

柴朴湯對卵蛋白過敏原誘發天竺鼠氣喘之影響

沈建忠¹ 謝貴雄² 謝明村³ 林昭庚¹

¹中國醫藥學院 中國醫學研究所 ²長庚兒童醫院

³中國醫藥學院 中國藥學研究所

摘要

本研究之目的在了解柴朴湯對致敏天竺鼠以1%或2%卵蛋白過敏原誘發之呼吸道阻塞、發炎現象及過度反應性之作用如何。

天竺鼠用1%卵蛋白過敏原連續致敏七天，每天一次，每次致敏十五分鐘，之後分成服用柴朴湯組700mg/kg（實驗組）和生理食鹽水組（對照組）兩組，連續餵食七天，於第14天，所有的天竺鼠接受1%或2%卵蛋白過敏原激發1分鐘。呼吸道阻力於卵蛋白過敏原激發前、激發完及激發後不同時間，利用身體體積量法測量。呼吸道對乙酰膽鹼之反應性於卵蛋白過敏原激發前24小時、激發後6小時及24小時測量，支氣管肺泡沖洗液細胞分析及病理組織切片於卵蛋白過敏原激發後6小時及24小時測量。控制組包括(1)正常組（未致敏、未激發）；(2)未致敏，以1%卵蛋白過敏原激發及(3)已致敏，以0.9%生理食鹽水激發。結果如下：

- 一、以1%卵蛋白過敏原激發天竺鼠之急性呼吸道阻塞，柴朴湯有明顯的抑制作用，但對以2%卵蛋白過敏原激發則無效。
- 二、柴朴湯對於2%卵蛋白過敏原激發後引起的遲發型氣喘無治療作用。
- 三、以1%或2%卵蛋白過敏原激發後之天竺鼠於6小時可顯著增強其呼吸道過度反應性。柴朴湯可以阻止以1%卵蛋白過敏原激發後6小時之呼吸道過度反應性，但對以2%卵蛋白過敏原激發則無效。
- 四、以1%或2%卵蛋白過敏原激發後之天竺鼠於6小時及24小時，支氣管肺泡沖洗液中嗜酸性白血球數目、嗜中性白血球數目及呼吸道組織中嗜酸性白血球之浸潤數目都有明顯增加；柴朴湯可減少以1%卵蛋白過敏原激發後支氣管肺泡沖洗液中嗜酸性白血球數目、嗜中性白血球數目及呼吸道組織中嗜酸性白血球之浸潤數目，但對以2%卵蛋白過敏原激發則無效。

結論，柴朴湯可抑制氣喘天竺鼠在1%卵蛋白過敏原激發引起之急性呼吸道阻塞，減少支氣管肺泡沖洗液中嗜酸性白血球數目的增加和呼吸道組織中嗜酸性白血球浸潤數目的增加，也可抑制呼吸道之過度反應性；當卵蛋白過敏原激發濃度增加為2%時，柴朴湯對於急性呼吸道阻塞、支氣管肺泡沖洗液中嗜酸性白血球數目的增加、呼吸道組織中嗜酸性白血球浸潤數目的增加和呼吸道之過度反應性無治療作用。

關鍵詞：柴朴湯，身體體積量法，呼吸道之過度反應性，支氣管肺泡沖洗液，天竺鼠氣喘

前言

氣喘是一種呼吸道的慢性發炎性疾病，主

要的特徵是氣管及支氣管對不同的刺激所產生的一種過度反應性增加，而造成呼吸道廣泛的阻塞；¹臨床的主要表現為呼吸困難、喘鳴、

胸悶和咳嗽，有些氣喘患者其呼吸道會有痰的產生，這些症狀可單獨或合併出現，疾病常在半夜或清晨發作；² 半夜咳醒是本病的特色。³ 氣喘病是多因子交互作用所產生的，當病人曝露於各種危險因子會誘發氣喘發作，包括：過敏原、空氣污染、上呼吸道感染、運動、氣候的改變、二氧化硫、食品及藥物等⁴。

目前認為氣喘的致病機轉為呼吸道的發炎現象，⁵ 尤其是嗜酸性白血球於呼吸道黏膜之浸潤；⁶ 臨床上也證實無論外因性或內因性氣喘，周邊血液中嗜酸性白血球總數會增加，⁷ 呼吸道的組織病理報告也證實有嗜酸性白血球之浸潤；⁸ 因此，目前氣喘病的研究重點都放在嗜酸性白血球。⁹⁻¹¹ 過敏原的激發會導致即時型氣喘和遲發型氣喘發作，¹⁰⁻¹² 遲發型氣喘會伴隨著呼吸道的過度反應性增加及嗜酸性白血球流入到呼吸道組織中，^{13,14} 促使嗜酸性白血球釋放主要基本蛋白質（MBP）及嗜酸性球陽離子蛋白（ECP），造成呼吸道黏膜的受損及上皮細胞的脫落。^{6,14}

由於對於遲發型氣喘和呼吸道之過度反應性的機轉仍不清楚，^{9,10} 基於研究上的需要，包括新藥的開發及探討藥物的作用機轉，確實有必要建立氣喘的動物模式；目前研究氣喘的動物都選用天竺鼠，⁹⁻¹² 主要是因致敏天竺鼠於過敏原誘發之氣喘，所產生即時型氣喘和遲發型氣喘、呼吸道的發炎及呼吸道的過度反應性，其臨床反應及病理變化和人類的氣喘病非常類似；支氣管擴張劑及腎上腺皮質賀爾蒙也是在此氣喘動物模式下完成研究。因此，本研究的首要工作是建立氣喘的動物模式。

柴朴湯乃結合東漢·張仲景《傷寒論》的小柴胡湯¹⁵ 及《金匱要略》的半夏厚朴湯¹⁶ 兩方所組成，臨床上已有報告用小柴胡湯治療氣喘病，¹⁷⁻¹⁹ 半夏厚朴湯應用於祛痰，²⁰ 在日本多家醫學中心的臨床研究上已證實柴朴湯治療氣喘病確實有療效，²¹ 動物體外實驗證實柴朴湯的作用機轉為抑制 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 以減少腎上腺皮質賀爾蒙的代謝，²² 氣喘動物模式研究證實柴朴湯可防止嗜酸性白血球於呼吸道組織之浸潤，²³ 但是仍有

臨床上報告服用柴朴湯無效者，^{21,24} 因此，我們認為柴朴湯在治療氣喘病可能祇有某種程度上的效果。為了確定此假說，本實驗研究之目的在探討在已建立的氣喘動物模式中，柴朴湯對清醒、致敏化的天竺鼠以 1% 或 2% 卵蛋白過敏原激發引起呼吸道阻塞、支氣管的過度反應性及發炎之作用如何。

材料與方法

一、天竺鼠對卵蛋白之致敏化（Sensitization of guinea pigs to ovalbumin）

氣喘的動物模式是根據學者 Toda 的研究方法而稍有修正，²³ 雄性 Dunkin-Hartley 天竺鼠，體重 350 到 450 公克為實驗動物，共同飼養於相同的環境，飼食相同的食物。以卵蛋白（OVA）為過敏原（Grade III）（Sigma，Dorset，UK），將卵蛋白溶液（1% 卵蛋白重量/體積，溶解於 0.9% 無菌的生理食鹽水）放入 DeVilbiss 公司出品的 Pulmo-Aide 噴霧器中，噴霧氣流速是每分鐘 8 公升，每分鐘噴出 0.5 毫升，噴霧顆粒體積為 0.5 到 5 微米（microns），將天竺鼠放置於 3.9 公升的透明壓克力容器內，然後將過敏原經由 Pulmo-Aide 噴霧器打出的噴霧顆粒直接擴散到透明壓克力容器內讓天竺鼠吸入，每天一次，每次吸入十五分鐘，連續七天，休息七天後準備接受卵蛋白過敏原激發。

二、卵蛋白過敏原激發（Ovalbumin challenge）

為防止天竺鼠在過敏原激發過程中因過敏性休克而死亡，在過敏原激發前三十分鐘經由腹腔注射組織胺拮抗劑 Diphenhydramine HCl（10mg/kg/dose）。將天竺鼠置於壓克力製成的圓狀柱容器內，靜置 10 分鐘，之後測量並計算其基準值之呼吸道阻力，將 1% 卵蛋白或 2% 卵蛋白溶液或 0.9% 生理食鹽水放入 Pulmo-Aide 噴霧器中，其噴霧開口連接覆蓋在天竺鼠的頭部面罩，讓天竺鼠吸入噴霧顆粒一分鐘。

三、呼吸道阻力之測定（Measurement of airway resistance）

利用日本 Shizume Medical Company Ltd 製造之呼吸抗阻測量儀，用身體體積量法

(body plethysmography) 來測量其呼吸道壓力和呼吸氣流量。其原理是根據 Mead 描述的改良後的強迫性振動技術 (forced oscillation technique)，²⁵ 此方法適用於用吸入性過敏原致敏的天竺鼠。將天竺鼠置於壓克力製成的圓柱狀容器內，其前端有一小圓型開口，將天竺鼠的身體置於圓柱狀容器內，頭部露於外，後端開口連接肺功能機，將 18 赫子的正弦振盪波應用於天竺鼠體表面，呼吸之間產生的壓力差即呼吸道壓力；面罩上有一 400 網孔的開口罩在天竺鼠的臉上，用來測其呼吸氣流量，呼吸道壓力除以呼吸氣流量之值即呼吸道阻力；天竺鼠分別在卵蛋白過敏原激發前、激發後 1 分鐘、5 分鐘、15 分鐘、30 分鐘、1 小時、2 小時、3 小時、4 小時、5 小時、6 小時及 24 小時，各測量三次呼吸道阻力，當不測量時，將天竺鼠從呼吸抗阻測量儀移走。

吸入 1 % 卵蛋白或 2 % 卵蛋白噴霧顆粒激發一分鐘，五分鐘後呼吸道阻力增加為原來基準值呼吸道阻力的兩倍以上為即時型氣喘；¹² 2 小時以後呼吸道阻力增加為原來基準值呼吸道阻力的兩倍以上為遲發性氣喘。²⁶ 控制組包括未致敏，以 1 % 卵蛋白激發及已致敏，以 0.9 % 生理食鹽水激發。

四、呼吸道對乙酰膽鹼的反應性 (Airway responsiveness to Acetylcholine)

試驗用的乙酰膽鹼以連續雙倍稀釋，濃度為 39.6 到 20,000 μ g/ml，將不同濃度的乙酰膽鹼放到噴霧器中，噴霧器打出之噴霧顆粒讓天竺鼠吸入二分鐘，方法如同過敏原激發，乙酰膽鹼濃度由低濃度慢慢增加到高濃度，吸二分鐘後立刻測其呼吸道阻力，當呼吸道阻力增加為原來的一倍或以上時才停止此實驗，由劑量-反應曲線決定呼吸道阻力增加為原來兩倍所需的乙酰膽鹼濃度，並轉換成對數值，以 PC200-Rrs-Ach 表示。對照組和實驗組在激發前 24 小時、激發後 6 小時和 24 小時都做呼吸道對乙酰膽鹼的反應性。控制組包括 (1) 正常組 (未致敏、未激發)；(2) 未致敏，以 1 % 卵蛋白激發及 (3) 已致敏，以 0.9 % 生理食鹽水激發。

五、支氣管肺泡沖洗和細胞學檢查 (Bronchoalveolar lavage and cytology)

天竺鼠用乙醚麻醉後開胸並進行心臟採血，先將肺臟及氣管分離出來，在氣管中央剪一小孔，將 2 釐米口徑的導管插入氣管後用線綁緊，用鉗子夾著右邊主支氣管，以 5 毫升 1 倍的 Hanks' balanced salt solution (HBSS, GIBCO) 灌注左肺，連續 6 次，收集灌洗液，混合後取 0.02 毫升的細胞懸浮液加 0.18 毫升的 Trypan blue 溶液於標準血球計 (hemocytometer) 計算細胞總數，重覆計算兩次。取 0.2 毫升的細胞懸浮液於細胞離心機離心 (Shandon cytospin 2,500 rpm 室溫下 2 分鐘)，抹片染色法用劉氏染色法 (Liu's stain)，細胞分類則在 400 倍顯微鏡下依標準細胞分類計算 300 個細胞，重覆計算二次。

已致敏 1 % 卵蛋白激發之天竺鼠於激發後 2 小時、4 小時、6 小時及 24 小時做支氣管肺泡沖洗，2 % 卵蛋白激發之天竺鼠其對照組和實驗組在激發後 6 及 24 小時也做支氣管肺泡沖洗。正常組、未致敏以 1 % 卵蛋白激發、已致敏以 0.9 % 生理食鹽水激發也做支氣管肺泡沖洗做為控制組。

六、組織病理切片 (Histopathology)

做完支氣管肺泡沖洗後，將右側肺臟摘除，浸泡於 10 % 福馬林溶液內 3 天，對右側肺臟做橫切面，包埋於石蠟固定後做病理組織切片並用 Giemsa stain 染色。在 400 倍顯微鏡下計算在呼吸道組織中支氣管及細支氣管的嗜酸性白血球數目。嗜酸性白血球的計算包含兩個解剖區：(1) 黏膜下層，支氣管平滑肌圍繞之內的所有嗜酸性白血球；(2) 外膜層，支氣管平滑肌圍繞之外且靠近支氣管平滑肌約 0.02 平方釐米的所有嗜酸性白血球。支氣管的定義是被軟骨所包圍的大呼吸道，細支氣管的定義是沒有軟骨包圍的呼吸道。

七、中藥製劑及給藥 (Drug preparation and administration)

一次選購本研究所需要之中藥材，並按藥物成份比率配製 (見表一)，以利藥材的濃縮。將上述所有藥品切碎稱重，以去離子水及

無水酒精為溶媒（去離子水及無水酒精比率為 1 : 1），浸泡塑膠桶內並放置於 4 °C 的大冰箱，天天不斷的攪拌，七天後收集浸出液，如此連續二次；收集的浸出液混合後於濃縮機內減壓濃縮，分裝於 50cc 塑膠試管（要先稱重），之後冷凍乾燥，將冷凍乾燥後的粗提取物儲存於超低溫冷凍櫃備用；使用時將柴朴湯溶解於生理食鹽水中製成中藥懸浮液（250mg/ml），黏覆在天竺鼠飼料上餵食（700mg/kg），對照組給予生理食鹽水。

表一、柴朴湯之組成、成份百分比及藥材品種

藥材	生藥名	成份(%, 重量/總重量)
柴胡	Bupleuri radix	20.6
半夏	Pinellia rhizoma	14.7
茯苓	Poria	14.7
黃芩	Scutellariae radix	8.8
人參	Ginseng radix	8.8
大棗	Ziziphi fructus	8.8
厚朴	Magnoliae cortex	8.8
紫蘇	Perillae folium	5.9
甘草	Glycyrrhizae gadox	5.9
生薑	Zingiberis rhizoma	3.0

八、統計方法

所有數據以平均數加減一個標準差（Mean ± S.D.）表示，不同組間以單向變方分析（one-way analysis of variance）做統計分析，其結果有差異者，各組間再以 Duncan's Multiple Range Test 做事後檢定分析，以 p 值小於 0.05 者具有統計學差異。

結 果

表二、各組致敏天竺鼠於不同濃度卵蛋白過敏原激發後不同時間之呼吸道阻力

組別	激發前	激發後										
		1分鐘	5分鐘	15分鐘	30分鐘	1小時	2小時	3小時	4小時	5小時	6小時	24小時
A	1.58 ± 0.17	1.64 ± 0.17	1.66 ± 0.17	1.64 ± 0.11	1.62 ± 0.13	1.71 ± 0.14	1.73 ± 0.14	1.54 ± 0.15	1.69 ± 0.24	1.55 ± 0.18	1.67 ± 0.24	1.66 ± 0.20
B	1.59 ± 0.13	1.73 ± 0.21 ^a	1.68 ± 0.17	1.66 ± 0.15	1.66 ± 0.13	1.73 ± 0.18	1.66 ± 0.13	1.59 ± 0.17	1.68 ± 0.14	1.63 ± 0.13	1.73 ± 0.14	1.67 ± 0.18
C	1.47 ± 0.14	1.57 ± 0.06	1.63 ± 0.17	1.61 ± 0.20	1.61 ± 0.17	1.63 ± 0.16	1.57 ± 0.23	1.59 ± 0.15	1.52 ± 0.12	1.64 ± 0.14	1.62 ± 0.17	1.64 ± 0.13
D	1.43 ± 0.09 ^b	1.56 ± 0.12	1.74 ± 0.18 ^b	1.76 ± 0.12	1.83 ± 0.11	1.73 ± 0.11	1.79 ± 0.15	1.88 ± 0.20	1.80 ± 0.19	1.87 ± 0.15	1.84 ± 0.11	1.61 ± 0.12
E	1.54 ± 0.18 ^{c,d}	2.10 ± 0.20 ^{a,c,g}	3.23 ± 0.24 ^{d,h}	3.41 ± 0.15 ⁱ	2.98 ± 0.25 ^j	2.17 ± 0.32	2.12 ± 0.40 ^k	2.03 ± 0.20 ^l	2.02 ± 0.35 ^m	1.86 ± 0.33 ⁿ	1.99 ± 0.31 ^o	1.96 ± 0.38
F	1.59 ± 0.24 ^{e,f}	2.61 ± 0.79 ^{a,g}	4.53 ± 0.56 ^{f,h}	4.44 ± 0.20 ⁱ	4.16 ± 0.24 ^j	2.54 ± 0.53	2.38 ± 0.52 ^k	2.28 ± 0.28 ^l	2.35 ± 0.42 ^m	2.19 ± 0.18 ⁿ	2.39 ± 0.64 ^o	2.04 ± 0.39

所有數據以 Mean ± S.D. 表示，單位：CM H₂O/L/S，天竺鼠數目從 6 隻到 30 隻。表中各數值右邊相同英文字母進行 Duncan's Multiple Range Test 比較，有顯著差異。a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k,l,m,n,o 表示 p < 0.05。

A：未致敏，1% 卵蛋白激發。

B：1% 卵蛋白致敏，0.9% 生理食鹽水激發。

C：1% 卵蛋白致敏，0.1% 卵蛋白激發。

D：1% 卵蛋白致敏，0.5% 卵蛋白激發。

E：1% 卵蛋白致敏，1% 卵蛋白激發。

F：1% 卵蛋白致敏，2% 卵蛋白激發。

一、不同卵蛋白過敏原濃度激發對呼吸道阻力之影響

呼吸道阻力於卵蛋白過敏原原激發前、激發後 1 分鐘、5 分鐘、15 分鐘、30 分鐘、1 小時、2 小時、3 小時、4 小時、5 小時、6 小時及 24 小時，各測量呼吸道阻力至少三次。各組呼吸道阻力在激發前基準值沒有差異。未接觸過敏原之天竺鼠，直接以 1% 卵蛋白過敏原激發 1 分鐘無法引發氣喘（見 A 組）；已致敏天竺鼠用 0.9% 生理食鹽水激發 1 分鐘也無法引發氣喘（見 B 組）；已致敏天竺鼠用 0.1% 或 0.5% 卵蛋白過敏原激發 1 分鐘也無法引發氣喘（見 C 及 D 組）；雖然 D 組在激發後 5 分鐘和激發前相比，在統計上有顯著差異，天竺鼠在外觀上也顯現不安、躁動，呼吸頻率加快，但離氣喘發作仍有一段距離。祇有用 1% 或 2% 卵蛋白過敏原激發一分鐘才會引發天竺鼠於激發後 5 分鐘及 15 分鐘明顯的即時型氣喘，且以 2% 卵蛋白過敏原激發引起呼吸道阻力之增加明顯高於以 1% 卵蛋白過敏原激發（2% OVA 5 分鐘 4.53 ± 0.56 cm/l/s，15 分鐘 4.44 ± 0.20 cm/l/s，1% OVA 5 分鐘 3.23 ± 0.24 cm/l/s，15 分鐘 3.41 ± 0.15 cm/l/s），二者相比較在統計上有顯著差異；在遲發型氣喘中，仍以 2% 卵蛋白過敏原激發引起呼吸道阻力之增加明顯高於以 1% 卵蛋白過敏原激發，二者相比較在統計上有顯著差異（見表二）。以 1% 或 2% 卵蛋白過敏原激發致敏天

竺鼠都會出現即時型氣喘，在 1 % 卵蛋白過敏原激發之天竺鼠中，有 6.67 % 之天竺鼠出現遲發型氣喘，但在 2 % 卵蛋白過敏原激發之天竺鼠中，有 47.36 % 之天竺鼠出現遲發型氣喘。

二、柴朴湯對卵蛋白過敏原激發後呼吸道阻力之影響

呼吸道阻力於卵蛋白過敏原激發前、激發後 1 分鐘、5 分鐘、15 分鐘、30 分鐘、1 小時、2 小時、3 小時、4 小時、5 小時、6 小時及 24 小時，各測量呼吸道阻力至少三次，各組呼吸道阻力在激發前基準值沒有差異；天竺鼠以 2 % 卵蛋白過敏原激發 1 分鐘後，對照組及實驗組之呼吸道阻力明顯高於以 1 % 卵蛋白過敏原激發時對照組及實驗組之呼吸道阻力，二者在統計上有顯著的差異；當激發後 5 分鐘，以 2 % 卵蛋白過敏原激發之對照組（ 4.53 ± 0.56 cm/l/s）及實驗組（ 4.46 ± 0.72 cm/l/s）其呼吸道阻力沒有任何差異，但以 1 % 卵蛋白過敏原激發之對照組（ 3.23 ± 0.24 cm/l/s），其呼吸道阻力明顯高於實驗組（ 2.36 ± 0.22 cm/l/s），而以 1 % 卵蛋白過敏原激發實驗組之呼吸道阻力仍高於基準值（ 1.58 ± 0.17 cm/l/s），二者在統計上有顯著的差異；在激發後 15 分鐘的呼吸道阻力和激發後 5 分鐘非常類似，仍以 1 % 卵蛋白過敏原激發實驗組之呼吸道阻力效果最好；柴朴湯對 2 % 卵蛋白過敏原激發引起的遲發型氣喘作用有限（見表三）。在 1 % 卵蛋白過敏原激發之實驗組中，沒有出現遲發性氣喘，但在 2 % 卵蛋白過敏原激發之實驗組中，有 38.89 % 出現遲發性氣喘。

三、不同卵蛋白濃度激發對呼吸道乙酰膽鹼反應性（PC200-Rrs-Ach）之影響

呼吸道對乙酰膽鹼反應性於卵蛋白過敏原激發前 24 小時、激發後 6 小時及 24 小時實施，以 PC200-Rrs-ACh 表示之，所有數值已轉換為對數值；未致敏以 1 % 卵蛋白激發之天竺鼠，其激發後 6 小時及 24 小時之 PC200-Rrs-Ach 值（ 3.05 ± 0.18 μ g/ml， 3.08 ± 0.18 μ g/ml）和正常組之值（ 3.04 ± 0.15 μ g/ml）相比較無差異；PC200-Rrs-Ach 值在致敏後未激發前 24 小時（ 2.70 ± 0.15 μ g/ml）、0.9 % 生理食鹽水激發後 6 小時（ 2.68 ± 0.17 μ g/ml）及 24 小時（ 2.78 ± 0.21 μ g/ml）彼此間相比較無差異性，但和正常組比較有顯著差異。致敏天竺鼠在以 1 % 或 2 % 卵蛋白激發後 6 小時之 PC200-Rrs-Ach 值（ 2.33 ± 0.17 μ g/ml， 2.14 ± 0.30 μ g/ml），二者間無差異，但同一時間和致敏後 0.9 % 生理食鹽水激發之值（ 2.68 ± 0.17 μ g/ml）相比較，在統計上有顯著差異；激發後 24 小時，以 1 % 卵蛋白激發天竺鼠之 PC200-Rrs-Ach 值（ 2.80 ± 0.22 μ g/ml）高於以 2 % 卵蛋白激發天竺鼠之 PC200-Rrs-Ach 值（ 2.57 ± 0.18 μ g/ml），但在統計上沒有顯著差異，二組之 PC200-Rrs-Ach 值都高於激發後 6 小時，在統計上有顯著差異（見表四）。

四、柴朴湯在 1 % 或 2 % 卵蛋白激發後對呼吸道乙酰膽鹼反應性之影響

呼吸道對乙酰膽鹼反應性於卵蛋白過敏原激發前 24 小時、激發後 6 小時及 24 小時實

表三、對照組及實驗組天竺鼠於卵蛋白過敏原激發後不同時間之呼吸道阻力

組別	激發前	激發後										
		1分鐘	5分鐘	15分鐘	30分鐘	1小時	2小時	3小時	4小時	5小時	6小時	24小時
A	1.54 ± 0.18	2.10 ± 0.20	3.23 ± 0.24^c	3.41 ± 0.15^d	2.98 ± 0.25^e	2.17 ± 0.32	2.12 ± 0.40	2.03 ± 0.20	2.02 ± 0.35	1.86 ± 0.33	1.99 ± 0.31	1.96 ± 0.38
B	$1.58 \pm 0.17^{a,b}$	1.97 ± 0.10^a	$2.36 \pm 0.22^{b,c}$	2.15 ± 0.13^d	2.07 ± 0.10^e	1.97 ± 0.17	2.00 ± 0.18	1.98 ± 0.15	1.96 ± 0.30	1.93 ± 0.17	1.84 ± 0.19	1.82 ± 0.24
C	1.59 ± 0.24	2.61 ± 0.79	4.53 ± 0.56	4.44 ± 0.20	4.16 ± 0.24	2.54 ± 0.53	2.38 ± 0.52	2.28 ± 0.28	2.35 ± 0.42	2.19 ± 0.18	2.39 ± 0.64	2.04 ± 0.39
D	1.66 ± 0.21	2.66 ± 0.95	4.46 ± 0.72	4.22 ± 0.47	3.67 ± 0.73	2.54 ± 0.45	2.63 ± 0.52	2.29 ± 0.27	2.35 ± 0.50	2.23 ± 0.36	2.32 ± 0.50	1.97 ± 0.59

所有數據以 Mean \pm S.D. 表示，單位：CM H₂O/L/S，天竺鼠數目從 6 隻到 19 隻。表中各數值右邊相同英文字母進行 Duncan's Multiple Range Test 比較，有顯著差異。a,b,c,d,e 表示 $p < 0.05$ 。

- A：1 % 卵蛋白致敏，1 % 卵蛋白激發，對照組。
 B：1 % 卵蛋白致敏，1 % 卵蛋白激發，實驗組。
 C：2 % 卵蛋白致敏，2 % 卵蛋白激發，對照組。
 D：2 % 卵蛋白致敏，2 % 卵蛋白激發，實驗組。

表四、各組致敏天竺鼠於卵蛋白激發前後不同時間之乙醯膽鹼反應性 (PC200-Rrs-Ach)

組別	激發種類、濃度 (n=6)	激發前		激發後	
		24 小時 (n=6)	6 小時 (n=6)	24 小時 (n=6)	24 小時 (n=6)
正常組		3.04 ± 0.15 ^a			
未致敏	1% 卵蛋白		3.05 ± 0.18	3.08 ± 0.18	
已致敏	0.9% 生理食鹽水	2.70 ± 0.15 ^d	2.68 ± 0.17 ^{b,c}	2.78 ± 0.21 ^a	
已致敏	1% 卵蛋白		2.33 ± 0.17 ^{b,d,e}	2.80 ± 0.22 ^e	
已致敏	2% 卵蛋白		2.14 ± 0.30 ^{c,f}	2.57 ± 0.18 ^f	

所有數據以 Mean ± S.D. 表示，單位：ug/ml，表中各數值右邊相同英文字母進行 Duncan's Multiple Range Test 比較，有顯著差異。a,b,c,d,e,f 表示 p<0.05。所有數值已轉換成對數值。

施，以 PC200-Rrs-Ach 表示之，所有數值已轉換為對數值；天竺鼠之對照組和實驗組在激發前 24 小時，其 PC200-Rrs-Ach 值 (2.70 ± 0.15 μg/ml, 2.85 ± 0.09 μg/ml) 在統計上無差異性存在，對照組和實驗組之 PC200-Rrs-Ach 值和正常組相比較，則正常組和實驗組之 PC200-Rrs-Ach 值在統計上無差異性存在，但正常組和對照組之 PC200-Rrs-Ach 值在統計上有顯著差異。天竺鼠之實驗組以 1% 卵蛋白激發後 6 小時及 24 小時之 PC200-Rrs-Ach 值和激發前 24 小時之 PC200-Rrs-Ach 值相比較，在統計上無差異性。天竺鼠以 2% 卵蛋白激發後 6 小時之對照組、實驗組和以 1% 卵蛋白激發後之對照組，三組間之 PC200-Rrs-Ach 值 (2.14 ± 0.30 μg/ml, 2.29 ± 0.27 μg/ml, 2.33 ± 0.17 μg/ml) 在統計上無差異性存在，三組之 PC200-Rrs-Ach 值低於激發前之實驗組及對照組，在統計上有顯著差異；天竺鼠以 1% 或 2% 卵蛋白激發後 24 小時之對照組及實驗組，四組之 PC200-Rrs-Ach 值在統計上無差異性，但以 2% 卵蛋白激發後之對照組其 PC200-Rrs-Ach 值 (2.57 ± 0.18 μg/ml) 最低 (見表五)。

五、1% 或 2% 卵蛋白濃度激發後不同時間對支氣管肺泡沖洗液中白血球之影響

支氣管肺泡沖洗液檢查於 1% 卵蛋白激發後 2 小時、4 小時、6 小時及 24 小時實施，於 2% 卵蛋激發後 6 小時及 24 小時實施。致敏天竺鼠在以 1% 卵蛋白激發後，嗜酸性白血球數目隨著時間而增加，於 24 小時後達到最高峰，

表五、對照組及實驗組天竺鼠於卵蛋白激發前後不同時間之乙醯膽鹼反應性 (PC200-Rrs-Ach)

激發 濃度	正常組		對照組		實驗組	
	激發前 24 小時 (n=6)	激發後 6 小時 (n=6)	激發前 24 小時 (n=6)	激發後 24 小時 (n=10)	激發前 6 小時 (n=6)	激發後 24 小時 (n=6)
	3.04 ± 0.15 ^a	2.70 ± 0.15 ^{a,b}		2.85 ± 0.09		
1%		2.33 ± 0.17 ^{b,c}	2.80 ± 0.22		2.89 ± 0.15 ^{c,d}	2.90 ± 0.19
2%		2.14 ± 0.30	2.57 ± 0.18		2.29 ± 0.27 ^{d,e}	2.70 ± 0.13 ^e

所有數據以 Mean ± S.D. 表示，單位：ug/ml，表中各數值右邊相同英文字母進行 Duncan's Multiple Range Test 比較，有顯著差異。a,b,c,d,e 表示 p<0.05。所有數值已轉換成對數值。

和以 2% 卵蛋白激發後 6 小時及 24 小時相比較，則後者 (2% OVA 6 小時 23.63 ± 1.78%，24 小時 41.53 ± 2.72%) 高於前者 (1% OVA 6 小時) 20.58 ± 1.53%，24 小時 34.06 ± 1.48%)，這些數值和致敏後以 0.9% 生理食鹽水激發或未致敏以 1% 卵蛋白激發相比較，彼此間在統計上有顯著差異。細胞總數和白血球也有類似的情形，單核球的百分率則隨時間增加而逐漸減少，但細胞總數則隨時間增加而逐漸增加，於 24 小時達高峰 (見表六)。

六、柴朴湯對 1% 或 2% 卵蛋白激發後 6 小時及 24 小時支氣管肺泡沖洗液中白血球之影響

支氣管肺泡沖洗液檢查於 1% 或 2% 卵蛋白激發後 6 小時及 24 小時實施。以 1% 卵蛋白激發後 6 小時及 24 小時，實驗組支氣管肺泡沖洗液中之細胞總數 (6 小時 4.65 ± 1.02 × 10⁶ / mm³, 24 小時 8.31 ± 0.97 × 10⁶ / mm³)、嗜酸性白血球百分率 (6 小時 13.50 ± 1.39%，24 小時 22.67 ± 1.97%)、嗜中性白血球百分率 (6 小時 6.67 ± 0.70%，24 小時 6.17 ± 1.46%) 之值較對照組為低 (細胞總數 6 小時 10.82 ± 1.04 × 10⁶ / mm³, 24 小時 16.79 ± 1.90 × 10⁶ / mm³, 嗜酸性白血球百分率 6 小時 20.58 ± 1.53%，24 小時 34.06 ± 1.48%，嗜中性白血球百分率 6 小時 11.54 ± 2.79%，24 小時 9.22 ± 1.17%)，兩者相比較在統計上有顯著差異。以 2% 卵蛋白激發後 6 小時及 24 小時，實驗組支氣管肺泡沖洗液中之細胞總數、嗜酸性白血球百分率、嗜中性白血球百分率和對照

表六、各組天竺鼠於卵蛋白激發後支氣管肺泡沖洗後中白血球分佈之時程

組別 (n=6)	細胞總數 ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	嗜酸性 白血球 (%)	嗜中性 白血球 (%)	淋巴球 (%)	單核球 (%)
正常組	1.37 \pm 0.24	1.55 \pm 0.54	2.22 \pm 0.40	1.00 \pm 0.30	95.22 \pm 0.54
未致敏, 1%卵蛋白激發後 6 小時	1.69 \pm 0.16	2.50 \pm 0.69	3.29 \pm 0.82	1.33 \pm 0.40	92.87 \pm 1.22
未致敏, 1%卵蛋白激發後 24 小時	1.71 \pm 0.16	3.33 \pm 0.56	2.67 \pm 1.14	1.44 \pm 0.35	92.56 \pm 1.31
已致敏, 0.9%生理食鹽水 6 小時	2.68 \pm 0.31	6.89 \pm 0.75	3.28 \pm 0.97	1.17 \pm 0.50	88.67 \pm 1.25
已致敏, 0.9%生理食鹽水 24 小時	2.66 \pm 0.39	6.78 \pm 0.62	2.56 \pm 0.40	1.33 \pm 0.84	89.33 \pm 0.82
已致敏, 1%卵蛋白激發後 2 小時	5.42 \pm 0.47	8.56 \pm 0.65	5.89 \pm 1.03	1.28 \pm 0.49	84.28 \pm 1.53
已致敏, 1%卵蛋白激發後 4 小時	6.96 \pm 0.79 ^a	11.89 \pm 0.46	7.00 \pm 1.01	1.39 \pm 0.49	79.92 \pm 0.88
已致敏, 1%卵蛋白激發後 6 小時	10.82 \pm 1.04 ^a	20.58 \pm 1.53 ^c	11.54 \pm 2.79 ^e	1.63 \pm 0.45	66.25 \pm 2.22 ^g
已致敏, 1%卵蛋白激發後 24 小時	16.79 \pm 1.90 ^b	34.06 \pm 1.48 ^d	9.22 \pm 1.17 ^f	1.39 \pm 0.49	55.33 \pm 2.47 ^h
已致敏, 2%卵蛋白激發後 6 小時	12.51 \pm 1.54	23.63 \pm 1.78 ^c	13.40 \pm 1.48 ^e	1.30 \pm 0.33	61.67 \pm 2.18 ^g
已致敏, 2%卵蛋白激發後 24 小時	35.40 \pm 3.00 ^b	41.53 \pm 2.72 ^d	13.40 \pm 1.31 ^f	1.30 \pm 0.51	43.77 \pm 2.23 ^h

所有數據以 Mean \pm S.D. 表示, 表中各數值右邊相同英文字母進行 Duncan's Multiple Range Test 比較, 有顯著差異。a,b,c,d,e,f,g,h 表示 $P < 0.05$ 。

表七、對照組及實驗組於卵蛋白激發後 6 及 24 小時支氣管肺泡沖洗液中白血球之分佈

組別 (n=6)	細胞總數 ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	嗜酸性 白血球 (%)	嗜中性 白血球 (%)	淋巴球 (%)	單核球 (%)
1%卵蛋白激發後 6 小時 對照組	10.82 \pm 1.04 ^{a,i}	20.58 \pm 1.53 ^{b,k}	11.54 \pm 2.79 ^{c,m}	1.63 \pm 0.45	66.25 \pm 2.22 ^{d,o}
實驗組	6.45 \pm 1.02 ^{a,j}	13.50 \pm 1.39 ^{b,l}	6.67 \pm 0.70 ^{c,n}	1.11 \pm 0.50	78.72 \pm 1.65 ^{d,p}
1%卵蛋白激發後 24 小時 對照組	16.79 \pm 1.90 ^e	34.06 \pm 1.48 ^f	9.22 \pm 1.17 ^g	1.39 \pm 0.49	55.33 \pm 2.47 ^h
實驗組	8.31 \pm 0.97 ^e	22.67 \pm 1.97 ^f	6.17 \pm 1.46 ^g	1.33 \pm 0.42	69.83 \pm 2.68 ^h
2%卵蛋白激發後 6 小時 對照組	12.51 \pm 1.54 ⁱ	23.63 \pm 1.78 ^k	13.40 \pm 1.48 ^m	1.30 \pm 0.33	61.67 \pm 2.18 ^o
實驗組	10.93 \pm 1.47 ⁱ	20.81 \pm 1.15 ^l	12.19 \pm 1.77 ⁿ	1.19 \pm 0.50	65.82 \pm 1.42 ^p
2%卵蛋白激發後 24 小時 對照組	35.40 \pm 3.00	41.53 \pm 2.72	13.40 \pm 1.31	1.30 \pm 0.51	43.77 \pm 2.56
實驗組	31.54 \pm 2.64	38.53 \pm 1.83	11.34 \pm 1.59	1.20 \pm 0.36	48.93 \pm 2.23

所有數據以 Mean \pm S.D. 表示, 表中各數值右邊相同英文字母進行 Duncan's Multiple Range Test 比較, 有顯著差異。a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k,l,m,n,o,p 表示 $P < 0.05$ 。

表八、致敏天竺鼠於卵蛋白激發後不同時間於支氣管及細支氣管嗜酸性白血球之細胞浸潤

天竺鼠 (n=6)	支氣管		細支氣管	
	黏膜下層	外膜層	黏膜下層	外膜層
正常組	1.50 \pm 1.05	2.83 \pm 1.47	0.83 \pm 0.75	1.67 \pm 1.21
已致敏, 生理食鹽水激發	21.00 \pm 7.27	37.67 \pm 8.91	5.00 \pm 1.41	10.17 \pm 1.94
未致敏, 1%卵蛋白激發	7.17 \pm 2.14	13.17 \pm 2.93	3.33 \pm 1.21	5.50 \pm 2.26
已致敏, 1%卵蛋白激發後 2 小時	119.00 \pm 40.54	200.50 \pm 43.14	80.67 \pm 20.15	111.67 \pm 12.97
已致敏, 1%卵蛋白激發後 4 小時	481.33 \pm 101.52	858.67 \pm 169.88	439.50 \pm 32.44	776.50 \pm 55.26
已致敏, 1%卵蛋白激發後 6 小時	1098.00 \pm 119.06 ^a	1714.83 \pm 239.73 ^c	746.17 \pm 39.53 ^e	1554.33 \pm 119.31 ^g
已致敏, 1%卵蛋白激發後 24 小時	705.33 \pm 124.62 ^b	1134.83 \pm 107.68 ^d	559.83 \pm 57.71 ^f	957.33 \pm 102.31 ^h
已致敏, 2%卵蛋白激發後 6 小時	1528.83 \pm 80.22 ^a	1966.67 \pm 98.05 ^c	1338.17 \pm 110.90 ^e	1824.33 \pm 133.91 ^g
已致敏, 2%卵蛋白激發後 24 小時	901.17 \pm 102.89 ^b	1395.00 \pm 101.07 ^d	842.00 \pm 61.12 ^f	1276.83 \pm 54.18 ^h

所有數據以 Mean \pm S.D. 表示, 單位: cell/mm^2 , 表中各數值右邊相同英文字母進行 Duncan's Multiple Range Test 比較有顯著差異。a,b,c,d,e,f,g,h 表示 $P < 0.05$ 。

表九、對照組及實驗組天竺鼠於卵蛋白激發後 6 及 24 小時於支氣管及細支氣管嗜酸性白血球之細胞浸潤

天竺鼠 (n=6)	支氣管		細支氣管		
	黏膜下層	外膜層	黏膜下層	外膜層	
已致敏, 1%卵蛋白激發後 6 小時	對照組	1098.00 ± 119.06 ^a	1714.83 ± 239.73 ^c	746.17 ± 39.53 ^e	1554.33 ± 119.31 ^g
	實驗組	416.00 ± 76.61 ^a	747.00 ± 82.81 ^c	354.33 ± 50.45 ^e	604.33 ± 70.37 ^g
已致敏, 1%卵蛋白激發後 24 小時	對照組	705.33 ± 124.62 ^b	1134.83 ± 107.68 ^d	559.83 ± 57.71 ^f	957.33 ± 102.31 ^h
	實驗組	317.33 ± 28.33 ^b	531.50 ± 45.15 ^d	276.67 ± 23.42 ^f	517.00 ± 38.82 ^h
已致敏, 2%卵蛋白激發後 6 小時	對照組	1528.83 ± 80.22	1966.67 ± 98.05	1338.17 ± 110.90	1824.33 ± 133.91
	實驗組	1450.33 ± 113.21	1842.00 ± 138.02	1264.83 ± 110.84	1726.83 ± 119.31
已致敏, 2%卵蛋白激發後 24 小時	對照組	901.17 ± 102.89	1395.00 ± 107.07	842.00 ± 61.12	1276.83 ± 54.18
	實驗組	847.33 ± 23.18	1335.33 ± 95.11	799.67 ± 62.30	1192.83 ± 81.86

所有數據以 Mean ± S.D. 表示, 單位: cell/mm², 表中各數值右邊相同英文字母進行 Duncan's Multiple Range Test 比較有顯著差異。a,b,c,d,e,f,g,h 表示 P<0.05。

組相比有減少些, 在統計上無差異性。以 2% 卵蛋白激發後其對照組及實驗組之細胞總數、嗜酸性白血球百分率、嗜中性白血球百分率都較 1% 卵蛋白激發後之對照組及實驗組為高, 在統計上有顯著差異 (見表七)。

七、卵蛋白激發後嗜酸性白血球於呼吸道組織浸潤之時程

嗜酸性白血球於呼吸道組織浸潤之檢查於 1% 卵蛋白激發後 2 小時、4 小時、6 小時及 24 小時實施, 於 2% 卵蛋白激發後 6 小時及 24 小時實施。正常組、已致敏生理食鹽水激發或未致敏以 1% 卵蛋白激發之天竺鼠, 呼吸道組織之嗜酸性白血球浸潤相當稀少。致敏天竺鼠在以 1% 卵蛋白激發後, 嗜酸性白血球於呼吸道組織浸潤之數目隨時間而增加, 於 6 小時達到高峰, 24 小時後逐漸減少。以 2% 卵蛋白激發後 6 小時及 24 小時, 嗜酸性白血球於呼吸道組織之浸潤較以 1% 卵蛋白激發為高, 在統計上有顯著差異 (見表八)。

八、柴朴湯對 1% 或 2% 卵蛋白激發後 6 小時和 24 小時嗜酸性白血球於呼吸道黏膜浸潤之影響

嗜酸性白血球於呼吸道組織浸潤之檢查於 1% 或 2% 卵蛋白激發後 6 小時及 24 小時實施。以 1% 卵蛋白激發後 6 小時及 24 小時, 實驗組天竺鼠呼吸道黏膜之嗜酸性白血球浸潤數目較對照組減少, 兩者在統計上有顯著差異; 以 2

% 卵蛋白激發後 6 小時及 24 小時, 對照組及實驗組呼吸道黏膜之嗜酸性白血球浸潤數目沒有差異, 但比以 1% 卵蛋白激發後 6 小時及 24 小時呼吸道黏膜之嗜酸性白血球浸潤數目為高, 在統計上有顯著差異 (見表九)。

討 論

在本研究的動物模式中, 經由吸入性 1% 或 2% 卵蛋白過敏原的激發, 可以對致敏天竺鼠產生急時型氣喘及遲發型氣喘, 伴隨著呼吸道的過度反應性及嗜酸性白血球流入到呼吸道組織中; 柴朴湯可以抑制致敏天竺鼠在 1% 卵蛋白過敏原激發後的急性呼吸道阻塞, 抑制呼吸道之過度反應性, 減少支氣管肺泡沖洗液中嗜酸性白血球數目及呼吸道組織中嗜酸性白血球之浸潤數目; 當激發的卵蛋白過敏原濃度增加為 2% 時, 則上述治療作用會無效。

在許多研究氣喘的動物模式中, 由於遲發型氣喘採用的模式不同及定義的不一致, 研究報告結果也不相同, 如 Sugiyama 等人研究的氣喘動物模式中, 呼吸道阻力增加為原來基準值的 50% 為遲發型氣喘, 結果 100% 都產生遲發型氣喘; ¹¹ 在 Itoh 等人的研究報告中, 呼吸道阻力增加為原來基準值的 150% 為遲發型氣喘, 由於採用多次過敏原激發, 第一次過敏原激發有 50% 產生遲發型氣喘, 第二次過敏原激發

發有 87 % 產生遲發型氣喘，第三次過敏原激發結果和第二次非常類似；¹⁰ 在 Hutson 等人的研究報告中，並未定義遲發型氣喘，其研究結果為呼吸道傳導性降低為原來基準值的 47 % 左右為遲發型氣喘；¹²Varley 採用的定義是呼吸道阻力增加為原來基準值的 100 % 為遲發型氣喘，結果從 Hutson 等人的實驗數據發現祇有 27 % 天竺鼠產生遲發型氣喘；²⁷ 在本實驗中，採用的定義是呼吸道阻力增加為原來基準值的 100 % 為遲發型氣喘，結果是以 2 % 卵蛋白過敏原激發致敏天竺鼠，有 47.36 % 的致敏天竺鼠會產生遲發型氣喘，以 1 % 卵蛋白過敏原激發致敏天竺鼠，祇有 6.67 % 的致敏天竺鼠會產生遲發型氣喘。

在抗組織胺拮抗劑作用之下，致敏天竺鼠經 1 % 或 2 % 卵蛋白過敏原激發後都會產生即時型氣喘，且以 2 % 卵蛋白過敏原激發後產生的即時型氣喘較 1 % 卵蛋白過敏原激發後產生的即時型氣喘為嚴重；此種即時型氣喘認為是由組織胺之外的白三烯素或血小板活化因子所導致的支氣管痙攣；^{28,29} 柴朴湯可以抑制 1 % 卵蛋白過敏原激發後的急性支氣管痙攣，其作用機轉可能和此有關，當激發的卵蛋白過敏原濃度增加為 2 % 時，在此劑量下則無治療作用，其原因應該和激發的卵蛋白過敏原濃度過高或柴朴湯治療劑量不足有關。

目前研究氣喘的動物模式中，其致敏方法不一致，Itoh 等人研究的致敏方法為腹腔及皮下注射過敏原，七天後追加一次，¹⁰Hutson 等人研究的致敏方法採用吸入性致敏，七天後追加一次，¹²Seminario 等人研究的致敏方法為經氣管內的插管 (endotracheal tube) 致敏，³⁰ Toda 的致敏方法採用連續致敏十天；²³ 本研究採用 Toda 的致敏方法，但發現致敏天數越多，容易導致天竺鼠急性休克死亡，而將致敏方法稍為修改。

在本研究氣喘的動物模式中，過敏原激發後 2 至 6 小時會引起遲發型氣喘，其結果和 Itoh 及 Sugiyama 等人的研究報告相同，但 Hutson 的研究報告指出遲發型氣喘是在過敏原激發後的 17 到 24 小時才出現，此點和我們的

研究有些不同；Seminario 等人研究報告指出經由氣管內的插管給予過敏原激發祇有即時型氣喘，並未發現有遲發型氣喘，且嗜酸性白血球會流入到呼吸道，此點和我們的研究以 1 % 卵蛋白過敏原激發所得到結果是相同。^{27,30}

Seminario 等人研究認為無法產生遲發型氣喘與過敏原致敏的路徑及過敏原致敏和激發的劑量有關；在本研究中，當卵蛋白過敏原激發濃度從 1 % 提高到 2 % 時，確實會產生遲發型氣喘，證明遲發型氣喘的產生與過敏原激發的劑量有關；另外，本研究發現過敏原激發的濃度如果一次用的劑量太大，如本研究中用 10 % 卵蛋白過敏原激發 1 分鐘，在抗組織胺拮抗劑作用之下，仍造成 50 % 致敏天竺鼠急性休克死亡。

呼吸道的過度反應性是氣喘的重要特徵，對於其發生機轉仍不清楚，目前研究認為呼吸道的發炎現象和呼吸道的過度反應性彼此間有密切的關係，尤其是嗜酸性白血球，它在呼吸道的過度反應性的致病機轉中擔任非常重要角色，嗜酸性白血球會釋放主要基本蛋白質 (MBP) 及嗜酸性球陽離子蛋白 (ECP)，造成呼吸道黏膜的受損及上皮細胞的脫落，引起呼吸道的過度反應性。因此，為了證明嗜酸性白血球和呼吸道的過度反應性有所關聯，本研究探討在氣喘動物模式中，嗜酸性白血球於支氣管肺泡沖洗後、呼吸道組織之浸潤和呼吸道的過度反應性，三者間的關係如何，並探討柴朴湯對三者間的作用如何。

本研究中，致敏天竺鼠經卵蛋白過敏原激發後 24 小時，其支氣管肺泡沖洗液中嗜酸性白血球數目達到高峰，嗜酸性白血球於呼吸道組織之浸潤數目於卵蛋白過敏原激發後 6 小時達到高峰，但呼吸道之過度反應性於卵蛋白過敏原激發後 6 小時最高，說明呼吸道之過度反應性和嗜酸性白血球於呼吸道組織之浸潤最有關係。服用柴朴湯之致敏天竺鼠經 1 % 卵蛋白過敏原激發後 6 和 24 小時，其嗜酸性白血球於呼吸道組織之浸潤數目、支氣管肺泡沖洗液中嗜酸性白血球數目，都有顯著的減少，呼吸道之過度反應性於卵蛋白過敏原激發後 6 小時和激

發前相同，說明嗜酸性白血球於呼吸道組織之浸潤數目的減少及支氣管肺泡沖洗液中嗜酸性白血球數目的減少，能降低呼吸道之過度反應性；比較服用柴朴湯前後的差異，可以證明呼吸道之過度反應性和嗜酸性白血球於呼吸道組織之浸潤最有關聯，而非支氣管肺泡沖洗液中之嗜酸性白血球，此結果和 Yamada 等人研究結果相同。³¹ 本研究同時發現以 2% 卵蛋白過敏原激發引起的呼吸道過度反應性比以 1% 卵蛋白過敏原激發引起的呼吸道過度反應性為高。

致敏天竺鼠在卵蛋白過敏原激發之前，和未經任何處理之天竺鼠比較，已產生呼吸道過度反應性，說明致敏過程已使呼吸道黏膜上皮細胞受損，上皮細胞的滲透性改變，³² 降低黏膜的保護功能；Widdicombe 的研究報告指出在呼吸道黏膜上皮細胞間的緊密結合（tight junction）之下方有副交感感覺神經末梢分佈，當上皮細胞間的緊密結合受損時，會致敏其下方的接受器，產生呼吸道之過度反應性，³³ 由於科技的進步，臨床上經由電子顯微鏡證明確實如此。³⁴

致敏天竺鼠在卵蛋白過敏原激發之後 24 小時，呼吸道過度反應性和激發前在統計上無差異，表示在此動物氣喘模式下，呼吸道之過度反應性為暫時性；³⁵ Ishida 等人採用多次過敏原激發（每週 2 次，連續 4 到 6 週），³⁶ 在最後一次過敏原激發後第 3 天會有呼吸道過度反應性；雖然多次過敏原激發可延長呼吸道過度反應性消失的時間，但仍然屬於暫時性；此點和人類的氣喘是不相同的，如果氣喘病人的呼吸道過度反應性是屬於遺傳性，則病人的呼吸道過度反應性會終生持續存在；如果病人的呼吸道過度反應性是後天的某個因素而得到，則呼吸道之過度反應性可自動或經由治療而消失。

³⁷

服用柴朴湯之致敏天竺鼠，在卵蛋白過敏原激發之前 24 小時，呼吸道過度反應性和正常之天竺鼠在統計上無差異存在，表示柴朴湯有保護呼吸道黏膜之功能，此種保護功能在以 1% 卵蛋白過敏原激發後 6 小時及 24 小時得以繼續

發揮其保護功能，未服用柴朴湯之天竺鼠在卵蛋白過敏原激發之前及之後 6 小時及 24 小時則看不到此效果；當卵蛋白過敏原激發濃度從 1% 提高到 2% 時，氣喘發作，產生呼吸道過度反應性，說明柴朴湯在較低劑量（1% 卵蛋白）過敏原激發時有抑制氣喘發作（無法完全阻止呼吸道阻力增加），阻止過敏原激發產生之呼吸道過度反應性，但在較高劑量（2% 卵蛋白）過敏原激發下則沒有效果。

柴朴湯乃結合東漢·張仲景《傷寒論》的小柴胡湯及《金匱要略》的半夏厚朴湯兩方所組成，本研究發現以 1% 或 2% 卵蛋白過敏原激發後引起嗜酸性白血球於呼吸道組織之浸潤數目有明顯的增加；柴朴湯祇對 1% 卵蛋白過敏原激發引起的嗜酸性白血球浸潤數目增加有抑制作用，因此推測其抑制作用可能源於小柴胡湯或半夏厚朴湯，但是 Toda 等人發現此兩方和柴朴湯互相比較效果不顯著，祇有柴朴湯才有此作用；此種情形同樣發生於呼吸道的過度反應性，小柴胡湯或半夏厚朴湯對於卵蛋白過敏原激發引起的呼吸道過度反應性作用不顯著，祇有柴朴湯才能達到抑制卵蛋白過敏原激發引起的呼吸道過度反應性。²³

結論，在清醒、致敏化天竺鼠動物模式中，柴朴湯可以抑制致敏天竺鼠以 1% 卵蛋白過敏原激發後的急性呼吸道阻塞，抑制呼吸道之過度反應性，減少支氣管肺泡沖洗液中嗜酸性白血球數目及呼吸道組織中嗜酸性白血球之浸潤數目；當激發的卵蛋白過敏原濃度增加為 2% 時，上述諸現象會消失，取而代之是急性呼吸道阻塞，產生呼吸道之過度反應性，支氣管肺泡沖洗液中嗜酸性白血球數目及呼吸道組織中嗜酸性白血球之浸潤數目增加；對於 2% 卵蛋白過敏原激發後引起的遲發型氣喘作用有限。此表示臨床上柴朴湯對較低劑量（1% 卵蛋白）過敏原引起之氣喘應有相當療效，但對較高劑量（2% 卵蛋白）過敏原之刺激則效果不彰。

參考文獻

1. American Thoracic Society. Definitions

- and classification of chronic bronchitis, asthma and pulmonary emphysema. *Am Rev Respir Dis* 1962;85:762-768.
2. McFadden ER, Gilbert LA. Asthma. *N Engl J Med* 1992;327:1928-1937.
 3. Turner-Warwick M. Epidemiology of nocturnal asthma. *Am J Medicine* 1988;85 (Suppl 1B) :6-8.
 4. Global Strategy for asthma management and prevention. NHLBI/WHO workshop report 1994;34-36.
 5. Oosterhoff Y, Timens W, Postma DS. The role of airway inflammation in the pathophysiology of nocturnal asthma. *Clin Exp Allergy* 1995;25:915-921.
 6. Gleich GJ. The eosinophil and bronchial asthma : Current understanding. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:422-436.
 7. Ulrik C.S. Peripheral eosinophil counts as a maker of disease activity in intrinsic and extrinsic asthma. *Clin Exp Allergy* 1995;25: 820-827.
 8. Azzawi M, Johnston PW, Majumdar S, Kay AB, Jeffery PK. T lymphocytes and activated eosinophils in airway mucosa in fatal asthma and cystic fibrosis. *Am Respir Dis* 1992;145:1477-1482.
 9. Santing RE, Olymulder CG, Zaagsma J, Meurs H. Relationship among allergen-induced early and late phase airway obstructions, bronchial hyperreactivity, and inflammation in conscious, untrained guinea pigs. *J Allergy Clin Immunol* 1994;93(6):1021-1030.
 10. Itoh K, Takahashi E, Mukaiyama O, Satoh Y, Yamaguchi T. Relationship between airway eosinophil and airway hyperresponsiveness in a late asthmatic model of guinea pigs. *Int Arch Allergy Immunol* 1996;109:86-94.
 11. Sugiyama H, Eda R, Okada C, Hopp RJ, Bewtra AK, Townley RG. Eosinophil accumulation and activation in antigen-induced late asthmatic response in guinea pigs. *Jour-
nal of asthma* 1995;32(1):37-45.
 12. Huston PA, Church MK, Clay TP, Miller P, Holgate ST. Early and late phase bronchoconstriction after allergen challenge of nonanesthetized guinea pigs : the association of disordered airway physiology to leukocyte infiltration. *Am Rev Respir Dis* 1988;137:548-557.
 13. Cockcroft DW, Ruffin RE, Dolovich J, Hargreave FE. Allergen-induced increase in non-allergic bronchial reactivity. *Clin Allergy* 1977;7:503-513.
 14. Motojima S, Frigas E, Loegering DA, Gleich GJ. Toxicity of eosinophil cationic protein for guinea pig tracheal epithelium. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:801-805.
 15. 吳國定，傷寒論，正中書局，台北，1983，300-320。
 16. 楊向輝，金匱要略注釋，正中書局，台北，1986，267。
 17. 石曾淑、張進臣，小柴胡湯加味治療過敏性哮喘 50 例，山東中醫雜誌，1991；10(1)：17-18。
 18. 路國森，小柴胡湯治療過敏性哮喘，四川中醫，1992；3：17。
 19. 張立華，小柴胡湯化裁治哮喘定時性發作 41 例，中醫研究，1993；1：35。
 20. 劉殿青，半夏厚朴湯臨證應用，江蘇中醫，1980；6：32。
 21. Nagano H, Kobayashi S, Nakajima S, Egashira Y. Long-term clinical evaluation of Saiboku-To, an anti-asthmatic agent, in the treatment of bronchial asthma (multicenter open trial) . *Respiration Research* 1988;7:76-87. (in Japanese)
 22. Homma M, Oka K, Niitsuma T, Itoh H. A novel 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor contained in Saiboku-To, a herbal remedy for steroid-dependent bronchial asthma. *J Pharm Pharmacol* 1994;46:305-309.
 23. Toda M, Motojima S, Fukuda T, Makino S. Effect of an herbal preparation, Saiboku-

- to (TJ-96) , on antigen-induced airway hyperresponsiveness and eosinophil infiltration in actively sensitized guinea pigs. *Annals New York Acad Sci* 1993;685:561-571.
- 24.Homma M, Oka K, Kobayashi H, Niitsuma T, Yamamoto S, Itoh H, Takahashi N. Impact of free magnolol excretions in asthmatic patients who responded well to Saiboku-To, a Chinese herbal medicine. *J Pharm Pharmacol* 1993;45:844-846.
- 25.Mead J. Control of respiratory frequency. *J Appl Physiol* 1960;15:325-326.
- 26.Asano M, Inoue H, Ichinose M, Okada S, Takishima T. Possible mechanisms of airway hyperresponsiveness after late asthmatic reponse in guinea pigs. *Int Arch Allergy Immunol* 1994;103:88-94.
- 27.Varley JG, Seminario MC, Campos MG, Church MK. Allergen-induced airway changes in conscious guinea pigs. In : *New concepts in asthma*. Tarayre JP, Vargaftig B, Carilla E. (eds.) .Macmillan Press Ltd., London, 1993;36-49.
- 28.Dahlen SE, Hansson G, Hedqvist P, Bjorck T, Granstrom E, Dahlen B. Antigen challenge of lung tissue from asthmatics elicits bronchial contraction that correlates with the release of leukotrienes C4, D4, and E4. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983;80:1712-1716.
- 29.Chand N, Hess FG, Nolan K, Diamantis W, McGee J, Sofia GD. Aeroallergen-induced immediate asthmatic responses and late-phase associated pulmonary eosinophilia in the guinea pigs : effect of methylprednisolone and mepyramine. *Int Arch Allergy Immunol* 1990;91:311-314.
- 30.Seminario MC, Varley JG, Holgate ST, Church MK. Aerosol challenge through an endotracheal tube in guinea pigs. *Eur Resp J* 1991;4:595s.
- 31.Yamada N, Ohgaki M, Muramatsu M. Antigen-induced airway hyperresponsiveness is associated with infiltration of eosinophils in lung tissue, but not with bronchoalveolar lavage eosinophilia or neutrophilia. *Int Arch Allergy Immunol* 1994;103:73-78.
- 32.Boucher RC, Pare PD, Gillmore JN, Moroz LA, Hogg JC. Airway mucosal permeability in the *Ascaris suum*-sensitive rhesus monkey. *J Allergy Clin Immunol* 1977; 60:134-140.
- 33.Widdicombe JG. Some experimental models of acute asthma. *J R Coll Physicians Lond* 1977; 11:141-155.
- 34.Ohashi Y, Motojima S, Fukuda T, Makino S. Airway hyperresponsiveness, increased intracellular spaces of bronchial epithelium ,and increased infiltration of eosinophils and lymphocytes in bronchial mucosa. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:1469-1476.
- 35.Sanjar S, Aoki S, Kristersson A, Smith D, Morley J. Antigen challenge induces pulmonary airway eosinophil accumulation and airway hyperresponsiveness in sensitized guinea-pigs : the effect of anti-asthma drugs. *Br J Pharmacol* 1990;99:679-686.
- 36.Ishida K, Kelly LJ, Thomson RJ, Beattie LL, Schellenberg RR. Repeated antigen challenge induces airway hyperresponsiveness with tissue eosinophilia in guinea pigs. *J Appl Physiol* 1989;67:1133-1139.
- 37.Smith L, McFadden ER. Bronchial hyperreactivity revisited. *Annals of Allergy, Asthma, & Immunology* 1995;74:454-469.

EFFECT OF SAIBOKU-TO ON OVALBUMIN-INDUCED BRONCHOCONSTRICTION IN ACTIVELY SENSITIZED GUINEA PIGS

Jiann-Jong Shen¹ Kue-Hsiung Hsieh² Ming-Tsuen Hsieh³ Jaung-Geng Lin¹

¹*Institute of Chinese Medical Sciences, China Medical College*

²*Chang Gung Children's Hospital*

³*Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical College*

ABSTRACT

The purpose of this study is to evaluate the effect of Saiboku-To on antigen-induced airway obstruction, inflammation and airway hyperresponsiveness in actively sensitized guinea pigs. Sensitization was performed by inhalation of 1% ovalbumin aerosol generated by Wright's nebulizer for 15 minutes daily for seven consecutive days for all guinea pigs. Then the animals were fed either Saiboku-To 700mg/kg (study group) or 0.9% normal saline (control group) during the following seven days (day 8 through 14). On day 14, bronchial challenge with 1% or 2% ovalbumin was performed. Airway resistance at baseline, immediately after challenge and at selected intervals afterwards (5 min, 15min, 30min, 1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 6h and 24h) was calculated by body plethysmography. Airway responsiveness to acetylcholine was assessed at 24 hours before antigen challenge, 6 and 24 hours after antigen challenge. Bronchoalveolar lavage fluid and lung histopathology were studied at 6 and 24 hours after antigen challenge.

The results showed: (1) The early asthmatic response induced by 1% OVA, but not 2% OVA, could be suppressed by Saiboku-To. (2) The late asthmatic response induced by 2% OVA could not be suppressed by Saiboku-To. (3) Airway hyperresponsiveness to acetylcholine could be demonstrated in control group at 6 hours after challenged by 1% or 2% OVA. For study group, the Saiboku-To could suppress the hyperresponsiveness at 6 hours induced by 1%, but not 2% OVA. (4) The eosinophil and neutrophil count in bronchoalveolar lavage (BAL) at 6 and 24 hours was significantly decreased in the study group challenged by 1% OVA as compared to control group and study group challenged by 2% OVA. (5) The eosinophil infiltration in respiratory tissue at 6 and 24 hours was significantly decreased in the study group challenged by 1% OVA as compared to control group and study group challenged by 2% OVA.

In conclusion, Saiboku-To could suppress the early asthmatic response, eosinophilia on BALF and eosinophil infiltration in respiratory tissue induced by lower antigen load (1% OVA)

Key Words : Saiboku-To, plethysmography, BALF, airway hyperresponsiveness, Guinea pigs