

目錄

摘要.....	6
前言.....	7
文獻檢討.....	8
壹、白肉雞概述.....	8
貳、禽類脂質能量調節.....	8
一、禽類脂質合成與運送.....	8
二、禽類能量代謝.....	10
參、脂肪組織種類與功能.....	10
一、脂肪組織種類.....	10
二、脂肪組織功能.....	11
三、脂質代謝.....	12
(一)脂質生成.....	12
(二)脂質分解.....	13
肆、脂肪酸種類與功能.....	13
一、脂肪酸種類.....	13
二、中鏈脂肪 (medium chain fatty acid)	14
(一)中鏈脂肪功能.....	14
(二)中鏈脂肪代謝.....	15
伍、血清成份與功能.....	18
一、血液成份.....	18
二、血漿成份.....	18
三、血清成份.....	19
四、血清功能.....	19
陸、脂肪細胞研究模式.....	20
一、研究模式.....	20
(一)體外模式 (<i>in vitro</i>)	20
(二)體內模式 (<i>in vivo</i>)	20
二、培養模式建立.....	20
(一)細胞株 (cell line)	21
(二)初代細胞培養模式 (primary cell culture)	21
三、脂肪細胞分化.....	21
(一)細胞增殖期 (cell proliferation)	22
(二)生長停滯 (growth arrest)	22
(三)細胞擴增 (mitotic clonal expansion)	22
(四)永久性生長停滯期 (permanent growth arrest)	22
(五)脂質堆積期 (lipid accumulation)	23

柒、脂肪細胞分化代謝相關基因.....	23
一、過氧小體增生活化受體 γ (Peroxisome Proliferators-Activated Peceptor, PPARs)	23
二、CCAAT 促進子結合蛋白 (CCAAT/enhancer-binding protein, C/EBPs)	24
三、脂肪細胞脂肪酸結合蛋白 (Adipocyte fatty acid binding protein, α -FABP)	25
四、脂蛋白脂解酶 (Lipoprotein, LPL)	26
五、葡萄糖轉運蛋白質 (Glucose transporter, GLUT).....	26
六、芳香烴基受體 (Aryl hydrocarbon receptor, Ahr).....	27
七、脂聯素 (Adiponectin, adipoQ)	28
八、脂肪油滴表面蛋白 (Perilipin)	29
材料方法.....	30
壹、材料.....	30
一、活體動物.....	30
二、飼料配方.....	30
三、初代細胞.....	30
四、試驗藥劑.....	30
貳、方法.....	31
一、血清製備.....	31
二、前脂肪細胞製備.....	31
三、細胞培養.....	31
四、冷凍切片.....	32
五、Oil-Red O 染色與定量.....	32
六、三酸甘油酯含量分析.....	32
七、甘油-3-磷酸去氫酶活性分析.....	33
八、脂解分解作用分析及甘油測定.....	33
九、脂肪酸甲基化.....	34
十、氣相層析.....	34
十一、總量 RNA 萃取.....	35
十二、相對定量反轉錄聚合酶連鎖反應.....	35
十三、統計分析.....	35
結果與討論.....	40
試驗壹、餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧對白色肉雞其脂肪組織之影響.....	40
一、餵飼中鏈三酸甘油酯取代飼糧對白色肉雞體重與腹脂之影響.....	40
二、腹部脂肪細胞形態之影響.....	42

試驗貳、餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧之白色肉雞其血清對誘導脂肪細胞分化之影響.....	46
一、餵飼中鏈三酸甘油酯取代飼糧之白色肉雞其血清對雞脂肪細胞分化形態之影響.....	46
二、餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻其血清對雞脂肪細胞分化脂質堆積之影響.....	49
三、餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻其血清對雞前脂肪細胞分化三酸甘油酯含量之影響.....	52
四、餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻其血清對雞脂肪細胞甘油-3-磷酸去氫酶 (GPDH) 活性之影響.....	54
五、餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻其血清對肉雞脂肪細胞脂質合成相關基因表現之影響.....	56
六、餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻其血清對雞脂肪細胞脂肪酸組成之影響.....	69
七、不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻其血清脂肪酸組成...	74
試驗參、餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧之白色肉雞其血清對脂肪細胞分化後期之影響.....	78
一、餵飼中鏈三酸甘油酯取代飼糧之白色肉雞其血清對雞脂肪細胞分化後期形態之影響.....	78
二、餵飼中鏈三酸甘油酯取代飼糧之白色肉雞其血清對雞脂肪細胞分化後期脂質分解作用之影響.....	80
三、餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻其血清對肉雞脂肪細胞後期脂質代謝相關基因表現之影響.....	82
結論	89
參考文獻	91
英文摘要	117

圖表目錄

表 1 血清內(去除水份)物質資料表.....	18
表 2 試驗飼料組成(0-18天).....	37
表 3 試驗飼料組成(19-36天).....	38
表 4 RT-PCR 分析白肉雞脂肪細胞基因表現所使用之引子.....	39
表 5 飼糧含中鏈三酸甘油酯(MCT)對肉雞腹脂與體重之影響.....	41
圖 1 長鏈脂肪酸與中鏈三酸甘油酯酸運送路徑.....	15
圖 2 長鏈脂肪酸與中鏈三酸甘油酯酸肝臟中代謝路徑.....	16
圖 3 長鏈脂肪酸脂肪細胞中代謝路徑.....	17
圖 4 中鏈三酸甘油酯酸脂肪細胞中代謝路徑.....	17
圖 5 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧對白色肉雞其腹部脂肪形態之影響.....	43
圖 6 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧對白色肉雞其腹部脂肪形態尺寸之影響.....	44
圖 7 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧對白色肉雞其腹部脂肪細胞尺寸分布情形之影響.....	45
圖 8 餵飼不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧之白色肉雞其血清對雞前脂肪細胞分化形態之影響.....	48
圖 9 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞脂質堆積之影響.....	50
圖 10 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞脂質堆積之影響.....	51
圖 11 不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成三酸甘油酯含量之影響.....	53
圖 12 不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成甘油-3-磷酸去氫酶活性之影響.....	55
圖 13 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成相關基因 PPAR γ mRNA 表現之影響.....	60
圖 14 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成相關基因 C/EBP β mRNA 表現之影響.....	61
圖 15 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成相關基因 AhR mRNA 表現之影響.....	62
圖 16 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成相關基因 LPL mRNA 表現之影響.....	63
圖 17 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成相關基因 α -FABP mRNA 表現之影響.....	64
圖 18 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成	

相關基因 GLUT1 mRNA 表現之影響.....	65
圖 19 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成 相關基因 GLUT8 mRNA 表現之影響.....	66
圖 20 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成 相關基因 perilipin mRNA 表現之影響.....	67
圖 21 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成 相關基因 adiponectin mRNA 表現之影響.....	68
圖 22 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對脂肪細胞脂肪酸組 成之影響.....	71
圖 23 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對脂肪細胞脂肪酸組 成之影響.....	72
圖 24 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對脂肪細胞脂肪酸組 成之影響.....	73
圖 25 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞對其血清脂肪酸組成之影 響.....	77
圖 26 餵飼不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對脂肪細胞分化後期 形態之影響.....	79
圖 27 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞分化 後期脂質分解作用之影響.....	81
圖 28 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞後期 脂質代謝相關基因 PPAR γ mRNA 表現之影響.....	84
圖 29 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞後期 脂質代謝相關基因 LPL mRNA 表現之影響.....	85
圖 30 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞後期 脂質代謝相關基因 α -FABP mRNA 表現之影響.....	86
圖 31 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞後期 脂質代謝相關基因 perilipin mRNA 表現之影響.....	87
圖 32 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞後期 脂質代謝相關基因 adiponectin mRNA 表現之影響.....	88

摘要

飼糧中添加中鏈三酸甘油酯可降低動物脂肪組織含量。本試驗目的在探討攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清促進脂肪細胞分化之能力，與脂肪組織量降低之關係。分別以0、20、50或80%中鏈三酸甘油酯取代對照組飼糧中大豆油(8%)餵飼白色商業肉雞，於36日齡犧牲，收集血清並分析體脂組成。雞隻攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧具較低之體脂組成，但對於雞隻體重則無明顯影響；同時脂肪組織切片結果亦指出有較小的脂肪細胞。收集的血清則用來添加於取自雞隻脂肪組織的間質血管細胞培養中，以誘發脂肪細胞的分化。以Oil-Red O染色及三酸甘油酯含量分析，發現以來自中鏈三酸甘油酯取代比例愈高的血清處理細胞，其脂質堆積顯著愈低，甘油-3-磷酸去氫酶活性亦愈低。以相對定量RT-PCR分析分化相關基因表現，發現取代比例愈高的處理組其PPAR γ 、C/EBP β 、aP2、LPL、GLUT1、GLUT8與perilipin mRNA表現愈低，但在adipoQ mRNA表現上則無顯著差異。以不同血清處理分化末期(第4天)脂肪細胞，則不會影響脂質堆積與代謝；在分化相關基因表現，發現取代比例愈高的處理組其PPAR γ 、aP2、LPL與perilipin mRNA表現皆無顯著差異，但在adipoQ mRNA表現上則越低。此外利用氣相層析分析發現，以攝食含中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻之血清培養脂肪細胞，其分化程度較差，而其脂肪細胞整體脂肪酸組成所含C16:0與C18:2較高；整體所含C16:1較低。於氣相層析分析血清結果顯示，餵飼含中鏈三酸甘油酯飼糧較對照組雞隻之血清含有較高的總飽和脂肪酸與C18:2，較低的C16:1及C18:1。綜合以上結果顯示，攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清具較低誘發脂肪細胞分化之能力。推測可能因而減緩脂肪組織發育，降低動物體內脂肪組織含量。

前言

禽畜飼養時生成過多的體脂是造成飼糧成本浪費的原因，然而脂肪本身卻是禽畜肉品風味來源，但適當的脂肪與瘦肉比例可增進肉品適口性，是為良好肉質條件；因此如何調控禽畜脂肪組織的生長發育，以增進整體經濟價值與降低成本為畜牧生產一大課題。

現今飼糧配方中，脂肪酸作為飼糧添加劑，可達到提供能量、減少飛塵、增進適口性與作為抗生素替代品等特性。藉由飼糧改變以提高某些特定脂肪酸在組織中的含量，可以提高畜產品的附加價值。飼糧中脂肪酸亦可提供為動物生成細胞膜所需之磷脂質進而影響細胞膜功能與代謝速率，特定脂肪酸更可參與調節許多基因的表達（丁，2001）。

中鏈三酸甘油酯（medium-chain fatty acid, MCT）的營養價值與代謝特性已被研究超過 50 年，在早期 MCT 就利用來治療吸收不良症候群的病患，因其具有容易被小腸吸收的特性，可用以取代一般飲食中的長鏈脂肪酸（long-chain fatty acid, LCFAs）而提供患者所需的脂肪酸（Schizas *et al.*, 1967）；近來也被證實在飲食中額外添加 MCT 對於脂肪酸代謝異常的病患是具有益處的（Rouis *et al.*, 1997；Eckel *et al.*, 1992）。動物試驗中亦發現餵飼 MCT 的試驗動物體內脂肪團塊變小，且三酸甘油酯與磷脂質的成分含有大量 MCT，脂肪組織中的脂蛋白脂解酶（lipoprotein lipase, LPL）活性降低以及改善胰島素活性與增進葡萄糖耐受性，其顯示 MCT 可以調節脂質生成並抑制試驗動物肥胖（Han *et al.*, 2003）；於肉雞試驗中亦發現，MCT 可經由抑制雞隻肝細胞分泌 VLDL，進而降低脂肪團塊的大小（Tachibana *et al.*, 2002）。然而，中鏈三酸甘油酯如何達到調控動物整體脂肪組織發育的效果，推測可能與動物攝飼含中鏈三酸甘油酯飼糧後，其體內血清脂肪酸組成比例改變，影響血清誘發脂肪組織生長與發育的表現之能力，並由不同效果脂肪酸經由動物體內特定代謝路徑調控脂肪細胞生理狀態。

脂肪細胞培養模式為研究脂質代謝與脂肪細胞功能的有效模式，尤以初代細胞培養為較接近原動物體內細胞生理狀態的培養方式，因此可最適宜地模擬脂肪細胞處於攝飼含有中鏈三酸甘油酯飼糧動物體內之環境。本研究使用攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清與雞隻前脂肪細胞進行初代培養建立研究模式。期待能深入分析瞭解禽類動物攝飼中鏈三酸甘油酯飼糧與血清誘發脂肪細胞發育的相關性，以發展調控脂肪組織生長的有效方法，進而改善禽畜品質增進經濟效益。

文獻檢討

壹、白肉雞概述

雞肉為現代日常生活飲食常見食物之一，其中又以白肉雞為最重要的商業用肉雞，也是許多畜牧業發達國家中唯一飼養的商用肉雞；依據行政院農委會資料顯示，在民國 97 年我國國內白色肉雞養殖數量達 2 億 5 千 4 百多萬隻，而產值則達 230 億 2 百多萬元（行政院農委會，2008）。

世界上主要肉雞來源為白肉雞，於 1950 年代在美國育種場發展出來；主要利用白可尼西（White Cornish）公雞雜交白蘆花（White Plymouth Rock）母雞所生產之商用肉雞（Austic and Nesheim, 1990）。白色肉雞全身覆蓋白羽並且性情溫馴，活動力不旺盛但食慾極佳，故此，白天有 60% 以上的時間是處於休息狀態（Lee *et al.*, 1985）；一般而言，於台灣地區白色肉雞平均飼養至 5-6 週齡左右，因此雞隻上市體重可達 2.0 公斤左右（陳，2001）。故此，白肉雞具有生產成本低，生長期短的優勢，相對來說亦帶有肉質鬆軟與不適合一般中式烹調的缺點。而自民國 50 年左右開始自國外引進生長快速的白色肉用雞種後，便迅速取代原以鄉村土雞為肉用雞種的台灣肉雞事業（吳，1992；李，1992），於此，台灣肉雞事業發展至現今，市面上最常見的雞種即為白色肉雞。

貳、禽類脂質能量調節

一、禽類脂質合成與運輸

肝臟中脂質新生作用為禽類體內脂質主要的主要來源。以鴿子與雞為實驗動物（Goodridge and Ball, 1967；Brady *et al.*, 1976），利用 $^3\text{H}_2\text{O}$ 作為標記的方式追蹤脂質新生的情況，或是以 ^{14}C 作為標記在雞的實驗（Leveill *et al.*, 1975）中都發現肝臟為禽類合成脂質主要的器官。研究發現 5 週齡的雞隻 65~70% 的脂質新生是位於肝臟中進行，而 30-35% 在身體其他部分合成（Saadoun and Leclercq, 1983）。進一步研究 2、5、15 週齡的雞肝臟中脂質新生不隨著年齡增加而改變，然而肝臟以外的其他組織間的脂質新生在此段期間卻隨著年齡而增加（Saadoun and Leclercq, 1983）。此外亦有研究發現 6 至 7 週齡的雞隻，肝臟輸出的脂質中有 60~70% 輸送到脂肪組織，這些由肝臟運送至脂肪組織的脂質，佔組織內所堆積脂質的 80~85%（Griffin *et al.*, 1992）。因為脂質並不溶於水，所以脂質在動物體內主要以脂蛋白的形式在組織間傳遞。脂蛋白由腸道合成以運輸消化吸收的脂質，或由肝臟合成用來運送脂質到組織。

脂質主要以及低密度脂蛋白（very low density lipoprotein, VLDL）的形式輸送，VLDL 中的脂質主要來自食物和肝臟中由 SCD 合成的油酸。小鼠的實驗中，對 SCD null mutant 小鼠（SCD -/-）餵飼富含脂質的飼料，其肝臟仍然無法合成三

酸甘油酯；即使SREBP-1、FAS和G3P (glyceraldehyde 3- phosphate) 等和脂質合成相關基因表現都有增加。若在飼料中添加油酸 (oleate) 的話，發現油酸只會囤積於肝中並沒辦法轉為VLDL形態轉運至脂肪組織儲存 (Miyazaki *et al.*, 2001)。將雞的肝細胞 (LeghornstrainMhepatoma, LMH) 分別轉染入帶有SCD1 DNA及反義的SCD1 DNA之表現載體。結果和對照組比較後，顯示轉染入帶有SCD1的細胞三酸甘油酯和磷脂堆較高，而含反義的SCD1 DNA的細胞則堆積較少 (Latasa *et al.*, 2000)。顯示SCD1基因可將脂肪酸轉為不飽和脂肪酸，而不飽和脂肪酸為三酸甘油酯和磷脂合成的前驅物質，所以SCD1對三酸甘油酯的堆積有著直接且重要的關聯。

在哺乳動物小腸的黏膜細胞通常合成150 nm至300 nm 的乳糜微粒 (chylomicrons) 進入淋巴系統，之後由頸部進入循環系統中。然而禽類的小腸淋巴系統並不發達，所以禽類小腸吸收的脂質形成約150 nm的門靜脈微粒 (portomicrons) 直接進入肝門靜脈循環系統中 (Noyan, 1964; Benson and Rothfield, 1972)。禽類的門靜脈微粒和VLDL上皆有個輔基蛋白 (apoprotein) 與哺乳類VLDL 上的apo-B-100十分相似 (Hermier *et al.*, 1984)。門靜脈微粒不會出現在斷食狀態的蛋雞體內，但餵食蛋雞富含脂質的飼料時會發現門靜脈微粒存在血漿中 (Griffin *et al.*, 1982)。雞肝臟為體內VLDL的主要來源，而血漿中大部分的三酸甘油酯以VLDL的形式存在 (Blue *et al.*, 1980)。富含三酸甘油酯的脂蛋白主要受到脂蛋白脂解酶 (lipoprotein lipase, LPL)、卵磷脂膽固醇醯基轉移酶 (lecithin cholesterol acyltransferase, LCAT)、肝脂肪酶 (hepatic lipase, HL) 三種酶水解，其中又以LPL最為重要，LPL可將三酸甘油酯水解為脂肪酸和甘油。雞的脂肪組織、肌肉、心臟、濾泡都有LPL存在 (Benson *et al.*, 1975; 1979)。三酸甘油酯從VLDL或門靜脈微粒水解後其脂蛋白縮小，所剩的膽固醇和磷脂則轉入高密度脂蛋白質 (high density lipoprotein, HDL) 中 (Behr *et al.*, 1981)。這些來自腸道之乳糜微粒及來自肝臟或腸道的VLDL，均為富含三酸甘油酯的脂蛋白質，其在循環系統運輸時，經脂蛋白質解脂作用水解所富含之三酸甘油酯，而分別形成乳糜球殘基 (chylomicron remnants) 及中間密度脂蛋白質 (intermediate density lipoprotein, IDL)，因此在哺乳類和禽類體內都含有肝脂肪酶，肝脂肪酶可吸收脂蛋白中殘餘的脂質回到肝臟。於哺乳動物中，乳糜球殘基，可經由肝臟表面之乳糜球殘基接受體 (chylomicron remnants receptor) 或LDL-接受體 (蛋白元B/E接受體) 進入肝中分解代謝，至於IDL則透過低密度脂蛋白質接受體 (LDL receptor) 進入肝臟分解代謝；或者IDL再經脂蛋白質分解作用，將其三酸甘油酯分解成甘油及脂肪酸，此時IDL轉變為低密度脂蛋白質 (low density lipoprotein, LDL) (Norum, 1992)。然而禽類這部分的機制尚未十分明朗，因為禽類的肝脂肪酶活性遠比哺乳類低 (Benson *et al.*, 1975)。

肝臟為禽類脂質新生的主要器官，肝臟具有合成多種脂肪酸的能力。其中不飽和脂肪酸對於細胞活性、營養代謝及細胞核中的調節扮演著重要的角色。高等動物不飽和脂肪酸的來源，主要依靠食物中的不飽和脂肪酸與生物體內飽和脂肪

酸經過去氫作用合成的不飽和脂肪酸。不飽和脂肪酸合成的關鍵步驟在於第一個 cis-雙鍵，也就是 delta 9 的位置（第九個和第十個碳之間）的形成。此過程由帶鐵離子的硬脂醯輔酶 A 去飽和酶進行，過程中將分別把 palmitoyl-CoA 和 stearoyl-CoA 轉換成 palmitoleoyl-CoA 和 oleoyl-CoA (Shimakata *et al.*, 1972)。棕櫚油酸 (palmitoleic acid) 和油酸 (oleic acid) 對脂肪細胞而言是細胞中磷脂和三酸甘油酯堆積的主要成分 (Strittmatter *et al.*, 1974)，且硬脂酸 (stearic acid) 轉換成油酸的比例是影響細胞膜流動性的因素之一。此比率的改變對於許多疾病如老化、癌症、糖尿病、高血壓、心臟病及肥胖皆有著重要的影響 (Enoch *et al.*, 1976)。

二、禽類能量代謝

飼料中的碳水化合物經由腸道消化吸收後，分解為葡萄糖 (glucose) 之後轉為丙酮酸 (pyruvate) 再轉為乙醯輔酶A (acetyl-CoA)，其為合成脂肪酸必需的基質 (Tanaka *et al.*, 1983)。乙醯輔酶A由脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FAS) 的作用合成脂肪酸。脂肪酸中的 palmitoyl-CoA 和 stearoyl-CoA 再由硬脂醯輔酶A 去飽和酶 (stearoyl-CoA desaturase, SCD) 作用轉換成 palmitoleoyl-CoA 和 oleoyl-CoA。棕櫚烯酸和油酸對於脂肪細胞而言是細胞中磷脂和三酸甘油酯堆積的主要成分。FAS 與 SCD 又受 PPAR γ 與 sterol-regulatory element-binding protein 1 (SREBP1) 調控。經 FAS 與 SCD 作用合成的三酸甘油酯以極低密度脂蛋白質 (very low density lipoprotein, VLDL) 的形式輸出肝臟進入循環系統，為體組織脂質的來源。這些 VLDL 膜上的脂蛋白元 (apolipoprotein) 主要分為兩種，分別 apo-B 與只在母雞產蛋時期出現的 apo-VLDL-II (apolipoprotein-VLDL-II)。禽類腸道吸收的脂質以門靜脈微粒 (portomicron) 的形式進入肝門靜脈系統接著在運輸至肝臟進行代謝 (Bensadoun and Kompiang, 1979; Krogdahl, 1985; Sklan *et al.*, 1989)，這些脂質與肝臟中利用碳水化合物進行脂質新生所合成的脂質，分別以鑲嵌 apo-B 與鑲嵌 apo-VLDL-II 的 VLDL 形式釋入血漿中。鑲嵌 apo-B 的 VLDL 主要供組織利用與儲存，如肌肉組織與脂肪組織；鑲嵌 apo-VLDL-II 的 VLDL 則主要由卵巢吸收作為蛋黃部份使用 (Walzem *et al.*, 1999)。

參、脂肪組織種類與功能

一、脂肪組織種類

脂肪細胞可分泌相關細胞激素與作為儲存能量之場所，且脂肪細胞可佈為兩大類，褐色脂肪組織 (brown adipose tissue, BAT) 與白色脂肪組織 (white adipose tissue, WAT)。在於生物體內的分部與存量因生物個體與年齡的差異而有所不同。於小鼠體內，褐色脂肪組織於出生後逐漸減少，最後分佈僅限於頸窩部、肩胛骨、

腋窩與腎周圍 (Albright and Stern, 1998)；其組織富含血管且由許多油滴堆積較小 (直徑約 2~10 μm) 的脂肪細胞所構成 (Murphy and Vance, 1999)，細胞核呈圓形位於細胞中央，細胞內有密集的粒線體。褐色脂肪組織在幼體與冬眠動物體類扮演體溫調節之角色，主要因其粒線體表現特異的非偶聯蛋白-1 (uncoupling protein 1, UCP1)，UCP1 被認為是褐色脂肪組織的標的基因 (Klaus *et al.*, 1995) 透過 UCP1 可以調節熱生成與能量平衡 (Ricquier and Bouillaud, 2000)。

於成體動物中白色脂肪組織遠多於褐色脂肪組織 (Albright and Stern, 1998)，其主要分布範圍包含內臟區域、腹部、臀部與大腿，於體內呈現黃色或是白色；典型的白色脂肪組織之細胞內含少許的脂肪油滴 (直徑約 10~100 μm)，細胞核因受脂肪油滴堆積擠壓至細胞邊緣而呈現扁圓形 (Murphy and Vance, 1999)。生理上的功能則有保持體溫、緩衝保護、熱絕緣等，但其主要角色則是扮演一個儲存能量的場所；當動物體攝取過多的能量後則以三酸甘油酯 (triglyceride) 的形式儲存於脂肪細胞內，反之當能量缺乏時則進行解脂作用 (lipolysis)，將蓄積的三酸甘油酯轉換成可利用的脂肪酸與甘油 (Darlington *et al.*, 1998)。白色脂肪組織中將近 60% 至 85% 皆為脂質，其中三酸甘油酯則佔 90% 至 99%，其餘少量部分為游離脂肪酸、二甘油酯、單酸甘油、膽固醇、酯化膽固醇與磷脂質 (Albright and Stern, 1998)。

二、脂肪組織功能

至現今研究發現，脂肪組織不單純只具有儲存能量的功能，其亦在體內能量代謝、胰島素敏感性、免疫反應與血管疾病上扮演重要的調節角色 (Kim and Moustaid-Moussa, 2000；Morrison and Farmer, 2000)。因成熟脂肪細胞具有分泌許多激素之功能，而這些激素都具調節體內代謝的功能。

如 Adiponectin (亦稱 AdipoQ 或 Acrp30) 一個普遍存在於血液中的蛋白；由成熟脂肪細胞經胰島素刺激所分泌的特異性蛋白 (Scherer *et al.*, 1995)，研究顯示 adiponectin 在肥胖者血液中濃度低於瘦者 (Arita *et al.*, 1999)，此說明 adiponectin 可能與體內能量平衡的調節有關。抗胰島素激素 (resistin)，為脂肪細胞所分泌的激素之一，被認為與糖尿病和肥胖有關聯，提高在肥胖老鼠體內的 resistin 表現量會導致胰島素的敏感性降低 (Steppan *et al.*, 2001)；於體外試驗則顯示 resistin 會抑制與脂肪細胞分化相關基因的表現，因此 resistin 可能是以一種訊號回饋的方式去限制脂肪細胞的形成 (Kim *et al.*, 2001)。此外，脂肪細胞所分泌的瘦體素 (leptin) 亦為一常被提出的激素，其與食物攝取量、能量消耗以及整體能量平衡有關。在人類試驗與齧齒動物實驗中發現，動物體的脂肪團塊大小可反應於瘦體素的分泌量上 (Considine *et al.*, 1996；Frederich *et al.*, 1995；Maffei *et al.*, 1995)。研究發現，瘦體素亦為體內能量平衡的感應器，當動物體缺乏攝食導致體重下降時瘦體素的分泌量亦會下降 (Considine *et al.*, 1996)，體重增加時亦隨之增加分泌量 (Kolaczynski *et al.*, 1996)。經過額外添加瘦體素處理的實驗

動物攝食量會下降，隨之減少體重與脂肪團塊並且增加能量代謝 (Levin *et al.*, 1996; Pellemounter *et al.*, 1995)。其他亦有如 acylation stimulation protein(ASP)，被認為可以刺激葡萄糖的運輸與三酸甘油酯的合成以此達到調節能量儲存 (Cianflone and Maslowska, 1995; Maslowska *et al.*, 1997; Sniderman *et al.*, 1997)。成熟脂肪細胞不單只有分泌與能量代謝有關的激素，亦分泌其他與免疫調節和血管疾病有關的激素，如 IL-6、IL-8。

綜合以上所述，脂肪細胞並不只有儲存能量的功能，其亦分泌許多有關體內調節的激素。

三、脂質代謝

脂肪細胞中脂質的堆積可由脂質生成作 (lipogenesis) 與脂質分解作用 (lipolysis) 反應間的平衡所決定。

(一) 脂質生成

生物攝取過多的能量時會將其轉化成為脂肪形式以儲存於體內；一般而言，儲存的來源可以由各種食物中的碳水化合物、蛋白質與脂肪酸所獲取，以此為目的為脂質生成作用，包含三酸甘油酯合成與脂肪酸合成。

脂肪細胞可扮演合成脂肪酸的角色，主要合成路徑為粒線體 (mitochondrion) 內的丙酮酸 (pyruvate) 氧化成乙醯輔酶 A (Acetyl-CoA) 後與草醯乙酸 (oxaloacetate) 形成檸檬酸 (citrate)，而後再經由 ATP-檸檬酸分解酶 (ATP-citrate lyase) 分解成乙醯輔酶 A 與草醯乙酸。經由乙醯輔酶 A 羧化酶 (acetyl-CoA carboxylase) 可將乙醯輔酶 A 羧化為丙二醯輔酶 A (malonyl-CoA)，進而形成棕櫚酸。棕櫚酸可經由脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FAS) 的參與而增長，反覆延長與去飽和即可形成其他較長鏈或是不飽和脂肪酸 (Martin *et al.*, 1961)。脂肪細胞所儲存的脂質是以三酸甘油酯的形式存在，由一分子的甘油與三分子的脂肪酸所組成。動物體內因缺乏甘油激酶 (glycerol kinase, GyK) (Reshef *et al.*, 2003) 所以無法直接利用甘油合成三酸甘油酯。脂肪細胞中的甘油主要來源是利用糖類經糖酵解作用中所產的中間產物，二羥丙酮磷酸 (dihydroxyacetone phosphate, DHAP) 為前驅物，透過甘油-3-磷酸去氫酶 (glycerol-3-phosphate dehydrogenase, GPDH) 利用 NADH 將 DHAP 還原而得到甘油-3-磷酸 (glycerol-3-phosphate, G3P)。而後脂肪酸經由醯基-CoA 合成酶 (acyl-CoA synthase, ACS) 與 ATP 幫助下與 CoA 形成醯基-CoA。二分子之醯基-CoA 與甘油-3-磷酸作用形成 1, 2-二醯基甘油磷酸 (1, 2-diacylglycerol phosphate)，另外一分子的醯基-CoA 則於二醯基甘油基轉移酶 (diacylglycerol acyltransferase) 作用下再與 1, 2-二醯基甘油磷酸形成三酸甘油酯 (Steinberg *et al.*, 1961)。

(二) 脂質分解

脂肪細胞中脂質分解可透過激素敏感性解脂酶 (hormone sensitive lipase, HSL) 與單酸甘油酯解酶催化分解脂質；HSL 可分解三酸甘油酯與雙酸甘油酯，單酸甘油酯解酶則可分解單酸甘油酯 (Fredrikson *et al.*, 1986；Holm, 2003)。脂質分解酶階段作用下，將三酸甘油酯分解成為一分子的甘油與三分子的的脂肪酸 (Langin *et al.*, 1996)。水解產生之甘油在脂肪組中不易被利用，因此會擴散至血漿中再由含有高甘油激酶活性之組織所利用，如肝臟與腎臟等。甘油激酶可將甘油轉換成甘油-3-磷酸，而後經由甘油-3-磷酸去氫酶作用下生成二羥丙酮磷酸，隨後可進入糖代謝途徑氧化分解成 ATP 或是進入肝臟經糖質新生 (gluconeogenesis) 途徑轉變成葡萄糖 (Robinson and Newsholme, 1969)。

脂質分解作用亦會產生游離脂肪酸，一般可在脂肪組織中經醯基 CoA 合成酶再次轉換成醯基-CoA，再與甘油三磷酸進行酯化反應形成三酸甘油酯。當酯化速率小於分解速率時，游離脂肪酸會進入血漿中並與白蛋白 (albumin) 結合；這些與白蛋白結合的游離脂肪酸為脂肪氧化為脂質代謝的主要能量來源。而後經由血液運送至各組織，在組織細胞內與輔酶 A 活化為醯基輔酶 A (fatty acyl CoA)，然後再與肉鹼 (carnitine) 結合進入細胞粒線體內進行脂肪酸 β -氧化作用 (Robinson and Newsholme, 1969)。

肆、脂肪酸種類與功能

一、脂肪酸種類

脂肪酸的結構主要為一線形碳鏈，碳鏈兩端分別具有一個甲基端 (methyl end) 與羧基端 (carboxyl end，中間則由碳與氫所構成。脂肪酸依碳鏈是否分支可分為直鏈 (straight-chain) 及支鏈 (branched chain) 脂肪酸。直鏈脂肪酸普遍存在於自然界中，而支鏈脂肪酸只存在於微生物；脂肪酸依碳數的多寡可分為短鏈脂肪酸 (碳數為2-6)、中鏈三酸甘油酯 (碳數8-12) 及長鏈脂肪酸 (碳數大於12)；而依雙鍵之有無，可分為飽和脂肪酸 (saturated fatty acid) 及不飽和脂肪酸 (unsaturated fatty acid)，而不飽和脂肪酸又可分為具一個雙鍵之單不飽和脂肪酸 (monounsaturated fatty acid) 及含一個以上雙鍵之多不飽和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid)。飽和脂肪酸因不含有任何雙鍵，結構呈現較為筆直，因此形成脂肪時結構亦較為緊密；不飽和脂肪酸因含有雙鍵，故其碳鏈上會擁有不同的官能基 (functional group) 並且會影響整個脂肪酸的特性與功能，不飽和脂肪酸依據從甲基端為起始位置算起的第一個雙鍵所在而分類，可分為 ω 3、 ω 5、 ω 6、 ω 7與 ω 9這五大類別，其中以 ω 3與 ω 6在生物體內扮演較為重要的調節生理功能。並且在各種不同生物體內，脂肪酸種類含量亦有所不同，於動物性脂肪中，含有較高量之飽和脂肪酸，於植物性脂肪中則含有較高量之不飽和脂肪酸。

二、中鏈三酸甘油酯 (medium chain fatty acid)

中鏈三酸甘油酯 (medium chain fatty acid, MCT) 的營養價值與代謝特性已被研究超過50年，並且在近來的研究中發現MCT與生理代謝息息相關。MCT主要是由8-12個碳所組成，其中又以辛酸 (octanoic acid, 亦稱caprylic acid) 最具代表性，其發現於天然椰子油與母乳中，由8個碳所組成並且不含有任何雙鍵，屬於飽和脂肪酸。

(一) 中鏈三酸甘油酯功能

在早期MCT就利用來治療吸收不良症候群的病患，因其具有容易被小腸吸收的特性，可用以取代一般飲食中的LCFAs而提供患者所需的脂肪酸 (Schizas *et al.*, 1967)；近來也被證實在飲食中額外添加MCT對於脂肪酸代謝異常的病患是具有益處的 (Rouis *et al.*, 1997；Eckel *et al.*, 1992)。動物試驗中亦發現分別飼予LCFAs或是MCT的飼糧，餵飼含有MCT處理組的增重情形較LCFAs處理組別低 (Lasekan *et al.*, 1992；Mabayoy *et al.*, 1994；Rothwell and Stock, 1987)，其MCT處理組的增重只有LCFAs處理組的1/3 (Lasekan *et al.*, 1992)，證實飲食中MCT取代LCFAs可以降低體重。此外，亦發現餵飼MCT的試驗動物體內脂肪團塊變小，且三酸甘油酯與磷脂質的成分含有大量的MCT，脂肪組織中的脂蛋白脂解酶素 (lipoprotein lipase, LPL) 活性降低以及改善胰島素活性與增進葡萄糖耐受性，其顯示MCT可以調節脂質生成並抑制試驗動物肥胖 (Han *et al.*, 2003)；於肉雞試驗中亦發現，MCT可經由抑制雞隻肝細胞分泌VLDL，進而降低脂肪團塊的大小 (Tachibana *et al.*, 2002)。在體外試驗，額外添加中鏈三酸甘油酯中的辛酸於3T3-L1細胞培養激發現其會抑制peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ) 與CCAAT element binding protein (C/EBP α) 等分化相關基因 (Han *et al.*, 2002；Guo *et al.*, 2006)，促進3T3-L1的 β -氧化 (Guo *et al.*, 2006) 以及基礎脂質分解作用 (Lei *et al.*, 2004)，而降低3T3-L1的三酸甘油酯生成。MCT中的另一個有代表性的脂肪酸，癩酸 (decanoate)，亦發現額外添加於3T3-L1培養基中可降低其PPAR γ 與C/EBP α 表現而降低脂質生成 (Han *et al.*, 2003)。

研究亦顯示，源自於不同物種取出的脂肪前身細胞 (stromal vascular cells) 所需要的培養模式與營養成分皆有所差異，並且細胞表形亦有相異 (Boone *et al.*, 1999)。於前脂肪初代細胞培養細胞生長密集 (confluence) 後其生長表現仍無停滯現象，此與一般3T3-L1細胞株生長密集後會產生停滯現象有很大的差異 (Nakajima *et al.*, 2002；Sato *et al.*, 1996)。此外發現，由豬隻皮下脂肪取出的初代細胞進行培養亦有生長密集後仍持續分裂的情形，但在添加辛酸後產生抑制細胞有絲分裂與促進前脂肪細胞的生長停滯 (growth arrest) 使細胞停止分裂並同時進行脂質生成。由此可得知，中鏈三酸甘油酯對於脂肪細胞的分裂、分化與脂質堆積調節等，會因物種、脂肪組織來源與培養模式的不同而有所相異的影響。

(二) 中鏈三酸甘油酯代謝

中鏈三酸甘油酯具有分子量小與高溶水性等性質，使其消化、吸收與運送皆不同於長鏈脂肪酸（long-chain fatty acid, LCFAs）。MCT具有較短小的碳鏈並且能增進胰蛋白酶活性的作用，因此增進MCT的水解效率，（圖1）為哺乳動物LCFAs與MCFAs運送途徑示意圖，在小腸中MCT具有較快速完整的水解與迅速被小腸吸收的特性（Bach and Babayan, 1982；Caspary 1992），吸收後MCT不需要透過acyl-CoA synthase成為三酸甘油酯再與乳糜微粒結合等步驟，可較快速離開小腸直接進入血管（Bach and Babayan, 1982）。於運輸系統上，MCT是經由肝門靜脈循環（portal circulation）直接到達肝臟（Papamandjaris *et al.*, 1998）；而LCFAs則是形成乳糜微粒進入淋巴系統再至左鎖骨下靜脈透過外圍組織（peripheral tissue）到達肝臟，兩者在運輸過程上有明顯差異。

肌肉細胞的粒線體 β -氧化（ β -oxidation）為脂質最主要的分解作用場合（圖2）。LCFAs因其分子量大無法直接通過粒線體的膜，因此必須經由與肉鹼（carnitine）的結合方可進入粒線體內，而後需再與肉鹼分離才可以進行 β -氧化反應；而MCT其分子量小，可直接穿透粒線體的膜進行 β -氧化反應（Friedman *et al.*, 1990），故MCT更容易為動物體消化吸收。此外，於體外試驗中（圖3與圖4），含有MCT的三酸甘油酯比含有LCFAs的較易於被HSL水解（Deckelbaum *et al.*, 1990；Raclot *et al.*, 2001），此也意味含有MCT的三酸甘油酯在能量平衡的調控上具有較容易被代謝的特性。

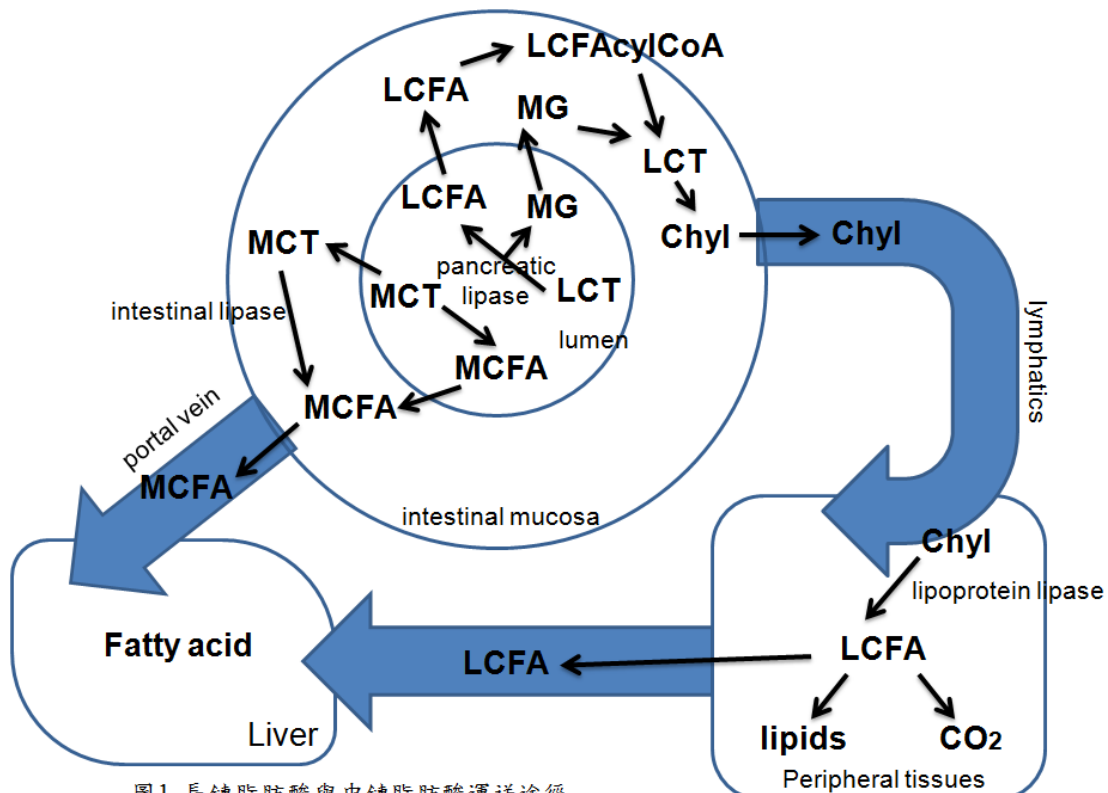


圖1 長鏈脂肪酸與中鏈脂肪酸運送途徑
Figure 1 Long chain fatty acid and medium chain fatty acid transport pathway.

(Bach and Babayan, 1982)

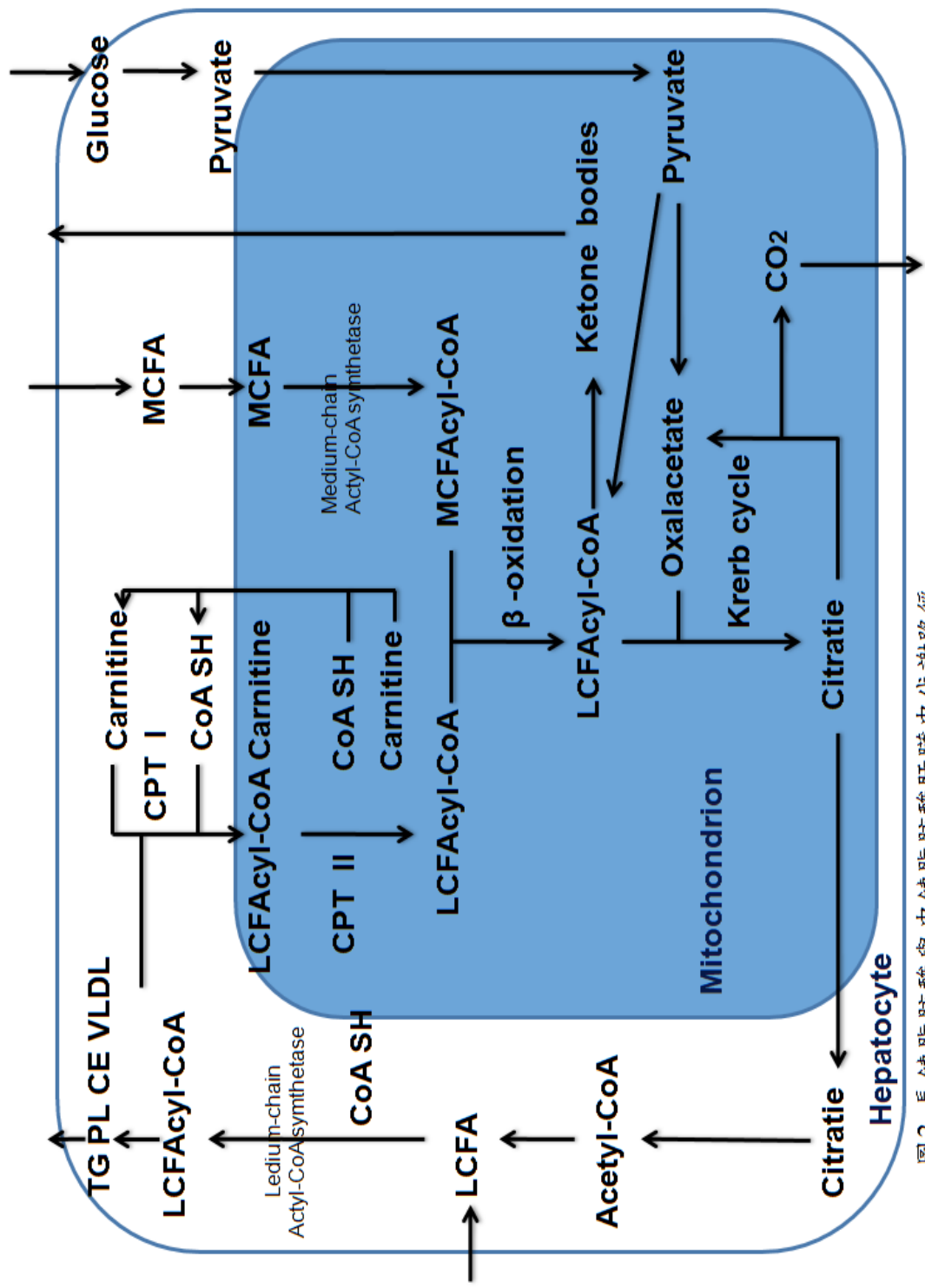


圖2 長鏈脂肪酸與中鏈脂肪酸肝臟中代謝路徑

Figure 2 Long-chain fatty acid and medium-chain fatty acid metabolism pathway in liver.

(Bach and Babayan, 1982)

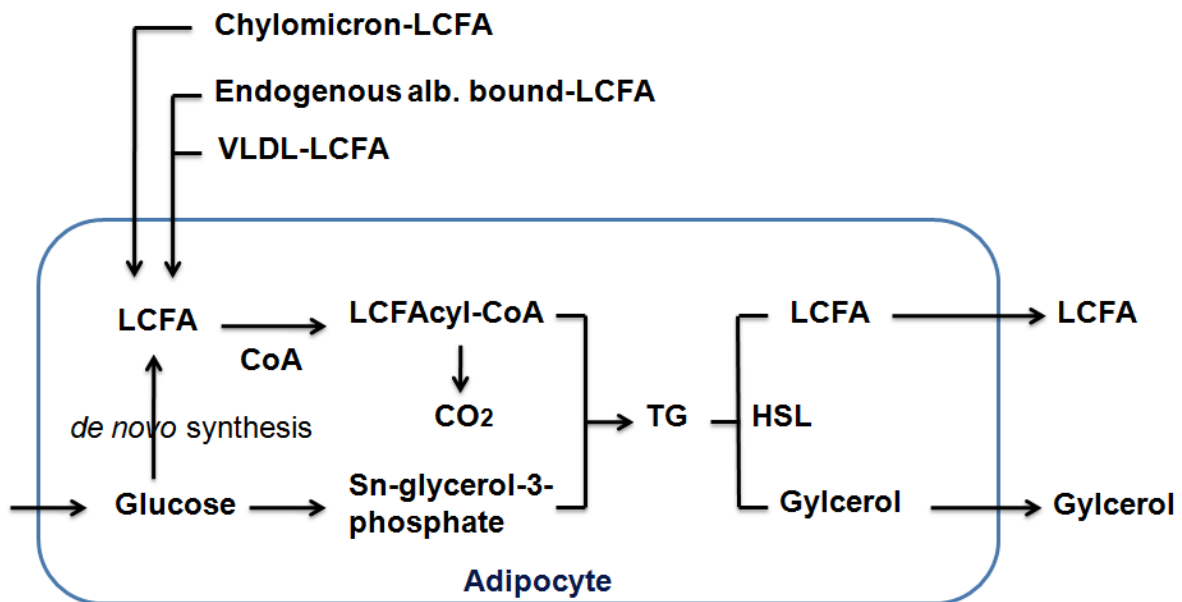


圖3 長鏈脂肪酸在脂肪細胞中代謝途徑
Figure 3 Long-chain fatty acid metabolism pathway in adipocyte.

(Bach *et al.*, 1996)

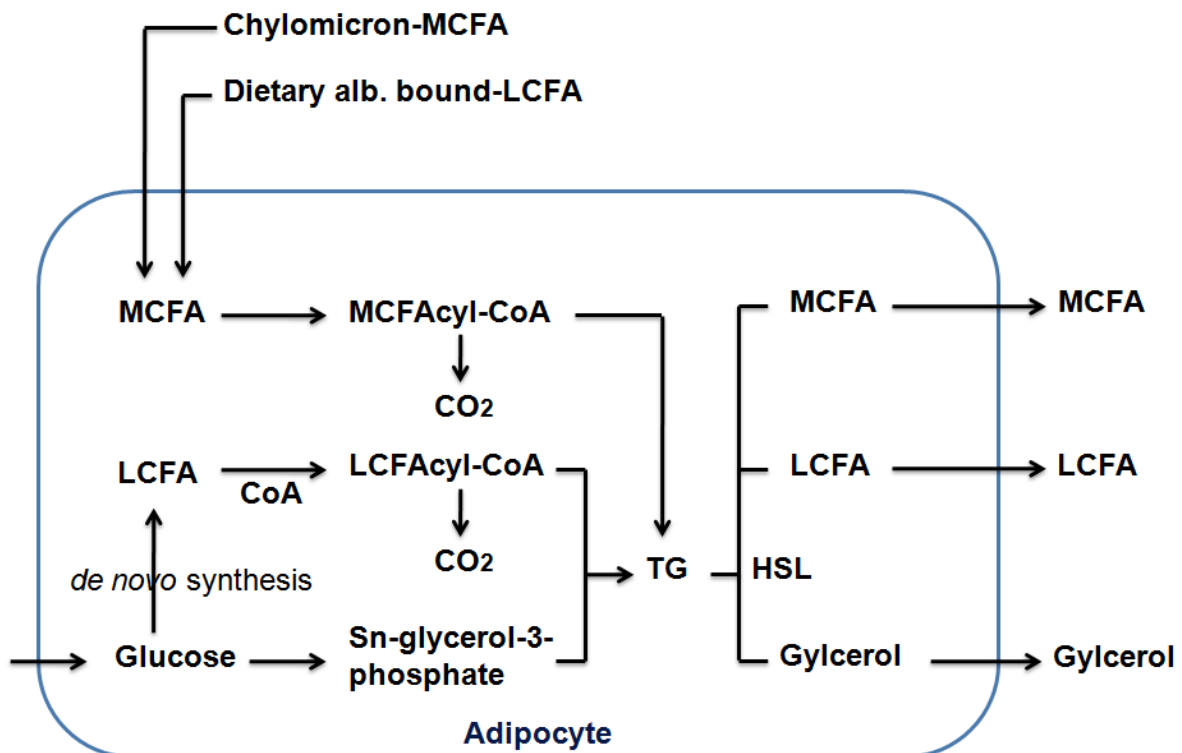


圖4 中鏈脂肪酸在脂肪細胞中代謝途徑
Figure 4 Medium-chain fatty acid metabolism pathway in adipocyte.

(Bach *et al.*, 1996)

伍、血清成份與功能

一、血液成份

血液約佔人體總體重的百分之八；血液是在循環系統中，心臟和血管腔內循環流動的一種組織。血液組織是結締組織的一種，由血漿(plasma)和血球組成。血漿內含血漿蛋白(白蛋白、球蛋白、纖維蛋白原)、脂蛋白等各種營養成份以及無機鹽、氧、激素、酶、抗體和細胞代謝產物等。血細胞有紅血球、白血球和血小板；哺乳類的血液具有凝血機制，血小板破裂時，會將血漿中原本可水溶的血纖維蛋白和血球等凝固成為血餅，剩餘的透明液體就叫做血清(serum)。

二、血漿成份

血漿是血液的液體成份，血細胞懸濁於其中。人體含有2750-3300毫升血漿，約佔血液總體積的55%。血漿的絕大部分是水(體積的90%)，其中溶解的物質主要是血漿蛋白，還包括葡萄糖、無機鹽離子、激素以及二氧化碳，而血漿的主要功能是運載血細胞，同時也是運輸分泌產物的主要媒介。血漿中純水的含量超過90%，其他成份和濃度詳見表1。

表1 血漿內(除去水份)物質資料表
Table 1 composition of plasma (with out water)

化學物質 chemical composition		電解質 electrolyte			
名稱 appellation	濃度 concentration	名稱 appellation	濃度 concentration	離子 ion	濃度 concentration
血漿蛋白 xuejiangdanbai	60-80 g/l	尿肌酸酐 creatinine	70-140 $\mu\text{mol/l}$	鈉離子 Na^+	136-146 mmol/l
葡萄糖 glucose	4.5-5.5 mmol/l	肌酸 creatinine	25-70 $\mu\text{mol/l}$	鉀離子 K^+	3.8-5.2 mmol/l
非蛋白氮 nonprotein nitrogen	15-30 mmol/l	脂類 lipid	4.5-8.5 g/l	鈣離子 Ca^{2+}	2.3-2.7 mmol/l
尿素 urea	3.5-7.0 mmol/l	三酸甘油酯 triacylglycerols	0.6-2.4 mmol/l	鎂離子 Mg^{2+}	0.8-1.2 mmol/l
尿酸 uric acid	150-400 $\mu\text{mol/l}$	膽固醇 cholesterol	4.0-6.5 mmol/l	氯離子 Cl^-	96-106 mmol/l
胺基酸 amino acid	3-5 mmol/l	游離膽固醇 free cholesterol	0.25-0.35 mmol/l	碳酸氫鹽 HCO_3^-	24-28 mmol/l
磷脂 phospholipid	2.0-3.0 mmol/l	膽固醇酯 cholesteryl ester	0.65-0.75 mmol/l	磷酸鹽 PO_4^{3-}	1.0-1.4 mmol/l
有機酸 organic acid	4-6 mmol/l	游離脂肪酸 free fatty acid	0.3-0.9 mmol/l		
乳酸 lactic acid	1-2 mmol/l	丙酮酸 Pyruvic acid	0.1-0.2 mmol/l		
檸檬酸 citric acid	0.1-0.2 mmol/l	酮體 acetone body	0.3-0.5 mmol/l		

三、血清成份

當血液凝固時，會造成血漿中許多蛋白質的凝集，其在此過程中被網羅包圍形成凍膠狀和團塊，使血細胞沉降，上層淡黃色清液即是血漿，再經過離心後可析出透明的液體此即為血清 (serum)。而血清與血漿最大的區別在於血清中不含纖維蛋白原等凝血因子。

血清內含許多生化成份，如葡萄糖、白蛋白、膽固醇與尿素氮等，以及眾多的離子，如鈣、磷、鈉與鎂等，除此之外亦含有維生素與許多激素等 (Freshney, 2005)。血清中的化學成份與動物體營養攝食有相當大的關係，因此在動物飼養方面可以利用測定血清生化成份，而得知所飼養之動物體的營養攝取與健康狀態 (Hwang *et al.*, 2000)。

四、血清功能

血清為一種營養成分極高的物質，細胞在含有血清的培養液可以正常生長，因此，血清成為一般細胞培養試驗中必須添加之成份；並且可模擬動物體內環境，提供近似真實情形的試驗條件。例如，以 2.5% 濃度血清與 10% 濃度血清培養液培養小鼠脂肪細胞比較時，在 10% 血清濃度處理下可使細胞有較佳的分化能力表現 (Freshney, 2005)。此外，以 2% 血清濃度與 10% 血清濃度培養液培養兔子關節軟骨細胞時，於 2% 血清濃度培養液處理之細胞數目與 DNA 合成表現均低於 10% 血清濃度處理組。亦有試驗指出，在 2% 濃度血清濃度培養液中添加表皮生長因子，則促使細胞的生長趨勢雷同於 10% 血清濃度培養液培養之細胞，間接證實血清中含有生長因子可以促進細胞的生長 (Viven *et al.*, 1991)。進一步於人類黑色腫瘤細胞為試驗材料中發現，進行細胞培養時，若腫瘤細胞處於血清缺乏的培養環境則會大量死亡。

一般細胞培養試驗中，胎牛血清被廣泛應用於動物細胞培養，其因內含有大量的生長促進因子 (Child *et al.*, 1982) 與玻聯蛋白 (vitronectin)。玻聯蛋白除了可以促進細胞附著於培養皿底部 (Hayman *et al.*, 1985)，亦可促進雞胚運動神經元的分化 (Martinez-Morales *et al.*, 1997)。此外，胎牛血清中的運鐵蛋白可與鐵離子結合，降低鐵離子的毒性並且增加生物可利用性 (Guilbert and Iscove, 1976)。

研究雞隻血清發現，肥胖雞隻體內含有較多的脂肪組織造成其血清中的脂肪酸和三酸甘油酯含量亦高於瘦的雞隻 (Saadoun and Leclercq 1987)。並且肥胖雞隻血清中所含的胰島素、葡萄糖與脂肪酸結合蛋白亦高於瘦的雞隻 (Simon and Leclercq, 1983; Dupont *et al.*, 1999)。

因此可得知血清在細胞培養的重要性，其提供營養成份、維生素與微量元素並供給激素促進細胞的生長，至使細胞可以於體外環境正常生長表現特徵。

陸、脂肪細胞研究模式

一、研究模式

近年來脂肪細胞的研究日趨熱絡，因脂肪細胞所分泌脂激素與調節能量平衡、胰島素敏感性、免疫反應、心血管疾病與老化等有關，所以越來越多的研究著重於脂肪組織與體內代謝的相關性上（Kim and Moustaid-Moussa, 2000；Morrison and Farmer, 2000）。一般而言，研究脂肪細胞的模式，可分為體外試驗（*in vitro*）與體內試驗（*in vivo*）。

（一）體外模式（*in vitro*）

體外模式主要是將生物體內之細胞取出進行體外培養，模擬生物體內的生理環境（無菌環境、溫度、酸鹼度等），並且提供細胞生長所需之營養成分（胺基酸、維生素、微量元素、能量等）。此模式的優點在於不受體內繁複的環境影響，可單純的研究細胞的增殖、分化、代謝與訊息傳遞等；且因由人為控制培養條件（化學、物理、生物等外界因子），便於觀察單因素與多因素對細胞影響之反應。然而，體外試驗並無法完全模擬體內細胞間的交互反應與生理條件，因此無法十分正確的表現出生物體的特徵，固細胞培養下的生理狀態與體內細胞無法完全雷同。

（二）體內模式（*in vivo*）

動物體為直接觀察實驗處理的對象。但生物體為一複雜的反應器，外在生存的環境因子（氣候、地理位置、採食的食物）與體內的各種激素的交互作用下，使得細胞表現無法單獨的反應試驗處理之效應於目標細胞上。這類研究模式主要是從生物整體的角度來作探討。

二、培養模式建立

細胞生物學的研究方法，細胞培養已被廣泛地應用於脂質生成與脂肪組織的研究上（Novakofski, 2004）。細胞培養分為細胞株（cell line）培養與初代細胞培養（primary cell culture）；細胞株為自動物體內取出經過多次的繼代培養、生物學鑑定、單株細胞培養分離與篩選後而得到形態統一、生長與增殖能力穩定並且生物性狀表現明顯的細胞群；許多常見的前脂肪細胞株已廣泛使用於脂質生成、脂肪細胞分化、肥胖等相關的代謝疾病研究上。初代細胞培養，則為直接從動物體內的組織或是器官取其細胞進行第一次的培養，此種培養模式與原生體類的細胞形態及功能表現的同質性較高，可以於體外培養環境中更為接近動物體內細胞。

(一) 細胞株 (cell line)

脂肪細胞株已有許多種類被挑選出來應用在脂肪相關試驗，例如：3T3-L1 (Green and Meuth, 1974)、3T3-F442A (Green and Kehinde, 1976)、BFC-1 (Irie *et al.*, 1999)、Ob17 (Negrel *et al.*, 1978)、PFC6 (Ailhaud, 1982)、ST13 (Hiragun *et al.*, 1980)、TA (Chapman *et al.*, 1984) 等。最早且最為被廣泛使用的細胞株為 3T3-L1 與 3T3-F442A (Novakofski, 2004)，該細胞株取自瑞士老鼠胚胎中的纖維母細胞 (Green and Kehinde, 1976；Green and Meuth, 1974)。Ob17 則取自成年的 *ob/ob* 肥胖小鼠附睪脂肪組織之脂肪細胞。ST13 則是取自哺乳動物腫瘤的脂肪細胞株而來 (Hiragun *et al.*, 1980)。TA 則是自老鼠胚胎取出纖維母細胞後經 DNA 甲基化抑制劑 (5-azacytidine) 處理而建立起具有脂肪細胞分化功能的細胞株 (Chapman *et al.*, 1984；Chapman *et al.*, 1985)。

細胞株非常適合作基礎研究，主要因培養環境容易調控、細胞種類單純、細胞狀態同期化、分裂不受限可以大量培養、操作簡單與儲存容易等；但因此優點造成細胞株相較於實際生物體內細胞形態與所處環境單純，而初代細胞培養則直接取自動物體作第一次培養，故初代細胞培養比細胞株更能反映體內脂肪組織的變化表現。

(二) 初代細胞培養模式 (primary cell culture)

初代細胞培養模式為直接採取動物體內的組織、器官或細胞進行第一次的培養。初代細胞培養的優勢在於直接自動物體取出的細胞與原體內組織形態和功能等較為相似，並且可由各物種各自不同時期的生長階段與部位獲取適合之細胞 (Bjorntorp *et al.*, 1982)。於過往初代細胞研究文獻發現，自各物種的不同生長階段與部位所獲取的細胞所表現的生化反應或分子層次表現皆有所差異 (Gregoire *et al.*, 1998；Masuzaki *et al.*, 1995)。初代細胞培養具有接近原始形態之優點，但亦有其缺點即為無法多次繼代培養，所以進行實驗時必須從動物體內取出，耗費的時間與成本較細胞株來得高。

三、脂肪細胞分化

脂肪細胞分化的意義是指前脂肪細胞經誘導成為脂肪細胞並且促使三酸甘油酯累積於胞內成為成熟脂肪細胞。

脂肪細胞培養通常需要外來刺激誘導細胞的分化。細胞的培養與分化過程，首先經過裂殖 (mitogenesis) 而增加細胞數目，最後到達一定密度下的細胞和細胞間互相接觸 (confluent)，也就是所謂細胞長滿的階段。此時細胞間的接觸產生接觸性生長抑制 (contact inhibition) 作用，抑制細胞繼續增殖，到達此階段的細胞培養可加入分化劑來誘導細胞分化；一般而言，常見的分化試劑為添加超出生理濃度的胰島素 (Insulin)、dexamethasone (DEX) 與 isobutyl-methylxantine (IBMX)。目前已知誘導細胞分化主要透過三種途徑，第一種為 cAMP-PKA 路

徑；第二種為固醇類激素 (glucocorticoid) 的核受體路徑；第三種為 insulin/IGF-1 (insulin-like growth factor-1) 受體的磷酸酪胺基酸激酶路徑 (phosphatidylinositol 3-kinase pathway)。胰島素主要透過 IGF-1 的受體刺激 Akt，而 Akt 與脂肪細胞分化有關，其為 PI3K 路徑的下游因子之一 (Kohn *et al.*, 1996)。DEX 為人工合成的皮質類固醇，皮質類固醇被證實可以促進 CCAAT/enhancer binding protein δ (C/EBP δ) 的表現，CCAAT 增強子結合蛋白- α 與- β (C/EBP- α 與 C/EBP- β)，會陸續地被誘發出來，兩者會再去啟動另一個轉錄因子，過氧小體因子活化的增生活化受體- γ (PPAR- γ) 的表現，而由 C/EBP- α 的持續活化維持 PPAR- γ 的表現。另外，脂肪分化決定因子-1/膽固醇調節元素結合蛋白-1 (ADD1/SREBP) 也會藉由生成內生性的 PPAR- γ 之配體 (PPAR- γ ligand)，來活化 PPAR- γ ，最後引發脂肪細胞特異性基因的表現 (Wu *et al.*, 1996)。IBMX 則是一種環化腺甘酸磷酸二酯酶 (cAMP-phosphodiesterase) 的抑制劑，已知其可促進 C/EBP δ 並且提高細胞內環化腺苷酸 (cAMP) 的含量而刺激細胞分化 (Parsons *et al.*, 1988)。

脂肪細胞的分化過程可為五個時期 (Gregoire *et al.*, 1998)：細胞增殖期 (cell proliferation)、生長停滯 (growth arrest)、細胞擴增 (mitotic clonal expansion)、永久性生長停滯期 (permanent growth arrest) 與脂質堆積期 (lipid accumulation)。

(一) 細胞增殖期 (cell proliferation)

此時細胞屬於前脂肪細胞的階段，經過至少一次以上的細胞分裂後，細胞數量增殖。

(二) 生長停滯 (growth arrest)

此階段前脂肪細胞增殖至佈滿容器的狀態，細胞與細胞間因接觸而產生接觸性生長抑制作用，此時細胞週期會停滯在 G0/G1 階段，細胞停止複製和分裂。而準備進入所謂分化的階段，部分基因的轉錄作用開始進行。

(三) 細胞擴增 (mitotic clonal expansion)

前脂肪細胞增生至生長停滯期後，在外加分化劑的誘導下，會刺激細胞再次進行一次至數次的 DNA 複製與細胞增生 (Bernlohr *et al.*, 1985)，此現象稱為細胞擴增 (Cornelius *et al.*, 1994)。然而，抑制人類初代前脂肪細胞之分裂並不影響脂肪細胞的分化 (Enternmann and Hauner, 1996)。可能因為初代前脂肪細胞在生物體內已經歷過決定性的細胞分裂步驟，因此取出之初代前脂肪細胞為表現分化後期之階段狀態 (Gregoire *et al.*, 1998)。

(四) 永久性生長停滯期 (permanent growth arrest)

經過細胞擴張期再度生長的脂肪細胞，細胞核複製與細胞分裂完全停止，此時數種轉錄因子共同參與細胞分化的調控 (Fajas *et al.*, 1998)，包括對細胞生長

的抑制以及脂質的生成。在此脂肪細胞分化早期，已知有兩種轉錄因子家族被誘發表現 C/EBP δ 與 PPARs (Gregoire *et al.*, 1998)。C/EBP β 與 C/EBP δ 會在分化初始有短暫性的增加 (Brun *et al.*, 1996; Mandrup and Lane, 1997; Wu *et al.*, 1996) 隨後在細胞分化早期至中期階段下降，且同時誘發 PPAR γ 與 C/EBP α 表現 (Clarke *et al.*, 1997; Wu *et al.*, 1995)。而後脂肪細胞早期的主要分化基因，PPAR γ 表現量增加，於分化的第二天即可明顯偵測得期表現量 (Brun *et al.*, 1996)，之後 PPAR γ 與 C/EBP α 開始調控下游與分化及代謝相關之基因表現 (Cornelius *et al.*, 1994)，促使細胞堆積脂質與表現脂肪細胞之特徵。

(五) 脂質堆積期 (lipid accumulation)

脂肪細胞分化末期，細胞內骨架與細胞外間質改變至使細胞形態由原本類似纖維母細胞轉變為圓形，此時細胞對胰島素的敏感性增加，許多脂質生合成相關酵素的 mRNA、蛋白質以及酵素活性都明顯增加，且開始累積細胞內的三酸甘油酯 (Prins and O'Rahilly, 1997)。相關的酵素有 乙醯輔酶 A 羧化酶 (acetyl-CoA carboxylase)、檸檬酸鹽 ATP 裂解酶 (ATP citrate lyase)、甘油-3-磷酸醯基轉化酶 (glycerol-3-phosphate acyltransferase)、甘油-3-磷酸去氫酶 (glycerol-3-phosphate dehydrogenase) 以及脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FAS) 等，其表現量增加 10 到 100 倍 (Paulauskis and Sul, 1988; Weiner *et al.*, 1991)，並且葡萄糖轉運蛋白 (glucose transporters, GLUTs) 與胰島素受體數目和胰島素敏感性亦增加 (Garcia de Herreros and Birnbaum, 1989a)。在脂肪細胞分化末期同時亦分泌出脂肪組織特異性的產物，包括脂肪細胞特異之脂肪酸結合蛋白 (adipocyte fatty acid binding protein, A-FABP) (Bernlohr *et al.*, 1984)、瘦體素 (leptin) (MacDougald *et al.*, 1995) 與脂肪滴蛋白 (perillipin) (Greenberg *et al.*, 1993) 等。

柒、脂肪細胞分化代謝相關基因

一、過氧小體增生活化受體 γ (Peroxisome Proliferators-Activated

Receptor, PPARs)

於 1990 年在小鼠肝臟中發現到一種能夠促進過氧小體增生的固醇類荷爾蒙接受器蛋白質家族中的一個蛋白質，而取名為 PPAR- α ，其他尚有 PPAR- β 和 PPAR- γ 等，共有三種不同的同功異構蛋白質 (Dreyer *et al.*, 1992)，而 PPAR- γ 又分 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 與 $\gamma 3$ ，其中 PPAR- $\gamma 2$ 主要表現於脂肪細胞中。

目前所知核內受體家族的成員多達 120 個不同的蛋白質，共同的特徵是能夠接收細胞外化合物的刺激，而影響細胞核內基因的表現。這些蛋白質的立體結構可畫分為三個區域，配體結合區域 (ligand binding domain)、轉錄活化區域 (transcriptional-activating domain) 和 DNA 結合區域 (DNA binding domain)。

受調控的基因與受體蛋白質上的 DNA 結合區域結合，再藉由配體與受體的結合，引發受體之立體結構改變，使原結合在受體上的抑制蛋白質 (inhibitory protein) 脫離，此時受體成為活化的形態，提供平台讓其他共同活化的蛋白質 (coactivator) 結合於轉錄活化區域，因而活化基因的表現。這些共同活化的蛋白質通常是一些複合體蛋白質 (multiprotein complexes)，包含了 SRC-1/NCoA-1、CBP p3000、pCAF、TRAP220 和 PGC-1 等 (Castillo *et al.*, 1999)。

此類受體的配體都是疏水性並且分子量小的化合物，可分為內源性和外源性。內源性的配體包括固醇類荷爾蒙和疏水性的維生素等，外源性的配體則如一些人工合成的藥物，而 PPAR 中最具脂肪特異性的 PPAR- γ ，其外源性配體如作為降血脂藥物中的貝特類 (fibrate) 與降血糖藥物中的 GW2331 及 TZD 等 (Berger *et al.*, 1996)。另外，由花生四烯酸 (Arachidonic acid) 代謝形成的內分泌素如，前列腺素 D₂ (PGD₂)、前列腺素 J₂ (PGJ₂) 和其衍生物 15-脫氧- $\Delta^{12,14}$ 前列腺素 J₂ (15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂)、脂肪酸及與脂肪酸結合的輔酶 A (acyl-CoA)，皆為 PPAR- γ 之配體 (Forman *et al.*, 1995)。就結合的強度來說，其中以多元不飽和脂肪酸 (PUFA) 對 PPAR- γ 的結合能力較高。PPAR- γ 中的 PPAR- γ 1 和 PPAR- γ 2 為兩種不同的同功異構物蛋白質，兩者皆由同一個基因所轉錄出來，但由於轉錄後的基因剪接 (alternative splicing) 不同，形成兩種不同的蛋白質序列，在小鼠中，PPAR- γ 2 在 N 端較 PPAR- γ 1 多出 30 胺基酸序列 (Zhu *et al.*, 1995)。

各個 PPAR 的同功異構蛋白質具有組織特異性，PPAR- α 主要表現於肝臟，是調控脂質代謝相關基因的轉錄作用，而 PPAR- γ 則主要表現在脂肪組織上。其中 PPAR- γ 1 於心、肝、肌肉、脂肪等不同組織中雖然皆有表現，但量不多；而 PPAR- γ 2 則專一表現在脂肪組織，且表現量甚多，調控著脂肪細胞分化。研究指出，在前脂肪細胞時期，PPAR- γ 2 表現量並不多，一旦分化後，則大量表現，此顯示出 PPAR- γ 2 與脂肪細胞代謝有極大的相關性 (Tontonoz *et al.*, 1994a)。脂肪細胞分化的過程中，PPAR- γ 可與其他脂肪代謝相關因子如 C/EBP family, ADD1/SREBP, insulin 及 growth factor 共同進行調控。前脂肪細胞開始分化時 C/EBP- β 、 δ 的表現再加上 PPAR 配體的作用，會使纖維母細胞分化成脂肪細胞。只要 PPAR- γ 有結合物使其活化，前脂肪細胞分化就會被啟動，C/EBP- α 也會被誘發出來，表現出脂肪細胞的形態。

二、CCAAT 促進子結合蛋白 (CCAAT/enhancer-binding protein,

C/EBPs)

C/EBPs 為一群具有 basic-leucine zipper 結構的轉錄因子家族，其中包括 C/EBP- α 、C/EBP- β 、C/EBP- δ 、C/EBP- γ 及 C/EBP- ϵ 等。起初是由病毒基因 CCAAT 及相似序列的結合蛋白中，發現第一個成員 C/EBP- α (Landschulz *et al.*, 1988)。此蛋白質家族共通性為 C 端具有相似的胺基酸序列，同時在 basic region/leucine

zipper 結構部份中含 55~65 個胺基酸序列，可形成雙體與 DNA 結合。N 端則是活化或抑制基因表現主要的區域，佔整個蛋白質的 50~70%。在脂肪組織及分化的細胞中，可發現 C/EBP- α 大量表現，並且在許多相關脂肪代謝酵素基因的啟動子 (promoter) 上都有 C/EBP- α 的結合位置，這些代謝酵素包括 aP2、葡萄糖轉運子-4 (GLUT4) 及硬脂酸輔酶 A 去飽和酶 (SCD-1) 等。在脂肪細胞分化的過程中，C/EBP- α 除了本身的作用外，同時也會與 PPAR- γ 共同維持細胞的分化 (Mcknight *et al.*, 1989)。此外 C/EBP- β 及 C/EBP- δ 在前脂肪細胞階段亦扮演重要角色，前脂肪細胞在增殖階段時，C/EBP- β 和 C/EBP- δ 會大量表現，當細胞長滿進入細胞接觸性抑制生長期之後，表現量會立刻下降 (Cao *et al.*, 1991)。C/EBP- β 及 C/EBP- δ 的大量表現除了控制細胞的生長之外，亦會加速脂肪細胞分化，不過 C/EBP- δ 尚需加入誘發劑來誘發分化 (Yeh *et al.*, 1995)。此外，經研究證實 C/EBP- β 的大量表現能夠使未分化的纖維母細胞株變成脂肪細胞 (Wu *et al.*, 1995)。細胞在缺乏 C/EBP- β 或 C/EBP- δ 兩者中之一的狀態下，脂肪細胞分化率會降低，若兩者都缺乏，則細胞無法分化 (Tanaka *et al.*, 1997)。分化劑中的 DEX 及 IBMX 能分別活化 C/EBP- β 及 C/EBP- δ 蛋白質的基因表現 (Yeh *et al.*, 1995)，同時將兩種試劑加入前脂肪細胞培養中會促使細胞中的 C/EBP- β 及 C/EBP- δ 大量存在，並且延續細胞的分裂擴增，接著才有 C/EBP- α 的表現，使細胞分裂週期停止，並開始進行終端細胞分化。

三、脂肪細胞脂肪酸結合蛋白 (Adipocyte fatty acid binding protein, α -FABP)

脂肪酸結合蛋白 (FABPs) 是大量存在於細胞質內的一個家族蛋白，能夠與疏水性配位體結合，例如飽和脂肪酸、長鏈不飽和脂肪酸、二十酸與其他脂質，為脂質訊息傳遞的首要位置 (Coe *et al.*, 1999)。FABPs 以最初發現之組織而命名的，共分為 9 種，分別為：脂肪細胞形 (A-FABP)、腦細胞形 (B-FABP)、表皮形 (E-FABP)、括心肌形 (H-FABP)、小腸形 (I-FABP)、腎臟形 (K-FABP)、肝臟形 (L-FABP)、牛皮癬相關形 (PA-FABP) 與骨骼肌形 (S-FABP) (Van Nieuwenhoven *et al.*, 1996)，事實上在同一細胞中可以分佈多種 FABPs，而其中在脂肪組織大量表現的 A-FABP 被認為脂肪細胞分化末期的標誌基因 (Boord *et al.*, 2002)。

FABPs 家族的主要作用為調節脂肪酸的攝入與細胞質內的運輸，FABPs 結合脂肪酸分子甲基並限制脂肪酸分子的移動，在與脂肪酸分子結合後會令脂肪酸結構改變並且固定於 FABPs 分子內，FABPs 開口結構在與脂肪酸結合的同時也與一個由 Asn11、Asp34 等所組成的離子通道相互偶聯，在於特定條件下可通過此離子通道的調節而釋出脂肪酸分子 (Sacchettini and Gordon, 1993)。

脂肪細胞分化期間，上游的轉錄因子 PPAR γ 與 Retinoid X Receptor (RXR)

共同組合成異質二聚體，其可與 A-FABP 結合並且改變 A-FABP 構型，促使 A-FABP 表現其功能 (Tontonoz *et al.*, 1994b); cAMP 則是藉由去除 A-FABP 上的負調節的抑制作用影響其活化反應 (Yang *et al.*, 1989)。A-FABP 的基因表現在脂肪細胞發育期間受 PPAR γ 促進劑與胰島素調控；此外，脂肪酸亦可誘發 A-FABP 之 mRNA 表現進而影響脂肪代謝 (Amri *et al.*, 1991; Distel *et al.*, 1992)。a-FABP 的 mRNA 表現除了可受脂肪酸調節外，亦可被脂肪細胞分化試劑 (Sun *et al.*, 2003)、oxLDL (Fu *et al.*, 1994) 與膽固醇藥劑作調控。除了與脂肪酸結合外，A-FABP 亦有促進細胞中脂肪酸釋出的功能 (Coe *et al.*, 1999)；其可與激素敏感性脂解酶 (Hormone sensitive lipase; HSL) 相互作用而增進 HSL 之水解活性 (Shen *et al.*, 2001)。綜合上述可得知，a-FABP 對於脂質代謝調控脂重要性 (Coe *et al.*, 1999)。

四、脂蛋白脂解酶 (Lipoprotein, LPL)

脂蛋白脂解酶 (LPL)，位於肝臟外組織的毛細血管內皮，主要功用在於催化水解存在於血液中的乳糜微粒與 VLDL 中的三酸甘油酯 (Goldberg, 1996)；經結合其它脂蛋白原作用，可提供游離脂肪酸給予體內組織利用。此外，脂蛋白脂解酶亦可作為脂蛋白接受者的配位基或是橋梁，藉此促進脂蛋白顆粒的吸收 (Skottova *et al.*, 1954)。但當缺乏或是 LPL 活性過低時都會導致高三酸甘油酯血症或高血脂症 (Bensadoun, 1991)。

在哺乳動物中，LPL 並非唯一調節脂質堆積的分子，因在 LPL 缺乏小鼠體內仍有三酸甘油酯合成脂質的現象發生 (Weinstock *et al.*, 1997)；雞隻的研究發現，長期注入抗脂肪組織 LPL 的抗體，會導致雞的腹部脂肪重量大幅下降，因此，證實 LPL 為主要調節雞隻脂肪堆積的激素 (Sato *et al.*, 1999)。

脂蛋白解脂酶為具有兩條 N-鍵結寡糖鍵之醣蛋白，分子量為 56 kDa。其修飾後具有功能之脂蛋白解脂酶由 448 個胺基酸組成，活化態為非共價鍵的同形雙體所組成 (Wong *et al.*, 1994)。主要存在於骨骼肌、心肌、乳腺、腎上腺、小腸與脂肪組織中，尤其以小腸與脂肪組織中其含量最多 (Braun and Severson, 1992)。

此外，動物體之年齡亦會影響 LPL 的表現，白肉雞腹部脂肪組織中 LPL 的活性在 6 週齡時會逐漸上升，於 8 週齡後逐漸下降；而在生長速率則在 1 至 4 週齡間大幅提升並維持至 10 週齡 (Griffin *et al.*, 1987)，此結果指出 LPL mRNA 的轉譯表現與脂肪組織的生長速率有相關性。因此 LPL 對三酸甘油酯的水解活性，會因動物體物種、能量狀態、營養成分與年齡而有所差異。

五、葡萄糖轉運蛋白質 (Glucose transporter, GLUT)

葡萄糖轉運蛋白 (GLUT) 為膜蛋白家族之一，其主要可分為兩大類，一類

為需要消耗能量將葡萄糖帶入細胞內的 Na⁺-dependent glucose transporter，其只存在些特定細胞上表現，如：小腸的上皮細胞與腎臟的近端小管；另一類為不需要消耗能量的 facilitative glucose transporter。目前已發現的 facilitative glucose transporter 有 13 種 (Joost and Thorens, 2001)，依發現先後順序命名，GLUT1 至 GLUT4 的作用為轉運葡萄糖，GLUT5 為 factors transporter，GLUT6 是為一種 pseudo gene，包含多個 translation termination 的訊息，GLUT7 主要存在肝臟內質網中屬於 glucose-6-phosphate complex 的一部分 (Wood and Trayhurn, 2003)。

GLUT1 普遍存在於會進行葡萄糖運輸的細胞 (Khan and Pessin, 2002 ; Scheepers *et al.*, 2004)，亦是脂肪細胞主要的運送蛋白之一，許多因子皆會相互調節 GLUT1 的表現。胰島素會刺激 GLUT1 移動到細胞表面，並且增加細胞膜對於葡萄糖的通透性，而胰島素對 GLUT1 的正調節是透過轉錄作用機制 (Garcia de Herreros and Birnbaum, 1989b ; Tordjman *et al.*, 1989)；此外，花生四烯酸 (Arachidonic acid, AA) 短時間處理 3T3-L1 脂肪細胞可增進 GLUT1 的活性，而長時間處理下會增加 GLUT1 的表現量 (Fong *et al.*, 1996)。除此之外，有研究發現當 3T3-L1 脂肪細胞在葡萄糖缺乏的環境，其細胞表面會增加 2 至 3 倍的 GLUT1 表現量。近年來發現一種類似葡萄糖運送蛋白 (glucose transporter-like protein) 的蛋白質 (Carayannopoulos *et al.*, 2000 ; Doege *et al.*, 2000 ; Ibberson *et al.*, 2000)，其為 GLUT8；廣泛存在於大腦、心臟、肝臟、脾臟、腎上腺、肌肉、褐色脂肪組織與白色脂肪組 (Carayannopoulos *et al.*, 2000 ; Doege *et al.*, 2000 ; Reagan *et al.*, 2001)。GLUT8 亦可促進胰島素所刺激之葡萄糖進入囊胚中 (Carayannopoulos *et al.*, 2000)。進一步的研究發現，GLUT8 會在 3T3-L1 前脂肪細胞分化時期顯著表現，且當 3T3-L1 脂肪細胞處於葡萄糖缺乏或是氧缺乏的環境下會抑制 GLUT8 的表現 (Scheepers *et al.*, 2001)，此顯示 GLUT8 廣泛存於組織中並對於葡萄糖平衡調節具有重大影響。

六、芳香烴基受體 (Aryl hydrocarbon receptor, AhR)

芳香烴基受體 (AhR) 目前已知存在於人類、老鼠與魚類等脊椎動物中，屬於 basic/helix-loop-helix (bHLH) 超級家族成員之一，其為受到配體活化的轉錄因子。當細胞暴露於惡劣環境下，AhR 會受到刺激發揮其作用，進而調節細胞週期使細胞停止分裂複製 (Lu *et al.*, 1996 ; Puga *et al.*, 2002)；除此之外，亦有研究發現 AhR 對於細胞分化具有負向調節。

在啮齒動物實驗中發現，利用多氯聯苯類戴奧辛 (polychlorinated dibenzodioxins, PCDDs) 家族之一 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 在低劑量給予時，會造成其葡萄糖利用率下降、血液中的三酸甘油酯與胰島素上升並促使體脂肪重下降 (Matsumura, 1995 ; Rozman *et al.*, 1991)。AhR 缺乏的小鼠，小鼠的肝細胞中無 AhR 表現 (Riebinger and Schrenk, 1998)，並且肝臟組織會被脂肪組織取代，形成脂肪變性病變 (Schmidt *et al.*, 1996)。另外，許多細胞

株試驗也證實，利用 TCDD 處理會抑制 3T3-L1 前脂肪細胞分化成為成熟脂肪細胞之過程 (Brodie *et al.*, 1996; Shimba *et al.*, 1998)。由此可知，AhR 對於脂肪細胞分化具有高度影響。

七、脂聯素 (Adiponectin, adipoQ)

脂聯素 (adiponectin)，亦稱為 AdipoQ、apM1、GBP28 或是 Acrp30 (Hu *et al.*, 1996; Maeda *et al.*, 1996; Nakano *et al.*, 1996; Scherer *et al.*, 1995)。於 1990 年被發現存在於血液中，是一種由脂肪組織分泌具有生理功能的蛋白激素，亦歸屬於脂肪細胞激素 (adipocytokine) 之一。

脂聯素會受到許多因子的調節，實驗顯示脂肪細胞分化期間會誘發脂聯素表現，而添加胰島素會刺激脂聯素的分泌 (Hu *et al.*, 1996; Scherer *et al.*, 1995; Takahashi *et al.*, 2000); IGF-1 會促進脂聯素基因的正調節; TNF- α 與皮質類固醇則降低脂聯素基因的轉錄作用 (Fasshauer *et al.*, 2002; Halleux *et al.*, 2001; Takashima *et al.*, 2001)。此外，研究亦發現 PPAR γ 為許多脂肪細胞特異基因的轉錄因子，因此，PPAR γ 對於誘發脂聯素亦是不可或缺的 (Iwaki *et al.*, 2003); 在大鼠脂肪組織中增加 PPAR γ 的表現會伴隨著脂聯素表現量的提升 (Karbowska and Kochan, 2005)。TZD 為 PPAR γ 的促進劑，可用來改善第二形糖尿病患者的胰島素敏感性與葡萄糖耐受性，亦可以促進脂聯素基因表現與分泌作用，使血液中脂聯素濃度提升 (Combs *et al.*, 2002; Maeda *et al.*, 2001; Yu *et al.*, 2002)。

許多動物實驗中發現，肥胖與胰島素抗性皆與 AdipoQ 表現量降低有關; 老鼠發展成肥胖或是糖尿病過程中觀察到脂聯素基因表現被抑制 (Nadler *et al.*, 2000); 因為脂質生成時會刺激脂聯素的活化表現，但在肥胖情形下亦會產生負回饋機制，促使其表現量降低 (Diez and Iglesias, 2003)。此外，在恆河猴試驗亦發現，胰島素抗性與糖尿病生成前期血液中所含之脂聯素量即開始降低 (Hotta *et al.*, 2001)，因此亦有推測，血液中脂聯素含量降低為動物體發生胰島素抗性與糖尿病的原因 (Diez and Iglesias, 2003)。在老鼠實驗研究中得知，缺乏脂聯素基因的大鼠在餵飼高能飼料後會造成胰島素抗性的發生 (Maeda *et al.*, 2002); 過度餵飼的大鼠給予額外的脂聯素或是促使脂聯素基因過度表現，可以透過抑制葡萄糖的生成與促進脂質氧化來防止大鼠體重的增加與心血管疾病的發生 (Maeda *et al.*, 2002; Yamauchi *et al.*, 2002)。此外，肥胖大鼠的血液中脂聯素含量較低，但受到能量攝取限制處理後，會促使血液中脂聯素與胰島素敏感性增加 (Zhu *et al.*, 2004); 而在肥胖小鼠中過度誘導脂聯素基因表現則會使游離脂肪酸與三酸甘油酯降低 (Yamauchi *et al.*, 2003); 但若於正常狀態之老鼠以飢餓處理後，脂肪組織的脂聯素表現量會降低 (Bertile and Raclot, 2004; Zhang *et al.*, 2002)。脂聯素在禽類動物中不單只存在於脂肪組織，於腦下垂體、肝臟、脾臟、腎臟、卵巢與骨骼肌等都有其表現，且脂肪組織內脂聯素表現量在反應飢餓後降低的情形最為明顯 (Maddineni *et al.*, 2005); 故飢餓會促使脂聯素表現量降低致使體內能量消

耗減少，此亦顯示脂聯素為體內調控能量平衡因子之一。

八、脂肪油滴表面蛋白 (Perilipin)

研究發現，脂肪細胞的油滴表面具有蛋白質包覆，而其中最先被發現的脂肪油滴特異性蛋白質則為脂肪油滴表面蛋白 (Perilipin)，佔整體細胞蛋白質含量的 0.25% 至 0.5% (Franke *et al.*, 1987)。

目前已知其具有四種異構形 (isoform)，皆源自於同一段基因選擇性切割 (alternative splicing) 後產生的；perilipin A 與 B 形皆存在於脂肪細胞與固醇類分泌細胞，其中以 perilipin A 在脂肪細胞中含量為最高，perilipin C 與 D 形則是僅存在於固醇類分泌細胞 (Serventnick *et al.*, 1995)。因 perilipin 被發現存在於油滴表面，所以被認為與細胞結構蛋白 (vimentin) 有類似的功能，具有調節能量平衡與影響脂肪油滴合成和分解的作用 (Greenberg *et al.*, 1991)。

Perilipin 調節能量平衡的方式主要藉由 perilipin 上具有多個磷酸化部位，並可利用 cAMP-dependent protein kinase A (PKA) 磷酸化 (Clifford *et al.*, 2000 ; Londos *et al.*, 1999) 調控，當體內需求能量時，荷爾蒙會刺激脂肪細胞中的三酸甘油酯水解酶作用並且活化 PKA (Collins and Surwit, 2001 ; Honnor *et al.*, 1985)，活化後的 PKA 亦隨之磷酸化 perilipin 與細胞質中的激素敏感性解脂酶 (hormone sensitive lipase ; HSL)，perilipin 便脫離脂肪油滴表面且 HSL 往脂肪油滴表面移動，最後則促使脂質分解作用增加 (Clifford *et al.*, 2000 ; Souza *et al.*, 1998 ; Sztalryd *et al.*, 2003)。反之，胰島素具有抗解脂作用，與 PKA 的功用相異，可使 perilipin 去磷酸化 (Egan *et al.*, 1990)。此外，在 perilipin 促進子上具有 PPAR γ response element (PPRE) 區位，因此 perilipin 亦可受 PPAR γ /RXR 二聚體所直接調節 (Dalen *et al.*, 2004 ; Nagai *et al.*, 2004)。

此外動物試驗中發現，限制相同能量攝取條件下，perilipin 基因剔除小鼠與正常小鼠相比時，其體形較瘦，脂肪團塊亦降低 30%，體內代謝速率上升但是葡萄糖耐受性以及胰島素抗性亦增加；改以餵飼高能量飼糧時，perilipin 基因剔除小鼠較不容易發展成肥胖體形，因其脂肪細胞的基礎脂質分解作用較正常小鼠高 (Tansey *et al.*, 2001)。因此可知，perilipin 對於脂肪細胞油滴堆積具有調節作用。

材料與方法

壹、材料

一、活體動物

愛拔益加(Arbor acres)雞雞，不分公母，分為 0-18 及 19-36 日齡兩期，分別餵飼含有以 0%、20%、50%與 80%中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8%大豆油部分之飼糧，飼糧與水皆給予任飼，不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧處理之白色肉雞分別飼養於平飼雞欄內。於飼養至 36 日齡後各組隨機選取四隻，於試驗日期之時間將白色肉雞犧牲進行相關分析。

二、飼料配方

飼料配方參照 NRC(1994)肉雞之飼養標準。每處理分別餵飼以下四種等熱量等蛋白質飼糧：(1)添加 100%大豆油；(2)添加 80%大豆油與 20%中鏈三酸甘油酯；(3)添加 50%大豆油與 50%中鏈三酸甘油酯；(4)添加 20%大豆油與 80%中鏈三酸甘油酯(表 2)(表 3)。本試驗所使用之中鏈三酸甘油酯由承德油脂股份有限公司製造(飼料配方由東海大學姜樹興老師實驗室提供)。

三、初代細胞

細胞培養模式建立之試驗採用 36 日齡之白色肉雞，以相同商業飼料、飲水與平飼環境等條件飼養。於試驗日期之時間將白色肉雞犧牲，採取腹部脂肪細胞處理收集初代前脂肪細胞進行試驗。

四、試驗藥劑

Collagenase Type 1(產品編號:LS004196)購自 Worthington, USA; Dulbecco's modified Eagle's medium / Ham's 12 medium (50 : 50) (DMEM / F12; 產品編號: 12500-062)、胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS; 產品編號: 10270-106) 購自 GIBCO, USA; 胰島素 (insulin; 產品編號: I-1882)、dexamethasone (DEX; 產品編號: D-4092)、isobutyl-methylxantine (IBMX; 產品編號: I-7018)、Oil-Red O 染劑 (產品編號: D-4092)、formaldehyde (產品編號: F-1268)、glycerol (產品編號: G-6279)、氯仿 (chloroform; 產品編號: C-2423)、異丙醇 (isopropanol; 產品編號: I-9516)購自 Sigma, USA; 蛋白質分析套組(Bio-rad protein assay reagent; 產品編號: 500-0006)、牛血清蛋白 (bovine serum albumin, BSA; 產品編號: 23209) 購自 Pierce, USA; RareRNA 萃取液 (產品編號: GPR02) 購自真興實業有限公

司, Taiwan; 無水酒精 (absolute ethanol; 產品編號: 32221)、苯 (Benzene; 產品編號: UN1114) 購自 Riedel-de Haën®, Germany; Taq (產品編號 R011A) 購自 TaKaRa, Japan; 三酸甘油酯試劑 (產品編號: 01T020) 購自東耀生物科技公司, Taiwan; QuantumRNA™ 18S Internal Standards 套組 (產品編號: R001A) 購自 Ambio, USA; 乙烯氯 (Acetyl chloride; 產品編號: L14013) 購自 Alfa Aesar®, USA; 碳酸鉀 (K₂CO₃; 產品編號: J021224006)、無水硫酸鈉 (Na₂SO₄; 產品編號: J050112039) 購自 OSAKA, Japan; 無水甲醇 (Methanol dried; 產品編號: 88917) 購自聯工化學廠股份有限公司, Taiwan; 活性碳購自 Taiwan。

貳、方法

一、血清製備

將已攝食含 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8% 大豆油部分之飼糧的各組別白色肉雞於犧牲前禁食一天後, 由頸部動脈放血並收集血液至 15 ml 離心管內, 置於 4 °C 隔夜。以 4 °C, 3000×g (roter 1615; UNIVERSAL 32R) 離心 10 分鐘, 取上層液至新的離心管; 樣品再次以 4 °C, 5000×g (roter 1615; UNIVERSAL 32R) 離心 10 分鐘, 取上層液至新的離心管。收集完畢後, 以 0.22 μm² 孔徑過濾至新的 15 ml 離心管並置於水浴槽中以 56 °C, 30 分鐘使補體失去活性, 而後將製備完成之血清於 -20 °C 保存。

二、前脂肪細胞製備

以 36 日齡之白色肉雞, 雞隻於犧牲前一天禁食, 以頸部動脈放血, 將腹部脂肪組織取出置於培養盤中剪碎成細屑塊。將含有 2 mg/ml collagenase 之 DMEM/F12 (Dulbecco's modified Eagle's medium/Ham' F12 medium (50:50), 與 100 mM N-2 hydroxyethylpiperazine-N9-2 ethanesulfonic acid (HEPES, 1.5% bovine serum albumin, pH 7.4), 與組織共同培養於 37 °C 震盪水浴槽 130 rpm 120 分鐘。加入 5 倍體積未含 collagenase 之 buffer, 過濾去除未消化組織, 50×g (roter 1617; UNIVERSAL 32R) 離心 3 分鐘, 分離前脂肪細胞和成熟脂肪細胞。取前脂肪細胞以 lysis buffer (0.154 M NH₄Cl, 10 mM KHCO₃, 0.1 mM EDTA) 培養於室溫 10 分鐘去除紅血球, 以含有 10% FBS 的 DMEM/F12 培養液培養細胞。

三、細胞培養

首先將前脂肪細胞培養於含有 10% 的 FBS DMEM/F12, 待細胞長滿貼平於培養盤, 各換成攝食含有 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代商業飼料

中所含 8% 大豆油部分之飼糧的白色肉雞血清並額外添加外源性分化試劑（胰島素、Dexamethasone、IBMX），將誘導細胞分化之日期定義為第 0 天，其後為正。細胞培養期每隔 2 天更換一次培養液，所更換培養液除血清外僅添加胰島素。培養箱環境設定為 37°C，5% 二氧化碳。

四、冷凍切片

將取下的腹部脂肪組織先以 4% paraformaldehyde（Sigma USA，P-6148）於 4°C 浸泡 3.5 小時，保存於含 15% 蔗糖的 1X PBS 內置於 4°C 冰箱過夜。隔日取出樣品，先以包埋劑（Tissue-Tek. O.C.T. compound embedding medium）包埋，置於 -20°C 中待其凝固。並將冷凍切片機（CM1850，Leica）設定為工作狀態，取其凝固的樣品以包埋劑固定於切片台上，切片厚度設定為 14 μm 。將樣品切片沾黏於預先包覆 poly-L-lysine（Sigma USA，P-8920）的玻片上，置於清水浸潤 20 秒 2 次洗去包埋劑。用封片膠將蓋玻片固定於載玻片上，以顯微鏡進行觀察細胞大小。

五、Oil-Red O 染色與定量

細胞培養在 3.5 cm^2 培養皿中，於第 6 天以 Oil-Red O 染劑（0.3% Oil-Red O, 60% isopropanol）將細胞內脂質作染色處理。染色前需先去除培養液，以 1X Phosphate-buffer saline（PBS；3 mM KH_2PO_4 , 9.4 mM K_2HPO_4 , 0.15 M NaCl）清洗，每盤再加入 0.5 ml 10% formaldehyde 於室溫下靜置 30 分鐘用以固定細胞，再以滅菌水清洗，加入 Oil-Red O 染劑後置於室溫下避光 1 小時，去除染劑再次用以滅菌水清洗退染。最後每盤加入 500 μl 的 10% glycerol 保存樣品於 4°C，並將其結果掃描存檔。將染色後的樣品以每盤加入 1 ml 的 isopropanol 萃取將其收集至 1.5 ml 的離心管，混合均勻後將樣品注入塑膠比色管，利用分光光度計於波長 510 nm 測定樣品吸光值，進行脂質濃度定量。

六、三酸甘油酯含量分析

細胞培養於 3.5 cm^2 培養皿中，於分化第 6 天去除培養液，以 1X PBS 清洗，再加入 500 μl homogenizing buffer（0.25 M sucrose, 1 mM EDTA, 5 mM Tris, 1 mM DTT），用細胞刮杓將細胞從培養皿中刮下來收集，再以超音波震碎均質而後將萃取液於 4°C，12500 \times g（roter 1159, MIKRO 22R）離心 5 分鐘，取得離心後細胞萃取液之上清液。將樣品澄清液 10 μl 與預先於 37°C 水浴過之三酸甘油酯試劑 1 ml 混合，於 37°C 反應 5 分鐘後利用分光光度計於波長 520 nm 測定吸光值，以此計算樣品甘油含量；細胞所釋出甘油含量單位為 mmole/mg protein。最後以蛋白質分析套組測定細胞所含之總蛋白質濃度，以胎牛血清白蛋白為標準液，定量

三酸甘油酯分析結果。

計算公式如下：

$$\text{TG (mmole/mg protein)} = \frac{\left[\left(2.29 \times \frac{\text{OD}_{\text{sample}}}{\text{OD}_{\text{standard}}} \right) \times \text{培養液體積 } (\mu\text{l}) \right]}{\text{mg protein}}$$

七、甘油-3-磷酸去氫酶活性分析

細胞培養於 3.5 cm² 培養皿中，於分化第 6 天去除培養液，以 1X Phosphate-buffer saline (PBS; 3 mM KH₂PO₄, 9.4 mM K₂HPO₄, 0.15 M NaCl) 清洗，再加入 500 μl homogenizing buffer (0.25 M sucrose, 1 mM EDTA, 5 mM Tris, 1 mM DTT)，用細胞刮杓將細胞從培養皿中刮下來收集，再以超音波震碎均質而後將萃取液於 4°C，12500×g (roter 1159, MIKRO 22R) 離心 5 分鐘，取得離心後細胞萃取液之上層澄清液，供 GPDH 活性分析使用。進行分析前，首先配製 Triethanolamine-EDTA premix pH 7.5 (200 mM triethanolamine; 5 mM Na₂EDTA · 2H₂O)，配製完畢後充氮氣並且避光。於塑膠比色管中注入取 100 μl 樣品上清液，再注入 800 μl assay buffer (Triethanolamine-EDTA premix 9 ml; 1.43 mM β-mercaptoethanol 9 μl; β-NADH 2 mg; 滅菌水 4.8 ml)，最後再注入 100 μl DHAP (8.23 mM dihydroxy acetone phosphate lithium solution)，迅速混合後利用分光光度計以波長 340 nm 讀取樣品吸光值。以每 10 秒為間隔持續測定 5 分鐘，取 0.5 分鐘之吸光值 (A_{0.5}) 與 4.5 分鐘吸光值 (A_{4.5}) 計算樣品吸光值之差異與反應時間；最後以蛋白質分析套組測定上層澄清液中蛋白質濃度，以牛血清白蛋白為標準液，進而可求得 GPDH 之活性。

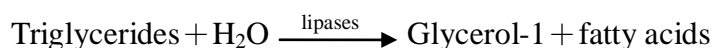
GAPDH 活性計算方程式為：

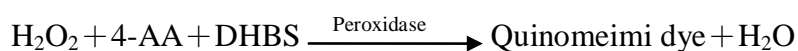
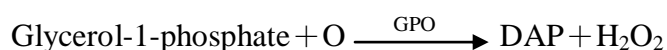
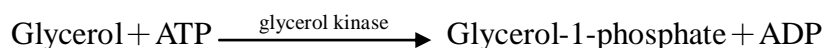
$$\text{GAPDH activity (U/mg)} = \frac{\Delta A/\text{min}}{0.00625 \text{ OD} \times 1 \text{ Mole} \times \text{mg protein}}$$

八、脂解分解作用分析及甘油測定

將脂肪細胞培養於 3.5 cm 培養盤，於分化第 4 天以不含血清之 DMEM 清洗後，置換成不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清，持續培養至第 8 天；再以 Krebs-Ringer bicarbonate buffer 清洗兩次，以 DMEM (phenol-red free) 添加 2% BSA 與 0.02% 抗壞血酸培養，並同時處理具有額外添加升糖素 (glucagon)。於第 1、3、6、12 小時收集培養液及蛋白質，分別保存於 -20 與 -80°C，待所有樣品取樣完成後分析細胞釋出於培養液中甘油脂含量與蛋白質濃度。

Glycerol 濃度測定原理如下：





樣品取 10 μl 與三酸甘油酯試劑 1 ml 混合於 37°C 反應 5 分鐘後利用分光光度計測定吸光值 (520 nm)。測定隻吸光值與甘油濃度成正比，由此計算樣品甘油含量。

細胞釋出甘油含量單位：nmole/mg protein

計算式如下：

$$\text{Glycerol (nmole/mg protein)} = \frac{[(2.82 \times \frac{\text{OD}_{\text{sample}}}{\text{OD}_{\text{standard}}}) \times \text{培養液體積} (\mu\text{l})]}{\text{mg protein}}$$

九、脂肪酸甲基化

取培養細胞之 10 cm 培養盤去除培養基，以 1X PBS 清洗 2 次，加入 5 ml homogenizing buffer 置於迴旋式震盪器以 100 rpm 震盪 10 分鐘收集至 15 ml 離心管。加入 2 ml 苯 (Riedel-de Haën[®], UN1114) 和 3 ml 無水甲醇與乙醯氯 (Alfa Aesar[®], L14013) 混合物 (無水甲醇：乙醯氯為 9：1) 震盪混合。置於 70°C 水浴槽、130 rpm 震盪 2 小時。取出後靜置待其冷卻至室溫，加入 5 ml 6% 碳酸鉀與 2 ml 苯輕微震盪。離心 1200×g、3 分鐘，取上層澄清液放至新的微量離心管，加入 1 g 無水硫酸鈉和 1 g 活性碳，3000×g (roter 1615；UNIVERSAL 32R) 離心 5 分鐘，取上層澄清液放至新的微量離心管。

十、氣相層析

硬體：TRACE GC ULTRA 氣相層析儀

分離管柱 (column)：ID 0.25 mm×30meter，fused silica capillary

(出品 RTX 2330)

固定相：coated-cross linked 10% cyanopropylphenyl and 90% biscyanopropyl polysiloxane，膜厚度 0.2 μm

注射 (injector) 溫度：200°C

偵檢器 (detector) 溫度：220°C

載動氣體 (carrier gas) 流速：1.3 ml/min

分流比 (splitter ratio)：無分流

載動氣體 (carrier gas)：氮氣 35 ml/min

火焰離子檢測器：F.I.D

樣品注射體積：1 μl

升溫條件：160°C (4 min) , 2°C/min, 200°C (5 min)

各脂肪酸含量之計算

以氣相層析分析後，將各尖峰的滯留時間 (retention time) 與樣品之尖峰比較及圖庫搜尋確認各脂肪酸甲基酯並以面積法計算各脂肪酸之百分組成。

計算公式如下：

各脂肪酸尖峰面積 = 該脂肪酸尖峰高度 × 該脂肪酸尖峰半高之寬度

各脂肪酸百分組成 = 該脂肪酸尖峰面積 / 各脂肪酸尖峰面積總合

十一、總 RNA 萃取

於 6 cm² 培養盤，以 1X PBS 清洗，而後添加 1 ml 的 RareRNA 萃取液，置於迴旋式震盪器以 100 rpm 震盪 10 分鐘收集至 1.5 ml 離心管。加入氯仿 300 μl 混合均勻然後離心 12000×g (roter 1159; MIKRO 22R), 4°C, 10 分鐘；離心完畢，將上層澄清液收集至新的離心管，添加 1 ml 的無水酒精混合均勻，再次離心 12000×g, 4°C, 5 分鐘；除去上層澄清液並加入 70% 酒精清洗而後離心 14000×g (roter 1159; MIKRO 22R), 4°C, 10 分鐘。將上層澄清液去除乾淨，放至於室溫待其乾燥後，加入 20 μl 的 DEPC H₂O 溶解離心管底部的沉澱物，而後於乾熱器上以 60°C 加熱 5 分鐘，最後將所萃取之總 RNA 保存於 -80°C。

十二、相對定量反轉錄聚合酶連鎖反應

將萃取出來的 RNA 以光譜儀於 260 nm 與 280 nm 的波長下測量吸光度，再利用 RNA 凝膠電泳定量並同時觀察 RNA 的品質，定量後的 RNA 調整至 0.3 μg/μl。取 4 μl 的 RNA 置於 PCR 離心管內接著加入 1 μl random primer (3 μg/μl) 和 7 μl 的滅菌水均勻混合。置於 70 °C 反應 10 分鐘後快速地將樣品置於冰上，之後再加入 4 μl 5X buffer、2 μl DTT (0.1 M) 和 1 μl dNTP (10 mM) 混合均勻，於 25°C 反應 10 分鐘再置於 42 °C 兩分鐘後，再加入 1 μl Superscript II RT (200 unit/μl)，再置於 42 °C 反應 50 分鐘，再以 70°C 反應 15 分鐘。最後加入 1 μl RNaseH (2 unit/μl)，置於 37 °C 反應 20 分鐘後，將試驗樣品存於 -20°C。而後進行相對定量 PCR，每管 PCR 小管中放置 1 μl Taq (5 unit/1μl)、2.5 μl 10X PCR buffer、2 μl dNTP (10 mM) 與所需要之引子一對各 1 μl (10 nM)，以及 2 μl 18S primer: competimer mix (3:7)，而後利用滅菌水將體積補足至 24 μl 隨後加入 1 μl cDNA (RT 產物)，總體積則為 25 μl 進行反應。反應所用引子序列如表 4。

十三、統計分析

實驗採用飼養在相同平飼環境、飼料與飲水條件之白色肉雞，在試驗日期之

相同時間，將白色肉雞犧牲採取腹部脂肪進行試驗與分析。依測定項目所得數據，使用統計軟體 SAS (1999) 進行分析。試驗比較處理間的差異，以一般線性模式 (GLM) 進行變方分析，以 LS means 比較各組間的差異。

表2 試驗飼糧組成(0-18日)

Table 2 Feed composition (day0-18)

項目 Item	100%	80%大豆油	50%大豆油	20%大豆油
	大豆油 100% soybean oil	+20%MCT 80%soybean oil+20%MCT	+50%MCT 50%soybean oil+50%MCT	+80%MCT 20%soybean oil+80%MCT
	%			
玉米粉 Corn meal	44.43	44.60	44.80	45.03
大豆粕 Soybean meal(44%)	41.14	40.66	39.95	39.22
玉米精粉 Corn gluten meal (60%)	2.28	2.60	3.10	3.59
大豆油 Soybean oil	8.00	6.40	4.00	1.60
中鏈三酸甘油酯 Medium chain triacylglycerides (MCTs)	0	1.60	4.00	6.40
碳酸鈣 Limestone	1.64	1.64	1.64	1.65
磷酸一鈣 Monocalcium Phosphate	1.43	1.43	1.44	1.44
DL-甲硫胺酸 DL-methionine	0.17	0.17	0.16	0.16
食鹽 Salt	0.50	0.50	0.50	0.50
三氧化二銻 Cr ₂ O ₃	0	0	0	0
氯化膽鹼 Choline chloride (50%)	0.15	0.15	0.15	0.15
Butylated hydroxytoluene (BHT)	0.02	0.02	0.02	0.02
球安 Avatec	0.06	0.06	0.06	0.06
維生素預拌劑 Vitamin premix ^a	0.13	0.13	0.13	0.13
礦物質預拌劑 Mineral premix ^b	0.05	0.05	0.05	0.05
合計 Total	100.00	100.00	100.00	100.00
計算值 Calculated values				
粗蛋白質, % Crude protein, %	23.00	23.01	23.01	23.01
代謝能, 仟卡/公斤 ME, kcal/kg ^c	3200	3200	3200	3200

^a 每公斤飼糧添加：維生素A, 12000IU；維生素D₃, 2000IU；維生素E, 40IU；維生素K₃, 4mg；維生素B₁, 1.5mg；維生素B₂, 5mg；維生素B₆, 4mg；維生素B₁₂, 0.05mg；菸鹼酸, 25mg；泛酸, 16mg；葉酸, 1mg；生物素, 0.2mg。

^a Provided per kilogram of diet : vitamin A, 12000IU ; vitamin D₃, 2000IU ; vitamin E, 40IU ; vitamin K₃, 4mg ; vitamin B₁, 1.5mg ; vitamin B₂, 5mg ; vitamin B₆, 4mg ; vitamin B₁₂, 0.05mg ; niacin, 25mg ; pantothenic acid, 16mg ; folic acid, 1mg ; biotin, 0.2mg.

^b 每公斤飼糧添加：鐵, 150mg；錳, 40mg；鋅, 100mg；銅, 20mg；硒, 0.3mg；碘, 1mg；鈷, 0.3mg。

^b Provided per kilogram of diet : Fe, 150mg ; Mn, 40mg ; Zn, 100mg ; Cu, 20mg ; Se, 0.3mg ; I, 1mg ; Co, 0.3mg.

^c 大豆油和中鏈三酸甘油酯之代謝能估計值分別為8800及8400仟卡/公斤 (NRC, 1984)。

^c ME values of soybean oil and medium chain triacylglycerides are 8800 and 8400 kcal/kg (NRC, 1984).

(東海大學姜樹興老師實驗室提供)

表3 試驗飼糧組成(19-36日)

Table 3 Feed composition (day19-36)

項目 Item	100% 大豆油 100% soybean oil	80%大豆油 +20%MCT 80%soybean oil+20%MCT	50%大豆油 +50%MCT 50%soybean oil+50%MCT	20%大豆油 +80%MCT 20%soybean oil+80%MCT
	%			
玉米粉 Corn meal	50.94	51.09	51.30	51.54
大豆粕 Soybean meal(44%)	36.90	36.40	35.75	35.00
玉米精粉 Corn gluten meal (60%)	0.40	0.75	1.20	1.70
大豆油 Soybean oil	8.00	6.40	4.00	1.60
中鏈三酸甘油酯 Medium chain triacylglycerides (MCTs)	0	1.60	4.00	6.40
碳酸鈣 Limestone	1.60	1.60	1.60	1.60
磷酸一鈣 Monocalcium Phosphate	0.99	1.00	1.00	1.01
DL-甲硫胺酸 DL-methionine	0.07	0.07	0.06	0.06
食鹽 Salt	0.50	0.50	0.50	0.50
三氧化二鉻 Cr ₂ O ₃	0.25	0.25	0.25	0.25
氯化膽鹼 Choline chloride (50%)	0.15	0.15	0.15	0.15
Butylated hydroxytoluene (BHT)	0.02	0.02	0.02	0.02
球安 Avatec	0.06	0.06	0.06	0.06
維生素預拌劑 Vitamin premix ^a	0.13	0.13	0.13	0.13
礦物質預拌劑 Mineral premix ^b	0.05	0.05	0.05	0.05
合計 Total	100.00	100.00	100.00	100.00
計算值 Calculated values				
粗蛋白質, % Crude protein, %	20.51	20.51	20.51	20.51
代謝能, 仟卡/公斤 ME, kcal/kg ^c	3251	3251	3250	3250

^a 每公斤飼糧添加：維生素A, 12000IU；維生素D₃, 2000IU；維生素E, 40IU；維生素K₃, 4mg；維生素B₁, 1.5mg；維生素B₂, 5mg；維生素B₆, 4mg；維生素B₁₂, 0.05mg；菸鹼酸, 25mg；泛酸, 16mg；葉酸, 1mg；生物素, 0.2mg。

^a Provided per kilogram of diet : vitamin A, 12000IU ; vitamin D₃, 2000IU ; vitamin E, 40IU ; vitamin K₃, 4mg ; vitamin B₁, 1.5mg ; vitamin B₂, 5mg ; vitamin B₆, 4mg ; vitamin B₁₂, 0.05mg ; niacin, 25mg ; pantothenic acid, 16mg ; folic acid, 1mg ; biotin, 0.2mg.

^b 每公斤飼糧添加：鐵, 150mg；錳, 40mg；鋅, 100mg；銅, 20mg；硒, 0.3mg；碘, 1mg；鈷, 0.3mg。

^b Provided per kilogram of diet : Fe, 150mg ; Mn, 40mg ; Zn, 100mg ; Cu, 20mg ; Se, 0.3mg ; I, 1mg ; Co, 0.3mg.

^c 大豆油和中鏈三酸甘油酯之代謝能估計值分別為8800及8400仟卡/公斤 (NRC, 1984)。

^c ME values of soybean oil and medium chain triacylglycerides are 8800 and 8400 kcal/kg (NRC, 1984).

(東海大學姜樹興老師實驗室提供)

表 4 RT-PCR 分析白肉雞脂肪細胞基因表現所使用之引子

Table 4 Primers for RT-PCR analysis of genes expressed in chicken adipocytes

基因名稱	參考序列 NCBI GenBank #	引子序列	溫度 (°C)	長度 (bp)
A-FABP	AF_432507	A:5'-CTTCCAGCTGCATGTGTCAT-3' S:5'-GCACTGTGCTTGACTGGGTA-3'	63	382
PPAR γ	NM_001001460	A:5'-GGAAAGACGACAGACAAATCAC-3' S:5'-GAACTTCACAGCAAACACTCAAAC-3'	50	419
C/EBP β	NM_205253	A:5'-CTTCT TGGGC TTGTT CTTGC-3' S:5'-GATCT CTTCG CCGAG GACTA-3'	65	432
Perilipin	XM_001048076	A:5'-GATGACGGCGAAGAAGAATC-3' S:5'-TCCTCGTGTACCTTGCTGTG-3'	65	479
LPL	NM_205282	A:5'-GCCTGTTGGACACATTGATA-3' S:5'-AGCGTGAAAGGAATGTTCTC-3'	57	303
AhR	NM_204118	A:5'-AAAGCTGAGGCATCATTGCT-3' S:5'-GGATGATATTGGGGACATCG-3'	60	440
GLUT1	L_07300	A:5'-CACATACATGGGCACAAAGC-3' S:5'-AAGATGACAGCTCGCCTGAT-3'	65	414
GLUT8	AB_083371	A:5'-CTGGAGGAATACTGGGAGGC-3' S:5'-GCGAGGACCATACGTGGACC-3'	63	358
Adiponectin	NW_001471743	A:5'-GTCCCACGGAAGTCACTTGT-3' S:5'-GCCTACCACCTGACGGTCTA-3'	62	445

結果與討論

試驗壹、餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧對白色肉雞其脂肪組織之影響

脂肪細胞具有儲存能量與調節的功能，可將過多的能量以三酸甘油酯的形式儲存於細胞內，因此脂肪細胞在動物體內扮演著能量平衡的角色。而脂肪酸可被添加於飼糧中以提供能量、調節能量利用效率與生理機能等，過往文獻曾指出飼糧中脂肪酸變化可改變動物脂肪組織總量與體內脂肪酸組成 (Villegas *et al.*, 1973 ; Otten *et al.*, 1993 ; Jones *et al.*, 1995 ; Innis *et al.*, 1996)，因此，藉由飼糧的改變以調節某些特定脂肪酸在動物體內環境的含量，可以提高畜產品的附加價值。

本試驗以白色肉雞雛雞自第 1 天起，分別餵飼 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8% 大豆油部分之飼糧，於飼養至 36 日齡後犧牲，進行各項相關分析。

一、餵飼中鏈三酸甘油酯取代飼糧對白色肉雞體重與腹脂之影響

於雞隻飼養的第一天起，分別以不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼料飼養雞隻，其處理分別有 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8% 大豆油部分之飼糧，於飼養至 36 日齡犧牲進行相關分析。

雞隻體重結果顯示 (表 5)，以餵飼 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧處理組為最重 (2075.42 g)，其次為餵飼 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧處理組 (2068.75 g)，再者為餵飼 50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧處理組 (2004.17 g)，而以餵飼 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧處理組為最輕 (1955.42 g)。於統計分析上在 0% 與 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧處理間無顯著差異，50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧處理間無顯著差異，但 0% 與 20% 兩組比較 50% 與 80% 兩組則具有顯著上的差異。由上述結果得知，以 50% 以上中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻則會造成雞隻體重顯著地降低。

腹部脂肪重量結果顯示 (表 5)，以餵飼 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧處理組 (27.71 g) 顯著重於其他處理組別；其次為餵飼 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧處理組 (25.19 g)，再者為餵飼 50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧處理組 (23.34 g)，而 20% 與 50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧處理組間無顯著差異；最後則是以餵飼 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧處理組 (18.86 g) 顯著輕於其他處理組。上述結果可知，以越高比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白色肉雞其腹部脂肪含量則越低。

進一步計算雞隻腹部脂肪佔其體重之百分比，結果顯示 (表 3)，以餵飼 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧處理組為最高 (1.33)，其次為餵飼 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧處理組 (1.22)，再者為餵飼 50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧處理組

(1.16)，而以餵飼 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧處理組顯著低於其他處理組 (0.96)。

試驗結果顯示，以中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻會造成其腹部脂肪含量明顯降低，但對於雞隻整體體重降低之影響較不明顯 (Ooyama *et al.*, 2007)；過去文獻曾指出於日常飲食中若攝食中鏈三酸甘油酯超過整體脂質攝取量 38% 以上，會明顯降低動物體重 (Carnielli *et al.*, 1994) 與動物體內整體脂肪組脂含量 (Crozier, 1988；Hill *et al.*, 1990)。推論造成體重與體脂肪降低的因素有三種，其一為由於中鏈三酸甘油酯較容易被荷爾蒙敏感性水解酶 (Hormone sensitive lipase；HSL) 進行水解作用，因為含有中鏈三酸甘油酯的三酸甘油酯在脂質堆積上具有較容易與較快速的代謝效率 (Deckelbaum *et al.*, 1990；Raclot *et al.*, 2001)，所以容易被動物體代謝利用，相對而言則造成不利於脂質囤積的效應，因此，體內脂肪含量則較低；其二可能是由於動物處於酮體的生理狀態下，促使脂肪酸被大量利用於代謝產生能量 (Tsuji *et al.*, 2001)，因此降低動物整體脂肪組脂量。最後一種影響因素是由於中鏈三酸甘油酯較長鏈脂肪酸容易進入透粒線體進行後續代謝反應，因為中鏈三酸甘油酯不需經由肉鹼 (carnitine) 與肉鹼棕櫚酸輔酶轉化酶 (carnitin palmityl transferase-1；CPT1) 直接穿入粒線體內膜，因此，可以更快速的進行代謝利用 (Wu-Rideout *et al.*, 1976；André *et al.*, 1982)。

表 5 飼糧含中鏈三酸甘油酯 (MCT) 對肉雞腹脂與體重之影響

Table 5 Effects of medium chain fatty acid of feed on chicken abdominal fat and body weight

項目 Item	0%MCTs	20%MCTs	50%MCTs	80%MCTs	SEM	P 值, P-value		
	+100% 大豆油	+80%大豆 油	+50%大豆 油	+20%大豆 油		trt	liner	quadratic
體重, 克 Body wt., g	2075.42 ^a	2068.75 ^a	2004.17 ^b	1955.42 ^b	19.577	<0.0001	<0.0001	0.29
腹脂重, 克 Abdominal fat, g	27.71 ^a	25.19 ^b	23.34 ^b	18.86 ^c	1.411	0.0003	<0.0001	0.49
腹脂占體重百分比, %Ratio %	1.33 ^a	1.22 ^a	1.16 ^a	0.96 ^b	0.067	0.0023	0.0002	0.53

n=4

a, b, c, 同列數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)

a, b, c Values in the same row with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

二、腹部脂肪細胞形態之影響

於雞隻飼養的第一天起，分別以不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧飼雞隻，其處理分別有 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧、20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧、50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧與 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧，於飼養至 28 日齡犧牲，收集雞隻腹部脂肪組織進行冷凍切片觀察（圖 5）並利用 Image Pro Plus 6.0 影像軟體分析。

實驗結果發現（圖 6），0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻處理組其脂肪細胞形態平均尺寸大小顯著為最大（ $55.2 \mu\text{m}^2/\text{cell}$ ），其次為 20%（ $50.7 \mu\text{m}^2/\text{cell}$ ）與 50%（ $46.7 \mu\text{m}^2/\text{cell}$ ）中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻，但 20% 與 50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻處理組間彼此無顯著，而 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻處理組其脂肪細胞形態平均尺寸大小顯著為最小（ $41.9 \mu\text{m}^2/\text{cell}$ ）。

實驗結果顯示（圖 7），0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻處理組其脂肪細胞形態尺寸大小分佈百分比，分佈趨勢傾向於脂肪細胞大的區域成常態分佈，其中細胞面積以分佈於 50 至 $60 \mu\text{m}^2$ 間的數目為最高，占總百分比的 42.8%。於 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻處理組其脂肪細胞形態尺寸大小分佈百分比亦成常態分佈，其中細胞面積以分佈於 40 至 $50 \mu\text{m}^2$ 間的數目為最高，占總百分比的 38.1%。50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻處理組其脂肪細胞形態尺寸大小分佈趨勢則是傾向於脂肪細胞小的區域成常態分佈，其中細胞面積以分佈於 30 至 $40 \mu\text{m}^2$ 間的數目為最高，占總百分比的 43%。在 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻處理組其脂肪細胞形態尺寸大小分佈情形與 50% 的情形十分相似，亦傾向於脂肪細胞小的區域分佈，其中細胞面積以分佈於 30 至 $40 \mu\text{m}^2$ 間的數目為最高，占總百分比的 44%。

經由上述結果得知，餵飼中鏈三酸甘油酯取代飼糧對於白色肉雞會造成其脂肪細胞整體形態尺寸的縮小（Baba et al., 1982）。而脂肪細胞大小取決於細胞內三酸甘油酯囤積的多寡，油滴累積越多則脂肪細胞越大（Pairault and Green, 1979）反之亦然，而油滴的累積又牽連於脂肪細胞的分化；因此可知道脂肪細胞大小與油脂囤積和脂肪細胞分化有關（Farmer, 2006；Wang et al., 2008），而這兩個因素受血清內的成分包含生長因子、脂肪酸與其他衍生物等影響，也受脂肪細胞本身基因表現所調節，因此需從多角度去做剖析，故在本文後半部會有更多相關於脂肪細胞分化基因與脂肪酸之影響等的探討。

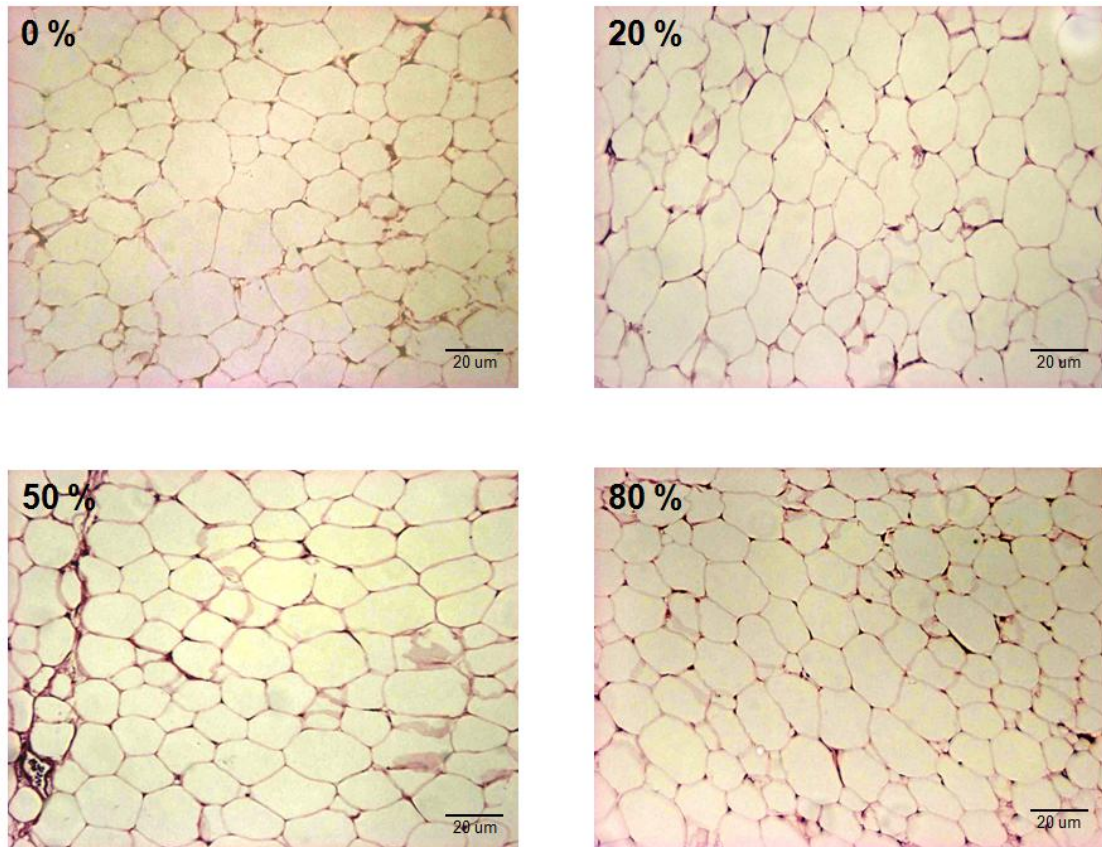


圖 5 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧對白色肉雞其腹部脂肪形態之影響。於不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞 36 日齡後犧牲取腹部脂肪組織進行冷凍切片。放大倍率皆為 40 倍。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞；50%：50% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼之白肉雞；80%：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞。

Figure 5 Effects of different percentages of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet on the size of chicken abdominal fat cells. Frozen sections of abdominal adipose tissue from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens on the age of day 36 (Magnification : 40X). 0% : 0% MCT replaced supplemented diet ; 20% : 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% : 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% : 80% MCT replaced supplemented diet.

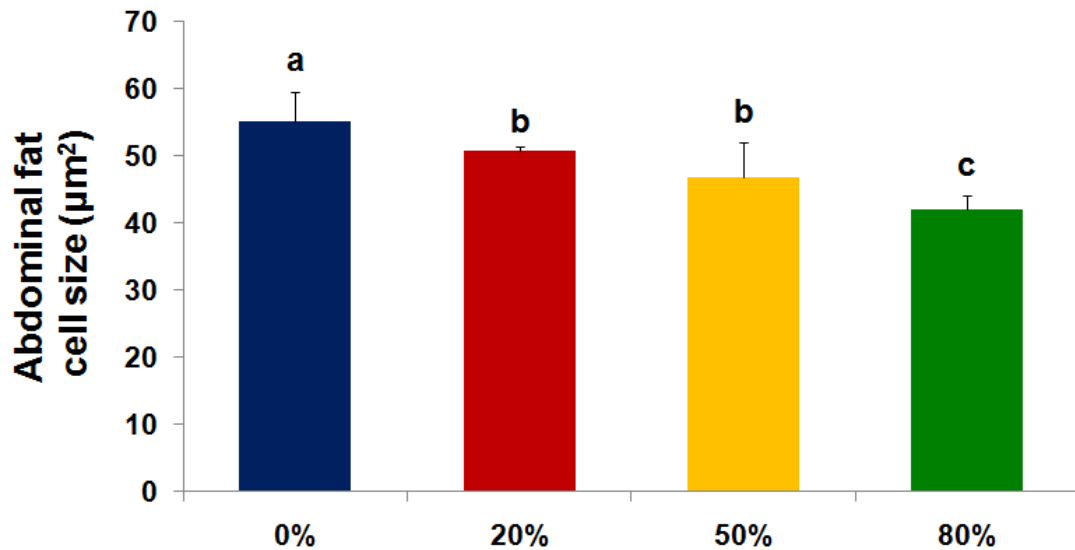


圖 6 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧對白色肉雞其腹部脂肪形態尺寸之影響。於不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞 36 日齡後犧牲取腹部脂肪組織進行切片；使用 Image Pro Plus 6.0 軟體計算不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞其腹部脂肪組織切片細胞（放大倍率:100X，各切片數取 200 個細胞）。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞；80%：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞。n=4。^{a, b, c} 同列數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 6 The effects of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet on the size of chicken abdominal fat cell. Frozen sections of abdominal adipose tissue from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed on the age of day 36. Abdominal fat cell size was measured by Image Pro Plus 6.0 (Magnification : 100X, calculate 200 cells/frozen section sammples). 0% : 0% MCT replaced supplemented diet ; 20% : 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% : 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% : 80% MCT replaced supplemented diet. n=4. ^{a, b, c} Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

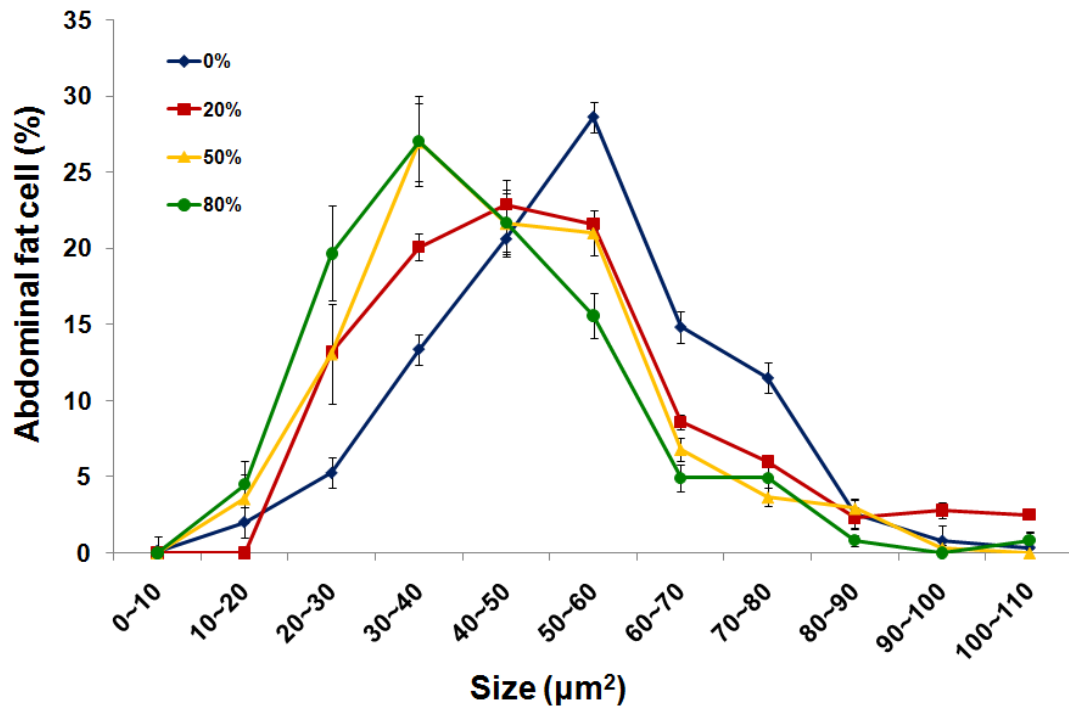


圖 7 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧對白色肉雞其腹部脂肪細胞尺寸分布情形之影響。於不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白色肉雞 36 日齡後犧牲取腹部脂肪組織進行切片；使用 Image Pro Plus 6.0 軟體計算不同比例中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼白肉雞其腹部脂肪組織切片細胞（放大倍率:100X，各切片數取 200 個細胞）。0% (◆)：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞；20% (■)：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞；50% (▲)：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞；80% (●)：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞。n=4。

Figure 7 Effects of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet on the size of chicken abdominal fat cell distribution. Frozen sections of abdominal adipose tissue from 0%, 20, 50, or 80% of MCT replaced diet-fed on the age of day 36. Abdominal fat cell size distribution was measured by Image Pro Plus 6.0 (Magnification : 100X, calculate 200 cells/frozen section sammples). 0% (◆) : 0% MCT replaced supplemented diet ; 20% (■) : 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% (▲) : 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% (●) : 80% MCT replaced supplemented diet. n=4.

試驗貳、餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧之白色肉雞 其血清對誘導脂肪細胞分化之影響

由試驗結果可得知，以中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻後，可造成動物體內脂肪細胞形態變小與脂肪組織減少等影響；推測可能是由於雞隻血清促進脂肪細胞分化之能力，受到餵飼中鏈三酸甘油酯取代飼糧所改變，造成脂肪組織量降低。因此試驗貳則為進一步探討餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧之白色肉雞其血清對於誘導脂肪細胞分化能力之影響。

試驗以 36 日齡肉雞前脂肪細胞初代培養為試驗模式，在分化過程中分別置換添加取自 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8% 大豆油部分飼糧餵飼雞隻之血清，並於分化第 6 天進行各項相關分析。

一、 餵飼中鏈三酸甘油酯取代飼糧之白色肉雞其血清對雞脂肪細胞 分化形態之影響

雞前脂肪細胞初代培養於分化第 0 天，分別置換含有以 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8% 大豆油部分飼糧餵飼雞隻之血清的培養基，其中雞血清皆添加分化試劑，並於分化第 2、4 與 6 天觀察記錄細胞分化形態。實驗結果發現（圖 8），在分化第 2 天以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理的細胞形態已有多數細胞分化呈現渾圓形態並堆積油滴，其次為 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清，而 50% 取代與 80% 取代飼糧餵飼雞隻之血清無明顯分化程度上的差異。至分化第 6 天，以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清培養的雞前脂肪細胞分化為脂肪細胞堆積油滴的情形為最佳，20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理居第二，50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理居第三，80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理分化累積油滴情形最差。

觀察結果可以發現，0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清具有較佳誘導雞前脂肪細胞分化為脂肪細胞的能力；80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清具有較差誘導雞前脂肪細胞分化為脂肪細胞的能力。而 20% 與 50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清則居於 0% 與 80% 之間；20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清亦較 50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清具有誘導雞前脂肪細胞分化的能力。因此可推論，雞隻攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧可能會改變雞隻血清內影響分化因子的組成與組合（Tholstrup *et al.*, 2004；Ball,

1993)，進而影響該血清誘發前脂肪細胞分化之功能（Cater *et al.*, 1997）。

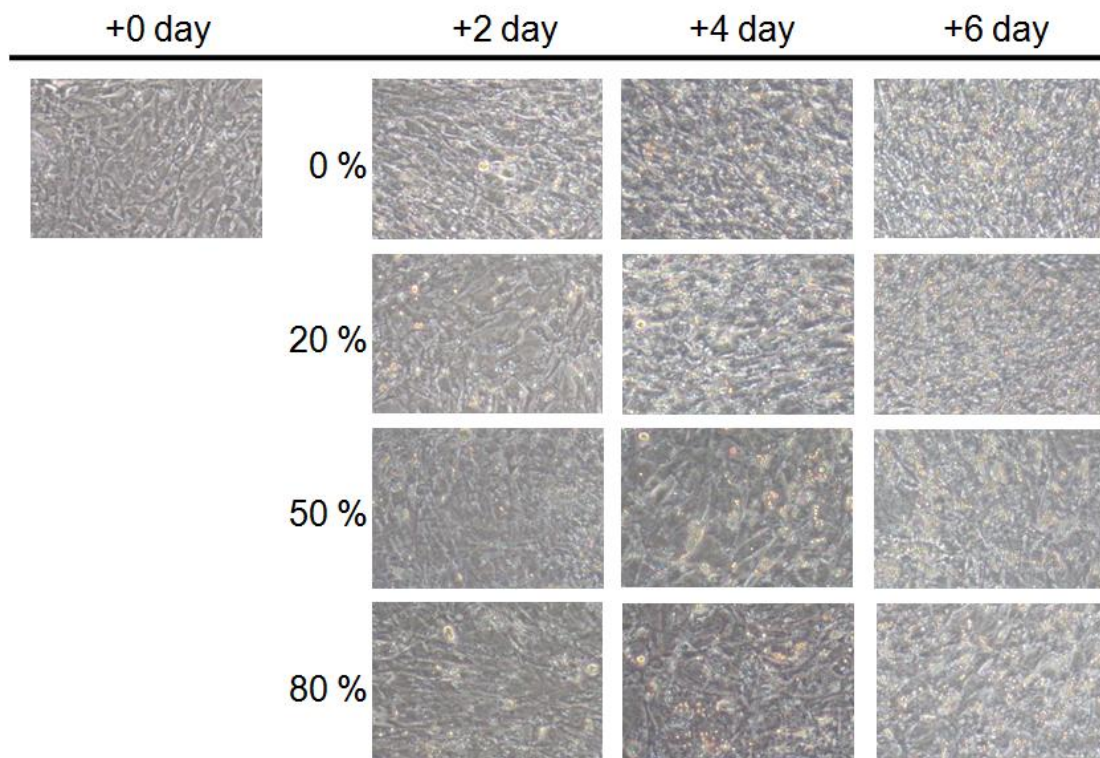


圖 8 餵飼不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧之白色肉雞其血清對雞前脂肪細胞分化形態之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清於+0 day 置換並配合分化試劑誘導雞隻前脂肪細胞分化，於+2、+4、+6 day 進行細胞形態觀察。0%：0%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80%：80%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。放大倍率皆為 100 倍。

Figure 8 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet on chicken preadipocyte differentiation. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and microscopic analysis was prepared on day 0, 2, 4, and 6 after the induction of differentiation (Magnification: 100X). 0% : serum of 0% MCT replace supplemented diet ; 20% : serum of 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% : serum of 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% : serum of 80% MCT replaced supplemented diet.

二、 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻其血清對雞脂肪細胞分化脂質堆積之影響

雞前脂肪細胞初代培養於分化第 0 天，分別置換含有以 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8% 大豆油部分飼糧餵飼雞隻之血清的培養基，其中雞血清皆添加分化試劑，並於分化第 6 天以 Oil-Red O 染色觀察；利用 Oil-Red O 為親脂性試劑的特性，可將細胞內油滴染成紅色，當脂肪細胞分化程度越好其堆積油滴亦越多，故 Oil-Red O 染色其顏色越深紅。實驗結果發現（圖 9，各組別圖左區為細胞染色顯微鏡觀察，右區為培養皿肉眼觀察），Oil-Red O 染色後，以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清培養處理有最深的紅色，其次為 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理，而 50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理並無明顯差異。結果顯示（圖 10），以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理的脂肪細胞油滴堆積最高（OD = 0.79），20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理次之（OD = 0.64），而 50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理（OD = 0.40）與 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理（OD = 0.38）的細胞油滴堆積較低。這些分析數據結果與形態觀察相互符合，因此，可知攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清具有較低誘發脂肪細胞分化之作用；推測攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧可能透過改變血清內各因子組成比例（Tholstrup *et al.*, 2004）而降低血清誘發前脂肪細胞分化為成熟脂肪細胞之能力。

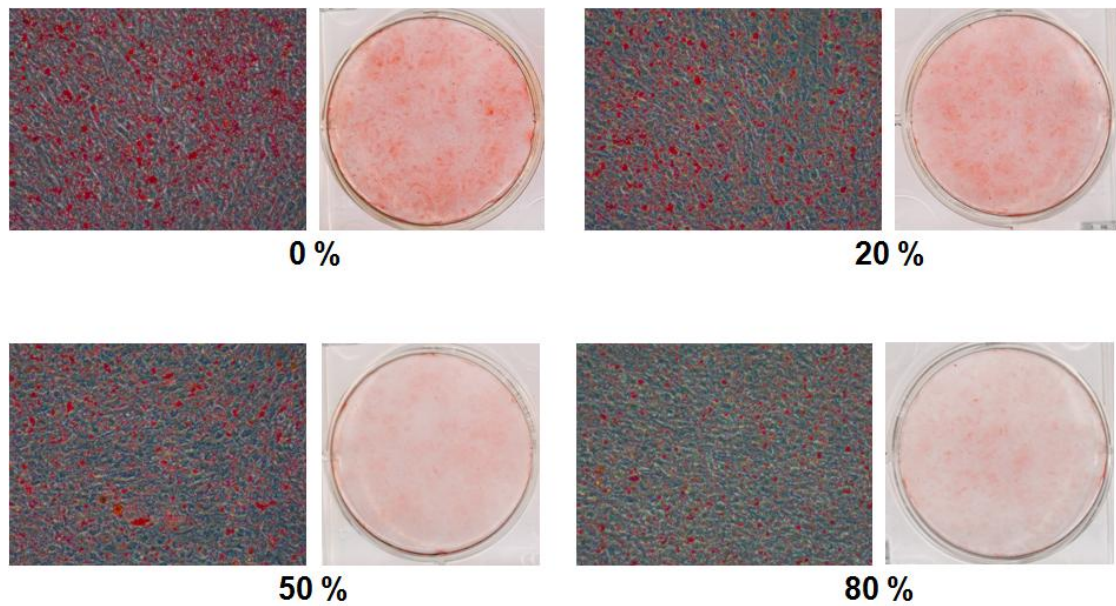


圖 9 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞脂質堆積之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清誘導雞隻前脂肪細胞分化，於誘導分化後第 6 天利用 Oil Red O 染色觀察油脂堆積情形。右圖：肉眼觀察 Oil Red O 染色結果；右圖：顯微鏡下觀察 Oil Red O 染色結果（放大倍率為 100 倍）。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80%：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。

Figure 9 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet on chicken on fat accumulation of conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and Oil-Red O staining was performed on day 6 after the induction of differentiation. Right: Naked-eye observation of Oil-Red O stained cell. Left: Microscopic analysis of Oil-Red O stained cell (Magnification: 100X). 0% : serum of 0% MCT replace supplemented diet ; 20% : serum of 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% : serum of 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% : serum of 80% MCT replaced supplemented diet.

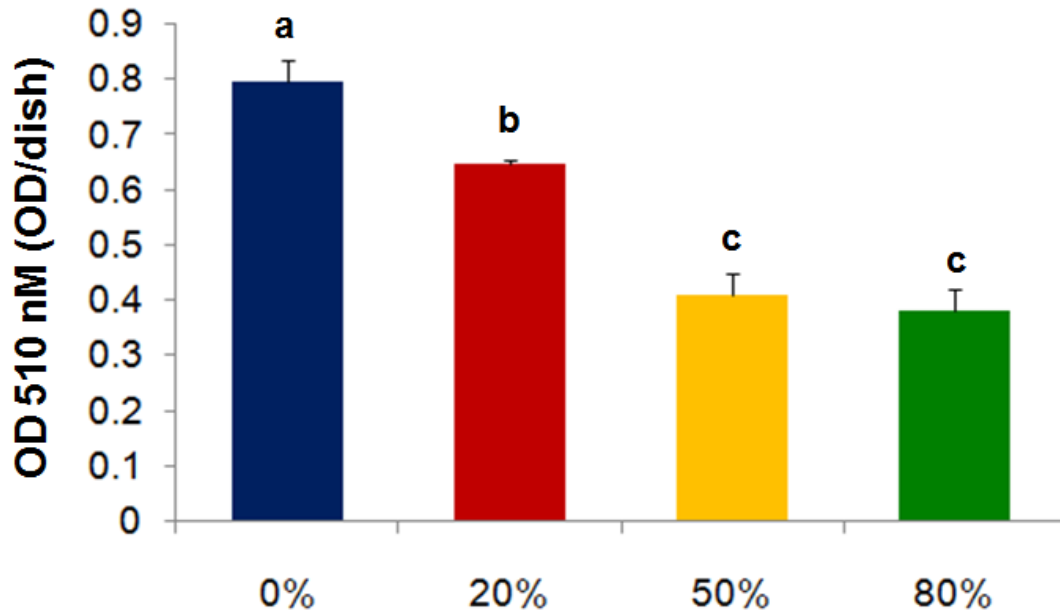


圖 1 0 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞脂質堆積之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清誘導雞隻前脂肪細胞分化，於誘導分化後第 6 天利用 Oil Red O 染色並且於吸光值 510 nm 進行定量分析。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80%：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。n=5。a, b, c 同列數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 1 0 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet chickens on fat accumulation of conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and Oil-Red O staining was measured (510 nm) on day 6 after the induction of differentiation. 0% : serum of 0% MCT replace supplemented diet ; 20% : serum of 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% : serum of 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% : serum of 80% MCT replaced supplemented diet. n=5. a, b, c Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

三、 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻其血清對雞前脂肪

細胞分化三酸甘油酯含量之影響

雞前脂肪細胞初代培養於分化第 0 天，分別置換含有以 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8% 大豆油部分飼糧餵飼雞隻之血清的培養基，其中雞血清皆添加分化試劑，於分化第 6 天收集雞脂肪細胞並分析三酸甘油酯；雞前脂肪細胞誘發為脂肪細胞後具有將能量以三酸甘油酯的形式儲存於細胞內之能力，因此可以作為指標判別前脂肪細胞分化為脂肪細胞之程度。實驗結果發現，以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清培養處理經三酸甘油酯試劑分析後具有最高吸光值 ($OD_{520} = 0.13$)，而 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理 ($OD_{520} = 0.11$) 與 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理無明顯差異，其次為 50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理 ($OD_{520} = 0.08$)，而 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理與三酸甘油酯水劑反應後吸光值最低 ($OD_{520} = 0.05$)。結果顯示 (圖 1 1)，以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理的脂肪細胞其細胞內所含之三酸甘油酯為最高 (512.6 mmole / mg protein)；而以 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理的脂肪細胞其細胞內所含之三酸甘油酯 (477.4 mmole / mg protein) 與 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理無顯著差異；50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理的脂肪細胞其細胞內所含之三酸甘油酯為次之 (331.2 mmole / mg protein)；脂肪細胞內所含三酸甘油酯最少的為 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理組別 (227.4 mmole / mg protein)。由上述分析脂肪細胞內三酸甘油酯堆積含量與 Oil-Red O 親脂性染劑染色結果相互呼應可以知道，攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清對於刺激促使成熟脂肪細胞堆積三酸甘油酯之能力較差。

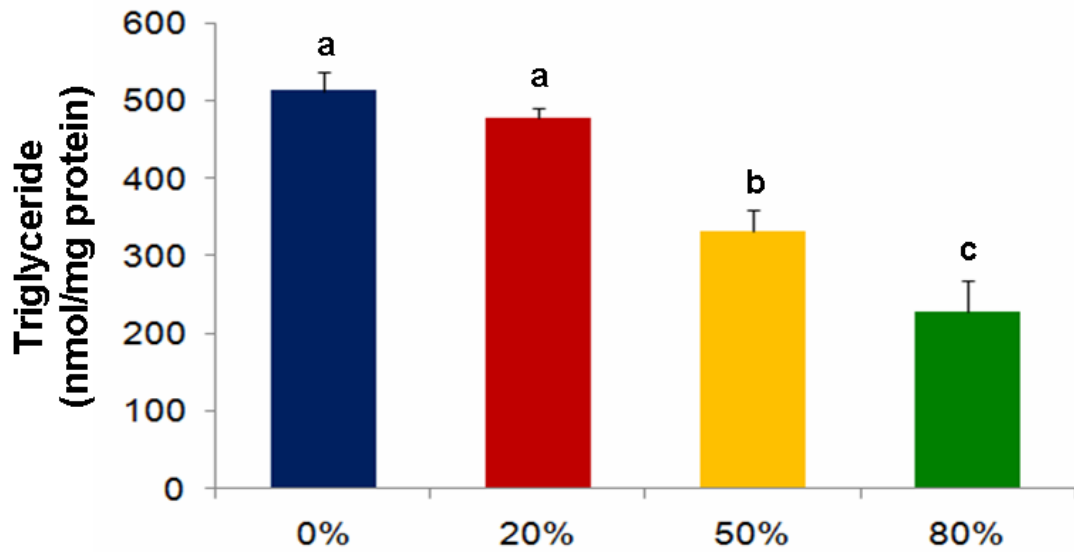


圖 1 1 不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成三酸甘油酯含量之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清誘導雞隻前脂肪細胞分化，於誘導分化後第 6 天進行三酸甘油酯含量分析。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80%：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。n=5。^{a, b, c, d} 同列數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 1 1 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet chickens on triglyceride content of conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and triglyceride content was measured on day 6 after the induction of differentiation. 0% : serum of 0% MCT replace supplemented diet ; 20% : serum of 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% : serum of 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% : serum of 80% MCT replaced supplemented diet. n=5. ^{a, b, c, d} Values in the same with bar different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

四、 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻其血清對雞脂肪細胞甘油-3-磷酸去氫酶 (GPDH) 活性之影響

雞前脂肪細胞初代培養於分化第 0 天，分別置換含有 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清的培養基，其中雞血清皆添加分化試劑，並於分化第 6 天分析 GPDH 活性；GPDH 的生理功能在於將二羥基丙酮磷酸 (dihydroxy acetone phosphate) 還原成為三酸甘油酯 (triacylglycerol) 之前驅物質 sn-甘油-3-磷酸 (sn-glycerol-3-phosphate)，而且此一催化反應可藉由 nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) 為還原劑進行逆反應 (Kuri-Harcuch *et al.*, 1978)。於雞前脂肪細胞分化後，誘發 GPDH 的表現與活性促使脂肪細胞具有堆積脂肪之能力，並且 GPDH 活性亦隨分化程度而增加，因此可用於定義前脂肪細胞分化與否的指標。實驗結果顯示 (圖 1 2)，以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清培養其脂肪細胞的 GPDH 活性為最高 (3.68 nM/min/mg protein)，次高為以 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清培養組別 (2.93 nM/min/mg protein)，50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清培養其脂肪細胞的 GPDH 活性居於第三位 (2.14 nM/min/mg protein)，而以 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清培養其脂肪細胞的 GPDH 活性為最低 (1.75 nM/min/mg protein)。由結果推斷，以攝食含越高比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻之血清處理脂肪細胞經歷較少的分化過程，相對而言前脂肪細胞分化為成熟脂肪細胞越少，亦表示攝食含中鏈三酸甘油酯取代飼糧之雞隻血清具有較低誘發脂肪細胞分化之能力。

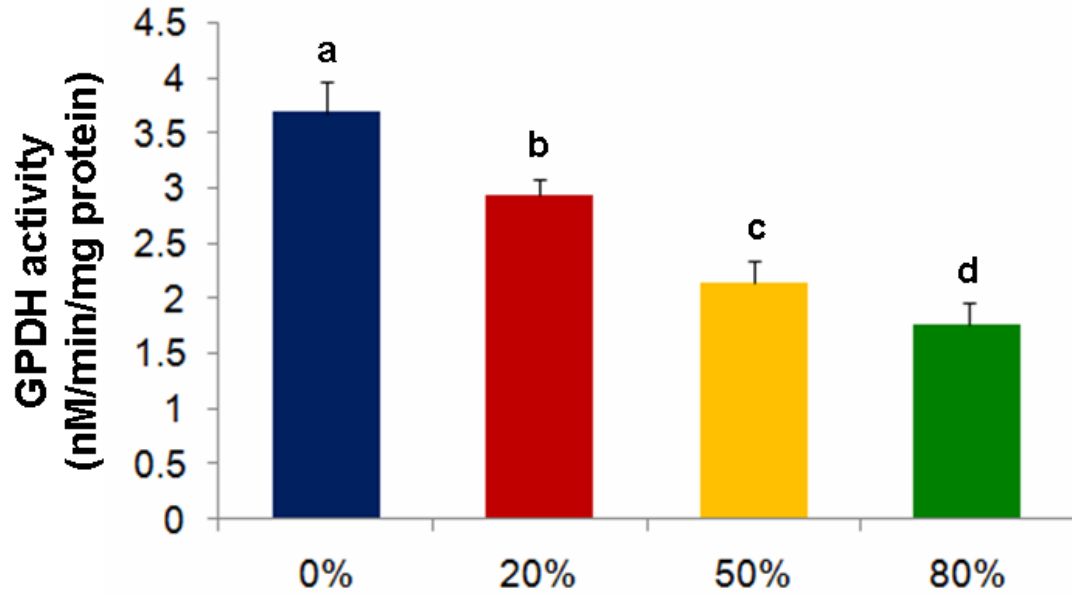


圖 1 2 不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成甘油-3-磷酸去氫酶活性之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清誘導雞隻前脂肪細胞分化，於誘導分化後第 6 天進行甘油-3-磷酸去氫酶活性分析。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80%：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。n=5。^{a, b, c, d} 同列數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 1 2 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet chickens on GPDH activity of conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and GPDH activity assay was performed on day 6 after the induction of differentiation. 0% : serum of 0% MCT replace supplemented diet ; 20% : serum of 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% : serum of 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% : serum of 80% MCT replaced supplemented diet. n=5. ^{a, b, c, d} Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

五、 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻其血清對肉雞脂肪

細胞脂質合成相關基因表現之影響

肉雞前脂肪細胞初代培養於分化第 0 天，分別置換含有以 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8% 大豆油部分飼糧餵飼雞隻之血清的培養基，其中雞血清皆添加分化試劑，並於分化第 2、4 與 6 天萃取脂肪細胞脂總 RNA，以相對定量 RT-PCR 分析脂肪細胞分化相關基因 mRNA 表現量，再以 QuantumRNA™ 18S Internal Standards 套件作為對照，並以 BioRad Quantity One 定量軟體定量，各基因表現量以除以 18S mRNA 之相對數值表示。

脂肪細胞分化是前脂肪細胞接受外源性刺激後，調節一連串不同基因的表現，造成細胞功能與形態改變的過程 (Ntambi and Kim, 2000)。而 C/EBP β 與 PPAR γ 可以促使前脂肪細胞的分化，C/EBP β 在 PPAR γ 開始大量表現前會有短暫性的增加 (Brun *et al.*, 1996 ; Mandrup and Lane, 1997 ; Wu *et al.*, 1996)，於分化中期開始緩慢下降並同時誘發 PPAR γ 表現 (Clarke *et al.*, 1997)，而後 PPAR γ 開始調節下游與分化及代謝相關基因 (Cornelius *et al.*, 1994)，促使脂肪細胞堆積脂質與表現脂肪細胞之特徵，故也可以作為脂肪細胞分化的標誌，實驗結果發現，PPAR γ (圖 13) 基因表現於分化後第 4 天開始有顯著差異，以 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理組顯著低於其他三組；分化培養至第 6 天，PPAR γ 基因表現程度則以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理為最高，其次為 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理，而 50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理為最低。

C/EBP β (圖 14) 基因表現於分化後第 2 天，以 0% 與 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理組顯著高於 50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理組；分化培養至第 6 天，其 C/EBP β 基因表現量以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理組為最高，其次為 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理組，而 50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理組為最低。

另一與脂肪細胞分化有高度相關性的基因即為芳香烴基受體(AhR)，而 AhR 基因表現量 (圖 15)，在分化處理第 2 天皆為高度表現；於分化培養第 4 天具有顯著並且明顯的差異，以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理表現量最高，20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理次之，50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理居第三，而 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理為最低；分化培養第 6 天皆為低表現量。隨著脂肪細胞分化程

度的增加，脂肪細胞亦開始堆積油滴，故此脂質堆積與代謝相關基因開始表現。

脂蛋白脂解酶 (LPL) 為脂質代謝之重要酵素，在實驗結果發現 (圖 16)，於分化培養至第 4 天始有顯著差異，以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理為最高，20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理次之，50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理為最低；至第 6 天差異更為明顯，0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理為最高，20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理為次之，50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理為居第三，而 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理其 LPL 基因表現量最低。

脂肪酸結合蛋白 (α -FABP) 是一可結合長鏈脂肪酸的胞質蛋白，其可調節脂肪酸代謝與轉運作用等，亦可作為脂肪細胞分化末期的標誌基因 (Boord *et al.*, 2002)。 α -FABP 基因表現量 (圖 17) 於分化第 2 天，以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理即顯著高於其他處理組別；持續分化培養至第 6 天，0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理 α -FABP 基因表現量為最高，20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理次之，而 50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理最低並且表現量與 0% 和 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理組有明顯差異。

脂蛋白脂解酶 (LPL) 與脂肪酸結合蛋白 (α -FABP) 均會受 PPAR γ 基因所調控 (Distel *et al.*, 1992)，故 PPAR γ 表現量越高則 LPL 與 α -FABP 越高 (Ding *et al.*, 1999)；PPAR γ 會刺激 LPL 與 α -FABP 並和脂肪酸結合進行合成代謝等後續動作 (Ding and Mersmann, 2001)。因此本試驗之結果應證，PPAR γ 基因表現程度則以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理為最高，而 LPL 與 α -FABP 基因表現程度亦以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理為最高；換而言之，攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理脂肪細胞，其細胞 PPAR γ 、LPL 與 α -FABP 基因表現量均會降低。

葡萄糖運送蛋白-1 (Glut-1) 與葡萄糖運送蛋白-8 (Glut-8) 為脂肪細胞主要的運送蛋白之一，其功能主要是進行葡糖糖運輸。實驗結果發現，Glut-1 (圖 18) 於分化第 2 天，以 0% 與 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理顯著高於 50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理；分化處理第 4 至 6 天，皆是 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理組顯著高於其他處理組。而在 Glut-8 基因表現量 (圖 19)，自分化處理第 2 天即有顯著差異，以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理為最高，20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理次之，80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血

清處理居第三，50%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理為最低；分化處理第4天，以0%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理為最高，20%與50%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理次之，80%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理為最低；分化處理第6天，則以0%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理組明顯高於其他處理組。葡萄糖運送蛋白-1 (Glut-1) 與葡萄糖運送蛋白-8 (Glut-8) 則關係著細胞葡萄糖的攝取與脂質新生成作用 (Kono *et al.*, 2005)，這兩個基因攸關脂肪細胞分化末期的脂質堆積能力與形態的變化。因此，從試驗結果可推測攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清具較低促進成熟脂肪細胞脂質生成與囤積三酸甘油酯之能力。

脂肪油滴表面蛋白 (Perilipin) 為脂肪油滴表面特異性蛋白，其與脂肪油滴的儲存與分解功能有關 (Franke *et al.*, 1987; Greenberg *et al.*, 1991)，故 perilipin 具有調控脂質代謝的功能。於 Perilipin 基因表現量 (圖 20) 自分化處理第2天即有顯著差異，以0%與20%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理顯著高於50%與80%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理組；分化處理第4天，以0%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理為最高，20%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理次之，80%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理居第三，而50%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理最低；分化處理第6天，則以0%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理最高，20%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理，而50%與80%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理明顯低於0%與20%中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理。試驗結果可以推測知道，攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清，其血清對於促進成熟脂肪細胞堆積油脂能力較差 (Franke *et al.*, 1987)。

脂聯素 (adiponectin) 是一種由脂肪組織分泌具有生理功能的蛋白激素，亦屬於脂肪細胞激素 (adipocytokine) 之一；脂聯素會受許多因子調控，因為脂質生成時會刺激脂聯素的活化表現，但在肥胖情形下亦會產生負回饋機制，促使其表現量降低 (Diez and Iglesias, 2003)，因此脂聯素謂為體內調控能量平衡的因子。試驗結果顯示，以攝食含不同比例中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清培養脂肪細胞，第2天時以攝食含0%中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理 adiponectin mRNA 表現量最低，攝食含20%中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理次之，攝食含50%中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理 adiponectin mRNA 表現量居第二高，而以攝食含80%中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清 adiponectin mRNA 表現量為最高；但在第4與6天，各處理間 adiponectin mRNA 表現量則無顯著差異出現。對於第2天，脂肪細胞以無攝食中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理 adiponectin

mRNA 表現量最低，推測原由可能是因為雖然脂質生成時會刺激脂聯素的活化表現，但在脂質短時間大量生成情形下亦會產生負回饋機制，促使其表現量降低 (Diez and Iglesias, 2003)；但 PPAR γ 對於誘發脂聯素亦是不可或缺的 (Iwaki *et al.*, 2003)，PPAR γ 增加會伴隨著脂聯素表現量的提升 (Karbowska and Kochan, 2005)。試驗中發現以攝食含 0% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理脂肪細胞，其 PPAR γ 基因表現量於第 2 天是增加的，但在 adiponectin mRNA 基因表現量並無增加反而減少，所以在此 PPAR γ 與脂質生成相互正負影響下，似乎整體脂肪組織生成在 adiponectin 表現量上占較重要的調控角色。而第 4 與 6 天，脂肪細胞分化與成熟已為後期部分，脂質生成也達到某種程度的穩定，故此 adiponectin mRNA 也維持一定水平，衍伸出另一部分即為 PPAR γ 對於 adiponectin mRNA 表現量的調控在成熟脂肪細胞後期似乎並不明顯。

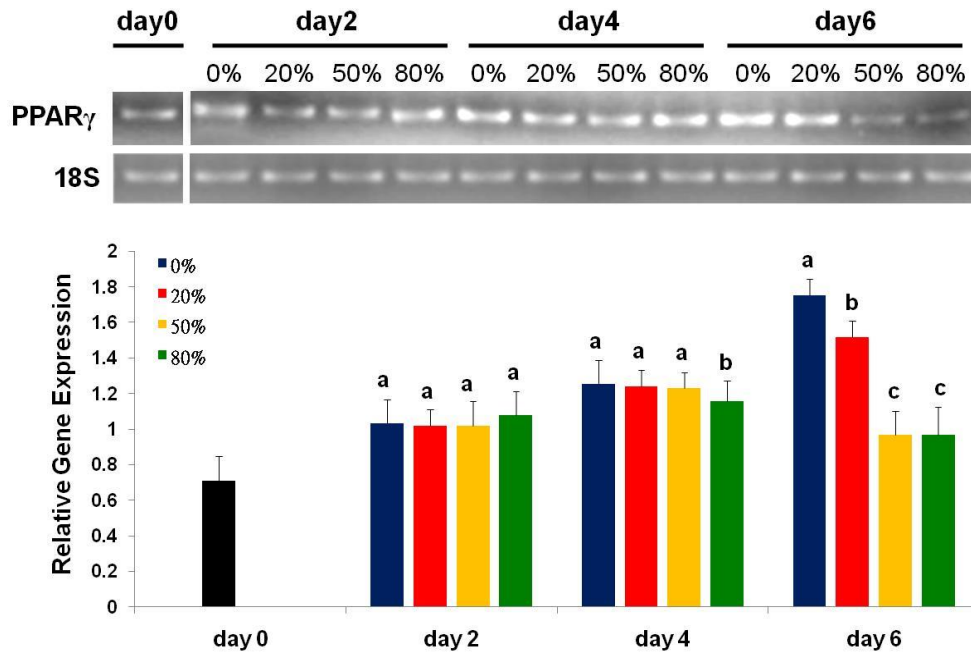


圖 1 3 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成相關基因 PPAR γ mRNA 表現之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清誘導雞隻前脂肪細胞分化，於誘導分化後第 0、2、4 與 6 天收集總 RNA 樣本，以相對定量 RT-PCR 分析，以 18S rRNA 為內源控制組。(A) 相對定量 RT-PCR 分析 PPAR γ ；(B) PPAR γ 基因與 18S rRNA 表現量比值。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80 %：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。^{a, b, c} 同天數同列數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 1 3 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet chickens on the conversion chicken related-gene PPAR γ mRNA levels of conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and total RNAs were prepared on day 0, 2, 4, and 6 after the induction of differentiation and subjected to RT-PCR assay of PPAR γ . The 18S rRNA was included as the internal control. (A) Agarose gel electrophoresis of the PCR products；(B) PPAR γ gene expression relative to the internal control. 0%：serum of 0% MCT supplemented diet；20%：serum of 20% MCT replaced supplemented diet；50%：serum of 50% MCT replaced supplemented diet；80%：serum of 80% MCT replaced supplemented diet. ^{a, b, c} Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

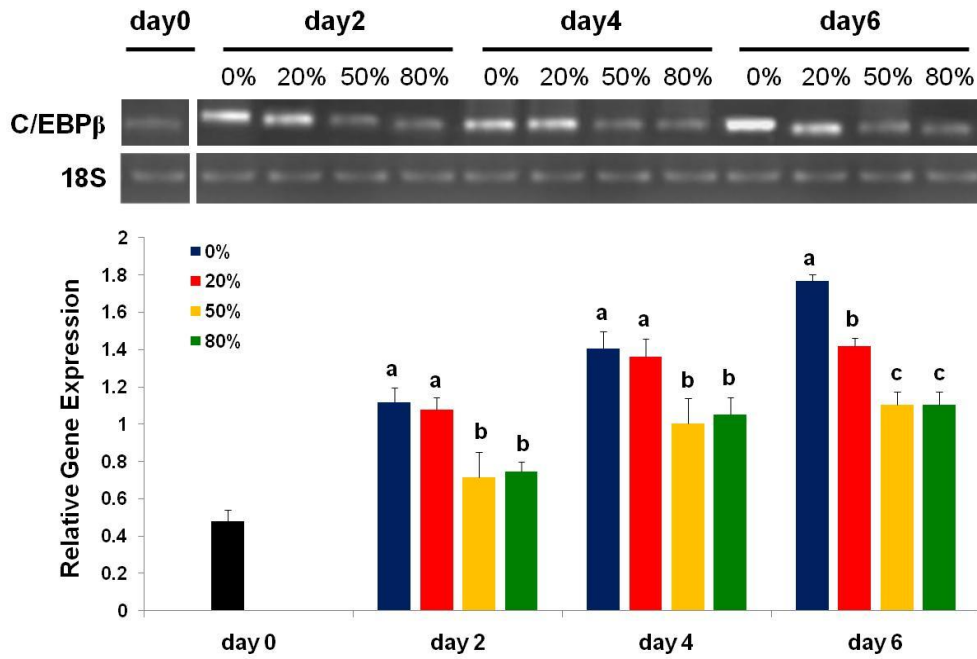


圖 1 4 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成相關基因 C/EBP β mRNA 表現之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清誘導雞隻前脂肪細胞分化，於誘導分化後第 0、2、4 與 6 天收集總 RNA 樣本，以相對定量 RT-PCR 分析，以 18S rRNA 為內源控制組。(A) 相對定量 RT-PCR 分析 C/EBP β ；(B) C/EBP β 基因與 18S rRNA 表現量比值。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80%：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。^{a, b, c} 同天數同列數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 1 4 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet chickens on the conversion chicken related-gene C/EBP β mRNA levels of conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and total RNAs were prepared on day 0, 2, 4, and 6 after the induction of differentiation and subjected to RT-PCR assay of C/EBP β . The 18S rRNA was included as the internal control. (A) Agarose gel electrophoresis of the PCR products；(B) C/EBP β gene expression relative to the internal control. 0%：serum of 0% MCT supplemented diet；20%：serum of 20% MCT replaced supplemented diet；50%：serum of 50% MCT replaced supplemented diet；80%：serum of 80% MCT replaced supplemented diet. ^{a, b, c} Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

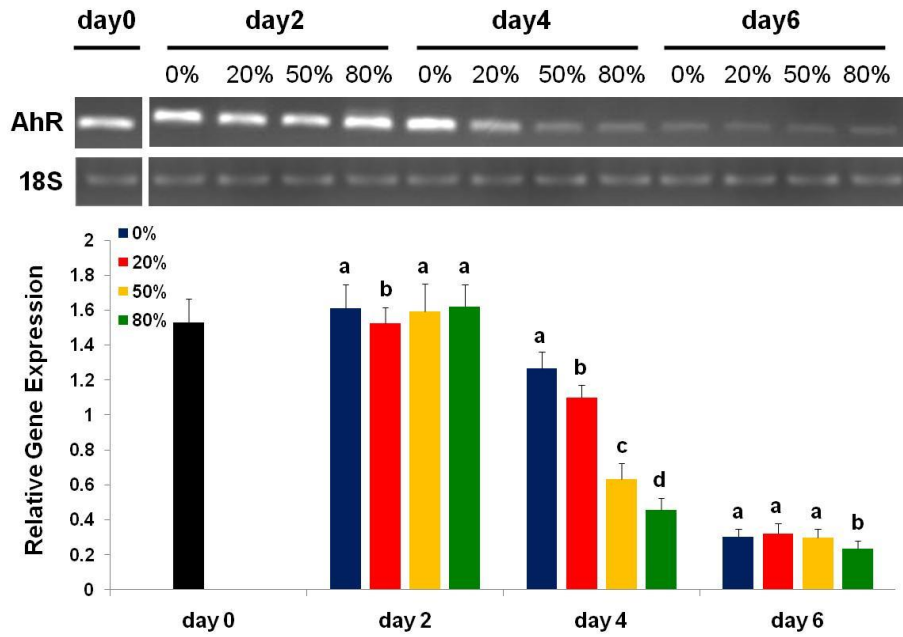


圖 1 5 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成相關基因 AhR mRNA 表現之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清誘導雞隻前脂肪細胞分化，於誘導分化後第 0、2、4 與 6 天收集總 RNA 樣本，以相對定量 RT-PCR 分析，以 18S rRNA 為內源控制組。(A) 相對定量 RT-PCR 分析 AhR；(B) AhR 基因與 18S rRNA 表現量比值。0%：0% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80%：80% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼之白肉雞血清。^{a, b, c, d} 同天數同列數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 1 5 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet chickens on the conversion chicken related-gene AhR mRNA levels of conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and total RNAs were prepared on day 0, 2, 4, and 6 after the induction of differentiation and subjected to RT-PCR assay of AhR. The 18S rRNA was included as the internal control. (A) Agarose gel electrophoresis of the PCR products；(B) AhR gene expression relative to the internal control. 0%：serum of 0% MCT supplemented diet；20%：serum of 20% MCT replaced supplemented diet；50%：serum of 50% MCT replaced supplemented diet；80%：serum of 80% MCT replaced supplemented diet. ^{a, b, c, d} Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

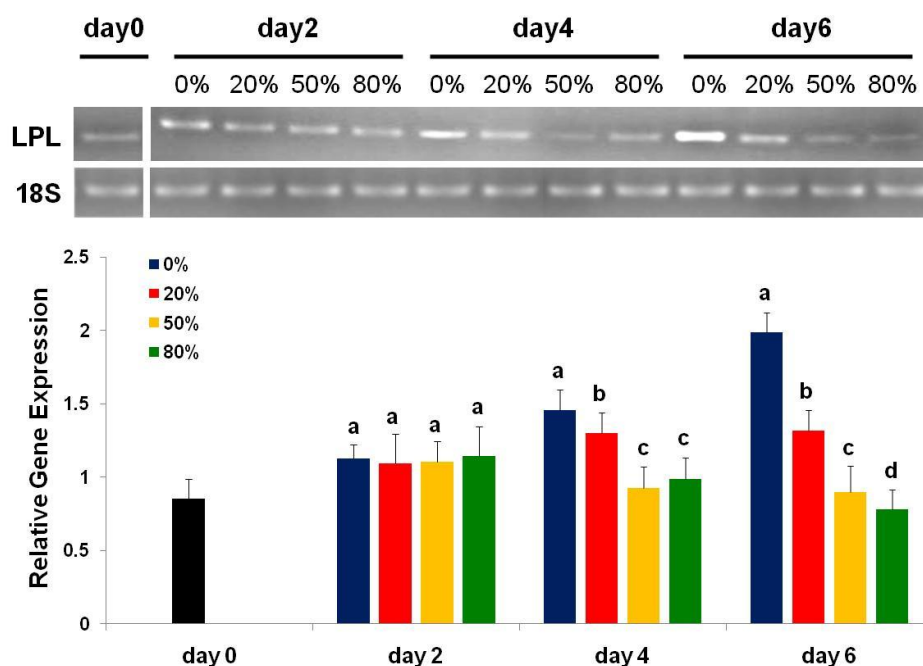


圖 1 6 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成相關基因 LPL mRNA 表現之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清誘導雞隻前脂肪細胞分化，於誘導分化後第 0、2、4 與 6 天收集總 RNA 樣本，以相對定量 RT-PCR 分析，以 18S rRNA 為內源控制組。(A) 相對定量 RT-PCR 分析 LPL；(B) LPL 基因與 18S rRNA 表現量比值。0%：0% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80 %：80% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼之白肉雞血清。^{a, b, c, d} 同天數同列數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 1 6 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet chickens on the conversion chicken related-gene LPL mRNA levels of conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and total RNAs were prepared on day 0, 2, 4, and 6 after the induction of differentiation and subjected to RT-PCR assay of LPL. The 18S rRNA was included as the internal control. (A) Agarose gel electrophoresis of the PCR products；(B) LPL gene expression relative to the internal control. 0%：serum of 0% MCT supplemented diet；20%：serum of 20% MCT replaced supplemented diet；50%：serum of 50% MCT replaced supplemented diet；80%：serum of 80% MCT replaced supplemented diet. ^{a, b, c, d} Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

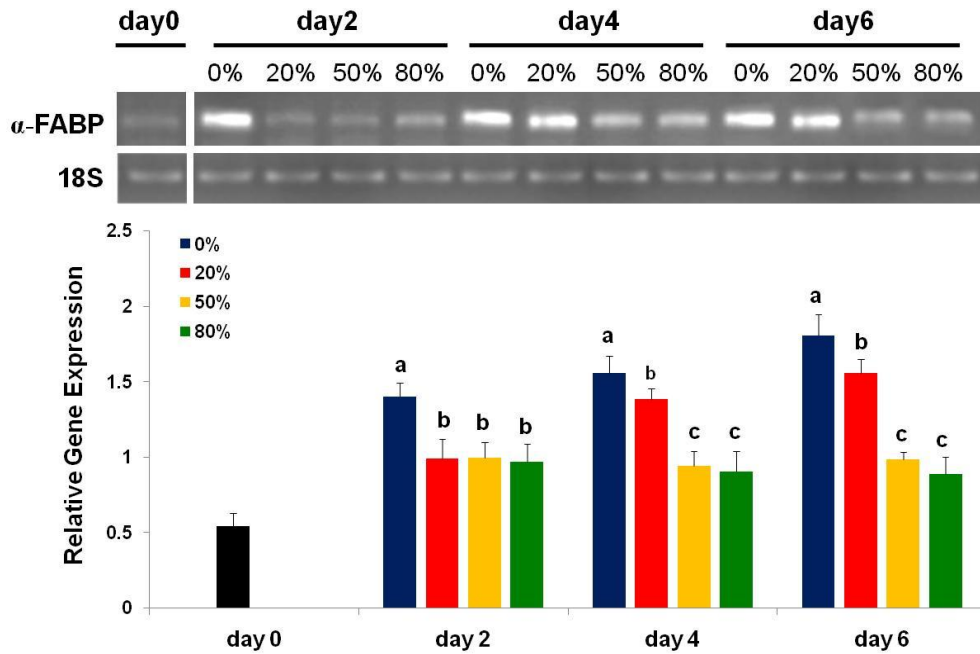


圖 1 7 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成相關基因 α -FABP mRNA 表現之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清誘導雞隻前脂肪細胞分化，於誘導分化後第 0、2、4 與 6 天收集總 RNA 樣本，以相對定量 RT-PCR 分析，以 18S rRNA 為內源控制組。(A) 相對定量 RT-PCR 分析 α -FABP；(B) α -FABP 基因與 18S rRNA 表現量比值。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80%：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。^{a, b, c} 同天數同列數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 1 7 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet chickens on the conversion chicken related-gene α -FABP mRNA levels of conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and total RNAs were prepared on day 0, 2, 4, and 6 after the induction of differentiation and subjected to RT-PCR assay of α -FABP. The 18S rRNA was included as the internal control. (A) Agarose gel electrophoresis of the PCR products；(B) α -FABP gene expression relative to the internal control. 0%：serum of 0% MCT supplemented diet；20%：serum of 20% MCT replaced supplemented diet；50%：serum of 50% MCT replaced supplemented diet；80%：serum of 80% MCT replaced supplemented diet. ^{a, b, c} Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

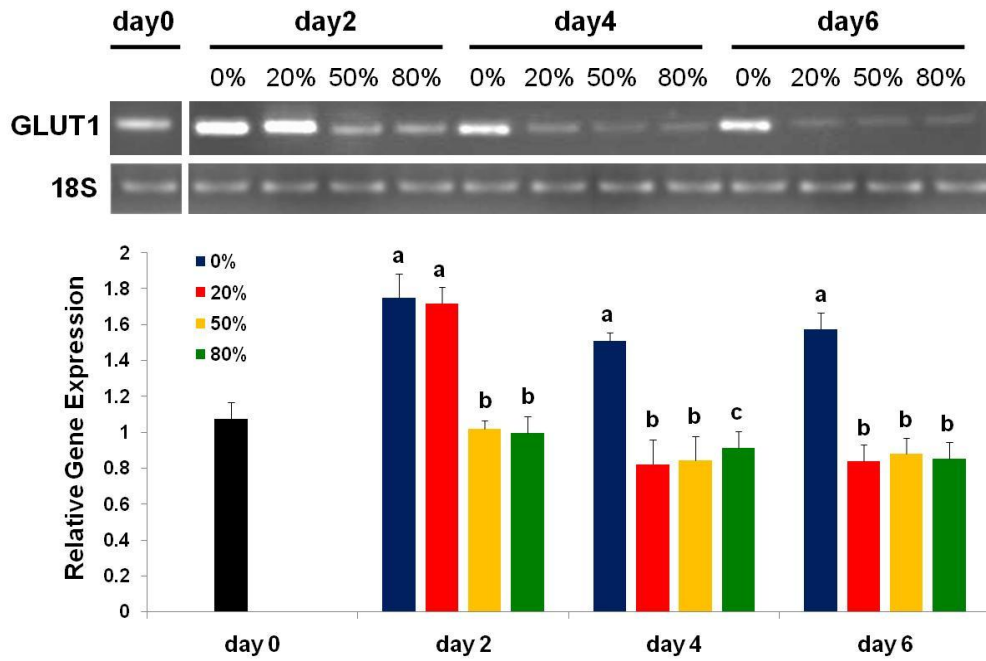


圖 1 8 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成相關基因 GLUT1 mRNA 表現之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清誘導雞隻前脂肪細胞分化，於誘導分化後第 0、2、4 與 6 天收集總 RNA 樣本，以相對定量 RT-PCR 分析，以 18S rRNA 為內源控制組。(A) 相對定量 RT-PCR 分析 GLUT1；(B) GLUT1 基因與 18S rRNA 表現量比值。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80 %：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。^{a, b} 同天數同列數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 1 8 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet chickens on the conversion chicken related-gene GLUT1 mRNA levels of conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and total RNAs were prepared on day 0, 2, 4, and 6 after the induction of differentiation and subjected to RT-PCR assay of GLUT1. The 18S rRNA was included as the internal control. (A) Agarose gel electrophoresis of the PCR products; (B) GLUT1 gene expression relative to the internal control. 0% : serum of 0% MCT supplemented diet; 20% : serum of 20% MCT replaced supplemented diet; 50% : serum of 50% MCT replaced supplemented diet; 80% : serum of 80% MCT replaced supplemented diet. ^{a, b} Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

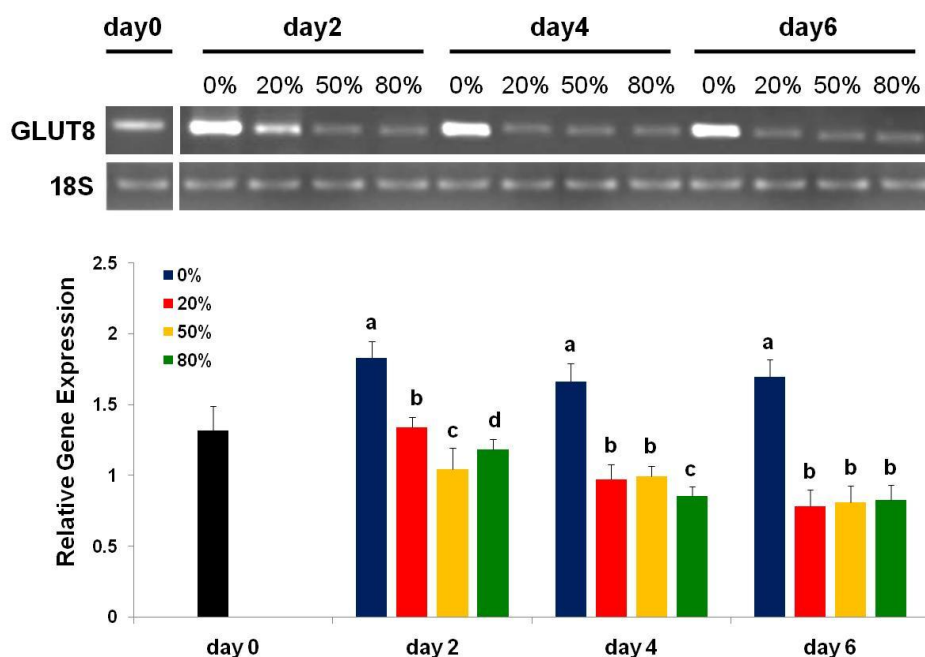


圖 1 9 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成相關基因 GLUT8 mRNA 表現之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清誘導雞隻前脂肪細胞分化，於誘導分化後第 0、2、4 與 6 天收集總 RNA 樣本，以相對定量 RT-PCR 分析，以 18S rRNA 為內源控制組。(A) 相對定量 RT-PCR 分析 GLUT8；(B) GLUT8 基因與 18S rRNA 表現量比值。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80%：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。^{a, b, c, d} 同天數同列數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 1 9 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet chickens on the conversion chicken related-gene GLUT8 mRNA levels of conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and total RNAs were prepared on day 0, 2, 4, and 6 after the induction of differentiation and subjected to RT-PCR assay of GLUT8. The 18S rRNA was included as the internal control. (A) Agarose gel electrophoresis of the PCR products；(B) GLUT8 gene expression relative to the internal control. 0%：serum of 0% MCT supplemented diet；20%：serum of 20% MCT replaced supplemented diet；50%：serum of 50% MCT replaced supplemented diet；80%：serum of 80% MCT replaced supplemented diet. ^{a, b, c, d} Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

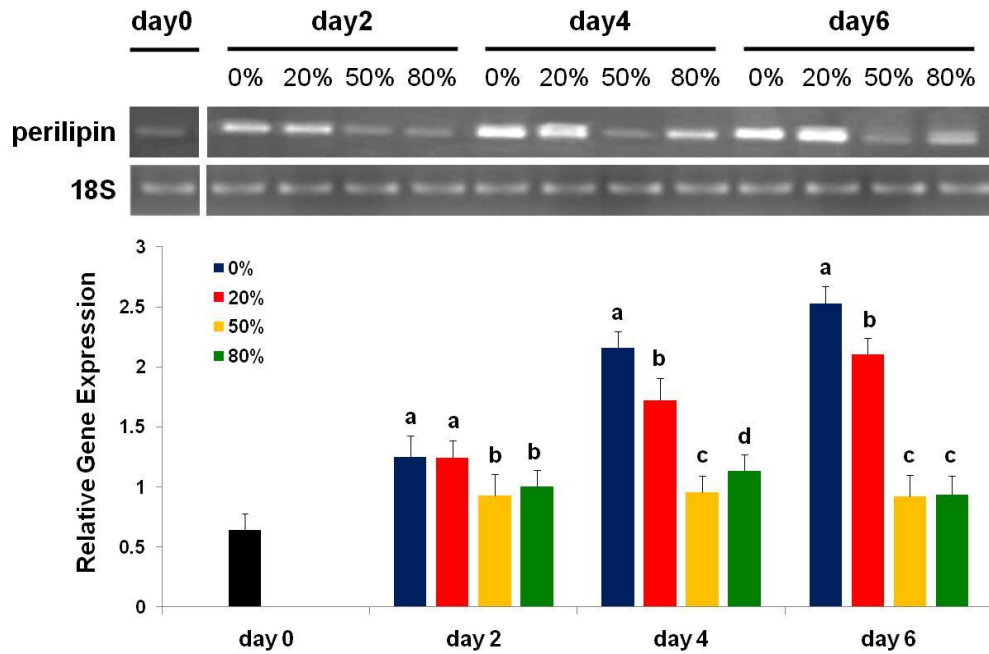


圖 20 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成相關基因 perilipin mRNA 表現之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清誘導雞隻前脂肪細胞分化，於誘導分化後第 0、2、4 與 6 天收集總 RNA 樣本，以相對定量 RT-PCR 分析，以 18S rRNA 為內源控制組。(A) 相對定量 RT-PCR 分析 perilipin；(B) perilipin 基因與 18S rRNA 表現量比值。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80%：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。^{a, b, c, d} 同天數同列數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 20 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet chickens on the conversion chicken related-gene perilipin mRNA levels of conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and total RNAs were prepared on day 0, 2, 4, and 6 after the induction of differentiation and subjected to RT-PCR assay of perilipin. The 18S rRNA was included as the internal control. (A) Agarose gel electrophoresis of the PCR products；(B) perilipin gene expression relative to the internal control. 0%：serum of 0% MCT supplemented diet；20%：serum of 20% MCT replaced supplemented diet；50%：serum of 50% MCT replaced supplemented diet；80%：serum of 80% MCT replaced supplemented diet. ^{a, b, c, d} Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

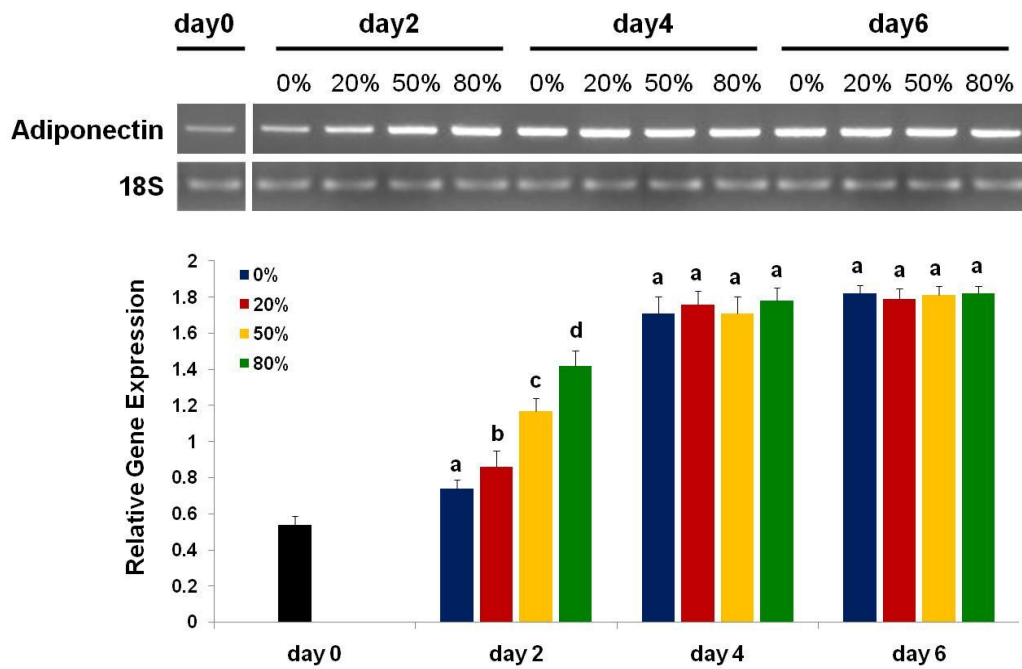


圖 2 1 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞形成相關基因 adiponectin mRNA 表現之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清誘導雞隻前脂肪細胞分化，於誘導分化後第 0、2、4 與 6 天收集總 RNA 樣本，以相對定量 RT-PCR 分析，以 18S rRNA 為內源控制組。(A) 相對定量 RT-PCR 分析 adiponectin；(B) adiponectin 基因與 18S rRNA 表現量比值。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80%：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。^{a, b, c, d} 同天數同列數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 2 1 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet chickens on the conversion chicken related-gene adiponectin mRNA levels of conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and total RNAs were prepared on day 0, 2, 4, and 6 after the induction of differentiation and subjected to RT-PCR assay of adiponectin. The 18S rRNA was included as the internal control. (A) Agarose gel electrophoresis of the PCR products；(B) adiponectin gene expression relative to the internal control. 0%：serum of 0% MCT supplemented diet；20%：serum of 20% MCT replaced supplemented diet；50%：serum of 50% MCT replaced supplemented diet；80%：serum of 80% MCT replaced supplemented diet. ^{a, b, c, d} Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

六、 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻其血清對雞脂肪細

胞脂肪酸組成之影響

雞前脂肪細胞初代培養於分化第 0 天，分別置換含有 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8% 大豆油部分飼糧餵飼雞隻之血清的培養基，其中雞血清皆添加分化試劑，並於分化第 2、4 與 6 天收集，以 PBS 輕微沖洗下完整脂肪細胞並經由甲基化處理後利用氣相層析儀分析。實驗結果顯示（圖 22），脂肪細胞脂肪酸中之棕櫚酸（palmitic；C16:0）百分比在各處理組隨分化而降低，以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理降低幅度最大，其次為 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清，50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理降低幅度居第三，而以 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理，棕櫚酸隨百分比並未分化天數增加而降低。於第 6 天，攝食含 0% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理之脂肪細胞其棕櫚酸所占細胞脂肪酸組成整體百分比為 28.01%，攝食含 20% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 30.86%，攝食含 50% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 30.09%，攝食含 80% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 34.43%。

脂肪細胞脂肪酸組成中之硬脂酸（stearic；C18:0）百分比示於圖 22，各處理組之百分比皆隨分化天數增加而降低，但彼此間降低的幅度無明顯差異。於第 6 天時攝食含 0% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理之脂肪細胞其硬脂酸所占細胞脂肪酸組成整體百分比為 15.99%，攝食含 20% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 15.72%，攝食含 50% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 16.80%，攝食含 80% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 16.61%。

脂肪細胞脂肪酸組成中之棕櫚油酸（palmitoleic；C16:1）百分比見圖 23，各處理組百分比皆隨分化天數增加而提高，以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理提高幅度最大，其次為 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清，50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理提高幅度居第三，而 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理，棕櫚油酸隨分化天數增加所占百分比提高幅度為最小。於第 6 天時攝食含 0% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理之脂肪細胞其棕櫚油酸所占細胞脂肪酸組成整體百分比為 29.97%，攝食含 20% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 22.82%，攝食含 50% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 17.51%，攝食含 80% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 14.09%。

脂肪細胞脂肪酸組成中之油酸（oleic；C18:1）百分比示於圖 23，各處理組

之 C18:1 百分比皆隨分化天數增加而提高，但彼此間提高的幅度無明顯差異。於第 6 天時攝食含 0% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理之脂肪細胞其油酸所占細胞脂肪酸組成整體百分比為 14.09%，攝食含 20% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 14.03%，攝食含 50% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 14.73%，攝食含 80% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 13.93%。

脂肪細胞脂肪酸組成中之亞麻油酸 (linoleic ; C18:2) 百分比示於圖 24，各處理組百分比皆隨分化天數增加而降低，以 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理降低幅度最大，其次為 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清，50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理與 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清處理組別，亞麻油酸隨分化天數增加所占百分比降低幅度為最小，但兩組處理間降低幅度無明顯差異。於第 6 天時攝食含 0% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理之脂肪細胞其亞麻油酸所占細胞脂肪酸組成整體百分比為 7.51%，攝食含 20% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 13.99%，攝食含 50% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 16.89%，攝食含 80% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 17.17%。

脂肪細胞脂肪酸組成中之次亞麻油酸 (linolenic ; C18:3) 之百分比示於圖 24，各處理組別間無明顯趨勢與差異存在。於第 6 天時攝食含 0% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理之脂肪細胞其次亞麻油酸所占細胞脂肪酸組成整體百分比為 4.39%，攝食含 20% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 3.44%，攝食含 50% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 3.95%，攝食含 80% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理為 3.73%。

脂肪細胞脂肪酸的組成變化與不同血清誘發脂肪細胞分化有密切關係，因為血液中的脂肪酸及其衍生物可以調節脂肪細胞分化 (Chu *et al.*, 2006) 影響脂肪組織發育 (Azain, 2004)，並且反應於細胞內油滴與細胞膜上，因脂肪酸亦可提供動物生成細胞膜所必須之磷脂質進而影響細胞膜功能與代謝速率。本結果顯示，以攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清培養脂肪細胞，其細胞整體飽合脂肪酸中的棕櫚酸 (palmitic ; C16:0) 與亞麻油酸 (linoleic ; C18:2) 含量高於以未攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清所培養之脂肪細胞，而棕櫚酸與亞麻油酸所扮演的角色則是抑制脂肪細胞的分化 (Ding and Mersmann, 2001 ; Madsen *et al.*, 2005 ; Mustad *et al.*, 1996)，推測脂肪細胞內整體脂肪酸組成比例可能是造成分化不佳影響因素之一 (Huys *et al.*, 1994)；而其作用機制會在後續血清內脂肪酸組成中詳加討論。

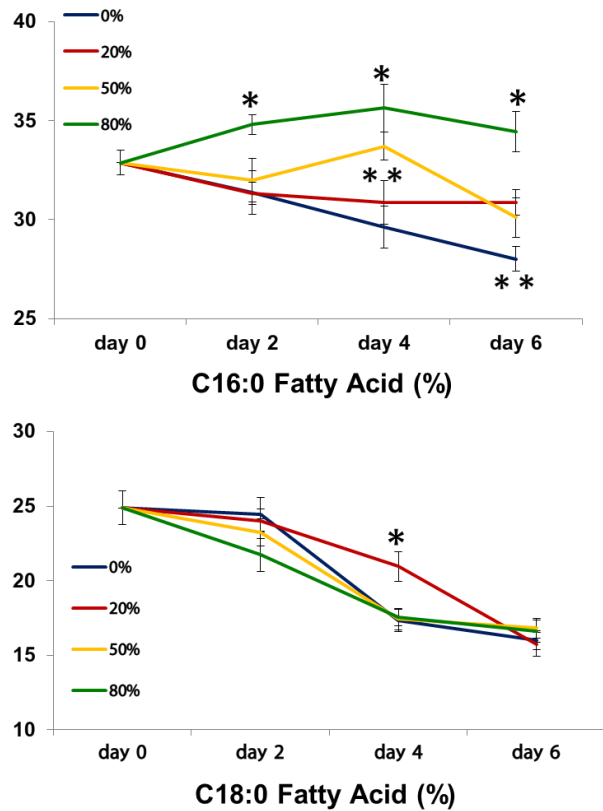


圖 2 2 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對脂肪細胞脂肪酸組成之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清誘導雞隻前脂肪細胞分化，於誘導分化後第 0、2、4 與 6 天收集脂肪細胞進行脂肪酸甲基化，而後利用氣相層析儀分析。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80%：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。同天數同列數據標以不同*者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 2 2 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet chickens on the conversion chicken fatty acid composition of conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and GC assay was performed on day 0, 2, and 6 after the induction of differentiation. 0% : serum of 0% MCT supplemented diet ; 20% : serum of 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% : serum of 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% : serum of 80% MCT replaced supplemented diet. *Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

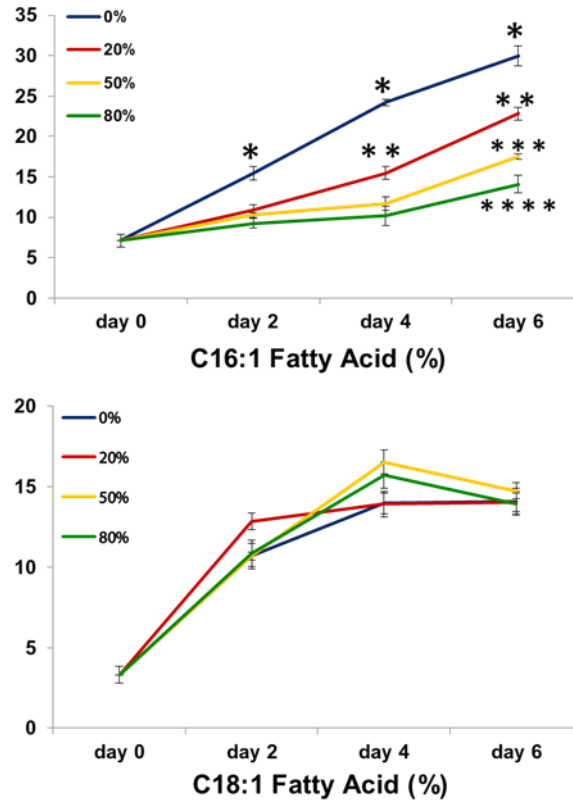


圖 2 3 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對脂肪細胞脂肪酸組成之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清誘導雞隻前脂肪細胞分化，於誘導分化後第 0、2、4 與 6 天收集脂肪細胞進行脂肪酸甲基化，而後利用氣相層析儀分析。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80%：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。同天數同列數據標以不同*者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 2 3 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet chickens on the conversion chicken fatty acid composition of conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and GC assay was performed on day 0, 2, and 6 after the induction of differentiation. 0% : serum of 0% MCT supplemented diet ; 20% : serum of 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% : serum of 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% : serum of 80% MCT replaced supplemented diet. *Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

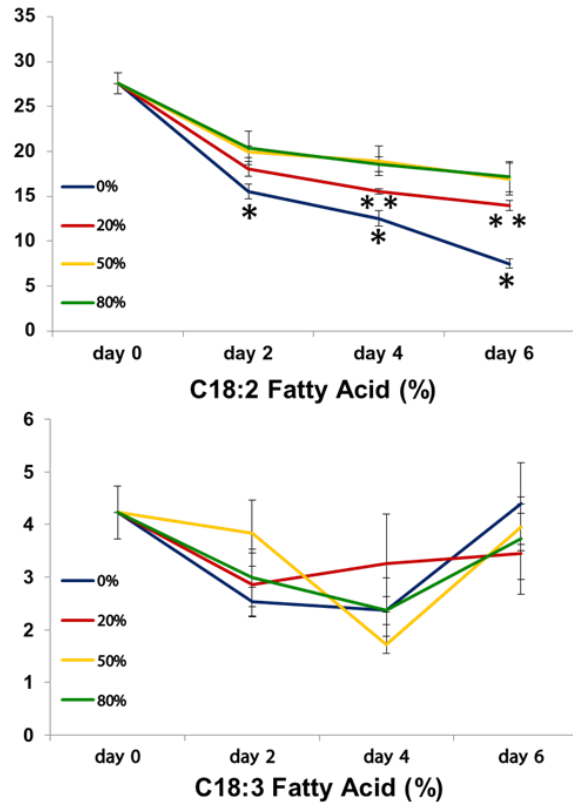


圖 2.4 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對脂肪細胞脂肪酸組成之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞之血清誘導雞隻前脂肪細胞分化，於誘導分化後第 0、2、4 與 6 天收集脂肪細胞進行脂肪酸甲基化，而後利用氣相層析儀分析。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80%：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。同天數同列數據標以不同*者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 2.4 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet chickens on the conversion chicken fatty acid composition of conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and GC assay was performed on day 0, 2, and 6 after the induction of differentiation. 0% : serum of 0% MCT supplemented diet ; 20% : serum of 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% : serum of 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% : serum of 80% MCT replaced supplemented diet. * Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

七、不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻其血清脂肪酸組成

於雞隻飼養的第一天起，分別以不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻，其處理分別有 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8% 大豆油部分飼糧，於飼養至 36 日齡犧牲，收集雞隻血液，待其 4°C、24 小時凝血後，離心收集血清並過濾，而後直接甲基化再利用氣相層析分析血清中脂肪酸組成。實驗結果顯示（圖 25），於血清中己酸（caproic；C6:0）含量，20% 與 50% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清含量最高，80% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量次之，0% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量最低。血清中辛酸（caprylic；C8:0）含量以 20% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清含量最高，50% 與 80% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清含量次之，0% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量最低。於血清中癸酸（capric；C10:0）含量分析，80% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量最高，50% 與 20% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量次之，0% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量最低。於血清中棕櫚酸（palmitic；C16:0）含量以 20%、50% 與 80% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清含量彼此間無顯著差但皆明顯高於 0% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其內含量。於血清中棕櫚油酸（palmitoleic；C16:1）含量以 0% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量最高，20% 與 50% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量次之，80% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量最低。於血清中硬脂酸（stearic；C18:0）含量以 0% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量最高，20% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量次之，50% 與 80% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量最低。於血清中油酸（oleic；C18:1）含量以 0% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量最高，20% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量次之，50% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量居第三，80% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量最低。於血清中亞麻油酸（linoleic；C18:2）含量以 80% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量最高，50% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量次之，20% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量居於第三，0% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量最低。於血清中次亞麻油酸（linolenic；C18:3）含量以 0% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量最高，50% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量次之，20% 與 80% 中鏈脂肪酸取代飼糧餵飼雞隻之血清其含量最低。

因為血清內所含較高百分比的癸酸（capric；C10:0）、棕櫚酸（palmitic；C16:0）與亞麻油酸（linoleic；C18:2）等脂肪酸組成，如此會降低該血清誘發與促進脂肪細胞分化之能力而抑制前脂肪細胞分化（Mustad *et al.*, 1996），因為癸酸（capric；

C10:0) 會透過抑制 PPAR γ 的表現而減緩後續相關脂肪細胞分化與脂質生成的表現 (Han *et al.*, 2003); 棕櫚酸 (palmitic; C16:0) 則會降低 LDL receptor 及該基因表現量 (Mustad *et al.*, 1996) 與脂質生成等作用而減緩脂質的代謝合成; 亞麻油酸 (linoleic; C18:2) 會藉由降低肝臟中與脂肪合成的相關表現, 其中飽含有脂肪合成、蘋果酸酵素活性降低 (malic enzyme) 和葡萄糖-6-磷酸去氫作用減緩等 (Allmann *et al.*, 1965) 而減少動物體脂質生成, 同時亦可抑制 PPAR γ mRNA 的表現量進而降低下游相關脂肪細胞分化與脂質生成的基因表現, 進而減少脂肪細胞內油滴的堆積與整體脂肪組織的生成。反之, 血清內含較低百分比的油酸 (oleic; C18:1), 則會降低血清誘發與促進脂肪細胞分化及堆積油脂之能力而減緩脂肪細胞分化與堆油。因為油酸可以透過促進脂肪酸結合蛋白的活化、脂蛋白脂肪和轉錄因子 PPAR γ 的表達顯著地增加脂肪細胞的分化 (Ding and Mersmann, 2001), 因此, 在低油酸血清脂肪酸組成的情形下, 此些刺激作用固然不活躍而脂肪細胞分化程度亦不佳。

脂肪酸與其衍生物是如何影響脂肪細胞分化呢? 近年來許多證據皆支持脂肪酸影響脂肪代謝及脂肪細胞分化主要經由轉錄因子 PPAR γ 調控 (Chawla *et al.*, 1994; Madsen *et al.*, 2005)。其主要透過影響轉錄因子 PPAR 家族的表達來改變與調節脂肪細胞功能, 因為脂肪酸或其代謝產物可做為與 PPAR γ receptor 結合的配體 (ligand) (Kliwer *et al.*, 1997; Madsen *et al.*, 2005), 透過與 PPAR γ receptor 的結合可直接增進刺激 PPAR γ 的活性與受 PPAR γ 所調控的相關表現, 亦或是增加 PPAR γ mRNA 的表達 (Ding and Mersmann, 2001)。

許多脂肪酸與其衍生物均可為 PPAR 家族的配體, 不同的 PPAR 成員 (PPAR α 和 PPAR γ) 對其配體結合的親和力不同, 尤其是不同脂肪酸可與 PPAR α 或 PPAR γ 的結合特性亦不同 (Krey *et al.*, 1997; Kliwer *et al.*, 1997)。脂肪酸或是脂肪酸衍生物若結合活化 PPAR α , 此轉錄因子則會進一步增進脂肪酸輔氧化 (ACO) 和肉鹼棕櫚酸輔轉化 (CPTI) 的表達, 而此二酵素主要功能為提高脂肪酸氧化來降低脂肪堆積; 若透過結合活化 PPAR γ 則會促進脂蛋白脂肪和脂肪酸結合蛋白的表達, 進而促進脂肪細胞分化 (Ding and Mersmann, 2001)。但脂肪酸與其衍生物的促進亦或抑制脂肪細胞分化與脂質生成及堆積並無明確統一標準, 有可能同一種脂肪酸對於不同物種之動物所具有的效應 (促進分化或是抑制分化) 並不相同, 所以有可能於齧齒類與哺乳類動物為促進作用而在禽類動物則為抑制作用的情形出現 (Han *et al.*, 2003; Krey *et al.*, 1997; Kliwer *et al.*, 1997; Takeuchi *et al.*, 2006; Ooyama *et al.*, 2007)。

因此推論, 雞隻攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧造成體脂降低, 而造成脂肪組織

減少之原因可能是經由雞隻血清內所含之脂肪酸組成改變降低血清誘發與促進脂肪細胞分化及堆積油脂之能力，進而減緩脂肪組織生長發育。

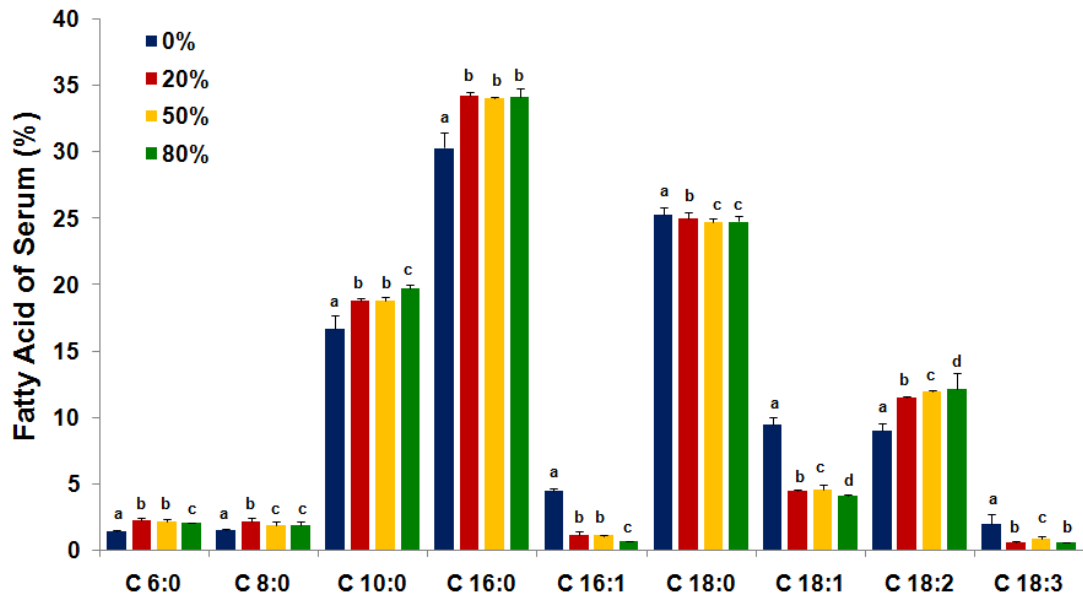


圖 2 5 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞對其血清脂肪酸組成之影響。使用不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼白肉雞 36 日齡後收集其血清進行脂肪酸甲基化，而後利用氣相層析儀分析。0%：0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20%：20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50%：50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80%：80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。n=5。a, b, c, d 同脂肪酸數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 2 5 The effects of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet chickens on serum fatty acid composition of chickens. GC assay of serum from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens on the age of day 36. 0% : serum of 0% MCT supplemented diet ; 20% : serum of 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% : serum of 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% : serum of 80% MCT replaced supplemented diet. n=5. ^{a, b, c, d} Values in the same fatty acid with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

試驗參、餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧之白色肉雞 其血清對脂肪細胞分化後期之影響

由試驗貳結果可知，以餵飼中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻之血清培養雞前脂肪細胞，發現其誘導前脂肪細胞分化成為脂肪細胞之能力降低，並造成脂肪細胞分化相關基因表現量降低、三酸甘油酯含量減少與甘油-3-磷酸去氫酶活性降低等影響。推斷餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧之白色肉雞其血清會減緩脂肪細胞分化；但對於成熟脂肪細胞之影響所知甚少。因此試驗參擬探討餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧之白色肉雞其血清對於脂肪細胞分化後期之影響。

試驗以 36 日齡肉雞前脂肪細胞初代培養為試驗模式。在分化過程中，第 0 天至第 4 天皆以雞血清（chicken serum；CKS）進行培養；於第 4 天後，分別置換添加取自以 0%、20%、50%與 80%中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8%大豆油部分飼糧餵飼雞隻之血清，並於分化第 8 天進行各項相關分析。

一、 餵飼中鏈三酸甘油酯取代飼糧之白色肉雞其血清對雞脂肪細胞 分化後期形態之影響

雞前脂肪細胞初代培養誘發脂肪細胞分化，皆以雞血清（chicken serum；CKS）培養，其中雞血清皆添加分化試劑；培養至第 4 天，分別置換含有以 0%、20%、50%與 80%中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8%大豆油部分飼糧餵飼雞隻之血清的培養基，並於分化第 4、6 與 8 天觀察記錄細胞分化形態。

實驗結果發現（圖 26），於第 4 天確認細胞分化，具有油滴堆積。經處理在分化第 6 天觀察脂肪細胞堆積油滴之情形，0%、20%、50%與 80%中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8%大豆油部分飼糧餵飼雞隻之血清各處理組間無明顯差異；至分化第 8 天觀察脂肪細胞堆積油滴之情形，0%、20%、50%與 80%中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8%大豆油部分飼糧餵飼雞隻之血清各處理間亦無明顯差異，均呈現渾圓之形態。

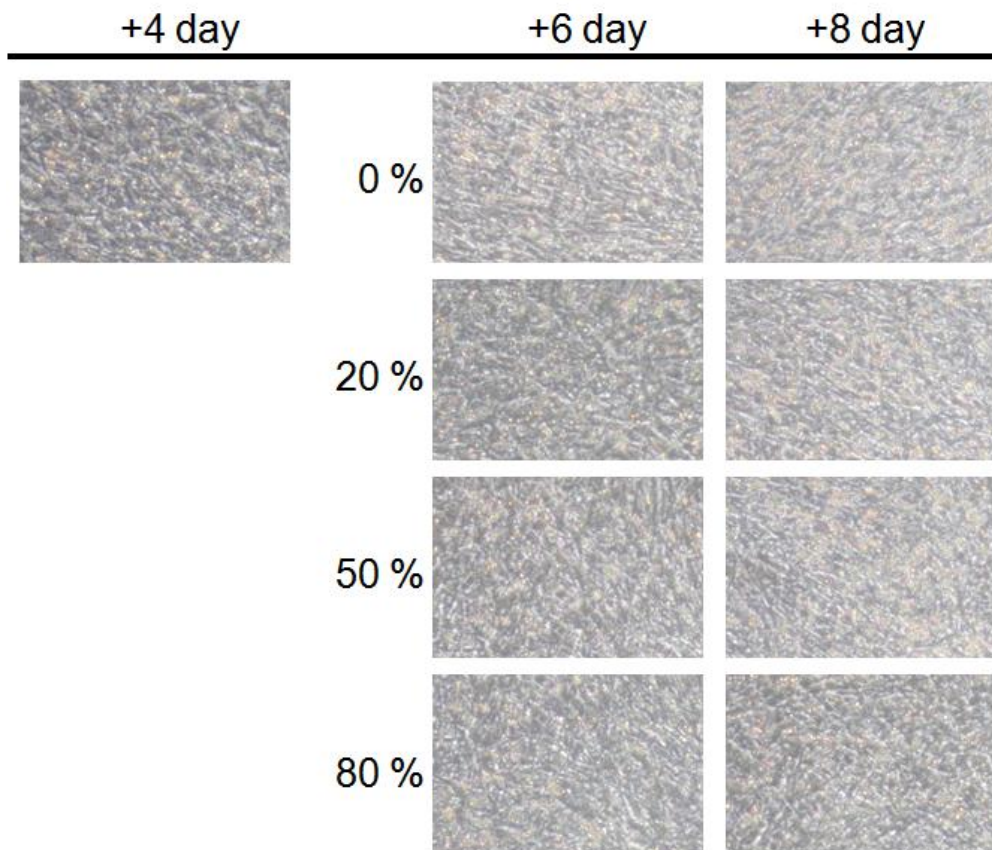


圖 2 6 餵飼不同比率中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對脂肪細胞分化後期形態之影響。使用雞血清 (CKS) 培養肉雞前脂肪細胞並於+0 day 添加分化試劑誘導雞隻前脂肪細胞分化, 再於+4 day 置換不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清持續培養並於+6 day 與+8 day 進行細胞形態觀察。0%:0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清; 20%:20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清; 50%:50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清; 80%:80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。放大倍率皆為 100 倍。

Figure 2 6 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet on chicken late stage adipocytes. Cells were stimulated to differentiate in CKS serum until day 4 and changed sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and microscopic analysis was prepared on day 4, 6 and 8 after the induction of differentiation (Magnification: 100X). 0% : serum of 0% MCT replaced supplemented diet ; 20% : serum of 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% : serum of 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% : serum of 80% MCT replaced supplemented diet.

二、 餵飼中鏈三酸甘油酯取代飼糧之白色肉雞其血清對雞脂肪細胞

分化後期脂質分解作用之影響

雞前脂肪細胞初代培養誘發脂肪細胞分化，皆以雞血清(chicken serum; CKS) 添加分化試劑培養至第 4 天，分別置換含有 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8% 大豆油部分飼糧餵飼雞隻之血清的培養基，並於分化第 8 天進行分析。於第 8 天，更換 DMEM (phenol-red free) (添加 2% BSA 與 0.02% 抗壞血酸)，培養同時分別處理有添加 7 nM 升糖激素 (glucagon) 與無添加組，於第 1、3、6 與 12 小時收集培養液分析甘油含量並進行蛋白質定量，比較餵飼中鏈三酸甘油酯取代飼糧之白色肉雞其血清對脂肪細胞分化後期之脂質分解作用的影響。

實驗結果顯示 (圖 27)，以 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8% 大豆油部分飼糧餵飼雞隻其血清培養下同時無添加升糖激素處理組，無論在第 1、3、6 與 12 小時，0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻其血清彼此間均無顯著差異。而在以 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻其血清培養下同時添加 7 nM 升糖激素處理組，在處理後第 1 小時，於 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻其血清培養組 (170.27 nmole/mg) 顯著高於其他處理組；但於第 3、6 與 12 小時，0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻其血清彼此間均無顯著差異。

由上述結果推斷，餵飼中鏈三酸甘油酯取代飼糧之雞隻其血清對於成熟脂肪細胞之脂質分解作用無顯著影響。脂肪細胞的脂質堆積決定於兩大生理反應間的平衡，即脂質生成作用 (lipogenesis) 與脂質分解作用 (lipolysis)。脂質分解作用為三酸甘油酯分解的過程，此將三酸甘油酯分解成一分子的甘油與三分子的脂肪酸，並透過相關合成代謝路徑將其重新利用，藉此調節體內能量平衡 (Langin *et al.*, 1996)。因此，餵飼中鏈三酸甘油酯取代飼糧之雞隻其血清並未經由調節脂質分解路徑改變脂肪細胞脂質所累積的含量。

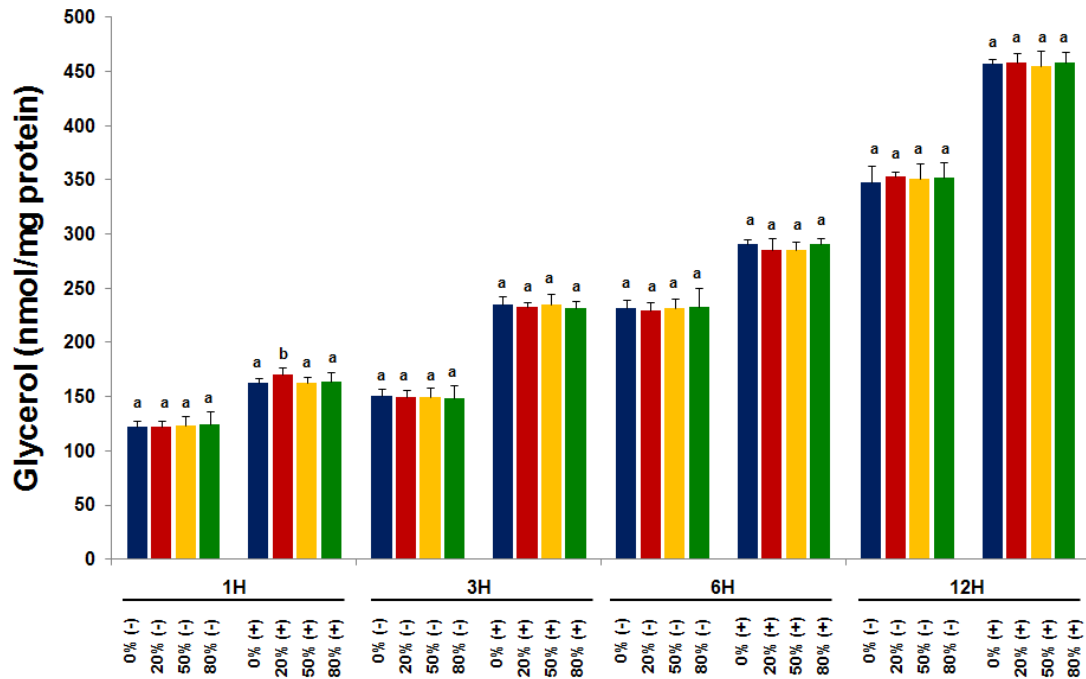


圖 2 7 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞分化後期脂質分解作用之影響。使用雞血清 (CKS) 培養肉雞前脂肪細胞並於+0 day 添加分化試劑誘導雞隻前脂肪細胞分化, 再於+4 day 置換不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清持續培養並至+8 day, 於第 1、3、6 與 12 小時收集培養液及蛋白質進行測定。(+) : 同時處理具有額外添加升糖激素 (glucagon), (-) : 無額外添加升糖激素。0% : 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清; 20% : 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清; 50% : 50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清; 80% : 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。n=5。^{a, b} 同時數同列數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 2 7 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet on lipolysis of late stage adipocytes of chicken. Cells were stimulated to differentiate in CKS serum until day 4 and changed sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and lipolysis analysis was prepared at 1, 3, 6, and 8 hour on day 8 after the induction of differentiation. (+) : glucagon stimulation (-) : no glucagon stimulation. 0% : serum of 0% MCT replaced supplemented diet ; 20% : serum of 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% : serum of 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% : serum of 80% MCT replaced supplemented diet. n=5. ^{a, b} Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

三、 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻其血清對肉雞脂肪

細胞後期脂質代謝相關基因表現之影響

雞前脂肪細胞初代培養誘發脂肪細胞分化，皆以雞血清(chicken serum; CKS) 添加分化試劑培養至第 4 天，分別置換含有以 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代商業飼料中所含 8% 大豆油部分飼糧餵飼雞隻之血清的培養基，並於分化第 4、6 與 8 天萃取脂肪細胞之總 RNA，以相對定量 RT-PCR 分析脂肪細胞分化相關基因 mRNA 表現量，再以 QuantumRNA™ 18S Internal Standards 套件作為對照，並以 BioRad Quantity One 定量軟體定量，各基因表現量除以 18S mRNA 之相對數值表示。

實驗結果發現，不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻其血清對過氧小體增生活化受體 (PPAR γ) (圖 28) 無論在脂肪細胞分化後第 6 與 8 天，0%、20%、50% 與 80% 彼此間皆無顯著差異。

於脂蛋白脂解酶 (LPL) (圖 29)、 α 脂肪酸結合蛋白 (α -FABP) (圖 30) 與脂肪油滴表面蛋白 (Perilipin) (圖 31) 之分析結果顯示，不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻其血清對 LPL、 α -FABP 與 perilipin 無論在脂肪細胞分化後第 6 與 8 天，0%、20%、50% 與 80% 彼此間皆無顯著差異。

相關於脂肪細胞脂質代謝基因表現分析上，包含 LPL、 α -FABP 與 Perilipin，攝食含不同比例中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清對於脂肪細胞分化後期脂質代謝相關基因表現並無顯著影響；推測其血清降低雞脂肪細胞內脂質含量可能不經由促進脂質代謝途徑作調控。因為 LPL 本身及為脂質代謝之重要酵素，而其表現量無差異；另外一個理由為 α -FABP 為結合脂肪酸的胞質蛋白，並可與激素敏感性解脂酶 (hormone sensitive lipase; HSL) 結合進而代謝脂肪細胞所囤積之三酸甘油酯 (Fortier *et al.*, 2005; Osuga *et al.*, 2000; Raclot *et al.*, 2001)，其表現量亦無差異；最後，perilipin 與脂肪油滴的分解功能有關 (Franke *et al.*, 1987; Greenberg *et al.*, 1991)，受到磷酸化後的 perilipin 會與激素敏感性解脂酶 (HSL) 相互作用，促進脂肪細胞的脂解作用 (Clifford *et al.*, 2000; Souza *et al.*, 1998; Sztalryd *et al.*, 2003)，在本試驗中其表現量同樣沒有顯著差異；因此，推斷攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清對於雞隻脂肪細胞脂質代謝無影響。

試驗結果發現，不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻其血清對分化第 6 天之脂聯素 (adiponectin) mRNA 表現量之分析結果示於圖 32，以攝食含 50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理相較於攝食含 0% 與 20% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理組之 adiponectin mRNA 有顯著地降低；至第 8 天時攝

食含 50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理 adiponectin mRNA 表現量一樣顯著低於攝食含 0% 與 20% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理。但是，以攝食含 50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理於第 6 天與第 8 天比較，發現隨著培養天數的增加 adiponectin mRNA 表現量有逐漸增加之情形。

adiponectin 與許多生理功能調節有關係，不僅與胰島素敏感性、脂質合成與能量恆定有關，在禽類動物中亦被認為是調控碳水化合物代謝的主要蛋白質；相對而言，adiponectin 亦受許多因素所調控，其中主要受到 PPAR γ 、脂質生成與肥胖等影響 (Karbowska and Kochan, 2005)，但在脂肪細胞分化晚期發現(圖 28 與圖 32)，PPAR γ mRNA 表現量無顯著變化，但 adiponectin mRNA 卻有顯著差異，因此推測脂肪細胞分化晚期，PPAR γ 調節 adiponectin 的能力可能非常有限。另外一方面，脂肪細胞分化早期與分化晚期，adiponectin mRNA 所表現之結果相異，此可能因為早期調控與晚期調控各基因或是生理條件所占的重要性有所差異。此外，於 adiponectin 與雞隻體重及雞隻體內脂肪組織量降低探討，透過攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清處理分化早期脂肪細胞其 adiponectin mRNA 表現量隨培養時間增加則無顯著差異；處理分化晚期脂肪細胞其 adiponectin mRNA 表現量則隨培養時間增加而有所回升，推測雞隻體重及雞隻體內脂肪組織量降低是經由 adiponectin 所影響的因素可能很小 (Bertile and Raclot, 2004；Maddineni *et al.*, 2005；Takeuchi *et al.*, 2006；Zhang *et al.*, 2002)。

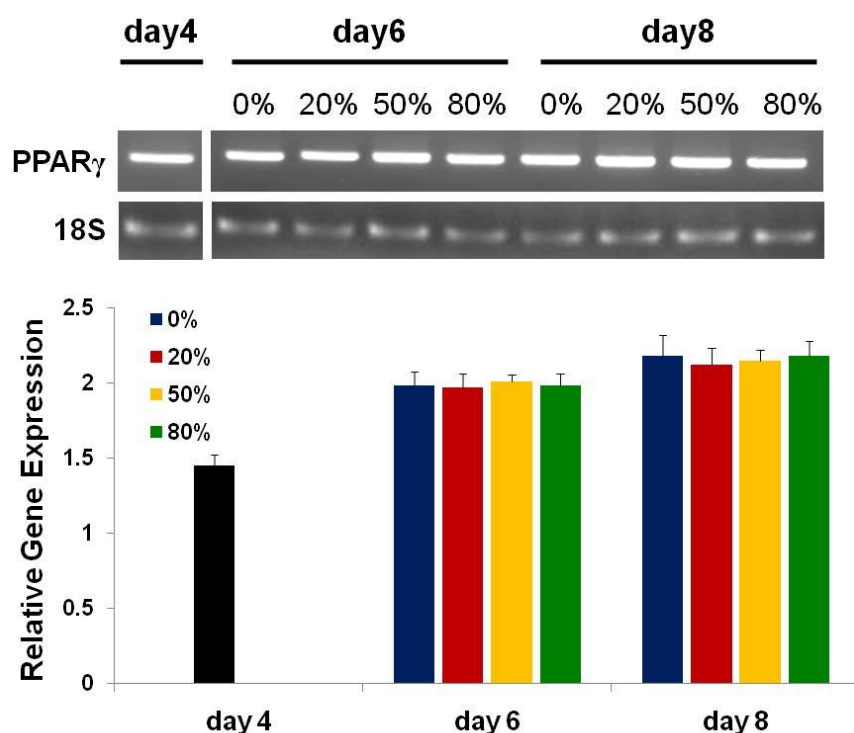


圖 2 8 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞後期脂質代謝相關基因 PPAR γ mRNA 表現之影響。使用雞血清 (CKS) 培養肉雞前脂肪細胞並於+0 day 添加分化試劑誘導雞隻前脂肪細胞分化，再於+4 day 置換不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清持續培養並於+6 day 與+8 day 收集總 RNA 樣本，以相對定量 RT-PCR 分析，以 18S rRNA 為內源控制組。(A) 相對定量 RT-PCR 分析 PPAR γ ; (B) PPAR γ 基因與 18S rRNA 表現量比值。0% : 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；20% : 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；50% : 50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清；80% : 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。各處理組間無顯著差異。

Figure 2 8 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet on the conversion chicken related-gene PPAR γ mRNA levels of late stage conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in CKS serum until day 4 and changed sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and total RNAs were prepared on day 4, 6, and 8 after the induction of differentiation and subjected to RT-PCR assay of PPAR γ . The 18S rRNA was included as the internal control. (A) Agarose gel electrophoresis of the PCR products ; (B) PPAR γ gene expression relative to the internal control. 0% : serum of 0% MCT supplemented diet ; 20% : serum of 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% : serum of 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% : serum of 80% MCT replaced supplemented diet. They were no significantly different.

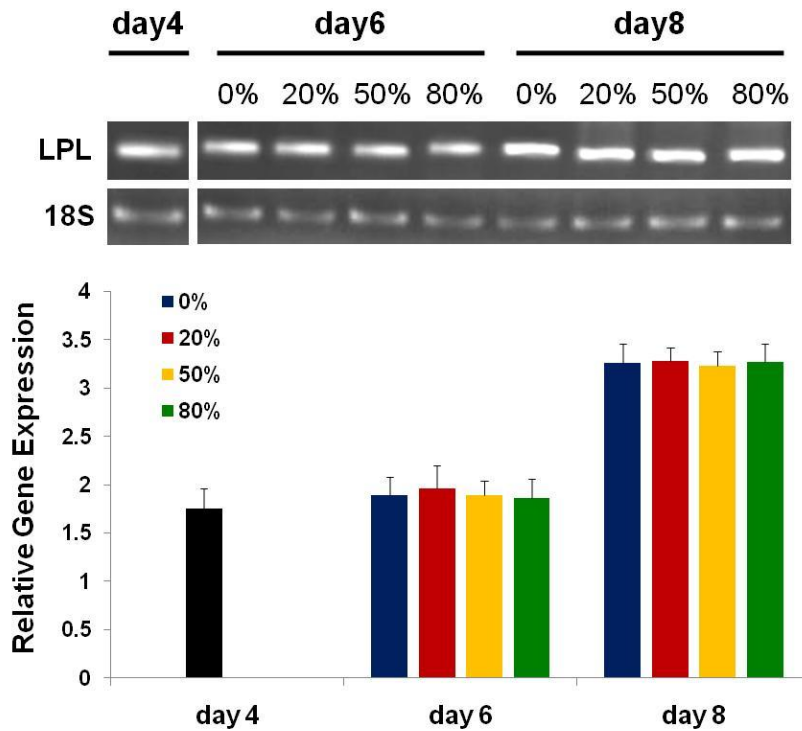


圖 2 9 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞後期脂質代謝相關基因 LPL mRNA 表現之影響。使用雞血清 (CKS) 培養肉雞前脂肪細胞並於+0 day 添加分化試劑誘導雞隻前脂肪細胞分化,再於+4 day 置換不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清持續培養並於+6 day 與+8 day 收集總 RNA 樣本,以相對定量 RT-PCR 分析,以 18S rRNA 為內源控制組。(A) 相對定量 RT-PCR 分析 LPL;(B) LPL 基因與 18S rRNA 表現量比值。0%: 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清; 20%: 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清; 50%: 50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清; 80%: 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。各處理組間無顯著差異。

Figure 2 9 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet on the conversion chicken related-gene LPL mRNA levels of late stage conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in CKS serum until day 4 and changed sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and total RNAs were prepared on day 4, 6, and 8 after the induction of differentiation and subjected to RT-PCR assay of LPL. The 18S rRNA was included as the internal control. (A) Agarose gel electrophoresis of the PCR products; (B) LPL gene expression relative to the internal control. 0%: serum of 0% MCT supplemented diet; 20%: serum of 20% MCT replaced supplemented diet; 50%: serum of 50% MCT replaced supplemented diet; 80%: serum of 80% MCT replaced supplemented diet. They were no significantly different.

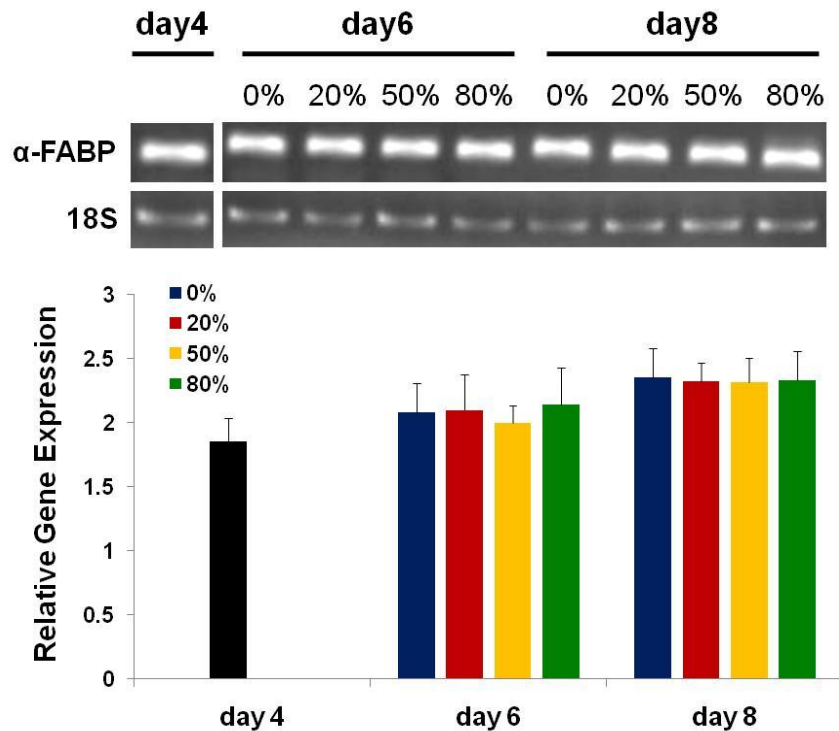


圖 30 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞後期脂質代謝相關基因 α -FABP mRNA 表現之影響。使用雞血清 (CKS) 培養肉雞前脂肪細胞並於 +0 day 添加分化試劑誘導雞隻前脂肪細胞分化, 再於 +4 day 置換不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清持續培養並於 +6 day 與 +8 day 收集總 RNA 樣本, 以相對定量 RT-PCR 分析, 以 18S rRNA 為內源控制組。(A) 相對定量 RT-PCR 分析 α -FABP; (B) α -FABP 基因與 18S rRNA 表現量比值。0%: 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清; 20%: 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清; 50%: 50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清; 80%: 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。各處理組間無顯著差異。

Figure 30 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet on the conversion chicken related-gene α -FABP mRNA levels of late stage conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in CKS serum until day 4 and changed sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and total RNAs were prepared on day 4, 6, and 8 after the induction of differentiation and subjected to RT-PCR assay of α -FABP. The 18S rRNA was included as the internal control. (A) Agarose gel electrophoresis of the PCR products; (B) α -FABP gene expression relative to the internal control. 0%: serum of 0% MCT supplemented diet; 20%: serum of 20% MCT replaced supplemented diet; 50%: serum of 50% MCT replaced supplemented diet; 80%: serum of 80% MCT replaced supplemented diet. They were no significantly different.

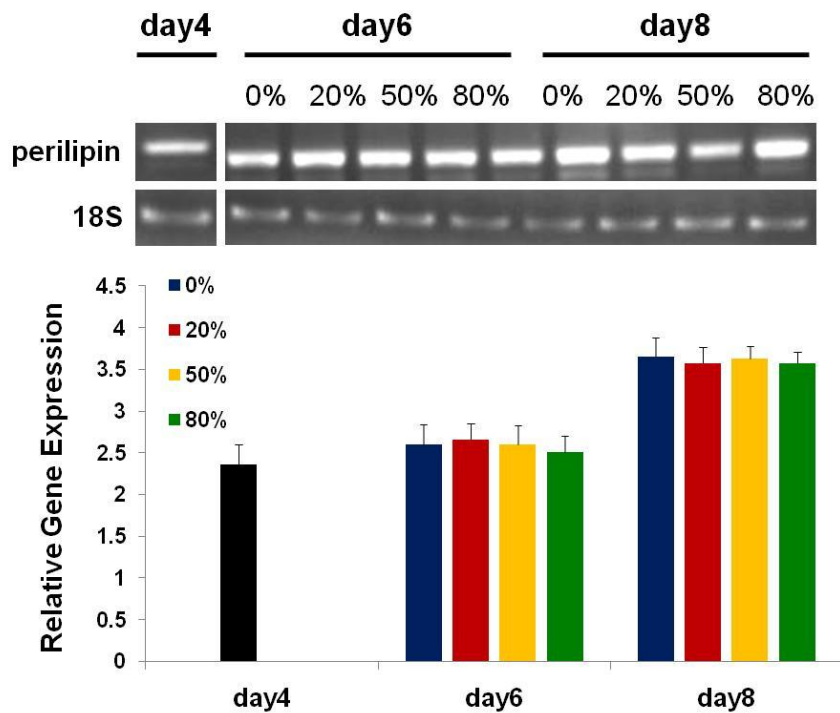


圖 3 1 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞後期脂質代謝相關基因 perlipin mRNA 表現之影響。使用雞血清 (CKS) 培養肉雞前脂肪細胞並於+0 day 添加分化試劑誘導雞隻前脂肪細胞分化,再於+4 day 置換不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清持續培養並於+6 day 與+8 day 收集總 RNA 樣本,以相對定量 RT-PCR 分析,以 18S rRNA 為內源控制組。(A) 相對定量 RT-PCR 分析 perlipin;(B)perlipin 基因與 18S rRNA 表現量比值。0% : 0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清 ; 20% : 20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清 ; 50% : 50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清 ; 80% : 80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。各處理組間無顯著差異。

Figure 3 1 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet on the conversion chicken related-gene perlipin mRNA levels of late stage conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in CKS serum until day 4 and changed sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and total RNAs were prepared on day 4, 6, and 8 after the induction of differentiation and subjected to RT-PCR assay of perlipin. The 18S rRNA was included as the internal control. (A) Agarose gel electrophoresis of the PCR products ; (B) perlipin gene expression relative to the internal control. 0% : serum of 0% MCT supplemented diet ; 20% : serum of 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% : serum of 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% : serum of 80% MCT replaced supplemented diet. They were no significantly different.

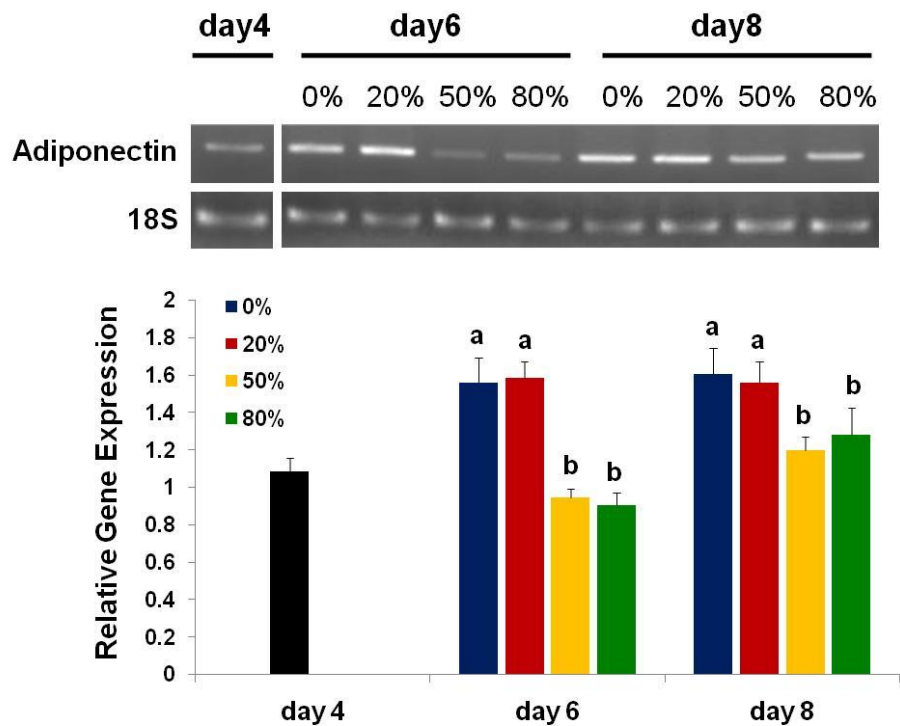


圖 3 2 餵飼不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧白肉雞其血清對肉雞脂肪細胞後期脂質代謝相關基因 adiponectin mRNA 表現之影響。使用雞血清 (CKS) 培養肉雞前脂肪細胞並於+0 day 添加分化試劑誘導雞隻前脂肪細胞分化,再於+4 day 置換不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼雞隻之血清持續培養並於+6 day 與+8 day 收集總 RNA 樣本,以相對定量 RT-PCR 分析,以 18S rRNA 為內源控制組。(A) 相對定量 RT-PCR 分析 adiponectin ;(B) adiponectin 基因與 18S rRNA 表現量比值。0%:0% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清;20%:20% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清;50%:50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清;80%:80% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧餵飼之白肉雞血清。^{a,b} 同天數同列數據標以不同字母者差異顯著 ($P < 0.05$)。

Figure 3 1 The effects of serum of different percentage of medium-chain fatty acid replaced supplemented diet on the conversion chickerelated-geneadiponectin mRNA levels of late stage conversion adipocyte of chickens. Cells were stimulated to differentiate in CKS serum until day 4 and changed sera from 0%, 20%, 50%, or 80% of MCT replaced diet-fed chickens and total RNAs were prepared on day 4, 6, and 8 after the induction of differentiation and subjected to RT-PCR assay of adiponectin. The 18S rRNA was included as the internal control. (A) Agarose gel electrophoresis of the PCR products ;(B) adiponectin gene expression relative to the internal control. 0% : serum of 0% MCFA supplemented diet ; 20% : serum of 20% MCT replaced supplemented diet ; 50% : serum of 50% MCT replaced supplemented diet ; 80% : serum of 80% MCT replaced supplemented diet. ^{a,b} Values in the same bar with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

結論

本研究以飼糧中含 0%、20%、50% 與 80% 中鏈三酸甘油酯取代一般商用飼糧中 8% 大豆油部分之飼糧餵飼白色肉雞，進行生長性狀的分析，並且抽取血液製備血清。所取得之血清除分析脂肪酸組成外亦用於分析對於誘發前脂肪細胞分化為成熟脂肪細胞之能力與分化晚期對脂肪細胞生理功能之影響。

生長性狀分析結果顯示，攝食含超過 50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧中 8% 大豆油部分之飼糧的雞隻在體重方面會有下降趨勢。在雞隻腹部脂肪部分，攝食含越高比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻其腹部脂肪含量越少。整體而言，攝食含有中鏈三酸甘油酯飼糧會造成雞隻體內脂肪含量比例降低。在腹部脂肪細胞大小方面，亦觀察到攝食含越高比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧中 8% 大豆油部分之飼糧雞隻其腹部脂肪細胞呈現越小的細胞形態。

血清誘發脂肪細胞分化之能力分析結果顯示，以攝食含越高比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻之血清培養脂肪細胞，其 Oil Red O 染色呈現紅色情形越淡，其堆油情形越差。以攝食含越高比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧中 8% 大豆油部分之飼糧雞隻之血清培養脂肪細胞時，發現脂肪細胞所囤積之三酸甘油酯含量越低。分析甘油-3-磷酸去氫酶 (GPDH) 活性之結果顯示，以攝食含越高比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻之血清培養脂肪細胞，其脂肪細胞內 GPDH 活性越低。以上試驗結果均說明攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清誘發脂肪細胞分化之能力較差。而以相對定量反轉錄聚合酶連鎖反應分析不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻之血清培養脂肪細胞之分析脂肪細胞分化過程相關 mRNA 表現，顯示出以攝食含越高比例中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清培養分化早期脂肪細胞，在其 PPAR γ 、CEBP/ β 、 α -FABP、LPL、GLUT1、GLUT8 與 perilipin 表現量均有顯著性降低；而在 adiponectin 表現量方面，分化第 2 天時以攝食含越低比例中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清培養分化早期脂肪細胞之 adiponectin mRNA 表現量越低，但於培養後期(第 4 與 6 天)各處理間則無明顯差異。

血清誘導晚期脂肪細胞分化之影響分析結果顯示，以攝食含不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧中 8% 大豆油部分之飼糧雞隻之血清培養分化後期之脂肪細胞，對於脂質代謝無顯著差異影響。以相對定量反轉錄聚合酶連鎖反應分析不同比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧雞隻之血清培養脂肪細胞，再分析晚期脂肪細胞分化過程相關 mRNA 表現，結果以攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清培養分化晚期脂肪細胞，在其 PPAR γ 、LPL、 α -FABP 與 perilipin 表現量均無顯著影響；但在 adiponectin 表現量分析發現以攝食含越超過 50% 中鏈三酸甘油酯取代飼糧中 8% 大豆油部分之飼糧雞隻之血清進行培養，初始時(第 6 天)會降低 adiponectin mRNA 的表現量，但隨培養天數增加(第 8 天) adiponectin mRNA 表現量會有略微回升。分析分化早期與晚期 adiponectin mRNA 結果顯示，雞隻體重降低與 adiponectin 並無明顯相關性。

血清脂肪酸組成與脂肪細胞脂肪酸的組成變化有密切關係，因為血清中的脂

肪酸以及其衍生物可以誘發脂肪細胞分化與影響脂肪組織發育 (Azain, 2004), 並且反應於細胞內油滴與細胞膜上, 因脂肪酸亦可提供動物生成細胞膜所必須之磷脂質, 進而影響細胞膜功能與代謝速率。脂肪細胞脂肪酸組成分析結果發現, 以攝食含越高比例中鏈三酸甘油酯取代飼糧中 8% 大豆油部分之飼糧雞隻之血清培養脂肪細胞, 其分化程度越差, 而脂肪細胞其脂肪細胞整體所含之飽和脂肪酸, 棕櫚酸 (palmitic; C16:0) 越高; 而整體所含之單元不飽和脂肪酸棕櫚油酸 (palmitoleic; C16:1) 越低, 亞麻油酸 (linoleic; C18:2) 越高。

而在雞隻血清脂肪酸組成分析方面, 發現攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清有抑制脂肪細胞分化之脂肪酸包括癸酸 (capric; C10:0)、棕櫚酸 (palmitic; C16:0) 與亞麻油酸 (linoleic; C18:2) 含量較高; 而具有促進脂肪細胞分化之脂肪酸, 油酸 (oleic; C18:1) 含量則較低。此等脂肪酸與其衍生物主要透過直接結合 PPAR γ 受體或是調控 PPAR γ 基因表現來達到影響脂肪細胞分化程度及脂質生成、堆積與代謝等; 而且血清脂肪酸組成與脂肪細胞脂肪酸組成有相呼應關係存在 (Azain, 2004), 可知血清中具有抑制脂肪細胞分化功效且含量高的脂肪酸。而於脂肪細胞內脂肪酸組成亦有所比例較多的情形; 因此, 可以推斷飼糧中脂肪酸的變化可以改變雞隻血清中脂肪酸的組成, 如此藉由飼糧的改變以提高或降低些特定脂肪酸在血清中的含量, 影響雞隻脂肪細胞分化。

綜合以上結果, 攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻造成動物體脂肪組織含量降低, 以及利用攝食含中鏈三酸甘油酯飼糧雞隻之血清培養脂肪細胞其分化程度、脂質堆積與代謝情形和脂肪細胞分化相關基因表現減緩與降低, 推論可能是由於雞隻攝食中鏈三酸甘油酯後造成血清組成與脂肪酸組成比例改變, 降低血清誘發脂肪細胞分化之能力所造成。血清內成分組成繁多, 且不同特定脂肪酸間的比例構成之協調作用對於脂肪細胞生長發育影響甚重, 若能對於此關係再更進一步的研究探討, 應可增進細胞生理研究之學識與雞隻的經濟價值。

參考文獻

- 丁詩同。2001。脂肪酸對基因表達之影響。九十年度飼料製造研習會專輯。台灣。
- 行政院農業委員會。2008。97年台灣農業統計年報。行政院農業委員會。台灣。
- 李淵百。1992。台灣的土雞。國立中興大學。台中。
- 吳和光。1992。台灣養雞事業之發展。大陸台灣香港優質肉雞研討會論文集 53-54 頁。中國農業科技出版社。北京。
- 陳保基。2001。肉雞的飼養與管理。畜牧要覽一家禽篇。華香園出版社。台北。
- Ailhaud, G. 1982. Adipose cell differentiation in culture. *Mol. Cell Biochem.* 49:17-31.
- Albright, A. L. and J. S. Stern. 1998 . Adipose tissue. In: *Encyclopedia of Sports Medicine and Science*. Online Available:<http://www.sportsci.org/encyc/adipose/adipose.html>. Accessed Dec. 29, 2005.
- Allmann D. W., D. D. Hubbard, and D. M. Gibson. 1965. Fatty acid synthesis during fat-free refeeding of starved rats. *J. Lipid Res.* 6:63-74.
- Amri, E. Z., B. Bertrand, G. Ailhaud, and P. Grimaldi. 1991. Regulation of adipose cell differentiation: fatty acid are inducers of the aP2 gene expression. *J. Lipid Res.* 32:1449-1456.
- André, C. B., ScD, and K. B. Vigen. 1982. Medium-chain triglycerides: an update. *Am. J. Clin. Nutr.* 36:950-962.
- Anthea, M., J. Hopkins, C. William, M. Laughlin, S. Johnson, M. Q. Warner, D. LaHart, and J. D. Wright. 1993. *Human Biology and Health*.
- Arita, Y., Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, and Matsuzawa Y. 1999. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 257:79-83.

- Austic, A. and V. K. Babayan. 1990. Poultry Production, 13th ed. Lea and Febiger, London.
- Azain, M. J. 2004. Role of fatty acids in adipocyte growth and development. *J. Anim. Sci.* 82:916-924.
- Baba, N., E. F. Bracco, and S. A. Hashim. 1982. Enhanced thermogenesis and diminished deposition of fat in response to overfeeding with diet containing medium chain triglyceride. *Am. J. Clin. Nutr.* 35:678-682.
- Bach, A. C., and V. K. Babayan. 1982. Medium-chain triglycerides: An update. *Am. J. Clin. Nutr.* 36:950-962.
- Bach, A. C., Y. Ingenbleek, and A. Frey. 1996. The usefulness of dietary medium-chain triglycerides in body weight control: fact or fancy? *J. Lipid Res.* 37: 708-726.
- Ball, M. J. 1993. Parenteral nutrition in the critically ill: use of a medium chain triglyceride emulsion. *Intensive Care Med.* 19:89-95.
- Behr, S. R., J. R. Patsch, T. Forte, and A. Bensadoun. 1981. Plasma lipoprotein changes resulting from immuno-logically blocked lipolysis. *J. Lipid Res.* 22(3):443-451.
- Bensadoun, A. 1991. Lipoprotein lipase. *Annu. Rev. Nutr.* 11:217-237.
- Bensadoun, A. and I. P. Kompang. 1979. Role of lipoprotein lipase in plasma triglyceride removal. *Fed. Proc.* 38:2622-2626.
- Benson, J. D., A. Bensadoun, and D. Cohen . 1975. Lipoprotein lipase of ovarian follicles in the domestic chicken (*Gallus domesticus*) (38537). *Exp. Biol. Med.* 148(2):347-350.
- Benson, J. D. and A. Rothfield. 1972. The form of absorption of lipids in the chicken, *Gallus domesticus*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 41:814-817.
- Benson, J. D., V. Hearn, T. Boyd, and A. Bensadoun. 1979. Triglyceride hydrolase of chicken and rat pre- and postheparin plasma. Effects of fasting and comparison

with adipose tissue lipoprotein lipase. *Int. J. Biochem.* 6:727-734.

Berger, J., P. Bailey, C. Biswas, C. A. Cullinan, T. W. Doebber, N. S. Hayes, R. Saperstein, R. G. Smith, and M. D. Leibowitz. 1996. Thiazolidinediones produce a conformational change in peroxisomal proliferators-activated receptor-gamma: binding and activation correlate with antidiabetic actions in db/db mice. *Endocrinology* 137:4189-4195.

Bernlohr, D. A., C. W. Angus, M. D. Lane, M. A. Bolanowski, and T. J. Kelly, Jr. 1984. Expression of specific mRNAs during adipose differentiation: Identification of an mRNA encoding a homologue of myelin p2 protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 81:5468-5472.

Bernlohr, D. A., M. A. Bolanowski, T. J. Kelly, Jr., and M. D. Lane. 1985. Evidence for an increase in transcription of specific mRNAs during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *J. Biol. Chem.* 260:5563-5567.

Bertile, F., and T. Raclot. 2004. Differences in mRNA expression of adipocyte-derived factors in response to fasting, refeeding and leptin. *Biochim. Biophys. Acta.* 1683:101-109.

Blue, M. L., A. A. Protter, and D. L. Williams. 1980. Biosynthesis of apolipoprotein B in rooster kidney, intestine, and liver. *J. Biol. Chem.* 255(21):10048-10051.

Bjorntorp, P., M. Karlsson, and P. Pettersson. 1982. Expression of adipose tissue storage capacity at different age in rats. *Metabolism* 31:366-373.

Boone, C., F. Gregoire, and C. Remacle. 1999. Regulation of adipogenesis *in vitro*, as compared with other species. *Domest. Anim. Endocrinol.* 17:257-267.

Boord, J. B., S. Fazio, and M. F. Linton. 2002. Cytoplasmic fatty acid binding proteins: emerging roles in metabolism and atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol.* 13:141-147.

Brady, L., D. R. Romsos, and G. A. Leveille. 1976. *In vivo* estimation of fatty acid synthesis in the chicken (*Gallus domesticus*) utilizing $^3\text{H}_2\text{O}$. *Comp. Biochem. Physiol.* B54(3):403-407.

- Braun, J. E., and D. L. Severson. 1992. Regulation of the synthesis, processing and translocation of lipoprotein lipase. *Biochem. J.* 287(2):337-347.
- Brodie, A. E., V. A. Azarenko, and C. Y. Hu. 1996. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) inhibition of fat cell differentiation. *Toxicol. Lett.* 84:55-59.
- Brun, R. P., P. Tontonoz, B. M. Forman, R. Eillis, J. Chen, R. M. Evans, and B. M. Spiegelman. 1996. Differential activation of adipogenesis by multiple PPAR isoforms. *Genes Dev* 10:974-984.
- Cao, Z., R. M. Umek, and S. L. Mcknight. 1991. Regulated expression of three C/EBP isoforms during adipose conversion of 3T3-L1 cells. *Genes Dev.* 5:1538-1552.
- Carayannopoulos, M. O., M. M. Y. Chi, Y. Cui, J. M. Pingsterhaus, R. A. McKnight, M. Mueckler, S. U. Devaskar, and K. H. Moley. 2000. GLUT8 is glucose transporter responsible for insulin-stimulated glucose uptake in the blastocyst. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97:7313-7318.
- Carnielli, V. P., E. J. Sulkers, C. Moretti, J. L. D. Wattimena, J. B. Vangoudoever, H. J. Degenhart, F. Zacchello, and P. J. Sauer. 1994. Conversion of octanoic-acid into long-chain saturated fatty-acids in premature infants fed a formula containing medium-chain triglycerides. *Metabolism Clinical and Experimental* 43:1287-1292.
- Caspary, W. F. 1992. Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. *Am. J. Clin. Nutr.* 55:299-308.
- Castillo, G., R. P. Brun, J. K. Rosenfield, S. Hauser, C. W. Park, A. E. Troy, M. E. Wright, and B. M. Spiegelman. 1999. An adipogenic cofactor bound by the differentiation domain of PPARgamma. *J. EMBO.* 13:3676-3687.
- Cater, N. B., H. J. Heller, and M. A. Denke. 1997. Comparison of the effects of mediumchain triacylglycerols, palm oil, and high oleic acid sunflower oil on plasma triacylglycerol fatty acids and lipid and lipoprotein concentrations in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 65:41-5.
- Chapman, A. B., D. M. Knight, B. S. Diesckmann, and G. M. Ringold. 1984. Analysis

- of gene expression during differentiation of adipogenic cells in culture and hormonal control of the developmental program. *J. Biol. Chem.* 259: 15548-15555.
- Chapman, A. B., D. M. Knight, and G. M. Ringold. 1985. Glucocorticoid regulation of adipocyte differentiation: Hormonal triggering of the developmental program and induction of a differentiation-dependent gene. *J. Cell Biol.* 101:1227-1235.
- Chawla, A., E.J. Schwarz, D.D. Dimacuangan, and M. A. Lazar. 1994. Peroxisomae proliferator-activated receptor (PPAR) γ : adipose-predominant expression and induction early in adipocyte differentiation. *Rapid Communications* 135:798-800.
- Child, C. B., J. A. Proper, R. F. Tucker, and H. L. Moses. 1982. Serum contains a platelet-derived transforming growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 79:5312-5316.
- Chu T. M., H. H. Cheng, Y. J. Lin, C. K. Shin, S. H. Yang, T. W. Chou, and H. Jeng. 2006. Lowering dietary fat changes plasma lipids and the fatty acid composition in young adults. *Nutr. Sci. S.* 31:77-86.
- Cianflone, K., and M. Maslowska. 1995. Differentiation-induced production of ASP in human adipocytes. *Eur. J. Clin. Invest.* 25:817-825.
- Clarke, S. L., C. E. Robinson, and J. M. Gimble. 1997. CAAT/enhancer binding protein directly modulate transcription from the peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 promoter. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 240:99-103.
- Clifford, G. M., C. Londos, F. B. Kraemer, R. G. Vernon, and S. J. Yeaman. 2000. Translocation of hormone-sensitive lipase and perilipin upon lipolytic stimulation of rat adipocytes. *J. Biol. Chem.* 275:5011-5015.
- Coe, N. R., M. A. Simpson, and D. A. Bernlohr. 1999. Targeted disruption of the adipocyte lipid binding protein (aP2 protein) gene impairs fat cell lipolysis and increases cellular fatty acid level. *J. Lipid Res.* 40:967-972.
- Collins, S., and R. S. Surwit. 2001. The beta-adrenergic receptors and the control of

adipose tissue metabolism and thermogenesis. *Recent. Prog. Horm. Res.* 56:309-328.

Combs, T. P., J. A. Wagner, J. Berger, T. Doebber, W.-J. Wang, B. B. Zhang, M. Tanen, A. H. Berg, S. O'Rahilly, D. B. Savage, K. Chatterjee, S. Weiss, P. J. Larson, K. M. Gottesdiener, B. J. Gertz, M. J. Charron, P. E. Scherer, and D. E. Moller. 2002. Induction of adipocyte complement-related protein of 30 kilodaltons by PPARgamma agonists: A potential mechanism of insulin sensitization. *Endocrinology* 143:998-1007.

Considine, R. V., M. K. Sinha, M. L. Heiman, A. Kriauciunas, T. W. Stephens, M. R. Nyce, J. P. Ohannesian, C. C. Marco, L. J. McKee, T. L. Bauer, and J. F. Caro. 1996. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N. Engl. J. Med.* 334:292-295.

Cornelius, P., O. A. MacDougald, M. D. Lane. 1994. Regulation of adipocyte development. *Annu. Rev. Nutr.* 14:99-129.

Crozier, G. L. 1988. Medium-chain triglyceride feeding over the longterm The metabolic-fate of [C-14] octanoate and [C-14] oleate in isolated rat hepatocytes. *Journal of Nutrition* 118:297-304.

Dalen, K. T., K. Schoonjans, S. M. Ulven, M. S. Weedon-Fekjaer, T. G. Bentzen, H. Koutnikova, J. Auwerx, and H. I. Nebb. 2004. Adipose tissue expression of the lipid droplet-associating proteins S3-12 and perilipin is controlled by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *Diabetes* 53:1243-1252.

Darlington, G. J., S. E. Rose, and O. A. MacDougald. 1998. The role of C/EBP genes in adipocyte differentiation. *J. Biol. Chem.* 273:30057-30060.

Deckelbaum, R. J., J. A. Hamiltom, A. Moser, G. Bengtssonolivecrona, E. Butbull, Y. A. Carpentier, A. Gutman, and T. Olivecrona. 1990. Medium chain versus long chain triglycerol emulsion hydrolysis by lipoprotein lipase and hepatic lipase: Implications for the mechanisms of lipase action. *Biochemistry* 29:1136-1142.

Diez, J. J., and P. Iglesias. 2003. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur. J. Endocrinol.* 148:293-300.

- Ding, S. T., and H. J. Mersmann, 2001. Fatty acids modulate porcine adipocyte differentiation and transcripts for transcription factors an adipocyte-characteristic proteins. *J. Nutr. Biochem.* In press.
- Ding, S. T., R. L. McNeel, and H. J. Mersmann. 1999. Expression of porcine adipocyte transcripts: tissue distribution and differentiation *in vitro* and *in vivo*. *Comp. Biochem. Physiol.* 123B:307-318.
- Distel, R. J., G. S. Robinson, B. M. Spiegelman. 1992. Fatty acid regulation of gene expression: transcriptional and post-transcriptional mechanisms. *J. Biol. Chem.* 247:5937-5941.
- Dreyer, C., G. Krey, H. Keller, F. Givel, G. Helftenbein, and W. Wahli. 1992. Control of the peroxisomal beta-oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors. *Cell* 68: 879-87.
- Dupont, J., J. Chen, M. Derouet, J. Simon, B. Leclercq, and M. Taouis. 1999. Metabolic differences between genetically lean and fat chickens are partly attributed to the alteration of insulin signaling in liver. *J. Nutr.* 129:1937-1944.
- Doerge, H., A. Schurmann, G. Bahrenberg, A. Brauers, and H. G. Joost. 2000. GLUT8, a novel member of the sugar transport facilitator family with glucose transport activity. *J. Biol. Chem.* 275:16275-16280.
- Eckel, R. H., A. S. Hanson, A. Y. Chen, J. N. Berman, T. J. Yost, and E. P. Brass. 1992. Dietary substitution of medium chain triglycerides improves insulin mediated glucose metabolism in NIDDM subjects. *Diabetes* 41:641-647.
- Egan, J. J., A. S. Greenberg, M. K. Chang, and C. Londos. 1990. Control of endogenous phosphorylation of the major cAMP dependent protein kinase substrate in adipocytes by insulin and beta adrenergic stimulation. *J. Biol. Chem.* 265:18769-18775.
- Enoch, H. G., A. Catala, and P. Strittmatter. 1976. Mechanism of rat liver microsomal stearyl-CoA desaturase. Studies of the substrate specificity, enzyme-substrate interactions, and the function of lipid. *J. Biol. Chem.* 251(16):5095-5103.
- Enternmann, G., and H. Hauner. 1996. Relationship between replication and

- differentiation in cultured human adipocyte precursor cells. *Am. J. Physiol.* 270:1011-1016.
- Fajas, L., C. Fruchart, and J. Auwerx. 1998. PPAR γ 3 mRNA: A distinct PPAR γ mRNA subtype transcribed from an independent promoter. *F.E.B.S. Lett.* 438:55-60.
- Farmer, S. R. 2006. Transcriptional control of adipocyte formation. *Cell Metab.* 4:263-273.
- Fasshauer, M., J. Klein, S. Neumann, M. Eszlinger, and R. Paschke. 2002. Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 290:1084-1089.
- Fong, J. C., C. C. Chen, D. Liu, S. P. Chai, M. S. Tu, and K. Y. Chu. 1996. Arachidonic acid stimulates the intrinsic activity of ubiquitous glucose transporter (GLUT1) in 3T3-L1 adipocytes by a protein kinase C-independent mechanism. *Cell Signal* 8:179-183.
- Forman, B. M., P. Tontonoz, J. Chen, R. P. Burn, B. M. Spiegelman, and R. M. Evans. 1995. 15-Deoxy-delta 12, 14-prostaglandin J2 is a ligand for the adipocyte determination factor PPAR gamma. *Cell* 83:803-12.
- Fortier, M., K. Soni, N. Laurin, S. P. Wang, P. Mauriege, F. R. Jirik, and G. A. Mitchell. 2005. Human hormone-sensitive lipase (HSL): expression in white fat corrects the white adipose phenotype of HSL-deficient mice. *J. Lipid Res.* 46: 1860-1867.
- Franke, W. W., M. Hergt, and C. Grund. 1987. Rearrangement of the vimentin cytoskeleton during adipose conversion: Formation of an intermediate filament cage around lipid globules. *Cell* 49:131-141.
- Frederich, R. C., A. Hamann, S. Anderson, B. Löllmann, B. B. Lowell, and J. S. Flier. 1995. Leptin levels reflect body lipid content in mice: Evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat. Med.* 1:1311-1314.
- Fredrikson, G., H. Tornqvist, and P. Belfrage. 1986. Hormone-sensitive lipase and monoacylglycerol lipase are both required for complete degradation of adipocyte

- triacylglycerol. *Biochim. Biophys. Acta.* 876:288-293.
- Freshney, R. I. 2005. Serum-free medium. P. 129-143. In *Culture of animal cells.*
- Friedman, M. I., I. Ramirez, C. R. Bowden, and M. G. Tordoff. 1990. Fuel partitioning and food intake: Role for mitochondrial fatty acid transport. *Am. J. Physiol.* 258:216-221.
- Fu, Y., N. Luo, and M. F. Lopes-Virella. 1994. Oxidized LDL induces the expression of ALBP/aP2 mRNA and protein in human THP-1 macrophages. *J. Lipid Res.* 41:2017-2023.
- Garcia de Herreros, A., and M. J. Birnbaum. 1989a. The acquisition of increased insulin-responsive hexose transport in 3T3-L1 adipocytes correlates with expression of a novel transporter gene. *J. Biol. Chem.* 264:19994-19999.
- Garcia de Herreros, A., and M. J. Birnbaum. 1989b. The regulation by insulin of glucose transporter gene expression in 3T3 adipocytes. *J. Biol. Chem.* 264:9885-9890.
- Goldberg, I. J. 1996. Lipoprotein lipase and lipolysis: Central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J. Lipid. Res.* 37:693-707.
- Goodridge, A. G. and E. G. Ball. 1967. Lipogenesis in the pigeon: in vivo studies. *Am. J. Physiol.* 213:245-249.
- Green, H., and M. Meuth. 1974. An established pre-adipose cell line and its differentiation in culture. *Cell* 3:127133.
- Green, H., and O. Kehinde. 1976. Spontaneous heritable changes leading to increased adipose conversion in 3T3 cells. *Cell* 7:105-113.
- Greenberg, A. S., J. J. Egan, S. A. Wek, M. C. Moos, Jr, C. Londos, and A. R. Kimmel. 1993. Isolation of cDNAs for perilipins A and B: Sequence and expression of lipid droplet-associated proteins of adipocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90:12035-12039.
- Greenberg, A. S., J. J. Egan, S. A. Wek, N. B. Garty, E. J. Blanchette-Mackie, and C.

- Londos. 1991. Perilipin, a major hormonally regulated adipocyte specific phosphoprotein associated with the periphery of lipid storage droplets. *J. Biol. Chem.* 266:11341-11346.
- Gregoire, F. M., C. M. Smas, and H. S. Sul. 1998. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol. Rev.* 78:783-809.
- Griffin, H. D., G. Grant, and M. Perry. 1982. Hydrolysis of plasma triacylglycerol-rich lipoproteins from immature and laying hens (*Gallus domesticus*) by lipoprotein lipase in vitro. *Biochem. J.* 206(3):647-54.
- Griffin, H. D., K. Guo, D. Windsor, and S. C. Butterwith. 1992. Adipose tissue lipogenesis and fat deposition in leaner broiler chickens. *J. Nutr.* 122(2):363-368.
- Griffin, H. D., S. C. Butterwith, and C. Goddard. 1987. Contribution of lipoprotein lipase to differences in fatness between broiler and layer-strain chickens. *Br. Poult. Sci.* 28:197-206.
- Guilbert, L. J., and N. N. Iscove. 1976. Partial replacement of serum by selenite, transferrin, albumin and lecithin in haemopoietic cell cultures. *Nature.* 263:594-595.
- Guo, W., W. Xie, and J. Han. 2006. Modulation of adipocyte lipogenesis by octanoate: Involvement of reactive oxygen species. *Nutr. Metab. (Lond)* 3:30.
- Halleux, C. M., M. Takahashi, M. L. Delporte, R. Detry, T. Funahashi, Y. Matsuzawa, and S. M. Brichard. 2001. Secretion of adiponectin and regulation of apM1 gene expression in human visceral adipose tissue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 288:1102-1107.
- Han, J., S. R. Farmer, J. L. Kirkland, B. E. Corkey, R. Yoon, T. Pirtskhalava, Y. Ido, and W. Guo. 2002. Octanoate attenuates adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *J. Nutr.* 132:904-910.
- Han, J., J. A. Hamilton, J. L. Kirkland, B. E. Corkey, and W. Guo. 2003. Medium chain oil reduces fat mass and down-regulates expression of adipogenic genes in rats. *Obes. Res.* 11:734-744.

- Hayman, E. G., M. D. Pierschbacher, S. Suzuki, and E. Ruoslahti. 1985. Vitronectin: a major cell attachment-promoting protein in fetal bovine serum. *Exp. Cell Res.* 160:245-258.
- Hermier, D., M. J. Chapman, and B. Leclercq. 1984. Plasma lipoprotein profile in fasted and refed chickens of two strains selected for high or low adiposity. *J. Nutr.* 114(6):1112-1121.
- Hill, J. O., J. C. Peters, L. L. Swift, D. Yang, T. Sharp, N. Abumrad, and H. D. Greene. 1990. Changes in blood-lipids during 6 days of overfeeding with medium or long-chain triglycerides. *J. Lipid Res.* 31:407-416.
- Hiragun, A., M. Sato, and H. Mitsui. 1980. Establishment of a clonal cell line that differentiates into adipose cells *in vitro*. *In Vitro* 16:685-693.
- Holm, C. 2003. Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis. *Biochem. Soc. Trans.* 31:1120-1124.
- Honor, R. C., G. S. Dhillon, and C. Londos. 1985. cAMP-dependent protein kinase and lipolysis in rat adipocytes. I. Cell preparation, manipulation, and predictability in behavior. *J. Biol. Chem.* 260:15122-15129.
- Hotta, K., T. Funahashi, N. L. Bodkin, H. K. Ortmeier, Y. Arita, B. C. Hansen, and Y. Matsuzawa. 2001. Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponevtn are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type2 diabetes in Rhesus monkeys. *Diabetes* 50:1126-1133.
- Hu, E., P Liang, and B. M. Spiegelman. 1996. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J. Biol. Chem.* 271:10697-10703.
- Huys, G., M. Vancanneyt, R. Coopman, P. Janssen, E. Falsen, M. Altwegg, and K. Kersters. 1994. Cellular fatty acid composition as a chemotaxonomic marker for the differentiation of phenospecies and hybridization groups in the genus *aeromonas*. *J. Syst. Bacteriol* 44:651-658.
- Hwang, S. Y., J. Lee, and P. W. S. Chiou. 2000. Monitoring nutritional status of dairy cows in Taiwan using milk protein and milk urea nitrogen. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.* 13:1667-1673.

- Ibberson, M., M. Uldry, and B. Thorens. 2000. GLUT1, a novel mammalian glucose transporter expressed in the central nervous system and insulin-sensitive tissues. *J. Biol. Chem.* 275:4607-4612.
- 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.
- Irie, Y., A. Asano, X. Cañas, H. Nikami, S.-I. Aizawa, and M. Saito. 1999. Immortal brown adipocytes from p53-knockout mice: Differentiation and expression of uncoupling proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 255:221-225.
- Iwaki, M., M. Matsuda, N. Maeda, T. Funahashi, Y. Matsuzawa, M. Makishima, and I. Shimomura. 2003. Induction of adiponectin, a fat-derived antidiabetic and antiatherogenic factor, by nuclear receptors. *Diabetes* 52:1655-1663.
- 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.
- Joost, H. G., and B. Thorens. 2001. The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: Nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members. (review) *Mol. Membr. Biol.* 18:247-256.
- Karbowska, J., and Z. Kochan. 2005. Effect of DHEA on endocrine functions of adipose tissue, the involvement of PPAR gamma. *Biochem. Pharmacol.* 70:249-257.
- Khan, A. H., and J. E. Pessin. 2002. Insulin regulation of glucose uptake: A complex interplay of intracellular signaling pathways. *Diabetologia* 45:1475-1483.
- Kim, J. B., P. Sarraf, M. Wright, K. M. Yao, E. Mueller, G. Solanes, B. B. Lowell, and B. M. Spiegelman. 1998. Nutritional and insulin regulation of fatty acid synthetase and leptin gene expression through ADD1/SREBP1. *J. Clin. Invest.* 101:1-9.
- Kim, K. H., K. Lee, Y. S. Moon, and H. S. Sul. 2001. A cysteine-rich adipose tissue-specific secretory factor inhibits adipocyte differentiation. *J. Bio. Chem*>

276:11252-11256.

Kim, S., and N. Moustaid-Moussa. 2000. Secretory, endocrine and autocrine/paracrine Function of the adipocyte. *J. Nutr.* 130:3110S-3115S.

Klaus, S., M. Ely, D. Encke, and G. Heledmaier. 1995. Functional assessment of white and brown adipocyte development and energy metabolism in cell culture. Dissociation of terminal differentiation and thermogenesis in brown adipocytes. *J. Cell Sci.* 108 (Pt 10) :3171-3180.

Kliwer, S. A., S. S. Sundseth, S. A. Jones, P. J. Brown, G. B. Wisely, C. S. Koble, P. Devchand, W. Wahli, T. M. Willson, J. M. Lenhard, and J. M. Lehmann. 1997. Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 94:4318-23.

Kohn, A. D., S. A. Summers, M. J. Birnbaum, and R. A. Roth. 1996. Expression of a constitutively active Akt Ser/Thr kinase in 3T3-L1 adipocytes stimulates glucose uptake and glucose transporter 4 translocation. *J. Biol. Chem.* 271:31372-31378.

Kolaczynski, J. W., J. P. Ohannesian, R. V. Considine, C. C. Marco, and J. F. Caro. 1996. Response of leptin to short-term and prolonged overfeeding in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81:4162-4165.

Kono, T., M. Nishida, Y. Nishiki, Y. Seki, K. Sato, and Y. AKIBA. 2005. Characterization of glucose transporter (*GLUT*) gene expression in broiler chicken. *Brit. Poult. Sci.* 46:510-515.

Krey, F., O. Braissant, F. L'Horsset, E. Kalkhoven, M. Perroud, M.G. Parker, and W. Wahli. 1997. Fatty acids, eicosanoids, and hypolipidemic agents identified as ligands of peroxisome proliferator-activated receptors by coactivator-dependent receptor ligand assay. *Mol. Endo.* 11: 779-791.

Krogdahl, A. 1985. Digestion and absorption of lipids in poultry. *J. Nutr.* 115:675-685.

Landschulz, W.H., P. F. Johnson, E. Y. Adashi, B. J. Graves, and S. L. Mcknight. 1988. Isolation of recombinant copy of gene encoding C/EBP. *Genes Dev.* 2:

786-800.

- Langin, D., C. Holm, and M. Lafontan. 1996. Adipocyte hormone-sensitive lipase: A major regulator of lipid metabolism. *Proc. Nutr. Soc.* 55:93-109.
- Lasekan, J. B., J. Rivera, M. D. Hirvonen, R. E. Keese, and D. M. Ney. 1992. Energy expenditure in rats maintained with intravenous or intragastric infusion of total parenteral nutrition solutions containing medium or long chain triglyceride emulsions. *J. Nutr.* 122:1483-1492.
- Lee, Y. P., C. T. Chen, Y. K. Fan, and C. C. Hwang. 1985. Daily activities of the three varieties meat-type chickens in Taiwan and their influences on carcass traits. *Proceedings of the 3rd AAAP Animal Science Congress, Korea.* 1:257-259.
- Lei, T., W. Xie, J. Han, B. E. Corkey, J. A. Hamilton, and W. Guo. 2004. Medium-chain fatty acids attenuate agonist-stimulated lipolysis, mimicking the effects of starvation. *Obes. Res.* 12:599-611.
- Leveille, G. A., D. R. Romsos, Y. Yeh, and E. K. O'Hea. 1975. Lipid biosynthesis in the chick. A consideration of site of synthesis, influence of diet and possible regulatory mechanisms. *Poult. Sci.* 54(4):1075-1093.
- Levin, N., C. Nelson, A. Gurney, R. Vandlen, and F. de Sauvage. 1996. Decreased food intake does not completely account for adiposity reduction after ob protein infusion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93:1726-1730.
- Londos, C., D. L. Brasaemle, C. J. Schultz, D. C. Adler-Wailes, D. M. Levin, A. R. Kimmel, and C. M. Rondinone. 1999. On the control of lipolysis in adipocytes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 892:155-168.
- Lu, Y. F., M. Santostefano, B. D. Cunningham, M. D. Threadgill, and S. Safe. 1996. Substituted flavones as arly hydrocarbon (Ah) receptor agonists and antagonists. *Biochem. Pharmacol.* 51:1007-1087.
- Mabayo, R. T., M. Furuse, A. Murai, and J. Okumura. 1994. Interactions between medium chain and long chain triacylglycerols in lipid and energy metabolism in growing chicks. *Lipids* 29:139-144.

- MacDougald, O. A., C. S. Hwang, H. Fan, and M. D. Lane. 1995. Regulated expression of the obese gene product (leptin) in white adipose and 3T3-L1 adipocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 92:9034-9037.
- Maddineni, S., S. Metzger, O. Ocon, G. Hendricks, 3rd, and R. Ramachandran. 2005. Adiponectin gene is expressed in multiple tissues in the chicken: Food deprivation influences adiponectin messenger ribonucleic acid expression. *Endocrinology* 146:4250-4256.
- Madsen L., R. K. Petersen, K. Kristiansen. 2005. Regulation of adipocyte differentiation and function by polyunsaturated fatty acids. *Biochimica et Biophysica Acta* 1740:266-286.
- Maeda, N., I. Shimomura, K. Kishida, H. Nishizawa, M. Matsuda, H. Nagaretani, N. Furuyama, H. Kondo, M. Takahashi, Y. Arita, R. Komuro, N. Ouchi, S. Kihara, Y. Tochino, K. Okutomi, M. Horie, S. Takeda, T. Aoyama, T. Funahashi, and Y. Matsuzawa. 2002. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat. Med.* 8:731-737.
- Maeda, K., K. Okubo, I. Shimomura, T. Funahashi, Y. Matsuzawa, and K. Matsubara. 1996. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (Adipose Most abundant gene transcript 1) . *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 221:286-289.
- Maeda, N., M. Takahashi, T. Funahashi, S. Kihara, H. Nishizawa, K. Kishida, H. Nagaretani, M. Matsuda, R. Komuro, N. Ouchi, H. Kuriyama, K. Hotta, T. Nakamura, U. Shimomura, and Y. Matsuzawa. 2001. PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes* 50:2094-2099.
- Maffei, M., J. Halaas, E. Ravussin, R. E. Pratley, G. H. Lee, Y. Zhang, H. Fei, S. Kim, R. Lallone, S. Ranganathan, P. A. Kern, and J. M. Friedman. 1995. Leptin levels in human and rodent: Measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat. Med.* 1:1155-1161.
- Mandrup, S., and M. D. Lane. 1997 Regulating adipogenesis. *J. Biol. Chem.* 272:5367-5370.

- Martin, D. B., M. G. Horning, and P. R. Vagelos. 1961. Fatty acid synthesis in adipose Tissue. I. Purification and properties of a long chain fatty acid-synthesizing system. *J. Biol. Chem.* 236:663-668.
- Martinez-Morales, J. R., J. A. Barbas, E. Marti, P. Bovolenta, D. Edgar, and A. Rodriguez-Tebar. 1997. Vitronectin is expressed in the central region of the neural tube and promotes the differentiation of motor neurons. *Development.* 24:5139-5147.
- Maslowska, M., A. D. Sniderman, R. Germinario, and K. Cianflone. 1997. Asp stimulates glucose transport in cultured human adipocytes. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 21:261-266.
- Masuzaki, H., Y. Ogawa, N. Isse, N. Satoh, T. Okazaki, M. Shigemoto, K. Mori, N. Tamura, K. Hosoda, Y. Yoshimasa, *et al.* 1995. Human obese gene expression. Adipocyte-specific expression and regional differences in the adipose tissue. *Diabetes* 44:855-858.
- Matsumura, F. 1995. Mechanism of action of dioxin-type chemicals, pesticides, and other xenobiotics affecting nutritional indexes. *Am. J. Clin. Nutr.* 61:695-701.
- Mcknight, S. L., M. D. Lane, and S. Gluecksohn-Waelsch. 1989. Is CCAAT/enhancer-binding protein a central regulator of energy metabolism. *Genes. Dev.* 3: 2021-2024.
- Miyazaki, M., Y.C. Kim, and J. M. Ntambi. 2001. A lipogenic diet in mice with a disruption of the stearoyl-CoA desaturase 1 gene reveals a stringent requirement of endogenous monounsaturated fatty acids for triglyceride synthesis. *J. Lipid Res.* 42(7):1018-1024.
- Morrison, R. F., and S. R. Farmer. 2000. Hormonal signaling and transcriptional control of adipocyte differentiation. *J. Nutr.* 130:3116S-3121S.
- Murphy, D. J., and J. Vance. 1999. Mechanisms of lipid-body formation. *Trends Biochem. Sci.* 24:109-115.
- Mustad, V. A., J. L. Ellsworth, A. D. Cooper, P. M. Kris-Etherton, and T. D. Etherton. 1996. Dietary linoleic acid increases and palmitic acid decreases hepatic LDL

- receptor protein and mRNA abundance in young pigs. *J. Lipid Res.* 37:2310-23.
- Nadler, S. T., J. P. Stoehr, K. L. Schueler, G. Tanimoto, B. S. Yandell, and A. D. Attie. 2000. The expression of adipogenic genes is decreased in obesity and diabetes mellitus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97:11371-11376.
- Nakajima, I., S. Muroya, R. Tanabe, and K. Chikuni. 2002. Extracellular matrix development during differentiation into adipocytes with a unique increase in type V and VI collagen. *Biol. Cell* 94:197-203.
- Nagai, S., C. Shimizu, M. Umetsu, S. Taniguchi, M. Endo, H. Miyoshi, N. Yoshioka, M. Kubo, and T. Koike. 2004. Identification of a functional peroxisome proliferator-activated receptor responsive element within the murine perilipin gene. *Endocrinology* 145:2346-2356.
- Nakano, Y., T. Tobe, N. H. Chio-Miura, T. Mazda, and M. Tomita. 1996. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *J. Biochem.* 120:803-812.
- Negrel, R., P. Grimaldi, and G. Ailhaud. 1978. Establishment of preadipocyte clonal line from epididymal fat pad of *ob / ob* mouse that responds to insulin and to lipolytic hormones. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* 75:6054-6058.
- Norum, K. R. 1992. Dietary fat and blood lipids. *Nutr. Rev.* 50: 30-37.
- Novakofski, J. 2004. Adipogenesis: Usefulness of *in vitro* and *in vivo* experimental model. *J. Anim. Sci.* 82:905-915.
- Noyan, A., W. J. Lossow, N. Brot, and I. L. Chaikoff. 1964. Pathway and form of absorption of palmitic acid in the chicken. *J. Lipid Res.* 53:538-541.
- Ntambi, J. M. and Y.-C. Kim. 2000. Adipogenesis: Usefulness of *in vitro* and *in vivo* experimental models. *J. Anim. Sci.* 82:905-915.
- Ooyama, K., J. Wu, N. Nosaka, T. Aoyama, and M. Kaski. 2007. Combined intervention of medium-chain triacylglycerol diet and exercise reduces body fat mass and enhances energy expenditure in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol* 54:136-141.

- Osuga J. I., S. Ishibashi, T. Oka, H. Yagyu, R. Tozawa, A. Fujimoto, F. Shionoiri, N. Yahagi, F. B. Kraemer, O. Tsutsumi, and N. Yamada. 2000. Targeted disruption of hormone-sensitive lipase results in male sterility and adipocyte hypertrophy, but not in obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 787-792.
- 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.
- Pairault, J. and H. Greene. 1979. A study of the adipose conversion of suspended 3T3 cell by using glycerophosphate dehydrogenase as differentiation marker. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 76:138-42
- Papamandjaris, A. A., D. E. MacDougall, and P. J. Jones. 1998. Medium chain fatty acid metabolism and energy expenditure: Obesity treatment implications. *Life Sci.* 62:1203-1215.
- Parsons, W. J., V. Ramkumar, and G. L. Stiles. 1988. Isobutylmethylxanthine stimulates adenylate cyclase by blocking the inhibitory regulatory protein. *Gi. Mol. Pharmacol.* 34:37-41.
- Paulauskis, J. D., and H. S. Sul. 1998. Cloning and expression of mouse fatty acid synthase and other specific mRNAs. Developmental and hormonal regulation in 3T3L1 cells. *J. Biol. Chem.* 263:7049-7054.
- Pelleymounter, M. A., M. J. Cullen, M. B. Baker, R. Hecht, D. Winters, T. Boone, and F. Collins. 1995. Effects of the obese gene product on body weight regulation in *ob/ob* mice. *Science.* 269:540-543.
- Prins, J. B., and S. O'Rahilly. 1997. Regulation of adipose cell number in man. *Clin. Sci. (Lond)* 92:3-11.
- Puga, A., J. Marlowe, S. Barnes, C. Y. Chang, A. Maier, Z. Tan, J. K. Kerzee, X. Chang, M. Strobeck, and E. S. Knudsen. 2002. Role of the aryl hydrocarbon receptor in cell cycle regulation. *Toxicology* 181-182:171-177.
- Raclot, T., C. Holm, and D. Langin. 2001. A role for hormone-sensitive lipase in the selective mobilization of adipose tissue fatty acid. *Biochim. Biophys. Acta.*

1532:88-96.

- Reagan, L. P., N. Gorovits, E. K. Hoskin, S. E. Alves, E. B. Katz, C. A. Grillo, G. G. Piroli, B. S. McEwen, and M. J. Charron. 2001. Localization and regulation of GLUT1 glucose transporter in the hippocampus of streptozotocin diabetic rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98:2820-2825.
- Reshef, L., Y. Olswang, H. Cassuto, B. Blum, C. M. Croniger, S. C. Kalhan, S. M. Tilghman, and R. W. Hanson. 2003. Glyceroneogenesis and the triglyceride/fatty acid cycle. *J. Biol. Chem.* 278:30413-30416.
- Ricquier, D., and F. Bouillaud. 2000. The uncoupling protein homologues: UCP1, UCP2, UCP3, StUCP and AtUCP. *Biochem. J.* 345 Pt 2:161-179.
- Riebinger, D., and D. Schrenk. 1998. Nonresponsiveness to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin of transforming growth factor beta1 and CYP1A1 gene expression in rat liver fat-storing cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 152:251-260.
- Robinson, J., and E. A. Newsholme. 1969. The effects of dietary conditions and glycerol concentration on glycerol uptake by rat liver and kidney-cortex slices. *Biochem. J.* 112:449-453.
- Rothwell, N. J., and M. J. Stock. 1987. Stimulation of thermogenesis and brown fat activity in rats fed medium chain triglyceride. *Metabolism* 36:128-130.
- Rouis, M., K. A. Dugi, L. Previato, A. P. Patterson, J. D. Brunzell, H. B. Brewer, and S. Santamarina-Fojo. 1997. Therapeutic response to medium chain triglycerides and ω -3 fatty acids in a patient with the familial chylomicronemia syndrome. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* 17:1400-1406.
- Rozman, K., B. Pfeifer, L. Kerecsen, and R. H. Alper. 1991. Is a serotonergic mechanism involved in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) -induced appetite suppression in the Sprague-Dawley rat. *Arch. Toxicol* 65:124-128.
- Saadoun, A., and B. Leclercg. 1983. Comparison of in vivo fatty acid synthesis of the genetically lean and fat chickens. *Comp. Biochem. Physiol.* B75(4):641-664.

- Saadoun, A., and B. Leclercg. 1987. In vivo lipogenesis of genetically lean and fat chickens: Effects of nutritional state and dietary fat. *J. Nutr.* 117:428-435.
- Sacchettini, J. C., and J. I. Gordon. 1993. Rat intestinal fatty acid binding protein. A model system for analyzing the forces that can bind fatty acids to protein. *J. Biol. Chem.* 268:18399-18402.
- Sato, K., Y. Akiba, Y. Chida, and K. Takahashi. 1999. Lipoprotein hydrolysis and fat accumulation in chicken adipose tissue are reduced by chronic administration of lipoprotein lipase monoclonal antibodies. *Poult. Sci.* 78:1286-1291.
- Sato, K., N. Nakanishi, and M. Mitsumoto. 1996. Culture conditions supporting adipose conversion of stromal-vascular cells from bovine intramuscular adipose tissues. *J. Vet. Med. Sci.* 58:1073-1078.
- Scheepers, A. H. Doege, H. G. Joost, and A. Schurmann. 2001. Mouse GLUT8: Genomic organization and regulation of expression in 3T3-L1 adipocytes by glucose. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 288:969-974.
- Scheepers, A., H. G. Joost, and A. Schurmann. 2004. The glucose transporter families SGLT and GLUT: Molecular basis of normal and aberrant function. *J. P. E. N. J. Parenter Enteral. Nutr.* 28:364-371.
- Scherer, P. E., S. Williams, M. Fogliano, G. Baldini, and H. F. Lodish. 1995. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J. Biol. Chem.* 270:26746-26749.
- Schizas, A. A., J. A. Cremen, E. Larson, and R. O'Brien. 1967. Medium chain triglycerides use in food preparation. *J. Am. Diet. Assoc.* 51:228-232.
- Schmidt, J. V., G. H. Su, J. K. Reddy, M. C. Simon, and C. A. Bradfield. 1996. Characterization of a murine Ahr null allele: Involvement of the Ah receptor in hepatic growth and development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93:6731-6736.
- Servetnick, D. A., D. L. Brasaemle, J. Gruija-Gray, A. R. Kimmel, J. Wolff, and C. Londos. 1995. Perilipins are associated with cholesteryl ester droplets in steroidogenic adrenal cortical and leydig cells. *J. Biol. Chem.* 270:16970-16973.

- Shen, W. J., Y. Liang, R. Hong, S. Patel, V. Natsu, K. Sridhar, A. Jenkins, D. A. Bernlohr, and F. B. Kraemer. 2001. Characterization of functional interaction of adipocyte lipid binding protein with hormone-sensitive lipase. *J. Biol. Chem.* 276:49443-49448.
- Shimakata T., K. Mihara, and R. Sato. 1972. Reconstitution of hepatic microsomal stearyl-coenzyme A desaturase system from solubilized components. *J. Biochem. (Tokyo)*. 72(5):1163-1174.
- Shimba, S., K. Todoroki, T. Aoyagi, and M. Tezuka. 1998. Depletion of aryl hydrocarbon receptor during adipose differentiation in 3T3-L1 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 249:131-137.
- Simon, J., and B. Leclercq. 1983. Longitudinal study of adiposity in chickens selected for high or low abdominal fat content: further evidence of a glucose-insulin imbalance in the fat line. *J. Nutr.* 112:1961-1973.
- Sklan, D., T. Yosefov, and A. Friedman. 1989. The effect of vitamin a, beta-carotene and canthaxanthin on vitamin a metabolism and immune responses in the chick. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 59:245-250.
- Skottova, N., R. Savonen, A. Lookene, M. Hultin, and G. Oilvecrona. 1954. Lipoprotein lipase enhances removal of chylomicrons and chylomicron remnants by the perfused rat liver. *J. Lipid. Res.* 36:1334-1344.
- Sniderman, A. D., K. Cianflone, L. Summers, B. Fielding, and K. Frayn. 1997. The acylation-stimulating protein pathway and regulation of postprandial metabolism. *Proc. Nutr. Soc.* 56:703-712.
- Souza, S. C., L. M. de Vargas, M. T. Yamamoto, P. Lien, M. D. Franciosa, L. G. Moss, and A. S. Greenberg. 1998. Overexpression of perilipin A and B blocks the ability of tumor necrosis factor alpha to increase lipolysis in 3T3-L1 adipocytes. *J. Biol. Chem.* 273:24665-24669.
- Steinberg, D., M. Vaughan, and S. Margolis. 1961. Studies of triglyceride biosynthesis in homogenates of adipose tissue. *J. Biol. Chem.* 236:1631-1637.
- Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR,

- Ahima RS, Lazar MA. 2001. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 409:307-312.
- Strittmatter, P., L. Spatz, D. Corcoran, M. J. Rogers, B. Setlow, and R. Redline. 1974. Purification and properties of rat liver microsomal stearyl coenzyme A desaturase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 71(11):4565-4569.
- Sun, L., A. C. Nicholson, D. P. Hajjar, A. M. Gotto, and J. Han. 2003. Adipogenic differentiating agents regulate expression of fatty acid binding protein and CD36 in the J744 macrophage cell line. *J. Lipid Res.* 44:1877-1886.
- Sztalryd, C., G. Xu, H. Dorward, J. T. Tansey, J. A. Contreras, A. R. Kimmel, and C. Londos. 2003. Perilipin is a essential for the translocation of hormone sensitive lipase during lipolytic activation. *J. Cell Biol.* 161:1093-1103.
- Tachibana, S., K. Sato, T. Takahashi, and Y. Akiba. 2002. Octanoate inhibits very low density lipoprotein secretion in primary cultures of chicken hepatocytes. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 132:621-627.
- Takahashi, M., Y. Arita, K. Yamagata, Y. Matsukawa, K. Okutomi, M. Horie, I. Shimomura, K. Hotta, H Kuriyama, S. Kihara, T. Nakamura, S. Yamashita, T. Funahashi, and Y. Matsuzawa. 2000. Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 24:861-868.
- Takashima, T., F. Yasuhiro, H. Kazuhide, A. Tetsuo, Y. Yoshihisa, H. Tadayoshi, and O. Shuzo. 2001. PPAR-gamma ligands inhibit growth of human esophageal adenocarcinoma cells through induction of apoptosis, cell cycle arrest and reduction of ornithine decarboxylase activity. *Int. J. Oncol.* 19:465-471.
- Takeuchi H., O. Noguchi, S. Sekine, A. Kobayashi, and T. Aoyama. 2006. Lower weight gain and higher expression and blood levels of adiponectin in rats fed medium-chain tag compared with long-chain tag. *Lipids* 41:207-212.
- Tanaka, K., S. Ohtani, and K. Shigeno. 1983. Effect of increasing dietary energy on hepatic lipogenesis in growing chicks. I. Increasing energy by carbohydrate supplementation. *Poult. Sci.* 62:445-451.

- Tanaka, T., N. Yoshida, T. Kishimoto, and S. Akira. 1997. Defective adipocyte differentiation in mice lacking the C/EBP β and/or C/EBP δ gene. *EMBO J.* 16: 7432-7443.
- Tansey, J. T., C. Sztalryd, J. Gruia-Gray, D. L. Roush, J. V. Zee, O. Gavrilova, M. L. Reitman, C. X. Deng, C. Li, A. R. Kimmel, and C. Londos. 2001. Perilipin ablation results in a lean mouse with aberrant adipocyte lipolysis, enhanced leptin production, and resistance to diet-induced obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98:6494-6499.
- Tholstrup T., C. Ehnholm, M. Jauhiainen, M. Petersen, C. E. Høy, P. Lund, and B. Sandström. 2004. Effects of medium-chain fatty acids and oleic acid on blood lipids, lipoproteins, glucose, insulin, and lipid transfer protein activities. *Am. J. Clin. Nutr.* 79:564-569.
- Tontonoz, P., E. Hu, and B. M. Spiegelman. 1994a. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell.* 79:1147-1156.
- Tontonoz, P., E. Hu, R. A. Graves, A. I. Budavari, and B. M. Spiegelman. 1994b. mPPAR2: tissue specific regulator of adipocyte enhancer. *Genes Dev.* 8:224-234.
- Tordjman, K. M., K. A. Leingang, D. E. James, and M. M. Mueckler. 1989. Differential regulation of two distinct glucose transporter species expressed in 3T3-L1 adipocytes: Effect of chronic insulin and tolbutamide treatment. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 86:7761-7765.
- Tsuji, H., M. Kasai, H. Takeuchi, M. Nakamura, M. Okazaki, and K. Kondo. 2001. Dietary medium-chain triacylglycerols suppress accumulation of body fat in a double-blind, controlled trial in healthy men and women. *J. Nutr.* 131,2853-2859.
- Van Nieuwenhoven, F. A., G. J. Van Der Vuss, and J. F. Glatz. 1996. Membrane associated and cytoplasmic fatty acid binding protein. *Lipid.* 31(Suppl):223-227.
- 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.

- Viven, D., P. Galera, G. Loyau, and J. P. Pujol. 1991. Differential response of cultured rabbit articular chondrocytes (RAC) to transfecting growth factor β (TGF- β) evidence for a role of serum factors. *Eru. J. Cell Biol.* 54:217-223.
- Walzem, R. L., R. J. Hansen, D. L. Williams, and R. L. Hamilton. 1999. Estrogen induction of VLDL₂ assembly in egg-laying hens. *J. Nutr.* 129:457S-472S.
- Wang, Y., Y. Mu, H. Li, N. Ding, Q. Wang, Y. Wang, S. Wang, and N. Wang. 2008. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ gene: A key regulator of adipocyte differentiation in chicken. *Poult. Sci.* 87:226-232.
- Weiner, F. R., P. J. Smith, S. Wertheimer, and C. S. Rubin. 1991. Regulation of gene expression by insulin and tumor necrosis factor alpha in 3T3-L1 cells. Modulation of the transcription of genes encoding acyl-CoA synthetase and stearoyl-CoA desaturase-1. *J. Biol. Chem.* 266:23525-23528.
- Weinstock, P. H., S. Levak-Frank, L. C. Hudgins, H. Radner, J. M. Friedman, R. Zechner, and J. L. Breslow. 1997. Lipoprotein lipase controls fatty acid entry into adipose tissue, but fat mass is preserved by endogenous synthesis in mice deficient in adipose tissue lipoprotein lipase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94:10261-10266.
- Wong, H., R. C. Davis, T. Thuren, J. W. Goers, J. Nikazy, M. Waite, and M. C. Schotz. 1994. Lipoprotein lipase domain function. *J. Biol. Chem.* 269(14): 10319-10323.
- Wood, I. S., and P. Trayhurn. 2003. Glucose transports (GLUT and SGLT): Expanded families of sugar transport proteins. *Br. J. Nutr.* 89:3-9.
- Wu-Rideout, M. Y. C., C. Elson, and E. Shrago. 1976. The role of fatty acid binding protein on the metabolism of fatty acids in isolated rat hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 71:809-16.
- Wu, Z., N. L. Bucher, and S. R. Farmer. 1996. Induction of peroxisome proliferator-activated receptor gamma during the conversion of 3T3 fibroblasts into adipocytes is mediated by C/EBP β , C/EBP δ , and glucocorticoids. *Mol. Cell Biol.* 16:4128-4136.

- Wu, Z., Y. Xie, N. L. Bucher, and S. R. Farmer. 1995. Conditional ectopic expression of C/EBP β in HIN-3T3 cells induces PPAR γ and stimulates adipogenesis. *Genes Dev.* 9:2350-2363.
- Yang, V. W., R. J. Christy, J. S. Cook, T. J. Kelly, and M. D. Lane. 1989. Mechanism of regulation of the 422 (aP2) gene by cAMP during preadipocyte differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 86:3629-3633.
- Yamauchi, T., J. Kamon, Y. Minokoshi, Y. Ito, H. Waki, S. Uchida, S. Yamashita, M. Noda, S. Kita, K. Ueki, K. Eto, Y. Akanurma, P. Froguel, F. Foufelle, P. Ferre, D. Carling, S. Kimura, R. Nagai, B. B. Kahn, and T. Kadowaki. 2002. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating amp-activated protein kinase. *Nat. Med.* 8:1288-1295.
- Yamauchi, T., J. Kamon, H. Waki, Y. Imai, N. Shimosawa, K. Hioji, S. Uchida, Y. Ito, K. Takakuwa, J. Matsui, M. Takata, K. Eto, Y. Terauchi, K. Komeda, M. Tsunida, K. Murakami, Y. Ohnishi, T. Naitoh, K. Yamamura, Y. Ueyama, P. Froguel, S. Kimura, R. Nagai, and T. Kadowaki. 2003. Globular adiponectin protected *ob/ob* mice from diabetes and apoE-deficient mice from atherosclerosis. *J. Biol. Chem.* 278:2461-2468.
- Yeh, W. C., Z. Cao, M. Classon, and S. L. Mcknight. 1995. Cascade regulation of terminal adipocyte differentiation by three members of the C/EBP family of leucine zipper protein. *Genes Dev.* 9:168-181.
- Yu, J. G., S. Javorschi, A. L. Hevener, Y. T. Kruszynska, R. A. Norman, M. Sinha, and J. M. Olefsky. 2002. The effect of thiazolidinediones on plasma adiponectin levels in normal, obese, and type2 diabetic subjects. *Diabetes* 51:2968-2974.
- Zhang, Y., M. Matheny, S. Zolotukhin, N. Tumer, and P. J. Scarpace. 2002. Regulation of adiponectin and leptin gene expression in white and brown adipose tissue: Influence of beta3-adrenergic agonists, retinoic acid, leptin and fasting. *Biochim. Biophys. Acta.* 1584:115-122.
- Zhu, Y., C. Qi, J. R. Korenberg, X. N. Chen, D. Noya, M. S. Rao, and J. K. Reddy. 1995. Structural organization of mouse Peroxisome proliferators-activator receptor γ (mPPAR γ) gene: alternative promoter use and different splicing yield two PPAR isoform. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 92:7921-7925.

Zhu, M., J. Miura, L. X. Lu, M. Bernier, R. DeCabo, M. A. Lane, G. S. Roth, and D. K. Ingram. 2004. Circulating adiponectin levels increase in rats on caloric restriction: The potential for insulin sensitization. *Exp. Gerontol.* 39:1049-1059.

ABSTRACT

Animals fed medium-chain triacylglycerols (MCT)-supplemented diet have substantially reduced fat content. The objective of this study was to investigate the effects of dietary MCT on the adipogenic activity of chicken serum *in vitro* and its relevance in the reduction of animal fat content. Commercial broilers were fed a diet replacing soybean oil with MCT at the levels of 0, 20, 50, or 80%. Chickens were sacrificed at 36 days of age when body-fat measurement and serum collection were completed. MCT-fed chickens showed decreased fat content and their tissue sections had smaller adipocytes, but no effects on body weight, compared with those of control chickens. Adipose differentiation of stromal-vascular cells prepared from adipose tissues of broilers was induced with the collected sera. Oil-Red O staining and triacylglycerol content assay revealed that cells cultured in medium supplemented with sera of higher-percentage MCT-fed chickens had lower fat contents on day 6 post induction. Similar results were obtained in the glycerol-3-phosphate dehydrogenase activity assay. Additionally, relative quantitative RT-PCR analysis demonstrated that cells treated with serum prepared from MCT-fed chickens had lower mRNA levels of differentiation-related genes (PPAR γ , C/EBP β , aP2, LPL, GLUT1, GLUT8, and perilipin) than those treated with the control serum, but no effects on the mRNA level of adipoQ. However, no significant differences in fat accumulation and the expression of differentiation-related genes (PPAR γ , aP2, LPL, and perilipin) were detected, but the mRNA level of adipoQ had lower than control when the sera were administered to cells at late stages (day 4) of differentiation. Moreover, gas chromatography analysis showed the cells were stimulated to differentiate in sera from MCT-fed chickens had higher levels of C16:0 and C18:2 but lower C16:1 level than control cells, also the differentiation of adipos cells were weak. Finally, results of gas chromatography analysis showed that the sera of MCT-fed chickens had higher levels of saturated fatty acids and C18:2 but lower C16:1 and C18:1 levels than control sera. Overall, lower adipogenic activities were observed in sera of MCT-fed chickens than those of soybean-fed controls, likely leading to reduced fat tissue growth and less fat tissue mass in these chickens.