

飼料蛋白質不足對於鼠腎麩胱甘月太過氧化酉每活性調控之影響

The Effect of Low Protein Diet on the Regulation of Glutathione Peroxidase in Rat Kidney

計畫編號：NSC 89-2320-B-041-005

執行期限：88 年 08 月 01 日至 89 年 07 月 31 日

主持人：蕭慧美 助理教授 私立嘉南藥理科技大學

一、中文摘要

蛋白質營養會顯著影響各組織抗氧化酵素之活性。本實驗欲探討肝、腎兩組織中麩胱甘月太過氧化酉每(Glutathione Peroxidase, GPX) 之活性及其 mRNA 表現量受飼料蛋白質和維生素 E 的影響情形，故將離乳 Wistar 公鼠依飼料分為如下四組：LP 及 LE 組 (8%乳白蛋白，維生素 E 各含 50 及 500mg/kg diet)、NP 及 NE 組 (20%乳白蛋白，維生素 E 各含 50 及 500mg/kg diet)，飼養期為六週。腎臟 GPX 活性以每克蛋白質表示時，LP 和 LE 兩低蛋白組的活性顯著較其餘兩組高，但是 GPX mRNA 之表現量於四組間無顯著差異，因此推測蛋白質營養不足對於腎臟 GPX 之調控可能在轉錄後的層次。反觀肝臟的 GPX 活性，則以 NP 和 NE 兩正常蛋白組顯著為高，mRNA 的表現量亦呈現一致的結果，由此可見蛋白質營養在轉錄層次上調控了肝 GPX 的表現。不管是肝或腎，其 GPX 的活性或 mRNA 量皆不受飼料中添加十倍維生素 E 量所影響。綜此，蛋白質營養對肝腎 GPX 的調控不但其控制結果不同，控制層次亦不相同。

關鍵詞：蛋白質不足、腎臟、麩胱甘月太過氧化酉每、維生素 E、mRNA

Abstract

The activities of antioxidant enzymes in tissues are significantly regulated by dietary protein. The purpose of this study is to investigate the effects of dietary protein and vitamin E levels on the regulation of GPX in kidney and liver of rats. Four groups of male weanling Wistar rats were respectively fed following diets for 6 weeks, LP and LE (8% lactoalbumin, vitamin E 50 and 500mg/kg diet); NP and NE (20% lactoalbumin, vitamin E 50 and 500 mg/kg diet). The specific activity of GPX in kidney was significantly higher in LP and LE than that in NP and NE group. Nevertheless, the abundance of GPX mRNA was comparable among four groups. It seems that protein insufficiency resulted in higher GPX activity in kidney was regulated in post-transcriptional level. On the other hand, the GPX activity and mRNA levels in liver significantly reduced in LP and LE group. Dietary vitamin E levels showed no effects on GPX expression in kidney and liver. These results indicated that dietary protein insufficiency regulated the GPX activity in different levels in kidney and liver of rats.

Keywords: Protein Insufficiency, Kidney, Glutathione Peroxidase, Vitamin E, mRNA

二、緣由與目的

抗氧化酵素活性受許多因素調節，其與疾病、老化更有著密切關係，然而其受蛋白質營養影響的相關報告較少。

蛋白質營養對體內蛋白質的影響層面可說十分廣泛，尤其肝臟是蛋白質合成率最旺盛也是受飲食蛋白質影響最直接的器官。蛋白質缺乏時，肝中諸多基因的表現並非一致，即有的上升有的下降[1]。許多腎臟相關疾病與氧化有密切關係[2-7]，但是對於其抗氧化酵素活性有深入研究的報告亦不多。

本人在過去的研究[8]中發現蛋白質不足會使老鼠大部分組織的維生素 E 含量及肝中 GPX 活性下降，同時觀察到腎臟 GPX 活性反有上升之情形，因此欲藉此實驗探討此兩組織的 GPX 受飼料蛋白質含量的影響及其影響層面為何。

三、結果與討論

本研究所採用的低蛋白系指餵予 8% 乳白蛋白，飼養六週後，其生長情形與蛋白質營養狀況如表一所示。LP 與 LE 兩低蛋白組的終體重顯著較低，約只有正常蛋白組 (NP 和 NE) 的 56%。此外血漿白蛋白濃度也以低蛋白組顯著較低，此指標反應出老鼠蛋白質營養不足的狀況。

肝腎與血漿維生素 E 含量的結果列於表二。腎臟維生素 E 含量以 NF、NE 兩正常蛋白組顯著高於 LP 和 LE 兩低蛋白組；肝臟則以 LE 組的維生素 E 含量顯著最高，此點可能與肝中 α -TTP 表現下降有關[9]。

肝與腎的 GPX 活性皆列於表三，腎臟 GPX 活性以 LP 組顯著高於 NP 組，約為 NP 組的 1.6 倍；而 LE 和 NE 兩組間則無差異，此結果是否表示 10 倍維生素 E 之添加具有緩和蛋白質營養對 GPX 活性調控之作用，宜進一步探討。肝臟 GPX 活性則以 LP 和 LE 兩低蛋白組顯著較 NP、NE 兩正常蛋白組為低，且降低的幅度很大，約降為後者的 40% 以下。

GPX 的 mRNA 在蛋白質營養不足時的表現情形以 Northern blot 進行分析其結果如圖一所示，肝中 GPX mRNA 表現以 NP 和 NE 組顯著高於 LP 和 LE 組，此趨勢與活性結果一致，說明肝中 GPX 基因受蛋白質營養不足時為轉錄層次的調控。腎臟的 GPX mRNA 表現量於四組間並無顯著差異，因此蛋白質營養對腎臟 GPX 基因的調控層次可能是在轉錄後的階段，與肝臟有所不同。可見肝、腎兩組織的 GPX 在蛋白質營養不足的情況下，除了活性表現呈現相反外，其調控層次亦有所不同。生體對於不同組織採取不同的調控方式與方向，是否與各組織對於 GPX 的需求性或急迫性不同所致？此點有待進一步探討。

四、計畫成果自評

本研究結果與原計畫之預期結果大致相符，實驗進度也能完全如期配合。有兩個重點在此提出來討論：

1. 維生素 E 之補充對 GPX 的影響：許多文獻認為維生素 E 與 GPX 有互補效應[10-12]，例如維生素 E 含量高的組織其 GPX 活性較低。在本實驗結果中發現正常蛋白組的腎臟 GPX 活性會有增加之現象，故蒙蔽了其與低蛋白組的差異顯著性，但此點則與腎中維生素 E 含量無明顯

相關。肝臟 GPX 不管是活性或 mRNA 表現量皆看不到添加維生素 E 的作用，因此維生素 E 與 GPX 的關係可能是間接關係且牽涉其他因子，在此實驗模式下恐無法明確看到其關係。

2. 肝腎的 GPX 層次不同：原預期肝腎 GPX 在蛋白質不足之調控層次皆為 mRNA 之轉錄，但結果發現腎臟的 mRNA 表現的影響程度不如肝臟明確。

由於肝腎 GPX 受蛋白質營養不足之調控情形未見其他文獻發表，本人認為此研究成果有發表於學術期刊之價值，不但多了解肝中又一下降表現基因，另一方面對於腎臟 GPX 活性與調控機制有進一步瞭解，暗示了腎臟對 GPX 需求之特異性 (specificity)，有助於未來研究腎臟疾病與抗氧化系統之間的關係。

五、參考文獻

- [1] Straus, D. S. (1994) Nutritional regulation of hormones and growth factors that control mammalian growth. *FASEB J.* 8: 6-12.
- [2] Baud, L. and Ardaillou, R. (1986) Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am. J. Physiol.* 251: F765-F776.
- [3] Beanman, M., Britwistle, R., Howie, A. J., Michael, J., Adu, D. (1987) The role of superoxide anion and hydrogen peroxide in glomerular injury induced by puromycin aminonucleoside in rats. *Clin. Sci.* 73: 329-332.
- [4] Diamond, J. R., Bonventre, J. V., Karnovsky, M. J. (1986) A role for oxygen free radicals in amino nucleoside nephrosis. *Kidney Int.* 29: 478-483.
- [5] Shah, S. (1989) Role of reactive oxygen metabolites in experimental glomerular disease. *Kidney Int.* 35: 1093-1106.
- [6] Paller, M. S., Moidal, J. R., Ferris, T. F. (1984) Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J. Clin. Invest.* 74: 1156-1164.
- [7] Rehan, A., Johnson, K. J., Wiggins, R. C., Kunkel, R. G., Ward, P. A. (1984) Evidence for the role of oxygen radicals in acute nephrotoxic nephritis. *Lab. Invest.* 51: 396-403.
- [8] 蕭慧美撰(1998)：蛋白質營養不良影響老鼠組織維生素 E 含量之機制探討，台大農化所博士論文。
- [9] Shaw, H. M. and Huang, C. J. (1998) Liver α -tocopherol transfer protein and its mRNA are differentially altered by dietary vitamin E deficiency and protein insufficiency in rats. *J. Nutr.* 128: 2348-2354.
- [10] Aykac, G., Uysal, M., Yalcin, A. S., Kocak-Toker, N., Sivas, A. and Oz, H. (1985) The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology* 36: 71-76.
- [11] Chow, C. K., Reddy, K. and Tappel, A. L. (1973) Effect of dietary vitamin E on the activities of the glutathione peroxidase system in rat tissues. *J. Nutr.* 103: 618-624.
- [12] Marcus, S. R., Chandrakala, M. V. and Nadiger, H. A. (1993) Interaction between vitamin E and glutathione in rats brain – effect of acute alcohol administration. *J. Nutr. Biochem.* 4: 336-340.

六、附表

Table 1 The initial body weight, final body weight, food intake and plasma albumin of rats.

	Dietary group			
	NP	NE	LP	LE
Initial body weight (g)	74±8 ^a	74±8 ^a	74±8 ^a	74±6 ^a
Final body weight (g)	381±26 ^a	379±21 ^a	212±27 ^b	213±24 ^b
Food intake (g/d)	16.2±1.4 ^a	16.1±0.8 ^a	13.4±2.0 ^b	13.1±1.2 ^b
Plasma albumin (g/L)	42.9±1.54 ^a	42.5±2.09 ^a	33.24±1.48 ^b	33.0±3.02 ^b

1. Values are means±SD for 10 rats.

2. Means in the same row with different superscript letters are significantly different (p<0.05).

Table 2 The vitamin E content in tissues and plasma of rat fed test diet for 6 weeks

	Dietary group			
	NP	NE	LP	LE
Kidney	22.2±7.7 ^a	25.9±3.7 ^a	17.3±2.9 ^b	16.9±5.2 ^b
Liver	43 ±22 ^b	63±20 ^b	65±16 ^b	170±100 ^a
Plasma				
α-Tocopherol	18.28±3.37 ^a	19.68±3.38 ^a	13.82±1.96 ^b	17.54±2.04 ^a
α-Tocopherol/Triglyceride				
	24.15±10.11	21.59±5.31	17.28±6.03	20.38±5.50

1. Values are means±SD for 10 rats.

2. Means in the same row with different superscript letters are significantly different (p<0.05).

Table 3 The activities of glutathione peroxidase in kidney and liver of rats fed test diet for 6 weeks

	Dietary group			
	NP	NE	LP	LE
Kidney	99±43 ^b	115±40 ^{ab}	156±72 ^a	168±70 ^a
Liver	446±7 ^a	494±87 ^a	181±38 ^b	176±25 ^b

1. Values are means±SD for 10 rats.

2. Means in the same row with different superscript letters are significantly different (p<0.05).

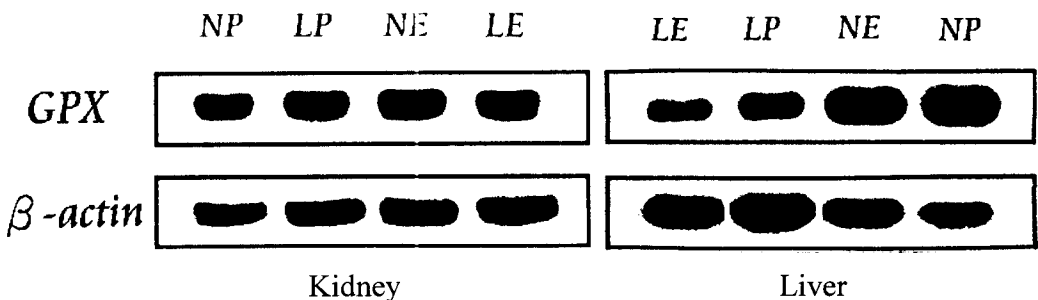


Fig.1 The effects of dietary protein and vitamin E levels on the GPX mRNA expression analyzed by Northern blot in kidney and liver of rats.