

n-6/n-3 多不饱和脂肪酸比例对 HepG2 细胞脂代谢的影响

刘睿杰, 王莉梅, 常明, 金青哲, 王兴国

(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: 本文研究了不同比例 n-6/n-3 多不饱和脂肪酸对 HepG2 细胞影响, 通过体外培养细胞 60 μ M 不同比例 LA/ALA 培养 24 h, 通过反转录 PCR 研究不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞 SREBP-1、FAS、HMG-CR、LDLr 和 ApoB 蛋白等脂代谢相关基因及蛋白表达量的影响。结果表明在组 1 (LA)、组 2 (10:1 LA/ALA)、组 3 (5:1 LA/ALA)、组 4 (1:1 LA/ALA)、组 5 (1:5 LA/ALA)、组 6 (1:10 LA/ALA) 和组 7 (ALA) 7 组比例中, 1:1 LA/ALA 比例处理细胞效果最佳, 此比例脂肪酸通过下调 HepG2 细胞 SREBP-1 和 FAS 基因的表达来降低细胞 TG 的含量; 下调 HMG-CR 基因的表达, 上调 LDLr 基因的表达来降低细胞 TC 和 LDL-C 含量; 通过上调 SR-B1 基因表达增加胆固醇逆转运, 从而实现了对 HepG2 脂代谢的有效调控。此多不饱和脂肪酸体外营养评价模型, 为 n-6/n-3 多不饱和脂肪酸最佳营养比例推荐及食用植物油中多不饱和脂肪酸比例营养评估提供理论依据。

关键词: 多不饱和脂肪酸; 脂质代谢; HepG2 细胞

文章编号: 1673-9078(2017)1-1-7

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.1.001

Effect of Ratios of n-6/n-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Lipid Metabolism in HepG2 Cells

LIU Rui-jie, WANG Li-mei, CHANG Ming, JIN Qing-zhe, WANG Xing-guo

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

Abstract: Using RT-PCR, the variation in lipid metabolism of HepG2 cells caused by different ratios of n-6/n-3 polyunsaturated fatty acids was studied. HepG2 cells were treated *in vitro* with different ratios of linoleic acid(LA)/ α -linolenic acid(ALA) at a concentration of 60 μ M for 24 h, and RT-PCR was performed to analyze the expression of proteins associated with lipid metabolism, such as ApoB, SREBP-1, FAS, HMG-CR, and LDLr. The results showed that the LA/ALA ratio of 1:1 was the optimum ratio among seven test groups studied. At this ratio, downregulation of the SREBP-1 and FAS genes to decrease TG, downregulation of HMG-CR and upregulation of LDLr to reduce TC and LDL-C, and upregulation of SR-B1 to enhance the reverse transport of cholesterol to regulate lipid metabolism were observed. This *in vitro* model could be used to provide a theoretical basis for evaluating the nutritional value of polyunsaturated fatty acids in vegetable oils.

Key words: polyunsaturated fatty acids; lipid metabolism; HepG2 cells

n-3 和 n-6 多不饱和脂肪酸 (PUFAs) 是重要的营养物质, 具有抗氧化、预防心血管疾病、抗炎、降低血中胆固醇和甘油三酯含量、抑制动脉粥样硬化等主要生理作用, 在人类健康中起着至关重要的作用^[1-3]。植物油中 n-6 和 n-3 PUFAs 的主要存在类型分别为亚油酸 (LA) 和 α -亚麻酸 (ALA)。研究表明 n-6 与 n-3

PUFAs 竞争同一代谢途径, 易造成 n-6 与 n-3 PUFAs 的比例失衡, 各国对两者比例都有不同的推荐值, 中国为 4~6:1, 然而我国居民摄入 n-6 与 n-3 PUFAs 的比例超出推荐比例, 不同研究的最佳比例也不尽相同, 因此有必要对其展开研究, 以便为推荐建议提供更好的理论基础^[4-6]。

机体脂代谢紊乱是引起心脑血管疾病的重要危险因素之一。脂代谢主要指胆固醇、甘油三酯、高低密度脂蛋白及其载脂蛋白等在体内的代谢。当体内胆固醇及甘油三酯含量过多时, 易引发高脂血症, 因而维持体内胆固醇与甘油三酯的平衡十分重要。流行病学研究发现心血管疾病风险与 TC、TG、LDL-C 及 ApoB

收稿日期: 2015-12-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31401525); 中国博士后基金项目 (2015M571666); 山东省博士后基金项目 (145635)

作者简介: 刘睿杰 (1981-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 脂质营养与安全

通讯作者: 常明 (1979-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 脂质生物技术

正相关^[7-9]。ApoB 是 LDL-C 的主要结构蛋白, AopB 的测定可直接反映 LDL-C 水平。SREBP-1 和 FAS 可调节细胞脂肪酸的合成, 进而影响 TG 的水平变化。HMG-CoA 是胆固醇合成途径中的限速酶, 其基因表达的水平高低直接影响 TC 水平。LDLr 是低密度脂蛋白的受体, PUFAs 通过调节其转录水平来影响低密度脂蛋白含量^[10,11]。

本文以 HepG2 细胞为研究对象, 通过体外培养 60 μ M 不同比例 LA/ALA 24 h, 探讨不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞脂代谢相关基因表达的影响, 以期建立一个多不饱和脂肪酸营养评价细胞模式, 为 LA/ALA 最佳营养比例推荐及食用植物油中多不饱和脂肪酸比例营养评估提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料

正己烷和甲醇均属色谱纯, 美国 Sigma 公司; 氯仿、异丙醇、盐酸和无水硫酸钠等试剂, 国药化学试剂有限公司 (国产分析纯); ApoB 酶联免疫试剂盒购自南京建成生物工程研究所; RNAase-free 水、反转录试剂盒、RNAiso Plus、DNA 分子量标准、dNTP、PCR buffer 和 TaqDNA 聚合酶, 日本 TaKaRa 公司; DEPC 和琼脂糖 (电泳级), 生工生物工程 (上海) 股份有限公司; Goldview 染料, 上海赛百盛基金技术有限公司; RT-PCR 引物: 根据 Genebank 设计引物序列, 由生工生物工程 (上海) 股份有限公司技术部合成。

1.2 主要仪器设备

气相色谱分析仪, 美国安捷伦公司; 冷冻离心机 (Eppendorf centrifuge 5804R), 德国 eppendorf 公司; PCR 扩增仪、电泳仪和 Bio-Rad 凝胶成像系统, 美国 Bio-Rad 公司; 核酸蛋白定量仪 (NANODROP 2000), 美国 Thermo 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 HepG2 细胞培养

HepG2 细胞培养于含有 10% 胎牛血清, 1% 双抗的 DMEM 培养基中, 置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 和 95% 相对湿度的二氧化碳培养箱中, 隔天换液, 5 d 传代。本实验所用细胞均为 10~30 代 HepG2 细胞。

1.3.2 脂肪酸处理细胞

脂肪酸使用无脂牛血清白蛋白(BSA)载体载入细胞^[12], 处理细胞时使用无血清 DMEM 培养基, 细胞密度为 10⁶/培养皿。

细胞中脂肪酸终浓度为 60 μ mol/L, 组 1 (LA)、组 2 (10:1 LA/ALA)、组 3 (5:1 LA/ALA)、组 4 (1:1 LA/ALA)、组 5 (1:5 LA/ALA)、组 6 (1:10 LA/ALA) 和组 7 (ALA), 处理时间 24 h, 设立与实验组含相同浓度 BSA 为阴性对照组。

1.3.3 细胞中脂肪提取

脂肪酸处理完细胞用胰酶消化并收集, 采用一步法提取细胞中脂肪^[13], 氮气吹干, 100 μ L 正己烷回溶, 无水硫酸钠脱水, 2 μ L 进样。

1.3.4 气相色谱测定细胞脂肪酸组成

气相色谱分析条件: 安捷伦 7820A 气相色谱, 色谱柱: TRACE TR-FAME (60 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m, Thermo Fisher, USA), FID 检测器。载气为 N₂, 燃烧气为 H₂ 和空气; 进样口温度 250 $^{\circ}$ C, 压力 22.356 psi; 检测器温度 250 $^{\circ}$ C; 进样量 2 μ L, 不分流; 氢气流速: 30 mL/min; 空气流速: 400 mL/min; 氮气流速: 25 mL/min。

程序升温条件: 初始柱温 60 $^{\circ}$ C 保留 3 min, 以 5 $^{\circ}$ C/min 的速度升温至 175 $^{\circ}$ C, 保留 15 min, 再以 2 $^{\circ}$ C/min 的速度升温至 220 $^{\circ}$ C 并保留 10 min。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences used for PCR

基因	序列 (5'-3')	退火温度 / $^{\circ}$ C	长度 /bp
SREBP-1	TGAGGACAGCAAGGCAAAG	58	300
	AGAAGCACCAAGGAGACGAG		
HMG-CR	AAGGAGGCATTTGACAGCAC	58	100
	CTGACCTGGACTGGAAACG		
LDLr	GGCTACAAGTGCCAGTGTGA	58	305
	GCCTGGATGTCTCTGCTGAT		
FAS	ATAAGCCCTGTCTCCAGGT	58	308
	GTTGCTGGTGAGTGTGCATT		
GAPDH	CGGGAAACTGTGGCGTGATG	57	311
	CAAAGGTGGAGGAGTGGG		

1.3.5 细胞总胆固醇 (TC)、细胞低密度脂蛋白 (LDL-C)、高密度脂蛋白 (HDL-C) 及总甘油三酯 (TG) 的测定

取给药 HepG2 细胞, 收集并提脂。细胞内 TC 和 TG 含量按照相应试剂盒说明书检测, 用酶标仪在 510 nm 波长下测定 TC 和 TG 吸光度值, 最后根据相应的公式及蛋白浓度 (用 BCA 蛋白试剂盒测定) 计算出细胞内 TC 和 TG 含量。

细胞 LDL-C 和 HDL-C 含量按照相应试剂盒说明书检测, 用酶标仪在 546 nm 波长下测定 LDL-C 和 HDL-C 吸光度值, 最后根据相应的公式及蛋白浓度

(用 BCA 蛋白试剂盒测定) 计算出细胞内 LDL-C 和 HDL-C 含量。

1.3.6 细胞 ApoB 的测定

收集细胞, 细胞悬浮液用于蛋白测定, 按 BCA 蛋白测定试剂盒说明书进行。

1.3.7 细胞总 RNA 提取及反转录

RNA 提取及反转录分别按生工生物工程 (上海) 股份有限公司 RNA kit 和反转录 PCR 试剂盒操作。

1.3.8 PCR 引物的设计与合成

由生物工程 (上海) 股份有限公司技术部设计并合成引物序列。见上表 1。

2.1 不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞脂肪酸组成的影响

不同比例 LA/ALA 处理 HepG2 细胞 24 h 的气相色谱结果如表 2 所示。与空白对照组相比, 组 1、组 2、组 3 和组 4 明显增加 HepG2 细胞的 C18:2(LA)含量, C18:3 (ALA) 含量变化从高到低依次是组 7、组 6、组 5、组 4 和空白对照组, 说明脂肪酸已由 BSA 作为载体成功导入细胞。

2 结果与讨论

表 2 不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞脂肪酸组成的影响 ($\mu\text{g}/\text{mg prot}$, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of different ratios of LA/ALA on fatty acid composition in HepG2 cells ($\mu\text{g}/\text{mg prot}$, $\bar{x} \pm s$)

脂肪酸	空白	组 1	组 2	组 3
C14:0	3.762±0.392 ^a	3.934±0.412 ^a	3.675±0.376 ^a	3.524±0.245 ^a
C16:0	134.061±4.621 ^a	131.173±5.120 ^a	130.425±4.985 ^a	132.444±3.821 ^a
C18:0	32.249±2.159 ^a	30.697±2.675 ^a	30.12±1.965 ^a	34.621±3.014 ^a
C18:1	29.586±1.362 ^a	28.341±2.013 ^a	31.024±2.843 ^a	30.222±1.925 ^a
C18:2n-6	28.177±1.248 ^a	40.456±2.143 ^b	38.621±2.017 ^b	34.475±1.826 ^c
C18:3n-3	12.411±0.986 ^a	11.357±0.862 ^a	11.563±1.264 ^a	13.012±1.003 ^a
C20:4	1.025±0.125 ^a	3.216±0.275 ^b	3.012±0.121 ^b	2.667±0.210 ^c
C20:5	ND	ND	ND	ND
C22:6	ND	ND	ND	ND

脂肪酸	组 4	组 5	组 6	组 7
C14:0	3.789±0.476 ^a	3.601±0.324 ^a	3.875±0.412 ^a	3.832±0.389 ^a
C16:0	136.278±6.012 ^a	133.415±3.146 ^a	134.629±4.035 ^a	135.642±3.156 ^a
C18:0	33.125±1.264 ^a	32.997±1.046 ^a	29.634±2.948 ^a	31.233±1.597 ^a
C18:1	33.127±3.015 ^a	28.934±1.648 ^a	29.014±1.276 ^a	27.634±1.863 ^a
C18:2n-6	31.221±0.846 ^d	29.112±1.002 ^a	28.756±2.426 ^a	28.031±2.661 ^a
C18:3n-3	18.475±0.715 ^b	23.641±0.861 ^c	27.632±1.214 ^d	29.442±0.951 ^d
C20:4	1.143±0.153 ^a	1.105±0.176 ^a	0.942±0.164 ^a	1.266±0.271 ^a
C20:5	0.223±0.098 ^a	0.477±0.103 ^b	0.724±0.072 ^c	0.804±0.083 ^c
C22:6	ND	ND	ND	ND

注: “ND”表示未检出, 各行数值上标的不同字母表示显著性差异 $p < 0.05$ 。

2.2 不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞脂质水平的影响

60 μM 不同比例 LA/ALA 作用 HepG2 细胞 24 h 后, 细胞脂质水平的变化结果见图 1。

由图 1a、b 和 c 可知, 与空白对照组相比, 各实

验组处理 HepG2 细胞 24 h 后, 均能显著降低细胞 TC、TG 和 LDL-C 含量 ($p < 0.05$), 其中组 4 (1:1 LA/ALA) 抑制效果最显著, 与空白对照组相比分别降低了约 50%、45%和 50%, 其余各组有不同程度的下降, 与组 4 相比有显著性差异 ($p < 0.05$)。各实验组对 HepG2 细胞 TC、TG 和 LDL-C 抑制作用顺序为 4>组 3>组 2~组 1; 组 4>组 5>组 6~组 7。

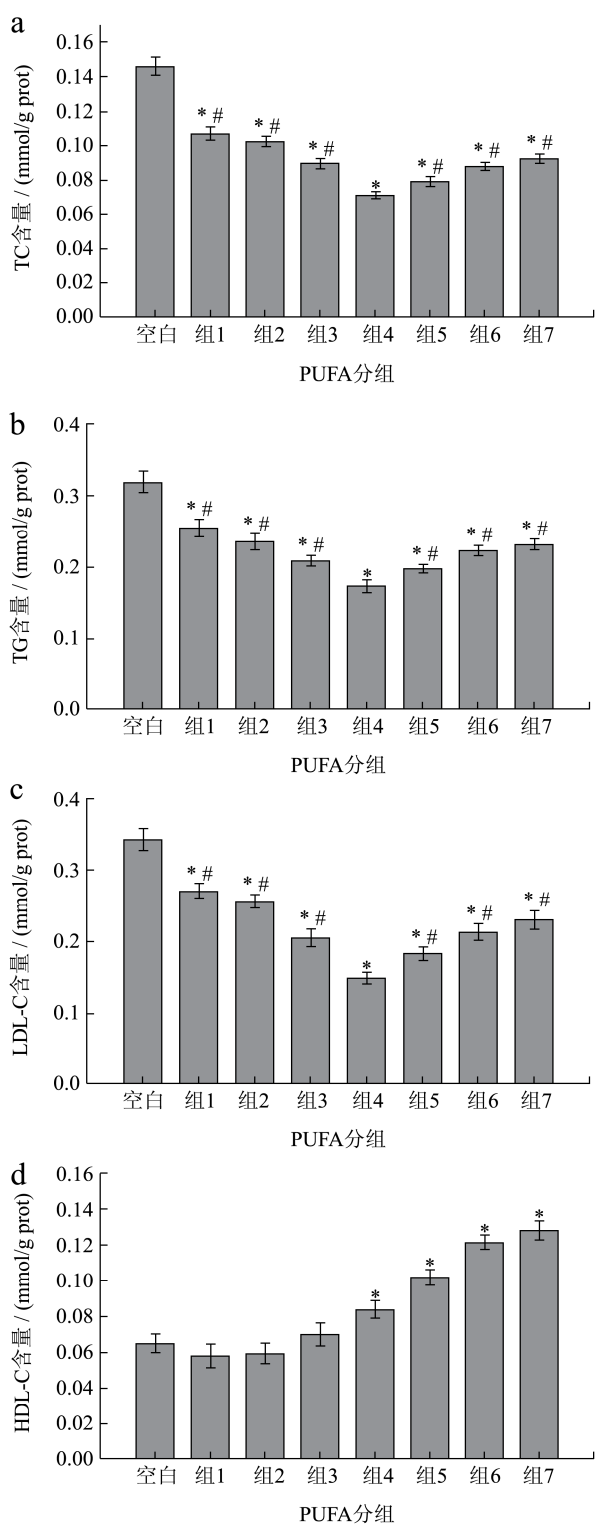


图1 不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞脂质水平的影响

Fig.1 Effect of different ratios of LA/ALA on lipid level in HepG2 cells

注: a, 细胞 TC 含量; b, 细胞 TG 含量; c, 细胞 LDL-C 含量; d, 细胞 HDL-C 含量。* $p < 0.05$ 与对照组对比的显著性; # $p < 0.05$ 与 LA/ALA=1:1 对比的显著性。

由图 1d 可知, 与空白对照组相比, 各实验组处理 HepG2 细胞 24 h 后, 组 1、组 2 和组 3 均不影响 HepG2

细胞 HDL-C 含量 ($p > 0.05$), 组 4、组 5、组 6 及组 7 显著增加 HDL-C 含量 ($p < 0.05$), 且随 LA/ALA 比例中 ALA 浓度的增加而增加。

2.3 不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞 ApoB 的影响

60 μM 不同比例 LA/ALA 作用 HepG2 细胞 24 h 后, 细胞分泌的 ApoB 含量的变化结果见图 2。

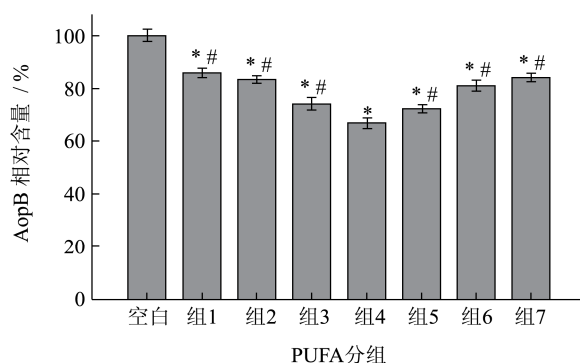


图2 不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞 ApoB 水平的影响

Fig.2 Effect of different ratios of LA/ALA on ApoB level in HepG2 cells

注: * $p < 0.05$ 与对照组对比的显著性; # $p < 0.05$ 与 LA/ALA=1:1 对比的显著性。

ApoB 由肝脏合成, 是 LDL-C 的主要结构蛋白, ApoB 的测定可直接反映 LDL-C 水平。由图 2 可知, 与空白对照组相比, 组 4 (1:1 LA/ALA) 能显著降低细胞培养液中 ApoB 的含量 ($p < 0.05$), 其余各组有不同程度的抑制, 与组 4 相比有显著性差异 ($p < 0.05$)。各实验组作用顺序为组 4>组 3>组 2~组 1; 组 4>组 5>组 6~组 7。Van 等^[14]人探讨了 LDL-C 和 ApoB 的关系, 发现 LDL-C 水平与 ApoB 水平呈正相关。说明不同比例 LA/ALA 可通过降低 ApoB 含量来降低 LDL-C 水平。

2.4 不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞脂代谢相关基因表达的影响

2.4.1 不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞 SREBP-1 基因表达的影响

SREBP-1 在肝脏中主要调控脂肪酸的代谢, 是脂质代谢的重要核转录因子。60 μM 不同比例 LA/ALA 作用 HepG2 细胞 24 h 后, 细胞 SREBP-1 mRNA 表达量见图 3。

由图 3 可知, 与空白对照组相比, 各实验组 PUFAs 均能明显抑制 SREBP-1 mRNA 转录水平 ($p < 0.05$)。

各实验组中组 4 (1:1 LA/ALA) 对细胞 SREBP-1 mRNA 的抑制作用最显著, 其余实验组随 LA/ALA 比例中 LA 或 ALA 比率的升高, 对 SREBP-1 mRNA 转录水平的抑制作用逐渐下降, 与组 4 相比有显著性差异 ($p < 0.05$)。各实验组作用顺序为组 4>组 3>组 2~组 1; 组 4>组 5>组 6~组 7。PUFAs 是 SREBP-1 的反馈调节者, 而 SREBP-1 又是控制脂肪酸合成、去饱和、延长以及甘油三酯早期合成的关键性转录因子。不同比例 LA/ALA 通过下调 SREBP-1 基因的表达, 抑制细胞内脂肪酸的合成, 进而降低细胞内 TG 水平, 减少脂肪沉积, 组 4 (1:1 LA/ALA) 作用最显著。

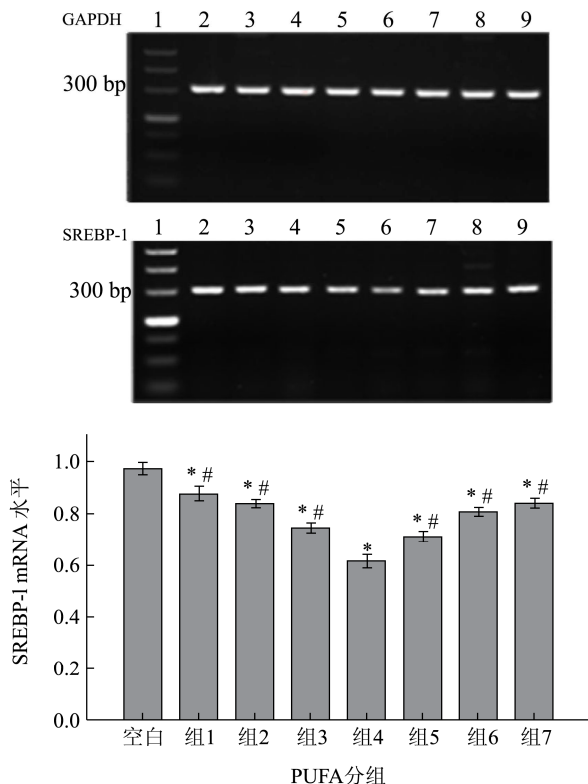


图3 不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞 SREBP-1 基因表达的影响

Fig.3 Effect of different ratios of LA/ALA on SREBP-1 gene expression in HepG2 cells

注: 1 表示 PCR marker; 2 表示空白对照组; 3 表示组 1; 4 表示组 2; 5 表示组 3; 6 表示组 4; 7 表示组 5; 8 表示组 6; 9 表示组 7。* $p < 0.05$ 与对照组对比的显著性; # $p < 0.05$ 与 LA/ALA=1:1 对比的显著性。

2.4.2 不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞 FAS 基因表达的影响

脂肪酸合成酶 (FAS) 是细胞内催化内源性脂肪酸 (FA) 合成的关键酶。FAS 是合成脂肪酸 (FA) 的关键限速酶, 主要在肝脏、脂肪等组织中表达, 在体内能催化丙二酸单辅酶 A 连续结合形成长链脂肪酸。FAS 表达的多少对控制细胞内脂肪沉积具有重要意义。60 μM 不同比例 LA/ALA 作用 HepG2 细胞 24 h

后, 细胞 FAS mRNA 水平的变化结果见图 4。与空白对照组相比, 各实验组均显著抑制 HepG2 细胞 FAS mRNA 转录水平 ($p < 0.05$), 组 4 (1:1 LA/ALA) 对 FAS mRNA 转录水平的抑制作用最显著, 其余各实验组与组 4 相比有显著性差异 ($p < 0.05$)。各实验组作用顺序为组 4>组 3>组 2~组 1; 组 4>组 5>组 6~组 7。不同比例 LA/ALA 通过下调 FAS 基因的表达, 抑制细胞内脂肪酸的合成, 进而降低细胞内 TG 水平, 减少脂肪沉积, 组 4 (1:1 LA/ALA) 作用最显著。

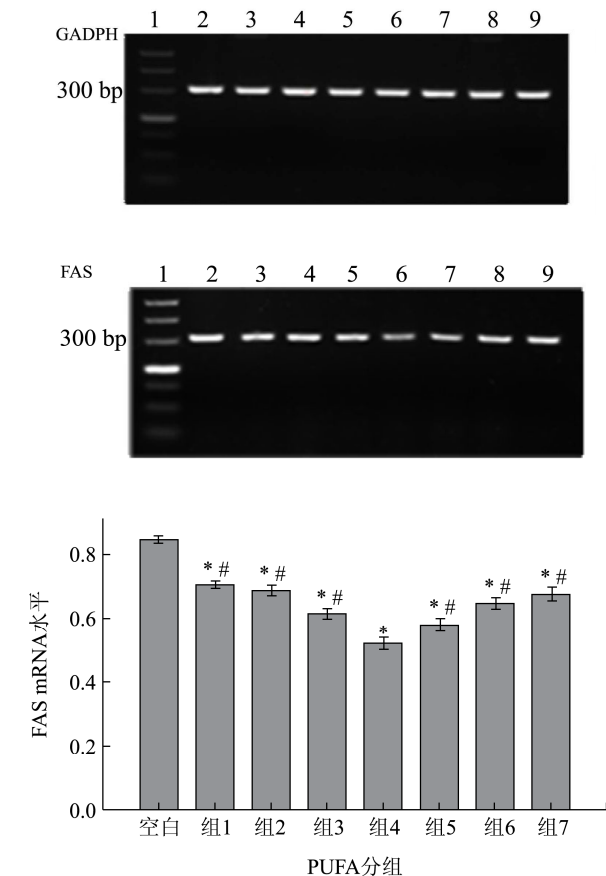


图4 不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞 FAS 基因表达的影响

Fig.4 Effect of different ratios of LA/ALA on FAS gene expression in HepG2 cells

注: 1 表示 PCR marker; 2 表示空白对照组; 3 表示组 1; 4 表示组 2; 5 表示组 3; 6 表示组 4; 7 表示组 5; 8 表示组 6; 9 表示组 7。* $p < 0.05$ 与对照组对比的显著性; # $p < 0.05$ 与 LA/ALA=1:1 对比的显著性。

2.4.3 不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞 HMG-CR 基因表达的影响

HMG-CR 是调节胆固醇合成的重要的限速酶。60 μM 不同比例 LA/ALA 作用 HepG2 细胞 24 h 后, 细胞 HMG-CR mRNA 表达量见图 5。

由图 5 可知, 与空白对照组相比, 组 4 (1:1 LA/ALA) 能显著降低 HepG2 细胞 HMG-CR mRNA

的转录水平 ($p < 0.05$), 其余各组对 HepG2 细胞 HMG-CR 基因的表达均有不同程度的抑制, 但抑制程度均显著低于组 4 ($p < 0.05$), 各实验组作用顺序为组 4>组 3>组 2~组 1; 组 4>组 5>组 6~组 7。胆固醇代谢主要有两种途径, 一种是内源性途径, 在胆固醇合成的关键限速酶 HMG-CR 作用下, 由 3-甲基-3,5-二羟基戊酸合成乙酰 CoA, 最终完成内源性胆固醇生物合成。HMG-CR 活性及基因表达决定着胆固醇的合成。

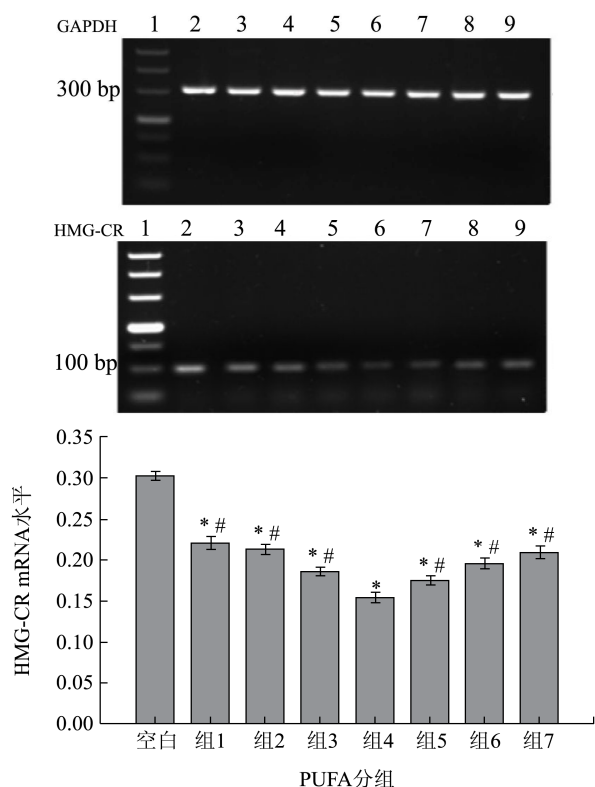


图5 不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞 HMG-CR 基因表达的影响

Fig.5 Effect of different ratios of LA/ALA on HMG-CR gene expression in HepG2 cells

注: 1 表示 PCR marker; 2 表示空白对照组; 3 表示组 1; 4 表示组 2; 5 表示组 3; 6 表示组 4; 7 表示组 5; 8 表示组 6; 9 表示组 7。* $p < 0.05$ 与对照组对比的显著性; # $p < 0.05$ 与 LA/ALA=1:1 对比的显著性。

2.4.4 不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞 LDLr 基因表达的影响

LDLr 是低密度脂蛋白受体, 能够调节胆固醇的体内平衡。60 μM 不同比例 LA/ALA 作用 HepG2 细胞 24 h 后, 细胞 LDLr mRNA 表达差异见图 6。

由图 6 可知, RT-PCR 结果表明, 与空白对照组相比, 各实验组都显著增加 HepG2 细胞 LDLr mRNA 的转录水平 ($p < 0.05$), 其中组 4 (1:1 LA/ALA) 促进作用最显著, 其余各实验组与组 4 相比有显著性差异 ($p < 0.05$)。各实验组作用顺序为组 4>组 3>组 2~组 1; 组 4>组 5>组 6~组 7。

胆固醇代谢的另一途径是外源性途径, 食物中胆固醇被吸收后与 LDL 结合形成 LDL-C, LDL 是胆固醇运输的最主要载体, 胆固醇与 LDL 结合形成的复合体可与肝细胞膜上丰富的 LDLr 结合, 完成胆固醇的细胞内吞作用。LDLr 是 LDL 主要受体蛋白, 当 LDLr 含量不足或结构功能异常时, LDL-C 水平会增高, 导致胆固醇过度积累, 易引起动脉粥样硬化。因此, LDLr 在调节胆固醇平衡以及浓度方面起关键性作用。

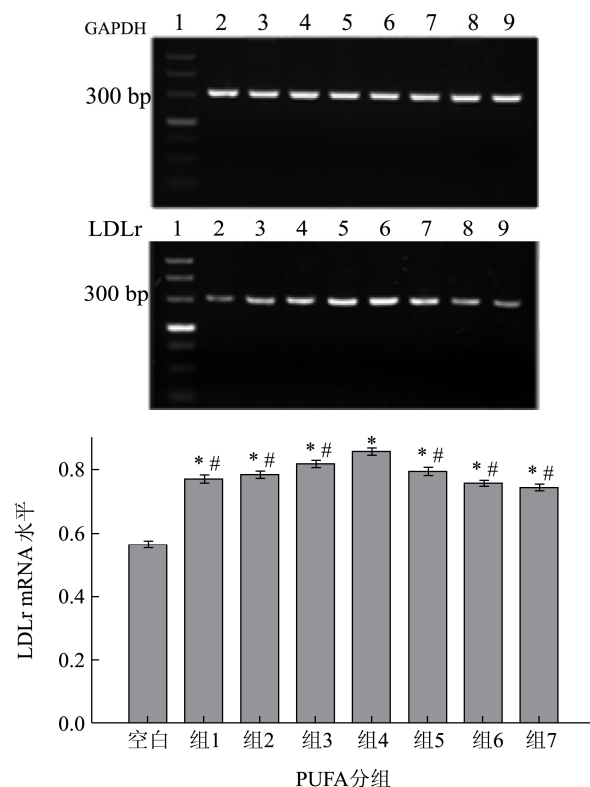


图6 不同比例 LA/ALA 对 HepG2 细胞 LDLr 基因表达的影响

Fig.6 Effect of different ratios of LA/ALA on LDLr gene expression in HepG2 cells

注: 1 表示 PCR marker; 2 表示空白对照组; 3 表示组 1; 4 表示组 2; 5 表示组 3; 6 表示组 4; 7 表示组 5; 8 表示组 6; 9 表示组 7。* $p < 0.05$ 与对照组对比的显著性; # $p < 0.05$ 与 LA/ALA=1:1 对比的显著性。

3 结论

综上所述, 不同比例 LA/ALA 作用 HepG2 细胞 24 h 后, 1:1 为 LA/ALA 作用的最佳比例, 通过下调 HepG2 细胞 SREBP-1 和 FAS 基因的表达降低细胞 TG 的含量; 下调 HMG-CR 基因的表达, 上调 LDLr 基因的表达来降低细胞 TC 和 LDL-C 含量; 通过上调 SR-B1 基因表达增加胆固醇逆转运。本研究结果表明, 组 4 (1:1 LA/ALA) 对 HepG2 细胞脂肪酸含量、脂质水平及脂代谢相关基因表达的作用最显著, 可有效调节细胞脂质代谢。

参考文献

- [1] 苏宜香,郭艳.膳食脂肪酸构成及适宜推荐比值的研究概况[J].中国油脂,2003;28(1):31-34
SU Yi-xiang, GUO Yan. Research overview of dietary fatty acid composition [J]. China Oils and Fats, 2003: 28(1): 31-34
- [2] Leaf A, Weber P C. Cardiovascular effects of n-3 fatty acids [J]. The New England Journal of Medicine, 1988, 318(9): 549-557
- [3] Von Schacky C. Prophylaxis of atherosclerosis with marine omega-3 fatty acids: a comprehensive strategy [J]. Annals of Internal Medicine, 1987, 107(6): 890-899
- [4] Sugano M, Hirahara F. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Japan [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2000, 71(1): 189S-196S
- [5] Kris-Etherton P M, Taylor D S, Yu-Poth S. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2000, 71(1): 179S-188S
- [6] 中国营养学会.中国居民膳食营养素参考摄入量[M].北京:中国轻工业出版社,2000
Chinese Nutrition Society. Chinese dietary reference intakes, DRIs [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2000
- [7] Von Eckardstein A, Huang Y, Assmann G. Physiological role and clinical relevance of high-density lipoprotein subclasses [J]. Current Opinion in Lipidology, 1994, 5(6): 404-416
- [8] Grundy S M, Denke M A. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins [J]. Journal of Lipid Research, 1990, 31(7): 1149-1172
- [9] Brunzell J D, Sniderman A D, Albers J J. Apoproteins B and AI and coronary artery disease in humans [J]. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 1984, 4(2): 79-83
- [10] Le Jossic-Corcus C, Gonthier C, Zaghini I. Hepatic farnesyl diphosphate synthase expression is suppressed by polyunsaturated fatty acids [J]. Biochemistry Journal, 2005, 385: 787-794
- [11] Rise P, Marangoni F, Galli C. Regulation of PUFA metabolism: pharmacological and toxicological aspects [J]. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 2002, 67(2): 85-89
- [12] Ho S, Storch J. Common mechanisms of monoacylglycerol and fatty acid uptake by human intestinal Caco-2 cells [J]. American Journal of Physiology-cell Physiology, 2001, 281(4): 1106-1107
- [13] Garces R, Mancha M. One-step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissues [J]. Analytical Biochemistry, 1993, 211(1): 139-143
- [14] Van Eck M, Pennings M, Hoekstra M, et al. Scavenger receptor BI and ATP-binding cassette transporter AI in reverse cholesterol transport and atherosclerosis [J]. Current Opinion in Lipidology, 2005, 16(3): 307-315
-
- (上接第 67 页)
- [26] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408
- [27] 郝再彬,苍晶,徐仲.植物生理实验技术(B 册)[M].哈尔滨出版社,2002
HAO Zai-bin, CANG Jing, XU Zhong. Experiment technology of plant physiology (volume B) [M]. Harbin Publishing House, 2002
- [28] 曹建康,姜微波,赵玉梅.果蔬采后生理生化实验指导[M].中国轻工业出版社,2007
CAO Jian-kang, JIANG Wei-bo, ZHAO Yu-mei. Experiment guidance of postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables [M]. China Light Industry Press, 2007
- [29] 赵树亮,蒋明凤,魏媛媛,等.梨果实生长过程中细胞壁成分的变化分析[J].南方农业学报,2013,44(11):1861-1865
ZHAO Shu-liang, JIANG Ming-feng, WEI Yuan-yuan, et al. Variation of cell wall component during pear growing process [J]. Journal of Southern Agriculture, 2013, 44(11): 1861-1865
- [30] Urbanowicz B R, Catalá C, Irwin D, et al. Tomato endo-beta-1,4-glucanase, SlCel9C1, represents a distinct subclass with a new family of carbohydrate binding modules (CBM49) [J]. Journal of Biological Chemistry, 2007, 282(16): 12066-12074
- [31] Brummell D A, Bird C R, Schuch W, et al. An endo-1,4-beta-glucanase expressed at high levels in rapidly expanding tissues [J]. Plant Molecular Biology, 1997, 33(1): 87-95