

無螫蜂的田野調查及 無螫蜂膠的生理活性探討

作者：陳怡伶（國立宜蘭大學 生物技術與動物科學系 教授）
電話：(03)9357400 # 7625

前言

不同於一般蜜蜂，在無蜜的蜂類中有一種無螫刺的蜂，隸屬蜜蜂科 (Apidae)，我們稱之為無螫蜂 (Stingless bee)，其特徵為翅脈退化、大顎發達、不具螫針及後足具花粉籃構造 (Pollen basket)，無螫蜂的體型小，一般只有義大利蜂的十分之一大小。無螫蜂主要分布在東南亞，且在大陸地區分布於海南、西雙版納、廣西、廣東的原始雨林，目前無螫蜂分布最多為馬來西亞地區，有紀錄的約30種，常見的約10種，都在平地飼養，主要的蜜源植物是榴蓮樹及大葉相思樹。其中Itama及thoracica是他們經常飼養的蜂群，後者體型較大，而種類以Trigona屬種類最多。

無螫蜂的田野調查

臺灣地區原生種無螫蜂早年即為原住民所飼養，分散於野地，目前能被觀察到的僅一種無螫蜂，學名為臺灣黃紋無螫蜂 (*Lepidotrigona ventralis*)，分布的地點，包括：苗栗泰安雪霸國家公園 (雪霸國家公園雪見遊憩區標高1874公尺)、高雄市那瑪夏區、嘉義縣阿里山區、嘉義縣番路鄉、嘉義縣梅山鄉、南投縣竹山鎮、南投縣集集鎮，從平地到1874公尺。臺灣黃紋無螫蜂主要的膠源植物包括羅氏鹽膚木、桑樹、構樹、血桐及阿里山冬青臺灣特有植物，元兒茶素酸 (protocatechuic acid) 是其主要有效成分之一，蜜源植物種類繁多，其中我們在平地觀察到的包括水稻及咸豐草，本人 (生物技術與動物科學系的陳怡伶教授)，目前已經開始與花蓮農改場著手進行該蜂的相關復育工作。此外基於對臺灣社會的熱愛與強烈的使命感，我們團隊與基龍米克斯生物科技公司攜手合作，已經完成臺灣黃紋無螫蜂全基因體及轉錄體解碼計畫，並於2017馬來西亞第一屆銀蜂論壇 (International Meliponine Scientific Conference & Convention & Carnival 2017; IMS3C2017) 首次國際間公開發表，與東南亞



雪霸國家公園雪見遊憩區6月會開始出現臺灣黃紋無螫蜂蹤跡。

無螫蜂分布的國家(例如印尼、馬來西亞及泰國)進行蜂種間基因分析比對,並做演化及功能性分析,其結果對於保護及復育臺灣原生種無螫蜂應該會有一定程度的貢獻。

無螫蜂膠的生理活性探討

值得一提的是,無螫蜂蜂膠的產量為義大利蜂的8-10倍,若能有效開發為保健產品具有很高的經濟潛力。蜂膠(Propolis)是由蜜蜂藉由採植物之嫩芽、果皮外表分泌物質,加上蜜蜂的唾液酵素混合著蜂蠟而形成,呈現膠狀黏性(Burdock, 1998)。蜂膠的主成分會因為季節或是產地等的變化而異,目前全世界的蜂膠分為五大類,分別為巴西綠蜂膠、楊樹屬(*populus nigra*)蜂膠、紅色蜂膠、樺樹蜂膠以及太平洋蜂膠,各屬蜂膠的主活性成分多皆以多酚類或生物類黃酮為主(Bankova, 2005)。類黃酮是植物界的次級代謝產物,因其在蜂膠中所佔含量比例高達23~42%,因此蜂膠的生物活性來源即為類黃酮(Bankova *et al.*, 1995)。蜂膠原除了是蜜蜂用來修補巢房以避免天敵或微生物侵犯的建材,已被證實有抗病毒(Shimizu *et al.*, 2008)、抗菌(Drago *et al.*, 2007)等效果,其他如抗發炎、抗癌(Watanabe *et al.*, 2011; Gribel and Pashinskii, 1990)、保肝(Chen *et al.*, 2008)等亦有許多研究報告。本實驗過去兩年與東馬砂勞越公司合作開發蜂膠產品,主要在於分析Thoracica 這個常見品系的蜂膠生理活性。利用細菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激小鼠 RAW264.7 巨噬細胞(macrophage)的細胞模式,觀察其抗發炎以及抗攝護腺癌的作用。我們測定酒精萃取毛膠塊後的總黃酮量為729.29 mg/100g,約佔7.29%,而其總酚

含量為301.09 $\mu\text{g Gallic acid/g}$,這個結果顯示馬國膠的類黃酮含量低於市售頂級的巴西綠蜂膠,但其總酚含量大致相同,馬國膠的主要活性成分可能是異於類黃酮物質,值得進一步探討。利用DPPH分析方法測其抗氧化能力,DPPH清除率為317.81 $\mu\text{g trolox/g}$,細胞實驗結果發現濃度0.1 $\mu\text{g/ml}$ 的馬國無螫蜂膠酒精萃取物即可有效抑制LPS所誘導產生的一氧化氮(nitric oxide, NO),並可抑制環氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2),另外還能降低腫瘤壞死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)及介白素-6蛋白之表現。綜合上述實驗結果顯示,馬國無螫蜂膠酒精萃取物在低劑量(0.1~2 $\mu\text{g/ml}$)即具有抗發炎能力,較高濃度時會產生毒殺細胞的情形(5 $\mu\text{g/ml}$),因此在日後應用時低劑量即可以達到抗發炎的作用,未來在治療上應有機會作為抗發炎藥物。抗攝護腺癌方面,我們取經無菌培養 1×10^7 個LNCaP 攝護腺癌細胞注射至Balb/c 免疫不全裸小鼠皮下進行體內腫瘤移植實驗。等老鼠腫瘤生長至50-100 mm^3 (長 \times 寬 \times 寬/2)後開始用針管餵食治療,連續14天,每天1次。治療組給藥無螫蜂酒精萃取物,溶劑組(對照組)則給於5%酒精。於第14天給藥後連續觀察33天,每3天測量腫瘤大小及體重。實驗後腫瘤以HE染色及西方墨點分析法(Western blot analysis)檢測蛋白質表現情形。實驗結果顯示馬國無螫蜂膠萃取物會使雄激素表面接受體(Androgen receptor) mRNA及蛋白質表現量均降低。此外也發現無螫蜂膠萃取物可以透過提高caspase-3的活性誘導細胞凋亡並抑制裸鼠的腫瘤生長。綜合以上結果顯示無螫蜂膠萃取物可以調控LNCaP cell的AR基因,達到抑制腫瘤生長的目的。

結語

無螫蜂是釀蜜蜂種，過去10年來南美洲的巴西、拉丁美洲的墨西哥、澳洲等國家陸續有專業團體在研究無螫蜂蜜的醫藥價值後，發現無螫蜂蜂蜜在多種醫療中有突破性發現，尤其是近期公佈在手術傷口可以用無螫蜂蜜替代常用抗生素作為復合醫療用品，傷口能快速癒合且不留疤痕。值得一提的是無螫蜂蜜富含多種有機酸，其中包括檸檬酸與蘋果酸，蘋果酸的酸度高過檸檬酸酸20%，蘋果酸脫氫酶（Malate dehydrogenase，EC 1.1.1.37）是一種在三羧酸循環（TCA cycle）中催化 L-蘋果酸轉變為草醯乙酸（使用NAD⁺）的酶。有別於蘋果酸酶（Malic enzyme）是催化蘋果酸變為丙酮酸，產生的是NADP⁺。人體內若是 L-蘋果酸缺乏會導致三羧酸循環不正常，L-蘋果酸可以用來調節氨基酸液體的pH值，臨床上用於治療尿毒症、高血壓等和及化療後的輔助藥物。此外虎尾科大彭及忠老師實驗室最新的實驗結果顯示，馬國無螫蜂蜜具有明顯的抗菌及抗氧化效果，對於多重抗藥性細菌也能抑制其生長。綜合上述，無螫蜂蜂蜜及無螫蜂蜂膠對於輔助人類健康具有明顯效果，也因此臺灣原

生種的的無螫蜂若能復育成功，會兼具授粉及休閒農業發展多項用途，是很值得努力與期待的方向。



無螫蜂產膠的能力為義大利蜂的8-10倍，蜂膠內除了類黃酮，含有獨特的元兒茶素酸（protocatechuic acid）。