

**Nobiletin inhibits angiogenesis on human umbilical vein  
endothelial cells (HUVECs) *in vitro* and zebrafish embryos *in  
vivo***

by

**Kai Heng Lam**

**Master of Science**

**2009**



**Institute of Chinese Medical Sciences  
University of Macau**

碩士學位論文

川陳皮素對體外人臍靜脈內皮細胞和體內斑馬魚胚胎血管新生的抑制作用

研究生姓名： 林 啟 興

導 師： 李 銘 源

專 業： 中 藥 學

日 期： 2009. 8



澳門大學中華醫藥研究院

# 目錄

摘要	vi
致謝	x
目錄	xi
圖表目錄	xiv
縮寫名稱	xvi
<b>第一部分：綜述</b>	
1.1 陳皮	P.2
1.1.2 陳皮中黃酮的藥理作用	P.3
1.1.3 川陳皮素及其衍生物的藥理作用	P.3
1.2 血管新生	P.6
1.2.2 血管新生與腫瘤	P.8
1.2.3 血管新生與 MAPK 途徑	P.9
1.3 斑馬魚模型	P.10
1.3.1 斑馬魚的特性	P.10
1.3.2 斑馬魚的血管發育	P.12
1.3.3 斑馬魚作為血管新生的動物模型	P.13
1.3.4 轉基因斑馬魚	P.14
1.3.5 斑馬魚在中藥開發中的應用	P.15
1.4 研究目的	P.15
<b>第二部分：材料與方法</b>	
2.1 人類臍靜脈內皮細胞(HUVEC)的培養	P.17
2.2 藥物準備	P.17
2.2.1 陳皮粗提物的提取	P.17
2.2.2 陳皮中單體化合物的準備	P.18

2.3 斑馬魚的飼養	P.18
2.3.1 斑馬魚胚胎的收集	P.18
2.3.2 斑馬魚胚胎的藥物處理	P.18
2.4 細胞增殖的分析	P.18
2.4.1 HUVEC 細胞增殖的分析	P.19
2.4.2 HUVEC 細胞凋亡的檢測	P.19
2.4.3 HUVEC 管狀形成的觀察	P.19
2.5 斑馬魚的形態學觀察	P.20
2.5.1 斑馬魚的藥效觀察	P.20
2.5.2 斑馬魚的毒理觀察	P.20
2.5.3 斑馬魚的細胞凋亡觀察	P.20
2.6 細胞周期的分析	P.21
2.6.1 HUVEC 細胞周期的分析	P.21
2.6.2 斑馬魚細胞周期的分析	P.21
2.7 斑馬魚的基因表達分析	P.22
2.7.1 總 RNA 的提取	P.22
2.7.2 第一鏈 cDNA 的合成	P.23
2.7.3 實時 PCR	P.23
2.8 斑馬魚的蛋白印迹分析	P.24
2.8.1 斑馬魚的總蛋白提取	P.24
2.8.2 總蛋白的印迹分析	P.24
2.9 數據統計	P.24
<b>第三部分：結果</b>	
3.1 不同藥物對 HUVEC 和斑馬魚胚胎毒性的初步結果	P.27
3.1.2 川陳皮素在 HUVEC 上的作用	P.29
3.2 轉基因斑馬魚的形態觀察	P.30

3.2.1 陳皮粗提物對斑馬魚血管作用的形態學觀察	P.31
3.2.2 川陳皮素對及其衍生物對斑馬魚血管作用的形態學觀察	P.34
3.3 川陳皮素對斑馬魚的毒理作用	P.39
3.3.1 川陳皮素對斑馬魚存活率的影響	P.39
3.3.2 川陳皮素對斑馬魚毒性的形態學觀察	P.40
3.4 川陳皮素對細胞周期的影響	P.43
3.4.1 川陳皮素對 HUVEC 的細胞周期影響	P.43
3.4.2 川陳皮素對斑馬魚的細胞周期影響	P.44
3.5 川陳皮素對斑馬魚基因表達的影響	P.48
<b>第四部分：結論與討論</b>	
4.1 結論	P.53
4.1.1 陳皮傳統藥效的現代機理	P.55
4.1.2 川陳皮素可作為陳皮的生物活分子之一	P.56
4.1.3 川陳皮素在癌症治療上的潛力	P.56
4.2 討論	P.57
參考文獻	P.58
附錄	P.67

### 圖表目錄

圖 1a 川陳皮素的化學結構式	P.4
圖 1b 柚皮苷的化學結構式	P.4
圖 2 血管新生的過程	P.7
圖 3 2.5dpf 的斑馬魚血管模式	P.13
圖 4a 川陳皮素對 VEGF 誘導 HUVEC 增殖作用的影響	P.29
圖 4b 川陳皮素在 HUVEC 對 VEGF 所介導管狀形成的影響	P.29
圖 5 川陳皮素對 HUVEC 的細胞凋亡作用	P.30