

168 例高龄老年人多不饱和脂肪酸水平与免疫炎症的关系

张珊¹, 李红¹, 董矜², 王思平¹

解放军总医院, 北京 100853 ¹健康管理研究院; ²生化科

摘要: **目的** 了解老年人多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFA) 水平, 分析多不饱和脂肪酸与免疫炎症的相关性。**方法** 选取中国人民解放军总医院 2014 年健康查体 > 70 岁老年人 168 例, 通过高效气相色谱毛细管层析法 (HPLC-MS) 检测标本中 ω -3 PUFA 和 ω -6 PUFA 的含量及构成, 并分别检测淋巴细胞亚群、炎症细胞因子和 C 反应蛋白, 分析多不饱和脂肪酸与免疫炎症的相关性。**结果** 本组人群总 ω -3 PUFA 5.68% \pm 2.01%, 二十碳五烯酸 (eicosapentaenoic acid, EPA) 0.32% \pm 0.21%, 二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA) 3.27% \pm 1.10%, ω -3 指数 (ω -3 index) 3.59% \pm 1.18%; 总 ω -6 PUFA 26.76% \pm 4.56%, ω -6/ ω -3 比值 5.56 \pm 2.77。EPA、DHA、 ω -3 index 与 IL-2 呈负相关 ($r_{\text{EPA}} = -0.153 2$, $r_{\text{DHA}} = -0.305 5$, $r_{\omega-3 \text{ index}} = -0.319 5$, $P < 0.05$), EPA、 ω -3 index 与 PGE₂ 呈负相关 ($r_{\text{EPA}} = -0.167 8$, $r_{\omega-3 \text{ index}} = -0.245 8$, $P < 0.05$), 花生四烯酸与 COX-2 呈负相关 ($r_{\text{AA}} = -0.167 7$, $P < 0.05$), PUFA 与淋巴细胞亚群无相关性 ($P > 0.05$)。**结论** 本组老年人 ω -3 多不饱和脂肪酸处于缺乏水平, ω -3 多不饱和脂肪酸对机体有抗炎作用。

关键词: 多不饱和脂肪酸; 淋巴细胞亚群; 炎症因子; C 反应蛋白

中图分类号: R 363 文献标志码: A 文章编号: 2095-5227(2016)02-0147-04 DOI: 10.3969/j.issn.2095-5227.2016.02.013

网络出版时间: 2015-11-19 10:07

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20151119.1007.008.html

Level of polyunsaturated fatty acids and its relationship with inflammatory and immune biomarkers in 168 elderly people

ZHANG Shan¹, LI Hong¹, DONG Jin², WANG Siping¹

¹Health Management Institute; ²Department of Clinical Biochemistry Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: LI Hong. Email: lihonggam@hotmail.com

Abstract: Objective To investigate the level and structure of polyunsaturated fatty acid (PUFA) of Chinese elderly population and analyze the relationship between the level of polyunsaturated fatty acids and inflammatory and immune biomarkers. **Methods** One hundred and sixty-eight elderly people (more than 70 years old) who had undergone health examination in Chinese PLA General Hospital in 2014 were selected. The content and construction of ω -3 PUFA and ω -6 PUFA in blood samples were detected using high performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS). The lymphocyte subsets, inflammatory cytokines and the level of C-reaction protein (CRP) were detected and the relationship between polyunsaturated fatty acid and immune inflammation was analyzed. **Results** The level of ω -3 PUFA, EPA, DHA and ω -3 index was 5.68% \pm 2.01%, 0.32% \pm 0.21%, 3.27% \pm 1.10% and 3.59% \pm 1.18%, respectively. The total ω -6 PUFA was 26.76% \pm 4.56%, and the ratio of ω -6 and ω -3 was 5.56 \pm 2.77. IL-2 was negatively correlated with EPA, DHA and ω -3 index ($r_{\text{EPA}} = -0.153 2$, $r_{\text{DHA}} = -0.305 5$, $r_{\omega-3 \text{ index}} = -0.319 5$, $P < 0.05$), PGE₂ was negatively correlated with EPA and ω -3 index ($r_{\text{EPA}} = -0.167 8$, $r_{\omega-3 \text{ index}} = -0.245 8$, $P < 0.05$), and COX-2 was negatively correlated with AA ($r_{\text{AA}} = -0.167 7$, $P < 0.05$). While, fatty acids were not correlated with lymphocyte subsets. **Conclusion** The elderly population enrolled in this study is lacking of ω -3 PUFA which has anti-inflammatory effects to our body.

Keywords: polyunsaturated fatty acid; lymphocyte subsets; inflammatory factor; C-reaction protein

多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFA) 是人体必需脂肪酸, 但机体自身不能合成, 必须由食物供给。PUFA 主要分为 ω -3 PUFA 和 ω -6 PUFA。 ω -3 PUFA 主要包括二十碳五烯酸 (eicosapentaenoic acid, EPA)、二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA)、 α -亚麻酸 (alpha-linolenic acid, ALA) 等, ALA 可在菜籽油中找

到, 而 EPA 及 DHA 主要在深海鱼油中获得。 ω -6 PUFA 主要包括花生四烯酸 (arachidonic acid, AA)、亚油酸 (linoleic acid, LA) 等, 可在植物中找到。 ω -6 PUFA 和 ω -3 PUFA 在代谢中竞争相同的酶类, 却产生截然相反的作用。 ω -6 PUFA 能促进炎症、血管新生和肿瘤生长, 而 ω -3 PUFA 已被证明具有抗肿瘤、免疫调节的作用, 对心血管系统疾病^[1]、慢性炎症^[2]、肿瘤^[3]、阿尔茨海默病^[4]、哮喘有一定效果。饮食脂肪酸摄入的不平衡会导致多种疾病发生, 对人体健康造成威胁, 平衡各类脂肪酸至关重要。我国老龄化加剧, 老年人群免疫力下

收稿日期: 2015-08-20

作者简介: 张珊, 女, 在读硕士, 研究方向: 消化内科。Email: 13717695726@163.com

通信作者: 李红, 女, 博士, 主任医师。Email: lihonggam@hotmail.com

降与淋巴细胞密切相关。本研究对高龄老年人群 PUFA 含量进行测定, 并研究其与淋巴细胞、细胞因子及 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)相关性, 探索 ω -3 PUFA 对机体免疫炎症的影响。

对象和方法

1 研究对象 选择 2014 年在解放军总医院行健康查体的年龄 > 70 岁老年人。排除标准: 1) 肿瘤患者; 2) 患有严重心脑血管疾病及糖尿病; 3) 患有免疫性疾病患者; 4) 服用甾体类抗炎药物及免疫抑制药物; 5) 服用和补充鱼油或口服多不饱和脂肪酸产品。最终纳入研究对象 168 例。

2 脂肪酸提取及检测 将血液标本按血: 去离子水 1: 12 溶血, 离心、弃上清, 得到细胞膜溶解液。将细胞膜溶解液移至 15 ml 甲基化玻璃瓶, 加入 1 ml 正己烷及 1 ml 14% 三氟化硼混匀。高纯氮通入

甲基化玻璃瓶排出氧气, 加热混合物至 100℃, 持续 1 h, 冷却至室温加入 1 ml 去离子水, 离心。将上层正己烷层移至 1.5 ml 样品瓶, 并用高纯氮吹干。用 100 μ l 正己烷溶解 1.5 ml 样品瓶中干燥样品, 移入 0.1 ml 内衬管, 高纯氮密封。将 1.5 ml 样品瓶置于气相色谱分析仪上分析样品。检测红细胞膜上主要 ω -3 PUFA、 ω -6 PUFA, 各脂肪酸的水平采用面积归一法, 并计算 ω -3 指数 (ω -3 index)、 ω -6/ ω -3、AA/(EPA + DHA) 等比值^[5]。

3 淋巴细胞亚群测定 取 6 支试管标注 A、B、C、D、E、F, 并分别加入 10 μ l 抗体。混匀标本, 6 支试管中分别加入 100 μ l 全血标本, 混匀, 避光保存 20 min。每支试管中加入 1 ml 10% 溶血素, 避光静置 10 min。离心、弃上清, 加 2 ml 0.9% 氯化钠注射液, 再次离心、弃上清。加入 300 μ l 0.9% 氯化钠注射液, 混匀, 上机检测。

表 1 168 例老年人主要 PUFA 百分含量及比较
Tab. 1 Level of PUFA in 168 elderly adults ($\bar{x} \pm s$)

Fatty acid	Percentage	Fatty acid	Percentage
Linoleic acid (%)	11.58 \pm 1.89	Eicosapentaenoic acid (%)	0.32 \pm 0.21
Arachidonic acid (%)	13.21 \pm 3.31	Docosahexaenoic acid (%)	3.27 \pm 1.10
Dihomo- γ -linolenic acid (%)	1.35 \pm 0.36	Docosapentenoic acid (%)	1.94 \pm 1.66
γ -linolenic acid (%)	0.09 \pm 0.04	Alpha-linolenic acid (%)	0.14 \pm 0.09
Total ω -6 polyunsaturated fatty acids (%)	26.76 \pm 4.56	Total ω -3 polyunsaturated fatty acid (%)	5.68 \pm 2.01
ω -6/ ω -3 polyunsaturated fatty acids	5.56 \pm 2.77	ω -3 index (%)	3.59 \pm 1.18

表 2 样本中 PUFA 主要组分及比值与淋巴细胞比例相关性分析
Tab. 2 Relationship between level of PUFA and lymphocyte subsets

Fatty acid	T cells (CD3 ⁺)	Th (CD3 ⁺ /CD4 ⁺)	Tc (CD3 ⁺ /CD8 ⁺)	Th/Tc	NK cells	B cells
AA						
<i>r</i>	-0.128	0.168	-0.044	-0.018	0.120	-0.034
<i>P</i>	0.098	-0.107	0.570	0.821	0.120	0.663
EPA						
<i>r</i>	-0.044	0.032	-0.100	0.099	0.018	0.115
<i>P</i>	0.573	0.680	0.197	0.200	0.819	0.138
DHA						
<i>r</i>	0.113	0.088	0.054	0.010	-0.136	-0.157
<i>P</i>	0.143	0.259	0.490	0.896	0.079	0.465
Total ω -6 PUFA						
<i>r</i>	-0.043	-0.099	0.050	-0.092	0.009	-0.029
<i>P</i>	0.582	0.201	0.516	0.236	0.912	0.712
Total ω -3 PUFA						
<i>r</i>	0.111	0.116	0.034	0.058	-0.065	-0.095
<i>P</i>	0.153	0.135	0.660	0.455	0.401	0.222
ω -3 index						
<i>r</i>	0.105	0.100	0.032	0.035	-0.124	-0.052
<i>P</i>	0.177	0.199	0.679	0.649	0.108	0.502
ω -6/ ω -3 PUFA						
<i>r</i>	-0.082	-0.127	0.016	-0.077	0.049	0.044
<i>P</i>	0.292	0.101	0.838	0.323	0.525	0.571

4 细胞因子及 CRP 测定 根据说明采用 ELISA 测定血清 COX-2、PGE₂、TNF- α 、IL-2 水平, 采用酶标免疫测定 CRP。

5 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行统计学检验, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 *t* 检验、相关性检验, 分析 PUFA 含量及组成与淋巴细胞、炎症细胞因子及 CRP 的关系, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 多不饱和脂肪酸含量及组成 本组总 ω -3 PUFA 5.68% \pm 2.01%, EPA 0.32% \pm 0.21%, DHA 3.27% \pm 1.10%, ω -3 index 3.59% \pm 1.18%, 总 ω -6 PUFA 26.76% \pm 4.56%, ω -6/ ω -3 比值 5.56 \pm 2.77。见表 1。

2 PUFA 与淋巴细胞比例相关性分析 PUFA 及其组成与淋巴细胞亚群无相关性 ($P > 0.05$)。见表 2。

3 PUFA 与细胞因子及 CRP 相关性分析 EPA、DHA、 ω -3 index 与 IL-2 呈负相关 ($r_{\text{EPA}} = -0.153 2$, $r_{\text{DHA}} = -0.305 5$, $r_{\omega-3\text{index}} = -0.319 5$, $P < 0.05$), EPA、 ω -3 index 与 PGE₂ 呈负相关 ($r_{\text{EPA}} = -0.167 8$, $r_{\omega-3\text{index}} = -0.245 8$, $P < 0.05$), AA 与 COX-2 呈负相关 ($r_{\text{AA}} = -0.167 7$, $P < 0.05$), PUFA 与 CRP 无相关性 ($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 样本中 PUFA 主要组分及比值与炎症细胞因子及 CRP 相关性分析

Tab. 3 Relationship between level of PUFA and inflammatory cytokines and CRP

Fatty acid	COX-2	PGE ₂	TNF- α	IL-2	CRP
AA					
<i>r</i>	-0.167 7	-0.077 0	-0.089 7	-0.109 7	-0.046 6
<i>P</i>	0.029 8	0.321 5	0.247 4	0.156 9	0.548 3
EPA					
<i>r</i>	0.063 3	-0.167 8	-0.083 5	-0.153 2	-0.021 7
<i>P</i>	0.414 6	0.029 6	0.281 3	0.047 5	0.780 4
DHA					
<i>r</i>	-0.046 5	-0.212 4	0.072 4	-0.305 5	-0.027 2
<i>P</i>	0.549 8	0.005 7	0.350 9	-0.004 1	0.726 5
Total ω -6 PUFA					
<i>r</i>	-0.098 8	-0.050 2	-0.150 1	-0.058 5	-0.033 0
<i>P</i>	0.202 5	0.518 4	0.052 2	0.451 1	0.670 7
Total ω -3 PUFA					
<i>r</i>	0.003 4	-0.131 6	-0.047 7	-0.166 9	-0.024 2
<i>P</i>	0.964 8	0.089 1	0.539 4	0.030 6	0.755 3
ω -3 index					
<i>r</i>	-0.041 1	-0.245 8	0.051 7	-0.319 5	-0.036 9
<i>P</i>	0.596 5	0.001 3	0.506 1	0.003 2	0.635 3
ω -6/ ω -3 PUFA					
<i>r</i>	-0.114 0	0.065 2	-0.033 5	0.160 0	-0.035 9
<i>P</i>	0.141 3	0.401 0	0.666 0	0.388 3	0.634 7

讨 论

我国老年人口基数大、增速快, 人口老龄化不断加剧, 对老年人群健康的重视程度也在与日俱增。疾病的发生与机体的免疫炎症密切相关, 免疫系统对维持机体内环境稳定、抵抗病原有极其重要的作用。研究证明, 大量摄入 EPA 和 DHA 与免疫炎症相关, ω -3 PUFA 具有抗炎、提高机体免疫的作用^[6-7]。因此本研究致力于对单一的营养因素进行整合, 研究 PUFA 与免疫炎症之间的相关性, 对老年人的营养提出综合视角。

目前缺乏对我国高龄老年人 PUFA 水平的研究, 本研究选取 70 岁以上的老年人 168 名, 其中包括超高龄老年人 85 名, 年龄分布在 70 ~ 94 岁, 平均年龄 (80.22 \pm 3.71) 岁, 其中男性 78 名, 女性 90 名。 ω -3 指数是红细胞膜表面两种主要的 ω -3 PUFA (EPA 和 DHA) 占红细胞总脂肪酸的百分比, 可作为一个衡量人体中长期 ω -3 PUFA 摄入量的指标。 ω -3 指数目前已纳入为冠心病的危险因素评价。国际推荐 ω -3 指数 $> 8\%$ 为理想水平, ω -3 指数 $4\% \sim 8\%$ 时有中等风险, ω -3 指数 $< 4\%$ 为高危^[8]。本研究发现, 该高龄老年人群 ω -3 指数为 3.59% \pm 1.18%, 说明这部分老年人 ω -3 缺乏, 这与我国饮食缺乏鱼类的特点有关。欧洲健康协会推荐男性和女性每日分别摄入 610 mg 和 430 mg 的 EPA + DHA 预防慢性疾病^[9-10]。 ω -6 PUFA 和 ω -3 PUFA 会竞争代谢途径中所需要的相同的酶, 因此, ω -3 指数过低提示着 ω -6 摄入比例相对较高, 进而出现 ω -6/ ω -3 比值升高。低 ω -6/ ω -3 比例有助于预防心血管性疾病、肿瘤、骨质疏松等^[11]。本研究中 ω -6/ ω -3 比例平均值为 5.56, 而国际推荐为 5。因此这部分老年人 ω -6/ ω -3 处于偏高水平, 为预防疾病发生可通过增加 ω -3 PUFA 的摄入降低 ω -6/ ω -3 比值。

本研究发现, ω -3 PUFA 及其主要成分与淋巴细胞亚群无明显相关性, 这与服用鱼油干预研究的结果一致^[12-13], 但也有研究发现老年人每日补充 1.3 g EPA 和 DHA 持续 24 周可减少循环中 Th 细胞和 Tc 细胞的比例^[14]。本研究发现, EPA、DHA、 ω -3 指数与 IL-2 呈负相关, EPA、 ω -3 指数与 PGE₂ 呈负相关, 这与 PUFA 通过调节炎症过程中的第二信使, 发挥抗炎的作用有关。 ω -6 PUFA 和 ω -3 PUFA 在代谢中竞争相同的酶类, AA 在 COX-2 和脂氧合酶的作用下产生 2 系列前列腺素 (TXA₂、PGI₂、PGE₂) 和 4 系列白三烯 (LTB₄、

LTC₄、LTE₄), 刺激炎症因子的产生, 促进炎症反应。EPA、DHA 竞争 COX-2 和脂氧合酶, 在其作用下产生 3 系列前列腺素 (TXA₃、PGI₃、PGE₃) 和 5 系列白三烯 (LTB₅、LTC₅、LTE₅) 等抗炎因子, 抑制炎症反应。有研究发现, 摄入中等量的 ω -3 PUFA 对炎症因子无明显影响, 而摄入高水平的 ω -3 PUFA 可减少炎症因子的产生^[15-16]。如有研究发现老年人每日饮食摄入 720 g 鱼可降低 CRP, 每日摄入 2.4 g ω -3 PUFA 持续 3 个月可降低 IL-2 水平^[17-18]。

综上所述, 我国高龄老年人群 ω -3 PUFA 仍处于偏低水平, ω -6/ ω -3 比例处于偏高水平。饮食中的 ω -3 PUFA 不能满足机体需要, 增加 ω -3 PUFA 的摄入有利于健康。本研究有许多不足, 如研究是横断面研究, 缺乏 ω -3 PUFA 的饮食干预, 此外, 研究的样本量有限。在以后的工作中, 我们将进一步研究 ω -3 PUFA 对机体的作用。

参考文献

- 1 Chowdhury R, Warnakula S, Kunutsor S, et al. Association of dietary, circulating, and supplement fatty acids with coronary risk : a systematic review and meta-analysis [J] . *Ann Intern Med*, 2014, 160 (6) : 398-406.
- 2 Gharekhanian A, Khatami MR, Dashti-Khavidaki S, et al. Effects of oral supplementation with omega-3 fatty acids on nutritional state and inflammatory markers in maintenance hemodialysis patients [J] . *J Ren Nutr*, 2014, 24 (3) : 177-185.
- 3 Mocellin MC, Pastore E Silva Jde A, Camargo Cde Q, et al. Fish oil decreases C-reactive protein/albumin ratio improving nutritional prognosis and plasma fatty acid profile in colorectal cancer patients [J] . *Lipids*, 2013, 48 (9) : 879-888.
- 4 Vitiello G, Di Marino S, D'ursi AM, et al. Omega-3 fatty acids regulate the interaction of the Alzheimer's β (25-35) peptide with lipid membranes [J] . *Langmuir*, 2013, 29 (46) : 14239-14245.
- 5 Kang JX, Wang J. A simplified method for analysis of polyunsaturated fatty acids [J] . *BMC Biochem*, 2005, 6 : 5.
- 6 Zampelas A, Panagiotakos DB, Pitsavos C, et al. Fish consumption among healthy adults is associated with decreased levels of inflammatory markers related to cardiovascular disease : the ATTICA study [J] . *J Am Coll Cardiol*, 2005, 46 (1) : 120-124.
- 7 Ferrucci L, Cherubini A, Bandinelli S, et al. Relationship of plasma polyunsaturated fatty acids to circulating inflammatory markers [J] . *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91 (2) : 439-446.
- 8 Harris WS. The omega-3 index : clinical utility for therapeutic intervention [J] . *Curr Cardiol Rep*, 2010, 12 (6) : 503-508.
- 9 Australia and New Zealand National Health and Medical Research Council. Nutrient reference values for Australia and New Zealand including recommended dietary intakes [S] . Australian Government : Department of Health and Ageing Reference no : N35, N36, N37, N38, N264, N265. 2006.
- 10 National Heart Foundation of Australia. Review of the evidence : Fish, fish oils, n-3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular health [R] . 2008, 1-7.
- 11 Gómez Candela C, Bermejo López LM, Loria Kohen V. Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health : nutritional recommendations [J] . *Nutr Hosp*, 2011, 26 (2) : 323-329.
- 12 Miles EA, Banerjee T, Wells SJ, et al. Limited effect of eicosapentaenoic acid on T-lymphocyte and natural killer cell numbers and functions in healthy young males [J] . *Nutrition*, 2006, 22 (5) : 512-519.
- 13 Kew S, Banerjee T, Minihane AM, et al. Lack of effect of foods enriched with plant- or marine-derived n-3 fatty acids on human immune function [J] . *Am J Clin Nutr*, 2003, 77 (5) : 1287-1295.
- 14 Meydani SN, Lichtenstein AH, Cornwall S, et al. Immunologic effects of National cholesterol education panel step-2 diets with and without fish-derived N-3 fatty acid enrichment [J] . *J Clin Invest*, 1993, 92 (1) : 105-113.
- 15 Madsen T, Christensen JH, Blom M, et al. The effect of dietary n-3 fatty acids on serum concentrations of C-reactive protein : a dose-response study [J] . *Br J Nutr*, 2003, 89 (4) : 517-522.
- 16 Geelen A, Brouwer IA, Schouten EG, et al. Intake of n-3 fatty acids from fish does not lower serum concentrations of C-reactive protein in healthy subjects [J] . *Eur J Clin Nutr*, 2004, 58 (10) : 1440-1442.
- 17 Tsitouras PD, Gucciardo F, Salbe AD, et al. High omega-3 fat intake improves insulin sensitivity and reduces CRP and IL6, but does not affect other endocrine axes in healthy older adults [J] . *Horm Metab Res*, 2008, 40 (3) : 199-205.
- 18 Meydani SN, Endres S, Woods MM, et al. Oral (n-3) fatty acid supplementation suppresses cytokine production and lymphocyte proliferation : comparison between young and older women [J] . *J Nutr*, 1991, 121 (4) : 547-555.