



心臟組織之脂質沉積 對心房結構方面重塑的影響探討



摘要

此次專題的核心目的為釐清高脂飲食與心房脂質沈積、VLDL和TXNDC5影響纖維化的交互途徑。當中的所有數據及作圖皆引用自代謝症候群之豬動物模式（李宋豬），取控制組（一公一母）及高脂飲食組（四公二母）的左右心房檢體分別針對上述各個希望探究因素做相對應的實驗。目前結果顯示高脂飲食組與纖維化程度成正向關係，心電圖高脂飲食組的PR間隔相較控制組呈現縮短的結果，而Western blot的染帶結果則需和後續的Real-Time PCR實驗結果共同分析。

研究背景

首先，心房纖維化與心房顫動的發生有著密不可分的關係，又心房顫動會致使中風的機率大幅增加，對病患的健康造成危害，因此纖維化程度成為了結構重塑中我的主要觀察點。而VLDLR（極低密度脂蛋白受體）作為在心房脂質沈積及心房顫動中扮演關鍵增強角色的VLDL的接受器，其表達在本實驗中亦是關鍵點。最後調控內質網壓力的蛋白分子TXNDC5透過活化纖維母細胞進而促進心臟組織纖維的角色已經被詳細證實，因而成為了脂質沈積與纖維化之間重要的切入點。綜合以上三點考量，將心臟結構變化、心房組織萃取後測定的脂質含量、VLDL（極低密度脂蛋白）接受器（VLDLR）表達和TXNDC5之間的關聯性做分析與探討。期許後續實驗的完成及分析能發現高脂飲食與脂質沈積、VLDL和TXNDC5影響纖維化途徑的相互關係，為臨床上心房顫動之預防治療提供些許啟示。

研究方法

實驗所採用的代謝症候群之豬動物模式的豬種為李宋豬，平均豬齡為16個月，依其飼養方式區分為控制組及高脂飲食組。實驗時取控制組(control; CTL)（一公一母）及高脂飲食組(high fat diet; HFD)（四公二母）的左右心房檢體，分別為4組及11組，共15組。首先，脂質沈積部分選擇使用Lipid Assay Kit (neutral lipids) 來測定心房內脂質沈積量，接著VLDLR及TXNDC5在兩組檢體中mRNA和蛋白質的表現量差異分別由Real Time PCR及Western blot的實驗去做測定，最後纖維化的定量則藉由Masson三色染色法(Masson Trichrome)資料而得。以上數據再與心電圖及豬心影像學的資料做統計分析。

初步實驗結果

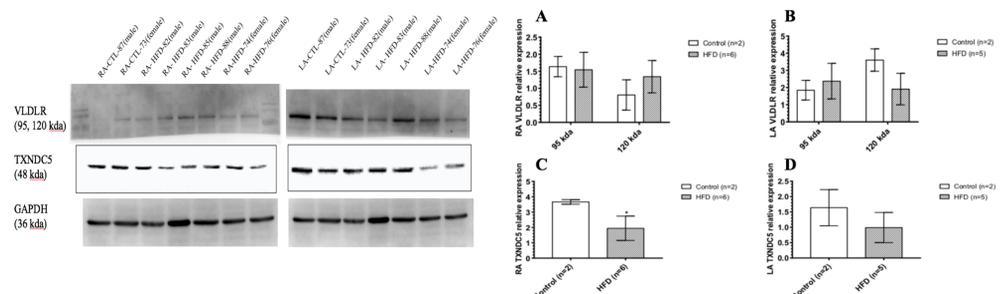


圖1 右邊四張圖是根據左邊Western blot染帶結果的相對數據做圖。(A) 右心房VLDLR相對於GAPDH表現量的作圖結果顯示在120kda時，HFD組如預期高於CTL組，而在(B)中可看出左心房的話則反而在95kda時才是HFD組如預期高於CTL組。(C)右心房TXNDC5相對於GAPDH的表現量(p<0.05)和(D)左心房TXNDC5相對於GAPDH的表現量結果皆為HFD組低於CTL組。

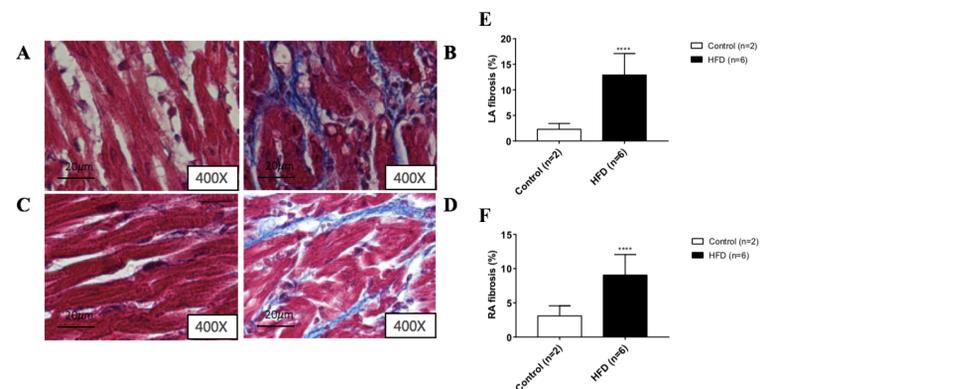


圖2 左邊的(A)為右心房CTL組的Masson Trichrome染色結果(B)則為右心房的HFD組染色結果，由於此染色法的主要標的為藍色的膠原纖維(collagen fiber)，以其與總面積的比例作為纖維化判定依據，因此，(A)(B)數據做圖可得(E)，(E)中可看出右心房HFD組纖維化程度高於CTL組約6%(p<0.001)。(C)為左心房CTL組的Masson Trichrome染色結果(D)則為左心房的HFD組染色結果，而(C)(D)數據做圖可得(F)，(F)中可看出左心房HFD組纖維化程度高於CTL組約10%(p<0.001)，其兩組差異較(E)右心房來得更多。

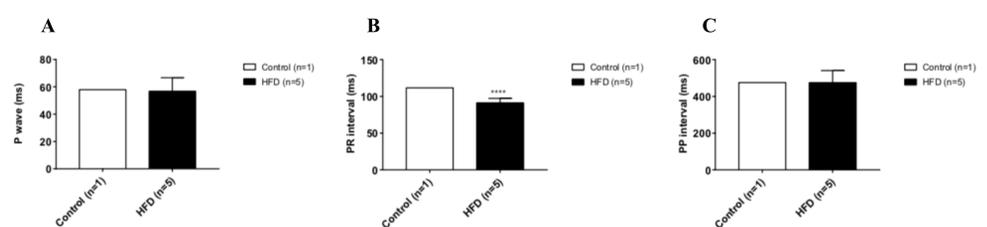


圖3 上方(A)為心電圖手動測量P波的六重複數據作圖，結果顯示P波的部分CTL組與HFD組幾乎沒有差異，兩者大約都在60毫秒。(B)為PR間隔的作圖(p<0.001)，兩組則有了較顯著的差異，CTL組約112毫秒，而HFD組則約91毫秒，HFD組的PR間隔是縮短的。(C)則為PP間隔的數據作圖，兩者同樣沒有什麼差距，大約都在500毫秒的位置。

結論

1. VLDLR及TXNDC5的蛋白質表現量雖可從Western blot的染帶結果判讀，但仍需配合之後Real-Time PCR的mRNA表現量結果共同分析方能確定是否真正代表TXNDC5表現量的其實是mRNA。
2. Masson Trichrome的染色及作圖的呈現結果證實了HFD組纖維化程度高於CTL組的假設。
3. 心電圖HFD組的PR間隔相較CTL組縮減則可能與心房顫動的風險增加有關。
4. 脂質沉積的相關實驗也將在完成後再和豬心影像學的資料作進一步的統計分析。