

# 科技部補助

## 大專學生研究計畫研究成果報告

\* \*\*\*\*\* \*  
\* 計畫 : 芥菜纖維、多酚及 glucosinolate 降低體脂肪形成與減 \*  
\* 名稱 : 緩脂肪肝生成之研究 \*  
\* \*\*\*\*\* \*

執行計畫學生：張宴綾

學生計畫編號：MOST 105-2815-C-040-044-B

研究期間：105年07月01日至106年02月28日止，計8個月

指導教授：王朝鐘

處理方式：本計畫可公開查詢

執行單位：中山醫學大學生化微物免疫研究所

中華民國 106年03月31日

# 目錄

(一)中文摘要 .....	III
(二) Abstract.....	IV
(三)研究動機 .....	1
(四)文獻回顧與探討 .....	1
4-1.肝臟 .....	1
4-2.體脂肪之生成 .....	1
4-3.脂肪肝 .....	2
4-4.自由基與過氧化物(ROS).....	2
4-5.抗氧化系統 (antioxidant system) .....	2
4-5-1.超氧歧化酶 (superoxide dismutase; SOD).....	3
4-5-2.過氧化氫酶 (catalase).....	3
4-5-3.穀胱甘肽過氧化酶 (glutathione peroxide; GSH-Px).....	3
4-6.芥菜 .....	3
研究架構.....	4
5-1.芥菜乾燥全株粉末之製備(whole plant <i>Brassica juncea</i> , WBJ) .....	4
5-2.芥菜萃取物之製備 .....	4
5-2-1.芥菜多酚萃取物 (polyphenolic extract of <i>Brassica juncea</i> , BPE) .....	4
5-2-2.芥菜 glucosinolate 萃取物 (glucosinolate extract of <i>Brassica juncea</i> , BGE) .....	4
5-3.BJE 定性分析.....	5
5-4.動物實驗 .....	5
5-4-1.體重 .....	6
5-4-2.排泄物脂質萃取---三酸甘油酯 (TG) & 膽固醇(CHO).....	6
5-4-3.血清學檢查 .....	6
5-4-4.肝臟脂質萃取---三酸甘油酯 (TG) & 膽固醇(CHO).....	6
5-5.肝臟蛋白質變化(western blot).....	6
5-6.病理組織切片 .....	7
5-7.統計方法 .....	7
(六)實驗結果 .....	7
6-2.動物實驗 .....	7
6-2-1.體重變化:.....	7
6-2-2.肝重 .....	7
6-2-3.周邊脂肪:.....	7
6-2-4.血清生化值檢測:.....	8
6-2-5.肝臟脂質萃取---三酸甘油酯 Triglyceride(TG)&膽固醇 Cholesterol(Cho)	

.....	8
6-2-6.肝臟 H&E stain 觀察肝臟中脂質堆積情形:.....	8
6-2-7.排泄物脂質萃取---三酸甘油酯 Triglyceride(TG)&膽固醇 Cholesterol(Cho).....	8
6-2-8.芥菜萃取物對 TG 合成相關蛋白的影響.....	9
6-2-9.芥菜萃取物對脂肪酸 $\beta$ -oxidation 相關蛋白的影響 .....	9
(七)討論 .....	9
(八)參考文獻 .....	11
(九)實驗結果 附圖/表.....	13

## (一)中文摘要

現今因生活作息、飲食習慣的改變，使得肥胖是國人常見的問題，肥胖會導致肝硬化、脂肪肝及糖尿病等等併發症，嚴重者甚至有癌症發生的可能，而最常見的肥胖相關併發症即是脂肪肝，脂肪肝是因為過多的脂肪堆積在肝臟，進而影響肝功能，或導致其他肝病變的情形。過去已知芥菜為十字花科植物，內含豐富的維生素 A、B、C、D 及大量的抗壞血酸，具有促進血液循環、提神醒腦及解除疲勞等等作用，但芥菜萃取物對不易形成體脂肪及降低脂肪肝生成的部分尚未有研究做深入的探討，因此本研究針對芥菜萃取物是否能有效降低體脂肪，並減緩脂肪肝之生成作用，進行動物實驗探討其中相關機制。利用高脂飲食配合不同濃度芥菜萃取物餵食大鼠之模式，評估芥菜萃取物對體脂肪生成之影響。結果發現，有餵食芥菜之組別，老鼠體重、肝重、脂質堆積情形、血清中的 GOT、GTP、CHO、TG、LDL/HDL、FFA 等生化數值皆比高脂飲食誘導組減緩，而在 western blot 也發現，與脂質生成相關的蛋白，在餵食芥菜後亦有減緩的趨勢。此外，芥菜中富含纖維之成分，因此在餵食芥菜後的老鼠，其糞便中之 TG、CHO 含量會較高脂飲食誘導組高。綜合上述結果，以全株芥菜粉末(WBJ)餵食大鼠，可有效降低體脂肪，進而減緩脂肪肝生成，期望未來開發成降低體脂肪和護肝之保健食品，為國人的健康把關。

## (二) Abstract

Nowadays, because of lifestyle and diet preference changed, the obesity was a common problem in people. Obesity could lead to fatty liver, cirrhosis, diabetes, other complications and even raise the risk of cancer. The most common obesity-related complications was fatty liver which was because of too much fat accumulation in the liver, it affected the liver function even caused other liver lesions. According to the previous study, we had known *Brassica juncea* was considered as the Cruciferae, which is rich in vitamins A, B, C, D and a lot of ascorbic acid. They can promote the blood circulation, refreshing, lifted fatigue and so on. However, the study about *Brassica juncea* ameliorated the body fat and the fatty liver remain unknown. To address these issues, we performed animal experiments to in-depth exploration related mechanism. The results showed that the biochemical values of GOT, GTP, CHO, TG, LDL / HDL and FFA were higher than those of the high fat diet group, and the levels of GOT, GTP, Western blot also found that proteins associated with lipid production also slowed down after feeding mustard. In addition, the mustard is rich in fiber composition, so the rats fed the mustard, the feces of TG, CHO content will be higher fat diet induced group. According to the aforementioned, this study aimed to investigate whether the *Brassica juncea* could effectively ameliorate body fat and fatty liver and expecting development related health supplements to keep the people healthy in the future.

**Keywords:** *Brassica juncea* · polyphenol · glucosinolate · body fat · non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)

### (三)研究動機

肥胖被認為與脂肪肝的發生密切相關，近年來由於國人飲食及生活習慣的改變，許多人因攝取過多高脂飲食又不愛運動，導致內分泌失調、代謝異常，使得體脂肪大幅增加，而罹患肥胖、脂肪肝等疾病，也因此帶動瘦身的風潮，期望降低肥胖及脂肪肝的發生率。現今已有文獻指出，十字花科植物內含有 fiber、polyphenol、glucosinolate 等成分，可有效降低體脂，增加脂肪代謝率，本計畫之預備實驗發現以同為十字花科的全株乾燥芥菜萃取物餵食攝取高脂飲食之大鼠，可有效降低體脂肪及血脂、抗發炎、抗氧化等作用，因此，本實驗欲進一步以動物及細胞實驗分析芥菜之功能性成分及作用機轉，期望未來能將芥菜發展為天然健康食品，以改善國人肥胖及脂肪肝的情形。

### (四)文獻回顧與探討

#### 4-1.肝臟

肝臟位於人體腹部上方偏右、橫膈膜下方處，呈一倒三角形狀，為紅褐色，是人體最大的腺器官，亦是新陳代謝的重要器官，約有 60% 的肝細胞不斷的進行代謝功能，可以說是人體內的一座化工廠。而肝臟主要的功能有解毒、合成蛋白質、參與糖代謝、消化或吸收脂肪等等，是人體的重要器官，但同時，肝臟亦是個脆弱的器官，容易因擠壓而變形、破裂，如保護不好便可致病，並對健康造成嚴重危機，因此護肝是長期以來的研究重心。

#### 4-2.體脂肪之生成

當身體基礎代謝率低，又食入太多、太油的飲食，加上運動量不足，使得攝取的熱量超過消耗的熱量，則多餘的熱量就會轉成脂肪囤積在體內，形成體脂肪。特別是進入中年後，基礎代謝率大幅下降，加上現今飲食及生活習慣的改變，無法有效消耗多餘熱量，而導致中年發福人口越來越多。體脂肪分為兩部份，一是身體裡必須存在的脂肪，存於內臟之間，可保護內臟，把內臟襯托在其適當的位置上；亦存在於骨髓、神經系統之中。其二為身體儲存的脂肪量，例如：皮下、腹腔等。若儲存的脂肪過多，則稱為肥胖，但若體脂肪過少，會影響到細胞功能及神經系統的運作，皮下脂肪太少，則容易怕冷。其中，內臟脂肪囤積所造成的影響較為劇烈，常造成高血壓、高血糖、高血脂等代謝性疾病，甚至致命性的心肌梗塞、腦中風等疾病。而最常見的內臟脂肪堆積之處即為脂肪最先登陸處：「肝臟」，在脂肪堆積於腸繫膜之前，會先進到肝臟堆積，使肝臟細胞充斥著三酸甘油酯，引發肝臟發炎，導致脂肪肝的發生，一旦惡化，可能演變成肝硬化、肝癌。

### 4-3.脂肪肝

脂肪肝是指由多種疾病和病因所引起的肝細胞脂肪堆積過多之病變。當肝臟降解脂質的能力發生異常，會導致過多脂類物質大量囤積，當超過肝臟重量的5%，或組織學上50%以上的肝實質脂肪化時，即為脂肪肝。常見的原因有肥胖、酗酒、營養缺乏等等，正常肝內脂肪含量僅佔肝濕重的3%~5%，其中60%為磷脂，其餘大部分為中性脂肪、少量膽固醇及游離脂肪酸。在脂肪堆積時，肝的脂肪量可佔肝重的40%~50%。而肥胖與脂肪肝密切相關，據統計，約30%~50%的肥胖症會併發脂肪肝，重度肥胖者脂肪肝病變率高達61%~94%，但只要調整飲食，積極運動，肝內脂肪浸潤就會明顯好轉，因此，脂肪肝屬可逆性疾病，早期診斷並及時治療，治癒的機會很高。

### 4-4.自由基與過氧化物(ROS)

自由基是指帶有一個或多個未配對電子的原子、分子，或離子，大部分極具活性及不穩定性，會和體內的組織細胞產生氧化反應，主要伴隨體內新陳代謝或受到外界不當刺激而產生，導致組織細胞失去正常功能，甚至破壞DNA，造成損害或突變，進而引發癌症。其中一類自由基為過氧化物(ROS)，包含superoxide( $O_2^{\cdot-}$ )、hydroxyl radical ( $\cdot OH$ )、peroxy radical ( $ROO\cdot$ )、 $H_2O_2$ ，這些過氧化物對細胞的傷害性大，也易造成脂肪過氧化反應，對身體健康產生許多負擔，欲消除這些過氧化物，可仰賴抗氧化酵素之幫忙，有效降低體內過氧化物生成對身體所造成的傷害。

### 4-5.抗氧化系統 (antioxidant system)

體內有一套可以消除自由基的抗氧化系統，會消除過量的自由基，讓體內的自由基維持在一個動態平衡的狀態。細胞內的抗氧化系統主要分成兩大類：1.初級抗氧化防禦 (primary antioxidant defenses): 以直接分解或清除 superoxide、 $H_2O_2$  及  $OH$  為主，多屬抗氧化酵素所組成，包括:超氧歧化酶(superoxide dismutase; SOD)、過氧化氫酶(catalase)、穀胱甘肽過氧化酶(glutathione peroxidase; GSH-Px)等；2.次級抗氧化防禦(secondary antioxidant defenses):以修復受到氧化損害的生物分子為主，包括:維生素C、維生素E、 $\beta$ -胡蘿蔔素( $\beta$ -carotene)、穀胱甘肽(glutathione, GSH)、鋅(Zn)、銅(Cu)、硒(Se)、鐵(Fe)等。兩抗氧化防禦系統相輔相成，共同維持體內過氧化物含量的平衡。

#### 4-5-1.超氧歧化酶 (superoxide dismutase; SOD)

超氧化物歧化酶 (SOD) 為人體內重要的自由基清除劑，廣泛存在於生物體的各种組織中，能將活性較大的 superoxide,  $O_2^{\cdot-}$  作用成活性較小的  $H_2O_2$ ，反應式： $2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ ，儘管過氧化氫仍是對機體有害的活性氧，但體內的過氧化氫酶(catalase)會立即將其分解為完全無害的水。此外，SOD 為含有金屬離子的活性蛋白酶，可依其所含金屬輔基不同分為三種:1.含銅(Cu)、鋅(Zn)金屬輔基的(Cu.Zn-SOD)，為最常見的一種酶，呈綠色，主要存在於機體細胞漿中；2.含錳(Mn)金屬輔基的(Mn-SOD)，呈紫色，存在於真核細胞的線粒體和原核細胞中；3.含鐵(Fe)金屬輔基的(Fe-SOD)，呈黃褐色，存在於原核細胞中。SOD 在體內經氧化還原反應後可循環再利用，持續執行抗氧化、抗衰老等作用。

#### 4-5-2.過氧化氫酶 (catalase)

Catalase 為一種廣泛存在於各類生物體中的酶，是一類抗氧化劑，主要作用是將 SOD 產生的  $H_2O_2$  催化成無害的氧和水，反應式： $2H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O$ ，需要  $Fe^{3+}$  來催化整個反應的進行。大部分存在於細胞內的過氧化小體(lysosome)中，廣泛存於肝細胞及紅血球中，於一般組織中亦存在。

#### 4-5-3.穀胱甘肽過氧化酶 (glutathione peroxide; GSH-Px)

廣泛存在於身體各組織中，其中又以肝臟及紅血球的含量較多，主要作用是活化 glutathione(GSH)，直接將過氧化脂質(R-OOH)還原成醇(R-OH)或將游離的過氧化氫還原為水，過程中 GSH-Px 需要受硒(Se)的催化。

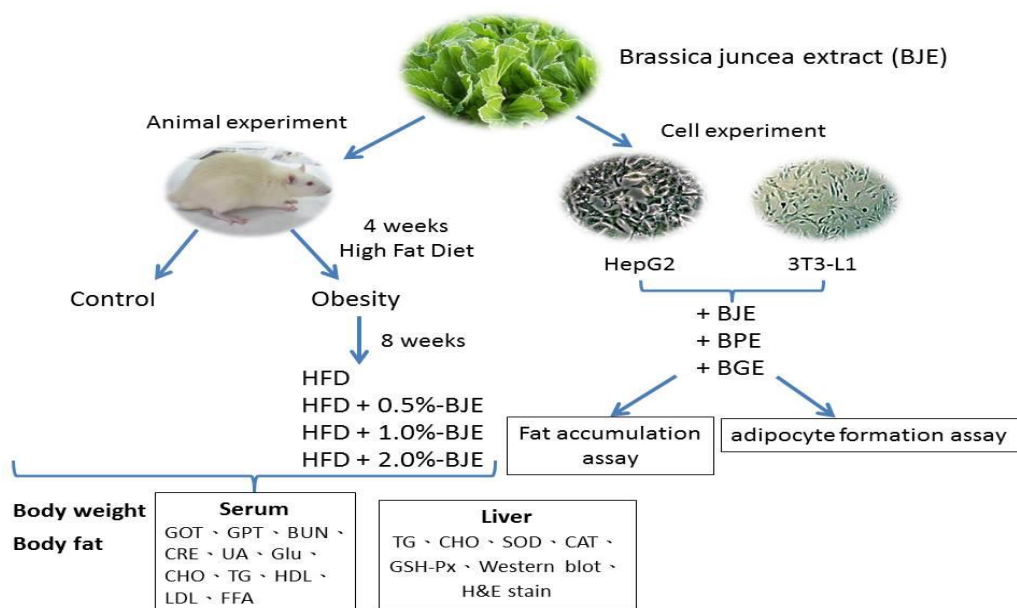
#### 4-6.芥菜

芥菜 (leaf mustard, 學名:*Brassica juncea*)，又稱蓋菜、刈菜、大菜、芥子、長年菜，是十字花科芸苔屬一年生或二年生草本植物。喜冷涼潤濕，忌炎熱、乾旱，稍耐霜凍，最適於食用器官生長的溫度為  $8\sim 15^\circ C$ ，一般葉用芥菜對溫度要求較不嚴格，孕蕾、抽薹、開花結實需要經過低溫春化和長日照條件。芥菜能明耳目、利尿，內含有豐富的胡蘿蔔素，可以促進皮膚和黏膜的健康；維生素 B 群可以參與身體的代謝，促進血液循環，協調神經和肌肉運作。而芥菜中的膳食纖維可以增加腸胃的蠕動、消除便秘、減少大腸癌發生率。另外，芥菜內亦含有 glucosinolate，經水解後產生揮發性的異硫氰酸化合物、硫氰酸化合物及其衍生物，具有特殊的風味和辛辣味，可鮮食或加工，種子可磨研成末，供調味用。



## (五)研究方法及步驟

### 研究架構



#### 5-1.芥菜乾燥全株粉末之製備(whole plant *Brassica juncea*, WBJ)

將全株芥菜以液態氮冷凍乾燥後，於 4°C 下以研磨機研磨，再置於 -20°C 冷凍櫃中保存。

#### 5-2.芥菜萃取物之製備

##### 5-2-1.芥菜多酚萃取物 (polyphenolic extract of *Brassica juncea*, BPE)

秤取 100g 乾燥芥菜粉末，加入 500 mL 甲醇於 50°C 水浴萃取 3 小時之後，以抽氣過濾法過濾，收集濾液，反覆萃取 3~5 次，利用減壓濃縮法乾燥之，再藉由 500 mL 二次水回溶萃取物，加入 200 mL 正己烷(n-Hexane)，並以分液漏斗均勻混合兩溶液，靜置隔夜，收集水層溶液。再加入 180 mL 乙酸乙酯萃取於水層中之多酚成分，混合均勻並靜置隔夜，收集上層溶液，並重複萃取 3~5 次，之後，再以減壓濃縮乾燥，最後溶於 20 mL 二次水，利用真空冷凍乾燥所得之粉末即為芥菜多酚萃取物。在進行各種細胞實驗之前，須將粉末溶於 50% 酒精溶液，再以 0.22 µm filter 過濾除菌方能進行實驗。

##### 5-2-2.芥菜 glucosinolate 萃取物 (glucosinolate extract of *Brassica juncea*, BGE)

秤取 100g 乾燥芥菜粉末，加入 2.5 mL 70% 甲醇和 200 µL 10 mM sinigrin (2-propenyl glucosinolate)，於 75°C 水浴萃取 15 分鐘，之後進行離心，收集上清液，反覆萃取 2 次，再將上清液吸取至 1 mL Sephadex DEAE25 之離子交換樹脂，之後加入 75 µL 經蒸餾純化之 sulphatase 溶液，利用 2.5 mL 之二次水進

行脫硫，此時將所收取之液體以真空冷凍乾燥法乾燥，所得粉末即為芥菜 glucosinolate 萃取物。

### 5-3.BJE 定性分析

#### HPLC 標準品的溶液配置

利用二次水配置 0.05 mg/mL 標準品。

#### HPLC 之芥菜萃取物配置

利用二次水配置 10mg/mL 之 BJE 及 BJPE，之後再以 0.22  $\mu$ m filter 過濾。

#### HPLC 之分析

使用 Mightysil RP-18 GP 250 管柱，動相條件為(A:2% acetic acid/water，B:0.5% acetic acid in water/acetonitrile)，動向梯度為(Time, %B)(5, 30)(50, 35)(55, 40)(60, 100)，流速 1 mL/min，偵測波長 525 nm，注射體積 10  $\mu$ L，最後再以偵測器進行分析。

### 5-4.動物實驗

實驗前讓性成熟的大白鼠適應環境一週，再以亂數法將其分成五組，分別為控制組(Control)、高脂飲食誘導組(High-Fat-Diet)、餵藥組 HFD+0.5%BJE、HFD+1.0%BJE、HFD+2.0%BJE，每組各 12 隻，共計 60 隻。

(詳細飼料配方請參照 Table2)

A 組:控制組，餵食標準配方飼料

B 組:誘導組，餵食高油脂飼料(High-Fat-Diet，HFD)

C 組:HFD 飼料+0.5% BJE

D 組:HFD 飼料+1.0% BJE

E 組:HFD 飼料+2.0% BJE

#### 誘導模式:

除了控制組老鼠，其餘組別以高脂飲食餵食大鼠 4 週，並進行秤重，計算各組別之體重有無比控制組高出 10%，藉此來判斷誘導肥胖是否成功。

#### 評估模式:

誘導成功後，分別餵食不同濃度之 BJE，如 C、D、E 組所示，每天皆移除舊有飼料，並給予新鮮飼料，以此模式進行為期 8 週的實驗，且每週幫各組大鼠秤量體重，記錄其體重變化，此外，每隔兩週收集大鼠排泄物測其 TG、CHO 含量，觀察芥菜是否能有效促進脂質的排出。8 週後進行犧牲，採集血液、秤量

周邊脂肪，並取肝臟最大葉，其中 1/3 浸泡福馬林，做病理切片，剩下 2/3 保存於-20°C 冰箱，以進行後續實驗。

#### **檢測及觀察之項目：**

##### **5-4-1.體重**

體重是反應體脂肪多寡的重要指標，因此每週需幫動物秤重，觀察其體重變化情形。

##### **5-4-2.排泄物脂質萃取---三酸甘油酯 (TG) &膽固醇(CHO)**

秤取動物排泄物 0.5g，加入氯仿+甲醇(1:2)於玻璃試管中，置於冰上以均質機研磨約 3 分鐘，加入氯仿 0.5μL+二次水 0.5 μL，vortex 1 分鐘，離心 3000 rpm 12 分鐘，離心後取最下層至新的玻璃管中待乾，液體完全乾後，加入 200 μL 之 Isopropanol 回溶，並使用 Triglyceride or Cholesterol commercial kit 反應 10 分鐘，利用酵素化學作用與比色測定原理，計算 TG 與 Cho 之濃度，以 ELISA 500 nm 下測其吸光。

##### **5-4-3.血清學檢查**

測定血液中與體脂肪生成相關的指標，含 GOT、GPT、BUN、CRE、UA、Glu、CHO、TG、HDL、LDL、FFA。

##### **5-4-4.肝臟脂質萃取---三酸甘油酯 (TG) &膽固醇(CHO)**

秤取動物肝臟檢體 0.5g，加入氯仿+甲醇(1:2)於玻璃試管中，置於冰上以均質機研磨約 3 分鐘，加入氯仿 0.5 μL+二次水 0.5 μL，vortex 1 分鐘，離心 3000 rpm 12 分鐘，離心後取最下層至新的玻璃管中待乾，液體完全乾後，加入 200 μL 之 Isopropanol 回溶，並使用 Triglyceride or Cholesterol commercial kit 反應 10 分鐘，利用酵素化學作用與比色測定原理，計算 TG 與 Cho 之濃度，以 ELISA 500 nm 下測其吸光。

##### **5-5.肝臟蛋白質變化(western blot)**

以 RIPA buffer(PH7.5 in 0.1 L)和均質機將肝臟研磨均質，並進行 Western blot，觀察與體脂肪形成之相關蛋白表現量，例如:與脂質形成相關的蛋白:AMPK-p、SREBP-1、SREBP-2、HMG CoA reductase、Fatty acid synthase 與 AGPT；與脂質分解相關的蛋白:PPAR-α、CPT。

## 5-6.病理組織切片

將大鼠肝臟以 H&E stain 進行染色，觀察肝細胞的受損、脂肪變性、壞死、纖維化等慢性肝損傷之情形。

## 5-7.統計方法

動物實驗將各指標的試驗結果先以 ANOVA 比較，有明顯差異時，再以 Duncan's Multiple Range Test 同時比較各組別間之差異，比較試驗組與對照組比較是否具有統計上之顯著改善( $p < 0.05$ )。原則上，上述測定結果顯示至少有 2 項以上的指標(其中須包括「體脂肪率」之項目)試驗組明顯比對照組可能具有「不易形成體脂肪」之功效，且其他測定指標都沒顯示受試產品有負面作用(adverse effect)時，得判斷為「受試產品可能具有不易形成體脂肪之功效」。

## (六)實驗結果

### 6-2.動物實驗

#### 6-2-1.體重變化:

Wistar rat 以高脂飲食誘導肥胖 4 週後(Control 組除外)，分成 C、HFD、HFD+0.5% BJE、HFD+1.0% BJE、HFD+2.0% BJE，共 5 組，每組 12 隻，於餵養 8 週後犧牲。飼養期間，每週秤重觀察其體重變化、外觀及活動力，確認皆無異常，且攝食量及飲水狀況亦良好。由 Figure 2 顯示各組別在飼養期間每週的體重變化，可得知餵食 0.5% BJE、1.0% BJE、2.0% BJE 的組別在飼養第 12 週後，其體重增加情況皆比 HFD 趨緩，尤其是 2.0% BJE 組特別顯著。因此可得知，隨著 BJE 劑量增加，能有效減緩 HFD 所造成的增重情形(Figure 2)。

#### 6-2-2.肝重

老鼠犧牲時，取下肝臟，用生理食鹽水清洗並瀝除水分後，進行秤重，記錄老鼠肝臟重量，以觀察老鼠有無罹患脂肪肝之情況，結果顯示，餵食 HFD 之組別，其肝臟顯著比 Control 組來得重，且肝臟外觀偏黃，而餵食 0.5% BJE、1.0% BJE、2.0% BJE 之組別，其肝臟重量隨著 BJE 濃度之增加而減輕(Figure 3)，由結果可推知，食用 BJE 能有效減緩脂肪肝生成之風險。

#### 6-2-3.周邊脂肪:

老鼠犧牲時，取下腎周邊脂肪、腸間隙周邊脂肪、副睪丸周邊脂肪，用生理食鹽水清洗並瀝除水分後，進行秤重，記錄老鼠周邊脂肪重量，統計脂質堆積之

變化情形，作為不易形成體脂肪之分析。結果顯示，餵食 HFD 之組別，其腎周邊脂肪、腸間隙周邊脂肪、副睪丸周邊脂肪，與 Control 組相比，皆有顯著增加的趨勢，而餵食 BJE 之組別，其腎周邊脂肪、腸間隙周邊脂肪、副睪丸周邊脂肪皆有減緩的趨勢，尤其是 2.0% BJE 組最為顯著。因此可得知，BJE 的確能有效降低體脂肪，且具統計顯著差異(Table 3)。

#### **6-2-4.血清生化值檢測:**

血清中的 CHO、TG、FFA 在給予 BJE 時，三者之含量皆比 HFD 組來得低。而 LDL-C/HDL-C 亦隨著 BJE 劑量的上升而較 HFD 組減緩，且具顯著差異。從肝損傷指標 GOT、GPT，可得知給予 BJE 的組別，其 GOT、GPT 皆會隨著 BJE 濃度的增加而減緩，尤其是 GPT，在 0.5% BJE、1.0% BJE、2.0% BJE 中，與 HFD 組相比，皆具顯著減緩的現象。而血糖的部分則是在餵食高脂飲食後，與 control 組相比，顯著的上升許多，在給予 BJE 後，血糖與 HFD 組相比，有些微減緩的趨勢。腎功能指標 BUN、UA、creatinine，三者之中，除了 UA 外，BUN、creatinine 在餵食高脂飲食後，皆會顯著的比 control 組來得高，而給予 BJE 後，亦有減緩的效果，尤其是 BUN，在低濃度 BJE 時，即能有效降低 BUN 指數(Table 5)。

#### **6-2-5.肝臟脂質萃取---三酸甘油酯 Triglyceride(TG)&膽固醇 Cholesterol(Cho)**

肝臟是人體負責代謝的主要器官，當飲用過多高熱量的飲食，則會導致肝臟細胞產生過多游離脂肪酸，或是血液中的脂肪酸運送至肝臟，使肝臟出現代謝異常的現象，導致有過多 TG、CHO 堆積於肝臟之中，造成非酒精性脂肪肝。由結果可得知，HFD 誘導組之 TG、CHO 皆顯著的比 control 組來得高，而餵食 BJE 後，TG 及 CHO 則有下降的趨勢，尤其是 TG，其指數會隨 BJE 濃度的增加，而顯著的較 HFD 組減緩許多(Table 4)。

#### **6-2-6.肝臟 H&E stain 觀察肝臟中脂質堆積情形:**

藉由 H&E stain 可得知，高脂飲食誘導組之大鼠，其肝臟血管周圍堆積許多脂肪空泡，而餵食 BJE 後，脂肪空泡堆積的情形隨著 BJE 濃度的增加而顯著減緩，特別是 2.0% BJE 組，其肝臟血管周圍幾乎沒有脂肪空泡堆積之情形(Figure 4)。

#### **6-2-7.排泄物脂質萃取---三酸甘油酯 Triglyceride(TG)&膽固醇 Cholesterol(Cho)**

Brassica juncea 中富含許多纖維，能有效代謝體內多餘的脂肪。由結果可知，高

脂飲食誘導的組別，其排泄物中之脂質含量與 BJE 組比起來相對較少，而餵食 BJE 之老鼠，其排泄物中的 TG、CHO 含量皆較多，特別是 TG，在餵食 BJE 第 3 及第 5 週後，皆可發現排泄物中 TG 之含量會隨 BJE 濃度的上升而增加，且與 HFD 組相比，具統計顯著差異(Figure 5)。

#### 6-2-8.芥菜萃取物對 TG 合成相關蛋白的影響

藉由 western blotting 分析肝臟中與 TG 合成相關的蛋白:SREBP-1, FASN 可得知在有餵食 BJE 的組別，其 SREBP-1, FASN 與高脂飲食誘導組相比，皆有下降的趨勢，尤其是餵食高劑量 BJE 的組別，其下降情形更為顯著(Figure 6)。

#### 6-2-9.芥菜萃取物對脂肪酸 $\beta$ -oxidation 相關蛋白的影響

藉由 western blotting 分析肝臟中與脂肪酸  $\beta$ -oxidation 相關的蛋白:CPT1，可得知在有餵食 BJE 的組別，其 CPT1 表現量與高脂飲食誘導組相比，皆有上升的趨勢，尤其是餵食高劑量 BJE 的組別，其增加之情形更為顯著(Figure 7)。

### (七)討論

現今文明的社會中，大多數人的飲食及生活習慣皆不正常，導致脂肪肝的罹患率逐年上升，而脂肪肝若沒有及時進行有效的控制，則可能會引發嚴重的肝硬化，甚至是肝癌。目前已有許多文獻指出，十字花科的植物富含 glucosinolate，能有效降低體脂肪並減緩脂肪肝生成之功效，而同屬於十字花科的芥菜，或許亦有類似的減脂功效。因此本研究預期進行動物及細胞實驗，進一步分析芥菜中的功能性成分，探討其減緩脂肪肝生成之功效，並了解參與其中的相關機制。

動物實驗的部分，利用高脂飲食誘導大鼠使之產生肥胖後，餵食不同濃度的芥菜乾燥粉末並配合高脂飲食，每週觀察大鼠之體重變化，發現餵食高濃度的芥菜能有效降低動物之體重。而餵食芥菜 8 週將老鼠犧牲後，秤其肝臟重量，以及腎臟、腸間隙、副睪丸之周邊脂肪，皆可發現餵食芥菜後，能顯著降低肝臟重量，亦能減緩器官周邊脂肪堆積之情形(Figure 3, Table 3)。而採集大鼠血液進行生化指數分析(Table 5)，發現餵食芥菜之組別能有效降低肝損傷指標:GOT, GTP，此外，血中總膽固醇、三酸甘油酯、游離脂肪酸及 LDL-c/HDL-c 之含量，在有餵食芥菜的組別，其含量皆顯著較高脂飲食誘導組低，而且在餵食低濃度芥菜時，即能達到顯著降低血中脂肪的效果。而腎功能指標:BUN, UA, creatinine，三者中只有 BUN 在餵食芥菜後能顯著較 HFD 組減緩，而 creatinine 則是在餵食低濃度芥菜即能有效降低，但在高濃度芥菜的組別並無發現 creatinine 顯著降

低之情形，不過跟 HFD 組相比，仍有下降的趨勢，UA 的部份各組別之間則無顯著差異，因此可推知，芥菜主要的功效是減緩脂質的生成，在增進腎功能方面並無太大的影響力。接著進一步將大鼠之肝臟進行組織切片並行 H&E 染色 (Figure 4)，發現在高脂飲食的大鼠肝臟中，有明顯的脂肪空泡堆積，在餵食芥菜之組別，其肝臟脂肪空泡的堆積情形則會隨著餵食的芥菜濃度升高而日趨減緩，因此證明了芥菜能有效降低脂質堆積於肝臟之情況。再者，將大鼠犧牲後的肝臟進行研磨，測其肝臟總膽固醇及三酸甘油酯之含量 (Table 4)，並利用 western blot 觀察與脂質形成相關的蛋白表現量 (Figure 6, 7)，以進一步釐清芥菜減緩脂質生成之功效及可能的機制，結果發現，餵食芥菜之大鼠，其肝臟中 TG、CHO 皆較 HFD 組減緩，TG 的部分是隨芥菜餵食的濃度升高而下降，CHO 在 1.0% BJE 之組別與 HFD 組相比並無顯著差異，但 0.5% 及 2.0% BJE 之組別與 HFD 組相比皆有顯著下降的情形，因此初步推估，餵食低濃度芥菜即能有效減緩肝臟脂質堆積之情形。而經 western blot 發現，與 TG 合成相關的蛋白：SREBP-1, FASN，表現量皆隨餵食的芥菜濃度升高而顯著較 HFD 組下降，與游離脂肪酸  $\beta$ -oxidation 相關之蛋白：CPT1，表現量則會隨芥菜濃度的上升而增加，因此可得知，芥菜能透過降低 SREBP-1, FASN，增加 CPT1，以減緩脂肪肝。此外，芥菜中亦富含纖維，能有效幫助脂質代謝，本研究每兩週會收集老鼠排泄物，並測其 TG、CHO 含量 (Figure 5)，結果顯示，在第 3 及第 5 週時，老鼠排泄物中 TG 的含量在有餵食芥菜之組別，皆比 HFD 組來得高，尤其是餵食 1% 及 2% BJE 之組別 TG 含量增加之情形更為顯著，而 CHO 的部分，在第 1 及第 3 週時，餵食 0.5% BJE 及 2.0% BJE 之組別，其 CHO 含量皆顯著得比 HFD 組高，而在 1% BJE 組，雖然其排泄物中的 CHO 沒有顯著的比 HFD 組來得高，但是仍些微的較高一點。綜述以上的結果可得知，芥菜除了能有效降低血脂、減緩脂肪肝，亦能幫助過剩的脂質排出體外。未來會更進一步分析肝臟中之抗氧化酵素活性，觀察芥菜是否能增加抗氧化酵素之活性，保護身體免受自由基攻擊，亦會分析血清當中發炎因子及脂質相關因子 (leptin, adiponectin) 之含量。

目前已萃取出芥菜中之多酚成分，並進行 HPLC 之定量實驗，由結果顯示，芥菜中之多酚含量並不多 (Figure 1, Table 1)，而先前許多文獻指出，十字花科植物中的 glucosinolate 可有效降低體脂肪，因此同屬十字花科的芥菜，其減緩脂肪肝生成之作用，主要可能是由 glucosinolate 所調控，為更進一步證實此推測，已進一步萃取出芥菜中的 glucosinolate，之後會進行細胞實驗，證實芥菜是否能有效減緩脂肪肝之功效，並深入探討相關的作用機制。利用油酸誘導人類肝癌細胞株 HepG2，以模擬脂肪肝脂質堆積的情形，及脂肪前驅細胞 3T3-L1 以模

擬體脂肪過量堆積的情形，之後分別加入芥菜多酚或 glucosinolate 萃取物，並利用 oil red O 染色證明肝細胞中脂質堆積現象，以及脂肪細胞成熟程度分析，觀察芥菜萃取物是否能有效抑制身體內脂質堆積情形。期望透過動物及細胞實驗雙重驗證芥菜減緩脂肪肝之功效，並在未來開發成保健食品，幫助患脂肪肝的高風險群，降低脂質堆積肝臟之情形，改善體脂肪堆積，為人們的健康做把關。

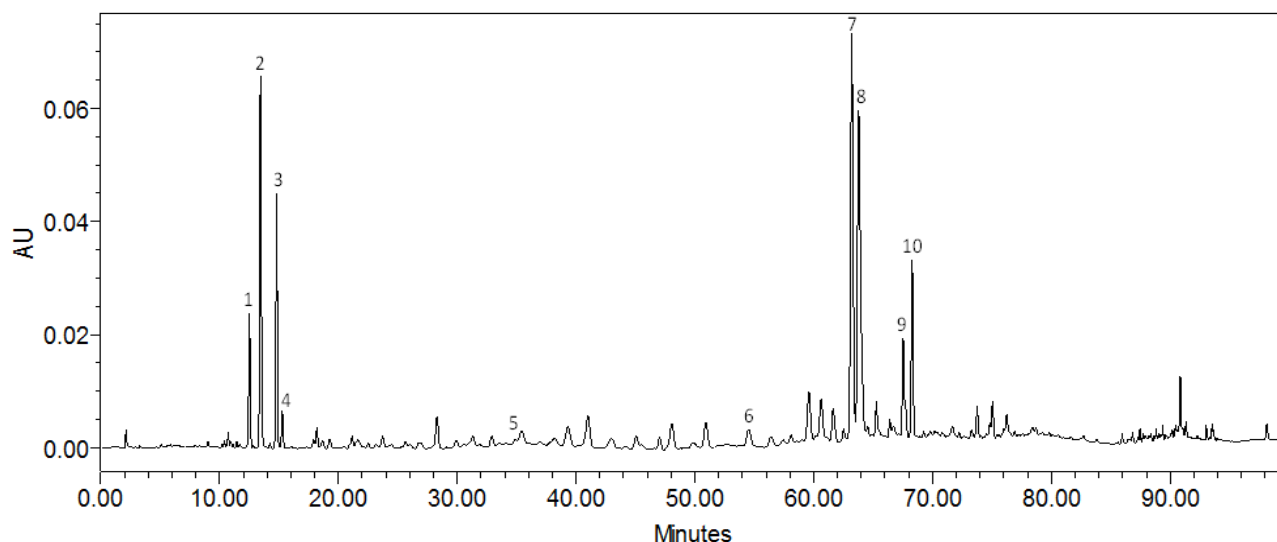
#### (八)參考文獻

1. Kopelman, P. G. (2000). Obesity as a medical problem. *Nature*, 404,635–643.
2. Popkin BM,Doak CM:The obesity epidemic is a worldwide phenomenon.*Nutr Rev*1998;56:106-114.
3. Yun-Ching Chang, Mon-Yuan Yang , Shu-Chun Chen, Chau-Jong Wang(2016)Mulberry leaf polyphenol extract improves obesity by inducing adipocyte apoptosis and inhibiting preadipocyte differentiation and hepatic lipogenesis.*Journal of Functional Foods* 21:249–262
4. Seon-Min Jeon, Ji-Eun Kim, Su-kyung Shin, Eun-young Kwon, Un Ju Jung, , Tae-Sook Jeong, (2013) Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trial of Powdered Brassica rapa Ethanol Extract on Alteration of Body Composition and Plasma Lipid and Adipocytokine Profiles in Overweight Subjects *JOURNAL OF MEDICINAL FOOD J Med Food* 16 (2):133–138
5. Hotamisligil, G. S. (2006). Inflammation and metabolic disorders.*Nature*, 14, 860–867.
6. Padilla G, Cartea ME, Velasco P, de Haro A, Ordas A (2007) Variation of glucosinolates in vegetable crops of Brassica rapa. *Phytochemistry* 68:536–545
7. LONG-ZE LIN, JAMES M. HARNLY(2010) Phenolic Component Profiles of Mustard Greens, Yu Choy, and 15 Other Brassica Vegetables *J. Agric. Food Chem.* 58, 6850–6857
8. María Elena Cartea & Antonio de Haro & Sara Obregón & Pilar Soengas & Pablo Velasco(2012) Glucosinolate Variation in Leaves of Brassica rapa Crops *Plant Foods Hum Nutr.*67:283–288
9. Gabriel Moyano, Sonia G. Sáyago-Ayerdi, Carlota Largo, Victor Caz, Monica Santamaria, Maria Tabernero(2016) Potential use of dietary fibre from Hibiscus sabdariffa and Agave tequilana in obesity management *Journal of Functional Foods* 21:1–9
10. Francisco M, Velasco P, Moreno D, Garcia-Viguera C, Cartea M(2010) Cooking methods of Brassica rapa affect the preservation of glucosinolates, phenolics and vitamin C. *Food Res Int* 43:1455–1463
11. Lin, L.-Z.; Harnly, J. M(2009). Identification of the phenolic components of collard green, kale and Chinese broccoli. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 7401–7408
12. Mohameda, G. A., Ibrahim, S. R. M., Elkhayata, E. S., & Dinec, R. S. E. (2014). Natural



- anti-obesity agents. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 52, 269–284
13. Yang, Y., Tan, Y. X., Chen, R. Y., & Kang, J. (2014c). The latest review on the polyphenols and their bioactivities of Chinese *Morus* plants. *Journal of Asian Natural Products Research*, 16, 690-702.
  14. Chong, C., Ju, H., Bible, B.B., 1982. Glucosinolate composition of turnip and rutabaga cultivars. *Can. J. Plant Sci.* 62, 533–536.
  15. Baik, H.Y., Juvik, J., Jeffery, E.H., Wallig, M.A., Kushad, M., Klein, B.P., 2003. Relating glucosinolate content and flavour of broccoli cultivars. *J. Food Sci.* 68, 1043–1050.
  16. Prins, J. B., & O’Rahilly, S. (1997). Regulation of adipose cell number in man. *Clinical Science (London, England: 1979)*, 92, 3–11.
  17. Mithen, R., 2001. Glucosinolates and their degradation products. *Adv. Bot. Res.* 35, 213–262.
  18. Rosa, E.A.S., 1999. Chemical composition. In: Gómez-Campo, C. (Ed.), *Biology of Brassica Coenospecies*. Elsevier Science B.V., Amsterdam, pp. 315–357.
  19. TM F. The role of free radicals in disease. *Aust N Z J Ophthalmol* 1995 Feb; 23:3-7.
  20. Bhabak KP1, G.M. Functional mimics of glutathione peroxidase: bioinspired synthetic antioxidants. *Acc Chem Res* 2010 Nov 16:1408-1419
  21. Lim, H. H., Lee, S. O., Kim, S. Y., Yang, S. J., & Lim, Y. (2013). Anti-inflammatory and antiobesity effects of mulberry leaf and fruit extract on high fat diet-induced obesity. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, 238, 1160–1169.
  22. MD. B. Liver function: test selection and interpretation of result. *Clin Lab MED* 2002 Jun; 22:377-390
  23. Yang, S. J., Park, N. Y., & Lim, Y. (2014b). Anti-adipogenic effect of mulberry leaf ethanol extract in 3T3-L1 adipocytes. *Nutrition Research and Practice*, 8, 613–617

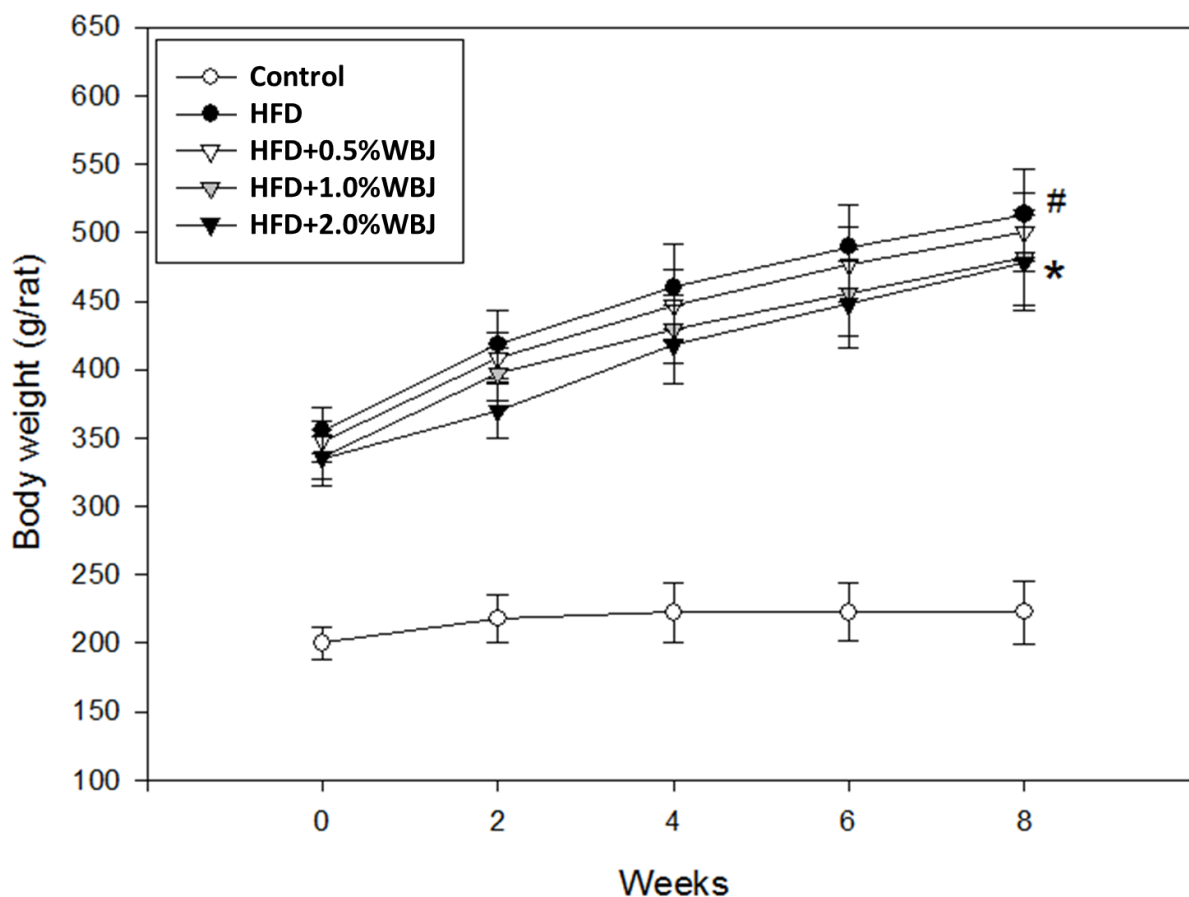
(九)實驗結果 附圖/表



**Figure 1. The HPLC-UV at 280 nm of the methanol extracts of 1 mg/mL *Brassica juncea* water extracts are show in chromatogram profiles.**

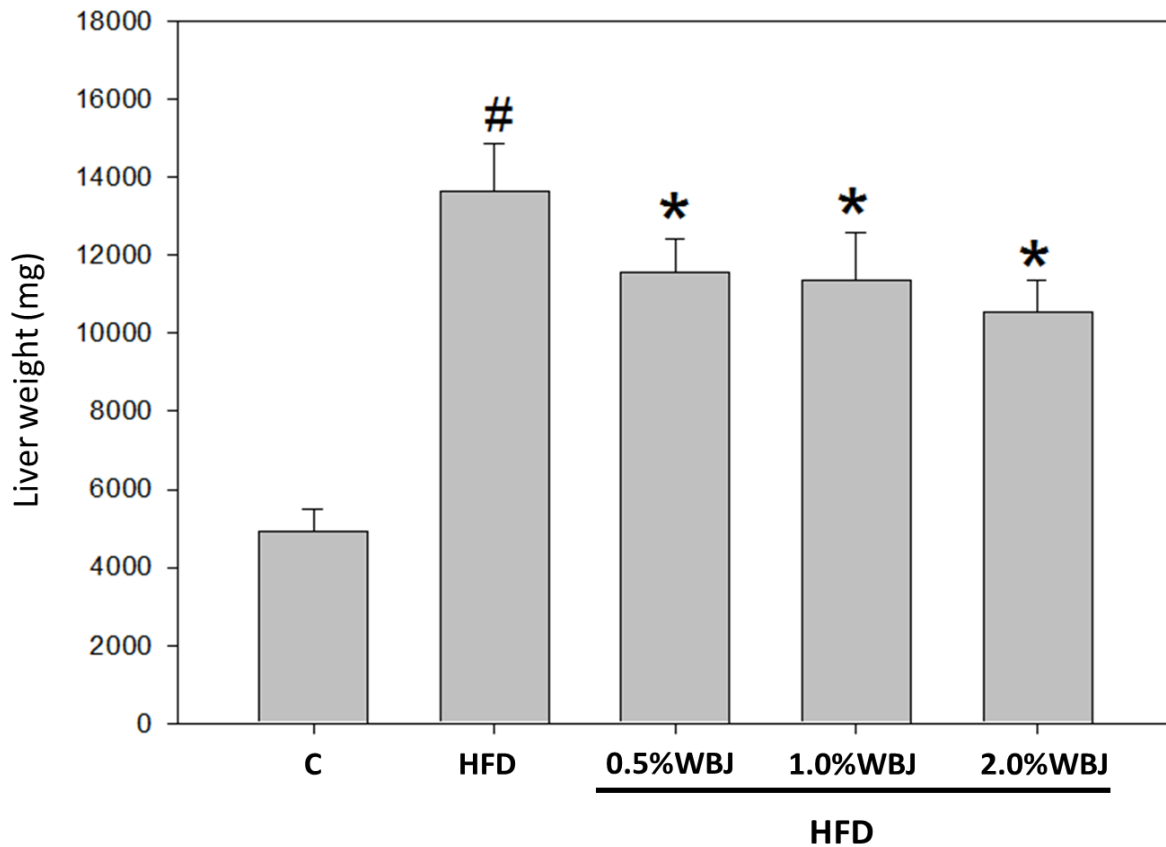
Peak No.	RT (min)	[M-H] <sup>+</sup> (m/z)	UV band (nm)	Compounds Name	Concentration (µg/mg)
1	12.52	-	296.5	Unknown	-
2	13.45	168.9	271.5	Gallic acid	9.24 ± 0.59
3	14.81	-	231.3, 284.6 (max)	Unknown	-
4	15.28	-	291.7	Unknown	-
5	34.90	178.9	239.6, 323.9 (max)	Caffeic acid	0.32 ± 0.14
6	54.53	193.2*	234.8, 322.7 (max)	Ferulic acid	1.78 ± 0.09
7	63.21	-	237.2, 327.5 (max)	Unknown	-
8	63.78	-	239.6, 328.7 (max)	Unknown	-
9	67.54	449.7 [M+H] <sup>+</sup>	265.6 (max), 346.6	Astragalin (推測, 未買標準品)	-
10	68.28	-	254.9 (max), 355	Unknown	-

Table1. Phenolic compounds identified in the present work in *Brassica juncea* extracts by HPLC-UV.



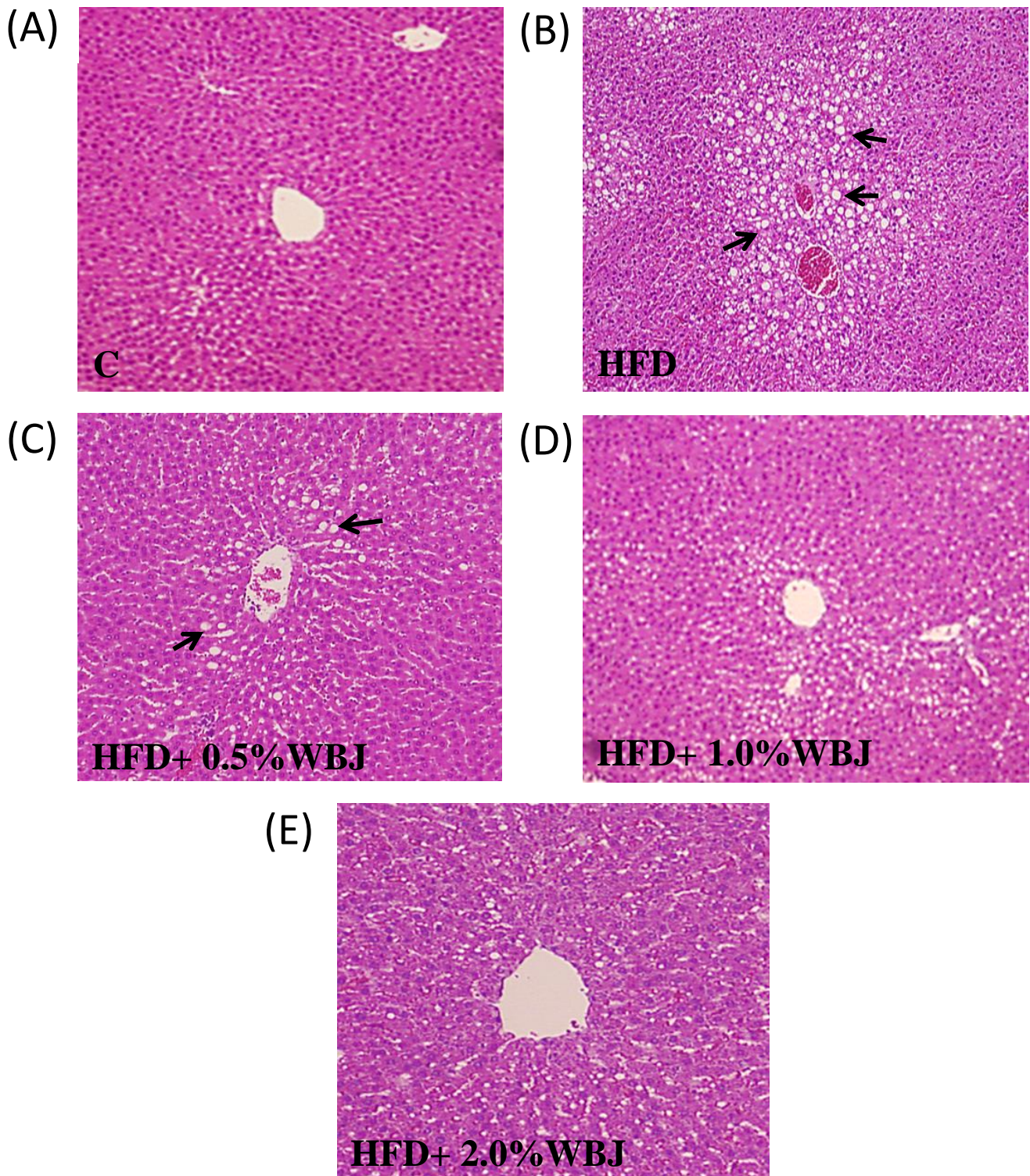
**Figure 2. The weekly variation of body weight in HFD-fed rat.**

Control, normal group; HFD, rats were fed HFD-induced group; HFD+0.5%WBJ, rats were fed high fat diet with 0.5% whole plant *Brassica juncea* powder group; HFD+1.0%WBJ, rats were fed high fat diet with 1.0% whole plant *Brassica juncea* powder group; HFD+2.0%WBJ, rats were fed high fat diet with 2.0% whole plant *Brassica juncea* powder group. a, data =  $\left[ \frac{\text{week X} - \text{week 0}}{\text{week 0}} \right] \times 100\%$ , each value is expressed as the mean  $\pm$  SD (n=12/group). Result were statistically analyzed with ANOVA. #,  $p < 0.05$  compared with the control group. \*,  $p < 0.05$  compared with the HFD group.



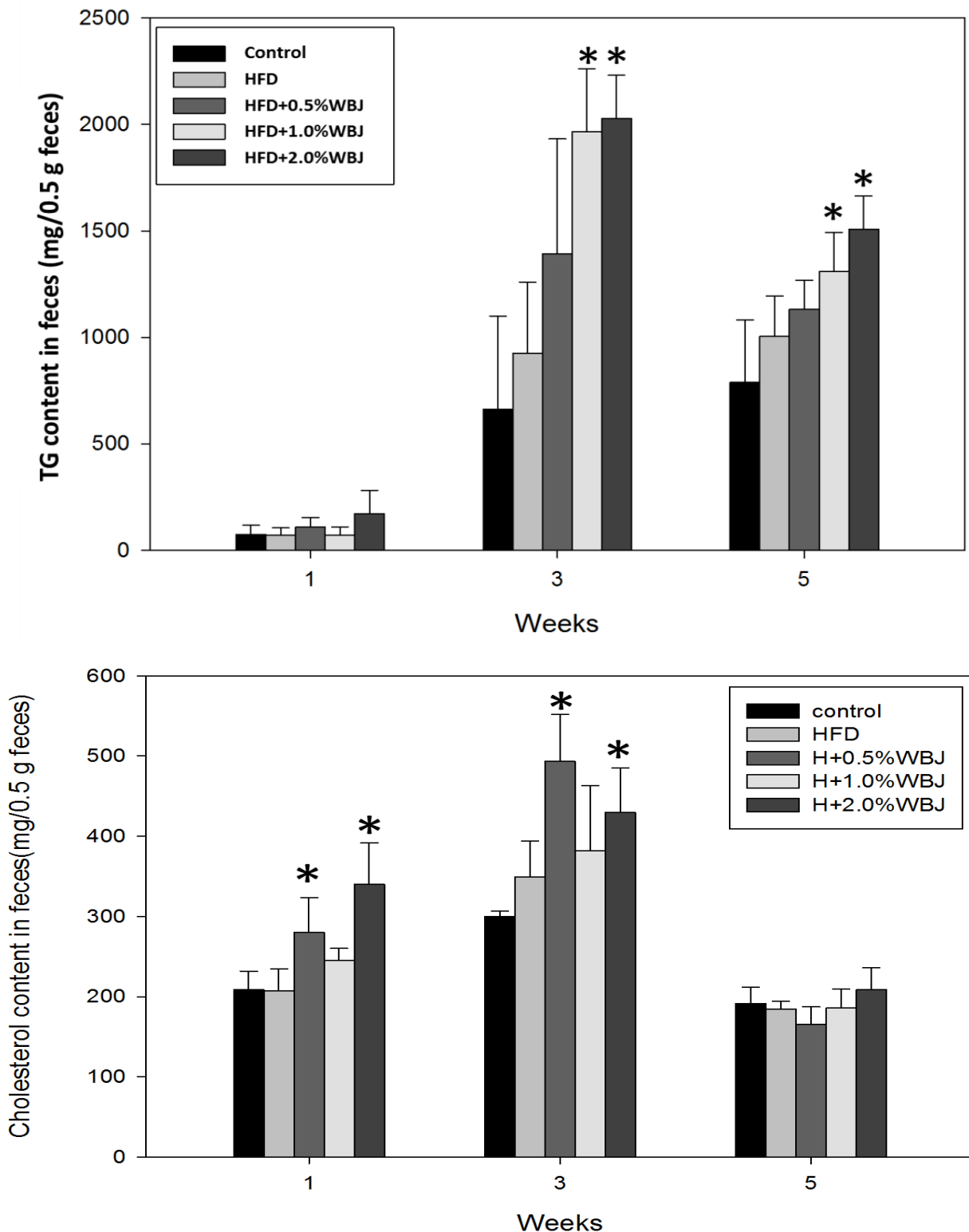
**Figure 3. Liver weights of wistar rat.**

Control, normal group, HFD, rats were fed HFD-induced group; H+0.5% WBJ, rats were fed high fat diet with 0.5% whole plant *Brassica juncea* powder group; H+1.0%WBJ, rats were fed high fat diet with 1.0% whole plant *Brassica juncea* powder group; H+2.0%WBJ, rats were fed high fat diet with 2.0% whole plant *Brassica juncea* powder group. Each value is expressed as the mean  $\pm$  SD (n=12/group). Result were statistically analyzed with ANOVA. #, p<0.05 compared with the control group. \*, p<0.05 compared with the HFD group.



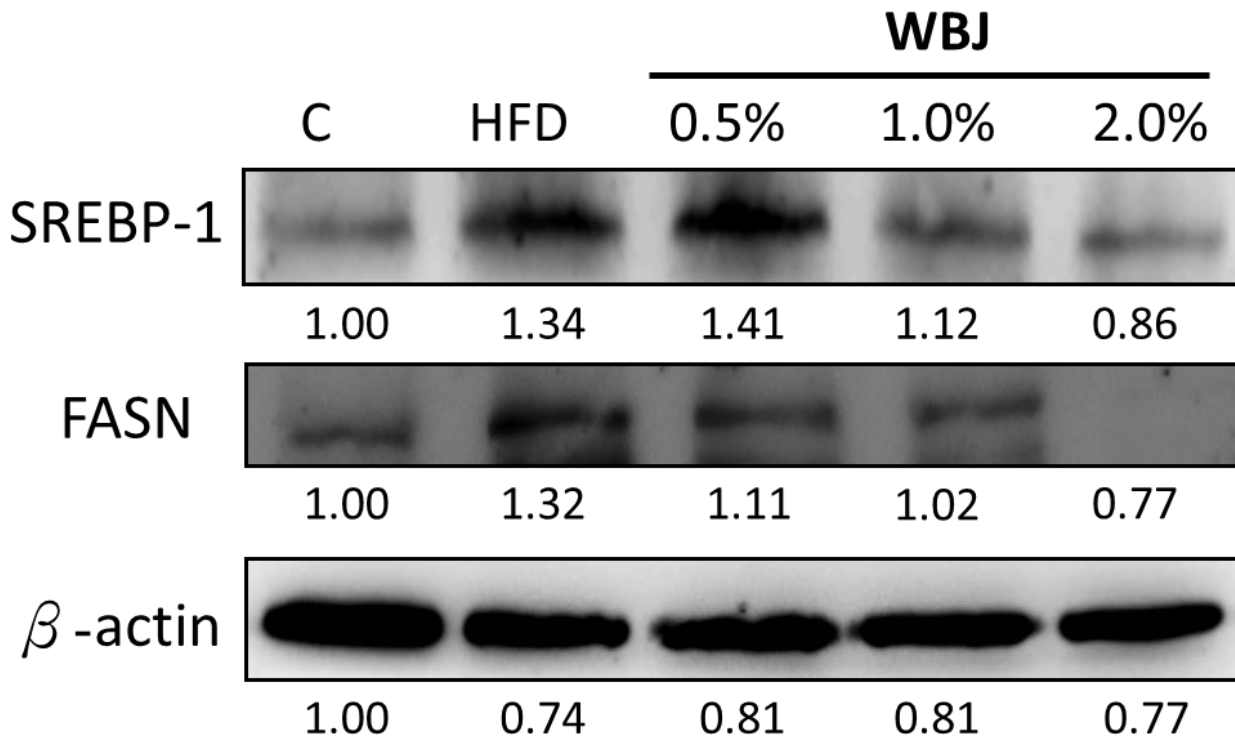
**Figure 4. Histopathological changes of wistar rat livers under mustard treatment.**

Paraffin-embedded sections of liver from 12 weeks old rats were stained with hematoxylin-eosin. The results showed that the steatosis macrovesicular were increased in HFD group compared with control group, however, steatosis macrovesicular of mustard treatment groups were decreased.



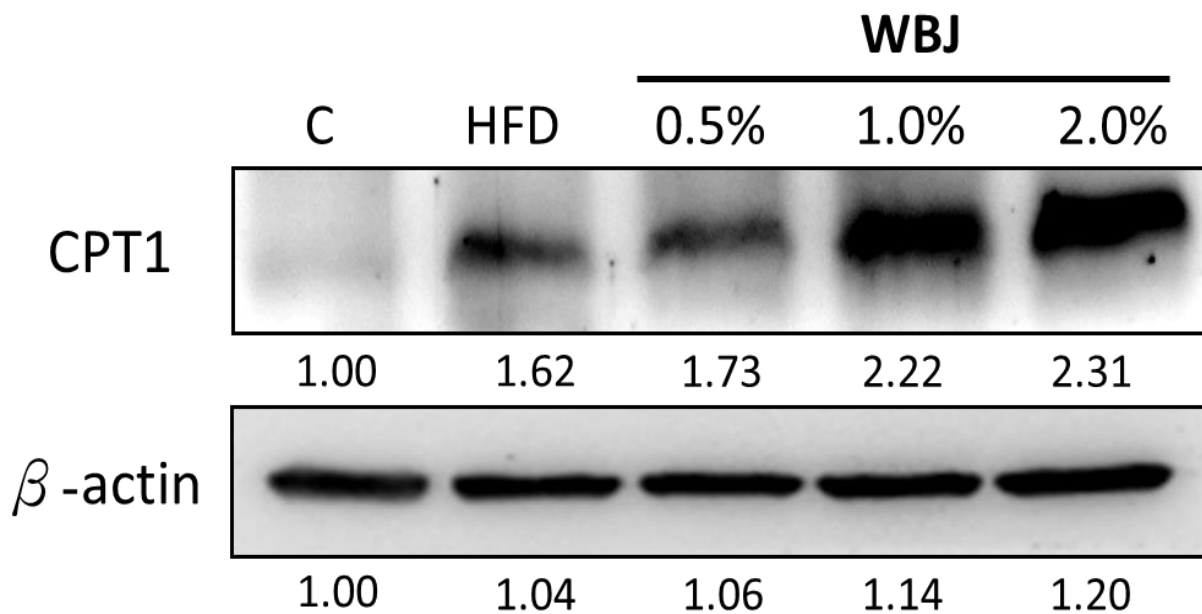
**Figure 5. The triglyceride and cholesterol content in feces from wistar rats.**

Control, normal group, HFD, rats were fed HFD-induced group; H+0.5% WBJ, rats were fed high fat diet with 0.5% whole plant *Brassica juncea* powder group; H+1.0%WBJ, rats were fed high fat diet with 1.0% whole plant *Brassica juncea* powder group; H+2.0%WBJ, rats were fed high fat diet with 2.0% whole plant *Brassica juncea* powder group. Each value is expressed as the mean  $\pm$  SD (n=12/group). Result were statistically analyzed with ANOVA. #, p<0.05 compared with the control group. \*, p<0.05 compared with the HFD group.



**Figure 6. The effect of BJE in triglyceride synthesis-related protein.**

The protein levels of SREBP-1, FASN in hepatic were analyzed by Western blotting in different groups. The triglyceride synthesis-related protein reduced in each WBJ-treated group compared with high-fat-diet group. C, normal group; HFD, rats were fed high fat diet induced group; 0.5%, HFD+ 0.5% WBJ; 1.0%, HFD+1.0% WBJ; 2.0%, HFD+2.0% WBJ.



**Figure 7. The effect of BJE in lipid  $\beta$ -oxidation related protein.**

The protein levels of CPT1 in hepatic were analyzed by Western blotting in different groups. The lipid  $\beta$ -oxidation related protein increased in each WBJ-treated group compared with high-fat-diet group. C, normal group; HFD, rats were fed high fat diet induced group; 0.5%, HFD+ 0.5% WBJ; 1.0%, HFD+1.0% WBJ; 2.0%, HFD+2.0% WBJ.



## Formulating feeds

Ingredients(g/kg dietary weight)	ND	HFD			
		control	LD	MD	HD
Casein	260	260	260	260	260
Corn starch	500	150	150	150	150
Sucrose	90	90	90	90	90
Corn oil	50				
Beef tallow		400	400	400	400
Cellulose	50	50	50	50	50
Mineral mixture <sup>b</sup>	40	40	40	40	40
Vitamin mixture <sup>b</sup>	10	10	10	10	10
WBJ			5	10	20

**Table 2. Formulating feeds for wistar rats.**

<sup>b</sup> Mineral and vitamin mixtures (AIN-76) were purchased from Oriental Yeast(Tokyo,Japan). ND, normal diet; HFD, high-fat diet; LD, 0.5 x of WBJ; MD, 1 x of WBJ; HD, 2 x of WBJ; WBJ, whole plant *Brassica juncea*

## Peripheral fat

tissue weights (mg)	ND	HFD	HFD+0.5%WBJ	HFD+1.0%WBJ	HFD+2.0%WBJ
Kidney fat	21.63±25.56	7766.00±1408.37 <sup>b</sup>	5978.75±1844.83 <sup>c</sup>	5622.25±1346.33 <sup>c</sup>	5310.25±1976.94 <sup>c</sup>
Intestinal fat	331.63±230.70	8306.75±2210.45 <sup>b</sup>	6125.63±1394.05 <sup>c</sup>	6037.50±994.79 <sup>c</sup>	5783.75±577.86 <sup>c</sup>
Gonad fat	326.63±116.79	5936.75±874.64 <sup>b</sup>	4827.13±1891.91	4766.75±1046.01	4426.00±1184.69 <sup>c</sup>

**Table 3. peripheral fat**

ND, normal group; HFD, rats were fed HFD-induced group; HFD+ 0.5% WBJ, rats were fed high fat diet with 0.5% whole plant *Brassica juncea* powder; HFD+1.0% WBJ, rats were fed high fat diet with 1.0% whole plant *Brassica juncea* powder group; HFD+ 2.0% BJE, rats were fed high fat diet with 2.0% whole plant *Brassica juncea* powder group. a, each value is expressed as the mean ± SD (n=12/group). Result were statistically analyzed with One way ANOVA. b, p<0.05 compared with the control group. c, p<0.05 compared with the HFD group.

## Liver- triglyceride and Cholesterol content

	ND	HFD	HFD+0.5%WBJ	HFD+1.0%WBJ	HFD+ 2.0%WBJ
Liver-triglyceride (mg/0.5g liver weight)	253.74±30.21	328.05±26.48 <sup>b</sup>	309.23±58.54	265.17±54.82 <sup>c</sup>	194.04±58.57 <sup>c</sup>
Liver-Cholesterol (mg/0.5g liver weight)	38.12±12.43	136.38±21.00 <sup>b</sup>	92.95±33.32 <sup>c</sup>	110.49±28.34	106.34±37.55 <sup>c</sup>

**Table 4. Liver cholesterol and triglyceride content.**

ND, normal group; HFD, rats were fed HFD-induced group; HFD+ 0.5% WBJ, rats were fed high fat diet with 0.5% whole plant *Brassica juncea* powder; HFD+1.0% WBJ, rats were fed high fat diet with 1.0% whole plant *Brassica juncea* powder group; HFD+ 2.0% BJE, rats were fed high fat diet with 2.0% whole plant *Brassica juncea* powder group. a, each value is expressed as the mean ± SD (n=12/group). Result were statistically analyzed with One way ANOVA. b, p<0.05 compared with the control group. c, p<0.05 compared with the HFD

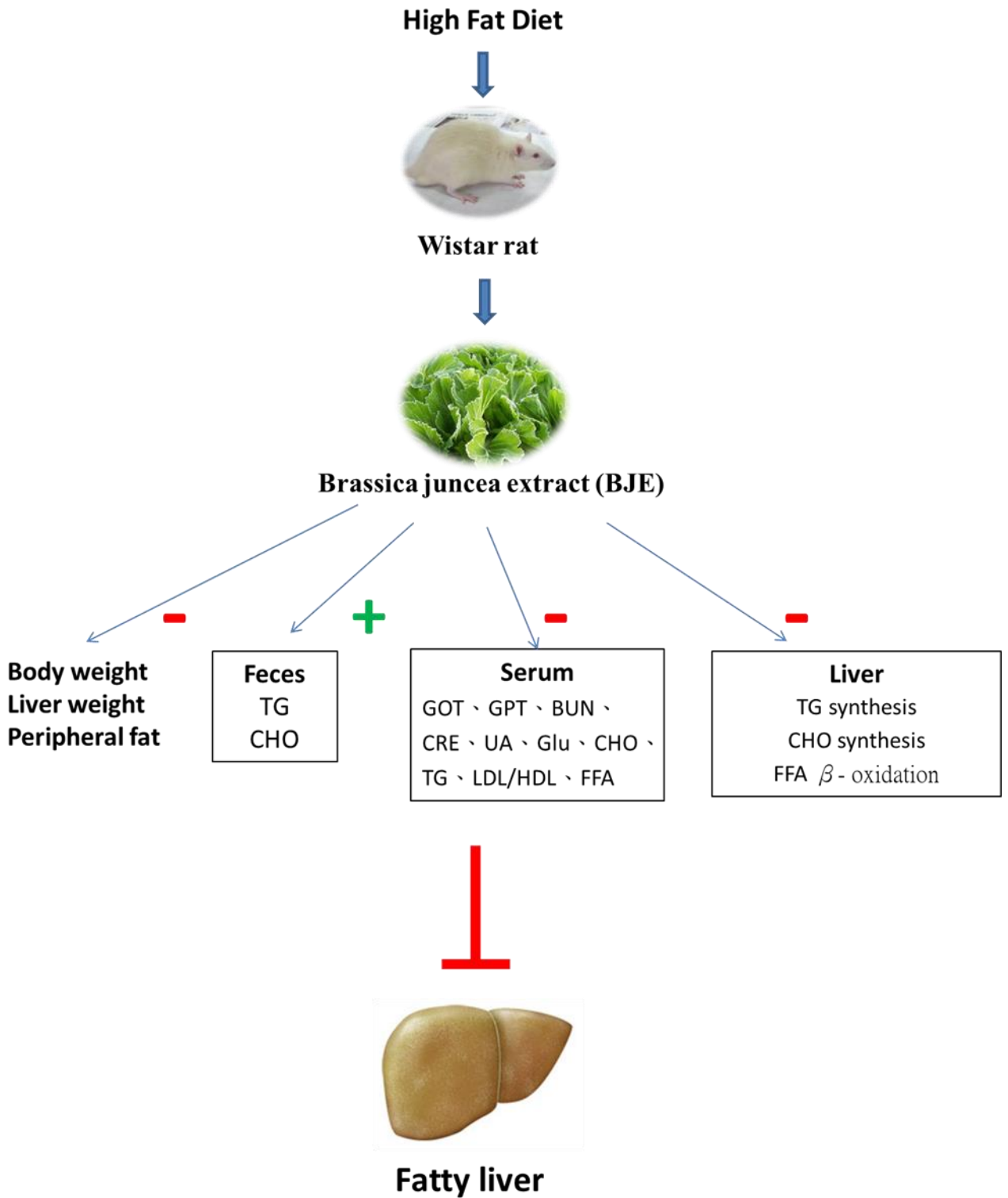
**Serum variation**

	ND	HFD	HFD+0.5% WBJ	HFD+1.0% WBJ	HFD+2.0%WBJ
<b>Total cholesterol (mg/dL)</b>	70.9±3.57	71.3±9.25	51.9±6.19 <sup>c</sup>	55.2±7.09 <sup>c</sup>	59.2±7.23 <sup>c</sup>
<b>Total triglyceride (mg/dL)</b>	34.7±7.24	121.4±26.98 <sup>b</sup>	64.4±8.77 <sup>c</sup>	74.2±16.47 <sup>c</sup>	62.1±15.09 <sup>c</sup>
<b>FFA(U/min/mg protein)</b>	0.73±0.10	1.12±0.20 <sup>b</sup>	0.77±0.16 <sup>c</sup>	0.95±0.07 <sup>c</sup>	0.85±0.10 <sup>c</sup>
<b>LDL-C (mg/dL)</b>	18.7±2.00	13.1±3.21 <sup>b</sup>	10.6±1.07 <sup>c</sup>	10.1±2.18 <sup>c</sup>	10.4±2.67 <sup>c</sup>
<b>HDL-C (mg/dL)</b>	48.6±6.27	31.8±5.15 <sup>b</sup>	35.9±6.48	36.9±7.97	42.1±7.26 <sup>c</sup>
<b>LDL-C/HDL-C</b>	0.39±0.06	0.42±0.11	0.30±0.07 <sup>c</sup>	0.28±0.09 <sup>c</sup>	0.25±0.07 <sup>c</sup>
<b>Glucose (mg/dL)</b>	155.7±52.95	267.7±51.48 <sup>b</sup>	235±71.04	268.6±65.61	248±38.34
<b>GOT (U/L)</b>	121.7±10.45	140.2±27.32	145±26.44	133.8±17.81	127.9±11.76
<b>GPT (U/L)</b>	33.2±3.91	59.4±9.16 <sup>b</sup>	49.3±5.81 <sup>c</sup>	44.2±7.45 <sup>c</sup>	41.6±8.42 <sup>c</sup>
<b>BUN(mg/dL)</b>	20.64±1.81	12.92±1.37 <sup>b</sup>	9.74±0.92 <sup>c</sup>	11.4±0.96 <sup>c</sup>	10.54±0.39 <sup>c</sup>
<b>UA (mg/dL)</b>	4.01±1.25	4.58±1.05	4.75±1.03	5.13±1.34	4.93±1.22
<b>Creatinine (mg/dL)</b>	0.61±0.05	0.68±0.04 <sup>b</sup>	0.62±0.07 <sup>c</sup>	0.66±0.05	0.63±0.04

**Table 5. Serum variation**

ND, normal group; HFD, rats were fed HFD-induced group; HFD+ 0.5% WBJ, rats were fed high fat diet with 0.5% whole plant *Brassica juncea* powder; HFD+1.0% WBJ, rats were fed high fat diet with 1.0% whole plant *Brassica juncea* powder group; HFD+ 2.0% BJE, rats were fed high fat diet with 2.0% whole plant *Brassica juncea* powder group. a, each value is expressed as the mean ± SD (n=12/group). Result were statistically analyzed with One way ANOVA. b, p<0.05 compared with the control group. c, p<0.05 compared with the HFD group.

# SUMMARY



## 科技部補助專題研究計畫成果自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現（簡要敘述成果是否具有政策應用參考價值及具影響公共利益之重大發現）或其他有關價值等，作一綜合評估。

<p>1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 達成目標</p> <p><input type="checkbox"/> 未達成目標（請說明，以 100 字為限）</p> <p><input type="checkbox"/> 實驗失敗</p> <p><input type="checkbox"/> 因故實驗中斷</p> <p><input type="checkbox"/> 其他原因</p> <p>說明：</p>
<p>2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形(請於其他欄註明專利及技轉之證號、合約、申請及洽談等詳細資訊)</p> <p>論文：<input type="checkbox"/>已發表<input type="checkbox"/>未發表之文稿 <input type="checkbox"/>撰寫中 <input checked="" type="checkbox"/>無</p> <p>專利：<input type="checkbox"/>已獲得<input type="checkbox"/>申請中 <input checked="" type="checkbox"/>無</p> <p>技轉：<input type="checkbox"/>已技轉<input type="checkbox"/>洽談中 <input checked="" type="checkbox"/>無</p> <p>其他：(以 200 字為限)</p>
<p>3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性，以 500 字為限）。</p> <p><i>Brassica juncea</i> 在動物實驗中已證實能有效降低體脂肪，並減緩脂肪肝生成，未來會更進一步進行細胞實驗，更深入了解相關機制，期望未來能製成健康食品，降低人們罹患脂肪肝的風險，為國人的健康把關。</p>
<p>4. 主要發現</p> <p>本研究具有政策應用參考價值：<input type="checkbox"/>否 <input checked="" type="checkbox"/>是，建議提供機關 <u>農業經濟相關機關</u></p> <p>(勾選「是」者，請列舉建議可提供施政參考之業務主管機關)</p> <p>本研究具影響公共利益之重大發現：<input checked="" type="checkbox"/>否 <input type="checkbox"/>是</p> <p>說明：(以 150 字為限)</p>