

降血糖活性物質快速篩選平台之建立與應用

背景介紹

根據世界衛生組織(World Health Organization) 以及 the International Diabetes Federation 的統計, 世界糖尿病患者的人口於 1994–1995 年間為 1 億~1 億 3 千 5 百萬人, 於 2007 年已經增加到 2 億 4 千 6 百萬人, 而且 95% 以上是第 2 型糖尿病。這種驚人的增加速度被認為應該是由於現代人的生活習慣、飲食等因素造成。在美國, 糖尿病患者的不斷增加使其健康保險的財務負擔吃重, 被預測到 2030 年會造成社會健康保險系統的破產。因此, 有效地預防與治療第 2 型糖尿病是相當重要的。

哺乳動物於進食時之後, 血糖(主要指血液中的葡萄糖)濃度升高, 身體會分泌胰島素來刺激細胞吸收血糖, 使血糖下降。第 2 型糖尿病是指身體細胞失去對胰島素的反應(稱為胰島素抗性), 無法在胰島素的刺激下吸收血糖, 所以血糖居高不下。第 2 型糖尿病的盛行, 被認為是現代人的生活習慣中過度攝取熱量卻又運動不足造成體重過重為主要禍首。所以理論上要根治或預防第 2 型糖尿病, 就是要減重或控制體重、適度的運動等。但是這是普遍知道卻不易做到的事情, 由糖尿病患者驚人的增加速度就可以反應此點。第 2 型糖尿病好發於中、老年人, 與中、老年人因為老化而新陳代謝變慢、容易堆積脂肪有關。而由於新陳代謝變慢, 中老年人控制體重並非易事。甚至有科學家提出容易堆積脂肪、儲存能量的體質, 有可能是人類在演化的過程中, 為了應付遠古時代食物來源不易、經常飢餓, 所以必須盡量儲存能量而進化出來的 "優良" 遺傳。所以除了仍積極控制體重外, 有些人可能也需要藥物或健康食品的輔助。

目前的糖尿病藥物都無法根治糖尿病, 最多能控制病情。但是有些藥物有副作用, 有的病人則是使用某些藥物久了身體會適應, 所以劑量越用越高, 甚至失效。所以科學家仍積極尋求有效預

防或治療糖尿病的物质。由植物或中草藥中找尋降血糖的物质是其中一個重要的搜尋目標。

例如苦瓜(Momordica charantia), 除了是本國民間普遍用來降火氣的食材, 於亞洲、非洲與南美洲, 也被民間用來降血糖。目前已有不少科學論文證實苦瓜莖、葉、果實或全株的粗萃物於糖尿病模型動物中具有降血糖功能, 但是其確切的降血糖成分則不清楚, 因為缺乏有效率的鑑定方法。

要鑑定物質是否具有降血糖功能, 最直接的方法是利用動物實驗, 將待測樣品餵食高血糖動物, 檢驗血糖濃度是否因此有效地降下來。但是植物的萃取物成分相當複雜而且種類繁多, 不可能利用動物實驗一一檢驗哪些成分是具有降血糖功能者, 因為所需要的動物數量太多, 經費龐大, 且耗時甚久。所以動物實驗不可能做為篩選的工具。因此, 本實驗室嘗試開發以細胞作為平台的降血糖活性物質篩選方法, 以應用於大量且快速地分析鑑定植物萃取物或其他來源中, 具有降血糖功能的成份。

降血糖活性物質快速篩選平台之建立

以細胞分析一個化合物的降血糖活性, 在過去的文獻中是有先例的。這些文獻是使用放射線元素標定的葡萄糖類似物來代替葡萄糖, 讓細胞吸收, 再檢驗細胞所含的放射線強度, 作為細胞吸收葡萄糖的依據。因為這個方法要使用放射線元素, 終究是危險而不便, 應該避免大量使用, 所以通常是用於研究某個已知有降血糖效果的分子的作用機制(如此, 只需使用小量), 而不是用於大量篩選。有學者因此合成出有螢光標定的葡萄糖類似物來取代放射線標定的方法。但是本實驗室測試發現, 該化合物因為螢光很靈敏, 造成背景干擾很強, 實驗結果誤差很大, 反而達不到目的。而且該化合物很昂貴, 若用於大量篩選活性物質, 所費不貲, 不符合經濟效益。因此, 本實驗室決定發展一套操作

生物科技研究所 鄭雪玲

簡單、安全、快速、相對便宜而不需使用特殊標定物質的篩選方法。

我們以藥物刺激一株老鼠的肝臟細胞, 使產生胰島素抗性, 再處以待測樣品以及胰島素, 於處理後 0, 1, 2, 3, 4, 5 小時取其培養基檢驗葡萄糖濃度(圖 1)。



圖 1. 降血糖活性物質快速篩選分析之操作: A, 培養細胞做為降血糖活性物質快速篩選平台; B, 以 96 孔盤快速篩選分析降血糖活性物質。

若待測樣品沒有辦法克服細胞的胰島素抗性來促進其吸收葡萄糖, 則其培養基葡萄糖濃度隨時間下降的速度會與對照組(具胰島素抗性的細胞只加胰島素刺激, 沒有加任何待測樣品; 圖 2 中的 resistant+insulin)相似, 則認為該待測樣品沒有降血糖活性(例如圖 2 中的 resistant+insulin+sample 1); 若其培養基葡萄糖濃度隨時間下降的速度明顯較對

照組快，而且與正常細胞加胰島素者(圖 2 中的 normal+insulin)相似，則認為該待測樣品有降血糖活性(例如圖 2 中的 resistant+insulin+sample 2)。

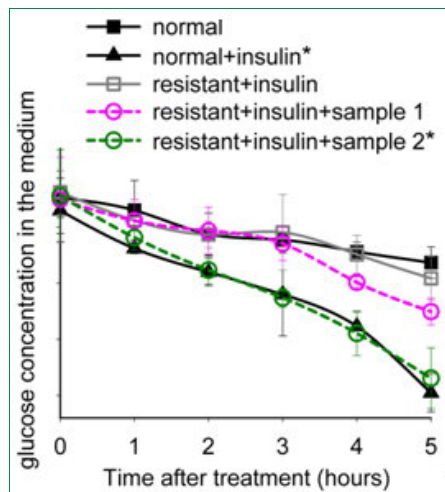


圖 2. 降血糖活性物質篩選結果例圖：

normal 是正常細胞；normal+insulin 是正常細胞加胰島素刺激；resistant+insulin 是具胰島素抗性的細胞加胰島素刺激；resistant+insulin+sample 1 是具胰島素抗性的細胞加胰島素及樣品 1 處理；resistant+insulin+sample 2 是具胰島素抗性的細胞加胰島素及樣品 2 處理。X 軸是加入樣品處理後的時間；Y 軸是培養基中的葡萄糖濃度，其隨時間下降的速度可反映細胞吸收培養基中葡萄糖的速度。★代表以統計學分析，與 resistant+insulin 比較為 $p < 0.05$ 。資料顯示樣品 2 有降血糖活性，樣品 1 則無。

降血糖活性物質篩選平台之應用

我們利用這個方法，已經由民間最普遍食用的苦瓜品種—白蓮苦瓜，以及農委會花蓮農改場所提供的新品種山苦瓜中篩選出數個具有降血糖活性的天然物，其中一部分正在申請專利。動物實驗也證實含有這些活性天然物的苦瓜或

山苦瓜分液，對高血糖動物具有降血糖效果。苦瓜的資料已經發表(Journal of Agricultural and Food Chemistry 56, 6835–6843, 2008)，這是第一篇可以由植物的粗萃液中，系統性地篩選鑑定出哪些成分具有降血糖活性的報告。

此外，我們發現中國南瓜(Cucurbita moschata)也含有降血糖成分，已經篩選出具有降血糖活性的分液。這些分液有些已進行動物實驗，證實其活體內的降血糖效果，現正鑑定其所含成分為何。目前，利用這個篩選平台，我們與屏東農業生技園區的一家進駐廠商進行產學合作計畫，協助廠商研究其所提供的材料是否具有降血糖活性及降血糖成分為何。未來將可利用這個平台繼續由各種來源中搜尋分析具有降血糖活性的物質。