總 目 錄

	頁次
總目錄	1.
中文摘要	2.
英文摘要	3.
致謝	4.
圖目錄	5.
符號與縮寫	7.
第一章 前言	8.
第二章 緒論	10.
第三章 材料與方法	29.
第四章 結果	54.
第五章 討論	82.
第六章 結論	86.
第七章 參考文獻	88.
碩士論文電子檔案上網授權書	

NATIONAL CENTRAL LIBRARY 國家圖書館 ROC

中文摘要

在本篇研究中，藉由探討細胞增生（proliferation）、細胞週期（cell cycle）及細胞凋亡（apoptosis）等機制，評估蘆薈大黃素（aloe-emodin）對於人類前骨髓白血病細胞株（HL-60）抗癌的角色。由實驗數據發現，蘆薈大黃素對人類前骨髓白血病細胞株會抑制細胞增生、細胞週期停止在 G2/M 期(G2 / M phase arrest)及誘導細胞凋亡。同時由西方點墨法(immunobloting) 分析細胞週期素(cyclin A、cyclin B1 及 cyclin E)，結果顯示蘆薈大黃素對 cyclin E 無影響，而 cyclin A、cyclin B1 增加。分析細胞週期素激？（CDK1 及 CDK2），CDK1 增加而 CDK2 無影響。另一方面，而引發細胞週期停止在 G2/M 期之上游因子 p27 的表現量也會隨著加入蘆薈大黃素而表現量增加，故推論 p27 也許是調控促使人類前骨髓白血病細胞株發生細胞週期停止在 G2/M 期的主要因子。流式細胞儀分析實驗與 DNA 裂解實驗指出，蘆薈大黃素會誘發人類前骨髓白血病細胞株產生凋亡現象(apoptosis)；而且加入 10 μM 蘆薈大黃素處理 12、24、48 與 72 小時之後，caspase-3 的表現量增加。綜合以上之論點得之，蘆薈大黃素的抗癌活性在於抑制人類前骨髓白血病細胞株細胞增殖、引發細胞週期停止在 G2/M 期與活化 caspase-3 而促使凋亡發生。

英文摘要

In this study, we have evaluated the chemopreventive role of aloe-emodin in human promyelocytic leukemia (HL-60) cells *in vitro* by studying the regulation of proliferation, cell cycle and apoptosis. Aloe-emodin inhibited cell proliferation and induced G2/M arrest and apoptosis in HL-60 cells. Investigation on the levels of cyclins B1, E and A by immunoblot analysis showed that cyclin E level was unaffected, whereas cyclin B1 and A levels increased with increasing aloe-emodin in HL-60 cells. Investigation on the levels of cyclin-dependent kinases, Cdk1 and 2, showed that Cdk1 level was increased, where but Cdk2 level was not effected with aloe-emodin in HL-60 cells. The level of p27 was increased after HL-60 cells were cotreated with various concentrations of aloe-emodin. The increase of the levels of p27 may be the major factor for aloe-emodin to cause G2/M arrest in this examined cells. Flow cytometric assays and DNA fragmentation gel electrophoresis also confirmed that aloe-emodin induced apoptosis in HL-60 cells. The level of caspase-3 was increased after HL-60 cells were cotreated with 10 μM aloe-emodin for 12, 24, 48, and 72 hours. Taken together, aloe-emodin therefore appears to exert its anticarcinogenis properties by inhibiting proliferation and inducing cell cycle arrest and apoptosis underwent activation of caspase-3 in human leukemia HL-60 cells.

致 謝

由衷感謝吾師謝文聰博士及鍾景光教授在學業研究上的悉心指導，使本論文撰寫得以順利完成。文稿始成之初，承蒙各論文口試委員，撥冗審閱，大力斧正，提供諸多寶貴意見，使論文內容得以更臻完善，在此致上衷心的謝意。

回顧兩年研究期間，承蒙藥裡學科陳主任玉芳老師、蔡輝彥老師、林文川老師、張惠玲老師、吳介信老師、譚思濰老師、柯毅文先生、在研究和生活上的指導與關心。此外，感謝學長姐楊家欣、陳俊仁、徐美華、林孟葳、馬嘉軉、陳厚志、黃裕聰、陳怡叡、張恆源、王淑樺；同學俊旭、明哲、邦衍、靜華、伶娟、佳陽、家男、玫真和美蘭；助理睿麒、湘筠等在課業和實驗上的協助和砥礪；及學弟妹寬裕、郁婷、思穎、孟芹、詩晴、宜珊…等在生活上的鼓勵和幫助。

由衷感謝親愛的父母與姊姊於生活和精神上的支持和鼓勵，最後謹將此論文獻給所有關心、鼓勵和協助我的師長、同學和家人。

陳宣嘉 謹致於

中國醫藥學院 醫學研究所

中華民國九十二年五月

圖 目 錄

頁次

圖1. 血球細胞分化圖 15

圖2. 蘆薈大黃素的結構式 16

圖3. 細胞週期調控 21

圖4. 細胞凋亡與細胞壞死的區別 23

圖 5. 利用流式細胞儀評估存活細胞數，不同濃度之蘆薈大黃素對血癌細胞處理 48 小時後觀察細胞增生的變化 54

圖 6. 利用流式細胞儀評估存活細胞數，不同濃度之蘆薈大黃素對血癌細胞處理 12、24、48 及 72 小時後觀察細胞增生的變化 55

圖7. 利用MTT分析法，不同濃度之蘆薈大黃素對血癌細胞處理72小時後觀察細胞增生的變化 56

圖8. 以流式細胞儀評估血癌細胞形態的改變 58

圖9. 以倒立式位像差顯微鏡觀察細胞型態的改變 59

圖10. 血癌細胞經不同濃度之蘆薈大黃素處理48小時，以流式細胞儀評估血癌細胞週期的改變 61

圖11. 血癌細胞經給予或不給予蘆薈大黃素處理12、24、48及72小時，以流式細胞儀評估血癌細胞週期的改變 63

圖12. 以西方墨點法分析細胞中Cyclin B1蛋白的相對表現量 66

圖13. 以西方墨點法分析細胞中Cyclin A蛋白的相對表現量 67

圖14. 以西方墨點法分析細胞中CDK1蛋白的相對表現量 68

圖15. 以西方墨點法分析細胞中CDK2蛋白的相對表現量 69

圖16. 以西方墨點法分析細胞中p27蛋白的相對表現量 70

圖17. 以西方墨點法分析細胞中p21蛋白的相對表現量 71

圖18. 以流式細胞儀分析細胞中Cyclin A蛋白的相對表現量 72

圖19. 以流式細胞儀分析細胞中Cyclin B1蛋白的相對表現量 73

圖20. 用流式細胞儀分析細胞內 Sub-G1的比例 75

圖21. 利用電泳檢測是否有細胞核內的DNA裂解 76

圖22. 以西方墨點法分析細胞中Caspase 8蛋白的相對表現量 78

圖23. 以西方墨點法分析細胞中Caspase 9蛋白的相對表現量 79

圖24. 以西方墨點法分析細胞中Caspase 3蛋白的相對表現量 80

符號與縮寫

BSA ：Bovine serum albumin

CDK ：Cyclin-dependent kinase

CDKI ：Cyclin-dependent kinase inhibitor

DMSO ：Dimethyl sulfoxide

ELISA ：Enzyme-linked immunosorbent assay

FACS ：Flow cytometry

FBS ：Fetal bovine serum

PARP：Poly(ADP-ribose) polymerase

PBS ：Phosphate buffered saline

PI ：Propidium iodide