

魚油對糖尿病合併敗血症小鼠其粘著分子與骨髓過氧化酶活性之影響

Effect of fish oil on adhesion molecules and myeloperoxidase activity in diabetic mice with sepsis



邱婉淳^{1,2}, 侯又禎², 陳惠敏², 葉松鈴²
¹臺北醫學大學藥學系博士班, ²臺北醫學大學保健營養學系

Wan-Chun Chiu¹, Yu-Chen Ho², Hui-Min Chen², Sung-Ling Yeh²

¹School of Pharmacy, Taipei Medical University, ²School of Nutrition and Health Sciences, Taipei Medical University

摘要

本研究目的在探討飲食中添加魚油對於糖尿病小鼠，其敗血症發生之早、晚期粘著分子與骨髓過氧化酶 (myeloperoxidase; MPO) 活性之影響。空腹血糖低於130mg/dL之 ICR 為正常控制組，以腹腔注射 streptozotocin (150mg/kgBW) 引致 ICR 產生糖尿病，實驗共分成四組：控制組 (C) 糖尿病對照組 (D)，餵予2.5 %魚油混合7.5 %大豆油 (F) 及10 %大豆油 (S) 配方為期三週，進行盲腸結紮穿刺術引致敗血症 (CLP)，分別於第0、6、24小時犧牲，分析白血球粘著分子 LAF-1、Mac-1及血漿sICAM含量及肝、腎、腸中MPO活性。結果發現D組之LFA-1、Mac-1及肝、腸之 MPO 活性均顯著高於 C 組；CLP 後 0 小時 F組肝、腸之 MPO 活性皆低於S組，CLP 6小時之 LAF-1在 F組顯著低於 S 組，CLP後24小時之 sICAM 不論餵予何種飲食皆大於 C 組。顯示血糖增加會增加粘著分子與 MPO 活性，當飲食中含 2.5%魚油時只對糖尿病鼠合併敗血症之早期較有影響，而在晚期則對肺之活性有影響。

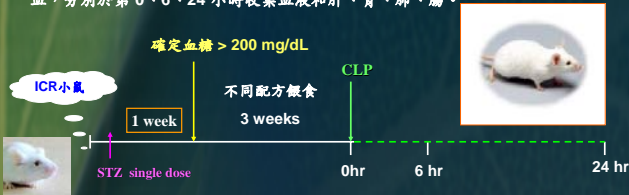
關鍵詞：糖尿病、敗血症、粘著分子、骨髓過氧化酶

前言

敗血症 (sepsis) 為臨床上常見因感染所引發之病症，加護病房中患有敗血症之病人其死亡率高達30-60%，因人類檢體的取得不易，過去以免疫營養素 (如魚油、麩醯胺、精胺酸等) 介入敗血症之研究中，多以健康、年輕的動物進行敗血之誘導，然而並無法接近真實地反映出人類會引發敗血症的狀況，因新生兒和老年人較易因疾病引發敗血症，而老年人本身可能就罹患了不同的慢性病，故有必要了解罹患慢性病患者合併敗血症所引發之發炎反應狀況。敗血症引起之發炎反應會藉由增加促發炎反應之細胞激素分泌而增加血液中粘著分子表現，進而使白血球通過內皮之屏障遷移至組織中，除敗血症外，血糖過高也會促使粘著分子表現增加。骨髓過氧化酶 (myeloperoxidase; MPO) 之活性則與組織損傷之嚴重程度有關。過去之研究發現增加飲食中的魚油可以降低粘著分子之表現與細胞激素分泌，進而調節發炎反應之產生，因此本研究主要在探討將魚油添加在飲食中餵予糖尿病小鼠，視其敗血症後之早、晚期粘著分子與 MPO 活性之影響。

材料與方法

實驗設計：實驗動物為六週大之雄性 ICR 小鼠，以腹腔注射 streptozotocin (150mg/kg BW) 引致糖尿病 (空腹血糖 >200 mg/dL) 後餵予不同油脂來源配方。實驗共分成四組，每組六隻：空腹血糖 < 130 mg/dL 為控制組 (C)、糖尿病對照組 (D)、餵予2.5 %魚油混合7.5 %大豆油 (F) 及10 %大豆油 (S) 配方為期三週，再進行盲腸結紮穿刺術 (Cecal Ligation and Puncture; CLP) 引致敗血，分別於第0、6、24小時收集血液和肝、腎、肺、腸。



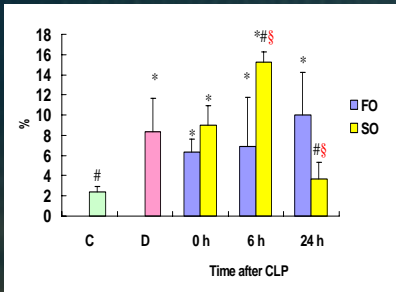
分析：以流式細胞儀分析白血球上粘著分子 LAF-1和 Mac-1 表現，利用 ELISA kit 分析血漿中的sICAM-1。分析各器官的MPO酶活性。

統計分析：以 SAS進行 two way ANOVA分析，p < 0.05表示具有統計上之差異。

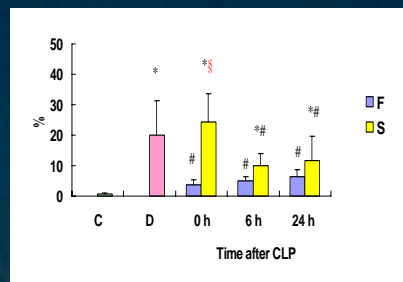
結果與討論

引發敗血症之後會有一連串的發炎反應產生，然而發生敗血症之早期 (CLP 後 2-10小時) 與晚期 (CLP 20小時以上)，則有不同的發炎反應狀況，早期可能引起較嚴重的促發炎反應，晚期身體則可能已經過慮而產生代償性之抗發炎能力。依據過去本研究室之經驗發現在敗血 6小時與24小時分別可代表早、晚期之發炎反應，因此犧牲的時間點就選在CLP後0、6、24小時。在魚油組配方中之n-3 脂肪酸含量約佔總熱量的4%，且將n-6與n-3 多元不飽和脂肪酸之比例調整為 2：1。

白血球與內皮細胞之交互作用過程中，粘著分子之產生有時間的先後差異。圖一顯示糖尿病鼠之LAF-1表現顯著高於控制組，而在敗血症早期 F 組之LAF-1表現低於 S 組，且 CLP 後6小時 F 組顯著低於 S 組。粘著分子 LAF-1 的表現應屬於早期，本實驗結果發現魚油可以降低糖尿病鼠早期敗血時之 LAF-1 表現。

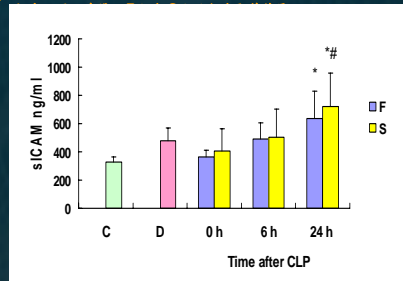


圖一、敗血症後不同時間點糖尿病鼠白血球上 LAF-1 (CD11a/CD18) 之表現
* 表示與 C 組比較有顯著差異；# 表示與 D 組比較有顯著差異；§ 表示同一時間點 F 組與 S 組比較有顯著差異



圖二、敗血症後不同時間點糖尿病鼠白血球上 Mac-1 (CD11b/CD18) 之表現
* 表示與 C 組比較有顯著差異；# 表示與 D 組比較有顯著差異

Mac-1 亦屬於粘著分子之一種。圖二之結果顯示糖尿病鼠之 Mac-1 表現量顯著高於控制組，而在進行 CLP 後 F 組之表現低於 S 組，但只有在 CLP 第 0 小時有顯著差異。



圖三、敗血症後不同時間點糖尿病鼠血漿中 sICAM-1 之表現
* 表示與 C 組比較有顯著差異；# 表示與 D 組比較有顯著差異

當血漿中 sICAM-1 之含量越高時，表示內皮細胞產生較多的 ICAM-1，可促使較多的白血球黏著至內皮細胞上。本實驗結果 (圖三) 發現糖尿病鼠在 CLP 後 24 小時之 sICAM-1 量，在 F 和 S 組均顯著高於控制組，且 S 組亦高於 D 組。

骨髓過氧化酶 (MPO) 可將 H₂O₂ 及氯氧化形成 OCl⁻，使之具有毒殺細菌能力，然而若其活性過高，則表示組織可能產生損傷。表一之結果顯示，糖尿病鼠之肝、腸之 MPO 活性顯著高於控制組，在 CLP 後第 0 小時 F 組肝、腸中 MPO 活性顯著低於 S 組，CLP 後第 6 小時 F 組腎中 MPO 活性顯著低於 S 組，顯示魚油對於肝腎腸道 MPO 活性之影響發生於敗血症早期，而在肺中的 MPO 活性則只在 CLP 後第 24 小時發現 F 組顯著低於 S 組。

表一、敗血症後不同時間點對於病鼠之骨髓過氧化酶 (MPO) 活性之影響

	MPO U/g tissue			
	肝	腎	腸	肺
C	2.03±0.67	10.4±2.65	0.78±0.29	4.34±1.46
D	6.74±2.74*	9.11±2.28	1.14±0.31*	5.67±1.28
0 h				
F	2.62±0.98	6.30±1.49*	0.49±0.30	4.84±1.92
S	4.75±0.95#	9.01±1.69	0.80±0.18#	5.33±2.30
6 h				
F	4.05±1.26	9.30±2.04	0.88±0.25	4.71±0.81
S	4.96±1.44	12.5±1.85#	0.92±0.34	6.78±2.43
24 h				
F	2.31±0.75	13.4±3.99	0.71±0.17	3.85±1.48
S	2.75±0.62	12.4±2.89	0.85±0.47	10.0±2.55#

* 表示與 C 組比較有顯著差異
表示同一時間點 F 組和 S 組比較有顯著差異

結論

本實驗之結果顯示，糖尿病鼠會增加粘著分子 LAF-1 及 Mac-1 之表現，而含有 2.5 % 魚油配方可減少糖尿病合併敗血症早期 LAF-1 及 Mac-1 之表現，魚油配方可降低敗血症早期肝、腎和腸組織中 MPO 活性，而肺之 MPO 活性則於敗血症之晚期才有影響。