

共轭亚油酸的营养分配作用及生物合成研究进展

章亭洲

(杭州商学院食品、生物与环境工程学院 杭州 310035)

摘要 共轭亚油酸(CLA)最早是从反刍动物瘤胃中分离出来的一种不饱和脂肪酸。因动物试验及癌细胞培养结果显示其具有强烈的抗癌作用、营养分配作用、抗动脉粥样硬化作用及免疫功能而备受瞩目。它可使啮齿类动物、哺乳类动物及人体脂含量明显下降,体内的蛋白含量提高,而总的体重不变。对它的营养分配机理的研究国外已有不少报道。主要结论是CLA可抑制脂肪细胞的分化并促进脂肪细胞的凋亡,另外CLA也通过抑制脂酰CoA脱氢酶活性而抑制脂肪酸的生物合成。反刍动物合成CLA有2条途径:1是在瘤胃细菌的作用下,亚油酸($C_{18:2}$)被异构化为CLA。2是脂肪组织中在Delta-9脱氢酶的作用下将反-11 $C_{18:1}$ 脱氢生成CLA。丙酸细菌、乳酸细菌均有催化亚油酸生成CLA的能力。

关键词 共轭亚油酸,营养分配作用,生物合成,发酵

共轭亚油酸(conjugated linoleic acid, CLA)最早是从反刍动物瘤胃中分离出来的一种不饱和脂肪酸,有多种异构体。其主要异构体为顺-9,反-11与反-10,顺-12两种。科学家们发现CLA对实验动物具有抗癌抑癌、抗动脉粥样硬化功能、提高免疫功能。从1980年代末起,CLA的研究渐受重视。对它的营养分配方面的作用近来有大量报道,大多研究表明,它可使啮齿类动物、哺乳类动物及人体脂含量明显下降,体内的蛋白含量提高,而总的体重不变。如Park等^[1]首次报道食物中的CLA可改变动物的身体组成;Ostrowska等^[2]研究发现,日粮中补充CLA,可提高瘦肉组织的比例(5.6%),并降低脂肪的比例(14%);Blankson等^[3]以超重或中度肥胖的成年志愿者为样本所进行的研究表明,日粮中补充CLA可有效地减少体脂的增加;Smedman等^[4]对健康人群的试验表明,对照组与试验组的体重无明显变化,但试验组的体脂比例下降了3.8%。CLA各异构体的生物学功能是不同的。Pariza等^[5]已经证实,反-10,顺-12CLA是CLA中能诱导动物或人身体组成改变的异构体。

文中着重就CLA的营养分配作用与生物

合成方面的报道作一总结,希望能对同行起到抛砖引玉的作用。

1 CLA的营养分配作用

1.1 CLA与脂肪细胞的分化与增殖

3T3-L1细胞系目前被广泛用于脂肪细胞生物学的研究。它是1株可靠的细胞系。尽管它最初是从小白鼠衍生而来,但它在人类与啮齿类动物中的脂肪发育机理极为相似。在细胞长满之前,则可抑制细胞数量,但在细胞长满之后,则只抑制细胞分化,而不影响细胞数量^[6]。Azian等^[7]在Sprague-Dawley大鼠(rat)上的体内试验也表明,在日粮中添加CLA,只降低脂肪细胞的大小,而不减少脂肪细胞数量。

CLA是否可刺激前脂肪细胞的分化目前尚无定论。Satory的证据表明,CLA可刺激前脂肪细胞的分化,但抑制增殖^[8]。Poulos等^[9]在Sprague-Dawley大鼠的出生前与出生后的日粮中添加0.5%CLA,结果发现,CLA增加了小细胞的比例,减少了大细胞的比例。他们还发现,动物的性别与年龄会影响动物对CLA的反应。断乳后日粮中添加CLA降低了雌鼠脂肪垫的重量而不影响雄鼠脂肪垫的重量。这正

是由于 CLA 改变了脂肪细胞的大小,而不改变脂肪细胞数量引起的^[7]。但也有的研究认为 CLA 可阻止前脂肪细胞分化^[10]。对此仍有待进一步研究。

1.2 CLA 与脂肪细胞的凋亡

Tsuboyama-Kasaoka 等^[11]报道,给小白鼠饲喂含 1%CLA(约含 40%反-10,顺-12CLA)的日粮后出现了脂肪组织的细胞凋亡。反-10,顺-12CLA 对体外培养的 3T3-L1 小白鼠脂肪细胞也有致凋亡作用^[12]。末端脱氧核苷转移酶调节的 dUTP-生物素缺口末端标记法(TUNEL)与 DNA 片段分析法表明,CLA 导致体脂的减少主要是由于脂肪细胞的凋亡引起的。从试验组分离的脂肪细胞中的肿瘤坏死因子(Tumor Necrosis Factor, TNF)- α 与解耦联蛋白(uncoupling protein, UCP)-2 的 mRNA 水平比对照组分别增加了 12 倍与 6 倍。这 2 个生化指标的显著增加正是导致细胞凋亡的重要原因^[12]。Mimer 等^[13]以小白鼠为试验对象也得出了类似的结论。但是,大鼠试验却未显示 CLA 的这种致细胞凋亡作用^[7]。因此,CLA 的致脂肪细胞凋亡作用有可能因动物的物种而异。Hargrave 等^[12]进一步证实,是反-10,顺-12 而不是顺-9,反-11CLA 导致了脂肪细胞的凋亡。尽管 CLA 的这种作用对于体脂较少与代谢速率较高的小白鼠显得较弱,但总的来说,这种作用对于代谢背景不同的小白鼠还是很明显的。Majumder 等^[14]对细胞凋亡的研究深入到基因水平,他们发现,CLA 可特异性地调节引起人乳腺癌细胞凋亡的几个关键基因表达。主要结论有:(1)CLA 混合物可调节 p53, 21WAF1/CIP1, bcl-2 mRNA 在 MCF-7, MBA-MD-231 与 MCF-10A 细胞系中的表达;(2)CLA 可特异性地调节 p53 野生型, p53 变异株, p21WAF1/CIP1 与 Bcl-2 这 3 种蛋白在 MCF-7, MBA-MD-231, MCF-10A 细胞系中的表达;(3)CLA 增加了 Bax, Bcl-Xs 蛋白在 MDA-MB-231 细胞系的表达。

1.3 CLA 对脂肪合成的影响

Loor 等^[17]以荷斯坦乳牛为试验对象,对照

组饲喂 200 g 油酸,试验组饲喂 100 g 油酸 + 100 g CLA。结果发现,试验组乳脂含量降低 34%,降低的主要成分是 6~16 碳的脂肪酸。试验组乳脂中油酸与花生四烯酸含量降低,而硬脂酸含量提高。结果表明,CLA 是体内脂肪酸重新合成的强烈抑制剂。Baumgard 等^[18]通过实验证实了反-10,顺-12CLA 是抑制乳脂合成的异构体。当这种构体的剂量分别为 3.5, 7.0, 14.0 g/d 时,乳脂含量分别下降 25%, 33%, 50%。随后他们^[19]又进一步研究了反-10,顺-12CLA 抑制脂肪合成的机理。证实了它通过抑制乙酰 CoA 羧化酶、脂肪酸合成酶、delta-9 脱氢酶、脂蛋白脂肪酶、脂肪酸结合蛋白、甘油磷酸酰基转移酶及乙酰甘油磷酸酰基转移酶的 mRNA 表达来抑制脂肪合成。Brown 等^[20]也证实,反-10,顺-12CLA 而不是顺-9,反-11CLA 削弱了人脂肪组织基质血管细胞培养液的脂肪合成。总之,现已证实了 CLA 对脂肪合成的抑制作用,并且已确认起作用的异构体是反-10,顺-12。

1.4 CLA 与脂酰 CoA 脱氢酶

脂酰 CoA 脱氢酶(Steroyl-CoA Desaturase, SCD)是脂肪酸生物合成途径中的关键酶。SCD 催化的是胞内合成单不饱和脂肪酸(主要是 $C_{18:1}$, $C_{16:1}$)反应的速率决定步骤。这些是膜磷脂、胆固醇酯、腊及甘油三酯中的主要单不饱和脂肪酸。Lee 等^[21]首次报道添加 0.5% CLA 可导致小白鼠肝细胞 scd1mRNA 表达水平的降低。降低程度因日粮而异,当日粮为不含脂肪的高碳水化合物时,降低 45%;当日粮为 5.0% 玉米油时,降低 75%。Choi 等^[10]用实验证实只有反-10,顺-12CLA 而不是顺-9,反-11CLA 能抑制 scd1 基因在 3T3-L1 脂肪细胞的表达。既然这种异构体能抑制 scd 基因的表达,它对 SCD 酶活的影响如何呢? Park 等^[22]的工作表明,反-10,顺-12CLA 对 SCD 酶有着直接而强烈的抑制作用,而顺-9,反-11CLA 与反-9,顺-11CLA 则对 SCD 酶活无抑制作用。反-10 十八碳烯酸无抑制作用,顺-12 十八碳烯酸具抑制作用,但不如反-10,顺-12CLA 的作用

强烈。

以上均是在小白鼠上的试验结果,为了研究 CLA 对人 SCD 酶的影响,Choi 等^[23]选用 HepG2 细胞进行研究。小白鼠有几种 scd 基因,而人只有 1 种 scd 基因。结果表明,用反-10 顺-12CLA 处理 HepG2 细胞没有引起 scd 基因转录,mRNA 水平的变化,但它确实使 SCD 酶活降低,并使单不饱和和脂脂酸含量降低。这表明反-10 顺-12CLA 主要是通过转录后机制调控 SCD 酶活的。Smith 等^[24]则发现 CLA 可使猪皮下脂肪细胞的 SCD 酶活降低。

以上资料均表明,CLA 直接抑制 SCD 酶活。对于小白鼠,调控在转录水平上,而对于人,调控则在转录后水平上。

2 CLA 的生物合成机理

2.1 反刍动物合成 CLA 的机制

牛乳与牛肉中 CLA 的含量一般在 3~7 mg/g 脂肪的范围内。澳大利亚与德国的牛肉中的 CLA 含量比美国牛肉中的含量高 2~3 倍^[25]。反刍动物合成 CLA 有 2 条途径:1 是在瘤胃细菌的作用下,亚油酸($C_{18:2}$)被异构化为 CLA。只有丁酸弧菌(*Butyrivibrio fibrisolvens*)才有催化此反应的能力。但随着研究的不断深入,发现有多种瘤胃细菌均能催化亚油酸的异构化。此异构化反应由亚油酸异构酶催化。此酶不需辅因子参与,结合于细菌的细胞膜上,具有绝对的底物专一性(要求底物具有顺-9,顺-12 二烯键与游离羧基)。2 是脂肪组织中在 Delta-9 脱氢酶的作用下将反-11 $C_{18:1}$ 脱氢生成 CLA。加入甲叉油酸可显著降低 CLA 的合成。此酶是一种多酶复合体,包括 NADH-cytb5 还原酶、乙酰 CoA 合成酶。处于生长期的反刍动物合成 CLA 的主要部位为脂肪组织,而哺乳期的反刍动物则以乳腺为 CLA 的合成部位^[25]。

2.2 人体生物合成 CLA 的机制

Adlof 等^[26]采用同位素标记脂肪酸进行人体试验发现,人体内也存在 CLA 的生物合成途径。这条途径利用 Delta-11 $C_{18:1}$ 脂肪酸为前

体,在 Delta-9 脱氢酶的作用下合成 CLA。他们认为,这一结论可以推广到正常的成年人群中。Turpeinen 等^[27]也发现,人体内存在着将 11-十八碳烯酸转化为 CLA 的途径。

3 CLA 的微生物发酵生产

对 CLA 的微生物发酵生产的研究目前已有众多报道。Jiang 等^[28]筛选了 19 种不同的微生物,发现 *Propionibacterium freudenreichii* 的 3 个亚种能转化游离的亚油酸为 CLA,其中最大的发酵能力为 0.265 mg/mL。他们还发现,培养基对同一菌株的 CLA 合成能力有较大的影响,此外,底物与产物的相分配也起着关键的作用^[29]。乳酸细菌也有催化亚油酸生成 CLA 的能力。Ogawa 等^[30]报道,*Lactobacillus acidophilus* AKU1137 在微好氧的环境下,可将亚油酸转化为 CLA。试验表明,亚油酸异构化酶是一诱导酶,反应进行 4 d 后,95% 的亚油酸被转化为 CLA。随后,Ogawa 等又筛选到 1 株更有效的乳酸细菌 *Lactobacillus plantarum* AKU1009a,在最优条件下,以含 12% 的亚油酸为底物经 108h,CLA 产量可达 40 mg/mL^[31]。*AKU1009a* 在脂肪酶存在下,还能转化蓖麻油合成 CLA^[32]。Kim & Liu 用葵花油(含 70% 亚油酸)为底物筛选了 14 种乳酸细菌,结果发现,*Lactobacillus acidophilus* 96,*Lactobacillus plantarum*,*Lactococcus lactis* I-01/210 均能在 MRS 培养基中转化亚油酸为 CLA^[33]。

4 结论

共轭亚油酸由于其突出的减少体脂作用与抗癌作用而引起了人们极大的关注。对它的营养分配机理的研究目前报道较多,主要结论有:CLA 可抑制脂肪细胞的分化,促进脂肪细胞的凋亡,通过抑制脂酰 CoA 脱氢酶活性而抑制脂肪酸的生物合成等。对它的生物合成机理目前也已比较明确。大规模发酵方面的研究也得取了众多进展。美国的 Pharmanutrients 公司已买断 Wisconsin 大学申请的生产专利,生产出的健康食品(TonalinTM)已创出 1 亿美元的销

售额^[34]。CLA 在国内的市场目前还开发得很少,还有巨大的潜力。随着研究的深入,相信它一定能为人民的健康与生活质量的提高作出应有的贡献。

参 考 文 献

- 1 Park Y, Albright K J, Storkson J M et al. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice [J]. *Lipids*, 1997, 32: 853~858
- 2 Ostrowska E, Muralitharan M, Cross R F et al. Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs [J]. *J Nutr*, 1999, 129: 2037~2042
- 3 Blankson H, Stakkestad J A, Fagertun H et al. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans [J]. *J Nutr*, 2000, 130: 2943~2948
- 4 Smedman A, Vessby B. Conjugated linoleic acid supplementation in humans-metabolic effects [J]. *Lipids*, 2001, 36: 773~781
- 5 Pariza M W, Park Y, Cook M E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research*, 2001, 40: 283~298
- 6 Brodie A E, Manning V A, Ferguson K R et al. Conjugated linoleic acid inhibits differentiation of pre- and post-confluent 3T3-L1 preadipocytes but inhibits cell proliferation only pre-confluent cells [J]. *J Nutr*, 1999, 129: 602~606
- 7 Aziam M J, Hausman D B, Sisk M B et al. Dietary conjugated linoleic acid reduces rat adipose tissue cell size rather than cell number [J]. *J Nutr*, 2000, 130: 1548~1554
- 8 Satory D, Smith S. Conjugated linoleic acid inhibits proliferation but stimulates lipid filling of murine 3T3-L1 preadipocytes [J]. *J Nutr*, 1999, 129: 92~97
- 9 Poulos S P, Sisk M, Hausman D B. Pre- and postnatal dietary conjugated linoleic acid alters adipose development, body weight gain and body composition in Sprague-Dawley rat [J]. *J Nutr*, 2001, 131: 2722~2731
- 10 Choi Y J, Kim Y C, Han Y B et al. The trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid downregulates stearoyl-CoA desaturase 1 gene expression in 3T3-L1 adipocytes [J]. *J Nutr*, 2000, 130: 1920~1924
- 11 Tsuboyama-Kasaoka N, Takahashi M, Tanemura K et al. Conjugated linoleic acid supplementation reduces adipose tissue by apoptosis and develops lipodystrophy in mice [J]. *Diabetes*, 2000, 49: 1534~1542
- 12 Hargrave K M, Li C, Meyer B J et al. Adipose depletion and apoptosis induced by trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid in mice [J]. *Obes Res*, 2002, 10: 1284~1290
- 13 Miner J L, Cederberg C A, Nielsen M K et al. Conjugated linoleic acid, body fat and apoptosis [J]. *Obes Res*, 2001, 9: 129~134
- 14 Majumder B, Wahle K W J, Moir S et al. Conjugated linoleic acids regulate the expression of key apoptosis genes in human breast cancer cells [J]. *FASEB J*, 2002, 16: 1447~1449
- 15 Basu S, Smedman A, Vessby B. Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in humans [J]. *FFBS Lett*, 2000, 468: 33~36
- 16 Evans M, Lin X, Odle J et al. Trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid increases fatty acid oxidation in 3T3-L1 preadipocytes [J]. *J Nutr*, 2002, 132: 450~452
- 17 Loo J J, Herbein J H. Exogenous conjugated linoleic acid isomers reduce bovine milk fat concentration and yield by inhibiting de novo fatty acid synthesis [J]. *J Nutr*, 1998, 128: 2411~2419
- 18 Baumgard L H, Sangster J K, Bauman D E. Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing supplemental amounts of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA) [J]. *J Nutr*, 2001, 131: 1764~1769
- 19 Baumgard L H, Matitashvili E, Corl B A et al. Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows [J]. *J Dairy Sci*, 2002, 85: 2155~2163
- 20 Brown J M, Halvorsen Y D, Lea-Curie Y R et al. Trans-10, cis-12, but not cis-9, trans-11, conjugated linoleic acid attenuates lipogenesis in primary cultures of stromal vascular cells from human adipose tissue [J]. *J Nutr*, 2001, 131: 2316~2321
- 21 Lee K N, Pariza M W, Ntambi J M. Conjugated linoleic acid decreases hepatic stearoyl-CoA desaturase mRNA expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 248: 817~821
- 22 Park Y, Storkson J M, Ntambi J M. Inhibition of

- hepatic stearoyl-CoA desaturase activity by trans-10 , cis-12 isomer of conjugated linoleic acid and its derivativ[J]. *Biochim Biophys Acta* ,2000 ,1 486 : 285~292
- 23 Choi Y ,Park Y ,Pariza M W et al. Regulation of stearoyl-CoA desaturase activity by trans-10 ,cis-12 isomer of conjugated linoleic acid in HepG2 cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2001 284 689~693
- 24 mith S B ,Hively T S ,Cortese G M et al. Conjugated linoleic acid depresses the delta 9 desaturase index and stearoyl-CoA desaturase enzyme activity in porcine subcutaneous adipose tissue[J]. *J Anim Sci* , 2002 80 2110~2115
- 25 Bauman D E ,Baumgard L H ,Corl B A et al. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants[J]. *Proc Am Soc Anim Sic* ,1999 ,1~11
- 26 Adlof RO ,Duval S ,Emken EA. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in humans[J]. *Lipids* ,2000 ,35 : 131~135
- 27 Turpeinen A M ,Mutanen M. Aro A et al. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans[J]. *Am J Clin Nutr* 2002 76 504~510
- 28 Jiang J ,Bjorck L ,Fonden R. Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures[J]. *J Appl Microbiol* ,1998 85 95~102
- 29 Rainio A ,Vahvaselka M. Cell-adhered conjugated linoleic acid regulates isomerization of linoleic acid by resting cells of *Propionibacterium freudenreichi*[J]. *Appl Microbiol Biotechnol* 2002 60 481~484
- 30 Ogawa J ,Matsumara K ,Kishino S et al. Conjugated linoleic acid accumulation via 10-Hydroxy-12-octadecannioic during microaerobic transformation of linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus*[J]. *Appl Environ Micobiol* 2001 67 :1 246~1 252
- 31 Kishino S ,Ogawa J ,Omura Y et al. Conjugated linoleic acid production from linoleic acid by lactic acid bacteria[J]. *J Am Oil Chem Soc* 2002 79 :159~163
- 32 Kishino S ,Ogawa J ,Ando A. Ricinoleic acid and castor oil as substrates for conjugated linoleic acid production by washed cells of *Lactobacillus plantarum* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem* ,2002 66 2 283~2 286
- 33 Kim Y J ,Liu R H. Increase of conjugated linoleic acid content in milk by fermentation with Lactic acid bacteria[J]. *J Food Sci* 2002 67 :1 731~1 737
- 34 唐传核 ,彭志英. 新型功能性脂肪酸——共轭亚油酸[J]. *四川粮油科技* 2001 2 :47~49

Progress on the Studies of Anti-obesity Mechanism and Biosynthesis of Conjugated Linoleic Acid

Zhang Tingzhou

(College of Food Science ,Biotechnology & Environmental Engineering ,Hangzhou University of Commerce ,Hangzhou , 310035)

ABSTRACT Conjugated linoleic acid (CLA) is an unsaturated fatty acid which was first isolated from ruminants. CLA is becoming of increasing interest because it enhanced certain immune responses and showed strong anti-carcinogenesis activity in animal model and cultured cancer cells. Furthermore it can reduce lipid content , change fatty acid composition , and increase protein content of rodents ,mammals and human beings while does change body weight of animals and humans. Up to date ,many researchers have paid close attentions to CLA 'S anti-obesity activity and have published numerous papers. The main conclusions from review of these research works are :CLA inhibits differentiation of adipocyte and stimulates apoptosis of adipocyte ;CLA can inhibit biosynthesis of fatty acids by inhibiting steroyl-CoA desaturase activity. Here existed two pathways of CLA biosynthesis ruminants existed ,one is catalyzed by linoleic acid isomerase in rumen ,another is catalyzed by Delta-9 desaturase from trans-11 C_{18:1} to CLA in adipocyte tissue. Both *Propionibacterium* and Lactic acid bacteria can transform linoleic acid to CLA in culture conditions.

Key words conjugated linoleic acid , anti-obesity , biosynthesis , fermentation