

# 添加精胺酸對腹膜炎引致敗血症老鼠腸道及全身性免疫反應之影響

王怡云<sup>1</sup> 商惠芳<sup>2</sup> 賴育妮<sup>1,3</sup> 葉松鈴<sup>1</sup> 陳維昭<sup>3</sup>  
台北醫學大學保健營養研究所<sup>1</sup> 台北醫學大學微免疫學科<sup>2</sup> 台灣大學醫學院外科<sup>3</sup>

## Introduction

敗血症 (sepsis) 是一種細菌引起之症狀，死亡率極高，當細菌及其內毒素侵入人體後，會造成體內代謝異常及組織分解，最後導致多重器官衰竭，其中包括對小腸之損害。敗血症時腸繫膜之血流量降低、小腸黏膜水腫、小腸細胞對營養素之利用率降低，因而造成腸黏膜免疫功能受損，使細菌轉移之情形更為嚴重。故如何防止敗血症之發生，或在敗血症後如何增強宿主免疫反應，為臨床上需積極研究之方向。

Arginine (Arg) 是一種非必需胺基酸，有研究顯示敗血症病患或動物血漿中Arg濃度會下降，若添加Arg可改善敗血症患者或動物之存活率，因此有學者以血漿中Arg濃度作為敗血症嚴重程度及存活率之指標。Madden等人之研究顯示，在引致敗血症後以靜脈給予Arg補充組老鼠之存活率有明顯之改善，而給予胃造口補充Arg組其存活率與不給Arg之控制組無差異，若在敗血症之前以胃造口給予Arg亦能改善老鼠之存活率，但影響存活率的機制為何則不明。故本研究分別在敗血症前後添加Arg，來探討在敗血症之前或之後添加是否能增強免疫能力並改善病情，而在前後均添加能否有加成之效果。

腸道淋巴組織 (gut associated lymphoid tissue, GALT) 是腸道及腸外組織重要的免疫系統，腸道內70-80%的免疫球蛋白由腸黏膜產生以抵禦侵入腸道之致病原。GALT包括Peyer's patches、Intraepithelial lymphocytes 及 Lamina propria lymphocytes，其中Peyer's patches是黏膜免疫的最初來源，可釋出活化的免疫細胞至全身，所以本研究利用Peyer's patches來作為腸道免疫組織之代表。

## Purpose

本實驗在敗血症前以由口進食，敗血症後以全靜脈營養(TPN)輸入方式給與Arg，來研究Arg對敗血症的影響；由於敗血症之發生無法預知，因此本實驗在敗血症發生之前後給或不給Arg來模擬有敗血症危險之重症病人，是否可在住院後即給予Arg，來預防敗血症或減輕敗血症之嚴重程度，或敗血症發生後以靜脈輸入也可達到同樣之效果。

## Materials and methods

以230g-250g之Wistar雄性老鼠為實驗對象，共分為四組，其中兩組給予一般組成之semipurified diet，其餘兩組給予相同形式並以2% Arg取代casein之飲食，兩組為等數量。各給予十天後，四組均實行盲腸結紮及穿孔手術 (CLP) 並進行頸靜脈插管，在兩種飲食之組別中各取一組在敗血症後輸入一般之TPN輸液，剩下之兩組輸入以2% Arg取代胺基酸溶液之輸液，故四組分別為：(1) CLP前後均未添加Arg組 (-)，(2) CLP前給一般飲食，CLP後給添加Arg之TPN(- +)，(3) CLP前給添加Arg之飲食，手術後給一般之TPN(+ -)，(4) CLP前後均添加Arg組(+ +)。四組營養素組成、總熱量及總氣量均相等。在引致敗血症三天後犧牲老鼠，取腹水，收集腹腔macrophage，由腹腔動脈收集血液，並取下小腸及脾臟供分析。分析項目包括：

1. 細菌培養之菌落數：包括全血及腹腔灌洗液(PLF)中好氧菌及厭氧菌之菌落數。
2. 免疫細胞數量之計數：包括 PLF 及 Peyer's patches 中 macrophage 之總數，Peyer's patches 中淋巴細胞之總數。
3. 細胞之吞噬能力：包括 macrophage 以及週邊血液吞噬螢光標定 E. coli 之能力。
4. Secretory Immunoglobulin (Ig)A 之濃度：包括腸道灌洗液以及血漿中 sIgA 之濃度。

## Results

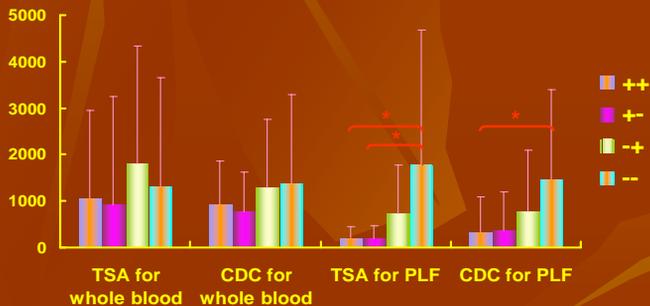


Fig 1 全血及腹腔灌洗液中好氧菌以及厭氧菌之菌落數。

PLF: Peritoneal lavage fluid, 腹腔灌洗液。  
TSA blood agar plate: 培養好氧菌用。  
CDC blood agar plate: 培養厭氧菌用。  
\* p < 0.05

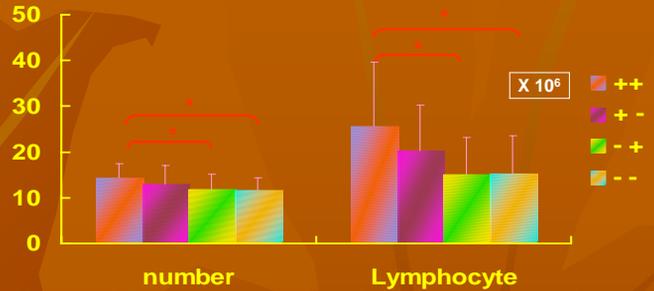


Fig 2 腸道中 Peyer's patches 之總顆粒數以及 Peyer's patches 中淋巴細胞之總數。  
p < 0.05

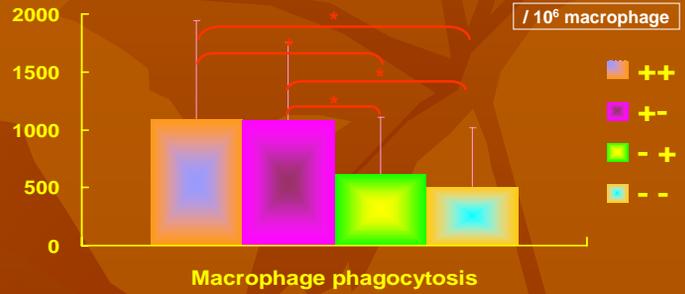


Fig 3 腹腔灌洗液中 macrophage 吞噬能力之測定。  
\* p < 0.05

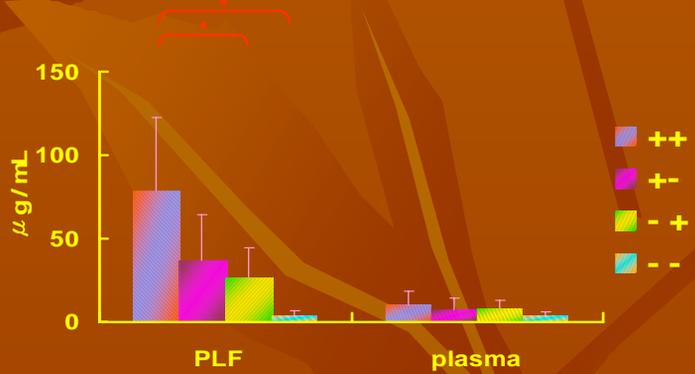


Fig 4 腹腔灌洗液及血漿中 sIgA 之濃度。  
\* p < 0.05

## Discussions

Arg 之主要代謝途徑有二，一是經由 arginase 之作用生成 ornithine，ornithine 為 polyamines 之前驅物，polyamines 能促進淋巴細胞之生長以及分化，而淋巴細胞與 macrophage 有交互調節之作用，若淋巴細胞之生長被抑制，則無法分泌細胞激素刺激 macrophage 之活性；另一則是經由 nitric oxide synthase (NOS) 之作用生成 nitric oxide (NO)，NO 能刺激 macrophage 其 cyclic guanosine monophosphate (cGMP) 之表現，因而促進 macrophage 之表現；故在本實驗中，macrophage 之活性因在敗血症前添加 Arg 而增加，因而降低了培養腹腔灌洗液中好氧菌及厭氧菌之菌落數。

有學者指出，使用 TPN 會降低腸道免疫細胞之數目，本實驗結果顯示，在敗血症前添加 Arg 能有效增加 Peyer's patches 中淋巴細胞之數目，且腸道上 Peyer's patches 之顆粒數也增加，分佈之區域更廣，更能快速作用於腸道各處。

sIgA 為一種與黏膜免疫最為相關之抗體，其主要功用在於能抑制細菌黏附在黏膜細胞上，並能包住細菌使其無法將所需之物質運送通過細胞膜，並會促進 macrophage 之吞噬能力，進而幫助免疫系統之作用，由於本實驗所使用之敗血症模式對於小腸黏膜之傷害極大，但在添加 Arg 後可明顯增加 sIgA 之分泌，顯示添加 Arg 能有效改善黏膜免疫之功能。

## Conclusion

在引致敗血症之前添加 Arg 能有效改善腸道免疫功能，若在敗血症之後利用 TPN 給予 Arg 之補充則並無此效果，而在之前與之後均補充 Arg 並無加成之效果。