

2024年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 060012
參展科別 植物學
作品名稱 探討蒲公英萃取物對纖維母細胞增生及移行之影響

就讀學校 臺北市立麗山高級中學
指導教師 王怡文、蕭國偉
作者姓名 李采恩、楊喻涵

關鍵詞 蒲公英 (Taraxacum officinale)、纖維母細胞、
傷口癒合

作者照片



探討蒲公英萃取物對纖維母細胞增生及移行之影響

摘要

近年來，蒲公英在醫學上有許多突破性的發現，例如：蒲公英萃取物可抑制腫瘤生長、抑制發炎反應、治療肝相關疾病等等，對於疾病治療有極大幫助。此外，蒲公英在中藥學與各地原住民習俗上，都具有治療跌打損傷之功能，然而尚無研究針對蒲公英修復傷口進行實驗，因此本研究欲探討蒲公英萃取物對人類真皮層之纖維母細胞增生及移行的影響。研究結果顯示，本實驗兩種蒲公英萃取物在濃度20ug/ml之內，皆可促進細胞增生，其中以濃度10ug/ml效果最佳；在細胞移行的部分，兩種蒲公英萃取物皆會抑制細胞遷移。然而，本研究僅使用眾多蒲公英萃取物的其中兩種，不能代表所有蒲公英萃取物對纖維母細胞皆會有相同反應，因此在未來可以使用其它種蒲公英萃取物來進行實驗，並透過分析萃取物中的化合物種類，探討是哪些特定的成分可以促進傷口癒合。

關鍵字：蒲公英 (*Taraxacum officinale*)、纖維母細胞、傷口癒合

Abstract

In recent years, there have been numerous groundbreaking discoveries in the field of medicine regarding dandelions. For example, dandelion extracts have been found to inhibit tumor growth, suppress inflammatory responses, and treat liver-related diseases, among other benefits, making them highly valuable in disease treatment. Furthermore, dandelions have traditionally been used in traditional Chinese medicine and indigenous practices worldwide for their healing properties, particularly in treating bruises and injuries. However, there has been no research specifically focusing on the experimental use of dandelion extracts for wound healing. Therefore, this study aims to investigate the impact of dandelion extract on the proliferation and migration of human dermal fibroblasts. The research results indicate that both types of dandelion extracts used in this experiment can promote cell proliferation at concentrations within 20 μ g/ml, with the most optimal effect observed at a concentration of 10 μ g/ml. However, concerning cell migration, both dandelion extracts inhibit cell movement. It is important to note that this study only used two of the many dandelion extracts available, and these findings may not represent the response of all dandelion extracts on fibroblast cells. Therefore, in future research, other dandelion extract varieties can be experimented with, and by analyzing the types of compounds present in these extracts, one can determine which specific components contribute to wound healing promotion.

Keywords : *Taraxacum officinale* · Fibroblast · Wound healing

壹、前言

一、研究動機 & 文獻回顧

皮膚是保護身體的一大器官，阻擋了大多數病菌的入侵，然而，一旦出現傷口，細菌便會從這個缺口蜂擁而入，小則因起傷口發炎，嚴重的可能導致蜂窩性組織炎甚至是敗血症，因此傷口照顧是很重要的事。現今治療傷口最常見的方法是把藥膏敷在傷口上，因此許多民間偏方或原住民藥草都有記載，將常見的草藥敷在傷口上。

蒲公英是常見的植物，近年來在醫學研究上也挖掘出許多蒲公英的藥性，例如：蒲公英萃取物可以抑制腫瘤生長及遷移的作用 (Korbášová et al, 2022)、中藥材中的蒲公英可以抑制發炎反應並減緩小鼠體內關節炎的進展並預防關節組織的發炎 (Chen et al, 2019).....。

此外，在許多民間傳說及中草藥學上顯示蒲公英具有治療跌打損傷的功能，且在前人研究上有提及到，蒲公英根部的甲醇萃取物可以促進纖維母細胞增生，並發現萃取物中的一些三萜類化合物對正常人體皮膚纖維母細胞的增生有顯著的作用 (Warashina et al, 2012)；也有研究發現，蒲公英葉和花的萃取物可以顯著減緩被UVB照射所導致的細胞衰老，並幫助UVB吸收，是對抗UVB造成的損傷和細胞老化的有效保護劑 (Yang et al, 2015)；在皮膚護理的研究中發現，蒲公英根莖根萃取液具有抗發炎、抑制脂質過氧化及抑制生物膜形成的功能，且能抑制組織胺含量。

透過前人研究，本研究推測蒲公英萃取物可以促進傷口癒合，然而前人研究僅發現蒲公英萃取物可促進纖維母細胞增生，尚未進行更多與傷口癒合相關的研究，因此本研究使用人類皮膚真皮層中的纖維母細胞 (Fibroblast) 與兩種蒲公英萃取物 (Taraxera-14-ene-3-one、Taraxerol) 進行反應，針對傷口癒合所需的兩大特性：細胞增生及細胞移行，來探討蒲公英萃取物對纖維母細胞下的影響。

二、研究目的 & 研究問題

(一) 研究目的

1. 探討蒲公英萃取物Taraxera-14-ene-3-one、Taraxerol對傷口癒合的影響。

(二) 研究問題

1. 探討蒲公英萃取物是否會促進纖維母細胞增生。
2. 探討蒲公英萃取物是否會促進纖維母細胞移行。

貳、研究方法

一、研究設備及器材

(一) 細胞

選用人類纖維母細胞 (購自工業研究院食品科學研究所)

(二) 藥品及試劑

表一、藥品與試劑，本研究所使用之藥品與試劑如下表所示。

藥品及試劑	用途	藥品及試劑	用途
Taraxera-14-ene-3-one	蒲公英萃取物	PBS	洗滌細胞
Taraxerol	蒲公英萃取物	medium	細胞培養液
DMSO	溶解藥物	CCK-8試劑	測試細胞增生數量
酒精	消毒	trypsin-edta	將細胞從底部打上來
胎牛血清	提供細胞生長所需養分	medium (透明)	實驗用細胞培養液

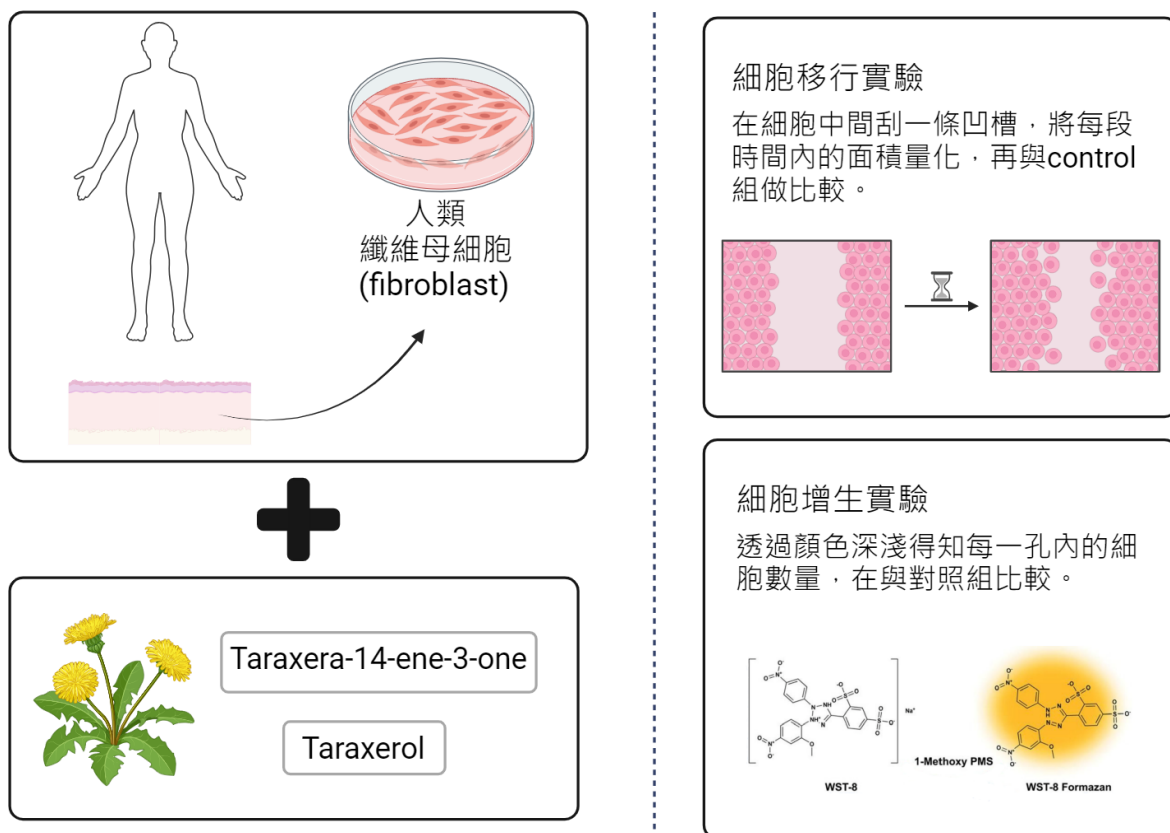
(三) 器材

表二、實驗器材，本研究所使用之實驗器材如下表所示。

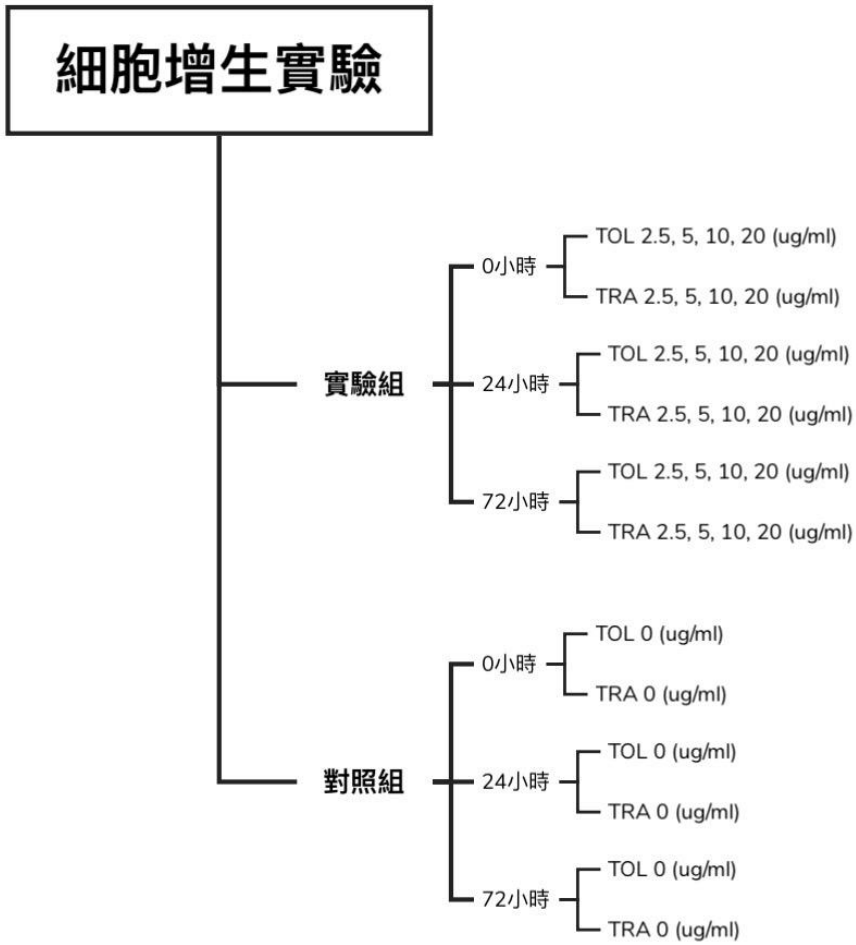
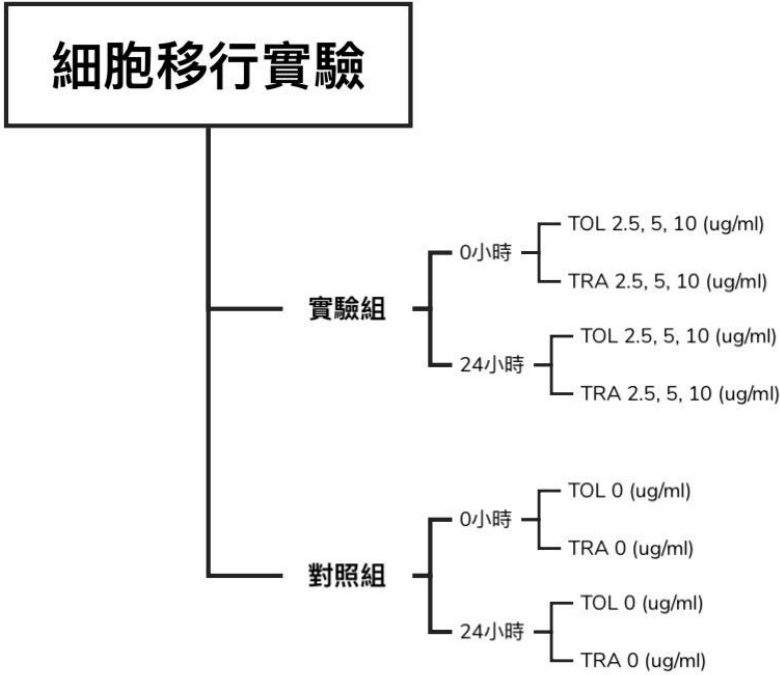
器材	用途	器材	用途
Molecular Devices	拍照 (細胞移行)	離心管 (15ml)	裝溶液
tip (1ml、0.3ml、0.01ml)	吸取各物	離心管 (50ml)	裝取溶液
eppendorf	裝取細胞	compact plate reader	測OD值
培養皿	培養細胞	微量吸管	抽吸實驗液體
培養皿 (24孔)	培養細胞	玻璃管	吸取液體
培養皿 (96孔)	培養細胞	手套	防止污染實驗物
離心機	離心細胞與液體	細胞計數器	計算細胞數量
無菌操作台	實驗操作	電腦	數據整理及分析
倒立式顯微鏡	觀察細胞	多功能震盪混合器	均勻混合細胞與液體
恆溫箱	培養細胞	冰箱 (4度、-20度)	保存藥品
水浴槽	回溫溶液	馬槽	配置溶液

二、研究架構圖

(一) 研究大綱圖：實驗分組及研究大綱 (如圖一)



圖一、研究大綱圖 (1)，本研究之大綱如上圖所示。

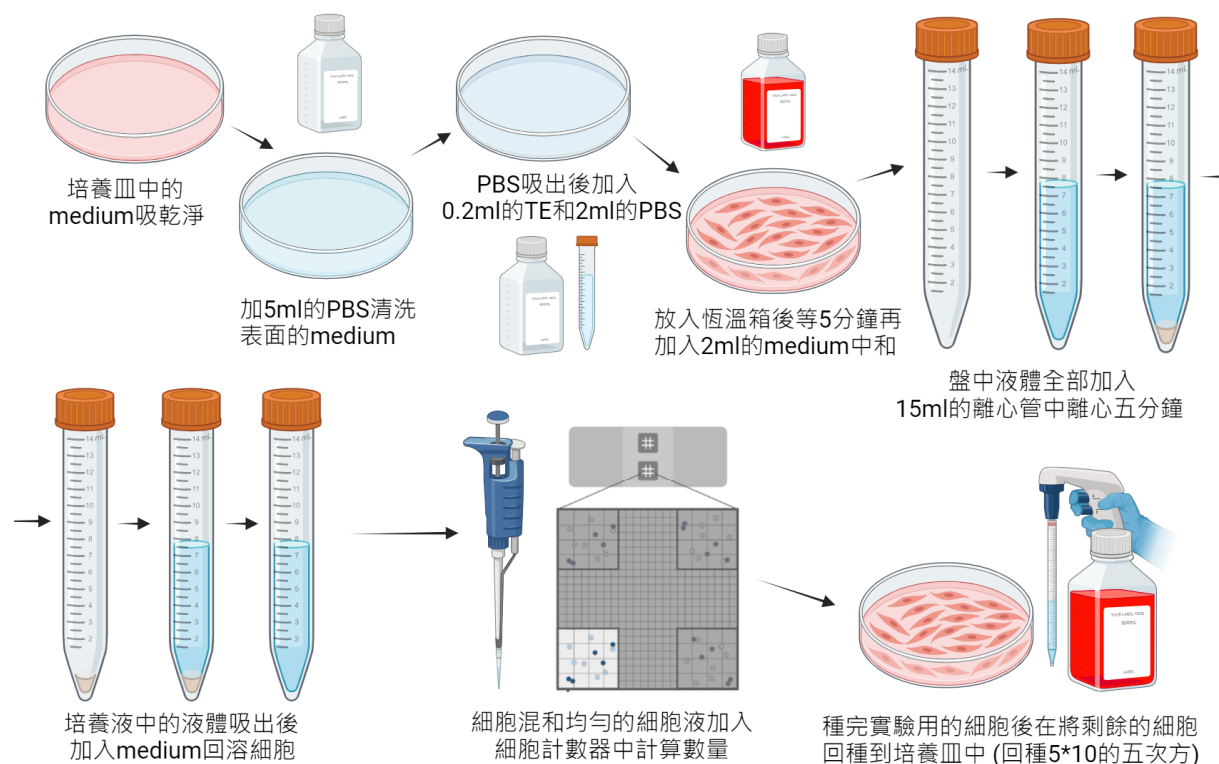


圖二、研究大綱圖 (2)，本研究之實驗分組如上圖所示。

三、實驗方法

(一) 細胞繼代 (頻率: 1~2次/週) (示意圖如圖三)

1. 從恆溫相中取出細胞，並在顯微鏡下觀察細胞生長狀況。
2. 將培養皿中的medium吸出，並使用5ml的PBS把殘留的medium沖走。
3. 加入0.2ml的TE和2ml的PBS，把細胞從底部打上來。
4. 放入恆溫相中等待5分鐘，取出後輕拍培養皿。
5. 將所有細胞液放入15ml的離心管中。
6. 離心5分鐘 (轉速: 1000~1200RPM)。
7. 將上層的液體吸出，只留下底部的細胞團塊。
8. 加入適量的medium回溶細胞，混和均勻。
9. 吸0.01ml的細胞液在細胞計數器中，並透過顯微鏡計算細胞數量。
10. 將細胞總數換算成每毫升含有幾顆細胞。
11. 最後將細胞依實驗需求加入實驗培養皿中，或是回種到原培養皿。



圖三、細胞繼代示意圖，細胞繼代進行流程如上圖所示。

步驟 & 照片

1. 吸取細胞廢液

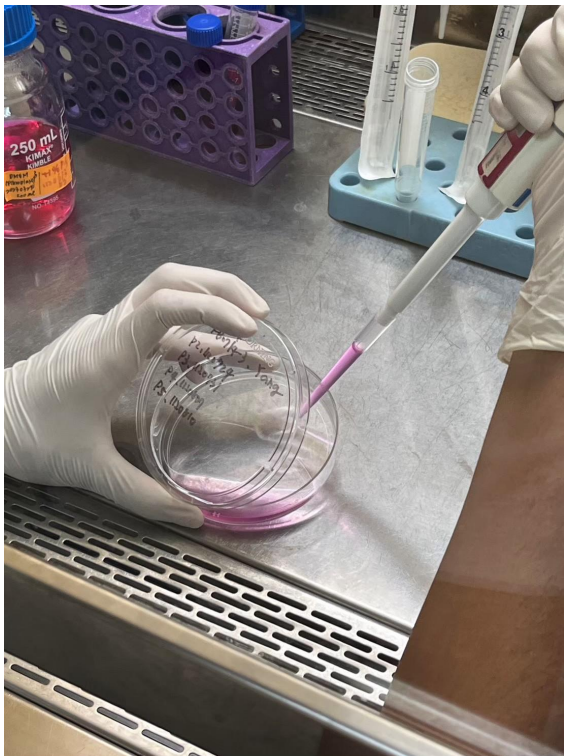


步驟 & 照片

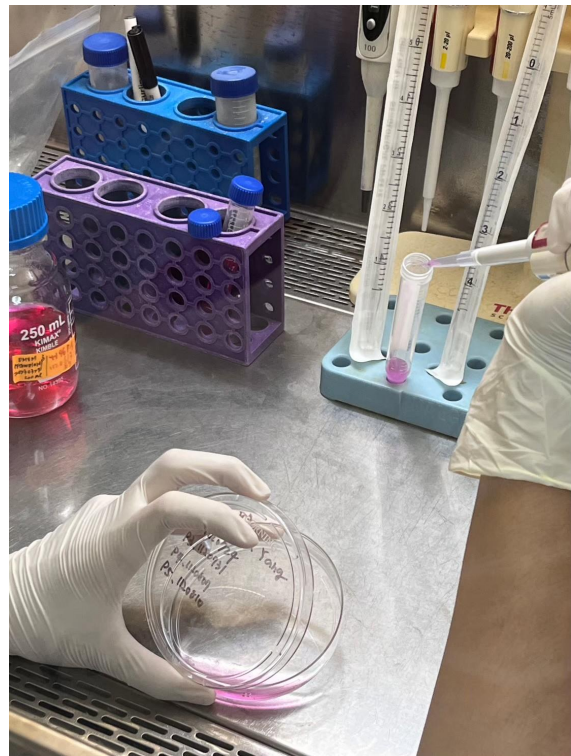
2. 加入PBS沖洗細胞



3. 加入2ml的培養液



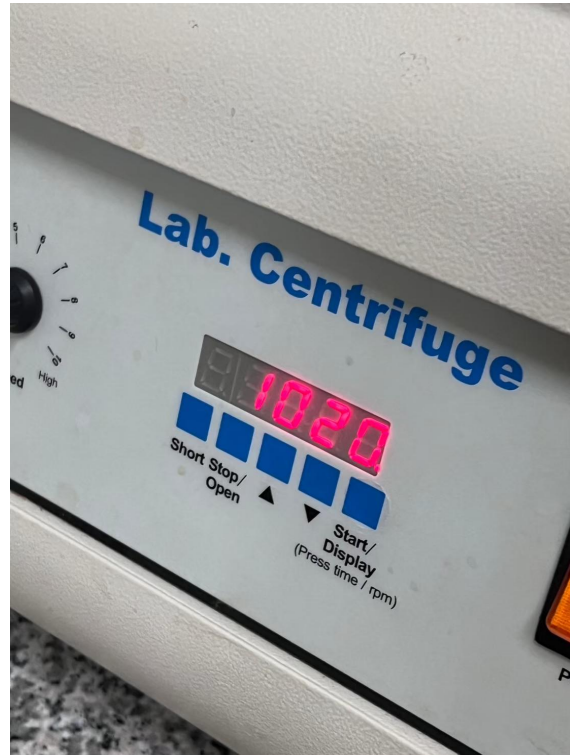
4. 將液體吸入離心管



5.將離心管以對稱方式放入離心機



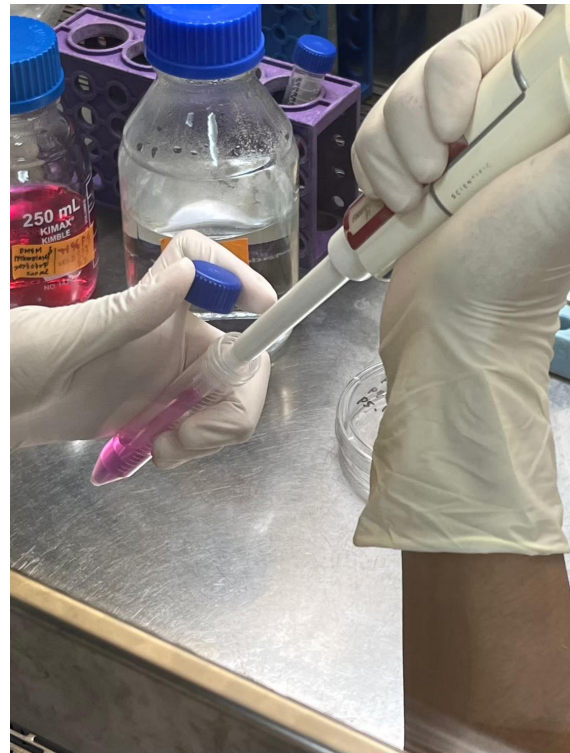
6.以1000~1200RPM的頻率離心5分鐘



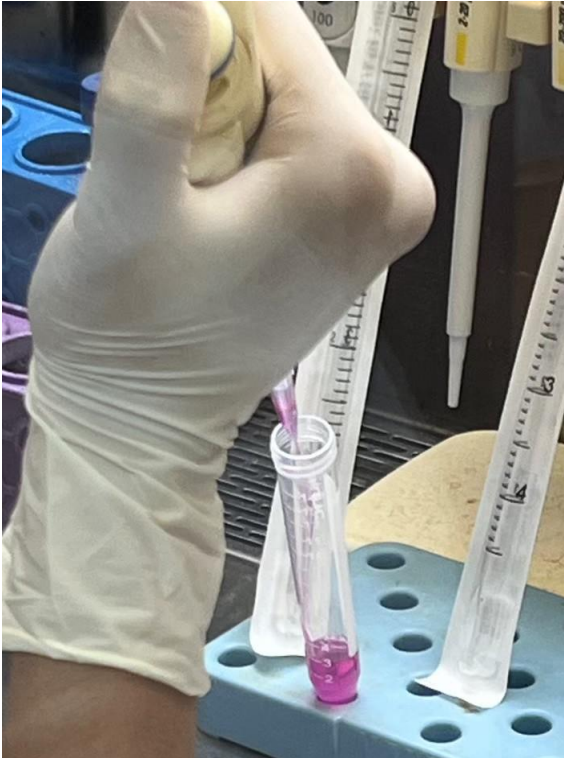
7.離心後的細胞團塊



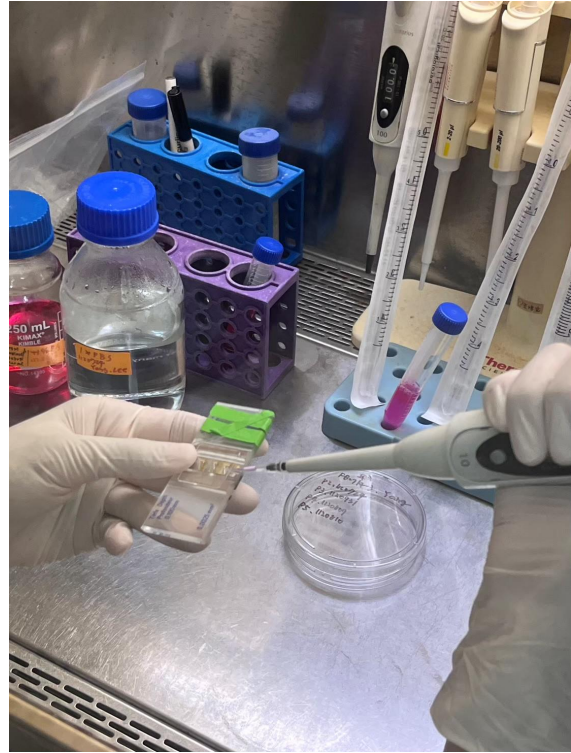
8.將管中培養液吸出



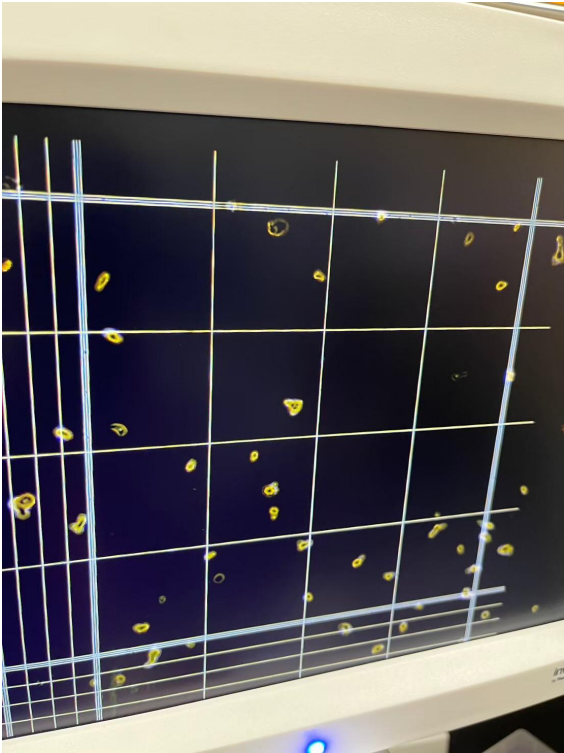
9.加入新的培養液



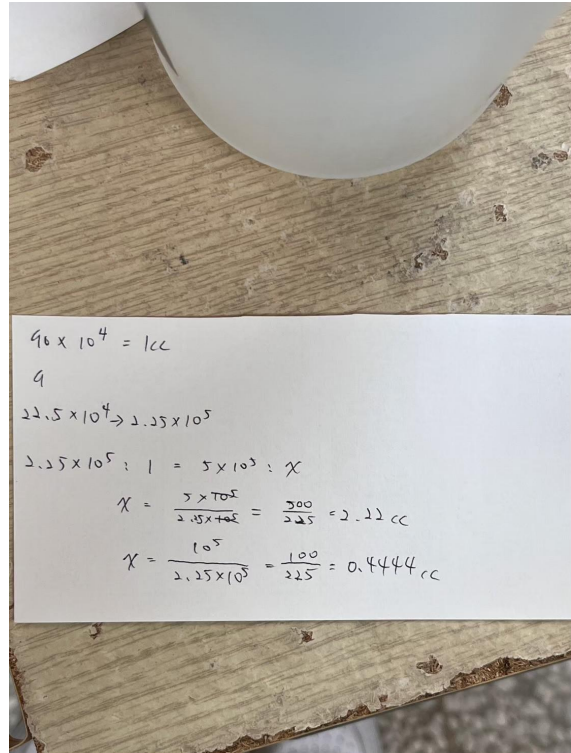
10.取10 λ 的細胞放入細胞計數器



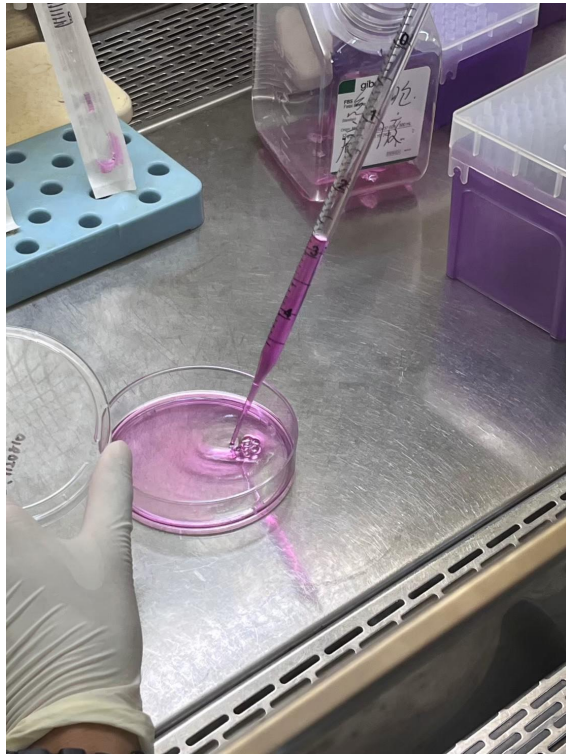
11.計算細胞數量



12.計算需回種的細胞數量



13.回種細胞、加入新的培養液



14.蓋上培養皿蓋，放回培養箱

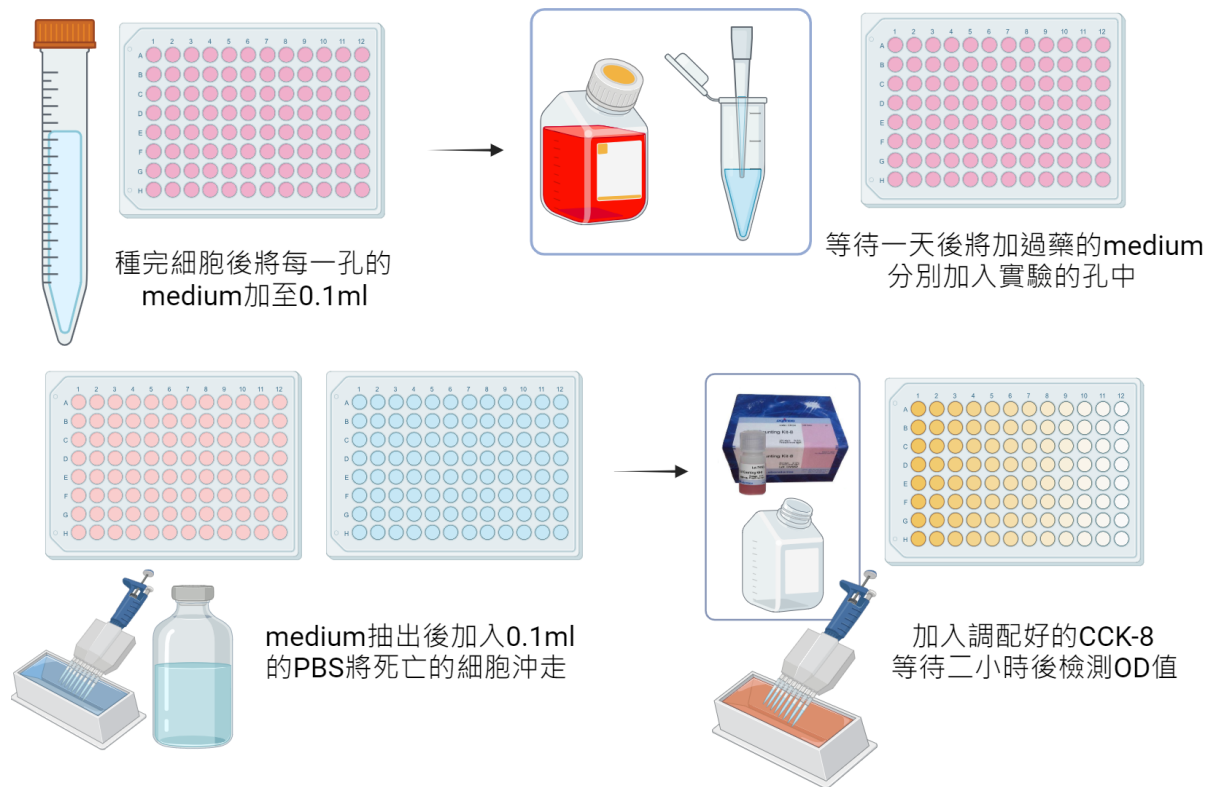


圖四、細胞繼代實驗流程，實際操作細胞繼代之流程如上圖所示。

(二) 細胞增生實驗 (使用CCK-8試劑) (示意圖如圖五)

1. 將繼代的細胞種入96孔的培養皿中，分別種加藥組和細胞數量組。
(加藥組每孔種3000顆細胞；細胞數量組分別種1000顆、3000顆、6000顆、9000顆、12000顆、15000顆、18000顆細胞)
2. 種完細胞後，用medium (5%FBS) 將培養液補至0.1ml。
3. 等待24小時讓細胞貼盤。
4. 24小時後將細胞數量組原有的medium吸出，並在每一孔中加入透明的medium (0.09ml) 和CCK-8試劑 (0.01ml)。等待二小時後將整個培養皿移至機器測OD值。
5. 24小時後依需求調配有不同比例藥物的medium (5%FBS)。將加藥組原有的medium吸出，加入調配好的medium。
6. 加藥完24小時後，將加藥組原有的medium吸出，並在每一孔中加入透明的medium (0.09ml) 和CCK-8試劑 (0.01ml)。等待二小時後將整個培養皿移至機器測OD值。

7. 加藥完72小時後，將加藥組原有的medium吸出，並在每一孔中加入透明的medium (0.09ml) 和CCK-8試劑 (0.01ml)。等待二小時後將整個培養皿移至機器測OD值。
8. 細胞數量組測得的OD值經換算取得方程式和R平方值。
9. 將加藥組的OD值平均後代入方程式，即可得知每孔中的細胞數量。



圖五、細胞增生實驗示意圖，細胞增生實驗流程如上圖所示。

步驟 & 照片

1. 配置需要的培養液數量



步驟 & 照片

2. 配置需要的藥物濃度和培養液



3. 將PBS加入馬槽



4. 將cck-8加入馬槽



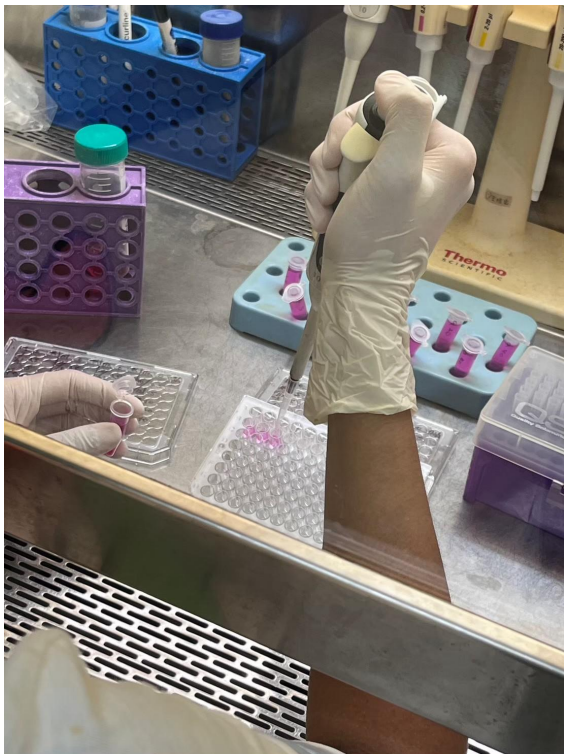
5. 吸出培養廢液



6. 加入PBS輕拍培養皿後再吸出



7. 加入藥物



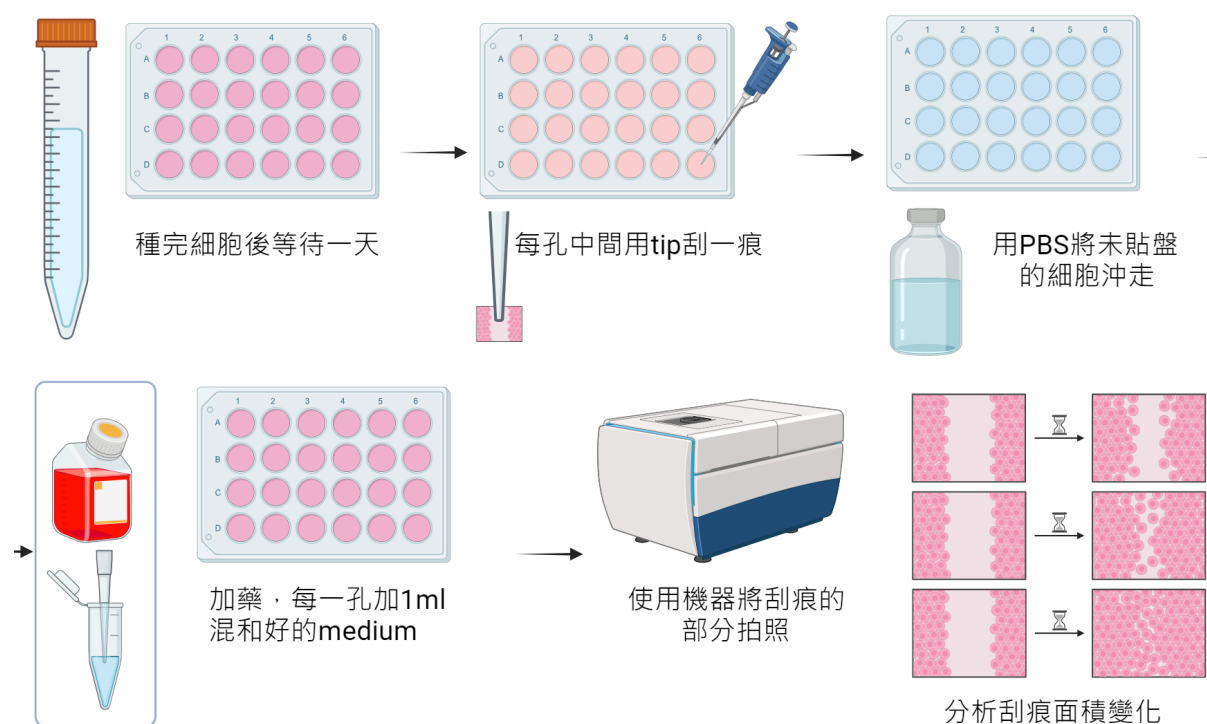
8. 細胞數量組加入cck-8，靜待2小時後讀取數據



圖六、細胞增生實驗流程，實際操作細胞增生實驗流程如上圖所示。

(三) 細胞移行實驗 (示意圖如圖七)

1. 將繼代的細胞種入24孔的培養皿中 (每孔 1×10^6 顆細胞)。
2. 用實驗的medium (含5%FBS) 將皿中的培養液補至0.5ml。
3. 等待24小時，讓細胞貼盤。
4. 使用0.3ml的tip在每孔中間刮出一條直線，並將原有的medium吸出。
5. 加入0.3ml的PBS，輕拍盤身，帶走刮出來的細胞。(重複兩次)
6. 在每一孔中加入所需的藥物，再將medium (5%FBS) 補至1ml。
7. 培養皿放入Molecular Devices中拍刮痕處，0小時和24小時個照一次。
8. 將拍好的照片用imageJ圈出刮痕尚無細胞的區域。
9. 計算面積並算出實驗組及對照組的相對值。
10. 觀察各項數值並分析實驗結果。



圖七、細胞移行實驗示意圖，細胞移行實驗流程如上圖所示。

參、研究結果及討論

一、實驗結果

(一) 蒲公英萃取物對纖維母細胞增生之影響

1. 在前測實驗中，發現以萃取物 (Taraxerol) 濃度10ug/ml的細胞增生的狀況最佳 (藍色螢光筆標註)；超過萃取物濃度30ug/ml之後，會因濃度太高而導致細胞死亡，因此使用萃取物濃度2.5ug/ml、5ug/ml、10ug/ml、20ug/ml、40ug/ml作為實驗組，來進行實驗。

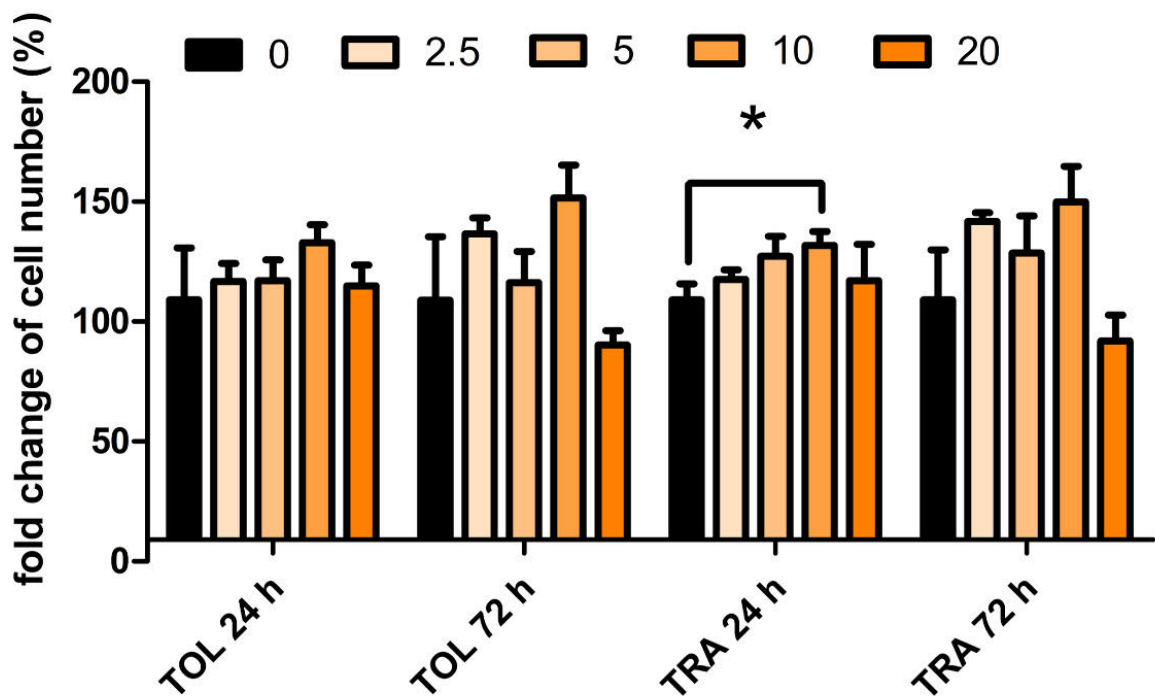
表三、前測實驗之數據，其中以萃取物 (Taraxerol)濃度10ug/ml對細胞增生最為有效。

萃取物 : Taraxerol	相對值(24h)	相對值(72h)
0ug/ml	100%	100%
10ug/ml	111%	165%
20ug/ml	106%	137%
30ug/ml	73%	69%
40ug/ml	41%	39%
50ug/ml	21%	13%
60ug/ml	16%	11%
70ug/ml	-23%	12%
80ug/ml	-20%	9%
90ug/ml	-12%	11%
100ug/ml	-14%	9%

- 在Taraxerol萃取物中，24小時的細胞增生效果以萃取物濃度10ug/ml最佳。與對照組(萃取物濃度0ug/ml)比較，增生情況可以達到129%。

在Taraxerol萃取物中，72小時的細胞增生效果以萃取物濃度10ug/ml最佳。與對照組(萃取物濃度0ug/ml)比較，增生情況可以達到167%。
- 在Taraxera-14-ene-3-one萃取物中，24小時的細胞增生效果以萃取物濃度10ug/ml最佳。與對照組(萃取物濃度0ug/ml)比較，增生情況可以達到123%。

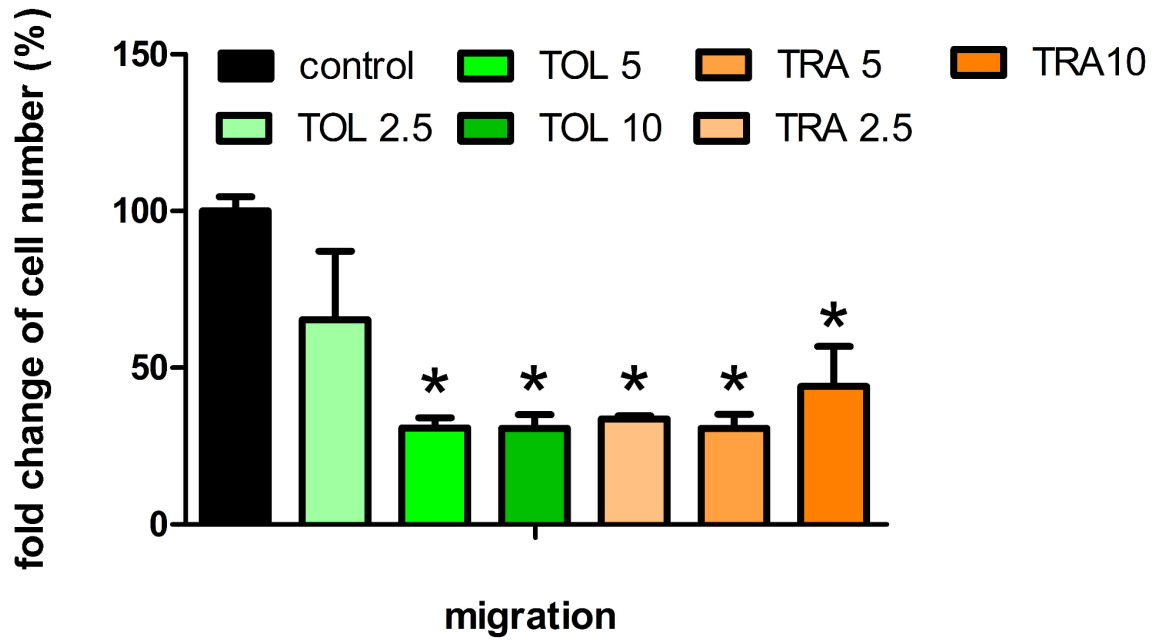
在Taraxera-14-ene-3-one萃取物中，24小時的細胞增生效果以萃取物濃度10ug/ml最佳。與對照組(萃取物濃度0ug/ml)比較，增生情況可以達到152%。



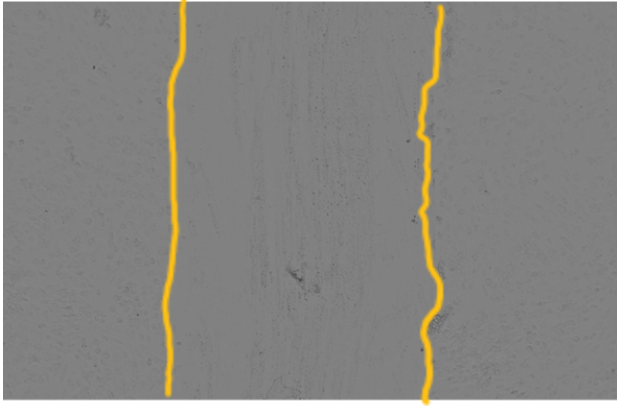
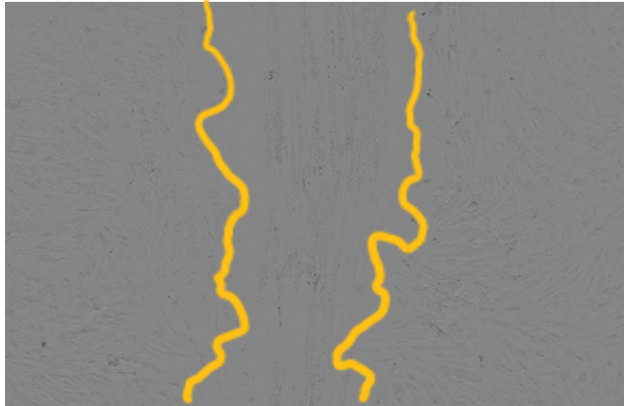
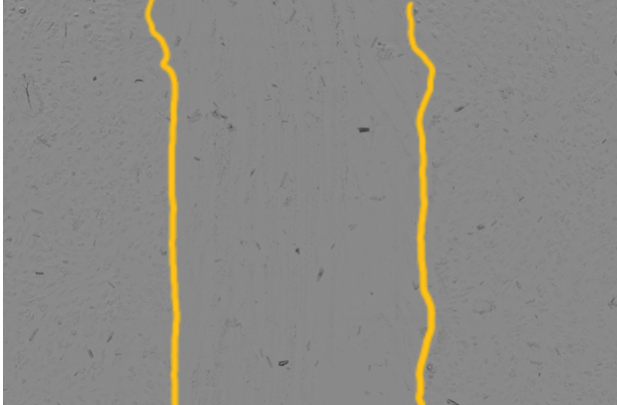
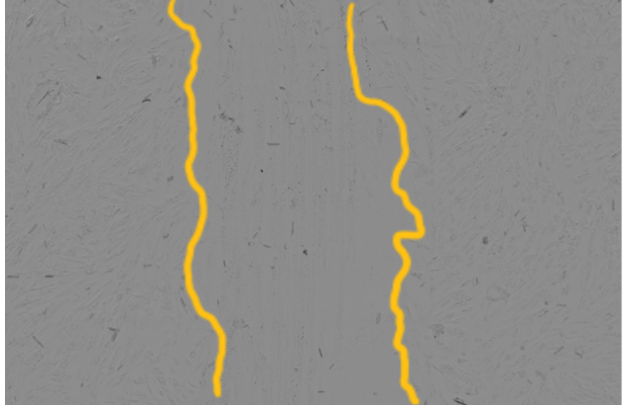


圖八、細胞增生實驗結果，其中以萃取物TRA濃度10ug/ml對細胞增生最為有效。

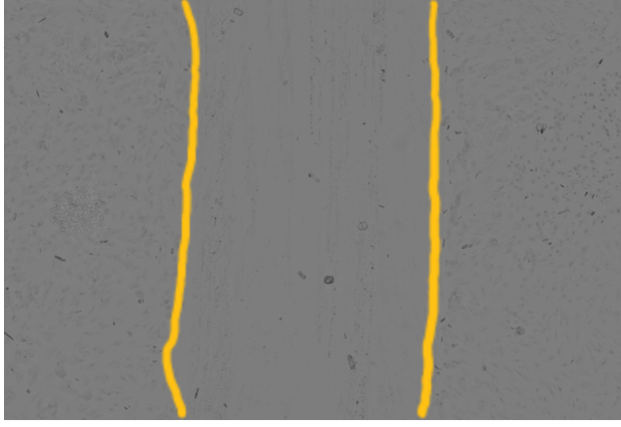
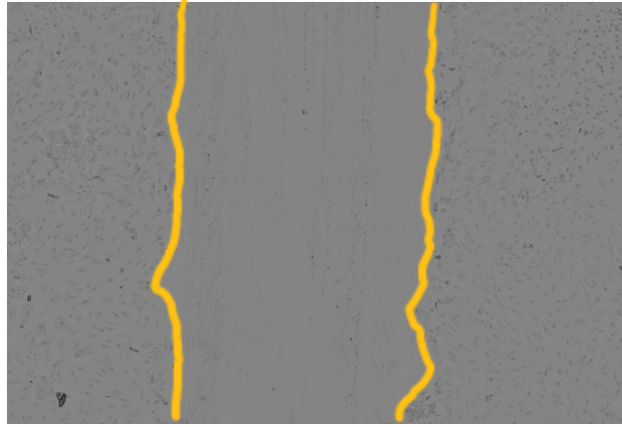
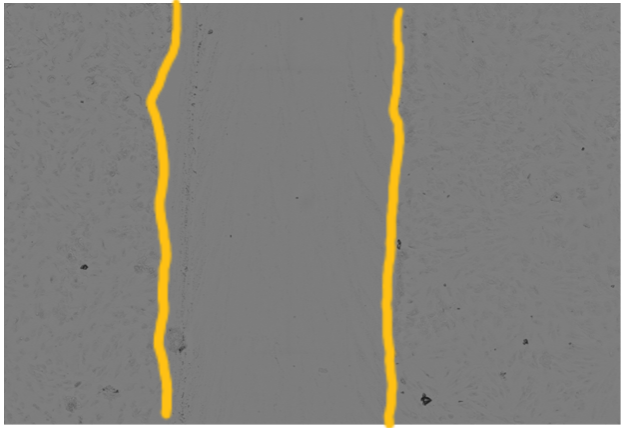
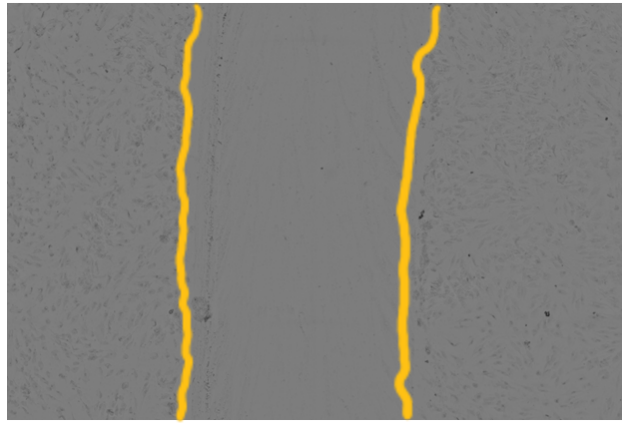
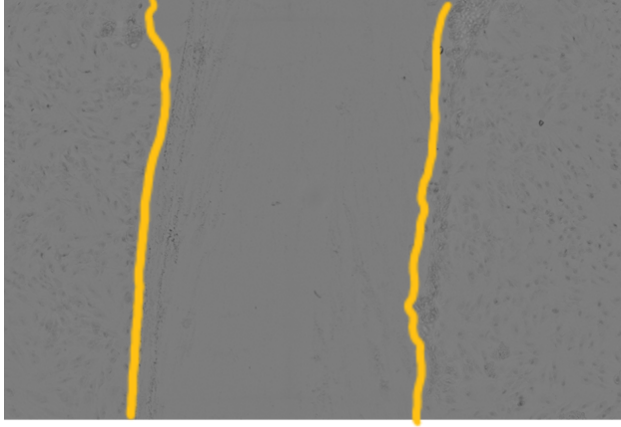
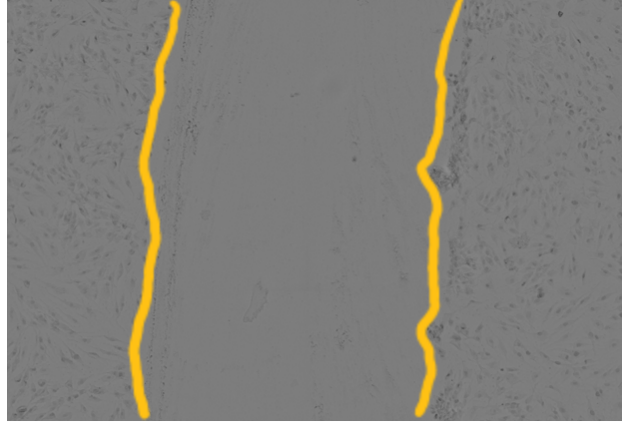
(二) 蒲公英萃取物對纖維母細胞移行之影響

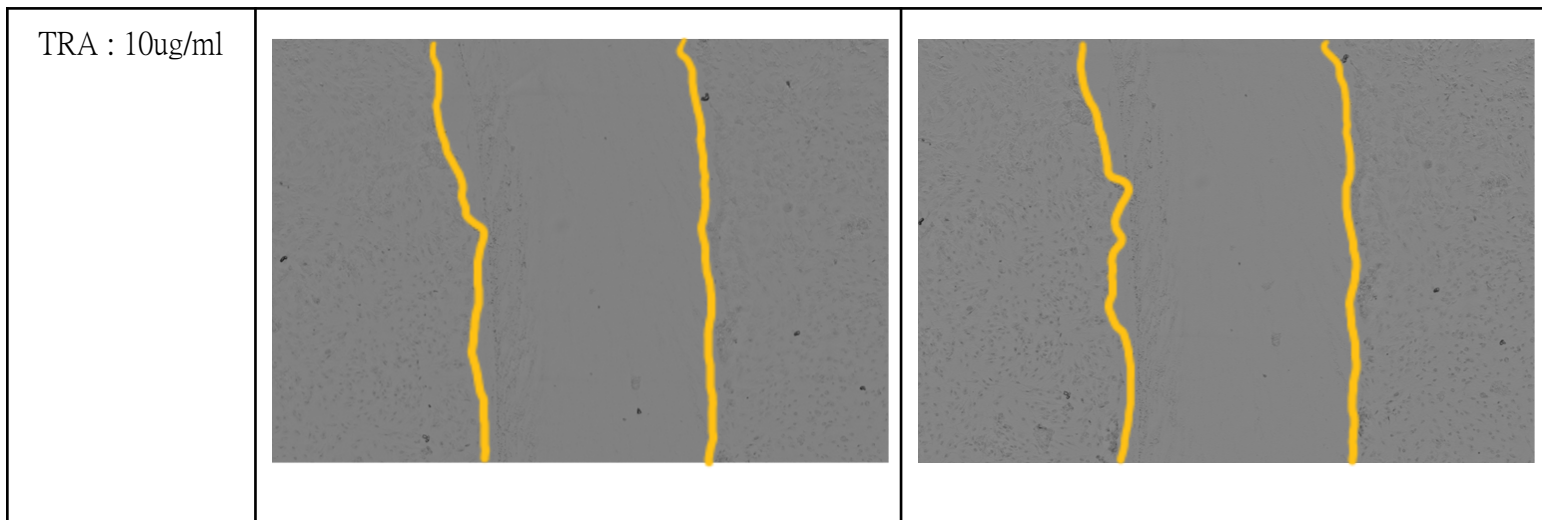
1. 根據實驗結果，萃取物Taraxerol與萃取物Taraxera-14-ene-3-one與對照組 (萃取物濃度0ug/ml) 相比，皆會抑制細胞移行。



圖九、細胞移行實驗結果，結果顯示兩種藥物皆抑制細胞移行。

細胞 (0714-3)	0小時	24小時
control		
TOL : 2.5ug/ml		
TOL : 5ug/ml		

TOL : 10ug/ml		
TRA : 2.5ug/ml		
TRA : 5ug/ml		

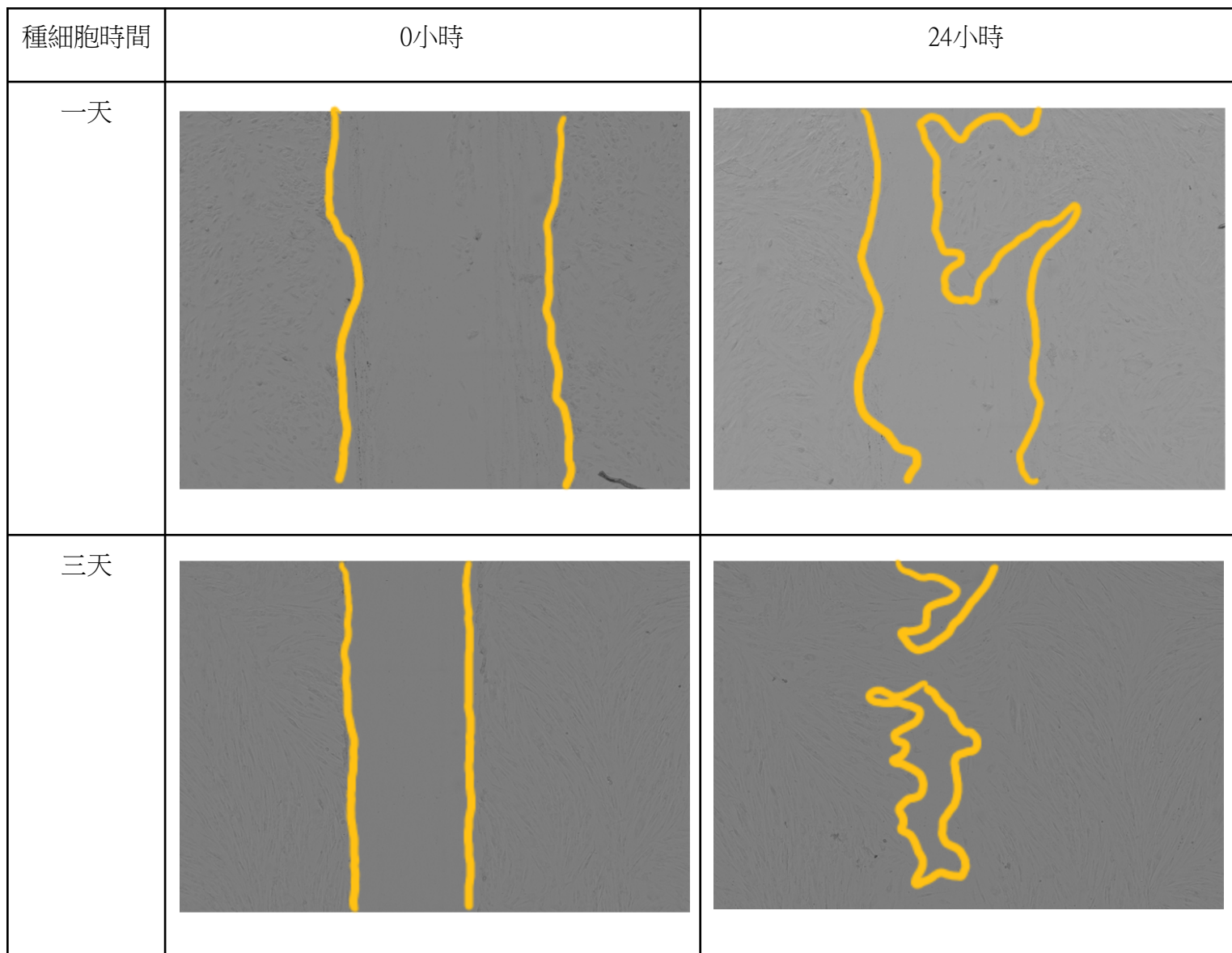


圖十、細胞於不同藥物濃度下所移行情況之照片（黃色畫記處為刮痕邊緣）。

二、討論

(一) 細胞移行實驗種細胞時間長短會影響細胞爬行速度

在前測實驗時，因細胞種的數目太少，細胞間的空隙過大，因此無法在24小時就立刻做實驗，需要隔三天等細胞長滿培養皿後才能做實驗。因此在後續的實驗中，我們將種細胞的數量提升至 1×10^6 顆，等24小時後便可進行移行實驗。然而在分析數據時，發現前測實驗和後續的實驗中細胞移行的面積有明顯差異。由於細胞移行面積在前測實驗中整體相對於後續實驗移動距離較大，因此排除濃度、細胞來源等等的因素後，進剩下細胞生長在培養皿中的時間不一樣，因此我們推測種細胞時間的長短會影響到細胞在一定時間內移行的面積。



圖十一、細胞於不同時長內移行情況之照片（黃色畫記處為刮痕邊緣）。

(二) 與前人研究的異同

前人研究中的蒲公英甲醇萃取物與本研究中的兩種蒲公英萃取物一樣，都會促進細胞增生。

(三) 與預期結果的落差

在細胞移行實驗的結果與原預期的不同，兩種萃取物皆會抑制細胞移行。或許蒲公英萃取物真的會抑制細胞移行，然而也有可能別種蒲公英萃取物會促進細胞移行，因此本研究在未來會使用更多種蒲公英萃取物來進行實驗，並透過分析萃取物中的化合物，探討是何種成分會使細胞增生或移行。

肆、結論與應用

一、蒲公英萃取物對人類纖維母細胞 (fibroblast) 增生的影響

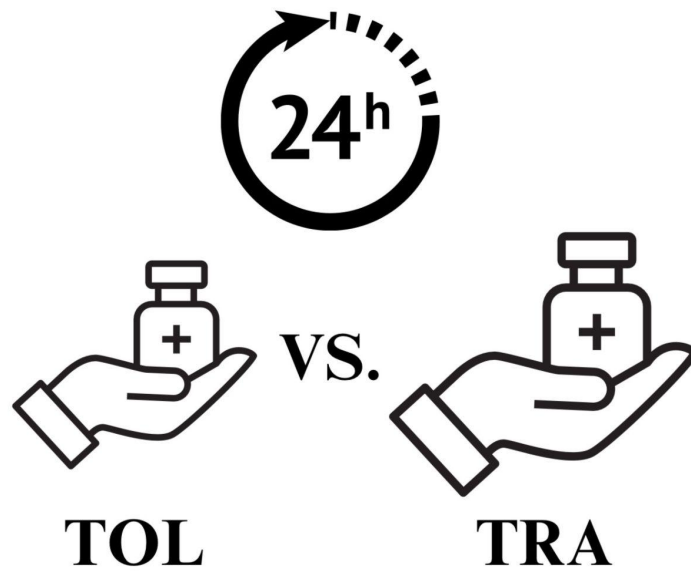
藉由細胞增生實驗，發現不論是TOL或TRA，在萃取物濃度20ug/ml內皆可促進細胞增生，其中以萃取物濃度10ug/ml的效果最好。

二、蒲公英萃取物對人類纖維母細胞 (fibroblast) 移行的影響

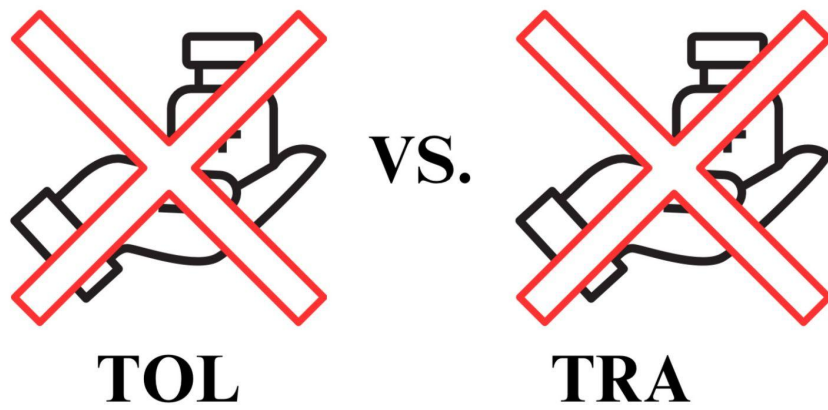
藉由細胞移行實驗，發現不論是TOL或TRA，皆抑制細胞移行。

三、未來展望

本研究僅使用二種蒲公英萃取物來進行細胞移行實驗及細胞增生實驗，並不能代表所有蒲公英萃取物皆會有相同的實驗結果。因此未來可使用更多種蒲公英萃取物，例如：水萃、酒精萃.....，或許可以得到不同的結果。



圖十二、細胞增生實驗結果顯示，24小時中TRA濃度10ug/ml之增生效果最佳。



圖十三、細胞移行實驗結果顯示，兩種蒲公英萃取物皆會抑制細胞移行。

伍、參考文獻

- 王妤安, 陳萱, & 李偉如. (2020). 臺灣種與西洋種蒲公英萃取物抑制人類乳癌與大腸癌細胞能力 評估研究. *Taiwanese Journal of Agricultural Chemistry & Food Science*, 58.
- 洪思朋. (2013). 組培台灣蒲公英其抗發炎、抗菌以及奈米包埋技術之探討. The anti-bacterial and anti-inflammatory evaluations of tissue cultured *Taraxacum formosanum* Kitam and its nano-encapsulation.
- 蔡孟鏐. (2023). 蒲公英根莖/根萃取液、錦葵花萃取液、菊苣酸和錦葵素於皮膚護理之研究 The Effect of *Taraxacum officinale* Rhizome/Root Extract, *Malva sylvestris* Flower Extract, Chicoric Acid and Malvidin on Skincare.
- Al-Eisawi, Z., Abderrahman, S. M., Al-Khalaf, I. F., Al-Abbassi, R., & Bustanji, Y. K. (2022). *Taraxacum officinale* Extracts Exhibit Safe and Selective Anticancer Activity. *The Natural Products Journal*, 12(1), 69-77.
- Chen, J., Wu, W., Zhang, M., & Chen, C. (2019). Taraxasterol suppresses inflammation in IL-1 β -induced rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes and rheumatoid arthritis progression in mice. *International immunopharmacology*, 70, 274-283.
- Cho, S. M., Kim, J. H., Kim, J. K., Park, K. M., Cho, H. C., Kim, I. S., ... & Cho, J. W. (2012). Increased Expression of Type I Collagen in AF-343 Treated Human Skin Fibroblasts. *YAKHAK HOEJI*, 56(1), 9-13.
- Korbášová, M., Tomenendálová, J., & Chloupek, J. (2022). Anti-tumour effect of combinations of three acids isolated from *Taraxacum officinale*. *Acta Veterinaria Brno*, 91(1), 77-85.
- Menke, K., Schwermer, M., Felenda, J., Beckmann, C., Stintzing, F., Schramm, A., & Zuzak, T. J. (2018). *Taraxacum officinale* extract shows antitumor effects on pediatric cancer cells and enhance mistletoe therapy. *Complementary therapies in medicine*, 40, 158-164.
- Miřek, M., Marcinčáková, D., & Legáth, J. (2019). Polyphenols content, antioxidant activity, and cytotoxicity assessment of *Taraxacum officinale* extracts prepared through the micelle-mediated extraction method. *Molecules*, 24(6), 1025.
- Warashina, T., Umehara, K., & Miyase, T. (2012). Constituents from the roots of *Taraxacum platycarpum* and their effect on proliferation of human skin fibroblasts. *Chemical and*

Pharmaceutical Bulletin, 60(2), 205-212.

Yang, Y., & Li, S. (2015). Dandelion extracts protect human skin fibroblasts from UVB damage and cellular senescence. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015.

【評語】 060012

1. 本研究主要目的在探討蒲公英萃取物對纖維母細胞增生及移行之影響。結果發現兩種蒲公英萃取物在濃度 20ug/ml 之內，皆可促進細胞增生，其中以濃度 10ug/ml 效果最佳。此外在細胞移行的部分，兩種蒲公英萃取物皆有抑制細胞遷移之作用。
2. 本研究探討之主題有趣，但成果仍屬初步，純粹觀察，應提出可能機制。可多測試幾種不同的蒲公英萃取物成分中之化合物，未來才有實際應用之可能。