

奇数链脂肪酸抑制脂多糖诱导的 Caco-2 细胞炎症反应研究

闫雨蒙¹, 张颖¹, 马强², 张杏芳³, 闫媛媛¹, 李晓光¹, 王慧¹

(1. 上海交通大学医学院 公共卫生学院, 上海 200025; 2. 同济大学附属上海市肺科医院, 上海 200433; 3. 上海交通大学医学院 仁济临床医学院, 上海 200025)

摘要:为明确奇数链脂肪酸(OCFA)与人体健康的关系,采用气相色谱-质谱法(GC-MS)检测分析健康人群和结肠癌患者血清中OCFA的分布特征差异,并采用脂多糖(LPS)诱导的Caco-2细胞炎症模型探究OCFA对炎症的抑制效应,包括对细胞活性、促炎因子基因表达以及脂肪酸组成的影响。结果表明:健康人群中的OCFA(C15:0和C17:0)含量显著高于结肠癌人群;男性以及高龄(59岁以上)结肠癌人群中C15:0和C17:0水平偏低;C15:0和C17:0对细胞活力无影响,C15:0能够显著降低LPS刺激后Caco-2细胞中促炎因子*TNF- α* 、*IL-8*和*iNOS*的表达,C17:0能够显著降低促炎因子*IL-6*、*TNF- α* 、*IL-8*和*iNOS*的表达,两种OCFA均能够起到类似于*n-3* PUFA缓解炎症刺激的作用;两种OCFA(C15:0和C17:0)能够在肠道细胞Caco-2中吸收并代谢成C17:0、C17:1。综上,OCFA能够调节肠道炎症因子的表达进而抑制肠上皮细胞炎症反应,对肠道健康有潜在的保护作用。

关键词:奇数链脂肪酸;C15:0;C17:0;肠道炎症;肠道健康

中图分类号:TS201.4;R575 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2024)06-0082-10

Protective effect of odd-chain fatty acids on lipopolysaccharide-induced inflammation in Caco-2 cells

YAN Yumeng¹, ZHANG Ying¹, MA Qiang², ZHANG Xingfang³,
YAN Yuanyuan¹, LI Xiaoguang¹, WANG Hui¹

(1. School of Public Health, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China; 2. Shanghai Pulmonary Hospital Tongji University, Shanghai 200433, China; 3. School of Renji Clinical Medicine, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Abstract: In order to explore the health effects of odd-chain fatty acids (OCFA), serum OCFA levels in the healthy individuals and colon cancer patients were measured by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) to investigate the differences in the distribution characteristics, and the protective effects of OCFA on inflammation by using the lipopolysaccharide (LPS)-induced Caco-2 cell inflammation model were studied, including the changes in cell activity, pro-inflammatory factor gene expression and fatty acid composition. The results showed that the levels of two main OCFA (C15:0 and C17:0) in healthy individuals were significantly higher than that in colon cancer patients. The levels of C15:0 and C17:0 in male patients and patients over the age of 59 were significantly lower. C15:0 and C17

:0 had no effect on cell activity. C15:0 could significantly inhibit the expression of pro-inflammatory factors *TNF- α* , *IL-8* and *iNOS* in Caco-2 cells with LPS stimulation, C17:0 could significantly reduce the expression of *IL-6*, *TNF- α* , *IL-8* and *iNOS*. Two main OCFA could play

收稿日期:2023-06-16;修回日期:2024-03-04

作者简介:闫雨蒙(1998),女,硕士研究生,研究方向为营养与食品卫生(E-mail)yimonyan@sjtu.edu.cn。

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;王慧,教授(E-mail)huiwang@shsmu.edu.cn。

a similar role in alleviating inflammatory stimulation as $n-3$ PUFA. Two main OCFA could be easily incorporated by Caco-2 cells into C17:0 and C17:1 in Caco-2. In conclusion, OCFA may have a potential preventive effect on inflammation and intestinal health by regulating the expression of pro-inflammatory cytokines.

Key words: OCFA; C15:0; C17:0; intestinal inflammation; intestinal health

奇数链脂肪酸(OCFA)是一类碳原子数量为奇数,且通常为11~37的微量活性脂肪酸,一般以饱和脂肪酸形式存在。OCFA在自然界中分布广泛,主要存在于乳制品、反刍动物脂肪、海鱼等食物中^[1]。乳制品是人类摄入OCFA的主要食物来源,如牛奶中十五烷酸(C15:0)占总脂肪酸的0.62%~17.5%,十七烷酸(C17:0)占0.46%~2.52%^[2-3]。此外,在人体血清、肝脏、脑组织、脂肪、红细胞中已检出OCFA^[4-5]。与饱和偶数链脂肪酸(ECFA)相比,OCFA因其对人类多种代谢性疾病有保护作用而受到广泛关注。研究显示,血浆中的OCFA与冠心病、2型糖尿病以及肥胖等代谢性疾病风险呈负相关^[6-9],且高水平OCFA的摄入与人群总死亡率降低有关^[10]。因此,OCFA是一类对健康有益的脂肪酸。

流行病学研究表明,慢性肠道炎症性疾病具有发病率高、病程缓慢和极易复发的特征,且炎症性肠病(IBD),如溃疡性结肠炎和克罗恩病会增加结直肠癌(CRC)的患病风险,超过20%的IBD患者在病程30年后会发展为CRC^[11-13]。炎症反应早期,促炎细胞因子的大量分泌,引起了局部炎症反应并损伤机体。已有研究表明,IBD患者的肠道组织以及CRC患者血液循环中含有大量促炎细胞因子,如IL-6、IL-1 β 、IL-8和TNF- α 等,超出了机体正常免疫调节的范围,不利于损伤组织的修复^[14-15]。营养支持在调节慢性炎症和宿主免疫系统方面发挥着重要作用,例如脂肪酸可以作为内源性配体影响宿主的炎症状态^[16-17], $n-3$ 多不饱和脂肪酸(PUFA)中的二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)与结肠炎症和CRC患病率的降低相关^[18],而饱和ECFA会激活体外培养的脂肪细胞中TLR-4的表达,增加多种促炎基因的表达水平^[19]。

目前,有关不饱和ECFA抗炎特性的报道很多,但对于OCFA的研究主要集中于肥胖、糖尿病等代谢性疾病以及乳腺癌等疾病的研究上^[6-9,20],OCFA对炎症的调节作用以及其在肠道细胞中的吸收情况还未见报道。因此,本研究利

用气相色谱-质谱(GC-MS)技术分析了肠道健康人群和结肠癌人群的血清脂肪酸特征,探究了C15:0和C17:0两种主要的OCFA对脂多糖(LPS)诱导的肠上皮Caco-2细胞中炎症因子表达的调节作用,并对比其与C16:0、DHA、EPA抗炎作用的差异,研究OCFA对炎症的预防和保护作用,以期OCFA在促进肠道健康方面的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 样本与试剂

本研究纳入了上海交通大学医学院附属瑞金医院2020—2021年结肠癌患者27例,其中男性18例,女性9例,均经肠镜检查分析为结肠癌。在医院体检人群中随机抽取39例健康体检者为健康对照组,均排除高血压、糖尿病等基础疾病,其中男性20例,女性19例。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,取样经患者及家属同意,遵守上海交通大学医学院附属瑞金医院的道德规范、1975年《赫尔辛基宣言》中规定的伦理标准,并经过上海交通大学医学院伦理委员会审查批准。

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、十五烷酸(C15:0)、十七烷酸(C17:0)、DHA、EPA、LPS、牛血清白蛋白(BSA),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;人肠上皮细胞Caco-2,美国模式培养物集存库;MEM培养基、胎牛血清(FBS)、非必需氨基酸、胰酶、青链霉素混合液(100 \times),Gibco公司;CCK-8试剂盒,东仁化学科技(上海)有限公司;Trizol裂解液,天根生化科技(北京)有限公司;Direct-zolTM RNA Miniprep试剂盒(ZYMO-Research),上海睿安生物科技有限公司;反转录试剂盒PrimeScriptTM RT reagen Kit、实时荧光定量试剂盒SYBR Premix Ex TaqTM II (TaKaRa),上海百赛生物技术股份有限公司。

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;倒置相差显微镜,奥林巴斯(中国)有限公司;台式离心机,德国艾本德公司;PCR 仪,伯乐生命医学产品(上海)有限公司;二氧化碳培养箱、超低温冰箱、实时荧光定量 PCR 仪,美国赛默飞世尔科技公司;多功能酶标仪,美国伯腾仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理

将新鲜血液样本放入不含抗凝剂的试管中,在室温下保持 30 min 使血液凝固,并在 4℃ 下以 $3\,000 \times g$ 离心 15 min,取上清液(血清)并储存在 -80℃ 超低温冰箱内用于后续检测分析。

1.2.2 血清中脂类的提取

将 400 μL 血清样本用蒸馏水稀释定容至 1.8 mL,加入 6 mL 体积比为 2:1 的氯仿-甲醇混合溶液,振荡 30 min。加入 2 mL 氯仿后振荡混匀,继续加入 2 mL 饱和 NaCl 溶液,充分振荡混匀后室温下离心(3 500 r/min) 10 min,吸取下层液体于玻璃试管内,氮吹除去溶剂至恒重,将提取得到的脂类(血脂)储存在玻璃试管中。

1.2.3 血清脂肪酸组成的测定

采用 Bligh and Dyer 法^[21]将血脂制成脂肪酸甲酯(FAME)。取血脂样品于玻璃试管中,使用 0.5 mol/L 氢氧化钠-甲醇溶液溶解,于 65℃ 金属浴助溶。随后加入 1 mL 10% 三氟化硼-甲醇溶液,100℃ 金属浴中反应 10 min。加入 2 mL 正己烷、2 mL 饱和 NaCl 溶液,充分振荡后离心,吸取上清液至另一玻璃试管中,向原反应液中再次加入 2 mL 正己烷,重复离心,合并上清液。氮吹干燥上清液,获得 FAME。使用正己烷复溶 FAME,经 0.22 μm 膜过滤后进气相色谱质谱联用仪分析。

仪器条件:HP-5MS 色谱柱(30 m \times 0.32 mm \times 0.25 μm);升温程序为初温 50℃,保持 1 min,以 10℃/min 升至 210℃,保持 1 min,最后以 3℃/min 升至 240℃,保持 18 min;电子电离源;电子能量 70 eV;离子源温度 230℃;传输线温度 250℃;载气为高纯 He(99.999%);全扫描模式,质量扫描范围(m/z)50~330。

采用峰面积归一化法对脂肪酸进行定量。

1.2.4 Caco-2 细胞的培养

Caco-2 细胞培养于含有 20% FBS、1% 青链霉素混合液、1% 非必需氨基酸的 MEM 培养基中,接种于 T-75 cm^2 细胞培养瓶中,置于 37℃、5% CO_2 细胞培养箱中扩增培养,隔 2 d 换液,待细胞密度达到 90% 左右时进行消化传代,进行以下实验。

1.2.5 脂肪酸对 Caco-2 细胞的毒性实验

取对数生长期 Caco-2 细胞,以 1×10^5 个/mL 的密度接种于 96 孔板中,每孔 100 μL 细胞悬液,待完全贴壁后,弃掉培养液进行脂肪酸预处理。实验组:各孔加入 100 μL 不同浓度(10、25、50、100 $\mu\text{mol/L}$)的 C15:0、C16:0、C17:0 溶液,50 $\mu\text{mol/L}$ 的 C15:0、C16:0、C17:0、DHA、EPA 溶液,每个处理浓度设置 6 个重复孔。对照组:各孔加入 100 μL MEM 培养基,设置 6 个重复孔。空白组:不含细胞的孔中,加入细胞培养液,设置 6 个重复孔。细胞培养 24 h 后,每孔加入 10 μL CCK-8 试剂,继续培养 2~3 h 后,使用酶标仪测定 450 nm 处吸光度。按公式(1)计算细胞活力(Y)。

$$Y = (A_2 - A_0) / (A_1 - A_0) \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_2 为实验组的吸光度; A_1 为对照组的吸光度; A_0 为空白组的吸光度。

1.2.6 脂肪酸对 LPS 诱导的肠道炎症因子表达作用的测定

取对数生长期 Caco-2 细胞,以 2×10^5 个/mL 的密度接种于 12 孔板中,每孔 1 mL 细胞悬液,待完全贴壁后,弃掉培养液进行脂肪酸预处理。实验组加入 1 mL 浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 的 C15:0、C16:0、C17:0、DHA、EPA 溶液,同时设置空白组和对照组(均加入同体积 0.33 mmol/L BSA 溶液),每组设置 3 个重复孔,孵育 24 h 后,用 0.01 mmol/L PBS 洗涤 2 次,除空白组外均加入 5 $\mu\text{g/mL}$ 的 LPS,继续培养 24 h。用 1 mmol/L PBS 洗涤 2 次后用 Trizol 裂解液裂解细胞,使用 Direct-zolTM RNA Miniprep 试剂盒提取细胞 RNA,使用 PrimeScriptTM RT reagen Kit 将 RNA 反转录为 cDNA,采用 SYBR Premix Ex TaqTM II 进行实时定量 PCR 反应,以测定促炎因子基因的表达量。使用 GAPDH 作为内参基因。按照公式(2)计算各处理组促炎因子基因的相对表达量(R)。

$$R = 2^{-\Delta\Delta C_t} = 2^{\Delta C_t(\text{空白组}) - \Delta C_t(\text{处理组})} \quad (2)$$

式中: ΔC_t 为促炎因子基因与内参基因循环阈值差值; $\Delta\Delta C_t$ 为处理组与空白组 ΔC_t 差值。

本研究中使用的 PCR 引物序列如表 1 所示。

表1 实时荧光定量PCR引物序列

基因	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')
<i>IL-6</i>	AGACAGCCACTCACCTCTTCAG	TTCTGCCAGTGCCTCTTTGCTG
<i>IL-8</i>	GAGAGTGATTGAGAGTGGACCAC	CACAACCCTCTGCACCCAGTTT
<i>TNF-α</i>	CTCTTCTGCCTGCTGCACTTTG	ATGGGCTACAGGCTTGTCACTC
<i>iNOS</i>	GCTCTACACCTCCAATGTGACC	CTGCCGAGATTTGAGCCTCATG
<i>GAPDH</i>	CATCACTGCCACCCAGAAGACTG	ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTCAG

1.2.7 炎症细胞脂肪酸组成的测定

按1.2.6中的方法加入5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS继续培养24 h后,离心收集细胞,再分别按照1.2.2和1.2.3的方法提取脂类和分析其脂肪酸组成。

1.2.8 数据处理

所有统计分析均使用IBM SPSS 22.0软件进行。连续变量使用“平均值 \pm 标准偏差”表示,组间差异比较采用独立双样本*t*检验。分类变量采用率

的形式表示,采用卡方检验进行比较。 $p < 0.05$ 认为差异有统计学意义。使用GraphPad Prism 8软件进行绘图,具体统计结果以* ($p < 0.05$)、** ($p < 0.01$)、*** ($p < 0.001$)表示。

2 结果与讨论

2.1 研究对象基本特征

本研究共有66人参与,其基本特征如表2所示。

表2 研究对象基本特征

组别	总数量(例)	数量(例)			平均年龄(岁)		
		<45岁	45~59岁	>59岁	男	女	
健康对照组	39	11	15	13	20	19	53.62 \pm 12.01
结肠癌组	27	2	10	15	18	9	59.26 \pm 10.09

由表2可知,在参与本研究的66人中,结肠癌组27例(40.9%),健康对照组39例(59.1%)。根据年龄,将研究人群分为低于45岁、45~59岁和高于59岁,两组人群之间年龄和性别的分布均没有统

计学差异,具有可比性。

2.2 两组人群血清脂肪酸组成

两组人群血清脂肪酸组成及相对含量见表3。

表3 两组人群血清脂肪酸组成与相对含量

脂肪酸	健康对照组	结肠癌组	脂肪酸	健康对照组	结肠癌组
饱和脂肪酸			不饱和脂肪酸		
C11:0	0.01 \pm 0.01 ^a	0.01 \pm 0.01 ^a	C14:1	5.18 \pm 3.56 ^a	2.09 \pm 2.69 ^b
C13:0	0.03 \pm 0.03 ^a	0.04 \pm 0.02 ^a	C16:1	1.63 \pm 0.66 ^a	1.53 \pm 0.79 ^a
C15:0	0.21 \pm 0.07 ^a	0.16 \pm 0.05 ^b	C17:1	0.14 \pm 0.11 ^a	0.10 \pm 0.06 ^b
C17:0	0.27 \pm 0.06 ^a	0.24 \pm 0.05 ^b	γ -C18:3	0.13 \pm 0.12 ^a	0.15 \pm 0.15 ^a
C21:0	0.01 \pm 0.02 ^a	0.01 \pm 0.01 ^a	α -C18:3	29.19 \pm 3.61 ^a	30.40 \pm 5.61 ^a
C23:0	0.02 \pm 0.03 ^a	0.02 \pm 0.02 ^a	C18:2	6.21 \pm 1.44 ^a	6.37 \pm 1.58 ^a
总 OCFA	0.56 \pm 0.11 ^a	0.48 \pm 0.07 ^b	C18:1	1.61 \pm 0.54 ^a	1.76 \pm 0.38 ^a
C10:0	0.04 \pm 0.07 ^a	0.04 \pm 0.06 ^a	C20:5	0.55 \pm 0.44 ^a	0.39 \pm 0.22 ^a
C12:0	2.19 \pm 1.54 ^a	1.85 \pm 1.14 ^a	C20:4	7.63 \pm 2.66 ^a	7.74 \pm 2.55 ^a
C14:0	0.97 \pm 0.38 ^a	0.87 \pm 0.32 ^a	C20:3	1.42 \pm 0.50 ^a	1.42 \pm 0.46 ^a
C16:0	30.04 \pm 4.34 ^b	31.89 \pm 2.90 ^a	C20:1	0.91 \pm 0.95 ^a	0.58 \pm 0.72 ^a
C18:0	9.96 \pm 1.66 ^a	10.74 \pm 2.58 ^a	C22:6	1.65 \pm 0.65 ^a	1.61 \pm 0.67 ^a
总 ECFA	43.19 \pm 5.33 ^a	45.39 \pm 3.85 ^a			

注:同行不同字母表示差异显著($p < 0.05$)

由表3可知,血清样本中共检测出23种脂肪酸,包括6种OCFA,5种饱和ECFA,5种单不饱和脂肪酸(MUFA)和7种PUFA。其中OCFA包括C11:0、C13:0、C15:0、C17:0、C21:0和C23:0,占脂肪酸总量的0.48%~0.56%,这与先前几项大规模流行病学研究的结果^[22]一致。结肠癌组中检出的总OCFA含量(0.48%)显著低于肠道健康组的(0.56%)。其中,C15:0和C17:0是人血清中最主要的两种OCFA,合计占总OCFA的比例超过80%,结肠癌组C15:0和C17:0含量显著低于健康对照组。

碳链长度为10~22的ECFA是人血清中脂肪酸的主要组成^[23],本研究检测出的饱和ECFA占脂肪酸总量的43.19%~45.39%,两组间总饱和ECFA含量无显著差异。值得注意的是,结肠癌组C16:0含量(31.89%)显著高于健康对照组(30.04%),而其他饱和ECFA(C10:0、C12:0、C14:0、C18:0)在两组间的差异均无统计学意义。在检测出的MUFA中,健康对照组C14:1和C17:1含量显著高于结肠癌组,而其他MUFA(C16:1、C18:1、C20:1)在两组间均无显著差异($p > 0.05$)。在检测出的PUFA中,EPA(C20:5)、DHA(C22:6)、 α -C18:3、 γ -C18:3、C18:2、C20:4和C20:3在两组中也均未观察到显著差异。综上,结肠癌组血清中具有较高含量的C16:0和较低含量的C15:0和C17:0,提示OCFA可能是潜在的健康功能性脂肪酸,其与饱和ECFA的功能差异值得进一步探究。

2.3 两组人群中亚组的OCFA水平

按照性别和年龄分别对6种OCFA、2种饱和ECFA(C16:0、C18:0)和2种 $n-3$ PUFA(C20:5和C22:6)进行了亚组分析,其结果分别见表4、表5。

由表4可知,在男性亚组中,结肠癌组血清中总OCFA水平显著低于健康对照组,其中C15:0在结肠癌患者中仅占脂肪酸总量的0.16%,显著低于肠道健康人群的0.22%($p < 0.05$)。同样,男性结肠癌组血清中C17:0含量也较健康对照组显著降低($p < 0.05$)。而在女性亚组中,未观察到总OCFA在两组之间有显著差异。一项关于2型糖尿病的前瞻性研究表明,女性群体中C15:0和C17:0与2型糖尿病的负相关性比在男性中更强^[7],OCFA与不同疾病之间的性别特异性关联可能受男女不同激素水平和饮食模式的影响^[24]。

由表5可知,总OCFA在两组人群间的显著差异仅出现在59岁以上的亚组中,这个年龄段的结肠癌组血清中总OCFA含量(0.45%)显著低于健康对照组(0.53%),主要是由于C15:0和C17:0两种主要的OCFA含量降低导致。这表明老年人群中OCFA摄入的减少与患结直肠癌病存在相关性,年龄可能是影响OCFA代谢的重要因素。在探究血清OCFA含量与结肠癌之间的关系时,由于本研究采用的是横断面设计,无法推断OCFA与结肠癌之间的因果关系,还需进一步扩大人群样本量和功效机制实验来验证上述结果。

表4 脂肪酸相对含量性别亚组分析结果

%

脂肪酸	健康对照组		结肠癌组	
	男性	女性	男性	女性
饱和脂肪酸				
C11:0	0.01 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.02 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.01 ^a
C13:0	0.03 ± 0.03 ^a	0.03 ± 0.02 ^a	0.04 ± 0.02 ^a	0.04 ± 0.02 ^a
C15:0	0.22 ± 0.09 ^a	0.20 ± 0.06 ^a	0.16 ± 0.05 ^b	0.17 ± 0.05 ^a
C17:0	0.27 ± 0.05 ^a	0.27 ± 0.06 ^a	0.23 ± 0.05 ^b	0.26 ± 0.05 ^a
C21:0	0.01 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.02 ^a	0.01 ± 0.01 ^a	0.01 ± 0.01 ^a
C23:0	0.02 ± 0.02 ^a	0.02 ± 0.04 ^a	0.02 ± 0.02 ^a	0.02 ± 0.01 ^a
总OCFA	0.57 ± 0.12 ^a	0.56 ± 0.10 ^a	0.47 ± 0.06 ^b	0.50 ± 0.08 ^a
C16:0	30.72 ± 3.71 ^a	29.31 ± 4.91 ^a	31.68 ± 2.90 ^a	32.30 ± 3.02 ^a
C18:0	9.97 ± 1.66 ^a	9.94 ± 1.70 ^a	10.69 ± 2.94 ^a	10.83 ± 1.77 ^a
总ECFA	43.89 ± 5.34 ^a	42.46 ± 5.37 ^b	45.19 ± 4.39 ^a	45.79 ± 2.66 ^a
不饱和脂肪酸				
C20:5	0.49 ± 0.48 ^a	0.62 ± 0.39 ^a	0.39 ± 0.26 ^a	0.39 ± 0.15 ^a
C22:6	1.51 ± 0.48 ^a	1.79 ± 0.79 ^a	1.74 ± 0.70 ^a	1.36 ± 0.56 ^a

注:表中同行同一性别不同字母表示差异显著($p < 0.05$)

表5 脂肪酸相对含量年龄亚组分析结果

%

脂肪酸	健康对照组			结肠癌组		
	<45岁	45~59岁	>59岁	<45岁	45~59岁	>59岁
饱和脂肪酸						
C11:0	0.01 ± 0.01 ^a	0.01 ± 0.02 ^a	0.01 ± 0.02 ^a	0.02 ± 0.01 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.01 ^a
C13:0	0.04 ± 0.04 ^a	0.04 ± 0.03 ^a	0.02 ± 0.01 ^a	0.05 ± 0.03 ^a	0.04 ± 0.02 ^a	0.04 ± 0.02 ^a
C15:0	0.22 ± 0.09 ^a	0.22 ± 0.06 ^a	0.18 ± 0.07 ^a	0.17 ± 0.01 ^a	0.20 ± 0.04 ^a	0.13 ± 0.04 ^b
C17:0	0.27 ± 0.04 ^a	0.27 ± 0.07 ^a	0.29 ± 0.05 ^a	0.21 ± 0.05 ^a	0.25 ± 0.06 ^a	0.24 ± 0.04 ^b
C21:0	0.01 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.02 ^a	0.01 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.02 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	0.01 ± 0.01 ^a
C23:0	0.02 ± 0.02 ^a	0.02 ± 0.04 ^a	0.02 ± 0.01 ^a	0.03 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.02 ^a
总 OCFA	0.58 ± 0.13 ^a	0.58 ± 0.11 ^a	0.53 ± 0.10 ^a	0.48 ± 0.12 ^a	0.52 ± 0.06 ^a	0.45 ± 0.06 ^b
C16:0	31.39 ± 3.58 ^a	30.17 ± 3.95 ^a	28.73 ± 5.21 ^a	33.30 ± 7.18 ^a	33.00 ± 2.37 ^a	30.96 ± 2.49 ^a
C18:0	9.54 ± 1.93 ^a	9.75 ± 1.42 ^a	10.54 ± 1.64 ^a	8.21 ± 0.73 ^a	10.29 ± 1.12 ^a	11.38 ± 3.16 ^a
总 ECFA	44.14 ± 5.21 ^a	43.48 ± 5.18 ^a	42.06 ± 5.81 ^a	45.89 ± 6.04 ^a	46.35 ± 3.35 ^a	44.69 ± 4.06 ^a
不饱和脂肪酸						
C20:5	0.40 ± 0.20 ^a	0.64 ± 0.54 ^a	0.59 ± 0.44 ^a	0.50 ± 0.45 ^a	0.35 ± 0.21 ^a	0.41 ± 0.22 ^a
C22:6	1.49 ± 0.51 ^a	1.67 ± 0.68 ^a	1.76 ± 0.74 ^a	1.34 ± 0.66 ^a	1.30 ± 0.64 ^a	1.86 ± 0.62 ^a

注:表中同行同一年龄段不同字母表示差异显著($p < 0.05$)

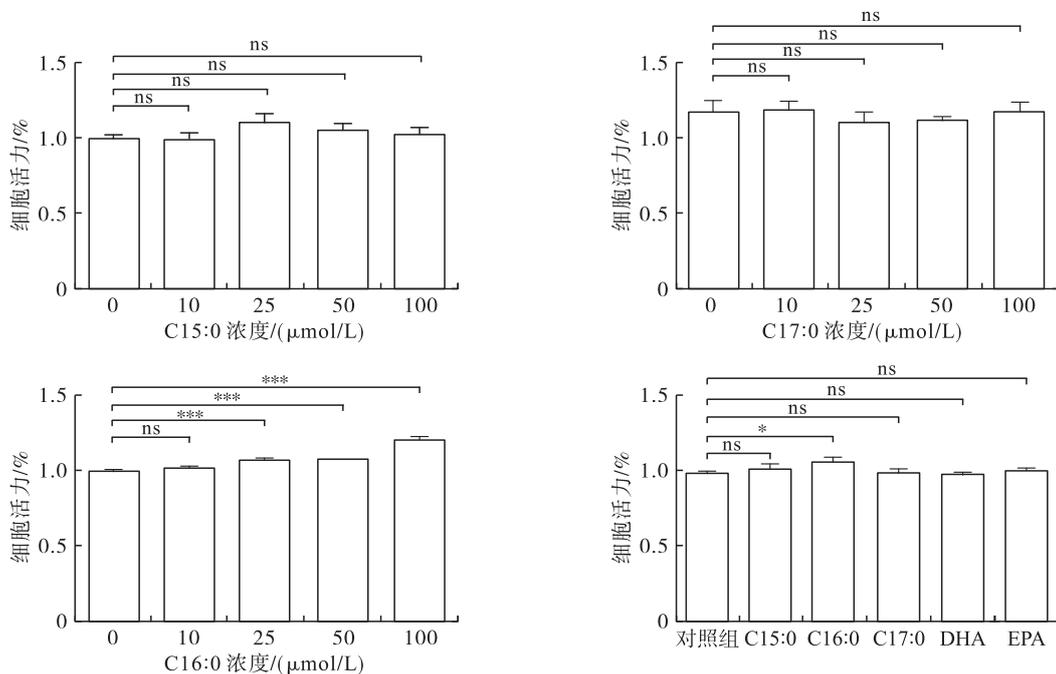
2.4 OCFA对LPS诱导的Caco-2细胞炎症的作用

2.4.1 对细胞活力的影响

不同脂肪酸处理对Caco-2细胞活力的影响如图1所示。

由图1可知,与不添加脂肪酸组相比,C15:0、C17:0浓度在10~100 $\mu\text{mol/L}$ 时,对Caco-2细胞活力的影响较小,无显著差异。C16:0浓度在25~

100 $\mu\text{mol/L}$ 时,Caco-2细胞活力随其浓度的增加而增加。对比不同脂肪酸处理结果,50 $\mu\text{mol/L}$ 的OCFA(C15:0和C17:0)和 $n-3$ PUFA(DHA、EPA)对Caco-2细胞活力没有影响,而C16:0则导致Caco-2细胞活力增加。以上结果表明,饱和ECFA中C16:0有促进结肠癌细胞生长的潜力,而同样浓度的OCFA(C15:0和C17:0)与 $n-3$ PUFA(DHA、EPA)对Caco-2细胞活力无显著影响。



注:ns为无显著差异($p > 0.05$),下同

图1 不同脂肪酸处理对Caco-2细胞活力的影响

2.4.2 对 LPS 诱导的肠道炎症因子表达的作用

$TNF-\alpha$ 、白细胞介素-6($IL-6$)、白细胞介素-8($IL-8$)和一氧化氮合酶($iNOS$)等促炎因子通常在多种癌症及炎症组织中表达上调,与肿瘤细胞增殖、炎症进展等相关^[25-28]。为了探究 OCFA 对胞内

促炎因子的调控作用,用 $50\ \mu\text{mol/L}$ 脂肪酸预处理 Caco-2 细胞 24 h 后给予 $5\ \mu\text{g/mL}$ 的 LPS 刺激,考察不同脂肪酸对 LPS 诱导的肠道炎症因子基因的相对表达量的影响,结果如图 2 所示。

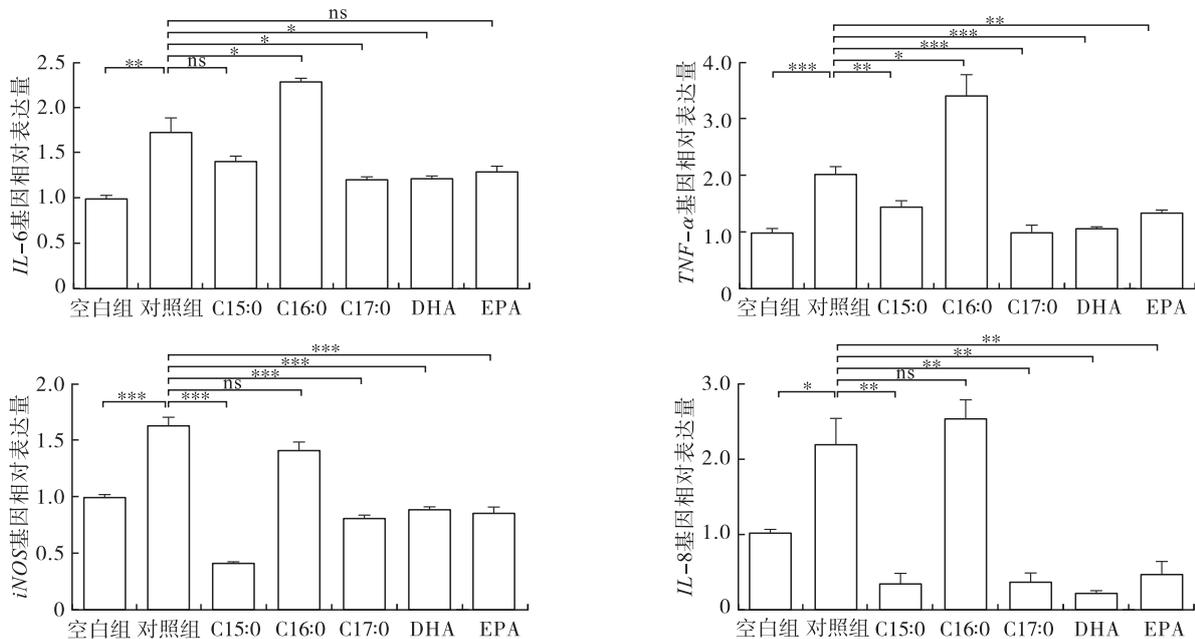


图 2 不同脂肪酸处理对炎症因子基因表达的影响

由图 2 可知,与正常细胞(空白组)相比,LPS 刺激后的细胞(对照组)中 $IL-6$ 、 $IL-8$ 、 $TNF-\alpha$ 和 $iNOS$ 基因的表达显著提高。相较于对照组,C15:0 预处理过的细胞中 $TNF-\alpha$ 、 $iNOS$ 和 $IL-8$ 的表达显著降低, $IL-6$ 基因表达水平无显著变化;C17:0 预处理组和 DHA 和 EPA 预处理组细胞中 $IL-6$ 、 $TNF-\alpha$ 、 $IL-8$ 和 $iNOS$ 的表达降低。以往的研究也显示 DHA 和 EPA 能在白介素 1β ($IL-1\beta$) 刺激的 Caco-2 细胞中减少 $IL-6$ 、 $IL-8$ 细胞因子的分泌^[29],且还可以作为 GPR120 配体抑制 TLR2/3/4 和 $TNF-\alpha$ 促炎信号通路^[30]。本研究发现,OCFA 与 DHA、EPA 相似,均具有抑制炎症的能力,但 C16:0 预处理增强了 $TNF-\alpha$ 和 $IL-6$ 的表达。饱和脂肪酸中主要的 ECFA 能够激活 $TLR-4$ 的表达,增加多种促炎基因的表达^[19],C16:0 能够改变 HepG2 细胞中 $NF-\kappa B$ /AMPK/mTOR 信号通路并通过促进 $IL-6$ 、 $TNF-\alpha$ 的分泌,促进炎症反应^[31]。以上结果说明,相比于 C16:0,C15:0 和 C17:0 两种 OCFA 在 Caco-2 细胞中能够起到类似于 $n-3$ PUFA 缓解炎症刺激的作用。

2.5 OCFA 对炎症细胞中脂肪酸组成的影响

血清脂肪酸的组成取决于膳食脂肪酸的摄入,但除此之外内源性脂肪酸代谢(包括脂肪酸合成、去饱和、延伸、反转化和氧化^[32])也在其中扮演着重

要角色。中链和长链 OCFA(超过 12 个碳)的摄取过程需要脂肪酸转运蛋白的协助^[33]。为探究不同种类脂肪酸共孵育对炎症状态下 Caco-2 细胞脂肪酸组成的影响,测定了细胞吸收代谢外源补充脂肪酸底物之后,炎症细胞模型胞内脂肪酸组成的变化情况,结果如表 6 所示。

由表 6 可知,加入 C15:0 底物时,胞内的 C15:0 及其碳链延长产物 C17:0 含量显著提高,这表明炎症状态下 Caco-2 细胞内有延长酶的活跃,例如超长链脂肪酸蛋白 6(ELOVL6)能特异性催化内质网中 C15:0 的延长^[32, 34],而 C16:0 和 C18:0 的含量则显著降低。加入 C17:0 底物时,仅观察到其本身的累积显著增加,C18:2 和 C18:1 的含量显著降低,未观察到延长产物 C21:0 或 C23:0 含量的显著变化,且在细胞或人血清样本中均未检测到 C19:0,这与之前的研究结果^[34]一致。此外,C15:0 和 C17:0 底物的加入,均使 Caco-2 细胞中 C17:1 含量显著增加,这可能与脂肪酸去饱和酶 2(FADS2) $\Delta 6$ 或硬脂酰辅酶 A 去饱和酶(SCD) $\Delta 9$ 的活化有关^[35]。加入 C16:0 底物时,仅观察到 C16:0 含量显著增加。培养基中补充 DHA 和 EPA 底物同样显著增加了胞内对应脂肪酸的累积。以上结果表明,肠上皮细胞能够显著吸收外源补充的脂肪酸底物,C15:0 脂肪酸

补充组有显著的碳链延长反应,且减少了饱和 ECFA 在细胞内的积累,这表明 OCFA 与饱和

在细胞的摄取过程中存在竞争性抑制,OCFA 更易被肠道吸收代谢。

表6 不同脂肪酸底物处理时炎症细胞的脂肪酸组成及相对含量

脂肪酸	对照组	C15:0	C16:0	C17:0	DHA	EPA	%
C14:0	2.13 ± 0.26	1.88 ± 0.24	1.84 ± 0.30	1.95 ± 0.11	2.31 ± 0.32	2.47 ± 0.07	
C15:0	0.42 ± 0.05	5.40 ± 0.28***	0.56 ± 0.38	0.51 ± 0.07	0.52 ± 0.07	0.65 ± 0.23	
C16:1	6.05 ± 0.68	6.37 ± 0.42	5.91 ± 0.61	6.26 ± 0.35	7.20 ± 0.77	7.07 ± 0.71	
C16:0	19.47 ± 0.57	15.64 ± 0.81**	21.07 ± 0.74**	17.32 ± 2.14	18.35 ± 1.57	18.11 ± 0.83	
C17:1	1.35 ± 0.11	2.24 ± 0.34**	1.20 ± 0.15	3.29 ± 0.21***	1.43 ± 0.15	1.43 ± 0.09	
C17:0	0.78 ± 0.05	2.96 ± 0.18***	0.62 ± 0.08	7.37 ± 0.32***	0.76 ± 0.10	0.76 ± 0.09	
α-C18:3	2.23 ± 0.15	2.22 ± 0.15	2.15 ± 0.26	2.26 ± 0.06	2.13 ± 0.24	2.39 ± 0.39	
C18:2	30.49 ± 1.91	29.42 ± 2.29	29.58 ± 1.62	27.43 ± 1.19*	28.95 ± 2.17	27.98 ± 2.24	
C18:1	8.97 ± 0.70	8.70 ± 0.43	8.77 ± 0.58	7.59 ± 0.72*	8.85 ± 0.26	8.91 ± 0.96	
C18:0	13.24 ± 0.53	11.34 ± 0.93*	12.91 ± 0.51	11.90 ± 0.52	12.82 ± 0.65	12.67 ± 0.37	
C20:4	4.21 ± 0.42	3.95 ± 0.14	4.28 ± 0.51	3.85 ± 0.49	4.51 ± 0.81	4.27 ± 0.54	
C20:5	1.14 ± 0.14	1.10 ± 0.11	1.27 ± 0.15	1.03 ± 0.10	1.22 ± 0.23	2.64 ± 0.30***	
C20:3	1.16 ± 0.24	1.04 ± 0.08	1.26 ± 0.41	1.02 ± 0.15	1.11 ± 0.13	1.20 ± 0.25	
C20:1	3.21 ± 0.32	2.70 ± 0.35	3.09 ± 0.53	2.75 ± 0.42	3.07 ± 0.58	3.49 ± 1.15	
C20:0	0.45 ± 0.04	0.40 ± 0.03	0.44 ± 0.09	0.38 ± 0.05	0.47 ± 0.09	0.52 ± 0.14	
C21:0	0.03 ± 0.03	0.01 ± 0.00	0.22 ± 0.35	0.05 ± 0.03	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.01	
C22:6	2.25 ± 0.35	2.19 ± 0.09	2.34 ± 0.50	2.25 ± 0.21	4.02 ± 1.21*	2.66 ± 0.62	
C22:5	1.58 ± 0.50	1.30 ± 0.09	1.43 ± 0.37	1.53 ± 0.15	1.48 ± 0.20	1.69 ± 0.45	
C22:1	0.18 ± 0.03	0.58 ± 0.75	0.36 ± 0.35	0.52 ± 0.66	0.18 ± 0.02	0.21 ± 0.03	
C22:0	0.46 ± 0.05	0.37 ± 0.10	0.35 ± 0.07	0.36 ± 0.08	0.40 ± 0.06	0.52 ± 0.12	
C23:0	0.09 ± 0.04	0.10 ± 0.10	0.17 ± 0.11	0.24 ± 0.15	0.08 ± 0.05	0.13 ± 0.10	

3 结论

本研究利用 GC-MS 测定了健康人群、结肠癌患者血清中的脂肪酸组成,并采用 Caco-2 细胞炎症模型探究 OCFA 对炎症的抑制效应。结果表明:两组人群血清中共检测出 6 种 OCFA,其中结肠癌患者血清中两种主要 OCFA(C15:0 和 C17:0)水平显著低于肠道健康人群,男性以及高龄(59 岁以上)结肠癌人群中 C15:0 和 C17:0 水平偏低;不同浓度的 C15:0 和 C17:0 对 Caco-2 细胞活力无显著影响;体外补充 C15:0 和 C17:0 能抑制 Caco-2 细胞中 *IL-6*、*IL-8*、*TNF-α* 和 *iNOS* 促炎因子的表达;此外,Caco-2 细胞能够显著吸收代谢两种主要的 OCFA 和 DHA、EPA 底物,其中 C15:0 有显著的碳链延长反应,能够下调细胞内促炎饱和 ECFA 水平。综上,OCFA 是人体中一类有益肠道健康的脂肪酸,通过抑制肠上皮细胞炎症因子表达预防肠上皮细胞炎症反应,以发挥肠道健康的保护作用。

参考文献:

- [1] COSKUNTUNA L, GECGEL U, YILMAZ I, et al. Investigating fatty acid composition of samples were homogenized various meat and offal products from Turkey [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2015, 92(5): 659-665.
- [2] SANTIAGO B M, DA SILVA F F, SILVA R R, et al. Effect of different roughages sources on performance, milk composition, fatty acid profile, and milk cholesterol content of feedlot feed crossbred cows (Holstein × Zebu) [J]. *Trop Anim Health Prod*, 2019, 51(3): 599-604.
- [3] MARÍN M P, MELÉNDEZ P G, ARANDA P, et al. Conjugated linoleic acid content and fatty acids profile of milk from grazing dairy cows in southern Chile fed varying amounts of concentrate [J]. *J Appl Anim Res*, 2018, 46(1): 150-154.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] CHOWDHURY R, WARNAKULA S, KUNUTSOR S, et al. Association of dietary, circulating, and supplement fatty acids with coronary risk: A systematic review and meta-analysis[J]. Ann Int Med, 2014, 160(6): 398–406.
- [7] 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 [2023-06-16]. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002670>.
- [8] 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.
- [9] WANG H, STEFFEN L M, VESSBY B, et al. Obesity modifies the relations between serum markers of dairy fats and inflammation and oxidative stress among adolescents [J]. Obesity, 2011, 19(12): 2404–2410.
- [10] ZHUANG P, CHENG L, 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.
- [11] LAKATOS P L, LAKATOS L. Risk for colorectal cancer in ulcerative colitis: Changes, causes and management strategies[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(25): 3937–3947.
- [12] SCHÄFER M, WERNER S. Cancer as an overheating wound: An old hypothesis revisited[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2008, 9: 628–638.
- [13] ROBLES A I, TRAVERSO G, ZHANG M, et al. Whole-exome sequencing analyses of inflammatory bowel disease-associated colorectal cancers [J]. Gastroenterology, 2016, 150(4): 931–943.
- [14] LU Q, YANG M F, LIANG Y J, et al. Immunology of inflammatory bowel disease: Molecular mechanisms and therapeutics[J]. J Inflamm Res, 2022, 15: 1825–1844.
- [15] 陈燕, 陈永昱, 董卫国. 肠道巨噬细胞的免疫调控与炎症性肠病[J]. 中华炎症性肠病杂志, 2020, 4(4): 344–348.
- [16] DIERGE E, DEBOCK E, GUILBAUD C, et al. Peroxidation of *n*-3 and *n*-6 polyunsaturated fatty acids in the acidic tumor environment leads to ferroptosis-mediated anticancer effects[J]. Cell Metab, 2021, 33(8): 1701–1715.
- [17] ALDOORI J, COCKBAIN A J, TOOGOOD G J, et al. *Omega*-3 polyunsaturated fatty acids: Moving towards precision use for prevention and treatment of colorectal cancer[J]. Gut, 2022, 71(4): 822–837.
- [18] TU M L, WANG W C, ZHANG G D, et al. ω -3 Polyunsaturated fatty acids on colonic inflammation and colon cancer: Roles of lipid-metabolizing enzymes involved[J/OL]. Nutrients, 2020, 12(11): 3301 [2023-06-16]. <https://doi.org/10.3390/nu12113301>.
- [19] SUGANAMI T, TANIMOTO-KOYAMA K, NISHIDA J, et al. Role of the Toll-like receptor 4/NF- κ B pathway in saturated fatty acid-induced inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 27(1): 84–91.
- [20] TO N B, NGUYEN Y T, 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 [2023-06-16]. <https://doi.org/10.3390/nu12061663>.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] ŚLEDZIŃSKI M, HLIWA A, GOŁĘBIEWSKA J, et al. The impact of kidney transplantation on the serum fatty acid profile in patients with end-stage kidney disease[J/OL]. Nutrients, 2022, 14(4): 772 [2023-06-16]. <https://doi.org/10.3390/nu14040772>.
- [24] LEBLANC V, HUDON A M, ROYER M M, et al. Differences between men and women in dietary intakes and metabolic profile in response to a 12-week nutritional intervention promoting the Mediterranean diet [J/OL]. J Nutr Sci, 2015, 4: e13 [2023-06-16]. <https://doi.org/10.1017/jns.2015.2>.
- [25] JONES S A, JENKINS B J. Recent insights into targeting the IL-6 cytokine family in inflammatory diseases and cancer [J]. Nat Rev Immunol, 2018, 18(12): 773–789.
- [26] NARAYANAN B A, NARAYANAN N K, SIMI B, et al. Modulation of inducible nitric oxide synthase and related proinflammatory genes by the *omega*-3 fatty acid docosahexaenoic acid in human colon cancer cells [J]. Cancer Res, 2003, 63(5): 972–979.
- [27] WAUGH D J, WILSON C. The interleukin-8 pathway in cancer[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(21): 6735–6741.

- [12] 任琳, 裴磊磊, 颜虹, 等. 陕西汉中农村居民超重肥胖现状调查[J]. 中国医学科学院学报, 2013, 35(1): 47-51.
- [13] FAKHRI Y, BJØRKLUND G, BANDPEI A M, et al. Concentrations of arsenic and lead in rice (*Oryza sativa* L.) in Iran: A systematic review and carcinogenic risk assessment[J]. Food Chem Toxicol, 2018, 113: 267-277.
- [14] 梁馨予, 陈凤, 黎强, 等. 广西玉林市小作坊花生油中黄曲霉毒素 B₁ 膳食暴露及风险评估[J]. 中国油脂, 2022, 47(1): 131-136.
- [15] EFSA. Polycyclic aromatic hydrocarbons in food - scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain [J]. EFSA J, 2008, 6(8): 81-86.
- [16] YOUSEFI M, SHEMSHADI G, KHORSHIDIAN N, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) content of edible vegetable oils in Iran: A risk assessment study [J]. Food Chem Toxicol, 2018, 118: 480-489.
- [17] WANG S, JI Y, ZHAO J, et al. Source apportionment and toxicity assessment of PM_{2.5} - bound PAHs in a typical iron - steel industry city in northeast China by PMF - ILCR [J/OL]. Sci Total Environ, 2020, 713: 136428 [2023-03-31]. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136428>.
- [18] NI H G, GUO J Y. Parent and halogenated polycyclic aromatic hydrocarbons in seafood from South China and implications for human exposure [J]. Food Chem, 2013, 61(8): 2013-2018.
- [19] 徐明雅, 潘丹杰, 金米聪. 凝胶渗透色谱法测定食用植物油中苯并(a)芘 [J]. 食品科学, 2015, 36(8): 240-243.
- [20] PUPIN A M, TOLEDO M C F. Benzo(a)pyrene in olive oils on the Brazilian market [J]. Food Chem, 1996, 55(2): 185-188.
- [21] ALOMIRAH H, AL - ZENKI S, HUSAIN A, et al. Benzo [a] pyrene and total polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) levels in vegetable oils and fats do not reflect the occurrence of the eight genotoxic PAHs [J]. Food Addit Contam Part A, 2010, 27(6): 869-878.
- [22] 中国营养学会. 中国居民膳食指南(2022) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2022: 94.
-
- (上接第90页)
- [28] BRENNER D, BLASER H, MAK T W. Regulation of tumour necrosis factor signalling: Live or let die [J]. Nat Rev Immunol, 2015, 15(6): 362-374.
- [29] MARION - LETELLIER R, BUTLER M, DÉCHELOTTE P, et al. Comparison of cytokine modulation by natural peroxisome proliferator - activated receptor gamma ligands with synthetic ligands in intestinal - like Caco - 2 cells and human dendritic cells: Potential for dietary modulation of peroxisome proliferator - activated receptor gamma in intestinal inflammation [J]. Am J Clin Nutr, 2008, 87(4): 939-948.
- [30] OH D Y, TALUKDAR S, BAE E J, et al. GPR120 is an omega - 3 fatty acid receptor mediating potent anti - inflammatory and insulin - sensitizing effects [J]. Cell, 2010, 142(5): 687-698.
- [31] ALNAHDI A, JOHN A, RAZA H. Augmentation of glucotoxicity, oxidative stress, apoptosis and mitochondrial dysfunction in HepG2 cells by palmitic acid [J/OL]. Nutrients, 2019, 11(9): 1979 [2023-06-16]. <https://doi.org/10.3390/nu11091979>.
- [32] KIHARA A. Very long - chain fatty acids: Elongation, physiology and related disorders [J]. J Biochem, 2012, 152(5): 387-395.
- [33] BONEN A, CHABOWSKI A, LUIKEN J J F P, et al. Mechanisms and regulation of protein - mediated cellular fatty acid uptake: Molecular, biochemical, and physiological evidence [J]. Physiology, 2007, 22(1): 15-28.
- [34] WANG Z, WANG D H, GOYKHMANN Y, et al. The elongation of very long - chain fatty acid 6 gene product catalyses elongation of n - 13:0 and n - 15:0 odd - chain SFA in human cells [J]. Br J Nutr, 2019, 121(3): 241-248.
- [35] WANG Z, PARK H G, WANG D H, et al. Fatty acid desaturase 2 (FADS2) but not FADS1 desaturates branched chain and odd chain saturated fatty acids [J/OL]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids, 2020, 1865(3): 158572 [2023-06-16]. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2019.158572>.