

不同製程條件苦茶油對胃部保健功效之研究

李瑋婷¹ 李雅琳² 童鈺棠³ 吳純菁¹ 顏國欽^{4,*}

摘要

李瑋婷、李雅琳、童鈺棠、吳純菁、顏國欽。2019。不同製程條件苦茶油對胃部保健功效之研究。台灣農業研究 68(1):1-15。

由於現代人飲食型態改變、生活壓力大以及酗酒等不良習慣，胃腸道功能紊亂成為現今常見的通病，如：消化性潰瘍。苦茶油為台灣常見食用油品，於民間療法中被認為具有胃腸保健之功效。本研究室先前的研究指出，苦茶油具有預防酒精性潰瘍之功效，為進一步證實不同來源或製程之苦茶油是否有相同功效，本研究利用體外 (*in vitro*) 及體內 (*in vivo*) 試驗模式進行探討，分別利用大鼠胃黏膜細胞 (rat normal gastric surface mucous cell line; RGM-1) 及 BALB/c 小鼠。結果顯示，RGM-1 細胞以不同苦茶油預處理後皆可減緩乙醇誘導之細胞毒性，最後選擇效果最佳之 BLCO 苦茶油進行動物試驗。動物實驗結果顯示，乙醇 (5 mL kg⁻¹ B.W.) 誘導 1 h 後會造成胃黏膜損傷。然而，餵食苦茶油 (1 mL kg⁻¹ B.W. 及 2 mL kg⁻¹ B.W.) 3 wk 或 Lansoprazole (30 mg kg⁻¹ B.W.) 1 wk 後能有效改善乙醇誘導小鼠之胃損傷，提升黏膜黏液之分泌和抗氧化酵素活性，包括：過氧化氫酶 (Catalase)、麩胱甘肽-S-轉移酶 (Glutathione S-transferase; GST)、麩胱甘肽過氧化酶 (Glutathione peroxidase; GPx) 及麩胱甘肽還原酶 (Glutathione reductase; GRd)；與減緩酒精誘導胃組織發炎因子 COX-2 及 IL-1 β 之蛋白表現。綜合上述，苦茶油能藉由降低氧化傷害及發炎作用，減緩乙醇所誘導的胃損傷。因此，本研究成果可作為未來開發苦茶油為胃腸相關機能性產品之參考，以提升本土農產品之經濟價值。

關鍵詞：苦茶油、消化性潰瘍、乙醇、發炎因子。

前言

消化道是一系列相連的中空管道，由口、食道、胃、小腸、大腸至肛門等器官所構成，其主要功能為將食物成分分解成小分子營養物質，經過吸收後進入血液中，再透過血液運輸至身體各部位細胞。此外，消化系統還包含了分泌賀爾蒙 (Hunt *et al.* 2015)、調節免疫 (Mowat & Agace 2014) 與平衡體內微生物 (Olivares *et al.* 2015) 等功能，與人體的健康密切相關。因此，提供消化道保護相關的食品為現代飲食重要的方向。

消化性潰瘍是常見的胃腸道疾病之一，相關疾病影響全球 8-10% 的人口 (Yao 2015)。

飲酒 (乙醇) 過量會破壞胃黏膜的黏液屏障 (El-Naga 2015)、降低體內的抗氧化酵素活性、引發脂質過氧化與發炎反應，使胃組織中的發炎因子含量以及凋亡蛋白的表現量 (Choi *et al.* 2015; Olatunji *et al.* 2015) 上升，惡化胃黏膜組織的損傷 (Chauhan & Kang 2015)。H₂ 受體阻斷劑及質子泵浦抑制劑為胃潰瘍常用之治療藥物，雖對於胃潰瘍具有實際的療效，但部分患者會復發，以及產生副作用，例如發生過敏反應以及心律不整等症狀 (Jalilzadeh-Amin *et al.* 2015; Ribeiro *et al.* 2016)。因此，從飲食著手，尋找減緩消化性潰瘍的天然食品為最佳解決策略。

投稿日期：2018 年 3 月 19 日；接受日期：2018 年 7 月 12 日。

* 通訊作者：gcyen@nchu.edu.tw

¹ 國立中興大學食品暨應用生物科技學系研究生。台灣 台中市。

² 農委會農業試驗所生物技術組副研究員。台灣 台中市。

³ 台北醫學大學代謝與肥胖科學研究所助理教授。台灣 台北市。

⁴ 國立中興大學食品暨應用生物科技學系教授。台灣 台中市。

油茶為山茶科 (Theaceae) 山茶屬 (*Camellia*) 植物，其種子成熟後可榨油，俗稱苦茶油。台灣所種植的油茶樹主要可分為小果油茶 (*Camellia brevistyla*) 及大果油茶 (*Camellia oleifera*)。《本草綱目》記載：「茶油有明目亮髮、潤腸整胃、通便、清熱化濕、殺蟲、解毒之功效、促進傷口癒合」。此外，苦茶油含有豐富的單元不飽和脂肪酸，相同於「地中海飲食」(mediterranean diet) 中主要油脂橄欖油，日常食用此油脂被認為可以降低發生心血管疾病的風險 (Covas *et al.* 2009)。文獻 (Su *et al.* 2014) 指出苦茶油可促進傷口癒合，以及降低氧化壓力之功效。本研究室先前的研究指出，苦茶油中的 Sesamin 及 Compound B 均具有抗氧化功能，可降低體內的氧化壓力，同時降低大鼠於急性四氯化碳傷害中的肝損傷 (Lee *et al.* 2007)。此外，於體內或體外試驗結果顯示，苦茶油可提升腸黏膜的抗氧化酵素活性，降低發炎反應，並減緩細胞凋亡，以對抗因非類固醇抗發炎藥物 (nonsteroidal anti-inflammatory drugs; NSAIDs) Ketoprofen 或乙醇所引起的腸胃黏膜損傷 (Cheng *et al.* 2014; Tu *et al.* 2017)。然而不同來源或製程之苦茶油，是否有相同功效，乃有待進一步探討。

本研究以具有抗酒精誘導腸胃潰瘍潛力的苦茶油為材料，並以活體動物試驗不同來源或製程之苦茶油，以確認改善酒精對腸胃損傷之功效，以提供未來開發腸胃保健相關產品之基礎資訊。

材料與方法

試驗樣品與藥品

Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) 培養基、F-12 Nutrient Mixture 培養基、胎牛血清 (Fetal bovine serum; FBS) 購自於 NQBB 國際生物公司 (Hong Kong, China)。Hydroxyethyl piperazineethanesulfonic acid (HEPES)、Penicillin-Streptomycin (PS)、anti- β -actin 抗體購自於 Cell Signaling Technology (Beverly, UK)。Anti-IL-1 β antibody 購自 Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, USA)。Anti-COX-2 抗體購自於 Cayman

Chemicals (Ann Arbor, MI, USA)。Anti-mouse 及 Anti-rabbit 抗體購自於 Jackson Immune Research Laboratories (West Grove, PA, USA)。大豆油購自台灣糖業股份有限公司 (台灣台南市)。AHCO (油茶籽焙炒溫度 > 120°C)、BLCO (油茶籽焙炒溫度 150°C) 及 BHCO (油茶籽焙炒溫度 170°C) 等苦茶油，為產自台灣栽培之大果種油茶籽，經過高溫焙炒後壓榨生產。絕對酒精購自景明化工股份有限公司 (台灣苗栗縣)。

試驗細胞

大鼠胃黏膜細胞 (rat normal gastric surface mucous cell line; RGM-1) (Riken Cell Bank, Tsukuba, Japan)。RGM-1 細胞培養於含有 20% FBS、0.49% (wt/vol) NaHCO₃、0.357% (wt/vol) HEPES、1% (vol/vol) PS antibiotic solution (penicillin 與 streptomycin 均為 100 units mL⁻¹)、F-12 Nutrient Mixture 之 Dulbecco's Modified Eagle Medium (High glucose) 之完全培養液，並於 5% CO₂、37°C 之恆溫培養箱中培養。每 2 日定期更換一次新鮮的培養液，待細胞生長 1–2 d 後可達 90% Confluence 後，即可做繼代培養，進行試驗之各項處理與分析。

試驗動物

雄性 5 週齡 BALB/c 小鼠，體重約為 19–21 g，購自樂斯科生物科技股份有限公司 (BioLASCO Experimental Animal Center, Taipei, Taiwan)。小鼠以 Lab 5001 標準粒狀飼料 (Laboratory rodent diet 5001, Newco Distributors Corporation, Rancho Cucamonga, CA, USA) 餵食，動物房溫度 22°C \pm 2°C，溼度 65% \pm 5%，光照與黑暗各 12 h。本研究之動物試驗經由國立中興大學實驗動物照護及使用委員會審查通過 (動物實驗申請表暨同意書編號：104–084)。

細胞存活率測定 (MTT assay)

參考 Zhao *et al.* (2015) 之方法。將 RGM-1 細胞接種於 24 孔盤上，每孔接種濃度為 1 \times 10⁵ cells mL⁻¹。細胞於 37°C 恆溫培養 12 h 後貼盤，再以不同苦茶油預處理 6 h 後，與 3% 乙醇於 37°C 培養 24 h，移除培養液並於每

孔加入 450 μL 培養液及 50 μL 濃度 5 mg mL^{-1} 之 MTT (使系統內濃度 0.5 mg mL^{-1})，於 37 $^{\circ}\text{C}$ 反應 2 h 後將培養液移除，再加入 Dimethyl sulfoxide (DMSO) 使其生成藍紫色複合物，最後以 FLUOstar galaxy reader (BMG LABTECH GmbH, Ortenberg, Germany) 於波長 570 nm 下檢測其吸光值。苦茶油濃度分別為 75、100 及 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ，不同濃度之苦茶油樣品以 DMSO 稀釋。細胞相對存活率以下列公式計算：

$$\begin{aligned} & \text{存活率 (\%)} \\ & = [\text{Abs}_{570 \text{ nm}} (\text{sample}) / \text{Abs}_{570 \text{ nm}} (\text{control})] \\ & \quad \times 100\% \end{aligned}$$

乙醇誘導動物腸胃道傷害

參考 Halabi *et al.* (2014) 的方法並稍加修飾，於活體中評估苦茶油對腸胃黏膜潰瘍組織保護效果。使用 5 週齡 BALB/c 小鼠，以 Lab 5001 及 Reverse osmosis (RO) 水作為動物飼養之基本飲食。飼育 1 wk (適應週) 後，隨機選取每 10 隻為一組，共分成 5 組，包括控制組、傷害組、藥控組及苦茶油 (1 mL kg^{-1} B.W. 及 2 mL kg^{-1} B.W.) 組。本試驗藥控組將動物預先管餵大豆油 2 wk，再以藥物 Lansoprazole (30 mg kg^{-1} B.W.) 餵食 1 wk，其餘組別分別管餵大豆油或苦茶油 3 wk。實驗期間定期記錄動物體重、攝食量與飲水量，並於第 4 週記錄動物最後體重與禁食 24 h，並於犧牲前 1 h 以 1 次絕對酒精 (5 mL kg^{-1} B.W.) 介入傷害誘導，控制組於犧牲前 1 h 管餵 RO 水 (5 mL kg^{-1} B.W.)。實驗結束後使用 Isoflurane 麻醉動物及放血犧牲，取其胃黏膜組織分析抗氧化酵素活性，並利用 Western blot 分析發炎因子 cyclooxygenase-2 (COX-2) 與 interleukin-1 β (IL-1 β) 之蛋白表現；透過 Hematoxylin-Eosin (H&E) 深入觀察腸胃黏膜組織型態。

組織切片 H&E 與 Periodic Acid-Schiff (PAS) 染色

腸胃組織切片染色，委託國立中興大學獸醫學院動物疾病診斷中心進行製作及判讀。將

小鼠腸管及胃壁組織分割一小塊，浸漬於 10% 福馬林固定後，放入包埋盒內脫水一夜，以石蠟包埋切片，切片完成後烘乾固定，最後以 H&E 與 PAS 染色法進行染色。

抗氧化酵素活性測定

抗氧化酵素 Catalase 活性測定：參考 Sofidiya 之方法 (Sofidiya *et al.* 2015)。取胃黏膜均質液，加入 25 $\text{mM H}_2\text{O}_2$ /50 $\text{mM potassium phosphate buffer}$ (pH = 7.0)，以分光光度計 (U-3000 spectrophotometer, Hitachi, Tokyo, Japan) 記錄在 240 nm 下 2 min 內吸光值下降之情形。其酵素活性以 $E_{240} = 43.6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 計算，結果以 $\text{nmol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$ 表示之。

抗氧化酵素 GPx 活性測定：參考 Hsu *et al.* (2010) 的方法，取胃黏膜均質液，加入含有 1 $\text{mM ethylenediaminetetraacetic acid}$ (EDTA)、1 mM NaNO_3 、0.2 $\text{mM nicotinamide adenine dinucleotide phosphate}$ (NADPH)、1 U mL^{-1} glutathione (GSH) reductase 及 1 mM GSH 之 100 $\text{mM potassium phosphate buffer}$ (pH = 7.0) 混合均勻後，於室溫下反應 5 min，再加入 100 μL 2.5 $\text{mM H}_2\text{O}_2$ 起始反應，以 FLUOstar galaxy reader (BMG LABTECH GmbH, Ortenberg, Germany) 紀錄於 340 nm 下其 3 min 內的吸光值變化。其酵素活性以 $E_{340} = 6220 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 計算，結果以 $\text{nmol NADPH min}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$ 表示之。

抗氧化酵素 GRd 活性測定：參考 Hsu *et al.* (2010) 的方法，取胃黏膜均質液，加入含有 1 $\text{mM MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、50 $\text{mM glutathione disulfide}$ (GSSG) 及 0.1 mM NADPH 之 100 $\text{mM potassium phosphate buffer}$ (pH = 7.0) 混合均勻後，於室溫下反應 3 min，以 FLUOstar galaxy reader (BMG LABTECH GmbH, Ortenberg, Germany) 紀錄於 340 nm 下其 3 min 內之吸光值變化。其酵素活性以 $E_{340} = 6,220 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 計算，結果以 $\text{nmol NADPH min}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$ 表示之。

抗氧化酵素 GST 活性測定：參考 Lee *et al.* (2007) 的方法，取胃黏膜均質液，加入含有 100

mM GSH 之 100 mM potassium phosphate buffer (pH = 6.5) 及 20 μ L 50 mM 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB)，混合均勻後以 FLUOstar galaxy reader (BMG LABTECH GmbH, Ortenberg, Germany) 記錄於 340 nm 下 3 min 內的吸光值變化。酵素活性以 $E340 = 9.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 計算，結果以 CDNB-GSH conjugated formed $\text{min}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$ 表示之。

COX-2 及 IL-1 β 蛋白質表現之測定

小鼠胃組織之 COX-2 及 IL-1 β 蛋白質表現，以西方墨點法進行分析。

統計分析

所有試驗結果以平均值 (Mean) \pm 標準偏差 (Standard deviation; SD) 表示。試驗數據以統計分析系統 (Statistical product and service solutions; SPSS) 進行分析，以 One way-analysis of variance (One way ANOVA) 分析變異數，並以 Duncan's multiple-range comparison 比較變數之顯著性差異 ($P < 0.05$)。

結果

不同製程條件之苦茶油對 RGM-1 細胞之保護功效

大鼠胃黏膜 RGM-1 細胞為一個正常的胃黏膜細胞，可用於模擬乙醇介入時對於胃部黏膜細胞的損傷。圖 1A-1C 顯示，細胞以不同的苦茶油 (75、100 及 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$)：AHCO、BLCO 與 BHCO 預處理 6 h 後，再介入 3% 乙醇傷害 24 h 之存活影響。與乙醇傷害組相較下，苦茶油組皆能顯著提高乙醇所誘導 RGM-1 的細胞存活率 ($P < 0.05$)。於 75 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 苦茶油濃度下，BLCO 與 BHCO 之間、BHCO 與 AHCO 之間無顯著性差異，但是均顯著低於控制組。當濃度提高至 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 苦茶油，BLCO 與 BHCO 之間無顯著差異，但是效果優於 AHCO，但是仍低於控制組。當以 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 苦茶油濃度試驗時，細胞存活率為 BLCO > BHCO > AHCO，彼此均有顯著性差異 ($P < 0.05$)，同時 BLCO 的細胞存活率，已

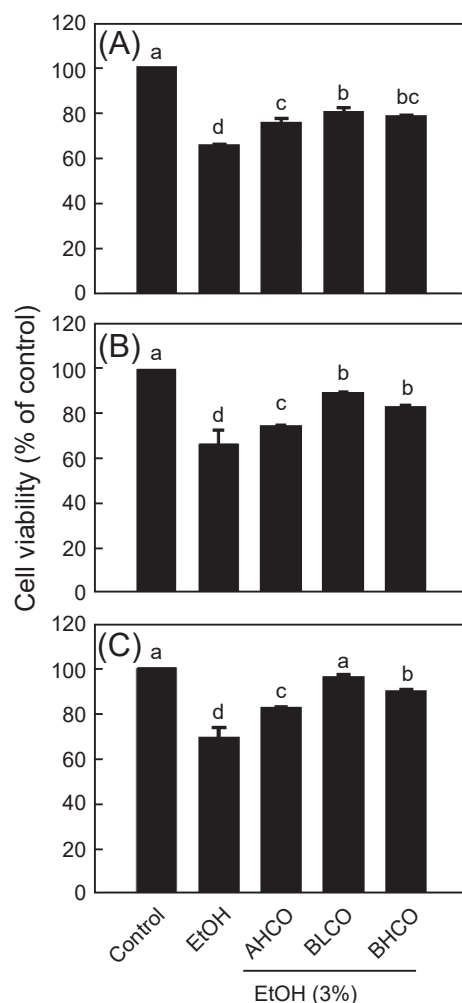


圖 1. 低、中、高濃度 (75、100 及 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$) 之不同製程條件苦茶油改善乙醇誘導 RGM-1 細胞存活率之表現。

Fig. 1. Ethanol impaired-RGM-1 cell viability was improved by different concentrations (75, 100 and 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$) of AHCO, BLCO, and BHCO camellia oils, respectively. Cells were pretreated with 75 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (A), 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (B), or 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (C) of AHCO, BLCO, and BHCO camellia oils for 6 h, respectively. Then, cells incubated with 3% ethanol for 24 h and subsequently cell viability was measured. Results are the means \pm SD for $n = 3$. The values denoted by the different letters show significantly at $P < 0.05$ as determined using Duncan's multiple range test.

經與控制組相當，二者之間無顯著差異。根據此實驗的結果，最後選擇 BLCO 作為後續動物實驗之油品。

BLCO 苦茶油對乙醇誘導 BALB/c 小鼠胃潰瘍之保護作用

餵食苦茶油 3 wk 與 1 wk Lansoprazole (30 mg kg^{-1}) 對乙醇誘導 BALB/c 小鼠胃組織損傷宏觀分析結果，如圖 2A 所示。控制組之胃黏膜組織並無任何損傷與潰瘍現象。而在以乙醇誘導損傷之傷害組，可觀察出胃黏膜組織有明顯的受損及黏膜組織結構鬆散，且胃黏膜層有廣泛的病變以及出血壞死的現象。餵食 BLCO 苦茶油 (1 mL kg^{-1} 及 2 mL kg^{-1}) 3 wk 後，再以乙醇誘導傷害，結果與傷害組相比，苦茶油有減緩胃黏膜的損傷。藥控組以 Lansoprazole 餵食 1 wk，其胃黏膜組織之損傷程度與傷害組相比，呈較完整的狀態。

利用 Image J 進行量化得圖 2B，顯示乙醇成功誘導胃黏膜組織損傷，比較抑制損傷百分比：餵食 BLCO 苦茶油 (1 mL kg^{-1} 及 2 mL kg^{-1} ，分別以 COL、COH 標示) 與 Lansoprazole 之組別，結果為抑制率 Lansoprazole > COH > COL，且彼此之間均有顯著差異 ($P < 0.05$)。其中，Lansoprazole 組之抑制率微幅低於控制組，而苦茶油則具劑量效應。綜合上述結果，顯示苦茶油具有保護胃黏膜完整性之效果。

H&E 染色組織病理判讀苦茶油對乙醇誘導 BALB/c 小鼠胃腸組織之影響

圖 3 顯示餵食苦茶油與 Lansoprazole 對乙醇誘導小鼠胃腸黏膜組織切片染色圖判讀，分別為倍率 $40\times$ 與 $400\times$ 之結果。結果顯示與控制組比較，餵食乙醇傷害組的胃黏膜層細胞受到侵蝕而被破壞產生潰瘍。苦茶油 (1 mL kg^{-1} 及 2 mL kg^{-1}) 餵食 21 d 後，再以乙醇誘導傷害，其結果與傷害組相比，胃黏膜組織損傷程度較為緩和。試驗藥控組於誘導傷害前連續餵食 Lansoprazole (30 mg kg^{-1}) 1 wk，其胃黏膜組織最為完整。關於腸黏膜組織之切片染色結果，顯示各組別均無受到傷害，顯示此乙醇急性誘導模式對於腸組織不會造成傷害，此外，餵食苦茶油與 Lansoprazole 也不會對腸組織造成影響。

表 1 為腸胃黏膜組織的損傷與出血積分量化之統計分析。在胃黏膜損傷積分判讀中，乙醇誘導組與控制組相比有顯著差異 ($P < 0.05$)，給予不同劑量苦茶油 (1 mL kg^{-1} 及 2 mL kg^{-1}) 與 Lansoprazole 藥劑，皆顯著減緩乙醇誘導的胃黏膜損傷，其中 Lansoprazole 具有最佳減緩效果，而苦茶油組呈現劑量效應。另外，在小

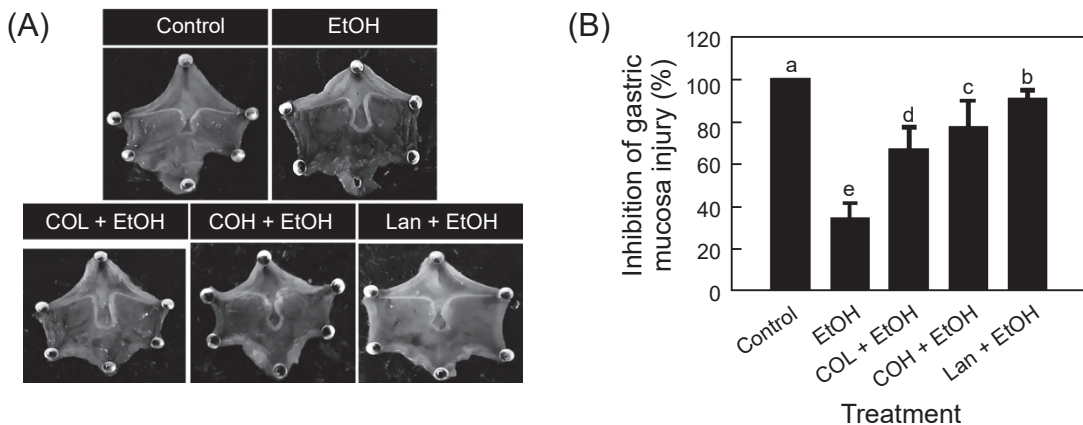


圖 2. BLCO 苦茶油對乙醇誘導 BALB/c 小鼠胃組織型態之影響。

Fig. 2. Macroscopic photo images of gastric lesions (A) and inhibition of gastric mucosal injury in ethanol-induced BALB/c mice (B) after administration of camellia oil. The animals received an oral administration of BLCO camellia oil (1 mL kg^{-1} and 2 mL kg^{-1}) for 3 wk or lansoprazole (30 mg kg^{-1}) for 1 wk, and then absolute alcohol (5 mL kg^{-1}) was orally administrated to all animals for 1 h before sacrifice. EtOH: 5 mL kg^{-1} absolute ethanol; COL: 1 mL kg^{-1} camellia oil; COH: 2 mL kg^{-1} camellia oil; and Lan: 30 mg kg^{-1} lansoprazole. The data represent the means \pm SD for $n = 10$. The values denoted by the different letters show significantly at $P < 0.05$ as determined using Duncan's multiple range test.

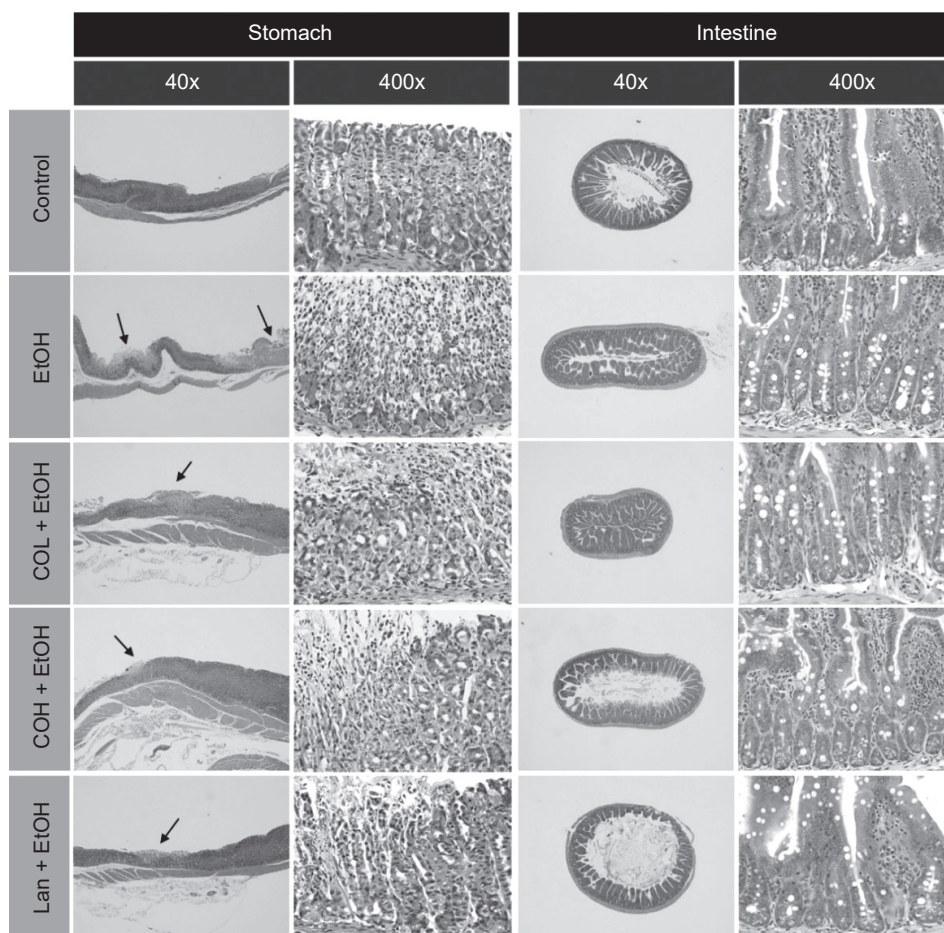


圖 3. H&E 染色組織病理判讀 BLCO 苦茶油對乙醇誘導 BALB/c 小鼠胃腸組織之影響。

Fig. 3. Effect of BLCO camellia oil on ethanol-induced gastric mucosal damage determined by H&E stain in BALB/c mice. The experimental procedure is the same as shown in Fig. 2. Black arrows showed the gastric damage with focal, moderate severe degeneration/necrosis with hemorrhage.

表 1. BLCO 苦茶油對乙醇誘導 BALB/c 小鼠胃損傷與出血積分之影響。

Table 1. Effect of BLCO camellia oil on the injury and hemorrhage scores of ethanol-induced gastric damage in BALB/c mice.

Experimental group ^z	Stomach	
	Injury score ^y	Hemorrhage score ^y
Control	0.0 ± 0.0 d ^x	0.0 ± 0.0 c
EtOH	3.4 ± 0.7 a	2.3 ± 0.5 a
COL + EtOH	2.3 ± 0.5 b	1.6 ± 0.5 b
COH + EtOH	1.7 ± 1.0 c	1.4 ± 0.7 b
Lan + EtOH	0.1 ± 0.3 d	0.1 ± 0.3 c

^z The experimental procedure is the same as shown in Fig. 2.

^y Degree of lesions was graded from one to five depending on severity: 1 = minimal (< 1%); 2 = slight (1–25%); 3 = moderate (26–50%); 4 = moderate/severe (51–75%); and 5 = severe/high (76–100%).

^x The values denoted by the different letters (a, b, c, and d) showed significantly different from each other at $P < 0.05$ by Duncan's test.

腸損傷積分中，則未判讀出任何損傷的現象，所以沒有放入表中呈現。在胃出血積分中，於統計學上呈現與胃損傷積分相同的趨勢，給予不同劑量苦茶油 (1 mL kg^{-1} 及 2 mL kg^{-1}) 與 Lansoprazole 藥劑，皆顯著減緩乙醇誘導的胃出血現象。由此組織切片觀察，乙醇造成胃黏膜嚴重損傷與出血，餵食苦茶油 (1 mL kg^{-1} 及 2 mL kg^{-1}) 與 Lansoprazole 藥劑皆可有效預防乙醇造成胃黏膜之損傷、維持其組織之完整性。

PAS 染色組織病理判讀苦茶油對乙醇誘導 BALB/c 小鼠胃腸組織之影響

圖 4A 呈現 PAS 染色結果，顯示經過乙醇

處理的傷害組，可觀察出其 PAS 染色強度明顯降低，表示乙醇降低了胃壁黏液的產生。在苦茶油與 Lansoprazole 試驗組，顯示較高之 PAS 染色強度，代表胃黏膜的醣蛋白含量增加。

進一步利用 Image J 進行黏液量化分析。圖 4B 顯示乙醇的誘導使得胃黏膜黏液量降低極大 (積分值由 6 降低至 1)，而餵食高劑量苦茶油 (2 mL kg^{-1}) 與 Lansoprazole 藥劑組，則有效提高黏液積分值 ($P < 0.05$)，然而，低劑量苦茶油，則無此效果，並 Lansoprazole 組具有最高黏液積分 (5 分)。

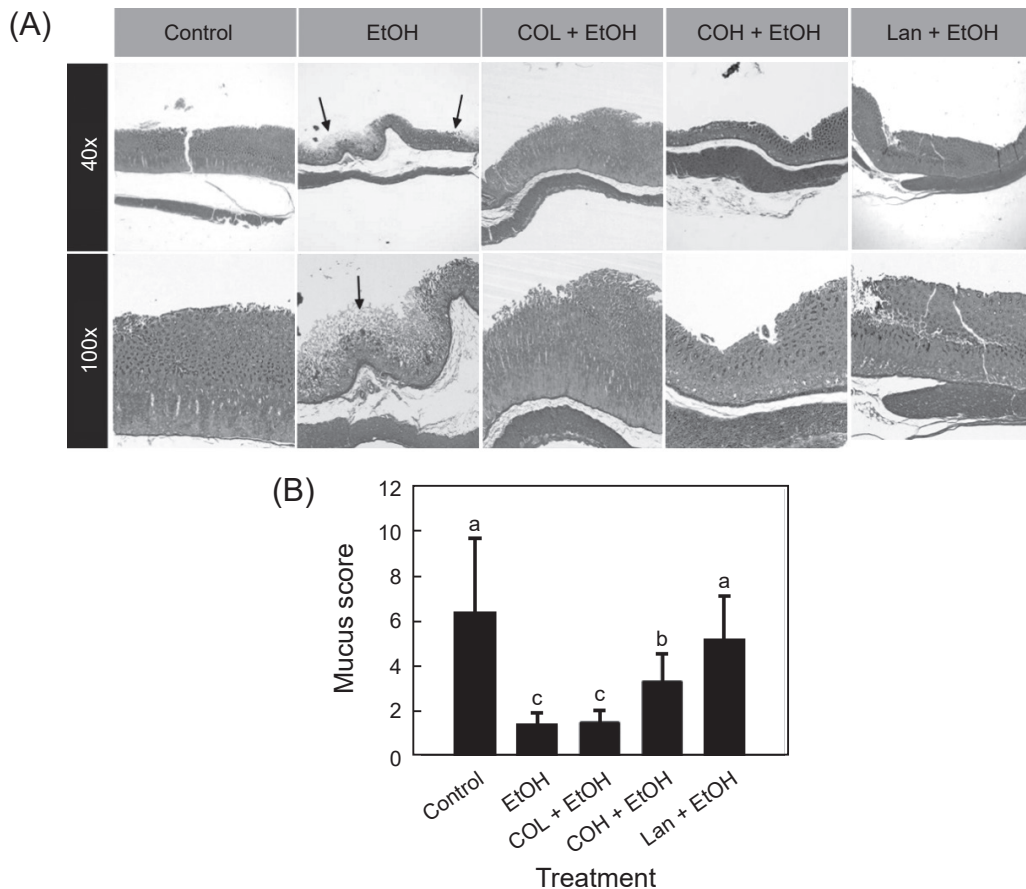


圖 4. PAS 染色判讀 BLCO 及苦茶油對乙醇誘導 BALB/c 小鼠胃組織之影響。

Fig. 4. Effect of BLCO camellia oil on ethanol-induced gastric mucosal damage determined by PAS stain (A) and mucus score in BALB/c mice (B). The experimental procedure is the same as shown in Fig. 2. Black arrows show the gastric damage with a reduced intensity of PAS staining.

苦茶油對乙醇誘導 BALB/c 小鼠胃黏膜組織氧化傷害之保護效果

圖 5A、5B 分別表示 Catalase 與 GST 抗氧化酵素活性。結果顯示乙醇傷害組之 Catalase 與 GST 抗氧化酵素活性，顯著低於控制組 ($P < 0.05$)，而餵食苦茶油組別 (1 mL kg^{-1} 及 2 mL kg^{-1}) 有提升酵素活性之趨勢。針對 Catalase 酵素活性，高劑量苦茶油與 Lansoprazole 組顯著減小乙醇抑制此酵素的活性 ($P < 0.05$)。對於 GST 酵素，則低劑量苦茶油即可有效改善此酵素活性，而高劑量苦茶油與 Lansoprazole 組效果相當，並且可以達到控制組之 GST 活性強度 ($P < 0.05$)。

圖 5C、5D 分別表示 GPx 與 GRd 抗氧化酵素活性，乙醇傷害組之酵素活性顯著低於控制組 ($P < 0.05$)。餵食苦茶油之組別有提升 GPx 與 GRd 活性之趨勢，特別是針對 GRd 酵素，高劑量苦茶油組可以提升此酵素活性接近控制組 ($P < 0.05$)，無統計學上之顯著差異。然而，餵食 1 wk Lansoprazole 藥劑，其 GPx 與 GRd 酵素活性均有顯著提升 ($P < 0.05$)，特別是針對 GRd 酵素，其效果優於高劑量苦茶油。

苦茶油對乙醇誘導 BALB/c 小鼠胃黏膜組織發炎因子表現之影響

圖 6 結果分別呈現苦茶油對乙醇誘導 BALB/c 小鼠胃黏膜組織發炎因子 COX-2 及 IL-1 β 蛋白表現之影響。試驗結果顯示，經過乙醇的誘導傷害，COX-2 及 IL-1 β 蛋白表現皆顯著增加 ($P < 0.05$)。餵食苦茶油與傷害組比較，COX-2 蛋白表現有顯著降低 ($P < 0.05$)。然而，低劑量苦茶油 (1 mL kg^{-1}) 對於乙醇誘導所提升之 IL-1 β 表現，則無顯著的抑制效果，僅於高劑量苦茶油組有效 ($P < 0.05$)。以上結果顯示餵食高劑量苦茶油 (2 mL kg^{-1}) 及 Lansoprazole 之組別，皆可以減緩乙醇誘導胃黏膜組織 COX-2 及 IL-1 β 之蛋白表現 ($P < 0.05$)。

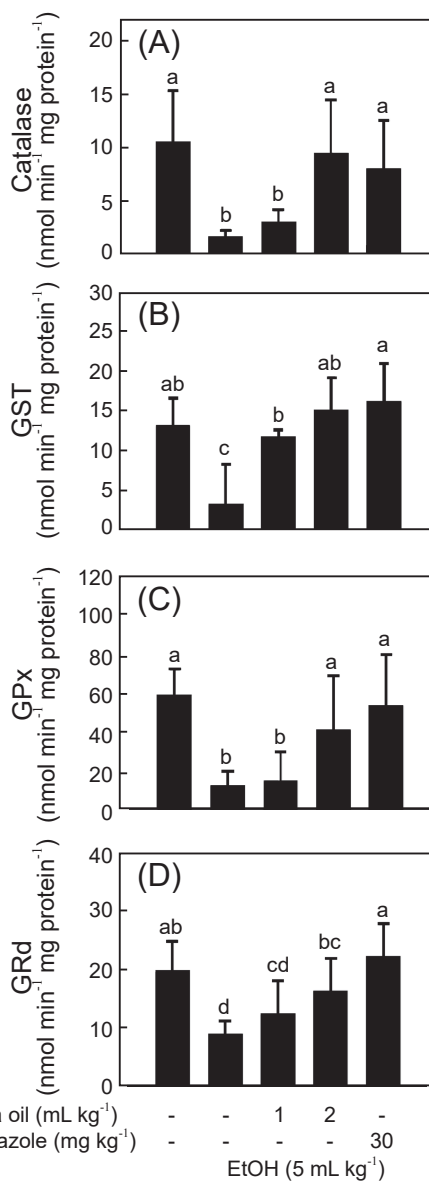


圖 5. BLCO 苦茶油對乙醇誘導 BALB/c 小鼠胃組織 Catalase、GST、GPx 與 GRd 酵素活性之影響。

Fig. 5. Effect of BLCO camellia oil on ethanol-induced antioxidant enzymes in the levels of Catalase (A); GST (B); GPx (C); and GRd (D) in the gastric mucosa of BALB/c mice. The experimental procedure is the same as shown in Fig. 2. The data represent the means \pm SD for $n = 8$ or 10. The values denoted by the different letters show significantly at $P < 0.05$ as determined using Duncan's multiple range test.

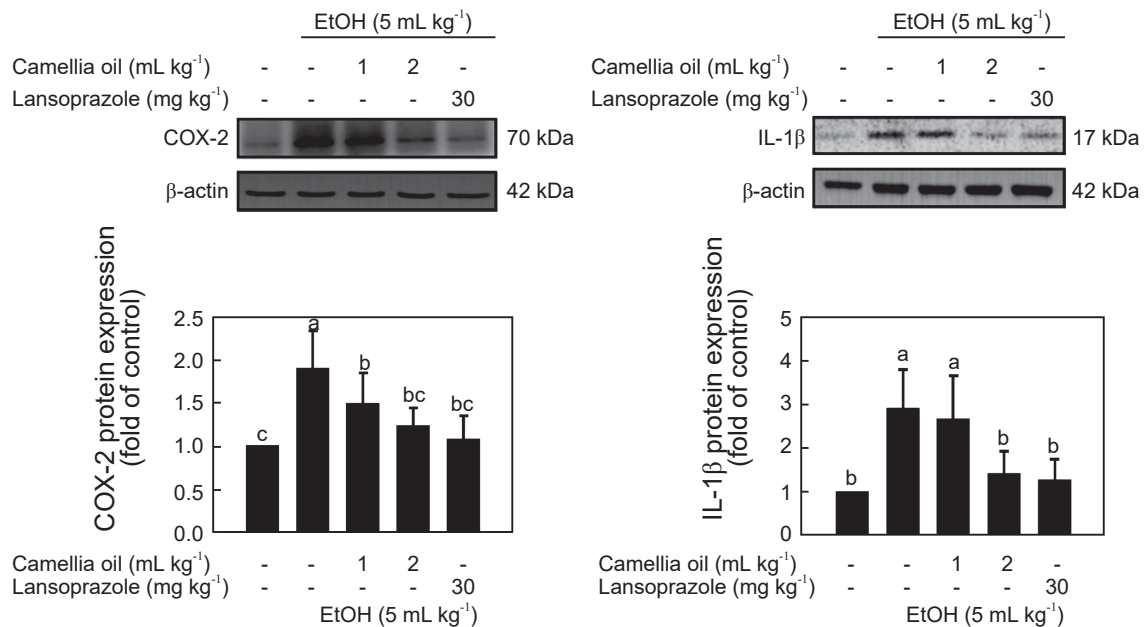


圖 6. BLCO 苦茶油對乙醇誘導 BALB/c 小鼠胃組織 COX-2 與 IL-1 β 蛋白表現之影響。

Fig. 6. Effect of BLCO camellia oil on ethanol-induced COX-2 and IL-1 β protein expression in the gastric mucosa of BALB/c mice. The experimental procedure is the same as shown in Fig. 2. The data represent the means \pm SD for $n = 6$. The values denoted by the different letters show significantly at $P < 0.05$ as determined using Duncan's multiple range test.

討論

胃腸疾病中常見的消化性潰瘍發生在胃部或十二指腸，其中，胃潰瘍為最普遍的胃腸道疾病之一，且已證實為全球性的健康問題 (Omar *et al.* 2017)。促使消化性潰瘍發展的因素繁多，如：幽門螺旋桿菌感染、抽菸、過度使用非類固醇抗發炎藥物或酒精，以及心理壓力等等 (Shi & Wang 2017)。世界衛生組織統計 2006–2010 年的酒精消耗量變化，呈現全球的消耗量有上升的趨勢，其中尤以亞洲地區為主 (World Health Organization 2014)。酒精飲用過量會破壞胃黏膜的防禦屏障，增加上消化道出血的風險，發生上皮細胞脫落與黏膜水腫等症狀，進而導致胃部潰瘍 (Luiz-Ferreira *et al.* 2012; Choi *et al.* 2015)。常用於治療腸胃潰瘍的保護劑，屬於非特異性藥物，如制酸劑、H₂ 受體阻斷劑 (Ranitidine 和 Famotidine) 以及質子泵浦抑制劑 (Omeprazole 和 Lansoprazole) 等 (Golbabapour *et al.* 2013)。然而，

長期使用這些藥物，不僅無法根除產生潰瘍的原發性致病因子，還會使得鈣、鐵、鎂及維生素 B12 的吸收受到影響 (Abdelwahab *et al.* 2013)。

本研究室先前試驗證實，苦茶油可以降低大鼠於急性四氯化碳傷害中的肝臟損傷 (Lee *et al.* 2007)，其中所含的 Compound B 及 Ses-amin 具有良好的抗氧化能力 (Lee & Yen 2006)。此外，亦發現苦茶油可以保護因非類固醇抗發炎藥物 Ketoprofen 所引起的腸胃黏膜損傷 (Cheng *et al.* 2014)，以及改善乙醇誘導之胃損傷 (Tu *et al.* 2017)。近年來，食用油的食安事件層出不窮，國人對食用油的安全性與機能性更加重視，因此為推崇本土苦茶油，提升苦茶油價值，本研究探討不同來源或製程之苦茶油，對於乙醇 (酒精) 誘導胃部損傷之保護作用，並驗證先前之研究結果。

先前研究證實乙醇會造成大鼠胃黏膜 RGM-1 細胞毒性及細胞型態皺縮，而細胞以

苦茶油預處理，可提高乙醇所誘導傷害之細胞存活率 (Tu *et al.* 2017)。故首先篩選不同製程苦茶油對於對乙醇所誘導 RGM-1 細胞損傷之保護作用。試驗利用不同濃度之苦茶油進行篩選 (圖 1)。在乙醇的誘導傷害下，不同苦茶油對 RGM-1 的存活率具有提升之功效。隨著濃度的提升，不同苦茶油間對 RGM-1 的保護功效愈加顯著。最後以 BLCO 作為動物試驗之苦茶油樣品。

為評估各種胃潰瘍之新療法，或是天然物之保護功效，乙醇作為動物或臨床研究之胃黏膜損傷藥物之研究相當普遍 (Abdelwahab *et al.* 2013)。先前研究顯示，苦茶油可藉提升抗氧化酵素活性與抑制發炎因子表現等，改善乙醇誘導之胃損傷 (Tu *et al.* 2017)。故本研究以動物試驗探討 BLCO 苦茶油對乙醇誘導胃黏膜傷害之保護能力。乙醇的誘導會使得胃黏膜呈現嚴重的損傷，有急性出血性胃糜爛的現象 (Chen *et al.* 2015a)。由圖 2 與圖 3 顯示小鼠胃的宏觀與微觀變化。單獨使用乙醇誘導之傷害組，同樣有明顯的胃出血與黏膜嚴重受損之情形。由組織學觀察結果顯示，乙醇確實造成小鼠嚴重胃黏膜損傷，且其胃黏膜細胞受到嚴重侵蝕，細胞有發炎浸潤之情形，損傷積分與出血積分有顯著相關性。攝食苦茶油低、高劑量 3 wk 後，以乙醇誘導急性潰瘍，再由組織切片圖觀察，顯示苦茶油 (1 mL kg⁻¹ 及 2 mL kg⁻¹) 可改善胃黏膜損傷與出血的現象，且與 Lansoprazole (30 mg kg⁻¹) 對照組的保護效果相當，相同結果過去的研究，Lansoprazole 可減少潰瘍的面積以及出血的症狀 (Chen *et al.* 2015a)。於腸黏膜組織切片結果顯示，乙醇對腸黏膜並無造成明顯的損傷現象，損傷積分為 0，推測此為短時間誘導傷害，尚未使腸組織發生傷害，並且現今研究對於乙醇誘導之潰瘍探討，主要著重於胃部潰瘍，鮮少有針對腸道潰瘍進行討論的文獻報告。

消化性潰瘍起因於防禦性因子與侵入性因子不平衡所致，其中防禦性因子包括黏液的分泌 (Baiubon *et al.* 2016)。酒精的誘導會使得黏液分泌與黏膜循環等胃部防禦因子受到損害 (Kushima *et al.* 2005; Boligon *et al.* 2014)。而

治療胃潰瘍之質子泵抑制劑如：Lansoprazole 或 Omeprazole，可以提升黏液的含量，提供胃黏膜適當的保護 (Al-Qarawi *et al.* 2005; Al Batran *et al.* 2013)。胃黏液為保護胃黏膜免於遭受損傷的關鍵防禦因子，而胃壁黏液的含量可作為評估胃黏液分泌的指標 (Rujjanawate *et al.* 2005; Al-Wajeih *et al.* 2017)。圖 4 結果顯示經過乙醇處理的傷害組 PAS 染色強度明顯降低，表示黏液的生成受到損害，在高劑量苦茶油 (2 mL kg⁻¹) 與 Lansoprazole (30 mg kg⁻¹) 組，胃壁黏液的含量較高。由上述結果推測，苦茶油可以增加胃黏液分泌量、提升胃部的防禦能力，因此達到對胃部的預防保護效果。

過量乙醇的攝取會嚴重損害胃腺上皮細胞，導致嗜中性白血球進入受到破壞的胃黏膜組織，進而滲入嗜中性白血球釋出之活性氧與自由基、攻擊胃黏膜，發生更嚴重的破壞 (Al-Wajeih *et al.* 2017)。研究顯示活性氧與自由基，如：超氧陰離子 (O₂⁻) 與羥基自由基 (•OH) 等，會使組織氧化壓力提高，是造成組織向潰瘍發展的有害物質 (Boligon *et al.* 2014)。本研究探討餵食苦茶油對胃黏膜抗氧化酵素：Catalase、GST、GPx 與 GRd 活性之影響。如圖 5 分析顯示，傷害組之抗氧化酵素表現量與控制組相比顯著較低 ($P < 0.05$)，餵食高劑量苦茶油 (2 mL kg⁻¹) 及正控藥物 Lansoprazole (30 mg kg⁻¹) 可提升抗氧化酵素的活性。低劑量苦茶油 (1 mL kg⁻¹) 組則可顯著的提升 GST 酵素活性 ($P < 0.05$)。過去研究發現，乙醇的誘導會降低抗氧化酵素的活性，提高體內氧化壓力 (Shin *et al.* 2013; Albaayit *et al.* 2016)。而治療潰瘍的質子泵抑制劑藥物如：Lansoprazole 或 Omeprazole，可藉由抗氧化能力保護胃黏膜 (Shin *et al.* 2013; Chen *et al.* 2016)，與本研究結果一致。另外，苦茶油中的兒茶素、Kampferol 與 Sesamin 等機能性成分，經研究證實具有抗氧化之功效 (Sang *et al.* 2011; Liu *et al.* 2013; Ye *et al.* 2013)。因此，推測苦茶油因為具有抗氧化能力，因而提升了乙醇誘導所降低的抗氧化酵素活性、降低胃黏膜組織之氧化壓力。

發炎反應為判讀胃腸黏膜組織健康與否

之重要依據，劇烈的發炎反應不僅會引起疼痛，更可能增加罹患胃癌的風險 (Motawi *et al.* 2008; Bie *et al.* 2016)。發炎因子的主要來源為嗜中性白血球 (Fard *et al.* 2011)，在乙醇的誘導下，會促使白血球浸潤、釋出發炎因子，進而使胃黏膜組織發生急性病變 (Bologn *et al.* 2014; Shi & Wang 2017)。本研究結果顯示，傷害組之發炎因子 COX-2 與 IL-1 β 的含量顯著高於控制組 ($P < 0.05$) (圖 6)。在預先餵食苦茶油與 Lansoprazole (30 mg kg⁻¹) 組，可以降低乙醇誘導提升的 COX-2 與 IL-1 β 蛋白質表現量。過去研究顯示，苦茶油中所含之兒茶素、山柰酚、皂苷與角鯊烯等 (Abd El-Aziz *et al.* 2012; Liu *et al.* 2014; Yang *et al.* 2014; Cárdeno *et al.* 2015)，具有抗發炎之功效。研究指出乙醇可活化 NF- κ B 參與之發炎路徑、調節 COX-2 基因表現，以及促進發炎因子如 IL-1 β 之釋出 (Chang *et al.* 2015; Chen *et al.* 2015b)。由 NF- κ B 分子為細胞發炎路徑常見的訊號，它參與調控各種免疫反應與急性發炎反應的基因表現 (Wang *et al.* 2014)。據此推測，本實驗之苦茶油可能藉由降低 NF- κ B 之相關發炎路徑，減緩了胃黏膜組織的炎症反應，因而對小鼠之胃黏膜產生預防保護效果。

BLCO 苦茶油經分析結果顯示含有油酸、多酚類化合物與維生素 E (數據未呈現)。過去研究顯示油酸可以改善發炎反應，並且對於傷口具有促進癒合的作用 (Rodrigues *et al.* 2012)。除此之外，苦茶油中的多酚類包括：Catechin (Hamaishi *et al.* 2006; Cheng *et al.* 2013)、Kaempferol (Goel *et al.* 1996; Bologn *et al.* 2014)、Saponin (Morikawa *et al.* 2006) 與 Vitamin E (Kamisah *et al.* 2014)，經研究證實具有抗 NSAIDs、乙醇或醋酸等誘導之腸胃潰瘍。本研究證實，乙醇誘導所降低之胃壁黏液減少、氧化壓力與發炎反應上升，可以預先餵食苦茶油而降低胃部潰瘍之症狀，其機制包括提高胃黏膜分泌量、降低氧化壓力與炎症反應，進而保護小鼠胃黏膜組織、保持胃黏膜之完整性。此外，細胞試驗結果顯示，不同來源、製程之苦茶油，保護胃部細胞之功效具有差異，本研究以 BLCO 苦茶油功效較佳，將作為未

來開發國產苦茶油保護胃部機能性產品之重要依據。

誌謝

本研究係執行行政院農委會農糧署 105 農科-15.3.1-糧-Z1(4) 計畫之成果。本試驗期間承國立中興大學獸醫病理生物學研究所廖俊旺教授協助病理切片試驗相關工作，在此致謝。

引用文獻

- Abd El-Aziz, T. A., R. H. Mohamed, H. F. Pasha, and H. R. Abdel-Aziz. 2012. Catechin protects against oxidative stress and inflammatory-mediated cardiotoxicity in adriamycin-treated rats. *Clin. Exp. Med.* 12:233-240.
- Abdelwahab, S. I., M. M. Taha, M. A. Abdulla, N. Nordin, A. H. Hadi, S. Mohan, J. J. Jayapalan, and O. H. Hashim. 2013. Gastroprotective mechanism of *Bauhinia thonningii* Schum. *J. Ethnopharmacol.* 148:277-286.
- Albaayit, S. F. A., Y. Abba, R. Abdullah, and N. Abdullah. 2016. Prophylactic effects of *Clausena excavata* Burum. f. leaf extract in ethanol-induced gastric ulcers. *Drug Des. Devel. Ther.* 10:1973-1986.
- Al Batran, R., F. Al-Bayaty, M. M. Jamil Al-Obaidi, A. M. Abdulkader, H. A. Hadi, H. M. Ali, and M. A. Abdulla. 2013. *In vivo* antioxidant and antiulcer activity of *Parkia speciosa* ethanolic leaf extract against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *PLoS One* 8:e64751.
- Al-Qarawi, A. A., H. Abdel-Rahman, B. H. Ali, H. M. Mousa, and S. A. El-Mougy. 2005. The ameliorative effect of dates (*Phoenix dactylifera* L.) on ethanol-induced gastric ulcer in rats. *J. Ethnopharmacol.* 98:313-317.
- Al-Wajeeh, N. S., M. Hajerezaie, S. M. Noor, M. F. Halabi, N. Al-Henhena, A. H. S. Azizan, S. Kamran, P. Hassandarvish, A. N. Shwter, H. Karimian, H. M. Ali, and M. A. Abdulla. 2017. The gastro protective effects of *Cibotium barometz* hair on ethanol-induced gastric ulcer in Sprague-Dawley rats. *BMC Vet. Res.* 13:27.
- Baiubon, P., P. Kunanusorn, P. Khonsung, N. Chiranthanut, A. Panthong, and C. Rujjanawate. 2016. Gastroprotective activity of the rhizome ethanol extract of *Zingiber simaoense* Y. Y. Qian in rats. *J. Ethnopharmacol.* 194:571-576.
- Bie, Q., C. Sun, A. Gong, C. Li, Z. Su, D. Zheng, X. Ji, Y. Wu, Q. Guo, S. Wang, and H. Xu. 2016. Non-tumor

- tissue derived interleukin-17B activates IL-17RB/AKT/ β -catenin pathway to enhance the stemness of gastric cancer. *Sci. Rep.* 6:25447.
- Boligon, A. A., R. B. de Freitas, T. F. de Brum, E. P. Waczuk, C. V. Klimaczewski, D. S. de Ávila, M. L. Athayde, and L. de Freitas Bauermann. 2014. Antiulcerogenic activity of *Scutia buxifolia* on gastric ulcers induced by ethanol in rats. *Acta Pharm. Sin. B* 4:358–367.
- Cárdeno, A., M. Aparicio-Soto, S. Montserrat-de la Paz, B. Bermudez, F. J. G. Muriana, and C. Alarcón-de-la-Lastra. 2015. Squalene targets pro-and anti-inflammatory mediators and pathways to modulate over-activation of neutrophils, monocytes and macrophages. *J. Funct. Foods* 14:779–790.
- Chang, X., F. Luo, W. Jiang, L. Zhu, J. Gao, H. He, T. Wei, S. Gong, and T. Yan. 2015. Protective activity of salidroside against ethanol-induced gastric ulcer via the MAPK/NF- κ B pathway *in vivo* and *in vitro*. *Int. Immunopharmacol.* 28:604–615.
- Chauhan, A. K. and S. C. Kang. 2015. Therapeutic potential and mechanism of thymol action against ethanol-induced gastric mucosal injury in rat model. *Alcohol* 49:739–745.
- Chen, H., H. Liao, Y. Liu, Y. Zheng, X. Wu, Z. Su, X. Zhang, Z. Lai, X. Lai, Z. X. Lin, and Z. Su. 2015a. Protective effects of pogostone from *Pogostemonis Herba* against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Fitoterapia* 100:110–117.
- Chen, T., Y. Mou, J. Tan, L. Wei, Y. Qiao, T. Wei, P. Xiang, S. Peng, Y. Zhang, Z. Huang, and Z. Ji. 2015b. The protective effect of CDDO-Me on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *Int. Immunopharmacol.* 25:55–64.
- Chen, X. Y., H. M. Chen, Y. H. Liu, Z. B. Zhang, Y. F. Zheng, Z. Q. Su, X. Zhang, J. H. Xie, Y. Z. Liang, L. D. Fu, X. P. Lai, Z. R. Su, and X. Q. Huang. 2016. The gastroprotective effect of pogostone from *Pogostemonis Herba* against indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Exp. Biol. Med.* 241:193–204.
- Cheng, Y. T., C. H. Wu, C. Y. Ho, and G. C. Yen. 2013. Catechin protects against ketoprofen-induced oxidative damage of the gastric mucosa by up-regulating Nrf2 *in vitro* and *in vivo*. *J. Nutr. Biochem.* 24:475–483.
- Cheng, Y. T., S. L. Wu, C. Y. Ho, S. M. Huang, C. L. Cheng, and G. C. Yen. 2014. Beneficial effects of camellia oil (*Camellia oleifera* Abel.) on ketoprofen-induced gastrointestinal mucosal damage through upregulation of HO-1 and VEGF. *J. Agric. Food Chem.* 62:642–650.
- Choi, Y. J., N. Kim, J. Y. Lee, R. H. Nam, J. H. Seo, S. Lee, H. J. Kim, Y. J. Choi, H. S. Lee, and D. H. Lee. 2015. Gastroprotective effects of PMK-S005 against ethanol-induced acute gastric damage in rats. *Gut Liver* 10:348–355.
- Covas, M. I., V. Konstantinidou, and M. Fitó. 2009. Olive oil and cardiovascular health. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 54:477–482.
- El-Naga, R. N. 2015. Apocynin protects against ethanol-induced gastric ulcer in rats by attenuating the upregulation of NADPH oxidases 1 and 4. *Chem. Biol. Interact.* 242:317–326.
- Fard, A. A., M. Hajrezaie, F. A. Kadir, F. A. Sefideh, S. M. Salama, Z. A. Al-Najar, S. W. Qader, M. A. Alshawsh, and M. A. Abdulla. 2011. The effects of combined adiponectin-metformin on glucose and lipids levels in mice and acute Toxicity and anti-ulcerogenic activity of adiponectin against ethanol-induced gastric mucosal injuries in rat. *Molecules* 16:9534–9552.
- Goel, R., R. Maiti, and I. A. Tavares. 1996. Role of endogenous eicosanoids in the antiulcer effect of kaempferol. *Fitoterapia* 67:548–552.
- Golbabapour, S., M. Hajrezaie, P. Hassandarvish, N. Abdul Majid, A. H. Hadi, N. Nordin, and M. A. Abdulla. 2013. Acute toxicity and gastroprotective role of *M. pruriens* in ethanol-induced gastric mucosal injuries in rats. *Biomed. Res. Int.* 2013:974185.
- Halabi, M. F., R. M. Shakir, D. A. Bardi, N. S. Al-Wajeih, A. Ablat, P. Hassandarvish, M. Hajrezaie, A. Norazit, and M. A. Abdulla. 2014. Gastroprotective activity of ethyl-4-[(3,5-di-tert-butyl-2-hydroxybenzylidene) amino] benzoate against ethanol-induced gastric mucosal ulcer in rats. *PLoS One* 9:e95908.
- Hamaishi, K., R. Kojima, and M. Ito. 2006. Anti-ulcer effect of tea catechin in rats. *Biol. Pharm. Bull.* 29:2206–2213.
- Hsu, C. L., C. C. Hsu, and G. C. Yen. 2010. Hepatoprotection by freshwater clam extract against CCl₄-induced hepatic damage in rats. *Amer. J. Chin. Med.* 38:881–894.
- Hunt, R., M. Camilleri, S. E. Crowe, E. M. El-Omar, J. G. Fox, E. J. Kuipers, P. Malfertheiner, K. E. L. McColl, D. M. Pritchard, M. Ruge, A. Sonnenberg, K. Sugano, and J. Tack. 2015. The stomach in health and disease. *Gut* 64:1650–1668.
- Jalilzadeh-Amin, G., V. Najarnezhad, E. Anassori, M. Mostafavi, and H. Keshipour. 2015. Antiulcer properties of *Glycyrrhiza glabra* L. extract on experimental models of gastric ulcer in mice. *Iran J. Pharm. Res.* 14:1163–1170.
- Kamisah, Y., H. M. S. Qodriyah, K. H. Chua, and M. F. Nur Azlina. 2014. Vitamin E: A potential therapy for gastric mucosal injury. *Pharm. Biol.* 52:591–1597.

- Kushima, H., C. A. Hiruma-Lima, M. A. Santos, E. Viana, M. Coelho-Ferreira, and A. R. M. Souza-Brito. 2005. Gastroprotective activity of *Pradosia huberi* on experimentally induced gastric lesions in rodents: Role of endogenous sulphhydryls and nitric oxide. *J. Ethnopharmacol.* 101:61–67.
- Lee, C. P. and G. C. Yen. 2006. Antioxidant activity and bioactive compounds of tea seed (*Camellia oleifera* Abel.) oil. *J. Agric. Food Chem.* 54:779–784.
- Lee, C. P., P. H. Shih, C. L. Hsu, and G. C. Yen. 2007. Hepatoprotection of tea seed oil (*Camellia oleifera* Abel.) against CCl₄-induced oxidative damage in rats. *Food Chem. Toxicol.* 45:888–895.
- Liu, C. M., G. H. Zheng, Q. L. Ming, C. Chao, and J. M. Sun. 2013. Sesamin protects mouse liver against nickel-induced oxidative DNA damage and apoptosis by the PI3K-Akt pathway. *J. Agric. Food Chem.* 61:1146–1154.
- Liu, X., L. Jia, Y. Gao, B. Li, and Y. Tu. 2014. Anti-inflammatory activity of total flavonoids from seeds of *Camellia oleifera* Abel. *Acta. Biochim. Biophys. Sin.* 46:920–922.
- Luiz-Ferreira, A., M. Cola, V. Barbastefano, F. M. de Faria, A. B. A. de Almeida, E. Farias-Silva, T. R. Calvo, C. A. Hiruma-Lima, W. Vilegas, and A. R. Souza-Brito. 2012. Healing, antioxidant and cytoprotective properties of *Indigofera truxillensis* in different models of gastric ulcer in rats. *Int. J. Mol. Sci.* 13:14973–14991.
- Morikawa, T., N. Li, A. Nagatomo, H. Matsuda, X. Li, and M. Yoshikawa. 2006. Triterpene saponins with gastroprotective effects from tea seed (the seeds of *Camellia sinensis*). *J. Nat. Prod.* 69:185–190.
- Motawi, T. K., H. M. Abd Elgawad, and N. N. Shahin. 2008. Gastroprotective effect of leptin in indomethacin-induced gastric injury. *J. Biomed. Sci.* 15:405–412.
- Mowat, A. M. and W. W. Agace. 2014. Regional specialization within the intestinal immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 14:667–685.
- Olatunji, O. J., H. Chen, and Y. Zhou. 2015. Anti-ulcerogenic properties of *Lycium chinense* mill extracts against ethanol-induced acute gastric lesion in animal models and its active constituents. *Molecules* 20:22553–22564.
- Olivares, M., A. Neef, G. Castillejo, G. De Palma, V. Varea, A. Capilla, F. Palau, E. Nova, A. Marcos, I. Polanco, C. Ribes-Koninckx, L. Ortigosa, L. Izquierdo, and Y. Sanz. 2015. The HLA-DQ2 genotype selects for early intestinal microbiota composition in infants at high risk of developing coeliac disease. *Gut* 64:406–417.
- Omar, H., N. Nordin, P. Hassandarvish, M. Hajrezaie, A. H. S. Azizan, M. Fadaeinasab, N. Abdul Majid, M. A. Abdulla, N. Mohd Hashim, and H. Mohd Ali. 2017. Methanol leaf extract of *Actinodaphne sesquipedalis* (Lauraceae) enhances gastric defense against ethanol-induced ulcer in rats. *Drug Des. Devel. Ther.* 11:1353–1365.
- Ribeiro, A. R. S., P. B. F. Diniz, M. S. Pinheiro, R. L. C. Albuquerque-Júnior, and S. M. Thomazzi. 2016. Gastroprotective effects of thymol on acute and chronic ulcers in rats: The role of prostaglandins, ATP-sensitive K⁺ channels, and gastric mucus secretion. *Chem. Biol. Interact.* 244:121–128.
- Rodrigues, H. G., M. A. R. Vinolo, J. Magdalon, K. Vitzel, R. T. Nachbar, A. F. Pessoa, M. F. dos Santos, E. Hatanaka, P. C. Calder, and R. Curi. 2012. Oral administration of oleic or linoleic acid accelerates the inflammatory phase of wound healing. *J. Invest. Dermatol.* 132:208–215.
- Rujjanawate, C., D. Kanjanapothi, D. Amornlerdpison, and S. Pojanagaroon. 2005. Anti-gastric ulcer effect of *Kaempferia parviflora*. *J. Ethnopharmacol.* 102:120–122.
- Sang, S., J. D. Lambert, C. T. Ho, and C. S. Yang. 2011. The chemistry and biotransformation of tea constituents. *Pharmacol. Res.* 64:87–99.
- Shi, H. and F. Y. Wang. 2017. Protective effects of bilobalide against ethanol-induced gastric ulcer *in vivo*/*in vitro*. *Biomed. Pharmacother.* 85:592–600.
- Shin, I. S., W. Y. Jeon, H. K. Shin, S. W. Cha, and M. Y. Lee. 2013. Banhabaekchulchunma-tang, a traditional herbal formula attenuates absolute ethanol-induced gastric injury by enhancing the antioxidant status. *BMC Complement. Alternat. Med.* 13:170.
- Sofidiya, M. O., C. O. Orisaremi, I. Sansaliyu, and T. O. Adetunde. 2015. Gastroprotective and antioxidant potentials of ethanolic stem bark extract of *Margaritaria discoidea* (Euphorbiaceae) in rats. *J. Ethnopharmacol.* 171:240–246.
- Su, M. H., M. C. Shih, and K. H. Lin. 2014. Chemical composition of seed oils in native Taiwanese *Camellia* species. *Food Chem.* 156:369–373.
- Tu, P. S., Y. T. Tung, W. T. Lee, and G. C. Yen. 2017. Protective effect of camellia oil (*Camellia oleifera* Abel.) against ethanol-induced acute oxidative injury of the gastric mucosa in mice. *J. Agric. Food Chem.* 65:4932–4941.
- Wang, J., Y. T. Liu, L. Xiao, L. Zhu, Q. Wang, and T. Yan. 2014. Anti-inflammatory effects of apigenin in lipopolysaccharide-induced inflammatory in acute lung injury by suppressing COX-2 and NF-κB pathway. *Inflammation.* 37:2085–2090.

- World Health Organization. 2014. Global status report on alcohol and health 2014. World Health Organization. Geneva, Switzerland. 376 pp.
- Yang, W. S., J. Ko, E. Kim, J. H. Kim, J. G. Park, N. Y. Sung, H. G. Kim, S. Yang, H. S. Rho, Y. D. Hong, S. S. Shin, and J. Y. Cho. 2014. 21-O-angeloyltheasapogenol E3, a novel triterpenoid saponin from the seeds of tea plants, inhibits macrophage-mediated inflammatory responses in a NF- κ B-dependent manner. *Mediators of Inflamm.* 2014:658351.
- Yao, J. 2015. Tiao He Yi Wei granule, a traditional Chinese medicine, against ethanol-induced gastric ulcer in mice. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2015:647283.
- Ye, Y., H. T. Xing, and Y. Guo. 2013. Hypolipidemic effect of a novel biflavonoid from shells of *Camellia oleifera* (Abel.). *Indian J. Exp. Biol.* 51:458–463.
- Zhao, Z., S. Gong, S. Wang, and C. Ma. 2015. Effect and mechanism of evodiamine against ethanol-induced gastric ulcer in mice by suppressing Rho/NF- κ B pathway. *Int. Immunopharmacol.* 28:588–595.

The Study of Camellia Oils from Different Process Conditions for Gastric Health Protection

Wei-Ting Lee¹, Ya-Lin Lee², Yu-Tang Tung³, Chun-Ching Wu¹, and Gow-Chin Yen^{4,*}

Abstract

Lee, W. T., Y. L. Lee, Y. T. Tung, C. C. Wu, and G. C. Yen. 2019. The study of camellia oils from different process conditions for gastric health protection. *J. Taiwan Agric. Res.* 68(1):1–15.

The gastrointestinal disorders such as peptic ulcer become a common problem nowadays, which is due to the dietary habit changes, stressed lives and alcoholism. Camellia oil is commonly used in Taiwan and has been shown with healthy effects for gastrointestinal tract in folk medicine. Our previous study has been demonstrated that camellia oil could prevent the gastric mucosal damage caused by ethanol. This study was aimed to further confirm whether the effects of different sources or processes of camellia oils have the same effect. In this study, the rat normal gastric surface mucous cell line (RGM-1) cells and BALB/c mice were used in ethanol-induced gastric mucosal damage model. The results indicated that the ethanol-induced RGM-1 cell mortalities were significantly increased in those pretreated with camellia oils, and the oil with the highest bioactivity was chosen for further animal experiment. Animal experiments showed that ethanol (5 mL kg⁻¹ B.W.) induction for an hour can cause gastric mucosal injury. However, pretreatment of mice with camellia oil (1 mL kg⁻¹ B.W. and 2 mL kg⁻¹ B.W.) for 3 wk or lansoprazole (30 mg kg⁻¹ B.W.) for 1 wk effectively improved ethanol-induced gastric injury, enhanced mucosal mucus secretion, antioxidant enzyme activities including catalase, glutathione *S*-transferase (GST), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione reductase (GRd), and alleviated inflammatory cytokines by suppressing the production of COX-2 and IL-1 β induced by ethanol in gastric tissue. In conclusion, the camellia oil could alleviate the ethanol-induced gastric injury by reducing oxidative damage and inflammation. The results of this study can be applied to develop the gastrointestinal-related functional products in the future, and thereby enhance the values of indigenous agricultural products.

Key words: Camellia oil, Peptic ulcer, Ethanol, Inflammatory cytokines.

Received: March 19, 2018; Accepted: July 12, 2018.

* Corresponding author, e-mail: gcyen@nchu.edu.tw

¹ Graduate Students, Department of Food Science and Biotechnology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.

² Associate Research Fellow, Biotechnology Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

³ Assistant Professor, Graduate Institute of Metabolism and Obesity Sciences, Taipei Medical University, Taipei, Taiwan, ROC.

⁴ Professor, Department of Food Science and Biotechnology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.