

第五章 討 論

？股藍是葫蘆科，？股藍屬多年生草質藤本植物，有甘和苦？類品種，故又名七葉？、甘茶蔓。具有“南方人？”之稱的？股藍，據國？外近來研究，發現含有 6 種？股藍皂？同人？皂？在化學結構上完全相同，此外還含有氨基酸、多種？生素及鋅、銅、鐵、鈣、鎂等微量元素。具有顯著的鎮？、鎮痛、消炎、抑菌、抗疲勞、抗衰老、降血脂及抗癌作用。根據構效關係認為，絞股藍皂？都具有達瑪烷型基本化學結構，凡在達瑪烷型通式 20 或 21 位碳原子連接有游離烴基的，皆有抗腫瘤活性，經由多位學者研究，不論在動物實驗或是體外實驗上，皆證明絞股藍皂？有明顯抑制腫瘤與抗癌的作用。其中武漢市醫學科學研究所使用體外實驗法，觀察了絞股藍總皂？對人類子宮頸癌細胞株（HeLa）、人肺癌細胞及小鼠腹水癌細胞的形態、分裂率和死亡率的影響，結果顯示，絞股藍總皂？ 100 $\mu\text{g/ml}$ - 400 $\mu\text{g/ml}$ 對癌細胞生長有較強抑制效用，300 $\mu\text{g/ml}$ 作用 20 小時可使癌細胞完全喪失增殖能力，並證明抑制腫瘤作用的強度與劑量有明顯的量效關係⁽³⁵⁾，然而絞股藍皂？抑制腫瘤或抗癌作用的機轉為何，並未探討，因此本研究乃進一步探討乙醯轉移酵素（N-acetyltransferase, NAT）活化致癌的機轉，是否存在人類子宮頸癌細胞株（Human cervix cancer cell line, Ca Ski and HeLa）中。

據 Takahiko Katoh 等學者在 2000 年發表於 Cancer 的文獻指出胃及大腸腫瘤和 NAT1 基因表現有關⁽⁷⁹⁾，而芳香胺類（Aromatic amine）的致癌物早被報導且已証實⁽⁸⁰⁾，如果以它餵食實驗動物會導致癌症的發生，但若直接打到體內的標的器官，並沒有造成標的器官(Target organs)的癌化⁽⁸¹⁾。經過研究後來才了解，芳香胺類的致癌作用，須先靠乙醯轉移酵素（NAT）的活化，然後經由其他酵素（如 Cytochrome P-450）的共同作用，最後再與 DNA 結合，形成 DNA 附加物（DNA-adducts）^(82,83)，最後造成標的器官的癌化。有報導指出老鼠的血液、膀胱、大腸、肝臟等皆含有 NAT⁽⁸⁴⁾，一般認為芳香胺類化合物代謝主要著重在肝臟，而血液能運送致癌物質到其他的特定器官，如膀胱、大腸⁽⁸⁵⁾。另有報導指出，當個體暴露到芳香胺類致癌物，且增加 NAT 活性時，則容易

使芳香胺類突變效應增加⁽⁸⁶⁾。另有報告指出降低肝細胞 NAT 活性，當個體暴露於致癌物 1, 6-dinitropyrene 時，可降低肝細胞癌化的產生⁽⁸⁷⁾。所以如果某種物質或藥物能抑制 NAT 的活性，是否就能夠降低癌症的發生，這是大家一直都很有興趣的問題。

臨床上，大部份子宮頸癌為鱗狀上皮細胞癌 (squamous cell carcinoma)，約佔百分之九十，其次為腺細胞癌 (adenocarcinoma) 約佔百分之五至十；在我們的研究中，是首先以子宮頸癌細胞株來探討 NAT 活性的研究，而所選擇的細胞株 Ca Ski 與 He La，則分別為常見的鱗狀上皮細胞癌與腺細胞癌。實驗結果顯示，NAT 的確存在人類子宮頸癌細胞株中，具有代謝芳香胺類 (AF) 的活性，並且受絞股藍皂? 的抑制，與濃度時間呈正相關。

其他學者亦報導，絞股藍皂? 能夠減少 DMBA 在 golden hamster 體內誘發的致癌性⁽⁸⁸⁾，但至今仍無學者提及絞股藍皂? 如何能影響人類子宮頸癌細胞株的問題，而我們的研究，乃首先提出絞股藍皂? 能夠抑制人類子宮頸癌細胞株中 NAT 的活性，但是否這樣就表示絞股藍皂? 可以減少子宮頸癌的發生或抑制子宮頸癌的生長，則需要進一步研究。

一般酵素抑制反應的型態可分為三種：1)競爭型 (competitive)：與受質競爭和酵素的結合點，而導致 Km 改變而 Vmax 不變；2)無競爭型 (noncompetitive)：抑制者結合在不同位置，但會阻斷受質轉換成代謝物，所以 Vmax 改變而 Km 不變；3)非競爭型 (uncompetitive)：乃抑制者只與受質酵素複合物結合，所以 Km 與 Vmax 都會改變⁽⁹⁷⁾，絞股藍皂? 在此實驗中能同時降低 Km 與 Vmax (kinetic constants) 的值，因此絞股藍皂? 在此反應中，扮演一個非競爭型抑制者 (uncompetitive inhibitor) 的模式。

最近更有學者指出，人類乳癌和膀胱癌的發生與肝臟內 NAT 的改變有直接關係⁽⁷³⁾，而且 AF 能在肝臟與膀胱形成大量的 DNA 附加物，對動物而言，是很強的致癌物^(49, 89)。在本研究的結果顯示，人類子宮頸癌細胞株在共同加入 AF 與絞股藍皂? 後，可以減少 DNA 附加物的產生，同樣的，單獨加入 AF 於人類子宮頸癌細胞株時，當 AF 的量增加，

產生 DNA 附加物的量也隨著增加,所以,絞股藍皂? 的確可以減少 DNA 附加物的產生,且與時間呈正相關。

從 RT-PCR 與 cDNA microarray 的結果,顯示絞股藍皂? 可以抑制 NAT mRNA 的表現,因此,導致在人類子宮頸癌細胞株中,NAT 的活性 (N-acetylation of AF) 與 DNA 附加物的產生減少,雖然,產生 DNA 附加物是化學致癌物引起癌症的第一個步驟,但要說明絞股藍皂? 可以減少 DNA 附加物產生的機轉,則需要進一步的研究。

根據研究顯示,絞股藍皂? 存在消炎與抑菌的藥理作用,其中對革蘭氏陽性病原性菌作用較?,尤其是對白喉桿菌、乙型鍊球菌、金色葡萄球菌等呼吸道及化膿性病原菌作用特??,對各種腸道病原菌也有不同程度的抑制作用。在動物實驗中,發現某些腸內菌的酵素,可以代謝活化化學致癌物^(90,91),其他研究亦證實,NAT 的確存在某些腸內菌,並具有乙醯化芳香氨類致癌物產生乙醯化衍生物的作用⁽⁹²⁾,另外,在 *K. pneumoniae*、*Salmonella* group B、*S. aureus*、*E. coli*、*N. Gonorrhoeae* 和 *H. pylori* 各菌內,確有 NAT 活性存在⁽⁹³⁻⁹⁶⁾,所以我們選擇淋菌(*N. Gonorrhoeae*),以檢測絞股藍皂? 對淋菌生長與淋菌 NAT 活性的影響。

實驗結果明顯的顯示,絞股藍皂? 可以抑制淋菌的 NAT 活性與生長,而且對 *E. coli* 和 *S. aureus* 同樣有抑制生長的作用,因此,絞股藍皂? 對淋菌而言,是一種殺菌劑。又絞股藍皂? 有抑制淋菌 NAT 活性的特性,所以檢測同樣以 AF 為受質的 kinetic constants (即 NAT 的 K_m 與 V_{max}),結果顯示 K_m 與 V_{max} 同時明顯減少,表示絞股藍皂? 對淋菌 NAT 活性,亦是非競爭型 (uncompetitive) 的抑制模式。雖然,絞股藍皂? 可以抑制淋菌的生長,但其機轉還需進一步探討。

根據研究報告指出,人類或動物暴露在芳香胺類或 N-乙醯化芳香胺類 (N-arylacetamides) 致癌物時,在其尿液中會有 N-hydroxy 代謝物的排除,這乃是靠著肝臟的 N-乙醯化 (N-acetylation) 及 N-去乙醯化 (N-deacetylation) 的能力,而這之間的平衡,NAT 基因的表現,扮演著重要的角色。肝臟通常被認為是藥物或致癌物生物轉化的一個重要器官,在各種動物肝細胞內,致癌物質被代謝而活化或被去毒性的比較研

究中，對於相對的毒性或致癌性提供了重要信息，例如在 microsome 內，致癌的 AF，若被 N-hydroxylation，則產生高度相關活性與基因突變的 N-OH 衍生物，或被 ring-hydroxylation，則產生酚類代謝物而被有效的結合或排出體外，已有研究指出，AF 被 ring-hydroxylation 的代謝物，為去毒性的代謝產物。而代謝產物中主要是醛糖酸化合物的氫胺類 (Glucuronic acid conjugates of hydroxylamines) 或 N-芳香乙醯氫胺類化合物 (N-arylacetoxyamines) (98-108)。在本實驗中，AAF 與 AAF 的代謝物，雖然大部份由小便與大便中排出，但在實驗組與控制組間並無明顯差異。

另外亦有學者指出，若將 N-OH-AAF 的醛糖酸化合物注射到大白鼠皮下時，並不會引發癌症的產生⁽¹⁰⁹⁾，可見致癌物是須經由口攝入，才能由體內的酵素進一步代謝。

至於 AF 的其他代謝產物已被證實有 1-OH-AAF、3-OH-AAF、5-OH-AAF、7-OH-AAF、8-OH-AAF、9-OH-AAF 及 N-OH-AAF 等。除了 N-OH-AAF 外，其餘的代謝物在活鼠餵食 2-AF 後其體內器官都會產生。這些代謝產物個別都可以引起器官病變，例如代謝出的 7-OH-AAF 會導致個體產生神經病變⁽¹¹⁰⁾。因為 Gyphenosides 在餵食後 8 小時血中濃度會達最高值，之後便迅速進入各組織中，24 小時後組織中只剩少量⁽⁵⁴⁾。因此在活體實驗便選擇先給予 Gyphenosides 經作用 24 小時後再給予 AF 來反應，另外再比較同時給予 Gyphenosides 與 AF 以及將只給予 2-AF 的活鼠作為控制組。結果顯示在 Gyphenosides 先作用 24 小時的活鼠體內，其代謝產物看似有減少，但真正具有統計意義的增加只有在胃及腎臟。雖然以 Gyphenosides 先作用 24 小時的活鼠其代謝產物減少，但相對的其尿液及糞便中所偵測到的代謝物也減少，且此減少的數據並未具有統計意義。因此 Gyphenosides 雖會抑制體內 NAT 代謝 AF，但也會再進一步的代謝而排出體外，所以我們可以假設 Gyphenosides 可以減少體內對致癌物 AF 的代謝而加快其排除的速率，於其機轉則有待更進一步的探討。

Gyphenosides 作用在活鼠體內、離體器官及正常細胞與癌細胞，大致都會使 AF 乙醯化成 AAF 的量減少，也就是說 Gyphenosides 會使 NAT

的活性降低，而降低的機轉則需進一步探討。