

行政院國家科學委員會專題研究計畫 期中進度報告

飼糧二十二碳六烯酸對豬隻脂質代謝基因表現之影響(1/3)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2313-B-002-405-

執行期間：91年08月01日至92年07月31日

執行單位：國立臺灣大學畜產學系暨研究所

計畫主持人：丁詩同

計畫參與人員：劉秉勳

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 92 年 5 月 29 日

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果
報告

※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※

※※※※

※

※ 飼糧二十二碳六烯酸對豬隻脂質代謝基因表現之影
響 ※

※

※

※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※

※※※

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 91-2313-B-002-405

執行期間：91年8月1日至92年7月31日

計畫主持人：丁詩同

計畫參與人員：劉秉勳

本成果報告包括以下應繳交之附件：

赴國外出差或研習心得報告一份

赴大陸地區出差或研習心得報告一份

出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一

份

國際合作研究計畫國外研究報告書一份

執行單位：國立台灣大學畜產學系

中 華 民 國 92 年 5 月 27 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

飼糧二十二碳六烯酸對豬隻脂質代謝基因表現之影響

The effect of dietary docosahexaenoic acid on the expression of genes involved in lipid metabolism in pigs

計畫編號：NSC 91-2313-B-002-405

執行期限：91年8月1日至92年7月31日

主持人：丁詩同 國立台灣大學畜產學系

計畫參與人員：劉秉勳 國立台灣大學畜產學系

一、中文摘要

飼糧中脂肪酸可被動物利用而貯存於各種組織，餵飼含不同脂肪酸的脂質來源可顯著改變豬隻脂肪組織、肌肉組織和肝臟中脂肪酸的組成 (Innis *et al.*, 1996; Ding *et al.*, 2003)。許 (2002) 於飼糧中添加 2% DHA 油，顯著增加豬隻各組織中 DHA 之含量，並顯著抑制仔豬肝臟中與脂質新生合成相關的轉錄因子 Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1 (SREBP-1) mRNA 的表現。

本研究的目的是在餵飼豬隻高 DHA、高 n-6 多不飽和脂肪酸或高硬脂酸飼糧，測試不同脂肪酸組成對豬隻血液性狀與基因表現的影響。結果發現餵飼 10% 富含 n-3 多不飽和脂肪酸之藻類 DHA 油飼糧兩天，即能顯著減少仔豬血漿中，總膽固醇與三酸甘油酯的含量 ($P < 0.001$)，降低效果分別可達 39% 與 46%，另一 n-6 多不飽和脂肪酸處理組 (大豆油組；富含亞麻油酸)，則亦顯著降低血漿中三酸甘油酯的含量 ($P < 0.05$)，而不影響膽固醇的含量。北方吸漬分析中發現，添加海藻 DHA 油可抑制 SREBP-1 在肝臟中的表現，並顯著促進肝臟 ACO mRNA 之表現量，而大豆油的添加並不影響此二基因的表現。由於 SREBP-1 可調節許多參與脂肪生合成基因的表現，餵飼 n-3 族多不飽和脂肪酸 (DHA) 似可因降低 SREBP-1，而抑制體內脂質生合成路徑。另外，增加與脂肪酸氧化基因 ACO 的表現，應可增加體內對脂肪酸的氧化，進而減少豬隻體脂的堆積。所以餵飼 DHA 油應可提供一個改善營養分利用，並生產高 DHA 肉品之策略。

關鍵詞：ADD1, DHA, SREBP1

Abstract

Dietary fatty acid composition can change fatty acid profiles in several porcine tissues, such as adipose tissue, muscle, and liver (Innis *et al.*, 1996; Ding *et al.*, 2003). Hsu (2002) demonstrated 2% DHA oil in the diet will significantly increased the DHA in several porcine tissues. Such changes also inhibited the expression of hepatic Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1 (SREBP-1) mRNA.

The purpose of current project was to test the effect of dietary high DHA, high n-6 polyunsaturated fatty acid (PUFA), and n-3 PUFA on blood composition and gene expression in several tissues. Dietary DHA supplementation for two d decreased plasma triacylglycerol (TG) and cholesterol concentration ($P < 0.001$). Dietary soybean oil treatment decreased plasma TG but not cholesterol concentration. Northern analysis demonstrated that DHA treatment reduced the SREBP1 mRNA concentration in the liver. The DHA treatment also increased the ACO mRNA concentration. Soybean oil treatment did not have the same effect. The SREBP1 regulates the expression of several lipogenic genes. Therefore, dietary DHA treatment may reduce lipogenic pathway due to inhibition of SREBP1 expression. Taken together, dietary DHA treatment may improve nutrients utilization and produce high DHA meat products.

二、緣由與目的

脂肪可被添加於家禽和家畜的飼糧中以提供能量、減少飛塵和增加適口性，飼糧中脂肪酸的變化更可以改變組織中脂肪酸的組成。飼糧中脂肪酸可被動物利用而貯存於各種組織，餵飼含不同脂肪酸的脂質來源可顯著改變豬隻脂肪組織、肌肉組織和肝臟中脂肪酸的組成 (Villegas *et al.*, 1973; Otten *et al.*, 1993; Jones *et al.*, 1995; Innis *et al.*, 1996)。Ding *et al.* (2003) 發現餵飼 3 週齡仔豬，含 15% 牛油或 15% 魚油的飼糧，可顯著改變豬隻脂肪組織、肌肉組織和肝臟中脂肪酸的組成，隨著魚油的添加， ω -3 脂肪酸顯著增加。這些結果顯示，飼糧中的長鏈多不飽和脂肪酸 (PUFA) 可被豬隻利用而貯存於各種組織，並可能因此而改變各組織的生理代謝。近年來，許多研究報告指出，PUFA 的添加處理，會降低細胞內脂肪之堆積，其主要之作用機制有二。其一，PUFA 之添加，抑制細胞內許多脂肪合成基因之表達 (FAS)，而其調控主要是藉由影響轉錄因子脂肪細胞分化決定因子一 (ADD1) 之表現來達成；其二，藉由增加轉錄因子過氧小體增生活化受體 α (PPAR α) 之表現，間接促進細胞內氧化及生熱作用。

在小鼠的試驗中，Xu *et al.* (1999) 發現，AA 藉由抑制肝臟中轉錄因子 SREBP-1 之表現，減少 FAS 之合成，因而降低肝臟中脂肪堆積。並且更進一步發現，PUFA 並非影響 SREBP-1 之轉錄，而是增加其 mRNA 之降解，以達到抑制 SREBP-1 之表現 (Xu *et al.*, 1999)。在豬方面，不同於小鼠，其脂肪酸之生合成，主要發生在脂肪組織，並且 ADD1 (與 SREBP-1 為同一基因) 也大量表達於此。

脂肪

本實驗室初步之試驗發現，許多 PUFA 確實可以有效降低豬脂肪細胞 ADD1 蛋白質及 mRNA 之表現。本試驗之主要目的在於，測定不同飼糧脂肪酸的試驗處理，對 SREBP1 及其他基因的影響。

三、結果與討論

豬隻餵飼添加牛脂、大豆油或 DHA 油的飼糧，兩天後於餵飼 2 小時後採樣，所得之肝臟、脂肪及肌肉等組織，經北方吸漬法及定量分析後，各處理組之 SREBP-1、SREBP-2、HMGR、LDLR、ACO 及 PPAR α mRNA 表現量，經 ImageQuant 5.0 版軟體分析定量，再以持恆基因 18S rRNA 矯正後，以控制組（牛脂）之基因 mRNA 量設為 100，計算處理組各基因之相對含量。

在肝臟組織中，SREBP-1 mRNA 表現量，則分別為 100、65.7 與 110.9，在 DHA 添加之處理組中，與牛脂組相較之下，顯示 DHA 的添加減少肝臟中 SREBP-1 mRNA 的表現量。此試驗結果與許（2002）相似，顯示此短期 DHA 之添加，只要在組織中堆積足夠的濃度，即可抑制 SREBP-1 mRNA 的表現，其作用可能與增加 mRNA 的降解有關（Hsu and Ding, 2003；Xu *et al.*, 2002）。抑制 SREBP-1 的 mRNA 表現量，可進一步減少脂肪酸合成作用與 TG 合成，而血液中 TG 含量因而減少，所以可能進一步減少豬隻脂肪的堆積。脂肪組織中，牛脂、海藻 DHA 油與大豆油等三個處理組，其 SREBP-1 mRNA 表現量分別為 100、82.3 及 100.5，經統計分析後發現無顯著之差異，結果與許（2002）相似，顯示豬隻脂肪組織 SREBP-1 之表現不受飼糧 DHA 添加而影響，此結果可能是由於脂肪組織中 DHA 之堆積量非常低，所以不足以造成如體外培養試驗中，因 DHA 添加所抑制表現的 SREBP-1（許, 2002）。在肌肉組織中，SREBP-1 mRNA 無法被偵測到，顯示肌肉組織中，SREBP-1 並不表現或其表現微弱，而北方吸漬法無法測得。

在參與膽固醇代謝基因方面，轉錄因子 SREBP-2 可在肝臟中大量表現，依牛脂、大豆油與海藻 DHA 油等三個處理組順序，其 mRNA 表現量分別為 100、150.7 與 129.4，三組統計分析發現海藻 DHA 油組可顯著提高 SREBP-2 mRNA 的表現量（ $P < 0.05$ ），HMGR 與 LDLR 亦分別有 194% 與 132% 顯著提升效果（ $P < 0.05$ ），結果顯示 n-3 DHA 的添加，似可促進參與肝臟中膽固醇的生合作用和 LDL 利用等基因的表現。有別於豬隻試驗添加多不飽和脂肪酸能抑制 SREBP-1 mRNA 與成熟蛋白質的表現，多不飽和脂肪酸似乎能刺激 SREBP-2 與下游基因的表現，Xu 等人（2002）於餵飼 10% 魚油之小鼠肝臟，亦發現類似的促進效果，此外，添加膽固醇合成抑制物（lovastatin / colestipol）於倉鼠飼糧中，發現肝臟 SREBP-2 mRNA 與成熟蛋白質皆能促進表現，而在 SREBP-1c 的表現卻剛好相反（Shimomura *et al.*, 1997），但目前仍無證據證明此等 SREBPs 基因差異表現機制為何。Soazig 等人（2001）培養脂肪細胞中發現，降低脂肪細胞培養液之膽固醇，其 SREBP-2（ $P < 0.005$ ）、LDLR（ $P < 0.05$ ）與 HMGR 表現可顯著地提升（ $P < 0.005$ ）。所以，本試驗中飼糧 DHA 油的添加，顯著減少血液中膽固

醇與 TG 的含量(表 4, 表 5), 降低血液膽固醇可能因而形成促進 SREBP-2 表現的生理環境, 提高的 SREBP-2 再促進其下游基因 HMGR 與 LDLR mRNA 的表現量, 以生成或攜入因 DHA 所降低的膽固醇。諸如 SREBP-2 與 HMGR 等基因, 在肌肉與脂肪組織中偵測不到, 顯示肌肉與脂肪組織本身似不需要生合成膽固醇, 所以這些基因在此二組織中不表現, 或表現量低於北方吸漬法敏感度。

在脂肪酸氧化方面, ACO mRNA 的表現量在肝臟中, 分別為 100、122.6 與 105.9, DHA 處理組可顯著促進其表現($p < 0.05$)。在脂肪組織中, ACO mRNA 表現量分別為 100、146、與 121, 各處理組間雖無顯著差異($P > 0.05$), 但 DHA 組的結果似有促進脂肪組織 ACO mRNA 表現的趨勢, 可見短期 DHA 飼糧的添加似可促進組織中脂肪酸氧化的能力。在肌肉組織中, ACO mRNA 表現量, 則分別為 100、96.7 與 106.7, 顯示短期飼糧高 DHA 的處理組無法在肌肉組織堆積足夠濃度, 所以不能促進此參與脂肪酸氧化基因的表現, 這些觀察與許(2002)的結果相似。轉錄因子 PPAR α 在各組織表現中皆無顯著差異, PPAR α mRNA 的量不受因飼糧中脂肪酸的改變而不同, Grigorios 等人(1997)證明多不飽和脂肪酸為 PPAR α 的良好配體, 所以能藉由配體活化 PPAR α 活性, 進而增加 ACO 之表現。本試驗中雖然 PPAR α mRNA 的量不受影響, 但是 DHA 可能因其配體(PPAR α)的功能, 進而刺激 ACO 的表現, 所以飼糧中海藻 DHA 油的添加應可增進脂肪酸之氧化, 減少脂肪的堆積。

綜言之, 餵飼豬隻高 DHA 飼糧, 可抑制豬隻肝臟中 SREBP-1 mRNA 之表現, 以減少脂肪酸新生合成作用, 同時促進肝臟中 ACO mRNA 的表現量, 刺激脂肪酸的氧化作用。上述結果顯示飼糧脂肪酸的改變, 除了可改變組織中脂肪酸的組成, 亦能藉由改變基因之表達來抑制體脂的堆積。至於添加 DHA 飼糧可促進 SREBP-2 等膽固醇生合成與利用基因的表現, 其機制尚待釐清。或可利用 high throughput 基因分析法(第二年計畫), 以充分瞭解 DHA 對豬隻整體基因的影響, 進而明瞭此營養分與基因表達的關係。

本計畫之成果將與後續之研究成果合併發表, 這些結果亦將是研究生劉秉勳之碩士論文的一部份。

五、參考文獻

- 許哲銘。2002。多不飽和脂肪酸藉轉錄因子影響豬隻脂肪代謝基因之探討。國立台灣大學畜產學系研究所碩士論文。
- Ding, S. T., A. Lapillonne, W. C. Heird, and H. J. Mersmann, 2003. Dietary fat has minimal effects on fatty acid metabolism transcript concentrations in pigs. *J. Anim. Sci.* 81:423-432.
- Grigorios, K., B. Olivier, L. Fabienne, K. Eric, P. Mai, G. P. Malcolm, and W. Walter. 1997. Fatty Acids, Eicosanoids, and Hypolipidemic Agents Identified as Ligands of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors by Coactivator-Dependent Receptor Ligand Assay. *Molecular Endocrinology.* 11:779-791.
- Hsu, J. M. and S. T. Ding. 2003. Effect of polyunsaturated fatty acids on the expression of

- transcription factor ADD1 and of lipogenic and fatty acid oxidation enzymes in porcine differentiating adipocytes. *British J. Nutr.* In press
- Innis, S. M., R. Dyer, P. T. Quinlan, and D. Diersen-Schade. 1996. Dietary triacylglycerol structure and saturated fat alter plasma and tissue fatty acids in piglets. *Lipids.* 31:497-505.
- Jones, P. J., B. R. Toy, and M. C. Cha. 1995. Differential fatty acid accretion in heart, liver and adipose tissues of rats fed beef tallow, fish oil, olive oil and safflower oils at three levels of energy intake. *J Nutr.* 125:1175-82.
- Otten, W., C. Wirth, P. A. Iaizzo, and H. M. Eichinger. 1993. A high omega 3 fatty acid diet alters fatty acid composition of heart, liver, kidney, adipose tissue and skeletal muscle in swine. *Ann. Nutr. Metab.* 37:134-41.
- Soazig, L.L., K. Stephane, F. Celine, L. Isabelle, L. L. Xavier, B. Raymond, F. Pascal, and D. Isabelle. 2001. Cholesterol, a cell size-dependent signal that regulates glucose metabolism and gene expression in adipocytes. *J. Biol. Chem.* 276:16904-16910.
- Villegas, F. J., H. B. Hedrick, T. L. Veum, K. L. McFate, and M. E. Bailey. 1973. Effect of diet and breed on fatty acid composition of porcine adipose tissue. *J. Anim. Sci.* 36:663-668.
- Xu, J., M. T. Nakamura, H. P. Cho, and S. D. Clarke. 1999. Sterol regulatory element binding protein-1 expression is suppressed by dietary polyunsaturated fatty acids. A mechanism for the coordinate suppression of lipogenic genes by polyunsaturated fats. *J Biol Chem.* 274:23577-83.
- Xu, J., M. Teran-Garcia, J. H. P. Park, M. T. Nakamura, and S. D. Clarke. 2001. Polyunsaturated fatty acids suppress hepatic sterol regulatory element-binding protein-1 expression by accelerating transcript decay. *J Biol Chem.* 276:9800-07.