

Escherichia coli Nissle 對塵蟎誘發之氣喘老鼠的 免疫調節效果與機轉探討

林鼎翔^a, 林麗娟^{b*}, 姜中人^{a*}

a 中國醫藥大學醫學檢驗生物技術學系, b 中國醫藥大學中醫學系

101-EC-17-A-10-SI-156

氣喘是一種慢性呼吸道過敏反應，發病原因主要是因為第二型 T 輔助型細胞過度反應所導致。當患者接觸過敏原時，此細胞所分泌的細胞激素會造成體內嚴重的過敏反應，如使患者的呼吸道有大量白血球浸潤、平滑肌異常增生等的現象，導致患者的呼吸困難。有鑑於現今所使用的治療藥物會對使用者造成有害的副作用，因此，氣喘病人在未發作的緩解期，如果可以攝取具有改善身體生理作用的食物，以降低氣喘的發作次數或減緩發作時的嚴重度，對病人控制病情是另一種不錯的選擇。^[1]

在現今的研究中發現，益生菌-*Escherichia coli* Nissle (*E.coli* Nissle) 具有調節輔助型 T 細胞的功用，以及降低第二型 T 輔助型細胞之細胞激素 IL-4 的作用。因此本實驗利用塵蟎過敏原刺激，以誘發氣喘小鼠的模型進行益生菌對於氣喘小鼠的免疫調節效果研究。實驗藉由測定氣喘小鼠的呼吸阻力、分析血清及肺部病理組織切片等數據，以探究益生菌 *E.coli* Nissle 是否對於過敏性氣喘具有一定改善的免疫調節效果，並進一步探討其作用的機制。^{[2][3]}

一、前言

根據氣喘全球創始會 (Global initiative for Asthma) 對於氣喘的定義：氣喘是一種呼吸道的慢性發炎性疾病，主要是由漿細胞、嗜酸性白血球和 T 淋巴球等多種細胞參與所造成，其發炎症狀會促使人哮喘、呼吸困難、胸悶和咳嗽，尤其於夜間和晨起時最容易發生。這些症狀經常會引起不同程度的呼吸量改變，但可自然地或經由治療而得到部分緩解。另外，呼吸道的發炎現象也會因不同的刺激物引發而加劇。^[1]

有鑑於現代治療藥物可能會為患者帶來副作用，而目前又有研究指出，益生菌-*E. coli* Nissle 具有降低生物體內發炎反應物質的功能，如：細胞激素 IL-4、IL-5 等，且服用益生菌除了可以調節身體的免疫細胞，亦可以改善腸胃道功能。而氣喘本是體內免疫調節過度而導致，若針對調節免疫細胞而改善氣喘病徵，將有可能改善氣喘發作的嚴重性或發作的

次數。因此，本實驗將探討益生菌-*E. coli* Nissle 是否會藉其本身具有的功能，來改善氣喘發作的嚴重度，並深究其免疫調節的作用機制。^[3]

二、研究方法

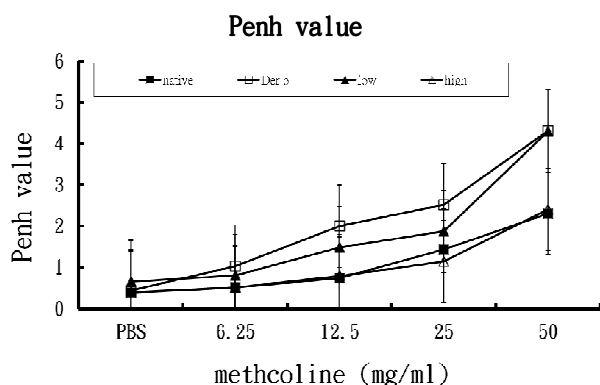
本實驗主要是在探討服用益生菌後，是否可以緩解氣喘發病時的症狀，像是緩和氣喘病人呼吸困難的徵狀，甚至是可以降低氣喘的發病率。由上述參考文獻的回顧可以了解氣喘是源於體內不協調的輔助型 T 細胞，導致體內過度的免疫反應，因此本實驗採用經過證實能夠降低體內發炎反應的益生菌—*E. coli* Nissle 給塵蟎誘發的氣喘小鼠服用。^{[4][5]}

基於探討益生菌 *E. coli* Nissle 對於塵蟎誘發之過敏性氣喘疾病是否具有改善的效果，故設計一週餵食小鼠兩次益生菌、塵蟎刺激一次，第一次餵食時，只有餵食，並不作刺激；第二次餵食才作刺激，餵食完後 30 分鐘，

進行麻醉刺激。利用本實驗室所設計出來的小鼠致過敏性氣喘的模型做延伸，共分為四組，分別包括未經過塵蟎刺激的自然組(Native)、經過塵蟎刺激得塵蟎組(Der p)以及經過塵蟎刺激，且服用益生菌 *E.coli* Nissle 的低劑量組(Low dose)和高劑量組(High dose)。研究中以塵蟎刺激的小鼠做為動物模型，為時六週，待刺激階段結束後 48 小時對小鼠進行呼吸阻力的測定，判斷小鼠是否會因刺激、餵食等因素，改變小鼠呼吸的能力，並在測定呼吸阻力後 24 小時犧牲小鼠取其血液、肺部組織、肺泡沖洗液...，以分析小鼠生理數據，包括小鼠各個細胞激素的數值、肺部白血球的分布情況以及平滑肌細胞增生狀況...等，以判定該益生菌是否對於氣喘有療效。

三、研究結果

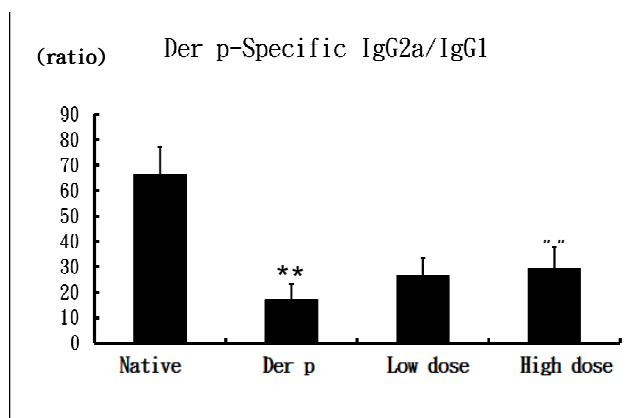
下圖表顯示各種不同環境條件下，各組小鼠的肺功能整體檢測，縱座標軸為呼吸阻力指數，越高表示整體肺功能越不佳，反之則越佳；橫坐標軸為甲醯膽胺(methcoline)的濃度，隨著甲醯膽胺的濃度上升，呼吸阻力的數值亦會上升。



圖表顯示出，只受過塵蟎刺激的塵蟎組的呼吸阻力指數最高；而呼吸阻力指數最低的，則是沒有受過塵蟎刺激的自然組；介在上述兩者之間的，則是既受過塵蟎刺激且服用 *E. coli* Nissle 的低劑量組以及高劑量組。

圖表顯示出，只受過塵蟎刺激的塵蟎組的呼吸阻力指數最高；而呼吸阻力指數最低的，則是沒有受過塵蟎刺激的自然組；介在上述兩者之間的，則是既受過塵蟎刺激且服用 *E.coli* Nissle 的低劑量組以及高劑量組。

下圖表示各組小鼠的週邊血液反應，而免疫球蛋白 IgG2a 及 IgG1 的比值表現了各組小鼠體內的過敏反應程度。



此組數據的處理可以看出，各組小鼠體內 IgG1 以及 IgG2a 上升的比例，經由圖表可以觀察出：隨著服用的 *E.coli* Nissle 的量上升，體內的 Der p - Specific IgG2a 上升的量也越多。

四、結論

在本次的研究，是以本實驗室之前所設計出來的小鼠致過敏性氣喘的模型做延伸，共分為四組，分別包括未經過塵蟎刺激的自然組、經過塵蟎刺激的塵蟎組以及經過塵蟎刺激，且服用益生菌 *E.coli* Nissle 的低劑量組和高劑量組。在肺功能檢測的 Pen h 的數值當中，只接受塵蟎刺激的塵蟎組有較高的數值，而服用過 *E.coli* Nissle 的組別 Pen h 值也相對地較低。

而在各組小鼠的週邊反應部分，本實驗以 ELISA 測試各組小鼠的特異性 IgG1 以及 IgG2a，在 Der p - Specific IgG1 以及 IgG2a 有其研究價值，在圖中，可以觀測出隨著服用 *E.coli* Nissle 的濃度上升，小鼠體內 Der p -

Specific IgG2a 上升的比例也隨之上升。

由此可以得到以下結論，服用益生菌 *E.coli* Nissle 具有改善過敏性氣喘的效果，可以藉由小鼠體內上升的特異性 IgG2a 而判定，雖然目前尚未探討出該益生菌是藉由何種路徑以及產生何種反應來改善小鼠過敏性氣喘的機制，但未來本研究將會繼續以探討出此益生菌改善過敏性氣喘的機制為目標，做更進一步的努力。

五、參考文獻

- [1]Anandan C, Nurmatov U, van Schayck OCP, Sheikh A. 2010. Is the prevalence of asthma declining? Systematic review of epidemiological studies. *Allergy*. 65 (2) : 152-167
- [2]Prester L. 2012. Arthropod allergens in urban homes. *Arh Hig Rada Toksikol*. 63 Suppl 1:47-56
- [3]Bickert T, Trujillo-Vargas CM, Duechs M, Wohlleben G, Polte T, Hansen G, Oelschlaeger TA, Erb KJ. 2009. Probiotic *E.coli* Nissle 1917 suppresses allergen-induced Th2 responses in the airways. *Int Arch Allergy Immunol*. 149 (3) :219-30
- [4]Li-Jen Lin, Chin-Che Lin, Shulhn-Der Wang, Yun-Peng Chao, Shung-Te Kao. 2012. The immunomodulatory effect of You-Gui-Wan on Dermatogoides-pteronyssinus-induced asthma. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2012, Article ID 476060.
- [5]Shulhn-Der Wang, Li-Jen Lin, Chih-Lung Chen, Shih-Chang Lee, Chin-Che Lin, Jiu-Yao Wang, and Shung-Te Kao. 2012. Xiao-Qing-Long-Tang attenuates

allergic airway inflammation and remodeling in repetitive *Dermatogoides pteronyssinus* challenged chronic asthmatic mice model. *Journal of Ethnopharmacology*. 142:531-538