

計畫編號：DOH94-TD-F-113-022

行政院衛生署九十四年度科技研究計畫

探討台灣產鄉土蔬菜紅甘藷葉對於抑制血管新生之影響

研究報告

執行機構：台北醫學大學

計畫主持人：陳巧明

研究人員：陳巧明

執行期間：94年1月26日至94年12月31日

* 本研究報告僅供參考，不代表本署意見，依合約之規定：

如對媒體發布研究成果應事先徵求本署同意*

目 錄

| | |
|---------|-------|
| 一、前言 | 2-3 |
| 二、材料與方法 | 4-9 |
| 三、結果 | 10-14 |
| 四、討論 | 15-17 |
| 五、結論與建議 | 18 |
| 六、參考文獻 | 19-20 |
| 七圖表 | 21-24 |

一、前言

流行病學的調查，發現增加蔬菜和水果的攝取，對癌症及心血管疾病病的預防，具相當強之相關性，是有益健康的食物。蔬菜中除了含有一些已知的營養素之外，亦含有相當量的 phytochemicals，例如類胡蘿蔔素、植物固醇、皂素、多酚類等，特別是多酚類，最近的一些研究更證實其對心血管及癌症具有保護及預防發生的功能。

多酚類廣泛存在蔬菜水果中，提供特殊的氣味及顏色，具強烈的抗氧化能力，保護植物在成長的過程，不受病蟲害侵襲。Cook 等人的研究發現，多酚類化合物具有清除體內自由基的能力，有助於保護體內組織對抗氧化壓力 (1)。根據一些研究指出，多酚類化合物可以抑制腫瘤細胞增生，控制細胞週期 mRNA 的基因表現 (2)，抑制 DNA topoisomerase II 活性，並且促進 apoptosis 的發生 (3)。多酚類在的抗氧化及刺激免疫功能的特質，使得它對抗細菌病毒的作用及毒殺腫瘤細胞上，亦扮演一個重要的角色 (4)。此外，最近的研究指出，多酚類亦具有抑制血管新生的作用，進而阻斷細胞的養分供應，抑制腫瘤的生長及轉移 (5)。因此，多酚類對健康促進的功能已不容忽視。

台灣常見的鄉土蔬菜中，不乏多酚類含量高的品種，其中含量最高的是紅甘藷葉 (33.4 ± 0.5 mg gallic acid/g)，其次為綠甘藷葉 (含 24.9 mg gallic acid/g)，第三則為蕺菜 (含 23.0 mg gallic acid/g) (6)。日前曾針對含量最高的紅甘藷葉進行人體試驗，初步的研究發現當連續攝食 2 星期的含紅甘藷葉的飲食，可以增加 LDL lag time，且降低血漿中 MDA+4-HNE 的含量，顯示具有抗氧化效應。

此外，在實驗中亦分離週邊血液單核球(PBMC)進行培養，結果顯示，連續攝食 2 星期的含紅甘藷葉的飲食，明顯提昇自然殺手細胞(NK cells)的毒殺能力，並且具有抑制發炎的作用。這些結果顯示，富含多酚化合物的紅甘藷葉，的確具有健康促進的作用。

許多研究指出初級腫瘤的生長、侵襲及轉移是透過新生血管(neovascularisation)，如果可以抑制腫瘤的血管生長，阻斷營養供應系統，就能夠抑制腫瘤的生長。富含多酚化合物的紅甘藷葉是否具有抑制血管新生作用，是我們感興趣的課題。癌症已連續十年蟬連台灣十大死亡原因的榜首，對於積極尋找具有保健作用的植物刻不容緩。因此，本研究的主要目的，擬探討台灣常見鄉土蔬菜--紅甘藷葉對於抑制血管新生的作用，進而了解台灣鄉土蔬菜對國人健康促進的生理效應。

二、材料與方法

一、材料

(一) 製備紅甘藷葉之多酚類萃取物

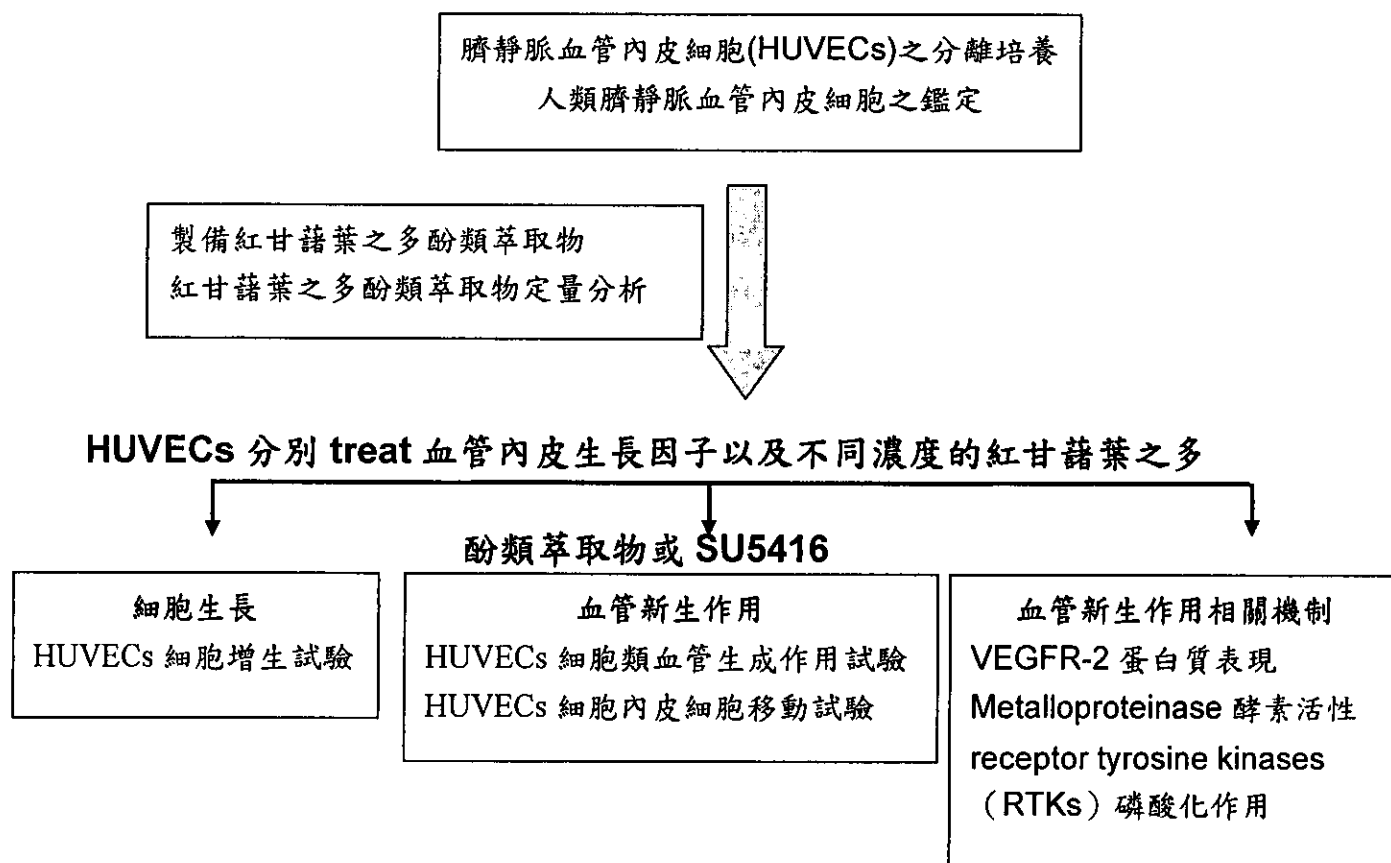
紅甘藷葉將由桃園農業改良場種植，採收之後，送至實驗室，先進行清洗，擦乾後以冷凍乾燥法進行乾燥，且儲存於 -70°C 備用。欲進行實驗時以磨粉機進行研磨，用 10 倍甲醇熱回流方式萃取 1 小時後，減壓濃縮去除甲醇，以 40% 甲醇溶液回溶，進行冷凍乾燥，儲存於 -70°C 備用。

(二) 紅甘藷葉之多酚類萃取物定量分析

根據 Taga 等人 (7) 之方法，進行 polyphenol 的測定。簡述之，以 gallic acid 作為 standard，將 standard 及紅甘藷葉萃取物分別以 0.3% HCl 酸化過的 methanol / water (60-40,v/v) 溶液溶解至一定濃度。再取一定量的萃取液加入 2 mL、2% Na_2CO_3 混合均勻，放置 2 分鐘後再加入 50 % Folin-Ciocalteu reagent，混合均勻後，於室溫中放置 30 分鐘，並於 750 nm 測定吸光值，再用 gallic acid 的標準曲線計算紅甘藷葉中多酚類之含量。

二、實驗設計方法

實驗流程



(一) 臍靜脈血管內皮細胞 (HUVECs)之分離培養

新鮮臍帶以 Hank's Balanced Salt Solution(HBSS)沖洗 2 次，充填 0.1% collagenase 溶液並在 37°C 水浴中作用 10 分鐘，擠出溶液後以 900 rpm 離心 7 分鐘，吸除上清液，以 M199 培養液包含 20% FBS 及 1% penicillin/streptomycin 進行培養，在 5%CO₂ 及 37°C 的培養箱中培養，培養至第三代細胞供予實驗使用。

(一) 人類臍靜脈血管內皮細胞之鑑定

人類臍靜脈血管內皮細胞待長滿，以 PBS 沖洗一次，加入 0.25% 的 trypsin 將細胞游離下來，用 FACScan 緩衝溶液輕輕震盪清洗 2 次，加入 monoclonal mouse anti-human CD31 作用 30 分鐘，再加入 2 級抗體作用，再以 paraformaldehyde 避光固定，最後以流式細胞儀分析 20000 顆細胞中抗人類臍靜脈血管內皮細胞 CD31 antibody 之比例。

(二) 紅甘藷葉之多酚類萃取物對於 HUVECs 細胞增生試驗

臍靜脈血管內皮細胞以密度 5000/well 種到 96well 培養皿，培養 1 天。第二天吸掉培養液，加入含 1%FBS 之 M199 培養液，或含有 50 ng/mL 血管內皮生長因子以及不同濃度的紅甘藷葉之多酚類萃取物，及一組添加 SU5416 作為正向控制組 (positive control)，培養 2 天後，使用 MTT kit 分析測量其細胞增生情形。

(四) 紅甘藷葉之多酚類萃取物對於 HUVECs 細胞類血管生成作用試驗 (tubule formation assay on matrigel)

利用斷面觀察血管內皮細胞在活體外細胞外基質形成類血管結構，以甲醛固定後於光學顯微鏡下觀察。簡述之，先將 matrigel 與不含血清培養液稀釋成 5 mg/mL，取 300 μ L 於 24 well 培養皿

中聚合 1 小時，將人類臍靜脈血管內皮細胞以密度 2×10^5 細胞數種入，加入含 1% FBS 的 M199 培養液，或含 50 ng/mL 血管內皮生長因子以及不同濃度的紅甘藷葉多酚類萃取物，及一組添加 SU5416 作為正向控制組 (positive control)，放回 37°C 細胞培養箱中培養 6 小時，加入 3% 甲醛固定 15 分鐘，於光學顯微鏡下觀察並照相。

(五) 紅甘藷葉之多酚類萃取物對於 HUVECs 細胞內皮細胞移動試驗 (endothelial wounding migration assay)

將人類臍靜脈血管內皮細胞以密度 2×10^5 細胞數種入種入 24 well 培養皿中，待細胞貼附 48 小時後，用刮刀將細胞單層刮除，用 PBS 清洗後，加入含 1% FBS 的 M199 培養液，或含 50 ng/mL 血管內皮生長因子以及不同濃度的紅甘藷葉多酚類萃取物，及一組添加 SU5416 作為正向控制組 (positive control)，放回 37°C 細胞培養箱中培養 24 小時後，加入 3% 甲醛固定 15 分鐘，於光學顯微鏡下觀察細胞移動情形並照相。

(六) 紅甘藷葉之多酚類萃取物可能影響血管新生現象的因子

1. 以西方點墨法分析細胞蛋白質萃取液中 VEGFR2 蛋白質表現量

在 24 well 的培養皿中種入 2×10^5 人類臍靜脈血管內皮細胞，

待細胞完全貼附後，以 PBS 清洗 2 次，加入含 1% FBS 的 M199 培養液，或含 50 ng/mL 血管內皮生長因子以及不同濃度的紅甘藷葉多酚類萃取物，在 37°C 細胞培養箱中培養 24 小時後，收集細胞，萃取細胞內蛋白質，以 10 %SDS-PAGE 電泳分離，再加入 VEGF-2 antibody 偵測其蛋白質表現。

2. 以蛋白質免疫沉澱法分析細胞蛋白質萃取液中 VEGFR2 蛋白質 tyrosine kinases 的磷酸化作用

在 24 well 的培養皿中種入 2×10^5 人類臍靜脈血管內皮細胞，待細胞完全貼附後，以 PBS 清洗 2 次，加入含 1% FBS 的 M199 培養液，培養 6 個小時以上，使細胞酪胺酸磷酸化程度最少，分別前處理不同濃度的紅甘藷葉多酚類萃取物 30 分鐘後，再處理 50ng/mL 血管內皮生長因子 30 分鐘，收集細胞以 IP lysis buffer 溶解細胞，收其蛋白質萃取液作 VEGFR-2 免疫沉澱後，加入 4 倍樣品緩衝液在 100°C 煮沸 10 分鐘，進行 SDS-PAGE 電泳，並以西方點墨法分析其 tyrosine kinases 的磷酸化作用

3. 測量基質金屬蛋白酶酵素(metalloproteinase)活性

使用 Matrix Metalloproteinase Zymography 進行分析。人類臍靜脈血管內皮細胞 5×10^5 /well 培養在含 1%FBS 的 M199 培養液，或含 50 ng/mL 血管內皮生長因子以及不同濃度的紅甘藷葉多酚類萃取

物，在 37°C 細胞培養箱中培養 24 小時後，收集上清液，以 SDS-PAGE 電泳方式，製備含有 0.1% gelatin 的 running gel ，測定培養液中 metalloproteinase 的酵素活性。

三、 統計分析

所有數據將以 mean \pm SD 來表示，並以 SAS 軟體進行分析。

三、 結果

(一) 製備紅甘藷葉之多酚類萃取物

紅甘藷葉採收之後，只取葉子部份進行冷凍乾燥，其廢棄率佔總重量的 56%。乾燥後的乾重佔原始重量的 15%。用 10 倍甲醇熱回流方式萃取 1 小時後，再經冷凍乾燥後可獲得 11.3% 的多酚類萃取物。

(二) 紅甘藷葉之多酚類萃取物定量分析

利用 Folin-Ciocalteu reagent 將冷凍乾燥的多酚類萃取物進行定量分析，結果顯示每公克多酚類萃取物含有 293.8^{mg} gallic acid 的多酚類。

(三) 人類臍靜脈血管內皮細胞之鑑定

我們自新鮮臍帶分離人類臍靜脈血管內皮細胞，為了確認所培養的細胞確定為內皮細胞，我們利用內皮細胞專一標誌 monoclonal mouse anti-human CD31，以流式細胞儀分析 20000 顆細胞中抗人類臍靜脈血管內皮細胞 CD31 antibody 之比例。結果顯示我們初代培養的細胞約有 82% 為內皮細胞。

(四) 紅甘藷葉之多酚類萃取物對於 HUVECs 細胞增生試驗

我們利用 MTT kit 觀察內皮細胞在不同濃度的紅甘藷葉之多酚類萃取物處理下，是否會影響血管內皮生長因子 (VEGF165)

所促進的細胞增生現象（圖一）。結果顯示在 0.1mg/mL 的紅甘藷葉多酚類萃取物處理下即可抑制人類臍帶靜脈內皮細胞增生的現象。當紅甘藷葉多酚類萃取物的作用濃度大於 1mg/mL 時，細胞出現漂浮死亡的現象。

（五）紅甘藷葉之多酚類萃取物對於 HUVECs 細胞類血管生成作用試驗 (tubule formation assay on matrigel)

類血管形成作用是血管新生的一個步驟，利用斷面觀察血管內皮細胞在活體外細胞外基質形成類血管結構，觀察紅甘藷葉多酚類萃取物是否有抑制血管內皮生長因子所引起的類血管形成作用。在 24well 培養皿底部鋪蓋 5mg/mL basement membrane extract 0.3 cc，在 37°C 細胞培養箱聚合 1 小時，將人類臍靜脈血管內皮細胞以密度 2×10^5 細胞數種入，加入含 1% FBS 的 M199 培養液，或含 50 ng/mL 血管內皮生長因子以及不同濃度的紅甘藷葉多酚類萃取物，及一組添加 SU5416 作為正向控制組 (positive control)，放回 37°C 細胞培養箱中培養 6 小時，加入 3% 甲醛固定 15 分鐘，於光學顯微鏡下觀察並照相。結果顯示外加 50 ng/mL 血管內皮生長因子會引起人類臍帶內皮細胞形成類血管結構，同時處理不同濃度的紅甘藷葉多酚類萃取物，可以破壞 50 ng/mL 血管內皮生長因子所引起的類血管形成作用（圖二）。

(六)紅甘藷葉之多酚類萃取物對於 HUVECs 細胞內皮細胞移動試驗
(endothelial wounding migration assay)

當組織受到傷害，周邊的血管內皮細胞會受到細胞激素刺激，誘使血管內皮細胞移動生長，以修復傷害，因此血管內皮細胞具有移動的能力，我們想利用刮除一半細胞的方式，觀察紅甘藷葉多酚類萃取物是否能抑制血管內皮生長因子所引起的細胞移動現象。先將人類臍靜脈血管內皮細胞以密度 2×10^5 細胞數種入種入 24 well 培養皿中，待細胞貼附 48 小時後，用刮刀將半邊細胞單層刮除，用 PBS 清洗後，加入含 1%FBS 的 M199 培養液，或含 50 ng/mL 以及不同濃度的紅甘藷葉多酚類萃取物，及一組添加 SU5416 作為正向控制組 (positive control)，放回 37°C 細胞培養箱中培養 24 小時後，加入 3% 甲醛固定 15 分鐘，於光學顯微鏡下觀察細胞移動情形並照相。結果顯示 50 ng/mL 血管內皮生長因子會促使 HUVECs 細胞移動，而 0.2 mg/mL 的紅甘藷葉多酚類萃取物即具有抑制細胞移動的現象。

(七)紅甘藷葉之多酚類萃取物可能影響血管新生現象的因子

1. 以西方點墨法分析細胞蛋白質萃取液中 VEGFR2 蛋白質表現量。

在 24 well 的培養皿中種入 2×10^5 人類臍靜脈血管內皮細胞，待細胞完全貼附後，以 PBS 清洗 2 次，加入含 1% FBS 的 M199

培養液，或含 50 ng/mL 血管內皮生長因子以及不同濃度的紅甘藷葉多酚類萃取物，在 37°C 細胞培養箱中培養 24 小時後，收集細胞，萃取細胞內蛋白質，以 10 %SDS-PAGE 電泳分離，再用 VEGFR-2 antibody 以西方點墨法偵測其蛋白質表現。結果顯示隨著紅甘藷葉多酚類萃取物濃度提高，VEGFR-2 蛋白質表現有逐漸減少的現象如圖三。

2. 以蛋白質免疫沉澱法分析細胞蛋白質萃取液中 VEGFR2 蛋白質 tyrosine kinases 的磷酸化作用

許多研究指出 VEGF 促進內皮細胞生長的訊息傳遞主要是透過其細胞膜上 VEGFR2 受體蛋白酪胺酸磷酸化，進一步去活化下游 MAPK、PI3K、P38 等蛋白質。我們將 HUVECs 細胞培養在含 1% FBS 的 M199 培養液 6 個小時以上，使細胞酪胺酸磷酸化程度最少，分別前處理不同濃度的紅甘藷葉多酚類萃取物 30 分鐘後，再處理 50ng/mL 血管內皮生長因子 30 分鐘，收集細胞蛋白質萃取液作 VEGFR-2 免疫沉澱後，用西方點墨法分析其 tyrosine kinases 的磷酸化作用。結果顯示前處理不同濃度的紅甘藷葉多酚類萃取物，並不會改變細胞膜上的受體 VEGFR-2 的磷酸化作用（圖四）。

3. 測量基質金屬蛋白酶酵素(metalloproteinase)活性

當類血管形成及細胞移動時，內皮細胞分解基底膜的能力會增

強，透過分解 SDS-PAGE gel 中的 gelatin，可以觀察到 VEGF165 會活化 MMP-2 酵素活性，而在 68kDa 呈現反白現象，而處理不同濃度的紅甘藷葉多酚類萃取物，並不會抑制 MMP-2 酵素活性，顯示紅甘藷葉多酚類萃取物抑制類血管生成及細胞移動等血管新生現象，並非透過此調控機轉（圖五）。

四、討論

1. 為減少污染機會，我們只取剖腹產胎兒的臍帶，有時等很久都沒有剖腹產胎兒，有時一次數位，因人力的安排，也無法數位胎兒的臍帶都進行培養，只好流失一些培養的機會。加上 HUVECs 細胞不易培養，生長緩慢，有時要一星期多的時間才能長滿一盤，又因為培養基含 20% 血清非常營養，容易污染，在無菌操作的過程要很小心，否則就會前功盡棄。所以在建立培養 HUVECs 細胞的實驗模式上花費了不少時間。
2. 我們在利用 MTT 測定細胞增生作用時，發現紅甘薯葉的萃取物會干擾 MTT 呈色，因此後來改用相對控制組，也就是以不同的濃度的多酚類萃出物無細胞培養液作為不同濃度處理組的對照，而解決了紅甘薯葉萃取物干擾 MTT 呈色的問題。
3. 我們在進行 HUVECs 細胞移動實驗時有一個很大的困難就是刮除一半細胞時，切口很難平整，嚴重影響到觀察，雖然大致上發現 50ng/mL 的血管內皮生長因子可以促進 HUVECs 細胞移動，而 0.2mg/mL 的紅甘薯葉多酚類萃取物即具有抑制細胞移動的現象，但因切口不整齊，很難計算移動細胞的數目。今年 10 月份本人有幸獲得國科會的補助得以參加在美國 Davis 舉辦的世界多酚類與健康促進的研討會，會中發現有些研究室利用 transwell 來進行

HUVECs 細胞移動實驗，這或許可以解決這個問題，我們將於未來重新建立 HUVECs 細胞移動實驗的方法。

4. 在整個實驗結果上我們發現紅甘藷葉的多酚類萃取物在低濃度 (0.1 mg/mL) 的情況下即具有抑制 HUVECs 細胞生長的情形；而在類血管的形成作用上，隨著紅甘藷葉的多酚類萃取物的濃度提高而減少類血管的形成；以及 0.2 mg/mL 的紅甘藷葉多酚類萃取物即具有抑制細胞移動現象來看，紅甘藷葉的多酚類萃取物的確在 *in vitro* 的實驗中抑制了血管新生的作用，未來希望能進行 *in vivo* 的實驗，進一步證明其抑制血管新生的作用。
5. 一些已知之抑制血管新生的成分如綠茶多酚中的 EGCG，主要是直接抑制 VEGFR2 酪胺酸蛋白磷酸化及抑制 VEGFR2 蛋白質的表現 (8-9)；另一抑制血管新生的藥物 Halofuginone，主要是透過抑制內皮細胞分解基底膜酵素 metalloproteinase 活性 (10)。我們的實驗發現紅甘藷葉多酚類萃取物沒有抑制 VEGFR2 酪胺酸蛋白磷酸化作用；也沒有抑制內皮細胞分解基底膜酵素 metalloproteinase 活性，只有抑制 VEGFR2 蛋白質的表現且呈現劑量關係，顯示紅甘藷葉抑制血管新生作用可能藉由減少的 VEGFR2 蛋白質的表現。
6. HUVECs 細胞在低濃度的紅甘藷葉多酚類萃取物處理下，細胞增

殖能力明顯下降，是否對 HUVECs 細胞具有細胞靜止或促進凋亡的現象，還需進一步深入研究。

五、 結論與建議

紅甘藷葉的多酚類萃取物具有抑制 HUVECs 細胞生長及移動的情形；而在類血管的形成作用上，亦隨著紅甘藷葉的多酚類萃取物的濃度提高而減少類血管的形成，顯示紅甘藷葉多酚類萃取物具有抑制 HUVECs 細胞血管新生的作用，其主要機轉可能是透過減少的 VEGFR2 蛋白質的表現。建議未來可以進一步做體內試驗，了解紅甘藷葉萃取物對人體的真正功能。

六、 九十四年度計畫重要研究成果及對本署之具體建議

1. 建立人類臍靜脈血管內皮細胞(HUVECs)的培養模式
2. 紅甘藷葉多酚類萃取物對於 HUVECs 細胞具有抑制增殖的作用
3. 紅甘藷葉多酚類萃取物可以抑制 HUVECs 細胞類血管生成作用
4. 紅甘藷葉多酚類萃取物具有抑制 HUVECs 細胞移動之作用
5. 紅甘藷葉多酚類萃取物可能透過減少內皮細胞受體(VEGF receptors)蛋白質表現量來抑制 HUVECs 細胞新生作用。

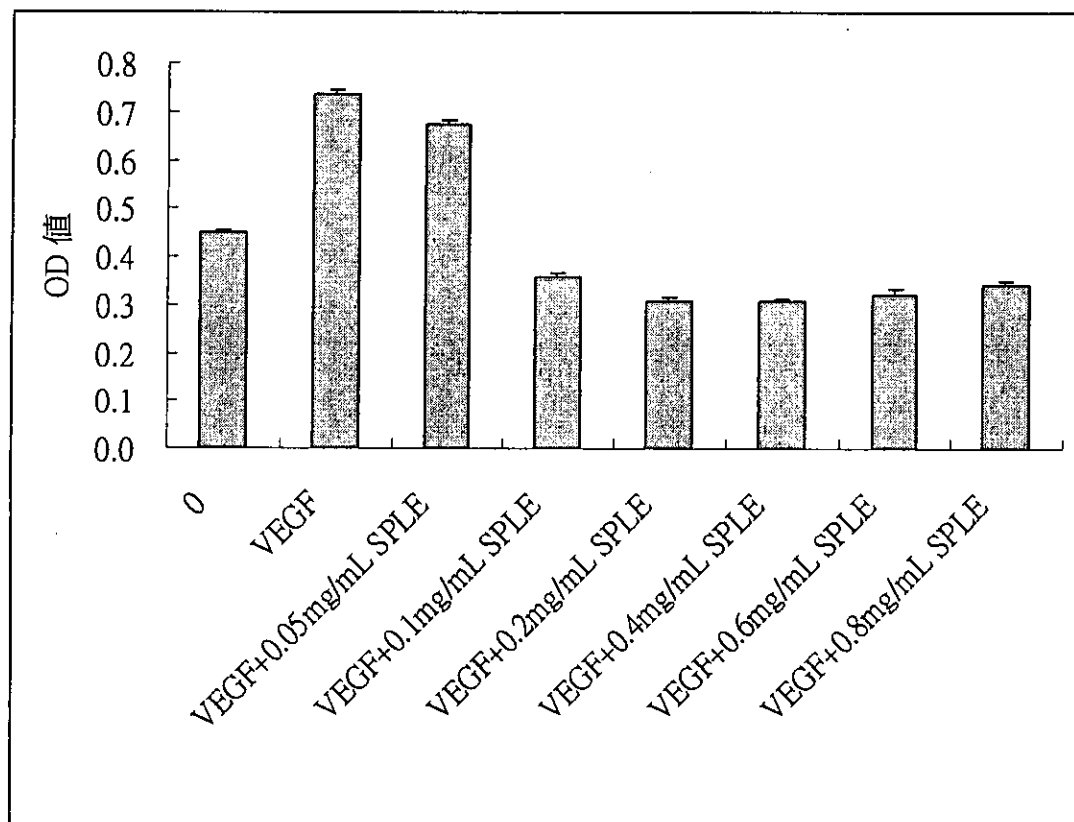
七、參考文獻

1. Cook JD, Reddy MB, Hurrell RF (1995) The effect of red and white wines on nonheme-iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 61:800-804.
2. Salucci M, Stivala LA, Maiani G, Bugianesi R, Vannini V. (2002) Flavonoids uptake and their effect on cell cycle of human colon adenocarcinoma cells (Caco2). *Br J Cancer* 86:1645-51
3. Strick R, Strissel PL, Borgers S, Smith SL, Rowley JD. (2000) Dietary bioflavonoids induce cleavage in the MLL gene and may contribute to infant leukemia. *Proc Natl Acad Sci.* 97:4790-5
4. Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D. (1993) Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 342:1007-11
5. Brakenhielm E, Cao R, Cao Y.(2002) Suppression of angiogenesis, tumor growth, and wound healing by resveratrol, a natural compound in red wine and grapes. *FASEB J.* 2001 Aug;15(10):1798-800.
6. 湯淑貞。台灣紅色鄉土蔬菜萃取物之抗氧化效力研究。(民國 89 年) 中國文化大學生活應用科學研究所碩士論文
7. Taga MS Miller EE, Pratt DE. (1984) Chia seeds as a source of natural antioxidants. *J. Am Oil Chem Soc* 61:928-931
8. Lamy S, Gingras D, Beliveau R (2002) Green tea catechins inhibit vascular endothelial growth factor receptor phosphorylation. *Cancer Res.* 2002 Jan 15;62(2):381-5.

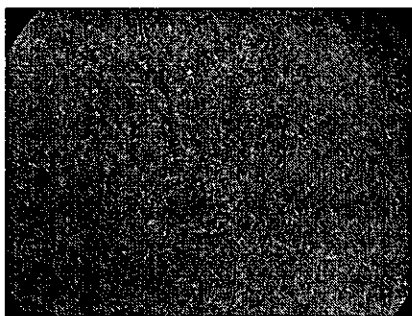
9. Mazitschek R, Giannis A. (2004) Inhibitors of angiogenesis and cancer-related receptor tyrosine kinases. *Curr Opin Chem Biol.* 2004 Aug;8(4):432-41.
10. Elkin M, Miao HQ, Nagler A, Aingorn E, Reich R, Hemo I, Dou HL, Pines M, Vlodaysky I. (2000) Halofuginone: a potent inhibitor of critical steps in angiogenesis progression. *FASEB J.* 2000 Dec;14(15):2477-85.

八、圖表

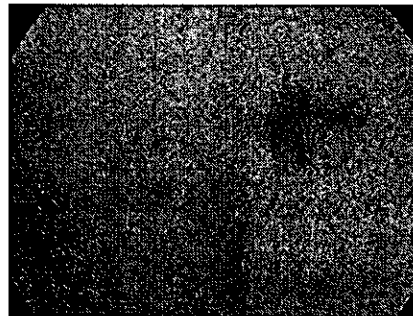
圖一紅甘藷葉多酚類萃取物 (SPLE) 對抑制 HUVECs 細胞增殖作用之影響



圖二 紅甘藷葉多酚類萃取物 (SPLE) 對抑制 HUVECs 細胞類血管生成作用之影響



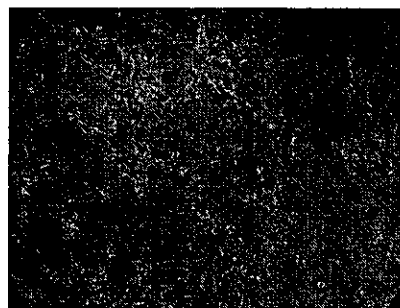
Control



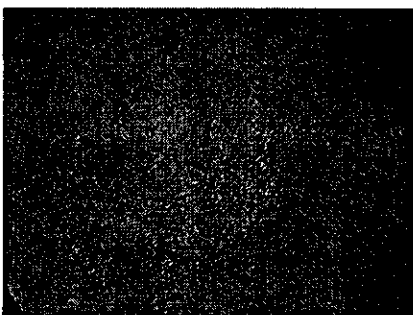
VEGF50ng/mL



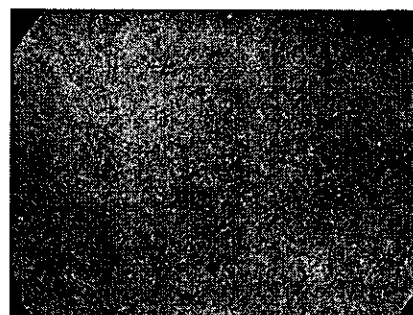
VEGF50ng/mL+0.1mg/mL SPLE



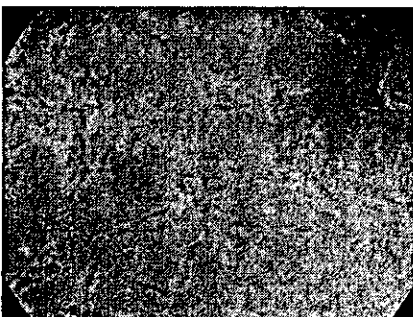
VEGF50ng/mL+0.2mg/mL SPLE



VEGF50ng/mL+0.4mg/mL SPLE

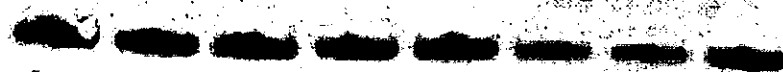


VEGF50ng/mL+0.6mg/mL SPLE



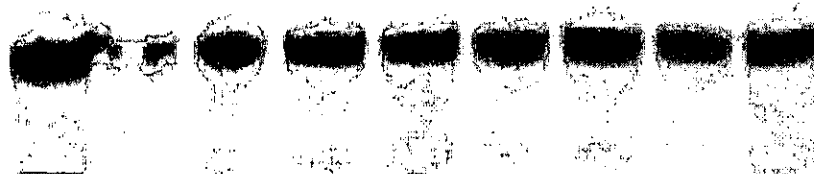
VEGF50ng/mL+SU5416

圖三 紅甘藷葉多酚類萃取物 (SPLE) 對 HUVECs 細胞 VEGFR2 蛋白質表現量之影響



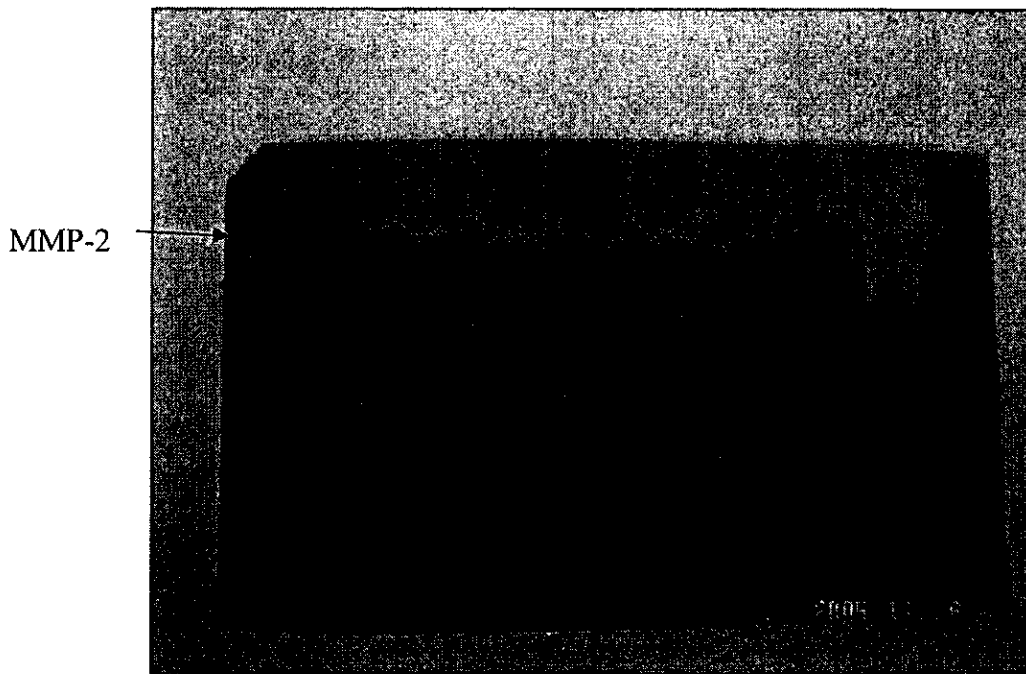
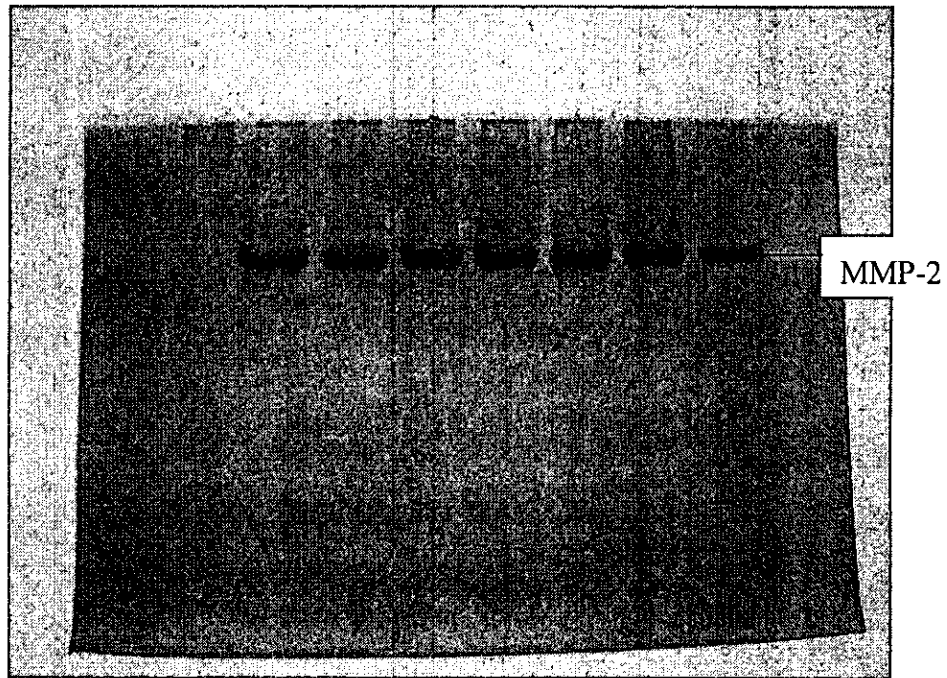
| | | | | | | | | |
|--------------|---|---|------|-----|-----|-----|-----|---|
| VEGF50ng/mL | + | - | + | + | + | + | + | + |
| SPLE (mg/mL) | 0 | 0 | 0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.4 | 0.6 | - |
| SU5416 | | | | | | | | + |

圖四 紅甘藷葉多酚類萃取物 (SPLE) 對 HUVECs 細胞 VEGFR2 蛋白質酪胺酸磷酸化之影響



| | | | | | | | | | |
|--------------|---|---|---|------|-----|-----|-----|-----|-----|
| VEGF50ng/mL | + | - | - | + | + | + | + | + | + |
| SPLE (mg/mL) | 0 | - | 0 | 0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.4 | 0.6 | 0.8 |
| SU5416 | | + | | | | | | | |

圖五 紅甘藷葉多酚類萃取物 (SPLE) 對 HUVECs 細胞 metalloproteinase 的酵素活性



| | | | | | | | | |
|--------------|---|---|------|-----|-----|-----|-----|---|
| VEGF50ng/mL | - | + | + | + | + | + | + | - |
| SPLE (mg/mL) | 0 | 0 | 0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.4 | 0.6 | - |
| Proteinase K | | | | | | | | + |