

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

不同品種的山藥降尿酸及保護腎臟功能的比較探討 研究成果報告(精簡版)

計畫類別：個別型
計畫編號：NSC 95-2313-B-040-007-
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：徐成金

計畫參與人員：研究生：倪智芬、張立文、王智弘

處理方式：本計畫可公開查詢

中華民國 96年09月18日

Keywords : Hyperuricemia 、 Chinese yam 、 animal model 、 inflammation

Hyperuricemia is a getting severe healthy problem in Taiwan because it is strongly associated with diabetes, obesity, hypertension. In most patients, hyperuricemia leads to enhanced oxidation and inflammation, and finally causes cardiac and kidney damage. Ancient Chinese medicine indicated that Chinese yam with special benefit to kidney may provide protective and therapeutic effect to improve hyperuricemia.

Our past study has found that the intake of Chinese yam could effectively reduce plasma uric acid level in normal mice, thus we think this food is helpful for patient with hyperuricemia. However, we used only one kind of Chinese yam. We wish to study the protective and therapeutic effect of Chinese yam in hyperuricemia by using five species of Chinese yam. Furthermore, we also want to test whether the heating process affects the uric acid reducing effect, thus we will use raw and cooked Chinese yam to feed animal. In this study, the influence of Chinese yam intake upon the activity of xanthine oxidase, oxidative and inflammatory stress, as well as the kidney function will be examined.

The results of this study will provide new findings regarding the application of Chinese yam, including the information of specie and heating treatment, for reducing uric acid level and maintaining kidney functions. These data can be used for promoting cultivation, food processing and business of Chinese yam.

前言

近年來國內罹患高尿酸血症的人口逐漸增加，根據衛生署的調查發現，台灣地區成人罹患高尿酸的比例男性達四分之一，女性達六分之一，且有年輕化的趨勢(Chang et al.,2001)。高尿酸血症的定義是指男性血液尿酸值 $\geq 7\text{mg/dl}$ ，女性血液尿酸值 $\geq 6\text{mg/dl}$ (Zavaroni et al.,1993)，而當血液中尿酸濃度超過 7mg/dl 成過飽合狀態時，尿酸就會和鈉離子結合而形成尿酸結晶沉積在軟組織或關節內，即所謂的痛風。但根據研究指出臨床上高尿酸血症的病患中僅有10%是出現痛風關節炎的症狀，而大部份病患由於尿酸鹽結晶沉積在冠狀動脈或腎小管內因而造成心臟及腎臟損傷(Tomita et al.,2000;Martinez et al.,2001)，且高尿酸血症容易使血小板凝集，因而加速了動脈硬化，阻礙氧氣及養分輸送到心臟及腎臟，最後導致心肌梗塞、腎小球壞死等病症。因此，高尿酸血症與關節炎、心血管疾病、腎臟疾病的關係非常值得注意。

山藥為薯蕷科(Dioscoreaceae)薯蕷屬(Dioscorea)之蔓性根莖類植物，可供食用、藥用或保健利用，本草綱目指出山藥有五大功能:健脾胃、益腎氣、止瀉痢、強筋骨、化痰涎。近年來國內外的研究發現山藥可以增強免疫力、調整腸胃功能及降低血糖，但是山藥能否降低尿酸或是否可以藉由改善腎臟功能增加尿酸排出，以及是否可以調控體內酵素活性而降低尿酸生成都有待研究及探討。有研究也指出，當體內有過多的尿酸產生時，會對組織器官產生氧化壓力及促進發炎反應(Kanellis et al., 2005;Lindeberg et al.,2004; Kang et al.,2005)，氧化壓力不但會造成氧化傷害，也會干擾體內抗氧化酵素，因此，山藥對於抗氧化酵素活性的作用也是值得深入的探討。目前市面上的山藥有許多品種其中包含白肉類的大汕品系、台農品系;紅肉類的民間長紅品系、大紅品系;以及價格較昂貴的日本山藥，且台灣民眾多以熟食烹調方式攝食山藥，而哪一種山藥經烹調加熱處理後最能保護腎臟或可以增強抗氧化能力也有待分析證實。

因此本研究旨在探討利用 Oxonic acid 誘發高尿酸的動物模式觀察大汕品系(D.alata L.)、民間長紅品系(D.alata L.var.purea M.pouch)及日本山藥(D.japonica)三者對加熱烹調後，在短期及長期的時間下，對於降低尿酸、保護腎臟功能及抗氧化酵素活性的效用。

研究方法

一. 實驗用山藥：選擇三個品種的山藥：白肉類的大汕品系；紅肉類的民間長紅品系；日本山藥。取可食部份洗淨切塊煮熟，並將煮熟的山藥經冷凍乾燥後形成粉狀，再添加於飼料中。

二. 實驗用動物：ICR strain mice(20-30g)。

三. 實驗動物模式：

利用 Oxonic acid 誘發高尿酸的動物模式，每組約 5~7 隻。

1. 急性短期：

(1) 正常飲食組(control)：5g 飼料/day/隻。

(2) Oxonic acid 處理組(Hu)：給予與正常飲食組相同飲食及飲水，在第 7 天給予 I.P. 注射 Oxonic acid (280mg/kg) 誘發高尿酸。

(3) Allopurinol 處理組(HA)：將 Allopurinol 加入每日飲水中(150mg/L)。

(4) 實驗組：三個不同品種的山藥分為低劑量組(10%飼料重)及高劑量組(20%飼料重)。全程實驗天數 7 天，在第 7 天除了正常飲食組外皆給予 I.P. 注射 Oxonic acid (280mg/kg) 誘發高尿酸，注射 1 小時後犧牲，犧牲時將取血液、肝臟、腎臟等臟器進行分析。

2. 慢性長期：

(1) 正常飲食組(control)：5g 飼料/day/隻。

(2) Oxonic acid 處理組(Hu)：與飼料混合餵食，2%飼料重/daily。

(3) Allopurinol 處理組(HA)：將 Allopurinol 加入每日飲水中(150mg/L)。

(4) 實驗組：三個不同品種的山藥分為低劑量組(10%飼料重)及高劑量組(20%飼料重)，將 Oxonic acid (2%飼料重/daily) 混合於飼料中餵食。全程實驗週數 7 週，犧牲時將取血液、肝臟、腎臟等臟器進行分析。

四、分析測定項目

1. 血清：測定與高尿酸血症相關之成分

(a) Uric acid

2. 肝臟：測定與高尿酸血症相關之成分及抗氧化酵素活性

(a) Uric acid

(b) MDA

3. 腎臟：測定在高尿酸血症下之氧化傷害的程度及山藥改善高尿酸的分子機轉

(a) MDA

(b) organic ion transporter(OAT1、OAT3、OCT2)(Van Aubel et al., 2000)

設計特異性的 probe 觀察不同種山藥對腎臟的離子通道的表現進行 PCR 放大分析。

4. 實驗數據之統計分析

實驗結果以 mean±SD 表示，以 student's *t*-test 比較不同處理組間的差異，*p*<0.05 表統計上具有顯著的差異。

結果

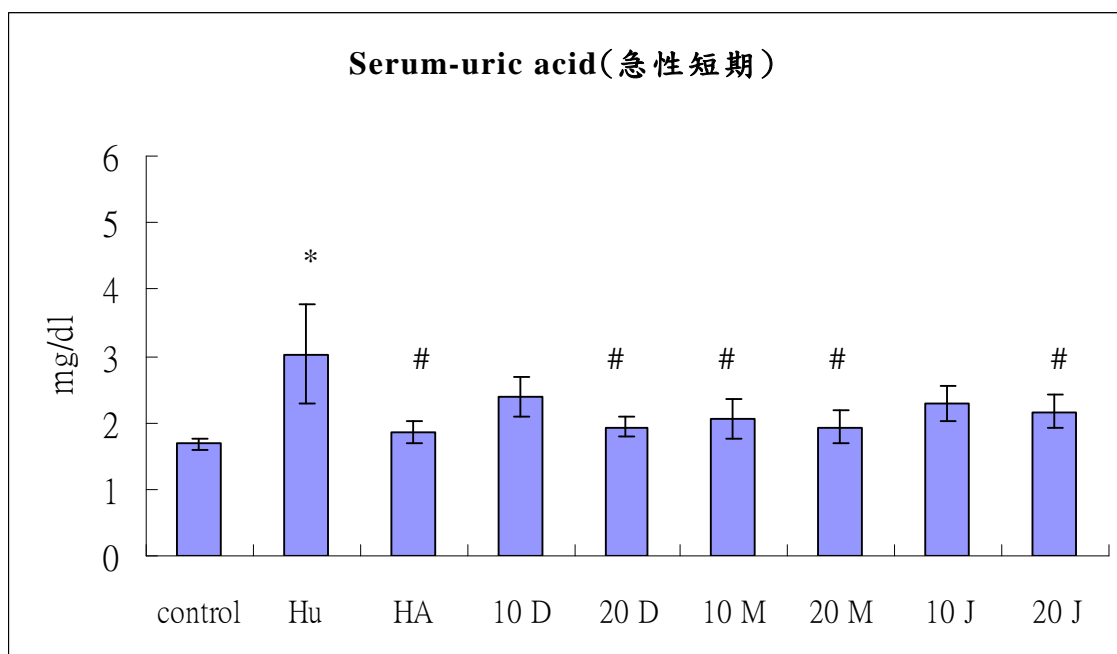


圖 1.短期山藥對 Oxonic acid 誘發的老鼠血清中 uric acid 的影響
 結果以 mean±SD 表示，*表示與 control 組相比較具有明顯差異 ($p < 0.05$)；#表示與 Hu 組相比較具有明顯差異 ($p < 0.05$)。

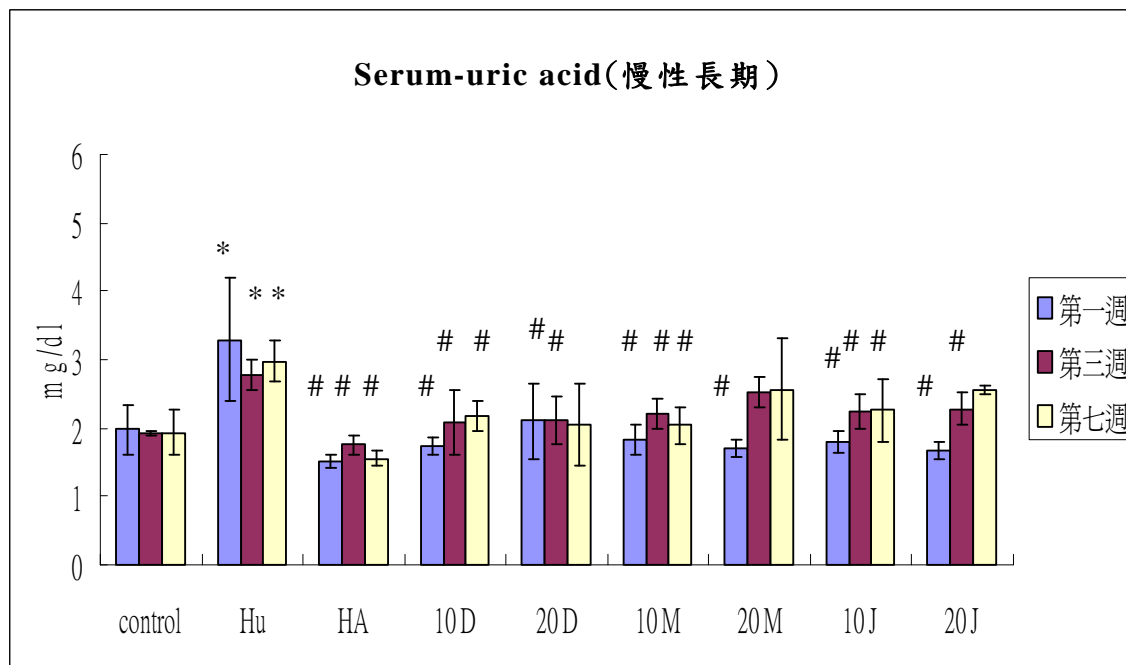


圖 2.長期山藥對 Oxonic acid 誘發的老鼠血清中 uric acid 的影響
 結果以 mean±SD 表示，*表示與 control 組相比較具有明顯差異 ($p < 0.05$)；#表示與 Hu 組相比較具有明顯差異 ($p < 0.05$)。

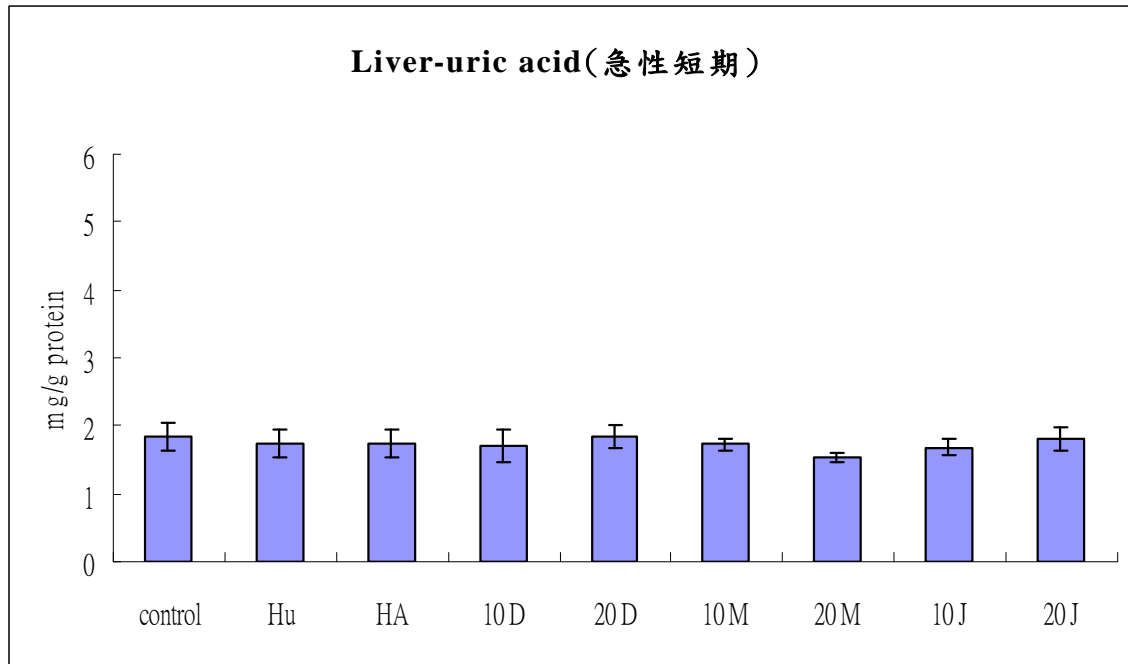


圖 3.短期山藥對 Oxonic acid 誘發的老鼠肝臟中 uric acid 的影響
 結果以 mean±SD 表示，*表示與 control 組相比較具有明顯差異 ($p<0.05$)；#表示與 Hu 組相比較具有明顯差異 ($p<0.05$)。

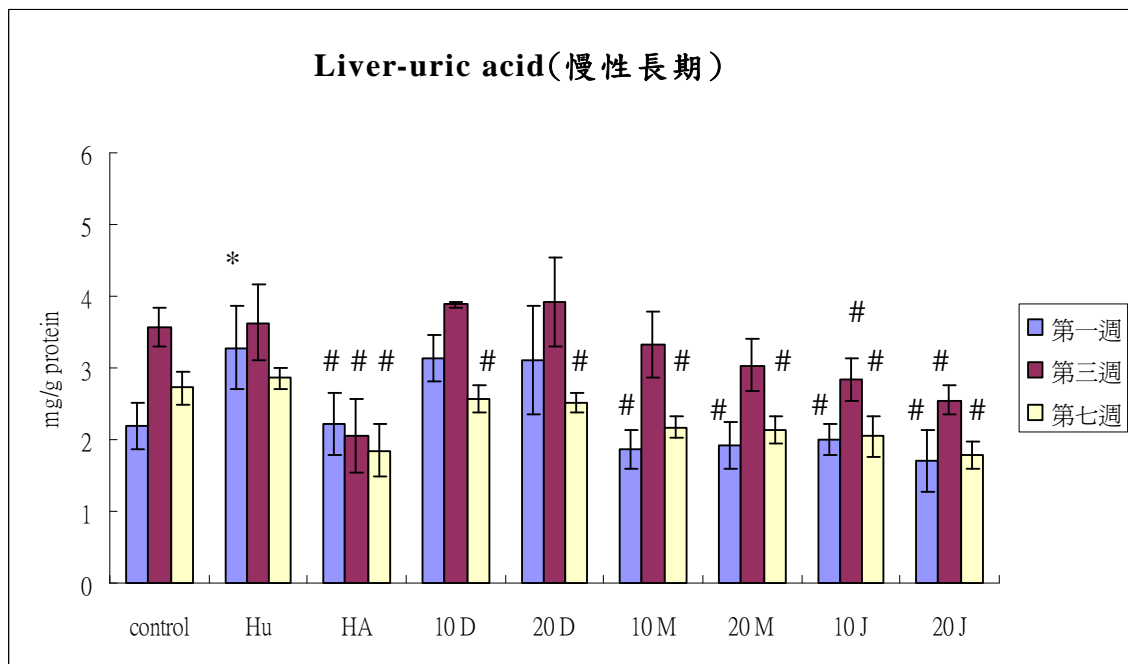


圖 4.長期山藥對 Oxonic acid 誘發的老鼠中肝臟 uric acid 的影響
 結果以 mean±SD 表示，*表示與 control 組相比較具有明顯差異 ($p<0.05$)；#表示與 Hu 組相比較具有明顯差異 ($p<0.05$)。

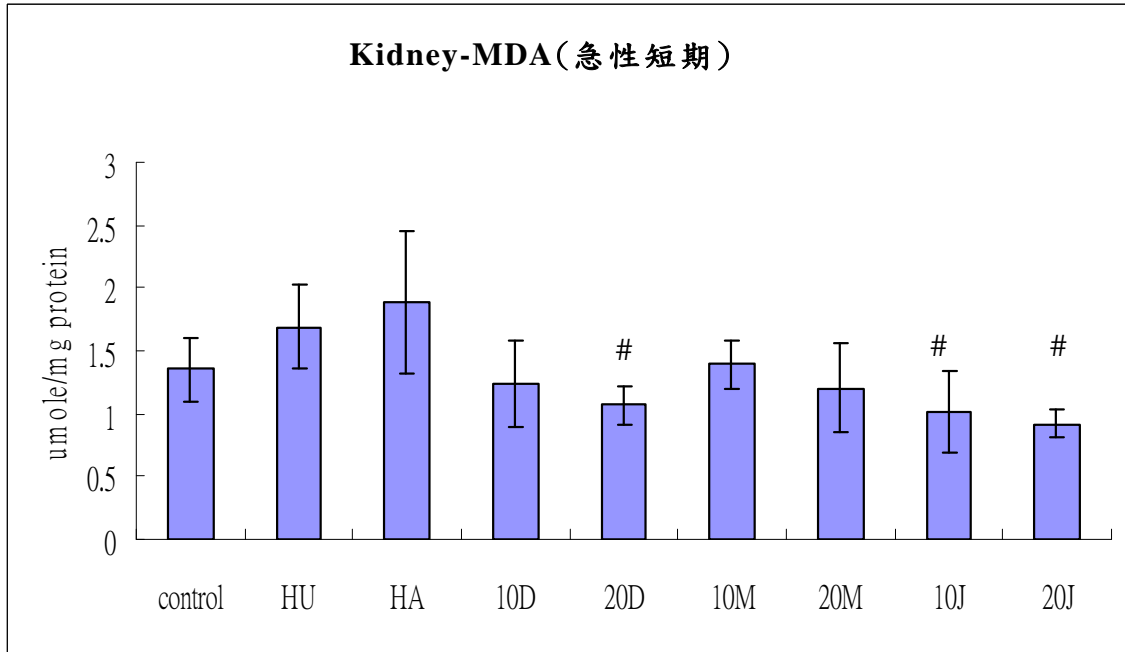


圖 5. 短期山藥對 Oxonic acid 誘發的老鼠腎臟中 MDA 的影響

結果以 mean±SD 表示，*表示與 control 組相比較具有明顯差異 ($p<0.05$)；#表示與 Hu 組相比較具有明顯差異 ($p<0.05$)。

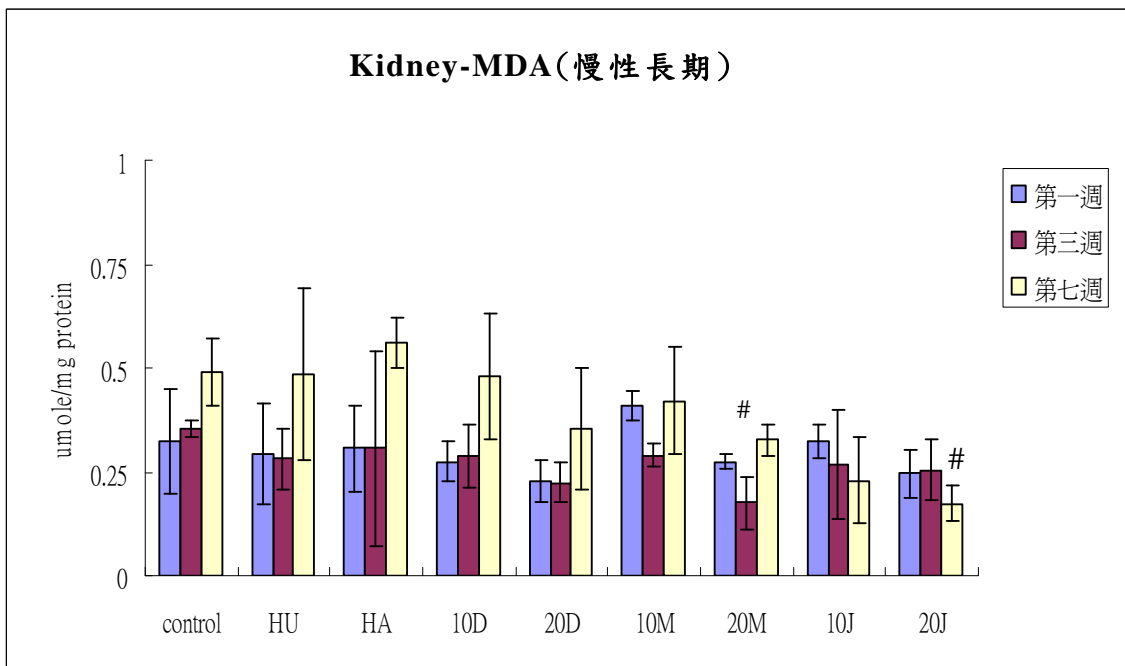


圖 6. 長期山藥對 Oxonic acid 誘發的老鼠腎臟中 MDA 的影響

結果以 mean±SD 表示，*表示與 control 組相比較具有明顯差異 ($p<0.05$)；#表示與 Hu 組相比較具有明顯差異 ($p<0.05$)。

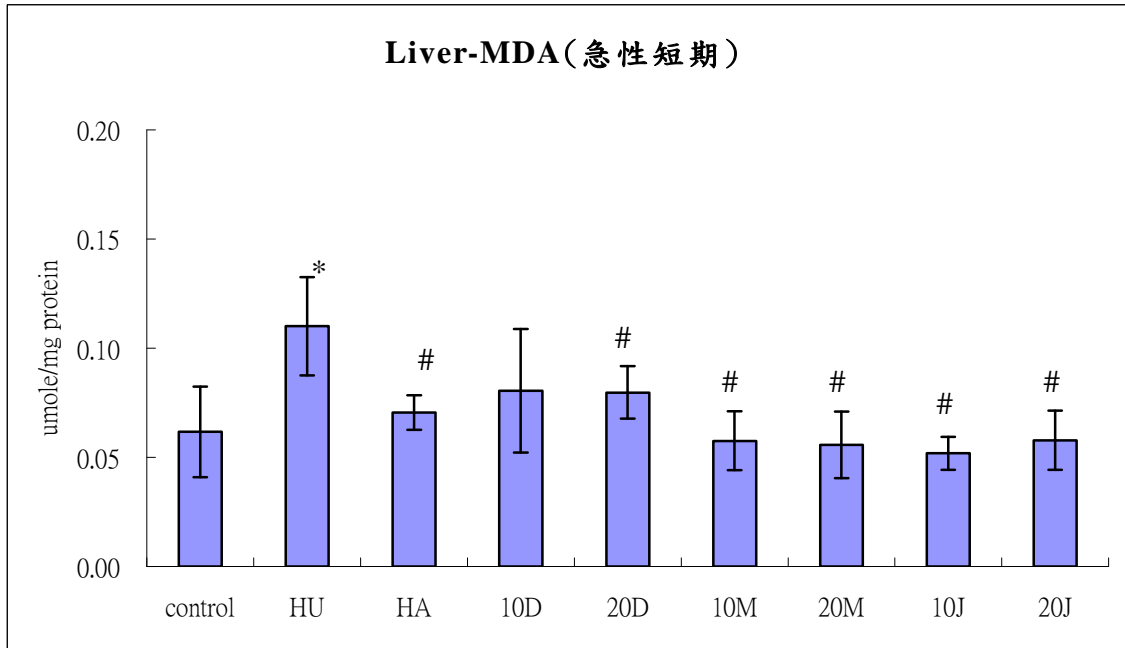


圖 7. 短期山藥對 Oxonic acid 誘發的老鼠肝臟中 MDA 的影響

結果以 mean±SD 表示，*表示與 control 組相比較具有明顯差異 ($p < 0.05$)；#表示與 Hu 組相比較具有明顯差異 ($p < 0.05$)。

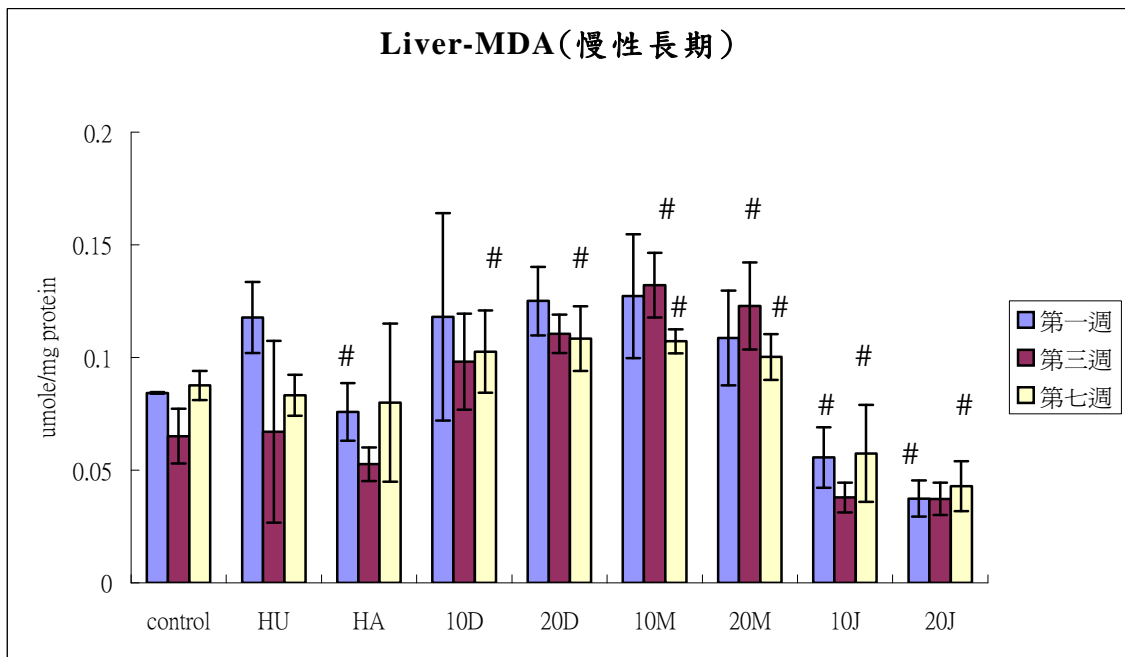


圖 8. 長期山藥對 Oxonic acid 誘發的老鼠肝臟中 MDA 的影響

結果以 mean±SD 表示，*表示與 control 組相比較具有明顯差異 ($p < 0.05$)；#表示與 Hu 組相比較具有明顯差異 ($p < 0.05$)。

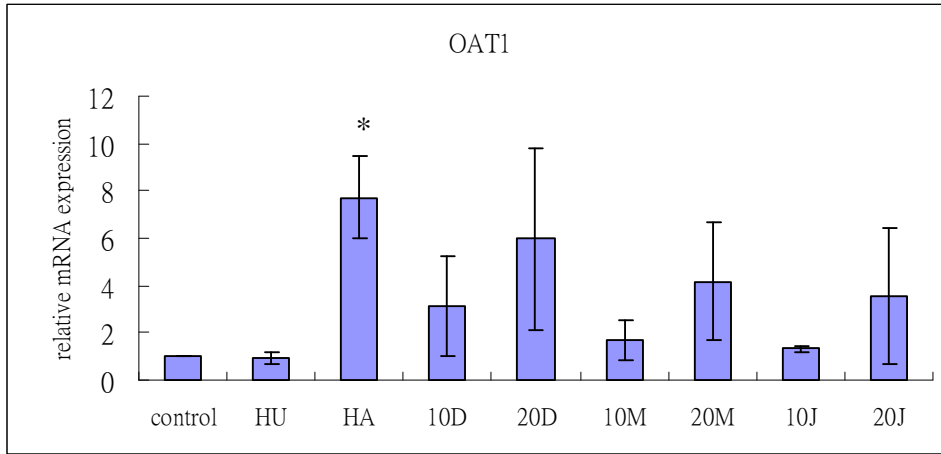


圖 9. 不同山藥對誘發高尿酸小鼠腎臟中陰離子通道(OAT1)之影響
 結果以 mean±SD 表示，*表示與 control 組相比較具有明顯差異 ($p<0.05$)；#表示與 Hu 組相比較具有明顯差異 ($p<0.05$)。

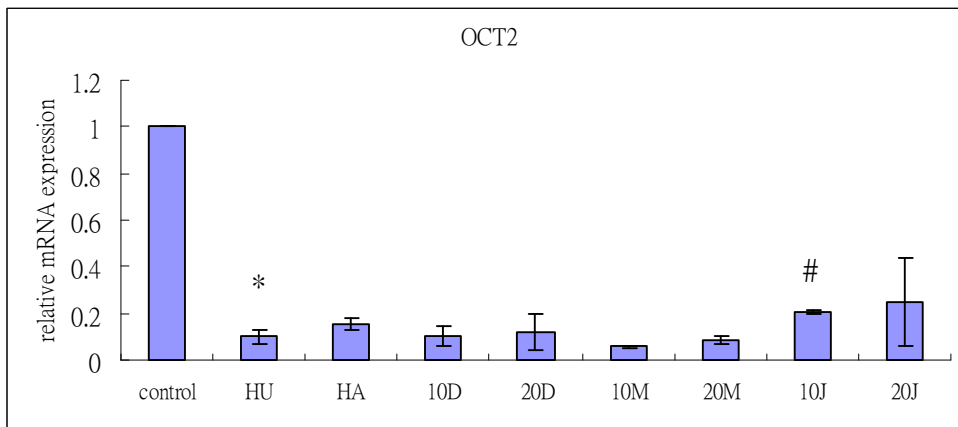


圖 10. 不同山藥對誘發高尿酸小鼠腎臟中陽離子通道(OCT2)之影響
 結果以 mean±SD 表示，*表示與 control 組相比較具有明顯差異 ($p<0.05$)；#表示與 Hu 組相比較具有明顯差異 ($p<0.05$)。

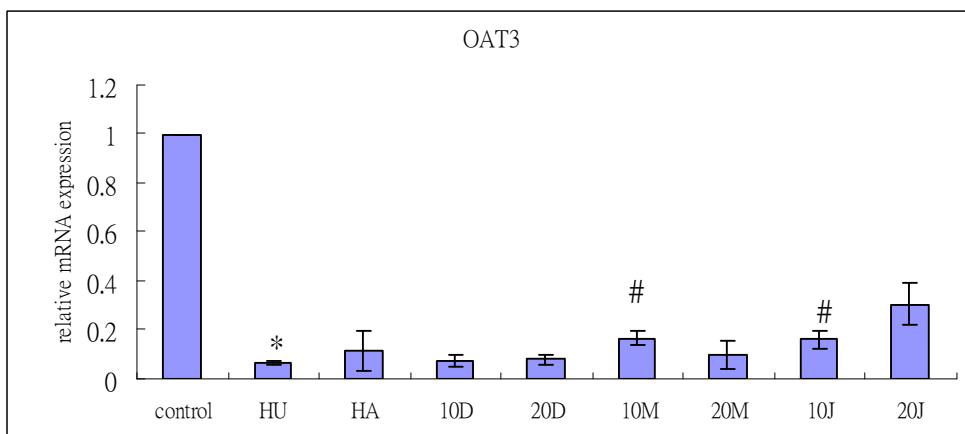


圖 11. 不同山藥對誘發高尿酸小鼠腎臟中陰離子通道(OAT3)之影響
 結果以 mean±SD 表示，*表示與 control 組相比較具有明顯差異 ($p<0.05$)；#表示與 Hu 組相比較具有明顯差異 ($p<0.05$)。

討論

急性部分

痛風 (Gout) 是一種常見的代謝性疾病，其特徵為血液中有明顯地高尿酸血症的情形發生；使得尿酸的結晶沈積在關節及腎臟，導致痛風性關節炎及腎結石的發生 (Kramer and Curhan, 2002)。而尿酸的含量高低則是避免痛風等代謝障礙發生的重要因子 (Lin et al., 2000)。而在本實驗中，不同來源的山藥在不同劑量下均可明顯地下降急性誘發小鼠血清中尿酸的含量。此結果與先前的研究結果一致 (Zhao et al., 2006; Zhu et al., 2004)。顯示不同來源的山藥中所含有的成分具有下降血清中尿酸含量的功能。另外，我們也發現小鼠肝臟中尿酸的含量則無明顯差異。顯示在急性誘發的情況下，山藥可能透過下降血清中尿酸的含量但不影響肝臟的作用而來達到保護腎臟的功效。在本實驗中，我們也發現腎臟及肝臟中MDA的含量在急性誘發小鼠高尿酸的情形下有明顯的上升，而預先給予山藥則可下降MDA的含量。而在腎臟中，allopurinol處理的組別中也發現MDA的含量有明顯的增加；顯示allopurinol的處理可能會增加腎臟的氧化壓力，與Horiuchi等人 (2000) 所發現使用allopurinol可能具有腎毒性的結果相符合。另外，我們也觀察腎臟中離子通道的基因表現，先前研究發現OAT1、OCT2、OAT3與腎臟的排泄功能有關，結果發現在急性誘發高尿酸的情形下，腎臟中離子通道mRNA的表現有明顯地下降，而預先給予山藥則可部分回復離子通道mRNA的表現。顯示山藥下降尿酸的機轉中，部分可能是透過對離子通道基因表現的調節來達成的。

綜合以上實驗結果證實，在急性誘發小鼠高尿酸的情形下，本實驗所採用的山藥可有效下降血清中尿酸的含量並達到保護腎臟的功效。

慢性部分

在本實驗中，我們也測試山藥對長期處於高尿酸血症情形下的小鼠的效果。我們發現在飲食中同時給予不同種山藥都可以明顯下降小鼠血清中尿酸的含量。而在小鼠肝臟中尿酸的含量在高尿酸組中都有明顯的升高，在飲食中同時給予山藥則可以明顯下降小鼠尿酸的含量。顯示小鼠在長期處於高尿酸血症的情形下，山藥仍可透過下降小鼠血清及肝臟中尿酸的含量來達到保護腎臟的功效。此部分結果與急性誘發的結果不同，顯示在飲食中長期添加山藥則可對小鼠肝臟具有影響作用。在本實驗中，我們也發現小鼠腎臟及肝臟中MDA的含量在長期處於高尿酸血症的情形下則呈現不一致性，顯示山藥可能可提供體內抗氧化的效果，但在合併高尿酸血症的情形下則出現很大的差異。因此小鼠對山藥在長期的攝食下是否仍能提供抗氧化的功效有待進一步的釐清。

綜合以上實驗結果證實，小鼠在長期處於高尿酸血症的情形下，山藥仍能有效下降小鼠血清及肝臟中尿酸的含量並進而達到保護腎臟的功效。

參考文獻

- Chang HY, et al., 2001. Hyperuricemia and gout in Taiwan: results from the Nutritional and Health Survey in Taiwan (1993-96). *J Rheumatol* 28:1640.
- Horiuchi, H. et al. , 2000. Allopurinol induces renal toxicity by impairing pyrimidine metabolism in mice. *Life Science* 66:2051-2070
- Kanellis J, et al., 2005. Uric acid as a mediator of endothelial dysfunction, inflammation, and vascular disease. *Semin Nephrol* 25:39.
- Kang DH, et al., 2005. Uric Acid-Induced C-Reactive Protein Expression: Implication on Cell Proliferation and Nitric Oxide Production of Human Vascular Cells. *J Am Soc Nephrol* (Epub).
- Kramer, H.M., et al. , 2002. The association between gout and nephrolithiasis: the National Health and Nutrition Examination Survey III 1988–1994. *American Journal of Kidney Disease* 40:37-42
- Lin, K.C., et al. , 2000. The interaction between uric acid level and other risk factors on the development of gout among asymptomatic hyperuricemic men in a prospective study. *Journal of Rheumatology* 27:1501-1505
- Lindeberg S, et al., 2004. Serum uric acid in traditional Pacific Islanders and in Swedes. *J Intern Med* 255:373.
- Martinez A, et al., 2001. Hyperuricemia as a marker for anaerobic threshold in chronic cardiac failure. *Rev Med Chil* 129:503.
- Tomita M, et al., 2000. Does hyperuricemia affect mortality? A prospective cohort study of Japanese male workers. *J Epidemiol* 10:403.
- Van Aubel, et al. , 2000. Molecular pharmacology of renal organic anion transporters. *American Journal of Physiology.Renal Physiology* 279:216-232
- Zavaroni I, et al., 1993. Changes in insulin and lipid metabolism in males with asymptomatic hyperuricaemia. *J Intern Med* 234:25.
- Zhao X, et al. , 2006. Effects of cassia oil on serum and hepatic uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver. *Journal of Ethnopharmacology* 103:357-365
- Zhu J.X, et al. , 2004. Effects of *Biota orientalis* extract and its flavonoid constituents, quercetin and rutin on serum uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver. *Journal of Ethnopharmacology* 93:133-140