

## 行政院國家科學委員會專題研究計劃成果報告

計劃名稱：全靜脈營養輸入不同脂肪乳劑對敗血症老鼠腹水中 cytokine 的分泌及因 cytokine 分泌引致之代謝變化之影響  
Effects of parenterally infused fat emulsions on cytokines secretion in peritoneal fluid and cytokine – induced metabolic changes in septic rats

計劃類別： 個別型計劃                      整合型計劃

計劃編號：NSC 88-2314-B-002-276

執行期間：87 年 08 月 01 日至 88 年 07 月 31 日

計劃主持人：陳維昭

處理方式：一年後可對外提供參考

執行單位：台大醫學院外科研究室

中華民國 87 年 10 月 5 日

## 中文摘要

本研究在探討全靜脈營養(total parenteral nutrition, TPN)溶液中，添加富含 n-3 脂肪酸之魚油乳劑或富含 n-6 脂肪酸之紅花子油乳劑對敗血症老鼠細胞激素分泌及營養素代謝之影響。實驗將 Wistar 雄鼠分為兩組，由頸靜脈插管後，完全由 TPN 方式供給營養一星期，兩組輸入之 TPN 溶液營養素含量均完全相同只有脂肪乳劑不同，脂肪乳劑分別由魚油及紅花子油製成。七天後每一實驗組再細分為兩小組，其中一組老鼠以盲腸穿刺法(cecal ligation and puncture)引致敗血症，另一組則只做 sham operation，本實驗共分成四組：魚油控制組(FOC, n=7)，魚油敗血症組(FOS, n=8)，紅花子油控制組(SOC, n=8)，紅花子油敗血症組(SOS, n=9)，各組在禁食 24 小時後宰殺，結果顯示血漿中 leucine 和 isoleucine 濃度 SOS 組顯著較 SOC 組為低，但此兩種氨基酸在 FOC 與 FOS 組間則無差異。血漿中 arginine 之濃度敗血症組不論是魚油或紅花子油組均較未敗血症組為低，血漿中之 glutamine 濃度則各組間並無差異，腹水中之細胞激素 interleukin-1 $\beta$ ，interleukin-6, tumor necrosis factor- $\alpha$ 及 leukotriene B<sub>4</sub>在 FOS 組均有較 SOS 組低之趨勢，但未達統計上之差異性，此結果顯示與紅花子油相較，TPN 輸入魚油乳劑有減輕敗血症引致之肌肉組織分解之情形，但對發炎反應相關的細胞激素的分泌或發炎介質 leukotriene B<sub>4</sub>之分泌則並無影響。

關鍵字:全靜脈營養、敗血症、魚油、紅花子油、細胞激素、氨基酸組成

## Abstract

The effect of preinfusing total parenteral nutrition (TPN) enriched with n-3 or n-6 fatty acids on plasma amino acid profiles, and inflammatory-related mediators was evaluated in septic rats. Thirty-two rats, with internal jugular catheters, were divided into two experimental groups and received TPN. TPN provided 300 kcal/kg/day with 40% of the non-protein energy provided as fat. All TPN solutions were isonitrogenous and identical in nutrient composition except for the fat emulsion, which was made of safflower oil (SO) or fish oil (FO). After receiving TPN for 7 days, each experimental group was further divided into control and sepsis subgroups. Septic rats were induced by cecal ligation and puncture, whereas control rats received sham operation. The all rats were classified to four groups as follows: fish oil control group (FOC, n=7), fish oil sepsis group (FOS, n=8), safflower oil control group (SOC, n=8), safflower oil sepsis group (SOS, n=9). The results demonstrated that plasma leucine and isoleucine levels were significantly lower in the SOS group than in the SOC group, whereas no difference in these two amino acids was observed between the

FOC and FOS groups. Plasma arginine levels were significantly lower in septic groups than in those without sepsis when either fish oil or safflower oil was infused. Plasma glutamine levels, however, did not differ among all groups. No significant differences in interleukin-1 $\alpha$ , interleukin-6, tumor necrosis factor- $\alpha$ , or leukotriene B<sub>4</sub> concentrations in peritoneal lavage fluid were observed between the 2 septic groups. These results suggest that, compared with safflower oil, TPN with fish oil emulsion did not have effects on inflammatory-related cytokines or leukotriene in peritoneal lavage fluid. Preinfusion with fish oil emulsion before sepsis, however, ameliorates the catabolic reaction of skeletal muscle in septic rats.

Keywords: total parenteral nutrition, sepsis, fish oil, safflower oil, cytokine, amino acid pattern.

## 計劃緣起與目的

敗血症(sepsis)是臨床上重症病人常見，而死亡率極高之症狀，會引起病人一連串的代謝變化，導致各種合併症之發生，乃至死亡，因此如何減輕代謝異常狀況，增加存活率是臨床上之重大挑戰。在敗血症發生所產生之代謝變化上，cytokine 之生成扮演了極重要的角色，在體內遭受感染時，cytokine 之分泌有助於活化免疫系統，刺激身體產生抗菌的功能，且有助於傷口的恢復，但若長期或過度分泌時，則會對病人造成傷害( 1 )。Tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  interleukine (IL)1- $\beta$ 、及 IL-6 是身體急性反應時之重要介質(mediator)。研究顯示血漿中這些 cytokines 的濃度與受傷與感染程度呈正相關，血中 cytokine 的濃度越高，病人的預後愈差。另外 cytokine 之過度分泌也造成過氧化物和 neutrophil 之釋出和活化，並對器官組織造成傷害( 2 )。

魚油是富含 n-3 脂肪酸之油脂，近年來其與許多慢性疾病如心血管疾病和糖尿病等，或與免疫的關係引起廣泛的研究和探討。最近有研究指出，在飲食中給予魚油後再引致敗血症，可使敗血症引起之肝臟脂質堆積的情況減輕( 3 )。另外魚油可抑制 Leukotriene (LT) B<sub>4</sub>之生成，因而降低 neutrophil 及 monocyte 之活性，而降低發炎反應的程度，因此也有將魚油用於治療慢性發炎性疾病的報告(4,5)。

全靜脈營養(total parenteral nutrition, TPN)是由中央靜脈輸入營養液的營養供給方式，常用於腸道功能障礙的病人，由於 TPN 在營養素輸入之途徑上與由口進食不同，故在營養素的代謝上亦有所不同，因為用於靜脈輸入之魚油乳劑並無商業成品上市，故魚油輸入後對 TPN 病人代謝上影響之研究並不多，而關於魚油乳劑對 TPN 敗血症之研究，曾有研究顯示短期輸入魚油乳劑後對打入內毒素之天竺鼠有減輕乳酸中毒的現象，並可增加存活率( 6 )。對於魚油乳劑對 TPN 敗血症營養素代謝之研究極少，吾人去年之計畫曾提出不同脂肪乳劑以 TPN 輸入後對敗血症老鼠血脂及肝臟脂質代謝之研究，TPN 輸入後再引致敗血症之動

物模式並不容易建立，本研究擬繼續延用此動物模式，探討富含 n-3 及 n-6 脂肪酸之脂肪乳劑輸入後對敗血症老鼠 cytokine 之分泌和蛋白質代謝之影響，期能對 TPN 敗血症病人臨床之應用有所助益。

## 結果與討論

Table 1. Plasma amino acid concentrations of all groups

Group	Glutamine	Arginine	Valine	Leucine	Isoleucine
nmol/mL					
SOC (n= 8)	654.0 ± 151.4	156.0 ± 37.5	170.2 ± 37.5	156.7 ± 29.0	92.1 ± 18.4
FOC (n= 7)	669.9 ± 87.9	121.1 ± 37.1	156.8 ± 56.1	123.9 ± 46.7	68.4 ± 23.2
SOS (n= 9)	519.3 ± 135.9	78.6 ± 32.1*	133.3 ± 21.0	116.0 ± 23.4*	61.0 ± 9.9*
FOS (n= 8)	536.7 ± 145.8	61.3 ± 44.2*	170.1 ± 41.2	158.3 ± 47.7	83.7 ± 22.6

Values are means ± SD.

Abbreviations: SOC: safflower control group; FOC: fish oil control group; SOS: safflower sepsis group; FOS: fish oil sepsis group.

\* Significantly different from corresponding group without sepsis at  $p < 0.05$  as determined by Duncan's multiple range test.

Table 2. Concentrations of interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-6, tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , and leukotriene (LT) B<sub>4</sub> in peritoneal lavage fluid in septic groups

Groups	IL -1 $\beta$	IL-6	TNF- $\alpha$	LT B <sub>4</sub>
pg/mg protein				
SOS (n= 9)	57.8 ± 44.1	19.7 ± 15.1	4.8 ± 6.7	3.9 ± 1.4
FOS (n= 8)	17.1 ± 16.8	9.6 ± 2.1	1.4 ± 0.9	1.9 ± 1.1

SOS: safflower oil sepsis group; FOS: fish oil sepsis group. No significant difference was seen between the 2 septic groups.

Branched-chain amino acid (BCAA)包括 valine, leucine, isoleucine 是主要在肌肉組織氧化的氨基酸 在壓力狀態下,肌肉組織分解 BCAA 會釋出並轉變成 GLN 和 alanine,以供作身體的能量來源。Glutamine(GLN)是血漿及組織中含量最豐富的游離氨基酸,許多研究顯示血漿 GLN 在異化狀態時會下降(8)。在本實驗中敗血症組之血漿 GLN 並未較非敗血症組為低(Table 1)。可能在引致敗血症之短時間內肌肉組織中之 BCAA 分解以維持體內 GLN 之平衡。Table 1 之結果亦顯

示血漿 leucine 和 isoleucine 濃度，SOS 組顯著較 SOC 組為低，但此 2 種氨基酸在 FOC 與 FOS 組間則無差異，表示 SOS 組須從血中汲取更多的 BCAA 以維持 GLN 之平衡，此結果顯示 SOS 組體內組織異化狀況較為嚴重，而魚油組則在引致敗血症後並無此現象。血漿 arginine 濃度不論輸入為何種油脂，在敗血症組均顯著低於非敗血症組。Arginine 是 nitric oxide synthetase 之基質，可供作 nitric oxide (NO) 產生時之氮提供者，研究顯示在敗血症時，NO 的產生增加以便於做為病原菌的毒殺劑 (9)。因此在本實驗中觀察到敗血症組血漿 arginine 較低，可解釋為細胞由血漿中汲取 arginine 以便於 NO 之合成之用。本實驗亦顯示在敗血症之狀況下，血漿 arginine 似乎是較 glutamine 更敏感的一個指標。

IL-1 $\beta$ , IL-6 及 TNF- $\alpha$  是發炎狀況時主要分泌的細胞激素，當分泌過多時，會造成病人致命的傷害。LTB<sub>4</sub> 是由 arachidonic acid 衍生而來，是發炎反應的介質。魚油輸入會促進 LTB<sub>5</sub> 之產生以取代 LTB<sub>4</sub>，由於 LTB<sub>5</sub> 之生理活性較弱，故可使發炎反應獲得舒緩 (4,5)。敗血症也是一種發炎反應，若這些發炎反應相關的細胞激素及 LTB<sub>4</sub> 之分泌量減少，可顯示發炎反應的狀況減輕，由於這些細胞激素在血中的半生期很短，本實驗中並未偵測到血中細胞激素之變化。但是由腹水中 IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  及 leukotriene B<sub>4</sub> 之濃度，可看出在 FOS 組有較 SOS 組低之趨勢，但均未達統計上之差異性 (Table 2)。可能是個別差異較大，若再增加實驗動物之數目或可看出差異性。由以上結果顯示，與輸入紅花子油乳劑相較，在引致敗血症之前輸入魚油乳劑並不影響發炎反應相關之細胞激素及 LTB<sub>4</sub> 之分泌，但體內組織之異化則有減輕之情形。

## 計畫成果自評

均遵照當初計畫之步驟執行，並已投稿 "Nutrition" 雜誌，目前正在審理中

## References

1. Fong Y, Moldawer, LL, Shires GT, et al. The biological characteristics of cytokines and their implication in surgical injury. Surg Gynecol Obstet 1990;170:363-378
2. Zanetti G, Heumann D, Gerain J, et al. Cytokine production after intravenous or peritoneal gram-negative bacterial challenge in mice. J Immunol 1992;148:1890-1897
3. Lanza-Jacoby S, Smythe C, Phetteplace H, et al. Adaptation to a fish oil diet before inducing sepsis in rats prevents fatty infiltration of the liver. J Parenter Eneter Nutr 1992;16:353-357
4. Grimminger F, Mayser P, Papavassilis C, et al. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of n-3 fatty acid based lipid infusion in acute, extended guttate psoriasis. Clin Investig 1993;71:634-639

5. Grimminger F, Fuhrer D, Papavassilis C, et al. Influence of intravenous n-3 lipid supplementation on fatty acid profiles and lipid mediator generation in a patient with severe ulcerative colitis. *Eur J Clin Invest* 1993;23:706-712
6. Mascoli E, Leader L, Flores E, et al. Enhanced survival to endotoxin in guinea pigs fed IV fish oil emulsion. *Lipids* 1988;23:623-625
7. Odessey R, Goldberg A L. Oxidation of leucine by rat skeletal muscle. *Am J Physiol* 1972;223:1376-1383
8. Souba WW. Glutamine: a key substrate for the splanchnic bed. *Annu Rev Nutr* 1991;11:285-308
9. Evoy D, Lieberman M D, Fahey III T J, et al. Immunonutrition: the role of arginine. *Nutrition* 1998;14: 612-617