

出國報告 (出席美國實驗生物 2011 年會)

(-)-Epigallocatechin-3-gallate attenuates oxidative stress in H9c2 cardiac myoblasts by modulation of  $\beta$ -catenin and connexin 43 activation.

EGCG 經由修飾  $\beta$ -catenin 和 connexin 43 活化路徑減低 H9c2 心臟肌原母細胞氧化壓力

服務機關：中興大學生科系

姓名職稱：劉英明教授

派赴國家：美國

出國日期：4/8-4/14/2011

報告日期：4/21/2011

## 摘要

綠茶多酚具有許多的益處，包括抗氧化能力、保護心血管功能、清除自由基、降低血脂及抗癌等功效，另外在缺血再灌流(ischemia / reperfusion, IR)動物模式下證實綠茶多酚可以有效的調節 NF- $\kappa$ B、AP-1 轉錄因子的變化以及降低 STAT-1 活化。最近的研究報告也指出：在缺血再灌流的心臟，綠茶多酚可以降低胞內鈣離子超載負荷(Ca<sup>2+</sup> overload)引發心肌不整脈 (ventricular arrhythmias)產生的危險傷害。這篇研究報告也證實：綠茶多酚可能是經由細胞膜上特定區域—脂肪筏(lipid raft)，影響細胞膜上的蛋白接受體的訊號傳遞；因而影響其細胞膜上的黏附性(adherens junctional proteins) 和間隙蛋白 (gap junctional proteins) 的胞內分佈與表現量，終使心肌細胞內部免於缺血再灌流的傷害。本研究計畫的目的：想要利用缺血再灌流培養心臟細胞 (H9c2 cardiomyoblast) 模式來探討綠茶多酚經由活化細胞膜上的訊息傳遞後，細胞內產生變化的相關路徑。首先將先量化綠茶多酚影響缺血再灌流的 H9c2 心臟細胞內的鈣離子濃度變化與細胞存活率；再藉由西方墨點法(western blot)以及免液染色法(immunofluorescence stain)來觀察細胞黏附性蛋白及間隙蛋白表現量的變化。另外，H9c2 心臟細胞也將轉染(transfection)綠螢光蛋白(Enhanced green fluorescent protein, EGFP) 基因，以作為探測缺血再灌流對 H9c2 心臟細胞產生的傷害以及綠茶多酚保護心臟細胞的作用。轉染 EGFP 基因的 H9c2 心臟細胞將分別在缺血再灌流之前後之後加入有效劑量的綠茶多酚，藉由螢光釋放光譜(Emission fluorescence spectra)來量化綠茶多酚作用在細胞產生的影響。作用機制的探討將利用免疫共同沉澱(Immuno-Co-precipitation)的方法來分析與胞內 EGFP 蛋白形成的相關作用的複合物免疫沉澱萃取下來，再經由西方墨點法來辨識綠茶多酚如何透過細胞膜上的訊息傳遞訊號傳至細胞內特定的標的蛋白(target proteins)以有效地保護心臟細胞免於缺血再灌流的傷害。

目次：

摘要-----	1
本文	
目的 (Main purpose)-----	3
過程	
交通與住宿-----	3
主要活動-----	3
發表論文	
圖一-----	3
圖二-----	4
圖三-----	5
圖四-----	6
圖五-----	7
圖六-----	8
圖七-----	9
心得與建議	
建議事項-----	10
攜回資料-----	10

## 目的 (Main purpose):

發表執行國科會專題研究計畫之成果 “利用心肌傷害之實驗動物鼠來研究綠茶多酚保護心肌受損的機制探討”(NSC 98-2320-B-005-001-MY2).

## 過程:

### 出發:

交通: 聯合航空經日本東京抵達美國巴爾的摩市; 再搭地鐵抵達華盛頓會議中心.

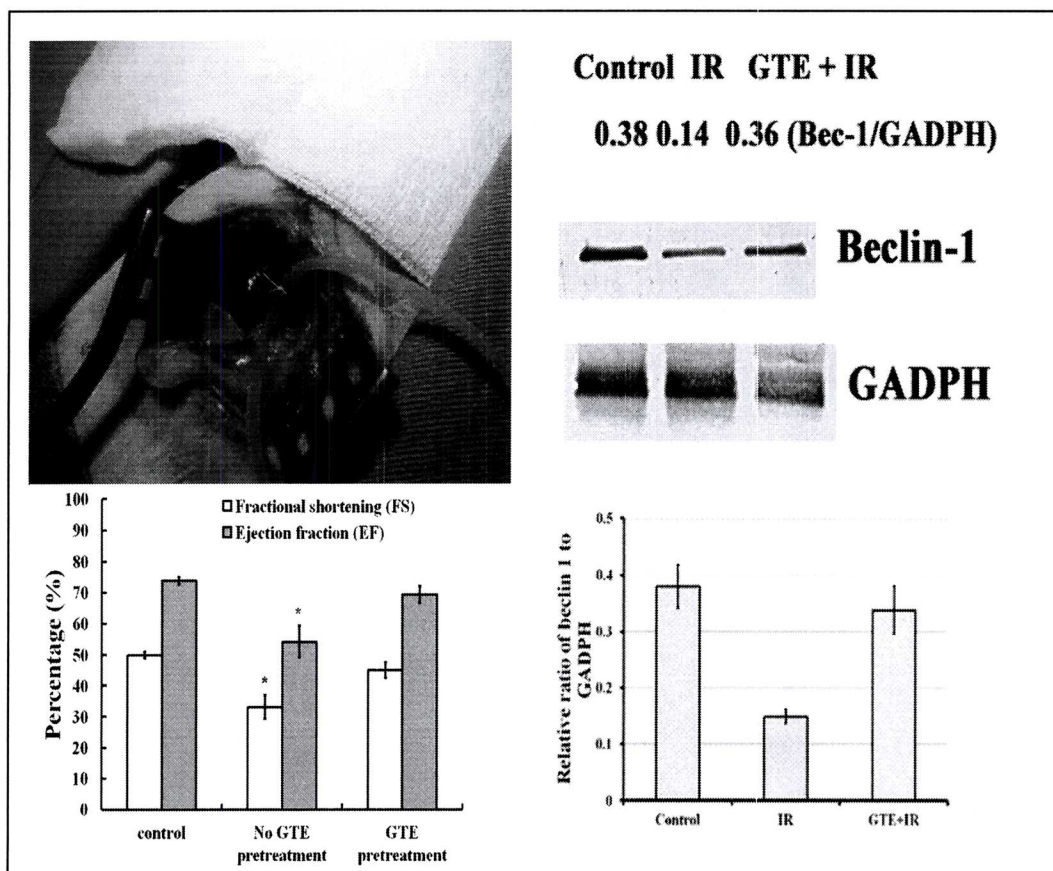
住宿: 馬里蘭州Potomac.

### 主要活動:

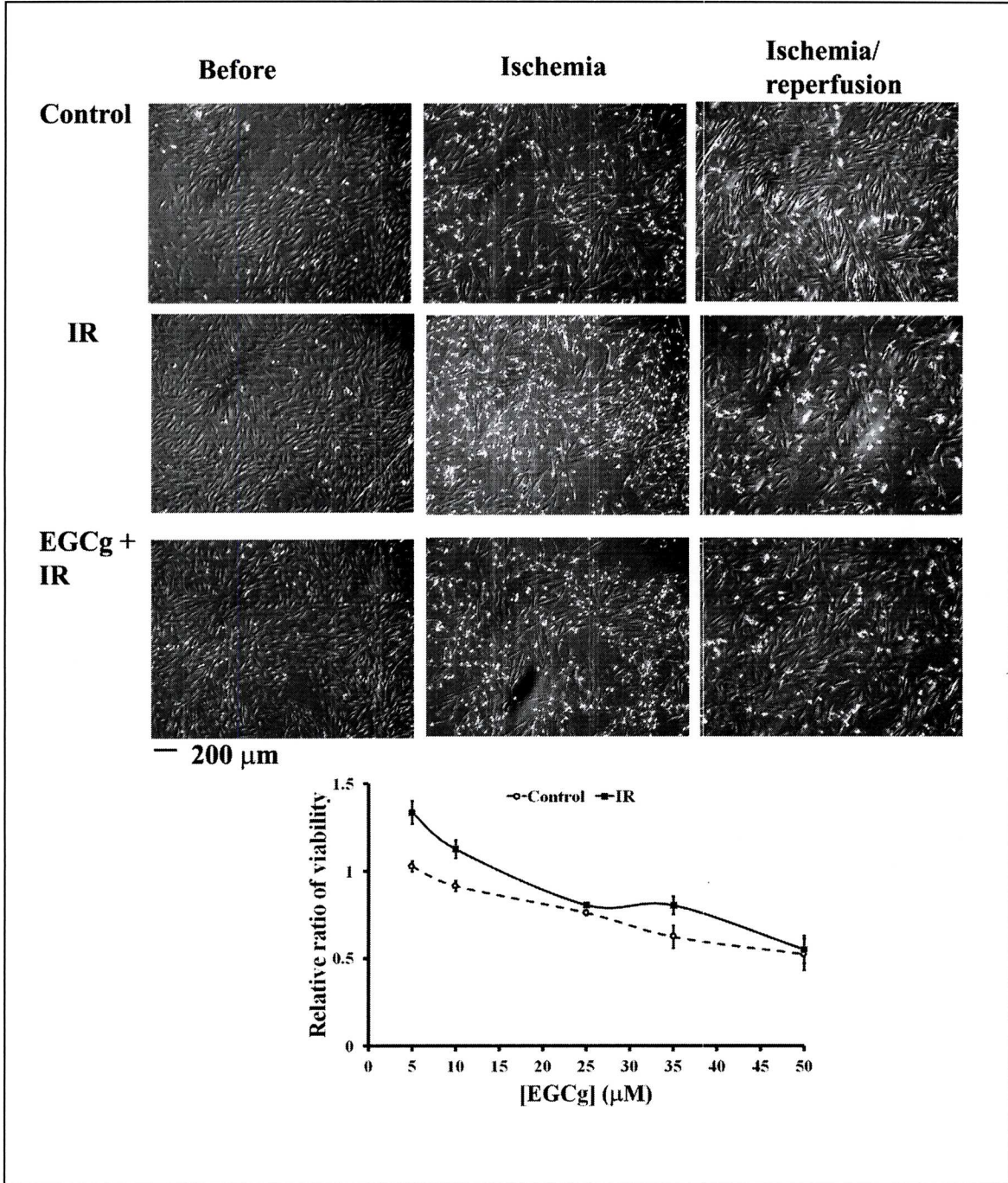
1. 參加由美國生理、生化、解剖、藥理、以及營養學會聯合舉辦的學術課程。
2. 參加許多先進與尖端的實驗成果展示。
3. 參加美國生理學會舉辦的歡迎酒會。

## 發表論文:

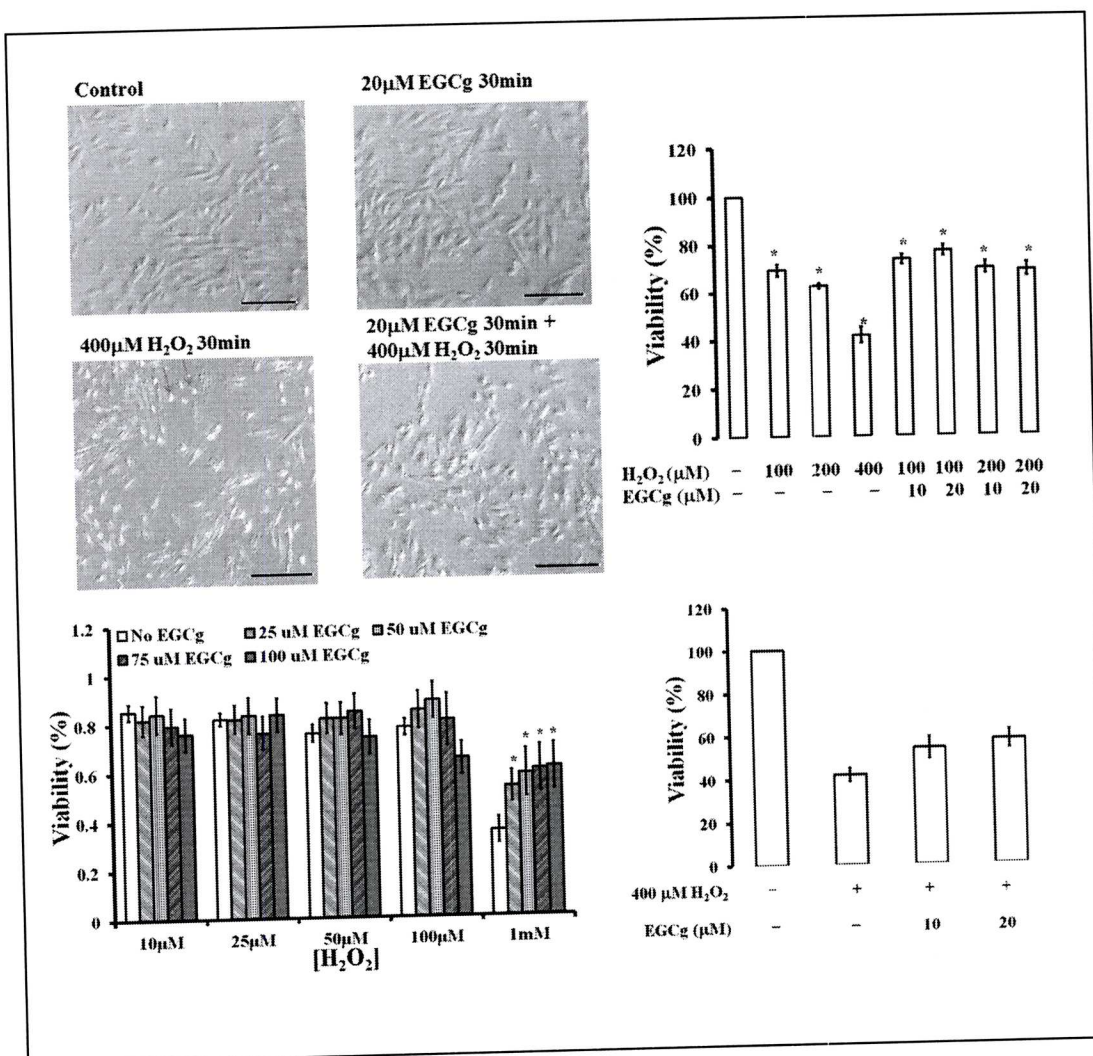
圖一、 **Cardioprotection of green tea polyphenols involves autophagy induction in the hearts of rats associated with myocardial ischemia reperfusion.**



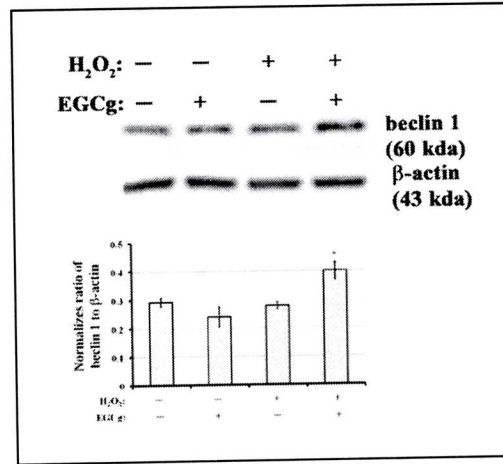
圖二、EGCg increased cell viability in IR simulated H9c2 cells.



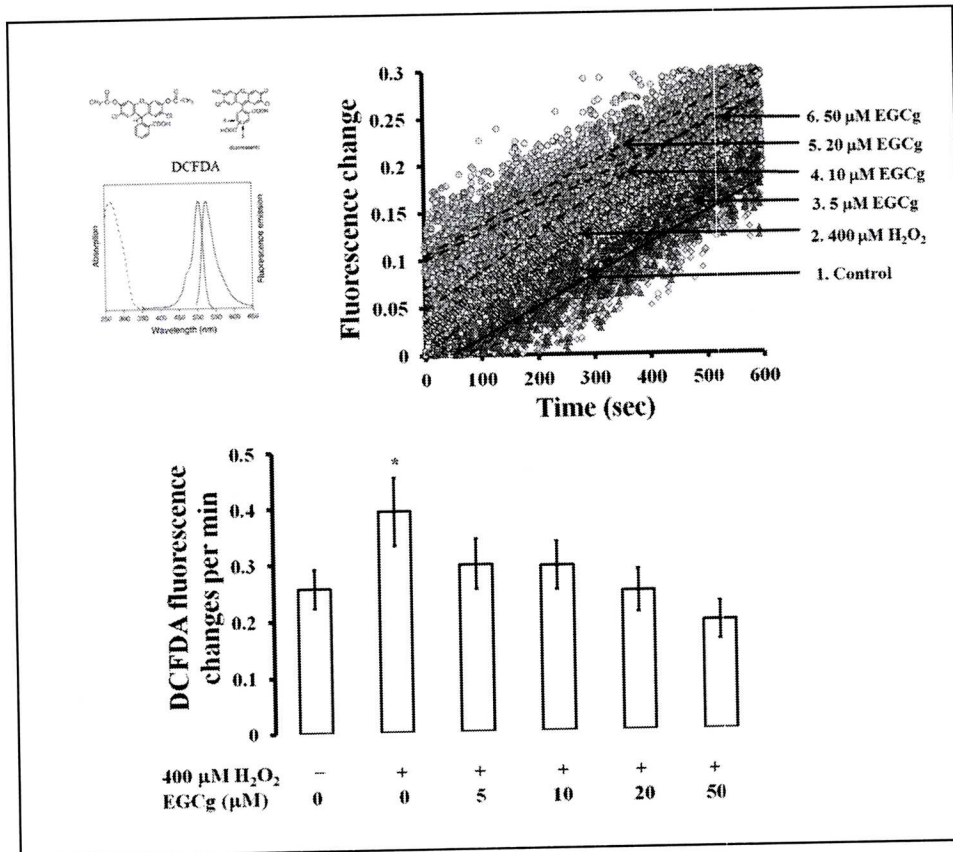
圖三、 Effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and EGCg on cell viability of H9c2 cells.



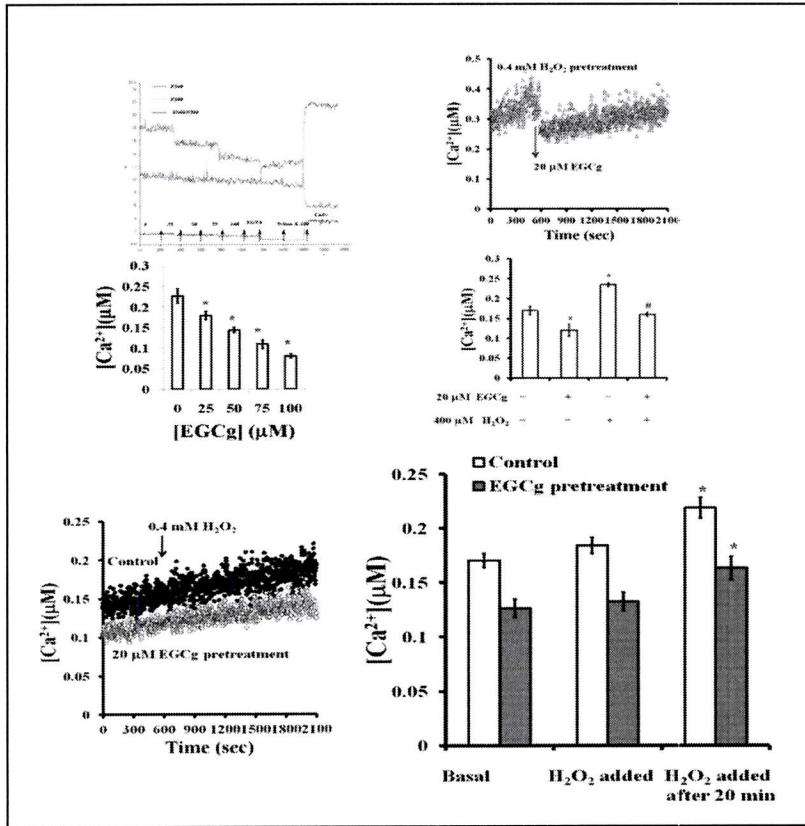
圖四、Effects of EGCg and H2O2 on Beclin 1 expression in H9c2 cardiac cells.



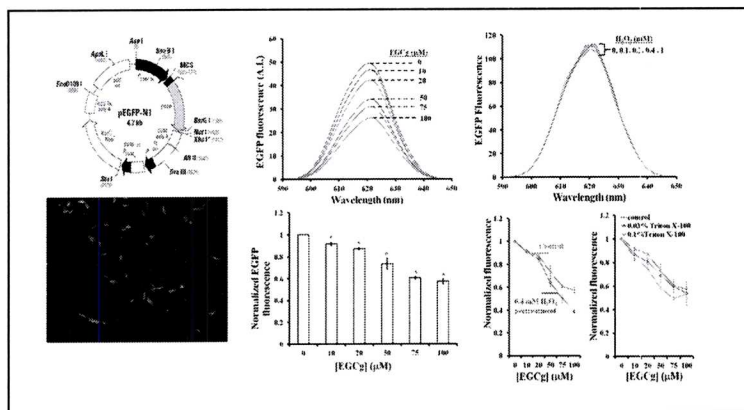
圖五、EGCg reduces ROS levels generated by H2O2 in H9c2 cells.



圖六、EGCg prevents cytosolic  $Ca^{2+}$  overload in  $H_2O_2$ -treated H9c2 cells

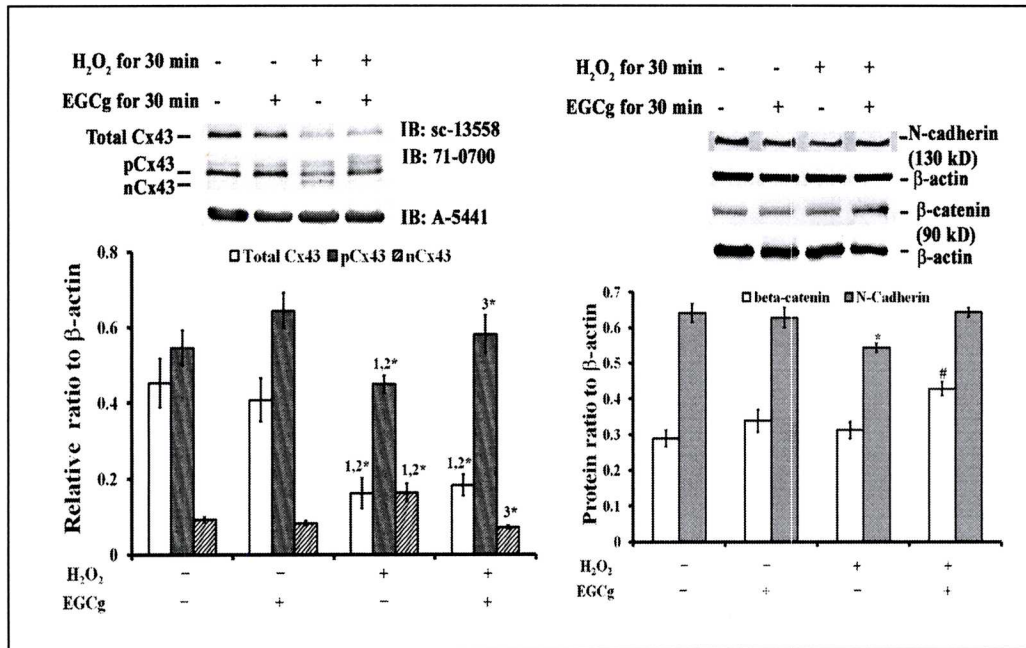


圖七、Effects of  $H_2O_2$  and Triton X-100 on EGCg-induced fluorescence changes in EGFP-expressed H9c2 cardiac cells.





圖八、Effects of EGCg and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on protein levels of b-catenin, N-Cadherin, Cx 43, pCx43, and nCx43 in H9c2 cardiac cells.



## 心得與建議

建議事項：請支持”Heart disease and muscle protein”相關的研究計畫。

攜回資料：Biophysical and biochemical techniques for studying translational physiology of heart diseases.

心得：參與國際會議使本人深感國際化的重要性除了國內及個人在專業領域上需有進步的成就更需要自己本身的研究成果與全球的专业人士交通因此國際化應該就扮演著重要的工具。研究人員專業化的努力應該伴隨著行政方面的進步中簡化、不專業的行政人員一股一味的處理學術的事務會有阻礙國家投資在科學研究的資源更會阻礙國家社會在專業專業的進步。