

# 麩醯胺添加對子癩前症引致之黏著分子表現之影響

## Effects of glutamine supplementation on the expression of cellular adhesion molecule induced by preeclampsia

許淳森<sup>1</sup> 仇恩源<sup>1</sup> 梁守琴<sup>1</sup> 張君堯<sup>1</sup> 邱琬淳<sup>2\*</sup> 葉松鈴<sup>2#</sup>

Department of Obstetrics and Gynecology, Wan-Fang Hospital<sup>1</sup>, Graduate Institute of Nutrition and Health Sciences<sup>2</sup>, Taipei Medical University

市立萬芳醫院婦產科部<sup>1</sup> 臺北醫學大學保健營養學研究所<sup>2</sup>

### 前言

子癩前症 (preeclampsia) 為臨床上常見的妊娠併發症，其症狀包括高血壓、蛋白尿及水腫等。有研究發現，子癩前症的孕婦會有全身性的發炎反應及內皮細胞 (endothelial cell, EC) 受損的情形，其胎盤可能會分泌過多的細胞激素 (包括：IL-1 $\beta$ 、IL-6及IL-8等)，進而刺激內皮細胞的黏著分子 (adhesion molecules) 表現增加，造成白血球之滾動、黏著及滲透至組織中，使孕婦及胎兒之氧化壓力增加，造成母體組織之損傷，並會使胎兒發生血管病變、生長遲緩甚至死亡。因此若能降低子癩前症孕婦血管內皮細胞上黏著分子的表現，或是減少白血球滲透到組織中，應可減輕其引致之組織傷害；另外亦有研究發現子癩前症之孕婦其血漿中同半胱胺酸 (homocysteine) 會升高、一氧化氮 (nitric oxide; NO) 含量則會降低，亦會影響到EC之功能。麩醯胺 (glutamine, GLN) 為免疫細胞及腸黏膜細胞的重要能量來源，由於其在體內可以自行合成，故常被忽視其重要性。近來之研究發現，在創傷或是具毒性代謝疾病時，血液及骨骼肌中的GLN濃度明顯下降，其下降的多寡，往往與病患之存活率相關，因此在某些疾病狀況下GLN被認為是一種必需氨基酸。有研究顯示，GLN可以減少腸道中細胞黏著分子 (intercellular adhesion molecule-1; ICAM-1) 之過度表現；給予老鼠 indomethacin 刺激腸道產生發炎反應時，發現GLN之給予可以減少白血球發生黏著及滲透的現象。因此GLN對於內皮細胞的黏著分子之表現，具有其影響力。目前並無任何研究探討營養素介入對於子癩前症孕婦免疫黏著分子表現、細胞激素分泌與一氧化氮含量之影響，由於EC功能的好壞與否，會影響孕婦及胎兒的健康狀況。因此本研究目的，主要是想了解子癩前症孕婦血漿中GLN濃度是否較正常孕婦低；另外以人類臍帶靜脈內皮細胞為實驗模式，給予GLN介入後，探討子癩前症孕婦血液對於細胞黏著分子、細胞激素及一氧化氮之影響。

### 材料與方法

#### 一、血液中麩醯胺及黏著分子含量之分析

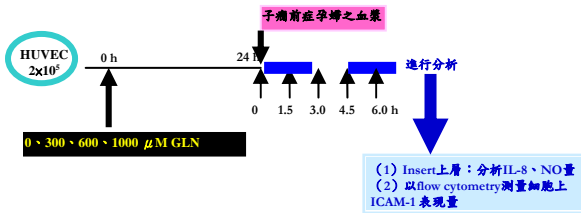
收集正常孕婦10名、子癩前症孕婦16名，分析其血液中GLN、sICAM-1及sVCAM-1之含量。

#### 二、人類臍帶靜脈內皮細胞之收集

將人類臍帶靜脈血管以含有collagenase type I (1 mg/ml) 之PBS灌流20分鐘，沖下之HUEVEC放入含有20% FCS之M 199培養，再將之繼代培養在含有0.1% gelatine之培養皿中，經過2-3次繼代所得到的HUEVEC，再進入實驗。

#### 三、實驗設計

將不同濃度的GLN (0、300、600、1000  $\mu$ M) 加入insert中與HUEVEC共同培養24小時，再加入子癩前症孕婦之血漿刺激，每1.5小時收集insert上層培養液和HUEVEC供分析 (如下圖所示)，GLN 300  $\mu$ M為低生理濃度，600  $\mu$ M為正常生理濃度，1000  $\mu$ M則為高濃度。



### 統計方法

數據以 mean  $\pm$  SD 表示，進行 two-way ANOVA with fisher's test,  $p < 0.05$  表示有統計上的差異。

### 結果與討論

一、正常女性之血中GLN平均濃度均為600  $\mu$ M，由本實驗結果得知正常孕婦血中GLN濃度略低於未懷孕婦女，而子癩前症患者其血中GLN濃度顯著低於正常孕婦組，但黏著分子之含量則在兩組之間沒有統計上的差異。有研究指出在懷孕末期，血漿中sVCAM濃度，不論在有或無子癩前症均無差異，與本實驗之結果相似。

Table 1. Plasma glutamine, sICAM and sVCAM concentrations in pregnant women with or without preeclampsia.

	GLN	sICAM	sVCAM
	nmole/ml	ng/ml	ng/ml
Preeclampsia	346.5 $\pm$ 55.4*	297.9 $\pm$ 66.8	2347.2 $\pm$ 547.4
Normal	466.0 $\pm$ 9.2	297.8 $\pm$ 36.6	1971.6 $\pm$ 703.1

\* $p < 0.05$  vs women with normal pregnancy.

二、Fig. 1之結果顯示：600  $\mu$ M GLN之添加，在子癩前症孕婦血漿刺激後4.5及6小時，可顯著較其他濃度組降低HUEVEC之ICAM-1表現。此結果顯示與低生理濃度GLN組相較，培養在正常生理濃度GLN之內皮細胞可降低ICAM-1之表現量，推測GLN之添加可能有助於減輕子癩前症引致血管內皮細胞之發炎反應。

三、Fig. 2之結果顯示：NO之濃度在各組及各時間點上均無統計上的差異。有研究顯示不論有或無罹患者子癩前症之孕婦，其血漿均不會影響內皮細胞上NOS (NO synthase) 之mRNA表現，因此NO可能不是影響EC活化的因子；在本實驗結果發現不論GLN添加之濃度多寡，均不影響HUEVEC之NO分泌量，顯示GLN降低ICAM-1之表現並不是藉由調控NO之故。

四、Fig. 3結果顯示：IL-8之分泌量隨著時間的增加而增加，但各時間點組間並無差異，顯示GLN對於HUEVEC在以子癩前症孕婦血漿刺激後IL-8之分泌並無影響。過去的研究發現，嚴重的子癩前症孕婦血漿可能會藉由刺激NO之釋出，進而促進內皮細胞IL-8之分泌，IL-8之分泌也會促進ICAM-1之表現。在本實驗中我們並未觀察到三者之間的相關性，可能是因為內皮細胞無法分泌足夠的NO來調節IL-8之分泌，至於GLN之添加是藉由何種機制來調節ICAM-1之表現，則有待進一步之研究。

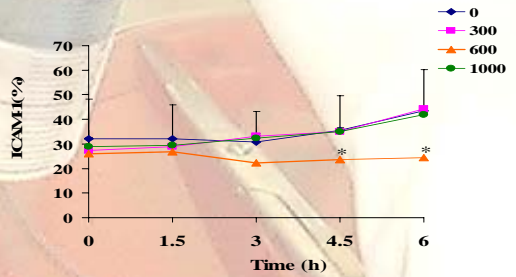


Fig.1 Effect of pretreatment with different glutamine (0, 300, 600, 1000  $\mu$ M) concentrations on ICAM-1 expression in HUEVEC stimulated by preeclamptic plasma. \* $p < 0.05$  compared with groups at the same time point

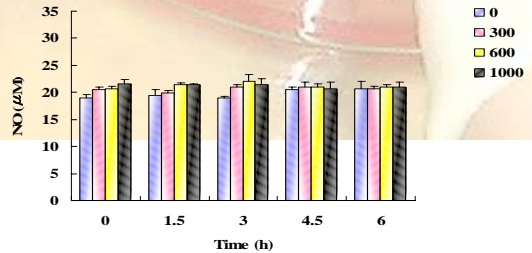


Fig.2 Effect of pretreatment with different concentrations of glutamine (0, 300, 600, 1000  $\mu$ M) on nitric oxide released from HUEVEC after stimulation with preeclamptic plasma. \* $p < 0.05$  compared with groups at the same time point.

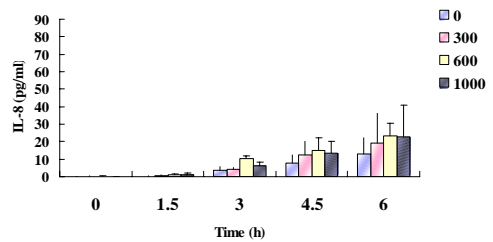


Fig.3 Effect of pretreatment with different concentrations of glutamine (0, 300, 600, 1000  $\mu$ M) on IL-8 production from HUEVEC after stimulation with preeclamptic plasma. \* $p < 0.05$  compared with groups at the same time point.

### 結論

本研究發現：子癩前症孕婦血漿中GLN濃度低於未患有子癩前症之孕婦；且正常生理濃度GLN之添加，可以降低子癩前症孕婦血漿刺激HUEVEC所引致之ICAM-1表現。

計劃編號：93-TMU-WFH-10

### 參考資料

1. Var A, Yildirim Y, Onur E, Kuscun NK, Uyanik BS, Goktaly K and Guvenc Y. (2003) Endothelial dysfunction in preeclampsia. Gynecol Obstet Invest 56: 221-224.
2. Daniel Y, Kupfermink MJ, Baram A, Geva E, Fait G and Lessing JB. (1999) A selective increase in plasma soluble vascular cell adhesion molecule-1 level in preeclampsia. Am J Reprod Immunol 41: 407-412.
3. Wang X, Athayde N and Trudinger B. (2004) Maternal plasma from pregnant women with umbilical placental vascular disease not affect endothelial cell mRNA expression of nitric oxide synthase. J Soc Gynecol Investig 11: 149-153.

