

李正中 葉松鈴 胡雅梅 邱琬淳
臺北醫學大學保健營養學系

表一、肝臟中粒線體之酵素活性

	NCCR	SCCR	CCO
	Activity (nmol / min × mg protein)		
0h			
C	0.44±0.05	8.70±1.40	10.69±0.51
LF	0.52±0.07	8.61±0.96	12.82±1.12
HF	0.58±0.06	8.58±1.33	14.68±1.29 [†]
6h			
C	0.29±0.03	2.24±0.49 [*]	7.12±0.89 [*]
LF	0.27±0.03 [*]	6.48±2.00 [†]	6.07±0.78 [*]
HF	0.50±0.05 [†]	7.96±1.98 [†]	10.80±1.76 ^{**}
24h			
C	0.47±0.07	7.70±1.01	9.08±0.68
LF	0.54±0.08	7.75±1.63	10.51±0.93
HF	0.58±0.05	8.55±1.66	9.91±0.39 [*]

*同組間與CLP後0小時比較有統計上的差異($P<0.05$)
†同時間點與C組比較有統計上的差異($P<0.05$)

摘要:

本研究探討飲食中添加不同劑量之魚油對敗血症小鼠粒線體功能及發炎反應之影響。實驗將雄性ICR小鼠分成三組，分別給予含10%大豆油的控制組(C)、2.5%魚油混合7.5%大豆油組(LF)及7.5%魚油混合2.5%大豆油組(HF)，餵養三週後進行盲腸結紮穿孔手術(cecal ligation and puncture, CLP)引致敗血症，並於第0、6、及24小時犧牲動物，取其腹腔沖洗液及肝臟進行分析。結果顯示於CLP後6小時及24小時HF組其腹腔沖洗液中tumor necrosis factor (TNF)- α 及prostaglandin (PG)E₂皆顯著低於C及LF組。CLP後6小時，HF組肝臟粒線體酵素NADH cytochrome c reductase (NCCR)、succinate cytochrome c reductase (SCCR)及cytochrome c oxidase (CCO)活性皆顯著高於C組，並且於CLP後6小時，各組肝臟粒線體形態均有腫大的現象，且以LF組最為明顯，故推論飲食中含較高比例之魚油可於敗血症後降低發炎反應並維持肝臟粒線體酵素活性。

材料與方法:

一.實驗設計:

選用五週大之雄性ICR小鼠為實驗動物，飼養一週適應環境後，餵予不同飼料進行實驗。實驗分成：10%大豆油的控制組(C)、2.5%魚油混合7.5%大豆油組(LF)及7.5%魚油混合2.5%大豆油組(HF)，餵養三週後再進行CLP引致敗血症，分別於第0、6、24小時(n=10)犧牲，收集腹腔沖洗液及肝臟進行分析。

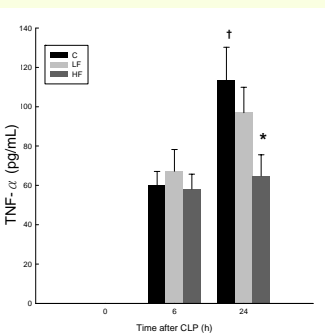
二.分析項目:

測量腹腔沖洗液中TNF- α 及PGE₂的表現量；分離出肝臟粒線體後，測量粒線體電子傳遞鏈酵素NCCR、SCCR及CCO活性，並取肝臟切片染色後以穿透式電子顯微鏡觀察粒線體的形態。

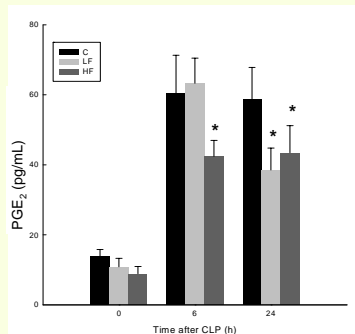
三.統計方法:

使用SAS9.1軟體進行統計分析，以雙因子變異數分析(two-way ANOVA)比較組間差異，利用Duncan's multiple range test進行事後檢定，數據皆以mean \pm SEM表示，當 $P<0.05$ 表示統計上有顯著的差異。

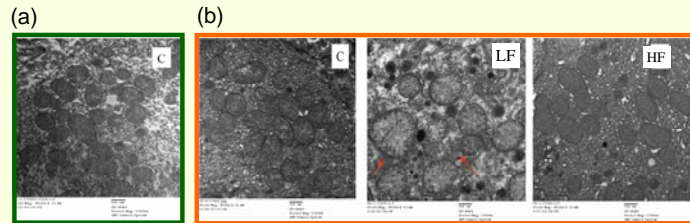
結果:



圖一、腹腔沖洗液中TNF- α 之濃度數據以Mean \pm SEM表示(n=10)
*表示在同一時間點比較顯著低於C組($P<0.05$)
†表示在同一組不同時間點顯著較其他時間點高($P<0.001$)



圖二、腹腔沖洗液中PGE₂之濃度數據以Mean \pm SEM表示(n=10)
*表示在同一時間點比較顯著低於C組($P<0.05$)



圖三、(a)為CLP後C組肝臟粒線體的形態(b)為CLP第6小時後肝臟粒線體的形態，箭頭所指為外膜破損、crista較不明顯。

討論:

過去有關n-3 PUFA介入敗血症之研究中，多著重於營養素代謝及免疫反應調節之影響，並且各研究中所給予之魚油的劑量也不同，故本研究以不同劑量魚油介入對於敗血症小鼠發炎反應及粒線體功能之影響。LF組n-3 PUFA約可提供4.3%的熱量來源，而HF組n-3 PUFA約可提供11.6%的熱量來源，結果顯示HF組小鼠其第24小時腹腔沖洗液中TNF- α 、PGE₂皆顯著低於C組。在人體實驗中也發現給予n-3 PUFA可降低PBMC中TNF- α 、IL-1, IL-6, 及IL-2之濃度⁽¹⁾，在動物實驗中也發現魚油可以減少糖尿病合併敗血症小鼠腹腔沖洗液PGE₂和TNF- α 含量⁽²⁾。而HF組小鼠其第6小時肝臟粒線體酵素NCCR、SCCR、CCO皆顯著高於C組，有研究指出在敗血症晚期酵素活性喪失，可能是因粒線體中活性氧屬(reactive oxygen species, ROS)、一氧化氮(nitric oxide, NO)過高而抑制其酵素活性⁽³⁾，在動物實驗中也發現小鼠進行CLP後24小時，其橫隔膜粒線體呼吸鏈中酵素活性均顯著低於控制組，且iNOS活性顯著增加⁽⁴⁾，而有研究發現長期攝取魚油的小鼠其老化過程中可降低cyclooxygenase (COX)-2與iNOS的表現⁽⁵⁾，然而魚油可維持敗血症小鼠肝臟粒線體之酵素活性其詳細機制仍待進一步探討。

結論:

給予小鼠高魚油飲食於CLP後6小時及24小時HF組其腹腔沖洗液中TNF- α 及PGE₂皆顯著低於C和LF組。CLP後6小時，HF組肝臟粒線體酵素NCCR、SCCR及CCO活性皆顯著高於C組，故推論飲食中含較高比例之魚油可於敗血症後降低發炎反應並維持肝臟粒線體酵素活性。

參考文獻:

1. Calder PC (1997) n-3 polyunsaturated fatty acids and cytokine production in health and disease. *Ann Nutr Metab* 41, 203-234.
2. Chiu WC, Hou YC, Yeh CL, Hu YM & Yeh SL (2007) Effect of dietary fish oil supplementation on cellular adhesion molecule expression and tissue myeloperoxidase activity in diabetic mice with sepsis. *Br J Nutr* 97, 685-691.
3. Levy RJ, Vijayasathya C, Raj NR, Avadhani NG, Deutschman CS (2004) Competitive and noncompetitive inhibition of myocardial cytochrome C oxidase in sepsis. *Shock* 21, 110-4.
4. Lopez LC, Escames G, Tapias V, Utrilla P, Leon J, Acuna Castroviejo D (2006) Identification of an inducible nitric oxide synthase in diaphragm mitochondria from septic mice: its relation with mitochondrial dysfunction and prevention by melatonin. *Int J Biochem Cell Biol* 38, 267-78.
5. Kim YJ, Kim HJ, No JK, Chung HY, Fernandes G (2006) Anti-inflammatory action of dietary fish oil and calorie restriction. *Life Sci* 78:2523-32.