

# RS3 型芭蕉芋抗性淀粉的减肥降脂 作用及急性毒性分析

邱敏懿<sup>1</sup>, 晋小雁<sup>1</sup>, 张彩娟<sup>1</sup>, 张驰<sup>1</sup>, 王敏<sup>1</sup>, 卢彦冰<sup>1</sup>, 赵保胜<sup>1</sup>, 张元<sup>2</sup>, 王学勇<sup>1\*</sup>

(1. 北京中医药大学 中药学院, 北京中医药研究院, 北京 100029;

2. 北京联合大学 生物化学工程学院, 北京 100023)

**[摘要]** 目的: 评价芭蕉芋 RS3 型抗性淀粉对肥胖型高脂血症小鼠的减肥降脂作用, 并进行安全性评价。方法: KKAY 小鼠高脂饲料喂养 20 周, 建立肥胖型高脂血症模型, 随机分为模型组, 辛伐他汀组 ( $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), RS3 抗性淀粉高、低剂量组 ( $2, 1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 并以维持饲料喂养的小鼠为正常组。给药组分别灌胃相应药物, 正常组及模型组给予等量去离子水。8 周后, 处死小鼠, 检测血清中总胆固醇 (TC), 甘油三酯 (TG), 高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C), 低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 及天门冬氨酸氨基转移酶 (AST), 丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 的含量, 精密称量脂肪质量, 计算脂/体比、体脂率及 Lee's 指数, 伊红-苏木素 (HE) 染色观察肝脏及脂肪组织的病理学变化; 采用限量法评价 RS3 抗性淀粉的安全性, 连续观察 14 d, 记录小鼠毒副反应情况。**结果:** RS3 抗性淀粉高剂量能显著降低小鼠体质量、脂肪质量、体脂率、脂/体比、Lee's 指数, 以及血清中 TC, TG, LDL-C, AST, ALT 水平 ( $P < 0.05$ )。组织形态学检测显示, 给予 RS3 抗性淀粉可以明显改善肝脏组织的脂肪病变情况, 保肝作用明显, 可以抑制脂肪细胞膨大, 降低小鼠脂肪累积, 以高剂量为优; 急毒实验小鼠按  $36 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量给药后, 动物未出现中毒反应及死亡。**结论:** RS3 型芭蕉芋抗性淀粉具有良好的减肥降脂作用, 且以高剂量组为佳, 最大给药量证明无毒副作用, 临床常用剂量安全可靠。

**[关键词]** RS3 型芭蕉芋抗性淀粉; 肥胖症; 高脂血症; 降血脂作用; 急性毒性

**[中图分类号]** R28; R285; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)01-0149-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20190130

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181015.1731.014.html>

**[网络出版时间]** 2018-10-17 15:27

## Effect of *Canna edulis* Type 3 Resistant Starch in Reducing Body Weight, Serum Lipid and Acute Toxicity

QIU Min-yi<sup>1</sup>, JIN Xiao-yan<sup>1</sup>, ZHANG Cai-juan<sup>1</sup>, ZHANG Chi<sup>1</sup>, WANG Min<sup>1</sup>, LU Yan-bing<sup>1</sup>,  
ZHAO Bao-sheng<sup>1</sup>, ZHANG Yuan<sup>2</sup>, WANG Xue-yong<sup>1\*</sup>

(1. School of Chinese Materia Medica, Beijing Research Institute of Chinese Medicine,  
Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. College of Biochemical Engineering, Beijing Union University, Beijing 100023, China)

**[Abstract]** **Objective:** To evaluate effect of *Canna edulis* type 3 resistant starch (RS3) on weight loss and lipid reduction in obese hyperlipidemia mice and acute toxicity in mice. **Method:** KKAY mice were fed with high-fat diet for 20 weeks to establish a hyperlipidemia model and then randomly divided into model group, positive group ( $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), high-dose resistant starch group and low-dose resistant starch group ( $2, 1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). Mice in

**[收稿日期]** 20180728(007)

**[基金项目]** 中央本级重大增减支项目(2060302); 国家自然科学基金项目(81773841)

**[第一作者]** 邱敏懿, 在读硕士, 从事药品鉴定、民族药药效及物质基础研究, E-mail: qiuminyi123@163.com

**[通信作者]** \* 王学勇, 博士, 教授, 博士生导师, 从事药用植物与分子生药学及民族药新药研发, Tel: 010-64287660, E-mail: wxyph.d@163.com

normal group were fed with standard diet. The medication groups received corresponding drugs by gavage. Normal group and high-fat model group were given equal volume of deionized water. After 8 weeks, mice were put to death. The levels of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in serum of mice were measured, and weigh fat mass, fat/body ratio, body fat rate and Lee's index were calculated accurately. The pathological changes of liver and adipose tissue were observed by hematoxylin-eosin (HE). The acute toxicity of RS3 to mice was evaluated by limit test. The mice were continuously observed for 14 days, and the toxicity of mice was recorded. **Result:** The indicators of high-dose RS3 group were significantly reduced, such as body weight, fat mass, body fat rate, fat/body ratio, Lee's index, and serum TC, TG, LDL-C, AST, ALT levels ( $P < 0.05$ ). Histomorphometric examination showed that the administration of RS3 starch could significantly improve the fatty lesions of liver tissue, and the liver-protecting effect was obvious, which could still inhibit the expansion of fat cells and reduce the accumulation of fat in mice. Among them, the high-dose group was better; After the maximum dose of  $36 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  was administered, no toxic reaction and death occurred in the animals. **Conclusion:** RS3-type *Canna Edulis* Resistant Starch has a good effect in reducing body weight and serum lipid, with a better effect in the high-dose group and no toxicity. And the commonly used clinical dose is safe and reliable.

[**Key words**] *Canna edulis* type 3 resistant starch; obesity; hyperlipidemia; hypolipidemic effect; acute toxicity

随着生活水平的提高和生活方式的转变,代谢紊乱性疾病的发病率逐年提升,肥胖症便是其中之一。《中国成人血脂异常防治指南(2016年修订版)》<sup>[1]</sup>显示,目前中国成人血脂异常患病率高达40.40%,其发病原因与日常生活中的高脂、高热量、高糖饮食、缺乏运动等不良生活方式导致的肥胖密切相关。临床研究发现,超过70%的肥胖症患者伴有高脂血症<sup>[2]</sup>。肥胖并发高脂血症是由于肥胖引起的一种脂代谢异常综合征<sup>[3]</sup>,患者体内血浆中胆固醇(TC)和(或)甘油三酯(TG)代谢异常<sup>[4]</sup>,极易引起肝脏和心脑血管病变<sup>[5]</sup>,严重威胁人类的生命健康。目前,高脂血症临床用药多以他汀类药物为主,但长期服用他汀类药物具有肝毒性和胰岛素抵抗等较严重的副作用<sup>[6]</sup>,且其在体质量控制上的功效尚未明确,因此亟需发现新型的减肥降脂药物。

抗性淀粉(RS)是指在小肠中不能被消化吸收,但可到达结肠并被结肠中的微生物菌群发酵,继而发挥有益的生理作用的特殊淀粉<sup>[7]</sup>。临床实验证明其具有预防结肠癌、降低血液胆固醇、降低肥胖和结石的发病率、增加矿物质吸收、控制糖尿病等生理功能<sup>[8-10]</sup>,对肠道菌群亦有改善作用。与化学合成类药物相比,抗性淀粉是从天然植物中提取的一种低热量多糖,来源安全可靠。抗性淀粉种类繁多,根据天然或人工修饰的差别可分为4类<sup>[11]</sup>:RS1,

RS2,RS3,RS4。芭蕉芋是高价值淀粉的新型原料来源,也是酿造发酵、食品和饲料加工的高品质原料。本实验所用为芭蕉芋RS3型抗性淀粉,由植物加工过程中发生回生作用而形成<sup>[12]</sup>,未经化学改性,是一种新型膳食纤维,不仅具有热稳定性,还具有较高的持水能力<sup>[13]</sup>,被作为传统膳食纤维的最佳代替物,发展前景广阔。目前,关于RS3型抗性淀粉减肥降脂方面的作用鲜有报道,且无明确的安全服用剂量,因此,本实验计划通过药效学和毒性实验弥补相关研究空缺。

本实验采用肥胖型高脂血症小鼠模型评价RS3型芭蕉芋抗性淀粉减肥降脂的作用,为进行新药开发提供科学依据。并通过观察小鼠24h内经口多次最大剂量给予该抗性淀粉所产生的急性毒性反应和死亡情况,为临床安全用药提供保障。

## 1 材料

**1.1 动物** KKAY小鼠,SPF级,雌性,10周龄,30~35g,共28只;C57BL/6小鼠,雌性,10周龄,16~20g,10只,均购自北京华卓康生物科技股份有限公司,合格证号SCYK(京)2014-0004;ICR小鼠,SPF级,雌雄各半,8~9周龄,共40只,雄鼠22~24g,雌鼠20~22g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号SCXK(京)2016-0006。饲养于北京中医药大学屏障环境动物室,动物使用许可证号SYXK(京)2016-0038。动物饮水、进食自由。动物

饲养条件:室温( $23 \pm 2$ ) °C,相对湿度 40% ~ 70%,每天光照 12 h。本研究获得北京中医药大学实验动物伦理委员会批准(编号 BUCM-4-2018060421-2025)。

**1.2 试剂** 黔绿源牌 RS3 型芭蕉芋抗性淀粉(贵州伊利泰生物科技有限公司,批号 20170120-3);辛伐他汀(广东彼地药业有限公司,批号 H20066221);苏木素-伊红染色液(Solarbio 公司,批号 G1120);组织固定液(北京益利精细化学品有限公司,批号 YZB/京 0099-2011);血清甘油三酯(TG),总胆固醇(TC),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C),丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST)检测试剂盒[贝克曼库尔特试验系统(苏州)有限公司,批号分别为 AUZ0674, AUZ4678, AUZ4977, AUZ4704, AUZ4271, AUZ3645];实验所用水为去离子水。

**1.3 仪器** BX53 型自动化智能型正置研究级显微镜(日本 Olympus 公司);RM2245 型半自动轮转式切片机,EG1150 型分体式包埋机,ST5020/CV5030 型多功能染色盖片工作站(德国莱卡公司);AU480 型全自动生化分析仪(美国 Beckman Coulter 公司);Echo MRI-100 型动物脂肪分析仪(美国 Echo Medical Systems 公司)。

## 2 方法

### 2.1 减肥降脂实验

**2.1.1 造模与分组** 取 10 周龄健康雌性 KKAy 小鼠 28 只,单笼饲养,专用高脂饲料(16.5% 蛋白、37.9% 多糖,45.6% 脂肪)饲喂。以 10 周龄雌性 C57BL/6 小鼠,10 只,作为正常组,每笼 5 只,喂食小鼠正常维持饲料<sup>[14]</sup>。根据人类肥胖和超重标准<sup>[15]</sup>,将肥胖度 > 10% 视为超重, > 20% 视为肥胖,肥胖度计算公式:肥胖度 = (实验组实际体质量 - 对照组平均体质量) / 对照组平均体质量 × 100%。饲养 20 周后,随机抽检 4 只正常饲料组及高脂饲料组小鼠眼球取血,检测血脂 4 项,若有显著差异,且模型组肥胖度 > 20%,则为造模成功<sup>[16]</sup>。将剩余 24 只 KKAy 小鼠根据体质量随机分为 4 组,每组 6 只,依次为模型组、辛伐他汀组( $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),RS3 高剂量组( $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),RS3 低剂量组( $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )<sup>[17-18]</sup>,正常组及模型组给予等量的去离子水,每日上午 1 次,给药体积设定为  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,连续给药 8 周,每周称重。

**2.1.2 血清生化指标检测** 第 28 周末小鼠禁食 12 h 后,摘眼球取血后,静置 30 min,  $2\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,离心 10 min,取上清液,  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱保存。全自动

生化分析仪测定 TC, TG, HDL-C, LDL-C, AST, ALT 水平。

**2.1.3 基本指标检测** 眼眶取血后,脱颈椎处死,将小鼠仰位放置,用直尺测量体长(从口鼻至肛门),Lee's 指数 =  $\sqrt[3]{\text{体质量} \times 10^3 / \text{体长}(\text{cm})}$ 。取肝脏、脂肪(包括肾周及生殖器周围脂肪组织),精密称量,使用动物脂肪分析仪对小鼠进行体内脂肪含量检测。计算脂/体比,脂/体比 = 脂肪质量/体质量 × 100。

**2.1.4 组织形态学检测** 小鼠肝及脂肪组织取材后,进行大体形态观察,取肝脏中叶及部分附睾脂肪,用中性 10% 甲醛固定,常规制片,经脱水和浸蜡包埋后切片  $4 \mu\text{m}$ ,贴于载玻片。梯度脱蜡,HE 染色,于 400, 200 倍光镜下观察组织形态学变化,并利用 Image pro-plus 6.0 图像处理软件对脂肪细胞的短径、长径及面积进行测量。

### 2.2 安全性实验

**2.2.1 分组** 将 ICR 小鼠分为 2 组,即正常组和 RS3 抗性淀粉组,雌雄各半,每组 20 只,共 40 只。适应性饲养 3 天,禁食不禁水 16 h 后,采用限量法<sup>[19]</sup>进行灌胃,给药组灌胃抗性淀粉  $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,抗性淀粉加水溶解后,放入微波炉,高温加热 2 min,致其冷却至室温后灌胃,  $0.3 \text{ mL} \cdot 10 \text{ g}^{-1} \text{ BW}$ ,空白组灌胃同等剂量的去离子水,24 h 内给药 3 次,每次间隔 6 h,给药量总计  $36 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。给药后小鼠自由进食饮水,常规饲养 14 d。

**2.2.2 观察指标** 给药首日观察每次给药后第 0, 2, 4, 6 h 动物活动情况,24 h 内密切观察,给药后第 2 ~ 14 天,每天观察并记录小鼠毒性表现及死亡情况,为期 2 周。观察内容见表 1<sup>[20]</sup>。每周称体质量,在第 2 次称重后,处死小鼠,解剖后肉眼观察肝、肾、脾、心、肺、胃、肠等主要脏器,若有病变组织,则进行该组织的病理形态学检查。

**2.3 数据处理** 采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计分析,各组数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,数据符合正态,多组数据比较采用 One-way ANOVA 统计学分析,后置检验选择 Tukey 方法,数据若不符合正态,取 log 后进行统计学分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 抗性淀粉对小鼠体质量及血脂的影响

**3.1.1 肥胖型高脂血症小鼠模型的建立** 给予高脂饲料喂养 20 周后,经抽检 TC, TG, HDL-C, LDL-C

表 1 急性毒性实验观察的动物反应性指标及对应器官系统

Table 1 Indicators and corresponding organ systems observed in acute toxicity

观察项目	中毒后表现和症状	器官系统
运动功能	运动失调、麻痹、震颤、	神经系统
肌张力	增强、减弱、肌肉强直、迟缓	神经系统
反射	减弱、缺乏、紧张不安	神经系统
呼吸	徐缓、困难、潮式呼吸、流涕	呼吸系统
心跳	过缓或补齐, 过强或过弱	心血管系统
排便	腹泻、粪便不成型、颜色黑灰	消化系统
生殖器官	会阴部污秽, 阴户、乳腺肿胀, 阴茎脱垂	生殖系统
皮肤状态	苍白、充血, 竖毛、无光泽、松散	皮毛
死亡状态	急死、缓死、挣扎、口吐白沫	其他

表 2 高脂喂养 20 周后小鼠体质量和血脂情况 ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

Table 2 Effects of high-fat diet on body weight and blood lipids after 20 weeks of feeding in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

组别	体质量/g	TC/mmol·L <sup>-1</sup>	TG/mmol·L <sup>-1</sup>	HDL-C/mmol·L <sup>-1</sup>	LDL-C/mmol·L <sup>-1</sup>
正常饲料	23.99 ± 0.89	3.12 ± 0.95	1.89 ± 0.55	2.01 ± 0.63	0.46 ± 0.17
高脂饲料	53.81 ± 0.53 <sup>2)</sup>	9.34 ± 1.19 <sup>2)</sup>	4.02 ± 1.24 <sup>1)</sup>	4.68 ± 0.08 <sup>2)</sup>	1.19 ± 0.14 <sup>2)</sup>

注:与正常饲料组比较,<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

表 3 RS3 抗性淀粉对小鼠体质量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 3 Effect of RS3 on body weight in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	0 周	2 周	4 周	6 周	8 周
正常	-	23.35 ± 0.22	24.38 ± 1.91	25.80 ± 0.77	25.40 ± 0.81	25.78 ± 0.73
模型	-	54.15 ± 0.69 <sup>1)</sup>	56.33 ± 1.95 <sup>1)</sup>	58.27 ± 1.75 <sup>1)</sup>	56.53 ± 2.94 <sup>1)</sup>	56.25 ± 2.73 <sup>1)</sup>
辛伐他汀	0.004	54.67 ± 0.26	53.10 ± 2.20 <sup>2)</sup>	52.67 ± 2.14 <sup>3)</sup>	49.12 ± 5.81 <sup>2)</sup>	47.15 ± 4.71 <sup>3)</sup>
RS3 抗性淀粉	2	54.03 ± 0.70	51.20 ± 4.13 <sup>2)</sup>	49.57 ± 3.67 <sup>3)</sup>	47.92 ± 2.24 <sup>3)</sup>	45.70 ± 5.08 <sup>3)</sup>
	1	54.02 ± 0.72	53.00 ± 1.32 <sup>3)</sup>	50.57 ± 2.96 <sup>3)</sup>	49.35 ± 2.80 <sup>3)</sup>	46.37 ± 2.25 <sup>3)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>3)</sup> $P < 0.01$ (表 4,5 同)。

**3.1.3 抗性淀粉对小鼠脂肪质量、脂/体比、体脂率及 Lee's 指数的影响** 与正常组比较,模型组小鼠脂肪质量、脂/体比、体脂率及 Lee's 指数均显著升高 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较,RS3 高剂量组小鼠脂肪质量、脂/体比、体脂率及 Lee's 指数均显著降低 ( $P < 0.01$ );RS3 低剂量组小鼠脂肪质量,体脂率,脂/体比明显降低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 4。

**3.1.4 抗性淀粉对小鼠血清生化指标的影响** 与正常组比较,长期的高脂饮食,模型组小鼠血清 TC, TG, HDL-C, LDL-C 水平显著升高 ( $P < 0.01$ );与模型组相比,RS3 高剂量组 TG, LDL-C, TC 水平明显降低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), HDL-C 水平显著升高 ( $P < 0.01$ );RS3 低剂量抗性淀粉血脂 4 项水平呈降低趋

测定,与正常饲料小鼠相比,高脂饲料小鼠 TC, LDL-C, TG 明显升高 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), HDL-C 显著降低 ( $P < 0.01$ );与正常饲料小鼠体质量相比较,高脂饲料小鼠显著升高 ( $P < 0.01$ ),超出正常饲料小鼠体质量的 20%,表明成功构建肥胖型高脂血症小鼠模型。见表 2。

**3.1.2 抗性淀粉对小鼠体质量的影响** 实验开始前,模型组与正常组体质量有显著差异 ( $P < 0.01$ ),且与给药组间体质量无差异。随着实验的进行,各给药组小鼠的体质量逐渐降低,与模型组比较,从第 2 周开始,给药组小鼠的平均体质量明显降低 ( $P < 0.05$ );给药至第 8 周,小鼠体质量趋于稳定,其中 RS3 淀粉高剂量及低剂量组体质量显著降低 ( $P < 0.01$ )。见表 3。

势,但无统计学意义。见表 5。

**3.1.5 抗性淀粉对小鼠血清 AST, ALT 水平的影响** 给药 8 周后,与正常组相比,模型组 ALT, AST 水平显著升高 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较,RS3 淀粉高剂量组,ALT, AST 水平显著降低 ( $P < 0.01$ );RS3 淀粉低剂量组 ALT 水平显著降低 ( $P < 0.01$ ),AST 有一定降低作用,但无统计学意义。见表 6。

**3.1.6 抗性淀粉对肥胖型高脂血症小鼠肝脏组织的病理学变化** 肝组织切片 HE 染色后,400 倍光镜下观察,正常组小鼠肝脏细胞索状排列,边界清晰,血窦丰富,无脂肪变性现象。高脂肪饲料喂养 28 周后,模型组小鼠肝脏发生明显病变,细胞边界模糊,排列紊乱,出现明显脂肪变性,细胞质存有大量大小

表 4 RS3 抗性淀粉对小鼠脂肪质量、脂/体比、体脂率及 Lee's 指数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 4 Effect of RS3 on fat mass, ratio of fat mass and body weight, body fat percentage and Lee's index in mice ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	脂肪质量/g	脂体比 ( $\times 100$ )	体脂率/%	Lee's 指数
正常	-	0.37 $\pm$ 0.16	1.39 $\pm$ 0.58	2.94 $\pm$ 0.92	14.10 $\pm$ 0.13
模型	-	3.93 $\pm$ 0.46 <sup>1)</sup>	7.38 $\pm$ 0.77 <sup>1)</sup>	29.64 $\pm$ 4.50 <sup>1)</sup>	17.85 $\pm$ 0.39 <sup>1)</sup>
辛伐他汀	0.004	2.84 $\pm$ 0.28 <sup>3)</sup>	5.90 $\pm$ 1.39 <sup>2)</sup>	20.82 $\pm$ 4.87 <sup>3)</sup>	17.02 $\pm$ 0.50 <sup>3)</sup>
RS3 抗性淀粉	2	2.67 $\pm$ 0.49 <sup>3)</sup>	5.62 $\pm$ 0.68 <sup>3)</sup>	19.78 $\pm$ 5.29 <sup>3)</sup>	16.12 $\pm$ 0.71 <sup>3)</sup>
	1	2.83 $\pm$ 0.45 <sup>3)</sup>	5.65 $\pm$ 1.29 <sup>2)</sup>	20.04 $\pm$ 5.28 <sup>3)</sup>	17.34 $\pm$ 0.56

表 5 RS3 抗性淀粉对小鼠血清 TC, TG, LDL-C, HDL-C 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 5 Effect of RS3 on serum lipid levels of TC, TG, LDL-C, HDL-C in mice ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

mmol·L<sup>-1</sup>

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常	-	2.63 $\pm$ 0.15	0.87 $\pm$ 0.09	1.71 $\pm$ 0.07	0.44 $\pm$ 0.02
模型	-	11.62 $\pm$ 2.38 <sup>1)</sup>	3.36 $\pm$ 0.19 <sup>1)</sup>	4.07 $\pm$ 0.41 <sup>1)</sup>	1.73 $\pm$ 0.31 <sup>1)</sup>
辛伐他汀	0.004	10.96 $\pm$ 2.84	2.56 $\pm$ 0.42 <sup>3)</sup>	5.23 $\pm$ 0.18 <sup>3)</sup>	1.52 $\pm$ 0.41
RS3 抗性淀粉	2	8.73 $\pm$ 2.10 <sup>2)</sup>	2.40 $\pm$ 0.34 <sup>3)</sup>	4.60 $\pm$ 0.32 <sup>3)</sup>	1.39 $\pm$ 0.19 <sup>2)</sup>
	1	9.64 $\pm$ 2.71	2.84 $\pm$ 0.40	4.55 $\pm$ 0.47	1.51 $\pm$ 0.21

表 6 RS3 抗性淀粉对小鼠血清 ALT, AST 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 6 Effect of RS3 on serum lipid levels of ALT, AST in mice

( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

U·L<sup>-1</sup>

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	ALT	AST
正常	-	38.17 $\pm$ 2.38	159.05 $\pm$ 21.85
模型	-	195.57 $\pm$ 31.47 <sup>1)</sup>	224.47 $\pm$ 14.09 <sup>1)</sup>
辛伐他汀	0.004	91.65 $\pm$ 18.71 <sup>2)</sup>	176.60 $\pm$ 24.23 <sup>2)</sup>
RS3 抗性淀粉	2	95.23 $\pm$ 20.18 <sup>2)</sup>	171.15 $\pm$ 30.02 <sup>2)</sup>
	1	134.22 $\pm$ 13.29 <sup>2)</sup>	187.89 $\pm$ 51.46

注:与正常组比<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; 与模型组比<sup>1)</sup>  $P < 0.01$  (表 7 同)。

不一的脂肪空泡。与模型组比较,辛伐他汀组肝脏脂肪变性现象明显好转,肝细胞排列基本整齐,肝组织细胞基本恢复正常;RS3 抗性淀粉高、低剂量组分别给药 8 周后,各组小鼠的肝细胞出现不同程度的恢复,肝细胞脂肪变性程度减轻,且高剂量组最为明显,已接近正常组。见图 1。

**3.1.7 抗性淀粉对肥胖型高脂血症小鼠脂肪细胞形态及大小的影响** HE 染色后,脂肪细胞内的脂肪被溶解而形成空泡状。200 倍光镜下观察,同一视野下,正常组细胞形态较小且均一,个数较多;高脂饲料喂养 28 周后,模型组脂肪细胞较正常组明显膨大,显微镜同一视野下脂肪细胞个数明显减少。辛伐他汀组脂肪细胞较模型组明显变小,显微镜同一视野下脂肪细胞个数明显增多。经 RS3 抗性淀粉高、低剂量组分别给药 8 周后,给药组脂肪细胞较模型组明显变小,显微镜同一视野下脂肪细胞个数明显增多,以淀粉高剂量组更为明显,形态大小接近

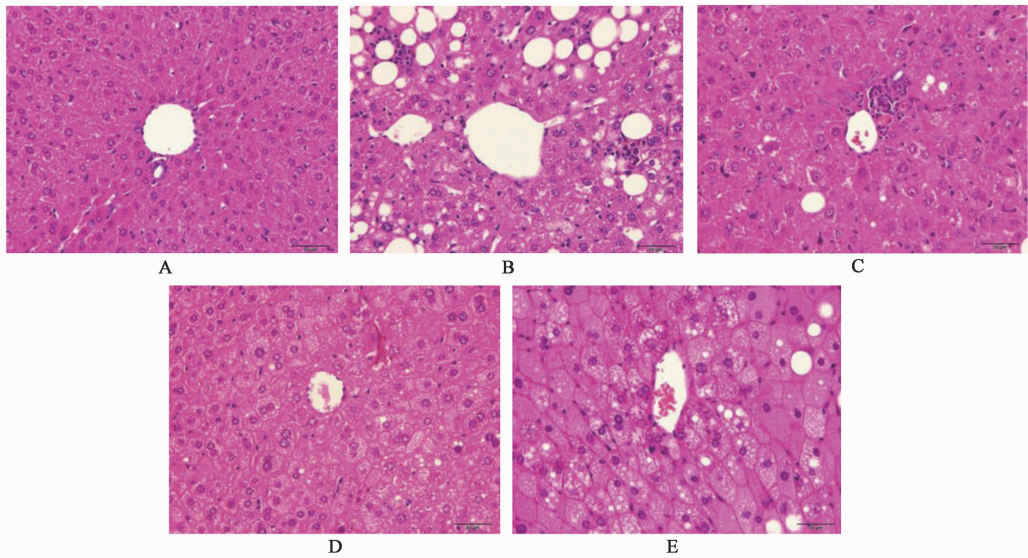
辛伐他汀组。见图 2。

为定量描述 RS3 对小鼠脂肪细胞改善作用,使用 Image pro-plus 6.0 图像处理软件测量各组小鼠肝脏脂肪细胞长径、短径和面积。结果显示,与正常组比较,模型组脂肪细胞短径、长径、面积均显著增大 ( $P < 0.01$ );与模型组比较,辛伐他汀组小鼠脂肪细胞短径、长径、面积均显著减小 ( $P < 0.01$ );RS3 抗性淀粉高、低剂量组小鼠脂肪细胞短径、长径、面积均显著减小 ( $P < 0.01$ ),高剂量组更为明显。见表 7。

**3.2 RS3 型抗性淀粉的安全性评价** RS3 型抗性淀粉灌胃后,观察 14 天无动物死亡,毛色光滑,对外界反应、外观、行为、排便及呼吸、腺体分泌均正常,体质量增长与正常组无明显差异。实验结束后,脱颈椎处死动物,解剖并观察心、肝、脾、肺、肾、脑、肾上腺、胸腺、甲状腺、气管、食管、胃、十二指肠、结肠、膀胱、睾丸、子宫、卵巢等脏器,未见到明显的病理性改变。与正常组比较,给药后 14 d 内 RS3 抗性淀粉组体质量无明显差异,见表 8。本实验经 RS3 抗性淀粉对小鼠 24 h 内灌胃剂量达  $36 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,且未见中毒症状,无动物死亡,动物体质量未受影响。结果显示,RS3 抗性淀粉对小鼠的经口急性毒性耐受剂量  $> 36 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,根据国家标准《食品安全国家标准急性经口毒性试验》(GB 15193.3-2014)<sup>[19]</sup> 修正版中的急性毒性分级标准可知,该抗性淀粉的急性经口毒性属无毒级。

#### 4 讨论

由于生活水平的改善以及生活方式的转变,高



A. 正常组; B. 模型组; C. 辛伐他汀组; D. RS3 高剂量组; E. RS3 低剂量组 (图 2 同)

图 1 RS3 型抗性淀粉对肥胖伴高脂血症小鼠肝细胞脂肪变性的病理变化 (HE, ×400)

Fig.1 Effect of RS3 on hepatic steatosis with obesity and hyperlipidemia induced in mice (HE, ×400)

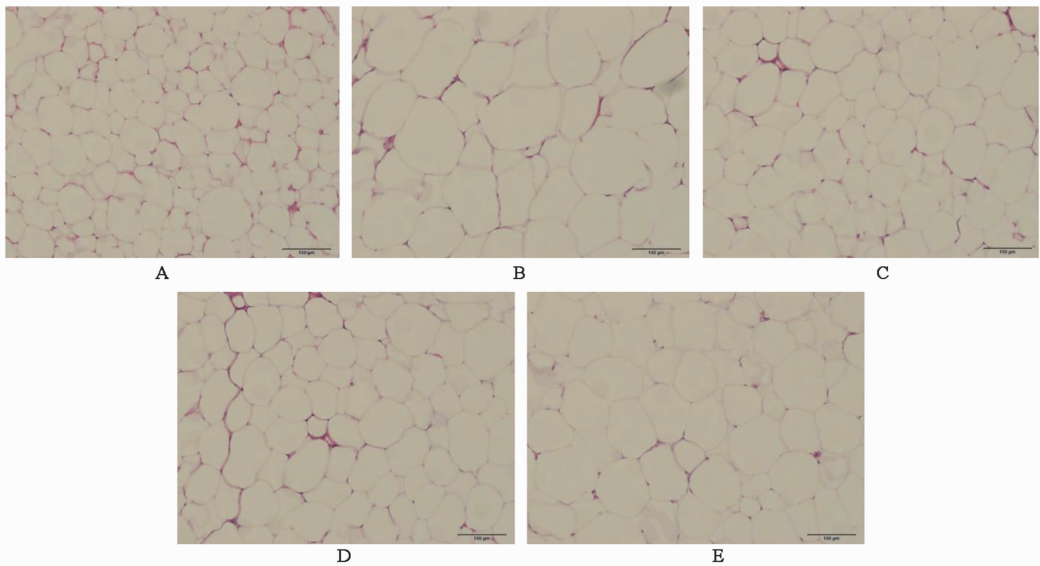


图 2 RS3 型抗性淀粉对肥胖伴高脂血症小鼠脂肪形态的病理变化 (HE, ×200)

Fig.2 Effect of RS3 on fat morphology with obesity and hyperlipidemia induced in mice (HE, ×200)

表 7 RS3 抗性淀粉对小鼠脂肪细胞大小的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 7 Effect of RS3 on adipocyte of mice ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	短径/ $\mu m$	长径/ $\mu m$	面积/ $\mu m^2$
正常	-	48.18 ± 5.08	64.13 ± 7.73	3 319.41 ± 346.55
模型	-	90.95 ± 5.04 <sup>1)</sup>	141.95 ± 17.77 <sup>1)</sup>	9 099.70 ± 853.63 <sup>1)</sup>
辛伐他汀	0.004	62.03 ± 5.03 <sup>2)</sup>	86.38 ± 7.44 <sup>2)</sup>	4 625.86 ± 480.66 <sup>2)</sup>
RS3 抗性淀粉	2	63.31 ± 6.88 <sup>2)</sup>	85.07 ± 7.16 <sup>2)</sup>	4 832.97 ± 378.28 <sup>2)</sup>
	1	75.74 ± 7.54 <sup>2)</sup>	98.38 ± 8.56 <sup>2)</sup>	5 911.66 ± 586.74 <sup>2)</sup>

热量高脂肪饮食、酗酒, 缺少运动等不良生活及饮食习惯造成肥胖、高脂血症等代谢综合征患者人数日益增长, “三高症”已成为我国乃至全世界的公共卫

生问题, 而高脂、高热量的食物是造成这一现象的重要原因之一。能量过度摄入易引起机体肥胖, 导致机体发生脂质过氧化, 而肥胖、高血脂引发脂肪肝,

表 8 RS3 型抗性淀粉对小鼠体质量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 8 Effect of RS3 on body weight of mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	性别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	给药前	第 7 d	第 14 d
正常	雄	-	22.88 ± 1.01	29.71 ± 1.63	34.50 ± 1.68
	雌	-	21.23 ± 0.63	23.28 ± 1.46	26.49 ± 1.82
RS3 抗性淀粉	雄	36	22.97 ± 0.87	30.56 ± 1.22	34.83 ± 1.25
	雌	36	21.17 ± 0.72	24.34 ± 3.47	25.99 ± 1.60

在肝脏内积蓄使得肝功能受损,AST,ALT 活性升高,进而影响脂肪在肝脏的代谢<sup>[21]</sup>,造成体内脂肪堆积。肥胖、高血脂等多为同时存在的代谢异常综合征候群,疾病之间存在相关性,对机体的损害可相互叠加<sup>[22]</sup>,而高血脂症及肥胖的共同存在,使脂肪合成更加容易。高血脂症与血浆中 TC, TG, LDL-C 呈正相关,与 HDL-C 水平呈负相关。血浆 HDL-C 水平作为“血脂清道夫”,可有效促进 TC 逆转运、抗炎和抗氧化功能及影响相关免疫反应来调节血脂代谢<sup>[23]</sup>,其水平的提升还可有效降低心脑血管疾病的发生率。体质量,脂肪质量,脂体比,体脂率, Lee's 指数及病理切片等指标,能反应小鼠肥胖程度,是评价减肥药效研究最为直接的指标<sup>[24]</sup>。

研究表明,抗性淀粉作为一种新型膳食纤维,具有调节血糖血脂及改善糖尿病患者发病的功效,其在改善肠道菌群多样性,促进对矿物元素的吸收,保障机体健康等多方面均有积极影响<sup>[25]</sup>。有研究证明抗性淀粉能降低肝脏和血清中 TC 和 TG 含量<sup>[26-27]</sup>,其机制可能与肠道发酵产物 SCFA 通过血液循环进入肝脏增强肝组织胆固醇代谢相关基因表达水平有关。本实验所用为从植物芭蕉芋中提取的 RS3 型抗性淀粉,该类型抗性淀粉药理相关文献报道较少,减肥降脂作用及药物毒性尚需实验证实。

本研究将小鼠高脂饲料喂养 20 周后,成功制备肥胖型高脂血症小鼠模型。但模型组中, HDL-C 也显著高于空白组,与文献不一致<sup>[28-32]</sup>,其原因可能因 HDL-C 在 TC 中占有一定比例<sup>[33]</sup>,在 TC 成倍递增的前提下, HDL-C 含量随之显著增加,但在模型组中 HDL-C 所占 TC 比例降低,造成 HDL-C 转运能力降低,脂代谢发生紊乱,符合高血脂症现象,进一步表明本实验成功构建高脂血症模型。

结果显示,芭蕉芋 RS3 淀粉高剂量组能显著降低小鼠体质量,脂肪质量,体脂率,脂/体比, Lee's 指数,减肥作用明显;降低血清中 TC, TG, LDL-C, 升高 HDL-C 水平,降脂作用显著;降低 AST, ALT 水平,对肥胖型高脂血症小鼠肝组织脂肪浸润现象有明显的改善,与抗性淀粉报道结果一致<sup>[34]</sup>,对肥胖伴高

脂血症小鼠肝损伤有显著的保护作用;抑制脂肪细胞膨大,有效改善肥胖型高脂血症小鼠脂肪堆积现象,进一步证实芭蕉芋 RS3 抗性淀粉的疗效;根据毒性实验结果证实芭蕉芋 RS3 型抗性淀粉属于无毒级食品。提示下一步可根据安全剂量,对该抗性淀粉的给药浓度进行细分研究,找出该药物对改善肥胖型高脂血症小鼠的最佳剂量,并进一步利用多种组学技术对其深层次作用机制剖析和阐释,为研发高品质功能型保健品,开展抗性淀粉对人类健康功效方面的研究奠定实验基础。

[参考文献]

[1] 诸骏仁,高润霖,赵水平,等. 中国成人血脂异常防治指南(2016 年修订版)[J]. 中国循环杂志,2016,31(10):937-953.

[2] 陈定宇,何凌,肖正华. 肥胖伴高甘油三酯血症患者胰岛素抵抗的研究[J]. 中原医刊,2006(8):1-2.

[3] 原萌谦,刘志诚,徐斌,等. 针灸治疗 1528 例肥胖并发高脂血症不同肥胖度患者疗效观察[J]. 中国针灸,2016,36(8):807-811.

[4] Paramsothy P, Knopp R, Bertoni A G, et al. Combined hyperlipidemia in relation to race/ethnicity, obesity, and insulin resistance in the multi-ethnic study of atherosclerosis[J]. Metabolism, 2009, 58(2):212-219.

[5] Garvey W T, Garber A J, Mechanick J I, et al. American association of clinical endocrinologists and American college of endocrinology position statement on the 2014 advanced framework for a new diagnosis of obesity as a chronic disease [J]. Endoc Pract, 2014, 20(9):977-989.

[6] BAO L, BAI S, Borijihan G. Hypolipidemic effects of a new piperine derivative GB-N from piper longum in high-fat diet-fed rats[J]. Pharm Biol, 2012, 50(8):962-967.

[7] Sajilata M G, Singhal R S, Kulkarni P R. Resistant starch-a review [J]. Compr Rev Food Sci F, 2010, 5(1):1-17.

[8] Gocmen D, Dundar A N. Resistant starch as a novel food ingredient in human nutrition [J]. FASEB J, 2013, 27:1065. 26.

[9] Birt D F, Boylston T, Hendrich S, et al. Resistant Starch:

- promise for improving human health[J]. *Adv Nutr; Inter Rev Jour*, 2013, 4(6):587-601.
- [10] Fuentes-Zaragoza E, Riquelme-Navarrete M J, Sánchez-Zapata E, et al. Resistant starch as functional ingredient: a review [J]. *Food Res Int*, 2010, 43(4):931-942.
- [11] 余远江,何丽君,谢承孟,等. 抗性淀粉的生理功效及其在食品工业中的应用研究进展[J]. *轻工科技*, 2018, 34(5):43-45.
- [12] YAO N, Paez A V, White P J. Structure and function of starch and resistant starch from corn with different doses of mutant amylose-extender and floury-1 alleles [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(5):2040-2048.
- [13] Sanz T, Salvador A, Fiszman S M. Evaluation of four types of resistant starch in muffin baking performance and relationship with batter rheology[J]. *Eur Food Res Technol*, 2008, 227(3):813-819.
- [14] Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome [J]. *J Clin Invest*, 2004, 114(12):1752-1761.
- [15] Chandler P C, Viana J B, Oswald K D, et al. Feeding response to melanocortin agonist predicts preference for and obesity from a high-fat diet [J]. *Physiol Behav*, 2005, 85(2):221-230.
- [16] ZHAO Y, PENG L, LU W, et al. Effect of *eclipta prostrata* on lipid metabolism in hyperlipidemic animals [J]. *Exp Gerontol*, 2015, 62:37-44.
- [17] 胡文兵,赵静,陈婷婷,等. 青钱柳多糖对高脂血症小鼠的降血脂作用及机制初探[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(11):39-44.
- [18] Aziz A A, Kenney L S, Goulet B, et al. Dietary starch type affects body weight and glycemic control in freely fed but not energy-restricted obese rats [J]. *J Nutr*, 2009, 139(10):1881-1889.
- [19] GB 15193.3-2014, 食品安全国家标准急性经口毒性试验[S]. 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2014:3-21.
- [20] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 2版. 北京:人民卫生出版社, 2006:107-110.
- [21] 吴培赛,石松利,周红兵,等. 蒙古扁桃药材不同提取物对高脂血症大鼠血脂、脂质过氧化和肝功能的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(21):113-117.
- [22] 李慧丽. 肥胖、糖尿病、高脂血症与急性胰腺炎关系研究[D]. 济南:山东大学, 2016.
- [23] 范婷婷. 荷叶生物碱类物质降脂减肥活性研究[D]. 杭州:浙江大学, 2013.
- [24] 何明,涂长春,黄起壬,等. Lee's 指数用于评价成年大鼠肥胖程度的探讨[J]. *中国临床药理学与治疗学杂志*, 1997(3):177-179.
- [25] 余远江,何丽君,谢承孟,等. 抗性淀粉的生理功效及其在食品工业中的应用研究进展[J]. *轻工科技*, 2018, 34(5):43-45.
- [26] HAN K H, Fukushima M, Kato T, et al. Enzyme-resistant fractions of beans lowered serum cholesterol and increased sterol excretions and hepatic mRNA levels in rats[J]. *Lipids*, 2003, 38(9):919-924.
- [27] 李敏,杨晓光,朴建华. 抗性淀粉生理功能的研究进展[J]. *卫生研究*, 2008, 37(5):640-643.
- [28] 张蕾,张琪,游云,等. 基于代谢组学技术探讨高脂血症及动脉粥样硬化痰瘀证候的演变规律[J]. *中国中西医结合杂志*, 2015, 35(7):823-833.
- [29] 唐琪晶,陈素红,潘丹丹,等. 白术精提物对代谢性高脂血症大鼠的药效及机制研究[J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(9):1803-1807.
- [30] 冷雪,贾连群,杨关林,等. 化痰祛痰方对脾虚型高脂血症大鼠肝脏 SREBP-2 信号通路的干预作用[J]. *中国中西医结合杂志*, 2015, 35(3):320-326.
- [31] 陈娟,邓军,张宇燕,等. 丹参素对高脂血症大鼠脂代谢调节机制研究[J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(2):313-317.
- [32] 叶振南,李楠,盛丹丹,等. 青钱柳多糖对高脂血症大鼠血脂及抗脂质过氧化作用的影响[J]. *现代食品科技*, 2014, 30(4):1-5, 20.
- [33] 吴燕丹. TC/HDL-C, LDL-C/HDL-C, TG/HDL-C 与冠心病不同程度相关性[J]. *临床误诊误治*, 2014, 27(6):64-67.
- [34] Englyst H N, Cummings J H. Non-starch polysaccharides (dietary fiber) and resistant starch [J]. *Adv Exp Med Biol*, 1990, 270(6):205-225.

[责任编辑 孙丛丛]