

**Inhibitory effect of three isoflavonoids from *Radix Puerariae*
on TNF-alpha-induced adhesion molecule expression in
human umbilical vein endothelial cells (HUVECs)**

By

Lixiang

Master of Science

2008



Institute of Chinese Medical Sciences

University of Macau

碩士學位論文

葛根異黃酮類提取物對由 TNF-alpha 誘導的 人臍靜脈內皮細胞的粘附的抑制作用



澳門大學中華醫藥研究院

**Institute of Chinese Medical
Sciences**

University of Macau

TABLE OF CONTENTS

表格目录.....	10
缩写目录.....	11
致谢.....	12
第一部分: 综述	13
1.1. 葛根	13
1.1.1. 葛根的鉴定.....	13
1.1.2. 葛根的传统应用.....	13
1.1.3. 葛根的主要化学成分	13
1.1.3.1. 异黄酮类.....	13
1.1.3.2. 葛根苷类.....	14
1.1.3.3. 三萜皂苷类.....	14
1.1.3.4. 生物碱和其他类.....	14
1.1.4. 研究背景	15
1.2. 动脉粥样硬化.....	20
1.2.1. 动脉粥样硬化的描述	20
1.2.2. 动脉粥样硬化的损伤因素	22
1.2.2.1 血管内皮功能障碍的作用	22
1.2.2.2. 細胞凋亡的作用.....	23
1.2.2.3. 巨噬細胞集落刺激因數的作用.....	24
1.2.2.4. 護骨素的作用.....	25
1.2.2.5. 鐵增加的作用.....	25

1.2.2.6. 胰島素抵抗的作用.....	26
1.2.2.7. 肺炎衣原體感染的作用.....	27
1.2.2.8. 脂質代謝紊亂.....	27
1.2.3. 動脈粥樣硬化和炎症的關係.....	29
1.2.3.1 細胞粘附分子和動脈粥樣硬化.....	30
1.2.3.2 典型的粘附分子.....	31
1.2.3.3 ICAM-1和VCAM-1與動脈粥樣硬化的密切關係.....	32
1.2.4 動脈粥樣硬化的細胞炎症通路.....	33
第二部分: 材料与方法	35
2.1. 材料與方法.....	35
2.1.1. 材料与试剂.....	35
2.1.2. 葛根異黃酮類提取物.....	35
2.1.3. 細胞培養.....	35
2.1.4. 細胞毒性實驗 (MTT測試).....	36
2.1.5. 細胞黏附測定.....	36
2.1.6. ELISA 分析.....	36
2.1.7. 免疫染色.....	37
2.1.8. 西點印記法.....	37
2.1.8.1. 細胞蛋白的提取.....	38
2.1.8.2. 蛋白提取定量.....	39
2.1.8.3. 十二烷基硫酸鈉聚丙烯醯胺凝膠電泳 (SDS-PAGE).....	39
2.1.8.4. 蛋白轉錄與免疫印記.....	41

2.1.8.5. 用西點印記法檢測細胞粘附分子蛋白表達.....	42
3.1.9. 統計處理.....	43
第三部分: 結果.....	44
3.1. 葛根化学成分分离.....	44
3.2. 葛根各部位提取物對單核－內皮細胞的粘附的作用.....	44
3.3. 葛根化學成分初步分析及含量測定.....	45
3.4. 葛根異黃酮類對內皮細胞的毒性作用.....	46
3.5. 葛根異黃酮類對內皮-單核細胞黏附的影響.....	47
3.6. 葛根異黃酮類對內皮細胞 ICAM-1表達 (ELISA).....	48
3.7. 螢光免疫染色.....	49
3.8. 西点印记法检测.....	51
第四部分: 讨论与结论.....	53
参考文献.....	54