

嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

普洱茶對肝細胞抗氧化酵素蛋白與 mRNA 之調控

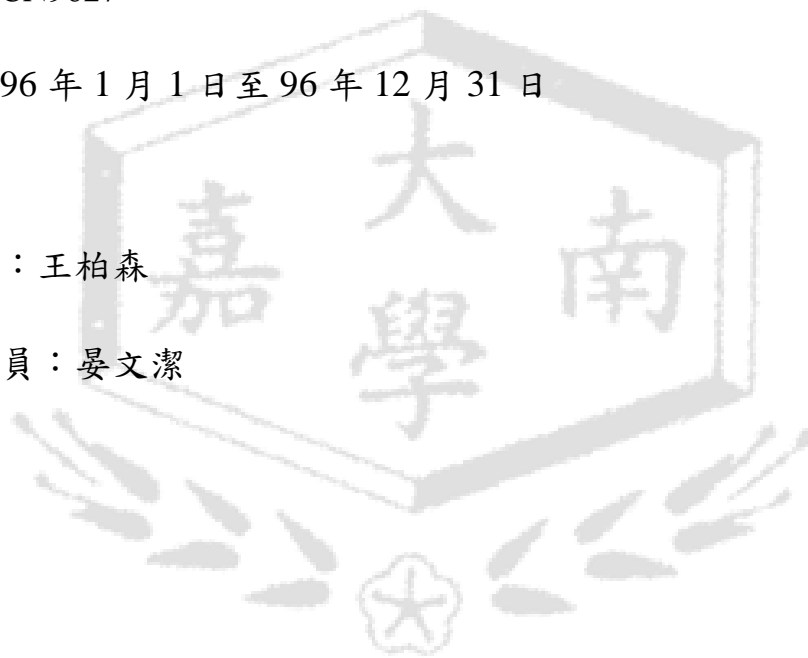
計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：CN9627

執行期間：96 年 1 月 1 日至 96 年 12 月 31 日

計畫主持人：王柏森

協同研究人員：晏文潔



執行單位：嘉南藥理科技大學食品科技系

中華民國 97 年 3 月 10 日

一、摘要

本研究探討普洱茶對肝細胞抗氧化酵素活性之影響。結果顯示普洱茶水萃取物在 0~0.8 mg/ml 可以有效捕捉 superoxide 自由基，也可以濃度相關模式抑制 NO 自由基的產生，同時，普洱茶水萃取物在 0~0.5 mg/ml 更可以抑制 xanthine oxidase 酵素活性，減少 superoxide 產生。普洱茶水萃取物在 0.2mg/ml 可以增加肝細胞 GSH peroxidase 活性為 15.41 倍以及增加 GSH reductase 活性為 5.86 倍，另外，普洱茶水萃取物在 0.2mg/ml 可以增加肝細胞 GSH peroxidase mRNA 濃度為 2.1 倍。綜合實驗初步結果，可以發現普洱茶水萃取物具有良好自由基捕捉效力，並可以抑制氧化壓力酵素活性，更能增加細胞內抗氧化酵素活性。

關鍵詞 普洱茶水萃取物，自由基，抗氧化酵素

二、前言

細胞於正常代謝過程中會生成自由基與活性氧，當其超過細胞內自體防禦能力時，即會造成氧化壓力，而使細胞發生氧化傷害，氧化傷害常會引發脂質氧化，DNA 斷裂，致突變及細胞老化等現象。人體內的抗氧化的防禦系統可分成酵素型與非酵素型，前者如 superoxide dismutase (SOD)、glutathione peroxidase (GPx)、glutathione S-transferase (GST)、glutathione reductase (GR) 及 catalase 等，而非酵素抗氧化系統則是藉

由飲食中攝取具有保護作用的抗氧化物質以減緩或抑制氧化時自由基的連鎖反應，如維生素 E、類黃酮等。或由細胞自體產生抗氧化物質(如 glutathione, GSH)扮演細胞內非常重要之抗氧化物質，例如 GSH 可經由 GPx 的作用，預防氧化所引起的毒性反應，維持細胞膜的完整，調節細胞代謝生長及維持細胞的正常生理功能。此外 GR 亦可保護細胞免於受活性氧或自由基引起之氧化傷害。

普洱茶，乃利用雲南大葉種晒青毛茶，藉由黴菌進行醱酵之後醱酵茶。其外觀葉脈粗壯肥大，色澤烏黑、滋味純厚，並具獨特之陳香及以特殊手工精緻而成。普洱茶因製造過程與綠茶不同，其活性成分亦被證實不同。過去對普洱茶功能性之研究，已知可降低血液中膽固醇含量，抑制肝臟膽固醇生合成，及減少血中低密度脂蛋白氧化。根據我們過去研究結果得知，普洱茶水萃取物具有抗致突變，抗菌及具有抗氧化力，有鑑於此，本研究擬進一步探討普洱茶水萃取對大鼠肝細胞內源性抗氧化酵素表現之影響。

三、結果

圖一為普洱茶水萃取物對 superoxide 自由基捕捉作用之影響。結果顯示普洱茶水萃取物對 superoxide 自由基捕捉作用隨濃度增加而加強，當添加濃度達 0.8mg/ml 時，對 superoxide 自由基捕捉作用為 52%。若與 Trolox 0.8mg/ml (54%) 相比

較，則二者間的保護作用無差異，可推論普洱茶水萃取物具有優異的 superoxide 自由基捕捉能力。

圖二為普洱茶水萃取物捕捉 sodium nitroprusside 所釋放一氧化氮自由基作用。由結果可知普洱茶水萃取物在 0 ~1.0 mg/ml 對一氧化氮自由基捕捉率可達 0~56%。而 Trolox 在相同濃度下，則可捕捉一氧化氮自由基 0~90%。由此可推論普洱茶水萃取物具有優異的 NO 自由基捕捉能力。

由圖三可知普洱茶水萃取物在 0 ~0.5 mg/ml 可以有效抑制 xanthine oxidase 蛋白活性，其中普洱茶水萃取物在 0.5 mg/ml 可分別抑制 xanthine oxidase 蛋白活性達 91%。xanthine oxidase 為體內代謝產生自由基之酵素，由此可知普洱茶水萃取物可以有效減少氧化壓力酵素 xanthine oxidase 之活性，進而減少體內氧化壓力。

表一為普洱茶水萃取物增加 clone 9 肝細胞抗氧化酵素活性之作用。由結果可知 clone 9 肝細胞在處理 0.2 mM 過氧化氫後，可增加肝細胞 GSH peroxidase 活性為 6.71 倍以及增加 GSH reductase 活性為 4.33 倍，若是同時處理 0.2 mM 過氧化氫及 0.2 mg/ml 普洱茶水萃取物，可增加肝細胞 GSH peroxidase 活性為 15.41 倍以及增加 GSH reductase 活性為 5.86 倍。由此可推論普洱茶水萃取物具有增加肝細胞抗氧化酵素活性之效力。

由圖四可知普洱茶水萃取物在 0 ~ 0.2

mg/ml 可以有效增加肝細胞 GSH peroxidase mRNA 濃度，其中普洱茶水萃取物在 0.2 mg/ml 可增加肝細胞 GSH peroxidase mRNA 濃度達 210%。由此可知普洱茶水萃取物可以有效增加肝細胞 GSH peroxidase mRNA 濃度，進而增加抗氧化酵素活性。

四、結論

綜合上述初步結果可知普洱茶水萃取物對 superoxide 及 NO 具有抑制作用，而先前研究已知體內蛋白氧化的產生，與體內大量產生 peroxynitrite 自由基有密切關係，而普洱茶水萃取物對 superoxide 及 NO 具有抑制作用，推論可以有效抑制 peroxynitrite 產生。此外，普洱茶水萃取物的抗氧化能力不但可直接捕捉自由基，以避免氧化傷害，也可以間接抑制產生自由基的酵素活性，而且在肝細胞模式上，普洱茶水萃取物可以增加抗氧化酵素活性及抗氧化酵素 mRNA，根據上述結果，可以推論普洱茶水萃取物可能具有良好的保肝效用，惟體內的護肝效用仍須進一步試驗證實。

Figure 1 普洱茶水萃取物對 superoxide 自由基捕捉作用之影響

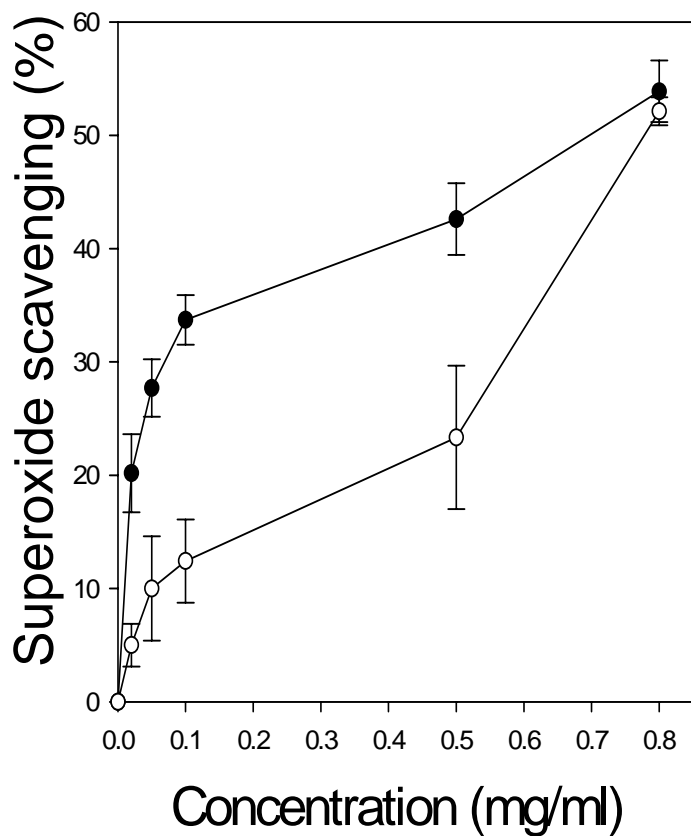


Figure 2 普洱茶水萃取物捕捉一氧化氮自由基作用

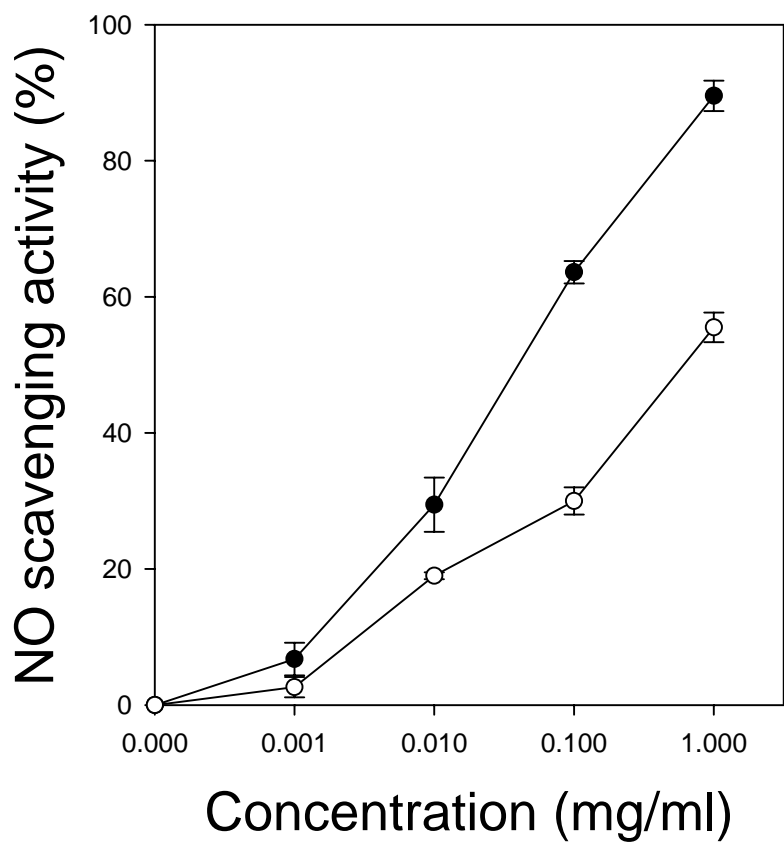


Figure 3 普洱茶水萃取物對 xanthine oxidase 活性之影響

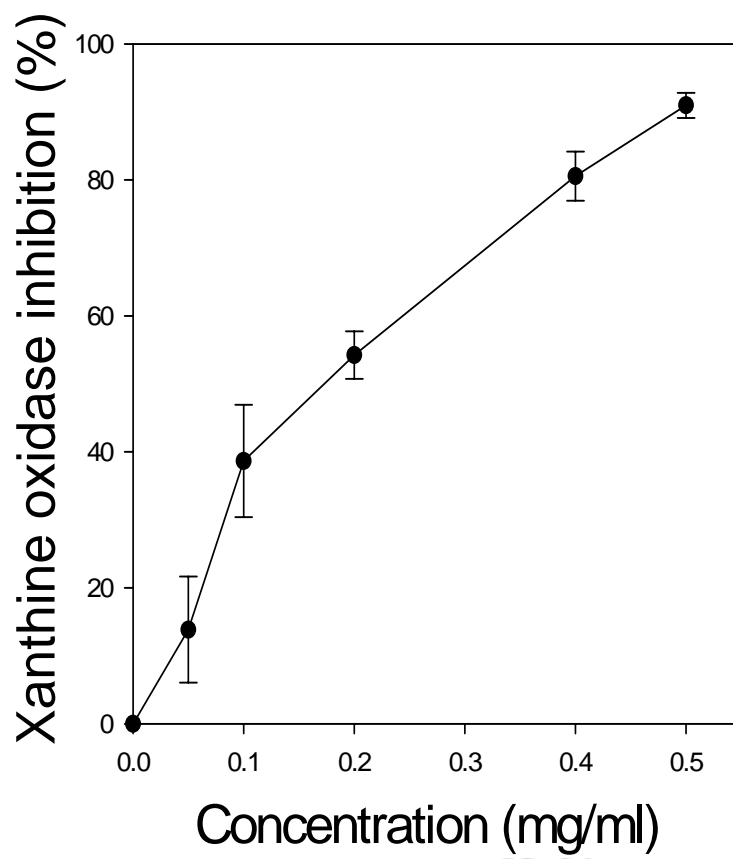


Table 1. 普洱茶水萃取物對 clone 9 肝細胞抗氧化酵素活性之作用

	Activity (nmol/min/mg protein)	
	GSH peroxidase	GSH reductase
Control	0.17 ±0.01	0.21 ±0.07
H ₂ O ₂ (0.2 mM)	1.14 ±0.11	0.91 ±0.09
H ₂ O ₂ (0.2mM)+ WEPT (0.01mg/ml)	0.30 ±0.01	0.57 ±0.03
H ₂ O ₂ (0.2mM)+ WEPT (0.05mg/ml)	1.90 ±0.96	0.79 ±0.09
H ₂ O ₂ (0.2mM)+ WEPT (0.1mg/ml)	2.05 ±0.32	0.99 ±0.00
H ₂ O ₂ (0.2mM)+ WEPT (0.2mg/ml)	2.62 ±0.36	1.23 ±0.14

The data were displayed with mean±SD (*n*=3). WEPT, water extract of pu-erh tea.

Figure 4 普洱茶水萃取(WEPT)物對肝細胞 GSH peroxidase (GPx) mRNA 之作用

