

行政院國家科學委員會補助  
大專學生參與專題研究計畫研究成果報告

\* \*\*\*\*\* \*  
\* 計 畫 \*  
\* : 短期餵飼共軛亞麻油酸對小鼠維生素 E 的影響 \*  
\* 名 稱 \*  
\* \*\*\*\*\* \*

執行計畫學生： 陳佳欣  
學生計畫編號： NSC 98-2815-C-041-009-B  
研究期間： 98年07月01日至99年02月28日止，計8個月  
指導教授： 蕭慧美

處理方式： 本計畫可公開查詢

執行單位： 嘉南藥理科技大學保健營養系

中華民國 99年02月25日

**主題：**短期餵飼共軛亞麻油酸對小鼠維生素 E 的影響

**摘要：**

共軛亞麻油酸(CLA)目前被廣泛應用在減重食品，雖然目前對其在脂肪方面的調節機制研究很多，但其對動物體的抗氧化作用仍未有一致且明確的結論。本實驗室發現 CLA 之長期添加會增加小鼠肝臟維生素 E 含量，並且有較低的脂質過氧化情形。本實驗目的為探討補充 CLA 對小鼠體內維生素 E 的營養狀況之影響是否在短期（一週）就已經出現效應。結果指出，血漿三酸甘油酯顯著下降了，肝臟、腎臟和附睪脂三者是餵飼 CLA 後最顯著造成維生素 E 濃度提升之臟器；各組織的 TBARS 與 GSH 濃度則不受短期餵飼 CLA 所影響。所以 CLA 對於血漿脂質以及肝臟、腎臟和附睪脂維生素 E 營養有極快速的影響效應。

**關鍵詞：**小鼠、CLA、 $\alpha$ -生育醇（維生素 E）、脂質過氧化

**前言：**

共軛亞麻油酸 (Conjugated Linoleic Acid, 簡稱 CLA)是指亞麻油酸(Linoleic acid, C18:2, n-6, cis-9, cis-12)之立體異構物的集合名詞(包含 28 種),其特點是兩雙鍵之間為共軛結構。傳統動物性來源的 CLA 主要存在反芻動物的肉或乳汁中(如牛油、奶油約含有 0.5-1%),其中以 9cis,11trans 為最主要的異構物,約佔 73-93% (McDonald 2000, Ma et al. 1999)。因為供研究用的商品化 CLA 也以上兩種異構物為主要成份,且通常其比例是 50:50,所以目前對於 c9, t11-CLA 和 t10, c12-CLA 這兩種異構物的相關研究較多。雖然食物中的 CLA 是以三酸甘油酯的型式存在而商品化的 CLA 是以游離脂肪酸的型式存在,因此兩者在消化吸收和轉運上可能會有所不同,但是有研究指出(Ip et al. 1999)兩者在大鼠模式下所造成的乳腺型態與罹癌的危險性是相似的,所以商品化之游離脂肪酸型態 CLA 可作為探討食物來源 CLA 的生理影響機制。

CLA 具有抗氧化能力早有報告提出,因為發現可以降低乳腺的 TBARS (Ip et al. 1991),而且具有較 BHT 與維生素 E 還強的抗氧化力 (Ha et al. 1990)。在動物實驗方面,餵與大鼠 0.5~1.5% CLA 四至五週,皆顯著降低肝臟微粒體 (Livisay et al. 2000)與肝臟 TBARS 並降低肝臟 SOD 酵素活性(Kim et al. 2003);大鼠血清 MDA 與 catalase 酵素活性也以 CLA 補充組顯著下降,同時尿液的 PGF2 $\alpha$ 排出量也減少(Santos-Zago et al. 2007);以 CLA 餵飼的雞肉亦有較低的 TBA 反應物(Du et al. 2001)。小鼠經每週四次管餵 30mg CLA 後,發現脾臟細胞的總 GSH 含量與  $\gamma$ -glutamylcysteine ligase 活性上升 (Bergamo et al. 2006)。Palacios 等人(2003)以大鼠餵與 CLA 十天後,觀察肝臟微粒體與粒線體的脂質過氧化情形,結果以 CLA

添加組比維生素 A 組更具保護作用。

本實驗室研究發現 CLA 餵飼四週後會使小鼠體內的維生素 E 含量大量堆積 (陳氏論文, 2009)。Priore 人(2007) 發現大鼠餵食 CLA 飼料一週後, 即影響了肝細胞的脂質代謝作用。由於維生素 E 屬於脂溶性維生素, 其在體內的運送機制與脂肪相關, 因此本實驗目的為探討短期 (一週)補充 CLA, 對小鼠體內維生素 E 的營養狀況與 $\alpha$ -生育醇轉移蛋白是否已經受到影響。

## 材料與方法：

1. 動物飼養: 將 C57BL/6J 小鼠分成兩組, 分別給予 AIN-93 基礎飼料 (C 組) 和含有 1% CLA 的飼料 (CLA 組)。飼料及水均採自由給食方式, 將小鼠個別飼養於不鏽鋼籠中, 動物室的溫度維持在  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 每天光照及黑暗各為 12 小時, 每週秤量體重與飼料攝取量。犧牲前一夜先行禁食約 12 小時。犧牲當天秤過老鼠體重後, 以  $\text{CO}_2$  窒息再自腹腔靜脈採血, 並快速取下臟器秤重。
2. 分析項目與方法:
  - (1) 血漿脂質: 血液以低速離心將血漿分離, 分裝後貯存於  $-20^\circ\text{C}$ 。分析當天解凍後以商用試劑套組測定三酸甘油酯和膽固醇。
  - (2) 肝臟(Thiobarbituric acid-reactive substance)TBARS: 肝臟經秤重後, 於冰上剪下定量的組織並記錄重量後, 以均質緩衝液 (potassium-phosphate buffer 0.01 M, pH 7.4) 進行均質, 並定量體積使成為 25% (W/V) 組織均質液。取適量的均質液加入 3g/L SDS 0.5mL、0.1mol/L HCl 2mL、10g/L phosphotungstic acid 0.3mL 以及 0.7g/L thiobarbituric acid, 激烈震盪後於沸水中水浴 45 分鐘, 冷卻後以 3mL 1-butanol 震盪萃取, 離心後取得上層測定 532nm 之吸光質。另以 1,1,3,3-tetraethoxypropane 作為標準品, 經過系列稀釋作出標準曲線以供濃度換算。
  - (3) 血漿、肝臟  $\alpha$ -生育醇: 血漿與肝臟  $\alpha$ -生育醇含量皆參考 Huang & Shaw(1994)報告, 經 n-hexane 萃取與冷凍乾燥, 以定量甲醇回溶後以 HPLC 進行分析。
  - (4) 統計方法  
實驗結果皆以平均值  $\pm$  標準偏差來表示。所有結果以 Student's t test 進行統計以檢定兩組間的差異,  $p < 0.05$  為顯著差異。

## 結果：(請參考附表)

### 一、小鼠生長與器官重量

兩組小鼠餵飼一週後，其體重分別為 C 組  $17.27 \pm 0.98$  公克、CLA 組  $16.39 \pm 1.26$  公克，組間沒有顯著差異。取下的八種器官或組織經秤重後，結果如表一，兩組之間也沒有顯著差異，表示僅餵飼一週 CLA 並未對體重或內臟器官重量有所影響。

## 二、血漿三酸甘油酯與 $\alpha$ -生育醇濃度

血漿三酸甘油酯的濃度以 CLA 組顯著較對照組低 ( $p < 0.05$ )，但是兩組的維生素 E 濃度並沒有顯著差異(參考表二)。

## 三、各組織器官之維生素 E 濃度

如表三所示，肝臟、腎臟和附睪脂(EP)的維生素 E 濃度都以 CLA 組有顯著提高的現象；肺臟的維生素 E 濃度也有以 CLA 較高的趨勢，但是因為個體變異較大在統計上卻沒有顯著差異，其餘各種組織的維生素 E 濃度在兩組間來比較後並沒有顯著差異。表示僅餵飼一週 CLA 仍會改變動物體內的維生素 E 營養，而且以肝臟、肺臟和附睪脂最先明顯受到影響。

## 四、各組織器官之 TBARS 與 GSH 濃度

本實驗採用 TBARS 濃度代表組織脂質過氧化的情形，結果如表四，所有器官組織的 TBARS 濃度在兩組間都沒有顯著差異。在所測定的組織抗氧化小分子如 GSH 含量，兩組之間也都沒有顯著差異。

## 討論：

長期餵飼含 CLA 飼料會顯著降低小鼠體重與脂肪組織重量 (2009, 陳氏)，但是一週的短期餵飼則尚未對動物體重或各組織器官重量造成顯著的影響，看來 CLA 的減脂作用是需要時間的。不過 CLA 對於降低血漿三酸甘油酯的效應則在短期即有顯著影響，表示 CLA 對於脂質代謝或肝臟脂質運送機制有極快速的作用，至於維生素 E 則尚未見有如此快速的影響。所以在各組織維生素 E 濃度方面，只見肝臟、腎臟和附睪脂有顯著堆積的現象；然而長期餵飼 CLA 則使所有組織維生素 E 濃度皆有累積現象(2009, 陳氏)。組織 TBARS 濃度除了肝臟以 CLA 組較低之外，其餘兩組間皆無顯著差異，可見短期餵飼 CLA 對於組織之抗氧化能力未見明顯提升效果，也許與維生素 E 尚未大量累積有關聯。

由於 CLA 在短期同時出現血漿三酸甘油酯濃度下降以及肝、腎臟和附睪脂之維生素 E 顯著堆積之情形，因此推測組織維生素 E 之提升可能與脂質的運送代謝機制之間有密切相關。由於維生素 E 自肝臟運送是藉由 VLDL 此 TG-rich lipoprotein 來運送，所以推測維生素 E 自肝臟運送有可能受 CLA 所影響；週邊組織對維生素 E 之獲取包含 Lipoprotein lipase 以及 LDL receptor 等途徑，許多

文獻指出 CLA 會活化/抑制這些途徑之活性 (Ref)，這些有可能是造成組織維生素 E 累積的原因之一。

### 結論：

小鼠短期(一週)餵飼含 CLA 飼料雖然不影響各器官重量，但是已經顯著降低血漿三酸甘油酯濃度，並且對於肝臟、腎臟以及 EP 的 $\alpha$ -生育醇含量都有顯著提升的效果。表示 CLA 對於血漿脂質以及肝臟、腎臟和附睪脂維生素 E 營養有極快速的影響效應

### 參考文獻：

- 陳婉宣 (2009) 餵食共軛亞麻油酸對小鼠維生素 E 營養狀況影響機制探討。碩士論文。
- Bergamo P, Luongo D, Maurano F, Mazzarella G, Stefanile R, Rossi M (2006) Conjugated linoleic acid enhances glutathione synthesis and attenuates pathological signs in MRL/MpJ-Fas<sup>lpr</sup> mice. *J Lipid Res* 47:2382-2391
- Du M, Ahn DU, Nam KC, Sell JL (2001) Volatile profiles and lipid oxidation of irradiated cooked chicken meat from laying hens fed diets containing conjugated linoleic acid. *Poultry Sci* 80:235-241
- Gaullier JM, Breven G, Blankson H, Gudmondson O.(2002) Clinical trial results support a preference for using CLA preparations enriched with two isomers rather than four isomers in human studies. *Lipids* 37:1019-1025
- Ip C, Chin SF, Scimeca JA, Pariza MW (1991) Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Res* 51:6118-6124
- Ip C, Banni S, Angioni E, Carta G, McGinley J, Thompson HJ, Barbano D, Bauman D.(1999) [Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats.](#) *J Nutr.*129:2135-42.
- Kim HY, Kim SR, Ahn JY, Cho IJ, Yoon CS, Ha TY (2003) Dietary conjugated linoleic acid reduces lipid peroxidation by increasing oxidative stability in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 51:8-15
- Livisay SA, Zhou S, Ip C, Decker EA (2000) Impact of dietary conjugated linoleic acid on the oxidative stability of rat liver microsomes and skeletal muscle homogenates. *J Agrc Food Chem* 48: 4162-4167
- Palacios A, Piergiacomini V, Catala A (2003) Antioxidant effect of conjugated

linoleic acid and vitamin A during non enzymatic lipid peroxidation of rat liver microsomes and mitochondria. *Mol Cell Biochem* 250:107-113

Priore P, Giudetti AM, Natali F, Gnoni GV, Geelen MJH (2007) Metabolism and short-term metabolic effects of conjugated linoleic acids in rat hepatocytes. *Biochim Biophysica Acta* 1771:1299-1307.

Santos-Zago LF, Botelho AP, Olivera AC (2007) Supplementation with commercial mixtures of conjugated linoleic acid in association with vitamin E and the process of lipid autoxidation in rats. *Lipids* 42:845-854.

Scimeca JA (1998) Toxicological evaluation of dietary conjugated linoleic acid in male Fischer 344 rats. *Food Chem Toxicol* 36: 391-395

Ma DW, Wierzbicki AA, Field CJ, Clandinin MT. (1999) Conjugated linoleic acid in Canadian dairy and beef products. *J Agric Food Chem.* 47:1956-60.

## 附表

表一 餵食含 1%CLA 飼料一週後對小鼠器官重之影響

	CC	CLA
	<i>Organ weight (g)</i>	
Liver	0.82±0.13	0.76±0.10
Kidney	0.26±0.02	0.26±0.03
Lung	0.12±0.02	0.13±0.03
Spleen	0.033±0.003	0.034±0.008
Heart	0.10±0.01	0.11±0.01
Testis.	0.15±0.01	0.14±0.01
EP	0.12±0.04	0.15±0.05
RE	0.02±0.01	0.02±0.01

表二 餵食含 1% CLA 飼料一週後對小鼠血漿三酸甘油酯、 $\alpha$ -生育醇含量之影響

	CC	CLA
Triglyceride ( <i>mmol / L</i> )	1.28±0.17	0.90±0.15 *
$\alpha$ -Tocopherol ( <i><math>\mu</math>mol / L</i> )	9.31±4.83	9.78±3.03

\*表示兩組間有顯著差異， $p < 0.05$ 。

表三 餵食含 1%CLA 飼料一週後對小鼠各器官 $\alpha$ -生育醇濃度之影響

	CC	CLA
	<i><math>\mu\text{mol/g organ}</math></i>	
Liver	37.14 $\pm$ 7.63	90.14 $\pm$ 27.10 *
Kidney	29.74 $\pm$ 6.27	40.12 $\pm$ 6.81 *
Lung	19.85 $\pm$ 4.22	31.51 $\pm$ 12.20
Spleen	12.70 $\pm$ 4.43	14.17 $\pm$ 3.01
Heart	16.37 $\pm$ 3.71	14.40 $\pm$ 3.87
Testis	15.47 $\pm$ 5.18	17.12 $\pm$ 6.01
EP	7.17 $\pm$ 4.41	42.74 $\pm$ 15.81 *
RE	28.97 $\pm$ 20.07	28.13 $\pm$ 22.22

\*表示兩組間有顯著差異， $p < 0.05$ 。

表四 餵食含 1%CLA 飼料一週後對小鼠器官 TBARS 濃度之影響

	CC	CLA
	<i>nmol/g organ</i>	
Liver	14.44±2.69	13.51±0.85
Kidney	26.67±10.06	21.44±5.48 *
Lung	20.10±4.39	14.33±3.94
Spleen	14.34±5.99	9.65±3.12
Heart	26.51±16.39	33.70±26.63
Testis	7.96±5.70	6.41±4.87
EP	9.33±7.30	4.74±1.95
RE	7.78±3.33	5.98±2.33

\*表示兩組間有顯著差異， $p < 0.05$ 。

表五 餵食含 1%CLA 飼料一週後對小鼠器官 GSH 濃度之影響

	CC	CLA
	<i>μmol/g organ</i>	
Liver	3122±552	2702±635
Kidney	2251±457	2340±209
Lung	190±72	186±94
Spleen	634±133	336±234
Heart	1624±287	1308±438
Testis	1517±548	935±387
EP	5274±1245	7049±1843
RE	3388±969	3349±1634

\*表示兩組間有顯著差異， $p < 0.05$ 。