

中醫平喘方劑對於過敏原特異性呼吸道發炎反應的作用機轉評估

許清祥^{1,4} 徐昀耀² 李明憲³

華濟醫院¹ 兒童醫學系² 研究中心³ 家庭醫學科

嘉義

⁴ 中國醫藥學院 中國醫學研究所

台中

(1999年9月14日受理, 2000年5月30日收校訂稿, 2000年6月26日接受刊載)

傳統醫藥中, 有關治療氣喘方藥甚多, 常用方劑至少包括小青龍湯(宣肺)、清燥救肺湯(清肺)、瀉白散(瀉肺)、蘇子降氣湯(降肺)和麥門冬湯(潤肺), 其作用機轉大部份未明。現代醫學對於氣喘的病理機轉則強調過敏原特異性 IgE (Immunoglobulin E) 和第二型 CD4 陽性 T 淋巴球所分泌的細胞間白素-4(Interleukin-4), 進而造成呼吸道慢性發炎反應, 更進一步則導致呼吸道的過度收縮。因此, 本文擬利用現代過敏免疫學的方法, 探討傳統平喘方藥的可能作用機轉。

本文利用家塵 過敏原特異性動物模式, 探討此五種方劑作用於呼吸道發炎反應的可能機轉。使用酵素連結免疫分析法 (ELISA) 測定過敏原特異性 IgE 生成, 利用肺部病理檢查發炎反應和使用反轉錄 聚合連鎖反應 (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction) 測量細胞間白素-4 在呼吸道中的濃度變化。發現此五種方劑皆無法有效降低過敏原特異性 IgE 的生成, 但麥門冬湯可顯著調節呼吸道淋巴球細胞間白素-4 的分泌(麥門冬湯組 VS 對照組 0.65 ± 0.3 VS 1.03 ± 0.1 , $P < 0.01$), 並且有效降低肺部發炎反應。進一步使用反轉錄 聚合連鎖反應亦偵測得到麥門冬湯可降低呼吸道肺泡沖洗液中細胞間白素-4 RNA 的表現, 其他方劑則無此顯著效果。

因此我們認為麥門冬湯在治療呼吸道過敏發炎反應的可能機轉, 主要是經由調降第二型 CD4 陽性 T 淋巴球發展過敏發炎反應所須要的細胞間白素-4, 其他平喘方藥的作用機轉則有待更進一步的研究。

關鍵詞: 呼吸道過敏發炎反應, 細胞間白素-4, 家塵 過敏原, 麥門冬湯。

前 言

數十年來，由於對支氣管哮喘發病機轉的誤解，認為本病發作主要是支氣管的過度收縮，因此西醫主要用支氣管擴張劑，雖有一定的療效，但罹病率和死亡率不減反增，並未下降。以臺灣兒童氣喘病為例，二十年間增加六倍以上，由 1974 年的 1.3% 增加到 1994 年的 8.4%，不只患病兒童人數增加，患病的嚴重度和死亡率也有增加的趨勢^{1,2}。目前治療氣喘的藥物中仍以類固醇佔大多數，特別是吸入性類固醇幾乎已成為治療氣喘的基礎，然而在有效控制氣喘的另一方面卻是必須承受其毒性和副作用，例如：腎上腺功能抑制及失調、體液及電解質失調、高血壓、高血糖、庫辛氏症候群……，因而目前之治療趨勢轉而向傳統中醫發展^{3,4}，中醫藥平喘方劑甚多，應用於臨床研究亦多能得到一定之療效，可惜其作用機轉大部份不清楚^{5,6}，雖然在辨證論治的指引下，可以靈活掌控，隨證施治，但畢竟氣喘的成因和致病機轉相當複雜，若有更客觀應用於平喘方劑的指引，相信能提高療效。

相較於西醫抗發炎藥物如類固醇的多副作用，我國傳統醫學對哮喘有很好的臨床經驗，通過對患者的辨證論治，按“急則治其標，緩則治其本”的原則，急性期取用溫化寒痰法、清肺利痰法、降逆平喘、燥濕豁痰法，緩解期則用益氣固表法，健脾益氣法和補腎納氣法扶正固本，常能發揮多重療效⁷，根據上述原則，傳統醫藥發展出許多單方或複方，近年來也有許多文獻探討其作用原理，發現複方如麻杏石甘湯、厚朴麻黃湯、定喘湯等有抗發炎作用，單味藥如白芷、當歸、黃耆等有干擾素誘導作用，但到目前我們還看不到確實而深入的實驗數據證明中草藥的作用機轉。

總結上述目前中醫常用的治法約可包括：宣肺、清肺、瀉肺、降肺及潤肺等。而各種治法所使用的平喘方劑，在臨床上較常用的有：小青龍湯（宣肺）、清燥救肺湯（清肺）、瀉白散（瀉肺）、蘇子降氣湯（降肺）以及麥門冬湯（潤肺）等五種^{8,9}，本實驗即就上述五種固有方，利用小白鼠之動物實驗模式，進行作用機轉之探討。

材料與方法

一、實驗動物

本實驗乃使用購自成功大學動物中心 4~6 週大之 BALB/c 雌鼠。並飼養於控制明暗及溫度之動物房。

二、致敏原 Der p 5 (*Dermatophagoides pteronyssinus* group 5 allergen) 之純化

利用 PGEX-2T 質體在大腸桿菌 (*E.coli*) 菌體內表現 Der p 5-Glutathion S-transferase 蛋白質¹⁰，此融合蛋白質的分子量約為 42 KD，再以麩氨基硫 (Glutathione) 洋菜膠結合性管柱純化。將此菌種以含抗生素 Ampicillin (100 μ g/ml) 的培養基進行篩選，進行單一菌株的純化。隔天用接種環挑一個單一菌株至含 Ampicillin 的 LB broth 中培養，誘發菌種產生表現之結合型蛋白質後，以離心方式儘快地收集菌體，倒掉上清液，將菌體以 TBS (pH 7.5) 沖洗，收集在離心管中，立即加入 0.1 M Phenylmethylsulfonyl Fluoride 至菌液中。之後分別加入 Dnase I、Tween 20、Lysozyme，並利用冷凍、解凍方式使細胞破碎，得到含 Der

p 5 + GST 蛋白質的上清液，加入 EDTA 到細胞的溶解液，離心以去除殘渣，將上清液通過一個再水化的 glutathione 洋菜膠吸附性管柱，則含 Der p 5-GST 的蛋白質就吸附在管柱填充物上，此管柱先以 TBS 緩衝液在 4°C 下沖洗，然後再用還原型的 glutathione 在 Tris-base (pH8.0) 下沖洗使得融合蛋白與管柱填充物分開。此種融合蛋白質以 SDS-PAGE 進行純度確認，再定量所純化融合蛋白質的濃度。

三、致敏反應 (Sensitization)

將家塵 過敏原 Der p 5 與氫氧化鋁以 10 μ g 比 4 mg 比例充分混合均勻後，以腹腔注射方式打入小白鼠體內來誘發過敏性免疫反應。首次免疫注射後隔三週再追加注射一次，再於追加注射 3 天後，將動物置於圓形塑膠容器中接受含有 0.1% 的 Der p 5 噴霧激發。第一次致敏後 7 天，以中藥制劑治療小鼠。每批小鼠於進行第二次免疫後的隔天自其鼠尾動脈採血 50 μ l，所採得的血液於室溫下靜置一小時後將之離心，取其血清冰存 -80 °C，再進行酵素連結免疫分析法 (ELISA) 測定血中特定抗體的效價¹¹。

四、中藥投與

將 50 mg 中藥制劑分別為瀉白散 (編號 1801，甘草 2.25、桑白皮 4.5、地骨皮 4.5、粳米 6)，小青龍湯 (編號 0305、半夏 4、麻黃 4、芍藥 4、細辛 1.5、甘草 4、乾薑 4、桂枝 4、五味子 1.5)，麥門冬湯 (編號 1104，人參 2、粳米 4、半夏 2、大棗 2、甘草 2、麥門冬 8)，清燥救肺湯 (編號 1112，桑葉 7.5、阿膠 2、人參 2、石膏 6.5、甘草 2.5、麥門冬 3、杏仁 2、胡麻仁 2.5、枇杷葉 2)，蘇子降氣湯 (編號 2003，蘇子 5、陳皮 3、半夏 5、當歸 2、前胡 2、甘草 2、肉桂 3、厚朴 2、生薑 2、大棗 1)，(順天堂科學中藥，臺北，臺灣)，以約 180 μ l Tween 20 潤濕，之後利用均質機 (DC-3S，新光精機工業股份有限公司，臺灣) 將各個方劑磨細，然後加水至此中藥溶液至總體積為 2 ml (最終濃度為 25 mg/ml)。實驗小鼠依其重量分別利用餵食器強迫予以給藥 (0.4 ml 上述溶液/20 克小鼠體重) 二天給藥一次，共 7 次如 (表 1)。

五、病理檢查

先將小白鼠麻醉，剪下靠近支氣管的氣管一小段，並將其橫隔膜、肋骨剪開，剪下位於腹腔中的一大葉肺部，將剪下之肺部及一小段氣管一起置入福馬林中，固定 4 小時以上再進行組織切片。由病理科醫師根據支氣管黏膜下發炎細胞浸潤程度區分發炎反應為 1. 無， 2. 輕微， 3. 嚴重。

六、呼吸道沖洗和細胞計數

動物在呼吸道噴霧刺激後 18 小時，我們使用生理食鹽水沖洗液 (500 μ l x 4 次) 加以沖洗，收集後

Table 1. Subject characteristics

分 組	傳統方劑	分 組	傳統方劑
A 組	瀉白散	D 組	清燥救肺湯
B 組	小青龍湯	E 組	蘇子降氣湯
C 組	麥門冬湯	F 組	安慰劑

加以離心 (500 g , 10 分鐘), 上清液凍存 -70°C , 分析 IL-4 和 IFN- γ 的濃度 , 下層細胞則溶解於 1 ml 的 PBS 溶液 , 並離心貼於玻片 , 再以 Leu' s stain 染色計數類血球分類。

七、以酵素連結免疫分析法 (ELISA) 偵測 Der p 5 特異性 IgG 和 IgE 抗體的濃度變化

將 Der p 5 溶於 pH 9.6 的碳酸氫鈉緩充液 (10 $\mu\text{g/ml}$), 以 100 μl 加到每一格 (well) 中 , 用塑膠膜封好 , 置於 4°C 中隔夜 , 隔天用 PBS-Tween 20 每格 200 μl 沖洗 5 次 , 然後加入填充緩充液 (blocking buffer , 3 % BSA) 每格 200 μl , 在室溫下靜置 2 小時 , 再用 PBS-Tween 20 每格 200 μl 沖洗 3 次 , 陰性對照組 (blank) 和測試的血清分別各以稀釋緩充液 (1 % BSA) 稀釋 , 欲測試 IgG 濃度 , 則將待測試的血清稀釋 50 倍 , 若要測試 IgE 濃度 , 則將血清稀釋 10 倍 , 已稀釋的樣品取 100 μl 加到每格中 , 放置於 37°C 2 小時後 , 用 PBS-Tween 20 每格 200 μl 沖洗 5 次 , 再加入 Biotin-anti-mouse IgG (或 Biotin-anti-mouse IgE) (0.5 $\mu\text{g/ml}$) 100 $\mu\text{l/well}$, 靜置於 37°C 2 小時後 , (若要測試 IgE 濃度 , 則須靜置 6 小時), 用 PBS-Tween 20 每格 200 μl 沖洗 5 次 , 加入 Streptavidin-alkaline phosphate (1 : 1000) 100 $\mu\text{l/well}$, 靜置於 37°C 1 小時 , 用 PBS-Tween 20 每格 200 μl 沖洗 6 次 , 後加入 PNPP (p-Nitrophenylphosphate, di-sodium) 100 $\mu\text{l/well}$ 呈色 , 呈色結果以 OD405 值減 OD650 值後表示。為方便每一次實驗結果之比對 , 本實驗乃製作標準血清 (standard serum) , 其方法為取 5 隻小白鼠依致敏反應步驟進行二次免疫注射 , 二次注射期間並不餵食中藥 , 於第二次注射一週後 , 採全身血 , 並將 5 隻小白鼠的血液混合 , 將其定為 100 ELISA unit¹¹。

八、以酵素連結免疫分析法(ELISA)偵測氣管肺泡沖洗液中的 IFN- γ & IL-4 濃度變化

分別取 anti-mouse IFN- γ (Cat. No 19301T , PharMingen , USA) 或 anti-mouse IL-4 (Cat. No 19231V , PharMingen , USA) (0.5 mg/ml) 40 μl 溶於包覆緩充液 (coating buffer , 0.1M Na₂HPO₄ , pH 9.0) 10 ml , 加 100 μl 到每一個 well 中 , 用塑膠膜封好 , 置入 4°C , 放置隔夜 , 隔天用洗滌緩充液 (washing buffer , 0.05 % Tween 20 溶於 PBS) , 200 $\mu\text{l/well}$ 洗 5 次 , 加入填充緩充液 (blocking buffer , 1 % BSA 溶於 PBS) , 200 $\mu\text{l/well}$, 在室溫下靜置 30 分鐘 , 然後用洗滌緩充液 200 $\mu\text{l/well}$ 洗 5 次 , 將氣管沖洗液取 100 μl 加到每個 well , 於 4°C 放置隔夜 , 隔天用洗滌緩充液 (washing buffer) 200 $\mu\text{l/well}$ 洗 5 次 , 加入 Biotin-antimouse IFN- γ (Cat. No 18112D , PharMingen , USA) 和 Biotin-antimouse IL-4 (Cat. No 18042D , PharMingen , USA) (0.5 $\mu\text{g/ml}$) 100 $\mu\text{l/well}$, 室溫下靜置 1 小時後 , 用洗滌緩充液 200 $\mu\text{l/well}$ 洗 6 次 , 再加入 Streptavidin-alkaline phosphate (1 : 1000) 100 $\mu\text{l/well}$, 室溫下靜置 30 分鐘 , 用洗滌緩充液 200 $\mu\text{l/well}$ 洗 8 次 , 最後加入 (p-Nitrophenylphosphate, di-sodium) 100 $\mu\text{l/well}$ 呈色 , 呈色結果以 OD405 值減 OD650 值後表示。

九、以反轉錄 聚合連鎖反應(RT-PCR)偵測氣管肺泡沖洗液中的 IFN- γ & IL-4 濃度變化

RNA 之抽取主要是以 TRIZOL REAGENT (Cat. No. 15596 , GIBCO BRL , LIFE TECHNOLOGIES , USA) 進行。自 Der p 5 致敏化和餵食中藥後的 BALB/c 小鼠取出脾臟細胞後 , 以 Der p 5 (15 $\mu\text{g/ml}$) 培養 4 小時 , 離心沈澱之後按 TRIZOL REAGENT 之步驟進行 RNA 抽取。取得 RNA 之後 , 使用 Ready to go

T-Primed First-Strand kit (Cat. No. 27-9263-01, Pharmacia Biotech, USA) 進行 cDNA 之合成。利用此 cDNA 當作 IL-4、IFN- γ 進行 PCR 之模版，再使用各種引子，包括：IL-4 primer : upstream 5'-GAATGTACCAGGAGC CATATC-3' , downstream 5'-CTCAGTACTACGAGTAATCCA-3' ; IFN- γ primer : upstream 5'-AACGCTACACACTGCATCTTGG-3' , downstream 5'-GAC TTCAAAGAGTCTGAGG-3' ; HPRT primer : upstream 5'-GTTGGATACAGGCCAGACTTTGTTG-3' , downstream 5'-GATTCAACTTGCGCTCATCTTAGGC-3'。95 °C 下反應 5 分鐘之後，進行 95 °C , 1 分鐘再 72 °C , 1 分鐘再 55 °C , 3 分鐘之循環，共 35 循環後使用 2.0 % 之凝膠進行電泳分析，再以光學原理 (Alpha Imager 2000 , USA) 之照相設備配合其所附之軟體進行電腦分析，加以半定量表示。

十、統計方法

將各組所得數據先以 ANOVA 之統計方法進行檢驗之後，若 P 值小於 0.05，則視為各主間實驗結果有差異，再進一步使用 Duncan multiple range test 測試傳統方藥相對於對照組有否明顯統計學上的差異，若 P 值小於 0.05 則視為有意義。

結 果

一、小白鼠體內 Der p 5 特異性 IgG & IgE 濃度變化

各組動物在經由中藥餵食之後，以酵素連結免疫分析法 (ELISA) 偵測其體內的 Der p 5 特異性 IgG 和 IgE 濃度變化，所得的結果如 (Fig 1) 所示：瀉白散組所測得的 IgG 為 70.9 ± 42 個 ELISA unit , IgE 為 99.3 ± 23 個 ELISA unit ; 小青龍湯組所測得的 IgG 為 62.5 ± 44 個 ELISA unit , IgE 為 106.3 ± 34 個 ELISA unit ; 麥門冬湯組所測得的 IgG 為 63.3 ± 44 個 ELISA unit , IgE 為 104.9 ± 23 個 ELISA unit ; 清燥救肺湯組所測得的 IgG 為 63.3 ± 43 個 ELISA unit , IgE 為 105.7 ± 23 個 ELISA unit ; 蘇子降氣組所測得的 IgG 為 59.7 ± 38 個 ELISA unit , IgE 為 93.9 ± 21 個 ELISA unit ; 對照組所測得的 IgG 為 67.4 ± 42 個 ELISA unit , IgE 為 97.8 ± 19 個 ELISA unit。將各組數據以 ANOVA 之統計方法檢驗之後，並無統計學上的差異，由此可推知各個方劑並非以抑制 IgE 的生成，來緩解氣喘。

二、呼吸道內細胞激素 (cytokine) IFN- γ & IL-4 濃度變化

各組小白鼠在經呼吸道吸入 Der p 5 之後 18 小時，以酵素連結免疫分析法 (ELISA) 偵測其氣管肺泡沖洗液中的 IFN- γ 和 IL-4 濃度變化並以其光學密度值 (OD value) 來表示其濃度，所得的結果如 (Fig. 2) 所示：瀉白散組所測得的 IFN- γ 為 0.56 ± 0.2 , IL-4 為 0.79 ± 0.1 、小青龍湯組所測得的 IFN- γ 為 0.40 ± 0.2 , IL-4 為 0.65 ± 0.3 、麥門冬湯組所測得的 IFN- γ 為 0.16 ± 0.1 , IL-4 為 0.40 ± 0.2 、清燥救肺湯組所測得的 IFN- γ 為 0.31 ± 0.1 , IL-4 為 0.51 ± 0.2 、蘇子降氣組所測得的 IFN- γ 為 0.50 ± 0.3 , IL-4 為 0.69 ± 0.3 、對照組所測得的 IFN- γ 為 0.66 ± 0.1 , IL-4 為 1.03 ± 0.1 。將各組數據以 ANOVA 之統計方法檢驗之後，所測得的 IFN- γ 的 P 值為大於 0.05，但各組 IL-4 的 P 值為 0.02 具統計上的差異。其中以麥門冬湯組 IL-4 的下降較為明顯，進一

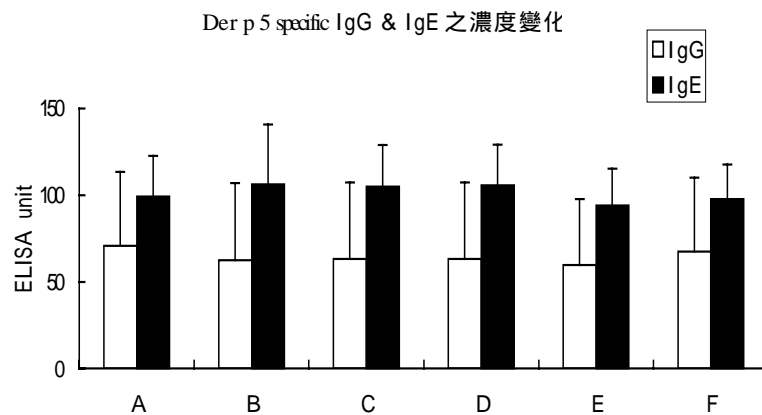


Fig 1. ELISA of Der p 5-specific IgG and IgE antibody after Der p 5 inhalation challenge. A: White-draining Powder group, B: Green-Blue Dragon Decoction group, C: Ophiopogon decoction group, D: Dryness-Clearing Lung-Rescuing Decoction group, E: Perilla Fruit Qi-Downbearing Decoction group, F: placebo group.

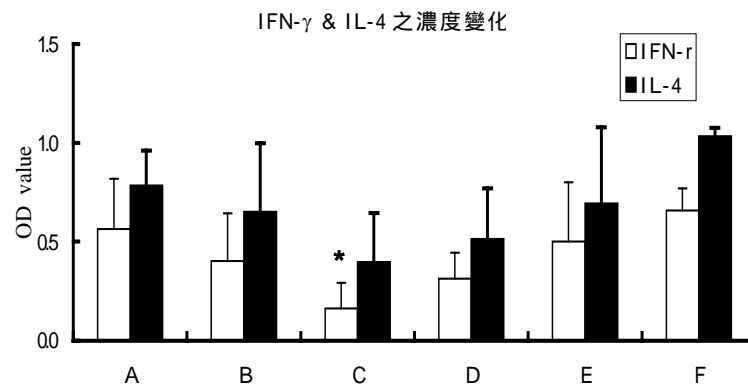


Fig 2. ELISA of IL-4 and INF- γ in the bronchoalveolar lavage fluid after Der p 5 challenge. *: indicates $p < 0.01$.

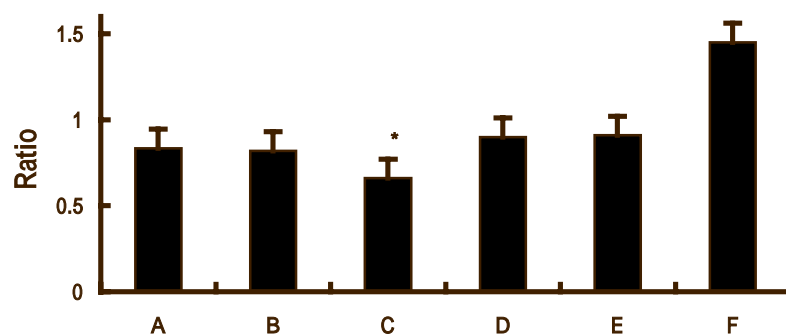


Fig 3. Expression of IL-4 gene in splenocytes. Total RNA was extracted from freshly isolated splenic lymphocytes. RT-PCR was performed using IL-4 specific primer. The densitometric analysis was performed, and relative expression of IL-4 and HPRT was calculated. The results shown are pooled data of three independent experiments. * Indicates $p < 0.05$

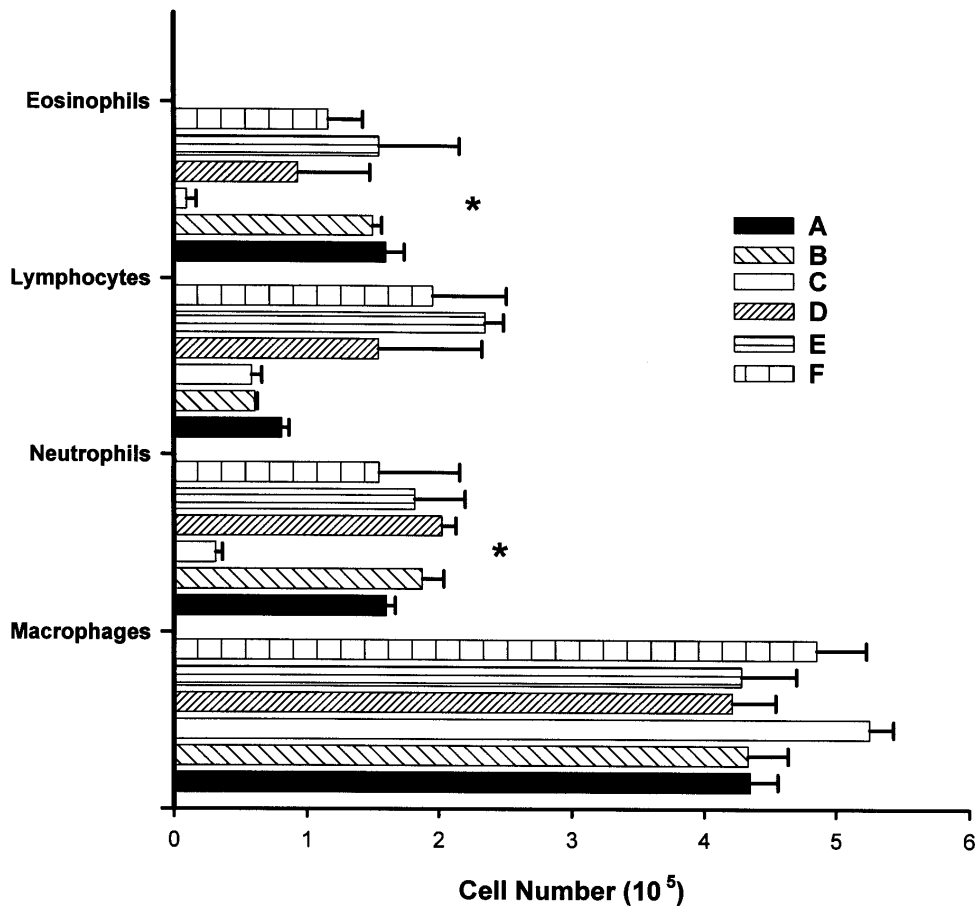


Fig 4. Inflammatory cell composition of BAL fluids. Cell differential percentages were determined by light microscopic evaluation of cytospin preparations. Data are expressed as absolute numbers of cells. * indicates $p < 0.05$

步以反轉錄 聚合連鎖反應 (RT-PCR) 偵測氣管肺泡沖洗液中細胞表現 $IFN-\gamma$ 和 $IL-4$ RNA 濃度變化, 結果亦發現麥門冬湯組可有效的降低 $IL-4$ RNA 的生成 (Fig. 3), 但 $IFN-\gamma$ 的 RNA 生成各組間並無明顯差異。由上述實驗結果可以得知麥門湯組確時能降低呼吸道內 $IL-4$ 的產生。

三、肺部病理檢查

各組組織切片皆顯示各種發炎細胞浸潤於肺泡間質和氣管黏膜下組織, 尤其以嗜中性白血球及淋巴球為主, 相較於控制組, 其中以麥門冬湯組可以明顯看出組織發炎較輕微, 其他各組都顯示嚴重發炎反應, 進一步以氣管肺泡沖洗液中細胞染色分析計數, 麥門冬湯組相較於其他傳統方劑組, 嗜中性白血球及嗜伊紅白血球計數皆顯示有意義的下降 (Fig. 4)。在嗜中性白血球方面, 各組數據經對數處理後如下: 瀉白散組所測得為 $1.6 \pm 0.07 \times 10^5$ 、小青龍湯組為 $1.87 \pm 0.16 \times 10^5$ 、麥門冬湯組為 $0.3 \pm 0.04 \times 10^5$ 、清燥救肺湯組為 $2.02 \pm 0.1 \times 10^5$ 、蘇子降氣組為 $1.82 \pm 0.38 \times 10^5$ 、對照組為 $1.55 \pm 0.6 \times 10^5$, 在嗜伊紅白血球方面, 各組數據經對數處理後如下: 瀉白散組所測得為 $1.6 \pm 0.14 \times 10^5$ 、小青龍湯組為 $1.5 \pm 0.07 \times 10^5$ 、麥門冬湯組為 $0.1 \pm 0.07 \times 10^5$ 、清燥救肺湯組為 $0.9 \pm 0.54 \times 10^5$ 、蘇子降氣組為 $1.5 \pm 0.6 \times 10^5$ 、對照組為 $1.1 \pm 0.2 \times 10^5$ 。因此我們認為麥門冬湯組可以明顯降低

Der p 5 過敏原所誘發的特異性呼吸道發炎反應。

討 論

近年來由於基礎理論研究的深入，對於氣喘的病理生理學有了新的觀點，許多文獻皆已先後確定了呼吸道的慢性發炎反應才是本病主要的病理機轉，而發炎主要是由於發炎細胞所釋放的各種發炎介質如：血小板活化因子 (Platelet activation factor)、組織胺 (Histamin)、前列腺素 (Prostaglandin) 和白細胞三烯 (Leukotrien) 等為主，這些發炎介質則直接或間接傷害呼吸道表皮或肺組織，使呼吸道產生過度收縮反應，進一步表現出粘膜水腫、滲出液增多、充血反應、和平滑肌痙攣等現象，而使呼吸道阻力增加^{12,13}。

T 淋巴細胞在炎症反應中起著識別抗原、啟動炎症反應、調節免疫作用的關鍵作用。激活的 T 淋巴細胞在特異性抗原作用下增殖，其中輔助型的 CD4 陽性 T 淋巴細胞又分為二型，Th1 型之 T 淋巴細胞會分泌 IFN- γ ，Th2 型之 T 淋巴細胞會分泌 IL-4，氣喘之病患主要是偏向 Th2 型，在接觸過敏原後，便產生大量 IL-4，接著刺激 B 淋巴細胞過量分泌 IgE，而 IgE 會附著在肥大細胞、嗜鹼細胞上，最終導致細胞內如：組織胺、前列腺素和白細胞三烯等炎症物質的釋出而造成呼吸道過度縮收反應。而這一系列的發炎反應，由進一步的實驗數據支持，是由第二型 CD4 陽性 T 淋巴球釋放細胞間白素 (Interleukin) 4、5、10、和 13 等所主導，因為此等細胞間白素可誘導 B 淋巴球產製釋放 IgE 抗體，嗜伊紅血球的增生和肥胖細胞的活化和生成，並進一步釋放發炎介質。因此能抑制發炎反應，降低 IgE 的合成，抑制細胞間白素 4 的合成或肥胖細胞組織胺的釋放都能抑制過敏反應發炎的發生，即能降低氣喘發生的可能¹⁴。

傳統醫學對於呼吸道疾病 (肺病) 的治療，在辨症論治的原則指導下，使用宣肺法、降肺法、清肺法、瀉肺法和潤肺法，其療效已為多數人肯定，但有關這些平喘方藥的現代病理生理作用機轉的報告卻很少，因此本研究利用基因工程方法，分離純化家塵過敏原 Der p 5，並利用此蛋白質建立過敏性氣喘動物模式，此模式有人類過敏性氣喘的重要特徵，包括過敏原特異性 IgE 的生成，Th2 T 細胞的產生和呼吸道發炎反應。本研究利用此一模式進一步分析常用平喘方藥如何作用在 IgE 抗體、IL-4 和呼吸道發炎反應，結果病理組織切片證實麥門冬湯能有效降低肺部發炎細胞的浸潤，有最佳的療效，進一步分析其作用機轉，發現其作用主要在調降肺部 IL-4 的產生，這點在蛋白質層次或核苷酸層次皆獲得證實，而 IL-4 主要為 Th2 型 CD4 陽性 T 細胞所釋放，為過敏發炎反應中最重要的細胞素之一^{15,17}。

然而包括麥門冬湯在內的所有 5 個測試的方劑皆無法有效降低過敏原特異性 IgE 的合成，推測其原因可能是細胞激素對 IgE 合成的多重作用性 (pleiotrophy)，例如 IL-3、IL-4、IL-5、IL-10 和 IL-13 皆被證實可有效促進 B 淋巴細胞分化並分泌過敏原特異性 IgE 抗體，因此麥門冬湯最終無法調降 IgE 的合成，可能在其無法全面調節與 IgE 抗體相關的細胞激素網路 (cytokine network)^{18,19}。第二種可能為其處方組成並不是在最佳比例。若能適當調整其處方內容，相信能更進一步提昇其效果，這二種假設理論有待實驗進一步證明。

總而言之，傳統平喘方藥的藥理機轉可能為多重作用性，生物體內的作用標的也可能是有其多樣性，再加上每一方中的天然藥物皆含有多種成份，這些原因導致研究上的困難，可能也是傳統醫學進步緩慢的原因

之一。本文利用比較清楚而單純的動物模式，以分子生物學的測量方式探討傳統平喘方藥的可能藥理機轉，發現在潤肺法後所使用的麥門冬湯，無論是在核甘酸或蛋白質的層次，皆可以明顯降低 IL-4 的生成，且能明顯降低肺部發炎反應，這個結果應可解釋部份平喘方藥的作用方式，希望有助於將來發展更為有效的治療過敏性氣喘的方劑。

參考資料

1. Hsieh KH, Shen JJ. Prevalence of childhood asthma in Taipei, Taiwan, and other Asian Pacific countries. *J Asthma* 25: 73-82, 1998.
2. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood Steering Committee. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. *Lancet* 351: 1225-1232, 1998.
3. Cook C, Baisden D. Ancillary use of folk medicine by patients in primary care clinics in southwestern West Virginia. *South Med. J* 79: 1098-101, 1989.
4. Eisenberg DM, Davis RB, Ettner SL, Appel S, Wilkey S, Rompay MV, Kessler RC. Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-1997. *JAMA* 280: 1569-1575, 1998.
5. 張炯、何長國，小兒支氣管氣喘中西醫結合貫序治療初探，實用中西醫結合雜誌 10：19-20，1997。
6. 張續、李曉光、田萍，激素依賴性氣喘的辨證治療，中醫藥學報 1：12-15，1998。
7. 林杰豪，治喘當“安五臟，養肺氣”淺探，遼寧中醫雜誌 8：40-42，1984。
8. 施寶珠、沈自伊，某些平喘方藥的臨床應用和研究的進展，中醫雜誌 26：74-75，1985。
9. 武維平，氣喘論治淺述，北京中醫學院學報 9：23-25，1996。
10. Smith DB, Davern KM, Board PG, Tiu WU, Garcia EG, Mitchell GF, Mr 26000 antigen of *Schistosoma japonicum* recognized by resistant WEHI 129/J mice is a parasite glutathione S-transferase. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 8703-8707, 1986.
11. Hsu CH, Chua KY, Huang SK, and Hsieh KH. Inhibition of allergen-specific IgE by direct gene transfer. *International Immunology* 8: 1405-1411, 1996.
12. Romagnani S. Technological advances and new insights into pathogenesis prelude novel therapeutic strategies. *Curr Opin Immunol* 7: 745-750, 1995.
13. Ricci M. IL-4; a key cytokine in atopy. *Clin Exp Allergy* 24: 801-812, 1994.
14. Roundress S, Cogswell JJ, Platts-Mills TAE, Mitchell EB. Development of IgG antibodies to foods and inhalant allergens in children at risk of allergic disease. *Arch Dis Child* 60: 727-735, 1985.
15. Featherstone RL, Hutson PA, Holgate ST, Church MK. Active sensitization of guinea-pig airways in vivo enhances in vivo and in vitro responsiveness. *Eur Respir J* 1: 839-45, 1988.
16. Elwood W, Lotvall JO, Barnes PJ, Chung KF. Characterization of allergen-induced bronchial hyperresponsiveness

- and airway inflammation in actively sensitized Brown-Norway rats. *J. Allergy Clin. Immunol.* 88: 951-960, 1991.
17. Renz H, Smith HR, Henson JE, Ray BS, Irvin CG, Gelfand EW. Aerosolized antigen exposure without adjuvant causes increased IgE production and increased airway responsiveness in the mouse. *J Allergy Clin Immunol* 89: 1127-38, 1992.
18. Wills-Karp M, Luyimbazi J, Xu X, Schofield B, Neben TY, Karo CL, Donaldson DD. Interleukin-13: Central mediator of allergic asthma. *Science* 282: 2258-2261, 1998.
19. Mehlhop PD, Rijn MV, Goldberg AB, Brewer JP, Kurup VP, Martin TR, Oettgen HC. Allergen-induced bronchial hyperreactivity and eosinophilic inflammation occur in the absence of IgE in a mouse model of asthma. *Proc. Natl Acad Sci USA* 94: 1344-1349, 1997.

J Chin Med 11(3): 111-121, 2000

THE MECHANISMS OF ANTI-ASTHMATIC FORMULAE IN TRADITIONAL CHINESE MEDICINE IN THE TREATMENT OF ALLERGEN-INDUCED AIRWAY INFLAMMATION

Ching-Hsaing Hsu^{1,4}, Yun-Yaw Shyu² and Ming-Hsein Li³

¹Pediatric Departments, ²Department of medical research, ³Department of Family Medicine,
God's Help Hospital,
Chia Yi, Taiwan

⁴Chinese Medical Science, China Medical College,
Taichung, Taiwan

(Received 14th September 1999, revised Ms received 30th May 2000, accepted 2th June 2000)

Several formulas are used in traditional medicine for the treatment of bronchial asthma. Perilla Fruit Qi-Downbearing Decoction (Su Zi Jiang Qi Tang), Green-Blue Dragon Decoction (Qing Long Tang), White-Draining Powder (Xie Bai San), Ophiopogon Decoction (Mai Men Dong Tang) and Dryness-Clearing Lung-Rescuing Decoction (Qing Zao Jin Fei Tang) were commonly prescribed according to the principle of downbearing qi and calming panting, diffusing the lung, draining the lung, moistening the lung and clearing the lung in traditional Chinese medicine respectively. However the mechanisms of these formula are mostly unknown.

In modern medicine, the pathogenesis of asthma is attributed to the synthesis of allergen-specific IgE, and the production of interleukin-4 (IL-4) by CD4+ Th2 T lymphocytes. In this study, we tried to clarify the actions of these anti-asthmatic formula by a well-established allergen-induced animal model. Recombinant dust mite allergen, Der p 5 was purified and used to sensitize and challenge BALB/c mice. Allergen-specific IgE was assessed by ELISA and expression of IL-4 RNA was evaluated by RT-PCR in the bronchoalveolar lavage fluids. Inflammation of the airway was examined by pathology. We found that all these 5 formula can not down-regulate the synthesis of allergen-specific IgE, but Ophiopogon can decrease significantly the concentration of interleukin-4 in the bronchoalveolar fluid after allergen-challenge (Ophiopogon group vs control, 0.65 ± 0.3 vs 1.03 ± 0.1, $p < 0.01$). Ophiopogon Decoction also decreased airway inflammation significantly, compared to other 4 groups. Therefore, we suggest that the mechanisms why Ophiopogon Decoction can treat asthma is partially due to the down-regulation of IL-4 in the lung.

Key words: Airway inflammation, Interleukin-4, Mite allergen, Ophiopogon decoction.

Correspondence to: Ching-Hsaing Hsu, God's Help Hospital, No.66 Lane 601, Sec 2, Beigang Rd. Taibao City, Chiayi County, Taiwan. TEL: (05)2378111 ext. 3170, FAX: (05)2373703, E-mail: hsumd@ms17.hinet.net

