULTER J, TULLY E, et al. High levels of fatty acid synthase expression in esophageal cancers represent a potential target for therapy [J]. *Cancer Biol Ther*, 2010, 10(6): 549 - 554.