

# 麩醯胺添加對人類臍帶靜脈內皮細胞受LPS刺激後黏著分子及IL-8表現之影響

## Glutamine supplementation on the expression of cellular adhesion molecule and interleukin-8 in human umbilical vein endothelial cell induced by lipopolysaccharide

Chiu-Li Yeh\*, Sang-Ling Yeh#

Graduate Institute of Pharmacy, Taipei Medical University

葉秋莉\* 葉松鈴#

台北醫學大學藥學研究所食品化學組

**背景:** 免疫黏著分子 (cellular adhesion molecule, CAM) 在發炎反應的初期扮演了重要的角色, 其會參與血管中的白血球在血管表面發生滾動、黏著進而發生轉移至組織的現象, 而這些CAM可經由細菌的內毒素 Lipopolysaccharide (LPS) 或免疫細胞所分泌的免疫調節物質細胞激素 (cytokine) 如: 間白素 (interleukin, IL)-1、IL-4 及 IL-5、趨化激素 (chemokines) 如: IL-8 刺激其表現, 當CAM表現過多會促進白血球轉移至組織中, 且浸潤組織中的白血球會發生去顆粒作用分泌許多的過氧化物及蛋白質分解酶 (proteinase) 毒殺外來物, 當其分泌過度時會傷害組織。麩醯胺 (Glutamine, Gln) 為人體中含量最豐富的胺基酸, 在敗血症 (Sepsis) 或一些重大疾病壓力下時體內的Gln濃度會大量下降, 且下降的程度與疾病的嚴重度呈現負相關, 有研究顯示給予腸炎的老鼠補充Gln可降低其腸道血管中白血球黏著反應, 故本實驗希望藉由不濃度之Gln添加來探討當人類臍帶靜脈內皮細胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) 受到LPS刺激後CAM及免疫調節物質表現的情形及機制為何。

### 實驗材料及方法:

實驗之細胞使用初代HUVEC取自健康嬰兒之臍帶, 並經由培養2-3代後備用, 將HUVEC放入24well (1×10<sup>5</sup>個/well) 的培養皿中, 並用含Gln濃度各為0、300、600及1000 μM的Medium (M)-199培養24小時, 加入1ml含有LPS (100ng/ml) 的M-199 (serum free) 刺激, 並於刺激後的3及6小時收取上清液利用ELISA分析IL-8濃度及使用The Griess Reaction分析nitric oxide (NO) 的量, 而HUVEC上所表現的intercellular CAM-1 (ICAM-1) 及vascular CAM-1 (VCAM-1) 則利用流式細胞儀分析。

**統計方法:** 數據以 mean ± SD 表示, 進行 two-way ANOVA with fisher's test, p < 0.05 表示有統計上的差異。

### 結果

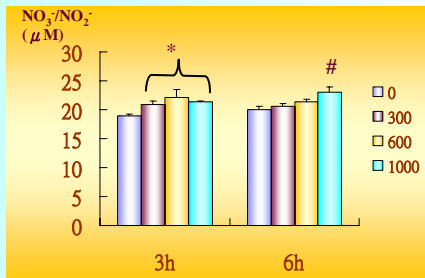


Fig1. Effect of pretreatment with different concentrations of glutamine (0, 300, 600, 1000 μM) on NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> released from HUVEC after stimulation with LPS.

\* p < 0.05 compared with control group at the same time point.  
# p < 0.05 compared with other groups at the same time point.

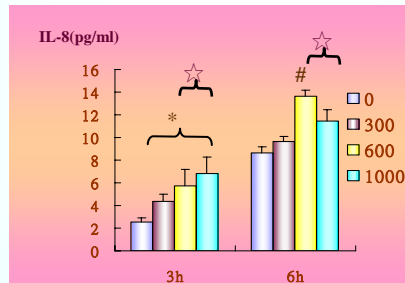


Fig2. Effect of pretreatment with different concentrations of glutamine (0, 300, 600, 1000 μM) on IL-8 released from HUVEC after stimulation with LPS.

\* p < 0.05 compared with control group at the same time point.  
# p < 0.05 compared with other groups at the same time point.  
☆ p < 0.05 compared with Gln 300 μM group at the same time point

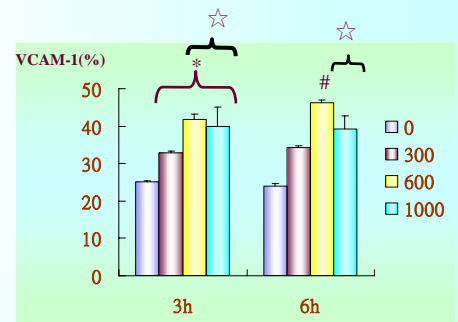


Fig 3. Effect of pretreatment with different glutamine (0, 300, 600, 1000 μM) concentrations on VCAM-1 expression on HUVEC stimulated by LPS.

\* p < 0.05 compared with control group at the same time point.  
# p < 0.05 compared with other groups at the same time point.  
☆ p < 0.05 compared with Gln 300 μM group at the same time point

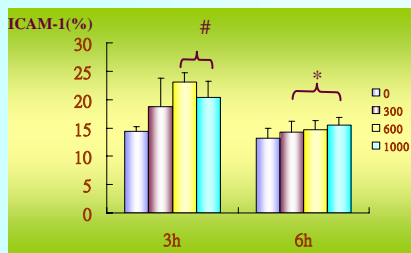


Fig 4. Effect of pretreatment with different glutamine (0, 300, 600, 1000 μM) concentrations on ICAM-1 expression on HUVEC stimulated by LPS.

\* p < 0.05 compared with control group at the same time point.  
# p < 0.05 compared with other groups at the same time point.

### 討論

1) Gln對於HUVEC而言是重要的能量來源之一, 當HUVEC處於Gln較低濃度環境下再受到LPS刺激後其對於免疫能力方面的功能會受影響例如: 促進白血球活化之IL-8及增進白血球黏著於血管壁之免疫黏著分子 (CAM) 表現下降, 但當HUVEC培養於Gln正常生理濃度600 μM時則IL-8、ICAM-1及VCAM-1表現量則較Gln低濃度 (0, 300 μM) 組高。

2) IL-8在體內會促進白血球的活化, 會促進白血球轉移的情形, 也會引發黏著分子的表現, 有研究顯示當體內NO濃度較高時會抑制IL-8的分泌, 本實驗結果顯示HUVEC在受到LPS刺激後的第6小時, Gln濃度為1000 μM組其NO濃度明顯大於600 μM組, 而在IL-8濃度方面在第6小時1000 μM組則較600 μM組低。

3) HUVEC在LPS刺激後ICAM-1會先表現, 在本實驗發現給予添加Gln對各時間點ICAM-1表現無影響, 而VCAM-1的表現時間點較晚, 本實驗結果顯示給予較高濃度Gln (1000 μM) 在LPS刺激後的第6小時VCAM-1表現明顯低於600 μM組, 推測可能經由NO來調節此現象。

### 結論:

給予HUVEC較高濃度之Gln培養可減少因LPS刺激後IL-8及VCAM-1的表現, 其可能的機制為添加較高濃度的Gln組可增加HUVEC受到LPS刺激後NO的分泌。