

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

以活體動物及離體細胞培養模式探討木犀草素對於 TGF β 1
調控上皮-間質轉化及細胞轉移能力的影響及其作用機轉
研究成果報告(精簡版)

計畫類別：個別型
計畫編號：NSC 98-2320-B-343-001-
執行期間：98年10月01日至99年07月31日
執行單位：南華大學自然醫學研究所

計畫主持人：陳秋媛
共同主持人：徐士蘭

處理方式：本計畫可公開查詢

中華民國 99 年 10 月 22 日

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫

成果報告

期中進度報告

以活體動物及離體細胞培養模式探討木犀草素對於 $TGF\beta_1$ 調控上皮-
間質轉化及細胞轉移能力的影響及其作用機轉

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 98-2320-B-343 -001

執行期間：98 年 10 月 01 日起至 99 年 07 月 31 日

執行機構及系所：南華大學 自然醫學研究所

計畫主持人：陳秋媛

共同主持人：徐士蘭

計畫參與人員：林芷茹

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告 完整報告

本計畫除繳交成果報告外，另須繳交以下出國心得報告：

赴國外出差或研習心得報告

赴大陸地區出差或研習心得報告

出席國際學術會議心得報告

國際合作研究計畫國外研究報告

處理方式：除列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

中華民國 99 年 10 月 22 日

摘要

轉移性癌病變被認為是大部分癌症致死的主因，因此研發抑制肺癌轉移的治療策略是極為迫切的工作。近來的研究發現上皮-間質轉化 (Epithelial-mesenchymal transitions; EMT) 與原位癌的轉移有很大的關聯性。研究 EMT 與腫瘤轉移的分子機轉有助於研發更有效的抗癌藥。近年來許多的研究發現木犀草素可透過不同路徑抑制癌細胞生長及促使其凋亡，使其成為一值得開發的抗癌藥物，但至今尚無木犀草素抑制腫瘤轉移相關的研究報告可供參考。近年來許多研究報告指出組織纖維化與癌症的轉移惡化有相似的分子機轉。本論文研究利用具有高度轉移能力的人類肺腺癌細胞株 A549，探討金銀花中萃取的活性成分—木犀草素之抗轉移/侵入的作用及其分子機轉。由 Wound healing assay、Boyden chamber assay 及 Transwell/matrigel 的研究結果發現，前處理木犀草素，可抑制 TGF- β 1 所促進的 A549 細胞轉移/侵入。從細胞型態及 EMT 相關分子 (E-cadherin, N-cadherin、Vimentin、MMP-2 及 MMP-9) 的蛋白質及 mRNA 表現，顯示木犀草素可以抑制 TGF- β 1 的作用，抑制 A549 細胞 EMT 的現象，並恢復 E-Cadherin 之表現。基於上述明確的結果顯示，木犀草素在未來發展成為抗腫瘤轉移藥物具有極大的潛力，值得繼續深入探討其他可能的分子作用機轉路徑。

關鍵詞：TGF- β 1、Epithelial- Mesenchymal Transition (EMT)、E-cadherin、木犀草素、轉移/侵入、A549 細胞株

Abstract

It is well recognized that the majority of cancer related deaths is caused by metastatic diseases. Therefore, there is an urgent need for the development of therapeutic intervention specifically targeted to the metastatic process. Growing evidence indicate that epithelial-mesenchymal transitions (EMT) is associated with carcinogenesis, cancer invasion and metastasis. Luteolin has been known to act as a therapeutic or preventive agent for several major human cancers by regulating a variety of antitumor signaling pathways. Whether luteolin can inhibit metastasis of cancer cells remains fully unknown. To examine whether luteolin might suppress cancer cell invasion and EMT events induced by TGF- β 1, human lung adenocarcinoma A549 cell line was used. Our results showed that luteolin significantly attenuated TGF- β 1-induced A549 cell migration /invasion. This event was accompanied by modulation of the expression of EMT associated molecules (including E-cadherin, N-cadherin、Vimentin、MMP-2 and MMP-9) in both mRNA and

protein levels. Our observations suggest that luteolin has the potential to be developed as an anti-metastatic drug. The molecular mechanisms of the effects of luteolin on cancer metastasis need further explored.

Keywords: TGF- β 1, Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT), E-cadherin, Luteolin, migration /invasion, A549 cell line.

一、報告內容

(一) 前言

肺癌目前為全世界致死率最高的癌症，世界衛生組織統計指出全球每年約有 130 萬人死於肺癌，根據行政院衛生署統計，肺癌連續五年位居國內癌症死亡的第一位。由於肺癌早期症狀不易查覺，多數病人診斷時癌細胞已有局部擴散或轉移，癒後差。因此肺癌的致病過程、治療及新藥的研究極為迫切，為醫學研究者致力突破的課題。癌症一旦發生轉移，治療的難度也隨之增加。目前肺癌的治療包括手術、放射治療、化學治療，但這些治療易引起不良的副作用，且對於惡化的肺癌細胞效果非常有限。然而，中草藥自古沿用至今，對於許多疾病和症狀，甚至嚴重的傳染性疫疾皆有良好療效，相較於化學合成藥物對正常細胞殺傷力大，藥用植物對人體的傷害小，可減緩化學藥物對人體的危害，因此近幾年來，醫藥研發人員積極從中草藥中尋找並萃取可能有效的化合物，用以預防或治療西藥無法有效控制的疾病。許多研究指出，中草藥含有多種黃酮類化合物，對防治癌症生成有重要影響，本研究所使用的木犀草素 (Luteolin) 為一植物黃酮，是金銀花中萃取的活性成分。從中醫的觀點來看，金銀花具有清熱解毒及抗菌消炎的效用，常用來治療肺炎及呼吸道相關疾病，於 SARS 爆發期間，更被認為具有良好的預防和治療效果，因此近幾年內有許多學者投入了與木犀草素相關的藥理及分子機轉研究。許多實驗證明木犀草素具有廣泛的生理和藥理活性，包括清除自由基、抗病毒、抗癌、抗氧化、抗發炎等，然而，其對癌細胞轉移/侵入的作用及分子機轉，研究資料極為不足。本研究室過去的活體動物 (*in vivo*) 實驗發現，木犀草素可以有效地抑制 Bleomycin 誘發的老鼠肺炎及肺纖維化；在離體細胞 (*in vitro*) 實驗中發現，木犀草素可抑制肺纖維母細胞因 TGF- β 1 促進的 EMT 現象。因此本研究以肺癌細胞株 A549 為對象，研究木犀草素對於 TGF- β 1 刺激的肺癌細胞轉移/侵入以及 EMT 相關分子之影響，並探討其機轉。

(二) 研究目的

癌症是一高死亡率的疾病，如何有效的預防及治療癌轉移是相當迫切的重要及研究課題。目前除了少數標靶藥物之外，沒有一個特定的治療方法被認為是癌轉移的有效治療方

式，多數的藥物(多為化學合成製劑)都還在實驗階段尚未應用於癌症患者。基於前述，從天然的中草藥篩選毒性低但又可以預防及治療癌轉移的成分分子，已成為抗癌藥物研發重要的方向。本計劃將對臨床上已用於治療肺炎/肺纖維化疾病的中藥金銀花的主要活性成分，木犀草素，進行抗肺癌轉移作用的研究。本研究初步將建立明確的誘導肺癌細胞轉移的評估模式，探討木犀草素對肺癌轉移的作用機轉，最終的目標將利用小鼠肺癌轉移的罹病模式，進行活體藥物功效性的評估。

(三) 文獻探討

癌症轉移 (Metastasis)

本計劃研究之 A549 細胞為人類肺腺癌細胞株，是台灣常見的肺癌類型，大多數罹患者為不抽煙者和女性。與良性腫瘤不同的是，惡性腫瘤(癌症)多數會影響生理功能，並具有生長不受控制、侵入性及轉移三大特性[1]，其侵入周邊組織的能力是加速癌症惡化的原因，進而通過血管或淋巴轉移到其他器官，因此提升了治療的難度。臨床上發現，TGF-β 於肺癌病人的表現量明顯高於正常人，且與上皮-間質轉化(Epithelial- Mesenchymal Transition, EMT)的關係密切[2]，而 EMT 使細胞骨架重排、形態及黏附性質改變，增加細胞移動性，因此賦予癌細胞遷移與侵入的特性，造成癌細胞惡化/轉移，因此 EMT 於癌細胞轉移過程中扮演關鍵角色。

EMT 的指標分子

EMT 現象中，細胞黏附能力喪失必定伴隨分子與形態改變，包括上皮細胞結構蛋白的表現量減少，以及間質細胞結構蛋白的表現量增加。EMT 的特徵及相關指標分子如下表：

		EMT	
		上皮細胞 (Epithelial cell)	間質細胞 (Mesenchymal cell)
細胞特性	極性	非極性	
	細胞間黏附性高，有 E-Cadherin (上皮細胞黏附蛋白) 做緊密連結	細胞間黏附性低，E-Cadherin 轉化為 N-Cadherin，細胞呈細長的紡錘形態	
	細胞-底層間互相緊密黏附	細胞與基底膜之間並無連結	
	低移動能力	高移動能力	
	低侵入能力	高侵入能力	
指標分子	E-cadherin、Cdx-2、Desmoplakin、ZO-1、Claudin 1、Occludins、Cytokeratin 等	N-cadherin、Vimentin、MMPs、FSP1/S100A4、Snail (SNAI1)、Slug (SNAI2)、ZEB1、Twist、Fibronectin、Integrins αvβ6; α5β1 等	

木犀草素之藥理學研究

木犀草素和多數的黃酮類與多酚類化合物一樣，在 *in vitro* 及 *in vivo* 實驗中皆證實其擁有廣泛的藥理作用，可作為抗氧化、自由基清除及抗發炎劑[3]，以上特性可能是木犀草素具有抗癌活性的原因。雖然目前木犀草素對癌細胞轉移的影響之文獻相當少，但有些研究間接說明木犀草素可能阻止癌細胞轉移[4]，例如：一、木犀草素抑制細胞激素的產生與分泌，像是 TNF α 和 IL-6，這些細胞激素可刺激癌細胞轉移；二、木犀草素阻斷與轉移相關的訊息路徑，包括 NF κ B 和 EGFR 的活化；三、木犀草素抑制 MMP 或 Hyaluronidase 的酵素活性，維持新生血管的屏障，抑制癌細胞侵入和轉移。

(四) 研究方法

細胞株來源: 本研究使用的人類肺上皮細胞株A549，是一株人類肺腺癌細胞株，購自新竹食品工業研究所。細胞培養液配製 RPMI (5% FBS), 1% L-Glutamine (2 mM), 1 μ l/ml Sodium pyruvate (1.0 mM), 1% Penicillin/Streptomycin、1% nonessential amino acid (NEAA)。

木犀草素的配製: 木犀草素 (Mw 286.24) 粉末以每5 mg 溶於 436.6 μ l DMSO/ethanol (=1:1) 之比例配製成Stock 濃度40 mM，於 -20°C 之冰櫃避光貯存。

細胞生長之測定: Trypan blue dye exclusion 染色法

細胞轉移之分析: Wound-healing assay, Boyden chamber assay, Transwell assay/ matrigel

細胞內蛋白質之定性與定量分析: Western Blot Analysis

MMPs 的活性分析—Gelatin zymography .

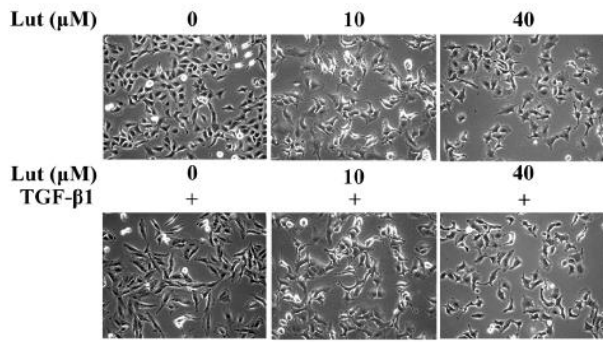
反轉錄聚合酶鏈反應 (Reverse transcription- Polymerase chain elongation reaction, RT-PCR)

統計分析- 實驗結果以平均值 \pm 標準差 (Mean \pm SD) 表示，在 $p < 0.05$ 統計上具顯著差異的條件下，使用 ANOVA 來決定實驗組之間的差異。本研究中每種處理至少三重複，同樣試驗至少重複執行三次以上。

(五) 結果及討論

1.木犀草素抑制 TGF- β 1 造成的細胞形態轉化

我們預處理不同濃度木犀草素(10 和40 μ M) 30 分鐘，再加入1 ng/ml的TGF- β 1，處理48 小時後，以顯微鏡觀察細胞型態的變化。結果發現無論預處理10或40 μ M的木犀草素，均可抑制TGF- β 1造成的細胞形態轉變(圖一)。



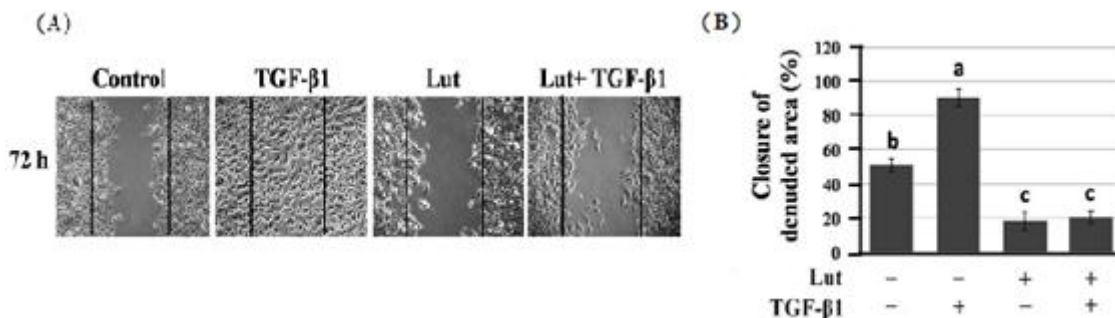
圖一、木犀草素抑制 TGF-β1 誘導之 A549 細胞形態變化。培養在 0.1 % 血清的 A549 細胞，以 0、10 及 40 μM 不同濃度的木犀草素預處理 30 分鐘後，加入或不加入 1 ng/ml TGF-β1，48 小時後，以顯微鏡觀察其細胞形態之變化。Lut：Luteolin。

2. 木犀草素抑制 TGF-β1 誘發的細胞轉移和侵入

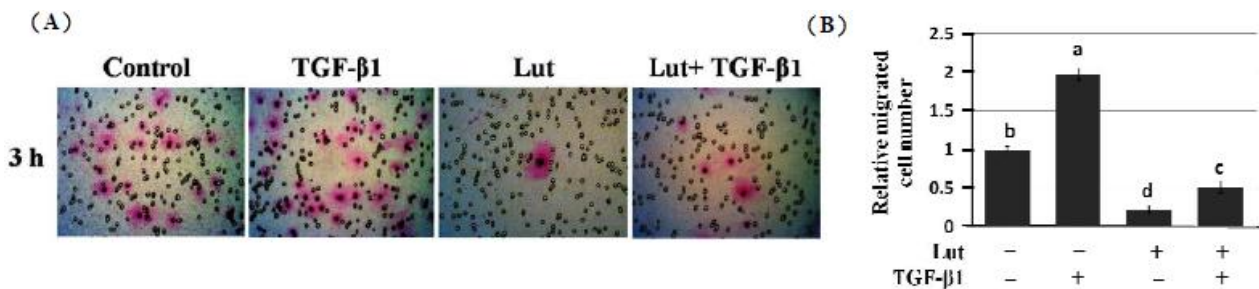
為了進一步探討木犀草素是否具有抑制 TGF-β1 誘發的細胞轉移和侵入能力，將 A549 細胞培養在無血清培養液中 24 小時，抑制細胞生長；並在低血清 (0.1% serum) 的條件下，以 Wound healing assay 檢測細胞爬行的能力。結果發現，與不處理的對照組比較 TGF-β1 確實具有促進細胞爬行之能力，處理 72 小時後，TGF-β1 處理組的細胞幾乎完全將空區填滿；然而前處理木犀草素 (10 μM) 明顯的抑制 TGF-β1 促進的細胞轉移，且在統計上具有顯著差異性 (圖二 A 和 B)。此實驗說明了木犀草素可能具有抑制細胞轉移/侵入的能力，而非單純只有抑制細胞生長之作用。

由於 Wound healing assay 無法避免細胞生長而造成的干擾，為了更清楚地探討木犀草素對 A549 細胞轉移之影響，因此以 Boyden chamber assay 直接評估細胞爬行的能力。實驗以預處理藥物方式進行 48 小時，使細胞形態轉變後再評估其爬行能力。結果顯示，TGF-β1 具有促進 A549 細胞爬行之能力，而此能力可被木犀草素抑制，此現象具統計上之顯著差異性 (圖三 A 和 B)。

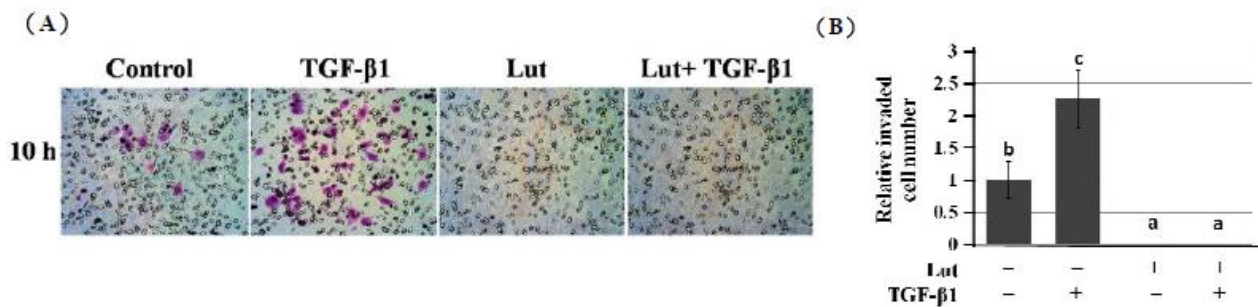
由以上兩實驗結果可得知木犀草素具有抑制 TGF-β1 誘發細胞爬行的能力，但對於 TGF-β1 誘發的細胞侵入能力是否也具有同樣抑制的效果，接著以 Transwell assay (+ matrigel) 來作探討。實驗中加入 matrigel，若細胞能分解此薄層而爬行至下腔室，代表其具有侵入能力。將細胞預處理 luteolin 48 小時後，再評估其侵入能力。結果發現 TGF-β1 增強細胞侵入的能力，而前處理木犀草素對此現象具有抑制之效果 (圖四 A 和 B)。證明了木犀草素可削減 TGF-β1 促進的 A549 細胞轉移與侵入之能力。圖二、三和四的結果也顯示，木犀草素對於肺腺癌 A549 細胞本身的轉移與侵入能力也有明顯抑制效果。



圖二、木犀草素可抑制TGF-β1誘發之癌細胞轉移能力。(A)無血清培養A549細胞，24小時後，以tip將長滿的細胞刮出一道無細胞之區域，使用0.1%血清培養並前處理0和10 μM 的木犀草素半小時後，加入或不加入1 ng/ml TGF-β1，培養72小時後，以顯微鏡照相。(B)將圖A之結果量化後經統計分析，空區內所佔的細胞比例以平均值呈現並附註標準差，多變量變異數分析法 (Multivariate analysis) 以a、b 和c代表各處理組間具有差異， $p < 0.05$ 。



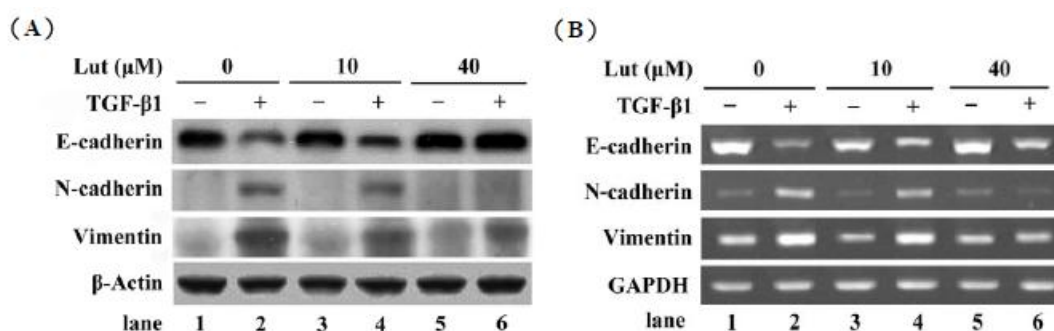
圖三、Boyden chamber assay 評估木犀草素抑制 TGF-β1誘發之A549細胞轉移之能力。(A)培養在 0.1 % 血清的A549細胞，預處理 0和10 μM的木犀草素，半小時後，加入或不加入 1 ng/ml TGF-β1。48小時後，分別將不同處理組細胞打散於無血清細胞培養液中，並調整成 2×10^4 細胞密度，加入Boyden chamber的上層腔室中，下層腔室則加入5 %血清細胞培養液，置於37°C培養箱中，3小時後，以顯微鏡觀察及拍照。(B)將圖A之結果量化後經統計分析，爬行至膜層下的細胞數目與對照組相比，以平均值呈現並附註標準差，多變量變異數分析法 (Multivariate analysis) 以以 a、b、c和 d代表各處理組間具有差異， $p < 0.05$ 。



圖四、木犀草素抑制 TGF-β1增強 A549細胞的的侵入能力。(A)培養在 0.1 % 血清的 A549細胞，預處理 0和 10 μM的木犀草素，半小時後，加入或不加入 1 ng/ml TGF-β1。 48小時後，分別將不同處理組細胞打散於無血清細胞培養液中，並調整成 2×10^4 細胞密度，加入預埋 Matrigel的 Transwell 上腔室中，下腔室則加入5 %血清細胞培養液，於 10小時後，以顯微鏡觀察及拍照。(B)將圖A之結果量化後經統計分析，以平均值呈現並附註標準差，多變量變異數分析法 (Multivariate analysis) ，以 a、b和 c代表各處理組間具有差異， $p < 0.05$ 。

3. 木犀草素對於TGF-β1 調控的EMT 指標分子表現之影響

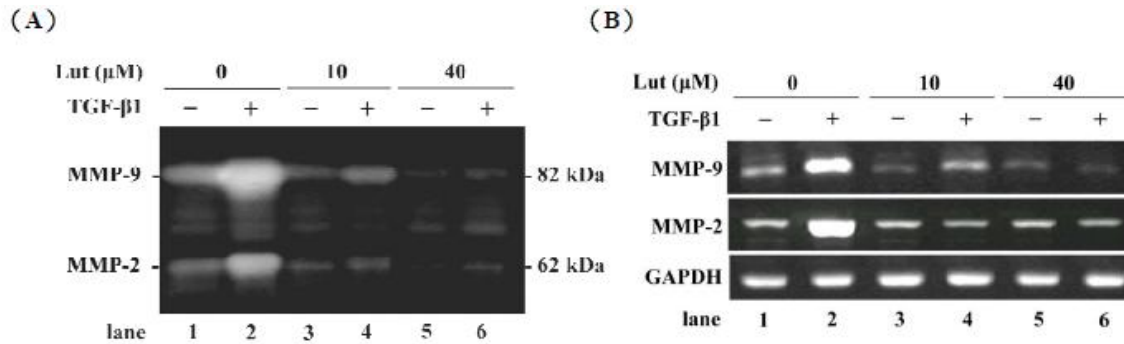
如過去文獻所見，TGF-β1 具有促進 EMT 現象之能力，導致 A549 細胞形狀改變，並促進細胞轉移。而本研究發現木犀草素對此現象具有明顯的抑制作用。EMT 過程中，細胞形態轉變伴隨許多結構蛋白的變動，包括上皮細胞結構蛋白的表現量減少，以及增加間質細胞的特性[5]。因此，我們進一步以Western blot分析法來檢測木犀草素對於TGF-β1調控的EMT相關分子表現之影響。圖五結果顯示，以TGF-β1刺激A549細胞48小時後，上皮細胞的指標分子（E-cadherin）表現減少，間質細胞的指標分子（N-cadherin和Vimentin）表現明顯增加，代表TGF-β1刺激A549細胞進行EMT。然而，木犀草素對這些分子變化有調控作用（圖五A）。由RT-PCR的分析結果顯示，木犀草素亦可調控EMT指標分子（E-cadherin、N-cadherin 和 Vimentin）的mRNA表現。由此得知，木犀草素是從基因轉錄層次調控EMT相關分子的基因表現，導致下游的蛋白產量改變。



圖五、木犀草素對 TGF-β1調控 EMT分子的蛋白質及 mRNA表現之影響。培養在 0.1 % 血清的 A549細胞，以 0、10及 40 μM不同濃度的木犀草素處理半小時後，加入或不加入 1 ng/ml TGF-β1，處理 48小時後，收集總蛋白質，以 Western blot分析 EMT相關分子（E-Cadherin、N-Cadherin及 Vimentin）的蛋白質表現(A)；處理 18小時後，收集 RNA，以 RT-PCR分析 mRNA的表現(B)。

過去文獻指出，許多具有侵入能力的癌細胞會藉由分泌MMPs來破壞組織層，而TGF-β1可刺激細胞分泌大量的MMP-2 和MMP-9（Gelatinase A和B），造成細胞外基質被分解，加劇基底膜的破壞，幫助癌細胞轉移 [6,7]。為了檢測木犀草素對MMP-2和MMP-9的影響，接著以Gelatin zymography來評估其酵素活性。Gelatin 為MMP-2和MMP-9的受質，有活性的MMP-2（62 kDa）以及MMP-9（82 kDa）可將Gelatin分解，因此我們在電泳膠裡埋入Gelatin，分析其被分解的程度。如過去文獻所見，TGF-β1增加MMP-2和MMP-9的活性，然而本論文發現木犀草素可抑制其活性增加（圖六A）。由RT-PCR的實驗結果顯示，木犀草素可透過基因轉錄層次抑制MMP-2和MMP-9的基因表現（圖六B），使MMP-2和MMP-9的蛋白表現降低，進而造成蛋白活性下降的現象。實驗結果也發現單獨處理木犀草素即可降低A549 細胞分泌

的MMP-2 和MMP-9 (圖六A)。



圖六、木犀草素降低 MMP-2和 MMP-9的活性以及 mRNA表現。無血清培養下的A549細胞，以 0、10及 40 μM不同濃度的木犀草素處理，半小時後，加入或不加入 1 ng/ml TGF-β1，於 48小時收集細胞培養液，利用 Gelatin zymography 分析 MMP-2 和 MMP-9的酵素活性(A)；於 24小時收集 RNA，以 RT-PCR分析MMP-2和MMP-9 的mRNA表現(B)。MMP：matrix metalloproteinases。

(六) 參考文獻

1. Gos M, Miloszewska J, Przybyszewska M. [Epithelial-mesenchymal transition in cancer progression]. *Postepy Biochem* 2009;55:121-128
2. Dalal BI, Keown PA, Greenberg AH. Immunocytochemical localization of secreted transforming growth factor-beta 1 to the advancing edges of primary tumors and to lymph node metastases of human mammary carcinoma. *Am J Pathol* 1993;143:381-389
3. Seelinger G, Merfort I, Schempp CM. Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-allergic activities of luteolin. *Planta Med* 2008;74:1667-1677
4. Lin Y, Shi R, Wang X, Shen HM. Luteolin, a flavonoid with potential for cancer prevention and therapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2008;8:634-646
5. Voulgari A, Pintzas A. Epithelial-mesenchymal transition in cancer metastasis: mechanisms, markers and strategies to overcome drug resistance in the clinic. *Biochim Biophys Acta* 2009;1796:75-90
6. Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev Cancer* 2002;2:161-174
7. Kim ES, Kim MS, Moon A. TGF-beta-induced upregulation of MMP-2 and MMP-9 depends on p38 MAPK, but not ERK signaling in MCF10A human breast epithelial cells. *Int J Oncol* 2004;25:1375-1382

二、計畫成果自評

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

達成目標

未達成目標（請說明，以 100 字為限）

實驗失敗 因故實驗中斷 其他原因

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文： 已發表 未發表之文稿 撰寫中 無

專利： 已獲得 申請中 無

技轉： 已技轉 洽談中 無

其他：

此計畫部分經費提供另一研究，成果已發表。

Luteolin Ameliorates Experimental Lung Fibrosis Both in Vivo and in Vitro: Implications for Therapy of Lung Fibrosis. **Chiu-Yuan Chen**, Wen-Huang Peng, Li-Chen Wu, Chun-Chi Wu, AND Shih-Lan Hsu, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, In press.

已有海報論文發表：

Chih-Ru Lin, **Chiu-Yuan Chen**, Li-Chen Wu, Shih-Lan Hsu, 「The Effects of Luteolin on TGF- β 1-mediated E-cadherin Downregulation and Cell Invasion」。第 25 屆生物醫學聯合學術年會，台北：國防醫學院，民國 99 年 3 月 27-28 日。

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）

本計畫之實驗構想及方法完全依據計劃撰寫內容執行，與主持人申請三年期計畫之第一年預定目標相符程度高達 90%，完成之工作項目如下：

(1) 本研究結果完全符合計畫之假說。以細胞模式證明木犀草素能夠抑制TGF- β 1造成肺腺癌 A549細胞的形態轉化、細胞轉移/侵入的能力以及EMT相關分子的表現(E-Cadherin、N-Cadherin及Vimentin);木犀草素也可降低因TGF- β 1刺激而增加的MMP-2和MMP-9活性。經RT-PCR的結果顯示，其是經由基因轉錄層次而調控MMP-2和MMP-9的表現。

(2) 對於參與之工作人員之訓練：對於計劃主持人而言，負責整個實驗的進行，且得以延續目前所得之初步研究結果，做進一步的分析與探討，以提升我們的學術研究的能力與表

現。訓練學生及助理熟悉生化分析、細胞培養、藥物處理等操作方法。在同時養成良好的實驗操作態度、並可加強資料的收集及統計分析、圖表的繪製等各項研究相關的知識及技術，可培養學生及助理從事基礎研究的能力。

(3) 對於學術研究之貢獻：許多 *in vitro* 和 *in vivo* 研究指出木犀草素具廣泛的抗癌作用，本研究更證實木犀草素可防止 TGF- β 1 促進肺腺癌細胞 A549 的轉移/侵入，具有相當潛力可開發為抗癌藥物。本研究提供中草藥藥物研發的臨床前資訊，可藉此建立抗癌中草藥轉譯醫學的研究平台。本研究結果證明了木犀草素可防止 TGF- β 1 促進 A549 的轉移/侵入是透過 EMT 相關分子的調控而來，針對目前的部分已具高度發表價值。此外，從文獻中已知 TGF- β /Smad、PI3K/Akt、NF κ B、MAPK/ERK 等訊息路徑可調控 E-cadherin 的轉錄因子，包括 Twist、Snail 和 ZEB，繼而影響 E-cadherin 的基因表現；木犀草素是否參與這些 EMT 上游分子的調控，是目前繼續探討的方向。

無研發成果推廣資料

98 年度專題研究計畫研究成果彙整表

計畫主持人：陳秋媛		計畫編號：98-2320-B-343-001-					
計畫名稱：以活體動物及離體細胞培養模式探討木犀草素對於 TGF β 1 調控上皮-間質轉化及細胞轉移能力的影響及其作用機轉							
成果項目		量化			單位	備註（質化說明：如數個計畫共同成果、成果列為該期刊之封面故事...等）	
		實際已達成數（被接受或已發表）	預期總達成數（含實際已達成數）	本計畫實際貢獻百分比			
國內	論文著作	期刊論文	0	0	100%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	1	1	100%		
		專書	0	0	100%		
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力（本國籍）	碩士生	4	4	100%	人次	
		博士生	0	0	100%		
		博士後研究員	0	0	100%		
		專任助理	0	0	100%		
國外	論文著作	期刊論文	0	0	100%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	0	0	100%		
		專書	0	0	100%		章/本
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力（外國籍）	碩士生	0	0	100%	人次	
		博士生	0	0	100%		
		博士後研究員	0	0	100%		
		專任助理	0	0	100%		

<p>其他成果 (無法以量化表達之成果如辦理學術活動、獲得獎項、重要國際合作、研究成果國際影響力及其他協助產業技術發展之具體效益事項等，請以文字敘述填列。)</p>	<p>此計畫部分經費提供另一研究，成果已發表。 Luteolin Ameliorates Experimental Lung Fibrosis Both in Vivo and in Vitro: Implications for Therapy of Lung Fibrosis. Chiu-Yuan Chen, Wen-Huang Peng, Li-Chen Wu, Chun-Chi Wu, AND Shih-Lan Hsu, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, In press.</p>
--	--

	成果項目	量化	名稱或內容性質簡述
科 教 處 計 畫 加 填 項 目	測驗工具(含質性與量性)	0	
	課程/模組	0	
	電腦及網路系統或工具	0	
	教材	0	
	舉辦之活動/競賽	0	
	研討會/工作坊	0	
	電子報、網站	0	
	計畫成果推廣之參與(閱聽)人數	0	

國科會補助專題研究計畫成果報告自評表

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、主要發現或其他有關價值等，作一綜合評估。

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

達成目標

未達成目標（請說明，以 100 字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文： 已發表 未發表之文稿 撰寫中 無

專利： 已獲得 申請中 無

技轉： 已技轉 洽談中 無

其他：（以 100 字為限）

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）

(1) 本研究結果完全符合計畫之假說。以細胞模式證明木犀草素能夠抑制 TGF- β 1 造成肺腺癌 A549 細胞的形態轉化、細胞轉移/侵入的能力以及 EMT 相關分子的表現 (E-Cadherin、N-Cadherin 及 Vimentin); 木犀草素也可降低因 TGF- β 1 刺激而增加的 MMP-2 和 MMP-9 活性。經 RT-PCR 的結果顯示，其是經由基因轉錄層次而調控 MMP-2 和 MMP-9 的表現。

(2) 對於學術研究之貢獻：本研究更證實木犀草素可防止 TGF- β 1 促進肺腺癌細胞 A549 的轉移/侵入，具有相當潛力可開發為抗癌藥物。本研究提供中草藥藥物研發的臨床前資訊，可藉此建立抗癌中草藥轉譯醫學的研究平台。此外，從文獻中已知 TGF- β /Smad、PI3K/Akt、NF κ B、MAPK/ERK 等訊息路徑可調控 E-cadherin 的轉錄因子，包括 Twist、Snail 和 ZEB，繼而影響 E-cadherin 的基因表現；木犀草素是否參與這些 EMT 上游分子的調控，是目前繼續探討的方向。