開發淡水魚類初代細胞用於評估替代水生動物毒性試驗之研究

黃淑敏[1]、高瑜鎂[1]、周瑞良[2]、曾福生[1]
[1]水產養殖組、[2]東港生技研究中心

本計畫研究目的為因應國內相關法規修正與國際間實驗動物替代研究之重視，預期開發非活體的動物試驗替代方法，用以降低國內實驗動物之使用量，擬開發淡水魚類或胚胎細胞株用於評估體外細胞之抗氧化活性測定，未來可以應用於測量抗氧化活性之替代方法評估。

將總數 120 尾之尼羅吳郭魚 (*Oreochromis niloticus*) 分成對照組 1 組與實驗組 2 組，並在飼料中添加了三組不同濃度之維生素 E (α-生育酚)：0 (對照組)、試驗組分別為 25 和 250 mg/kg，經餵飼 8 週後比較吳郭魚之生長、活存率 (表 1) 與血清中抗氧化能力之表現。結果顯示，對照組之魚類生長情形於體重增加率和活存率皆明顯低於試驗組。魚體血清中超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 酵素活性，於 25 與 250 mg/kg 試驗組分別為 20.03 與 23.87 顯著高於對照組 (16.89 U/ml) (圖 1A)。

表 1　飼料添加三組不同濃度之維生素 E(α-生育酚)，經餵飼 8 週後比較吳郭魚之生長與活存率之表現

	250 mg/kg	25 mg/kg	0 mg/kg
初平均重量(g)	34.77±11.99	33.09±8.18	35.7±10.92
末平均重量(g)	122.0±46.08	94.08±33.06	78.78±13.41
增重率(%)	250.88	184.57	120.67
肥滿度(%)	2.55	2.47	2.42
活存率(%)	80.95	75.0	70.59

將 250、25、2.5 與 0.25 mg/ml 不同濃度與二種樣品處理配方作用於慈鯛科紅魔鬼魚鰓細胞 (*Amphilophus labiatus* gillus, ALG) 中進行 SOD 活性的分析。結果顯示，乙醇處理樣品之配方，在 2% 培養液之乙醇處理組中，25、2.5 與 0.25 mg/ml 之試驗組於 ALG 細胞皆具有檢測出 SOD 活性，高濃度之維生素 E 處理組則具有較高之 SOD 活性 ($p < 0.05$)，並具有劑量依存性之表現 (圖 1B)。本試驗研究結果表明，維生素 E 能促進吳郭魚之生長並增強血清 SOD 抗氧化酵素活性；相同於細胞內之 SOD 抗氧化酵素亦顯示具有劑量依存性之表現。

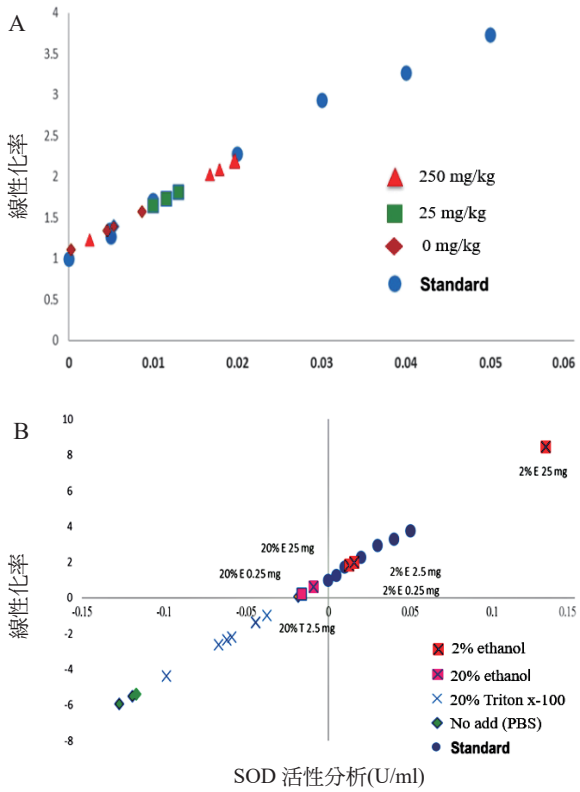

圖 1　血清中與細胞內超氧化物歧化酶(SOD)分析
A：以吳郭魚餵飼不同濃度之維生素 E 飼料後，體內血清中 SOD 活性分析(*in vivo*)，R^2=0.98，▲為 250 mg/kg 試驗組、■為 25 mg/kg 試驗組、◆為對照組、●為試劑檢附 SOD 0-0.05 U/ml 標準濃度)；B：以 ALG 細胞分析不同濃度之維生素 E 與樣品處理作用於細胞後 SOD 活性分析(*in vitro*)，▣為 2%培養液之乙醇處理組，其餘處理組，皆未在試劑檢附 SOD 0-0.05 U/ml 標準濃度中可被檢出，R^2=0.98