

# 科技部補助

## 大專學生研究計畫研究成果報告

\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*  
\* 計 畫 \*  
\* : 番紅花素(Crocin)用於預防視力老化之動物模式評估 \*  
\* 名 稱 \*  
\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*

執行計畫學生： 吳佳蓮  
學生計畫編號： MOST 104-2815-C-040-037-B  
研究期間： 104年07月01日至105年02月28日止，計8個月  
指導教授： 陳伯易

處理方式： 本計畫涉及專利或其他智慧財產權，2年後可公開查詢

執行單位： 中山醫學大學視光學系(所)

中華民國 105年02月18日

# 番紅花素(Crocic)用於預防視力老化之動物模式評估

## 一、摘要：

LED (Light Emitting Diode)照明近年已大量被使用在日常，但LED 單一光譜 (藍光為主)的問題常常造成消費者使用的疑慮，藍光被認為能直接穿透眼球前半部照射在視網膜中心黃斑區。雖然目前已推出抗藍光鏡片，但由於其阻擋藍光的範圍有限，加上眼鏡本身包覆性不佳、夜間視覺品質下降。然而，長期藍光刺激所造成眼睛的傷害無法有效根治。開發相關的護眼保健素材，用以預防視覺的退化勢在必行。本實驗室已建立 LED 照明誘導小鼠視力退化的生物模式，可應用於相關護眼保健素材的驗證。番紅花具有活血的特性，本實驗希望藉由番紅花素(Crocic)的攝取來探討 LED 照明(500~1000 Lux) 對於視力的傷害是否能有預防的效果。本實驗使用 ICR 小鼠，實驗為期 30 天，分為 Blank 空白對照組、LED 光照組與 LED 光照+番紅花素 Crocic 預防組。實驗的期間，第 10、20、30 天為小鼠測量視覺敏感度測試(Visual acuity)，藉此評估番紅花素(Crocic)對於視力與視覺功能的保護效果，探討番紅花素(Crocic)是否能預防 LED 藍光所引起的視力老化。

關鍵字：番紅花素(Crocic)、LED 藍光、視網膜(Retina)、視力老化。

## 二、研究動機與研究問題：

1. LED 燈近幾年的使用頻率及範圍提高，例如手機、電視等，即使不改用 LED 燈泡但日程生活中已經無法避免眼睛暴露在藍光之下，這次的實驗希望藉由番紅花提升眼睛對藍光的保護力。現代人長時間使用 3C 產品，眼睛在尚未有病變已前提前老化，眼睛功能性退化的情形有年輕化的現象，例如視力衰退。
2. 番紅花素(Crocic)有活血的特性，考量到本實驗小鼠服用劑量，設計為每天餵食小番紅花素，早晚各餵食一次。日常生活較常處於 500~1000 Lux 之間的環境照度，本實驗採取 500~1000 Lux 的照度照射小鼠眼睛用以模擬人類日常生活模式。照光為期 30 天，每天照光 12 小時，在隔天(第 31 天)犧牲。第 10、20、30 天測量視覺敏感度測試(Visual acuity)觀察番紅花素(Crocic)對眼睛的保護效果。

## 三、文獻回顧與探討：

### 1. LED (發光二極體 Light Emitting Diode)：

LED 是發光二極體(Light Emitting Diode, LED)，是一種能發光的半導體，主要由VA族元素(氮 N、磷 P、砷 As 等)與III A 族元素(鋁 Al、鎵 Ga、銦 In 等)結合而成<sup>(18)</sup>。LED 能將電能轉為光能。LED 的發光原理是在正負極外加電壓，利用電流通過時電子與電洞結合時產生的多餘能量發光。LED 發光效率比傳統燈泡好也更耐用被廣泛使用於日常照明<sup>(18)</sup>。

(18.資料來源：Ozzie Zehner, Promises and Limitations of Light-Emitting Diodes

[http://www.academia.edu/879577/Promises\\_and\\_Limitations\\_of\\_Light-Emitting\\_Diodes](http://www.academia.edu/879577/Promises_and_Limitations_of_Light-Emitting_Diodes))

(19.資料來源：PhysOrg.com, White LEDs with super-high luminous efficacy could satisfy all general lighting needs, (2010)

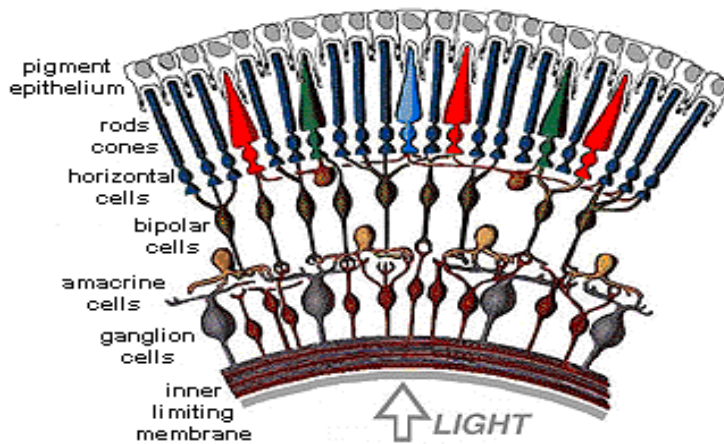
<http://phys.org/news/2010-08-white-super-high-luminous-efficacy.html>)

## 2. 視網膜與藍光：

視網膜(Retina)位於眼睛最內層，主要負責將光訊號轉換為神經訊號，再經由大腦視覺皮質區產生視覺影像。視網膜的兩種感光細胞，視感細胞(Rod cell)和視錐細胞(Cone cell)負責接受進入眼睛的光源。網膜中央為盲點，沒有感光細胞，黃斑區(Fovea)為主要視覺區。視網膜可再細分為十層。(9.15.24)

視網膜十層(由外到內)：

- (1) 視網膜色素上皮層(Retinal pigment epithelium)。
- (2) 感光層(Photoreceptor layer) 包含視桿細胞(Rods)及視錐細胞(Cones)兩種感光細胞。
- (3) 外限制膜(External limiting membrane)分隔感光細胞的內部與其細胞核。
- (4) 外核層(Outer nuclear layer) 感光細胞的視桿細胞(Rods)與視錐細胞(Cones)的細胞核組成。
- (5) 外叢狀層(Outer plexiform layer) 由感光細胞(Photoreceptor)和雙極細胞(Bipolar cell)組成。
- (6) 內核層(Inner nuclear layer) 雙極細胞(Bipolar cell)、無軸突細胞(Amacrine cells)、叢間細胞(Interplexiform cells)、及水平細胞(Horizontal cells)的細胞核組成。
- (7) 內叢狀層(Inner plexiform layer) 雙極細胞(Bipolar cells)的軸突和神經節細胞(Ganglion cell)的樹突組成。
- (8) 神經節細胞層(Ganglion cell lay) 神經節細胞的細胞核。
- (9) 神經纖維層(Nerve fiber layer) 神經節細胞的軸突。
- (10) 內限制膜(Inner limiting membrane) 繆勒細胞(Müller cell)的足板(Footplates)。



(圖片來源：Marjorie A. Murray, Ph.D. Color Vision <http://faculty.washington.edu/chudler/eyecol.html>)

(15 曾廣文、許淑芬、關宇翔、沈秉衡。眼解剖生理學 Anatomy and physiology of the Eye。華格那企業有建公司發行)

(9.資料來源：Al Lens, Tammy Langley, Sheila, Coyne Nemeth, Carolyn Shea, (2008), Ocular anatomy and physiology.)

(24.資料來源：R Vision [http://www.rci.rutgers.edu/~uzwiak/AnatPhys/Sensory\\_Systems.html](http://www.rci.rutgers.edu/~uzwiak/AnatPhys/Sensory_Systems.html))

藍光是指波長介於 400~500nm 間的可見光，不同於一般可見光或 UV 光，藍光並不會被角膜(Cornea)阻擋或吸收，能直接穿過眼球前半部直射在中央黃斑區造成眼睛的傷害。

主要原因有以下 4 個：

- (1) 藍光屬於短波常可見光。
- (2) 視網膜(Retina)進行氧化作用需要大量氧氣，藍光照射下會產生自由基造成視網膜(Retina)傷害。
- (3) 網膜的感光細胞 outer segment 的細胞膜上含有大量的不飽和脂肪酸，不飽和脂肪酸本身的穩定性低，在藍光刺激之下更容易產生自由基，導致脂質過氧化反應，加速細胞老化的速度<sup>(11)</sup>。
- (4) 視網膜中負責光訊號轉換的視紫質(Rhodopsin)、視蛋白(Opsin)和黑色素顆粒體(Melanosomes)對藍光吸收能力高，且藍光會加速脂褐素(Lipofuscin)、脂質(Lipid)的堆積，強光照射下產生有害的自由基容易造成網膜損傷。

(10.資料來源：Gianluca Tosini, Ian Ferguson, Kazuo Tsubota, (2016), Effects of blue light on the circadian system and eye physiology.)

(11.資料來源：James V. Hunta, Simon P. Wolffa (1991), Oxidative Glycation and Free Radical Production: A Causal Mechanism of Diabetic Complications)

(24.資料來源：R Vision [http://www.rci.rutgers.edu/~uzwiak/AnatPhys/Sensory\\_Systems.html](http://www.rci.rutgers.edu/~uzwiak/AnatPhys/Sensory_Systems.html))

### 3. 番紅花：

番紅花(Crocus Sativus)，又稱『藏紅花』。是鳶尾科多年生草本植物，主要生產在歐洲及中亞。一般使用部位是紅色的柱頭，每朵花只含三根數量稀少，溶於水呈現金黃色<sup>(20,21,22)</sup>。番紅花有活血去淤、通經、降血脂、抗氧化、清除自由基的功效，番紅花主要的活性成分為 crocin、crocetin。番紅花有活血的效果孕婦不宜服用但一般人攝取少量的番紅花並不會造成危險<sup>(21)</sup>。日常用量為 1~3 g，成人一次攝取 5 g 以上會造成嚴重副作用，致死劑量為 12~20 g，老鼠腹腔注射致死量約 1.2~2.2 g/kg<sup>(21)</sup>。



(左圖圖片來源：番紅花天堂-常見問答 [http://saffronparadise.com/modules/tad\\_faq/index.php?fcsn=1](http://saffronparadise.com/modules/tad_faq/index.php?fcsn=1))

(21.資料來源：楊榮季<sup>1,2</sup>、洪儷玲<sup>2</sup>。Pharmaceutical Sciences-番紅花的真偽及臨床應用

<http://www.taiwan-pharma.org.tw/magazine/115/009.pdf>)

(20.資料來源：行政院衛生署中醫藥委員會易混淆藥材辨識系統-番紅花及紅花

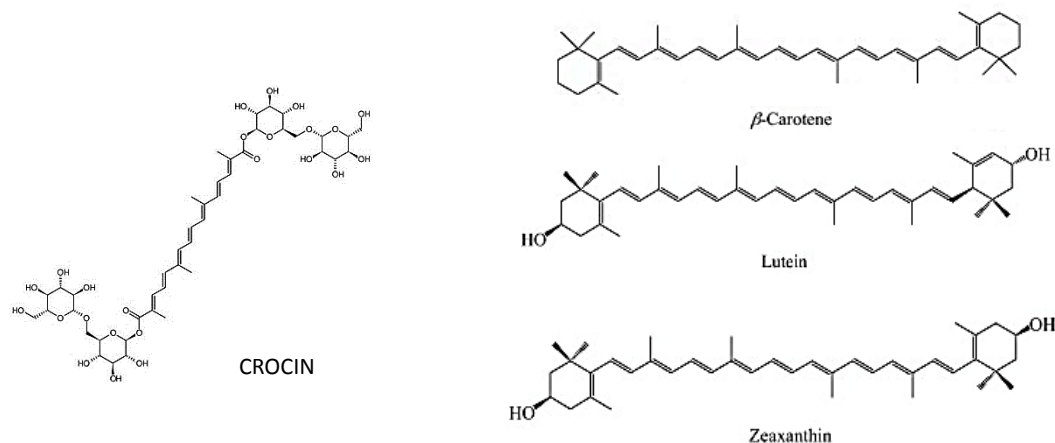
<http://www.timing-life.com/tctcm/e-learn-icm/html/fl03.htm>)

(22.資料來源：A 醫學百科 [http://cht.a-hospital.com/w/%E4%B8%AD%E8%8D%AF%E5%9F%BA%E6%9C%](http://cht.a-hospital.com/w/%E4%B8%AD%E8%8D%AF%E5%9F%BA%E6%9C%AC%E7%90%86%E8%AE%BA%E7%9F%A5%E8%AF%86)

[AC%E7%90%86%E8%AE%BA%E7%9F%A5%E8%AF%86](http://cht.a-hospital.com/w/%E4%B8%AD%E8%8D%AF%E5%9F%BA%E6%9C%AC%E7%90%86%E8%AE%BA%E7%9F%A5%E8%AF%86))

#### 4. 番紅花與類胡蘿蔔素比較：

類胡蘿蔔素(Carotenoids)屬於類萜化合物，也是天然的抗氧化劑，結構中的共軛雙鍵能抑制自由基<sup>(17,24)</sup>。類胡蘿蔔素(Carotenoids)可以分為碳氫化合物及碳氫氧化合物兩種。番紅花屬於後者。類胡蘿蔔素吸收光的波長約在 303~505 nm。葉綠素、玉米黃素、番紅花素吸收光波長都在藍光的範圍。常見的類胡蘿蔔素為脂溶性，番紅花為水溶性的類胡蘿蔔素，相較於葉綠素、玉米黃素更容易被人體吸收。



(左圖來源：Coompo <http://www.coompo.com/compounds/Crocina+C8013.html>)

(右圖來源：<http://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0889157512000191-gr2.jpg>)

(23.資料來源：教育部教學資源平台 <http://highscope.ch.ntu.edu.tw/wordpress/?p=62104>)

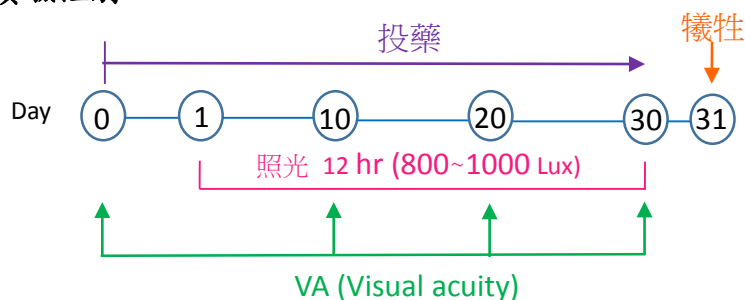
(17.資料來源：Joseph, James A.。蔬果的顏色密碼。知本家文化事業有限公司。2004)

#### 四、研究方法與步驟：

##### 1. 實驗材料：

- (1) ICR 品系小鼠
- (2) LED 燈
- (3) 番紅花
- (4) 餵食針
- (5) 筆記型電腦
- (6) 筆燈
- (7) 計時器

##### 2. 動物實驗組別：



本實驗採取 ICR 小鼠，給予正常飲水及飼料，分實驗組與對照組共四組，實驗流程如下：

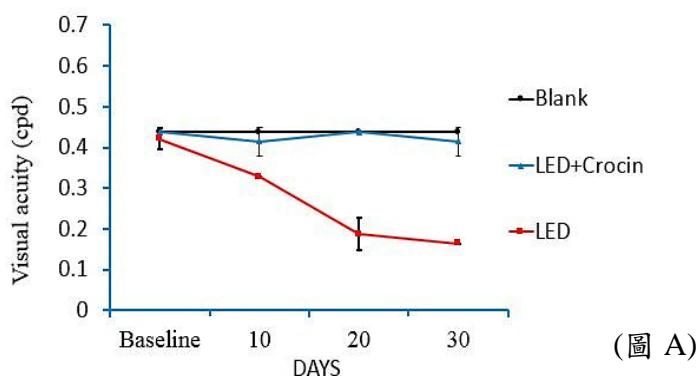
- (1) 空白對照組(Blank)：在正常環境下，給予動物房正常光照，於 Day 0、Day 10、Day 20、Day 30 測量小鼠視覺敏感度(Visual acuity) Day 31 犧牲。
- (2) 照光對照組(LED 500~1000 Lux 12 hr)：Day 1~Day 30 早上 8：00~晚上 8：00 連續給予光照 12 hr，之後不給予任何光源。於 Day 0、Day 10、Day 20、Day 30 測量小鼠視覺敏感度 (Visual acuity) Day 31 犧牲。
- (3) 照光及番紅花素(Crocic)組：Day 1~Day 30 早上 8：00~晚上 8：00 連續給予光照 12 hr，之後不給予任何光源，實驗期間餵食番紅花素(Crocic)番紅花萃取物。於 Day 0、Day 10、Day 20、Day 30 測量小鼠視覺敏感度(Visual acuity)、瞳孔縮放 Day 31 犧牲。

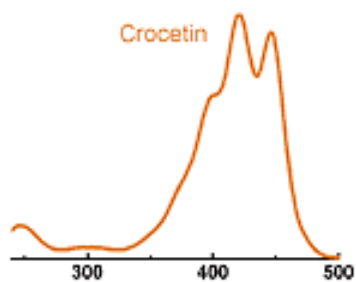
### 3. 視敏度測試 (Visual Acuity)：

使用實驗室根據 Lea test 視標自製小鼠視覺敏感度測試系統進行小鼠視力分析。分析模式與方法，參考本實驗室先前的發表(參考資料 12)。

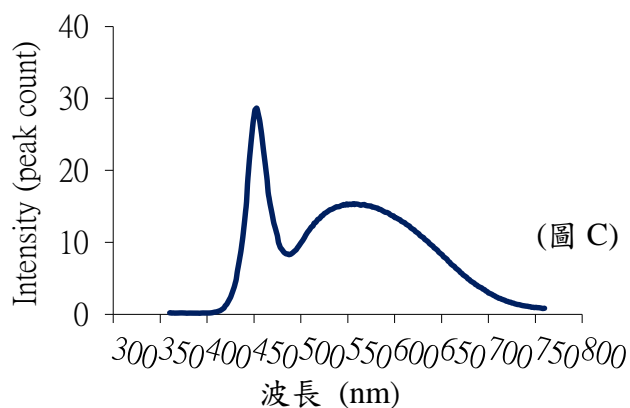
### 五、結果與討論：

1. 根據實驗結果，和空白對照組(Blank)相比 LED 光照組的小鼠視力值從 Day 10 開始明顯下降，顯示照射 LED 會對小鼠眼睛造成傷害，光照過程中小鼠視力值無法自行復原(如圖 A)。從曲線圖可知，照光並餵食番紅花素組(LED+Crocic)的視力值曲線與空白對照組(Blank)相似(如圖 A)。小鼠視力值在 30 天當中並沒有因為照射 LED 而有明顯的下降。根據實驗結果可以推測番紅花素(Crocic)對於長期照射 LED 的小鼠有保護作用，能有效預防小鼠視力退化(如圖 A)。
2. 番紅花(Crocic)吸收光波長高峯在 400~450 nm (如圖 B)。LED 燈發光波長高峯值也在 400~450 nm(如圖 C)。根據圖 B、圖 C 可推測照 LED 並餵食番紅花組，是藉由番紅花吸收光波長與 LED 光相似的物理特性，降低 LED 光對小鼠眼睛造成的危害。因此，餵食番紅花(Crocic)小鼠視力值曲線與空白對照組(Blank)相似(如圖 A)。





(圖 B)



(圖 C)

(實驗用燈泡 照度 1000 Lux)

(圖片來源：Physical Chemistry Chemical Physics

[http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2009/cp/](http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2009/cp/b905454e/unauth#div Abstract)

b905454e/unauth#div Abstract)

## 六、結論：

1. 根據實驗結果，照射 LED 燈會對小鼠眼睛造成一定程度的傷害，在沒有投藥的狀況下，小鼠視力在光照過程中無法自行恢復，若餵食小鼠番紅花素(Crocic), 藉由視力值可以看出番紅花素(Crocic)能有效預防小鼠視力的惡化。
2. 番紅花素(Crocic)有效吸收光譜與 LED 光的波型相似(如下圖)，藉由此特性可知餵食番紅花素(Crocic)吸收來自於 LED 的光線。在照射 LED 後，小鼠眼睛的傷害明顯降低。
3. 番紅花素(Crocic)具有活血、抗氧化、清除自由基的功效，LED 照射後，眼睛光化學反應產生的有害自由基能藉由服用番紅花素(Crocic)代謝，所以有餵食番紅花素(Crocic)的小鼠在照射 LED 後視力值並沒有明顯下降。
4. 透過功能性測試，餵食番紅花素(Crocic)能有效預防 LED 對眼睛造成的傷害。需要進一步利用組織病理性定量分析驗證番紅花素(Crocic)有預防視網膜組織退化的機會。

## 五、參考文獻：

1. Moallem SA<sup>1</sup>, Afshar M<sup>2</sup>, Etemad L<sup>3</sup>, Razavi BM<sup>4</sup>, Hosseinzadeh H<sup>5</sup>, (2013), Evaluation of teratogenic effects of crocin and safranal, active ingredients of saffron, in mice.
2. Razavi BM<sup>1</sup>, Hosseinzadeh H, Abnous K, Imenshahidi M, (2013), Protective effect of crocin on diazinon induced vascular toxicity in subchronic exposure in rat aorta ex-vivo.
3. Xiao-Jie Zhanga, Yuan-Xiong Denga, Qun-Zhi Shia, Meng-Yun Hea, Bo Chenb, Xi-Min Qiu, (2013), Hypolipidemic effect of the Chinese polyherbal Huanglian Jiedu decoction in type 2 diabetic rats and its possible mechanism.
4. Aicha Laabic, Ganesh P. Vissvesvaran, Kuo L. Lieu, Kyoko Murata, Tim E. McGinn, Corinne C. Manmoto, John R. Sinclair, Ibrahim Karliga, David W. Leung, Ahmad Fawzi, Ryo Kubota, (2006), IOVS - Protective Effect of Crocin against Blue Light- and White Light-Mediated Photoreceptor Cell Death in Bovine and Primate Retinal Primary Cell Culture.
5. JIN Yu-zhang, XIE Wen-li, HE Rui-bo, (2005), Effect of Crocin on decreasing hyperglycaemia and hyperlipemia in experimental hyperlipemia and non-insulin dependent diabetes rats.

6. QiY<sup>1</sup>, ChenL, ZhangL, LiuWB, ChenXY, YangXG, (2013), Crocin prevents retinal schamaemia/reperfusion injury-induced apoptosis in retinal ganglion cells through the PI3K/AKT signalling pathway.
7. Boussabbeh M<sup>1</sup>, Ben Salem I<sup>1</sup>, Belguesmi F<sup>2</sup>, Bacha H<sup>3</sup>, Abid-Essefi S<sup>2</sup>, (2015), Tissue oxidative stress induced by patulin and protective effect of crocin.
8. Farshid AA<sup>1</sup>, Tamaddonfard E<sup>2</sup>, (2015), Histopathological and behavioral evaluations of the effects of crocin, safranin and insulin on diabetic peripheral neuropathy in rats.
9. Al Lens, Tammy Langley, Sheila, Coyne Nemeth, Carolyn Shea, (2008), Ocular anatomy and physiology.
10. Gianluca Tosini, Ian Ferguson, Kazuo Tsubota, (2016), Effects of blue light on the circadian system and eye physiology.
11. James V. Hunta, Simon P. Wolffa (1991), Oxidative Glycation and Free Radical Production: A Causal Mechanism of Diabetic Complications
12. Jyh-Cheng Liou, Mei-Ching Teng, Yun-Shan Tsai, En-Chieh Lin, Bo-Yie Chen, (2015), UV-blocking spectacle lens protects against UV-induced decline of visual performance.
13. A. Rubio, J.-A. Fernández, L.G. Gómez, (2004), BIOSYNTHESIS OF CAROTENOIDS IN SAFFRON
14. Paiva SA<sup>1</sup>, Russell RM, (1999), Beta-carotene and other carotenoids as antioxidants
15. 曾廣文、許淑芬、關宇翔、沈秉衡。眼解剖生理學 Anatomy and physiology of the Eye。華格那企業有建公司發行
16. Vaughan Daniel G。一般眼科學。合記圖書出版社；2000
17. Joseph, James A.。蔬果的顏色密碼。知本家文化事業有限公司；2004
18. Ozzie Zehner, Promises and Limitations of Light-Emitting Diodes  
[http://www.academia.edu/879577/Promises\\_and\\_Limitations\\_of\\_Light-Emitting\\_Diodes](http://www.academia.edu/879577/Promises_and_Limitations_of_Light-Emitting_Diodes)
19. (資料來源：PhysOrg.com, White LEDs with super-high luminous efficacy could satisfy all general lighting needs, (2010)  
<http://phys.org/news/2010-08-white-super-high-luminous-efficacy.html>)
20. 行政院衛生署中醫藥委員會易混淆藥材辨識系統-番紅花及紅花 <http://www.timing-life.com/tctcm/e-learn-icm/html/fl03.htm>
21. 楊榮季<sup>1,2</sup>、洪麗玲<sup>2</sup>。Pharmaceutical Sciences 藥物科學-番紅花的真偽及臨床應用。  
<http://www.taiwan-pharma.org.tw/magazine/115/009.pdf>
22. A 醫學百科 <http://cht.a-hospital.com/w/%E4%B8%AD%E8%8D%AF%E5%9F%BA%E6%9C%AC%E7%90%86%E8%AE%BA%E7%9F%A5%E8%AF%86>
23. 教育部教學資源平台 <http://highscope.ch.ntu.edu.tw/wordpress/?p=62104>
24. R Vision [http://www.rci.rutgers.edu/~uzwiak/AnatPhys/Sensory\\_Systems.html](http://www.rci.rutgers.edu/~uzwiak/AnatPhys/Sensory_Systems.html)