

編號：CCMP93-RD-053

微陣分析解表藥對巨噬細胞基因活性 之影響

張淑芬

台北醫學大學

摘 要

本計畫研究目的是以細菌內毒素 (LPS) 刺激巨噬細胞 Raw264.7 細胞株利用基因微陣及轉錄因子微陣分析各種解表藥物可能影響的基因群及可能參與的轉錄因子。以 RT-PCR 實驗找出以 LPS 藥物刺激巨噬細胞促發炎基因 TNF- α 表現所需 LPS 的最佳作用劑量及作用時間。另以西醫常用之抗發炎藥物 methylprednisolon 為一正控制對照組。以老鼠發炎相關細胞激素或趨化物質及其受體的基因微陣分析發現包括發現包括 TNF- α 、macrophage inflammatory protein 1a (MIP-1a)、1b (MIP-1b)、mus musculus C10-like chemokine 及 mus musculus migration inhibitory factor (Mif, 10 Kd protein) 等基因的表現均因 MP 的同時處理有明顯的受到抑制。與 MP 比較, 黃連、羌活、菊花、桂枝、麻黃、栝樓根對前述基因表現的抑制作用均較 MP 低, 其中以羌活, 菊花及栝樓根對這些基因表現的抑制作用與 MP 的效果較相似。另以轉錄因子微陣分析解表藥物於巨噬細胞株中對發炎相關基因表現的影響可能參與的轉錄因子以推測其可能調控路徑之研究, 結果顯示與 methylprednisolon 相較, 黃連、柴胡、知母、龍膽、菊花均能活化 GR 及 AP-2 轉錄因子之活性; 而羌活、荊芥、牡丹皮、連翹、地骨皮、白芷、桂枝、麻黃、青蒿、桑葉、栝樓根則活化 Oct-1 轉錄因子之活性。由此可知於最終解表的效能之下, 中藥解表作用的確因藥物之不同有所差異。

關鍵詞：解表藥、基因微陣、轉錄因子微陣

Number: CCMP93-RD-053

Array Analysis of Chinese Diaphoretics on Raw264.7 Cells

Shwu-Fen Chang

Taipei Medical University

ABSTRACT

Being capable of promoting perspiration, dispelling fever and chills, Chinese diaphoretics are commonly used for relieving the exterior symptoms caused by pathogenic infection or environmental factors. To investigate the underlying molecular mechanism, the impact of Chinese diaphoretics on inflammatory related gene expression in lipopolysaccharide (LPS) - activated mouse Raw264.7 macrophage cells was examined by array analysis. From the mouse inflammatory cytokines and receptors gene array analysis, our results showed gene expressions of TNF- α , macrophage inflammatory protein 1a (MIP-1a), 1b (MIP-1b), mus musculus C10-like chemokine, and mus musculus migration inhibitory factor (Mif, 10 Kd protein) were inhibited by MP. Similar impact on those gene expressions was detected on LPS-activated cells upon *Notopterygii Rhizoma*, *Chrysanthemi flos*, or *Trichosanthis radix* treatment. A totally different gene expression profile was observed in cells treated with LPS plus *Coptis rhizome*, or with cinnamon bark. Using the transcription factors protein-DNA arrays, *coptis rhizoma*, *bupleuri radix*, *anemarrhenae rhizoma*, *gentianae radix*, and *chrysanthemi flos* were found to activate the transcription factors GR and AP-2 which were also activated by methylprednisolon. While, *notopterygii rhizom*, *schizonepetae herba*, *moutanradicis cortex*, *forsythiae fructus*, *lycii radicis cortex*, *angelicaedahuricae radix*, *cinnamomi ramulus*, *ephedrae herba*, *artemisiae apiaceae herba*, *inulberry leaf*, and *trichosanthis radix* were capable of activating the transcription factor Oct-1 DNA binding activity.

Keywords : Chinese diaphoretics, gene array, transcription factor array

壹、前言

凡能發散外邪解除表證的藥物稱為解表藥。中醫藥的觀點認為解表藥一般都具有發汗的功效，通過發汗達到發汗表邪，解除表證的目的。部分藥物具有利尿退腫，止咳平喘，透疹和止痛作用。而表證是指病邪在肌表，主要臨床表現有惡寒、發熱、頭痛等，相當於現代醫學的上呼吸道感染及某些感染性的初期。根據臨床證狀的性質，表證可分為表熱證和表寒證兩型，後者又分為表實證和表虛證。惡寒重、發熱輕、出汗，脈浮緊等寒象較明顯者為表實證，一般建議以麻黃湯主之。而發熱、惡風、自汗，脈浮緩等寒象較輕者為表虛證，以桂枝湯主之。表熱證的特點是發熱重，惡寒輕、口渴、咽痛、舌質紅、脈浮數等熱象較明顯，以桑菊飲、銀翹散主之（康，2001）。

解表藥由於藥性不同，可分為辛溫解表藥和辛涼解表藥。辛溫解表藥主要有麻黃、桂枝、荊芥、防風等，適用於風寒表證；辛涼解表藥主要有柴胡、葛根、牛蒡子、桑葉、薄荷、菊花等，適用於風熱表證（康，2001）。中醫理論認為解表藥藥物一般都有發汗作用，通過發汗使表邪出汗而散熱，也是個生物維持正常體溫的一種方式。解表藥在溫熱環境下可協助汗增加發汗，屬溫熱性發汗，如辛溫表藥服後一般都有溫熱感，麻黃鹼能使處於高溫環境的人出汗快而多，這與古人應用麻黃湯、桂枝湯強調“溫服”和“溫覆”的用藥經驗相吻合。桂枝也因能擴張末梢血管，促進體表的血液循環而加強麻黃的發汗作用。生薑的揮發油和辛辣成分（薑酚和薑烯酚）能使血管擴張，促進血液液循環。如受寒後煎服生薑湯則感覺全身溫暖，說明生薑能改善血液循環而協助發汗。解表藥物亦有溫和的解熱鎮痛作用，尤以柴胡作用最顯著，桂枝、荊芥、防風、葛根、浮萍等也有不同程度的退熱效果（康，2001）。由於表證為外邪所致，細菌、病毒可視為外邪之一。體外實驗證明，柴胡、桂枝、防風、薄荷等對金黃色葡萄球菌、溶血性鏈球菌、傷寒桿菌、痢疾桿菌、結合桿菌等多種細菌及某些致病真菌分別有一定的抑制作用，麻黃、桂枝、柴胡、菊花等對流感病毒有一定的致病作用。因此解表藥物之抗菌、抗病毒作用亦不可乎略。實驗證明，生薑、防風、升麻、薄荷、柴胡、辛夷、麻黃及其複方對多種炎症均有明顯的抑制作用（Jeenapongsa, et al., 2003；Surh YJ.2002；Hoult and Paya, 1996）因此抗炎作用應是解表藥物解除表證的重要機制之一。柴胡、蘇葉、葛根及麻黃湯、麻杏甘石湯、桂枝湯、桑菊飲等解表方等均能促進巨噬細胞的吞噬功能，提高生物體的抗病力。升麻、蟬蛻等還能誘導干擾素的生成，抑制病毒的複製，在

去除表邪的方面具有一定的價值。因此免疫調節及抗過敏能力就這些解表藥物亦是達到其藥效的機制之一。由於咳、痰、喘是生物體感染“表邪”後常出現的呼吸道症狀。麻黃水煎液、揮發油、桂皮油、薄荷醇、細辛揮發油及麻黃湯、麻杏甘石湯等可減少咳嗽次數或促進氣管的通暢，甚或直接作用於受體而達到鎮咳、祛痰、平喘作用(孟及周,1999)。

雖有以上數種可能機制已被用來解釋解表藥物之藥理作用，但由於表相的呈現多源自數種訊息的交互作用或相互影響，故解表藥物表邪外散之分子機制至今仍無法解釋。邪熱瘀毒蘊結生物體內，所表現的發炎或感染現象，常是由於體內巨噬細胞活性的改變，對入侵生物體的細菌、異物以及體內衰老、死亡的細胞和組織中的碎片進行吞噬、消化的防禦功能所致。這主要是巨噬細胞能分泌多種的促發炎 (proinflammatory) 反應的調節分子 (mediator)，例如細胞激素-1 (IL-1) 及 TNF- α ；或是抑發炎的細胞激素 (antiinflammatory cytokines) IL-4 及 IL-10 (Hamilton, et al., 2002)。但是巨噬細胞的活性會因不同的刺激經由不同的訊號傳遞路徑及調節分子至不同的標的基因而產生不同的反應 (Ma, et al., 2003；Montaner, et al., 1999, Gordon, 2003；Hamilton, et al., 2002)。亦有報告指出巨噬細胞吞噬衰老、死亡的細胞時並未產生促發炎或抑發炎的細胞激素 (Kurosaka, et al., 2003)。因此本計畫提出以細菌內毒素 (LPS) 刺激巨噬細胞株，Raw264.7 利用基因微陣及轉錄因數微陣分析各種解表藥物可能影響的基因群及可能參與的轉錄因數，預期結果將可由分子基因層面瞭解各種解表藥物可能的作用機轉。

貳、材料與方法

一、中藥材料

由協同主持人提供中藥解表藥之萃取物。藥物萃取大致如下述：中藥先以 95% EtOH 冷浸，一次冷浸時間為一星期，經三次冷浸後合併濾液，經減壓濃縮冷凍乾燥後保存。於使用前將乾燥粉末溶於 100% DMSO 中，調整為 20 mg/mL 的貯存溶液 (stock solution) 保存於 -20 °C 使用。

二、Raw264.7 細胞株之培養

貼附型的小鼠巨噬細胞株培養 Dulbeccos' Modified Eagle's Medium (DMEM) 完全培養液中。DMEM 完全培養液包含 10% 胎牛血清、每毫升 100 單位的盤尼西林、100 毫克的鏈黴素、0.37% 的碳酸氫鈉、1% 的非必需胺基酸 (MEM non-essential amino acids)、以及 1% 麩胺酸 (L-glutamine)。細胞置於含 5% CO₂ 的 37°C 培養箱中使其生長，約 3-4 天需繼代培養一次。

三、細胞 RNA 之萃取製備

細胞中 total RNA 的抽取是以適量 Trizol (Invitrogene, USA) 試劑將細胞溶解，於室溫靜置 5 分鐘，加入 200 μ L 的 chloroform-isoamylalcohol (CIAA)，用手振搖 15 秒鐘，室溫靜置 5 分鐘後，於 4°C 以 12,000rpm 離心 10 分鐘，取出上清液再加上 500 μ L isopropanol 振盪均勻，於 4°C 以 12,000rpm 離心 10 分鐘，倒去上清液留下沉澱物，以適量 DEPC-H₂O 溶解沉澱物，再以 phenol 及 CIAA 進行分層萃取，最後得到上清液體經酒精沉澱後，離心所得之沉澱物即為 RNA，將沉澱物以適量的 DEPC-H₂O 溶解之，再以 UV-Spectrophotometer Gene Quant II 測定其 OD₂₆₀、OD₂₈₀ 之吸光值，而得 RNA 之濃度以及 RNA 之純度。

四、細胞核萃取液的製備

將培養至約八分滿的細胞以 PBS 沖洗後用 rubber policeman 將細胞刮下集中後移至微量試管，以 12,000rpm (Sorvall RMC14) 在 4°C 離心二分鐘把細胞離下後倒去上清液，再以 500 μ L 的 NP-40 lysis buffer [10 mM Tris, pH 7.4、10 mM NaCl、3 mM MgCl₂、0.5% NP-40、0.5 mM DTT、0.5 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF)、2 μ g/mL Aprotinin、2 μ g/mL Leupeptin] 將細胞溶解後置於冰上五分鐘，然後

在 4°C 以 12,000rpm (Sorvall RMC14) 離心二分鐘去掉上清液。如果所得到的沈澱物呈現白色，且較先前的沈澱物小則表示細胞已完全溶解，反之則表示未完全溶解，須再重複上述步驟。將白色沈澱物以等體積 4°C 的 buffer B (20mM HEPES, pH 7.9、0.4mM EDTA、1mM MgCl₂、20% glycerol、0.5mM DTT、0.5mM PMSF、2μg/mL Aprotinin) 溶解後再一滴一滴地加入 0.11 倍體積的 3M KCl 並緩慢攪拌混合，於 4°C 中搖晃三十分鐘後便在 4°C 以 12,000rpm (Sorvall RMC14) 離心三十分鐘，然後取上清液分裝後置於含乾冰的甲醇溶液中迅速冷凍後存放於-70°C (Dignam et al., 1983)。

五、細胞激素、趨化激素、及其受體微陣分析

將萃取所得之細胞 RNA 經反轉錄為 cDNA 並以 biotin 標示後與晶片含有六十七個老鼠趨化激素、及其受體基因微陣 (SuperArray, Bioscience Corporation, USA) 或含有九十六個老鼠細胞激素基因微陣 (SuperArray, Bioscience Corporation, USA) 進行雜交。最後經冷光呈色與控制組比對後既可分析細胞中經各種解表藥物作用後對包括 Scya1 (TCA3), Scya2 (JE), Scya3 (MIP-1a), Scya4 (MIP-1b), Scya5 (RANTES), Scya6 (C10), Scya7 (MARC), Scya8 (MCP-2), Scya9 (MRP-2/MIP-1r), Scya11 (eotaxin), Scya12 (mcp-5), Scya17 (TARC/ABCD-2), Scya19 (MIP-3b/ELC), Scya20 (MIP-3a/LARC), Scya21a (6Ckine/SLC/exodus-2), Scya22 (MDC/ABCD-1) Scya24 (CCL24/MPIF-2/eotaxin-2), Scya25 (TECK), Scya27 (ALP/mILC), Scya28 (MEC/CCL28), Cxcl16 (SR-PSOX), Gro1, Scyb2 (MIP2), Scyb5 (LIX/GCP-2/ENA78), Scyb9 (Mig), Scyb10 (IP-10), Scyb11, Scyb13 (BLC/angie2), Scyb14 (Kec/Bmac/MIP-2g), Scyb15 及趨化激素受體基因 Blr1, Cxcr1 (mXCR1), Cmkar3 (CXCR3), Cmkar4 (CXCR4), Cmkbr1 (CCR-1), Cmkbr111, Cmkbr112, Cmkbr2, Cmkbr3, Cmkbr4, Cmkbr5, Cmkbr6 (CCR6), Cmkbr7 (EBI1), Cmkbr8 (CCR8), Cmkbr9 (GPR2), Cmkbr10, Cmkor1, Cx3cr1, Cxcr6, D6-pending, IL8rb (Cmkar2), Ltb4r2, Pumag, Tapbp 等趨化激素及其受體基因 (Sallusto, et al., 2000; Rossi and Zlotnik, 2000; Zlotnik and Yoshie, 2000; Krishna, et al., 1997; James and Eugene 2000) 及 TGF ligands、TNF ligands and receptors、fibroblast growth factors、interferons、interleukines and receptors (Richard and Kaempfer, 2000; Muller, 2001; Kaplansky and Bongrand 2001) 等基因表現的影響。

六、轉錄因子微陣分析

將萃取所得之核萃取液與含經 biotin 標示的寡核苷酸 DNA 探針混合液結合 (TranSignal Probe Mix, TranSignal™, Panomics, USA) 經電泳分離與核蛋白質結合的 DNA 探針與未結合的探針後, 再與含有多種轉錄因子結合序列的 DNA 微陣 (TranSignal™, Panomics, USA) 進行雜交。最後經冷光呈色與控制組比對後既可分析細胞中經各種解表藥物作用後轉錄因子的改變情形 (Guichao et al., 2002)。

參、結果

本計畫以基因微陣及轉錄因子微陣分析現常用之中藥解表藥物於細胞中對發炎和抗發炎相關基因，如細胞激素及其受體基因和趨化激素其受體基因表現之影響；以及細胞內轉錄因子是否會因解表藥物之作用而有所改變。自基因層次釐清中藥解表藥物之作用機制。經由 RT-PCR 實驗我們發現以 10 ng/mL 劑量的 LPS-刺激巨噬細胞株 (Raw264.7) 即可偵測得促發炎 (proinflammatory) 反應的調節分子 TNF- α 基因表現的明顯增加 (圖一 A)；且於兩小時的 LPS 作用後即可利用 RT-PCR 方法測得 TNF- α 基因表現，與控制組相較有三倍左右的增加 (圖一 A)，顯示在此種 LPS 處理情況下，該 Raw264.7 巨噬細胞處於發炎狀態。因此以下實驗均以所建立 LPS 誘發 Raw264.7 處於發炎狀態為研究模式探討中藥之解表藥物的作用機制。當以黃連、羌活、白芷幾種藥物和 LPS 同時給予巨噬細胞株 (Raw264.7) 作用 2 小時後以 RT-PCR 偵對 TNF- α 基因表現分析先測試藥物對 LPS 誘發的 TNF α 基因表現是否會因解表藥物的存在有所改變。結果顯示 (圖一 B)，所分析的中藥解表類藥物對由 LPS 誘發之 TNF- α 基因表現的影響並不同步；有些會抑制由 LPS 誘發之 TNF- α 基因表現，如牡丹皮、麻黃、桑葉等；另一群藥物則會加強由 LPS 誘發之 TNF- α 基因的表現，如黃連、地骨皮、菊花等；還有少數藥物則不會影響細胞中由 LPS 誘發之 TNF- α 基因表現，如柴胡，荊芥。由此可知以單一促發炎調節分子 TNF- α 基因表現的增減即顯示這些中藥之解表效果的作用機制應該是有差異的。於本實驗中另以西醫常用之抗發炎藥物 methylprednisolon (MP) 為一正控制對照組，結果顯示 MP 的確可以降低由 LPS 誘增的 TNF- α 基因表現。我們並以 LDH 方式同時分析所給與藥物對細胞的毒性，結果顯示 (圖二) 於所使用的藥劑量下，藥物處理組所呈現的細胞毒性與控制組相當，顯示這些處理並未於細胞中造成以 LDH 方法分析可偵測到的細胞毒性，更反應出於本研究中分析之基因表現或轉錄因子活性之變化並非因為藥物毒性造成的。於藥物之劑量及作用時間確定後以老鼠發炎相關細胞激素或趨化物質及其受體的 cDNA 基因微陣分析解表藥物於 LPS 誘發發炎的巨噬細胞中對基因表現的影響。比較 LPS 處理及 MP+LPS 處理的兩組微陣，發現包括 TNF- α , macrophage inflammatory protein 1a (MIP-1a), 1b (MIP-1b), mus musculus C10-like chemokine 及 mus musculus migration inhibitory factor (Mif, 10 Kd protein) 等基因的表現均因 MP 的同時處理有明顯的受到抑制 (圖三 A)。而比較 MP 與黃連、羌活、菊花、桂枝、

麻黃、栝樓根的對前述基因表現的影響，結果（圖三 B）顯示所分析的五種解表藥物對前述基因表現的抑制作用均較 MP 低，其中以羌活、菊花及栝樓根對這些基因表現的抑制作用與 MP 的效果較相似。黃連與桂枝的作用則明顯與其它測試的藥物及 MP 不同。另以轉錄因子微陣分析解表藥物於巨噬細胞株中對發炎相關基因表現的影響可能參與的轉錄因子以推測其可能調控路徑之研究，結果顯示與 methylprednisolon 相較，黃連、柴胡、知母、龍膽、菊花均能活化 GR 及 AP-2 轉錄因子之活性；而羌活、荊芥、牡丹皮、連翹、地骨皮、白芷、桂枝、麻黃、青蒿、桑葉、栝樓根則活化 Oct-1 轉錄因子之活性。

肆、結論與建議

本研究以西醫常用之抗發炎藥物methylprednisolon為一控制對照組，就中藥解表藥物於其抗發炎作用上以基因體分析方式將解表藥物之分子藥理作用加以闡述。結果顯示所分析的幾種解表藥物明顯於影響發炎相關基因表現的活性上的確有其差異處。唯基因微陣實驗於其經費的考量下未能重覆分析，亦未能作劑量上的比較，本實驗室近日已將既有的微陣分析實驗重作得到二重覆之數值，未來將以real-time PCR及Western blotting確認於基因微陣分析所得到的結果。另會以enhancer-mediated reporter分析由轉錄因數微陣分析的因數之確認。建議未來的研究計畫以長期計畫給與的方式以使實驗具較佳的延續性。

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 CCMP93-RD-053 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

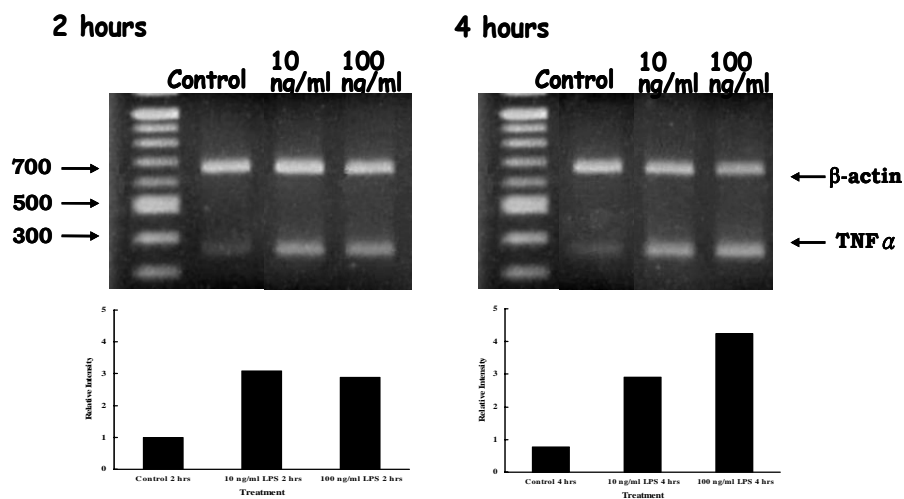
伍、參考文獻

1. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol.* 2003; 3: 23-35.
2. Hamilton TA, Ohmori Y, Tebo J. Regulation of chemokine expression by antiinflammatory cytokines. *Immunol Res* 2002; 25: 229-245.
3. Hoult JR, Paya M. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. *Gen Pharmacol.* 1996; 27: 713-722.
4. Campbell JJ and Butcher EC. Chemokines In tissue-specific and microenvironment-specific lymphocyte homing. *current opinion in immunology* 2000; 12: 336-341.
5. Jeenapongsa R, Yoovathaworn K, Sriwatanakul KM, Pongprayoon U, Sriwatanakul K. Anti-inflammatory activity of (E)-1-(3,4-dimethoxyphenyl) butadiene from *Zingiber cassumunar* Roxb. *J Ethnopharmacol.* 2003; 87: 143-148.
6. Kaplansky G, Bongrand P. Cytokines and chemokines. *Cell Mol Biol.* 2001; 47: 569-74.
7. Vaddi K, Keller M, Newton RC. The chemokine facts book. Academic Press. 1997.
8. Kurosaka K, Takahashi M, Watanabe N, Kobayashi Y. Silent cleanup of very early apoptotic cells by macrophages. *J Immunol* 2003; 171: 4672-4679.
9. Linton MF and Fazio S. Macrophages, inflammation, and atherosclerosis. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003; Suppl 3: S35-40.
10. Ma J, Chen T, Mandelin J, Ceponis A, Miller NE, Hukkanen M, Ma GF, Konttinen YT. Regulation of macrophage activation. *Cell Mol Life Sci.* 2003; 60: 2334-2346.
11. Maus UA, Waelsch K, Kuziel WA, Delbeck T, Mack M, Blackwell TS, Christman JW, Schlondorff D, Seeger W, Lohmeyer J. Monocytes are potent facilitators of alveolar neutrophil emigration during lung inflammation: role of the CCL2-CCR2 axis. *J Immunol.* 2003; 170: 3273-3278.
12. Montaner LJ, da Silva RP, Sun J, Sutterwala S, Hollinshead M, Vaux D, Gordon

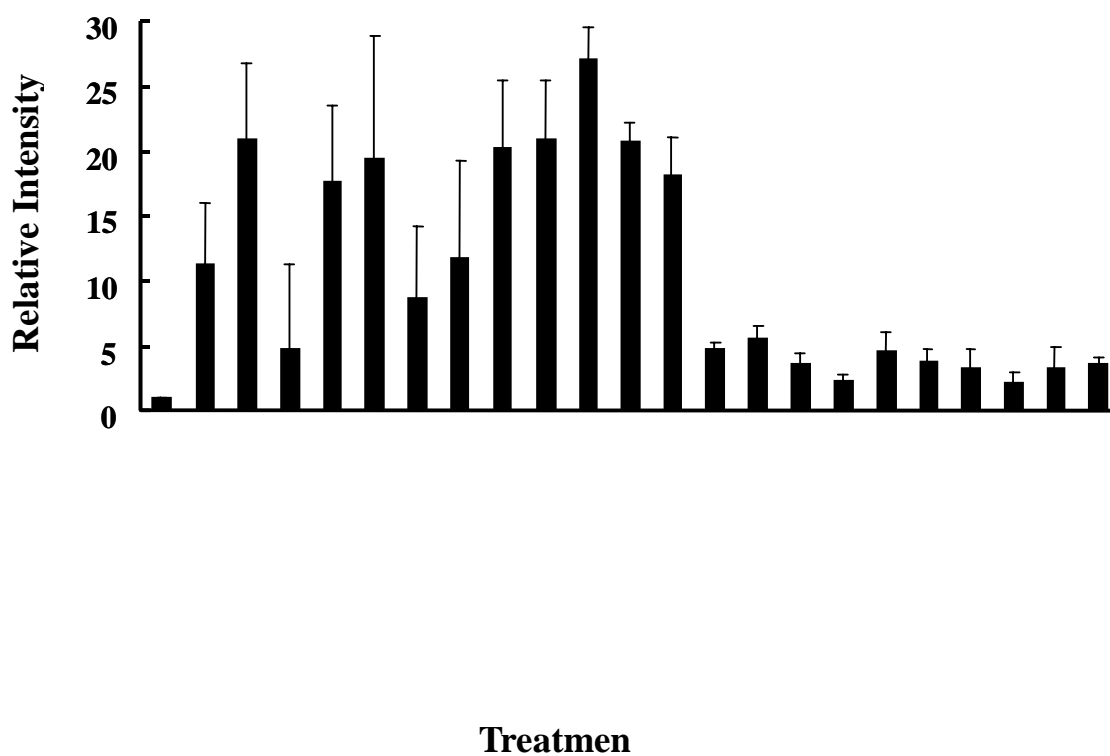
- S. Type 1 and type 2 cytokine regulation of macrophage endocytosis: differential activation by IL-4/IL-13 as opposed to IFN-gamma or IL-10. *J Immunol.* 1999; 162: 4606-4613.
13. Muller WA. New mechanisms and pathways for monocyte recruitment. *J Exp Med.* 2001; 194: F47-51.
14. Richard A, Kaempfer R. Cytokines revisited at hilton head cytokine and growth factor reviews 2000; 11: 255-266.
15. Rossi D, Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors. *Annu. Rev. Immunol* 2000; 18: 217-242.
16. Sallusto F, Mackay CR, Lanzavecchia A. The role Of chemokine receptors in primary, effector, and memeory immune responses. *Annu. Rev. Immunol* 2000; 18: 593-620.
17. Surh YJ. Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxidative and anti-inflammatory activities: a short review. *Food Chem Toxicol.* 2002; 40: 1091-1097.
18. Zeng G, Gao L, Xia T, Tencomnao T, and Yu RK. Characterization of the 5'-flanking fragment of the human GM3-synthase gene. *Biochimica and Biophysica Acta* 2002; 93745: 1-6.
19. Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: A new classification system and their role in Immunity. *Immunity* 2000; 12: 121-127.
20. 康永中華藥理學 2001 ; p35-44 。
21. 孟景春、周仲瑛醫學概論 1999 ; p164-170 。

陸、圖

圖一 A

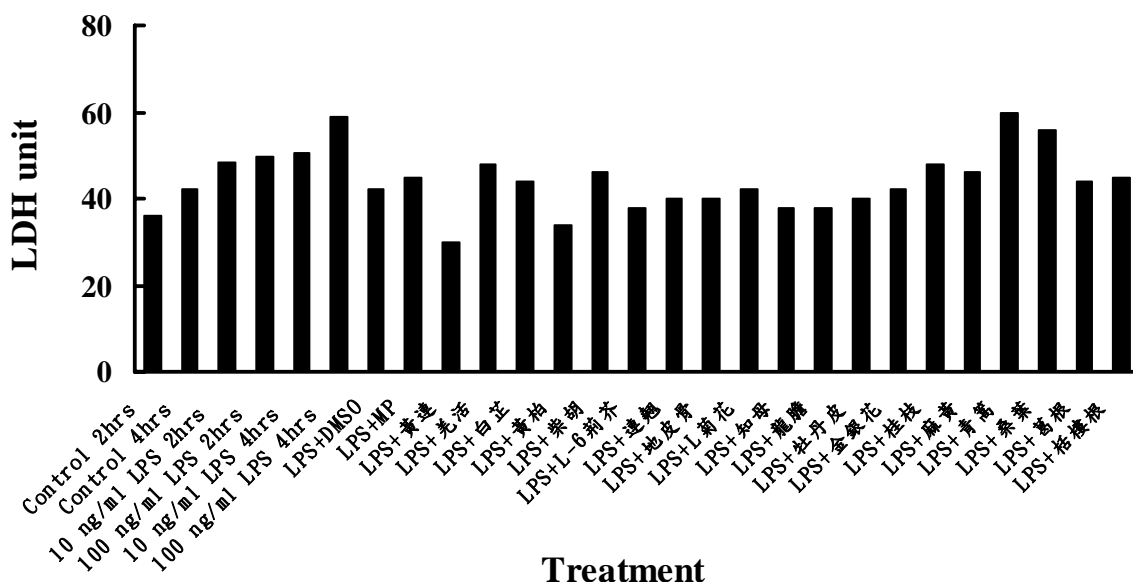


圖一 B



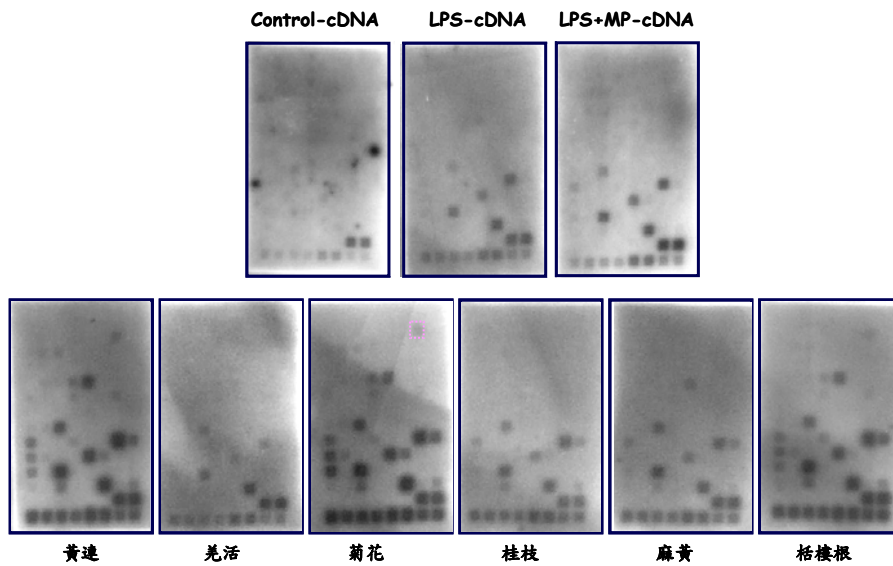
圖一 (A)以反轉錄 DNA 聚合鍊鎖反應 (RT-PCR) 方法分析於 Raw264.7 巨噬細胞株中經 LPS (10 及 100ng/mL) 處理 2 或 4 小時後 TNF- α 基因表現

的情形。上圖為以明膠分析 PCR 之結果而下圖為經定量與 internal control house-keeping beta-actin 基因表現量校正後兩個時間點及不同劑量之 LPS 所誘發的 TNF- α 基因表現。結果以相對於控制組（未處理的細胞）中 TNF- α 基因的相對表現量表示之每一數據為三個獨立實驗的平均質。(B) 以反轉錄 DNA 聚合鍊鎖反應分析解表藥物於巨噬細胞株中對由 LPS 誘發的 TNF- α 基因表現的影響。細胞以最終濃度為 10ng/mL 的 LPS 及 50 μ g/mL 的解表藥處理 2 小時後分析 TNF- α 基因的表現量。結果同樣以相對於控制組中之表現量表示之。每一個 bar 所表示的是四次獨立實驗（每次均以三重覆）的平均質。

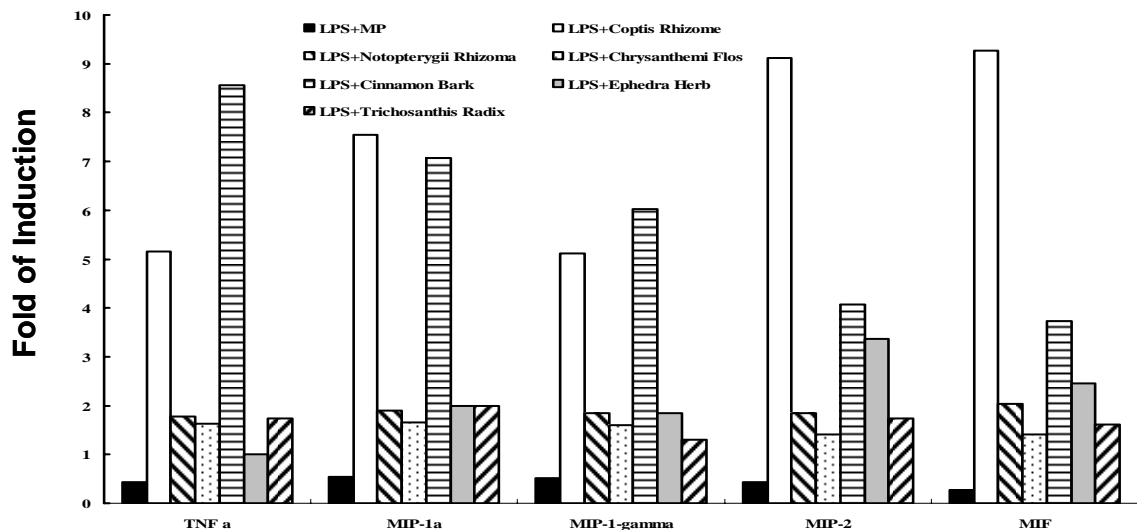


圖二 解表藥物於巨噬細胞株中的毒性分析。每一個 bar 所表示的是兩次獨立實驗（每次均以三重覆）的平均質。

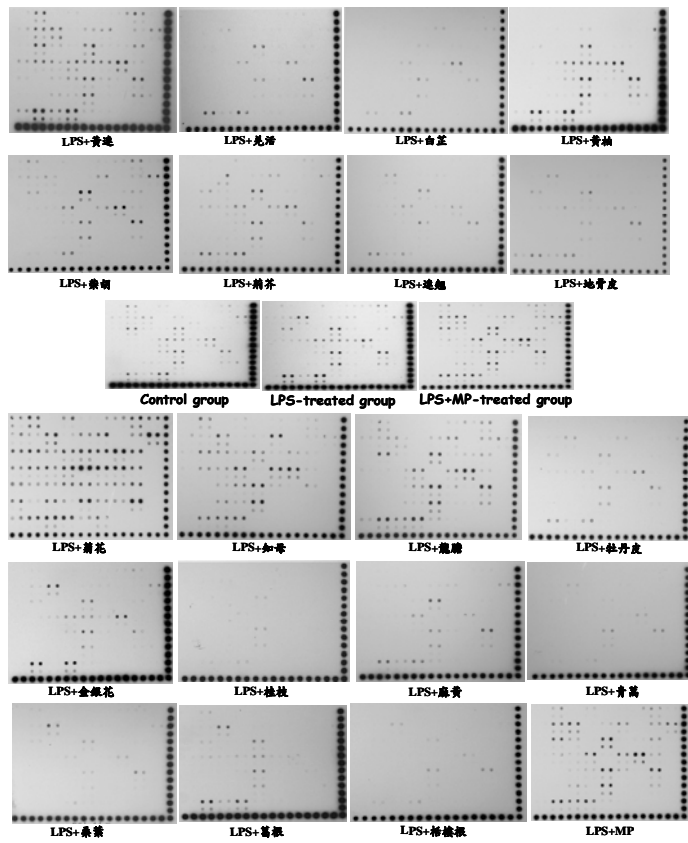
圖三 A



圖三 B



圖三 (A)cDNA 基因微陣分析五種解表藥物對於經 LPS 誘發發炎的巨噬細胞株中發炎相關細胞激素及其受體和細胞趨化激素及其受體基因表現的改變。(B)量化分析於基因微陣中觀察的特定基因,包括 TNF- α , macrophage inflammatory protein 1a and 1b (MIP-1a, MIP-1b), mus musculus C10-like chemokine (MIP-1g), macrophage inflammatory protein-2 (MIP-2), small inducible cytokine A2 precursor mRNA (Scya1), and mus musculus migration inhibitory factor (Mif) 基因表現的改變。每一個 bar 表示兩次微陣分析之平均值。



圖四 轉錄因子微陣分析解表藥物於經LPS活化的巨噬細胞株中對轉錄因子與DNA結合活性的影響。