

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

桑椹功能性成分抗癌作用之研究(一)多酚及花青素致癌細胞 凋亡作用及機轉探討

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC93-2320-B-040-060-

執行期間：93年08月01日至94年07月31日

執行單位：中山醫學大學生化暨生物科技研究所

計畫主持人：王朝鐘

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 94 年 10 月 14 日

中文摘要

關鍵詞：桑椹花青素、胃癌細胞、凋謝死亡、細胞生長停滯

癌症預防已為一世界趨勢，因此尋找一化學預防物質(chemopreventive agent)為一重要工作。花青素(anthocyanins)廣存於蔬菜、水果等植物中，且有許多報告證明花青素具抗氧化活性、抑制心血管病變及防癌等作用。桑椹(Mulberry fruit)含有豐富之花青素(MAC)，而本實驗室利用 HPLC 分析，已定量並計算出萃取 MAC 中含有 85-95% 的花青素。進一步，利用 MTT assay, Flow cytometry, DAPI assay 及 Western blot 等方法，探討 MAC 之抗癌作用。我們發現 MAC 明顯造成 AGS 細胞 DNA 斷裂，而導致細胞的凋謝死亡，其詳細機制透過四種抑制劑的使用，如 SB203580 (p38 inhibitor), PD98059 (MEK inhibitor), and wortmannin (phosphatidylinositol 3-kinase; PI-3K inhibitor)，結果推測可能經由 p38 pathway 抑制癌細胞生長。細胞經由 MAC 的處理，活化 p38/JNK 造成 c-jun 的磷酸化，而活化下游的 FasL/Fas 使得 Bid 變成 tBid，可能造成 Bax 會在粒腺體膜上聚集在一起而形成孔洞，使得 cytochrome c 釋放出來跑到細胞質活化 caspase-3 造成細胞的死亡。

從以上結果我們可以提出 MAC 可以預防及治療癌症，並說明其抗癌機轉。由於桑椹易在國內種植，MAC 產率高也易分離，因此本研究結果可應用於發展為抗癌物質。

英文摘要

Key word : Mulberry anthocyanins (MAC) 、 Human gastric carcinoma (AGS) 、 apoptosis 、 cell cycle arrest

Over the past decade, advances in understanding carcinogenesis have made possible the identification of the candidates of chemopreventive agents that are being developed to hit the key molecular targets. Plant anthocyanins are important part of diet because of their effects on modulating carcinogenesis and cardiovascular disease. Mulberry fruit has abundant anthocyanins (MAC), and our laboratory has been quantified and calculated that Mulberry fruit contains 85-95% anthocyanin by HPLC experiment. Next, we used MTT assay, flow cytometry, DAPI assay and Western blot to analyze the antitumor effect of MACs. Mulberry anthocyanins (MACs) were isolated from the dried fruit of Mulberry to find the effect of MACs caused cancer cell apoptosis. And then the study revealed that AGS cells underwent DNA fragmentation, flow cytometric analysis and morphological changes characteristic of apoptosis after treatment with MACs. We further used SB203580 (p38 inhibitor), PD98059 (MEK inhibitor), and wortmannin (phosphatidylinositol 3-kinase; PI-3K inhibitor) to evaluate their effect on the MAC-induced AGS death. The data showed that only SB203580 had strong potential in inhibiting AGS cell apoptosis and also revealed increased phosphorylation in p38 and c-Jun, cytochrome c release, and expression of tBid, Fas and FasL in the MAC-treated AGS cells. Therefore, we suggested that MAC mediated AGS apoptosis via the p38-FasL and Bid pathway.

The results of these studies may be used to (1) develop a new chemopreventive agent. ; (2) demonstrate the mechanisms of action of MAC in anticarcinogenesis.

前言

桑椹 (mulberry) 是一種天然植物桑科落葉喬木“桑”(Morus alba L.) 的果實，其科、屬、種名為 MORACEAE Morus spp.。桑椹嫩時色清、味酸；成熟時紫黑、多汁。椹味甘酸、性涼，具滋陰養血、生津止渴、潤腸通便等作用，自古即被用來防治頭暈、目眩、盜汗、消渴、腸燥、便秘等現象，許多古籍記載了桑椹的藥用價值，但是在科學研究上卻缺乏科學證據來證實。而由桑椹果實顏色為深度的紫紅顏色，顯示出桑椹具有豐富的色素成分，而許多的色素成分被證實是一種很好的抗氧化物質。由 Toscano 和 Lamonica(1) 鑑定出桑椹的色素成分為花色苷，而桑椹的花色苷為 cyanidin 3-glucoside 及 cyanidin 3-rutinoside，因此我們推測桑椹具有豐富的天然抗氧化成分。此外桑椹除含有豐富的黃酮素 (如 quercetin, gossypetin) 亦含有原兒茶酸，這些成份都以具有抗氧化、防癌、抑制心血管病變(2-11)。

花青素廣泛存在於許多食用的植物果實中，不同的花青素具有不同的顏色，其中包含了：藍色、紫色或紅色等，在植物的果實中通常含有許多不同種類的花青素，並使其具有各種不同的色澤，如：草莓、葡萄及櫻桃等。一些具有醣基的醣化 delphinidin 與 cyanidin 也發現存在許多的植物中。在營養食品中添加入花青素萃取物，可以有效的使人們攝取到數個毫克的花青素。根據統計，在美國每人每天會攝取 180-250 毫克的花青素。現今，由天然植物果實中所萃取出具有高度花青素含量產物也廣泛的被接受。對於花青素的應用方面，被認為對於許多的疾病是具有有效的預防作用，如：糖尿病視網膜病變及的微血管循環疾病等，此外也具有抗發炎及化學預防作用的功效。已有許多報告指出花青素具有抗氧化活性 (12-16) 抗致突變性 (17-19)，抗癌作用 (20-22) 及降低脂質過氧化作用和 DNA 損傷 (23)。因此，本實驗探討桑椹花青素(MAC)抑制胃癌細胞生長之作用及其機制。希望由本研究，能夠得到一種天然、安全並具有保健預防效用的天然物，進一步應用於預防或延緩癌症發生的保健食品之發展。

研究目的

由衛生署公佈之台灣十大死亡原因顯示癌症仍為十大死因之首，因此如何預防或延緩癌症的發生時為刻不容緩的事。癌症的形成是透過許多複雜且多重的過程，其中形成的原因雖然被了解，但治療的效果仍然有限。目前許多研究趨向以天然物成份或複方來達到抑制癌細胞的增生及惡化，例如 Tea polyphenolic extracts, curcuminoid extracts 及 broccoli extracts (sulforaphane) 已被廣泛的應用為 chemopreventive agents，因此本研究室也致力於開發可食用之天然物中之 chemopreventive agents，希望可以由攝取食品來達到預防或延緩癌症。本研究以台灣特有之桑椹萃取物，分離之花青素及多酚探討其對人類癌細胞之作用，及抗癌之分子機制。目前世界上許多研究單位發現，癌細胞與正常細胞差別之一為無法進行一般細胞之 apoptosis，因此生長無法控制，因此本研究首先探討桑椹成份 MAS, MPE 及促進癌細胞凋謝死亡及停止細胞週期，並探討其分子機制，進一步以動物模式探討其致癌作用及作用之機

轉，俾以發展為抗癌物質。

文獻探討

對於桑椹在醫學上的報導，國外的研究甚少，只有桑椹的成分分析等，國內的研究從網路搜尋也只有花青素成份分離及鑑定等，至於其他相關植物花青素及多酚之研究則如前言所述。我們相關的研究中有關洛神花多酚及花青素亦受美國 Heart Disease Weekly (Oct. 26, 2003, page 16)及 Cardiovascular Week (Oct. 20, 2003)所重視。

研究方法

(A) 桑椹花青素(MAC)之製備

(1) MAC extracts 製備及定量

將桑椹以酸化甲醇(1% HCl)浸泡隔夜後，所得的液體以濾紙過濾後真空乾燥，所得的物質即為桑椹花青素粗萃取物，隨後以 pH 區分法定量總花青素含量。200 µg/ml 的桑椹花青素萃取物溶於 pH1.0 及 4.5 下，在以分光光度儀測其 510 及 700 nm 之吸光值，使用 $A=[(A_{510}-A_{700})_{pH1.0}-(A_{510}-A_{700})_{pH4.5}]$ 公式，與 delphinidin 標準曲線比照定量。

(2) HPLC 分析

為使 MAC 製備標準化，進一步以 HPLC 分析 cyanidin-3-glucoside 及 delphinidin-3-glucoside 之含量是必要的，將桑椹花青素萃取物溶於水中，以高效能液像層析管柱(250x4.6 mm, 5 µm Hypersil ODS), mobile phase 為 1.5% H₃PO₄、20% HPAc、MeCN in H₂O、流速為 0.5ml/min。

(B) MTT 及 apoptosis

(1) MTT 分析

調整細胞 (Hep G2, Hep 3B, AGS, MCF-7, KB) 濃度為 2×10^5 /ml，以 2 ml 之細胞沖至 microtiter plate，加入 MAC 或 MPE，培養 20 hr 後，以離心去培養基，加入 2 ml 新鮮無血清之培養基 與 200 µl MTT (5 mg/ml)繼續培養 4 hr，去除培養液後，加入 1.5 ml isopropanol，均勻分散細胞後離心，取 1 ml 上清液在 563 nm 測其吸光，分別繪圖計算出 IC₅₀，篩選出 MAC 及 MPE 作用最強之癌細胞。

(2) DNA 斷裂片段之測定

收集經 MAC 或 MPE 處理之細胞，經 800 x g, 4°C 離心 10min 後，以 .05% SDS 和 100 mM EDTA 溶解，加入 20 µg/ml RNase A，37°C, 1 hr 後，再加入 100 µg/ml proteinase K 於 50°C 處理 3 小時，再用 phenol, chloroform 和 isoamylalcohol (25:24:1) 萃取後，加入 2 倍體積之 alcohol 及 0.1 倍體積之 3 M sodium acetate (pH7.2)，置於 -20°C 過夜，沉澱物以 14700 rpm 離心 30 min，再以 DNase-free RNase 在 37°C 作用 1 hr，溶於 TE buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH8.0)，以 1.5% agarose gel eletrophoresis.

(3) 細胞內 DNA 片段之 ELISA 分析

核小體內 DNA 片段定量係利用免疫分析法，將細胞與 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 Brdu 取 100 $\mu\text{l/well}$ 加入 MAC 或 MPE，最終體積為 200 μl ，經 37°C 培養 6 hr 後，離心後取上清液 100 μl ，加入 precoated plate，反應 90 min，清洗後以微波照射 (275 Z, 650 W) 5 min，使之變性及固定，然後放入 -20°C，冷卻 10 min，加入 anti-Brdu peroxidase conjugated 溶液，作用 90 min，加入 TMB 基質，置於暗處 10 min，再以 450 nm 比色，DNA fragmentation 程度與 O.D. 成正比。

(4) Apoptosis-related proteins 分析

癌細胞經處理後，其 lysate 經 western blotting 分析 bcl-2 family (包括 Bcl-2, Bax, Bcl-xl 及 Mcl-1)，CPP 32，cytochrome C 等蛋白表現之影響。

(C) Cell cycle 分析

(1) Cell cycle distribution

經處理 0-24 hr，以 FACScan 分析，以緩衝液洗滌 2 次，在 400 x g 離心 5 min，去除上清液後加 250 μl solution A (trypsin buffer) 與細胞混合均勻，在室溫作用 10 min，再加入 solution B (trypsin 抑制劑及 RNase buffer)，作用 10 min 後以 solution C (propidium iodide stain solution) 在暗處 0°C 染色 10 min 後以 flow cytometry 分析。

(2) Cyclins, CDKs 及 p21, Rb 磷酸化

p21 及 Rb 之去磷酸化與細胞週期停止於 G0/G1 及誘導 apoptosis 有密切之關係，將經處理之癌細胞其 lysate 以 Western blotting 分析 p21, Rb, Cyclin D, E 及 CDK2, CDK4。

(3) Rb-E2F 及 cyclin-CDK association 分析 (Immunoprecipitation)

將細胞 (2×10^5 cell/ml) 培養於 10 公分的培養皿中，待細胞長至八分滿後，加入 MAC 或 MPE 處理 0, 2, 4, 6, 8, 24 小時，抽取蛋白將之定量。取適當量蛋白 (500 $\mu\text{g/ml}$)，利用免疫沉澱法 (Immunoprecipitation)，加入 1~3 μg 一級抗體 (E2F-1 或 CDK2/4)，在 4°C 下反應 overnight。隔日，將 sample 和 30 μg protein A-agarose beads 混合，同樣的，在 4°C 下繼續作用 2-6 小時。然後，以 10,000 rpm 離心 5 分鐘，移除上清液，加入 RIPA buffer 清洗，如此重複三次，最後，離心取沉澱物，加 20-30 μl sample buffer，100°C 加熱 3 分鐘，取上清液，進行 Western blot 分析 (Rb 或 CyclinE/D)。

結果與討論

(1) 桑椹花青素 (MACs) 之分離與鑑定：

取乾燥桑椹果粒秤取乾重 40g，以 0.1% 鹽酸甲醇溶液於 4°C 下浸泡，隔夜，將果實過濾後，以真空減壓濃縮機濃縮。濃縮後的溶液加入 250 ml 二次水溶解，在利用 Diaion HP-20 樹脂充填之管柱浸泡 24hr，然後，以 0.1% 鹽酸水溶液清除雜色素，在以甲醇將花青素沖提後以真空濃縮，所得產物取二次水 250ml 溶解再經真空冷凍乾燥機乾燥為粉末。所得的粉末約有 1g 左右。經換算桑椹果實內萃取的 MACs 產率有 2.5%。由

spectrophotometer 分析萃取出桑椹花青素(MACs)，其吸光值在經公式換算，而換算出所萃取出花青素純度大約有 85~95%。經 HPLC 分析，Cyanidine 的滯留時間(retention time;RT)在 20.19 min；Sample，也就是萃取出桑椹花青素(MACs)酸水溶液 RT 為 20.98min；而 sample + standard 就是兩者所合併，其 RT 在 20.19min。從結果可得，將萃取出桑椹花青素(MACs)其 cyanidine 含量大約有 21%(圖一)。

(2) 桑椹花青素(MAC)對胃癌細胞致死率之敏感度

以 MTT assay 觀察 AGS cell 加入桑椹花青素，在 0, 12, 24, 36 等不同時間點，處理 0, 1, 2, 3 mg/ml 的花青素，可以發現桑椹花青素也同樣的在濃度越高的情況之下對細胞死亡的抑制作用越強，且呈現 time-dependent 的現象。在最高濃度處理下可以將細胞死亡情況更明顯(圖二)。

(3) 處理桑椹花青素(MAC)所引起胃癌細胞凋亡的現象

由於大多數的細胞程序性死亡過程中，DNA 會被切斷成 200 kb 或 50 kb 的大分子量片段，因此，我們使用 TUNEL assay 觀察大片段 DNA 段裂片的情形。以 TUNEL assay 進行 in situ 的測試後，結果發現當細胞死亡，我們可以觀察到明顯的紅色螢光，代表有明顯 DNA 斷裂出現(圖三 A)。

(4) 處理桑椹花青素(MAC)會導致胃癌細胞的生長停滯

利用流式細胞儀來觀察細胞內 DNA 的含量比，AGS cell 加入不同濃度包括 0, 1, 2, 3 mg/ml 桑椹花青素後培養 24 小時之後，發現細胞 Sub-G1 期的 DNA 的含量由 2.62% 增加到 33.86%，增加了約 31.24%，出現 apoptosis peak 的高峰出現(圖三 B)；另外，在不同抑制劑處理下，發現當抑制 p38 蛋白表現時(加入 SB203580)，細胞 Sub-G1 期的 DNA 的含量被抑制到 5.16%。因此可知，桑椹花青素可能會經由 p38 路徑而造成 AGS cell 細胞的凋亡死亡(圖三 C)。

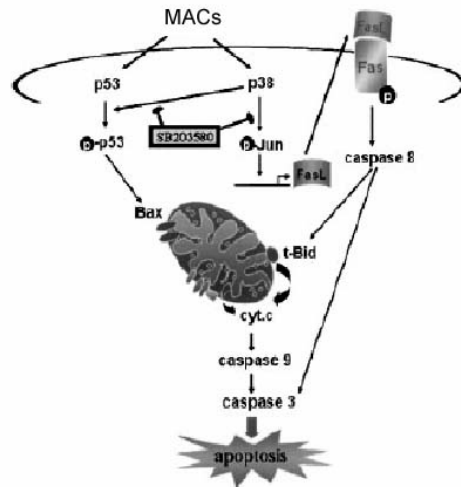
(5) 桑椹花青素(MAC)引起胃癌細胞凋亡之機制

利用西方點墨法(western blotting)來分析相關蛋白。首先，將 AGS 細胞加入桑椹花青素(3 mg/ml)，處理不同時間點(0, 30, 60, 120 min)，發現 MAPK family 蛋白 phospho-p38, phospho-c-Jun 隨著時間的增加，表現量亦增加，猜測 MAC 可能是透過 p38 路徑作用(圖四 A)；圖四 B 也觀察到 Fas, FasL 隨著 MAC 處理的濃度愈高，在 protein level 的表現量皆有上升的趨勢。另外，將不同濃度的桑椹花青素(0, 1, 2, 3 mg/ml)處理 AGS 細胞，24 小時之後，結果隨著 AGS 處理 MAC 濃度的增加，cleaved-caspase-3 及 cleaved-caspase-8 皆有顯著的表現(圖五)。此外，研究發現 Bax 及 Bid 活化形式的蛋白 tBid 的表現量則也上升。同樣的，在 MAC 的刺激下，Cytochrome c 表現量亦上升呈現 dose-dependent(圖六)。最後我們使用 p38 蛋白抑制劑 SB203580 來反證，結果亦得到相同的結果(圖七)。

結論

從以上相關的研究，我們可以得到一個結論，MAC 是透過 p38/FasL 的路徑，致使 AGS 細胞走向凋謝死亡，因此，確認 MAC 具有抑制胃癌細胞生長之作用。結果顯示桑椹為一種

天然、安全無毒性並具有預防疾病效用的天然物，能應用於預防疾病發生的保健食品之發展。希望藉由本研究為基礎，除能把桑椹發展為保健食品外，更進一步由桑椹中分離出單一有效成分，提高其效力甚至進一步在確認有效機制後，將此有效成分發展為治療癌症的藥品。



參考文獻

1. Toscano, M. A. and Lamonica, G. (1975) Pigments from *Morus nigra* fruits. *Chem. Abstr.* 83, 55669.
2. Rankin, S.M., De Whalley, C.V., Houlst, R.S., Jessup, W., Wilkins, G.M., Collard, T. and Leake, D.S. (1993) The modification of low density lipoprotein by the flavonoids muricetin and gossypetin. *Biochem. Pharmacol.*, 45, 67-75.
3. De Whalley, C.V., Rankin, S.M., Houlst, J.R., Jessup, W. and Leake, D.S. (1990) Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. *Biochem. Pharmacol.*, 39, 1743-1750.
4. Thanka, T., Kojima, T., Kawamori, T., Yoshimi, N. and Mori, H. (1993) Chemoprevention of diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis by a simple phenolic acid, protocatechuic acid in rat. *Cancer Res.*, 53, 2775-2779.
5. Thanka, T., Kawamori, T., Ohnishi, M., Okamoto, M., Mori, H. and Hara, A. (1994) Chemoprevention of 4-nitroquinoline-1-oxide-induced oral carcinogenesis by dietary protocatechuic acid during initiation and post-initiation phase. *Cancer Res.*, 54, 1359-2365.
6. Kawamori, T., Thanka, T., Kojima, T., Suzui, M., Ohnishi, M. and Mori, H. (1994) Suppression of azoxymethane-induced rat colon aberrant crypt foci by dietary protocatechuic acid. *Jpn. J. Cancer Res.*, 54, 2359-2365.
7. Thanka, T., Kawamori, T., Ohnishi, M. and Mori, H. (1995) Chemoprevention of digestive organs carcinogenesis by natural product protocatechuic acid. *Cancer (Suppl.)*, 75, 1433-1439.
8. Hirose, Y., Thanka, T., Kawamori, T., Ohnishi, M., Makita H. and Satoh, K. (1995) Chemoprevention of urinary bladder carcinogenesis by the natural phenolic compound

- protocatechuic acid in rat. *Carcinogenesis*, 16, 2337-2342.
9. Tseng, T.H., Wang, C.J., Kao, E.S. and Chu, C.Y. (1996) Hibiscus protocatechuic acid protects against oxidative damage induced by tert-butylhydroperoxide in rat primary hepatocytes. *Chem. Biol. Interact.*, 101, 137-148.
 10. Wang, C.J., Lee, M.J., Chang, M.C. and Lin, J.K. (1995) Inhibition of tumor promotion in benzo(a)pyrene-initiated CD-1 mouse skin by crocetin. *Carcinogenesis*, 16, 187-191.
 11. Tseng, T.H., Kao, T.W., Chu, C.Y., Chou, F.P., Lin, W.L. and Wang, C.J. (2000) Induction of apoptosis by Hibiscus protocatechuic acid in human leukemia cells via reduction of RB phosphorylation and Bcl-2 expression. *Biochem. Pharmacol.*, 60, 307-315.
 12. Tsuda, T., Ohshima, K., Kawakish, S. and Osawa, T. (1994) Antioxidative pigments isolated from the seeds of phaseolus vulgaris L. *J. Agric. Fd. Chem.*, 42, 248-251.
 13. Tsuda, T., Shiga, K., Ohshima, K., Kawakishi, S. and Osawa, T. (1996) Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from Phaseolus vulgaris L. *Biochem. Pharmacol.*, 52, 1033-1039.
 14. Tsuda, T., Horio, F. and Osawa, T. (1998) Dietary cyanidin 3-o- β -D-glucoside increases ex vivo oxidation resistance of serum in rats. *Lipids*, 33, 583-588.
 15. Tsuda, T., Horio, F., Kitoh, J. and Osawa, T. (1999) Protective effects of dietary cyaniding 3-o- β -D-glucoside on liver ischemia-reperfusion injury in rats. *Arch. Biochem. Biophys.*, 268, 316-366.
 16. Tsuda, T., Horio, F. and Osawa, T. (1999) Absorption and bolism of cyaniding 3-o- β -D-glucoside in rats. *FEBS Lett*, 449, 179-182.
 17. Edenharder, R., Kurz, P., John, K., Burgard, S. and Seeger, K. (1994) In vitro effect of vegetable and fruit juices on the mutagenicity of 2- amino- 3- methylimidazo [4,5- f] quinoline, 2- amino- 3,4- dimethylimidazo [4,5- f] quinoxaline and 2- amino- 3,8- methylimidazo [4,5- f] quinoline. *Fd. Chem. Toxicol.*, 32, 443-459.
 18. Eedenharder, R., Lepold, C. and Kries, M. (1995) Modifying actions of solvent extracts from fruit and vegetable residues on 2-amino-3-methylimidazo [4,5-f] quinoline (IQ), 2-amino-3,4-dimethylimidazo [4,5-f] quinoxaline (MeIQx) induced mutagenesis in Salmonella tryphimurium TA98. *Mutat. Res.*, 341, 303-318.
 19. Yishinoto, M., Okuno, S., Yoshinaga, M., Yamakawa, O., Yamaguchi, M. and Yamada, J. (1999) Antimutagenicity of sweet potato (Ipomoea batatas) roots. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 63, 537-541.
 20. Koide, T., Kamei, H., Hashimoto, Y., Kojima, T. and Hasegawa, M. (1996) Antitumor effect of hydrolyzed anthocyanin from grape rinds and red rice. *Cancer Biother. Radiopharm.*, 11, 273-277.
 21. Koide, T., Hashimoto, Y., Kamei, H., Kojima, T., Hasegawa, M. and Terabe, K. (1997) Antitumor effect of anthocyanin fractions extracted from red soybeans and red beans in vitro

and in vivo. *Cancer Biother. Radiopharm.*, 12, 277-280.

22. Hagiwara, A., Miyashita, K., Nakanishi, T., Sano, M., Tamano, S., Kadota, T., Koda, T., Nakamura, M., Imaida, K., Ito, N. and Shirai, T. (2001) Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn color, of 2- amino-1-methyl-6-phenylimidazo(4,5-6)pyridine (PhIP)-associated colorectal carcinogenesis in male F334 rats pretreated with 1,2-dimethylhydrazine, *Cancer Lett.*, 171, 17-25.
23. Ramirez-Tortosa, C., Andersen, O.M., Gardner, P.T., Morrice, P.C., Wood, S.G., Duthie, S.J., Collins, A.R. and Duthie, G.G. (2001) Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E-depleted rats, *Free Radic. Biol. Med.*, 31, 1033-1037.

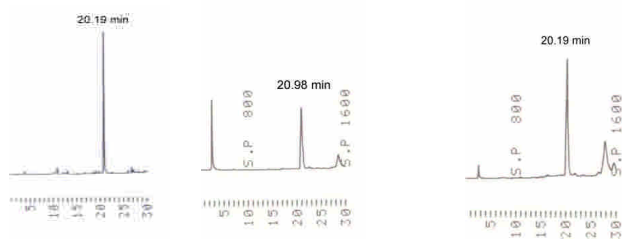
計畫成果自評

- (1) 提出桑椹花青素為新的 chemopreventive agents。
- (2) 說明抗癌的機轉。
- (3) 提供食物成份在抗癌研究的模式。

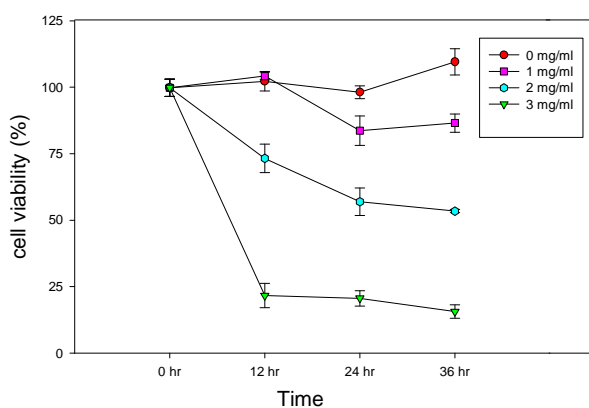
圖表

圖一：桑椹花青素(MAC)之分離與鑑定

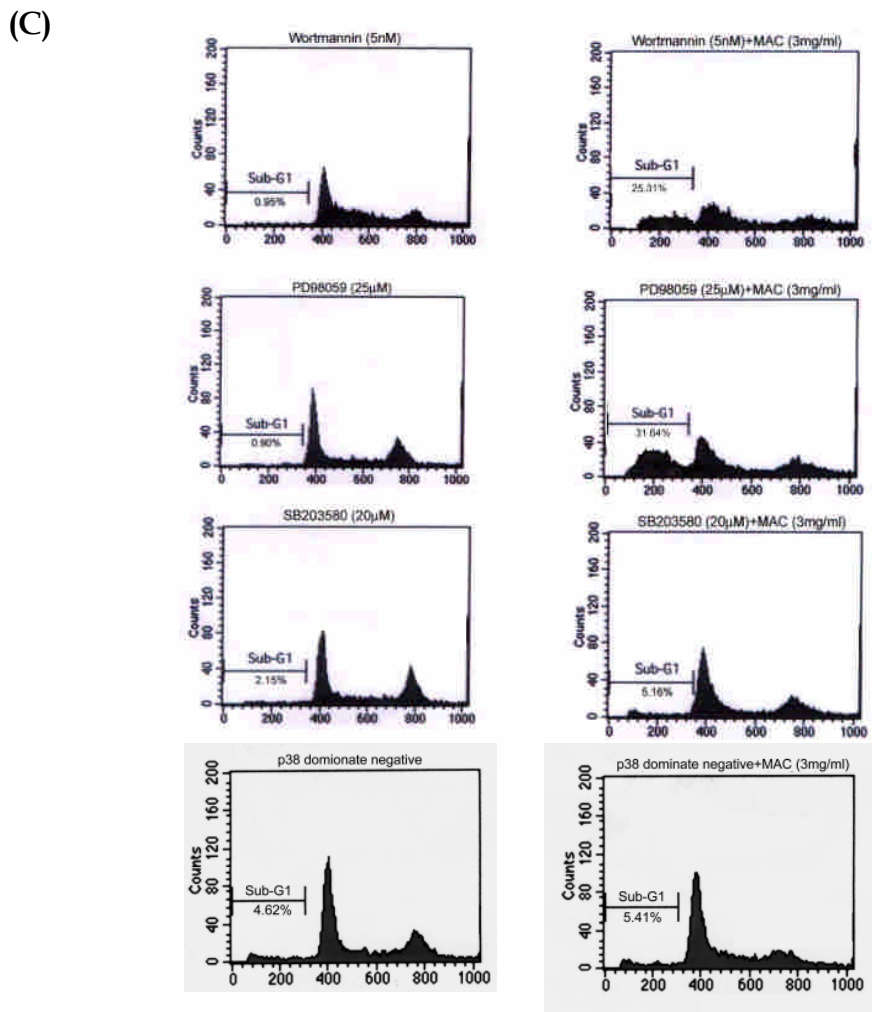
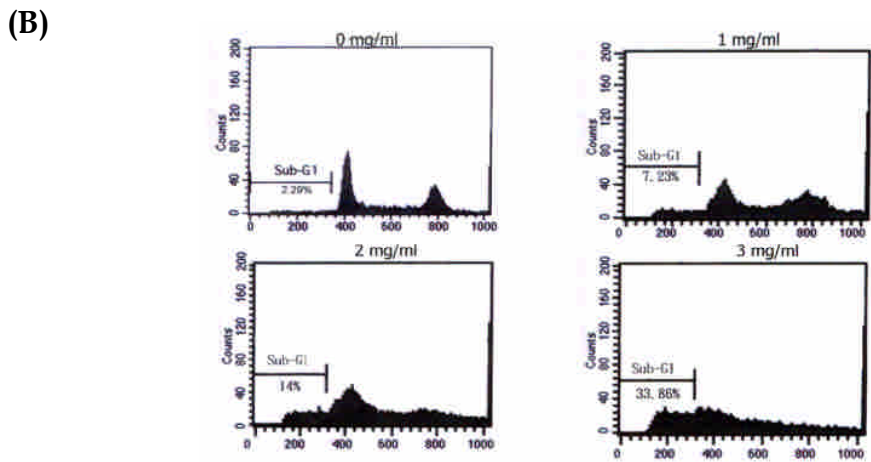
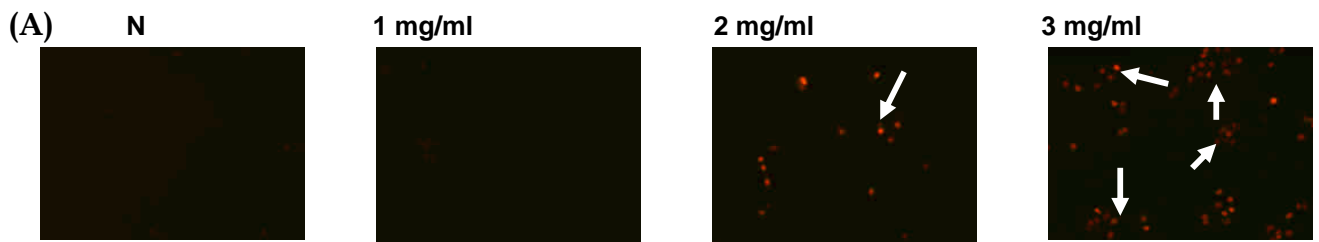
(A) Cyanidin (B) MACs (C) Cyanidin+MACs



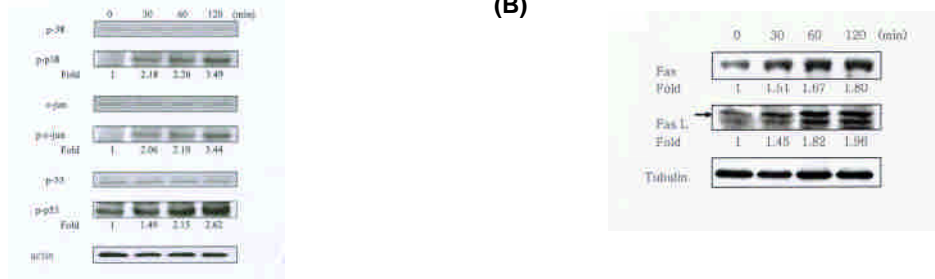
圖二：桑椹花青素(MAC) 對胃癌細胞致死率之結果(MTT assay)



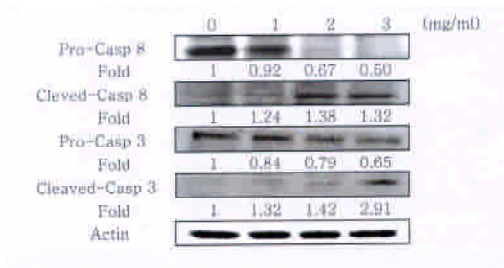
圖三：處理桑椹花青素(MAC)所引起胃癌細胞凋亡的現象(TUNEL assay)及生長週期的影響 (Flow cytometry)



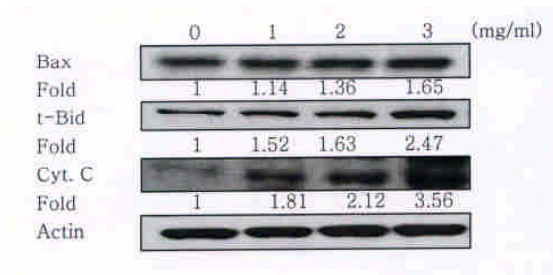
圖四：桑椹花青素(MAC)對胃癌細胞凋亡之機制一—MAPK family (Western blotting)
(A) (B)



圖五：桑椹花青素(MAC)對胃癌細胞凋亡之機制二—Casp 8 and 3 (Western blotting)



圖六：桑椹花青素(MAC)對胃癌細胞凋亡之機制三—Bcl-2 family (Western blotting)



圖七：桑椹花青素(MAC)對胃癌細胞凋亡之機制四—p38 MAPK inhibitor (SB203580) (Western blotting)

