

行政院國家科學委員會專題研究計畫 期中進度報告

利用口服過敏原及基因合併細胞激素基因來治療氣喘的動物模式(2/3)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2314-B-002-135-

執行期間：91年08月01日至92年07月31日

執行單位：國立臺灣大學醫學院臨床醫學研究所

計畫主持人：江伯倫

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中華民國 92 年 6 月 2 日

行政院國家科學委員會補助專題計畫成果報告

計畫名稱 利用口服過敏原及基因合併細胞激素基因
來治療氣喘的動物模式(2/3)

計畫類別 個別型計畫 :

計畫編號 NSC 91-2314-B-002-135

執行日期 民國九十一年八月一日至民國九十二年七
月三十一日

計畫主持人 江伯倫 教授 :

計畫參與人員 蔡演忠先生 :

執行單位 台大醫學院臨床醫學研究所

中文摘要

摘要內容

在過去一年中 我們建立氣喘的小鼠模式 以評估利用過敏原蛋白和基因來降低呼吸道的發炎反應。我們利用卵蛋白(ovalbumin, OVA)來當成過敏原進行相關的研究 所以也分別利用 QVA 的蛋白和基因來進行降過敏反應的實驗。研究的結果顯示每隻小鼠利用 5mg 及 100mgOVA 餵食十天後便可以有效地抑制OVA-特異性 IgE 抗體的產生 抗原特異性的 T 細胞增殖反應和呼吸道的發炎反應。同時 我們也已經建立好能夠表現 OVA 的基因載體 來進行口服的過敏原基因疫苗的研究。為了要進一步增強基因疫苗的效果 我們將利用不同的細胞激素基因 包括如介白質-12、介白質-10 和 TGF-β等基因載體來加強口服過敏原基因的效果。目前我們的進度顯示經由口服餵食過敏原蛋白的確能夠相當好的改善效果 而且其抑制效果是非常顯著。同時 我們在這一年也已經建立好過敏原基因和細胞激素的基因載體。並利用 chitosan 與基因載體一起混合 首先在試管內 , 感染 COS-1 細胞 結果發現利用 luciferase 也可以得到不錯的蛋白質表現。利用基因載體與 chitosan 的混合物餵食小鼠 也可以在小鼠腸道的 Payer's patch 測到 luciferase 的蛋白表現和 OVA 的 mRNA 表現。由這些結果顯示送入的過敏原基因的確能夠表現蛋白 目前症進一步在確定這些基因載體的治療效果之中。而在今年的計畫中 我們更分別建立了能夠表現 IL-12 和 IL-18 的腺病毒載體來研究這

些細胞激素是否能夠有效地抑制過敏性發炎反應 我們初步的研究結果顯示 IL-12 本身能夠較具有抑制氣管發炎的能力 而在加入 IL-18 的治療組反而會有較高嗜伊紅性白血球的浸潤。我們的研究指出 在利用細胞激素治療的過程中 IL-12 的效果要比 IL-18 來得好。所以 我們目前也正在進行研究 進一步利用細胞激素加上黏膜給予的過敏原來誘發能夠抑制過敏原所誘發的氣管發炎。

同時 我們初步的研究結果也發現由鼻腔給予的途徑能夠誘發不錯的黏膜免疫反應。所以我們在第三年的研究中我們將利用鼻腔給予細胞激素基因和過敏原基因的方式來了解是否能夠達到抑制氣管發炎的反應。

關鍵詞 氣喘、過敏、口服疫苗

Abstract

Increasing prevalence of allergic diseases such as atopic dermatitis, allergic rhinitis and bronchial asthma has been noted in many countries. It is critical to understand more on the pathogenic mechanisms of allergic diseases and explore the novel treatments for the diseases. Allergen-specific immunotherapy is the only treatment documented to modulate the allergic response, however, systemic side effects still occurred occasionally. This is the first year of three years' project. We used oral delivery of allergen for the treatment of animal model of asthma. The data suggested that OVA-specific IgE and airway inflammation decreased in mice fed 5mg or 100mg of OVA for 10 days before the sensitisation of OVA antigen. To further elucidate the effect of allergen gene plasmid on the airway inflammation, we have constructed the plasmid expressing OVA. Chitosan-plasmid mixture was used to enhance the expression of allergen protein. We used chitosan-luciferase plasmid mixture to transfect COS-1 and collected the supernatant to assay the expression of luciferase activity. A significant amount of luciferase can be detected in the supernatant after the transfection of COS-1 cells. Further, the luciferase activity can also be detected in the Peyer's patch after oral feeding of chitosan-plasmid mixture. In addition, OVA mRNA can also be detected after oral delivery of OVA-plasmid-chitosan mixture. The effect of allergen gene plasmid on airway inflammation is now under investigation. We have also applied adenoviral vectors expressing IL-12 or IL-18 genes for the treatment of allergic inflammation. The results suggested IL-12 exerted beneficial therapeutic effect on the airway inflammation, but not IL-18 gene. The results further demonstrated that intranasal delivery of DNA plasmid expressing antigen genes can induce increased level of antibody. In the third year, we plan to combine antigen plasmid and cytokine plasmids for the treatment of airway inflammation.

Key words: Asthma, mucosal immunity, immunotherapy

計畫目標 利用口服過敏原蛋白和基因來降低

成果報告 :

這是三年計畫中的第二年計畫 我們目前已經完成的進度包括 :

1 氣喘小鼠的動物模式建立 我們目前已經利用 OVA 來注射小鼠的方式來誘發小鼠的呼吸道發炎。結果發現的確可以在小鼠誘發一個呼吸道發炎的動物模式能夠觀察到 OVA-特異性 IgE 升高 第二型 T 輔助細胞的活性增加和呼吸道中嗜伊紅性白血球和呼吸道阻力增加。在建立氣喘小鼠的動物模式後 我們進一步利用口服餵食 OVA。我們分別餵食小鼠 5mg/mouse/day 和 100mg/mouse/day 連續十天 再來追蹤這些氣喘小鼠的指標。結果發現餵食這些卵蛋白的小鼠其抗原特異性的 IgE 抗體降低 同時 這些餵食卵蛋白的小鼠其氣管內沖洗液內嗜伊紅性白血球的數目也有降地的情形。

2 建立 OVA-plasmid 以作為過敏原基因治療氣喘的小鼠模式。我們目前已經將此一 OVA-plasmid 建立 而且送入 COS-1 細胞可以測到 OVA 蛋白的表現。為了要讓這些基因送入細胞或是腸道後能夠表現 我們利用 chitosan 和 plasmid 加以混合再與 COS-1 細胞培養 結果發現這樣的混合物的確也能夠有效地表現出 luciferase 的活性。同時 如果將此一 chitosan-plasmid 混合物餵食小鼠 幾天後再犧牲小鼠取得其腸道內的 Peyer's patch 來檢查 結果也可以測到 luciferase 的活性。由於我們在未來要使用 OVA 來當成我們的過敏原來進行實驗 我們也利

用 OVA-plasmid 與 chitosan 混合來餵食小鼠 結果也可以測得到 OVA 的 mRNA 表現。

3 細胞激素基因載體的建立 目前我們已經分別建立好 IL-12、IL-10 和 TGF- β 的基因載體 未來也可以應用到這些相關的治療中。我們初步的研究結果發現 IL-12 和 IL-10 可以有效地抑制氣管地發炎反應 可以得到不錯的治療效果。在另一個研究中 我們發現使用 IL-12 和 IL-18 來治療呼吸道的發炎反應 結果顯示 IL-12 基因本身可以得到相當好的治療效果 但是 IL-18 的治療效果則不是非常理想 甚至反而會導致嗜伊紅性白血球在氣管內的浸潤增加。所以在下年度的研究中 我們將利用過敏原基因合併細胞激素如 IL-10 或是 IL-12 來達到一個有效的治療。

4 同時 為了了解是否可能得到一個較好的免疫反應 我們嘗試利用鼻腔內給予的方式來給予抗原的基因。結果發現利用鼻腔內給予的方式能夠有效地誘發一個好的免疫反應 由這點發現可以讓我們進一步利用鼻腔給予的方式來給予過敏原基因和細胞激素基因以達到一個更有效的治療方法。