

共轭亚油酸调节反刍动物脂肪代谢的研究进展

肖成^{1,2}, 李梦曼¹, 刘宇¹, 方文文¹, 缪立生¹, 曹阳¹, 李欣¹, 金海国¹,
曹阳^{1*}

(1. 吉林省农业科学院(中国农业科技东北创新中心), 吉林 公主岭 136100; 2. 农场动物生物学研究所, 杜默斯多夫 德国 18196)

摘要: 共轭亚油酸(Conjugated Linoleic Acids, CLA)是含有共轭双键的一类脂肪酸,由反刍动物瘤胃内微生物催化必需脂肪酸产生,主要储存于反刍动物的乳腺、脂肪及肉组织中。共轭亚油酸成员中 cis9 trans11 CLA 和 trans10 cis 12 CLA 的含量占比最高,其中, cis9 trans11 CLA 具有抗炎、抗癌作用,而 trans10 cis 12 CLA 具有抗肥胖作用。共轭亚油酸被认为是健康食品, FDA 建议人类每天摄入 3.4~6.0 g 共轭亚油酸。反刍动物的肉类及奶类制品含有较高含量的共轭亚油酸。当机体摄入共轭亚油酸后,由于 trans10 cis 12 CLA 具有更高的生物活性,共轭亚油酸主要发挥抑制脂肪沉积的作用。有研究表明,共轭亚油酸补充能够降低奶牛的乳脂率,提高个体能量平衡,避免出现健康问题。因此共轭亚油酸补充已成为哺乳期奶牛饲养的常用策略。近年来,关于 trans10 cis 12 CLA 抑制脂肪沉积的研究层出不穷,但其调控脂代谢机制仍不清楚。本文综述近些年研究成果,并提供可能参与 trans10 cis 12 CLA 调节的候选基因,为深入探究 trans10 cis 12 CLA 作用机制及扩展其应用领域提供理论基础。

关键词: 共轭亚油酸; 反刍动物; 抗炎; 抗肥胖; 调控机制; 候选基因

中图分类号: S816.7

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2025)06-0223-09

Research Progress on the Regulation of Conjugated Linoleic Acid on Ruminant Lipid Metabolism

XIAO Cheng^{1,2}, LI Mengman¹, LIU Yu¹, FANG Wenwen¹, MIAO Lisheng¹, CAO Yang¹, LI Xin¹, JIN Haiguo¹,
CAO Yang^{1*}

(1. Jilin Academy of Agricultural Sciences(Northeast Agricultural Research Center of China), Gongzhuling 136100, China; 2. Research Institute for Farm Animal Biology, Dummerstorf 18196, Germany)

Abstract: Conjugated linoleic acids(CLA), a group of fatty acids with conjugated double bonds, are produced by rumen microbes and stored in mammary gland, adipose, and muscle tissues in ruminants. Among CLA isomers, cis9 trans11 CLA and trans10 cis 12 CLA account for the highest proportions: cis-9, trans-11 CLA exhibits anti-inflammatory and anti-cancer activities, while trans-10, cis-12 CLA plays a role in fat reduction. CLA has been recognized as a functional food component, and the U.S. Food and Drug Administration(FDA) recommends a daily intake of 3.4-6.0 g CLA for humans. Ruminant meat and dairy products contain higher CLA concentrations than other food sources. CLA exerts a primary effect on reducing fat deposition, as trans-10, cis-12 CLA exhibits higher bioactivity in regulating lipid metabolism than cis-9, trans-11 CLA. Previous studies have demonstrated that CLA supplementation reduces milk fat content, improves energy balance, and decreases disease incidence in lactating cows. Consequently, CLA supplementation has been applied as a feeding strategy for lactating cows. Although numerous studies on CLA-mediated fat deposition reduction have been published in recent years, the regulatory mechanism underlying CLA-mediated lipid metabolism remains unclear. This study reviews relevant research findings, identifies candidate genes affected by CLA, and provides references for exploring the regulatory mechanisms of CLA and expanding its application fields.

收稿日期: 2025-06-05

基金项目: 吉林省农业科技创新工程项目(CXGC2024ZY028); 国家肉羊产业技术体系项目(CARS-38-04)

作者简介: 肖成(1990-), 助理研究员, 主要从事动物分子育种研究。

通信作者: 曹阳, E-mail: caoyang003@163.com

Key words: Conjugated linoleic acids; Ruminants; Anti-inflammation; Anti-obesity; Regulatory mechanisms; Candidate genes

共轭亚油酸(Conjugated Linoleic Acids, CLA)是一类含有顺式双键(cis)和反式双键(trans)共轭的多不饱和脂肪酸^[1]。由于共轭双键数量及碳链长短不同,CLA 大约含有 56 种不同成员,其中, cis9 trans11 CLA 和 trans10 cis 12 CLA 的含量占比最高,且有明确的功能研究^[2]。共轭亚油酸于 1932 年被首次发现,1980 年后关于共轭亚油酸的研究逐渐增多^[3]。随着研究的深入,目前,已经明确 cis9 trans11 CLA 具有抗癌症、抗炎、抗高血压、免疫调控等作用,trans10 cis 12 CLA 具有抗肥胖、抗糖尿病、调节机体能量分配等作用^[4]。共轭亚油酸主要由反刍动物产生,人类可通过摄入反刍动物相关食品获得共轭亚油酸。欧洲食品安全局(EFSA)及美国食品药品监督管理局(FDA)认定共轭亚油酸为功能性食品,有利于人体健康,并且规定了人体每日摄入量^[5-6]。

植物中的必需脂肪酸在反刍动物瘤胃微生物催化下,只有少量能转化为共轭亚油酸储存到乳腺、脂肪和肌肉组织^[7]。牛奶、羊奶中的共轭亚油酸含量最高,其次是牛肉及羊肉^[8]。草饲牛肉中的共轭亚油酸含量高于谷饲牛肉。反刍动物所产生的共轭亚油酸约有 80% 的比例为 cis9 trans11 CLA,不到 20% 的比例为 trans10 cis 12 CLA,然而,trans10 cis 12 CLA 相比于 cis9 trans11 CLA 具有更高的生物活性^[9-10]。动物摄入共轭亚油酸后,主要表现出 trans10 cis 12 CLA 抗肥胖作用,因此共轭亚油酸作为抗脂肪沉积的天然物质被广泛应用。如哺乳期奶牛会补充共轭亚油酸,利用 trans10 cis 12 CLA 抑制乳脂含量的功能,降低母牛产奶的能量需求,提高机体能量水平,避免能量不足而造成的健康问题^[11]。目前,关于共轭亚油酸调控机体脂代谢的研究日益增多,但其调控机制仍不明确。本文将介绍共轭亚油酸产生、代谢及功能,综述近年来共轭亚油酸调节脂代谢的研究成果,最后总结并提供共轭亚油酸可能调控的候选基因,为深入探究 trans10 cis 12 CLA 作用机制及扩展其应用领域提供理论基础。

1 共轭亚油酸产生、代谢与功能

必需脂肪酸是哺乳动物只能从食物中获取,而自身不能合成的一类脂肪酸,包括亚油酸(C18:2C9C12, Ω 6, LA)和亚麻酸(C18:3C9C12C15, Ω 3,

ALA),他们都属于不饱和脂肪酸,发挥重要生理功能,如激活信号通路、前列腺素底物、细胞膜组成等^[12]。植物中含有大量亚油酸及亚麻酸,如玉米、青草、亚麻籽等^[13]。当必需脂肪酸进入反刍动物瘤胃后,溶纤维丁酸弧菌及丙酸杆菌可以催化亚油酸或亚麻酸产生共轭亚油酸。大部分共轭亚油酸会继续被瘤胃微生物去饱和产生异油酸(C18:1 trans11, vaccenic acid)和油酸(C18:0, oleic acid),然后被小肠吸收。少量共轭亚油酸可以躲过瘤胃微生物催化进入小肠,随血液进入其他组织。瘤胃微生物消化脂肪酸过程产生的中间产物-异油酸被脂肪、乳腺等组织吸收后,组织中硬脂酰辅酶 A 去饱和酶(Stearoyl-Coa Desaturase, SCD)能够催化异油酸的第 9 号碳链去饱和,再次产生 cis9 trans11 CLA^[14]。哺乳动物不含有碳 12 去饱和酶,所以异油酸不能再次产生 trans10 cis 12 CLA,而 trans10 cis 12 CLA 只能由少量过瘤胃共轭亚油酸提供。因此,反刍动物体内 cis9 trans11 CLA 含量远高于 trans10 cis 12 CLA。反刍动物自然产生的 cis9 trans11 CLA 含量约占总 CLA 含量的 80%,而 trans10 cis 12 CLA 含量不足 20%。体外人工合成的共轭亚油酸以 50% cis9 trans11 CLA 和 50% trans10 cis 12 CLA 的比例被生产出来^[15]。反刍动物的饮食组成及瘤胃微生物种类都会影响体内共轭亚油酸含量。有研究表明,草饲牛体内的 Ω 3 及共轭亚油酸含量高于谷饲牛。饲料中补充亚麻籽油也会提高反刍动物体内 Ω 3 及共轭亚油酸含量^[16]。

cis9 trans11 CLA 与 trans10 cis 12 CLA 具有不同的分子结构(图 1),在体内的代谢方式以及发挥的生理功能也不同。体内共轭亚油酸代谢由 Δ 6 (FADS2)和 Δ 5(FADS1)催化代谢,催化过程会维持原有的共轭键结构^[17]。由于结构不同, cis9 trans11 CLA 容易转化成 CD20:4,而 trans10 cis 12 CLA 很难转化为 CD20:3 和 CD20:4^[18]。trans10 cis 12 CLA 在 β 氧化过程中会跳过 4 个限制酶步骤,分别是烯酰基 CoA 异构酶、2 反式烯酰基 CoA 脱水酶、 β 羟基 CoA 脱氢酶、酰基 CoA 脱氢酶^[19]。cis9 trans11 CLA 在 β 氧化过程中只能跳过 2 个限制酶步骤,分别是酰基 CoA 脱氢酶和 2,4-二烯酰基 CoA 还原酶^[20]。因此 trans10 cis 12 CLA 氧化效率高于 cis9 trans11 CLA。

共轭亚油酸具有抗氧化能力。有研究表明, *cis*9 *trans*11 CLA 能够减少氧化应激,有望成为替代抗生素的治疗策略^[21]。*trans*10 *cis* 12 CLA 能够通过增强抗氧化酶 Nrf2 活性,降低肝脏及肌肉中内质网应激^[22]。共轭亚油酸具有抗炎症作用,成年人补充共轭亚油酸能够提高血液中白细胞介素 10(IL10)表达水平,降低肿瘤坏死因子(TNF- α)表达及炎症反应^[23]。共轭亚油酸能够调控机体免疫反应,日粮中添加共轭亚油酸能够增强鸡抵抗法氏囊病毒的免疫力,增强外周血 T 淋巴细胞增殖及 IL2 表达水平,抑制法氏囊病毒介导的促炎因子^[24]。共轭亚油酸具有抗癌作用, *cis*9 *trans*11 CLA 能够降低癌细胞存活率 60%,而 *trans*10 *cis* 12 CLA 只能降低癌症细胞存活率 15%。相比于 *cis*9 *trans*11 CLA 的抗癌作用, *trans*10 *cis* 12 CLA 主要具有抗肥胖、抗糖尿病作用,共轭亚油酸补充能够降低人类体重,提高瘦体重,减少脂肪含量和 BMI 值^[25]。共轭亚油酸还能减少绝经后妇女的体脂量^[26]。每天 3 g 共轭亚油酸补充 24 周后,超重人员体重及总脂肪量明显下降且未发现副作用^[27]。共轭亚油酸常被健身人群作为补剂,用来减少脂肪量及塑形^[28]。

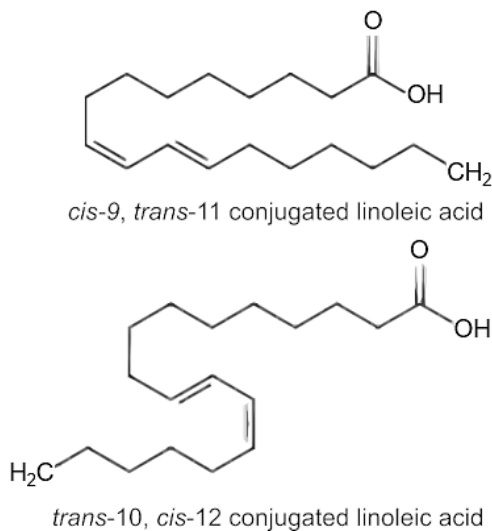


图 1 不同共轭亚油酸结构^[29]
Fig.1 Different structures of CLA

2 共轭亚油酸在反刍动物生产上的应用及调控机制

共轭亚油酸作为饮食的额外补剂常被应用到高产奶牛生产^[30]。泌乳期高产奶牛的饲料中添加大量玉米,为牛奶合成提供能量,然而,以玉米为主的饮食会导致母牛摄入的脂肪及必需脂肪酸含

量不足,内源共轭亚油酸产量也难以满足机体需求。围产期,牛奶产量大幅提升,此时母牛所需能量巨大,身体处于严重的能量负平衡状态。为了满足能量需求,机体会降低胰岛素敏感性,动员大量体脂产生游离脂肪酸供能。由于肝脏细胞内大量草酰乙酸被用来进行糖异生反应,产生葡萄糖维持血糖平衡,导致肝脏细胞中游离脂肪酸产生的乙酰 CoA 因缺少草酰乙酸而不能被充分氧化供能,转化为酮体在身体积累,机体酮体含量上升,出现健康问题,甚至死亡,造成严重的经济损失^[31]。在高产肉羊哺乳期也常常出现这种代谢障碍,严重会导致母羊患有妊娠毒血症,甚至死亡。有研究表明,外源添加共轭亚油酸能够改善这一问题,补充的共轭亚油酸中 *trans*10 *cis* 12 CLA 能够降低乳脂率,抑制乳腺组织中脂肪酸从头合成,降低母畜产奶所需要的能量,减少体脂动员,提高胰岛素敏感性,提升反刍动物的能量平衡,提高免疫力,减缓妊娠疾病发生。

有研究做过系统实验,9 头经产荷斯坦奶牛产前 63 d 进行皱胃灌注共轭亚油酸持续到产后 63 d(CLA 组),补充的共轭亚油酸成分为 10 g/d *cis*9 *trans*11 CLA 和 10 g/d *trans*10 *cis* 12 CLA。椰子油添加组为对照组。实验表明,CLA 组个体血液及牛奶中共轭亚油酸水平显著上升,经长时间补充,CLA 组个体牛奶的乳脂率下降,体脂量上升,围产期母体的能量水平高于对照组,缓解奶牛泌乳过程中出现的能量负平衡状态^[32]。细胞质中的柠檬酸在 ATP 柠檬酸裂解酶(ACLY)的作用下产生乙酰 CoA,是乳脂合成的原料^[33]。共轭亚油酸可以抑制乳脂合成,发现 CLA 组个体的牛奶中柠檬酸含量高于对照组。奶牛围产期动员体脂提供能量,此时血液游离脂肪酸含量会大幅度上升,这些游离脂肪酸进入肝脏后优先形成甘油三酯,然后再氧化供能。由于共轭亚油酸补充导致母体产奶所需能量减少,脂肪动员水平低于对照组,所以作者发现 CLA 组个体血液游离脂肪酸显著低于对照组,肝脏中甘油三酯上升水平也低于对照组。共轭亚油酸添加还能引起其他生理变化,CLA 组母体不需要大量能量供给乳汁合成,所以血液中葡萄糖浓度低于对照组,并且内源产生的葡萄糖也低于对照组。产仔后奶牛体内葡萄糖因氧化供能而含量显著下降,胰岛素浓度也呈下降趋势,而 CLA 组母体胰岛素下降的幅度低于对照组^[34]。CLA 组个体在围产期过后体内的糖原及皮质醇低于对照组,这也表明 CLA 组母牛减少所

需能量,降低压力激素。CLA组个体血液中IGF1及其受体IGFBP3高于对照组,这表明共轭亚油酸的补充刺激了母牛生长激素轴的活性。奶牛受共轭亚油酸的补充,避免了产奶导致的能量负平衡及健康问题。有研究表明,trans10 cis 12 CLA引起的母牛乳脂率降低并不会影响犊牛的健康问题^[35]。

3 共轭亚油酸抑制脂肪合成的相关通路

共轭亚油酸作为添加剂被广泛应用到哺乳期高产奶牛的生产中,相应的生理变化已被研究者明确,但trans10 cis 12 CLA抑制乳腺组织中脂质合成的调控机制仍不清楚。有研究表明,trans10 cis 12 CLA可以通过调节脂肪细胞分化、脂肪酸从头合成、能量调控等信号通路抑制脂质合成,促进脂肪酸释放^[36]。trans10 cis 12 CLA涉及的相关信号通路有mTOR信号通路、AMPK信号通路、SREBP信号通路、PPARG信号通路等。

mTOR信号通路在奶牛合成乳脂、乳糖、乳蛋白方面发挥重要作用^[37]。mTOR复合体分为mTORC1和mTORC2,参与多种生理过程的调节,如脂代谢、糖代谢、生长因子、能量水平等^[38]。mTORC1可磷酸化下游S6K1和eIF4E结合蛋白,调控细胞代谢。mTORC1复合体包括mTOR、rapTOR、GβL、depor,其中,rapTOR促进脂肪酸从头合成以及脂滴积累,mTORC1通过影响PPARG、SREBP和AGPAT6表达,抑制ATGL活性,从而促进乳脂合成^[39]。mTORC2则通过PI3K信号通路调节细胞增殖及代谢,mTORC2复合体包含mTOR、RICTOR、GβL、PRR5、depor、SIN1,其中,RICTOR能够与AKT一起作用,正向调节SREBP1c、ChREBP、ACSS2等基因表达,影响胰岛素介导的葡萄糖摄取,促进脂肪酸从头合成及脂质积累^[40]。trans10 cis 12 CLA可以抑制乳腺上皮细胞中mTOR信号通路,从而减少脂肪酸从头合成。

AMPK是高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,包括催化亚基α1和α2,调节亚基β1和β2及γ1、γ2、γ3^[41]。AMPK信号通路主要负责细胞内能量调控,能够精确感知细胞内的能量水平,从而调节细胞增殖、凋亡以及自噬过程^[42]。细胞内钙离子信号及CaMKK可以调控AMPK活性状态,CaMKKβ磷酸化AMPKα亚基中第172位的苏氨酸,使得AMPK的α与γ亚基结合,β作为支撑,形成具有功能性的AMPK结构^[43]。AMPKγ亚基能够感知细胞内AMP及ADP水平,并与AMP及ADP

结合,彻底激活AMPK功能。激活的AMPK能够磷酸化SREBP1c第372位丝氨酸,使其活性降低,还可以抑制FASN、ChREBP表达,减少脂肪酸从头合成,促进脂质分解,增加脂肪酸氧化提供能量^[44]。trans10 cis 12 CLA可以促进AMPK活性,从而减少乳腺上皮细胞脂肪酸从头合成。

SREBPs信号通路是调节脂肪酸从头合成的主要调控通路,下游包括ACLY、ACACA、FASN及SCD蛋白^[45]。SREBP蛋白有3种亚型,分别为SREBP1a、SREBP1c、SREBP2,其中,SREBP1为调控脂质合成的重要转录因子,调控下游ACSL1、ACSL4增加脂肪酸摄取,增加ACACA、FASN及SCD表达,促进脂肪酸从头合成以及脂质积累^[46]。未激活的SREBP与裂解激活蛋白结合形成SCAP复合体,内质网上INSIG1蛋白结合SCAP复合体限制其活性。当PCK1蛋白磷酸化抑制INSIG1活性或CD36蛋白结合INSIG2后,SCAP复合体脱离内质网,进入高尔基体。高尔基体中存在蛋白酶可以裂解SCAP复合体,释放并激活SREBP。激活的SREBP进入细胞核结合下游靶基因发挥作用,促进脂肪合成^[47-48]。trans10 cis 12 CLA可以维持INSIG活性以及抑制细胞核中SREBP发挥作用,从而减少乳腺上皮细胞脂肪酸从头合成。

PPARG为调控脂肪细胞分化及脂质积累的重要转录因子^[49]。PPARG与RXRs形成复合体,结合下游基因如CEBPA、LPL、FABP4、SREBF1、ACACA、FASN、DGAT1等促进脂肪分化及脂质合成^[50]。有研究表明,trans10 cis 12 CLA抑制PPARG基因表达,从而减少乳腺上皮细胞脂肪酸从头合成。

4 共轭亚油酸下游候选基因筛选

共轭亚油酸抑制脂肪沉积的相关研究较多,为了筛选trans10 cis 12 CLA调控的下游靶基因,本文下载了公共测序数据库中关于CLA影响脂肪细胞或脂肪组织的数据进行分析以筛选靶基因。数据库中多数原始数据均来自小鼠物种。首先,从NCBI网站GEO DataSets寻找相关研究,如ID为GSE11384的数据,提供了100 μmol/L trans10 cis 12 CLA处理3T3-L1细胞4、12、24 h的差异表达基因(DEGs)。随着CLA处理时间的延长,DEGs增加,这与其他研究发现一致,CLA具有时间依赖性^[51]。许多与脂肪相关的DEGs在CLA处理的第12小时后开始出现显著变化(图2A),如ACACA、ACSL1、CEBPA、DGAT2、FASN、BSCL2、CLSTN3、FOXO1、SLC2A4、APOC2、APOC3、THRSP

和 *GOS2* 在 CLA 组显示显著下降, *ACSL4* 和 *KLF5* 显著上升(表1)。CLA 组数据显示, 脂肪合成相关基因表达下降与之前研究结果一致^[30]。CLA 处理的脂肪细胞在不同时间段均为差异表达基因的有 9 个, 其中, 7 个基因上调, 包括 *ATF3*、*CHKA*、

HSPB1、*IER3*、*JUN*、*TGIF1*、*ZFAND2A*, 2 个下调基因分别是 *RAB3D* 和 *VSIR*。值得注意的是, 168 个 DEGs 只在 CLA 组处理细胞的第 4 小时出现, 这些基因在第 12 小时没有出现显著变化。

表 1 trans10 cis 12 CLA 处理 3T3-L1 细胞系和白色脂肪组织的差异表达基因

Table 1 Differentially expressed genes in 3T3-L1 cell line and white adipose tissue treated with trans10 cis 12 CLA

差异基因 DEGs	脂肪细胞系 3T3-L1			白色脂肪组织 WAT						
	4 h LogFC	12 h LogFC	24 h LogFC	4 h LogFC	12 h LogFC	24 h LogFC	3 d LogFC	7 d LogFC	10 d LogFC	17 d LogFC
<i>ATF3</i>	3.87	5.24	4.01	2.64	2.83	3.33	3.50	4.79	4.67	4.66
<i>IER3</i>	2.08	3.05	1.72	2.57	1.12	3.45	/	0.98	1.1	0.79
<i>CHKA</i>	2.07	2.01	0.82	/	2.60	4.33	2.08	1.62	1.85	1.37
<i>JUN</i>	2.87	1.84	1.38	/	1.21	1.18	1.17	0.97	1.22	1.29
<i>ZFAND2A</i>	1.76	1.60	0.94	/	1.56	1.62	1.13	1.01	1.03	0.80
<i>RAB3D</i>	-2.34	-1.23	-1.42	/	-0.72	-0.85	-0.70	/	-0.64	-0.68
<i>TGIF1</i>	1.87	1.84	1.56	/	/	2.57	1.70	2.01	2.28	2.27
<i>HSPB1</i>	2.75	2.28	1.32	/	3.01	3.49	/	/	/	/
<i>VSIR</i>	-2.46	-1.70	-1.66	/	/	/	1.08	1.71	1.49	0.74
<i>CEBPA</i>	/	-1.45	-1.34	/	-1.08	-1.06	-1.41	-0.97	-1.13	-1.05
<i>LPIN1</i>	/	-1.67	-1.75	/	-1.38	-1.71	-1.80	-1.66	-1.89	-2.07
<i>DGAT2</i>	/	-1.56	-2.45	/	-0.80	-1.94	-2.08	-1.51	-1.89	-2.27
<i>SLC2A4</i>	/	-1.79	-2.42	/	-1.08	-5.89	-3.76	-1.87	-1.92	-2.11
<i>GOS2</i>	/	-1.56	-1.82	/	-1.79	/	-1.00	-1.15	-1.25	-0.64
<i>ACACA</i>	/	-0.66	-1.03	/	/	-1.26	-3.62	-2.38	-2.45	-2.70
<i>FASN</i>	/	-1.63	-1.93	/	/	-1.22	-1.68	-1.84	-1.74	-1.96
<i>THRSF</i>	/	-2.77	-4.31	/	/	-3.46	-4.33	-2.36	-2.67	-2.83
<i>MGLL</i>	/	-2.15	-2.09	/	/	-1.78	-0.94	-1.42	-1.60	-0.56
<i>BSCL2</i>	/	-1.95	-1.69	/	/	-1.28	-1.21	-1.17	-1.22	-1.25
<i>APOC3</i>	/	-1.99	-3.23	/	/	-1.02	-2.53	-1.69	-1.41	-1.85
<i>ACSL4</i>	/	1.23	0.88	/	/	1.75	1.56	1.47	1.05	0.56
<i>ACSL1</i>	/	-0.83	-1.71	/	/	-1.25	-1.02	/	-0.70	-0.63
<i>KLF5</i>	/	1.51	1.70	/	/	1.85	/	/	/	/
<i>FOXO1</i>	/	-0.86	-0.88	/	/	/	-1.38	-1.4	-1.25	-1.16
<i>CLSTN3</i>	/	-1.14	-1.33	/	/	/	-1.02	/	/	-0.61
<i>APOC2</i>	/	-1.54	-2.24	/	/	/	/	/	0.88	0.60
<i>PPARG</i>	/	/	-0.90	/	-0.61	/	-1.35	-0.91	-1.11	-0.70
<i>AGPAT2</i>	/	/	-1.18	/	-1.01	-1.66	-1.41	-1.07	-1.21	-1.26
<i>ACOX1</i>	/	/	-0.88	/	0.99	-0.95	-1.10	-1.40	-1.59	-1.79
<i>APOC1</i>	/	/	-2.80	/	/	-0.86	-2.67	-1.97	-1.19	-1.54
<i>CIDEA</i>	/	/	-2.11	/	/	-1.03	-1.68	-1.54	-2.01	-1.94
<i>ACSS2</i>	/	/	/	-1.71	-1.73	-2.97	-1.35	-0.72	-2.66	-2.97
<i>ACLY</i>	/	/	/	/	-2.12	-1.93	-1.56	-2.39	-1.91	-3.22
<i>SREBF1</i>	/	/	/	/	-1.79	-1.26	-1.95	/	-1.89	-1.73
<i>FABP4</i>	/	/	/	/	0.65	/	-1.79	-1.86	-1.78	-2.02

续表 1

Table 1 Continued

差异基因 DEGs	脂肪细胞系 3T3-L1			白色脂肪组织 WAT						
	4 h	12 h	24 h	4 h	12 h	24 h	3 d	7 d	10 d	17 d
	LogFC	LogFC	LogFC	LogFC	LogFC	LogFC	LogFC	LogFC	LogFC	LogFC
<i>DAGLA</i>	/	/	/	/	-1.69	/	/	/	/	-0.64
<i>LIPE</i>	/	/	/	/	/	-1.25	/	-1.88	-2.48	-2.77
<i>PNPLA2</i>	/	/	/	/	/	/	-1.72	-1.40	-1.81	-1.32
<i>SREBP1</i>	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
<i>LPL</i>	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

本文从公共数据库中又筛选了2份数据集分别是GSE17404和GSE14888,即trans10 cis 12 CLA处理3T3-L1细胞5~6 d的原始数据。为了延长共轭亚油酸影响脂肪细胞差异基因的时间,将GSE17404和GSE14888数据集与之前描述的GSE11384数据集进行联合分析,以找到共有的DEGs(图2B)。3组数据合并后发现共有219个DEGs,包括*CHKA*、*HSPB1*、*IER3*、*JUN*、*TGIF1*、*ZFAND2A*和*VSIR*在内的基因也出现在共有DEGs中。对219个DEGs进行了基因本体论和KEGG分析,如图2C和图2D所示。脂质代谢、信号通路、细胞增殖和分化等参与了trans10 cis 12 CLA的调控。本文筛选了新的数据集GSE8684,即cis9

trans11 CLA处理3T3-L1细胞系24 h,并与GSE11384数据比较,结果表明,cis9 trans11 CLA与trans10 cis 12 CLA不同亚型能够影响3T3-L1细胞系中不同的差异表达基因(图2E)。乳腺上皮细胞与脂肪细胞都可以产生大量的脂肪酸和甘油三酯。本文筛选新的数据集,关于100和200 $\mu\text{mol/L}$ trans10 cis 12 CLA处理山羊乳腺上皮细胞12 h的数据^[52]。随着CLA剂量的增加,差异基因从48个增加至806个,这与其他研究一致,CLA具有剂量依赖性^[51]。这些数据与12 h的GSE11384数据进行比较,发现3T3-L1细胞和山羊乳腺上皮细胞(MECs)存在7个共有DEGs(图2F,表2)。

表2 trans10 cis 12 CLA处理山羊乳腺上皮细胞和3T3-L1细胞系12 h共有的差异表达基因

Table 2 Common differentially expressed genes between goat mammary epithelial cells and 3T3-L1 cell line treated with trans10 cis 12 CLA for 12 hours

差异基因 DEGs	100 $\mu\text{mol/L}$ 山羊乳腺上皮细胞(MECs) LogFC	200 $\mu\text{mol/L}$ 山羊乳腺上皮细胞(MECs) LogFC	脂肪细胞系 3T3-L1 LogFC
<i>FASN</i>	-0.350 78	-1.274 50	-1.627 892 9
<i>SERPINE1</i>	0.494 99	0.868 16	1.931 807 7
<i>LAMC2</i>	0.133 63	-0.481 40	1.623 734 3
<i>SLC2A1</i>	0.409 97	1.060 10	1.312 095 5
<i>ACSLA</i>	-0.481 05	-1.528 30	1.230 692 9
<i>TXNRD1</i>	0.621 87	2.433 90	1.025 565 5
<i>HBEGF</i>	0.854 02	1.273 20	2.212 246 1

长时间或高剂量的trans10 cis 12 CLA处理都会导致3T3-L1细胞系产生更多差异表达基因。trans10 cis 12 CLA可以通过减少与脂肪生成相关的基因表达来抑制3T3-L1细胞的分化,如*ACACA*、*ACSL1*、*CEBPA*、*DGAT2*、*FASN*、*BSCL2*、*CLSTN3*、*FOXO1*、*SLC2A4*、*APOC2*、*APOC3*、*THRSP*

和*GOS2*。重要的是,trans10 cis 12 CLA处理的整个时间段,*CHKA*、*HSPB1*、*IER3*、*JUN*、*TGIF1*、*ZFAND2A*和*VSIR*均出现显著变化,这些基因值得进一步研究。

脂肪组织主要由脂肪细胞组成,但仍存在其他类型细胞,因此组织水平上的调控更复杂。

NCBI 网站上存在 GSE11384 和 GSE4671 数据集, 0.5% trans10 cis 12 CLA 喂养小鼠 4、12、24 h 和 3、4、7、10、17 d, 检测白色脂肪组织(WAT)中的基因表达谱。随着处理时间延长, 更多基因出现显著变化, 趋势与 3T3-L1 细胞系相似。trans10 cis 12 CLA 喂养小鼠的 4、12、24 h 脂肪组织中 93 个共有 DEGs。比较 3T3-L1 细胞中的基因表达谱, ATF3 和 IER3 在 WAT 和 3T3-L1 细胞中任何时间段均为差异表达基因。脂肪组织中 *CHKA*、*HSPB1*、*JUN*、*ZFAND2A* 和 *RAB3D* 发生表达差异出现在 CLA 处理的 12 h(表 1), 表达变化晚于 CLA 处理的 3T3-L1 细胞。因此, 比较了 CLA 处理 3T3-L1 细胞 12 h 和 CLA 处理 WAT 24 h 的基因表达谱, 发现两组中有 257 个共有 DEGs。许多与脂质代谢相关的差异基因, 如 *ACACA*、*ACSL1*、*ACSL4*、*CEBPA*、*DGAT2*、*FASN*、*BSCL2*、*SLC2A4*、*APOC3*、*MGLL*、*THRSP* 等。

脂肪组织在 CLA 处理的 24 h 至 17 d 发现了 936 个共有差异表达基因。将 CLA 处理的奶牛皮下脂肪组织的蛋白质表达谱^[53]与 GSE4671 数据比较, 以减少候选基因。两组中存在 244 个共有 DEGs, 如 *ACACA*、*ACLY*、*ACSS2*、*DAGLA*、*DGAT1*、*FASN*、*FOXO1*、*PCK2*、*SLC2A4* 等(表 1)。

共轭亚油酸处理脂肪组织及脂肪细胞所产生的差异表达基因具有时间及剂量依赖性。共轭亚油酸处理脂肪细胞所发生的差异基因表达要早于脂肪组织。通过结合脂肪组织及脂肪细胞数据集筛选共有差异表达量基因发现, ATF3 和 IER3 出现在 CLA 处理的任何时间点, 值得注意。小鼠数据集与山羊及牛数据集相比, CLA 均可以抑制脂肪脂肪酸从头合成以及脂肪细胞分化相关通路, 这也证实了 trans10 cis 12 CLA 抑制脂肪形成及积累的作用。

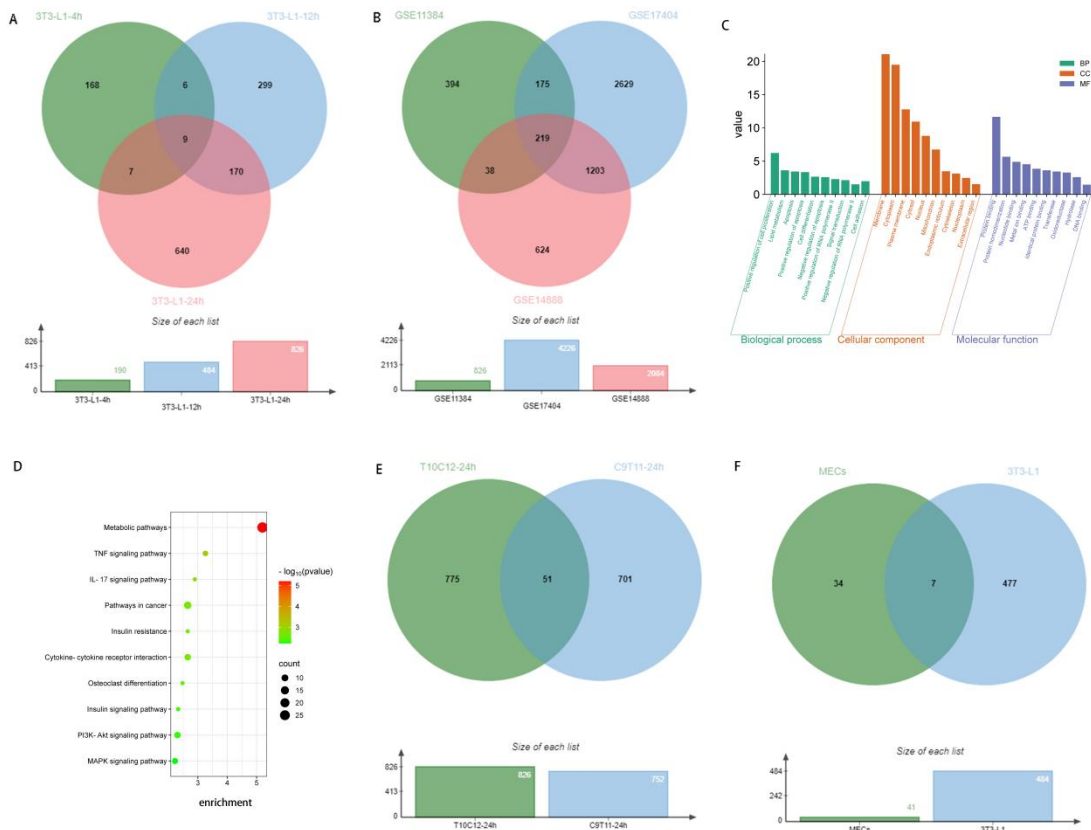


图2 公共数据库生信分析

Fig.2 Bioinformatics analysis of public databases

5 总结

本文总结了共轭亚油酸的产生、代谢、功能与应用, 并试图通过公共数据库及过往研究筛选出共轭亚油酸调控的下游靶基因。由于 trans10 cis 12 CLA 具有更高的生物活性及较少的氧化步骤,

共轭亚油酸被补充到动物体内, 主要呈现出 trans10 cis 12 CLA 抑制脂肪合成的作用。trans10 cis 12 CLA 可以抑制脂肪细胞分化, 减少脂肪沉积, 促进脂肪酸释放。然而, 关于 trans10 cis 12 CLA 主要发挥作用的靶组织, 具体调控机制仍不清楚, 并且在人类减肥塑形领域或其他领域的应

用仍不明确。在畜牧业上,由于奶牛产犊后需要动员大量脂肪为产奶供能,此时机体内部能量进行重新分配,因此补充共轭亚油酸具有很好的效果。但在肉牛和肉羊育肥期,机体内部没有发生大规模脂肪动员,添加共轭亚油酸是否具有相同效果仍需探索。研究 trans10 cis 12 CLA 调节脂代谢的分子机制,对明确 trans10 cis 12 CLA 生理功能,扩展应用领域具有重要作用。

参考文献:

- [1] PARIZA M W, PARK Y, COOK M E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid[J]. *Prog Lipid Res*, 2001, 40(4): 283–298.
- [2] BENJAMIN S, PRAKASAN P, SREEDHARAN S, et al. Pros and cons of CLA consumption: an insight from clinical evidences [J]. *Nutr Metab(Lond)*, 2015, 12(3): 4.
- [3] KOKA K, YANAGITA T. Health benefits of conjugated linoleic acid(CLA)[J]. *Obes Res Clin Pract*, 2014, 8(6): e525–532.
- [4] BADAWY S, LIU Y, GUO M, et al. Conjugated linoleic acid (CLA) as a functional food: Is it beneficial or not?[J]. *Food Res Int*, 2023, 172: 113158.
- [5] EFSA. Scientific opinion on the safety of “conjugated linoleic acid(CLA)-rich oil”(Tonalin® TG 80) as a novel food ingredient[J]. *EFSA Journal*, 2010, 8(5): Article 1600.
- [6] FDA. GRAS notification for conjugated linoleic acid(CLA)-rich oil for use in certain foods[Z]. *Food Chemistry*, 2007.
- [7] URRUTIA O, MENDIZABAL J A, ALFONSO L, et al. Adipose tissue modification through feeding strategies and their implication on adipogenesis and adipose tissue metabolism in ruminants [J]. *Int J Mol Sci.*, 2020, 30; 21(9):3183.
- [8] WATKINS B A, LI Y. Conjugated linoleic acids(CLAs): Food, nutrition, and health[M]. CRC Press: *Nutraceutical and Specialty Lipids and Their Co-Products*, 2006: 187–200.
- [9] DILZER A, PARK Y. Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health[J]. *Crit Rev Food Sci. Nutr*, 2012, 52(6): 488–513.
- [10] CHURRUCA I, FERNANDEZ Q A, PORTILLO M P. Conjugated linoleic acid isomers: differences in metabolism and biological effects[J]. *Biofactors*, 2009, 35(1): 105–111.
- [11] BAUMAN D E, PERFIELD II J W, HARVATINE K J, et al. Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid:lactation and the ruminant model[J]. *J Nutr*, 2008, 138(2): 403–409..
- [12] PALMQUIST D L. Essential fatty acids in ruminant diets[C]. *Proceedings of the 21st Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium*, 2010: 127–142.
- [13] CHILLIARD Y, FERLAY A, DOREAU M. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow’s diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids[J]. *Livest Prod Sci.*, 2001, 70: 31–48.
- [14] JUNG M Y, HA Y L. Conjugated linoleic acid isomers in partially hydrogenated soybean oil obtained during nonselective and selective hydrogenation processes[J]. *J Agric Food Chem*, 1999, 47(2): 704–708.
- [15] VON S D, MEYER U, PIECHOTTA M, et al. Effect of conjugated linoleic acid supplementation on body composition, body fat mobilization, protein accretion, and energy utilization in early lactation dairy cows[J]. *J Dairy Sci.*, 2012, 95(3): 1222–1239.
- [16] KHAN N A, YU P, ALI M, et al. Nutritive value of maize silage in relation to dairy cow performance and milk quality[J]. *J Sci. Food Agric.*, 2015, 95(2):238–252.
- [17] BANNI S, CARTA G, ANGIIONI E, et al. Distribution of conjugated linoleic acid and metabolites in different lipid fractions in the rat liver[J]. *J Lipid Res*, 2001, 42(7):1056–1061.
- [18] SE’BE’DIO J L, ANGIIONI E, CHARDIGNY J M, et al. The effect of conjugated linoleic acid isomers on fatty acid profiles of liver and adipose tissues and their conversion to isomers of 16:2 and 18:3 conjugated fatty acids in rats[J]. *Lipids*, 2001, 36(6): 575–582.
- [19] MARTIN J C, GREGOIRE S, SIESS M H, et al. Effects of conjugated linoleic acid isomers on lipid-metabolizing enzymes in male rats[J]. *Lipids*, 2000, 35(1): 91–98.
- [20] BELURY M A. Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action[J]. *Annu Rev Nutr*, 2002, 22: 505–531.
- [21] MA N, WEI G, ZHANG H, et al. Cis-9, Trans-11 CLA alleviates lipopolysaccharide-induced depression of fatty acid synthesis by inhibiting oxidative stress and autophagy in bovine mammary epithelial cells[J]. *Antioxidants(Basel)*, 2021, 27: 11(1): 55.
- [22] QI X L, WANG J, YUE H Y, et al. Trans10, cis12-conjugated linoleic acid exhibits a stronger antioxidant capacity than cis9, trans11-conjugated linoleic acid in primary cultures of laying hen hepatocytes[J]. *Poult Sci.*, 2018, 1; 97(12): 4415–4424.
- [23] PENEDO L A, NUNES J C, GAMA M A, et al. Intake of butter naturally enriched with cis9, trans11 conjugated linoleic acid reduces systemic inflammatory mediators in healthy young adults [J]. *J Nutr Biochem*, 2013, 24(12): 2144–2151.
- [24] LONG F Y, YANG X, GUO Y M, et al. Conjugated linoleic acids alleviate the immunosuppression of peripheral blood T lymphocytes in broiler chickens exposed to cyclosporin A[J]. *Poult Sci.*, 2012, 91(10): 2431–2437.
- [25] POLIDORI P, VINCENZETTI S, PUCCIARELLI S, et al. CLAs in animal source foods: Healthy benefits for consumers. In J. M. Merillon, & K. Ramawat(Eds.), *Bioactive molecules in food*[J]. *Reference Series in Phytochemistry*, 2018: 1–32.
- [26] RAFF M, THOLSTRUP T, TOUBRO S, et al. Conjugated linoleic acids reduce body fat in healthy postmenopausal women [J]. *J Nutr*. 2009, 139(7): 1347–1352.
- [27] LO’PEZ P B, BERMEJO L M, WEBER T K, et al. Effects of milk supplementation with conjugated linoleic acid on weight control and body composition in healthy overweight people[J]. *Nutr Hosp*. 2013, 1; 28(6): 2090–2098.
- [28] DELLA C L, ROSSI E, ROMANELLI C, et al. Effect of diets supplemented with different conjugated linoleic acid(CLA) iso-

- mers on protein expression in C57/BL6 mice[J]. *Genes Nutr*, 2016, 4: 11–26.
- [29] GRIINARI J, BAUMAN D. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants[M]. USA: AOCS Press, 1999: 893997.
- [30] VESHKINI A, CECILIANI F, BONNET M, et al. Review: Effect of essential fatty acids and conjugated linoleic acid on the adaptive physiology of dairy cows during the transition period[J]. *Animal*, 2023, 17(Suppl) 2: 100757.
- [31] CHO C H, PATEL S, RAJBHANDARI P. Adipose tissue lipid metabolism: lipolysis[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2023, 83:102114.
- [32] VOGEL L, GNOTT M, KRÖGER K C, et al. Effects of abomasal infusion of essential fatty acids together with conjugated linoleic acid in late and early lactation on performance, milk and body composition, and plasma metabolites in dairy cows[J]. *J Dairy Sci.*, 2020, 103(8):7431–7450.
- [33] ZENG H, QIN H, LIAO M, et al. CD36 promotes de novo lipogenesis in hepatocytes through INSIG2-dependent SREBP1 processing[J]. *Mol Metab*, 2022, 57:101428.
- [34] VOGEL L, GNOTT M, KRÖGER K C, et al. Glucose metabolism and the somatotrophic axis in dairy cows after abomasal infusion of essential fatty acids together with conjugated linoleic acid during late gestation and early lactation[J]. *J Dairy Sci.*, 2021, 104(3): 3646–3664.
- [35] LIERMANN W, VIERGUTZ T, UKEN K L, et al. Influences of maternal conjugated linoleic acid and essential fatty acid supply during late pregnancy and early lactation on T and B cell subsets in mesenteric lymph nodes and the small intestine of neonatal calves[J]. *Front Vet Sci.*, 2020, 16(7): 604452.
- [36] GUO Y, WEI Z, ZHANG Y, et al. Research progress on the mechanism of milk fat synthesis in cows and the effect of conjugated linoleic acid on milk fat metabolism and its underlying mechanism: A Review[J]. *Animals(Basel)*, 2024, 14(2): 204.
- [37] ZHAO Y, GUO X., YAN S, et al. Acetate regulates milk fat synthesis through the mammalian target of rapamycin/eukaryotic initiation factor 4E signaling pathway in bovine mammary epithelial cells[J]. *J Dairy Sci.*, 2021, 104: 337–345.
- [38] SAXTON R A, SABATINI D M. mTOR Signaling in growth, metabolism, and disease[J]. *Cell*, 2017, 168: 960–976.
- [39] GUERTIN D A, SABATINI D M. Defining the role of mTOR in cancer[J]. *Cancer Cell*, 2007, 12: 9–22.
- [40] OH W J, JACINTO E. mTOR complex 2 signaling and functions [J]. *Cell Cycle*, 2011, 10: 2305–2316.
- [41] XIAO B, SANDERS M J, UNDERWOOD E, et al. Structure of mammalian AMPK and its regulation by ADP[J]. *Nature*, 2011, 472: 230–233.
- [42] HARDIE D G. AMP-activated/SNF1 protein kinases: Conserved guardians of cellular energy[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 774–785.
- [43] HAWLEY S A, PAN D A, MUSTARD K J, et al. Calmodulin-dependent protein kinase kinase-beta is an alternative upstream kinase for AMP-activated protein kinase[J]. *Cell Metab*, 2005, 2: 9–19.
- [44] LI Y, XU S, MIHAYLOVA M M, et al. AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin-resistant mice[J]. *Cell Metab*, 2011, 13: 376–388.
- [45] BIONAZ M, LOOR J J. Gene networks driving bovine milk fat synthesis during the lactation cycle[J]. *BMC Genom.* 2008, 9: 366.
- [46] XU X, SO J S, PARK J G, et al. Transcriptional control of hepatic lipid metabolism by SREBP and ChREBP. *Semin[J]. Liver Dis*, 2013, 33: 301–311.
- [47] YABE D, BROWN M S, GOLDSTEIN J L. Insig-2, a second endoplasmic reticulum protein that binds SCAP and blocks export of sterol regulatory element-binding proteins[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 2002, 99: 12753–12758.
- [48] XU D, WANG Z, XIA Y, et al. The gluconeogenic enzyme PCK1 phosphorylates INSIG1/2 for lipogenesis[J]. *Nature*, 2020, 580: 530–535.
- [49] APRILE M, AMBROSIO M R, D'ESPOSITO V, et al. PPARC in Human Adipogenesis: differential contribution of canonical transcripts and dominant negative isoforms[J]. *PPAR Res*, 2014: 537865.
- [50] BIONAZ M, CHEN S, KHAN M J, et al. Functional role of PPARs in ruminants: potential targets for fine-tuning metabolism during growth and lactation[J]. *PPAR Res*, 2013: 684159.
- [51] HAUBOLD S, KRÖGER K C, STARKE A, et al. Effects of abomasal infusion of essential fatty acids and conjugated linoleic acid on performance and fatty acid, antioxidative, and inflammatory status in dairy cows[J]. *J Dairy Sci.*, 2020, 103(1): 972–991.
- [52] ZHANG T Y, HUANG J T, TIAN H B, et al. trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid alters lipid metabolism of goat mammary epithelial cells by regulation of de novo synthesis and the AMPK signaling pathway[J]. *J Dairy Sci.*, 2018, 101(6): 5571–5581.
- [53] DADDAM J R, HAMMON H M, TRÖSCHER A, et al. Phosphoproteomic analysis of subcutaneous and omental adipose tissue reveals increased lipid turnover in dairy cows supplemented with conjugated linoleic acid[J]. *Int J Mol Sci.*, 2021, 22(6): 3227.

(责任编辑:朴红梅)