

# 岩藻黄素微囊粉对 C57BL/6J 小鼠胆固醇代谢的影响

刘彦博<sup>1,2</sup>, 曲词<sup>1</sup>, 任先见<sup>1</sup>, 任丹丹<sup>1</sup>, 汪秋宽<sup>1</sup>, 何云海<sup>1</sup>

(1. 大连海洋大学食品科学与工程学院, 辽宁大连 116023)

(2. 农业部北方海水增养殖重点实验室, 辽宁大连 116023)

**摘要:** 本实验以 C57BL/6J 小鼠为实验对象, 通过建立高血脂模型, 喂食不同剂量的岩藻黄素微囊粉, 测定了小鼠血清和肝脏中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的含量, 并利用 RT-PCR 法探讨了岩藻黄素微囊粉对小鼠体内胆固醇代谢的调控作用机制。结果表明岩藻黄素微囊粉能有效降低肝脏中的 TC、TG 和 LDL-C 的含量, 增加 HDL-C 的含量; 降低血清中 TG 的含量, 增加血清中 HDL-C 的含量, 同时增加了小鼠粪便中粗脂肪和胆固醇的含量, 但在代谢过程中却并没有降低血清中的 TC 含量。RT-PCR 结果显示岩藻黄素微囊粉调节胆固醇代谢的作用机制可能与其能够抑制 *HMG-CoA-R*、*CYP7A1*、*LXR $\alpha$* 、*ABCA1* 和 *ACAT2* 等基因的表达, 促进 *SREBP2*、*LCAT* 以及 *LDLR* 等基因的表达有关。

**关键词:** 岩藻黄素; 胆固醇; 代谢

文章编号: 1673-9078(2016)12-32-38

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.12.006

## Effect of Fucoxanthin-microencapsulated Powder on Cholesterol Metabolism in C57BL/6J Mice

LIU Yan-bo<sup>1,2</sup>, QU Ci<sup>1</sup>, REN Xian-jian<sup>1</sup>, REN Dan-dan<sup>1</sup>, WANG Qiu-kuan<sup>1</sup>, HE Yun-hai<sup>1</sup>

(1.College of Food Sciences and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China) (2.Key Laboratory of Mariculture & Stock Enhancement in North China's Sea, Ministry of Agriculture, Dalian 116023, China)

**Abstract:** An investigation on the effects of fucoxanthin-microencapsulated powder on hypercholesterolemia in high fat-fed C57BL/6J mice was conducted. The mice were fed different doses of fucoxanthin-microencapsulated powder and the serum and liver total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) content, and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) content were measured. The regulatory effect of fucoxanthin-microencapsulated powder on cholesterol metabolism in C57BL/6J mice was also investigated using reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). The results showed that fucoxanthin-microencapsulated powder effectively reduced the amount of TC, TG, and LDL-C, and increased that of HDL-C, in the liver. TG content in the serum was found to be decreased, while HDL-C levels in the serum increased. The fat and cholesterol content in the stool increased, whereas serum TC content was not decreased in metabolic processes. The results of the RT-PCR showed that the fucoxanthin-microencapsulated powder might regulate the mechanism of cholesterol metabolism by inhibiting the expression of *HMG-CoA-R*, *CYP7A1*, *LXR $\alpha$* , *ABCA1*, and *ACAT2*, and promoting the expression of *SREBP2*, *LCAT*, and *LDLR*.

**Key words:** fucoxanthin; cholesterol; metabolism

岩藻黄素 (fucoxanthin) 又名褐藻黄素, 墨角藻黄素。是类胡萝卜素的一种, 在自然界中广泛存在于褐藻纲、硅藻纲及金藻纲中, 主要存在于褐藻和硅藻中。岩藻黄素具有很长的共轭双键, 还含有环氧烷, 乙酰基和丙二烯, 这种特殊的分子结构决定了岩藻黄

收稿日期: 2016-01-12

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31301449); 辽宁省高校优秀人才项目 (LJQ2014077); 辽宁省农业领域青年科技创新人才项目 (2015005)

作者简介: 刘彦博(1990-), 女, 硕士, 研究方向: 海洋生物资源利用

通讯作者: 任丹丹(1980-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 海洋生物资源利用

素具有许多重要的生物学功能<sup>[1]</sup>。由于岩藻黄素对光、热、酸、碱和氧均很敏感<sup>[2]</sup>, 因此在实际应用中通常利用微胶囊技术对其进行包埋, 增加其稳定性。

胆固醇代谢 (Cholesterol metabolism) 主要包括机体胆固醇合成 (synthesis)、分解 (degradation)、逆转 (reverse cholesterol transport) 及吸收 (absorption) 等过程。胆固醇的体内代谢转运过程十分复杂, 在胆固醇体内代谢过程中涉及许多酶、转运体与受体的协同作用。这些调控关键点是通过胆固醇合成、胆固醇分解、胆固醇逆转运和胆固醇吸收等代谢过程的调节, 从而实现调控机体的胆固醇代谢。心脑血管疾病

是当今世界很多地区面临的最主要的一种慢性疾病。目前,这种疾病的发病率、病死率不断上升,给社会和家庭造成了沉重的负担。胆固醇代谢紊乱可导致冠心病、动脉粥样硬化等心脑血管疾病<sup>[3]</sup>。大量研究表明,岩藻黄素含有多种能显著促进人体健康的生物学功能,例如抗癌、抗肥胖、抗氧化、抗衰老、调节血脂和调节血糖等<sup>[4-9]</sup>。但目前国内外对岩藻黄素如何调控胆固醇代谢的研究比较少。因此本实验以岩藻黄素微囊粉为原料,通过动物模型的建立,测定动物血清和肝脏中的各项指标,利用 RT-PCR 实验技术探究岩藻黄素对高脂血症动物的肝脏胆固醇代谢机制,这为岩藻黄素在食品保健、生物医药等方面提供了理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 原料

1%岩藻黄素微囊粉购于大连医诺生物有限公司。

#### 1.1.2 主要试剂与仪器

主要试剂:猪油为自制,胆固醇、蛋黄粉和牛黄胆酸钠(北京奥博星生物技术有限责任公司),辛伐他汀(北京万生药业有限责任公司)总胆固醇(T-CHO)

测试盒、甘油三酯(TG)测试盒、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测试盒、总蛋白定量测试盒(BCA法)、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、谷胱甘肽-过氧化物酶(GSH-PX)测试盒、丙二醛(MDA)测试盒(南京建成生物研究所)和动物组织总RNA提取试剂盒(天根生化科技(北京)有限公司)。

主要仪器与设备:101-7B型电热鼓风干燥箱:上海实验仪器厂有限公司;HWS24型电热恒温水浴锅:上海一恒科技有限公司;SHA-B水浴恒温振荡器:金坛市顺华仪器有限公司;酶标仪:美国Bio-RAD;Thermo Fisher低温高速离心机:Thermo Fisher;721型可见分光光度计:上海光谱仪器有限公司;NV3000微量分光光度计:Vastech Inc;CR22G型高速冷冻离心机:日立公司;7500Real Time PCR System:Applied Biosystems。

#### 1.1.3 实验动物

实验动物 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠,许可证号为 SCXK(辽)2013-0003,体质量 18~22 g,48 只,购于大连医科大学实验动物中心。

#### 1.1.4 饲料

基础饲料:由大连医科大学 SPF 实验动物中心提供。高脂饲料及剂量组饲料配方如表 1 所示。

表 1 饲料配方

Table 1 Diet formulation

	胆固醇/%	蛋黄粉/%	猪油/%	牛黄胆酸钠/%	岩藻黄素微囊粉/%	基础饲料/%
高脂饲料	2	3	10	0.4	-	84.60
低剂量	2	3	10	0.4	5.25	79.35
中剂量	2	3	10	0.4	10.5	74.10
高剂量	2	3	10	0.4	21.0	63.60

### 1.2 方法

#### 1.2.1 动物分组与处理

表 2 小鼠分组

Table 2 Groups of mice

组别	饲料	灌胃药物
正常组	基础饲料	大豆油
高脂模型组	高脂饲料	大豆油
阳性对照组	高脂饲料	辛伐他汀大豆油溶液
低剂量组	5.25%岩藻黄素微囊粉高脂饲料	大豆油
中剂量组	10.5%岩藻黄素微囊粉高脂饲料	大豆油
高剂量组	21.0%岩藻黄素微囊粉高脂饲料	大豆油

48 只 C57BL/6J 雄性小鼠,适应性饲养 3 d 后,按体重随机分为正常对照组、高脂模型组、阳性对照

组以及岩藻黄素低、中和高剂量组,每组 8 只。小鼠分组如表 2 所示。

实验期间,小鼠自由摄食及饮水,每天记录小鼠体重及食物摄入量。实验结束前 3 d,收集各组小鼠粪便。灌胃 40 d 结束,禁食不禁水 24 h,小鼠摘眼球取血,收集血液,在 3500 r/min,4 °C 下离心 10 min,取血清。同时称量小鼠肝脏的重量;分离部分肝脏加入生理盐水制成肝匀浆,剩余肝脏于 -80 °C 下冻存用于分子生物学研究。

#### 1.2.2 小鼠血脂水平测定

按照试剂盒操作测定血清中 TC、TG、HDL-C 以及 LDL-C 含量。

#### 1.2.3 小鼠肝脏指标测定

取 0.3 g 小鼠肝脏加入 9 倍体积生理盐水,用匀浆器冰水浴中匀浆后,3500 r/min,4 °C 下离心 10 min,

取上清液。按照试剂盒操作测定肝脏中 TC、TG、HDL-C 以及 HDL-C 含量。

### 1.2.4 小鼠粪便粗脂肪及胆固醇的测定

将小鼠粪便冷冻干燥，采用乙醚索氏抽提法测定粪便中脂肪含量，每组做 3 个平行实验。

将干燥的小鼠粪便以料液比 1:30 加入丙酮，20 ℃下超声波振动 1 h，离心取上清，按照试剂盒操作测定上清中粗粪固醇含量，每组做 8 个平行实验。

### 1.2.5 小鼠肝组织有关基因 mRNA 相对表达

量的测定

按照 RNA 提取试剂盒的说明进行提取，采用基因纯度检测仪、鉴定 RNA 的含量和纯度。采用 Real-Time PCR 分析仪、以逆转录酶-聚合酶链反应(reverse transcriptase-polymerase chain reaction, RT-PCR)法对 mRNA 进行定量分析。实验采用的引物由生工生物工程(上海)有限公司合成，引物序列见表 3。

表 3 小鼠基因引物

Table 3 Mouse gene primers

基因	上游引物 sense	下游引物 anti-sense
<i>β-actin</i>	5' GAGACCTTCAACACCCAGC 3'	5' ATGTCACGCACGATTTCCC 3'
<i>SREBP2</i>	5' CGGTGGAGTCCTTGGTAAAC 3'	5' CGGAAGTCTGGAGAATGG 3'
<i>LDLR</i>	5' ATGAGTCCCCAGAGACATGC 3'	5' GACCCATCTAGGCAATCTCG 3'
<i>HMG-COA-R</i>	5' GATCCAGGAGCGAACCAAGAGAG 3'	5' GCTACAGAAGCCCCAAGCACAA 3'
<i>CYP7A1</i>	5' CAAGACCGCACATAAAGCC 3'	5' GATGCCAGAGGATCACG 3'
<i>ACAT</i>	5' TGTCAGCGAGACAGA 3'	5' AGCAAGCCCAACCAA 3'
<i>ABCA1</i>	5' TGAAGCCTGTCCAGGAGTTC 3'	5' ATGACAAGGAGGATGGAAGC 3'
<i>LXR-α</i>	5' TCAATGCCTGATGTTTCTCCTG 3'	5' CTCCAACCCTATCCCTAAAGC 3'
<i>LCAT</i>	5' GTCTTCTCATTGGGCATAG 3'	5' AAAGTCTTGGACGGTGTAGTT 3'

### 1.3 统计分析

指标测定实验数据经过 Excel 初步处理后，采用 SPSS 软件进行显著性分析，用 Duncan 显著性差异测验(HSD)进行组间多重比较，以  $p < 0.05$  表示差异显著， $p < 0.01$  表示差异极显著，以  $\bar{x} \pm s$  表示实验结果。根据 Real Time PCR 测出的 Ct 值进行计算，以内参基因  $\beta$ -actin 的表达量为参比，目的基因相对表达量以  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  表示，即  $2^{\Delta\Delta Ct(\text{actin}) - \Delta\Delta Ct(\text{target gene})}$ 。采用 SPSS 统

计软件进行数据处理，所有数据均采用  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 2 结果与讨论

### 2.1 岩藻黄素微囊粉对 C57BL/6J 小鼠血脂水平的影响

岩藻黄素微囊粉对小鼠血脂水平的影响如表 4 所示。

表 4 岩藻黄素微囊粉对 C57BL/6J 小鼠血脂水平的影响

Table 4 Effect of fucoxanthin-microencapsulated powder on lipid levels in C57BL/6J mice

	空白对照	高脂组				
		高脂模型	阳性对照	低剂量组	中剂量组	高剂量组
TC/(mmol/L)	1.66±0.17	2.83±0.18 <sup>**aA</sup>	2.28±0.39 <sup>aA</sup>	2.67±0.32 <sup>aA</sup>	2.91±0.52 <sup>aA</sup>	2.75±0.21 <sup>aA</sup>
TG/(mmol/L)	0.82±0.08	0.94±0.03 <sup>*aA</sup>	0.74±0.03 <sup>cB</sup>	0.92±0.08 <sup>aAB</sup>	0.82±0.06 <sup>bB</sup>	0.77±0.06 <sup>bB</sup>
HDL-C/(mmol/L)	1.73±0.13	1.15±0.58 <sup>bB</sup>	2.03±0.78 <sup>aA</sup>	1.87±0.30 <sup>aA</sup>	2.42±0.44 <sup>aA</sup>	2.16±0.12 <sup>aA</sup>
LDL-C/(mmol/L)	0.87±0.19	2.38±0.095 <sup>**aA</sup>	1.14±0.42 <sup>cB</sup>	1.82±0.83 <sup>bA</sup>	1.70±0.29 <sup>bAB</sup>	1.77±0.23 <sup>bAB</sup>

注：高脂组与空白对照组相比，\*：差异显著 ( $p < 0.05$ )，\*\*差异极显著 ( $p < 0.01$ )；高脂各组中标注不同小写字母的组间存在显著差异( $p < 0.05$ )，标注不同大写字母间存在极显著差异( $p < 0.01$ )。

由表可以看出，高脂模型组和空白对照组相比较，小鼠的血清甘油三酯(TG)含量以及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量显著升高，且差异显著( $p < 0.05$ )；总胆固醇(TC)含量显著升高，并且差异极显著( $p < 0.01$ )；而其高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)的含

量都有显著降低，由此可判断造模成功。岩藻黄素微囊粉三个剂量组与高脂模型组相比，小鼠血清中 TG 含量分别下降了 2.13%、12.77%以及 18.09%；LDL-C 含量分别下降了 23.53%、28.57%以及 25.63%，并且岩藻黄素微囊粉使小鼠血清中 HDL-C 水平显著升高

( $p<0.05$ ), 这说明岩藻黄素微囊粉对 C57BL/6J 小鼠具有降血脂的功效。然而各剂量组与高脂模型组相比, 小鼠血清中总胆固醇含量无显著变化 ( $p>0.05$ ), 目前有研究表明, 高剂量岩藻黄素(500 mg/kg body weight) 给药 30 d, ICR 小鼠血清中总胆固醇含量增加<sup>[10]</sup>。本实验中高剂量组的剂量为 21%即 200 mg/kg body weight, 最高剂量低于已有研究, 说明本实验中三个剂量的岩藻黄素微囊粉(5.25%、10.5%和 21%)对降低 C57BL/6J 小鼠血清中总胆固醇含量的作用不明显,

因此岩藻黄素对胆固醇代谢的作用机制需要进行进一步的研究。

## 2.2 岩藻黄素微囊粉对 C57BL/6J 小鼠肝脏脂质水平的影响

岩藻黄素微囊粉对小鼠肝脏脂质水平的影响如表 5 所示。

表 5 岩藻黄素微囊粉对 C57BL/6J 小鼠肝脏脂质水平的影响

Table 5 Effect of fucoxanthin-microencapsulated powder on liver lipid levels in C57BL/6J mice

	空白对照	高脂组				
		高脂模型	阳性对照	低剂量组	中剂量组	高剂量组
TC/(mmol/g prot)	0.03±0.001	0.13±0.02 <sup>**aA</sup>	0.08±0.008 <sup>bB</sup>	0.06±0.005 <sup>cB</sup>	0.04±0.006 <sup>dBC</sup>	0.03±0.004 <sup>dC</sup>
TG/(mmol/g prot)	0.30±0.02	0.32±0.02 <sup>aA</sup>	0.21±0.01 <sup>bB</sup>	0.15±0.008 <sup>cC</sup>	0.12±0.01 <sup>dD</sup>	0.11±0.01 <sup>dD</sup>
HDL-C/(mmol/g prot)	0.013±0.00	0.006±0.001 <sup>**bB</sup>	0.009±0.00 <sup>bB</sup>	0.014±0.002 <sup>aA</sup>	0.014±0.001 <sup>aA</sup>	0.016±0.003 <sup>aA</sup>
LDL-C/(mmol/g prot)	0.027±0.005	0.19±0.016 <sup>**aA</sup>	0.07±0.01 <sup>bB</sup>	0.053±0.004 <sup>cB</sup>	0.038±0.006 <sup>cdC</sup>	0.034±0.003 <sup>dC</sup>

注: 高脂组与空白对照组相比, \*: 差异显著 ( $p<0.05$ ), \*\*差异极显著 ( $p<0.01$ ); 高脂各组中标注不同小写字母的组间存在显著差异( $p<0.05$ ), 标注不同大写字母间存在极显著差异( $p<0.01$ )。

由表 5 可以看出, 高脂模型组和空白对照组相比较, 小鼠的血清总胆固醇 (TC) 含量以及低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 显著升高, 并且差异极显著 ( $p<0.01$ ), 而其高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 的含量都有显著降低, 且差异显著 ( $p<0.01$ )。由岩藻黄素微囊粉三个剂量组与高脂模型组相比较可以得知, 岩藻黄素微囊粉使小鼠肝脏中 TG 含量分别下降了 53.13%、62.5%以及 65.63%; LDL-C 含量分别下降了 72.11%、80%以及 82.11%, 同时使 TC 分别下降了

53.85%、69.23%以及 76.92%, 并且使 HDL-C 水平显著升高 ( $p<0.01$ )。这说明岩藻黄素微囊粉对 C57BL/6J 小鼠具有调节肝脏脂质水平和降低肝脏胆固醇的功能。

## 2.3 岩藻黄素微囊粉对 C57BL/6J 小鼠粪便脂质水平的影响

表 6 岩藻黄素微囊粉对 C57BL/6J 小鼠粪便粗脂肪含量以及胆固醇水平的影响

Table 6 Effect of fucoxanthin-microencapsulated powder on fat content and cholesterol levels in stool of C57BL/6J mice

	空白对照	高脂组				
		高脂模型	阳性对照	低剂量	中剂量	高剂量
粗脂肪质量分数/%	2.77±0.61	8.01±0.14 <sup>**cC</sup>	8.47±0.11 <sup>bB</sup>	8.31±0.06 <sup>bB</sup>	9.38±0.39 <sup>aA</sup>	11.76±0.70 <sup>aA</sup>
TC/(mmol/L)	0.0084±0.0018	0.22±0.02 <sup>**bB</sup>	0.28±0.04 <sup>bB</sup>	0.38±0.08 <sup>aA</sup>	0.28±0.03 <sup>bB</sup>	0.31±0.03 <sup>aA</sup>

注: 高脂组与空白对照组相比, \*: 差异显著 ( $p<0.05$ ), \*\*差异极显著 ( $p<0.01$ ); 高脂各组中标注不同小写字母的组间存在显著差异( $p<0.05$ ), 标注不同大写字母间存在极显著差异( $p<0.01$ )。

如表 6 所示, 高脂模型组、阳性对照组和剂量组与空白对照组相比, 粪便中粗脂肪含量与 TC 含量明显增多 ( $p<0.01$ ), 且阳性对照组和剂量组与高脂模型组相比, 粪便中粗脂肪含量与 TC 含量也有上升趋势 ( $p<0.01$ ), 说明岩藻黄素能有效的将小鼠体内脂肪与胆固醇排出体外, 能有效降低小鼠体内脂肪与胆固醇含量, 起到降血脂的作用。且随着剂量的增大粪便中粗脂肪含量与 TC 含量依次升高, 说明岩藻黄素剂量越大, 脂肪与胆固醇排出体外的效果越好。

## 2.4 岩藻黄素微囊粉调控 C57BL/6J 小鼠胆固醇合成代谢相关基因的表达

$\beta$ -羟基- $\beta$ -甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (HMG-COA) 是胆固醇在体内合成过程中的限速酶, 其表达以及活性直接影响胆固醇的合成, 同时 HMG-COA-R 的转录表达还受到固醇调节元件结合蛋白 2 (SREBP2) 的调控。研究表明, SREBP2 是胆固醇代谢调控的关键蛋

白, *SREBP2* 能够刺激 *HMG-COA-R* 和 *LDLR* 基因表达增加<sup>[11]</sup>。

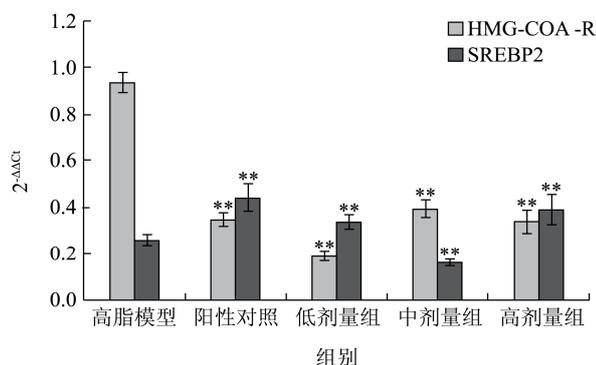


图1 *HMG-COA-R*和 *SREBP2*基因的相对表达量

Fig.1 Relative expression levels of *HMG-COA-R* and *SREBP2*

注: \*\*表示  $p < 0.01$  差异极显著; \*表示  $p < 0.05$  差异显著。

由图1可知, 阳性对照组和剂量组与高脂模型组相比, *HMG-COA-R* 基因的相对表达量下降, 而 *SREBP2* 基因的相对表达量上升, 且均有显著差异 ( $p < 0.01$ )。与高脂模型组相比, 剂量组的 *HMG-COA-R* 基因的相对表达量分别下降了 4.9 倍、2.4 倍以及 2.7 倍; 除中剂量组外, 低高剂量组的 *SREBP2* 基因的相对表达量分别上升了 1.3 倍和 1.5 倍。Myoung-Nam Woo 等<sup>[12]</sup>给高脂症 C57BL/6N 小鼠补充岩藻黄素, 提高了其血浆和肝脏的脂质代谢水平, 并发现胆固醇合成的限速酶 *HMG-COA-R* 和 *ACAT* 的表达量均显著降低, 与本实验的结果相一致。由此可表明, 岩藻黄素可能通过直接抑制小鼠肝组织中 *HMG-COA-R* 的表达来有效降低肝脏胆固醇的内源性合成。也有可能是岩藻黄素有效刺激 *SREBP2* 基因的表达水平, 促进了 *SREBP2* 与 *HMG-COA-R* 的结合, 导致小鼠体内 *HMG-COA-R* 基因的相对表达量下降, 控制肝脏胆固醇的合成速度, 从而导致肝细胞内的胆固醇合成量减少。

## 2.5 岩藻黄素微囊粉调控 C57BL/6J 小鼠胆固醇分解代谢相关基因的表达

胆固醇 7 $\alpha$ -羟化酶 (*CYP7A*) 是肝脏中胆固醇合成胆汁酸的限速酶, 对于调节体内胆固醇经胆汁酸途径的分解代谢起重要的作用。 *LXR $\alpha$*  作为一种受体蛋白, 是 *LXRs* 的亚型之一, 主要在肝脏内表达, 具有调控胆固醇代谢的作用, *LXR $\alpha$*  实现调控胆固醇代谢的途径之一是通过刺激 *CYP7A1* 的基因表达, 从而对胆固醇分解代谢起到调控作用。

由图2可知, 与高脂模型组相比, 阳性对照组和剂量组的 *CYP7A1* 基因与 *LXR $\alpha$*  基因的相对表达量均

有所降低, 且差异显著 ( $p < 0.01$ )。目前已有研究表明, 高热量膳食能够引起胆固醇结石并伴有 *CYP7A1* 表达下调, 如果通过干预使 *CYP7A1* 表达量上调, 则有效降低胆固醇水平<sup>[13]</sup>。本实验中剂量组的 *CYP7A1* 基因表达分别下降了 3.1 倍、3.9 倍以及 1.2 倍, 说明了岩藻黄素能够下调 *CYP7A1* 基因的表达从而抑制胆固醇的分解代谢, 因此 *CYP7A1* 表达量的升高可能是导致小鼠血清中总胆固醇没有降低的主要原因之一。剂量组的 *LXR $\alpha$*  的基因表达量分别下降了 1.8 倍、2.0 倍以及 1.4 倍, 说明岩藻黄素对 *LXR $\alpha$*  的基因表达存在抑制作用, 表明岩藻黄素下调 *CYP7A1* 基因的表达量是通过抑制 *LXR $\alpha$*  间接调控 *CYP7A1* 实现的。

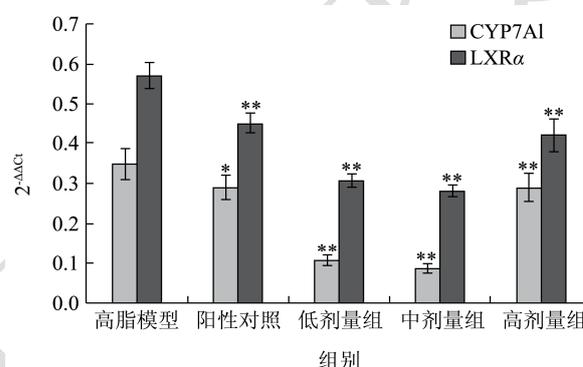


图2 *CYP7A1*和 *LXR $\alpha$* 基因的相对表达量

Fig.2 Relative expression levels of *CYP7A1* and *LXR $\alpha$*

注: \*\*表示  $p < 0.01$  差异极显著; \*表示  $p < 0.05$  差异显著。

## 2.6 岩藻黄素微囊粉调控 C57BL/6J 小鼠胆固醇逆转运相关基因的表达

ATP 结合盒转运体 A1(ATP-binding cassette transporter A1, *ABCA1*)参与 RCT 的初始步骤将细胞内游离胆固醇和磷脂转运至细胞外, 与贫脂或无脂的载脂蛋白 A-I(apolipoprotein A-I, apo A-I)结合, 组装成新生圆盘形的前  $\beta$ -HDL。新生 HDL 不断接受周围细胞移出的游离胆固醇, 在 HDL 分子内胆固醇经卵磷脂胆固醇酰基转移酶 (lecithin cholesterol acyltransferase, *LCAT*) 酯化为胆固醇酯 (cholesterol ester, CE)。CE 转移到 HDL 颗粒内部后, 逐渐形成成熟球形 HDL。

由图3可知, 与高脂模型组相比, 阳性对照组和剂量组的 *LCAT* 基因的相对表达量明显升高, 差异显著 ( $p < 0.01$ ), *ABCA1* 基因的相对表达量均有所下降, 且均有极显著的差异 ( $p < 0.01$ ), *LDLR* 基因的相对表达量有所升高, 除低剂量组外, 其余各组均表现出极显著的差异 ( $p < 0.01$ ), 并且随着剂量的增大有升高的趋势。这一结果表明 *LCAT* 基因受到刺激增加表达,

剂量组 *LCAT* 基因表达量分别增加了 2.1 倍、2.7 倍以及 2.5 倍，由此可以推测岩藻黄素通过上调 *LCAT* 基因的表达量从而催化合成成熟的 HDL，导致小鼠血清中及肝脏中 HDL-C 水平均有所增加。剂量组 *ABCA1* 基因的表达量分别下降了 3.8 倍、3.1 倍以及 4.1 倍，可能是由于岩藻黄素抑制了小鼠肝组织中 *ABCA1* 基因的表达，阻止了血清中胆固醇逆转运回肝脏进行进一步代谢分解，*ABCA1* 基因表达量的下降也可能是导致血清中总胆固醇水平升高的主要原因之一。研究表明 *LDLR* 的表达受 *SREBP* 的调控，岩藻黄素通过上调小鼠肝组织中 *LDLR* 的转录水平，使其与 LDL-C 相结合，使得肝脏中 LDL-C 水平有效降低，从而有效调控机体内胆固醇的代谢。

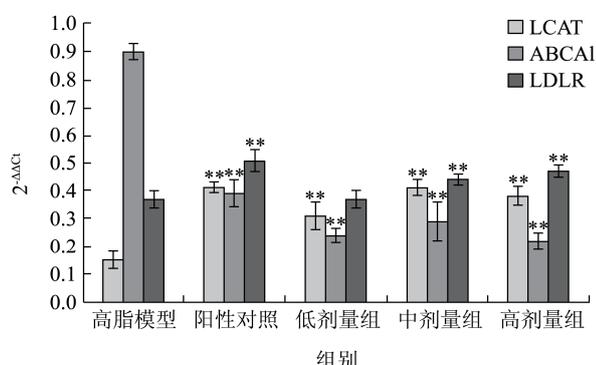


图3 *LCAT*、*ABCA1* 和 *LDLR* 基因的相对表达量

Fig.3 Relative expression levels of *LCAT*, *ABCA1*, and *LDLR*

注: \*\*表示  $p < 0.01$  差异极显著; \*表示  $p < 0.05$  差异显著。

### 2.7 岩藻黄素微囊粉调控 C57BL/6J 小鼠胆固醇吸收相关基因的表达

醇吸收相关基因的表达

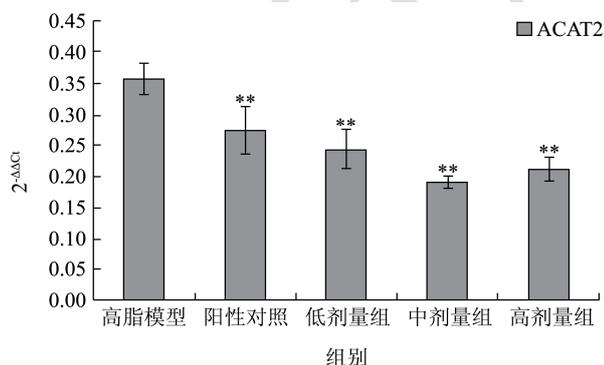


图4 *ACAT2* 基因的相对表达量

Fig.4 Relative expression levels of *ACAT2*

注: \*\*表示  $p < 0.01$  差异极显著; \*表示  $p < 0.05$  差异显著。

酰基辅酶 A: 胆固醇酰基转移酶(*ACAT*)在胆固醇的吸收中具有关键作用, *ACAT2* 作为 *ACAT* 的主要亚型, 只在肝脏和小肠细胞中表达。抑制 *ACAT2* 能同时降低饮食中胆固醇的吸收和组织肝脏分泌极低密度脂

蛋白胆固醇(VLDL), 引起血清胆固醇的降低。

由图 4 可知, 与高脂模型组相比, 阳性对照组和剂量组的 *ACAT2* 基因的相对表达量均有所下降, 且均有极显著的差异 ( $p < 0.01$ )。研究发现, *ACAT2*<sup>-/-</sup> 的小鼠限制了其胆固醇吸收的能力<sup>[14]</sup>, 本实验中剂量组 *ACAT2* 基因表达量分别下降了 1.5 倍、1.9 倍以及 1.7 倍。由此可推测出 *ACAT2* 基因的表达量下降, 可能是由于岩藻黄素抑制了小鼠肝组织中 *ACAT2* 基因的表达, 阻止了胆固醇酯的合成, 从而抑制了肝脏胆固醇的吸收及储存。

### 3 结论

3.1 综合以上结果表明岩藻黄素能有效降低肝脏中的 TC 的含量, 但不能有效降低血清中的 TC 含量。推测岩藻黄素对雄性 C57BL/6J 小鼠肝脏胆固醇代谢的调控机制为肝脏内胆固醇过高时, 岩藻黄素通过上调 C57BL/6J 小鼠体内 *SREBP2* 的表达, 使其与 *HMG-COA-R* 基因相结合, 控制了胆固醇在肝脏内的合成速度, *SREBP* 水解后以活性形式转移至细胞核中, 与 *LDLR* 编码基因上游启动子序列结合, 从而启动下游 *LDLR* 基因的表达, 促使 LDL-C 快速代谢, 同时岩藻黄素抑制了小鼠肝组织中 *ACAT2* 的表达, 抑制了肝脏胆固醇的吸收。

3.2 然而, 岩藻黄素通过抑制 *LXRα* 的基因表达量间接调控 *CYP7A1*, 从而抑制了胆固醇的分解代谢。同时岩藻黄素能够刺激 *LCAT* 基因的表达, 催化合成成熟的 HDL, 导致小鼠血清中及肝脏中 HDL-C 水平均有所增加。*ABCA1* 是与胆固醇从肝脏中流出有关的关键因素, 岩藻黄素通过下调 *ABCA1* 的表达抑制胆固醇逆转运回肝脏中进行进一步代谢。因此, 导致血清中总胆固醇水平没有降低, 要确定岩藻黄素如何调节胆固醇新陈代谢, 就需要考虑胆固醇在组织中胆固醇合成, 外排和结合之间的平衡。

### 参考文献

[1] 吴跃,林亲录,战鑫.岩藻黄质的功能特性及在食品工业中的应用[J].食品研究与开发,2012, 33(10): 203-206  
WU Yue, LIN Qin-lu, ZHAN Xin. The functional properties of fucoxanthin and its application in food industry [J]. Food Research and Development, 2012, 33(10): 203-206

[2] 汪曙晖.海藻中岩藻黄素的分离鉴定及抗肿瘤活性研究[D].青岛:中国海洋大学,2010  
WANG Shu-hui. Studies on isolation, identification, and antitumor bioactivities of fucoxanthin in algae [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010

- [3] Chen Z Y, Jiao R, Ma K Y. Cholesterol-lowering nutraceuticals and functional food [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, 56(19): 8761-8773
- [4] 吕广. 肥原料中褐藻黄素的分离纯化[D]. 保定: 河北农业大学, 2010  
LV Guang. Isolation of fucoxanthin from laminaria japonica, a high-quality raw material to produce seaweed fertilizer [D]. Baoding: Agricultural University of Hebei Province, 2010
- [5] Umiaki Beppu, Masashi Hosokawa, Yoshimi Niwano et al. Effects of dietary fucoxanthin on cholesterol metabolism in diabetic/obese KK-Ay mice [J]. *Lipids in Health and Disease*, 2012, 11:112
- [6] 吴超, 任丹丹, 陈倩, 等. 海带岩藻黄素对小鼠脂质过氧化抑制作用的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2011, 26(5): 428-431  
WU Chao, REN Dan-dan, CHEN Qian, et al. Anti-lipid peroxidation effect of fucoxanthin from kelp *Laminaria japonica* in mice *in vitro* [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2011, 26(5): 428-431
- [7] Myoung-Nam Woo, Seon-Min jeon, Hye-jin Kim, et al. Fucoxanthin supplementation improves plasma and hepatic lipid metabolism and blood glucose concentration in high-fat fed C57BL/6N mice [J]. *Chem. Biol. Int.*, 2010, 186: 316-322
- [8] Xiaojun Yan, Yoshihiro Chuda, Masahiro Suzuki. Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed [J]. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1999, 63(3): 605-7
- [9] 张怡评, 谢全灵, 方华, 等. 岩藻黄质研究进展[J]. 中国海洋药物, 2013, 32(4): 83-88  
ZHANG Yi-ping, XIE Quan-ling, FANG Hua, et al. Research progress of Fucoxanthin [J]. *Chinese Journal of Marine Drugs*, 2013, 32(4): 83-88
- [10] Beppu F, Niwano Y, Tsukui T, Hosokawa M, Miyashita K. Single and repeated oral dose toxicity study of fucoxanthin (FX), a marine carotenoid, in mice [J]. *J. Toxicol. Sci.* 2009, 34:501-510
- [11] Field F J, Born E, Murthy S, et al. Regulation of sterol regulatory element-binding proteins in hamster intestine by changes in cholesterol flux [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(20): 17576-17583
- [12] Myoung-Nam Woo, Seon-Min Jeon, Hye-Jin Kim, et al. Fucoxanthin supplementation improves plasma and hepatic lipid metabolism and blood glucose concentration in high-fat fed C57BL/6N mice [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2010, 186: 316-322
- [13] Yiu W F, Kwan P L, Wong C Y, et al. Attenuation of fatty liver and prevention of hypercholesterolemia by extract of *Curcuma longa* through regulating the expression of CYP7A1, LDL-receptor, HO-1, and HMG-CoA reductase [J]. *J. Food Sci.*, 2011, 76(3): 80-89
- [14] Repa J J, Buhman K K, Farese R V, et al. ACAT2 deficiency limits cholesterol absorption in the cholesterol-fed mouse: Impact on hepatic cholesterol homeostasis [J]. *Hepatology*, 2004, 40(5): 1088-1097