

论著

生命早期高脂饲料对子代小鼠生长发育和血清胆固醇水平的影响及植物甾醇的干预作用

封锦芳 余焕玲 肖 荣 毕研霞 鲜米西 麻微微 苑林宏
(首都医科大学公共卫生与家庭医学学院,北京 100069)

摘要:目的 观察孕期和哺乳期母体高脂饲料对子代生长发育和血清胆固醇水平的影响及植物甾醇的干预作用。方法 将确定受孕的 30 只 C57BL/6J 小鼠按体重随机分为 3 组,分别给予基础饲料、高脂饲料、高脂饲料 + 植物甾醇干预。所产子代断乳后,每组按体重随机选取 10 只雄性子鼠,继续以基础饲料喂养至 3 月龄,摘眼球取血,取脏器称重。采用试剂盒(酶法)测定血脂水平,以 RT-PCR 法测定肝脏中胆固醇合成关键蛋白 HMGCoA 还原酶 mRNA 的表达水平。结果 与基础饲料组相比,高脂饲料组子代小鼠睾丸重量显著降低($P < 0.05$),血清 TC 和 LDL-C 水平显著升高($P < 0.05$),HMGCoAR 基因表达显著升高($P < 0.05$);与高脂饲料组相比,母体植物甾醇干预对子代生长发育、血清胆固醇水平和 HMGCoAR 基因表达无显著影响。结论 研究结果初步表明生命早期高脂饲料可影响子代雄性小鼠的睾丸发育,改变子代胆固醇的代谢,增加子代患心血管疾病的危险性。

关键词:高脂饲料;胆固醇代谢;植物甾醇;子代小鼠;生长发育

中图分类号:R972.6 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2010)06-0490-04

Effects of High-lipid Diet During Early Life on the Development and Serum Cholesterol of Their Offspring and the Protective Effect of Phytosterol in Mice

FENG Jin-fang, YU Huan-ling, XIAO Rong, BI Yan-xia,
XIAN Mi-xi, MA Wei-wei, YUAN Lin-hong

(School of Public Health and Family Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Abstract: Objective To observe the effect of high-lipid diet during early life on the development and serum cholesterol level of their offspring and the protective effects of phytosterol in mice. **Method** After pregnancy being confirmed, 30 ten-week-old healthy C57BL/6J dams were housed individually and randomly divided into basal diet group, high-lipid diet group and high-lipid diet supplemented with 1.5% phytosterol diet group according to their body weight. Ten weaning male offspring from each group were fed with basal diet and the blood, brain, kidney, liver samples were collected by the end of three months old. Serum lipids were determined by kits (enzymatic method). The expression of HMGCoAR was measured by RT-PCR. **Results** Serum TC and LDL-C levels of the offspring from high-lipid diet group were significantly higher than those from basal diet group. There was no significantly effect of phytosterol in the mother's diet on cholesterol metabolism of the offspring. **Conclusion** Maternal high-lipid diet could have some effects on the serum cholesterol level and testis development and increase the risk of cardiovascular diseases of the offspring.

Key words: High-lipid Diet; Cholesterol Metabolism; Phytosterol; Offspring Mice; Growth and Development

研究证实,致血胆固醇水平升高的主要危险因素有:高脂高胆固醇膳食、身体活动少、饮酒过量、肥胖和超重、糖尿病和高血压等。除此之外,血胆固醇水平还可能受母体孕期饮食的影响^[1]。动物试验表明,母体高胆固醇血症可造成新生子代血胆固醇

水平升高^[2,3];人群研究也显示,血胆固醇水平高的母体所产新生子代血胆固醇水平也倾向于升高,而且母体高胆固醇血症是新生子代血管壁脂质条纹形成的重要原因^[4,5]。

植物甾醇(phytosterol,PS)是一种存在于植物中的天然活性物质,广泛分布于自然界,其中植物油、种子、坚果、谷类以及豆类中含量最为丰富。研究表明,植物甾醇可以降低血浆总胆固醇(TC)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平,而不影响高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和甘油三酯(TG)水平^[6]。 β -谷甾醇(β -sitosterol)是自然界中存在最广泛的一

收稿日期:2010-08-03

基金项目:北京市自然科学基金(7092012);国家自然科学基金(30901197)

作者简介:封锦芳 女 副教授 E-mail:fengjing@ccmu.edu.cn

通信作者:肖 荣 女 教授 研究方向为分子营养学

E-mail:xiaor22@ccmu.edu.cn

种植物甾醇。研究发现,0.5%的β-谷甾醇可显著降低仓鼠血浆胆固醇水平^[7]。本课题组的前期试验结果同样证实,β-谷甾醇可以影响血脂水平,其中以TC明显^[8]。但未见母体植物甾醇干预是否影响子代胆固醇代谢的报道。

本文以C57BL/6J小鼠为研究对象,母体孕期及哺乳期分别给予基础饲料、高脂饲料、高脂饲料加植物甾醇干预饲料,子代断乳后以基础饲料继续喂养至3月龄,采用酶法检测子代血脂水平,RT-PCR法检测胆固醇合成关键蛋白羟甲基戊二酰辅酶A还原酶(HMGCoAR)基因表达水平,观察母体高脂饲料及植物甾醇干预对子鼠成年后血胆固醇代谢的影响,为心血管疾病的早期预防提供科学数据。

1 材料与方法

1.1 材料

猪油高脂饲料由军事医学科学院动物实验中心提供;植物甾醇购自西安蓝天生物工程有限公司,总甾醇含量95%(β-谷甾醇43%、菜油甾醇28%、豆甾醇20%,其他类型甾醇4%);10周龄SPF级C57BL/6J小鼠(体重22~25g),购自维通利华实验动物技术有限公司[合格证号SCXK(京)2006-0009],雌雄各半。生化仪:OLYMPUS AU400。

1.2 动物饲养

动物适应性喂养1周,雌雄1:1合笼,确定怀孕后,雌鼠进入实验,自由进食和饮水,每日光照12h。按体重将孕鼠随机分为3组(10只/组):基础饲料组(对照组)、高脂组(高脂饲料)和植物甾醇干预组(高脂饲料+植物甾醇),在其孕期及哺乳期按分组分别给予不同饲料,饲料组成见表1。所产子鼠断乳后每组按体重随机选取10只雄性子鼠,均进食基础饲料,饲养至3月龄。

表1 饲料组成

营养素	基础饲料		高脂饲料		植物甾醇干预饲料	
	能量比	质量比	能量比	质量比	能量比	质量比
蛋白质	21%	18%	14%	15.12%	14%	15.12%
脂肪	10%	4%	40%	19.36%	40%	19.36%
碳水化合物	69%	61%	46%	51.24%	46%	51.24%
胆固醇	0		0.2%(质量比)		0.2%(质量比)	
植物甾醇	0		0		1.5%	

1.3 检测指标

将饲养至3月龄的子鼠禁食16h,摘眼球取血,4℃静置后,3500r/min离心15min,分离血清,酶法检测血清TC、HDL-C和LDL-C含量;脱臼处死小鼠,摘取脑、心、肝、脾、肾和睾丸等脏器,称重并计算脏体比;用RT-PCR法检测子鼠肝脏中胆固醇代谢相关基因HMGCoAR的表达水平。

2 结果

2.1 母体高脂饲料对3月龄子代生长发育的影响

与对照组相比,母体高脂饲料及植物甾醇干预对3月龄子代的体重无显著影响,而子代睾丸质量、睾丸质量/体重比显著降低($P < 0.05$);与高脂组相比,母体植物甾醇干预组3月龄子代体重、睾丸质量、睾丸质量/体重比差异无统计学意义。见表2。

表2 母体高脂饲料对3月龄子代体重及睾丸质量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	体重(g)	P	睾丸质量(g)	P	睾丸质量/体重(g/kg)	P
对照组	26.85 ± 0.77		0.20 ± 0.02		7.56 ± 0.80	
高脂组	26.69 ± 2.38	0.837	0.16 ± 0.04 ^a	0.013	6.19 ± 1.56 ^a	0.018
植物甾醇干预组	26.75 ± 1.52	0.893	0.16 ± 0.03 ^a	0.013	6.17 ± 1.10 ^a	0.017

注:^a表示与对照组相比差异有统计学意义。

2.2 母体高脂饲料对3月龄子代血清胆固醇水平的影响

与对照组相比,母体高脂组和植物甾醇干预组3月龄子代血清TC、LDL-C、HDL-C水平均显著升高,母体高脂组3月龄子代血清HDL/LDL比值明显降低($P = 0.010$),而植物甾醇干预组3月龄子代HDL/LDL比值下降,差异无统计学意义;与高脂组相比,母体植物甾醇干预组3月龄子代血清TC水平无显著变化,LDL-C水平呈下降趋势,HDL-C水

平有升高趋势,HDL/LDL比值有所升高,但差异均无统计学意义。见表3。

2.3 母体高脂饲料对3月龄子代肝脏胆固醇代谢相关基因表达的影响

与对照组相比,母体高脂组3月龄子代肝脏胆固醇合成限速酶HMGCoAR的mRNA水平显著升高($P < 0.05$)。与高脂组相比,母体植物甾醇干预组子代肝脏HMGCoAR的mRNA水平有降低趋势,但差异无统计学意义。见表4。

表3 母体高脂饲料对3月龄子代血清胆固醇水平的影响 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	TC	P	LDL-C	P	HDL-C	P	HDL/LDL	P
对照组	2.13 ± 0.34		0.14 ± 0.06		1.57 ± 0.29		13.02 ± 4.78	
高脂组	2.57 ± 0.31 ^a	0.007	0.25 ± 0.05 ^a	0.000	1.87 ± 0.38 ^a	0.034	7.80 ± 2.49 ^a	0.010
植物甾醇干预组	2.84 ± 0.28 ^a	0.000	0.23 ± 0.07 ^a	0.000	2.08 ± 0.13 ^a	0.001	10.04 ± 4.22	0.122

注:^a表示与对照组相比差异有统计学意义。

表4 母体高脂饲料对子代肝脏 HMGCoAR 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	HMGCoAR/ β -actin	P
对照组	0.39 ± 0.85	
高脂组	0.65 ± 0.28 ^a	0.039
植物甾醇干预组	0.53 ± 0.30	0.231

注:^a表示与对照组相比差异有统计学意义。

3 讨论

Marseille-Tremblay 等^[3]研究显示,受孕母体营养过剩是导致子代成年后疾病发生的独立危险因素,而子代在成长过程中的营养状况只是加快或减慢疾病的发生。Burke 等^[9]的动物试验表明,胎儿体内胆固醇可来源于母体,且受母体胆固醇水平的影响。Montoudis 等^[2]和 Marseille-Tremblay 等^[3]利用兔、仓鼠、基因敲除小鼠为模型,饲喂高胆固醇饲料的研究发现,母体的高胆固醇血症可造成新生儿代血胆固醇水平升高。本次研究也发现,母体孕期和哺乳期进食高脂饲料,其子代断乳后进食基础饲料,成年后的血清 TC 和 LDL-C 水平仍显著升高;提示母体孕期和哺乳期高脂饲料可能引起子代胆固醇代谢程序化过程的改变,因此,即使子代断乳后摄入基础饲料,血清胆固醇仍处于较高水平,因而可能增加子代患心血管疾病的危险性。

Goharkhay 等^[10]研究结果表明,母体血胆固醇水平升高,可活化子代与肝脏合成胆固醇相关基因的转录。在本研究中,母体高脂饲料,子代断乳后进食基础饲料,其肝脏 HMGCoA 还原酶(胆固醇合成的限速酶)的表达显著升高,提示母体高脂饲料可能改变了子代 HMGCoA 还原酶表达的程序化过程,使得子代在基础饲料情况下仍保持较高水平的表达,加速胆固醇合成。

有关高脂血症的干预研究显示,植物甾醇可以降低小鼠血清 TC 和 LDL-C 水平,增加小鼠的 HDL/LDL 比值,减低动脉粥样硬化指数^[8,11]。Elahi 等^[12]和 Palinski 等^[13]的研究均表明,给孕期进食高胆固醇饲料的实验动物以普伐他汀(pravastatin)、消胆胺(cholestyramine)等处理后,子代血胆固醇水平、血压及活动能力、动脉粥样硬化损伤程度等均得到显著改善,提示孕期母体降胆固醇干预治疗可降低子代患心血管系统疾病的危险性。Schonfeld^[14]的

人群研究证明膳食中植物甾醇可显著降低高脂饲料引起的血清胆固醇水平升高。本课题组前期的动物实验也得到同样的结论^[8],但在本研究中,孕期及哺乳期母体植物甾醇干预未能有效减低子代血清胆固醇水平,可能是因为植物甾醇降低血清胆固醇的主要作用机制是通过肠道竞争结合位点,阻止胆固醇吸收起作用,而不是改变胆固醇的代谢基因。

李翠珍等^[15]和朱照平等^[16]的研究报道认为,高脂高能量饮食可影响生殖系统生长发育,使睾丸重量及激素水平降低。本研究也发现,母体孕期和哺乳期高脂饲料组的子代小鼠睾丸重量显著低于基础饲料组,与前者的研究报道一致。

4 结论

本研究发现母体孕期和哺乳期高脂饲料可影响子鼠的睾丸生长发育,显著增加子代血清胆固醇水平,改变胆固醇代谢,原因可能是母体高脂饲料改变了控制胆固醇代谢的某些基因的表达,使生命早期程序化过程受到影响,其机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] BARKER D J P, OSMOND C. Infant mortality, childhood nutrition and ischaemic heart disease in England and Wales [J]. Lancet, 1986, 327:1077-1081.
- [2] MONTAUDIS A, SIMONEAU L, LAFOND J. Influence of a maternal cholesterol-enriched diet on [1-14C]-linoleic acid and L-[4,5-3H]-leucine entry in plasma of rabbit offspring [J]. Life Sci, 2004, 74:1751-1762.
- [3] MARSEILLE-TREMBLAY C, GRAVEL A, LAFOND J, et al. Effect of an enriched cholesterol diet during gestation on fatty acid synthase, HMG-CoA reductase and SREBP-1/2 expressions in rabbits [J]. Life Sci, 2007, 81:772-778.
- [4] SCHULPIS K H, GAVRILIS S, VLACHOS G, et al. The effect of nutritional habits on maternal-neonatal lipid and lipoprotein serum levels in three different ethnic groups [J]. Ann Nutr Metab, 2006, 50:290-296.
- [5] KUNITOMO M. Oxidative stress and atherosclerosis [J]. Yakugaku Zasshi, 2007, 127:1997-2014.
- [6] SEPPO L, JAUHAINEN T, NEVALA R, et al. Plant stanol esters in low-fat milk products lower serum total and LDL cholesterol [J]. Eur J Nutr, 2007, 46(2):111-117.
- [7] SMITH D, ESPINO-MONTORO A, PEREZ-JIMENEZ F, et al. Effect of a high saturated fat and cholesterol diet supplemented with squalene or β -sitosterol on lipoprotein profile in fib hamsters

- [J]. *Nutr Res*, 2000, 20: 1309-1318.
- [8] 余焕玲, 毕研霞, 肖荣, 等. β 谷固醇对高脂饲料喂养小鼠空间学习记忆能力的影响 [J]. *首都医科大学学报*, 2008, 29(6): 724-727.
- [9] BURKE K T, COLVIN P L, MYATT L, et al. Transport of maternal cholesterol to the fetus is affected by maternal plasma cholesterol concentrations in the golden Syrian hamster [J]. *J Lipid Res*, 2009, 50(6): 1146-1155.
- [10] GOHARKHAY N, TAMAYO E H, YIN H, et al. Maternal hypercholesterolemia leads to activation of endogenous cholesterol synthesis in the offspring [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2008, 199(3): 273. e1-273. e6.
- [11] PLOSCH T, KRUIT J K, BLOKS V W, et al. Reduction of cholesterol absorption by dietary plant sterols and stanols in mice is independent of the Abcg5/8 transporter [J]. *J Nutr*, 2006, 136: 2135-2140.
- [12] ELAHI M M, CAGAMPANG F R, ANTHONY F W, et al. Statin Treatment in hypercholesterolemic pregnant mice reduces Cardiovascular risk factors in their offspring [J]. *Hypertension*, 2008, 51: 939-944.
- [13] PALINSKI W, D' ARMIENTO F P, WITZTUM J L, et al. Maternal hypercholesterolemia and treatment during pregnancy influence the long-term progression of atherosclerosis in offspring of rabbits [J]. *Circ Res*, 2001, 89(11): 991-996.
- [14] SCHONFELD G. Plant sterols in atherosclerosis prevention [J]. *Am J Clin Nutr*, 2010, 92(1): 3-4.
- [15] 李翠珍, 赵刚. 耐力训练对雄性高脂膳食大鼠血清瘦素水平及性发育的影响 [J]. *沈阳师范大学学报: 自然科学版*, 2009, 27(1): 105-109.
- [16] 朱照平, 黄宇烽, 潘连军, 等. 营养性高脂血症对雄性新西兰兔睾丸和阴茎发育的影响 [J]. *中华男科学杂志*, 2005, 11(12): 904-907.

论著

副溶血性弧菌诊断血清的比较

陈 敏 陈洪友 王刚毅 王文静 张 曦
(上海市疾病预防控制中心, 上海 200336)

摘要:目的 比较我国自主生产和进口的副溶血性弧菌诊断血清在检出率、反应强度和特异性等方面的差异。方法 使用进口和我国自主生产的诊断血清同时对 35 株副溶血性弧菌标准菌株和 60 株临床菌株进行玻片凝集, 以检测其血清型。结果 对于参考菌株, 两者的检出率均为 100%, 对于临床株, 两者的一致率为 95%; 且两者的特异性均良好。结论 我国自主生产的副溶血性弧菌诊断血清性能良好, 可以用于副溶血性弧菌分型鉴定。

关键词:副溶血性弧菌; 诊断血清; 比较

中图分类号: R155.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2010)06-0493-05

Comparison of Diagnostic Serum Kits for *Vibrio parahaemolyticus*

CHEN Min, CHEN Hong-you, WANG Gang-yi, WANG Wen-jing, ZHANG Xi

(Shanghai Municipal Center for Disease Control & Prevention, Shanghai 200336, China)

Abstract: Objective To compare the antiserum kits for the diagnosis of *Vibrio parahaemolyticus* produced by DenKa SeiKen Corporation in Japan and Tianjin Biochip Corporation in China. **Method** The serotype of standard strains and clinical strains of *Vibrio parahaemolyticus* were detected by slide agglutination tests with antiserum kits from these two corporations. **Results** The detection rate of both kits for standard strains is 100%; the consistency of these two kits for clinical strains is 95%; and the specificity of both kits were good. **Conclusion** The diagnostic antiserum kit produced by Tianjin Biochip Corporation performed very well in this study, and can be used for the detection and identification of *Vibrio parahaemolyticus* strains.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*; Diagnostic Antiserum; Comparison

收稿日期: 2010-06-25

基金项目: “艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”科技重大专项之能力建设项(2008ZX10004-002)

作者简介: 陈 敏 男 副主任技师

通信作者: 张 曦 女 主任医师 研究方向为病原微生物检验 E-mail: xzhang@scdc.sh.cn