

行政院國家科學委員會補助專題計畫成果報告

計畫名稱：第一型及第二型T輔助細胞分化及活化之調控
-過敏原及淋巴介質基因在呼吸道發炎動物模式的調節機
制探討

計畫類別：整合型計畫

計畫編號：NSC 89-2314-B-002-493

執行日期：民國八十九年八月一日至民國九十年七月三十
一日

計畫主持人：江伯倫教授

計畫參與人員：李岳倫博士

執行單位：台大醫學院臨床醫學研究所

中文摘要

介白質-12是促進第一型T輔助細胞及抑制第二型T輔助細胞活性的重要細胞激素。我們之前的研究結果已經證明在利用過敏原誘發的免疫反應中，加上IL-12的治療可以避免免疫蛋白E的產生，第二型T輔助細胞激素的製造及氣管支氣管沖洗液內發炎細胞的嗜伊紅性白血球的數目。在今年度的研究中我們進一步利用分子生物學的方法分別合成單一分子的介白質-12的DNA載體，同時利用此一DNA載體來進行治療。我們利用Der p1來致敏的小鼠進行研究，可以在小鼠體內高濃度的過敏抗體，並誘發出氣管的高反應性和發炎反應。在接受治療的小鼠，我們在利用過敏原讓小鼠吸入前一天，先給予sIL-12的DNA載體。然後分別測定各組小鼠的氣管內沖洗液的細胞成分、細胞激素和呼吸道敏感性的變化。結果，我們發現經過IL-12的DNA載體治療後可以降低氣管沖洗液內的嗜伊紅性白血球，同時能夠增加第一型T輔助細胞相關的細胞激素如IL-12、 γ -IFN等，而且降低IL-4的濃度。同時，IL-12的DNA載體也可以有效地降低氣管的高敏感性和氣管周的發炎情形。此研究顯示我們建立的IL-12的基因載體能夠有效地抑制氣管的發炎細胞浸潤，而達到治療氣喘的目的。

Abstract

Allergic asthma is strongly associated with the airway inflammation caused by the dysregulated production of cytokines secreted by the allergen-specific type-2 T helper (Th2) cells. Interleukin (IL)-12 is a heterodimeric cytokine, which strongly promotes the differentiation of native CD4⁺ T-cells to the type-1 T helper (Th1) phenotype and suppresses the expression of Th2 cytokines. Therefore, immunotherapy with IL-12 has been suggested as a possible therapy for asthma. In previous studies, we developed a murine model of airway inflammation based on the purified, house dust-mite allergen Der p 1 (*Dermatophagoides pteronyssinus*) as a clinically-relevant allergen. We hypothesized that the expression of IL-12 in the airway may represent an effective therapy for allergic airway diseases. In this present study, we investigate whether the local transfer of the IL-12 gene to respiratory tissues modifies allergic inflammation and airway hyper-responsiveness (AHR) in our disease model. To enhance the *in vivo* delivery of the IL-12 gene, we expressed the murine single-chain IL-12 protein from a non-viral vector – to which the two IL-12 subunits (p35 and p40) were linked by a 14-18 amino-acid linker. One of these single-chain IL-12s, containing an 18 amino-acid polypeptide linker, was stably expressed and had a high level of biological activity comparable to that of native IL-12 *in vitro*. In mice with Der p 1-induced asthma, the local administration of this IL-12 fusion gene into the lungs significantly prevented the development of AHR, abrogated airway eosinophilia, and inhibited type-2 cytokine production. These findings indicate that the local transfer of the single-chain IL-12 gene is effective in modulating pulmonary allergic responses and may be a convenient method for future applications of DNA vaccination.

計畫目標：利用細胞激素基因，尤其是介白質-12(IL-12)的載體應用在氣喘動物模式的治療，以了解是否能夠有效地抑制氣管的發炎反應。

成果報告：

我們在三年的計畫中已經陸續完成利用IL-12蛋白質來治療氣喘的動物模式，我們之前的研究結果已經證明在利用過敏原誘發的免疫反應中，加上IL-12的治療可以避免免疫蛋白E的產生，第二型T輔助細胞激素的製造及氣管支氣管沖洗液內發炎細胞的嗜伊紅性白血球的數目。在第二年的研究中我們進一步發現IL-12蛋白在動物模式中不但可以預防氣喘病，對治療氣喘病也有相當好的效果。

在最後一年的計畫中我們建立單一分子的介白質-12的DNA載體，同時利用此一DNA載體來進行治療。我們利用Der p1來致敏的小鼠進行研究，可以在小鼠體內高濃度的過敏抗體，並誘發出氣管的高反應性和發炎反應。在接受治療的小鼠，我們在利用過敏原讓小鼠吸入前一天，先給予sIL-12的DNA載體。然後分別測定各組小鼠的氣管內沖洗液的細胞成分、細胞激素和呼吸道敏感性的變化。結果，我們發現經過IL-12的DNA載體治療後可以降低氣管沖洗液內的嗜伊紅性白血球，同時能夠增加第一型T輔助細胞相關的細胞激素如IL-12、 γ -IFN等，而且降低IL-4的濃度。同時，IL-12的DNA載體也可以有效地降低氣管的高敏感性和氣管周的發炎情形。此研究顯示我們建立的IL-12的基因載體能夠有效地抑制氣管的發炎細胞浸潤，而達到治療氣喘的目的。本研究成果也已經為基因療法中最好的期刊【Human Gene Therapy】接受發表。

本計畫已發表的論文：

1. Lee, Y.-L., Fu, C.-L., Ye, Y.-L. and Chiang, B.-L. Administration of IL-12 prevents mite Der p1 allergen-IgE antibody production and eosinophils infiltration in animal model of airway inflammation. *Scand J Immunol* 1999; 49:229-236.*
2. Lee, Y.-L., Fu, C.-L. and Chiang, B.-L. Administration of IL-12 exerts therapeutic instead of longterm preventive effect on Der p1 allergen-induced animal model of airway inflammation. *Immunology* 1999; 97: 232-240.*
3. Lee, Y.-L., Ye Y.-L., Yu, C.-I., Wu, Y.-L., Lai, Y.-L., Ku, P.-H., Hong R.-L. and Chiang, B.-L. Construction of single chain interleukin 12 plasmid to treat airway hyperresponsiveness in an animal model of asthma. *Human Gene Therapy* 2001 (刊印中)*