

普洱茶对 LPS 诱导的巨噬细胞分泌 IL-6 的影响

于海双^{1,2}, 王宣军², 宋爽^{2,4}, 李冬青^{1,2}, 王涵^{2,4}, 郝淑美^{3*}, 盛军^{2*}

(1. 长春理工大学化学与环境工程学院, 长春 130022; 2. 云南农业大学云南省茶深加工工程技术研究中心 昆明 650201; 3. 云南大学校长办公室, 昆明 650091; 4. 吉林大学生命科学院, 长春 130023)

摘要: 为研究普洱茶抗炎功效的机理, 使用 THP-1 细胞经佛波脂 (PMA) 分化形成的巨噬细胞为细胞模型研究普洱茶对细胞免疫功能的调节作用。研究发现: (1) 在使用普洱茶水提取物作用巨噬细胞后, 脂多糖 (LPS) 诱导刺激巨噬细胞分泌的白细胞介素 6 (IL-6) 的量显著降低, 且呈剂量依赖性; (2) 直接用茶水提取物处理巨噬细胞, 普洱茶和红茶水提取物均可以刺激细胞分泌 IL-6; (3) 普洱茶的降低 LPS 刺激巨噬细胞分泌 IL-6 的效果与 EGCG 无关。这些结果提示, 普洱茶等具有对 IL-6 的双向调节作用。

关键词: 普洱茶; IL-6; THP-1; 巨噬细胞

中图分类号: TS272.54; Q256

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2012)02-0225-03

Effect of Puer tea on LPS induced secretion of IL-6 from macrophage

YU Hai-shuang^{1,2}, WANG Xuan-jun², SONG Shuang^{2,4}, LI Dong-qing^{1,2}, WANG Han^{2,4}, HAO Shu-mei³, SHENG Jun²

(1. School of Environmental Engineer, Changchun University of Science and Technology, Changchun 130022;

2. Office of President, Yunnan Research Center for Advanced Tea Processing, Kunming 650201;

3. Yunnan University, Kunming 650091;

4. School of Life Science, Jilin University, Changchun 130023)

Abstract: Puer tea has multiple biological effects. We study the regulation effect of Puer tea for anti-inflammation with the macrophage cell model, which derived from the THP-1 cell line stimulated by PMA (phorbol myristate acetate). The naïve macrophage can secrete more IL-6 when treated with Puer tea. When macrophages treated with lipopolysaccharide (LPS) which stimulates the macrophages to produce IL-6 followed with Puer tea, the amount of IL-6 secreted by the macrophage was attenuated significantly, and the attenuate effect was dependent on the dose of Puer tea. This attenuate effect is EGCG independent. The present study suggest that Puer tea has dual-direction-regulation effect for the inflammation.

Key words: Puer tea; IL-6; THP-1; macrophage

普洱茶是云南地方特色的传统名茶。普洱茶独特的风味和保健功效逐渐被人们认识^[1-4], 普洱茶作为一种天然的饮品有着广阔的发展前景^[5]。但由于普洱茶的功能成分尚不明确, 许多功效停留在众口相传的阶段, 普洱茶功效的系统的科学的验证或否定都有助于人们更好地了解普洱茶, 科学地使用普洱茶, 也有利于普洱茶的推广。本文使用巨噬细胞模型对普洱茶在免疫细胞上对 IL-6 的表达分泌的调节效果进行了研究, 发现普洱茶在此实验模型具有明确的调节炎症反应的效果。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 材料与试剂 普洱茶粉、绿茶粉、红茶粉的制作: 干茶叶:水=1:10, 加热煮沸 0.5 h, 过滤后茶渣:水=1:8, 再加热煮沸 0.5 h, 过滤后茶渣:水=1:5, 煮沸 0.5 h。合并 3 次过滤液, 加热浓缩至 1/10 体积, 喷雾干燥得粉末状茶粉。

EGCG、PMA、LPS 购自 Sigma 公司; 1640 细胞培养液为上海英骏生物技术公司; 胎牛血清购自

收稿日期: 2011-11-14

作者简介: 于海双, 男, 硕士研究生。E-mail: yuhaihuanghaiyu@yahoo.com.cn

* 通讯作者: 郝淑美, 女, 教授, 博士生导师。

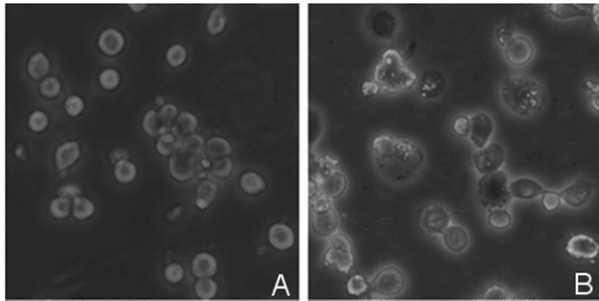
盛军, 男, 教授。E-mail: shengj@ynau.edu.cn

赛默飞世尔生物化学制品有限公司；IL-6 酶联免疫吸附 (ELISA) 试剂盒购自深圳达科为生物公司；丙酮酸钠、非必需氨基酸、青链霉素等细胞培养用试剂购自北京索来宝，其它常用试剂均为国产分析纯。

1.1.2 仪器与设备 倒置显微镜，37℃水浴箱，4℃冰箱，离心机，CO₂培养箱，Elisa洗板机，超净工作台，酶标仪。

1.2 试验方法

1.2.1 巨噬细胞的获得 THP-1 细胞 (图 1A) 经计数后 PMA 刺激 48 h 分化得到巨噬细胞 (图 1B)，作为细胞模型用于后续试验研究。



A. 未分化 THP-1 细胞 (200 倍); B. 分化的 THP-1 巨噬细胞 (200 倍)
A, THP-1 cell; B macrophage derived from THP-1 cell

图 1 THP-1 细胞分化
Figure 1 THP-1 cell differentiation

1.2.2 普洱茶水提取物对巨噬细胞分泌 IL-6 的调节作用 利用 PMA 刺激 THP-1 细胞分化成巨噬细胞，除去培养液后用无菌的 PBS 清洗，先用 LPS 处理细胞，30 min 后加入茶溶液。在不同的时间点取样，通过 Elisa 方法测定细胞分泌到培养液中 IL-6 的含量。

2 结果与分析

2.1 普洱茶水提取物对未刺激巨噬细胞分泌 IL-6 含量的影响

直接在巨噬细胞培养基中加入 250 μg·mL⁻¹ 的茶粉溶液，观察各种茶对巨噬细胞分泌炎症因子 IL-6 含量的影响。从图 2 可以看出，分化的巨噬细胞在没有外源性物质诱导刺激的情况下，IL-6 表达分泌量较少，与对照组相比普洱茶 (PT)、红茶 (BT) 都能促使细胞分泌炎症因子 IL-6，而绿茶 (GT) 则没有明显的影响。

2.2 普洱茶水提取物对 LPS 诱导的巨噬细胞 IL-6 分泌的影响

先用 LPS 处理巨噬细胞，30 min 后加入普洱茶

水提取物。ELISA 方法检测细胞培养上清中 IL-6 的含量。结果如图 3 所示：LPS 诱导刺激下巨噬细胞表达分泌的 IL-6 水平显著增高。加入普洱茶水提取物后巨噬细胞所分泌的 IL-6 水平下降。绿茶和红茶水提取物也对 LPS 刺激引起的 IL-6 的分泌起到很好的抑制作用。

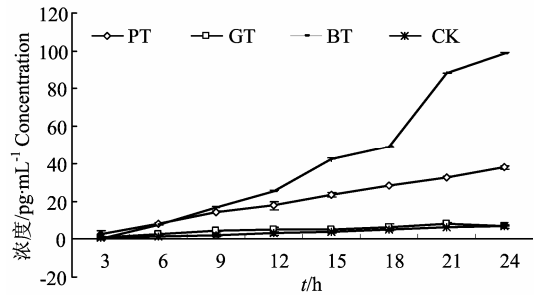


图 2 普洱茶对未刺激巨噬细胞分泌 IL-6 的影响 (P<0.05)
Figure 2 The influence of Puer Tea to the IL-6 secreted by unstimulated macrophage

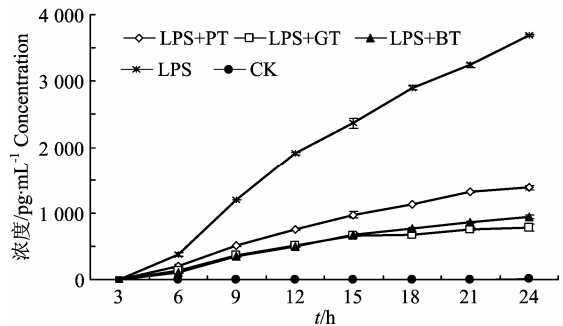


图 3 茶水提取物对 LPS 诱导的巨噬细胞分泌 IL-6 的影响 (P<0.05)
Figure 3 The influence of Puer Tea to the IL-6 secreted by macrophage induced with LPS

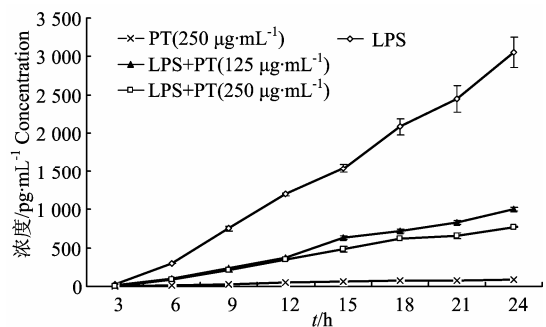


图 4 普洱茶水提取物对 LPS 诱导的巨噬细胞分泌 IL-6 的抑制效应呈剂量依赖性 (P<0.05)
Figure 4 The dose dependent attenuate effect of Puer tea to the IL-6 secreted from macrophage induced by LPS

2.3 普洱茶降低 LPS 刺激巨噬细胞分泌 IL-6 的效应呈剂量依赖性

PT 采用 $250 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $125 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的浓度, 在 LPS 刺激细胞 30 min 后加入培养液中。PT 对巨噬细胞 IL-6 分泌量的影响如图 5 所示。在 LPS 刺激的 24 h 内, 二者都显著抑制 IL-6 的分泌, 且呈剂量依赖性。

3 讨论

IL-6 具有调节细胞生理功能、介导炎症反应、参与免疫应答和组织修复等多种生物学效应, 尤其是近年来的研究发现 IL-6 还具有调节代谢的作用^[7-10]。本研究表明普洱茶对 THP-1 及由 THP-1 分化成的巨噬细胞 IL-6 的表达分泌有着显著的双向调节作用: 在没有 LPS 刺激的情况下能够升高 IL-6 (免疫增强作用) 的表达和分泌, 在 LPS 刺激免疫细胞后可以降低 IL-6 的表达和分泌 (炎症抑制作用), 且呈良好的量效关系。当 IL-6 分泌不足或过高时, 普洱茶对 IL-6 能够起到双向调节的作用, 从而帮助机体维持正常的动态平衡。

普洱茶熟茶的主要活性成分是茶褐素 (TB), 具有多种功能如降血脂、血糖以及胆固醇等^[11-12]。TB 是茶多酚 (主要是 EGCG) 与茶多糖、蛋白质、核酸等聚合、氧化而成的一类大分子成份, 在普洱茶水溶物中占 70% 以上。很多试验证实, TB 一方面具有 EGCG 的多种生物活性功能, 同时由于 EGCG 与茶多糖等成份聚合, 又强化了 EGCG 的某些功能。从试验结果得知, 发酵的普洱茶水溶物抑制 IL-6 效果更加显著。提示人们普洱茶可能会更有利于抗炎症。

参考文献:

- [1] 赵龙飞, 周红杰, 安文杰. 云南普洱茶保健功效的研究[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(2): 114-118.
- [2] 周红杰, 龚加顺, 王星银, 等. 云南普洱茶[M]. 昆明: 云南科技出版社, 2004.
- [3] 梁名志. 漫谈古今神奇的普洱茶药效[J]. 云南茶叶, 1996(12): 7-10.
- [4] 保戡. 茶叶中的化学成分及保健作用[J]. 化学, 2004(11): 55-57.
- [5] 丁俊之. 中国普洱茶特色及拓展产销的思路[J]. 国际经贸探索, 1994, 9(3): 53-56.
- [6] 丁仁凤, 何普明, 解国良. 茶多糖和茶多酚的降血糖作用研究[J]. 茶叶科学, 2005, 25(3): 219-224.
- [7] Van Hail G, Steensberg A, Sacchetti M, et al. Interleukin-6 stimulates lipolysis and fat oxidation in humans[J]. Clin Endocrinol Metab, 2003, 88: 3005-3010.
- [8] Carey A L, Steinberg G R, Macaulay S L, et al. Interleukin-6 increases insulin-stimulated glucose disposal in humans and glucose uptake and fatty acid oxidation in vitro via AMP activated protein kinase[J]. Diabetes, 2006, 55: 2688-2697.
- [9] Sadagurski M, Norquay L., Farhang J, et al. Human IL6 enhances leptin action in mice[J]. Diabetologia, 2010, 53(3): 525-535.
- [10] Senn J J, Klover P J, Nowak I A, et al. Interleukin-6 induces cellular insulin resistance in hepatocytes[J]. Diabetes, 2002, 51: 3391-3399.
- [11] 张玉叶, 刘彦平, 谢六生, 等. 茶色素对 II 型糖尿病患者血糖、血脂、血液流变学的影响[J]. 中草药, 2001, 32(7): 632-633.
- [12] 吴文华. 晒青毛茶和普洱茶降血脂作用比较试验[J]. 中国茶叶, 2005(1): 15-17.