

計畫編號：DOH89-TD-1070

行政院衛生署八十八年下半年及八十九年度

科技研究發展計畫

薏仁加工產品對致敏動物過敏反應之影響

研究報告

執行機構：國立台灣大學食品科技研究所

計畫主持人：江文章

研究人員：江文章、林璧鳳、徐欣億

執行期間：八十八年七月一日至八九年六月三十日

\*\*本研究報告僅供參考，不代表本署意見\*\*

## 目錄

|              |    |
|--------------|----|
| 中文摘要-----    | 2  |
| 英文摘要-----    | 3  |
| 壹、前言-----    | 5  |
| 貳、材料與方法----- | 8  |
| 一、實驗材料-----  | 8  |
| 二、實驗方法-----  | 9  |
| 三、統計方法-----  | 14 |
| 參、結果-----    | 15 |
| 肆、討論-----    | 19 |
| 伍、結論與建議----- | 22 |
| 陸、參考文獻-----  | 23 |
| 柒、表次-----    | 25 |

## 摘要

薏仁自古以來即為藥食兼用的穀類，在中國傳統醫學、民間療法及坊間食療保健的書上都可以看到薏仁對過敏、濕疹、贅疣…等的改善有所助益的記載。本計畫的目的在探討糙薏仁經不同加工處理後抗過敏的效果，及糙薏仁加工產品中抗過敏之有效區分。首先，以 BALB/c 小鼠為實驗對象，以 AIN-76 為基礎飼料配方，將小鼠分為控制組、20% 糙薏仁組、糙薏仁飯組、糙薏仁擠壓組及糙薏仁滾筒乾燥組等五組不同飼料飼養。餵食六週後，以卵蛋白(ovalbumin, OVA)為過敏原，採腹腔注射方式致敏。在經三次致敏後，取得血清檢測過敏原特異性抗體等過敏指標。實驗結果發現糙薏仁飯組和糙薏仁擠壓組小鼠的血清過敏原特異性 IgE 抗體都明顯較控制組低( $p<0.05$ )；IgG1 抗體以糙薏仁飯組較控制組有顯著降低( $p<0.05$ )。接著以 AIN-76 為基礎飼料配方，分別添加糙薏仁擠壓產品之正己烷萃取物、甲醇萃取物、水萃物，餵食三週後進行致敏。其結果為甲醇萃取物可以明顯地降低過敏原特異性 IgG1 抗體( $p<0.05$ )。本實驗發現糙薏仁經不同熱加工處理後，仍有減緩過敏的效果，其有效成分存在於甲醇萃取物中。

關鍵詞：薏仁，抗過敏性，免疫球蛋白，卵蛋白

## **ABSTRACT**

Adlay (soft-shelled job's tears , *Coix lacryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf) has long been used as medicine and a nourishing cereal. In traditional chinese medicine ancient books and the folklore of china , the seeds of adlay can improve allergy ,eczema and wart. The purpose of this plan is to investigate the suitable processing of dehulled adlay on anti-allergic disease and find out the effective fraction in dehulled adlay. In the first part , five groups of BALB/c mice fed with AIN-76 basal diet containing 0 % (control), 20 % adlay, 20% extruded adlay, 20% cooked adlay, and 20% roll dried adlay . After six weeks feeding , the mice were sensitized three times by ovalbumin (OVA) through i. p. (intraperitoneal). The results showed that the allergy IgE antibody in the diet containing 20% adlay, cooked adlay and extruded adlay was significantly decreased ( $p<0.05$ ), and the allergy specific IgG1 antibody in the cooked adlay group was significantly retarded ( $p<0.05$ ). In the second portion, five groups of BALB/c mice fed on AIN-76 basal diet containing 0% dehulled adlay

(control), n-hexane extract of extruded dehulled adlay ,methanol extract of extruded dehulled adlay, water extract of extruded dehulled adlay, or 20% dehulled adlay. After three weeks feeding, the mice were sensitized three times by OVA through i. p. The results showed that for methanol extract group the allergy specific IgG1 antibody was significantly decreased ( $p<0.05$ ). We believe that dehulled adlay can retard the allergic response, and its effective ingredient exists in the methanol extract. We will find out the effective ingredient in adlay with a suitable cell model in a near future.

keywords : adlay ,antiallergy ,immunoglobulin , ovalbumin

## 前言

### 一、過敏簡介

食品與健康的關係愈來愈受重視，近年來國內外過敏性疾病的罹患率持續在增加，病情也轉趨嚴重<sup>(11, 16)</sup>。所謂過敏係由過度的免疫反應所造成，其中以第一型過敏反應(Type I hypersensitivity)為最普遍，屬於此型常見的有過敏性鼻炎、氣喘、食物過敏、蕁麻疹等。此類疾病最明顯的特徵為血清中存有高量的特異性 IgE 抗體，其病理機轉乃由於過敏原(allergen)與肥大細胞(mast cell)或嗜鹼細胞表面上的特異性 IgE 抗體結合後，促使肥大細胞去顆粒化(degranulation)的作用，進而釋出發炎性媒介物，例如：組織胺、白三烯素、血小板活化因子、前列腺素、嗜伊紅性球趨化因子及嗜中性球趨化因子等，這些物質作用於各種標的器官，會引起平滑肌收縮、增加血管通透性並造成後期發炎反應。對肺臟而言，可能會引起肺部發炎性支氣管收縮、黏膜水腫及過度分泌而導致氣喘。肺部發炎及嗜伊紅性白血球的聚集是過敏呼吸性疾病一項主要的特徵。

### 二、國內過敏現況及治療情況

根據台大醫院小兒科謝貴雄教授 1994 年調查大台北地區學童過敏疾病發現，氣喘罹病率已由民國六十三年的 1.3%，增加至八十三年的 10.8%，顯示有明顯的增加現象；而大台北地區的十萬名國小學

童中約有 33%的小學生患有過敏性鼻炎，由此可知過敏已成為不少人的問題之一。目前醫生一般會建議病患適當的改善生活環境，必要時給予抗過敏發炎性藥物(如抗組織胺、類固醇)及抗生素來控制發炎反應，但至今尚無有效預防過敏反應的方法。

### 三、薏仁抗過敏的潛力

薏苡為禾本科一年生草本植物，在神農本草經和本草綱目等漢藥書記載，薏仁既是滋養強壯劑，又是養命藥，在人體內有利尿、健脾益胃、消炎、以及抗腫瘤等功能。在中國傳統醫學、民間療法和坊間書上都可看到薏仁對過敏、濕疹、贅疣（wart）等的治療有幫助，不過科學上的研究報告不多。1988 年有學者發現由動物分離出的肥大細胞以 concanavalin A 活化並加入薏仁根部萃取物後，具有抑制組織胺釋出的效果，經鑑定發現具有抗過敏的物質為 6 種 benzoxazinoid 的酚類化合物<sup>(14)</sup>。在人體試驗方面，正常人每天服用薏仁萃取物 (110mg) 膠囊 4 週後，發現末梢血液中 CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> cell 和 CD16<sup>+</sup> CD57<sup>-</sup> cell 的百分率明顯上升( $p < 0.05$ )，表示出薏仁可能具有抗濾過性病毒效果<sup>(10)</sup>，此結果提供了薏仁可治療贅疣的部分證據。1996 年有學者以細胞培養進行實驗，發現薏仁水萃取物，具有活化巨噬細胞釋出 nitric oxide (NO)，可毒殺 Toxoplasma gondii<sup>(15)</sup>。不過亦有學者以細胞培養進行實驗，發現薏仁水萃取物未能明顯促進

免疫反應<sup>(1)</sup>。本實驗室於 1997 年以動物實驗證明糙薏仁對致敏鼠具有降低特異性 IgE 抗體及增加特異性 IgG<sub>2a</sub> 抗體的能力，因而具有減緩過敏的效果。於上年度執行衛生署糙薏仁抗過敏性之研究計畫中，證實以 20% 的糙薏仁取代基礎飼料為減少致敏鼠過敏的較適劑量，它可以使對卵蛋白(OVA)過敏小鼠的免疫反應趨向 TH1 pathway，以降低特異性 IgE 抗體及增加特異性 IgG<sub>2a</sub> 抗體；並且進一步發現糙薏仁的有效抗過敏成分存在於甲醇可溶區分中，它同樣具有影響免疫系統偏向 TH1 pathway 的效果。

#### 四、研究目的

本研究計畫主要是針對不同加工方式(包括蒸煮、滾筒乾燥、擠壓等)之糙薏仁加工成品的抗過敏性進行學理性探討，其主要目的為探討糙薏仁經不同的加工處理後，其抗過敏的效果以何種加工方式為佳的，以及進一步對較有效之加工成品探討其抗過敏的有效區分。

## 貳、材料與方法

### 一、實驗材料

#### (1)糙薏仁粉(dehulled adlay powder ,AD)

民國 85 年 3 月委請台中區農業改良場和農民契作台中選育 4 號 (Taichung Shuenuy No. 4)，並於同年 7 月中採收。薏苡籽實(whole grain adlay)以脫殼機脫殼，並利用風篩而得到糙薏仁(dehulled adlay)，將糙薏仁磨成粉狀物(20 mesh)後，4°C 冷藏備用。

#### (2)糙薏仁經不同加工方式成品之製備

##### (a)糙薏仁飯之製備

將台中選育 4 號之糙薏仁，以 1:1.5 的蒸餾水浸泡 2 小時後，放入電鍋烹煮。煮熟的糙薏仁飯經冷凍乾燥，磨成粉狀物(20 mesh)，4°C 冷藏備用。

##### (b)糙薏仁之擠壓成品製備

以台中選育 4 號之糙薏仁為材料，經雙軸擠壓機製備的樣品，磨成粉狀物(20 mesh )，4°C 冷藏備用。

##### (c)糙薏仁之滾筒乾燥成品製備

以二林農會所產薏仁雪花片為樣品，此產品為糙薏仁經滾筒乾燥製備而成，故選擇此產品代表滾筒乾燥所用之材料。

#### (3)經擠壓機製備之糙薏仁粉的正己烷萃取物(n-hexane extract ,HE)

將台中選育 4 號糙薏仁粉經雙軸擠壓機製備後磨粉(20 mesh)，加入正己烷(薏仁粉：正己烷=1：10(w/v))，用攪拌磁石以攪拌器攪拌萃取 24 小時後抽氣過濾、減壓濃縮後，此為正己烷萃取物。

(4) 經擠壓機製備之糙薏仁粉的甲醇萃取物(methanol extract ,ME)

將台中選育 4 號糙薏仁粉經雙軸擠壓機製備後磨粉(5 mesh)，經正己烷萃取後之殘渣加入甲醇(薏仁粉：甲醇=1：10(w/v))，用攪拌磁石以攪拌器攪拌萃取 24 小時後抽氣過濾、減壓濃縮後，此為甲醇萃取物。

(5) 經擠壓機製備之糙薏仁粉的水萃物 (water extract ,WE)

將糙薏仁粉經雙軸擠壓機製備之正己烷及甲醇不可溶之殘渣，加入蒸餾水(薏仁粉：水=1：10 (w/v))，以 50°C 熱水萃取 30 分鐘，過濾、離心、減壓濃縮後冷凍乾燥即為水萃物，儲存於乾燥箱備用。

## 二、實驗方法

### 第一部分 糙薏仁經不同加工處理對致敏鼠抗過敏之影響

#### (1) 飼料製備

以 AIN-76 配方為基礎，將不同加工處理之糙薏仁樣品加入取代飼料配方。根據上一年度衛生署計畫(糙薏仁抗過敏性之研究)成果報告指出 20% 糙薏仁取代為較適量，故以 20% 的糙薏仁加工樣品取代

配方中的三大營養素，並重新賦型製備出與 Purina chow 性狀十分相似的顆粒狀飼料。

#### (2)動物飼養

六至八週齡 BALB/c 小鼠(購自台大動物中心)，先以 Lab Rodent chow 5001(Ralston Purina Co.)餵養一週適應後，依小鼠的體重隨機分成 5 組，每組 8 隻，分別餵食四種自製的顆粒狀飼料。飼料與飲水均超量供應使小鼠自由取食。動物室溫度維持在  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，光照期與黑暗期各 12 小時。

#### (3)BALB/c 小鼠致敏及採血

經 6 週餵食後，於鼠齡 14 週、16 週和 18 週時，先行眼窩採血，再分別進行第一次、第二次及第三次致敏。致敏模式是採用卵蛋白(ovalbumin, OVA)做為抗原，氫氧化鋁( $\text{Al(OH)}_3$ )為佐劑的方法。在第三次致敏後，鼠齡 19 週時進行抽血，血液經離心後，取血清保存於  $-70^{\circ}\text{C}$  中，待日後以 ELISA 方法測定血清中特異性抗體 IgE，IgG1，IgG2a 量的變化。

#### (4) 測定血清中過敏原特異性 IgE 抗體

於 96 well 平底 EIA / RIA plate (Nunc 442404, Denmark) coating OVA  $10\mu\text{g/mL}$ ， $200\mu\text{L}/\text{well}$ ，放進  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱中靜置 16 小時之後，以 PBS (phosphate buffer saline) 洗三次，沖掉未結合的

OVA，再加入 blocking solution 200 $\mu$ L/well 以減少非特異性結合。於室溫下反應 2 小時後，以 PBST(phosphate buffer saline tween 20) 洗三次之後，加入已稀釋 10 倍的待測血清 100 $\mu$ L/well，於 4°C 中靜置。隔夜之後，以 PBST 洗五次，再加入連結有生物素的抗小鼠抗體 (rat monoclonal antibody to mouse IgE biotin conjugate ) 100 $\mu$ L/well，室溫下反應 2 小時後，以 PBST 洗六次，再加入 avidin-conjugated alkaline phosphatase 100 $\mu$ L/well 作用 2 小時，使 avidin 與 biotin 結合。以 PBST 洗八次沖掉多餘的 alkaline phosphatase 後，加入受質 pNPP (p-nitrophenyl phosphate) 100 $\mu$ L/well，待適當時間的作用呈色之後，以 ELISA reader 測 405 nm 的吸光值。以預備實驗時所收集之致敏後血清為 positive control 。表示方法為 ELISA unit 。ELISA unit = (  $A_{sample} - A_{blank}$  ) / (  $A_{positive} - A_{blank}$  ) 。

### (5) 測定血清中過敏原特異性 IgG<sub>2a</sub>、IgG1 抗體

於 96 well 平底 EIA / RIA plate(Nunc 442404, Denmark) coating OVA 10 $\mu$ g/mL，200 $\mu$ L/well，放進 4°C 冰箱中靜置。隔夜之後，以 PBS 洗三次，沖掉未結合的 OVA，再加入 blocking solution 200 $\mu$ L/well 以減少非特異性結合。於室溫下反應 2 小時後，再以 PBST 洗三次之後，即可加入已稀釋適當倍數的待測血清(IgG<sub>2a</sub>200 倍及 IgG12000

倍)100 $\mu$ L/well，置於室溫2小時。以PBST洗五次，再加入連結有生物素的抗小鼠抗體(biotin-anti-IgG<sub>2a</sub>antibody or biotin-anti-IgG antibody)100 $\mu$ L/well。室溫下反應1小時後以PBST洗六次，再加入avidin-peroxidase 100 $\mu$ L/well作用1小時。然後以PBST洗六次，加入受質(2,2'-azino-bis-3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid 100 $\mu$ L/well。待適當時間的作用呈色之後，加入50 $\mu$ L的10% SDS溶液終止反應，而後測420 nm的吸光值。以預備實驗時所收集之致敏後血清為positive control。表示方法及計算方法同IgE。

## 第二部分 糙薏仁加工成品的不同區分物對致敏鼠抗過敏之影響

### (1)飼料製備

根據第一部分實驗結果顯示以雙軸擠壓機處理的糙薏仁取代飼料組對致敏鼠有較佳的抗過敏效果，因此第二部分動物實驗以此樣品為準，進行區分物抗過敏之研究。實驗分為五組，分別為控制組(100% AIN-76 diet) 挤壓後糙薏仁粉之正己烷萃取物(HE)、甲醇萃取物(ME)、水萃物(WE)、及20% 糙薏仁取代組。其中正己烷與甲醇萃取物視為取代油脂1%，水萃物則以添加的方式(1g/100g AIN-76 diet)。

### (2)動物飼養

八週齡BALB/c小鼠(購自台大動物中心)，先以Lab Rodent chow

5001(Ralston Purina Co.)餵養一週適應後，依小鼠的體重隨機分成 5 組，每組 10-12 隻，分別餵食五種自製的顆粒狀飼料。飼料與飲水均超量供應使小鼠自由取食。動物室溫度維持在  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，光照期與黑暗期各 12 小時。

### (3)BALB/c 小鼠致敏及採血

BALB/c 小鼠經 3 週餵食後，於鼠齡 11 週、13 週和 15 週時，先行眼窩採血，再分別進行第一次、第二次及第三次致敏。致敏模式是採用以 OVA 為抗原， $\text{Al(OH)}_3$  為佐劑的方法。在第三次致敏後，於鼠齡 16 週時進行抽血。血液經離心後，取血清保存於  $-70^{\circ}\text{C}$  中，待日後以 ELISA 方法測定血清中特異性抗體 IgE，IgG1，IgG2a 量的變化。

### (4)氣管致敏

經三次卵蛋白(OVA)致敏後，於鼠齡 18 週將致敏鼠置於一密閉容器中，並通入以超音波霧化器霧化 1% 卵蛋白緩衝液霧化之氣體，致敏 50 分鐘。於鼠齡 21 週時犧牲，並於犧牲前 24 小時再以氣管致敏法再致敏一次。

### (5)肺部沖洗液之分析

將小鼠犧牲後，以眼窩採血方式取得 BALB/c 鼠體內的血液。接著剪開頸部的皮毛及肉，用蝴蝶剪將氣管剪一個小洞，以軟針沿小洞插入氣管，取 1mL 的 HBSS buffer 沖洗肺部兩次後，在  $4^{\circ}\text{C}$  以  $400 \times g$

下離心 10 分鐘。取出上清液，剩下的細胞以 1mL 的 HBSS buffer 洗兩次後，溶於 1mL 的 HBSS buffer。以 cytospin 在 500rpm 下離心 2 分鐘。最後以 Liu A、LiuB 染色，封片，觀察嗜伊紅性白血球的數目。

### 三、統計方法

實驗結果以平均值±標準偏差 (mean±SEM) 表示。以 student's t-test 及 one way ANOVA 檢定不同飼料的影響。同時以鄧肯氏統計法(Duncan's multiple range test)檢定各組間差異之顯著性。統計分析以 SAS 軟體進行。

## 參、實驗結果

### 第一部分 不同加工方式糙薏仁對致敏鼠的影響

#### 一、動物生長、攝食狀況及器官相對重量百分比

##### 1.動物生長及攝食狀況

BALB/c 小鼠在一週適應後即開始餵食不同糙薏仁加工成品的實驗飼料。如表一所示，小鼠的初體重和犧牲時之體重在各組之間均無顯著差異( $p>0.05$ )。各組在致敏前體重均維持穩定上升的趨勢。在飼養期間採血或致敏對小鼠而言均為一種外來壓力，因此會造成小鼠的體重略為下降，但在一週內即可恢復。在攝食量方面，各組間並無差異，表示在本實驗範圍內糙薏仁加工成品並不會影響小鼠的攝食量。

##### 2.器官相對重量百分比

如表二所示，BALB/c 小鼠在餵食不同糙薏仁加工成品的實驗飼料後，小鼠器官(肝、心、脾、肺、腎)相對於體重的百分比沒有顯著差異( $p>0.05$ )，可見攝食不同薏仁樣品並不會造成小鼠器官組織的異常，對於小鼠的生長、發育並無影響。

#### 二、過敏原特異性抗體 IgE、IgG1 及 IgG<sub>2a</sub> 的比較

##### 1. IgE

如表三所示。攝食不同加工方式薏仁組的 BALB/c 小鼠在致敏後，其血清中的 OVA 特異性 IgE 抗體的量較控制組為低，其中以糙

薏仁飯及擠壓加工組具有顯著差異( $p<0.05$ )。

## 2.IgG1

如表四所示，各組小鼠的血清中特異性 IgG1 抗體以糙薏仁 20% 取代組及糙薏仁飯(R)加工組之特異性 IgG1 抗體明顯較控制組為低 ( $p<0.05$ )，而其他組則是無顯著差異( $p>0.05$ )，而 PBS 組在致敏後，過敏原特異性 IgG1 抗體含量極少。

## 3. IgG<sub>2a</sub>

如表五所示，與對照組比較結果各組間並無顯著差異( $p>0.05$ )，而 PBS 組在致敏後特異性 IgG<sub>2a</sub> 抗體含量極少。

根據第一部分的動物實驗結果，我們發現糙薏仁在不同熱加工處理下，以糙薏仁飯及糙薏仁擠壓組能夠有效的降低致敏鼠中的 OVA 特異性 IgE 抗體，而減緩過敏反應。為了推廣以擠壓機製造糙薏仁的健康食品，故本實驗的第二部分選用以擠壓機加工處理的糙薏仁材料做為飼料 20%取代的糙薏仁來源。

## 第二部分 糙薏仁擠壓產品不同區分對致敏鼠影響

### 一、動物生長、攝食狀況及器官相對重量百分比

#### 1.動物生長及攝食狀況

BALB/c 小鼠在一週適應後即開始餵食糙薏仁擠壓產品的不同區分物的實驗飼料。如表六所示，小鼠的初體重各組間並無顯著差異( $p > 0.05$ )，但犧牲時各組間無差異( $p > 0.05$ )。顯示添加糙薏仁不同的萃取物不會影響老鼠的生長。實驗期間觀察小鼠的毛色和活動力等均很正常。

#### 2. 器官相對重量百分比

BALB/c 小鼠在餵食糙薏仁粉不同區分物的實驗飼料後，由表七可以發現糙薏仁的不同區分物對小鼠器官相對重量百分比無明顯的影響( $p > 0.05$ )。整體而言，實驗飼料對於小鼠的生長、發育應無不良的影響。

### 二、過敏原特異性抗體 IgE、IgG1 及 IgG<sub>2a</sub> 的比較

#### 1.IgE

如表八所示，除了 20% 糙薏仁取代組(AD)有明顯較控制組為低外( $p < 0.1$ )，擠壓組糙薏仁的不同區分物中過敏原特異性 IgE 抗體和控制組比較並無明顯差異( $p > 0.05$ )。

## 2.IgG1

過敏原特異性 IgG1 抗體的部分，如表九所示，糙薏仁不同區分中以甲醇萃取組顯著較控制組為低( $p < 0.05$ )，而其他各組則是沒有顯著差異( $p > 0.05$ )。

## 3.IgG<sub>2a</sub>

對於過敏原特異性 IgG<sub>2a</sub> 抗體而言，如表十所示，除了 20% 糙薏仁取代組 IgG<sub>2a</sub> 有顯著高於控制組( $p < 0.05$ )外，糙薏仁的不同萃取物則是和控制組沒有差異( $p > 0.05$ )。

## 4.肺部沖洗液之嗜伊紅細胞百分比

對致敏鼠肺部沖洗液中，嗜伊紅細胞的分析，發現餵食糙薏仁不同區分之致敏鼠，對於嗜伊紅細胞佔白血球的百分比，並沒有明顯的降低( $p > 0.05$ )。

## 肆、討論

過敏的發生為免疫系統的過度反應，以第一型過敏反應最為常見，其主要的特徵為血清中含有高量的特異性 IgE 抗體。在體內的免疫系統中，其 T 輔助細胞(T helper cell , TH)主要為二型，分別為 TH1 type 和 TH2 type。而過敏反應通常是免疫反應偏向 TH2 pathway，促使 B-cell 分泌 IgE 和 IgG1 抗體。當過敏原進入體內後會與肥大細胞或嗜鹼細胞上的 IgE 抗體結合(cross linking)，進而使其顆粒細胞發生去顆粒化作用而釋放出發炎性的媒介物質，因此 IgE 被視為過敏反應的重要指標之一。而 IgG1 和 IgE 同屬於 TH1 pathway 的過敏原特異性抗體，亦為相當重要的指標。

由本實驗中發現 IgE 雖其在病理上佔有重要的角色，但由於其降解的速度較快，不易抓住其在致敏鼠體內最多量的時間點，造成時間點的選取困難；而相對於 IgE，IgG1 就較不受時間的影響。

本實驗的第一部分為以不同加工方式的糙薏仁取代來餵食致敏鼠，企圖了解糙薏仁在經過加工熱處理後是否仍保有抗過敏的效果。經動物實驗證實經熱處理的糙薏仁加工產品，糙薏仁擠壓組及糙薏仁飯組皆能使過敏原特異性抗體 IgE 減少，顯示糙薏仁中具有抗過敏性的成分應為熱安定的物質，不受加熱等加工影響而失去抗過敏的活性。為了促進利用擠壓技術開發新的健康食品，故選用以擠壓技術加

工的糙薏仁為原料進行第二部分的實驗。

第二部分則是以正己烷、甲醇、水為溶劑等不同萃取方式，欲找出經過擠壓機加工的糙薏仁，其有效抗過敏物質所在的區分。實驗結果顯示只有甲醇萃取組的抗原特異性抗體 IgG1 有顯著的低於控制組，其他區分則是和控制組沒有差異。在上年度的衛生署計畫的研究成果中，我們同樣的發現糙薏仁抗過敏的有效區分也是在甲醇層，因此我們認為糙薏仁具有抗過敏的有效物質應為具有極性的化合物，如多酚類(polyphenols)。在氣管致敏模式中，餵食糙薏仁不同區分萃取物並無法有效的降低嗜伊紅性細胞的比例，可能是由於致敏的劑量過高，而糙薏仁的效果不夠強，以致於無法顯出糙薏仁的效果；另也有可能因為不同區分使得糙薏仁有效的物質分散在各區分中，而無法於單一區分中看出抗過敏的效果。

Ishihara 等<sup>17</sup> 將紫蘇葉萃取物(Perilla frutescens leaf extract (PFE)) 以腹腔注射的方式投予致敏鼠，發現紫蘇葉具有抗過敏的功能，不僅可以使血清中的過敏原特異性抗體 IgE 及 IgG1 減少，並使脾臟細胞的細胞激素 interleukin (IL)-4, IL-5 and IL-10 分泌量減少。但對於血清中的過敏原特異性抗體 IgG2a 及脾臟細胞分泌的干擾素(interferon (INF)-gamma)則是沒有影響。顯然紫蘇葉萃取物對 TH2 pathway 透過對細胞激素分泌的調節，能夠平衡 TH1/TH2

的失衡狀態。Liu 等<sup>18</sup>並由紫蘇中發現兩個具有抑制 cyclooxygenase 活性的化合物，對減緩發炎有正面的幫助。Ohmori 等<sup>(19)</sup>發現烏龍茶梗(oolong tea stem)在乙酸乙酯層中萃取出的茶多酚對以卵蛋白(OVA)致敏鼠腹腔肥大細胞組織胺的釋放具有抑制的效果，並以 gallic acid gallate (GCG)此兒茶素的活性最強。另外 Kim 等<sup>(20)</sup>發現陳皮中的類黃酮(flavonoids)對老鼠腹腔肥大細胞組織胺的釋出具有抑制的效果。根據劉<sup>(6)</sup>在薏苡中含有多酚類化合物，並且具有抗氧化的功能，相信在這些多酚類化合物中也有具抗過敏功能的化合物存在。

## 伍、結論與建議

### 一、結論

1. 由動物實驗結果發現，經不同熱加工處理的糙薏仁具有抗過敏的功效，其中以糙薏仁飯及糙薏仁擠壓組可以明顯的降低 IgE 的含量。而在不同的區分中，只有發現甲醇萃取組有降低 IgG1 的含量；而在氣管致敏模式中，糙薏仁各區分並無有效減少嗜伊紅細胞的效果。因此我們認為糙薏仁抗過敏的有效區分應該在甲醇可溶層中。
2. 由動物實驗結果發現，抗原特異性抗體 IgE 由於採集的時間點不易選取，而同為 TH1 pathway 的抗原特異性抗體 IgG1 其 titer 表現較穩定，較不會有時間點不易選取的問題，因此建議以 IgG1 做為過敏的指標。

### 二、建議

1. 我們認為糙薏仁確實具有調節免疫功能，對抗過敏具有一定的效果，應先探討對脾臟細胞的細胞激素(IL-4,IL-5,INF- $\gamma$ )等的影響。
2. 糙薏仁抗過敏的有效區分為甲醇萃取物，且為熱穩定的化合物。今後應配合細胞培養的模式來並分離有效活性成分，並進一步探討其機制。

## 陸、參考文獻

1. 吳榮燦。1994。中藥免疫調節活性物質的研究。中醫年報，11(2):218-235。
2. 沈明來。1993。高等試驗設計學。九州圖書出版社。台北。
3. 林進忠，1999。油脂的量與種類對卵蛋白致敏BALB/c鼠過敏免疫反應的影響。台灣大學農業化學研究所碩士論文。台北。
4. 徐明麗，林璧鳳，江文章。1998。糙薏仁對致敏鼠過敏反應之影響。中華民國營養學雜誌，23(2):161-170。
5. 程志恆，1997。n-3多元不飽和脂肪酸對致敏BALB/c鼠過敏免疫反應之影響。台灣大學農業化學研究所碩士論文。台北。
6. 劉桂萍，2000。薏苡殼甲醇萃取物清除自由基成分之分離與純化。台灣大學食品科技研究所碩士論文。台北。
7. Amellal, M., Bronner, C., Briancon, F., Haag, M., Anton, R. and Landry, Y. biflavonoids. Planta Med, 36:16-20.
8. AOAC, 1984. Official Methods of Analysis. 14th ed., Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C.
9. Gomes, J. C., Di Stasi L. C., Sgarbosa, F. and Barata, L. E. S. 1994. Pharmacological evaluation of inhibitory effect of extracts from *Anchietia salutaris* on the histamine release induced in the rat and the guinea pig. Int. Arch. Allergy Immunol., 103:188-193.
10. Hidata, Y., Kaneda, T., Amino, N. and Miyai, K. 1992. Chinese medicine, Coix seeds increase peripheral cytotoxic T and NK cell. Biotherapy, 5:201-203.

11. Hsieh, K. H. and Shen, J. J. 1988. Prevalence of childhood asthma in Taipei, Taiwan and other Asian Pacific countries. *J. Asthma*, 25:73-82.
12. Lagunoff, D. and Martin, T. W. 1983. Agents that release histamine from mast cells. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 23:331-351.
13. Lutton, D. A., Bamford, K. B., O'loughlin, B. and Ennis, M. 1995. Modulatory action of *Helicobacter pylori* on histamine release from mast cells and basophils *in vitro*. *J. Med. Microbiol.*, 42:386-393.
14. Otsuka, H., Hirai, Y., Nagao, T. and Yamaski, K. 1988. Anti-inflammatory activity of benzoxazinoids from roots of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen*. *J. Natu. Prod.*, 51:74-79.
15. Soh, C. T., Kim, S. H., Kim, K. Y., Park, H., Chung, H. T., Kim, T. U., Jeon, S. M. and Han, Y. B. 1996. Department of *Coix lacryma* seed extract on Toxoplasma gondii in macrophages. *Korean J. Parasitol.*, 34:197-206.
16. Tirimanna, P. R., Schayck, C. P., Otter, J. J., Weel, C., Herwaarden, C. L., Boom, G., Grunsven, P. M. and Bosch, W. J. 1996. Prevalence of asthma and COPD in general practices in 1992: Has it changed since 1977 ? *Bri. J. Gen. Pract.*, 46:277-281.
17. Ishihara T., Okamoto I., Masaki N., Kohno K. Tanimoto T., Ikegami H., Kurimoto M. 1999 . Inhibition of antigen-specific T helper type 2 responses by Perilla frutescens extract. *Arerugi - Japanese Journal of Allergology*. 48(4):443-50.
18. Liu J., Steigel A., Reininger E., Bauer R. 2000. Two new prenylated 3-benzoxepin derivatives as cyclooxygenase inhibitors from Perilla frutescens var. acuta. *Journal of Natural Products*. 63(3):403-5.
19. Ohmori Y., Ito M., Kishi M., Mizutani H., Katada T., Konishi H. 1995. Antiallergic constituents from oolong tea stem. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 18(5):683-6.
20. Kim DK., Lee KT., Eun JS., Zee OP., Lim JP., Eum SS., Kim SH., Shin TY. 1999. Anti-allergic components from the peels of Citrus unshiu. *Archives of Pharmacal Research*. 22(6):642-5.

## 柒、表次

表一、BALB/c 小鼠餵食不同實驗飼料對其體重和攝食量之影響

Table 1 The effect of experimental diets on body weight, body weight gain, and total intake of BALB/c mice

| Group  | Initial body weight<br>(g/mouse) | Final body weight<br>(g/mouse) | Weight gain<br>(g/mouse) | Intake<br>(g/mouse/day) |
|--------|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------|-------------------------|
| C      | 22.33±1.58                       | 29.70±2.70                     | 7.37±0.88                | 3.12±0.22               |
| 20% AD | 22.45±1.79                       | 28.63±2.15                     | 6.18±0.45                | 3.24±0.20               |
| R      | 22.67±1.35                       | 29.76±0.78                     | 7.09±0.38                | 3.30±0.22               |
| E      | 22.58±1.49                       | 29.55±2.88                     | 6.97±0.26                | 3.53±0.43               |
| D      | 22.29±1.58                       | 28.90±1.08                     | 6.61±0.14                | 3.20±0.21               |
| PBS    | 22.74±1.20                       | 31.16±0.29                     | 8.42±0.25                |                         |

Each value represents Mean ±SEM , n=6-8 for C, 20% AD,R,E and D group ; n=3 for PBS group.

表二、BALB/c 小鼠餵食不同實驗飼料對其器官相對重量百分比之影響

響

Table 2 The effect of experimental diets on the relative organ weight of BALB/c mice

| <b>Group</b> | <b>Liver</b>                | <b>Heart</b> | <b>Spleen</b> | <b>Lung</b> | <b>Kidney</b> |
|--------------|-----------------------------|--------------|---------------|-------------|---------------|
|              | Relative organ weight ( % ) |              |               |             |               |
| C            | 4.50±0.40                   | 0.43±0.07    | 0.59±0.20     | 1.10±0.17   | 1.44±0.12     |
| 20% AD       | 4.46±0.44                   | 0.48±0.09    | 0.46±0.16     | 1.15±0.18   | 1.44±0.22     |
| R            | 5.11±0.55                   | 0.55±0.01    | 0.50±0.08     | 1.24±0.18   | 1.46±0.17     |
| E            | 4.83±0.31                   | 0.47±0.05    | 0.50±0.12     | 1.34±0.28   | 1.39±0.12     |
| D            | 4.33±0.31                   | 0.48±0.02    | 0.63±0.12     | 1.06±0.01   | 1.49±0.04     |
| PBS          | 4.54±0.21                   | 0.55±0.03    | 0.50±0.15     | 1.04±0.14   | 1.43±0.04     |

Each value represents Mean ±SEM , n=6-8 for C, 20% AD,R,E and D group ; n=3 for PBS group.

表三、餵食不同實驗飼料對 BALB/c 小鼠致敏前後血清中 IgE 抗體生成量的比較

Table 3 Comparison of the serum IgE titer of immunized BALB/c mice fed on experimental diets<sup>\*1</sup>

| Anti-OVA IgE antibody (ELISA unit) |                                   |
|------------------------------------|-----------------------------------|
|                                    | After sensitization <sup>*2</sup> |
| C                                  | 1.01±0.64 <sup>a</sup>            |
| 20% AD                             | 0.55±0.23 <sup>ab</sup>           |
| R                                  | 0.49±0.21 <sup>b</sup>            |
| E                                  | 0.42±0.18 <sup>b</sup>            |
| D                                  | 0.64±0.59 <sup>ab</sup>           |
| PBS                                | 0.05±0.02                         |

\*1.Each value represents Mean ±SEM , n=6-8 for C,20% AD,R,E and D group ; n=3 for PBS group.

\*2.Values not sharing the same superscript letters in each column are significantly different from one another by Duncan's multiple range test ( p<0.05).

表四、餵食不同實驗飼料對 BALB/c 小鼠致敏前後血清中 Ig G1 抗體  
生成量的比較

Table 4 Comparison of the serum IgG1 titer of immunized BALB/c mice fed on experimental diets\*<sup>1</sup>

| <u>Anti-OVA IgG1 antibody (ELISA unit)</u> |                                   |
|--------------------------------------------|-----------------------------------|
|                                            | After sensitization* <sup>2</sup> |
| C                                          | 1.19±0.50 <sup>a</sup>            |
| 20% AD                                     | 0.50±0.45 <sup>b</sup>            |
| R                                          | 0.66±0.29 <sup>b</sup>            |
| E                                          | 0.79±0.34 <sup>ab</sup>           |
| D                                          | 0.76±0.46 <sup>ab</sup>           |
| PBS                                        | 0.05±0.02                         |

\*1.Each value represents Mean ±SEM , n=6-8 for C,20% AD,R,E and D group ; n=3 for PBS group.

\*2.Values not sharing the same superscript letters in each column are significantly different from one another by Duncan's multiple range test ( p<0.05).

表五、餵食不同實驗飼料對 BALB/c 小鼠致敏前後血清中 IgG<sub>2a</sub> 抗體  
生成量的比較

Table 5 Comparison of the serum IgG<sub>2a</sub> titer of immunized BALB/c  
mice fed on experimental diets\*<sup>1</sup>

| <u>Anti-OVA IgG<sub>2a</sub> antibody (ELISA unit)</u> |           |
|--------------------------------------------------------|-----------|
| After sensitization* <sup>2</sup>                      |           |
| C                                                      | 0.18±0.05 |
| 20% AD                                                 | 0.19±0.03 |
| R                                                      | 0.17±0.04 |
| E                                                      | 0.17±0.07 |
| D                                                      | 0.18±0.07 |
| PBS                                                    | 0.04±0.02 |

\*1.Each value represents Mean ±SEM , n=6-8 for C,20% AD,R,E and D group ; n=3 for PBS group.

\*2.Values not sharing the same superscript letters in each column are significantly different from one another by Duncan's multiple range test ( p<0.05).

表六、BALB/c 小鼠餵食不同實驗飼料對其體重和攝食量之影響

Table 6 The effect of experimental diets on body weight, body weight gain, and total intake of BALB/c mice

| <b>Group</b> | <b>Initial body weight<br/>(g/mouse)</b> | <b>Final body weight<br/>(g/mouse)</b> | <b>Weight gain<br/>(g/mouse)</b> | <b>Intake<br/>(g/mouse/day)</b> |
|--------------|------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| C            | 23.49±1.43                               | 30.66±2.30                             | 7.17±0.25                        | 2.94±0.32                       |
| HE           | 23.20±1.32                               | 30.09±2.25                             | 6.89±0.39                        | 2.72±0.21                       |
| ME           | 23.34±1.56                               | 29.84±2.80                             | 6.5±0.47                         | 2.75±0.43                       |
| WE           | 23.63±1.20                               | 28.75±1.85                             | 5.12±0.60                        | 2.41±0.58                       |
| AD           | 23.53±1.17                               | 30.34±2.53                             | 6.81±0.29                        | 2.92±0.19                       |
| PBS          | 23.31±1.53                               | 28.08±1.79                             | 4.77±0.20                        | 2.73±0.45                       |

Each value represents Mean ±SEM , n=6-11 for C,ME,WE,AR, and AD group ; n=3 for PBS group.

表七、BALB/c 小鼠餵食不同實驗飼料對其器官相對重量百分比之影響

Table 7 The effect of experimental diets on relative organ weight of BALB/c mice

| <b>Group</b>                | <b>Liver</b> | <b>Heart</b> | <b>Spleen</b> | <b>Lung</b> | <b>Kidney</b> |
|-----------------------------|--------------|--------------|---------------|-------------|---------------|
| Relative organ weight ( % ) |              |              |               |             |               |
| C                           | 4.48±0.34    | 0.50±0.06    | 0.32±0.07     | 1.29±0.27   | 1.64±0.28     |
| HE                          | 4.37±0.24    | 0.43±0.11    | 0.34±0.09     | 1.35±0.23   | 1.56±0.20     |
| ME                          | 4.25±0.46    | 0.46±0.06    | 0.37±0.11     | 1.32±0.23   | 1.53±0.15     |
| WE                          | 4.37±0.35    | 0.49±0.08    | 0.33±0.04     | 1.31±0.21   | 1.56±0.17     |
| AD                          | 4.32±0.30    | 0.43±0.06    | 0.35±0.04     | 1.30±0.24   | 1.50±0.16     |
| PBS                         | 5.40±0.37    | 0.48±0.11    | 0.30±0.04     | 1.10±0.04   | 1.43±0.03     |

Each value represents Mean ±SEM , n=6-11 for C,ME,WE,AR, and AD group ; n=3 for PBS group.

表八、餵食不同實驗飼料對 BALB/c 小鼠致敏後血清中 IgE 抗體生成量的比較

Table 8 Comparison of the serum IgE titer of immunized BALB/c mice fed on experimental diets\*<sup>1</sup>

| <b>Anti-OVA IgE antibody<br/>(ELISA unit)</b> |                                   |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------|
|                                               | After sensitization* <sup>2</sup> |
| C                                             | 0.47±0.08                         |
| HE                                            | 0.41±0.07                         |
| ME                                            | 0.45±0.10                         |
| WE                                            | 0.46±0.04                         |
| AD                                            | 0.39±0.08*                        |
| PBS                                           | 0.04±0.02                         |

\*1.Each value represents Mean ±SEM , n=6-11 for C,ME,WE,AR, and AD group ; n=3 for PBS group.

\*2.Analyzed by student's t test (p<0.1),compared to the C group.

表九、餵食不同實驗飼料對 BALB/c 小鼠致敏後血清中 IgG1 抗體生成量的比較

Table 9 Comparison of the serum IgG1 titer of immunized BALB/c mice fed on experimental diets\*<sup>1</sup>

| <b>Anti-OVA IgG1 antibody<br/>(ELISA unit)</b> |                         |
|------------------------------------------------|-------------------------|
| After sensitization* <sup>2</sup>              |                         |
| C                                              | 10.35±3.54 <sup>a</sup> |
| HE                                             | 6.73±3.34 <sup>ab</sup> |
| ME                                             | 5.45±1.69 <sup>b</sup>  |
| WE                                             | 8.05±3.92 <sup>ab</sup> |
| AD                                             | 8.39±5.57 <sup>ab</sup> |
| PBS                                            | 0.04±0.02               |

\*1.Each value represents Mean ±SEM , n=7-10 for C,HE,ME,WE ,and AD group ; n=3 for PBS group.

\*2.Values not sharing the same superscript letters in each column are significantly different from one another by Duncan's multiple range test ( p<0.05).

表十、餵食不同實驗飼料對 BALB/c 小鼠致敏後血清中 IgG<sub>2a</sub>抗體生成量的比較

Table 10 Comparison of the serum IgG<sub>2a</sub> titer of immunized BALB/c mice fed on experimental diets\*<sup>1</sup>

| <b>Anti-OVA IgG<sub>2a</sub> antibody<br/>(ELISA unit)</b> |                         |
|------------------------------------------------------------|-------------------------|
| After sensitization* <sup>2</sup>                          |                         |
| C                                                          | 0.34±0.14 <sup>c</sup>  |
| HE                                                         | 0.35±0.27 <sup>c</sup>  |
| ME                                                         | 0.27±0.09 <sup>c</sup>  |
| WE                                                         | 0.47±0.28 <sup>bc</sup> |
| AD                                                         | 0.94±0.49 <sup>a</sup>  |
| PBS                                                        | 0.05±0.01               |

\*1.Each value represents Mean ±SEM , n=7-10 for C,HE,ME,WE ,and AD group ; n=3 for PBS group.

\*2.Values not sharing the same superscript letters in each column are significantly different from one another by Duncan's multiple range test ( p<0.05).

表十一、餵食不同實驗飼料對 BALB/c 小鼠致敏後肺沖洗液之嗜伊紅  
細胞誘發的影響

Table 11 The eosinophils induction of immunized BALB/c mice fed on experimental diets\*<sup>1</sup>

| Eosinophils(%)      |             |
|---------------------|-------------|
| After sensitization |             |
| C                   | 27.09±9.25  |
| HE                  | 23.65±9.63  |
| ME                  | 28.17±16.19 |
| WE                  | 21.07±10.86 |
| AD                  | 18.33±12.57 |
| PBS                 | 0.00±0.00   |

\*1.Each value represents Mean ±SEM , n=7-10 for C,HE,ME,WE , and AD group ; n=3 for PBS group.