

茶籽皂苷改善高脂饮食诱导的肥胖小鼠脂肪代谢及氧化应激水平

曹文滢¹, 刘爽¹, 苏彦民¹, 李嘉丽¹, 覃会珊¹, 曾榛^{1,2*}, 宋家乐^{1,3,4*}

(1. 桂林医学院公共卫生学院, 广西桂林 541199) (2. 中南大学湘雅公共卫生学院, 湖南长沙 410000)

(3. 桂林医学院第二附属医院临床营养科, 广西桂林 541109) (4. 广西卫生健康委员会全生命周期健康保健研究实验室, 广西环境暴露组学与全生命周期健康重点实验室, 广西桂林 541199)

摘要: 该研究探讨茶籽皂苷(TSS)对高脂饮食(HFD)小鼠脂代谢与氧化应激水平的改善作用。观察小鼠摄食量及体重变化。试剂盒法检测小鼠血清超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)和低密度脂蛋白(LDL-C)水平。H&E染色观察肝脏的脂肪变性程度。蛋白印迹法检测肝脏中AMPK、p-AMPK、SIRT1、PGC-1 α 、PPAR- γ 的表达。结果表明, TSS干预显著降低HFD小鼠体重和附睾、肾周及腹部等处脂肪指数($p < 0.05$), 显著降低小鼠血清TC、TG和LDL-C水平($p < 0.05$), 升高HDL-C水平($p < 0.05$)。高剂量TSS干预较HFD组显著降低血清TC(37.83%)、TG(64.77%)和LDL-C(76.83%)水平。TSS干预显著改善HFD小鼠肝脏脂肪变性程度, 并较HFD组提高肝脏内p-AMPK(3.92倍、4.95倍、6.63倍)、SIRT1(0.86倍、1.36倍、1.77倍)、PGC-1 α (3.10倍、3.11倍、4.33倍)和PPAR- γ (2.83倍、4.27倍、5.51倍)的蛋白表达。此外, TSS处理还能升高HFD小鼠血清SOD和GSH含量, 并降低MDA水平。综上所述, TSS干预可减少体内的脂肪堆积, 改善HFD引起的脂质代谢紊乱和氧化应激状态。

关键词: 茶籽皂苷; 高脂饮食; 脂代谢; 氧化应激

文章编号: 1673-9078(2022)04-19-27

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.4.0731

Tea Seed Saponin Ameliorated Lipid Metabolism and Oxidative Stress in High Fat Diet Fed Mice

CAO Wengjing¹, LIU Shuang¹, SU Yanmin¹, LI Jiali¹, QIN Huishan¹, ZENG Zhen^{1,2*}, SONG Jiale^{1,3,4*}

(1. School of Public Health, Guilin Medical University, Guilin 541199, China)

(2. Xiangya School of Public Health, Central South University, Changsha 410000, China)

(3. Department of Clinical Nutrition, the Second Hospital Affiliated to Guilin Medical University, Guilin 541109, China)

(4. Guangxi Health Commission Key Laboratory of Entire Lifecycle Health and Care, Guangxi Key Laboratory of Environmental Exposomics and Entire Lifecycle Health, Guilin 541199, China)

Abstract: In this study, the effect of tea seed saponin on lipid metabolism and oxidative stress caused by high-fat diet in mice was investigated. The food intake and body weight changes of mice were observed. The levels of serum superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), total cholesterol (TC), triglycerides (TG), low density lipoprotein (LDL-C) and high density lipoprotein (HDL-C) were detected. H&E staining was used to observe the degree of liver fat degeneration. Western blotting was used to detect the expression of AMPK, p-AMPK, SIRT1, PGC-1 α , and PPAR- γ in the liver. The results showed that TSS intervention significantly reduced HFD mouse body weight and epididymal, perirenal, and abdominal fat index ($p < 0.05$), significantly reduced mouse serum TC, TG, and LDL-C levels ($p < 0.05$), and increased HDL-C levels ($p < 0.05$). High-dose TSS intervention significantly reduced serum TC (37.83%), TG (64.77%), and LDL-C (76.83%) levels compared to the HFD group. TSS intervention significantly improved HFD mouse liver fat degeneration, and significantly increased liver p-AMPK (3.92-fold, 4.95-fold, 6.63-fold), SIRT1 (0.86-fold, 1.36-fold, 1.77-fold), PGC-1 α (3.10-fold, 3.11-fold, 4.33-fold), and PPAR- γ (2.83-fold, 4.27-fold, 5.51-fold) protein expression. In addition, TSS treatment also increased HFD mouse serum SOD and GSH levels, and decreased MDA levels. In conclusion, TSS intervention can reduce body fat accumulation, improve HFD-induced lipid metabolism disorder and oxidative stress state.

引文格式: 曹文滢, 刘爽, 苏彦民, 等. 茶籽皂苷改善高脂饮食诱导的肥胖小鼠脂肪代谢及氧化应激水平[J]. 现代食品科技, 2022, 38(4): 19-27, +154

CAO Wengjing, LIU Shuang, SU Yanmin, et al. Tea seed saponin ameliorated lipid metabolism and oxidative stress in high fat diet fed mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(4): 19-27, +154

收稿日期: 2021-07-13

基金项目: 人社部“高层次留学人才回国资助计划”(人社厅函[2019]160号); 广西高等学校千名中青年骨干教师培育计划资助(桂教人[2018]18号); 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2018KY0401); 桂林医学院引进人才科研启动基金(04010150001); 广西壮族自治区大学生创新创业训练计划项目(202010601114)

作者简介: 曹文滢(1999-), 女, 本科, 研究方向: 营养与食品卫生学, E-mail: 13730619@qq.com

通讯作者: 曾榛(1987-), 女, 讲师, 硕士, 研究方向: 营养与食品卫生学, E-mail: 249912657@qq.com; 共同通讯作者: 宋家乐(1983-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 临床分子营养与免疫代谢性疾病, E-mail: songjiale@glmc.edu.cn

lipoprotein (HDL-C) were determined by relevant commercial kits. The hepatic steatosis levels were observed by H&E staining assay. The hepatic protein levels of AMPK, p-AMPK, SIRT1, PGC-1 α and PPAR- γ were detected by western blot assay. The experimental results showed that TSS treatment significantly reduced the body weight, and organ index of epididymal fat, perirenal fat and abdominal fat in HFD mice ($p < 0.05$). The serum levels of TC (37.83%), TG (64.77%) and LDL-C (76.83%) were reduced in high dose of TSS treated mice than that in HFD mice. TSS treatment significantly reduced the hepatic steatosis and promoted the protein levels of p-AMPK (3.92 times, 4.95 times and 6.63 times), SIRT1 (0.86 times, 1.36 times and 1.77 times), PGC-1 α (3.10 times, 3.11 times and 4.33 times) and PPAR- γ (2.83 times, 4.27 times and 5.51 times) in HFD mice ($p < 0.05$). After treated by TSS, serum levels of SOD and GSH were increased in HFD mice. In addition, serum MDA was also decreased in TSS treated HFD mice. Taken together, our results suggested that TSS reduced fat accumulation, improved the lipid metabolic disorder and attenuated the oxidative stress status in mice induced by HFD.

Key words: tea seed saponin; high fat diet; lipid metabolism; oxidative stress

肥胖是一种以白色脂肪组织增大和体内脂肪异常蓄积为主要表现的慢性代谢性疾病^[1]。据 2016 年世界卫生组织 (WHO) 的调查数据显示, 全世界有超过 19 亿成年人存在超重或肥胖, 发生率达 38.9%^[2]。随着人们生活水平和经济条件的提高, 肥胖已经成为全世界主要卫生问题之一。有研究表明, 脂质过度堆积引起体内氧化应激增加是肥胖相关代谢综合征的重要致病机制之一^[3]。氧化应激是由于细胞和组织中活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 的产生速度远高于机体清除速度, 从而造成大量 ROS 积累在体内各处并引发组织器官的氧化损伤^[4]。正常生理条件下, 细胞表现出一种自我保护的抗氧化活性, 从而防止由酶和非酶引起的氧化损伤^[5]。长期摄入高脂饮食 (High fat diet, HFD) 则会诱导肥胖, 导致机体能量摄入与消耗的不平衡, 造成大量 ROS 的产生及游离脂肪酸的增加和释放入血, 最终引起机体的脂质代谢紊乱及氧化应激状态, 而这一系列事件均与心血管疾病、糖尿病及各种癌症的发生存在有密切的联系^[6-8]。已有研究表明, 脂肪堆积与高氧化应激状态有关, 而通过改善机体的氧化应激状态有助于起到改善肥胖状态的目的^[9,10]。

茶是中国及世界范围内最受欢迎的健康饮料之一。茶叶中富含有许多对人体有益的天然化合物 (如儿茶素、茶黄素和类黄酮等)。茶籽皂苷 (Tea seed saponin, TSS) 又称为茶皂素, 是一类天然存在的齐墩果烷型五环三萜类皂苷化合物, 广泛存在于山茶科植物的种子、根、茎、叶和花中^[11]。现有的研究提示, TSS 具有降血脂^[11]、抗癌^[12]、抗病毒^[13]、抗真菌^[14]、降血糖^[15,16]、调节肠道菌群^[17]、预防阿尔茨海默氏病^[18]等生物学作用。但对于茶籽皂苷在降脂减肥、改善氧化应激等方面相关作用机制的研究报道则较少。

AMP 激活的蛋白激酶 (Adenosine 5-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK) 是生物体内重要的能量感应器, 主要参与维持着机体能量代谢平衡。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸辅酶

(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺) 依赖性蛋白脱乙酰酶 (Sirtuin1, SIRT1) /AMPK 途径是重要的能量代谢通路之一, 可调节肝脏中的脂质和葡萄糖代谢^[19]。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活物 1- α (peroxisome proliferator activated receptor γ coactivator-1 α , PGC-1 α) 与线粒体能量代谢密切相关且能被上游因子 SIRT1 激活^[20]。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR- γ) 属于过氧化物酶体增殖物激活受体 PPARs (peroxisome proliferator activated-receptors) 家族, 可协同 AMPK 增加线粒体的生物发生, 促进脂肪酸的 β -氧化^[21]。基于上述研究, 以高脂饮食诱导的肥胖小鼠为模型, 观察茶籽皂苷干预对肥胖小鼠脂质代谢及氧化应激的影响, 探究茶籽皂苷是否通过调控 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 通路及 PPAR- γ 来实现其抗肥胖、抗氧化作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

普通维持饲料 (AIN-93M) 及 HFD 饲料, 购于常州鼠一鼠二生物科技有限公司; HFD (60%脂肪供能比) 组分为玉米淀粉 22.75%、酪蛋白 20%、麦芽糊精 13.2%、猪油 17%、蔗糖 10%、玉米油 7%、纤维素 5%、矿物质混合物 3.5%、维生素混合物 1%、蛋氨酸 0.3%、酒石酸氢胆碱 0.25%; 茶籽皂苷 (批号: F02040019122601), 购自湖南汉清生物技术有限公司; 羧甲基纤维素钠 (sodium carboxymethyl cellulose, CMC) 购自中国汕头西隆科技有限公司; 总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 生化试剂盒均购于江苏科特生物科技有限公司; 超氧化物歧

化酶 (superoxide dismutase, SOD)、丙二醛 (malonic dialdehyde, MDA)、谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 试剂盒均购于南京建成生物工程研究所; 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 购自武汉塞维尔生物科技有限公司; PPAR- γ 、AMPK、p-AMPK、SIRT1、PGC-1 α 抗体购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.2 仪器与设备

FA2004 电子天平, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司; Eppendorf 5424R 型冷冻离心机, 德国 Eppendorf 公司; ELx808 酶标仪, 美国 BioTek 公司; DM4B 正置荧光显微镜, 德国 LEICA 公司; FluorChem M 超灵敏多色荧光化学发光成像分析系统, 美国 ProteinSimple 公司; KZ-II 高速组织研磨仪, 武汉塞维尔生物科技有限公司。

1.3 实验动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 (共 35 只, 四周龄, 体重 17~22 g), 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司 (实验动物生产许可证号: SCXK (湘) 2019-0004), 饲养于桂林医学院公共卫生学院 SPF 级动物房 (实验设施使用许可证号: SYXK (桂) 2020-0005)。所有小鼠饲养环境保持室内温度 23 ± 3 °C, 相对湿度 50%~60%, 每日光照时间 12 h, 室内通风良好, 自由摄食, 清洁饮水。

1.4 实验方法

1.4.1 实验动物分组及高脂小鼠模型构建

总 35 只小鼠经适应性喂养 1 周后, 随机分为正常组 (N=7) 和肥胖模型组 (N=28)。造模期间, 正常组饲喂普通维持饲料, 模型组饲喂 HFD 饲料。6 周后, 如模型组小鼠体重高于正常组小鼠平均体重 20% 以上, 则判定为造模成功^[22]。

1.4.2 茶籽皂苷干预处理

表 1 动物分组及干预处理

Table 1 Animal grouping and intervention methods

分组	数量/只	饲料	给药处理
正常对照组 (CON 组)	7	普通饲料	0.5% CMC
肥胖对照组 (HFD 组)	7	高脂饲料	0.5% CMC
茶籽皂苷低剂量组 (HFD+TSS-L 组)	7	高脂饲料	TSS:70 mg/(kg BW·d)
茶籽皂苷中剂量组 (HFD+TSS-M 组)	7	高脂饲料	TSS:140 mg/(kg BW·d)
茶籽皂苷高剂量组 (HFD+TSS-H 组)	7	高脂饲料	TSS:210 mg/(kg BW·d)

将肥胖模型组 28 只小鼠随机分为肥胖对照组、茶籽皂苷低、中、高剂量组。各组干预方式如表 1 所示, 药物干预组分别给予持续 4 周的不同剂量的茶籽皂苷 (以 0.5% 的 CMC 液配制) 灌胃。茶籽皂苷干预期间, 每 3 d 进行体质量监测, 每日进行摄食量和精神状态的监测, 所有小鼠自由摄食及清洁饮水。

1.4.3 血液及器官组织的取材

给药干预四周后, 各组小鼠禁食不禁水 12 h, 测量小鼠体重及体长。腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 (0.1 mL/10 g) 麻醉后, 腹主动脉取血 1 mL 置于干净的 EP 管内。在 4 °C, 3500 r/min 的条件下离心 10 min 后取血清。将取血后的小鼠置于冰上并迅速分离肝脏、附睾脂肪、肾周脂肪及腹部脂肪, 保存于 -80 °C 冰箱备用。

1.4.4 血清中生化指标及氧化应激指标的测定

根据试剂盒说明书, 检测依 1.4.3 中所述制备得的小鼠血清生化指标 (TC、TG、HDL-C、LDL-C) 和氧化应激指标 (SOD、MDA、GSH) 水平。

1.4.5 肝脏组织形态学观察

取各组小鼠相同部位的肝组织, 10% 的多聚甲醛

固定后, 进行石蜡包埋并进行 H&E 染色, 显微镜下观察各组小鼠脂肪变性程度, 拍照记录。

1.4.6 Western Bolt 法检测肝脏组织中相关蛋白的表达

称取一定质量小鼠肝脏组织 (50~60 mg), 用预冷的磷酸盐缓冲液 (PBS) 清洗血污, 滤纸吸干, 按比例加入组织蛋白裂解液 (含 PMSF), 破碎匀浆, 提取组织总蛋白。在 4 °C, 12000 r/min 的条件下离心 10 min, 收集上清液采用 BCA 法测定蛋白浓度, 将所有组织样品蛋白浓度调整为 1.9 mg/mL。配制 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 胶, 每孔加样 20 μ L, 浓缩胶 80 V, 分离胶 120 V, 电泳 120 min。恒定电流 240 mA 湿法转膜 1 h, 将转膜完的 NC 膜放于 5% 的脱脂牛奶中封闭 4 h。孵育一抗过夜, 用 1 \times TBST 溶液洗膜后慢摇孵育二抗 1 h, 1 \times TBST 溶液洗膜 3 次后, 加入特超敏 ECL 化学发光试剂, 自动化学发光成像仪检测相关蛋白的表达情况。

1.5 数据处理与统计分析

本研究中实验结果以均值 (means) \pm 标准偏差

(SD)表示。所得实验数据运用 SPSS 23.0 统计软件进行单因素方差分析与统计处理,当 $p < 0.05$ 时差异具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 茶籽皂苷干预对高脂饮食诱导的肥胖小鼠

鼠体重和 Lee's 指数的影响

小鼠灌胃给药期间,正常对照组小鼠精神状态良好,反应迅速,活动敏捷,采食正常。HFD 组小鼠体型增大,活动减少,抓取时反应迟钝。与 HFD 组相比,茶籽皂苷不同处理组小鼠的精神状态有所改善,活动增多,体态变小。造模期结束后,造模组 28 只小鼠体质量均大于正常组小鼠体质量 20%,可纳入实验组进行后续实验。由表 2 可知,与正常对照组相比,高脂饮食造模后 HFD 组初始体重增加了 36.54% ($p < 0.05$),茶籽皂苷各剂量组初始体重较 HFD 组差异无统计学意义 ($p > 0.05$)。给药干预期结束后,与 HFD 组相比,茶籽皂苷各剂量组体重分别下降了 9.80%、16.25%及 23.25% ($p < 0.05$)。Lee's 指数可作为评价小鼠肥胖程度的有效指标^[23]。与正常对照组相比,HFD 组小鼠 Lee's 指数显著增加了 9.49% ($p < 0.05$),与 HFD 组相比,茶籽皂苷处理能够显著降低高脂饮食诱导肥胖小鼠的 Lee's 指数,分别下降了 1.88%、4.83%及 6.38% ($p < 0.05$)。

表 2 茶籽皂苷对高脂饮食诱导的小鼠体质量和 Lee's 指数的影响

Table 2 Effects of tea seed saponin on body weight and Lee's index in high fat diet fed mice

分组	初始体重/g	最终体重/g	体重增加量/g	Lee's 指数
CON 组	23.53±1.80 ^b	24.87±2.41 ^d	0.45±0.44 ^b	13.60±0.25 ^b
HFD 组	32.13±0.51 ^a	35.70±0.78 ^a	3.23±1.00 ^a	14.89±0.25 ^a
HFD+TSS-L 组	31.26±1.13 ^a	32.20±1.14 ^b	1.50±1.79 ^{ab}	14.61±0.22 ^a
HFD+TSS-M 组	30.82±2.20 ^a	29.90±0.74 ^b	0.18±1.83 ^b	14.17±0.13 ^b
HFD+TSS-H 组	30.76±1.25 ^a	27.40±0.88 ^c	-3.33±0.85 ^c	13.94±0.11 ^b

注:初始体重指的是给药干预期第一天的体重;不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。

表 3 各组高脂饮食小鼠摄食量

Table 3 The diet of high fat diet fed mice in each group

干预周数	摄食量/g			
	HFD	HFD+TSS-L	HFD+TSS-M	HFD+TSS-H
1	10.13±3.81	10.76±3.43	10.50±2.76	9.93±2.11
2	10.48±2.53	10.93±2.88	10.80±2.73	10.65±2.12
3	11.50±3.98	12.10±2.77	11.68±3.15	11.68±3.42
4	9.78±1.43	8.93±0.66	9.83±0.89	9.70±3.88

通过对小鼠每日摄食量的检测,给予高脂饲料喂养的各组小鼠给药干预期间的摄食量如表 3 所示。给药干预 4 周内,与 HFD 组比较,茶籽皂苷各剂量组小鼠的摄食量无显著性差异 ($p > 0.05$),林玲^[11]等的研究结果也提示,给予茶籽皂苷干预并不会影响大鼠的饮水量和饮水量,可排除茶籽皂苷对小鼠的降体重作用是通过减少摄食量实现的可能。

2.2 茶籽皂苷对高脂饮食诱导的肥胖小鼠器

官质量的影响

由图 1 可知,相比正常组,HFD 组的附睾脂肪、肾周脂肪和腹部脂肪重量显著升高 ($p < 0.05$)。与 HFD 组相比,给药处理 4 周后,茶籽皂苷各剂量组附睾脂肪、肾周脂肪和腹部脂肪重量明显降低,且脂肪重量降低的程度与给药剂量呈正比关系。HFD+TSS-L 组、HFD+TSS-M 组和 HFD+TSS-H 组的附睾脂肪脏器指数分别下降 18.85%、33.40%和 43.85%;肾周脂肪脏器指数分别下降 15.28%、36.90%和 55.42%;腹部脂肪脏器指数分别下降 17.20%、40.93%和 49.10%,除 HFD+TSS-L 组无显著性差异外,其他两组差异具有统计学意义 ($p < 0.05$),且茶籽皂苷高剂量组的干预效果最好。这一结果提示,茶籽皂苷可以通过降低小鼠脂肪组织的重量,缓解脂肪组织堆积抑制小鼠体重的增加。

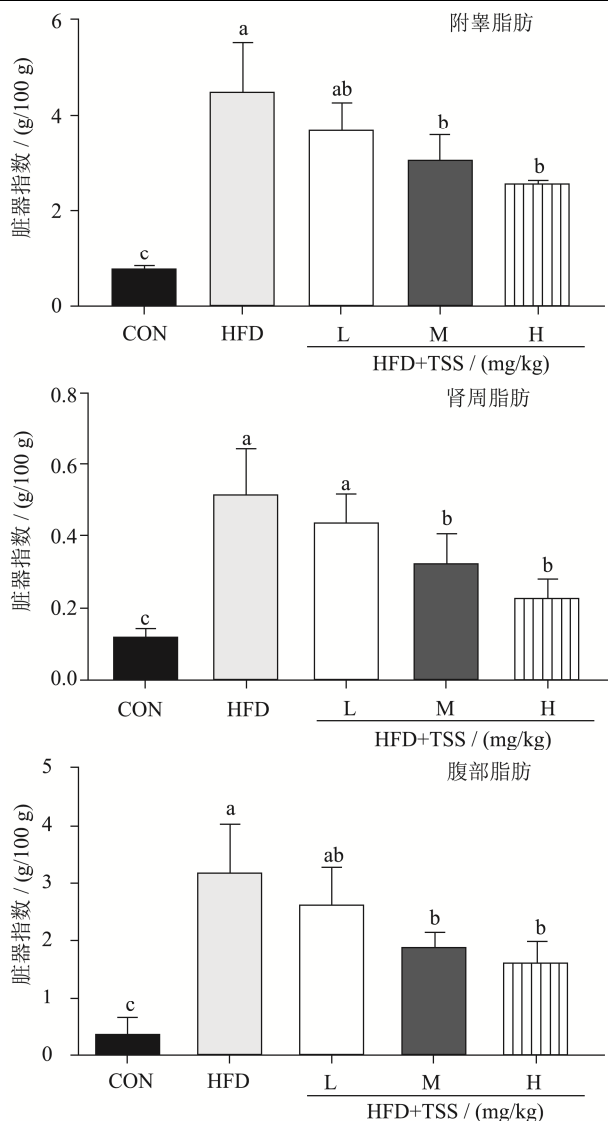


图1 茶籽皂苷对饲喂高脂饮食后小鼠各脂肪的脏器指数的影响

Fig.1 Effects of tea seed saponin on obesity tissue index in high fat diet fed mice

注：不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。下同。

2.3 茶籽皂苷对高脂饮食诱导的小鼠肝脏指数和肝脏脂肪变性的影响

肝脏指数可以反映肝脏的损伤程度，当肝脏出现水肿、增生和充血等病理变化时，肝脏指数增大，肝脏指数下降则说明器官出现萎缩和退行性病变等^[24]。由图2可知，与正常对照组相比，HFD组的肝脏指数显著增加 ($p < 0.05$)。与HFD组相比，干预给药4周之后，茶籽皂苷各剂量组小鼠的肝脏指数分别下降了15.73%、22.49%和21.83%，差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)，但茶籽皂苷各剂量组之间无显著性差异。这一结果提示茶籽皂苷能够改善高脂饮食诱导肥胖小鼠肝脏的损伤程度。而给予不同剂量茶籽皂苷干预

(50~150 mg/kg) 能够显著降低高脂饮食所致高脂血症大鼠肝脏指数的升高^[11]。

由图2可知，正常对照组小鼠肝脏组织细胞大小均一，排列紧密，细胞轮廓清晰，核仁明显。与正常对照组相比，HFD组肝脏组织脂肪变性程度明显，组织中脂滴增多，细胞间空隙增大，部分细胞出现气球样病变和水肿现象。而经茶籽皂苷干预4周后，肥胖小鼠的肝脏脂肪变性程度得到明显改善，主要表现为脂滴明显减少，细胞间空隙缩小，细胞轮廓逐渐清晰，且HFD+TSS-H组与正常对照组相比无显著性差异。本研究结果提示，茶籽皂苷干预能够改善肝脏脂肪变性的程度，且改善程度与给药剂量呈剂量依赖性。而这一实验结果与林玲等^[11]研究中茶籽皂苷能够改善大鼠肝脏细胞脂肪变性的结果较为接近。同时，茶籽皂苷干预也能改善HFD联合链脲佐菌素(STZ)所诱发2型糖尿病大鼠的肝脏脂肪变性程度^[16,25]。

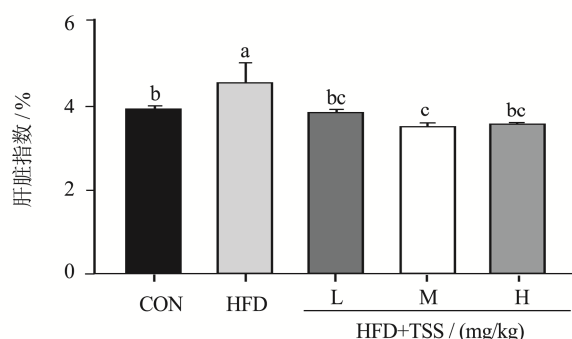
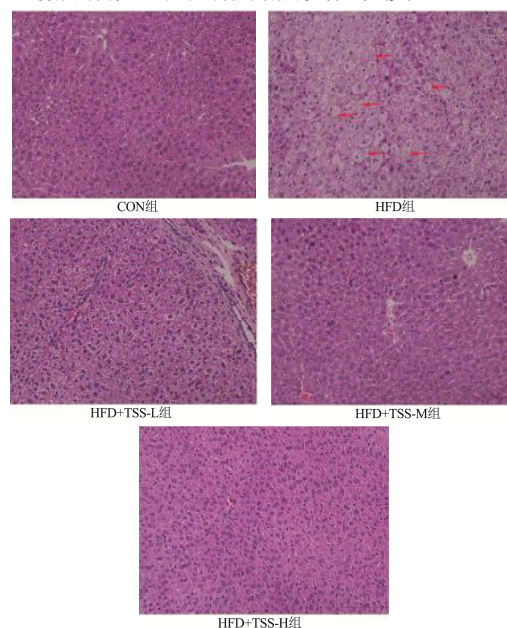


图2 茶籽皂苷对高脂饮食诱导的小鼠肝脏指数和肝脏脂肪变性(200×)的影响

Fig.2 Effects of tea seed saponin on liver index and liver pathology in high fat diet fed mice

2.4 茶籽皂苷对高脂饮食诱导的小鼠血清脂

代谢水平的影响

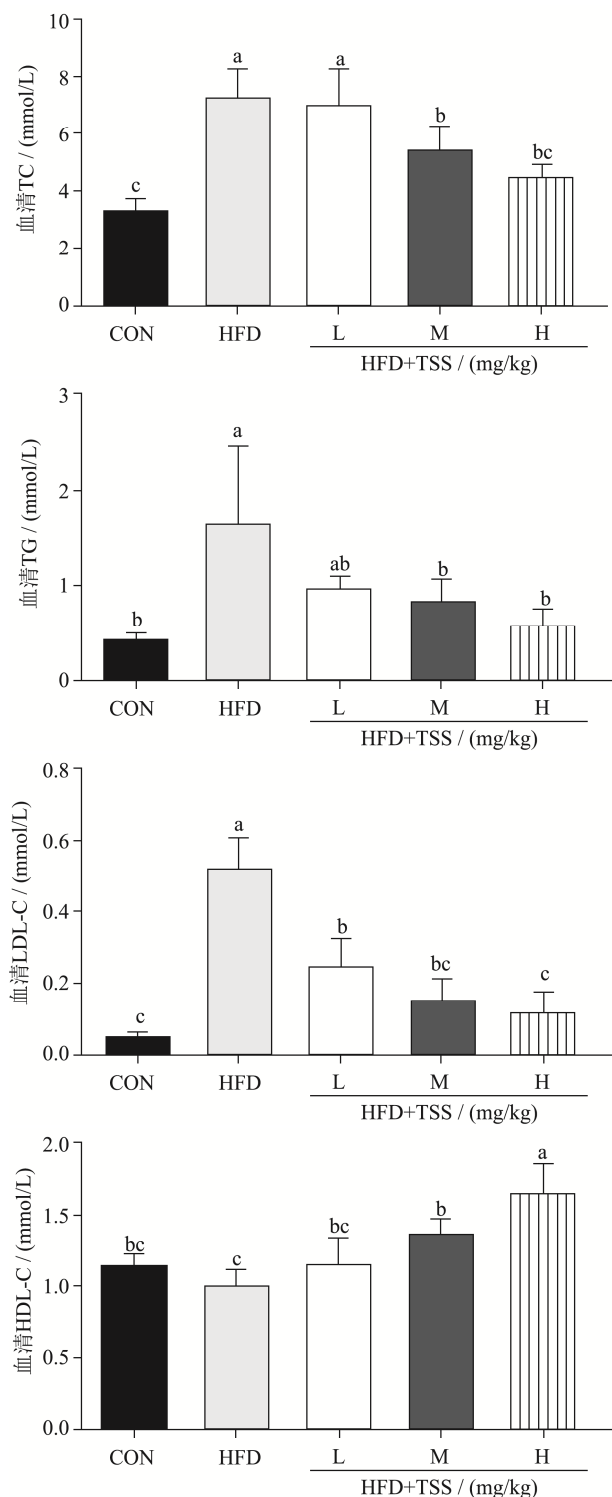


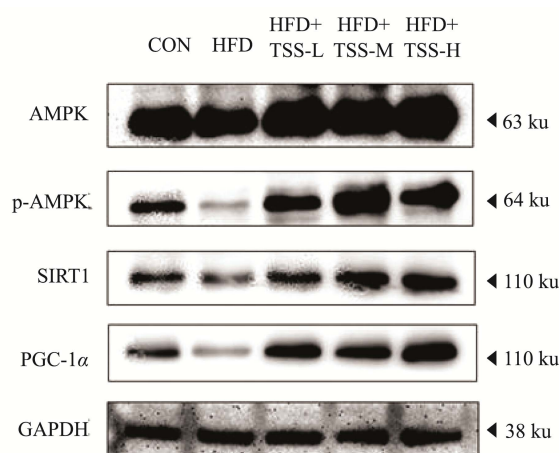
图3 茶籽皂苷对高脂饮食诱导的小鼠血清脂代谢水平的影响
Fig.3 Effects of tea seed saponin on serum lipid level in high fat diet fed mice

如图3所示,与正常对照组相比,高脂肪组血清TC、TG、LDL-C水平显著升高($p < 0.05$),血清HDL-C

水平降低,但无显著性差异。茶籽皂苷干预后,小鼠血清中TC、TG、LDL-C水平显著降低($p < 0.05$),HDL-C水平升高,且呈剂量依赖性。与模型组相比,茶籽皂苷各剂量组小鼠血清TC水平分别降低3.47%、25.72%和37.83%,TG水平降低40.84%、50.30%和64.77%,LDL-C水平降低52.17%、69.99%和76.83%,血清HDL-C水平分别升高17.05%、37.74%和67.26%。这一结果说明,茶籽皂苷干预后能有效恢复小鼠因高脂饮食喂养后引起的血脂代谢紊乱,对调节机体脂代谢具有良好的作用。而在高脂血症大鼠和2型糖尿病大鼠模型中,茶籽皂苷的干预同样也能够分别有效改善血清代谢指标(即降低TC、TG和LDL-C,并升高HDL-C水平)^[11,16,25],同时降低了高脂血症大鼠的动脉硬化指数(atherosclerosis index, AI)水平^[11]。

2.5 茶籽皂苷对高脂饮食小鼠肝脏 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 通路的影响

AMPK和PGC-1 α 是机体能量代谢的关键调节因子,在机体各种能量代谢过程中都发挥着重要作用^[26-28]。SIRT1是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性脱乙酰基酶,调节参与葡萄糖和脂质代谢的各种基因的表达,有报道, SIRT1可以通过其去乙酰化作用调节细胞代谢^[27]。由图4可知,与正常对照组相比,模型组中磷酸化的AMPK、SIRT1和PGC-1 α 蛋白表达水平显著降低($p < 0.05$)。茶籽皂苷干预后能够显著促进AMPK的磷酸化并对SIRT1和PGC-1 α 蛋白上调水平且呈剂量依赖性。其中,磷酸化的AMPK蛋白表达水平分别增加3.92倍、4.95倍和6.63倍, SIRT1蛋白表达水平分别增加了0.86倍、1.36倍和1.77倍, PGC-1 α 蛋白表达水平分别增加3.10倍、3.11倍和4.33倍。由此可得,茶籽皂苷能够改善高脂饮食摄入后引起的能量紊乱,抑制小鼠体内的脂质积累,该作用可能是通过激活AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路实现的。



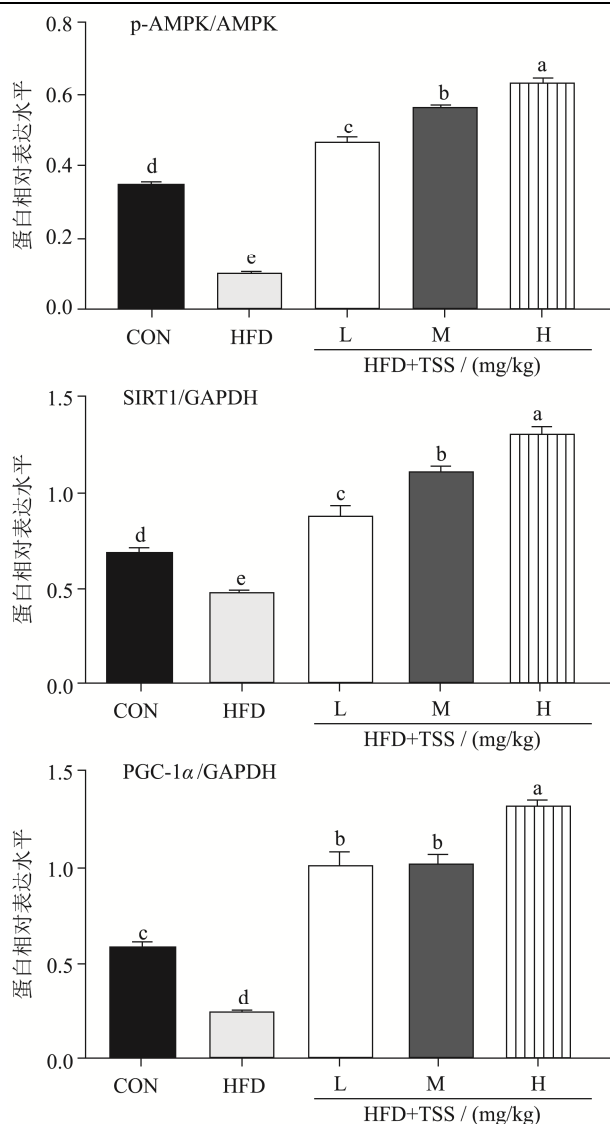


图4 茶籽皂苷对高脂饮食小鼠肝脏中AMPK/SIRT1/PGC-1 α蛋白表达的影响

Fig.4 Effects of tea seed saponin on hepatic protein expression of AMPK/SIRT1/PGC-1α in high fat diet fed mice

2.6 茶籽皂苷对高脂饮食小鼠肝脏中 PPAR-γ 蛋白表达的影响

PPAR-γ 作为 PPAR 家族的关键成员,具有复杂多样的生物学功能。研究表明,PPAR-γ 有能够促进游离脂肪酸代谢,调节糖、脂代谢的作用^[28]。如图 5 所示,与正常对照组相比,经高脂饮食诱导的 HFD 组小鼠肝脏中 PPAR-γ 的表达水平降低了 41.42% ($p<0.05$)。与 HFD 组相比,茶籽皂苷干预能显著上调小鼠肝脏组织中 PPAR-γ 蛋白水平 ($p<0.05$),且蛋白表达程度与给药剂量成正比,分别增加了 2.83 倍、4.27 倍和 5.51 倍。而激活 PPAR-γ 能够减少转运至肝脏和肌肉的脂肪酸数量,从而减少脂肪的合成^[29]。由此可得,茶籽

皂苷可能通过激活 PPAR-γ,改善脂质沉积,调控脂质代谢。

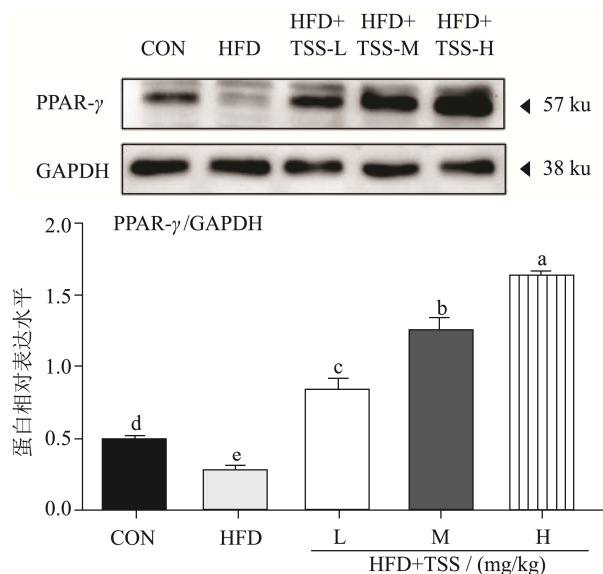


图5 茶籽皂苷对高脂饮食小鼠肝脏中PPAR-γ 蛋白表达的影响

Fig.5 Effects of tea seed saponin on hepatic protein expression of PPAR-γ in high fat diet fed mice

2.7 茶籽皂苷对高脂饮食小鼠血清氧化应激水平的影响

长期的高脂饮食会导致血液内游离脂肪酸增加,造成肝脏脂肪过量和脂毒性环境,导致线粒体功能障碍及大量 ROS 的产生,最终引起机体氧化应激^[30]。SOD 是体内广泛存在的自由基清除剂,对于缓解体内氧化应激状态起到重要作用;MDA 是脂质过氧化反应产生的醛类物质,可以反映机体过氧化程度;GSH 是体内良好的抗氧化剂,具有清除和中和体内自由基和过氧化物的作用^[31,32]。如图 6 所示,HFD 组小鼠血清中 SOD 水平显著低于正常对照组小鼠 ($p<0.05$),经茶籽皂苷处理后,小鼠血清中 SOD 水平分别上升 59.28%、57.03%和 88.19%,与 HFD 组差异均有显著性差异($p<0.05$)。茶籽皂苷各剂量组小鼠血清中 MDA 水平较 HFD 模型组分别降低 67.17%、69.42%和 81.65%,差异均具有统计学意义 ($p<0.05$)。此外,茶籽皂苷干预能够上调血清中 GSH 水平,较 HFD 组分别提高 8.28%、26.82%和 84.18%。林玲等^[11]的研究发现,茶籽皂苷干预能够提升高脂血症大鼠血清中 SOD 活性并降低 MDA 水平,从而增强机体的整体抗氧化水平,这与本研究结果较为接近。因此,本实验结果提示茶籽皂苷具有通过清除自由基,增强体内抗氧化酶活力,抑制 ROS 的产生从而改善氧化应激状态的作用。

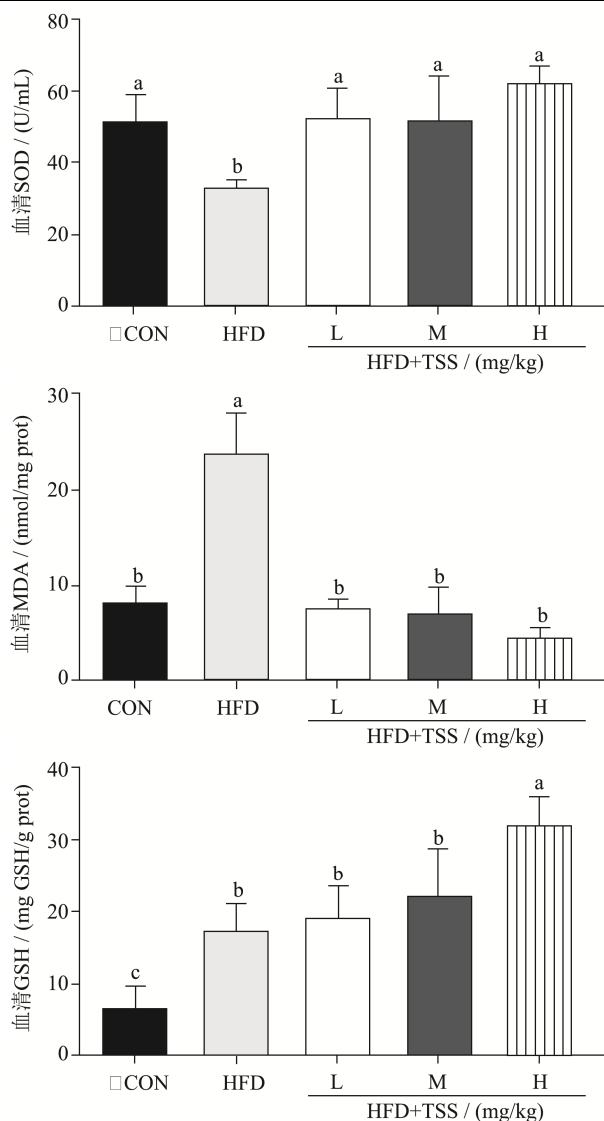


图6 茶籽皂苷对高脂饮食诱导的小鼠血清氧化应激指标的影响

Fig.6 Effects of tea seed saponin on serum oxidative stress level in high fat diet fed mice

3 结论

经 4 周茶籽皂苷的干预能够有效抑制 HFD 诱导的小鼠体重增加, 并通过降低小鼠脂肪组织的重量来缓解脂质堆积。茶籽皂苷处理同时也能够显著降低小鼠的肝脏指数和 Lee's 指数, 改善肝脏组织脂肪变性的程度。茶籽皂苷干预还能增强小鼠肝脏组织中 p-AMPK、SIRT1、PGC-1 α 、PPAR- γ 的蛋白表达, 不仅通过促进机体脂肪酸分解代谢以此来改善机体脂质代谢的紊乱, 还能增加抗氧化酶的活性。此外, 茶籽皂苷干预还能增强血清中 SOD 和 GSH 的水平, 降低 MDA 水平, 来改善肥胖小鼠体内的氧化应激状态。综上所述, 茶籽皂苷对高脂饮食诱导的小鼠肥胖有一定的改善作用, 该作用可能与抑制脂质过氧化、调节

能量代谢、降低氧化应激反应等机制有关。

参考文献

- [1] Kim H J, Lee M J, Jang J Y, et al. *Allium hookeri* root extract inhibits adipogenesis by promoting lipolysis in high fat diet-induced obese mice [J]. *Nutrients*, 2019, 11(10): 2262
- [2] Jared Baxter, Priscila Rodrigues Armijo, Laura Flores, et al. Updates on monogenic obesity in a multifactorial disease [J]. *Obesity Surgery*, 2019, 29(12): 4077-4083
- [3] Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2004, 114(12): 1752-1761
- [4] Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, et al. Oxidative stress: harms and benefits for human health [J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 2017: 8416763
- [5] Bondia-Pons I, Ryan L, Martinez J A. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity [J]. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 2012, 68(4): 701-711
- [6] Annett S, Moore G, Robson T. Obesity and cancer metastasis: molecular and translational perspectives [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(12): 3798
- [7] Kittikulnam P, Thokanit N S, Katavetin P, et al. The magnitude of obesity and metabolic syndrome among diabetic chronic kidney disease population: a nationwide study [J]. *PLoS One*, 2018, 13(5): e0196332
- [8] Carbone S, Canada J M, Billingsley H E, et al. Obesity paradox in cardiovascular disease: where do we stand [J]. *Vascular Health and Risk Management*, 2019, 15: 89-100
- [9] Styskal J, Van Remmen H, Richardson A, et al. Oxidative stress and diabetes: what can we learn about insulin resistance from antioxidant mutant mouse models [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2012, 52(1): 46-58
- [10] 朱再胜,戴爽,吴玲,等.高脂饮食诱导肥胖小鼠模型中氧化应激、炎症递质对骨代谢的影响及其可能机制[J].*温州医科大学学报*,2014,44(9):631-636
ZHU Zaisheng, DAI Shuang, WU Ling, et al. The effects of inflammatory mediator and oxidative stress on bone metabolism in high fat diet-induced obesity mice and the underlying mechanism [J]. *Journal of Wenzhou Medical University*, 2014, 44(9): 631-636
- [11] 林玲,刘芷君,曾文治,等.茶籽皂苷调节高脂血症大鼠血脂的功效研究[J].*食品工业科技*,2020,41(7):278-283
LIN Ling, LIU Zhijun, ZENG Wenzhi, et al. Study on the effect of tea seed saponin on regulating blood lipid in

- hyperlipidemia rats [J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(7): 278-283
- [12] Jia L Y, Wu X J, Gao Y, et al. Inhibitory effects of total triterpenoid saponins isolated from the seeds of the tea plant (*Camellia sinensis*) on human ovarian cancer cells [J]. Molecules, 2017, 22(10): 1649
- [13] Hayashi K, Sagesaka Y M, Suzuki T, et al. Inactivation of human type A and B influenza viruses by tea-seed saponins [J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2000, 64(1): 184-186
- [14] Khan M I, Ahmmed A, Shin J H, et al. Green tea seed isolated saponins exerts antibacterial effects against various strains of gram positive and gram negative bacteria, a comprehensive study *in vitro* and *in vivo* [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2018, 2018: 3486106
- [15] Di T M, Yang S L, Du F Y, et al. Cytotoxic and hypoglycemic activity of triterpenoid saponins from *Camellia oleifera* Abel seed pomace [J]. Molecules, 2017, 22(10): 1562
- [16] 刘芷君,林玲,雷郑延,等.茶籽皂苷对链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠血糖的影响[J].食品科学,2020,41(19):179-184
LIU Zhijun, LIN Ling, LEI Zhengyan, et al. Effects of tea seed saponins on blood glucose in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Food Science, 2020, 41(19): 179-184
- [17] 林玲,刘芷君,雷郑延,等.茶籽皂苷对高脂血症大鼠肠道菌群的影响研究[J].天然产物研究与开发,2020,32(2):173-181
LIN Ling, LIU Zhijun, LEI Zhengyan, et al. The effect of tea seed saponins on intestinal flora in hyperlipidemia rats [J]. Natural Product Research and Development, 2020, 32(2): 173-181
- [18] Khan M I, Shin J H, Kim M Y, et al. Green tea seed isolated theasaponin E1 ameliorates AD promoting neurotoxic pathogenesis by attenuating A β peptide levels in sweAPP N2a cells [J]. Molecules, 2020, 25(10): 2334
- [19] Chyau C C, Wang H F, Zhang W J, et al. Antrodan alleviates high-fat and high-fructose diet-induced fatty liver disease in C57BL/6 mice model via AMPK/Sirt1/SREBP-1c/PPAR γ pathway [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(1): 360
- [20] Singh S P, Schragenheim J, Cao J, et al. PGC-1 alpha regulates HO-1 expression, mitochondrial dynamics and biogenesis: role of epoxyeicosatrienoic acid [J]. Prostaglandins and Other Lipid Mediators, 2016, 125: 8-18
- [21] Atawia R T, Toque H A, Meghil M M, et al. Role of arginase 2 in systemic metabolic activity and adipose tissue fatty acid metabolism in diet-induced obese mice [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(6): 1462
- [22] 翟焱盼,王雯,马瑞欣.高脂饮食肥胖模型小鼠脂肪组织受体相互作用蛋白 140 基因的表达[J].中国组织工程研究, 2014,18(18):2892-2896
ZHAI Yanpan, WANG Luan, MA Ruixin. Receptor-interacting protein 140 mRNA expression in adipose tissue of a mouse model of high fat diet [J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2014, 18(18): 2892-2896
- [23] 王伟,高雯琪,胡军,等.青砖茶水提物对高脂饮食诱导的小鼠肥胖及氧化应激的作用及机制研究[J].巴楚医学,2019,2(2):9-15
WANG Wei, GAO Wenqi, HU Jun, et al. The effect and mechanism of green brick tea aqueous extract on obesity and oxidative stress in mice induced by high fat diet [J]. Bachu Medical Journal, 2019, 2(2): 9-15
- [24] 彭敏,刘燕群,唐元娟,等.茶多酚对重铬酸钾染毒小鼠肝脏损伤的影响[J].现代医药卫生,2018,34(23):3610-3613
PENG Min, LIU Yanqun, TANG Yuanjuan, et al. Effects of tea polyphenols on liver injury in mice exposed to potassium dichromate [J]. Modern Medicine & Health, 2018, 34(23): 3610-3613
- [25] 刘芷君.茶籽皂苷对糖尿病大鼠血糖及肠道菌群的影响[D].福州:福建农林大学,2020
LIU Zhijun. Effects of tea saponin on blood glucose and intestinal flora in diabetic rats [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2020
- [26] 王慧婷,张岩晨,徐梦怡,等.能量代谢关键调控因子 PGC-1 α 的研究进展[J].生理学报,2020,72(6):804-816
WANG Huiting, ZHANG Yanchen, XU Mengyi, et al. Research progresses on PGC-1 α , a key energy metabolic regulator [J]. Acta Physiologica Sinica, 2020, 72(6): 804-816
- [27] Long J K, Dai W, Zheng Y W, et al. miR-122 promotes hepatic lipogenesis via inhibiting the LKB1/AMPK pathway by targeting Sirt1 in non-alcoholic fatty liver disease [J]. Molecular Medicine, 2019, 25(1): 26
- [28] Han L, Shen W J, Bittner S, et al. PPARs: regulators of metabolism and as therapeutic targets in cardiovascular disease. Part II: PPAR- β/δ and PPAR- γ [J]. Future Cardiol, 2017, 13(3): 279-296

(下转第 154 页)