

嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

整合型計畫：數種植物對細胞發炎傷害之影響
子計畫二：芝麻種皮對脂多醣引發鼠細胞 iNOS 及 COX-2 蛋白表現的影響

計畫類別：個別型計畫

整合型計畫

計畫編號：CNFS93-01

執行期間：93 年 1 月 1 日至 93 年 12 月 31 日

整合型總主持：杜平惠

計畫主持人：晏文潔

協同研究人員：張黎文

計畫參與人員：凌秀華，林姿吟，陳慧茹，王柏森

執行單位：嘉南藥理科技大學

中華民國 94 年 2 月 24 日

一、摘要

本研究初步探討芝麻種皮對低密度脂蛋白氧化及巨噬細胞一氧化氮合成酵素(inducible nitric oxide synthase; iNOS)表現之影響。芝麻種皮在0.1~0.8 mg/ml可以有效減少低密度脂蛋白氧化。另外，芝麻種皮不但可以捕捉一氧化氮自由基，也可以降低脂多醣(Lipopolysaccharide; LPS)對巨噬細胞株RAW 264.7 誘發iNOS及COX-2蛋白表現。另外，芝麻種皮也可以有效減少iNOS及COX-2 mRNA表現。

關鍵詞：芝麻種皮，低密度脂蛋白氧化，一氧化氮合成酵素

The effects of ethanolic extracts of sesame coat on low-density lipoprotein oxidation and macrophage inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression were investigated. At 0.1~0.8 mg/ml, the ethanolic extracts of sesame coat showed a protective role on low-density lipoprotein oxidation. Furthermore, the ethanolic extracts of sesame coat not only scavenged nitric oxide but also inhibited iNOS and cyclooxygenase-2 protein expression in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW 264.7 macrophages. On the other hand, the ethanolic extracts of sesame coat also displayed obviously inhibitory effects on iNOS and cyclooxygenase-2 mRNA expression.

Key words: ethanolic extracts of sesame coat, low-density lipoprotein oxidation, and inducible nitric oxide synthase

二、前言

芝麻(*Sesamum indicum* L.)為胡麻科植物脂麻的種子，原產於印度、緬甸、埃及、中國，芝麻自古用於營養滋補具多種療效(1)。過去的研究發現，芝麻含有豐富的lignans類之抗氧化物質，譬如sesamin, sesamolin, sesaminol, sesamel，及lignans glycosides類成分(2)。其中sesaminol已被證實可以抑制低密度脂蛋白的氧化，並具有優異的自由基的清除能力。再者長久以來，芝麻被認為具有延緩老化的功用，在缺乏維生素E飲食的老鼠中，芝麻的lignans類抗氧化成分，則可以增加動物體內維生素E的含量與活性。另外，亦有研究指出，含種皮芝麻比去種皮芝麻具有更好的抗氧化活性，因此可推論芝麻種皮應含有較佳抗氧化成分。但是目前關於芝麻種皮的相關研究仍不多。

另外，脂多醣(Lipopolysaccharide; LPS)可以在動物體內引發發炎作用，並產生氧化壓力，進而造成肝臟等多重的器官損傷。肝臟是體內重要的代謝器官。目前已知長期給予動物使用酒精會產生氧化壓力造成肝損傷，但同時給予sesamin，可使肝功能指數恢復正常。而且sesamin也可以預防CCl₄所造成的化學性肝損傷，這些可能皆與sesamin具有抗氧化能力有關。本研究室過去已證實芝麻種皮其不僅含顯著顯著抗氧化活性且已鑑定及分離出sesamin, sesamolin及tetranortriterpenoids等成分(3)。惟芝麻種皮是否在發炎反應中具有任

何的影響，目前仍未有這方面文獻報告。本研究主要探討已被證實具有強抗氧化力的芝麻種皮乙醇萃取物，對脂多醣引發鼠細胞發炎反應中（巨噬細胞株模式），產生氧化壓力的 iNOS 與 COX-2 蛋白表現的影響。

一、結果與討論

芝麻種皮抗低密度脂蛋白氧化作用

圖一為芝麻種皮對銅離子誘發低密度脂蛋白氧化作用之影響。過去芝麻種皮已經被證實具有強抗氧化能力，結果顯示芝麻種皮對低密度脂蛋白氧化的保護作用隨濃度增加而加強，當添加濃度達 0.8mg/ml 時，對低密度脂蛋白氧化抑制率為 76%。但若與 Trolox 相比較，則 Trolox 有較佳的保護作用。

芝麻種皮捕捉一氧化氮自由基作用

圖二為芝麻種皮捕捉 sodium nitroprusside 所釋放一氧化氮自由基作用。由結果可知芝麻種皮在 0.001~1.0 mg/ml 對一氧化氮自由基捕捉率可達 6~38%。而 Trolox 在相同濃度下，則可捕捉一氧化氮自由基 5~89%。

芝麻種皮抑制鼠巨噬細胞 iNOS 及 COX-2 蛋白表現

由圖三 A 可知芝麻種皮在 0.02~0.08mg/ml 可以有效抑制 LPS 對巨噬細胞 RAW264.7 誘發 iNOS 及 COX-2 蛋白

表現，其中芝麻種皮在 0.08mg/ml 可分別抑制 iNOS 及 COX-2 蛋白表現達 85% 及 72%。利用 RT-PCR 反應進一步偵測其上游 mRNA，由圖三 B 可知芝麻種皮在 0.02~0.08mg/ml 也可以有效減少 LPS 誘發 iNOS 及 COX-2 mRNA 表現。

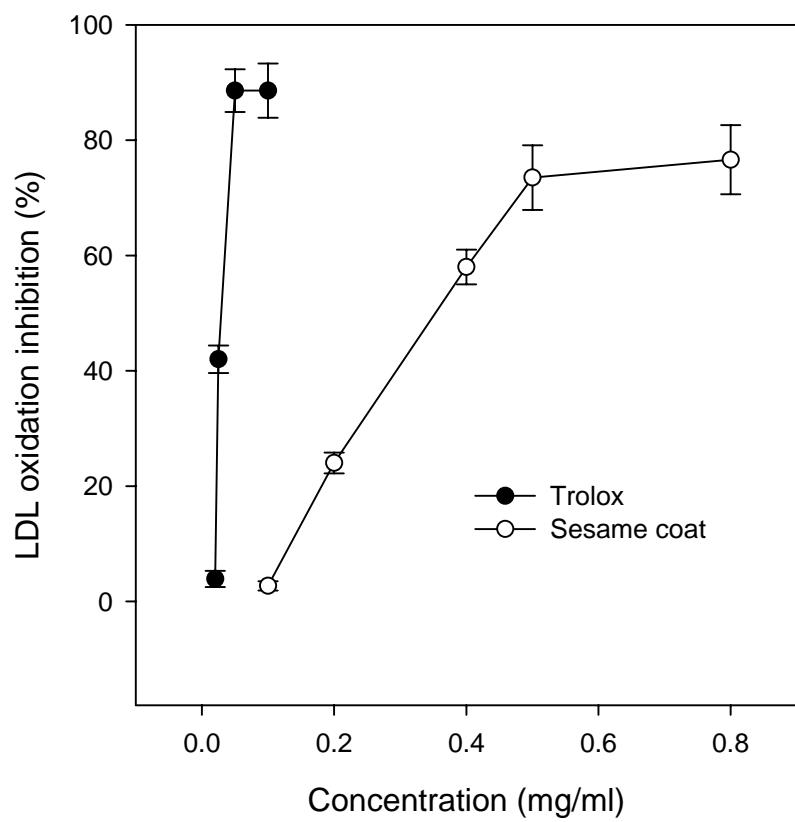
綜合上述初步結果可知芝麻種皮對低密度脂蛋白氧化具有保護作用，而先前研究已知低密度脂蛋白氧化的產生，與體內大量產生一氧化氮自由基有密切關係。而巨噬細胞表現 iNOS 與 COX-2 蛋白，便是體內產生一氧化氮自由基與超氧自由基之主要來源之一。因此，芝麻種皮的抗氧化能力不但可直接捕捉自由基，以避免氧化傷害，也可以間接抑制產生自由基的相關蛋白表現，而此抑制蛋白表現之活性及抑制低密度脂蛋白氧化，深信與芝麻種皮捕捉自由基作用有關，而此作用之成分是否與其抗氧化成分相同仍待進一步研究證實。

四、參考文獻

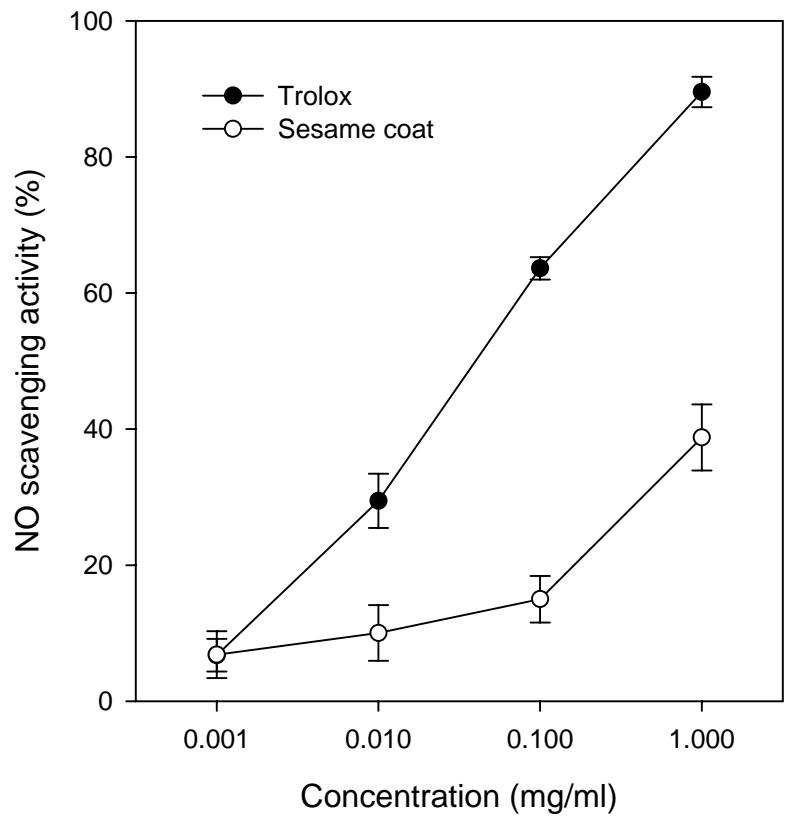
1. Abou-Gharbia H.A., Shahidi F., Shahata A.A.Y. and Youssef M.M. (1997) Effects of processing on oxidative stability of sesame oil extracted from intact and dehulled seeds. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74, 215–221.
2. Budowski P. (1964) Recent research on sesamin, sesamolin, and related compounds. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 41, 280–285
3. Chang, L.W., Yen, W.J., Huang, S.C. and Duh, P.D. (2002) Antioxidant activity of

sesame coat. *Food Chemistry* 78,
347-354.





圖一 芝麻種皮(sesame coat)對低密度脂蛋白氧化之影響。
Figure 1. The effect of sesame coat on LDL oxidation.



圖二 芝麻種皮(sesame coat) 對一氧化氮自由基之捕捉活性。

Figure 2. The scavenging activity of sesame coat on nitric oxide.

A

Sesame coat (mg/ml)	0	0	0.02	0.04	0.08
LPS (200 ng/mL)	0	+	+	+	+

iNOS →



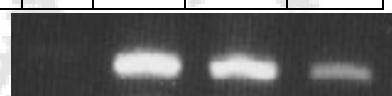
COX-2 →



B

Sesame coat (mg/ml)	0	0	0.04	0.08
LPS (200 ng/mL)	0	+	+	+

iNOS →



COX-2 →



GAPDH →



圖三 (A) 芝麻種皮(sesame coat)對脂多醣(LPS)在巨噬細胞株 RAW 264.7 誘發 iNOS 及 COX-2 蛋白表現之影響。(B) 使用 RT-PCR 方法分析細胞 iNOS， COX-2 及 GAPDH mRNA 。

Figure 3. (A)The effect of sesame coat on inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenase 2 (COX-2) protein level in LPS-stimulated macrophage RAW 264.7 cells. (B)By RT-PCR, the mRNA levels of iNOS, COX-2 and GAPDH in cells were analyzed.