

# 香榧籽油对高脂膳食 SD 大鼠脂质代谢的影响及机理

肖铭慧<sup>1,2</sup>, 黄敏婕<sup>2</sup>, 董捷<sup>2</sup>, 宋丽丽<sup>1</sup>, 王德前<sup>2</sup>

(1. 浙江农林大学 亚热带森林培育国家重点实验室, 杭州 311300; 2. 浙江省农业科学院 畜牧兽医研究所, 杭州 310021)

**摘要:**为推进对香榧籽油生物功效的认知,以高脂膳食大鼠模型评估香榧籽油的降脂、抗氧化功效及其作用机理。将40只SD大鼠随机分为正常对照组(NF组)、2%香榧籽油正常组(NFO组)、高脂对照组(HF组)、2%香榧籽油高脂组(HFO组)。每周记录SD大鼠体重,分别在第4周和第7周检测血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、血糖(Glu)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、总抗氧化能力(T-AOC)、C反应蛋白(CRP)、白介素6(IL-6)、白介素4(IL-4)水平。在第7周处死大鼠,解剖取肝脏、十二指肠、脂肪组织,采用油红O、苏木精-伊红(HE)染色观察组织形态,并采用qRT-PCR检测肝脏脂质代谢相关基因的表达。结果表明:实验第4周,与NF组相比,香榧籽油能极显著降低SD大鼠体重( $P < 0.01$ ),整个实验周期内HF、HFO组大鼠体重无显著差异;与NF组相比,NFO组大鼠血清TG、Glu、MDA水平显著下降( $P < 0.05$ ),HDL-C水平显著提高( $P < 0.05$ );与HF组相比,香榧籽油能显著降低大鼠血清TC、LDL-C和Glu水平( $P < 0.05$ ),显著提高SOD、GSH-Px的活性和T-AOC( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。实验第7周,与NF组相比,NFO组大鼠血清LDL-C水平极显著上升( $P < 0.01$ ),TC、MDA水平显著下降( $P < 0.05$ );与HF组相比,香榧籽油能显著升高大鼠血清TG、LDL-C、MDA、CRP、IL-4水平( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );长期食用香榧籽油,大鼠肝脏、十二指肠组织中偶有炎性细胞浸润,脂肪组织细胞形态大小不均。NFO组大鼠肝脏AMPK $\alpha$ 、SREBP-1c基因表达水平极显著高于NF组( $P < 0.01$ ),HFO组大鼠肝脏FAS、ACC、AMPK $\alpha$ 基因表达水平极显著低于HF组( $P < 0.01$ )。香榧籽油可能通过调节AMPK $\alpha$ /SREBP-1c信号通路实现调节大鼠血脂、提高抗氧化水平的生物功效。

**关键词:**香榧籽油;降血脂;脂质代谢;多不饱和脂肪酸

中图分类号:TS225.1;Q591.5 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2022)03-0071-07

## Effect of *Torreya grandis* cv. *Merrilii* seed oil on lipid metabolism in SD rats fed with high fat diet

XIAO Minghui<sup>1,2</sup>, HUANG Minjie<sup>2</sup>, DONG Jie<sup>2</sup>, SONG Lili<sup>1</sup>, WANG Deqian<sup>2</sup>

(1. State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A & F University, Hangzhou 311300, China; 2. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

**Abstract:** To advance the understanding of the biological efficacy of *Torreya grandis* cv. *Merrilii* seed oil, a high-fat dietary rat model was developed to evaluate the lipid-lowering and antioxidant effects of *Torreya grandis* cv. *Merrilii* seed oil and its mechanism of action. Forty SD rats were randomly divided into normal fat group (NF group), 2% *Torreya grandis* cv. *Merrilii* seed oil group (NFO group), high

fat group (HF group), and high fat with 2% *Torreya grandis* cv. *Merrilii* seed oil group (HFO group). The body weight of SD rats was recorded every week. The levels of serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density

收稿日期:2021-04-13;修回日期:2021-10-26

基金项目:浙江省重点研发项目(2019C02064,2021C02041)

作者简介:肖铭慧(1995),女,硕士研究生,研究方向为植物油成分及功能分析(E-mail)2019102102006@stu.zafu.edu.cn。

通信作者:宋丽丽,教授(E-mail)lilisong@zafu.edu.cn;王德前,副研究员(E-mail)wangdq@zaas.ac.cn。

lipoprotein cholesterol (LDL - C), blood glucose (Glu), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH - Px), total antioxidant capacity (T - AOC), C reaction protein (CRP), interleukin - 6 (IL - 6), and interleukin - 4 (IL - 4) were detected at the 4th and 7th week, respectively. At the 7th week, the rats were sacrificed, and the liver, intestine and adipose tissue were dissected and observed by oil red O and hematoxylin - eosin (HE) staining. In addition, the expression of liver lipid metabolism related genes was detected by qRT - PCR. The results showed that in the 4th week of the experiment, compared with NF group, *Torreya grandis* cv. Merrillii seed oil could significantly reduce the body weight ( $P < 0.01$ ) and the levels of serum TG, Glu and MDA ( $P < 0.05$ ), and markedly increase HDL - C level ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in body weight of rats in HF and HFO groups during the 4 weeks experiment. Compared with HF group, *Torreya grandis* cv. Merrillii seed oil could reduce the levels of TC, LDL - C and Glu ( $P < 0.05$ ), increase the activities of SOD, GSH - Px and T - AOC ( $P < 0.01, P < 0.05$ ). In the 7th week of the experiment, compared with NF group, the serum LDL - C level of the NFO group increased significantly ( $P < 0.01$ ), and the TC and MDA levels decreased significantly ( $P < 0.05$ ); compared with HF group, the *Torreya grandis* cv. Merrillii seed oil could significantly increase the levels of TG, LDL - C, MDA, CRP, IL - 4 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ); inflammatory cells occasionally infiltrated into the liver and intestine of rats fed with *Torreya grandis* cv. Merrillii seed oil for a long time, and the shape and size of adipocytes were uneven. The expression levels of AMPK $\alpha$  and SREBP - 1c in the liver of rats in NFO group were higher than those in NF group ( $P < 0.01$ ), while the expression levels of FAS, ACC, AMPK $\alpha$  in HFO group were lower than those in HF group ( $P < 0.01$ ). The *Torreya grandis* cv. Merrillii seed oil may regulate the AMPK $\alpha$ /SREBP - 1c signaling pathway to achieve the biological effect of regulating blood lipid and improving antioxidant level in rats.

**Key words:** *Torreya grandis* cv. Merrillii seed oil; hypolipidemic; lipid metabolism; polyunsaturated fatty acid

高脂膳食可使机体脂肪堆积,血清中总甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL - C)升高,从而引发高脂血症<sup>[1]</sup>。长期高脂膳食可使机体产生过多自由基,造成脂质代谢异常,使脂类物质合成、分解、转运等发生紊乱<sup>[2]</sup>。利用自然界植物中的天然成分降低血脂、调节脂质代谢异常一直是国内外关注的热点<sup>[3-4]</sup>。

香榧(*Torreya grandis* cv. Merrillii)是红豆杉科榧树属常绿乔木,雌雄异株,属于榧树的栽培品种。香榧起源于中国,主要分布在我国东南一带地区,如浙江、福建、江苏、安徽等省份,其中以浙江省诸暨市量最多,占全国产量的50%以上<sup>[5]</sup>。香榧具有很高的药用价值:香榧树根皮可用于治疗风湿肿痛;香榧假种皮和叶片挥发油具有抗菌作用,且假种皮中含有防治癌症的5种二萜类化合物(香榧脂、18 - 氧弥罗松酚、18 - 羟基弥罗松酚、花柏酚和半日花烷类衍生物)<sup>[6-7]</sup>。香榧籽油是一种富含多不饱和脂肪酸的植物油,其多不饱和脂肪酸含量为52.58% ~ 56.50%<sup>[8]</sup>。大量研究表明,多不饱和脂肪酸能显

著降低大鼠体重和体脂<sup>[9]</sup>,抑制高脂引起的小鼠糖脂代谢紊乱<sup>[10]</sup>,显著降低高脂血症患者TG、TC、LDL - C水平,升高高密度脂蛋白胆固醇(HDL - C)水平<sup>[11-12]</sup>。在香榧籽油中,除了大量的脂肪酸以外,还含有有益脂类伴随物,如甾醇(1 407.81 ~ 1 777.11 mg/kg)、生育酚(1 520.05 ~ 1 620.83 mg/kg)、角鲨烯(14.29 ~ 16.77 mg/kg)等<sup>[8]</sup>。香榧籽油含有降血脂及预防动脉粥样硬化的生物活性物质<sup>[13-15]</sup>,但香榧籽油调节血脂水平的机制尚未明晰,香榧籽油能否长期食用来改善高脂膳食下的血脂水平还有待评估。

本研究采用高脂膳食大鼠模型评估香榧籽油的降脂、抗氧化功效及其作用机制,以期为推进对香榧籽油生物功效的认知,促进香榧籽油精深加工和科学利用提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

香榧种实,于2019年9月采自浙江省诸暨市赵家镇,在干燥阴凉处堆沤至假种皮柔软,剥离假种皮后晾晒种子,蒸馏水冲洗后再次晾晒,得到香榧籽。

超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化酶(GSH-Px)、总抗氧化能力(T-AOC)、C反应蛋白(CRP)、白介素6(IL-6)、白介素4(IL-4)试剂盒,南京建成生物工程研究所;组织固定液,浙江金华同和生物技术有限公司;苏木精-伊红(HE)染料,美国Sigma公司;FineMag磁珠法动物组织总RNA提取试剂盒,济凡生物科技(常州)有限公司;反转录试剂盒PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser(Perfect Real Time)、实时荧光定量PCR试剂盒SYBR Premix Ex Taq II(Tli RNase H Plus),Takara宝日医生物技术(北京)有限公司。

雄性SD大鼠,体重180~220 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,许可证号为SCXK(沪)2017-0005。基础饲料(无氮浸出物52.0%,粗蛋白质22.1%,水分9.2%,粗脂肪5.28%,粗灰分5.20%)、高脂饲料(基础饲料49.5%,猪油20.4%,蔗糖15%,酪蛋白12.3%,预混料2%,麦芽糊精0.8%),杭州赛洛进生物科技有限公司;2%香榧籽油基础饲料(基础饲料98%+香榧籽油2%)、2%香榧籽油高脂饲料(高脂饲料98%+香榧籽油2%),自制。

DHG-9070恒温鼓风干燥箱,济南欧莱博电子商务有限公司;380型号榨油机,温州康油来电器有限公司;低速离心机,德国Eppendorf公司;7080全自动生化分析仪,日本日立株式会社;RM2235型病理组织切片机、1150H型石蜡包埋机、ASP 200S型组织脱水机,德国Leica公司;EcliPse Ci-L正置拍照显微镜,Eclipse Ti-E激光共聚焦显微镜,尼康映像仪器销售(中国)有限公司;Pannoramic DESK/MIDI/250/1000全景切片扫描仪,3Dhistech公司;全自动样品快速研磨仪,上海净信实业发展有限公司;PCR扩增仪,美国Thermo Scientific公司;实时荧光定量PCR仪,美国Agilent公司;Avanti JXN-30/26智能型高效离心机,贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 香榧籽油的制备

将香榧籽置于120℃烤箱烘烤15 min,然后剥离种壳、种衣,将种仁切碎,采用榨油机压榨得到香榧籽原油,过滤后于10 000 r/min离心15 min,取上清,即得香榧籽油。

### 1.2.2 动物分组与给药

将40只SD大鼠在动物房内适应性饲养1周后,随机分为4组,分别为正常对照组(NF组)、2%香榧籽油正常组(NFO组)、高脂对照组(HF组)、2%香榧籽油高脂组(HFO组),每组10只,实验周

期7周。NF组、NFO组、HF组和HFO组大鼠分别饲喂基础饲料、2%香榧籽油基础饲料、高脂饲料和2%香榧籽油高脂饲料,所有实验大鼠均饲养于浙江省农业科学院实验动物中心SPF级动物房内,饲养温度(23±2)℃、湿度(55±5)%、光照12 h/12 h明暗交替,自由饮水、摄食,每周定期更换大鼠笼具内的垫料及饮水,整个实验过程按照“3R”原则给予实验动物人道主义关怀。

### 1.2.3 大鼠的状态观察及体重测定

实验期间,每日对大鼠的外观、精神状态、自主活动、进食饮水和排泄等进行观察,并每周定时称量大鼠体重。

### 1.2.4 血清指标检测

分别于实验第4、7周采血,采血前大鼠禁食12 h,次日清晨眼眶取血。血液于3 000 r/min离心15 min,取上清,采用全自动生化分析仪测定TC、TG、LDL-C、HDL-C、血糖(Glu),按试剂盒说明书测定SOD、MDA、GSH-Px、T-AOC、CRP、IL-6、IL-4。

### 1.2.5 组织形态观测

大鼠脱颈处死后,取肝脏、十二指肠和肾周附近的脂肪组织,用无菌PBS缓冲液冲洗干净,经4%多聚甲醛固定,固定状态良好后进行修剪,经无水乙醇脱水、包埋、切片后,分别进行HE染色和油红O染色(染色方法参考文献[16]),然后在显微镜下观测组织形态。

### 1.2.6 实时荧光定量PCR检测肝脏脂质代谢相关基因

取50~100 mg肝脏组织于研磨管中,加入1 mL组织裂解液和2粒钢珠进行研磨,然后按照试剂盒说明书提取RNA。紫外检测总RNA,质量浓度均为300 ng/μL以上,OD<sub>260</sub>与OD<sub>280</sub>比值均在1.8~2.0之间,符合后续实验。取500 ng RNA反转录成cDNA,cDNA纯度在1.6~1.8方可进行PCR扩增。采用20 μL扩增体系。扩增反应条件:95℃预变性30 s,95℃ 5 s,60℃ 34 s,进行40个反应循环。实验所需引物参考文献[17],由生工生物工程(上海)股份有限公司完成合成,引物序列如表1所示。

### 1.2.7 数据处理

采用2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup>法比较量化分析荧光定量PCR检测结果。实验数据用SPSS 22.0进行分析处理,数据均以“平均值±标准差”的形式表示,对数据进行ANOVA单因素方差分析和t检验(P<0.05表示差异显著,P<0.01表示差异极显著)。采用GraphPad Prism 8软件进行制图。

表1 脂质代谢相关基因引物序列

目的基因	引物序列(5'-3')	片段大小/bp
$\beta$ -catin	F:TGTCACCAACTGGGACGATA	165
	R:GGGGTGTGAAGGTCTCAAA	
FAS	F:ACCTGGTGACCCTGAATCTG	153
	R:CTTTCGGGATCTGTGCTG	
ACC	F:ACATCGGTCCTGTGTCAGTT	179
	R:TCCATCACACAGCCTTCAT	
AMPK $\alpha$	F:CCCGACACACCCTAGATGAA	167
	R:TGCTCTACACACTTCTGCCA	
SREBP-1c	F:CCCACCTCAAACCTGGATCT	177
	R:TCTCAGCCTGTAGTCCCTCT	

注:FAS. 脂肪酸合成酶;ACC. 乙酰辅酶A 羧化酶;AMPK $\alpha$ . 腺苷酸活化蛋白激酶 $\alpha$ ;SREBP-1c. 固醇调节元件结合蛋白-1c。下同

## 2 结果与讨论

### 2.1 大鼠整体状态及体重

整个实验期间,各组大鼠均无打斗受伤,毛发柔顺有光泽,活泼有生机,进食饮水、排泄均正常。各组大鼠体重如表2所示。

由表2可见:与正常对照组(NF组)相比,2%香榧籽油正常组(NFO组)大鼠在实验第3周、第5周时,体重均显著降低( $P < 0.05$ ),第4周时体重出现极显著降低( $P < 0.01$ );在整个实验期间,高脂对照组(HF组)与2%香榧籽油高脂组(HFO组)大鼠体重差异不显著( $P > 0.05$ )。说明香榧籽油在一定时间内能够减缓正常膳食大鼠体重增长,对高脂膳食大鼠体重无影响。

表2 各组大鼠体重的变化

组别	第1周	第2周	第3周	第4周	第5周	第6周	第7周
NF	197.90 $\pm$ 7.41	256.50 $\pm$ 10.24	321.40 $\pm$ 5.35	365.40 $\pm$ 2.39	419.44 $\pm$ 6.37	447.16 $\pm$ 10.84	445.02 $\pm$ 13.54
NFO	199.54 $\pm$ 9.08	256.28 $\pm$ 7.26	308.14 $\pm$ 11.37 <sup>#</sup>	356.55 $\pm$ 3.47 <sup>##</sup>	409.85 $\pm$ 5.02 <sup>#</sup>	446.45 $\pm$ 7.03	429.44 $\pm$ 30.39
HF	200.70 $\pm$ 5.37	256.84 $\pm$ 9.11	318.10 $\pm$ 15.57	361.25 $\pm$ 28.71	417.93 $\pm$ 43.49	456.60 $\pm$ 41.10	461.65 $\pm$ 40.03
HFO	194.44 $\pm$ 7.36	251.30 $\pm$ 9.28	315.22 $\pm$ 9.88	363.60 $\pm$ 10.76	421.08 $\pm$ 15.98	458.74 $\pm$ 20.27	464.98 $\pm$ 20.50

注:NFO组与NF组相比,#为 $P < 0.05$ ,##为 $P < 0.01$ ;HFO组与HF组相比,\*为 $P < 0.05$ ,\*\*为 $P < 0.01$ 。下同

### 2.2 大鼠血清生化指标的变化(见表3)

表3 大鼠血清生化指标的变化

时间	组别	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	HDL-C/(mmol/L)	LDL-C/(mmol/L)	Glu/(mmol/L)
第4周	NF	1.74 $\pm$ 0.05	1.16 $\pm$ 0.26	0.84 $\pm$ 0.05	0.43 $\pm$ 0.07	9.39 $\pm$ 0.80
	NFO	1.70 $\pm$ 0.08	0.68 $\pm$ 0.04 <sup>#</sup>	1.12 $\pm$ 0.08 <sup>#</sup>	0.47 $\pm$ 0.06	6.17 $\pm$ 0.40 <sup>#</sup>
	HF	1.68 $\pm$ 0.08	1.27 $\pm$ 0.23	0.65 $\pm$ 0.11	0.64 $\pm$ 0.03	8.91 $\pm$ 1.32
	HFO	1.48 $\pm$ 0.07 <sup>*</sup>	1.20 $\pm$ 0.20	0.71 $\pm$ 0.06	0.50 $\pm$ 0.08 <sup>*</sup>	5.04 $\pm$ 0.26 <sup>*</sup>
第7周	NF	1.67 $\pm$ 0.07	0.88 $\pm$ 0.07	1.11 $\pm$ 0.10	0.32 $\pm$ 0.05	6.39 $\pm$ 0.67
	NFO	1.47 $\pm$ 0.10 <sup>#</sup>	0.84 $\pm$ 0.07	1.12 $\pm$ 0.09	0.44 $\pm$ 0.06 <sup>##</sup>	8.42 $\pm$ 1.79
	HF	1.34 $\pm$ 0.12	0.59 $\pm$ 0.19	0.70 $\pm$ 0.20	0.43 $\pm$ 0.02	8.66 $\pm$ 1.50
	HFO	1.25 $\pm$ 0.12	1.17 $\pm$ 0.39 <sup>*</sup>	0.69 $\pm$ 0.07	0.69 $\pm$ 0.07 <sup>*</sup>	8.04 $\pm$ 0.81

由表3可见:饲喂香榧籽油4周后,与NF组相比,NFO组大鼠TG、Glu水平显著降低( $P < 0.05$ ),HDL-C水平显著升高( $P < 0.05$ );与HF组相比,HFO组大鼠TC、Glu和LDL-C水平显著降低( $P < 0.05$ )。说明香榧籽油短期内具有一定降血脂作用。饲喂香榧籽油7周后,与NF组相比,NFO组大鼠TC水平显著降低( $P < 0.05$ ),LDL-C水平极显著升高( $P < 0.01$ );与HF组相比,HFO组大鼠TG、LDL-C水平显著升高( $P < 0.05$ )。提示香榧籽油在后期实验阶段未有显著降血脂作用,高脂膳食大鼠饲喂香榧籽油引起TG、LDL-C水平升高。结合体重变化结果可知,香榧籽油对大鼠体内脂质的沉积有较强的抑制作用,同时可改善因为脂质沉积过

多引起的血脂、血糖紊乱的问题,但香榧籽油减缓大鼠体重增长、调节血脂和血糖水平的生物功效具有时效性。目前市场上的一些降脂药、降糖药对人体肝、肾、胃、肠道有一定损害副作用<sup>[18]</sup>,香榧籽油作为一种富含多不饱和脂肪酸、甾醇、生育酚的植物油,具有开发成天然膳食添加剂、减肥药和降糖药的潜力。

### 2.3 大鼠血清抗氧化指标的变化

SOD、GSH-Px、T-AOC水平可反映机体清除自由基的能力<sup>[19]</sup>,而丙二醛(MDA)含量可反映机体受氧化损伤程度<sup>[20]</sup>。对大鼠血清抗氧化指标进行检测,结果见表4。由表4可见:饲喂香榧籽油4周、7周后,与NF组相比,NFO组大鼠MDA水平均显著降低( $P < 0.05$ );饲喂香榧籽油4周后,与HF

组相比,HFO组大鼠SOD、GSH-Px、T-AOC水平显著升高( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ );饲喂香榧籽油7周后,HFO组大鼠MDA水平极显著高于HF组( $P <$

0.01),说明香榧籽油在实验后期加剧了高脂膳食大鼠的氧化损伤。上述结果说明香榧籽油具有短期内提高高脂膳食SD大鼠血清抗氧化水平的作用。

表4 大鼠血清抗氧化指标的变化

时间	组别	SOD/(U/mL)	MDA/(nmol/mL)	GSH-Px/( $\mu$ mol/L)	T-AOC/(mmol/L)
第4周	NF	362.25 $\pm$ 26.90	11.67 $\pm$ 3.64	2 293.70 $\pm$ 338.30	0.17 $\pm$ 0.04
	NFO	348.60 $\pm$ 26.32	9.72 $\pm$ 4.20 <sup>#</sup>	1 952.33 $\pm$ 17.58	0.21 $\pm$ 0.06
	HF	297.11 $\pm$ 10.77	6.81 $\pm$ 1.12	1 603.29 $\pm$ 167.67	0.14 $\pm$ 0.02
	HFO	333.08 $\pm$ 9.60 <sup>**</sup>	6.22 $\pm$ 2.92	1 907.26 $\pm$ 95.06 <sup>*</sup>	0.22 $\pm$ 0.04 <sup>*</sup>
第7周	NF	378.93 $\pm$ 26.32	5.35 $\pm$ 0.97	1 729.86 $\pm$ 54.38	0.23 $\pm$ 0.13
	NFO	367.73 $\pm$ 27.44	3.89 $\pm$ 0.74 <sup>#</sup>	1 576.44 $\pm$ 105.46	0.19 $\pm$ 0.04
	HF	380.33 $\pm$ 37.96	3.89 $\pm$ 0.01	1 665.62 $\pm$ 185.16	0.19 $\pm$ 0.06
	HFO	378.00 $\pm$ 34.25	7.78 $\pm$ 1.94 <sup>**</sup>	1 571.84 $\pm$ 149.50	0.19 $\pm$ 0.09

#### 2.4 大鼠血清炎症指标的变化

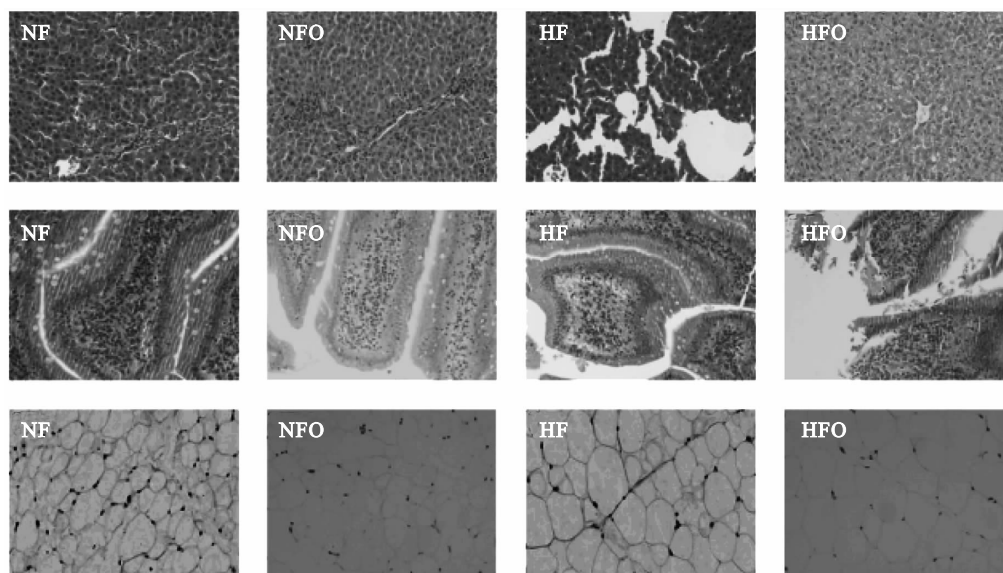
CRP、IL-6是促炎性细胞因子,分泌过量易导致炎性疾病产生<sup>[21]</sup>,而IL-4为抗炎性细胞因子。通过检测大鼠炎症指标表达水平,可对炎症反应紊乱程度进行判断。对大鼠血清炎症指标进行检测,结果见表5。由表5可见,整个实验周期内,NF组和NFO组大鼠血清炎症因子水平无显著差异( $P > 0.05$ )。与HF组相比,饲喂香榧籽油4周后,HFO组大鼠血清IL-6水平极显著升高( $P < 0.01$ );与HF组相比,饲喂香榧籽油7周,HFO组大鼠血清IL-4水平显著升高( $P < 0.05$ ),CRP水平极显著升高( $P < 0.01$ )。说明香榧籽油能促进高脂膳食大鼠细胞因子CRP、IL-6、IL-4的分泌。

表5 大鼠血清炎症指标的变化

时间	组别	CRP/(ng/mL)	IL-6/(pg/mL)	IL-4/(pg/mL)
第4周	NF	729.75 $\pm$ 206.54	87.09 $\pm$ 7.26	79.91 $\pm$ 10.92
	NFO	744.01 $\pm$ 208.63	89.91 $\pm$ 9.34	72.82 $\pm$ 12.65
	HF	816.83 $\pm$ 397.62	71.56 $\pm$ 5.55	61.62 $\pm$ 12.62
	HFO	886.67 $\pm$ 141.55	95.84 $\pm$ 6.43 <sup>**</sup>	77.94 $\pm$ 6.26
第7周	NF	823.24 $\pm$ 154.34	89.97 $\pm$ 8.61	63.35 $\pm$ 13.64
	NFO	806.66 $\pm$ 287.65	84.75 $\pm$ 9.98	69.39 $\pm$ 20.49
	HF	802.02 $\pm$ 153.75	91.60 $\pm$ 2.18	61.70 $\pm$ 8.16
	HFO	1 286.69 $\pm$ 99.91 <sup>**</sup>	91.03 $\pm$ 10.31	70.16 $\pm$ 10.79 <sup>*</sup>

#### 2.5 大鼠组织形态的变化

各组大鼠组织病理形态显微图见图1。



注:第一排为肝组织,第二排为十二指肠组织,第三排为肾周脂肪组织。

图1 各组大鼠组织病理形态显微图(200 $\times$ )

由图1可见:NF组大鼠肝脏细胞大小、形态正常,肝脏组织结构完整且清晰,无炎性细胞浸润;NFO组大鼠肝脏小叶结构完整,肝脏细胞排列规

则,局部汇管区周围及小叶内可见炎性细胞小灶性浸润,未见其他明显异常;HF组大鼠肝脏表面肉眼可见脂肪肝形成,显微镜下观察到肝脏细胞排列不

规则,脂肪变性严重,脂肪空泡占整个肝脏组织比例较大,肝脏小叶内可见炎性细胞灶性浸润;HFO组大鼠肝脏组织广泛可见肝细胞空泡变性,胞质内可见数量不等的微小圆形空泡,小叶内可见炎性细胞灶性浸润,偶见肝细胞坏死,胞核碎裂溶解,胞质嗜酸性增强,伴轻度出血及少量炎性细胞浸润。

NF组大鼠十二指肠肠绒毛排列规则,分界清晰,上皮完整,肠腺数量丰富,无异常情况;NFO组大鼠十二指肠黏膜层及黏膜下层可见少量炎性细胞浸润;HF组大鼠肠绒毛排列不规则,少量肠绒毛顶端上皮细胞缺失;HFO组大鼠十二指肠各层结构清晰,肠绒毛排列不规则,肠腺数量丰富,黏膜层可见少量炎性细胞浸润。

NF组大鼠肾周脂肪组织细胞分界清晰,形态大小均匀正常,无异常;NFO组大鼠肾周脂肪组织细胞分界清晰,但细胞大小不均匀;HF组大鼠肾周脂肪组织细胞体积较大,细胞形态大小正常;HFO组

大鼠肾周脂肪组织细胞大小不均,细胞排列规则,呈蜂窝状,未见明显炎症反应。

本次大鼠组织病理学检查结果与血清炎症指标结果相符,炎性细胞因子升高引发组织炎症。对大鼠组织观测的结果说明香榧籽油并不能改善高脂饮食造成的肝脏细胞损伤,不能减少肝脏脂肪沉积,长期食用香榧籽油肝脏、十二指肠组织会产生轻微炎症,造成脂肪组织细胞大小不均,其他无异常。

## 2.6 大鼠肝脏组织中脂质代谢相关基因表达水平的变化

机体脂质合成通路中,*FAS*、*ACC*、*SREBP-1c*是调控脂类物质合成的关键基因<sup>[22]</sup>。*SREBP-1c*可调控*FAS*、*ACC*表达上调,增加脂肪酸生物合成,触发肝脏脂肪变性<sup>[23]</sup>;而*AMPK $\alpha$* 能抑制脂肪酸代谢途径,使*FAS*、*ACC*表达下调,促进脂质分解代谢<sup>[24]</sup>。大鼠肝脏组织中脂质代谢相关基因表达水平的变化如图2所示。

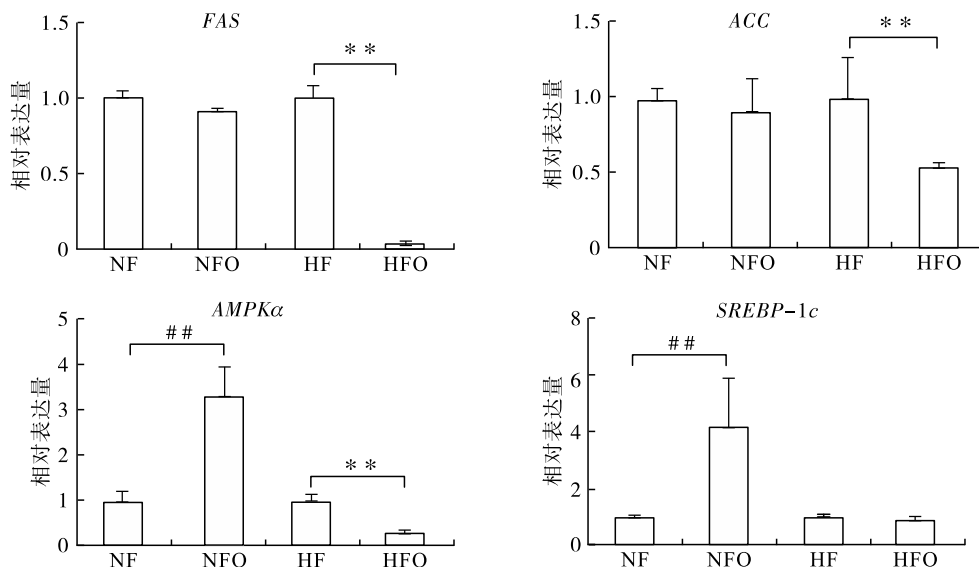


图2 大鼠肝脏组织中脂质代谢相关基因相对表达量的变化

由图2可见:与NF组相比,NFO组大鼠肝脏组织中*FAS*、*ACC*的表达下调,但无显著差异( $P > 0.05$ ),而*AMPK $\alpha$* 、*SREBP-1c*的表达极显著增加( $P < 0.01$ );与HF组相比,HFO组大鼠肝脏组织中*FAS*、*ACC*、*AMPK $\alpha$* 的表达极显著降低( $P < 0.01$ ),*SREBP-1c*表达有下降趋势,但无显著差异( $P > 0.05$ )。结果说明香榧籽油可能通过影响*AMPK $\alpha$* /*SREBP-1c*信号通路改善大鼠脂质代谢。

与NF组相比,香榧籽油能显著增加正常膳食大鼠*AMPK $\alpha$* 和*SREBP-1c*表达,提示香榧籽油可能通过调控*AMPK $\alpha$* /*SREBP-1c*信号通路的表达来抑制从头脂肪酸生物合成,从而减缓大鼠体重增长、

降低血脂、减少氧化应激。高脂膳食容易引发脂质代谢紊乱,HFO组大鼠*FAS*、*ACC*基因表达极显著降低,表明香榧籽油具有改善高脂膳食大鼠脂质代谢异常的作用。

## 3 结论

通过测定SD大鼠体重和血清生化指标的变化,本研究明确了香榧籽油能短期内降低正常膳食大鼠体重、血清中MDA含量并改善血脂水平,短期内能调节高脂膳食大鼠血脂水平,提高血清抗氧化水平,但长期饲喂香榧籽油引起高脂膳食大鼠血清TG、LDL-C、MDA水平升高,炎性细胞因子CRP分泌过多。长期食用香榧籽油,大鼠肝脏、十二指肠组

织偶有炎症,脂肪组织细胞大小不均。饲喂香榧籽油后,正常膳食大鼠 AMPK $\alpha$ /SREBP-1c 信号通路受到上调,高脂膳食大鼠 FAS、ACC、AMPK $\alpha$  基因表达下调。

本实验明确了香榧籽油发挥生物功效具有一定时效性,具有开发成高利用价值功能性食用油的潜力。由于香榧籽油成分复杂,起作用成分尚不明确,需在后期进一步对香榧籽油多种成分进行深入探究,明确香榧籽油降血脂与抗氧化作用机理。

#### 参考文献:

- [1] 杨雪, 万茜淋, 杨阳, 等. 传统中药及成方制剂防治高脂血症的研究进展[J]. 慢性病学杂志, 2020, 21(12): 1811-1815.
- [2] 江青东. 脂多糖诱导肝损伤时脂代谢相关基因的表达变化[D]. 陕西 杨凌:西北农林科技大学, 2014.
- [3] ZHAO L P, ZHANG F, DING X, et al. Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes[J]. Science, 2018, 359(6380): 1151-1156.
- [4] 何胜华, 马莺, 周泉城, 等. 菜籽植物甾醇降小鼠血脂功能的实验研究[J]. 中国油脂, 2005, 30(6): 60-62.
- [5] 黎章矩, 程晓建, 戴文圣, 等. 浙江香榧生产历史、现状与发展[J]. 浙江林学院学报, 2004(4): 113-116.
- [6] 鲍建峰. 香榧假种皮提取物成分分析及功能研究[D]. 杭州:浙江大学, 2010.
- [7] 周大铮. 香榧中抗艾滋病病毒先导化合物的研究和结构修饰[D]. 上海:第二军医大学, 2004.
- [8] 毛家辉. 品种、产地和制油工艺对榧籽油成分的影响[D]. 江苏 无锡:江南大学, 2017.
- [9] 黄海滨. 平衡油脂对小鼠脂代谢的影响及其机理研究[D]. 长沙:湖南农业大学, 2015.
- [10] 黄玉华. 膳食脂肪酸平衡性的调查与营养平衡调油的研究[D]. 南昌:南昌大学, 2007.
- [11] 李琳, 李晓曦, 毕欣芸, 等. n-3 多不饱和脂肪酸对 NOD 小鼠 T 细胞的免疫调节作用[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2019, 39(12): 1707-1711.
- [12] TIEMEIER H, VAN TUIJL H R, HOFMAN A, et al. Plasma fatty acid composition and depression are associated in the elderly: the Rotterdam Study[J]. Am J Clin Nutr, 2003(1): 40-46.
- [13] YASUSHI E, YUKO O, FUMIKO K, et al. Effects of Japanese torrey seed oil on the activities and mRNA expression of lipid metabolism-related enzymes in rats[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2007, 71(1): 231-233.
- [14] 陈振德, 陈志良, 侯连兵, 等. 香榧子油对实验性动脉粥样硬化形成的影响[J]. 中药材, 2000(9): 551-553.
- [15] 徐超, 王鸿飞, 邵兴锋, 等. 香榧子油抗氧化活性及降血脂功能研究[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(8): 43-47.
- [16] 庞道睿. 杨桃酚类物质降脂作用及其改善肝脂变性的机理研究[D]. 广州:华南理工大学, 2018.
- [17] 鲁杨. 凯里红酸汤成分及其对大鼠血脂调节作用研究[D]. 贵阳:贵州医科大学, 2019.
- [18] 许恒忠, 李金英, 韩恩祥. 口服降糖药的临床应用进展[J]. 医药导报, 2007(1): 52-54.
- [19] 曾宇. 当归芍药散抗衰老活性的药效学和药代动力学研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2013.
- [20] 孙亚男, 黄小波, 梁伟, 等. 陈皮、半夏对动脉粥样硬化小鼠 PI3K-Akt 通路、SOD、MDA、SA- $\beta$ -gal 水平的影响[J]. 首都医科大学学报, 2018, 39(6): 805-809.
- [21] 王烨, 朱向东. 葛根苓连汤对 2 型糖尿病 ZDF 大鼠 CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(21): 130-134.
- [22] CHEN Z, YU Y, CAI J J, et al. Emerging molecular targets for treatment of nonalcoholic fatty liver disease[J]. Trends Endocrin Met, 2019, 30(12): 903-914.
- [23] SRIVASTAVA R A, PINKOSKY S L, FILIPPOV S, et al. AMP-activated protein kinase: an emerging drug target to regulate imbalances in lipid and carbohydrate metabolism to treat cardio-metabolic diseases[J]. J Lipid Res, 2012, 53(12): 2490-2514.
- [24] LI Y Q, XU S, MIHAYLOVA M M, et al. AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin-resistant mice[J]. Cell Metab, 2011, 13(4): 376-388.