

第三章 研究架構與研究設計

第一節 研究設計

基於想要進一步瞭解黃酮類化合物對接受化學藥物治療中的肝癌病人有何影響，我們利用不同癌化程度的人類肝細胞株來模擬肝癌的各臨床分期（clinical stages），例如 Chang liver 可代表正在轉形的肝細胞或肝癌初期；HepG2 則可代表已癌變的肝細胞或肝癌中期。在藥物的選擇上，我們選取了涵蓋五大類不同結構的具代表性的黃酮類化合物共 24 種（表 2-2），與目前常用於肝癌化學治療的柔紅黴素做合併使用（co-treatment）。

第二節 研究架構

首先，我們利用本實驗室所架構的 Chang liver/AP-1 及 HepG2/AP-1 重組細胞株加入 TPA，並加入不同濃度的柔紅黴素，以驗證柔紅黴素對 AP-1 抑制的效用。接著，在 Chang liver 及 HepG2 細胞株中加入不同濃度的柔紅黴素並做細胞週期分析，做為下一階段實驗時使用柔紅黴素的濃度的參考（圖 3-1A）。

在決定柔紅黴素的實驗使用濃度之後，我們以 Chang liver 細胞株做為實驗材料，加入我們所選取的 24 種黃酮類化合物及柔紅黴素，然後做細胞週期分析，試圖找出對柔紅黴素所造成的 G2-M arrest 有協同作用（synergistic effect）的黃酮類並做進一步的分析（圖 3-1B）。

第三節 研究假說

根據我們先前的研究，發現 TPA 能藉由誘發 AP-1 的活性而引起肝細胞轉形；而 AP-1 的抑制劑也可透過抑制 AP-1 的活性來抑制由 TPA 所誘發的肝細胞轉形；同時，我們也發現有些黃酮類化合物可以調控 AP-1 的活性（賴, 2000）。曾有學者利用人類攝護腺癌細胞株做為實驗材料，結果發現一種飲食中常見的黃酮類化合物—silibinin 能有效的促進柔紅黴素所誘發的細胞生長停滯、G2-M arrest 及凋亡（Tyagi *et al.*, 2002）。所以，我們大膽假設有些黃酮類化合物可以抑

制、或促進肝細胞的轉形，並對柔紅黴素在肝細胞所誘發的 G2-M arrest 有所影響。

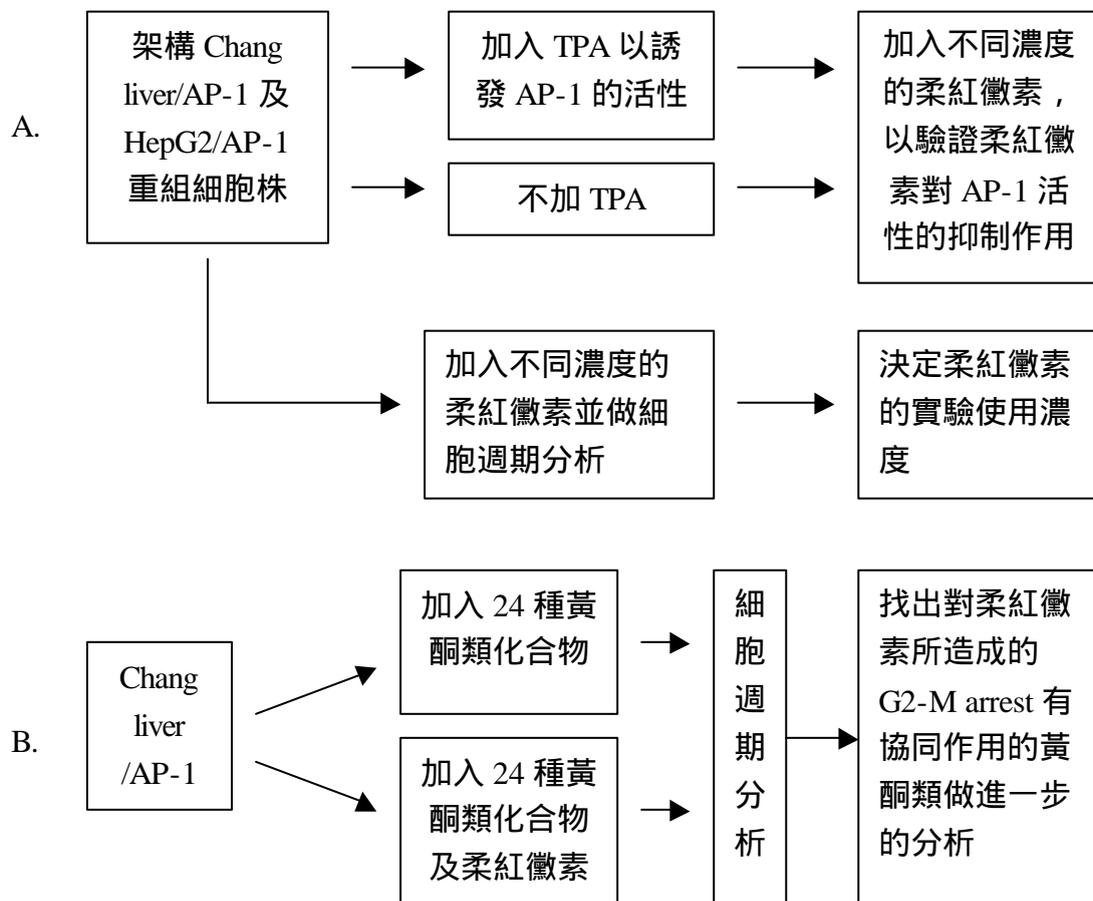


圖 3-1、本論文的研究架構。

A.首先，我們在 Chang liver/AP-1 及 HepG2/AP-1 重組細胞株中加入 TPA，並加入不同濃度的柔紅黴素，以驗證柔紅黴素對 AP-1 抑制的效用。接著，在 Chang liver/AP-1 及 HepG2/AP-1 細胞株中加入不同濃度的柔紅黴素並做細胞週期分析，做為下一階段實驗時使用柔紅黴素的濃度的參考。B.在決定柔紅黴素的實驗使用濃度之後，我們以 Chang liver/AP-1 細胞株做為實驗材料，加入我們所選取的 24 種黃酮類化合物及柔紅黴素，然後做細胞週期分析，試圖找出對柔紅黴素所造成的 G2-M arrest 有協同作用（synergistic effect）的黃酮類並做進一步的分析。