

飲食中添加麩醯胺酸對敗血症老鼠腹腔巨噬細胞吞噬力及細胞激素分泌的影響

張靜涵¹ 葉秋莉² 李貞嫻² 葉松鈴²

¹東吳大學微生物學系

²台北醫學大學保健營養學系

前言

Glutamine (GLN) 是全血及細胞間質中含量最多的非必需胺基酸。近年來的研究顯示在異化作用時，血中及骨骼肌中GLN的濃度會明顯下降，且下降量的多寡與存活率有關，因此GLN被認為是壓力狀況下之條件性必需胺基酸，而飲食中添加GLN可改善此種狀況。敗血症 (sepsis) 是一種嚴重的發炎反應，而死亡率極高，當敗血症發生時，體內壓力性荷爾蒙及細胞激素的分泌會造成嚴重的異化作用。研究顯示GLN添加可改善敗血症老鼠之存活率。體外實驗亦顯示在macrophage培養基中添加GLN可促進其分化及吞噬作用，但目前並無研究顯示在飲食中添加GLN是否可增強體內macrophage之吞噬及對細胞激素分泌之影響，故本實驗以腹膜炎引起敗血症的動物模式，探討GLN添加對敗血症老鼠非特异性免疫能力的影響。

材料與方法

以剛斷奶之雄性BALB/c小鼠30隻為實驗對象，將老鼠分為兩組，一組為實驗組給予添加GLN的飲食，另一組為控制組以酪蛋白為蛋白質來源，兩組飲食為等熱量 (表一)。4週後將老鼠施行盲腸穿孔及結紮手術 (cecal ligation and puncture, CLP)，並採集血液及腹水樣本進行分析。

Table 1. Composition of the experimental diet (g/kg)

Ingredients	Control group	Gln group
Casein	200	150
Gln	0	40
Corn starch	651	661
Soybean oil	35	35
DL-Methionine	3	3
Methyl cellulose	60	60
Mineral mix	40	40
Vitamin mix	10	10
Choline chloride	1	1

分析項目

1. Plasma and peritoneal lavage fluid (PLF): interleukin (IL)-1 β , IL-6, tumor necrosis factor (TNF)- α

2. PLF: macrophage、厭氧、好氧菌之培養

3. Macrophage吞噬能力之測定：

以螢光標定之*E Coli*與定量之macrophage培養，macrophage吞噬*E Coli*量以螢光分光光度計測定

統計

數據以means \pm SD表示，組間以student's *t* test 進行統計，以 $p < 0.05$ 表示有統計差異。

結果與討論

1. 兩組小鼠在CLP24小時後的致死率無差異 (GLN組4/16 vs. control組4/15)。

2. GLN組血漿中與發炎反應相關之IL-1 β , IL-6濃度顯著較對照組低 (Fig 1)，腹水中TNF- α 的濃度亦顯著較對照組低 (Fig 2)。顯示全身性及受創局部發炎反應較輕微。

3. 在等量腹水中測得的總巨噬細胞數目GLN組有較control組少之趨勢，但在統計上並未達顯著差異 (Fig 3)。

4. 在等量腹水中培養出之好氧菌及厭氧菌菌落數，GLN組在厭氧菌落數在稀釋100倍或1000倍之腹水中均顯著較控制組少，而好氧菌的菌落數差異則不明顯 (Table 2)。由於腸內菌均為厭氧菌，此結果顯示GLN組在腹腔內因CLP引致之腸內菌感染較控制組輕微。

5. 巨噬細胞吞噬能力之結果顯示，GLN組其體內巨噬細胞的吞噬能力較控制組老鼠強 (Fig 4)

結論

飲食中添加GLN可使敗血症老鼠全身及局部之發炎反應較輕微，並可增強腹腔macrophage之吞噬能力及減少腸內菌在腹腔之感染，但並不足以改善致死率。

Table 2. Aerobic and anaerobic bacteria colony in peritoneal lavage fluid after dilution for 100 and 1000 times between the two group.

	Aerobic		Anaerobic	
	10 ²	10 ³	10 ²	10 ³
Control	16.5 \pm 1.9.3	1.2 \pm 2.2	243.0 \pm 31.2	14.0 \pm 6.5
GLN	7.0 \pm 8.6	2.0 \pm 2.5	9.8 \pm 2.4*	2.6 \pm 5.1*

* $p < 0.05$

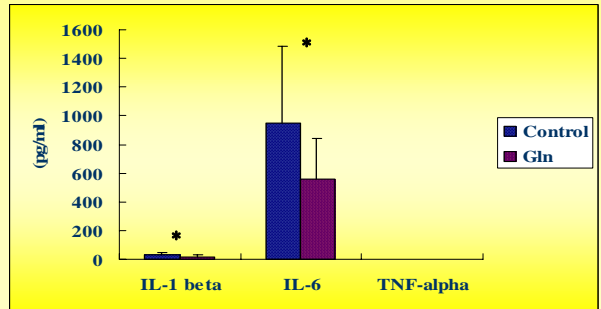


Fig 1. Plasma cytokine concentrations between the 2 groups * $p < 0.05$

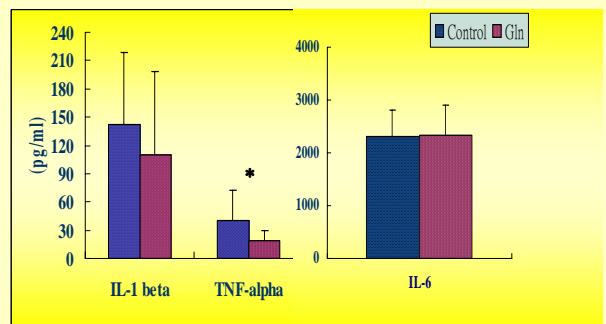


Fig 2. Cytokine concentrations in peritoneal lavage fluid between the 2 groups (* $p < 0.05$)

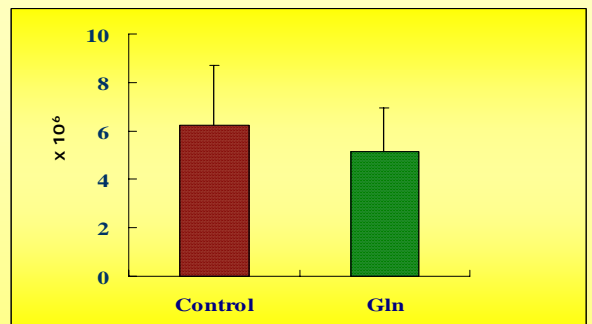


Fig 3. Macrophage number in peritoneal lavage fluid of the 2 groups (control vs. GLN $p > 0.05$)

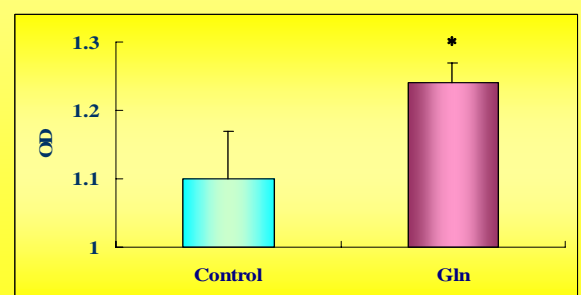


Fig 4. Effect of macrophage phagocytosis between the 2 groups (* $p < 0.05$)