

中藥四物湯對子宮內膜幹細胞及卵巢癌幹細胞之研究

劉嘉耀

國防醫學院婦產學科

摘要

中醫治療常使用「四物湯」（當歸、芍藥、川芎、地黃）來緩解減緩月經期間的疼痛。子宮內膜隨月經週期性再生，子宮內膜幹細胞扮演重要角色。卵巢癌為婦女寂靜殺手，不易早期診斷與得知，卵巢癌幹細胞為治療卵巢癌成功與否之關鍵。經常使用四物湯對生理狀況下的子宮內膜及病理狀態下的卵巢癌之影響，為一值得探討的議題。本研究計畫探討四物湯對子宮內膜幹細胞及罹癌婦女之卵巢癌幹細胞影響。

研究目的：

1. 分離人類子宮內膜間質幹細胞。
2. 分離卵巢癌幹細胞。
3. 了解四物湯對於子宮內膜間質幹細胞及卵巢癌幹細胞的影響。

研究方法：

本實驗室建立以酵素分離子宮內膜組織的實驗方法可以順利取得純度高於90%以上的子宮內膜基質細胞，進一步以流式細胞儀分選得到具有CD90表面抗原表現細胞，並確認其幹細胞的自我更新及分化能力。同步從卵巢癌細胞SKOV3也分選出具CD133及CD44表現的細胞，其SKOV3_133⁺44⁺的細胞可以在無血清環境中以球體懸浮生長。此外，藉由本研究實驗室完成建立培養子宮內膜間質幹細胞及卵巢癌幹細胞的實驗方法，並設置冷凍細胞庫存。利用MTT方法測試四物湯對本實驗所分離細胞生長之影響及半定量RT-PCR方法測試四物湯對幹細胞分化之影響。

結果與討論：

1. 四物湯水萃物對正常卵巢細胞與正常子宮肌肉細胞無明顯抑制增生作用，但對子宮內膜細胞與子宮內膜幹細胞具選擇性抑制作用。
2. 四物湯水萃物對SKOV3卵巢癌的幹細胞具抑制增生作用。

3. 與原始細胞相比 SKOV3 幹細胞呈現對 Taxol 的抗藥性。
4. 四物湯 1.25mg/ml 可抑制 *Nanog* 基因表現及少量抑制 *Oct-4* 基因表現，表示在此濃度下可抑制子宮內膜幹細胞 self-renewal，推測可能引導幹細胞走向分化。

關鍵字：四物湯、子宮內膜幹細胞、卵巢癌幹細胞

Study of Four-Agent-Decoction on Human Endometrial Stem Cells and Ovarian Cancer Stem Cells

Dr. Jah-Yao Liu

Department of Obstetrics and Gynecology, National Defense Medical Center

ABSTRACT

Four-Agents-Decoction (FAD, Si Wu Tang), an old traditional Chinese herb formula, has been used for hundreds of years to modulate female's discomfort during menstruation. Endometrial stem cells play an important role in uterine endometrial regeneration. Ovarian cancer, a silent killer of female, is difficult to diagnose at an early stage. It is known that ovarian cancer stem cells play a vital role in the treatment failure and recurrence of this possibly fatal disease. It is interesting to study the effect of regular use of FAD on the endometrium in physiological condition, and ovarian cancer in pathological condition. This project investigated the effects of FAD on endometrial stem cells and ovarian cancer stem cells.

Specific aims:

The first aim is to isolate stem cells from human endometrium. The second aim is to isolate endometrial and ovarian cancer stem cells. The third aim is to study the effect of FAD on stem cell and cancer stem cell differentiation.

Materials and methods:

In this study, we purified endometrial stroma cells and isolate CD90 positive (mesenchymal stem cell marker) cells by cell sorter. In theses CD90⁺ cells, we tested their self-renewal and differentiation abilities. Similarly, we separated CD133 positive and CD44 positive cells from SKOV3 ovarian cancer cell line. We grew these SKOV3_133⁺44⁺ cancer stem-like cells in serum-free medium and allowed them to form spheroid. Finally, we established endometrial stem cells and ovarian cancer stem cells and their frozen deposits. They are tested for the effect of FAD on their growth by MTT method and differentiation by gene expression after semi-quantitative RT-PCR.

Results and discussion:

1. FAD extracts did not have significant growth inhibition effects on primary ovarian and myometrial cells. FAD extracts inhibited proliferation of endometrial cells and endometrial stem cells.
2. FAD extracts inhibited proliferation of ovarian cancer cells and ovarian cancer stem cells.
3. Compared to the SKOV-3 cells, the SKOV-3 stem cells are more resistant to Taxol treatment.
4. FAD suppresses *Nanog* gene expression and somewhat suppresses *Oct-4* gene expression of endometrial stem cells at 1.25mg/ml, which implies it inhibits cell renewal and might direct them to cell differentiation.

Keywords: Four-Agents-Decoction, endometrial stem cells, ovarian cancer stem cells

壹、前言

中醫治療常使用「四物湯」來緩解減緩經前症候群的疼痛，四物是由當歸、芍藥、川芎、熟地黃四種藥物所組成，原參考為宋朝《太平惠民和劑局方》所載。四物湯主要功用是(1)養血：《醫方集解》記載四物湯治一切血虛及婦人經病。”四物功效包括當歸養血、熟地補血、白芍欽陰及川芎行血，因此可以改善貧血症狀；(2)調經：四物湯能幫助活血化瘀。

在華人社會常用中藥四物湯來調理經期中的不適，此方行於華人社會中已數百年之久。從本計畫主持人與前國家衛生研究院葉梁蘭蘭博士之前發表的人體試驗研究結果中發現，長期使用四物湯確實可有效的減輕經期不適，同時也監測受試者血液參數，結果皆在正常範圍值(Yeh, 2007)，從臨床上觀察也無其他不良副作用現象，研究上指出四物湯並無顯著臨床上補血的功能，但可增加血壓和降低脈動指數(pulsatility index) (Yeh, 2009)，然而四物湯作用機轉仍不清楚。

先前文獻報導 HER2 (human epidermal growth receptor type 2，乃 epidermal growth factor receptor 接受體成員之一) 蛋白在乳癌細胞株能正向調控 COX-2 蛋白表現(Wang, 2004)，且其作用可能是結合到 COX-2 啟動子而增加 COX-2 蛋白表現。由本實驗室初步實驗結果得知，給予四物湯會抑制 HER2 蛋白表現，同時 COX-2 蛋白表現也下降。為了瞭解四物湯抑制 HER2 蛋白的機轉，本實驗進行 HER2 啟動子報告基因分析，結果顯示四物湯水萃取物可以有效抑制 HER2 啟動子活性，且其抑制活性有劑量依存性，因此推測四物湯可以抑制 HER2 啟動子活性進而抑制 HER2 蛋白和子宮內膜異位症及卵巢癌細胞生長。

幹細胞(stem cells)為一群能自我更新(self- renewal)，且具有分化成不同世系及形成特定組織能力的細胞。除了取自於囊胚(blastocyst)內層細胞群(inner cell masss)的胚胎幹細胞(embryonic stem cells)，近年研究發現在成人的骨髓、血液系統、神經系統、腸胃道、肝臟和間葉組織中也有成人幹細胞(adult stem cells)的存在(Fuchs, 2004; Burke, 2007)，幹細胞負責細胞之分裂、分化和新陳代謝，為人體細胞及組織結構根源，是近年醫學研究之重點。成人幹細胞的分化能力雖較為有限，但其在正常組織中負責細胞的更新、替換及損傷時的修復。實驗室初步研究指出，新生兒臍帶血幹細胞呈現類似纖維母細胞之紡錘狀外觀，且不具 CD34 和 CD45 血球幹細胞的標誌，但是保有 CD44 和 CD105 間葉幹細胞的標誌。

研究指出已可成功從女性經血中培育出間質幹細胞，表示子宮內膜確實有幹細胞存在，且此幹細胞已確認可以分化為心肌細胞、呼吸道上皮細胞、神經細胞、血管細胞、胰臟及肝臟細胞、脂肪細胞

和骨細胞(Meng X et al., 2007)。此外也有文獻表示，使用黃芩中所含的成分 baicalin 可以誘導人類臍帶血間質幹細胞分化為神經細胞，原因可能與 NF-kappaB 有關(Yan XH and Huang RB, 2006)。我們實驗室在幹細胞分化實驗中也發現，幹細胞分化需要 EGF 刺激，所以 EGFR 下游信息傳導路徑對於幹細胞分化過程扮演重要角色，另外我們也發現四物湯中的當歸主要成分中含有 ferulic acid，ferulic acid 已知具有抗腫瘤效果(Kampa, 2004)。從結構式上分析，實驗室也發現 baicalin 與 ferulic acid 在結構式上有部分的相似性，因此四物湯/當歸是否也具有誘導分化功能與掌控體內細胞新陳代謝之作用也是本實驗室有興趣進一步探討的方向。

本計畫將有二個子計畫同時進行研究，包括(1)本實驗室擬建立臨床檢體子宮內膜及子宮內膜異位組織分離成初代細胞的方法。進一步分選幹細胞，建立培養生長的方法及確認幹細胞生物特性。並評估四物湯對子宮內膜幹細胞及卵巢癌幹細胞生長之影響，觀察其是否具生長抑制作用。(2)另一子計畫主持人高銘欽教授將以 Microarray 方法進行四物湯對子宮內膜細胞、子宮內膜異位細胞及卵巢癌細胞的基因體學研究。

此外，由於普遍已知中藥具有提高機體免疫力及抗腫瘤的功能，加上本實驗室初步研究成果得知，四物湯可能具有抗腫瘤療效，若能早期以四物湯輔以正規西醫療法，不僅能降低化療劑量達到療效，更能減少化療之副作用。因此本子計畫研究目的包含：

1. 分離子宮內膜間質幹細胞。
2. 分離卵巢癌幹細胞。
3. 了解四物湯對於子宮內膜間質幹細胞的影響。
4. 分析四物湯對於癌症輔助療法之可能性。

貳、材料與方法

一、四物湯萃取

四物湯的當歸、芍藥、川芎、地黃四種藥物（CGMP 藥廠）按照等比例各以 7.5gm 合計 30gm，按 10% 重量濃度，以 100°C 沸水萃取兩次後降溫至室溫，通過 0.22μM 濾膜以除去可能殘存微生物後利用減壓濃縮方式濃縮為 9.6gm，分裝儲存於-20°C 提供接下來的研究使用。

二、細胞培養及幹細胞分選

(一)組織分離及初代培養細胞

經患者同意，收集子宮內膜、子宮內膜異位及卵巢癌組織，以磷酸緩衝液洗去殘留的血液凝塊，將組織剪碎，以酵素在 37°C 下進行消化 1~1.5 小時，將組織碎塊通過 40μm 細胞篩。細胞置於 37°C、含有二氣化碳濃度 5% 之恆溫培養箱，培養數天後收取細胞並計數細胞總數進行分析。同時將部分初代培養細胞給予本整合型計畫另一子計畫 CCMP99-RD-202 之主持人高銘欽教授進行實驗。

(二)流式細胞儀分選具表面抗原細胞

將 75T Flask 全滿之細胞以 0.05 % trypsin-EDTA 處理，以磷酸緩衝液清洗二次後將細胞懸浮密度調整為 1×10^6 cells/mL，分裝至微量離心管。以磷酸緩衝液配製 0.1% FBS 的 wash buffer，並以此 wash buffer 於室溫下反覆清洗細胞兩次後重新懸浮於 wash buffer 中，再分別加入含有螢光標示之抗體於 4°C 下反應 20 分鐘後，以 wash buffer 清洗細胞二次，重新懸浮細胞於 Flow tube 中，以流式細胞儀進行分選。

(三)腫瘤幹細胞篩選

將上述腫瘤組織所分離的細胞，以 1 cell/well 的密度培養於不含血清但加入數種生長因子的超低貼附 96 孔盤培養基中，若能生長成球狀(spheroids)，則可能為腫瘤幹細胞。

(四)子宮內膜間質幹細胞與腫瘤幹細胞之培養及保存

間質幹細胞與腫瘤幹細胞為貼附型細胞，因此當進行繼代培養時須將廢棄之培養基移除並以磷酸緩衝液清洗細胞除去多餘的血清，之後加入 0.05 % trypsin-EDTA，置於恆溫培養箱中 5 分鐘後取出，並以含血清之培養液重新懸浮細胞，並以 167.7g 離心 5 分鐘。移除上清液。之後將細胞培繼代於新鮮培養基，如要進行細胞冷凍保存則將細胞重新懸浮於含有抗凍劑之培養基中並置於液態氮中保存。

(五)流式細胞儀分析細胞表面抗原驗證幹細胞

以流式細胞儀合併不同抗體分析初代培養細胞是否具有間質幹細胞的表面抗原，且將保有 CD90 但不具 CD34 的間質幹細胞。若是腫瘤幹細胞則是將 CD133 和 CD44 的表面抗原細胞分離出，以利進行分化實驗。

(六)子宮內膜間質幹細胞和腫瘤幹細胞生長分析

將上述所分離的細胞與原細胞比較以 Hemocytometer 方法計算細胞數目，分析 1~8 天內生長速率。

三、子宮內膜間質幹細胞分化與 self-renewal 功能分析研究

(一)成骨細胞分化分析

將第二代細胞(P2)以 $10^4/\text{cm}^2$ 的密度進行培養，培養一天後換成以成骨細胞誘導培養液加以培養，誘導培養液內含 10% FBS, 0.1 μM dexamethasone, 50 μM ascorbate-2-phosphate, 10mM β -glycerophosphate，以後三天換一次培養液，持續誘導兩到三周，之後進行 alizarin red S 細胞染色。

(二)脂肪分化分析

將第二代細胞(P2)以 $10^4/\text{cm}^2$ 的密度進行培養，培養一天後換成以脂肪細胞誘導培養液加以培養，誘導培養液內含 10% FBS, 0.1 μM dexamethasone, 0.5mM isobutyl methylxanthine, 10 μM insulin 和 20 μM indomethacine，以後三天換一次培養液，之後進行 oil red O 偵測油滴是否形成。此結果可以證實此細胞具有子宮內膜間質幹細胞的能力。

(三) Colony formation assay

將細胞植入 fibronectin coating 的 6cm 培養盤，生長於 1%~5% 較低血清比例的細胞培養液中，每 3 天更新細胞培養液，2~3 週後觀察細胞群落形成狀況。移去細胞培養液，以 PBS 清洗三次，再加入 100% 甲醇固定細胞，最後以結晶紫進行染色，10~20 分鐘後移去結晶紫，以水將多餘結晶紫移走。觀察呈色反應，計算 colony 數目。

四、卵巢癌幹細胞生物特性

(一) MTT assay

此部分實驗目的在於觀察不同濃度之試劑對於細胞之生長抑制。本實驗利用 MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]法判定。MTT 是一種活細胞染色法，其基本原理是利用細胞內粒線體中的脫氫酵素(dehydrogenase)將 MTT 代謝呈藍紫色結晶 formazan，將此結晶溶於 DMSO (Dimethyl Sulfoxide) 中，以 OD540 的吸光值來量化，形成的顏色深淺與細胞的存活數目成

正比。將細胞以不同的四組條件培養液培養於 96 孔細胞培養盤中，在 5 % CO₂、37 °C的條件下，培養 0、24、48、72 小時後，再加入 MTT 與細胞共同培養 3 小時之後，小心抽掉上清液，以 DMSO 溶解其結晶，搖晃震盪五分鐘後，測量 540 nm 之吸光值。

(二)抗藥性測試

將卵巢癌細胞及具 CD133 和 CD44 表現的卵巢癌幹細胞植入 96 孔盤，加入已知抗癌藥物 Taxol 於 72 小時後，以 MTT 方法分析抑制增生作用。

五、四物湯對子宮內膜幹細胞及卵巢癌幹細胞的影響

(一)四物湯對子宮內膜幹細胞生長影響

將子宮內膜及具 CD90 表現的子宮內膜幹細胞植入 96 孔盤，加入四物湯水萃物分別於 24、48 及 72 小時後，以 MTT 方法分析抑制增生作用。

(二)四物湯對卵巢癌幹細胞生長影響

將卵巢癌及具 CD133 和 CD44 表現的卵巢癌幹細胞植入 96 孔盤，加入四物湯水萃物分別於 24、48 及 72 小時後，以 MTT 方法分析抑制增生作用。

(三)四物湯對子宮內膜幹細胞分化影響

將具 CD90 表現的子宮內膜幹細胞植入 10cm 培養盤，加入四物湯水萃物 5mg/ml 及 1.25mg/ml 處理 48 小時後，收集細胞以 RT-PCR 方法分析分化 *Nanog* 與 *Oct-4* 基因的 RNA 表現，希望瞭解四物湯水萃物對子宮內膜幹細胞是具有促進或抑制分化的影響。

1. RNA 萃取與 cDNA 之合成

取 Trizol 加入大約 5×10^6 的細胞置冰上 5 分鐘，收集 cell lysis 至微量離心管中，離心後取上清液放入乾淨微量離心管中，加入 200 ul 氯仿(chloroform)後震盪 15 秒，以 12000 rpm、4°C離心 15 分鐘，吸取上層約 600 μ l 的上清液，加入 116 μ l 的肝醣(glycogen)以及等量的異丙醇(isopropanol)幫助 RNA 沉澱，然後以 12000 rpm、4°C離心 10 分鐘，保留白色 RNA 沉澱。小心吸掉上清液，再加入 0.2 ml 75% 酒精清洗，小心吸掉上清液靜置乾燥 10 分鐘，加入 20 μ l DEPC (diethylpyrocarbonate)- H₂O 完全溶解 RNA，以分光光度計(spectrophotometer)於波長 260nm 檢測 RNA 濃度。將 RNA 儲存於 -80°C 冰箱內或直接進行 complementary DNA (cDNA)的合成。

總反應的體積為 20 μ l，混合 1 μ g total RNA、1 μ l Oligo-dT (Deoxythymidine)、1 μ l dNTP 和 MQ (multiple-quantum well)水，

於 70°C 作用 5 分鐘先破壞 RNA 二級結構，之後立刻放在冰上；然後再加入 4 μ l 5X reaction buffer (250mM Tris-HCl (pH 8.3 at 25°C), 375mM KCl, 15mM MgCl₂, 50mM DTT)、1 μ l 0.1M DTT (dithiothreitol)和 1 μ l Ribonuclease inhibitor 於 42°C 作用 2 分鐘；最後加入 5 unit 反轉錄酵素在 37°C 下作用 50 分鐘。將 cDNA 置於-20°C 保存。

2. 聚合酶連鎖反應(PCR Reaction)

依序加入以下試劑：核酸引子、10 μ l 的 2x PCR Master Mix、RNase-free Water、最後加入 2-4 μ l cDNA(約 1 μ g)，反應最終體積為 20 μ l。再進行 PCR 反應：95°C 10 分鐘，25-35 次循環之 94°C 15 秒、55°C 30 秒、72°C 30 秒，72°C 10 分鐘，完成後進行電泳或置於-20°C 保存。

3. 電泳(electrophoresis)

將放大後的 PCR 產物進行 agrose gel (1.5%~2%) 的電泳，分析與分化相關的基因 *Oct-4*、*Nanog* 及 housekeeping 基因 *beta-actin* 的表現，希望瞭解四物湯對子宮內膜幹細胞的分化影響。

參、結果

一、四物湯對子宮內膜間質幹細胞影響

(一)分離子宮內膜基質幹細胞

將由臨床取得的新鮮子宮內膜組織經酵素作用，再將經篩網過濾後所得的單一細胞進行初代培養，取繼代培養在 2~3 次的細胞進行病理染色鑑定，以基質細胞標誌 vimentin 免疫染色之後，確認可明確分離得到 90% 以上的子宮內膜基質細胞(endometrial stroma cells) (圖 1)。同時我們也將分離所得的細胞提供給另一子計畫 CCMP99-RD-202 進行相關研究。

將子宮內膜基質細胞以流式細胞儀進行分選，先排除具造血幹細胞表面抗原 PE-CD45 表現的細胞，再選出收集具有 FITC-CD90 表面抗原表現的細胞 (以下稱為 NES_{90⁺}細胞)，圖 2 所示為 NES_{90⁺}細胞分佈狀況，約佔 40%~50%，取其進一步進行細胞培養。圖 3A~D 分別為未分選的初代細胞、NES_{90⁺}細胞生長 2 天、3 天及 5 天的細胞生長及型態，觀察發現 NES_{90⁺}細胞在較低胎牛血清比例(5%)的細胞培養液中仍可以持續增生，與初代細胞相比也發現 NES_{90⁺}細胞維持在較低胎牛血清比例其細胞型態無明顯差異，藉此觀察我們推測 NES_{90⁺}細胞可能具有幹細胞 self-renewal 的生長特性，進一步將探討其是否能具有 colony formation 及分化為脂肪細胞及骨骼細胞的能力。

(二)子宮內膜基質幹細胞特性確認

1. Colony formation assay

將 NES_{90⁺}細胞生長於具有 fibronectin coating 的細胞培養盤，以只含 1% 胎牛血清的細胞培養液培養 6 天後觀察發現可以形成細胞群落 (圖 4A)，15 天後以結晶紫進行染色，可以見到明顯的細胞群落 (圖 4B) 形成，證明 NES_{90⁺}細胞應具有 self-renewal 的能力。

2. Differentiation assay

(1)子宮內膜基質幹細胞分化為脂肪細胞

將 NES_{90⁺}細胞生長於含 5% 胎牛血清的細胞培養液，觀察細胞型態的改變研究分化的發生，當正常細胞生長至 90% confluence 時，因呈現 contact inhibition 現象會停止生長，但是幹細胞具走向分化的潛力。我們觀察 NES_{90⁺}細胞當長至滿溢狀態第 7 天會有部分細胞型態由紡錘狀轉變為圓卵狀 (圖 5A、5B)，第 13 天後細胞型態改變更加明顯有 50% 以上的分

佈（圖 5C），至 17 天可有 90% 的細胞型態均呈現圓卵狀（圖 5D）。進一步取生長至第 17 天的 NES_90⁺細胞進行 Oil Red O 染色，確實已有子宮內膜基質幹細胞分化為脂肪細胞（圖 5E），但是子宮內膜基質初代細胞同樣的生長環境進行 Oil Red O 染色卻無呈色，無分化成脂肪細胞的能力。

（2）子宮內膜基質幹細胞分化為成骨細胞

將 NES_90⁺細胞生長於含 5% 胎牛血清的細胞培養液當作控制組 (control)，同步亦將 NES_90⁺細胞生長於含 dexamethasone 、 ascorbate-2-phosphate 及 beta-glycerophosphate 誘導培養液中 (induction)，持續觀察細胞的型態變化。

比較控制組與誘導培養液組細胞型態，在第 9 天誘導培養液組 NES_90⁺細胞型態明顯由紡錘狀轉變為圓卵狀（圖 6D），有大約 50% 以上的分佈，至第 18 天已有 80% 以上的細胞呈現型態改變（圖 6F），在第 27 天取控制組與誘導培養液組的 NES_90⁺細胞（圖 6G、6H）作 alizarin red S 染色，誘導培養液組的 NES_90⁺細胞有明顯呈色（圖 6J），控制組則無呈色現象（圖 6I）。

綜合 colony formation assay 與分化實驗的結果，分離培養所得具 CD90 表現的子宮內膜幹細胞具有幹細胞的特性，包括 self-renewal 及可分化為脂肪細胞與成骨細胞的功能。

（三）四物湯對子宮內膜幹細胞生長影響

1. 四物湯對子宮內膜幹細胞生長影響（表一）

將四物湯水萃物 (FAD) 加入子宮內膜細胞及子宮內膜幹細胞中，分別於 24、48 及 72 小時檢測其生長狀況，發現對於 2 種細胞作用時間在 48~72 小時具明顯抑制增生作用，加入 48 小時其 IC₅₀ 分別為 9.1 及 6.0 mg/ml，72 小時為 8.1 及 6.3 mg/ml。

2. 四物湯對正常卵巢細胞及子宮肌肉細胞生長影響（表一）

將四物湯水萃物 (FAD) 加入正常卵巢細胞及子宮肌肉細胞中，分別於 24、48 及 72 小時檢測其生長狀況。對正常卵巢細胞在最高濃度 10 mg/ml 其影響生長分別大約為 0%、20% 及 30%，IC₅₀ 均大於 10 mg/ml。對正常子宮肌肉細胞於 24 及 48 小時 IC₅₀ 均大於 10 mg/ml。

綜合四物湯水萃物對子宮內膜細胞、子宮內膜幹細胞、正常卵巢細胞及子宮肌肉細胞的 MTT 測試結果，確認對於子宮內膜細胞及子宮內膜幹細胞具選擇性抑制增生作用。

3. 四物湯對子宮內膜幹細胞分化影響（圖 9）

目前完成以 RT-PCR 方法研究四物湯水萃物 2 種濃度 5mg/ml 及 1.25mg/ml 對子宮內膜基質幹細胞的分化影響，分析幹細胞基因 *Nanog* 及 *Oct-4* 的表現量。結果顯示在處理 48 小時後，1.25mg/ml 四物湯顯著抑制 *Nanog* 及少量 *Oct-4* 基因表現；5mg/ml 四物湯水萃物增加 *Nanog* 基因表現但少許抑制 *Oct-4* 基因表現。

二、四物湯對卵巢癌幹細胞影響

(一) 分離卵巢癌幹細胞

將卵巢癌細胞株 SKOV3 以流式細胞儀進行分選，選出具有 CD133 及 CD44 表面抗原表現的細胞（以下稱為 SKOV3_133⁺ 及 SKOV3_133⁺44⁺ 細胞），培養於超低貼附培養盤及含生長因子 EGF、 β FGF 及 albumin 的無血清細胞培養液中，觀察可形成懸浮球狀體(spheroid)生長狀態。進一步我們比較其細胞生長曲線及抗藥性現象。

(二) 卵巢癌幹細胞特性確認

1. 卵巢癌幹細胞生長速率較緩慢

比較 3 種卵巢癌細胞株 SKOV3、SKOV3_133⁺ 及 SKOV3_133⁻ 細胞的生長速率，在第 1 天~第 8 天之間每隔 24 小時計算 3 種細胞數目。由圖 8 我們發現第 4 天開始，3 種細胞開始呈現不同的生長速率，依照生長較快順序排列依次為 SKOV3_133⁻、SKOV3 及 SKOV3_133⁺，SKOV3_133⁺ 細胞生長最慢，不具 CD133 表現的 SKOV3_133⁻ 細胞生長最快，在第 8 天比 SKOV3_133⁺ 細胞生長數目多 1 倍。

進一步我們也以 SKOV3_133⁺ 細胞繼續分選同時具有 CD44 表現的細胞 SKOV3_133⁺44⁺ 細胞，比較已知化療藥物 Taxol 對 3 種卵巢癌細胞株 SKOV3、SKOV3_133⁺ 及 SKOV3_133⁺44⁺ 細胞的抑制增生影響。

2. 卵巢癌幹細胞具抗藥性

將 Taxol 加入 3 種卵巢癌細胞株 SKOV3、SKOV3_133⁺ 及 SKOV3_133⁺44⁺ 細胞，評估抑制增生影響。參考表二的結果 SKOV3_133⁺ 及 SKOV3_133⁺44⁺ 細胞對 Taxol 呈現抗藥性，其 IC_{50} 分別為 0.093 μ M 和 1.0 μ M，和 SKOV3 細胞相比具 7 倍和 50 倍以上的增加。所以 2 種卵巢癌幹細胞 SKOV3_133⁺ 及 SKOV3_133⁺44⁺ 均具有抗藥性。

(三) 四物湯對卵巢癌幹細胞具抑制增生影響

將四物湯水萃物(FAD)加入 4 種卵巢癌細胞株 SKOV3、SKOV3_133⁻、SKOV3_133⁺ 及 SKOV3_133⁺44⁺ 細胞中，分別於 48 及 72 小時檢測其生長狀況評估其 IC50，參考表三的結果 FAD 可以抑制 2 種卵巢癌幹細胞 SKOV3_133⁺及 SKOV3_133⁺44⁺的生長，與 SKOV3 相比 2 種卵巢癌幹細胞對 FAD 無抗藥性現象產生。

肆、討論

本次研究主題之一是以子宮內膜細胞為主要實驗材料，子宮內膜細胞的來源為臨床檢體，每次由酵素分離所得的初代細胞均會有個體差異存在，差異項目包括：細胞型態、種類、數目等，間接影響細胞的生長速率與表面抗原分佈比例。本實驗室為求每次酵素分離的細胞具均質性，在病理免疫染色的鑑定配合下，已建立分離細胞的實驗程序，可以得到佔 90% 以上的子宮內膜基質細胞的分佈。

但是以每次分離的子宮內膜基質細胞進行藥物測試，在各種濃度仍有 10~20% 的差異，所以我們計算每種濃度抑制率的平均值作為參考以計算 IC_{50} 。

另外，維持子宮內膜幹細胞的未分化特性將有利於實驗進行，經由分化成脂肪細胞與成骨細胞的研究，我們從具表面抗原表現的分選細胞之細胞型態，選擇合適的培養條件可維持子宮內膜幹細胞的未分化特性。現確定分選細胞在繼代培養 1~2 的代數內，具有高比例的未分化幹細胞分佈，可進行相關實驗研究。

在研究四物湯水萃物對子宮內膜幹細胞分化影響的實驗中，我們以 1.25mg/ml 處理 48 小時，抑制 *Nanog* 基因表現及少量抑制 *Oct-4* 基因表現，表示在此濃度下可抑制子宮內膜幹細胞 self-renewal，推測可能引導幹細胞走向分化。未來我們將進一步探討四物湯水萃物以不同濃度及處理不同時間對子宮內膜幹細胞分化影響，作為可應用於相關疾病變化的參考。

另一研究主題是分離卵巢癌幹細胞，我們同步以細胞株及臨床卵巢癌組織進行研究，但是臨床卵巢癌組織不易分離，無法快速得到具純比例的卵巢癌細胞株。所以我們同步以 ATCC 的卵巢癌細胞株 SKOV3 及 OVCAR3 進行分選培養，但是具 CD133 表現的 OVCAR3 細胞(OVCAR3_133⁺)增生速率緩慢，所以我們以 SKOV3 作為主要的研究材料。

伍、結論與建議

一、將本次研究結果，歸納以下結論：

1. 已建立子宮內膜細胞與子宮內膜幹細胞庫存。
2. 已建立 SKOV3 卵巢癌的幹細胞庫存。
3. 子宮內膜幹細胞具有 self-renewal 與分化為脂肪細胞與成骨細胞的能力。
4. 四物湯水萃物對正常卵巢細胞與正常子宮肌肉細胞無明顯抑制增生作用，但對子宮內膜細胞與子宮內膜幹細胞具選擇性抑制增生作用。
5. 同時具有表面抗原的 CD133 及 CD44 卵巢癌細胞，對臨床已知抗癌藥物 Taxol 呈現強抗藥性。
6. 四物湯水萃物對 SKOV3 卵巢癌的幹細胞具抑制增生作用。
7. 四物湯 1.25mg/ml 可抑制 *Nanog* 基因表現及少量抑制 *Oct-4* 基因表現，表示在此濃度下可抑制子宮內膜幹細胞 self-renewal，推測可能引導幹細胞走向分化。

二、建議

1. 本研究計畫實驗項目繁多，以二年的研究期較為適合。
2. 本研究計畫以細胞生物的探討為主，希望能進一步延伸至分子生物，分析幹細胞的標誌基因表現。
3. 本研究計畫結果呈現四物湯水萃物對 SKOV3 卵巢癌的幹細胞具抑制增生作用，進一步希望能研究四物湯抗 SKOV3 卵巢癌的幹細胞硬塊腫瘤的動物實驗，可作為臨床應用參考。
4. 未來若有相關計畫將進一步研究，選擇臨床上常用於治療卵巢癌的化療藥物例如 Taxol、cisplatin 等，進行合併給藥的研究，以達能有效降低使用劑量的目的。
5. 我們也將比較目前已發表文獻四物湯萃取方法，進一步研究四物湯水萃物的 fractions 功效。

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 CCMP99-RD-201 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、参考文献

1. Al-Hajj M, Wicha MS, Ito-Hernandez A, Morrison SJ, and Clarke MF. (2003) Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 3983-3988.
2. Bonnet D, and Dick JE. (1997) Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat. Med.* 3, 730-737.
3. Brinton LA, Gridley G, Persson I, Baron J and Bergqvist A (1997). *Am J Obstet Gynecol.* 176: 572-579.
4. Burke ZD, Thowfeequ S, Peran M, Tosh D. (2007) Stem cells in the adult pancreas and liver. *Biochem J.* 404, 169-178.
5. Chang CJ, Chiu JH, Tseng LM, Chang CH, Chien TM, Chen CC, Wu CW and Lui WY (2007) *Menopause* 14: 157.
6. Chiba T, Kita K, Zheng YW, Yokosuka O, Saisho H, Iwama A, Nakauchi H, and Taniguchi H. (2006) Side population purified from hepatocellular carcinoma cells harbors cancer stem cell-like properties. *Hepatology* 44, 240-251.
7. Collins AT, Berry PA, Hyde C, Stower MJ, and Maitland NJ. (2005) Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res.* 65, 10946-10951.
8. Dizerega GS, Barber DL and Hodgen GD (1980) *Fertil Steril* 33: 649-653
9. Dome B, Timar J, Ostoros G, and Paku S. (2005) Endothelial progenitor cells in non-small cell lung cancer. *J Clin Pathol.* 58, 447.
10. Fuchs E, Tumbar T, and Guasch G. (2004) Socializing with the neighbors: stem cells and their niche. *Cell* 116, 769-778.
11. Fukunaga M, Nomura K, Ishikawa E and Ushigome S (1997). *Histopathology* 30: 249-255.
12. Halme J, Becker S and Wing R (1984). *Am J Obstet Gynecol.* 148: 85-90.
13. Halme J, White C, Kauma S, Estes J and Haskill S (1988). *J Clin Endocrinol Metab.* 66: 1044-1049.
14. Hilbe W, Dirnhofer S, Oberwasserlechner F, Schmid T, Gunsilius E, Hilbe G, Woll E, and Kahler CM. (2004) CD133 positive endothelial progenitor cells contribute to the tumour vasculature in non-small cell lung cancer. *J Clin Pathol.* 57, 965-969.
15. Hill JA and Anderson DJ (1989). *Am J Obstet Gynecol.* 161: 861-864.
16. Kampa M, Alexaki VI, Notas G, Nifli AP, Nistikaki A, Hatzoglou A, Bakogeorgou E, Kouimtzoglou E, Blekas G, Boskou D, Gravanis A, Castanas E. (2004) Antiproliferative and apoptotic effects of selective phenolic acids on T47D human breast cancer cells: potential mechanisms of

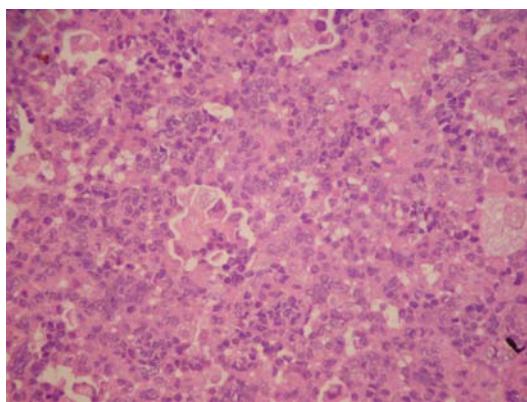
- action. *Breast Cancer Res.* 2004;6(2):R63-74.
- 17. Kania G, Corbeil D, Fuchs J, Tarasov KV, Blyszczuk P, Huttner WB, Kim CF, Jackson EL, Woolfenden AE, Lawrence S, Babar I, Vogel S, Crowley D, Bronson RT, and Jacks T. (2005) Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell* 121, 823-835.
 - 18. Kim MJ, Cooper DD, Hayes SF, and Spangrude GJ. (2005) Rhodamine-123 staining in hematopoietic stem cells of young mice indicates mitochondrial activation rather than dye efflux. *Blood* 91, 4106-4117.
 - 19. Kjerulff KH, Erickson BA and Langenberg PW (1996). *Am J Public Health.* 86: 195-199.
 - 20. Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, Murdoch B, Hoang T, Caceres-Cortes J, Minden M, Paterso B, Caligiuri MA, and Dick JE. (1994) A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature* 367, 645-648.
 - 21. Lebovic DI, Mueller MD and Taylor RN (2001). *Fertil Steril* 75: 1–10.
 - 22. Mackenzie IC. (2004) Growth of malignant oral epithelial stem cells after seeding into organotypical cultures of normal mucosa. *J Oral Pathol Med.* 33, 71-78.
 - 23. Matej R, Mandáková P, Netíková I, Poucková P and Olejár T. (2007) Proteinase-activated receptor-2 expression in breast cancer and the role of trypsin on growth and metabolism of breast cancer cell line MDA MB-231. *Physiol Res.* 54: 475-84.
 - 24. Meng X, Ichim TE, Zhong J, Rogers A, Yin Z, Jackson J, Wang H, Ge W, Bogin V, Chan KW, Thébaud B, Riordan NH. (2007) Endometrial regenerative cells: a novel stem cell population. *J Transl Med.* 15; 57.
 - 25. Meresman GF, Vighi S, Buquet RA, Contreras-Ortiz O, Tesone M and Rumi LS (2000). *Fertil Steril* 74: 760-766.
 - 26. Oosterlynck DJ, Meuleman C, Waer M, Vandeputte M and Koninckx PR (1992) *Fertil Steril.* 58: 290-295.
 - 27. Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, Zhu Z, Lane WJ, Williams M. (2000) Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood* 95, 952–958.
 - 28. Ponti D, Costa A, Zaffaroni N, Pratesi G, Petrangolini G, Coradini D, Pilotti S, Pierotti MA, and Daidone MG. (2005) Isolation and in vitro propagation of tumorigenic breast cancer cells with stem/progenitor cell properties. *Cancer Res.* 65, 5506-5511.
 - 29. Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E, Biffoni M, Todaro M, Peschle C, and Maria R. (2007) Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature* 445, 111-115.

30. Sampson JA (1925). *Arch Surg* 10: 1–72.
31. Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, Bonn VE, Hawkins C, Squire J, and Dirks PB. (2003) Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res.* 63, 5821-5828.
32. Szotek PP, Pieretti-Vanmarcke R, Masiakos PT, Dinulescu DM, Connolly D, Foster R, Dombkowski D, Preffer F, MacLaughlin DT, and Patricia K. (2006) Ovarian cancer side population defines cells with stem cell-like characteristics and Mullerian Inhibiting Substance responsiveness. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 11154-11159.
33. Taketani Y, Kuo TM and Mizuno M (1992) *Am J Obstet Gynecol.* 167: 265-270.
34. Tang DG, Patrawala L, Calhoun T, Bhatia B, Choy G, Schneider-Broussard R, and Jeter C. (2007) Prostate cancer stem/progenitor cells: Identification, characterization, and implications. *Mol. Carcinog.* 46, 1-14.
35. Uchida N, Buck DW, He D, Reitsma MJ, Masek M, and Phan TV. (2000). Direct isolation of human central nervous system stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 97, 14720–14725.
36. Wang L, Wang X, Wang W, Chen C and Ronnennberg AG (2004) Stress and dysmenorrhoea: a population based prospective study. *Occup Environ Med* 61:1021–1026.
37. Yan XH and Huang RB (2006) Differentiation of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells toward neurons induced by baicalin in vitro. *Zhonghua Er Ke Za Zhi.* 44: 214-219
38. Yeh LL, Liu JY, Lin KS, Liu YS, Chiou JM, Liang KY, Tsai TF, Wang LH, Chen CT and Huang CY (2007) *PLoS ONE* 2: e719.
39. Yeh LL, Liu JY, Liu YS, Lin KS, Tsai TF, Wang LH. (2009) Anemia-Related Hemogram, Uterine Artery Pulsatility Index, and Blood Pressure for the Effects of Four-Agents-Decoction (Si Wu Tang) in the Treatment of Primary Dysmenorrhea. *J Altern Complement Med.* 15: 1-8.
40. Yin AH, Miraglia S, Zanjani ED, Almeida-Porada G, Ogawa M, and Leary AG. (1997) AC133, a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 90, 5002–5012.
41. Yin S, Li J, Hu C, Chen X, Yao M, Yan M, Jiang G, Ge C, Xie H, Wan D, Yang S, Zheng S, and Gu J. (2007) CD133 positive hepatocellular carcinoma cells possess high capacity for tumorigenicity. *Int J Cancer* 120, 1444-1450.
42. Zhang H, Shen P and Cheng Y (2004) *J Pharm Biomed Anal* 34: 705-713.

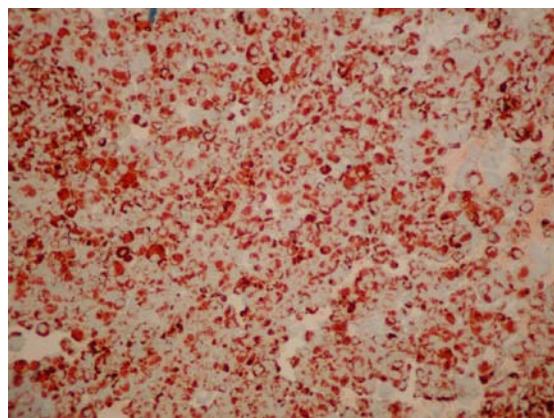
染、圖、表

圖 1、子宮內膜基質細胞免疫染色結果。

取分離所得的子宮內膜基質細胞，繼代培養代數為 1 次，進行病理免疫染色。(1A) Hematoxylin & Eosin (H&E)染色。(1B) Vimentin 免疫染色，其為基質細胞特定表現的標誌，大約佔 93%。



1A. H & E-染色



1B. Vimentin 免疫染色

圖 2、流式細胞儀(FACS sorter)分選子宮內膜基質幹細胞。

將 NES 細胞以 FITC-CD90 抗體作用，進行分選並收集具 CD90 表現的細胞。圖中藍色區塊為具 CD90 表現的分佈區域。

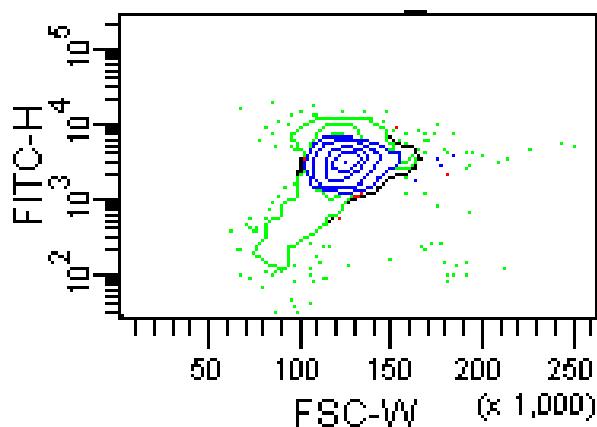
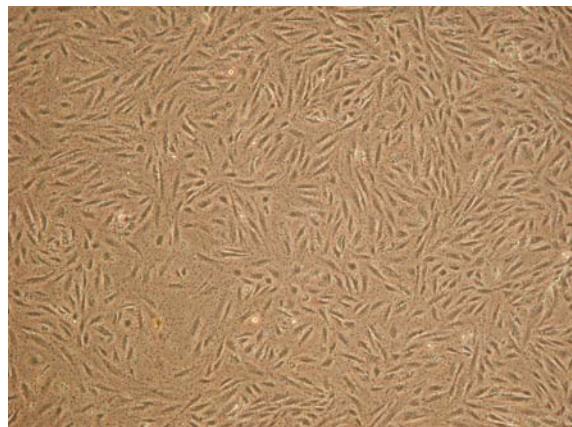
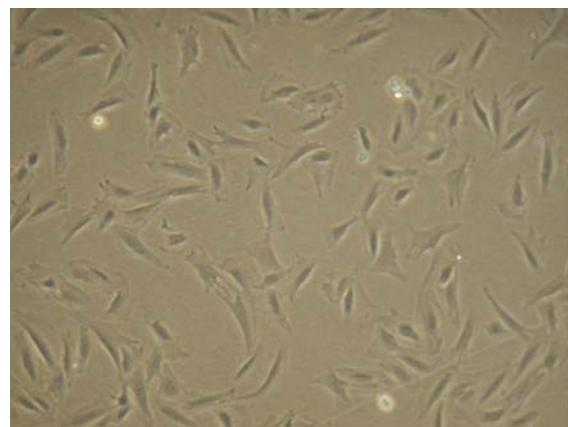


圖 3、子宮內膜基質(NES)初代細胞與 NES_90+細胞增生。

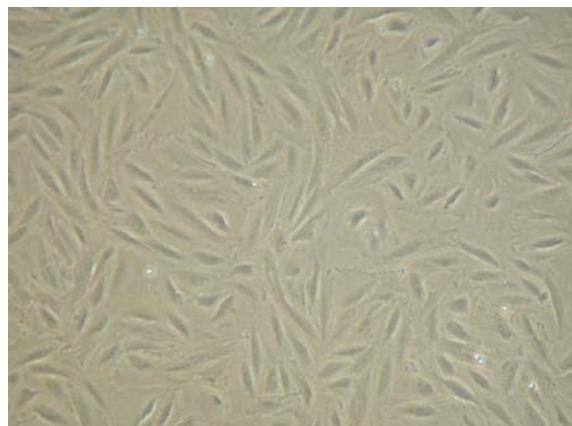
初代細胞為組織經酵素分離未經繼代培養的原始細胞。(3A) NES 初代細胞生長 5 天 (10% FBS 培養液)。(3B-D) NES_90⁺ 細胞生長於較低血清比例培養液中(5% FBS)，分別為 2 天、3 天及 5 天細胞的生長狀況，呈現持續增生的狀態。



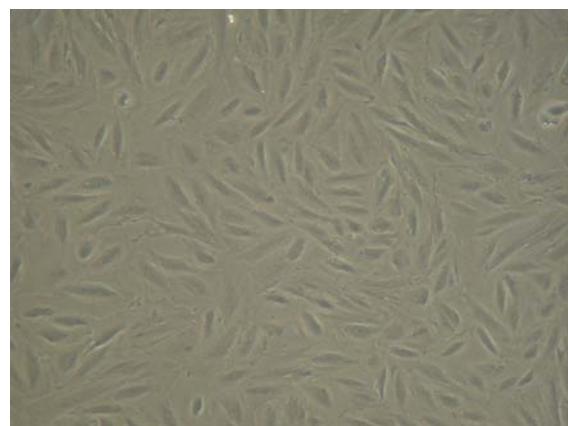
3A. NES 初代細胞



3B. NES_90+生長 2 天



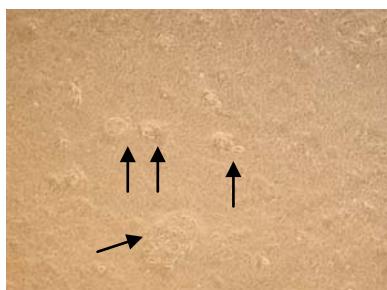
3C. NES_90+生長 3 天



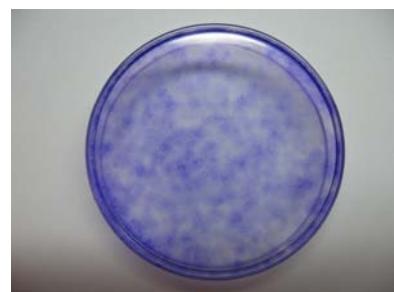
3D. NES_90+生長 5 天

圖 4、NES_90⁺細胞 colony formation assay。

將細胞培養於 fibronectin coating 的細胞培養盤，生長於只含 1% 胎牛血清的細胞培養液，觀察細胞群落的形成。(4A) NES_90⁺細胞生長 6 天後，以顯微鏡觀察發現細胞群落形成(黑色箭號所示)，介於 50μm~100μm size。(4B) NES_90⁺細胞生長 15 天後，以結晶紫進行染色。巨觀可以見到許多大約為 1mm 明顯的藍色細胞群落，證實 NES_90⁺細胞具有 self-renewal 的能力。



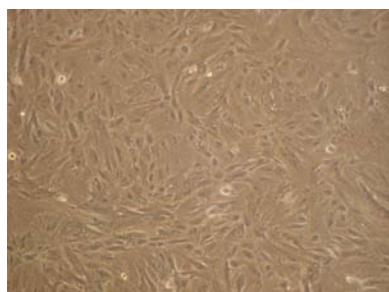
4A. NES_90⁺ 細胞生長 6 天後，可形
成 colonies 。



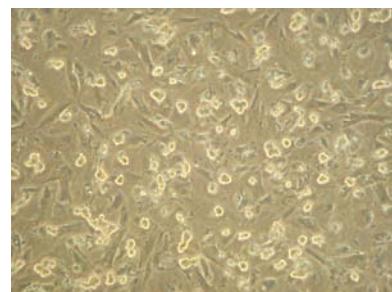
4B. NES_90⁺ 細胞生長 15 天，以結
晶紫染色 colonies 可明顯呈色。

圖 5、子宮內膜基質幹細胞分化為脂肪細胞。

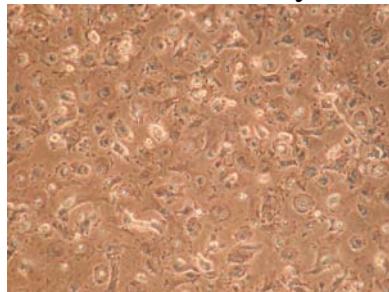
將 NES_{90⁺}細胞生長於含 5% 胎牛血清的細胞培養液，觀察細胞型態的改變及分化的發生。(5A) NES_{90⁺}細胞誘導分化 3 天，呈現紡錘狀型態。(5B) NES_{90⁺}細胞誘導分化至第 7 天細胞已全滿。(5C) NES_{90⁺}細胞誘導分化至第 13 天，細胞型態由紡錘狀轉變為 >50% 圓卵狀的分佈。(5D) NES_{90⁺}細胞誘導分化至 17 天，有 90% 的細胞型態均呈現圓卵狀。(5E) NES_{90⁺}細胞誘導分化至第 17 天進行 Oil Red O 染色，可見其紅色呈色代表子宮內膜基質幹細胞已分化為脂肪細胞。(5F) 子宮內膜基質初代細胞誘導分化至第 17 天進行 Oil Red O 染色無呈色，表示無分化成脂肪細胞。



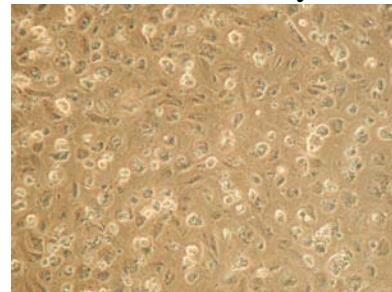
5A. NES_{90⁺}, 3 days.



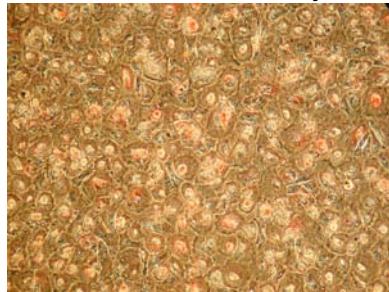
5B. NES_{90⁺}, 7 days



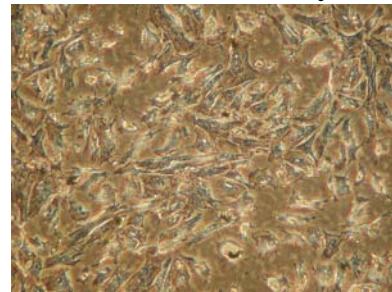
5C. NES_{90⁺}, 13 days



5D. NES_{90⁺}, 17 days



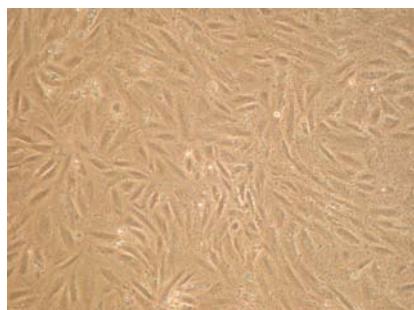
5E. NES_{90⁺}, Oil Red O 呈色



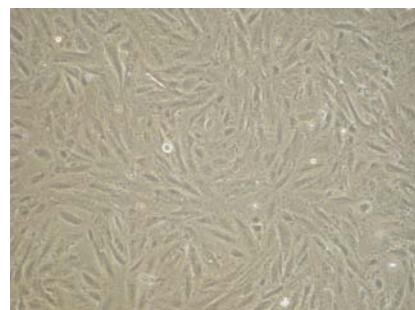
5F. NES 細胞, Oil Red O 無呈色

圖 6、子宮內膜基質幹細胞分化為成骨細胞。

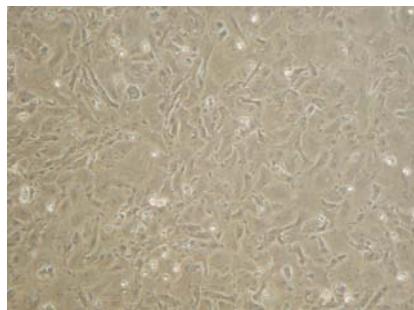
將 NES_{90⁺}細胞生長於 5% FBS 培養液。(6A-B)分別為 NES_{90⁺}細胞未誘導分化及誘導分化組生長 3 天的型態。(6C-D)為 NES_{90⁺}細胞誘導分化 9 天的型態，已由紡錘狀變為>50% 圓卵狀。(6E-F) NES_{90⁺}細胞誘導分化 18 天，誘導組細胞>80% 呈現圓卵狀型態。(6G-H) NES_{90⁺}細胞誘導分化 27 天，誘導組細胞圓卵狀型態明顯。(6I-J) NES_{90⁺}細胞誘導分化至 27 天，取控制組與誘導組的 NES_{90⁺}細胞作 alizarin red S 染色，誘導組細胞明顯具有紅色呈色，表已分化為成骨細胞。控制組具少量呈色現象。



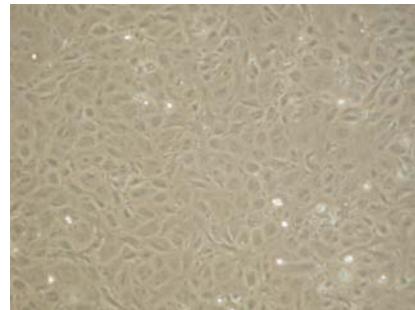
6A. NES_{90⁺} 生長 3days 控制組。



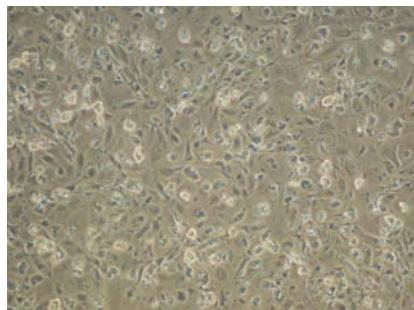
6B. NES_{90⁺}生長 3days , 誘導分化組。



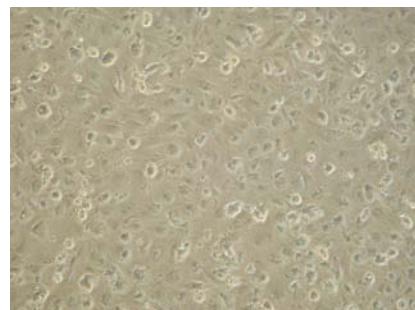
6C. NES_{90⁺} 生長 9days 控制組。



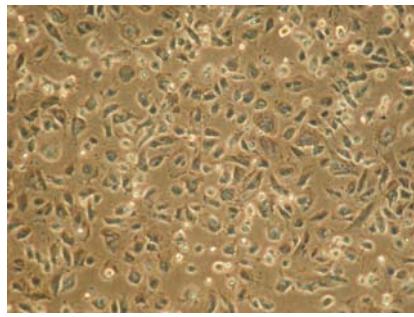
6D. NES_{90⁺}生長 9days , 誘導分化組。



6E. NES_{90⁺} 生長 18days 控制組。



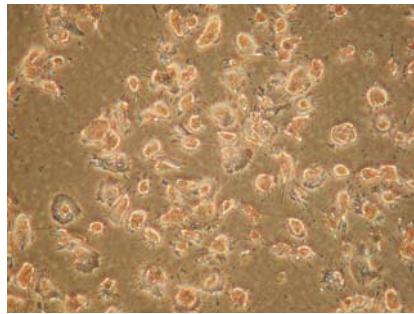
6F. NES_{90⁺}生長 18days , 誘導分化組。



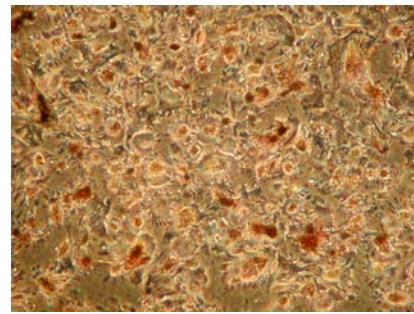
6G. NES_{90⁺}生長 27days 控制組。



6H. NES_{90⁺}生長 27days , 誘導分化組。



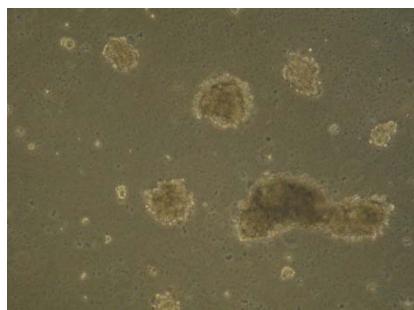
6I. NES_{90⁺}生長 27days 控制組。
少量 alizarin red S 呈色。



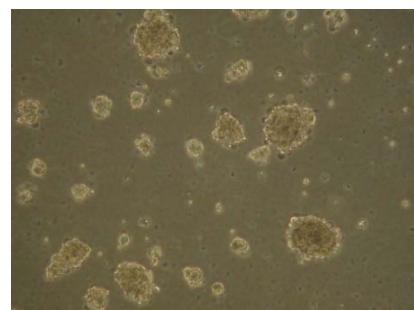
6J. NES_{90⁺}生長 27days , 誘導分化組。具 alizarin red S 呈色。

圖 7、卵巢癌幹細胞生長。

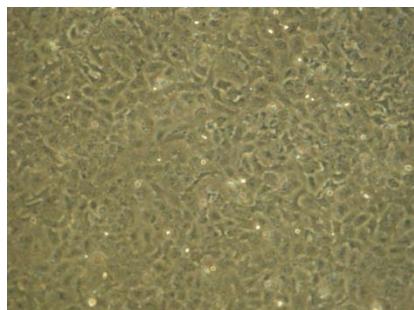
(7A-B)分別為 SKOV3_133⁺及 SKOV3_133⁺44⁺ 細胞，培養於超低貼附培養盤及含生長因子的無血清細胞培養液中，可形成懸浮球狀體(spheroid)生長。(7C-D)分別取懸浮的 SKOV3_133⁺及 SKOV3_133⁺44⁺ 細胞，培養在一般培養盤，可呈現 monolayer 生長狀態。



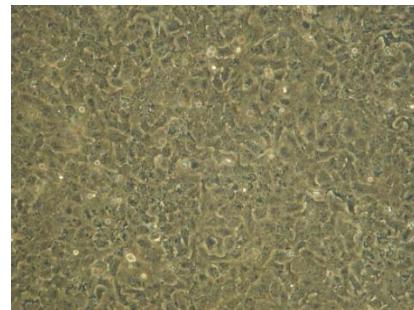
7A. SKOV3_133⁺(spheroid body)



7B. SKOV3_133⁺ 44⁺ (spheroid body)



7C. SKOV3_133⁺



7D. SKOV3_133⁺ 44⁺

圖 8、卵巢癌細胞生長曲線

將 SKOV3、SKOV3_133⁺及 SKOV3_133⁻分別以 10,000 細胞數目植入 3cm 培養盤，每種細胞 3 重複。間隔 24 小時以細胞計數器計算細胞數目，共計 8 天。(t-test, * : $p < 0.01$; **: $p < 0.001$)

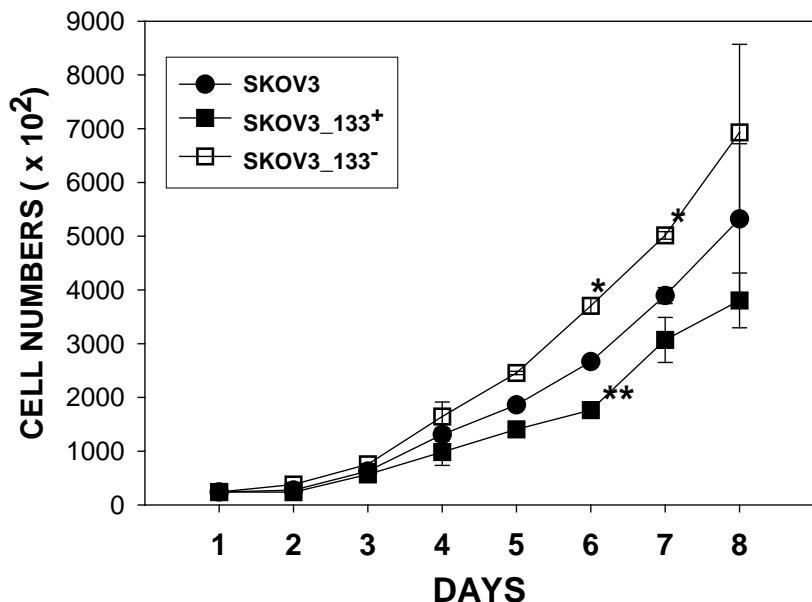
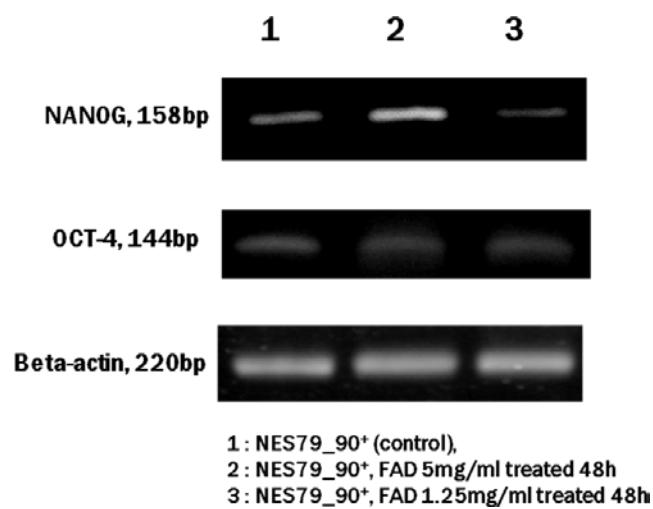


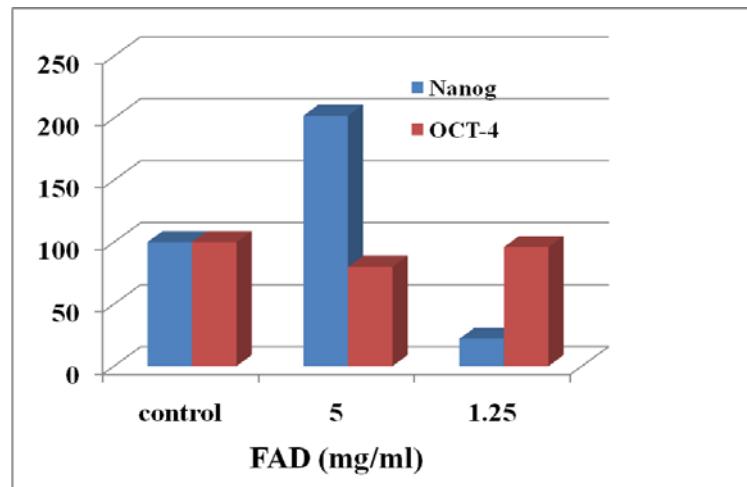
圖 9、四物湯水萃物對子宮內膜幹細胞分化影響

(A)取四物湯水萃物 2 種濃度 5mg/ml 及 1.25mg/ml 加入 NES_{90⁺}的子宮內膜幹細胞，處理 48 小時後收集細胞並萃取 RNA 進行 RT-PCR，分析分化基因標誌 *Nanog* 及 *Oct-4* 的表現。

(B)以半定量方法分析 *Nanog* 及 *Oct-4* 的表現



9A. 四物湯水萃物對子宮內膜幹細胞分化基因 *Nanog* 及 *Oct-4* 的影響



9B. 子宮內膜幹細胞分化基因 *Nanog* 及 *Oct-4* 半定量結果

表一、四物湯水萃物對 4 種不同細胞的 IC_{50} (mg/ml)比較表

細胞	IC_{50}	IC_{50} (mg/mL)		
		24h	48h	72h
子宮內膜細胞		>10	9.1±1.6	8.1±1.0
子宮內膜幹細胞		>10	8.6±3.7	7.9±2.2
正常卵巢細胞		>10	>10	>10
正常子宮肌肉細胞		>10	>10	10±1.0

說明： IC_{50} 為抑制細胞 50% 生長濃度。每種濃度為 6 重複，以 MTT 方法分析抑制增生影響。

表二、Taxol 對 3 種卵巢癌細胞的 IC_{50} (μ M)比較表

細胞	IC_{50}	hr	IC_{50} (μ M)
			72h
SKOV3			0.018
SKOV3_133 ⁺			0.093
SKOV3_133 ⁺ 44 ⁺			1.0

說明：每種濃度為 6 重複，72 小時後以 MTT 方法分析抑制增生影響。 IC_{50} 為抑制細胞 50% 生長濃度。

表三、四物湯水萃物對 4 種卵巢癌細胞的 IC_{50} (mg/mL)比較表

細胞	IC_{50}	hr	IC_{50} (mg/mL)		
			24h	24h	24h
SKOV3			>10	8.9	8.4
SKOV3_133 ⁻			>10	7.4	5.3
SKOV3_133 ⁺			>10	8.2	7.5
SKOV3_133 ⁺ 44 ⁺			>10	9.5	9.3

說明：每種濃度為 6 重複。

中藥四物湯對子宮內膜異位與卵巢癌作用 之基因體研究

高銘欽

中國醫藥大學生物科技系

摘要

自古以來四物湯被視為女性的滋補聖品，在中醫治療上常使用四物湯來紓緩經痛。四物湯是由當歸(*Angelica sinensis*)、川芎(*Ligusticum chuanxiong*)、熟地(*Rehmannia glutinosa*)、芍藥(*Paeonia lactiflora*)四種中藥所組成，《醫方集解》更記載四物湯具有治一切血虛及婦人經病。有鑑於四物湯養血、調經等療效，本計畫擬進行中藥四物湯抗癌保健功效的評估。由三軍總醫院婦產部劉嘉耀醫師與前國家衛生研究院葉梁蘭博士所發表的研究結果(Yeh, 2007)，證實長期使用四物湯可有效的減輕經期不適，並發現監測受試者血液參數介於正常範圍內，臨床上觀察亦無不良副作用產生。因此我們透過基因體研究希望了解四物湯對子宮內膜異位症以及卵巢癌這兩種常見婦科疾病的作用。以生物活性測試結果顯示除了具有抑制 SKOV-3 卵巢癌細胞株以及人類子宮內膜異位細胞的生長作用外，在相同劑量作用下並不會對正常子宮內膜細胞造成傷害。進一步透過 PhytoViewerQC 軟體分析四物湯水萃物處理人類初代子宮內膜異位基質細胞以及卵巢癌細胞後的基因生物反應指紋圖譜顯示具有高度植物相似指數(PSI > 0.95)，表示四物湯水萃物的品質具高穩定性。然後藉由生物資訊軟體(GeneGo MetaCoreTM)分析四物湯水萃物作用後細胞內基因表現受到明顯改變的可能細胞路徑：包括四物湯水萃物可能影響卵巢癌細胞的 HER2/Akt 路徑、NRF2 路徑或 AP-1 路徑；以及影響子宮內膜異位基質細胞之細胞週期相關 APC 路徑或細胞黏著相關的細胞外間質路徑。未來將透過各個基因表現層面加以驗證這些路徑的準確性。最終希望能找到四物湯治療子宮內膜異位以及抗卵巢癌細胞增生可能的機制，提供未來臨床上以中草藥治療此方面疾病的輔助療法。

關鍵詞：四物湯、子宮內膜異位症、生物反應指紋、植物相似指數、卵巢癌

Studying the Effects of Four-Agent-Decoction on Endometriosis and Ovarian Cancer Via Genomic Profiling

Dr. Ming-Ching Kao
China Medical University

ABSTRACT

Four-Agent-Decoction (FAD; Si-Wu-Tang), a traditional Chinese formula consisting of Danggui Radix (*Angelica sinensis*), Chuanxiong Rhizoma (*Ligusticum chuanxiong*), Baishoyao Radix (*Paeonia lactiflora*) and Shoudehuang Radix (*Rehmannia glutinosa*), has been widely used for regulating menstruation and relieving pains for hundreds of years in many Asian countries. Recent studies showed that long-term use of FAD does effectively reduce dysmenorrheal and has no other side-effects. In this study, we investigate the anti-proliferation effects of FAD extract (FADE) via bioactivity assay showing that FADE inhibits the proliferation of primary human endometriosis stromal cells and ovarian cancer cells with no damaging effects on normal primary human endometrium stromal cells. Then, based on the Genomic Bioresponse Fingerprint analysis, both the genomic expression profiles of the endometriosis cells and ovarian cancer cells after treatment with FADE demonstrate high phytomics similarity index (PSI > 0.95) revealing high quality of FADE. Moreover, several putative cellular networks between genes affected by FADE treatment through bioinformatics software (GeneGo MetaCoreTM) have been established, including via HER2/Akt pathway, NRF2 pathway or AP-1 pathway against SKOV-3 cells, and via cell cycle-related APC pathway or cell adhesion-related ECM remodeling pathway against endometriosis stromal cells. The validation for these cellular pathways will be further performed soon. The final goal of this study is to unravel possible mechanisms of anti-proliferation effects on endometriosis and ovarian cancer cells by FADE treatment, and provide an alternative method against endometriosis and ovarian cancer.

Keywords: Four-Agent-Decoction (FAD or Si-Wu-Tang), endometriosis, bioresponse fingerprint, phytomics similarity index, ovarian cancer

壹、前言

子宮內膜異位症為常見的婦科疾病，影響約 6-10% 生殖年齡的婦女¹。患有子宮內膜異位症婦女常會出現月經不規則、性交疼痛、腹腔疼痛等症狀，其中嚴重導致不孕症的比例高達 35-50%¹。子宮內膜異位症為良性腫瘤，但其非常難以根治以及容易復發，因此造成許多婦女生活的困擾。目前子宮內膜異位症的治療主要以手術治療與藥物治療為主。手術包括根治型的剖腹手術將卵巢與子宮一併摘除外，以及保守型透過腹腔鏡手術灼燒子宮內膜異位組織以除去病灶²。藥物治療方面主要以口服避孕藥、性腺釋激素類似物(GnRH Agonists)、黃體素(Progesterins)等降低雌二醇濃度達短期性壓抑^{1,3}。相較於子宮內膜異位症，卵巢癌為女性常見致命的癌症之一。卵巢癌早期無明顯的症狀不易發現，待確診時癌瘤已蔓延，使治療效果降低。卵巢癌的治療包括手術、化學治療與放射治療，其中化學治療為開刀後輔助性治療，常使用紫杉醇、鉑類化合物等⁴。一般而言，賀爾蒙藥物以及化療藥物治療常產生不良副作用，因此為了尋求更安全有效的治療藥物來預防或對抗這些婦科疾病為當務之急。

中藥四物湯自古流傳為補血、活血、行氣良方，由當歸(*Angelica sinensis*)、芍藥(*Paeonia lactiflora*)、川芎(*Ligusticum chuanxiong*)、熟地(*Rehmannia glutinosa*)四種中藥所組成。四物湯最早見於晚唐《仙授理傷繼續秘方》，是被用於損傷瘀血服用藥，直到被記載於宋代《太平惠民和劑局方》，才將四物湯運用於婦科疾病^{5,6}。《太平惠民和劑局方·卷九》：「當歸(去蘆，酒浸，炒)、川芎、白芍藥、熟乾地黃(酒灑蒸)，各等分。」，說明四物湯顧名思義由當歸、川芎、熟地、芍藥四種藥材所組成。四物湯在中醫功效為血虛者可用之補血，血瘀者用之行血，並且隨著四味藥物的比例不同，四物湯可以發揮廣泛的功能，故在《醫方集解》亦記載四物湯主治一切血虛，及婦人經病，被譽為婦人病的聖藥。因此，在中醫治療常使用四物湯來緩解經痛作為調經補血基本方。

中草藥科學研究已成為目前新興的研究趨勢。「中草藥全球化聯盟」(Consortium for Globalization of Chinese Medicine, CGCM)於 2003 年由耶魯大學藥理系講座教授鄭永齊院士發起成立。參與發起的 16 個國際研究機構分別來自北京、上海、香港與台灣，其中國家衛生研究院與中研院並列台灣代表。CGCM 為一非營利組織，設立目的在集結國際眾多知名研究機構之力，推動並促進全球中草藥研究發展。其最終目標在於促使中草藥(1)通過美國 FDA 認證 (2) 成為國際處方藥物 (詳情見 <http://www.tcmedicine.org/en/default.asp>)

「中草藥全球化聯盟」主席鄭永齊院士考量到必須將中草藥標準化一釐

清各藥物間「同名異物、同物異名」的情形與考量到中草藥產地及栽培方式對中草藥成分造成的不確定影響等，因此鄭院士與其團隊研發出「基因體生物反應指紋圖譜(Genomic Bioresponse Fingerprint)分析平台，利用 Affymetrix Human Genome Array 及軟體 PhytoViewerQC (PhytoCeutica, Inc., New Haven, Connecticut, USA)，來分析細胞對中草藥投予所產生的基因表現變化，以及其變化模式的相似度。根據相似度指數(Phytomics Similarity Index, PSI)判斷不同中草藥製劑是否符合標準。此種分析的理論基礎是：若是兩批植物藥製劑(Botanical Preparations)含有相同且含量相當的細胞反應成分(Cell Responding Ingredients)，則會使同一細胞株的基因表達產生相似的模式(Similar Patterns of Gene Expression)。PSI 值設定為 0~1，越接近 1 表示兩批植物藥製劑相似度越高，及品質越佳，反之，越接近 0 表示兩批植物藥製劑相似度越低，即品質越差。由此即可利用 PSI 值來進行植物藥製劑的品質管制(Quality Control)。

檢視三軍總醫院婦產部劉嘉燿醫師與前國家衛生研究院葉梁蘭蘭博士所發表的人體試驗研究結果，顯示長期使用四物湯確實可有效的減輕經期不適，同時監測受試者血液參數，其結果皆在正常範圍值內，臨床上觀察也無其他不良副作用產生⁷。再者本實驗室初步研究結果顯示，四物湯水萃物對人類子宮內膜初代細胞與卵巢癌細胞株 SKOV-3 具選擇性抑制增生作用。而為何四物湯能有效緩解子宮內膜異位所引發之經痛與抑制卵巢癌細胞生長之分子機轉仍待進一步研究。

本研究計畫(CCMP99-RD-202)與劉嘉燿醫師所主持的CCMP99-RD-201 計畫為整合型計畫。劉醫師主持建立臨床檢體子宮內膜及子宮內膜異位組織分離成初代細胞的方法，進一步分選出幹細胞，建立培養生長的方法及確認幹細胞生物特性，最後評估四物湯對其生長抑制作用。而本計畫則取用由劉醫師子計畫所建立的子宮內膜及子宮內膜異位細胞，來探討四物湯水萃物對子宮內膜異位與卵巢癌細胞基因體之影響，同時利用「基因體生物反應指紋圖譜(Genomic Bioresponse Fingerprint)」分析平台，進行四物湯水萃物的品質管制，最後透過生物資訊學相關技術(GeneGo Meta CoreTM)來建立受四物湯水萃物所影響之基因間相互的細胞路徑關係圖，最後進行西方墨點法驗證。

本實驗室希望經由以上科學方法的分析，得到中藥四物湯治療婦女疾病的科學證據，並提供未來中西醫藥合併開發治療子宮內膜異位與卵巢癌的前瞻性藥物參考。因此本子計畫研究目的包含：

- 一、建立四物湯萃取物之基因體生物反應指紋圖譜（品質管制）
- 二、了解四物湯萃取物對子宮內膜異位細胞及卵巢癌細胞之生長抑制作用
- 三、建立受四物湯萃取物所影響之基因間相互的細胞路徑關係圖

貳、材料與方法

一、實驗材料

(一)細胞株

SKOV-3：人類卵巢癌上皮細胞株

ATCC Number: HTB-77

使用之培養基：McCoy's 5A 細胞培養液，含 10% 胎牛血清。

(二)子宮內膜及子宮內膜異位組織細胞收集

取自整合型計畫另一子計畫之主持人劉嘉耀醫師由台北三軍總醫院婦產部收集建立的正常子宮內膜細胞(NES51 & NES 54 & NES-pool)及子宮內膜異位症患者子宮內膜異位細胞(EMS01 & EMS23 & EMS24)。

(三)四物湯藥材來源

當歸、熟地、白芍、川芎四種藥材是購自國內某 GMP 藥廠。

二、實驗方法

(一)檢體組織分離基質細胞之初代培養方法

1. 將手術取得之組織檢體以經高溫高壓滅菌的刀械切碎。
2. 以 10% Penicillin-Streptomycin 溶液清洗。
3. 加入無菌的 PBS (Ca^{2+} - & Mg^{2+} - free) 溶液 (內含 0.2% Type IV Collagenase)，放置於 32°C 培養箱中以 120 rpm 搖晃 2 小時進行酵素作用分解組織。
4. 然後先通過 70- μm 的濾膜將酵素未作用完全的組織去除。
5. 再將濾液通過 40- μm 之濾膜使組織的基質細胞與上皮細胞分開。
6. 接著將濾液加入等體積的細胞培養液以終止酵素作用。
7. 再以 1400 rpm 於 4°C 下離心 5 分鐘。
8. 去除上清液，加入 5 倍量體積的 0.144 M NH_4Cl 溶液和 0.5 倍量體積的 0.01 M NH_4HCO_3 溶液所配製成之無菌溶液。
9. 經 1000 rpm 於 4°C 下離心 5 分鐘去除紅血球。
10. 最後將所得到的基質細胞以含 10% FBS 的 DMEM/F12 培養基培養在 37°C 含 5% CO_2 的培養箱中。

(二)四物湯水萃取

1. 將當歸、芍藥、川芎、熟地分別秤重 7.5 gm 合計 30 gm，全部予以剪碎後置入煎藥壺。
2. 按 10% 重量百分比濃度置入 300 ml 二次水於煎藥壺後悶煮 1 hr。

3. 倒出濾液後，再將剩餘藥渣同樣以 300 ml 二次水悶煮 1hr。
4. 倒出第二次濾液，綜合兩次濾液，以不織布置於漏斗做初步過濾兩次。
5. 以布氏漏斗透過抽氣過濾的方式使用濾紙過濾。
6. 以 0.22- μm 過濾杯做最後過濾。
7. 分裝濾液冰置-80°C 冰箱（傾斜放置增加凍乾的接觸面積）。
8. 冷凍乾燥之完全無水分。
9. 秤重計算產率。
10. 加入適量二次水將濃度調成 500 mg/ml。
11. Vortex 或是透過 Sonication。
12. 以 0.2- μm filter 過濾成無菌於分裝後冰置-80°C 冰箱。

(三)四物湯水萃物對細胞存活率分析(MTT assay)

1. 96 孔盤中每孔種入 4000 cell/180 μl 細胞培養液。
2. 24 小時後加入不同濃度的四物湯水萃物。
3. 依加藥時間點後移除舊的培養基。
4. 各加入 100 μl 新的培養基後。
5. 再加入 10 μl MTT 試劑，於 37°C 作用 3 hr 後。
6. 移除 80 μl 溶液，再以 100 μl DMSO 回溶。
7. 之後用 ELISA reader 測吸光值(545 nm-690 nm)。
8. 最後利用 Excel 軟體換算得到細胞生長抑制百分比，以及四物湯水萃物對細胞半數抑制濃度(IC_{50})。

(四)細胞 RNA 製備

1. RNA 抽取
 - (1) 移除滿盤細胞的 10-cm Petri dish 中之培養液，以 DPBS 清洗細胞後，將 Petri dish 倒扣於擦手紙上風乾。
 - (2) 加入 0.8 ml TRIZOL 於 Petri dish 中，使用 cell scrapper 刮下細胞並上下 pipette 細胞數次，然後將細胞收集至 1.5 ml eppendorf 離心管中，於冰上靜置 5 分鐘。
 - (3) 以 12000 x g 於 4°C 下離心 10 分鐘。
 - (4) 取離心後 clear solution 至 eppendorf 離心管中。
 - (5) 加入 0.16 ml Chloroform，以手輕搖 15 秒後，置於冰上靜置 2-3 分鐘。
 - (6) 12000 x g 於 4°C 下離心 15 分鐘。
 - (7) 取上層液至新的 eppendorf 離心管中。
 - (8) 再加入 0.3 ml TRIZOL，並於冰上靜置 5 分鐘後入 0.1 ml Chloroform。

- (9) 12000 x g 於 4°C 下離心 15 分鐘
- (10) 取上層液至新的 eppendorf 離心管中。
- (11) 加入 0.5 ml Isopropyl alcohol，以手輕搖 15 秒，並於冰上靜置 30 分鐘。
- (12) 12000 x g 於 4°C 下離心 30 分鐘，移除上清液。
- (13) 加入 0.2 ml 事先預冷的 75% Ethanol 清洗。
- (14) 移除 Ethanol，風乾 5-10 分鐘。
- (15) 最後加入 30-50 μ l (視細胞量多寡而定) 之 RNase-free H₂O 回溶。

(五) RNA 品質控制(Quality Control)

1. RNA 純度檢測(Quality Test)

- (1) 分光光度計檢測(Spectrophotometric Analysis)：

$$A260/280=1.9\sim2.1$$

- (2) 1.2% 瓊膠糖凝膠電泳分析 (Agarose Gel Electrophoresis Analysis)：

$$28S \text{ rRNA}=5 \text{ kb (4.5 kb)}$$

$$18S \text{ rRNA}=2 \text{ kb (1.9 kb)}$$

$$0.5S \text{ rRNA}=0.1\sim0.3 \text{ kb}$$

2. RNA 含量檢測(Quantity Test)

- (1) 分光光度計檢測(Spectrophotometric Analysis)

$$A260\times40\times\text{Dilution factor} = \text{ng}/\mu\text{l RNA}$$

(六) 基因微陣列實驗分析(Affymetrix Human Genome Array)與生物反應指紋圖譜(Bioresponse Fingerprint Profiling)

1. 將細胞處理藥物後抽取其總量 RNA。
2. 利用 Affymetrix 人類微陣列技術分析基因表現量的變化。
3. 以 PhytoViewerQC 軟體進行比較與 Intersect 交集分析，得到各組間的 PSI (Phytomics Similarity Index) 與基因體生物反應指紋圖譜(Genomic Bioresponse Fingerprint)。

(七) 生物資訊軟體模擬分析訊息路徑(GeneGo MetaCoreTM)

以 GeneGo Meta CoreTM (<http://portal.genego.com>) 繪出各蛋白質相互作用關係之 signaling networks，以作為後續研究方向參考：

1. 將所篩選之受到顯著差異的基因匯入 GeneGo Meta CoreTM。
2. 選擇物種(Human Sapiens)。
3. 選取 One-dick Analysis。
4. 利用 GeneGo Ontologies 中的 GeneGo Pathway Maps 依具有統計意義 p-value 列出 cellular pathway。

5. 最後挑選後整理建立可能的細胞路徑關係圖。

參、結果

一、細胞株培養

SKOV-3 細胞株為人類卵巢癌上皮細胞株，依照實驗室細胞培養標準操作程序進行細胞培養，其細胞形態如圖一所示(1-a & 1-b)。

二、初代細胞培養

初代細胞培養上有代數上的限制，故子宮內膜異位檢體組織所分離出的基質細胞的培養過程中，於繼代培養的細胞培養液加入 1 mg/ml estradiol 促進子宮內膜異位細胞生長以放大盤數。子宮內膜異位基質細胞形態如圖一所示(2-a & 2-b)。

三、四物湯水萃物對 SKOV-3 卵巢癌細胞株以及子宮內膜異位細胞之細胞存活率影響

分別以不同濃度四物湯水萃物對 SKOV-3 卵巢癌細胞株、子宮內膜異位基質細胞及正常子宮內膜基質細胞處理不同時間點如圖二所示。其中 SKOV-3 卵巢癌細胞株在處理四物湯水萃物處理 24 小時後即可達到抑制半數細胞生長的作用， IC_{50} 約 8 mg/ml。

所收集之人類初代子宮內膜異位基質細胞(EMS23、EMS24、EMS01)，進行投藥處理 24~72 小時後，得到的生長抑制作用濃度範圍為 7-18 mg/ml。為確認四物湯水萃物是否會毒殺正常內膜細胞，因此收集人類正常子宮內膜基質細胞(NES51、NES54)作為 normal control 組。結果顯示投予四物湯水萃物處理 24~72 小時，皆需要高於所使用之最高劑量才能達到抑制半數細胞生長的效果。

四、四物湯水萃物對 SKOV-3 卵巢癌細胞株、子宮內膜異位細胞以及正常子宮內膜基質細胞之基因體生物指紋圖譜

SKOV-3 卵巢癌細胞株、EMS23 & EMS24 初代子宮內膜異位細胞與 NES-pool 初代正常子宮內膜基質細胞以不同批次四物湯水萃物進行加藥與否處理 (SKOV-3: 72 小時；EMS23: 24 小時；EMS24 24 小時；NES-pool: 72 小時)，然後利用 PhytoViewerQC 軟體分析得到生物反應指紋圖譜 (Genomic Bioresponse Fingerprint)如圖三所示。結果得到在此四株細胞投藥後，各批次所呈現的 gene profile 非常類似。圖上每一條線代表一個基因，呈色表示投予四物湯水萃物後，該基因之表現量與 control 組相比增加或減少的程度。

不同批次四物湯水萃物分別作用於 SKOV-3 卵巢癌細胞株、EMS23 & EMS24 初代子宮內膜異位基質細胞以及 NES-pool 初代正常子宮內膜細胞之基因表現數量差異如表一所示。加藥組別交集比對與進一步訊號強度篩選得到，四物湯水萃物投予後受到明顯調控的基因與四物湯水萃物的品

質，見表二。四物湯水萃物投予 SKOV-3 卵巢癌細胞株得到 513 基因（篩選訊號強度為 $\text{Log}_2 1.5$ ），其中 249 基因受到 up-regulation，264 基因受到 down-regulation；而 EMS23 子宮內膜異位細胞得到 630 基因（篩選訊號強度為 $\text{Log}_2 3.5$ ），其中 428 基因受到 up-regulation，202 基因受到 down-regulation；EMS24 子宮內膜異位細胞則得到 520 基因（篩選訊號強度為 $\text{Log}_2 1.6$ ），其中 158 基因受到 up-regulation，362 基因受到 down-regulation。另外分析 NES-pool 初代正常子宮內膜基質細胞可作為子宮內膜異位細胞之 normal control，經投予四物湯水萃物篩選得到 554 基因（篩選訊號強度為 $\text{Log}_2 2$ ），其中 234 基因受到 up-regulation，320 基因受到 down-regulation。

SKOV-3 卵巢癌細胞株在投予四物湯水萃物作用不同時間後的基因表現差異圖譜如圖四所示。結果顯示四物湯水萃物在作用不同時間(24h & 72h)後所呈現的 gene profile 有些不同。

除了圖三在投予不同批次四物湯水萃物呈現相似的 profile 外，表二中的 PSI 數值皆大於 0.95，更加顯示四物湯品質的穩定。PSI 為利用 PhytoViewerQC 軟體分析 Affymetrix Human Genome Array 的基因表現資料，將各組間的生物反應相似度做統計分析所得到各組間的數值(Phytomics Similarity Index)。PSI 值為 0 代表 complete difference；PSI 值為 1 代表 complete similarity。

五、投予四物湯水萃物對 SKOV-3 卵巢癌細胞株、EMS23 & EMS24 子宮內膜異位細胞以及正常子宮內膜基質細胞之生物訊息路徑分析

利用 GeneGo Meta CoreTM (<http://portal.genego.com>) 生物資訊分析軟體推測四物湯水萃物分別作用於 SKOV-3 卵巢癌細胞株、EMS23 & EMS24 初代子宮內膜異位細胞與 NES-pool 正常子宮內膜基質細胞的路徑，並根據具有統計意義 p-value (< 0.05)列出前五名可能的路徑，如圖五所示。在 SKOV-3 卵巢癌細胞株的部分發現可能與轉錄調控、免疫反應、細胞附著、AP-1 調控路徑有關；EMS23 初代子宮內膜異位細胞與 AP-1 調控細胞代謝、細胞週期、生殖相關賀爾蒙、細胞存活與細胞凋亡路徑相關；其中在此可觀察到 EMS24 初代子宮內膜異位細胞與 NES-pool 初代正常子宮內膜基質細胞的部分主要與細胞週期的調控有密切的關係。

針對不同個體來源之 EMS23 & EMS24 子宮內膜異位細胞與作為對照之 NES-pool 初代正常子宮內膜基質細胞進行分析比較其在投予四物湯水萃物後，明顯受到調控之基因數差異與變化如表三所示。投予四物湯水萃物後共有 91 個相同的基因明顯受到調控（31 個基因受到 up-regulation，60 個基因受到 down-regulation）。

將此 91 個共同受到顯著調控的基因，匯入 GeneGo MetaCoreTM 分析所

得之前十名可能路徑如圖六所示。可看出子宮內膜異位細胞與初代正常子宮內膜基質細胞在投予四物湯水萃物作用後的訊息傳遞路徑可能主要與細胞週期調控有關，而其中較具統計以及探討意義的路徑為 Role of APC in cell cycle regulation pathway，如圖七所示。其中 EMS23 & EMS24 初代子宮內膜異位細胞以及 NES-pool 初代正常子宮內膜基質細胞在投予四物湯水萃物後，APC 調控路徑相關的基因呈現 down-regulation 因而影響細胞週期的進行。

另外，在 EMS23 & EMS24 細胞異於 NES-pool 細胞受到明顯調控的基因有 170 個(53 個基因受到 up-regulation, 117 個基因受到 down-regulation)，匯入 GeneGo Meta Core™ 所推測得到之前十名路徑如圖八所示，發現其中與 cell adhesion 相關的 ECM remodeling pathway 為 EMS23 & EMS24 細胞異於 NES-pool 細胞所受到顯著調控的路徑，如圖九所示。ECM remodeling pathway 相關調控基因的路徑亦呈現 down-regulation 以致影響子宮內膜異位細胞的 cell adhesion。

分別比較在 SKOV-3 卵巢癌細胞株以及 EMS23 初代子宮內膜異位基質細胞的路徑如圖十所示，顯示出 Role of AP-1 in regulation of cellular metabolism pathway 分別對 SKOV-3 卵巢癌細胞株以及 EMS23 初代子宮內膜異位基質細胞受到四物湯水萃物調控的重要性，AP-1 調控之路徑圖如圖十一所示。SKOV-3 卵巢癌細胞株在投予四物湯水萃物後，AP-1 受到 up-regulation，JunB 以及下游的 ITGB4 皆為 down-regulation，顯示可能與 Integrin-mediated cell adhesion 相關。然而在 EMS23 初代子宮內膜異位基質細胞的部分則發現，AP-1、c-Fos、TSG-6 皆受到 up-regulation，顯示在投予四物湯水萃物後可能與 Fas signaling cascade 相關，造成子宮內膜異位細胞進行 cell apoptosis。

此外，由於本實驗室研究 HER2 致癌基因調控多年，因此本計畫亦同時探討以四物湯水萃物處理 SKOV-3 卵巢癌細胞株後受到顯著調控的基因，利用 GeneGo MetaCore™ 分析選取 mitogenic signaling 相關 folder，依照具有統計意義的 p-value (< 0.05)列出前五名可能的路徑，如圖十二所示。結果顯示 ERBB (HER2) family signaling pathway 有受到影響，如圖十三所示。圖中顯示經四物湯水萃物作用後，HER2 路徑相關基因受到 down-regulation。為驗證該路徑的可行性，輔以 western blotting 實驗觀察蛋白質表現，如圖十四所示。初步實驗的結果顯示 HER2/AKT 路徑會受到四物湯水萃物的作用，進而可能會影響 cell survival。另外，針對 AP-1 所調控的路徑的初步結果如圖十五所示，經四物湯水萃物作用於 SKOV-3 卵巢癌細胞株後，會調降 JunB 的蛋白質表現量，其下游的 ITGB4 蛋白等則有待日後進一步研究確認。

此外，比較 SKOV-3 卵巢癌細胞株在分別經四物湯水萃物處理不同時間後的差異如圖十六所示，可看出作用時間的長短將會影響部分基因的表現差異。而另方面整合 24h 與 72h 不同作用時間後所得共同受到顯著調控的可能細胞路徑如圖十七所示。結果顯示四物湯水萃物作用於 SKOV-3 卵巢癌細胞後，主要影響 oxidative stress response 的調控，其中又以 NRF2 regulation of oxidative stress response pathway 較具有顯著意義，其路徑圖譜見圖十八。其路徑顯示 SKOV-3 卵巢癌細胞在經四物湯水萃物處理後可能會影響 anti-oxidative enzymes 或是 Phase II detoxifying enzymes 相關之基因的表現，造成 antioxidant defense 而影響 cell survival。

綜合以上分析所得之圖十八的 NRF2 regulation pathway 加上初步透過西方墨點法驗證的 HER2/Akt pathway (圖十四) 以及 AP-1 regulation pathway (圖十五)，似乎可看出 SKOV-3 卵巢癌細胞在經四物湯水萃物處理後可能的交互關係，推論四物湯水萃物可能會透過抑制上游 HER2/Akt pathway，改變下游 NRF2 的表現，調控 GCLC 等相關 anti-oxidative enzymes 活性，最後造成 SKOV-3 卵巢癌細胞的 cell survival 受到影響。然而其實際的分子機轉則有待日後更進一步驗證。

肆、討論

一、基因體生物反應指紋圖譜研究

本實驗使用基因體學的研究方式，透過 Affymetrix Human Genome Array 加以 PhytoViewerQC 軟體分析，可依訊號強度大小篩選出受到四物湯水萃物所改變之基因。加上利用 GeneGo Meta CoreTM 的分析處理與判讀所得以推測具有統計意義的細胞路徑，這些路徑及其詳細分子機轉未來（如第二年計畫）將配合其他實驗方式（如 western blotting 與螢光染色等）進行確認。

二、臨床檢體收集與統計意義

由於本實驗所使用之初代人類子宮內膜異位細胞與正常內膜細胞是第一子計畫收集病人檢體處理而來的，實驗數據與病人檢體的 individual variation 有關。未來我們將會持續增加樣本數，以期增加臨床統計上的意義。

三、中藥四物湯品質

本次實驗所使用之四物湯水萃物為四次(T1~T4)萃取所得，對於同一細胞進行三重複加藥處理，透過分析所得之 PSI 數值代表該四批次四物湯製劑品質的穩定與實驗技術的一致。未來將會進一步以更多批次之四物湯製劑進行品質分析，以配合確認臨床上所用四物湯來源的品質。

四、四物湯之毒殺性

選用正常子宮內膜細胞作為子宮內膜異位之正常對照，可藉由研究四物湯水萃物對正常內膜的作用得以了解四物湯對子宮內膜異位患者之正常子宮內膜部分是否造成影響或者是正常人食用四物湯是否會對身體造成影響。本實驗室透過生物活性實驗的結果得到四物湯水萃物會抑制卵巢癌細胞及子宮內膜異位細胞的生長，但並不會毒殺正常內膜細胞。此外，本整合型計畫之另一子計畫以四物湯處理正常卵巢細胞，結果顯示其作用 24、48、72 小時後之 IC_{50} 均大於 10 mg/ml (表四)。如此更加可以相互證明四物湯水萃物不僅不會毒殺正常細胞更具有抑制癌細胞生長的效果。

五、提供作為子宮內膜異位與卵巢癌婦科疾病之前瞻性藥物

本實驗透過基因體生物反應指紋圖譜研究分析與比對結果，得到四物湯作用在卵巢癌細胞以及子宮內膜異位細胞中可能會影響相同的路徑 (AP-1 調控之細胞代謝路徑)。其中更發現，SKOV-3 卵巢癌細胞經投予四物湯水萃物作用後會影響 HER2 相關調控路徑 ERBB family signaling 中的 HER2/Akt pathway，初步結果顯示四物湯水萃物可能抑制 HER2/Akt pathway，然其詳細機轉仍待進一步確認。

在子宮內膜異位與正常對照（正常子宮內膜細胞）比較下產生細胞週期相關路徑受到 down-regulation，如此可推測正常人服用不但不會對正常內膜細胞產生不良作用，子宮內膜異位患者更可以藉此達到治療的作用。此外，經過比對四物湯處理後的子宮內膜異位細胞與正常子宮內膜細胞相異處得到四物湯水萃物作用後可能會影響到子宮內膜異位細胞的 Cell

adhesion: ECM remodeling pathway。希望藉由後續實驗證實得到中藥四物湯治療婦女疾病的科學證據，並提供未來中西醫藥合併開發治療子宮內膜異位與卵巢癌的前瞻性藥物參考。

伍、結論與建議

一、本次研究結果得到以下結論：

- (一)四物湯水萃物除了具有抑制 SKOV-3 卵巢癌細胞株以及人類子宮內膜異位細胞的生長作用外，在相同劑量作用下並不會對正常子宮內膜細胞造成傷害。
- (二)各批次四物湯水萃物投予 SKOV-3 卵巢癌細胞株與 EMS23& EMS24 子宮內膜異位細胞三重複所呈現的基因表現 profile 非常相似，加上各組間的 PSI 值 >0.95 ，由此可確認四物湯品質以及實驗技術的穩定性。
- (三)四物湯水萃物對 SKOV-3 卵巢癌細胞株以及 EMS 初代子宮內膜異位基質細胞的作用，可能影響 AP-1 所調控之細胞代謝路徑，以致影響細胞的 Cell adhesion 或是造成細胞的凋亡。
- (四)四物湯水萃物可能會影響 SKOV-3 卵巢癌細胞的 HER2/AKT 相關調控路徑，詳細調控分子機轉待後續進一步確認。
- (五)SKOV-3 卵巢癌細胞株在分別經四物湯水萃物處理不同時間後的結果顯示四物湯水萃物可能會影響 ROS 相關的 NRF2 regulation of oxidative stress response 調控路徑。
- (六)比較四物湯水萃物處理 EMS23 & EMS24 初代子宮內膜異位基質細胞與作為對照之 NES-pool 初代正常子宮內膜基質細胞後，皆會影響細胞週期的調控，其中又以 APC 路徑為最具統計意義的 cellular pathway。但在子宮內膜異位基質細胞異於正常子宮內膜基質細胞的基因表現顯示四物湯水萃物作用後會影響到子宮內膜異位細胞的 cell adhesion : ECM remodeling pathway。
- (七)綜合本研究所得的結果可推論四物湯水萃物可能會透過抑制上游 HER2/Akt pathway，改變下游 NRF2 的表現，調控 GCLC 等相關 anti-oxidative enzymes 活性，最後造成 SKOV-3 卵巢癌細胞的 cell survival 受到影響。然而其實際的分子機轉則有待日後更進一步驗證。

二、建議

- (一)本基因體研究計畫利用 Affymetrix Human Genome Array 分析所得大量受到顯著調控基因，藉由 GeneGo Meta CoreTM 的分析處理與判讀所推測的路徑，須透過更多實驗技術證實其詳細的分子機轉，應有第二年的計畫始能解決此問題。
- (二)本研究計畫離體實驗顯示，四物湯水萃物對卵巢癌細胞株 SKOV3 以及 EMS23 & EMS24 子宮內膜異位細胞具有生長抑制的作用，因

此在未來可望進行動物試驗，以作為臨床應用的參考。

誌謝

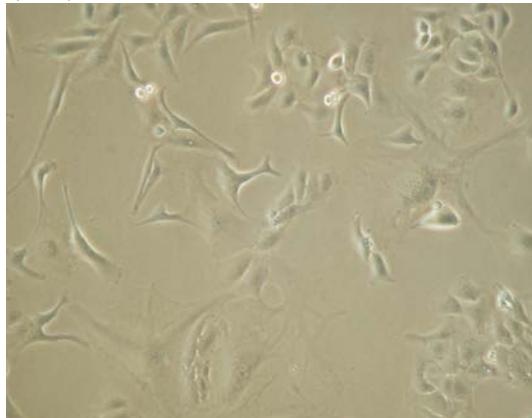
本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會計畫編號
CCMP99-RD-202 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

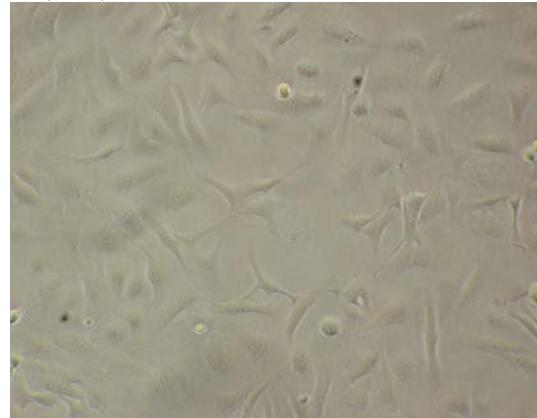
1. Linda CG and Lee CK: Endometriosis. *Lancet* 2004; 364: 1789–99.
2. 武內裕之. 圖解子宮內膜異位症. 世茂出版 2006。
3. Olive DL, Lindheim SR and Pritts EA: New medical treatments for endometriosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynecol* 2004; 18: 319–28.
4. Kerbrat P, Lhomme C, Fervers B, Guastalla JP, Thomas L, Tournemaine N, Basuyau JP, Cohen-Solal C, Duvillard P, Bachelot T, Ray I, Voog E and Dauplat J: Ovarian cancer. *Br J Cancer* 2001; 84 Suppl 2:18-23.
5. 高華、呂筱霞. 四物湯. 中國醫藥科技出版社 2009；pp3-11。
6. 陳師文. 太平惠民和劑局方. 旋風出版社 1975 卷九之四。
7. Yeh LL, Liu JY, Lin KS, Liu YS, Chiou JM, Liang KY, Tsai TF, Wang LH, Chen CT and Huang CY: A randomised placebo-controlled trial of a traditional Chinese herbal formula in the treatment of primary dysmenorrhoea. *PLoS One* 2007; 2: e719.

七、圖、表

(1-a)



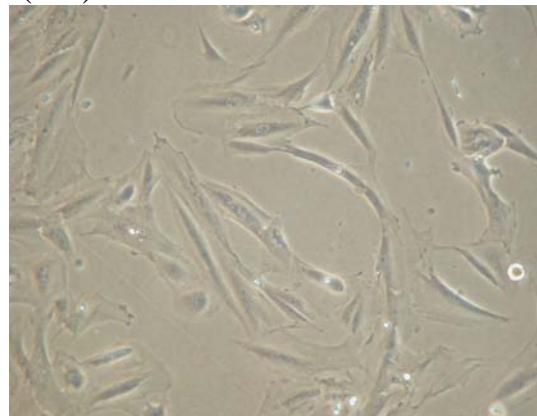
(1-b)



(2-a)

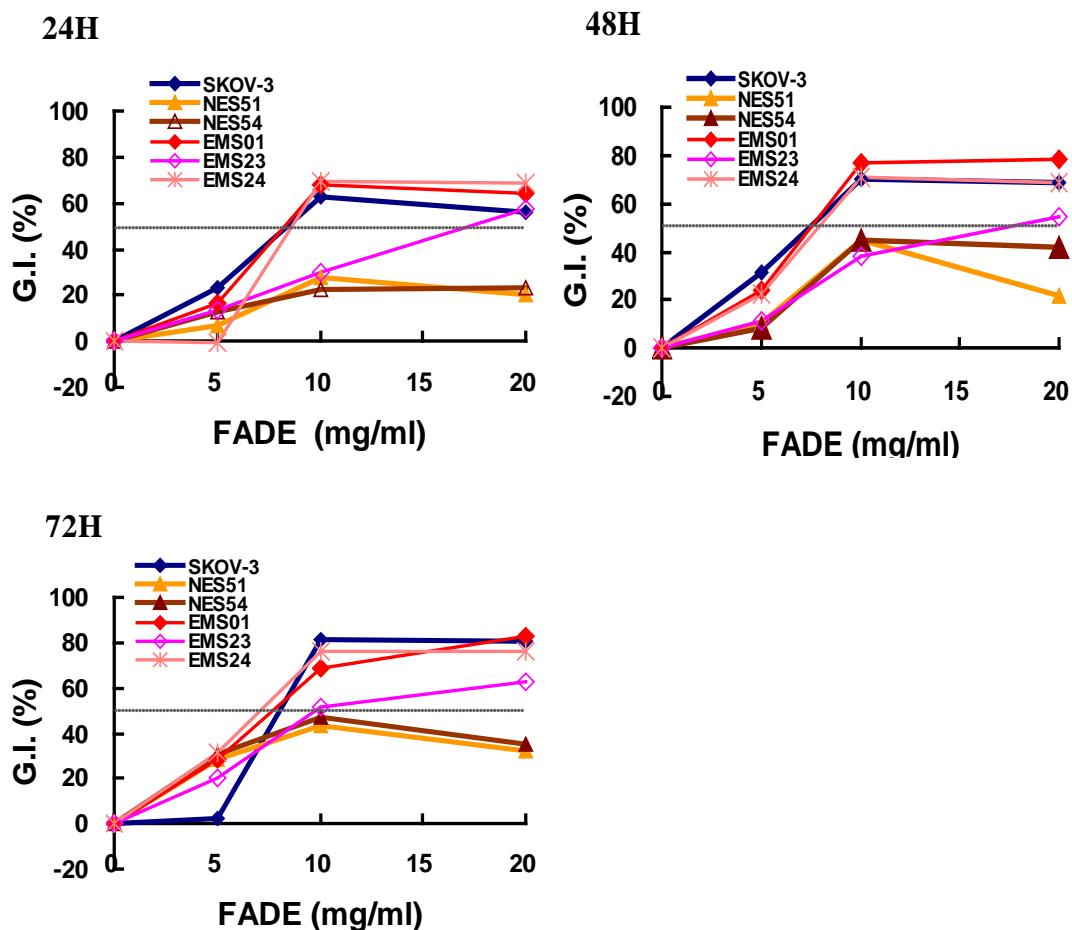


(2-b)



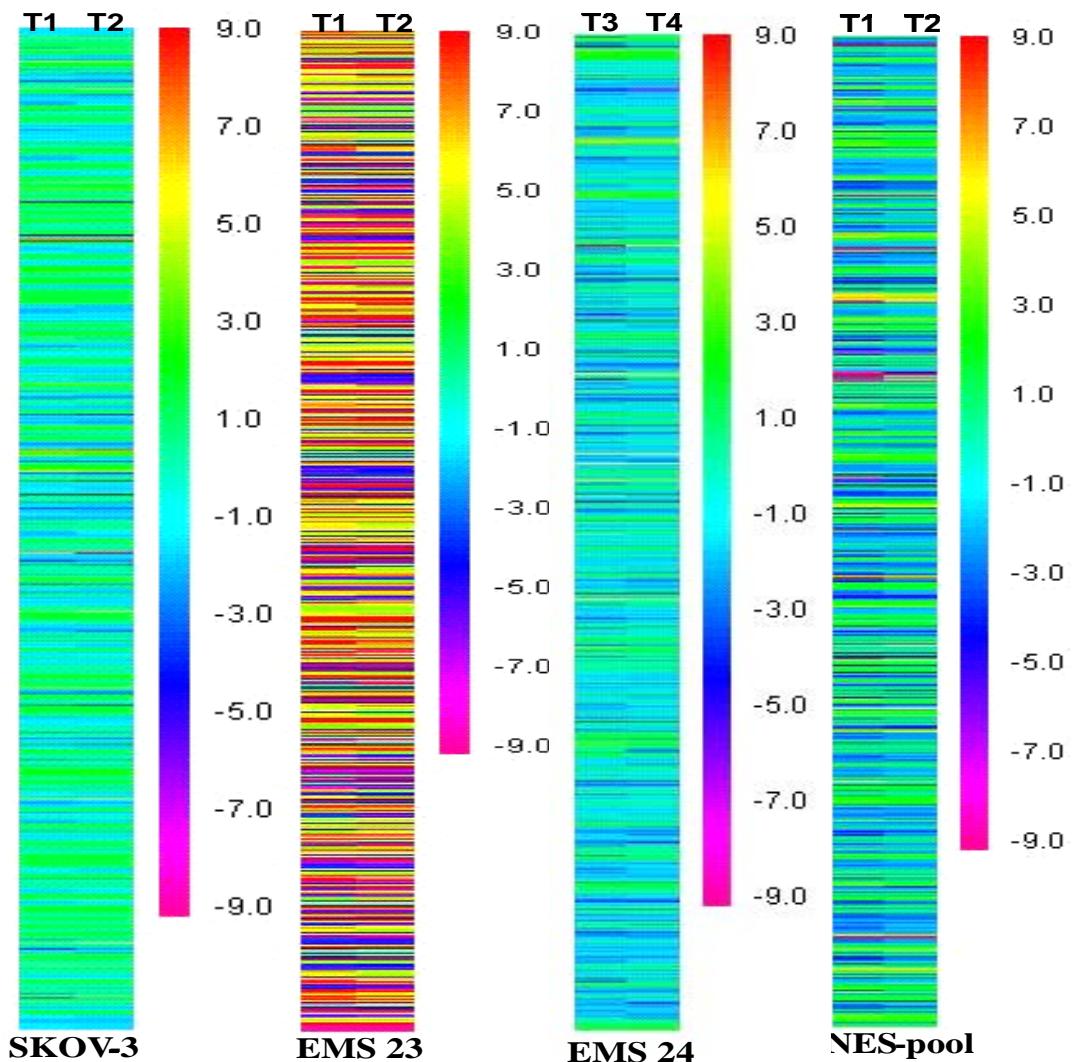
圖一、SKOV-3 卵巢癌細胞與初代子宮內膜異位基質細胞的形態

圖中顯示顯微鏡下觀察到的 SKOV-3 卵巢癌細胞(1)與子宮內膜異位基質細胞(2)的形態，分別為：(a)細胞剛貼附至細胞培養盤時的形態，(b)細胞完全貼附展開時的形態。



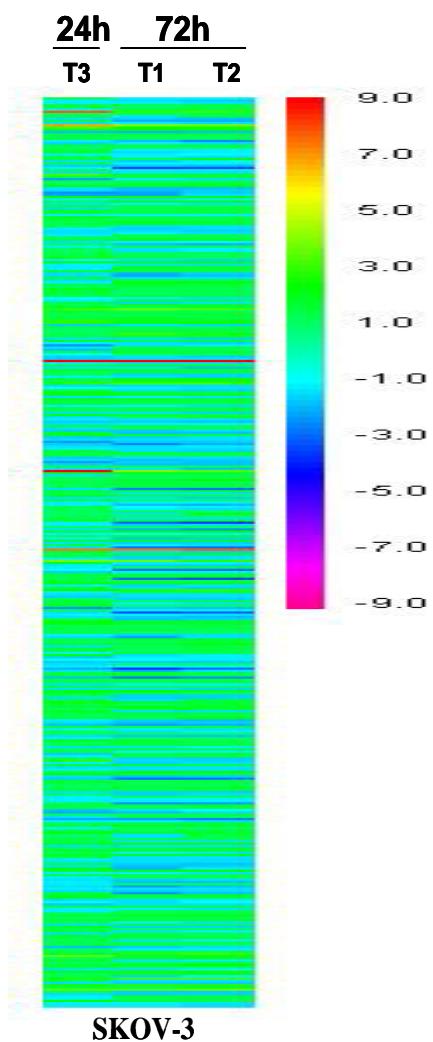
圖二、四物湯水萃物對 SKOV-3 卵巢癌細胞株、初代子宮內膜異位基質細胞以及初代正常子宮內膜基質細胞生長抑制作用(MTT assay)

SKOV-3 卵巢癌細胞株與初代子宮內膜異位基質細胞(EMS23、EMS24、EMS01)及作為子宮內膜異位基質細胞對照之初代正常子宮內膜基質細胞(NES51、NES54)在給予不同劑量之四物湯水萃物(5、10、20 mg/ml)分別作用 24、48、72 小時之後，以 MTT assay 分析四物湯水萃物對細胞生長之抑制率。



圖三、四物湯水萃物處理卵巢癌細胞株、子宮內膜異位基質細胞及正常子宮內膜基質細胞後的生物反應指紋圖譜

SKOV-3 卵巢癌細胞株、EMS23 & EMS24 初代子宮內膜異位基質細胞與 NES-pool 初代正常子宮內膜基質細胞經四物湯水萃物處理後，抽取其 total RNA，利用 Affymetrix 人體微陣列基因表現技術分析其 mRNA 表現量的改變，最後透過 PytoViewerQC 分析所得之生物反應指紋圖譜。圖譜上每一條線代表一個基因，顏色表示投予四物湯水萃物後，該基因之表現量與 control 組相比增加或減少的程度。（T1&T2&T3&T4 為不同批次 FADE treatment）



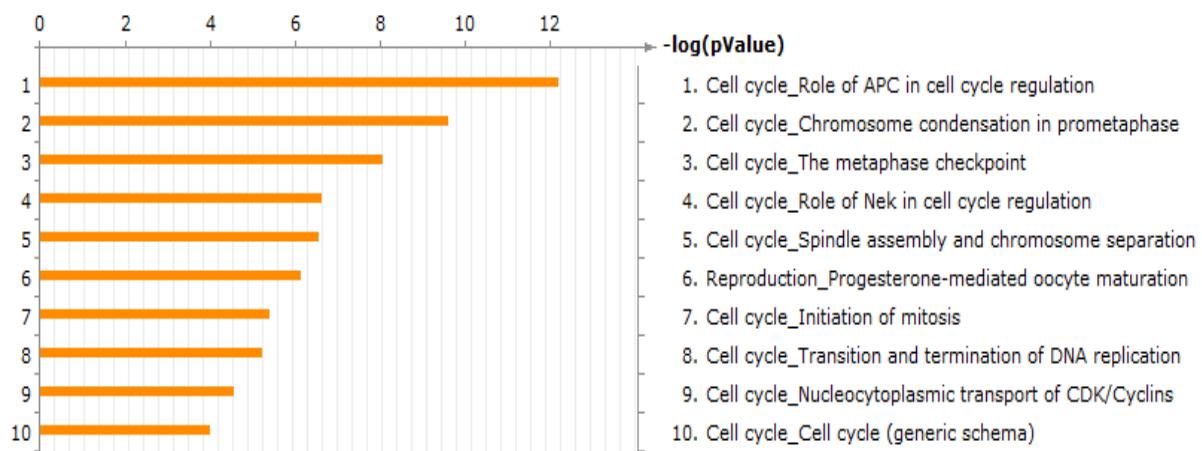
圖四、四物湯水萃物處理卵巢癌細胞株於不同時間與批次後的生物反應指紋圖譜

透過 PytoViewerQC 軟體分析(signal filter set at 500)，比較 SKOV-3 卵巢癌細胞株經四物湯水萃物處理 24h 作用 (T3 1913 基因) 與處理 72h (T1 2231; T2 3170 基因)後受到調控的基因表現差異。(T1&T2&T3 為不同批次 FADE treatment)



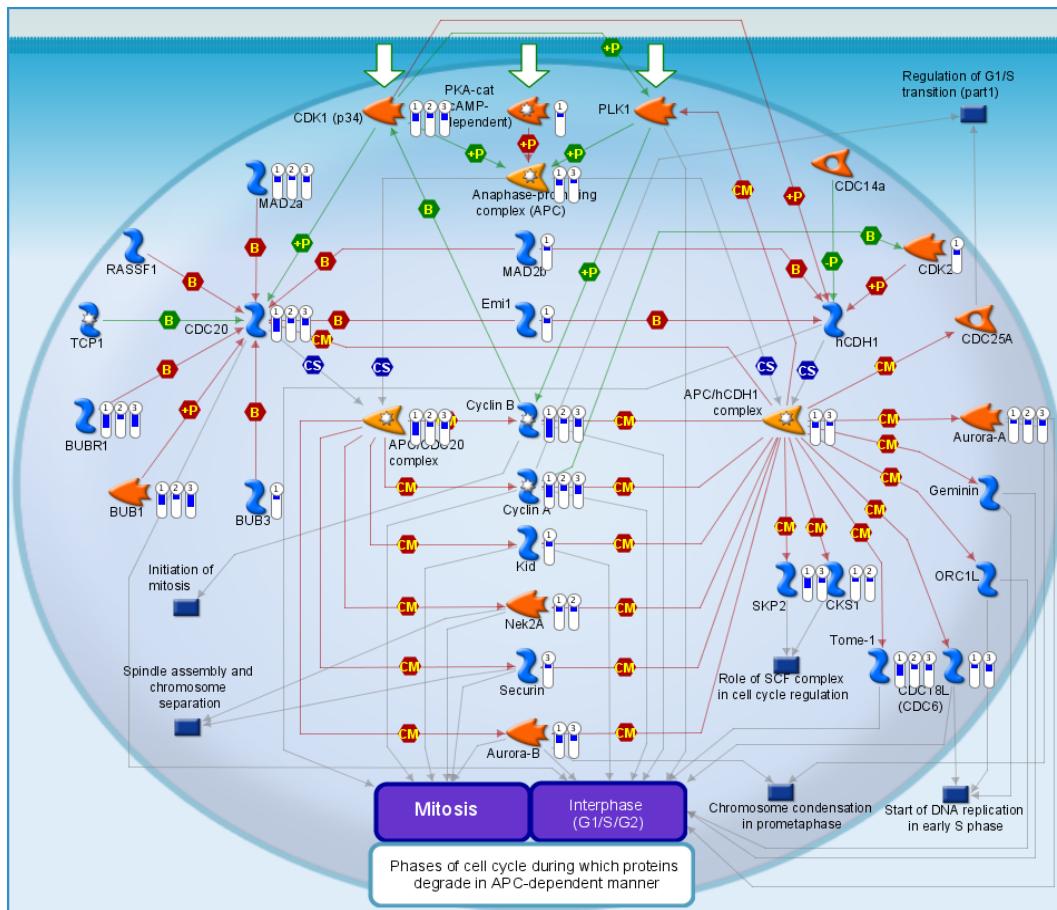
圖五、SKOV-3 卵巢癌細胞株、EMS23 & EMS24 初代子宮內膜異位基質細胞與 NES-pool 初代正常子宮內膜基質細胞在投予四物湯水萃物作用後之前 5 名可能的細胞路徑

將 Affymetrix 人體微陣列分析所得基因表現資料利用 PytoViewerQC 所篩選出的基因（SKOV-3 有 513 基因；EMS23 有 630 基因；EMS24 有 520 基因；NES-pool 有 554 基因）匯入 GeneGo MetaCore™，依照具有統計意義 p-value 列出前五名可能細胞路徑。



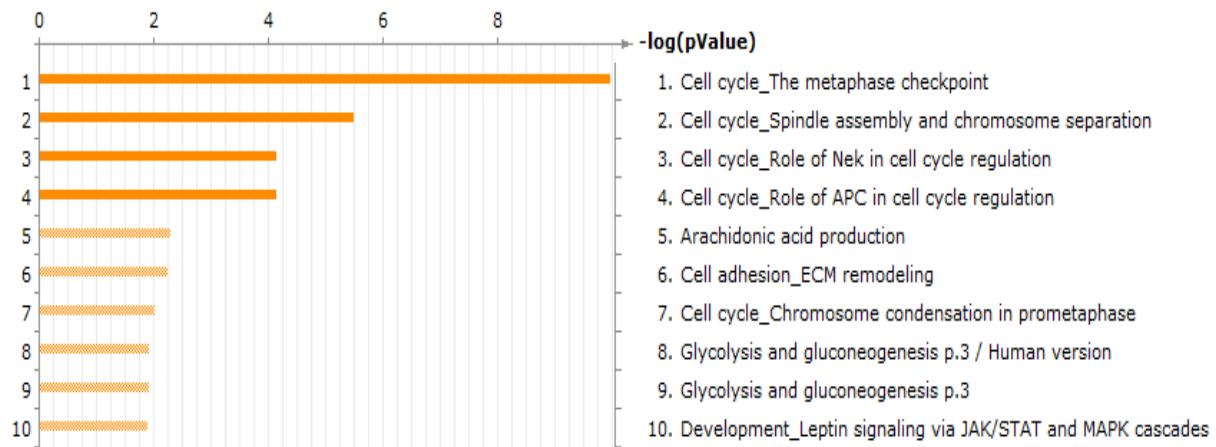
圖六、初代子宮內膜異位基質細胞與初代正常子宮內膜基質細胞中共同受到四物湯水萃物作用後明顯被調控(EMS23 & EMS24 \cap NES-pool)之前 10 名可能的細胞路徑

選取來自不同個體檢體之 EMS23 與 EMS24 初代子宮內膜異位基質細胞經四物湯水萃物作用後，篩選通過 fold-change (\log_2 ratio) > 1.6 限制後得到 261 個共同受到明顯調控的基因。將此初代子宮內膜異位基質細胞（261 基因）與 NES-pool 初代正常子宮內膜基質細胞（554 基因）進行交集分析比較，得到 91 個基因共同受到顯著調控。最後將此 91 個基因匯入 GeneGo MetaCoreTM 分析，依照具有統計意義 p-value 列出前五名可能細胞路徑。



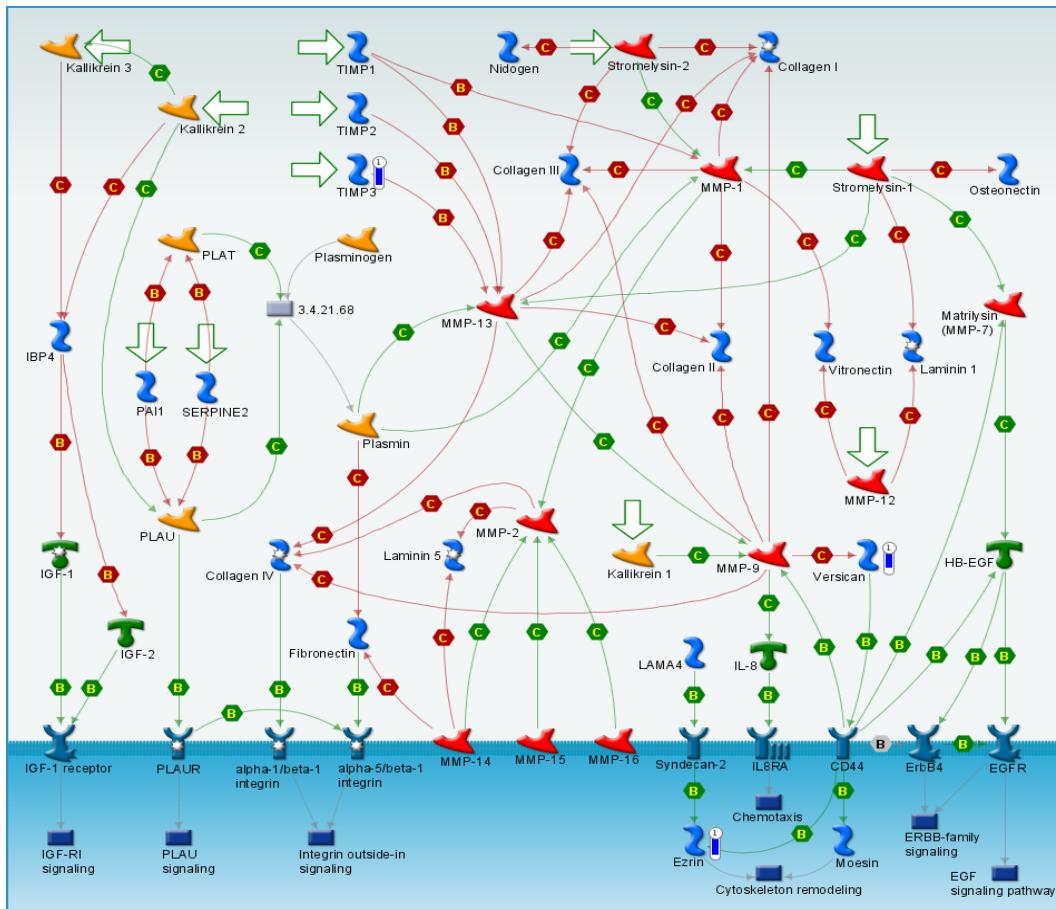
圖七、EMS23 & EMS24 初代子宮內膜異位基質細胞與 NES-pool 初代正常子宮內膜基質細胞經四物湯水萃物作用後受到顯著調控之可能細胞路徑圖(Role of APC in cell cycle regulation)

將 EMS23 (4322 基因 ; log2 ratio > 1.6)、EMS24 (520 基因 ; log2 ratio > 1.6) 之初代子宮內膜異位基質細胞以及 NES-pool (554 基因 ; log2 ratio > 2) 初代正常子宮內膜基質細胞受到顯著調控基因分別匯入 GeneGo MetaCore™ 分析出具統計意義(p-value)所列出之 Role of APC in cell cycle regulation 路徑圖。圖上 bar 編號 1 為 EMS23；編號 2 為 EMS24；編號 3 為 NES-pool；紅色 bar 代表受到 up-regulation；藍色 bar 代表 down-regulation。



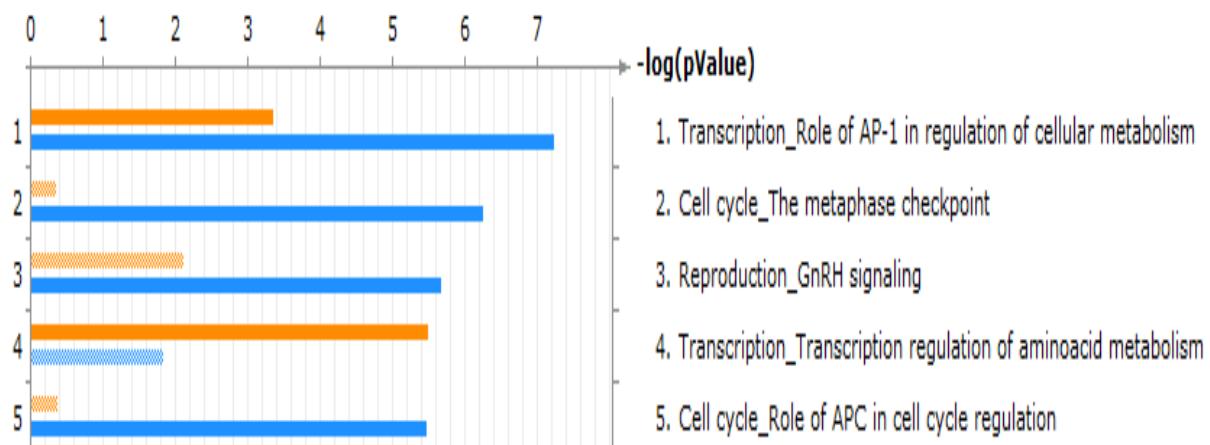
圖八、經四物湯水萃物作用後之 EMS23 & EMS24 初代子宮內膜異位基質細胞相異於 NES-pool 初代正常子宮內膜基質細胞受到明顯調控[EMS23 & EMS24 - (EMS23 & EMS24 \cap NES-pool)]前 10 名可能的細胞路徑

選取來自不同個體檢體之 EMS23 與 EMS24 初代子宮內膜異位基質細胞投予四物湯水萃物作用後，篩選通過 fold-change (\log_2 ratio) > 1.6 限制後得到 261 個共同受到明顯調控的基因。將此初代子宮內膜異位基質細胞(261 基因)扣除與 NES-pool 初代正常子宮內膜基質細胞相同的基因(91 基因)，得到在 EMS23 與 EMS24 初代子宮內膜異位基質細胞有 170 個受到顯著調控的基因異於 NES-pool 初代正常子宮內膜基質細胞。將此 170 個基因匯入 GeneGo MetaCore™ 分析，依照具有統計意義 p-value 列出前十名可能細胞路徑。



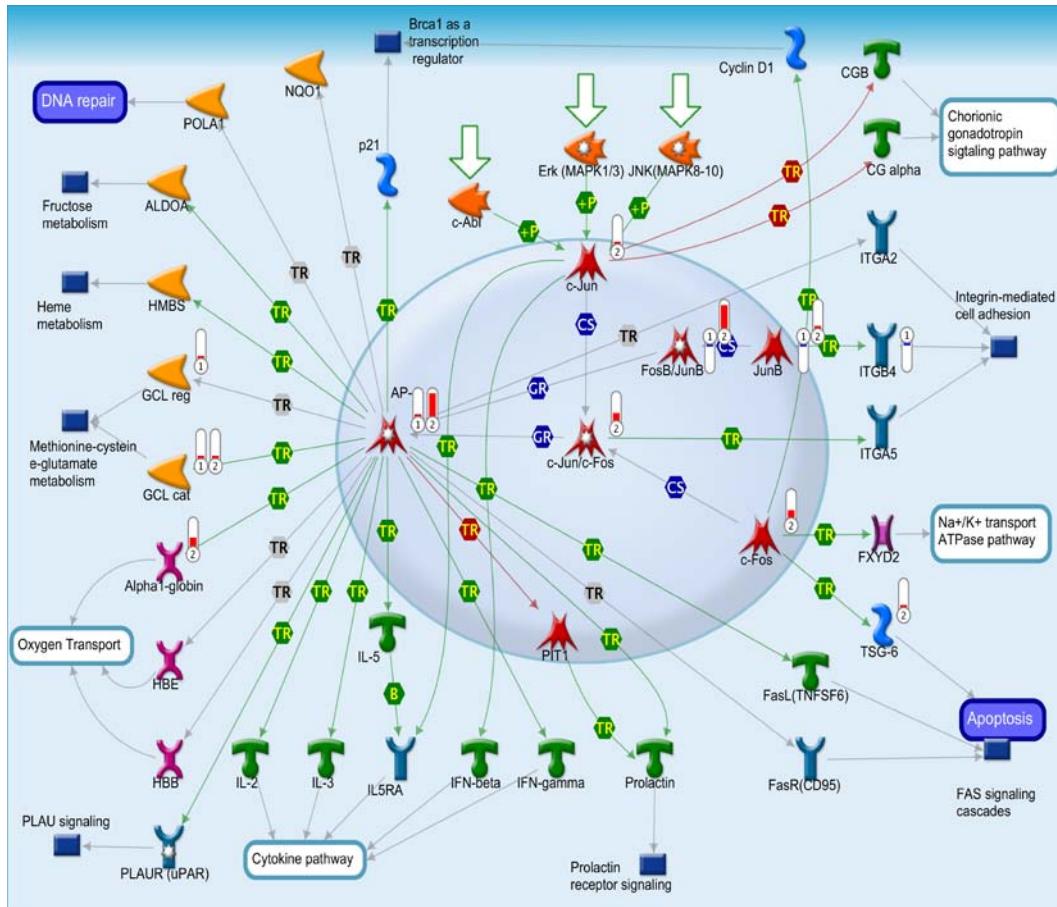
圖九、經四物湯水萃物作用後之 EMS23 & EMS24 初代子宮內膜異位基質細胞異於 NES-pool 初代正常子宮內膜基質細胞所受到顯著調控之可能細胞路徑圖(ECM remodeling pathway)

根據 GeneGo MetaCore™ 分析所得前十名具統計意義(p-value)路徑所列出之 ECM remodeling pathway。圖上 bar 編號 1 為 EMS23 & EMS24；紅色 bar 代表受到 up-regulation；藍色 bar 代表 down-regulation。



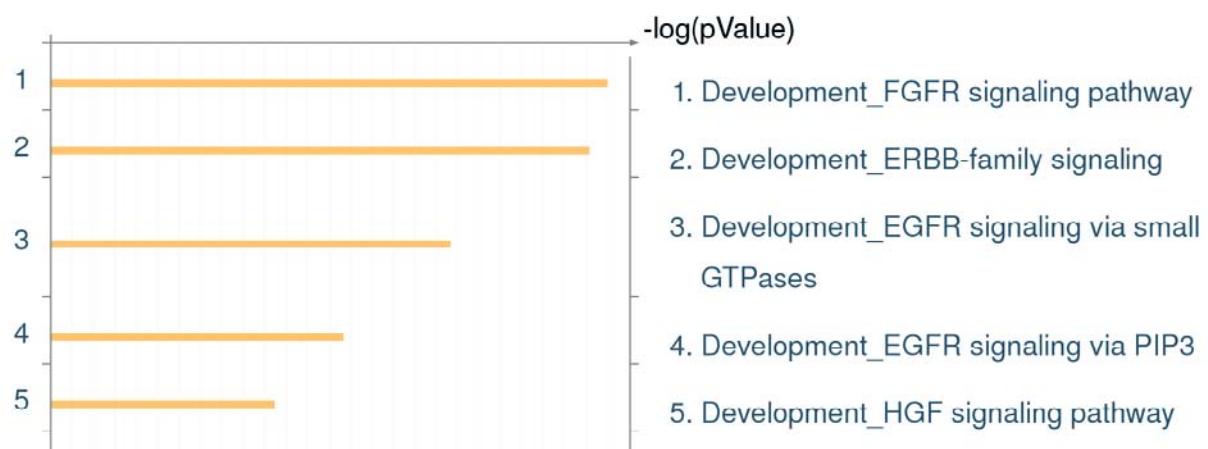
圖十、SKOV-3 卵巢癌細胞株與 EMS23 初代子宮內膜異位基質細胞分別受到四物湯水萃物作用之前 5 名可能的細胞路徑

篩選投予四物湯水萃物後在 SKOV-3 卵巢癌細胞株之明顯受到調控的基因（513 基因）與 EMS23 初代子宮內膜異位基質細胞（630 基因）分別匯入 GeneGo MetaCoreTM，依照具有統計意義 p-value 列出前五名可能細胞路徑。褐色 bar 代表 SKOV-3；藍色 bar 代表 EMS23。



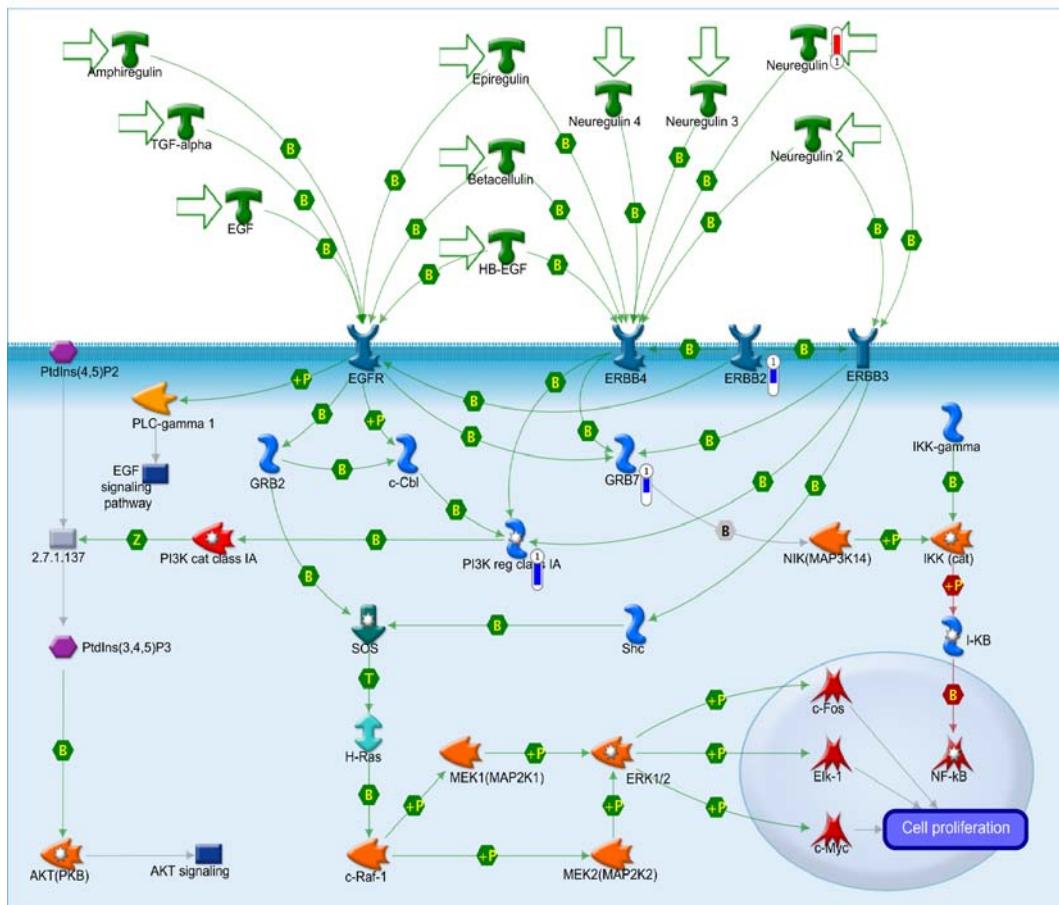
圖十一、SKOV-3 卵巢癌細胞株與 EMS23 初代子宮內膜異位基質細胞分別受到四物湯水萃物作用之可能的細胞路徑圖(Role of AP-1 in regulation of cellular metabolism)

依照 GeneGo MetaCoreTM 所分析之前五名可能之細胞路徑中挑選最具統計意義(p-value)所列出之 Role of AP-1 in regulation of cellular metabolism 路徑圖。圖上 bar 編號 1 為 SKOV-3；編號 2 為 EMS23；紅色 bar 代表受到 up-regulation；藍色 bar 代表 down-regulation。



圖十二、SKOV-3 卵巢癌細胞株經四物湯水萃物作用後與 Mitogenic signaling 相關之前 5 名可能的細胞路徑

篩選投予四物湯水萃物後在 SKOV-3 卵巢癌細胞株之明顯受到調控的基因（513 基因）匯入 GeneGo MetaCore™，選取與 Mitogenic signaling 相關之 folder，依照具有統計意義 p-value 列出前五名可能細胞路徑。



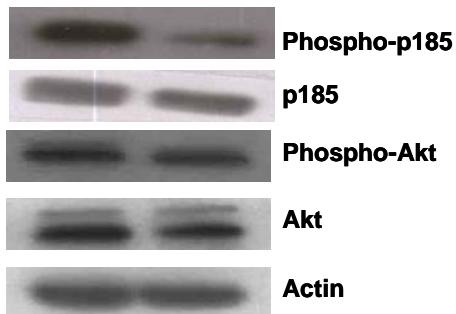
圖十三、SKOV-3 卵巢癌細胞株經四物湯水萃物作用後與 Mitogenic signaling 相關之可能的細胞路徑圖(ERBB family signaling pathway)

依照 GeneGo MetaCore™ 分析出與 Mitogenic signaling 相關前五名具統計意義(p-value)路徑所列出之 ERBB family signaling。圖上 bar 編號 1 為 SKOV-3；紅色 bar 代表受到 up-regulation；藍色 bar 代表 down-regulation。

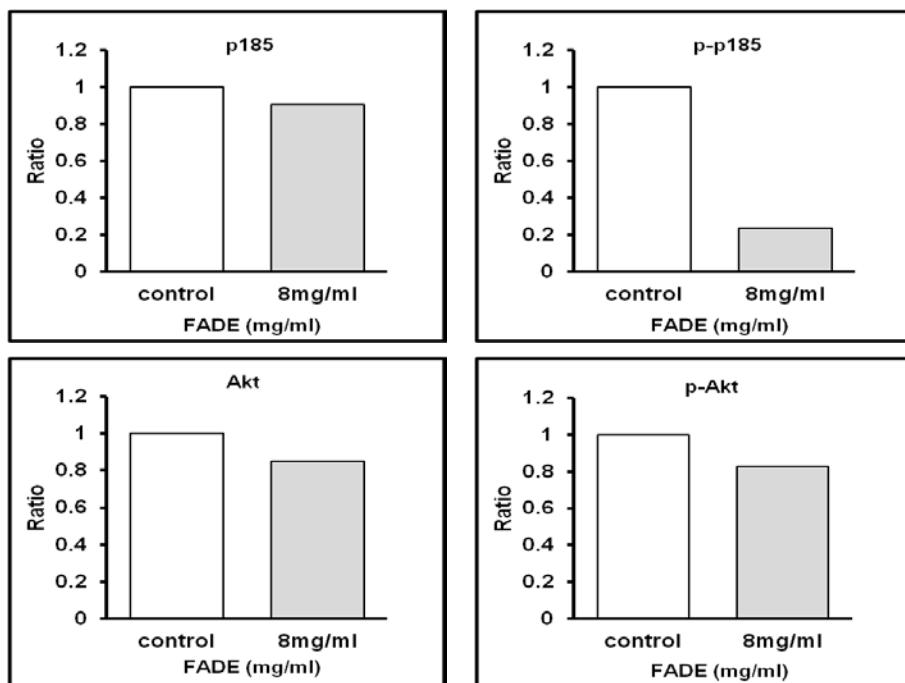
(1)

SKOV-3

Control 8 FADE (mg/ml)



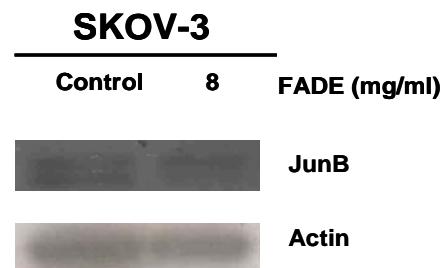
(2)



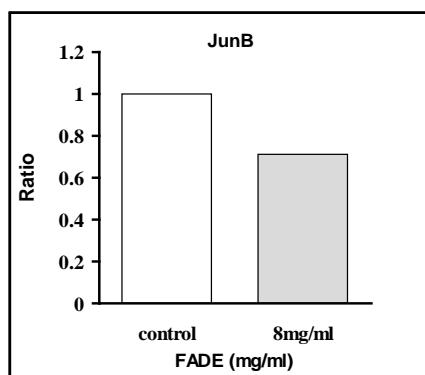
圖十四、四物湯水萃物對 SKOV-3 卵巢癌細胞內 HER2 與 AKT 蛋白表現量的影響

(1)四物湯水萃物作用於 SKOV-3 卵巢癌細胞經 24hr 後，進行 western blotting 實驗結果；(2)上圖(1)之量化結果。

(1)

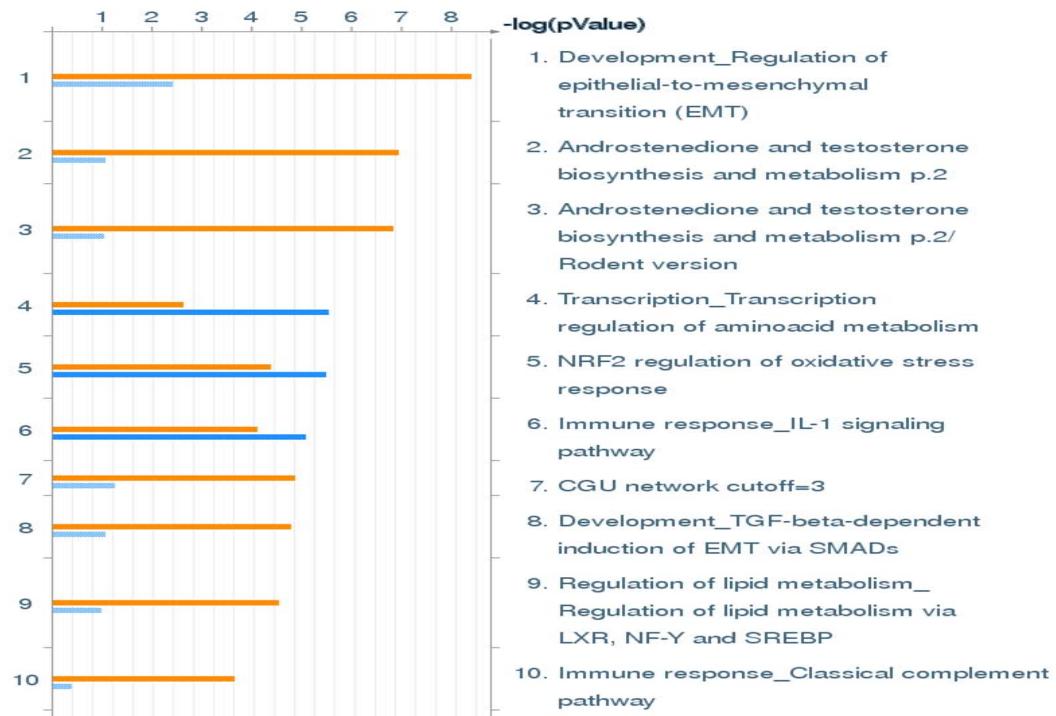


(2)



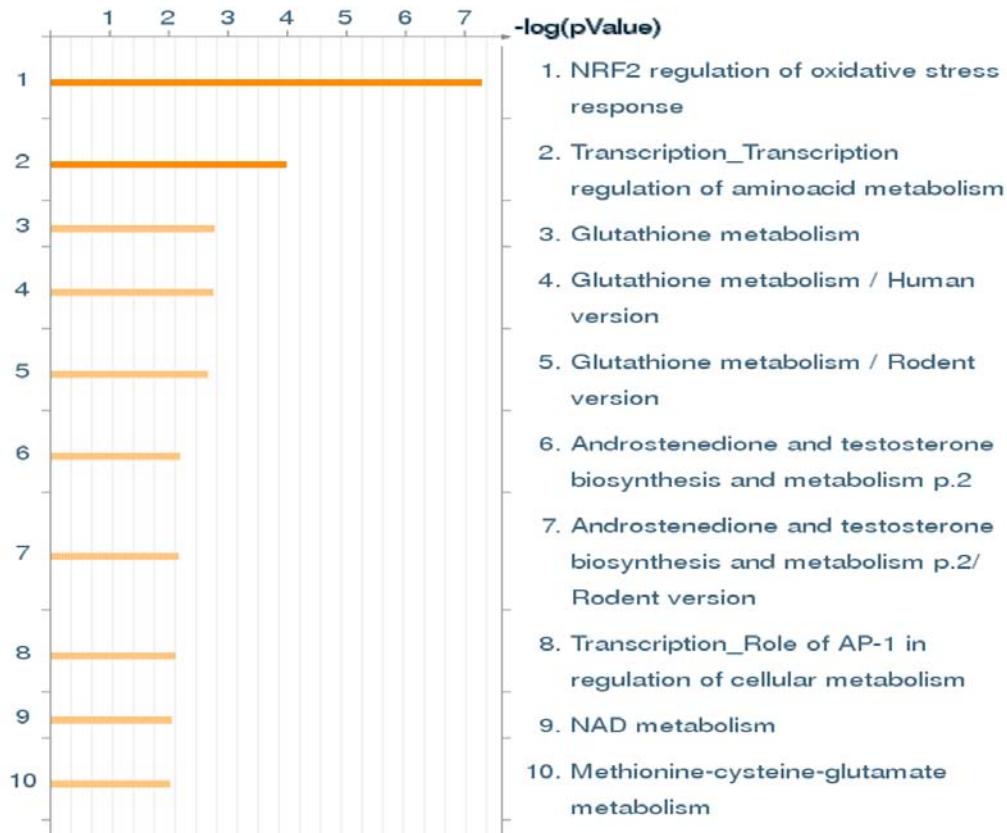
圖十五、四物湯水萃物對 SKOV-3 卵巢癌細胞影響 AP-1 調控路徑之 JunB 蛋白表現量的影響

(1)四物湯水萃物作用於 SKOV-3 卵巢癌細胞經 24hr 後，初步進行 AP-1 調控路徑 JunB 蛋白表現量之 western blotting 實驗結果；(2)上圖(1)之量化結果。



圖十六、比較 SKOV-3 卵巢癌細胞株分別經四物湯水萃物作用不同時間後受到顯著調控之前 10 名可能的細胞路徑差異

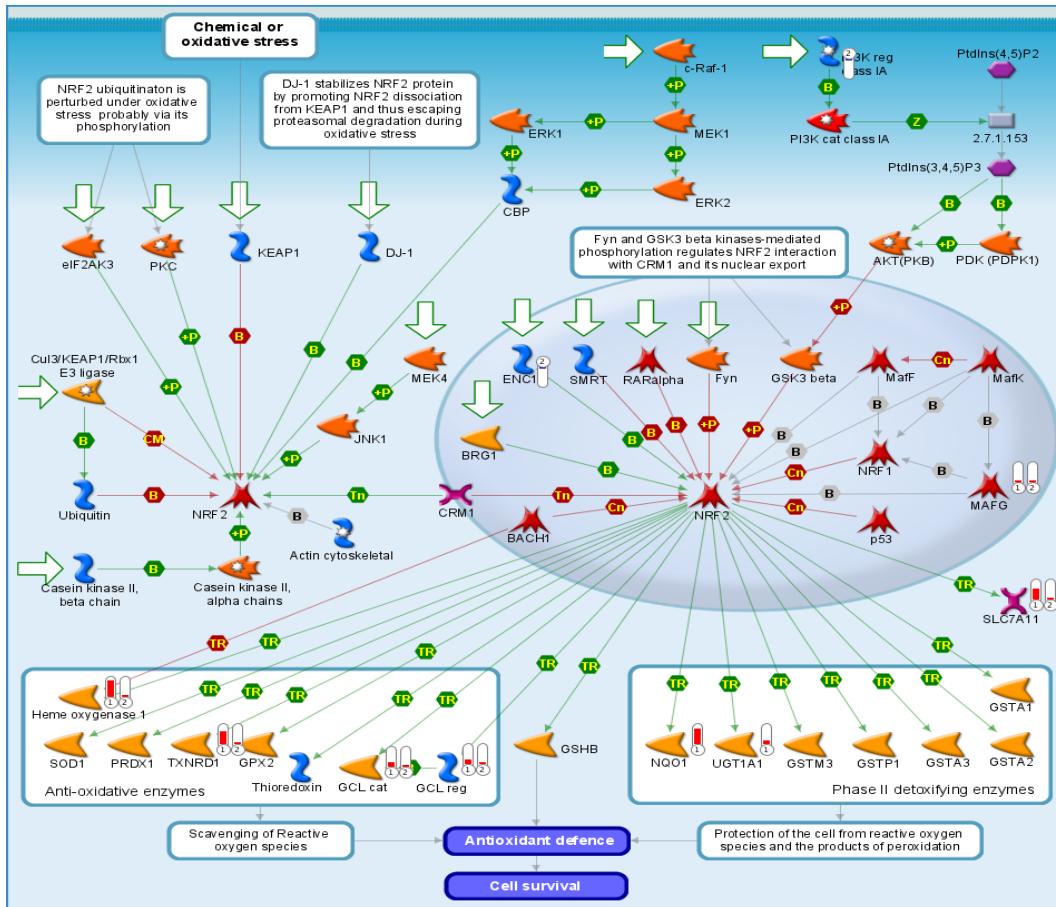
將 SKOV-3 卵巢癌細胞株在投予四物湯水萃物 24h 後明顯受到調控的基因（615 基因）與作用 72h 後明顯受到調控的基因（513 基因）分別匯入 GeneGo MetaCore™，依照具有統計意義 p-value 列出前十名可能細胞路徑。褐色 bar 代表作用 24h；藍色 bar 代表作用 72h。



圖十七、整合 SKOV-3 卵巢癌細胞株經四物湯水萃物作用不同時間後共同受到顯著調控之前 10 名可能的細胞路徑

分別篩選 SKOV-3 卵巢癌細胞株經 signal filter set at 500 之投予四物湯水萃物 24h 後明顯受到調控的基因(T3: 1913 基因)與作用 72h 後明顯受到調控的基因(T1: 2231 基因; T2: 3170 基因)，通過 fold-change (\log_2 ratio) > 1.5 限制後進行交集分析比較，得到 106 個基因共同受到顯著調控。最後將此 106 個基因匯入 GeneGo MetaCoreTM 分析，依照具有統計意義 p-value 列出前十名可能細胞路徑。

圖十八



圖十八、SKOV-3 卵巢癌細胞株經四物湯水萃物作用後不同時間可能的細胞路徑圖(NRF2 regulation of oxidative stress response pathway)

根據 GeneGo MetaCore™ 分析 SKOV-3 卵巢癌細胞株經四物湯水萃物作用 24h&72h 後前十名可能調控路徑中挑選之 NRF2 regulation of oxidative stress response pathway。圖上 bar 編號 1 為作用 24h；編號 2 為作用 72h；紅色 bar 代表受到 up-regulation；藍色 bar 代表 down-regulation。

表一、不同批次四物湯水萃物作用於不同細胞後之基因表現數量差異

Cell Name	Group	Total Number of Gene Changed	Number of Up-Regulation Gene	Number of Down-Regulation Gene
SKOV-3	T1	2231	1073	1158
	T2	3170	1489	1681
EMS23	T1	8131	3704	4427
	T2	7653	3456	4197
EMS24	T3	2427	1136	1291
	T4	2812	1375	1437
NES-pool	T1	4534	2625	1909
	T2	3769	1991	1778

註：SKOV-3 卵巢癌細胞株、EMS23 & EMS24 初代子宮內膜異位基質細胞以及 NES-pool 初代正常子宮內膜細胞經不同批次四物湯水萃物作用後，抽取其 total RNA，利用 Affymetrix 人體微陣列基因分析技術所得之 mRNA 量的改變，最後透過 PytoViewerQC 分析比較(signal filter set at 500)，顯示該不同批次投藥後分別對照於未加藥 control 所呈現之基因表現結果。

表二、四物湯水萃物作用於不同細胞所產生之植物相似指數與顯著基因訊號表現差異

Cell Name	Total Intersect Number of Gene changed	Fold Change on Signal Ratio(log2)	Total Number of Gene changed	Number of Up-Regulation Gene	Number of Down-Regulation Gene	PSI*
SKOV-3	1502	1.5	513	249	264	0.9782*
EMS23	6644	3.5	630	428	202	0.9851*
EMS24	1681	1.6	520	158	362	0.9683*
NES-pool	3095	2	554	234	320	0.9848*

[#]透過 PytoViewerQC 設定篩選限制，分析比較 SKOV-3 卵巢癌細胞株、EMS23 & EMS24 初代子宮內膜異位基質細胞以及 NES-pool 初代正常子宮內膜細胞在投予四物湯水萃物後產生的作用。軟體設定為所有基因經 signal filter set at 500 後，進行交集比對兩次加藥組全部基因，得到四物湯水萃物投藥後產生變化的全部基因。

[@]經更進一步篩選不同訊號強度之 fold-change (\log_2 ratio)得到投予四物湯水萃物後，受到顯著差異調控之基因改變。

*PSI, 植物相似指數 Phytomics Similarity Index。PSI 數值為利用該軟體分析不同細胞在投予四物湯水萃物作用後所得之相似度（0~1；0 代表 complete difference；1 代表 complete similarity）。

表三、EMS23 & EMS24 初代子宮內膜異位基質細胞與 NES-pool 初代正常子宮內膜基質細胞經四物湯水萃物作用後明顯受到調控之基因數差異

EMS23 & EMS24 V.S. NES-pool	Total	Up	Down
(EMS23&EMS24 \cap NES-pool)	91	31	60
EMS23&EMS24 - (EMS23&EMS24 \cap NES-pool)	170	53	117

比較 EMS23 & EMS24 初代子宮內膜異位基質細胞與作為對照之 NES-pool 初代正常子宮內膜細胞經四物湯水萃物作用後明顯受到調控基因 (EMS23 & EMS24 共 261 基因；NES-pool 有 554 基因)，篩選出兩者間交集與差集之上調(up-regulation)與下調(down-regulation)基因差異。

註：其中 EMS23 & EMS24 初代子宮內膜異位基質細胞受到共同調控的基因數(261)，為個別篩選通過 fold-change (\log_2 ratio) > 1.6 限制後交集所得到的基因數。

表四、四物湯水萃物對不同正常細胞的 IC_{50} 比較

Normal Cells		24h	48h	72h	執行者
正常子宮內膜 細胞	NES51	>20	>20	>20	子計畫二 (CCMP99-RD-202)
	NES54	>20	>20	>20	
子宮內膜細胞		>10	9.1 ± 1.6	8.1 ± 1.0	子計畫一 (CCMP99-RD-201)
正常卵巢細胞		>10	>10	>10	
正常子宮肌肉細胞		>10	>10	10 ± 1.0	

註：本計畫所使用之正常子宮內膜細胞(NES51 & NES54)給予不同劑量之四物湯水萃物(5、10、20 mg/ml)分別作用 24、48、72 小時之後，以 MTT assay 分析其生長抑制作用，並與子計畫一(CCMP99-RD-201)所得之結果作為對照並列呈現。

基因體探討抗肝癌及脂肪肝之中草藥計畫 ---子計畫二：建立鑑定中藥有效成分之分析 平台及探討中藥啟動細胞凋亡之機制治療 肝癌

吳永昌、張芳榮
高雄醫學大學

摘要

肝癌為為國人男性癌症死因第一名，大多數肝癌病人無法以外科手術治療，且對現有化學藥物之反應及預後均不理想。因此，研發新的抗肝癌藥物乃是醫藥界迫切的目標。傳統中藥種類豐富並具有悠久的學理基礎，為提供現代藥物研究者最好的寶庫。本群體計畫即根據歷代中藥典籍及台灣常用藥用植物中選出 45 種中藥單方及複方來進行抗肝癌研究。本子計畫之目的是建立鑑定中藥有效成分之化學分析平台，並且篩選啟動細胞凋亡機制之中藥來治療肝癌。我們以 MTT 存活試驗和測試中藥複方及單味藥萃取物對三株人類肝癌細胞株的毒殺及生長抑制作用；以 LPS 誘導小鼠巨噬細胞株發炎模式測試萃取物之抑制發炎反應的活性。結果發現劍葉鳳尾蕨、遠志和木香等三種較具細胞毒殺活性；水萃物進一步做化學分層分析的結果發現僅有木香水萃物之乙酸乙酯萃取物具有細胞毒殺活性。而劍葉鳳尾蕨和木香同時較具有抗發炎活性。本研究測試 15 項 GMP 藥廠提供之中藥水萃物濃縮液，對於三種肝癌細胞株的細胞毒性測試的毒性濃度在 mg/ml 的範圍，尚屬溫和毒性較低的中藥。本研究的結果可以做為用藥安全考量或是尋找抗肝癌藥物的最佳參考。

關鍵詞： 肝癌、中藥、細胞凋亡

Genome-Wide Studies on Anti-Hepatocellular Cancer and Fatty Liver Chinese Herbal Medicines ---Subproject 2: Establishment of Bioactive Chemicals Analyzing Platform and Exploration of Promoting Apoptosis for HCC Therapy in TCM

Yang-Chang Wu, Fang-Rong Chang
Kaohsiung Medical University

ABSTRACT

Hepatocellular carcinoma (HCC) has been the leading cause of cancer death of male in Taiwan. Considering it has been around for thousands of years, the traditional Chinese herbal formulations used for the treatment of liver diseases may provide a valuable resource for the discovery of novel therapeutics of HCC. In this study, we test 45 selected extracts of traditional Chinese herbal formulations, which were according to classical Chinese pharmacopoeia and Taiwanese herb books. To establishment of bioactive chemicals analyzing platform and exploration of promoting apoptosis for HCC therapy were aims of our subproject-2 study. We performed the MTT survival assay to analyze the anti-tumor activity in three HCC cell lines, and the LPS-induced nitric oxide production model to analyze the anti-inflammatory activity in rodent cell line for 15 water extracts of formulations. Water extracts of *Pteris ensiformis* Burm., root of *Polygala tenuifolia* Willd. and *Aucklandia lappa* Decne. displayed more potent antitumor effect in the MTT assay. But only the ethyl acetate fraction of *Aucklandia lappa* Decne. still remained activity in advance. Besides, water extracts of *Pteris ensiformis* Burm. and *Aucklandia lappa* Decne. showed more potent anti-inflammatory activity. While the cytotoxic effects were induced in range of concentration around mg/ml level, we were of the opinion that the toxicity of those

tested formulations were moderate. This study provided information about the issue of safety in use of traditional Chinese herbals, and proposed resources for guiding the further study in anti-HCC research.

Keywords: Hepatocellular carcinoma, Chinese herbs, Aoptosis

壹、前言

不正常的細胞增生可以誘發細胞凋亡機制來移除生長失去控制的細胞，這是細胞的正常防衛機制之一。然而，過去研究已經發現，肝癌與抵抗細胞凋亡基因的過度活化有關(1)，換言之，細胞失去細胞凋亡之正常防衛機制與肝癌有關。因此，本子計畫由 GMP 藥廠製備中藥水萃物，以誘發肝癌細胞株細胞凋亡做為策略來篩選出可以治療肝癌的中藥。本實驗室以細胞毒殺活性導引模式做中藥之純化合物的分離，預期尋找出抗發炎與抗癌活性之化合物來預防或治療肝癌。

貳、材料與方法

一、水萃物準備：

由 GMP 藥廠製備劍葉鳳尾蕨、大棗、酸棗仁、遠志、荊三稜、木香、縮砂、川木通、烏藥葉濃縮液、靈芝、大建中湯、小建中湯、加味歸脾湯、半夏白朮天麻湯和小青龍湯等中藥材之水萃物濃縮，濃度為 1 gm/ml。

二、細胞毒殺活性測試：

將 HepG2、Hep3B 和 Huh7 人類肝炎細胞株培養於 DMEM 培養液中，其中含 10 % 胎牛血清及含 100 units/ml penicillin 和 100 μ g/ml streptomycin。測試前以 trypsin 於 37°C 中作用 2~3 分鐘分離出癌細胞，經染色並置於顯微鏡下計數細胞數目，取適量細胞置入 96 well 的培養盤中，於 95 % O₂、5 % CO₂ 之培養箱中培養 24 小時後，再加入不同濃度之藥物處理 48 小時。移除藥物與 medium 後，加入 100 μ l 含 MTT 之 medium (1: 9, final conc. 0.5 mg/ml, 不含 FBS)，在上述環境繼續培養 2-4 hrs 後吸掉 medium，加入 100 μ l DMSO，shake 使結晶完全溶解，以 ELISA reader 測定其在 540 nm 的吸光度。其 IC₅₀ (50 % Inhibition Concentration) 即代表藥物能抑制 50 % 癌細胞生長之毒殺濃度。

三、抗發炎活性測試：

以 1 μ g/ml 內毒素 lpopolysaccharide (LPS) 誘發 Raw264.7 小鼠巨噬細胞 nitric oxide 產生做為發炎模式。測試藥物前處理 1 小時之後抑制 LPS 誘發 nitric oxide 產生的程度。Nitric oxide 以 Griess reagent 測試其主要代謝物 nitrite，並製作 nitrite 標準品檢量線，計算得之 LPS 誘發 nitrite 之濃度。

四、中藥水萃物分層分析：

將木香、劍葉鳳尾蕨以及遠志水萃物各 40 ml (40 gm) 用乙酸乙酯(EA)、正丁醇(BuOH)和水(H₂O)做分配萃取(partition) (如圖一)，分別得到木香、劍葉鳳尾蕨以及遠志的乙酸乙酯、正丁醇和水層的粗萃物，之後乾燥並且秤重 (如表一)。

五、報導基因質體建構：

三項報導基因：長度~300 bps Mcl-1 promoter 序列、長度~4000 bps Bcl-2 promoter 序列和長度~500 bps PUMA promoter 序列建構於缺少 promoter 而具有有 luciferase cDNA 序列的載體 pGL2-basic 上，並且以 DNA sequencing 確定序列的正確性。

參、結果

一、肝癌細胞毒殺活性測試：15 項中藥水萃濃縮液在 HepG2、Hep3B 和 Huh7 人類肝炎細胞株測試細胞毒殺活性。最高濃度為 40 mg/ml (培養液中含 25% 原液)，其結果如下表所示 (表二)。如期中報告所示，劍葉鳳尾蕨、遠志和木香具有較好的細胞毒殺活性 (IC_{50} 為 0.03-5.59 mg/ml)。特別是遠志水萃物的活性最強，對於 Hep3B 細胞之 IC_{50} 為 0.03 mg/ml。查詢文獻僅有對改善神經功能之研究報告，尚無抑制癌症或細胞毒殺之研究，因此具有繼續探討的意義。

我們也進一步將劍葉鳳尾蕨、遠志和木香做分層萃取與濃縮，EA、BuOH 和 H_2O 三種萃取物重複測試細胞毒性。由於萃取物濃乾燥之後溶解度不佳，太高濃度無法進行實驗，分層萃取濃縮液最高測試濃度為 200 $\mu g/ml$ (培養液中含 2% DMSO 溶劑)，其結果如下表三所示。根據過去經驗，活性經過分層萃取濃縮後，活性在某一分層中會有增強的效果。

(一)劍葉鳳尾蕨

一些從劍葉鳳尾蕨分離出的化合物被報告具有較強的抗氧化活性，可以抗癌(2)。在我們的細胞毒性實驗中，劍葉鳳尾蕨水萃物對抗三種肝癌細胞株的 IC_{50} 為 1.14-3.39 mg/ml，實具有溫和的抗癌活性。而其分層萃取物在使用最高濃度 200 $\mu g/ml$ 下，幾乎對三種細胞株都不具細胞毒殺作用。

(二)遠志

遠志具有安神作用，實驗發現遠志皂素可以抑制正腎上腺素轉運子活性(3)。遠志水萃物對抗三種肝癌細胞株的 IC_{50} 為 0.03-2.31 mg/ml，具較好的抗癌活性。然而後續的遠志分層萃取物的細胞毒性結果，令我們感到很訝異，結果與第一次原液的差異。其分層萃取物在使用最高濃度 200 $\mu g/ml$ 下，僅在 BuOH 萃取物測得對 HepG2 細胞有毒性， IC_{50} 為 163.72 $\mu g/ml$ ，對 Hep3B 和 Huh7 兩株則無毒性。這個結果使得原本正要進行的分子機轉測試暫時中斷下來，繼續反覆試驗其細胞毒性藥效。

(三)木香

木香是我們測試 15 項 GMP 藥廠提供之中藥最具活性的藥品。其水萃物的抗三種肝癌細胞株的 IC_{50} 為 3.05-5.59 mg/ml；而其 EA 層萃取物的 IC_{50} 為 20.94-54.46 $\mu g/ml$ ，顯示木香 EA 萃取物具有藥物開發潛力。

二、抗發炎活性測試：

本研究僅完成劍葉鳳尾蕨、大棗、酸棗仁、遠志、荊三稜、木香、縮

砂、川木通等 8 種中藥材水萃物的抗發炎活性活性測試。結果如表三所示，劍葉鳳尾蕨、遠志和木香具有較好的抗發炎活性 (IC_{50} 為 1.1-3.0 mg/ml)。特別是木香水萃物的活性最強，抑制 LPS 誘發小鼠巨噬細胞 nitric oxide 生成的 IC_{50} 為 1.1 mg/ml，而對於小鼠巨噬細胞毒性測試之 IC_{50} 為 17.9 mg/ml，估計抗發炎之 $TI = 16.3$ mg/ml (圖二)。木香水萃物對小鼠巨噬細胞毒性遠小於其對肝癌細胞株之毒性。與本草綱目記載木香主要功用為行氣止痛。查詢文獻中，木香已經有多篇報導其抗發炎成分。此外，劍葉鳳尾蕨也具有抗發炎活性 (圖三)，雖然活性不如木香，但具有研究的價值。

肆、討論

一、劍葉鳳尾蕨毒性溫和：

我們的結果顯示劍葉鳳尾蕨在分層分析後，並未呈現較強的細胞抗癌活性。根據去年的報告中顯示，從劍葉鳳尾蕨分離出之較具細胞毒性之純化合物 IC_{50} 並不算低：

Kaempferol 3-*O*- α -L-rhamnopyranoside-7-*O*- β -D-glucopyranoside (143.9 μ g/ml) , 7-*O*-Caffeoylhydroxymaltol-*O*- β -D-glucopyranoside (225.8 μ g/ml) , 7-*O*-coumaroylhydroxymaltol 3-*O*- β -D-glucopyranoside (223.2 μ g/ml) , Caffeic acid (818.3 μ g/ml) , *p*-Coumaric acid (155.1 μ g/ml) , 即使是純化合物皆接近或超過 200 μ g/ml, 但 IC_{50} 皆未達到 $< 4 \mu$ g/ml 之先導藥物開發濃度考量。因此，我們推測較具細胞毒殺作用的化合物含量較低，在本研究中尚未被分離出來，未來需要製備更大量的藥材，才能繼續分離。

二、遠志水萃物與分層萃取物活性差異大：

我們必須討論為何兩次遠志水萃原液結果有差異？猜測可能原因有以下兩點：第一，是否可能實驗做錯了？根據結果顯示，分層萃取物和第二次原液測試之細胞毒性皆較為溫和。若是有實驗做錯，應該是第一次實驗做錯了。根據下面考量，我們認為實驗測試無誤；若是細胞培養系統出問題或是操作不當，理應整批或前後天實驗的細胞都會敏感或不正常。調閱實驗記錄仔細審察，陰性及陽性對照藥物的結果都是正確的，前後天或同批試驗藥品的結果並非全然偏向毒性活性或全然偏性不毒；此外，遠志 IC_{50} 的結果是以 3 次不同濃度範圍的藥物稀釋，每次實驗都做至少 3 重複的試驗，最後才決定出來的。因此，在檢討實驗過程後，我們認為實驗發生錯誤的機率很低。第二，毒性活性化合物代謝成較不具毒性物質，這是我們認為比較有可能的原因。距離第一次測試到分層分析有三個月時間，第二次原液也在更後面的時候，時間上是有差距的。天然化合物在萃取過程或萃取後，常常有次級產物產生的狀況，化合物代謝的結果是增加或減少活性。GMP 藥廠採用遠志的根部為材料(*Polygala tenuifolia* Willd.)，取材於中國大陸。根部之心材部不具療效，主要活性層在根皮部，然而毒性也在根皮部較大。通常藥材會先去心材再炮製，由於細根處無法去心材，故本實驗材料皮部占 60%，心材占 40%。遠志的炮製過程需要經由甘草浸泡減低毒性(4)，這也意味著次級代謝發生可能會讓遠志毒性降低。若要進一步證實這樣子假說，未來的研究可以使用同一批藥品，比較不同時間取樣的化學分析，透過圖譜的比對與分離，這樣可以獲得細胞毒性化合物及探討其代謝物，有助於遠志在各種治療上評估療效研究的參考。

回顧過去文獻得知，至目前為止遠志並沒有被發表過任何與細胞毒殺

活性相關之文獻，其活性主要針對改善神經功能，被報導過的活性化合物大多為 triterpenoid saponins 骨架（列舉數例如圖四）(5)。過去文獻亦指出多數 saponins 化合物能與膽固醇結合生成水不溶性的分子複合物，對細胞膜具有破壞作用，並表現出毒魚、滅螺、溶血、殺精及細胞毒等活性(6)。本次實驗結果得知，遠志水萃物以及分配萃取後的正丁醇層在高劑量下才具有細胞毒性，且依據分配係數的原理，saponins 化合物多會集中於正丁醇層，因此本次實驗結果是因 saponins 化合物破壞細胞膜而導致細胞死亡或是遠志本身含有具細胞毒殺活性之化合物，仍尚待後續實驗釐清。且若使實驗結果並非由破壞細胞膜所造成，未來仍可著重於分離出具有細胞毒殺活性的新骨架的化合物，並針對其機轉進行深入探討。或是探討其他例如抗發炎等輔助癌症治療之研究方向。

三、木香具藥物開發潛力：

傳統上木香主要用來治療腸胃道方面的疾病，本研究發現木香除了抗癌活性外，同時也具有強效抗發炎活性（由於期中報告審查委員建議不要偏離細胞凋亡主題，因此本研究在木香抗發炎活性方面並未繼續深入探討）。查證 GMP 藥廠採用的木香基源為草本植物木香 *Aucklandia lappa Decne.* (*Saussurea lappa*)。根據過去的文獻，木香水萃物會誘發胃癌細胞凋亡(7; 8)；而從木香分所離出之純化何物 Dehydrocostuslactone 分別被報導能使肝癌、攝護腺癌、淋巴癌細胞走向細胞凋亡(9; 10; 11)；Mokko lactone (12)、Cynaropicrin (13)、Costunolide (14; 15)，則皆被報導會引起淋巴瘤細胞的凋亡而抑制癌細胞生長，上述純化合物結構如圖五所示。由於木香的細胞活性很顯著，雖然研究的報告很多，但是仍只有少數抗肝癌細胞的純化合物被分離出來，其中 Dehydrocostuslactone、Cynaropicrin、Costunolide 等三個木香主要活性成分已可於市面上購得標準品，因此也可考慮是否先直接利用此三個活性成分之標準品來探討木香所引起細胞凋亡之活性機轉，並同時持續分離出其他具有細胞活性的新骨架的化合物做更深入的討論。

但是在本實驗中，由於藥廠木香產品是使用水萃取，因此由分離的 scheme 及被發表抗癌結構之化學特性可以推測，這些有效成分會跑到 EA 乙酸乙酯層，實際上，此產品中的 EA 層量非常少，僅佔約 60mg。如果要繼續分大量純物質進一步進行研究，必須要從藥廠取得原植物原料，進行實驗室的製備，才能直接取得較大量的木香乙酸乙酯層萃取物，進一步分離有效之物質。只是，在此部份必須要仔細評估，是否已發表過的論文中的三個化合物就是最大量的活性物質，要再如何進行研究須進一步評估。

四、中藥的安全性：

根據我們實驗結果，除了劍葉鳳尾蕨、遠志和木香以外，其他的中藥

尚屬溫和。就算如此，劍葉鳳尾蕨、遠志和木香之毒性也不大。以 5000 毫升人體血液量來估計，再假設中藥能夠完全的吸收分布，以細胞毒性而言，要服用靈芝來毒殺肝癌細胞約需 63 克~91 克，半夏白朮天麻湯約需 44 克~75 克，荊三稜更是大於 200 克，而且藥效持續 48 小時才會有細胞毒性發生；這樣的數值是假設完全吸收分布，尚未考慮藥物代謝時間。換言之，數十到數百克重量的中藥瞬間吸收而不代謝，就有產生毒性的可能。根據這樣的結果，我們認為本研究所測試的中藥品毒性很低，顯示中藥正確使用是安全的。然而，在高劑量下仍然具有毒性的，這也代表著中藥中仍有含量極低之化合物具有細胞毒性。因此，特別是吸收快速和體表面積大的小孩，藥物代謝較慢的老人與慢性疾病患者，對於中藥服用藥量、頻率與累積劑量仍須考慮。

伍、結論與建議

- 一、以藥物開發角度來看，粗萃物活性濃度在 $20 \mu\text{g/ml}$ 以下具有開發存化合物藥物的價值。從傳統中藥尋找以引起細胞凋亡為主的化合物來治療肝癌是一項具有挑戰性的研究。本研究的結果發現這 15 項中藥僅木香分層分析的粗萃物接近這項標準。換言之，此次研究的中藥成分含毒性化合物的量很低，未來若決定要從哪一藥品想要分離出物具有細胞毒性的純化合，建議必須大量製備藥材，並且針對非主成分的化合物做分析，才能分離獲得。
- 二、本實驗室已經建構完成報導基因試驗、western blots 以及癌細胞移行測試等平台，但皆須待分離出有效分層或純化合物，才能利用這些平台進一步針對基因層次進行測試，並深入探討其抗癌機轉。
- 三、本實驗室已經成功建立人類肝癌細胞裸鼠移植腫瘤模式之動物試驗。但若以水萃物直接灌食，根據細胞 IC_{50} 推算，動物灌食藥物劑量太大無法進行。因此須待分離出有效分層或純化合物，才能進一步進行。
- 四、目前本實驗室已取得木香及遠志水萃取物各十公斤，正持續針對木香及遠志之有效分層或純化合物進行分離。待分離到有效分層或純化合物後，會進一步利用此計畫所建立之平台加以探討其抗癌機制或進行肝癌細胞裸鼠移植腫瘤模式之動物試驗。
- 五、我們發現遠志的水萃物之有效成分可能因時間的改變而影響活性。建議未來若要尋找毒性化合物來治療癌症，必須要掌握時間縮短浸置和分離時間；若要降低毒性用在其他如安定神經等療效，可以久浸或久置而減毒。
- 六、在 15 項中藥中，我們研究中發現木香的乙酸乙酯萃取物最具抗癌與抗發炎活性，值得開發。建議未來若要尋找木香具癌細胞毒性化合物來治療癌症，若能確定低極性物質無毒，必須要改變製程，例如使用酒精萃取等，增加例如本研究中乙酸乙酯有效萃取物質之含量；無論如何，這個推論仍須進一步的分析來驗證。
- 七、雖然此次篩選相關中藥萃取物，無法獲得具明顯細胞毒性之萃取物（或可說明這些與癌症有關之中藥，其作用機轉並非來自細胞毒性）。

然而在本研究室這兩年來仍致力於細胞毒性及抗癌相關之研究。主持人近兩年（2009 年以來）共發表 16 篇論文，與相關抗癌或其機轉有關：

1. Mei-Chin Lu, Ying-Chi Du, Jiunn-Jye Chuu, Shiu-Lin Hwang, Pao-Chuan Hsieh, **Fang-Rong Chang**^{*} and Yang-Chang Wu^{*}, 2009, “The Active Extracts of Wild Fruiting Bodies of *Antrodia camphorata* (EEAC) – EEAC

Induce Leukemia Cells Apoptosis partially through Histone Hypoacetylation and Synergistically Promote Anticancer Effect of Trichostatin A” , *Arch. of Toxicol.*, 83, 121-129. (SCI) (牛樟芝)

2. Chia-Lin Lee, **Fang-Rong Chang**, Ming-Hon Yen, Donglei Yu, Yi-Nan Liu, Kenneth F. Bastow, Susan L. Morris-Natschke, Yang-Chang Wu* and Kuo-Hsiung Lee*, 2009, “Cytotoxic phenanthrenequinones and 9,10-dihydrophenanthrenes from *Calanthe arisanensis*”, *J. Nat. Prod.* 72, 210-213. (SCI) (阿里山根節蘭)
3. An-Shen Lin, Chia-Rong Lin, Ying-Chi Du, Tilo Lubken, Michael Y. Chiang, I-Hsiao Chen, Chin-Chung Wu, Tsong-Long Hwang, Shu-Li Chen, Ming-Hong Yen, **Fang-Rong Chang***, Yang-Chang Wu*, 2009, “Acasiane A-B and Farnesirane A-B, Diterpenes Derivatives from the Roots of *Acacia farnesiana*”, *Planta Medica.*, 75, 256-261. (SCI) (金合歡)
4. Yu-Yi Hou, Mu-Ling Wu, Yu-Chun Hwang, **Fang-Rong Chang**, Yang-Chang Wu,* and Chin-Chung Wu*, 2009, “The natural diterpenoid ovatodiolide induces cell cycle arrest and apoptosis in human oral squamous cell carcinoma Ca9-22 cells”, *Life Sciences.*, 85, 26-32. (SCI) (魚針草)
5. I-Hsiao Chen, Mei-Chin Lu, Ying-Chi Du, Ming-Hong Yen, Chin-Chung Wu, Yung-Husan Chen, Chih-Sheng Hung, Shu-Li Chen, **Fang-Rong Chang*** and Yang-Chang Wu*, 2009, “Cytotoxic Triterpenoids from the Stems of *Microtropis japonica*”, *J. Nat. Prod.* 72, 1231-1236. (SCI) (日本賽衛茅)
6. Ying-Chi Du, An-Shen Lin, Chin-Chung Wu, Pei-Wen Hsieh, Yung-Husan Chen, I-Hsiao Chen, Shu-Li Chen, Hsin-Fu Yen, Tilo Lübken, **Fang-Rong Chang**,* Yang-Chang Wu,* 2009, “New Cytotoxic Lupane Triterpenes from *Perrottetia arisanensis*”, *Planta Medica.* 75, 848-855. (SCI) (佩羅特木)
7. Yu-Hsuan Lan, **Fang-Rong Chang**,* Mei-Jung Pan, Chin-Chung Wu, Sue-Jing Wu, Su-Li Chen, Shyh-Shyan Wang, Ming-Jung Wu, Yang-Chang Wu,* 2009, “New Cytotoxic Withanolides from *Physalis peruviana*”, *Food Chemistry*, 116, 462-469. (SCI) (秘魯酸漿)
8. Chien-Chih Chiu, Hsueh-Wei Chang, Da-Wei Chuang, **Fang-Rong Chang**, Yu-Ching Chang, Yu-Shan Cheng, Ming-Tz Tsai, Wan-Yu Chen, Su-Shuo Lee, Chih-Kuang Wang, Jeff Yi-Fu Chen, Hui-Min Wang, Chao-Chieh Chen, Yin-Chang Liu,* Yang-Chang Wu,* 2009, “Fern plant-derived protoapigenone leads to DNA damage, apoptosis and G2/M arrest in lung

- cancer cell line H1299”, *DNA and Cell Biology*, 28, 501-506. (SCI) (粗毛金星蕨)
9. Chia-Lin Lee, Lien-Chai Chiang, Li-Hung Cheng, Chih-Chuang Liaw, Mohamed H. Abd El-Razek, **Fang-Rong Chang**, * and Yang-Chang Wu*, 2009, “Anti-influenza A Viral (H₁N₁) and Cytotoxic Agents from *Ferula assafoetida*”, *J. Nat. Prod.*, 72, 1568-1572.. (SCI) (阿魏)
10. Huei-Mei Chen, Yang-Chang Wu, Yi-Chen Chia, **Fang-Rong Chang**, Hseng-Kuang Hsu, Ya-Ching Hsieh, Chih-Chen Chen,* Shyng-Shiou Yuan,* 2009, “Gallic acid, a major component of *Toona sinensis* leaf extracts, contains a ROS-mediated anti-cancer activity in human prostate cancer cells”, *Cancer Letters*, 286, 161-171. (SCI) (香椿)
11. Ching-Yu Yen, Chien-Chih Chiu, **Fang-Rong Chang**, Jeff Yi-Fu Chen, Chi-Ching Hwang, You-Cheng Hseu, Hsin-Ling Yang, Alan Yueh-Luen Lee, Ming-Tz Tsai, Zong-Lun Guo, Yu-Shan Cheng, Yin-Chang Liu, Yu-Hsuan Lan, Yu-Ching Chang, Ying-Chin Ko, Hsueh-Wei Chang* and Yang-Chang Wu*, 2010, “4 □-Hydroxywithanolide E from *Physalis peruviana* (golden berry) inhibits growth of human lung cancer cells through DNA damage, apoptosis and G2/M arrest”, *BMC Cancer*, 18:10, 46. (SCI) (秘魯酸漿)
12. Chiao-Ting Yen, Kyoko Nakagawa-Goto, Tsong-Long Hwang, Pei-Chi Wu, Susan L. Morris-Natschke, Wan-Chun Lai, Kenneth F. Bastow, **Fang-Rong Chang**, Yang-Chang Wu*, Kuo-Hsiung Lee,* 2010, “Antitumor agents. 271: Total synthesis and evaluation of brazilein and analogs as anti-inflammatory and cytotoxic agents”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20, 1037–1039. (SCI) (蘇木)
13. Pei-Yu Yang, Ming-Feng Chen, Chi-Hong Tsai, Dan-Ning Hu, **Fang-Rong Chang**, Yang-Chang Wu,* 2010, “Involvement of caspase and MAPK activities in norcantharidin-induced colorectal cancer cell apoptosis”, *Toxicology in Vitro*, 24, 766-775. (SCI) (班蝥)
14. Chih-Chuang Liaw, Tung-Ying Wu, **Fang-Rong Chang**, Yang-Chang Wu,* 2010, “Historic Perspectives on Annonaceous Acetogenins from the Chemical Bench to Preclinical Trials”, *Planta Medica*, 76, 1390-404. (SCI) (番荔枝科植物回顧論文)
15. Wen-Ying Chen, Yu-An Hsieh, Ching-I Tsai, Ya-Fei Kang, **Fang-Rong Chang**, Yang-Chang Wu, * Chin-Chung Wu, * 2010, “Protoapigenone, a natural derivative of apigenin, induces mitogen-activated protein kinase-dependent apoptosis in human breast cancer cells associated with

- induction of oxidative stress and inhibition of glutathione S-transferase π ”,
Investigational New Drugs, in press. (SCI) (粗毛金星蕨)
16. Chia-Lin Lee, Yung-Chih Liao, Tsong-Long Hwang, Chin-Chung Wu,
Fang-Rong Chang,* Yang-Chang Wu *2010, “Ixorapeptide I and
ixorapeptide II, bioactive peptides isolated from *Ixora coccinea*”,
Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,, in press. (SCI) (紅花矮仙丹)

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
CCMP99-RD-204 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. Fabregat I. Dysregulation of apoptosis in hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol.* 2009; 15: 513-20.
2. Wei HA, Lian TW, Tu YC, Hong JT, Kou MC, Wu MJ. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation and oxidative burst in polymorphonuclear neutrophils by caffeic acid and hispidin derivatives isolated from sword brake fern (*Pteris ensiformis Burm.*). *J Agric Food Chem.* 2007; 55: 10579-84.
3. Cheng MC, Li CY, Ko HC, Ko FN, Lin YL, Wu TS. Antidepressant principles of the roots of *Polygala tenuifolia*. *J Nat Prod.* 2006; 69: 1305-9.
4. 中藥炮製學，中國醫藥學院，民國 92 年修訂版。
5. Li C, Yang J, Yu S, Chen N, Xue W, Hu J, Zhang D. Triterpenoid Saponins with Neuroprotective Effects from the Roots of *Polygala tenuifolia*. *Planta Med.* 2008; 74: 133–141.
6. George F, Zohar K, Harinder P. S. M, Klaus B. The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition* 2002; 88, 587–605.
7. Ko SG, Kim HP, Jin DH, Bae HS, Kim SH, Park CH, Lee JW. *Saussurea lappa* induces G2-growth arrest and apoptosis in AGS gastric cancer cells. *Cancer Lett.* 2005; 220: 11-9.
8. Ko SG, Koh SH, Jun CY, Nam CG, Bae HS, Shin MK. Induction of apoptosis by *Saussurea lappa* and *Pharbitis nil* on AGS gastric cancer cells. *Biol Pharm Bull.* 2004; 27: 1604-10.
9. Hsu YL, Wu LY, Kuo PL. Dehydrocostuslactone, a medicinal plant-derived sesquiterpene lactone, induces apoptosis coupled to endoplasmic reticulum stress in liver cancer cells. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009; 329: 808-19.
10. Kim EJ, Lim SS, Park SY, Shin HK, Kim JS, Park JH. Apoptosis of DU145 human prostate cancer cells induced by dehydrocostus lactone isolated from the root of *Saussurea lappa*. *Food Chem Toxicol.* 2008 ;46: 3651-8.
11. Oh GS, Pae HO, Chung HT, Kwon JW, Lee JH, Kwon TO, Kwon SY, Chon BH, Yun YG. Dehydrocostus lactone enhances tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis of human leukemia HL-60 cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2004; 26: 163-75.
12. Yun YG, Oh H, Oh GS, Pae HO, Choi BM, Kwon JW, Kwon TO, Jang SI, Chung HT. In vitro cytotoxicity of Mokko lactone in human leukemia HL-60

- cells: induction of apoptotic cell death by mitochondrial membrane potential collapse. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2004; 26: 343-53.
- 13.Cho JY, Kim AR, Jung JH, Chun T, Rhee MH, Yoo ES. Cytotoxic and pro-apoptotic activities of cynaropicrin, a sesquiterpene lactone, on the viability of leukocyte cancer cell lines. *Eur J Pharmacol*. 2004; 492: 85-94.
- 14.Chi JH, Ha J, Park JH, Lee JY, Lee YS, Park HJ, Choi JW, Masuda Y, Nakaya K, Lee KT. Costunolide triggers apoptosis in human leukemia U937 cells by depleting intracellular thiols. *Jpn J Cancer Res*. 2002; 93: 1327-33.
- 15.Lee MG, Lee KT, Chi SG, Park JH. Costunolide induces apoptosis by ROS-mediated mitochondrial permeability transition and cytochrome C release. *Biol Pharm Bull*. 2001; 24: 303-6.

七、圖、表

表一、將木香、劍葉鳳尾蕨以及遠志水萃物各 40 ml (40 gm)用乙酸乙酯 (EA)、正丁醇(BuOH)和水(H₂O)做分配萃取(partition)，分別得到木香、劍葉鳳尾蕨以及遠志的乙酸乙酯、正丁醇和水層的粗萃物，之後乾燥並且秤重。

三種較有效化合物分層萃取後之重量

水萃物	重量(mg)		
	EA layer	<i>n</i> -Butanol layer	H ₂ O layer
劍葉鳳尾蕨	141.89	172.22	223.92
遠志	84.40	1226.85	374.02
木香	66.74	429.65	442.55

表二、十五種中藥水萃物對人類肝癌 HepG2 細胞、Hep3B 細胞與 Huh-7 細胞的生長抑制作用。在培養中的人類肝癌細胞加入不同濃度之藥物處理 48 小時。之後以 MTT 方法測定 540 nm 的吸光度，並計算藥物抑制細胞生長的 IC₅₀ (n=3)。試驗藥物以濃度 0、2.5、5、10、20、40 mg/ml。若低於 IC₅₀ 2.5 mg/ml，以最大到 4 mg/ml 的濃度稀釋測試。

Cytotoxic effects on HCCs

IC ₅₀ (mg/ml)	HepG2	Hep3B	Huh7
劍葉鳳尾蕨	1.420	1.510	3.390
大棗	31.230	29.400	14.330
酸棗仁	7.600	13.350	4.100
遠志	0.800	0.030	2.310
荊三稜	>40.000	>40.000	>40.000
木香	5.590	3.050	3.750
縮砂	27.360	18.200	31.240
川木通	24.240	23.560	26.530
烏藥葉濃縮液	4.062	6.718	2.981
靈芝	12.535	12.968	18.267
大建中湯	7.184	6.977	7.876
小建中湯	7.758	12.043	10.254
加味歸脾湯	6.962	6.923	10.211
半夏白朮天麻湯	14.667	14.998	8.806
小青龍湯	9.939	5.193	9.572
Doxorubicin (ug/ml)	0.310	0.570	0.390

表三、劍葉鳳尾蕨、遠志和木香之乙酸乙酯(EA)、正丁醇(BuOH)和水(H₂O)分層萃取物對人類肝癌 HepG2 細胞、Hep3B 細胞與 Huh-7 細胞的生長抑制作用。在培養中的人類肝癌細胞加入不同濃度之藥物處理 48 小時。之後以 MTT 方法測定 540 nm 的吸光度，並計算藥物抑制細胞生長的 IC₅₀ (n=3)。試驗藥物以濃度 0、12.5、25、50、100、200 μg/ml。

Cytotoxic effects on HCCs

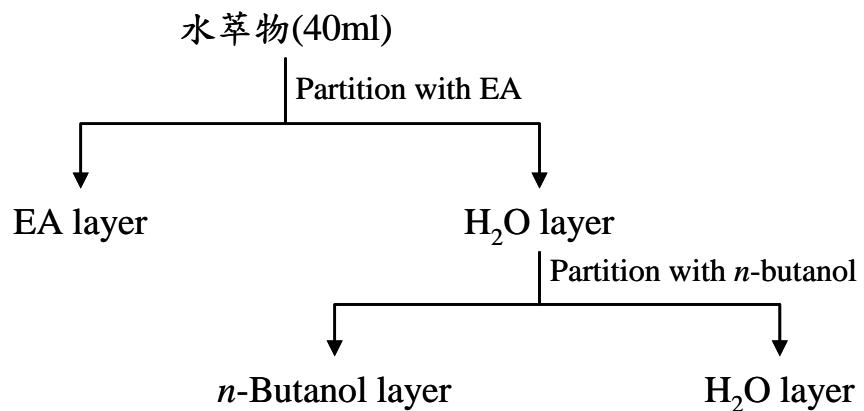
IC ₅₀ (ug/ml)	HepG2	Hep3B	Huh7
劍葉鳳尾蕨-EA	>200	>200	>200
劍葉鳳尾蕨-ButOH	>200	>200	>200
劍葉鳳尾蕨-H ₂ O	>200	>200	>200
遠志-EA	>200	>200	>200
遠志-ButOH	163.720	>200	>200
遠志-H ₂ O	>200	>200	>200
木香-EA	45.760	20.940	54.460
木香-ButOH	>200	>200	>200
木香-H ₂ O	>200	>200	>200
Doxorubicin	0.310	0.031	0.390

表四、劍葉鳳尾蕨、大棗、酸棗仁、遠志、荊三稜、木香、縮砂、川木通等中藥材水萃物對抑制 LSP 誘導小鼠巨噬細胞一氧化氮生成的抗發炎活性測試。在培養中的 Raw264.7 細胞加入不同濃度之藥物處理 24 小時。之後以 Griess reagent 測定 570 nm 的吸光度，和以 MTT 方法測定 540 nm 的吸光度，並計算藥物抑制細胞生長和抑制一氧化氮生成的 IC₅₀ (n=3)。試驗藥物以第一次以濃度 0、6.25、12.5、25、50、100 μg/ml 進行測試，第二次以 0、2.5、5、10、20 μg/ml 測試。

LPS 誘發 Raw264.7 小鼠巨噬細胞發炎

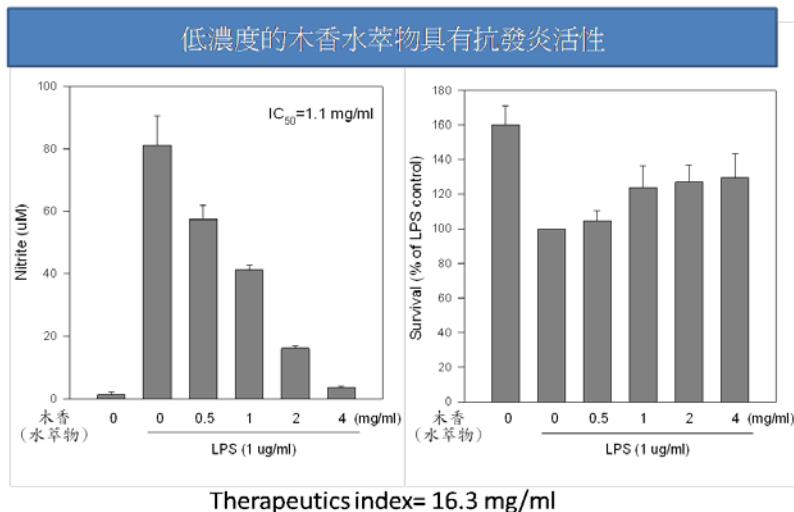
IC ₅₀ (mg/ml)	Nitrite Production	MTT assay
劍葉鳳尾蕨	2.20	>20
大棗	12.50	>20
酸棗仁	>20	>20
遠志	3.00	8.50
荊三稜	>20	>20
木香	1.10	17.90
縮砂	>20	>20
川木通	15.60	>20

圖一



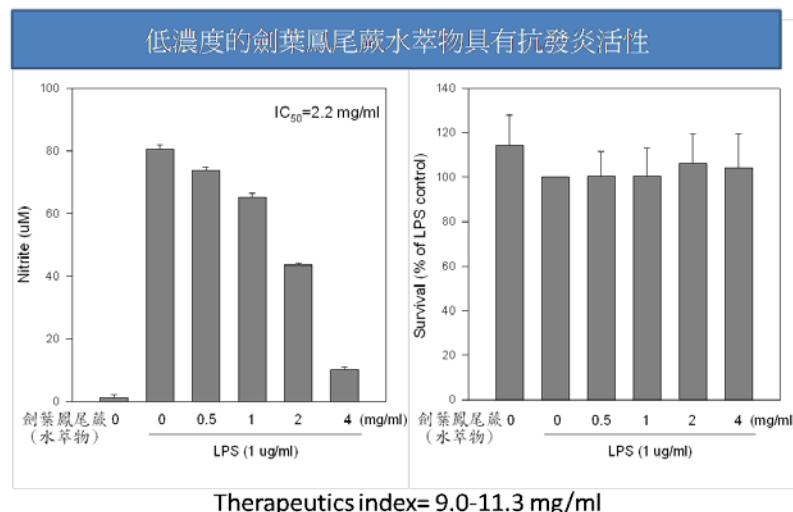
圖二

LPS induces Nitric Oxide Formation in Raw264.7 Macrophage

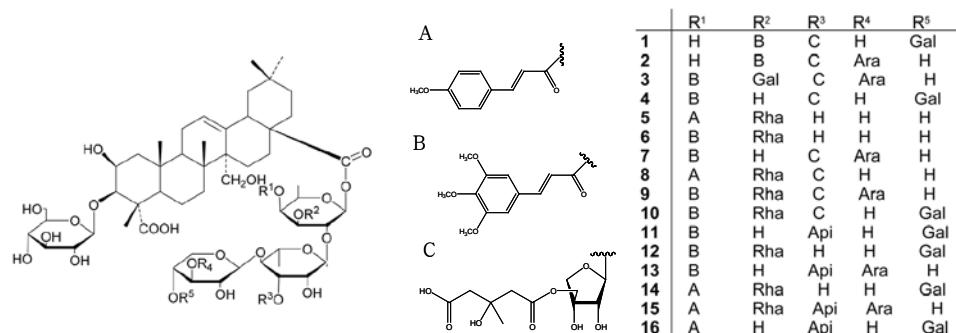


圖三

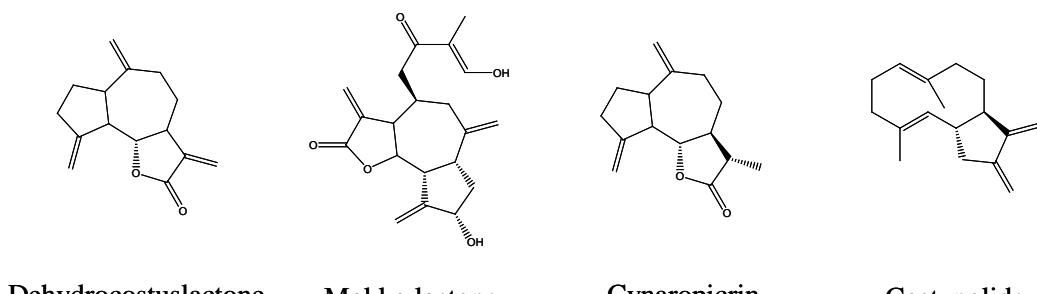
LPS induces Nitric Oxide Formation in Raw264.7 Macrophage



圖四



圖五



牛樟芝精油成分誘發細胞免疫活性之藥物表觀基因體學、蛋白質體學與系統生物學分析

陳水田
中央研究院 生物化學研究所

摘要

研究目的：

牛樟芝(*Antrodia camphorata*)為臺灣特有且稀有的中藥藥材，有許多研究指出牛樟芝具有治療包括腹瀉、皮膚搔癢、急性肝炎與癌症等疾病之能力。然而，相關研究大多是以牛樟芝萃取之混合物進行，因此，對於牛樟芝萃取物中之單一成分化合物的藥效分析與生物活性等特性所知有限，造成藥效品質控管與應用研究方面等限制。關於牛樟芝的相關研究中，香氣分子的成分鑑定與生物活性分析從未被報導，因此本研究是利用牛樟芝香氣化合物中的單一成分： γ -dodecalactone (γ -DDL)，進行誘發人體免疫單核球細胞之活性探討，並藉由免疫活性測定平台分析基因與蛋白質表現。此外針對精油之主成分 γ -dodecalactone 進行化學修飾，探討 γ -dodecalactone 上之各官能基，對於提昇免疫活性表現之影響。

研究方法：

本研究使用牛樟芝之香氣分子，利用氣相層析儀(GC/MS)分析其成分組成，並利用人類臍帶血單核細胞(hUCB-MNCs)與人類周邊血單核球細胞(hPBMCs)進行細胞模型分析。分析方式為利用 γ -DDL 刺激免疫細胞，並利用高壓液相層析儀(HPLC)偵測 γ -DDL 進入細胞之速率，以及在細胞內之穩定性。利用對掌性衍生劑(chiral derivatising agents)及高壓液體層析(HPLC)分離具有活性結構的 γ -DDL，結果顯示 R 結構的 γ -DDL 具有活化自然殺手細胞的能力。此外，也鑑定出存在於牛樟芝中的 γ -DDL 是屬於 R 結構。利用流式細胞儀(flow-cytometry)，針對人類 T 細胞免疫活化早期指標 CD69，進行螢光抗體辨識分析，藉以辨認細胞免疫活化發生與提昇比例；使用免疫細胞族群標記(CD56/NK, CD3/T, CD19/B, CD14/Monocyte, CD83/Dendritic cells)，配合 CD69 螢光染色進行雙色螢光分析，藉以分析免疫細胞中單一細胞族群之活化程度。利用經活化後之人類 NK 細胞，對 HepG2 細胞株（經過 pEGFP-C3 轉染，並利用 G418 抗生素篩選具有綠色螢光蛋白質表現之細胞株）進行毒殺實驗，並利用螢光儀分析，藉以證明免疫活化對於提昇抗癌效果之影響。利用定量聚合酶連鎖反應(Q-PCR)分析，確認包括 IL-2、FasL 與 Granz B 等免疫細胞內之特定蛋白質，在受到 γ -DDL 刺激後之基因表現。最後是利用鹼性條件，對 γ -DDL 進行開環反應，形成 4-hydroxydodecanoic

acid，針對其羧酸基(carboxy group)以及氫氧基團(hydroxy group)進行取代反應，藉此了解 γ -DDL 中之各官能基團對於生物活性之意義。

結果討論：

由實驗結果證實，牛樟芝精油之主成分為 γ -DDL (>98%)，而且在細胞中會自然發生開環反應，形成 4-hydroxydodecanoic acid。利用 γ -DDL 刺激 hUCB-MNCs 與 hPBMCs 之後，確實能有效提昇 CD69 表現，且各族群之免疫細胞都會受到刺激而提昇免疫活性表現。進一步進行抗癌測試發現，NK 細胞受到調控後，確實能提昇對癌細胞之毒殺能力，因此可以推斷， γ -DDL 的確具有發展成為免疫調控藥物之潛力，且未來具有應用於細胞療法(cell therapy)的應用價值。

關鍵詞：牛樟芝、 γ -dodecalactone、免疫調控、CD69

A Combinatorial Approach to Idehtify Immuno- Modulating Activity Compound from *Antrodia Camphorata* Volite Oil by Pharmacoepigenomic, Proteomic and System Biology Analysis

Chen, Shui-Tein
Academia Sinica, Institute of Biological Chemistry

ABSTRACT

Aim:

Antrodia camphorata (*A. camphorata*) is a rare type of Chinese medicine in Taiwan. Many studies have shown that *A. camphorata* possesses therapeutic activities against diarrhea, itching, acute hepatitis and cancer. However, most studies were performed by using compound mixtures of the crude extract, and the information about the chemical analysis and bioactivity of the single constituents is limited, which impedes the quality control and application of the therapeutically active compounds. Among the *A. camphorata*-related studies, the identification and activity of its volatile molecules have never been reported. Therefore, the present study focuses on the immuno-activating effect of a single volatile compound, γ -dodecalactone (γ -DDL), on human mononuclear cells by the application of an immuno-analysis platform and gene expression analysis. Furthermore, γ -DDL, the major component of the volatile oil, will undergo chemical modifications, and the ration of various functional groups on its immuno-activating effect will be discussed.

Method:

In the present study, the volatile molecules were analyzed by gas chromatography/mass spectroscopy (GC/MS) for composition analysis, and human umbilical cord blood mononuclear cells (hUCB-MNCs) and human peripheral blood monocytes (hPBMCs) were used as the cell model. The immune cells were stimulated with γ -DDL, and the rate of cellular uptake and intracellular stability of the compound was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). By immuno-staining of CD69, the early activation marker of T cells, and flow cytometry analysis, the ratio of immuno-activating effect can be determined. By double staining of CD69 and the cell-specific markers (CD56/NK, CD3/T, CD19/B, CD14/Monocyte, CD83/Dendritic cells), the immuno-activation of single cell population can be determined. Activated human natural killer (NK) cells showed enhanced cytotoxicity against HepG2 cells (transfected by pEGFP-C3 and selected by antibiotics G418 to

select GFP-expressing cells). Q-PCR analysis confirmed the enhanced gene expression of IL-2, FasL and Granzyme B in immune cells. Finally, γ -DDL was shown to transform into its open-ring form, 4-hydroxydodecanoic acid (4-HDDA) under basic environment. The carboxyl group and hydroxyl group of 4-HDDA were substituted with different functional groups in order to understand the structural influence on its biological activity.

Results & Discussion:

According to the results above, the major composition of the volatile oil of *A. camphorata* was found to be γ -DDL (> 98%), which undergoes a ring-opening process to form 4-hydroxydodecanoic acid in the cell. Stimulating hUCB-MNCs and hPBMCs with γ -DDL did exert enhancing effect on the CD69 expression, and every cell population demonstrated increased immuno-activity. Further studies showed that NK cells could be regulated to enhanced cytotoxicity of cancer cells. Thus, γ -DDL exhibits good potential as an immuno-modulating drug and values of application for cell therapy.

Keywords: *Antrodia camphorata*, γ -dodecalactone, immuno-modulation, CD69

壹、前言

牛樟芝為一臺灣特有種之中藥藥材，先前許多研究指出，牛樟芝具有治療包括腹瀉、皮膚搔癢、急性肝炎、抗發炎[1,2]、抗氧化[3-5]、抗 B 型肝炎[6]、神經保護[7,8]、免疫調控[9]與抗癌症[10,11]之效果。雖然已知牛樟芝具有多種治療疾病的能力，但是牛樟芝的生長速度非常緩慢，因此大幅限制了其應用性。為了克服牛樟芝生長速度緩慢的缺點，因此，本研究利用發酵培養牛樟芝菌絲體，以克服應用缺陷。另一項應用上的限制，則是牛樟芝萃取物為混合物，單一成分之功效難以鑑定，因此造成了研究上的困難。在牛樟芝單一成分的研究中，最被廣泛討論的，就是多醣體(poly sacharride)與 triterpenoids，前者被用於免疫調控，而後者被用於抗癌研究。然而，在諸多的研究中，關於牛樟芝香氣分子的效用，則從未被討論過。

天然植物的揮發性油脂，已被廣泛用於保健與化妝品，並具有多種生理上的應用性[12]。例如茶樹精油被用於抗菌、防腐等應用[13]，薰衣草精油被用於抑制過敏反應，降低抗組織胺分泌以及特定細胞激素分泌[14-17]。然而，植物揮發性精油對於免疫系統的調節，卻很少被探討。

本研究針對牛樟芝菌絲體產生之揮發性精油進行純化鑑定，鑑定結果確定其成分為 γ -dodecalactone (γ -DDL)，進一步利用人類臍帶血免疫細胞(hUCB-MNCs)與周邊血免疫細胞(hPBMCs)進行生物活性分析，結果證實 γ -DDL 確實能有效提昇 CD69(T 細胞早期活化指標)的基因與蛋白質表現，同時具有調控 NK 細胞之細胞毒殺效果，增加毒殺 HepG2 細胞株的效果。因此證實 γ -DDL 能有效調控、活化免疫細胞之活性，提昇人體抗癌能力。

貳、材料與方法

本研究是利用牛樟芝菌絲體之揮發性精油，測試其活化免疫系統之效果。針對相關材料之純化與活性分析，分別論述於下。

一、自牛樟芝菌絲體純化牛樟芝精油

我們對 B71 牛樟芝菌絲體進行培養[5]，培養條件為於 2 公升培養瓶中，27-30°C 下，培養 2-3 個月，再以真空濃縮乾燥機(R-3000, Buchi)對培養液進行濃縮乾燥，氣體部分以 -50°C 的丙酮/乾冰混合液進行回收濃縮，收取之揮發性氣體於 4°C 下進行保存。

二、分析與鑑定牛樟芝精油成分

將牛樟芝揮發性液體與市售的 γ -dodecalactone (γ -DDL)，分別溶於正己烷(hexane)中，接著利用氣相層析(gas chromatography, GC)，在 Hewlett Packard6890 以及毛細管柱(Agilent DB-1, 300×0.25 mm)，並利用氮氣作為流動氣體以進行分析。注射溫度為 220°C，管柱初始溫度為 180°C，接著以每分鐘 8°C 的速度增加溫度，達到 260°C，並利用 flame ionization detector (FID)，於 260°C 下進行偵測。使用 ShimadzuGC-MS QP2000 系統，搭配 Supelcowax 10 毛細管管柱(600×0.25 mm)進行定量，並且利用 70eV 離子化能量的電子衝擊(Electron Impact, EI)系統進行定性分析。GC 反應初始溫度為 150°C，以每分鐘 5°C 的升溫速度達到 240°C，注射與偵測溫度皆為 240°C。

三、免疫活性特性測試

將細胞在 24 孔盤中，以每孔盤 1×10^6 顆細胞的密度進行培養，並以 γ -DDL 予以刺激。刺激結束後，以離心方式將細胞收集下來，以 PBS 清洗兩次，最後以 $100\mu\text{l}$ 將細胞懸浮其中，再加入有螢光染劑的抗體($10\mu\text{l}$ 抗體/ $100\mu\text{l}$ 細胞溶液)，4°C 下，培養 30 分鐘 進行螢光標記。雙色螢光標記實驗中，利用兩種不同螢光標劑的抗體進行染色，染色完成後，以 PBS 清洗兩次，再以 4% 的對甲醛(paraformaldehyde)進行固定，並存放於 4°C 進行保存。最後，以流式細胞儀進行偵測，比較螢光強度差異，並以 WinMDI 2.8 軟體進行分析。

四、細胞毒性測試

我們使用 WST 分析方法，進行細胞毒性測試，茲就此方法簡單介紹。首先，將細胞以 4000 顆/每孔盤/ $10\mu\text{l}$ 進行培養一天。之後，用 γ -DDL 予以刺激 48 小時，然後以 WST-1 試劑，以 $10\mu\text{l}$ /每孔盤的比例加入，於 37°C，5% 二氧化碳的環境下，放置 4 小時。接著使用光譜分析，偵測 450nm 下之吸收強度 (參考波長為 630nm)，實驗重複三次。

五、利用流式細胞儀偵測 CD69 表現

自人類周邊血單核球細胞中，將 CD56+/NK 細胞以磁珠分離法(nagative magnetic bead-cell separation method，自 MACS 購得)進行純化分離。以螢光標記 FITC 之 CD56 抗體，對純化物進行純度測試。高純度之 CD56+/NK 細胞培養於 RPMI-1640 培養基中，然後以四種不同濃度(分別為 100、250、375 以及 $500 \mu\text{M}$)之 γ -DDL 予以刺激。24 小時之後，將細胞離心收集，再以 PBS 清洗兩次，並以有螢光染劑 PE 標記的 CD69 抗體，進行 NK 細胞表現 CD69 程度測試，以流式細胞儀進行分析。

六、細胞內萃取與 GC 分析

將人類單核球細胞與 NK 細胞，以 10^7 細胞/1 毫升的密度，再加入 $1 \mu\text{l}$ 的 γ -DDL，於特定時間點下進行培養並將培養基回收，細胞則是以離心方式取得，並以冰的 PBS 清洗。接著，細胞以超音波破碎法進行碎裂，並以 12000g 離心 10 分鐘，將液體與固體分離。細胞核是以低滲透壓緩衝液(10mM HEPES，pH7.9，10mM KCl，0.1mM EDTA，0.1mM EGTA，1mM DTT，0.5mM PMSF，1mM NaF 以及 1mM Na_3VO_4)進行萃取，於冰浴中靜置 15 分鐘，之後加入 0.5% NP-40，震盪 10 秒。以 PBS 將沈澱物懸浮，並以 Bradford 分析法進行蛋白質濃度分析。以 $20 \mu\text{l}$ 正己烷萃取培養基與細胞裂解液中的 γ -DDL，然後以 GC 分析萃取液中的 γ -DDL 濃度。

七、定量聚合酶連鎖反應

分別以 γ -DDL 以及 4-hydroxydodecanoic acid(濃度皆為 $375 \mu\text{M}$)刺激人類免疫單核球細胞，於不同時間點(10 分鐘到 12 小時間)下進行測試。使用 TRIZol 試劑(Invitrogen Life Technologies)將細胞內之 RNA 萃取出來，取其中 $2 \mu\text{g}$ 的 RNA，藉由 Superscripr II Reverse Transcriptase(Invitrogen Life Technologies)，將 RNA 反轉錄成 cDNA 的形式。使用 LightCycler DNA Master SYBR Green I 套組(Roche)進行聚合酶連鎖反應。其中，引子(primer)的設計，是藉由 LightCycler Primer Design2 軟體而設計得到。結果分析時，以 GAPDH 的 mRNA 表現量當作相對度量以進行比較。聚合酶連鎖反應之反應條件為： 95°C 下 10 分鐘、接著為 45 次反應循環(95°C 下 10 秒， 65°C 下 5 秒及 72°C 4 秒)。

八、螢光顯微鏡分析

為偵測 NK 細胞受刺激後，對癌細胞毒殺能力之變化，因此我們以 HepG2(經 pEGFP-C3 轉染，G418 抗生素篩選，因此能產生綠色螢光蛋白)細胞株當作目標，進行毒殺效果測試。將 NK 細胞與 HepG2 細胞株進行共同培養，NK 細胞同時以 γ -DDL ($375 \mu\text{M}$)刺激，提昇活化效果。培養結束後，將 HepG2 細胞株以螢光顯微鏡進行觀測(Olympus IX 70)，並以高解析數位相機(Olympus DP 50)進行影像擷取。

九、化學合成 4-hydroxydodecanoic acid

將 γ -DDL 與 KOH，以 1：1 的比例溶解於甲醇中，於室溫下攪拌反應一天，反應完成，將此溶液以 2N HCl 滴定至中性，然後以真空旋轉濃縮儀將溶劑移除。產物回溶於 CHCl_3 ，以水進行萃取，最後再以 MgSO_4 ，將有機相中殘留之水分移除。產物以矽膠管柱層析 (以 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=40/1$ 為移動相)，純化後之產物乾燥後，為一白色固體。以 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) 分析結果如下：3.63-3.65 (m, 1H, H-4), 2.48 (t, 2H, $J=7.3$ Hz, H-2), 1.66-1.85 (m, 2H, H-3), 1.23-1.44 (m, 14H, H-5-H-11), 0.86 (t, 3H, $J=6.5$ Hz, H-12)。

十、鏡像誘導劑分離鏡像化合物

γ -DDL 為一鏡相混合物，因此本研究利用鏡相誘導劑(chiral derivatizing agent)方式，進行鏡相混合物分離。 (R) - $(-)$ -2-phenylpropionic acid 為鏡相誘導劑，會與 γ -DDL 進行交互作用。反應完成後，混合物以 normal phase 進行 HPLC 分離(4.6×250 mm, Silica-60)，並搭配 L-4250 UV-Vis 偵測器，L-7100 幫浦(Hitachi)，分離條件為利用正己烷/乙醚(98/2)當作移動項，流速固定為 4ml/每分鐘，流動 30 分鐘，以 220nm 波長條件，進行偵測。經過色層分析純化後之化合物，利用水解以得到高純度之單一鏡相立體異構物，並以 ^1H NMR 以及旋光儀進行量測分析。

十一、HPLC 分析

牛樟芝發酵液(250ml)以二氯甲烷進行萃取三次 (發酵液：二氯甲烷 = 2.5：1)，萃取完成後，將二氯甲烷移除，萃取物溶於 acetonitrile (ACN)，並以 reversed phase HPLC 管柱(4.6×150mm, C18)，於 95% ACN+4% 水 + 1% 磷酸以及 1% 磷酸 + 99% 水，兩者以 60：40 比例為移動相，流速為每分鐘 1ml 進行 20 分鐘偵測與分析。UV 偵測波長為 214nm。

參、結果

一、自牛樟芝發酵液的揮發性油脂中，鑑定主成分为 γ -DDL

自牛樟芝菌絲體(B71)發酵液中，純化揮發性分子的步驟，如 Scheme 1 所示。1000 毫升培養基，以旋轉真空濃縮將揮發性氣體抽出，再以-50°C 的丙酮/乾冰溶液，將揮發性分子凝結收集下來(3.05ml)。以 GC 及 GC-MS 進行分析。圖一所示為 GC 分析的結果，精油之樣品的 retention time 為 4.8 分鐘(如圖 1B)，純 γ -DDL 的 retention time 也是 4.8 分鐘。進一步藉由 GC-MS 分析，也可以確認化合物為 γ -DDL (m/z 198)。

二、利用 γ -DDL 刺激與活化人類周邊血單核球細胞中的 NK 細胞

利用 PMA (控制組) 與 γ -DDL 分別刺激免疫細胞，並偵測 CD69 的表現，以判斷活化免疫能力效果。利用不同濃度的 γ -DDL，對免疫單核球細胞刺激 24 小時，然後分別以螢光染色之抗體與螢光標記的 CD69 抗體，對免疫單核球細胞進行雙色染色，以判斷各細胞族群之免疫活化效果。結果顯示，CD56+/NK 細胞以及周邊血單核球細胞，明顯受到調控而提昇 CD69 表現，而且與濃度成比例 (圖二、A)，細胞毒性測試顯示， γ -DDL 在 375 μ M 的濃度下，並不會對細胞產生毒性 (圖二、B)。

三、 γ -DDL 直接刺激 NK 細胞活化

由於人類單核球免疫細胞中，有多種不同細胞族群，因此，不同細胞間，可能會產生 cross-talk，進而影響免疫調控效果。例如，monocyte 與 T 細胞，可能會藉由分泌 NK-stimulating 細胞激素。因此，為了解 NK 細胞受刺激後，CD69 表現提昇是受到直接或間接調控，因此必須進行 NK 細胞純化。利用磁珠分離法，我們將 CD56+/NK 細胞進行純化並分離，接著利用流式細胞儀，偵測受刺激後的 NK 細胞，其 CD69 與 granzyme B (GraB)、Fas ligand (FasL) 等細胞毒殺蛋白的分泌表現，以評估 NK 細胞受活化之程度。 γ -DDL 濃度，對於刺激 GraB、FasL 的效果也一併被探討，並以 IL-2 當作控制組進行比較。如圖三所示， γ -DDL 刺激 NK 細胞產生 CD69 表現，與濃度呈現相關性。GraB 與 FasL 的表現效果，分別提昇 1.5 與 2.5 倍。此外，NK 細胞受到刺激後，對癌細胞毒殺效果的能力也被探討。以 HepG2 細胞株當作癌細胞模式，以螢光顯微鏡觀測 NK 細胞毒殺癌細胞之效果，結果如圖四所示。結果顯示，NK 細胞以 γ -DDL 刺激 24 小時後，HepG2 (含綠色螢光蛋白質表現) 明顯受到活化後的 NK 細胞影響，細胞存活率大幅下降。NK 細胞的活化因子的基因表現的測量結果，也再次證實此現象。以 γ -DDL 以及 IL-2 (控制組) 分別刺激細胞 4 小時，並以 Q-PCR 偵測 CD69、IL-2、GraB、FasL、TNF 以及 IFNG 的基因表現。結果顯示，IL-2 明顯提昇 CD69、TNF、IFNG、GraB 以及 FasL 等五種基因的表現，但是 IL-2 基

因的表現卻未獲提昇。然而，以 γ -DDL 刺激後的六種基因表現卻都同時獲得提昇（如圖五所示）。因此，我們假設 γ -DDL 可以直接刺激 NK 細胞之活性，並誘導其活化。

四、 γ -DDL 於 NK 細胞中的分佈狀態

為了解 γ -DDL 在細胞內產生何種作用，因此，我們以 γ -DDL 刺激 NK 細胞，並分離出細胞核、細胞質與細胞膜等部分，並分析其含有 γ -DDL 的濃度。細胞核、細胞質與細胞膜的部分，分別以正己烷萃取，再以 GC 進行分析。我們發現，培養基中的 γ -DDL 濃度，會隨著細胞培養時間而遞減，並且在 3 小時後達到最低。細胞內的 γ -DDL，則是在細胞培養 30 分鐘之後，可以被偵測到，然而，三小時之後，便失去信號。因此，我們假設 γ -DDL 進入細胞之後，會發生開環反應而變成 4-hydroxydodecanoic acid，因此無法被正己烷萃取出來。為了證實這個假設，我們在 0 到 60 分鐘之間，偵測 γ -DDL 在培養基與 NK 細胞內的比例，如圖六所示。結果顯示， γ -DDL 並未如先前預期，在單核球或 NK 細胞內被偵測到。

五、 γ -DDL 在 NK 細胞中轉化為 4-hydroxydodecanoic acid

在細胞質內， γ -DDL 的濃度會再 20 分鐘後持續遞減，因此我們假設 γ -DDL 在細胞內會受到酵素影響而產生變異。為了證明此假設，以 γ -DDL 於連續時間點下，刺激 NK 細胞，細胞萃取液經酸化至 pH2 後，以二氯甲烷進行萃取。萃取物以 C18 的 reversed-phase HPLC 分析，分析結果如圖七所示。培養基中的 γ -DDL，隨著培養時間增加而遞減（進入細胞內），但是 4-hydroxydodecanoic acid 却沒有增加，這應該是由於培養基中不具酵素影響所致。實驗結果證實， γ -DDL 在 NK 細胞內會受到細胞酵素反應，而轉變成 4-hydroxydodecanoic acid。

因為上述原因，我們進一步偵測並鑑定 γ -DDL 與 4-hydroxydodecanoic acid 的活化效果。我們利用化學方式，將 γ -DDL 經由開環反應而形成 4-hydroxydodecanoic acid，並分別於不同時間點下，刺激 NK 細胞，並利用 Q-PCR，偵測受刺激後的 CD69 基因表現效果，結果如圖八所示。結果顯示，受到 γ -DDL 刺激後，NK 細胞於 45 分鐘後，會產生明顯之 CD69 基因表現。然而，以 4-hydroxydodecanoic acid 刺激後，NK 細胞在 10 分鐘後，便會產生 CD69 基因表現，時間差異點與 γ -DDL 轉換成 4-hydroxydodecanoic acid 一致，因此，我們得知 4-hydroxydodecanoic acid 才是主要引起 NK 細胞免疫活化之化合物。

六、(R)-4-Hydroxydodecanoic acid 才具有生物活性

由上述結果可知，4-hydroxydodecanoic acid 能有效誘發 NK 細胞的活化表現。且如圖九所示，只有(R)-(+)-4-hydroxydodecanoic acid 會誘發 NK 細胞的 CD69 基因表現。

肆、討論

藉由磁珠分離法，我們將人類免疫單核球細胞中的 CD56+/NK 細胞分離下來，並且判定 γ -DDL 具有刺激 NK 細胞，提昇 CD69 表現的效果。免疫細胞毒殺目標的方式，大略可分為兩種：perforin/granzymes 以及 Fas/FasL 途徑。利用 γ -DDL 刺激 CD56+/NK 細胞，可以同時提昇 GrB 以及 FasL 的分泌。此外，利用 HepG2/EGFP 細胞模型測試，也可以發現 NK 細胞受到 γ -DDL 的影響，造成 HepG2/EGFP 大量被 NK 細胞所毒殺的現象發生。因此，我們認為 γ -DDL 的確可以刺激 NK 細胞，藉由上述了兩種途徑提昇對癌細胞的毒殺能力（如圖三至圖五所示）。此外，根據圖三與圖五的結果， γ -DDL 會刺激 NK 細胞分泌 TNF- α 以及 INF- γ ，這也意味著 NK 細胞受到的分化刺激為 Th1 免疫反應。

一般而言，GC-MS 大多是用以分析物質的濃度，本研究中，是利用這項特性，來鑑定細胞內經萃取後， γ -DDL 的濃度。結果發現， γ -DDL 能穿透細胞膜而進入細胞內，這可能與其具有強疏水性有關（如圖六所示）。此外，我們也發現對於 NK 細胞與單核球免疫細胞（不分細胞族群）而言， γ -DDL 在細胞內的濃度累積曲線似乎不大相同，這表示 γ -DDL 進入 NK 細胞與單核球免疫細胞的效率不同，這或許也影響了誘發免疫活性的效果與特性機制。在單核球細胞與 NK 細胞中， γ -DDL 分別於 3 小時與 1 小時之後便無法被偵測到，因此，我們推測 γ -DDL 在細胞內，可能被轉換成更高極性的化合物，以致無法被正己烷萃取而得到。

由於大多數內酯(lactone)化合物，在水性環境中都會受到酸鹼性影響，而決定開環或閉環反應。Hydroxycarboxylic acid 受到酸性環境影響，往往會形成 lactone。在血液等鹼性環境下，lactone 往往會產生開環反應，而變成 hydroxycarboxylic acid 的形式存在。因此，我們推斷 γ -DDL 也可能在細胞內，受到細胞內酵素影響，而形成 4-hydroxydodecanoic acid，因此無法被正己烷所萃取出來。藉由 HPLC 偵測，我們發現 γ -DDL 的確是從 lactone 形式，轉換成 4-hydroxydodecanoic acid 而存在。

我們也探討了光學異構物的偵測與分析。以百香果為例，百香果內也存在有 γ -DDL，其組成為 99.9% 的 R 構型，0.1% 的 S 構型。基本上，在大多數天然物中，化合物都是以不同光學異構物的混合而組成。然而，大多是以 R 構型含量存在偏多。本研究中，我們也探討 (R)-(-)-4-hydroxydodecanoic acid 以及 (R)-(+)-4-hydroxydodecanoic acid 的差異。此外，我們也證實 R 構型的 γ -DDL，具有調控免疫活性之作用（如圖九所示），這也說明了，NK 細胞在較高濃度($375 \mu M$)下，會有較高的免疫活化現象發生。

伍、結論與建議

本研究證實 γ -DDL 確實為牛樟芝之揮發性氣體的主要成分，且具有刺激人類單核球免疫細胞與 NK 細胞之活化效果。藉由螢光標記偵測特定生物蛋白質標記，結果顯示 γ -DDL 確實具有提昇單核球免疫細胞與 NK 細胞之抗癌效果。此外，我們證實 γ -DDL 之有效光學異構物為(R)- (+)構型，且 γ -DDL 在細胞內會轉換成 4-hydroxydodecanoic acid，並達到刺激免疫活性提昇之目的。

本研究上有許多探討之處，例如詳細之機制討論、衍生物之相關研究等。因此，建議應持續提供研究經費，以加大研究效益。

誌謝

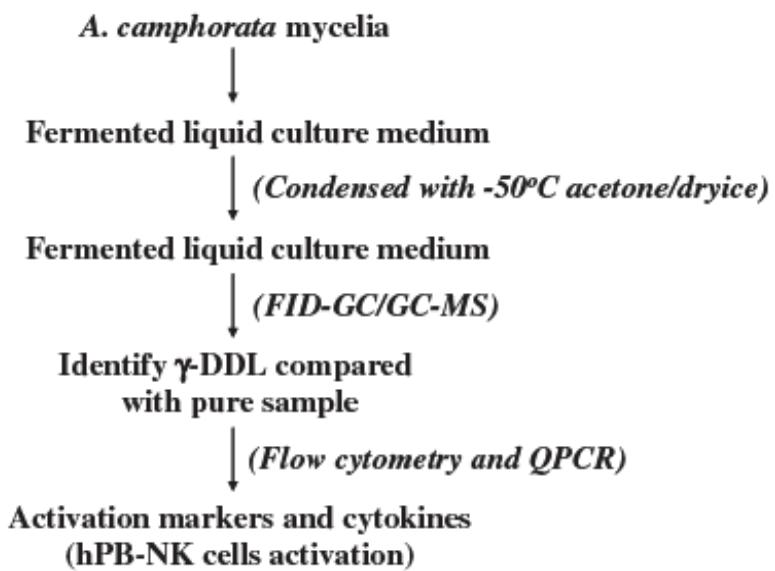
本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會計畫編號 CCMP99-RD-206 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

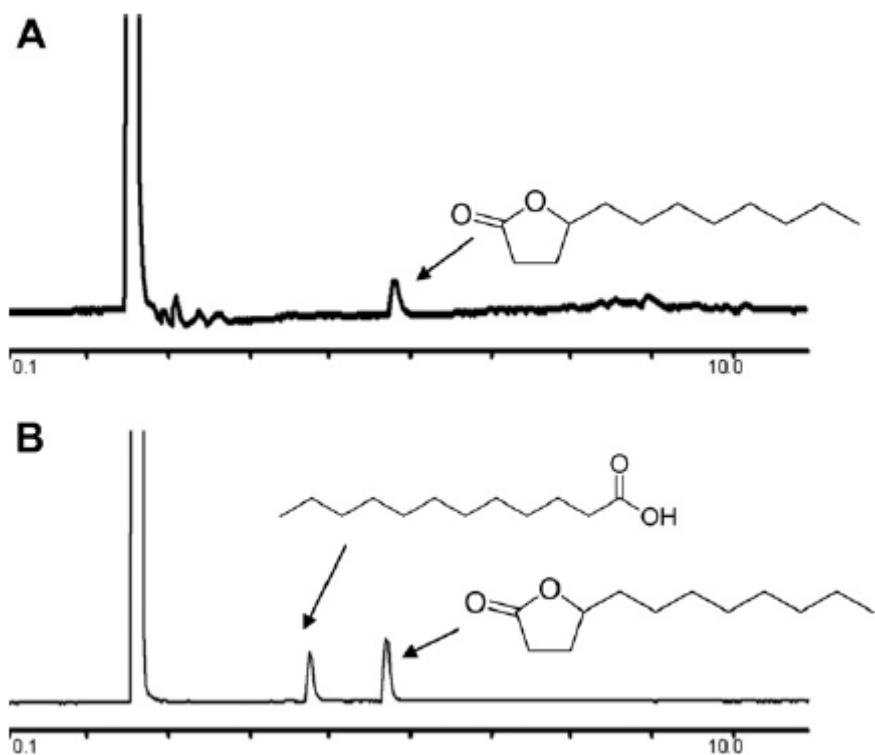
1. Shen YC, Chou CJ, Wang YH, et al. Anti-inflammatory activity of the extracts from mycelia of *Antrodia camphorata* cultured with water-soluble fractions from five different *Cinnamomum* species. *FEMS Microbiol Lett* 2004;231:137-143.
2. Liu DZ, Liang HJ, Chen CH, et al. Comparative anti-inflammatory characterization of wild fruiting body, liquid-state fermentation, and solid-state culture of *Taiwanofungus camphoratus* in microglia and the mechanism of its action. *J Ethnopharmacol* 2007;113:45-53.
3. Hsiao G, Shen MY, Lin KH, et al. Antioxidative and hepatoprotective effects of *Antrodia camphorata* extract. *J Agric Food Chem* 2003;51:3302-3308.
4. Chen JJ, Lin WJ, Liao CH, Shieh PC. Anti-inflammatory benzenoids from *Antrodia camphorata*. *J Nat Prod* 2007;70:989-992.
5. Wang GJ, Tseng HW, Chou CJ, et al. The vasorelaxation of *Antrodia camphorata* mycelia: involvement of endothelial Ca(2+)-NO-cGMP pathway. *Life Sci* 2003;73:2769-2783.
6. Lee IH, Huang RL, Chen CT, et al. *Antrodia camphorata* polysaccharides exhibit anti-hepatitis B virus effects. *FEMS Microbiol Lett* 2002;209:63-67.
7. Chen CC, Shiao YJ, Lin RD, et al. Neuroprotective diterpenes from the fruiting body of *Antrodia camphorata*. *J Nat Prod* 2006;69:689-691.
8. Lu MK, Cheng JJ, Lai WL, Lin YJ, Huang NK. Fermented *Antrodia cinnamomea* extract protects rat PC12 cells from serum deprivation-induced apoptosis: the role of the MAPK family. *J Agric Food Chem* 2008;56:865-874.
9. Cheng PC, Hsu CY, Chen CC, Lee KM. In vivo immunomodulatory effects of *Antrodia camphorata* polysaccharides in a T1/T2 doubly transgenic mouse model for inhibiting infection of *Schistosoma mansoni*. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008;227:291-298.
10. Liu JJ, Huang TS, Hsu ML, et al. Antitumor effects of the partially purified polysaccharides from *Antrodia camphorata* and the mechanism of its action. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004;201:186-193.
11. Hseu YC, Chen SC, Tsai PC, et al. Inhibition of cyclooxygenase-2 and induction of apoptosis in estrogen-nonresponsive breast cancer cells by *Antrodia camphorata*. *Food Chem Toxicol* 2007;45:1107-1115.
12. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods--a review. *Int J Food Microbiol* 2004;94:223-253.
13. Karpanen TJ, Worthington T, Hendry ER, Conway BR, Lambert PA. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine digluconate alone and in combination with eucalyptus oil, tea tree oil and thymol against planktonic and biofilm cultures of *Staphylococcus epidermidis*. *J Antimicrob Chemother* 2008;62:1031-1036.
14. Yamada P, Zarrouk M, Kawasaki K, Isoda H. Inhibitory effect of various Tunisian olive oils on chemical mediator release and cytokine production by basophilic cells. *J Ethnopharmacol* 2008;116:279-287.

15. Serafino A, Sinibaldi Vallebona P, Andreola F, et al. Stimulatory effect of Eucalyptus essential oil on innate cell-mediated immune response. *BMC Immunol* 2008;9:17.
16. Mikhaeil BR, Maatooq GT, Badria FA, Amer MM. Chemistry and immunomodulatory activity of frankincense oil. *Z Naturforsch C* 2003;58:230-238.
17. SaiRam M, Sharma SK, Ilavazhagan G, Kumar D, Selvamurthy W. Immunomodulatory effects of NIM-76, a volatile fraction from Neem oil. *J Ethnopharmacol* 1997;55:133-139.

柒、圖、表

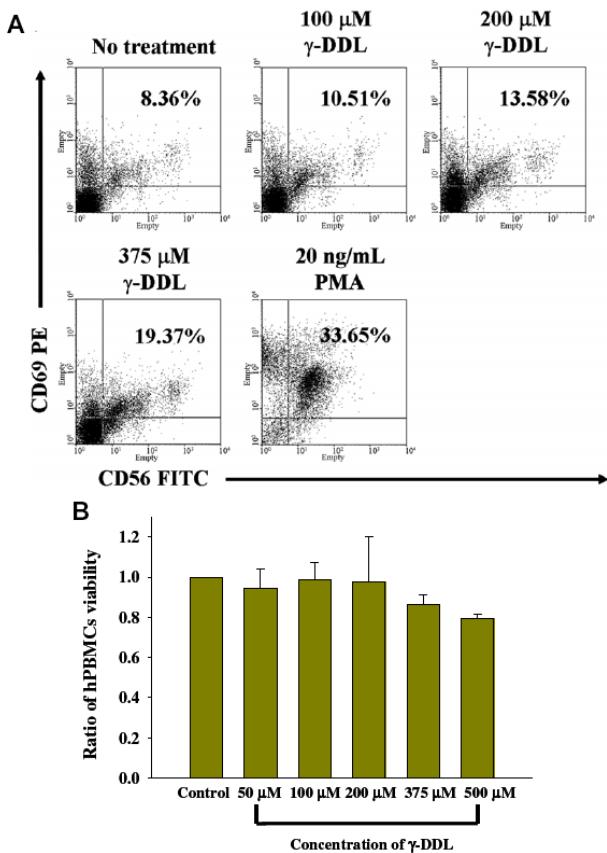


Scheme 1. 自牛樟芝發酵液中，分離 γ -DDL 之步驟簡圖

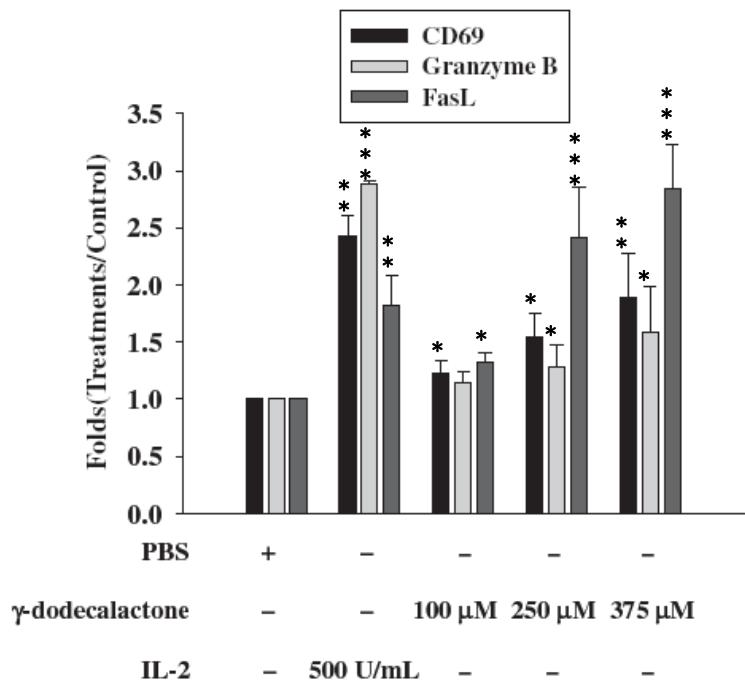


圖一、(A)利用丙酮萃取揮發性成分之萃取物(1 μ l)以 FID-GC 進行分析。

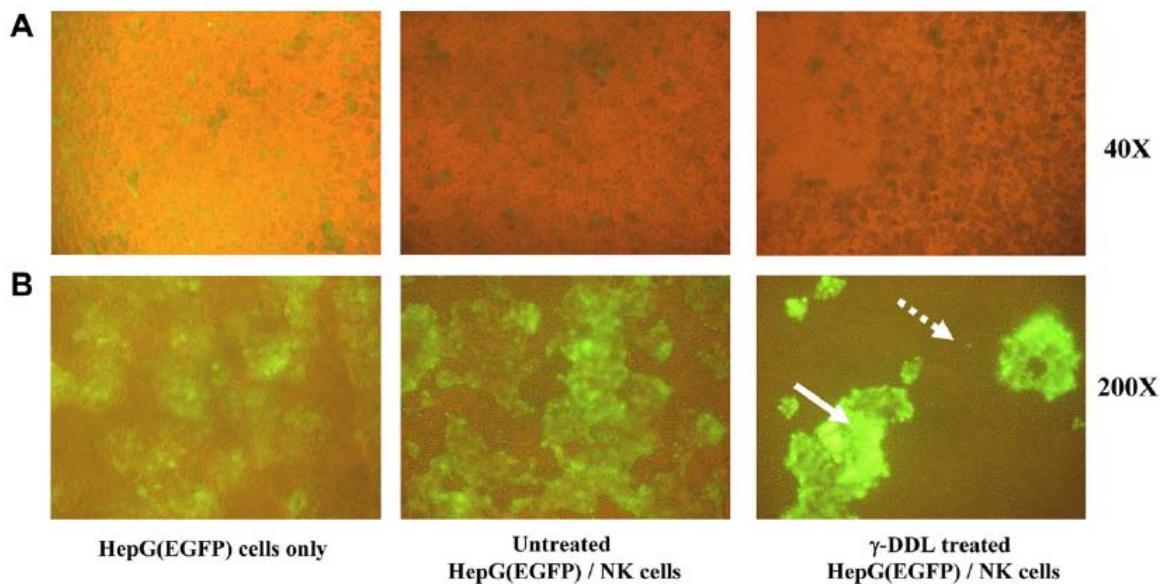
(B)利用 FID-GC 分析 γ -DDL (0.5 μ l)與內標準品 lauric acid (0.5 μ l)。使用 DB-1 毛細管管柱(0.25mm)，溫度梯度自 180°C 到 260°C，升溫速度為每分鐘 8°C，注入溫度與偵測器溫度皆為 220°C。



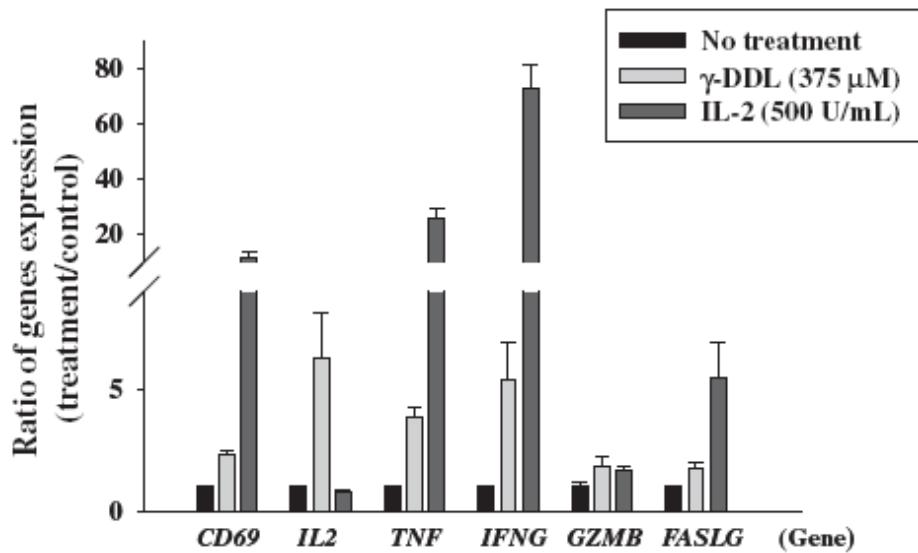
圖二、 γ -DDL 誘導人類周邊血單核球細胞(hPBMC)中的 NK 細胞，增加 CD69 表現。利用 PMA (20ng/ml) 及 γ -DDL 於不同濃度下 (100、200 與 375 μ M)，分別刺激 hPBMC，並使用螢光雙色染色法，針對 NK 細胞之 CD56 進行分析，偵測 NK 細胞的活化程度。(B) 偵測不同濃度(100-500 μ M)之 γ -DDL 對細胞的毒性影響。將不同濃度之 γ -DDL，在 37°C 下加入培養基中進行細胞培養。之後再加入 WST-1 偵測試劑，繼續培養 4 小時。最後以 450nm 波長進行光譜吸收強度分析 (參考光源波長為 630nm)，藉以分析細胞毒性。



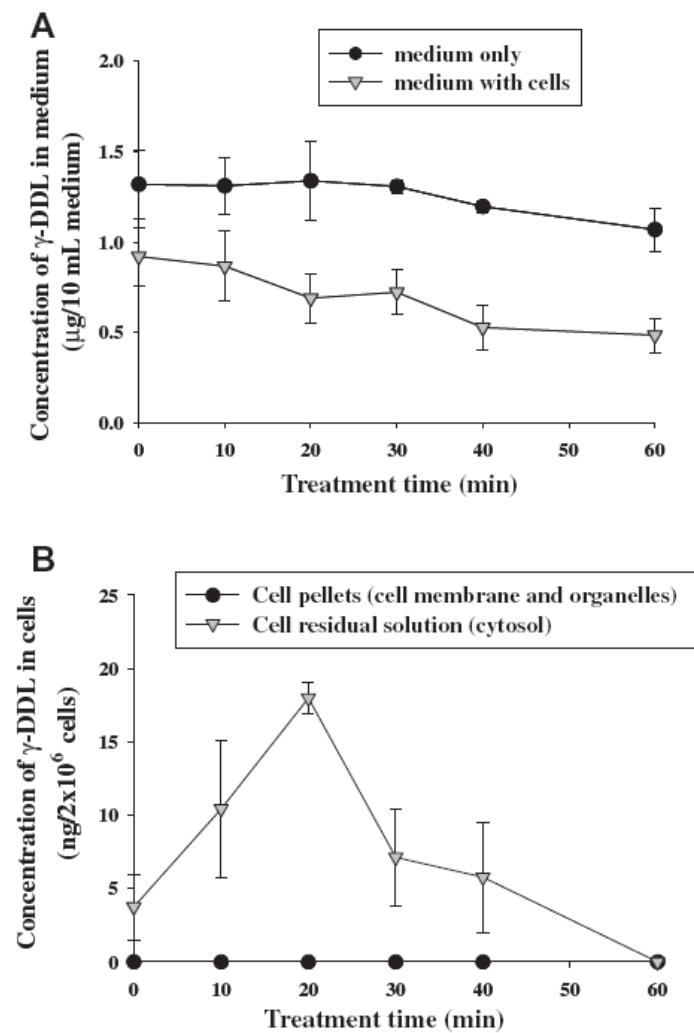
圖三、 γ -DDL 刺激 NK 細胞的 CD69，granzyme B，以及 FasL 的表現。利用磁株細胞分離，將 NK 細胞自 hPBMC 中分離出來，接續以不同濃度之 γ -DDL (100、250、375、500 μ M)或 IL-2 (500unit/ml，當控制組) 刺激 24 小時，最後以流式細胞儀，對 CD69、FasL 及 GraB 的表現進行分析 (*表示統計區間上限在 1.3-2 倍範圍間；**表示統計區間上限在 2-2.5 倍範圍間；***表示統計區間上限在 2.5-3 倍範圍間)。



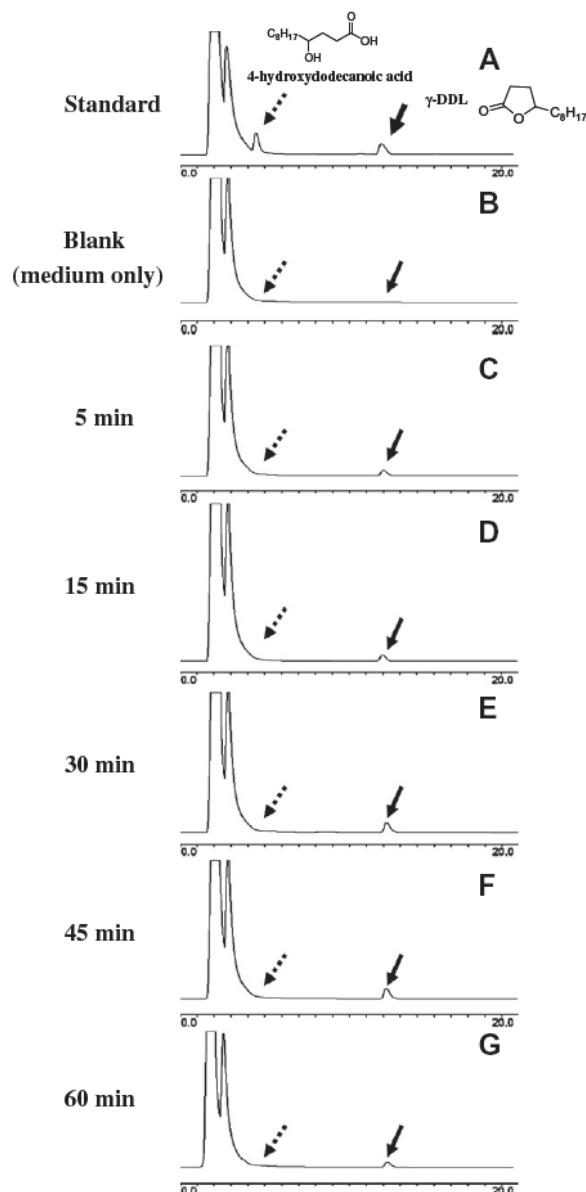
圖四、利用 γ -DDL 活化 NK 細胞，並以 HepG2 (產生綠色螢光蛋白) 細胞株為毒殺目標，分析 NK 細胞受 γ -DDL 刺激活化 24 小時後，對於毒殺癌細胞之效果分析。(A)放大 40 \times (B)放大 200 \times 觀察。



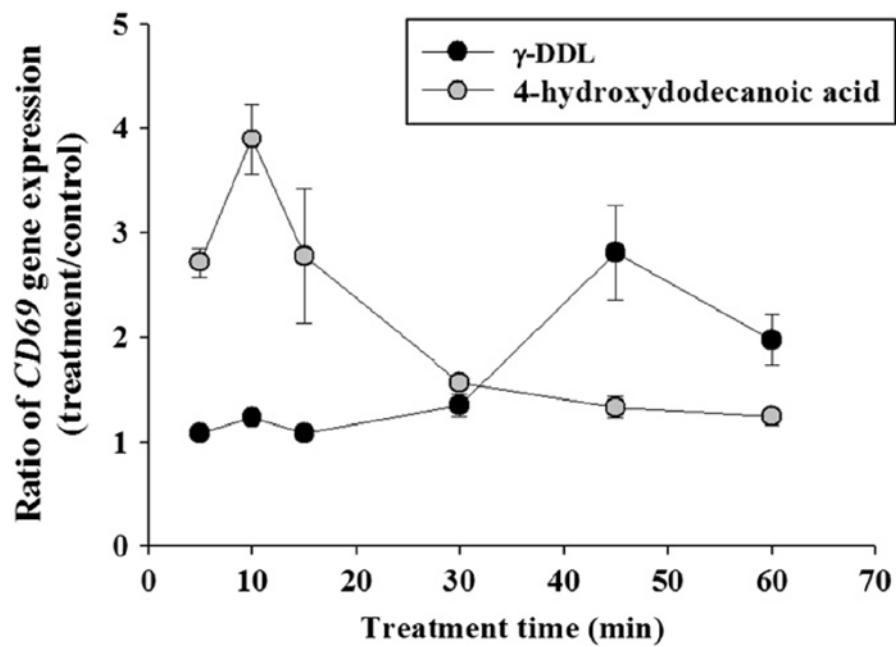
圖五、利用 γ -DDL 活化 NK 細胞的細胞激素(cytokine)與活化因子(activation factor)表現。使用 γ -DDL (375 μ M)或 IL-2 (500U/ml)刺激 NK 細胞 4 小時，接著以定量聚合酶連鎖反應(Q-PCR)偵測 CD69、IL-2、TNF、IFNG、FASLG 及 GZMB 表現。



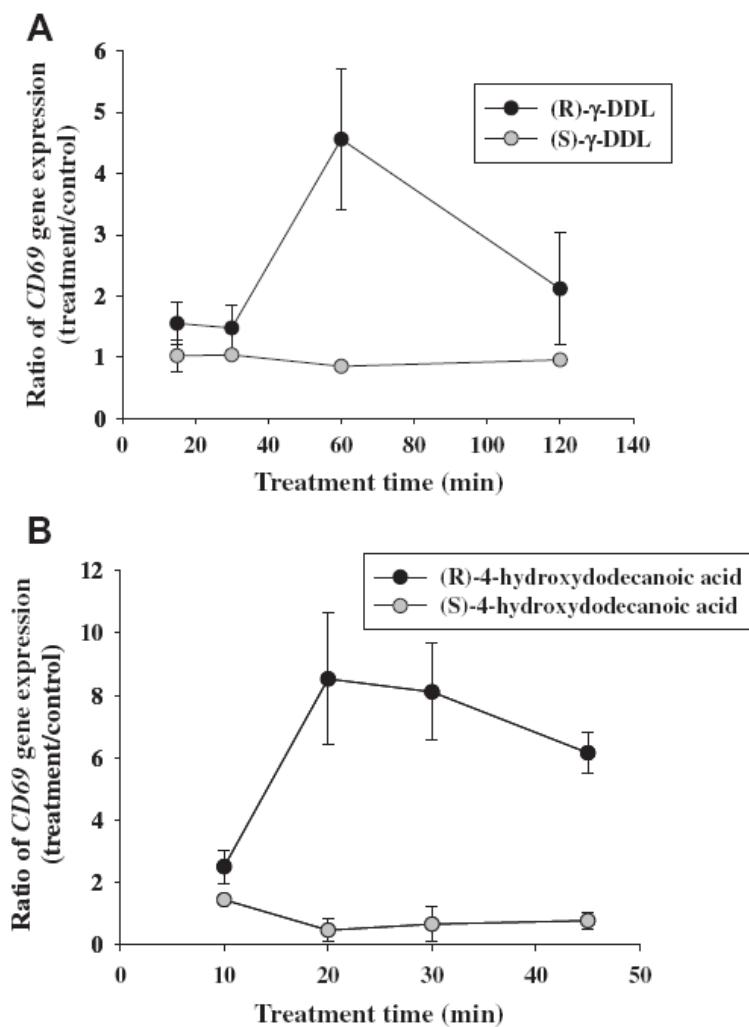
圖六、測量 NK 細胞及培養基中的 γ -DDL 濃度。以 $500 \mu\text{M}$ 的 γ -DDL，對 NK 細胞培養 0、10、20、30、40 及 60 分鐘。細胞與培養基皆以正己烷萃取，並以 GC 進行濃度分析。



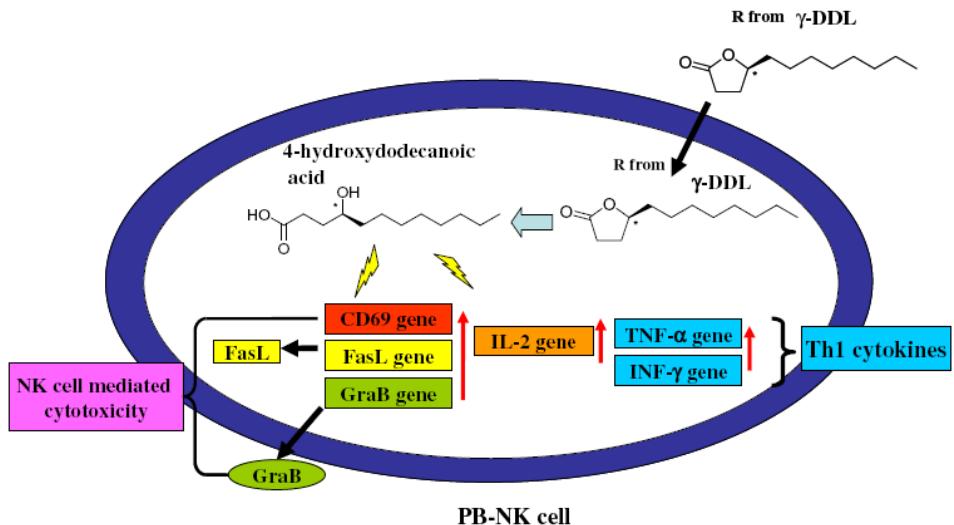
圖七、使用 HPLC 偵測培養基中的 γ -DDL 以及 4-hydroxy -dodecanoic acid 的濃度。(A)實線箭頭為 γ -DDL，虛線箭頭為 4-hydroxy -dodecanoic acid (B-F)不同時間點後，細胞培養基中的濃度。使用 reversed- phase HPLC 管柱(4.6×150mm, C18)進行分析。條件為使用 iso-gradient 作為流動相，UV 波長為 214nm 進行偵測。



圖八、利用 $375 \mu\text{M}$ 之 γ -DDL 以及 4-hydroxydodecanoic acid，於不同時間點（5、10、15、30、45 以及 60 分鐘）刺激 NK 細胞後之 CD69 基因表現差異，使用 Q-PCR 進行偵測。



圖九、使用不同旋光特性(R或S)之 γ -DDL 以及4-hydroxy- dodecanoic acid刺激NK細胞後,CD69表現差異。(A) NK細胞受到375 μ M的(R)-(-)或(S)-(-) γ -DDL在不同時間點(10、30、60或120分鐘)下刺激。(B) NK細胞受到375 μ M的(R)或(S)-4-hydroxy- dodecanoic acid在不同時間點(10、30、60或120分鐘)下刺激NK cells，刺激完成後，以Q-PCR偵測CD69的mRNA表現。



圖十、結果推論示意圖。本研究結果顯示，(R)-(+)- γ -DDL 會進入 NK 細胞內，並形成(R)-4-hydroxy- dodecanoic acid，刺激包括 CD69 在內等多種基因與蛋白質表現，以達到免疫活化之效果。

敗血症中醫證型與免疫細胞激素之相關性 研究(3)

蘇奕彰

中國醫藥大學 中國醫學研究所

摘要

在本計畫之臨床觀察性研究中，截至 11 月底納入本研究觀察者計 95 位，排除因病情嚴重尚未完成完整記錄前轉院、昏迷（無法記錄）、死亡者。其中完成中醫證型評估及抽血者，目前已達 63 人，預計至 12 月可順利收案達 100 人，扣除無法完成完整之觀察者，有七成的收案完成率，即可達 70 人。目前完成以下基因組 DNA 檢測流程之樣本共 62 位。這與臨床研究收案之困難度一致。初步的分析結果中發現 IL-6 基因 G-572C 的 GG 基因型患者其存活率優於 GC 及 CC 型，故知 G 交替基因有利存活。IL-6 基因 G-174C 的 GG 基因型患者其存活天數以及存活率皆優於 GC 型。IL-10 基因 G-1082A 的 AA 基因型患者其存活率優於 GA 型。似乎基因決定患者體質以及在疾病過程體質反應的確可能影響疾病之預後，這有待進一步更大樣本研究來證實。以敗血症患者各性狀與臨床觀察指標、基因型存活率之相關性而言。

在動物實驗上，我們評估白虎湯對於 KP-induced Septic Rats 之治療效應，結果顯示給予高劑量(H)、低劑量(L)之白虎湯組之存活率與生理食鹽組(K)相較，並未有明顯的提升。這與中醫病理上邪毒過盛，體質影響因子就相對較弱，因此以體質調整之白虎湯似乎無法作為校正細胞激素反應，作為 KP 敗血症之主要治療依據，但相較於本研究團隊之前研究白虎湯治療 CLP 大鼠之 IL-6、IL-10 變化趨勢，KP-induced 敗血症大鼠在給予白虎湯後，亦出現相同的趨勢：即給予白虎湯後，IL-6、IL-10 的上升趨勢便開始下降，且高劑量組的下降趨勢更為明顯。因此仍可考慮將白虎湯做為西醫抗菌療法之輔助治療工具，合併西醫抗生素之治療效益值得未來進一步研究。而因病勢過於急猛，或許提早介入白虎湯以便更早扭轉細胞激素反應，也是值得進一步驗證其效益。

中醫證型、性別會影響敗血症患者預後表現，這與細胞激素部分基因類型有關連；單獨使用白虎湯治療 KP 造型之大鼠敗血症，不影響其存活率。

關鍵詞：中醫、克雷白氏肺炎桿菌、敗血症、細胞激素、SNP

The Study of the Relationship between the Chinese Medical Syndrome and Serum Cytokine in Septic Patients (3)

Yi-chang, Su

Graduate Institute of Chinese Medical Scinece, China Medical University

ABSTRACT

We have collected 95 septic patients until the end of the Novemver, and 32 of them were unable to have complete records because they were transferred to other hospital, coma or dead. Therefore, 63 patients had finished the completed Chinese medical syndromes diagnosis, the measurement of cytokines, and DNA analysis. The results revealead that the patients with CG type of IL-6 (G-572C), GG type of IL-6 (G-174C) and AA type of IL-10 (G-1082A) have a higher survival rate than other types ($p < 0.05$). It may be one reason for higher mortality happened to GA type patients revealed from previous studies. We have successfully developed a rapid, accuracy and cost-effective for genotyping many loci in the same capillary tube. These results could be useful for human body or animal physiological and pathological analysis.

In the animal study, we evaluated the treatment of Bai-Hu-Tang (BHT) on KP-induced septic rats. Our results showed that the survival rate of the KP-induced septic rats were not obviously increased after BHT administration, both in high and low dose groups. This may be bacause the toxicity of the pathogens were to strong to be reversed by BHT. However, the cytokine expression of IL-6 and IL-10 appeared similar trend as we observed in previous CLP septic rats receiving BHT. It may be considered to treat KP-induced sepsis with antibiotics and BHT in the future. Furthermore, to advance the time of the BHT administration to the KP-induced rats may be another consideration to see if BHT can reverse the cytokine changes.

The Chinese medical syndromes, sex are related to the prognosis of the septic patients, and are also related to the cytokine expression. To treat the KP-induced septic rats with BHT can not alter the survival rate.

Keywords: Chinese Medicine; sepsis; cytokine; *Klebsiella pneumoniae*; prognosis

壹、前言

國內外中醫藥的研究，絕大部分均集中在研究藥物對特定疾病患者身體調控的關係，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、靈芝）之藥理作用乃至基因表現的研究在許多機構進行，但研究中醫辨證論治方法與體質表現關係之研究仍不多見。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。

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，在於中醫重視個體與不同病程階段之差異性，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，由於這種差異性，發展出中醫臨床獨特之「辨證論治」模式。中醫辨證理論中最基本之分型為陰陽，補陽藥與補陰藥是強化體質實質的藥，而中醫辨證類型統括以陰或陽屬性為外在表現型，藥物反映之結果也以陰陽來分類，因此作為銜接中西醫臨床表現之基礎研究應以陰陽為標的。

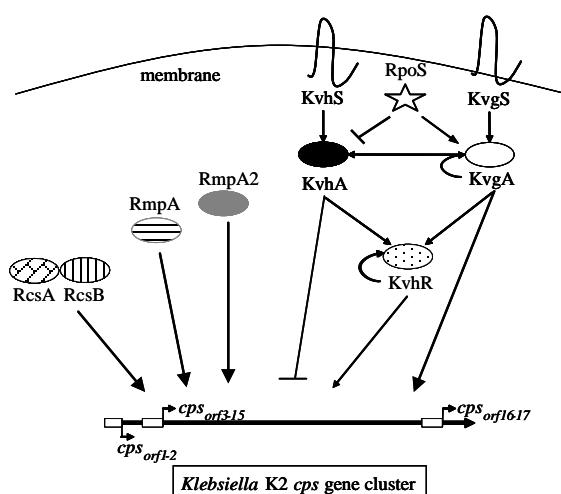
因此由先前的動物實驗結果得知，CLP 造型誘發之多菌種敗血症大鼠在術後早期（6 小時）接受清熱祛邪方劑白虎湯治療後，能降低死亡率，並且調控血清中細胞激素 IL6 & IL10，高劑量白虎湯較低劑量效果明顯，而經由 linear regression model 和 cox proportional hazard models 驗證，我們已證實其因果關係存在；此結果已完成論文撰寫，並為 Experimental Biology & Medicine 期刊接受。在前述研究結果之基礎上，我們將進一步探討白虎湯對於單一菌種誘發敗血症的治療效果及其作用機轉。

近年來研究發現，克雷白氏肺炎桿菌，為引發嚴重院內感染的細菌之一，會導致敗血症、呼吸道或泌尿系統的感染或腦膜炎等(1-4)，而中敗血症更是目前住院病患的主要死亡原因之一(5)。在臺灣地區，由克雷白氏肺炎桿菌所引起之肝膿瘍病例明顯多於其他菌種，這樣的比例如歐美國家並不相同(6-8)。同時，近幾年來，隨著泛抗藥性乙內醯胺酶菌株的增加，也造成了克雷白氏肺炎桿菌在臨床治療上的困難(9, 10)，因此開發有效藥物來治療克雷白氏肺炎桿菌的感染是目前臺灣臨床醫療的重要工作之一(10, 11)。

根據目前的文獻報導克雷白氏肺炎桿菌中有許多毒性因子的存在，其中包含莢膜多醣體、脂多糖、黏附因子及螯鐵系統等。大部份的克雷白氏肺炎桿菌的臨床分離株皆帶有厚重的莢膜多醣體來幫助抵禦吞噬細胞以及補體的攻擊，並且可以防止抗菌勝太與細菌接觸以及在生物膜(Biofilm)的生合成上扮演重要的角色(12-15)，因此莢膜多醣體為克雷白氏肺炎桿菌

非常重要的毒性因子。目前在克雷白氏肺炎桿菌中的莢膜多醣體血清型已鑑定超過七十七種以上(16, 17)，而在臺灣中糖尿病人肝膿瘍的臨床分離株中，更以 K1 和 K2 的血清型為主(18)。如圖一所示，在克雷白氏肺炎桿菌中，莢膜多醣體的基因組表現可受到許多轉錄因子所調節，包括 RcsABC、RmpA、RmpA2、KvgAS 和 KvhAS 等(19-26)，藉由細緻的調控途徑來完成其毒性因子的適時表現。脂多糖為細菌的重要的內毒素，是細菌引發敗血症重要毒性因子(27)。在克雷白氏肺炎桿菌的重要黏附因子主要為第一型、第三型纖毛、KPF28 以及非纖毛型的黏附因子 CF29K，這些黏附因子可以幫助細菌在呼吸道或泌尿系統的黏附與入侵(28-30)。鐵是細菌生長所必需的，因此需要螯鐵系統來幫助細菌來獲得外界的鐵以供細菌生長所需，如螯鐵分子(siderophores)對鐵離子的親和力極高，為細菌的重要毒性因子而在革蘭氏陰性菌中，Fur 在細菌獲取鐵的過程中是一個重要的轉錄調控蛋白質，在鐵過多的情況下，可抑制螯鐵相關因子的基因表現(31-33)。因此藉由阻斷細菌的訊息傳遞作用來達到抑制毒性因子的表現，是現階段藥物開發的重要標的(34)。

我們將在此動物模型中以上述觀察標的，探討白虎湯對於克雷白氏肺炎桿菌之毒性因子表現及基因調控上之影響，同時，在敗血症發生後，發炎細胞激素與抗發炎細胞激素的變化是病情是否惡化的重要關鍵，也是宿主免疫反應的重要指標；而由先前的實驗結果顯示，IL-6 與 IL-10 是發炎細胞激素以及抗發炎細胞激素的良好代表(35, 36)；因此我們將嘗試以此動物實驗平臺，作為中藥治療之驗證工具，更創新的同時以宿主免疫調控反應和微生物反應來觀察與探討藥物治療效果及作用機轉。



圖一、在克雷白氏肺炎桿菌 CG43 中莢膜多醣體 K2 血清型基因組的基因調控迴路示意圖(37)。

由於敗血症的高死亡率仍是臨床上的難題，其病程發展快速，病理機轉複雜，在治療上有其難以突破之處為研究中醫體質證型與疾病表現的關係，本研究室於 97 年底完成之的中醫藥基因體研究三年計畫成果中發現：在完成收案及細胞激素測量的 150 位敗血症病患中，能有效評估其中醫證型者計 126 人，診斷為氣分熱證有 46 人，營分熱證有 51 人，血分熱證有 45 人，氣虛證有 86 人，血虛證有 9 人，陰虛證有 6 人，陽虛證有 65 人。最後我們以「性別、中醫陽虛證之有無、Log IL-6、Log IL-10、以及 CV factor Day 1」等五個因子建立預測敗血症患者預後之模型，且預測百分比可達 78.6%。

在我們已進行的預試驗中，嘗試檢測 20 位患者 SNP 的表現，發現存活組與死亡組在部分的基因型有顯著的差異（表一）。

表一、不同性別、預後之敗血症患者其 IL-10 之基因型表現

	男性	女性	小計	
GA	3	3	6	存活
	4	0	4	死亡
	0.429	1.000	0.600	存活率
AA	10	4	14	存活
	10	6	16	死亡
	0.500	0.400	0.467	存活率

因此本計畫目標希望在臨床研究上找出與敗血症患者預後相關之 SNP，作為臨床提評估療效與預測預後之依據。此外，藉由 KP 菌所引發之敗血症動物模型驗證清熱祛邪方劑在敗血症治療的療效，以及其作用機轉。希望藉由上述動物及臨床實驗建立中醫體質證型與方藥結合研究平台，將有助於敗血症或感染性疾臨床病機探討與中醫方藥之研發。

貳、材料與方法

實驗方法：研究分一年(99.01.01-99.12.31)進行，包括臨床觀察及動物試驗兩部分。

一、臨床觀察研究：通過署立南投醫院 IRB 審查

(一)性質：為臨床追蹤之觀察性研究

(二)收案地點：署立南投醫院加護病房

(三)收案人數：預計收案 100 人，追蹤完成率 70%，完成 70 位患者。

(四)敗血症診斷標準：有感染且合併全身發炎反應症候群。全身發炎反應症候群定義：以下四項標準須符合二項以上（含）：

1. 體溫：大於攝氏 38 度或小於攝氏 36 度。

2. 心跳：每分鐘大於 90 下。

3. 呼吸：每分鐘大於 20 下或動脈血中二氣化碳濃度($PaCO_2$)小於 32 mmHg。

4. 白血球數目：大於 12000 cells/ml 或小於 4000 cells/ml 或 band forms > 10%。(43-44)

(五)病人收案流程：當病人住進加護病房且符合嚴重敗血症或敗血性休克的診斷時，在徵求病人或家屬的同意並簽署受試者同意書後，立即將病人收案成為本研究的對象，此時定義為研究的第一天，常規的血液檢查包括：血球分析、生化檢查、動脈血氧分析、凝血功能、D-dimer、乳酸、血液培養 2 套（厭養培養及嗜氣培養各兩套，培養細菌包括：E.coli、Kleb pneumonia、pseudomonas、acinetobactor、enterobactor、streptococcus、salmonella、proteus mirabilis...等）、細胞激素，並記錄第一天的 APACHE II 評分系統、心血管參數及敗血症中醫證型問卷紀錄表。(45-52)

(六)記錄證型量表、臨床表現、心血管參數、APACHE Score、使用西藥、存活或死亡時間。

(七)敗血症中醫證型問卷：在研究第一天，由具中西醫雙執照的主治醫師完成問卷紀錄，中醫證型診斷標準是依據中國醫藥大學中醫學院體質與證型研究室，依照體質量表研發經驗，召開「體質與證型專家會議」所制定，如表所列：

邪 實	氣分熱	發熱+苔黃+脈數+自汗（經熱）或 發熱+苔黃+脈數+口渴（經熱）或 發熱+苔黃+脈數+便秘（腑熱）或 發熱+苔黃+脈數+腹痛拒按（腑熱）或 發熱+苔黃+脈數+腹脹（腑熱）或 發熱+苔黃+脈數+噁心嘔吐（濕熱）或 發熱+苔黃+脈數+腹瀉（濕熱）
	營分熱	發熱+神昏譫語+脈數+舌紅 或 舌絳
	血分熱	發熱+脈數+舌紅+出血症 或 發熱+脈數+舌絳+出血症 或 發熱+脈數+舌紅+抽搐 或 發熱+脈數+舌絳+抽搐 或 發熱+脈數+舌紅+斑疹 或 發熱+脈數+舌絳+斑疹
正 虛	氣虛	氣短神疲+嗜睡懶言+脈弱
	陽虛	氣短神疲+嗜睡懶言+脈弱+四肢厥冷 或 氣短神疲+嗜睡懶言+脈弱+四肢水腫
	血虛	面色蒼白+脈細+舌淡
	陰虛	盜汗+脈細數+舌紅 或 口乾+脈細數+舌紅

(八)Total APACHE II Score = APS Score + Age Score + Illness Score (依照 Knaus WA, Draper EA, Wagner DP et al. APACHE II: a severity of disease classification system. Critcaremed. 1985;13(10):818-829)

APACHE II 評分系統之類別變項：APACHE II 評分系統與死亡率相關，為了預測敗血症病患的預後，所以依照 APACHE II 評分系統分數的高低，將它區分為 1-7 七個類別變項。

(九)心血管參數(cardiovascular parameter of MODS score)定義：0, heart rate \leq 120bpm; 1, heart rate 120-140bpm; 2, heart rate $>$ 140bpm; 3 需要使用 intropes, dopamine 劑量 $>$ 3ug/kg/min; 4, lactate $>$ 5 mmol/L (依照 Knaus WA, Draper EA, Wagner DP. APACHE II: a severity of disease classification system. Critcaremed. 1985;13(10):818-829) (53-56)

(十)細胞激素血液檢體製備流程：抽 10 cc 的血液裝入含 EDTA 或 heparin 等抗凝劑的生化試管，立即送到檢驗科離心(離心速度 1500 RPM, 離心時間 10 分鐘)，離心後取出血漿置於-80°C 的冰箱儲存，所有血液檢體於收集完成後一起測量。

(十一)利用 ELISA 分析患者細胞激素或蛋白質。

採用定量的三明治酵素免疫分析法：在微量反應盤上已經附著具特異性的單株抗體，將標準品 (standards) 或是樣本 (samples) 加到盤內，就會與盤內的抗體進行結合，洗掉未結合的物質之後，再加入具有特異性的抗體 (enzyme-linked polyclonal antibody)，再沖洗掉未結合的部分。加入基質溶液 (substrate solution) 後所形成的顏色會與結合細胞激素的量成正比，最後終止成色反應，進行吸光度之測量。根據統計迴歸分析後定出吸光度與濃度之標準曲線 (standard curve)，再依據標準曲線來換算細胞激素的濃度。預計選擇 IL6、IL10 進行分析。

(十二)敗血症患者 DNA 之分析方法及流程

1. 白血球細胞之收集：

將加有抗凝血劑之血液約 3 ml，置於 15 ml 之加有 3 ml 1 X TNE 緩衝液 (10 X TNE, 0.1 M Tris base, 10 mM EDTA, 2 M Sodium chloride, pH 7.4) 離心管中，以 3,000 rpm 離心 10 分鐘，去上層液。加入三倍體積之 0.87% NH₄Cl 混合均勻，作用 10 至 20 分鐘，使紅血球溶解，再以 3,000 rpm 離心 10 分鐘，去上層液。然後加入 2 ml TNE 緩衝液重懸浮白血球細胞，置於 -20 °C 冷凍 20 分鐘，再於 45 °C 下水浴 10 分鐘。

2. 白血球細胞之分解：

加 50 μl proteinase K (10 mg/ml) 與 40 μl collagenase、30 μl 10% SDS (Sodium dodecyl sulfate, SDS)，置於 45°C 振盪水槽中水浴至少 16 小時。

3. 基因組 DNA 之萃取：

將消化分解 12 小時以上之細胞懸浮液分別以等體積 phenol 和 chloroform (chloroform 含有 1/25 體積之 isoamyl alcohol) 各萃取一次，每次皆以 3,000 rpm 離心 10 分鐘，吸取上層液至乾淨 10 ml 離心管。

4. DNA 之沉澱析出：

將上述上層液取出後，加入等量異丙醇 (isopropanol) 及原體積 1/10 之 3 M CH₃COONa (pH 5.2)，並輕輕上下反轉離心管，使液體混和均勻直到全部 DNA 聚集成團，將團狀之 DNA 勾出，並用 70% 冰酒精清洗後置入 1.5 mL 離心管中，以抽氣乾燥方式乾燥 DNA，待 DNA 完全乾燥後加入適當之滅菌去離子水，再置入 55°C 恒溫箱中完全溶解。

5. DNA 之定量：

取 4 μ l 之 DNA 溶液加入 396 μ l 滅菌去離子水，以光電比色計(spectrophotometer)測量估算 DNA 之濃度，波長採用 260 nm 測量，並記錄 OD 值。DNA 經定量後，以滅菌去離子水將 DNA 濃度調整為 50 ng/ μ l，供進行 PCR 之用。

6. PCR 增殖：

取 0.2 mL 滅菌之微離心管，依序加入下列反應物：10 X PCR 反應緩衝液、之 2.5 mM dNTPs (dATP、dTTP、dCTP 及 dGTP)、1 μ M 之引子對、0.2 U DNA 聚合酶及 50 ng/ μ l 基因組 DNA，以滅菌去離子水將體積調整至 15 μ L，振盪混合後置入桌上型離心機中短暫離心，再於 GeneAmp[®] PCR system 2700 (Applied Biosystems, Singapore) 進行聚合酶連鎖反應。

7. 瓊脂糖膠體(agarose gel)電泳：

取 3 μ l PCR 產物與適量指示劑混合，充填於 3% 瓊脂糖膠體梳孔內，電泳條件為 100 伏特電壓，時間為 30 分鐘。電泳後之膠片浸泡於溴化乙銨(ethidium bromide, EtBr)溶液中 30 分鐘，置於 UV 台上拍照，以紫外光燈照射觀察 DNA 環帶，確認標的 DNA 是否成功被增殖。

8. PCR 產物之純化：

分別添加 0.2 U 核酸外切酶和 0.5 U Shrimp alkaline phosphatase, SAP 到裝有 1 μ L PCR 產物的 0.2 mL 滅菌之微離心管裡，使最後體積成為 2 μ L，並於 37°C 培養箱中作用 12 小時，隨後以 75°C 15 分鐘使酵素失活，置於冰上。

9. 微序列反應：

依照預試驗中選擇分析 TNF- α 、IL6、IL10、IL18 之結果，挑選具有差異表現者，至 NCBI 搜尋已發表之基因分析文獻資料，根據報告所指出的鹼基多態性位置，於 5' 端設計延伸引子並稀釋成 10 μ M 備用。將上述經酵素純化處理過後之 PCR 產物，加入延伸引子並調整其反應最終濃度為 1 μ M、SNaPshotTM Multiplex Ready Reaction Mix 使總反應體積為 3 μ L。輕緩混和後，置入離心機中短暫離心。於 GeneAmp[®] PCR system 2700 (Applied Biosystems, Singapore) 進行熱循環。反應條件設定如下，96°C 10 秒鐘，50°C 5 秒鐘及 60°C 30 秒鐘進行 25 個單一鹼基延伸循環，最後快速降至 4°C，緊接著加入 0.3 U SAP 於 37°C 培養箱中作用 3 小時，隨後以 75°C 15 分鐘使酵素失活，置於冰上。

10. 自動化毛細管電泳進行樣品分析：

取 0.9 μ L 微序列產物與 9.25 μ L HiDiTM formamide 及 0.1 μ L GeneScanTM-120 LIZTM size standard 充分混合後以自動化毛細管電泳(Applied Biosystems, CA, USA)分析 50 分鐘，GeneScanTM 3.7 application software (Applied Biosystems, USA)分析。GeneScanTM-120 LIZTM size standard 包括九個標定 LIZTM 的螢光片段分別為 15、20、25、35、50、62、80、110 及 120 bp，在 GeneScanTM 3.7 application software 分析時為橘色波峰。SNaPshotTM Multiplex Ready Reaction Mix 中的 ddATP 標定 dR6G 以軟體分析時為綠色，ddCTP 標定 dTAMRATM 以軟體分析時為黑色，ddGTP 標定 dR110 以軟體分析時為藍色，ddTTP 標定 dROXTM 以軟體分析時為紅色。

二、動物試驗研究：

- (一)試驗設計：採隨機分組，組內對照與組間對照試驗。
- (二)實驗動物：本實驗採用 Sprague-Dawley 大白鼠，體重在 250-300 gm 之間。購入的大鼠約 7 周大，體重位於 200-250 gm 之間，飼養於動物中心，依「實驗動物照護守則」(Principles of laboratory animal care)供實驗備用。有每日 12 小時為周期的黑暗白日周期，並有適當的室內溫度及濕度控制，供應充足的飼料及水份。整個實驗過程，採取密集而連續的進度進行，實驗老鼠的年齡控制在 10 周大前後。研究經中國醫藥大學動物實驗管理小組審查通過准予執行。
- (三)實驗造型：K.P 菌腔注射與插管(Catheterization implantation)：大鼠在進行實驗前先禁食 8 小時，秤重後，以乙醚(ether)麻醉。麻醉後先刮除腹部體毛，將其四肢固定之後以優碘消毒，鋪上手術洞巾，並經由恆溫電毯維持老鼠的肛溫於 37.5°C~38.0°C。由腹腔注射適量之克雷白氏肺炎桿菌，並且在頸動脈留置導管，待大鼠清醒之後放回籠中，正常給與食物以及飲水。實驗造型成功率約八成。(57-58)

(四)清熱祛邪方劑白虎湯治療驗證

白虎湯為中醫二千年來最具代表性之清熱祛邪方劑，由石膏、知母、甘草、粳米組成，使用於急性感染性疾病早期，也有很多現代藥理研究發表，GMP 科學中藥廠也有衛生署核准之藥証。我們選用科學中藥劑型在造型後 6 小時給予大鼠不同劑量之複方白虎湯，評估白虎湯對於敗血症大鼠存活率，細胞激素之影響；以及白虎湯對克雷白氏肺炎桿菌之影響。

白虎湯預防用藥對於敗血症之探討：32 隻老鼠分為 4 組，控制組(n=8)、治療組高劑量(n=8)治療組低劑量(n=8)以及空白對照

組(n=8)。在腹腔注射克雷白氏肺炎桿菌與插管手術前先自老鼠的尾動脈採 0.5 cc 血作為敗血症前之基準值。手術後 6 小時分別經胃給予藥物，並於術後 1 天內第 6、9、12 小時量測與紀錄其生理指標血壓、心跳，以及抽血 0.5 cc。

(五)血壓與心跳之測量：以 chart 程式紀錄老鼠的血壓波，採樣速率 (Sampling rate)為 400 Hz，測量時將多頻道生理紀錄器中的探頭插入頸動脈留置管中，經過聚乙烯導管中的壓力轉換器將壓力數值輸出，先將 Chart 程式上所獲得的動脈血壓波時間序列數值，在 Labview 頻譜分析程式上還原成時域動脈血壓波。經放大分離出完整動脈波，找出每一動脈波之最大值（即為峰值 peak value），以及每一動脈波之最小值（即為谷值 valley value），即紀錄為動脈波之動脈收縮壓(SBP)與動脈舒張壓(DBP)，並將血壓轉換為心跳數值。(58)

(六)細胞激素血液檢體製備流程：抽 10 cc 的血液裝入含 EDTA 或 heparin 等抗凝劑的生化試管，立即送到檢驗科離心(離心速度 1500 RPM，離心時間 10 分鐘)，離心後取出血漿置於 -80°C 的冰箱儲存，所有血液檢體於收集完成後一起測量。

(七)細胞激素分析(cytokine assay)：利用 ELISA 分析患者細胞激素。採用定量的三明治酵素免疫分析法：在微量反應盤上已經附著具特異性的單株抗體，將標準品(standards)或是樣本(samples)加到盤內，就會與盤內的抗體進行結合，洗掉未結合的物質之後，再加入具有特異性的抗體(enzyme-linked polyclonal antibody)，再沖洗掉未結合的部分。加入基質溶液(substrate solution)後所形成的顏色會與結合細胞激素的量成正比，最後終止成色反應，進行吸光度之測量。根據統計迴歸分析後定出吸光度與濃度之標準曲線(standard curve)，再依據標準曲線來換算細胞激素的濃度。預計選擇 IL6、IL10 進行分析。(59-73)

(八)探討白虎湯對於克雷白氏肺炎桿菌之影響：

偵測克雷白氏肺炎桿菌的菌體黏度及生長速度上的差異：藉由不同濃度的白虎湯與菌體進行適當的培養後，利用 string test 和 3000 rpm 的低速離心下觀察其菌體黏度的改變情形以推測莢膜多醣體的生合成之改變狀況(37)。

偵測克雷白氏肺炎桿菌的生物膜生合成的情形：藉由觀察菌體在 96 孔的 PVC 微量盤中(TPP 96 flat)之黏附能力。根據文獻所示之實驗步驟(38)，先將微量盤中的孔洞中包覆上 0.109 mg/ml 的人類細胞外間質(human extracellular matrix，HECM) (39)。將 100 微升的細菌培養液（包含適當濃度之白虎湯以及 10 倍稀釋後的隔

夜菌液)加入孔洞中於 37 度靜置培養 48 小時以利生物膜的生成。培養後的微量盤先用 200 微升的 PBS 清洗兩次將未黏附於孔壁之菌體去除，接著每個孔洞用 200 微升的 0.1% 結晶紫於室溫中培養 15 分鐘進行染色，而多餘的結晶紫則用去離子水進行兩次的清洗。最後被結晶紫染色後的生物膜將用 200 微升的酒精進行溶解析出，於波長 550 中的進行定量偵測。

統計分析：

本研究將使用 SPSS 12.0 統計分析軟體，所有分析結果均以 $P < 0.05$ 表示具有統計上顯著，使用的分析方法如下：

- 一、病患基本資料的分析是利用無母數分析(Mann-Whitney test)。
- 二、使用無母數分析(Mann-Whitney test)比較存活組與死亡組之間細胞激素及心血管參數及 APACHE II 的差異。
- 三、使用羅吉斯迴歸分析(Logistic Regression analysis) 細胞激素及、心血管參數及 APACHE II 與病患死亡之相關性分析。
- 四、使用複迴歸分析(Multiple Linear Regression analysis) 細胞激素及性賀爾蒙、心血管參數及 APACHE II 與死亡組存活時間(survival time)之相關性分析。
- 五、根據中醫證型診斷標準，使用卡方檢定(Chi - square test)，分析敗血症病患之中醫證型，同時探討嚴重敗血症及敗血性休克這兩種診斷之中醫證型有無差異，以及分析存活組及死亡組兩組病人在中醫證型上有無差異。
- 六、使用無母數分析(Mann-Whitney test)，探討細胞激素及敗血症中醫證型之相關性分析。
- 七、敗血症大鼠預後評估
以二因子變異數分析的多重比較法(two way ANOVA)來檢定細胞激素在存活與死亡兩組於不同心跳速率之下的差別。
- 八、敗血症大鼠預防用藥治療評估
 - (一) 使用存活曲線(Kaplan-Meier survival curve)檢定控制組、高劑量組以及低劑量組之存活方程式，並使用 Log Rank test 來進行檢定。
 - (二) 以 t 檢定來區別各組在不同時間下之差異是否達統計顯著。

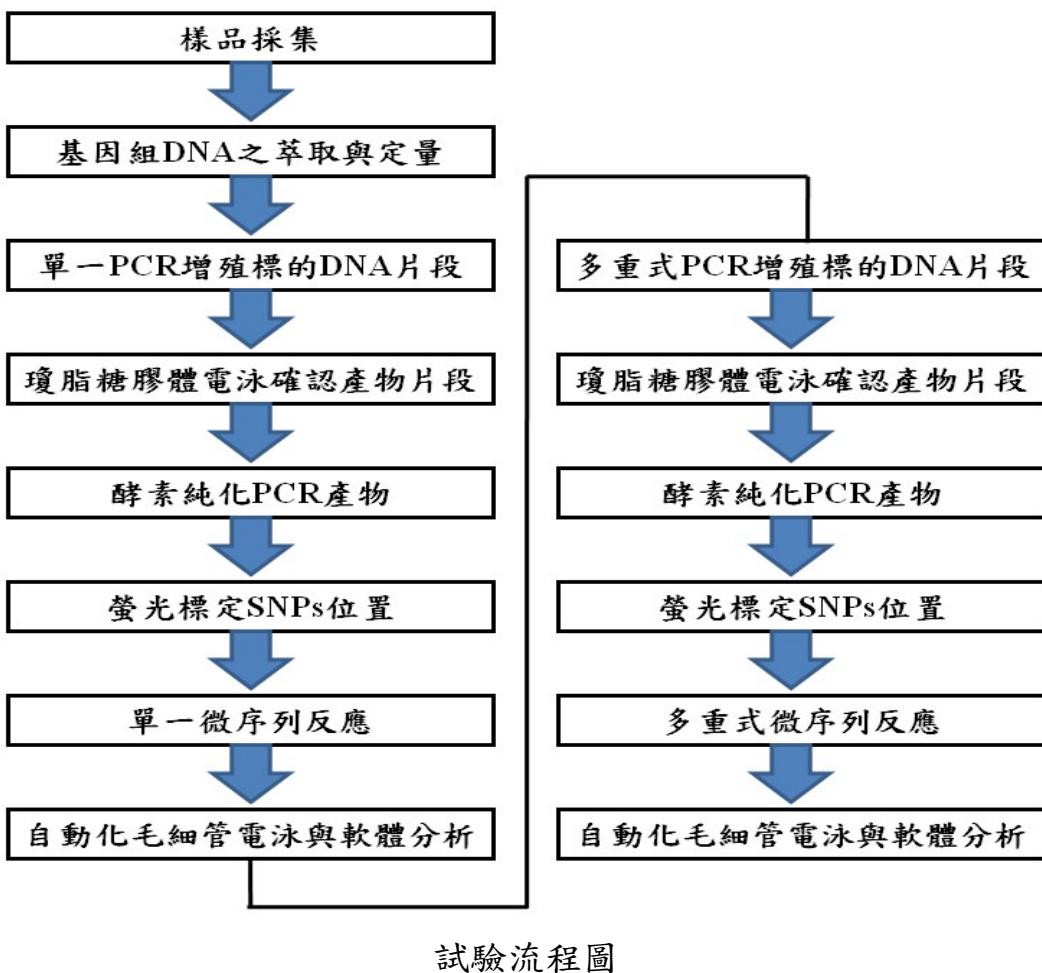
參、結果

一、臨床觀察研究

(一)初步結果

初步納入本研究觀察者計 95 位，排除因病情嚴重尚未完成完整記錄前轉院、昏迷（無法記錄）、死亡者。其中完成中醫證型評估及抽血者，目前已達 63 人，預計至月底前可順利收案達 100 人，扣除無法完成完整之觀察者，將約有七成的收案完成率，即約 70 人。

目前完成以下基因組 DNA 檢測流程之樣本共 62 位。



(二)IL-6 基因型之分析

1. 定義 IL-6 基因之多態性

本研究根據 Watanabe *et al.* (2005) 與 Terry *et al.* (2000) 發表之文獻，利用 GeneBank accession number: rs1800795, rs1800797 人 IL-6 編碼序列設計二對共四條 PCR 引子 (IL-6-F2 與

IL-6-R2, IL-6 G-174C-F1 與 IL-6 G-174C-R1) (表 1), 增殖出產物分別為 129 bp (圖 2) 與 109 bp (圖 3), 以及由 IL-6-F2 與 IL-6 G-174C-R1 增殖之多重式 PCR 產物 505 bp (圖 4)。將多重式 PCR 產物經異丙醇沉澱純化再以 *Bsr*BI 限制酶切割, 瓊脂糖膠體電泳進行 IL-6 G-572C 基因型分析。具有 505 bp 片段者為 CC 基因型, 兼具 505 bp、450 bp 及 55 bp 片段者為 GC 基因型, 450 bp 和 55 bp 二片段者為 GG 基因型 (圖 5), 另一方面利用酵素消化方式純化 PCR 產物並進行單一微序列反應。

依據 IL-6 增殖出之 505 bp 片段的第 30 位置鹼基為 G 變異成 A、第 55 位置鹼基為 G 變異成 C、第 454 位置鹼基為 G 變異成 C, 分別設計三對 SNP 特異性引子 IL-6 G-596A-r1 (反向設計為 C/T)、IL-6-R1 (反向設計為 C/G) 與 IL-6 G-174C-r1 (反向設計為 C/G), 經過單一微序列反應後, IL-6 G-596A-r1、IL-6-R1 與 IL-6 G-174C-r1 之 3' 端會接上與 SNP 互補且不同螢光之 ddNTPs。圖 6 與圖 7 為利用自動化毛細管電泳與 GeneScan 軟體分析結果, 得 IL-6 G-596A 之 GG 基因型為接上 ddCTP 產生黑色波峰, 在 40 位敗血症患者的分析結果中並無出現 GA 與 AA 基因型。IL-6 G-572C 之 GG 基因型為接上 ddCTP 產生黑色波峰, GC 基因型為同時接上 ddCTP 與 ddGTP 產生黑色及藍色波峰, CC 基因型為接上 ddGTP 產生藍色波峰。IL-6 G-174C 之 GG 基因型為接上 ddCTP 產生黑色波峰, GC 基因型為同時接上 ddCTP 與 ddGTP 產生黑色及藍色波峰, 在 40 位敗血症患者的分析結果中並無出現 CC 基因型。結果證實, 用單一微序列法鑑定人 IL-6 基因型和以 PCR-RFLP 法之鑑定結果相同。

表 1、用於基因型分析之 PCR 引子序列

Candidate gene ^a	PCR primer sequence (5'→3')		Amplicon size (bp)
TNF-α	TNF- α G-308A-F1	ctcaggactcaacacagctt	383
	TNF- α G-308A-R1	tctggaggaagcggtagtgg	
IL-6	IL-6-F2	gccttgaagtaactgcacga	129
	IL-6-R2	ccaaggctggattatgaag	
IL-6	IL-6 G-174C-F1	gggctgattggaaaccttat	109
	IL-6 G-174C-R1	ctggaggctgaaccccggtcc	
IL-10	IL-10 G-1082A-F2	gatgagtgatttgcctgac	473
	IL-10 G-1082A-R1	gcttcgtgtggctggagtcta	
IL-18	IL-18 G-607T-F2	tcattcaggacttcccttc	193
	IL-18 G-607T-R2	ctgttcagaaagtgtaaaaattatta	
IL-18	IL-18 G-137C-F1	gagccccaaactttacggaagaaaa	264
	IL-18 G-137C-R2	aggaggggcaaaatgcactgg	
IL-18	IL-18-F1	cctctccccaaagcttacttt	676
	IL-18-R1	ggggagagaatgaggaagaa	

表 2、用於基因型分析之 SNP 延伸引子序列

Candidate gene ^a	SNP-specific primer (5'→3') ^b		Length (bp)
TNF-α	TNF- α G-308A-r1	ctggaggctgaaccccggtcc	20
TNF-α	TNF- α G-308A-r2	atttgtgtgttaggaccctggaggctgaaccccg tcc	36
IL-6	IL-6 G-596A-r1	ggctgttgtagaactgcctggcca	24
IL-6	IL-6-R1	gttctggctccctgtgag	20
IL-6	IL-6 G-174C-r1	gattgtgcaatgtgacgtcccttagcat	28
IL-10	IL-10 G-1082A-r1	cttactttcctttacctatccctacttcccc	32
IL-18	IL-18 G-607T-R2	ctgttcagaaagtgtaaaaattatta	27
IL-18	IL-18 G-137C-F1	gagccccaaactttacggaagaaaa	25

1 GCCTTGAAGTAACTGCACGAAATTGAGGG**G**TGGCCAGGCAGTTCTACAAC 50
 IL-6-F2 → **A** ← IL-6 G-596A-r1
 51 AGCC**G**CTCACAGGGAGAGCCAGAACACAGAAGAACTCAGATGACTGGTAG 100
C ← IL-6 R1
 101 TATTACCTTCTTCATAATCCCAGGCTGGGGGCTGCGATGGAGTCAGAG 150
 ← IL-6 R2
 151 GAAACTCAGTTCAGAACATCTTGGTTTTACAAATACAAATTAACTGGA 200
 201 ACGCTAAATTCTAGCCTGTTAATCTGGTCACTGAAAAAAAATTTTTTTT 250
 251 TTTCAAAAAACATAGCTTAGCTTATTTTTCTCTTTGTAACACTTCG 300
 301 TGCATGACTTCAGCTTACTCTTGTCAGACATGCCAAGTGCTGAGTC 350
 351 ACTAATAAAAAGAAAAAGAAAGTAAAGGAAGAGTGGTTCTGCTTCTTAG 400
 IL-6 G-174C-F1
 401 CGCTAGCCTCAATGACGACCTAAGCTGCACTTTCCCCCTAGTTGTCT 450
 →
 451 TGCG**A**TGCTAAAGGACGTCACATTGCACAATC**T**TAATAAGGTTCCAATC 500
C ← IL-6 G-174C-r1 ←
 501 AGCCC 505
 IL-6 G-174C-R1

圖 1、人 IL-6 基因序列(GenBank accession number: rs1800795, rs1800797)及 PCR、延伸引子設計。陰影部分為引子位置。加框部分為延伸引子位置。底線者為變異鹼基。

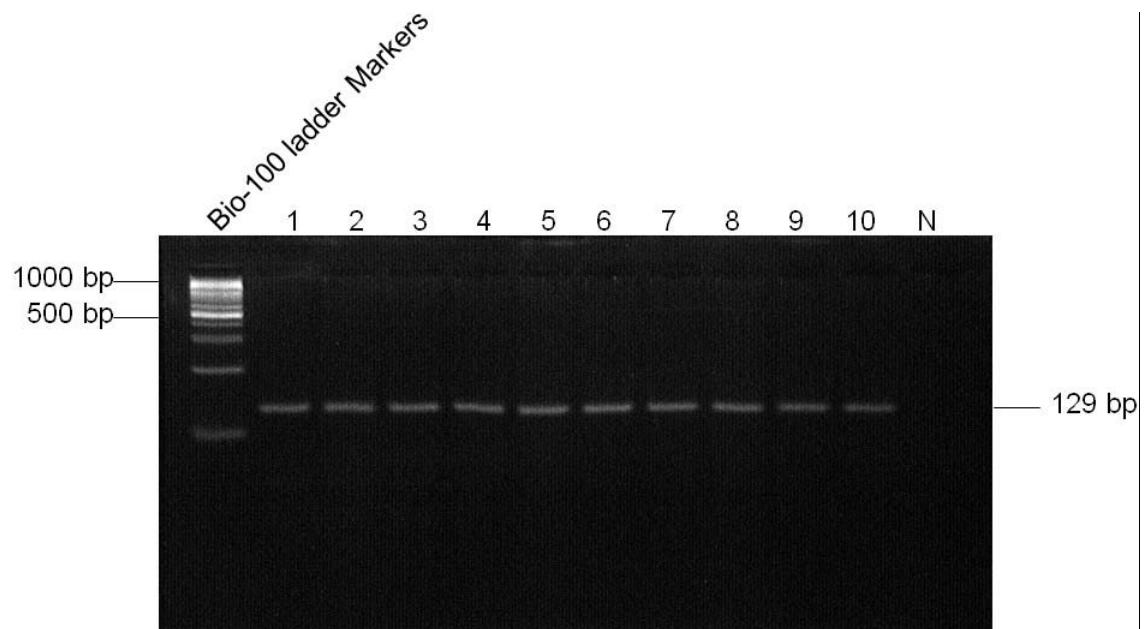


圖 2、敗血症患者基因組 DNA 以 IL-6 引子進行 PCR 增殖，所得產物(129 bp)之電泳圖。

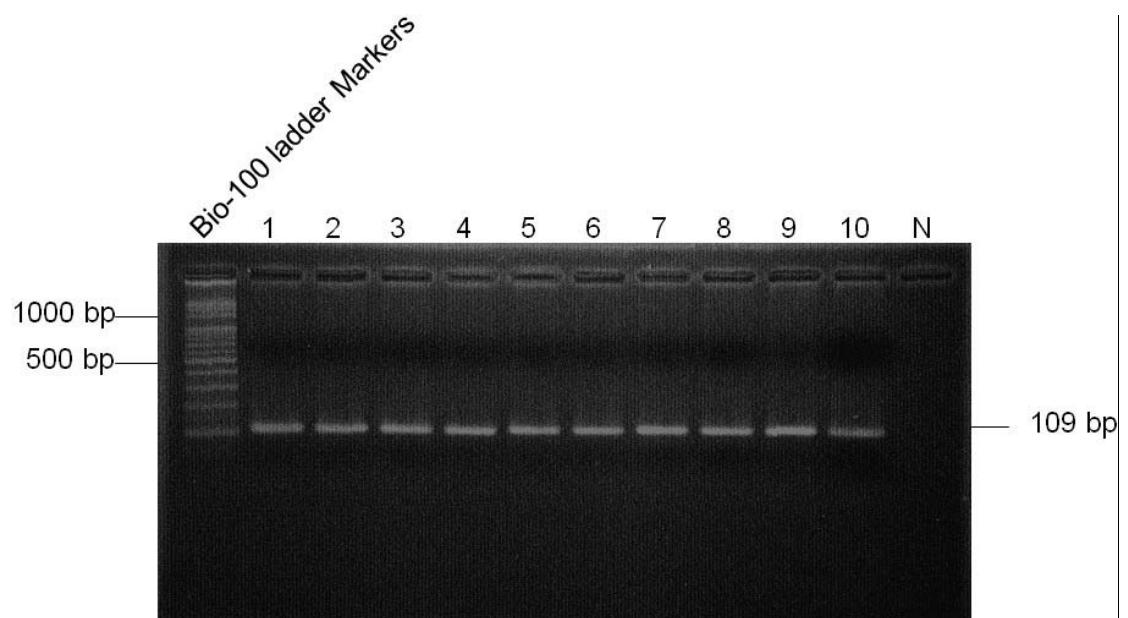


圖 3、敗血症患者基因組 DNA 以 IL-6 G-174C 引子進行 PCR 增殖，所得產物(109 bp)之電泳圖。

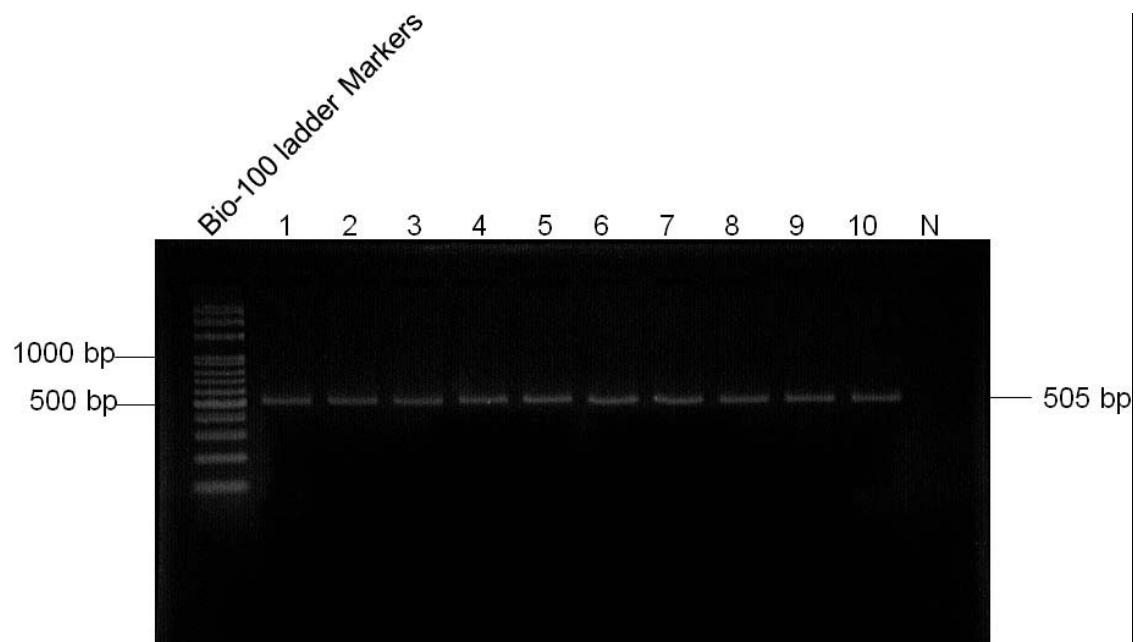


圖 4、敗血症患者基因組 DNA 以 IL-6-F2 及 IL-6 G-174C-R1 引子對進行 PCR 增殖，所得產物(505 bp)之電泳圖。

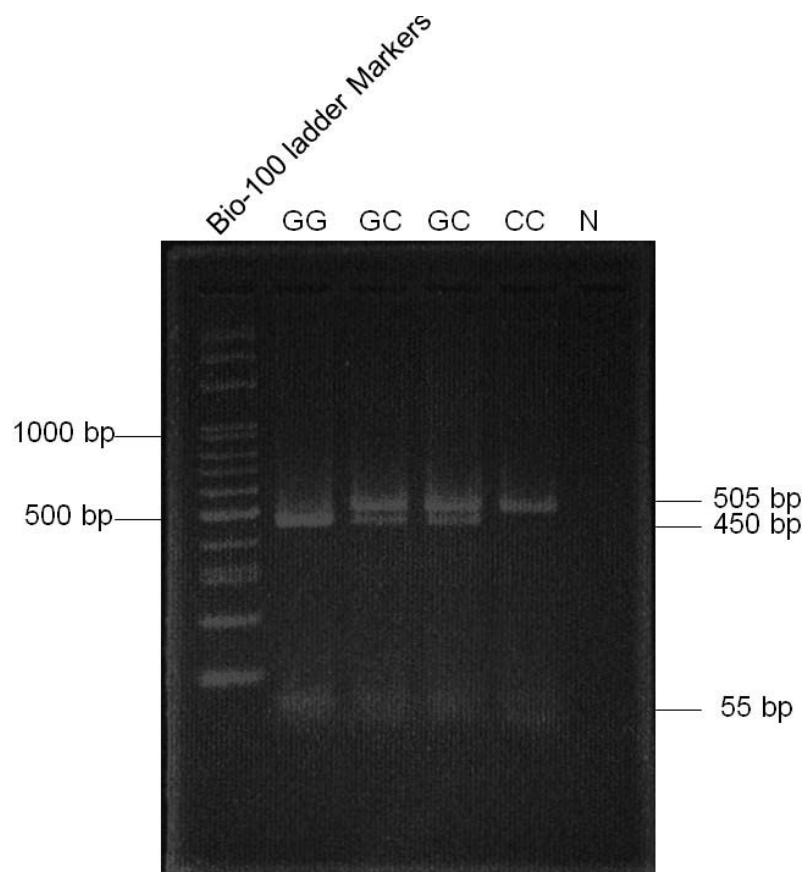


圖 5、敗血症患者基因組 DNA 以 IL-6-F2 及 IL-6 G-174C-R1 引子對進行 PCR 增殖，所得產物(505 bp)再以 *Bsr*BI 限制酶切割後所得之電泳圖結果。
GG 型：450 bp, 55 bp；GC 型：505 bp, 450 bp, 55 bp；CC 型：505 bp。

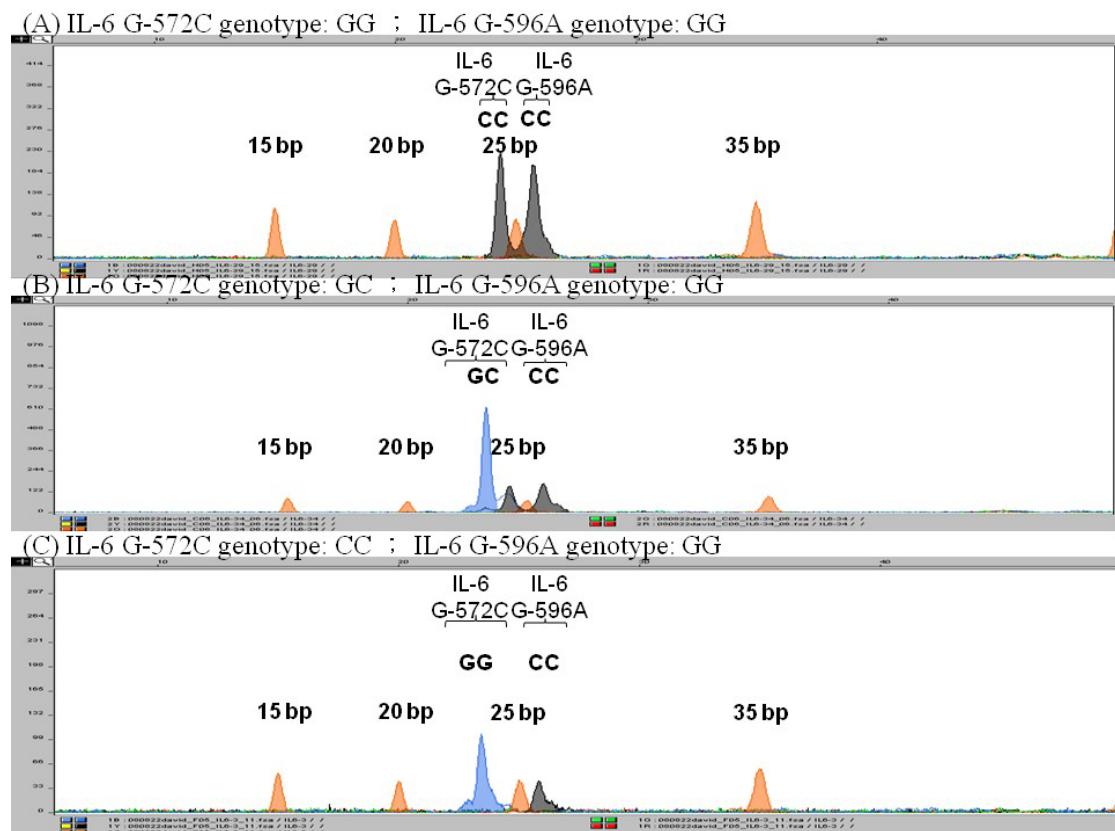


圖 6、利用微序列方法進行敗血症患者 IL-6 基因之基因型分析。

- (A) G-572C:GG 型，G-596A:GG 型；
- (B) G-572C:GC 型，G-596A:GG 型；
- (C) G-572C:CC 型，G-596A:GG 型。

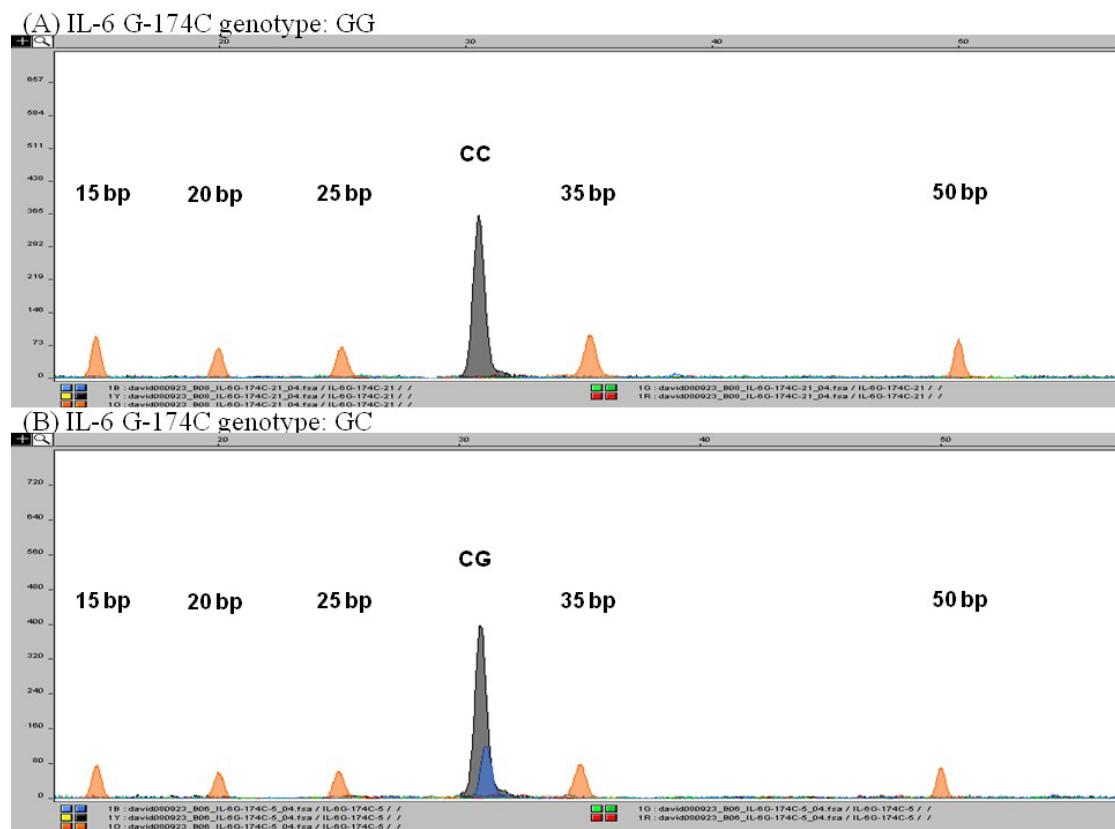


圖 7、利用微序列方法進行敗血症患者 IL-6 基因之基因型分析。

(A) G-174C: GG 型；(B) G-174C: GC 型。

2. 敗血症患者 IL-6 基因型與交替基因頻率分析

以微序列法進行 40 位敗血症患者 IL-6 基因型與交替基因頻率分析。結果顯示，在 IL-6 G-596A 只出現 GG 基因型，IL-6 G-572C 三種基因型分配較平均，IL-6 G-174C 則以 GC 基因型居多，且無 CC 基因型（表 3）；由於 IL-6 的轉錄表現量同時受到基因上的多個變異點調控，在 IL-6 G-596A 之結果顯示多為高轉錄表現量遺傳，而 IL-6 G-572C 之結果顯示大多具有低轉錄表現量遺傳之特徵，至於 IL-6 G-174C 則傾向有利於存活的高轉錄表現量遺傳。追蹤敗血症患者的臨床檢驗結果與預後發現，IL-6 G-572C 的 C 變異會讓第一天血中 IL-10 提升較快，且出現氣分熱、營分熱、血分熱等邪實的比率降低；IL-6 G-174C 中具有 G 交替基因的患者存活率高於攜有 C 交替基因的患者。已有文獻指出 IL-6 G-174C 具有 G 交替基因的患者存活率高於攜有 C 交替基因的患者(Schluter *et al.*, 2002)。本試驗結果與 Bennermo *et al.* (2004) 及 Schluter *et al.* (2003) 之結果相符。

表 3、敗血症患者 IL-6 基因之基因型與交替基因頻率

SNP	N ¹	Genotype			Allele	
		GG	GA	AA	G	A
IL-6 G-596A	62	1.000 ₍₆₂₎	0.000 ₍₀₎	0.000 ₍₀₎	1.000	0.000
IL-6 G-572C	62	0.403 ₍₂₅₎	0.274 ₍₁₇₎	0.323 ₍₂₀₎	0.540	0.460
IL-6 G-174C	62	0.468 ₍₂₉₎	0.532 ₍₃₃₎	0.000 ₍₀₎	0.734	0.266

¹N: number of samples

(三) IL-10 基因型分析

1. 定義 IL-10 基因之多態性

本研究根據 Atan *et al.* (2005) 發表位於 IL-10 啟動子區域第-1082 位置的 G→A 變異，利用 GeneBank accession number: rs1800896 人 IL-10 編碼序列設計二條 PCR 引子 (IL-10 G-1082A-F2 與 IL-10 G-1082A-R1) (表 1)，增殖出產物為 473 bp (圖 9)。利用酵素消化方式純化 PCR 產物並進行單一微序列反應。

依據 IL-10 增殖出之 473 bp 片段的第 341 位置為 G 變異成 A，設計 SNP 特異性引子 IL-10 G-1082A-r1 (反向設計為 C/T)，經過單一微序列反應後，IL-10 G-1082A-r1 之 3' 端會接上與 SNP 互補且不同螢光之 ddNTPs。圖 10 為利用自動化毛細管電泳與 GeneScan 軟體分析結果，得 GA 基因型為同時接上 ddCTP 與 ddTTP 產生黑色及紅色波峰，AA 基因型為接上 ddTTP 產生紅色波峰，在 40 位敗血症患者的分析結果中並無出現 GG 基因型。

1 GATGAGTGATTGCCCTGACTATAGAGTGGCAGGGCCAAGGCAGAGCCCA 50
IL-10 G-1082A-F2 →
51 GGCCTCCTGCACCTAGGTCACTGTTCCCTCCAGTTACAGTCTAAACTGGA 100
101 ATGGCAGGCAAAGCCCCGTGGAAGGGGAAGGTGAAGCTCAAATCAAAGC 150
151 TCNNCCAGAGACTTTCCAGATATCTGAAGAAGTCCTGATGTCACTGCC 200
201 GGTCCCTCCCCAGGTAGAGCAACACTCCTCGCCGCAACCCAACGGCTCT 250
251 CCTTACTTTCTACACACACACACACACACACACACACACACACACACA 300
301 CACACAAATCCAAGACAACACTACTAAGGCTTGGGAGGGGAAGTA 350
A
351 GGGATAGGTAAGAGGAAAGTAAGGGACCTCCTATCCAGCCTCCATGGAAT 400
← IL-10 G-1082A-r1
401 CCTGACTTCTTCCCTGTTATTCAACTTCCACCCATCTTTAAA 450
451 CTTTAGACTCCAGCCACAGAAGC 473
← IL-10 G-1082A-R1

圖 8、人 IL-10 基因序列(GenBank accession number: rs1800896)及 PCR、延伸引子設計。陰影部分為引子位置。加框部分為延伸引子位置。底線者為變異鹼基。

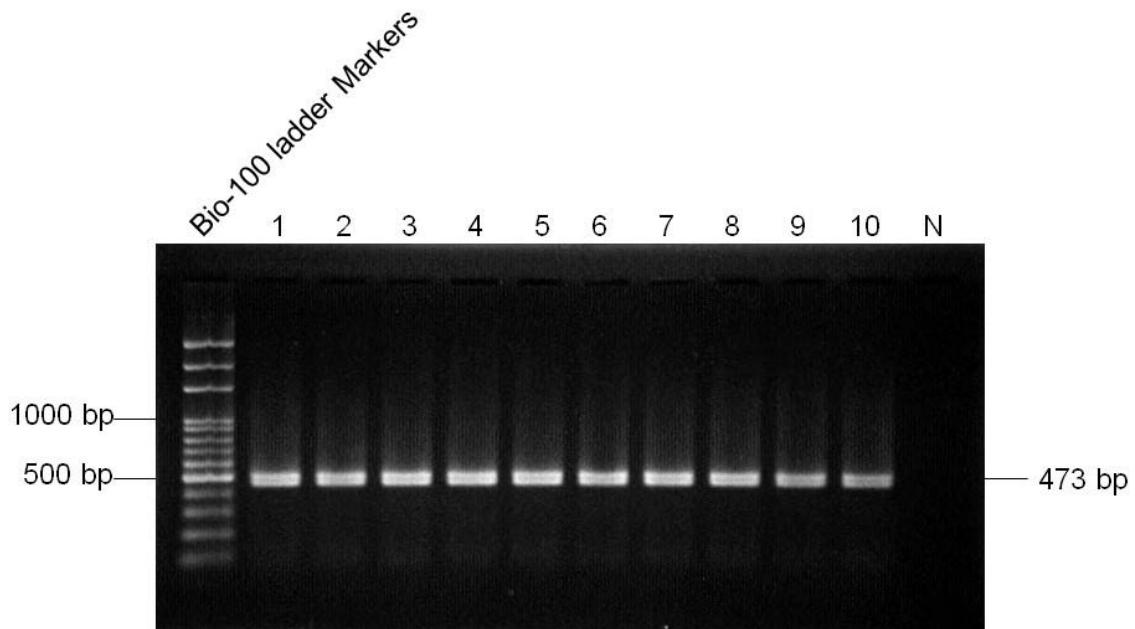


圖 9、敗血症患者基因組 DNA 以 IL-10 引子進行 PCR 增殖，所得產物(473 bp)之電泳圖。

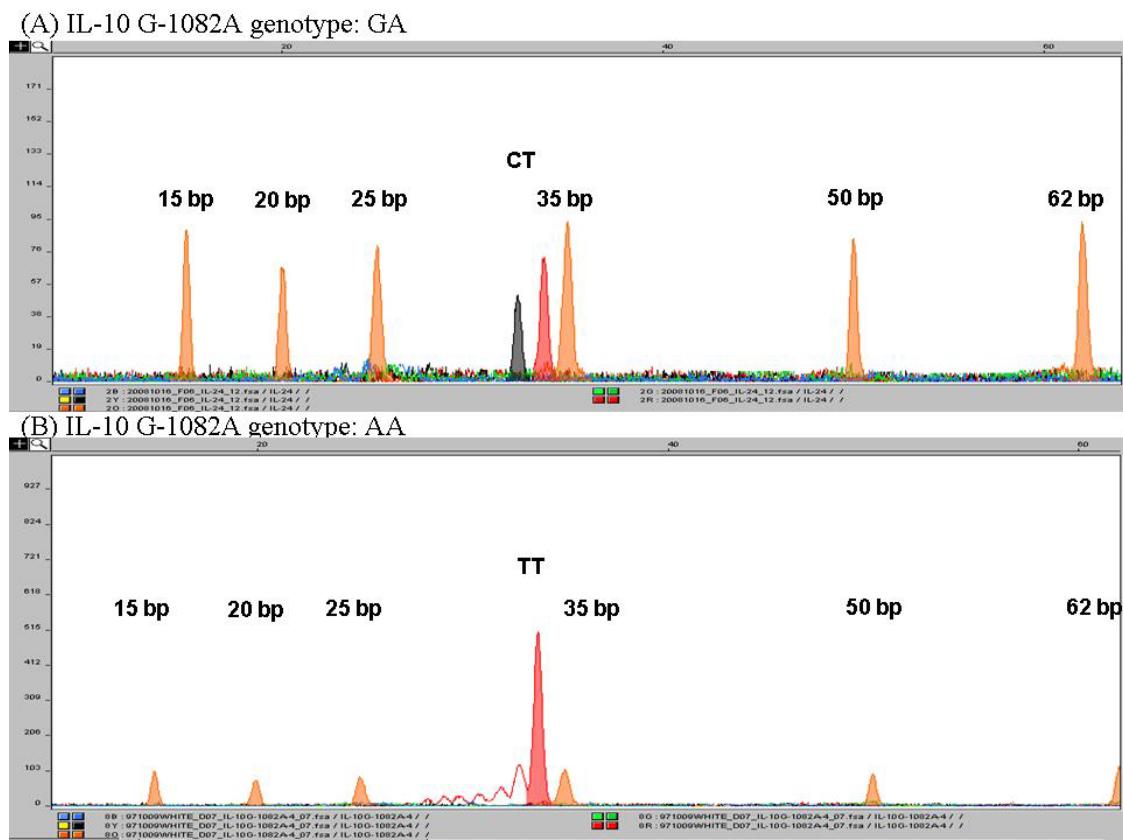


圖 10、利用微序列方法進行敗血症患者 IL-10 基因之基因型分析。
 (A) G-1082A: GA 型；(B) G-1082A: AA 型。

2. 敗血症患者 IL-10 基因型與交替基因頻率分析

以微序列法進行 40 位敗血症患者 IL-10 基因型與交替基因頻率分析。結果顯示，AA 基因型居多（表 4），由於 A 交替基因型則會降調控 IL-10 的表現量，而 IL-10 濃度較高者敗血症預後愈差，可能是在演化的過程中，預後較佳的個體比較容易存活下來，而造成 A 交替基因頻率甚高。已有文獻記載，具有 G 交替基因的患者，會升調控 IL-10 的表現量，產生較多蛋白，而 A 交替基因型則會降調控 IL-10 的表現量(Atan *et al.*, 2005; Lech-Maranda *et al.*, 2004)，追蹤敗血症患者的檢驗結果發現與之相符。

表 4、敗血症患者 IL-10 基因型與交替基因頻率

N ¹	Genotype			Allele	
	GG	GA	AA	G	A
62	0.000 ₍₀₎	0.129 ₍₈₎	0.871 ₍₅₄₎	0.065	0.935

¹N: number of samples

二、性狀與臨床觀察指標、基因型存活率相關性分析

表 5、性別與臨床觀察指標、基因型存活率之相關性

Clinical observation parameters	Sex ¹		p value ³
	Male (mean±SD)	Female (mean±SD)	
Age (yr)	71.74 ± 14.07 ² (35)	77.57 ± 9.64 ² (28)	
Weight (kg)	56.38 ± 8.44 (35)	51.13 ± 9.45 (28)	<0.05
Diagnosis (n, septic shock/ severe sepsis)	30/5	21/7	
Outcome (n, non-survival/ survival)	16/19	12/16	
Survival day (day)	14.50 ± 15.98 ² (16)	10.83 ± 8.99 ² (12)	
APACHE II Score	32.60 ± 7.17 ² (35)	30.98 ± 7.42 ² (28)	
CV factor	3.00 ± 0.93 ² (35)	2.71 ± 1.41 ² (28)	
IL-6 (pg/ml)	2924.38 ± 4312.07 ² (33)	2203.87 ± 4087.45 ² (26)	
IL-10 (pg/ml)	370.40 ± 550.35 ² (35)	256.34 ± 406.02 ² (28)	
氣分熱 (%)	71 ² (25)	71 ² (20)	
營分熱 (%)	46 ² (16)	50 ² (14)	
血分熱 (%)	31 ² (11)	29 ² (8)	
氣虛 (%)	74 ² (26)	89 ² (25)	
血虛 (%)	3 ² (1)	14 ² (4)	
陰虛 (%)	9 ² (3)	4 ² (1)	
陽虛 (%)	49 ² (17)	57 ² (16)	
White blood cell (U/ul)	16340.86 ± 7610.75 ² (35)	23790.71 ± 11565.86 ² (28)	<0.01
Hemoglobin (g/dl)	10.45 ± 2.00 ² (35)	11.02 ± 2.30 ² (28)	
Platelate (1000 U/ul)	281.66 ± 162.28 ² (35)	250.33 ± 113.66 ² (27)	
GOT (U/l)	81.87 ± 62.54 ² (23)	53.46 ± 39.53 ² (13)	
GPT (U/l)	45.88 ± 36.13 ² (26)	33.35 ± 25.97 ² (20)	
BUN (mg/dl)	56.06 ± 36.30 ² (32)	68.39 ± 34.35 ² (18)	
Creatinine (mg/dl)	3.11 ± 3.40 ² (35)	2.42 ± 1.65 ² (28)	
pH	7.32 ± 0.16 ² (35)	7.34 ± 0.13 ² (26)	
pCO ₂	35.71 ± 20.76 ² (35)	28.38 ± 12.57 ² (26)	
pO ₂	95.43 ± 53.14 ² (35)	103.52 ± 50.35 ² (26)	
HCO ₃	17.30 ± 5.97 ² (35)	15.91 ± 6.02 ² (26)	

Genotype survival rate (續)	Male (mean \pm SD)	Female (mean \pm SD)	p value ³
TNF- α -308 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.556 _(15/12)	0.478 _(11/12)	
TNF- α -308 GA survival rate (survival/ non-survival)	0.429 _(3/4)	1.000 _(5/0)	
IL-6 -174 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.636_(7/4)	0.611_(11/7)	<0.05
IL-6 -174 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.478_(11/12)	0.500_(5/5)	
IL-6 -572 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.667_(6/3)	0.625_(10/6)	
IL-6 -572 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.545_(6/5)	0.333_(2/4)	<0.05
IL-6 -572 CC survival rate (survival/ non-survival)	0.429_(6/8)	0.667_(4/2)	
IL-6 -596 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.529 _(18/16)	0.571 _(16/12)	
IL-10 -1082 GA survival rate (survival/ non-survival)	0.167 _(1/5)	0.500 _(1/1)	
IL-10 -1082 AA survival rate (survival/ non-survival)	0.607 _(17/11)	0.577 _(15/11)	
IL-18 -137 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.533_(8/7)	0.550_(11/9)	<0.05
IL-18 -137 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.526_(10/9)	0.625_(5/3)	
IL-18 -607 CC survival rate (survival/ non-survival)	0.429 _(3/4)	0.667 _(6/3)	
IL-18 -607 CA survival rate (survival/ non-survival)	0.583 _(14/10)	0.526 _(10/9)	
IL-18 -607 AA survival rate (survival/ non-survival)	0.333 _(1/2)	-	

¹ mean \pm standard error

²number of patients.

表 6、敗血症病程嚴重度診斷與臨床觀察指標、基因型存活率之相關性

Clinical observation parameters	Severity of sepsis ¹		p value ³
	Septic shock (mean±SD)	Severe sepsis (mean±SD)	
Sex (n, male/ female)	30/21	5/7	
Age (yr)	74.39 ± 13.07 ₍₅₁₎ ²	74.08 ± 10.62 ₍₁₂₎	
Weight (kg)	54.63 ± 9.69 ₍₅₁₎	51.58 ± 6.71 ₍₁₂₎	
Outcome (n, non-survival/ survival)	26/25	2/10	<0.05
Survival day (day)	12.69 ± 13.71 ₍₂₆₎	16.00 ± 11.00 ₍₂₎	
APACHE II Score	31.84 ± 7.45 ₍₅₁₎	31.92 ± 6.76 ₍₁₂₎	
CV factor	3.29 ± 0.46 ₍₅₁₎	1.08 ± 1.55 ₍₁₂₎	<0.0001
IL-6 (pg/ml)	3185.28 ± 4559.08 ₍₄₇₎	341.43 ± 331.83 ₍₁₂₎	<0.0001
IL-10 (pg/ml)	378.47 ± 532.50 ₍₅₁₎	69.98 ± 52.73 ₍₁₂₎	<0.001
氣分熱 (%)	71 ₍₃₆₎	75 ₍₉₎	
營分熱 (%)	45 ₍₂₃₎	58 ₍₇₎	
血分熱 (%)	31 ₍₁₆₎	25 ₍₃₎	
氣虛 (%)	84 ₍₄₃₎	67 ₍₈₎	
血虛 (%)	10 ₍₅₎	0 ₍₀₎	<0.05
陰虛 (%)	6 ₍₃₎	8 ₍₁₎	
陽虛 (%)	57 ₍₂₉₎	33 ₍₄₎	
White blood cell (U/ul)	19150.78 ± 10245.69 ₍₅₁₎	21781.67 ± 10063.45 ₍₁₂₎	
Hemoglobin (g/dl)	10.58 ± 2.07 ₍₅₁₎	11.21 ± 2.43 ₍₁₂₎	
Platelite (1000 U/ul)	273.92 ± 152.10 ₍₅₀₎	243.42 ± 99.93 ₍₁₂₎	
GOT (U/l)	76.78 ± 58.36 ₍₃₂₎	30.25 ± 8.35 ₍₄₎	
GPT (U/l)	44.41 ± 35.01 ₍₃₇₎	24.11 ± 9.85 ₍₉₎	
BUN (mg/dl)	59.30 ± 35.74 ₍₄₀₎	65.30 ± 37.09 ₍₁₀₎	
Creatinine (mg/dl)	2.83 ± 2.92 ₍₅₁₎	2.67 ± 2.08 ₍₁₂₎	
pH	7.33 ± 0.14 ₍₄₉₎	7.35 ± 0.17 ₍₁₂₎	
pCO ₂	33.20 ± 19.62 ₍₄₉₎	30.08 ± 9.34 ₍₁₂₎	
pO ₂	94.95 ± 47.83 ₍₄₉₎	114.92 ± 64.41 ₍₁₂₎	
HCO ₃	16.69 ± 6.26 ₍₄₉₎	16.78 ± 5.01 ₍₁₂₎	

Genotype survival rate (續)	Septic shock (mean±SD)	Severe sepsis (mean±SD)	p value ³
TNF- α -308 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.450 _(18/22)	0.800 _(8/2)	
TNF- α -308 GA survival rate (survival/ non-survival)	0.636 _(7/4)	1.000 _(1/0)	
IL-6 -174 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.524 _(11/10)	0.875 _(7/1)	
IL-6 -174 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.467 _(14/16)	0.667 _(2/1)	
IL-6 -572 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.579 _(11/8)	0.833 _(5/1)	
IL-6 -572 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.400 _(6/9)	1.000 _(2/0)	
IL-6 -572 CC survival rate (survival/ non-survival)	0.471 _(8/9)	0.667 _(2/1)	
IL-6 -596 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.490 _(25/26)	0.818 _(9/2)	
IL-10 -1082 GA survival rate (survival/ non-survival)	0.143 _(1/6)	1.000 _(1/0)	
IL-10 -1082 AA survival rate (survival/ non-survival)	0.545 _(24/20)	0.800 _(8/2)	
IL-18 -137 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.480 _(12/13)	0.875 _(7/1)	
IL-18 -137 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.500 _(13/13)	0.667 _(2/1)	
IL-18 -607 CC survival rate (survival/ non-survival)	0.455 _(5/6)	0.800 _(4/1)	
IL-18 -607 CA survival rate (survival/ non-survival)	0.514 _(19/18)	0.833 _(5/1)	
IL-18 -607 AA survival rate (survival/ non-survival)	0.333 _(1/2)	-	

¹ mean \pm standard error.

²number of patients.

表 7、預後與臨床觀察指標、基因型頻率之相關性

Clinical observation parameters	Outcome ¹		p value ³
	Non-survival (mean±SD)	Survival (mean±SD)	
Sex (n, male/ female)	16/12	19/16	
Age (yr)	76.54 ± 12.06 ² (28)	72.57 ± 12.81 ² (35)	
Weight (kg)	54.51 ± 10.24 ² (28)	53.67 ± 8.41 ² (35)	
Diagnosis (n, septic shock/ severe sepsis)	26/2	25/10	<0.05
Survival day (day)	12.93 ± 13.56 ² (28)	-	
APACHE II Score	34.54 ± 7.31 (28)	29.71 ± 6.60 (35)	<0.05
CV factor	3.14 ± 0.99 ² (28)	2.66 ± 1.26 ² (35)	
IL-6 (pg/ml)	5000.88 ± 5449.10 (25)	846.56 ± 1378.22 (34)	<0.0001
IL-10 (pg/ml)	496.41 ± 602.53 (28)	178.35 ± 324.28 (35)	<0.05
氣分熱 (%)	64 ₍₁₈₎	77 ₍₂₇₎	
營分熱 (%)	57 ₍₁₆₎	40 ₍₁₄₎	
血分熱 (%)	36 ₍₁₀₎	26 ₍₉₎	
氣虛 (%)	89 ₍₂₅₎	74 ₍₂₆₎	
血虛 (%)	7 ₍₂₎	9 ₍₃₎	
陰虛 (%)	4 ₍₁₎	9 ₍₃₎	
陽虛 (%)	82₍₂₃₎	29₍₁₀₎	<0.0001
White blood cell (U/ul)	18911.07 ± 9326.12 ² (28)	20244.57 ± 10919.43 ² (35)	
Hemoglobin (g/dl)	10.67 ± 2.51 ² (28)	10.73 ± 1.82 ² (35)	
Platelite (1000 U/ul)	243.78 ± 159.09 ² (27)	286.71 ± 128.07 ² (35)	
GOT (U/l)	69.06 ± 41.93 ² (18)	74.17 ± 68.75 ² (18)	
GPT (U/l)	38.75 ± 21.39 ² (20)	41.73 ± 39.20 ² (26)	
BUN (mg/dl)	72.82 ± 44.22 ² (22)	50.82 ± 24.03 ² (28)	<0.05
Creatinine (mg/dl)	3.20 ± 2.37 ² (28)	2.49 ± 3.03 ² (35)	
pH	7.27 ± 0.15 ² (27)	7.38 ± 0.13 ² (34)	<0.01
pCO ₂	35.48 ± 23.02 ² (27)	30.29 ± 12.46 ² (34)	
pO ₂	96.76 ± 53.94 ² (27)	100.56 ± 50.56 ² (34)	
HCO ₃	15.04 ± 6.19 ² (27)	18.03 ± 5.56 ² (34)	

Genotype frequency (續)	Non-survival (mean±SD)	Survival (mean±SD)	p value ³
TNF- α -308 GG (%)	48 ₍₂₄₎	52 ₍₂₆₎	
TNF- α -308 GA (%)	57.1 ₍₄₎	42.9 ₍₈₎	
IL-6 -174 GG (%)	37.9 ₍₁₁₎	62.1 ₍₁₈₎	
IL-6 -174 GC (%)	51.5 ₍₁₇₎	48.5 ₍₁₆₎	
IL-6 -572 GG (%)	36 ₍₉₎	64 ₍₁₆₎	
IL-6 -572 GC (%)	52.9 ₍₉₎	47.1 ₍₈₎	
IL-6 -572 CC (%)	50 ₍₁₀₎	50 ₍₁₀₎	
IL-6 -596 GG (%)	45.2 ₍₂₈₎	54.8 ₍₃₄₎	
IL-10 -1082 GA (%)	75 ₍₆₎	25 ₍₂₎	
IL-10 -1082 AA (%)	40.7 ₍₅₅₎	59.3 ₍₃₂₎	
IL-18 -137 GG (%)	42.4 ₍₁₄₎	57.6 ₍₁₉₎	
IL-18 -137 GC (%)	48.3 ₍₁₄₎	51.7 ₍₁₅₎	
IL-18 -607 CC (%)	43.8 ₍₇₎	56.3 ₍₉₎	
IL-18 -607 CA (%)	44.2 ₍₁₉₎	55.8 ₍₂₄₎	
IL-18 -607 AA (%)	66.7 ₍₂₎	33.3 ₍₁₎	

¹ mean ± standard error.

²number of patients.

表 8、中醫證型症狀「氣分熱」與臨床觀察指標、基因型存活率之相關性

Clinical observation parameters	Diagnosis ¹		
	氣分熱證 (mean±SD)	無氣分熱 (mean±SD)	p value ³
Sex (n, male/ female)	25/20	10/8	
Age (yr)	74.00 ± 12.90 ₍₄₅₎ ²	75.17 ± 11.92 ₍₁₈₎	
Weight (kg)	53.48 ± 9.40 ₍₄₅₎	55.44 ± 8.81 ₍₁₈₎	
Diagnosis (n, septic shock/ severe sepsis)	36/9	15/3	
Outcome (n, non-survival/ survival)	18/27	10/8	
Survival day (day)	13.11 ± 12.72 ₍₁₈₎	12.60 ± 14.93 ₍₁₀₎	
APACHE II Score	32.20 ± 7.77 ₍₄₅₎	31.00 ± 5.98 ₍₁₈₎	
CV factor	2.89 ± 1.10 ₍₄₅₎	2.83 ± 1.34 ₍₁₈₎	
IL-6 (pg/ml)	2477.08 ± 4205.52 ₍₄₂₎	2927.51 ± 4272.04 ₍₁₇₎	
IL-10 (pg/ml)	288.65 ± 393.81 ₍₄₅₎	397.36 ± 678.58 ₍₁₈₎	
營分熱 (%)	64 (29)	6 (1)	<0.0001
血分熱 (%)	42 (19)	0 (0)	<0.0001
氣虛 (%)	78 ₍₃₅₎	89 ₍₁₆₎	
血虛 (%)	9 ₍₄₎	6 ₍₁₎	
陰虛 (%)	7 ₍₃₎	6 ₍₁₎	
陽虛 (%)	49 ₍₂₂₎	61 ₍₁₁₎	
White blood cell (U/ul)	20131.11 ± 11006.51 ₍₄₅₎	18453.89 ± 7988.11 ₍₁₈₎	
Hemoglobin (g/dl)	10.54 ± 1.94 ₍₄₅₎	11.00 ± 2.58 ₍₁₈₎	
Platelite (1000 U/ul)	269.25 ± 142.19 ₍₄₄₎	265.00 ± 148.27 ₍₁₈₎	
GOT (U/l)	76.09 ± 61.05 ₍₂₂₎	64.57 ± 49.17 ₍₁₄₎	
GPT (U/l)	40.97 ± 31.74 ₍₃₁₎	39.33 ± 34.58 ₍₁₅₎	
BUN (mg/dl)	56.50 ± 30.37 ₍₃₆₎	70.79 ± 46.21 ₍₁₄₎	
Creatinine (mg/dl)	2.86 ± 3.02 ₍₄₅₎	2.66 ± 2.06 ₍₁₈₎	
pH	7.35 ± 0.15 ₍₄₃₎	7.30 ± 0.15 ₍₁₈₎	
pCO ₂	30.35 ± 16.62 ₍₄₃₎	37.94 ± 20.27 ₍₁₈₎	
pO ₂	98.62 ± 51.92 ₍₄₃₎	99.50 ± 52.59 ₍₁₈₎	
HCO ₃	16.38 ± 6.06 ₍₄₃₎	17.48 ± 5.90 ₍₁₈₎	

Genotype survival rate (續)	氣分熱證 (mean±SD)	無氣分熱 (mean±SD)	p value ³
TNF- α -308 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.571 _(20/15)	0.400 _(6/9)	
TNF- α -308 GA survival rate (survival/ non-survival)	0.667 _(6/3)	0.667 _(2/1)	
IL-6 -174 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.667 _(14/7)	0.500 _(4/4)	
IL-6 -174 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.522 _(12/11)	0.400 _(4/6)	
IL-6 -572 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.619 _(13/8)	0.750 _(3/1)	
IL-6 -572 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.545 _(6/5)	0.333 _(2/4)	
IL-6 -572 CC survival rate (survival/ non-survival)	0.583 _(7/5)	0.375 _(3/5)	
IL-6 -596 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.591 _(26/18)	0.444 _(8/10)	
IL-10 -1082 GA survival rate (survival/ non-survival)	0.286 _(2/5)	0.000 _(0/1)	
IL-10 -1082 AA survival rate (survival/ non-survival)	0.649 _(24/13)	0.471 _(8/9)	
IL-18 -137 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.600 _(15/10)	0.500 _(4/4)	
IL-18 -137 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.579 _(11/8)	0.400 _(4/6)	
IL-18 -607 CC survival rate (survival/ non-survival)	0.571 _(8/6)	0.500 _(1/1)	
IL-18 -607 CA survival rate (survival/ non-survival)	0.607 _(17/11)	0.467 _(7/8)	
IL-18 -607 AA survival rate (survival/ non-survival)	0.500 _(1/1)	0.000 _(0/1)	

¹ mean ± standard error.

²number of patients.

表 9、中醫證型「營分熱」與臨床觀察指標、基因型存活率之相關性

Clinical observation parameters	Diagnosis ¹		
	營分熱證 (mean±SD)	無營分熱 (mean±SD)	p value ³
Sex (n, male/ female)	16/14	19/14	
Age (yr)	76.17 ± 13.25 ₍₃₀₎ ²	72.67 ± 11.81 ₍₃₃₎	
Weight (kg)	52.00 ± 8.74 ₍₃₀₎	55.91 ± 9.36 ₍₃₃₎	
Diagnosis (n, septic shock/ severe sepsis)	23/7	28/5	
Outcome (n, non-survival/ survival)	16/14	12/11	
Survival day (day)	12.69 ± 12.27 ₍₁₆₎	13.25 ± 15.10 ₍₁₂₎	
APACHE II Score	34.53 ± 7.40 ₍₃₀₎	29.42 ± 6.35 ₍₃₃₎	<0.01
CV factor	2.87 ± 1.12 ₍₃₀₎	2.88 ± 1.22 ₍₃₃₎	
IL-6 (pg/ml)	3412.76 ± 4835.32 ₍₂₈₎	1878.97 ± 3437.36 ₍₃₁₎	
IL-10 (pg/ml)	356.43 ± 413.51 ₍₃₀₎	286.33 ± 556.29 ₍₃₃₎	
氣分熱 (%)	97 ₍₂₉₎	48 ₍₁₆₎	<0.0001
血分熱 (%)	47 ₍₁₄₎	15 ₍₅₎	<0.01
氣虛 (%)	77 ₍₂₃₎	85 ₍₂₈₎	
血虛 (%)	7 ₍₂₎	9 ₍₃₎	
陰虛 (%)	3 ₍₁₎	9 ₍₃₎	
陽虛 (%)	60 ₍₁₈₎	45 ₍₁₅₎	
White blood cell (U/ul)	18868.33 ± 8516.89 ₍₃₀₎	20364.24 ± 11579.65 ₍₃₃₎	
Hemoglobin (g/dl)	10.81 ± 1.99 ₍₃₀₎	10.61 ± 2.29 ₍₃₃₎	
Platelite (1000 U/ul)	248.27 ± 143.20 ₍₃₀₎	286.53 ± 142.26 ₍₃₂₎	
GOT (U/l)	72.53 ± 56.80 ₍₁₅₎	70.95 ± 57.14 ₍₂₁₎	
GPT (U/l)	36.50 ± 27.09 ₍₂₀₎	43.46 ± 36.15 ₍₂₆₎	
BUN (mg/dl)	53.35± 32.85₍₂₃₎	66.59 ± 37.59₍₂₇₎	<0.05
Creatinine (mg/dl)	2.51 ± 2.00 ₍₃₀₎	3.07 ± 3.31 ₍₃₃₎	
pH	7.33 ± 0.16 ₍₃₀₎	7.34 ± 0.14 ₍₃₁₎	
pCO ₂	32.07 ± 18.84 ₍₃₀₎	33.10 ± 17.35 ₍₃₁₎	
pO ₂	109.97 ± 54.79 ₍₃₀₎	88.15 ± 46.97 ₍₃₁₎	
HCO ₃	16.61 ± 6.47 ₍₃₀₎	16.80 ± 5.58 ₍₃₁₎	

Genotype survival rate (續)	營分熱證 (mean \pm SD)	無營分熱 (mean \pm SD)	p value ³
TNF- α -308 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.480 _(12/13)	0.560 _(14/11)	
TNF- α -308 GA survival rate (survival/ non-survival)	0.400 _(2/3)	0.857 _(6/1)	
IL-6 -174 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.545 _(6/5)	0.667 _(12/6)	
IL-6 -174 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.421 _(8/11)	0.571 _(8/6)	
IL-6 -572 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.571 _(8/6)	0.727 _(8/3)	
IL-6 -572 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.375 _(3/5)	0.556 _(5/4)	
IL-6 -572 CC survival rate (survival/ non-survival)	0.375 _(3/5)	0.583 _(7/5)	
IL-6 -596 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.467 _(14/16)	0.625 _(20/12)	
IL-10 -1082 GA survival rate (survival/ non-survival)	0.167 _(1/5)	0.500 _(1/1)	
IL-10 -1082 AA survival rate (survival/ non-survival)	0.542 _(13/11)	0.633 _(19/11)	
IL-18 -137 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.500 _(9/9)	0.667 _(10/5)	
IL-18 -137 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.417 _(5/7)	0.588 _(10/7)	
IL-18 -607 CC survival rate (survival/ non-survival)	0.500 _(5/5)	0.667 _(4/2)	
IL-18 -607 CA survival rate (survival/ non-survival)	0.444 _(8/10)	0.640 _(16/9)	
IL-18 -607 AA survival rate (survival/ non-survival)	0.500 _(1/1)	0.000 _(0/1)	

¹ mean \pm standard error.

²number of patients.

表 10、中醫證型「血分熱」與臨床觀察指標、基因型存活率之相關性

Clinical observation parameters	Diagnosis ¹		
	血分熱證 (mean±SD)	無血分熱 (mean±SD)	p value ³
Sex (n, male/ female)	11/8	24/20	
Age (yr)	72.68 ± 13.92 ² (19)	75.05 ± 11.97 ² (44)	
Weight (kg)	54.18 ± 6.88 ² (19)	53.98 ± 10.14 ² (44)	
Diagnosis (n, septic shock/ severe sepsis)	16/3	35/9	
Outcome (n, non-survival/ survival)	10/9	18/26	
Survival day (day)	9.80 ± 9.56 ² (10)	14.67 ± 15.06 ² (18)	
APACHE II Score	33.74 ± 6.62 ² (19)	31.05 ± 7.46 ² (44)	
CV factor	3.11 ± 0.85 ² (19)	2.77 ± 1.28 ² (44)	
IL-6 (pg/ml)	3469.06 ± 4793.88 ² (16)	2286.05 ± 3951.80 ² (43)	
IL-10 (pg/ml)	341.26 ± 426.27 ² (19)	310.40 ± 521.24 ² (44)	
氣分熱 (%)	100 (19)	59 (26)	<0.0001
營分熱 (%)	74 (14)	36 (16)	<0.01
氣虛 (%)	79 (15)	82 (36)	
血虛 (%)	16 (3)	5 (2)	
陰虛 (%)	0 (0)	9 (4)	<0.05
陽虛 (%)	58 (11)	50 (22)	
White blood cell (U/ul)	21856.32 ± 13612.51 ² (19)	18700.00 ± 8234.20 ² (44)	
Hemoglobin (g/dl)	10.24 ± 2.05 ² (19)	10.90 ± 2.17 ² (44)	
Platelite (1000 U/ul)	277.84 ± 174.02 ² (19)	263.67 ± 128.27 ² (43)	
GOT (U/l)	68.63 ± 62.69 ² (8)	72.46 ± 55.24 ² (28)	
GPT (U/l)	33.82 ± 21.22 ² (11)	42.51 ± 35.30 ² (35)	
BUN (mg/dl)	56.79 ± 24.97 ² (15)	61.94 ± 39.49 ² (36)	
Creatinine (mg/dl)	2.46 ± 1.43 ² (19)	2.95 ± 3.18 ² (44)	
pH	7.29 ± 0.16 ² (19)	7.35 ± 0.14 ² (42)	
pCO ₂	33.37 ± 22.10 ² (19)	32.24 ± 15.96 ² (42)	
pO ₂	94.45 ± 58.49 ² (19)	100.88 ± 48.84 ² (42)	
HCO ₃	15.18 ± 6.54 ² (19)	17.40 ± 5.66 ² (42)	

Genotype survival rate (續)	血分熱證 (mean \pm SD)	無血分熱 (mean \pm SD)	p value ³
TNF- α -308 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.467 _(7/8)	0.543 _(19/16)	
TNF- α -308 GA survival rate (survival/ non-survival)	0.500 _(2/2)	0.750 _(6/2)	
IL-6 -174 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.444 _(4/5)	0.700 _(14/6)	
IL-6 -174 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.500 _(5/5)	0.478 _(11/12)	
IL-6 -572 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.500 _(5/5)	0.733 _(11/4)	
IL-6 -572 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.400 _(2/3)	0.500 _(6/6)	
IL-6 -572 CC survival rate (survival/ non-survival)	0.500 _(2/2)	0.500 _(8/8)	
IL-6 -596 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.474 _(9/10)	0.581 _(25/18)	
IL-10 -1082 GA survival rate (survival/ non-survival)	0.000 _(0/4)	0.500 _(2/2)	
IL-10 -1082 AA survival rate (survival/ non-survival)	0.600 _(9/6)	0.590 _(23/16)	
IL-18 -137 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.545 _(6/5)	0.591 _(13/9)	
IL-18 -137 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.375 _(3/5)	0.571 _(12/9)	
IL-18 -607 CC survival rate (survival/ non-survival)	0.571 _(4/3)	0.556 _(5/4)	
IL-18 -607 CA survival rate (survival/ non-survival)	0.400 _(4/6)	0.606 _(20/13)	
IL-18 -607 AA survival rate (survival/ non-survival)	0.500 _(1/1)	0.000 _(0/1)	

¹ mean \pm standard error.

²number of patients.

表 11、中醫證型「氣虛」與臨床觀察指標、基因型存活率之相關性

Clinical observation parameters	Diagnosis ¹		
	氣虛證 (mean±SD)	無氣虛 (mean±SD)	p value ³
Sex (n, male/ female)	26/25	9/3	
Age (yr)	76.27 ± 11.55 ₍₅₁₎ ²	66.08 ± 13.70 ₍₁₂₎	<0.05
Weight (kg)	53.96 ± 9.11 ₍₅₁₎	54.40 ± 9.96 ₍₁₂₎	
Diagnosis (n, septic shock/ severe sepsis)	43/8	8/4	
Outcome(n, non-survival/ survival)	25/26	3/9	
Survival day (day)	13.00 ± 13.89 ₍₂₅₎	12.33 ± 10.40 ₍₃₎	
APACHE II Score	31.96 ± 7.05 ₍₅₁₎	31.42 ± 8.39 ₍₁₂₎	
CV factor	2.88 ± 1.13 ₍₅₁₎	2.83 ± 1.34 ₍₁₂₎	
TNF- α (pg/ml)	54.51 ± 57.53 ₍₃₁₎	60.51 ± 51.66 ₍₉₎	
IL-6 (pg/ml)	2547.86 ± 4244.11 ₍₄₇₎	2837.97 ± 4164.81 ₍₁₂₎	
IL-8 (pg/ml)	428.16 ± 686.15 ₍₃₁₎	1057.26 ± 1232.46 ₍₉₎	
IL-10 (pg/ml)	304.42 ± 492.23 ₍₅₁₎	384.70 ± 500.00 ₍₁₂₎	
IL-18 (pg/ml)	681.42 ± 337.84 ₍₃₁₎	757.06 ± 436.63 ₍₉₎	
氣分熱 (%)	69 ₍₃₅₎	83 ₍₁₀₎	
營分熱 (%)	45 ₍₂₃₎	58 ₍₇₎	
血分熱 (%)	29 ₍₁₅₎	33 ₍₄₎	
血虛 (%)	10 (5)	0 (0)	<0.05
陰虛 (%)	4 ₍₂₎	17 ₍₂₎	
陽虛 (%)	65 (33)	0 (0)	<0.0001
White blood cell (U/ul)	20777.45 ± 10237.82 ₍₅₁₎	14868.33 ± 8904.78 ₍₁₂₎	
Hemoglobin (g/dl)	10.53 ± 2.26 ₍₅₁₎	11.42 ± 1.41 ₍₁₂₎	
Platelite (1000 U/ul)	273.28 ± 140.83 ₍₅₀₎	246.08 ± 154.58 ₍₁₂₎	
GOT (U/l)	73.60 ± 57.31 ₍₃₀₎	61.67 ± 54.36 ₍₆₎	
GPT (U/l)	43.24 ± 34.64 ₍₃₈₎	27.13 ± 15.37 ₍₈₎	
BUN (mg/dl)	61.88 ± 35.64 ₍₄₁₎	54.22 ± 37.49 ₍₉₎	
Creatinine (mg/dl)	2.59 ± 1.91 ₍₅₁₎	3.70 ± 4.92 ₍₁₂₎	
pH	7.32 ± 0.14 ₍₄₉₎	7.38 ± 0.18 ₍₁₂₎	
pCO ₂	33.76 ± 19.02 ₍₄₉₎	27.83 ± 12.69 ₍₁₂₎	
pO ₂	99.97 ± 47.96 ₍₄₉₎	94.42 ± 66.28 ₍₁₂₎	
HCO ₃	16.85 ± 5.89 ₍₄₉₎	16.13 ± 6.56 ₍₁₂₎	

Genotype survival rate (續)	氣虛證 (mean \pm SD)	無氣虛 (mean \pm SD)	p value ³
TNF- α -308 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.476 _(20/12)	0.750 _(6/2)	
TNF- α -308 GA survival rate (survival/ non-survival)	0.625 _(5/3)	0.750 _(3/1)	
IL-6 -174 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.591 _(13/9)	0.714 _(5/2)	
IL-6 -174 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.429 _(12/16)	0.800 _(4/1)	
IL-6 -572 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.619 _(13/8)	0.750 _(3/1)	
IL-6 -572 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.333 _(4/8)	0.800 _(4/1)	
IL-6 -572 CC survival rate (survival/ non-survival)	0.471 _(8/9)	0.667 _(2/1)	
IL-6 -596 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.500 _(25/25)	0.750 _(9/3)	
IL-10 -1082 GA survival rate (survival/ non-survival)	0.286 _(2/5)	0.000 _(0/1)	
IL-10 -1082 AA survival rate (survival/ non-survival)	0.535 _(23/20)	0.818 _(9/2)	
IL-18 -137 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.519 _(14/13)	0.833 _(5/1)	
IL-18 -137 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.478 _(11/12)	0.667 _(4/2)	
IL-18 -607 CC survival rate (survival/ non-survival)	0.538 _(7/6)	0.667 _(2/1)	
IL-18 -607 CA survival rate (survival/ non-survival)	0.500 _(17/17)	0.778 _(7/2)	
IL-18 -607 AA survival rate (survival/ non-survival)	0.333 _(1/2)	-	

¹ mean \pm standard error.

²number of patients.

表 12、中醫證型「血虛」與臨床觀察指標、基因型存活率之相關性

Clinical observation parameters	Diagnosis ¹		
	血虛證 (mean±SD)	無血虛 (mean±SD)	p value ³
Sex (n, male/ female)	1/4	34/24	
Age (yr)	70.60 ± 13.98 ² (5)	74.66 ± 12.46 ² (58)	
Weight (kg)	55.80 ± 11.24 ² (5)	53.89 ± 9.17 ² (58)	
Diagnosis (n, septic shock/ severe sepsis)	5/0	46/12	<0.001
Outcome (n, non-survival/ survival)	2/3	26/32	
Survival day (day)	3.50 ± 2.50² (2)	13.65 ± 13.79² (26)	<0.05
APACHE II Score	38.20 ± 4.31² (5)	31.31 ± 7.28² (58)	<0.05
CV factor	3.40 ± 0.49 ² (5)	2.83 ± 1.21 ² (58)	
IL-6 (pg/ml)	690.15 ± 461.861² (3)	2709.55 ± 4316.26² (56)	<0.01
IL-10 (pg/ml)	230.58 ± 168.61 ² (5)	327.39 ± 512.50 ² (58)	
氣分熱 (%)	80 ² (4)	71 ² (41)	
營分熱 (%)	40 ² (5)	48 ² (28)	
血分熱 (%)	60 ² (3)	28 ² (16)	
氣虛 (%)	100² (5)	79² (46)	<0.001
陰虛 (%)	0² (0)	7² (4)	<0.05
陽虛 (%)	40 ² (2)	53 ² (31)	
White blood cell (U/ul)	23112.00 ± 8343.65 ² (5)	19353.62 ± 10358.32 ² (58)	
Hemoglobin (g/dl)	9.16 ± 1.43 ² (5)	10.83 ± 2.16 ² (58)	
Platelite (1000 U/ul)	326.00 ± 126.57 ² (5)	262.93 ± 144.32 ² (57)	
GOT (U/l)	52.33 ± 22.40 ² (3)	73.36 ± 42.29 ² (33)	
GPT (U/l)	21.00 ± 9.82 ² (4)	42.29 ± 33.51 ² (42)	
BUN (mg/dl)	37.67± 3.09² (3)	61.96 ± 36.74² (47)	<0.001
Creatinine (mg/dl)	1.92 ± 0.65 ² (5)	2.88 ± 2.88 ² (58)	
pH	7.21 ± 0.06² (5)	7.34 ± 0.15² (56)	<0.01
pCO ₂	24.80 ± 9.15 ² (5)	33.29 ± 18.54 ² (56)	
pO ₂	69.32 ± 37.45 ² (5)	101.52 ± 52.43 ² (56)	
HCO ₃	12.84 ± 6.06 ² (5)	17.05 ± 5.91 ² (56)	

Genotype survival rate (續)	血虛證 (mean±SD)	無血虛 (mean±SD)	p value ³
TNF- α -308 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.500 _(2/2)	0.522 _(24/22)	
TNF- α -308 GA survival rate (survival/ non-survival)	1.000 _(1/0)	0.636 _(7/4)	
IL-6 -174 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.000 _(0/2)	0.667 _(18/9)	
IL-6 -174 GC survival rate (survival/ non-survival)	1.000 _(3/0)	0.433 _(13/17)	
IL-6 -572 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.500_(2/2)	0.667_(14/7)	
IL-6 -572 GC survival rate (survival/ non-survival)	1.000_(1/0)	0.438_(7/9)	<0.05
IL-6 -572 CC survival rate (survival/ non-survival)	-	0.500_(10/10)	
IL-6 -596 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.600 _(3/2)	0.544 _(31/26)	
IL-10 -1082 GA survival rate (survival/ non-survival)	1.000 _(1/0)	0.143 _(1/6)	
IL-10 -1082 AA survival rate (survival/ non-survival)	0.500 _(2/2)	0.600 _(30/20)	
IL-18 -137 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.667 _(2/10)	0.567 _(17/13)	
IL-18 -137 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.500 _(1/1)	0.519 _(14/13)	
IL-18 -607 CC survival rate (survival/ non-survival)	0.000 _{0/1)}	0.600 _(9/6)	
IL-18 -607 CA survival rate (survival/ non-survival)	0.750 _(3/1)	0.538 _(21/18)	
IL-18 -607 AA survival rate (survival/ non-survival)	-	0.333 _(1/2)	

¹ mean ± standard error.

²number of patients.

表 13、中醫證型「陰虛」與臨床觀察指標、基因型存活率之相關性

Clinical observation parameters	Diagnosis ¹		
	陰虛證 (mean±SD)	無陰虛 (mean±SD)	p value ³
Sex (n, male/ female)	3/1	32/27	
Age (yr)	82.50 ± 2.69 ² (4)	73.78 ± 12.86 ² (59)	<0.01
Weight (kg)	52.75 ± 5.93 ² (4)	54.13 ± 9.45 ² (59)	
Diagnosis (n, septic shock/ severe sepsis)	3/1	48/11	
Outcome (n, non-survival/ survival)	1/3	27/32	
Survival day (day)	15.00 ± 0.00 ² (1)	12.85 ± 13.80 ² (27)	
APACHE II Score	30.00 ± 5.52 ² (4)	31.98 ± 7.42 ² (59)	
CV factor	2.75 ± 1.09 ² (4)	2.88 ± 1.18 ² (59)	
TNF-α (pg/ml)	33.32 ± 17.56 ² (4)	58.37 ± 58.54 ² (36)	
IL-6 (pg/ml)	3141.70 ± 4887.62 ² (4)	2567.97 ± 4175.15 ² (55)	
IL-8 (pg/ml)	353.78 ± 287.43 ² (4)	593.70 ± 920.27 ² (36)	
IL-10 (pg/ml)	264.81 ± 192.46 ² (4)	323.43 ± 508.54 ² (59)	
IL-18 (pg/ml)	542.18 ± 393.09 ² (4)	715.80 ± 356.19 ² (36)	
氣分熱 (%)	75 ² (3)	71 ² (42)	
營分熱 (%)	25 ² (1)	49 ² (29)	
血分熱 (%)	0 (0)	32 (19)	<0.0001
氣虛 (%)	50 ² (2)	83 ² (49)	
血虛 (%)	0 (0)	8 (5)	<0.05
陽虛 (%)	50 ² (2)	53 ² (31)	
White blood cell (U/ul)	14317.50 ± 7468.60 ² (4)	20013.56 ± 10326.48 ² (59)	
Hemoglobin (g/dl)	10.80 ± 1.31 ² (4)	10.69 ± 2.20 ² (59)	
Platelite (1000 U/ul)	272.75 ± 143.49 ² (4)	267.69 ± 144.02 ² (58)	
GOT (U/l)	52.00 ± 0.00 (1)	72.17 ± 57.71 (35)	<0.0001
GPT (U/l)	28.00 ± 0.00 (1)	40.71 ± 33.01 (45)	<0.0001
BUN (mg/dl)	58.00 ± 37.84 ² (4)	60.72 ± 35.93 ² (46)	
Creatinine (mg/dl)	1.85 ± 0.85 ² (4)	2.87 ± 2.85 ² (59)	
pH	7.46 ± 0.13 ² (4)	7.32 ± 0.15 ² (57)	
pCO₂	22.25 ± 4.87 (4)	33.32 ± 18.47 (57)	<0.05
pO ₂	126.50 ± 83.20 ² (4)	96.94 ± 48.62 ² (57)	
HCO ₃	15.50 ± 4.72 ² (4)	16.79 ± 6.11 ² (57)	

Genotype survival rate (續)	陰虛證 (mean±SD)	無陰虛 (mean±SD)	p value ³
TNF-α -308 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.750 (3/1)	0.500 (23/23)	<0.001
TNF-α -308 GA survival rate (survival/ non-survival)	-	0.667 (8/4)	
IL-6 -174 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.500 (1/1)	0.630 (17/10)	
IL-6 -174 GC survival rate (survival/ non-survival)	1.000 (2/0)	0.452 (14/17)	
IL-6 -572 GG survival rate (survival/ non-survival)	1.000 (1/0)	0.625 (15/9)	
IL-6 -572 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.500 (1/1)	0.467 (7/8)	
IL-6 -572 CC survival rate (survival/ non-survival)	1.000 (1/0)	0.474 (9/10)	
IL-6 -596 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.750 (3/1)	0.534 (31/27)	
IL-10 -1082 GA survival rate (survival/ non-survival)	1.000 (1/0)	0.143 (1/6)	
IL-10 -1082 AA survival rate (survival/ non-survival)	0.667 (2/1)	0.588 (30/21)	
IL-18 -137 GG survival rate (survival/ non-survival)	-	0.576 (19/14)	
IL-18 -137 GC survival rate (survival/ non-survival)	1.000 (3/1)	0.480 (12/13)	
IL-18 -607 CC survival rate (survival/ non-survival)	-	0.563 (9/7)	
IL-18 -607 CA survival rate (survival/ non-survival)	0.750 (3/1)	0.538 (21/18)	
IL-18 -607 AA survival rate (survival/ non-survival)	-	0.333 (1/2)	

¹ mean ± standard error.

²number of patients.

表 14、中醫證型「陽虛」與臨床觀察指標、基因型存活率之相關性

Clinical observation parameters	Diagnosis ¹		
	陽虛證 (mean±SD)	無陽虛 (mean±SD)	p value ³
Sex (n, male/ female)	17/16	18/12	
Age (yr)	78.67 ± 10.78 (33)²	69.57 ± 12.82 (30)	<0.01
Weight (kg)	54.04 ± 9.31 ₍₃₃₎	54.05 ± 9.24 ₍₃₀₎	
Diagnosis (n, septic shock/ severe sepsis)	29/4	22/8	
Outcome (n, non-survival/ survival)	23/10	5/25	<0.0001
Survival day (day)	12.96 ± 14.41 ₍₂₃₎	12.80 ± 8.57 ₍₅₎	
APACHE II Score	32.79 ± 7.52 ₍₃₃₎	30.83 ± 6.96 ₍₃₀₎	
CV factor	3.09 ± 1.00 ₍₃₃₎	2.63 ± 1.30 ₍₃₀₎	
TNF-α (pg/ml)	48.52 ± 38.00 ₍₂₃₎	65.79 ± 73.06 ₍₁₇₎	
IL-6 (pg/ml)	3566.99 ± 4944.75 ₍₃₀₎	1613.63 ± 3027.21 ₍₂₉₎	
IL-8 (pg/ml)	513.58 ± 775.92 ₍₂₃₎	645.64 ± 1000.24 ₍₁₇₎	
IL-10 (pg/ml)	391.80 ± 555.00 ₍₃₃₎	240.42 ± 403.91 ₍₃₀₎	
IL-18 (pg/ml)	682.40 ± 316.46 ₍₂₃₎	720.14 ± 418.45 ₍₁₇₎	
氣分熱 (%)	67 ₍₂₂₎	77 ₍₂₃₎	
營分熱 (%)	55 ₍₁₈₎	40 ₍₁₂₎	
血分熱 (%)	33 ₍₁₁₎	27 ₍₈₎	
氣虛 (%)	100 (33)	60 (18)	<0.0001
血虛 (%)	6 ₍₂₎	10 ₍₃₎	
陰虛 (%)	6 ₍₂₎	7 ₍₂₎	
White blood cell (U/ul)	19253.33 ± 9152.37 ₍₃₃₎	20090.33 ± 11344.47 ₍₃₀₎	
Hemoglobin (g/dl)	10.95 ± 2.41 ₍₃₃₎	10.43 ± 1.79 ₍₃₀₎	
Platelite (1000 U/ul)	243.84 ± 138.33 ₍₃₂₎	293.80 ± 145.43 ₍₃₀₎	
GOT (U/l)	65.68 ± 47.29 ₍₁₉₎	78.24 ± 65.56 ₍₁₇₎	
GPT (U/l)	41.27 ± 29.94 ₍₂₂₎	39.67 ± 35.03 ₍₂₄₎	
BUN (mg/dl)	67.64 ± 41.26 ₍₂₅₎	53.36 ± 28.32 ₍₂₅₎	
Creatinine (mg/dl)	2.60 ± 2.07 ₍₃₃₎	3.02 ± 3.38 ₍₃₀₎	
pH	7.30 ± 0.15 ₍₃₂₎	7.37 ± 0.14 ₍₂₉₎	
pCO ₂	36.56 ± 22.30 ₍₃₂₎	28.21 ± 10.20 ₍₂₉₎	
pO ₂	97.49 ± 52.66 ₍₃₂₎	100.41 ± 51.47 ₍₂₉₎	
HCO ₃	16.58 ± 6.32 ₍₃₂₎	16.84 ± 5.70 ₍₂₉₎	

Genotype survival rate (續)	陽虛證 (mean \pm SD)	無陽虛 (mean \pm SD)	p value ³
TNF- α -308 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.310 _(9/20)	0.810 _(17/4)	
TNF- α -308 GA survival rate (survival/ non-survival)	0.250 _(1/3)	0.875 _(7/1)	
IL-6 -174 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.250 _(3/9)	0.882 _(15/2)	
IL-6 -174 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.333 _(7/14)	0.750 _(9/3)	
IL-6 -572 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.273 _(3/8)	0.929 _(13/1)	
IL-6 -572 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.200 _(2/8)	0.857 _(6/1)	
IL-6 -572 CC survival rate (survival/ non-survival)	0.417 _(5/7)	0.625 _(5/3)	
IL-6 -596 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.303 _(10/23)	0.828 _(24/5)	
IL-10 -1082 GA survival rate (survival/ non-survival)	0.167 _(1/5)	0.500 _(1/1)	
IL-10 -1082 AA survival rate (survival/ non-survival)	0.333 _(9/18)	0.852 _(23/4)	
IL-18 -137 GG survival rate (survival/ non-survival)	0.250 _(4/12)	0.882 _(15/2)	
IL-18 -137 GC survival rate (survival/ non-survival)	0.353 _(6/11)	0.750 _(9/3)	
IL-18 -607 CC survival rate (survival/ non-survival)	0.250 _(2/6)	0.875 _(7/1)	
IL-18 -607 CA survival rate (survival/ non-survival)	0.318 _(7/15)	0.810 _(17/4)	
IL-18 -607 AA survival rate (survival/ non-survival)	0.333 _(1/2)	-	

¹ mean \pm standard error.

² number of patients.

四、基因型與臨床觀察指標相關性分析

表 15、TNF- α (-308)基因型與臨床觀察指標之相關性

Clinical observation parameters	Genotype ¹		
	GG (mean \pm SD)	GA (mean \pm SD)	p value ³
Sex (n, male/ female)	28/22	7/5	
Age (yr)	77.02 \pm 11.42 ² (50)	69.33 \pm 15.91 ² (12)	
Weight (kg)	54.26 \pm 9.13 ² (50)	57.67 \pm 9.01 ² (12)	
Diagnosis(n, septic shock/ severe sepsis)	40/10	11/1	
Outcome (n, non-survival/ survival)	24/26	4/8	
Survival day (day)	14.08 \pm 14.24 (24)	6.00 \pm 3.74 (4)	<0.05
APACHE II Score	32.62 \pm 7.18 ² (50)	31.33 \pm 7.90 ² (12)	
CV factor	2.88 \pm 1.20 ² (50)	3.08 \pm 1.04 ² (12)	
TNF- α (pg/ml)	51.92 \pm 56.90 ² (33)	74.44 \pm 49.41 ² (7)	
IL-6 (pg/ml)	2307.91 \pm 4009.13 ² (47)	4121.24 \pm 4796.03 ² (11)	
IL-10 (pg/ml)	307.87 \pm 486.26 ² (50)	395.67 \pm 522.40 ² (12)	
氣分熱 (%)	72 ² (36)	75 ² (9)	
營分熱 (%)	50 ² (25)	42 ² (5)	
血分熱 (%)	30 ² (15)	33 ² (4)	
氣虛 (%)	86 ² (43)	67 ² (8)	
血虛 (%)	8 ² (4)	8 ² (1)	
陰虛 (%)	8 (4)	0 (0)	<0.05
陽虛 (%)	58 ² (29)	33 ² (4)	
White blood cell (U/ul)	20513.80 \pm 10848.49 ² (50)	17698.33 \pm 6936.89 ² (12)	
Hemoglobin (g/dl)	10.78 \pm 2.13 ² (50)	11.25 \pm 2.16 ² (12)	
Platelite (1000 U/ul)	265.73 \pm 145.93 ² (49)	299.67 \pm 130.98 ² (12)	
GOT (U/l)	77.75 \pm 60.03 ² (28)	50.13 \pm 37.63 ² (8)	
GPT (U/l)	44.60 \pm 33.45 ² (35)	27.18 \pm 26.10 ² (11)	
BUN (mg/dl)	60.85 \pm 38.28 ² (41)	58.89 \pm 23.66 ² (9)	
Creatinine (mg/dl)	2.51 \pm 1.89 ² (50)	4.23 \pm 4.79 ² (12)	
pH	7.49 \pm 0.15 ² (48)	7.31 \pm 0.14 ² (12)	
pCO ₂	32.56 \pm 19.04 ² (48)	35.42 \pm 13.25 ² (12)	
pO ₂	105.66 \pm 55.26 ² (48)	80.00 \pm 29.94 ² (12)	
HCO ₃	16.86 \pm 5.88 ² (48)	17.48 \pm 6.59 ² (12)	

¹mean \pm standard error.

²number of patients.

表 16、IL-6 (-572)基因型與臨床觀察指標之相關性

Clinical observation parameters	Genotype ¹			p value ³
	GG (mean±SD)	GC (mean±SD)	CC (mean±SD)	
Sex (n, male/ female)	9/16	11/6	14/6	<0.05
Age (yr)	73.76 ± 13.23 ² (25)	78.00 ± 11.01 ² (17)	72.35 ± 12.74 ² (20)	
Weight (kg)	52.55 ± 8.78 ² (25)	57.53 ± 11.32 ² (17)	52.70 ± 7.04 ² (20)	
Diagnosis (n, septic shock/ severe sepsis)	19/6	15/2	17/3	
Outcome (n, non-survival/ survival)	9/16	9/8	10/10	
Survival day (day)	12.78 ± 11.51 ² (9)	14.11 ± 14.49 ² (9)	12.00 ± 14.30 ² (10)	
APACHE II Score	31.68 ± 7.19 ² (25)	30.53 ± 6.95 ² (17)	33.35 ± 7.70 ² (20)	
CV factor	2.72 ± 1.34 ² (25)	3.18 ± 0.38 ² (17)	2.95 ± 1.20 ² (20)	
IL-6 (pg/ml)	890.63 ± 2425.55 ² (21)	4054.90 ± 5022.83 ² (17)	3290.90 ± 4422.38 ² (20)	
IL-10 (pg/ml)	231.26 ± 503.16 ² (25)	362.87 ± 486.31 ² (17)	406.82 ± 480.64 ² (20)	
氣分熱 (%)	84 ₍₂₁₎	65 ₍₁₁₎	60 ₍₁₂₎	
營分熱 (%)	56 ₍₁₄₎	47 ₍₈₎	40 ₍₈₎	
血分熱 (%)	40 ₍₁₀₎	29 ₍₅₎	20 ₍₄₎	
氣虛 (%)	84 ₍₂₁₎	71 ₍₁₂₎	85 ₍₁₇₎	
血虛 (%)	16 ₍₄₎	6 ₍₁₎	0 ₍₀₎	
陰虛 (%)	4 ₍₁₎	12 ₍₂₎	5 ₍₁₎	
陽虛 (%)	44 ₍₁₁₎	59 ₍₁₀₎	60 ₍₁₂₎	
White blood cell (U/ul)	19048.00 ± 6808.88 ² (25)	21474.12 ± 9010.68 ² (17)	18165.50 ± 13775.67 ² (20)	
Hemoglobin (g/dl)	9.96 ± 1.64 ² (25)	11.53 ± 2.18 ² (17)	10.96 ± 2.42 ² (20)	
Platelite (1000 U/ul)	284.79 ± 137.70 ² (24)	301.00 ± 180.52 ² (17)	211.20 ± 88.53 ² (20)	
GOT (U/l)	73.56 ± 65.11 ² (9)	47.25 ± 27.96 ² (12)	89.93 ± 61.78 ² (15)	
GPT (U/l)	40.16 ± 32.13 ² (19)	30.40 ± 25.74 ² (10)	48.00 ± 36.05 ² (16)	
BUN (mg/dl)	62.14 ± 30.33 ² (14)	60.38 ± 41.36 ² (16)	61.11 ± 35.38 ² (19)	
Creatinine (mg/dl)	2.68 ± 2.15 ² (25)	3.12 ± 4.13 ² (17)	2.79 ± 1.93 ² (20)	
pH	7.34 ± 0.16 ² (23)	7.32 ± 0.15 ² (17)	7.34 ± 0.13 ² (20)	
pCO2	32.13 ± 19.33 ² (23)	32.00 ± 19.51 ² (17)	33.20 ± 15.57 ² (20)	
pO2	108.98 ± 59.17 ² (23)	90.06 ± 44.26 ² (17)	96.90 ± 48.12 ² (20)	
HCO3	16.72 ± 6.25 ² (23)	16.62 ± 5.98 ² (17)	16.65 ± 5.95 ² (20)	

¹ mean ± standard error

²number of patients.

表 17、IL-6 (-174)基因型與臨床觀察指標之相關性

Clinical observation parameters	Genotype ¹		
	GG (mean \pm SD)	GC (mean \pm SD)	p value ³
Sex (n, male/ female)	11 / 18	23 / 10	<0.05
Age (yr)	72.41 \pm 11.33 ² (29)	76.27 \pm 13.53 ² (33)	
Weight (kg)	53.84 \pm 8.90 ² (29)	54.07 \pm 9.69 ² (33)	
Diagnosis(n, septic shock/ severe sepsis)	21/8	30/3	
Outcome (n, non-survival/ survival)	11/18	17/16	
Survival day (day)	16.73 \pm 15.76 ² (11)	10.47 \pm 11.25 ² (17)	
APACHE II Score	30.93 \pm 7.70 ² (29)	32.76 \pm 6.97 ² (33)	
CV factor	2.72 \pm 1.39 ² (29)	3.09 \pm 0.79 ² (33)	
TNF- α (pg/ml)	48.47 \pm 46.14 ² (12)	59.03 \pm 59.87 ² (28)	
IL-6 (pg/ml)	1921.43 \pm 3654.35 ² (26)	3234.29 \pm 4604.43 ² (32)	
IL-8 (pg/ml)	633.11 \pm 960.23 ² (12)	542.53 \pm 842.88 ² (28)	
IL-10 (pg/ml)	290.32 \pm 509.98 ² (29)	353.57 \pm 484.42 ² (33)	
IL-18 (pg/ml)	801.13 \pm 418.05 ² (12)	654.43 \pm 328.20 ² (28)	
氣分熱 (%)	72 ² (21)	70 ² (23)	
營分熱 (%)	38 ² (11)	58 ² (19)	
血分熱 (%)	31 ² (9)	30 ² (10)	
氣虛 (%)	76 ² (22)	85 ² (28)	
血虛 (%)	7 ² (2)	9 ² (3)	
陰虛 (%)	7 ² (2)	6 ² (2)	
陽虛 (%)	41 ² (12)	64 ² (21)	
White blood cell (U/ul)	21147.93 \pm 11547.35 ² (29)	17917.58 \pm 8551.74 ² (33)	
Hemoglobin (g/dl)	10.49 \pm 2.11 ² (29)	10.91 \pm 2.21 ² (33)	
Platelite (1000 U/ul)	296.32 \pm 152.72 ² (28)	238.76 \pm 129.32 ² (33)	
GOT (U/l)	57.44 \pm 53.84 ² (16)	82.95 \pm 56.92 ² (20)	
GPT (U/l)	34.64 \pm 31.31 ² (22)	44.71 \pm 33.47 ² (24)	
BUN (mg/dl)	60.47 \pm 29.77 ² (19)	59.61 \pm 39.67 ² (31)	
Creatinine (mg/dl)	3.10 \pm 3.51 ² (29)	2.61 \pm 1.92 ² (33)	
pH	7.34 \pm 0.15 ² (27)	7.33 \pm 0.15 ² (33)	
pCO2	31.52 \pm 17.42 ² (27)	33.21 \pm 18.82 ² (33)	
pO2	91.50 \pm 46.96 ² (27)	106.21 \pm 55.35 ² (33)	
HCO3	16.50 \pm 6.00 ² (27)	16.81 \pm 6.14 ² (33)	

¹ mean \pm standard error.

²number of patients.

表 18、IL-10 (-1082)基因型與臨床觀察指標之相關性

Clinical observation parameters	Genotype ¹		
	GA (mean \pm SD)	AA (mean \pm SD)	p value ³
Sex (n, male/ female)	6/2	28/26	
Age (yr)	78.25 \pm 9.96 ² (8)	73.91 \pm 12.96 ² (54)	
Weight (kg)	54.25 \pm 7.26 ² (8)	53.92 \pm 9.60 ² (54)	
Diagnosis(n, septic shock/ severe sepsis)	7/1	44/10	
Outcome (n, non-survival/ survival)	6/2	22/32	
Survival day (day)	19.33 \pm 15.04 ² (6)	11.18 \pm 12.57 ² (22)	
APACHE II Score	37.13 \pm 4.54 (8)	31.13 \pm 7.40 (54)	<0.05
CV factor	3.00 \pm 0.87 ² (8)	2.91 \pm 1.16 ² (54)	
TNF- α (pg/ml)	68.36 \pm 51.51 ² (7)	54.27 \pm 57.16 ² (33)	
IL-6 (pg/ml)	3566.72 \pm 4809.32 ² (8)	2498.41 \pm 4141.14 ² (50)	
IL-8 (pg/ml)	989.56 \pm 1223.19 ² (7)	480.65 \pm 759.92 ² (33)	
IL-10 (pg/ml)	471.07 \pm 495.21 ² (8)	302.19 \pm 494.18 ² (54)	
IL-18 (pg/ml)	830.95 \pm 363.35 ² (7)	670.33 \pm 357.63 ² (33)	
氣分熱 (%)	88 ² (7)	69 ² (37)	
營分熱 (%)	75 ² (6)	44 ² (24)	
血分熱 (%)	50 ² (4)	28 ² (15)	
氣虛 (%)	88 ² (7)	80 ² (43)	
血虛 (%)	13 ² (1)	7 ² (4)	
陰虛 (%)	13 ² (1)	6 ² (3)	
陽虛 (%)	75 ² (6)	50 ² (27)	
White blood cell (U/ul)	17025.00 \pm 6674.72 ² (8)	19784.63 \pm 10568.87 ² (54)	
Hemoglobin (g/dl)	11.06 \pm 2.57 ² (8)	10.66 \pm 2.10 ² (54)	
Platelite (1000 U/ul)	260.13 \pm 149.71 ² (8)	165.94 \pm 142.46 ² (53)	
GOT (U/l)	60.00 \pm 37.97 ² (5)	73.48 \pm 59.29 ² (31)	
GPT (U/l)	25.67 \pm 14.50 ² (6)	42.03 \pm 34.39 ² (40)	
BUN (mg/dl)	61.86 \pm 38.14 ² (7)	59.63 \pm 35.82 ² (43)	
Creatinine (mg/dl)	3.76 \pm 2.81 ² (8)	2.70 \pm 2.76 ² (54)	
pH	7.29 \pm 0.18 ² (8)	7.34 \pm 0.14 ² (52)	
pCO ₂	28.38 \pm 9.43 ² (8)	33.08 \pm 19.15 ² (52)	
pO ₂	104.25 \pm 41.84 ² (8)	98.88 \pm 53.64 ² (52)	
HCO ₃	15.73 \pm 5.04 ² (8)	16.81 \pm 6.21 ² (52)	

¹ mean \pm standard error.

²number of patients.

表 19、IL-18 (-607)基因型與臨床觀察指標之相關性

Clinical observation parameters	Genotype ¹		
	CC (mean±SD)	CA (mean±SD)	AA (mean±SD)
Sex (n, male/ female)	7/9	24/19	3/0
Age (yr)	77.63 ± 9.85 ₍₁₆₎ ²	72.74 ± 13.34 ₍₄₃₎	82.33 ± 10.34 ₍₃₎
Weight (kg)	53.99 ± 7.62 ₍₁₆₎	53.83 ± 10.00 ₍₄₃₎	55.67 ± 7.36 ₍₃₎
Diagnosis (n, septic shock/ severe sepsis)	11/5	37/6	3/0
Outcome (n, non-survival/ survival)	7/9	19/24	2/1
Survival day (day)	15.29 ± 15.54 ₍₇₎	11.21 ± 12.71 ₍₁₉₎	21.00 ± 9.00 ₍₂₎
APACHE II Score	31.56 ± 7.79 ₍₁₆₎	31.93 ± 7.42 ₍₄₃₎	33.33 ± 3.09 ₍₃₎
CV factor	2.63 ± 1.45 ₍₁₆₎	3.02 ± 1.00 ₍₄₃₎	3.00 ± 0.00 ₍₃₎
TNF- α (pg/ml)	61.83 ± 58.31 ₍₅₎	57.17 ± 57.57 ₍₃₂₎	31.98 ± 25.03 ₍₃₎
IL-6 (pg/ml)	668.70 ± 1009.40 ₍₁₅₎	3468.42 ± 4837.35 ₍₄₀₎	1562.39 ± 1812.28 ₍₃₎
IL-8 (pg/ml)	145.47 ± 129.76 ₍₅₎	672.54 ± 955.31 ₍₃₂₎	179.89 ± 120.70 ₍₃₎
IL-10 (pg/ml)	251.08 ± 565.85 ₍₁₆₎	365.65 ± 479.98 ₍₄₃₎	115.49 ± 97.73 ₍₃₎
IL-18 (pg/ml)	858.31 ± 293.20 ₍₅₎	667.41 ± 370.95 ₍₃₂₎	763.00 ± 310.71 ₍₃₎
氣分熱 (%)	88 ₍₁₄₎	65 ₍₂₈₎	67 ₍₂₎
營分熱 (%)	63 ₍₁₀₎	42 ₍₁₈₎	67 ₍₂₎
血分熱 (%)	44 ₍₇₎	23 ₍₁₀₎	67 ₍₂₎
氣虛 (%)	81 ₍₁₃₎	79 ₍₃₄₎	100 ₍₃₎
血虛 (%)	6 ₍₁₎	9 ₍₄₎	0 ₍₀₎
陰虛 (%)	0 ₍₀₎	9 ₍₄₎	0 ₍₀₎
陽虛 (%)	50 ₍₈₎	51 ₍₂₂₎	100 ₍₃₎
White blood cell (U/ul)	19273.75 ± 7288.83 ₍₁₆₎	19850.93 ± 11217.94 ₍₄₃₎	14200.00 ± 5477.83 ₍₃₎
Hemoglobin (g/dl)	10.47 ± 2.46 ₍₁₆₎	10.75 ± 1.94 ₍₄₃₎	11.50 ± 3.24 ₍₃₎
Platelite (1000 U/ul)	246.63 ± 112.72 ₍₁₆₎	281.50 ± 153.12 ₍₄₂₎	135.67 ± 2.87 ₍₃₎
GOT (U/l)	53.83 ± 38.79 ₍₆₎	76.54 ± 61.20 ₍₂₈₎	56.00 ± 2.00 ₍₂₎
GPT (U/l)	29.18 ± 11.87 ₍₁₁₎	44.00 ± 37.28 ₍₃₃₎	31.00 ± 17.00 ₍₂₎
BUN (mg/dl)	73.50 ± 32.00 ₍₁₀₎	56.81 ± 36.52 ₍₃₇₎	53.33 ± 35.80 ₍₃₎
Creatinine (mg/dl)	3.19 ± 2.40 ₍₁₆₎	2.68 ± 2.90 ₍₄₃₎	3.27 ± 2.88 ₍₃₎
pH	7.30 ± 0.14 ₍₁₅₎	7.35 ± 0.16 ₍₄₂₎	7.31 ± 0.05 ₍₃₎
pCO ₂	30.53 ± 10.46 ₍₁₅₎	32.52 ± 20.11 ₍₄₂₎	41.00 ± 18.46 ₍₃₎
pO ₂	111.84 ± 61.72 ₍₁₅₎	94.43 ± 47.78 ₍₄₂₎	110.67 ± 48.61 ₍₃₎
HCO ₃	15.15 ± 4.14 ₍₁₅₎	16.95 ± 6.33 ₍₄₂₎	20.33 ± 8.18 ₍₃₎

¹ mean ± standard error

²number of patients.

表 20、IL-18 (-137)基因型與臨床觀察指標之相關性

Clinical observation parameters	Genotype ¹		
	GG (mean \pm SD)	GC (mean \pm SD)	p value ³
Sex (n, male/ female)	14/19	20/9	<0.05
Age (yr)	73.33 \pm 11.57 ² (33)	75.76 \pm 13.76 ² (29)	
Weight (kg)	51.48 \pm 8.22 (33)	56.79 \pm 9.70 (29)	<0.05
Diagnosis (n, septic shock/ severe sepsis)	25/8	26/3	
Outcome (n, non-survival/ survival)	14/19	14/15	
Survival day (day)	13.21 \pm 10.76 (14)	12.64 \pm 15.86 (14)	
APACHE II Score	32.52 \pm 7.47 (33)	31.21 \pm 7.21 (29)	
CV factor	2.73 \pm 1.29 (33)	3.14 \pm 0.86 (29)	
TNF- α (pg/ml)	38.71 \pm 27.38 (14)	65.10 \pm 65.06 (26)	
IL-6 (pg/ml)	1912.53 \pm 3871.83 (30)	3431.38 \pm 4500.86 (28)	
IL-8 (pg/ml)	500.74 \pm 737.62 (14)	606.84 \pm 946.78 (26)	
IL-10 (pg/ml)	220.70 \pm 403.34 (33)	441.51 \pm 564.06 (29)	
IL-18 (pg/ml)	722.47 \pm 315.17 (14)	685.50 \pm 386.84 (26)	
氣分熱 (%)	76 (25)	66 (19)	
營分熱 (%)	55 (18)	41 (12)	
血分熱 (%)	33 (11)	28 (8)	
氣虛 (%)	82 (27)	79 (23)	
血虛 (%)	9 (3)	7 (2)	
陰虛 (%)	0 (0)	14 (4)	<0.05
陽虛 (%)	48 (16)	59 (17)	
White blood cell (U/ul)	18908.79 \pm 5712.31 (33)	20020.00 \pm 13576.69 (29)	
Hemoglobin (g/dl)	10.75 \pm 2.38 (33)	10.67 \pm 1.90 (29)	
Platelite (1000 U/ul)	256.19 \pm 123.33 (32)	275.10 \pm 162.20 (29)	
GOT (U/l)	70.78 \pm 63.98 (18)	72.44 \pm 49.03 (18)	
GPT (U/l)	45.12 \pm 37.62 (25)	33.67 \pm 25.01 (21)	
BUN (mg/dl)	73.23 \pm 40.14 (22)	49.50 \pm 29.07 (28)	<0.05
Creatinine (mg/dl)	2.75 \pm 2.15 (33)	2.94 \pm 3.37 (29)	
pH	7.34 \pm 0.14 (31)	7.32 \pm 0.16 (29)	
pCO2	30.94 \pm 11.70 (31)	34.07 \pm 23.15 (29)	
pO2	103.65 \pm 56.17 (31)	95.26 \pm 47.34 (29)	
HCO3	17.24 \pm 5.69 (31)	16.06 \pm 6.41 (29)	

¹ mean \pm standard error.

²number of patients.

在上述初步的分析結果中發現：

一、以敗血症患者各基因之基因型與交替基因頻率分佈而言：

- (一)在 TNF- α 基因 G-308A 的 GA 基因型患者其存活天數優於 GG 型 ($p<0.05$)。
- (二) IL-6 基因 G-572C 的 GG 基因型患者其存活率優於 GC 及 CC 型，故知 G 交替基因有利存活。
- (三) IL-6 基因 G-174C 的 GG 基因型患者其存活天數以及存活率皆優於 GC 型。
- (四) IL-10 基因 G-1082A 的 AA 基因型患者其存活率優於 GA 型。

二、以敗血症患者各性狀與臨床觀察指標、基因型存活率之相關性而言：

- (一)女性患者在 IL-6 基因 G-174C、G-572C 及 IL-18 基因 G-137C 皆以攜帶 wild type 的 G 交替基因居多，基因變異多發生在男性患者上 ($p<0.05$)。
- (二)在死亡組患者出現陽虛的比例(82%)遠較存活組(29%)來得高 ($p<0.0001$)。
- (三)敗血性休克的患者 CV factor 遠較嚴重敗血症的患者高 ($p<0.0001$)，顯示若被診斷有敗血性休克的患者心血管功能皆較差。
- (四)血虛的患者存活天數遠較無血虛的患者短($p<0.05$)、且血虛的患者在 IL-6 基因 G-572C 以攜帶 wild type 的 G 交替基因居多，C 交替基因變異多發生在無血虛的患者上($p<0.05$)。
- (五)陰虛的患者 GOT、GPT 及 pCO_2 皆遠較無陰虛的患者低($p<0.0001$ 、 $p<0.0001$ 、 $p<0.05$)，顯示陰虛的患者肝功能較差、且在本試驗收案對象中，陰虛的患者在 TNF- α 基因 G-308A 皆為 GG 基因型，A 交替基因變異僅發生在無陰虛的患者上($p<0.001$)、在 IL-18 基因 G-137C 皆為 GC 基因型，顯示 C 交替基因變異僅發生在陰虛的患者上($p<0.05$)。
- (六)有氣分熱的患者與有營分熱、血分熱的患者之間與無氣分熱、無營分熱、無血分熱的患者之間相較之下顯得具有極高的相關性 ($p<0.0001$)；有氣虛的患者與有血虛、陽虛的患者之間與無氣虛、無血虛、無陽虛的患者之間相較之下顯得具有極高的相關性 ($p<0.0001$)。

三、以敗血症患者各性狀與臨床觀察指標、基因型存活率之相關性而言：

- (一)嚴重敗血症或無陽虛之患者存活率分別遠較敗血性休克、陽虛之患者來得高($p<0.05$ 、 $p<0.0001$)。
- (二)敗血性休克或無血虛之患者第一天血中 TNF- α 濃度分別遠較嚴重敗血症、血虛之患者來得高($p<0.05$)。

- (三)敗血性休克、死亡組患者或無血虛之患者第一天血中 IL-6 濃度分別遠較嚴重敗血症、存活組、血虛之患者來得高($p<0.0001$ 、 $p<0.0001$ 、 $p<0.01$)。
- (四)敗血性休克或為死亡組之患者其第一天血中 IL-10 濃度分別遠較嚴重敗血症、存活組的患者高($p<0.001$ 、 $p<0.05$)。
- (五)死亡組、有營分熱或血虛的患者 APACHE II Score 分別遠較存活組、無營分熱、無血虛的患者高($p<0.05$ 、 $p<0.01$ 、 $p<0.05$)。
- (六)死亡組、無營分熱、無血虛的患者 BUN 分別遠較存活組、營分熱、血虛的患者高($p<0.05$ 、 $p<0.05$ 、 $p<0.001$)，顯示腎功能較差的患者較易死亡。
- (七)死亡組、血虛的患者 pH 值分別遠較存活組、無血虛的患者低($p<0.01$)。

四、在本試驗收案對象中，只有敗血性休克、或有氣虛、或無陰虛的患者才會出現血虛，嚴重敗血症、無氣虛、或陰虛的患者皆未出現血虛證($p<0.05$)；在本試驗收案對象中，只有無血分熱或無血虛的患者才會出現陰虛，有血分熱或有血虛的患者皆未出現陰虛證($p<0.05$)。

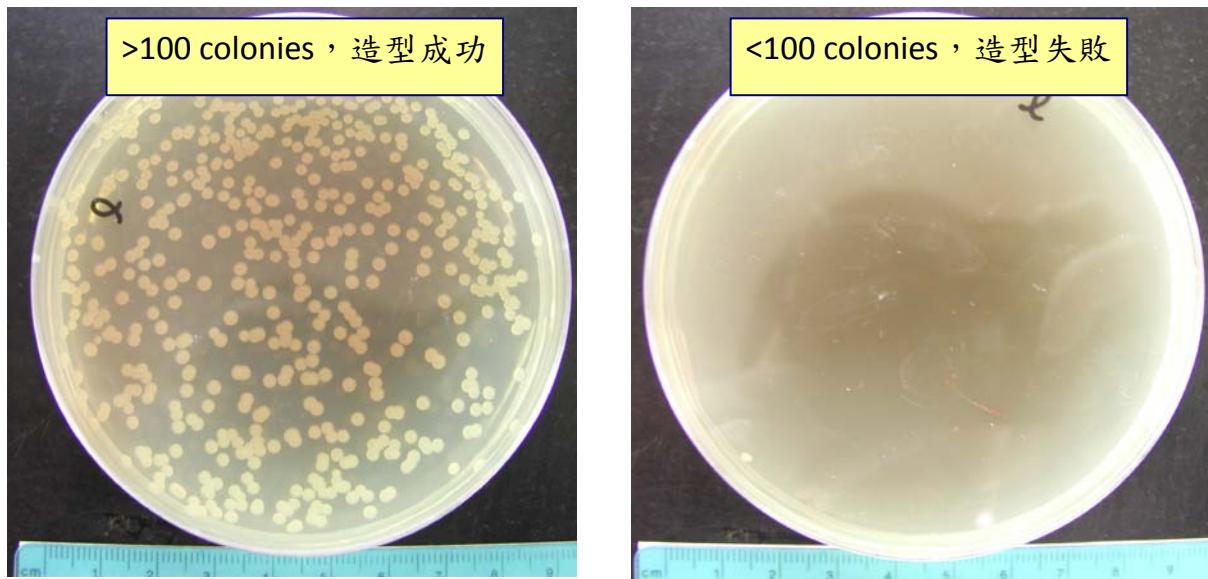
五、以敗血症患者各基因型與臨床觀察指標之相關性而言：

- (一) IL-10 基因 G-1082A 的 GA 基因型患者其 APACHE II Score 遠較 GG 基因型來得高($p<0.05$)。
- (二) IL-18 基因 G-137C 的 GG 基因型體重遠較 GC 基因型來得低($p<0.05$)、GG 型患者的 BUN 則遠較 GC 基因型患者來得高($p<0.05$)，顯示 wild type 的 G 交替基因與較差的腎功能有關。
- (三)試驗結果同時顯示 IL-18 基因 C-607A、G-137C 之 wild type 皆為 IL-18 高轉錄表現量，交替基因變異皆為低轉錄表現量。

二、動物實驗結果

(一)腹腔注射 *Klebsiella pneumoniae* 方式引發敗血症動物模型之建立。

我們將 10^8 cfu 注入大鼠腹腔，並在注射後 6 小時抽血 200 uL 塗盤確認造型結果。當生長之菌落數大於 100 colonies，視為造型成功；若小於 100 colonies，則造型失敗。



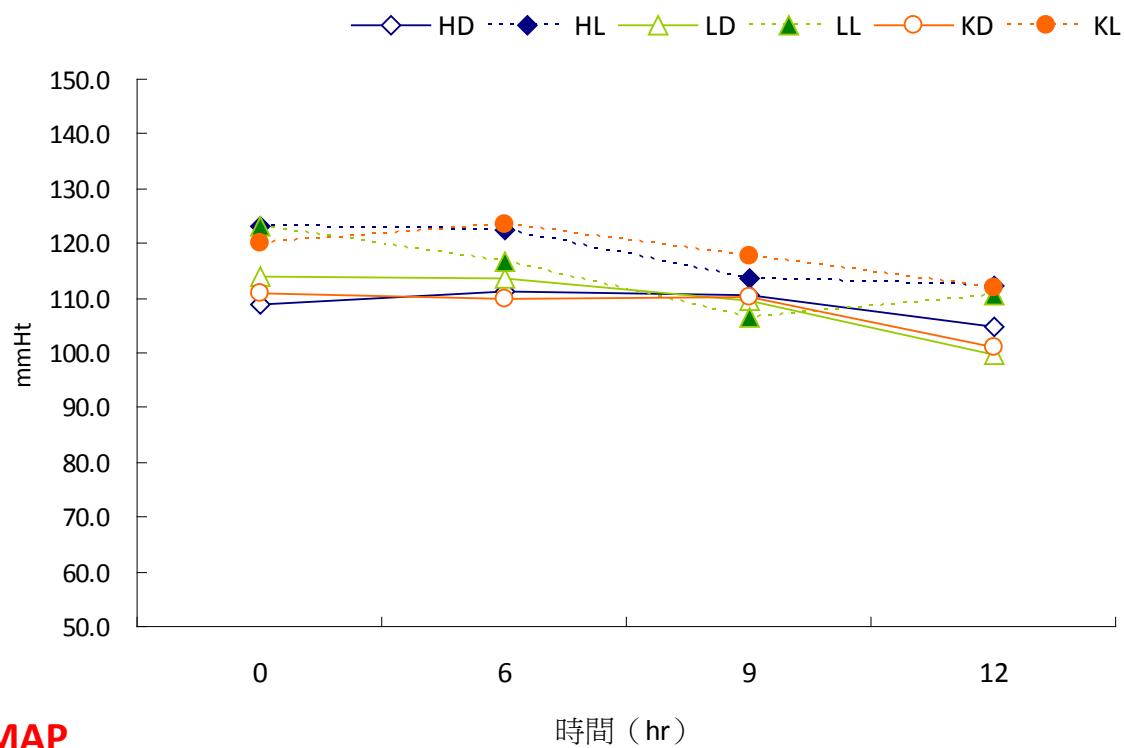
(二)評估白虎湯對於 KP-induced Septic Rats 之治療效應

以下編號為 H 者，均在造型後六小時給予高劑量之白虎湯；編號為 L 者，則給予低劑量之白虎湯；編號為 K 者，則給予生理食鹽水。編號為 B 者，則是腹腔注射生理食鹽水之空白對照組。

結果顯示給予高劑量(H)、低劑量(L)之白虎湯組之存活率與生理食鹽組(K)相較，並未有明顯的提升。

組別	造型成功隻數	存活隻數	存活率
高劑量組(H)	9	4	44.4%
低劑量組(L)	10	5	50.0%
生理食鹽水組(K)	9	4	44.4%
空白對照組(B)	7	7	100%

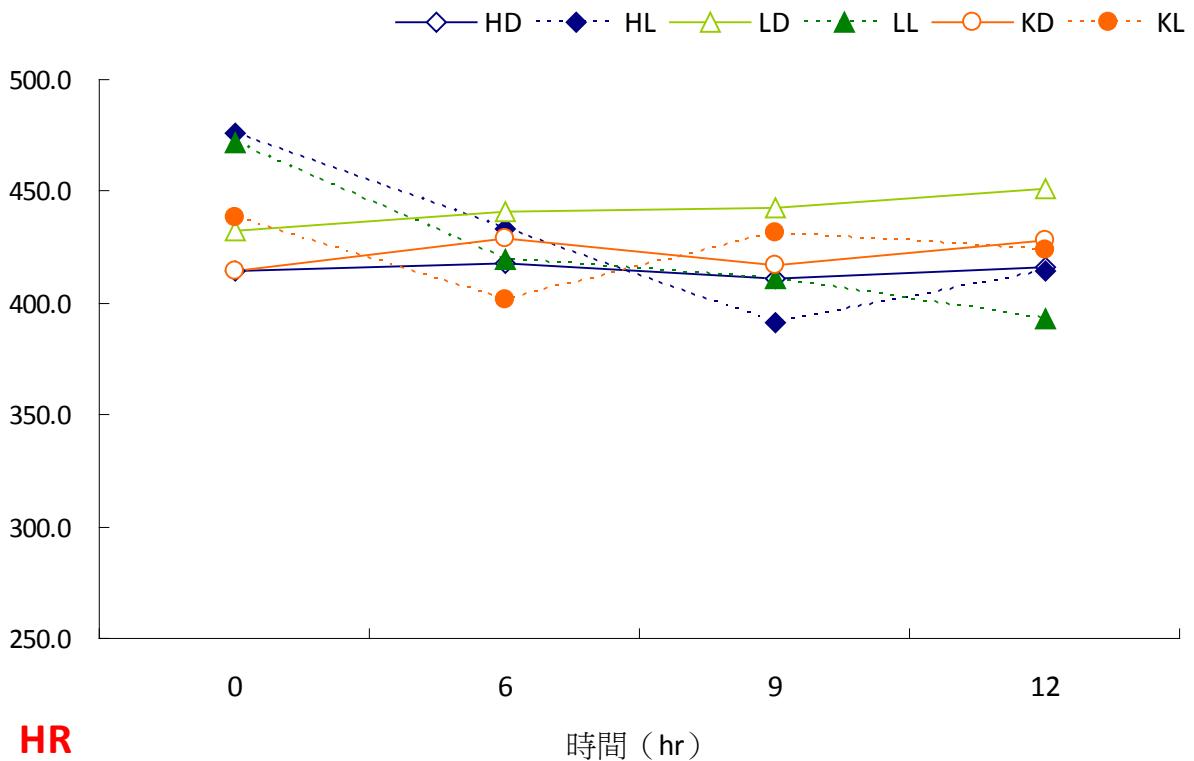
(三)白虎湯對於 KP-induced 大鼠之血液動力學變化之影響



MAP

- HD：高劑量白虎湯組中死亡者，HL：高劑量白虎湯組中存活者
- LD：低劑量白虎湯組中死亡者，LL：低劑量白虎湯組中存活者
- KD：生理食鹽水組中死亡者，KL：生理食鹽水組中而存活者

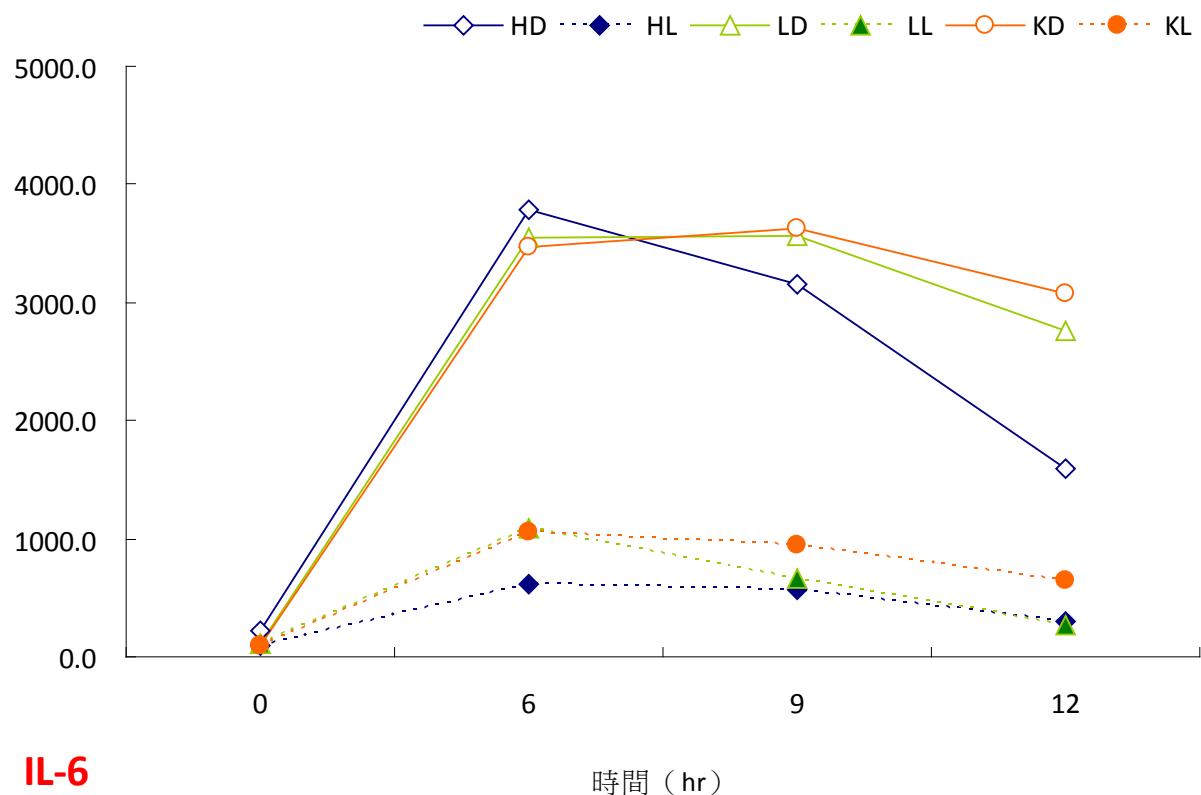
在注射 KP 菌造型後，各組的血壓在進行觀察的 12 小時內並無明顯的上升與下降，且各組間之血壓變化亦無明顯不同的趨勢。



- HD：高劑量白虎湯組中死亡者，HL：高劑量白虎湯組中存活者
- LD：低劑量白虎湯組中死亡者，LL：低劑量白虎湯組中存活者
- KD：生理食鹽水組中死亡者，KL：生理食鹽水組中而存活者

在注射 KP 菌造型後，各組的心跳在進行觀察的 12 小時內並無明顯的上升與下降，且各組間之心跳變化亦無明顯不同的趨勢。

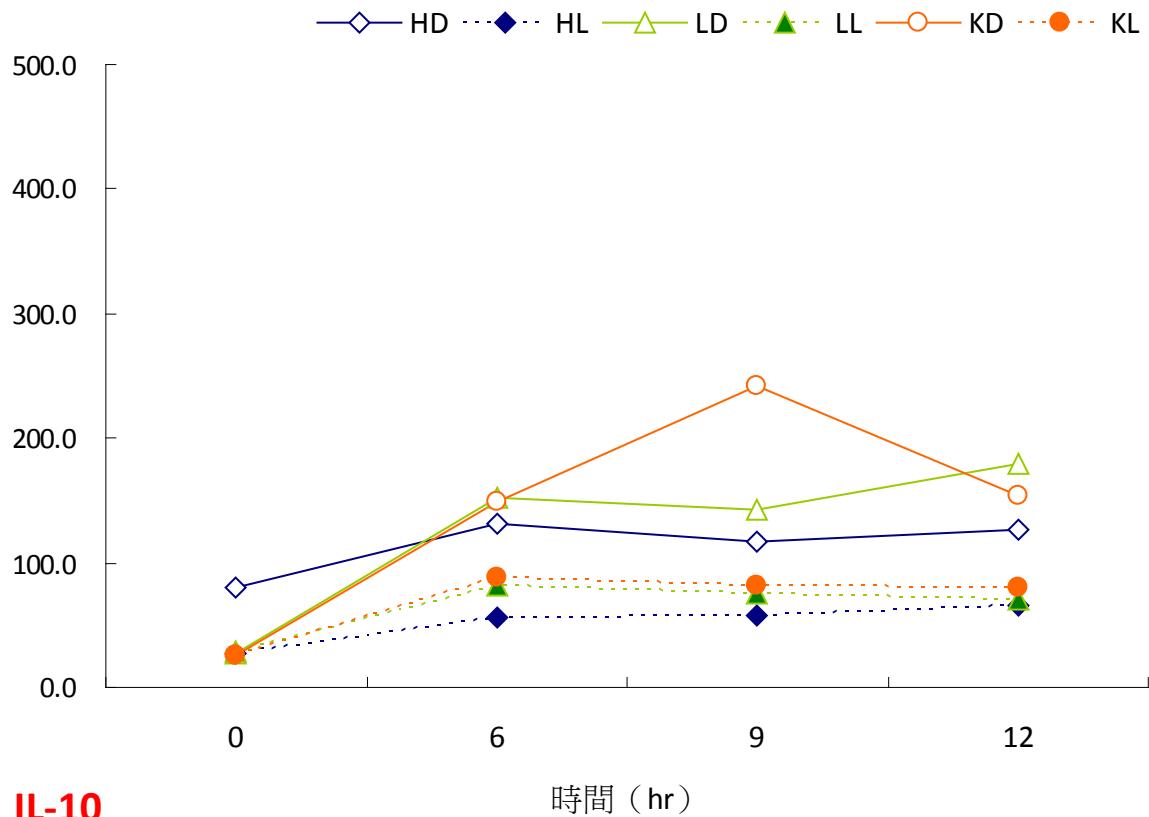
(四)白虎湯對於 KP-induced 大鼠之細胞激素 IL-6 變化之影響



- HD：高劑量白虎湯組中死亡者，HL：高劑量白虎湯組中存活者
- LD：低劑量白虎湯組中死亡者，LL：低劑量白虎湯組中存活者
- KD：生理食鹽水組中死亡者，KL：生理食鹽水組中而存活者

相較於本研究團隊之前研究白虎湯治療 CLP 大鼠之 IL-6 變化趨勢，KP-induced 敗血症大鼠在給予白虎湯後，亦出現相同的趨勢：即給予白虎湯後，IL-6 的上升趨勢便開始下降，且高劑量組的下降趨勢更為明顯。

(五)白虎湯對於 KP-induced 大鼠之細胞激素 IL-10 變化之影響



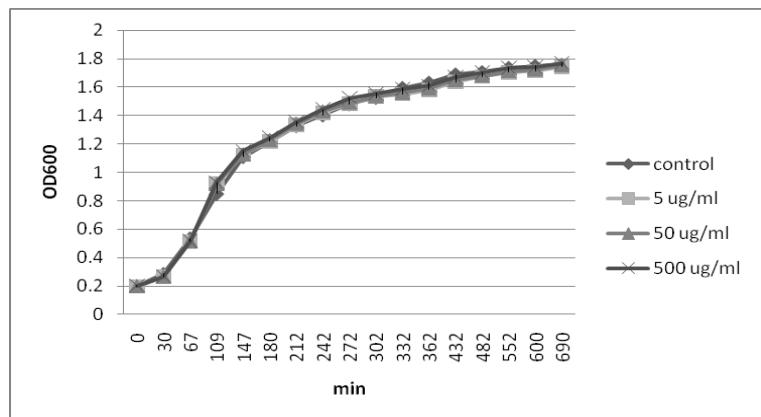
- HD：高劑量白虎湯組中死亡者，HL：高劑量白虎湯組中存活者
- LD：低劑量白虎湯組中死亡者，LL：低劑量白虎湯組中存活者
- KD：生理食鹽水組中死亡者，KL：生理食鹽水組中而存活者

相較於本研究團隊之前研究白虎湯治療 CLP 大鼠之 IL-10 變化趨勢，KP-induced 敗血症大鼠在給予白虎湯後，亦出現相同的趨勢：即給予白虎湯後，IL-10 的上升趨勢便開始下降，且高劑量組的下降趨勢更為明顯。

(六)白虎湯對於 *Klebsiella pneumoniae* 菌的影響

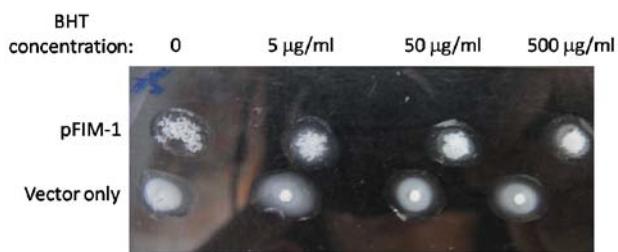
1. 白虎湯不會影響細菌的生長速率

我們分別測試克雷白氏肺炎桿菌在 5 $\mu\text{g/ml}$ 、50 $\mu\text{g/ml}$ 以及 500 $\mu\text{g/ml}$ 的白虎湯濃度下的生長曲線，發現無明顯的顯著差異，因此推測白虎湯並不會影響菌體的生長情形。



2. 白虎湯可抑制克雷白氏肺炎桿菌中第一型纖毛的功能

我們先將克雷白氏肺炎桿菌中第一型纖毛的基因組構築於可用阿拉伯糖(arabinose)誘導之載體上，命名為 pFIM-1，並且轉植於大腸桿菌中(*E. coli* JM109)，利用加入 0.2% 的阿拉伯糖來誘導其第一型纖毛的表現，可以藉由酵母菌凝集實驗(yeast agglutination)來觀察其表現情形，之後進一步利用不同濃度的白虎湯來觀察是否第一型纖毛對於酵母菌凝集的功能會因為白虎湯的作用而消失，其實驗證明如下所示，其中發現隨著白虎湯的濃度增加，第一型纖毛的黏附能力會逐漸降低其能力表現，因此暗示著白虎湯的確可以減少克雷白氏肺炎桿菌對細胞黏附能力。



肆、討論

在本研究團隊之前的研究中曾同時觀察署立南投醫院加護病房 126 位敗血症患者其預後與致病菌之關連性，存活與死亡兩組患者的致病菌在種類及出現頻率上並無明顯差異。(見下表)因此，在本年度的研究中，我們轉而嘗試尋找與敗血症患者預後之證型與預後表現相關之 SNP。

Pathogen	All (n=126)	Survivors (n=71)	Non-survivoers (n=55)
Gram negative	102	56	46
Klebsiella sp.	26	12	14
E coli	31	20	11
Pseudomonas aeruginosa	17	9	8
Acinetobacter sp.	10	6	4
Proteus mirabilis	12	7	5
Enterobacter sp.	3	1	2
Salmonella sp.	1	0	1
Hemophilus influenzae	1	1	0
Citrobacter	1	0	1
Gram positive	18	10	8
Staphylococcus	10	5	5
1. MSSA	1	1	0
2. MRSA	6	3	3
3. Staph.epidermidis	3	1	2
Enterococcus	4	2	2
Streptococcus sp.	4	3	1
Fungus	8	5	3
Candida	8	5	3

在本計畫之臨床觀察性研究中，截至 11 月底納入本研究觀察者計 95 位，排除因病情嚴重尚未完成完整記錄前轉院、昏迷（無法記錄）、死亡者。其中完成中醫證型評估及抽血者，目前已達 63 人，預計至 12 月可順利收案達 100 人，扣除無法完成完整之觀察者，有七成的收案完成率，即可達 70 人。目前完成以下基因組 DNA 檢測流程之樣本共 62 位。這與臨床研究收案之困難度一致。

初步的分析結果中發現 IL-6 基因 G-572C 的 GG 基因型患者其存活率優於 GC 及 CC 型，故知 G 交替基因有利存活。IL-6 基因 G-174C 的 GG 基因型患者其存活天數以及存活率皆優於 GC 型。IL-10 基因 G-1082A 的 AA 基因型患者其存活率優於 GA 型。似乎基因決定患者體質以及在疾病過程體質反應的確可能影響疾病之預後，這有待進一步更大樣本研究來證實。

以敗血症患者各性狀與臨床觀察指標、基因型存活率之相關性而言，女性患者在 IL-6 基因 G-174C、G-572C 及 IL-18 基因 G-137C 皆以攜帶 wild type 的 G 交替基因居多，基因變異多發生在男性患者上($p<0.05$)。在死亡組患者出現陽虛的比例(82%)遠較存活組(29%)來得高($p<0.0001$)。敗血性休克的患者 CV factor 遠較嚴重敗血症的患者高($p<0.0001$)，顯示若被診斷有敗血性休克的患者心血管功能皆較差。在先前研究中，性別與陽虛正顯示對敗血症患者預後有很大的影響，本研究結果顯示這個結果也與基因之不同表現相關連。

以敗血症患者各性狀與臨床觀察指標、存活率之相關性而言，嚴重敗血症或無陽虛之患者存活率分別遠較敗血性休克、陽虛之患者來得高($p<0.05$ 、 $p<0.0001$)。敗血性休克或無血虛之患者第一天血中 TNF- α 濃度分別遠較嚴重敗血症、血虛之患者來得高($p<0.05$)。敗血性休克或為死亡組之患者其第一天血中 IL-10 濃度分別遠較嚴重敗血症、存活組的患者高($p<0.001$ 、 $p<0.05$)。這個結果與先前三年觀察研究一致，顯示中醫證型作為臨床指標之價值與高度之再現性結果。

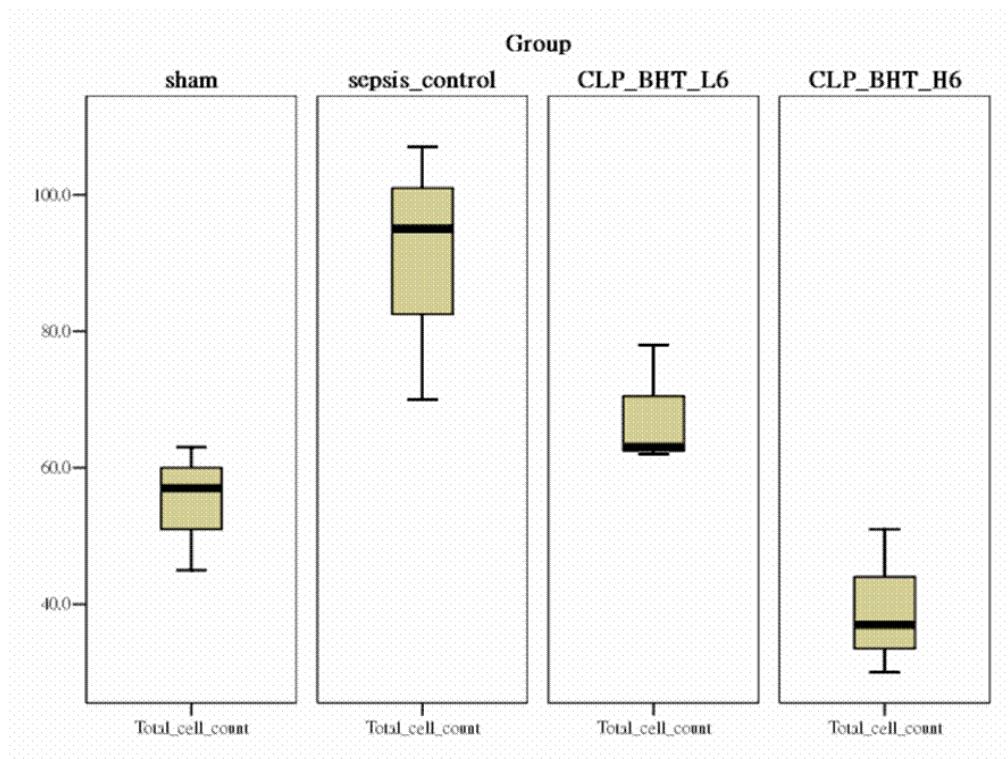
在動物實驗上，腹腔注射 *Klebsiella pneumoniae* 方式引發敗血症動物模型之建立中，我們將 10^8 cfu 注入大鼠腹腔，並在注射後 6 小時抽血 200 uL 塗盤確認造型結果。當生長之菌落數大於 100 colonies，視為造型成功；若小於 100 colonies，則造型失敗。造型過程菌數量不足時，無法達到致死性嚴重敗血症，也無法作為驗證療效與預後之模型。

當菌量達到符合造型嚴重度之要求時，大鼠病理表現卻會立即產生嚴重難以逆轉之結果。我們評估白虎湯對於 KP-induced Septic Rats 之治療效應，結果顯示給予高劑量(H)、低劑量(L)之白虎湯組之存活率與生理食鹽組(K)相較，並未有明顯的提升。這與中醫病理上邪毒過盛，體質影響因子就相對較弱，因此以體質調整之白虎湯似乎無法作為校正細胞激素反應，作為

KP 敗血症之主要治療依據，但相較於本研究團隊之前研究白虎湯治療 CLP 大鼠之 IL-6、IL-10 變化趨勢，KP-induced 敗血症大鼠在給予白虎湯後，亦出現相同的趨勢：即給予白虎湯後，IL-6、IL-10 的上升趨勢便開始下降，且高劑量組的下降趨勢更為明顯。因此仍可考慮將白虎湯做為西醫抗菌療法之輔助治療工具，合併西醫抗生素之治療效益值得未來進一步研究。而因病勢過於急猛，或許提早介入白虎湯以便更早扭轉細胞激素反應，也是值得進一步驗證其效益。此外，在敗血症模型的操作上，在手術造型前先以 KP 菌餵食大鼠，待大鼠腸胃道中之 KP 菌增加後，再以 CLP 造型引發敗血症，將可更貼近臨床實際狀況。

研究中我們也分別測試克雷白氏肺炎桿菌在 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以及 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的白虎湯濃度下的生長曲線，發現無明顯的顯著差異，因此推測白虎湯並不會影響菌體的生長情形。但將克雷白氏肺炎桿菌中第一型纖毛的基因組構築於可用阿拉伯糖(arabinose)誘導之載體上，命名為 pFIM-1，並且轉植於大腸桿菌中(*E. coli* JM109)，利用加入 0.2% 的阿拉伯糖來誘導其第一型纖毛的表現，可以藉由酵母菌凝集實驗(yeast agglutination)來觀察其表現情形，之後進一步利用不同濃度的白虎湯來觀察是否第一型纖毛對於酵母菌凝集的功能會因為白虎湯的作用而消失，其實驗證明如下所示，其中發現隨著白虎湯的濃度增加，第一型纖毛的黏附能力會逐漸降低其能力表現，因此暗示著白虎湯的確可以減少克雷白氏肺炎桿菌對細胞黏附能力。

在本研究先前觀察白虎湯對於 CLP 大鼠的效應中除發現白虎湯可藉由降低細胞激素 IL-6 及 IL-10，進一步提高 CLP 大鼠的存活率外；在後續的驗證研究中也發現給予白虎湯後，CLP 大鼠肺泡灌流液中的 Total Cell Count 可明顯降低，且有 dose-dependant 效應。(見下圖) 在以 KP 腹腔注射引發敗血症之大鼠模型中，白虎湯對於其肺泡灌流液中的 Total Cell Count 的效應也值得再進一步評估。



伍、結論與建議

中醫證型、性別會影響敗血症患者預後表現，這與細胞激素部分基因類型有關連；單獨使用白虎湯治療 KP 造型之大鼠敗血症，不影響其存活率。

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 CCMP99-RD-207 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. Chou FF, Kou HK. Endogenous endophthalmitis associated with pyogenic hepatic abscess. *J Am Coll Surg* 182:33-36, 1996.
2. Han SH. Review of hepatic abscess from *Klebsiella pneumoniae*. An association with diabetes mellitus and septic endophthalmitis. *West J Med* 162:220-224, 1995.
3. Lau YJ, Hu BS, Wu WL, Lin YH, Chang HY, Shi ZY. Identification of a major cluster of *Klebsiella pneumoniae* isolates from patients with liver abscess in Taiwan. *J Clin Microbiol* 38:412-414, 2000.
4. Peng HL, Wang PY, Wu JL, Chiu CT, Chang HY. Molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae*. *Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi* 24:264-271, 1991.
5. Wenzel RP, Edmond MB. The impact of hospital-acquired bloodstream infections. *Emerg Infect Dis* 7:174-177, 2001.
6. Chang SC, Fang CT, Hsueh PR, Chen YC, Luh KT. *Klebsiella pneumoniae* isolates causing liver abscess in Taiwan. *Diagn Microbiol Infect Dis* 37:279-284, 2000.
7. Wang JH, Liu YC, Lee SS, Yen MY, Chen YS, Wann SR, Lin HH. Primary liver abscess due to *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan. *Clin Infect Dis* 26:1434-1438, 1998.
8. Tsai FC, Huang YT, Chang LY, Wang JT. Pyogenic liver abscess as endemic disease, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 14:1592-1600, 2008.
9. Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: enterobacteriaceae. *Am J Med* 119:S20-28; discussion S62-70, 2006.
10. Lagamayo EN. Antimicrobial resistance in major pathogens of hospital-acquired pneumonia in Asian countries. *Am J Infect Control* 36:S101-108, 2008.
11. Wiener J, Quinn JP, Bradford PA, Goering RV, Nathan C, Bush K, Weinstein RA. Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in nursing homes. *Jama* 281:517-523, 1999.
12. Sahly H, Podschun R, Oelschlaeger TA, Greiwe M, Parolis H, Hasty D, Kekow J, Ullmann U, Ofek I, Sela S. Capsule impedes adhesion to and invasion of epithelial cells by *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Immun* 68:6744-6749, 2000.
13. Lin JC, Chang FY, Fung CP, Xu JZ, Cheng HP, Wang JJ, Huang LY, Siu LK.

- High prevalence of phagocytic-resistant capsular serotypes of *Klebsiella pneumoniae* in liver abscess. *Microbes Infect* 6:1191-1198, 2004.
14. Campos MA, Vargas MA, Regueiro V, Llompart CM, Alberti S, Bengoechea JA. Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Infect Immun* 72:7107-7114, 2004.
 15. Campos MA, Morey P, Bengoechea JA. Quinolones sensitize gram-negative bacteria to antimicrobial peptides. *Antimicrob Agents Chemother* 50:2361-2367, 2006.
 16. Fung CP, Hu BS, Chang FY, Lee SC, Kuo BI, Ho M, Siu LK, Liu CY. A 5-year study of the seroepidemiology of *Klebsiella pneumoniae*: high prevalence of capsular serotype K1 in Taiwan and implication for vaccine efficacy. *J Infect Dis* 181:2075-2079, 2000.
 17. Pan YJ, Fang HC, Yang HC, Lin TL, Hsieh PF, Tsai FC, Keynan Y, Wang JT. Capsular polysaccharide synthesis regions in *Klebsiella pneumoniae* serotype K57 and a new capsular serotype. *J Clin Microbiol* 46:2231-2240, 2008.
 18. Fung CP, Chang FY, Lee SC, Hu BS, Kuo BI, Liu CY, Ho M, Siu LK. A global emerging disease of *Klebsiella pneumoniae* liver abscess: is serotype K1 an important factor for complicated endophthalmitis? *Gut* 50:420-424, 2002.
 19. Yu WL, Ko WC, Cheng KC, Lee CC, Lai CC, Chuang YC. Comparison of prevalence of virulence factors for *Klebsiella pneumoniae* liver abscesses between isolates with capsular K1/K2 and non-K1/K2 serotypes. *Diagn Microbiol Infect Dis* 62:1-6, 2008.
 20. Ku YH, Chuang YC, Yu WL. Clinical spectrum and molecular characteristics of *Klebsiella pneumoniae* causing community-acquired extrahepatic abscess. *J Microbiol Immunol Infect* 41:311-317, 2008.
 21. Nassif X, Fournier JM, Arondel J, Sansonetti PJ. Mucoid phenotype of *Klebsiella pneumoniae* is a plasmid-encoded virulence factor. *Infect Immun* 57:546-552, 1989.
 22. Chen YT, Chang HY, Lai YC, Pan CC, Tsai SF, Peng HL. Sequencing and analysis of the large virulence plasmid pLVPK of *Klebsiella pneumoniae* CG43. *Gene* 337:189-198, 2004.
 23. Lai MC. Cloning, Expression and Analysis of the *kvgAII* Gene of *Klebsiella pneumoniae* CG43 National Chiao-Tung University master dissertation, 1999.

24. Lai YC, Lin GT, Yang SL, Chang HY, Peng HL. Identification and characterization of KvgAS, a two-component system in *Klebsiella pneumoniae* CG43. *FEMS Microbiol Lett* 218:121-126, 2003.
25. Lin CT, Huang TY, Liang WC, Peng HL. Homologous response regulators KvgA, KvhA and KvhR regulate the synthesis of capsular polysaccharide in *Klebsiella pneumoniae* CG43 in a coordinated manner. *J Biochem (Tokyo)* 140:429-438, 2006.
26. Lin CT, Peng HL. Regulation of the homologous two-component systems KvgAS and KvhAS in *Klebsiella pneumoniae* CG43. *J Biochem (Tokyo)* 140:639-648, 2006.
27. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev* 11:589-603, 1998.
28. Tarkkanen AM, Virkola R, Clegg S, Korhonen TK. Binding of the type 3 fimbriae of *Klebsiella pneumoniae* to human endothelial and urinary bladder cells. *Infect Immun* 65:1546-1549, 1997.
29. Di Martino P, Livrelli V, Sirot D, Joly B, Darfeuille-Michaud A. A new fimbrial antigen harbored by CAZ-5/SHV-4-producing *Klebsiella pneumoniae* strains involved in nosocomial infections. *Infect Immun* 64:2266-2273, 1996.
30. Darfeuille-Michaud A, Jallat C, Aubel D, Sirot D, Rich C, Sirot J, Joly B. R-plasmid-encoded adhesive factor in *Klebsiella pneumoniae* strains responsible for human nosocomial infections. *Infect Immun* 60:44-55, 1992.
31. Ernst JF, Bennett RL, Rothfield LI. Constitutive expression of the iron-enterochelin and ferrichrome uptake systems in a mutant strain of *Salmonella typhimurium*. *J Bacteriol* 135:928-934, 1978.
32. Hantke K. Regulation of ferric iron transport in *Escherichia coli* K12: isolation of a constitutive mutant. *Mol Gen Genet* 182:288-292, 1981.
33. Achenbach LA, Yang W. The fur gene from *Klebsiella pneumoniae*: characterization, genomic organization and phylogenetic analysis. *Gene* 185:201-207, 1997.
34. Matsushita M, Janda KD. Histidine kinases as targets for new antimicrobial agents. *Bioorg Med Chem* 10:855-867, 2002.
35. Kellum JA, Kong L, Fink MP, Weissfeld LA, Yealy DM, Pinsky MR, Fine J, Krichevsky A, Delude RL, Angus DC. Understanding the inflammatory cytokine response in pneumonia and sepsis: results of the Genetic and

- Inflammatory Markers of Sepsis (GenIMS) Study. *Arch Intern Med* 167:1655-1663, 2007.
36. Wang CH, Gee MJ, Yang C, Su YC. A new model for outcome prediction in intra-abdominal sepsis by the linear discriminant function analysis of IL-6 and IL-10 at different heart rates. *J Surg Res* 132:46-51, 2006.
 37. Fang CT, Chuang YP, Shun CT, Chang SC, Wang JT. A novel virulence gene in *Klebsiella pneumoniae* strains causing primary liver abscess and septic metastatic complications. *J Exp Med* 199:697-705, 2004.
 38. Friedman G, Silva E, Vincent JL. Has the mortality of septic shock changed with time? *Crit Care Med*. 1998; 26(12): 2078-2086.
 39. Abraham E, Wunderink R, Silverman H, Perl TM, Nasraway S, Levy H, Bone R, Wenzel RP, Balk R, Allred R, Pennington JE, Wherry JC. Efficacy and safety of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor α in patients with sepsis syndrome: A randomized, controlled, double-blind, multicenter clinical trial. *JAMA*. 1995; 273(12): 934-941.
 40. Fisher J, Slotman GJ, Opal SM, Pribble JP, Bone RC, Emmanuel G, Ng D, Bloedow DC, Catalano MA. Initial evaluation of human recombinant interleukin-1 receptor antagonist in the treatment of sepsis syndrome: a randomized, open-label, placebo-controlled multicenter trial. The IL-1RA Sepsis Syndrome Study Group. *Crit Care Med*. 1994; 22(1): 12-21.
 41. Zeni F, Freeman B, Natanson C. Anti-inflammatory therapies to treat sepsis and septic shock: A reassessment. *Crit Care Med*. 1997; 25(7): 1095-1100.
 42. Natanson C, Suffredini AF, Eichacker PQ, Danner RL. Selected treatment strategies for septic shock based on proposed mechanisms of pathogenesis. *Ann Intern Med*. 1994; 120(9): 771-783.
 43. Bone RC. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med*. 1996; 24(7): 1125-1126.
 44. Sriskandan S, Cohen J. The pathogenesis of septic shock. *J Infect*. 1995; 30(3): 201-206.
 45. Bone RC. Modulators of coagulation: A critical appraisal of their role in sepsis. *Arch Intern Med*. 1992; 152(7): 1381-1389.
 46. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: A severity of disease classification system. *Crit Care Med*. 1985; 13(10): 818-829.
 47. Knaus WA, Wagner DP, Draper EA, Zimmerman JE, Bergner M, Bastos PG, Sirio CA, Murphy DJ, Lotring T, Damiano A, Harrell J. The APACHE III

- prognostic system: Risk prediction of hospital mortality for critically III hospitalized adults. *Chest*. 1991; 100(6): 1619-1636.
48. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: A severity of disease classification system. *Crit Care Med*. 1985; 13(10): 818-829.
49. Lemeshow S, Teres D, Pastides H. A method for predicting survival and mortality of ICU patients using objectively derived weights. *Crit Care Med*. 1985; 13(7): 519-525.
50. Lemeshow S, Klar J, Teres D, Avrunin JS, Gehlbach SH, Rapoport J, Rue M. Mortality probability models for patients in the intensive care unit for 48 or 72 hours: A prospective, multicenter study. *Crit Care Med*. 1994; 22(9): 1351-1358.
51. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De M, Bruining H, Reinhart CK, Suter PM, Thijs LG. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. *Intensive Care Med*. 1996; 22(7): 707-710.
52. Vincent JL, De Mendonca A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, Sprung CL, Colardyn F, Blecher S. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: Results of a multicenter, prospective study. *Crit Care Med*. 1998; 26(11): 1793-1800.
53. Marshall JC, Cook DJ, Christou NV, Bernard GR, Sprung CL, Sibbald WJ. Multiple organ dysfunction score: A reliable descriptor of a complex clinical outcome. *Crit Care Med*. 1995; 23(10): 1638-1652.
54. Moemen ME. Prognostic categorization in systemic sepsis. *Egyptian Journal of Anaesthesia*. 2003; 19(2): 183-194.
55. Cook R, Cook D, MMath JT, MMath KAL, Marshall J. Multiple organ dysfunction: Baseline and serial component scores. *Critical Care Medicine*. 2001; 29(11): 2046-2050.
56. Le Gall JR, Klar J, Lemeshow S, Saulnier F, Alberti C, Artigas A, Teres D. The logistic organ dysfunction system: A new way to assess organ dysfunction in the intensive care unit. *JAMA*. 1996; 276(10): 802-810.
57. Fink MP and Heard SO. Laboratory models of sepsis and septic shock. *J Surg Res*. 1990; 49(2): 186-196.
58. Parker MM and Parrillo JE. Septic shock Hemodynamics and pathogenesis. *JAMA*. 1983; 250(24): 3324-3327.
59. Sullivan JS, Kilpatrick L, Costarino J, Lee SC, Harris MC. Correlation of

- plasma cytokine elevations with mortality rate in children with sepsis. *J Pediatr.* 1992; 120(4 I): 510-515.
60. Casey LC, Balk RA, Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. *Ann Intern Med.* 1993; 119(8): 771-778.
 61. Van Der Poll T, Waal Malefyt R, Coyle SM, Lowry SF. Antiinflammatory cytokine responses during clinical sepsis and experimental endotoxemia: Sequential measurements of plasma soluble interleukin (IL)-1 receptor type II, IL-10, and IL-13. *J Infect Dis.* 1997; 175(1): 118-122.
 62. Rongione AJ, Kusske AM, Ashley SW, Reber HA, McFadden DW. Interleukin-10 prevents early cytokine release in severe intraabdominal infection and sepsis. *J Surg Res.* 1997; 70(2): 107-112.
 63. Doughty L, Carcillo JA, Kaplan S, Janosky J. The compensatory anti-inflammatory cytokine interleukin 10 response in pediatric sepsis-induced multiple organ failure. *Chest.* 1998; 113(6): 1625-1631.
 64. Hack CE, De Groot ER, Felt-Bersma RJF, Nuijens JH, Strack Van Schijndel RJM, Eerenberg-Belmer AJM, Thijs LG, Aarden LA. Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis. *Blood.* 1989; 74(5): 1704-1710.
 65. Calandra T, Gerain J, Heumann D, Baumgartner JD, Glauser MP. High circulating levels of interleukin-6 in patients with septic shock: Evolution during sepsis, prognostic value, and interplay with other cytokines. *Am J Med.* 1991; 91(1): 23-29.
 66. Patel RT, Deen KI, Youngs D, Warwick J, Keighley MRB. Interleukin 6 is a prognostic indicator of outcome in severe intra-abdominal sepsis. *Br J Surg.* 1994; 81(9): 1306-1308.
 67. Remick DG, Bolgos GR, Siddiqui J, Shin J, Nemzek JA. Six at six: Interleukin-6 measured 6 H after the initiation of sepsis predicts mortality over 3 days. *Shock.* 2002; 17(6): 463-467.
 68. Parsons PE. Interleukin-10: The ambiguity in sepsis continues. *Crit Care Med.* 1998; 26(5): 818-819.
 69. Howard M, Muchamuel T, Andrade S, Menon S. Interleukin 10 protects mice from lethal endotoxemia. *J Exp Med.* 1993; 177(4): 1205-1208.
 70. Rongione AJ, Kusske AM, Kwan K, Ashley SW, Reber HA, McFadden DW. Interleukin-10 Protects Against Lethality of Intra-Abdominal Infection and Sepsis. *J Gastrointest Surg.* 2000; 4(1): 70-76.
 71. Song GY, Chung CS, Chaudry IH, Ayala A. What is the role of interleukin

- 10 in polymicrobial sepsis: Anti- inflammatory agent or immunosuppressant?
Surgery. 1999; 126(2): 378-383.
72. Van Dissel JT, Van Langevelde P, Westendorp RGJ, Kwappenberg K, Lich M. Anti-inflammatory cytokine profile and mortality in febrile patients. Lancet. 1998; 351(9107): 950-953.

可加入化粧品之中藥品項探討與規範草案 之擬定

陳榮秀

嘉南藥理科技大學 化粧品科技研究所

摘要

近年來由於全球回歸自然風潮的興起，中草藥的再度受到重視，愈來愈多的中藥品項被應用於生活週邊產品中，同時造就了多元化的化粧品市場，也衍生出化粧品添加中藥成分應如何定位的問題。本計畫蒐集相關資料，並廣徵各界意見，草擬有關化粧品加入中藥成分之管理規範，作為管理機關將來對於化粧品添加中藥管理政策之參考。

研究內容包含蒐集目前市面上國內外品牌化粧品之加入中藥品項等現況，並邀請業界、學界及官方代表組成專家委員會，就相關法規及使用現況和安全性等因素，探討化粧品加入中藥品項之利弊得失，經過彙整國內外相關資料後，提出具體可行之規範草案與政策建議。先期作業包含組織工作小組及專家委員會，其中成員包括產官學代表，其職責為(a)研究方針之確定；(b)商議由工作小組提出之各種起草或建議案；(c)審定各項草案及研究結果。在意見整合方面，包含拜訪全國性及地方化粧品公會，並且訪問漢方化粧品業者，進行討論與意見交流。

本計畫資料蒐集內容涵蓋(a)市售化粧品添加中藥品項之調查與統計；(b)醫藥品先進國之中草藥可添加及不得添加於化粧品之品項；(c)美國、日本、歐盟及中國等對於天然物添加於化粧品之管理規範；(d)典籍文獻記載之中草藥應用於化粧品之資料等。

總結本計畫提出中藥可添加（正面表列）品項共 41 種，並整理我國及各國禁用中草藥共 106 種。同時也依據各界意見，草擬中藥添加於化粧品管理規範提供主管機關參考。

關鍵詞：中藥、化粧品、管理規範、草案

Study and the Proposal Drafting of the Application of the Chinese Medicines on the Cosmetic Products

Rong Xiu Chen
Chia Nan University of Pharmacy & Science

ABSTRACT

Study and the Proposal Drafting of the Application of the Chinese Medicines on the Cosmetic Products In recent years, back to nature is a global trend. Chinese herbal medicine is one of the great herbal systems of the world, many herbal ingredients were applied in the commercial products. Because of the complexity of plant materials it is far more balanced than medicine based on isolated active ingredients and is far less likely to cause side effects. In this plan, the informations related in the application of Chinese herbal medicines were collected and evaluated by the experts. We propose to work on this initiative to establish a draft of a guidance on the application of Chinese herbal medicines on cosmetic products.

The study will focus on the following subjects: 1. Preparatory works: (1) organization of an expert committee consisting of experts from industry, government agencies and academics. The duties of this committee are: (a) policy establishment; (b) approval or dispproval of drafts prepared by the task group. (c) Formalizaing draft proposals before concluding this project. (2) Organization of a task force for: (a) drafting of all written proposals including the time schedule of the formal implementation by the government agencies; (b) quality control and quality assurance of this project operated by a designated person. 2. Public hearings before the drafting and the final formalization of the draft guidance and other proposals. (1) Discussion of the issue with the local cosmetic industry association; (2) A public hearing on the general idea regarding the direction of the drafting; (3) A public hearing or conference for the drafted proposals before the formalization. (4) Site visiting for discussions with individual factories. Several factories were visited. 3. Drating of guidance and system for the application of Chinese herbal medicines on cosmetic products. (1) The draft proposal of the guidance was prepared by using the

existed related regulations of our country and the existed international guidances and regulations as key references. (2) Drafting of templates that were used described in literatures. 4. Formalization of the draft and other proposals and 41 species were proposed. 5. Total 105 species prohibited by government or other contry were collected. 6. Drating of guidance and system for the responsible government agency by the task group.

Keywords: Chinese medicine, cosmetic, regulation, draft

壹、前言

化粧品產業是一低污染，高附加價值之產業，依 Euromonitor IMIS 對全球 52 個主要國家之化粧保養品(Cosmetics & Toiletries; C & T)調查 2004 年全球 C & T 的銷售額約為 2300 億美元，較 2003 年成長 4.2%，預期未來以 3.6% 之平均成長率擴展至 2009 年，屆時市場將達 2750 億美元。皮膚保養品是化粧品保養品產業中最主要之產品，在 2004 年約為 502 億美元，佔全球化粧保養品市場 22%，2004-2009 年也是成長率最高之產業，平均年成長率達 5%。

我國化粧保養品 1999 年來成長率創新高達 7%，Euromonitor 推估化粧保養品市場約為 685 億台幣，而皮膚保養品仍是我國保養品市場最主要區塊，2004 年銷售額約佔國內化粧保養品市場之 46% 約 317.8 億台幣。鑑此行政院已將化粧品保養品產業納入「挑戰 2008-國家重點發展計畫」，藉由政府之協助與推動，進而提升我國化粧保養品工業之國際競爭力。

面對這龐大市場，如何與國際競爭？中草藥是我們國家具有特色之資產，使用在化粧品上自古亦有記載其效果，現歐美化粧保養品幾乎都標榜含有植物萃取物且廣為主流行成分，鄰近日本、尤其韓國近年來積極投入中草藥在化粧品上應用之研究與開發，故化粧品添加中草藥之研究刻不容緩。本團隊本著過去在中草藥應用在化粧品之研究心得與衛生署法規草擬之經驗，同時參考先進國家，其化粧品含中草藥之相關規定與管理，加上各界意見，融合提出適合國內管理之規範草案。

本校於民國 82 年首先籌備並成立國內第一所化粧品應用與管理系，並於 92 年再成立國內唯一之化粧品科技研究所，培育化粧品配方研發、原料開發、有效性、安全性評估技術之專業人才。在本校大力支持並投入化粧品調製、分析、研發、功能性、有效性、安定性、安全性評估等相關之完善新型儀器與硬體設備，並成立化粧品檢測中心更結合本校中草藥中心、生物技術發展中心、健康促進及民生保健發展中心之儀器資源，成立化粧品研發、檢測、評估及國際合作團隊，近年來受業界委託檢測研發如台鹽、台糖、台塑生技、耐斯、盛香堂、統欣生技及統一企業公司等，受業界肯定，故有多項研發合作及豐碩具體成果。尤其本校在化粧品各項功能性之檢測設備與能力在國內獲得極大之佳碑。

本計畫之具體研究目標及工作項目規劃如下：

※全程計畫總目標：

- 一、蒐集市售化粧品已添加於化粧品之中藥品項，作為管理規範之重要參考資料。
- 二、透過完整的典籍文獻，歸納出中草藥添加於化粧品之功效。

三、蒐集國外對於天然物添加於化粧品之管理規範，草擬中草藥添加於化粧品之管理方案。

四、業界及公會拜訪，廣徵各界意見。

五、邀請專家學者組成委員會，擬定中草藥添加於化粧品之具體可行管理方案。

※全程計畫已完成之工作項目：

一、調查市售化粧品添加中藥品項之實際情形。

二、由古籍及文獻報告中蒐尋過去曾使用於化粧品之品項。

三、蒐集先進國有關化粧品基準，由其中收載之中草藥可添加之化粧品品項，整理相關資料，建議可添加之品項。

四、拜訪臺灣省、臺南市及嘉義市化粧品公會及漢方化粧品業者，徵詢相關意見。

五、組成專家委員會草擬可行之管理草案。

貳、實施策略及方法

計畫實施方法及進行步驟，分為四個主要方向，各方向相輔相成，全程按 PDCA Cycle (Plan, Do, Check, Action) 精神運作，內容分述如下：

一、組成專家委員會及工作小組：

- (一)組織工作小組，成員包含主持團隊3人，加上化粧品應用與管理系呂敏勇老師，及3位兼任助理組成，輔以臨時工讀生，其中以呂敏勇老師為本案品保人員，同時邀請藥政處和中醫藥委員會之相關承辦人員與會。由工作小組草擬工作計畫細節及進度，由本案品保人員管控進度之確實推行及推行之品質事宜，並將結果交由專家委員會審核。
- (二)組織專家委員會，成員包括產官學代表、中醫藥委員會主委、張簡啟瑞（衛生署）、郭悅雄教授（中國醫藥大學）、吳天賞（中國醫藥大學）、張永勳（中國醫藥大學）、吳永昌（中國醫藥大學）、張聰民（弘光）、代表性業者及藥政處和中醫藥委員會之相關承辦人員，透過專家會議擬訂化粧品添加中藥品項之規範草案。

二、資料蒐集：

- (一)市售化粧品添加中藥品項之調查與統計：市售產品包含國內外專櫃品牌、自有品牌、連鎖藥粧通路及其他有添加中藥之產品，收集方法包含網路資料搜尋、店家提供資料及商品購買以便獲得商品份單。
- (二)醫藥品先進國之中草藥可添加（正面表列）及不得添加（負面表列）於化粧品之品項蒐集：參考近年中醫藥委員會針對本項主題之委辦計畫研究成果，同時蒐集最新之正負面表列之中草藥品項。
- (三)國外對於天然物添加於化粧品之管理規範探討：訂購國外化粧品之管理規範或相關資料，比較整理各國化粧品相關管理法規。
- (四)典籍文獻記載之中草藥應用於化粧品之資料：蒐集《本草綱目》、《神農本草經》、《本草經集注》、《備急千金要方》等資料，整理傳統醫藥中的美容中草藥，作為表列中藥品項之參考。

(五) 網路資源：

查詢類別	名稱及簡稱	網址/說明
Types of data sources	Scientific and Technical Network (STN)	http://www.stn-international.de/
	Thomson Dialog Datastar	http://www.dialog.com/products/datastar/
Free information sources on the internet	Google™	http://www.google.be/
	Yahoo!	http://www.yahoo.com/
	MSN Search	http://www.msn.com/
	EUR-Lex	http://europa.eu.int/eur-lex/
	case-law and legislative proposals	http://europa.eu.int/eur-lex/lex/RECH_menu.do?ihm_lang=en
	Consolidated versions	http://europa.eu.int/eur-lex/accessible/en/consleg/index1.html
	Directorate General (DG) Enterprise, cosmetic section	http://ec.europa.eu/enterprise/cosmetics/index_en.htm
	cosmetic-related legislation	http://ec.europa.eu/enterprise/cosmetics/html/cosm_ongoing_init.htm
	Directorate General Health and Consumer Protection (DG SANCO)	http://ec.europa.eu/dgs/health_consumer/index_en.htm
	Scientific Committee on Cosmetic products and Non-Food Products intended for consumers (SCCNFP)	http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/sccp_opinions_en.htm http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/sccp_opinions_en.htm
	INCI	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
	European Chemicals Bureau (ECB)	http://ecb.jrc.it/
	Ecotoxicological test protocols	Annex V to Directive 67/548/EEC through http://ecb.jrc.it/testingmethods/
	CIR (Cosmetic Ingredient Review) conclusions—U.S.CFDA	http://www.cir-safety.org/
	U.S. National Library of Medicine	http://www.nlm.nih.gov/
	databases	http://www.nlm.nih.gov/databases/
	PubMed	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=PubMed

	TOXNET	http://toxnet.nlm.nih.gov/
	ChemIDplus	http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?CHEM
	Hazardous Substances Data Bank (HSDB)	http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB
	Toxicology Literature Online (TOXLINE)	http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?TOXLINE NE
	Chemical Carcinogenesis Research Information System (CCRIS)	http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?CCRIS
	Developmental and Reproductive Toxicology Database (DART)	http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?DARTE TIC
	Multi-Database Search	http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?Multi
	United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA)	http://www.epa.gov/
	dockets in the U.S.	http://www.epa.gov/epahome/lawregs.htm
A selection of factual databases	Integrated Risk Information System (IRIS)	http://www.epa.gov/iris/
	High Production Volume Information System (HPVIS)	http://www.epa.gov/hpvis/index.html
	SciFinder	http://www.cas.org/SCIFINDER/
	CIR (Cosmetic Ingredient Review) full reports—U.S. CTFA	Cosmetic, Toiletry & Fragrance Association, see http://www.ctfainternational.org/ .
	CTFA International Cosmetic Legal and Regulatory Database—CTFA	Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association, see http://www.ctfainternational.org/
	RTECS (Registry of Toxic Effects of Chemical Substances)—U.S. NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health
	TSCA	U.S. EPA Toxic Substances Control Act
	DSL	Canada, Domestic Substances List
	NDSL	Canada, Non-Domestic Substances List

A selection of bibliographical databases	Kosmet (Cosmetic & Perfume Science and Technology)—IFSCC U.K.	International Federation of the Societies of Cosmetic Chemists
	Medline—U.S. National Library of Medicine	Possesses a freely accessible counterpart called PubMed [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/]
	EMBASE (Excerpta Medica database)—Elsevier Science B.V., the Netherlands	http://www.excerptamedica.com/
	IPA (International Pharmaceutical Abstracts)—ASHP, U.S.A.	American Society of Health-System Pharmacists
	CA (Chemical Abstracts) Plus/Search—Chemical Abstracts Service, U.S.A.	http://www.info.cas.org/
Some useful database combinations on CD-ROM	IUCLID (International Uniform Chemical Information Database)—ECB	The European Chemicals Bureau, see http://ecb.jrc.it/iuclid/
Identification of the substance/mixture	Chemical Abstracts Service(CAS)	http://www.cas.org/EO/regsys.html
	IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry)	http://www.iupac.org/index_to.html
	CA Index Name from the CAS Chemical Registry System	http://www.cas.org
	SciFinder	http://www.cas.org/scifinder/
	ChemIDplus	http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?CHEM
A free of charge Internet search	Google™	http://www.google.be/
	Yahoo!	http://www.yahoo.com/
	MSN Search	http://www.msn.com/
Check for legal restrictions	the European legislation on cosmetics	http://europa.eu.int/eur-lex/en/consleg/main/1976/en_1976L0768_index.html
The quest for toxicological data	In the European situation a first check should be whether the compound	http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/sccp_opinions_en.htm http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/scc

	under study has been discussed by the experts of the SCC(NF)P through the Committees' Websites	<u>p_opinions_en.htm</u>
--	---	--

三、廣徵化粧品公會、業界及各界意見：與全國性化粧品公會溝通凝聚共識，並拜訪至少5家漢方化粧品公司。

四、起草中藥添加於化粧品法規：參考國外現有管理法規，以國內化粧品法規為架構，探討中藥可添加（正面表列）或不得添加（負面表列）品項列入草案中之可行性。

參、結果

隨著天然物應用於化粧品之熱潮而起的是相關法規制定與衍生之管理問題，許多產品標榜天然素材的添加，使消費者以為「天然的」就是安全及有效的，但是事實不然，有些天然物對皮膚會產生刺激性，若沒有詳加規範會產生糾紛及傷害。本計畫透過各種資料蒐集、意見徵詢，探討中藥品項添加於化粧品之安全性及有效性，並草擬相關規範，以提供相關單位建立管理規範的參考。

一、組織工作小組

組織工作小組，成員包含主持團隊3人(陳榮秀、楊朝成、林清宮)，加上化粧品應用與管理系呂敏勇、李淵博老師及兼任助理組成。由工作小組進行資料蒐集，並將結果交由專家委員會審核。

二、組織專家委員會

成員除主持團隊，其餘尚包括產官學及業界代表等計26人。透過本計畫所組成之專家，已分別於100年5月5日及9月29日舉行專家會議，會議重點摘錄如下：

第一次專家會議

- (一)中藥添加於化粧品之規範宜註明中藥的來源，因中藥中有效成分的種類與含量可能受到產地、氣候、季節之影響而有所不同。
- (二)表列項目應為成分或中藥名，即內容應更明確。
- (三)藉由溝通了解業界的困擾，提供政府制定法規的考量，中藥的規範比較複雜，需不需要考慮該中藥之屬或種，也值得討論。
- (四)政府對於一般化粧品或含藥化粧品的主管機關應整合管理，避免多頭馬車，業界無所適從的情況產生。業界也可參考其他國家的規範，或提供足夠的製程或安全性證據，爭取更大、更彈性的生存空間。
- (五)對業界而言，利用負面表列的方式較為可行，業者可以加入不在表列上的項目，若將來有新的證據顯示不在表列上之某些成分有安全疑慮，屆時再將其列入。
- (六)大多數專家贊成負面表列，但必須有一定的彈性並考慮業界在目前的使用狀況，不要對業界造成太大的衝擊。
- (七)臺灣的化粧品具有世界水準，但政府的法規也必須要遵守，因此業界必須藉由學界的研究提供足夠的證據提供政府制定法規，並參考歐美的趨勢繼續發展。
- (八)大家對負面表列已達成共識，也希望業界能提供本身於銷售、製造時所遭遇的困難，提供政府參考。

第二次專家會議

重要內容如下：

- (一)本草案之法規性質以「行政規則」較合適。
- (二)本草案規劃管理內容，不涉及化粧品衛生管理條例第二十條之規定。
- (三)參考大陸、歐盟及我國之禁用成分與管理規定，「負面表列」較為可行。
- (四)中藥的定義應為我國固有中醫典籍中所收載者，如此即不應含有西洋生藥或青草藥。
- (五)化粧品中可添加中藥名稱，應以 INCI 名稱為主。

三、廣徵化粧品公會、業界及各界意見

四、市售化粧品添加中藥或植物成分之調查

五、可添加於化粧品之中藥品項探討

中醫藥的美容應用，早在《神農本草經》就已記載多種可用於美容的植物藥。如：澤瀉“味甘，寒。久服延年輕身，面生光”；菟絲子、女萎“去黑，好顏色潤澤”；冬瓜子“令人悅澤好顏色”；旋花“味甘，溫。去面黑，色媚好”；柏子仁“久服令人潤澤美色，耳目聰明”；白芷“長肌膚，潤澤，可作面脂”；秦椒“久服輕身，好顏色”；翹根“令人面悅好，明目，久服輕身耐老”；卷柏“久服輕身，和顏色”；桃花“令人好顏色”等等七十餘種，這些藥物的累積，為現代的中草藥化粧品奠定良好基礎。其後，梁朝陶弘景的《本草經集注》再增加三十餘種美容中草藥。東晉葛洪《肘後備急方》，梁朝陶弘景的《肘後百一方》，唐朝孫思邈《備急千金要方》和《千金翼方》均有應用美容植物藥的美容方劑，有唐朝國家藥典之稱的《新修本草》與明朝李時珍的《本草綱目》更記載多種美容中草藥的詳細應用，並沿傳至今。在外國，日本醫藥學家丹波康賴於編撰的《醫心方》亦有美容植物藥應用的記載。朝鮮醫官金禮蒙編撰的《醫方類聚》，也包含了許多美容植物藥應用的記載。

本計畫以下列 3 項交集原則，挑選可添加之品項：

- (一)以國際化粧品原料字典 (International Cosmetic Ingredient Dictionary)收錄者。
- (二)中醫藥委員會計畫成果。
- (三)化粧品添加中藥材研究(CCMP95-TP-045)。
- (四)中草藥在皮膚保養品之應用開發(CCMP98-RD-006)。
- (五)大陸已使用者。

綜合三者之交集挑選可添加於化粧品之中藥品項（正面表列）如下：

編號	中藥名稱	學名	INCI name
1	牛蒡	<i>Arctium lappa</i>	<i>Arctium lappa</i> extract
2	人參	<i>Panax ginseng</i>	<i>Panax ginseng</i> extract
3	決明	<i>Cassia obtusifolia</i>	<i>Cassia</i> gum
4	蓮花	<i>Nelumbo nucifera</i>	<i>Nelumbo nucifera</i> flower extract
5	紫蘇	<i>Perilla frutescens</i>	<i>Perilla ocymoides</i> extract
6	金銀花	<i>Lonicera japonica</i>	<i>Lonicera japonica</i> extract
7	桑	<i>Morus alba L.</i>	<i>Morus alba</i> bark extract
8	銀杏	<i>Ginkgo biloba</i>	<i>Ginkgo biloba</i> extract
9	牡丹	<i>Paeonia suffruticosa</i>	<i>Paeonia suffruticosa</i> extract
10	防風	<i>Saposhnikovia divaricata</i>	<i>Saposhnikovia divaricata</i> root extract
11	覆盆子	<i>Rubus idaeus</i>	<i>Rubus idaeus</i> extract
12	白芨	<i>Bletilla striata</i>	<i>Bletilla striata</i> root extract
13	牛膝	<i>Achyranthes bidentata</i>	<i>Achyranthes bidentata</i> root extract
14	蕺菜	<i>Houttuynia cordata</i>	<i>Houttuynia cordata</i> extract
15	青蒿	<i>Artemisia carvifolia</i>	<i>Artemisia carvifolia</i> extract
16	白芍	<i>Paeonia lactiflora</i>	<i>Paeonia lactiflora</i> bark/sap extract
17	厚朴	<i>Magnolia officinalis</i>	<i>Magnolia officinalis</i> bark extract
18	生地	<i>Rehmannia glutinosa</i>	<i>Rehmannia glutinosa</i> root extract
19	茯苓	<i>Poria cocos</i>	<i>Poria cocos</i> extract
20	薏苡仁	<i>Coix lacryma-jobi L.</i> var. <i>ma-yuen</i> (<i>Roman.</i>) <i>Stapf</i>	<i>Hatomugi shushi ekisu</i>
21	紫草	<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	<i>Lithospermum erythrorhizon</i> extract
22	肉桂	<i>Cinnamomum cassia</i>	<i>Cinnamomum cassia</i> extract
23	黃芩	<i>Scutellaria baicalensis</i>	<i>Scutellaria baicalensis</i> extract
24	知母	<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	<i>Anemarrhena asphodeloides</i> root extract
25	茵陳	<i>Origanum vulgare</i>	<i>Origanum vulgare</i> extract
26	薑	<i>Zingiber officinale</i>	<i>Zingiber officinale</i> extract
27	黃耆	<i>Astragalus membranaceus</i>	<i>Astragalus membranaceus</i> extract

編號	中藥名稱	學名	INCI name
28	石榴	<i>Punica granatum</i>	<i>Punica granatum</i> extract
29	薑黃	<i>Curcuma longa</i>	<i>Curcuma longa</i> extract
30	山梔子	<i>Gardenia jasminoides</i>	<i>Gardenia jasminoides</i> fruit extract
31	川芎	<i>Ligusticum chuanxiong</i>	<i>Ligusticum chuanxiong</i> extract
32	訶子	<i>Terminalia chebula</i>	<i>Terminalia chebula</i> extract
33	丹參	<i>Salvia miltiorrhiza</i>	<i>Salvia miltiorrhiza</i> extract
34	黨參	<i>Codonopsis pilosula</i>	<i>Codonopsis pilosula</i> root powder
35	甘草	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> (licorice) root extract
36	桃仁	<i>Prunus persica</i>	<i>Prunus persica</i> extract
37	紅花	<i>Carthamus tinctorius</i>	<i>Carthamus tinctorius</i> extract
38	虎杖	<i>Polygonum cuspidatum</i>	<i>Polygonum cuspidatum</i> extract
39	三七	<i>Panax notoginseng</i>	<i>Panax notoginseng</i> leaf/stem extract
40	茅根	<i>Imperata cylindrica</i>	<i>Imperata cylindrica</i> root extract
41	佛手	<i>Citrus medica</i>	<i>Citrus medica</i> limonum extract

六、重要國家之中草藥禁用資料蒐集：蒐集我國、中國大陸禁用中草藥（78種）及歐盟禁用中草藥（24種）。

No	中文名稱	學名	禁用地區			備註
			臺灣	中國大陸	歐盟	
1	毛茛科烏頭屬植物	<i>Aconitum</i> L., (Ranunculaceae)	<i>Aconitum</i> L., (Ranunculaceae). 預告禁用	<i>Aconitum</i> L., (Ranunculaceae)	<i>Aconitum napellus</i> L.	<i>Aconitine</i> (principal alkaloid of <i>Aconitum napellus</i> L.) and its salts
2	毛茛科側金盞花屬植物	<i>Adonis</i> L., (Ranunculaceae)	<i>Adonis</i> L., (Ranunculaceae) 預告禁用 <i>Adonis vernalis</i> L. and its preparations (側金盞花) 已公告禁用	<i>Adonis</i> L., (Ranunculaceae)	<i>Adonis vernalis</i> L.	<i>Adonis vernalis</i> L. and its preparations
3	蒟蒻	<i>Alocasia cucullata</i> (Lour.) Schott	<i>Alocasia cucullata</i> (Lour.) Schott (蒟蒻) 預告禁用	<i>Alocasia cucullata</i> (Lour.) Schott		
4	海芋	<i>Alocasia odora</i> (Roxb.) K. Koch	<i>Alocasia odora</i> (Roxb.) K. Koch (海芋) 預告禁用	<i>Alocasia odora</i> (Roxb.) K. Koch		
5	蒟蒻	<i>Amorphophallus rivieri</i> Durieu; <i>Amorphophallus sinensis</i> Belval	<i>Amorphophallus rivieri</i> Durieu; <i>Amorphophallus sinensis</i> Belval (蒟蒻) 預告禁用	<i>Amorphophallus rivieri</i> Durieu; <i>Amorphophallus sinensis</i> Belval		
6	打破碗花	<i>Anemone hupehensis</i> Lemoine	<i>Anemone hupehensis</i> Lemoine (打破碗花) 預告禁用	<i>Anemone hupehensis</i> Lemoine		
7	白芷	<i>Angelica dahurica</i> (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f.	<i>Angelica dahurica</i> Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. (白芷) 預告禁用	<i>Angelica dahurica</i>		

No	中文名稱	學名	禁用地區			備註
			臺灣	中國大陸	歐盟	
8	杭白芷	<i>Angelica dahurica</i> (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. <i>formosana</i> (Boiss.) Shan et Yuan (杭白芷) 預告禁用	<i>Angelica dahurica</i> (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. <i>formosana</i> (Boiss.) Shan et Yuan (杭白芷)	<i>Angelica dahurica</i> (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. <i>formosana</i> (Boiss.) Shan et Yuan (杭白芷)		
9	茄科山莨菪屬植物	<i>Anisodus</i> Link et Otto, (Solanaceae). 預告禁用	<i>Anisodus</i> Link et Otto, (Solanaceae). (茄科山莨菪屬植物) 預告禁用	<i>Anisodus</i> Link et Otto, (Solanaceae)		
10	檳榔	<i>Areca catechu</i> L. 已公告禁用	<i>Areca catechu</i> L.	<i>Areca catechu</i> L.		
11	青木香	<i>Aristolochia delilis</i> siel et Zuuo.		<i>Aristolochia delilis</i> siel et Zuuo.		
12	廣防己	<i>Aristolochia fangchi</i> Y. C. Wu ex L. D. Chou et S. M. Hwang 已公告禁用	<i>Aristolochia fangchi</i> Y. C. Wu ex L. D. Chou et S. M. Hwang 已公告禁用	<i>Aristolochia fangchi</i> Y. C. Wu ex L. D. Chou et S. M. Hwang		
13	關木通	<i>Aristolochia manshuriensis</i> Kom. 已公告禁用	<i>Aristolochia manshuriensis</i> Kom.	<i>Aristolochia manshuriensis</i> Kom		
14	馬兜鈴科 細辛屬植物	<i>Asarum</i> L, (Aristolochiaceae). 預告禁用	<i>Asarum</i> L, (Aristolochiaceae) 預告禁用	<i>Asarum</i> L, (Aristolochiaceae)		
15	芥子	<i>Brassica juncea</i> (L.) Czern. et Coss.; <i>Sinapis alba</i> L.	<i>Sinapis alba</i> L. (芥子) 已公告禁用	<i>Brassica juncea</i> (L.) Czern. et Coss.; <i>Sinapis alba</i> L.		

No	中文名稱	學名	禁用地區			備註
			臺灣	中國大陸	歐盟	
16	鴨膽子	<i>Brucea javanica</i> (L.) Merr.	<i>Brucea javanica</i> Merr. (鴨膽子) 已公告禁用	<i>Brucea javanica</i> (L.) Merr.		
17	蟾酥	<i>Bufo bufo</i> <i>gargarizans</i> Cantor ; <i>Bufo melanostictus</i> Schneider	<i>Bufo melanostictus</i> (蟾酥) 已公告禁用	<i>Bufo bufo</i> <i>gargarizans</i> Cantor ; <i>Bufo melanostictus</i> Schneider		
18	長春花	<i>Catharanthus</i> <i>roseaus</i> (L.) G. Don	<i>Catharanthus roseaus</i> (L.) G. Don (長春花) 預告禁用	<i>Catharanthus roseaus</i> (L.) G. Don		
19	牛心茄子	<i>Cerbera manghas</i> L.	<i>Cerbera manghas</i> L. (牛心茄子；海杧果) 預告禁用	<i>Cerbera manghas</i> L.		海杧果
20	白屈菜	<i>Chelidonium majus</i> L.	<i>Chelidonium majus</i> L. (白屈菜) 預告禁用	<i>Chelidonium majus</i> L.		
21	藜	<i>Chenopodium album</i> L.	<i>Chenopodium album</i> L. (藜) 預告禁用 <i>Chenopodium</i> <i>ambrosioides</i> essential oil (土荊芥) 已公告禁用	<i>Chenopodium album</i> L.	<i>Chenopodium</i> <i>ambrosioides</i> L. (essential oil)	<i>Chenopodium</i> <i>ambrosioides</i> essential oil (土荊芥精油)
22	威靈仙	<i>Clematis chinensis</i> Osbeck; <i>Clematis hexapetala</i> Pall.; <i>Clematis manshurica</i> Rupr.	<i>Clematis chinensis</i> Osbeck; <i>Clematis hexapetala</i> Pall.; <i>Clematis manshurica</i> Rupr. (威靈仙) 預告禁用 <i>Clematis chinensis</i> Osbeck. (威靈仙) 已公告禁用	<i>Clematis chinensis</i> Osbeck; <i>Clematis hexapetala</i> Pall.; <i>Clematis manshurica</i> Rupr.		

No	中文名稱	學名	禁用地區			備註
			臺灣	中國大陸	歐盟	
23	鈴蘭	<i>Convallaria keiskei</i> Miq.	<i>Convallaria keiskei</i> Miq. (鈴蘭) 已公告禁用	<i>Convallaria keiskei</i> Miq.		
24	馬桑	<i>Coriaria sinica</i> Maxim.	<i>Coriaria sinica</i> Maxim. (馬桑) 已公告禁用	<i>Coriaria sinica</i> Maxim.		
25	紫堇	<i>Corydalis incisa</i> (Thunb.) Pers.	<i>Corydalis incisa</i> (Thunb.) Pers. (紫堇) 預告禁用	<i>Corydalis incisa</i> (Thunb.) Pers.		
26	文殊蘭	<i>Crinum asiaticum</i> L. var. <i>sinicum</i> Bak.	<i>Crinum asiaticum</i> L. var. <i>sinicum</i> Bak (文殊蘭) 預告禁用	<i>Crinum asiaticum</i> L. var. <i>sinicum</i> Bak		
27	野百合	<i>Crotalaria sessiliflora</i> L.	<i>Crotalaria sessiliflora</i> L. (野百合；農吉利) 預告禁用	<i>Crotalaria sessiliflora</i> L.		野百合；農吉利
28	大戟科巴豆屬植物	<i>Croton</i> L. (Euphorbiaceae)	<i>Croton</i> L. (Euphorbiaceae). 預告禁用 <i>Croton tiglium</i> oil (巴豆) 已公告禁用	<i>Croton</i> L. (Euphorbiaceae)	<i>Croton tiglium</i> (oil)	
29	芫花	<i>Daphne genkwa</i> Sieb. et Zucc.	<i>Daphnis genkwa</i> Flos (芫花) 已公告禁用	<i>Daphne genkwa</i> Sieb. et Zucc.		全草禁用
30	茄科曼陀羅屬植物	<i>Datura</i> L. (Solanaceae)	<i>Datura</i> L., (Solanaceae). 預告禁止 <i>Daturae</i> Flos (洋金花) 已公告禁用 <i>Datura stramonium</i> L. and its galenical preparations (天麻花) 已公告禁用	<i>Datura</i> L. (Solanaceae).	<i>Datura stramonium</i> L. and its galenical preparations	<i>Datura stramonium</i> L. and its galenical preparations (天麻花)

No	中文名稱	學名	禁用地區			備註
			臺灣	中國大陸	歐盟	
31	魚藤	<i>Derris trifoliata</i> Lour.	<i>Derris trifoliata</i> Lour. (魚藤) 已公告禁用	<i>Derris trifoliata</i> Lour.		
32	玄參科毛地黃屬植物	<i>Digitalis</i> L, (Scrophulariaceae).	Digitaline and all heterosides of <i>Digitalis purpurea</i> L. (毛地黃) 已公告禁用	<i>Digitalis</i> L, (Scrophulariaceae).		
33	白薯蕷	<i>Dioscorea hispida</i> Dennst.	<i>Dioscorea hispida</i> Dennst. (白薯蕷) 預告禁用	<i>Dioscorea hispida</i> Dennst.		
34	茅膏菜	<i>Drosera peltata</i> Sm. var. <i>Lunata</i> (Buch. –Ham.) C. B. Clarke	<i>Drosera peltata</i> Sm. var. <i>lunata</i> (Buch. –Ham.) C. B. Clarke (茅膏菜) 預告禁用	<i>Drosera peltata</i> Sm. var. <i>Lunata</i> (Buch. –Ham.) C. B. Clarke		
35	棉馬鱗毛蕨(貫眾)	<i>Dryopteris crassirhizoma</i> Nakai	<i>Dryopteris crassirhizoma</i> Nakai (綿馬貫眾) 預告禁用	<i>Dryopteris crassirhizoma</i> Nakai		
36	麻黃科麻黃屬植物	<i>Ephedra</i> Tourn. ex L, (Ephedraceae)	<i>Ephedra</i> Tourn. (麻黃) 已公告禁用	<i>Ephedra</i> Tourn. ex L, (Ephedraceae)		
37	葛上亭長	<i>Epicauta gorhami</i> Mars.	<i>Epicauta gorhami</i> Mars. (葛上亭長) 預告禁用	<i>Epicauta gorhami</i> Mars.		
38	大戟科大戟屬植物	<i>Euphorbia</i> L, (Euphorbiaceae)	<i>Euphorbia lathyris</i> L. (續隨子；千金子) 已公告禁用 <i>Euphorbiae Pallasii</i> Radix (白狼毒) 已公告禁用	<i>Euphorbia</i> L, (Euphorbiaceae)		

No	中文名稱	學名	禁用地區			備註
			臺灣	中國大陸	歐盟	
			<i>Euphoribiae Kansui</i> Radix (甘遂) 已公告禁用 <i>Euphorbia L.</i> , (<i>Euphorbiaceae</i>). (大戟科 大戟屬植物) 預告禁用			
39	藤黃	<i>Garcinia morella</i> Desv.	<i>Garcinia morella</i> Desv. (藤黃) 預告禁用	<i>Garcinia morella</i> Desv.		
40	鉤吻	<i>Gelsemium elegans</i> Benth.	<i>Gelsemium elegans</i> Benth. (鉤吻) 預告禁用	<i>Gelsemium elegans</i> Benth.		
41	紅娘子	<i>Huechys sanguinea</i> De Geer.	<i>Huechys sanguinea</i> De Geer. (紅娘子) 預告禁用	<i>Huechys sanguinea</i> De Geer.		
42	大風子	<i>Hydnocarpus</i> <i>anthelmintica</i> Pierre ; <i>Hydnocarpus</i> <i>hainanensis</i> (Merr.) Sleum. (大風子) 預告禁用	<i>Hydnocarpus</i> <i>anthelmintica</i> Pierre ; <i>Hydnocarpus hainanensis</i> (Merr.) Sleum. (大風子) 預告禁用	<i>Hydnocarpus</i> <i>anthelmintica</i> Pierre ; <i>Hydnocarpus hainanensis</i> (Merr.) Sleum.		
43	天仙子	<i>Hyoscyamus niger</i> L.	<i>Hyoscyamus niger</i> L. leaves, seeds, powder and galenical preparations (莨菪) 已公告禁用 <i>Hyoscyami Semen</i> (天仙子) 已公告禁用	<i>Hyoscyamus niger</i> L. (Leaves Seeds)	<i>Hyoscyamus niger</i> L. (leaves, seeds, powder and galenical preparations)	Leaves, Seeds

No	中文名稱	學名	禁用地區			備註
			臺灣	中國大陸	歐盟	
44	莽草	<i>Illicium lanceolatum</i> A. C. Smith	<i>Illicium lanceolatum</i> A.C. Smith (莽草) 已公告禁用	<i>Illicium lanceolatum</i> A. C. Smith		
45	麗江山慈姑	<i>Iphigenia indica</i> Kunth et Benth.	<i>Iphigenia indica</i> Kunth et Benth. (麗江山慈姑) 預告禁用	<i>Iphigenia indica</i> Kunth et Benth.		
46	桔梗科半邊蓮屬植物	<i>Lobelia</i> L. (Campanulaceae).	<i>Lobelia</i> L., (Campanulaceae). 預告禁用 <i>Lobelia inflata</i> L. and its galenical preparations 已公告禁用	<i>Lobelia</i> L., (Campanulaceae).	<i>Lobelia inflata</i> L.	北美山梗菜 <i>Lobelia inflata</i> L. and its galenical preparations
47	石蒜	<i>Lycoris radiata</i> Herb.	<i>Lycoris radiata</i> Herb. (石蒜) 已公告禁用	<i>Lycoris radiata</i> Herb.		
48	青娘子	<i>Lytta caraganae</i> Pallas	<i>Lyttta caraganae</i> Pallas (青娘子) 預告禁用	<i>Lyttta caraganae</i> Pallas		
49	博落回	<i>Macleaya cordata</i> (Willd.) R. Br.	<i>Macleaya cordata</i> (Willd.) R. Br. (博落回) 預告禁用	<i>Macleaya cordata</i> (Willd.) R. Br.		
50	地膽	<i>Meloe coarctatus</i> Motsch.	<i>Meloe coarctatus</i> Motsch. (地膽) 預告禁用	<i>Meloe coarctatus</i> Motsch.		
51	含羞草	<i>Mimosa pudica</i> L.	<i>Mimosa pudica</i> L. (含羞草) 預告禁用	<i>Mimosa pudica</i> L.		

No	中文名稱	學名	禁用地區			備註
			臺灣	中國大陸	歐盟	
52	夾竹桃	<i>Nerium indicum</i> Mill.	<i>Nerium indicum</i> Mill. (夾竹桃) 已公告禁用	<i>Nerium indicum</i> Mill.		
53	臭常山	<i>Orixa japonica</i> Thunb.	<i>Orixa japonica</i> Thunb. (臭常山) 預告禁用	<i>Orixa japonica</i> Thunb.		
54	北五加皮 (香加皮)	<i>Periploca sepium</i> Bge.	<i>Periploca sepium</i> Bge. (北五加皮；香加皮) 預告禁用	<i>Periploca sepium</i> Bge.		
55	牽牛子	<i>Pharbitis nil</i> (L.) Choisy. ; <i>Pharbitis purpurea</i> (L.) Voigt	<i>Pharbitidis Semen</i> (牽牛子) 已公告禁用	<i>Pharbitis nil</i> (L.) Choisy. ; <i>Pharbitis purpurea</i> (L.) Voigt		
56	商陸	<i>Phytolacca acinosa</i> Roxb. <i>Phytolacca americana</i> L.	<i>Phytolacca acinosa</i> Roxb. (商陸) 已公告禁用 <i>Phytolacca</i> spp. and their preparations 已公告禁用	<i>Phytolacca acinosa</i> Roxb. <i>Phytolacca americana</i> L.	<i>Phytolacca</i> spp. And their preparations	
57	半夏	<i>Pinella ternata</i> (Thunb.) Breit.	<i>Pinellia ternata</i> (Thunb.) Breit. (半夏) 已公告禁用	<i>Pinella ternata</i> (Thunb.) Breit.		
58	紫雪花	<i>Plumbago indica</i> L.	<i>Plumbago indica</i> L. (紫雪花) 預告禁用	<i>Plumbago indica</i> L.		
59	白花丹	<i>Plumbago zeylanica</i> L.	<i>Plumbago zeylanica</i> L. (白花丹) 預告禁用	<i>Plumbago zeylanica</i> L.		

No	中文名稱	學名	禁用地區			備註
			臺灣	中國大陸	歐盟	
60	補骨脂	<i>Psoralea corylifolia</i> L.	<i>Psoralea corylifolia</i> L. (補骨脂) 預告禁用	<i>Psoralea corylifolia</i> L.		
61	毛茛科毛 茛屬植物	<i>Ranunculus</i> L, (Ranunculaceae).	<i>Ranunculus</i> L, (Ranunculaceae). (毛茛 科毛茛屬植物) 預告禁用	<i>Ranunculus</i> L, (Ranunculaceae).		
62	羅芙木	<i>Rauvolfia</i> <i>verticillata</i> (Lour.) Baill.	<i>Rauvolfia</i> <i>verticillata</i> (Lour.) Baill. (羅芙木) 預告禁用	<i>Rauvolfia</i> <i>verticillata</i> (Lour.) Baill.		
63	鬧羊花	<i>Rhododendron molle</i> G. Don	<i>Rhododendron molle</i> G. Don (羊躡躅；鬧羊花) 已公告禁用	<i>Rhododendron molle</i> G. Don		羊躡躅
64	萬年青	<i>Rohdea japonica</i> Roth	<i>Rohdea japonica</i> Roth (萬年青) 預告禁用	<i>Rohdea japonica</i> Roth		
65	烏柏	<i>Sapium sebiferum</i> (L.) Roxb.	<i>Sapium sebiferum</i> (L.) Roxb. (烏柏) 預告禁用	<i>Sapium sebiferum</i> (L.) Roxb.		
66	一葉萩	<i>Securinega</i> <i>suffruticosa</i> (Pall.) Rehd.	<i>Securinega suffruticosa</i> (Pall.) Rehd. (一葉萩) 預告禁用	<i>Securinega suffruticosa</i> (Pall.) Rehd.		
67	苦參實	<i>Sophora flavescens</i> Ait.	<i>Sophora flavescens</i> Ait. (苦參實) 預告禁用	<i>Sophora flavescens</i> Ait.		

No	中文名稱	學名	禁用地區			備註
			臺灣	中國大陸	歐盟	
68	羊角拗子	<i>Strophanthus divaricatus</i> (Lour.) Hook. et Arn. (羊角拗子) 預告禁用 <i>Strophanthus</i> species. and their galenical preparations 已公告禁用	<i>Strophanthus divaricatus</i> (Lour.) Hook. et Arn. (羊角拗子)	<i>Strophanthus divaricatus</i> (Lour.) Hook. et Arn.		羊角拗及草藥製劑
69	菊科千里光屬植物	<i>Senecio</i> L, (Compositae). (菊科千里光屬植物) 預告禁用	<i>Senecio</i> L, (Compositae). (菊科千里光屬植物)	<i>Senecio</i> L, (Compositae).		
70	茵芋	<i>Skimmia reevesiana</i> Fortune 預告禁用	<i>Skimmia reevesiana</i> Fortune (茵芋)	<i>Skimmia reevesiana</i> Fortune		
71	狼毒	<i>Stellera chamaejasme</i> L. (狼毒) 預告禁用	<i>Stellera chamaejasme</i> L. (狼毒)	<i>Stellera chamaejasme</i> L.		
72	馬錢科馬錢屬植物	<i>Strychnos</i> L, (Loganiaceae). preparations ; Strychni Semen (馬錢子) 已公告禁用	<i>Strychnos</i> species. and their galenical preparations ; Strychni Semen (馬錢子)	<i>Strychnos</i> L, (Loganiaceae).	<i>Strychnos</i> species. and their galenical preparations	
73	黃花夾竹桃	<i>Thevetia peruviana</i> (Pers.) K. Schum. 已公告禁用	<i>Thevetia nerifolia</i> Juss. glycoside extract (黃花夾竹桃)	<i>Thevetia peruviana</i> (Pers.) K. Schum.	<i>Thevetia nerifolia</i> , glycoside extract	
74	昆明山海棠	<i>Tripterygium hypoglaucum</i> (LeVL.) Hutch. 預告禁用	<i>Tripterygium hypoglaucum</i> (LeVL.) Hutch. (昆明山海棠)	<i>Tripterygium hypoglaucum</i> (LeVL.) Hutch.		

No	中文名稱	學名	禁用地區			備註
			臺灣	中國大陸	歐盟	
75	雷公藤	<i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.	<i>Tripterygium wilfordii</i> Hook.f. (雷公藤) 預告禁用	<i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.		
76	白附子	<i>Trphonium giganteum</i> Engl.	<i>Typhonium giganteum</i> Engl. (白附子) 預告禁用	<i>Trphonium giganteum</i> Engl.		
77	百合科藜蘆屬植物	<i>Veratrum</i> L., (Liliaceae).	<i>Veratrum</i> spp. and their preparations 已公告禁用	<i>Veratrum</i> L., (Liliaceae).	Veratrum, its salts and galenical preparations <i>Veratrum</i> spp. And their preparations	
78	了哥王	<i>Wikstroemia indica</i> (L.) C. A. Mey.	<i>Wikstroemia indica</i> (L.) C.A.Mey. (了哥王) 預告禁用	<i>Wikstroemia indica</i> (L.) C. A. Mey.		
79	月桂樹籽油	Oil from the seeds of <i>Laurus nobilis</i> L.	Oil from the seeds of <i>Laurus nobilis</i> L. 已公告禁用			月桂樹籽油
80	毒扁豆	<i>Physostigma venenosum</i> Balf	<i>Physostigma venenosum</i> Balf 已公告禁用			
81	種子藜蘆	<i>Schoenocaulon officinale</i> Lind. seeds and galenical preparations	<i>Schoenocaulon officinale</i> Lind. seeds and galenical preparations 已公告禁用		<i>Schoenocaulon officinale</i> Lind (seeds and galenical preparations)	種子藜蘆(沙巴草)(種 子和草藥製劑)
82	海葱	<i>Urginea scilla</i> Stern. and its galenical preparation	<i>Urginea scilla</i> Stern. and its galenical preparations 已公告禁用		<i>Urginea scilla</i> Stern. and its galenical preparations	
83	砷華	Arsenolite	Arsenolite 已公告禁用			

No	中文名稱	學名	禁用地區			備註
			臺灣	中國大陸	歐盟	
84	甘遂	<i>Euphoribae Kansui Radix</i> 已公告禁用	<i>Euphoribae Kansui Radix</i> 已公告禁用			
85	水蛭	<i>Hirudo</i> 已公告禁用	<i>Hirudo</i> 已公告禁用			
86	急性子	<i>Impatientis Semen</i> 已公告禁用	<i>Impatientis Semen</i> 已公告禁用			
87	紅大戟	<i>Knoxiae Radix</i> 已公告禁用	<i>Knoxiae Radix</i> 已公告禁用			
88	虻蟲	<i>Tabanus</i> 已公告禁用	<i>Tabanus</i> 已公告禁用			
89	羅芙木	<i>Rauwolfia serpentina</i> L. 預告禁用	<i>Rauwolfia verticillata</i> (Lour.) Baill.		<i>Rauwolfia serpentina</i> L. Alkaloids and their salts	
90	大阿米芹	<i>Ammi majus</i> L. 已公告禁用	<i>Ammi majus</i> L. and its galenical preparations 已公告禁用		<i>Ammi majus</i> L. and its galenical preparations	
91	加拿大大麻	<i>Apocynum cannabinum</i> L. 已公告禁用	<i>Apocynum cannabinum</i> L. and its preparations 已公告禁用		<i>Apocynum cannabinum</i> L. and its preparations	
92	顛茄	<i>Atropa belladonna</i> L. and its preparation 已公告禁用	<i>Atropa belladonna</i> L. and its preparations 已公告禁用		<i>Atropa belladonna</i> L. and its preparations	
93	麥角菌	<i>Claviceps purpurea</i> Tul. 已公告禁用	<i>Claviceps purpurea</i> Tul., its alkaloids and galenical preparations 已公告禁用		<i>Claviceps purpurea</i> Tul., its alkaloids and galenical preparations	

No	中文名稱	學名	禁用地區			備註
			臺灣	中國大陸	歐盟	
94	毒芹	<i>Conium maculatum</i> L.	<i>Conium maculatum</i> L. (fruit, powder and galenical preparations) 已公告禁用		<i>Conium maculatum</i> L.	frui,powder, galenical preparations
95	秋水仙	<i>Colchicum autumnale</i> L.	<i>Colchicum autumnale</i> L. and its galenical preparations 已公告禁用		<i>Colchicum autumnale</i> L. and its galenical preparations	
96	印防己	<i>Anamirta cocculus</i> L.	<i>Anamirta cocculus</i> L. (fruit) 已公告禁用		<i>Anamirta cocculus</i> L.	果實
97	吐根	<i>Ipecacuanha</i> (cephaelis ipecacuanha Brot.)	<i>Ipecacuanha</i> (cephaelis ipecacuanha Brot. and related species) (roots, powder and galenical preparations) 已公告禁用		<i>Ipecacuanha</i> (cephaelis ipecacuanha Brot. and related species) (roots, powder and galenical preparations)	
98	毒扁豆	<i>Physostigma venenosum</i> Belf.	<i>Physostigma venenosum</i> Belf. 已公告禁用		<i>Physostigma venenosum</i> Belf.	
99	桂櫻	<i>Prunus laurocerasus</i> L.	<i>Prunus laurocerasus</i> L. 已公告禁用		<i>Prunus laurocerasus</i> L.	Cherry laurel water'
100	叉子園柏	<i>Juniperus sabina</i> L.	<i>Juniperus sabina</i> L. (leaves, essential oil and galenical preparations) 已公告禁用		<i>Juniperus sabina</i> L. (leaves, essential oil and galenical preparations)	叉子園柏的葉子、精油及其草藥製劑
101	龍葵	<i>Solanum nigrum</i> L.	<i>Solanum nigrum</i> L. and its galenical preparations 已公告禁用		<i>Solanum nigrum</i> L. and its galenical preparations	

No	中文名稱	學名	禁用地區			備註
			臺灣	中國大陸	歐盟	
102	毛果芸香	<i>Pilocarpus jaborandi</i> Holmes	<i>Pilocarpus jaborandi</i> Holmes and its galenical preparations 已公告禁用		<i>Pilocarpus jaborandi</i> Holmes and its galenical preparations	
103	除蟲菊	<i>Pyrethrum album</i> L.	<i>Pyrethrum album</i> L. and its galenical preparations 已公告禁用		<i>Pyrethrum album</i> L. and its galenical preparations	
104	馬鞭草油	Verbena oil (<i>lippia citriodora</i> kunth.)	Verbena oil (<i>lippia citriodora</i> kunth.) 已公告禁用		Verbena oil (<i>lippia citriodora</i> kunth.)	Verbena oil when used as a fragrance ingredient
105	木香油	Costus root oil (<i>Saussurea lappa</i> Clarke)	Costus root oil (<i>Saussurea lappa</i> Clarke) 已公告禁用		Costus root oil (<i>Saussurea lappa</i> Clarke)	Costus root oil when used as a fragrance ingredient
106	斑蝥	Cantharides, <i>Cantharis vesicatoria</i>	Cantharides, <i>Cantharis vesicatoria</i> (斑蝥) 已公告禁用			使用於頭髮用產品之 Cantharides tincture 除外

七、各國化粧品管理模式

(一)美國

美國化粧品管理的主要法律法規有《聯邦食品、藥品和化粧品法》和《商品包裝和標籤法》；主要政府管理部門是美國食品和藥品管理局，即 FDA，其基本職能是禁止偽劣的和標識錯誤的化粧品在市場上流通。

化粧品在美國被區分為化粧品與非處方藥(OTC)兩大類產品，前者例如：清潔、彩粧、頭髮、保濕等；後者例如：防曬、止汗、預防粉刺產品等。OTC 化粧品的生產向 FDA 登記，其目的為上市後提供監督之必要資料，而非上市前的審核。

美國之化粧品實施上市後監督原則，禁止偽劣或標識錯誤化粧品之銷售，FDA 只能於這些化粧品用商業運轉後，經消費者檢舉，才能就其證據行使法律賦予之權力。生產商無需經過上市前的審核，以符合英美法的重視證據原則。

偽劣化粧品包括三類，第一類是含有害物質；第二類為化粧品容器含有害物質；第三類含非法定添加劑，例如色素。錯誤標識化粧品包括二類，第一類標識錯誤化粧品：即其標籤是內容錯誤或具誤導性，或缺所需的資訊，第二類為違反有毒物質防治法的規定。

(二)歐盟

歐盟作為一個統一的市場，各成員國在各個方面都能夠較好地實現步調一致。化粧品行業也不例外。歐盟化粧品法規一體化最早開始於 1964 年，促成因素主要是各成員國的法規阻礙了化粧品的貿易，影響了統一市場的功能。目前歐盟的化粧品行業較好地實現了一體化在各成員國中用同一標準 (76/768EEC 化粧品導則) 對行業進行監管。

儘管各國的法規體系仍保留著各自的特點，但同一個化粧品安全法規確保了各成員國的法規體系能夠彼此相容，歐盟化粧品行業的監管機制是由歐盟委員會和各成員國政府共同構成的。歐盟委員會負責制定規程以及指導性文件，各國政府則負責貫徹歐盟委員會的規定並對本國化粧品行業進行監管。歐盟化粧品導則中規定了政府的兩項責任，一是對引起政府關注的與安全性有關的問題進行調查，二是日常的稽查。

在產品分類上，歐盟規定在化粧品和藥品之間不存在其他類別。這一點和美國的 OTC 以及日本的醫藥部外用品不同。歐盟要求，對不同的化粧品應採用同樣的安全及功效證明的標準。歐盟對化粧品行業的管制方式可以概括出以下幾個特點：

1. 奉行企業自律的原則

- 化粧品在上市前無需許可，可以根據自願原則備案。
- 製造商在生產前不需要獲得生產許可證，但生產廠及進口商必須備案。製造商應符合 GMP 的要求。
- 原料控制：化粧品導則的附錄中除了禁用成分表（448 種），含草藥（24 種）；限定條件下允許用於化粧品的物質清單（62 種）；並明確列出的成分（防腐劑、著色劑）的最大濃度，其他原料均不需要註冊。化粧品科學委員會(SCC)制定了成分安全指導原則。

2. 安全性是製造商或代理商的責任

化粧品在上市前無需許可，可以根據自願原則備案。但製造商要確保上市的化粧品在正常或合理使用條件下不得對人體的健康產生危害。在安全的前提下，可以使用任何成分（藥物成分除外）。保證產品和成分的安全性是製造商或代理商的責任。證明產品安全性的具體方法由企業選擇，但必須符合化粧品成分的安全性評價試驗指南的要求。化粧品導則明確規定了生產企業的責任，其具體包括：

- 在正常和合理的可預見條件下使用產品，對人體健康不能產生任何損害；
- 生產商或進口商應通報政府主管部門有關公司職責和已上市化粧品的種類；
- 生產商或進口商應通報各成員國的有毒物品控制中心，其已上市產品的基本配方；
- 生產商或進口商都應將可供政府主管部門查閱的有關產品綜合資訊資料存檔。

3. 化粧品資訊方面的規定

- 每個成員國均有一個主管部門，產品的資訊必須提供給主管部門，但資料歸公司所有，需要時可以到公司查詢。主管部門需要查詢的資訊有：產品的定性和定量組分；成分和產品的理化和微生物標準；製造方法（符合 GMP 要求）；人體健康的安全性評價；安全性評價的詳細資料；對人體健康有不良影響的資料；產品功效的證據。主管當局查詢產品資訊的目的是確認市售的產品是否遵章守法，調查消費者的投訴。為了能夠在消費者使用產品時出現嚴重的不良反應時進行即時的救助和處理，各國政府都有針對安全問題和不良反應的跟進體系及措施。在這種情況下，企業提供的資訊就非常必

要。

- 消費者有權通過標籤獲知產品資訊及產品成分。具體包括在歐盟的產品製造商的名稱、經營形式及地址；進口產品的原產國；淨含量；保存期限；使用的條件/警告；產品的批號。

4. 上市後監督

各國政府主管部門的主要工作有三個方面：在銷售、生產和分銷地進行稽查；審查標籤；審查所提供的文件。當發現企業有違規行為時，主管部門可以採取法律行動。為了進行有效監管，政府當局必須依靠專家和專業機構，包括執法的權威人員，如毒理學家、地方官員、化學家、律師等，此外還有化妝品評價實驗室。通過掌握企業提交的產品資訊，各國政府主管部門可以調查和監管企業是否遵紀守法。監督主要有三種方式：

- 健康危害或跟蹤調查。
- 按照產品類別進行專項調查。
- 現場檢查。

歐盟對於所有的產品都採用同樣的有效性和安全性標準，對於中小企業和跨國公司一視同仁，採用同樣嚴格的安全標準。

(三) 日本

日本的化妝品管理部門是厚生省，根據日本《藥事法》規定，日本實行化妝品生產企業的許可制度，化妝品上市前的審查管理制度，並建立可用於化妝品的原料成分名單，同時對於化妝品的原料有嚴格的規定。在日本，化妝品行業要受《藥事法》和厚生省執行法規的管制。

《藥事法》是日本規範化妝品有效性和安全性的法律。該法律規範了化妝品、醫藥部外品和醫藥品，目的是為了確保醫藥品、醫藥部外品、化妝品以及醫療用品的質量和有效性以及安全性。其“醫藥部外品”相當於美國的 OTC 產品和我國的特殊用途化妝品，包括染髮劑、燙髮劑、抗皺化妝品、美白化妝品、育毛劑、防紫外線劑等，政府管制的方式因產品類別而不同。

日本對於化妝品行業的管制方式可以概括為以下幾個方面：

1. 產品的上市前許可制度

在《許可種類標準》範圍內的化妝品不需要註冊，只需要通過事前申請就可以生產或進口銷售，除此之外的所有的化妝品都需要獲得認可和批准，包括一些普通化妝品和所有的醫藥部外品。

2. 生產企業、進口銷售企業的許可制度

沒有得到批准許可，企業不得以生產化粧品為業。沒有得到每一個產品項目的承認許可的話，不給予營業執照。為了獲得批准，生產企業必須具備符合要求的物質條件和人員條件。生產企業或進口商在生產或進口之前必須首先提出申請。厚生大臣在接到生產企業申請後，將審查化粧品的名稱、成分、分量、用法、用量、效力、性能和副作用等，對每一項產品給予承認批准。為了防止衛生上的危險，必要時，厚生大臣可以對化粧品、醫藥部外品的性狀、質量和性能等設置必要的標準，如化粧品質量標準、化粧品原料標準等。同樣，進口商也必須經過批准和許可。

3. 成分限制

日本根據化粧品質量標準的規定實行廣泛的積極審查制度。在化粧品質量標準中規定了禁用成分表（16種）；限制成分表；化粧品原料標準（可以使用的原料規格要求，592種成分），炭油色素（83種）。

4. 功效表示限制

日本把化粧品分為16類，每一類產品只能在規定的功效範圍內宣傳自己的效力，不得有超越的行為。

5. 標識規定

化粧品在其直接容器上必須標明生產廠家的名稱及地址；產品名稱；生產編號或生產記號；厚生大臣指定的成分名稱（102種）；厚生大臣指定的化粧品上應註明使用期限。日本的嚴格管制阻礙了國際性自由商品流通，也使日本受到了廣泛的指責。

（四）中國大陸

中國大陸的化粧品管理部門是衛生部，根據中國大陸《化粧品衛生管理》規定，中國大陸強制化粧品生產企業的衛生許可制度，化粧品上市前的衛生許可與備案之管理制度，並建立化粧品的原料成分禁用、限用與使用名單。

《化粧品衛生管理》是中國大陸規範化粧品有效性和安全性的法律，該法律規範了特殊用途及普通化粧品，其“特殊用途化粧品”相當於我國的含藥化粧品，包括染髮、燙髮、抗皺、美白、育毛劑、防曬、去斑、脫毛等。其他為普通化粧品。

中國大陸對於化粧品企業的管制方式是以化粧品產生企業進行衛生許可制，沒有得到批准許可，企業不得以生產化粧品為業。

綜合目前世界各國對於化粧品管理方式，整理如下表：

國家	相關部門或規定	管理方式	分類	中草藥 禁用統計
歐盟	76/768EEC	自律	化粧品與藥品	禁用 24 種
美國	FDA	上市後監督	化粧品與 OTC 化粧品	-
加拿大	Health Canada	自律	化粧品與藥品	-
澳大利亞	Department of Health and Aging Therapeutic Goods Administration	進口管理	化粧品與療效產品	-
日本	厚生省	許可制度	一般、含藥化粧品	-
韓國	食品藥品管理局部(KFDA)	事後抽查	一般、功能性化粧品	-
馬來西亞	藥品管制當局	事先許可	不分類	-
中國大陸	衛生部	許可制度	普通、特殊化粧品	禁用 78 種
臺灣	衛生署	許可制度	一般、含藥化粧品	已禁用 60 種 預告禁用 56 種

八、草擬管理法規

依據我國化粧品現有化粧品管理相關法規，蒐集各種資料，並且綜合各界意見，經專家會議討論後，草擬化粧品添加中藥成分之管理規範，對於使用安全有疑慮之品項，採較嚴格方式管制，相關條文草案詳列如下：

化粧品添加中藥成分管理規範(草案)

第一條 為管理化粧品添加中藥成分之衛生安全及品質，維護國民健康，特訂定本規範。

第二條 本規範訂定化粧品添加中藥成分之管理規則。

第三條 本規範所稱中藥係指我國中醫藥典籍所收載者，其他不屬於中藥之動、植物性或礦物原料，不適用本規範。

第四條 化粧品中不得添加經中央主管機關公告禁止添加之中藥成分，其品項由中央主管機關公告之。

第五條 化粧品中添加之中藥成分，歐盟、美國、日本或中國大陸等地區已核准使用者，得依其規定添加。

第六條 化粧品中添加之中藥成分國際化粧品原料字典(International Cosmetic Ingredient Dictionary) 收載者，除經中央主管機關公告禁止添加者外，得添加於化粧品中，以一般化粧品管理；若屬中央主管機關公告醫療或毒劇藥品者，依化粧品含有醫療或毒劇藥品管理之，應申請中央主管機關查驗，經核准發給許可證後，始得製造或輸入販賣。

第七條 化粧品中添加之中藥成分若不屬於本規範第五條及第六條之可添加者，應提出有關安全性及安定性等臨床研究試驗報告，申請中央主管機關核准，始得為之。

第八條 中央主管機關對於前條規範之審查業務，得委託財團法人或其他相關團體、機構辦理。

第九條 化粧品添加之中藥成分，足以損害人體健康者，中央主管機關得公告禁止其製造、輸入、販賣、供應或意圖販賣、供應而陳列，其已核准者，應廢止其許可。前項化粧品業者，應依規定期限回收市售品，連同庫存品一併依中央主管機關規定之方法處理。

第十條 添加中藥成分之化粧品，其標示、宣傳或廣告內容，不得虛偽、誇大不實或宣稱醫療效能。

第十一條 本規範經中央主管機關審定通過後，自公告日起實施，修正時亦同。

肆、討論

目前化粧品添加天然物，已是國際之風潮，但是目前國內尚無很具體之管理規定，因此急須透過蒐集、研究及評估予以建立。我國的中央化粧品管理部門是衛生署，根據我國《化粧品衛生管理條例》規定，臺灣對化粧品生產企業採許可登記制度，化粧品上市前的審查管理制度，並建立了禁用及準用于化粧品的原料成分名單。《化粧品衛生管理條例》，目的是為了確保化粧品的質量和有效性以及安全性，其含藥化粧品相當於日本的醫藥部外品及美國的 OTC 產品，包括染髮劑、燙髮劑、防曬化粧品、美白化粧品等。政府管制的方式因產品類別而不同。

我國對於化粧品行業的管制方式可以概括為以下幾個方面：

一、含藥化粧品的上市前許可制度

在《含藥化粧品用藥基準表》範圍內的化粧品必需事先申請查驗，取得許可證就可以生產或進口銷售。

二、一般化粧品則免備查。

三、成分限制

根據化粧品質量標準的規定實行廣泛的積極審查制度。由於事關消費者的健康和安全問題，化粧品的生產和經營在世界上絕大多數國家都以某種制度的管理。這些制度首先是要確保安全，力求將對消費者的健康有害的產品排除於市場之外，若產品存有潛在危險，則必須使消費者得到警示。目前對於中草藥品項添加之負面表列共 60 種（加上預備公告，總計共 105 種），雖然業者也期待正面表列，然正面表列牽涉甚廣，包含規格、萃取方式及限量等均要有詳細之規定，且目前全世界大部份僅有「負面表列」，因此本計畫建議以「負面表列」進行管理較為可行。

茲將中草藥品項添加於化粧品之「正面表列」與「負面表列」優缺點比較如下表：

項目	優點	缺點	影響範圍
正面表列	明確規範中草藥可添加於化粧品之正面表列，使政府與業界有共同依循標準。正面表列公告內容宜包含規格、萃取方式及限量等均要有詳細之規定。	<ol style="list-style-type: none"> 1. 因中草藥涵蓋種類很廣，無法在短時間同時公佈所有「正面表列」品項，只能採陸續公告方式進行。 2. 由於正面表列公告內容要求嚴格，故相關機關要投入大量人力及經費才能完成。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 對民眾的影響：購買產品前需要先查閱產品成分是否為「正面表列」品項。 2. 對政府的影響：相關部門必須根據所公告「正面表列」品項稽查市售品是否符合規定。 3. 對廠商的影響：未列於正面表列之中草藥將無法添加，對於新產品研發將有限制。
負面表列	依現有資料可立即公告負面表列之品項，對於產業衝擊較小，業界可選擇的品項相對較多，且此管理方式可與世界潮流接軌，因為目前先進國家均採用此方式。	負面表列公告品項宜明確，即禁用成份為何？或禁用對象為同屬植物，必須說明清楚。	<ol style="list-style-type: none"> 1. 對民眾的影響：安全受到保障且可使用到多元化產品。 2. 對政府的影響：相關部門在管理上較為簡易，可行性高。 3. 對廠商的影響：對於新產品研發將正面激勵效果，可提升產業競爭力。

伍、結論與建議

一、結論

- (一)本計畫完成中草藥禁用資料整理：已蒐集國內已禁用及預備禁用共 105 種，另蒐集中國大陸禁用中草藥 78 種及歐盟禁用中草藥 24 種。
- (二)本計畫完成市售化粧品之中草藥添加調查，共調查市售品牌八家廠商。
- (三)本計畫提出 41 項化粧品可添加中藥之「正面表列」建議品項。
- (四)本計畫彙整相關業界意見。
- (五)本計畫舉辦兩次專家會議並取得共識。
- (六)本計畫草擬「化粧品添加中藥成分管理規範」，具有參考價值。

二、建議

- (一)本計畫舉辦兩次專家會議並取得共識，希望未來儘量採「負面表列」，對業界而言，利用負面表列的方式較為可行，業者可以加入不在表列上的項目，若將來有新的證據顯示不在表列上之某些成分有安全疑慮，屆時再將其列入。
- (二)表列項目應為成分或中藥材名稱，即內容應更明確。
- (三)中藥添加於化粧品之規範宜註明中藥的來源，因中藥中有效成分的種類與含量可能受到產地、氣候、季節之影響而有所不同。
- (四)政府對於一般化粧品或含藥化粧品的主管機關應整合管理，避免多頭馬車，業界無所適從的情況產生。業界也可參考其他國家的規範，或提供足夠的製程或安全性證據，爭取更大、更彈性的生存空間。
- (五)藉由溝通了解業界的困擾，提供政府制定法規的考量，中藥的規範比較複雜，需不需要考慮該中藥之屬或種，也值得討論。
- (六)臺灣的化粧品具有世界水準，業界可藉由學界的研究，提供足夠的證據供政府制定法規，並參考歐美的趨勢繼續發展。

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 CCMP99-RD-014 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. Alkofahi AS. Abdelaziz AA. Mahmoud II. Cytotoxicity and mutagenicity of 'Al-Kohl', an eye cosmetic commonly used in Jordan. *Journal of Clinical Pharmacy & Therapeutics*. 14(6):443-50, 1989.
2. Anraku Y, Hirata R, Wada Y, Ohya Y. Molecular genetics of the yeast vacuolar H⁺-ATPase. *J Exp Biol*. 1992 ; 172 ; 67-81.
3. Antonella Saija,et al. In vitro and in vivo evaluation of caffeic and ferulic acids as topical photoprotective agents. *International Journal of Pharmaceutics* 199,39-47.2000.
4. Archana Banerjee , et al.. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit, *Food Chemistry* 90, 727-733, 2005.
5. Argirove MD, Breipohl W. Glycated proteins can enhance photooxidative stress in aged and diabetic lenses. *Free Radic Res* 36: 1251-1259, 2002.
6. Augustin C and Damour O. Pharmacotoxicological applications of an equivalent dermis: three measurements of cytotoxicity. *Cell Biology & Toxicology*. 11:167-171,1995.
7. Baurin N, Arnoult E, Scior T, Do Q.T, Bernard p. Preliminary screening of some tropical plants for anti-tyrosinase. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002 ; 82 ; 155-158.
8. Baurin N., arnoult E., Scior T., Do Q. T., Bernard P., "Preliminary screening of some tropical plant for anti-tyrosinase activity." *J Ethnopharmchology.*, 82:155-58, 2002.
9. Beer JZ. Olvey KM. Lee W. Zmudzka BZ. Reassessment of the differential effects of ultraviolet and ionizing radiation on HIV promoter: the use of cell survival as the basis for comparisons. *Photochemistry & Photobiology*. 59(6):643-9, 1994.
10. Benassi L. Bertazzoni G. Seidenari S. In vitro testing of tensides employing monolayer cultures: a comparison with results of patch tests on human volunteers. *Contact Dermatitis*. 40(1):38-44, 1999.
11. Bobin, M. F., Raymond, M. and Martini, M. C. 1994. UVA/UVB absorption properties of natural products. *Cosmet. Toil.* 109, 63-70.
12. Boots the chemist Ltd. The guide to practical measurement of UVA/UVB ratios. The Boots Chemist, PLC, Nottingham, England.
13. Bracher M. Faller C. Spengler J. Reinhardt CA. Comparison of in vitro cell toxicity with in vivo eye irritation. *Molecular Toxicology*. 1(4):561-70,

1987-88.

14. Bryan B Fuller, Dustin R Smith, Deborah T. RAPID COMMUNICATION Regulation of the Catalytic Activity of Preexisting Tyrosinase in Black and Caucasian Human Melanocyte Cell Cultures. *Experimental Cell Research* 2001 ; 262 ; 197-208.
15. C J Wang. Studies on anti-oxidative activities and anti-tyrosinase properties of the microwave Chinese herbs aqueous extracts. 2003.
16. Cabanes J., Chazarra S., Garcia-Carmona F., "Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow-binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase", *J Pharm Pharmacol.*, 46(12):985-5, 1994.
17. Cabanes, J. et al. 1994. Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow-binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase. *J. Pharm. Pharmacol.* 46, 982-985.
18. Cosmetics & toiletries 1996. Natural and Botanical products formulary. Vol 111, 81-94.
19. Curren RD. Sina JF. Feder P. Kruszewski FH. Osborne R. Regnier JF. IRAG working group 5. Other assays. Interagency Regulatory Alternatives Group. *Food & Chemical Toxicology*. 35(1):127-58, 1997.
20. Dissanayake N. S., Greenoak G. E., Mason R. S. "Effects of ultraviolet irradiation on human skin-derived epidermal cells in vitro", *J Cell Physiol.*, 157(1):119-27, 1993.
21. *Draize J H.Dermal toxicity.In:appraisal of the safety of chemicals in foods,drugs and cosmetics.Ed.Editorial Committee of the Association of Food and Drug Official of the United States,P.O.Box 3425,York,Penn.17402.1959.*
22. Edwards S. M., Dounlly T. A., Savre R. M. and Liebseh M. Quantitative in vitro assessment of phototoxicity using a human skin model, skin2. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*. 10:111-117,1994.
23. G.HU,et al. Research on a natural sunscreen from Chinese herbs. *International Journal of Cosmetic Science* 20,175-181.1998.
24. Gautheron P. Dukic M. Alix D. Sina JF. Bovine corneal opacity and permeability test: an in vitro assay of ocular irritancy. *Fundamental & Applied Toxicology*. 18(3):442-9, 1992.
25. Gerhard J. Nohynek, Eric Antignac, Thomas Re, Herve Toutain. Safety assessment of personal care products/cosmetics and their ingredients. *Toxicology and Applied Pharmacology* 243 (2010) 239–259.

26. Goihman-Yahr, M. 1996. Skin aging and photoaging: an outlook. *Clinics in Dermatology*. 14,153-160.
27. Guyomard C. Bouffechoux J. and Chesne C. Evaluation of predisafe, a cell kit for predicting eye irritancy of cosmetic raw materials and formulations. *Cell Biology & Toxicology*. 10:375-379,1994.
28. Hidalgo, M. E. et al. 1998. Boldine as a sunscreen. *Cosmet. Toil.* 113, 59-66.
29. Hu, G. and Wang, X. 1998. Research on a natural sunscreen from Chinese herbs. *International Journal of Cosmetic Science*. 20, 175-181.
30. Noyman , et al. "Hyperglycemia reduces nitric oxide synthase and glycogen synthase activity in endothelial cells" ,*Nitric Oxide* 7 ,187-193 , 2002.
31. Iozumi K, Hoganson G E, Pennella R, Everett M A, Fuller B B. Role of tyrosinase as the determinant of pigmentation in cultured human melanocytes. *J Invest Dermatol*. 1993 ; 100 ; 806-811.
32. Iwata M, Corn T D, Iwata S, Everett M A, Fuller B B. The relationship between tyrosinase activity and skin color in human foreskins. *J. Invest. Dermatol.* 1990 ; 95 ; 9-15.
33. J Am Acad. Cutaneous Photoprotection from Ultraviolet Injury by Green Tea Polyphenols. *Dermatol* 44,425-432, 2001.
34. Jonas Nordberg , Elias S. J. Arner , Reactive oxygen species ,antioxidants , and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol.31 , No.11 : 1287-1312 , 2001.
35. KANG TAE Lee, KWANG SIK Lee, JI HEAN JEONG, BYOUNG KEE JO, MOON YOUNG HEO, HYUN PYO KIM. Inhibitory Effects of *Ramulus Mori* extracts on Melanogenesis. *J. Cosmet. Sci.* 2003 ; 54 ; 133-142.
36. Kazuho Abe , et al . Both oxidative stress – dependent and independent effects of amyloid β protein are detected by 3 - (4 , 5 -dimethylthiazol – 2 – yl) - 2,5 - diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction assay, *Brain Research* 830 , 146-154 , 1999.
37. Kelley, K. A., Laskar, P. A., Ewing, G. D., Dromgoole, S. H., Lichtin, J. L. and Sakr, A. A. 1993. *In vitro* sun protection factor evaluation of sunscreen products. *J. Soc. Cosmet. Chem.* 44, 139-151.
38. Kuo-Hsien Wang, Rong-Dih Lin. Cosmetic applications of selected traditional Chinese herbal medicines. *Journal of Ethnopharmacology*. 106, 353-359, 2006.
39. Lee H., Lee Mang S., L.U. Mei-Yu, "Effects of α -MSH on Melanogenesis

- and Tyrosinase of B-16 Melanoma”, *Endocrinology*, 91:1180-89, 1972.
40. Lee J. k., Kim D. B., Kim J. I. and Kim P. Y. In vitro cytotoxicity tests on cultured human skin fibroblasts to predict skin irritation potential of surfactants. *Toxic in Vitro*. 14:345-349,2000.
41. Lee K. T. et al . “Inhibitory Effects of Ramulus Mori extracts on Melanogenesis” ,*Journal of Cosmetic science* 54 , 133-142 , 2003.
42. Lee, K. T. et al., 1997. Biological screening of 100 plant extracts for cosmetic use (I): inhibitory activities of tyrosinase and DOPA auto-oxidation. *International Journal of Cosmetic Science*. 19, 291-298.
43. Liu TZ, Cheng ML, Tsai CH, Chiu DTY. Chemiluminescent evidence that the autoxidation of epinephrine at an elevated pH generate superoxide radical, hydrogen peroxide and hydroxyl radical. *J Biomed Lab Sci* 12: 79-82; 2000.
44. Luckewicz, W. 1990. Determination of ascorbyl dipalmitate in cosmetic whitening powders by differential scanning calorimetry. *J. Soc. Cosmet. Chem.* 41. 359-367.
45. Maeda K. et al. 1991. In vitro effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocytes. *J. Soc. Cosm. Chem.* 42, 361-368.
46. Masuda, M. et al. 1996. Skin lighteners. *Cosmet. Toil.* 111, 65-75.
47. Meloni M. Lavazza M. Fischi W. Zava S. Dolfini E. In vitro efficacy evaluation of cosmetic products: a pool of tests on cultured cells. *Bollettino Chimico Farmaceutico*. 134(9):509-17, 1995.
48. Merot, F., Seniuta, R., Benita, G. and Masson, Ph. 1992. Method for quantifying cutaneous pigmentation in animals and preliminary study in humans. *International Journal of Cosmetic Science*. 14, 173-182.
49. Moon K. Y., Ahn K. S., Lee J., Kim Y. S., “Kojic acid, a potential inhibitor of NF-kappaB Activation in transfectant human HaCaT and SCC-13 cells”, *Arch Pharm Res.*, 24(4):307-11, 2001.
50. Motoyoshi, K., Ota, Y., Takuma, Y. and Takenouchi, M. 1998. Wrinkles from UVA exposure. 113, 51-56.
51. Mullarkey CJ, Edelstein D, Brownlee M. Free radical generation by early glycation products: A mechanism for accelerated atherogenesis in diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 173:932-939, 1990.
52. N Baurin, E Arnoult, T Scior, Q T Do, P Bernard. Preliminary screening of some tropical plants for anti-tyrosinase activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002 ; 82 ; 155–158.

53. N. Baurin , et al .Preliminary screening of some tropical plants for anti-tyrosinase activity, *Journal of Ethnopharmacology* 82 , 155-158 , 2002.
54. Naylor, M. F., Boyd, A., Smith, D. W., Cameron, G. S., Hubbard, D. and Neldner, K. H. 1995. High sun protection factor sunscreens in the suppression of actinic neoplasia. *Archives of Dermatology*. 131, 170-175.
55. Osborne R. Perkins M. A. and Roberts D. A. Development and intralaboratory evaluation of an in vitro human cell-based test to aid ocular irritancy assessments. *Fundamental & Applied Toxicology*. 28:139-153,1995.
56. Pauwels M, Rogiers V. Human health safety evaluation of cosmetics in the EU: A legally imposed challenge to science. *Toxicology and Applied Pharmacology* 243 (2010) 260-274.
57. Pauwels M., Rogiers V. Database search for safety information on cosmetic ingredients. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 49 (2007) 208–216.
58. Peter KM, Richard W, Yun H, et al. Biochem Biophys Res Commun, (302)290-295.2003.
59. Pfuhler S. et. al. A tiered approach to the use of alternatives to animal testing for the safety assessment of cosmetics: Genotoxicity. A COLIPA analysis. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 57 (2010) 315–324.
60. R. Kohen, Skin antioxidants : their role in aging and in oxidative stress-New approaches for their evaluation., *Biomed & Pharmacother* , 53:181-92, 1999.
61. Reichard GA, Skutches CL, Hoeldtke RD, Owen OE. Acetone metabolism in humans during diabetic ketoacidosis. *Diabetes* 35:668-674; 1986.
62. Rita Aquino,et al. Antioxidant and photoprotective activity of a crude extract of *Culcitium reflexum* H.B.K. leaves and their major flavonoids. *Journal of Ethnopharmacology* 79,183-191.2002.
63. Robin van den Berg , et al. The predictive value of the antioxidant capacity of structurally related flavonoids using the Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay, *Food Chemistry* 70 , 391-395 , 2000.
64. Shin D. S., Kim D. B., Ryu S. R. and Kim P. Y. In vitro alternatives to skin-irritation tests *Cosmetics & Toiletries*. 111:361, 1996.
65. Shirota, S. et al. 1994. Tyrosinase inhibitors from crude drugs. *Biol. Pharm. Bull.* 17, 266-269.
66. Smith C. N., Lindsay C. D.,“Kojic acid reduces the cytotoxic effects of sulfur mustard on cultures containing human melanoma cells in vitro”, *J Appl Toxicol.*, 21(6):435-40, 2001.

67. Speisky, H. et al. Boldo and boldine: An emerging case of natural drug development. *Pharmacol Res.* 29, 1-5.
68. Sunscreen drug products for over-the-counter human use. 1978. *Federal Register.* 43, 38206-38269.
69. Vian L., Vincent J., Maurin J. and Cano J. P. Comparison of three in vitro cytotoxicity assays for estimating surfactant ocular irritation. *Toxic. in vitro.* 9:185-190,1995.
70. Walker, S. L. and Young, A. R. 1997. Sunscreens offer the same UVB protection factors for inflammation and immunosuppression in the mouse. *Journal of Investigative Dermatology.* 108, 133-138.
71. Yeon Mi Kim, Jieun Yun, Chong-Kil Lee, Hwanghee Lee, Kyung Rak Min, Youngsoo Kim. Oxyresveratrol and Hydroxystilbene Compounds inhibitory effect on tyrosinase and mechanism of action. *The Journal of Biological chemistry.* 2002 ; 16340–16344.

利用輻射滅菌技術處理中藥材之劑量限量標準 及其量產之可行性評估

周鳳英

國立清華大學

摘要

本計畫係依照行政院衛生署中醫藥委員會 99 年度中藥品質研究類委託研究計畫，研究重點 2-2 中藥材包裝及貯存條件規範相關研究提出。研究目標為建立適當的中藥材輻射滅菌處理技術；研訂輻射照射滅菌最適劑量，評估不同種中藥材所需滅菌劑量，及以滅菌劑量照射後對中藥材之指標成分及外觀之影響，研訂中藥材輻射照射之劑量限量標準與評估輻射滅菌量產之可行性。

本計畫為一年期計畫，受測藥材為大棗、五味子、芡實、蓮子、山茱萸、茯苓、山藥 7 種中藥材，使用包材為 PE 及 PP 二種常應用於食品照射之包材，每種受測之中藥材皆進行 10 批次取樣，受測藥材於清華大學原子科學技術發展中心之鉻六十照射場進行輻射照射。中藥材經輻射照射處理前、後進行含菌量測定（包括好氣細菌、酵母菌、黴菌及腸內菌數），以評估各中藥材之所需滅菌劑量，結果顯示大棗、芡實、蓮子、五味子、山茱萸、茯苓、山藥所需之輻射滅菌劑量分別為 10、10、10、8、8、8 及 6 kGy。受測藥材經滅菌劑量照射前、後之水分含量及色澤無明顯改變。受測藥材經滅菌劑量照射前、後之指標成分含量均無顯著差異，而貯存後僅一批次之大棗其熊果酸含量有明顯下降之趨勢，蓮子的脂肪酸組成受貯存之影響較受照射之影響為大。以 PP 及 PE 二種包材測試其輻射照射物性變化，結果顯示 10 kGy 照射對其拉力強度、撕裂強度等無明顯影響。PP 及 PE 袋經 6 個月貯存後其抗拉強度、撕裂強度及蒸發殘渣測定值均較貯存前上升，PE 袋的透氧度於貯存後明顯上升，而 PP 袋之透氧度於貯存前、後無顯著差異，顯示 PP 袋的透氧度穩定性較佳。

本研究為針對中醫藥委員會所公告需有完整包裝標示之中藥材，選擇其中易蟲蛀或霉變之 7 種中藥材做試驗，研訂輻射滅菌劑量、選擇適當包材，以便標示「輻射滅菌處理」於具包裝標示之中藥材上，提供民眾選擇已滅菌之優良中藥，並提昇國人中藥產業之國際競爭力。

關鍵詞：中藥材、輻射滅菌、微生物含量

Evaluation of the Standard-Dose Limits and the Feasibility of Radiation Disinfection for Chinese Medicine Herbs in Large Scale

Fong-In, Chou

Development Center, Nuclear Science and Technology, National Tsing Hua University

ABSTRACT

This project was based on the major research focuses (2-2): the standardization of package and storage of Chinese medicine herbs (CMHs) proposed by the Committee on Chinese Medicine and Pharmacy, Department of Health, Executive Yuan. The aim of the research was to establish the technique for radiation disinfection of CMHs. The optimal dosage required for disinfection of different kinds of CMHs, the effects over the key ingredients, morphology of the CMHs after irradiated with disinfection dosage have been investigated. The standard-dose limits for the radiation disinfection of the CMHs and the feasibility of radiation disinfection for CMHs in large scale had evaluated.

This is a one-year project, research was focus on the evaluation of 7 kinds of CMHs, including *Fructus Zizyphi Sativae*, *Fructus Schizandrae*, *Semen Euryalis*, *Semen Nelumbonis*, *Fructus Corni*, *Sclerotium Poriae*, and *Rhizoma Dioscoreae*. The packing materials, including PE and PP normally applied in food irradiation, were used in this study. All kinds of tested CMHs were sampled for 10 batches. The CMHs were irradiated in a Co-60 hot cell in Nuclear Science and Technology Development center, National Tsing Hua University. After irradiation, the microbial contain including aerobic bacteria, enterobacteria, and yeasts and molds in CMHs were analyzed. Dosage required for disinfection CMHs was evaluated. The color change and water content of CMHs after irradiation was also analyzed. The decontamination dose for *Fructus Zizyphi Sativae* (大棗), *Semen Euryalis* (芡實), *Semen Nelumbonis* (蓮子), *Fructus Schizandrae* (五味子), *Fructus Corni* (山茱萸), *Sclerotium Poriae* (茯苓), and *Rhizoma Dioscoreae* (山藥) were 10, 10, 10, 8, 8, 8 and 6 kGy, respectively. Data from the color change and water content assay showed radiation had no obvious effects on the treated CMHs. Data from key ingredients assay revealed that gamma irradiation was not induced obvious variation in key ingredients of CMHs. On the other hand, the ursolic acid of *Fructus Zizyphi Sativae* batch A was significantly decreased after storage. The fatty acid content of *Semen Nelumbonis* was affected by storage rather than by irradiation. To select out the optimal packing materials, the physical properties of PE and PP were compared after irradiation. The tensile strength and tear strength of PE and PP were not obvious affected after 10 kGy irradiation. The tensile strength, tear strength and

leaching of evaporated residue were increased after 6 months storage. The leaching of evaporated residue was significantly increased in PE after storage, but not in PP.

This research focused on the declared CMHs that required complete labeling about the packing and contents. Seven kinds of CMHs that are easy contaminated by microbes and pests are chosen for study. The dosage for disinfection irradiation was evaluated and the appropriate packing materials were selected for the tested CMHs. Through this study, we are able to put the “Radiation Disinfection” labels on the package and to provide the general public with disinfected CMHs so as to promote the international competition ability for the domestic CMHs manufacturing business.

Keywords: Chinese medicine herbs, radiation disinfection, microbial contain

壹、前言

本計畫係依照行政院衛生署中醫藥委員會 99 年度中藥品質研究類委託研究計畫（案號：0990001960），研究重點 2-2：中藥材包裝及貯存條件規範相關研究提出。

中醫藥為我國固有的傳統醫學，運用中醫藥養生保健及治療疾病是國人常有的經驗，且藥食同源的觀念使國人對中藥（材）的使用更為普遍。全球有過半數的人口曾接受傳統醫療，歐美各國近年對於「傳統醫學」亦持逐漸開放的態度，世界各國大量投入中草藥的研究，我國政府亦極重視此一發展趨勢（林宜信，96），發展中草藥製藥產業將是未來全球最具潛力的產業之一。中國大陸藉由其產源之優勢，正積極的經由建立法規規範以擴大產業發展。臺灣因受產地限制，大多數中藥材皆由大陸進口，對其產地、種源等難以全面掌控，因此更需管制中草藥的品質，並訂定規格掌控優質原料（林宜信，93）。我國每年進口大量重要的中藥材，以提供國人使用，及加工增值後出口。在臺灣高溫多濕的環境下，微生物滋生是影響進口藥材貯存品質上之最大問題，建立具有良好包裝標示，並確保微生物含量達衛生安全標準之中藥保存方式，提供國人中藥用藥衛生安全保障，同時可確保加工出口之中藥材品質，面對外國相關檢驗之規範。

食品照射可以抑制微生物繁殖、除蟲害，還可以延緩新鮮水果和蔬菜的成熟和發芽，提高食品的安全水準並延長保存期限。而輻射照射滅菌有其特殊優點如可於常溫或低溫下進行，不使食品受熱破壞，保持食品外觀及原味；加馬射線穿透力強，均勻度佳，不受食品大小、形狀之限制；不需要化學藥品，不會有化學藥物殘留；經照射之食品之一般化學成分不受影響，有些尚可提高消化率；食品可於包裝好後再進行照射，可防止分裝時的二次污染(Ouattaran et al., 2002; Sommer and Fortlage, 1996; Thakur and Singh, 1994)。此技術具有優於傳統滅菌方法之處，食品可在包裝後及未包裝狀態下皆可進行照射處理，不需提高溫度，是一種低溫(cold)處理。食品可經過包裝後照射，可於大包裝袋內再有小包裝，即使大包裝開封，在消費者未開小包裝袋使用前，小袋內之食品皆不會受到污染，故食品品質可保存得更好(Wen et al., 2006)。輻射照射用於食品之保存已被多數國家承認是一種食品加工及保存方法。而利用輻射滅菌技術處理草藥(Herbs)或中藥材以提高藥材之品質，在美國、法國、比利時、丹麥、西班牙、葡萄牙、埃及、紐西蘭、澳洲、南韓、中國等許多國家亦已行之有年。

一、國際

由 24 個成員國組成的“國際輻照食品研究計畫機構”於 1970 年～1981 年，進行了長達 10 年的輻照食品的衛生安全性研究，結果顯示未有食品輻射照射產生不良後果的證據，證實劑量在 10 kGy 以下經照射的食品是可以安全食用

的。1980 年 10 月，在日內瓦召開的 FAO/IAEA/WHO 輻照食品衛生安全聯合專家委員會(Joint Expert Committee on Food Irradiation, JECFI)更提出新的建議，輻照食品的總平均吸收劑量在 10 kGy 以下，不需進行毒理學試驗，無特殊營養和微生物學之問題(WHO, 1981)。

1961 年由聯合國世界糧農組織(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)與世界衛生組織(World Health Organization, WHO)所共同建立的國際食品法典委員會(Codex Alimentarius Commission, CAC)，專責協調各國政府間的食品標準，建立一套完整的食品國際標準體系。CAC 於 1983 年通過了輻射照射食品的通用標準(CAC, 1983)，規定了對於食品輻射照射使用的三種輻射源，即放射性同位素⁶⁰Co 或¹³⁷Cs 發出的加馬射線、電子加速器產生的電子束(最大能量為 10 MeV)、X 射線(最大能量為 5 MeV)，已為日後世界各國制訂輻射照射食品相關規範時所採用，以作為其他實務處理食品輻射照射設施的相關國際準則。

1997 年 JECFI 更提出新的建議，不管輻照食品的照射劑量是低於或高於 10 kGy，輻照食品是消化安全、營養適當的。此論點表明：輻照食品的照射劑量已無上限限制(WHO, 1999)。目前全世界超過 55 個國家允許使用食品輻射照射。其中 20 個國家，如阿根廷、澳大利亞、孟加拉國、泰國、美國及越南等更制訂法律將輻射照射使用在植物檢疫方面(IAEA NEWS, 2009)。

二、美國

美國食品藥品管理局(U.S. Food and Drug Administration, FDA)是美國主要監管輻射照射食品的政府部門，已頒佈多個相關於食品輻射照射的法規，21 CFR179 為其輻射照射使用在食物的生產、加工和處理之相關規定(Irradiation In The Production, Processing And Handling of Food)，其中列出允許輻射照射食品的品項及限量並持續新增品項中(FDA, 2009)。內容有關於草藥及香辛料的部分，為達滅菌之目的可使用之輻射照射劑量上限為 30 kGy (FDA, 21CFR 179.26)。

三、歐盟

歐盟於 2000 年 9 月 20 日開始實施 2 項指令，即 The food irradiation Directives 1999/2/EC 和 The food irradiation Directives 1999/3/EC (EU, 1999a,b; Woolston, 2000; European Communities, 2001)。第一個為指令允許使用食品輻射照射的成員國建立其主要的輻射照射規則；但並不強行規定德國等國家放棄其對食品照射的禁令。第二個指令是規定可以在歐洲輻照及銷售的產品清單，目前允許輻照處理的是藥草、香料和植物調味料一類物質，照射劑量為 10 kGy。依據歐盟 2006 年 5 月 12 第 2006/C 112/05 號公告文件，目前歐盟之比利時、法國、義大利、荷蘭、波蘭、英國等 6 個會員國已授權不同輻照食品並分別制訂不同之最大劑量(EU, 2006)。

四、韓國

韓國規定使用的放射線的射源應為鈷(^{60}Co)的 gamma 線，但經過照射的食品禁止再重新照射。照射食品必須裝在包裝容器進行銷售。放射線照射只限於食品的抑制發芽、殺蟲滅菌及調節成熟度。標準如下(Kown, 2007)：人參類 7 kGy 以下；乾燥香辛類及其調製品、浸出茶、粉末茶 10 kGy 以下（陳榮溢，2009）。

五、中國

中國於 1996 年正式頒佈《輻照食品衛生管理辦法》，1997 年又按類頒佈了 6 大類輻照食品的衛生標準。2001 年頒佈批准 17 種輻照食品的工藝標準，但國家標準委建議按照國際慣例重新制定食品大類的輻照工藝標準，現已制定完成農業行業標準的大類產品有水產品、飼料和茶葉等（哈益明等，2008）。

輻照食品衛生管理辦法中採用 10 kGy 為一般限定之照射劑量，針對其國家輻照食品衛生標準中未列入的食品品種（新研製的輻照食品品種），規定研製 10 kGy 以下的輻照食品新品種時，研製單位應當向衛生行政部門提供：感官性狀、營養及微生物等指標之衛生安全性評價資料。若研製 10 kGy 以上的輻照食品新品種，研製單位應向衛生部直接提出申請，並提供感官性狀、營養、毒理及輻射降解產物、微生物等指標之衛生安全性評價資料（中華人民共和國衛生部，1996）。

中國衛生部於 1997 年發佈了《鈷 60 輻照中藥滅菌劑量標準》（內部試行）的通知（衛藥發〔1997〕第 38 號），此方法可用於國內流通中藥的滅菌，並指出 ^{60}Co 輻照是中藥滅菌之輔助手段，並通知要求各級衛生行政部門要按照有關法規監督《標準》的執行。在《標準》中，允許輻照滅菌的藥材有 203 種，其中允許低劑量(3 kGy)輻照的藥品品種有 5 個（紫菀、錦燈籠、乳香、天竺黃、補骨脂），中成藥品種 70 種。但規定含龍膽苦苷的藥材如秦艽、龍膽及其製品為不允許輻照的藥品品種，輻照滅菌的最大吸收劑量規定：散劑、片劑 $\leq 3 \text{ kGy}$ ，丸劑 $\leq 5 \text{ kGy}$ ，中藥原料粉 $\leq 6 \text{ kGy}$ （中華人民共和國衛生部，1997）。此外，中國並發佈輻照食品標準；輻照食品加工工藝標準；GB10252-1996 輻射加工用 ^{60}Co 裝置的輻射防護規定；GB/T 18524-2001 食品輻照通用技術要求；GB8703-2002 輻射防護規定。

為確保中藥材具良好的品質，維護民眾用藥安全，因應加入 WTO 後之產業衝擊，以提升我國中藥產品外銷競爭力，針對中醫藥委員會所公告之 324 種須有完整的包裝標示之進口及市售中藥材（行政院衛生署公告，97），由其中優先選擇易遭蟲蛀、發黴變質、變色之中藥材以擬定本計畫。計畫使用之受測藥材為大棗、五味子、芡實、蓮子、山茱萸、茯苓、山藥共 7 種中藥材，運用輻射照射滅菌使其不因蟲蛀及微生物滋生而變質，及選擇適當包材及貯存條件維持其藥材品質。本計畫中選擇 2 種常用的食品照射使用之包材，於一般空氣含氧量下包裝並以常溫貯存，測試中藥材經包裝後照射滅菌前、後之微生物含量、

指標成分或主成分含量之變化等，並於貯存後對照射與未經照射之中藥材進行上述之微生物殘存量、中藥材指標成分、脂肪酸圖譜分析，及外觀色澤分析。探討易為蟲蛀及發霉變色之中藥材，經不同輻射劑量照射貯存後之品質及安定性變化，及分析包材經照射後之特性變化，以提供中藥製造廠商一輻射照射中藥材之最適包材及貯存條件選擇參考。

貳、材料與方法

本計畫由中醫藥委員會所公告須有完整的包裝標示之進口及市售中藥材中，選擇大棗、五味子、芡實、蓮子、山茱萸、茯苓、山藥共 7 種中藥材，進行滅菌所需輻射劑量評估及輻射照射劑量對包材之影響探討，訂輻射照射滅菌劑量限量，並評估滅菌劑量照射下對中藥材主要組成分及外觀顏色之影響，訂立輻射照射之劑量限量標準與適當包材建議。主要研究方法與步驟包括：將中藥材以 2 種不同包材包裝照射，於加馬射線照射前，及照射後之立即及經 6 個月貯存後測定樣品之微生物含量（包括總好氣細菌、黴菌及酵母菌及腸內菌量測定）、水分含量、主要組成份、脂肪酸組成分析及色澤變化測定、及包材之物性測試。

一、輻射源及輻射劑量率測定

樣品照射於清華大學原子科學技術發展中心之鈷六十照射廠進行。照射劑量範圍擬定係參考文獻報導及本研究室之中藥材輻滅菌研究資料。因所選擇之中藥材多為乾燥植物樣品，依據本國之食品輻射照射處理標準中規定，乾燥或脫水的調味用植物為防治蟲害及殺菌之目的得經輻射照射處理之最高照射劑量為 30 kGy（行政院衛生署公告，88），美國 FDA 亦於 21CFR179.26 中規定乾燥食品及香辛料之照射劑量上限為 30 kGy，故研究中使用輻射劑量之上限為 30 kGy，以合理抑低為原則。輻射劑量測定以硫酸亞鐵水溶液劑量計(Frick's dosimeter)進行。

二、中藥材包裝

大棗、五味子、芡實、蓮子、山茱萸、茯苓、山藥共 7 種受測之中藥材，每一種藥材採購各 10 批次樣品，所有樣品先進行初始生菌數檢測，對每一種藥材選取其中原始菌數較高之 3 批次中藥材進行分別以 PP、PE 包材包裝，將受測藥材於室溫下一般空氣中，直接裝至包裝袋中，以封口機密封袋口後，進行輻射照射處理。中藥材樣品以 PP、PE 包材包裝後分別均做 3 重複照射，每包裝袋內之中藥材重量為 500 公克。貯存試驗之樣品亦如上述之方式分裝處理之。

三、中藥材輻射照射處理及存放

購入之中藥材分裝於包裝袋中，將包裝好之中藥材攜入鈷六十照射熱室，置於距離射源特定距離之照射架上，照射架以每分鐘 10 轉旋轉，使照射樣品得到均勻的輻射劑量率（劑量率為 2 kGy/h），照射溫度為室溫($25\pm5^{\circ}\text{C}$)，樣品經不同照射時間取出，以得到所需之照射劑量。完成照射處理後之藥材立即進行各項測定，或置於室溫中進行貯存測試。

四、微生物之菌數測定及分離

將未經照射及經不同劑量照射後之中藥材以不同培養基培養，使其中各類細菌、真菌、酵母菌等微生物皆有生長表現之機會。Plate Count Agar (PCA)、Potato

Dextrose Agar (PDA) 及 Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) 等培養基與磷酸緩衝液之製備依據 CNS10890 及 CNS12925 食品微生物測試方法配製。照射後樣品取出即加入磷酸緩衝液於 4 °C 下浸泡 20 min，再置於鐵胃中拍打混合 90 秒，照射樣品經適當稀釋後以表面平板計數法 (surface plate count) 測菌數。PCA 培養基用於測定總好氣細菌 (CNS10890)；PDA 培養基測定真菌及酵母菌 (CNS12925)；而 VRBGA 培養基為測定總腸內菌 (Mossel, 1985)。

- (一) 表面平板計數法：取適當稀釋度之欲測菌液 0.1 mL 分別滴入培養基表面，以玻棒輕輕塗抹均勻，每一稀釋度三重複，培養皿倒置於培養箱中。除腸內菌於 37 °C 下培養外，其他於 27 °C 下培養，培養第 2 天後取出計數生長速率較快之菌種。之後，將培養皿再置回培養箱中，於第 3 至 7 天再取出計數生長較緩慢之菌種。
- (二) 將照射前、後之中藥材樣品取出分別置放於 PCA 平面培養基上，於 30 °C 培養 1-7 天。每天取出目測及鏡檢樣品與培養基上之微生物生長狀況，並與上述表面平板計數法之結果相對照，評估各中藥材滅菌所需之照射劑量。
- (三) 經貯存後之中藥樣品亦以上述方式測定其微生物含量。

五、中藥材照射前、後色澤變化

以目測及解剖顯微鏡觀察中藥材，並照相記錄照射前、後的樣品之外觀形狀、顏色等變化。對於外觀較均質或平整的中藥材，以色差計 (color and color difference meter, model TC-8600A, Tokyo Denshoku Co., Japan) 測定樣品之 Hunter L 值 (亮度)、a 值 (+紅色度、-綠色度)、b 值 (+黃色度、-藍色度)，探討照射處理是否影響中藥材之外觀色澤。對外觀較不平整之中藥材則先以粉碎機粉碎後量測之。

六、藥材水分含量測定

將受測中藥材各取樣約 5~10 g，將大棗果肉及片狀中藥材剪碎或將種子類中藥粗壓碎之，注意勿使水分損失。以加熱乾燥式水份分析儀 (MX-50, A&D Company, Limited, Japan) 測定其初始水分含量，及經滅菌劑量照射及貯存處理前、後之水分含量變化。

七、藥材之主成份、指標成份及脂肪酸組成分析

藥材之主成份及指標成份以 HPLC 進行分析，並將與食品工業研究所分析樣品之結果進行比對。對受測之中藥材參照「臺灣傳統藥典」分別篩選其指標成份，大棗及山茱萸之指標成分為熊果酸 (Ursolic acid)、五味子之指標成分為五味子素 (Schizandrin)、茯苓之指標成分為麥角固醇 (Ergosterol)、山藥之指標成分為尿囊素 (Allantoin) (行政院衛生署中醫藥委員會, 91；行政院衛生署中華藥典中藥集編修小組, 93)。依各化合物之性質變更 HPLC 所用的管柱及移動相溶劑，選擇最佳條件分析。將未經照射與照射後的樣品萃液以 0.22 μm 孔徑濾膜過濾後

進行分析，定量其照射前後之指標成份含量，並以其 HPLC 之 2D 圖譜比對中藥材樣品之主成份差異。

芡實及蓮子為種子類中藥材，其脂肪含量較高，輻射照射處理需特別注意樣品中脂肪酸劣化及油脂過氧化的影響，照射對其脂肪酸組成之影響有探討的必要。故取適量中藥材經秤重包裝後，以所需滅菌劑量輻射照射後進行其脂肪酸組成分析，並以未經照射者為對照組，瞭解輻射照射後是否影響其組成。

(一) 指標成分-熊果酸(Ursolic acid)之分析條件：

1. 將山茱萸及紅棗用粉碎機粉碎，儲存於 4 °C 冰箱中備用。分別精確秤取約 5.00 g 紅棗粉末或 1.00 g 山茱萸粉末，加入甲醇 25 mL，秤重並記錄，以超音波(Led Ultrasonic steri-cleaner)萃取 20 分鐘，再以甲醇定補足減失之重量，於 10 °C 下以 8000 rpm 離心 20 分鐘(Sigma 3K30)，以 0.22 μm 孔徑濾膜過濾備用 (王向紅等，2002)。

2. HPLC 分析條件

指標成分標準品：熊果酸(Ursolic acid, ChromaDex®)

HPLC 廠牌型號/偵測器：Hitachi L-2130 pump/ L-2455 diode array detector/ D-2000 interface/ L2200 autosampler

層析管柱：C-18 (Merck, Purospher star RP-18)

層析管柱溫度：室溫

移動相：B=methanol (90%)，C=water, pH 3.0 (10%，以磷酸調整)

移動相流速：0.6 mL/min

檢測波長：UV 210 nm

注射量：20 μl

(二) 指標成分-五味子乙素(Schizandrin)之分析條件

1. 取五味子樣品粉碎後過篩，稱取 0.15 g 加入 25 mL 甲醇，以超音波室溫萃取 30 min，用甲醇定量後離心(Sigma 3K30, 8000 rpm, 20 min at 10 °C)，取上清液以 0.22 μm 孔徑濾膜過濾，即為待測樣品 (楊孝容等，2009)。

2. HPLC 分析條件

指標成分標準品：五味子乙素 (γ -Schisandrin, ChromaDex®)

HPLC 廠牌型號/偵測器：Hitachi L-2130 pump/ D-2000 interface/ L-2455 diode array detector

層析管柱：C-18 (Merck, Purospher star RP-18)

層析管柱溫度：30 °C

移動相：A= acetonitrile (17%)，B= methanol (55%)，
C= water (28%)

移動相流速：1.0 mL/min

檢測波長：UV 285 nm

注射量：20 μ l

(三) 指標成分-麥角固醇(Ergosterol)之分析條件

1. 取茯苓樣品粉碎後過篩，秤取 1.0 g 加入甲醇 20 mL，以超音波室溫萃取 60 min 後過濾，用甲醇定量後離心(Sigma 3K30, 8000 rpm, 20 min at 10 °C)，取上清液以 0.22 μ m 孔徑濾膜過濾，即為待測樣品。

2. HPLC 分析條件

指標成分標準品：麥角固醇(Ergosterol, ChromaDex®)

HPLC 廠牌型號/偵測器：Hitachi L-2130 pump/ D-2000 interface/ L-2455 diode array detector

層析管柱：C-18 (Merck, Purospher star RP-18)

層析管柱溫度：30 °C

移動相：A= methanol (95%)，B= water (5%)

移動相流速：1.0 mL/min

檢測波長：UV 275 nm

注射量：20 μ l

(四) 指標成分-尿囊素(Allantoin)之分析條件

1. 將山藥用粉碎機粉碎，收集可通過 50 mesh 的山藥粉末，儲存於 4 °C 冰箱中備用。精確秤取約 0.50 g 山藥粉末，加入 20% 乙醇 25 mL，秤重並記錄，並以超音波(Led Ultrasonic steri-cleaner)萃取 20 分鐘，以 20% 乙醇補足減失之重量，離心(Sigma 3K30, 8000 rpm, 20 min at 4 °C)，上清液以 0.22 μ m 孔徑濾膜過濾，再以 20% 乙醇 2 倍稀釋後備用。(劉雪東等，2009)。

2. HPLC 分析條件

指標成分標準品：尿囊素(Allantoin, ChromaDex®)

HPLC 廠牌型號/偵測器：Hitachi L-2130 pump/ D-2000 interface/ L-2455 diode array detector

層析管柱：HILIC (COSMOSIL, 4.6 mmI.D.-250 mm)

層析管柱溫度：30 °C

移動相：A= acetonitrile (70%)，

B=10 mM Phosphate buffer (30%, pH=7.0)

移動相流速：1.0 mL/min

檢測波長：UV 210 nm

注射量：5 μ l

(五) 脂肪酸組成分析：

樣品依 AOAC 之方法萃油，取適量粗油以 $\text{BF}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 甲酯化後以 GC 分析脂肪酸組成(AOAC Method Ce 1b-89, 1993)。脂肪酸組成之計算方式以所選定脂肪酸的總積分面積作為總量，將個別脂肪酸之積分面積乘以校正因子後，計算得其重量百分比，以相對量表示。GC 操作條件如下：

管柱：Supelco wax10 30 mx0.25 mm \times 0.25 μm , fused capillary silica column。

注射溫度：230 $^{\circ}\text{C}$ 。

偵測器溫度：250 $^{\circ}\text{C}$ 。

烘箱溫度 (一般樣品)：170 $^{\circ}\text{C}$ (1 min, 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$)

→ 230 $^{\circ}\text{C}$ (0 min, 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$)

→ 250 $^{\circ}\text{C}$ (15 min)。

Column head pressure : 9 psi。

Split vent flow rate : 50 mL/min。

Purge vent flow rate : 5 mL/min。

Make up gas : N_2 , 40 mL/min。

Carrier gas : H_2 。

Sample size : 0.5 μl 。

八、包材特性測試

以 PP 及 PE 包裝袋分別包裝各受測中藥材進行所需滅菌劑量照射，取照射前及照射後拆封之包材，於 1 週內測定材質變化：包括拉力強度、撕裂強度、透氣度及顏色變化；及溶出試驗之水及正庚烷的蒸發殘渣分析。材質測試中之拉力強度、撕裂強度、透氣度分別依據 CNS 6738 包裝用聚乙烯塑膠膜檢驗法、CNS 1355 紙之撕裂強度試驗法、透氣度試驗則依據 CNS10591 食品包裝用塑膠薄膜檢驗法、蒸發殘渣分析依據 CNS 12221 方法測定之。顏色變化則以色差分析儀測定之包材照射前、後色澤變化探討，探討照射處理是否影響包材之外觀色澤。上述未經照射及經照射後之中藥材樣品進行貯存 6 個月，於各項貯存試驗前拆封，再進行上述材質測試，確認包材於照射後之穩定度。

參、結果

一、中藥材加馬線滅菌所需之照射劑量探討

大棗、五味子、芡實、蓮子、山茱萸、茯苓、山藥之加馬線輻射滅菌之微生物含量是以兩種方式分別測定，係將經不同輻射劑量處理後之中藥樣品分別以：A.直接置於培養基表面作微生物生長之定性測試，及 B.將樣品浸於緩衝液中振盪，取浸液經適當稀釋後塗抹於培養基表面，於第 1 至 7 天連續觀察微生物相，並計數不同劑量照射後樣品中微生物之殘存率。

實驗結果顯示不同中藥材之微生物含量及微生物相有極大差異，而同一種中藥因取樣批次不同微生物含量亦有很大差異。大棗、五味子、芡實、蓮子、山茱萸、茯苓及山藥經不同劑量照射後之殘存微生物量的結果列如表 1 至 7。7 種中藥材中以大棗單位重量總好氣細菌數較多且差異極大，其範圍為 $7.7 \times 10^1 \sim 3.6 \times 10^5$ CFU/g，菌數低者以 6 kGy 即可滅菌，菌數較高者則需 10 kGy 照射方可達完全滅菌；所含酵母菌數亦為 7 種受測中藥材中最多者，可高達 10^5 CFU/g，黴菌數則為 $10^2 \sim 10^4$ CFU/g 皆於 8 kGy 照射後可完全消滅，而 10 批次樣品中皆未測得腸內菌存在（表 1）。圖 1 為大棗於未經照射及經 2、4、6、8、10 kGy 照射後的樣品直接置於培養基上培養 2 天後之微生物相，顯示經低劑量照射之大棗上可見明顯黴菌及酵母菌生長，至 6 kGy 仍有酵母菌等生長在大棗與培養基接觸面（黃色箭頭處），至 10 kGy 照射樣品才未見菌落生長。圖 2 為以解剖顯微鏡檢視未經照射大棗表面，可見大棗表面縐折處明顯之白色黴菌菌絲（黑色箭頭處），表皮破損處及培養基接觸面更可見酵母菌生長及發酵作用產生之氣泡形成（黃色箭頭處）。

所購得之五味子分為原五味子 2 批及經炮製五味子 8 批，經炮製之五味子單位重量總好氣細菌數較少 ($< 10^2$ CFU/g)，於 6 kGy 照射劑量時可達完全滅菌，原五味子的好氣細菌數約為 8.8×10^2 CFU/g，以 8 kGy 照射可達完全滅菌。10 批次五味子所含黴菌數均小於 10^2 CFU/g，經 4 kGy 照射皆可完全消滅，其中僅一批次出現酵母菌，於 2 kGy 時消滅，且 10 批次樣品皆未測得腸內菌（表 2）。圖 3 為原五味子及經炮製五味子直接放在培養基上培養觀察結果，顯示原五味子及炮製五味子樣品之微生物含量較少，僅少數樣品可見微生物生長。

芡實單位重量總好氣細菌數範圍為 $7.5 \times 10^1 \sim 1.3 \times 10^4$ CFU/g，以 10 kGy 照射可達完全滅菌（表 3）；所含酵母菌數小於 10^3 CFU/g，黴菌數為 $10^2 \sim 10^4$ CFU/g，其中半數批次含有 10^4 CFU/g 之黴菌數，由圖 4 更可見芡實直接放置在培養基上培養產生之黴菌致使芡實變色；經 4、6 kGy 照射樣品之微生物量逐漸減少，但仍可見明顯黴菌生長；而 8 kGy 照射樣品僅於培養基上觀察到單一微生物菌落（黃色箭頭處）；經 10 kGy 照射後可完全消滅。腸內菌在 10 批次樣品之 4 批中出現，菌數小於 10^3 CFU/g，且經 4 kGy 照射後可完全消滅。

蓮子為蓮科植物蓮的種子，待秋季果實成熟時割取蓮房，取出果實，除去果皮，乾燥後即是紅蓮子，紅蓮子經過加工去皮後就成為白蓮子，所購得之 10 批次蓮子中僅批次 D 為紅蓮子，其餘為去皮去心的白蓮子。除其中一批次單位重量總好氣細菌數較高為 6.9×10^4 CFU/g，需經 12 kGy 方能完全滅菌外，其餘批次總好氣細菌數範圍為 $4.6 \times 10^2 \sim 4 \times 10^3$ CFU/g，以 10 kGy 照射可達完全滅菌；10 批次蓮子皆含黴菌，所含黴菌數為 $10^1 \sim 10^3$ CFU/g，經 8 kGy 可完全消滅；所含酵母菌數小於 10^3 CFU/g；腸內菌在 10 批次樣品在 2 批中出現，經 4 kGy 照射後可完全消滅（表 4）。圖 5 為批次 D 之紅蓮子經不同劑量照射前後直接放在培養基上培養之微生物相，可見明顯之黴菌生長，至 6 kGy 照射後微生物量明顯受到抑制，但仍可見小黴菌菌落生長（黃色箭頭處），至 8 kGy 照射樣品無菌落生長。去皮白蓮子直接放置在培養基上培養時未見多樣微生物生長，但以未經照射及經 2、4、6、8、10 kGy 照射之蓮子浸液，經適當稀釋後塗抹於 PCA 培養基上培養三天，可見蓮子上好氣細菌種類相當多樣，但經 6、8 kGy 照射後樣品之微生物明顯減少，僅於培養基上觀察到單一菌落；經 10 kGy 照射後可達完全滅菌（圖 6）。

山茱萸單位重量總好氣細菌數範圍為 $4.5 \times 10^1 \sim 3.5 \times 10^3$ CFU/g，經 8 kGy 照射可達完全滅菌；所含黴菌數為 $10^1 \sim 10^2$ CFU/g，經 4~8 kGy 照射後可完全消滅，於 10 批次中皆未測得酵母菌及腸內菌存在（表 5）。山茱萸直接放置在培養基上培養時，只於未經照射之樣品上觀察得微生物生長；但以未經照射及經 2、4、6、8 kGy 照射之山茱萸浸液，經適當稀釋後塗抹於 PCA 培養基上培養 7 天，可見山茱萸上好氣細菌種類相當多樣，而經 4、6 kGy 照射後樣品之微生物明顯減少，僅出現少數好氣細菌；而經 8 kGy 照射處理後可達完全滅菌（圖 7）

茯苓單位重量黴菌數範圍為 $3.5 \times 10^1 \sim 2.8 \times 10^2$ CFU/g，經 6~8 kGy 照射後可完全消滅；所含總好氣細菌數小於 2.6×10^2 CFU/g，多數批次經 6 kGy 可以完全滅菌，其餘批次需經 8 kGy 照射可達完全滅菌，且 10 批次樣品皆未測得酵母菌及腸內菌存在（表 6）。圖 8 可見茯苓樣品經不同劑量照射後直接放在培養基上培養二天，在 0~6 kGy 的樣品上皆可見到黴菌菌落生長，隨照射劑量增加，菌數逐漸減少，至 8 kGy 照射後未見到菌落生長。

山藥單位重量總好氣細菌數小於 9.1×10^2 CFU/g，經 6 kGy 照射可達完全滅菌；所含黴菌數亦小於 10^2 CFU/g，經 4~6 kGy 照射後可完全消滅，且 10 批次中皆未測得酵母菌及腸內菌（表 7）。將不同劑量照射前後之山藥樣品直接放在培養基上觀察菌落生長情形（圖 9），在未經照射樣品上有許多黴菌生長，經 4 kGy 照射樣品黴菌受到抑制，但以解剖顯微鏡鏡檢仍可發現山藥切面上有白色菌落存在（紅色箭頭處），直至 6 kGy 照射後完全滅菌。

受測中藥材於照射前、後，以表面培養計數法與將藥材直接放置於培養基上兩種方法測量菌數，估算之滅菌所需照射劑量及菌種生長情況略有差異，因

此，為確保完全滅菌，以此兩種方法同時進行實驗與對照是必要的。

二、中藥材加馬滅菌之貯存試驗

由上述實驗結果取得 7 種受測中藥材之滅菌劑量，7 種中藥材分別選擇數批其起始菌數較高或所需滅菌劑量較高者之批次，以無菌操作秤取各中藥樣品 10 公克於夾鍊袋中密封，未經照射及經 2、4、6、8 及 10 kGy (7 種受測樣品滅菌所需最高劑量) 照射後貯存於室溫中，於 6 個月後取出進行菌數測定。其結果列於表 1 至 7，顯示未經照射之樣品於 6 個月貯存後之菌數略有變化，貯存後菌數有增高之現象，但樣品經照射貯存後之菌數則呈下降趨勢。而以滅菌所需劑量照射之樣品經貯存後仍保持無菌，顯示未經照射樣品於貯存期間菌數多為上升，而經未達滅菌劑量照射之樣品雖於貯存前非完全無菌，但經貯存後測得之菌數皆較貯存前下降，顯示輻射對微生物造成之傷害，經長時間貯存後能有效抑制微生物繁殖，使得經照射滅菌之中藥材經 6 個月貯存後仍能維持微生物之品質。

依據照射滅菌試驗及貯存試驗之結果，將 7 種中藥材所測之各類微生物菌數及其所需之滅菌劑量列如表 8 及圖 10。顯示雖然一般而言中藥材所含菌數較高者所需滅菌劑量亦較高，但所需照射劑量與菌含量並不一定為成正比。因若藥材中所含之菌為較抗輻射者，則需較高之照射劑量以達成滅菌效果。本次 7 種中藥各取樣 10 批次，而腸內菌僅於部分中藥（芡實及蓮子）之部分批次樣品中測得，但經 4 kGy 照射後可達完全滅菌。

三、照射後中藥材之顏色測試

各中藥材因產地來源、加工過程或切片方式等不同，造成其外觀形狀或顏色等變化甚大。對於大小適宜或外觀較均質之中藥材，如五味子、山茱萸，直接以色差計測定樣品之 Hunter L 值（亮度）、a 值（+紅色度、-綠色度）、b 值（+黃色度、-藍色度），對體積較大、粉質之中藥材，如茯苓、山藥則先以粉碎機粉碎後量測之，不易粉碎之樣品如大棗、蓮子則以單顆逐顆量測後計算其平均及標準差，以探討照射處理是否影響中藥材之外觀色澤。

實驗結果如表 9 所示，實驗數值之標準差顯示樣品間之個別差異頗大，因此照射後之數值與未經照射的樣品雖有少許差異，但並不具顯著性。而貯存前後部分中藥材如大棗及山藥，其 L 值（亮度）有些微下降，其餘顏色則無明顯變化，顯示整體而言，中藥材外觀色澤受原個體差異影響較大，10 kGy 以下滅菌劑量照射及貯存對受測藥材外觀顏色則無明顯影響。

四、中藥材照射前後水分含量變化

將受測中藥材各取樣約 5~10 g，大棗果肉及片狀中藥材先剪碎、種子類中藥則粗壓碎後，以加熱乾燥式水份分析儀測定其初始水分含量。因相同中藥不同批次間水分含量變化極大，以大棗為例，測得水分含量最低為 19.36%，最高為 30.68%，故從各中藥選定一批次進行三重複測定其經過滅菌劑量照射前、後

及貯存前、後之水分含量變化，作為照射處理對水分含量變化影響之評估。結果如表 10 所示，大棗貯存前未經照射及經 10 kGy 照射之水分含量分別為 $23.65 \pm 1.24\%$ 及 $23.44 \pm 1.48\%$ ，而貯存六個月後未經照射及經 10 kGy 照射之水分含量分別為 $19.36 \pm 1.01\%$ 及 $20.49 \pm 2.10\%$ ，顯示照射與否並未影響其水分含量，貯存 6 個月後，未經照射及經滅菌劑量照射之受測樣品其水分含量皆明顯下降。其他受測中藥材亦顯示貯存後水分含量下降，而照射處理間之水分含量變化並未一致，顯示照射處理與水分含量變化無明顯相關，而貯存期對水分之影響較大。

五、中藥材照射前後成分分析

(一)蓮子與芡實經照射及貯存前後之脂肪酸組成：

中藥材及食品中之脂肪酸較易受環境中之空氣、日光及溫度所影響產生分解、變質，進行輻射照射處理時需特別注意對樣品中脂肪酸劣化及油脂過氧化的影響。蓮子、芡實等堅果類既是藥品也是食品可“藥食兼用”，其蛋白質容易被人體消化吸收和有效利用，尤其適於老人和兒童食用，其脂肪酸組成多為不飽和脂肪酸，具有多種生理調節功能，被廣泛作為功能食品的新素材加以利用。

為探討照射對其脂肪酸組成之影響，故取適量蓮子及芡實以所需滅菌劑量 10 kGy 輻射照射後進行其脂肪酸組成分析，並以未經照射者為對照組。結果如表 11 所示，蓮子於貯存前、後所測得之脂肪酸組成相似，貯存前之脂肪酸組成中除 ω -3 脂肪酸含量於照射前、後分別為 4.43 及 3.97 有些許下降外，其餘脂肪酸無差異；貯存後之脂肪酸組成有較大的變化，原含量較低的脂肪酸於貯存後未能檢出，而部分脂肪酸如硬脂酸(C18:0)、油酸(C18:1)貯存後含量上升； ω -3、C20:0、C22:0、C24:0 則於貯存後含量下降，未經照射及經 10 kGy 劑量照射之蓮子樣品變化趨勢一樣，顯示蓮子之脂肪酸變化受貯存之影響較大。表 12 可見芡實樣品經不同照射劑量處理後，C16:0、C18:2、 ω -3、C20:0、C20:1、C24:0 含量經照射後均明顯上升，而 C14:0、C18:1、C24:1 含量則有下降趨勢；芡實經貯存後之脂肪酸組成亦有明顯變化，C18:2、 ω -3、C22:1 含量經貯存後均明顯上升，而 C16:0、C17:0、C18:1、C24:1 含量則下降。芡實經不同照射劑量處理及貯存前、後之脂肪酸組成均有明顯變化，但大致上貯存對脂肪酸變化之影響較大。此外，也深入探討芡實經照射及貯存六個月前後之氨基酸含量變化。由表 13 可見芡實樣品以穀氨酸(Glu.)含量最高，而精氨酸(Arg.)次之；而經滅菌劑量照射處理後對其各氨基酸含量無明顯變化。

(二)指標成分

受測中藥材經輻射滅菌劑量研訂後，測試各受測中藥材經輻射照

射滅菌劑量之成分變化。藥材之主成份及指標成份以 HPLC 進行分析。大棗及山茱萸之指標成分為熊果酸(Ursolic acid)，表 14 顯示大棗批次 A 以 PE 袋包裝者，經照射 10 kGy 滅菌劑量前後熊果酸含量分別為 60.47 ± 3.54 mg/g 及 61.82 ± 2.65 mg/g 未見差異，而未經照射及經照射者貯存後之熊果酸含量分別為 55.29 ± 4.79 mg/g 及 54.25 ± 3.46 mg/g，顯示經貯存後批次 A 之大棗其熊果酸含量均下降，而以 PP 袋包裝照射及貯存處理者結果亦同；批次 B 之大棗熊果酸含量明顯較批次 A 為低，照射 10 kGy 處理前後及經 6 個月貯存前後之熊果酸含量無顯著變化。山茱萸貯存前之熊果酸含量為 1.86 ± 0.07 mg/g，經 PP 及 PE 袋包裝照射 10 kGy 後熊果酸含量分別為 1.81 ± 0.07 mg/g 及 1.97 ± 0.10 mg/g，經六個月貯存後，未經照射者熊果酸含量些微下降為 1.82 mg/g，而照射後貯存者分別為 1.86 ± 0.01 mg/g 及 1.82 ± 0.08 mg/g，顯示照射對山茱萸之熊果酸含量無明顯影響，而貯存則會使熊果酸些微下降。五味子之指標成分為五味子素(Schizandrin)，結果顯示二批次之五味子樣品經不同包材包裝及經滅菌劑量 8 kGy 照射於貯存前後之五味子素含量均無明顯差異。茯苓之指標成分為麥角固醇 (Ergosterol)，顯示貯存前之茯苓於照射 8 kGy 滅菌劑量後之麥角固醇含量皆有不同程度的上升，而貯存後之茯苓其麥角固醇平均含量亦較貯存前稍高，但均無顯著差異。山藥之指標成分為尿囊素 (Allantoin)，不同包材包裝之山藥經照射 6 kGy 滅菌劑量後，其尿囊素平均含量皆些微下降，而經 6 個月貯存後無明顯變化。

六、中藥包材經照射前、後之物性分析測試

以 PP 及 PE 包裝袋分別包裝各受測中藥材進行所需滅菌劑量照射，取照射前及照射後拆封之包材，於 1 週內測定材質變化：包括拉力強度、撕裂強度、透氣度及顏色變化；及溶出試驗之水及正庚烷的蒸發殘渣分析。於樣品貯存六個月後再次進行物性測定，以瞭解其包材經照射後的貯存穩定性。為未經照射及經受測中藥最高滅菌劑量 10 kGy 照射後之包材物性測定結果，可見不同包材間的物性差異甚大。

由未經貯存之 PP 袋於照射處理前、後之分析結果，可見經 10 kGy 照射者其抗拉強度及撕裂強度與未經照射者相近。10 kGy 照射後之 PP 袋的透氣度為 1868.4 cc/ $m^2 \cdot day$ 與未經照射者（為 1872.2 cc/ $m^2 \cdot day$ ）無差異，且 PP 袋無論照射與否於貯存前均未檢出對水及正庚烷的蒸發殘渣。經 6 個月貯存後之 PP 袋其抗拉強度及撕裂強度測定值均較貯存前上升，而透氣度則與較貯存前無明顯差異。而貯存後之 PP 袋，未經照射及經 10 kGy 照射者均可測得對水及正庚烷之蒸發殘渣，顯示貯存會影響其溶出。

未經貯存之 PE 袋樣品經 10 kGy 照射處理者之抗拉強度及撕裂強度測定結

果均與未經照射者之物性分析值相近，且 PE 袋無論照射與否於貯存前均未檢出對水及正庚烷的蒸發殘渣。經 10 kGy 照射後之 PE 袋的透氣度為 $2378.4 \text{ cc/m}^2 \cdot \text{day}$ 較未經照射者為 $2295.1 \text{ cc/m}^2 \cdot \text{day}$ 些微上升，經 6 個月貯存後之 PE 袋其抗拉強度、撕裂強度及透氣度測定值均較貯存前明顯上升。綜合而言 10 kGy 照射對其拉力強度、撕裂強度等無明顯影響，經 6 個月貯存後之 PP 及 PE 袋其抗拉強度及撕裂強度測定值均較貯存前上升，PE 袋的透氣度於貯存後明顯上升，而 PP 之透氣度於貯存前、後無顯著差異，顯示 PP 的透氣度穩定性較佳。

探討不同輻射劑量照射後貯存對包材顏色之影響，以色差計測定單一包裝袋之 Hunter L、a、b 值 (L 為明度、+a 代表紅色、-a 代表綠色；+b 表示黃色、-b 表示藍色)。

可見未經照射之 PP 袋於貯存前測得之平均 L、a、b 值分別為 72.84 ± 0.76 、 -3.14 ± 0.37 及 0.39 ± 0.10 ，而經 6 個月貯存後其 L、a、b 值分別為 83.70 ± 0.25 、 1.46 ± 0.17 及 -1.34 ± 0.14 。未經照射之 PE 袋於貯存前其 Hunter L、a、b 值為 67.36 ± 0.46 、 -3.89 ± 1.11 及 0.28 ± 0.13 ，經 6 個月貯存後其 L、a、b 值分別為 79.79 ± 0.35 、 1.51 ± 0.12 及 -1.10 ± 0.43 ，經照射處理後之樣品，其顏色於貯存前、後亦出現 L 值上升、a 值上升及 b 值下降的變化，與未經照射者之貯存前後有相同變化趨勢，且照射處理間的數值增減程度均小於貯存造成之影響，可見照射處理與數值變化間無明顯相關性。

而 PP 及 PE 袋在照射前後可見 b 值略微下降，尤以 PE 較明顯，顯示經照射後之 PE 袋略增黃色，PE 袋外觀為無色半透明，單一 PE 袋照射後目測無明顯變化，需經色差計測定可見差異，整包 PE (100 個/包) 照射 10 kGy 後目測可見略微偏黃。因 PP 及 PE 包材多為無色半透明或透明的外觀，因此以 Hunter L、a、b 測定顏色時，材料本身的誤差會較非透明的樣品為大，由我們的結果顯示照射 10 kGy 對包材顏色影響較貯存為小，目測無法判別包裝中藥材後之外觀顏色差異。且目測不影響包裝中藥材後之外觀。

肆、討論

完成 7 種藥材為大棗、五味子、芡實、蓮子、山茱萸、茯苓及山藥，其 10 批次樣品中各類微生物含量及其所需滅菌劑量列如表 8，結果顯示 7 種中藥材中以大棗所需滅菌劑量最高，其原始總好氣細菌數最高為 10^5 CFU/g，以 10 kGy 照射可達完全滅菌。芡實及蓮子之單位重量總好氣細菌數最高分別為 10^4 及 10^3 需 10 kGy 照射可達無菌。而原五味子、山茱萸及茯苓單位重量總好氣細菌數為 $10^2 \sim 10^3$ CFU/g，以 8 kGy 照射可達完全滅菌。經炮製五味子及山藥單位重量總好氣細菌數為 7 種中藥較低者，以 6 kGy 照射可達完全滅菌。七種中藥材中均可測得黴菌，原始總黴菌含量約為 $10^2 \sim 10^4$ CFU/g，分別以 4~8 kGy 照射可將中藥材中之黴菌殺滅。七種中藥材僅有部分中藥或部分批次之樣品測得酵母菌或腸內菌，其中以大棗測得之酵母菌量最高可達 10^5 CFU/g，需以 8 kGy 照射可將其完全消滅，而腸內菌則以 4 kGy 照射可以完全殺滅。本研究所測 7 種中藥材各 10 批次樣品，皆取樣自北、中、南各地之進口商或批發商購買包裝完整之藥材，而非一般之零買秤取；因此，推測藥材中所含之微生物應是包裝前已受到污染，顯示若能於推動於藥材源頭或進口商處進行包裝後即照射滅菌，更能確保藥材於貯存時之品質。

為瞭解照射滅菌對中藥材成分之影響，對受測之中藥材大棗及山茱萸之指標成分熊果酸、五味子之指標成分五味子素、茯苓之指標成分麥角固醇、山藥之指標成分尿囊素，以其 HPLC 之 2D 圖譜比對未經照射與照射後的中藥材樣品之主成份差異。芡實及蓮子為種子類中藥材探討輻射照射處理對其脂肪酸組成之影響。結果所示受測藥材經滅菌劑量照射前、後之指標成分含量除山藥之尿囊素含量稍微下降而茯苓之麥角固醇些微上升外，其餘均無明顯差異，而貯存後僅大棗批次 A 明顯有熊果酸含量下降之趨勢，其餘受測中藥受照射及貯存之影響變化無一致性。而蓮子之脂肪酸組成受貯存之影響較受照射之影響為大。

受測 PE、PP 包材以 10 kGy 照射後之拉力強度、撕裂強度等物性均與未經照射處理者無差異，經 6 個月貯存後之 PP 及 PE 袋其抗拉強度及撕裂強度測定值均較貯存前上升，PE 袋的透氣度於貯存後明顯上升，而 PP 之透氣度於貯存前、後無顯著差異，顯示 PP 的透氣度穩定性較佳。

近年來由已使用輻射照射滅菌的商品上發現，輻射引起的包裝材料變色可能會影響產品外觀(Clough, 1996)，汪輝亮等研究高密度聚乙烯(HDPE)和低密度聚乙烯(LDPE)在不同劑量(0~250 kGy)照射後黃色度的變化，並測定照射後自由基的衰減和共軛雙鍵的變化。結果顯示 HDPE 比 LDPE 更容易受照射而致色，經不同劑量照射後 PE 的黃色度均隨存放時間增加而降低，最後趨於穩定。且照射後存放時自由基的衰減和 PE 的黃色度變化相似，顯示 PE 的照射致色主要是由生成的自由基引起的(江輝亮, 2001)。而解決塑料包材因輻射

照射而致色的方法通常是於材料中加入添加劑，如紫外線吸收劑(HALS)或抗氧化劑等（江輝亮，1999，2000），但作為食品包裝材料則應不用或少用添加劑。不同包材經輻射照射後可能改變其材料及聚合性質，造成包材之顏色、彈性、脆度及延伸性等發生變化，將影響到產品的外觀與維護滅菌、滅蟲之安全性。本實驗結果顯示照射 10 kGy 對包材顏色影響較貯存為小，目測無法判別包裝中藥材後之外觀顏色差異。

伍、結論與建議

本計畫依中醫藥委員會所列中藥材品質管制研究類之研究重點，進行中藥材之加馬線照射滅菌劑量及包材評估研究，並探討中藥材經輻射照射後之成份變化，建立中藥材之貯存方法。中藥能否安全貯存之重要關鍵為其中的微生物含量，在臺灣高溫多濕的環境中，利於中藥材中之微生物生長，將破壞中藥材的成份、降低療效，甚至可能產生有害物質，危害服用者之健康，造成醫療保健上的問題。有必要進行中藥材之輻射滅菌探討，以研訂法規公告，作為實施之依據。

輻射照射技術是有效的滅蟲、滅菌方法，亦是使食品、藥品達到衛生標準的有效方法；目前在歐、美許多國家均已行之有年，但如何合理降低輻射劑量，並確保藥材能維持其應有療效，則需分析藥材主要成分或療效成分於接受輻射劑量時的變化。提高中藥品質，除維護民眾用藥安全外，可因應加入WTO後之產業衝擊，以提昇我國中藥產品外銷競爭力。本研究由中醫藥委員會所公告須有完整的包裝標示之進口及市售中藥材中，選擇大棗、五味子、芡實、蓮子、山茱萸、茯苓、山藥共7種中藥材，探討其最適輻射照射滅菌條件，及中藥材照射前、後成份變化，及外觀、顏色等分析測定，確認最佳照射劑量及條件，減少中藥材中的微生物含量，改善其衛生條件及確保藥材療效。並探討輻射劑量照射是否有影響包材特性及其貯藏安定性，以提供中藥材輻射照射使用之最適包材及貯存條件。期提供企業界進行中藥材加馬線滅菌之方法，及行政單位研訂中藥材加馬線滅菌照射劑量法規之參考。

此外，量產的關鍵在於取樣數要夠、批次要多，以具代表性，以目前實驗結果顯示，輻射照射應用於中藥材滅菌處理要進入量產是沒問題的，所使用的最高劑量對所受測的7種中藥材的指標成分、脂肪酸組成、水分含量及外觀色澤皆無明顯影響，而貯存對中藥材之影響較輻射照射來得顯著。在進行量產前，需要有產官學專家會議的舉辦，加強產、官、學三者之間的溝通與共識，除了結合各界專家對於食品輻射照射滅菌的見解，透過實驗探討中藥材輻射照射滅菌的適當劑量，探討照射前、後中藥材的有效成分是否改變，並將研究成果以及輻射照射滅菌的原理宣導給業者及民眾，使其能充分瞭解輻射滅菌，增加消費者之接受程度。本研究內容可提供作為中藥材之輻射滅菌處理技術、訂立輻射劑量限量標準及相關法規建立之有用、明確的資料。

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CCMP99-RD-028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. AOAC. 1993. Fatty Acid Composition by GLC, Marine Oils, Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, edited by D. Firestone, AOCS Press, Champaign, Method Ce 1b-89.
2. CAC. 1983. Codex General Standard for Irradiated Foods. CODEX STAN 106-1983, rev.1-2003, Joint FAO/WHO Food Standards Programme. United Nations Food and Agriculture Organization/World Health Organization/Codex Alimentarius Commission, Rome, Italy.
www.codexalimentarius.net/download/standards/16/CXS_106e.pdf
3. Clough R.L., Gillen K.T., Malone G.M., Wallace J.S. 1996. Color formation in irradiated polymers. *J. Radiat. Phys. Chem.*, 48(5):583-594.
4. CNS. Methods of Test for Food Microbiology-Test of Mold and Yeast Count. CNS12925-N6233, CNS, Taiwan。
5. CNS. Methods of Test for Food Microbiology-Test of Standard Plate Count (Aerobic plate count). CNS10890-N6186, CNS, Taiwan。
6. CNS. Methods of Test for Plastic Films for Food Packaging. CNS10591-Z6075, CNS, Taiwan。
7. EU, 1999^a. Directive 1999/2/EC of the European Parliament and of the Council of 22 February 1999 on the approximation of the laws of the Member States concerning foods and food ingredients treated with ionizing radiation. Official J. EC, L66/16 – L66/22.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:1999:066:0016:0022:EN:PDF>
8. EU, 1999^b. Directive 1999/3/EC of the European Parliament and of the Council of 22 February 1999 on the establishment of a Community list of foods and food ingredients treated with ionizing radiation. Official J. EC, L66/24–L66/25.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:1999:066:0024:0025:EN:PDF>
9. EU, 2006. List of Member States' authorisations of food and food ingredients which may be treated with ionising radiation Official J. EC, C112/6- C112/7.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:C:2006:112:0006:0007:EN:PDF>
10. European Communities 2001. Communication from the Commission on Foods and Food Ingredients Authorised for Treatment with Ionising Radiation in the Community. Official Journal of the European Communities, 2001/C 241/03,

August 29. http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/fi11_en.pdf

11. FDA, 21CFR 179.26, Ionizing radiation for the treatment of food, Rev. 2009. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=179.26>
12. FDA, 21CFR179 , Irradiation In The Production, Processing And Handling of Food. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=179>
13. IAEA, 18 March 2009. Food Irradiation Combating Bacteria Around the World. <http://www.iaea.org/NewsCenter/News/2009/foodirradiation.html>
14. International Consultative Group on Food Irradiation, 1999. Facts About Food Irradiation. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, Viena: Wagramerstrasse, Austria.
15. Kown, J. H. 2007. Current status of food irradiation in Korea. *Food Irradiation* (Japan), 42(1-2):35-42.
16. Mossel D.A.A. 1985. Media for Enterobacteriaceae. *Int. J. Food Microbiol.*, 2:27-32.
17. Ouattara B., Giroux M., Smoragiewicz W., Saucier L. and Lacroix M. 2002. Combined effect of gamma irradiation, ascorbic acid, and edible coating on the improvement of microbial and biochemical characteristics of ground beef. *J. Food Prot.*, 65, 981-987.
18. Sommer, N. F. and Fortlage, R. G. 1996. Ionizing radiation for control of post-harvest diseases of fruits and vegetables. *Adv. Food Res.*, 51, 147-193.
19. Thakur, B. R. and Singh, R. K. 1994. Food Irradiation-Chemistry and Applications. *Food Rev. Int.*, 10, 437-473.
20. Wen H.W., Chung H.P., Wang Y.T., Chou F.I. 2008. Efficacy of gamma irradiation for protection against postharvest insect damage and microbial contamination of the adaly. *Postharvest Biol. Technol.* 50:208-215.
21. Wen, H. W., H. P. Chung, F. I. Chou, I. H. Lin and P. C. Hsieh. 2006. The effect of gamma irradiation on microbial decontamination and chemical and sensory characteristic of lycium fruit. *Radiation Physics and Chemistry*. 75: 593-603.
22. WHO. 1981. Wholesomeness of irradiated food: report of a Joint FAO/IAEA/WHO Expert Committee. In: World Health Organization Technical Report Series 659. WHO, Geneva, Switzerland, 36pp.
23. WHO. 1999. High-Dose Irradiation: Wholesomeness of food irradiated with dose above 10 kGy: report of a Joint FAO/IAEA/WHO Study Group. In: World Health Organization Technical Report Series 890. WHO, Geneva, Switzerland, 7pp.
24. Woolston, J. 2000. Food irradiation in the UK and the European Directive.

Radiation Physics and Chemistry, 57(3-6):245-247.

25. 中華人民共和國衛生部，鈷 60 輻照中藥滅菌劑量標準（內部試行），1997 年 5 月 21 日衛藥發〔1997〕第 38 號。
26. 中華人民共和國衛生部，輻照食品衛生管理辦法，1996 年 4 月 5 日衛生部令第 47 號發佈。
27. 王向紅、崔同、齊小菊、杜國士、趙靖、劉孟軍。2002。HPLC 法測定不同品種棗及酸棗中的齊墩果酸和熊果酸。食品科學，23(6)：137～138。
28. 行政院衛生署中華藥典中藥集編修小組，臺灣傳統藥典，第一版。行政院衛生署，台北，民國 93 年。
29. 行政院衛生署中醫藥委員會，中藥對照用指標成分物理化學資料彙編。行政院衛生署中醫藥委員會，台北，民國 91 年。
30. 行政院衛生署公告，中華民國 97 年 10 月 14 日署授藥字第 0970003263 號，修正「進口及市售中藥材飲片之標籤或包裝應標示事項處理原則」。
31. 行政院衛生署公告，食品輻射照射處理標準。中華民國 88 年 9 月 29 日衛署食字第 88057077 號。
32. 汪輝亮、孔祥波、陳文。1999。HALS 及抗氧劑對聚丙烯輻射致色的影響。輻射研究與輻射工藝學報，第 17 卷第 2 期第 70-75 頁。
33. 汪輝亮。2000。耐輻射致色聚烯烴的研究。化學研究，第 11 卷第 4 期第 19-23 頁。
34. 汪輝亮、王春、陳文琇。2001。聚乙烯的輻射致色及機理研究。輻射研究與輻射工藝學報，第 19 卷第 1 期第 1-6 頁。
35. 林宜信，建構臺灣中藥用藥安全環境。行政院衛生署中醫藥委員會民國 93 年 12 月出版。
36. 哈益明、姜倩、王鋒、高美須、周洪傑、張海偉。2008。我國食品輻照標準體系基本框架的研究。核農學報，22(4)：478～482。
37. 陳榮溢。2009。CAC 和部分國家地區輻照食品要求及標準。中國標準檢疫，第 2 期，地 41-42 頁。
38. 劉雪東、楊光明、李偉東、蔡寶昌。2009。山藥道地藥材和飲片中尿囊素的含量比較。中醫藥資訊，26(5)：36～37。
39. 楊孝容、向清祥、陳稼軒。2009。高效液相色譜法測定五味子和含五味子的製劑中五味子乙素及多種活性成分時流動相體系的選擇。色譜，27(3)：313～317。

染、圖、表

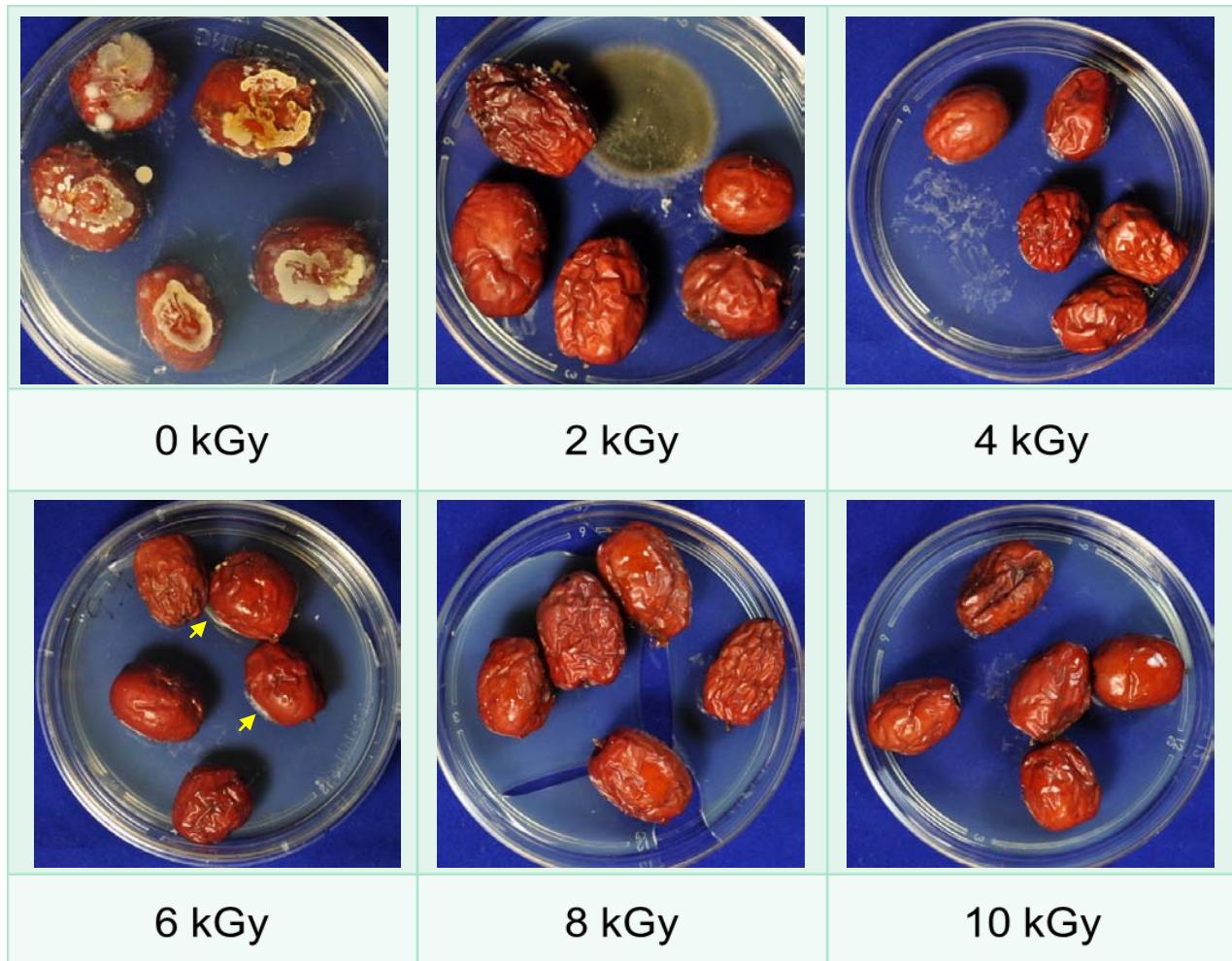


圖1、大棗樣品未經輻射照射及經 2、4、6、8、10 kGy 照射處理後，直接放置在 PCA 培養基上培養 2 天所呈現之微生物相：未經照射及經 2 kGy 照射之大棗樣品可見明顯黴菌及酵母菌生長；經 6 kGy 照射樣品之微生物大量減少，於邊緣可見酵母菌生長，如箭頭所示；經 10 kGy 照射樣品才未見菌落生長。

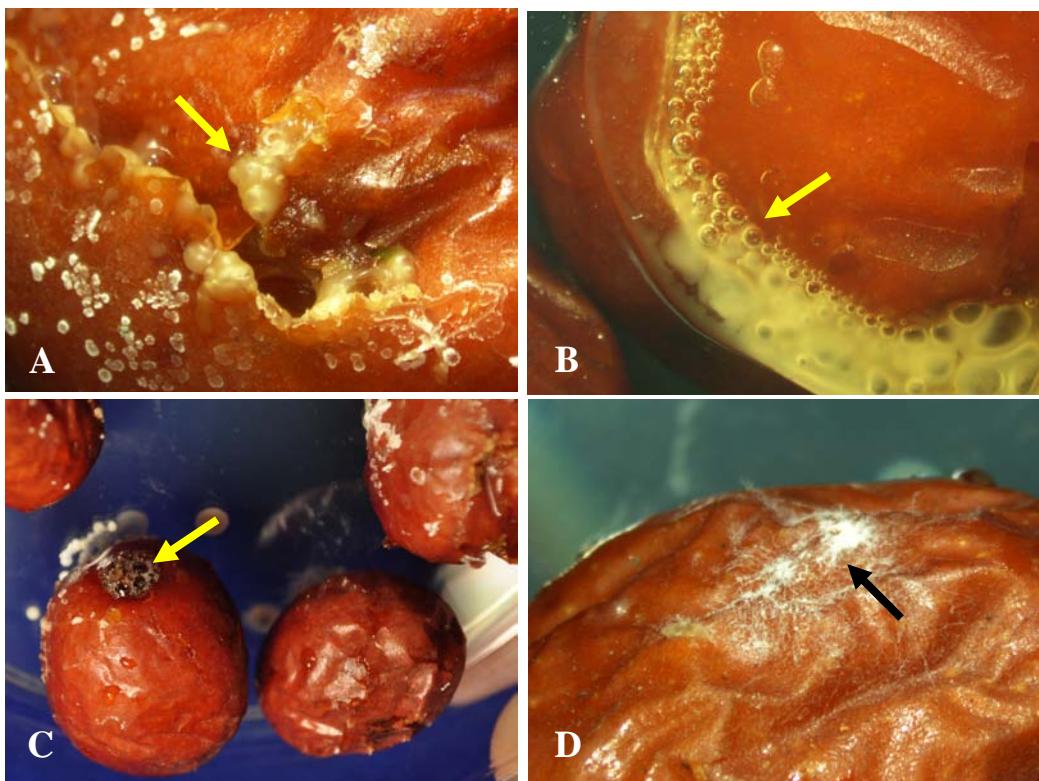


圖2、大棗樣品置於PCA 培養基上之黴菌及酵母菌生長情形：(A)大棗樣品含大量黴菌及酵母菌；(A) (B) (C)可見大棗表面及大棗與培養基接觸面酵母菌生長產生之氣泡（黃色箭頭處）；(D)大棗表面可見白色黴菌菌絲滋生（黑色箭頭處）。

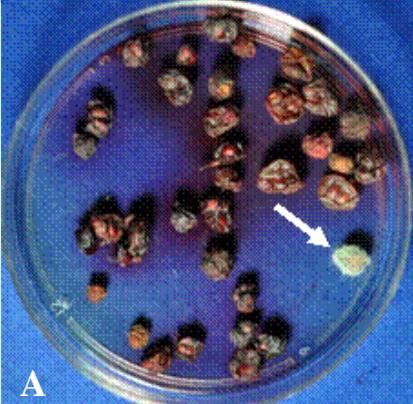
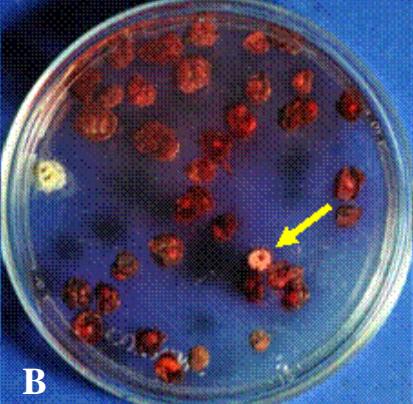
		
原五味子 0 kGy	0 kGy 背面	炮製五味子 0 kGy
		
D	E	
原五味子長黴菌 之顆粒鏡檢	炮製五味子長黴菌 之顆粒鏡檢	

圖3、五味子樣品未經輻射照射直接放置在 PCA 培養基上培養所呈現之微生物相：(A)(C)為未經照射之原五味子及炮製五味子樣品之微生物含量較少，僅少數樣品可見微生物生長（白色箭頭處）；(B)為未經照射之原五味子培養基(A)背面圖示，可見有微生物生長（黃色箭頭處）；(D)(E)分別為(A)(C)圖中白色箭頭所指處之放大。

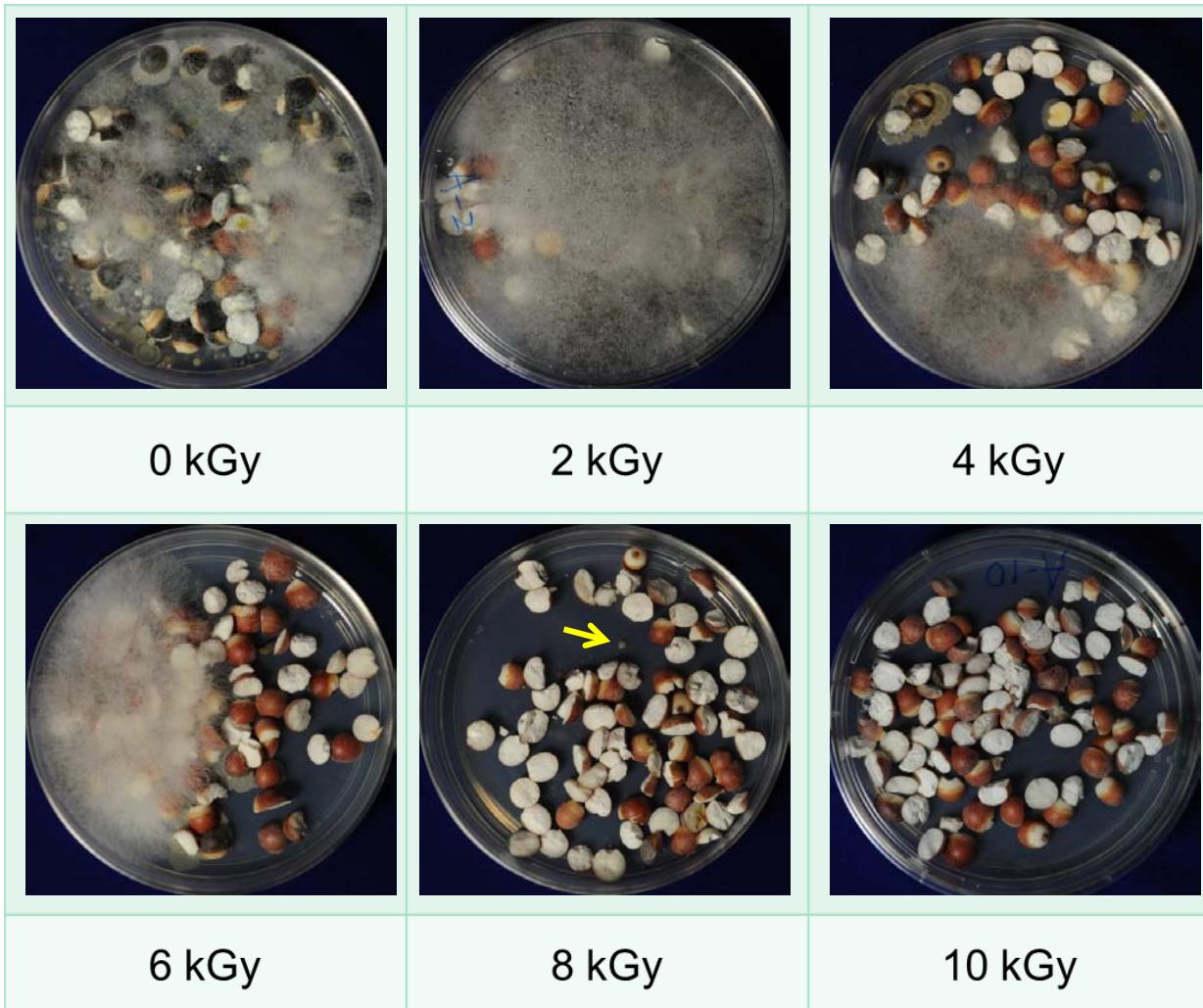


圖4、芡實樣品未經輻射照射及經 2、4、6、8、10 kGy 照射處理後，直接放置在 PCA 培養基上培養 2 天所呈現之微生物相：未經照射及經 2 kGy 照射之芡實樣品可見大量微生物生長；經 4、6 kGy 照射樣品之微生物量逐漸減少，但仍可見明顯黴菌生長；經 8 kGy 照射樣品僅於培養基上觀察到單一微生物菌落（黃色箭頭處）；經 10 kGy 照射後可達完全滅菌。

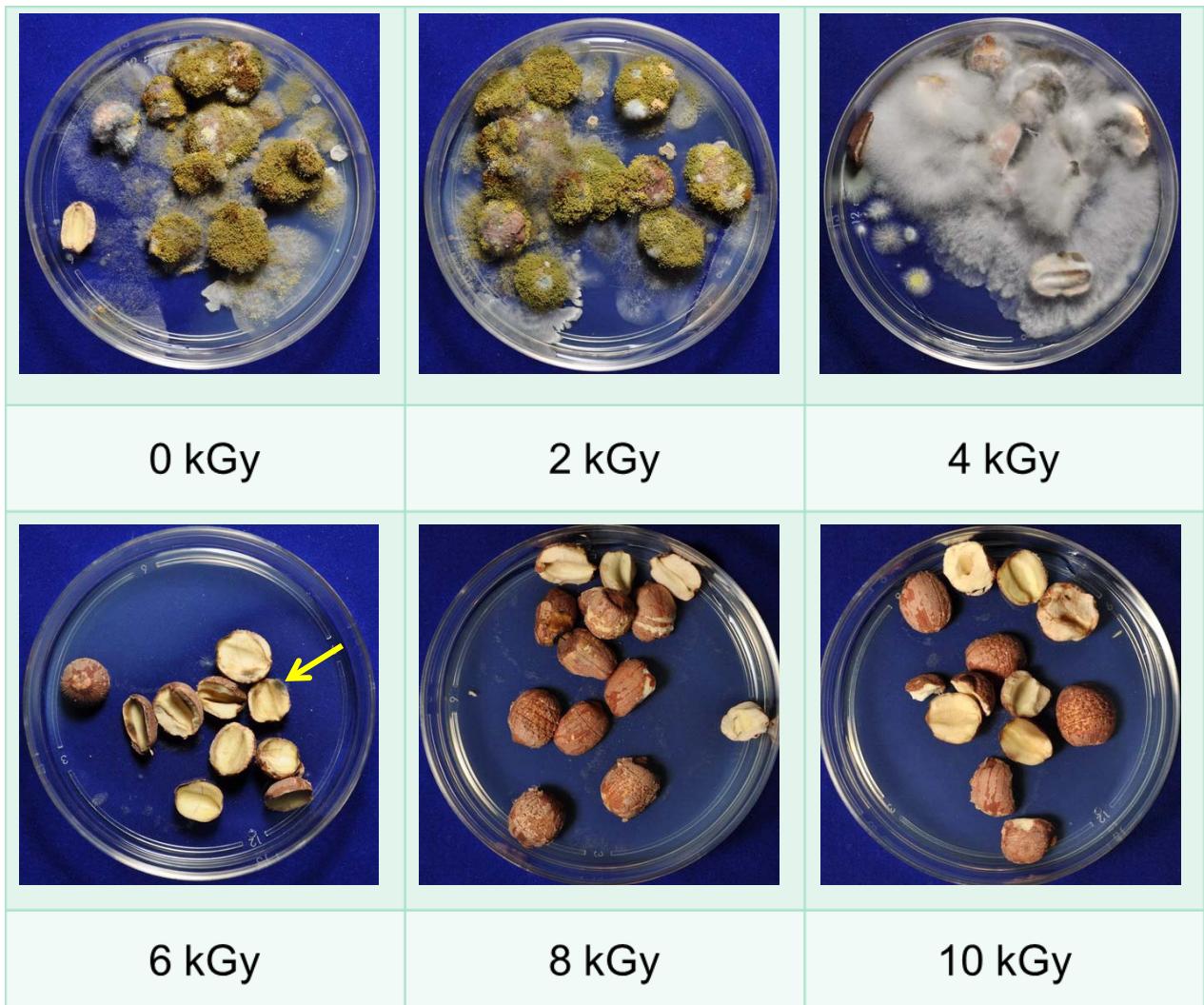


圖5、蓮子樣品批次D之紅蓮子未經輻射照射及經2、4、6、8、10 kGy照射處理後，直接放置在PCA培養基上培養5天所呈現之微生物相：蓮子樣品未經照射及經2、4 kGy照射後可見大量黴菌生長；經6 kGy照射樣品之微生物量明顯減少，但仍可見樣品上有微量黴菌生長（黃色箭頭處）；經8 kGy照射後可達完全滅菌。

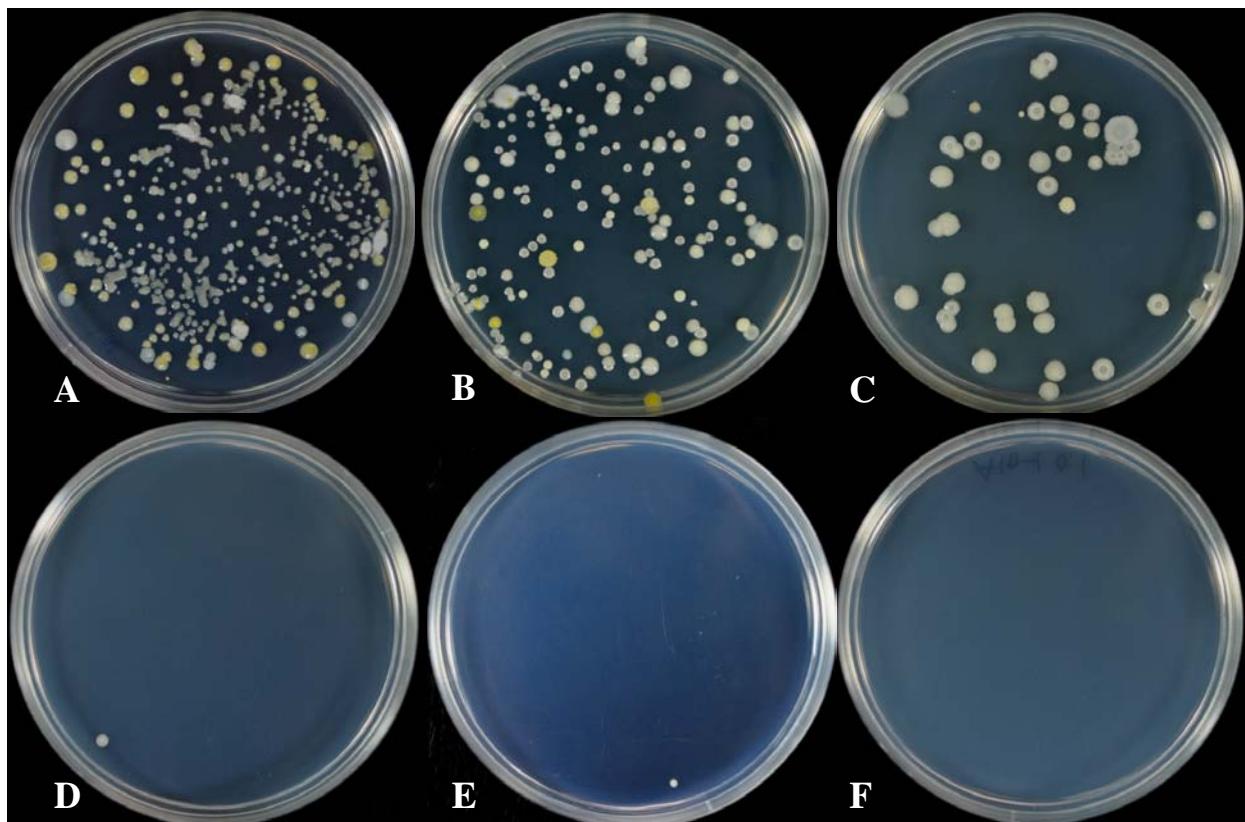


圖6、蓮子批次A輻射照射與貯存6個月後之微生物相：A、B、C、D、E及F分別為未經照射及經2、4、6、8及10 kGy照射貯存6個月後之蓮子樣品，經300倍稀釋之浸液塗抹於PCA培養基上培養3天後之微生物相：未經照射及經2、4 kGy照射後蓮子樣品含大量好氣細菌；經6、8 kGy照射後蓮子樣品總好氣細菌數明顯減少，僅於培養基上觀察到單一菌落；而經10 kGy照射後可達完全滅菌。

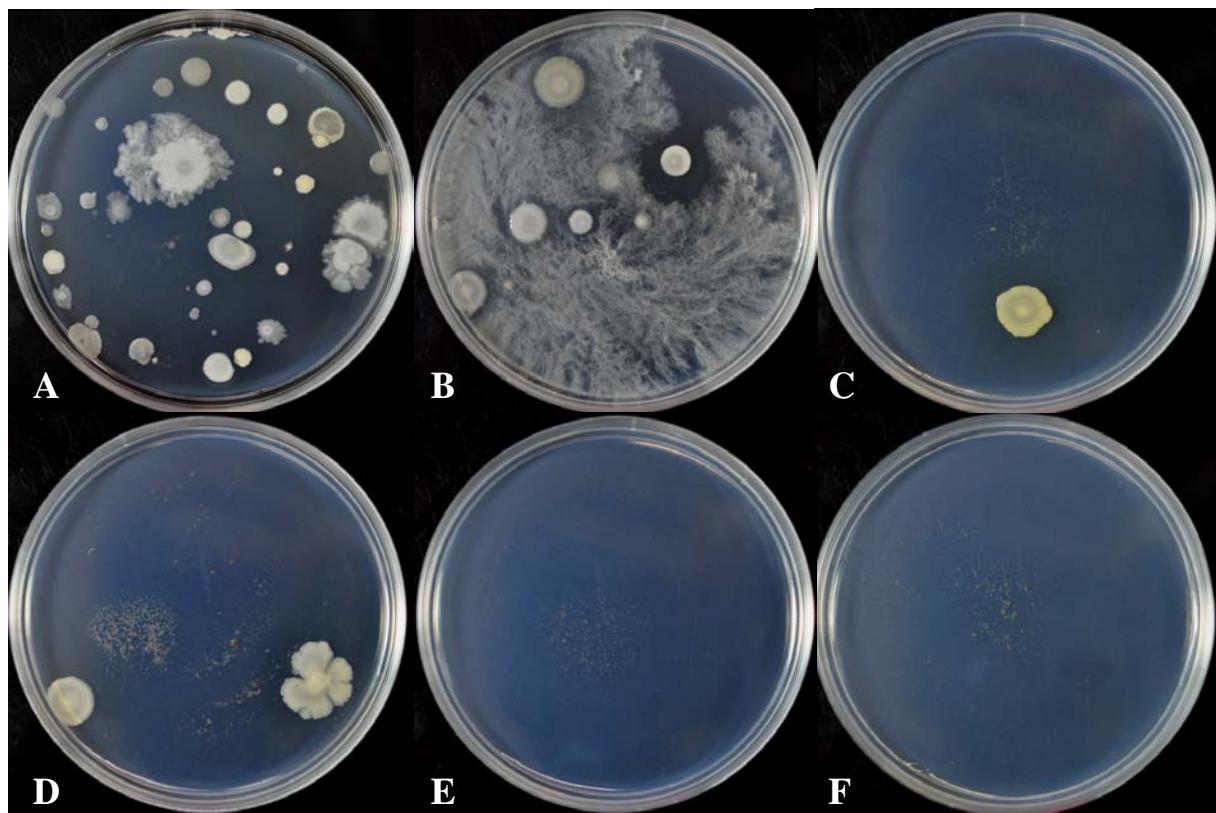


圖7、山菜莢批次D輻射照射與貯存6個月後，經250倍稀釋之浸液塗抹於PCA培養基上培養7天後之微生物相：A、B、C、D、E及F分別為未經照射及經2、4、6、8及10 kGy照射貯存6個月後之山菜莢樣品：未經照射及經2 kGy照射後山菜莢樣品含多樣微生物；經4、6 kGy照射後山菜莢樣品微生物明顯減少，僅出現少數好氣細菌；而經8 kGy照射處理後可達完全滅菌。

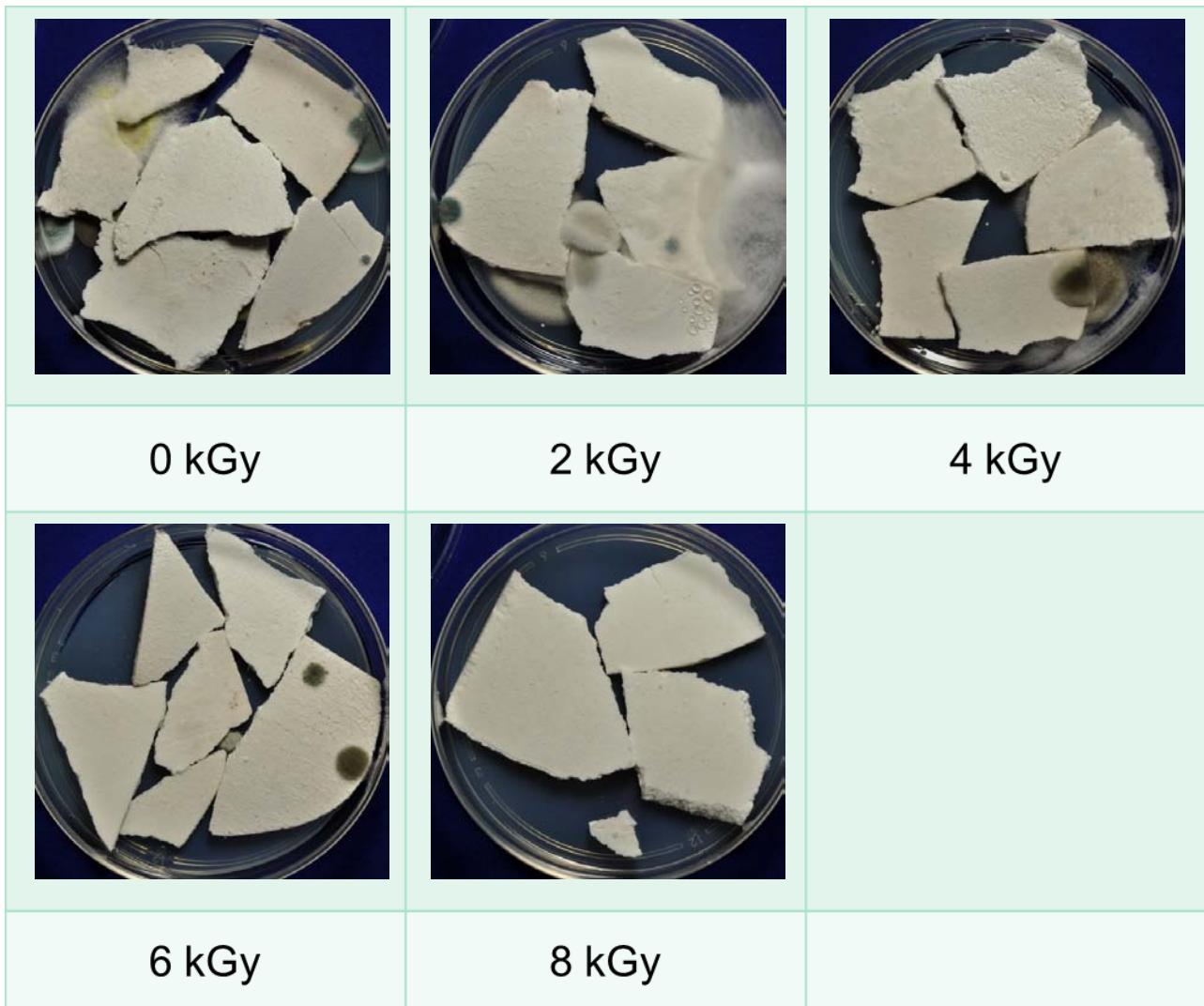


圖8、茯苓樣品未經輻射照射及經 2、4、6、8 kGy 照射處理後，直接放置在 PCA 培養基上培養所呈現之微生物相：茯苓樣品未經照射及經 2、4、6 kGy 照射後均可於樣品表面觀察到黴菌菌落生長，且隨照射劑量增加，菌數逐漸減少；經 8 kGy 照射處理後可達完全滅菌。

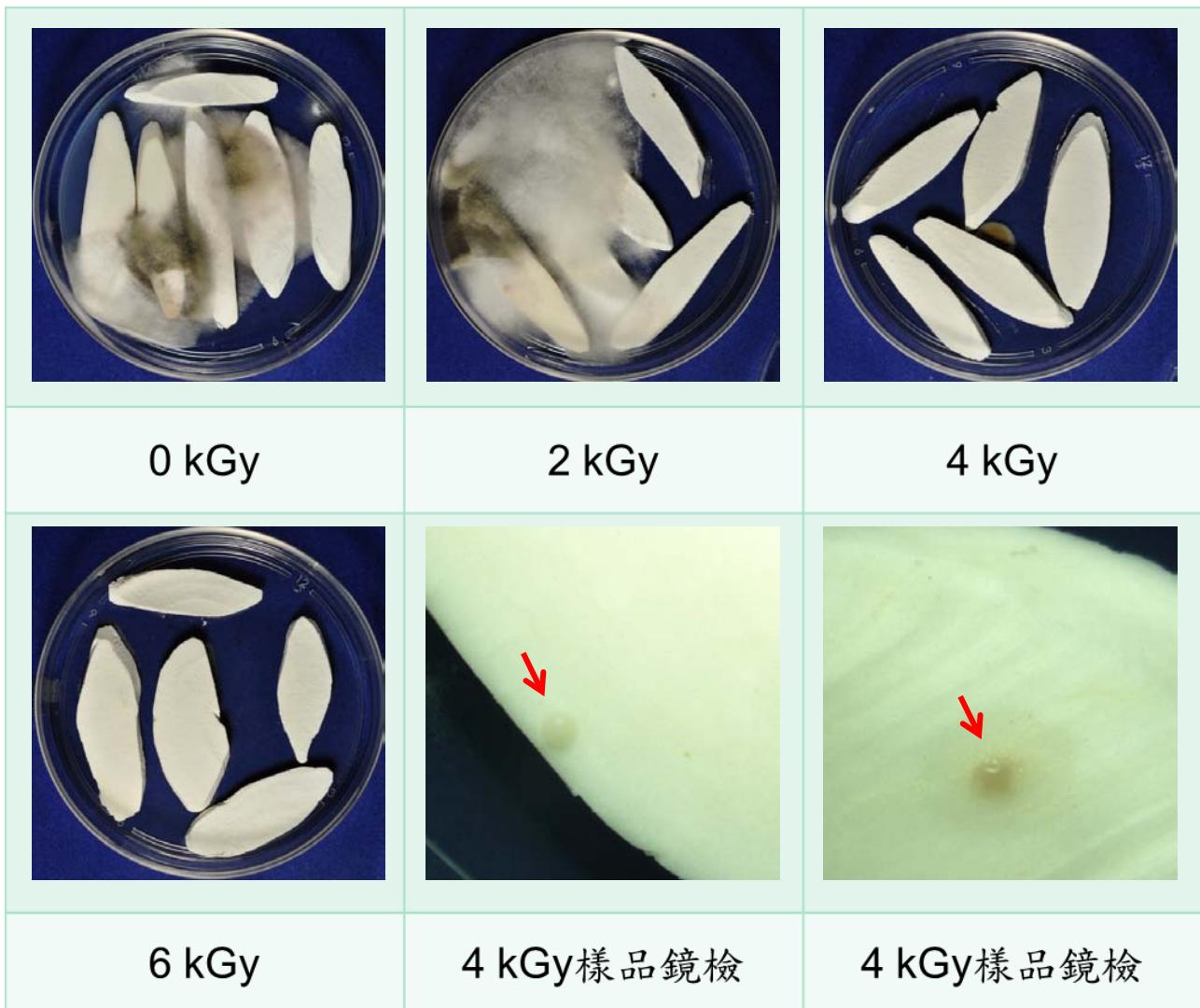


圖9、山藥樣品未經輻射照射及經 2、4、6 kGy 照射處理後，直接放置在 PCA 培養基上培養 6 天所呈現之微生物相：山藥樣品未經照射及經 2 kGy 照射後均可見明顯黴菌生長；經 4 kGy 照射處理後，可於樣品與培養基接觸邊緣觀察到黴菌生長，且以解剖顯微鏡鏡檢下可發現樣品表面有菌落生長（紅色箭頭處）；經 6 kGy 照射處理後可達完全滅菌。

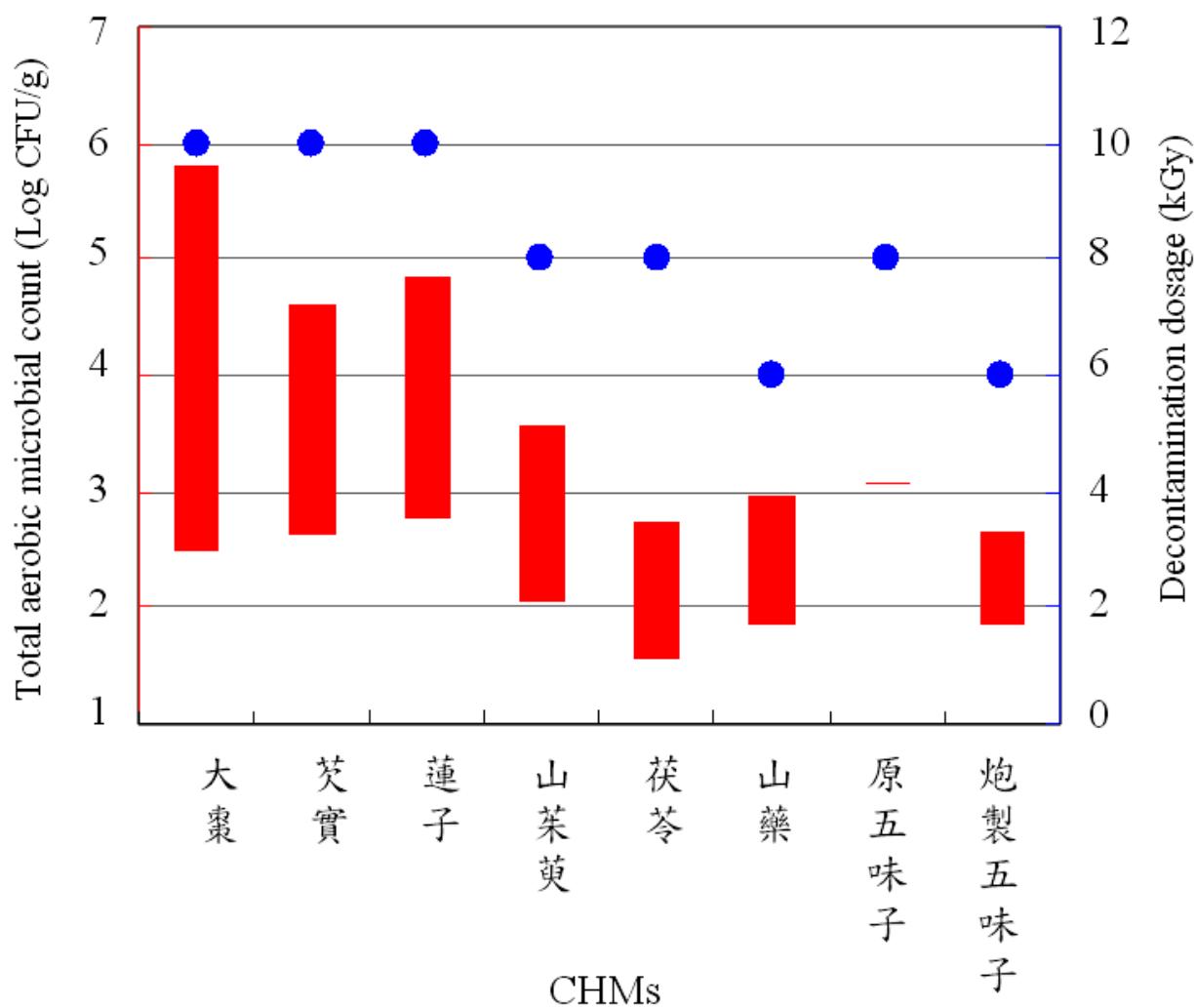


圖10、受測中藥材未經貯存之總好氧微生物數及所需最高滅菌劑量的分佈圖。

表 1、中藥材大棗經加馬線照射後與貯存半年後之殘存微生物量(CFU/g)

樣 品	編 號	微 生 物 種 類	照 射 劑 量													
			未 照 射		貯 存 後		照 射 後		貯 存 後		照 射 後		貯 存 後		照 射 後	
			0 kGy	0 kGy	2 kGy	2 kGy	4 kGy	4 kGy	6 kGy	6 kGy	8 kGy	8 kGy	10 kGy	10 kGy	0 kGy	0 kGy
大 棗	A ^a	B ^b	72021 ^c	1490	289	516	183	25	29	6	26	0	0	0	0	0
		M	854	19	48	9	42	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	92956	1574	337	1057	239	25	0	0	- ^d	0	-	0	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0	-	-	-	-
	B	B	359	31	193	30	36	9	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	496	47	580	23	72	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	253	0	116	15	72	0	0	0	-	0	-	0	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0	-	-	-	-
	C	B	148	769	31	330	30	35	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	161	288	31	17	30	7	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	4990	0	1304	0	423	0	0	-	0	-	0	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	-	-
	D	B	121	49	132	38	48	18	25	90	0	0	0	0	0	0
		M	388	24	111	13	48	9	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	-	-
	E	B	77	226	31	18	58	25	0	9	0	0	0	0	0	0
		M	131	5098	61	54	44	0	0	9	0	0	0	0	0	0
		Y	123	0	31	0	31	0	0	0	-	0	-	0	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	-	-
	F	B	249	1176	18	90	37	23	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	98	20	0	11	18	8	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	901	0	196	0	12	0	0	-	0	-	0	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	-	-
	G	B	363448	491936	29412	40029	970	26959	195	252	43	56	0	0	0	0
		M	6490	0	4386	0	132	0	9	0	0	0	0	0	0	0
		Y	267394	709476	37668	48902	1732	30819	52	515	-	0	-	-	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-
	H	B	179	2	45	11	20	7	22	0	0	0	0	0	0	0
		M	168	0	45	0	20	0	22	0	0	0	0	0	0	0
		Y	78	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
	I	B	869	249	0	65	24	7	0	0	27	0	0	0	0	0
		M	67	20	26	11	27	0	27	0	0	0	0	0	0	0
		Y	187	0	0	0	143	0	0	0	-	0	-	-	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
	J	B	90983	8555	18882	22	500	7	28	0	24	0	0	0	0	0
		M	679	223	249	0	25	0	28	0	0	0	0	0	0	0
		Y	146659	2094	24799	11	25	0	0	0	-	0	-	-	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-

^a 編號分別表不同地區所採集之樣品；^b B：好氣細菌、M：黴菌、Y：酵母菌、E：腸內菌；^c 三重複測試之平均值；^d 一表未受測

表 1、中藥材五味子經加馬線照射後與貯存半年後之殘存微生物量(CFU/g) (續)

樣 品 編 號	微 生 物 種 類	照 射 劑 量													
		未 照 射		貯 存 後		照 射 後		貯 存 後		照 射 後					
		0 kGy	0 kGy	2 kGy	2 kGy	4 kGy	4 kGy	6 kGy	6 kGy	8 kGy	8 kGy				
原 五 味 子	A ^a	B ^b	874 ^c	3383	243	254	87	62	43	24	0	0	0	0	0
		M	203	63	101	23	0	50	0	46	0	0	0	0	
		Y	66	25	0	0	0	0	0	- ^d	0	-	0		
		E	0	0	0	0	0	-	0	-	-	-			
	B	B	818	1126	553	594	136	24	41	23	0	0	0	0	
		M	376	245	47	29	0	24	0	23	0	0	0	0	
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0		
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-			
	C	B	340	89	124	0	38	0	0	0	0	0	0	0	
		M	41	25	38	25	0	48	0	0	0	0	0	0	
炮 製 五 味 子		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0		
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-			
	D	B	148	324	128	252	0	0	0	0	0	0	0	0	
		M	292	911	58	196	0	70	0	42	0	0	0	0	
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0		
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-			
	E	B	55	0	52	0	39	0	0	0	0	0	0	0	
		M	183	174	31	60	0	65	0	0	0	0	0	0	
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0		
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-			
F	B	241	1888	82	54	34	28	0	0	0	0	0	0	0	
		M	53	149	41	27	0	28	0	0	0	0	0	0	
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0		
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-			
	G	B	35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		M	70	0	38	0	0	0	0	0	0	0	0		
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0		
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-			
	H	B	114	57	0	14	0	0	0	0	0	0	0		
		M	72	28	33	14	0	0	0	0	0	0	0		
I		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0		
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-			
	I	B	39	252	0	83	0	9	0	0	0	0	0		
		M	133	184	77	54	0	19	0	9	0	0	0		
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-			
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-			
	J	B	33	161	0	27	0	9	0	0	0	0	0		
		M	39	81	37	13	0	9	0	9	0	0	0		
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-			
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-			

^a 編號分別表不同地區所採集之樣品；^b B：好氣細菌、M：黴菌、Y：酵母菌、E：腸內菌；^c 三重複測試之平均值；^d 一表未受測

表 1、中藥材艾實經加馬線照射後與貯存半年後之殘存微生物量(CFU/g) (續)

樣 品	編 號	微 生 物 種 類	照 射 劑 量													
			未 照 射		貯 存 後		照 射 後		貯 存 後		照 射 後		貯 存 後		照 射 後	
			0 kGy	0 kGy	2 kGy	2 kGy	4 kGy	4 kGy	6 kGy	6 kGy	8 kGy	8 kGy	10 kGy	10 kGy	0 kGy	0 kGy
艾 實	A ^a	B ^b	4736 ^c	1302	80	109	26	23	29	0	26	0	25	0		
		M	31958	10707	53	72	0	70	0	85	0	0	0	0		
		Y	720	24	0	0	0	0	0	0	- ^d	0	-	0		
		E	691	0	0	0	0	0	-	0	-	0	-	-		
	B	B	849	1144	8015	172	78	25	0	0	0	0	0	0		
		M	11053	2380	99	117	46	208	0	61	0	0	0	0		
		Y	674	0	248	0	0	0	0	0	-	0	-	0		
		E	0	0	149	0	0	0	-	0	-	0	-	-		
	C	B	12774	220	1860	232	27	24	3073	23	2626	24	0	0		
		M	272	553	483	41	113	0	90	0	0	0	0	0		
		Y	7202	0	2295	23	0	0	4507	0	0	0	-	0		
		E	1155	0	1110	0	0	0	0	0	-	0	-	-		
	D	B	186	262	105	36	88	0	27	0	88	0	0	0		
		M	12898	1898	130	252	29	38	68	24	0	0	0	0		
		Y	286	24	26	0	0	0	0	0	-	0	-	0		
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0	-	-		
	E	B	225	351	104	37	144	24	38	0	0	0	0	0		
		M	42013	222407	26	0	21	0	0	0	0	0	0	0		
		Y	72	37	52	0	0	0	0	0	-	0	-	0		
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0	-	-		
	F	B	75	527	92	0	26	0	19	0	0	0	0	0		
		M	8902	5500	99	76	26	23	19	0	0	0	0	0		
		Y	0	80	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0		
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0	-	-		
	G	B	793	367	480	168	284	269	265	53	213	82	0	0		
		M	24604	23352	451	0	42	6	53	0	0	0	0	0		
		Y	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-		
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	-	-		
	H	B	9351	1038	521	40	71	25	43	129	0	0	0	0		
		M	26240	20377	1184	106.5	85	6	97	0	0	0	0	0		
		Y	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-		
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-		
	I	B	267	485	24	139	0	23	0	5	0	0	0	0		
		M	156	46128	85	40.5	0	0	0	0	0	0	0	0		
		Y	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-		
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	-	-		
	J	B	3827	947	60	135	24	33	21	8	34	0	0	0		
		M	499	2796	426	919	24	115	21	24	0	8	0	0		
		Y	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-		
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-		

^a 編號分別表不同地區所採集之樣品；^b B：好氣細菌、M：黴菌、Y：酵母菌、E：腸內菌；^c 三重複測試之平均值；^d —表未受測

表 1、中藥材蓮子經加馬線照射後與貯存半年後之殘存微生物量(CFU/g) (續)

樣 品	編 號	微 生 物 種 類	照 射 劑 量														
			未 照 射		貯 存 後		照 射 後		貯 存 後		照 射 後		貯 存 後		照 射 後		
			0 kGy	0 kGy	2 kGy	2 kGy	4 kGy	4 kGy	6 kGy	6 kGy	8 kGy	8 kGy	10 kGy	10 kGy	0 kGy	0 kGy	10 kGy
蓮 子	A ^a	B ^b	4016 ^c	11623	5191	5064	223	1423	0	28	0	28	0	0	0	0	0
		M	412	137	134	244	22	104	34	41	0	0	0	0	0	0	0
		Y	1349	55	405	30	0	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		E	474	1212	197	296	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	B	B	465	7201	60086	467	409	25	55	94	0	27	0	0	0	0	0
		M	152	143	46	54	33	68	32	76	0	0	0	0	0	0	0
		Y	333	23	54	0	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C	B	2629	6316	255	176	40	90	0	43	0	79	0	0	0	0	0
		M	1592	47	24	87	20	46	18	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	287	62	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		E	1233	2737	128	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	D	B	1555	1018	260	93	22	29	39	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	819	559	741	66	66	58	19	24	0	0	0	0	0	0	0
		Y	596	0	130	0	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		E	0	286	0	0	0	0	0	0	- ^d	0	-	-	0	-	0
	E	B	597	114	52	0	22	0	23	0	23	0	0	0	0	0	0
		M	626	253	62	112	504	25	23	87	0	0	0	0	0	0	0
		Y	290	0	290	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		E	0	76	0	0	0	0	-	0	-	0	-	-	0	-	0
	F	B	68839	124138	13641	482	314	454	318	371	188	225	81	116			
		M	380	209	76	0	50	0	45	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	1004	49	152	39	0	12	0	0	0	0	0	0	0	-	-
		E	0	567	0	23	0	0	-	0	-	-	-	-	-	-	-
	G	B	607	89036	104	2188	100	1136	52	17	286	23	0	0	0	0	0
		M	76	35	23	0	37	0	26	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	25	35	0	106	0	17	0	0	0	0	0	0	0	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	-	-	-	-	-
	H	B	2309	2613	633	52	106	29	36	25	121	33	0	0	0	0	0
		M	41	35	75	0	24	0	36	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	-	-	-	-	-
	I	B	499	1264	239	463	104	121	59	24	0	8	0	0	0	0	0
		M	171	645	42	88	26	24	0	8	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-
	J	B	460	1435	111	285	23	38	0	12	0	0	0	0	0	0	0
		M	115	308	24	46	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
		E	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	-	-	-	-	-

^a 編號分別表不同地區所採集之樣品；^b B：好氣細菌、M：黴菌、Y：酵母菌、E：腸內菌；^c 三重複測試之平均值；^d —表未受測

表 1、中藥材山茱萸經加馬線照射後與貯存半年後之殘存微生物量(CFU/g) (續)

樣 品	編 號	微 生 物 種 類	照 射 劑 量															
			未 照 射		貯 存 後		照 射 後		貯 存 後		照 射 後		貯 存 後		照 射 後			
			0 kGy	0 kGy	2 kGy	2 kGy	4 kGy	4 kGy	6 kGy	6 kGy	8 kGy	8 kGy	10 kGy	10 kGy	0 kGy	0 kGy	10 kGy	10 kGy
山 茱 荚	A ^a	B ^b	509 ^c	747	156	139	67	93	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	93	60	45	0	44	9	44	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	0	- ^d	-	-	-	-	-	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	B	1324	1204	204	152	128	9	46	9	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	286	28	139	15	43	9	42	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	C	B	3488	7516	145	44	40	10	37	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	229	65	121	0	83	10	39	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	290	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	D	B	1441	1236	187	122	71	10	35	22	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	41	30	37	14	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	E	B	1654	1153	165	46	152	11	152	10	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	76	11	37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	F	B	398	526	180	47	43	19	44	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	110	90	42	0	42	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	G	B	828	1270	41	59	81	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	224	0	81	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	H	B	45	50	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	69	33	44	17	42	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	-	-	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	I	B	391	23	43	0	45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	115	23	44	32	46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	-	-	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	J	B	210	826	41	36	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	248	47	38	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	-	-	-	-
		E	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-

^a 編號分別表不同地區所採集之樣品；^b B：好氣細菌、M：黴菌、Y：酵母菌、E：腸內菌；^c 三重複測試之平均值；^d 一表未受測

表 1、中藥材茯苓經加馬線照射後與貯存半年後之殘存微生物量(CFU/g) (續)

樣 品	編 號	微 生 物 種 類	照 射 劑 量											
			未 照 射	貯 存 後	照 射 後	貯 存 後	照 射 後	貯 存 後	照 射 後	貯 存 後	照 射 後	貯 存 後	照 射 後	貯 存 後
			0 kGy	0 kGy	2 kGy	2 kGy	4 kGy	4 kGy	6 kGy	6 kGy	8 kGy	8 kGy	10 kGy	10 kGy
茯 苓	A ^a	B ^b	263 ^c	50	53	32	25	0	25	0	0	0	0	0
		M	275	37	81	0	0	0	34	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	- ^d	0	-	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	B	B	39	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	39	27	40	59	0	9	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	C	B	77	48	34	9	33	0	34	0	0	0	0	0
		M	118	60	38	13	34	8	34	0	0	0	0	0
D	M	Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	B	B	112	0	37	0	37	0	0	0	0	0	0	0
		M	285	47	94	35	63	14	41	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	B	M	0	84	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	36	28	36	13	35	9	0	0	0	0	0	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0
	B	F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E	M	Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	B	B	39	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	78	263	56	13	56	18	48	10	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	C	B	74	27	79	14	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	37	27	79	0	36	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
H	B	B	133	0	33	0	34	0	0	0	0	0	0	0
		M	112	258	42	13	52	0	26	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	B	I	80	0	42	0	43	0	0	0	0	0	0	0
		M	144	25	84	16	60	0	63	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	C	J	35	54	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	35	39	0	13	0	8	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-

^a 編號分別表不同地區所採集之樣品；^b B：好氣細菌、M：黴菌、Y：酵母菌、E：腸內菌；^c 三重複測試之平均值；^d 一表未受測

表 1、中藥材山藥經加馬線照射後與貯存半年後之殘存微生物量(CFU/g) (續)

樣 品 編 號	微 生 物 種 類	照 射 劑 量														
		未 照 射		貯 存 後		照 射 後		貯 存 後		照 射 後		貯 存 後		照 射 後		
		0 kGy	0 kGy	2 kGy	2 kGy	4 kGy	4 kGy	6 kGy	6 kGy	8 kGy	8 kGy	10 kGy	10 kGy	0 kGy	0 kGy	10 kGy
山 藥 條	A ^a	B ^b	48 ^c	0	33	0	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	81	19	30	9	23	6	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	- ^d	0	-	-	0	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	
	B	B	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	146	3074	91	63	29	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	
山 藥 片	C	B	35	37	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	35	18	35	9	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	
	D	B	909	1306	85	24	36	14	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	0	29	0	12	0	14	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	
	E	B	102	46	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	110	68	51	18	30	8	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	
	F	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	
	G	B	78	34	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	
	H	B	293	1062	69	39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	110	19	52	7	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	
	I	B	302	7041	67	31	43	27	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	51	983	35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	
	J	B	125	30	32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	33	20	35	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Y	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	-	0	-	0
		E	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	

^a 編號分別表不同地區所採集之樣品；^b B：好氣細菌、M：黴菌、Y：酵母菌、E：腸內菌；^c 三重複測試之平均值；^d 一表未受測

表 2、受測中藥材之 10 批次樣品中所含各類原始微生物菌數範圍 (CFU/g) 及其所需滅菌劑量 (kGy)

中藥材	好氣細菌		黴菌&酵母菌		腸內菌	
	貯存前	貯存後	貯存前	貯存後	貯存前	貯存後
大棗 Fructus Zizyphi Sativae	菌數	$7.7 \times 10^1 \sim 3.6 \times 10^5$	$3.1 \times 10^1 \sim 4.9 \times 10^5$	$9.8 \times 10^1 \sim 2.7 \times 10^5$	$2.0 \times 10^1 \sim 5 \times 10^3$	-*
	滅菌劑量	10	10	8	8	-
原五味子 Fructus Schizandrae	菌數	$8.2 \times 10^2 \sim 8.7 \times 10^2$	$1.1 \times 10^3 \sim 3.4 \times 10^3$	$2.7 \times 10^2 \sim 3.8 \times 10^2$	$8.8 \times 10^1 \sim 2.5 \times 10^2$	-
	滅菌劑量	8	8	4	8	-
炮製五味子 Fructus Schizandrae	菌數	$3.3 \times 10^1 \sim 3.4 \times 10^2$	$2.5 \times 10^1 \sim 1.8 \times 10^3$	$3.9 \times 10^1 \sim 2.9 \times 10^2$	$2.5 \times 10^1 \sim 9.1 \times 10^2$	-
	滅菌劑量	6	6	4	6	-
芡實 Semen Euryalis	菌數	$7.5 \times 10^1 \sim 1.3 \times 10^4$	$2.2 \times 10^2 \sim 1.3 \times 10^3$	$1.6 \times 10^2 \sim 4.2 \times 10^4$	$5.5 \times 10^2 \sim 2.2 \times 10^5$	$2.5 \times 10^1 \sim 1.2 \times 10^3$
	滅菌劑量	10	10	8	10	4
蓮子 Semen Nelumbonis	菌數	$4.6 \times 10^2 \sim 6.9 \times 10^4$	$1.1 \times 10^2 \sim 1.2 \times 10^5$	$8.2 \times 10^1 \sim 1.9 \times 10^3$	$3.5 \times 10^1 \sim 6.5 \times 10^2$	$2.1 \times 10^1 \sim 1.2 \times 10^3$
	滅菌劑量	10	10	8	8	4
山茱萸 Fructus Corni	菌數	$4.5 \times 10^1 \sim 3.5 \times 10^3$	$2.3 \times 10^1 \sim 7.5 \times 10^3$	$4.1 \times 10^1 \sim 2.9 \times 10^2$	$1.1 \times 10^1 \sim 3.6 \times 10^2$	-
	滅菌劑量	8	8	8	6	-
茯苓 Sclerotium Poriae	菌數	$2.4 \times 10^1 \sim 2.6 \times 10^2$	$2.4 \times 10^1 \sim 8.4 \times 10^1$	$3.5 \times 10^1 \sim 2.9 \times 10^2$	$2.5 \times 10^1 \sim 2.6 \times 10^2$	-
	滅菌劑量	8	4	8	8	-
山藥 Rhizoma Dioscoreae	菌數	$1.8 \times 10^1 \sim 9.1 \times 10^2$	$1.8 \times 10^1 \sim 7.0 \times 10^3$	$1.8 \times 10^1 \sim 1.5 \times 10^2$	$1.8 \times 10^1 \sim 3.1 \times 10^3$	-
	滅菌劑量	6	6	6	6	-

*所有受測樣品均低於偵測低限。

表 3、中藥材經滅菌劑量照射及貯存六個月處理前後其顏色之 Hunter L. a. b. 值

照射劑量		貯存前		貯存後		照射劑量		貯存前		貯存後	
大棗 ^a						(原)五味子 ^b					
0 kGy	L	34.35±2.30		30.95±3.15		0 kGy	L	15.50±2.51		16.48±3.46	
	a	26.82±1.20		24.43±2.84			a	4.54±2.67		8.45±6.05	
	b	25.18±3.23		18.28±3.83			b	3.65±1.52		5.01±2.40	
10 kGy	L	33.29±2.28		31.68±3.67		8 kGy	L	15.47±0.90		14.30±1.83	
	a	25.37±3.13		24.31±3.85			a	5.72±2.41		4.87±4.78	
	b	23.75±3.24		20.58±3.67			b	4.17±0.92		3.59±0.52	
艾實 ^b						茯苓 ^b					
0 kGy	L	66.32±14.07		62.11±12.87		0 kGy	L	86.36±3.70		86.35±2.18	
	a	4.28±3.11		4.69±3.55			a	-1.95±0.72		-1.97±1.10	
	b	12.50±1.94		12.14±2.56			b	11.27±0.68		11.82±0.91	
10 kGy	L	69.54±9.29		74.42±7.07		8 kGy	L	87.30±2.73		88.64±2.52	
	a	2.20±2.60		0.91±1.20			a	-1.23±0.62		-1.90±0.74	
	b	10.59±1.20		10.85±0.09			b	11.08±0.52		10.97±0.83	
蓮子 ^a						山藥 ^b					
0 kGy	L	74.71±2.08		75.12±1.75		0 kGy	L	89.67±1.22		85.62±3.04	
	a	-0.32±1.09		-0.40±1.19			a	-2.18±2.30		-1.18±0.64	
	b	29.64±3.40		28.76±4.80			b	10.69±1.65		13.16±1.62	
10 kGy	L	72.05±4.87		72.68±1.91		6 kGy	L	88.7±0.78		84.11±1.86	
	a	-1.18±2.28		-0.09±2.48			a	-0.96±0.64		-0.44±1.21	
	b	27.86±2.78		28.04±3.56			b	10.32±0.94		12.84±0.81	
山茱萸 ^b											
0 kGy	L	20.14±1.65		19.12±1.55							
	a	10.38±0.96		11.28±2.09							
	b	7.59±1.46		7.96±1.00							
8 kGy	L	20.11±2.42		20.51±1.77							
	a	11.05±3.12		13.22±1.49							
	b	7.54±1.11		9.38±2.42							

^a 數據為 12 重複測試之平均值，^b 為 6 重複之平均值

表 4、中藥材經不同處理及貯存六個月後其水分變化

中藥材	照射劑量	水分含量 (%)	
		貯存前	貯存後
大棗	0 kGy	23.65±1.24 ^a	19.36±1.01
	10 kGy	23.44±1.48	20.49±2.10
芡實	0 kGy	14.84±0.68	13.70±0.74
	10 kGy	14.67±0.41	13.32±0.46
蓮子	0 kGy	10.88±0.33	9.69±0.42
	10 kGy	10.74±0.21	9.74±0.37
山茱萸	0 kGy	23.45±0.52	22.08±0.89
	8 kGy	23.38±0.28	21.58±0.97
五味子	0 kGy	7.62±0.33	7.12±0.55
	8 kGy	7.71±0.27	7.28±0.81
茯苓	0 kGy	16.31±0.66	14.52±0.43
	8 kGy	16.40±0.51	15.40±0.52
山藥	0 kGy	10.58±0.27	9.65±0.24
	6 kGy	10.49±0.34	9.88±0.19

a 數據為同一批次同一處理三重複之平均值。

表 5、蓮子經照射及貯存六個月前後之脂肪酸組成

脂類編號 脂肪酸組成 (%)	照射劑量			
	0 kGy		10 kGy	
	貯存前	貯存後	貯存前	貯存後
C15:0	0.07	-	0.06	-
C16:0	21.10	21.61	21.82	21.67
C16:1	0.16	-	0.19	-
C17:0	0.12	-	0.11	-
C18:0	1.45	1.95	1.37	2.29
C18:1	13.98	17.16	13.93	17.79
C18:2	48.77	49.47	48.55	46.93
α -C18:3(ω -3)	4.34	3.97	3.98	3.66
C20:0	1.58	1.19	1.55	1.25
C20:1	0.45	-	0.49	-
C20:2	0.10	-	0.11	-
C20:4(ω -6)	0.46	-	0.43	-
C21:0	0.24	-	0.23	-
C22:0	5.10	3.62	5.09	4.09
C22:1	0.20	-	0.19	-
C24:0	1.60	1.05	1.61	1.16

- : 未檢出

表 6、芡實經照射及貯存六個月前後之脂肪酸組成

脂類編號 \\ 脂肪酸組成 (%)	貯存前				貯存後			
	0 kGy	5 kGy	10 kGy	15 kGy	0 kGy	5 kGy	10 kGy	15 kGy
C12:0	0.50	0.90	1.12	-	-	-	-	-
C14:0	0.87	0.74	0.76	0.81	-	-	-	-
C16:0	22.62	24.88	25.55	24.55	20.32	17.63	19.03	18.34
C17:0	0.38	0.44	-	0.41	-	-	-	-
C18:0	6.70	5.15	5.45	5.82	7.32	3.08	3.61	3.68
C18:1	36.78	32.28	32.14	32.96	35.07	15.53	17.6	18.34
C18:2	24.71	28.05	27.42	27.39	30.8	23.04	26.29	26.27
α -C18:3(ω -3)	0.85	1.01	0.90	0.96	2.11	2.69	2.32	3.08
C20:0	0.44	0.49	0.50	0.56	-	-	-	-
C20:1	1.16	1.24	1.27	1.30	-	-	-	-
C22:0	1.59	1.56	1.77	1.64	2.23	2.35	-	3.21
C22:1	0.49	0.43	-	0.51	-	33.75	28.37	24.36
C24:0	2.01	2.15	2.21	2.41	2.14	1.93	2.78	2.71
C24:1	0.92	0.67	0.91	0.68	-	-	-	-

- : 未檢出

表 7、芡實經照射及貯存六個月前後之氨基酸含量

Amino acid (mg/100g)	貯存前				貯存後			
	0 k	5 k	10 k	15 k	0 k	5 k	10 k	15 k
Asp.	745.08	688.87	724.89	798.04	760.17	747.52	761.59	745.15
Thr.	393.01	367.28	392.46	414.86	397.39	391.06	397.15	384.42
Ser.	586.33	547.86	585.26	616.24	595.60	585.49	602.02	584.44
Glu.	1736.24	1635.34	1758.10	1813.83	1689.37	1732.41	1712.20	1668.61
Gly.	321.17	294.33	310.22	344.53	324.09	327.88	332.69	320.08
Ala.	643.86	603.68	621.65	693.08	660.13	655.66	676.92	656.07
Cys.	43.35	39.77	43.55	48.14	49.83	63.83	68.80	68.27
Val.	529.59	484.60	510.95	567.92	578.74	572.95	584.37	566.03
Met.	190.89	200.55	182.35	176.86	205.92	216.46	220.06	228.65
Iso.	531.03	495.31	517.99	571.35	538.06	531.97	547.41	531.20
Leu.	916.60	849.46	886.76	984.30	920.39	927.97	935.16	908.86
Tyr.	350.84	325.55	347.93	379.47	405.75	399.75	417.69	399.04
Phe.	586.83	542.12	573.17	633.92	595.72	580.83	605.39	589.44
Lys.	313.41	282.60	300.56	327.53	310.71	302.03	312.69	298.30
His.	332.53	298.91	334.94	364.32	326.85	327.53	330.89	314.41
Arg.	1319.56	1211.70	1291.68	1395.04	1337.60	1360.86	1364.10	1304.96
Pro.	223.16	199.95	217.80	245.60	219.14	197.21	226.46	211.43

表 8、大棗經照射前後之指標成分熊果酸含量(mg/g)

批次	貯存(月)	PP		PE	
		照射劑量	0 kGy	10 kGy	0 kGy
A	0	60.47±3.54	59.49±2.88	60.47±3.54	61.82±2.65
	6	55.07±3.68	53.63±5.20	55.29±4.79	54.25±3.46
B	0	30.76±2.80	32.20±1.65	30.76±2.80	32.96±1.12
	6	29.90±2.44	32.67±4.36	33.33±4.83	31.71±4.52

表 9、山茱萸經照射前後之指標成分熊果酸含量(mg/g)

批次	貯存(月)	PP		PE	
		照射劑量	0 kGy	8 kGy	0 kGy
A	0	1.86±0.07	1.81±0.11	1.86±0.07	1.97±0.10
	6	1.82±0.04	1.86±0.01	1.82±0.12	1.82±0.08

表 10、五味子經照射前後之指標成分五味子素含量(mg/g)

批次	貯存(月)	PP		PE	
		照射劑量	0 kGy	8 kGy	0 kGy
A	0	4.26±0.01	4.23±0.06	4.26±0.01	4.32±0.12
	6	4.43±0.06	4.03±0.01	4.19±0.04	4.21±0.07
B	0	4.53±0.11	4.39±0.16	4.53±0.11	4.40±0.04
	6	4.44±0.06	4.54±0.08	4.32±0.06	4.40±0.09

表 11、茯苓經照射前後之指標成分麥角固醇含量(mg/g)

包裝包材		PP		PE		
批次	貯存(月)	照射劑量	0 kGy	8 kGy	0 kGy	8 kGy
A	0	137.53±1.71	146.77±5.20	137.53±1.71	143.43±6.04	
	8	144.33±5.13	140.98±5.53	129.96±7.44	128.72±5.12	
B	0	121.32±7.27	127.64±8.22	121.32±7.27	124.48±1.91	
	8	135.20±7.82	134.60±6.52	126.97±7.97	122.86±7.32	

表 12、山藥經照射前後之指標成分尿囊素含量(mg/g)

包裝包材		PP		PE		
批次	貯存(月)	照射劑量	0 kGy	6 kGy	0 kGy	6 kGy
A	0	6.93±0.32	6.20±0.36	6.93±0.32	6.57±0.18	
	6	7.21±0.30	6.21±0.26	7.10±0.20	6.46±0.16	

表 13、PE、PP 包材經不同劑量照射處理於貯存前、後其物性變化

測試項目	包材種類 照射處理 貯存(月)	PP				PE			
		0 kGy		10 kGy		0 kGy		10 kGy	
		0	6	0	6	0	6	0	6
1 抗拉強度	單位								
1-1 縱封 (MD)	kgf/cm ²	223	369	230	396	189	300	182	298
1-2 橫封 (TD)	kgf/cm ²	241	337	236	414	122	239	121	239
2 撕裂強度									
2-1 縱封 (MD)	kgf	1.2	3.1	1.3	2.9	1.3	2.7	1.3	2.8
2-2 橫封 (TD)	kgf	1.3	3	1.2	2.7	1.3	2.7	1.3	2.7
3 透氣度	cc/m ² ·day	1872.2	1797.7	1868.4	1831.0	2295.1	2442.6	2378.4	2585.9
4 溶出試驗									
4-1 蒸發殘渣-水 60 度 30 分	ppm	-	6	-	7	-	1.4	-	-
4-2 蒸發殘渣-正庚烷 25 度 1 時	ppm	-	8	-	2	-	6	-	4

上述拉力強度、撕裂強度及封口強度均為 10 重複數據之平均值

表 14、PE、PP 經不同處理後其顏色之 Hunter L. a. b. 值

編號	Treatment	L.		a.		b.	
		0 month	6 month	0 month	6 month	0 month	6 month
PP	0 kGy	72.84±0.76	83.70±0.25	-3.14±0.37	1.46±0.17	0.39±0.10	-1.34±0.14
	10 kGy	72.96±0.88	84.38±0.31	-3.41±0.56	1.17±0.13	0.20±0.10	-1.06±0.11
PE	0 kGy	67.36±0.46	79.91±0.35	-3.89±1.11	1.51±0.12	0.28±0.13	-1.10±0.43
	10 kGy	66.28±0.35	79.79±0.35	-3.70±0.27	1.22±0.12	-0.03±0.01	-0.76±0.07

女性經痛自我照護策略之發展(2-1)

馬素華

國立臺東大學

摘要

背景：

原發性經痛不是因為解剖結構或疾病所造成，而是身/心/環境/社會互動下的表徵。本研究計畫擬整合穴位按壓和身心動作教育為自我照護方案，以改善婦女原發性經痛經痛。本報告是一個二年、前瞻性、控制性研究計畫的第一年研究期末報告。

目的：

探討一個包括穴位按壓和身心動作的教育課程對原發性經痛女性大學生之經痛指數、骨盆歪斜與身體柔軟度之成效

設計：

此為一年前瞻性、重複測量、兩組的類實驗性研究。

方法：

共收 67 位在國立臺東大學就讀有原發性經痛經痛問題的女性學生，年齡 20.25 (SD 2.05) 歲，每位個案的研究期間為六個月。參與者自己決定進入實驗組或對照組。實驗組除接受例行的經痛諮詢外，並且接受 18 週穴位按壓和身心動作的教育課程 (44 人)；對照組僅接受例行的經痛諮詢 (23 人)。主要的結果變項為經痛指數：用短式 McGill 疼痛量表測量的疼痛感覺、疼痛情感、疼痛總分、當時疼痛的強度、疼痛視覺類比分數，疼痛視覺類比量表，骨盆歪斜：左側骨盆垂直差距、右側骨盆垂直差距，左側骨盆傾斜的角度、右側骨盆傾斜的角度，和身體柔軟度：站姿體前彎、站姿體左側彎、站姿體右側彎、貓式動作。研究資料使用描述性及 Generalized Estimating Equation (GEE)方法之多項式線性迴歸推論性統計分析。

結果：

調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣及當時疼痛的強度前測之效應後，實驗組的用短式 McGill 疼痛量表測量的疼痛視覺類比分數在第三個月、第五個月與第一個月相比之改變量比對照組之改變量進步，達統計上顯著性差異 (p 值

分別是.031, .038）；左側骨盆垂直差距和右側骨盆垂直差距在第四個月與第一個月相比之改變量比對照組之改變量進步，達統計上顯著性差異（p 值分別是<.001, <.001）。其他參數未達統計上顯著性差異。

結論：

十八週穴位按壓和身心動作的教育課程對改善原發性經痛女性大學生之疼痛與骨盆歪斜可能扮演重要的角色。未來需要進一步的研究以驗證本研究結果在臨床的意義。

關鍵詞：女性、原發性經痛經痛、穴位按壓、身心學

Development of Self-Care Strategies for Dysmenorrhea (2-1)

Suh-Hwa Maa
National Taitung University

ABSTRACT

Background:

Primary dysmenorrhea is diagnosed when symptoms are not attributable to an underlying disease, disorder, or structural abnormality either within or outside the uterus. Primary dysmenorrhea has been defined as the appearance of body/mind/environment/society interaction. This report is a final report for the first year study in a two-year prospective controlled study which aimed to improve primary dysmenorrhea by integrating acupressure and somatic movement as a self care protocol.

Study objectives:

To investigate the effect of an acupressure and somatic movement education course on pain, the pelvis inclination condition, and body flexibility in university females with primary dysmenorrhea.

Design:

A prospective, repeat measure quasi-experimental study, consisting of two groups.

Methods:

Sixty-seven female students from the National Taitung University, aged 20.25 (SD 2.05) years, who were suffering from primary dysmenorrhea, recruited over a period of six months. Participants were self-determined to one of two groups: standard dysmenorrheal consultation with supplemental an 18 weeks acupressure and somatic movement education course as their elective course (44 participants); and standard dysmenorrheal consultation alone (23 participants). Outcome measures include pain index: pain sensory, pain affective, total scores, present pain intensity, pain visual analog score measured by the short form McGill pain questionnaire, and pain visual analog scale, the pelvis inclination condition: left side and right side of the vertical difference in pelvis, left side and right side of the angle of tilted pelvis, as well as the body flexibility: first curved, left side bend, right side bend in station posture, and cat type movement. Data were analyzed using descriptive statistics and Multiple Linear Regression of Generalized Estimating Equation (GEE).

Results:

For experimental participants, pain visual analog score measured by the short form McGill pain questionnaire improved over time compared with the controls at 3rd month and 5th month ($p=.031$, $.038$, respectively); the left side and right side of the vertical difference of pelvis score improved over time compared with the controls at 4th month ($p<.001$, $<.001$, respectively) after adjustment for covariates (treatment, time, age, height, analgesic, exercise habit, baseline values of present pain intensity). Other variables did not differ between the experimental group and the control group.

Conclusions:

Eighteen weeks of an acupressure and somatic movement education course could be useful in improving the pain and pelvis inclination condition of university females with primary dysmenorrhea. Further investigations are required to validate the clinical significance of the findings of this study.

Keywords: female, primary dysmenorrhea, acupressure, somatic

壹、前言

婦女健康議題日益受到重視，始於聯合國第四屆婦女大會(1995)提出「性別主流化(gender mainstreaming)」的原則及 12 項行動綱領，要求各國政府或社會不論是政策發展、研究、立法、資源分配、方案的設計、執行及監測，都應該要有性別的觀點及性別平等的概念。其後，WHO (1998)的「21 世紀全民健康計畫」中提到「健康公平性」，將性別、種族及貧窮等議題並列。而在 2002 年，更通過了性別健康政策，並成立性別暨婦女健康部(Department of Gender and Women's Health, GWH)，不僅針對多種疾病包括肺癌、肺結核、心理健康、冠心病及生殖健康與權利議題進行性別分析，出版手冊提供性別觀點的分析結果與建議；並且將性別平等與婦女透過充權 empowerment 獲得平等接受資訊及平等使用資源的權力列為重點目標，促進全世界各國認識與關注社會、文化、心理與生理對於女性健康的影響 (WHO, 2002a, 2002b, 2002c, 2002d)。

我國於 2000 年制定的婦女健康政策雖然涵蓋了女性的所有生命週期，但是偏重醫療輕忽保健。行政院衛生署復於 2008 年訂定新版婦女健康政策。在新版婦女健康政策第九章提出「促進經期健康」之策略與行動，內容包括(1)進行女性經期健康促進行為之實證研究，(2)促進中西醫經期不適論述之整合，與(3)提供多元化之經期不適處理，以提升女性促進經期健康之知能。婦女健康政策期程訂為 2008 年至 2011 年，屆時將以這 4 年的實施經驗與成效，檢視修訂下一期程的婦女健康政策，以確保政策隨著時代趨勢不斷進步。

月經是女性相當特殊而親密的朋友，大多數的女性從 12~14 歲初經來潮，直到 45~50 歲之間，除了懷孕及哺乳期間之外，月經伴隨女性度過三十幾年(李開端等，1997)。然而行經期的婦女中，國外有一半以上(Berek, Adashi, & Hillaed, 1996)，甚至 67~83% (Finlay, Jones, & Kreitman, 2000)經驗到不同程度的疼痛。國內經痛的盛行率國中生約 36~70% (季瑋珠、張淑惠，1997；陳彰惠、洪志秀，1986)，大專生約為 76% (陳淑月，1993、1994)。經痛嚴重會干擾婦女的日常作息，有 10-15% 的女性有一至三天因為經痛而影響到工作、上課、或執行家務事(連義隆，1999；蔡承惠，1994；Lowdermilk, Perry, & Bobak, 1999；Ryan, Berkowitz, & Barabieri, 1995；Smith, 1996)，在一般婦科門診中，因月經問題來求診者占相當大比例，其中又以經痛與月經不調為最常見之主訴(何弘能、陳信孚，1993)，甚至有些婦女會因為經痛而討厭其女性角色(賴正均，1999；Golomb, Solidum, & Warren, 1998)。在美國估計每年因此而損失 14 億小時，對社會和經濟造成相當程度的損失(Kulig, 1990)。因此發展或尋求改善經痛的措施是非常重要的議

題。

大部分女性的經痛屬於原發性經痛，都不是因為解剖結構或疾病所造成，而是身/心/環境/社會互動下的表徵。月經週期是在下視丘、腦下垂體、卵巢之內分泌系統調節下進行，因為下視丘容易受到外界環境、心理或生理方面的影響，若是遇到重大壓力事件、減肥節食、過度運動、失眠、荷爾蒙藥物使用等，都有可能會導致內分泌失調而使月經的週期混亂。所以，經期健康促進也等同於女性全方位的健康促進。

有關原發性經痛的處理措施除了依醫囑給藥以外，還有許多方法是婦女可以自己操作的，例如腹部熱敷、臥床休息、放鬆技巧（馮容莊、馮琪瑩，1997）、運動訓練（柯曼尼，2002；張惠芝，2003）、身心動作教育(somatic movement education)（林大豐、劉美珠，2006）、精油療法（孫嘉玲、黃美瑜、宋梅生、王秀香、張元貞，2005）、穴位按壓（莊美華，2001）、衛生教育（邱敏惠，2001），這些方法已經有一些實證研究證實有效。其中穴位按壓是中醫醫療之一，著重全人的療效，又是容易學習、免費、立即見效，值得做為女性經痛自我照護方法。身心動作教育是以第一人稱（我）的角度出發，由教育著手，強調身心合一的觀點，應用身心技巧來開發個案自己的身心覺察能力，讓個案自我探索月經疼痛發生的身心根源，尋求自我整理的途徑，進而達到療效。有鑑於以上這些原因，研究者欲以中醫藥觀點和性別主流化意識，整合穴位按壓和身心動作教育，發展婦女原發性經痛自我照護方案，以提升婦女健康。相關研究成果可提供具文化適切性之經期健康照護服務給國內女性，節省醫療資源與時間，醫院設置青少年健康門診與經期有關之健康促進諮詢服務的參考，以及我國中醫醫療婦女保健政策規劃的實證依據。

貳、材料與方法

本研究採前瞻性、重複測量、兩組的類實驗性設計。研究目的為測試穴位按壓和身心動作課程教育對原發性經痛的成效。立意取樣，事先取得研究對象書面同意後再進行本研究。符合條件的研究對象依其志願分配至實驗組或對照組。

實驗組除接受例行的經痛諮詢外，並且接受 18 週穴位按壓和身心動作課程教育，每週一次，每次兩小時；以及從月經開始日實施自我穴位按壓，每日一次，每次 12-24 分鐘，計 5 天，為期 12 週。對照組僅接受例行的經痛諮詢。主要的結果變項為(1)經痛指數：用短式 McGill 疼痛量表測量的疼痛感覺、疼痛情感、疼痛總分、當時疼痛的強度、疼痛視覺類比分數，疼痛視覺類比量表，(2)骨盆歪斜：左側骨盆垂直差距、右側骨盆垂直差距，左側骨盆傾斜的角度、右側骨盆傾斜的角度，以及(3)身體柔軟度：站姿體前彎、站姿體左側彎、站姿體右側彎、貓式動作。經痛指數測量六次：第一個月（前測）、第二個月（教育課程方案實施期間）、第三個月（教育課程方案實施期間）、第四個月（教育課程方案結束）、第五個月（追蹤期）、第六個月（追蹤期）；骨盆歪斜和身體柔軟度測量二次：第一個月（前測）、第四個月（教育課程方案結束）。研究假設（一）實驗組的經痛指數（短式 McGill 疼痛量表，疼痛視覺類比量表分數）之改善比對照組的為佳。（二）實驗組的骨盆歪斜（左側骨盆垂直差距、右側骨盆垂直差距、左側骨盆傾斜的角度、右側骨盆傾斜的角度），和身體柔軟度（站姿體前彎、站姿體左側彎、站姿體右側彎、貓式動作）分數之改善，比對照組的為佳。

（一）研究場所及收案條件

研究對象為有原發性經痛問題的女大學生，收案場所在國立台東大學。研究對象必須符合下列條件：(1)年紀 18 歲以上，最近六個月內經痛兩次以上者。(2)穴位周圍無感染、損傷及潰瘍等情形。(3)目前未服用抗止痛劑。(4)意識清楚，無精神科疾病，能表達意見者。(5)之前沒有參與過任何有關於經痛介入措施之研究。(6)瞭解研究目的，能以國台語溝通，並同意參與本研究。(7)有能力學習穴位按壓和身心動作教育自我照護方案，並願意自行執行者。個案若有以下情況則排除：(1)懷孕婦女。(2)主訴有貧血、正在接受輸血、或者使用類固醇(steroids)治療者。

（二）穴位按壓和身心動作的課程教育

穴位按壓和身心動作的課程教育實施方式是於 99 學年度下學期的通識教育中，由馬素華老師在大學部開設「穴位按壓與經痛」

選修課程，以患有經痛之學生為對象每學期40-50名，進行18週穴位按壓與身心動作的教育課程（自100年3月中起到6月中止）。每週一次，每次二小時。研究者事先上網公告本課程之實施目標、內容及授課大綱，並透過學生之訊息傳遞，來尋得實驗組研究對象；另外在校內張貼海報，徵詢患有經痛但無法選修課程的同學做為對照組研究對象。

1. 穴位按壓

(1) 穴位的選擇：依據文獻選取和經痛相關、且方便容易按壓的穴位。選擇的穴位有三陰交、太沖、血海穴、氣海、關元、合谷等六處為主穴，足三里、陰陵泉、內關、內庭、風池、百會為副穴，來改善經痛之問題。三陰交、合谷緩解疼痛，太沖、血海緩解因為經血排出不順暢導致的腹痛，氣海、關元緩解寒凝導致的腹痛，兼有腹瀉加足三里、陰陵泉，兼有反胃嘔吐加內關、內庭，兼有頭痛、頭暉加風池、百會。以下針對這十二個穴位的穴位所屬、效能、體表定位、取穴方法與步驟、以及適應症做說明。

a. 三陰交

穴位所屬：為足太陰脾、足厥陰肝、足少陰腎三脈之會穴。
亦為回陽九針之一。

效能：健脾化濕，疏肝益腎。

體表定位：將內踝至陰陵泉等分十三寸，內踝上3寸處。

取穴：正坐或屈膝仰臥，從內踝尖直上3寸，靠脛骨後緣的地方取之。

適應症：脾病身重、脾胃虛弱、不思飲食、食不消化、心腹脹滿，食後吐水、婦人癥瘕、四肢不舉、月經不調、妊娠胎動、崩漏、帶下、經閉、不孕、難產、死胎、產後惡露不行、血暈、夢遺失精，陰莖痛、小便不利、遺尿、白濁、疝痛、足痿、痺痛、腰痙攣腳氣、小兒客忤、手足逆冷、濕痺、髀中痺不得行、膝內廉痛、心悲、癲疾、喉痺、項頸滿、肺脹痰嗽不得臥、臍下痛不可忍。

b. 太沖

穴位所屬：為足厥陰肝經之所注，俞土穴。

效能：清熄肝火肝陽，疏泄下焦濕熱。

體表定位：在大趾、次趾合縫後兩寸，二蹠骨接合處，前

方凹陷中。

取穴：正坐或屈膝仰臥，按取第一、第二蹠骨連接部之直前陷中取之。

適應症：頭痛、胸脅痛、足痛、陰痛、腰痛、小腹痛、環臍痛、暴發火眼、漏下、陰縮、癃閉、遺尿、驚風、洞泄、肋下支滿、膝外廉痛、淫樂脛痠、唇喎、足寒、大便難、黃疸溫疫毒、腹中雷鳴、嘔逆不食、淋病、虛勞浮腫、寒濕腳氣痛、產後出汗不止、月水不通、乳癰。

c.血海

穴位所屬：足太陰脾脈氣之所發。

效能：調血清血，宣通下焦。

體表定位：在大腿內側前下部，股內收肌的隆起上，距膝蓋上緣二寸處。

取穴：正坐屈膝垂足，股骨內上髁上兩寸，股內收肌的突起中點處取之。

適應症：頭痛咳逆、咽腫、顏面痛、手腕無力、半身不遂、男子陰痛、尿血出精、口眼喎斜、小兒驚風、寒熱、牙痛、胸滿、肩背熱痛、四肢暴腫、指掌痛、小便熱痛。

d.氣海

穴位所屬：屬任脈。任脈氣之所發，男子生氣之海。

效能：調氣機，補腎虛。

體表定位：前正中線，曲骨至臍為五寸，臍下 1.5 寸。

取穴：仰臥，在臍下 1.5 寸，腹正中線上取之。

適應症：赤白帶下、月事不調、不孕、產後惡露不止、陰症卵縮、脫腸、四肢厥冷、真氣不足、疝氣、腰痛、小兒遺尿、大便不通、肚痛、心痛、水腫、卒中虛脫、小兒囟門不合、遺精、中暑、驚恐不臥、便血、陽萎、腹脹、痛經。

e.關元

穴位所屬：屬任脈。足三陰、任脈之會。小腸之募穴。

效能：培腎固本，調氣回陽。

體表定位：前正中線，曲骨至臍為五寸，臍下 3 寸。

取穴：仰臥，在臍下 3 寸，腹正中線上取之。

適應症：經病帶下、經閉、不妊、惡露不止、卒中脫症、諸虛百損、腎厥頭痛、中署、頭眩痛、身盡熱、寒熱不節、腎虛氣喘、潮熱咯血、腦疽發背、疔瘡惡毒、消渴、脅痛、便血、五淋、七疝、失精、泄痢、臍下絞痛、暴疝、溺血、遺尿、尿頻或不能尿、噁心、水腫、霍亂、痛經、子宮脫垂。

f.合谷

穴位所屬：手陽明大腸經之原穴。

效能：疏風、解表、鎮痛、通絡。

體表定位：在第一掌骨與第二掌骨間，靠近第二掌骨之中點處。

取穴：俯掌，拇指與食指張開，以另一手的拇指指關節橫紋放在虎口上，以拇指尖朝第二掌骨方向壓下，所達之處取之。

適應症：中風口噤、口眼喎斜、熱病汗不出、多汗、經閉、頭翳、目痛、鼻衄、耳聾、牙痛、面浮、喉痺、指挛、臂痛、疥瘡、瘡不能言、風疹、偏正頭風、小兒疳眼、發熱惡寒、頭痛脊強、小兒乳蛾、不死胎、墮胎、小兒雀目、心痛。

g.足三里

穴位所屬：足陽明胃經脈氣之所入，為合土穴，亦回陽九針之一。

效能：理脾胃、調氣血、補虛弱。

體表定位：在犢鼻穴直下三寸，脛骨前緣外開約一寸處。

取穴：四種取穴法。正坐屈膝，病人以手掌心按膝蓋，中指向下貼脛骨上，中指盡處取之；正坐屈膝，由犢鼻穴直下三寸（或四橫指），距脛骨一橫指處取之；正坐屈膝，在膝蓋下方可摸到脛骨粗隆，在脛骨粗隆的外下緣一寸處取之；脛骨粗隆不明顯時，可由胆經之陽陵泉穴下一寸平齊，距脛骨一橫指之處取之。

適應症：脘痛脹滿、胃中寒、小腹腫痛不得小便、大便虛秘、骨膝脛痺、嘔吐、瀉痢、腹痛、膈咽不通、飲食不下、癰瘍、口渴、癲癇、腳氣、腳腫、發熱、煩悶身熱、善噫、腰痛不可以顧、胸脇支滿、

熱病先頭重額痛、乳癰、蠱毒痃癖、四肢腫滿、五勞七傷、胸中瘀血、不能遠視、心悸虛煩、指頭麻木、骨腿疼、遺尿、腸鳴、目疾、喉痺、耳鳴。

h.陰陵泉

穴位所屬：足太陰脾脈氣之所入，為合水穴。

效能：上通巔胞，下調胎產。

體表定位：在脛骨內側髁直下方陷窩中，與脛骨粗隆下緣平，亦即縫匠肌之附著部，與陽陵泉穴相對。

取穴：正坐或屈膝仰臥，在脛骨內側髁直下方陷窩中，與脛骨粗隆下緣平處取之。

適應症：腹中寒、腹中氣脹、洞泄不化、嗜食、腸中切痛、脇下滿、水腫腹堅、小便不利或失禁、寒熱、陰痛、遺精、霍亂、痺痛、腰腿膝痛、腳氣水腫、疝氣。

i.內關

穴位所屬：手厥陰心包脈之絡穴，別走少陽，與陰維相通。為八脈交會穴之一。

效能：寧心安神，理氣鎮痛。

體表定位：掌後二寸兩筋間，即曲澤與大陵間的十二分之二處，近大陵。

取穴：仰掌，在掌後第一橫紋正中直上2寸，當兩筋中間處取之。

適應症：心痛、虛煩、心惕惕、癲狂、翻胃嘔吐、脾胃不和、胸肋諸疾、發熱無汗、瘧疾、黃疸、目赤、肘臂腕痛、腋腫支滿、臟腑虛寒、脫肛不收、健忘錯亂、中風、臟毒便血、強心定喘。

j.內庭

穴位所屬：足陽明脈之所溜，為榮水穴。

效能：清胃泄熱、理氣鎮痛。

體表定位：位于足背，在第二蹠趾關節前方，二、三趾縫間的橫紋頭處。

取穴：正坐或屈膝仰臥，按取二、三趾縫端取之。

適應症：齒痛、喉痺、口渴、口噤、鼻衄、腸滿脹、夾臍急痛、泄瀉、赤白痢、足背腫痛、發熱、噫病、

食不化、脛病不可屈伸、瘧不嗜食、惡寒、寒瘧而腫、小便出血、小腹脹滿、腸鳴、癰瘍、耳鳴。

k.風池

穴位所屬：手足少陽、陽維、陽蹻之會穴。

效能：祛風解表、疏邪清熱、明眼目、利機關。

體表定位：在乳突後方，項肌隆起外側緣，與耳垂相平處。

取穴：從脖子後面正中入頭髮際內 1 寸，與耳後乳突下緣成一連線，連線的中點處取之。

適應症：鼻淵、鼻衄、項強痛、目赤痛、感冒、瘧疾、耳聾、耳鳴、中風偏症風、頭痛、傷寒熱不出、頸項如拔痛不得回顧、腰背痛、僵僂引頸、肋力不收、腳無力、頭暈目眩、失眠、目淚出、癲疾。

l.百會

穴位所屬：屬督脈，為手足三陽督脈之會。

效能：開竅寧神、平肝息風、升陽固脫。

體表定位：從前髮際至後髮際分作十二等分，距前髮際五分後髮際七分處，當頭頂正中線上。

取穴：正坐或仰臥，從兩耳尖直上，當頭頂之正中，亦即兩耳尖聯線與矢狀縫交叉點之凹陷中取之。

適應症：驚悸、健忘、癲狂、癲癇、屍厥、頭痛、目眩、耳鳴、耳聾、風眩頭重、目不能視、鼻塞、癲頂痛、脫肛、陰挺、痔疾、中風、言語蹇塞、口噤不開、偏風、半身不遂、心煩悶、食無味、頭痛眩暈。

(2)操作手法、處置時間、指壓力度

穴位施壓時使用點、按、揉、推的技巧。穴位按壓力度以個案能夠忍受的程度為主，相當於與人堅定地握手的力量，產生酸麻脹重、不痛、很舒服的感覺。採用放鬆的、舒服的、自然的、能夠完全地移動手指和使出力量的姿勢。研究者教導個案使用拇指或指關節按壓穴位，每秒旋轉 2-3 圈，持續壓迫每一穴位一分鐘。實施方式從月經開始日實施自我穴位按壓，每日一次，每次 12-24 分鐘，計 5 天，為期 12 週。

2. 身心動作教育

本研究的身心動作教育內容主要是肌膜動作探索，在輕鬆

的動作加上呼吸的配合下，專注在肌膜延展的每一個過程中，以鬆弛身體的緊繃和僵硬，達到疏解壓力、減輕經痛的目的。課程內容包括「概念性結構認知」與「操作性動作學習」二個部份，概念性結構認知是以「身體表面構圖」(Body Mapping)的學習為主，針對腹式呼吸的方法、頭與頸的關係、脊椎、髖關節及骨盆結構的學習為主題；操作性動作學習以「身體歸零與放鬆」、「結構調整系列」、「近端運動」及「軟球活動」等四個系列。

(三)研究工具

研究工具包括個案基本資料，短式 McGill 疼痛量表，疼痛視覺類比量表，骨盆歪斜和身體柔軟度檢測，分述如下。

1. 個案基本資料表

本研究的個案基本資料表是依參考文獻及研究目的而擬定，內容包括：出生年月，初經年齡，經痛開始年齡，月經週期，行經天數，最近一次月經，有無下列疾病：心臟病、惡性腫瘤、血栓性靜脈炎、肺結核、其他，經痛的時間從何時開始，經痛持續的時間是到何時結束，經血的顏色，經血中含有血塊，月經量，有無下列婦科疾病：子宮內膜異位、子宮腫瘤、子宮頸狹窄、骨盆腔炎、其他等資料。

2. 短式 McGill 疼痛量表

McGill 疼痛問卷自 1975 年發展至今，廣泛的應用在不同疼痛問題的研究如手術後、癌症、生產等，本研究是採用短式 McGill 疼痛量表(Melzack, 1987)。此量表含 15 題疼痛的相關評估 (11 題是感覺部份、4 題為情感性評估，1-15 題的總和為疼痛的總分)，每項分四個等級來代表疼痛的反應：0 表示「無」、1 代表「輕微」、2 代表「中度」、3 為「嚴重」，短格式 McGill 疼痛量表中譯表採用專家效度，整份問卷量表的內容效度指數值高於 0.90，高程度的支持此問卷的效度（莊美華，2001）。McGill 疼痛問卷包含五個分數：疼痛感覺、疼痛情感、疼痛總分、當時疼痛的強度、疼痛視覺類比分數。

3. 疼痛視覺類比量表(pain visual analogue scale, PVAS)

疼痛視覺類比量表於 1974 年由 Huskinsson 所發展，是一條 10 公分的直線，以評估主觀的感受，在最左邊標示出 不痛，最右邊標示出極度疼痛，請該個案自行選出代表其疼痛程度的點。於行經期及行經期前開始感覺疼痛時，開始記錄，一直到

經期後三天止，每天記錄經痛的情形做為經痛改善成效之評估。

4. 骨盆歪斜和身體柔軟度檢測(body alignment scale)

於 18 週課程進行的前後，實驗組與對照組都進行檢測，項目包括下列：骨盆歪斜（左側骨盆垂直差距、右側骨盆垂直差距，左側骨盆傾斜的角度、右側骨盆傾斜的角度），和身體柔軟度（站姿體前彎、站姿體左側彎、站姿體右側彎、貓式動作）。本研究使用 Qualisys Track Manager (QTM) (QUALISYS, SWEDEN) 電腦軟體系統一組，記錄三維座標收集資料。Qualisys Track Manager 包括四台高速攝影機（型號：ProReflex），擷取頻率 240Hz。擷取系統 x 軸代表動作前後方向，y 軸為左右方向，z 軸為垂直方向。將 L 型校正架放置於受試者受測位置，以 T 型校正棒在 L 型校正架上方揮舞，讓紅外線攝影機擷取校正棒上反光球在空間中的相對位置，建立空間三維座標。

骨盆歪斜之測量是一位研究助理用膠帶將反光球（半徑 1 公分）貼在個案體表正面的左右胸鎖關節、髂前上棘、髂骨與側面的耳後、肩峰、大轉子、膝蓋外緣、腳外踝等處，個案脫鞋站立於檢測區內。本研究中骨盆歪斜是指骨盆在水平結構上與垂直結構面上的歪斜。正常的骨盆結構：在髂前上脊與恆骨聯合畫出一條垂直的連接線 (z 軸)，從尾骨底端和恆骨聯合畫出一條水平的連接線 (x 軸)，再在水平線 (x 軸) 與垂直線 (z 軸) 的交點上，畫出一條通過股骨頭前緣的斜線 (y 軸)，此斜線 (y 軸) 與水平線 (x 軸) 的夾角大約為 60 度，此 60 度角就是骨盆往前傾斜的角度（圖 1）(Dreas Reyneke, 2002)。髂關節（大轉子反光球）與髂前上脊反光球兩點成一條斜直線 (y 軸)；再由頭頂劃一條通過髂關節的垂直線 (z 軸)；另外再劃一條通過關節的水平直線 (x 軸)，此三條線交於髂關節；最後，量出斜直線 (y 軸) 與水平直線 (x 軸) 的夾角度數，而夾角度數的改變即為骨盆傾斜的角度。左右髂前上脊反光球與最靠近之水平直線 (x 軸) 的距離差即是骨盆垂直的差距。

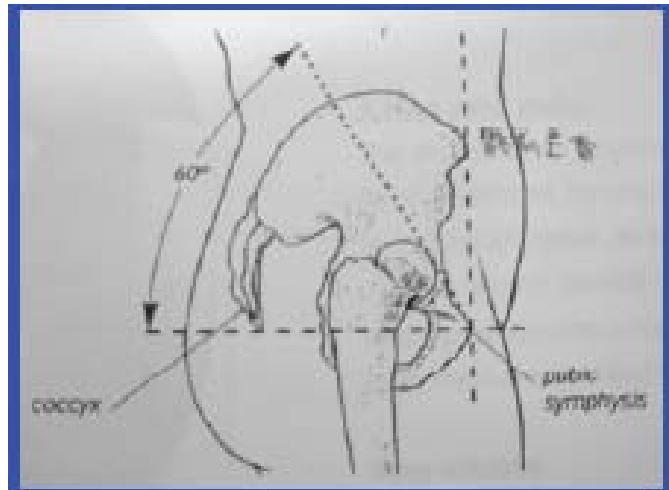


圖1、骨盆傾斜角度（引自Dreas Reyneke, 2002）

身體柔軟度之測量是研究助理用膠帶將反光球貼在個案體表的中指指尖，讓個案雙手五指交疊高舉過頭，彎曲身體往下伸展至最大。當身體伸展至最大時，停留二秒，中指指尖反光球到地面的距離即是站姿體前彎。站姿體側彎之測量是讓個案雙手自然下擺放於身體兩側，身體背靠牆壁。頭部、肩膀、臀部、後腳跟與牆貼緊，先向左彎曲，停留二秒，左手中指指尖反光球到地面的距離即是站姿體左側彎。然後，把身體先回到中間位置，再向右彎曲，停留二秒，右手中指指尖反光球到地面的距離即是站姿體右側彎。最後讓個案以身體左側面對鏡頭，以雙手雙腳著地，頭頂朝前的姿勢與地板接觸。手掌要在肩膀正下方，膝蓋要在髖關節正下方的位置，依照指導語做動作，吸氣背拱起，研究助理用膠帶將反光球貼在個案體表背的最高處（a點）；吐氣時背下壓，研究助理用膠帶將反光球貼在個案體表背的最低處（b點）；背的最高處（a點）減去背的最低處（b點）的差即為貓式動作的分數。

(四)個案權益保護

本研究計畫已經獲得收案機構倫理委員會(IRB)審核通過。正式收案前，會向個案說明本研究的研究目的、研究過程及研究方法。事先說明在研究進行中若有任何與研究相關問題，研究者會給予適切回答，並告知若個案不願意參加或研究期間不願意繼續參與者，均可以不參與或隨時終止，並不會影響之後的師生關係。有關研究對象的基本資料絕對予以保密，在研究結果以編碼後的資料呈現，僅提供學術之用途，絕不任意公開或移為他用，以確保研究對象的隱私權。

(五)資料處理及統計方法

實驗結果採用實際完成措施的情形，不包括不遵循及中途退出之個案，作資料分析。資料回收後，進行譯碼並輸入電腦，以 SPSS 18.0 統計套裝軟體分析處理，並訂定顯著水準為 0.05。研究對象的基本資料中，類別、序位資料以次數分配、百分比來進行分析，而連續性資料則以平均值、標準差的描述性統計分析。介入措施前、後的量表分數採用廣義估計方程式(Generalized estimating equations, GEE)分析實驗組與對照組個案之疼痛與身體結構排列是否會隨時間點而有所不同。

參、結果

一、研究對象的特性

本研究自民國100年2月至100年9月，共收集67位個案進行研究，其中實驗組44位、對照組23位。個案基本屬性中（見表1）：年齡介於18-27歲之間，平均20.25歲，標準差為2.05；初經年齡9-16歲之間，平均12.51歲，標準差為1.40，其中11-14歲初經來潮者占88.00%；經痛發生於初經後0-11年間，平均2.54年，標準差為2.33，而經痛發生於初經後0-2年者占57.20%；行經天數3-7天者共55位占82.08%；月經週期為21-35天者共45位占93.75%；運動型態中有49人(73.13%)有運動習慣。

而經痛相關資料方面（見表1）：經痛發生於月經開始時的24-48小時為最常見，有45人(67.20%)，經痛結束於月經開始的24-72小時有61人(91.00%)。而常見之經痛症狀為虛弱無力41人(61.20%)，其次為腹瀉35人(52.20%)、眩暈22人(32.80%)、頭痛18人(26.90%)、噁心14人(20.90%)、昏厥或嘔吐較少見。經痛處理方式，以臥床休息49人(73.10%)、腹部熱敷32人(47.80%)及自行服用止痛藥19人(28.40%)最常被使用；而會尋求醫師（中、西醫）協助8人(12.00%)。經痛所造成的影響方面：人際關係受到輕度影響有35人(52.20%)；日常生活因經痛而受到輕微影響者有33人(49.30%)；而經痛對運動狀況輕微影響的有28人(41.80%)。在經痛性質中，熱敷可減輕疼痛者有30人(44.80%)、隱隱作痛39人(58.20%)、絞痛23人(34.3%)。此外，實驗組及對照組研究個案資料以t-test統計分析，基本屬性僅有年齡與身高達統計上顯著差異($p<.05$)（見表2）。

二、研究對象接受介入措施前參數之分析

接受介入措施前參數之分析（見表3）僅有貓式動作達統計上顯著差異($p<.05$)。考量樣本數小，仍將兩組視為同質性群體，進行後續的統計分析。

三、資料常態分佈檢定

將原始資料排序後，運用分位數所繪製之(quantile-quantile plot, Q-Q plot)圖形，可用來判定資料是否符合常態分佈狀態。由圖2至15常態機率圖可以看出各結果變項在各測量時間點之觀察值累積機率多數坐落於最小平方線上，表示資料多符合常態分佈。

四、經痛指數

本研究以短式 McGill 疼痛量表之疼痛感覺、疼痛情感、疼痛總分、當時疼痛的強度、疼痛視覺類比分數、及疼痛視覺類比量表評估個案的經痛指數。實驗組及對照組的經痛指數分佈見表 4。以短式 McGill 疼痛量表之疼痛感覺分數為例，實驗組於前測時平均值為 7.48 ± 5.34 ，經過十八週穴位按壓和身心動作的課程教育後，第四個月已減少至 5.13 ± 4.26 ，第五個月和

第六個月追蹤期更減少至 4.57 ± 4.00 和 3.24 ± 2.84 ；而對照組的短式 McGill 疼痛量表之疼痛感覺則由前測時的 8.35 ± 6.64 減少至第四個月時的 6.89 ± 5.46 ，至第五個月和第六個月的 6.64 ± 5.28 和 3.89 ± 3.62 。另由圖 16 至 21 盒鬚圖，可見實驗組在各測量時間點的短式 McGill 疼痛量表之分數與疼痛視覺類比量表分數均較對照組低，且隨著時間增長，分數有減少趨勢，而對照組雖有小幅減少，但變化不大。

五、骨盆歪斜

本研究以左側骨盆垂直差距、右側骨盆垂直差距，左側骨盆傾斜的角度、右側骨盆傾斜的角度評估個案的骨盆歪斜。實驗組及對照組的骨盆歪斜分佈見表 5。以左側骨盆傾斜的角度為例，實驗組於前測時平均值為 64.99 ± 10.33 ，經過十八週穴位按壓和身心動作的課程教育後，第四個月已減少至 64.42 ± 7.60 ；而對照組左側骨盆傾斜的角度則由前測時的 64.50 ± 10.24 增加至第四個月時的 65.66 ± 9.08 。另由圖 22 至 25 盒鬚圖，可見實驗組在各測量時間點的左側骨盆垂直差距、右側骨盆垂直差距，左側骨盆傾斜的角度、右側骨盆傾斜的角度均較對照組低，且隨著時間增長，分數有減少趨勢，而對照組雖有小幅減少，但變化不大。

六、身體柔軟度

本研究以站姿體前彎、站姿體左側彎、站姿體右側彎、貓式動作評估個案的身體柔軟度。實驗組及對照組的身體柔軟度分佈見表 6。以站姿體前彎分數為例，實驗組於前測時平均值為 2.13 ± 103.49 ，經過十八週穴位按壓和身心動作的課程教育後，第四個月已增加至 2.40 ± 101.89 ；而對照組的站姿體前彎則由前測時的 49.51 ± 104.38 減少至第四個月時的 49.15 ± 88.71 。另由圖 26 至 29 盒鬚圖，可見實驗組在各測量時間點的站姿體前彎與貓式動作分數均較對照組低，且隨著時間增長，分數有增加趨勢，而對照組卻有小幅減少；實驗組在各測量時間點的站姿體左側彎與站姿體右側彎分數均較對照組低，且隨著時間增長，分數有小幅減少趨勢，而對照組也有減少，但幅度較大。

七、實驗組接受教育課程後與對照組在經痛指數的成效

依前述盒鬚(Box-Plots)之結果顯示，兩組間的圖型走勢有差異或 GEE 分析時達顯著差異($p < 0.05$)者，將時間及組別的交互作用放入模式中，否則不放交互作用項。在 GEE 分析中，調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測等共變項。調整年齡、身高，因為在前測原始資料比較時，實驗組與對照組有達到統計上顯著差異（見表 2）。調整運動習慣因為柯惠玲(2004)針對青少女運動行為與經痛的相關研究發現，運動頻率高者較無運動頻率者有較低的經痛疼痛程度。

參與本研究之兩組 67 位個案於第一個月、第二個月、第三個月、第四個月、第五個月、第六個月的經痛指數差異如下：以對照組為參考組。疼痛感覺經調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測之效應後，兩組於第一個月開始至第六個月在沒有時間組別交互作用下，兩組間達到統計學上差異($P<0.001$)，表示兩組都有進步，兩組在研究期間平均得分實驗組比對照組在第二個月、第三個月、第四個月、第五個月、及第六個月分別減少 1.67、1.41、1.88、1.79、及 3.22 (表 7)。另外，當時疼痛的強度前測與疼痛感覺有顯著相關 (p 值為 0.01)。

疼痛情感經調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測之效應後，兩組於第一個月開始至第六個月在沒有時間組別交互作用下，兩組間達到統計學上差異($P<0.001$)，表示兩組都有進步，兩組在研究期間平均得分實驗組比對照組在第二個月、第三個月、第四個月、第五個月、及第六個月分別減少 1.86、1.81、2.18、2.27、及 2.73 (表 8)。另外，當時疼痛的強度前測與疼痛情感有顯著相關($p<0.001$)。

疼痛總分經調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測之效應後，兩組於第一個月開始至第六個月在沒有時間組別交互作用下，兩組間達到統計學上差異($P<0.001$)，表示兩組都有進步，兩組在研究期間平均得分實驗組比對照組在第二個月、第三個月、第四個月、第五個月、及第六個月分別減少 3.53、3.23、4.08、4.04、及 5.94 (表 9)。另外，當時疼痛的強度前測與疼痛總分有顯著相關($p=0.001$)。

當時疼痛的強度經調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測之效應後，兩組於第一個月開始至第六個月在沒有時間組別交互作用下，兩組間達到統計學上差異($P<0.001$)，表示兩組都有進步，兩組在研究期間平均得分實驗組比對照組在第二個月、第三個月、第四個月、第五個月、及第六個月分別減少 .58、.44、.51、.51、及 .66 (表 10)。另外，疼痛強度前測與經痛疼痛強度有顯著相關($p<0.001$)。

疼痛視覺類比分數經調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測之效應後，實驗組在第二個月、第三個月、第四個月、第五個月、及第六個月疼痛視覺類比分數與第一個月相比之改變量比對照組在第二個月、第三個月、第四個月、第五個月、及第六個月與第一個月相比之改變量平均分別減少 1.21、1.44、1.07、1.61、及 1.82，其中第三個月與第五個月達統計上顯著差異 (p 值分別是 .030、.038) (表 11)。另外，當時疼痛的強度前測與疼痛視覺類比分數有顯著相關 (p 值為 0.007)。

疼痛視覺類比量表經調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測之效應後，兩組於第一個月開始至第六個月在沒有時間組

別交互作用下，兩組間達到統計學上差異($P<0.001$)，表示兩組都有進步，兩組在研究期間平均得分實驗組比對照組在第二個月、第三個月、第四個月、第五個月、及第六個月分別減少 16.51、14.07、15.99、14.71、及 21.37 (表 12)。

八、實驗組接受教育課程後與對照組在骨盆歪斜的成效

參與本研究之兩組 67 位個案於第一個月和第四個月的骨盆歪斜差異如下 (表 13-表 16)，以對照組為參考組。左側骨盆垂直差距經調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測之效應後，實驗組與對照組在第一個月前測時即有顯著差異($p<0.001$)。

對照組在第四個月之左側骨盆垂直差距平均值比第一個月增加 136.70，且達統計上顯著差異($p<0.001$)；實驗組在第四個月之左邊骨盆垂直差距與第一個月相比之改變量比對照組在第四個月與第一個月相比之改變量平均減少 234.61，且達統計上顯著差異($p<0.001$)。

右側骨盆垂直差距經調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測之效應後，實驗組與對照組在第一個月前測時即有顯著差異($p<0.001$)。對照組在第四個月之右側骨盆垂直差距平均值比第一個月增加 137.03，且達統計上顯著差異($p<0.001$)；實驗組在第四個月之左邊骨盆垂直差距與第一個月相比之改變量比對照組在第四個月與第一個月相比之改變量平均減少 230.33，且達統計上顯著差異($p<0.001$) (表 13-表 14)。

左側骨盆傾斜的角度經調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測之效應後，兩組於第一個月開始至第四個月在沒有時間組別交互作用下，兩組間沒有達到統計學上差異($p=.67$)，兩組在研究期間平均得分實驗組比對照組在第四個月減少.65 (表 15)。另外，使用止痛藥與左側骨盆傾斜的角度有顯著相關($p=.04$)。

右側骨盆傾斜的角度經調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測之效應後，兩組於第一個月開始至第四個月在沒有時間組別交互作用下，兩組間沒有達到統計學上差異($p=.95$)，兩組在研究期間平均得分實驗組比對照組在第四個月增加.10 (表 16)。另外，年齡與右側骨盆傾斜的角度有相關($p=.05$)。

九、實驗組接受教育課程後與對照組在身體柔軟度的成效

參與本研究之兩組 67 位個案於第一個月和第四個月的身體柔軟度差異如下 (表 17-表 20)，以對照組為參考組。站姿體前彎經調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測之效應後，兩組於第一個月開始至第四個月在沒有時間組別交互作用下，兩組間沒有達到統計學上差異($p=.78$)，兩組在研究期間平均得分實驗組比對照組在第四個月增加 3.09

(表 17)。

站姿體左側彎經調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測之效應後，兩組於第一個月開始至第四個月在沒有時間組別交互作用下，兩組間達到統計學上差異($p=.025$)，表示兩組都有進步，兩組在研究期間平均得分實驗組比對照組在第四個月增加 15.56 (表 18)。

站姿體右側彎經調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測之效應後，兩組於第一個月開始至第四個月在沒有時間組別交互作用下，兩組間達到統計學上差異($p=.05$)，表示兩組都有進步，兩組在研究期間平均得分實驗組比對照組在第四個月增加 14.24 (表 19)。另外，身高與站姿體右側彎有顯著相關($p=.03$)。

貓式動作經調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測之效應後，兩組於第一個月開始至第四個月在沒有時間組別交互作用下，兩組間沒有達到統計學上差異($p=.38$)，兩組在研究期間平均得分實驗組比對照組在第四個月增加 3.31 (表 20)。

肆、討論

在研究對象的特質方面，本研究結果與文獻所述相同，原發性經痛主要發生於 13-19 歲的少女（李開端等，1997；胡月娟等，1997；馮容莊、馮琪瑩，1997），可能會持續好幾年才自然消失。而原發性經痛只有排卵現象產生後才發生，通常出現在初經來潮後 1-2 年，因為此時排卵功能已建立（田聖芳等，1997；Lowdermilk et al., 1999），其最高的發生率是初經後的五年間（楊尚賢，1988）。原發性經痛的特徵為在經期開始後 12-24 小時達到高峰、持續時間通常不超過 48 小時，以後症狀逐漸緩和（李俊德、林重賢、徐振傑、許德耀、梁景忠、鄭博仁，1990；梅翔、黃碧松，1998；連義隆，1999；馮容莊、馮琪瑩，1997；詹益宏，1992；劉飛白，1985）。依照中醫的辨證研究對象大部份是寒證、實證、血瘀較多，因為用熱則痛減輕為「寒」，經前和經期中痛屬「實」，以「痛」為主屬血瘀（顧俊，1984；吳華強，1999）。

在成效指標方面，研究結果顯示接受穴位按壓與身心動作教育課程對於經痛之改善有正面的實質效益。調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、及當時疼痛的強度前測之效應後，實驗組的用短式 McGill 疼痛量表測量的疼痛視覺類比分數在第三個月（教育課程實施中）、第五個（追蹤期）月與第一個月相比之改變量比對照組之改變量進步，達統計上顯著性差異。文獻指出柯曼妮(2003)以 Billig exercise、瑜珈之伸展運動-貓式、犬式、蛇式、吉祥式及 Golub exercises 二式之運動治療青少女的經痛，其結果為青少女對經痛的感覺及程度可有效的緩解。林大豐、劉美珠(2006)以身心動作教育針對大學女性經痛改善之效果，發現身心動作教育對於女性運動員與非運動員在疼痛指數有顯著的改善效果。本研究亦是藉由動作的方式，使骨盆周圍肌群獲得伸展與放鬆，因而增加肌肉伸展的空間與活動度，與上述學者的研究結果相一致。

其次，接受穴位按壓與身心動作教育課程對於骨盆歪斜之改善似乎有正面的實質效益。本研究調整年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、及當時疼痛的強度前測之效應後，實驗組左側骨盆垂直差距和右側骨盆垂直差距在第四個月（教育課程結束）與第一個月相比之改變量比對照組之改變量進步，達統計上顯著性差異。文獻指出針對骨盆所設計之動作能使骨盆周圍的肌群獲得一定程度的伸展。Billig (1943)透過規律性韌帶伸展運動有效的使韌帶慢慢拉長放鬆，得以調整骨盆治療經痛。由於本報告是第一年研究計畫的成果報告，還沒有足夠的資料據以說明骨盆差異是否與經痛有關。將在第二年研究計畫的成果報告，根據研究結果與文獻比對後說明骨盆差異是否與經痛有關。

兩組都有進步的參數包括用短式 McGill 疼痛量表測量的疼痛感覺、疼痛情感、疼痛總分、當時疼痛的強度，疼痛視覺類比量表，站姿體左側彎及站姿體右側彎。對照組的經痛指數也進步的原因可能是受到實驗組的影響，因為實驗組與對照組可能是同班同學或者是同一學系，彼此可能互相學習。而且原發性經痛是身/心/環境/社會互動下的表徵，外在環境的改變就可能影響經痛的感受。

本研究結果有幾項特色，分述如下：(1)在研究設計方面，本研究在教育課程結束後持續進行追蹤研究，探討穴位按壓與身心動作教育課程有效改善經痛之後續發展。(2)在研究工具方面，過去穴位按壓的研究大部分局限在個案的主觀資料評估穴位按壓的功效，本研究用客觀資料評估穴位按壓的功效。(3)在介入措施方面，證實穴位按壓與身心動作是安全、易學、易用、免費、很快地見效、簡單、自然、非侵入性，不需要醫學或特別的器具，只需要確認穴位與身心動作的知識、技術與專心，容易學會、隨時隨地可以使用，可以自我施行以解除微恙，人人皆可執行的健康照顧療法。

伍、結論與未來計畫目標及方法

一、結論

本研究自民國100年2月至100年9月，共收集67位個案進行研究，其中實驗組44位、對照組23位。研究結果顯示(1)有原發性經痛問題的女性大學生接受18週穴位按壓和身心動作課程教育者比未接受者，用短式McGill疼痛量表測量的疼痛視覺類比分數之改變量在第三個月與第五個月平均減少1.44、1.61，且達統計上顯著差異(p 值分別是.030、.038)。(2)有原發性經痛問題的女性大學生接受18週穴位按壓和身心動作課程教育者比未接受者，左邊骨盆垂直差距之改變量在第四個月平均減少235.564，且達統計上顯著差異($p<0.001$)。(3)有原發性經痛問題的女性大學生接受18週穴位按壓和身心動作課程教育者比未接受者，右邊骨盆垂直差距之改變量在第四個月平均減少230.31，且達統計上顯著差異($p<0.001$)。

二、未來計畫目標及方法

(一)在研究的第二年補足預期的研究樣本數。具體做法擬定如下：

(1)事先上網公告本課程實施目標、內容及授課大綱，在校園內張貼海報。(2)於各學系各年級開班會、體育課、軍訓課時間，由計畫主持人親自說明研究計畫內容，招募研究對象。(3)贈送所有研究對象一本「女性經痛自我照護手冊」，以及200元禮品，增加學生參與研究動機。(4)會特別加強招募對照組研究對象。

(二)消除干擾因子對研究結果將更有助益，根據研究結果與文獻比對後說明骨盆差異是否與經痛有關？對照組是否也有療效？

(三)將此教育課程內容加以整理成書籍出版，讓一般婦女容易取得，協助改善經痛的困擾。向教育部申請相關後續計畫經費，延續研究及推廣。

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CCMP99-RD-038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

中文部分

1. 田聖芳、馮容莊、蔣美蘭、湯玉英、李惠玲、張碧芬(1997)。實用婦科護理。台北：華杏。
2. 江正發(2006)。身心動作教育課程對大學女性學生經痛改善效果之研究。國立台東大學體育學系研究所碩士論文，未出版，台東縣。
3. 何弘能、陳信孚(1993)。月經與內分泌。台北：正中。
4. 吳華強(1999)。月經病的家庭療養。台北：書泉。
5. 李俊德、林重賢、徐振傑、許德耀、梁景忠、鄭博仁編譯(1990)。婦科門診手冊。台北：藝軒。
6. 李開端、徐菊枝、陳明珠、陳迺紅、陳翠卿、黃國儀、楊瓊晤、鄭惠珍、盧碧瑛(1997)。新編婦產科護理學。台北：永大。
7. 季瑋珠、張淑惠(1997)。初經年齡之世代研究。國科會研究計畫。編號：NSC88-2314-B002-115。
8. 林大豐、劉美珠(2006)。身心動作教育對大學女生月經疼痛改善之效果研究。中華民國大專院校 95 年度體育學術研討會專刊，530-535。
9. 邱敏惠(2001)。系統性護理指導對護校女生經痛知識、月經態度及經痛自我照顧行為之成效。高雄醫學大學護理研究所碩士論文，未出版，高雄市。
10. 柯曼妮(2002)。運動治療對緩解青少女痛經成效之探討。國立台北護理學院護理研究所碩士論文，未出版，台北市。
11. 胡月娟、陳淑月、馮容莊、楊雅玲、曾雅玲、廖天麟、張瑞莉(1997)。最新婦產科護理學。台北：匯華。
12. 孫嘉玲、黃美瑜、宋梅生、王秀香、張元貞(2005)。精油按摩對原發性痛經紓解效果之先驅研究。實證護理，1(3)，195-201。
13. 張惠芝(2003)。探討瑜珈訓練對原發性痛經患者體內同半胱胺酸及一氧化氮濃度之影響。國立台北護理學院中西醫結合護理研究所碩士論文，未出版，台北市。
14. 梅 翔、黃碧松(1998)。中醫疼痛治療學分論。台北：啟業。
15. 連義隆(1999)。痛經與經前症候群。載於楊友仕（主編），生殖內分泌及不孕症概要（頁105-114）。台北：健康。
16. 莊美華(2001)。穴位點指壓對改善痛經之成效。國立陽明大學臨床護理研究所碩士論文，未出版，台北市。
17. 陳淑月(1983)。某五專學生經期不適之探討。公共衛生，9(4)，451-462。
18. 陳淑月(1984)。中部地區五專女生經期不適及其相關因素之探討。公共

- 衛生，11(3)，360-375
19. 陳彰惠、洪志秀(1986)。高雄市國中一年級女生初經經驗之調查研究。公共衛生，13(3)，347-358。
 20. 馮容莊、馮琪瑩合譯(1997)。婦科護理學。台北：華杏。
 21. 楊尚賢(1988)。婦產科學。台北：藝軒。
 22. 詹益宏(1992)。婦幼衛生（第一輯）。台北：時報文化。
 23. 劉飛白(1985)。中醫婦產科學。台北：五洲。
 24. 蔡承惠(1994)。痛經、月經困難。台灣醫界，37(3)，205-206。
 25. 賴正均(1999)。經前症候群和痛經。北市中醫會刊雜誌，5(1)，31-41。
 26. 顧俊(1984)。中西醫結合治療婦科疾病及驗方。台北。

英文部分

1. Berek, J. S., Adashi, E. Y., & Hillard, P. A. (1996). *Gynecology*. Baltimore: Williams & Wilkins.
2. Dreas R. (2002). *Ultimate pliates: Achieve the perfect body shape*. Carlsbad CA: Hay House.
3. Finlay, F., Jones, R., & Kreitman, T. (2000). All about periods: Girls's sources. *Community Practitioner*, London, 73(6), 644.
4. Golomb, L. M., Solidum, A. A., & Warren, M. P. (1998). Primary Dysmenorrhea and physical activity. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 30(6), 906-909.
5. Kuling, J. W. (1990). Dysmenorrhea. In V. C. Strasburger (Ed.) *Basic Adolescent Gynecology: An Office Guide*. (pp.157-170). Baltimore: Urban & Schwarzenberg.
6. Lowdermilk, D. L., Perry, S. E., & Bobak, I. M. (1999). *Maternity Nursing*. St. Louis: Mosby, Inc.
7. Ryan, K. J., Berkowitz, R. S., & Barbieri, R. L. (1995). *Kistner's Gynecology*. St. Louis: Mosby-Year Book, Inc.
8. Smith, R. P. (1996). Menstrual discomfort. *Hospital Medicine*, 32(3), 47-48.
9. WHO(2002a). "Violence against women and HIV/AIDS: Setting the research agenda", Geneva: Meeting Report.
10. WHO(2002b). "World report on violence and health", Geneva: WHO.
11. WHO(2002c)."Adolescent reproductive health: Evidence and programme implications for South Asia", Mumbai: Report at the International Conference on Adolescent Reproductive Health.
12. WHO(2002d). "Sexual violence research initiative (SVRI)", Available:

<http://www.who.int/gender/violence/sexviolresearch/en/>

12. Melzack, R. (1987). The short-form McGill Pain Questionnaire. *Pain*, 30, 191-197.

柒、圖表

表 1、研究對象社會人口學特質

變項/ 分組情形	實驗組	對照組	總數
	N=44	N=23	N=67
	N(%)	N(%)	N(%)
年齡(1)			
18	9(20.5)	3(13.0)	12(17.9)
19	17(38.6)	4(17.4)	21(31.3)
20	4(9.1)	5(21.7)	9(13.4)
21	8(18.2)	1(4.3)	9(13.4)
22	5(11.4)	1(4.3)	6(9.0)
23	1(2.3)	2(8.7)	3(4.5)
24	-	5(21.7)	5(7.5)
25	-	1(4.3)	1(1.5)
27	-	1(4.3)	1(1.5)
年齡(2)			
初經年齡(1)			
9	-	2(8.7)	2(3.0)
10	3(6.8)	-	3(4.5)
11	7(15.9)	4(17.4)	11(16.4)
12	10(22.7)	4(17.4)	14(20.9)
13	16(36.4)	5(21.7)	21(31.3)
14	8(18.2)	5(21.7)	13(19.4)
15	-	2(8.7)	2(3.0)
16	-	1(4.3)	1(1.5)
初經年齡(2)			
	12.43(1.16)	12.65(1.79)	12.51(1.40)
痛經始於初經後			
0 年	11(25.0)	5(21.7)	16(23.9)
1 年	6(13.6)	2(8.7)	8(11.9)
2 年	9(20.5)	7(30.4)	16(23.9)
3 年	5(11.4)	4(17.4)	9(13.4)
4 年	4(9.1)	-	4(6.0)
5 年	3(6.8)	2(8.7)	5(7.5)
6 年	4(9.1)	1(4.3)	5(7.5)
7 年	2(4.5)	1(4.3)	3(4.5)
11 年	-	1(4.3)	1(1.5)
經痛年齡			
	14.89(2.21)	15.35(2.47)	15.04(2.29)

表 1、研究對象社會人口學特質（續）

變項/ 分組情形	實驗組	對照組	總數
	N=44	N=23	N=67
	N(%)	N(%)	N(%)
痛經始於初經後(1)			
0 年	11(25.0)	5(21.7)	16(23.9)
1 年	6(13.6)	2(8.7)	8(11.9)
2 年	9(20.5)	7(30.4)	16(23.9)
3 年	5(11.4)	4(17.4)	9(13.4)
4 年	4(9.1)	-	4(6.0)
5 年	3(6.8)	2(8.7)	5(7.5)
6 年	4(9.1)	1(4.3)	5(7.5)
7 年	2(4.5)	1(4.3)	3(4.5)
11 年	-	1(4.3)	1(1.5)
痛經始於初經後(2)			
	2.45(2.17)	2.70(2.65)	2.54(2.33)
行經天數			
<3 天	-	-	-
3-7 天	34(77.3)	21(91.3)	55(82.08)
>7 天	10(22.7)	2(8.7)	12(17.91)
月經週期			
<21 天	-	-	-
21-35	39(88.6)	22(95.7)	61(91.0)
>35 天	5(11.4)	1(4.3)	6(9.0)
經血量			
多量	9(20.5)	4(17.4)	13(19.4)
中量	34(77.3)	18(78.3)	52(77.6)
少量	1(2.3)	1(4.3)	2(3.0)
其他病史			
無	42(95.5)	21(91.3)	63(94.0)
有	2(4.5)	2(8.7)	4(6.0)
婦科病史			
無	43(97.7)	23(100.0)	66(98.5)
有	1(2.3)	-	1(1.5)
運動習慣			
無	14(31.8)	4(17.4)	18(26.86)
有	30(68.2)	19(82.6)	49(73.13)

表 1、研究對象社會人口學特質（續）

變項/ 分組情形	實驗組	對照組	總數
	N=44	N=23	N=67
	N(%)	N(%)	N(%)
經痛開始			
月經前	16(36.4)	4(17.4)	20(29.9)
月經期	28(63.6)	17(73.9)	45(67.2)
月經後	-	-	-
經痛結束			
月經前	-	-	-
月經期	40(90.9)	21(91.3)	61(91.0)
月經後	4(9.1)	-	4(6.0)
經期症狀			
噁心	8(18.2)	6(26.1)	14(20.9)
嘔吐	5(11.4)	1(4.3)	6(9.0)
頭痛	12(27.3)	6(26.1)	18(26.9)
暈眩	17(38.6)	5(21.7)	22(32.8)
腹瀉	24(54.5)	11(47.8)	35(52.2)
昏厥	4(9.1)	1(4.3)	5(7.5)
虛弱無力	26(59.1)	15(65.2)	41(61.2)
經痛處理			
不理會	8(18.2)	9(39.1)	17(25.4)
看西醫	2(4.5)	-	2(3)
看中醫	4(9.1)	2(8.7)	6(9.0)
臥床休息	34(77.3)	15(65.2)	49(73.1)
腹部熱敷	21(47.7)	11(47.8)	32(47.8)
腹部按摩	13(29.5)	4(17.4)	17(25.4)
放鬆技巧	6(13.6)	4(17.4)	10(14.9)
有自服中藥	-	-	-
有自服止痛劑	14(31.8)	5(21.7)	19(28.4)
其他處置	4(9.1)	1(4.3)	5(7.5)
人際關係			
不影響	8(18.2)	10(43.5)	18(26.9)
輕微影響	25(56.8)	10(43.5)	35(52.2)
中度影響	7(15.9)	3(13.0)	10(14.9)
嚴重影響	4(9.1)	-	4(6.0)

表 1、研究對象社會人口學特質（續）

變項/ 分組情形	實驗組	對照組	總數
	N=44	N=23	N=67
	N (%)	N (%)	N (%)
日常生活			
不影響	2(4.5)	3(13.0)	5(7.5)
輕微影響	22(50.0)	11(47.8)	33(49.3)
中度影響	14(31.8)	6(26.1)	20(29.9)
嚴重影響	6(13.6)	3(13.0)	9(13.4)
運動狀況			
不影響	12(27.3)	8(34.8)	20(29.9)
輕微影響	21(47.7)	7(30.4)	28(41.8)
中度影響	6(13.6)	3(13.0)	9(13.4)
嚴重影響	5(11.4)	5(21.7)	10(14.9)
疼痛性質			
按壓較舒適	11(25.0)	6(26.1)	17(25.4)
按壓較不適	6(13.6)	1(4.3)	7(10.4)
熱敷痛減輕	18(40.9)	12(52.2)	30(44.8)
熱敷痛增加	1(2.3)	-	1(1.5)
隱隱作痛	27(61.4)	12(52.2)	39(58.2)
冷痛	3(6.8)	2(8.7)	5(7.5)
刺痛	4(9.1)	3(13.0)	7(10.4)
絞痛	17(38.6)	6(26.1)	23(34.3)
腹脹大於腹痛	10(22.7)	2(8.7)	12(17.9)
腹痛大於腹脹	11(25.0)	7(30.4)	18(26.9)

表 2、研究對象社會人口學特質比較

變項/ 分組情形	實驗組 N=44	對照組 N=23	t-test	
	mean±SD	mean±SD	t 值	P 值
年齡	19.68±1.41	21.35±2.62	-3.39	.001
初經年齡	12.43±1.16	12.65±1.79	-.606	.547
經痛年齡	14.89±2.21	15.35±2.47	-.778	.440
身高	161.87±5.33	158.83±5.09	2.250	.028
坐高	86.10±5.82	86.64±3.32	-.365	.716
體重	56.18±8.13	54.05±8.66	.781	.438
身體質量指數(BMI)	21.39±3.03	21.95±3.93	-.604	.515

表 3、實驗組及對照組前測結果變項比較

變項/ 分組情形	實驗組 N=44	對照組 N=23	t-test	
	mean±SD	mean±SD	t 值	P 值
經痛指數				
短式 McGill 疼痛量表				
疼痛感覺	7.48±5.35	8.35±6.64	-.582	.563
疼痛情感	4.32±3.55	4.35±3.28	-.033	.974
疼痛總分	11.80±8.02	12.70±9.53	-.409	.684
當時的疼痛強度	2.14±1.05	1.74±1.18	1.413	.162
疼痛視覺類比	5.18±2.22	4.09±2.76	1.764	.082
疼痛視覺類比量表	56.34±21.77	49.87±25.65	1.086	.281
骨盆歪斜				
左側骨盆垂直差異	1090.14±150.37	867.59±58.72	6.671	.000
右側骨盆垂直差異	1087.41±143.38	870.85±56.75	6.802	.000
左側骨盆傾斜的角度	64.99±10.33	64.50±10.24	.184	.855
右側骨盆傾斜的角度	63.27±9.82	63.19±8.22	.034	.971
身體柔軟度				
站姿體前彎(mm)	2.13±103.49	49.51(104.38)	-1.748	.085
站姿體左側彎(mm)	-425.32±49.76	-403.34±42.27	-1.744	.081
站姿體右側彎(mm)	-418.34±45.33	-361.20±168.28	-2.118	.038
貓式動作(mm)	148.64±43.42	171.48±30.33	-2.209	.031

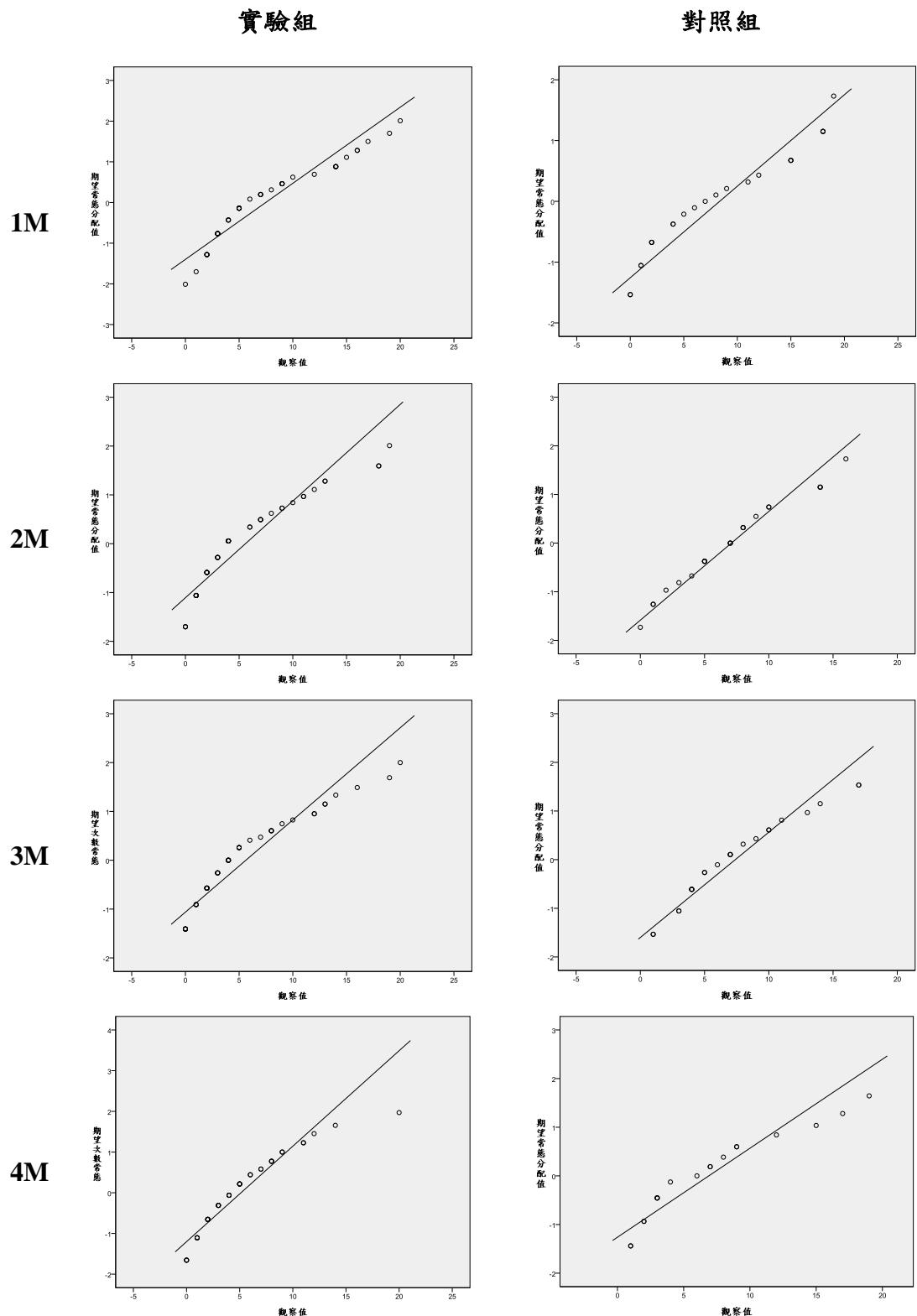


圖 2、短式 McGill 疼痛量表之疼痛感覺常態機率圖

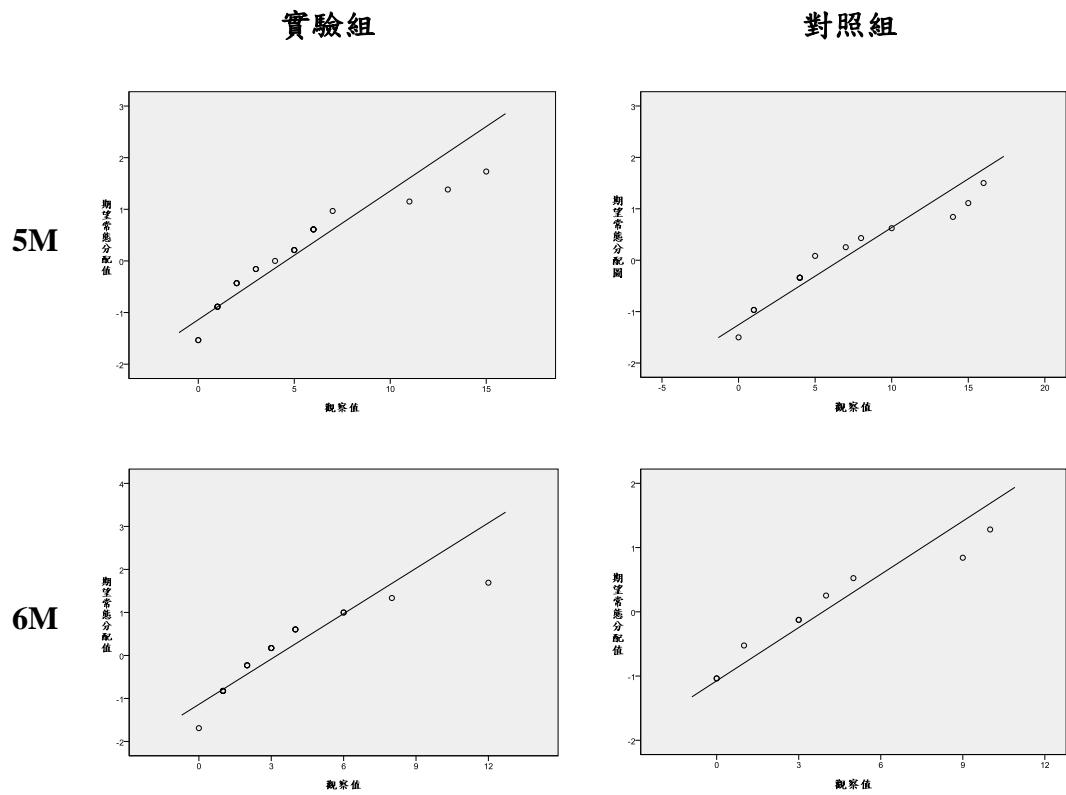


圖 2、短式 McGill 疼痛量表之疼痛感覺常態機率圖（續）

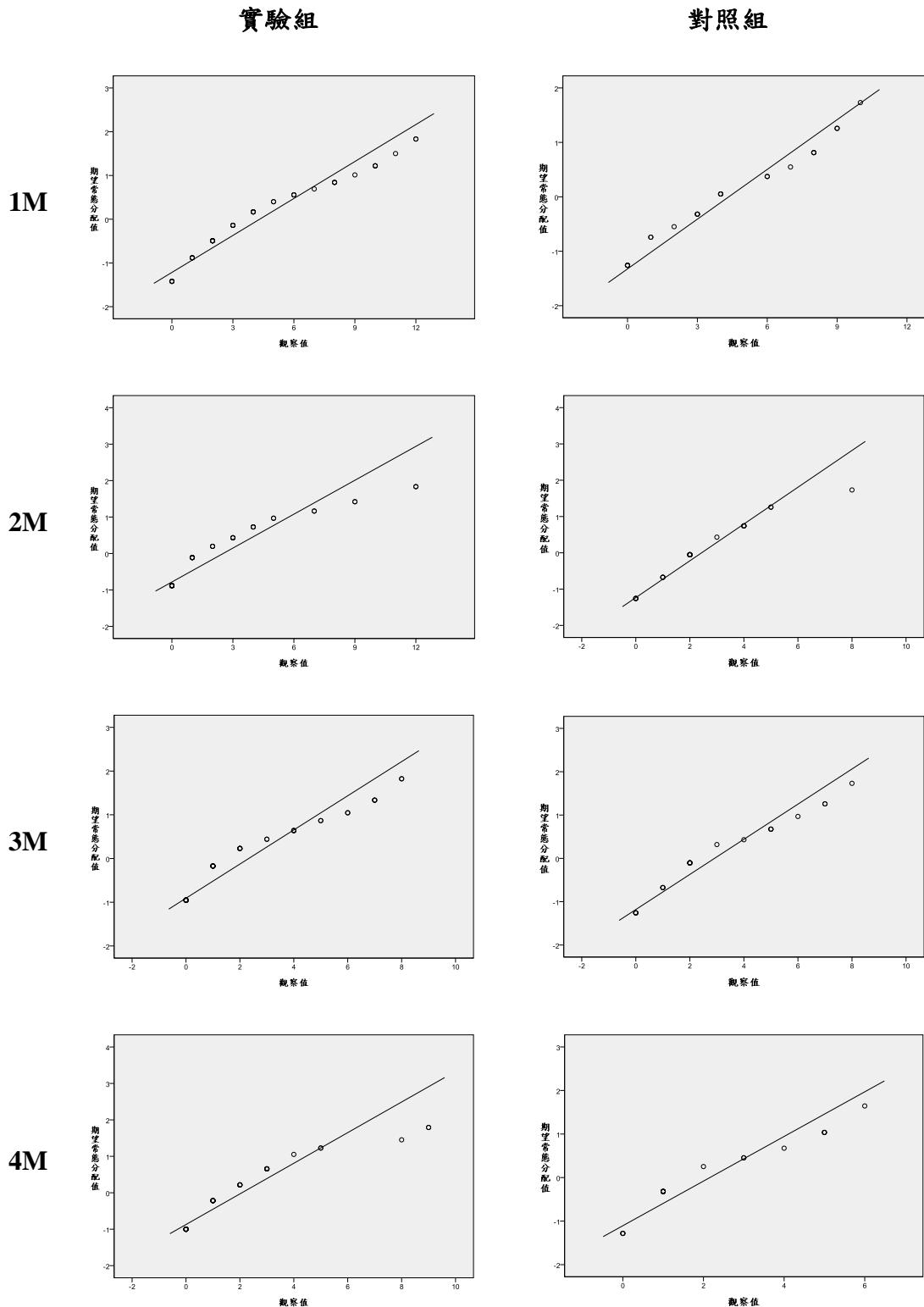


圖 3、短式 McGill 疼痛量表之疼痛情感常態機率圖

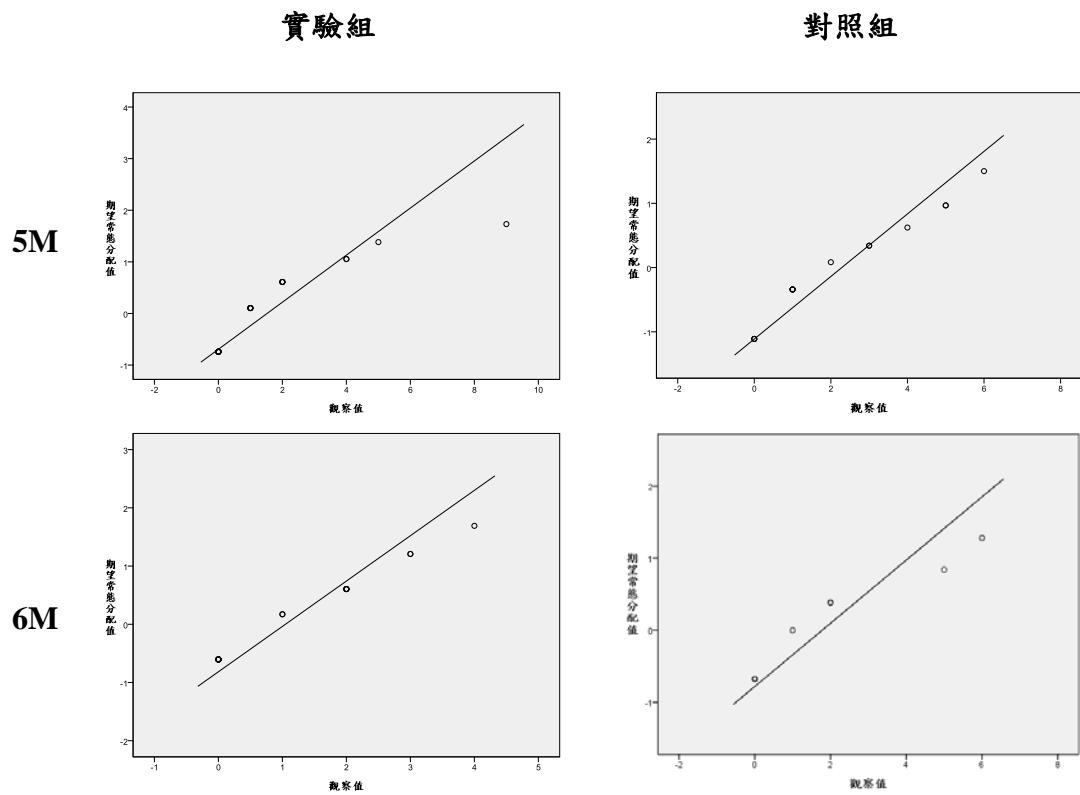


圖 3、短式 McGill 疼痛量表之疼痛情感常態機率圖（續）

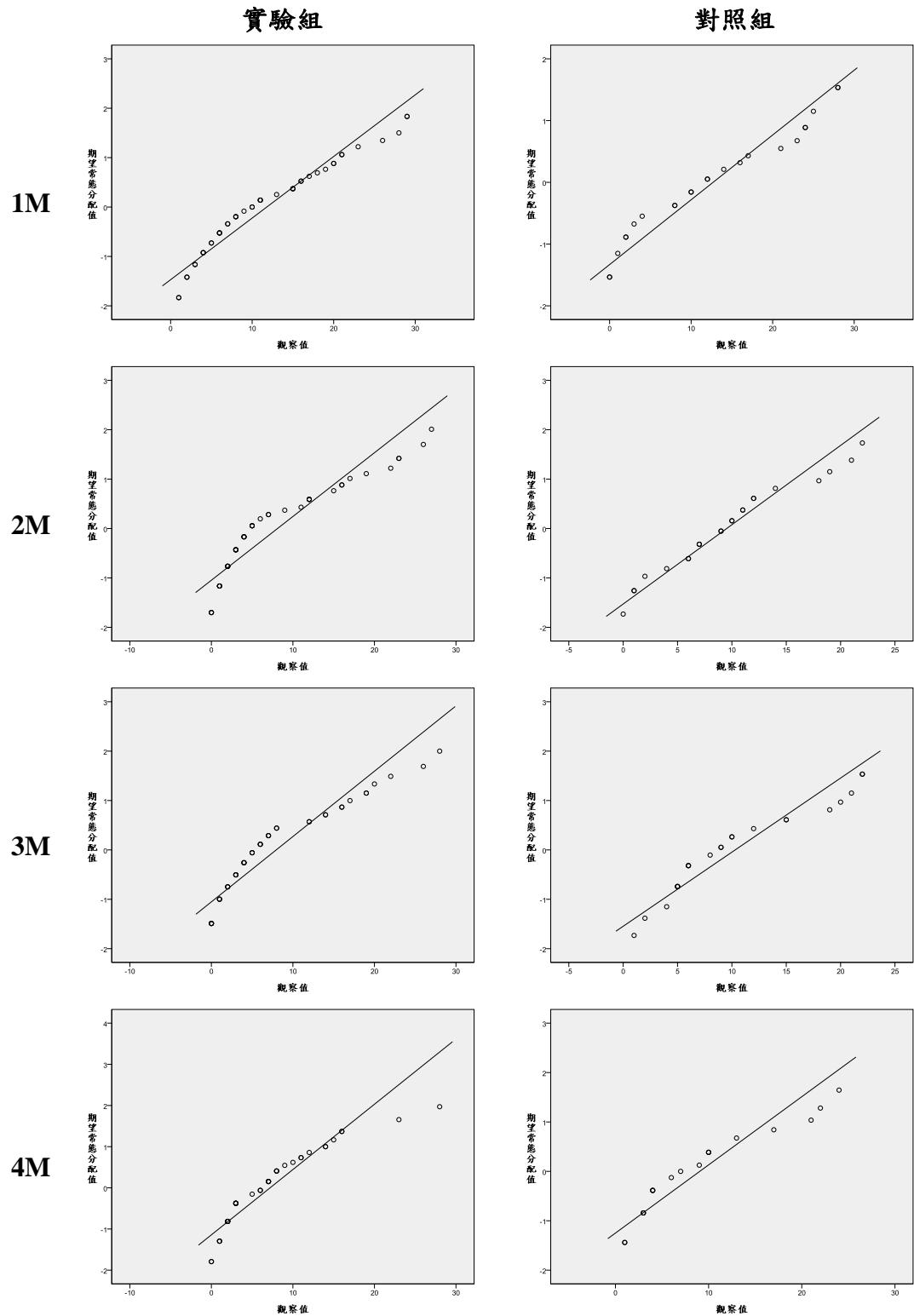


圖 4、短式 McGill 疼痛量表之疼痛總分常態機率圖

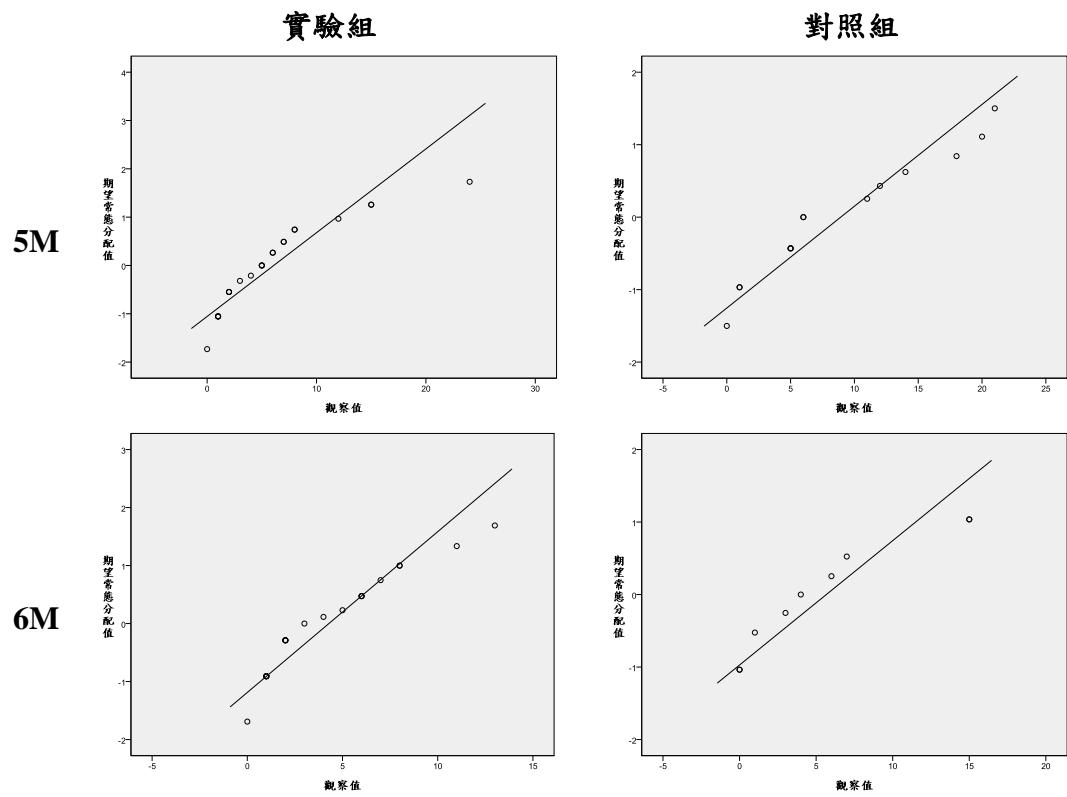


圖 4、短式 McGill 疼痛量表之疼痛總分常態機率圖（續）

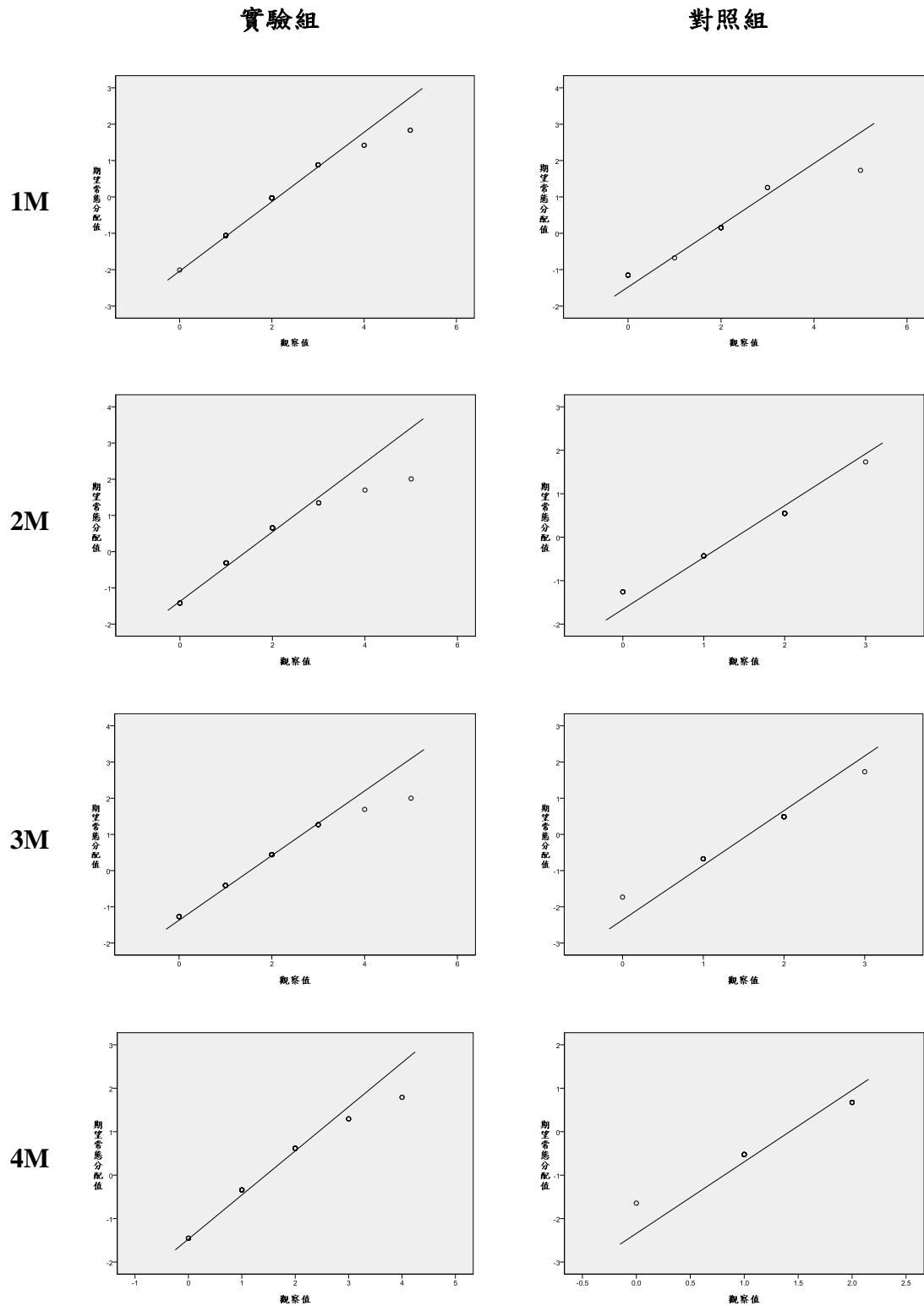


圖 5、短式 McGill 疼痛量表之當時的疼痛強度常態機率圖

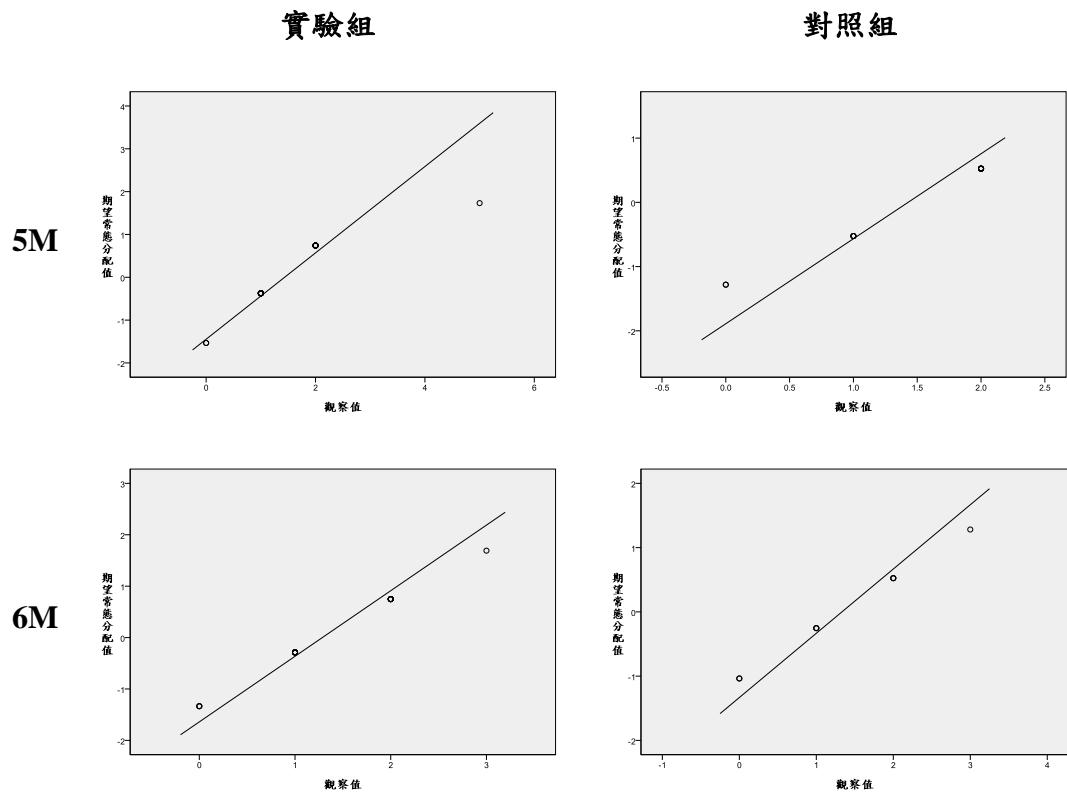


圖 5、短式 McGill 疼痛量表之當時的疼痛強度常態機率圖（續）

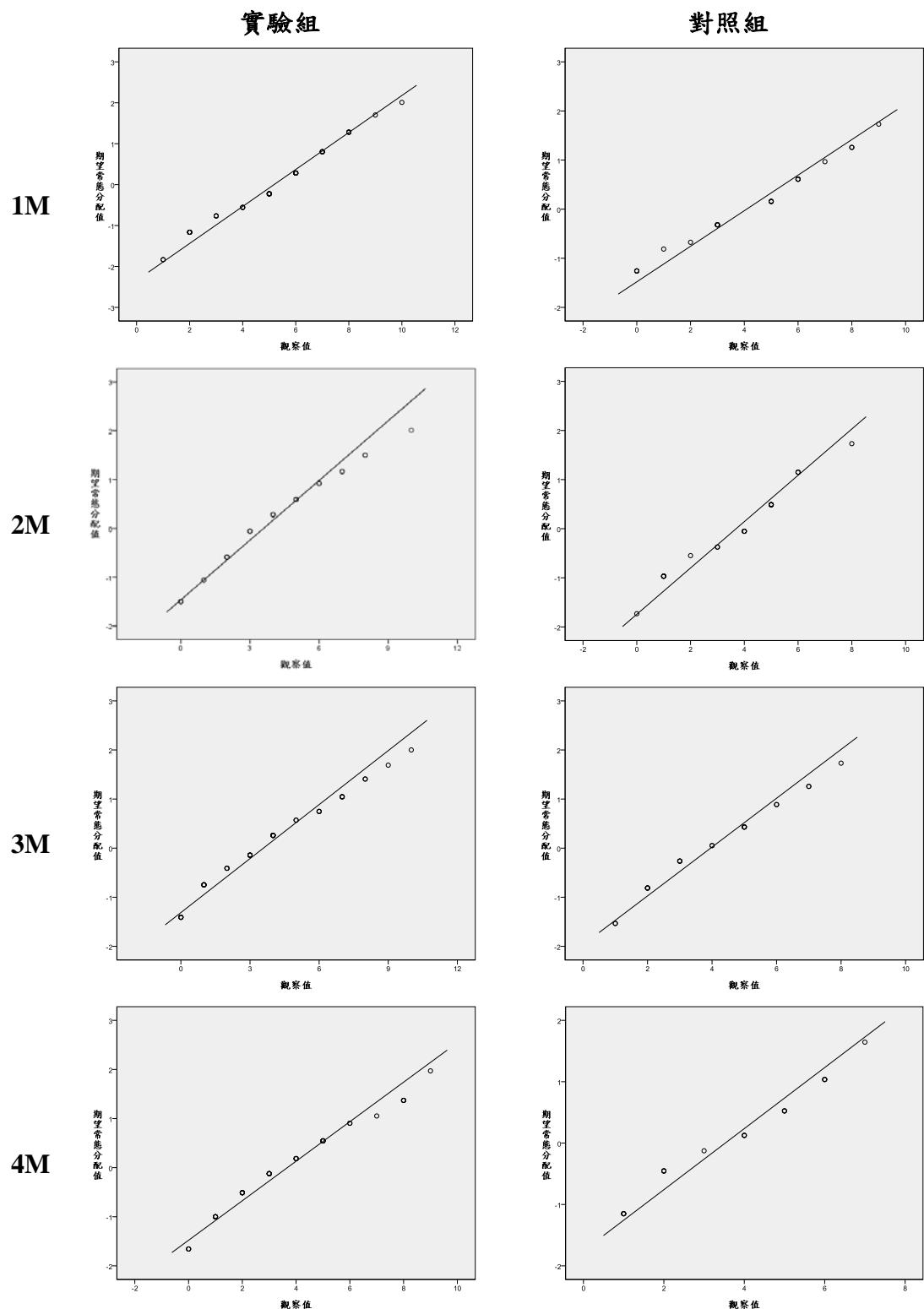


圖 6、短式 McGill 疼痛量表之疼痛視覺類比分數常態機率圖

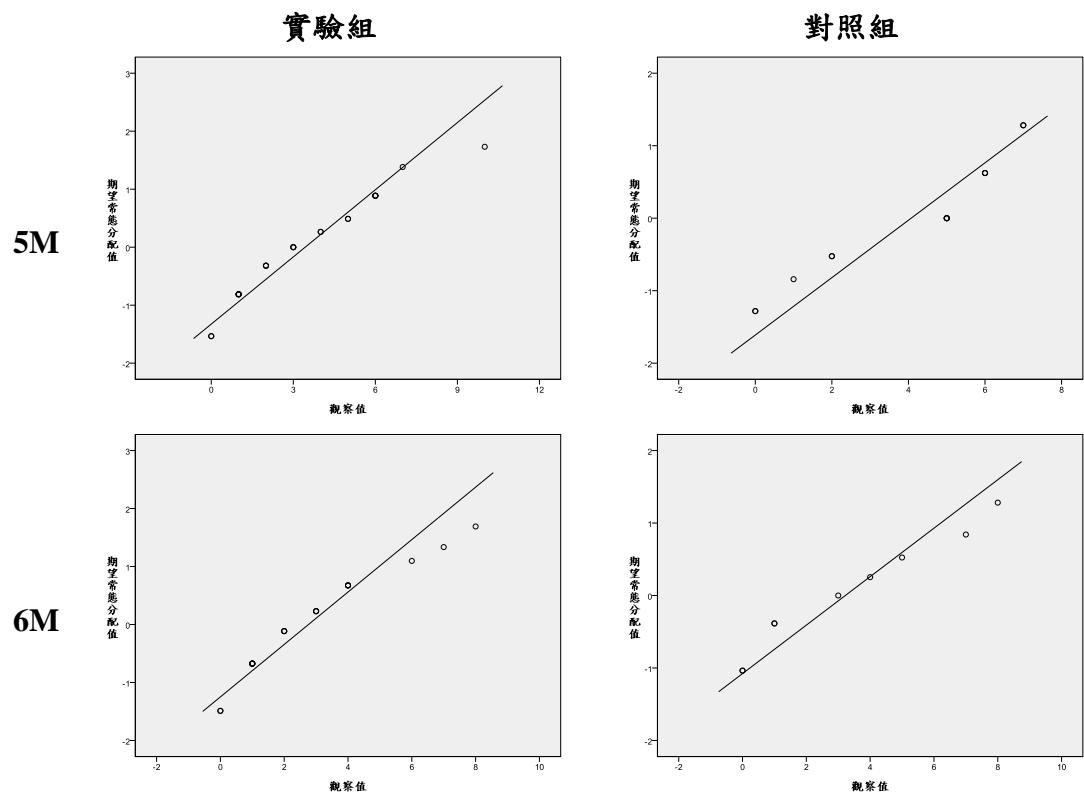


圖 6、短式 McGill 疼痛量表之疼痛視覺類比分數常態機率圖（續）

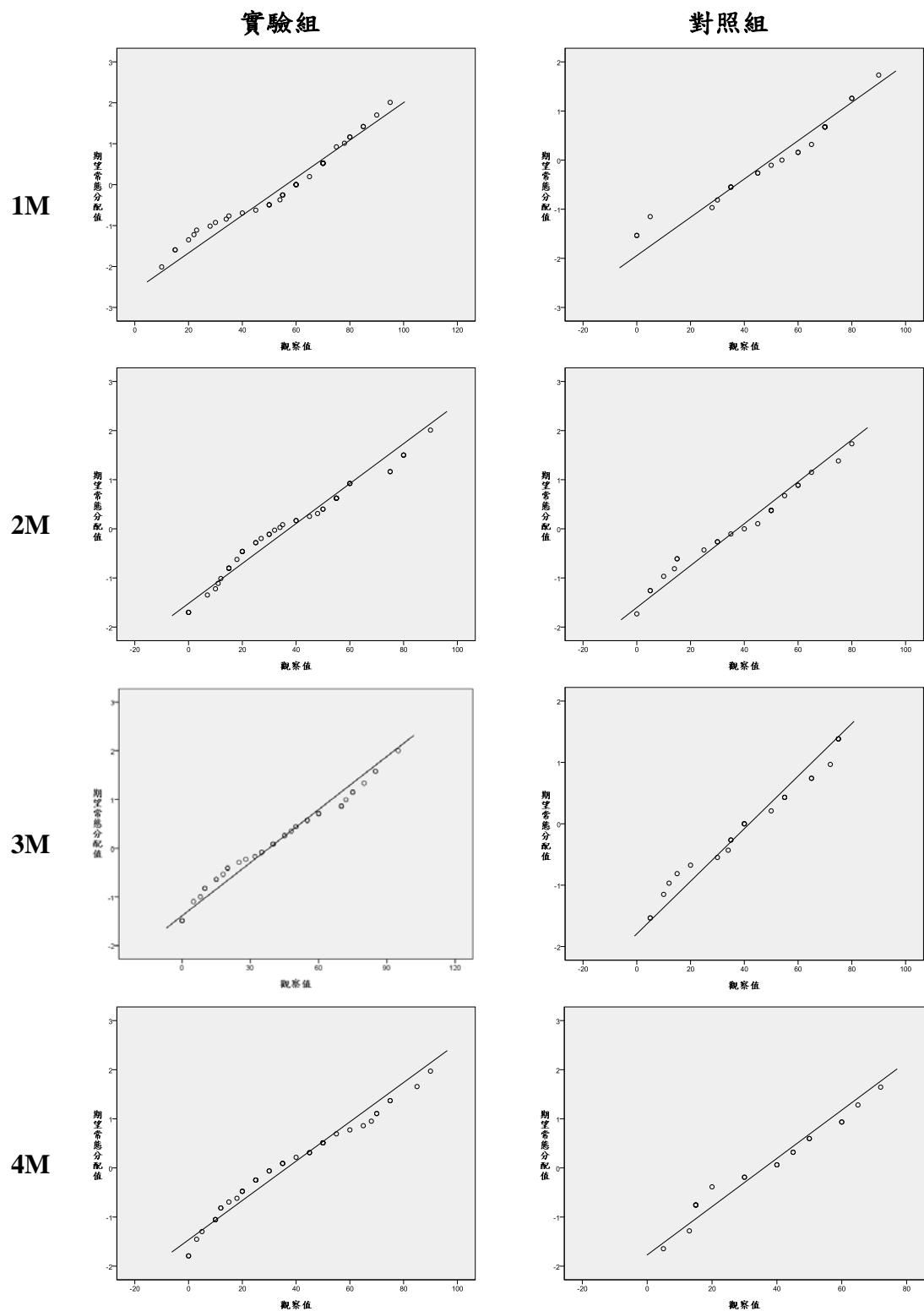


圖 7、疼痛視覺類比量表常態機率圖

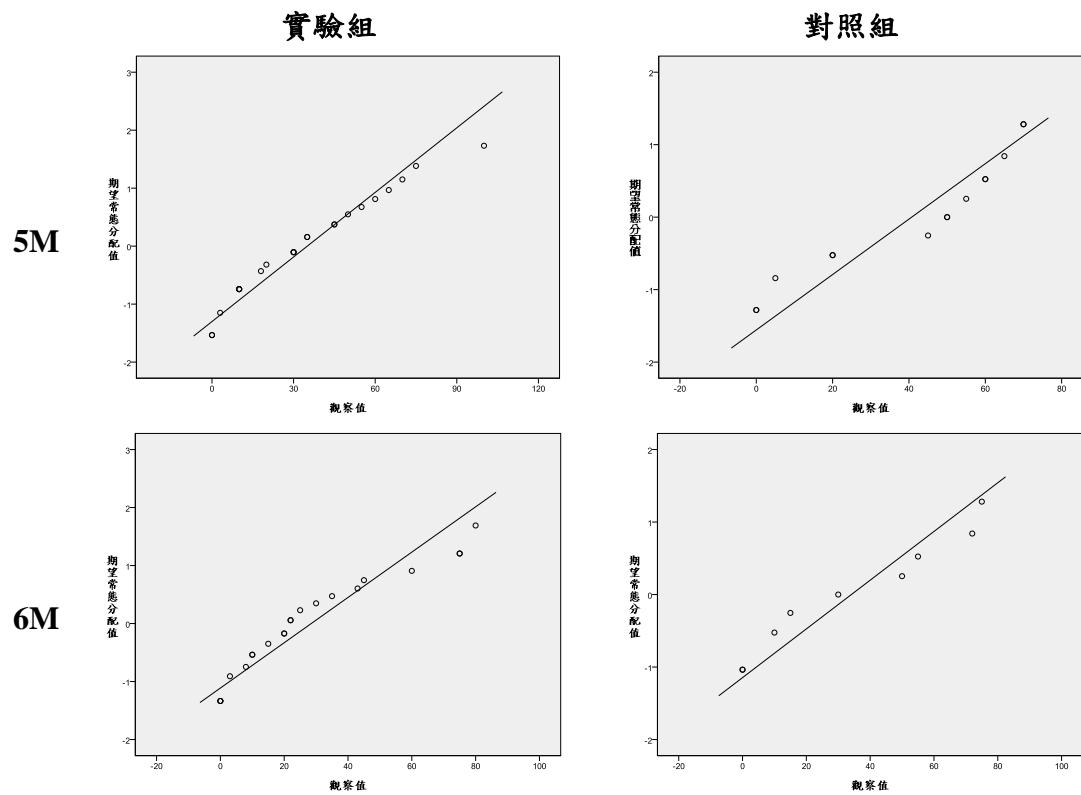


圖 7、疼痛視覺類比量表常態機率圖（續）

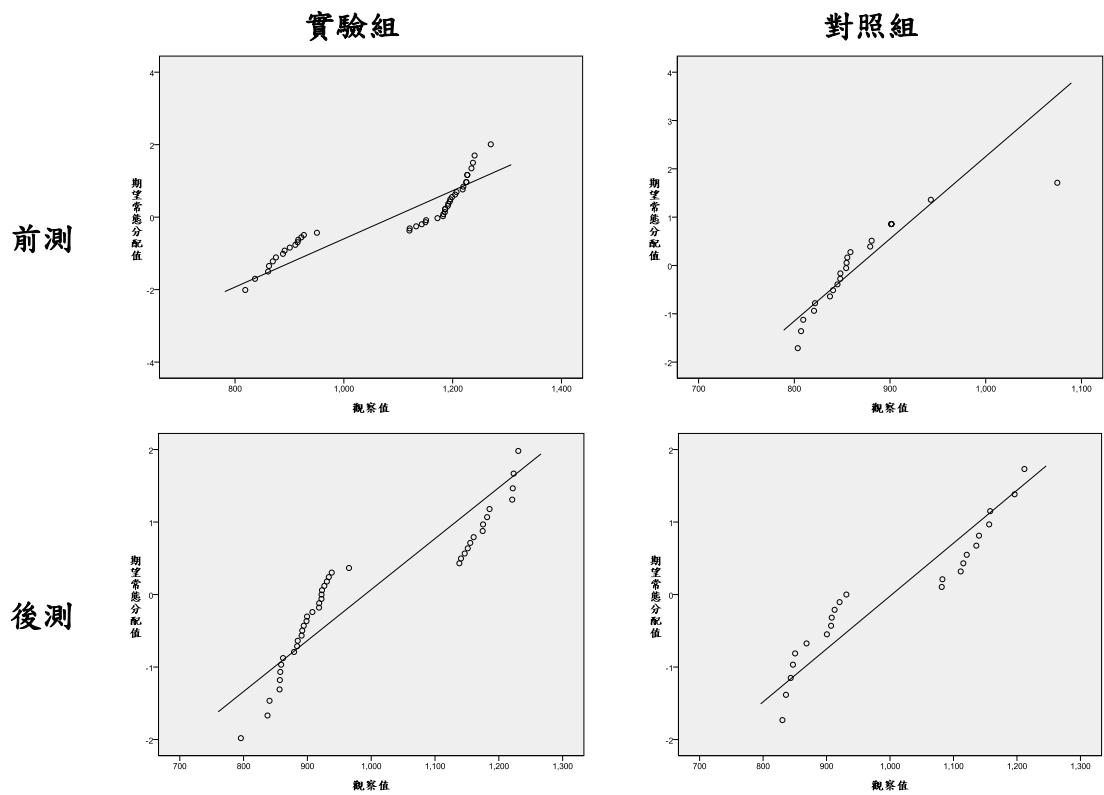


圖 8、左側骨盆垂直差距常態機率圖

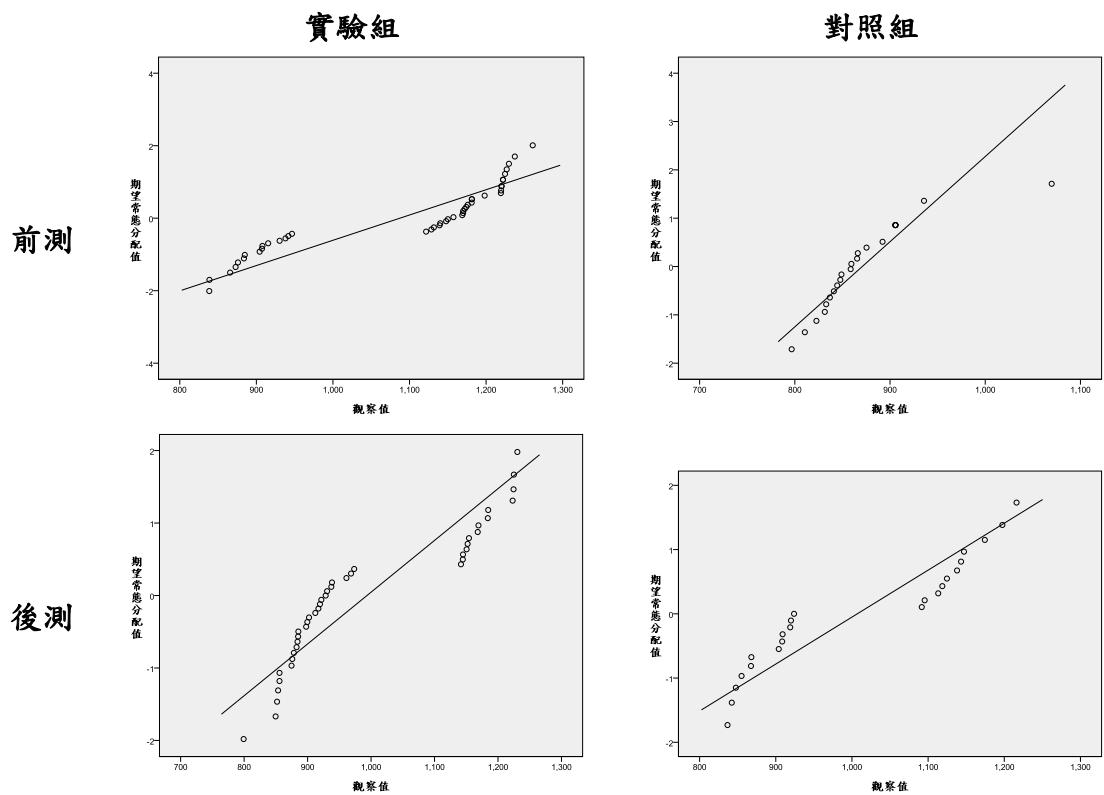


圖 9、右側骨盆垂直差距常態機率圖

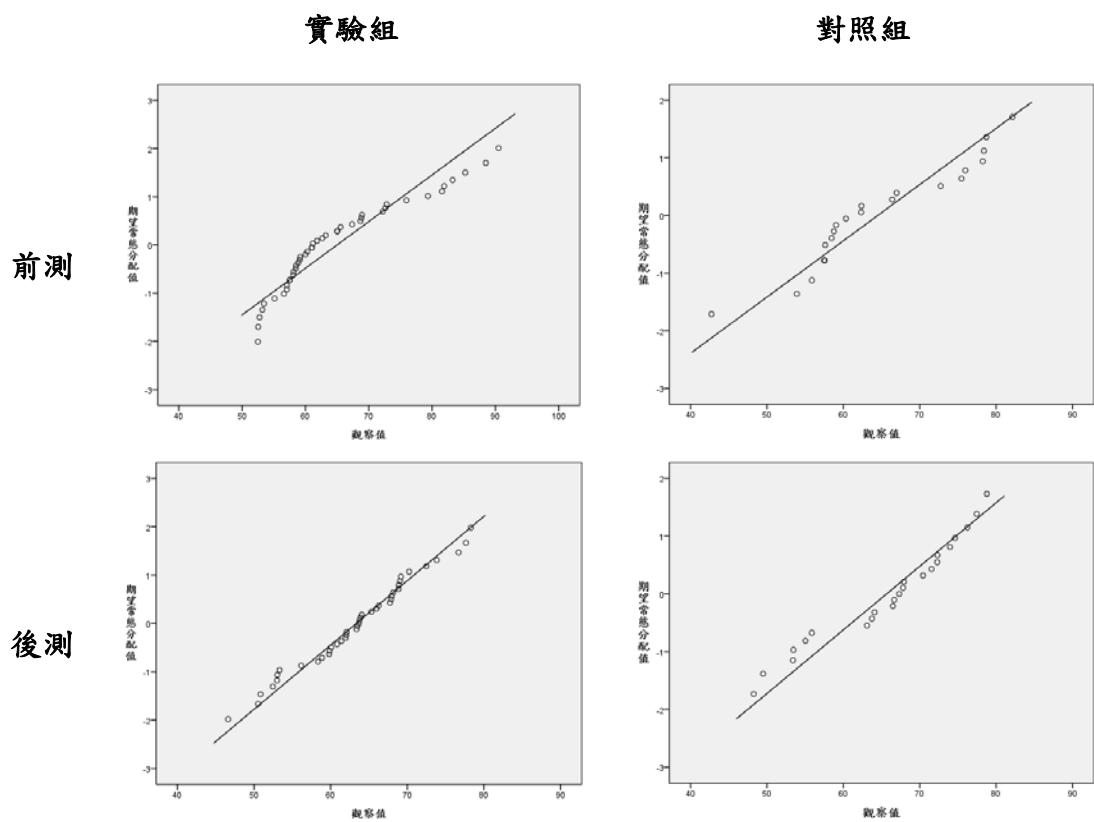


圖 10、左側骨盆傾斜的角度常態機率圖

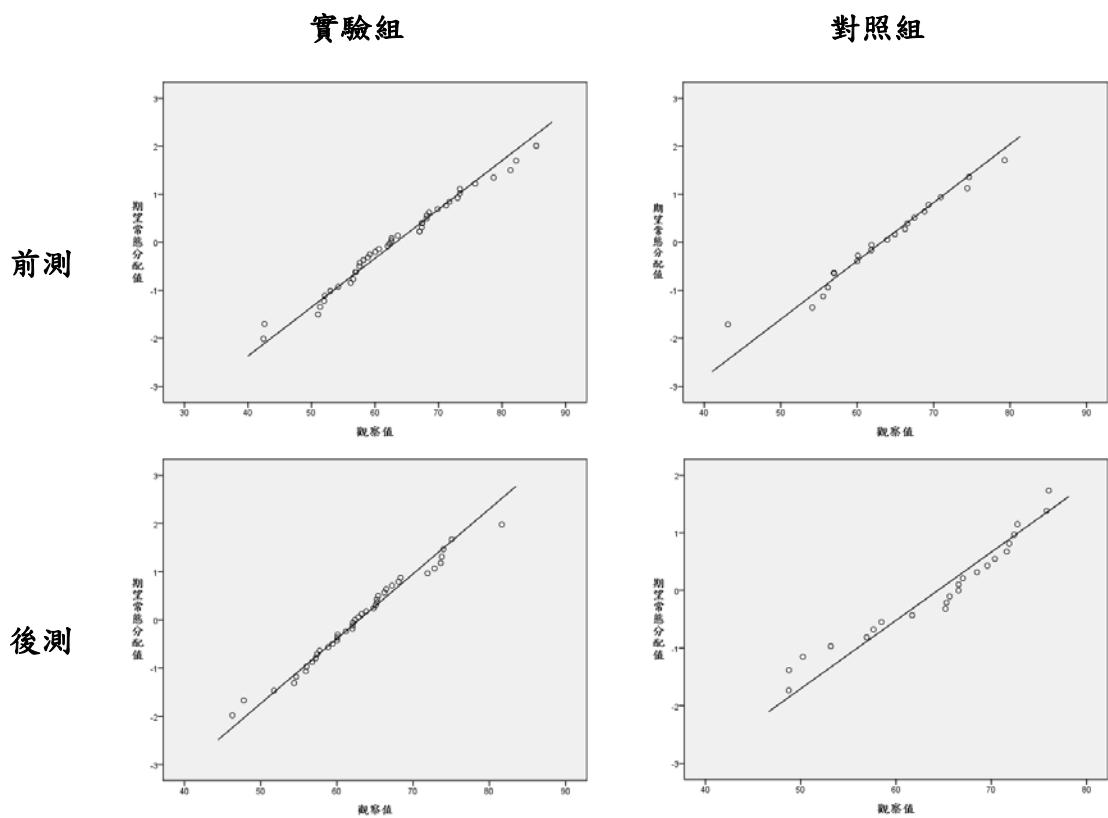


圖 11、右側骨盆傾斜的角度常態機率圖

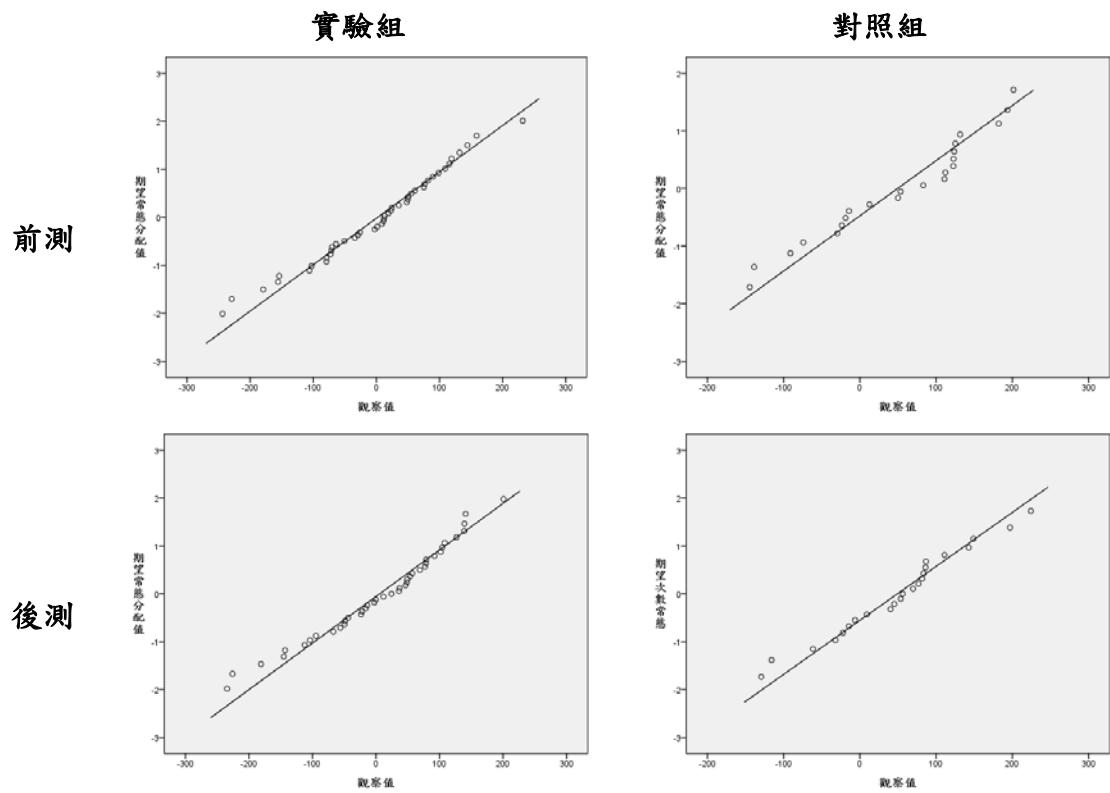


圖 12、站姿體前彎常態機率圖

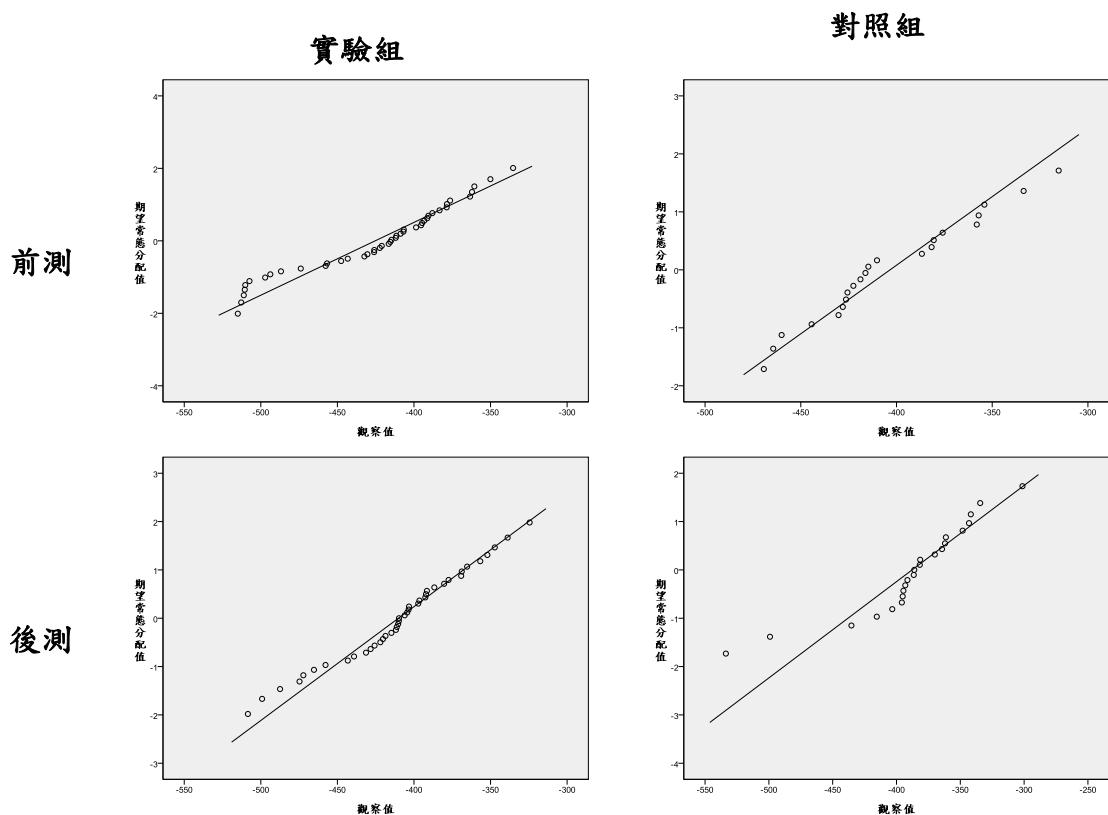


圖 13、站姿體左側彎常態機率圖

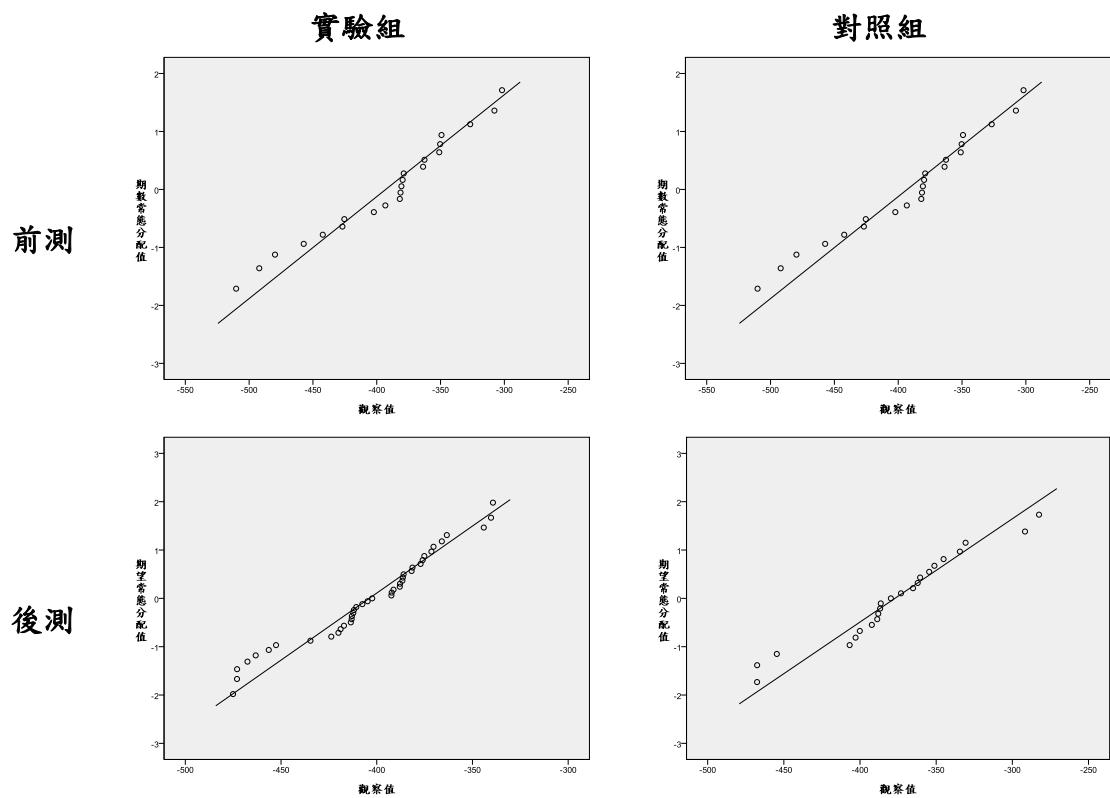


圖 14、站姿體右側彎常態機率圖

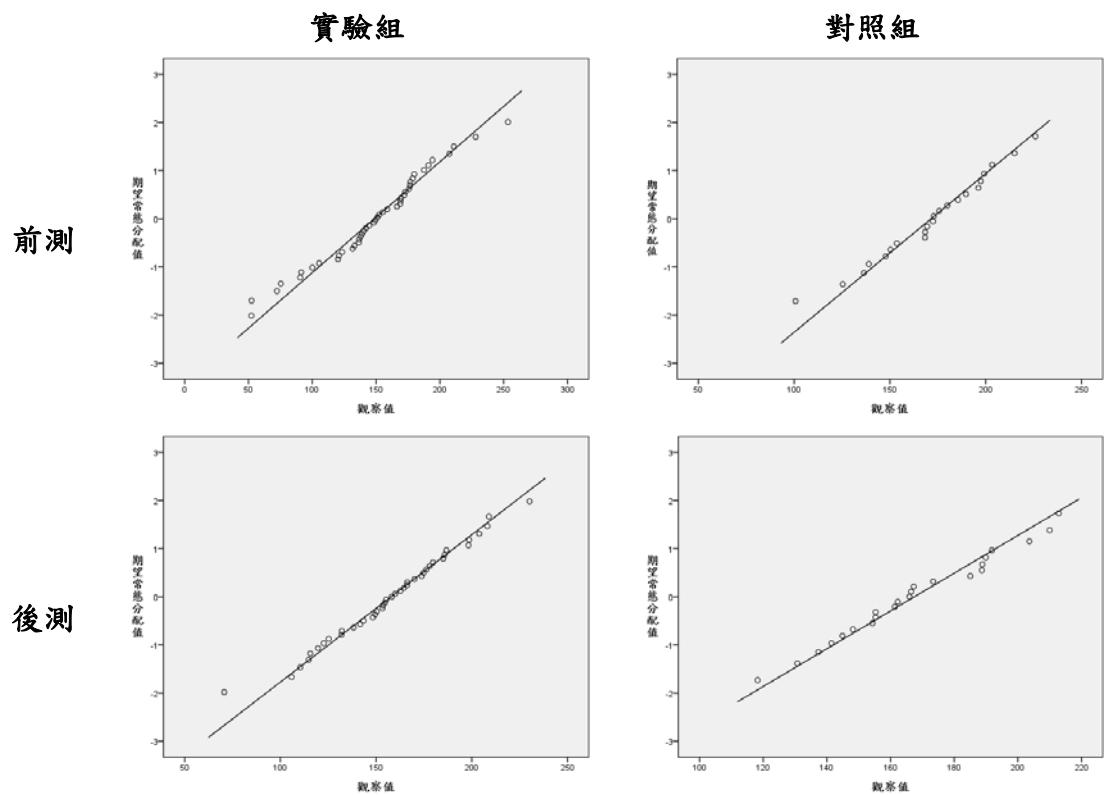


圖 15、式動作常態機率圖

表 4、兩組經痛指數原始數據各時間點之平均值±標準差

變項/ 分組情形	實驗組	對照組
	mean±SD	mean±SD
短格式 McGill 疼痛量表		
疼痛感覺 (1-11 題)		
第一個月 (前測)	7.48±5.34	8.35±6.64
第二個月	5.59±5.05	7.09±4.47
第三個月	5.63±5.29	7.39±4.62
第四個月 (後測)	5.13±4.26	6.89±5.46
第五個月 (追蹤)	4.57±4.00	6.64±5.28
第六個月 (追蹤)	3.24±2.84	3.89±3.62
疼痛情感 (12-15 題)		
第一個月 (前測)	4.31±3.54	4.34±3.28
第二個月	2.52±3.22	2.43±1.97
第三個月	2.32±2.56	2.91±2.46
第四個月 (後測)	2.07±2.37	2.15±1.59
第五個月 (追蹤)	1.52±2.19	2.28±2.05
第六個月 (追蹤)	1.04±1.28	1.77±2.27
疼痛總分 (1-15 題)		
第一個月 (前測)	11.79±8.01	12.69±9.53
第二個月	8.11±7.74	9.52±6.22
第三個月	7.95±7.55	10.3±6.66
第四個月 (後測)	7.20±6.30	9.05±7.24
第五個月 (追蹤)	6.08±5.76	8.92±7.11
第六個月 (追蹤)	4.28±3.60	5.66±5.83
當時的疼痛強度		
第一個月 (前測)	2.14±1.04	1.74±1.17
第二個月	1.43±1.04	1.39±0.83
第三個月	1.53±1.12	1.57±0.66
第四個月 (後測)	1.45±0.98	1.42±0.60
第五個月 (追蹤)	1.43±0.99	1.43±0.75
第六個月 (追蹤)	1.29±0.78	1.33±1.00

表 4、兩組經痛指數原始數據各時間點之平均值±標準差（續）

變項/分組情形	實驗組	對照組
	mean±SD	mean±SD
短格式 McGill 疼痛量表		
疼痛視覺類比分數		
第一個月（前測）	5.18±2.21	4.08±2.76
第二個月	3.59±2.45	3.69±2.11
第三個月	3.58±2.72	3.95±2.01
第四個月（後測）	3.67±2.48	3.52±2.01
第五個月（追蹤）	3.43±2.59	4.07±2.52
第六個月（追蹤）	2.76±2.21	3.22±2.99
疼痛視覺類比量表		
第一個月（前測）	56.34±21.77	49.87±25.65
第二個月	37.36±24.59	37.57±23.44
第三個月	38.16±27.48	41.87±23.34
第四個月（後測）	36.58±24.98	36.05±20.35
第五個月（追蹤）	35.04±26.93	40.71±26.15
第六個月（追蹤）	28.48±25.60	34.11±29.76

註：第一個月、第二個月、第三個月、第四個月、第五個月、第六個月實驗組與對照組比較人數為：44/23、44/23、43/23、40/19、23/14、20/9

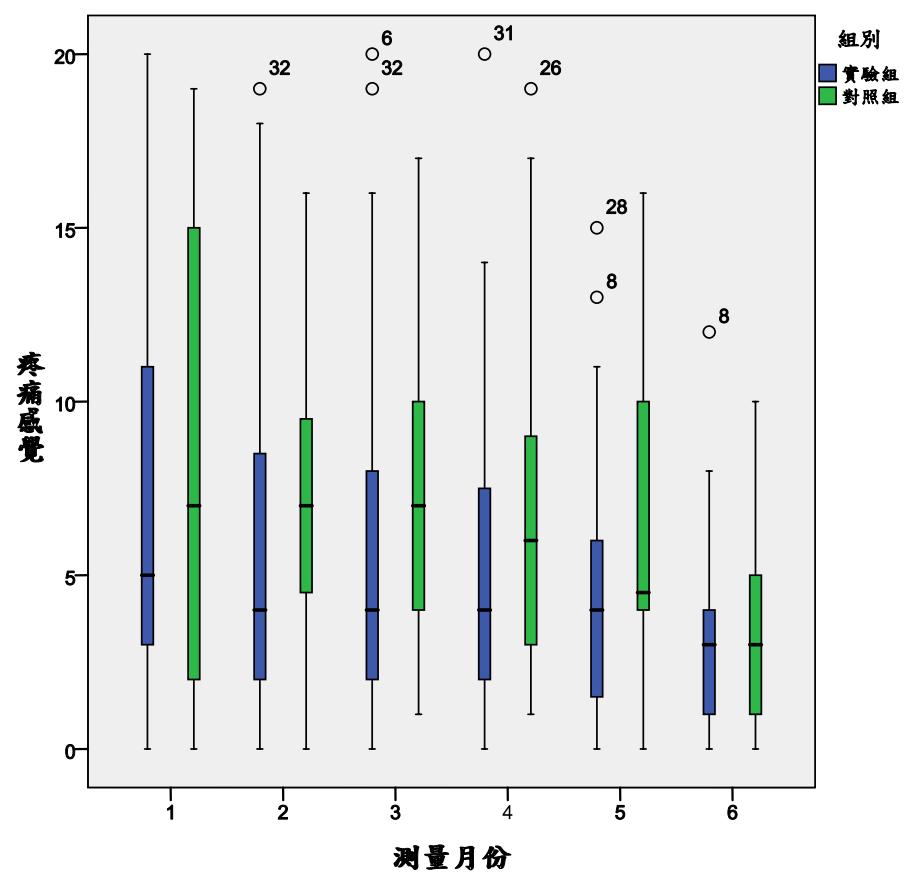


圖 16、短格式 McGill 疼痛量表之疼痛感覺盒鬚圖

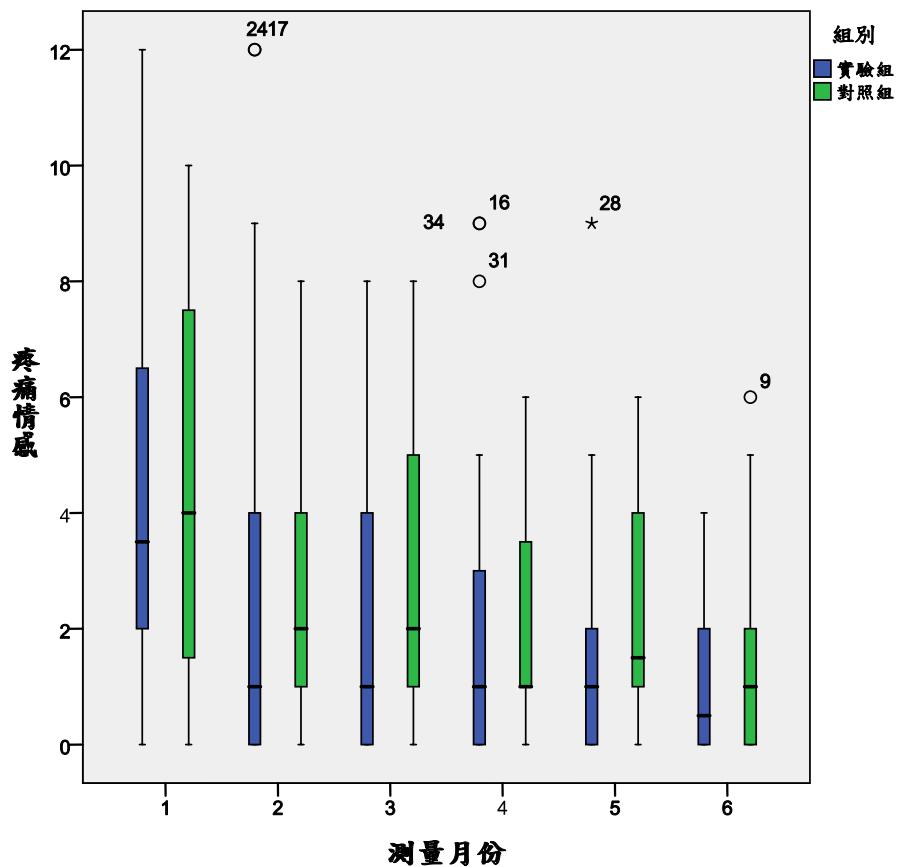


圖 17、短格式 McGill 疼痛量表之疼痛情感盒鬚圖

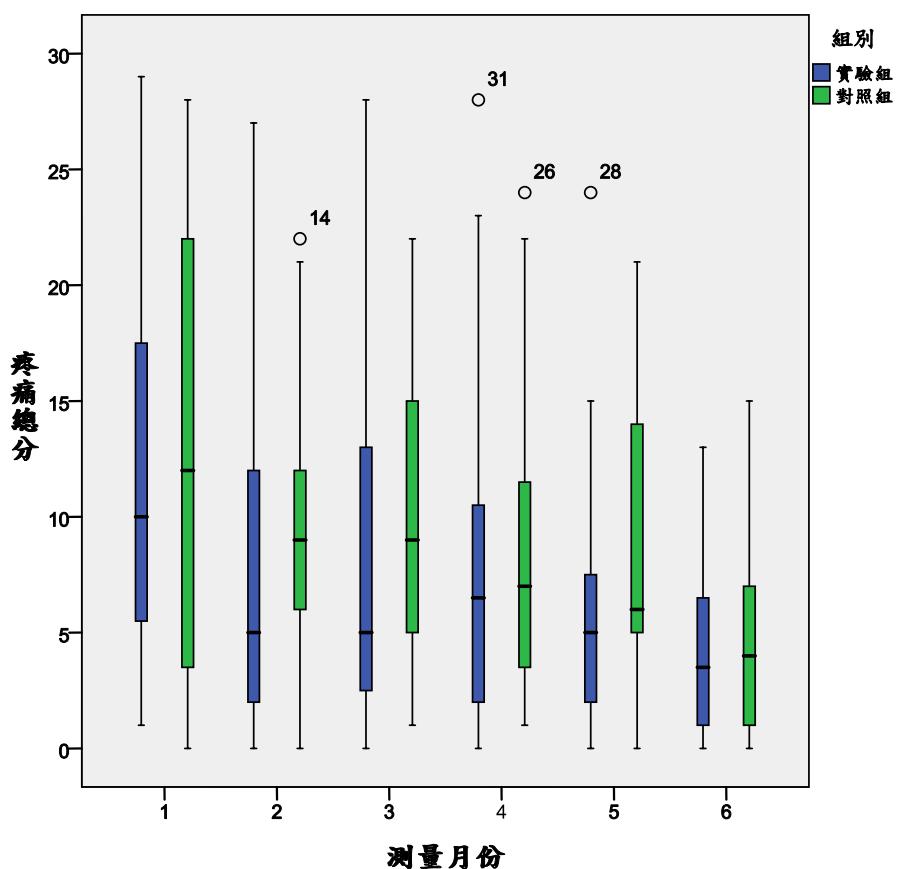


圖 18、短格式 McGill 疼痛量表之疼痛總分盒鬚圖

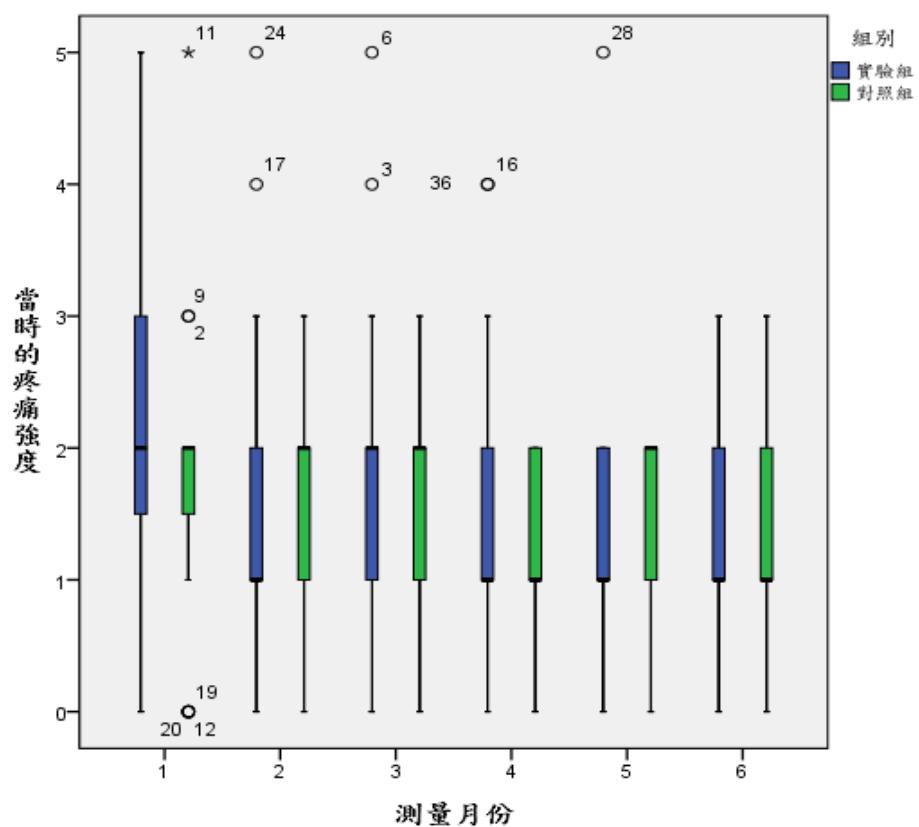


圖 19、短格式 McGill 疼痛量表之當時的疼痛強度盒鬚圖

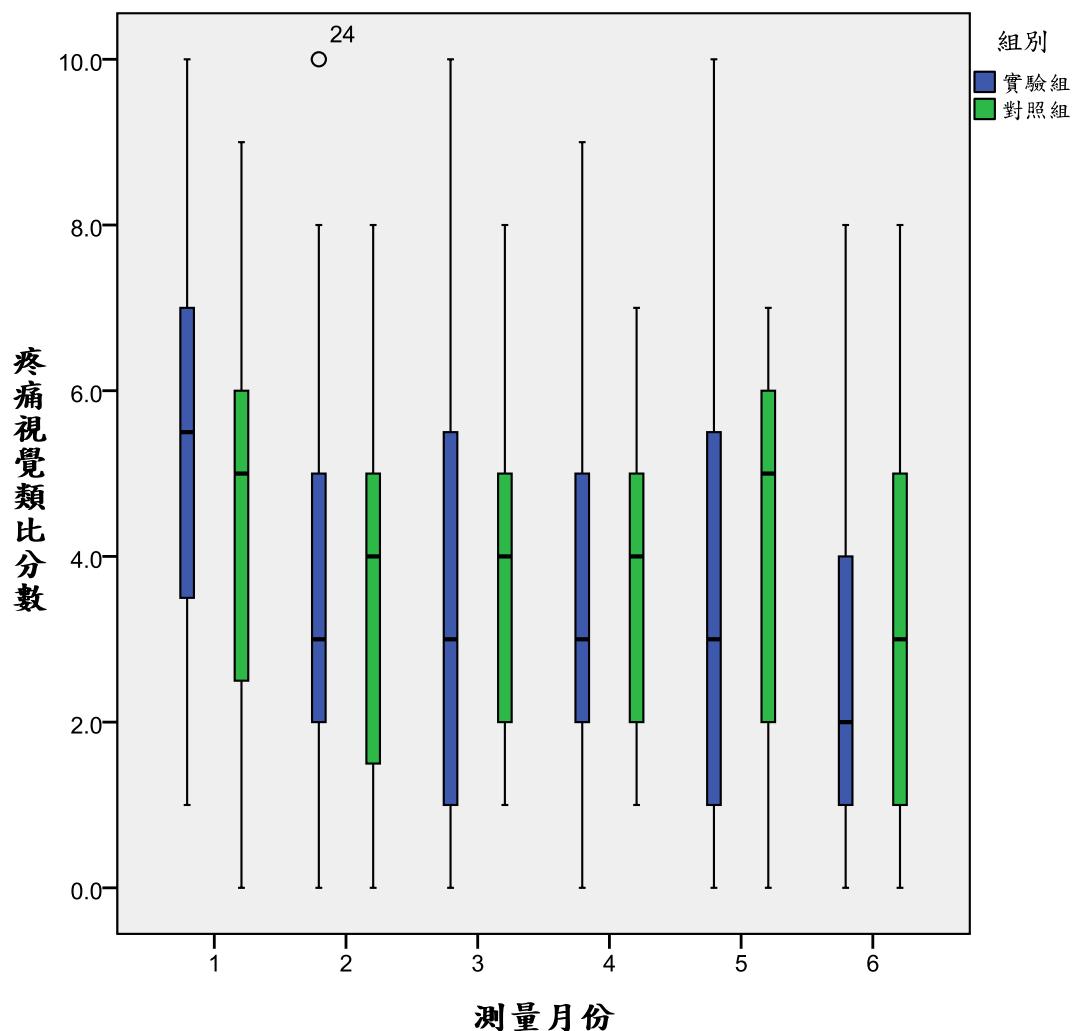


圖 20、短格式 McGill 疼痛量表之疼痛視覺類比分數盒鬚圖

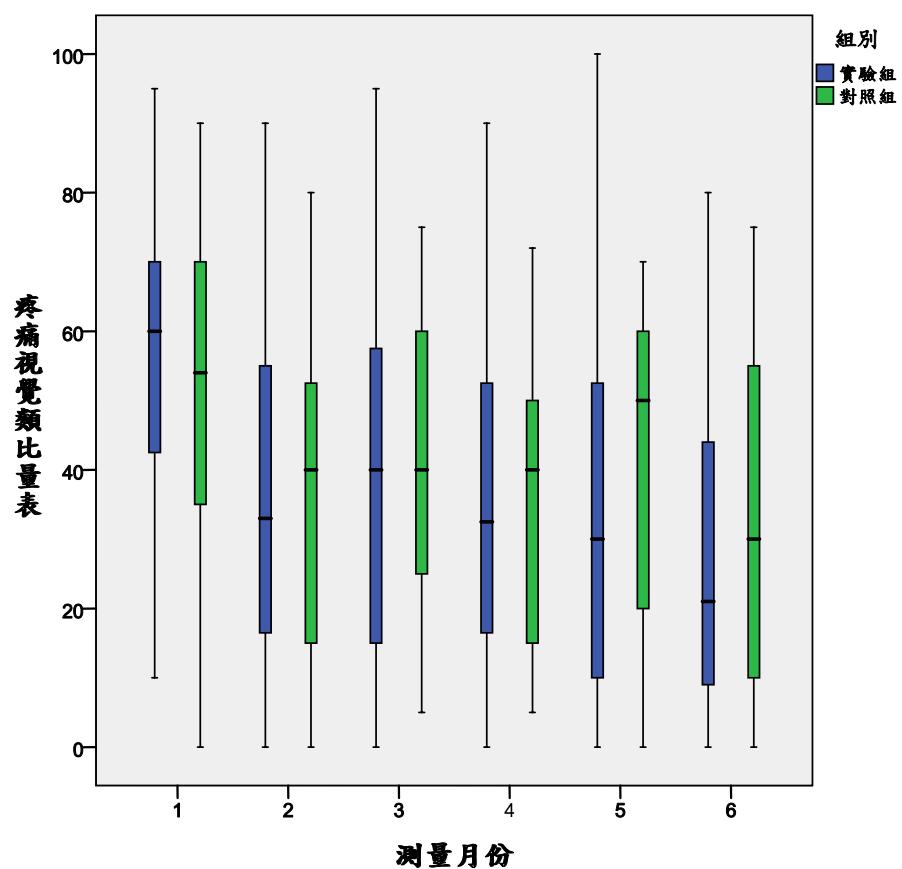


圖 21、疼痛視覺類比量表盒鬚圖

表 5、兩組骨盆歪斜原始數據各時間點之平均值±標準差

變項/ 分組情形	實驗組	對照組
	mean±SD	mean±SD
左側骨盆垂直差距		
第一個月（前測）	1090.14±150.37	867.59±58.72
第四個月（後測）	991.93±143.59	1002.87±137.04
右側骨盆垂直差距		
第一個月（前測）	1087.41±143.38	870.85±56.75
第四個月（後測）	995.20±141.39	1007.02±136.80
左側骨盆傾斜的角度		
第一個月（前測）	64.99±10.33	64.50±10.24
第四個月（後測）	64.42±7.60	65.66±9.08
右側骨盆傾斜的角度		
第一個月（前測）	63.27±9.82	63.19±8.22
第四個月（後測）	62.83±7.51	64.38±8.43

註：實驗組與對照組前、後測比較人數為：44/22、41/22

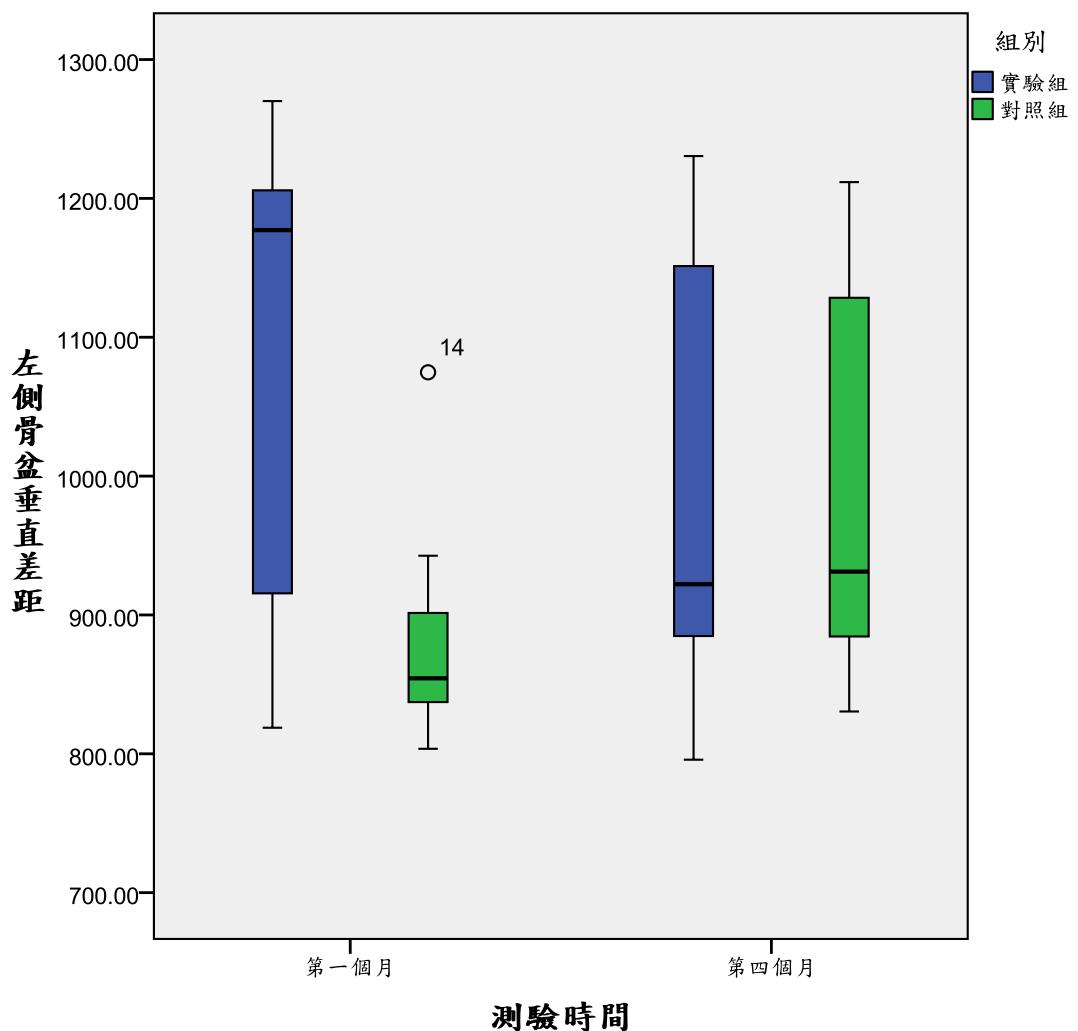


圖 22、左側骨盆垂直差距盒鬚圖

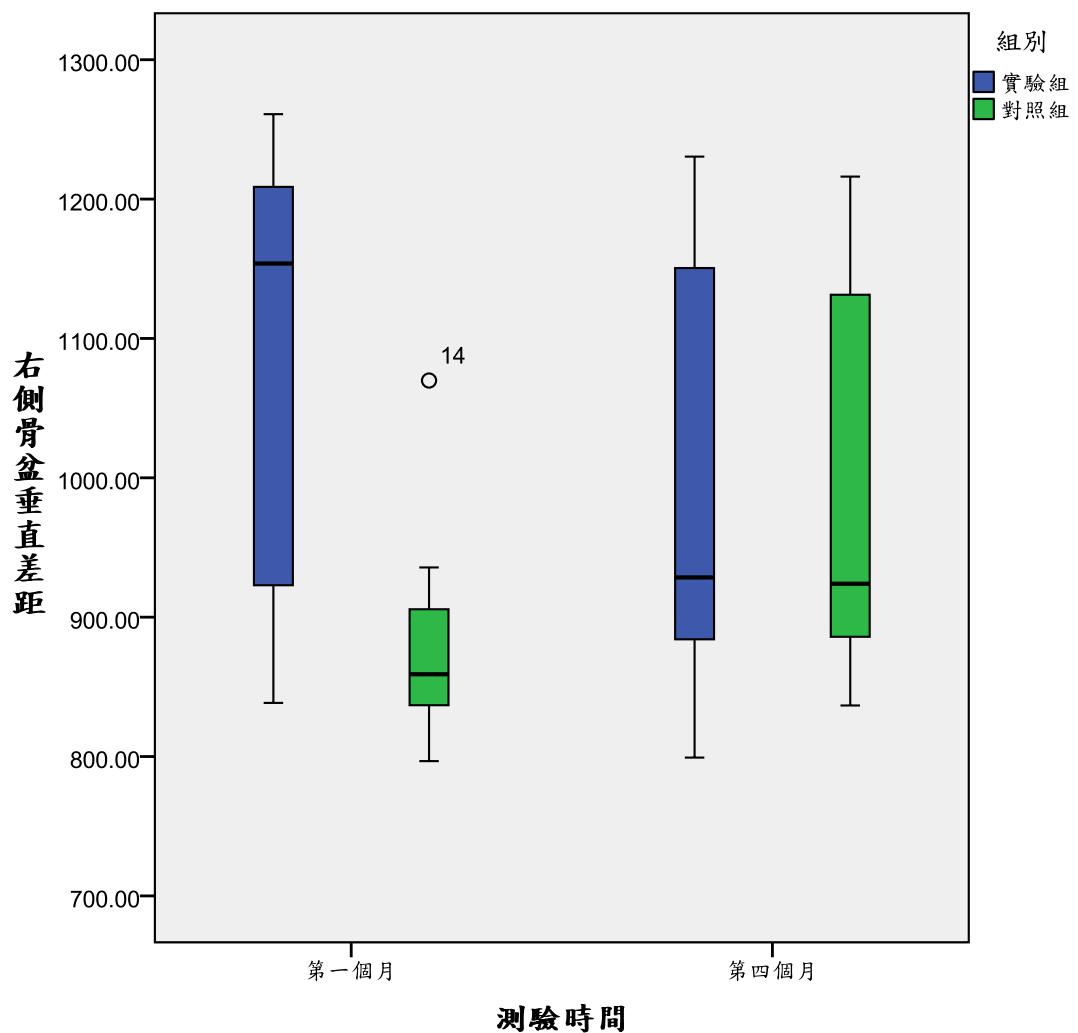


圖 23、右側骨盆垂直差距盒鬚圖

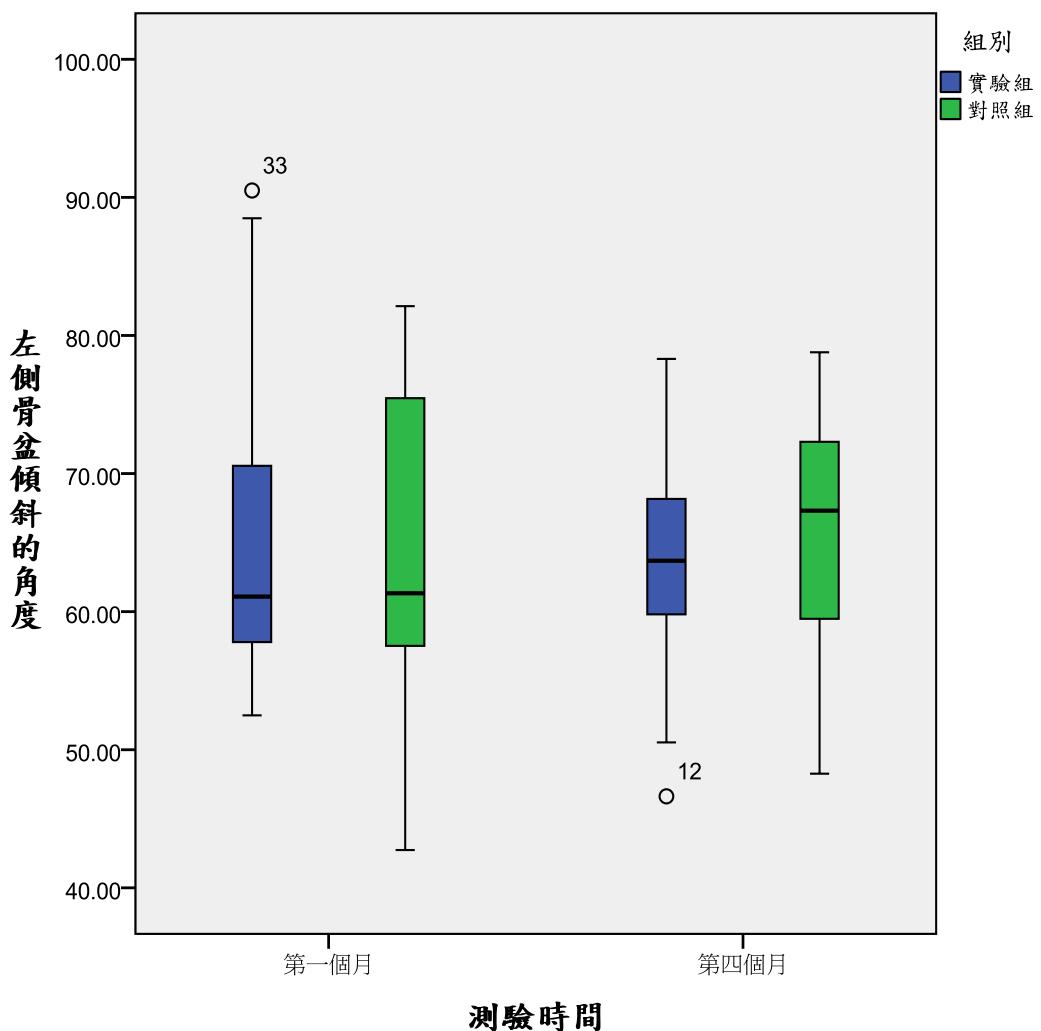


圖 24、左側骨盆傾斜的角度盒鬚圖

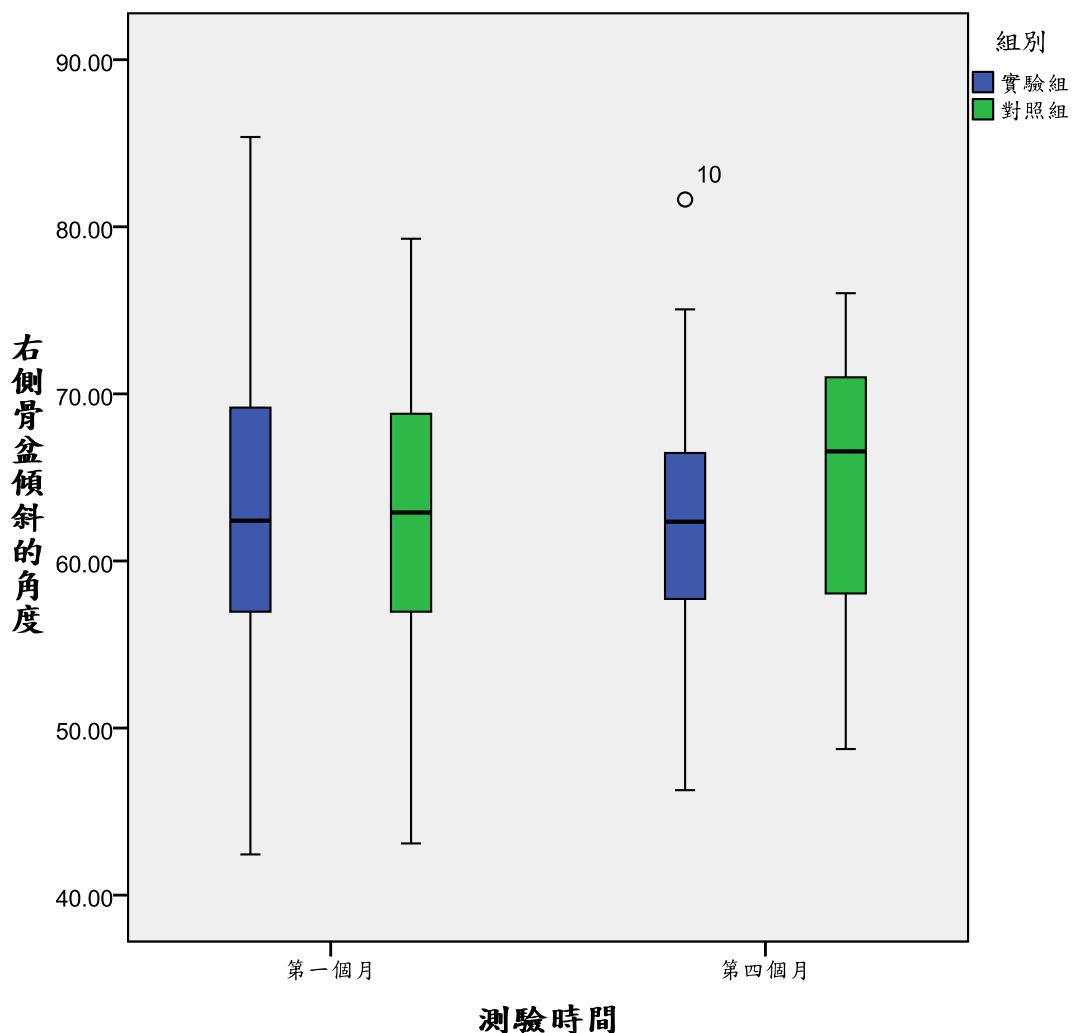


圖 25、右側骨盆傾斜的角度盒鬚圖

表 6、身體柔軟度原始數據各時間點之平均值±標準差

變項/ 分組情形	實驗組	對照組
	mean±SD	mean±SD
站姿體前彎(mm)		
第一個月 (前測)	2.13±103.49	49.51±104.38
第四個月 (後測)	2.40±101.89	49.15±88.71
站姿體左側彎(mm)		
第一個月 (前測)	-425.32±49.76	-403.34±42.27
第四個月 (後測)	-411.90±41.43	-387.78±50.21
站姿體右側彎(mm)		
第一個月 (前測)	-418.34±45.33	-361.20±168.28
第四個月 (後測)	-405.51±35.02	-377.06±46.80
貓式動作		
第一個月 (前測)	148.64±43.42	171.48±30.33
第四個月 (後測)	156.85±32.42	167.52±25.49

註：實驗組與對照組前、後測比較人數為：44/22、41/22

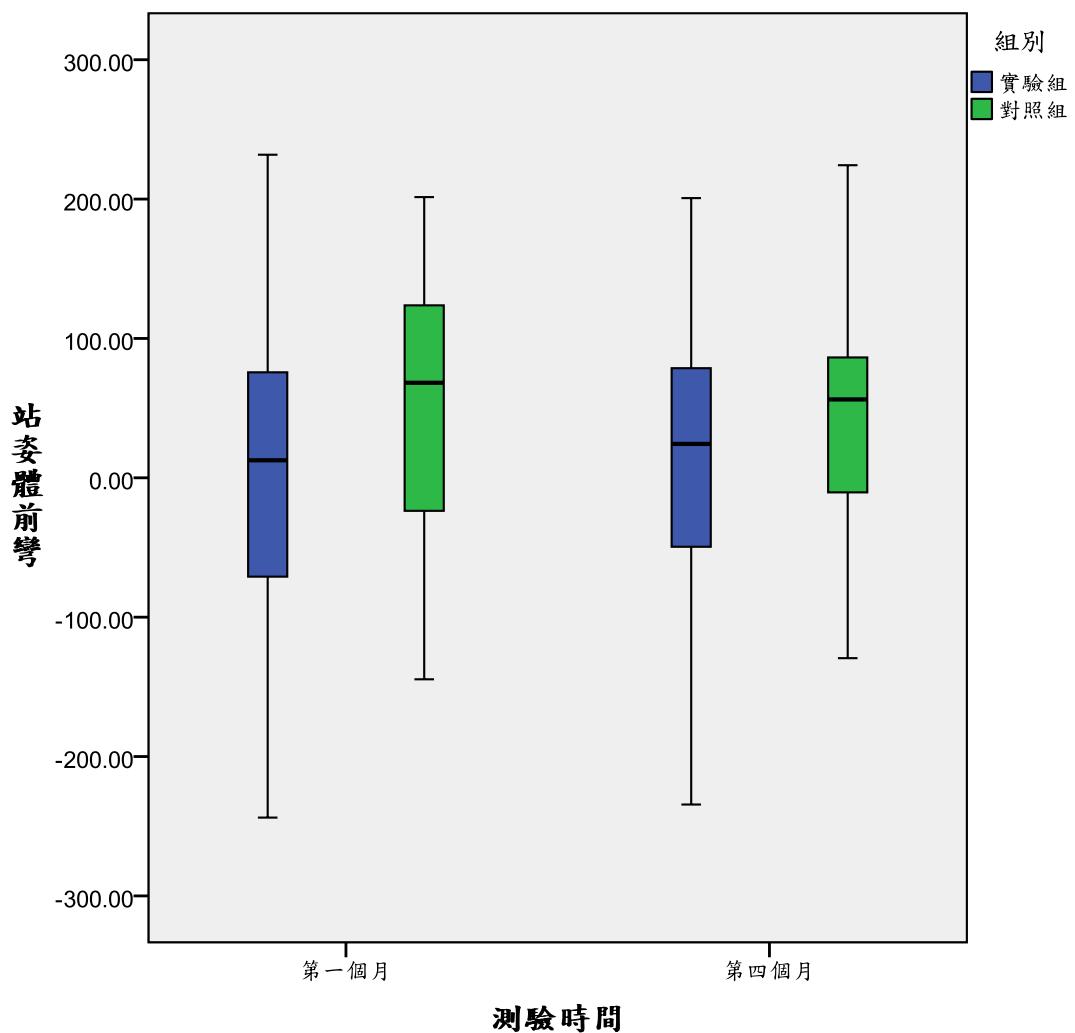


圖 26、站姿體前彎盒鬚圖

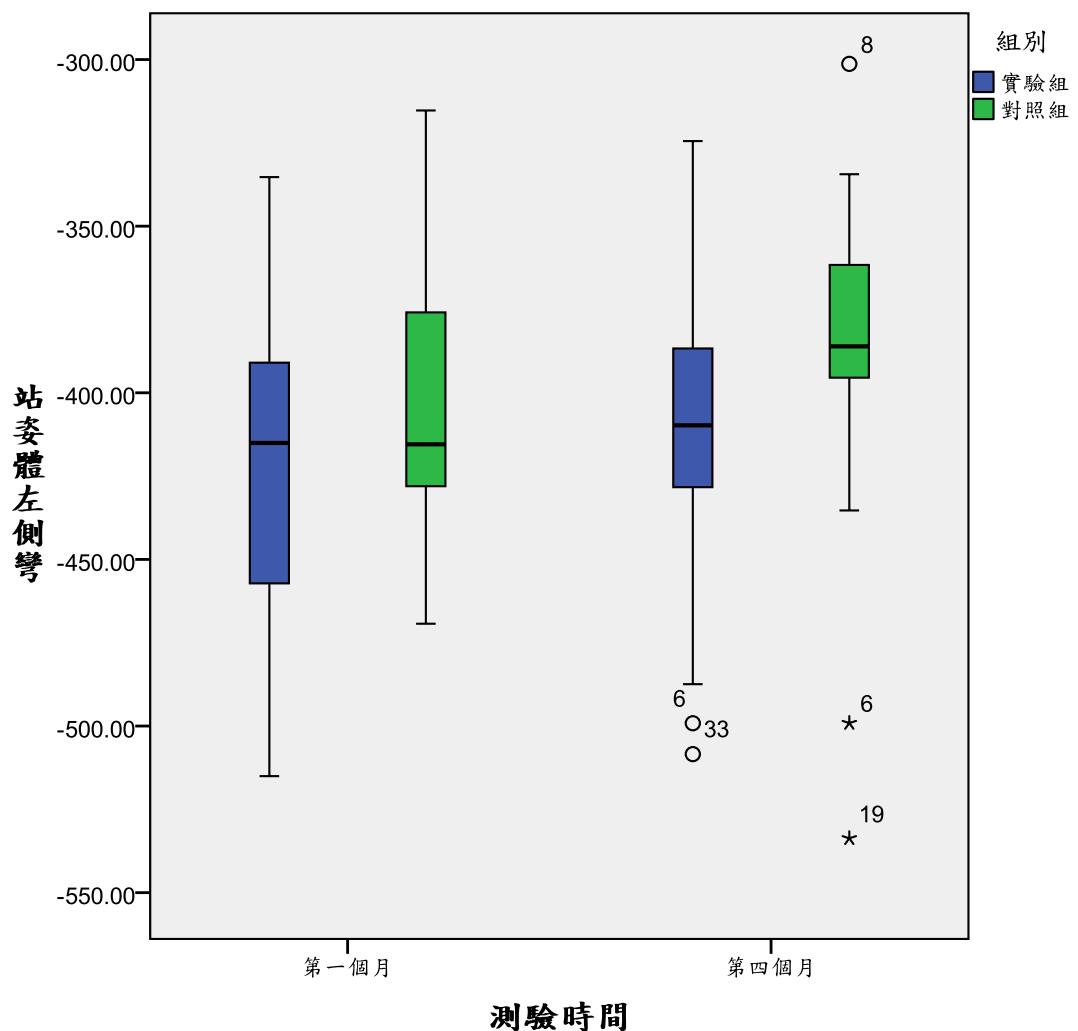


圖 27、站姿體左側彎盒鬚圖

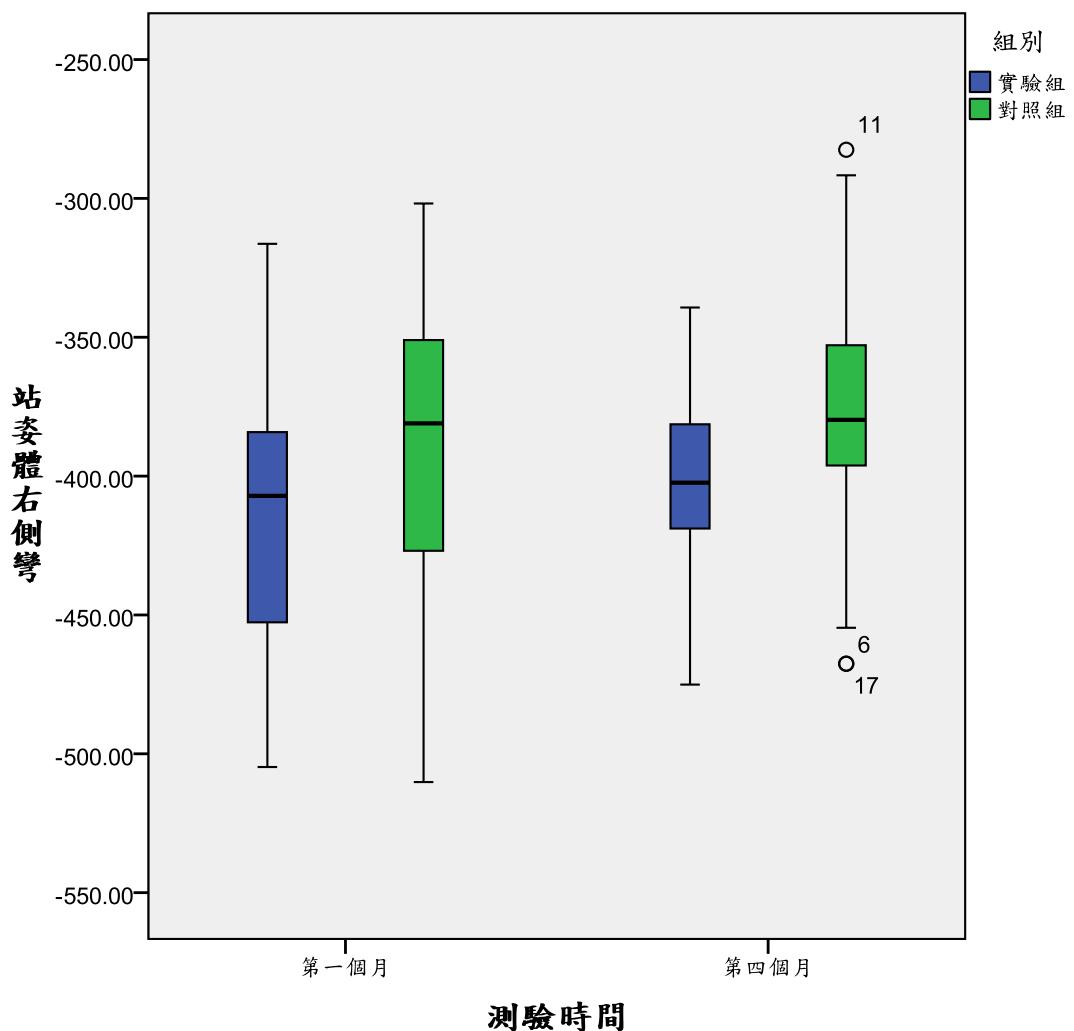


圖 28、站姿體右側彎盒鬚圖

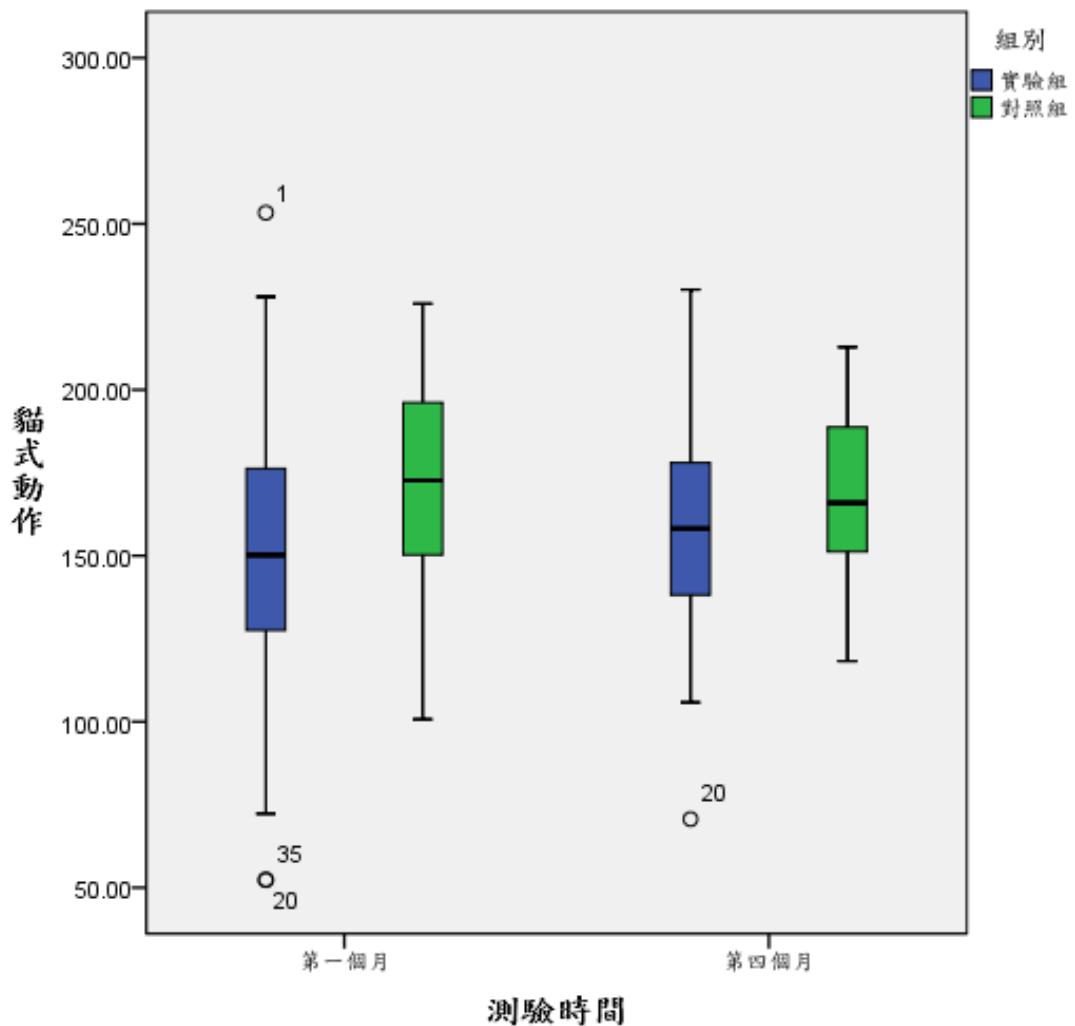


圖 29、貓式動作盒鬚圖

表 7、接受介入措施後隨著時間而改變的反應：從 GEE 得到的疼痛感覺之
共變項效益估計與標準誤

項目	迴歸 係數	標準誤	卡方值	p 值
(截距)	-4.077	23.4963	.030	.862
實驗組 vs. 對照組	-1.321	1.0546	1.568	.211
第二個月 vs. 第一個月	-1.667	.5353	9.692	.002
第三個月 vs. 第一個月	-1.414	.6773	4.357	.037
第四個月 vs. 第一個月	-1.883	.7516	6.276	.012
第五個月 vs. 第一個月	-1.790	.7104	6.350	.012
第六個月 vs. 第一個月	-3.219	.6812	22.327	.000
年齡	.401	.2517	2.544	.111
身高	.015	.1360	.012	.912
無使用止痛藥 vs. 有	-.322	1.0128	.101	.751
無運動習慣 vs. 有	.200	1.1702	.029	.865
疼痛強度前測	1.224	.4754	6.632	.010

以對照組為介入措施之參考組；第一個月為時間之參考組，第二、三、四、五及六個月為呈現變項。除了介入措施與時間，並加上年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測強迫放入 GEE 模式。

表 8、接受介入措施後隨著時間而改變的反應：從 GEE 得到的疼痛情感之
共變項效益估計與標準誤

項目	迴歸 係數	標準誤	卡方值	p 值
(截距)	-1.036	8.4411	.015	.902
實驗組 vs. 對照組	-.742	.4458	2.770	.096
第二個月 vs. 第一個月	-1.861	.3758	24.540	.000
第三個月 vs. 第一個月	-1.810	.4955	13.343	.000
第四個月 vs. 第一個月	-2.180	.4687	21.640	.000
第五個月 vs. 第一個月	-2.265	.3854	34.537	.000
第六個月 vs. 第一個月	-2.729	.4000	46.541	.000
年齡	-.004	.0959	.002	.963
身高	.026	.0497	.273	.602
無使用止痛藥 vs. 有	.027	.4774	.003	.955
無運動習慣 vs. 有	.024	.5286	.002	.964
疼痛強度前測	.919	.2556	12.937	.000

以對照組為介入措施之參考組；第一個月為時間之參考組，第二、三、四、五及六個月為呈現變項。除了介入措施與時間，並加上年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測強迫放入 GEE 模式。

表 9、接受介入措施後隨著時間而改變的反應：從 GEE 得到的疼痛總分之
共變項效益估計與標準誤

項目	迴歸 係數	標準誤	卡方值	p 值
(截距)	-6.312	30.4098	.043	.836
實驗組 vs. 對照組	-2.116	1.4479	2.136	.144
第二個月 vs. 第一個月	-3.531	.8347	17.890	.000
第三個月 vs. 第一個月	-3.230	1.0853	8.855	.003
第四個月 vs. 第一個月	-4.079	1.1528	12.518	.000
第五個月 vs. 第一個月	-4.040	1.0038	16.193	.000
第六個月 vs. 第一個月	-5.935	1.0015	35.116	.000
年齡	.404	.3277	1.522	.217
身高	.047	.1778	.070	.792
無使用止痛藥 vs. 有	-.252	1.3515	.035	.852
無運動習慣 vs. 有	.273	1.6149	.029	.866
疼痛強度前測	2.197	.6827	10.358	.001

以對照組為介入措施之參考組；第一個月為時間之參考組，第二、三、四、五及六個月為呈現變項。除了介入措施與時間，並加上年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測強迫放入 GEE 模式。

表 10、接受介入措施後隨著時間而改變的反應：從 GEE 得到的當時疼痛的強度之共變項效益估計與標準誤

項目	迴歸 係數	標準誤	卡方值	p 值
(截距)	1.665	1.7062	.953	.329
實驗組 vs. 對照組	-.080	.1298	.380	.538
第二個月 vs. 第一個月	-.576	.1650	12.209	.000
第三個月 vs. 第一個月	-.443	.1769	6.271	.012
第四個月 vs. 第一個月	-.510	.1559	10.692	.001
第五個月 vs. 第一個月	-.514	.1689	9.270	.002
第六個月 vs. 第一個月	-.659	.1681	15.371	.000
年齡	-.028	.0304	.851	.356
身高	.002	.0102	.055	.814
無使用止痛藥 vs. 有	-.055	.1417	.152	.697
無運動習慣 vs. 有	-.025	.1306	.038	.846
疼痛強度前測	.312	.0759	16.900	.000

以對照組為介入措施之參考組；第一個月為時間之參考組，第二、三、四、五及六個月為呈現變項。除了介入措施與時間，並加上年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測強迫放入 GEE 模式。

表 11、接受介入措施後隨著時間而改變的反應：從 GEE 得到的疼痛視覺類比分數之共變項效益估計與標準誤

項目	迴歸 係數	標準誤	卡方值	p 值
(截距)	7.530	6.8194	1.219	.269
實驗組 vs. 對照組	.841	.5053	2.772	.096
第二個月 vs. 第一個月	-.372	.5418	.472	.492
第三個月 vs. 第一個月	-.104	.4979	.044	.835
第四個月 vs. 第一個月	-.345	.5048	.467	.494
第五個月 vs. 第一個月	.121	.5962	.041	.839
第六個月 vs. 第一個月	-.449	.7496	.359	.549
組別 X 第二個月	-1.206	.6613	3.328	.068
組別 X 第三個月	-1.440	.6696	4.627	.031
組別 X 第四個月	-1.065	.6200	2.953	.086
組別 X 第五個月	-1.606	.7726	4.318	.038
組別 X 第六個月	-1.819	.9601	3.590	.058
年齡	-.064	.1040	.385	.535
身高	-.018	.0389	.207	.649
無使用止痛藥 vs. 有	-.531	.5251	1.023	.312
無運動習慣 vs. 有	-.156	.4737	.108	.742
疼痛強度前測	.668	.2497	7.156	.007

以對照組為介入措施之參考組；第一個月為時間之參考組，第二、三、四、五及六個月為呈現變項。除了介入措施與時間，並加上年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測強迫放入 GEE 模式。

表 12、接受介入措施後隨著時間而改變的反應：從 GEE 得到的疼痛視覺類比量表之共變項效益估計與標準誤

項目	迴歸 係數	標準誤	卡方值	p 值
(截距)	160.938	68.3845	5.539	.019
實驗組 vs. 對照組	-3.028	4.3992	.474	.491
第二個月 vs. 第一個月	-16.514	3.1823	26.928	.000
第三個月 vs. 第一個月	-14.070	3.0393	21.431	.000
第四個月 vs. 第一個月	-15.985	3.3085	23.344	.000
第五個月 vs. 第一個月	-14.711	3.8819	14.362	.000
第六個月 vs. 第一個月	-21.366	4.0097	28.394	.000
年齡	-1.549	1.1459	1.826	.177
身高	-.482	.4001	1.454	.228
無使用止痛藥 vs. 有	-8.369	4.8607	2.965	.085
無運動習慣 vs. 有	.544	4.6965	.013	.908
疼痛強度前測	5.153	2.7870	3.418	.064

以對照組為介入措施之參考組；第一個月為時間之參考組，第二、三、四、五及六個月為呈現變項。除了介入措施與時間，並加上年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、疼痛強度前測、骨盆前後傾斜角度的差異前測、及貓式動作前測強迫放入 GEE 模式。

表 13、接受介入措施後隨著時間而改變的反應：從 GEE 得到的左側骨盆垂直差距之共變項效益估計與標準誤

項目	迴歸係數	標準誤	卡方值	p 值
(截距)	930.302	285.3734	10.627	.001
實驗組 vs. 對照組	217.421	26.2017	68.856	.000
第四個月 vs. 第一個月	136.697	28.1277	23.618	.000
組別 X 第四個月	-234.606	41.5152	31.935	.000
年齡	-.021	5.1951	.000	.997
身高	-.371	1.7521	.045	.832
無使用止痛藥 vs. 有	-18.910	24.3041	.605	.437
無運動習慣 vs. 有	28.484	23.5421	1.464	.226
疼痛強度前測	2.836	7.6421	.138	.711

以對照組為介入措施之參考組；第一個月為時間之參考組，第二、三、四、五及六個月為呈現變項。除了介入措施與時間，並加上年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測強迫放入 GEE 模式。

表 14、接受介入措施後隨著時間而改變的反應：從 GEE 得到的右側骨盆垂直差距之共變項效益估計與標準誤

項目	迴歸係數	標準誤	卡方值	p 值
(截距)	987.165	280.8041	12.359	.000
實驗組 vs. 對照組	209.678	25.3014	68.678	.000
第四個月 vs. 第一個月	137.033	28.2221	23.576	.000
組別 X 第四個月	-230.328	41.6400	30.597	.000
年齡	-.105	5.0813	.000	.983
身高	-.653	1.7195	.144	.704
無使用止痛藥 vs. 有	-21.185	23.3562	.823	.364
無運動習慣 vs. 有	25.408	22.8340	1.238	.266
疼痛強度前測	1.742	7.3546	.056	.813

以對照組為介入措施之參考組；第一個月為時間之參考組，第二、三、四、五及六個月為呈現變項。除了介入措施與時間，並加上年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測強迫放入 GEE 模式。

表 15、接受介入措施後隨著時間而改變的反應：從 GEE 得到的左側骨盆傾斜的角度之共變項效益估計與標準誤

項目	迴歸 係數	標準誤	卡方值	p 值
(截距)	70.817	24.5314	8.334	.004
實驗組 vs. 對照組	.391	2.0007	.038	.845
第四個月 vs. 第一個月	-.654	1.5276	.183	.668
年齡	.670	.3591	3.478	.062
身高	-.138	.1289	1.140	.286
無使用止痛藥 vs. 有	3.616	1.7609	4.216	.040
無運動習慣 vs. 有	.453	1.7796	.065	.799
疼痛強度前測	-.222	.9190	.059	.809

以對照組為介入措施之參考組；第一個月為時間之參考組，第二、三、四、五及六個月為呈現變項。除了介入措施與時間，並加上年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測強迫放入 GEE 模式。

表 16、接受介入措施後隨著時間而改變的反應：從 GEE 得到的右側骨盆傾斜的角度之共變項效益估計與標準誤

項目	迴歸 係數	標準誤	卡方值	p 值
(截距)	80.692	22.8913	12.426	.000
實驗組 vs. 對照組	-.158	1.8621	.007	.932
第四個月 vs. 第一個月	.097	1.5770	.004	.951
年齡	.608	.3051	3.974	.046
身高	-.195	.1200	2.648	.104
無使用止痛藥 vs. 有	2.539	1.4410	3.103	.078
無運動習慣 vs. 有	-.148	1.5774	.009	.925
疼痛強度前測	-.006	.8123	.000	.994

以對照組為介入措施之參考組；第一個月為時間之參考組，第二、三、四、五及六個月為呈現變項。除了介入措施與時間，並加上年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測強迫放入 GEE 模式。

表 17、接受介入措施後隨著時間而改變的反應：從 GEE 得到的站姿體前彎之共變項效益估計與標準誤

項目	迴歸 係數	標準誤	卡方值	p 值
(截距)	429.815	277.8632	2.393	.122
實驗組 vs. 對照組	-50.789	23.1747	4.803	.028
第四個月 vs. 第一個月	3.090	11.2936	.075	.784
年齡	-2.383	5.8523	.166	.684
身高	-1.944	1.7676	1.209	.272
無使用止痛藥 vs. 有	19.237	25.7969	.556	.456
無運動習慣 vs. 有	7.312	21.4292	.116	.733
疼痛強度前測	-16.779	11.2394	2.229	.135

以對照組為介入措施之參考組；第一個月為時間之參考組，第二、三、四、五及六個月為呈現變項。除了介入措施與時間，並加上年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測強迫放入 GEE 模式。

表 18、接受介入措施後隨著時間而改變的反應：從 GEE 得到的站姿體左側彎之共變項效益估計與標準誤

項目	迴歸係數	標準誤	卡方值	p 值
(截距)	-222.389	135.5225	2.693	.101
實驗組 vs. 對照組	-26.751	9.2426	8.377	.004
第四個月 vs. 第一個月	15.557	6.9463	5.016	.025
年齡	-3.283	2.4370	1.815	.178
身高	-.597	.8526	.491	.484
無使用止痛藥 vs. 有	-1.512	9.2227	.027	.870
無運動習慣 vs. 有	-6.341	9.6894	.428	.513
疼痛強度前測	-6.394	4.6999	1.851	.174

以對照組為介入措施之參考組；第一個月為時間之參考組，第二、三、四、五及六個月為呈現變項。除了介入措施與時間，並加上年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測強迫放入 GEE 模式。

表 19、接受介入措施後隨著時間而改變的反應：從 GEE 得到的站姿體右側彎之共變項效益估計與標準誤

項目	迴歸 係數	標準誤	卡方值	p 值
(截距)	-76.338	124.0753	.379	.538
實驗組 vs. 對照組	-31.592	9.8254	10.339	.001
第四個月 vs. 第一個月	14.239	7.2343	3.874	.049
年齡	-2.548	1.7507	2.118	.146
身高	-1.613	.7379	4.781	.029
無使用止痛藥 vs. 有	11.009	8.7610	1.579	.209
無運動習慣 vs. 有	4.535	6.3776	.506	.477
疼痛強度前測	-5.391	4.3520	1.535	.215

以對照組為介入措施之參考組；第一個月為時間之參考組，第二、三、四、五及六個月為呈現變項。除了介入措施與時間，並加上年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測強迫放入 GEE 模式。

表 20、接受介入措施後隨著時間而改變的反應：從 GEE 得到的貓式動作之
共變項效益估計與標準誤

項目	迴歸 係數	標準誤	卡方值	p 值
(截距)	217.251	112.1243	3.754	.053
實驗組 vs. 對照組	-17.190	7.4125	5.378	.020
第四個月 vs. 第一個月	3.312	3.7367	.786	.375
年齡	.723	1.6027	.204	.652
身高	-.348	.7381	.222	.638
無使用止痛藥 vs. 有	.040	6.8721	.000	.995
無運動習慣 vs. 有	3.364	7.0280	.229	.632
疼痛強度前測	-3.953	2.7329	2.092	.148

以對照組為介入措施之參考組；第一個月為時間之參考組，第二、三、四、五及六個月為呈現變項。除了介入措施與時間，並加上年齡、身高、使用止痛藥、運動習慣、當時疼痛的強度前測強迫放入 GEE 模式。

附錄一

參與研究同意書（此部份研究者存檔）

我是國立臺東大學身心整合與運動休閒產業學系老師馬素華，由於關心女性在經期中所感受到的經痛問題，而欲進行「女性經痛自我照護策略之發展」的研究。本研究想藉由提供一系列穴位按壓和探索身體之身心對話的活動內容，來探討穴位按壓和身心對話對改善經痛的效果，非常歡迎您的加入。

本研究以國立臺東大學之通識教育—「經痛與穴位按壓」課程為實驗場域，邀請有嚴重經痛的女學生選課，實施一系列穴位按壓、身體放鬆和調整結構的教育課程。課程實施的過程中，會要求寫下、畫下心得日誌或進行個別訪談、身體結構檢測以及身體柔軟度等幾個檢測項目。如果您同意參與此研究，我將對您說明研究之相關事項，並讓您填寫基本資料及相關問卷，而您個人基本資料及問卷資料，皆只有編碼後的數字呈現，別人無法獲知。在研究過程中您若有任何疑問，可以打電話（089）517816或0955237395與我聯絡。如果您因個人因素欲中止參與研究，可以隨時退出，並取回您的同意書。謝謝您的協助與合作。

研究同意書

馬老師已向我說明整個過程，且我已完全了解此研究過程，並同意參加及填寫此同意書。同意書一式兩份，一份馬老師存檔，一份由我自行存留。

立同意書人簽章：_____

中華民國____年____月____日

參與研究同意書（此部份同學存留）

我是國立臺東大學身心整合與運動休閒產業學系老師馬素華，由於關心女性在經期中所感受到的經痛問題，而欲進行「女性經痛自我照護策略之發展」的研究。本研究想藉由提供一系列穴位按壓和探索身體之身心對話的活動內容，來探討穴位按壓和身心對話對改善經痛的效果，非常歡迎您的加入。

本研究以國立臺東大學之通識教育—「經痛與穴位按壓」課程為實驗場域，邀請有嚴重經痛的女學生選課，實施一系列穴位按壓、身體放鬆和調整結構的教育課程。課程實施的過程中，會要求寫下、畫下心得日誌或進行個別訪談、身體結構檢測以及身體柔軟度等幾個檢測項目。如果您同意參與此研究，我將對您說明研究之相關事項，並讓您填寫基本資料及相關問卷，而您個人基本資料及問卷資料，皆只有編碼後的數字呈現，別人無法獲知。在研究過程中您若有任何疑問，可以打電話（089）517816或0955237395與我聯絡。如果您因個人因素欲中止參與研究，可以隨時退出，並取回您的同意書。謝謝您的協助與合作。

研究同意書

馬老師已向我說明整個過程，且我已完全了解此研究過程，並同意參加及填寫此同意書。同意書一式兩份，一份馬老師存檔，一份由我自行存留。

立同意書人簽章：_____

中華民國____年____月____日

附錄二

99(2)學年度【經痛與穴位按壓(經痛調整課程)】

個人基本資料

◎ 姓名：_____ 學號：_____ 系級：_____

◎ 聯絡電話：_____

◎ 聯絡地址：_____

◎ 電子信箱：_____
(電話或電子信箱資料若有更動，請主動通知馬素華教授研究室，分機5815)

◎ 年齡：_____ (出生日期 _____ 年 月)

◎ 初經年齡：_____ 歲

◎ 經痛開始的年齡：_____ 歲 (或初經後____年____月)

◎ 月經週期為：_____ 天 (約多久時間來一次月經)

◎ 行經天數為：_____ 天 (一次月經來潮大約幾天)

◎ 請問您有無下列的疾病 (可複選)

無

心臟病

惡性腫瘤

血栓靜脈炎

肺結核

其他，請描述 _____

◎ 請問您可曾被診斷有下列婦科疾病 (可複選)

無

子宮內膜異位

子宮腫瘤

子宮頸狹窄

骨盆腔炎症

其他，請描述 _____

附錄三

99(2)學年度【經痛與穴位按壓(經痛調整課程)】

姓名: _____ 學號: _____ 系級: _____ 填寫日期:
/ /

月經情況量個人基本資料表(自 2011/2/22 至 2011/9/30 期間, 每次月經時填寫)

- 請問您這一次月經是：____月____日 到 ____月____日
- 請問您這一次痛經(經期時感到下腹部疼痛)的時間是從何時開始？
月經來之前____天 月經開始後第____天 月經結束後第____天
- 請問您這一次痛經(經期時感到下腹部疼痛)持續的時間是到何時結束？
月經來之前____天 月經開始後第____天 月經結束後第____天
- 請問您這一次行經期間是否有下列症狀(可複選)：
噁心 嘔吐 頭痛 眩暈
腹瀉 昏厥 虛弱無力 其他, 請描述_____
- 請問這一次經痛時您的處理方式是(可複選)：
不理會 看西醫 看中醫 臥床休息 腹部熱敷 腹部按摩
放鬆技巧
自行服用中藥：藥名_____
自行服用止痛劑：藥名_____
劑量_____ (顆/天或顆/小時)；這次月經週期共服用_____顆
止痛效果：佳 普通 差
其他自我處理經痛的方法, 請描述_____
- 請問您這一次經痛影響您與他人的關係？
不影響 輕微影響 中度影響 嚴重影響
- 請問您這一次經痛影響您日常活動(上課或工作)的能力？
不影響 輕微影響 中度影響 嚴重影響
- 請問您這一次經痛影響您平時的運動狀況？
不影響 輕微影響 中度影響 嚴重影響
- 請問您平時(過去的一個月)的運動的情形為何？
沒有運動的習慣
有運動的習慣, 請描述：_____ (請寫下運動的種類、次數、時間)
(範例：1.打籃球, 每週一次, 一次60分鐘。2.跳有氧舞蹈, 每週3次, 一次40分鐘)
- 請問您這一次疼痛的性質是(可複選)？

<input type="checkbox"/> 按壓痛處較舒適	<input type="checkbox"/> 熱敷痛處, 可減輕疼痛	<input type="checkbox"/> 腹脹不適程度大於腹痛
<input type="checkbox"/> 按壓痛處更不適	<input type="checkbox"/> 熱敷痛處, 疼痛更厲害	<input type="checkbox"/> 腹痛不適程度大於腹脹
<input type="checkbox"/> 隱隱作痛	<input type="checkbox"/> 冷痛	<input type="checkbox"/> 刺痛
<input type="checkbox"/> 絞痛		
- 請問您這一次經血顏色是：淡紅 鮮紅 暗紅
- 請問您這一次經血中含有血塊：無 有
- 請問您這一次月經量是：多量 中量 少量

附錄三之二

99(2)學年度【經痛與穴位按壓(經痛調整課程)】

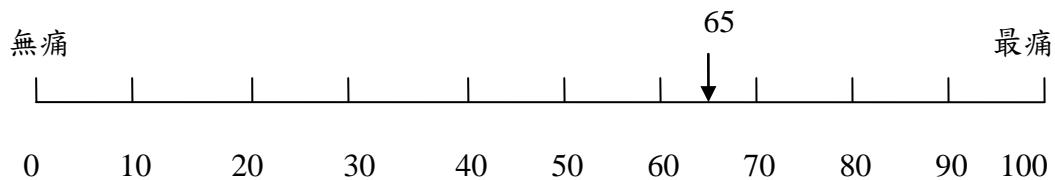
姓名：_____ 學號：_____ 系級：_____ 填寫日期：____ / ____ / ____

視覺疼痛類比量表（自 2011/2/22 至 2011/9/30 期間，每次月經時填寫）

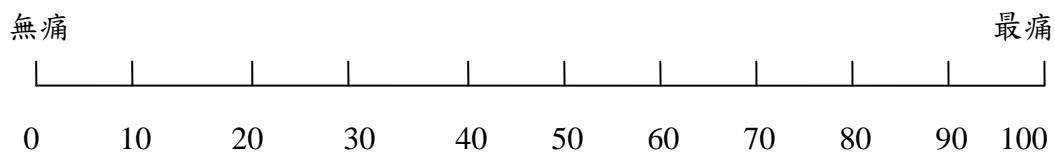
※請在月經第二天，執行穴位按壓後，休息10分鐘，再填寫以下問題※

請依您這一次經痛的情況，回答下列問題；「0」端代表無痛的狀態，「100」端代表最痛的狀態，根據此觀點，請在下列的長條圖中，以箭頭及數字的方式，標出您的情況，謝謝。

例如：整體而言，我的經痛程度。



整體而言，我的經痛程度。



附錄三之三

99(2)學年度【經痛與穴位按壓(經痛調整課程)】

姓名：_____ 學號：_____ 系級：_____ 填寫日期：____ / ____ / ____

短格式 McGill 疼痛量表(自 2011/2/22 至 2011/9/30 期間，月經第二天時填寫)

※請在月經第二天，執行穴位按壓後，休息10分鐘，再填寫以下問題※

一、請在下列的描述中勾選您最近一次經痛的感覺及程度

	無	輕度	中度	重度
	0	1	2	3
陣陣的抽痛	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
突然的劇痛	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
針刺般的痛	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
刀割般的痛	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
痙攣性的痛	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
啃咬般的痛	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
燒灼般的痛	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
酸痛	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
沉重感	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
一觸就痛	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
撕裂般的痛	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
精疲力盡	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
難受的	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
恐懼的	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
受酷刑的	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

二、請勾選出這一次經痛的強度

- 0 不痛
- 1 輕度的疼痛
- 2 不舒服的疼痛
- 3 痛苦
- 4 可怕的疼痛
- 5 極端的疼痛

三、請在0-10 分的尺度上，最能代表您這一次經痛的分數上劃“√”

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

不痛

極痛

附錄三之四

短格式McGill疼痛量表操作性定義如下：

1. 陣陣抽痛感(Throbbing)：有如脈搏跳動般規律的一陣一陣抽痛。
2. 突然的劇痛(Shooting)：疼痛是突如其来，快速而尖銳的痛。
3. 刺痛(Stabbing)：如用針刺一樣痛的感覺。
4. 刀割感(Sharp)：有如刀子在割一樣產生強烈的銳痛。
5. 紓痛(Cramping)：感覺有如兩根繩子相絞擰緊在一起。
6. 咬痛(Gnawing)：感覺有如東西在身上啃咬一般。
7. 灼熱感(Hot-Burning)：感覺有如被火燒到、燙到一般。
8. 酸痛感(Aching)：有如肌肉過度疲勞所產生微微持續的痛感。
9. 沉重感(Heavy)：感覺像是被重物拖住向下墜一樣。
10. 疼痛喜按(Tender)：用手按時不痛，手放開時即痛。
11. 撕裂感(Splitting)：感覺像是身體要被撕成兩半一般。
12. 精疲力竭(Tiring-Exhausting)：感覺很疲倦、很累、全身軟弱無力。
13. 令人噁心的(Sickening)：感覺不舒服、很難受。
14. 可怕的(Fearful)：覺得疼痛是可怕的經驗或害怕又痛起來。
15. 殘酷的處罰(Punishing-Crue)：覺得疼痛是一種處罰折磨。

附錄四

每週自我練習單

姓名：_____ 學號：_____ 系級：_____

練習內容 及操作情形		實施日期		月 日 (一)	月 日 (二)	月 日 (三)	月 日 (四)	月 日 (五)	月 日 (六)	月 日 (日)	心得 (請具體寫下穴位按壓或 身心動作練習後，身體的 感覺、疼痛的減緩以及練 習過程遇到的問題等等)
穴位按壓	主穴	氣海 1'									
		關元 1'									
		血海 2'									
		合谷 2'									
		三陰交 2'									
		太衝 2'									
	副穴	足三里 2'									
		陰陵泉 2'									
		內關 2'									
		內庭 2'									
		風池 2'									
		百會 1'									
動作練習	腹式呼吸 5-10'										
	身體彩繪 10-15'										
	骨盆時鐘 10-15'										
	近端運動 10-15'										
	身體歸零 10-15'										
	貓式運動 10-15'										
	軟球運動 10-15'										

※請記得月經來潮當天開始，一定要每天做穴位按壓 10~21 分鐘，連續五天，並寫下心得。

※當天若有做練習者，請在格子內打勾”√”，並寫下心得。

※按壓主穴主要用於緩解經痛，而按壓副穴適用於減緩經痛帶來的其他不適症狀，例如：頭暈、腹瀉、嘔吐等。

※請在每週上課時繳交上週穴位練習單，老師可以及時解決同學在實作上遇到的問題。

附錄四

每週飲食記錄調查表

姓名：_____ 學號：_____ 系級：_____

刺激性與冰冷食物亦與經痛的發生有關，請您詳細記錄飲食中有關刺激性食物之數量，包括有冰品、辣椒、生菜沙拉、茶、咖啡等，及是否有吃四物湯、十全大補湯、薑母鴨、中將湯…等補品。數量的紀錄以大約的量即可，如紅豆冰一大碗、濃茶兩杯、辣椒一大匙、四物湯一帖…等等。

日期	刺激物	數量	詳細補充說明
星期一 (/)			
星期二 (/)			
星期三 (/)			
星期四 (/)			
星期五 (/)			
星期六 (/)			
星期日 (/)			

※請在每週上課時繳交上週飲食紀錄單。

北區中醫門診教學網絡計畫

張恒鴻

長庚醫療財團法人林口長庚紀念醫院

摘要

本研究計畫旨在培育具有全人醫療能力之中醫師，促進中醫醫療機構健全發展，提供民眾完整中醫醫療服務，提昇中醫醫療服務品質。由於本區訓練醫院中彼此各項教學師資及專長不一，本研究將有效整合師資俾利於住院醫師教學訓練內容。

為整合北區訓練醫院教學資源，擬建立北區中醫門診教學訓練網絡，支援訓練醫院師資不足科別之教學，輔導北區訓練醫院開設師資不足科別之教學門診，提供受訓醫師完善臨床訓練環境，解決部分訓練醫院科別師資不足問題。以 1. 進行區域教學整合；2. 針對各訓練醫院師資不足科別輔導開設教學門診；3. 訂定北區訓練醫院教學門診成效考核機制；4. 辦理北區訓練醫院教學門診成效考核工作等方法執行。

結論：

一、針對北區中醫各訓練醫院師資不足科別輔導開設教學門診，提供受訓醫師完善臨床訓練環境，解決部分訓練醫院科別師資不足問題；並針對部分醫學中心 R1, R2 無法獨立開診，擬以開設教學門診方式，提供訓練其門診看診經驗模式。從教學內容相關的病例報告、病歷書寫與受訓醫師的滿意度來看，基本上已經達到此目的。

二、北區符合開設網絡計畫教學門診資格之訓練醫療院所共 18 個單位，其中有六個單位參加本計畫的執行。其中五個單位執行中醫傷科的門診教學，一個單位執行中醫婦兒科的門診教學。可見中醫各訓練醫療院所傷科教學的匱乏，在未來正式執行負責醫師訓練的醫療院所，此種狀況是值得重視與深思的。

關鍵詞：訓練醫院、網絡計畫、中醫門診教學

Program of Traditional Chinese Medicine Outpatient Department Teaching Network in Northern Taiwan

Hen-Hong Chang

Chang Gung Memorial Hospital at Linkou

ABSTRACT

This project aims to foster the Chinese medical doctors with full therapeutic ability, to promote the well development of Chinese medical institutes and provide the intact Chinese medical service for our people.

We would like to establish the programs of traditional Chinese medicine outpatient department teaching network in northern Taiwan in order to integrate Chinese medical teaching resources in the hospital of northern Taiwan. Thus, in this project, it will offer and support some teaching hospitals, which are lack of some courses, and also can help to resolve the issue of a teacher qualified to teach some courses.

Purpose :

1. To integrate the qualified teachers and their experts in teaching hospitals of northern Taiwan.
2. To help to set up teaching outpatient services in training hospitals that are lack of qualified teachers in some courses.
3. To establish the assessment of teaching effect in outpatient services of teaching hospitals.
4. To conduct and assess the teaching efficacy of outpatient services in teaching hospitals.

Conclusion:

1. We have helped several training hospitals in northern Taiwan, to set up the teaching outpatient service, providing an integrated teaching environment for the trainee doctors and residents, compensating the lack of qualified teachers in some courses; also, in certain medical centers that cannot provide outpatient service for the junior residents (R1 & R2), we suggest the use of teaching outpatient service to provide an opportunity for the junior residents to increase their experience in the clinics. We have reviewed the case presentations, medical record and the responses from the trainee doctors and residents, and the results are satisfactory and consistent with our purpose.
2. There are 18 institutions in the northern Taiwan that qualified for this program, and

6 of them participated, five of them are from the Chinese Medicine Traumatology department and one from Chinese Medicine Gynecology and Pediatrics Department. The teaching program of Chinese Traumatology is deficient in many training institutions, and this should be considered and reviewed in the future, specially in those institutions executing the training plan of responsible doctors of traditional Chinese medical institutions.

Keywords: training hospital, network program, Chinese medical services

壹、前言

以學校基本醫學教育為起點、畢業後醫學教育為重點，並透過持續性專業臨床教學訓練教育，把教育、培訓與終身學習能力統合起來，才能形成完整醫學教育體系。一直以來中醫師養成背景不同，而且缺乏完整中醫醫事人員臨床教學訓練制度，導致中醫醫療品質良莠不齊，影響中醫醫療競爭力，甚至阻滯我國中醫藥之整體發展。現階段中醫訓練場所，就師資、醫療照護品質、及訓練考核等制度，均無明確的規範。不若西醫有一套完整的學習訓練計畫內容，由住院醫師到主治醫師的養成階段中，均有明確的訓練計畫內容與期限。

醫學院學生畢業後，進入醫院接受臨床工作，在臨床指導教師指導下學習各種常見、一般性疾病的診斷、治療與照護能力，從病人的照護中學習與病人、家屬及醫療團隊成員的溝通能力、重視醫療品質的改善與醫療資源的最佳運用，養成對專業的敬重與責任感，進而配合政府衛生政策，提供民眾周全性及持續性的全人照護。同時也鼓勵教學醫院提供良好之訓練場所及教學資源，俾使醫療機構新進醫事人員均能接受必要之訓練，達成提升醫療品質及確保病人安全之目標。

目前國內中醫師訓練所面臨的狀況：

一、缺乏標準化臨床訓練制度與訓練場所

現階段中西醫師只要於畢業後，經過二年臨床訓練，即可取得開業負責醫師的資格。西醫的訓練必須於教學醫院中完成訓練，始承認其資格。反觀中醫的訓練場所，由於教學訓練醫院的不普及，只要在各中醫醫院、診所及綜合醫院附設之中醫部門，均視為指定之訓練醫院、診所，並無所謂教學訓練醫院的規章制度。中醫教學訓練內容計畫，也相對的較不統一，因此在訓練過程中，良莠不齊的情形也較易出現。兩相比較，我國西醫師臨床訓練制度已行之多年，成熟的訓練制度對提昇醫師執業素質與醫療品質，有極大貢獻。對於年輕中醫師，目前尚缺乏一套系統性及標準化的臨床訓練制度，各訓練醫院沒有一致性的中醫師訓練規範。教學醫院為醫師接受畢業後醫學教育(postgraduate medical education)最重要的場所。目前中醫醫療院所均未納入正式的教學醫院評鑑，無法篩選較佳中醫見、實習醫學生及住院醫師訓練場所。

二、臨床師資素質不齊

中醫為實證科學，一位中醫師的養成，除必須著重醫學知識外，更需要學習臨床技能及醫學倫理，其臨床指導醫師素質之良窳，影響訓練品質甚劇。醫院指導醫師養成及訓練背景不同，也可能造成各醫院中醫教學病歷、中醫教學內容書寫及臨床教學品質良莠不齊。醫院指導醫師缺乏臨床

教學共識，容易造成各醫院訓練重點及訓練方式歧異，導致訓練品質參差不齊。部分醫院中藥局外包，影響中藥調劑人員教育訓練及中藥調劑品質。

因此為中醫藥長遠發展，的確有必要建立一套完整的臨床教學訓練規章。根據中醫藥委員會所推動「建構中醫整體臨床教學體系 2002-2009 計畫」內容，培育具有全人醫療能力之中醫師，落實中醫醫療機構負責醫師督導功能，促進中醫醫療機構健全發展，以提供民眾完整醫療服務，已具有初步的成效。

依醫療法第 18 條第 2 項規定，醫療機構之負責醫師，應在中央主管機關指定醫院或診所接受二年以上負責醫師訓練，並取得證明文件，才得以符合資格。過去，由於未辦理中醫醫院評鑑，因此在中醫師訓練部分，各中醫醫院、診所及綜合醫院附設中醫部門，衛生署均視為指定之訓練醫院、診所，由於大多數中醫師選擇於診所接受訓練，無法落實訓練目的，影響中醫醫療機構的健全發展。行政院衛生署中醫藥委員會為培育具有全人醫療能力之中醫師，促進中醫醫療機構健全發展，提供民眾完整中醫醫療服務，提昇中醫醫療品質，自 98 年起執行中醫醫療機構負責醫師訓練制度，更是列為近兩年施政要點。未來將要求欲擔任負責醫師者，必須在衛生署公告合格之負責醫師訓練醫院接受二年負責醫師，始得充任。

負責醫師訓練課程包括中醫內科學、中醫婦科學、中醫兒科學、中醫針灸科學及中醫傷科學等科別；惟多數訓練醫院面臨部分科別師資不足情形，部分醫院乃以指導醫師跨科進行教學訓練，影響受訓醫師訓練品質甚鉅。

由於現今北區部分符合資格之負責醫師教學醫院師資不足與不均，因此進行區域教學整合及支援教學，確保受訓醫師訓練品質，提供受訓醫師完善臨床訓練環境，解決部分訓練醫院科別師資不足問題，乃是本計畫的重點。

本訓練對中醫醫療服務品質之相關性：

經由本計畫推動之課程，加強中醫醫療機構負責醫師臨床教學功能，提升受訓醫師教育訓練，促進機構健全發展，確保服務品質，並培育具有全人醫療能力之中醫師，減少養成過程歧異，提昇其職業素質。藉由本訓練的養成教育，可強化中醫醫療照護品質，提供民眾中醫就醫安全環境，與提昇中醫醫療服務品質具有莫大助益。

本計畫對中醫執業環境可能之影響：

1. 落實開業中醫師二年醫師訓練制度。
2. 培育具有全人醫療能力的中醫師。
3. 提昇中醫醫事人員的執業素質。
4. 促進中醫醫療機構的健全發展。

貳、材料與方法

一、進行區域教學整合。

召開專家座談會，整合北區指導師資名單及教學專長。

(一)收集資料：

1. 經向北區核心醫院--臺北市立聯合醫院--取得98年北區合格指導醫師名單，了解每位指導醫師專長及實際開診狀況。
2. 瞭解98年符合中醫醫療機構負責醫師訓練計畫主要訓練醫院申請資格之醫院名單中，中醫各學科教學專長之多寡。

(二)召開專家座談會

1. 邀集北區各家醫院（臺北市立聯合醫院、全昌堂傳統中醫醫院、臺北醫學大學附設醫院、三軍總醫院附設民眾診療服務處、臺北市立萬芳醫院、天主教耕莘醫院、行政院衛生署臺北醫院），協詢其師資缺乏之科別，分別以內、婦、兒、針、傷為主要輔導科別，根據各家訓練醫院需要，開立相關教學門診。
2. 邀集各專科學會、各科專家協助開設教學門診。

(三)進行北中南三區門診教學網絡整合

邀集北、中、南三區之門診教學網絡執行醫院舉行共識會議。針對教學門診設立方式、中醫門診教學內容、教學門診成效考核機制進行研商，以達全國統一標準。

二、針對各訓練醫院師資不足科別輔導開設教學門診。

(一)開診醫院資格

1. 通過98年中醫療機構負責醫師訓練醫院合格醫院為主。
2. 以99年度通過行政院衛生署中醫藥委員會審核，補助之北區中醫醫療機構負責醫師訓練計畫之醫院為優先補助之對象。

(二)開設教學門診師資資格認定：

1. 部定講師2年以上且執業滿5年以上
2. 臨床教學經驗3年以上且執業滿5年以上
3. 執業滿10年以上

(三)教學門診師資由各院所自行延聘，各院所以本計畫名義聘請之師資進行門診教學時，須向衛生局報備，確定開診時程及診次。

(四)補助中醫門診教學經費給付原則：

1. 補助診次：符合資格醫師每週以開設教學門診1診為限。
2. 看診人數：每診看診人數以3人至5人為限。
3. 補助金額：每診教學門診給付新臺幣5,000元整。

(五)中醫門診教學內容：

1. 在指導醫師指導下，被指導者參與門診病人診療業務，學習初、複診問診技巧，門診病歷書寫，醫病關係；並學習四診（望、聞、問、切）診斷方法，八綱、臟腑、六經、三焦、營衛氣血等辨證方法及理法方藥的臨床應用；或針對中醫各專科特色進行教學。
2. 門診教學內容仍以目前所呈現的病機四大要素及病程時序變化作為各科實際指導的內容。
3. 教學門診病例報告寫作要點
4. 依照中醫醫療機構負責醫師病例書寫規定。含主訴、現在病史、理學檢查、實驗室檢查、中西醫診斷、中醫四診、辨病與辨證治則（包括病機四大要素，病因、病性、病勢、病位、處方用藥、理法方藥分析、追蹤診療紀錄、整體回顧等）。
5. 運用此門診教學方式，提供培養準指導醫師場所，以提昇往後臨床訓練教學之品質。
6. 門診教學評量：
 - (1) 製作「中醫門診教學紀錄表」以供備查。
 - (2) 每診完成編寫「中醫門診教學案例報告」至少 1 例。
 - (3) 建議盡量進行 mini-CEX 與 DOPS 的評量。

三、訂定北區訓練醫院教學門診成效考核機制。

(一)邀集各專科學會、專家辦理 1 場教學門診示範教學。

針對開設教學門診之醫師進行中醫內科學、中醫婦科學、中醫兒科學、中醫針灸科學及中醫傷科學等科別之示範教學。

(二)召開專家座談會訂定訓練醫院教學門診成效考核機制。

(三)設立受訓醫師及指導醫師教學門診教學滿意度調查。

四、辦理北區訓練醫院教學門診成效考核工作。

(一)辦理北區訓練醫院教學門診成效訪查考核。

邀集北區中醫醫療機構負責醫師訓練計畫之醫院進行彼此訪查考核，延請相關專家、學者進行實地訪查以截長補短、互通有無。

(二)成效考核內容包含：

1. 「中醫門診教學紀錄表」
2. 「中醫門診教學案例報告」
3. 受訓醫師及指導醫師教學門診教學滿意度訪查。
4. 對於本計畫執行之相關建議及改進方案。

(三)辦理教學門診期終檢討會一場。

於計畫結束前 1-2 個月，邀集北區中醫醫療機構負責醫師訓練

計畫之醫院就門診開立、師資教學內容、及受訓醫師學習狀況，提出檢討及改進。

(四)提出北區教學門診網絡計畫成效。

參、結果

- 一、於 100 年 1 月 27 日在桃園長庚中醫部會議廳召開北區專家座談會。
- 二、邀請北區符合開設教學門診資格之訓練醫院參加，了解各醫院師資缺乏之科別。
- 三、北區共有六家訓練醫院針對師資不足之科別開設教學門診，開診科別分別為傷科及婦兒科。
- 四、參加 100 年 2 月 20 日、100 年 4 月 17 日、100 年 5 月 29 日及 100 年 9 月 18 日四次中醫師臨床訓練制度專家共識會議，於會中報告執行進度，及聽取與會專家之意見。
- 五、已召開專家座談，建議加入 mini-CEX 及 DOPS 兩種方式，進行教學評核。
- 六、已於 100 年 4 月 10 日召開 mini-CEX 及 DOPS 研習會。
- 七、已於 100 年 7 月 4 日至 7 月 12 日間進行北區執行網絡計畫之教學醫院（臺北市立聯合醫院陽明院區、慈濟醫院臺北分院、中國醫藥大學附設醫院臺北分院、臺北榮民總醫院傳統醫學科、桃園長庚醫院）實地訪查。
- 八、已於 9 月 4 日辦理教學門診病例討論會及門診示範教學。
- 九、已召開北區門診教學網絡計畫期末專家討論會。

肆、討論

一、辦理北區中醫醫院及部門聯合討論會，其討論重點：

(一)確立北區符合開設教學門診資格之訓練醫院所師資缺乏的科別。

(二)討論門診教學師資資格認定

1. 部定講師 2 年以上且執業滿 5 年以上
2. 臨床教學經驗 3 年以上且執業滿 5 年以上
3. 執業滿 10 年以上

(三)確立門診教學師資延聘機制

以本計畫名義聘請師資至各院進行門診教學，各院所須向衛生局、院方報備，確定開診診次，明確計算開診期間及診數。

(四)確立教學門診進行機制

1. 依各院所需求與住院醫師人數，得以每診每週一次或每月各一至四個診次。
2. 每診次病患人數 3-5 人，最好不低於 3 人。
3. 訓練對象主要為住院醫師。
4. 實習醫師也可參加訓練。
5. 教學門診病患務必要簽同意書。

(五)討論教學門診內容與病例報告書寫方式

1. 製作「中醫門診教學紀錄表」以供備查。

2. 每診完成編寫「中醫門診教學病例報告」至少一份。

3. 教學門診病例報告寫作要點：

依中醫醫療機構負責醫師訓練病例書寫規定，含主訴、現在病史、中醫四診、理學檢查、實驗室檢查、整體回顧、中西醫診斷、辨病與辨證治則、處方用藥、理法方藥分析（包括臟腑病機四大要素）。

(六)討論教學門診考核方式

1. 進行實地訪評：

(1) 成效考核內容包含： 中醫門診教學紀錄表、中醫門診教學病例報告。

(2) 對於本計畫執行之相關建議及改進方案。

2. 針對臨床核心能力部份，儘量以 mini-CEX 進行評量。

3. 針對針傷相關操作型技能，儘量以 DOPS 進行評量。

4. 受訓醫師的回饋評核表。

二、北區符合開設教學門診資格之訓練醫院

臺北市立聯合醫院：忠孝院區、仁愛院區、和平院區、中興院區、陽

明院區、林森院區。

長庚醫療財團法人：基隆長庚紀念醫院、林口長庚紀念醫院、臺北長庚紀念醫院、桃園長庚紀念醫院

中國醫藥大學附設醫院臺北分院（內湖）

三軍總醫院附設民眾診療服務處

財團法人佛教慈濟綜合醫院臺北分院

行政院國軍退除役官兵輔導委員會臺北榮民總醫院

財團法人天主教耕莘醫院

行政院衛生署雙和醫院

臺北市立萬芳醫院

臺北大學附設醫院

(一)但因下列因素，使至許多院所沒有開設教學門診或開診診數較少：

1. 醫療院所沒有招收住院醫師，無法加入。

如：雙和醫院、萬芳醫院、耕莘醫院、三軍總醫院

2. 醫療院所有招收住院醫師，但因參加醫策會與負責醫師訓練計畫，住院醫師寫報告的負擔過重，無法加入。

如：北市聯忠孝院區、仁愛院區、和平院區

3. 醫療院所有招收住院醫師，但因人數過少，每月只能開設兩次教學門診。

4. 教學醫院聘任兼任醫師之行政流程冗長，需費時很長，故影響開診之診數。

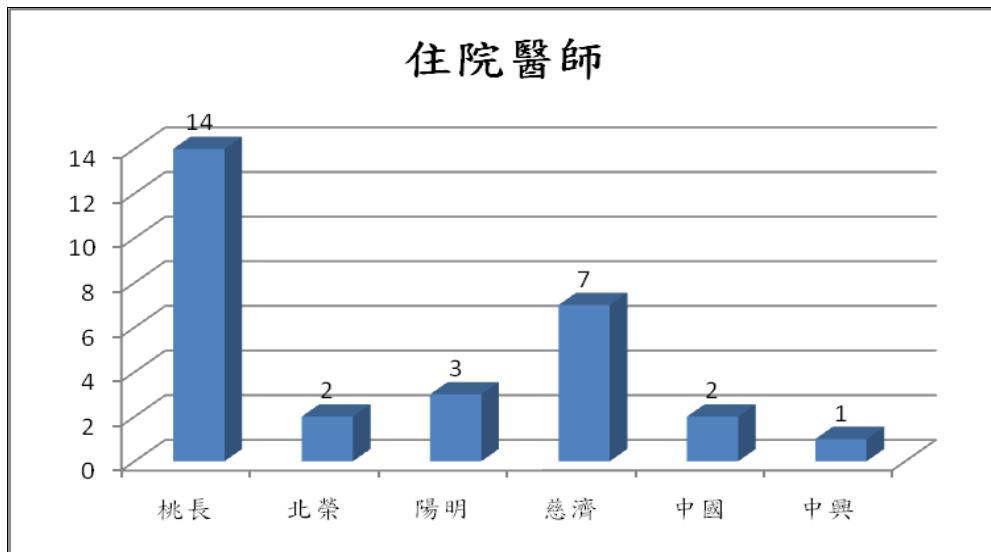
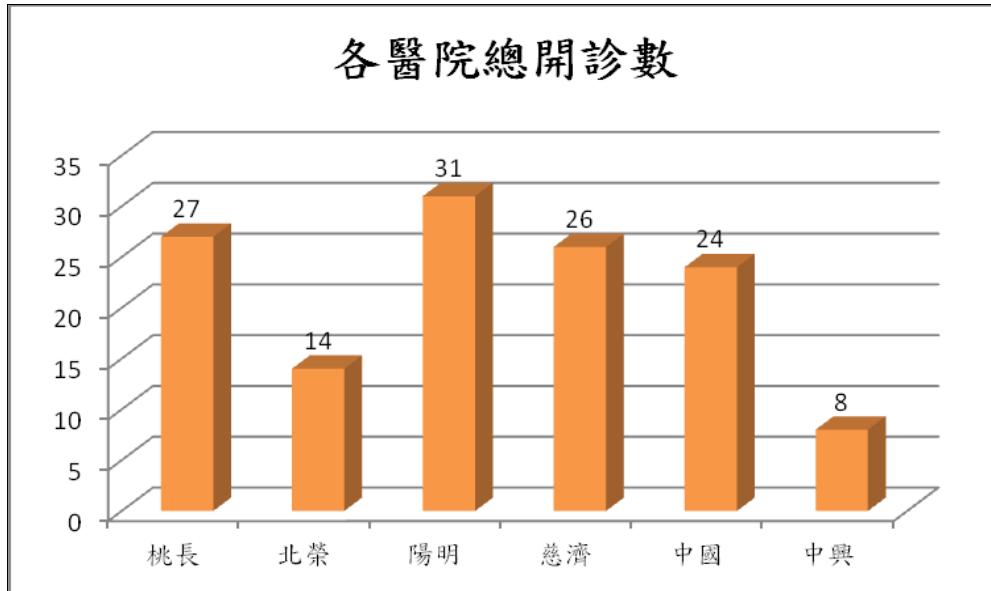
(二)北區門診網絡計畫教學門診實施概況總表

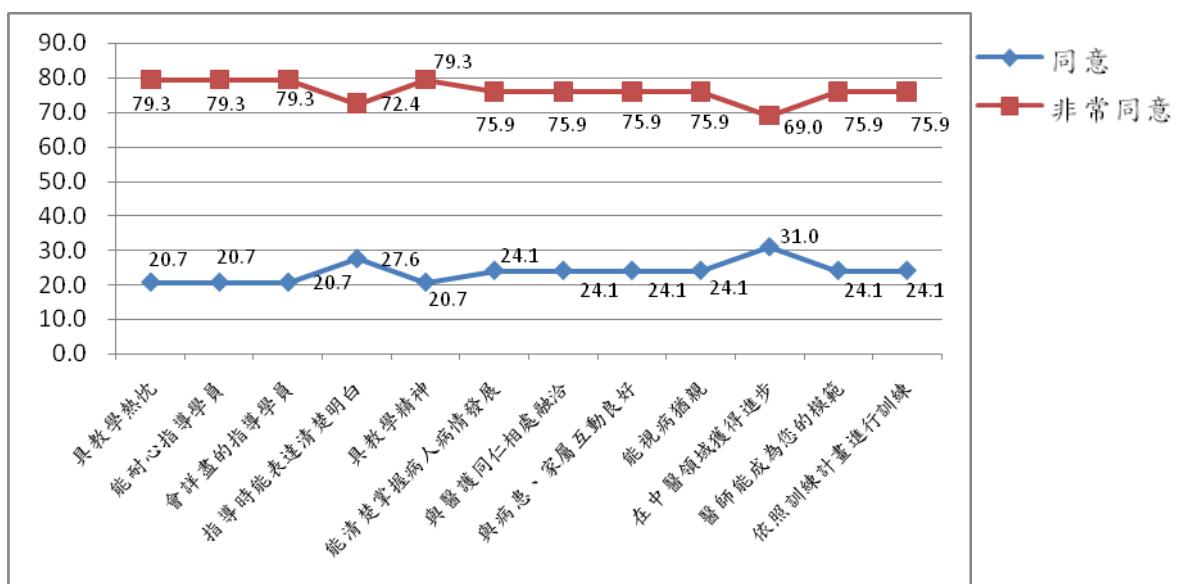
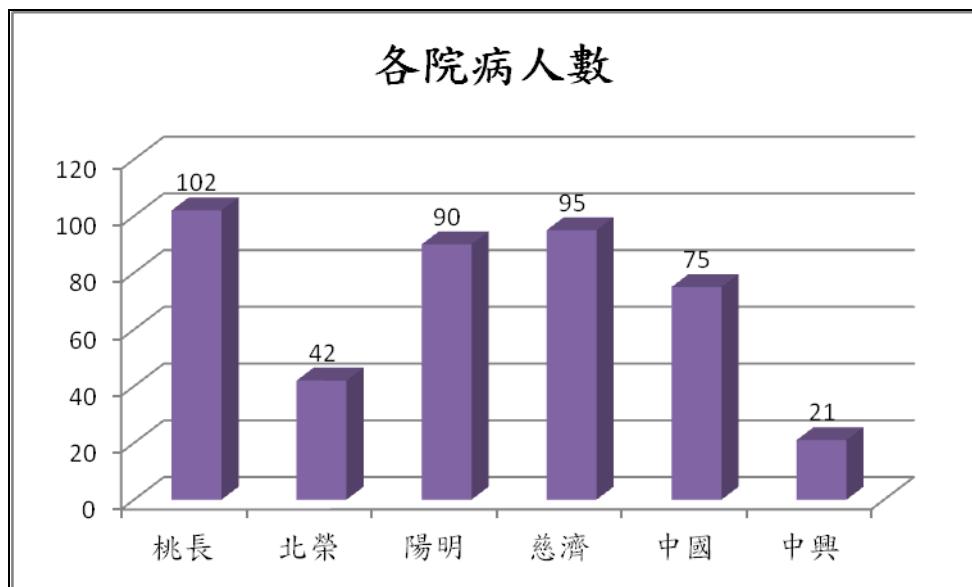
醫 院	門診科別	理想師資	門診時間
臺北市立聯合醫院 陽明院區	傷 科	呂庶熙	門診時間：週三下午
臺北慈濟醫院	傷 科	黃桂彬	門診時間：週四上午
臺北榮民總醫院	婦、兒科	吳景崇	門診時間：週二下午（隔週）
中國附設醫院 臺北分院	傷 科	黃桂彬	門診時間：週一上午
桃園長庚醫院	傷 科	盧文瑞	門診時間：週二上午
臺北市立聯合醫院 中興院區	傷 科	林文彬	門診時間：週四上午（隔週）

月份 醫院 \	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	總數
桃長	2	5	4	4	5	4	3	27
北榮	2	2	2	2	2	1	3	14
陽明	4	5	5	4	5	4	4	31
慈濟	3	5	5	3	4	5	1	26
中國	0	4	4	4	5	4	3	24
中興	0	0	0	2	2	2	2	8
總數	11	21	20	19	23	20	16	130

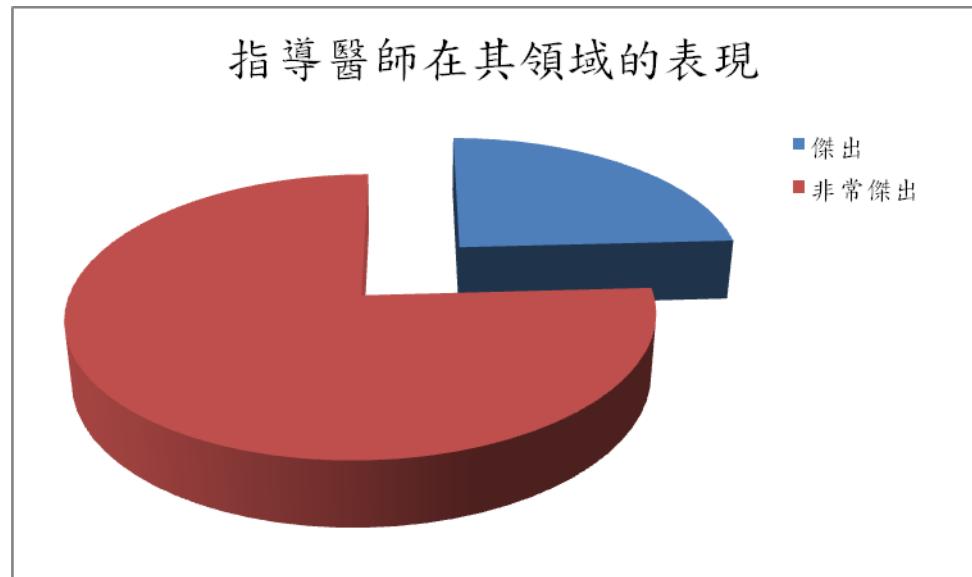
(三)由指導醫師開設教學門診，給予 R1、R2 問診及看診之學習經驗者。

- 臺北長庚醫院由 4 位資深主治醫師開設內科教學診，共 10 診
- 桃園長庚醫院由高銘禎醫師開設婦科教學診，共 10 診





受訓住院醫師回饋評核表(%)



三、積極參與中醫師臨床訓練制度專家共識會議，並於會中報告執行進度，及解決計畫執行中所發生之問題。

(一)中醫臨床教學第一次專家共識營（100年2月20日）

決議：解決部分訓練醫院，部分科別師資不足問題。

部分醫學中心R1無法獨立開診，擬以開設教學門診方式，提供彼等門診看診經驗。

(二)中醫臨床教學第二次專家共識營（100年4月17日）

決議：部分醫院R1、R2無法獨立開設門診，也可由該院指導醫師開設教學門診，給予R1、R2問診及看診之學習經驗。

(三)中醫臨床教學第三次專家共識營（100年5月29日）

決議：有關受訓醫師病例報告研討會，核心計畫與網絡計畫將分開辦理。

網絡計畫的專家訪查日期將與核心計畫一起辦理。

四、於2011年04月10日在桃園長庚醫院8樓中醫辦公室會議室舉辦行政院衛生署中醫藥委員會北區門診教學網絡計畫Mini-CEX and DOPS研習會。

(一)在西醫方面：

邀請崔克宏醫師主講DOPS內容特色執行方法與經驗分享

邀請張寓智醫師主講Mini-CEX內容特色執行方法與經驗分享

(二)在中醫方面：

邀請陳俊良醫師主講中醫內科執行Mini-CEX的經驗分享

邀請林建雄醫師主講中醫針灸執行DOPS的經驗分享

五、於100年7月4日至7月12日進行北區網絡計畫之教學醫院實地訪查。

(一)受訓醫師對於指導醫師的臨床教學均抱持肯定與滿意態度。

(二)因多數受訓醫師非負責訓練醫院之住院醫師，所以對於病例書寫格式有一些疑慮，但指導醫師也能給予幫忙解決。故病例報告與相關表格的書寫基本上均有達到要求。

(三)於中國附醫臺北分院時，指導醫師反應希望醫院其他醫師可以主動轉掛傷科具教學意義之病人到此教學門診，以利增加受訓醫師對各種疾病之訓練。

(四)於慈濟醫院臺北分院時，其教學門診模式：R1, R2受訓醫師原本就有開診服務病患，將自己的病患每星期一次轉掛入網絡計畫教學門診的指導醫師的看診時段。在教學門診的看診方式採用受訓醫師先進行診療自己原先掛入的病患，過程中再由指導醫師依需要導入診療的修正與教學。診療結束後再掛入受訓醫師自己的看診時段，以便追蹤觀察療效，然後依情況再掛入指導醫師的門診教學時段。此

教學方式，將可提升受訓醫師的臨床看診能力，也達到門診教學中醫傳承的目的。

六、於 2011 年 9 月 4 日在桃園長庚醫院 B2 簡報室辦理教學門診病例討論會及門診示範教學。邀請北區開設教學門診醫院之指導醫師進行報告，並邀請所有北區醫院之住院醫師踴躍參加。

(一)指導醫師整理執行期間較具教學意義之病例進行報告，並與現場之住院醫師進行討論。

(二)盧文瑞醫師進行 DOPS 現場教學示範及如何執行步驟。

七、於 2011 年 9 月 4 日在桃園長庚醫院 B2 第一會議室召開北區門診教學網絡計畫期末專家討論會，主旨為討論北區門診教學網絡計畫門診教學執行過程中所遇到的問題。

綜合討論內容如下：

(一)門診教學病人來源：

存在問題：在一些醫療院所執行此計畫過程中，由於是外聘指導醫師擔任門診教學的臨床醫師，平時並未在此醫療院所執業，臨時的教學門診容易導致特定科別教學的病種無法及時出現，除了此醫療院所的專任醫師配合轉介外，更有的是外聘指導醫師自己帶病人來掛號，這將造成指導醫師的困擾。

解決方法：建議參與此計畫的醫療院所，持續宣導本院專任醫師配合轉介網絡計畫門診教學特定科別病種的病患。

(二)門診教學新模式：

新店慈濟與桃園長庚模式：

新店慈濟 R1, R2 受訓醫師原本就有開診服務病患，將自己的病患每星期一次轉掛入網絡計畫教學門診的指導醫師的看診時段。在教學門診的看診方式採用受訓醫師先進行診療自己原先掛入的病患，過程中再由指導醫師依需要導入診療的修正與教學。診療結束後再掛入受訓醫師自己的看診時段，以便追蹤觀察療效，然後依情況再掛入指導醫師的門診教學時段。

桃園長庚 R3 以上受訓醫師才可開診服務病患，會將指定病患每星期一次轉掛入網絡計畫教學門診的指導醫師的看診時段。在教學門診的看診方式採用指導醫師直接診療的修正與教學，著重傷科診斷與治療的操作技能教學，在取得病患同意之下，進行現場錄影以利事後的學習。診療結束後再掛回受訓醫師看診時段，以便追蹤觀察療效，依情況再掛入指導醫師的門診教學時段。

以上兩種教學方式，將可提升受訓醫師的臨床看診能力，也達

到門診教學中醫傳承的目的。可供其他指導醫師作為參考。

(三)參加北區網絡計畫門診教學的某些中醫院所，出現受訓醫師只有一位，除了參與整個門診教學的過程，針對病例報告的書寫也努力達成。但會出現此受訓醫師在每星期的門診教學時段不可以請假，如婚喪假等。建議參加此門診教學的受訓醫師至少不要低於兩位。

伍、結論與建議

結論：

- 一、本研究主要是針對中醫各訓練醫院師資不足科別輔導開設教學門診，提供受訓醫師完善臨床訓練環境，解決部分訓練醫院科別師資不足問題；並針對部分醫學中心 R1, R2 無法獨立開診，擬以開設教學門診方式，提供彼等門診看診經驗模式。從教學內容相關的病例報告、病歷書寫與受訓醫師的滿意度來看，基本上已經達到此目的。
- 二、北區符合開設網絡計畫教學門診資格之訓練醫療院所共 18 個單位，其中有六個單位參加本計畫的執行，參與的臨床教師共五位，其中五個單位執行中醫傷科的門診教學，一個單位執行中醫婦科的門診教學。可見中醫各訓練醫療院所傷科的匱乏。在北區的中醫教學醫院也發現缺乏中醫兒科的專有門診。在未來正式執行負責醫師訓練的醫療院所，此種狀況是值得重視與深思的。

建議：

- 一、本研究計畫所聘請臨床教師，雖然都符合門診教學師資資格認定，而且教學內容豐富，也極具教學熱忱，然而有許多並非負責醫師訓練計畫架構之下的指導醫師；受訓醫師也未接受病例報告臟腑病機四要素的訓練，建議針對此網絡計畫進行指導醫師與受訓醫師的病例報告研討與培訓課程，促進教學品質的提升。
- 二、有關中醫臨床指導醫師的實質性教學傳承，參考現代醫學的教學評量模式，針對臨床核心能力部份，建議以 mini-CEX 進行評量。針對針傷相關操作型技能，建議以 DOPS 進行評量。以上兩種教學評量均需建立核心課程以利教學，並製作考核表以利評量，受訓醫師可以在最短時間、較少錯誤且真實的一致地得到指導醫師的真傳，建議此兩種的訓練與培訓課程應是克不容緩的舉辦。
- 三、建議明年門診教學網絡計畫能夠繼續舉辦，以培訓更多的臨床指導醫師，加強受訓醫師職業素質，對提昇中醫醫療服務品質將具有莫大助益。
- 四、北區網絡計畫門診教學參加的中醫醫療院所與中醫部門相對較少，也較被動，造成執行計畫者的許多困擾。本研究計畫主要是為了提升中醫臨床教學的品質，希望北區的核心醫院能多參與與支持。
- 五、鑑於北區中醫醫療院所與中醫部門開設中醫傷科與兒科的專有門診較為缺乏，請中醫兒科醫學會和中醫傷科醫學會推舉資深且熱衷教學的醫師，以為參考。
- 六、建議其他有住院醫師訓練但尚未加入中醫評鑑的醫療院所或是部門，

如恩主公醫院中醫部門及署立桃園醫院中醫部門，開放加入本教學門診網絡計畫，以增加中醫臨床訓練環境的場所。

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CCMP99-RD-048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. 中醫醫療管理法規彙編(95 年版).95.09。
2. 臺灣中醫藥現代化暨國際化之策略與成果(CCMP 2006).95.09。
3. 行政院衛生署中醫藥委員會學術暨臨床應用研討會成果彙編(2005)(1-3 冊).95.09。
4. 行政院衛生署中醫藥委員會 96 年「中醫臨床教學訓練改善計畫」申請作業手冊。
5. 99 年中醫醫療機構負責醫師訓練計畫（草案）。
6. 2010 年度中醫藥行動要點（施政目標）。
<http://www.ccmp.gov.tw/public/public.asp?selno=1192&relno=1192&level=C>
7. 如何建立中醫師臨床訓練制度。
http://www.ccmp.gov.tw/bulletin/announce_detail.asp?no=170&selno=620&relno=620&PageNo=1

針灸及傳統醫學醫療交流訓練中心(2-1)

許中華

臺北市立聯合醫院 中醫門診中心

摘要

成立針灸及傳統醫學醫療交流訓練中心，以培訓臺灣傳統醫學國際化衛生人才，並加強與國外學術團體或衛生主管機關的交流，設立常態性針灸及傳統醫學國際人才培訓課程，以期能達到推廣臺灣傳統醫學之優勢及打開臺灣的傳統醫學的國際知名度。

實施方法：

彙編針灸及傳統醫學之標準化教學訓練教材，並辦理臺灣優質中醫師國際人才培訓。辦理國際衛生人才針灸及傳統醫學短期培訓課程，以及中醫藥國際研討會，邀約各國學術團體及衛生主管機關參加。參訪其它國家的傳統醫學研究並進行交流。成立台灣中醫藥國際交流訓練中心的部落格，讓更多人能透過網路平台獲得本中心的聯絡資訊，使更多有志於學習針灸及傳統醫療的國際人士能參與本中心的培訓計畫。除此之外並於署立臺北醫院、臺北榮民總醫院、國立陽明大學、臺北醫學大學等合作提供轉介受訓人員至本單位參訪學習。

至今本中心已成立十一個月。在這十一個月中共承辦一次國際會議、辦理三次研討會及接待各國嘉賓及外籍學生參訪共約二十次。所參訪的來賓包含各地人士從美洲、歐洲、中東到亞洲皆有不僅提升本中心在國外的能見度也讓更多國際人士了解臺灣對傳統醫療的嚴謹訓練傳承。本年度的兩次研討會一次與陽明大學合作提供中醫英文教學並開放參觀，同時也提供給有興趣的人士參與。另一次者是與德國針灸醫學會(German Society of Studying Acupuncture)主席 Dr. Eckl 合作進行維期兩週的中醫藥暨針灸學術研討會，除了由本院醫師演講外也特邀 Dr. Eckl 與本院人員進行演講分享就德國的中醫藥發展及針灸實用狀況。第三次為今年九月與陽明大學國際學程合作共同辦理第三次中醫藥研習營，本次重點為基本中醫理論之論述。

至 99 年度成台灣中醫藥國際交流訓練中心至今與 98 年度未成立前比較其外賓參訪、承辦的國際會議及學術研討會。可以發現在 99 年度訓練中心的成立及

網路交流平台的開辦其來訪人員與去年相比大幅增加一倍人數，從 165 人次增加到約 400 人左右並且也編篆中醫藥暨針灸中英文之交流訓練手冊。

本研究計畫除了讓國際人士知悉目前中醫在臺灣的醫療制度外，同時也訓練本中心人員之接待能力及承辦更多中醫醫療之國際交流計畫，藉由國際交流達到訓練內部工作人員。藉此不僅能提高臺灣在中醫藥暨針灸的立足之地，並如何發展應用提升國際地位。目前預計明年初辦理「巴西針灸醫療團的針灸研討會」及「第三場中醫藥暨針灸學術研討會」。

關鍵詞：針灸及傳統醫學醫療交流訓練中心、台灣中醫藥國際交流訓練中心

Advanced Acupuncture and Traditional Medicine Training Center (2-1)

Dr. Chung-Hua Hsu
TCM Branch, Taipei City Hospital

ABSTRACT

Our goal is to establish the advanced acupuncture and traditional medicine training center. The center offers training and exchange programs of acupuncture and traditional Chinese medicine for medical workers from allied countries to train in Taiwan. In addition, through the center, we could strengthen cooperation with foreign academic institutions, or the health authorities to make traditional Chinese medicine in Taiwan be seen. It is necessary to establish the center with a view to achieve the promotion of advantages of Traditional Chinese Medicine (TCM) in Taiwan and to open Taiwan's international reputation in TCM.

We compile the English texts of TCM and then try to write a handbook about TCM for medical workers from allied countries to train in Taiwan. Train the TCM doctors and pharmacists to learn the TCM in English and make lectures to introduce the TCM to the foreigners. Hold the international conference and workshop to make international communication. We also establish the website of Taiwan International Traditional Chinese Medicine Training Center and we put the international program applying form and our training information on the website to make the volunteers to know and apply. We also cooperate with National Yang Ming University 、Taipei Medical School 、Taipei Veterans General Hospital and Taipei hospital which will transfer the medical workers from allied countries to our training center. Then we will depend on their specialty to make a course or arrange the visiting for them.

Since November 2010, series of international conferences and workshops have been held. We have been held one international conference with Mongolia, two workshops and ten times of guest visiting and five times of international trainees. With the medical workers from abroad they come to participant the program of advanced acupuncture and traditional medicine training center. One of the workshops cooperates with National Yang-Ming University to let the international students come to our

training center to accept the TCM classes. The other workshop cooperates with Dr. Eckl who is the chief of Germany Society of Studying Acupuncture. We invite Dr. Eckl to make lectures about the TCM and CAM in German and share the experience of acupuncture.

Comparison the participants of before the training center established and now, we could discover in the 2010 the participant about 400 people is more than in 2009 the participant about 165 people. After the training center is established we also manuscript the handbook of TCM.

In this project we create many opportunities to promote advantages of TCM in Taiwan and to open Taiwan's international reputation in TCM. In 2012, we will host an international conference with Brazil and the third workshop of TCM and acupuncture.

Keywords: advanced acupuncture and traditional medicine training center, TCM

壹、前言

一、背景：

透過臺北市立聯合醫院中醫醫療部的醫療及學術資源，與各國傳統醫學單位或針灸相關團體，進行學術交流、資訊或政策經驗的交流與分享，統合並推動臺灣傳統醫藥與世界各國際資訊分享、學術交流、政策調和之合作平台。

本計畫預計成立針灸及傳統醫學交流訓練中心，作為一個國際交流的平台，一方面接受國外相關團體的來台交流及訓練，一方面提供國內相關中醫藥人才一個與外國學術交流的機會。針灸與傳統醫學交流中心，由於是新成立之組織，必須在接受外國團體之前，先培訓臺灣的傳統醫學國際人才，才能用有效的方法與途徑推廣臺灣傳統醫學的優勢。因此，計畫的重心全在於訓練中心之建構，並同時利用現有之經驗與資源，開辦國內外人才的培訓及交流。

2002 年，世界衛生組織(WHO)在第 55 屆世界衛生大會於日內瓦舉行之時提出發展傳統醫學全球策略。WHO 擬定的策略目標如下：

- (一)為傳統醫學制定國家政策。
- (二)提高公眾對傳統醫學的認識和瞭解。
- (三)評估傳統醫學的潛在經濟。
- (四)建立適當的傳統醫學標準。
- (五)鼓勵和加強傳統醫學基礎科學的研究。
- (六)尊重傳統醫學文化的整體性。
- (七)制定保護和保存健康資源的政策。

二、現況：

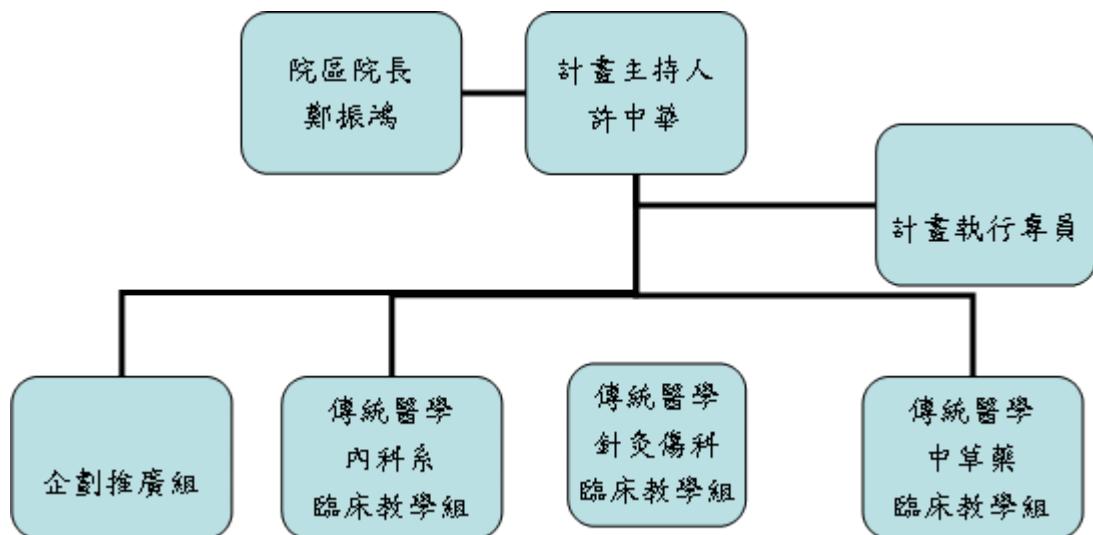
根據 WHO 擬定之策略目標，以及本計畫之研究目的，針灸及傳統醫學交流訓練中心（以下簡稱本中心）奠基於臺灣及國際化人才專業培訓，為臺灣中醫藥優勢成果與國際合作可能性研究鋪路，相關成果在國際研討會中呈現與發表。

根據臺北市立聯合醫院中醫院區之經驗，國外人才的中醫藥技能訓練或在職進修需求量大，這些人才往往與對岸接洽，殊不知臺灣也有相關的培訓課程，若能在此方面多加推廣，引起國際對臺灣的注目，進而引發國際間的學術交流與合作的契機，是本中心的宗旨與目標之一。

本中心除訓練部分，亦有與國際交流、合作的部分。由於中醫藥委員會已於 98 年度在中國醫藥大學成立「國際傳統醫藥交流合作中心」，相關交流、合作、計畫等事項，相信已有穩固基礎與開端，此部分擬與該中心合作，非本中心之核心計畫與工作項目，故於計畫中未聚焦於此，但邀請

國外衛生主管機關、國外學術團體來台參訪及交流，亦是本中心之任務。

「針灸及傳統醫學醫療交流訓練中心」已在臺北市立聯合醫院林森中醫院區成立。計畫主持人下分有四組，企劃推廣組專責對外之招生及接洽、相關課程活動之安排；學術交流訓練部分設三組：傳統醫學內科組、傳統醫學針傷組、傳統醫學中草藥組，個別主導及安排相關的訓練課程及學術交流活動。活動之統籌及相關收費問題，由計畫執行專員負責之。中心組織架構及人力如下表所示：



三、目的：

藉由設置「全球針灸及傳統醫學研究網」，作為臺灣與全球中醫藥相關單位聯絡交流之管道。目的在辦理國內外傳統醫學的醫學訓練及短期交流，並凝聚國內專家之共識，系統性的邀約國外學者前來參訪或於網頁上置放臺灣傳統醫學相關發展及優勢，並藉由本中心之設立，成為傳統醫學國際交流、合作之平台。

除此之外為了加強本地醫生的英文能力讓其未來能在中醫國際研討會及研究領域有所發展，也特別舉辦中醫英文課程及中醫藥研習營加強本院區中醫師的中醫英文及英文表達能力。藉此不僅能提升本院區的素質之外也透過研習營的開辦讓更多外籍學員前來參加，藉由學員之間的回國分享來達到臺灣在中醫藥的地位與貢獻之宣傳，從每一次的教學認識也促成國內外的交流合作機會。

希望本中心能成為國內外中醫藥合作交流的重要管道。如舉辦中醫藥國際會議及國際研習營等。

對外成為國外學員幾貴賓參訪選擇學習中醫藥的第一首選。透過交流平台的發展，讓更多學員能藉此了解中醫藥在臺灣的教學，除此之外也能在平台下載講義，讓臺灣的教學資訊也能在國外分享。

對內能訓練當地人才加強中醫英文表達，成為我國日後進行國際研討會的重要人才。藉本中心與各醫院之間的交流合作，提供完善制度讓國際人士來台學習。

期許本中心能成為臺灣核心進行國際教學之單位、承辦中醫藥國際會議及研習營及轉介和接受外籍學員的參訪與見習。

貳、材料與方法

成立「臺灣中醫藥國際醫療訓練中心」並設立於臺北市立聯合醫院中醫院區。本中心人力分配表如下：

台灣中醫藥國際交流訓練中心				
行銷部		教學部		
工作內容		工作內容		
網站架設及維護	外籍參訪人員接待與聯絡事宜	安排中醫英文課程	編寫國際針灸傳統醫學訓練教材	舉辦 2011 年中醫藥研習營
人力支援			人力支援	
楊佳峰醫師、吳承宗醫師、藍士哲醫師、林偉椿醫師		傷科	邱榮鵬醫師、陳文戎醫師	
兼任研究助理：李佳蓉、羅靖閔		針灸科	吳建東醫師、劉佳祐醫師、陳怡如醫師	
與他院或學校合作轉介受訓人員： 署立臺北醫院、臺北榮民總醫院、 國立陽明大學、臺北醫學大學		中醫內科	黃伯瑜醫師、陳建宏醫師	
		藥局	邱寶生藥師	

外國學者及學員透過網路交流平台申請或其他院區及學校合作等轉介受訓人員至本中心。本中心在依申請者的條件狀況，提供適當的資訊與訓練課程。

流程：

1. 轉介受訓人員至
本中心

行銷部負責對外聯繫
欲參與人員，及立即

教學部負責教學時間
及內容擬定確定後，

行銷部通知外籍受
訓人員參訪見習時

教學部代領外籍受訓
人員參訪見習。

行銷部記錄拍照並上
傳資料到網路平台提

參、結果

一、交流中心成立

臺灣中醫藥國際醫療訓練中心已於民國 99 年 12 月 19 日於臺北市立聯合醫院林森（中醫）院區成立，現場並由中醫藥委員會黃林煌主委、衛生署黃焜璋技監、衛生局陳正誠副局長、總院孫林仲副院長、及中醫院區鄭振鴻院長進行揭幕典禮。



二、建立國際交流平台

架設並啟用臺灣中醫藥國際交流中心網站 (Taiwan International Traditional Chinese Medicine Training Center)

網址：<http://cmtrainingcenter.pixnet.net/blog>

目的：由於現今網路發展使的運用網路來行銷是個非常重要概念，特此假設部落格來提供一個合作交流平台。讓臺灣傳統醫學的國際衛生人才及與國外學術團體能互相交流與合作，使臺灣傳統醫學不僅只在臺灣有所展現更能再國際間有所發揮。透過建置全球針灸及傳統醫學研究網，及藉助網路傳媒的力量，提升臺灣傳統醫學的國際能見度與國際形象。讓更多學員能搜尋到本中心網址並透過電子郵件與本中心接洽申辦教學與合作。

內容：

- (一) 教學（陽明大學國際課程、中醫藥課程等資訊）
- (二) 訓練（國際學生交流合作訓練申請辦法及表格）
- (三) 國際學術交流（最近中醫藥學術會議、論文發表、國際會議參與等資訊）
- (四) 外賓參訪、國際學生交流
- (五) 中醫藥新聞

臺灣中醫藥國際交流中心網站首頁及網頁內容



↑ 網站首頁



↑ 網頁內容

三、院內中醫英文訓練課程

(一)課程設計：

根據中醫基礎理論之題綱，條列出章節目錄，據此收集相關的教材資料，資料來源以 SCI 期刊或教科書為準；英譯的部分根據世

界衛生組織出版的「WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region」為標準，對照中文的部分，以能夠理解的英譯完成，原則與世界衛生組織同，即避免使用羅馬拼音、不新造英文單詞，以淺顯易懂的英文解釋中醫理論與中醫術語的意義。

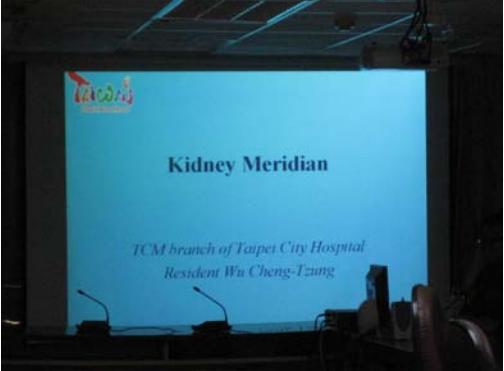
(二)課程安排：設計七大主題每周三輪續研討

1. 常用醫學詞彙：醫事人員（非醫師）常用醫學詞彙。
2. 中醫基礎學（含中醫診斷學）：陰陽學說、中醫基礎、病因病機、中醫疾病診斷、辯證論治。
3. 針灸學：針灸基礎理論（含適應症與禁忌）、針灸基本手法、灸法適應症與基本認識、經絡系統、十二正經、奇經八脈、重要穴位介紹（手三陽經、手三陰經、足三陽經、重要穴位介紹、足三陰經、奇經八脈、經外奇穴）。
4. 傷科學：傷科基礎理論、傷科適應症及禁忌、傷科治療手法介紹、傷科藥物及方劑介紹。
5. 藥物學：藥物學與方劑學、劑型介紹（科學中藥、飲片、即飲包、熱敷包）、中藥介紹、飲片介紹。
6. 常見疾病治療：感冒、中風、過敏性鼻炎、胃痛、腹瀉、中醫與止痛、更年期病態、急性扭挫傷、中醫藥膳、癌症。
7. 醫學人文及政策：臺北市醫療體系介紹、臺灣中醫健保制度、臺灣中醫巡迴醫療、臺北市景點介紹、民俗療法介紹與體驗在臺灣、臺灣風情、中秋節與中醫、農曆年節與中醫。
8. 國際間傳統醫學研究成果討論與分析

(三)課表：

第一週	第二週	第三週	第四週
◎常用醫學詞彙	◎學術論文研討	◎傷科學	◎藥物學
◎中醫基礎學	◎醫學人文	◎針灸學	◎常見疾病治療

(四)上課情形：

院內中醫英文訓練課程

2011年7月20日早上八點於中醫院區 八樓會議室膽經中醫英文教學。

四、出版訓練課程之教材

根據中醫基礎理論之題綱，條列出章節目錄，據此收集相關的教材資料，資料來源以 SCI 期刊或教科書為準；英譯的部分根據世界衛生組織出版的「WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region」為標準，對照中文的部分，以能夠理解的英譯完成。教材以書面資料及電子檔案的格式完成後，邀請相關權威學術團體及專家學者惠予賜教，完成標準化的統一教材，供世界各國之國際人才短期培訓之用。

自計畫開始至今已實行十六次編輯小組會議，每次會議都會討論編輯進度以及遭遇之問題。其中由主編 Anabelle Delgado 制定傳統醫學訓練教材之大綱以及編輯格式，而編輯小組成員分別負責各個章節之主要內容，最後再交由主編進行最後的匯整，目前各個章節已完成。

五、舉辦國際會議—第一屆中蒙醫藥學術研討會

由蒙藏委員會、臺北市政府衛生局及臺北市立聯合醫院共同舉辦的「第一屆中蒙醫藥學術研討會」於 100 年 12 月 19 舉行。此次會議由國內中西醫學者與內蒙古蒙醫專家，就肝炎、骨傷科及血液疾病的醫療特效及蒙醫學與現代醫學的整合發展等主題為主。

藉由學術研討及蒙醫藥博覽會加強傳統醫藥及現代醫學領域的交流與合作，促進臺北市立聯合醫院相關研究發展及提升國際能見度。另一方面也藉議題探討，強化醫療圈、學術界及國人對於相關疾病的重視與認知，讓臨床研究與公共衛生接軌與發展，進一步實踐醫療無國界的理念。

六、舉辦短期研討會之國際人才訓練課程

目的：規劃一系列具有系統性的課程，由基本的認識中醫的陰陽五行概念逐步進階到實用的針灸與推拿。或是舉辦臨床醫療人員的研討會藉由共同討論、教學及分享來培養國際地位並增強本地中醫師的英文教學能

力。

受訓學員條件：具醫療相關背景之臨床工作者或由陽明大學、臺北醫學大學、北榮及署北轉介之受訓人員。

(一) TCM Workshop：由陽明大學國際學程與市立聯合醫院共同合作。

於 2011 年 2 月 22 日正式開辦，以中英對照上課方式，講授中醫藥重要概念，並安排至臺北市立聯合醫院中醫院區進行實地參訪見習，參加人數達 10 人，以促進國內外中醫藥學術交流，並培訓中西雙語種子教師及外賓接待人員。

課程大綱如下：

2011
Traditional Chinese Medicine Workshop

Time : 2011.02.22-2011.06.21

Every Tuesday Morning

Place : National Yang Ming University,

Taipei City Hospital (Lin-Sen, TCM branch)

Schedule :

Week	Date	Topic	Speaker	Place
1	2011/02/22	Taiwan TCM Medical Training Center Introduction	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
2	2011/03/01	How to Learn TCM and Acupuncture in Taiwan	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
3	2011/03/08	Clinical Trial in TCM	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
4	2011/03/15	Data Analysis in TCM	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
5	2011/03/22	Cancer and TCM	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
6	2011/03/29	Obesity and TCM	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
7	2011/04/05	TCM Diagnosis Machine	Dr. Huang, Po-Yu	Lin-Sen Branch
8	2011/04/12	Mid-test	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
9	2011/04/19	Chinese Herbal Medicine (Lecture and Practice I)	Phar. Chiu, Pao-Sheng	TCM Branch
10	2011/04/26	Chinese Herbal Medicine (Lecture and Practice II)	Phar. Chiu, Pao-Sheng	TCM Branch
11	2011/05/03	TCM Internal Medicine (Lecture and Practice)	Dr. Chen, Chien-Hung	TCM Branch
12	2011/05/10	Acupuncture (Lecture and Practice I)	Dr. Wu, Chien-Tung	TCM Branch
13	2011/05/17	Acupuncture (Lecture and Practice I)	Dr. Hsu, Chung-Yen	TCM Branch
14	2011/05/24	Tui Na (Lecture and Practice I)	Dr. Chiu, Jung-Peng	TCM Branch
15	2011/05/31	Tui Na (Lecture and Practice II)	Dr. Chen, Wen-Jung	TCM Branch
16	2011/06/07	Presentation 1	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
17	2011/06/14	Presentation 2	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
18	2011/06/21	Final-test	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU

(二) Advanced TCM Workshop：於 2011 年 8 月 2 日正式開辦，以中英對照方式上課並邀請德國學者 German Society of Studying Acupuncture 主席 Wolf Dieter Eckl 共同參與並受邀演講介紹德國的針灸發展。參加人數共達 20 以上，期許以促進國內外中醫藥學術交流，並培訓中西雙語種子教師及外賓接待人員。

課程大綱如下：

日期	時間	課程	講師
8/2	1200-1600	臺灣與德國醫療交流會談 Cooperation between Taiwan and German	許中華醫師 Dr. Hsu, Chung-Hua
8/3	0900-1200	中藥學概論 Chinese Herbal Medicine	邱寶生藥師 Phar Chiu, Pao-Sheng

日期	時間	課程	講師
8/5	1400-1800	針灸傷科治療 Acupuncture and Soft Tissue Treatment	邱榮鵬醫師 Dr. Chiu, Jung-Peng
8/17	0900-1200	中醫診斷學概論（林森院區） TCM of Diagnosis (Linsen branch)	劉佳祐醫師 Dr. Liu, Chia-Yu
8/18	0900-1200	中醫治療肥胖探討 TCM and Obesity	許中華醫師 Dr. Hsu, Chung-Hua
8/18	1400-1800	中醫藥治療失眠 TCM in Insomnia Treatment by	江裕陽醫師 Dr. Chiang, Yu-Yang
8/19	0900-1200	針灸治療膝關節探討 Acupuncture and Knee Joint by	吳建隆醫師 Dr. Wu, Chien-Lung

(三) TCM and Acupuncture Introduction Workshop 3rd: 與陽明大學國際學程共同開辦並於於 2011 年 9 月 13 日正式開辦，以中英對照方式上課。此次內容主要以基礎理念教學為主，搭配一堂中醫及林森院區參訪，強化其中醫知識並對臺灣的中醫門診有所認識。本次參與學生有來自於德國、泰國、印尼、緬甸及印度等來自各國有興趣於中醫藥學習之陽大國際學員。

課程大綱如下：

Schedule				
Week	Date	Topic	Speaker	Place
1	2011/9/13	TCM and IMTC Introduction	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
2	2011/9/20	Basic Concept	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
3	2011/9/27	Visit 1 TCM	Phar. Chiu, Pao-Sheng	TCM Branch
4	2011/10/4	Cause of Disease in TCM	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
5	2011/10/11	Diagnosis in TCM	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
6	2011/10/18	Herbal medicine of TCM	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
7	2011/10/25	Meridian and acupuncture points in TCM	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
8	2011/11/1	Acupuncture	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
9	2011/11/15	CAM clinical research introduction	Dr. Hsu, Chuang-Hua	NYMU
10	2011/11/22	Visit 2 and practice 1	Dr. Liu, Chia-Yu	Lin-Sen Branch

七、來賓及學員參訪

99 年 12 月 19 日起成立「針灸及傳統醫學醫療交流訓練中心」至今舉辦活動如下：

國際交流院接受外籍參訪團之統計資料

參訪國籍	來訪單位	參訪日期	參訪人數	參訪內容
國際學生	臺北醫學大學，張武修教授，國際公共衛生學程的國際學生	99/11/17	17	中醫門診中心參訪
外蒙	中蒙醫藥學術研討會	99/12/19	200	國際學術會議
阿拉伯	阿拉伯聯合大公國塔里布親王等人	100/1/20	6	中醫門診中心參訪
紐西蘭	紐西蘭針灸及傳統中醫學院	100/3/16	8	中醫門診中心參訪
印尼	印尼 Dr. Dwi Prayogo	100/3/23	1	了解臺灣中醫醫療制度與學生訓練過程
大陸	北京首都醫科大學附屬北京中醫醫院	100/4/11	15	了解中醫醫療制度與於癌症中醫治療方針
美國	美國 Dr. Charles Shang 商城教授	100/4/29	1	Apply the gold standard of science in acupuncture research
大陸	泉州第一醫院	100/5/17	4	中醫門診中心參訪
美國	紐約 City College Of New York 知名國際學者 Dr. Darwin	100/8/8	4	中醫門診中心參訪
大陸	寧夏回族自治區衛生區與醫療服務處	100/9/8	12	中醫門診中心參訪
美果	紐約 City College Of New York 知名國際學者 Dr. Darwin	100/8/8	4	中醫門診中心參訪
大陸	寧夏回族自治區衛生區與醫療服務處	100/9/8	12	中醫門診中心參訪
共計 10 場外賓場參訪，共計 258 人次來訪。				

*受訓學員參訪統計見表一及圖一。

國際學員

參訪國籍	來訪單位	參訪日期	參訪人數	參訪地點
貝里斯	貝里斯外科醫生 Mike	99/11/08	1	中醫門診中心參訪
大陸蘇州	中國大陸趙建鈴	99/11/25	1	中醫門診中心參訪
美國	華裔美籍醫師 Howard Chen Ten	100/2/21	1	中醫傷科參訪
哈薩克	哈薩克醫師 Dr.Raushan Alibekova	100/3/15	1	中醫針灸科參訪
德國	德國牙醫師 Dr. Katharina Elisabeth Schwertner	100/4/11	1	中醫針灸科參訪
美國	美國中醫師 Dr. Kenan Akbas	100/5/3	1	中醫傷科參訪
俄羅斯	俄羅斯醫生 Sashenka	100/6/10	1	中醫針灸科參訪
美國	南加州大學	100/7/14	14	中醫門診中心參訪
國際學生	陽明大學國際學生	100/6/20	2	中醫門診中心參訪
共計 8 場國際學員參訪，共計 23 人來訪。				

*受訓學員參訪統計見表二及圖二。

國際會議參與

地點	會議名稱	日期	內容
大陸成都	第六屆國際補充醫學研究大會	100.5.6-9	發表學術論文並分享推廣本訓練中心
大陸上海	第十屆中草藥全球化聯盟國際研討會	100.8.26-28	發表學術論文並分享推廣本訓練中心
瑞典	第三十三屆歐洲靜脈暨腸道營養醫學會	100.9.3-6	發表學術論文並分享推廣本訓練中心
共參與 3 場國際會議。			

國際會議舉辦及參與成果剪輯分享



臺灣中醫藥國際醫療訓練中心已於民國 99 年 12 月 19 日於臺北市立聯合醫院林森（中醫）院區成立並同時舉辦「第一屆中蒙醫藥學術研討會」。並邀請中醫藥委員會黃林煌主委、衛生署黃焜璋技監、衛生局陳正誠副局長、總院孫林仲副院長、及中醫院區鄭振鴻院長進行揭幕典禮。

肆、討論

至 99 年度成台灣中醫藥國際交流訓練中心至今與 98 年度未成立前比較其外賓參訪、承辦的國際會議及學術研討會。可以發現在 99 年度訓練中心的成立及網路交流平台的開辦其來訪人員與去年相比大幅增加一倍人數，從 165 人次增加到約 400 人左右並且也編纂中醫藥暨針灸中英文之交流訓練手冊。目前臺灣的中醫藥國際交流的政府單位仍然不足，但透過本計畫已讓臺灣的中醫藥發展、中醫健保制度和外籍人士如來台該如何就診中醫等概念逐步傳達到國際間。且藉由每次的國際會議及學術研討會邀請各國專家學者訪台達到促進交流的機會，不僅提升外籍醫護人員選擇臺灣作為學習並參訪觀摩傳統中醫醫藥的首選之一外，也促成外國專家學者有意邀請臺灣中醫師出國訪查分享等機會。隨著交流次數日益漸增，臺灣中醫藥暨針灸其能見度和重要性也越漸提高。

伍、結論與建議

本中心至 99 年 12 月成立至今已接待 10 場外籍參訪團共 268 位外賓、9 場國際學員交流、23 位國際人員參訪、辦理 2 場中醫藥暨針灸研討會共 85 位人員共同參與，並且也參與 3 次國際會議。本研究計畫除了讓國際人士知悉目前中醫在臺灣的醫療制度外，同時也訓練本中心人員之接待能力及承辦更多中醫醫療之國際交流計畫，藉由國際交流達到訓練內部工作人員。藉此不僅能提高臺灣在中醫藥暨針灸的立足之地，同時也能讓臺灣更多的中醫師可以有國際交流機會。期許中醫藥能以臺灣為中心吸引更多外籍醫療人員及國際廠商投入臺灣的中醫醫療照護，目前本中心已預計明年 2012 年 1 月及 5 月接待巴西聖保羅醫醫學針灸會及美國 Chapman 大學參訪，希望透過第一年的基礎建立，在第二年能辦理更多外籍人士中醫課程及學術研討會。藉由第二年的擴大辦理提高臺灣在中醫藥暨針灸的能見度，同時提高外籍人士對臺灣傳統中醫醫療的認可及增加外籍人士就醫的選擇性。

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 CCMP99-RD-052 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. 李經緯，中西醫結合與中醫國際化趨勢，*J Chin Med* 15(3): 137-150, 2004。
2. WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region.
3. 知音出版社，中醫基礎理論。
4. Churchill Livingstone, Giovanni Maciocia, *The Foundations of Chinese Medicine*.
5. Churchill Livingstone, Giovanni Maciocia, *The Practice of Chinese Medicine*.
6. The Use of Complementary and Alternative Medicine in the United States , NCCAM, Dec. 2008.
7. Mackenzie ER, Taylor L, Bloom BS, et al. Ethnic minority use of complementary and alternative medicine (CAM): A national probability survey of CAM utilizers. *Alternative Therapies in Health and Medicine* 9(4):50–56. 2003.
8. AN-FU HSIAO, M.D., Ph.D., MITCHELL D. WONG, M.D., Ph.D., Variation in Complementary and Alternative Medicine (CAM) Use Across Racial/Ethnic Groups and the Development of Ethnic-Specific Measures of CAM Use , *THE JOURNAL OF LTERNATIVE AND COMPLEMENTARY MEDICINE*, Volume 12, Number 3, 2006, pp. 281–290.

柒、圖、表

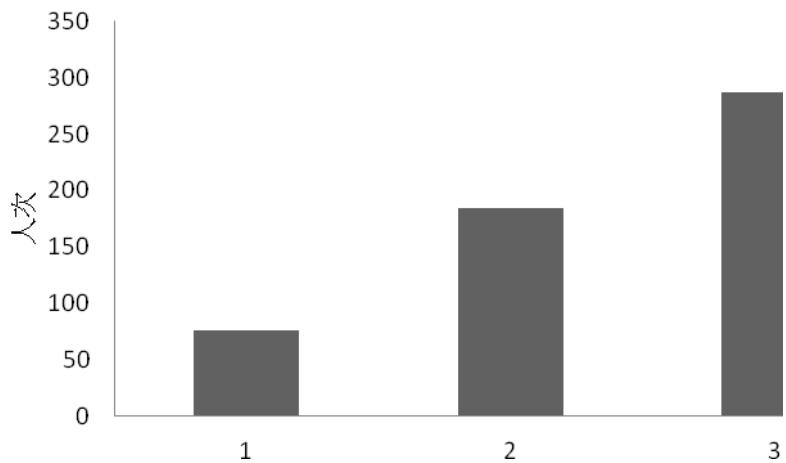
表一、99 年 11 月至 100 年 10 月貴賓參訪次數統計表

年	月	中港澳	亞	中東	歐	非	美	大洋	人次
2010	November				德國				1
2010	November				德國護				14
2010	November	TMUIS							17
2010	December				ICMART				2
2010	December	中蒙學術							200
2011	January				阿拉伯				1
2011	March			印尼					1
2011	April		北京						3
2011	May		泉州						5
2011	TCMworkshop	國際學員							12
2011	July					美國			14
2011	August				德國				2
2011	September	寧夏							12
2011	TCMworkshop	陽明國際學員							11
2011	October	北醫國際學員				英國			1
Total 人次統計									556

表二、99 年 11 月至 100 年 10 月受訓學員次數統計表

年	月	中港澳台	亞	中東	歐	非	美	大洋	次數
2010	October					2			2
2010	November	1							1
2011	March		1				1		2
2011	April	1			1		1		3
2011	May	1					1		2
2011	TCMworkshop	5	1		1		5		12
2011	June	國際學員	俄羅斯						3
2011	July						1		1
2011	August	20			2		1		23
2011	TCMworkshop	1			1				2
2011	TCMworkshop	陽明國際學員							11
2011	October	北醫國際學員							10
Total 次數統計									101

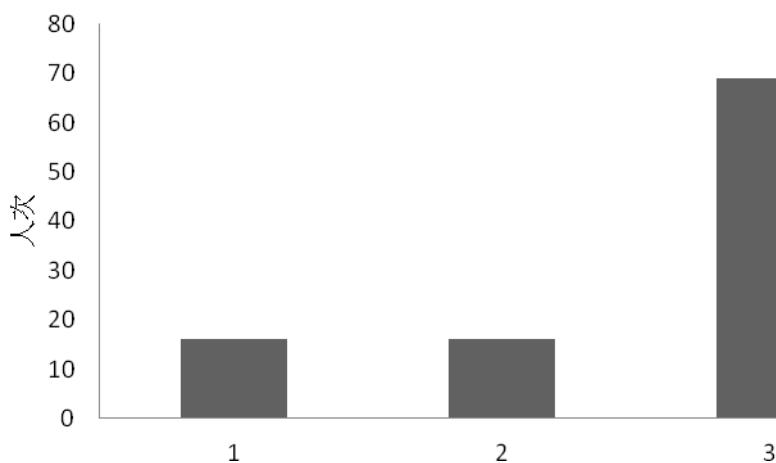
2008—2011參訪貴賓統計圖



圖一、至 2008 本院區接受外賓參訪至今之統計圖

1.2008/11~2009/12; 2.2010/1~2010/10; 3.2010/11~2011/10
(註本中心至 20110/11 起開始成立針灸及傳統醫療訓練中心)

2008—2011受訓學員統計表



圖二、至 2008 本院區接受外籍學員受訓至今之統計圖。

1.2008/11~2009/12; 2.2010/1~2010/10; 3.2010/11~2011/10
(註本中心至 20110/11 起開始成立針灸及傳統醫療訓練中心)

以模式系統評估中（草）藥釋控粒子製備及 釋放速率改善之研究

江伯源

中興大學

摘要

丸、散、膏、丹為我國中草藥之主要產品形式，其製程包括選材、清洗、乾燥、炮製、熬煮（萃取）、濃縮及造粒處理，“粉”、“粒”是科學中藥常見之劑型，主要由生藥粉末、萃取液、賦型劑藉流動床或噴霧（造粒）乾燥，粒子結構大都呈多孔、鬆散構造，容易發生吸潮、結塊、變味（色）等不良問題，如何利用現代化製程及劑型改良技術，使中草藥精緻化及藥效提升是重要研究課題。微膠囊(microencapsuation)技術利用成膜材料把液體或固體包覆形成微細粒，常利用於食品、西藥，常供包埋、增黏、抗吸濕、溶解；控制釋放(Controlled-release)利用多層包覆技術，達到有效控制釋放目的藥物效果；其在國內中草藥造粒及劑型開發上有較少相關研究及技術，如何利用“釋放粒子”達到保護活性成分、控制釋放活性成分（緩釋或定時），防止吸濕、變色（味）之效果，成為急需投入之重要研究主題。

本實驗擬透過微膠囊凝膠法，製備中草藥（萃取液）凝膠球粒，並以海藻酸鈉、氯化鈣濃度、空氣流速及凝膠時間等控制因子，探討海藻酸鈣凝膠球粒成型機制及影響性；進一步評估凝膠球粒之造粒品質因子與科學中藥比較在模擬胃、腸道釋放情形。藉由反應曲面法尋找出最適化凝膠球粒造粒條件之探討；最後將最適化凝膠球粒進行幾丁聚醣包覆，探討其對藥物包覆量及釋放速率之影響。實驗結果如下，適當提高海藻酸鈉濃度能有效增加藥物包覆率，藉由空氣流速調控，能改變膠球大小($p<0.05$)，而釋放試驗部分，科學中藥在模擬腸道 1hr 即達釋放平衡 88.81%，以高濃度海藻酸鈉($\geq 3\%$)及氯化鈣(0.5M)製備出膠球，能有效降低釋放率，並計算出釋放擴散指數 $n>0.559$ ，為不規則(anomalous transport)釋放機轉。利用反應曲面法能建立出試驗因子與品質因子相關性，並尋找出最適化膠球製備條件為海藻酸鈉濃度 3.00%、氯化鈣濃度 0.28 M 及固化時間 1.22 hr，可製備出最適化指標品值。利用幾丁聚醣包覆膠球，形成海藻酸鈉與氯化鈣之外層複合膜，且能有效提高載藥量；另與在模擬人體腸胃道進行釋放試驗，在模擬胃道部分，包覆膠球結構受環境影響而較鬆散，而進入模擬腸道環境後，海藻酸鈉與幾丁聚醣之複合膜鍵結更為緊密，能有效延緩藥物釋放率。

關鍵字：微膠囊、海藻酸鈉、幾丁聚醣、凝膠造粒、生理活性成分、反應曲面法、
釋放試驗

Study on the Effects of Product Type Refinement Technology on the Quality of Chinese Herbal Medicine by Model System

Po-Yuan Chiang

Department of Food Science and Biotechnology, National Chung-Hsing University

ABSTRACT

Pills, powder and cream are the main product types of Chinese herbal medicines in Taiwan. The manufacturing processes include selection, washing, drying, packaging, cooking (extraction), concentration and granulization. “Powder” and “Granules” are the product types often found in scientific Chinese herbal medicines. These are usually produced from raw medicine powder, liquid extracts, excipients through fluid bed or spray (granulization) drying. The granule structures are mostly multi-porous, loose and easily produces problems such as dampness, coagulation, changes in flavor (color), etc. The process of using modern processes and modified technologies of product types in the refinement of Chinese herbal medicines and improvement of curative effects is an important research topic. Microencapsulation technology is a type of technology that uses film-made materials to coat the liquid or solid targets into small granules and is often used in food, and western medicines. It is often used for coating, to increase viscosity, prevent moisture absorption and solubility. Controlled released technology uses multi-layered coating technology to obtain effective control of released curative effects. There are not many related researches and technologies on the granulization of Chinese herbal medicines and development of product types in Taiwan, therefore, the process of using “released particles” to protect activated compositions, controlled released activated compositions (slow release or fixed time), prevent moisture absorption, and changes of color (flavor) is an important research topic that needs immediate attention.

The research results showed that hydrogel beads appropriately increasing the concentration of sodium alginate can effectively increase the encapsulation efficiency of the medicine. The air flow control can change the size of the beads ($p<0.05$). On the aspect of release experiments, the presence of scientific Chinese medicine in the simulated intestinal tract for 1hr can obtain 88.81% release saturation and produces the hydrogel beads with the combination of high concentration of sodium alginate ($\geq 3\%$) and calcium chloride (0.5M), which can effectively decrease the release rate and calculate the release exponent ($n>0.559$). When $n>0.559$, the release rate belongs to the anomalous release mechanism. The response surface methodology can establish relationship between the experimental factors and quality factors, as well as search for

the most appropriate manufacturing conditions of hydrogel beads, 3.00% concentration of sodium alginate, 0.28M calcium chloride and 1.22hr of curing time, and can prepare the most appropriate index value. The application of chitosan coating on the hydrogel beads can form the outer layer composite polymer of sodium alginate and calcium chloride and can effectively increase the drug loading. Moreover, when the release test on the hydrogel beads in the SGF and SIF is carried out, the coated hydrogel bead structures loosened due to the influence of the external environment. Therefore, the release rate constant k is higher than the hydrogel beads ($0.118\sim0.142\text{min}^{-n}$). After entering the SIF environment, the linkage of sodium alginate and chitosan complex polymer becomes denser and can effectively delay the release rate of the medicine.

Keywords: microencapsulation, sodium alginate, chitosan, hydrogel granulation, physiology active ingredient, response surface methodology, release test

壹、前言

控制釋放(Controlled-Release)技術及系統是生物藥用材料研究領域之重要課題。中(草)藥劑型主要以「口服」為主，口服時藥物必先經腸、胃道的吸收，才能進到循環系統，經消化道時易被分解或經肝臟代謝；藥物的療效常受到半衰期、供給頻率和釋放速率的影響，“釋放劑型”是希望藥劑到達體內後，能讓藥物緩慢釋出，以達血液中的藥物濃度控制在治療視窗之內，使藥效作用延長且可減少服藥次數的目的。“控制釋放系統”——主要利用藥物或生物活性物質經過高分子基材薄膜的擴散原理或是特效物包覆於高分子基材中，利用基材逐漸水解而將藥物慢慢釋出(王和莊，1995)。傳統中草藥製程：藥材選材、清洗、飲片加工、炮製等處理步驟，耗時且劑效有限。近年“科學濃縮中藥”，萃取、濃縮、造粒是重要程序，如何精緻化製程，提升其品質或應用性，並評估製程技術改良後對吸收、物性、化性、安全性及毒性等之影響，成為重要研究課題及中草藥業者急需克服之瓶頸。

“科學濃縮中藥”是全球中(草)藥之主要商品型態，“液”、“粉”、“粒”、“膠囊”是常用之劑型，其與傳統丸、散、膏、丹，在服用量及藥效上已有重大改善；“製劑”是連接醫生“醫療”、病患“接受性”及“療效”之橋樑，柴(2002)指出中西製藥劑型常對其藥效、毒理、臨床研究均針對其質量控制及製劑穩定性；由於各種劑型組成分、結構不同，載藥形式及釋放藥物的方式與速度不同，其藥效成分在體內運送途徑及其血漿濃度與時間會有顯著差異(謝，1994)；影響製劑因素眾多且複雜，包括：原料、輔料、處方、劑型、包裝、防吸濕等因子(葉，2002)。藥材選材、清洗、飲片加工、炮製是傳統中藥製備之重要處理步驟，“磨粉”、“萃取”、“濃縮”、“造粒”是現今中藥廠商常使用之重要製備技術，其常發生長黴、萃取不完全、分層、沉澱、吸濕、變色(味)、外型崩散均十分容易造成品質劣化，甚至影響療效。傳統中(草)藥需要長時間熬煮及粉劑之服用量較一般西藥數量多，藥效較低，“生藥粉末”、乳糖、澱粉及CMC(羧甲基纖維素納)是中藥濃縮製劑業常添加之賦型劑及增黏劑，但常因添加量多，致使外型及藥效均易受影響，另中藥之服用量較大，味道較濃、苦，常造成患者之排斥，如何確保品質及精緻化，十分值得重視及投入相關研究。「粉劑」及「粒劑」是國內科學中藥常用之劑型，其主要將中(草)藥濃縮液，配合澱粉、乳糖及多醣增黏劑作為賦型劑進行造粒(granulation)；比較常用之造粒方式有流動層(fluidized bed)造粒，噴霧乾燥(spray drying)造粒及壓縮(compression)造粒，其主要目的在提高品質安定性及提供更多附加價值。結合劑(binder)及溶劑主要作用是將粒子結合在一起

以使粒子團體積變大，同時也可改變成品顆粒之流動、混合及成型，另其溶解性會影響成分溶出及釋放性。“即溶化”、“多孔”、“膨鬆”成為科學中藥粒、粉劑型之特性，因此十分容易發生吸濕、潮解、凝聚、結塊、氧化、變色、變味等現象，成為產、學、研界十分棘手且須克服之品質及技術問題。微膠囊(microencapsulation)技術是一種用成膜材料把固體或粉體包覆形成微小粒子之技術，其粒徑在數微米至數千微米間之微小胞器，主要包括核心物質及藥壁，其殼壁之材質及特性會影響其包覆性、溶解性、及釋放性，另會造成粒徑大小、形狀及強度上之差異。蛋白質、碳水化合物或脂類是常應用之材料，其中以碳水化合物（澱粉、糊精及膠體多醣）是最常用之殼材，如何製備中藥微膠囊及改善品質劣化現象，將是重要研究課題。

「藥物控制釋放技術」是近年十分重要且熱門之藥物製備技術，在中草藥物之製備技術上目前甚少有相關研究投入，“控制釋放”一指存在一個特定的系統，該系統內的活性製劑(active agent, AA)可按預先設定之速度釋放到周圍環境中，在特定之區域，活性製劑的濃度可以保持在某個事先設定範圍內；以期達到藥劑製程最適化，劑量最小化，效果最大化。近年西藥、日用化妝品，農藥等產業對控制釋放之技術需求及突破性，突顯其重要性。此類技術之應用可解決產品內某些組成分之間配合、作用之侷限性，增加活性組成分或產品之穩定性，降低毒性副作用，延長活性物之功效，並可改善產品之外觀等；一些對熱、光、所值敏感之藥物、組成分，更能達到保護藥效及調整釋放功效之訴求。控制釋放技術之功效：1. 保護活性成分。2. 改變有效成分存在狀態（粉、粒、液或其他）。3. 隔離子相容的成分。4. 掩蔽活性成分的不良性質如臭氧、pH 值或催化活性控制釋放活性成分，以實現緩釋（或定時釋放），保持長效或減輕刺激性改善產品之感官特性。

本年度計畫—“以模式系統評估中（草）藥釋控粒子製備及釋放速率改善之研究”，擬以麻黃湯（麻黃、杏仁、桂枝、甘草）為藥材，麻黃湯（單方或複方）萃取液、生藥粉末及凝膠球粒微膠囊粒子為核蕊基質，利用噴霧包覆法(spray coating)、流動床包覆法(fluidized bed coating)及膠凝法(coacervation; phase inversion)評估中（草）藥釋控粒子製備技術之可能性、關鍵因子及品質變化，利用將評估“控制釋放微粒釋藥機制及變化”，並進行藥物控制釋放動力模式系統之建立；另將進行“模擬腸胃液控制釋放實驗”，以評估麻黃湯之確效的成分、變化及釋放速率改進之研究。

貳、材料與方法

一、實驗材料

(一) 實驗藥材及前處理

麻黃、杏仁、桂枝及甘草等藥材 2010 年 11 月購自製藥股份有限公司。原料藥材先經過選別處理後，分別以每 230g/包進行分裝、真空密封，並置於 4°C 冷藏庫中保存，以備各項試驗分析及檢測。

(二) 市售科學濃縮中藥

麻黃、杏仁、桂枝及甘草等藥材購自國內 GMP 藥廠，貯存於 4°C 下備用，並進行各項實驗分析及檢測。

(三) 食用膠、交鏈劑及澱粉

海藻酸鈉(Sodium alginate)、氯化鈣(Calcium chloride)、乳糖(Lactose)、羧甲基纖維素(CMC)購自振芳食品原料行，Chitosan(幾丁聚醣) 購於誠麗實業股份有限公司，澱粉(玉米澱粉、樹薯澱粉) 購自金大裕食品行。

(四) 生藥粉末及前處理

麻黃、杏仁、桂枝及甘草等藥材以 Harmmer mill (B-20 型；1HP, 3450rpm, 榮聰牌, 臺灣, 台中) 進行乾式研磨三次(分別通過 5、2、0.2mm 篩網)，再經 80mesh 篩網(生藥粉末粒徑 20μm-120μm)，所得生藥粉末分別裝入塑膠瓶密封後儲存於 4°C 備用。另杏仁藥材因含油脂過量，直接研磨易發生“出油”結塊，因此原料購自藥廠經高壓脫脂處理之脫脂杏仁粉末。

(五) 麻黃湯(單方、複方)萃取

麻黃湯(麻黃、杏仁、桂枝、甘草)依單方(單一藥材)及複方(配方：麻黃 9.0g、桂枝 6.0g、杏仁 5.0g、甘草 3.0g；中華藥典，2006)，取中藥材 230g 以固：液比=1:7(w/w)，在 100°C 下進行第一次加熱萃取，萃取液經過濾(100mesh)，藥渣再以固:液比 1:5 (w/w)進行第二次加熱萃取，萃取液過濾(100mesh)並與第一次萃取液混合均勻，利用減壓濃縮濃縮(Rotavapor, R-200, BÜCHI, Switerland; Heating Bath, B-490, BÜCHI, Switerland)至固形物含量 20°Brix，並經冷凍乾燥備用。

PS. 麻黃湯每日飲片量為 23g (中華藥典，2006) (生藥與浸膏比例 23:3)。

二、藥品：

(一) HPLC:Ephedrine (麻黃) (No.13491-0, Sigma)、Pseudophedrine (麻

黃) (No.E2625, Sigma)、Amygdalin (杏仁) (No10050, Sigma)、Cinnamic acid (桂枝) (No.C8085-7, Sigma)、Glycyrrhizin (甘草) (No.G213 7Sigma)。

(二) Pepsin (胃蛋白酵素)：購於 Sigma，分析級。

(三) Pancreatin (胰蛋白酵素)：購於 Sigma，分析級。

(四) Sodium hydroxide、Potassium dihydrogen phosphate、Sodium chloride：購自於聯工化學試劑(Taiwan)，化學級。

(五) Potassium Bromide：購自於昭和化學工業株式會社(Tokyo)，化學級。

(六) 溶劑

1. Phosphoric acid (磷酸)：購於 Chem Service，HPLC 級。
2. Acetonitrile (乙腈)：購於 TEDIA，HPLC 級。
3. Methyl alcohol (甲醇)：購於 ECHO，HPLC 級。
4. Hydrochloric Acid (鹽酸)、Acetic Acid (醋酸)：購於聯工化學試劑(Taiwan)，化學級。
5. Alcohol (95%)：購自於展茂企業有限公司(Taiwan)，化學級。

三、機具

(一) 同軸微膠囊生產器，購自 nisco 公司，型號 encapsulation unit Var J1

(二) 蠕動幫浦

(三) 空氣幫浦、空氣瓶

(四) 磁石攪拌器

(五) 乾浴器

(六) 恒溫水槽

(七) 分光光度計 (Hitachi, Model U-2000, spectrophotometer, Tokyo, Japan)

(八) pH meter (SARTORIUS BASIC pH Meter, Sartorius AG, PB-20, Germany)

四、中(草)藥凝膠造粒技術

利用凝膠法(微膠囊)「擠壓法」製備，以麻黃湯萃取液為核心物質，海藻酸鈉為核殼物質，兩者 1:1 (w/w) 於室溫下混合均勻，所得之混合液利用同軸微膠囊生成器(Nisco Engineering AG, Unit- Var J1)在室溫下滴入不同濃度氯化鈣水溶液，所得之微膠囊粒於 4°C 下置放 1hr。

使其固化完全，並於 35°C 下熱風乾燥 5hr。

造粒條件：海藻酸鈉濃度 (1、2、3、4、5 %, w/v)

鈣離子濃度 (0.1、0.3、0.5 M)

氣體流速 (1、2、3 L/min)

五、雙層包覆試驗

藉由反應曲面法所推算出最適化製備條件，進行凝膠造粒，將固化完成後之凝膠球粒，以小型篩網過濾凝膠球粒，先將不同幾丁聚醣溶液濃度：桂枝萃取液(1: 3, w/w)混合均勻，再把凝膠球粒轉移至混合液中，進行在不同包覆時間，再過濾收集雙層包覆凝膠球粒，放於 35°C 下熱風乾燥 5hr。

六、品質及理化性質分析

(一) 粒徑大小(Particle size)

參考 Anandrao (2000)之方法，隨機取出乾燥完全之凝膠球粒 25 粒，以光學顯微鏡(OLYMPUS CHB, Japan)，配合物鏡測微尺及顯微目鏡測微器(NiKon, Japan)測定凝膠球粒之平均粒徑大小。

(二) 包覆率(Encapsulation efficiency)

參考 Kim et al (2008)之方法，將凝膠球粒分離出來所剩固化液及過程中產生之洗液收集，根據指標成份之檢量線，以高效能液相層析儀 HPLC 配合 UV 偵測器測量，計算出製備過程耗損含量，再以萃取液之指標成份總量扣除未被包覆的指標成分含量，即得到凝膠球粒的包覆率。

$$\text{包載率\%} = (M_i - M_c) / M_i \times 100\%$$

M_i ：指標成分總量 M_c ：製造過程中的指標成分耗損量

(三) 色澤分析(Color analysis)

將凝膠球粒樣品 5 g 放入載台，以 Color Meter ZE-2000 型色差計(Nippon Denshoku Industries Co., Ltd Tokyo, Japan)之反射(reflectance)方式測定其 L、a、b 值，並由 L、a、b 值計算白色度(white index;W.I.)。L 值：100 為全白，0 為全黑；a 值：正為紅，0 為灰，負為綠；b 值：正為黃，0 為灰，負為藍；W.I. 值愈大，表示顏色愈白。標準板： $x = 92.02$ 。 $y = 94.01$ ， $z = 110.59$ 。白色度(W.I.)及 Chroma(彩度)的計算公式如下：

$$W.I. = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

$$\text{Chroma} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

(四) 膨潤力(Swelling ratio)

依據 Yeom et al (2000)方法並加以修飾，取不同條件製備的海藻酸鈣凝膠球粒浸入 10 ml 去離子水中 24 hr，使其充分吸水膨脹後，去除凝膠球粒表面水分，秤重 W_1 (濕膠重)，置入 35°C 烘箱，烘乾至凝膠重量不再變化為止 W_2 (乾膠重)，以海藻酸鈣凝膠球粒重量變化來計算膨潤率。

$$\text{Swelling Ratio} = (W_1 - W_2) / W_2 \times 100\%$$

(五)光學解剖顯微鏡

取少量凝膠球粒於載玻片上，利用穿透式光學顯微鏡(Eclipse E-400,NiKon, Japan)並配合照相機(Nikon FDX-35)，觀察凝膠球粒外觀成型並照相。

(六)掃描式電子顯微鏡(SEM)

依據 Lee et al (2002)方法並加以修飾，將桂枝凝膠球粒置於35°C 乾燥 24hr 後，所得樣品以碳膠(carbon tape)黏於鋁檯(aluminum stab, Topon corp, Japan)真空狀態下，覆上金膜(gold coating) 90 秒，然後以掃描式電子顯微鏡(ABT-150S, Topon corp, Japan)觀察並照相。藉 SEM 來觀測各種不同製備條件對凝膠球粒顆粒表面皺摺的影響。

(七)示差熱掃描分析(Differential scanning calorimetry, DSC)

熱分析之溫度圖譜以示差熱掃描分析儀(DSC 822, Mettler-Toledo Gmdh, Analytical, Switzerland)測量，稱取 1 mg 樣品至 40 μ l 一般鋁製坩鍋中，並在坩鍋蓋上打洞、蓋緣與坩鍋密封，進行測定，條件如下：通入氮氣 80 ml/min，以升溫速率 10°C / min 從 0°C 加熱至 350°C。

(八)傅立葉紅外線光譜掃描(FT-IR)

參考 Mladenovsk et al (2007)之 FTIR 測定方法並加以修改後如下：待測之海藻酸鈉、海藻酸鈣薄膜、萃取液凍乾粉末、幾丁聚醣和海藻酸鈉-幾丁聚醣複合膜先行研磨成粉末狀，然後以 1:50 比例與 KBr 粉末充分混合後，於 200psi 壓力條件下壓成透明鹽片，並於傅立葉紅外線光譜儀(NEXUS, Thermo Nicolet, USA)下，進行全光譜 400cm⁻¹~4000cm⁻¹ 掃描紀錄。

(九)X光繞射分析(X-ray diffraction analysis)

將樣品粉末裝填入樣品座中抹平，以 Cu K α 光源之 X-ray 繞射儀(PANalytical X' Pert Pro MRD)進行鑑定，圖譜記錄範圍為 3°-50°2 θ ，以 2°2 θ /min 之速度進行繞射。

七、體外試驗評估

(一)模擬胃液製備

2g NaCl 溶入 250 mL 去離子水之燒杯中，加入 6 ml HCl，再用 0.01N HCl 液調節 pH 為 1.2，加水定量至 1000 mL。

(二)模擬腸液製備

將磷酸二氫鉀 6.8g 溶於 250mL 之去離子水，加入 0.2N 氢氧化鈉 110 mL 及水 400 mL，用 0.2N 氢氧化鈉液調節 pH 為 6.8，再加水定量至 1000 mL。

(三) 釋放試驗(Release studies)

參考 Pasparakis & Bouropoulos(2006)之方法並加以修飾，將 250mL 的錐形瓶固定於恆溫震盪槽中，加入 100mL 的模擬胃或腸液，控溫在 37°C，精秤 200 mg 的桂枝凝膠球粒置入錐形瓶中，用 50 rpm 速率震盪。在間隔 5min、15min、30min、1 hr、2 hr、3hr、4hr、5hr、6hr、8hr、12hr 分別取出，以定量吸管一次吸取 1 mL 溶出液，馬上補回 1 ml 模擬胃、腸液；取出的溶出液，用去離子水稀釋成 10 毫升，然後以 8000 x g，離心 10min，取其上清液，分別在 276、289 nm 下，測定溶液中桂皮酸、桂皮醛的釋放含量。另外在後段試驗(反應曲面法及雙層包覆部分)進行連續釋放測試，先在模擬胃液置放 2 hr，之後轉移凝膠球粒至模擬腸液繼續釋放試驗。

(四) 麻黃湯之指標成分評估

1. HPLC(Model L-7100 pump, L-7400 UV detector, Hitachi Co., Japan) 分析。分離管柱為 Mightysil RP-18 GP 250×4.6(5μm)(Kanto Inc., Japan)。
2. 樣品製作

將檢品取於三角錐形瓶內，加入 70% 甲醇，置於超音波震盪器中，以 40°C 抽取 30 分鐘，濾紙過濾後，以 70% 甲醇定容。取適量濾液，加內部標準品儲備溶液，使其含內部標準品，最後以 70% 甲醇定容，取適量通過 0.45μm 濾膜供作檢液。(經稀釋之濃縮製劑檢品濃度須介於對照用標準品溶液之最大及最小濃度之間)。

3. 檢驗分析：

(1) mygdalin test

相層析條件：

層析管柱 Mightysil RP-18，GP 250×4.6mm(5 μm)

移動相：A: H₂O B: Methanol

梯度條件：

Time(min)	A(%)	B(%)
0	85	15
10	85	15
35	75	25
40	60	40
50	85	15
65	85	15

C. 流速：1.0ml/min

D. 檢測波長：UV214 nm E. 注入量：10 μ l

標準品儲備溶液：

Amygdalin：精確秤取對照用標準品 Amygdalin，以 70% 甲醇溶解後再定容，供作標準品儲備溶液。

內標準品儲備溶液：

Caffeine：精確秤取 Caffeine，以 70% 甲醇溶解後再定容，供作內部標準品儲備溶液。

對照用標準品溶液：

精確量取 Amygdalin 儲備溶液及內部標準品儲備溶液

Caffeine 適量，以 70% 甲醇分別調配成一系列濃度。並內含標準品 Caffeine 供作標準品溶液。

(2) Glycyrrhizin and Cinnamic acid (條件相同)

高效液相層析條件：

層析管柱 Mightysil RP-18，GP 250×4.6mm(5 μ m)

移動相：A: Acetonitrile B:0.03%H₃PO₄

梯度條件：

Time(min)	A(%)	B(%)
0	30	70
5	30	70
40	42	58
45	30	70
65	30	70

C. 流速：1.0ml/min D. 檢測波長：UV266 nm

E. 注入量：10 μ l

標準品儲備溶液：

Cinnamic acid：精確秤取對照用標準品 Cinnamic acid，以 70% 甲醇溶解後再定容，供作標準品儲備溶液。

Glycyrrhizin：精確秤取對照用標準品 Glycyrrhizin，以 70% 甲醇溶解後再定容，供作標準品儲備溶液。

內標準品儲備溶液：

n-Butylparaben：精確秤取 n-Butylparaben，以 70% 甲醇溶解後

再定容，供作內部標準品儲備溶液。

對照用標準品溶液：

精確量取 Cinnamic acid、Glycyrrhizin 儲備溶液及內部標準品儲備溶液 n-Butylparaben 適量，以 70% 甲醇分別調配成一系列濃度。並內含標準品 n-Butylparaben 供作標準品溶液。

(3) Ephedrine

高效液相層析條件：

A. 層析管柱：Mightysil RP-18，GP 250×4.6mm (5μm)

B. 移動相：

Time (min)	Acetonitrile (%)	0.03% H ₃ PO ₄ +SDS (%)
0	38	62

C. 流速：1.0 mL/min

D. 檢測波長：UV 210nm。

E. 注入量：10μL

F. Stop time : 40min

標準品配製：

精確秤取 Ephedrine 標準品，以 50% 甲醇溶解後定容。

對照用標準品溶液：

精確量取 Ephedrine 儲備溶液及內部標準品儲備溶液 n-Butylparaben 適量，以 70% 甲醇分別調配成一系列濃度。並內含標準品 n-Butylparaben 供作標準品溶液。

八、統計分析

使用統計分析系統進行變異數分析(ANOVA，analysis of variance)與 Duncan's multiple range test 分析，顯著差異為 $\alpha=0.05$ 比較其差異顯著性，結果以平均值表示。

參、結果與討論

傳統中草藥製程：藥材選材、清洗、飲片加工、炮製等處理步驟，耗時且劑效有限。近年“科學濃縮中藥”，萃取、濃縮、造粒是重要程序，如何精緻化製程，提升其品質或應用性，並評估製程技術改良後對吸收、物性、化性、安全性及毒性等之影響，成為重要研究課題及中草藥業者急需克服之瓶頸。「粉劑」及「粒劑」是國內科學中藥常用之劑型，其主要將中（草）藥濃縮液，配合澱粉、乳糖及多醣增黏劑作為賦型劑進行造粒(granulation)；比較常用之造粒方式有流動層(fluidized bed)造粒，噴霧乾燥(spray drying)造粒及壓縮(compression)造粒，其主要目的在提高品質安定性及提供更多附加價值。“製劑”是連接醫生“醫療”、病患“接受性”及“療效”之橋樑，柴(2002)指出中西製藥劑型常對其藥效、毒理、臨床研究均針對其質量控制及製劑穩定性；由於各種劑型組成分、結構不同，載藥形式及釋放藥物的方式與速度不同，其藥效成分在體內運送途徑及其血漿濃度與時間會有顯著差異（謝，1994）；影響製劑因素眾多且複雜，包括：原料、輔料、處方、劑型、包裝、防吸濕等因子（葉，2002）。控制釋放(Controlled-Release)技術及系統是生物藥用材料研究領域之重要課題。中（草）藥劑型主要以「口服」為主，口服時藥物必先經腸、胃道的吸收，才能進到循環系統，經消化道時易被分解或經肝臟時代謝；藥物的療效常受到半衰期、供給頻率和釋放速率的影響，“釋放劑型”是希朒藥劑到達體內後，能讓藥物緩慢釋出，以達血液中的藥物濃度控制在治療視窗之內，使藥效作用延長且可減少服藥次數的目的。“控制釋放系統”——主要利用藥物或生物活性物質經過高分子基材薄膜的擴散原理或是特效物包覆於高分子基材中，利用基材逐漸水解而將藥物慢慢釋出（王和莊，1995）。本年度計畫—“以模式系統評估中（草）藥釋控粒子製備及釋放速率改善之研究”，擬以麻黃湯（麻黃、杏仁、桂枝、甘草）為藥材，麻黃湯（單方或複方）萃取液、生藥粉末及凝膠球粒微膠囊粒子為核芯基質，利用噴霧包覆法(spray coating)、流動床包覆法(fluidized bed coating)及膠凝法(coacervation; phase inversion)評估中（草）藥釋控粒子製備技術之可能性、關鍵因子及品質變化，利用將評估“控制釋放微粒釋藥機制及變化”，並進行藥物控制釋放動力模式系統之建立；另將進行“模擬腸胃液控制釋放實驗”，以評估麻黃湯之確效的成分、變化及釋放速率改進之研究。

一、“海藻酸一鈣”微膠囊化形成及微細構造之觀察

海藻酸為親水性高分子聚合物，溶於水中呈半透明均勻黏稠膠體溶液，常以鈉離子單價結合成海藻酸鈉(sodium alginate, SA)，於微膠囊技術上可作為一成膜材料，藉凝膠造粒技術包埋液體或固體之核芯素材形成凝膠

球粒，常應用於藥品和食品工業上。本試驗以不同 SA 濃度與氯化鈣(CaCl_2)濃度之造粒條件，探討微膠囊化“egg-box”凝膠機制形成，及其品質因子(微細構造、粒徑大小、色澤)，另分析 SA 在與鈣離子交鏈(cross-linkage)後固化液之品質因子(鈣殘留量、色澤、濁度、黏度)。試驗結果如下：凝膠球粒在相同 SA 濃度下，隨 CaCl_2 濃度的減少，球粒表面出現皺摺及不規則球狀物，甚至不成形(呈黏膜狀)(圖一、二)，在相同 CaCl_2 濃度下，隨 SA 濃度的減少，粒徑呈下降變化(表一)；固化液方面，鈣殘留量隨 CaCl_2 濃度提升而增加(表二)，濁度隨 CaCl_2 濃度增加而有上升趨勢(圖三)；膠體品質方面，隨 SA 濃度上升，膠黏度及濁度會提升，L 值(明亮度)會下降，a 值(紅色度)及 b 值(黃色度)則呈上升情形(表三)。本試驗結果能提供海藻酸鈣微膠囊化形成機制及其對微細構造變化之影響，未來可提供單層及多層造粒技術及品質改善之參考。

二、桂枝凝膠球粒造粒技術及其釋放特性之研究

桂枝(*Cinnamomi Ramulus*)是一種藥用植物，傳統多以熬煮萃取液服用，其常因體內腸胃消化、代謝作用造成藥效消失，如何提高其藥效及安定性是重要研究主題。本研究擬以凝膠造粒法製備微膠囊，針對海藻酸鈉(SA)、氯化鈣(CaCl_2)濃度與氣體流速(Air flow)等控制因子進行探討凝膠球粒造粒技術及品質因子(包覆率、粒徑大小、微細構造)，並評估模擬人體胃、腸道(pH1.2、6.8)之釋放速率改善效果。實驗結果如下：海藻酸鈉凝膠之機制其與氯化鈣之鈣離子會形成交鏈(cross-linkage)–Egg Box，形成包覆凝膠球粒粒子。凝膠球粒粒徑大小可藉由改變 Air flow 高低來達到控制，在相同 CaCl_2 濃度，隨著 Air flow 增加，粒徑呈逐漸下降情形($r^2=0.99$) (表四)。提高 SA 濃度，可提高與 Ca^{2+} 交鏈速度，更能提升包覆效果($r^2=0.98$) (表五)；透過掃描式電子顯微鏡(SEM)觀察微細構造，凝膠球粒粒子會呈現較完整圓粒狀；而表皮構造部分，高濃度 SA 粒子呈皺縮狀，凝膠球粒交鏈結構較緊實(圖四、五)。釋放特性評估：經微膠囊造粒後，可使凝膠球粒有效抵抗酸性環境隨著海藻酸鈉及氯化鈣濃度提升，可減少藥效成分釋放。在模擬腸道(pH = 6.8)條件下，在 1%SA 條件下，因凝膠粒殼膜較薄，在進入腸道初期已達到釋放平衡；隨 SA 濃度提升，則有明顯緩釋效果(圖六、七、八)。本實驗提供凝膠球粒造粒資訊，可做為改善藥劑製備之參考。

三、以反應曲面法探討桂枝凝膠球粒製備條件及相關因子之影響性

本研究擬以凝膠造粒法製備微膠囊，並利用以反應曲面法(RSM)尋求最適化之桂枝凝膠球粒製備，實驗採用反應曲面法之三因子三階層級設計(Box and Behnken, 1960)，以海藻酸鈉濃度(X) 1、3、5 %、氯化鈣濃度(Y) 0.05、0.3、0.55 M、固化時間(Z) 0、1、2 hr 等操作條件作為加工自變數(Independent variables)；以包覆率、粒徑大小、膨潤力、L 值(明亮度)、a

值（紅色度）、b 值（黃色度）、模擬胃、腸道等理化性狀作為反應變數，作為判定桂枝造粒條件最適化的指標。由研究結果可知，隨著氯化鈣濃度提升，可使海藻酸鈉與鈣離子交鏈所產生 Egg—Box 網狀結構延展，造成粒子大小及膨潤力皆隨之呈現增加趨勢($p<0.05$) (表六)；在色澤 L 值方面，隨著海藻酸鈉濃度提高，粒子有較厚的明亮海藻酸鈣殼膜，則有增加變化；而在 a 值和 b 值方面，則無太大顯著相關性($p>0.05$) (表七)。藉由 Minitab 14 統計軟體分析後所得各組反應性狀數據，以疊圖的方式可找出桂枝凝膠球粒最適製備條件海藻酸鈉濃度為 2.75~3.18 %、氯化鈣濃度為 0.27~0.36 M、固化時間為 0.92~1.32 Hr，能使藥物包覆率達 55% 以上，而在模擬胃道 2Hr 下桂皮醛釋放率可低於 15%，在模擬腸道 6Hr 下釋放率則提升至 75% 以上。顯示透過微膠囊化凝膠造粒，能使藥物有效抵抗胃酸環境的迫害，進而順利傳遞至腸道達到釋放效果 (圖九、十、十一、十二)。本實驗提供凝膠球粒造粒資訊，可做為改善藥劑製備之參考。

四、噴霧包覆及流動床包覆釋控造粒技術評估

國內中藥劑型大都以粉、散（微粒）為主之科學中藥，組成分有中藥萃取液、生藥粉末及賦型劑，並經噴霧、流動床造粒成粉、散劑型，其在“口服”後，經胃、腸消化吸收，其常在消化道分解、肝臟代謝過程中，發生藥效稀釋、分解等情況，影響藥效半衰期及釋放、吸收。“釋控粒子”可藉多層次&微膠囊製備，以達到保護活性成分及控制釋放速率。

由圖十三可明顯觀察出，桂枝科學中藥主要活性成分—桂皮醛，在模擬胃道環境下，經過 1 hr 釋放時間後，幾乎已達到平衡釋放率 66.54%；而在模擬腸道方面，同樣在經過 1 hr 釋放時間後，即達平衡釋放率 88.81%。會有如此急劇釋放情形，主要原因為市售科學中藥-粉、粒劑型製多以流動床造粒方式進行，其操作流程為將中（草）藥依單方或複方比例萃取濃縮，配合添加澱粉、乳糖、增黏劑及生藥粉末作為賦型劑(Excipient)，經流動床造粒或噴霧造粒，已達到增量、溶解度及吸收率提高之效果；而科學中藥用此造粒方式屬於組合式，賦型劑無法有效包覆藥物生理活性物質，因此在模擬胃道環境，變成崩裂溶解狀態，內部活性物質隨即被釋放出來，而在模擬腸道環境，則有更高釋放情形。

透過掃描式電子顯微鏡觀察，未經模擬腸胃道處理之科學中藥，外觀呈現組合式顆粒粉末 (圖十四 a、d)，於模擬胃道釋放 2hr 後，粉末有明顯吸水產生膨潤變化 (圖十四 b)，透過高倍率鏡頭下(x500)可觀察出顆粒粉末有崩散裂解情形 (圖十四 e)，而在模擬腸道環境下，顆粒粉末吸水膨潤及分散崩裂情形更為顯著 (圖十四 c、f)。藉由以上觀察結果，可以了解科學中藥在通過人體模擬腸胃道環境時，其藥效釋放率為何有急速上升之變化。實驗中以科學中藥再行包覆 (二次)，由於其造粒過程中黏著、包覆劑

以澱粉為主，其在腸、胃道之緩釋效果並未得到改善。

五、釋放控制動力學評估

(一)模擬胃道

Power law : $M_t/M_\infty = k t^n$ ，是用來描述藥物在傳遞系統中，藥物在釋放過程時的釋放型態，可作為控制釋放中—擴散控制系統及溶蝕控制系統之分析比較(Korsmeyer et al., 1983)。以 classical power law 進行數學計算，判別科學中藥與桂枝凝膠球粒之生理活性物質—桂皮醛在模擬胃、腸道釋放機轉模式。

由上階段釋放試驗結果可知，隨著鈣離子濃度提升，能有效減少核蕊物質釋放量，因此選 0.5 M 氯化鈣濃度為固定條件，以不同海藻酸鈉濃度(1、3、5%)及空氣流速(1、3 L/min)之桂枝凝膠球粒與科學中藥進行分析比較。圖十五 a、b 為科學中藥與不同造粒條件之桂枝凝膠球粒在模擬胃道之釋放圖，選取前段上升釋放曲線至後段 8hr 平衡釋放率，進行對數釋放累加率 $[\log(M_t/M_\infty)]$ 與對數釋放時間 $(\log t)$ 之線性回歸圖 $(\log(M_t/M_\infty)) = \log k t^n = n \log t + \log k$ ， $Y = aX + b$ (圖十六 a、b)，並分析其斜率 n (藥物釋放的擴散指數) 及常數項 k (藥物釋放的速率常數)，將其整理為表八。

由 power law 分析結果得知，科學中藥相較於其他條件下之桂枝凝膠球粒，其藥物釋放速率常數 k 值為最高 $0.540 (\text{min}^{-n})$ ，而在 1 L/min 空氣流速及 1% 海藻酸鈉條件下，釋放速率常數 k 值降低為 $0.068 (\text{min}^{-n})$ ，隨著海藻酸鈉濃度提高，分別下降為 $0.043 (\text{min}^{-n})$ 、 $0.011 (\text{min}^{-n})$ ；而在高空氣流速 3 L/min 下，不同海藻酸鈉濃度條件之釋放速率常數 k 值(0.036 min^{-n} 、 0.031 min^{-n} 及 0.057 min^{-n})同樣比科學中藥低，顯示透過微膠囊化凝膠造粒法之桂皮醛，受到外層海藻酸鈣包覆殼膜保護，能減少其在模擬胃道之流失，提高人體腸道吸收率。利用釋放擴散指數可辨別藥物在釋放過程的釋出機制，當 $n < 0.43$ 時、釋放機制為 Fickian diffusion(費式擴散)， $0.43 < n < 0.85$ 時、釋放機制為 Anomalous transport (不規則運輸)， $n > 0.85$ 時、釋放機制為 Case- II transport (二級主動運輸)。

科學中藥之釋放擴散指數 n 值 $0.04 < 0.43$ ，其釋放機轉為 Fickian diffusion，科學中藥屬於組合式藥物劑型，置放於釋放環境時，結構隨即產生崩散裂解，造成內部藥物快速擴散至釋放溶液中。而在 1 L/min 空氣流速及 5% 海藻酸鈉條件下，釋放擴散指數 n 值 > 0.43 ，為 Anomalous transport 釋放機制，由於在此條件所製備之桂枝凝膠球粒，其殼膜較厚，造成藥物擴散時須先通過較多殼膜路徑，增加釋放過程的困難性，因此釋放速率有減緩趨勢。而在其

他凝膠造粒條件下，藥物釋放機轉主要為 Fickian diffusion，隨著外層海藻酸鈣吸水產生膨潤，使網狀結構逐漸撐開，造成內部藥物逐漸釋放出來，並由高濃度藥劑逐漸擴散至低藥物濃度之釋放環境中。

(二)模擬腸道

圖十七 a、b 為科學中藥與桂枝凝膠球粒在模擬腸道釋放情形，同樣選取前段上升釋放曲線至後段 8 hr 平衡釋放率，進行對數釋放累加率 $[\log(M_t/M_\infty)]$ 與對數釋放時間 (logt) 之線性回歸圖 ($\log(M_t/M_\infty) = \log kt^n = n\log t + \log k$, $Y = aX + b$) (圖十八 a、b)，並分析其斜率 n (釋放擴散指數) 及常數項 k (釋放速率常數)，將其整理為表九。

由數學模式分析結果可知，科學中藥相較於其他條件下之桂枝凝膠球粒，在模擬腸道之釋放速率常數 k 有最高數值 $0.741 (\text{min}^{-n})$ ，而在 1 L/min 空氣流速及 1% 海藻酸鈉凝膠造粒條件下，釋放速率常數 k 值降低為 $0.121(\text{min}^{-n})$ ，隨著海藻酸鈉濃度提高，分別下降為 $0.033 (\text{min}^{-n})$ 、 $0.031 (\text{min}^{-n})$ ；而在高空氣流速 3 L/min 下， 1% 、 3% 及 5% 海藻酸鈉濃度條件之釋放速率常數 k 值分別為 0.540 min^{-n} 、 0.326 min^{-n} 及 0.620 min^{-n} 同樣比科學中藥低，由此得知將藥物進行微膠囊化後，形成包覆殼膜保護，能降低在模擬腸道釋放速率。

一般來說藥物溶離釋放的機制主要以擴散的方式進行，由劑型內部高濃度藥物逐漸擴散至低藥物濃度之釋放環境，但是釋放過程常受到劑型特性之影響，例如水合作用、鍵結斷裂及聚合物崩解程度，形成具孔洞聚合膠體，此時釋放機制除了擴散作用外，還包含其他因素如溶蝕或膨潤作用 (李，2009)。科學中藥之釋放擴散指數 n 值 $0.05 < 0.43$ ，其釋放機轉為 Fickian diffusion，當置放於釋放環境時，結構隨即產生崩散裂解，造成內部藥物快速擴散至釋放溶液中。而在 1 L/min 空氣流速及 3% 、 5% 海藻酸鈉條件下，釋放擴散指數 0.559 、 $0.576 > 0.43$ ，為 Anomalous transport 釋放機制，由於在高濃度海藻酸鈉與氯化鈣所製備之桂枝凝膠球粒，其鍵結程度更為緊密，降低核蕊物質的釋放率，可達到緩釋之目的。而在不同凝膠造粒條件下，藥物釋放機轉皆為 Fickian diffusion，雖與科學中藥釋放模式相同，但受到海藻酸鈣外膜包覆，其釋放率皆有較低趨勢。

六、以幾丁聚醣包覆凝膠球粒對藥效提升及釋放速率之影響

由於利用海藻酸鈉進行桂枝萃取液凝膠造粒時，生理活性物質易流失於固化液中，導致包覆率整體數值偏低。因此進行幾丁聚醣與桂枝萃取液

之混合液包覆試驗，希望能有效提升桂枝凝膠球粒之載藥量，並評估不同包覆條件(0.1%、0.5%、1.0%幾丁聚醣濃度及15 min、60 min包覆時間)對其釋放速率改善之影響。

幾丁聚醣具有高度的生物相容性(biocompatibility)、生物降解性(biodegradable)、生物黏附性(bioadhesiveness)及對人體無毒性(non-toxic)，為一良好藥物釋放高分子基材(Wang et al., 1995)；由幾丁聚醣帶有正電荷之氨基(NH^{3+})，可與負電荷聚合物產生複合膜，因此常被用來與帶負電荷海藻酸之羧基(COO^-)進行結合，可應用於藥物包覆或作為控制釋放之複合膜。目前海藻酸與幾丁聚醣之複合膜製備方式，主要可分為混包法和後包法，兩者差異在於前者一開始將幾丁聚醣與海藻酸鈉或氯化鈣混合進行凝膠造粒；本實驗採用後包法進行幾丁聚醣包覆試驗，首先將海藻酸鈉與氯化鈣凝膠鍵結後成凝膠球粒後，再浸泡於不同濃度幾丁聚醣溶液(0.1%、0.5%、1.0%)，進行不同包覆時間(15min、60min)下測試。

試驗結果如圖十九，在桂皮酸方面，未經幾丁聚醣包覆桂枝凝膠球粒(控制組)載藥量為0.49 mg/g，經過在包覆試驗後，其載藥量皆有明顯提升，在包覆15 min條件下，0.5%幾丁聚醣之包覆球粒有最大載藥量1.86 mg/g，隨著包覆時間延長至60 min，不同幾丁聚醣濃度之包覆球粒載藥率有增加趨勢。

而在桂皮醛包覆部分，與桂皮酸包覆試驗結果相似，其未經幾丁聚醣包覆之桂枝凝膠球粒(控制組)之載藥量1.93 mg/g(圖二十)，皆明顯低於經過包覆試驗之包覆球粒，而在0.1%幾丁聚醣、不同包覆時間(15 min、60 min)條件下，所製備出包覆球粒其載藥量皆有較大數值5.82 mg/g、6.24 mg/g，隨著幾丁聚醣濃度提升(0.5%、1.0%)時，載藥量有逐漸減少趨勢，推測在較高濃度幾丁聚醣會與海藻酸鈣形成更緊密鍵結結構，造成載藥空間相對減少，導致載藥量有降低變化。另外可觀察出，當包覆時間為60 min時，不同濃度幾丁聚醣製備出包覆球粒，其載藥量皆有較大趨勢。

肆、結論與建議

一、結論：

本研究藉由海藻酸鈉與氯化鈣進行凝膠，形成蛋盒結構(egg-box)製備出海藻酸鈣球粒，透過外觀變化能觀察出不同造粒條件對海藻酸鈉與鈣離子產生凝膠結構之影響；並以桂枝萃取液為核芯物質製備出桂枝凝膠球粒，適當提高海藻酸鈉濃度能有效增加桂皮醛包覆率，藉由空氣流速調控，能改變膠球粒子大小，在釋放試驗部分，以高濃度海藻酸鈉及氯化鈣製備出膠球，皆能有效降低釋放率，達到藥物緩慢釋放之效果，且於其他麻黃、甘草、杏仁及麻黃湯造粒方面皆有相似功用。

透過反應曲面法能建立出試驗因子（海藻酸鈉、氯化鈣、固化時間）與品質因子（反應變數）相關性，並尋找出最適化凝膠球粒製備條件，當海藻酸鈉濃度 3.00%、氯化鈣濃度 0.28 M 及固化時間 1.22 hr，可製備出指標預估值：包覆率 57.58%、模擬胃道釋放率 12.58% 及模擬腸道釋放率 84.21%。

利用幾丁聚醣包覆桂枝膠球，形成海藻酸鈉與氯化鈣之外層複合膜，且能有效提高載藥量；另外分別與科學中藥、桂枝凝膠球粒在人體模擬腸胃進行釋放試驗，在模擬胃道部分，包覆膠球結構因 pH 值環境影響而趨於鬆散，因此與膠球相比，有更多藥物流失，而進入模擬腸道環境後，海藻酸鈉與幾丁聚醣之複合膜鍵結更為緊密，能有效減少藥物釋出率。

二、建議：

以凝膠造粒法制備出膠球，與市售科學中藥相比，皆能有效降低藥物在模擬胃酸環境的釋出率，而利用幾丁聚醣包覆後，更能有效減緩藥物釋放速率。期望透過本研究結果，能提供新型中草藥劑開發相關資訊及品質之參考。

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 CCMP99-RD-054 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. 林宜信主編，2004，建構臺灣中藥用藥安全環境。行政院衛生署中醫藥委員會。臺灣。
2. 林宜信主編，2005，建構臺灣中草藥用藥安全規範系列叢書(III)-中藥用藥安全與實務。行政院衛生署中醫藥委員會。台中。
3. 孔憲鐸，2000，中藥現代化。科學知識第 51 期：53~65。
4. 周鳳英，2000，中藥（材）加馬射線滅菌研究(2/3)，行政院衛生署八十九年度科技研究發展計畫，計畫編號：CCMP89-RD-045。
5. 周鳳英，2004，加馬輻射照射對中藥材滅菌及成分影響評估，中醫藥年報，22(6):65-94。
6. 陳長豪、張志鵬，2002，利用液中硬化包覆法製備海藻酸鈣微膠囊及其制放性之研究。華岡紡織期刊，第十卷，第三期，355-361。
7. 王盈錦、莊亞欣，“微膠囊之製備與應用”。生物產業，第六卷，第二期，27-31，1995。
8. 謝秀珠，“中藥新製劑研發與應用”。人民衛生出版社，北京，中國，1994。
9. 柴瑞霽，中醫概論，知音出版社，臺灣，台北，2002。
10. 葉定江，2002，中藥泡製學，知音出版社，臺灣、台北。
11. 劉伯康、陳惠英、顏國欽，1999，數種傳統食用植物甲醇萃取物抗氧化特性之研究。中國農業化學會誌，37(1):105-116。
12. 劉新裕，2000，藥用植物資源之開發與利用(5~4)，行政院衛生署八十九年度科技研究發展計畫，計畫編號：CCMP89-RD-050。
13. 謝秀珠，1994，中藥新製劑研發與應用，人民衛生出版社，中國、北京。
14. 魏嘉伶，2004，中藥材中重金屬含量限量標準訂定（草案）之研究計畫，中醫藥年報，22(6)：141-170。
15. Adom K. K. and Liu R. H. 2002. Antioxidant activity of grains. *J. Agric. Food. Chem.* 50: 6182-6187.
16. Augs-Burger L. L. and Vuppala M. K. 1997. Theory of granulation, in "Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology" Ed. D. M. Parikh, PP. 7-23. Marcel Dekker Inc. New York, USA.
17. Awang D. V. C. and Kindacl D. G. 1991. Herbal medicine Echinacea. *Can. Pharmaceutical J.* 124: 512-515.
18. Box, G. E. P., and Behnken, D. W. 1960. "Some new three level designs for the Study of Quantitative Variables." *Technometrics* 2(4): 455-475.
19. Chau, C. F., Wen, Y. L. & Wang, Y. T. (2006). Effects of micronisation on the characteristics and physicochemical properties of insoluble fibres. *Journal of*

- the Science of Food and Agriculture*, 86, 2380-2386.
- 20. Chen, C. H. & Chang, C. P. (2003). Control release properties and preparation of calcium alginate micropheres by an orifice methods. *Journal of the Hwa Gang Textile*, 10, 355-361.
 - 21. Hertog M. G. L. and Hollman P. C. H. 1996. Potential health effects of the dietary flavonol quercetin. *Euro. J. of Clin. Nutr.* 50: 63-71.
 - 22. Hu C. and Kitts D. D.. 2000. Studies on the antioxidant of Echinacea root extract. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1466-1472.
 - 23. Jankowski, T., Zielinska, M. & Wysakowska, A. (1997). Encapsulation of lactic acid bacteria with alginate/starch capsules. *Biotechnology Technology*, 11, 31-34.
 - 24. Kim, W. T, Chung, H., Shin, I. S, Yam, K. L et al. 2008. "Characterization of calcium alginate and chitosan-treated calcium alginate gel beads entrapping allyl isothiocyanate." *Carbohydrate Polymers* 71(4): 566–573.
 - 25. Korsmeyer, R. W, Gurny, R., Doelker, E., Buri, P. 1983. "Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers." *International Journal of Pharmaceutics* 15(1): 25–35.
 - 26. Lee, K. Y, Park, W. H, and W. S Ha. 1997. "Polyelectrolyte complexes of sodium alginate with chitosan or its derivatives for microcapsules." *Journal of Applied Polymer Science* 63(4): 425–432.
 - 27. Mladenovsk, K. Cruaud, O., Richommed, P., Belamie, E., Raicki, R. S., Venier-Julienne, M.-C., Popovski, E., Benoit, J.P., Goracinova, K. 2007. "5-ASA loaded chitosan–Ca–alginate microparticles: Preparation and physicochemical characterization." *International Journal of Pharmaceutics* 345: 59–69
 - 28. Moure A. Cruz J. M. Franco D. Dominguez J. M. Sineior J. Dominguez H. Nunez M. J. and Parajo J. C.. 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem.* 72: 145-171.
 - 29. Nakano Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22: 867-880.
 - 30. Panda, R. C., Zank, J., & Martin, H. (2001). Modeling the droplet deposition behavior on a single particle in fluidized bed spray granulation process. *Powder Techology*, 115, 51-57.
 - 31. Pasparakis, G., and Bouropoulos, N. 2006. "Swelling studies and in vitro release of verapamil from calcium alginate and calcium alginate-chitosan

- beads.” *International Journal of Pharmaceutics* 323(1-2): 34–42.
32. Wang Y. J., and Jhuang Y. S., 1995. Preparation and application of microcapsules. *Bioindustry*. Volume 6, 3, 27–31.
33. Yeom,C.K., Lee S.H., Lee J.M. 2000. “Effect of the ionic characteristics of charged membranes on the permeation of anionic solutes in reverse osmosis.” *Journal of Membrane Science*. 169:237-247.

陸、圖、表

表一、不同氯化鈣及海藻酸鈉濃度微膠囊之粒徑分析(mm)

CaCl ₂ (M)	SA(%)				
	1	2	3	4	5
0.1	0.567±0.04	0.674±0.05	0.75±0.03	0.771±0.03	0.813±0.03
0.3	0.569±0.05	0.75±0.05	0.815±0.04	0.804±0.02	0.892±0.02
0.5	0.647±0.05	0.771±0.04	0.912±0.03	0.864±0.03	0.893±0.03

※Each value is expressed as mean ± standard deviation.(n=25)

※SA : sodium alginate

表二、不同氯化鈣及海藻酸鈉濃度固化液之鈣含量(ppm)

CaCl ₂ (M)	SA(%)				
	1	2	3	4	5
0.1	0.25±0.01	0.24±0.01	0.24±0.01	0.23±0.01	0.23±0.01
0.3	0.70±0.01	0.70±0.03	0.71±0.03	0.68±0.01	0.67±0.06
0.5	1.14±0.03	1.12±0.01	0.96±0.01	1.11±0.02	1.07±0.04

※Each value is expressed as mean ± standard deviation.(n=3)

※SA : sodium alginate

表三、不同海藻酸鈉濃度之色澤分析

SA (%)	color		
	L 值	a 值	b 值
1	98.39 ± 0.36	0.20 ± 0.01	1.20 ± 0.01
2	96.62 ± 0.02	0.32 ± 0.01	2.20 ± 0.01
3	95.41 ± 0.01	0.34 ± 0.01	3.05 ± 0.01
4	93.34 ± 0.01	0.52 ± 0.01	4.40 ± 0.02
5	92.14 ± 0.01	0.70 ± 0	5.17 ± 0.01

※Each value is expressed as mean ± standard deviation.(n=10)

※SA : sodium alginate

表四、凝膠球粒成型處理對球粒粒徑(μm)之影響

SA (%)	Air flow (L/min)	CaCl ₂ (M)		
		0.1	0.3	0.5
1	1	473.39±49.06 ^{cBC}	668.94±46.76 ^{bA}	809.65±44.81 ^{aA}
	2	503.15±39.42 ^{abAB}	464.38±53.02 ^{bC}	659.21±23.71 ^{aB}
	3	517.51±43.28 ^{abA}	572.36±61.96 ^{aA}	565.20±48.31 ^{aC}
2	1	502.01±23.43 ^{ab}	512.74±17.52 ^{aAB}	518.70±21.01 ^{aD}
	2	465.04±23.18 ^{aBC}	457.24±19.11 ^{aC}	474.36±18.25 ^{aDE}
	3	409.00±16.04 ^{aD}	410.19±20.98 ^{aD}	445.96±19.06 ^{aE}
3	1	577.13±25.40 ^{bA}	609.32±25.89 ^{bA}	733.33±17.71 ^{aAB}
	2	462.66±17.38 ^{cBC}	523.27±17.06 ^{bAB}	585.28±14.06 ^{aC}
	3	447.15±13.62 ^{aC}	459.32±16.97 ^{aC}	473.39±22.65 ^{aDE}

1. Each value is expressed as mean ± standard deviation(n=3). SA: sodium alginate.
2. Mean with different letters (a-c) within the same row differed significantly ($p<0.05$).
3. Mean with different letters (A-E) within the same column differed significantly ($p<0.05$).

表五、凝膠球粒成型處理對球粒包覆率(%)之影響

SA (%)	Air flow (L/min)	CaCl ₂ (M)		
		0.1	0.3	0.5
1	1	57.88±1.01 ^{bBC}	51.65±1.04 ^{cD}	60.11±1.01 ^{aB}
	2	22.13±1.01 ^{cF}	62.98±1.00 ^{aB}	54.47±1.21 ^{bC}
	3	34.86±1.02 ^{cE}	61.94±1.05 ^{aBC}	58.50±1.16 ^{bBC}
2	1	60.49±0.99 ^{aAB}	63.42±0.99 ^{aB}	63.42±0.99 ^{aA}
	2	49.98±1.01 ^{bC}	62.97±0.95 ^{aB}	49.67±1.08 ^{bDE}
	3	43.42±1.06 ^{cD}	65.72±1.04 ^{aA}	62.07±1.17 ^{bAB}
3	1	63.21±0.99 ^{aA}	51.43±1.06 ^{bD}	48.23±1.06 ^c
	2	59.16±1.05 ^{aB}	59.29±0.97 ^{aC}	30.98±1.12 ^{bE}
	3	58.70±1.05 ^{aB}	50.51±1.04 ^{bD}	51.08±1.01 ^{bD}

1. Each value is expressed as mean ± standard deviation(n=3). SA: sodium alginate.
2. Mean with different letters (a-c) within the same row differed significantly ($p<0.05$).
3. Mean with different letters (A-E) within the same column differed significantly ($p<0.05$).

表六、不同凝膠處理對球粒包覆率(%)、粒徑(μm)及膨潤力(%)之影響

Samples	Encapsulation efficiency (%)	Particle size (μm)	Swelling ratio (%)
S1	43.49±0.13 ^e	316.59± 4.9 ^e	93.63±19.98 ^b
S2	46.52±0.65 ^d	345.56± 7.5 ^d	89.47±22.39 ^b
S3	64.64±0.14 ^a	384.55± 5.3 ^c	93.63±11.10 ^b
S4	55.67±0.36 ^b	438.57± 6.2 ^b	98.33±10.30 ^b
S5	53.09±0.56 ^c	558.76± 2.4 ^a	103.67±16.08 ^a
C1	54.94±1.02 ^b	556.62±11.8 ^a	161.99±14.73 ^a
C2	44.79±0.85 ^c	426.41± 9.0 ^c	140.27±10.15 ^b
C3	53.93±0.23 ^b	476.49±16.1 ^b	100.60±16.32 ^c
C4	41.11±0.48 ^d	461.82± 4.3 ^b	98.11±16.01 ^c
C5	59.59±1.33 ^a	450.02± 8.7 ^{bc}	51.52±17.05 ^d
A1	54.76±1.13 ^b	855.32±12.4 ^a	87.82±18.92 ^c
A2	59.85±1.26 ^a	643.54± 8.7 ^b	96.90±20.36 ^b
A3	53.42±0.85 ^c	472.07± 4.3 ^c	97.80±19.20 ^b
A4	34.34±0.78 ^d	307.64±17.2 ^d	125.67±19.17 ^a
G1	63.98±0.66 ^a	483.12± 7.7 ^a	105.05±24.94 ^a
G2	53.50±0.45 ^b	473.46± 1.9 ^{ab}	100.31±14.58 ^b
G3	39.21±0.49 ^c	479.19± 6.5 ^a	104.41±11.47 ^{ab}
G4	31.47±1.07 ^d	464.52±10.2 ^b	100.64±14.16 ^b

1. Each value is expressed as mean ± standard deviation. (n=3)
2. Mean with different letters (a-e) within the same row differed significantly ($p<0.05$).

表七、不同凝膠處理對球粒色澤之影響

Samples	L	a	b	W.I. ³	Chroma ⁴
S1	31.19±0.05 ^d	16.11±0.06 ^e	16.47±0.03 ^e	27.43±0.06 ^d	23.06±0.06 ^d
S2	29.91±0.02 ^e	16.94±0.01 ^c	19.79±0.04 ^d	25.23±0.03 ^e	26.36±0.07 ^c
S3	34.12±0.03 ^c	17.42±0.03 ^b	21.33±0.01 ^a	28.59±0.03 ^c	27.93±0.02 ^b
S4	36.71±0.04 ^b	18.32±0.03 ^a	21.16±0.10 ^b	28.97±0.05 ^b	29.21±0.13 ^a
S5	40.32±0.06 ^a	16.81±0.05 ^d	20.99±0.05 ^c	34.54±0.05 ^a	26.03±0.16 ^d
C1	43.02±0.29 ^a	14.09±0.06 ^e	18.25±0.08 ^d	38.54±0.28 ^a	23.04±0.06 ^e
C2	38.05±0.08 ^b	16.32±0.01 ^d	20.69±0.09 ^b	32.68±0.05 ^b	26.05±0.04 ^d
C3	36.08±0.03 ^c	17.52±0.01 ^c	21.76±0.03 ^a	30.24±0.03 ^c	27.54±0.02 ^b
C4	28.07±0.04 ^d	21.06±0.10 ^b	20.25±0.10 ^c	22.37±0.04 ^d	27.99±0.09 ^a
C5	23.28±0.04 ^e	21.27±0.10 ^a	15.01±0.17 ^e	18.98±0.09 ^e	26.89±0.01 ^c
A1	25.62±0.05 ^d	18.61±0.06 ^b	17.51±0.04 ^d	21.35±0.05 ^d	25.55±0.02 ^d
A2	29.72±0.01 ^c	19.00±0.05 ^a	22.37±0.08 ^b	24.49±0.03 ^c	29.35±0.06 ^a
A3	36.63±0.50 ^b	18.26±0.33 ^b	21.13±0.60 ^a	41.55±0.22 ^a	26.11±0.66 ^b
A4	46.69±0.02 ^a	14.91±0.05 ^c	18.77±0.05 ^c	30.11±0.04 ^b	25.73±0.06 ^c
G1	37.68±0.01 ^{bc}	18.73±0.06 ^a	23.35±0.04 ^a	30.86±0.01 ^b	29.93±0.03 ^a
G2	38.47±0.01 ^a	18.42±0.08 ^b	21.23±0.04 ^b	32.69±0.03 ^a	28.11±0.08 ^c
G3	37.73±0.05 ^b	18.46±0.08 ^b	23.43±0.08 ^a	30.95±0.05 ^b	29.83±0.10 ^a
G4	37.60±0.10 ^c	18.33±0.12 ^b	23.34±0.03 ^a	30.90±0.13 ^b	29.67±0.09 ^b

1. Each value is expressed as mean ± standard deviation. (n=25)
2. Mean with different letters (a-e) within the same row differed significantly ($p<0.05$).

表八、以 Power law 評估不同造粒條件的桂枝凝膠球粒在模擬胃道環境下之釋放機制(CaCl₂=0.5M)

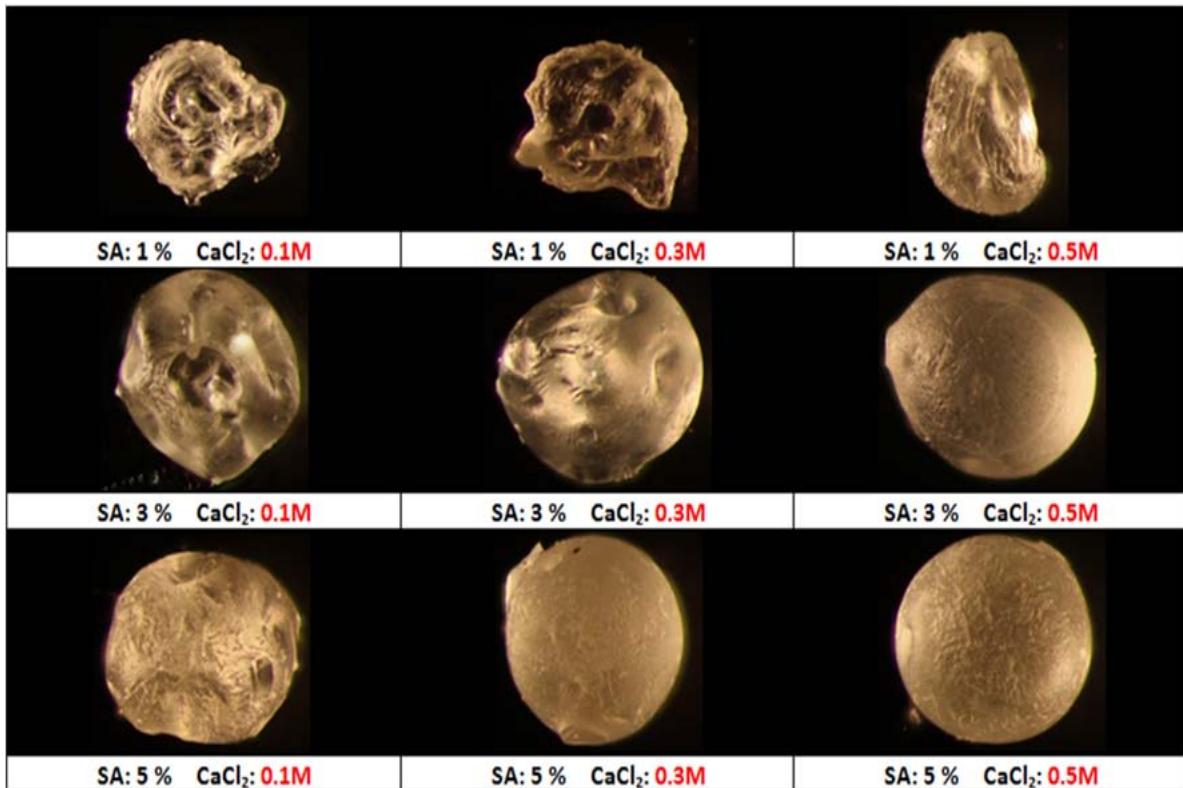
Sample	n	k	r ²	Release Mechanism
科學中藥	0.040	0.540	0.899	Fickian diffusion
Air=1 L/min, SA=1%	0.152	0.068	0.942	Fickian diffusion
SA=3%	0.183	0.043	0.890	Fickian diffusion
SA=5%	0.459	0.011	0.962	Anomalous transport
Air=3 L/min, SA=1%	0.304	0.036	0.924	Fickian diffusion
SA=3%	0.258	0.031	0.923	Fickian diffusion
SA=5%	0.144	0.057	0.889	Fickian diffusion

n=釋放擴散指數，k=釋放速率常數，r²=決定係數

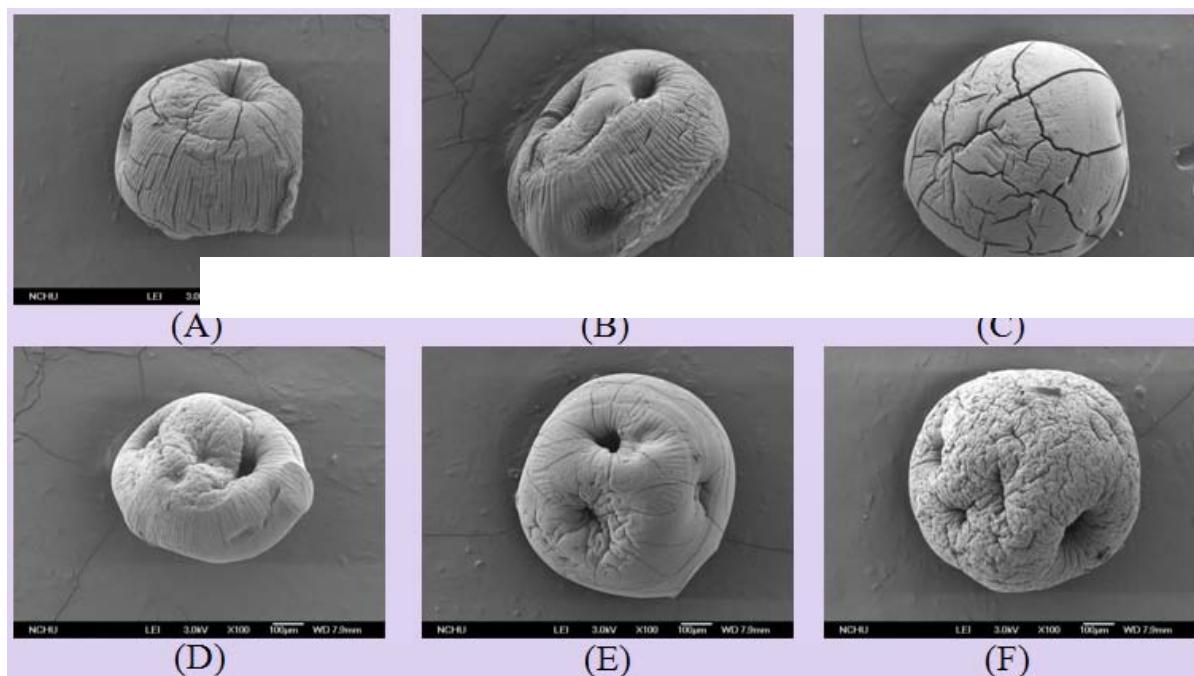
表九、以 Power law 評估不同造粒條件的桂枝凝膠球粒在模擬腸道環境下之釋放機制(CaCl₂=0.5M)

Sample	n	k	r ²	Release Mechanism
科學中藥	0.050	0.741	0.951	Fickian diffusion
Air=1 L/min, SA=1%	0.332	0.121	0.973	Fickian diffusion
SA=3%	0.559	0.033	0.990	Anomalous transport
SA=5%	0.576	0.031	0.954	Anomalous transport
Air=3 L/min, SA=1%	0.101	0.540	0.979	Fickian diffusion
SA=3%	0.186	0.326	0.961	Fickian diffusion
SA=5%	0.064	0.620	0.953	Fickian diffusion

n=釋放擴散指數，k=釋放速率常數，r²=決定係數



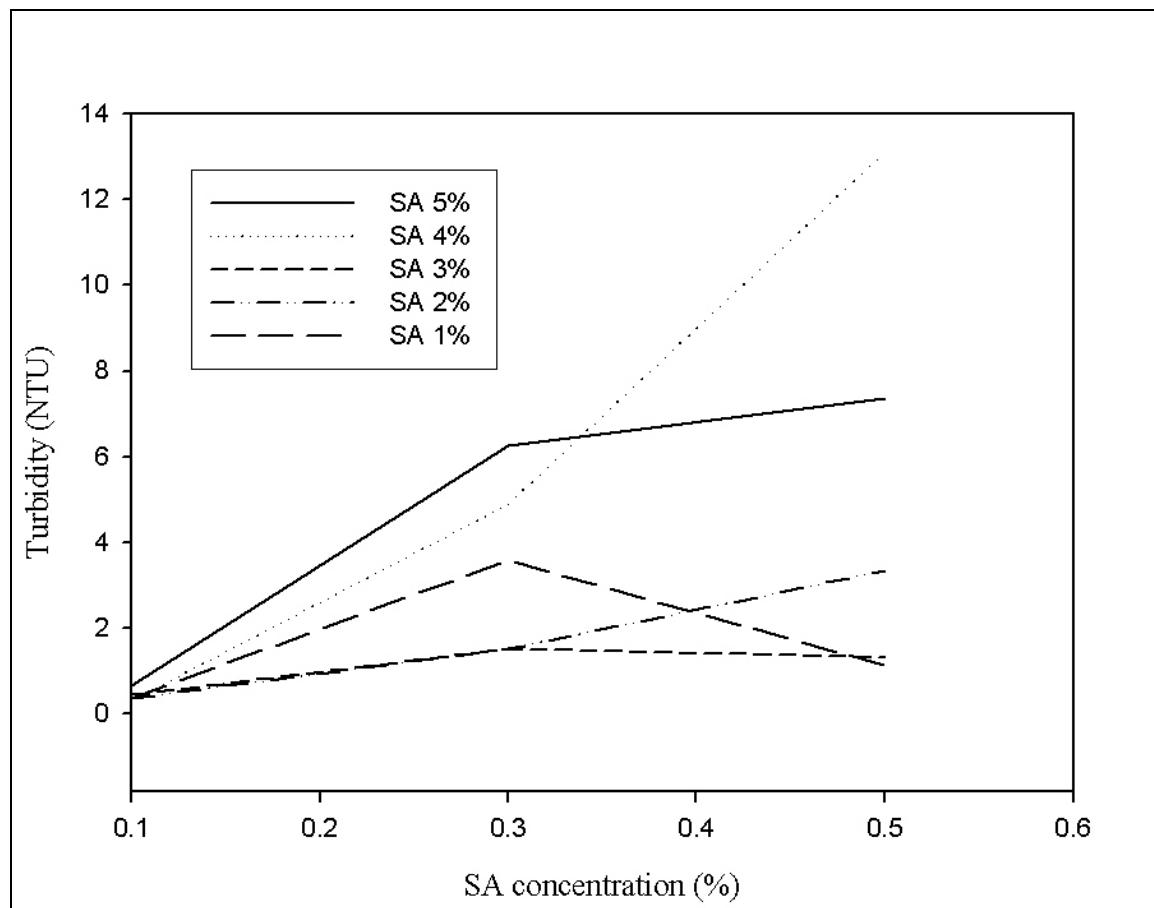
圖一、不同氯化鈣/海藻酸鈉濃度微膠囊之解剖電子顯微鏡圖(120X)



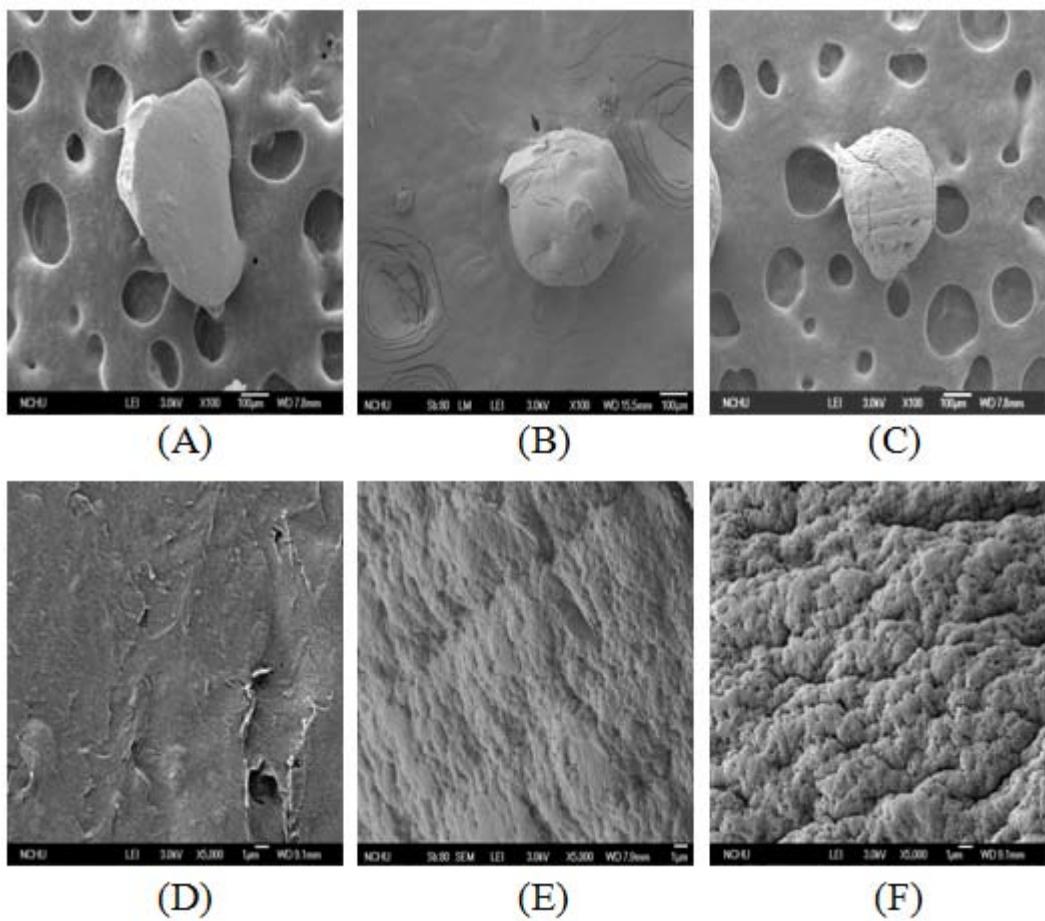
圖二、不同氯化鈣/海藻酸鈉濃度微膠囊之掃描式電子顯微鏡圖

(A) 0.1M/4% (B) 0.3M/4% (C) 0.5M/4%

(D) 0.1M/5% (E) 0.3M/5% (F) 0.5M/5%



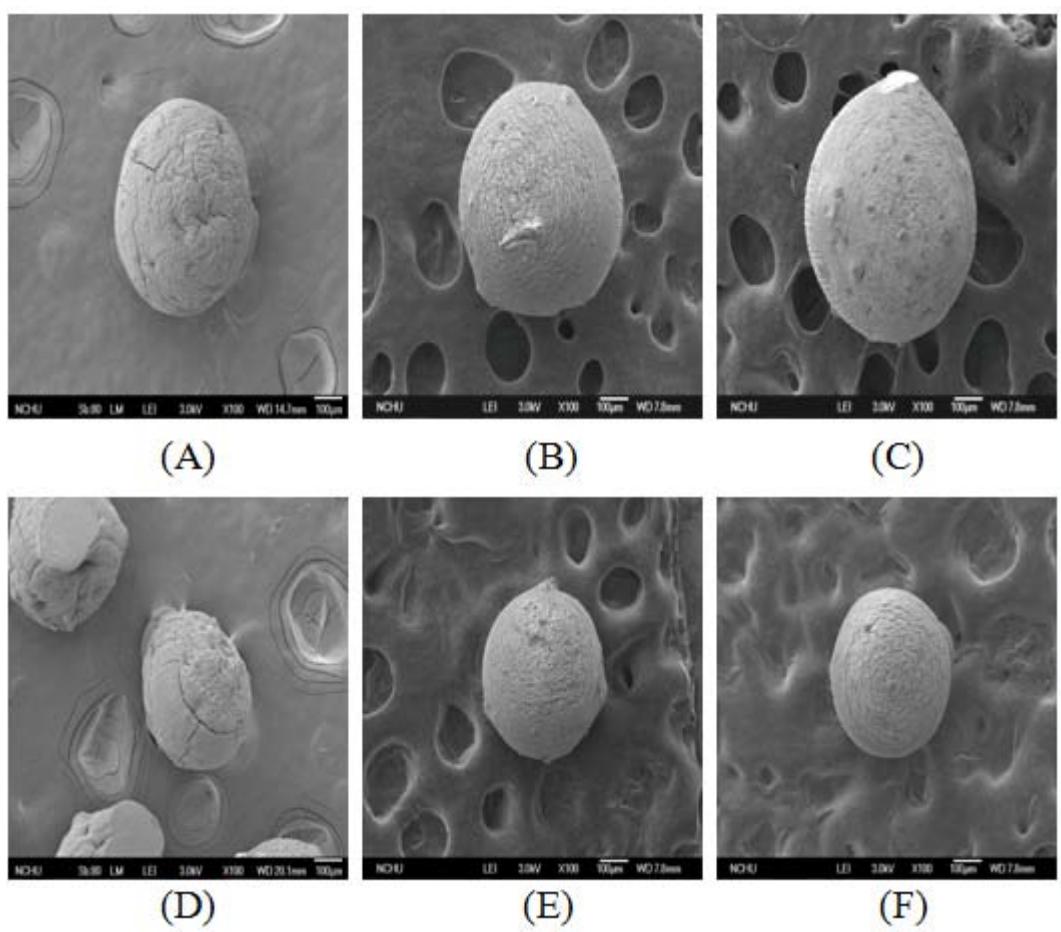
圖三、不同氯化鈣及海藻酸鈉濃度之固化液濁度變化



圖四、空氣流速(2 L/min)、氯化鈣(0.1M)，不同海藻酸鈉濃度桂枝晶 球之
掃描式電子顯微圖

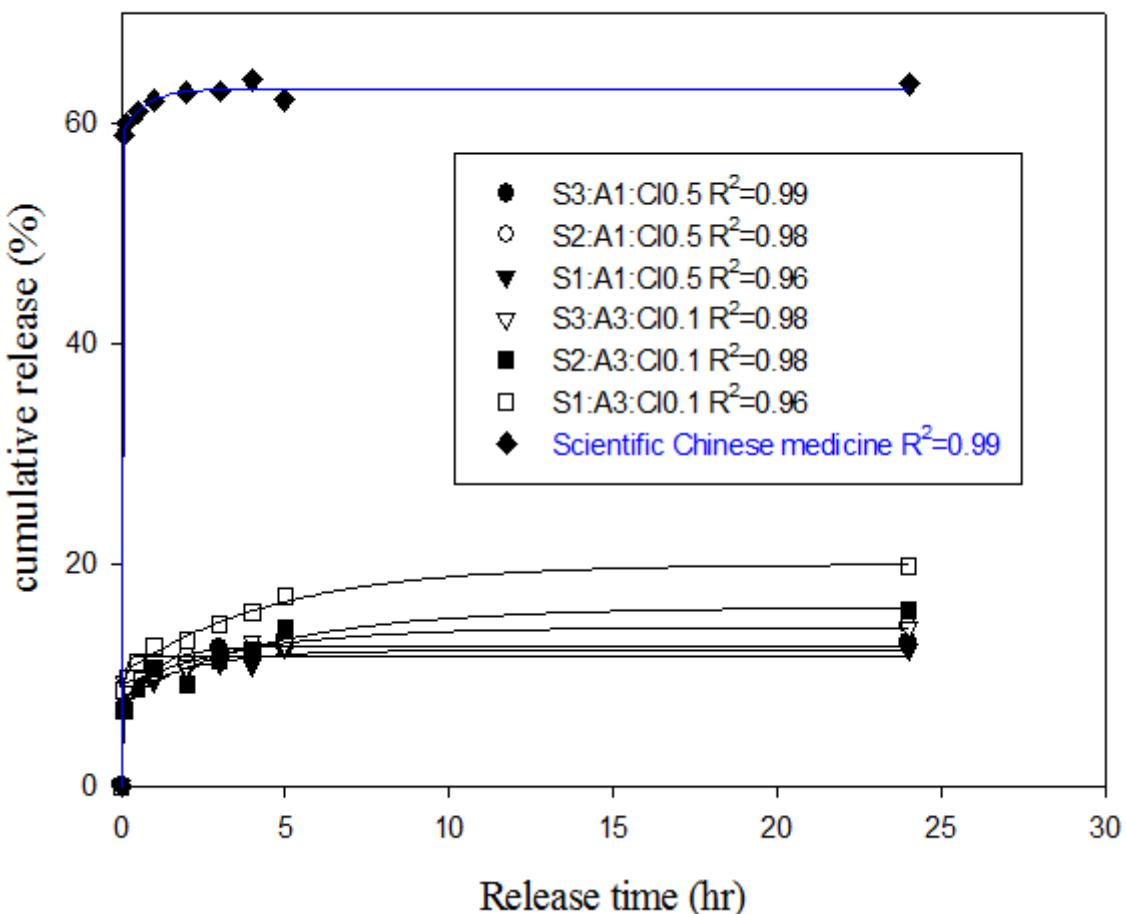
晶球外觀照(100X)–(A) 1% (B) 2% (C) 3%

晶球表面照(5000X)–(D) 1% (E) 2% (F) 3%



圖五、海藻酸鈉(3%)，不同空氣流速(L/min)/氯化鈣濃度桂枝晶球之掃描式電子顯微鏡圖

晶球外觀照(100X) – (A) 1/0.1M (B) 1/0.3M (C) 1/0.5M
 (D) 3/0.1M (E) 3/0.3M (F) 3/0.5M



圖六、不同微膠囊化處理桂枝晶球及科學中藥在模擬胃道(pH 1.2)釋控情形

※S : sodium alginate (%)

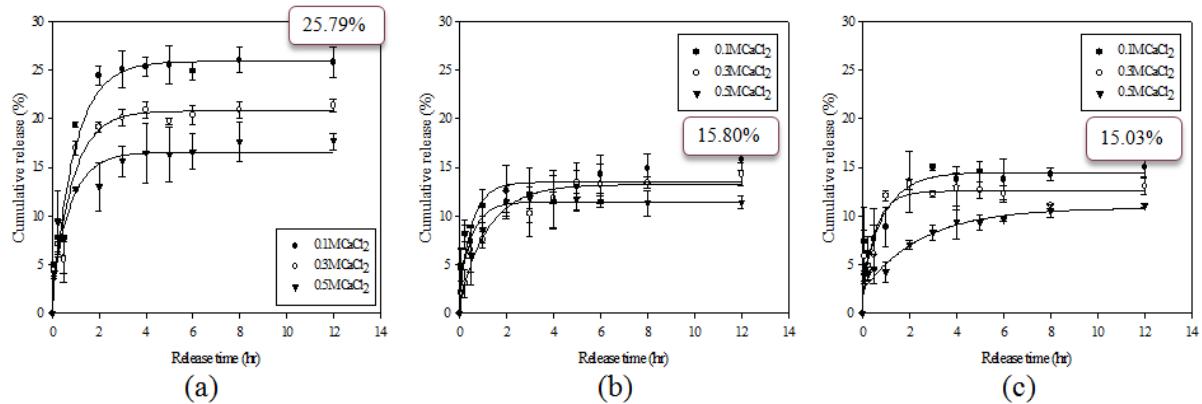
A : air flow rate (L/min)

Cl : CaCl_2 (M)

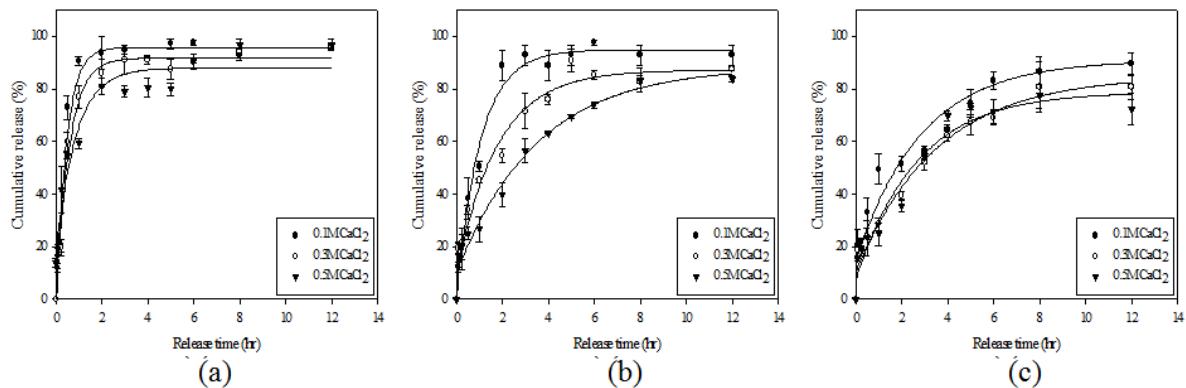
※ $S_3 : A_1 : Cl_{0.5} = \text{Sodium alginate } 3\%$

air flow rate 1L/min

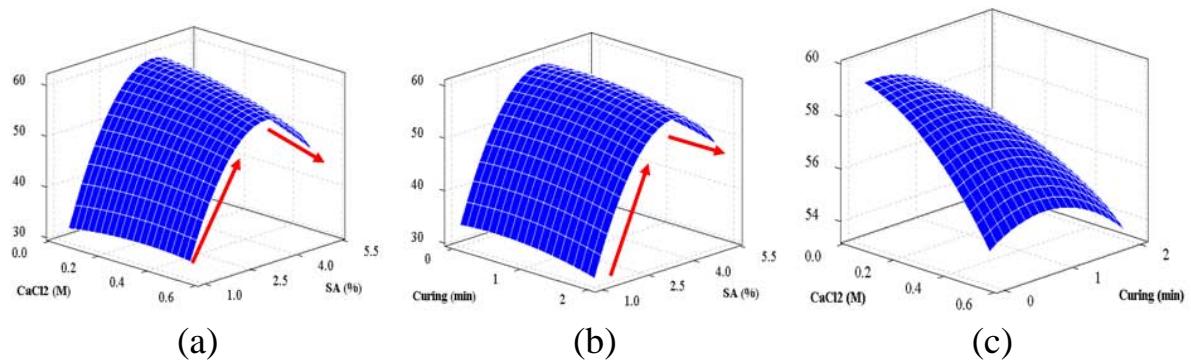
CaCl_2 0.5M



圖七、不同凝膠處理對指標成分在模擬胃道(pH 1.2)釋放情形
(Air flow=1min/L) (a) SA=1% (b) SA=3% (c) SA=5%
※SA = sodium alginate

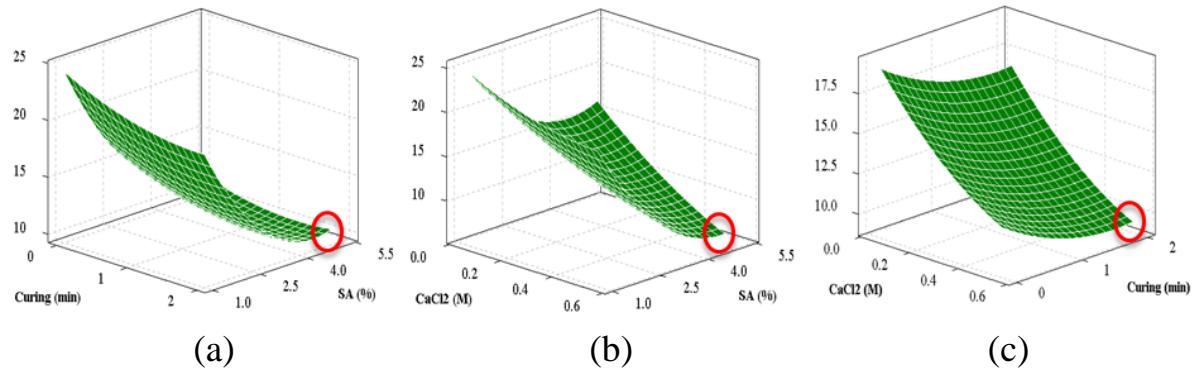


圖八、不同凝膠處理對指標成分在模擬腸道(pH 6.8)釋放情形
(Air flow=1min/L) (a) SA=1% (b) SA=3% (c) SA=5%
※SA = sodium alginate



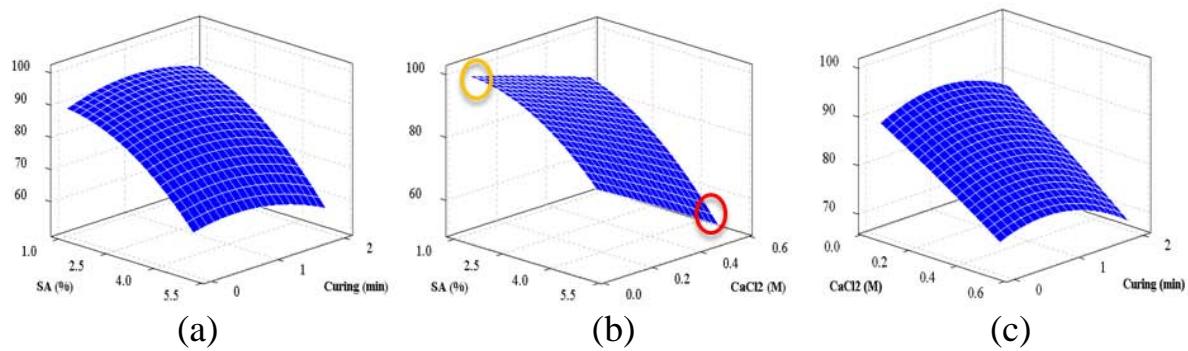
圖九、桂枝膠球包覆率之反應曲面圖

- (a) CaCl_2 (M) & SA (%) (b) curing (min) & SA (%)
 (c) CaCl_2 (M) & curing (min)



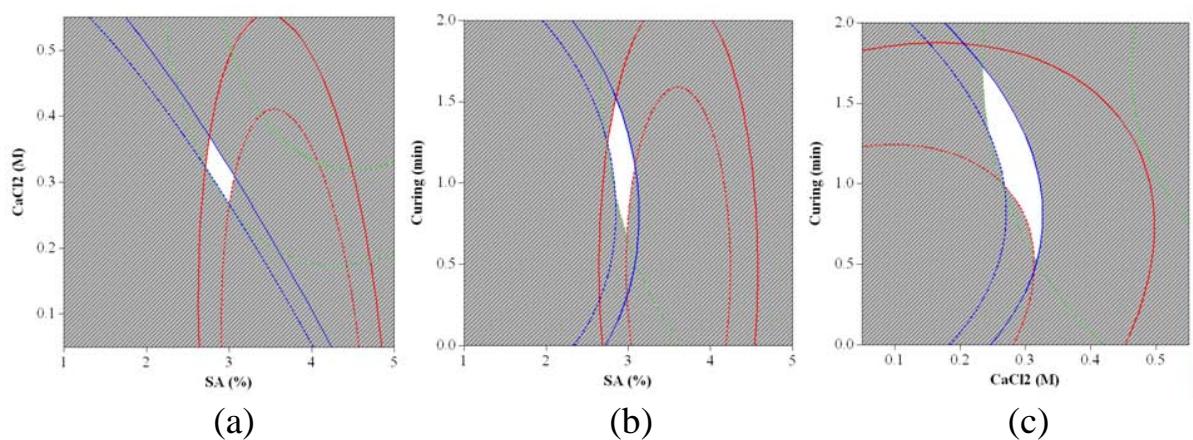
圖十、桂枝膠球模擬胃道釋放率之反應曲面圖

- (a) Curing (min) & SA (%) (b) CaCl_2 (M) & SA (%)
 (c) CaCl_2 (M) & curing (min)



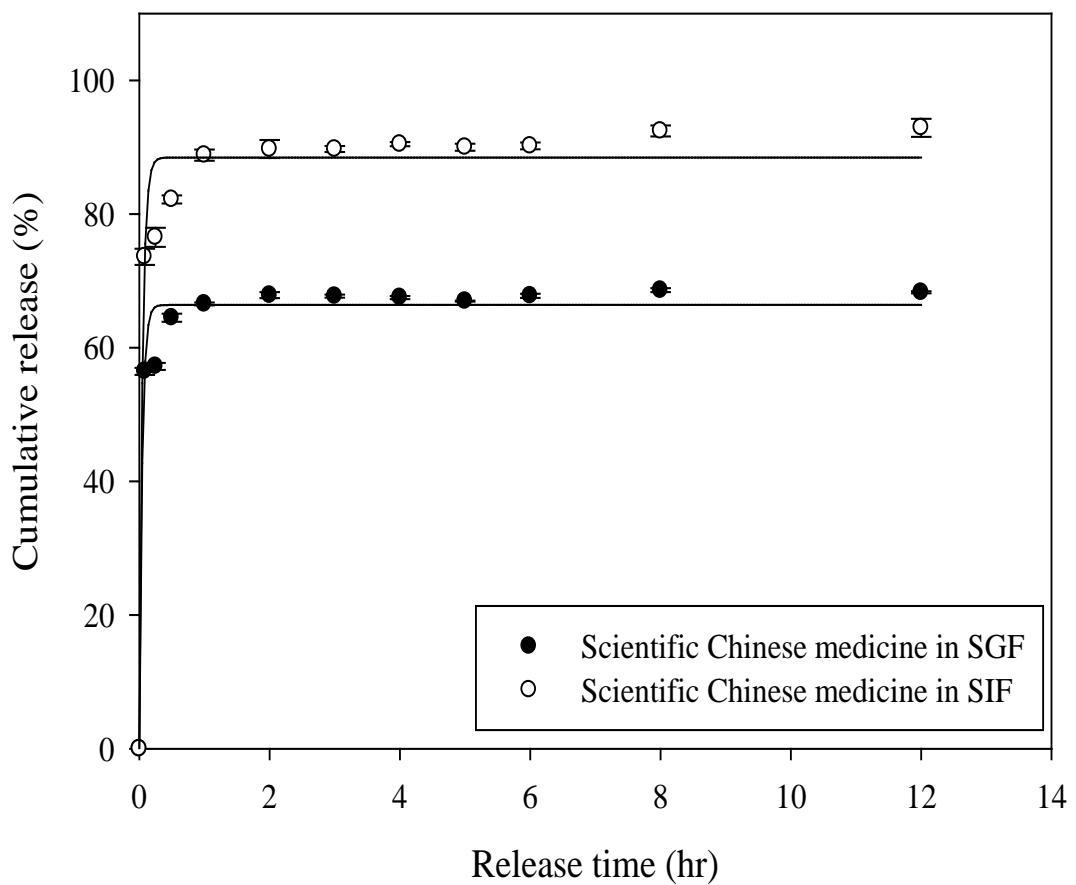
圖十一、桂枝膠球模擬腸道釋放率之反應曲面圖

- (a) SA (%) & curing (min) (b) SA (%) & CaCl₂ (M)
 (c) CaCl₂ (M) & curing (min)



圖十二、等高線圖求最適條件

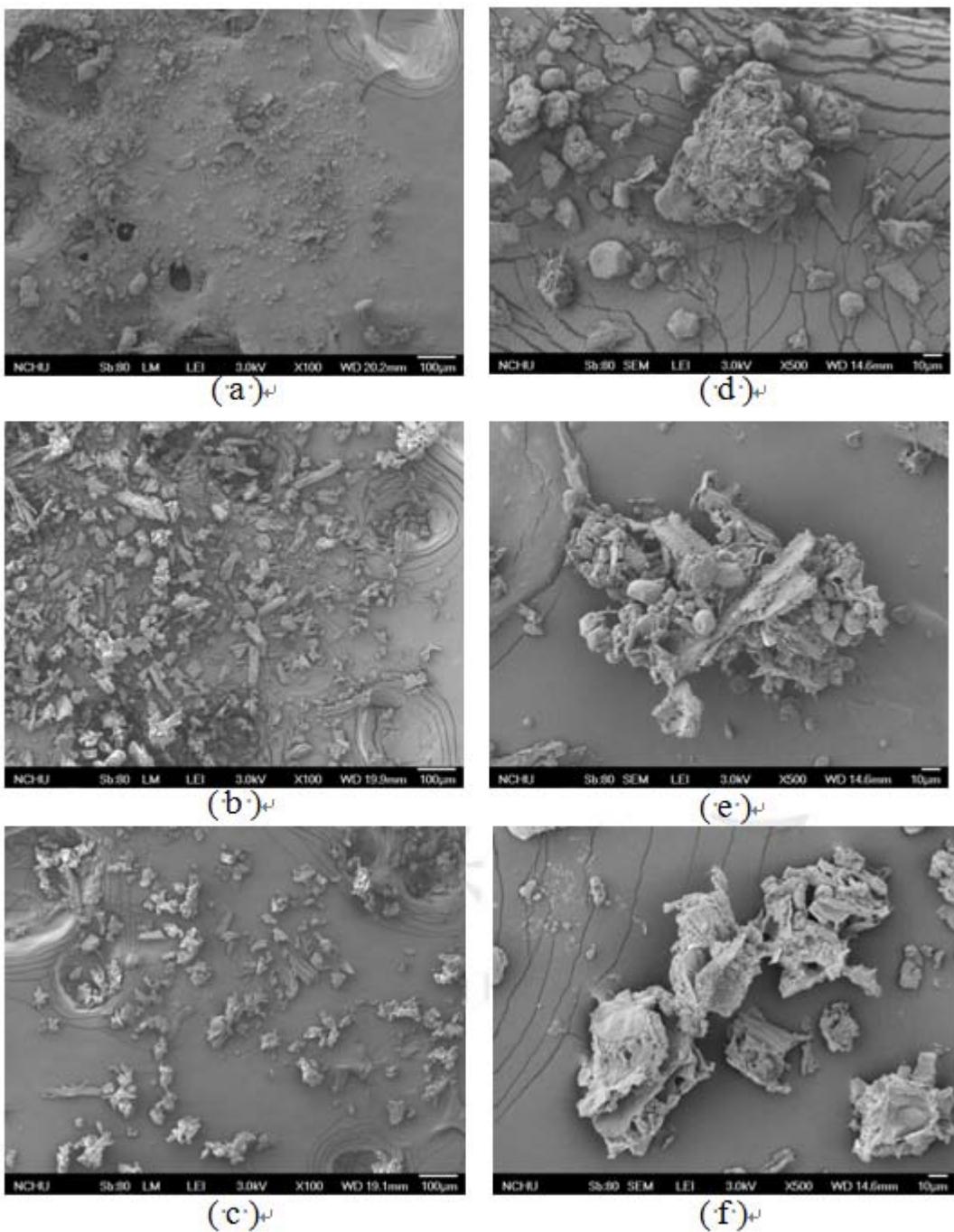
- (a) CaCl₂ (M) & SA (%) (b) curing (min) & SA (%)
 (c) curing (min) & CaCl₂ (M)



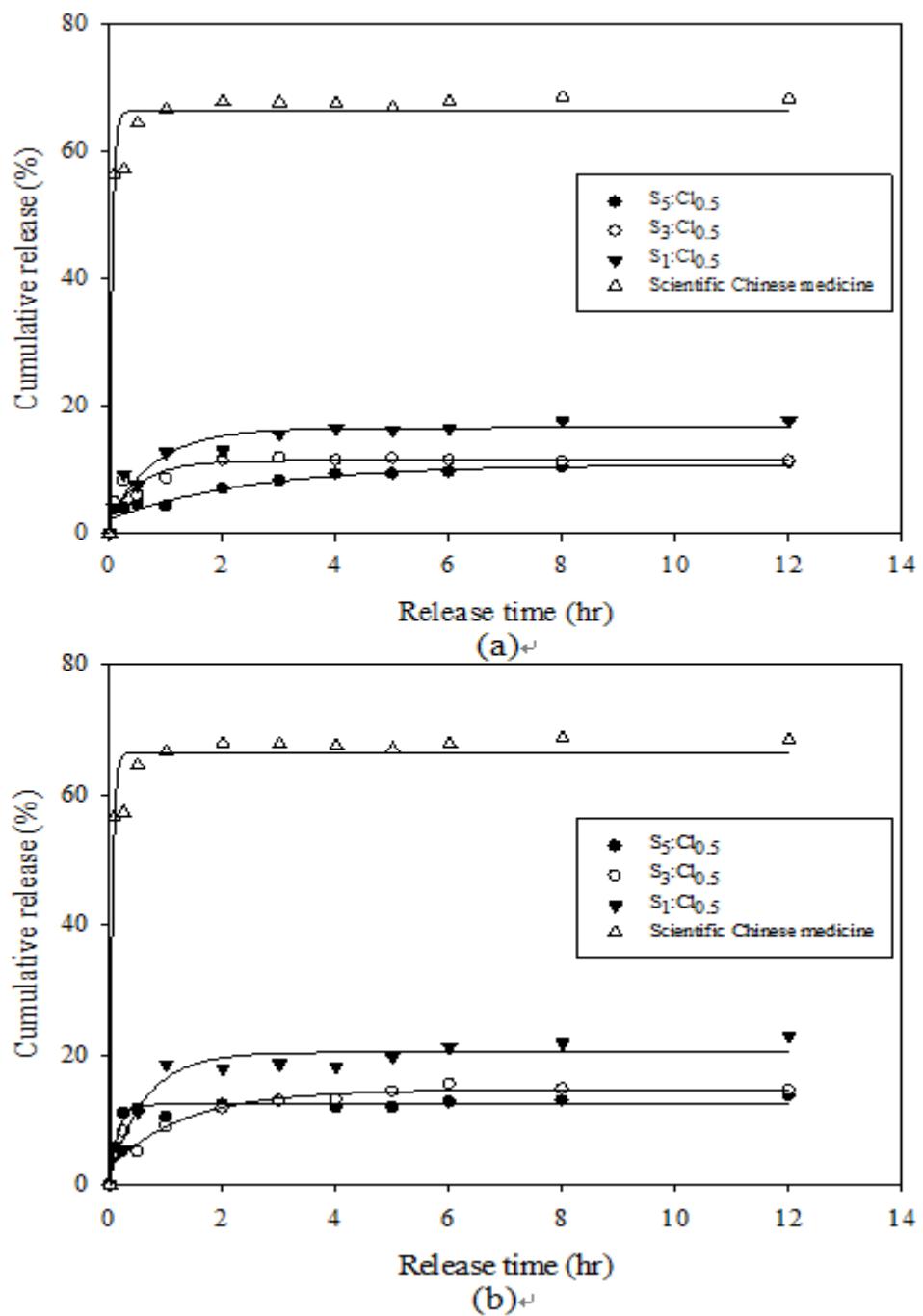
圖十三、桂枝科學中藥（桂皮醛）在模擬腸胃道釋放情形

※SGF：模擬胃道

SIF：模擬腸道



圖十四、科學中藥在模擬胃腸道後釋放 2 小時之掃描式電子顯微圖
 (a、d)未經處理，(b、e)經模擬胃道 2hr，(c、f)經模擬腸道 2hr，(d、e 和 f)
 科學中藥表面微細構造。



圖十五、科學中藥與桂枝凝膠球粒在模擬胃道釋放情形

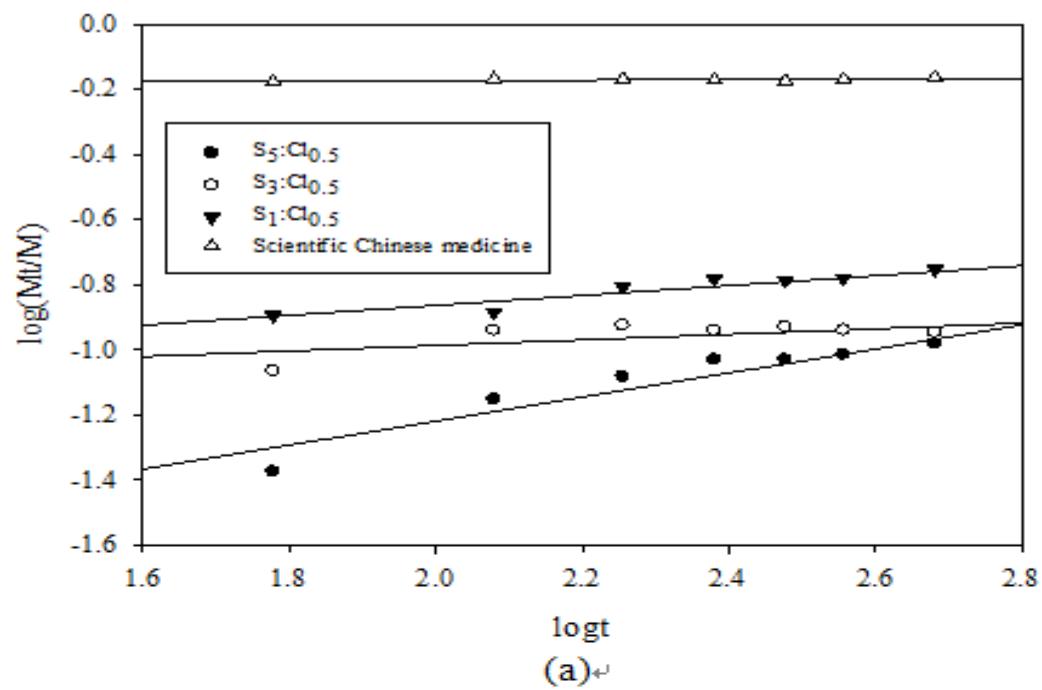
(a) Air = 1 L/min (b) Air = 3 L/min

※S: sodium alginate

S_5 : sodium alginate (5%)

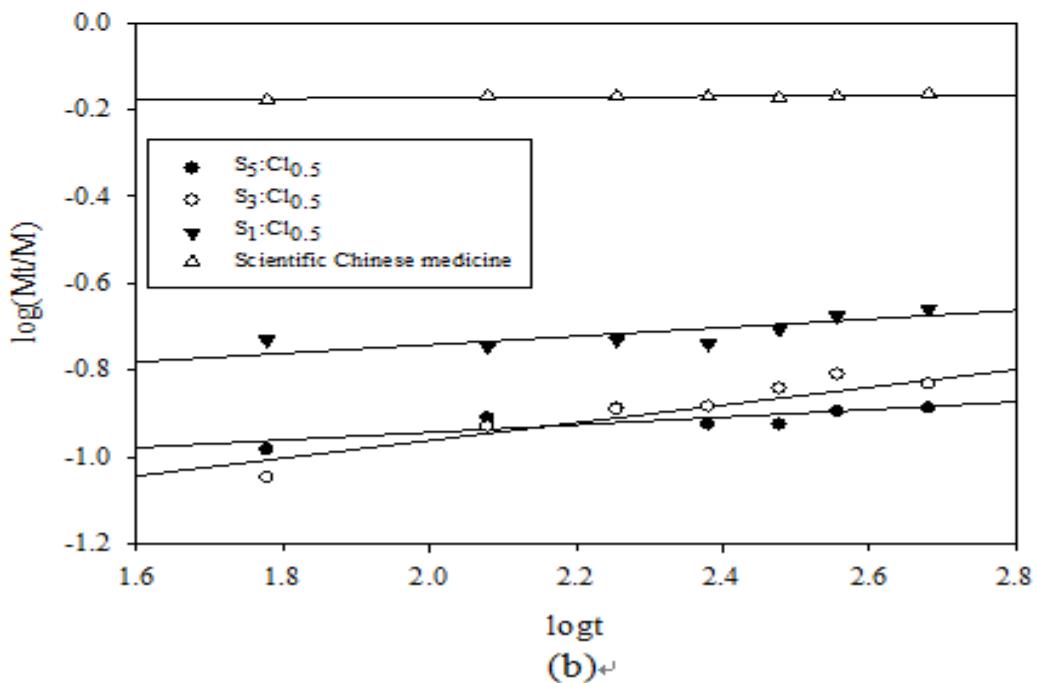
Cl_2 : $CaCl_2(M)$

$Cl_{0.5}$: $CaCl_2 0.5M$



logt

(a) $\log t$



logt

(b) $\log t$

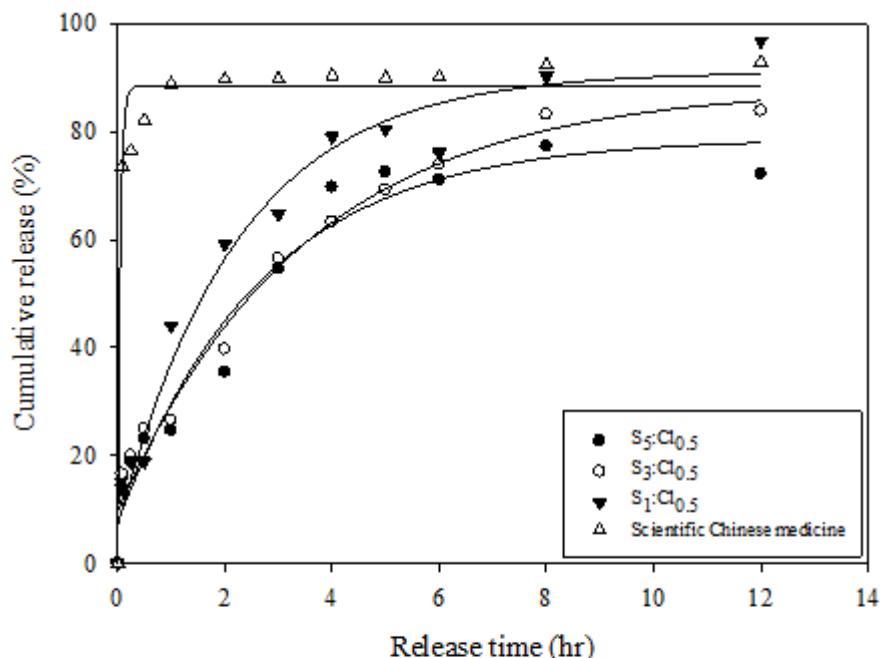
圖十六、科學中藥與桂枝凝膠球粒於模擬胃道對數釋放率「 $\log(Mt/M)$ 」與對數釋放時間($\log t$)之關係

(a) Air = 1 L/min (b) Air = 3 L/min

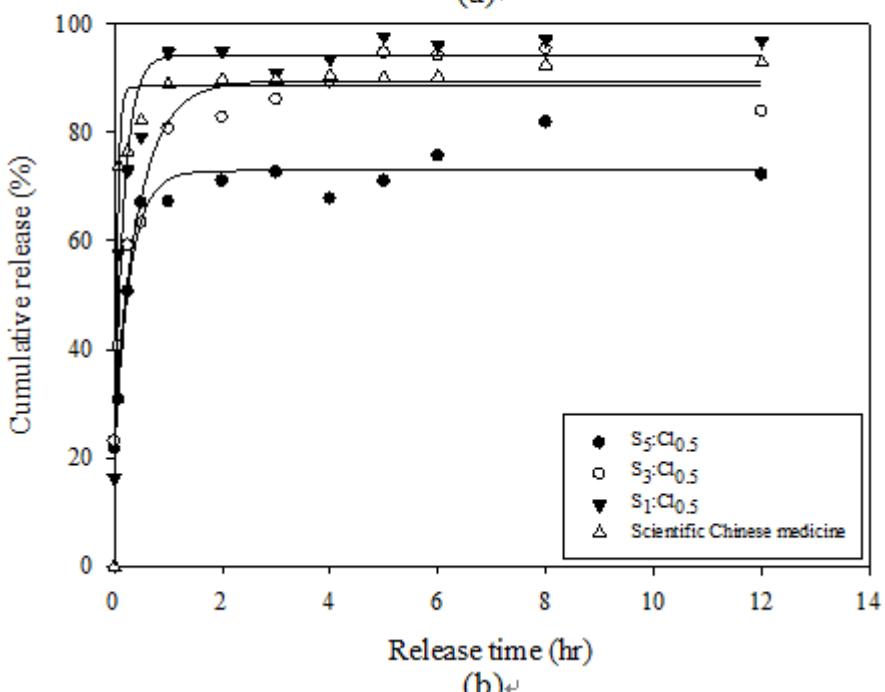
※S: sodium alginate (%)

Cl: CaCl_2 (M)

$S_5: Cl_{0.5}$ = sodium alginate 5% : CaCl_2 0.5M



(a) \downarrow



(b) \downarrow

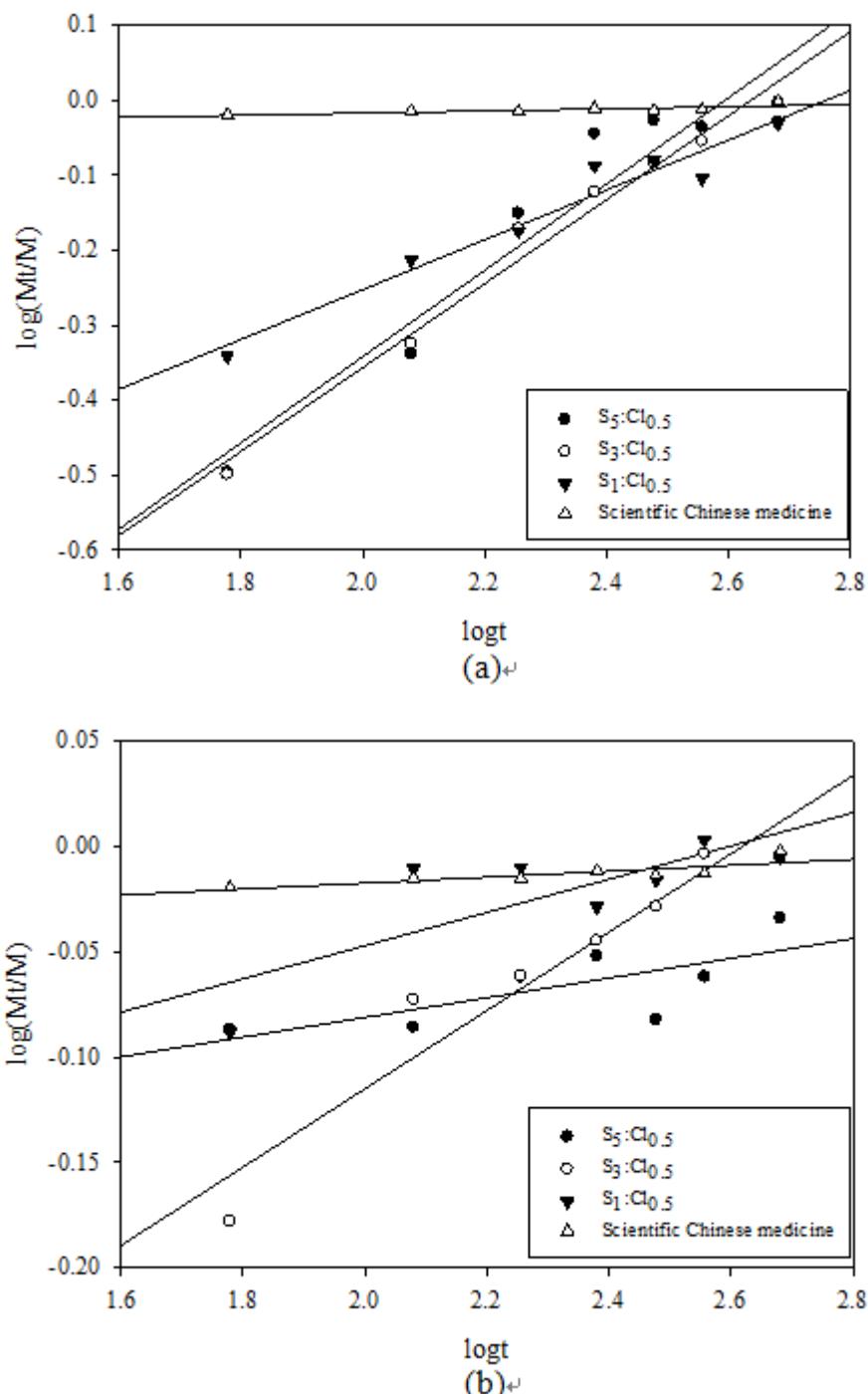
圖十七、科學中藥與桂枝凝膠球粒在模擬腸道釋放情形

(a) $\text{Air} = 1 \text{ L/min}$ (b) $\text{Air} = 3 \text{ L/min}$

\otimes S: sodium alginate

Cl: CaCl_2 (M)

$S_5: \text{Cl}_{0.5}$ = sodium alginate 5% : CaCl_2 0.5M



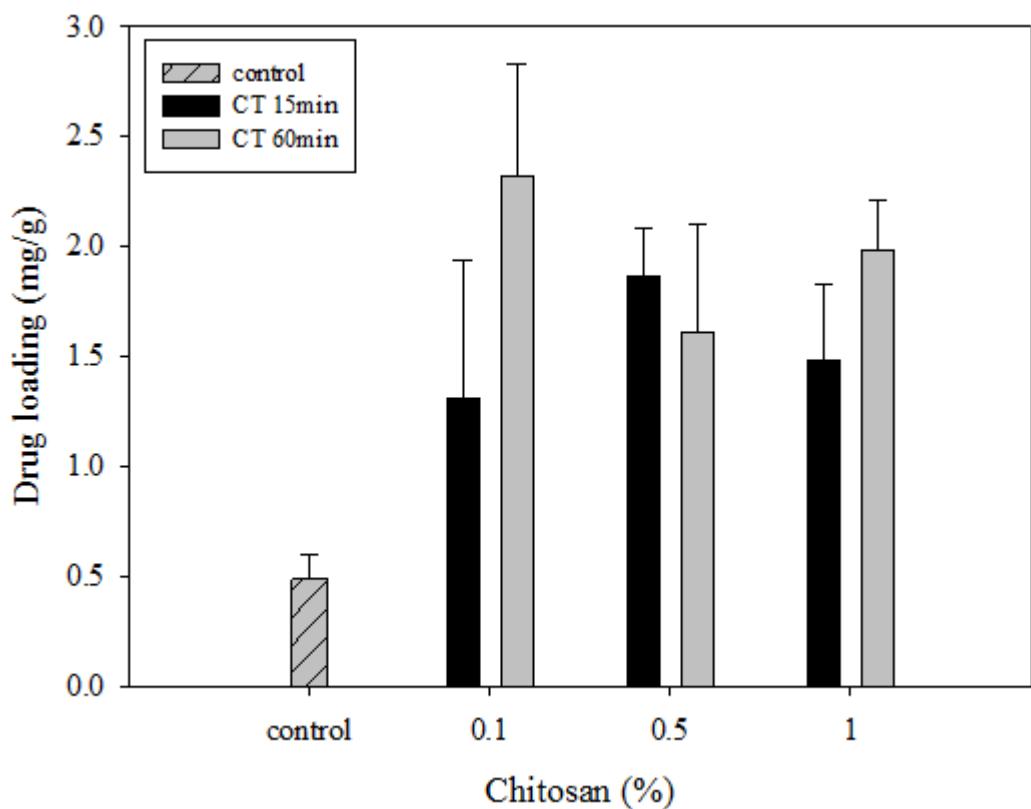
圖十八、科學中藥與桂枝凝膠球粒於模擬腸道對數釋放率「 $\log(Mt/M)$ 」與對數釋放時間($\log t$)之關係

(a) Air = 1 L/min (b) Air = 3 L/min。

※S: sodium alginate (%)

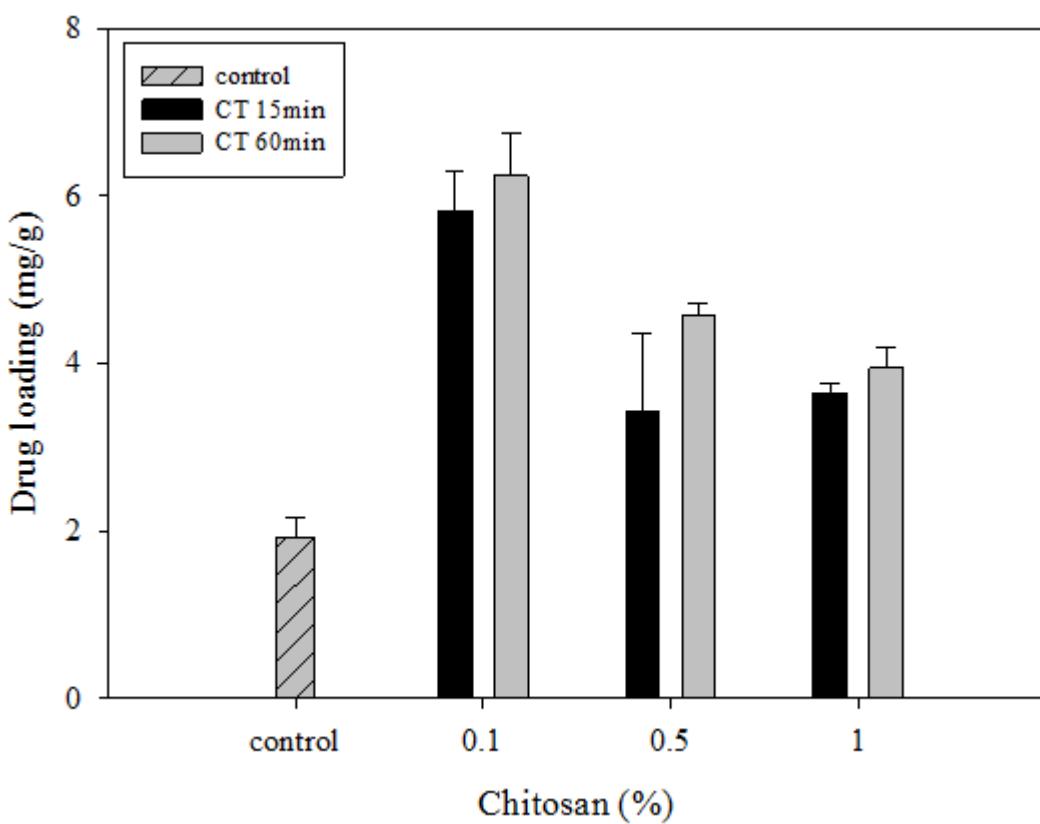
Cl: CaCl_2 (M)

$S_5: \text{Cl}_{0.5} = \text{sodium alginate } 5\% : \text{CaCl}_2 0.5\text{M}$



圖十九、不同包覆條件對桂皮酸載藥量之影響 (control=未經包覆桂枝膠球)

※CT：包覆時間



圖二十、不同包覆條件對桂皮醛載藥量之影響 (control=未經包覆桂枝膠球)

※CT：包覆時間

利用代謝體學建立龍膽中藥材生產品質管制種植規範(GAP) (2-1)

張文德

中國醫藥大學

摘要

GAP (Good Agriculture Practice)為國際要求的優良種植規範，主要分三個體系：藥材質量體系、操作規範及後期加工標準。從育種土壤開始，到施肥、農藥、栽培、採集等各個環節都需要有標準規範。中藥材龍膽原植物為粗糙龍膽 (*Gentiana scabra* Bunge)，具有保肝利膽、清熱瀉火之功效。現代科學化的藥理研究亦證明具有保肝、利膽、健胃、抗發炎、抗過敏及骨骼肌鬆弛等作用。台糖公司研究所已成功地利用組織培養技術自龍膽出瓶苗株中選拔耐熱個體株，於控制環境下建立龍膽組織培養母瓶並進行增殖，降低產程中微生物污染之損耗，提高組織培養苗生產效率。並在溫室種植試驗，對栽培期間之病蟲害及環境因素進行病原性測定及防治管理，提供龍膽產業化生產收穫規範之依據。

本計畫利用台糖公司的離蔗農場繼續進行龍膽草大量的田間栽培，依照中藥材 GAP 規範的條件要求，成功建立臺灣本地之龍膽中藥材生產品質管制種植規範(GACP)。另外，本計畫將從中醫藥專業角度，配合現代之代謝體學之新觀念，針對台糖公司研究所所生產之龍膽藥材，與中國生產之龍膽藥材，進行植物代謝體學之分析研究，探討兩者間的差異度。同時進行相關的藥理活性試驗，探討臺灣生產之龍膽藥材取代中國進口龍膽藥材的可能性，並建立高品質龍膽藥材之供應體系，為臺灣精緻農業開創另一新事業。

關鍵詞：龍膽、代謝體學、GAP、中藥材生產品質管制種植規範

Establishment of GAP on Gentiana Scabra Using Metabolomic Strategy (2-1)

Wen-Te Chang
China Medical University

ABSTRACT

There are three main aspects involved into the international guideline of Good Agriculture Practice (GAP), including materials quality, manipulation guides and processing standard. Each step has to be set up the standard guideline from breeding, propagation, cultivation management and diseases control. *Gentiana scabra* is the original plant for Chinese medicinal Long Dan (Radix Gentianae) which acts on the liver and gallbladder channels. It has the functions of quenching fire of liver and gallbladder and eliminating damp-heat. The effects in pharmacology are stomachic, hepatoprotective and choleric, hypotensive and diuretic, as well as antibacterial and anti-inflammatory. Taiwan Sugar Research Institute has successfully screened the heat-resistant plant from mericlones of *G. scabra* using tissue cultures and propagated under controlled systems to enhance the efficiency of mericlones production. Then, the detection and prevention arrangements were conducted for blight and environmental factors during the cultivation in the greenhouse. These findings are able to be a basis for production and harvest of *G. scabra* in industrial scale.

This project will be cooperated and carried out with Taiwan Sugar Research Institute. The main aim of this project is to establish the GAP of *G. scabra* for large scale field production using the cane farms in Taiwan following the GAP guideline of Chinese medicinal plants. In addition, based on the point of view of Chinese medicine and the new concept of modern metabolomics, the materials of *G. scabra* produced by Taiwan Sugar Research Institute will be compared with the materials from China using the analysis of plant metabolomics by HPLC. The pharmacological activities of *G. scabra*, such as stomach emptying test, acute hepatitis test and antiinflammation test, will be conducted simultaneously. It will be able to explain the relationship between components and bioactivities of *G. scabra* under systems

biology. The final goal of this study is to build up the supply system of high quality *G. scabra* material to instead of the imported material from China and create a new business of exquisite agriculture in Taiwan.

Keywords: *Gentiana scabra*, Metabolomics, Good Agriculture Practice

壹、前言

GAP (Good Agriculture Practice)為國際要求的優良種植規範，主要分三個體系：藥材質量體系、操作規範及後期加工標準。從育種土壤開始，到施肥、農藥、栽培、採集等各個環節都需要有標準規範。至於加工的程式、藥材風乾炮製等二次加工標準，也需要有嚴格控制，以防止藥材被污染^{1,2}。有機栽培和 GAP 模式生產的農產品或中草藥藥材，有其獨特的市場價值。臺灣具有全世界頂尖的農業生產技術，若能鼓勵以有機或 GAP 模式栽培中藥藥材，並與綠肥輪作，取代現行不合理的休耕政策，同時，也可以發展精緻與觀光農業，應是更合乎全民利益且可行的方向。

臺灣每年進口中藥材超過五萬公噸，而且所使用的中藥材有 95% 來自中國大陸³，但是大陸中藥材的品質難以掌控。除了天然因素和加工過程所造成的品質參差不齊外，還有重金屬殘留和農藥殘留等疑慮，是臺灣發展中草藥相關產業有待突破的先天限制，同時對於中醫藥現代科學化的推動，隱藏極大的變數。不但對國人的健康影響至鉅，也對中草藥相關產品外銷產生相當大的阻礙。沒有設立一套相關的標準，藥材品質將無法一致，便無法與世界醫療市場接軌。為了鞏固我國的中草藥國內市場及躋身國際市場，以及配合行政院衛生署中醫藥委員會所推動「中醫藥健康安全防護網計畫」之執行^{4,5}，對中藥材原料的來源及安全性，鼓勵由臺灣本地栽培來取代部份進口中藥材，並應用現代科學技術，發展並遵循嚴格的生產中藥藥材之 GAP 規範，以確保藥材之品質、療效與安全性。

臺灣之地理環境卓越及擁有豐富的自然植物資源，在行政院生物技術產業策略 (Strategic Review Board，簡稱 SRB) 等會議中，許多專家學者評估，藥用及保健植物是臺灣最具競爭力的生技產業之一^{3,6}。行政院農業試驗所針對藥用植物之研究始自 1959 年，由國內外引進藥用植物的種子及種苗，分別在不同海拔地區試種栽培，並進行多項育種與栽培試驗。其中較為重要者，如常用的傳統藥材方面，有杭菊、山藥、白芷、三島柴胡、高氏柴胡、日本黃連、薏苡、長葉枸杞、金銀花、麥門冬、芡實、黃耆、當歸、半夏及桔梗等。農業委員會也針對目前較有發展潛力、種植面積較大之本土藥用植物，如臺灣金線連、細葉山葡萄、杭菊、洛神茶、香茹草、桑椹、山藥、枸杞、白鶴靈芝、苧麻、紫蘇、絲瓜露、麥門冬、七葉膽、香蘭、仙草、白鳳豆、愛玉子、魚腥草、靈芝、鳳尾草、一條根、明日葉、蘆薈、山防風、甜菊、決明子、益母草、黃水茄、咸豐草、香椿、五爪金英、土肉桂、欖仁葉、倒地蜈蚣、七層塔、破布子、通天草、青脆枝、苜蓿等，進行保健植物基源鑑定、成分分析、急性及亞毒性及重金屬等評估，來推展藥用植物。不僅有助於發展國內中草藥產業，亦可使這些

藥用植物逐步開發利用為具高經濟價值的農作物，進而帶動農業之發展，增進農民之收益。

臺灣的氣候高溫多濕，農作物的栽培上易罹病蟲害，過去為了增加產量，大量使用化學合成農藥及肥料，造成農業生態環境日益惡化，另外農藥殘留問題嚴重危害人體健康。因此近幾年來農政單位致力於有機農業之推展，合理的施用肥料或利用生物性藥劑，少施或不施化學農藥及肥料，來生產合乎安全之農產品。在藥用植物或中藥材方面，目前國內著重在優良農業操作（即 Good Agricultural Practice；GAP）的栽培方式，期能透過 GAP 的栽培模式的建立，生產符合市場所需，具安全保障及高品質之保健植物與中藥材原料⁷。

GAP 的栽培首重於栽種植物之基源選定，栽培環境不受污染，栽種作物的土地，包括灌溉溝渠之水質、土壤的理化性質、重金屬含量、肥料的施用、藥劑的使用及病蟲害防治等，均須合乎規定標準。保健植物在收穫、加工炮製、貯藏、運輸等過程須注意品質管制，合乎國家食品衛生標準，如此才能有助於保健植物之推廣種植。中國在 2002 年 6 月 1 日起實施中藥材生產質量 GAP 管理規範，並自 2003 年 10 月正式開始受理全國 GAP 認證工作，中國大陸現有近六百個 GAP 藥材種植基地並完成近六百萬畝之 GAP 栽植⁸。藥材 GAP 安全且良好的品質生產規範，包括各種藥材之品種、來源、栽培地點、土壤條件、採收時間及病蟲害防治，均需加以記錄與控管，並建立相關資料，進一步配合重金屬及農藥殘留的檢測、指標成分分析等詳細紀錄資料，才能有效生產優質道地零污染的中草藥材，以符合國際藥用植物市場安全性(safety)、有效性(efficacy)及穩定性(stability)之需求。主要目的在規範中藥材的生產，保證中藥材的質量，並促進中藥的標準化、現代化和國際化。

世界衛生組織(WHO)⁹於 2004 年 2 月公佈藥用植物優良種植與採集規範(Good Agricultural and Collection Practices, GACP)作為藥用植物的栽種與採集之管理，以確保其品質、安全、有效性及永續保存。WHO 發佈此規範的目的是：

1. 確保藥用植物來源的品質，以改善該類製成品的質量、安全及成效。
2. 引領世界各國及各地區為藥用植物制定GACP指引、專題文獻集及相關標準操作程序。
3. 鼓勵和支持以保護環境及藥用植物為依歸的方法，對良好品質的藥用植物持續進行種植和採收。

該規範涵蓋一系列種植及採收的活動，包括地點選擇、氣候和土壤的考慮，以及種子及植物的鑑定。其用意在為世界各國政府釐定指引，以確

保藥用植物的生產符合質量和安全的標準、可持續發展及不損害人類或環境。

實施 GAP 最根本的目的是提高藥材的品質，從而保證中藥飲片、中藥商品的品質¹⁰。中藥由於其成分的多樣性、複雜性和不明確性，無法用單一的指標對中藥品質進行控制，只能通過控制中藥生產的整個過程來達到對藥材品質的控制。因此，在藥材的生產過程中，影響藥材品質與建立 GAP 規範所必須考慮的因素主要有以下這些：

(一) 品種

中藥常有一藥多名和一名多藥的情況存在，如石斛，包括環草石斛、馬鞭石斛、黃草石斛、鐵皮石斛和金釵石斛等 39 種以上的原植物，不同品種的藥物作用相差很大，有的甚至相反，如不明確具體品種，在臨床應用上就會出現差錯。在實施 GAP 時，必需對品種加以確認和澄清。

(二) 產地

“道地藥材”是指來自特定產區、生產歷史悠久、栽培和加工技術精細、品質優良、療效顯著的藥材，如吉林的人參、西寧的大黃、川連、懷地黃、浙八味等。同一品種的藥材在不同地方種植，其品質也有明顯差異。環境是藥材中化學物質形成和變異的重要因素，因此產生了“化學法”的分類單位，這是道地藥材形成的理論基礎。如葛根中的葛根素含量，吉林產的含 12%，而貴州產的僅含 1.77%；青蒿中的青蒿素含量，重慶產的可達 20%，而北方產的明顯較低。因此，在實施 GAP 時，要因地制宜，合理佈局。

(三) 採收

“春采茵陳夏采蒿，知母黃芩全年刨，秋天上山挖桔梗，及時採收品質高”，說明了採收季節對保證中藥材品質的重要性。藥材在不同生長發育階段，其有效成分含量不同，因此採收時要考慮到產量，又要注意有效成分含量，以期獲得高產優質的藥材。薄荷在花蕾期揮發油含量最高，而葉的產量在花後期最大，最佳採收期應是兩者的乘積值最大之時。因此，實施 GAP 時，必須把藥材有效成分的積累動態與植物生長發育階段這兩個指標結合起來考慮，以確定適宜採收期。

(四) 其他

中藥材的生長離不開肥料，肥料不僅能提供給中藥材生長所必需的養分，為優質高產奠定基礎，而且還可以改良土壤，提高土壤肥力。在應用時應儘量使用有機肥，可適當使用化學肥料，

但嚴禁使用硝態氮肥，農家肥必須要經過貯存、腐熟後才適宜施用。藥材在種植過程一般不使用農藥和除草劑，確需使用時應儘量選擇低殘毒的生物性農藥或除草劑。農藥的使用，特別強調安全性，就是最後一次使用農藥到採收季節中間的間隔，明確農藥的降解是否達到允許的要求。應重視無污染和綠色藥材的生產，農藥殘留和重金屬含量應合乎標準。

台糖公司研究所在曾執行工業局農業生技產業化技術推廣計畫「龍膽藥材產業化生產技術之建立」。利用組織培養的技術，針對龍膽進行品種選育、種苗量產、栽培管理、病蟲害防治及有效成分分析監控，並進行藥用植物龍膽之栽培量產與有效成分萃取技術之開發研究。自龍膽出瓶苗株中選拔耐熱個體株，於控制環境下建立龍膽組織培養母瓶並進行繁殖，降低產程中微生物污染之損耗，提高組織培養苗生產效率。改進組培苗株馴化苗生產技術，擴大至溫室與田區種植試驗，對栽培期間之病蟲害及環境因素，進行病原性測定及防治管理。檢測記錄栽培土壤、灌溉水品質及氣象等環境之資料，利用化學分析技術檢測龍膽組織培養苗地上部及根部藥材之指標成分，提供龍膽產業化生產收穫規範之依據。

龍膽屬(*Genus Gentiana*)包含約 360 個種，其花部具觀賞價值，但其最重要的經濟利用為藥用植物，在德國就有將近 300 個龍膽相關成分的生藥及保健產品。知名化妝品公司如 CLARINS 將之應用於美容保養品上。在化學活性成分於龍膽科的主要化學成分包括 iridoids、xanthones、mangiferin 及 glucoflavones。Iridoids 類化合物主要為 secoiridoid glucosides 普遍出現於所有已知龍膽品種中，最明顯的為 swertiamarin 及/或 gentiopicroside，大約有 90 種不同的化合物在 127 個種 (24 屬) 被報導^{11, 12, 13, 14}。

中藥材龍膽原植物有粗糙龍膽(*Gentiana scabra* Bunge)、條葉龍膽(*G. manshurica* Kitagawa)、三花龍膽(*G. triflora* Pallas)、堅龍膽(*G. rigescens* Franchet & Hemsley)等四種^{15, 16}，具有保肝利膽、清熱瀉火之功效。現代科學化的藥理研究亦證明具有保肝、利膽、健胃、抗發炎、抗過敏及骨骼肌鬆弛等作用¹⁷。龍膽根可刺激胃液及膽汁的分泌、退燒、調整甲狀腺機能等之效果，古希臘人將龍膽用於解熱及緩瀉劑，在外用上其汁液可幫助疤痕及光灼傷之治療，近代醫學應用龍膽萃取成分於高血壓及中樞神經系統等治療^{18, 19}。

根據中國大陸報導，龍膽原植物受到天然資源破壞嚴重，而人工培植尚未跟上而產量下降。在「東北中藥材龍膽、防風的種植基本情況調查報告」指出，龍膽人工栽培試驗一直為東北地區重點研究工作。目前中國境內最大的龍膽藥材生產基地—遼寧撫順市清原龍膽生產基地於 2007 年 8

月通過了國家 GAP，即中藥材生產品質管制規範認證，也是中國唯一的龍膽 GAP 基地。

緣於國際市場對龍膽藥材之供應與需求鏈之失衡，加上各國對野生藥材之保護措施，台糖公司研究所藉由龍膽藥材品種 *G. scabra* 著手，在馴化過程進行基因調控，選育出適應本土栽植之耐熱龍膽品種，並經由指標成分之監控配合栽培技術，建立具有效性、安全性之種苗生產技術，並欲進一步大量提供田間栽植，以達藥材供應之穩定性。另一方面積極建立本土龍膽藥材之永續生產技術，並藉由龍膽 GAP 規範之技術平台建立，進一步將優勢之臺灣產龍膽推向國際藥用植物市場，並藉由高單價、高品質之龍膽材料，使馴化植物採收所需的費用能夠完全支付，而達到高農業經濟效益。

中藥多成分組成與複雜的生物活性的特性，以及微量成分之間的協同作用、結合或抗爭作用，使得中藥產品以主要（指標）成分含量角度的傳統品質管制分析的結果，與其生物活性關聯性一直有著相當的爭議性與困難度。台糖公司研究所所生產之龍膽苗之指標成分 Gentiopicroside 含量在 5-9%，比一般龍膽市場品的含量更高。但是相對的藥理活性是否比較好？尤其原本種植在中國東北及內蒙地區的龍膽草，移植至臺灣南部亞熱帶地區後，其藥理活性是否有所變化，在國際研討會中一直被質疑。

另外，仔細檢視台糖公司研究所所執行之計畫成果發現，雖然已經成功地利用龍膽組織培養生產篩選耐熱植株與馴化苗，並建立溫室栽培技術，使存活率更為提高近 95%，為後續利用田間種植生產龍膽根部藥材打下良好基礎，但是對於田間大量栽培之種植研究並未完成與落實。也就是說，台糖公司研究所已經成功地在實驗室篩選優良品系並在溫室進行馴化之研究，使東北產的龍膽也能在南臺灣種植，但是對於真正建立田間種植 GAP 規範、以利於推廣至農民種植之條件探討，仍未完成。

鑑於此兩個問題的存在，本校研究團隊結合台糖公司研究所之專業人員，藉由其兩項執行計畫之經驗與成果，在中醫藥的專業學術觀念下，配合現代之代謝體學之新觀念，針對台糖公司研究所所生產之龍膽藥材進行臺灣本地之龍膽中藥材生產品質管制種植規範(GAP)，並與中國生產之龍膽藥材，進行植物代謝體學之分析研究，探討兩者間的差異度。同時進行相關的藥理活性試驗，如：大鼠之胃腸蠕動試驗、急性肝炎試驗以及抗發炎試驗等，以系統性生物學的觀點，闡明龍膽藥材成分與活性的關聯性，探討臺灣生產之龍膽藥材取代中國進口龍膽藥材的可能性，並建立高品質龍膽藥材之供應體系，為臺灣精緻農業開創另一新事業。

結合代謝體學輪廓與多變數統計的方法，應用於中藥藥材品質管制監測的策略是捨去以往常用的主要化學成分的監測與定量，而改以全部的代

謝成份，即使是非常微小微量的成分，主成分分析統計法都能將此微小變化的差異性顯現出來，可以避免因只測量主要化學成分含量，而遺漏中藥複雜成分之間相互、協同之作用²⁰。利用代謝體學的角度，探討中藥材在採收期間與採收後其全部成份含量或性質的變化，再以系統性生物學的觀點來分析中藥材的品質，將能得到全方位的參考數據，以支持藥材品管監控的真實性。如果能再搭配相關的藥理實驗評估，將能夠提供更有力的資料來執行系統性偵測。

系統性生物學(Systems Biology)是利用整體性途徑，以宏觀的觀點配合生物統計的分析，提供一個全方位的生物資訊，來闡明中草藥植物代謝物的指紋圖譜(Fingerprint)與生物活性、藥理，甚至品質管制的關聯性^{21, 22}。在此觀念下，利用對藥材進行全光譜(Wide-spectrum)代謝體學輪廓(Metabolomic profiling)的測定，以全方位的角度，利用快速、高效率、可重複性的化學分析技術，例如氣相層析儀(GC)、高效率液相層析儀(HPLC)、質譜儀(FT-MS)以及核磁共振儀(NMR)，結合多變數統計(Multivariate Statistics)分析，例如主成分分析(Principle Component Analysis, PCA)^{23, 24}，所得到的標準落點圖(Standard Plot)，可以作為中藥材分類、鑑定與品質管制的參考依據²⁵⁻²⁹。

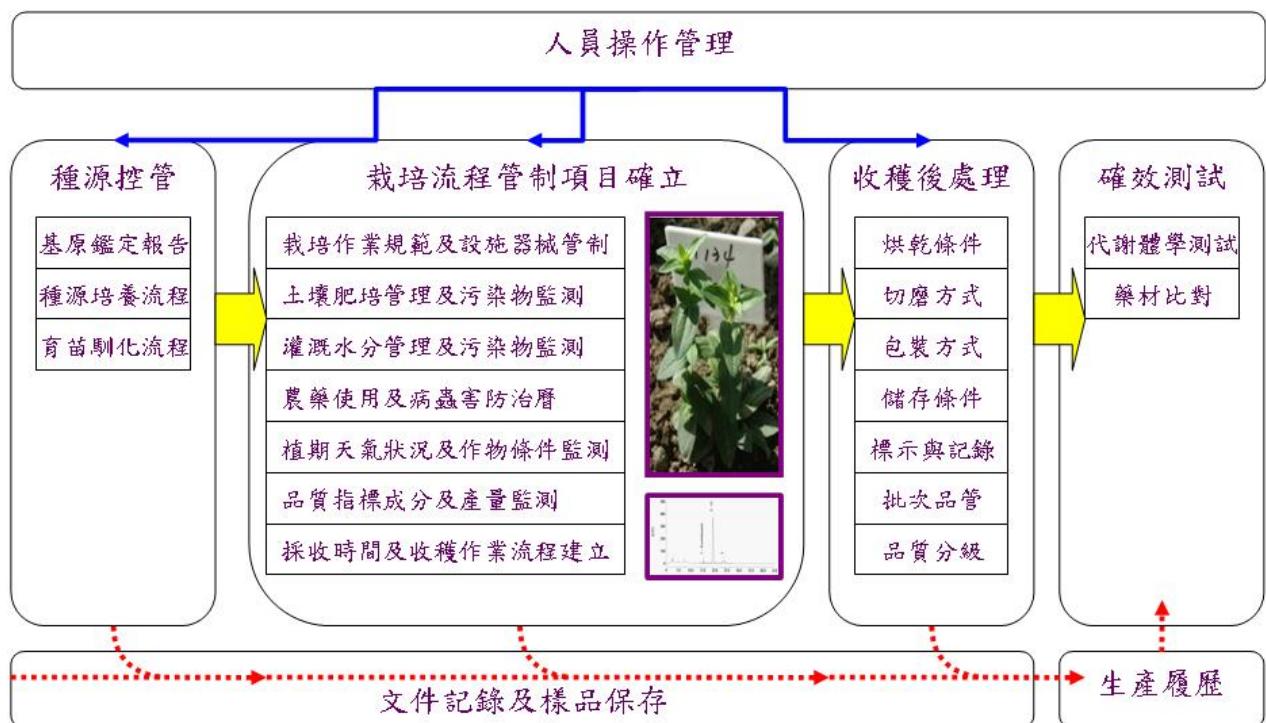
本計畫為兩年連續型計畫。雖然中國所產龍膽草為三年期採收，但是在台糖研究所的預試驗過程中發現，選種後的龍膽草生長良好，指標成份含量在7個月的時候達到最高，爾後維持相當的水平。臺灣二年採收的龍膽與大陸清原龍膽GAP基地生長之三年龍膽藥材相比，生物質量相差不多。因此，我們以二年期採收為目標，縮短生長時程，也確保藥效，提高臺灣龍膽生產競爭力。第一年研究主軸為建立龍膽田間大量種植之中藥材生產種植規範，依照世界衛生組織WHO的規範，訂定出包括GACP規範所要求之18項項目之中藥材生產品質管制種植規範(GACP)，並結合植物代謝體學進行臺灣與中國兩地生產龍膽之品質比較。第二年的研究主軸除了繼續進行更詳盡的GACP規範設置外，配合藥理的活性測試，將龍膽藥材的品質與活性作一相關聯，以科學的證據，輔助訂定龍膽中藥材生產品質管制種植的規範。

貳、材料與方法

本計畫為兩年連續型計畫。第一年研究主軸為建立龍膽田間大量種植之中藥材生產品質管制種植 GACP 規範。第二年的研究主軸除了繼續進行更詳盡的 GACP 規範設置與生產履歷追溯外，配合藥理的活性測試，將龍膽的品質與活性作一關聯性的植物代謝體學探討，訂出更精確的 GACP，以供臺灣農民與藥廠企業種植使用之參考。

第一年—建立龍膽草田間大量種植之中藥材生產品質管制種植 GACP 規範

龍膽 GACP 規範栽培流程圖



一、實驗方法

(一) 種源管控

1. 基原鑑定
2. 種源培養
3. 育苗馴化

台糖公司研究所在前述之計畫中，配合植物組織培養技術，在高溫環境壓力下進行龍膽耐熱性營養系之篩選，也利用核酸相關技術進行基原分子鑑定工作。在中國，龍膽 5~7 月為其盛花期，9、10 月份為結果期。為配合龍膽生育環境，已利用台糖研

究所現有平地降溫系統，模擬其開花當時環境，控制溫度於 20°C 至 25°C 之間，待龍膽苗株開花後進行雜交，並調查實際著果情形。完成龍膽溫室育苗改良，開發濕控水耕栽培法控制植株周邊的濕度，可使組培苗出瓶栽種的成活率提高至 92% 以上。

(二) 栽培流程管制項目

1. 栽培作業規範及設施器械管制
2. 土壤肥培管理及污染物監測
3. 灌溉水分管理及污染物監測
4. 農藥使用及病蟲害防治曆
5. 植期天氣狀況及作物條件監測
6. 品質指標成分及產量監測
7. 採收時間及收穫作業流程建立

針對田間大量種植龍膽草之栽培管控項目，大致分為七大要求項目。以前計畫之溫室成果為基礎，配合 GACP 的要求，訂定管制監測之細項內容，包括：

- (1) 概述選擇種植基地的標準，有無種植前的調查記錄，考察哪些內容。
- (2) 輪作植物的輪作時間間隔，輪作期間種植的作物、施用的農藥、肥料。
- (3) 產地適宜性情況：是否道地藥材，當地的栽培時間，公司開展種植時間，公司開始實施 GAP 時間；基地周邊是否有污染源（包括工礦、醫院等），距基地周邊公里數；除申報基地外，當地的種植情況。
- (4) 產地土壤檢測時間，檢測單位，資質，取樣點等。
- (5) 灌溉水檢測時間，檢測單位是什麼，取樣點哪幾個？
- (6) 施肥種類，製作肥料方法與施用方式，農家肥堆制地點、商品肥儲存地點是否符合要求。是否施用過城市生活垃圾、工業垃圾、醫院垃圾和糞便。
- (7) 病蟲害綜合防治情況，其中農藥從施用種類，是否屬於高效、低毒、低殘留農藥；農藥購買、儲存、施用情況。
- (8) 採收時間（包括採收期、採收年限）、採收方法確定依據。
- (9) 中藥材檢驗方法、標準，取樣地點、留樣情況。
- (10) 中藥材農殘、微生物限度、重金屬含量是自檢還是委託檢測，委託檢測單位是什麼？
- (11) 檢驗過多少批，檢驗結果是什麼，與國家標準比較。
- (12) 有無不合格的中藥材，如有，數量是多少，如何處理？

針對龍膽田間病蟲害相之調查，相關的實驗步驟如下：

1. 定期調查病害種類：自計畫開始日，選定 2-3 處栽培臺灣龍膽之設施，每個月調查發病發生之種類，記錄病害發病率(disease incidence)及發病度(disease severity)。該株有一片葉片發病則視該株發病，以發病嚴重程度經加權計算後成為發病度。發病等級分為 5 級，發病度等級區分為 0-3 級：0 級為健全；1 級為發病葉佔全株之 1/4 以下；2 級為發病葉佔全株之 1/4~1/2；3 級為發病葉佔全株之 1/2 以上；4 級為植株死亡。
2. 害蟲種類及密度調查：在田間調查方面將選擇臺南台糖地區為主，每兩個月以目視法觀察取樣區目標植物上的有害生物包括昆蟲與瑞蟬等，除照相記錄其棲地環境外，並將有害生物攜回實驗室鑑定、記錄與製作標本保存。在溫室方面，除如同上述之目視法外，加入黃色黏蟲紙、黃色與白色水盤（連續性調查）、誘蟲燈（定期性調查）法，進行蟲相普查(視可控制之收穫期而訂定調查頻度；並依栽培面積大小區分等級，設計取樣次數)。
3. 設施氣象記錄：以溫度記錄器記錄每一小時之設施溫濕度（栽培床上 30 公）、栽培介質溫度（介質表面及表面下 5 公分）。

(三) 確效測試

1. 藥材比對

溶媒與化學品：HPLC 專用分析級 Methanol 與 Acetonitrile (Merck, Germany)。

標準品：Gentiopicroside、Swertiamarin (Wako, Japan)，Magiferin (Sigma, USA)。

HPLC 分析用之代謝物萃取：

取不同時期採收的冷凍乾燥之乾燥龍膽樣品及市場品 500 mg，磨碎，移入 15 ml 的離心管內，加入 2 ml MeOH 以及 2 ml 50% H₂O。震動(vortexing) 3 分鐘，超音波 30 分鐘，然後以 3000 rpm 離心 30 分鐘。上清液移入新的試管並以甲醇進行沉澱，過濾後移入 HPLC 樣品瓶試管中，分別進行測試。

主要儀器設備：

HPLC (High performance liquid chromatography): Shimadzu LC-10AT vp HPLC pump, Shimadzu SCL-10A vp system controller, Shimadzu SPD-M10A vp photodiode array detector, Shimadzu SIL-10A auto injector (Shimadzu, Japan),

Mightysil RP-18 GP 250-4.6 (5 μ m, analytical) (Kanto, Japan)

NMR 分析用之代謝物萃取：

取不同的龍膽藥材或樣品 300 mg，磨碎，移入 15 ml 的離心管內，加入 0.8 ml MeOD 以及 0.8 ml 50% D₂O (TSP 1%)。震動(vortexing) 1 分鐘，超音波 20 分鐘，然後以 3000 rpm 離心 30 分鐘。取上清液移入 NMR 測試試管中，分別進行測試。

NMR 儀器分析

All spectra were recorded on a Brucker AV-400 NMR instrument operating at proton NMR frequency of 400.13 MHz. For each sample, 128 scans of H-NMR spectra were recorded with the following parameters: 0.126 Hz/point, pulse width (PW) = 4.0 us (90°), and relaxation delay (RD) = 1.0s. FIDs were Fourier transformed with LB=1.0 Hz, GB=0 and PC=1.0.

2. 護肝功效（四氯化碳誘導小鼠急性肝損傷）

動物處理：

本實驗模式採用 CCl₄ 誘導小鼠急性肝炎模式，ICR 系雄性小鼠經預養 7 天後，將小鼠隨機分為 6 組，分別為正常組、CCl₄ 組、Silymarin 組(200 mg/kg)及 SDE 組(0.1, 0.5, 1.0 g/kg)，每組 10 隻，實驗時正常組與 CCl₄ 組口服給予 0.5% CMC，Silymarin 組及 SDE 組分別口服給予 Silymarin (200 mg/kg in 0.5% CMC) 及 SDE (0.1, 0.5, 1.0 g/kg in 0.5% CMC)，連續 5 天，最後一天給藥後 1 小時，正常組腹腔注射 olive oil，其他則各組腹腔注射 CCl₄ (10 ml/kg B.W., 0.2% in olive oil)。

血液及肝臟均質液之製備：

CCl₄ 注射後 24 小時，動物以乙醚麻醉後，由頸動脈採血，全血離心(3000 rpm, 10 min, 4 °C)，分離血清，取上清液，以供測定肝功能生化指數。解剖取肝製備為肝臟檢品，並取出肝臟大葉部分以福馬林固定，作為病理切片用；其餘肝臟檢品以生理食鹽水稀釋(1:1)，均質後離心(12000 rpm, 10 min, 4 °C)，然後取上清液製備為肝臟均質檢品，儲存於-80 °C 備用，以供分析肝組織一系列酵素活性之用。

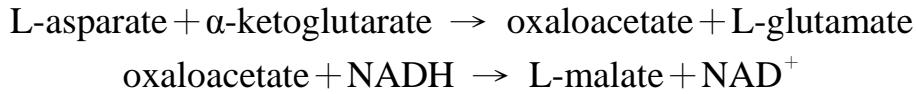
血清肝功能生化指數之檢測：

小鼠血液樣品先在室溫下放置 1 小時以使其凝結，再以冷凍離心機於 4 °C 下、每分鐘 3000 rpm、離心 10 分鐘，分

離血清，以自動生化分析儀檢測肝功能生化指數。

(1) 血清中麴氨酸草乙酸轉氨酶(AST, GOT)之測定

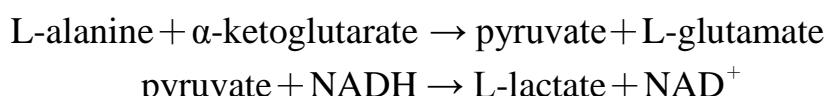
試驗樣品和受質-酵素混合物產生反應，經由在樣品中的 AST 催化可逆的轉胺反應，使 L-aspartate 與 α -ketoglutarate 反應而形成 oxaloacetate 與 L-glutamate，oxaloacetate 會藉蘋果酸脫氫酶 (malate dehydrogenase, MDH)催化而還原成蘋果酸(malate)，同時 NADH 被氧化成 NAD^+ ，測 NADH 的減少量就能計算出 AST 的活性值。反應式如下：



本試驗以 Randox kit 分析。取 200 μl 血清，加入 1 ml 反應試劑(100 mM Tris buffer，500 mM L-aspartate, 15 M α -ketoglutarate, 0.18 mM NADH, 1200 U LDH, 500 U MDH/1,000 ml)，混合均勻，37 °C下反應 1 分鐘，靜置 90 秒後，於波長 340 nm 下，以全自動生化分析儀檢測。

(2) 血清中麴氨酸丙氨基轉氨酶(ALT, GPT)之測定

試驗樣品和受質-酵素混合物產生反應，經由在樣品中的 ALT 催化可逆的轉胺反應，使 L-alanine 與 α -ketoglutarate 反應而形成 pyruvate 與 L-glutamate，pyruvate 藉乳酸脫氫酶(malate dehydrogenase, LDH)催化而還原成乳酸(lactate)，同時 NADH 被氧化成 NAD^+ ，測 NADH 的減少量就能計算出 ALT 的活性值。反應式如下：



以 Randox kit 分析。取 200 μl 血清，加入 1 ml 反應試劑 (100 mM Tris buffer，500 mM L-alanine, 15 M α -ketoglutarate, 0.18 mM NADH, 1200U LDH, 500U MDH/1000ml)，混合均勻，於 37 °C下反應 1 分鐘，靜置 90 秒後，於波長 340 nm 下，以自動生化分析儀檢測。

實驗數據統計分析：

採用 SPSS 電腦統計套裝軟體進行單因子變異數分析(One-Way analysis of variance, One-Way ANOVA)，並以 Scheffe's multiple range test 來測試不同處理間顯著差異效果，凡 $P < 0.05$ 時則認為有統計意義。

參、結果

一、種源管控

台糖公司研究所以組織培養技術，在高溫環境壓力下進行龍膽耐熱性營養系之篩選，利用龍膽苗株開花後進行雜交，完成龍膽溫室育苗改良。並以自行開發之濕控水耕栽培法控制植株周邊的濕度，使組織培養苗出瓶栽種的成活率提高至 92% 以上。並利用此一技術，繁殖穩定系之龍膽植株苗，供實驗及未來農民種植之種苗來源。

二、栽培流程管制土壤項目

針對田間大量種植龍膽草之栽培管控項目，大致分為設施器械、土壤、水分、農藥、氣候、產量及採收等七大要求項目。以臺南地區為例，其中溫度方面為平均氣溫 29.6 度（最高溫 34.3°C，最低溫 26.6°C），平均溼度為 82.6%。對於土壤及農藥的檢測，也已於 3 月 18 日完成田間及土耕溫室土壤植前取樣及 SGS 送測，完成檢測，其金屬含量與農藥殘留含量報告如表一。

三、組培苗土耕溫室與田間定植栽種

(一)組培苗土耕溫室定植：自 3 月起逐月種植 1 次，目前完成 7 批定植工作。

1. 第 1 批為組培苗出瓶後定植於 72 格穴盤 (3 月 23 日)，置於四周及上方覆以白色紗網之栽培設施下栽培，4 個耐熱營養系共定植 1,284 株，1 個月後整體存活率維持 99% 以上 (圖一)。
2. 第 2 (4 月 6 日) 及第 3 批 (5 月 4 日) 苗株出瓶後定植於土壤中，植區四周及上方覆以白色紗網。第 2 批定植 3 個耐熱營養系計 414 株，第 3 批定植 4 個耐熱營養系計 1,152 株，目前整體存活率維持 95% 以上 (圖二)。
3. 自 5 月 (第 3 批) 起，植株出瓶後直接定植於土壤，定植後 1-2 個月植株存活率維持 85% 以上，但後續大幅滑落至 3-4 成，主因根系生長不良，無明顯貯藏根產生，將探究原因並改善。
4. 病蟲害方面，因土耕溫室內有斜紋夜盜蟲危害，已施用藥劑並輔以人工捉除方式防治。

(二)組培苗田間定植：目前完成 2 批

1. 第 1 批組培苗出瓶後直接定植田間簡易遮陰設施，4 個龍膽營養系共定植 980 株，1 個月後存活率為 91.12%，其中僅 7-2 營養系存活率未達 9 成為 89.86% (圖三)。歷經夏季高溫及雨季後，6 個月後多數營養系存活率僅一成左右，其中以大陸-20 營養系最高約為 30%。

2. 第 2 批 (4 月 6 日) 苗株出瓶後先假植於 128 格穴盤，置於溫室馴化 1 個月後移至田間定植。4 個營養系共定植 996 株，1 個月後平均存活率為 89.9% (圖四)，定植後 4 個月，平均存活率約為 27%，其中以大陸-20 營養系最高約為 40.5%。
3. 第 3 批苗株於 9 月 6 日出瓶後先假植於 128 格穴盤，置於溫室馴化，預計 10 月 12 或 13 日進行定植田間。
4. 栽培管理過程皆依規定詳實記錄，目前尚無病蟲害發生情形。

四、龍膽生育調查：

- (一) 田間簡易遮陰設施栽培試驗：於溫室馴化 1 個月後移至田間定植之龍膽苗株進行逐月取樣，4 個營養系調查結果彙整如表二。以定植後生育 126 天為例 (圖五)，平均單株鮮重，地上部與地下部分別為 3.417 ± 2.110 及 1.104 ± 0.748 公克；平均單株乾重分別為 0.734 ± 0.521 及 0.217 ± 0.133 公克。該數據與 2008 年同期之種植試驗相較下，地上部較高，而根部重量則頗為相近。
- (二) 簡易遮陰設施栽培試驗：以 6 月 8 日出瓶後直接定植於土壤之龍膽苗株進行取樣，4 個營養系調查結果如表三。以定植後生育 97 天為例，平均單株鮮重，地上部與地下部分別為 0.932 ± 0.368 及 0.118 ± 0.044 公克；平均單株乾重分別為 0.141 ± 0.060 及 0.018 ± 0.007 公克。
- (三) 以出瓶後相同植齡階段植株進行比較，定植於溫室 97 天的植株，地上部鮮重僅為相同植齡田間種植者的 53.38%，根部鮮重約為 33.52%，烘乾後則分別為 36.15 及 21.95%。初步結果顯示種植於溫室設施內龍膽植株含水量較高，根系生長較田間緩慢。
- (四) 部份種植於田間之龍膽植株已有花蕾產生或開花 (圖六)。

五、藥材採收

雖然本計畫正式執行時間是從 99 年 11 月開始，但是為了爭取種植時間，我們從計畫一通過就開始部分執行，以利研究材料之收集。因此，龍膽馴化苗 (一個月) 定植 (99 年 10 月定植) 6 個月後進行採收，整體採收量全株重約 1400 g，其中根部藥材鮮重約 900 g。平均根長可達 8-12 cm，根徑約 2-4 mm (圖七、八)。

六、植物代謝體學初步分析

主成分分析統計法(PCA)是一套建立完善且能針對具有多重變數 (multivariates) 之複雜資料進行分析解釋的統計軟體。利用 PCA 可以將多維(High dimensional)的分析數據，在較低維(Less dimensional)的主成分 (Principal component, PC)空間中，以可觀察的形式表達出來。所形成的落點圖(Plot scores)可將相似的樣品以群集(clusters)的方式歸納，而將不同的

樣品以一顯著的距離來做區別。這樣的統計方式能夠針對以植物代謝體學為觀點的複雜化學指紋圖譜分析，以相對性與群集式的比較，區別植物或藥材的品種、樣品等差異。

在 Bruker 400 NMR 的 ^1H 全圖譜中，我們可觀察的是龍膽全部化學代謝產物成分的 $^1\text{H-NMR}$ 訊號（圖九）。從這些訊號中我們可以區分數種化合物的群落，包括 amino acid、碳水化合物、有機酸、酚類化合物以及苷糖等成分。取溫室種植 3 個月之龍膽植株地下部、臺灣進口之龍膽市場品與從大陸收集之特定關龍膽藥材(*G. scabra*)，利用 NMR 光譜分析，並以內標準品作為對照標準，以 PCA 統計做出標準落點圖做比較。其主要目的是要觀察進口龍膽品種之混用程度。一般來說，市場品皆為品種混合，沒有辦法辨認出哪一部分來自關龍膽、哪一部分來自三花龍膽。特地與從東北產地收集之關龍膽藥材，和在臺灣種植三個月之龍膽植株地下部做比較，在 NMR 圖譜中發現，進口龍膽藥材與關龍膽藥材差異不大，除了關龍膽圖譜中可判定為蔗糖或苷糖的 anomeric protons (H-1) 之 δ 5.40 (d, $J=8.0\text{ Hz}$) 的訊號以及 α -glucose 的 anomeric protons (H-1) 之 δ 5.18 (d, $J=7.0\text{Hz}$) 訊號較混合龍膽藥材積分為高外，在 PCA 標準落點圖分析中必沒有很大的差異（圖十）。而種植僅三個月的龍膽地下部當然完全不同，可清楚地區分出來。

另外就田間種植與組培苗之間的植物代謝體學比較，我們選擇了田間直接種植六個月之龍膽地下部、溫室馴化後在田間種植共生長六個月之龍膽地下部，以及三批龍膽組培苗來進行分析。發現在 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜中，田間種植與組培苗之間最明顯差異的化學位移為 δ 5.40、 δ 5.18 與 δ 4.60。其中在田間種植樣品中， δ 5.40 的波峰強度是組培苗的兩倍；而在組培苗樣品中 δ 5.18、 δ 4.60 訊號的強度則較田間種植為高（圖十一）。根據文獻比對， δ 5.40 的訊號應為糖苷成分結構中末端 glucose 的 H-1 訊號； δ 5.18 為 α -glucose 的 H-1 的訊號， δ 4.60 則為糖苷中中間 glucose 與 β -glucose 的 H-1 的訊號。顯示在組培苗中含有較多的糖苷化合物。而在 PCA 標準落點圖分析中，三批組培苗的落點差異不大，顯示不同組培苗之間的成分穩定，但是在田間種植之龍膽樣品，直接種植與馴化後再種植之比較，也可以區分不同的處理過程造成化學成分之變化（圖十二）。值得一提的是，馴化後再種植的龍膽植株地下部之品質較為一致，可能與現在溫室馴化一個月的步驟有關。而在 PCA 分析圖的 Loading plot 中，我們發現其實最大差異點是由訊號 δ 3.63 所導致的。顯示在組培苗與田間種植植株之地下部的比較中，糖類的差異才是真正的原因。這可能與地下部根部的儲存功能有關（圖十二）。

七、主要成分之分析

取龍膽市場品、組培苗與田間定植六個月之龍膽地下根材料，經過低溫乾燥後，以 MeOH 萃取後，經由 HPLC 分析其主要成分 Gentiopicroside (龍膽苦苷)、Swertiamarin (當藥苦苷) 並定量比較³⁰⁻³⁴。

台糖研究所針對每批次生產之龍膽指標成分化學分析，與市場品之成分含量及指紋圖譜比對之研究成果中，發現所生產之龍膽其指標成分 Gentiopicroside 皆維持在 5-9%，而來自中國之龍膽市場品的 Gentiopicroside 含量為 2%左右；一般市面上的龍膽藥材所含 Swertiamarin 相當微量，甚至無法檢出，但台糖公司研究所所生產之龍膽藥材之 Swertiamarin 含量均維持在 0.6%以上。就田間種植六個月的龍膽藥材之地下部與地上部之主要成分 HPLC 分析，龍膽地下部的龍膽苦苷含量為 4.01 ± 0.12 ppm，而當藥苦苷含量為 0.19 ± 0.08 ppm；龍膽地上部的龍膽苦苷含量僅為 0.24 ± 0.07 ppm，而當藥苦苷含量甚少，幾乎無法偵測出來（表四、圖十三）。

在龍膽組培苗的層析圖中，會發現有一明顯之第三根波峰，但是在定植苗地下根及市場品則就量少而不明顯。在之前的研究中，台糖公司研究所並未對此波峰進行任何的探討，因為不是主要成分之一。但從植物代謝體學觀點來看，任何微小之成分都必須重視，因為可能有其他作用或與主成分之協同作用。經由質譜儀分析與標準品的對照，發現此一成分為 magiferin (芒果苷)，結構如圖十四。此一成分表示不同的栽培環境會導致成分種類與含量之差異。圖十五為組培苗、臺灣種植之龍膽地下部與大陸進口市場品之龍膽苦苷、當藥苦苷與芒果苷三種成分之含量比較，芒果苷在地上部含量較高，約 6%。

八、護肝功能初步評估

在第一年計畫之後半期，我們進行了初步急性肝炎的小鼠試驗，探討臺灣種植的龍膽藥材與中國進口之龍膽藥材在小鼠由四氯化碳所導致之急性肝損傷的預防效果。結果顯示，在肝功能指數 GOP、GPT 的表現方面，除了臺灣種植的龍膽根部比大陸進口之藥材有相當不錯的效果外，由台糖自行開發之組織培養苗，對小鼠的急性肝炎預防有更大的效果，其結果甚至比正對照組的 Silymarin 的療效還要好（如圖十六）。在每公斤 1 公克的劑量下，對小鼠因四氯化碳所引起之肝損傷，其降低小鼠的 GOP、GPT 效果為 Silymarin 效果的一倍。

九、龍膽種植和採收質量管理規範(GACP) (初版)

根據臺灣本地之龍膽種植和採收所需的技術和手段，並結合其它與中草藥質量保證、藥用植物保存有關的世界衛生組織文件及出版品，我們草擬了龍膽的優良農業管理規範。與農委會的 TGAP 不同的地方是，我們是根據 WHO 的《世界衛生組織藥用植物的種植和採收質量管理規範(GACP)

指南》[WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants]所擬定的。

肆、討論

關於臺灣中藥材或藥用植物栽種之有機栽培或GAP規範研究與探討，中醫藥委員會已有相關的研究計畫。如中興大學陳世雄教授的菘藍及馬藍之有機與GAP栽培(CCMP94-RD-102, CCMP93-RD-072, CCMP92-RD-043)。篩選中藥菘藍及馬藍重要種源，詳細調查性狀及分析其有效成分，選取適合本土栽培特性，及高有效成份之種源，進行雜交或誘變育種，並建立GAP模式。農業試驗所劉新裕博士在其中醫藥委員會之「臺灣北、中及南部三地區中草藥種植可行性評估」(CCMP95-TP-051)計畫中，進行包括恆春山藥(*D. doryphora* Hance)、基隆山藥(*D. japonica* Thunb. var. *pseudojaponica* Yamam.)、丹參(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)、牛膝(*Achyranthes bidentata* Bl.)、薏苡(*Coix lacrymajobi* L. var. *mayuen* (Roman.) Stapf)、板藍根(*Isatis tinctoria* L.)等30種中草藥之適應探討。這些研究計畫都有助於未來我國中草藥原料本土化栽培及無污染生產，對中草藥原料品質之管制及品質之提昇有所貢獻。

而農業委員會也針對臺灣特有藥用植物、雜糧特作類進行「臺灣良好農業規範(TGAP)」，已公告項目有：甘藷、茶葉、山藥、落花生、洛神葵、葉用枸杞、仙草、金線連、紅豆及薏仁等。但是針對藥用植物，以醫藥的角度來撰寫優良農業與採集規範(GACP)而言，龍膽GACP是臺灣第一份依照WHO的需求所擬定的種植規範。一般GAP會比較偏重在農業種植技術與管理。但是WHO是以醫藥的角度來說明藥用植物種植與採集必須要注意的規範。其考量點會比較貼近醫療用途與臨床應用之需求。

在編寫龍膽GACP時期間，我們也發現，龍膽的栽培經驗在不同國家之間差別相當大，而且龍膽的生長狀況不僅取決於使用的技術和手段，也取決於各國的自然和地理條件。這些差異在專著中均有涉及。

龍膽為全球性藥用植物，但這並不意味著所有的龍膽都一定含有高含量的指標成分龍膽苦苷及當藥苦苷。某些地方的龍膽盡管可能含有龍膽苦苷或當藥苦苷，但含量可能較低。這些因素以及前面提到的複雜技術和環境因素（如海拔、溫度、降雨量、土壤特性以及栽培方法）均表明，在大規模栽培之前有必要先在小面積的土地上進行栽培試驗，以此確保所選擇的栽培區域適合栽種高產能的龍膽。

龍膽自中國大陸東北引進臺灣後，經過順天堂必安研究所及工業技術研究院分別進行藥材形態解剖及分子基原鑑定確認後，台糖公司研究所利用組織培養技術從龍膽出瓶苗株中選拔耐熱個體株，於控制環境下建立龍膽組織培養母瓶並進行增殖，降低產程中微生物污染之損耗，改進組培苗株馴化苗生產技術，大幅提高組培苗生產效率，使臺灣也成為

龍膽於自然地理分布之外的主要人工栽培產地。針對每批次生產之龍膽指標成分化學分析，與市場品之成分含量及指紋圖譜比對之研究成果中，發現所生產之龍膽其指標成分Gentiopicroside（龍膽苦苷）維持在5-9%，而來自中國三年生之龍膽市場品的Gentiopicroside含量為2%左右；一般市面上的龍膽藥材所含Swertiamarin（當藥苦苷）相當微量，甚至無法檢出，但台糖公司研究所所生產之組培龍膽之Swertiamarin含量均維持在0.6%以上。田間定植7個月的龍膽根部所含之Gentiopicroside更高達10%。如果單以主要成分的角度來看，這樣的結果是令人滿意的。

結合代謝體學輪廓與多變數統計的方法，應用於中藥藥材品質管制監測的策略是捨去以往常用的主要化學成分的監測與定量，而改以全部的代謝成份，即使是非常微小微量的成分，主成分分析統計法都能將此微小變化的差異性顯現出來，可以避免因只測量主要化學成分含量，而遺漏中藥複雜成分之間相互、協同之作用。但是在比較龍膽之組培苗、田間種植龍膽之根部與龍膽市場品藥材之化學分析比較，在組培苗部份會發現有另外一個波峰非常明顯。經比對測試與文獻參考，發現這一個波峰是Magiferin芒果苷成分。芒果苷具有非常好的抗發炎、抗氧化效果。以往在龍膽的分析報告中都著重在根部的成分分析，地上部卻未加以留意。其實地上部含有大量的芒果苷^{35, 36}，而組培苗是全株乾燥而萃取，因此，就會萃取到地上部的成分。此項的發現，表示龍膽在藥材的利用上，除了地下部根部之外，也可以好好利用地上部來供藥用。

此外，在藥理評估的初步結果顯示，臺灣種植之龍膽藥材，在小鼠的急性肝損傷的模式中，比大陸的龍膽藥材，在護肝功能上比較好。比較值得注意的是，組培苗的護肝功能比正對照組 Silymarin 的療效還好，除了因為組培苗中 Gentiopicroside 的含量較高外，有較好的保肝效果，是否也因龍膽苦苷、當藥苦苷再加上芒果苷的加成效果，而使得組培苗對小鼠由四氯化碳所導致之急性肝損傷的預防效果大為提升，是非常值得繼續深入研究探討。

隨著生活中科技之發達、經濟的成長，人們的生活水準不斷的提升，現今許多人已經不全然依賴著西醫西藥的治療，而是逐漸的接受藥食同源的觀念，當遇到疾病時會尋求自然療法，藉由中草藥及日常飲食的幫助來維持身體健康、減輕治療當中的痛苦，更甚的能夠減輕疾病，預防疾病的發生。由此可知，中草藥對於人類身體健康的維持與疾病的治療貢獻極大。

藉由 GACP 的規範來提升優質藥材之生產保障，以加強作物之保護，減少病害、蟲害，達成最大的生產效能。結合植物組織培養、轉基因工程等生物科技搭配健全的田間管理、綜合性的病蟲害防制，以生產無汙染之藥用植物。最重要的是能夠減少農藥在植物體的殘留、避免重金屬的汙

染，減少過度化學肥料的使用，更能夠達到與自然生態的平衡。且藉由 GACP 的規範，我們能夠得到優質的藥材，可以進一步發展提煉出有效的活性成分及二次代謝產物，除了能夠非常有效率的提升藥用植物的經濟效益、保障藥農的生計之外，最重要的是能夠大大的提升中草藥用藥的安全性，為民眾的生命安全做把關。

以本計畫的龍膽而言，植物組織培養所培育出來的龍膽苗，經實驗結果顯示對於急性肝損傷有著比市場品還來的更佳的效果，未來我們更能夠往慢性肝炎做研究，相信在完全無農藥殘留也無重金屬汙染的藥材下，我們一定能夠得到預期中的結果。由此可知，我們要在短時間內，生產大量高品質、具有高度生物活性成分且能夠保障安全的中草藥，並維持生產和生態環境良好的平衡並不是一個空有的夢想，但這一切都必須倚靠 GACP 來做有效的規範。只要有效地執行 GACP 的規範，我們除了能夠得到安全、有效、均一的中草藥之外，更能夠大大的提升臺灣中草藥的經濟價值、保障藥農的生計，相信對於政府推廣 GACP 的實施計畫必定能得到人民的信任與支持。不可否認的，對於中草藥遠程的永續發展，進行 GACP 的栽培是絕對必要的經營策略。同時，加入 WTO 之後，臺灣發展中草藥植物的競爭力大增，並且現今中國急起直追的推行中草藥 GACP 種植，種植面積大且投入的資金又非常的可觀，臺灣 GACP 種植規範的推行真的是一件迫在眉睫的大事。由此可知，我們若要提升臺灣中草藥植物產業的競爭力就必須積極的運用現代科技，參考並遵循 GACP 等國際規範，讓臺灣生產的中草藥能夠達到最大的經濟效益，並能夠符合國際標準，以期能夠提升國際的競爭力，讓臺灣的中草藥產業發展得到保障，提升正面形象，並能夠在國際的市場上占有不可或缺的地位。

伍、結論與建議

- 一、依照國際 GACP 的要求，已完成建立龍膽田間大量種植之 GACP 規範，包括健康種苗篩選、提升生產力與品質的栽培技術條件，如土壤理化及生物特性、施肥種類與田間管理技術等。
- 二、龍膽指標成分化學分析之研究成果中，台糖公司研究所曾發現臺灣生產之龍膽其指標成分 Gentiopicroside (龍膽苦甙) 維持在 5-9%，而來自中國之龍膽市場品的 Gentiopicroside 含量為 2% 左右；一般市面上的龍膽藥材所含 Swertiamarin (當藥苦甙) 相當微量，甚至無法檢出，但台糖公司研究所所生產之龍膽之 Swertiamarin 含量均維持在 0.6% 以上。而本計畫之田間種植六個月的龍膽藥材之地下部與地上部主要成分 HPLC 分析中，龍膽地下部的龍膽苦甙含量為 $4.01 \pm 0.12 \text{ ppm}$ ，而當藥苦甙含量為 $0.19 \pm 0.08 \text{ ppm}$ ；龍膽地上部的龍膽苦甙含量僅為 $0.24 \pm 0.07 \text{ ppm}$ ，而當藥苦甙含量甚少，幾乎無法偵測出來。而從植物代謝體學觀點來看，在龍膽組培苗的層析圖中，另一明顯之第三根波峰，經與標準品的對照鑑定，發現此一成分為 magiferin (芒果甙)。因此，組培苗、臺灣種植之龍膽地下部與大陸進口龍膽市場品之龍膽苦甙、當藥苦甙與芒果甙三種成分之含量比較，芒果甙在地上部含量較高，約 6.10%。其餘含量比較數據分別如下：組培苗：龍膽苦甙 $2.6 \pm 0.28\%$ 、當藥苦甙 $1.08 \pm 0.46\%$ ；臺灣種植六個月之龍膽地下部：龍膽苦甙 $5.87 \pm 0.16\%$ 、當藥苦甙 $0.45 \pm 0.02\%$ ；大陸進口龍膽市場品：龍膽苦甙 $4.96 \pm 0.39\%$ 、當藥苦甙 $0.39 \pm 0.02\%$ 。
- 三、初步急性肝炎的小鼠試驗，探討臺灣種植的龍膽藥材與中國進口之龍膽藥材在小鼠由四氯化碳所導致之急性肝損傷的預防效果。結果顯示，在肝功能指數 GOP、GPT 的表現方面，除了臺灣種植的龍膽根部比大陸進口之藥材有相當不錯的效果外，由台糖自行開發之組織培養苗，對小鼠的急性肝炎預防有更大的效果，其結果甚至比正對照組的 Silymarin 的療效還好，在每公斤 1 公克的劑量下，對小鼠因四氯化碳所引起之肝損傷，其降低小鼠的 GOP、GPT 效果為 Silymarin 的一倍。是一項非常值得開發的材料。

建議

農業生產與規劃不是短時間就可以完成，必須要考慮作物的本身生長期與氣候季節的關係。因此，在訂定龍膽草優良種植規範 GACP 時，一、兩年的時間是不夠的。因此必需繼續追蹤與紀錄龍膽在南臺灣田間生長的情形，以得到更完善的作業規範，供臺灣農民種植龍膽的依據。因此在下一期的計畫執行中，我們將持續調整並修改龍膽的 GACP，使其更符合實

際需求。

另外，初步的藥理實驗發現，組培苗對小鼠的急性肝損傷有極佳的保護作用。除了護肝功能之外，其他的藥理活性也一定非常值得去探討。因此，臺灣生產的龍膽藥材或組培苗之藥理活性的測試將是下一期的工作重點。

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CCMP99-RD-056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. 陳世雄，2005，<http://tw.myblog.yahoo.com/organic-farmer/>。
2. 農業試驗所技術服務 200412 月第 60 期 30-33 中草藥 GAP 栽培農試所農藝組 劉新裕。
3. 徐雅芬。我國中草藥生產暨銷售統計。ITIS 智網，2007。取自：<http://www.itis.org.tw/rptDetailFree.screen?rptidno>。
4. 林宜信主編，中藥用藥安全與實務，2005；衛生署中醫藥委員會，台北。
5. 林宜信主編，建構臺灣中藥用藥安全環境，2004；衛生署中醫藥委員會，台北。
6. 徐雅芬。中草藥產業現況與趨勢。農業生技產業季刊，2005 取自：http://agbio.coa.gov.tw/image_doc/。
7. 張同吳，臺灣保健植物之多樣性與利用研究。2004。
8. 國家食品藥品監督管理局制訂了《中藥材生產品質管制規範認證管理辦法》及《中藥材 GAP 認證檢查評定標準》，2003。
9. WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants. World Health Organization, Geneva, 2003.
10. Gao, W.Y., W. Jia, H.Q. Duan, L. Huang, X.H. Xiao, P.G. Xiao and K.Y. Peak. 2002. Good agriculture practice (GAP) and sustainable resource utilization of Chinese material medica. *J. Plant Biotech.* **4**(3):pp103-107.
11. Hayashi T. 1976. Studies on crude drugs originated from gentianaceous plants. I.Determination of gentiopicroside, the bitter principle of *Gentianae radix* and *Gentianae scabrae radix* (author's transl) . *Yakugaku Zasshi*. **96**(3):356-361.
12. Hayashi T, M. Higashino. 1976. Studies on crude drugs originated from gentianaceous plants.III.The bitter principle of the Chinese crude drug qinjiao and its content (author's transl) . *Yakugaku Zasshi*. **96**(3):362-365.
13. Hayashi T, Tsuji Y, Matuda T. 1976. Studies on crude drugs originated from gentianaceous plants. II. Determination of swertiamarin, the major bitter principle of Swertiae herb and related crude drugs. *J Pharmaceut Soci Jpn*. **96**:498-502.
14. Hayashi T, T.Matsuda, K.Yoneda. 1976. Studies on crude drugs originated from gentianaceous plants. VI. Contents of gentiopicroside in various parts of *Gentiana scabra* and accumulation of gentiopicroside in *Gentiana triflora*. *Yakugaku Zasshi*. **96**(5):679-682.

15. 王震哲、陳志雄.1998.龍膽科龍膽屬，第 154-176 頁.臺灣植物誌(vol. 4)，臺灣植物誌第二版編輯委員會，國立臺灣大學植物學系出版，臺北。
16. Jensen, S.R. and J. Schripsema. 2002. Chemotaxonomy and pharmacology of Gentianaceae. *Gentianaceae-Systematics and Natural History*. Struma, L.& Albert V. Eds. Cambridge University Press. Pp.573-631.
17. 王本祥. 1997. 現代中藥藥理學. 第 312-314 頁，龍膽. 天津科學技術出版社，天津。
18. Konda, Y, Takano, F & Honjo, H. 1994. Suppression of chemically and immunologically induced hepatic injuries by gentiopicroside in mice. *Planta Medica* **60**: 414-416.
19. Ryang, Yong-Suk, Jee-Aee Im, Insik Kim, Yoon-Kyung Cho, Ho-Joong Sung, Ju-Youn Park, Duk-Young Min and Ji-Young Ha. 2001. Atiparasitic effects of a herb extract from *Gentiana Scabra* var buergeri on *Trichomonas vaginalis*. *J. Biomed. Lab. Sci.* **7**:53-58.
20. Chan K. 2001, Generating finger printings from analytical techniques alone is not enough in the assurance for quality, efficacy and safety of Chinese medicinal herbs and herbal products. *Analytical Sciences*. **17** Supplement: a409-12.
21. Wang M, Lamers RJ, Korthout HA, van Nesselrooij JH, Witkamp RF, van der Heijden R, Voshol PJ, Havekes LM, Verpoorte R, van der Greef J. 2005, Metabolomics in the context of systems biology: bridging traditional Chinese medicine and molecular pharmacology. *Phytother Res*, **19**(3): 173-82.
22. Van der Greef J, Stroobant P, van der Heijden R. 2004, The role of analytical sciences medical systems biology. *Curr Opin Chem Biol*, **8**(5): 559-65.
23. Jackson J. A user's guide to principal component analysis. New York: Wiley & Sons; 1991.
24. Eriksson L, Johansson E., Kettameh-Wold N, Wold S. Introduction to multi- and megavariate data analysis using projection methods (PCA and PLS). Umetrics AB, Umeå, Sweden, 1999.
25. Wang Y, Tang H, Nicholson JK, Hylands P, Sampson J, Whitcombe I, Stewart CG, Caiger S, Oru I, Holmes E. 2004, Metabolomic strategy for the classification and quality control of phytomedicine: A case study of Chamomile flower (*Matricaria recutita* L.). *Planta Med*, **70**(3): 250-55.
26. Choi Y.H., Kim H.K., Hazekamp A, Erkelens C, Lefeber, A. W. M. and

- Verpoorte R., 2004, Metabolomic Differentiation of *Cannabis sativa* Cultivars Using ¹H NMR Spectroscopy and Principal Component Analysis, *J. Nat. Prod.* **67**:953-957.
27. Kim HY, Choi YH, Erkelens C, Ledeber AW, Verpoorte R. 2005, Metabolic fingerprinting of *Ephedra* species using ¹H-NMR spectroscopy and principal component analysis. *Chem Pharm Bull*, **53**(1):105-9.
28. Chang WT, Thissen U, Ehlert KA., Koek MM., Jellema RH., Hankemeier T, van der Greef J, Wang M. 2006, Effects of growth conditions and processing on *Rehmannia glutinosa* L. using fingerprint strategy. *Planta Med*, **72**(5): 458-66.
29. Wen-Neng Lin, Hsiu-Ying Lu, Meng-Shiou Lee, Shih-Ying Yang, Hsi-Jien Chen, Yuan-Shiun Chang, Wen-Te Chang. 2010, Evaluation of the cultivation age of dried ginseng radix and its commercial products by using ¹H-NMR fingerprint analysis. *American Journal of Chinese Medicine* **38**(1):205-218.
30. 江蔚新、欽浩、何文順，龍膽藥材的 HPLC 指紋圖譜研究，中草藥，第 39 卷第 10 期，2008 年 10 月，1563-1565。
31. 江蔚新、沈志濱，東北龍膽地上、地下器官成分積累規律研究，哈爾濱商業大學學報(自然科學版)，第 19 卷第 2 期，2003 年 4 月，145-148。
32. 魏嵐、陳曉輝、華開順，RP—HPLC 法測定龍膽中的當藥苦苷和當藥苷，中草藥，第 36 卷第 6 期，2005 年 6 月，925-927。
33. 劉曉巍、姚麗娜、高鵬，三花龍膽中不同部位龍膽苦苷的含量測定，中小企業管理與科技，第 10 期，2008 年，253-253。
34. Yuan , T.L , CHEN, J.C. , Huang , F.J. , Fang J.B., Simultaneous Determination of Four Active Components in *Swertia* by RP-HPLC , 中國天然藥物，第 6 卷第 6 期，2008 年 11 月，444-448。
35. 林克勤、于雪瑩、王好友、馬志軍、王宏韜，東北龍膽地上部芒果苷定量測定，國土與自然資源研究，第 3 期，1994 年，79-80。
36. 江蔚新，三花龍膽和東北龍膽地上、地下器官中獐芽菜苦苷積累規律研究，中成藥，第 27 卷第 4 期，2005 年 4 月，459-461。

柒、圖、表



圖一、組培苗出瓶後定植於 72 格穴盤 (100 年 3 月 23 日)，並置於四周及上方覆以白色紗網之設施下栽培，第 54 天生長情況。



圖二、第 2 批 (100 年 4 月 6 日) 組培苗株出瓶後直接定植於土壤中，植區四周及上方覆以白色紗網之設施下栽培，第 42 天之生長情況。



圖三、組培苗出瓶後直接定植於田間簡易遮陰之設施，4 個龍膽營養系共定植 980 株，1 個月後存活率為 91.12%。圖為大陸-20 品系種植後第 45 天的生長情況。



圖四、組織培養苗株出瓶後先假植於 128 格穴盤，置於溫室馴化 1 個月後移至田間定植。4 個營養系共定植 996 株，1 個月後平均存活率為 89.9%。圖為營養品系 8-5 種植一個月之生長情形。



圖五、於溫室馴化 1 個月後移至田間簡易遮陰設施定植之龍膽苗株，定植後生長 126 天之植株情況。



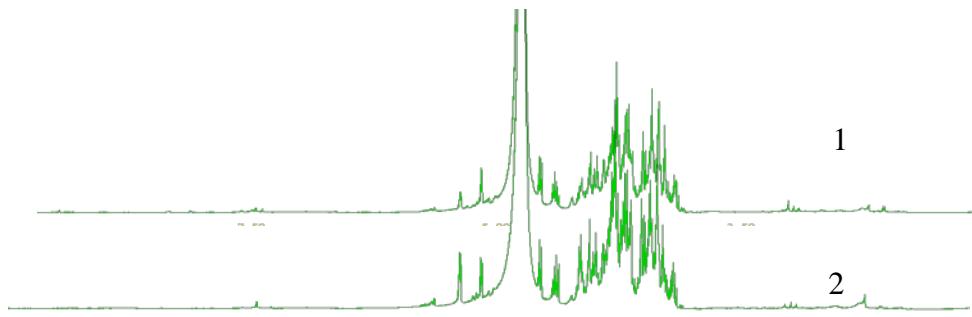
圖六、部份種植於田間之龍膽植株已有花蕾產生或開花之情形。



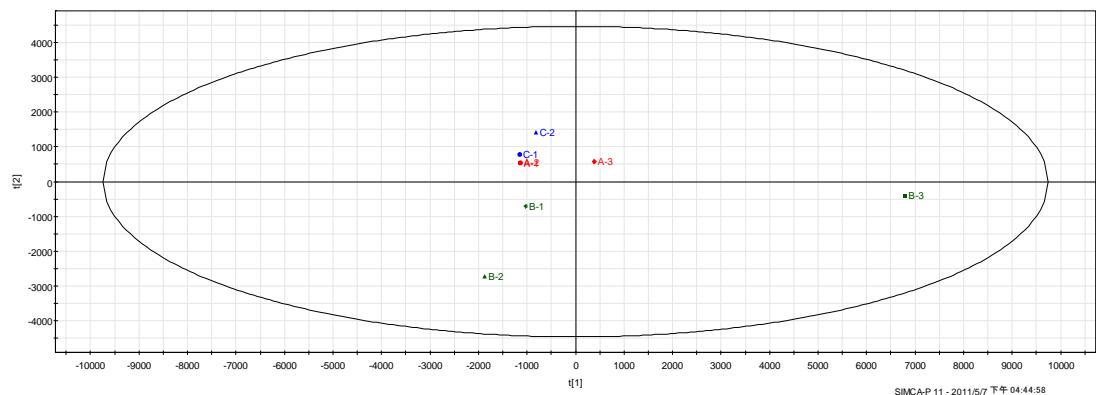
圖七、龍膽馴化苗（一個月）定植 6 個月後採收之藥材，整體採收量全株重約 1400 g，其中根部藥材鮮重約 900 g。



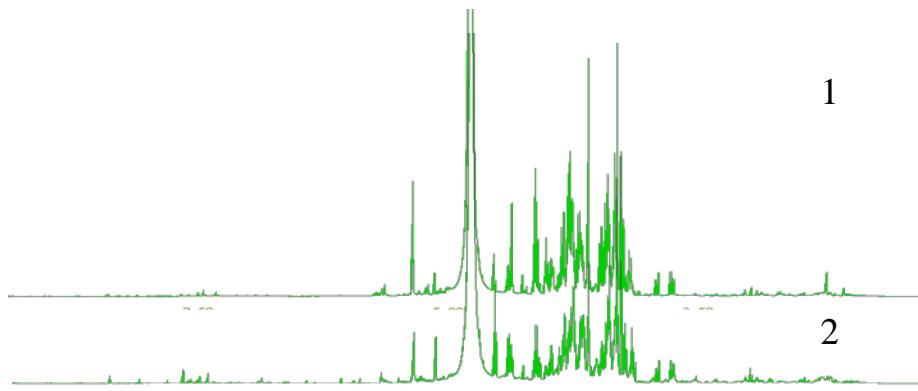
圖八、馴化苗定植 6 個月後採收之龍膽。平均根長可達 8-12 cm，根徑約 2-4 mm。



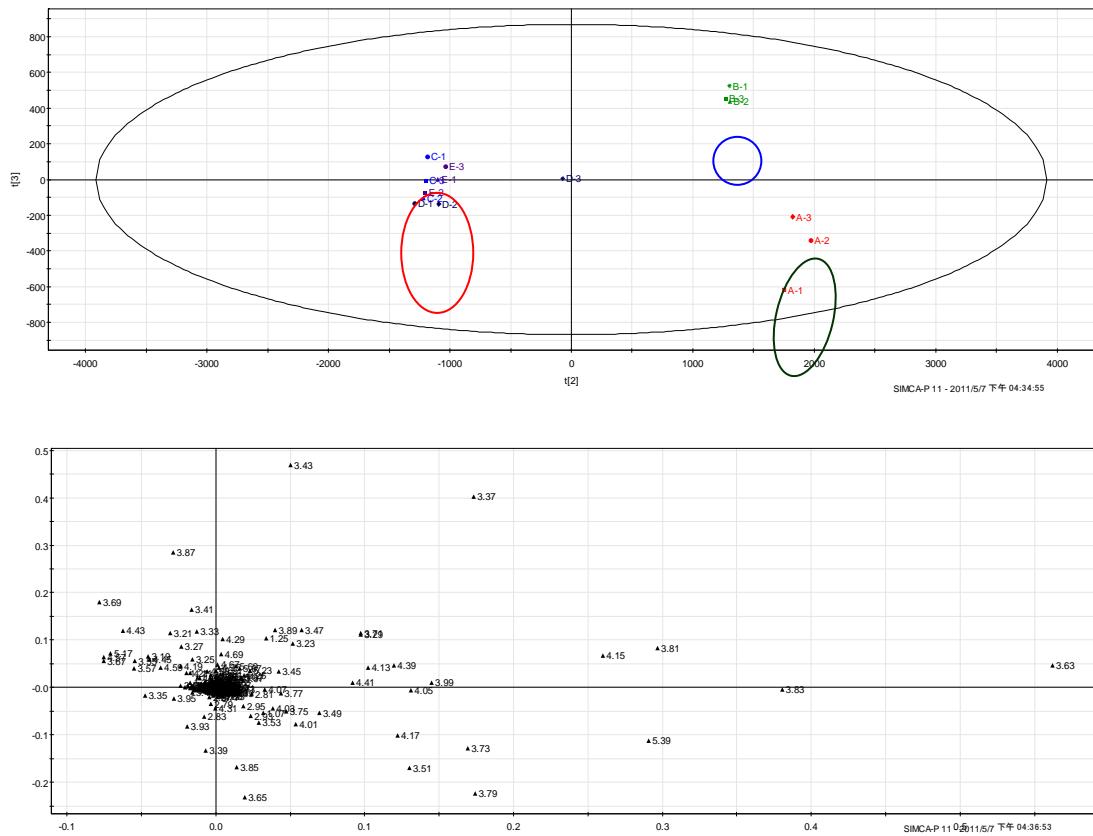
圖九、 ^1H -NMR 光譜圖，1 為進口龍膽市場品、2 為關龍膽藥材



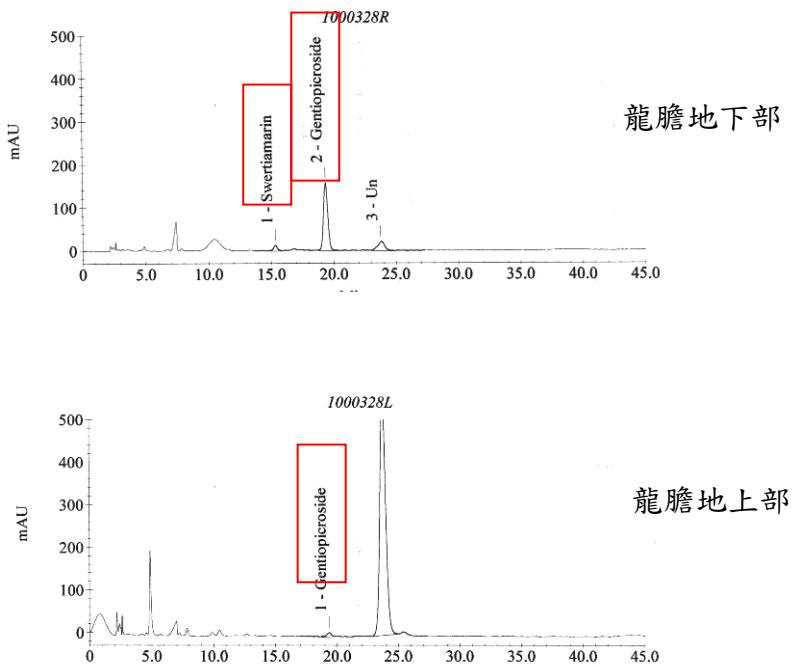
圖十、龍膽藥材與栽培苗之 PCA 標準落點圖分析。A 為進口龍膽市場品，
B 為種植 3 個月之龍膽地下部，C 為關龍膽藥材。



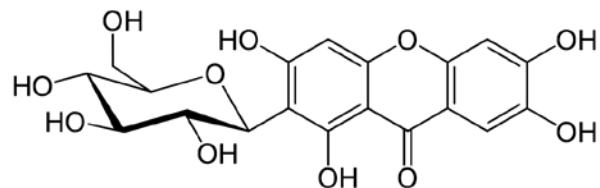
圖十一、 ^1H -NMR 光譜圖，1 為田間種植之龍膽地下部、2 為組培苗之龍膽植株



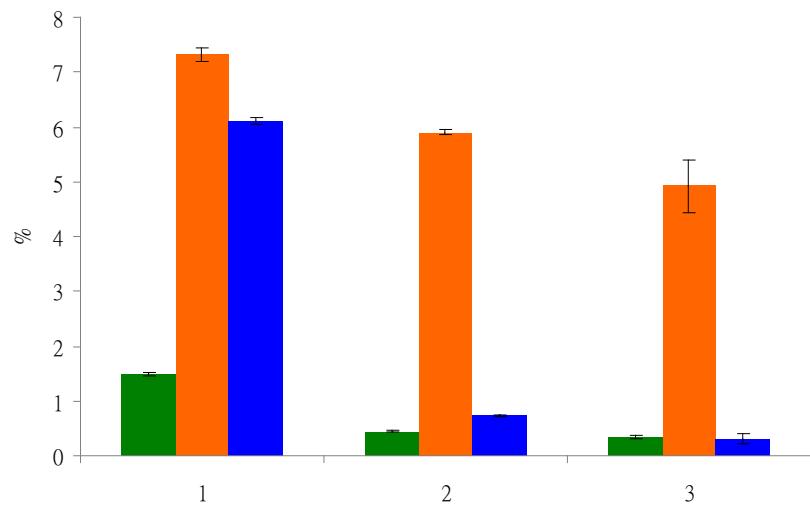
圖十二、圖 1. 田間種植之龍膽地下部與龍膽組培苗之 PCA 標準落點圖分析。A 為田間直接種植之龍膽地下部；B 為溫室馴化再田間種植之龍膽地下部；C, D, E 為龍膽組培苗。圖 2. 田間種植之龍膽地下部與龍膽組培苗之 PCA 分析之 Loading plot。圖中所顯示的數字為 NMR 光譜訊號之 Chemical shifts。



圖十三、田間種植六個月的龍膽藥材之地下部與地上部之主要成分 HPLC 分析。1 為 Swertiamarin、2 為 Gentiopicroside



圖十四、Magiferin 結構式



圖十五、龍膽藥材之主要成分比較。1 為龍膽組培苗；2 為定植六個月之龍膽地下根；3 為龍膽市場品。■為 Swertiamarin 、■為 Gentiopicroside 、 ■為 Magiferin 。

圖 A

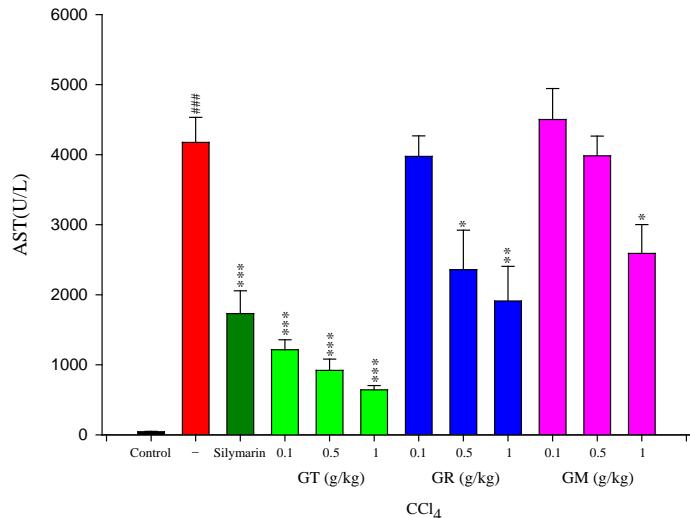
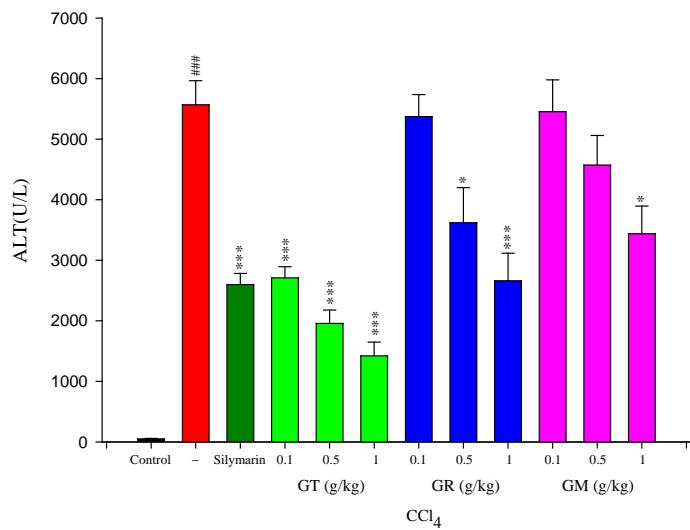


圖 B



圖十六、龍膽組培苗(GT)、臺灣種植定植六個月龍膽藥材地下部(GR)與中國進口之龍膽藥材(GM)在由四氯化碳所導致之小鼠急性肝損傷預防效果之比較。圖 A 血清中麴氨酸草乙酸轉氨酶(GOT)之測定；圖 B 血清中麴氨酸丙氨基轉氨酶(sGPT)之測定。Silymarin 為 Positive control, 每項數據為 10 隻小鼠實驗之平均值($mean \pm SE$ ($n=10$))。

Indicates significant difference from the Control group ($### P<0.001$).

* Indicates significant difference from the CCl_4 group ($*P<0.05$, $**P<0.01$, $***P<0.001$).

表一、田間及土耕溫室土壤植前金屬含量與農藥殘留含量報告

檢驗項目	田間土壤	土耕溫室土壤
	檢驗值(單位)	檢驗值(單位)
PH	6.9 (25.3°C)	6.8 (25.1°C)
鋁	11200 (mg/kg)	13500 (mg/kg)
砷	10.4 (mg/kg)	9.09 (mg/kg)
鐵	16500 (mg/kg)	18300 (mg/kg)
汞	0.506 (mg/kg)	0.512 (mg/kg)
錳	226 (mg/kg)	224 (mg/kg)
鎘	<0.33(0.10) (mg/kg)	ND<0.09 (mg/kg)
鉻	17.1 (mg/kg)	18.6 (mg/kg)
銅	13.5 (mg/kg)	17.8 (mg/kg)
鎳	13.1 (mg/kg)	13.7 (mg/kg)
鉛	20.5 (mg/kg)	24.5 (mg/kg)
鋅	63.2 (mg/kg)	78.6 (mg/kg)
毒殺芬	<0.100 (mg/kg)	<0.100 (mg/kg)
靈丹	<0.005 (mg/kg)	<0.005 (mg/kg)
飛佈達	<0.005 (mg/kg)	<0.005 (mg/kg)
阿特靈	<0.005 (mg/kg)	<0.005 (mg/kg)
α -安殺番	<0.005 (mg/kg)	<0.005 (mg/kg)
γ -可氯丹	<0.005 (mg/kg)	<0.005 (mg/kg)
α -可氯丹	<0.005 (mg/kg)	<0.005 (mg/kg)
4,4' -滴滴依	<0.005 (mg/kg)	<0.005 (mg/kg)
地特靈	<0.005 (mg/kg)	<0.005 (mg/kg)
2,4' -滴滴滴	<0.005 (mg/kg)	<0.005 (mg/kg)
安特靈	<0.005 (mg/kg)	<0.005 (mg/kg)
2,4' -滴滴涕	<0.005 (mg/kg)	<0.005 (mg/kg)
4,4' -滴滴滴	<0.005 (mg/kg)	<0.005 (mg/kg)
β -安殺番	<0.005 (mg/kg)	<0.005 (mg/kg)
4,4' -滴滴涕	<0.005 (mg/kg)	<0.005 (mg/kg)

表二、田間定植之龍膽苗株生育調查

調查日期	定植後生育天數	部位	平均單株鮮重 (g)	平均單株乾重 (g)	水分含量 (%)
100/6/10	31	地上部	1.050±0.348	0.188±0.061	84.83
		根部	0.252±0.105	0.048±0.020	84.11
100/7/12	63	地上部	1.746±0.810	0.390±0.179	81.73
		根部	0.352±0.126	0.082±0.031	81.13
100/8/10	92	地上部	2.731±1.850	0.488±0.328	84.85
		根部	0.907±0.564	0.152±0.089	85.65
100/9/13	126	地上部	3.417±2.110	0.734±0.521	82.32
		根部	1.104±0.748	0.217±0.133	83.59

表三、直接定植於土壤之龍膽苗株生育調查

調查日期	定植後生育天數	部位	平均單株鮮重 (g)	平均單株乾重 (g)	水分含量 (%)
100/8/10	63	地上部	0.887±0.317	0.122±0.042	84.85
		根部	0.169±0.135	0.017±0.008	85.65
100/9/13	97	地上部	0.932±0.368	0.141±0.060	86.83
		根部	0.118±0.044	0.018±0.007	87.06

表四、種植六個月之龍膽藥材地上部與地下部龍膽苦昔(Gentiopicroside)與當藥苦昔(Swertiamarin)含量比較

	Gentiopicroside	Swertiamarin
Above ground	0.24±0.07ppm	ND.
Under ground	4.01±0.12ppm	0.19±0.08ppm

中醫藥國際人才之培訓暨中醫藥國際交流 平台之建立(2-2)

張永勳¹、何玉鈴²、高駿彬³、洪于婷¹、高國倫¹

¹ 中國醫藥大學中國藥學暨中藥資源學系、²弘光科技大學護理系

³新生醫護管理專科學校護理科

摘要

衛生署中醫藥委員會有鑑於國際化之重要性，特將 2006 年訂為中醫藥國際化啟動年，積極推展中醫藥國際化事務，因此培訓國內中醫藥國際化人才工作更顯得刻不容緩。

本計畫架設國際交流平台網站，收集世界衛生組織(World Health Organization, WHO)日內瓦總部及 6 個分區辦事處 Regional office、世界衛生組織傳統醫學合作中心(WHO Collaborating Centers for Traditional Medicine)之地址、電話、傳真、網址、E-mail 等資訊以及 2009~2011 年全球各地舉辦之中醫藥或傳統醫學相關國際研討會資訊及網址，公告於 <http://mail.cmu.edu.tw/~yschang/index.htm> 網頁。

本計畫也於 100 年 3 月 26 日起至 5 月 28 日起週六、日，共 54 小時，18 單元，假中國醫藥大學開設以英文講授之中醫藥課程，鼓勵國內中醫藥學術界、產業界及中醫藥相關科系在學學生修習（包括博碩士班研究生），讓學員習慣於英文環境討論中醫藥內容。本研習班共邀請 12 名講員，其中 7 名為國外講員，5 名為國內講員，全程以英文講授中醫藥相關內容。

另本計畫於 100 年 9 月 24 日、25 日假臺北石牌國立中國醫藥研究所二樓講演廳舉辦二天之中醫藥國際化研討會，邀請來自美國，德國，韓國及香港國內外中醫藥專家學者，針對 16 個不同主題做報告。全部活動以英文進行，所安排主題除中醫藥相關內容外，也安排國際化相關內容，使學員有能力積極參與中醫藥國際事務，冀望能夠藉由本計畫之推動鼓勵國內中醫藥界人士，包括臨床醫師、教師及博碩士班研究生，多參與國際中醫藥學術會議，發表論文，提昇臺灣在國際傳統醫學領域之知名度。

關鍵詞：中醫藥國際化、人才培訓、中醫藥英文課程、研討會、國際交流平台

Internationalization Personnel Training Program in Traditional Chinese Medicine and Establishment of Platform for International Cooperation (2-2)

Yuan-Shiun Chang¹, Yu-Ling Ho³, Chun-Pin Kao⁴, Yu-Ting Hung¹,
Kuo-Lun Kao¹

¹Shool of Chinese Pharmaceutical Science and Chinese Medicine Resources
China Medical University

² Nursing Department, Hung Kung University

³Nursing Department, Hsin Sheng College of Medical Care and Management

ABSTRACT

Due to the importance of internationalization, the Committee on Chinese Medicine and Pharmacy (CCMP), Department of Health, Executive Yuan especially named 2006 as the 'Initiation Year of TCM Globalization.' To endeavor the pushing forward of TCM internationalization affairs, training TCM exchange personnel is a matter of urgency.

As part of this project, a website was set up as an international exchange platform. The address, telephone, fax number, website and e-mail of the World Health Organization's (WHO) headquarter in Geneva and 6 other regional offices, as well as WHO Collaborating Centers for Traditional Medicine were collected. Furthermore, information and websites on TCM/TM related international conferences and symposiums from 2008 to 2010 were promulgated in the website as follows: <http://mail.cmu.edu.tw/~yschang/index.htm>.

Since March 26th to May 28th 2011, 「English courses in traditional Chinese medicine」 had been held on Saturdays and Sundays at China Medical University. The total class time was 54 hours divided into 18 sessions. Although these courses were about TCM, they were fully conducted in English for the purpose of encouraging people in the TCM communities including academic staffs, industrial workers and students from related graduate and undergraduate programs to discuss Chinese medicine in an English environment. Seven foreign speakers and 5 domestic speakers were invited.

Furthermore, this project held a two day「International Symposium on Traditional Chinese Medicine」 at National Research Institute of Chinese Medicine on September 24th and 25th, 2011. We invited speakers not only from Taiwan but also from America,

Germany, Korea and Hong Kong to give lectures on sixteen different topics. This activity was fully conducted in English. Not only were there TCM related topics, internationalization related lectures were also arranged to encourage and prepare the attendants to participate in international TCM-related affairs.

It is anticipated that through this project, we would be able to encourage domestic citizens working in TCM fields, including clinical physicians, professors, as well as postgraduate and undergraduate students to get involved in global TCM conferences and publish papers. Hopefully, the role of Taiwan in the sphere of traditional medicine will be elevated at a global scale.

Keywords: Internationalization of TCM, Personnel training, English courses in TCM, Symposium, International exchange platform

壹、前言

世界衛生大會(WHA)是世界衛生組織(WHO) 191個會員國一年一度之聚會，我國自退出聯合國後，就一直未能參與，以致與國際醫藥界脫鉤，因此國內醫學界及民間團體，包括臺灣醫界聯盟(MPAT)及旅美熱心臺灣公共事務之人士，近 年來積極推動努力，這些成員絕大部分為西醫界之人士，國內中醫藥界過去對國際性交流較少涉及，而未能參與，但WHO近年來積極推動各國傳統醫學之發展與國內中醫藥之發展方向 不謀而合。

在世界衛生組織日前發布的新聞公報說80%的民眾使用傳統醫藥，因此我們非常需要及時地評估傳統醫藥的安全性、有效性以及質量標準。同時，這也是保護我們歷史遺產及傳統文化知識的一部分。我們必須開展傳統醫藥的規範化管理並將它納入國家醫療衛生體制之中。

世界衛生組織於2002年5月16日首次公布了《2002年至2005年世界衛生組織傳統醫藥及替代醫藥全球策略》【WHO Traditional Medicine Strategy 2002-2005】⁽¹⁻³⁾。主要內容包括：各國傳統醫藥回顧、傳統醫藥／替代醫藥將面臨的挑戰、WHO所起作用、傳統醫藥／替代醫藥的國際及國內組織、2002～2005年策略及行動計畫、傳統醫藥／替代醫藥在各國的法律地位等。該戰略的公布有助於各國開展對傳統醫藥及替代醫藥的規範化管理，使其更加安全可靠，能被更多的民眾獲得且其資源可持續利用。該書2002年公告時僅有英文版，2004年增加中文版，2005年底已有阿拉伯文及俄文版，可見其受重視之程度⁽⁴⁾。

WHO指出這一全球策略旨在發揮傳統醫藥在保障民眾健康方面的真正潛能，儘量減少其錯誤應用造成的風險。目前傳統醫藥全球醫藥市場年銷售額高達600億美元，且每年在不斷增高。最新研究發現，傳統醫藥不僅對慢性疾病的療效值得肯定，而且對治療感染性疾病呈現了獨特的療效。世界衛生組織希望其《2002年—2005年傳統醫藥及替代醫藥全球策略》的實施能達到如下目的：

- 一、鼓勵各國政府開展對傳統醫藥／替代醫藥的規範化管理並將其納入本國的國家衛生保健系統。
- 二、促進傳統醫藥／替代醫藥的安全性、有效性及質 量標準研究。
- 三、保證民眾對傳統醫藥／替代醫藥的可獲得性及費用的可承受性。
- 四、促進傳統醫藥／替代醫藥的合理使用。

臺灣大學公共衛生學院職業醫學暨工業衛生研究所詹長權教授以多年來參加國際事務之經驗，多次極力呼籲國內中醫藥界應積極培養中醫藥國際化之人才，以加強與各國傳統醫學界之交流。行政院衛生署中醫藥委員會有鑑於此，特別將中醫藥國際化之人才培訓再列為本年度研究計畫徵求

重點，積極培育這方面人才⁽⁵⁻⁹⁾。

國際東洋醫學會是國際上少數臺灣積極參與之國際組織，國際東洋醫學會(International Congress of Oriental Medicine)簡稱ICOM，以傳統東方醫學之研究發展為宗旨，大會本部設在韓國漢城市，成立於1976年。

國際東洋醫學會，雖名為東洋醫學(以別與西方醫學)，實在發揚中國傳統醫藥文化。成立至今已辦理過十二次大會，原則上定期每兩年舉行一次國際性學術大會，所研討及發表的論文，均以提昇中醫藥現代化為目標。我國自不能摒棄於此一國際性機構之外，因此自第一屆起，歷屆我國中醫藥專家學者均出席此一盛會並提出論文發表。

首屆大會於1976年10月28-30日(約14國，700人參加)在漢城舉行，揭橥其創會之目的在於研究發揚東洋醫學，並促進國際間對於傳統醫學之學術交流及資訊交換，更擴大傳統醫學之國際性發展，以增進人類健康。以後分別在第二屆韓國之慶州(1980年9月25-27日，12國，1200人參加)、第三屆瑞士之洛桑(Lausanne，1983年4月12-15日，17國，165人參加)、第四屆東京(1985年10月18日，20國，1141人參加)、第五屆漢城(1988年11月7-9日，17國，2000人參加)、第六屆京都(1990年10月19-21日，15國，600人參加)、第七屆中華民國台中市(1992年11月20-22日，14國，1356人參加)、第八屆漢城(1995年11月10-12日，28國，4500人參加)、第九屆拉斯維加(1998年7月24-26日，10國，600人參加)、第十屆東京(1999年4月27-28日，8國，2573人參加)、第十一屆漢城(2001年10月11-14日，15國，1200人參加)、第十二屆台北(2003年11月6-9日，10國，1500人參加)、第十三屆韓國大邱(2005年10月20-22日，15國，2000人參加)舉行^(10, 11)。

第七屆東洋醫學大會在臺灣台中市舉行，出席大會人數多達1356人，其中外國人中以日本292人最多，其次是韓國人44人，其他如大陸、美國、加拿大、俄羅斯、比利時、香港、德國、法國、菲律賓、馬來西亞、保加利亞、澳洲等亦均有人出席，國內杏林則有千餘人共襄盛舉。

第十二屆國際東洋醫學大會，再度由我國負責主辦，於2003年11月6-9日假台北榮民總醫院會議中心舉行，由國立中國醫藥研究所主辦，行政院衛生署中醫藥委員會也編列經費補助，共有多達1500人國際中醫藥界人士參加，共襄盛舉⁽¹⁰⁾。

2005年10月第十三屆在韓國舉辦時⁽¹¹⁾，更通過2007年第十四屆東洋醫學會將再度由我國負責主辦。第十四屆國際東洋醫學學術大會於2007年12月1日至4日假台北台大醫院國際會議中心盛大舉辦，由中國醫藥大學、衛生署中醫藥委員會及中醫師公會全國聯合會共同主辦，大會主題為「東洋醫學之全球化」，將總共有12個國家參加，將發表的302篇論文中，臺灣就占了187篇，高居首位，另有韓國62篇、日本19篇。大會同時安排5個專

題演講，33個邀請演講，105篇口頭發表，159篇 Poster 論文。哈佛大學醫學院Osher研究中心、美國國家衛生研究院(NIH)顧問、美國國家科學院委員Eisenberg. David M.教授，美國中醫雜誌(American Journal of Chinese Medicine)主編、美國芝加哥大學教授袁均蘇，民族藥雜誌 (Journal of Ethnopharmacology) 主編、荷蘭 Leiden 大學生理學系代謝學組教授 Verpoorte R.，Planta Medica雜誌主篇Luc Pieters，以及日韓多位著名的專家學者蒞會演講，超過2千人與會研討東洋醫學的發展。

目前國際東洋醫學會理事會十八位理事中，我國籍理事包括行政院衛生署中醫藥委員會林宜信主任委員、謝明村教授、顏焜熒教授及許照信教授、謝慶良教授等五位，陳介甫教授更獲聘為大會副會長，為世界性傳統醫學組織中，我國唯一有理事名額者，今後應更積極參加。

國際上西醫西藥之學會或團體很多，臺灣醫藥界也都積極參與。為培養未來國際醫藥交流人才，臺灣醫學生聯合會及臺灣藥學生聯合會過去數年即積極參與國際及亞太地區醫藥學生團體組織，學習國際交流經驗。

中華民國醫學生聯合會 (MSA-ROC)於民國七十七年由教育部核准成立，是全國第一個合法之跨校性全國學生組織。理事會理事由各醫學院醫學系會會長出任，臺大、陽明、北醫、國防、長庚、中國、中國中醫、中山、成大、高醫及慈濟之醫學院醫學系及中醫學系學生皆為醫聯會之成員⁽¹²⁾。

醫聯會也統籌國際間醫學生的交流活動。早在多年前，醫聯會已經成為亞洲醫學生聯合會(Asian Medical Students' Association)和東亞醫學生會議的會員國。民國84年，「醫聯會」以中華民國的名義，正式申請成為聯合國名下世界醫學聯盟 (International Federation of Medical Students' Association, IFMSA)的會員國，為「醫聯會」的國際化開啟了一扇大門。

世界醫學生聯盟International Federation of Medical Students' Association (IFMSA)成立於1951年，是一個獨立、非政治性、與聯合國系統有聯繫的非官方組織，由各國醫學生聯合會組成。目前IFMSA共有超過七十個會員國，遍佈世界五大洲。

世界醫學生大會General assembly (GA)是世界醫學生組織(IFMSA)一年兩度的重要集會。出席者包括來自全球五大洲八十幾個國家五百多位的醫學生代表，以及各國際組織（如世界衛生組織）的貴賓。GA的會期大約七到八天，大會開幕之前有為期三到四天的學術研討會(Pre-GA Workshop)，之後則有主辦國精心設計的會後旅遊(Post-Meeting Tour)，因此整個事件大約為期兩週。

中華民國醫學生聯合會經大力努力推動，爭取到世界醫學生年會 (IFMSA)於2002年7月26日至8月2日在臺北舉行，可說是我國非政府組織在

外交上一大突破，共有來自68個國家，五百多位醫學生與會，盛況空前。大會並在環亞飯店舉辦2天之傳統醫學論壇，由長庚大學中醫系及中國醫藥大學中醫系同學協助辦理，深獲好評。

國際藥學生聯會（International Pharmaceutical Students' Federation，簡稱IPSF）於1949年創立於英國倫敦，該會代表全世界超過90個國家近35萬人次藥學系學生。該會由國際藥學會（International Pharmaceutical Federation，簡稱FIP）積極支持成立⁽¹³⁾。

IPSF主要推動全世界藥學生之權益及國際間之合作交流，每年固定於八月間召開大會，約有超過200位來自全世界藥學生參加，IPSF也舉辦學生交流活動（Student Exchange Program，簡稱SEP），約有50個國家會員積極參與。

中華民國藥學生聯合會（Pharmaceutical Student Association of Republic of China，簡稱PSAROC）於2000年八月以非會員國身份加入IPSF，我國並於2000年起首度有學生代表出席該會，成功地推展了屬於藥學生之外交。2004年世界藥學生年會於新加坡舉行，我國也有多位學生代表參加，並特別宣導我國學生聯合會近一兩年協助衛生署推動之全國小學生正確用藥教育計畫，並作成中英對照手冊，達成國際宣導之目的。

IPSF下設各洲的區域辦公室(Regional Office)，我們臺灣在亞洲，屬於亞洲地區之辦公室，全名是（Asian Pacific Regional Office，簡稱APRO）。除IPSF外，APRO自2001年在新加坡舉辦第一屆年會後，第二屆由我國取得主辦權，於2002年7月4日至10日在台北臺灣大學舉辦，由中華民國藥學生聯合會主辦，台大藥學系系學會承辦，共有近100位國際藥學生參加，成功達成學生國民外交之任務，2003年因SARS停辦，2004年在泰國，2005年APRO年會將在日本舉辦。

衛生署中醫藥委員會特將2006年訂為中醫藥國際化啟動年，與衛生署國際合作處合作，委託中國醫藥大學張永勳教授辦理「非洲等開發中國家傳統醫藥(CAM/TM)人才培訓研習營計畫」，於2006年9月19日~10月2日舉辦「2006年國際傳統／替代醫藥專業訓練(2006 CAM/TM Professional Training Program)」，共有27位來自21個國家之友邦傳統醫藥管理之官員及學者，多經由各國衛生部推薦報名來台參訓。除友邦學員外，衛生署及TaiwanIHA也安排20位之國內各級衛生主管機關、中醫醫療單位與中草藥產業界及學術界之同仁或在校研究生代表參加，以促進彼此之交流機會。課程係由認識臺灣開始，逐步安排介紹國內醫藥進步現況，包括介紹我國醫政、藥政、食品衛生、防疫及健保之經驗，我國中醫藥之醫療、政策、研發與法規，同時說明我國GMP中藥廠之現況。研習期間也參觀長庚紀念醫院之中醫部及養生村、屏東基督教醫院、順天堂藥廠台中廠、港香蘭藥

廠等單位及國內風景區。本次訓練參訓學員均肯定主辦單位的精心安排，此次培訓不僅讓學員在傳統醫學領域專業上獲得提昇，也對臺灣傳統醫藥的發展與進步深感敬佩。此次專業訓練，為國內近年來由我國主辦，參加國家代表最多之國際傳統醫藥人員交流活動，藉由本次活動，期能增進我國與友邦合作互動關係，強化我國對友邦之醫療援助成果，推廣國際傳統醫藥事務，提升我國國際衛生形象，並建立更多與友邦衛生醫療合作交流機會。2007年起也將舉辦國際針灸班及國際中醫學程，因此中醫藥國際化人才培訓工作更顯得重要。

2008年9月15~19日行政院衛生署中醫藥委員會亦委託中國醫藥大學張永勳教授，邀請來自16個國家包括日本、韓國、菲律賓、新加坡、泰國、越南、馬來西亞、印尼、澳洲、孟加拉、法國、比利時、匈牙利、索羅門群島、斐濟、馬紹爾群島、吉里巴斯等19位APEC會員國之國家主管醫藥中高級主管官員及專家學者來臺參訪，舉辦為期一週之「2008國際傳統/替代醫藥(CAM/TM)專業訓練營」，並在訓練營結束後舉辦2天之「2008中醫藥國際化研討會」(圖一)。除國外專家學者外，本研討會也有近兩百餘位之位國內中醫藥界人士或在學學生參加，除外國學員及國內講員外，也邀請五位來自比利時、印尼、加拿大、韓國及美國之學者共同擔任講員，藉以與國外官員及專家學者進行交流⁽¹⁴⁾。

2010年6月22日至28日，舉辦「2010國際傳統/替代醫藥(CAM/TM)專業訓練營」，邀請亞太地區日本、韓國、汶萊、越南、新加坡、馬來西亞、印尼、泰國、澳洲共9個APEC國家，加上美國、德國共有11個國家，16名傳統醫藥相關主管官員及專家學者代表前來參加。培訓課程安排國內目前中醫藥教育及醫藥管理體制之外，並安排傳統中醫藥相關應用、政策、研發與法規、中醫藥全民健康保險等主題，另為配合課程之實務應用現況並安排傳統醫藥管理行政相關單位、中醫藥相關機關及產業等參訪活動。並於2011年6月26、27日兩日舉辦中醫藥國際化研討會，除邀請與會國外專家學者報告該國之傳統醫藥管理現況，也邀請國內學者專家就傳統醫藥相關主題進行報告。

本計畫主要之工作項目包括：收集國際傳統醫藥相關機構名單，整理過去曾來臺參加國際傳統／替代醫藥(CAM/TM)專業訓練營之外國，學員及講員聯絡方式，收集英文版中醫藥教材，開設54小時之中醫藥英文研習班，舉辦2天之英文中醫藥國際化研討會，及架設中醫藥國際化網站等，期對推動中醫藥國際化有所助益。

貳、材料與方法

一、收集國際傳統醫藥相關機構名單

(一)收集理由及目的：

國內中醫藥界過去較少參與國際傳統醫學組織及學會，在國內積極推動加入 WHO 之運動中，中醫藥界一直缺席，由於 WHO 倡導 2002 年至 2005 年傳統醫藥及替代醫藥全球策略，中醫藥界之角色顯得更為重要，這與本計畫在加強國際交流之過程，積極推動各國傳統醫學之發展與國內中醫藥之發展方向不謀而合。本計畫擬收集國際中醫藥團體機構資料，包括 WHO 世界衛生組織總部及各地區辦事處，及 WHO 在全世界各地成立之傳統醫學合作中心(WHO Collaborating Centers for Traditional Medicines)，國外部份相關傳統醫藥管理機構與社會團體(學會、協會)，中醫藥及傳統醫學教育機構及傳統醫學相關醫藥學術期刊雜誌之名單、地址及網站名稱，並比照世界衛生組織 WHO Collaborating Centers for Traditional Medicine 之設立方式，供日後國際合作交流之參考。

(二)收集方法：

查詢國內外相關期刊、雜誌、書籍，並已電腦 Google 系統以傳統醫藥、WHO 相關關鍵字查閱。搜尋國際傳統醫藥相關名單，供日後國際交流合作之參考。

二、整理過去曾來臺參加國際傳統／替代醫藥(CAM/TM)專業訓練營之外國學員及講員聯絡方式

本計畫整理提供 2011 年來台參加國際傳統／替代醫藥(CAM/TM)專業訓練營之外國學員及講員，與歷年中醫藥國際研討會之外國講員聯絡方式，供日後國際合作交流之參考。

三、收集英文版中醫藥教材

(一)收集理由及目的：

本計畫擬查詢收集國內外其他機構英文版之中醫藥書籍，作為教師編撰教材及學員學習之參考。乃未來中醫藥國際化做準備。

(二)收集方法：

查閱國際出版社之中文目錄，並以電腦 Google 系統以 Traditional Chinese Medicine, Chinese Medicine, Chinese Herbs, Acupuncture, Moxibustion 為關鍵字查閱，做為未來教師從事英文教材編鑽之參考。

四、開設中醫藥英文研習班

中國醫藥大學為推動國際化，要求每一系所每學期至少開設一門以英文授課之課程，配合本計畫之進行，除鼓勵中醫藥系所教師於正課內容以英文教授中醫藥課程外，自100年3月26日起至5月28日止利用週六、日上課，共18單元，54小時，邀請國內外學者專家以全程英文演講中醫藥相關主題，包括理論分享與經驗交流。鼓勵已修習中醫藥相關課程之中醫藥科系學生、博碩士研究生和相關科系之教授修習，讓學生習慣於英文環境討論中醫藥內容。授課全程以英文講授。每單元發給學員問卷調查表，針對「研習班項目評估」、「授課主題興趣程度」、「授課主題滿意程度」等三大項做意見調查。除了分析調查結果外，亦根據學員背景資料做統計，並彙整學員建議，以期作為下次研習班改進之參考。

五、舉辦中醫藥國際化研討會

為使中醫藥界、產官學界及其他學校中醫藥科系學生也能參與，本計畫於100年9月24、25日舉辦中醫藥國際化研討會，以期增加國內中醫藥相關領域之學生、博、碩士研究生和教授參與國際學術交流機會，研討會亦開放給業界人士參與中醫藥界專業人士報名（含中西醫師、藥廠研發人員、中藥商等等）。除邀請國際知名傳統醫藥之學者專家作特別演講外，亦將邀請國內主管醫藥之長官及學者專家針對我國之傳統醫藥現況加以分析與評論。會後發給學員問卷調查表，針對「研討會項目評估」、「授課主題興趣程度」、「授課主題滿意程度」等三大項做意見調查。除了分析調查結果外，亦根據學員背景資料做統計，並彙整學員建議，以期集思廣益，於下次相關研討會中精益求精。

六、積極參與國際中醫藥學術研討會

本計畫收集超過70筆2011年全球各地舉辦之中醫藥或傳統醫學相關國際研討會之資料，並在中醫藥國際化網站及中醫藥委員會公告。

七、架設中醫藥國際化網站

成立國際交流平台網頁，將上述收集資料與WHO及其所屬傳統醫藥合作中心、國際傳統醫學與相關機構組織、學會、教育機構及傳統醫學學術期刊等之名單、地址、網址及活動資料，上網張貼以方便搜尋資料。

參、結果

一、收集國際傳統醫藥相關機構名單

已收集世界衛生組織(World Health Organization, WHO)日內瓦總部及6個分區辦事處Regional office之地址、電話、傳真、網址、E-mail等資訊如表一。並收集世界衛生組織傳統醫學合作中心(WHO Collaborating Centers for Traditional Medicine)之資料，傳統醫學合作中心分布在世界11個國家，共20個傳統醫學合作中心（加納植物藥研究中心、馬達加斯加國家藥物應用研究中心、馬里國家藥物研究所、美國衛生與人類服務部國立衛生研究院補充與替代醫學中心、美國芝加哥伊利諾斯大學藥學院、蘇丹醫學研究委員會傳統醫學研究所、義大利米蘭大學生物氣候學、生物工藝學與自然醫學研究中心、朝鮮傳統醫學研究院、中國中醫研究院中藥研究所、中國中醫研究院臨床醫學與資訊研究所、中國中醫研究院針灸研究所、中國醫學科學院藥用植物研究所、中國南京中醫藥大學、中國上海醫科大學針刺原理研究所、中國上海中醫藥大學、韓國慶熙大學東西醫學研究所、韓國漢城大學天然物科學研究所、日本富山醫科藥科大學傳統醫學學部、日本北裏研究所東方醫學研究中心、越南傳統醫學研究所）之地址、電話、傳真、網址、E-mail等資訊如附錄一。

二、整理過去曾來臺參加國際傳統／替代醫藥(CAM/TM)專業訓練營之外國學員及講員聯絡方式

表一、世界衛生組織(World Health Organization, WHO)日內瓦總部及6個分區辦事處聯絡資料

世界衛生組織日內瓦總部及6個分區辦事處聯絡資料				
名稱	世界衛生組織日內瓦總部	WHO 西太平洋地區辦事處	WHO 東地中海地區辦事處	WHO 美洲地區辦事處/泛美衛生組織
全名	WHO Health Organization Headquarters	Regional Office for the Western Pacific (WPRO)	Regional Office for the Eastern Mediterranean (EMRO)	Regional Office for the Americas (AMRO) Pan American Health Organization (PAHO)
地址	Avenue Appia 20 1211 Geneva 27, Switzerland	P.O. Box 2932 1000 Manila, Philippines	WHO Post Office Abdul Razzak Al Sanhouri Street Nasr City, Cairo 11371 Egypt	525, 23rd Street, N.W. Washington, DC 20037 USA
電話	41-22-791-2111	63-2-528-8001	20-2-670-2535	1-202-974-3000
傳真	41-22-791-3111	63-2-521-1036	20-2-670-2492	1-202-974-3663
網址	http://www.who.int	http://www.wpro.who.int	http://www.emro.who.int	http://www.paho.org
E-mail	info@who.int	Postmaster@who.org.ph	PIO@emro.who.int	postmaster@paho.org

名稱	WHO 東南亞地區辦事處	WHO 歐洲地區辦事處	WHO 非洲地區辦事處	
全名	Regional Office for South-East Asia (SEARO)	Regional Office for Europe (EURO)	Regional Office for Africa (AFRO)	
地址	World Health House Indraprastha Estate Mahatma Gandhi Road New Delhi 110002 India	Scherfigsvej DK-2100 Copenhagen Ø, Denmark	Cite du Djoue P.O. Box 06 Brazzaville, Congo	
電話	91-11-337-0804	45-37-171-717	1-321-95 39 100/242-83 91 00	
傳真	91-11-337-9507	45-39-171-818	1-321-95 39 1503/242-83-95 03	
網址	http://www.whosea.org	http://www.who.dk	http://www.afro.who.int	
E-mail	PANDEYH@whosea.org	fap@who.dk	regafro@afro.who.int	

三、收集英文版中醫藥教材

本計畫收集國內外英文中醫藥相關書籍名單共 190 冊，國外傳統醫藥相關醫學藥學期刊共 60 種，如附錄二、三，提供作為教師編撰教材及學員學習之參考。

四、開設中醫藥英文研習班

本次研習班，共有國內 271 位學員報名參加，其中具博士學位者 31 名，碩士學位者 50 名（學歷分析如表二），除本校師生外，也有許多校外中醫藥界人士參加（經歷分析如表三），每單元平均人 數約72 人。研習班課程內容如表五將於全部課程結束後依實際出席時數發予出席證書（如圖七）。

表二、報名中醫藥英文研習班學員之學歷分析

學歷	博士	碩士	學士	其它	合計
人數	31 人	50 人	163 人	27 人	271 人

表三、報名中醫藥英文研習班學員之經歷分析

教職	中醫藥界	產業界	學生			其他	合計		
			博士生	碩士生	大學生				
48 人	34 人	20 人	18 人	28 人	85 人	38 人	271 人		
			131 人						



圖一、中醫藥英文研習班研習證書

表四、中醫藥英文研習班之課程表

場次	日期/星期	時間/地點	講題	講師
1	03/26	六 09:00 ~ 12:00 立夫教學大樓 205	Global Trends in Concentrated Extracts 科學中藥的全球趨勢	Mr. Eric Brand Director of Herbal Medicine and Publications at Blue Poppy Enterprises
2	03/26	六 13:30 ~ 16:30 立夫教學大樓 205	Emerging Standards in the Western World of Chinese Medicine 西方國家的中藥新興標準	Mr. Eric Brand Director of Herbal Medicine and Publications at Blue Poppy Enterprises
3	04/09	六 09:00 ~ 12:00 立夫教學大樓 103	Common Uses of Uncommon Herbs and Uncommon Uses of Common Herbs 常用罕見草藥 v.s. 罕用常見草藥	Mr. Andrew Ellis Chinese Medicine Practitioner
4	04/09	六 13:30 ~ 16:30 立夫教學大樓 103	Treatment of Sinew Damage in Chinese Medicine 筋傷的中醫療法	Mr. Andrew Ellis Chinese Medicine Practitioner
5	04/23	六 09:00 ~ 12:00 立夫教學大樓 101	The Wisdom of TCM : Man, Nature & Health 中醫藥的智慧	關超然 教授兼主任 中國醫藥大學 教師培育暨發展中心
6	04/23	六 13:30 ~ 16:30 立夫教學大樓 101	Evaluation of Herbal Medicine on Cardiovascular Diseases 中草藥在心血管方面之應用	吳介信 教授兼主任 中國醫藥大學 藥學系

場次	日期/星期	時間/地點	講題	講師
7	04/30	六 09:00 ~ 12:00 立夫教學大樓 103	How to Write a Scientific Paper 如何撰寫學術論文	陳昭鈴 教授 密西根州立大學
8	04/30	六 13:30 ~ 16:30 立夫教學大樓 103	Introduction to Biotechnology 生物科技簡介	徐媛曼 副教授 中國醫藥大學 生物科技學系
9	05/07	六 09:00 ~ 12:00 立夫教學大樓 102	The Current State of Chinese Medicine in the US 美國中醫現況	Mr. Gabriel Fuentes (馮嘉寶) 中國醫藥大學 中醫學系
10	05/07	六 13:30 ~ 16:30 立夫教學大樓 102	The Life of Diatoms in the World's Oceans 全球海洋之矽藻生命形態	Mr. John Perez 中興大學 生物科技
11	05/14	六 09:00 ~ 12:00 立夫教學大樓 103	Translation of the Jingui Yaolue 金匱要略之英譯	Dr. Nigel Wiseman (魏迺杰) 長庚大學 中醫學系
12	05/14	六 13:30 ~ 16:30 立夫教學大樓 103	Debate of the Future of Chinese Medicine 論中醫藥之未來	Dr. Nigel Wiseman (魏迺杰) 長庚大學 中醫學系
13	05/15	日 09:00 ~ 12:00 立夫教學大樓 103	Edit Your Scientific Paper 學術論文編輯實務	陳昭鈴 教授 密西根州立大學
14	05/15	日 13:30 ~ 16:30 立夫教學大樓 103	The Application of PBL in TCM Education PBL 在中醫藥教育之應用	關超然 教授兼主任 中國醫藥大學 教師培育暨發展中心
15	05/21	六 09:00 ~ 12:00 立夫教學大樓 103	Culpeper, Cook, and Thomson vs. Zhang Jie-bin and Li Shi-zhen: A Comparison of Traditional Western Herbal Medicine with Chinese Medicine 西方草藥與中國草藥之比較	Mr. Thomas Garran Co-founder of the Sylvan Institute of Botanical Medicine
16	05/21	六 13:30 ~ 16:30 立夫教學大樓 103	Integrating Plants into Chinese Medicine from Outside China: A Methodology 如何將外來植物融入中醫藥	Mr. Thomas Garran Co-founder of the Sylvan Institute of Botanical Medicine
17	05/28	六 09:00 ~ 12:00 立夫教學大樓 103	Education of Chinese Medicine in Different Countries 各國中醫教育概述	Dr. Peter Mayer (馬培德) 中國醫藥大學 中醫學系

場次	日期/星期	時間/地點	講題	講師
18	05/28	六 14:00 ~ 17:00 立夫教學大樓 103	TCM Medical Training and Clinical Research in North Taiwan 北臺灣中醫藥訓練與臨床研究	許中華 醫師兼醫務長 臺北市立聯合醫院 中醫院區

表五、中醫藥英文研習班國內、外講員資料表

	姓名	單位
1	Director Eric Brand	Herbal Medicine and Publications at Blue Poppy Enterprises
2	Dr. Andrew Ellis	Chinese Medicine Practitioner
3	關超然 教授兼主任	中國醫藥大學 教師培育暨發展中心
4	吳介信 教授兼主任	中國醫藥大學 藥學系
5	陳昭鈴 教授	美國密西根州立大學
6	徐媛曼 副教授	中國醫藥大學 生物科技學系
7	馮嘉寶(Gabriel Fuentes)講師	中國醫藥大學 中醫學系
8	Dr. John Perez	中興大學 生物科技
9	魏迺杰(Nigel Wiseman)醫師	長庚大學 中醫學系
10	Mr. Thomas Garran	Co-founder of the Sylvan Institute of Botanical Medicine
11	馬培德(Peter Mayer)醫師	中國醫藥大學 中醫學系
12	許中華 醫師兼醫務長	臺北市立聯合醫院 中醫院區

每次單元結束前，藉問卷進行學員滿意度評估，共回收問卷227份。

(一)本研討會係採用結構式問卷，問卷內容主要包括以下四部份：

- 個人基本資料，如：年齡、性別、教育程度、職業身份、由何處得知消息等。
- 學員對本研習班之滿意度

評估項目包括：英文演講內容難易度、英文演講內容符合學員

需求、演講內容對自己從事的業務有實質幫助、研討會整體授課情形、上課場地…等。此部份，係採李克特尺度(Likert scale)五等級量表，對各評估項目之滿意程度進行評估，由 5 分到 1 分，分別代表非常滿意、滿意、沒意見、不滿意及非常不滿意。

3. 學員對演講內容的興趣程度

評估項目包括本研討會各演講主題，亦採李克特尺度(Likert scale)五等級量表，對各評估項目之滿意程度進行評估，由 5 分到 1 分，分別代表非常滿意、滿意、沒意見、不滿意及非常不滿意。

4. 學員對演講情形的滿意程度

評估項目包括本研討會各主題之演講情形，亦採李克特尺度(Likert scale)五等級量表，對各評估項目之滿意程度進行評估，由 5 分到 1 分，分別代表非常滿意、滿意、沒意見、不滿意及非常不滿意。

(二) 結果

1. 基本資料分析：

參加本研討會以在學學生為主，佔 44.2%。其得知本研討會消息之來源以大會通知為主，分別佔 33.6%。

2. 評估項目分析：

大多數參加學員認為英文演講內容符合需求（佔 88.1%），認為對自己未來有所助益（佔 89.4%），並且認為演講內容可提升自己英文能力（佔 91.1%），至於對整體授課情形則有 90.8% 感到滿意。

3. 對演講內容興趣程度分析：

就演講內容而言，大約有 80~90% 的學員表示滿意，大多數學員對於中醫藥英文班課程內容表示感到滿意。

4. 對演講情形滿意程度分析：

就演講情形而言，亦有超過 90% 的學員表示滿意，大多數學員對於授課講員表示感到滿意。藉由這些英文研習班系列課程之舉辦，可以提升參與學員的中醫藥英文程度，培養更多具有國際觀的中醫藥界人才。

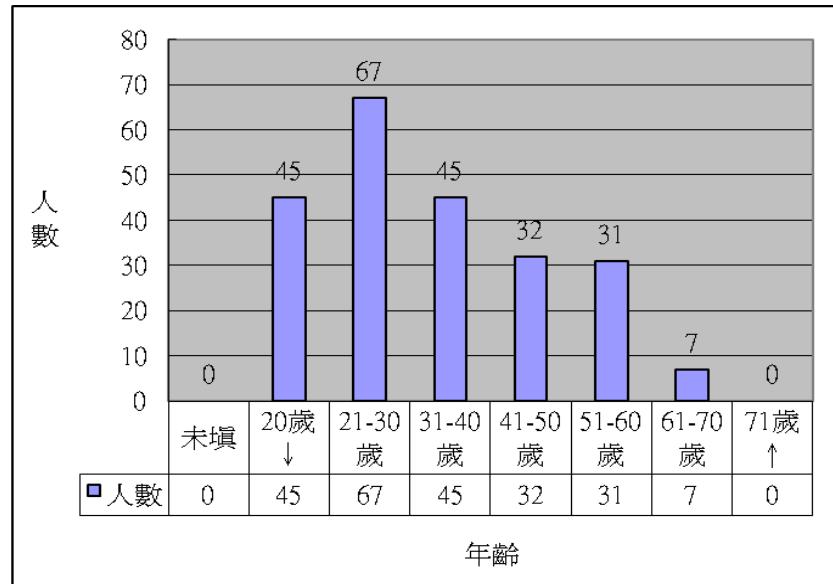
2011 年中醫藥英文研習班

English Courses in Traditional Chinese Medicine 滿意度調查

★本問卷發出 271 份，回收 227 份，回收率 83%

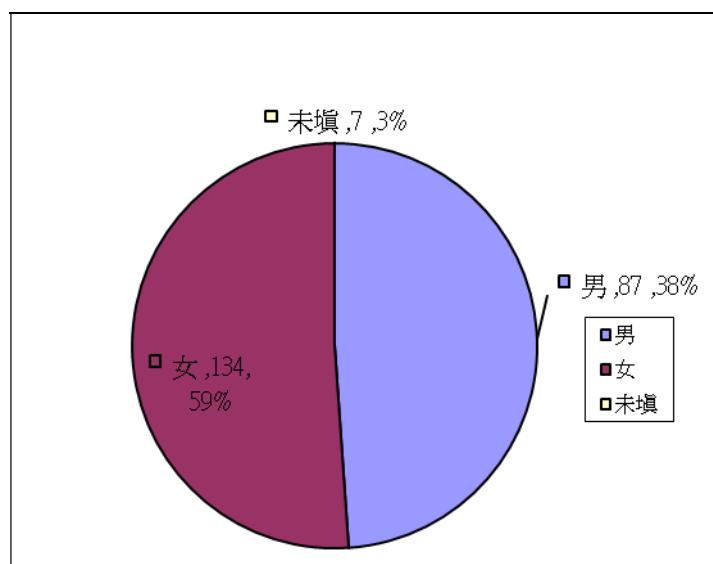
基本資料

1. 年齡



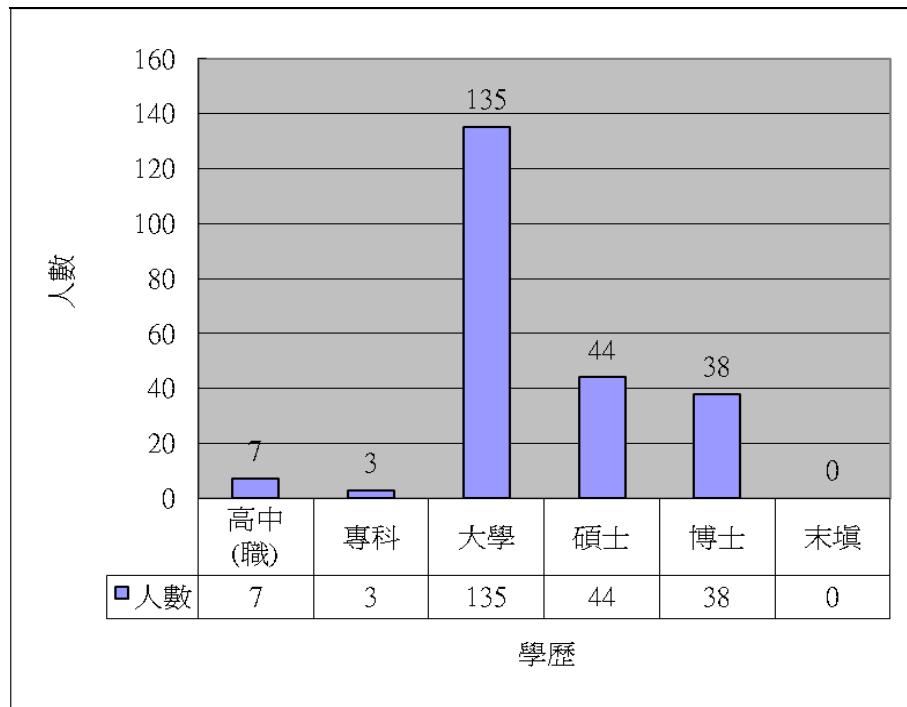
說明：本研習班主要以 21~30 歲的學員為主，佔全部學員之 29.4%，
其次為 20 歲以下的 19.7%。

2. 性別



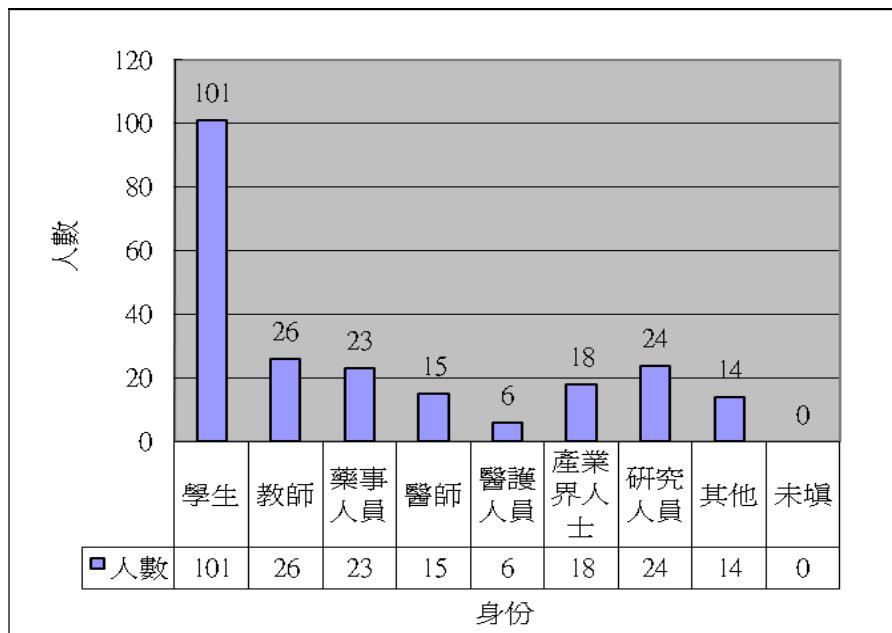
說明：參加學員主要以女性為主，佔 59%，而男性佔 38%，未填者佔 3%。

3. 學歷



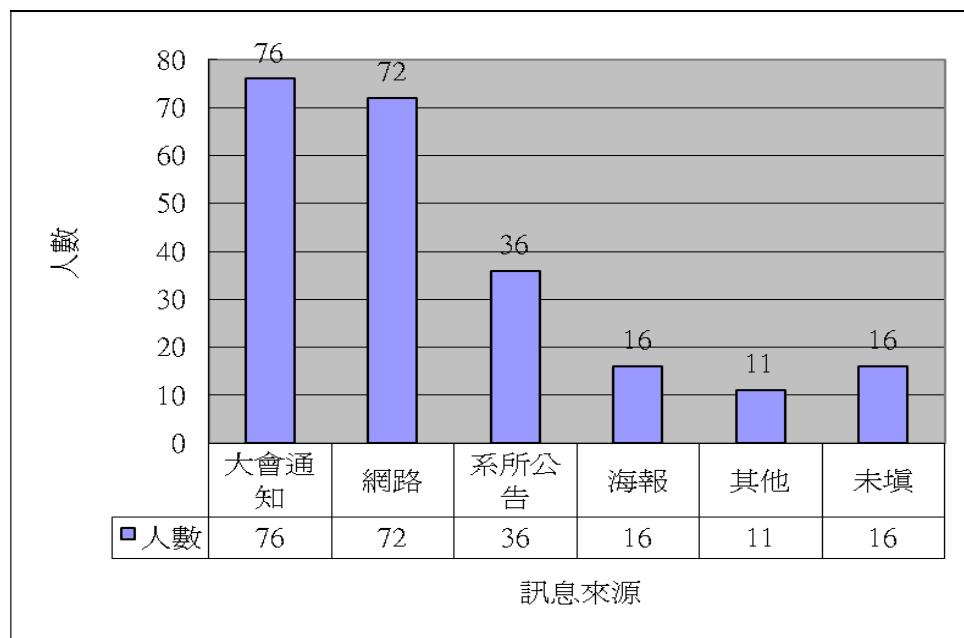
說明：學員之學歷以大學程度佔最多，達 59.2%，另外碩士以上程度達 36%。

4. 身份



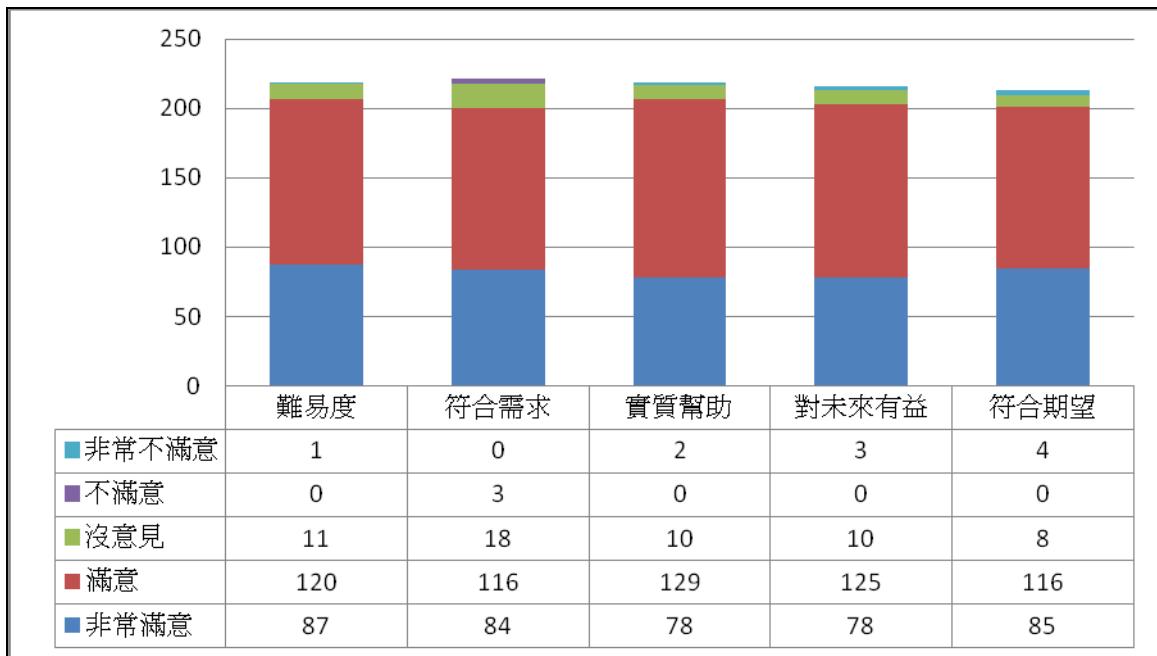
說明：本次研習班參加者以學生為最多數，佔全體的 44.2%。

5. 訊息來源



說明：學員得知本研習班之訊息，以大會通知為主，佔 33.6%。其次為網路，佔 31.8%。

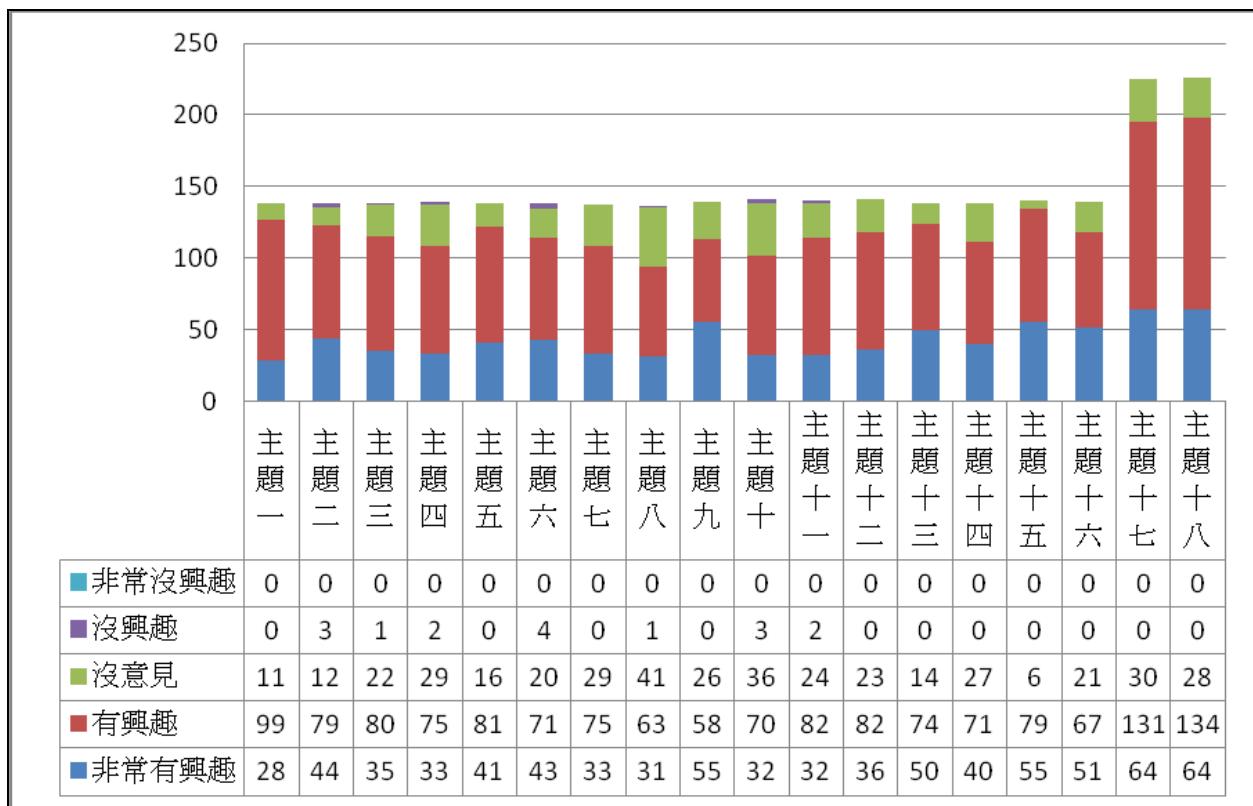
研習班課程滿意程度



以下為學員對本研習課程滿意度之百分比例：

評估項目	非常 滿意	%	滿意	%	非常滿意 + 滿意百分比	沒意見	%	不滿 意	%	非常 不滿意	%
難易度	87	38.3	120	52.8	91.19	11	4.8	0	0.0	1	0.4
符合需求	84	37.0	116	51.1	88.11	18	7.9	3	1.3	0	0.0
實質幫助	78	34.3	129	56.8	91.19	10	4.4	0	0.0	2	0.8
對未來有益	78	34.3	125	55.0	89.43	10	4.4	0	0.0	3	1.3
符合期望	85	37.4	116	51.1	88.55	8	3.5	0	0.0	4	1.7

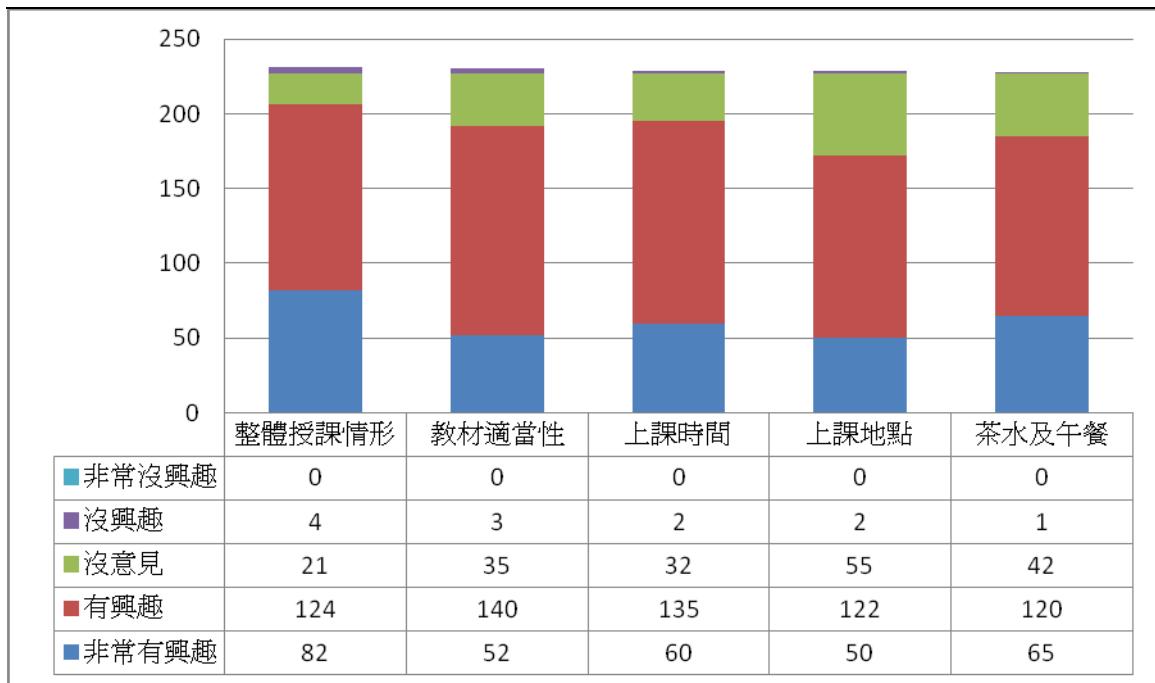
授課主題興趣程度



以下為學員對研習班授課主題興趣程度：

演講主題	非常 有興趣	%	有興趣	%	非常有興趣+ 有興趣百分比	沒意見	%	沒興趣	%	非常 沒興趣	%
主題一	47	20.7	156	68.7	89.4	19	8.3	0	0.0	0	0.0
主題二	69	30.4	130	57.2	87.6	19	8.3	4	1.7	0	0.0
主題三	53	23.3	131	57.7	81.0	36	15.8	1	0.4	0	0.0
主題四	53	23.3	123	54.1	77.5	44	19.3	3	1.3	0	0.0
主題五	66	29.0	132	58.1	87.2	24	10.5	0	0.0	0	0.0
主題六	66	29.0	115	50.6	79.7	34	14.9	5	2.2	0	0.0
主題七	50	22.0	118	51.9	74.0	52	22.9	0	0.0	0	0.0
主題八	48	21.5	105	59.9	81.5	62	15.8	2	1.3	0	0.0
主題九	87	38.3	98	43.1	81.5	39	17.1	0	0.0	0	0.0
主題十	48	21.1	114	50.2	71.3	61	26.8	4	1.7	0	0.0
主題十一	49	21.5	136	59.9	81.5	36	15.8	3	1.3	0	0.0
主題十二	57	25.1	134	59.0	84.1	36	15.8	0	0.0	0	0.0
主題十三	76	33.4	124	54.6	88.1	22	9.6	0	0.0	0	0.0
主題十四	61	26.8	114	50.2	77.1	46	20.2	0	0.0	0	0.0
主題十五	95	41.8	79	34.8	76.6	11	4.8	0	0.0	0	0.0
主題十六	80	35.2	106	46.7	81.9	38	16.7	0	0.0	0	0.0
主題十七	64	28.1	131	57.7	85.9	30	13.2	0	0.0	0	0.0
主題十八	64	28.1	134	59.0	87.2	28	12.3	0	0.0	0	0.0

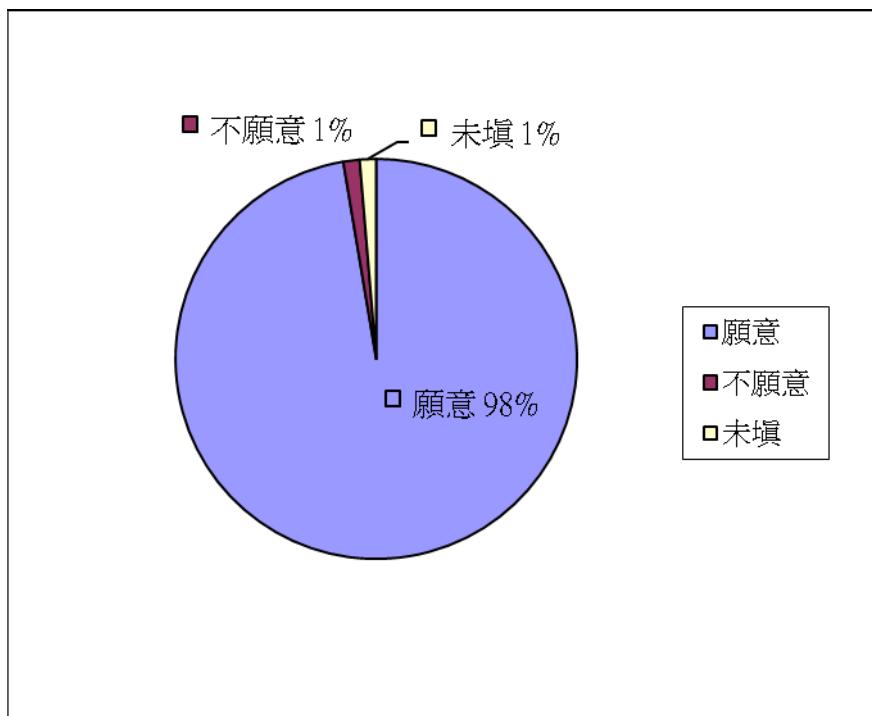
研習班項目評估



以下為學員對本研習班評估項目之百分比例：

滿意度	非常 有興趣	%	有興 趣	%	非常有興趣+ 有興趣百分比	沒意見	%	沒興 趣	%	非常 沒興趣	%
整體授課情形	82	36.1	124	54.6	90.75	21	9.2	4	1.7	0	0.0
教材適當性	52	22.9	140	61.6	84.58	35	15.4	3	1.3	0	0.0
上課時間	60	26.4	135	59.4	85.90	32	14.1	2	0.8	0	0.0
上課地點	50	22.0	122	53.7	75.77	55	24.2	2	0.8	0	0.0
茶水及午餐	65	28.6	120	52.8	81.50	42	18.5	1	0.4	0	0.0

類似活動的參加意願



說明：全體學員願意再參加英文研習班佔 98%，未填佔 1%。

五、舉辦中醫藥國際化研討會

(一) 舉辦英文中醫藥國際化研討會

1. 研討會內容

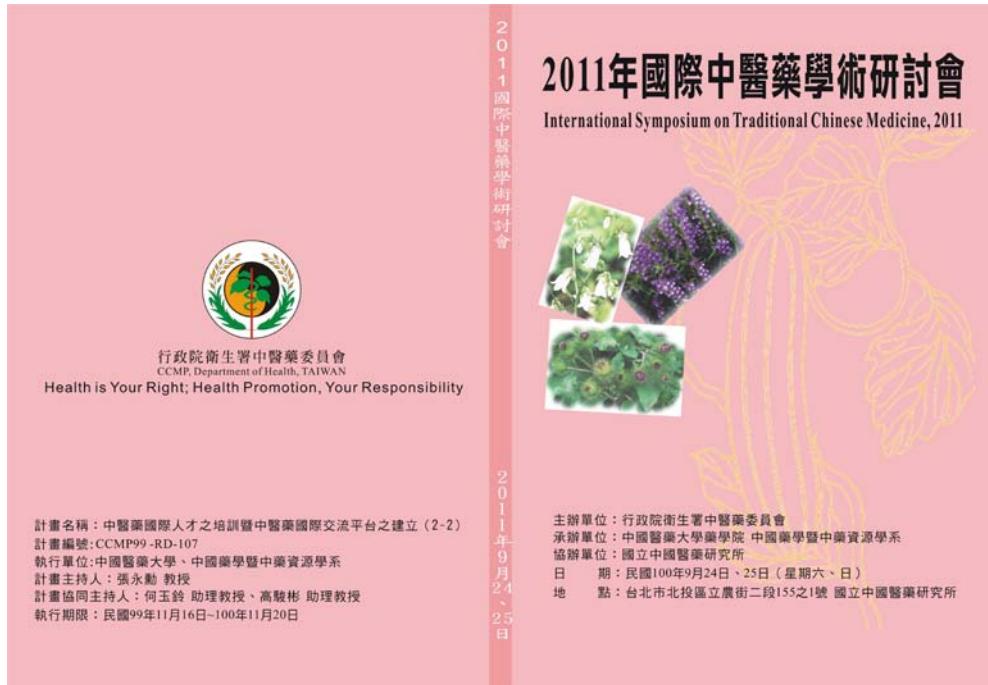
中醫藥國際化研討會於 100 年 9 月 24、25 日（週六、日）假臺北市石牌國立中國醫藥研究所演講廳舉行，研討會全程以英文進行，共有大專院校教師、研究人員、博、碩士班研究生、中醫師、藥師、生技廠及大學部學生等共 222 人報名。行政院衛生署中醫藥委員會黃林煌主任委員、行政院衛生署中醫藥委員會林育娟高級研究員、行政院衛生署中醫藥委員會劉舜華技佐、台大醫學院生化暨分生所林榮耀院士、韓國韓醫學研究院崔昇勳院長、明道大學陳世雄校長、韓國首爾大學藥學院金鎮雄教授、澳洲雪梨大學中醫藥學系及西雪梨大學健康科學系陳金泉教授、香港科技大學中藥研發中心詹華強教授、中國醫藥大學中醫研究所林昭庚教授、中研院農業生物中心楊寧蓀特聘研究員、朝陽科技大學理工學院蔡新聲院長、臺北醫學大學張武修國際事務長、長庚紀念醫院中醫分院張恒鴻副院長、臺灣順天堂藥廠股份有限公司沈重光副董事長、等多位貴賓皆親臨指導，使研討會順利進行。

本研討會除國內講員外，也邀請來自澳洲、韓國、香港、美國、德國等傳統醫藥專家，全程以英文進行，分別就 16 個不同主題（臺灣之中醫藥政策與成果 The Policy and Achievement of TCM in Taiwan、傳統中醫藥之實證 Evidence Based Traditional Chinese Medicine、從臺灣看 21 世紀中醫藥事業之前景與挑戰 Prospects and Challenges of Chinese Medicine in the 21st Century、國際網路化資訊平臺對現代中藥研發之重要性 The Importance of International Internet Network in the Development of TCM、基因轉殖和基因體學之抗炎與抗癌研究 Transgenic and Omics Approaches for Studying Antiinflammation and Anticancer Phytocompounds、當歸補血湯：李東垣的補土名方 Danggui Buxue Tang (A Chinese *Angelica* Decoction): A Sample Trial in Traditional Chinese Medicine Standardization、全球中草藥標準化與協和化 Globalization of Chinese Herbal Medicine Standardization and Harmonization、韓藥之品質管制 Quality Control of the Traditional Medicine in Korea、中草藥健康食品開發：從實驗室到市場之路、Herb-based Functional Foods: from Laboratory to The Market、韓醫發展之現況 Development of Traditional Korean Medicine、臺灣醫療事業在全球的角色及義務 The Global Roles and Obligations in Medical Industry of Taiwan、中藥不良反應之報告與評估 Report and Evaluation of Adverse Reaction for Herbal Medicine、中藥品質管制 Quality Control of TCM Herbs and Herbal Preparations、中草藥有機栽培原理 Organic Cultivation for Medicinal Herbs、歐洲中醫藥簡介 Chinese Medicine in Europe、北美傳統醫藥概況 The Current Status of Chinese Medicine in the U.S）給予經驗分享與寶貴意見（議程表如表六）。

本次研討會除邀請國內外中醫藥界專家學者，提出個人對中醫藥專長部份外，亦有數位國外學員報名參加，使參與此活動的國內學員，能夠以英文交流不同意見和看法。研討會議程結束後依實際出席時數發予由行政院衛生署中醫藥委員會黃林煌主任委員與計畫主持人張永勳教授共同具名之出席證書（如圖十一）。第一天報到簽到時發予研討會論文集（如圖十二），便於聽講與研習。



圖二、國際中醫藥學術研討會出席證書



圖三、國際中醫藥學術研討會論文集

表六、國際中醫藥學術研討會之議程

International Symposium on Traditional Chinese Medicine, 2011

2011 年國際中醫藥學術研討會

日 期：民國一〇〇年九月二十四日、二十五日（星期六、日）

地 點：臺北市北投區立農街二段 155 之 1 號 國立中國醫藥研究所二樓會議室

主辦單位：行政院衛生署中醫藥委員會

承辦單位：中國醫藥大學 藥學院 中國藥學暨中藥資源學系

協辦單位：國立中國醫藥研究所

第一天 (09/24) (星期六)

時 間	內 容	講 員
08:30 ~ 09:00	報到 (Registration)	
09:00 ~ 09:20	開幕式 Opening Ceremony	黃榮村 (Jong-Tsun Huang)校長 中國醫藥大學 黃林煌 (Lin-Huang Huang)主任委員 行政院衛生署中醫藥委員會 黃怡超 (Yi-Tsau Huang)所長 國立中國醫藥研究所
主持人：黃怡超所長		
09:20 ~ 09:50	臺灣之中醫藥政策與成果 The Policy and Achievement of TCM in Taiwan	黃林煌 (Lin-Huang Huang)主任委員 林育娟 (Yu-Chuan Lin)高級研究員 行政院衛生署中醫藥委員會
09:50 ~ 10:40	傳統中醫藥之實證 Evidence Based Traditional Chinese Medicine	林昭庚 (Jaung-Geng Lin)教授 中國醫藥大學中醫研究所
10:40 ~ 11:00	茶敘(Coffee/Tea Break)	
11:00 ~ 11:50	從臺灣看 21 世紀中醫藥事業之前景與挑戰 Prospects and Challenges of Chinese Medicine in the 21 st Century	黃怡超 (Yi-Tsau Huang)所長 國立中國醫藥研究所
11:50 ~ 13:00	午餐(Lunch Time)	
主持人：Jin-Woong Kim 教授		
13:00 ~ 13:50	國際網路化資訊平臺對現代中藥研發之重要性 The Importance of International Internet Network in the Development of TCM	陳金泉 (Kelvin Chan)教授 澳洲雪梨大學中醫藥學系及西雪梨大學健康科學系
13:50 ~ 14:40	基因轉殖和基因體學之抗炎與抗癌研究 Transgenic and Omics Approaches for Studying Antiinflammation and Anticancer Phytocompounds	楊寧蓀 (Ning- Sun Yang)教授 中研院農業生物中心特聘研究員
14:40 ~ 15:30	當歸補血湯：李東垣的補土名方 Danggui Buxue Tang (A Chinese Angelica Decoction): A Sample Trial in Traditional Chinese Medicine Standardization	詹華強(Karl Wah-Keung Tsim)教授 香港科技大學中藥研發中心
15:30 ~ 15:50	茶敘(Coffee/Tea Break)	
主持人：詹華強教授		

15:50 ~ 16:40	全球中草藥標準化與協和化 Globalization of Chinese Herbal Medicine Standardization and Harmonization	沈重光(Chung-guang Shen) 副董事長 臺灣順天堂藥廠股份有限公司
16:40 ~ 17:30	韓藥之品質管制 Quality Control of the Traditional Medicine in Korea	金鎮雄(Jin-Woong Kim)教授 韓國首爾大學藥學院

第二天 (09/25) (星期日)

時 間	內 容	講 員
主持人：陳金泉教授		
09:00 ~ 09:50	中草藥健康食品開發：從實驗室到市場之路 Herb-based Functional Foods: from Laboratory to The Market	蔡新聲 (Hsin-Sheng Tsay)院長 朝陽科技大學理工學院
09:50 ~ 10:40	韓醫發展之現況 Development of Traditional Korean Medicine	崔昇勳(Seung-Hoon Choi)院長 韓國韓醫學研究院
10:40 ~ 11:00	茶敘(Coffee/Tea Break)	
11:00 ~ 11:50	臺灣醫療事業在全球的角色及義務 The Global Roles and Obligations in Medical Industry of Taiwan	張武修 (Peter WS Chang)教授 臺北醫學大學國際事務長
11:50 ~ 13:00	午餐(Lunch Time)	
主持人：蔡東湖教授		
13:00 ~ 13:50	中藥不良反應之報告與評估 Report and Evaluation of Adverse Reaction for Herbal Medicine	張恒鴻 (Heng-Hong Chang)副院長 長庚紀念醫院中醫分院
13:50 ~ 14:40	中藥品質管制 Quality Control of TCM Herbs and Herbal Preparations	張永勳(Yuan-Shiun Chang)教授 中國醫藥大學中國藥學暨中藥資源學系
14:40 ~ 15:30	中草藥有機栽培原理 Organic Cultivation for Medicinal Herbs	陳世雄 (Shih-Shiung Chen)校長 明道大學
15:30 ~ 16:00	茶敘(Coffee/Tea Break)	
16:00 ~ 16:50	歐洲中醫藥簡介 Chinese Medicine in Europe	馬培德(Peter Karl Mayer)助理教授 德國尤斯圖斯-李比希大學醫學博士
16:50 ~ 17:40	北美傳統醫藥概況 The Current Status of Chinese Medicine in the U.S	馮嘉寶(Gabriel Fuentes)講師 美國達拉斯學院東方醫學碩士

表七、國際中醫藥學術研討會講員資料

姓名	單位
黃林煌主任委員	行政院衛生署中醫藥委員會
林育娟高級研究員	
林昭庚教授	中國醫藥大學中醫研究所
黃怡超所長	國立中國醫藥研究所
陳金泉 (Kelvin Chan)教授	澳洲雪梨大學中醫藥學系及西雪梨大學健康科學系
楊寧蓀教授	中研院農業生物中心特聘研究員
詹華強(Karl Wah-Keung Tsim)教授	香港科技大學中藥研發中心
沈重光副董事長	臺灣順天堂藥廠股份有限公司
金鎮雄(Jin-Woong Kim)教授	韓國首爾大學藥學院
蔡新聲院長	朝陽科技大學理工學院
崔昇勳(Seung-Hoon Choi)院長	韓國韓醫學研究院
張武修教授	臺北醫學大學國際事務長
張恒鴻副院長	長庚紀念醫院中醫分院
張永勳教授	中國醫藥大學中國藥學暨中藥資源學系
陳世雄校長	明道大學
馬培德(Peter Karl Mayer)助理教授	中國醫藥大學中國醫學研究所
馮嘉寶(Gabriel Fuentes)講師	中國醫藥大學中醫學系

(二)中醫藥國際化研討會學員滿意度調查

1. 評估方法於研討會結束前，藉問卷進行學員滿意度評估。本研討會係採用結構式問卷，問卷內容主要包括以下四部份：

(1)個人基本資料，如：年齡、性別、教育程度、職業身份、由何處得知消息等。

(2)學員對本研討會之滿意度

評估項目包括：英文演講內容難易度、英文演講內容符合學員需求、演講內容對自己從事的業務有實質幫助、研討會整體授課情形、上課場地…等。此部份，係採 李克特尺度(Likert scale)五等級

量表，對各評估項目之滿意程度進行評估，由 5 分到 1 分，分別代表非常滿意、滿意、沒意見、不滿意及非常不滿意。

(3) 學員對演講內容的興趣程度

評估項目包括本研討會各演講主題，亦採李克特尺度(Likert scale)五等級量表，對各評估項目之滿意程度進行評估，由 5 分到 1 分，分別代表非常滿意、滿意、沒意見、不滿意及非常不滿意。

(4) 學員對演講情形的滿意程度

評估項目包括本研討會各主題之演講情形，亦採李克特尺度(Likert scale)五等級量表，對各評估項目之滿意程度進行評估，由 5 分到 1 分，分別代表非常滿意、滿意、沒意見、不滿意及非常不滿意。

2. 結果

(1) 基本資料分析：

參加本研討會以學生為最多數，佔全體的 24.1%。其得知本研討會消息之來源以網路為主，佔 46.1%。

(2) 評估項目分析：

大多數參加學員認為英文演講內容符合需求（佔 86.2%），認為對自己從事業務有實質幫助（佔 89.5%），並且認為演講內容對自身未來有所助益（佔 90.3%），至於對整體授課情形則有 91.9% 感到滿意。

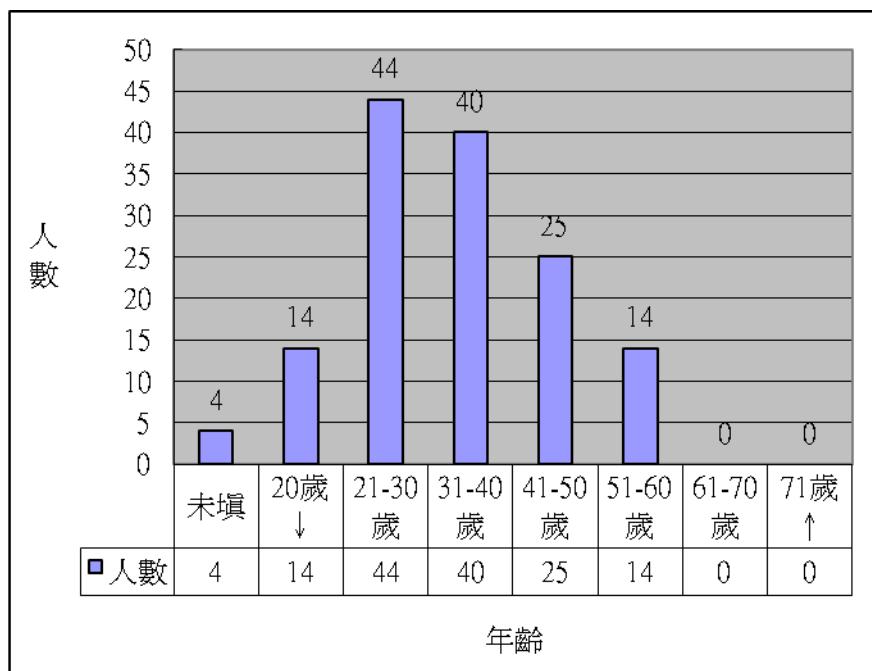
2011 年國際中醫藥學術研討會

International Symposium on Traditional Chinese Medicine 滿意度調查

★本問卷發出 167 份，回收 141 份，回收率達 84.4%。

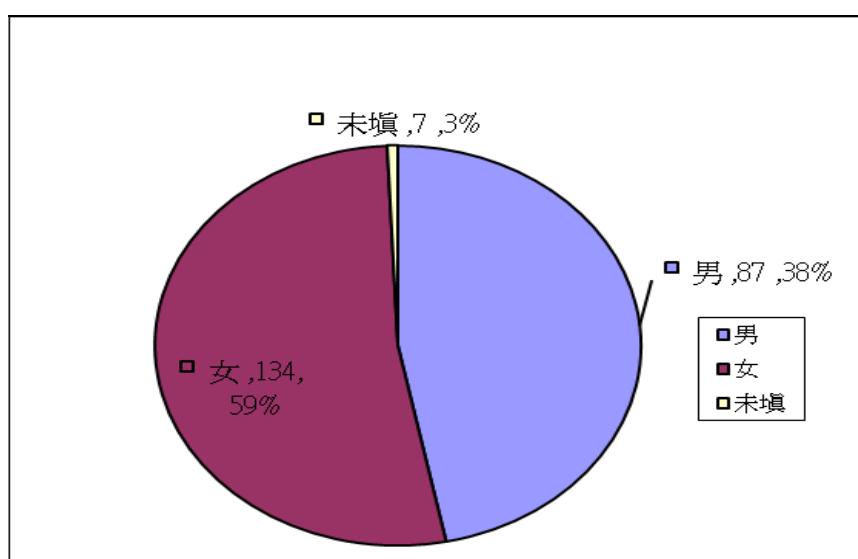
基本資料

1. 年齡



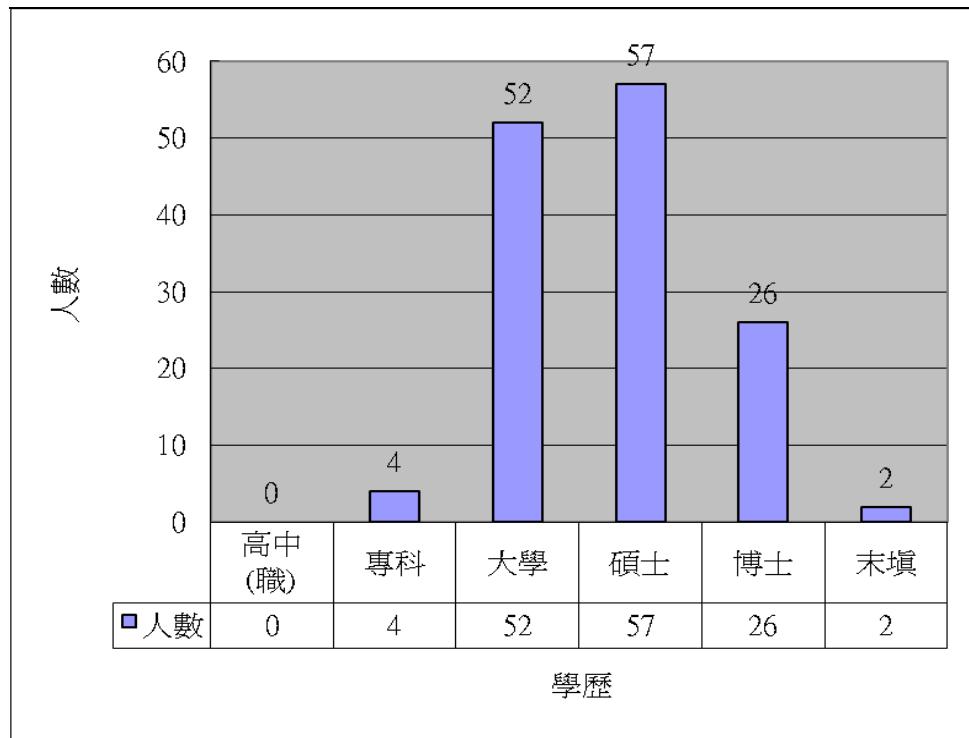
說明：本研討會主要以 21~30 歲及 31~40 歲的學員為主，均佔全部學員之 59.6%。

2. 性別



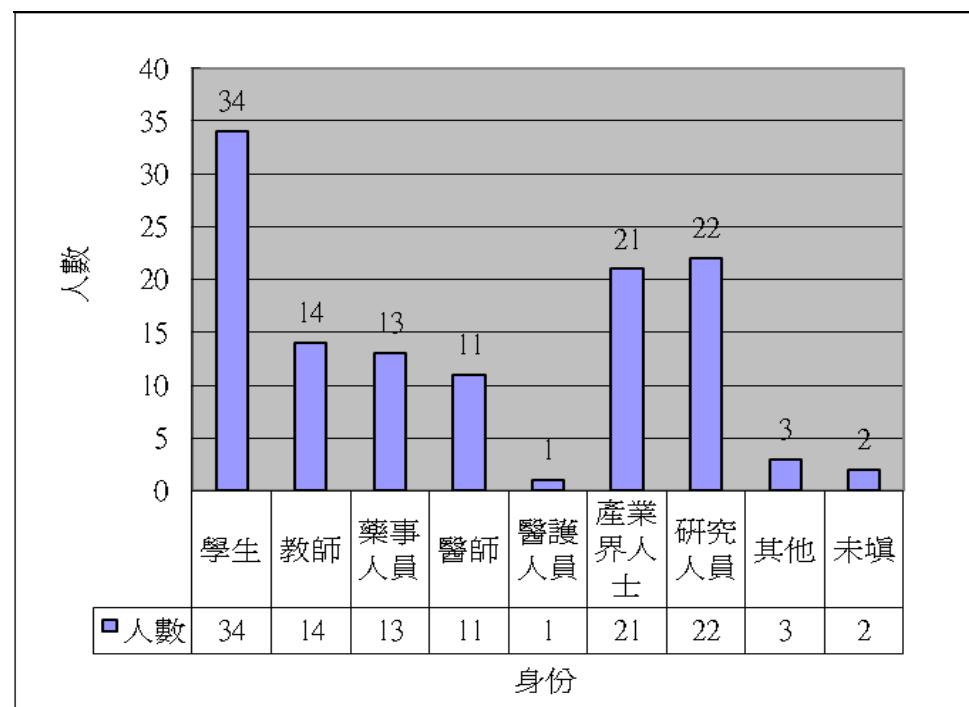
說明：參加學員主要以女性為主，佔 52.5%，而男性佔 46.8%。

3. 學歷



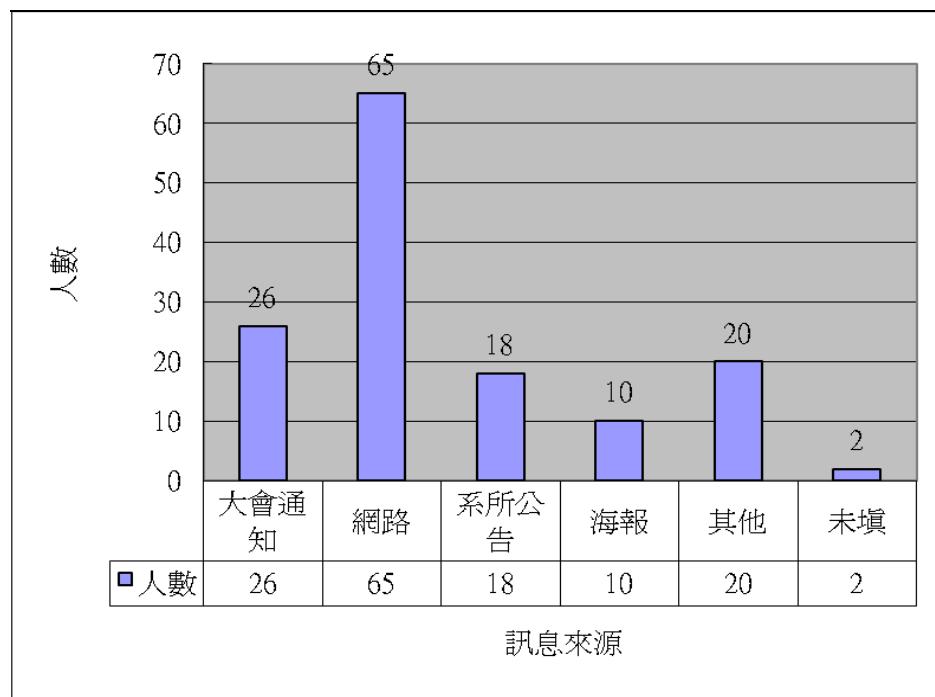
說明：全體學員之學歷以碩士以上佔最多，達 40.4%，另外學士程度達 36.9%。

4. 身份



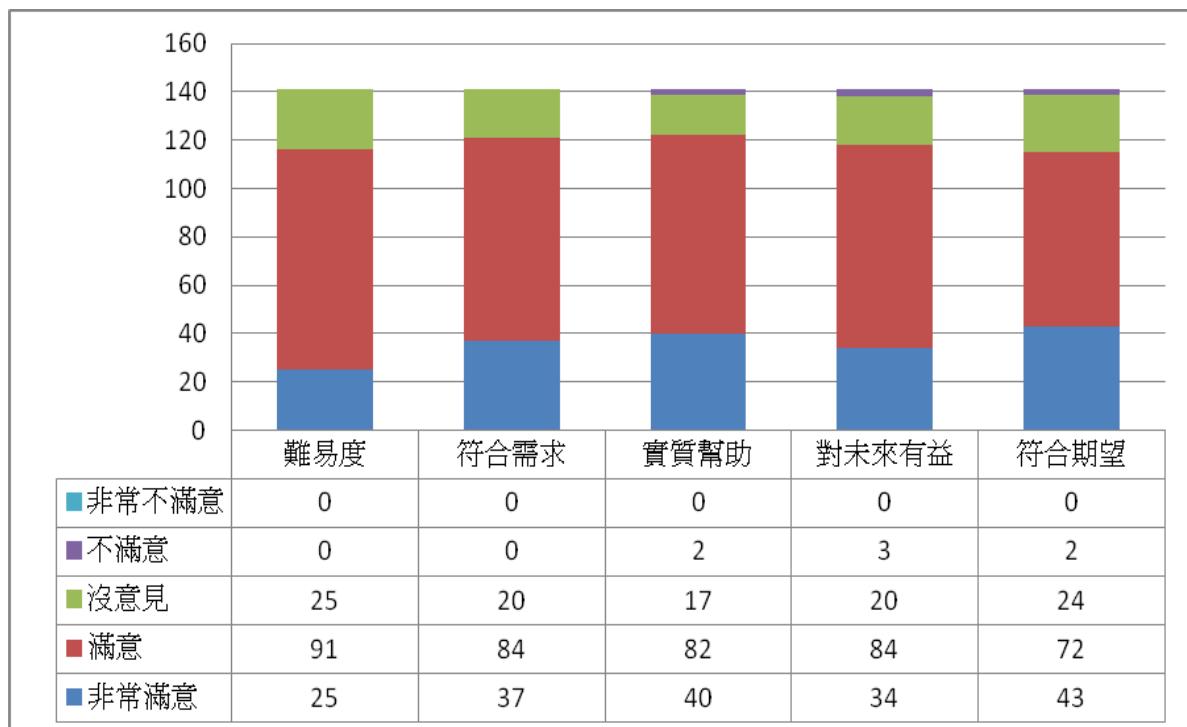
說明：本次研討會參加者以學生為最多數，佔全體的 24.1%，中醫藥界有 17.7%。

5. 訊息來源



說明：學員得知本研討會之訊息，以網路為主，佔 46.1%。

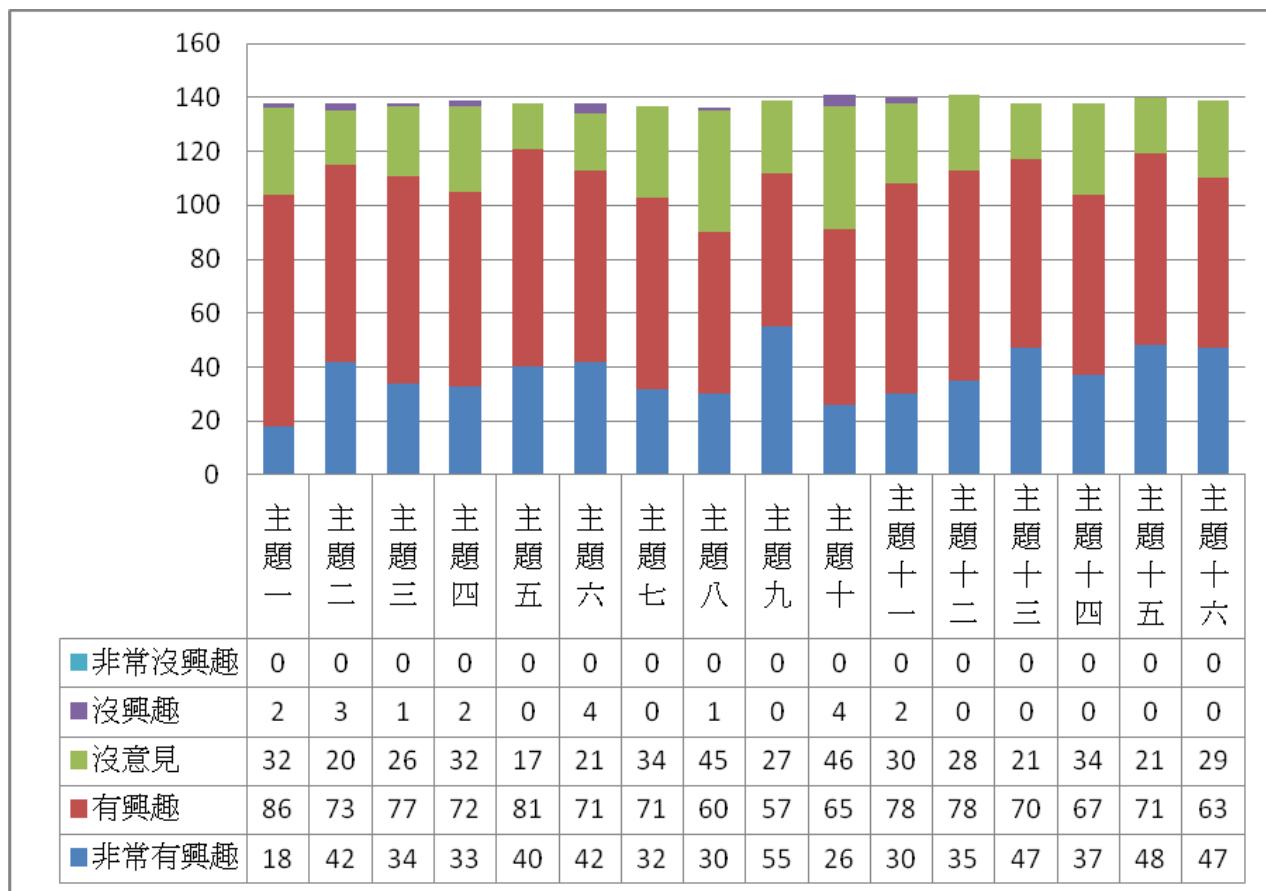
授課主題滿意程度



說明：以下為學員對授課主題滿意程度之百分比：

評估項目	非常 滿意	%	滿意	%	非常滿意 + 滿意百分比	沒意見	%	不滿 意	%	非常 不滿意	%
難易度	25	17.7	91	64.5	82.2	25	17.7	0	0.0	0	0.0
符合需求	37	26.2	84	60.0	86.2	20	14.2	0	0.0	0	0.0
實質幫助	45	31.3	82	58.2	89.5	13	10.5	2	1.42	0	0.0
對未來有益	42	30.3	84	60.0	90.3	8	7.6	3	2.13	0	0.0
符合期望	43	30.5	72	51.1	81.6	24	17	2	1.42	0	0.0

授課主題興趣程度



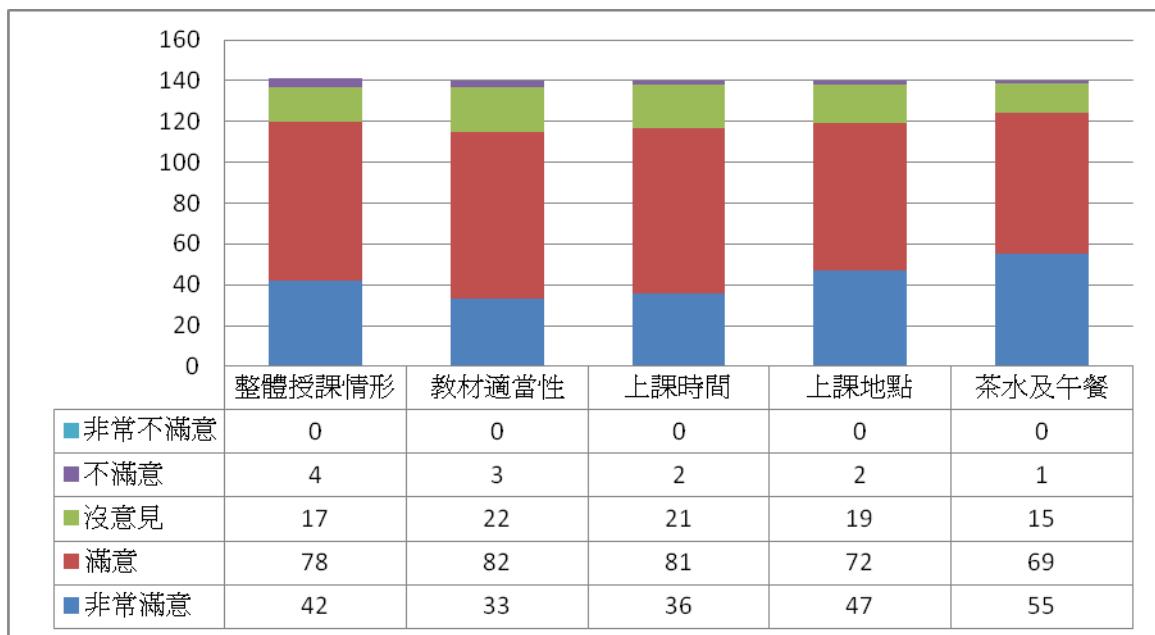
說明：以「基因轉殖和基因體學之抗炎與抗癌研究 Transgenic and Omics Approaches for Studying Antiinflammation and Anticancer Phytocompounds」等為全體學員最有興趣（非常有興趣+有興趣）之主題。

以下為學員對研討會各授課主題內容的興趣程度百分比：

演講主題	非常有興趣	%	有興趣	%	非常有興趣+有興趣百分比	沒意見	%	沒興趣	%	非常沒興趣	%
主題一	30	19.8	86	60.9	80.7	20	19.3	2	1.4	0	0.00
主題二	42	29.7	73	51.7	81.5	20	14.1	3	2.1	0	0.00
主題三	34	27.9	77	54.6	82.5	26	17.5	1	0.7	0	0.00
主題四	42.	34.3	72	51.0	85.3	22	14.7	2	1.4	0	0.0
主題五	40	28.3	81	57.4	85.8	17	12.0	0	0.0	0	0.0
主題六	42	29.7	71	50.3	80.1	21	14.8	4	2.8	0	0.0
主題七	45	32.7	71	50.3	83.0	24	17.0	0	0.0	0	0.0
主題八	34	29.3	80	57.3	86.6	21	13.4	1	1.4	0	0.0
主題九	55	39.0	57	40.4	79.4	27	19.1	0	0.0	0	0.0
主題十	32	18.4	70	46.1	78.5	35	32.6	4	2.8	0	0.0
主題十一	40	31.3	78	55.3	86.6	21	13.4	2	1.4	0	0.0
主題十二	35	24.8	78	55.3	80.1	28	19.8	0	0.0	0	0.0

演講主題	非常 有興趣	%	有興趣	%	非常有興趣+ 有興趣百分比	沒意見	%	沒興趣	%	非常 沒興趣	%
主題十三	47	33.3	70	49.6	82.9	21	14.8	0	0.0	0	0.0
主題十四	50	36.2	67	47.5	83.7	34	16.3	0	0.0	0	0.0
主題十五	48	34.0	71	50.3	84.4	21	14.8	0	0.0	0	0.0
主題十六	47	33.3	63	44.6	78.0	29	20.5	0	0.0	0	0.0

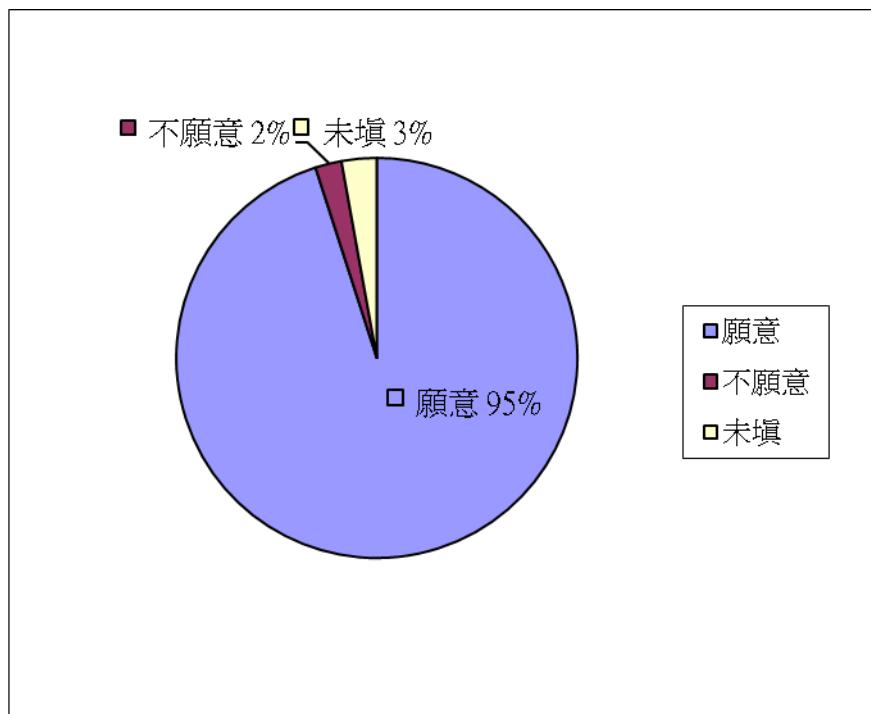
研討會項目評估



以下為學員對本研討會評估項目之百分比：

滿意度	非常 有興趣	%	有興 趣	%	非常有興趣+ 有興趣百分比	沒意見	%	沒興 趣	%	非常 沒興趣	%
整體授課情形	42	36.6	78	55.3	91.9	17	5.3	4	2.8	0	0.0
教材適當性	35	27.4	82	58.1	85.5	20	14.5	3	2.1	0	0.0
上課時間	40	30.5	81	57.4	87.9	17	10.7	2	1.4	0	0.0
上課地點	47	33.3	72	51.0	84.4	19	13.4	2	1.4	0	0.0
茶水及午餐	55	39.0	69	48.9	87.9	15	10.6	1	0.7	0	0.0

類似活動的參加意願



說明：願意再參加類似活動的學員佔全數，高達 95%。

六、積極參與國際中醫藥學術研討會

本計畫新增 74 筆 2011 年全球各地舉辦之中醫藥或傳統醫學相關國際研討會之資料，並在中醫藥國際化網站及中醫藥委員會公告。

表八、2011 年國際中醫藥學術研討會

研討會時間	研討會地點	研討會名稱	研討會網站
2011.01.13~2011.01.16	San Diego	8th Annual Natural Supplements: An Evidence-Based Update	http://www.scripps.org/events/natural-supplements-an-evidence-based-update
2011.01.14~2011.01.16	香港	香港國際針灸學術會議 2011 Hong Kong International Acupuncture Conference	https://www.hkamonline.hk/conf/index.php/hkia/hkia11/schedConf/overview
2011.01.16	台北	2011 海峽兩岸中醫藥學術論壇	
2011.01.23	台北	2011 年海峽兩岸中西醫疼痛治療學術研討會	http://www.pain.org.tw/announce_detail.asp?m_serial=374
2011.01.25~2011.01.28	廈門	1st Annual World Congress of Endobolism	http://www.bitlifesciences.com/wce2011/default.asp
2011.02.18~2011.02.20	Australia	Dynamic Growth Congress	http://www.spinalresearch.com.au/Events/tabid/149/language/en-AU/Default.aspx
2011.03.04~2011.03.05	Sydney	Natural Health Conference and Expo	http://www.naturalhealthexpo.com.au/HomePage.aspx
2011.03.04~2011.03.06	紐約	2011 Integrative Healthcare Symposium	http://www.ihsymposium.com/11/public/MainHall.aspx?ID=22393&sortMenu=101000
2011.03.10~2011.03.25	舊金山	第 82 屆國醫節慶典活動暨中醫藥發展五洲論壇	http://conference.9med.net/conference_detail.php?id=1694
2011.03.12~2011.03.13	台北	台北國際中醫藥學術論壇 2011 Taipei International TCM Symposium	http://www.tpcma.org.tw/u4/u48/u48-1000313.htm
2011.03.15~2011.03.18	Melbourne, Australia	11th International Forum on Low-Back Pain Research in Primary Care	http://www.lbpforum.org/lbp2011/index.html
2011.03.17~2011.03.19	Las Vegas, U.S.A.	ACC-RAC 2011	http://www.chirocolleges.org/accrac/index.html
2011.03.30~2011.04.03	Massachusetts , USA	10th Annual International Scientific Conference for Clinicians, Researchers and Educators	http://www.umassmed.edu/cfm/conference/index.aspx
2011.04.06~2011.04.09	Brazil	World Federation of Chiropractic 11th Biennial Congress	http://www.wfc.org/congress2011/
2011.04.06~2011.04.09	Florence, Italy	International Congress of Osteopathic Medicine	http://www.osteopatia2011.it/home_page_ING.html
2011.04.06~2011.04.10	Minneapolis, U.S.A.	iMosaic 2011	http://www.imosaicconference.com/
2011.04.07~2011.04.09	Orlando, U.S.A.	Parker Seminars Orlando	http://www.parkercc.edu/parker-seminars-orlando.aspx
2011.04.09~2011.04.11	西安	第二屆中醫脈象國際學術大會	http://www.tcms.cc/2011/0107/7210.html
2011.04.18~2011.04.20	Amsterdam, Netherlands	Pharma-Nutrition 2011	http://www.pharma-nutrition.com/
2011.04.22~2011.04.24	上海	2011 年上海中西醫結合醫學國際會議 2011 Shanghai International Integrative Medicine Congress	http://www.iimc2011.org/welcome.aspx
2011.04.22~2011.04.26	鄭州	第五屆中醫、中西醫結合防治 心腦血管病、糖尿病、腫瘤高級論壇	http://www.hkrcmp.org/cht/news01.php?dir/
2011.04.29	台中	2011 兩岸中醫藥學術研討會	http://mail.cmu.edu.tw/~yschang/
2011.05.02~2011.05.04	Rothenburg, Germany	42nd International Congress of Traditional Chinese Medicine	http://www.tcm-kongress.de/en/index.htm

2011.05.07~2011.05.09	成都	國際補充醫學研究會第六屆年會 6 th International Congress on Complementary Medicine Research (6 th ICCMR)	http://eng.2011iscmr.org
2011.05.07~2011.05.09	北京	第四屆國際中醫心理學學術大會 暨世界中醫藥學會聯合會睡眠醫學專業委員會 The 4th International Conference on Traditional Chinese Medicine (TCM) Psychology, The 3rd International Academic Congress of Sleep Medicine, and the World Federation of Chinese Medicine Societies (WFCMS)	http://www.tcmit.org.cn/
2011.05.12~2011.05.15	北京	18th World Congress of Aesthetic Medicine	http://www.wcam2011.org
2011.05.13~2011.05.15	Hague, Netherland	ICMART 2011 World Congress on Medical Acupuncture	http://www.icmart2011.org
2011.05.13~2011.05.15	Baltimore, U.S.A.	The American Association of Acupuncture and Oriental Medicine (AAAOM)	http://aaaomonline.org
2011.05.13~2011.05.15	Bedfordshire, U.K.	Acupuncture Association of Chartered Physiotherapists(AACP)	http://www.aacp.org.uk/common/conference.asp?ID=info
2011.05.13~2011.05.15	New Zealand	Annual Reflexology Conference	http://www.reflexology.org.nz/conference.html
2011.05.20~2011.05.22	Perth, Australia	Australasian Acupuncture and Chinese Medicine Annual Conference (AACMAC Perth 2011)	http://www.acupuncture.org.au/AACMAC_2011.cfm
2011.05.20~2011.05.22	Sydney	Sydney General Practitioner Conference & Exhibition (GPCE) 2011	http://www.gpce.com.au/sydney/
2011.05.21~2011.05.22	廣州	世界中醫藥學會聯合會自然療法研究專業委員會成立大會暨首屆自然療法研究國際學術大會	http://www.meeting163.com/meeting/about.asp?id=1293
2011.05.26~2011.05.27	Belgium	ECCH & ICH Symposium	http://www.homeopathy-ich.org/for-homeopaths.html
2011.06.08~2011.06.10	澳門	首屆兩岸四地糖尿病中醫防治暨健康管理高峰論壇	http://www.budoou.com/article/1438631/
2011.06.11~2011.06.12	Melbourne, Australia	18th National Congress of the Australasian Council of Chinese Medical Associations(ACMAV)	http://acmavconference.org
2011.06.11~2011.06.14	廈門	第三屆海峽兩岸中醫藥發展與合作研討會	
2011.06.13~2011.06.15	澳門	兩岸四地糖尿病中醫藥防治論壇	http://acmavconference.org
2011.06.17~2011.06.19	Sydney	Parker Seminar	http://www.spinalresearch.com.au/
2011.06.18~2011.06.19	台北	2011 首屆台灣海峽兩岸醫事交流高峰論壇	http://www.twtm.tw/modules/news/article.php?storyid=690
2011.06.23~2011.06.26	台北	國際銀髮族暨健康照護產業展(Sencare)	http://www.sencare.com.tw/zh_TW/letter/info.html?id=07AD2642A223B0E8
2011.06.24~2011.06.26	Melbourne, Australia	New Zealand Register Of Acupuncturists (NZRA) Conference 2011	http://www.acupuncture.org.nz/news/716/nzra-2011-conference-and-agm.aspx
2011.06.24~2011.06.26	Illinois, U.S.A.	10th International Herb Symposium	http://www.internationalherbsymposium.com/
2011.06.26	台中	第三屆海峽兩岸中醫藥合作發展論壇	

2011.08.20~2011.08.21	Chicago, U.S.A.	Shanghai Lun Formula Families	http://chicago.iceam.org/schedule
2011.08.26~2011.08.28	上海	10th Meeting of Consortium for Globalization of Chinese Medicine (CGCM)	http://www.tcmedicine.org/en/client_news_detail.asp?recordId=86
2011.09.01~2011.09.04	Fjerritslev, Denmark	3rd Scandinavian TCM Congress in 2011	http://www.tcm-kongres.dk/congress.htm
2011.09.02~2011.09.03	London, U.K.	8th World Congress of Chinese Medicine (WCCM 2011)	http://www.2011wccm.com/
2011.08.25~2011.09.05	London, U.K.	第八屆世界中醫藥大會(8 th WCCM)	http://www.2011wccm.com/
2011.07.08~2011.07.10	Auckland, New Zealand	Massage New Zealand Conference 2011	http://massagenewzealand.org.nz/jobs-events/conference/
2011.07.09~2011.07.10	Chicago, U.S.A.	Shanghai Lun Abdominal Diagnosis Seminar	http://chicago.iceam.org/schedule
2011.07.15~2011.07.17	Colorado, U.S.A.	Colorado Integrative Medicine Conference	http://www.alteredmedresearch.org/Conferences.html
2011.07.16~2011.07.17	Montclair	Aesthetic Treatment with Acupuncture & Herbs	http://www.alteredmedresearch.org/Conferences.html
2011.07.21~2011.07.24	台北	第九屆台灣生技月/生技大展	http://www.bioclub.com.tw/info/intro_bio.asp
2011.07.21~2011.07.24	新疆烏魯木齊	第五屆世界中醫心血管病學術大會	http://meeting.bimtdoctor.com/meeting12985.html
2011.07.29~2011.07.31	吉隆坡	第五屆國際自然醫學會學術研討會	http://chi.ihnma.org/wgnmf/
2011.08.05~2011.08.07	Offenbach, Germany	Shanghai Case Studies	http://frankfurt.iceam.org/schedule
2011.08.11	Chicago, U.S.A.	Detoxing With Acupuncture & Chinese Medicine As Well As Nutrition	http://www.liferising.com/education/seminar.html
2011.08.11~2011.08.15	香港	International Conference & Exhibition of the Modernization of Chinese Medicine & Health Products	http://www.hktdc.com/fair/icmcm-en/International-Conference-and-Exhibition-of-the-Modernization-of-Chinese-Medicine-and-Health-Products.html
2011.08.13~2011.08.15	廣西	TCM & NP Active Ingredients and Standardizations Symposium and 2nd International Mangiferin Research Forum	http://210.36.99.20/yxy/lanmu/lanmu_11/index.htm

2011.08.20~2011.08.21	Chicago, U.S.A.	Shanghai Lun Formula Families	http://chicago.iceam.org/schedule
2011.08.26~2011.08.28	上海	10th Meeting of Consortium for Globalization of Chinese Medicine (CGCM)	http://www.tcmedicine.org/en/client_news_detail.asp?recordId=86
2011.09.01~2011.09.04	Fjerritslev, Denmark	3rd Scandinavian TCM Congress in 2011	http://www.tcm-kongres.dk/congress.htm
2011.09.02~2011.09.03	London, U.K.	8th World Congress of Chinese Medicine (WCCM 2011)	http://www.2011wccm.com/
2011.08.25~2011.09.05	London, U.K.	第八屆世界中醫藥大會(8 th WCCM)	http://www.2011wccm.com/
2011.09.18	澳門	兩岸四地中西醫結合新趨勢學術論壇	
2011.09.22~2011.09.23	天津	天津第七屆中醫藥發展國際論壇	http://www2.tjutcm.edu.cn/tcmforum2011/
2011.09.24~2011.09.25	台北	2011 中醫藥國際化研討會	http://mail.cmu.edu.tw/~yschang
2011.10.08~2011.10.10	Tsukuba, Japan	JPHMA International Conference	http://www.homeopathy-ich.org/for-homeopaths.html
2011.10.13~2011.10.15	Brisbane, Australia	The 5th International Conference on Mechanisms of Action of Nutraceuticals	http://www.icman5.org/
2011.10.14~2011.10.18	重慶	2011 國際華夏醫藥學術大會	
2011.10.15~2011.10.16	台中	第三屆全球傳統醫學大會論壇年會暨傳統醫學實證醫 學研討會	
2011.10.18~2011.10.20	成都	世界健康生活方式促進聯合會	
2011.10.29~2011.10.30	北京	世界中醫藥學會聯合會第二屆世界中醫藥教育大會	http://eic.tjutcm.edu.cn/bencandy.php?fid=55&aid=586
2011.11.03~2011.11.06	台北	台北國際醫療展覽會(MEDIPHAR)	http://www.mediphar.com.tw
2011.11.04~2011.11.06	巴西聖保羅	2011 世界針灸聯合會研討會(WFAS)	http://www.caam.cn/jiaoliu/hytz/201105/961.htm
2011.11.17~2011.11.18	廣州	第五屆中國廣州國際中醫藥研討會	http://www1.gzhtcm.edu.cn/55an/View.aspx?newsID=606
2011.12.27	台中	第三屆全球傳統醫學大會論壇 (GUNTM)	
2012.02.09~2012.02.11	紐約	2012 Integrative Healthcare Symposium	http://www.ihsymposium.com/11/public/Calendar.aspx?SuperTrackId=&TrackId=&AssociationId=&DateId=&FormatId=&DurationId=&SpeakerId=&SessionTypeId=&SubExpId=&Keyword=&SearchEvent=&ID=58132&sortMenu=104000
2012.05.18~2012.05.20	Sydney	Sydney General Practitioner Conference & Exhibition (GPCE) 2012	http://www.gpce.com.au/sydney/

七、架設中醫藥國際化網站

國際交流平台網頁網址：<http://mail.cmu.edu.tw/~yschang/index.htm>（網站照片如圖八），將收集之 WHO 及其所屬傳統醫藥合作中心、國際傳統醫學與相關機構組織、學會、教育機構及傳統醫學學術期刊等之名單、地址、網址及活動資料，上網張貼以方便搜尋及即時更新資料，並可以由網站直接下載每年全球各地舉辦之中醫藥或傳統醫學相關國際研討會之資料，充份達到中醫藥國際化之資訊即時分享。



圖四、中醫藥國際化網站

肆、討論

本計畫於 100 年 9 月 24 日、25 日舉辦二天之中醫藥國際化研討會，不同於往年研討會都在台中舉辦，行政院衛生署中醫藥委員會考量擴大其他地區之學員，建議本研討會改至臺北舉行，假臺北市石牌國立中國醫藥醫藥研究所二樓演講廳，邀請 16 位講員，除國內講員外，也邀請來自澳洲、韓國、香港、美國、德國等傳統醫藥專家，針對 16 個不同主題做報告。全部活動以英文進行，所安排主題除中醫藥相關內容外，也安排國際化相關內容，使學員有能力積極參與中醫藥國際事務，參加學員人數有 167 人。會後藉由問卷進行學員滿意度評估，從調查中，認為英文演講內容符合需求（佔 86.2%），並且認為演講內容對自身未來有所助益（佔 9.5%）。因首次在臺北舉辦，本次研討會有很多中醫藥相關專家學者報名參加。但因在臺北舉辦，在準備本研討會之相關事務上有些倉促及不足的地方，如提供學員研討會之物品上的準備、環境不熟悉及交通、住宿上之費用過高，導致本研討會在作業上有遇到一些困難。

本次研習班共有國內 271 位學員報名參加，每場平均人數約 72 人。學員經由參與中醫藥英文班的課程，可以從平時培養英文國際交流之能力，藉由舉辦國際化研討會與中醫藥英文班研習班雙管齊下，可以積極培養國內具外語能力及國際觀之年輕中醫藥界尖兵，擴展其國際視野及語言能力，安排英文之中醫藥學習交流環境，達到培養中醫藥國際人才之目的。

本計畫藉由成立國際交流平台網頁，將收集之 WHO 及其所屬傳統醫藥合作中心、國際傳統醫學與相關機構組織、學會、教育機構及傳統醫學學術期刊等之名單、地址、網址及活動資料，上網張貼以方便搜尋資料，並可以由網站直接下載 2011 年全球各地舉辦之中醫藥或傳統醫學相關國際研討會之資料，充份達到中醫藥國際化之資訊即時分享。

伍、結論與建議

- 一、臺灣中醫藥界除國際東洋醫學會外，過去較少參與國際性之組織，在學學生與國際中醫藥團體之往來更少，本計畫開設以英文教講授中醫藥相關主題，提供培養具外語能力及國際觀之年輕中醫藥界尖兵之機會，擴展其國際視野及語言能力，安排英文之中醫藥學習交流環境，並安排英文講授之中醫藥研習會，達到培養中醫藥國際人才之目的。
- 二、本計畫開設之中醫藥英文研習班及中醫藥國際化研討會學員除邀請在學學生外，也邀請產業界及學術界人士參加，藉由本活動之英文演講內容提升自己英文能力外，也對其從事之中醫藥業務有實質幫助。
- 三、兩天之中醫藥國際化研討會將全程錄影，第二年計畫結束將光碟交中醫藥委員會存參。
- 四、本計畫邀請國內外學者專家以英文進行演講，除參與之中醫藥界人士英文能力提昇外，也提供本校學生在校園內與外籍人士以英文交流學習的機會。在本項教育訓練有基礎後，未來可考慮擴大定期舉辦國際性中醫藥研習營，擴大國際交流。
- 五、本中醫藥國際交流平台為培養中醫藥國際化之人才，以加強與各國傳統醫學界之交流，常有許多國際傳統醫藥人士及大陸中醫藥界人士前來交流，在衛生署中醫藥委員會支持之下，與國際學術交流密切配合，未來也希望能在有衛生署額外活動經費補助，辦理特定國際交流活動，以維持此國際交流平台。

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CCMP99-RD-107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. World Health Organization: WHO Traditional Medicine Strategy 2002-2005, World Health Organization Organization Geneva, 2002 。
2. G. Bodeker, C. K. Ong, C. Grundy, G. Burford, K. Shein: WHO Global Atlas of Traditional, Complementary and Alternative Medicine-TEXT VOLUME. World Health Organization Centre for Health Development Kobe, Japan, 2005.
3. C.K. Ong, G. Bodeker, C. Grundy, G. Burford, K. Shein: WHO Global Atlas of Traditional, Complementary and Alternative Medicine-MAP VOLUME. World Health Organization.
4. World Health Organization: WHO Medicines Strategy 2004-2007, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2004.
5. National Center for Complementary and Alternative Medicine: Expanding Horizons of Healthcare: Five-Year Strategic Plan 2001-2005, National Center for Complementary and Alternative Medicine, 2001.
6. National Center for Complementary and Alternative Medicine: Expanding Horizons of Health Care: Strategic Plan 2005-2009, National Center for Complementary and Alternative Medicine, 2005.
7. Chun-Su Yuan, Eric J. Bieber: Textbook of Complementary and Alternative Medicine. The Parthenon Publishing Group, New York, 2003.
8. 林宜信主編：臺灣中醫藥發展策略與成果：行政院衛生署中醫藥委員會成立 10 週年特輯，行政院衛生署中醫藥委員會印行，臺北，2005 。
9. 林宜信主編，臺灣中醫藥整合與前瞻，行政院衛生署中醫藥委員會印行，臺北，2003 。
10. 林宜信主編，臺灣中醫藥願景，行政院衛生署中醫藥委員會印行，臺北，2004 。
11. 林宜信主編，臺灣中醫藥發展策略與成果-行政院衛生署中醫藥委員會成立 10 週年特輯，行政院衛生署中醫藥委員會編印，臺北，p.378-383，2005 。
12. 張永勳：行政院衛生署九十五年度委託計畫(95I5091)，「非洲等開發中國家傳統醫藥(CAM/TM)人才培訓研習營計畫」研究報告，2006 。
13. 張永勳：行政院衛生署九十六年度委託計畫 CCMP96-CP-019，「國際中藥產業現代化研討會」研究報告，2008 。
14. 張永勳：行政院衛生署九十五年度委託計畫 CCMP95-RD-031，「中醫藥國際化人才之培訓」研究報告，2006 。

15. 張永勳：行政院衛生署九十六年度委託計畫 CCMP96-RD-009，「中醫藥國際化人才之培訓」研究報告，2008。
16. 張永勳：行政院衛生署九十七年度委託計畫 CCMP97-RD-115，「中醫藥國際化人才之培訓」研究報告，2009。
17. 張永勳：行政院衛生署九十八年度委託計畫 CCMP98-RD-025，「中醫藥國際化人才之培訓暨中醫藥國際交流平台之建立」研究計畫，2009。

柒、附 錄

附錄一、世界衛生組織傳統醫學合作中心(WHO Collaborating Centers for TraditionMedicine)聯絡資料

編號	1	2	3	4
名稱	加納植物藥研究中心	馬達加斯加國家藥物應用研究中心	馬里國家藥物研究所	美國衛生與人類服務部國立衛生研究院補充與替代醫學中心
全名	Center for Scientific Research in Plant Medicines, Mampong-Akwapim, Ghana	Centre National d'Application des Recherches Pharmaceutiques (CNARP), Antananaviro, Madagascar	Institut National de Recherches en Santé Publique, Bamako, Mali	National Center for Complementary and Alternative Medicine (NCCAM), National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, Bethesda, U.S.A
地址	University of Ghana P. O. Box LG 25 Legon.	-	-	NCCAM National Institutes of Health 9000 Rockville Pike Bethesda, Maryland 20892 USA
電話	(233-21)-500381,5002 63,500263,213850-3	-	(223)222.31.87	(1-866)-464-3615
傳真	(233-21)-514745	-	(223)223.26.24	(1-866)-464-3616
網址	http://www.ug.edu.gh/	-	-	http://nccam.nih.gov/
E-mail	pad@ug.edu.gh	-	anpe@anpe-mail.org	info@nccam.nih.gov

附錄一、世界衛生組織傳統醫學合作中心(WHO Collaborating Centers for TraditionMedicine)聯絡資料（續）

編號	5	6	7	8
名稱	美國芝加哥伊利諾斯大學藥學院	蘇丹醫學研究委員會傳統醫學研究所	義大利米蘭大學生物氣候學、生物工藝學與自然醫學研究中心	朝鮮傳統醫學研究院
全名	College of Pharmacy, University of Illinois at Chicago, Chicago, U.S.A	Traditional Medicine Research Institute, Medical Research Council, Khartoum, Sudan	Centre of Research in Medical Bioclimatology, Biotechnologies & Natural Medicine State University of Milan	Academy of Traditional Korean Medicine, Pyongyang, Democratic People's Republic of Korea
地址	College of Pharmacy University of Illinois at Chicago 833 S. Wood St., Chicago, IL 60612	P.O. Box 2404 – Khartoum, Sudan	Via Cicognara, 7-I-20129 I-20129 Lombardy	–
電話	(1-312) 996 7253	(249-183) 784882 – 784895	(39-02) 5031 8456-8	–
傳真	(1-312) 996 7107	(249-183) 773771 – 770701	(39-02) 5031 8461	–
網址	http://www.uic.edu/pharmacy/depts/pmch/WHO/index.htm	http://www.sudan-health.net/	http://www.naturmed.unimi.it	–
E-mail	norman@uic.edu	tmri_cnr@hotmail.com	umberto.solimene@unimi.it	–

附錄一、世界衛生組織傳統醫學合作中心(WHO Collaborating Centers for TraditionMedicine)聯絡資料（續）

編號	9	10	11	12
名稱	中國中醫研究院中藥研究所	中國中醫研究院臨床醫學與資訊研究所	中國中醫研究院針灸研究所	中國醫學科學院藥用植物研究所
全名	Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing, People's Republic of China	Institute of Clinical Science and Information, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing, People's Republic of China	Institute of Acupuncture and Moxibustion, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing, People's Republic of China	Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing, People's Republic of China
地址	No.16 Nanxiaojie, Dongzhimen nei, Beijing 100700 P.R.China	No.16 Nanxiaojie, Dongzhimen nei, Beijing 100700 P.R.China	No.16 Nanxiaojie, Dongzhimen nei, Beijing 100700 P.R.China	151 Ma Lian Wa North Road, Haidian District 100193 Beijing
電話	(86-10)-64014356#2954 , 64013996	(86-10)-64014356#3223 , 64013995	(86-10) 6403 5765	(86-10) 6289 4462
傳真	(86-10) 6401 3996	-	(86-10) 6289 9715	(86-10) 6289 9715
網址	http://www.tcm-resources.com/who/index.htm	http://www.cintcm.ac.cn/opencms/opencms/en/index.html	http://www.acutimes.com	http://www.implad.ac.cn/
E-mail	zhongyaosuo@163.com	website@mail.cintcm.ac.cn	zhubing@mail.cintcm.ac.cn	slchen@mail.implad.ac.cn

編號	13	14	15	16
名稱	中國南京中醫藥大學	中國上海醫科大學針刺原理研究所	中國上海中醫藥大學	韓國慶熙大學東西醫學研究所
全名	Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, People's Republic of China	Institute of Acupuncture Research, Shanghai Medical University, Shanghai, People's Republic of China	Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, People's Republic of China	East-West Medical Research Institute, Kyung Hee University, Seoul, Republic of Korea
地址	138 Xianlin Road - 210046 Jiangsu Province 210046 Jiangsu Province	138 Yi -Xue-Yuan Road, 200032 - 200032 Shanghai 200032 Shanghai	1200 Cai Lun Road, Zhang Jiang Hi-tech Park, Shanghai, China 201203	Hoegi-Dong, Dongdaemun-Gu, Seoul 130-701, Korea
電話	(+86)25-85811079	(86-21) 5423 7526	(86-21) 51322259, 51322256	(82-2)-958-9080
傳真	(+86)25-85811078	(86-21) 5423 7526	(86-21) 51322257	(82-2)-958-9083
網址	http://ice.njutcm.edu.cn/	http://www.shmu.edu.cn	http://www.shutcm.com	http://www.kyunghee.edu/index.php
E-mail	tcm_liu@yahoo.com	gcwu@shmu.edu.cn	shtcmuniversity@yahoo.com.cn	ewmri@khmc.or.kr

附錄一、世界衛生組織傳統醫學合作中心(WHO Collaborating Centers for TraditionMedicine)聯絡資料（續）

編號	17	18	19	20
名稱	韓國漢城大學天然物科學研究所	日本富山醫科藥科大學傳統醫學學部	日本北裏研究所東方醫學研究中心	越南傳統醫學研究所
全名	Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul, Republic of Korea	Department of Japanese Oriental Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University, Toyama, Japan	Oriental Medicine Research Center, The Kitasato Institute, Tokyo, Japan	Institute of Traditional Medicine, Hanoi, Viet Na
地址	28 Yeongeon-dong, Jongro-go, Seoul 110-460	2630 Sugitani 930-0194, Toyama 930-0194, Japan	5-9-1, Shirokane, Minato-ku - 108-8642 108-8642	29 Nguyen Binh Khiem Street - Ha Noi.
電話	(82-2)-740-8901	(81-76) 434 7393	(81-3) 3444 6161 (Ext. 2500)	(84-4)-38263616
傳真	(82-2)-762-8322	(81-76) 434 0366	(81-3) 3448 1438	(84-4)-38229353
網址	http://www.snupharm.ac.kr/eng/introduction/facilities1.asp	http://www.med.u-toyama.ac.jp/wakan/index.html	http://www.kitasato-u.ac.jp/tou-i-ken/index.htm	http://www.yhcotruyen.org.vn/
E-mail	sklcrs@plaza.snu.ac.kr	shimada@med.u-toyama.ac.jp	t@insti.kitasato-u.ac.jp	yhcotruyen@hinet.net.vn

附錄二、英文中醫藥相關書籍

英文版中醫藥教材

No.	書名	年份	作者
1	A comprehensive guide to Chinese medicine	2003	Leung, Ping-Chung
2	A practical dictionary of Chinese medicine	1998	Wiseman, Nigel./Feng, Ye
3	A practical dictionary of Chinese medicine =Shi yong Ying wen zhong yi ci dian	2002	Wiseman, Nigel./Feng, Ye
4	A practical introduction to major Chinese herbal formulas	1980	Hsu, Hung-yuan/Easer, Douglas H
5	AIDS and Chinese medicine =[Ai tzu ping chih Han fang chen liao] : applications of the oldest medicine to the newest disease	1990	Zhang, Qingcai/ Hs, Hung-y an/Ziolkowski, Heidi
6	Abstracts of Chinese medicines :(ACME)	1986	Chinese University of Hong Kong, Chinese Medicinal Material Research C
7	Acupuncture and moxibustion	2000	Hsiao, Fei/Mu, Jianhua
8	Arthritis and Chinese herbal medicine	1987	Tsung, Pi-Kwang/ Hs, Hung-y an
9	Chinese auricular acupuncture	2004	Abbate, Skya.
10	Chinese herb medicine and therapy	1976	Hs, Hung-y an/ Peacher, William G.
11	Chinese herb medicine and therapy	1982	Hsu, Hong-yen/Peacher, William G.
12	Chinese herbal medicine :formulas & strategies	1990	Bensky, Dan/Barolet, Randall
13	Chinese herbal medicine :materia medica	1986	Bensky, Dan/ Gamble, Andrew, 1946-/ Kaptchuk, Ted J.
14	Chinese herbal medicine :materia medica	1993	Bensky, Dan/ Gamble, Andrew, 1946-/ Kaptchuk, Ted J.
15	Chinese herbal medicine and the problems of aging	1984	Terashi, Bokuso, 1923
16	Chinese herbal medicines:comparisons and characteristics 中藥比較與中藥特性 /cYifan Yang	2002	Yang, Yifan
17	Chinese herbal science :its characteristics, diagnosis, and treatment	1982	Hsu, Hong-yen/Haueter, Judith
18	Chinese medicinal plants from the Pen Ts'ao Kang Mu A.D. 1596 of a Botanical, chemical and pharmacological reference list	1982	Read, Bernard E
19	Chinese medicine :a comprehensive review of medicine in the People's Republic of China	1984	Luo, De-cheng/Wu, He-guang
20	Chinese medicine for maximum immunity : understanding the five elemental types for health and well-being	1998	Elias, Jason/Ketcham, Katherine, 1949
21	Chinese medicine.[videorecording]	1996	Jahnke, Roger./VisionQuest Video.

No.	書名	年份	作者
22	Chinese surgery :a comprehensive review of surgery in the Peoples's Republic of China	1984	Ran, Rui-tu/Wu, He-guang
23	Clinical handbook of Chinese prepared medicines	1989	Zhu, Chun-Han, 1945
24	Clinical manual of Chinese herbal medicine and acupuncture	1997	Chou, Chung-ying/Jin, Hui De, 1943
25	Combined use of Western therapies and Chinese medicine = Seiyo yaku to kanpoyaku tono heiyo ni tsuite no kosatsu = Chung hsi yao ping yung chih chien tao	1987	Kikutani, Toyohiko
26	Commonly used Chinese patent medicines	1994	Tian, Jinzhen/Xu, Xiangcai
27	Diagnosis in Chinese medicine :a comprehensive guide	2004	Maciocia, Giovanni.
28	Encounters with qi :exploring Chinese medicine	1985	Eisenberg, David/Wright, Thomas Lee
29	Essentials of traditional Chinese medicine	1991	Chen, Xingjian/Liu, Chengcai/Xu, Xiangcai
30	Famine foods list in the Chiu Huang Pen Ts'ao; The botany of Mahuang;Common food fishes of Shanghai	1982	Read, Bernard E
31	For women only :Chinese herbal formulas	1982	Hsu, Hung-yen/ Easer, Douglas H/ Haueter, Judith
32	Fundamentals of Chinese medicine	1985	East Asian Medical Studies Society
33	Fundamentals of Chinese medicine	1993	Ellis/Wiseman/ 李
34	History of Chinese medicine	1985	Wong, K. Chimin/Wu, Lien-teh 1879-1960
35	History of Chinese medicine ; [being a chronicle of medical happenings in China from ancient times to the present period	1985	Wang, Chi-min/Wu, Lien-t, 1879-1960
36	Huang Ti Nei Ching Su Sen : the yellow emperor's classic of internal medicine	1982	Veith, Ilza
37	Immunology and chinese herbal medicine	1986	Tsung, Pi-kwang/Hsu, Hung-yen
38	International journal of oriental medicine = Kuo chi han fang i yao tsa chih	1989	Oriental Healing Arts Institute of U.S.A
39	Introductory readings in classical Chinese medicine : sixty texts with vocabulary and translation, a guide to research aids and a general glossary	1988	Unschuld, Paul U. (Paul Ulrich), 1943
40	Medicinal herbs :practical traditional Chinese medicine & pharmacology	1991	Junying, Geng
41	Pharmacology of traditional Chinese medical founulae	1994	Xu, Xiangcai/Xuan, Jiasheng
42	Practical diagnosis in traditional Chinese medicine	1999	Deng, Tie-tao./ Ergil, Kevin./ Ergil, Marnae./ Sumei, Yi.
43	Shang han lun :The great classic of Chinese medicine	1981	Chang, Chung-ching, fl. 168-196/ Hs, Hung-y an/ Peacher, William G.

No.	書名	年份	作者
44	Simple and proved recipes	1991	Hu, Zunda/Xu, Xiangcai/Zhou, Xing
45	Synopsis of prescriptions of the golden chamber with 300 cases :a classic of traditional chinese medicine with ancient and contemporary case studies	1999	Zhongjing, Zhang/Xiwen, Luo
46	Textbook of Chinese acupuncture medicine	1974	Tsay, Robert C
47	Textbook of Chinese acupuncture medicine	1977	Tsay, Robert C
48	The Chinese materia medica	1994	Huang, Kuiming/ Xu, Xiangcai/ Zou, Jilong
49	The English-Chinese encyclopedia of practical traditional Chinese medicine	1991	Hsu, hsiang-ts'ai
50	The complete illustrated guide to Chinese medicine : a comprehensive system for health and fitness	1996	Williams, Tom, 1948
51	The foundations of Chinese medicine : a comprehensive text for acupuncturists and herbalists	1989	Maciocia, Giovanni
52	The practice of Chinese medicine =[Zhong yao zhen jiu zhi liao xue]: the treatment of disease with acupuncture and Chinese herbs	1994	Maciocia, Giovanni/Maciocia, Giovanni.
53	The theoretical foundations of Chinese medicine :systems of correspondence	1973	Porkert, Manfred/ Massachusetts Institute of Technology.
54	The way forward for Chinese medicine	2002	Chan, Kelvin/Lee, Henry, 1946
55	Therapeutics of acupuncture and moxibustion	1991	Liu, Yutan/ Xu, Xiangcai/ Yu, Changzheng
56	Tongue diagnosis in Chinese medicine	1987	Maciocia, Giovanni
57	Traditional Chinese medicine :cupping therapy	1999	Chirali, Ilkay Zihni, 1946
58	Traditional Chinese medicines :molecular structures, natural sources, and applications	1999	Yan, X. (Xinjian)/ Milne, G. W. A. (George William Anthony), 1937-/ Xie
59	Treatise on febrile diseases caused by cold :a classic of traditional Chinese medicine (Shanghan Lun)	1986	Zhang, Zhongjing, fl. 168-196
60	Visions on chinese medicine in Taiwan: the introduction of committee on chinese medicine and pharmacy department of health	2004	
61	Western astrology & Chinese medicine	1985	Clogstoun-Willmott, Jonathan
62	What you should know about traditional Chinese medicine, acupuncture & Herb Medicine :information for public and patients	1985	Tsay, Robert C
63	A comprehensive guide to Chinese medicine		by Ping-Chung Leung, Charlie Changli Xue & Yung-Chi Cheng
64	An illustreted chinese materia medica in Hong Kong		Zhao Zhongzhen

No.	書名	年份	作者
65	New Format Pharmacology and Applications of chinese materia medicine		Hson-Mou Chang & Paul Pui-Hay But (The Chinese University of Hong Kong) translated by Sih-Cheng Yao, Lai-Ling Wang & Shem Chang-Shing Yeung (The Chinese University of Hong Kong)
66	The Book of Acupuncture points	1984	James Tin Yao So
67	Chinese Acupuncture	1994	George Soulie'De Morant
68	Treatment of Disease with Acupuncture	1987	James Tin Yao So
69	Terrains and Phthology in Acupuncture	1986	Yves Requena, M.D.
70	Acumoxa Therapy, Volume 1:Reference & Study Guide	1990	Paul Zmiewski and Richard Feit
71	Acumoxa Therapy, Volume 2:Treatment of Disease	1989	Paul Zmiewski and Richard Feit
72	Chinese Medicine	1998	Paul U. Unschuld
73	Five Elments and Ten Stems	1983	Kiiko Matsumoto and Stephen Birch
74	Forgotten Traditions of Ancient Chinese Medicine	1990	Hsu Ta-ch'un, Translated by Paul U. Unschuld
75	Fundamentals of Chinese Acupuncture	1991	Andrew Ellis, Nigel Wiseman, Ken Boss
76	Fundamentals of Chinese Medicine (Revised)	1994	Andrew Ellis and Nigel Wiseman
77	Grasping the Wind	1989	Andrew Ellis, Nigel Wiseman, Ken Boss
78	Hara Diagnosis: Reflections on the Sea	1989	Kiiko Matsumoto and Stephen Birch
79	Japanese Acupuncture: A Clinical Guide	1994	Stephen Birch and Junko Ida
80	Practical Therapeutics of Traditional Chinese Medicines	1994	Wu Yan and Warren Fisher
81	Pulse Diagnosis	1985	Li Shi Zhen, Translated by Garry Seifert and Hoc Ku Huynh
82	Shang Han Lun (On Cold Damage): Trans. & Comment.	1999	Craig Mitchell, Feng Ye, and Nigel Wiseman
83	Soothing the Troubled Mind	1999	Translated by Thomas Dey
84	A Practical Dictionary of Traditional Chinese Medicine	1998	Feng Ye, and Nigel Wiseman
85	Introduction to English Terminology of Chinese Medicine	2001	Nigel Wiseman
86	Learn to Read Chinese Audiotapes	1995	Paul U. Unschuld
87	Chinese Herbal Medicine: Modern Applications of Traditional Formulas	2004	Chongyun Liu, Angela Tseng, Sue Yang

No.	書名	年份	作者
88	Interactions Between Chinese Herbal Medicinal Products and Orthodox Drugs	2000	Kelvin Chan,Lily Cheung
89	The Pharmacology of Chinese Herbs, Second Edition	1998	Kee C Huang
90	The Illustrated Chinese Materia Medica	1997	顏焜熒
91	Medicine in China: A History of Pharmaceutics	1987	Paul U. Unschuld
92	Chinese Herb	1985	John D. keys
93	The Expressiveness of the Body and the Divergence of Greek and Chinese Medicine	2002	Shigehisa Kuriyama
94	The Psychopharmacology of Herbal Medicine	2001	Marcello Spinella
95	Chinese Herbal Remedies	1985	Albert Y. Leung
96	Tiger Bone and Rhino Horn: The Destruction of Wildlife for Traditional Chinese Medicine	2005	Richard Ellis
97	Building a Jade Screen: Better Health with Chinese Medicine	2005	Hong Zhen Zhu
98	Natural Choices for Women's Health: How the Secrets of Natural and Chinese Medicine Can Create a Lifetime Ofwellness	2005	Laurie Steelsmith
99	Traditional Chinese Medicine: An Authoritative and Comprehensive Guide	2005	Henry C. Lu
100	The Infertility Cure: The Ancient Chinese Wellness Program for Getting Pregnant and Having Healthy Babies	2005	Radine Lewis, Randine Lewis
101	Chinese Medicine - Modern Practice	2005	Ping-Chung Leung, Charlie Xue
102	Medieval Chinese Medicine: The Dunhuang Medical Manuscripts	2005	Vivienne Lo
103	Chinese Medicine in Early Communist China, 1945-63;A Medicine of Revolution	2005	Kim Taylor
104	A Tooth from the Tiger's Mouth: How to Treat Your Injuries with Powerful Healing Secrets of the Great Chinese Warrior	2004	Tom Bisio
105	Chinese Herbal Medicine - A Medical Dictionary, Bibliography, and Annotated Research Guide to Intern	2004	Icon Health Publications
106	Chinese Herbal Medicine	2004	Chongyun Liu, Angela Tseng
107	Dermatology in Traditional Chinese Medicine	2004	Xu Yihou
108	Chinese Medicine	2004	Duo Gao
109	The Treatment of Infertility with Chinese Medicine	2004	Jane Lyttleton, Steven Clavey
110	Diagnosis in Chinese Medicine: A Comprehensive Guide	2004	Giovanni Maciocia

No.	書名	年份	作者
111	Navigating the Channels of Traditional Chinese Medicine	2004	Yitian Ni
112	Food as Medicine: A Traditional Chinese Medical Perspective	2004	Ted Zombolas, Jing Yuan
113	Chinese Medicine - A Medical Dictionary, Bibliography, and Annotated Research Guide to Internet Refe	2004	Icon Health Publications
114	A Comprehensive Guide to Chinese Medicine	2003	C. Xue, Y-C Cheng
115	Management of Cancer with Chinese Medicine	2003	Li Peiwen
116	Face Reading in Chinese Medicine	2003	Lillian Bridges, Bridges
117	Shenprofessional - Software for Acupuncture and Traditional Chinese Medicine	2003	J. Bschaden
118	The Complete Illustrated Guide to Chinese Medicine	2003	Tom Williams
119	Creating a New Chinese Medicine and Pharmacology	2003	David Falkayn
120	Treating Pain with Traditional Chinese Medicine	2003	Dagmar Riley
121	The Story of Chinese Acupuncture and Moxibustion	2003	Fu Wei-Kang
122	Basics of Acupuncture	2003	Brian Berman, Bruce Pomeranz
123	Chinese Medicinal Herbs: A Modern Edition of a Classic Sixteenth-Century Manual	2003	Shizhen Li, Shih-Chen Li
124	Fluid Physiology and Pathology in Traditional Chinese Medicine	2003	Steven Clavey, Clavey
125	Ancient Herbs, Modern Medicine: Improving Your Health by Combining Chinese Herbal Medicine and Western Medicine	2003	Henry Han
126	Chinese Herbal Medicine	2003	M. D. C. P. Li
127	Manual of Chinese Herbal Medicine: Principles and Practice for Easy Reference	2003	Warner J. W. Fan
128	Diagnosis in Traditional Chinese Medicine	2002	Ping Chen
129	Chinese Medicine-PB	2002	Volker Scheid
130	Introduction to English Terminology of Chinese Medicine	2002	Nigel Wiseman
131	The Treatment of Pain with Chinese Herbs and Acupuncture	2002	Sun Peilin
132	The Healing Promise of Qi: Creating Extraordinary Wellness with Qigong and Tai Chi	2002	Roger Jahnke, Qigong Chi
133	The Treatment of Pain with Chinese Herbs and Acupuncture	2002	Sun Peilin
134	Contemporary Chinese Medicine and Acupuncture	2001	Prodotto da Churchill Livingstone
135	Principles of Traditional Chinese Medicine: The Essential Guide to Understanding the Human Body	2001	Xu Xiangcai

No.	書名	年份	作者
136	Traditional Chinese Medicine	2001	Prodotto da Topics Entertainment
137	Acupuncture in the Treatment of Depression: A Manual for Practice and Research	2001	Rosa N. Schnyer, Sabrina K. Hitt
138	Chinese Herbal Medicine Made Easy: Effective and Natural Remedies for Common Illnesses	2001	Thomas Richard Joiner
139	Acupuncture for Everyone: What It Is, Why It Works, and How It Can Help You	2001	Ruth Kidson
140	Chinese Magical Medicine	2001	Michel Strickmann
141	Practical Chinese Medicine: Understanding the Principles and Practice of Traditional Chinese Medicine and Making Them Work for You	2001	Penelope Ody
142	Chinese Herbal Medicine	2000	C. P. Li
143	Qigong: Chinese Medicine or Pseudoscience?	2000	Lin Zixin
144	Voices of Qi: An Introductory Guide to Traditional Chinese Medicine	2000	Alex Holland
145	Instant Emotional Healing: Acupressure for the Emotions	2000	Peter T. Lambrou, George Pratt
146	Chinese Pediatric Massage: A Practitioner's Guide	2000	Kyle Cline
147	The Transmission of Chinese Medicine	1999	Elisabeth Hsu
148	Wind in the Blood: Mayan Healing and Chinese Medicine	1999	Hernan Garcia Mendoza
149	Soothing the Troubled Mind: Treatment and Prevention of Schizophrenia with Acupuncture and Moxibustion	1999	Thomas Dey
150	Who Can Ride the Dragon?: An Exploration of the Cultural Roots of Traditional Chinese Medicine	1999	Zhang Yu Huan, Yu Huan Zhang
151	Encyclopedia of Chinese and U.S. Patent Herbal Medicines	1999	Chongyun Liu, Andrew McIntyre
152	Practical Diagnosis in Traditional Chinese Medicine	1999	Tieh-Tao Teng, Kevin Ergil
153	Chinese Massage for Infants and Children: Traditional Techniques for Alleviating Colic, Colds, Earaches, and Other Common Childhood Conditions	1999	Kyle Cline, L. M. T. Cline
154	Acupuncture Without Needles	1999	J. V. Cerney
155	Chinese Medicine for Women: A Common Sense Approach	1999	Bronwyn Whitlock
156	Chinese Herbal Secrets: The Key to Total Health	1999	Stefan Chmelik
157	Chinese Medicine for Maximum Immunity: Understanding the Five Elemental Types for Health and Well-Being	1999	Jason Elias

No.	書名	年份	作者
158	Traditional Chinese Medicine Cupping Therapy: A Practical Guide	1999	Ilkay Zihni Chirali
159	Teach Yourself Traditional Chinese Medicine	1999	Richard Craze
160	Forgotten Traditions of Ancient Chinese Medicine: A Chinese View from the 18th Century	1999	Paul Unschuld
161	Chinese Medicine	1998	Paul U. Unschuld
162	Chinese Traditional Herbal Medicine	1998	Michael Tierra
163	Chinese Traditional Herbal Medicine Vol.II: Materia Medica & Herbal Ref	1998	Michael Tierra
164	Chinese Traditional Herbal Medicine Vol.I: Diagnosis and Treatment	1998	Michael Tierra
165	Wood Becomes Water: Chinese Medicine in Everyday Life	1998	Gail Reichstein
166	Thai Massage: A Traditional Medical Technique	1998	Gold, Richard Gold
167	Well Women: Healing the Female Body Through Traditional Chinese Medicine	1998	Marie Cargill
168	Obstetrics & Gynecology in Chinese Medicine	1998	Giovanni Maciocia
169	A Practical Dictionary of Chinese Medicine	1997	Nigel Wiseman, Feng Ye
170	The Book of Herbal Wisdom: Using Plants as Medicines	1997	Matthew Wood
171	The Chinese Way to Health: A Self-Help Guide to Traditional Chinese Medicine	1997	Stephen Gascoigne
172	Practical Therapeutics of Traditional Chinese Medicine	1997	Wu Yan
173	The Practice of Chinese Medicine CD-ROM: The Treatment of Diseases with Acupuncture and Chinese Herbs	1997	Giovanni Maciocia
174	Clinical Manual of Chinese Herbal Medicine and Acupuncture	1996	Zhou, Zhong Ying Zhou
175	Shambhala Guide to Traditional Chinese Medicine	1996	Daniel P. Reid
176	The Essential Book of Traditional Chinese Medicine: Volume I: Theory	1996	Liu Yanchi
177	A Handbook of Chinese Healing Herbs	1995	Daniel P. Reid
178	The Healing Power of Herbs: The Enlightened Person's Guide to the Wonders of Medicinal Plants	1995	Michael T. Murray, Murray
179	The Yellow Emperor's Classic of Medicine: A New Translation of the Neijing Suwen with Commentary	1995	Maoshing Ni
180	Essential Book of Traditional Chinese Medicine: Volume 2: Clinical Practice	1995	Liu Yanchi
181	The Basis of Traditional Chinese Medicine	1994	Shen Ziyin
182	Fundamentals of Chinese Medicine		Nigel A. Wiseman

No.	書名	年份	作者
183	Fundamentals of Chinese Acupuncture		Andrew W. Ellis
184	The Practice of Chinese Medicine: The Treatment of Diseases with Acupuncture and Chinese Herbs		Giovanni Maciocia, Giovanni Maciocia
185	The Book of Ginseng: And Other Chinese Herbs for Vitality	1993	Stephen Fulder, PH. D. Fulder
186	Rooted in Spirit: The Heart of Chinese Medicine	1992	Claude Larre
187	Clinical Handbook of Chinese Prepared Medicines	1989	Chun-Han Zhu, Chun-Han Zhu
188	The Foundations of Chinese Medicine: A Comprehensive Text for Acupuncturists and Herbalists	1989	Giovanni Maciocia, Maciocia
189	Medicine in China	1986	Paul U. Unschuld
190	Acupuncture: The Ancient Chinese Art of Healing and How It Works Scientifically	1973	Felix Mann

附錄三、國外傳統醫藥相關醫學藥學期刊

序號	正刊名	聯繫方式
1	我們的漢方藥（わたしたちの漢方薬）	〒466-0054 日本國名古屋市昭和區円上町 24 番 21 號 Tel.052-883-5151
2	傳統醫學	臨床情報セソタテ -102-0085 東京都千代田區六番町2號 電話 : 03 (3221) 1872
3	東方醫學	〒105-001 東京都港區虎ノ門 1-16-9 雙葉ビル 4 階 電話 : 03-3504-8670
4	東洋醫學(日)	《東洋醫學 (日) 》日本 〒105-0001 東京都港區虎ノ門 1-16-9 雙葉ビル 4 階 電話¥傳真:03-3504-8670
5	東洋醫學とペインケリニツケ	〒569 日本國高規市大學町 2-7 大阪醫科大學麻醉學教室 内とペインケリニツケ内 電話 : 0726-83-1221
6	東醫學研究	〒110-0015 東京都台東區東上野 1-24-8 新須崎ビル 3F 雞林東醫學院內 電話 : 03-3832-5782 傳真 : 03-3836-0858
7	漢方と最新治療 Kampo & the Newest Therapy	〒154-0005 東京都世田谷區三宿 2-11-32 電話 : 03(3424)9099
8	漢方の臨床	〒101-0061 日本東京都千代田區三崎町 2-1-15 http://aeam.umin.ac.jp
9	漢方調剤研究	〒105-0004 東京都港區新橋 2-20 電話 : 03(3221)1872
10	漢方研究	〒531-0071 日本大阪市北區中津 2 丁目 5-23
11	漢方醫學	〒102-0085 東京都千代田區六番町 2 ッムラ六番町ビル 電話 : 03(3221)1872
12	和漢藥	〒103-0023 東京都中央區日本橋本町 4-2-8 Tel:(03)(3241)4241 番
13	和漢藥研究所年報	《和漢藥研究所年報》富山醫科藥科大學 〒930-01 富山市杉穀 2630 番地 電話 : (076)4342281
14	和漢醫藥學雜誌	〒930-0194 富山市杉穀 2630 番地 電話 : (076)434-7635 傳真 : (076)434-5062 E-mail:Keiko3@ms.toyama-mpu.ac.jp
15	活	〒103-0027 東京都中央區日本橋 2-2-20 日本橋仲通リビル 4 階 電話 : 03(3271)8363
16	經絡針療	〒160-0022 東京都新宿區新宿 7-3-50 電話 : 03-3203-1011
17	經絡治療	〒東京都涉谷區神宮前 2-35 原宿リビン 208 電話 : 03 (3402) 9695
18	臨床針灸 Clinical Acupuncture Moxbustion	〒564-0062 日本國吹田市垂水町 2-1-607 電話 : 06-6386-4566
19	明治針灸醫學	〒629-03 日本國明治針灸大學 京都府船井郡日吉町
20	全日本針灸學會雜誌	〒3-44-14,minami-otsuka,Toshima-ku,Tokyo,170-0005,Japan 電話 : +81-3-3985-6188 http://www.jsam.or.jp

序號	正刊名	聯繫方式
21	日本東洋醫學雜誌	〒103-0027, Nihonbash.Nakadori Bldg.2-2-20 Nihonbashi Chuoku, Tokyo Japan
22	日本良導絡自律神經學會雜誌	590-0482 日本大阪府泉南郡熊取町若葉 2-11-1 関西針灸短期大學內 電話 : 0724 (53) 8113 傳真 : 0724 (53) 8137
23	日本針灸新報	〒170 東京都 島區南大 3-44-14
24	生藥學雜誌	〒千葉縣千葉市稻毛區彌生町 1-33 千葉大學藥學部
25	痛 みと漢方	〒104 日本中央區八丁堀 4-12-7 サニ-ビル 3F 病院資料セソタ- 電話 : 03-3551-1906
26	醫道の日本	〒237-0068 日本橫須賀市追浜本町 1-45 Tel:(0468)652161 Fax:(0468)652707
27	中國醫學研究	中國醫學研究協會本部 〒101 東京都千代田區三崎町 3-4-8 (山田 ビル 6F) 電話 : (03)32624907,32633788
28	中醫臨床	〒272-0822 日本國千葉縣市八幡 2-11-5-403 電話 : (047) 335-6780 E-Mail:henshu@chuui.co.jp
29	東洋醫學 (韓國版)	〒137-069 大韓民國特別市 瑞草區 方背洞 756-7 Te/Fax:(02)535-2903
30	新加坡中醫藥報	新加坡中醫學院畢業師協會，新加坡中醫藥報編委會 TOA PAYOH CENTRAL P.O BOX 134 SINGAPORE 913105
31	Acupuncture & Electro-Therapeutics Research	Japan:c/o KBK,T's Bldg.1-38-11,Setagaya-ku,Tokyo 156, Fax:03-5300-1615;Australia:P.O.Box 352,Cammeray,NWS 2026
32	Acupuncture/The Science-tific International Journal	60 Charles Lindbergh Blvd.,Uniondale,NY 11553 , USA
33	Alternative Complementary Therapies	Madison Avenue Larchmont NY 10538, USA Tel:(914)834-3100 http://www.liebertpub.com
34	American Journal of Acupuncture	PO Box 610,Capitola CA 95010,USA
35	American Journal of Traditional Chinese Medicine	108-A East 38 Street,New York,NY 10016,USA http://www.sinaimed.net
36	Australian Journal of Medicine Herbalism	P.O. Box 403 Morisset Australia 2264 Tel:(02)4973 4107 Fax:(02)4973 4857 E-mail:ajmh@nhaa.org.au
37	Complementary Therapies in Medicine	1-3 Baxter's Place,Leith Walk,Edinburgh,EH1 3AF Tel:44(0)131 5241762 Fax:44(0)131 5241720
38	European Journal of Oriental Medicine	63 Jeddo Road,London,W129HG,United Kigdom Tel:44(0)181 7491300 http://www.acupuncture.org./ejom E-mail:ejom@dial.pipex.com
39	Healthnotes Review of Complementary and Integrative Medicine	1505 SSSE Gideon,Suite 200 Portland.OR 97202 ,USA Tel:503/234-4092 Fax:503/234 -4092
40	International Journal of Clinical Acupuncture	Allerton Press,Inc./150 Fifth Avenue/New York,NY 10011

序號	正刊名	聯繫方式
41	International Journal of Oriental Medicine	Oriental Healing Arts Institute,USA.1945 Polo Verde Ave.#208,Long Beach,CA 90815,USA
42	Journal of Alternative and Complementary Medicine	2 Madison Avenue, Larchmont,NY 10538-1962 Tel:(914)834-3100 Fax:(914)834-3771 http://www.liebertpub.com E-mail:info@Liebertpub.com
43	Journal of Chinese Medicine	22 Cromwell Road,Hove,Sussex BN3 3EB, England. Fax:(44)(0)1237-748588 http://www.jcm.co.uk E-mail:info@jim.co.uk
44	Journal of Herbs,Spices & Medicinal Plants	An Imprint of the Haworth Press,Inc.10 Alice Street Binghamton NY 13904-1580,USA
45	Journal of Manipulative & Physiological	200 East Roosevelt Road Lombard,IL 60148-4583 Tel:(630)889-6524 Fax:(630)889-6554 E-mail:Dana 5140@aol.com
46	Journal of Natural Products	American Chemical Society,1155 16 th st., N.W.,Washington,DC 20036 Tel: (202)872-4614,TDD(202)872-6076 Fax: (202)776-8264
47	Pacific Journal of Oriental Medicine	P.O. Box 417 Mullumbimby NSW 2482 Australia Fax:(02)6684 9140 E-mail:pjom@ozemail.com.au
48	Phytotherapy Research	John Wiley&Sons.Ltd,I oldlands way, Bognor Regis,West Sussex,PO229SA,UK Tel:(01243)843282 Fax:(01243)843232 http://www.interscience.wiley.com
49	Planta Medica	Thieme New York 333 Seventh Avenue New York,NY 10001,USA Tel:+1-212-760-0888 Fax:+1-212-947-1112 http://www.thieme-connect.de
50	Review of Aromatic and Medicinal Plants	CAB International,Wallingford,OX10 8DE,UK. Tel:+44(0)1491 829292 E-mail:cabiycabi.org
51	Biological & Pharmaceutical Bulletin	2-12-15,Shibuya,Shibuya-ku,Tokyo 150-0002,Japan Tel:+81-3-3406-3325 Fax:+81-3-3498-1835 E-mail:ronb@pharm.or.jp http://bpb.pharm.or.jp
52	Chemical & Pharmaceutical Bulletin	2-12-15,Shibuya,Shibuya-ku,Tokyo 150-0002,Japan Tel:+81-3-3406-3325 Fax:+81-3-3498-1835 E-mail:ronb@pharm.or.jp http://cpb.pharm.or.jp
53	The Journal of Korean Oriental Medicine (大韓韓醫學會志)	965-1 ,Chegi-Dong ,Tong daemoon-Gu,Seoul,130-702,Korea Tel:02-959-7347 fax:+82-2-959-7347 http://www.koma.or.kr Email:isom@chollian.net
54	Méridiens	2,rue du Général de Larminat,75015 Paris Tel:01 42 73 37 26 ;01 40 65 94 89 http://www.efa-asmaf.org E-mail:efa@worldnet.fr
55	Revue française de médecine Traditionnelle chinoise (針灸醫生月刊)	27,Boulevard d'Athènes-13001 Marseille Tel:04.96.17.00.30 Fax:04.96.17.00.31 E-mail:recours-nguyen@yahoo.fr
56	Akupunktur Theoprie und Praxis	Medizinisch Literarische Verlagsge-sellschaft MBH,Postfach 1151/1152,D-29501 Uelzen,Germany, Tel:(0581)80 81 51 http://www.mlverlag.de E-mail:ml.verlag.velzen@t-online.de
57	Der Akupunkturzt Aurikulotherapeut	Feinhalsstr., 8, D-81247 München, Tel:089-8915310 Fax:089-8915311 E-mail:akademie@akupunktur-arzt.de

序號	正刊名	聯繫方式
58	Deutsch Zeitschrift für Akupunktur	Kar1 F. Haug Verlag,Hüthig GmbH.Im Weiher 10,D-69121 Heidelberg,Germany. Tel:(06221)4 89-2 83 Fax:(06221)4 89-4 10
59	Chinesicche Medizin (中醫學報)	Franz-Joseph-Straße 38,D-80801 München
60	Растительные ресурсы (植物資源)	Санкт-Летербургская типография 《Наука》 РАН 199034, Санкт-Летербург, 9, Линия12