

第四章 討論

過去的學者以細胞培養的方式進行動脈硬化相關之研究時，大多採用人類臍靜脈內皮細胞 (Chen, 2005) 或是牛主動脈內皮細胞 (Bertelli, 2001) 做為材料，主要原因是因為取得容易。而在本研究中採用人類主動脈內皮細胞作為實驗材料，其結果應與人體內實驗更為相近。

動脈硬化為一種慢性的發炎反應，血液中的淋巴球會與內皮細胞發生沾黏並且移行到內皮下的空間，這個過程包含四個步驟：capture/tethering、rolling、firm adhesion與transmigration，其中capture/tethering、rolling主要為selectin參與作用，firm adhesion由integrin或是ICAM-1與VCAM-1參與作用，而transmigration主要是ICAM-1與PECAM參與作用(Daniel *et al.*, 1999)，所以當內皮細胞或是淋巴球受到刺激時，selectin為細胞黏附起始作用的參與分子，所以在最短的時間內會表現出來，當持續受到刺激時ICAM-1才會表現，假使可以減少ICAM-1或VCAM-1的表現即可以延緩發炎反應動脈硬化的發生。本研究中，先以sesamol或sesamin預先處理內皮細胞再以TNF- α 刺激後發現可以減少ICAM-1的表現，此結果與Joachim等學者(1999)的動物實驗相似，在飼料中添加0.5%的probucol萃取物，不僅可以降低血中膽固醇濃度以及VCAM-1的表現，同時可以減少血中

LDL的氧化，減少主動脈的動脈硬化及膽固醇沉積，還能減少血管內皮損傷的程度。而probucol是已知兼有抗氧化作用之降血脂藥。

Sesamol (3,4-methylenedioxy phenol) 為一種酚類物質，具有良好的抗氧化能力(Sirato-Yasumoto S. et al., 2001)，另外亦許多研究證實 sesamin的生理效用:(a)可作為抗氧化劑 (Noguchi et al., 2001; Ikeda et al., 2003) (b)抗腫瘤的形成 (Hirose et al., 1992) (c)降低血壓 (Noguchi et al., 2001; Nakano et al., 2003) 以及減少大鼠血清中的脂質(Hirose et al., 1991; Ogawa et al., 1995)。所以在本實驗中sesamol或sesamin減少 ICAM-1的表現可能是因為其抗氧化能力，良好的抗氧化能力可以減少自由基、抑制脂質的過氧化，減少發炎反應的發生。所以我們推測 sesamol與sesamin可能具有抗發炎的功能。

本實驗證明sesamin抑制ICAM-1的表現會經由ERK和p38, MAPK的Phosphorylation對於環境與細胞外刺激所誘發的訊號傳遞扮演相當重要的角色(Hagemann, 2001)。許多研究證實在內皮細胞中TNF- α 會刺激並活化MAPK家族中的ERK、JNK與p38的訊息路徑(Zhang, 2001)。但是sesamol對於藉由抑制MAPK磷酸化機轉來提供細胞保護作用之機制仍不是很清楚。其中ERK及p38訊息路徑對於調節細胞生長及分化中扮演著相當重要的角色。在生長因子、細胞激素及phorbol ester對於細胞的作用及刺激下可磷酸化ERK訊息路徑(YM, 2001)；除

此之外，當細胞受到環境因子壓力影響下也會磷酸化ERK路徑，尤其是受到氧化性所造成的損傷(He H, 1999)。由上所述，可知sesamin可能是藉由抑制ERK及p38訊息路徑來提供細胞保護作用之相關機制。

許多前發炎反應激素(proinflammatory agents)，如TNF- α 、interleukin-1 β 與LPS 會活化內皮細胞中的轉錄因子NF- κ B而刺激ICAM-1基因的表現 (Iademarco et al., 1992)。當內皮細胞受到前發炎反應激素刺激，會使NF- κ B受到活化，會引起血管內發炎反應造成動脈硬化損(Collins,1993;Brand,1996)。本實驗的結果中指出，sesamol或sesamin可藉由抑制一部分的NF- κ B 之活化而抑制ICAM-1的表現，由此可以間接證實sesamol或sesamin具有抗發炎的能力；另外目前調控發炎反應的轉錄因子除了NF- κ B之外，尚還有activator protein-1(AP-1) (Stein B et al.,1993)以及peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) (Marx N et al.,1999)等相關路徑進行調控，就本實驗所得到的結果推測，sesamin會經由抑制p38與ERK的磷酸化作用進而去影響轉錄因子NF- κ B，與Jeng et al (2005)的研究結果相同，在他們的研究中發現，sesamin可抑制LPS刺激microglia cells所磷酸化p38 MAPK路徑與NF- κ B；而sesamol雖然亦可以抑制NF- κ B的活化，但是卻非經由MAPK的路徑，有可能是藉由調控其他路徑而產生的抑制效果，這部分尚須更進一步的研究。

Penalvo 等學者證實，sesamin 在人體內會藉由腸內菌而轉變為 mammalian lignans 即為腸內酯(enterolactone)與腸內二醇(enterodiols)，且血漿中的腸內酯與腸內二醇的濃度均會上升。腸內酯與腸內二醇都具有植物性雌激素的活性，能和雌激素接受器結合，可以預防賀爾蒙相關的疾病，如乳癌或攝護腺癌等(Penalvo et al., 2005)。另外在 Coulman 等學者的研究中證實更年期婦女攝食芝麻後其尿液中的 mammalian lignan 排出量亦明顯的增加 (Coulman et al., 2005)。雌激素主要有兩種接受器 ER α 與 ER β (Walter, 1985 ; Kuiper, 1996)，此兩種接受器都與動脈硬化的細胞相關，如內皮細胞和血管平滑肌細胞 (Mendelsohn 1999)。血管內皮細胞是雌激素作用的一個重要目標，可能藉由典型的基因作用影響雌激素接受器上(nuclear-initiated)的 α 與 β 接受器，或是非基因性效用(nongenomic)，快速刺激細胞內磷酸化路徑的活化作用(membrane-initiated) (Klinge et al., 2007)。Klinge 學者等人證實牛主動脈內皮細胞、人類臍靜脈內皮細胞以及人類微血管內皮細胞上都具有特殊的 ER α 與 ER β 接受器(Klinge et al., 2007)。本研究的結果得知，sesamin 會藉由 p38 與 ERK 磷酸化的路徑影響內皮細胞，重覆由上述學者的研究得知人類微血管內皮細胞具有特殊的 ER α 與 ER β 接受器，且 sesamin 在人體內會藉由腸內菌而轉變為 mammalian lignans，腸內酯與腸內二醇，都具有類雌激素的活性，另

外某些天然化合物中的flavonoids衍生物，如： genistein、daidzein、apigenin也被證實會與 17β -estradiol 競爭結合雌激素接受器，扮演植物性雌激素(phytoestrogens)的功能 (Kuiper et al., 1998) 。所以進一步探討sesamin代謝物是否會藉由MAPK路徑的磷酸化作用影響內皮細胞上的ER α 與ER β 接受器，用以探討預防賀爾蒙相關疾病的發生，有其研究發展的空間。