DOI:10.16016/j.1000-5404.201604112

不同膳食脂肪酸对大鼠肝脏 SREBP-1c 基因表达和非酒精性脂肪肝发生的影响

刘 裕,高燕翔,冉 莉,张 勇,张乾勇,糜漫天 (400038 重庆,第三军医大学军事预防医学院营养与食品安全研究中心,重庆市营养与食品安全重点实验室,重庆市医学营养研究中心)

[摘要] **目的** 探讨不同膳食脂肪酸构成对非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease,NAFLD)发生、发展的影响及其与固醇调节元件结合蛋白-1c(SREBP-1c)的关系。**方法** 100 只成年 SD 大鼠,按随机数字表法分为 5 组:对照组、NAFLD 模型组、单不饱和脂肪酸组(monounsaturated fatty acid,MUFA)、*n*-6 多不饱和脂肪酸组(*n*-6 polyunsaturated fatty acids,*n*-6 PUFA)和 4∶1 *n*-6/*n*-3 PUFA 组,每组 20 只。对照组用基础饲料喂养,其余各组饲料中加 1% 胆固醇和 10% 不同油脂(分别是 10% 猪油、10% 橄榄油、10% 玉米油、8% 玉米油 +2% 鱼油)。分别于第 8、16 周时,采用 HE 染色观察肝脏脂肪变性情况,测定血清和肝脏中脂质含量,采用实时定量 PCR 分析 SREBP-1c、FAS mRNA 表达,Western blot 检测 SREBP-1c、FAS 的蛋白表达。**结果** NAFLD 模型组大鼠体质量显著高于对照组和其他膳食脂肪酸组($P<0.05$),模型组、MUFA 组大鼠肝脏中 TG 含量显著高于对照组($P<0.05$),而 *n*-6 PUFA 组和 4∶1 *n*-6/*n*-3 PUFA 组大鼠血清中 TG 及肝脏中 TC、TG 浓度显著低于模型组($P<0.05$);HE 染色后,NAS 量化评分显示模型组大鼠肝脏脂肪变性程度较对照组、MUFA 组、*n*-6 PUFA 组、4∶1 *n*-6/*n*-3 PUFA 组严重;与对照组比较,NAFLD 模型组大鼠肝脏 SREBP-1c 与 FAS mRNA 表达升高,MUFA 组、*n*-6 PUFA 组和4∶1 *n*-6/*n*-3 PUFA 组 SREBP-1c 蛋白表达降低($P<0.05$)。**结论** 降低膳食中饱和脂肪酸,增加不饱和脂肪酸(尤其是适当比例的 *n*-6/*n*-3 PUFA)可下调高脂喂养大鼠肝内 SREBP-1c 的表达,延缓高脂膳食引起的 NAFLD 发生、发展。

[关键词] 膳食脂肪酸;固醇调节元件结合蛋白-1c;非酒精性脂肪肝
[中图法分类号] R151.3;R363.27;R575.5 [文献标志码] A

Effects of dietary fatty acids on expression of gene sterol-regulatory elementary binding protein-1c and occurrence of non-alcoholic fatty liver disease in rats

Liu Yu, Gao Yanxiang, Ran Li, Zhang Yong, Zhang Qianyong, Mi Mantian (Research Center for Nutrition and Food Safety, Chongqing Key Laboratory of Nutrition and Food Safety, Chongqing Center of Medical Nutrition, College of Military Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects of dietary fatty acids on the development and progression of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and the correlation with the expression of sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c). **Methods** A total of 100 SD rats were randomly divided into 5 groups with different diets: control group (standard-chow diet), NAFLD model group (standard-chow diet with 10% lard and 1% cholesterol), mono-unsaturated fatty acid (MUFA) group (standard-chow diet with 10% olive oil and 1% cholesterol), *n*-6 poly-unsaturated fatty acid (*n*-6 PUFA) group (standard-chow diet with 10% corn oil and 1% cholesterol), and 4∶1 *n*-6/*n*-3 poly-unsaturated fatty acid (4∶1 *n*-6/*n*-3 PUFA) group (standard-chow diet with 8% corn oil, 2% fish oil and 1% cholesterol). Each group had 20 rats. The hepatic steatosis was observed by hematoxylin and eosin (HE) staining after feeding for 8 and 16 weeks. The concentrations of total cholesterol (TC) and triglyceride (TG) in serum and liver were measured. The mRNA levels of SREBP-1c and FAS were measured by quantitative real-time PCR, and their protein

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(30972469)
[通信作者] 张乾勇,E-mail:zqianyong@sina.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160612.0901.006.html(2016-06-12)

levels by Western blotting. **Results** In NAFLD model group, the body mass of rats were significantly higher than that in control group and other groups ($P<0.05$). The TG level in the liver was significantly higher in NAFLD model group and MUFA group than that in control group ($P<0.05$), but TG levels in the serum, and TC and TG levels in the liver in both *n*-6 PUFA group and 4∶1 *n*-6/*n*-3PUFA group were significantly lower than those in NAFLD model group ($P<0.05$). HE staining showed that the fatty degeneration in NAFLD model group was more severe than in control group, MUFA group, *n*-6 PUFA group and 4∶1 *n*-6/*n*-3 PUFA group. Compared to the control group, the expression levels of SREBP-1c and FAS were significantly higher in NAFLD model group, and the protein expression of SREBP-1c was significantly lower in MUFA group, *n*-6 PUFA group and 4∶1 *n*-6/*n*-3 PUFA group. **Conclusion** Increasing the amount of *n*-3 PUFA, particularly in a 4∶1 ratio of *n*-6 PUFA to *n*-3 PUFA, and decreasing saturated fatty acid may prevent the occurrence and development of NAFLD in high-fat fed rats, which is partly modulated by down-regulation of SREBP-1c.

[**Key words**] dietary fatty acid; sterol regulatory element binding protein-1c; non-alcoholic fatty liver disease

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China(30972409). Corresponding author: Zhang Qianyong, E-mail: zqianyong@sina.com

非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)已经成为全球的主要公共卫生问题之一,对人类健康的威胁非常大,且迄今尚未发现防治 NAFLD 的有效措施[1-3]。有研究表明,膳食中不同脂肪酸构成与 NAFLD 发生、发展相关[4-5],甚至有学者提出 *n*-3 多不饱和脂肪酸(*n*-3 poly-unsaturated fatty acids, *n*-3 PUFA),如鱼油可能成为治疗 NAFLD 的有效药物[6]。我们进行的 NAFLD 病例对照研究发现饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA),如猪油、黄油是重庆居民发生 NAFLD 的危险因素,而 *n*-6 PUFA(如玉米油、豆油)是保护因素[7]。尽管病例对照研究没有发现重庆市居民血浆 *n*-3 PUFA 水平与 NAFLD 患病率有关,鱼油的 NAFLD 人群干预研究的结果也不一致[8-9],但鱼油干预对重庆 NAFLD 患者是有益的[10]。固醇调节元件结合蛋白(sterol regulatory element-binding proteins, SREBPs)是调控与脂质代谢相关基因表达的关键性核转录因子,其功能异常对 NAFLD 有显著影响,因此,SREBP-1c 可能成为治疗 NAFLD 的靶点[11]。我们在体外细胞实验发现不同的膳食脂肪酸可通过调节 SREBP-1c 的表达而影响肝细胞的脂肪蓄积[12]。本实验通过建立大鼠体内 NAFLD 模型,研究不同脂肪酸对大鼠 NAFLD 发生、发展的影响及其与 SREBP-1c 的关系,为 NAFLD 的预防和治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

胆固醇(规格 BR)购自上海蓝季科技发展有限公司;猪油购自重庆福娃冻产品经营部;梭伦橄榄油和金龙鱼玉米油(不含植物甾醇或含量不高)购自大型超市;鱼油(EPA≥10%、DHA≥50%)购自山东荣成百合生物技术有限公司;总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)检测试剂盒为中生北控生物科技股份有限公司产品;TRIzol 试剂购自美国英杰生命技术有限公司(Invitrogen);SYBR Green 实时定量 RT-PCR 试剂盒购自重庆波尔生物科技有限公司;多克隆兔抗脂肪酸合成酶(FAS)抗体(BS-1498R)和 SREBP-1c 抗体(BS-1402R)购自北京博奥森生物技术有限公司;RIPA 裂解缓冲液购自碧云天生物技术研究所。

1.2 动物模型及分组

采用第三军医大学实验动物中心 10 周龄清洁级 Sprague-Dawley 雄性大鼠 100 只,体质量 175~230 g,适应性喂养 3 d 后,按随机数字表法分为 5 组,即对照组、NAFLD 模型组、单不饱和脂肪酸组(mono-unsaturated fatty acid, MUFA)、*n*-6 多不饱和脂肪酸组(*n*-6 poly-unsaturated fatty acids, *n*-6 PUFA)和 4∶1 *n*-6/*n*-3 PUFA 组,每组 20 只。对照组用基础饲料喂养,其余各组饲料中加 1% 胆固醇和 10% 不同油脂:NAFLD 模型组饲料中加 1% 胆固醇和 10% 猪油,MUFA 组饲料中加 1% 胆固醇和 10% 橄榄油,*n*-6 PUFA 组饲料中加 1% 胆固醇和 10% 玉米油,4∶1 *n*-6/*n*-3 PUFA 组饲料中加 1% 胆固醇、8% 玉米油和 2% 鱼油。饲料配方参照韦娜等[13]方法,各组饲料的脂肪酸经一步法甲酯化后用高效气相色谱仪分析猪油、橄榄油、玉米油和鱼油脂肪酸含量,测定脂肪酸构成比,按比例调配饲料,保证各组饲料除膳食脂肪酸构成不同外,其他营养素含量和组成均相同,且能量供给一致(19.5 kJ/g,表 1)。

饲料每月配1次,真空包装避光保存,实验期间每组大鼠自由饮水和进食饲料,每周称量大鼠体质量。分别于第8、16周的每组大鼠禁食过夜,活杀10只,取肝脏和血液备用。

表1 各组大鼠饲养饲料中膳食脂肪酸构成情况($n=20$)

组别	脂肪酸构成百分比(%)				n-6/n-3
	ΣSFA	ΣMUFA	Σn-6 PUFA	Σn-3 PUFA	
对照组	31.76	29.34	35.52	3.38	
NAFLD模型组	43.54	41.83	13.68	0.95	
MUFA组	16.22	76.56	6.25	0.97	
n-6 PUFA组	11.08	26.84	61.06	0.92	66:1
4:1 n-6/n-3 PUFA组	9.53	26.45	50.64	13.38	4:1

1.3 HE染色

肝脏组织经4%的多聚甲醛液固定后,石蜡切片,常规HE染色,在光学显微镜下用NAS评分对病理组织进行分析[14]:脂肪变性:<5%为0级,5%~33%为1级,>33%~66%为2级,>66%为3级;小叶内炎症:无为0级,<2个/200倍视野为1级,2~4个/200倍视野为2级,>4个/200倍视野为3级;肝细胞气球样变:无计0分,少数计1分,明显气球样变计2分;间质纤维化:无为0级,窦周或汇管区周纤维化为1级,窦周和汇管区周围纤维化为2级,桥接纤维化为3级,硬化为4级。

1.4 肝脏TC和TG含量检测

按试剂盒说明书方法检测肝脏TC和TG的含量。

1.5 血脂检测

采用自动分析仪分析(日本奥林巴斯AU5400)血清TC和TG的含量。

1.6 实时定量PCR检测各组大鼠肝脏组织SREBP-1c和FAS mRNA的表达

取各组大鼠肝脏组织100 mg,使用TRIzol试剂提取总RNA,用分光光度计定量后,将mRNA反转录为cDNA后,再以cDNA为模板进行PCR扩增。目的基因的引物和内参照GAPDH和β-actin引物设计根据其核苷酸序列,采用Primer Premier 5.0软件设计。引物序列:GAPDH上游5′-TGTGAACGGATTTGGCCGTA-3′,下游5′-GATGGTGATGGGTTTCCCGT-3′,311 bp;β-actin上游5′-CCACCATGTACCCAGGCATT-3′,下游5′-CGGACTCATCGTACTCCTGC-3′,200 bp;FAS上游5′-GATGAAGAGGGACCATAAAGA-3′,下游5′-GAACTG-GCGTCAATGTTGTA-3′,367 bp;SREBP-1c上游5′-GT-ACAGAAAGTTGCAGGGGAAG-3′,下游5′-ACATAG-CACCAACATGGGATTC-3′,217 bp。反应体系25 μL进行PCR扩增:94 ℃预变性90 s,94 ℃变性30 s,60 ℃退火1 min,72 ℃延伸1 min,共35个循环,72 ℃再延伸5 min。反应结束后,各取5 μL PCR扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳,Bio-Rad成像分析仪扫描各条带,观察并分析。定量PCR的方法根据MIQE准则执行[15]。

1.7 Western blot检测各组大鼠肝脏组织SREBP-1c和FAS蛋白表达

按照100 g组织加1 mL RIPA裂解液的比例加入适量裂解液裂解并提取肝脏组织总蛋白。用Bradford方法定量蛋白浓度后,将100 μg蛋白加入5×的SDS蛋白上样缓冲液中,沸水浴加热3~5 min,冷却,上样,转膜,室温封闭于5%脱脂奶粉中2 h,在1:1 000稀释的一抗(多克隆抗体特异性磷酸化的FAS抗体或SREBP-1抗体)中4 ℃孵育过夜,洗膜3次,每次5 min,加入相应的二抗在侧摆摇床上缓慢摇动室温孵育1 h,洗膜3次,每次5 min。ECL化学发光法显色。扫描印迹灰度值进行分析。

1.8 统计学分析

采用SPSS 18.0统计软件,各样本正态分布且方差齐性,各组数据间的比较采用单因素方差分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同膳食脂肪酸不同时间饲养对大鼠体质量的影响

不同膳食脂肪酸饲养8周或16周,NAFLD模型组大鼠体质量显著高于对照组和其他膳食脂肪酸组($P<0.05$),而对照组、MUFA组、n-6 PUFA组、4:1 n-6/n-3 PUFA组大鼠体质量增长则差异无统计学意义($P>0.05$,表2)。

表2 不同膳食脂肪酸对各组大鼠体质量的影响
(g,$n=10$,$\bar{x} \pm s$)

组别	初始	第8周	第16周
对照组	221.1±12.8	232.1±8.3[b]	267.8±24.1[b]
NAFLD模型组	219.2±11.8	319.8±37.6[a]	356.1±21.0[a]
MUFA组	214.2±16.9	238.3±16.0[b]	269.7±31.0[b]
n-6 PUFA组	211.5±14.4	240.0±15.2[b]	266.3±23.0[b]
4:1 n-6/n-3 PUFA组	211.8±17.2	237.0±6.1[b]	259.4±12.5[b]

a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与NAFLD模型组比较

2.2 不同膳食脂肪酸对大鼠脂代谢的影响

与对照组比较,高脂膳食各组大鼠血清和肝脏中TC含量显著增加($P<0.05$),模型组大鼠血清和肝脏中TG含量显著增加($P<0.05$);与模型组比较,富含PUFA各组大鼠血清中TG含量以及肝脏中TC和TG含量显著降低($P<0.05$,表3)。

表 3　不同膳食脂肪酸对各组大鼠脂代谢的影响($n=10,\bar{x}\pm s$)

组别	血清 TC(mmol/L)		血清 TG (mmol/L)		肝脏 TC(μmol/g)		肝脏 TG (μmol/g)	
	8 周	16 周	8 周	16 周	8 周	16 周	8 周	16 周
对照组	1.46±0.33	1.59±0.90	0.51±0.20	0.56±0.15	4.34±0.52	4.45±0.46	3.92±1.04	4.02±1.54
NAFLD 模型组	2.39±0.31[a]	2.51±0.77[a]	0.87±0.22[a]	0.92±0.44[a]	7.86±1.35[a]	8.56±1.83[a]	8.94±0.89[a]	9.14±1.29[a]
MUFA 组	6.13±2.71[ab]	6.40±4.43[a]	0.46±0.10[b]	0.52±0.16[b]	7.10±1.16[a]	7.60±1.42[a]	8.21±1.32[a]	8.75±1.22[a]
n-6 PUFA 组	2.54±0.47[a]	3.18±1.67[a]	0.57±0.20[b]	0.62±0.21[b]	6.66±1.05[ab]	6.74±0.82[b]	4.67±0.72[b]	4.82±0.94[b]
4:1 *n*-6/*n*-3 PUFA 组	2.71±0.67[a]	2.94±1.20[ab]	0.40±0.07[b]	0.51±0.10[b]	6.50±1.15[ab]	6.63±1.05[ab]	4.19±0.57[b]	4.22±1.26[b]

a: $P<0.05$,与对照组比较;b: $P<0.05$,与 NAFLD 模型组比较

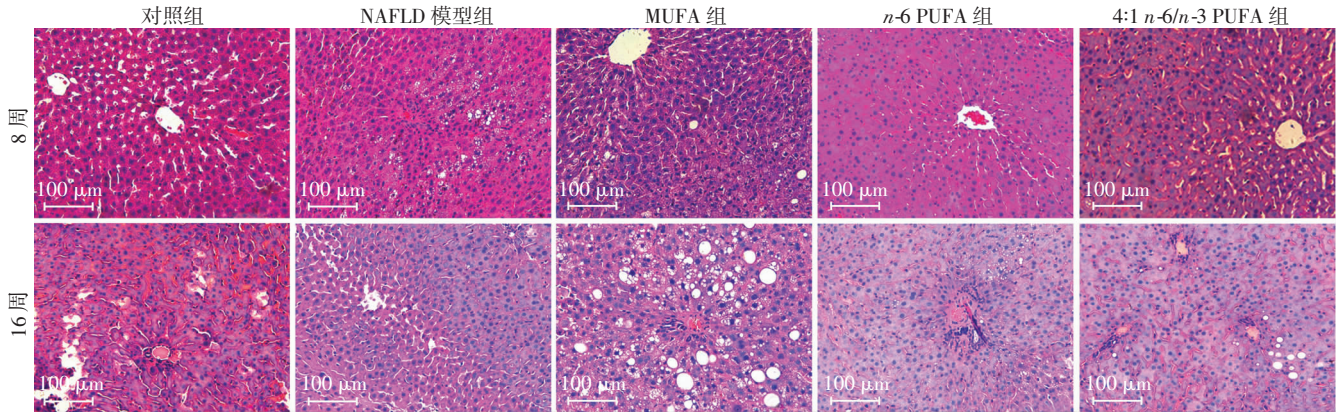


图 1　不同膳食脂肪酸对各组大鼠肝脏组织的病理变化　(HE)

2.3　不同膳食脂肪酸不同时间饲养对大鼠 NAFLD 发生的影响

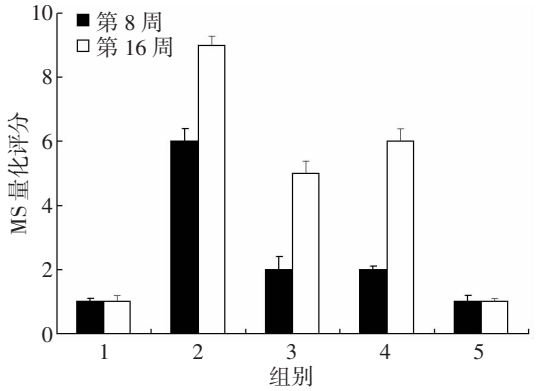
基础饲料加 1% 胆固醇加 10% 猪油喂养的 NAFLD 模型组大鼠在饲养 8 周后,肝脏出现了大量的脂肪沉积,部分小叶内出现炎性浸润和肝细胞气球样变,饲养 16 周后情况更见明显。与模型组比较,其余高脂各组肝脏脂肪变性程度都较轻,尤其是 4:1 *n*-6/*n*-3 PUFA 组与对照组接近(图 1)。模型组的 NAS 量化评分显著高于其他组($P<0.05$),16 周后 4:1 *n*-6/*n*-3 PUFA 组的 NAS 量化评分显著低于其他组($P<0.05$,图 2)。

2.4　不同膳食脂肪酸对高脂膳食大鼠肝脏组织 SREBP-1c 与 FAS 蛋白表达的影响

与对照组比较,NAFLD 模型组大鼠肝脏组织 SREBP-1c 与 FAS 蛋白表达显著上调($P<0.05$);与 NAFLD 模型组比较,4:1 *n*-6/*n*-3 PUFA 组 SREBP-1c 蛋白表达均显著下调($P<0.05$),FAS 蛋白表达相应下降(图 3)。

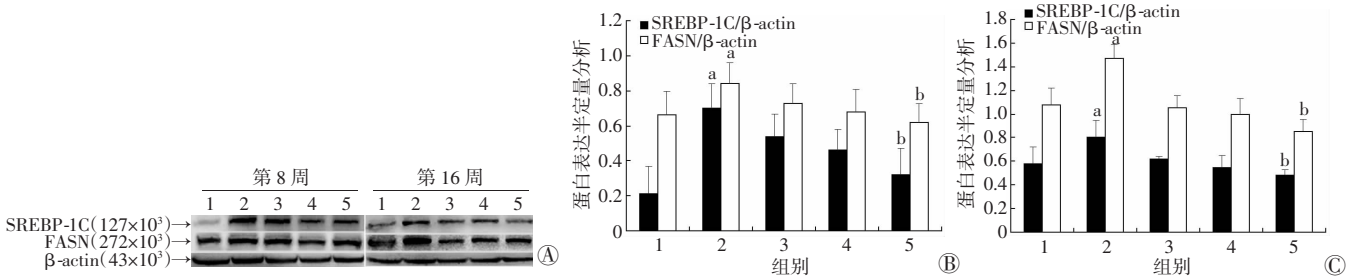
2.5　不同膳食脂肪酸对高脂膳食大鼠肝脏组织 SREBP-1c 与 FAS mRNA 表达的影响

与对照组比较,NAFLD 模型组大鼠肝脏组织 SREBP-1c 与 FAS mRNA 表达显著增加($P<0.05$),SREBP-1c 与 FAS mRNA 的变化趋势和蛋白表达水平的变化趋势一致;与 NAFLD 模型组比较,MUFA 组、*n*-6 PUFA 组、4:1 *n*-6/*n*-3 PUFA 组基因表达显著下调($P<0.05$,图 4)。



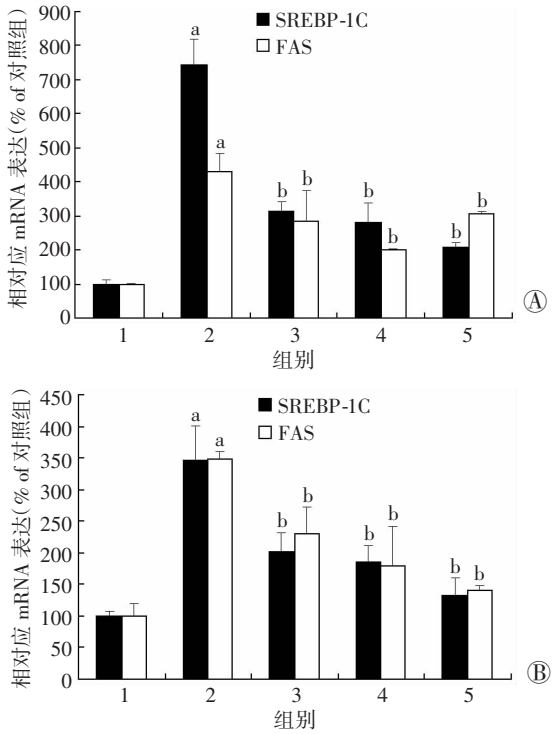
1:对照组;2:NAFLD 模型组;3:MUFA 组;4:*n*-6 PUFA 组;5:4:1 *n*-6/*n*-3 PUFA 组

图 2　不同膳食脂肪酸对各组大鼠肝脏组织 NAS 量化评分结果



1:对照组;2:NAFLD 模型组; 3:MUFA 组;4:*n*-6 PUFA 组; 5:4∶1 *n*-6/*n*-3 PUFA 组 a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与 NAFLD 模型组比较 A:Western blot 检测结果;B、C:分别为第 8、16 周 SREBP-1c 与 FAS 蛋白表达半定量分析

图 3 Western blot 检测不同膳食脂肪酸对各组大鼠肝脏组织 SREBP-1c 与 FAS 蛋白表达的影响



1:对照组;2:NAFLD 模型组; 3:MUFA 组;4:*n*-6 PUFA 组; 5:4∶1 *n*-6/*n*-3 PUFA 组 a:$P<0.05$,与对照组比较; b:$P<0.05$,与 NAFLD 模型组比较

图 4 实时定量 PCR 检测不同膳食脂肪酸饲养第 8(A)、16 周(B)大鼠肝脏组织 SREBP-1c、FAS mRNA 表达

3 讨论

非酒精性脂肪性肝是一种无过量饮酒史,以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变性为主要特征的临床病理综合征。NAFLD 的发生、发展涉及到遗传、环境和生活方式等多种因素,与肥胖、高脂血症、胰岛素抵抗、糖尿病等有关,被认为是代谢综合征的组成部分。近年来,随着人们生活水平的提高、生活方式的改变,我国的 NAFLD 发病率明显上升且呈年轻化趋势,了解关于 NAFLD 发病机制的最新研究进展,对遏制脂肪肝的发展趋势有着十分重要的意义。近年来对于 NAFLD 的发病机制的研究已取得了一定进展,但仍未完全阐明。膳食因素中的能量摄入过多、脂肪摄入过多、膳食脂肪酸不平衡(尤其是饱和脂肪酸较多而 *n*-3 PUFA 较少)等是导致脂肪肝的主要危险因素[4-5,16-17]。Bjerregaard 等[18]也证实,多食鱼类的人群脂肪组织 EPA 和 DHA 含量增多,表明膳食脂肪酸成分可影响脂肪组织的脂肪酸组成。流行病学调查表明,*n*-3 PUFA 的摄入量与 NAFLD 的患病率呈负相关[5],NAFLD 患者血中和肝组织中 PUFA 含量降低,*n*-6/*n*-3 PUFA 的比值升高[19]。本实验通过建立大鼠体内 NAFLD 模型,研究不同脂肪酸对大鼠 NAFLD 发生、发展的影响及其与 SREBP-1c 的关系,发现在高脂膳食情况下适当增加膳食 PUFA 尤其是 *n*-3 PUFA 的摄入量对 NAFLD 的防治有积极意义,与 Barrios-Ramos 等[20]报道一致。

肝脏组织脂肪酸组成的改变会影响脂代谢基因的表达,进而调控 NAFLD 的发生、发展[4]。脂肪酸影响基因表达的主要调控途径是固醇调节元件结合蛋白,即 SREBP-1c,它是肝脏脂质代谢的关键调控者,几乎参与所有肝脏脂肪酸和甘油三酯合成基因的转录活化。膳食脂肪酸摄入过多或脂肪酸不平衡,导致血浆中饱和脂肪酸升高或 *n*-6/*n*-3 多不饱和脂肪酸比值升高,会激活肝脏的 SREBP-1c,促进脂肪酸和甘油三酯合成基因的表达,抑制微粒体甘油三酯转移蛋白(MTTP)的表达[14],从而导致肝脏甘油三酯合成增加,流出减少,使肝脏脂肪蓄积增多。结合本实验,我们发现 SFA 显著增加 SREBP-1c 的表达,而 MUFA 组、*n*-6 PUFA 组和 4∶1 *n*-6/*n*-3 PUFA 组 SREBP-1c 蛋白表达均显著下调,4∶1 *n*-6/*n*-3 PUFA 组 SREBP-1c 的表达水平最低,可能是因为适量的 *n*-3 PUFA 能下调 SREBP-1c 的表达与活性。FAS 作为肝脏脂肪酸合成的关键限速酶,它受 SREBP-1c 的调节,FAS 的表达与 SREBP-1c 的水平是一致的。本研究结果显示,SFA 显著增加 FAS 基因的表达,MUFA、*n*-6 PUFA 以及适当比例 *n*-6 和 *n*-3 PUFA 混合油脂能显著抑制 FAS 表达,结合 HE 染色结果和 NAS 量化评分,说明适当增加 *n*-3 PUFA 可能通过下调

SREBP-1c、FAS 的表达而对 NAFLD 的防治是有益的,与文献[20-21]报道的结果一致。

本研究证实了 SREBP-1c 在膳食脂肪酸对 NAFLD 的影响中发挥重要作用,不同膳食脂肪酸通过调节 SREBP-1c 的表达和转录活性而影响大鼠 NAFLD 的发生、发展。该研究虽然仅仅是动物实验的结果,但结合课题组前期的体外细胞实验[12]、病例对照研究[7]以及 NAFLD 患者鱼油干预研究[10],其结果均表明在高脂膳食情况下,适当增加膳食中 *n*-3 PUFA 而减少膳食中饱和脂肪酸会降低 NAFLD 的发病风险。这为指导人们合理选用膳食脂肪酸,防治 NAFLD 提供了实验依据。

参考文献:

[1] Than N N, Newsome P N. A concise review of non-alcoholic fatty liver disease[J]. Atherosclerosis, 2015, 239(1): 192-202. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.001

[2] Singer C, Stancu P, Cosoveanu S, *et al*. Non-alcoholic Fatty liver disease in children[J]. Curr Health Sci J, 2014, 40(3): 170-176. DOI: 10.12865/CHSJ.40.03.03

[3] Jiang C M, Pu C W, Hou Y H, *et al*. Non alcoholic steatohepatitis a precursor for hepatocellular carcinoma development[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(44): 16464-16473. DOI: 10.3748/wjg.v20.i44.16464

[4] Arendt B M, Comelli E M, Ma D W, *et al*. Altered hepatic gene expression in nonalcoholic fatty liver disease is associated with lower hepatic *n*-3 and *n*-6 polyunsaturated fatty acids[J]. Hepatology, 2015, 61(5): 1565-1578. DOI: 10.1002/hep.27695

[5] Cortez-Pinto H, Jesus L, Barros H, *et al*. How different is the dietary pattern in non-alcoholic steatohepatitis patients?[J]. Clin Nutr, 2006, 25(5): 816-823.

[6] Jump D B, Depner C M, Tripathy S, *et al*. Potential for dietary ω-3 fatty acids to prevent nonalcoholic fatty liver disease and reduce the risk of primary liver cancer[J]. Adv Nutr, 2015, 6(6): 694-702. DOI: 10.3945/an.115.009423

[7] 冉莉, 万婧, 张海英, 等. 血浆游离脂肪酸组成与非酒精性脂肪性肝病的相关性研究[J]. 重庆医学, 2014, 43(14): 1697-1699. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2014.14.006

[8] Alkhouri N. The use of omega-3 Fatty acids in nonalcoholic Fatty liver disease: the end of the road or a new beginning?[J]. J Pediatr, 2015, 166(6): 1335-1337. DOI: 10.1016/j.jpeds.2015.03.003

[9] Gupta V, Mah X J, Garcia M C, *et al*. Oily fish, coffee and walnuts: Dietary treatment for nonalcoholic fatty liver disease[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(37): 10621-10635. DOI: 10.3748/wjg.v21.i37.10621

[10] Qin Y, Zhou Y, Chen S H, *et al*. Fish Oil Supplements Lower Serum Lipids and Glucose in Correlation with a Reduction in Plasma Fibroblast Growth Factor 21 and Prostaglandin E2 in Nonalcoholic Fatty Liver Disease Associated with Hyperlipidemia: A Randomized Clinical Trial[J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0133496. DOI: 10.1371/journal.pone.0133496

[11] Ahmed M H, Byrne C D. Modulation of sterol regulatory element binding proteins (SREBPs) as potential treatments for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)[J]. Drug Discov Today, 2007, 12(17/18): 740-747.

[12] 田晓媛, 张乾勇, 冉莉, 等. 不同膳食脂肪酸对肝细胞 SREBP-1c 表达及脂代谢的影响[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(1): 66-99. DOI: 10.16016/j.1000-5404.2012.01.009

[13] 韦娜, 糜漫天, 王斌. 不同膳食脂肪酸构成影响 MNU 诱导大鼠乳腺肿瘤发生的研究[J]. 营养学报, 2006, 28(3): 247-251. DOI: 10.3321/j.issn:0512-7955.2006.03.016

[14] Brunt E M, Kleiner D E, Wilson L A, *et al*. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings[J]. Hepatology, 2011, 53(3): 810-820. DOI: 10.1002/hep.24127

[15] Chen C Y, Yi L, Jin X, *et al*. Inhibitory effect of delphinidin on monocyte-endothelial cell adhesion induced by oxidized low-density lipoprotein *via* ROS/p38MAPK/NF-KappaB pathway[J]. Cell Biochem Biophys, 2011, 61(2): 337-348. DOI: 10.1007/s12013-011-9216-2

[16] 时皎皎, 冉莉, 陈玲, 等. 膳食营养因素与非酒精性脂肪肝的关系研究[J]. 西南军医, 2012, 14(5): 683-685. DOI: 10.3969/j.issn.1672-7193.2012.05.001

[17] Gentile C L, Pagliassotti M J. The role of fatty acids in the development and progression of nonalcoholic fatty liver disease[J]. J Nutr Biochem, 2008, 19(9): 567-576. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2007.10.001

[18] Bjerregaard L J, Joensen A M, Dethlefsen C, *et al*. Fish intake and acute coronary syndrome[J]. Eur Heart J, 2010, 31(1): 29-34. DOI: 10.1093/eurheartj/ehp375

[19] Allard J P, Aghdassi E, Mohammed S, *et al*. Nutritional assessment and hepatic fatty acid composition in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a cross-sectional study[J]. J Hepatol, 2008, 48(2): 300-307.

[20] Barrios-Ramos J P, Garduno-Siciliano L, Loredo M, *et al*. The effect of cocoa, soy, oats and fish oil on metabolic syndrome in rats[J]. J Sci Food Agric, 2012, 92(11): 2349-2357. DOI: 10.1002/jsfa.5637

[21] Siddiqui R A, Xu Z, Harvey K A, *et al*. Comparative study of the modulation of fructose/sucrose-induced hepatic steatosis by mixed lipid formulations varying in unsaturated fatty acid content[J]. Nutr Metab (Lond), 2015, 12: 41. DOI: 10.1186/s12986-015-0038-x

(**收稿**:2016-04-22;**修回**:2016-05-30)

(编辑 吴培红)