

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

普洱茶在體內試驗之護肝效應及其對抗氧化酵素系統表現 調控性之探討 研究成果報告(精簡版)

計畫類別：個別型
計畫編號：NSC 95-2313-B-041-010-
執行期間：95 年 08 月 01 日至 96 年 07 月 31 日
執行單位：嘉南藥理科技大學食品科技系

計畫主持人：杜平惠
共同主持人：王柏森
計畫參與人員：助教級-兼任助理：劉秀珍、林佳蓉



報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文

處理方式：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，1 年後可公開查詢

中 華 民 國 96 年 10 月 24 日

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果報告

普洱茶在體內試驗之護肝效應及其對抗氧化酵素系統

表現調控性之探討

Protective effect of pu-erh tea on liver damage in vivo and the investigation of modulating the expression of antioxidant enzyme systems

計畫類別：☒ 個別型計畫 ☐ 整合型計畫

計畫編號：NSC 95-2313-B-041-010

執行期間：95 年 8 月 1 日至 96 年 7 月 31 日

計畫主持人：杜平惠

共同主持人：王柏森

計畫參與人員：劉秀珍，林佳蓉

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)：☒ 精簡報告 ☐ 完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

☐ 赴國外出差或研習心得報告一份

☐ 赴大陸地區出差或研習心得報告一份

☐ 出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份

☐ 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、
列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

☐ 涉及專利或其他智慧財產權，☒ 一年 ☐ 二年後可公開查詢

執行單位：嘉南藥理科技大學 食品科技系

中 華 民 國 96 年 10 月 22 日

行政院國科會專題研究計畫成果報告
計畫名稱:普洱茶在體內試驗之護肝效
應及其對抗氧化酵素系統表
現調控性之探討

計畫編號: NSC 95 -2313 -B -041 - 010

執行期限: 95 年 8 月 1 日至 96 年 7 月 31 日

主 持 人: 杜平惠 嘉南藥理科技大學

食品科技系

中文摘要

本計畫探討普洱茶於體內試驗之護肝效應及其對抗氧化酵素系統表現之調控性。大鼠預先餵食普洱茶萃取物(water extract of pu-erh tea, WEPT)連續 55 天,於犧牲前一天腹腔注射 t-butyl hydroperoxide (t-BHP) (0.5mmol/kg),並作血清與肝臟生化值之測定。結果顯示未經 t-BHP 處理之大鼠餵食 WEPT (0.2g/kg)可顯著增加血清中之總多酚類含量,且於第 14 天所測得血清 TEAC 值與對照值比較有增加趨勢,而 WEPT (0.2-1 g/kg)對 t-BHP 誘發大鼠肝損傷與 t-BHP 傷害組比較,有增加大鼠血清之總抗氧化力。另外,由 GOT 與 GPT 之表現,顯示 WEPT (0.2-1g/kg)可抑制 t-BHP 誘發肝損傷,且 WEPT (0.2-1g/kg)對 t-BHP 誘發鼠肝 malondialdehyde (MDA) 生成量具有抑制性。惟 WEPT 對 t-BHP 誘發肝臟抗氧化酵素 superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GRd), catalase (CAT)及肝 glutathione (GSH)含量上並不具影響性,但高劑量 WEPT (1g/kg)可誘發 t-BHP 處理大鼠之肝 CAT 活性。另外,以 RT-PCR 測定大鼠肝 CAT mRNA 表現,發現 WEPT 與 t-BHP 組並無差異性,顯示 WEPT 對抗氧化酵素 CAT 之基因並不具調控

性。在 in vitro 系統中,WEPT(0-1mg/ml)及其生理活性成分 epicatechin (EC) (0-1 mg/ml)與 gallic acid (GA) (0-1mg/ml)可抑制 t-BHP (2mM)誘發 HepG₂ 之毒性作用,另外也可降低 t-BHP (2mM)於 HepG₂ 所產生之 ROS 含量,惟對細胞 GSH 含量無提昇作用性。綜合本試驗結果,顯示普洱茶具有保護肝臟效應,而其作用機制與其對脂質氧化及氧化壓力之抑制有很大關連性。

關鍵字: 普洱茶;脂質氧化;氧化壓力;護肝效應

英文摘要

Protective effects of pu-erh tea on liver damage in vivo and the investigation of modulating the expression of antioxidant enzyme systems were studied. In vivo investigation showed that the levels of total phenolics of the serum in rats treated with 0.2 g/kg WEPT significantly increased, compared to the control groups. The total antioxidant activity of the serum in rats treated with 0.2 g/kg WEPT increased with the increasing time up to Day 14, and then no significant difference between the rats treated with WEPT and control groups. The oral pretreatment of WEPT (0.2-1 g/kg) for consecutive 55 days before a single dose of t-BHP (0.5 mmol/kg, ip) exhibited a significant protective effect by lowering GOT and GPT, and reduced the malondialdehyde (MDA) formation, however, increased the total antioxidant activity of the serum in rats induced by t-BHP, compared to the groups induced by t-BHP alone. WEPT could not modulate the SOD, GPx, GRd

and CAT activity of livers in rats induced with/without t-BHP. However, WEPT at high concentration (1 g/kg) raised the CAT activity. The RT-PCR analysis indicated that WEPT could not modulate CAT mRNA expression. The in vitro investigation showed that WEPT, gallic acid (GA) and epicatechin (EC) in the range of 0-1 mg/ml increased the cell survival and decreased the ROS generation in HepG2 induced by t-BHP (2 mM). EC increased the GSH levels of HepG2, compared to cells induced by t-BHP (2mM) alone, however, WEPT could not. Taken together, experimental evidence shows that inhibitory effects on lipid peroxidation and ROS generation by WEPT may, in part, account for hepatoprotective effects against t-BHP-induced hepatotoxicity in vitro and in vivo.

Keywords: pu-erh tea ; lipid peroxidation ; oxidative stress ; hepatoprotective effect

前言

近年來由於生機飲食風潮之興起，由天然材質尋找機能性成分之研究亦隨之盛行。以茶葉而言，由於含有多種生理功能，更加深消費者喜愛。惟過去對茶葉之研究大多以綠茶、烏龍茶或紅茶為主，有關普洱茶之研究除了能降低膽固醇與降低低密度脂蛋白之氧化敏感性外，其餘彼等之機能活性之文獻則寥如晨星。在機能性食品正方興未艾之際，有必要針對普洱茶之機能特性作進一步探討。再者，國人罹患肝臟疾病比例居

高不下，因此探討肝臟疾病之相關文獻屢見不鮮。有鑑於此，敝人已於 91 學年度國科會計畫中完成普洱茶在生物分子與細胞抗氧化之影響及其在生理功能特性與安全性之評估之探討⁽¹⁾，為了進一步瞭解其在體內之機能特性，本計畫繼續以動物模系探討普洱茶之保護肝臟效應及其對內源性抗氧化酵素基因表現之調控性，並探討其它生理功能，以期瞭解普洱茶完整的機能特性，以作為醫藥食品界之應用參考。

結果與討論

一、WEPT 對 t-BHP 氧化性肝損傷之影響

表一為預先餵食 WEPT(0.2g/kg)之大鼠血清中總多酚之含量。控制組與 WEPT 組之血清多酚含量相較，於第 1 天、第 14 天、第 28 天、第 55 天，皆較控制組之多酚含量為高且具有顯著性差異($P < 0.05$)。此結果証實餵食 WEPT 具有提升大鼠血清中總多酚含量之效果。表二為預先餵食 WEPT(0.2g/kg)之大鼠血清總抗氧化能力(TEAC)，結果顯示預先餵食 WEPT 在第 14 天所測得血清 TEAC 與對照組比較有明顯上升 ($P < 0.05$)，但在第 28 天後大鼠血清之 TEAC 並無增加之現象。表三為 WEPT(0.2-1g/kg)對 t-BHP(0.5mmol/kg)誘發大鼠肝損傷之血清 TEAC，大鼠在受到氧化損傷時，傷害組與控制組比較下，t-BHP(0.5mmol/kg)會使大鼠血清 TEAC 下降且具有顯著性差異 ($P < 0.05$)；若預先餵食大鼠 WEPT(0.5、1.0g/kg)後可提升血清 TEAC，且與 t-BHP 傷害組相比較，具有顯著差異($p < 0.05$)，顯示餵食 WEPT 在 t-BHP 誘發大鼠肝損傷情況下，可增加大鼠之血清中總抗氧化力。表四為 WEPT(0.2-1g/kg)對 t-BHP (0.5

mmol/kg)誘發大鼠肝損傷之血清生化值影響，結果顯示大鼠於第 55 天腹腔注射 t-BHP(0.5 mmol/kg)，會明顯增加大鼠血清中肝損傷指標 GOT 與 GPT 值，而臟損傷。表五為 WEPT(0.2-1g/kg)對大鼠之肝臟抗氧化酵素活性之影響。預先餵食 WEPT (0.2-1 g/kg) 與 WEGT (0.2-1g/kg)之大鼠肝 SOD、GPx、GRd 與 CAT 活性與控制組相較下並無差異 ($P > 0.05$)。表六顯示 WEPT 對 t-BHP 損傷大鼠之肝臟中抗氧化酵素活性之影響。除了高劑量之 WEPT(1.0 g/kg) 與 t-BHP(0.5 mmol/kg)組相較有顯著增加外，其餘各組在抗氧化酵素之活性不具影響性($p > 0.05$)。進一步以 RT-PCR 測定 WEPT 與 WEGT 在 CAT mRNA 表現，由圖一結果顯示 WEPT(0.2-1 g/kg) 與 WEGT(0.2-1g/kg)對抗氧化酵素 CAT 之基因並不具調控性。表七為 WEPT 對 t-BHP 誘發大鼠之肝臟中 GSH 含量之影響，結果顯示餵食大鼠 WEPT (0.2-1g/kg) 與 t-BHP (0.5mmol/kg)傷害組相比之下無顯著差異。而只有預先餵食 WEGT(1.0g/kg)與 gallic acid (0.02、0.2g/kg)，肝臟 GSH 的含量與 t-BHP 傷害組相比之下有顯著差異($p < 0.05$)。圖二為 WEPT，WEGT 與 GA 對 t-BHP 誘發大鼠之肝臟中 MDA 含量之影響，顯示 WEPT(0.5-1g/kg)，WEGT(0.2g/kg) 與 GA(0.02-0.2g/kg)可抑制 t-BHP 誘發大鼠之肝臟中 MDA 含量。

二、WEPT 對 t-BHP 誘發肝細胞損傷之影響

圖三以 MTT 法測得之 WEPT、WEGT、EC、GA 在不同濃度下對 t-BHP(2mM)誘發 Hep G2 肝細胞損傷 2 小時後對細胞毒性之影響。結果顯示 WEPT、WEGT、EC 與

WEPT 與綠茶萃取物(water extract of green tea, WEGT)可降低血清之 GOT、GPT 值，顯示彼等可抑制 t-BHP 誘發肝

GA 在 0-1mg/ml 濃度間隨著處理濃度的提高，可有效的降低 t-BHP 所造成的細胞毒性($p < 0.05$)。圖四為 WEPT、WEGT、EC、GA 在 0-1mg/ml 濃度間可顯著降低 t-BHP(2mM)誘發 Hep G2 氧化壓力所產生之胞內活性氧之生成量。圖五為 WEPT、WEGT、EC、GA 在 0-1mg/ml 濃度間，對 t-BHP 下降 Hep G2 中 GSH 之影響。結果顯示，細胞經 2mM t-BHP 處理後會使細胞內的 GSH 含量下降至 4.6%，而當細胞與 0.5mg/ml 之 WEGT 或 EC 處理後，可分別顯著的增加 GSH 含量至 254、123%($p < 0.05$)，惟 WEPT 對細胞內的 GSH 含量無提昇的作用。

結論

本研究結果發現在動物實驗中 WEPT 對 t-BHP 所誘發之大鼠肝損傷之氧化傷害性具有保護作用，亦可提升血清中多酚含量與增加血清之總抗氧化能力。在細胞模式方面，WEPT 可有效的降低 t-BHP 所造成的細胞毒性，並藉由降低 t-BHP 所誘發細胞 ROS 之生成量，來保護細胞免於受到氧化傷害。另由動物實驗之抑制脂質氧化作用與在細胞模式降低 t-BHP 所誘發之氧化壓力可用來部份解釋普洱茶於體內試驗之護肝效應。

參考文獻

1. Duh PD, Yen GC, Yen WJ, Wang BS, and Chang LW. Effects of pu-erh tea on oxidative damage and nitric oxide scavenging. *J. Agric. Food. Chem.* 2004; 52(26): 8169-8176.

表一 餵食 WEPT 之大鼠血清中總多酚之含量

Table 1. Total polyphenolics content in rat serum after administration of WEPT

day	Total phenol content ($\mu\text{g} \times 10^{-1}/0.02 \text{ ml serum}$)				
	1	14	28	42	55
Control	-3 ± 4	5 ± 4	1 ± 10	5 ± 4	6 ± 7
WEPT 0.2g/kg	$7 \pm 4^{*b}$	$22 \pm 5^{*a}$	$18 \pm 3^{*a}$	18 ± 9^a	$19 \pm 3^{*a}$

Each data was based on 20 μl serum; Values are means $\pm$ SD (n=3); *p<0.05 vs control ; Values with different superscripts in a row are significantly different (p<0.05).

表二 餵食 WEPT 之大鼠血清中之總抗氧化力

Table 2. Total antioxidant activity in rat serum after administration of WEPT

day	TEAC ($\mu\text{g}/0.02 \text{ ml serum}$)				
	1	14	28	42	55
Control	0.52 ± 0.10^b	0.52 ± 0.17^b	0.93 ± 0.42^a	1.15 ± 0.21^a	1.60 ± 0.07^a
WEPT 0.2g/kg	1.11 ± 0.24^a	1.25 ± 0.32^a	0.89 ± 0.16^a	0.94 ± 0.15^a	1.51 ± 0.12^a

Values with different superscripts in a row are significantly different (p<0.05).

表三 WEPT 對 *t*-BHP 誘發大鼠肝損傷之血清總抗氧化力

Table 3. Effect of WEPT on total antioxidant activity of serum in rats induced by *t*-BHP

Treatment	TEAC($\mu\text{g}/0.02 \text{ ml serum}$)
Control	3.07 ± 0.11
<i>t</i> -BHP 0.5 mmol/kg	$2.79 \pm 0.12^{\#}$
Silymarin 0.2g/kg + <i>t</i> -BHP	3.25 ± 0.4
WEPT 0.2g/kg + <i>t</i> -BHP	3.26 ± 0.18
WEPT 0.5g/kg + <i>t</i> -BHP	$3.38 \pm 0.47^*$
WEPT 1.0g/kg + <i>t</i> -BHP	$3.8 \pm 0.34^*$
WEGT 0.2g/kg + <i>t</i> -BHP	2.96 ± 0.16
WEGT 0.5g/kg + <i>t</i> -BHP	3.03 ± 0.09
WEGT 1.0g/kg + <i>t</i> -BHP	3.11 ± 0.19
GA 0.02g/kg + <i>t</i> -BHP	$3.83 \pm 0.32^*$
GA 0.2g/kg + <i>t</i> -BHP	3.25 ± 0.10

WEPT, water extract of pu-erh tea; WEGT, water extract of green tea; GA, gallic acid.

#P<0.05, compared with control; *P<0.05, compared to treatment with t-BHP.

表四 WEPT 對 *t*-BHP 誘發大鼠肝損傷之血清生化值影響

Table 4. Effects of WEPT on serum biochemical marker in rats induced by t-BHP

Treatment	GOT(U/L)	GPT(U/L)	BUN(mg/dL)	CREA(mg/dL)
control	365±30 ^d	59±4 ^c	24±1 ^a	0.8±0.06 ^{abc}
<i>t</i> -BHP 0.5 mmol/kg	1829±265 ^a	353±121 ^a	24±10 ^{ab}	0.8±0.15 ^{abc}
silymarin 0.2g/kg + <i>t</i> -BHP	1353±238 ^b	257±97 ^{ab}	19±5 ^{abc}	0.9±0.21 ^{abc}
WEPT 0.2g/kg + <i>t</i> -BHP	1060±303 ^{bc}	247±111 ^{ab}	20±3 ^{abc}	1.0±0.12 ^a
WEPT 0.5g/kg + <i>t</i> -BHP	1312±53 ^{bc}	231±24 ^{ab}	16±1 ^{bc}	0.8±0.06 ^{abc}
WEPT 1.0g/kg + <i>t</i> -BHP	1271±204 ^{bc}	216±30 ^b	20±3 ^{abc}	0.9±0.06 ^{ab}
WEGT 0.2g/kg + <i>t</i> -BHP	1669±152 ^a	243±58 ^{ab}	15±1 ^c	0.8±0.00 ^{abc}
WEGT 0.5g/kg + <i>t</i> -BHP	1223±127 ^{bc}	194±20 ^b	16±3 ^{bc}	0.8±0.06 ^{bc}
WEGT 1.0g/kg + <i>t</i> -BHP	1130±130 ^{bc}	180±61 ^b	18±4 ^{abc}	0.7±0.06 ^c
GA 0.02g/kg + <i>t</i> -BHP	959±182 ^c	152±35 ^{bc}	21±4 ^{abc}	0.9±0.06 ^{abc}
GA 0.2g/kg + <i>t</i> -BHP	1115±160 ^{bc}	201±35 ^b	19±3 ^{abc}	0.8±0.00 ^{abc}

WEPT, water extract of pu-erh tea; WEGT, water extract of green tea; GA, gallic acid.

Values with different superscripts in a column are significantly different (p<0.05).

表五 WEPT 對大鼠肝臟抗氧化酵素活性之影響

Table 5. Effects of WEPT on hepatic antioxidant enzyme activities in rats

Treatment	SOD(U/mg protein)	GPx(U/mg protein)	GRd(U/mg protein)	CAT (U/mg protein)
control	1284±167 ^a	2032±383 ^a	152±56 ^a	10.1±1.8 ^{ab}
WEPT 0.2g/kg	1401±373 ^a	2328±593 ^a	114±9 ^a	11.9±2.8 ^{ab}
WEPT 1.0g/kg	1261±158 ^a	2435±652 ^a	151±51 ^a	14.1±1.8 ^{ab}
WEGT 0.2g/kg	1377±332 ^a	1459±122 ^a	105±22 ^a	20.4±5.5 ^{ab}
WEGT 1.0g/kg	1222±107 ^a	2412±1650 ^a	251±228 ^a	36.6±0.0 ^a
GA 0.02g/kg	625±62 ^b	1299±62 ^a	83±8 ^a	5.1±1.1 ^b
GA 0.2g/kg	727±435 ^b	1692±72 ^a	88±0.5 ^a	5.3±0.9 ^b

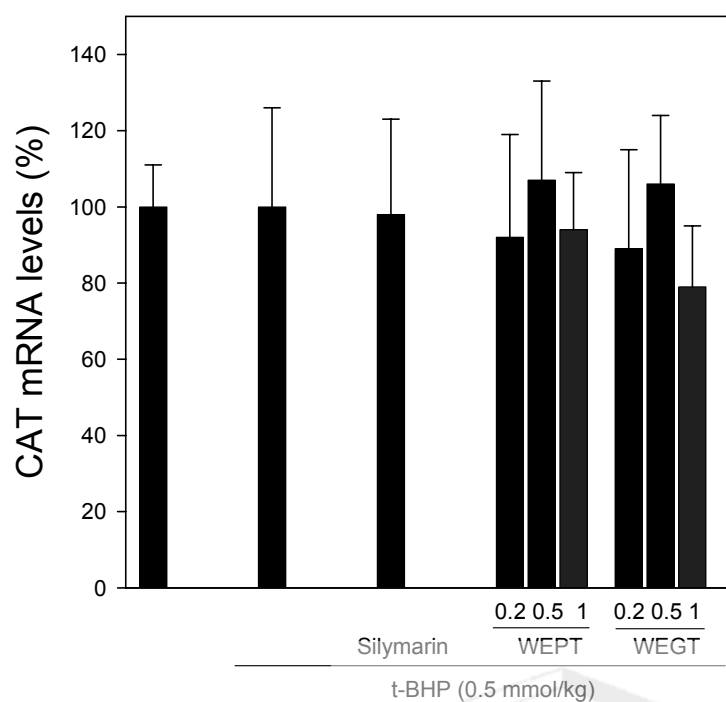
WEPT, water extract of pu-erh tea; WEGT, water extract of green tea; GA, gallic acid. SOD, superoxide dismutase; GPx, glutathione peroxidase; GRd, glutathione reductase; CAT, catalase. Values with different superscripts in a column are significantly different (p<0.05).

表六 WEPT 對 *t*-BHP 誘發大鼠之肝臟中酵素活性之影響

Table 6. Effects of WEPT on hepatic antioxidant enzyme activities in rats induced by *t*-BHP.

Treatment	SOD (U/g protein)	GPx (U/g protein)	GRd (U/g protein)	CAT (UM/g protein)
control	1284±167 ^{ab}	2032±383 ^b	152±56 ^a	10.1±1.8 ^{cde}
<i>t</i> -BHP 0.5 mmol/kg	1256±295 ^{ab}	2151±275 ^{ab}	106±10 ^{abc}	7.1±3.2 ^{de}
silymarin 0.2g/kg + <i>t</i> -BHP	1180±76B ^{ab}	1987±412 ^b	104±11 ^{abc}	7.7±1.9 ^{de}
WEPT 0.2g/kg + <i>t</i> -BHP	1305±365 ^{ab}	1546±224 ^b	100±11 ^{abc}	10.9±2.7 ^{cde}
WEPT 0.5g/kg + <i>t</i> -BHP	1302±161 ^{ab}	1341±343 ^b	129±48 ^{abc}	12.6±5.4 ^{bcd}
WEPT 1.0g/kg + <i>t</i> -BHP	1601±407 ^a	3091±694 ^b	145±5 ^{ab}	18.4±5.4 ^{ab}
WEGT 0.2g/kg + <i>t</i> -BHP	1578±288 ^a	1837±1567 ^b	141±48 ^{abc}	20.8±3.8 ^a
WEGT 0.5g/kg + <i>t</i> -BHP	1427±235 ^{ab}	1513±138 ^b	114±28 ^{abc}	15.1±3.7 ^{abc}
WEGT 1.0g/kg + <i>t</i> -BHP	1034±253 ^{bc}	1377±230 ^b	103±3 ^{abc}	11.2±5.3 ^{cde}
GA 0.02g/kg + <i>t</i> -BHP	706±80 ^c	1818±382 ^b	91±6 ^{bc}	6.0±0.6 ^{de}
GA 0.2g/kg + <i>t</i> -BHP	659±80 ^c	1591±166 ^b	87±11 ^c	5.7±0.8 ^e

WEPT, water extract of pu-erh tea; WEGT, water extract of green tea; GA, gallic acid. SOD, superoxide dismutase; GPx, glutathione peroxidase; GRd, glutathione reductase; CAT, catalase. Values with different superscripts in a column are significantly different ($p < 0.05$).



圖一 WEPT 對 *t*-BHP 誘發大鼠肝損傷 catalase (CAT) mRNA 表現性的影響

Fig 1. Effect of WEPT on expression of hepatic catalase mRNA in rats induced by *t*-BHP.

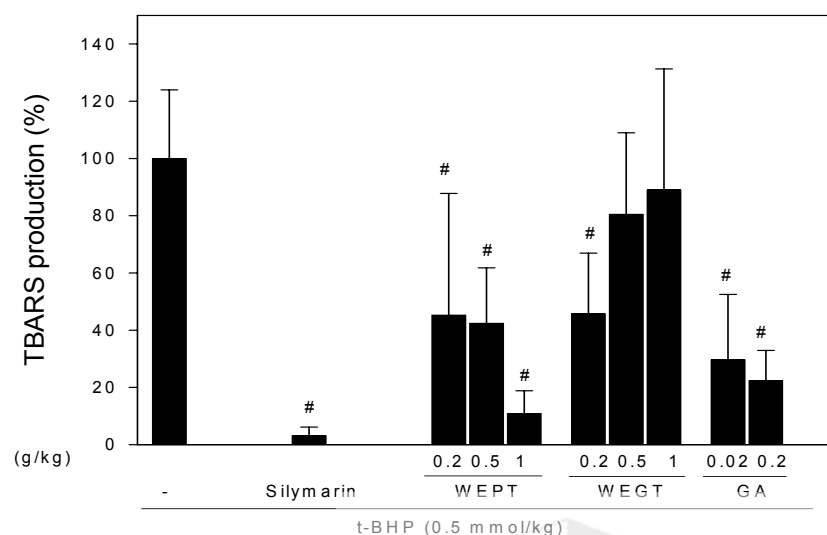
WEPT, water extract of pu-erh tea; WEGT, water extract of green tea.

表七、WEPT 對 *t*-BHP 誘發大鼠肝損傷之肝臟中 GSH 含量之影響

Table 7. Effect of WEPT on hepatic GSH levels in rats induced by *t*-BHP

Treatment	GSH(%)
Control	100±16 ^f
<i>t</i> -BHP 0.5 mmol	160±18 ^{de}
Silymarin 0.2g/kg + <i>t</i> -BHP	149±13 ^e
WEPT 0.2g/kg + <i>t</i> -BHP	154±28 ^e
WEPT 0.5g/kg + <i>t</i> -BHP	187±10 ^{cd}
WEPT 1.0g/kg + <i>t</i> -BHP	166±21 ^{de}
WEGT 0.2g/kg + <i>t</i> -BHP	173±18 ^{cde}
WEGT 0.5g/kg + <i>t</i> -BHP	161±14 ^{de}
WEGT 1.0g/kg + <i>t</i> -BHP	195±3 ^c
GA 0.02g/kg + <i>t</i> -BHP	336±13 ^b
GA 0.2g/kg + <i>t</i> -BHP	366±25 ^a

WEPT, water extract of pu-erh tea; WEGT, water extract of green tea; GA, gallic acid; GSH, glutathione. Values with different superscripts in a column are significantly different ($p < 0.05$).

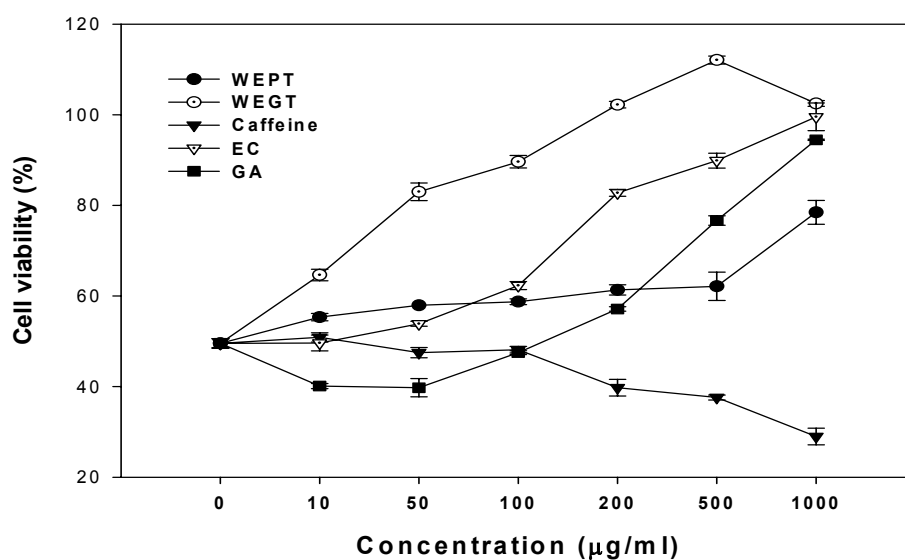


圖二 WEPT 對 *t*-BHP 誘發大鼠肝損傷之 TBARS 產生的影響

Fig 2. Effect of WEPT on TBARS production of liver in rats induced by *t*-BHP.

WEPT, water extract of pu-erh tea; WEGT, water extract of green tea; GA, gallic acid.

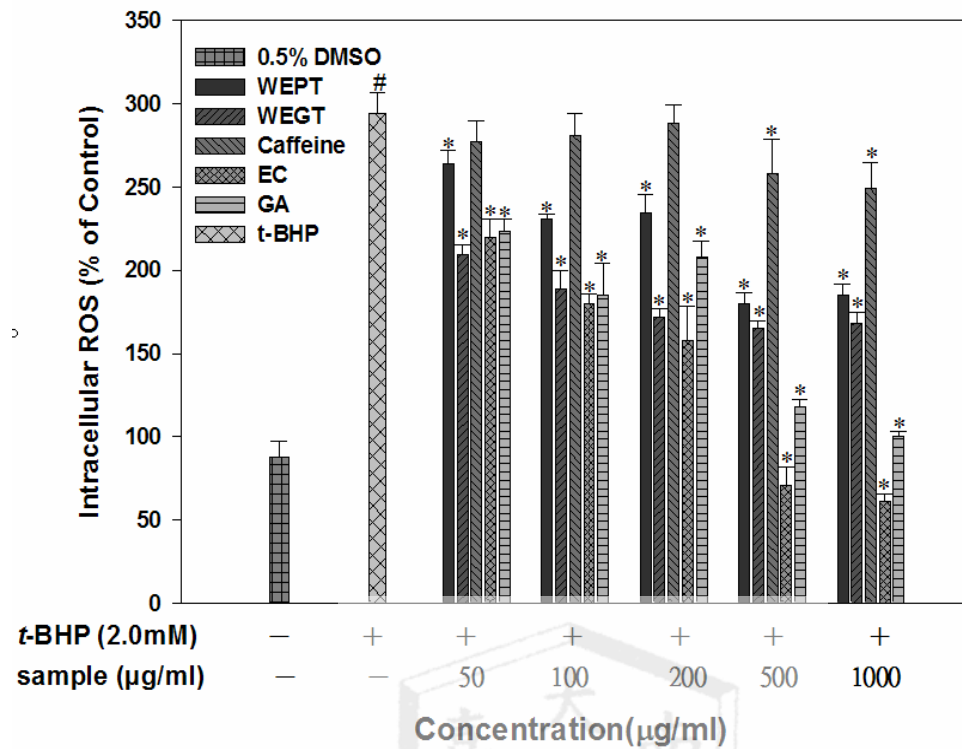
Bars marked by symbol were significantly different ($p < 0.05$) compared with *t*-BHP group.



圖三 WEPT 對 *t*-BHP 誘發 Hep G2 之細胞毒性的影響

Fig 3. Effect of WEPT on cell viability of HepG2 cells induced by *t*-BHP.

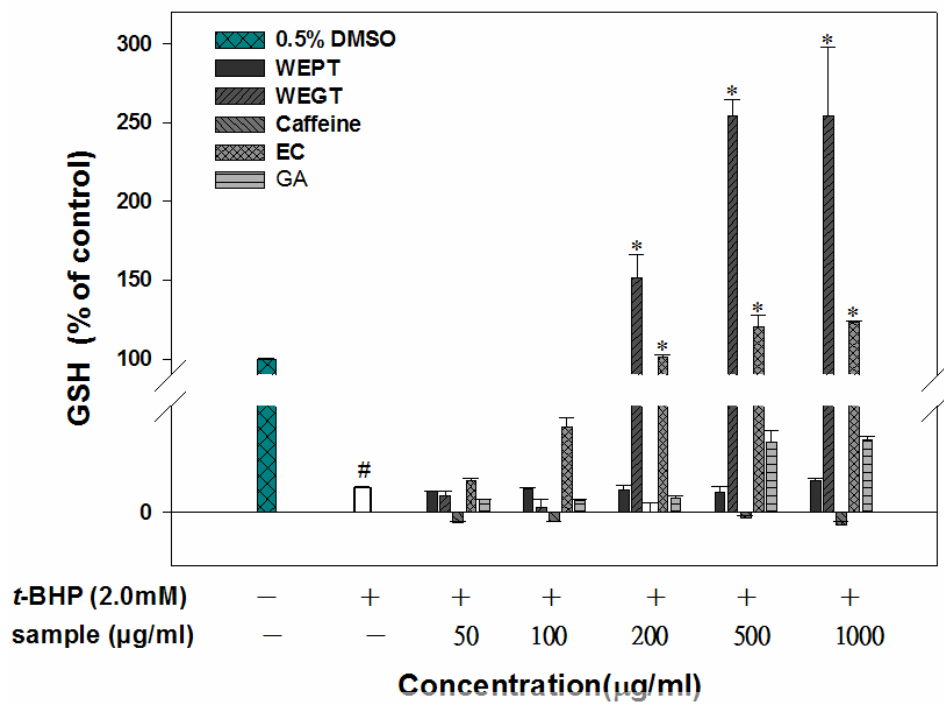
WEPT, water extract of pu-erh tea; WEGT, water extract of green tea; EC, epicatech;
GA, gallic acid.



圖四 WEPT 對 *t*-BHP 誘發 Hep G2 活性氧 (ROS) 之影響

Fig 4. Effect of WEPT on ROS generation in HepG2 cells induced by *t*-BHP.

WEPT, water extract of pu-erh tea; WEGT, water extract of green tea; EC, epicatech; GA, gallic acid. [#]P<0.05, compared with control; *P<0.05, compared to treatment with *t*-BHP.



圖五 WEPT 對 *t*-BHP 誘發 Hep G2 GSH 含量之影響

Figure 5 .Effect of WEPT on GSH of HepG2 cells induced by *t*-BHP.

WEPT, water extract of pu-erh tea; WEGT, water extract of green tea; EC, epicatech; GA, gallic acid. #*P*<0.05 , compared with control ; **P*<0.05 , compared to treatment with *t*-BHP.

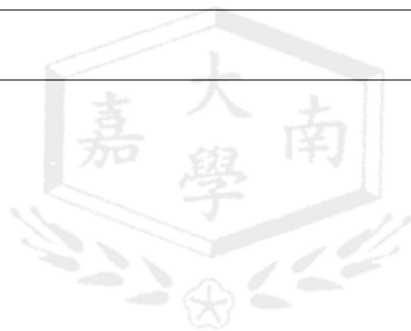
可供推廣之研發成果資料表

☐ 可申請專利

☐ 可技術移轉

日期：96 年 10 月 22 日

國科會補助計畫	計畫名稱：普洱茶在體內試驗之護肝效應及其對抗氧化酵素系統表現調控性之探討 計畫主持人：杜平惠 計畫編號：NSC 95 — 2313 — B — 041 — 010 — 學門領域：食品
技術/創作名稱	
發明人/創作人	



技術說明	中文： 本計畫探討普洱茶於體內試驗之護肝效應及其對抗氧化酵素系統表現之調控性。大鼠預先餵食普洱茶萃取物(water extract of pu-erh tea, WEPT)連續 55 天,於犧牲前一天腹腔注射 t-butyl hydroperoxide (t-BHP) (0.5mmol/kg),並作血清與肝臟生化值之測定。結果顯示未經 t-BHP 處理之大鼠餵食 WEPT (0.2g/kg)可顯著增加血清中之總多酚類含量,且於第 14 天所測得血清 TEAC 值與對照值比較有增加趨勢,而 WEPT (0.2-1 g/kg)對 t-BHP 誘發大鼠肝損傷與 t-BHP 傷害組比較,有增加大鼠血清之總抗氧化力。另外,由 GOT 與 GTP 之表現,顯示 WEPT (0.2-1g/kg)可抑制 t-BHP 誘發肝損傷,且 WEPT (0.2- 1g/kg)對 t-BHP 誘發鼠肝 malondialdehyde (MDA) 生成量具有抑制性。惟 WEPT 對 t-BHP 誘發肝臟抗氧化酵素 superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GRd), catalase (CAT)及肝 glutathione (GSH)含量上並不具影響性,但高劑量 WEPT (1g/kg)可誘發 t-BHP 處理大鼠之肝 CAT 活性。另外,以 RT-PCR 測定大鼠肝 CAT mRNA 表現,發現 WEPT 與 t-BHP 組並無差異性,顯示 WEPT 對抗氧化酵素 CAT 之基因並不具調控性。在 in vitro 系統中, WEPT(0-1mg/ml)及其生理活性成分 epicatechin (EC) (0-1 mg/ml)與 gallic acid (GA) (0-1mg/ml)可抑制 t-BHP (2mM)誘發 HepG₂ 之毒性作用,另外也可降低 t-BHP (2mM)於 HepG₂所產生之 ROS 含量,惟對細胞 GSH 含量無提昇作用性。綜合本試驗結果,顯示普洱茶具有保護肝臟效應,而其作用機制與其對脂質氧化及氧化壓力之抑制有很大關連性。 (100~500 字)
-------------	---

	英文： Protective effects of pu-erh tea on liver damage in vivo and the investigation of modulating the expression of antioxidant enzyme systems were studied. In vivo investigation showed that the levels of total phenolics of the serum in rats treated with 0.2 g/kg WEPT significantly increased, compared to the control groups. The total antioxidant activity of the serum in rats treated with 0.2 g/kg WEPT increased with the increasing time up to Day 14, and then no significant difference between the rats treated with WEPT and control groups. The oral pretreatment of WEPT (0.2-1 g/kg) for consecutive 55 days before a single dose of t-BHP (0.5 mmol/kg, ip) exhibited a significant protective effect by lowering GOT and GPT, and reduced the malondialdehyde (MDA) formation, however, increased the total antioxidant activity of the serum in rats induced by t-BHP, compared to the groups induced by t-BHP alone. WEPT could not modulate the SOD, GPx, GRd and CAT activity of livers in rats induced with/without t-BHP. However, WEPT at high concentration (1 g/kg) raised the CAT activity. The RT-PCR analysis indicated that WEPT could not modulate CAT mRNA expression. The in vitro investigation showed that WEPT, gallic acid (GA) and epicatechin (EC) in the range of 0-1 mg/ml increased the cell survival and decreased the ROS generation in HepG2 induced by t-BHP (2 mM). EC increased the GSH levels of HepG2, compared to cells induced by t-BHP (2mM) alone, however, WEPT could not. Taken together, experimental evidence shows that inhibitory effects on lipid peroxidation and ROS generation by WEPT may, in part, account for hepatoprotective effects against t-BHP-induced hepatotoxicity in vitro and in vivo.
可利用之產業 及 可開發之產品	食品工業；健康食品
技術特點	動物試驗與細胞培養技術之操作

推廣及運用的價值	本計劃之價值如下： 本研究結果發現在動物實驗中 WEPT 對於 t-BHP 所誘導之大鼠肝損傷之氧化傷害具有保護作用亦可提升血清中多酚含量與增加血清之總抗氧化能力。在細胞模式方面，WEPT 可有效的降低 t-BHP 所造成的細胞毒性，並藉由降低 t-BHP 所誘發細胞 ROS 之生成量，來保護細胞免於受到氧化傷害。換言之，適當飲用普洱茶有助於降低消費者由於環境或飲食之毒性物質所引起之肝損傷或氧化破壞。另一方面，本研究結果可作為消費者、產業界與醫藥界之參考與應用。
----------	---

- ※ 1. 每項研發成果請填寫一式二份，一份隨成果報告送繳本會，一份送 貴單位研發成果推廣單位（如技術移轉中心）。
- ※ 2. 本項研發成果若尚未申請專利，請勿揭露可申請專利之主要內容。
- ※ 3. 本表若不敷使用，請自行影印使用。



行政院國家科學委員會補助國內研究生出席國際學術會議報告

2007 年 6 月 22 日

報告人姓名	杜平惠	就讀校院 (科系所)	☐ 博士班研究生 ☐ 碩士班研究生
時間 會議 地點	2007/6/10-13 赫爾辛基 芬蘭	本會核定 補助文號	NSC95-2313-B-041-010
會議 名稱	(中文) 第 76 屆歐洲動脈粥狀硬化協會會議 (英文) 76th Annual EAS (European Atherosclerosis Society) Congress		
發表 論文 題目	(中文) 青蔥萃取物增加巨噬細胞 ABCA1 與 SR-B1 之表現 (英文) An aqueous extract of welsh onion increases ABCA1 and SR-B1 expression in macrophage RAW 264.7 cells		

報告內容應包括下列各項：

一、參加會議經過

第 76 屆歐洲動脈粥狀硬化協會(European Atherosclerosis Society, EAS)今年於芬蘭赫爾辛基舉行。芬蘭國境位於北極圈內，夏季晝長夜短，由於位於極地附近，因此六月天之氣溫仍在 9°C~20°C 之間，惟受到北海暖流之影響，雖有點涼意但並不寒冷，相反地卻感覺空氣清晰，舒爽宜人。

EAS 是一探討有關心血管疾病之協會，據大會公佈資料顯示今年共有來自 82 個國家，有超過 1 千 5 百多人與會。EAS 不僅陳列所參加人員之國籍、姓名外，並將與會者之國旗插列於大會最醒目之處，且中華民國國旗擺放在最中間位置，這在外交處境極度困難之際，能在國際場合見到自己國家之國旗與其它國家並列一起，感到特別有意義。會議於 6 月 10 日當晚六點正由大會籌備主席芬蘭籍之 M.R.Taskinen 女士主持及致詞後開始，由於與會參加人數頗多，大會場地安排特別寬敞，無論是大會開閉幕、口頭論文或海報報告場地均特別寬敞，且動線擺設很有人性化。大會閉幕時特別安排頒發傑出論文獎、年輕科學人員獎及代表 EAS 最高榮譽之 Anitschkow 獎。今年的 Anitschkow 獎由瑞典籍之 Dr.Gorank Hansson 獲得，並且於閉幕之最後階段發表其研究團隊近年來在心血管疾病所作之研究結果，其講題為 "Is atherosclerosis an immune disease?"。大會於 6 月 13 日下午二點在 Dr. Hansson 演講完後正式宣布第 76 屆歐洲動脈粥狀硬化協會會議結束，同時預告第 77 屆 EAS 將於 2008 年 4 月 26-29 日在土耳其伊斯坦堡舉行。

二、與會心得

綜觀 4 天會議，共有 62 篇口頭報告及 873 篇海報型報告，且各項論文品質皆很高，平心而論是一水準很高之研討會。茲舉幾篇筆者印象較為深刻之演講及海報內容之心得記敘如下：

Sutra, T. 報告指出蔬菜中之抗氧化劑可以因防止倉鼠之 O_2^- 及 NADPH oxidase 之活性而對高膽固醇有所預防；Martinez, A.L. 提出胰島素可以負調整 VLDL1 及增加 VLDL2 之量，

惟若脂肪肝之屯積則會影響此效應。Asmis, R.提出 OxLDL 會促進 protein-S-glutathionylactin 及 macrophage 死亡，並且會進一步藉抑制 glutathione reductase 活性作用而限制 glutathione 之可用率，惟 thiol 因能增強其 glutathione-dependent 抗氧化性而降低 atherosclerosis 之嚴重性，主要乃在於對 atherogenesis 之作用以及對 macrophage cell 之保護所致。Ruan, X.Z.在探討血液低膽固醇與發炎作用之關係上指出：IL- β 促進 VSMCS 之轉移作用且 IL- β 藉著 cholesterol 濃度高之故而 overrode LDL receptor 之表現。再者 IL- β 在高濃度之 LDL 存在下會加強 SCAP 從 ER 轉移至 Golgi；另外在動物實驗中也發現急性發炎作用會加強 plaque 之形成。Catalano, G.指出 HDL-C 濃度之提昇有助於 SR-B1 調控細胞內膽固醇之流出。Yang, H.指出小鼠之 GPx4(h GPx4Tg /Apoe-/-)過渡表現可以抑制 atherogenesis，且降低脂質氧化作用，再者抑制血管細胞之氧化性是 GPx4 抑制 atherogenesis 之主因。Davolos, A.指出 NADPH oxidase 在參與超氧陰離子形成中扮演重要角色，惟葡萄柚內之多酚可以降低此酵素在細胞之表現，此可作為多酚對 atherosclerosis 抑制作用之機轉之一。Triantafyllou, K.A.提出在低含量之 HDL 之年輕病患中 OxLDL 對 atherosclerosis 佔很重要角色，作者認為增加脂質氧化以及結合低含量之 HDL 乃是導致心血管疾病主要因素。植物性之 stanol 降低 LDL-C 是眾所皆知，Plat, J.進一步分析指出其可降低 TAG (triacylglycerol)也可作為在 CHD 預防上之指標。另外 Raitakari, O.也提出 plant stanol ester 有助於血管之彈性及內皮細胞之功能性。Rein, P.指出 ω -3 脂肪酸可降低男性抽煙者 post prandial triglyceridemia，此對因抽煙所造成心血管疾病提供另一種新的治療方式之參考。Doostmohammadian, A.提出脂肪攝取、脂肪能量、速食食用之頻率次數與 BMI 有顯著上之關連，因此營養教育及改進飲食習慣對青少年而言是項重要的課題。Tinahone Madueno, F.J.指出給予女性五週之綠茶之攝取可降低 37.4%之 OxLDL，此對血管疾病之預防有正面之幫助。至於筆者此次論文題目為：An aqueous extract of welsh onion increases ABCA1 and SR-B1 expression in macrophage RAW 264.7 cells.其內容指出青蔥萃取物能誘導 ABCA1 與 SR-B1 之基因表現，且其所含之多酚化合物 quercetin 與 kaempferol 也有此效能。顯示青蔥萃取物對巨噬細胞內之 HDL receptors 有增加表現機會，此對抗 atherosclerosis 有一定程度之貢獻。

綜觀四天會議期間，參加者所提出之論文大多集中於心血管及少部分在減肥上之議題，無論是質與量上均很可觀。筆者近年來研究方向也有部分涉獵 OxLDL 層面，在未來二年內也計畫探討血管細胞上之議題。因此，格外珍惜此次會議之內容。短短四天會議期間，從看的、聽的及與會人員交談等中吸收不少這方面新知，深信此次會議對筆者在未來研究領域上將有正面之影響。

三、考察參觀活動(無是項活動者省略)

四、建議

五、攜回資料名稱及內容

此次會議共攜回大會所印刷之論文集，可供相關人員參考。

六、其他