

## 科技部補助專題研究計畫報告

維生素D3於缺血性腦損傷的角色：藉調控糖化終產物受器與第十型類鐸受體訊息以減緩發炎反應之研究(第3年)

報告類別：精簡報告  
計畫類別：個別型計畫  
計畫編號：MOST 107-2320-B-003-001-MY3  
執行期間：109年08月01日至110年07月31日  
執行單位：國立臺灣師範大學人類發展與家庭學系(所)

計畫主持人：吳啟豪  
共同主持人：紀乃方

計畫參與人員：此計畫無其他參與人員

本研究具有政策應用參考價值：否 是，建議提供機關  
(勾選「是」者，請列舉建議可提供施政參考之業務主管機關)  
本研究具影響公共利益之重大發現：否 是

中華民國 110 年 11 月 10 日

中文摘要：本研究第一、二年計畫已利用次世代定序 (next generation sequencing, NGS)，從中風患者的血液檢體發現其血液miR-433表現顯著高於同性別、年齡健康者 ( $p = 0.015$ )，顯示當腦部處於缺血狀態下，miR-433可能涉及某些未明的生理效應。In silico analysis (miRSystem)分析顯示，Toll-like receptor 10 (TLR10)可能為miR-433的作用標的。模擬中風之氧氣葡萄糖剝奪 (oxygen-glucose deprivation, OGD)細胞試驗與中大腦動脈梗塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO)動物試驗均顯示，缺氧狀態下可刺激miR-433表現，並造成TLR10蛋白表現下降。抑制miR-433能降低神經細胞死亡與腦皮質梗塞面積。值得注意的是，中風鼠之腦皮質經注射miR-433 inhibitor後，其梗塞面積、神經行為缺陷程度及TLR2發炎蛋白表現皆明顯較MCAO組低，並伴隨TLR10活化的現象；反之，miR-433 mimics可加劇MCAO鼠之腦傷程度，並抑制TLR10蛋白表現。此顯示在缺血性組織損傷的狀態下，miR-433扮演調控抗發炎蛋白TLR10之生理作用。本年度計畫探究維生素D對於缺血性腦損傷的保護機轉飲食中vitamin D3之補充與完全剝奪，對於大鼠缺血性腦梗塞程度之變化是否與其活化TLR10或sRAGE以拮抗發炎反應有關。結果顯示，補充維生素D3有助於改善大鼠之腦部缺血性梗塞與神經行為缺陷；反之，若剝奪維生素D3則可見組織損傷有更為惡化的現象，此顯示補充維生素D3或維持體內維生素D3的恆定，在減緩缺血性中風的神經損傷上有其正面的效益。西方點墨法分析顯示，缺乏維生素D會增加TLR2-MyD88-NF- $\kappa$ B signaling cascade表現和NLRP3發炎體的活化促使pro-caspase-1轉變為cleaved caspase-1，活化IL-1 $\beta$ 。然而，補充維生素D可抑制TLR2和NLRP3發炎體相關蛋白質表現外，此外，維生素D補充還可活化TLR10-PI3K-AKT訊息傳遞路徑，抑制發炎反應。值得注意的是，補充維生素D3可維持缺血狀態下TLR10的正常表現。本研究結果證實vitamin D3可活化腦皮質TLR10之假設，並提供vitamin D減緩腦缺血性損傷之新作用機轉。本研究獲致之成果不僅具學術發表價值，在臨床上亦能作為中風防治及營養輔助療法之策略。

中文關鍵詞：抗發炎、缺血性中風、微型核糖核酸-433、第十型類鐸受體、糖化終產物受器、維生素D

英文摘要：Ischemic stroke accounts for almost 80% of the clinical stroke. Ischemic stroke cause severe brain inflammation, and pro-inflammatory cytokines secretion through the activation of toll-like receptor and inflammasome. Clinical studies indicate that the level of vitamin D concentration is associated with higher risk of stroke. However, the molecular mechanism is remain unclear. This study aimed to investigate the protective action of vitamin D on cerebral ischemia-reperfusion injury and the possible molecular mechanism. Eight-week-old male Sprague-Dawley rats were assigned to (1) control group (sham) ; (2) ischemia/reperfusion group (I/R) ; (3) vitamin D deficiency group (VDD group) : dietary deprivation of vitamin D for 14 days ; (4) vitamin D supplements group (VDS group) : 0.7  $\mu$ g

/kg vitamin D supplements for 8 days. Middle cerebral artery occlusion (MCAO) was performed with SD rats, and 90 mins later to initiate reperfusion to investigate the effect of vitamin D supplements and deprivation to the brain damage and the performance of relational molecular. Results showed that vitamin D deficiency increased the severity of brain damage, lipid peroxidation products MDA accumulation and pro-inflammatory cytokines release. In contrast, vitamin D supplements improved brain damage. Western blot indicated that vitamin D deficiency may activate TLR2-MyD88-NF- $\kappa$ B signaling cascade and NLRP3 inflammasome induce cleaved caspase-1 protein expression, increase IL-1 $\beta$  secretion. However, vitamin D can inhibit TLR2 and NLRP3-related protein expression. Besides, vitamin D can inhibit inflammation through the activation of TLR10-PI3K-AKT signaling pathway. In conclusion, Vitamin D might reduce cerebral ischemic-reperfusion oxidative damage and inflammation by inhibited activation of TLR2, reduced the mature of pro-inflammatory factor IL-1 $\beta$  and activation of TLR10 to protect against cerebral ischemia-reperfusion injury.

英文關鍵詞： Anti-inflammation; Ischemic stroke, microRNA-433, TLR10, RAGE, Vitamin D

# 科技部補助專題研究計畫成果報告

(期中進度報告/期末報告)

維生素 D3 於缺血性腦損傷的角色：藉調控糖化終產物受器與第十型類鐸受體訊息以減緩發炎反應之研究

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：MOST 107-2320-B-003-001-MY3

執行期間：109 年 08 月 01 日至 110 年 07 月 31 日

執行機構及系所：國立臺灣師範大學營養科學碩士學位學程

計畫主持人：吳啟豪

共同主持人：紀敦方

計畫參與人員：

本計畫除繳交成果報告外，另含下列出國報告，共 1 份：

執行國際合作與移地研究心得報告

出席國際學術會議心得報告

出國參訪及考察心得報告

中 華 民 國 110 年 07 月 30 日

## 中文摘要

本研究第一、二年計畫已利用次世代定序 (next generation sequencing, NGS)，從中風患者的血液檢體發現其血液 miR-433 表現顯著高於同性別、年齡健康者 ( $p = 0.015$ )，顯示當腦部處於缺血狀態下，miR-433 可能涉及某些未明的生理效應。*In silico* analysis (miRSystem)分析顯示，Toll-like receptor 10 (TLR10)可能為 miR-433 的作用標的。模擬中風之氧氣葡萄糖剝奪 (oxygen-glucose deprivation, OGD)細胞試驗與中大腦動脈梗塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO)動物試驗均顯示，缺氧狀態下可刺激 miR-433 表現，並造成 TLR10 蛋白表現下降。抑制 miR-433 能降低神經細胞死亡與腦皮質梗塞面積。值得注意的是，中風鼠之腦皮質經注射 miR-433 inhibitor 後，其梗塞面積、神經行為缺陷程度及 TLR2 發炎蛋白表現皆明顯較 MCAO 組低，並伴隨 TLR10 活化的現象；反之，miR-433 mimics 可加劇 MCAO 鼠之腦傷程度，並抑制 TLR10 蛋白表現。此顯示在缺血性組織損傷的狀態下，miR-433 扮演調控抗發炎蛋白 TLR10 之生理作用。本年度計畫探究維生素 D 對於缺血性腦損傷的保護機轉—飲食中 vitamin D<sub>3</sub> 之補充與完全剝奪，對於大鼠缺血性腦梗塞程度之變化是否與其活化 TLR10 或 sRAGE 以拮抗發炎反應有關。結果顯示，補充維生素 D<sub>3</sub> 有助於改善大鼠之腦部缺血性梗塞與神經行為缺陷；反之，若剝奪維生素 D<sub>3</sub> 則可見組織損傷有更為惡化的現象，此顯示補充維生素 D<sub>3</sub> 或維持體內維生素 D<sub>3</sub> 的恆定，在減緩缺血性中風的神經損傷上有其正面的效益。西方點墨法分析顯示，缺乏維生素 D 會增加 TLR2-MyD88-NF- $\kappa$ B signaling cascade 表現和 NLRP3 發炎體的活化促使 pro-caspase-1 轉變為 cleaved caspase-1，活化 IL-1 $\beta$ 。然而，補充維生素 D 可抑制 TLR2 和 NLRP3 發炎體相關蛋白質表現外，此外，維生素 D 補充還可活化 TLR10-PI3K-AKT 訊息傳遞路徑，抑制發炎反應。值得注意的是，補充維生素 D<sub>3</sub> 可維持缺血狀態下 TLR10 的正常表現。本研究結果證實 vitamin D<sub>3</sub> 可活化腦皮質 TLR10 之假設，並提供 vitamin D 減緩腦缺血性損傷之新作用機轉。本研究獲致之成果不僅具學術發表價值，在臨床上亦能作為中風防治及營養輔助療法之策略。

**關鍵字：**抗發炎、缺血性中風、微型核糖核酸-433、第十型類鐸受體、糖化終產物受器、維生素 D

## 英文摘要

Ischemic stroke accounts for almost 80% of the clinical stroke. Ischemic stroke cause severe brain inflammation, and pro-inflammatory cytokines secretion through the activation of toll-like receptor and inflammasome. Clinical studies indicate that the level of vitamin D concentration is associated with higher risk of stroke. However, the molecular mechanism is remain unclear. This study aimed to investigate the protective action of vitamin D on cerebral ischemia-reperfusion injury and the possible molecular mechanism. Eight-weeks-old male Sprague-Dawley rats were assigned to (1) control group (sham) ; (2) ischemia/reperfusion group (I/R) ; (3) vitamin D deficiency group (VDD group) : dietary deprivation of vitamin D for 14 days ; (4) vitamin D supplements group (VDS group) : 0.7 $\mu$ g /kg vitamin D supplements for 8 days. Middle cerebral artery occlusion (MCAO) was performed with SD rats, and 90 mins late to initiate reperfusion to investigate the effect of vitamin D supplements and deprivation to the brain damage and the performance of relational molecular. Results showed that vitamin D deficiency increased the severity of brain damage, lipid peroxidation products MDA accumulation and pro-inflammatory cytokines release. In contrast, vitamin D supplements improved brain damage. Western blot indicated that vitamin D deficiency may active TLR2-MyD88-NF- $\kappa$ B signaling cascade and NLRP3 inflammasome induce cleaved caspase-1 protein expression, increase IL-1 $\beta$  secretion. However, vitamin D can inhibit TLR2 and NLRP3-related protein expression. Besides, vitamin D can inhibit inflammation through the activation of TLR10-PI3K-AKT signaling pathway. In conclusion, Vitamin D might reduce cerebral ischemic-reperfusion oxidative damage and inflammation by inhibited activation of TLR2, reduced the mature of pro-inflammatory factor IL-1 $\beta$  and activation of TLR10 to protect against cerebral ischemia-reperfusion injury.

**Keywords:** Anti-inflammation; Ischemic stroke, microRNA-433, TLR10, RAGE, Vitamin D

107年度專題研究計畫成果彙整表

計畫主持人：吳啟豪		計畫編號：107-2320-B-003-001-MY3		
計畫名稱：維生素D3於缺血性腦損傷的角色：藉調控糖化終產物受器與第十型類鐸受體訊息以減緩發炎反應之研究				
成果項目		量化	單位	質化 (說明：各成果項目請附佐證資料或細項說明，如期刊名稱、年份、卷期、起訖頁數、證號...等)
國內	學術性論文	期刊論文	0	篇
		研討會論文	0	
		專書	0	本
		專書論文	0	章
		技術報告	0	篇
		其他	0	篇
國外	學術性論文	期刊論文	0	篇
		研討會論文	0	
		專書	0	本
		專書論文	0	章
		技術報告	0	篇
		其他	0	篇
參與計畫人力	本國籍	大專生	0	人次
		碩士生	0	
		博士生	0	
		博士級研究人員	0	
		專任人員	0	
	非本國籍	大專生	0	
		碩士生	0	
		博士生	0	
		博士級研究人員	0	
		專任人員	0	
其他成果 (無法以量化表達之成果如辦理學術活動、獲得獎項、重要國際合作、研究成果國際影響力及其他協助產業技術發展之具體效益事項等，請以文字敘述填列。)				