

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

探討共軛亞麻油酸調控高葡萄糖培養液誘發腎絲球  
Mesangial 細胞轉錄因子 NF- $\kappa$ B 及 AP-1 活化和 MCP-1 和  
COX-2 表現之功效  
研究成果報告(精簡版)

計畫類別：個別型  
計畫編號：NSC 95-2320-B-040-034-  
執行期間：95 年 08 月 01 日至 96 年 07 月 31 日  
執行單位：中山醫學大學營養學系

計畫主持人：劉凱莉

計畫參與人員：碩士班研究生-兼任助理：張雅雯、巫玉琳

處理方式：本計畫可公開查詢

中華民國 96 年 10 月 29 日

# 國科會專題研究計畫成果報告撰寫格式

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫  成果報告  
 期中進度報告

(計畫名稱)

探討共軛亞麻油酸調控高葡萄糖培養液誘發腎絲球 Mesangial 細胞轉錄因子 NF-kB  
及 AP-1 活化和 MCP-1 和 COX-2 表現之功效

計畫類別： 個別型計畫  整合型計畫

計畫編號：NSC 95-2320-B-040-034

執行期間：2006/08/01 ~ 2007/07/31

計畫主持人：劉凱莉

共同主持人：

計畫參與人員：

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告  完整報告

執行單位：中山醫學大學

中 華 民 國            年            月            日

## 前言

血糖控制不穩定的糖尿病患者常因高血糖引起許多慢性併發症，包括因動脈粥狀硬化造成的心血管疾病。研究發現慢性發炎反應會造成內皮細胞的損傷且誘發內皮細胞黏著分子表現，吸引血液循環中白血球遷移、黏著至血管內皮細胞上，促使動脈粥狀硬化的發生。由此可知慢性發炎反應在動脈粥狀硬化發展過程中扮演重要的角色，此外高血糖症狀對於促發炎因子誘發內皮細胞黏著分子表現亦會有加乘的作用。

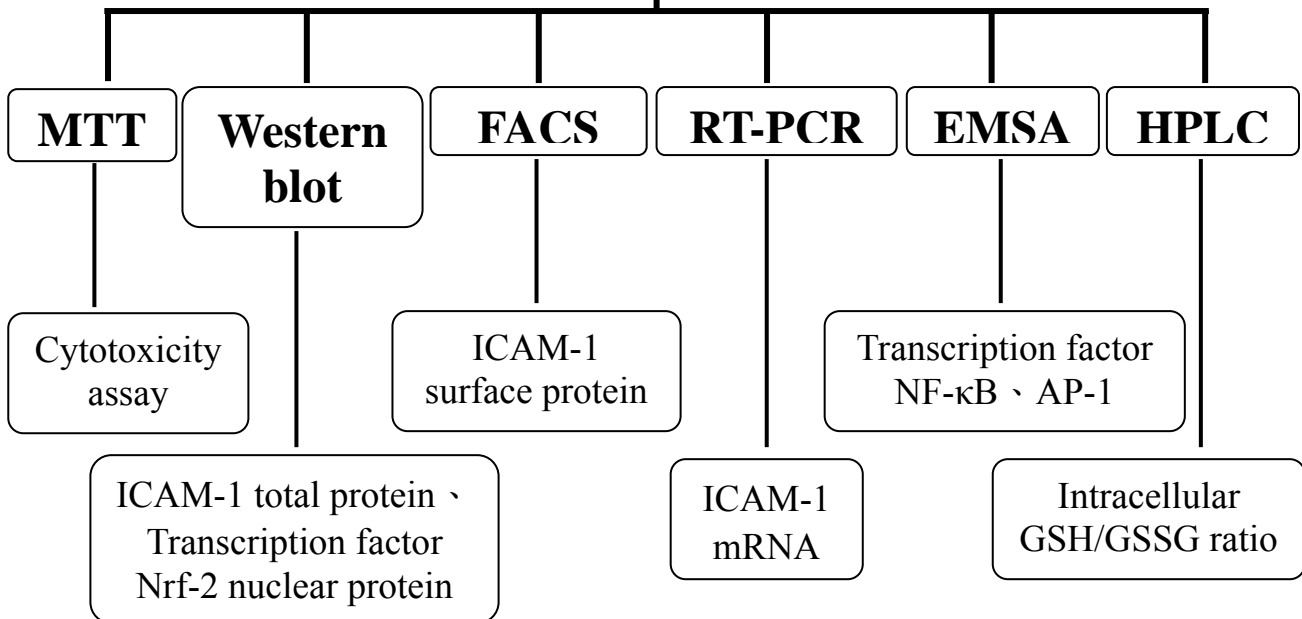
植物食材含有的天然性營養成分 (nutrient) 及非營養素 (non-nutrient) 已被證實具有預防及輔助性治療疾病的保健功效。蔬果中富含許多具有生理活性的物質 (統稱為 phytochemicals)，除了可以調節植物本身生長機能之外，也具有調控人類多種生理功能的作用。文獻指出，高蔬果的飲食與降低心血管疾病、第 2 型糖尿病及癌症等慢性疾病的發生有關(Doss et al., 2005; Fuhrman and Aviram, 2001; Khan et al., 2005; Kris-Etherton et al., 2004; Mursu et al., 2007; Nettleton et al., 2006; Song et al., 2005)，進而提升人們對增加蔬果的攝取的健康飲食觀念。類黃酮 (flavonoids) 為 phytochemicals 之一，存在大多數的蔬菜、水果或其它加工製品如茶葉及紅酒中，其含量會受到季節、植物成熟度、植物品種等因素的影響而有所差異，且因各國飲食習慣和文化背景的差異，不同區域民眾所攝取之類黃酮含量亦有所差異(Hertog et al., 1994)。

## 方法

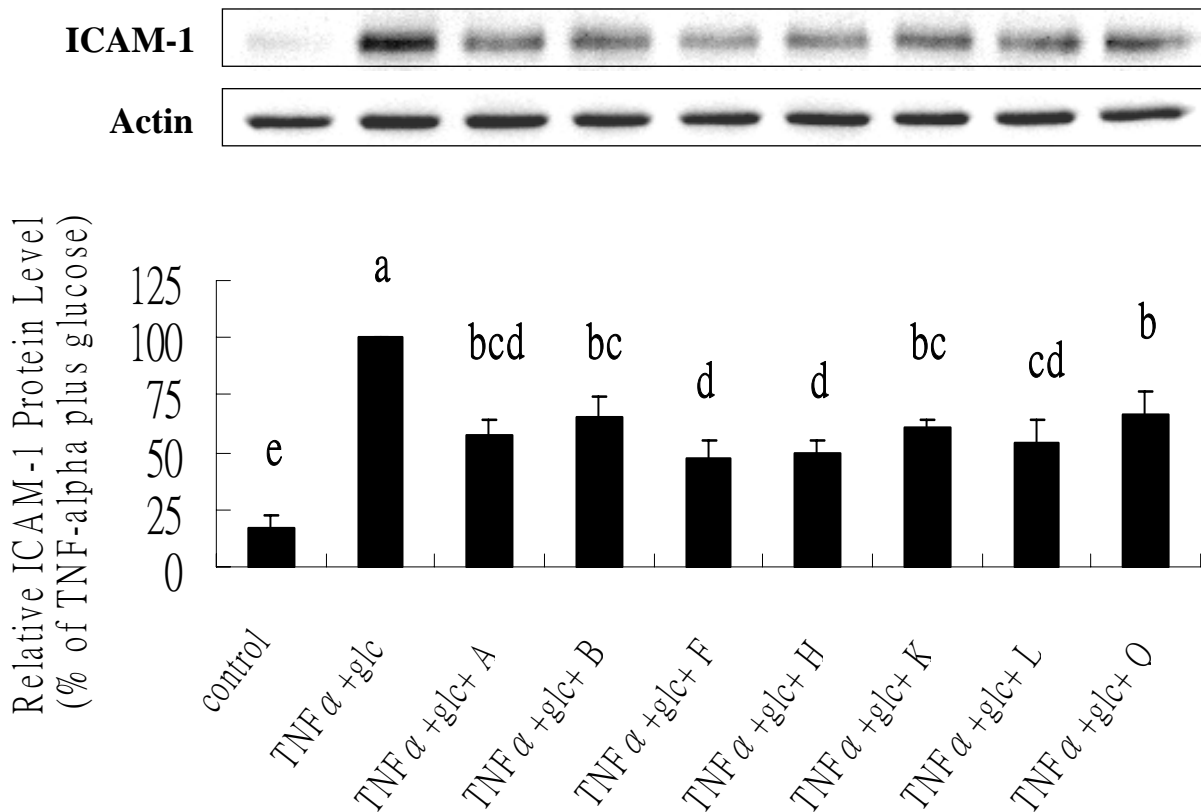
HUVECs were exposed to 35.5mM glucose plus 1ng/ml TNF- $\alpha$  with or without flavonoids and incubated for 24 hours. The western blot analysis was used to show the protein expression of ICMA-1 and Nrf2. Flow cytometry, and reverse transcription-polymerase chain reaction were used to show the surface protein and mRNA expression of ICAM-1, respectively. Electrophoretic mobility shift assay was used to show the NF- $\kappa$ B transcriptional activity.

# HUVEC

1 ng/ml TNF- $\alpha$  合併 30 mM glucose 誘發 ICAM-1 表現，  
探討 5  $\mu$ M 不同種類的類黃酮對 ICAM-1 表現之影響



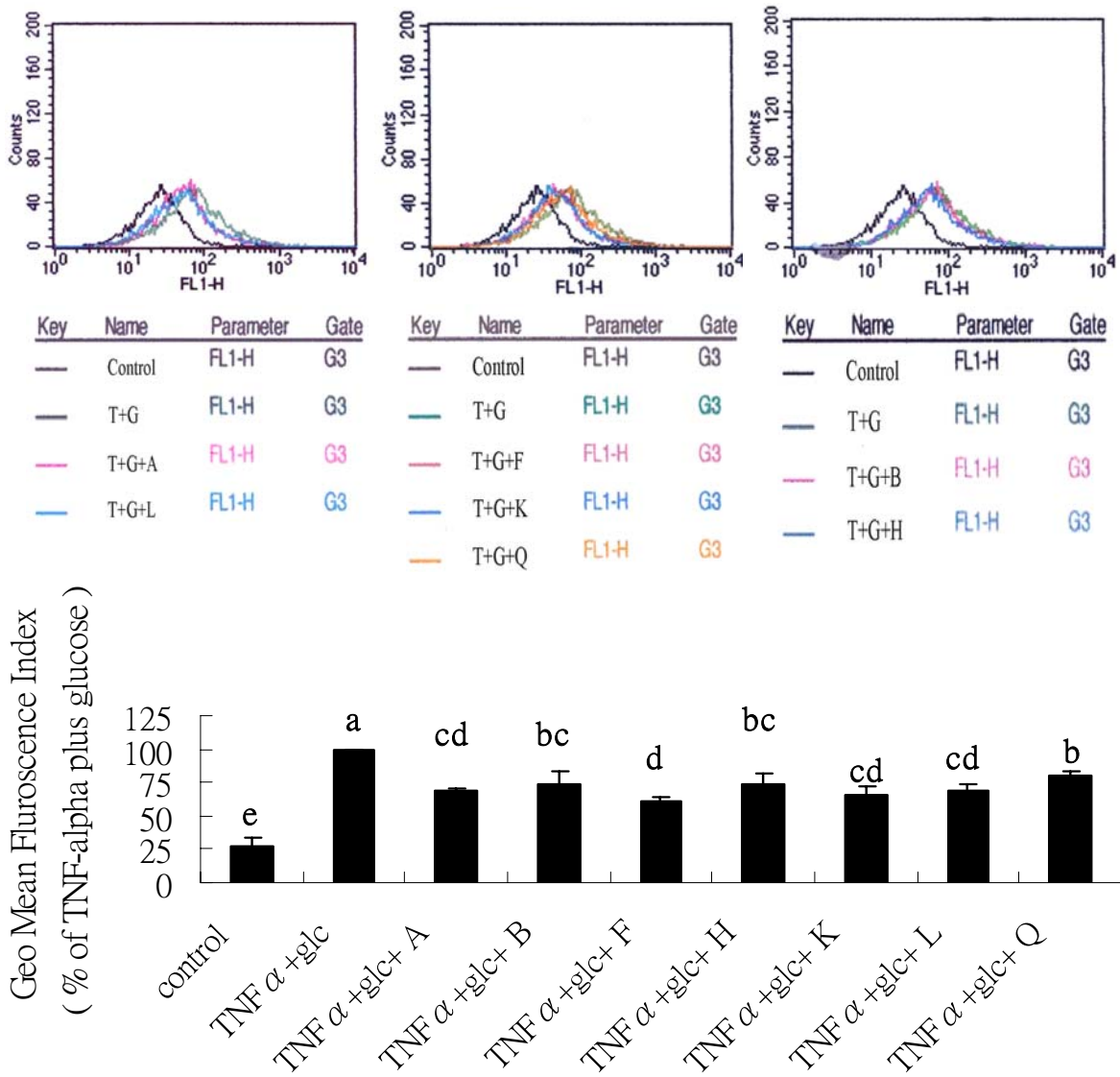
## 結果



圖二 不同種類的類黃酮對 TNF- $\alpha$  合併葡萄糖處理誘發人類臍靜脈內皮細胞之 ICAM-1 蛋白質表現之影響

人類臍靜脈內皮細胞分別處理 0.1% DMSO (控制組)、TNF- $\alpha$  (1 ng/ml) 合併葡萄糖 (35.5 mM)、或 TNF- $\alpha$  合併葡萄糖與不同種類的類黃酮 (5  $\mu$ M) 培養 24 小時，萃取總蛋白質，以西方墨點法分析 ICAM-1 蛋白質表現。以 TNF- $\alpha$  合併葡萄糖處理組表現值設定為 100%，比較各處理組間表現值之相對百分比 (%), Mean  $\pm$  SD (n=4-6)。各組間有不同符號者表示有顯著差異 (p<0.05)。

A=Apigenin, B=Butein, F=Fisetin, H=Hesperidin, K=Kaempferol, L=Luteolin, Q=Quercitrin

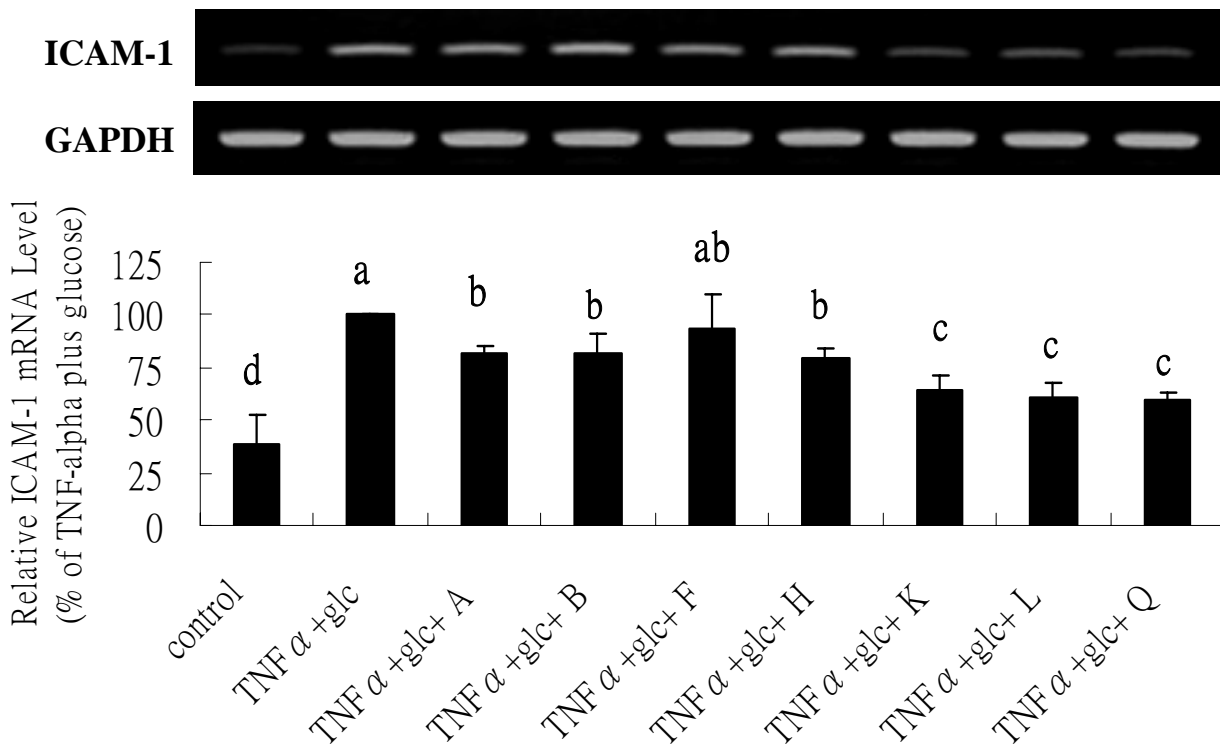


圖三、不同種類的類黃酮對 TNF- $\alpha$  合併葡萄糖誘發人類臍靜脈內皮細胞

### ICAM-1 膜蛋白質表現之影響

人類臍靜脈內皮細胞分別處理 0.1 % DMSO (控制組)、TNF- $\alpha$  (1 ng/ml) 合併葡萄糖 (35.5 mM)、或 TNF- $\alpha$  合併葡萄糖與不同種類的類黃酮(5  $\mu$ M) 培養 24 小時，以流式細胞儀分析 ICAM-1 膜蛋白質表現。以 TNF- $\alpha$  合併葡萄糖處理組表現值設定為 100%，比較各處理組間表現值之相對百分比 (%)，Mean $\pm$ SD (n=3-5)。各組間有不同符號者表示有顯著差異 (p<0.05)。

A=Apigenin, B=Butein, F=Fisetin, H=Hesperidin, K=Kaempferol, L=Luteolin, Q=Quercitrin



圖四、不同種類的類黃酮對 TNF- $\alpha$  合併葡萄糖誘發人類臍靜脈內皮細胞

#### ICAM-1 mRNA 表現之影響

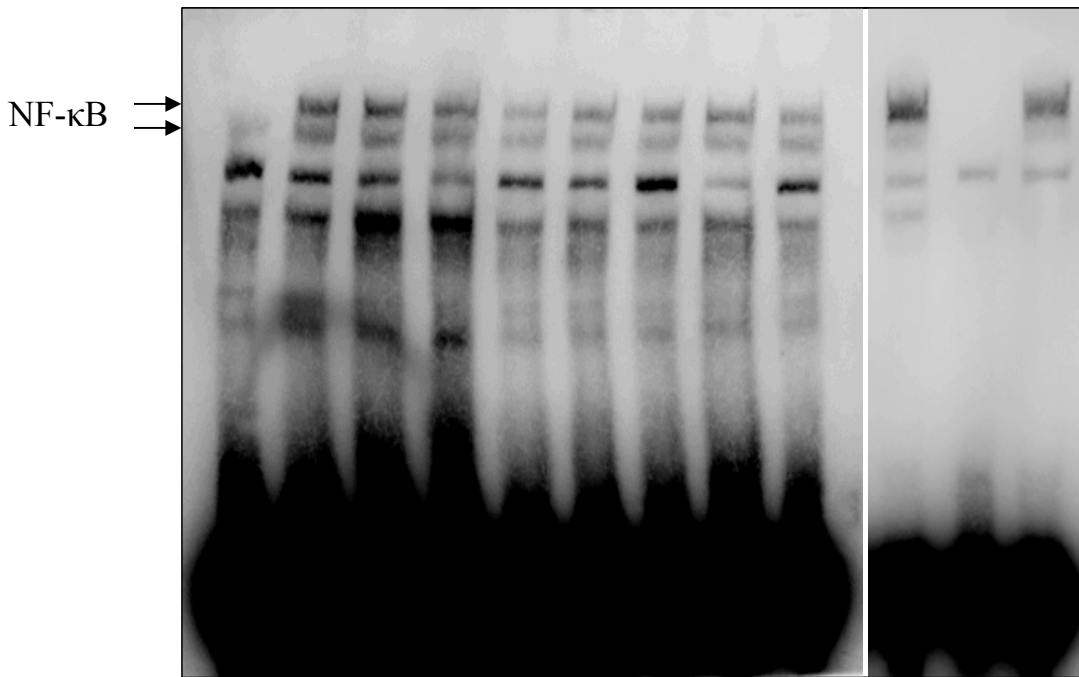
人類臍靜脈內皮細胞分別處理 0.1 % DMSO (控制組)、TNF- $\alpha$  (1 ng/ml) 及合併葡萄糖 (35.5 mM)、或 TNF- $\alpha$  合併葡萄糖與不同種類的類黃酮 (5  $\mu$ M) 培養 18 小時，收取 RNA 以 RT-PCR 分析 ICAM-1 mRNA 表現。

以 TNF- $\alpha$  合併葡萄糖處理組表現值設定為 100%，比較各處理組間表現值之相對百分比 (%), Mean $\pm$ SD (n=3-4)。各組間有不同符號者表示有顯著差異 (p<0.05)。

A=Apigenin, B=Butein, F=Fisetin, H=Hesperidin, K=Kaempferol, L=Luteolin,

Q=Quercitrin

Lane 1 2 3



glucose (mM)	5.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	35.5	5.5	5.5	5.5
	-	-	A5	B5	F5	H5	K5	L5	Q5	-	-	-
H-TNF- $\alpha$ (ng/ml)	-	1	1	1	1	1	1	1	1	20	20	20
Cold (ng/ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	-
Mutant (ng/ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50

圖五、不同種類的類黃酮對 TNF- $\alpha$  合併葡萄糖誘發人類臍靜脈內皮細胞核內轉錄因子 NF- $\kappa$ B 與  $\kappa$ B 之 DNA binding site 結合之影響

人類臍靜脈內皮細胞分別預處理不同種類的類黃酮 24 小時後，再分別處理 0.1% DMSO (控制組) 或 TNF- $\alpha$  (1 ng/ml) 合併葡萄糖 (35.5 mM) 1 小時後，收取細胞核蛋白質，以 EMSA analysis 分析 (n=3)。

Cold : unlabeled double-stranded NF- $\kappa$ B oligonucleotide

Mutant : unlabeled double-stranded mutant NF- $\kappa$ B oligonucleotide

A=Apigenin, B=Butein, F=Fisetin, H=Hesperidin, K=Kaempferol, L=Luteolin,

Q=Quercitrin

### 結論

**This data provide information that these flavonoids may play a different role in regulating expression of adhesion molecules and in providing distinct cytoprotective effects in activated endothelial cells. These data suggest that dietary flavonoids could play a significant role in the reduction of inflammatory responses.**



**Further research is necessary to explore the effect of dietary flavonoids on their health benefits in prevention of cardiovascular diseases.**