

編號：CCMP94-RD-046

中藥材薏苡萃取物對免疫調控因子基因表現之調控—對於腫瘤細胞與惡質化的影響

謝長堯

台大醫院

摘 要

薏苡為重要的抗發炎作用之中藥材。在本研究中我們主要探討薏苡萃取物對免疫調控因子 IL-6 及 COX-2 基因表現之調控，以及探討薏苡運用於腫瘤放射線治療過程產生的惡質化現象之可行性與機轉。

研究結果發現薏苡萃取物中的組成物 4-ketopinoresinol 對細胞內主要調控 IL-6 及 COX-2 基因的轉錄因子 (transcription factor) NF- κ B 的活性具有抑制作用。實驗結果顯示 4-ketopino-resinol 是經由抑制血清誘發 IKB α 的磷酸化作用而抑制 NF- κ B 的細胞核內轉移與其對核酸序列的結合能力，也因此導致 NF- κ B 的活性受到抑制進而抑制血清誘發腫瘤細胞產生 IL-6 及 COX-2 的作用。4-ketopinoresinol 抑制血清誘發 IL-6 的作用存在於人類臍帶靜脈血管內皮細胞(HUVEC)、人類單核球細胞 (THP-1) 及小鼠脂肪細胞 (3T3L-1) 模式，此外放射線刺激人類臍帶靜脈血管內皮細胞產生 IL-6 的作用也會被 4-ketopinoresinol 所抑制。4-ketopinoresinol 抑制 COX-2 的作用則也存在於 LPS 誘發小鼠巨噬細胞 (RAW264.7) 產生 COX-2 的模式中。探討薏苡運用於腫瘤放射線治療過程產生的惡質化現象之研究部分，研究結果顯示 20%的糙薏苡攝食取代能穩定放射線治療過程中小鼠的體重變化。機轉探討上，實驗結果顯示源自接受放射線治療且餵食糙薏苡組別的小鼠血清相較於單純接受放射線治療組別的小鼠血清，對於小鼠脂肪細胞的脂肪堆積作用有較好的效果，此外，我們也發現利用小鼠 IL-6 中和抗體預先去除血清中 IL-6 則能增加單純接受放射線治療組別的小鼠血清對小鼠脂肪細胞的脂肪堆積作用。本計畫之整體研究結果顯示薏苡自古以來的免疫調控角色確實具有抗發炎的作用，而此特性

應該具有臨床應用之發展潛力。

關鍵詞：薏苡、放射線治療、惡質化、抗發炎

Number: CCMP94-RD-046

Effects of Chinese Herb-Adlay on Inflammatory Cytokine Regulation-on Tumor Cells and Cachexia

Chang-Yao Hsieh

National Taiwan University Hospital

ABSTRACT

Adlay is used as an anti-inflammatory herb in the Chinese traditional therapy. In this study, we try to clarify the mechanism of its immune modulated effect and try to find out the appropriate application of Adlay on clinical use.

The results indicated that the pure compound 4-ketopinoresinol could significantly inhibit the activity of NF- κ B, including, inhibits NF- κ B nuclear translocation and binding activity through inhibition of the serum induced upper stream IKB α phosphorylation. The inhibition effect of 4-ketopinoresinol on serum induced IL-6 expression also could be found in HUVEC, human monocyte (THP-1) and mice preadipocyte (3T3L-1) models. Furthermore, the biological effect of radiation stimulated HUVEC IL-6 expression as well as LPS induced COX-2 expression in RAW264.7 cells could be blocked by 4-ketopinoresinol. In the study of the effect of Adlay on radiotherapy induced cachexia, the result shows that 20% of Adaly replacement in the food could stabilize the body weight lose in mice during the radiotherapy. We confirmed the mechanism by using the serum from mice which receive the radiotherapy alone or combine with Adlay to culture with 3T3L-1 cells for measuring the lipid accumulation. The result indicated that the serum from radiotherapy combined with Adlay could enhance 3T3L-1 cells lipid accumulation better than radiotherapy alone group. Interestingly, the pre-treatment

of mice IL-6 neutralizing antibody with the serum from radiotherapy alone group could recover the effect of lipid accumulation in 3T3L-1 cells. We conclude that the Chinese herb adlay did have biological effect of immune modulated especially in anti-inflammation, and this suggests its potentiality for tumor therapy related cachexia.

Keywords: adlay, radiotherapy, cachexia, anti-inflammation

壹、前言

本計畫的研究主旨為釐清重要的中藥材薏苡對於細胞免疫調控因子基因表現之調控機轉，以擴展薏苡及其萃取物或組成物在臨床上的應用。在行政院衛生署基因體中醫藥科技專案計畫補助下已經完成：一、確認薏苡對於抗腫瘤的功效。二、利用 DNA 微陣列為基礎之全基因分析篩選出薏苡萃取物對腫瘤細胞的作用基因，並確認這些作用基因在蛋白質層次及細胞生理功能上的影響。三、薏苡之抗發炎效應具有增強放射線治療效果的作用。然而我們的機轉研究中發現不同薏苡組成物具有不同功能，此機制與中藥複方之理論相符，也因此仍然有其他作用機轉有待釐清。我們在薏苡與放射線治療併用的研究中發現薏苡攝食取代能降低放射線治療誘發的 IL-6，也會使得治療過程中小鼠的體重變化穩定。因此我們認為應進一步探討薏苡運用於預防腫瘤本身或治療過程產生的惡質化 (cachexia) 現象的可行性。期望達到發展中醫藥輔助治療來增進治療效果或降低副作用以提昇癌症病患之生活品質的發展方向。

本研究計劃規劃為兩個部分：第一個部分將針對薏苡對腫瘤細胞免疫調控因子基因表現之調控影響進行探討，我們先前發現薏苡組成物中，以目前僅在薏苡中被發現的 4-ketopinosin (已發表於 *J Agric Food Chem.*, 2002.; Kuo YH. et.al)，對腫瘤細胞 IL-6 的產生具有良好抑制作用。初步結果顯示 4-ketopinosin 會抑制 NF- κ B 的活性。然而詳細機轉仍然有待釐清。此外，NF- κ B 的活性調節在免疫反應調節上具有重要角色，因此我們將對薏苡組成物如何抑制 NF- κ B 的活性，以及 NF- κ B 受抑制後其下游調控之免疫相關基因的變化進行探討。第二部份為探討薏苡運用於預防腫瘤本身或治療過程產生的惡質化 (cachexia) 現象，我們在薏苡與放射線治療併用的研究中發現薏苡攝食取代能降低放射線治療誘發的 IL-6，也會使得治療過程中小鼠的體重變化穩定。因此我們認為應進一步探討薏苡運用於預防腫瘤本身或治療過程產生的惡質化 (cachexia) 現象的可行性。

貳、材料與方法

本實驗所使用之薏苡材料為民國九十年三月委請台中區農業改良場和農民契作台中選育四號，並於同年七月中採收。薏苡組成物 4-ketopinoresinol 由郭悅雄教授實驗室分離純化、定性定量後提供。

第一個部分針對薏苡對腫瘤細胞免疫調控因子基因表現之調控影響進行探討：

一、探討薏苡殼甲醇萃取物組成物 4-ketopinoresinol 對腫瘤細胞 NF- κ B 的活性調控影響

(一) 細胞培養：我們使用人類正常的纖維母細胞 (MRC-5)、血管內皮細胞 (HUVEC)、人類巨噬細胞 (THP-1) 源自 ATCC 的 2 株子宮頸癌 (SiHa、HeLa) 細胞株、小鼠巨噬細胞 (RAW264.7)、小鼠脂肪前趨細胞 (3T3L-1)。不同細胞所需之培養液之組成及配製完全依照 ATCC 的規範，細胞皆在相對濕度 9.8%、37°C、含 5% CO₂ 的培養箱中培養。

(二) NF- κ B 的活性測試：運用 NF- κ B promoter reporter assay，以血清誘發 NF- κ B 活性。測試薏苡組成物對血清誘發 NF- κ B 活性的影響。抑制結果顯著者進一步進行下列機轉探討：

1. 是否影響 NF- κ B 上游調控分子 IKBa 之活化：利用西方墨點法測試 IKBa 蛋白質之磷酸化程度。
2. 是否影響 NF- κ B p50 及 p65 單元的核膜內位移：西方墨點法分析：分離實驗組控制組細胞蛋白質依照預偵測分子大小以適當濃度 SDS-PAGE 分離，轉漬到 polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane，利用不同的專一性抗體作免疫墨點法。利用含過氧化酶的二級抗體偵測一級抗體，最後用加強性的化學螢光法偵測系統偵測。
3. 是否影響核膜內 NF- κ B 的結合能力：利用 Electrophoretic mobility shift assay (EMSA) 方式進行研究。
4. NF- κ B 下游調控之免疫相關基因表現情況測試：本部分研究分別以腫瘤細胞、人類正常的纖維母細胞 (fibroblast)、血管內皮細胞 (HUVEC)、人類巨噬細胞 (THP-1) 以血清誘發免疫相關基因蛋白質 COX-2、iNos、interleukin-1, 2, 6, 8, 10,

TGF-beta, TNF-alpha。或以 lipopolysaccharide (LPS) 誘發小鼠巨噬細胞 (RAW264.7) 免疫相關基因蛋白質 COX-2。

第二部份為探討薏苡運用於預防腫瘤本身或治療過程產生的惡質化 (cachexia) 現象：

二、實驗內容將探討薏苡攝食是否會使得腫瘤放射線治療過程中小鼠的體重變化穩定

(一) 以下實驗使用之放射線治療動物模式為將 Lewis lung carcinoma (LLC-LM) 腫瘤細胞植入 C57BL/6 小鼠腿部後第七天⁽³⁸⁾，開始給予如同臨床使用之放射線治療 (每天照射 10Gy 共五天)。並同時給予薏苡攝食，每三天量測記錄小鼠體重。試驗過程中每週二次收集老鼠血清以 EIA 的方式分析其血液中內產生之發炎反應蛋白質 IL-6 的變化。

(二) 脂肪細胞分化測試

以小鼠脂肪前趨細胞 (3T3L-1) 測試薏苡餵食之小鼠血清組對 3T3L-1 脂肪堆積的影響。3T3L-1 細胞先處理 MDI (0.5mM methylisobutylxanthine, 1 μ M dexamethasone, 865 nM insulin) 48 小時，再以 insulin 單獨處理 48 小時。再以不同組別的小鼠血清培養 8 天。接著以 Oil Red O 進行脂肪染色並以 isopropanol 溶解染色顆粒後以波長 510nm 的 OD 值進行定量。

(三) 統計分析：細胞實驗與動物實驗均重複三次或以上。實驗結果以 student T test 進行統計分析。p < 0.05 為顯著差異。

參、結果

第一個部分針對薏苡對細胞免疫調控因子基因表現之調控影響進行探討：主要將針對薏苡組成物 4-ketopinoresinol 如何抑制 NF- κ B 的活性，以及 NF- κ B 受抑制後其下游調控之免疫相關基因的變化進行探討。

一、4-ketopinoresinol 劑量選擇及毒性測試

本研究主要使用的薏苡，由外觀可分為薏苡殼、種皮、麩皮、精白薏仁，其型態顯示如 Fig. 1。先前的研究中我們已經由薏苡殼甲醇萃取物的組成物中找到 4-ketopinoresinol（已由郭悅雄教授發表於 J Agric Food Chem. 2002.），其化學結構式如 Fig. 2a。4-ketopinoresinol 與另一個同樣存在於薏苡殼的分子 Mayuenolide，在化學結構上僅差一個甲基如 Fig. 2a，但兩者對血清誘發子宮頸癌細胞株 SiHa 產生 IL-6 如 Fig. 2b，有不同程度的抑制效果。因此在本研究中我們持續探討 4-ketopinoresinol 對細胞免疫調控因子基因表現之調控影響進行探討。先前的研究中我們已經測試出其對子宮頸癌細胞株 SiHa、HeLa 的半致死劑量 20ug/ml，然而 4-ketopinoresinol 對其他細胞的毒性劑量效應仍需釐清。基於應用之合理性及其在天然物中含量比例的考量下，在本研究中我們以 4-ketopinoresinol 100ng/ml 之劑量以 MTT assay 方式對子宮頸癌細胞株 SiHa、HeLa 及人類正常的纖維母細胞 (MRC-5)、血管內皮細胞 (HUVEC)、人類巨噬細胞 (THP-1)、小鼠巨噬細胞 (RAW264.7) 進行 48 小時的細胞毒性測試。實驗結果顯示如 Fig. 3，相較於 100ng/ml 的 Taxol，1ug/ml 之 4-ketopinoresinol 僅對人類巨噬細胞 (THP-1) 具有些微細胞毒性，48 小時的存活率為 $87\pm 12\%$ ，對其他種類之細胞則無細胞毒性。由於我們先前在腫瘤細胞 SiHa、HeLa 所使用之 4-ketopinoresinol 劑量為 50ng/ml，因此為了使研究結果得以相互比較，後續研究仍以 50ng/ml 為作用濃度。

二、4-ketopinoresinol 對不同細胞株 NF- κ B 活性之效應

NF- κ B 是已知調控免疫相關基因的轉譯分子，在此部分的研究主要探討 4-ketopinoresinol 對不同細胞株 NF- κ B 活性之效應。我們將 NF- κ B promoter-luciferase reporter plasmid 運用 Transfast reagent 分別轉殖入子宮頸癌細胞株 SiHa、HeLa 及人類正常的纖維母細胞 (MRC-5)、血管內皮細胞 (HUVEC)、人類巨噬細胞 (THP-1)、小鼠巨噬細胞 (RAW264.7) 後 24 小時，先 serum starvation 24 小時 (HUVEC 為 6 小時)，再將細胞分別預先處理 4-ketopinoresinol

(50ng/ml)，再以 10%血清 (HUVEC 為 20%、RAW264.7 為 LPS 100ng/ml) 誘發各種細胞 NF- κ B 活性。以測試 4-ketopinoresinol 對血清誘發 NF- κ B 活性的影響如 Fig.4a。實驗結果顯示儘管血清在不同細胞株中誘發 NF- κ B promoter-luciferase activity 的倍數不同 (2.8~8.9) 然而 4-ketopinoresinol 皆能對各細胞株之誘發倍數產生顯著差異的抑制效果。此外，在 LPS 誘發 NF- κ B 活性的模式中如 Fig.4b，4-ketopinoresinol 亦能對 LPS 誘發小鼠巨噬細胞 (RAW264.7) 之 NF- κ B 活性倍數產生具顯著差異的抑制效果。在先前的研究中，我們已經由西方墨點法分析知道 4-ketopinoresinol 能抑制血清誘發子宮頸癌細胞株 HeLa 之 NF- κ B 的核膜內位移 (Fig. 5b)，以及由 Electrophoretic mobility shift assay (EMSA) 方式分析結果顯示之抑制核膜內 NF- κ B 對核酸的結合能力 (Fig. 5c)。我們進一步利用西方墨點法測試 4-ketopinoresinol 是否影響 NF- κ B 上游調控分子 I κ B α 之活化，研究結果顯示 4-ketopinoresinol 也能抑制血清誘發 I κ B α 蛋白質之磷酸化程度 (Fig. 5a)。以上之實驗結果顯示薏苡組成物 4-ketopinoresinol 可能是經由阻斷 I κ B α 蛋白質之磷酸化而抑制血清誘發 NF- κ B 的核膜內位移及其對核酸的結合能力等活性。然而 4-ketopinoresinol 對 NF- κ B 活性抑制之特殊性，仍有待後續研究釐清。

三、4-ketopinoresinol 對 NF- κ B 下游調控之免疫相關基因表現情況測試

在釐清 4-ketopinoresinol 作 NF- κ B 活性抑制機轉後，我們進一步運用不同細胞模式探討其對 NF- κ B 下游調控之免疫相關基因表現之影響。此部分研究分別以腫瘤細胞 HeLa、SiHa，人類正常的纖維母細胞 (MRC-5)、血管內皮細胞 (HUVEC)、人類巨噬細胞 (THP-1) 以血清誘發免疫相關基因蛋白質表現，並與預先處理 4-ketopinoresinol (50ng/ml) 在加入血清誘發免疫相關基因蛋白質表現之組別進行比較。上述細胞先 serum starvation 24 小時 (HUVEC 為 6 小時) 再預先處理 4-ketopinoresinol (50ng/ml) 1 小時後再加入血清誘發免疫相關基因表現。24 小時後收集細胞上清液以 EIA 方式檢測各種免疫相關基因蛋白質表現。由於不同細胞對特定免疫相關基因蛋白質表現的數量級有很大差別，為了比較上的明顯效果，數據以倍數方式呈現於 Fig.6。實驗結果顯示 interleukin-1 β (Fig. 6a), interleukin-2 (Fig. 6b), interleukin-6 (Fig. 6c), interleukin-8 (Fig. 6d), interleukin-10 (Fig. 6e), TGF-beta (Fig. 6f), TNF-alpha (Fig. 6g), COX-2 (以測試其下

游產物 PGE₂ 表示) (Fig. 6h)。以 lipopolysaccharide (LPS) 誘發小鼠巨噬細胞 (RAW264.7) 免疫相關基因蛋白質 COX-2 (以測試其下游產物 PGE₂ 表示) (Fig. 6i)、IL-6(Fig.6j) 等免疫相關基因儘管在不同種類細胞中具有不同的表現倍數，然而 4-ketopinoresinol 對它們皆具有統計意義 (圖中“*”， $p < 0.05$)，對於無法受血清誘發或無法被 4-ketopinoresinol 完全抑制的種類細胞及其免疫相關基因，我們的解釋是其調控機轉可能不止 NF- κ B 一種轉譯分子。此部分的研究結果顯示薏苡組成物 4-ketopinoresinol 對細胞免疫調控因子基因表現之調控主要透過對抑制 NF- κ B 上游調控分子 I κ B α 蛋白質之磷酸化而抑制血清誘發 NF- κ B 的核膜內位移及其對核酸的結合能力等活性。我們將此結論以卡通圖方式表示如 Fig.7。事實上目前 4-ketopinoresinol 仍受限於人工合成的困難與天然萃取的繁瑣，日後若能量產，相信值得對細胞之各項生物效應進行探討。

第二部份為探討薏苡運用於預防腫瘤本身或治療過程產生的惡質化 (cachexia) 現象：主要運用動物試驗探討薏苡運用於預防腫瘤本身或治療過程產生的惡質化 (cachexia) 現象的可行性及其機轉。我們之前的研究顯示放射線使用劑量越高確實能對腫瘤產生越好的治療效果如圖 Fig. 8a，然而高劑量的放射線卻會造成小鼠體重在短時間內下降，臨床上此體重下降情況若達 5%，即稱為惡質化 (cachexia)。腫瘤病人中有超過 2/3 會在其治療過程中發生惡質化現象。近年來的研究顯示惡質化現象與免疫調控因子的過量表現有關，基於薏苡抗發炎的特性，因此我們以薏苡攝食取代 (混於飼料) 探討其運用於預防腫瘤本身或治療過程產生的惡質化現象的效果。我們將薏苡籽實研磨成粉狀後混於飼料，其型態顯示如圖 Fig. 8b。以先前測試結果顯示 20% 的攝食取代含量比例作為本次研究之用量。實驗設計顯示如圖 Fig. 8c，主要分為兩大組，分別比較小鼠之腫瘤在有接受放射線治療與未接受放射線治療情況下的體中變化、腫瘤大小、血中免疫調控因子 IL-6 濃度之變化。第一部份，探討在未接受放射線治療情況下薏苡攝食取代對腫瘤之效應。C57BL/6J 小鼠於 LLC 腫瘤細胞後第五天開始給予 20% 的薏苡攝食取代 (20% Adaly)，控制組則只給予飼料 (vehicle)，從植入 LLC 腫瘤細胞開始每四天記錄一次體重以及由尾巴進行採血，第八天開始每四天量測記錄一次腫瘤大小，體積以長徑乘短徑平方再除以二計算。此部分研究在第二十八天將小鼠犧牲 (此時腫瘤已經大到長徑約 20mm)，實驗共重複三次，每種條件每次雌雄各五隻共計有 30 隻。第二部份，探討在接受放射

線治療情況下薏苡攝食取代對腫瘤之效應。實驗方式如同上述，放射線治療開始於 LLC 腫瘤細胞植入後第八天，此時右腿形成約 5mm 大小之腫瘤。放射線治療以 5Gy/day 處理 5 天的方式進行（第八至第十二天），餵食 20% 的薏苡攝食取代的實驗共分三組，一組由 LLC 腫瘤細胞植入後第五天開始給予 ((p)20%Adaly)，一組由 LLC 腫瘤細胞植入後第十二天（結束放射線治療後）開始給予 ((A)20%Adaly)，控制組則只給予飼料 (vehicle)。本組小鼠也由植入 LLC 腫瘤細胞開始每四天記錄一次體重以及由尾巴進行採血，第八天開始每四天量測記錄一次腫瘤大小，體積以長徑 X 短徑平方再除以二計算。此部分研究在第四十四天將小鼠犧牲（此時開始有小鼠因肺臟轉移死亡），實驗共重複三次，每種條件每次雌雄各五隻共計有 30 隻。

第一部份的實驗結果如 Fig. 9, a 圖顯示單純給予 20% 的薏苡攝食取代對 LLC 腫瘤生長是無法控制的, b 圖顯示放射線治療對於 LLC 腫瘤生長具有良好的抑制作用, 雖然在第五天就開始給予 20% 的薏苡攝食取代的組別中, 前二十八天的 LLC 腫瘤生長似乎較其他兩組為緩慢但整個實驗期的統計而言並無統計上的差異 ($p=0.742$)。因此就 LLC 腫瘤治療而言, 放射線治療顯然扮演更關鍵的角色。我們將給予 20% 的薏苡攝食 (有或無) 與放射線治療 (有或無) 的四種組合之組別中, 挑出最典型的小鼠腫瘤部位拍照如圖 Fig. 10, 顯示薏苡攝食取代對 LLC 腫瘤生長無法控制, 然而給予 20% 的薏苡攝食的小鼠其腿部皮膚損傷 (圓圈部分) 似乎較緩和其體毛存在較多。薏苡籽實攝食取代對小鼠體重的研究結果如圖 Fig. 11, a 圖顯示未接受治療情況下, 單純給予 20% 的薏苡攝食取代組與控制組中小鼠體重並無差異, b 圖顯示放射線治療對於小鼠體重具有抑制作用, 然而在第五天就開始給予 20% 的薏苡攝食取代的組別中, 小鼠體重降低的情況明顯比控制組為緩和, 並具有統計意義 ($p=0.033$), 第十二天 (結束放射線治療後) 才開始給予 20% 的薏苡攝食取代的組別中 ((A)20%Adaly), 小鼠體重降低的情況則與控制組相似, 與控制組亦無統計意義 ($p=0.271$)。如果針對第五天就開始給予與第十二天 (結束放射線治療後) 才開始給予 20% 的薏苡之組別進行比較, 則顯示放射治療前即給予的效果優於放射治療結束後才給 ($p=0.025$)。

近年來臨床上的研究顯示腫瘤本身或治療所引起的體內 IL-6 濃度升高導致人體在病程中體重下降惡質化 (Cachexia) 的原因之一, 因此我們以 EIA 方式測試實驗過程中所收集的小鼠血清中 IL-6 的濃度。如圖 Fig. 12, a 圖顯示未接受治療情況下, 單純給予 20% 的薏苡

攝食取代組中小鼠血清中 IL-6 的濃度似乎比與控制組中小鼠血清中 IL-6 的濃度略低，然而兩組之間無統計意義 ($p=0.148$)。b 圖顯示放射線治療對於小鼠血清中 IL-6 的濃度具有引發作用，然而在第五天就開始給予 20%的薏苡攝食取代的組別中，小鼠血清中 IL-6 的濃度變化情況明顯比控制組為緩和，並具有統計意義 ($p=0.03$)，第十二天（結束放射線治療後）才開始給予 20%的薏苡攝食取代的組別中 ((A)20%Adaly)，小鼠血清中 IL-6 的濃度變化雖然在第十六到二十四天程度低於控制組，然而就整個實驗時程而言並無統計意義 ($p=0.67$)。如果針對第五天就開始給予與第十二天（結束放射線治療後）才開始給予 20%的薏苡之組別進行比較，則顯示放射治療前即給予的效果優於放射治療結束後才給 ($p=0.02$)。

我們進一步以三組研究中 IL-6 差異最大時間點（第二十天）的小鼠血清進行小鼠脂肪細胞前趨細胞 (3T3L-1) 脂肪堆積試驗，實驗結果如圖 Fig. 13，顯示以未接受放射線治療 (control) 之血清引發 3T3L-1 脂肪堆積為 100%而言，接受放射線治療但只給予飼料 (vehicle) 組其血清引發 3T3L-1 脂肪堆積為 $74\pm 8.1\%$ ，在第五天就開始給予 20%的薏苡攝食取代的組別中 ((P)20% Adaly)，其血清引發 3T3L-1 脂肪堆積為 $92\pm 7.4\%$ 。第十二天（結束放射線治療後）才開始給予 20%的薏苡攝食取代的組別中 ((A)20% Adaly)，其血清引發 3T3L-1 脂肪堆積為 $81\pm 9.2\%$ 。

統計分析顯示接受放射線治療但只給予飼料(vehicle)組血清相較於未接受放射線治療組血清確實會顯著影響 3T3L-1 脂肪堆積 ($*p<0.05$)。而 ((P)20%Adaly) 組別顯示，第五天就開始給予 20%的薏苡攝食取代之血清確實會顯著減緩放射線降低的 3T3L-1 脂肪堆積 ($*p<0.05$)。我們也測試血清中 IL-6 扮演的角色，利用專一性抗體中和 (vehicle) 組其血清血清中 IL-6，再進行 3T3L-1 脂肪堆積測試。結果發現去除 IL-6 確實會顯著減緩放射線降低的 3T3L-1 脂肪堆積 ($*p<0.05$)，近年來已經有許多關於脂肪代謝基因被證實與惡質化現象有關，因此未來薏苡運用於惡質化現象的機轉研究方向，可針對薏苡是否影響脂肪代謝基因進行探討。

綜合以上結果，我們以卡通圖作圖解如 Fig.14，我們認為薏苡籽實中的成份物質可能經由抑制 NF- κ B 活化而影響細胞 IL-6 的表現，攝食取代確實能降低放射線治療過程誘發的小鼠血清中 IL-6 上升，而此效應可能與影響體內脂肪正常堆積有關。然而本研究中薏苡 20%的攝食取代含量比例，雖然就實際人體飲食而言略高，但其為日後濃

縮劑型的合理用量，關於此問題是值得薏苡保健食品在開發運用上需要特別注意。

肆、討論

中醫藥是華人數千年來累積的智慧結晶，也被公認為台灣在生物科技發展方面的強項及最有希望及潛力的領域之一，政府推動中草藥的發展的層級越來越高，在衛生署及經濟部都有專職推動中草藥發展的部門，顯示如何加速國內中草藥具備國際性競爭力成為國內產官學界積極努力的課題。中醫藥基因體相關研究計畫主要是利用基因體學之結果，瞭解中醫藥與基因表現之關係，以建立中醫理論之實證基礎，加速中醫藥之現代化；並作為同病異治、異病同治之依據，促進中西醫學相輔成。薏苡為跨部會保健食品研究發展計畫的重點項目之一，自古以來薏苡即為藥食兼用的食物一直是供作中藥材和食補的材料。傳統漢藥書中記載薏仁在人體內具有除濕利尿、健脾益胃、養顏美容、消炎抗腫瘤、墮胎等功效⁽¹⁻⁵⁾。薏仁也含有豐富的六大類營養素，具抗腫、去除贅疣、抗過敏、降血脂、降血糖和誘發排卵等功效。薏苡適於國內種植，是水田轉作的有利作物，且對於現代人容易罹患之癌症、心血管疾病、糖尿病、氣喘過敏、以及腸胃不適等病症具有功效，是值得深入探討研究的中草藥，也是活用幾千年來中醫食療知識，配合現代科技建立及開發具東方特色有療效之食材。我們期望藉由科學性的研究，適切運用其作用機轉達到應用於輔助癌症治療的發展方向。

近年來的研究報告上顯示薏苡具有下列生理機能性：一、抗腫瘤作用：近年來研究顯示薏苡籽實萃取物、薏仁、薏仁油、及薏仁加工製品均具有抗腫瘤的功效。在人體模式下，含薏仁之複方中藥與薏仁酯乳化注射劑分別對胃癌、食道癌與肺癌患者治療皆有效。目前薏苡中已被鑑定具有抗腫瘤發展潛力的成分共計有 17 種，包括：8 種酚類 (vanillin, p-hydroxybenzaldehyde, syringaldehyde, w-hydroxypropioiguaiacone, trans-p-coumaric acid, syringic acid, ferulic acid, vanillic acid)、2 種類黃酮 (naringenin, tricin)、3 種脂肪酸 (oleic acid, linoleic acid, linolenic acid)、以及 beta-sitosterol, trypsin inhibitor, alpha-monolinolein, coixinolide。二、抗氧化作用：前人運用亞麻油酸過氧化試驗研究 107 種中藥之抗氧化性，發現薏仁抑制氧化百分率達 70%⁽¹¹⁾。薏苡甲醇萃取物具有很好的抗氧化能力，其抗氧化效果 TBARS 與 POV 皆明顯優於維生素 E⁽⁹⁾。此外，薏仁的水與丙二醇萃取物也具有較高的超氧陰離子自由基的清除效果⁽⁹⁾；糙薏仁去除正己烷之甲醇萃取物在 200ppm 的過氧化抑制率為 67%，進一步進行抗氧化機制的研究發現，其具有還原力，和清除 DPPH 自由基的能力及金屬螯合能力。薏苡各區分抗氧化能力分

別為：薏苡殼、薏苡種皮、糙薏仁、精白薏仁，且經分離純化後得到一些具抗氧化之活性成分⁽⁹⁾。三、抗發炎作用：在 RAW264.7 細胞模式下，四種薏苡籽實萃取物（薏苡殼甲醇萃取物 AHM、薏苡種皮甲醇萃取物 ATM、薏苡麩皮甲醇萃取物 ABM、薏苡種皮的高溫水萃取物 ATHW）能明顯同時抑制經 LPS 誘發產生之 COX-2 和 iNOS 蛋白質的表現量⁽³⁾，且薏苡殼、種皮以及麩皮的甲醇萃取物也發現具有抑制巨噬細胞經刺激後 NO 的產生⁽⁴⁾。目前，薏苡分離純化出消炎成分有 Syringaldehyde⁽¹¹⁻¹²⁾、Sinapaldehyde⁽¹³⁾、Coniferyl alcohol⁽¹⁴⁾、trans-p-Coumaric acid⁽¹⁵⁾、Syringic acid⁽¹⁶⁾、Ferulic acid⁽¹⁷⁾、Narigenin⁽¹⁸⁾、Stigmasterol⁽¹⁹⁾、 β -Sitosterol⁽²⁰⁾、coixol⁽²¹⁾等，藉由抑制 COX-2 活性、抑制 Lipoxigenase 活性、抑制巨噬細胞產生 NO 以及 superoxide、抑制 myeloperoxidase 活性、抑制 Neutrophil 遷移到發炎組織等達到消炎的效果。四、調節血糖血脂：體外試驗中糙薏仁甲醇抽出物於劑量 40ug/ml 下，對人體膽固醇脂轉移蛋白（cholesteryl ester transfer protein, CETP）活性抑制率為 20-30%（IC₅₀ 約 65-100ug/ml）⁽³⁾。在動物實驗中也證明糙薏仁甲醇抽出物能降低動物血漿中 CETP、三酸甘油酯濃度以及肝臟膽固醇含量，另外亦可升高血漿 HDL，具有降血脂作用⁽²²⁾。Takahashi 等將薏仁分離出 Coixan A, B, C 具有調節血糖的活性⁽¹³⁾，此外亦有研究指出薏仁具有緩和血糖上升的能力⁽¹⁴⁾。五、改善腸道菌叢作用：以糙薏仁取代部分動物飼料的實驗發現，20%及 40%糙薏仁取代組可以明顯增加 Sprague- Dawley 大鼠盲腸中短鏈脂肪酸總量，其中 40%取代組可以顯著增加醋酸、丙酸和丁酸含量，具有調節腸道生理的效果，同時也具有顯著增加腸內乳酸菌並減少大腸桿菌的作用^(15, 23)。六、調節賀爾蒙：薏苡成分 coixol 在動物實驗上發現，具有促進腦下腺前葉分泌 LH 及 FSH 的作用。此外，在薏苡粗萃物上也發現具有同樣效果⁽¹⁶⁾。動物實驗上也發現具有促進排卵的作用⁽¹⁷⁾。

本計畫與醫療保健之相關性：薏仁是藥食兼用的食物，自古以來一直是供作中藥材和食補的材料，屬禾本科一年生草本植物，學名為 *Coix lachryma-jobi* L. var. *mayuen* Stapf，又稱薏珠子、鳩麥、草珠子等，日文名稱為鳩麥，英文名為 adlay, Job's tears。薏苡為本省山野間零星栽培之小作物，本省目前主要集中在中部彰化縣二林鎮、台中縣大雅鄉及南投縣草屯鎮…等地，每年栽培約 200 公頃左右，由於其保健功效漸被肯定，其栽種面積可望逐年增加⁽¹⁾。在薏苡傳統療效方面，中國傳統醫學中，薏苡始記載於「神農本草經」，列為上品，味甘淡、氣微寒，為養命、應天、無毒，久服多服不傷身，輕身、益氣，不老長生之君藥。本

草綱目謂「薏苡，氣味甘、微寒，無毒。益胃健脾、治水腫濕痺、腳氣疝氣、泄痢熱淋、補肺清熱、治風熱筋急拘攣」。其他如本草經解也有提及薏苡功效，故在中國與日本的民間療法中，薏苡被用來補肺、益胃、利尿、清熱、利濕、消炎、鎮痛、去風濕、強筋骨、抗痙攣、止消渴、治腳氣、抗腫瘤等。薏仁營養價值高，且適於國內栽種，對於現代人容易罹患之癌症、心血管疾病、糖尿病、慢性發炎疾病等初步實驗數據顯示有預防或治療的功效，基於中醫食療理論基礎，相當具有應用於保健方面之潛力。癌症是國人最主要的死亡原因，由於研究顯示罹患率會與日俱增，因此由醫療保健達到對癌症的預防與治療是十分重要的問題。因此如何運用薏苡來增強癌症治療效果或減少治療產生之副作用，成為臨床與基礎研究上值得探討的問題。

伍、結論與建議

綜合我們的基礎與動物試驗結果，我們針對本計畫成果提出之結論為：薏苡組成物中至少含有例如 4-ketopinoresinol 的分子，能經由抑制 NF- κ B 活化而影響細胞 IL-6 的表現，攝食取代確實能降低放射線治療過程誘發的小鼠血清中 IL-6 上升，而此效應可能與影響體內脂肪正常堆積有關。此外，我們認為本身即具有治療效果但卻有發炎副作用的放射線治療為探討免疫調節性中藥於腫瘤輔助臨床應用的最佳切入點。在動物試驗中我們確認了薏苡運用於預防腫瘤本身或治療過程產生的惡質化 (cachexia) 運用的可行性，機轉研究上則試著以薏苡籽實中的成份物質可能經由抑制 NF- κ B 活化而影響細胞 IL-6 的表現來解釋。我們必須承認薏苡能預防治療過程產生的惡質化的現象，機轉應該不只一個。尤其薏苡的組成屬於複合物，因此仍須更多研究，我們認為此情況與許多中藥材蘊含無限奧秘一樣需要科學化的驗證以增添其運用價值。

誌謝

本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會，計畫編號 CCMP94-RD-046 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. 江文章、徐明麗、蘇瑞弒、龐飛：薏仁加工食品輔助抑制腫瘤功效之評估。
醫護科技學刊 2000；1(2)：113_121。
2. 林方宜：薏苡種皮油溶性成分分離純化。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文，1999。
3. 杜姿瑩：糙薏仁降血脂作用之研究。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文，1999。
4. 徐明麗、林璧鳳、江文章：糙仁對致敏鼠過敏反應之影響。*中華民國營養學合雜誌* 1998；23(2)：161-170。
5. 黃士禮、陳瑤峰、江文章：省產薏苡籽實中胺基酸脂肪酸和一般組成分分析。*食品科學* 1994；21：67-74。
6. 黃士禮：薏苡籽實貯藏條件抗突變效應及抗腫瘤效果之研究。博士論文，1996。
7. 黃士禮、江文章：薏苡籽實各部位之化學組成分及其丙酮萃取物黃士禮之抗突變效應。*食品科學* 1999；26：121-130。
8. 簡雅琳：薏苡殼油溶性萃取物的抗致突變性成分之分離與純化。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文，1998。
9. 劉桂萍：薏苡殼甲醇萃取物清除自由基成分之分離純化。國立台灣大學食品科技研究所碩士論文，2000。
10. Ukita, T., Tanimura, A. : Studies on the antitumor components in the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* (Roman.) Stapf. I. Isolation and antitumor activity of coixenolide. *Chem. Pharm. Bull* 1961; 9: 43-46.
11. Tanimura, A.: Studies on the antitumor components in the seeds of *Coix lachryma-jobi* L var. *ma-yuen* (Roman.) Stapf. II. The structure of coixenolide. *Chem. Pharm. Bull* 1961; 9: 47-53.
12. Nagao, T., Otsuka, H., Kohda, H., Sato, T., Yamasaki, K.: Benzoxazinone from *Coix lachryma-jobi* L var. *ma-yuen*. *Phytochemistry* 1985; 24: 2959-2962.
13. Takahashi, M., Konno, C., Hikino, H.: Isolation and hypoglycemic activity of coixan A, B, C, glycans of *Coix lachryma-jobi* var. *ma-yuen* seeds. *Planta Med* 1986; 52: 64-65.

14. Park, Y., Suzuki, H., Lee, Y. S., Hayakawa, S., Wada, S.: Effect of coix on plasma, liver, and fecal lipid components in the rat fed on lard or soybean oil cholesterol diet. *Biochem. Med. Metab. Biol* 1988; 39: 11-17.
15. Hidaka, Y., Kaneda, T., Amino, N., Miyai, K.: Chinese medicine, coix seeds increase peripheral cytotoxic T and NK cells. *Biotherapy* 1992; 5: 201-203.
16. Check, J. B., K'Ombut, F. O.: The effect on fibrinolytic system of blood plasma of Wistar rats after feeding them with Coix mixed diet. *E. Afr. Med. J* 1995; 72: 51-55.
17. Kondo, Y., Nakajima, K., Nozoe, S., Suzuki, S.: Isolation of ovulatory-active substances from crops of Job's tears (Coix lachryma-jobi var. ma-yuen stapf.). *Chem. Pharm. Bull.* 1998; 36: 3147-3152.
18. Otsuka, H., Hirai, Y., Nagao, T., Yamaski, K.: Antiinflammatory activity of benzoxaninoids from roots of Coix lachryma-jobi. *L. var. ma-yuen. J. Nat. Prod* 1988; 51: 74-79.
19. Tsai, C. E., Yang, L. J., Hsu, H. C.: Ingestion of adlay may reduce liver fat accumulation in hamsters fed high fat diets. *Food Sci* 1999; 26: 265-276.
20. Shyu, M. L., Lin, B. F., Chiang, W.: Effect of dehulled adlay on allergic responses of sensitized mice. *Nutr. Sci. J* 1998; 23: 161-170.
21. Huang, S. L., Chiang, W.: Composition of the different fractions of adlay seed and the demutagenic effect of their acetone extract. *Food Sci* 1999; 26: 121-130.
22. Tu, Z.-Y.: Studies on the hypolipidemic effect of dehulled adlay. M.S. Thesis, Graduate Institute of Food Science and Technology, National Taiwan University, Taipei, 1999.
23. Chiang, W., Cheng, C. Y., Chiang, M. T., Chung, K. T.: Effects of dehulled adlay on the culture count of some microbiota and their metabolism in the gastrointestinal tract of rats. *J. Agric. Food Chem* 2000; 48: 829-832.
24. Pyo H, Choy H, Amorino GP, Kim JS, Cao Q, Hercules SK, DuBois RN: A selective cyclooxygenase-2 inhibitor, NS-398, enhances the effect of radiation in vitro and in vivo preferentially on the cells that express cyclooxygenase-2. *Clin Cancer Res.* 2001; (10): 2998-3005.
25. Quarmby S, Kumar P, Kumar S.: Radiation-induced normal tissue injury: role

- of adhesion molecules in leukocyte-endothelial cell interactions. *Int J Cancer* 1999; 82(3): 385-95.
26. Camphausen K, Moses MA, Beecken WD, Khan MK, Folkman J, O'Reilly MS.: Radiation therapy to a primary tumor accelerates metastatic growth in mice. *Cancer Res* 2001; 61(5): 2207-11.
27. Folkman J, Camphausen K.: What does radiotherapy do to endothelial cells? *Science* 2001; 293(5528): 227-8.
28. Huang SP, Wu MS, Wang HP, Yang CS, Kuo ML, Lin JT.: Correlation between serum levels of interleukin-6 and vascular endothelial growth factor in gastric carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; (11): 1165-9.
29. Pecoits-Filho R, Araujo MR, Lindholm B, Stenvinkel P, Abensur H, Romao JE Jr, Marcondes M, De Oliveira AH, Noronha IL.: Plasma and dialysate IL-6 and VEGF concentrations are associated with high peritoneal solute transport rate. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 8: 1480-6.
30. Raju U, Nakata E, Yang P, Newman RA, Ang KK, Milas L.: In vitro enhancement of tumor cell radiosensitivity by a selective inhibitor of cyclooxygenase-2 enzyme: mechanistic considerations. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002; 54(3): 886-94.
31. Landuyt W, Ahmed B, Nuyts S, Theys J, Op de Beeck M, Rijnders A, Anne J, van Oosterom A, van den Bogaert W, Lambin P.: In vivo antitumor effect of vascular targeting combined with either ionizing radiation or anti-angiogenesis treatment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 49(2): 443-50.
32. Salgado R, Junius S, Benoy I, Van Dam P, Vermeulen P, Van Marck E, Huget P, Dirix LY.: Circulating interleukin-6 predicts survival in patients with metastatic breast cancer. *Int J Cancer* 2003; 103(5): 642-6.

柒、圖

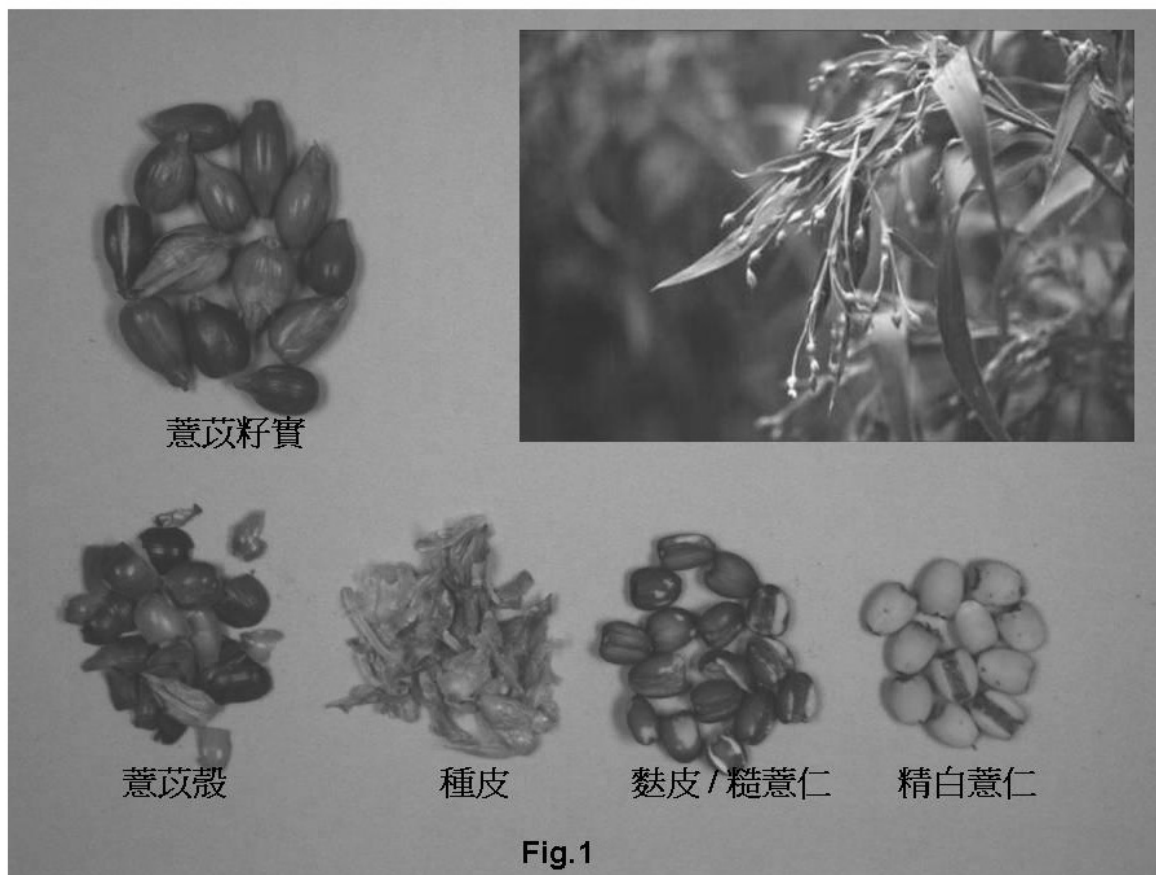


Fig.1 本研究主要使用的薏苡，由外觀可分為薏苡殼、種皮、麩皮、精白薏仁。

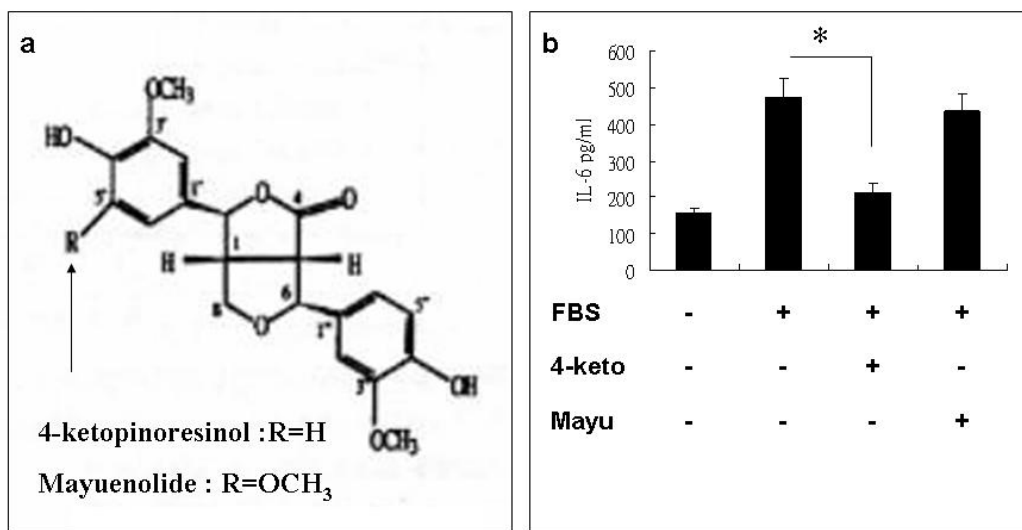


Fig. 2 4-ketopinoresinol 之化學結構式如 Fig. 2a。4-ketopinoresinol 與另一個同樣存在於薏苡殼的分子 Mayuolide，在化學結構上僅差一個甲基如 Fig. 2a，但兩者對血清誘發子宮頸癌細胞株 SiHa 產生 IL-6 如 Fig. 2b，有不同程度的抑制效果。(圖中“*”， $p < 0.05$)。

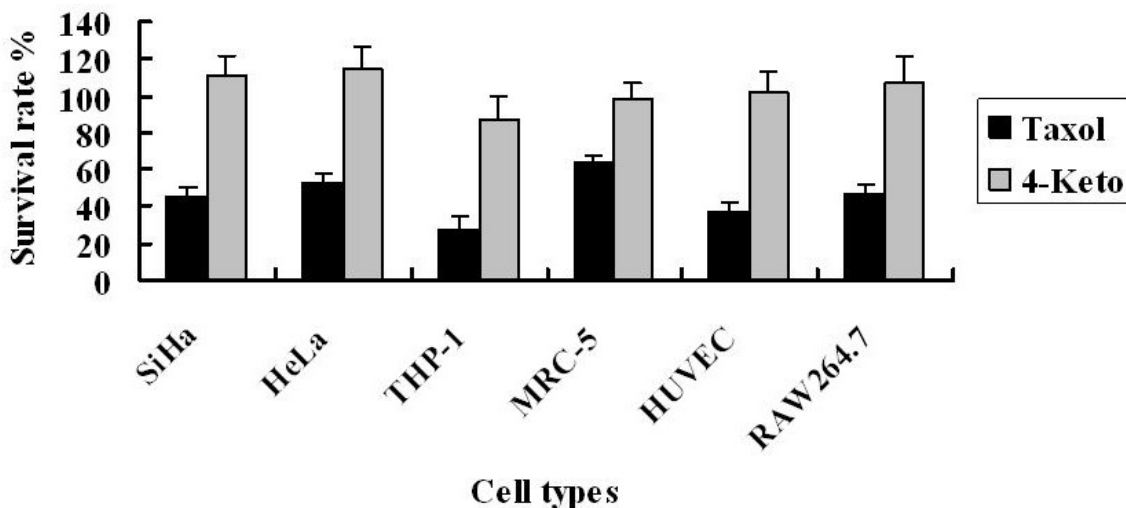


Fig. 3 4-ketopinoresinol 之細胞毒性測試。100ng/ml 之 4-ketopinoresinol 劑量以 MTT assay 方式對子宮頸癌細胞株 SiHa、HeLa 及人類正常的纖維母細胞 (MRC-5)、血管內皮細胞 (HUVEC)、人類巨噬細胞 (THP-1)、小鼠巨噬細胞 (RAW264.7) 進行 48 小時的細胞毒性測試。

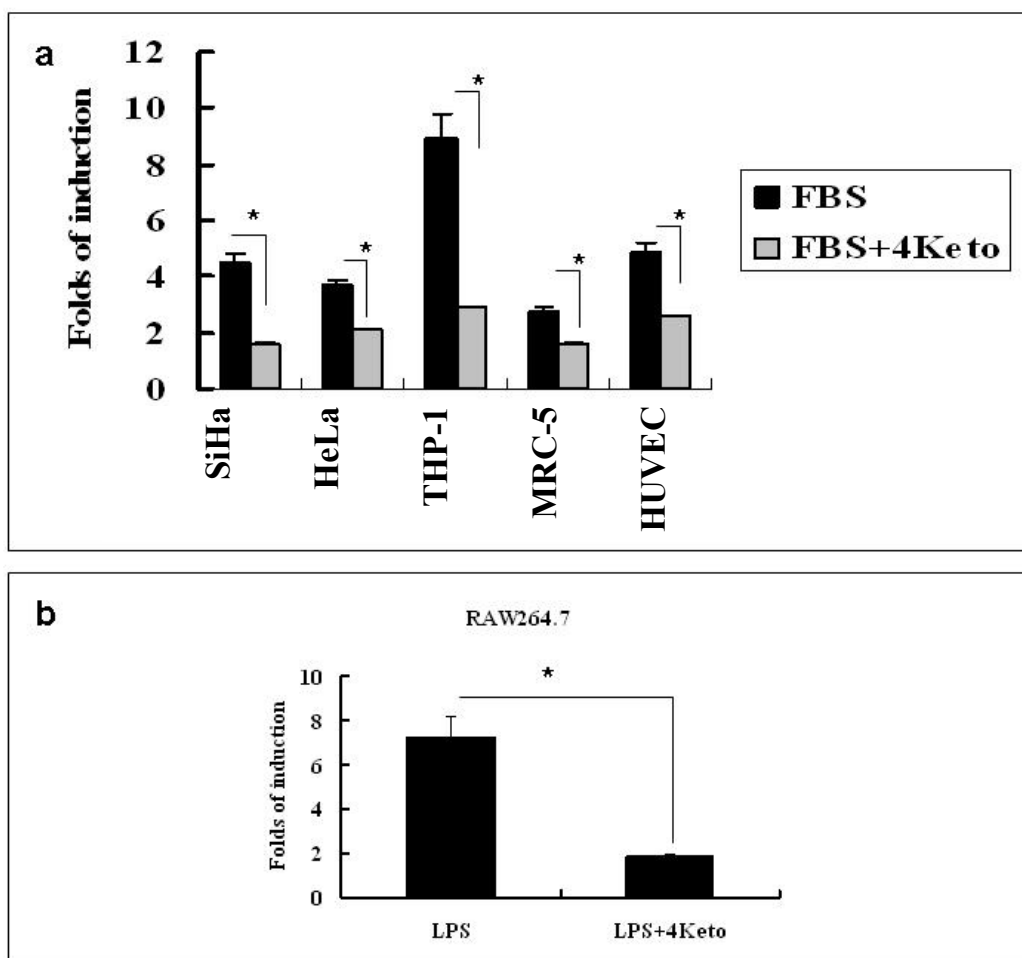


Fig. 4 4-ketopinoresinol 對不同細胞株 NF-κB 活性之效應。將 NF-κB promoter-luciferase reporter plasmid 運用 Transfast reagent 分別轉殖入子宮頸癌細胞株 SiHa、HeLa 及人類正常的纖維母細胞 (MRC-5)、血管內皮細胞 (HUVEC)、人類巨噬細胞 (THP-1)、小鼠巨噬細胞 (RAW264.7) 後 24 小時，先 serum starvation 24 小時 (HUVEC 為 6 小時)，再將細胞分別預先處理 4-ketopinoresinol (50ng/ml)，再以 10%血清 (HUVEC 為 20%、RAW264.7 為 LPS 100ng/ml) 誘發各種細胞 NF-κB 活性。Fig. 4a 測試 4-ketopinoresinol 對血清誘發 NF-κB 活性的影響。Fig.4b 測試 4-ketopinoresinol 對 LPS 誘發 NF-κB 活性的影響。(圖中“*”， $p < 0.05$)。

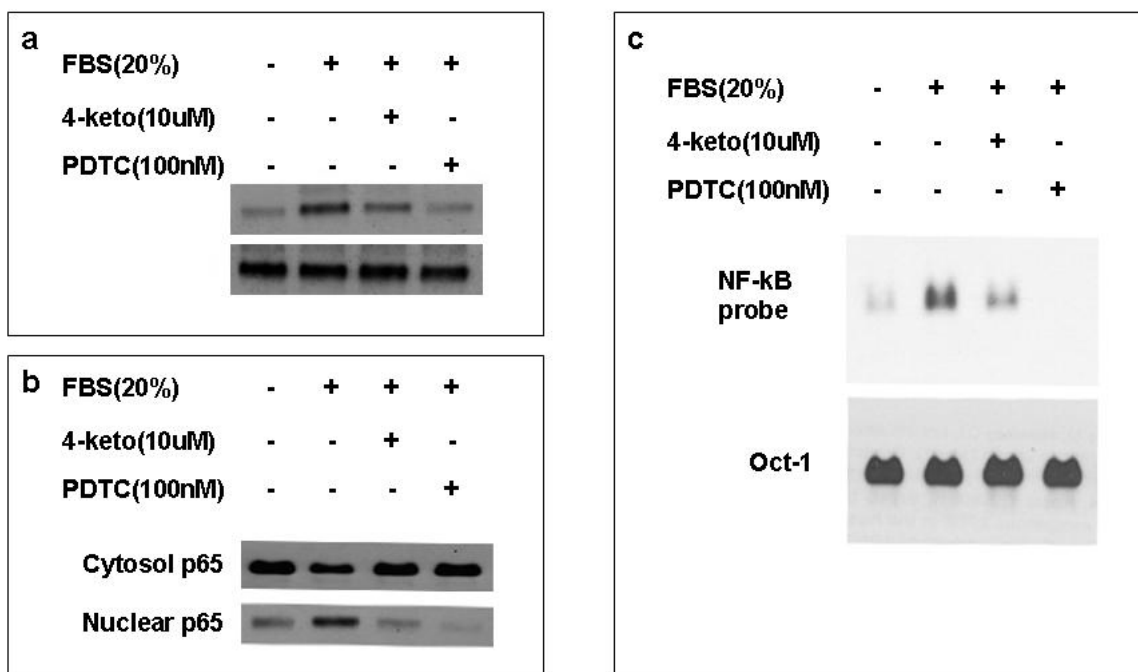


Fig. 5 4-ketopinoresinol 調控 NF-κB 活性機轉探討。Fig. 5a，利用西方墨點法測試 4-ketopinoresinol 是否影響 NF-κB 上游調控分子 IκBα 之活化。Fig. 5b，利用西方墨點法分析 4-ketopinoresinol 對血清誘發子宮頸癌細胞株 HeLa 之 NF-κB 的核膜內位移之影響，Fig. 5c，以 Electrophoretic mobility shift assay (EMSA) 方式分析 4-ketopinoresinol 對血清誘發核膜內 NF-κB 對核酸的結合能力之影響。

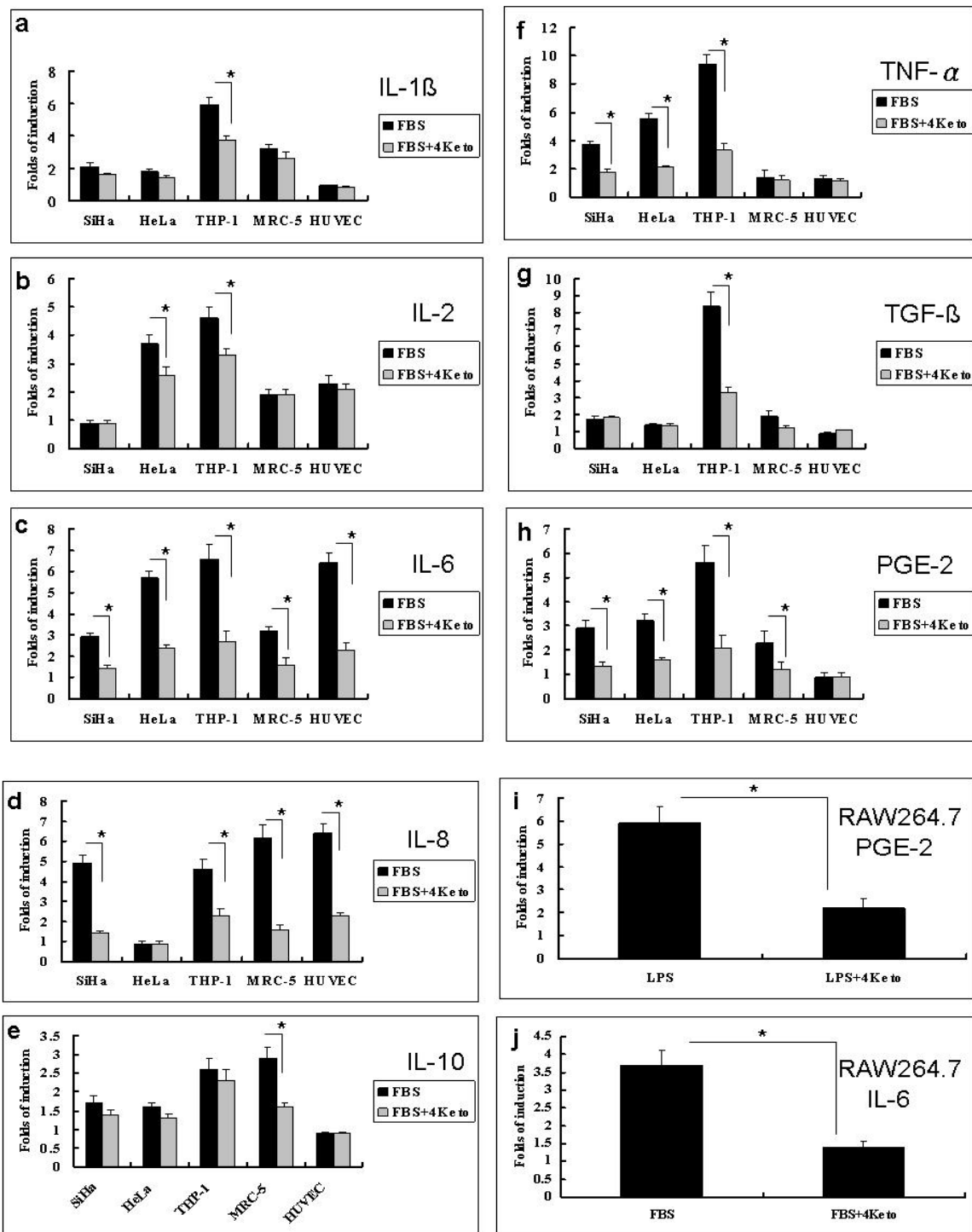


Fig. 6 4-ketopinoresinol 對 NF- κ B 下游調控之免疫相關基因表現之影響。以腫瘤細胞 HeLa、SiHa，人類正常的纖維母細胞 (MRC-5)、血管內皮細胞 (HUVEC)、人類巨噬細胞 (THP-1) 以血清誘發免疫相關基因蛋白質表現，並與預先處理 4-ketopinoresinol (50ng/ml) 在加入血清誘發免疫相關基因蛋白質表現之組別進行比較。上述細胞先 serum starvation 24

小時 (HUVEC 為 6 小時) 再預先處理 4-ketopinoresinol (50ng/ml) 1 小時後再加入血清誘發免疫相關基因表現。24 小時後收集細胞上清液以 EIA 方式檢測各種免疫相關基因蛋白質表現。interleukin-1 β (Fig. 6a), interleukin-2 (Fig.6b), interleukin-6 (Fig. 6c), interleukin-8 (Fig. 6d), interleukin-10 (Fig. 6e), TGF-beta (Fig. 6f), TNF-alpha (Fig. 6g), COX-2 (以測試其下由產物 PGE₂ 表示) (Fig. 6h)。以 lipopolysaccharide (LPS) 誘發小鼠巨噬細胞 (RAW264.7) 免疫相關基因蛋白質 COX-2 (以測試其下由產物 PGE₂ 表示) (Fig. 6i) 、 IL-6 (Fig. 6j) (圖中"*", p<0.05)。

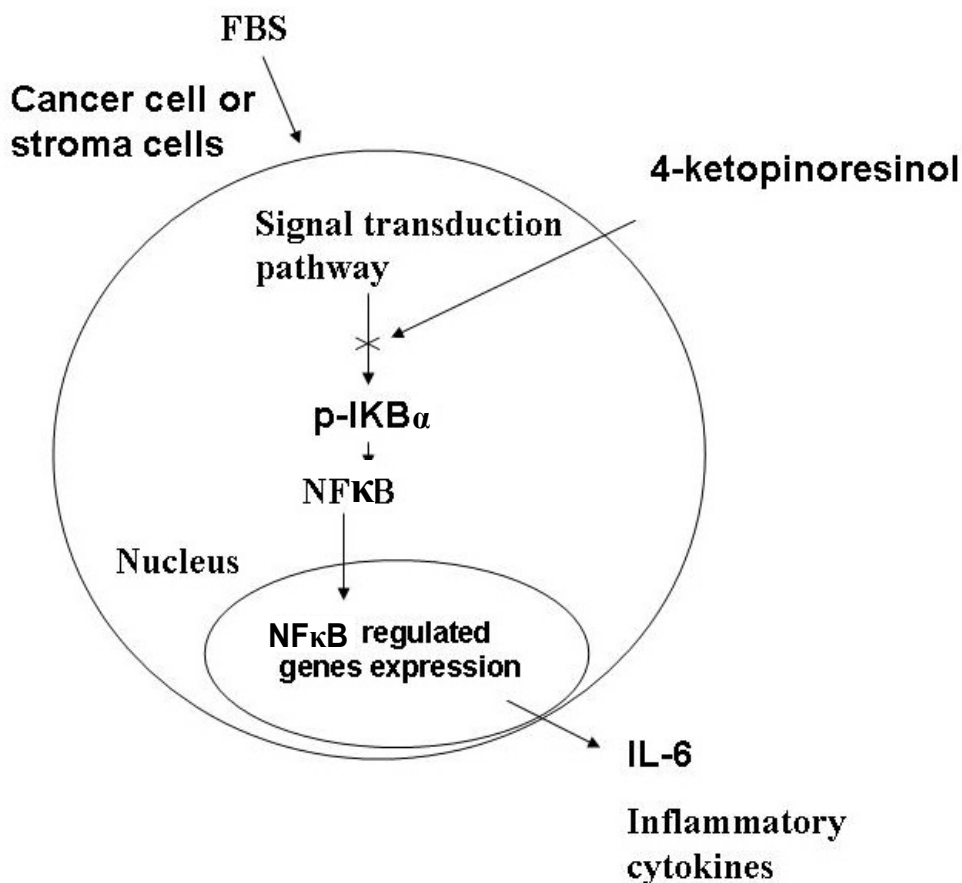


Fig. 7 第一部分之研究結論。研究結果顯示薏苡組成物 4-ketopinoresinol 對細胞免疫調控因子基因表現之調控主要透過對抑制 NF- κ B 上游調控分子 IKBA 蛋白質之磷酸化而抑制血清誘發 NF- κ B 的核膜內位移及其對核酸的結合能力等活性。進而影響其下游調控之基因。



未治療控制組 4Gy x 5 10Gy x 5
放射線治療組

Fig. 8a 放射線使用劑量越高確實能對腫瘤產生越好的治療效果如圖，然而高劑量的放射線卻會造成小鼠體重在短時間內下降。

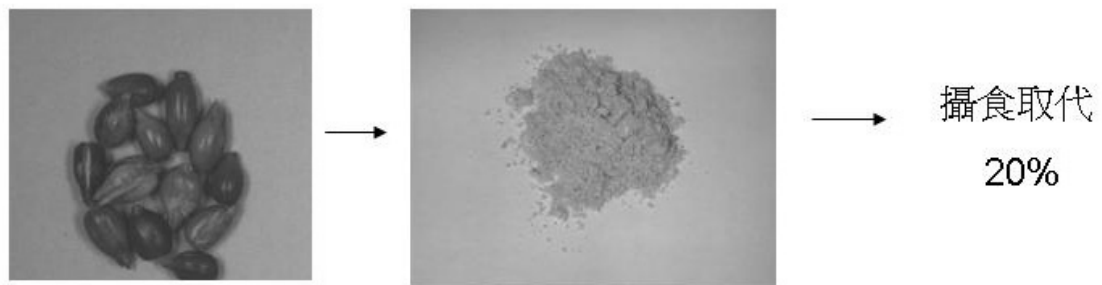


Fig. 8b 薏苡籽實研磨成粉狀後之型態。

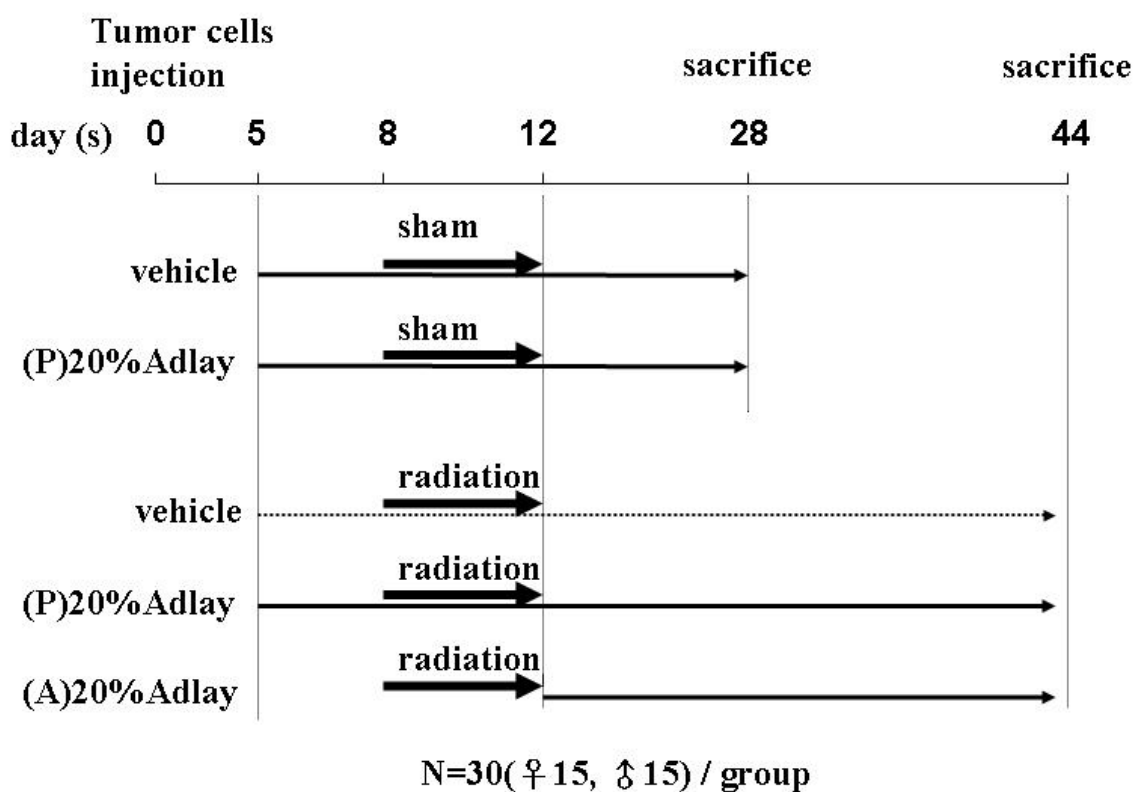


Fig. 8c 實驗設計流程圖。主要分為兩大組，分別比較小鼠之腫瘤在有接受放射線治療與未接受放射線治療情況下的體重變化、腫瘤大小、血中免疫調控因子 IL-6 濃度之變化。第二部份，探討在接受放射線治療情況下薏苡攝食取代對腫瘤之效應。實驗方式如同上述。

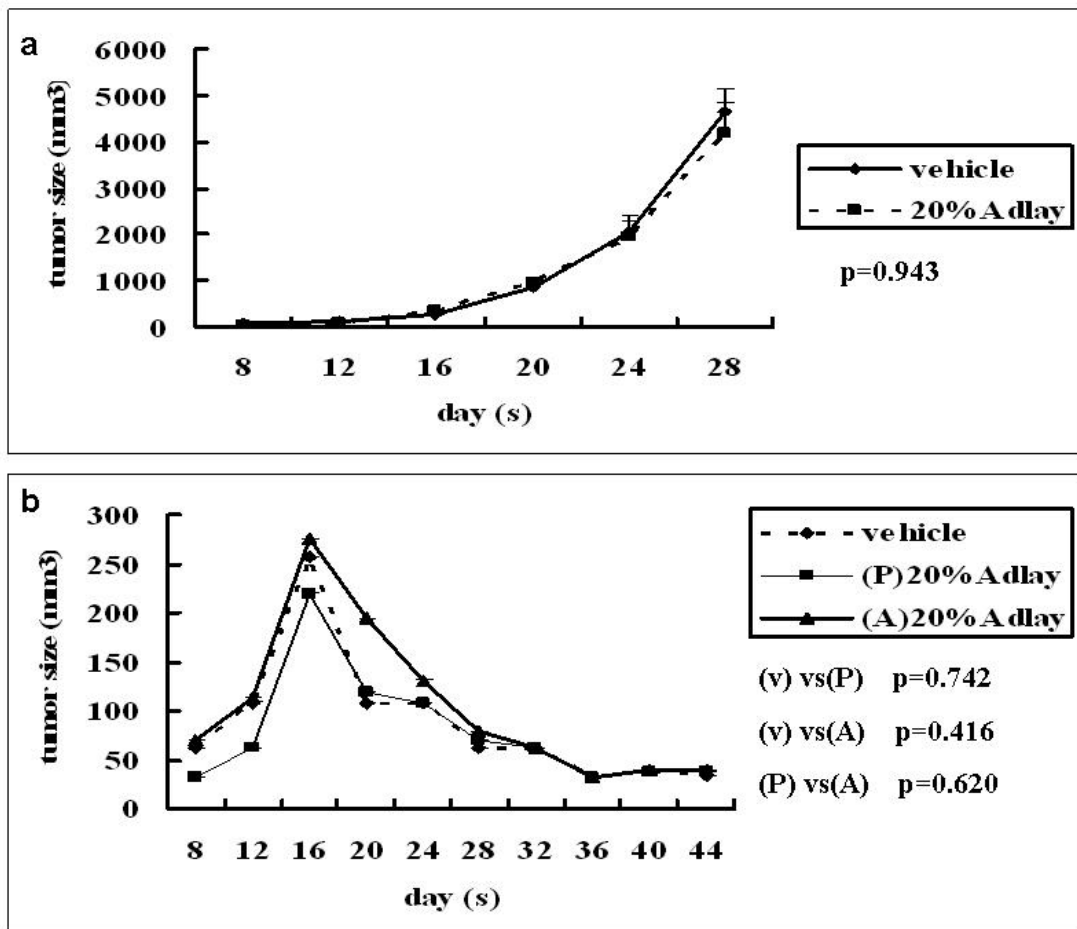


Fig. 9 探討在未接受放射線治療情況下薏苡攝食取代對腫瘤之效應。圖 a，探討在未接受放射線治療情況下薏苡攝食取代對腫瘤之效應。C57BL/6J 小鼠於 LLC 腫瘤細胞後第五天開始給予 20% 的薏苡攝食取代 (20% Adaly)，控制組則只給予飼料 (vehicle)，從植入 LLC 腫瘤細胞開始每四天記錄一次體重以及由尾巴進行採血，第八天開始每四天量測記錄一次腫瘤大小，體積以長徑 X 短徑平方再除以二計算。此部分研究在第二十八天將小鼠犧牲 (此時腫瘤已經大到長徑約 20mm)，實驗共重複三次，每種條件每次雌雄各五隻共計有 30 隻。圖 a，探討在接受放射線治療情況下薏苡攝食取代對腫瘤之效應。實驗方式如同上述，放射線治療開始於 LLC 腫瘤細胞植入後第八天，此時右腿形成約 5mm 大小之腫瘤。放射線治療以 5Gy/day 處理 5 天的方式進行 (第八至第十二天)，餵食 20% 的薏苡攝食取代的實驗共分三組，一組由 LLC 腫瘤細胞植入後第五天開始給予 ((p)20% Adaly)，一組由 LLC 腫瘤細胞植入後第十二天 (結束放射線治療後) 開始給予 ((A)20% Adaly)，控制組則只給予飼料 (vehicle)。本組小鼠也由植入 LLC 腫瘤細胞開始每四天記錄一次體重以及由尾巴進行採血，第八天開始每四天量測記錄一次

腫瘤大小，體積以長徑 X 短徑平方再除以二計算。此部分研究在第四十四天將小鼠犧牲（此時開始有小鼠因肺臟轉移死亡），實驗共重複三次，每種條件每次雌雄各五隻共計有 30 隻。

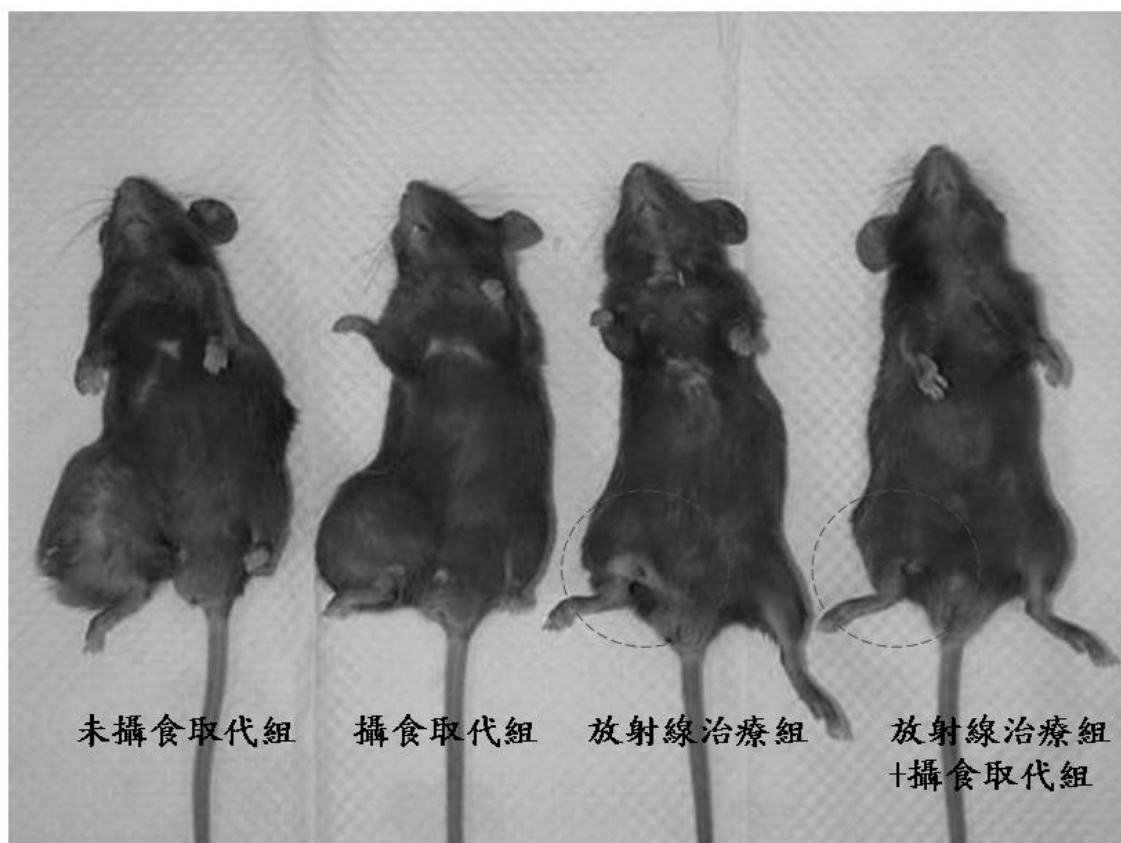


Fig. 10 給予 20%的薏苡攝食（有或無）與放射線治療（有或無）的四種組合之組別中，薏苡攝食取代對 LLC 腫瘤生長無法控制，然而給予 20%的薏苡攝食的小鼠其腿部皮膚損傷（圓圈部分）似乎較緩和其體毛存在較多。

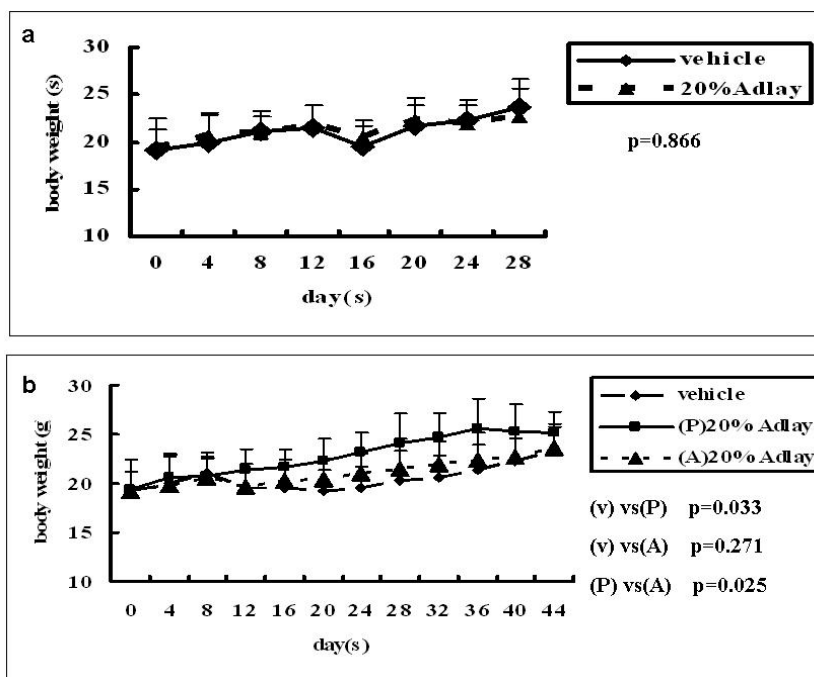


Fig. 11 薏苡籽實攝食取代對小鼠體重的效應，a 圖顯示未接受治療情況下，單純給予 20% 的薏苡攝食取代組與控制組中小鼠體重變化，b 圖顯示放射線治療對於小鼠體重變化。

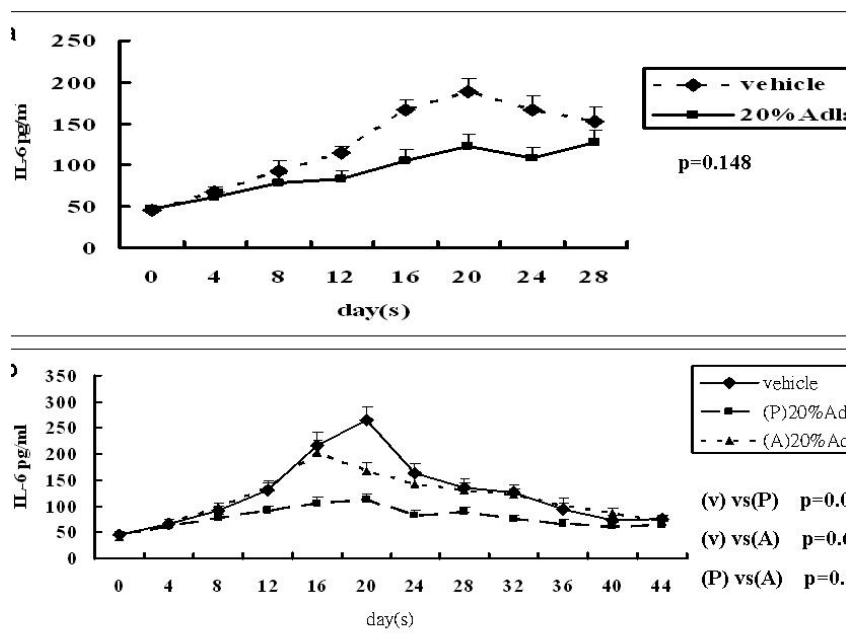


Fig. 12 20% 的薏苡攝食取代對小鼠血清中 IL-6 的濃度之效應。a 圖顯示未接受治療情況下，單純給予 20% 的薏苡攝食取代組中小鼠血清中 IL-6 的濃度變化。b 圖顯示放射線治療並給予 20% 的薏苡攝食取代，對於小鼠血清中 IL-6 的濃度變化。

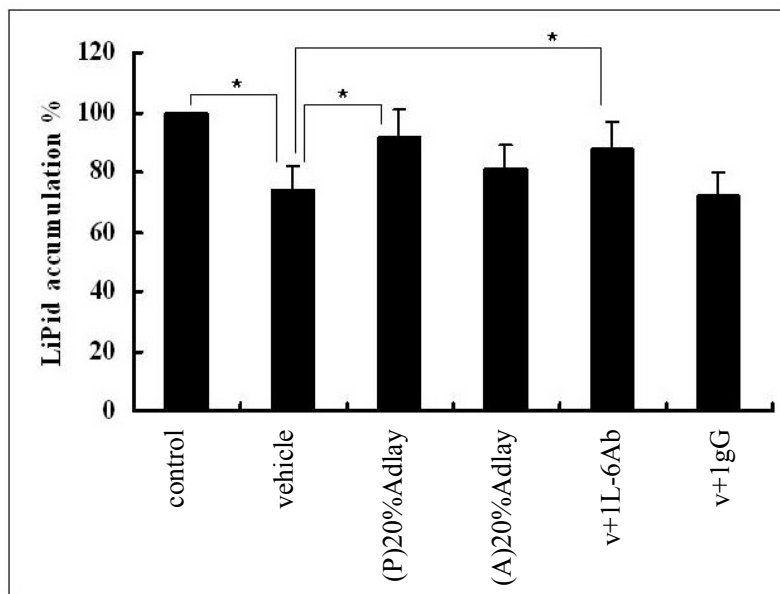


Fig. 13 血清引發 3T3L-1 脂肪前趨細胞脂肪堆積測試。以 Fig.12 三組研究中 IL-6 差異最大時間點（第二十天）的小鼠血清進行小鼠脂肪細胞前趨細胞（3T3L-1）脂肪堆積試驗，實驗結果以未接受放射線治療（control）之血清引發 3T3L-1 脂肪堆積為 100%。（圖中”*”， $p < 0.05$ ）。

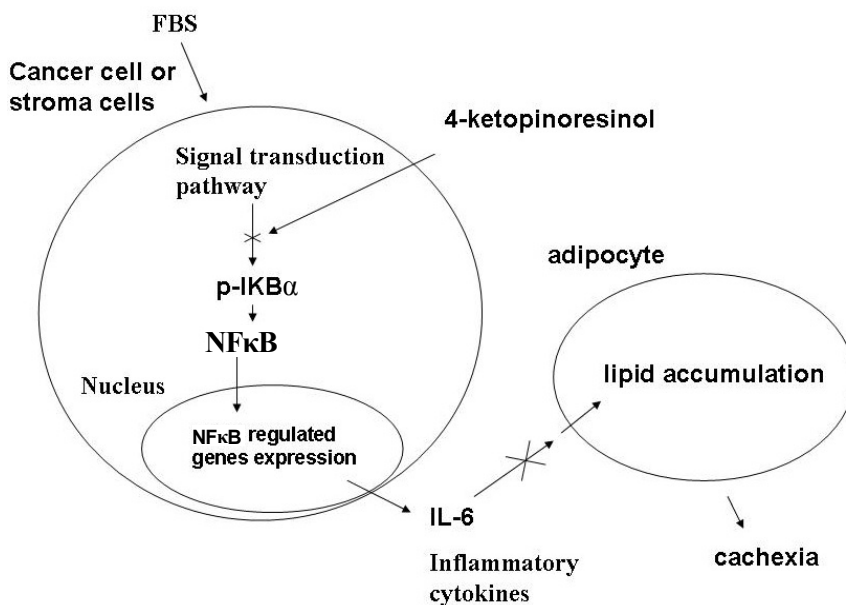


Fig. 14 研究結論。綜合以上結果，我們認為薏苡籽實中的成份物質可能經由抑制 NF- κ B 活化而影響細胞 IL-6 的表現，攝食取代確實能降低放射線治療過程誘發的小鼠血清中 IL-6 上升，而此效應可能與影響體內脂肪正常堆積有關。