

國立臺灣師範大學生命科學系 碩士論文

以肝癌細胞為模式篩選具有調節
血管新生相關因子的中草藥

**Screening of Chinese Herbs with Anticancer
Potential in Hepatocarcinoma Cells and Their
Regulations of Angiogenesis and Metastasis**

研究生：路淑怡

Shu-Yi Lu

指導教授：方剛 博士

Kang Fang

中華民國九十七年七月

目錄

中文摘要-----	I
英文摘要-----	III
壹、緒論-----	1
一、癌細胞增生、轉移與血管新生的關係-----	1
二、影響血管新生的相關蛋白質-----	3
三、中草藥研究的歷史沿革-----	6
四、研究目的-----	8
貳、材料與方法-----	9
一、細胞培養-----	9
二、Total RNA 萃取-----	9
三、反轉錄聚合酵素鏈反應-----	11
四、蛋白質之萃取及定量-----	12
五、西方轉漬法 (Western blot) 偵測血管新生調節因子-----	13
六、中草藥複方或單方樣品的來源-----	15
七、細胞存活率分析 (MTT assay) -----	15
八、半數抑制濃度計算 (IC ₅₀) -----	16
九、細胞侵犯能力試驗 (Invasion assay) -----	16
十、明膠酶譜法 (Gelatinase Zymography) -----	17

十一、資料分析 (Data analysis) -----	18
參、結果-----	19
一、中草藥複方對肝癌細胞增生的影響-----	19
二、中草藥複方及其有效單方對肝癌細胞增生與血管新生的影響----	20
三、中草藥單方對肝癌細胞增生與血管新生的影響-----	25
肆、討論-----	31
伍、未來展望-----	40
陸、參考文獻-----	41

圖目錄

圖一、(A) 小柴胡湯 (水萃取) 處理HepG2細胞株之生長曲線-----	49
圖一、(B) 小柴胡湯 (70%酒精萃取) 處理 HepG2 細胞株之生長曲線-	50
圖一、(C) 柴胡加龍骨牡蠣湯處理 HepG2 細胞株之生長曲線-----	51
圖一、(D) 核桃承氣湯處理HepG2細胞株之生長曲線-----	52
圖一、(E) 半夏厚朴湯處理HepG2細胞株之生長曲線-----	53
圖一、(F) 香蘇散處理HepG2細胞株之生長曲線-----	54
圖一、(G) 黃連解毒湯處理HepG2細胞株後之生長曲線-----	55
圖一、(H) 紫蘇葉處理HepG2細胞株後之生長曲線-----	56

圖一、(I) 黃連處理HepG2細胞株後之生長曲線-----	57
圖一、(J) 石上柏處理HepG2細胞株後之生長曲線-----	58
圖一、(K) 夏枯草處理HepG2細胞株後之生長曲線-----	59
圖一、(L) 鴨膽子處理HepG2細胞株後之生長曲線-----	60
圖一、(M) 山慈菇處理HepG2細胞株後之生長曲線-----	61
圖一、(N) 苦參處理HepG2細胞株後之生長曲線-----	62
圖一、(O) 黃獨處理HepG2細胞株後之生長曲線-----	63
圖二、(A) 香蘇散處理Huh 7細胞株之生長曲線-----	64
圖二、(B) 黃連解毒湯處理Huh 7細胞株後之生長曲線-----	65
圖二、(C) 紫蘇葉處理Huh 7細胞株後之生長曲線-----	66
圖二、(D) 黃連處理Huh 7細胞株後之生長曲線-----	67
圖二、(E) 石上柏處理Huh 7細胞株後之生長曲線-----	68
圖二、(F) 夏枯草處理Huh 7細胞株後之生長曲線-----	69
圖二、(G) 鴨膽子處理Huh 7細胞株後之生長曲線-----	70
圖二、(H) 山慈菇處理Huh 7細胞株後之生長曲線-----	71
圖二、(I) 苦參處理Huh 7細胞株後之生長曲線-----	72
圖二、(J) 黃獨處理Huh 7細胞株後之生長曲線-----	73
圖三、HepG2 細胞侵犯能力實驗結果-----	74
圖四、中藥單方對HepG2 細胞侵犯能力實驗結果-----	75

圖五、Huh 7 細胞侵犯能力實驗結果-----	76
圖六、中藥複方處理HepG2之血管新生相關蛋白表現-----	77
圖七、中藥單方處理 HepG2 之血管新生相關蛋白表現-----	78
圖八、複方及其有效單方處理Huh 7之血管新生相關蛋白表現-----	79
圖九、中藥單方處理Huh 7之血管新生相關蛋白表現-----	80
圖十、MMP-9 PCR偵測中藥複方對於HepG2之RNA表現-----	81
圖十一、複方及其有效單方對於HepG2之MMP活性測試-----	82
圖十二、鴨膽子與苦參對於 HepG2 之 MMP 活性測試-----	83

表目錄

表一、中草藥複方萃取物處理HepG2之IC ₅₀ -----	84
表二、中草藥單方萃取物處理HepG2之IC ₅₀ -----	85
表三、中草藥萃取物處理Huh 7之IC ₅₀ -----	86
表四、中草藥萃取物對於肝癌細胞血管新生相關蛋白的影響-----	87
附錄一、草藥配方-----	88