

# 塵蟎誘發皮膚過敏反應動物模式應用於抗過敏素材之功效驗證

撰文/高增婷·周佑吉

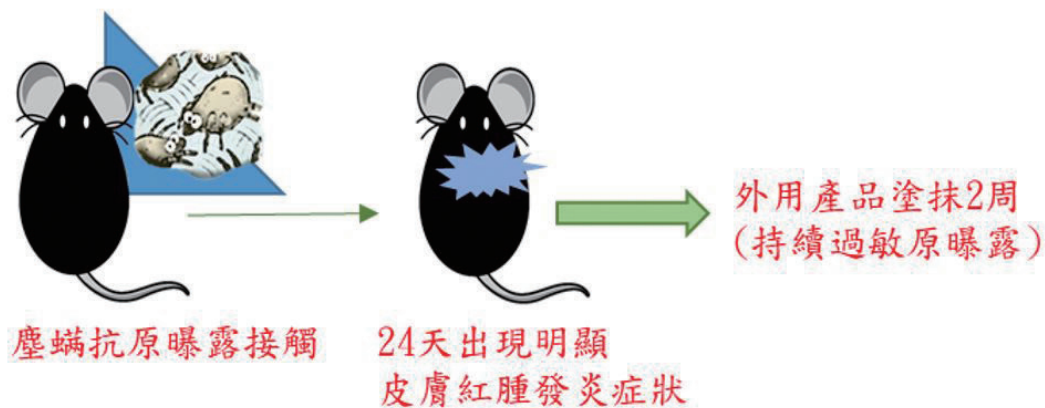
造成過敏症的成因相當多元，過敏原包含食物、化學品、昆蟲、粉塵等。過敏症的好發部位亦多樣，如果在呼吸道會引起鼻炎或氣喘，在皮膚會產生紅腫、搔癢、脫屑等症狀。過敏的困擾不只是人會遭遇，連伴侶動物也難以倖免，尤其是原因未明的異位性皮膚炎比例很高。現有治療方式不外乎兩類：找出引發的過敏因子並盡量避免吸入或接觸，如是已產生症狀者只能使用減敏和抑制免疫反應的治劑舒緩症狀，像類固醇、抗組織胺製劑、單株抗體阻斷過敏反應路徑；或是透過攝取保健品如補充益生菌調整體質減少好發率和嚴重度。

現今研究過敏性皮膚炎和異位性皮膚炎的動物模式有下列三類：一、製造皮膚表層損傷後給予過敏原，反覆在皮膚施作過敏原，這段致敏化過程約需 20~30 周以建立皮膚炎疾病模式。最常使用的過敏原為卵清蛋白 (Ovalbumin) 或化學品如：2,4-二硝基氯苯 (2,4-Dinitrochlorobenzene, DNCB)，少部分會用塵蟎 (dust mite) 特定蛋白或肽段和半抗原 (Hapten) 誘發。二、特定基因轉殖或基因剔除鼠，如 Interleukin-4(IL-4)、Interleukin-31(IL-31)、apolipoprotein C1 轉殖鼠或 RelB、cathepsin E 基因剔除鼠，這些動物模式會發生皮膚病變和過敏相關的免疫系統失衡像是發炎或免疫細胞活化等，常應用於異位性皮膚炎的致病機轉研究。三、特殊品系小

鼠，如 Nc/Nga 小鼠對環境中抗原較為敏感，容易自發性產生皮膚病徵，是一個近似人類異位性皮膚炎的疾病動物模式。雖然已有不少動物模式可供使用，但這些動物模式多數需給予大量或長時間接觸過敏原才能成功誘發皮膚炎病徵，試驗操作人員亦有曝露到過敏原的高度風險。此外，皮膚炎誘發率不穩定的狀況常限制本領域的研究應用。因此，抗敏素材產品的研發亟需建立合適且誘發率穩定的實驗動物模式來驗證產品功效。

## 高誘發成功率的塵蟎過敏實驗動物模式

塵蟎是引起人或伴侶動物皮膚過敏的一種重要且常見的過敏原，然而萃取塵蟎的致敏物質操作人員風險高，加上缺乏穩定的過敏原製備方式，使得塵蟎誘發的過敏性皮膚炎動物模式極其缺乏。因此，研究團隊建立一套密封式均質萃取過敏原的方法，約在 30 分鐘內，可以安全、簡易且快速的從塵蟎或其排泄物中製備過敏原；並在小鼠品系如 C57BL/6J Nar1 穩定誘發皮膚過敏反應，分析血清的總免疫球蛋白 IgE 及塵蟎特異性 IgE 含量、組織胺等指標均顯著上升；皮膚組織學檢查呈現表皮層、真皮層增厚現象，符合臨床皮膚過敏性疾病相關表徵。本項誘發模式 30 天內即可觀察到皮膚過敏症狀，且誘發成功率超過 80%，實驗室人員實際施作成功率 99% (圖一)。部分文獻發表動物模式的建



圖一 外用產品塵蟎過敏症動物功效驗證模式示意圖

立時程，至少需 40 天以上才會產生明顯過敏症狀。本施作方式有效縮短試驗時程至少 1 周以上，並已提出中華民國（台灣）發明專利申請案第 109140635 號。此外，實驗過程中觀察到以塵蟎及其排泄物製作的過敏原，其皮膚炎誘發的效果較由塵蟎蟲體本身誘發的效果更佳，符合在現實環境中，引起過敏症的抗原可能不限於單一抗原，塵蟎的排泄物也含過敏性刺激物質會加強整體過敏反應。

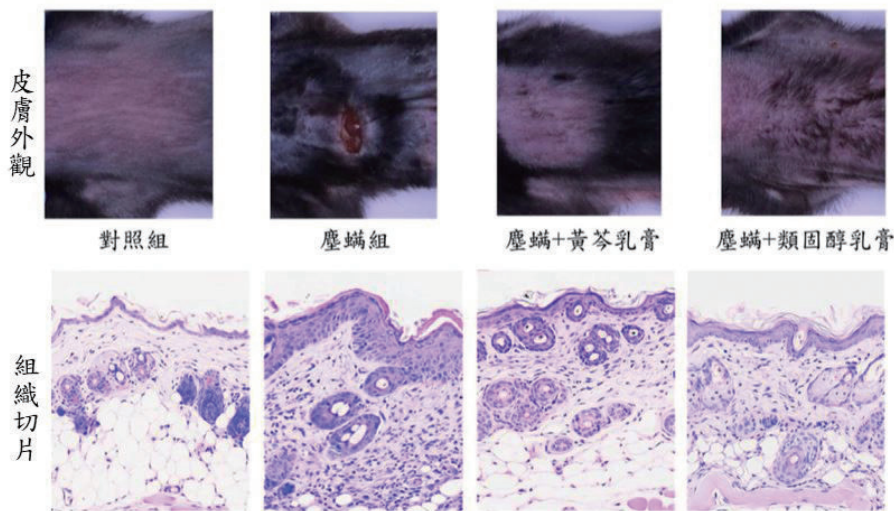
### 中藥草植物黃芩具替代類固醇舒緩皮膚過敏的潛力

過去研究顯示，部分中草藥配方能平衡免疫細胞 Th1 和 Th2 的功能達到緩解過敏症狀，一般被認為具有輔助治療異位性皮膚炎的效果，其中清熱解毒屬性之中草藥是首選。因此，研發團隊先以細胞試驗篩選四種藥草植物，黃芩、丹參、白芷、魚腥草對角質細胞、巨噬細胞、嗜鹼性細胞之抗發炎與抗過敏作用，發現黃芩效果最為顯著。因此，以前述塵蟎過敏症動物模式進行功效驗證。小鼠在致敏化後，開始進行塵蟎抗原皮膚挑戰，刺激期間同步每日餵飼黃芩萃取物劑量 500 mg/kg，陽性對照組投予類固醇劑量 1 mg/kg，共為期兩周。血清學檢測結果顯示：塵蟎抗原誘發組的總免疫球蛋白 IgE 及塵蟎特異性 IgE 相較於正常對照組上升 5.1 倍

及 2.5 倍，其他過敏發炎分子標誌組織胺、IL-4、interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) 和 Transforming necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) 也都明顯增加 2~5 倍。投予黃芩萃取物及類固醇的兩組別在這些相關血清學指標的數值皆呈現顯著下降。此外，在塵蟎組皮膚組織切片上，觀察到表皮層及真皮層相較於正常對照組明顯增厚 4.2 倍及 1.6 倍，而投予黃芩萃取物及類固醇者有效改善皮膚厚度，雖然投藥時間僅 2 周，已顯示黃芩萃取物、類固醇均能回復塵蟎抗原所誘發的過敏性反應。但給予類固醇的小鼠皮膚，在皮膚組織切片的觀察數據，平均表皮層與真皮層的厚度會略比正常對照組薄，而黃芩萃取物並未有此現象。

### 改良塵蟎過敏症動物模式以應用於外用產品的功效驗證

過敏症發作時，在皮膚引起的紅、腫、癢的不適，常讓人坐立難安想搔抓，伴侶動物無法自我控制，因此一不小心常造成表皮的小傷口，如又被微生物感染，整個皮膚狀況會變得更糟糕，在惡性循環下，皮膚的小狀況演變成大問題，通常需要更久的時間護理讓皮膚恢復健康狀態。台灣因為地理位置氣候溫暖多濕，過敏症相關皮膚炎發生經常呈現季節性消長，所以皮膚日常護理的外用的軟膏、凝膠、噴霧有其市場需求，尤其伴侶動物毛髮皮膚是



註：實驗室數據。

圖二 塵蟎過敏症動物模式小鼠皮膚外觀與組織切片結果對照

飼主最關心的部位，但這類型的產品需要經過適當的功效驗證。因此，本研發團隊將前述動物模式加以改良以驗證抗敏發炎外用品的功效。在既有的塵蟎抗原誘發模式基礎上，讓小鼠曝露接觸塵蟎抗原，待皮膚出現粗糙、泛紅、脫屑等症狀後，開始給予外用產品塗佈測試 2 周，每天一次，期間仍維持在過敏原曝露環境。以含有類固醇成分的市售皮膚外用藥膏作為實驗陽性對照組，結果顯示：投藥動物相較未投藥者，皮膚外觀狀態明顯改善恢復，類似正常對照組，而未投藥實驗組經過兩周後皮膚狀況變得更差，部分小鼠甚至出現小傷口、痂皮、亦或輕微血絲。裸視（巨觀）觀察結果與皮膚組織切片病理學檢視結果一致；塵蟎抗原誘發組細胞增生表皮真皮組織變厚且免疫細胞浸潤發炎區域，然而類固醇施用組之病理變化緩解並恢復同正常對照組的皮膚結構，顯示所建立的功效驗證模式符合臨床實際情況並可反應出當皮膚照護不理想時的變化（圖二）。從實驗結果推估此一改良外用產品驗證模式將能有效協助皮膚保健產品的開發。團隊將開發的黃芩抗敏素材雛型產品在改良動物模式中進行測試，

發現成效良好，顯示黃芩極具外用產品的開發潛力。

### 雛形乳膏產品臨床測試改善犬皮膚炎症效果佳

在臨床試驗部分與中興大學獸醫系合作，由獸醫師從臨床皮膚炎案例中篩選合適個案，經飼主同意後參與雛形乳膏產品的使用測試，總共募集收治 4 例患犬，病症診斷分別為案例一淺表性膿皮症；案例二趾間炎；案例三淺表性膿皮症、自殘性創傷、皮脂漏；案例四痊瘡、淺表性膿皮症。由獸醫師發給測試樣品囑咐使用方式，每天塗抹病灶處二次，飼主需每周回診一次總共追蹤 2~4 周的使用狀況並進行患部皮膚鏡與 UV 鏡的檢查。從個案使用結果總結初步成效：對於淺表性膿皮症與趾間炎症狀輕微的患犬，不作其他口服、注射和外用藥物治療只給予乳膏測試樣品塗抹，在使用後 1~2 周都可見皮膚症狀改善；皮膚紅斑、丘疹、搔癢狀況與鱗屑皆減少並可恢復到正常皮膚狀態。但對於較複雜之狀況如案例三和案例四合併有不同因素導致的綜合性皮膚問題，在使用乳膏測試樣品後也有舒緩症

狀嚴重度的效果，但獸醫師還搭配給予患犬理毛、洗劑清洗、其他藥物投放等措施才對嚴重個案有較佳的整體治療效果。整體而言，本試驗證實含黃芩的雛型乳膏產品在臨床皮膚炎症的應用上具有正面效益，確實能改善臨床患犬的皮膚問題。同時也顯示，塵蟎抗原誘發的過敏症實驗動物模式具有驗證素材的功效與應用潛力。

AgBIO

高增婷 財團法人農業科技研究院 動物科技研究所 研究員  
周佑吉 財團法人農業科技研究院 協理

### 致謝

1. 感謝花蓮區農業改良場張同吳研究員大力支持，提供本研究中所有使用之中草藥植物素材，讓團隊順利展開相關實驗。
2. 感謝國立中興大學獸醫學系劉邦成老師協助本研究臨床試驗評估並給予專業建議。

### 參考文獻

1. Jin, H., He, R., Oyoshi, M., and Geha, R. S. (2009) *Animal models of atopic dermatitis*, The Journal of investigative dermatology 129, 31-40.
2. Nials, A. T., and Uddin, S. (2008) *Mouse models of allergic asthma: acute and chronic allergen challenge*, Disease models & mechanisms 1, 213-220.
3. Kim, S. R., Choi, H. S., Seo, H. S., Ku, J. M., Hong, S. H., Yoo, H. H., Shin, Y. C., and Ko, S. G. (2014) *Oral administration of herbal mixture extract inhibits 2,4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis in BALB/c mice*, Mediators of inflammation 2014, 319438.
4. Sheehan, M. P., Rustin, M. H., Atherton, D. J., Buckley, C., Harris, D. W., Brostoff, J., Ostlere, L., and Dawson, A. (1992) *Efficacy of traditional Chinese herbal therapy in adult atopic dermatitis*, Lancet 34
5. Kim, S. R., Choi, H. S., Seo, H. S., Choi, Y. K., Shin, Y. C., and Ko, S. G. (2012) *Topical application of herbal mixture extract inhibits ovalbumin- or 2,4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis*, Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM 2012, 545497.
6. 鄭慧滿 (2006) 中藥治療異位性皮膚炎病患之療效評估及免疫學研究。中醫藥年報，24(2):1-30。