

編號：CCMP94-RD-042

# 過敏性鼻炎患者中醫體質類型與 基因及蛋白質表現之相關性研究 —細胞激素相關性研究

徐松鋨

中央研究院

## 摘 要

為研究中醫的體質類型與疾病表現的關係，我們曾參與二年的基因體研究計畫，研究中將經由西醫確診為過敏性鼻炎患者，隨機分為二組分別服用寒或熱性中藥方二個月，在服藥前後分別接受中醫體質分型及西醫臨床評估，利用 2D-gel 做蛋白質分佈的關係研究，以尋找證型、疾病與血清蛋白質的關係，並發現血紅蛋白與服用藥物有直接相關但與體質的變化沒有相關。因為 2D-gel 的解析度相當有限，也為了更精確的分析血液中可能與體質寒熱及過敏性鼻炎病徵相關之蛋白質含量，我們採用免疫螢光法 (ELISA) 來量測血液中與免疫、發炎、細胞間調控有直接相關的激素在不同證型、疾病表現患者的分佈與所扮演的角色。

利用在 92 至 93 年的研究中分析完成的 164 名患者血清樣本，我們先利用含有 110 種不同激素的蛋白質抗體晶片來分析、篩選可能有變化的細胞或趨化激素 (cytokines or chemokines)，再利用 ELISA 作大量病人的分析。在前面的步驟中，我們發現出 EGF，PDGF-BB，BDNF 與 PARC 等在病人服用藥物前後有顯著的差別，但是，其他激素則因為訊號太弱，無法看出顯著的變化。ELISA 的實驗中，EGF 與 BDNF 有可信度較高的結果，對於 EGF，病人服用兩種藥物後都有顯著的提升。BDNF 實驗中，病人服用桂枝湯的有明顯提升，但服用知柏地黃丸的沒有顯著改變。經交互比對，發現 EGF 與 BDNF 的差異性與血漿中的含量與原始體質、體質的變化及病人病情的轉好程度，沒有直接關係。PDGF-BB 與 PARC 也有看到變化，但因為個人間的差距太大，需重複

實驗以得到可用的結果。

EGF 與 BDNF 均為生長激素，EGF 與細胞修護、組織再生有相關，BDNF 則與腦細胞的生長、分化存活有直接相關。之前的分析顯示，服用熱藥與寒藥均可以有效的改善鼻子過敏的症狀，此兩種生長激素的增加與病情的改善是否有直接相關，需要作更多病人的樣品來分析。此兩種生長激素在病人血漿的濃度分佈有很大的範圍，它們的增加有可能是服用調節性中藥的一般反應，其作用不一定能在短時間的療程中反映在體質上面，因而無法與體質變化有顯著的關連。在蛋白質晶片的實驗中，有其他有變化的蛋白質，這些將是我們實驗要繼續進行的標的。

關鍵詞：過敏性鼻炎、中醫、體質、臨床試驗、ELISA、蛋白質抗體晶片

Number: CCMP94-RD-042

# **The Study of the Relationship between Gene and Protein Expression and the Chinese Medical Constitutional Types in the Patients of Allergic Rhinitis -Role of Cytokines**

Song-Kun Shyue

Academia Sinica

## **ABSTRACT**

In Chinese medicine, the patients' constitutional types are classified according to their manifestation in disease circumstances, and different types of Chinese herbs are used to treat the patients by correcting the unbalanced status of body. How different Chinese herbs adjust patients' constitutional types and their relationship to the diseases states are well documented in Chinese medicine books along with the development of Chinese medicine for more than thousand years.

In continuation of grant of years 92 and 93, we proposed to find the related genes or proteins for the "cold" and "hot" constitutional types. We started with the 2D-gel protein analytical methods to study the protein expression of the two groups of patients, which belongs the "hot" and "cold" constitutional types respectively. We performed the clinical trial and 164 patients were included in our study after being diagnosed as "Allergic rhinitis" by professional ENT doctor. The patients were grouped randomly into 2 groups, and each took the "cold" or "hot" Chinese medical remedy for 2 months respectively. The patients were examined for Chinese medical constitutional typing and western medical clinical and laboratory evaluation before and after taking the remedies. We have demonstrated that hemoglobin  $\alpha$  and  $\beta$  concentration are related to the type of medicine took but not

their constitutional types. Due to the limitation of the 2D-gel analysis, we first used anti-body array to examine the variation of various proteins in plasma before and after taking Chinese medical remedy. Then we used ELISA to detect levels of selected cytokines and chemokines to investigate their role in constitutional types. We have finished EGF and BDNF ELISA for 22 and 21 patients' samples and found that for EGF was significantly upregulated in patients took hot or cold remedy. However, for BDNF, only the patients took hot remedy increased but not the patients took cold remedy. Our results suggest that the EGF and BDNF changes do not have correlation with the original constitutional types and their changes, and the improvement of symptom. We have also studied PDGF-BB and PARC while with fluctuated results, which need to be repeated.

EGF is related to cell survival and body regeneration and BDNF can support the survival and differentiation of neurons. Plasma levels various remarked between individual. In addition, the increase of both factors is the effects of these two remedy, their effects may not reflect the final constitutional change with a short treatment. These factors impede the outcome of this study. We have many other candidates from antibody array which will be used for further study.

Keywords: Allergic rhinitis, Chinese Medicine, Constitution, ELISA, antibody array

## 壹、前言

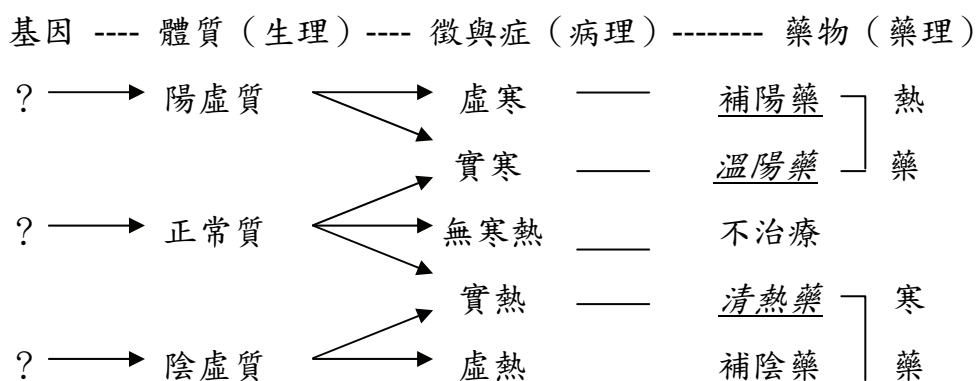
中醫臨床上觀察人體的特質與疾病狀況，將人的體質分成寒、熱；虛、實；表、裡等類別，再利用中藥將不平衡的身體調至平衡以治療疾病。數千年來，體質特性與相關疾病間的關係及其治療方法均已詳細的紀錄在中醫的典籍裡，不同中藥的藥性與其對人體的影響也有詳細記載。近幾年，人類基因序列已公布，許多分子生物的技術與資訊提供很好的方法來分析細胞的整體表現，突破以往以一個基因為主的研究方式。這種以大量基因表現分佈的研究方式與中醫的診斷方式，利用個體的症狀來診斷病因有相似之處。若能將中醫的理論結合基因體技術，將可以利用中醫數千年的研究結晶來做各種疾病的研究，同時結合中西醫的觀點來研究複雜的基因與蛋白表現與疾病症狀的關係。

國內外有關基因及蛋白質體相關技術應用於中醫藥的研究，絕大部分均集中在研究藥物對特定基因調控的關係，以找出特殊治療功能的藥材，並分離其有效物質。研究特殊藥物（如人參、金線蓮）與基因表現的有少數實驗室在進行（如中研院生物農業研究所），但研究中醫辨證論治方法或體質類型與基因表現關係之研究尚在嘗試階段，也尚未見相關論文發表。而為了配合國內中醫現代化與中草藥生物科技產業之政策發展，也為了能找出掌握與運用數千年中醫藥臨床經驗之成果，以中醫證型或體質為主題之研究是重要的基礎工作。

### 一、中醫對疾病與治療之認識

在先前的研究中，我們曾探討了中醫特色的體質學說，並認為在疾病診治上，中西醫最大之不同，在於中醫重視個體之差異性，即所謂「體質」之差異，在同一種疾病中可分析出不同診斷類型，使用不同治療藥物，由於這種個體差異性，發展出中醫獨特之「辨證論治」學說。因此在探討疾病病機上，我們認為它應包括三個要件：一為刺激因素，即誘發疾病發病的原因；二為反應條件，即在刺激因素作用下，身體的反應能力及狀況；三為時間因素，為前兩個因素之相互作用時間，也就是病程，隨著疾病之發展，它包含了潛伏期、前驅期、疾病期、和恢復期四個階段。由於臨床之目的，在於解決病患完整的問題，因此「病」與「人」自然是醫療上所必須兼顧的。從文獻回顧上，不難發覺現代醫學對於疾病之研究成果是相當可觀的，而傳統中醫卻突出於病人的體質照顧上，從系統性紅斑狼瘡患者與正常人群的體質研究中，我們印證了體質在疾病中扮演的重要角色。

中醫體質理論中最基本之分型為陰陽（或俗稱之寒熱類型），陰陽分為廣義（屬性分類）與狹義（生物物理的涵義指人體之質、能）兩種，臨床醫學上體質分類傾向以狹義來定義，以作為人體在各種刺激因素作用下，生理及病理反應之質能基礎。同樣的，寒熱指人體在各種物理、化學、生物等因素（如氣候、飲食、微生物）作用下，所表現之體質反應特性。其關係表示如下：



補陽藥與補陰藥是強化體質實質的藥，清熱藥與溫陽藥是調節體質功能表現的藥，因此與基因表現最直接相關的是陰陽之體質類型，而體質類型統括以寒或熱屬性為外在表現型，藥物反映之結果也以寒熱為表現型，因此作為銜接基因及蛋白體研究與中西醫臨床表現之基礎研究應以陰陽（寒熱）為標的。

## 二、中醫體質概念與基因及蛋白質研究之結合

近幾年人類基因的解碼發現人與人之間有非常多的 DNA 序列不同<sup>(1)</sup>，(即單一核苷酸鹼基差異，Single Nucleotide polymorphism, SNP)，這些不同被認為與人的各種表現，包括膚色、體型、體質、長相、健康狀態、個性等等有相關。中醫疾病或生理表現中體質的不同也可能與 SNP 有相關，要研究相關的 SNP 必須知道與各個症狀有關連的基因，再從基因的 DNA 序列去尋找是否有任何 SNP 與症狀或體質有關。沒有相關基因為起點，則無法從為數  $2.7 \times 10^9$  的基因序列中去尋找。相關基因可以利用家族基因遺傳 (linkage analysis) 的研究來找出可能的基因位置，但每一個症狀都可能與數個基因有關，且分析會因家族遺傳的顯著性 (有顯著症狀的家族不好找) 與中醫體質認定的不穩定性 (體質的表現不一定是顯性或隱性模式可以解釋)，

而有潛在的問題。因此由研究基因表現的不同與體質類性之關聯性可能是一個比較有效且快速的方法。

目前科學家已經在模擬不同器官及組織下，基因如何來產生蛋白質與其交互作用，並使用新的技術來同時研究許多基因或蛋白質，比如說把許多基因物質點在基因晶片（gene chips）上，來同時研究這些基因的運作模式，以了解癌症、過敏性疾病、自體免疫等免疫系統疾病的變化<sup>(2-5)</sup>，科學家也建立了 SNP (single-nucleotide polymorphisms) 資料庫<sup>(6)</sup>，這些多態性分析可作為一種基因遺傳頻率的指標，而 SNP 因人而異，故可用來追蹤一些致病的基因如何在家族或族群之間流傳的過程，及為何某些特定人群對於某特定疾病有易感性。然而在生物體裡，真正進行生理功能的是蛋白質，而不是 DNA。已有許多具潛力的技術可同時研究數量龐大的蛋白質，包括類似於研究 DNA 的方法，將蛋白質點在晶片上，這些研究結果代表蛋白質體學時代（proteomics）的來臨，也就是說未來可以鑑定及了解每個蛋白質的特性、結構，及蛋白質間的協同作用模式<sup>(7-8)</sup>。

這種以大量基因或蛋白質表現分佈的研究方式來觀察生物體的整體反應性，與中醫的診斷方式中，利用個體的症狀來診斷病機有相似之處，若能同時結合中西醫的觀點來研究複雜的基因與蛋白表現與疾病症狀的關係，其結果將可以用來建立中西醫之間的橋樑。

### 三、中醫體質及寒熱用藥之研究

在體質類型與臨床表現研究上，本研究群曾分析 250 位在台中榮民總醫院所記錄之系統性紅斑狼瘡患者及 141 位正常對照組之資料，以探討系統性紅斑狼瘡患者之中醫體質特性，及體質類型與西醫臨床特徵之關係<sup>(9)</sup>。結果顯示在體質特性的探討上，本地一般國人之體質頻率以痰濕質及陰虛質患者最高；系統性紅斑狼瘡患者之體質傾向為陰虛質、瘀滯質和血虛質。我們亦發現：腎病症候群與血虛體質之關係最密切；光敏感和陰虛體質最密切；口瘡與氣虛體質最密切；而胸腹部症狀及神經症狀則與陽虛體質較相關。此外，蝴蝶斑、口乾眼乾、雷諾氏現象及關節炎等症狀，歸於中醫病理性產物造成之痰濕與瘀滯體質，在關係上並與陰虛及血虛質較接近。

而在過敏性鼻炎患者體質研究中，我們也曾對 84 位過敏性鼻炎自願患者進行臨床試驗研究，隨機分組給予寒熱不同藥性中藥方。結果顯示本地患者以陰虛、氣虛及痰濕型為多，經中藥桂枝湯及知柏地

黃丸體質治療一個月後，臨床表現及耳鼻喉科理學檢查在兩組均獲得改善，而體質分型與治療藥物之分析中亦發現桂枝湯對於陽氣虛型及陰血虛型患者均有改善體質及病症之效果，而知柏地黃丸僅對陰血虛型患者體質及病症具改善作用，顯示方藥與辨證類型間具有特殊之關係，值得進一步研究。

我們另外也分析寒與熱藥方對基因表現的關係，利用桂附八味丸與六味地黃丸分別處理 293 細胞，並利用 microarray 來研究其基因表現的不同。實驗結果發現有許多基因表現增加，也有許多基因表現被抑制。其中增加與被抑制的最明顯的有 20 個基因。其中 cytochrome oxidase Vib (COXV1b) 的表現增加最高，COXV1b 在粒腺體裡會促進能量代謝，促進呼吸鏈複合物 V (ATPase) 合成 ATP，增加身體細胞能源，與預期的藥效相同。另外，有一些與訊息傳遞的基因的表現增加，如 AKT 與 MAPKK3，這兩個基因表現的增加可能與熱藥對細胞的功能有相關，它們下游所調控的基因很多，其正確性與對基因調控的目標需要進一步的實驗去證明。許多 EST 的基因被八味丸調控，其中的功能可能與細胞的新陳代謝速度或能量提供有關，需進一步確認與探討。DNA 微陣列的比較結果，桂附八味丸與六味地黃丸對基因表現的差異並不是很大，考慮其原因可能是因為桂附八味丸中含有六味地黃丸之全部組成，也包含有寒藥與熱藥，由於寒藥與熱藥可能相反的調節，使附子與肉桂的影響會相對的減少。

為了有較高的基因表現差別，我們也利用單味藥來處理細胞，並且因為增加與減少的基因相當的多，為了找到真正相關基因，需要比較不同的中藥與濃度的分析結果，才能找到有代表性的基因。為了研究熱藥對基因的影響，我們利用肉桂、附子、乾薑來處理 293 細胞並與沒有處理的細胞做比對。在兩次微陣列的實驗結果中，三個藥物的基因表現情況差異很大，共同調控的基因較少，此基因表現的不同可能是由於不同中藥的「歸經」不同所造成，也可能是因為實驗上的誤差，為了要有較正確的結果，需再進行多次實驗再做比對。

而利用寒藥黃連、黃芩、黃柏來處理細胞，進行二次的微陣列分析，結果顯示黃連與黃柏對細胞的生長有顯著的影響，在 1mg/ml 的狀態下，黃連會造成細胞的大量死亡，而經黃柏處理過的細胞，生長速度會變慢。此結果可能會與藥物的毒性有關，而不能反映出寒藥的真正藥性，所以需要利用較低的劑量重做。



#### 四、過敏性鼻炎簡介及中醫治療之探討

過敏性鼻炎在台灣的發生率為 15~20%，幾乎每五位民眾中，就有一位患有過敏性鼻炎。過敏性鼻炎的病理機轉基本上與鼻過敏相同（Nasal Hyperreactivity）相同<sup>(10-11)</sup>，包含了兩個部分，即免疫反應機制及神經反應機制<sup>(12)</sup>，前者是眾所熟悉經由特殊抗原誘發立即型與遲發型反應；後者則由自主神經系統功能障礙所形成，其反應範圍應綜合了內分泌、循環及其它系統（因此也有學者將之稱為應激反應 Stress Response）<sup>(13)</sup>，此二機轉應同時存在於多數患者。過敏性鼻炎與其他鼻過敏不同之處，在於它由特殊過敏原所激發，然而鼻過敏形成後則臨床表現均頗為類似。

在本病之臨床診斷上，仍有許多爭議，患者主要以鼻塞、流涕、噴嚏、鼻癢、及眼睛癢等五項鼻過敏症狀來表現<sup>(14-16)</sup>；血液及鼻液檢驗可能出現嗜伊紅性白血球及 IgE（或 Specific IgE）上升<sup>(17)</sup>，亦可能不上升；皮膚試驗可測驗對過敏原之反應，但陽性結果亦可能為其他過敏性疾病或潛在過敏性疾病<sup>(18)</sup>；耳鼻喉科理學檢查較為學者接受，以蒼白浮腫的鼻黏膜，水樣性鼻液以及眼周及結膜症狀為代表<sup>(19)</sup>，但在複合其他鼻炎或不典型患者亦難做判斷。因此，在本研究中將以病患五項臨床症狀，以及理學檢查表現較為典型之患者為對象。

對於過敏性鼻炎患者之藥物治療<sup>(20)</sup>，根據發病機轉，目前西醫治療大多採用 Antihistamine、Decongestans、Anticholinergics、Cromolyn Sodium，及 Corticosteroid 等藥物，而免疫療法及外科手術亦為考慮採用之方式，但療效仍未盡理想。

中醫藥對過敏性鼻炎之治療研究中，有許多值得探討之處。大陸學者總結研究結果認為本病為本虛標實，與肺、脾、腎三臟之虛弱相關，認為經辨證治療後均可獲得良好療效<sup>(21)</sup>，其常見證型包括：

- (一) 營衛不和、風寒襲肺型，以桂枝湯加減。
- (二) 清陽不升、脾失健運型，以補中益氣湯合玉屏風散加減。
- (三) 肺經化熱型，以清肺脫敏湯（黃芩、桑白皮、旱蓮草等）加減。
- (四) 腎陽不足型，以金匱腎氣丸加減。
- (五) 肝熱型，以截敏烏梅丸（烏梅、柴胡、五味子、蜂蜜等）加減。

在國內學者採用之方劑，亦多為治風寒入肺或表虛補氣之劑，如小青龍湯、玉屏風散、辛夷散等，慢性患者則採用明代張石頑及日本大塚敬節的論點以溫補腎氣為主；而馬光亞教授則依外寒引動內熱為理論依據，提出養陰平肝為主之治法進行加減<sup>(22)</sup>。有關近四十年大陸中醫界針對過敏性鼻炎患者進行臨床試驗較具代表性之研究成果<sup>(23-29)</sup>，匯整如表一以做參考。

## 五、系統性紅斑狼瘡患者體質研究成果摘要

蘇奕彰醫師利用統計方法分析 250 位在台中榮民總醫院所記錄之系統性紅斑狼瘡患者及 141 位正常對照組之資料。主要目的在研究系統性紅斑狼瘡患者之中醫體質特性，及體質類型與西醫臨床特徵之關係，同時也嘗試利用中醫體質問卷診斷表（表一），建立本病患者中醫體質問診診斷標準。結果以 t 檢定、卡方檢定及多變量分析中之多元尺度法，探討中醫體質類型與西醫臨床特徵之關係；以因子分析及群落分析法，探討患者西醫臨床特徵分群與中醫體質類型之關係；以及以潛在變數模型，探討該病中醫體質分型的問診標準。在體質特性的探討上，本地一般國人之體質頻率以痰濕質及陰虛質患者最高；系統性紅斑狼瘡患者之體質傾向為陰虛質、瘀滯質和血虛質。結果亦發現：腎病症候群與血虛體與之關係最密切；光敏感和陰虛體質最密切；口瘡與氣虛體質最密切；而胸腹部症狀及神經症狀則與陽虛體質較相關。此外，蝴蝶斑、口乾眼乾、雷諾氏現象及關節炎等症狀，歸於中醫病理性產物造成之痰濕與瘀滯體質，在關係上並與陰虛及血虛質較接近。最後在該病中醫體質分型的問診標準上，此研究修正了大陸學者之指標，並提出對診斷六種體質分型之問診新基準。同時也發現：在本病患者中，若無失眠症狀，可排除為陰虛體質；無疼痛症狀，也大約可排除瘀滯體質。

表一 中醫方劑治療「過敏性鼻炎」療效比較

研究單位	使用藥物或方劑	病案數	有效率
遼寧中醫研究所	玉屏風散	48 例	93.7%
遼河油田第一職工醫院	黃耆建中湯	30 例	99.9%
河北省工醫學院附屬醫院	寧金沖（桂枝、當歸、防風、荊芥等）	265 例	96%
中國醫科大學附屬第一醫院	黃耆、黨參、丹參、川芎、當歸、木通等（益氣活血）	100 例	95%

表一 中醫方劑治療「過敏性鼻炎」療效比較（續）

河北省內邱縣侯家庄醫院	黃耆、黨參、白朮、女貞子、補骨脂（益氣補腎）	46 例	100%
河北省衡水地區醫院	敏鼻湯（黃連、黃芩、銀花、地黃、赤芍、蒼耳子、辛夷）	100 例	93%
遼寧中醫學院、北鎮縣中醫院	蒼耳子散合玉屏風散加減	50 例	96%
上海醫科大學附屬眼耳鼻喉科醫院	耆桂沖劑	61 例	61%
河北省邢台地區衛生學校	辛蒼合劑	47 例	95.7%
河南省南陽地區醫院	感冒清	61 例	90.2%
瀋陽市中心醫院	以黃耆、荊芥為主	25 例	100%

## 六、細胞激素（Cytokine）

細胞激素是一種水溶性、非酶類，分子量常在 40kDa 以下的蛋白質，為白血球之間互相傳遞訊息的多肽類（polypeptide），分泌量很少，但是有很強的作用，濃度大約只有  $10E-10 \sim 10E-15 \text{mol/L}$ ，半衰期很短，因此不容易被偵測到；白血球的表面上有特殊細胞激素的受體（receptor），此受體乃用以與鄰近白血球或由血流傳遞來的細胞激素相互結合，兩者一旦結合此白血球會產生一系列的免疫反應，而開始免疫調節機制以及發炎反應。細胞激素還包括一些細胞株刺激因子，如 colony-stimulating factor, CSF，能刺激幹細胞的分化與增殖。細胞激素與其受體的活化已經知道與許多疾病有密切的關係，如 Th2 細胞的 toll-like receptor 2 的活化與 IL-13 訊息路徑的活化與氣喘的發生有關（Redecke et al., 2004; Zhu et al., 2004）；反之利用 IL-13 的抗體可以抑制氣管的過度敏感、發炎與變形（Yang et al., 2004）。IL-2 的活化與不平衡與自體免疫的反應與相關疾病有相關（O'shea et al., 2002）。

趨化激素（chemokine）為一群分子量約 8~11kDa 的細胞激素，結構類似，能刺激白血球朝它們移動因此稱之為有趨化作用（chemotactic）的細胞激素（cytokine）。趨化激素都含有四個 cysteine，形成兩個雙硫鍵，會調控淋巴球在身體內的傳遞，活化單核吞噬細胞、內皮細胞、fibroblasts、和 megakaryocytes 等等，藉以調控免疫反應（Homey et al., 2002）。現今已有超過 40 種趨化激素被發現，大

致分為 CC 與 CXC 兩大類。趨化激素有許多生理上的作用，如生長激素、血管生長激素，與許多疾病（如癌症）的發生與治療有直接相關。因為細胞激素與直接接觸血管，並透過血液與各個器官直接或間接的接觸，所以對身體的反應與狀況有相當重要的影響。

過敏性鼻炎為一種與免疫有相關的疾病，是一種異位性症候群（atopic syndrome），屬於第 I 型過敏反應，病人的 IgE 抗體總量上昇且抗原特異性可以皮膚試驗，誘發試驗及血清抗原特異 IgE 抗體檢查測知。根據所分泌細胞因數的不同，輔助性 T 細胞可分為兩個亞型，即 1 型輔助性 T 細胞（Th1 細胞）和 2 型輔助性 T 細胞（Th2 細胞）。前者主要介導細胞免疫反應，後者主要引起體液免疫反應。根據這種機理，調節 Th1 和 Th2 的免疫平衡狀態，對治療過敏性鼻炎至關重要。隨著對過敏性鼻炎發病機制研究的不斷深入，細胞因數對過敏性炎症的調節作用也逐漸被認識。在過敏性炎症反應中起核心作用的是 CD4<sup>+</sup>細胞，它通過釋放一系列細胞因數，調節急性和慢性過敏反應，導致患者出現速發反應和遲發反應，患者出現相應的鼻癢、流涕、連續噴嚏和鼻塞等急性症狀和以持續性鼻塞為主的慢性症狀。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>細胞可以抑制 Th2 細胞對抗原的活化，IL-10 也可以減緩異位性過敏（Robison et al., 2004）。

依據中醫八綱辨證之原則：陰陽、寒熱、表裏、虛實似乎兩兩相對立，而不同的治法自然應對應於不同辨證類型患者，且直觀上傳統醫學治療方劑與加減法固然可以靈活變化，而辨證與論治方向似乎屬於嚴謹之對應，因此，從理論分析上或從許多研究樣本分析上，都可見到許多的矛盾結果。這是一個頗值得關切的問題，在研究方法上，它顯示出中醫診治過程中，一些重要的觀察變項，似乎不像我們所熟知的現代醫學研究模式中，變項間的相關性那麼單純或獨立。由於在中醫現代化研究中，仍未有學者觸及此一問題，因此，我們也希望藉由本研究對中醫臨床思路及診治決策做一探索。

#### (一) EGF (epidermal growth factor, 表皮生長因子)

EGF 是一種重要的生長激素調節細胞生長，增殖與分化。含有 53 氨基酸，6045 Da 的蛋白質，主要作用是與細胞表面的 EGF 接受器結合後，透過 tyrosine kinase 磷酸活化刺激細胞產生一連串的訊息傳遞，包括提升細胞內鈣離子濃度，增加 glycolysis 與蛋白質的生成，與 EGF 受體表現的提升（Carpenter and Cohen, 1990）。

## (二) BDNF (brain-derived neurotrophic factor, 腦衍生神經滋養因子)

BDNF 在神經及中樞神經系統中可被發現，會幫助、支持已有的神經細胞，促進新的神經細胞與突觸的生長，其主要作用在 hippocampus, cortex 與前腦區域—與學習記憶與思考有關。BDNF 為刺激神經幹細胞長成新的神經細胞的最有效的因子之一，缺乏 BDNF 的小鼠，腦部發育與感官器官的發育會缺損，並在生下後即死亡。BDNF 也可以在腦部以外的細胞，如攝護腺、腎臟等等細胞中發現，顯示它可能在其他器官有不同的功能。

## 七、本研究的目的

本計畫的主要目的為尋找與中醫體質寒與熱有關的蛋白質，未來再從蛋白質或有關蛋白質表現的基因中尋找人群中可能的基因序列差異（即 SNP），並研究所發現的 SNP 與症狀的關連性。我們認為利用體質類型與基因表現的關係可以研究：(一)個體差異，以作為更精確的診斷工具。(二)提供中醫辨證論治的分子科學證據。(三)可更深入的了解中醫理論，並從中推展出更有效的中醫治療方法與藥方。(四)拓展分子醫學領域，相關基因與疾病的發生或進展有極大的關連性，可用來研究疾病發生的機制與治療疾病的方法。(五)中醫藥物與方劑之藥性或藥效的評估。

我們曾參與二年的基因體研究計畫，研究中將經由西醫確診為過敏性鼻炎患者，隨機分為二組分別服用寒或熱性中藥方二個月，在服藥前後分別接受中醫體質分型及西醫臨床評估，利用 2D-gel 做蛋白質分佈的關係研究，以尋找證型、疾病與血清蛋白質的關係，並發現血紅蛋白與服用藥物有直接相關但與體質的變化沒有相關。因為 2D-gel 的解析度相當有限，也為了更精確的分析血液中可能與體質寒熱及過敏性鼻炎病徵相關之蛋白質含量，我們採用免疫螢光法（ELISA）來量測血液中與免疫、發炎及細胞間調控有直接相關的激素在不同證型、疾病表現患者的分佈與所扮演的角色。

就發展策略而言，在國際間中醫藥研究的激烈競爭中，運用基因及蛋白質技術來發展中醫藥研究已於全球開展，特別是海峽對岸擁有較多的中醫藥人才，發掘中醫藥研究題材遠較其他先進國家為優勢，更是中藥材主要原產地；因此在藥材產地條件較劣勢下，針對中醫理論來發展研究基礎工具是首要工作，這也是本研究計畫所思考之方

向。而針對診療工具的發展研究及評估系統的妥善建立，對提昇中醫醫療品質與開發更寬廣深入的研究領域也將是重要之突破。

## 貳、材料與方法

### 一、研究方法

本研究包括觀察研究及臨床試驗。前者以問卷及醫師記錄分析過敏性鼻炎患者中醫體質類型，以西醫評估記錄患者臨床表現及實驗室分析資料，觀察過敏性鼻炎患者中醫體質診斷及患者臨床表現之特性及關係。後者採用隨機分組及雙盲試驗，患者採用隨機分組給藥試驗，基本上醫師及患者皆不知其體質類型與服用中藥種類，以檢定中醫診治模式。計畫經中國醫藥大學附設醫院及台中榮民總醫院人體試驗委員會審查通過後始開始執行。

### 二、取樣對象

患者來源為中國醫藥大學附設醫院耳鼻喉科門診，與台中榮民總醫院耳鼻喉科門診病患經該科專科醫師診斷符合本研究收案條件之過敏性鼻炎患者，由中醫師充分說明研究目的及進行方式後，同意參與本研究及簽署同意書之患者始納入本研究計畫。

### 三、執行方法

#### (一) 過敏性鼻炎患者之觀察記錄

經耳鼻喉科專科醫師(研究過程所有病患之西醫確診及追蹤評估均由同一位醫師執行)確診為本病患者後，並排除接受西醫手術、西藥治療、民俗及其他中藥治療、及其他非過敏性疾病患者後納入本研究觀察對象。全部患者接受中醫體質問卷調查、西醫理學檢查、並抽血 10ml 進行實驗室血清蛋白質分析。

#### (二) 過敏性鼻炎患者之臨床試驗

患者編號依亂數表隨機分為二組，分別給予寒性與熱性中藥方劑，每日三次分別於飯前服用，每位患者連續服藥二個月，最後再做一次追蹤記錄及檢查。

#### (三) 記錄內容

每位患者之問卷記錄包含三部分，分別為基本資料、西醫資料及中醫資料。

1. 基本資料有姓名、性別、身高、體重、年齡、家族史、過敏性疾病史等。

2. 西醫資料有五項鼻過敏症狀、病程、耳鼻喉科理學檢查資料等。
3. 中醫資料有問診、舌診、脈診、望診以及體質診斷類型。

#### (四) 診斷及評估方式

1. 中醫體質診斷分型：依據系統性紅斑狼瘡患者及正常人之體質調查研究之統計結果修正何裕民等於中國大陸進行體質調查之分型標準。並合併陰虛質、血虛質為陰血虛質（代表熱性體質），合併氣虛質、陽虛質為陽氣虛質（代表寒性體質）。
2. 過敏性鼻炎患者診斷及評估：研究中對過敏性鼻炎患者採用之診斷標準包括病史、鼻鏡檢查、實驗室指標。

(1) 病史：患者具有流鼻水、打噴嚏、鼻塞、眼鼻癢感等症狀，且病史出現超過三個月以上，以排除上呼吸道之急慢性症狀。

(2) 鼻鏡檢查：鼻腔及下鼻甲黏膜呈蒼白水腫，有水樣性鼻液。

(3) 實驗室檢查：追蹤血清中蛋白質表現。

符合上述條件之患者，並排除罹患其它急慢性疾病，以免影響對過敏性鼻炎之評估，將上述資料設計成表以進行記錄。

3. 此外過敏性鼻炎患者治療之療效判斷，依大陸中西結合委員會制定之過敏性鼻炎中西醫結合診療療效判斷標準進行評估<sup>(18)</sup>，其標準如下：

(1) 自覺症狀：鼻癢、噴嚏、鼻塞、流涕、眼癢等五項症狀，依輕重分成四個等級，治療前後根據自我感覺，按以下等級記分：

3 分為嚴重—症狀對生活作息有明顯干擾

2 分為中等—症狀對生活作息有輕度干擾

1 分為輕度—有這個症狀，但自覺對生活作息沒有影響，常不以為意

0 分為無症—沒有這個症狀

(2) 鼻腔檢查：蒼白鼻黏膜、黏膜水腫、水樣性鼻液、結膜炎、眼胞腫、黑眼圈、流眼淚、中耳炎等八項檢查徵象，依輕重分成四個等級（0 分為正常、1 分為輕度、2 分為中度、3 分為重度變化）。治療前後



由同一位專科醫師，按等級記分。

將以上自覺症狀及鼻腔檢查共 13 項項目之分數總和，作為療效判斷標準，範圍由 0 至 39 分。

#### (五) 病人血液樣品的收集

將病患之血液樣品進行初步處理，分離血清與白血球後分別儲藏。其中血清蛋白用於基因體分析以研究蛋白含量的差異。

#### (六) 處方組成與製備

##### 1. 桂枝湯：

(1) 出自於漢代張仲景《傷寒雜病論》<sup>(30)</sup>，其組方比例為（桂枝：白芍：生薑：大棗：甘草 = 3：3：3：2：2）。

(2) 藥物基源如下：

桂枝：樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl. 的嫩枝。

白芍：毛茛科多年生草本植物芍藥 *Paeonia lactiflora* Pall. 的乾燥根。

生薑：薑科多年生草本植物薑 *Zingiber officinale* Rosc. 的根莖。

大棗：鼠李科落葉灌木 *Ziziphus jujuba* Mill. 的成熟果實。

甘草：豆科多年生草本植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的乾燥根及根莖。

##### 2. 知柏地黃湯：

(1) 出自《刪補名醫方論》<sup>(31)</sup>。其組方比例為（知母：黃柏：山茱萸：山藥：茯苓：澤瀉：地黃：丹皮 = 2：2：4：4：3：3：8：3）。

(2) 藥物基源如下：

知母：百合科多年生草本植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的根莖。

黃柏：芸香科落葉喬木黃柏 *Phellodendron amurense* Rupr. 除去栓皮的樹皮。

山茱萸：山茱萸科落葉小喬木植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc 除去果核的果肉。

山藥：薯蕷科多年生蔓生草本植物薯蕷 *Dioscorea opposita Thunb.* 的乾燥根莖。

茯苓：多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos Wolf* 的菌核。

澤瀉：澤瀉科多年生沼澤植物澤瀉 *Alisma orientalis Juzep.* 的塊莖。

地黃：玄參科多年生草本植物地黃 *Rehmannia glutinosa Liboch.* 的根經加工蒸曬而成。

丹皮：毛茛科多年落葉小灌木牡丹 *Paeonia suffruticosa Andr.* 的根皮。

### 3. 基源鑑定及製備：

委由順天科學中藥廠附屬台灣必安研究所執行，並依科學中藥製劑流程，將同一方劑所有藥材一次煎煮、濃縮，真空噴霧造粒後，加以鋁箔包裝，每包裝含3克濃縮粉粒，包裝後分別標為A與B（前者為知柏地黃湯，後者為桂枝湯）。

## 四、病人樣品的收集與細胞激素分佈的分析

所收集的血液將做初步分離將血漿與白血球分離，分別儲藏於-80°C冷凍中。血漿蛋白將用於基因體的分析以研究蛋白、細胞激素含量的差異。所收集的白血球將立即分離其中的mRNA，並保存起來做日後研究使用。

細胞激素種類很多，為了有效的分析血液中的分佈與含量，我們使用 RayBio 公司所提供的細胞激素抗體晶片，該晶片組（RayBio® Human Cytokine Antibody Array C Series 1000，含兩片抗體晶片）可以同時分析120個細胞激素在血液中的分佈。該晶片組的使用方式與ELISA很類似，乃使用少量的血清，約100ul，與抗體反應，洗掉非特殊的蛋白質後，再用抗體的混合溶液與沾黏在晶片上的蛋白質做結合，然後利用有螢光標的的二次抗體做訊息放大。因為該晶片的成本很高，從病人中挑選證型與過敏性鼻炎有顯著不同或改善的12個病人的檢體，做抗體晶片的分佈分析。從中決定有改變的細胞激素。其餘的檢體將利用特定的ELISA來作分析以節省成本。經過分析，我們發現數個細胞生長激素的有顯著改變，包括EGF，BDNF，PDGF-BB改變。

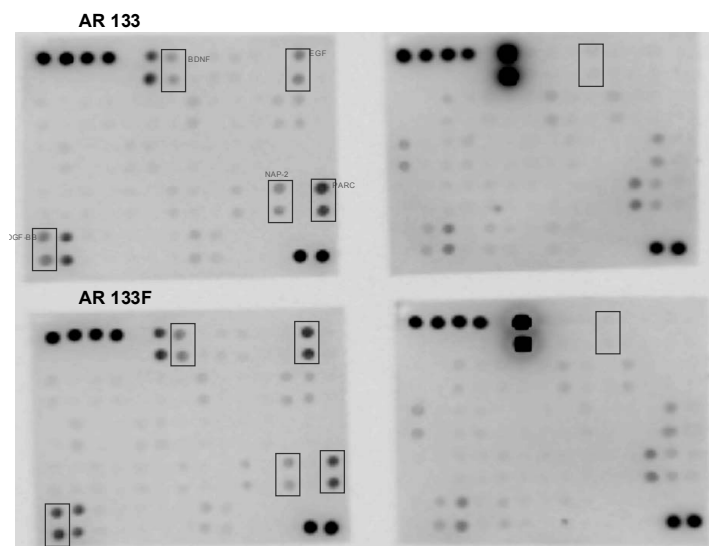
ELISA分析：EGF，BDNF，PDGF-BB，與PARC的ELISA分

析組 (RayBio) 依公司所提供的標準程序操作，血漿使用濃度用 50ul/well; BDNF, 5ul/well。PDGF-BB，與 PARC 的結果不穩定，需重新尋找條件重做。

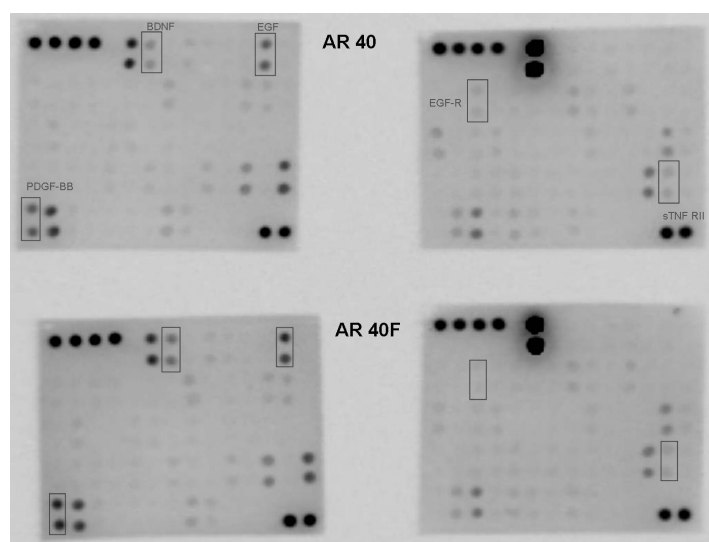
## 參、結果

### 一、蛋白質抗體晶片

利用蛋白質抗體晶片，我們將 12 個人的服用藥物前後的血漿分析其細胞激素的分佈，如圖一與二所示，EGF、BDNF、PDGF-BB、NAP-2 與 PARC 有明顯的差異，在服用藥物的前後。

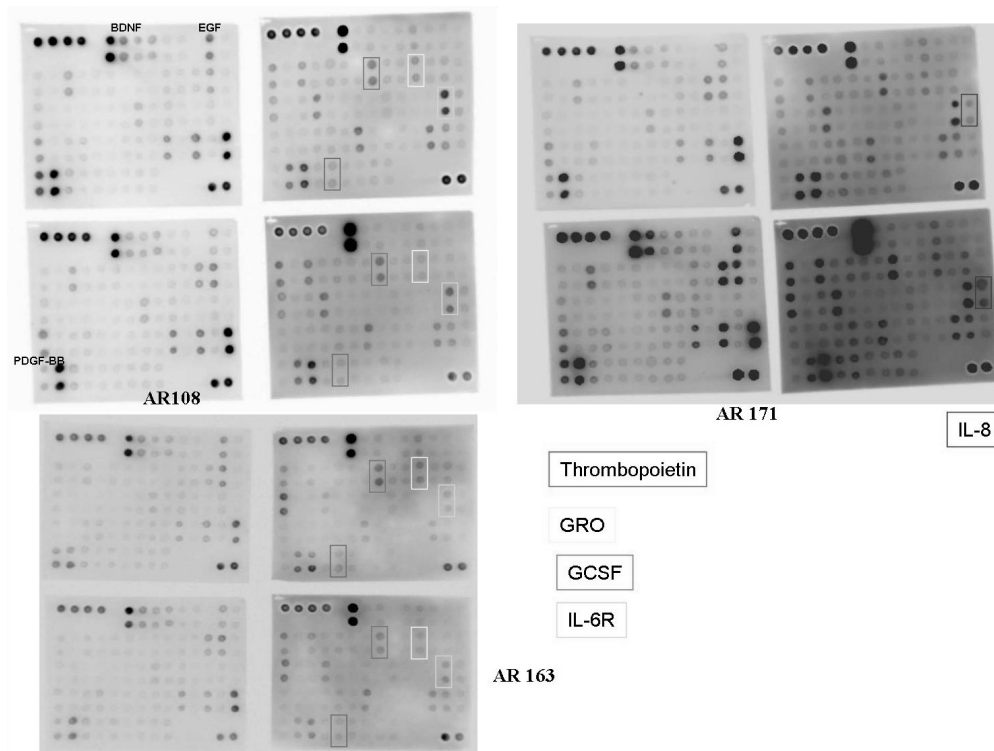


圖一 病人：AR133 服用中藥前後細胞激素相關蛋白質分佈之比較，上圖為服用藥物前，下圖為服用藥物後。線框內為蛋白質分佈不同的部分。



圖二 病人：AR40 服用中藥前後細胞激素相關蛋白質分佈之比較。上圖為服用藥物前，下圖為服用藥物後。線框內為蛋白質分佈不同的部分。

在多次的實驗中我們也同時發現有其他不同的細胞激素 (Thrombopoietin, GRO, GCSF, IL-6R, IL-8 與 NAP-2) 有顯著變化，如圖三所示。



圖三 病人服用中藥前後細胞激素相關蛋白質分佈之比較，病人：AR108, AR163, AR171；上圖為服用藥物前，下圖為服用藥物後。  
病人編號如圖所示。線框內為蛋白質分佈不同的部分。

## 二、ELISA

經由蛋白質抗體晶片的結果，我們首先挑選生長激素用 ELISA 來研究是否與各項變數有相關。164 位病人中，完成服用藥物的有 83 名，約佔 51%，ELISA 實驗預計將該 83 名病患之服用藥物前後的血漿做 EGF 及 BDNF 的濃度測量。現已完成 22 個病人服用藥物前後樣品的 EGF 及 21 個病人的 BDNF 的 ELISA，測量時所有樣品均重複做，下表中所示為其平均值。

### (一) EGF

表二為 22 個病人服用藥物前後 EGF 在血漿中的量的分佈情形。實驗結果顯示，EGF 濃度在病人血漿中分佈相當的廣，從低

於 10 到超過 260，在重複的實驗中，有一些樣品的誤差非常大，難以比對服用藥物前後的關係，在分析中，這些樣品被歸類於沒有顯著變化中。經比較分析，以相差在 10% 以上為顯著變化，其中有 64% (14 人) 升高，9% (2 人) 降低，27% (6 人) 的沒有顯著改變。在沒有變化的 6 個病人中有三人因為重複的值差異太大，需再行定量，以確定其真正的濃度。兩個有顯著下降的樣品 (AR75 與 AR94) 都是由濃度約 200 與 128 下降到 50 與 28 的正常值。經統計分析 (paired t-test) 發現服用寒藥與熱藥均會增加 EGF 的濃度，並且有統計上的顯著差異 (p 值小於 0.05)。經交互比對，發現 EGF 的差異性與血漿中的含量與原始體質、體質的變化及病人病情的轉好程度，沒有直接關係。

## (二) BDNF

BDNF 實驗中，以相差在 10% 以上為顯著變化，在 21 個有效樣品中有 62% (13 人) 升高，24% (5 人) 降低，14% (3 人) 沒改變。樣品的誤差大的實驗，因為難以比對服用藥物前後的關係，在分析中，這些樣品被歸類於沒有顯著變化中。實驗結果顯示，BDNF 濃度在病人血漿中分佈沒有 EGF 濃度的大差異，所得到的數值也較接近，在未來實驗中，將需採用三重複，以檢查實驗的誤差。經交互比對，發現 BDNF 的差異性與血漿中的含量與服用寒藥、原始體質、體質的變化及病人病情的轉好程度，沒有直接關係。

PDGF-BB 與 PARC 也有看到變化，但因為個人間的差距太大，需重複實驗以得到可用的結果。經統計分析 (paired t-test) 發現服用熱藥會增加 BDNF 的濃度，有統計上的顯著差異 (p 值小於 0.05)，但服用寒藥的病人沒有顯著差異。

## (三) PDGF-BB 與 PARC

此兩種細胞激素的 ELISA 經過兩次的實驗，發現其再現性與有效濃度的範圍有問題，無法做出可信的結果來，需要重新確定其有效濃度，重新測量他們的濃度。

## 肆、討論

本研究所得到的結果沒有如預期的能找到與體質有相關的細胞激素。在先前的計畫中，體質調節中藥方對過敏性鼻炎臨床表現的影響，可以看到臨床症狀都由嚴重、中度、輕度，轉變至中度、輕度，及無症狀。不論服用知柏地黃丸或桂枝湯之患者臨床症狀之積分均下降三分之一左右，在今年的研究中，我們採用蛋白質晶片，利用抗體來偵測血漿中的細胞激素與趨化激素的影響。實驗中不同干擾素的濃度無法有效偵測到，是在預測之外，因為干擾素直接影響免疫的調控，原先的設計是希望能在免疫調控中找出可能與體質有相關的因子，該部分的計畫，可能需要利用病人的血漿直接做蛋白質晶片或 ELISA 的實驗，以增加對干擾素的 sensitivity。但此種實驗的成本很高，每一次晶片實驗需 10,000 元，執行病人的普遍篩檢，不是計畫可以負擔。

雖然沒有干擾素的資料，但令人驚訝的是發現兩個調節性的中藥均能有效的在大部分的病人中提升 EGF 與 BDNF 的濃度。與 EGF 與 BDNF 的作用方向相同，此兩種生長激素的提升在蛋白質功能上，可以加速細胞的修復與增殖，對病人本身的好轉應該有所助益，但是否增高 EGF 與 BDNF 可以有效治療過敏性鼻炎的症狀，則需設計不同的實驗來證實。其中 BDNF 在服用知柏地黃丸的病人中並沒有顯著的增加，僅在服用桂枝病人 BDNF 有顯著的增加，可能 BDNF 與病人的好轉沒有直接關係。體質表現與此兩種蛋白質的量沒有相關性，可能是該激素與體質沒有相關，但也有可能是因為服用藥物的時間不夠長，造成病人的體質改變不明顯。

從文獻上來看，過敏性鼻炎患者中醫體質類型大約可歸類為陽氣虛與陰血虛二大型，大陸學者多主張前者，而台灣則以陰虛或氣陰虛為主。由於本研究目的不在評估中藥方治療過敏性鼻炎之療效，而是在驗證中醫體質類型與中藥方藥性之相對應，以及找出決定或參與此種關係之內在機制。由於現代醫學發展至今這種問題之重點已經被全球學者鎖定在基因相關之蛋白質表現上，因此我們認為藉由研究體質證型與方藥相關之設計，以及日益成熟之蛋白質分析技術之改進將可找出關鍵性之分子機轉。

蛋白質晶片的使用上有一些待克服的問題，許多文獻上已經發表與過敏性鼻炎有相關的細胞激素(如 IL-10)在我們的實驗中並沒有發現，可能是因為濃度太低，無法有效偵測。與代理廠商討論，他們建議使用

新鮮的血漿來作實驗，懷疑冷凍過的血漿，在細胞激素晶片上的敏感度會降低。此建議在本實驗上不可行，因為我們必須等病人完成全部療程，才能用該病人的檢體做實驗，因為經費與操作上的限制，無法每一個病人的檢體都馬上用蛋白質晶片來檢測。為使晶片的訊號增強，實驗中晶片與血漿處理時間增長為 18 小時，發現訊號明顯提高，但與干擾素有相關的細胞激素仍然沒有顯著訊號。

在蛋白質抗體晶片的實驗中我們同時發現其他細胞激素不同的表現量，除了正在從事的 EGF、BDNF、PDGF-BB 及 PARC 外，我們將完成圖一至圖三所確認的不同細胞激素(如 Thrombopoietin, GRO, GSCF, IL-6R, IL-8 與 NAP-2)，用 ELISA 來分析病人服用藥物的變化及與體質的關係。164 位病人中，完成服用藥物的有 83 名，ELISA 實驗預計將該 83 名病患之服用藥物前後的血漿做 EGF 及 BDNF 的濃度測量。因 ELISA 試劑昂貴，實驗將採用自己塗層的方法，來做大量病人的測定。為了避免 inter-及 intra-試驗的變異，測量時所有樣品將採三重複以減少實驗誤差，並且對誤差較大的樣品做重複的實驗。在資料分析方面，我們使用的是 paired t-test，直接比對病人服用藥物前後的增減，經委員建議，可以將增加或減少的量來做統計上的比對，尤其是體質變化或病人的病情嚴重指數的差異，可以檢查是否體質上量的差異與 EGF 或 BDNF 的變化有相關。

從中醫典籍中，我們可以發現小孩長高主要用桂枝湯，而大人骨質疏鬆之補養以知柏地黃湯，本實驗發現這兩種方劑都可以增加 EGF 的濃度，與中醫典籍所記載增加小孩長高與骨質疏鬆症可以支持 EGF 與 BDNF 的上升。EGF 與 BDNF 為生長激素，加速細胞的修復與增殖，對病人的好轉反應應該有所助益，需設計其它實驗來證實。EGF 近年來被用在美容上面，研究中藥對 EGF 的影響，除了治療疾病的用途，或許可以開發美容方面應用，接下來的實驗將針對桂枝湯或知柏地黃丸對 EGF 的調控的細胞機轉做研究，首先研究桂枝湯萃取物(科學中藥)對培養的細胞的 EGF 是否有顯著的提升；如果有，將針對該方劑中每一個單方做研究，檢驗其療效，並研究其分子機轉。並進行各個中藥對 EGF 受體的活化的效果與對過敏性鼻炎的研究，以瞭解 EGF 的提升對疾病的影響。

高雄長庚醫院精神科主治醫師黃條來不久前的研究發現，自殺個案的腦部 BDNF 蛋白質濃度較低；醫院研究團隊的基因研究也發現精神分裂症患者有自殺病史較無自殺病史可能在 BDNF G196A 基因多型性有



較低的頻率。BDNF 基因被認為是影響「重憂鬱症」形成的重要基因，BDNF 可以影響神經軸突的成長及連絡，以及調節神經細胞的存活，更可參與各種神經細胞的反應，對記憶與學習也掌有決定性的關鍵。是否這兩種會引起 BDNF 上升的中藥可以做為憂鬱症的治療輔助藥物，對憂鬱症的病患是否有幫助，需要進一步的實驗來證實。

## 伍、結論與建議

從研究結果我們有幾點結論：

- 一、體質調節性中藥，桂枝湯可以有效的增加過敏性鼻炎病人血漿的 EGF 與 BDNF 的濃度。知柏地黃丸可以有效的增加過敏性鼻炎病人血漿 EGF 的濃度，對 BDNF 沒有影響，但此兩種生長激素的變化與體質變化、寒熱藥的服用沒有直接關係。
- 二、蛋白質抗體晶片可以有效的同時篩選 120 不同細胞激素的表現，但用在測量血漿實驗中對一些激素無法有效偵測出。可以自己製造蛋白質晶片，或利用不同種類的 ELISA 來做篩檢。
- 三、在體質類型變化、蛋白表現變化、藥物作用時間之關聯將再測定其他細胞激素以做分析。

## 誌謝

本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會，計畫編號 CCMP94-RD-042 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

## 陸、參考文獻

- 1.蘇奕彰：系統性紅斑狼瘡患者之中醫體質研究。中國醫藥學院博士論文。台中，1995。
- 2.Eva R. Weeke: Epidemiology of allergic diseases in children. *Rhinology*. 1992; 13: 5-12.
- 3.Carpenter G and Cohen S.: Epidermal growth factor. *J Biol Chem*. 1990; 265(14): 7709-12.
- 4.Peter McMenamin: Costs of hay fever in the United States in 1990. *Annals of Allergy* 1994; 73: 35-39.
- 5.Nobuo Kubo, Tadami Kumazawa: Functional Disturbances of the Autonomic Nerve in Nasal Hyperreactivity. *Acta Otolarygol, Suppl* 1993; 500: 97-108.
- 6.George P. Chrousos, Pilip W. Gold: The Concepts of Stress and Stress System Disorder. *JAMA* 1992; 267: 1244-1251.
- 7.Bonnie Sibbald, Elizabeth Rink: Epidemiology of Seasonal and Personal Rhinitis: Clinical Presentation and Medical History. *Thorax* 1991; 46: 895-901.
- 8.Elizabeth F. Juniper, Gordon H. Guyatt: Development and Testing of a New Measure of Health Status for Clinical Trial in Rhinoconjunctivitis. *Clinical and Experimental Allergy* 1991; 21: 77-83.
- 9.Elizabeth F. Juniper, Gordon H. Guyatt, Jerry Dolovich: Assessment of quality of life in adolescents with allergic rhinoconjunctivitis: Development and testing of a questionnaire for clinical trials. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1994; 93: 413-421.
- 10.H. Klementsson: Eosinophils and the Pathophysiology of allergic rhinitis. *Clinical and Experimental Allergy* 1992; 22: 1058-1064.
- 11.Robert A. Barbee, Walter Kaltenborn, Michael D. Lebowitz, Benjamin Burrows: Longitudinal Changes in Allergen Skin Test Reactivity in a Community Population Sample. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1987; 79: 16-25.
- 12.Anil K. Badhwar, Howard M. Druce: Allergic Rhinitis. *The Medical Clinics of North America* 1992; 76:789-801.

13. Eli O. Meltzer: An Overview of Current Pharmacotherapy in Perennial Rhinitis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1995; 95; 1097-1111.
14. 胡熙明：建國 40 年中醫藥科技成就。中醫古籍出版社，北京，1989；pp.423-424。
15. 馬光亞：臨床辨證與經驗實錄，知音出版社，台北，1993；pp.167-169。
16. 余增福：複方蒼耳子滴鼻劑治療鼻部疾病 1194 例。中西醫結合雜誌 1985；5：750。
17. 上海市辛芩沖劑協作組：辛芩沖劑治療過敏性鼻炎 367 例臨床總結。上海中醫藥雜誌 1984；7：20。
18. 李凡成：分型治療變態反應性鼻炎 100 例總結。新中醫 1986；18：25-27。
19. 陳可冀：實用中西藥臨床治療手冊，中國醫藥科技出版社，北京，1993；pp.761-763。
20. 陳貴廷、楊思澍：實用中西醫結合診斷治療學，中國醫藥科技出版社，北京。1991；pp.1934-1938。
21. 何欲民、高欽穎、嚴清、張曄、吳亦樵、李紅升：從體質調研結果探討因時因地制宜治則。中醫雜誌 1986；5：47-50。
22. 林文森、石志興、馬思明、張志堯、周文洛：補氣固表治療變態反應性鼻炎的臨床研究。中西醫結合雜誌 1989；5：263-265。
23. 劉渡舟：傷寒論校注。人民衛生出版社，北京，1991；pp.51。
24. 吳謙：醫宗金鑑。中國中醫藥出版社，北京，1994；pp.345。

柒、表

表二 EGF 在血漿中的濃度

服用中藥	陰血虛	陰血虛型	陽氣虛	陽氣虛型	陰血虛	陰血虛型	陽氣虛	陽氣虛型	EGF levels	EGF after	EGF change
AR12	22	1	21	1	AR12F	15	0	18	43.02	81.04	↑
AR13	15	0	15	0	AR13F	16	0	14	7.52	38.57	↑
AR14	27	1	30	1	AR14F	27	1	28	36.45	30.04	NC
AR15	16	0	17	0	AR15F	27	1	28	73.63	75.12	NC
AR20	29	1	24	1	AR20F	30	1	26	8.50	95.91	↑
AR21	17	0	21	1	AR21F	19	0	26	11.74	22.28	↑
AR24	21	1	24	1	AR24F	17	0	19	8.59	93.24	↑
AR28	19	0	12	0	AR28F	16	0	13	24.69	60.98	↑
AR31	22	1	16	0	AR31F	18	0	16	6.49	20.29	↑
AR40	27	1	22	1	AR40F	18	0	19	156.52	265.74	↑
AR48	10	0	14	0	AR48F	11	0	13	22.57	106.91	↑
AR51	19	0	16	0	AR51F	11	0	13	65.99	69.05	NC
AR66	19	0	27	1	AR66F	23	1	28	39.77	46.42	↑
AR77	31	1	23	1	AR77F	29	1	25	51.38	69.88	↑
AR75	16	0	16	0	AR75F	16	0	16	199.55	50.68	↓
AR94	15	0	15	0	AR94F	16	0	14	128.25	28.94	↓
AR108	23	1	25	1	AR108F	25	1	26	62.99	51.49	NC
AR116	23	1	17	0	AR116F	19	0	15	80.12	90.38	NC
AR133	29	1	29	1	AR133F	18	0	24	135.31	294.91	↑
AR163	23	1	28	1	AR163F	19	0	24	87.67	75.54	NC
AR168	25	1	19	0	AR168F	19	0	24	40.78	53.61	↑
AR171	22	1	24	1	AR171F	23	1	24	80.54	139.81	↑

病人號碼後面有加 F 表示為做完療程時的狀況；A，知柏地黃丸 B，桂枝湯；陰血虛或陽氣虛型 0 表示沒有，1 表示有；NC，沒有顯著變化；

表三 BDNF 在血漿中的濃度

病人號碼	服用中藥	陰血虛	陰血虛型	陽氣虛	陽氣虛型	陰血虛	陰血虛型	陽氣虛	陽氣虛型	BDNF levels	BDNF after	BDNF change
AR12	B	22	1	21	1	AR12f	15	18	0	5.02	11.13	↑
AR13	B	15	0	15	0	AR13f	16	14	0	0.39	5.29	↑
AR31	A	22	1	16	0	AR31f	18	16	0	1.12	1.14	NC
AR40	B	27	1	22	1	AR40f	18	19	0	20.47	27.70	↑
AR66	A	19	0	27	1	AR66f	23	28	1	5.58	9.09	↑
AR75	A	16	0	16	0	AR75f	16	16	0	6.67	8.43	↑
AR77	A	31	1	23	1	AR77f	29	25	1	3.15	1.54	↓
AR94	A	15	0	15	0	AR94f	16	14	0	27.43	8.08	↓
AR104	B	20	0	19	0	AR104f	15	14	0	4.33	5.19	↑
AR106	B	18	0	19	0	AR106f	14	19	0	1.44	4.25	↑
AR110	B	17	0	22	1	AR110f	17	22	1	9.92	13.20	↑
AR116	B	23	1	17	0	AR116f	19	15	0	4.97	6.18	↑
AR120	A	15	0	12	0	AR120f	14	12	0	2.62	5.09	↑
AR125	A	24	1	28	1	AR125f	19	23	1	3.02	1.42	↓
AR133	A	29	1	29	1	AR133f	18	24	1	4.45	10.26	↑
AR163	B	23	1	28	1	AR163f	19	24	1	4.38	3.96	NC
AR168	B	25	1	19	0	AR168f				17.95	20.01	↑
AR171	A	22	1	24	1	AR171f				18.27	32.03	↑
AR182	A					AR182f				4.54	4.56	NC
AR184	B					AR184f				34.18	28.11	↓
AR199	A					AR199f				11.72	8.77	↓

病人號碼後面有加 F 表示為做完療程時的狀況；A，知柏地黃丸 B，桂枝湯；陰血虛或陽氣虛型 0 表示沒有，1 表示有；NC，沒有顯著變化；

附錄：原始資料：

表四：EGF 在血漿中的濃度

EGF	100ul	50ul	Average	EGF	100ul	50ul	Average	EGF	100ul	50ul	Average	
12	49.3081	53.16967	<b>51.2389</b>	12F	77.01254	110.7321	<b>93.8723</b>	12F	77.01254	110.7321	<b>93.8723</b>	↑
13	11.3992	7.436576	<b>9.41789</b>	13F	43.08786	48.40848	<b>45.7482</b>	13F	43.08786	48.40848	<b>45.7482</b>	↑
14	30.79429	52.36386	<b>41.5791</b>	14F	24.31249	43.86764	<b>34.0901</b>	14F	24.31249	43.86764	<b>34.0901</b>	no
15	156.8745	42.66759	<b>99.771</b>	15F	137.9977	58.24598	<b>98.1219</b>	15F	137.9977	58.24598	<b>98.1219</b>	no
20	4.832178	13.77763	<b>9.30491</b>	20F	96.84209	127.2552	<b>112.049</b>	20F	96.84209	127.2552	<b>112.049</b>	↑
21	8.616355	17.73123	<b>13.1738</b>	21F	21.53996	30.20726	<b>25.8736</b>	21F	21.53996	30.20726	<b>25.8736</b>	↑
24	7.686737	12.06064	<b>9.87369</b>	24F	89.2082	127.0033	<b>108.106</b>	24F	89.2082	127.0033	<b>108.106</b>	↑
28	27.03537	31.36625	<b>29.2008</b>	28F	77.21515	70.49027	<b>73.8527</b>	28F	77.21515	70.49027	<b>73.8527</b>	↑
31	9.492266	6.64507	<b>8.06867</b>	31F	12.00276	32.57908	<b>22.2909</b>	31F	12.00276	32.57908	<b>22.2909</b>	↑
40	131.1107	225.637	<b>178.374</b>	40F	304.1376	328.7209	<b>316.429</b>	40F	304.1376	328.7209	<b>316.429</b>	↑
48	26.11502	27.73105	<b>26.923</b>	48F	50.42892	180.195	<b>115.312</b>	48F	50.42892	180.195	<b>115.312</b>	↑
51	61.62333	90.89646	<b>76.2599</b>	51F	84.73695	81.6067	<b>83.1718</b>	51F	84.73695	81.6067	<b>83.1718</b>	no
66	26.13731	62.11304	<b>44.1252</b>	66F	40.51127	65.83337	<b>53.1723</b>	66F	40.51127	65.83337	<b>53.1723</b>	s ↑
71	43.30536	73.88574	<b>58.5956</b>	71F	52.52333	104.7537	<b>78.6385</b>	71F	52.52333	104.7537	<b>78.6385</b>	↑
75	400.6425	132.0128	<b>266.328</b>	75F	16.86731	90.12132	<b>53.4943</b>	75F	16.86731	90.12132	<b>53.4943</b>	↓
94	143.4176	160.8962	<b>152.157</b>	94F	27.14847	39.78532	<b>33.4669</b>	94F	27.14847	39.78532	<b>33.4669</b>	↓
108	79.83198	72.76388	<b>76.2979</b>	108F	29.40286	83.36901	<b>56.3859</b>	108F	29.40286	83.36901	<b>56.3859</b>	Repeat
116	132.6731	71.80044	<b>102.237</b>	116F	76.47315	129.7846	<b>103.129</b>	116F	76.47315	129.7846	<b>103.129</b>	Repeat
133	45.89274	240.0168	<b>142.955</b>	133F	391.1357	329.0591	<b>360.097</b>	133F	391.1357	329.0591	<b>360.097</b>	↑
163	23.70875	159.5272	<b>91.618</b>	163F	127.5645	66.02898	<b>96.7967</b>	163F	127.5645	66.02898	<b>96.7967</b>	Repeat
168	42.11438	53.48436	<b>47.7994</b>	168F	41.84551	79.3325	<b>60.589</b>	168F	41.84551	79.3325	<b>60.589</b>	s ↑
171	56.08555	123.6828	<b>89.8842</b>	171F	101.5869	211.9054	<b>156.746</b>	171F	101.5869	211.9054	<b>156.746</b>	↑

表五 BDNF 在血漿中的濃度

Standards	BDNF pg/ml		BDNF Con. ug/ml		Average		BDNF Con. ug/ml		BDNF Con. ug/ml			
	OD	Average	OD	Average	OD	Average	OD	Average				
12	0.9018	0.4832	0.6925	251.1718	8.23	24.69	74.07	222.2	666.7	2000	11.1285	↑
13	0.122	0.1286	0.1253	19.46092	0.0881	0.1559	0.2128	0.599	1.5541	2.7398	5.2911	↑
31	0.2642	0.2428	0.2535	55.84834		1.11697		0.3426	0.1706	0.2566	1.13746	nc
40	1.8523	1.6903	1.7713	1023.738		20.4748		1.8361	2.4997	2.1679	27.7011	↑
66	0.7307	0.7558	0.74325	279.2054		5.58411		1.0186	1.0398	1.0292	9.08761	↑
75	0.9744	0.6999	0.83715	333.5991		6.67198		0.8586	1.0984	0.9785	8.42611	↑
77	0.6487	0.3641	0.5064	157.2577		3.14515		0.4132	0.2153	0.31425	1.54036	↓
94	2.5294	1.7782	2.1538	1371.6		27.432		1.0747	0.8277	0.9512	8.07684	↓
104	1.7504	1.4181	1.58425	866.3135		4.33157		1.4119	2.1646	1.78825	5.19214	↑
106	0.8044	0.7132	0.7588	287.9899		1.43995		1.5817	1.5458	1.56375	4.24798	↑
110	1.0774	1.1058	1.0916	496.2102		9.9242		1.371	1.2712	1.3211	13.2032	↑
116	0.8707	0.5036	0.68715	248.2742		4.96548		0.7509	0.839	0.79495	6.17515	s ↑
120	0.557	0.3402	0.4486	131.1794		2.62359		0.5535	0.843	0.69825	5.08597	↑
125	0.587	0.3995	0.49325	151.1877		3.02375		0.2343	0.361	0.29765	1.42023	↓
133	1.6329	1.5945	1.6137	890.5176		4.45259		2.7692	2.8681	2.81865	10.2564	↑
163	0.7701	0.4943	0.6322	219.168		4.38336		0.5247	0.6569	0.5908	3.96096	nc
168	1.6925	1.5518	1.62215	897.5032		17.9501		1.7814	1.7073	1.74435	20.0105	↑
171	1.7217	1.5616	1.64165	913.6926		18.2739		2.4153	2.3626	2.38895	32.032	↑
182	0.7935	0.5017	0.6476	227.2035		4.54407		0.6171	0.6813	0.6492	4.56088	nc
184	2.9107	2.0794	2.49505	1709.185		34.1837		1.9052	2.4736	2.1894	28.1131	↓
199	1.6332	0.8072	1.2202	586.1763		11.7235		0.8461	1.1634	1.00475	8.76653	↓