

ISSN 2305-087X

Yearbook of Chinese Medicine and Pharmacy

(DVD version)

中醫藥年報

(光碟版)

年刊2015(104年)第四期

Annual 2015 Issue 4

電子書



中華民國一〇四年十二月 製作

Published in December, 2015

衛生福利部
Ministry of Health and Welfare

ISSN : 2305-087X

中 醫 藥 年 報

(光 碟 版)

Yearbook of Chinese Medicine and Pharmacy (DVD version)

年刊 2015 (104 年)

第四期

Annual 2015

Issue 4

衛生福利部
Ministry of Health and Welfare
中華民國一百零四年十二月 製作
Published in December, 2015

中醫藥相關研究成果之專利評估暨 專利申請(2-1)

王世仁

臺北榮民總醫院外科部實驗外科

摘 要

從科學和技術的角度來看，專利則是無形的智慧資產中最有影響力，在生物醫藥領域甚至還強調：沒有專利的人根本就不是 player。故本計畫針對案針對行政院衛生署中醫藥委員會的中醫藥研究成果進行可專利性評估，然後挑出有可專利性與經濟價值的成果，期望能從而將研究成果最有價值化。

本計畫設計出相關的評估表格，然後根據研究計畫成果報告書來填寫，並且從而擷取關鍵字等來進行檢索，由於顧及中醫藥的一般性，所以除了專利資料庫之外，我們也有添加網路檢索如 Google。

本年度的計畫，我們順利地完成了 42 件的成果評估，但是結果卻遠低於原本所預期的，因為有許多成果或是已經公開(發表論文或是碩士論文)，或是專利資料庫與其他的網站已經有相關或相同的研究，若冒然提出專利申請恐非常容易被核駁。

從計畫執行的過程中，深深地體會到用回溯性的可專性評估效果恐非常有限制，建議在計畫審查階段就應該加入專利檢索的機制，讓審查委員也能夠把檢索的結果納入考慮；另普及正確的專利觀念也是刻不容緩。

關鍵詞：中醫藥研究成果、可專利性、專利檢索

The Patentability Evaluation and Patent Prosecution for the Botanical Drug Related Research (2-1)

Shyh-Jen Wang
Taipei Veterans General Hospital

ABSTRACT

The aim of this project is to evaluate patentability for the projects supported by Committee on Chinese Medicine and Pharmacy (CCMP). Following, the patent applications will be proposed for those results with patentability.

In this year, we have evaluated 42 projects funded by CCMP. It is a shame that most of the research results were short of patentability. Couple of the results was even disclosed by the researchers themselves.

Based on experience during the project, the concept of conducting research with patent concept should be pushed to our researchers. The prior search should also be conducted during the period of calling for proposal.

Keywords: patent, patent search, patent ability

壹、前言

近年來在歐美掀起替代醫學(alternative medicine)的熱潮，於是對於回歸自然、毒性和副作用較低的中草藥的重視，也就逐日增加。像美國 FDA[1] 於 1997 年 4 月 16 日公告「植物性產品指引」草案(Guidance on Botanical Products, draft)，而 2000 年 8 月 10 日又有修正版的制訂；歐洲方面各國也先後制訂植物藥的相關法案；加拿大、澳洲和瑞士則立法來規定中醫藥。諸如等等似乎都透露著中草藥在世界市場上發展的契機。

還有，Newman 等人[2]分析 1981 年到 2002 年的新藥，發現在治療腫瘤方面非合成的小分子新化學成分佔 62%，而在其他的領域中天然物(natural product)結構的影響也是很顯著的，像是抗高血壓方面，74 種合成的藥中就有 48 種可回溯到天然物的結構或模擬，而從 1981 年到 2002 年所有新化學成分(new chemical entries)中，天然物佔 5%、萃取天然物而經常是半合成的佔 23%、模仿天然物結構的佔 10%，而完全是合成的才佔 33%。Butler[3]的評論也指出在 2000 年到 2002 年全球銷售排名前 35 大的處方用藥中，其中就有顯著的部分是從天然物所萃取的，2002 年到 2003 年之間也有 15 種從天然物萃取的新藥問世，以及 15 種從天然物所萃取化合物在第三期(phase III)的臨床試驗。這些看來令人振奮的統計數字，更是支持我國投入的中醫藥的相關研究，但是，如 Butler[3]所指出：雖然有這些成果，過去幾年來大藥廠還是關閉或裁減天然物的運作，所以天然物的相關研究需要繼續改善篩選、分離和結構解釋程序的速率、探討篩選天然萃取物的適合性(suitability)和大量化合物供給的問題。

在國內方面，政府為推動亞太製造中心，於民國 86 年 4 月行政院在生物技術產業策略第一次會議就選定中藥為具有發展潛力之優先課題，同年 8 月經濟部亦明定中藥科學化及新藥研究與開發為 24 項重點發展項目之一，可見中醫藥在政策上受到重視之程度。尤其中草藥有古代老祖宗的傳統智慧，而且國人的接受度亦高，所以在衛生署下設立中醫藥委員會，掌理中醫中藥各項行政事務、建立中醫藥典籍電腦檔案及研究發展工作。

申請中醫藥委員會研究經費補助的學者亦兢兢業業地投入研發工作，很可惜的是專利相關知識尚未普及[4]，再加上傳統上對學研界的評估亦多偏重於學術論文的發表，而不曉得申請專利可與論文發表同時並存，只有發表論文很可能使得原本價值連城的研究成果不能夠為台灣社會帶來實際的價值。

本研究計畫之目的就是要評估和篩選出具有可專利性和有價值的研究成果，進而提出專利申請將研究成果的價值極大化，來配合政府生技醫藥科技之發展；而在執行的過程之中，希望能夠普及專利相關的知識，讓參與中醫藥研究的學者和研究人員，甚至是其他的研究人員都具有專利相關的觀念，而能夠在強調知識經濟的今天握有強而有力的武器——專利，進而可在國際舞台上與先進國家競爭。

貳、材料與方法

本計畫就是在針對行政院衛生署中醫藥委員會所補助的中醫藥研究成果進行可專利性評估，期望能從而將研究成果最有價值化。在執行進行就是從委員會所提供的研究成果報告光碟來進行評估，首先，從資料的表列清單中先剔除行政管理與教育訓練等非技術性的成果，然後，先從 95 年度的成果開始著手，由於受限於人力與經費，根據原計畫書以評估 40 件成果為原則。

執行的步驟如下：

- 一、可專利性檢索：進行可專利檢索可找出與待評估研究成果之相關專利，就可從而評估該成果是否具有專利要件中之新穎性，除此之外，更可以從而找到將來準備提出專利申請的背景相關資料，也可以從而知悉此技術領域發展的情形和其他人請求專利保護的方式，甚至進而找到可能授權的對象等。

由於有計畫經費的補助，本計畫在進行專利檢索就使用專業的 Delphion 付費的專利資料庫(www.delphion.com)，因為該資料庫含括：美國專利(授證和早期公開)、EPC 專利(授證和早期公開)、PCT 申請案、日本案摘要以及德國專利(授證和早期公開)以及 INPADOC 且可進行高階的專利檢索。

另我們也透過網路用 Google 搜尋，以防有所遺漏，而結果也顯示中醫藥方面的研究，在網路上也可能找到專利資料庫所沒有揭露的資料。

- 二、可專利性評估：專利五要件就是：適格的標的、實用性、新穎性、非顯而易知性與相當的揭露，其中相當的揭露是關於專利說明書之撰寫，在此先不予以考慮[7,9]。

適格的標的(eligibility)：

適格的標的是可專利性的先決條件，根據世界貿易組織(World Trade Organization 簡稱 WTO)在智慧財產權相關的協定(Agreement on Trade-Related Intellectual Property Rights, 簡稱 TRIPs)，TRIPs 第 27 條(1)就規定「任何技術領域的所有的發明，只要是具有新穎性、有發明步驟(inventive step)和工業上的用途，不管是產品(product)或程序(process)，都應該受到專利保護」，而 TRIPs 第 27 條(2)規定商業上的運用(commercial exploitation)若違反道德倫理(ordre public or

morality)，則可以排除其可專性，TRIPs 第 27 條(3)(a)更進一步地說治療人類或動物的方法可以不授與專利，對於動植物方面，TRIPs 第 27 條(3)(b)則指出：除了微生物(microorganism)之外的動物和植物和非微生物學(microbiological)而實質上是生物程序之產品可以排除其可專利性；我國專利法第 24 亦規定下列各款，不予發明專利：

- (一)動、植物及生產動、植物之主要生物學方法。但微生物學之生產方法，不在此限。
- (二)人體或動物疾病之診斷、治療或外科手術方法。
- (三)妨害公共秩序、善良風俗或衛生者。還有現在普遍的共識就是專利所保護的是發明(invention)而不是單純的發現(discovery)，例如發現自然界的新礦石或深山中的新植物都不是專利保護的範圍，但上述之發現透過人為的操控(manipulation)就可以是專利保護的範圍。

新穎性：

從上一步驟所找出與研究成果之相關專利，就是認定研究成果是否具有新穎性的第一步驟，接著是要進一步經過比對引證案與研究成果的發明是否具有新穎性？研究成果想 claimed 的發明一定要相同於引證案所揭或具體化的主題事物，則此 claim 的發明才會被「預見」(anticipated)而缺乏新穎性[7,9]。

反過來說，是否可從另一個角度來 claim 研究成果以避開新穎性的問題。還有若是「發表中」的研究成果，則看是否能夠運用我國 6 個月和美國 1 年的寬限期 (grace period)？

非顯而易知性：

美國專利法 35USC§103 規定：所揭露或敘述之發明雖然沒有第 102 條所規定與先前技藝相同之情事，但是，所請求專利保護的主題事物之整體與先前技術間之差異，若在申請當時是該技術領域中具有通常技藝者所顯而易知，則該申請案仍不能獲取專利。我國專利法第 22 條最後一段落亦規定：發明雖無第一項所列情事，但為其所屬技術領域中具有通常知識者依申請前之先前技術所能輕易完成時，仍不得依本法申請取得發明專利。換句話說，所謂的非顯而易知性(non-obviousness，我國一般稱為進步性，歐洲專利局則稱為發明步距(inventive step))，指的是在發明的時間點申請案與先前技藝的差異性，對於該領域中具有通常技藝(ordinary skill)者不是的顯而易知的。非顯

而易知性的重點就是在於申請案 claim 和先前技藝之差異，探討其差異性是否足夠成為發明而被授與專利或者只是該技術領域中具有通常技藝者都會想得到的？專利要件中非顯而易知性的目的就是在預防可以從先前技藝中容易推得的發明被取得專利，而認定時當然是要整體觀之(as a whole)。對於非顯而易知性的認定，我們會建議參考歐洲專利局所發展出來的問題/解決方式的方法(problem/solution approach)，其步驟如下：找出最為相關的先前技藝；找出 claim 中在先前技藝所沒有的特徵(features)；擬定出該特徵所要解決之技術問題；該問題是否出現在其他的先前技藝；若是，決定該領域的技藝人士是否能夠從先前技藝達成 claim 的主題事物。

三、研究成果評估報告：

根據上述之可專利性分析，分析其是否有不符合法定適格的標的、實用性、新穎性和非顯而易知性的問題，從而呈現出是否具有可專利性？而未達成此評估，本計畫也設計了輔助的評估表格。

而在評估表格中，除了可專利性之外，還要考慮到上述影響專利排他權大小之因素。通常而言，一個技術領域中的專利數量愈多，伴隨著其所公開的資訊就愈充分，從而產出具有某特性的發明或創作之機會也會增加，因此，除非有技術上重大的突破，否則往往會造成所取得的排他權利範圍的變小；專利權利的大小會受制發明本身之寬度和廣度，以及該技術功能被取代的可能性，還有要認清物品專利和方法專利本身的強弱順序。

不過本計畫所評估的 42 件計畫成果，似乎都沒有機會進一步地詳細地進行市場性評估，因為在新穎性和非顯而易知性都已擋住往下發展的機會。

四、專家評審會議：

本計畫亦已於 10 月 1 日在中醫藥委員會 主任委員、組長以及委員會同仁大力的協助之下召開專家評審會議，會中邀請專家委員來協助評估，同時亦邀請 8 位（7 位出席）計畫主持人來針對評估內容加以說明。但是在專家會議中，除了深感到評估研究成果的重要性之外，亦體會到從研究成果報告出爐至今已有段時日，期間很可能有發表或其他公開而喪失可專性中的新穎性等，對於一些有價值的研究成果實在可惜。

五、專利說明書之撰寫與遞件：

受到經費補助之計畫主持人辛辛苦苦地投入研發、在經過可專利性的評估和學者專家的評審，目的就是希望能夠取得專利權而讓研發成果發光發熱，過程之中很重要的因素就是說明書要寫的適當。很可惜的是，今年

度所評估的 42 件研究成果，或多或少幾乎有可專利性上的疑慮。

最後，承蒙台北榮總眼科趙效明醫師協助，以其後續的成果來作為本年度提出專利申請的案件，另外一件則是中央大學張榮森教授脈診加上手機的創新。

參、結果

執行本年度計畫業已完成 42 件研究成果的評估(詳如附件)，每件評估案都有檢索策略與檢索結果可供原計畫主持人參考，專家評估會議也如期召開，而且也提出一件成果的我國與美國專利申請案，以及一件我國新型專利申請案。

肆、討論

本計畫第一年度預定的目的係針對中醫藥研究成果進行可專利性專利檢索以及評估，而預定完成工作項目：

- 一、針對每件研究成果進行可專利性專利檢索；
 - 二、擬定出檢索策略，含諮詢原計畫執行之學者或研究人員以深入了解其計畫之精華與進行中計畫；
 - 三、根據專利檢索結果進行可專利性評估。
 - 四、召開專家顧問諮詢會議，篩選出有價值提出專利申請之研究成果。
- 當初，擬定計畫書時，計畫若順利完成，當可達成下列幾點：

- (一)相對於研究成果之專利檢索策略與流程：此流程可提供當初主持研究計畫的學者或研究人員定期更新檢索結果，從而就能夠掌握相關技術最新的脈動。過程之中由於與其有互動，亦能夠從而傳播專利的相關知識，對於當初主持研究計畫的學者或研究人員絕對有正面的意義。
- (二)中醫藥研究成果之評估：評估報告的內容會包括可專利性、市場性以及研究成果的深度和廣度，以及其相關的評估指標，報告除了提供作為評審之外，亦可提供原本主持研究計畫的學者或研究人員作參考，對於其將來在從事研發工作亦能有所助益。
- (三)評審會議：邀請專家學者召開評審會議，以確定出要提出專利申請之研究成果與申請地區和國家。
- (四)提出兩件專利申請案：針對評審會議所篩選出要提出專利申請之研究成果，從中挑選可能是有時間急迫性或是委員所建議的兩件，先行委託專利事務所提出我國與美國之申請案。

本年度執行的結果相較於預定的目標，就只是少了提出一件美國案的申請，因為實在是找不到恰當的成果來提出，為避免浪費公帑。

伍、結論與建議

本計畫是以回溯性的方式來評估已經執行完成的研究計畫成果，原本提出計畫書只是想到有研究人員在論文撰寫或是投稿中。但是，實際進行評估之後，結果卻幾乎跌破計畫執行人員的眼鏡，嚴格說來所評估的 42 成果，幾乎都沒有可專利性！有的成果是因為碩士論文公開或是不知道進行專利檢索等。

從而看來，加強教育訓練讓每一個研究人員都有所謂「優良研發規範」的觀念，也就是說在進行研發之前很重要的就是要了解產業相關資訊、相關法規、進行專利檢索、趨勢分析與技術分析等，才能夠切實掌握研發的脈動，若是閉門造車甚至還可能研發出別人早已有專利的成果，這也是在普及專利教育中所經常提到的，或許在過程之中有教育學習的意義，但是研究成果本身則是沒有價值的。

再則，從本計畫執行的結果來看，以回溯性的評估方式似乎不是很可行，因此，建議在計畫書投標時就應該有專利檢索的機制，藉以提供相關的資料讓審查委員作為考量，而評審委員的審查意見回到計畫主持人也會有參考的價值。或許建立此機制需要在計畫投標階段投入大量的人力來進行檢索報告，也有些困難度，但是，總比執行之後再來後悔來的有意義。

最後，根據本年度計畫執行的結果，提出以下三點具體的建議：

- 一、加強優良研發規範觀念之教育訓練；
- 二、於計畫書送審之前進行先前技藝檢索，連同原計畫一起送審供審查委員評估。
- 三、建議本會研究成果的公開都延後二年，以免有專利性的成果喪失新穎性的問題。

於此再加以強調，計畫執行前的先前技藝檢索確實非常有必要性，沒有檢索就不太能夠產出可能會有經濟價值的研究成果，運作的模式建議在計畫書階段就應該先執行，因為計畫主持人想拿到經費補助就會加以重視，至於執行方式當然不見得要用計畫的方式來運作，也可根據委員會之需求來委外進行等。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP96-RD-013 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. 美國 FDA CDER 網站 www.fda.gov/cder/guidance/1221dft.htm
2. Newman DJ, Cragg GM and Snader KM, 2003, Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002, *Journal of Natural Products*, 66:1022-1037.
3. Bulter MS, 2004, The role of natural product chemistry in drug discovery, *Journal of Natural Products*, 67:2141-2153.
4. 王世仁著 2002/05 專利工程導論 俊傑書局出版 ISBN 986-80261-2-1
5. 王世仁和王世堯著 2003/06 智慧財產權剖析—論生物科技專利策略與實務 全華科技圖書出版 ISBN 957-21-4066-3
6. 曾孝明著 2004/04 台灣教育的宏觀與微觀 御書房出版 ISBN 957-29222-3-8
7. 王世仁著 2005/09 EZ 通識:智慧財產權 全華科技圖書出版 ISBN 957-21-5076-6
8. 王世仁著 2005/12 奈米藥物傳輸技術專利地圖及分析 國家實驗研究院科技政策與資訊中心出版 ISBN 957-619-129-7
9. Pressman, D, 2000, Patent it yourself, Nolo, Berkeley, CA.
10. Slaughter S, and Leslie, LL, 1999, Academic Capitalism, The John Hopkins University Press.
11. Branscomb LM, Kodama, F and Florida R, 1999, Industrializing Knowledge, The MIT Press, Cambridge, Massachusetts.

中醫藥相關研究成果之專利評估暨 專利申請(2-2)

王世仁

臺北榮民總醫院外科部實驗外科

摘要

在知識經濟的今天，無形的智慧資產遠遠已經超越有形資產的重要性，而專利則是無形的智慧資產中最有影響力。很可惜的是在台灣，專利相關的教育沒有普及，再加上對於研究成果之評估也多著重於論文之發表，使得原本有些很好的研究成果只發表在期刊論，因而喪失有價值的產出。從第一年度的計畫執行中，深深體會到國內研發人員似乎對於專利觀念的不重視，評估 42 件研究計畫，幾乎都沒有辦法如願提出專利申請，因此本年度的計畫著重在推廣優良研發規範與舉辦教育訓練。

為達成教育推廣與持續評估研究計畫的可專利性，本研究團隊結合：在醫學中心從事研究工作且有專利相關著作的主持人，以及專門從事生醫專利的基律科技智財有限公司，整個研究團隊具有相關的經驗與能力。進行可專利性檢索從 Google 與專利資料庫著手；舉辦教育訓練研討會則聯繫曾執行過中醫藥委員會計畫的主持人，以及請委員會協助行文給曾接受過計畫補助的機關與主持人，來普及舉辦研討會之訊息。

若計入上年度繳交報告之後所執行的可專利性評估，一共完成了 11 件評估案，另有 1 件的評估還在進行中；也遞件本國發明專利申請案兩件，另有一件說明書在準備之中，無法得到主持人的協助來克服先前技藝，還有一件則是主持人要進一步確認結構。研討會方面則順利舉辦了兩場，第一場研討會計有 70 人報名 58 人與會；第二場則有 100 人報名 73 人與會。整個計畫的過程中，我們從學者先進們的指導與長官們的指示中，學習到很多有意義的建議，深信普及正確的專利觀念尚未完全落實，類似的研討會值得繼續推展，也唯有如此，我們很好的研究成果才有機會發光發熱，為我國產出實質的價值。

關鍵詞：專利、可專利性、中醫藥研究成果

The Patentability Evaluation and Patent Prosecution for Botanical Drug Related Research (2-2)

Shyh-Jen Wang

Division of Experimental Surgery, Department of Surgery, Taipei Veterans general Hospital

ABSTRACT

It is said that if you do not have patents you are not a player in the bio related technology. In other words, without the protection of patent, the government conferring the right to exclude others from making, selling, offering for sale or using an invention for the term of the patent, the result of a research would be valueless. Therefore, it is very necessary to do the patentability search as well as evaluation for those projects funded.

During the first year project, we have evaluated 42 research results funded by Committee on Chinese Medicine and Pharmacy, Department of Health, Executive Yuan. However, all of them do not meet the patentability criterion due to the reasons such as already been published, without prior search. Following, we will focus on the education seminars this year.

This year, we have hold two seminars to educate researchers the concept of Good Research and Development Practice (GR&DP). The seminars basically covered the concept of GR&DP, the patent protection for Chinese medicine related research, patentability, and patent search. There were 70 and 100 personals registered the first the second seminars. Other than the seminars, we also evaluated 12 research reports and submitted two patent applications to Taiwan Intellectual Property Office.

Keywords: Good Research and Development Practice, patentability, Chinese medicine related research

壹、前言

近年來在歐美掀起替代醫學(alternative medicine)的熱潮，於是對於回歸自然、毒性和副作用較低的中草藥的重視，也就逐日增加。像美國 FDA [1] 於 1997 年 4 月 16 日公告「植物性產品指引」草案(Guidance on Botanical Products, draft)，而 2000 年 8 月 10 日又有修正版的制訂；歐洲方面各國也先後制訂植物藥的相關法案；加拿大、澳洲和瑞士則立法來規定中醫藥。諸如等等似乎都透露著中草藥在世界市場上發展的契機。

還有，Newman 等人[2]分析 1981 年到 2002 年的新藥，發現在治療腫瘤方面非合成的小分子新化學成分佔 62%，而在其他的領域中天然物(natural product)結構的影響也是很顯著的，像是抗高血壓方面，74 種合成的藥中就有 48 種可回溯到天然物的結構或模擬，而從 1981 年到 2002 年所有新化學成分(new chemical entries)中，天然物佔 5%、萃取天然物而經常是半合成的佔 23%、模仿天然物結構的佔 10%，而完全是合成的才佔 33%。Butler [3]的評論也指出在 2000 年到 2002 年全球銷售排名前 35 大的處方用藥中，其中就有顯著的部分是從天然物所萃取的，2002 年到 2003 年之間也有 15 種從天然物萃取的新藥問世，以及 15 種從天然物所萃取化合物在第三期(phase III)的臨床試驗。這些看來令人振奮的統計數字，更是支持我國投入的中醫藥的相關研究，但是，如 Butler [3]所指出：雖然有這些成果，過去幾年來大藥廠還是關閉或裁減天然物的運作，所以天然物的相關研究需要繼續改善篩選、分離和結構解釋程序的速率、探討篩選天然萃取物的適合性(suitability)和大量化合物供給的問題。

在國內方面，政府為推動亞太製造中心，於民國 86 年 4 月行政院在生物技術產業策略第一次會議就選定中藥為具有發展潛力之優先課題，同年 8 月經濟部亦明定中藥科學化及新藥研究與開發為 24 項重點發展項目之一，可見中醫藥在政策上受到重視之程度。尤其中草藥有古代老祖宗的傳統智慧，而且國人的接受度亦高，所以在衛生署下設立中醫藥委員會，掌理中醫中藥各項行政事務、建立中醫藥典籍電腦檔案及研究發展工作。

申請中醫藥委員會研究經費補助的學者亦兢兢業業地投入研發工作，很可惜的是專利相關知識尚未普及[4]，再加上傳統上對學研界的評估亦多偏重於學術論文的發表，而不曉得申請專利可與論文發表同時並存，只有發表論文很可能使得原本價值連城的研究成果不能夠為台灣社會帶來實際的價值。

國際間很有名的對照案例就是史丹福大學教授 Stanley N. Cohen 和加州大學教授 Herbert W. Boyer 所發明的基因切割技術專利，為史丹福大學每年進帳約三千五百萬美元的權利金收入，保守估計該專利至少產出 2 億美元的授權金；而為單株抗體技術開啟新頁的英國劍橋大學 Cesar Milstein 和 Georges J.F.Köhler 教授，雖然研究成果是發表在著名的《自然》期刊，卻沒有申請專利來保護此一重要的發明，也因而導致資助其研究的單位頗有微詞，縱使有 1984 年生醫諾貝爾的桂冠和殊榮，卻沒有為劍橋大學和英國產生經濟上實質的利益[5]。

再則，相信大家都會認同科學研究的目的絕對不是單純地為了發表論文，縱使論文是發表在高影響度的學術期刊，僅代表其通過同行更嚴謹的審查，絕對不是科研投資回收的最佳指標，能夠解決有價值的問題與衍生出知識，進而富國民生像是提昇產業術技術層次和經濟效益與生活品質等，才是學術研究值得被尊敬與重視之處[6]。因此，導入下圖的優良研發規範，在研究工作上就有其必要性[7]。

當然，對於已執行的研究計畫還是沒有辦法讓時光倒流去從新思考，但是補正的方式就是從研究成果中進行可專利性專利檢索、評估其專利要件、衡量提出專利申請的價值與風險，期望能夠篩選出有價值的研究成果，撰寫成專利說明書與提出專利申請，進而把研究成果的價值最大化。說不定能夠篩選出媲美於史丹福大學的基因切割技術專利，為台灣的研發注入活水。

而這正是本研究計畫之目的，評估和篩選出具有可專利性和有價值的研究成果，進而提出專利申請將研究成果的價值極大化，來配合政府生技醫藥科技之發展；計畫執行的過程之中，則會普及專利相關的知識，讓參與中醫藥研究的學者和研究人員，甚至是其他的研究人員都具有專利相關的觀念，而能夠在強調知識經濟的今天握有強而有力的武器——專利，進而在國際舞台上與先進國家競爭。

從第一年計畫的執行中，亦深深地體會到國內學研界的許多先進，在進行研究時都忽略到要存有專利的觀念，第一年度評估 42 件成果，有的是學生碩士論文或期刊發表、有的則是別人已經有相同的專利或文獻，幾乎普遍都缺乏可專利性，而這些似乎就是值得第二年度所努力的方向——推廣優良研發規範的觀念。

所謂優良研發規範觀念的重點就是在研發之前要進行先前技藝檢索，尤其是專利檢索，而有研發成果之後，會考慮把成果申請專利保護。此觀

念看似簡單，但是國內學研界長期以來都只重視論文發表，而忽略了此相關的知識，而結果就是只把研究成果發表在學術期刊，卻不能夠讓學術成果有發光發熱--產出經濟價值的機會！

貳、材料與方法

根據第一年度執行的經驗，第二年的計畫擬將重點放在優良研發規範觀念的推廣與教育訓練，第二年度進行的步驟與實施方法分述如下：

一、推廣優良研發模式的觀念

根據第一年度的執行經驗，許多研究學者對於成果之可專利性評估都不是非常重視，因此我們會先勾勒出優良研發規範的觀念：研發前先作先前技藝檢索，研發之後會把好的成果申請專利保護，送交曾執行過我們 CCMP 計畫的研究學者，以類似置入性行銷的手法，來強調先前技藝與申請專利保護的重要性。

二、舉辦推廣教育研討會

舉辦研討會將此運作的模式分享給更多的研發人員，將有助於我國研發能量之提昇，相信絕對有正面的意義。預計舉辦至少兩場次，為期一天的研討會，對象就是國內從事中醫藥相關研究的學者為主。首先規劃的講題包括：優良研發規範的觀念、中醫藥研究的申請專利保護、專利要件、先前技藝檢索等。

三、協助理論第一年度的台灣專利申請案與成果評估

理論上，第一年所提出的新型專利申請案，應該會在民國 97 年底左右核定，若是在計畫期間內審定，且本計畫之經費許可，可由本計畫來協助執行相關的事宜。

若是還要執行研究成果的可專利性評估，則應該也需要有經費支持訂購付費的專利資料庫，如 Delphion。因為雖然有免費的專利資料庫可以查詢，但是像美國專利局網站(www.uspto.gov)資料庫除了有字元數目的限制還有網路使用量管制，歐洲專利局 (EPO) 所提供的檢索網站 (http://ep.espacenet.com/advancedSearch?locale=en_EP) 雖然號稱可檢索世界各主要國家的專利，但是縱使是進階檢索(advanced search)所能夠提供的欄位還是很有限制，像是關鍵字只能夠限制在標題和摘要，無法進行高階的專利檢索。而除了專利資料之外，網路如 Google 等也是另要進行檢索，尤其是對於中醫藥相關的研究更是不能夠忽略。

受限於經費與執行時間等因素，本年度的成果評估以 10 件為原則，若有合適的成果，將提出一件專利案申請。

參、結果

本年度的計畫中，我們如期地舉辦了二場推廣教育研討會，評估了 12 件研究計畫成果，提出了兩件我國專利申請案，都比預定的工作內容還好。除此之外，我們還協助處理第一年所提出的專利申請案，像是新型專利的領證與另一件發明案的補件。

肆、討論

本年度的目的係針對中醫藥研究成果進行可專利性專利檢索以及評估，如期地完成如下之工作項目：

一、推廣優良研發模式的觀念

置入性行銷地推廣優良研發規範的觀念給相關研究人員。我們在準備第一次研討會之際，把優良研發模式的觀念用實體信寄出 118 份實體信，發給曾執行過醫藥委員會的學者專家，以期能達成推廣優良研發模式的觀念。可是在這 118 份名單中報名參加研討會的專家學者，卻只有 14 位，也再次凸顯出國內學研界不太重視專利的盲點。

二、舉辦推廣教育研討會

舉辦二場專利相關的研討會，邀請領域的專家來做專題報告，從而傳播專利相關的知識與觀念。很感謝有實務的講師願意做經驗的傳承，也感謝學員們的參與，當然還要感謝委員會這邊相關承辦人員的協助，尤其是林主任委員在百忙之中都來開幕致詞，更是讓研討會增色。

另林主任委員在會前提示我們於會後舉辦小小的測驗，也讓第二場研討會別有特色，尤其為了讓學員不要有太大的壓力，我們還特地準備了重點整理，獲得學員不錯的迴響，最後有 46 人參加研討會檢測，平均成績是 94.7 ± 7.18 ，滿分者還高達 26 人呢！

與會的長官與先進提供許多寶貴的意見，除了給予肯定之外，也讓我們在過程之中學到許多，尤其原本課程規劃中大都規劃屬於比較基本的課程，以後應該考慮亦要包括比較實務的課程，乃至於要多與中草藥結合的課程。

三、協助處理第一年度的台灣專利申請案與成果評估：

本計畫第一年度所提出的台灣新型專利已審定，我們就協助領證的工作；另外亦協助一件美國的申請案的補正案。

在評估研究成果方面，目前已評估了 CCMP95-TP-042、CCMP96-IP-2、CCMP96-RD-023、CCMP96-RD-022、CCMP96-RD-015、CCMP96-RD-026、CCMP96-RD-007、CCMP96-RD-207、CCMP96-RD-210、CCMP96-RD-013、CCMP97-RD-026、CCMP96-CP-012。其中有兩件已提出台灣的發明專利申請案，有另一件也完成專利說明書之撰寫，但是該成果的計畫主持人說還要進一步確認化學結構而尚未提出申請。

整體而言，與第一年度的評估相似，有許多成果可能因為學生的學位論文發表或是沒有作好檢索的工作等而不具新穎性。還好，有幾件成果在經過檢索的討論與確認，總算可順利撰寫出說明書，這是與第一年度計畫有些不同的。

伍、結論與建議

本計畫從第一年度以回溯性的方式來評估已經執行完成的研究計畫成果，修正成著重於正確專利觀念的推廣，因而舉辦了兩場教育訓練研討會，加強教育訓練讓每一個研究人員都有所謂「優良研發規範」的觀念，也就是說在進行研發之前很重要的就是要了解產業相關資訊、相關法規、進行專利檢索、趨勢分析與技術分析等，才能夠切實掌握研發的脈動，從而期望我國的研發人員會懂得檢索和會把好的成果申請專利保護。

再則，從本計畫執行的結果來看，以回溯性的評估方式似乎不是很可行，因此，建議在計畫書投標時就應該有專利檢索的機制，藉以提供相關的資料讓審查委員作為考量，而評審委員的審查意見回到計畫主持人也會有參考的價值。或許建立此機制需要在計畫投標階段投入大量的人力來進行檢索報告，也有些困難度，但是，總比執行之後再來後悔來的有意義。

例如經濟部之前補助的一個四年期的專案計畫，要發展工廠型微波油炸製程技術，負責執行的研究單位也開發出微波油炸製程，並且在 1997 年 7 月 19 日提出專利申請，也取得「使用傳統熱源與微波油炸食物的方法」的台灣發明專利。但是，以關鍵字：microwave and hot oil 檢索美國資料庫卻發現至少有 15 專利早於該申請日，其中美國專利第 5520099 號，就是在 1994 年 8 月 26 日提出申請的 System of cooking or heating food products with microwaves and hot oil。美國喜歡吃炸雞的人口遠遠多於台灣人，微波油炸技術可使得油炸品保有多汁(juicy)的美味，理論上我國這項好的研究成果應該也要申請美國專利，但是，我們檢索美國專利資料庫卻發現該研究單位有其他的美國專利，卻沒有擁有有關於微波油炸技術的專利，雖然沒有明確的佐證資料，卻可合理地推論其申請案是被不具新穎性核駁了。若果真如此，這四年期的研發經費除了美其名有教育訓練的功能之外，根本就是種浪費。

諸如此類，真是不勝枚舉，又如 2007 年 9 月 19 日中國時報報導：某某醫師研究新發現，免疫球蛋白可治療腦中風，報導中指出該醫師到美國國家衛生研究院(簡稱 NIH)進行訪問研究，發現免疫球蛋白治療栓塞性腦中風老鼠有顯著效果，論文發表於 8 月份的美國國家科學期刊(PNAS)，還提到說 NIH 相當重視此研究成果，正申請人體臨床試驗，如通過將締造缺血性腦血管中風治療新猷。一看到此報導感覺此研究好像很偉大，但是以關鍵字((immunoglobulin and Stroke)查詢就有 187 筆專利或專利申請案，其中

歐盟專利 EP1511770B1 glycoprotein vi-fc fusion protein for the treatment of vascular diseases 的申請專利範圍中，就明確指出用疫球蛋白治療腦中風。

還有 2006 年 11 月 8 日的中國時報也報導說：「預防型子宮頸癌疫苗已上市，某大醫院研究團隊昨天在第十八屆世界婦產科大會發表子宮頸癌疫苗研發最新結果，動物試驗證實兼具治療與預防效果，正向衛生署申請第一期人體試驗，引起全球醫界關注」。可是 2007 年 8 月美國 CAFC 的一個判決[12]正是在討論預防型子宮頸癌疫苗的技術，判決書指出該技術竟然早在 1991 年 7 月 19 日就已經在澳洲提出專利申請！除非該大醫院的研究團隊有甚麼驚人的創舉，像是提升有效性或是降低副作用等，才會受到全球醫界的關注？若非如此，這些研究經費的投資，豈只是浪費而已。

最後，根據本年度計畫執行的結果，提出以下三點具體的建議：

- 一、持續辦理專利相關之教育訓練，尤其是專利檢索的工具與方法；
- 二、於計畫書送審之前進行先前技藝檢索，連同原計畫一起送審供審查委員評估。
- 三、建議本會研究成果的公開都延後二年，以免有研發成果喪失新穎性的問題。

於此再加以強調，計畫執行前的先前技藝檢索確實非常有必要性，沒有檢索就不太能夠產出可能會有經濟價值的研究成果，運作的模式建議在計畫書階段就應該先執行，因為計畫主持人想拿到經費補助就會加以重視。可行的方式之一就是經常地舉辦教育訓練，讓計畫主持人會做專利檢索，因為畢竟其才是最知道相關技術的人選。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP97-RD-117 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

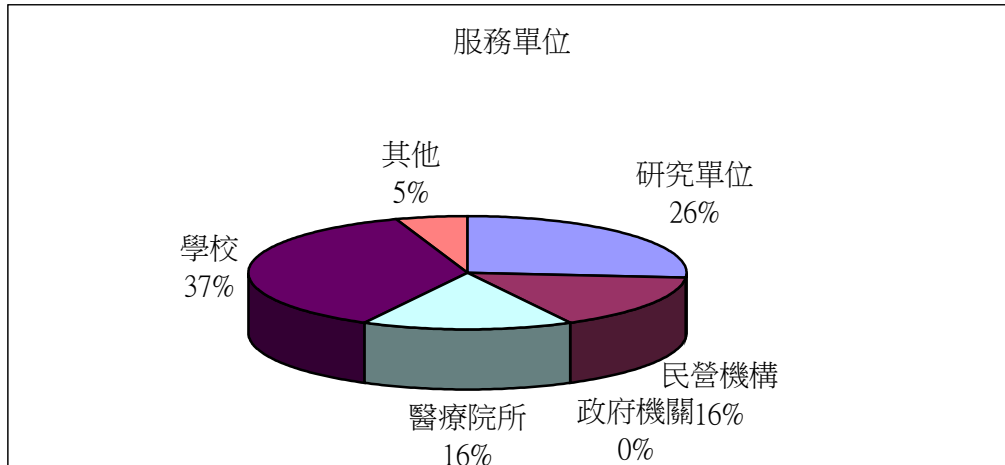
1. 美國 FDA CDER 網站 www.fda.gov/cder/guidance/1221dft.htm
2. Newman DJ, Cragg GM and Snader KM, 2003, Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002, *Journal of Natural Products*, 66:1022-1037.
3. Bulter MS, 2004, The role of natural product chemistry in drug discovery, *Journal of Natural Products*, 67:2141-2153.
4. 王世仁著 2002/05 專利工程導論 俊傑書局出版 ISBN 986-80261-2-1
5. 王世仁和王世堯著 2003/06 智慧財產權剖析—論生物科技專利策略與實務 全華科技圖書出版 ISBN 957-21-4066-3
6. 曾孝明著 2004/04 台灣教育的宏觀與微觀 御書房出版 ISBN 957-29222-3-8
7. 王世仁著 2005/09 EZ 通識:智慧財產權 全華科技圖書出版 ISBN 957-21-5076-6
8. 王世仁著 2005/12 奈米藥物傳輸技術專利地圖及分析 國家實驗研究院 科技政策與資訊中心出版 ISBN 957-619-129-7
9. Pressman, D, 2000, Patent it yourself, Nolo, Berkeley, CA.
10. Slaughter S, and Leslie, LL, 1999, Academic Capitalism, The John Hopkins University Press.
11. Branscomb LM, Kodama, F and Florida R, 1999, Industrializing Knowledge, The MIT Press, Cambridge, Massachusetts.

柒、圖、表

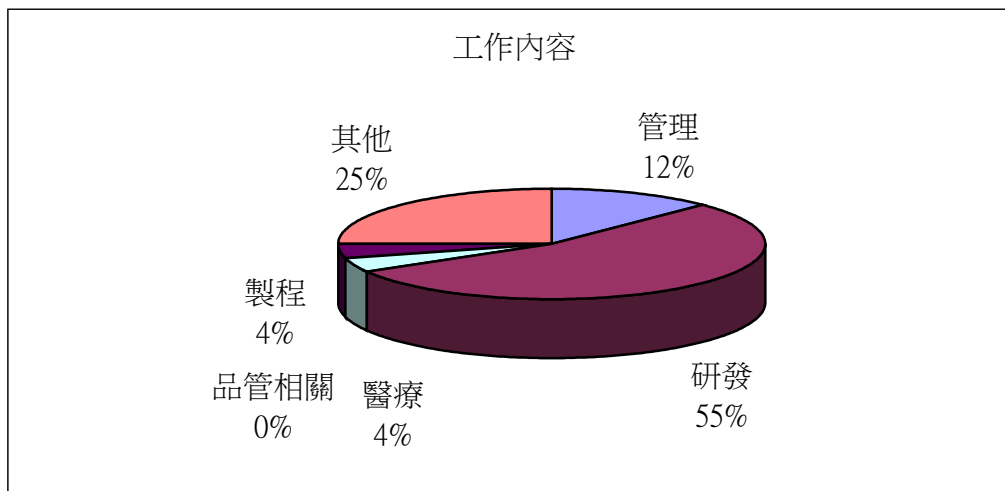
第一次研討會

共發出問卷 56 份，回收 19 份之統計圖表

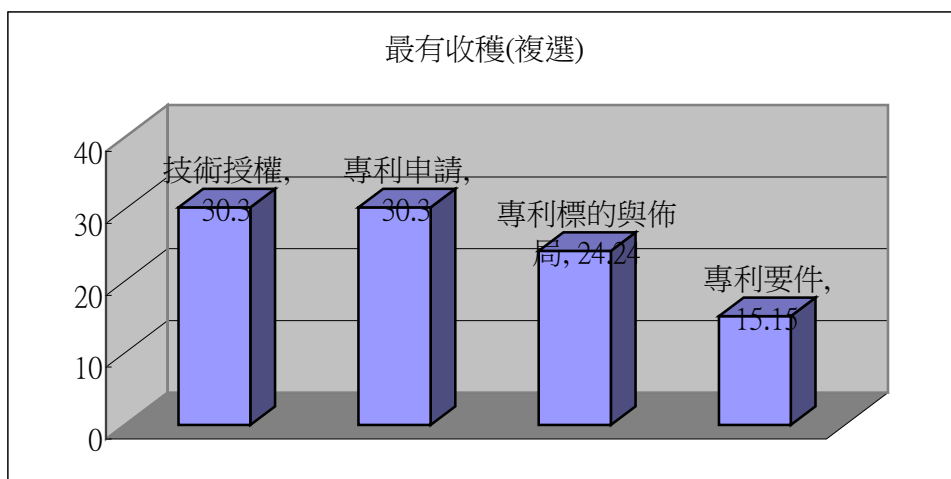
1. 請問您所服務的單位是？



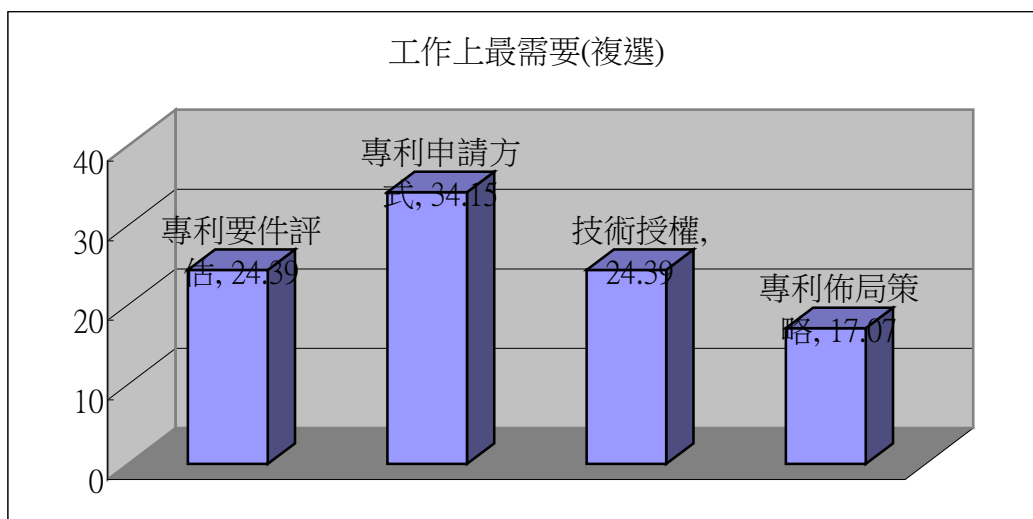
2. 請問您所擔任的工作內容為？



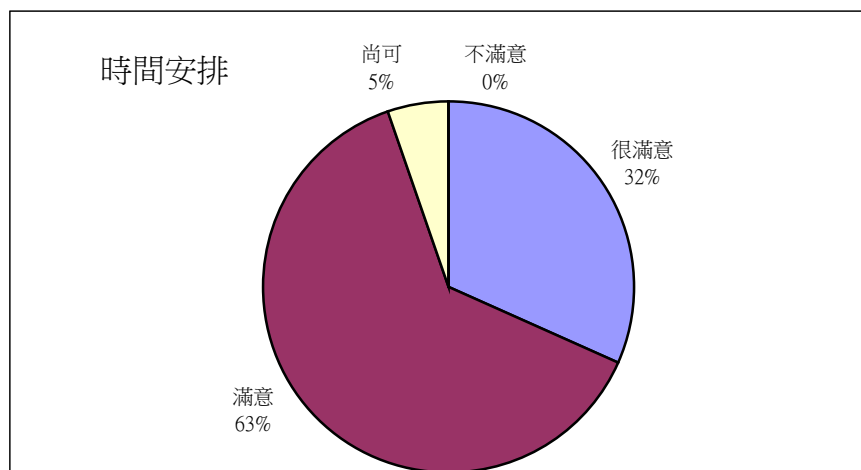
3. 本次研討會中，最有收穫的為何？（可複選）



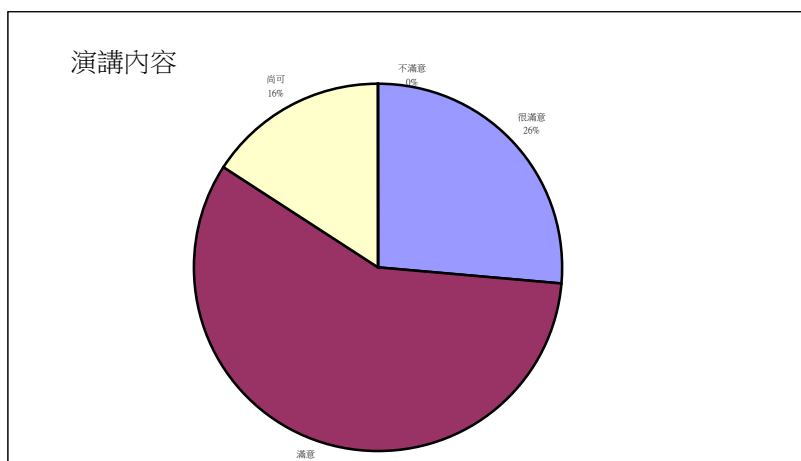
4. 您覺得您所從事的工作最需要哪一方面的知識？（可複選）



5. 您對於此次課程的時間安排是否滿意？

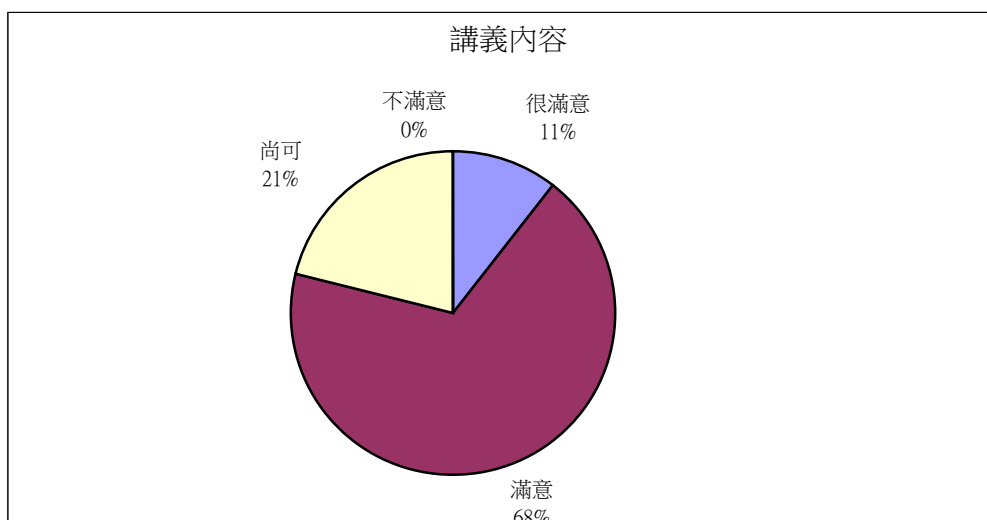


6. 您對於此次課程中主講人之演講內容是否滿意？



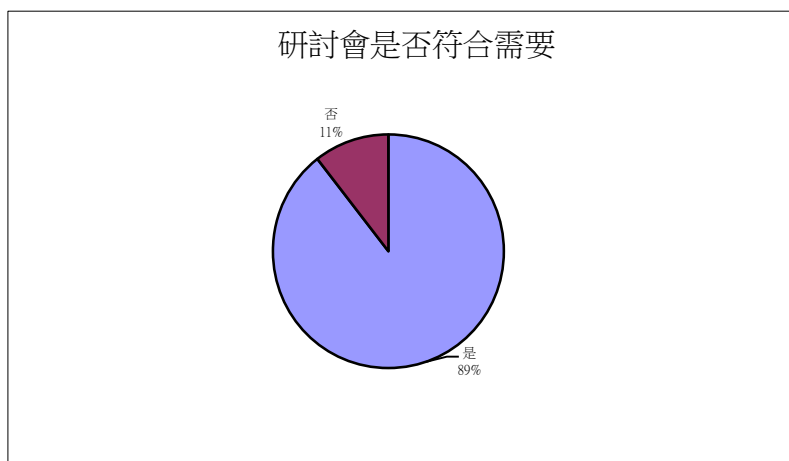
7. 是否有推薦或希望邀請之講師人選？ 否 100%

8. 您對於此次課程的講義內容是否滿意？



不甚滿意之原因：有些表格未印到

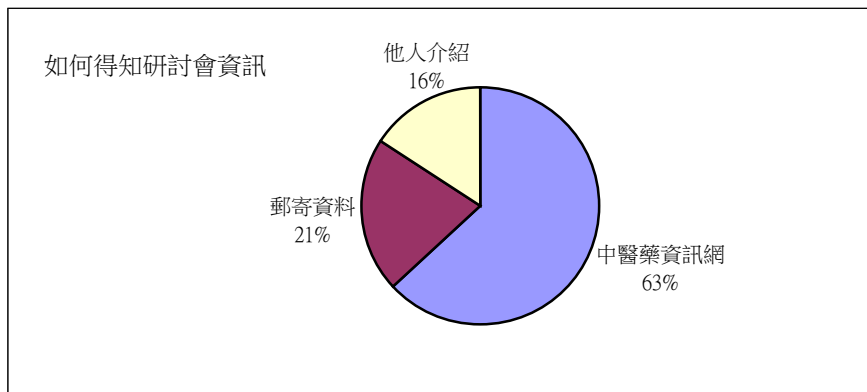
9. 此次課程是否符合您的需要？



不符合需要之原因：

- (1)主講者可舉一例，實際演譯專利申請一連貫至授權乃至佈局之實作演練，讓參與者更進一步了解。
- (2)基本概念能在此研討會得到，但實務部分...無。

10. 請問您是如何得知本次研討會資訊？



11. 還想知道哪方面的資訊

- (1)學術研究成果如何申請出專利？
- (2)申請專利的實務操作(流程)及常見問題和克服方法
- (3)專利搜尋、了解 claim
- (4)美國專利申請或國外專利申請注意事項

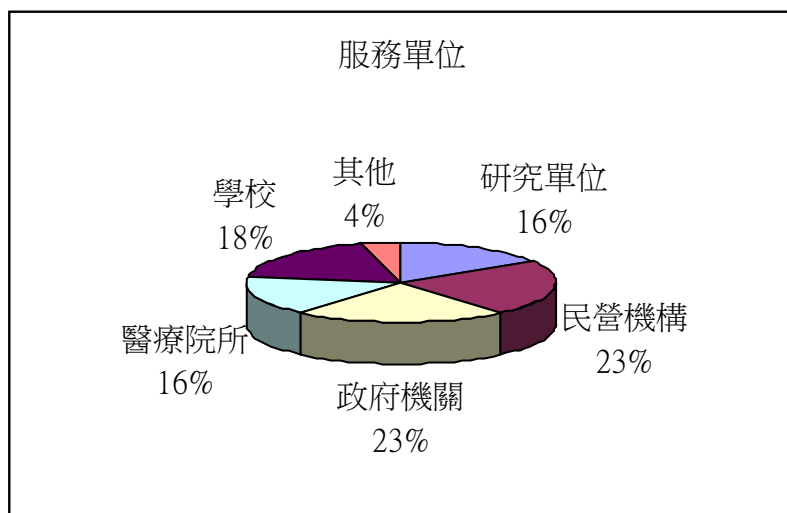
12. 其它建議

- (1)建議給予參與研討會這之參與(研討/習)證明或證書
- (2)建議尋找離台北車站較近的場地，對中南部北上的人較方便。並到中南部舉辦活動。
- (3)希望持續推廣。

第二次研討會

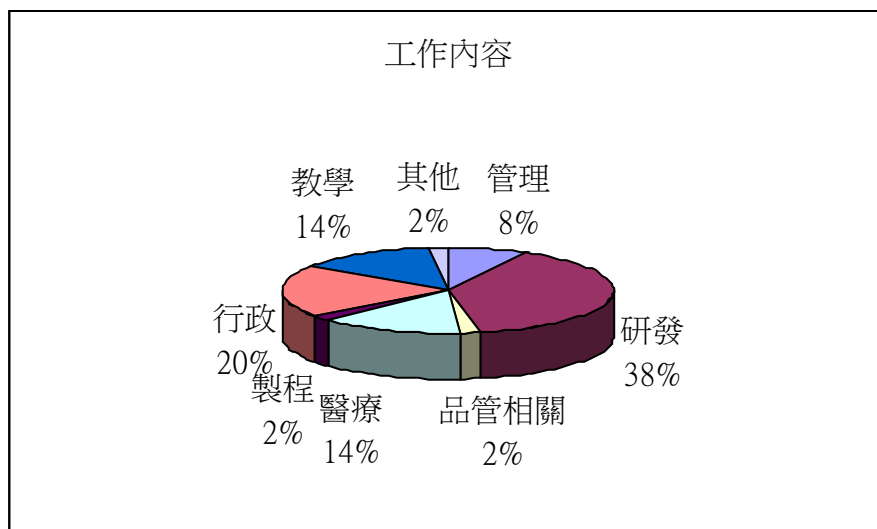
回收問卷 49 份

1. 請問您服務的單位是？

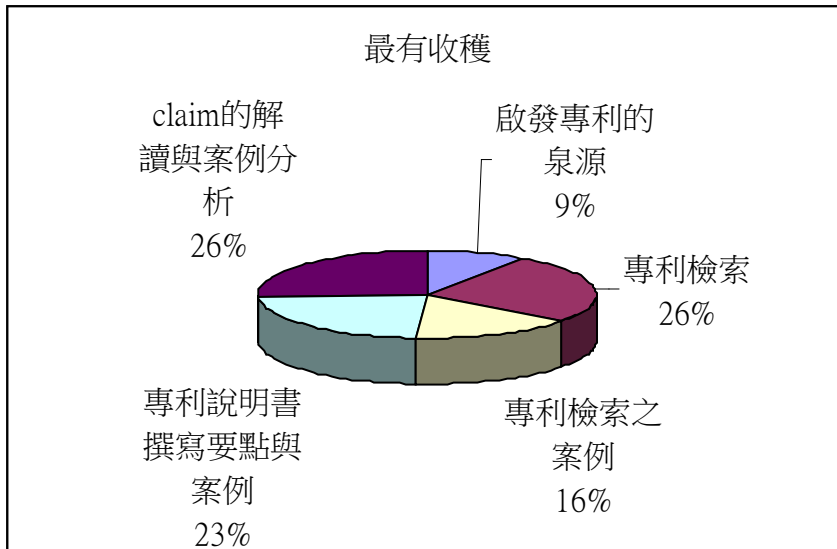


其他：製造業、研究生

2. 請問您擔任的工作內容為？



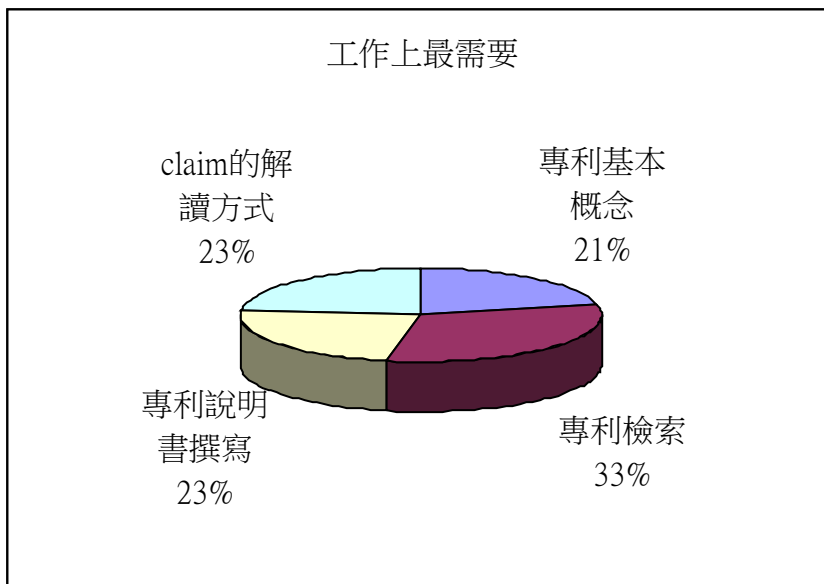
3. 本次研討會中最有收穫的部分？



原因：

- (1) 講解得很好
- (2) 明確了解如何檢索，應注意重點等，最為收穫
- (3) claim 的解讀最有收穫，因為 practical
- (4) 實用

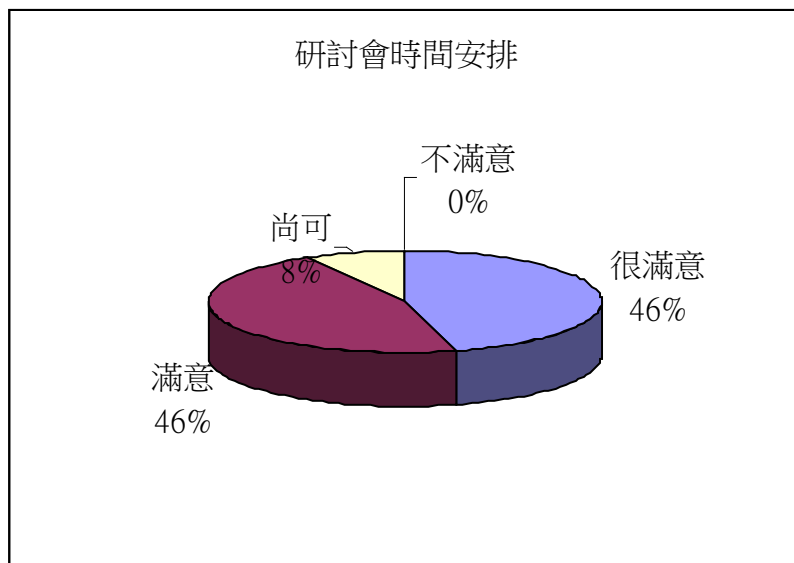
4. 工作上最需要哪方面的知識？



其他：

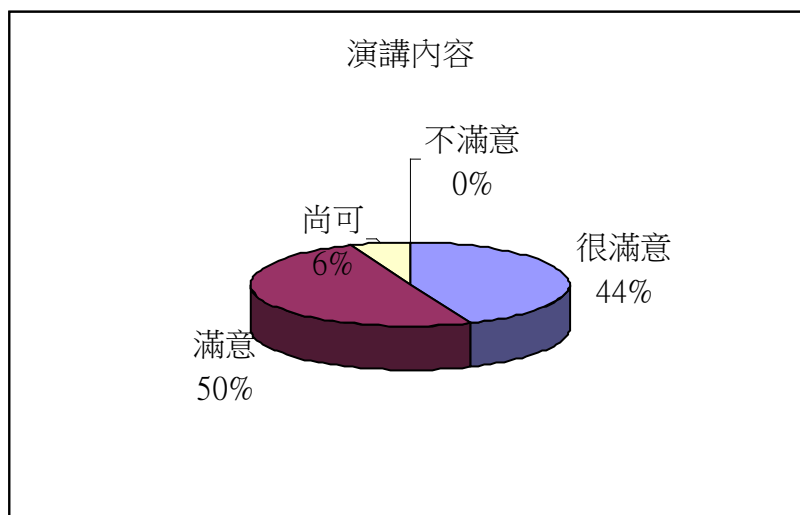
- (1) 專利的實例：成功與失敗的例子
- (2) 專利訴訟

5. 對於時間安排是否滿意？



認為尚可之原因：中醫藥說明書撰寫之授課時間應拉長

6. 對演講內容是否滿意？



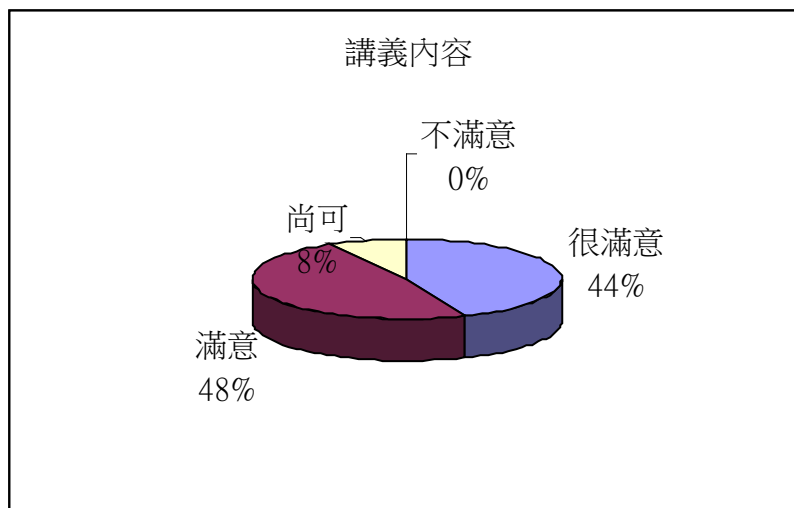
7. 推薦或希望之講師人選？

葛總

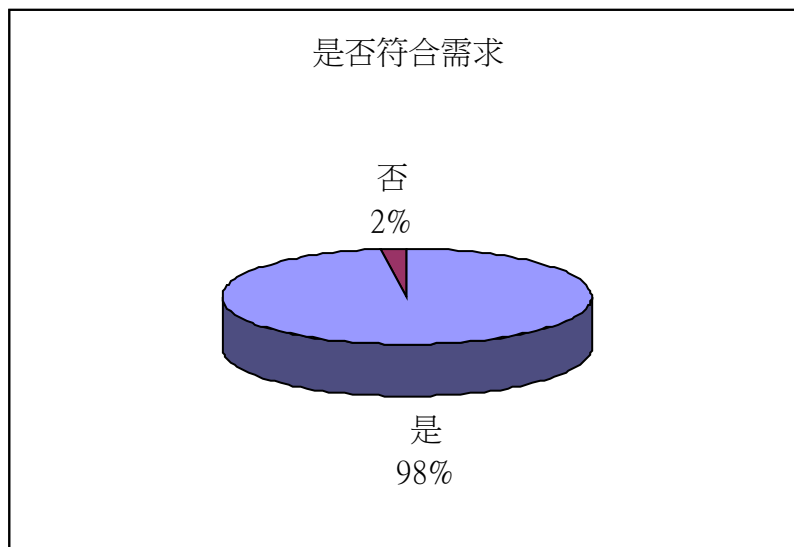
Nobel prize chemistry 2008

2008 Nobel chemistry awards (AZ)

8. 講義內容是否滿意？



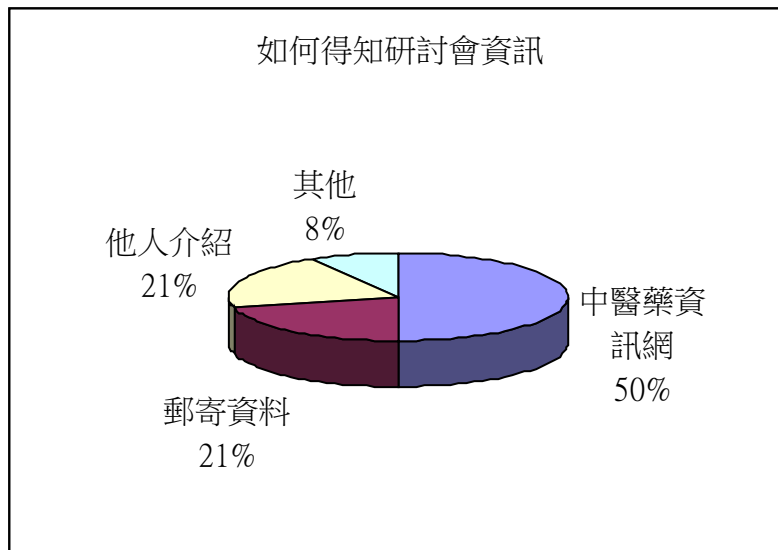
9. 此次課程是否符合您的需要？



原因：內容明確切實

意見：其實尚可，實務內容較有幫助

10.如何得知本次研討會資訊？



其他：E-mail 通知、主辦單位、學校網頁內了解、中委會公文

11.還想知道哪方面資訊？

(1)Tips

(2)相關費用諮詢。

(3)我國、中國及國外之中藥草專利統計資料及專利後之實際市場效益。

(4)議程似乎較著重在專利部分，而非中藥為主，進而衍生至專利部分，所以內容會與預期有少許落差，但也許對其他人員有很大的幫助（因為我對專利部分已經有一定程度了解的關係）。

(5)實務操作。

(6) DM2、Stem cell for neuron、drug discovery data “blog”、Ethics for stem cell case

(7)專利保護。

12.其他建議

(1)研討會行程可再緊湊些，盡量能提前結束，減少等待休憩時間。

(2)場地：在醫院內舉辦，心理壓力太沉重。

(3)建議可增加已專利之中草藥說明書的介紹，讓我們瞭解如何檢索之外，閱讀專利說明書的基本能力；可做目前台灣中草藥專利申請案件成功案件或失敗案件的研討（如果能做 review 更棒了!）

(4)講義最後一頁的「重點整理」做得很好。

(5)很感謝這次研討會的資料，獲益良多。

- (6)研討會場的標示不清楚，大門口及一三樓應有指標。
- (7)是否對與會者建立及釐清”是否一定需要申請專利”之必要概念，蓋專利申請即使獲准後，”養”專利其實才是花費的開始，若該專利具體實施後之效益並不顯著，則將流於失其真實意旨矣！還不如用營業秘密加以保護。
- (8)研討會講義手冊印製得很精美，如果能再呼應環保減碳之綠色訴求，則將更臻完美，例：王筱維小姐之 slide show 的部分，如果印出時用”反白”之功能則可大量減少雷射碳粉之使用，並且”白紙黑字”看起來也較清爽。
- (9)期盼能將議程內容與中醫藥物更有關聯性，舉辦人員辛苦了，謝謝您們！
- (10)很好！

人類癌症基因體以驗證探討抗癌中草藥- 子計畫六、中草藥調節抑癌基因對抗肝癌 機制的探討(2-2)

呂紹俊
國立臺灣大學醫學院

摘 要

以基因體學方法尋找可用於抗肝癌之作用及能降低肝臟脂肪之中草藥。第二年將細胞層次以肝癌細胞株分析第一年篩選出有效果的中草藥萃取液對癌細胞的影響，如細胞群落形成(colony forming)、細胞移動(migration)，細胞增生，凋亡及細胞週期等的影響，由細胞層次驗證中草藥萃取液的抗癌功能。

將 NF- κ B-Luciferase、AP1-Luciferase 報導基因轉染到肝癌細胞，篩選能抑制 AP1-Luciferase、NF- κ B-Luciferase 之中草藥萃取液，進一步用反轉錄-即時定量聚合酶鏈鎖反應(RT-qPCR)定量與癌症相關基因的表現變化。測量中草藥萃取液對肝細胞三酸甘油酯影響。

測試了 18 種方劑及 17 種單方藥材發現有 3 種方劑及 12 種單方藥材對 NF- κ B promoter 所 drive 的 Luciferase 表現有抑制作用；所有藥材對 AP-1 promoter 所 drive 的 Luciferase 表現都沒有抑制作用。有 4 種方劑及 9 種單方藥材可以降低肝細胞 TG。小柴胡湯中的黃芩在 10-15mg/ml 劑量下具毒殺肝癌細胞的作用，可抑制 CCND1、ERBB2、CDC2 等基因的 mRNA 及蛋白質表現量；影響細胞週期，使 S phase 下降，G2/M 上升。

關鍵詞：肝癌、中草藥、基因體、脂肪肝

Evidenced-base Studies on Anticancer of Chinese Herbs by Genomic Medicine-Subproject 6 -Studies on the Anticancer Activity of Chinese Herbs: Regulation of Apoptosis Related Genes and Tumor Suppressor-related Genes (2-2)

Shao-Chun Lu

National Taiwan University college of medicine

ABSTRACT

To screen Chinese medicines that could inhibit activation of AP1 and NF- κ B by Luciferase reporter assay systems. Furthermore, the expression of endogenous genes that controlled by AP1 and NF- κ B is evaluated by qRT-PCR and Western blot analyses. In the future year, the effects of these Chinese medicines on cancer cell will be investigated by colony forming, cell migration, cell proliferation and apoptosis methods. Moreover, the Chinese medicines that can potentially ameliorate fatty liver were screened.

The NF- κ B-Luciferase 、 AP1-Luciferase reporter plasmids were transfected into HepG2 cells and treated with various of Chinese medicines extracts. The activity of luciferases were assayed 24 h after treatment. The mRNA expression of 42 cancer related genes were determined by RT-qPCR assays. The contents of cellular triacylglycerol (TG) were determined by enzymatic assay 48 h after treatment.

Total of 35 Chinese medicines were screened, 15 of them could decrease luciferase activity that was driven by NF- κ B promoter. None of them could decrease luciferase activity that was driven by Ap-1 promoter. We identified 13 Chinese medicines that could decrease the content of cellular TG. Huang-Qin in the dose of 10-15mg/ml could kill HepG2 cells, it decrease the expression of CCND1 、 ERBB2 、 CDC2 mRNA and protein in a dose dependent manner. Furthermore, treatment with Huang-Qin resulted in decrease of cells in S phase and increase G2/M cells.

Keywords: Hepatocarcinoma, Chinese herbs, genomic, fatty liver

壹、前言

於後基因時代，為提升基因體中醫藥研究，本計畫將對我國高罹患率之肝癌進行「證據基礎」(Evidenced Based)之探討，本子計畫為由來自高雄醫學大學、台灣師範大學及台大醫學院等三所大學研究學者組成之群體計畫之一，以基因體學方法尋找可用於抗肝癌之作用之中草藥。由林院士在國人肝癌組織中所找到的異常基因且分佈於六大類與肝癌相關基因之抑癌基因(tumor suppressor genes)為標的，分析供應可能具有抗癌保肝相關作用之中藥、草藥或方劑共 61 種之萃取液尋找能提升抑癌基因(phosphatase and tensin homologous on chromosome 10 gene (PTEN)、Kruppel-like factor 6 (KLF6)及 deleted in liver cancer-1(DLC-1))或影響細胞週期(CDK2, CCND1, CCND3, CCNE, CDC2, CDK4, PLK1, p73, DZTS1, HIC1, RIZ 等)及細胞凋亡(BCL2, BAX, STAT1, CAP1, ANXA2 等)等相關基因的藥材或成分，並以動物實驗證實該中草藥萃取液抗癌作用之活性。此計畫將分三年進行，第一年擬篩選能在肝癌細胞內抑制 AP1-Luciferase、NF- κ B-Luciferase 之中草藥之萃取液，進一步用反轉錄-即時定量聚合酵素鏈鎖反應(reverse transcription-quantitative real-time polymerase chain reaction; RT-qPCR)定量基因表現的變化，並以 Western blot 驗證。另外，HCC 上含有相當多的脂肪油滴(triglyceride droplets)(Okuda and Okuda, 1991; Kanno *et al.*, 1989)，越來越多的證據顯示非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)可提高 HCC 的風險(El-Serag 2007; Day CP. 2006)，報導顯示 NAFLD 的 prevalence 在 10-51%之間，因此其治療也普遍受到重視。因此我們也藉這次機會在所選定的單方或複方中草藥材萃取液中是否有能降低肝細胞三酸甘油酯(Triacylglycerol, TG)的成分，我們將 HepG₂ 細胞培養在添加胰島素的高葡萄糖 DMEM 中或是再添加 LXR agonist 以提高細胞中 TG 含量，用來篩選能使肝細胞減少 TG 累積的藥材。

貳、材料與方法

由順天堂提供下列藥材，每 1 公克藥材萃取出 1 mL 成品。

<u>方劑</u>	<u>單方藥材</u>	
小柴胡湯(水萃)	枳實	棉花根
小柴胡湯(酒精萃)	白芍	細葉碎米蕨
四逆散	黃耆	半枝蓮
芎歸膠艾湯	大黃	紅花
桂枝加龍骨牡蠣湯	山梔子	鬱金
桂枝加朮附湯	黃連	莢朮
桂枝茯苓丸	黃柏	夏枯草
當歸芍藥散	半夏	川芎
黃連解毒湯	厚朴	枳殼
紫草根牡蠣湯	茯苓	香附
柴胡舒肝湯	生薑	陳皮
散腫潰堅湯	紫蘇葉	連翹
血府逐瘀湯	黃芩	荊三稜
半夏厚朴湯	龍膽	莢朮
香蘇散	栝樓根	當歸尾
柴胡龍骨牡蠣湯	知母	葛根
核桃承氣湯	桔梗	生麻
香蘇散	昆布	柴胡
	牡丹皮	長春花

報導質體分析(promoter reporter assay)：Hep G₂ 細胞培養於含 10% FBS 之 DMEM，每一 6 cm 盤種 1 x 10⁶ 細胞，第二天以 calcium phosphate 方法轉染 AP1-Luciferase、NF-κB-Luciferase，第三天將轉染的細胞分盤到 24 well 盤，待細胞貼附後更換培養液，並加入上列的藥材萃取液 5-10 μl/ml，24 小時後收取細胞萃取液，以 Dual-Glo 試劑分析、利用冷光儀偵測報導基因表現的程度。

RNA 分離及純化：細胞株之 RNA 以 TRizol™ 萃取，步驟簡述如下，將 5×

10^6 細胞以 1 ml TRizol™ 均勻懸浮後，置於室溫約 5 分鐘，加入 200 μ l 氯仿(CHCl_3) 劇烈搖晃 15 秒後靜至於室溫 5 分鐘，12000 \times g 於 4°C 離心 15 分鐘，取上清液至新離心管中加入 0.5 ml Isopropanol 混合均勻後靜置於室溫 10 分鐘，再以 12000 \times g 於 4°C 離心 10 分鐘，倒去上清液，以 75% 酒精清洗，7500 \times g 離心 5 分鐘，風乾 2 分鐘，溶解於 50 μ l DEPC-ddH₂O 中，可加熱至 60°C 作用 10 分鐘幫助 RNA 完全溶解。利用 spectrophotometer 測量 260 nm 與 280 nm 波長之吸光值，且 260/280 的比值應該要大於 2.0，以 260 nm 的吸光值定量 RNA 的濃度。

反轉錄即時聚合酵素鏈鎖反應(RT-qPCR)定量分析：取定量的 RNA (1-5 μ g)加入 1-5 μ l random hexamer (50 ng/ml或 oligo-d(T) (1mM)，於 70°C 反應 10 分鐘，於 4°C 5 分鐘，再加入有 buffer、DTT (10 mM)及 dNTP (10 mM) 的混合液，置於 42°C 5 分鐘後加入 1 μ l Superscript II™ RT，於 42°C 反應 50 分鐘、70°C 反應 15 分鐘後，於 4°C 終止反應，RNA 便完成反轉錄成 cDNA。於 0.5 ml 薄壁離心管中，每管加有 5 μ l 的 4 倍稀釋的 cDNA 作 PCR 的模板，並加入特異性引子正股(sense)和反股(antisense)及 SyBr Green master mix，於聚合酵素鏈鎖反應器(ABI 7300)進行反應。

西方轉漬分析(Western blotting analysis)：細胞株之蛋白質萃取，步驟簡述如下，將 5×10^6 細胞以 lysis buffer 均勻懸浮後，樣品以沸水加熱 10 分鐘。於室溫 12000 \times g 離心 10 分鐘，取上清液，經蛋白質濃度測試，進行 SDS-polyacrylamide 明膠電泳分析(電壓 200V) 60 分鐘。再經以電壓 100V 將蛋白質轉漬至 PVDFmembrane，70 分鐘後以特定抗體進行免疫偵測反應。

肝細胞 TG 含量分析：Hep G₂ 細胞培養於含 10%FBS 之 DMEM，每一 6 孔盤種 5×10^5 細胞，第二天細胞貼附後更換培養液，並加入上列的藥材萃取液 5-10 μ l/ml，48 小時後收取細胞。以溶劑(chloroform/methanol)萃取脂質，取定量至乾淨試管中，以氮氣將溶劑吹乾後，測量 TG 含量。另一部份細胞則用於測量蛋白質含量，最後以 TG/蛋白質(TG μ g/mg protein)表示，並予未加藥物處理之對照組比較。

參、結果

所測試的藥材列於材料與方法，方劑以 A、B、C、D、----、S、T、U 編號，單方藥材以 A1、A2、A3、-----、A36、A37、A38 編號。分別測試對 NF- κ B-Luciferase、AP-1-Luciferase 及肝臟三酸甘油酯(TG)的影響。以兩種劑量 2.5 μ l/mL 及 10 μ l/mL 各藥材萃取物對 NF- κ B-Luciferase 的影響，結果顯示有 B、C 及 N 三種方劑在高劑量時有降低 Luciferase 表現的作用，而 U 在低劑量時有抑制作用但在高劑量時反而有提高的作用(圖一)。N 方劑再重複三次的實驗結果顯示抑制 NF- κ B-Luciferase 的作用是穩定的(圖一~1)。在單方藥材的測試，目前僅以 5 μ l/mL 一劑量測試過，在 38 種藥材中 A1~A17 的結果是二次實驗的平均，A18 到 A38 的結果是一次實驗；其中有 13 種對 NF- κ B promoter 所 drive 的 Luciferase 表現有明顯抑制作用(圖二)。圖三及四所有藥材對 AP-1 promoter 所 drive 的 Luciferase 表現都沒有抑制作用，反而有些藥材有很強的促進作用。

在對細胞 TG 含量影響的測試中，我們採用了兩種模式，一是以含 10 %FBS 之 high glucose (450 mg/100ml) DMEM 添加胰島素，第二種是在上述條件下再添加 T0901317 (一種 LXR agonist，可提高肝細胞 TG)。圖五及圖八是以第一種條件測試的結果，圖六則是以第二種條件測試的結果；圖五顯示，有 4 種方劑可以降低肝細胞 TG 約 20~30%，圖六則顯示有 4 種可降低肝細胞 TG 約 20~40%。我們挑選其中幾種做了第二次實驗顯示，E、I、K 及 T 四種藥材確實可以有效降低肝細胞 TG (圖七)。上述的結果有部分已經做過 3 次以上的實驗，大致上仍具有明顯降低肝細胞 TG 的效果(圖七~一)。圖八則是以單方藥材所做的測試，在 25 種藥材中有約 15 種可低肝細胞 TG 20%以上，我們正在重複實驗以確認結果。

小柴胡湯在 10-15 mg/ml 劑量下能有效毒殺肝癌細胞，其組成中的黃芩是主要毒殺細胞的成分(圖九及十)。經分析了 42 個基因的 mRNA，發現有 6 個基因(BCL2、CCND1、CDC2、ERBB2、TNFSF10 及 CDKN2A)的表現會隨著藥物劑量增加而更降低其表現量(表一)。當以小柴胡湯中最具毒傷肝癌細胞的成分黃芩處理細胞，在 1.1 及 1.65mg/ml 劑量處理 12-24 小時發現，對 BCL2、CCND1、CDC2、ERBB2 及 TNFSF10 等 5 個基因的 mRNA 有明顯的抑制作用(表二)。小柴胡湯在以 DEAE 離子交換數酯萃取酚類化合物，處理細胞 24 小時後顯示對 BCL2、CCND1 及 ERBB2 的蛋白質表現有明顯抑制作用(圖十一)。以小柴胡湯及其組成之黃芩處理細胞，

發現 CDC2、CCND1 及 ERBB2 的蛋白質表現有明顯被抑制的現象（圖十二）。圖十三 A 顯示小柴胡複方及黃芩加到 HepG2 細胞 24hr 後，只有中藥會使 S 下降 G2/M 上升顯示黃芩中的某種成分會造成 G2/M arrest；而黃芩在高劑量時會使 G2/M 上升 G1 也會上升（圖十三 B）。

肆、討論

在 HCC 組織通常有 TNF- α 的表現提高而呈現發炎的狀態，而 TNF- α 是 NF- κ B 的下游基因，因此能抑制 NF- κ B 的活化就可能可以降低 TNF- α 的表現而降低發炎的狀況。初步的實驗顯示有 3 種方劑對 NF- κ B promoter 所 drive 的 Luciferase 表現有抑制作用；另有 13 種單方藥材對 NF- κ B promoter 所 drive 的 Luciferase 表現有抑制作用（圖二）。這些藥材對 NF- κ B 的抑制作用值得進一步分析，除了以另外的方法分析 NF- κ B 的抑制作用外，也將分析其對 TNF- α 表現的影響。特別的是單方藥材萃取液似乎比方劑的萃取液有更好的抑制 NF- κ B 的作用，由這些藥材中尋找抑制 NF- κ B 的成分會比從方劑中藥來得可行。如果這些實驗都能有正面的結果，可以朝兩個方向發展；一是進行動物實驗，二是從這些藥材中尋找其有效成分。

非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver)是常見的問題，可能演變成 cirrhosis, liver failure and hepatocellular carcinoma (Day CP, 2006)，Yahagi 等人(Yahagi et al. 2002)報導指出在 HCC 明顯的較高的脂肪合成的酵素活性，Bugianesi (Bugianesi E, 2007)也指出脂肪肝與 HCC 的發生有密切的關連。因此我們也發展可以評肝細胞油脂(特別是 TG)的方法，T0901317 是一種 LXR agonist，可經由活化脂肪合成途徑提高肝細胞 TG (Edwards et al. 2002；Zaima et al. 2006)。我們在兩個模式中尋找能夠降低肝細胞油脂(TG)的中草藥，找到 4 種可以降低肝細胞油脂(TG)的方劑，這些藥材在幾次重複實驗中都可以看到降低細胞 TG 的效果(圖七，及還來不及整理的結果)。另外，在單方藥材的測試結果發現更多有降低 TG 的藥材，而且效果還更好，只是這些結果還有待進一步的確認。相同於抑制 NF- κ B 的作用，單方藥材似乎是比較多，效果也比較好；其中 A4、A10、A12、A14、A15 及 A24 等藥材兼具抑制 NF- κ B 及降低 TG 的作用，值得進一步探討。

林榮耀教授實驗室的結果顯示，小柴胡湯中的黃芩在 10-15mg/ml 劑量下具毒殺肝癌細胞的作用，可抑制 CCND1、ERBB2、CDC2 等基因的 mRNA 及蛋白質表現量；影響細胞週期，使 S phase 下降，G2/M 上升，將有發展成為抗癌藥物的潛力。

伍、結論與建議

以目前的結果來看，有些藥材確實具有抑制癌細胞發炎反應相關基因表現的潛力，也有些甚至可以毒殺癌細胞。而較溫和的效果如減輕脂肪肝的作用，可能在脂肪肝發展成更進一步肝病變的防治上，具有相當的開發潛力，值得在進一步的探討。

這個計畫至今只進行約 3 個月，有些實驗的條件都還在調整當中，所得到的結果也是初步的結果，甚至一些結果都還沒來得及整理。卻要撰寫如此完整的研究報告，有點強人所難，也浪費主持人的時間及精力。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP96-RD-206 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

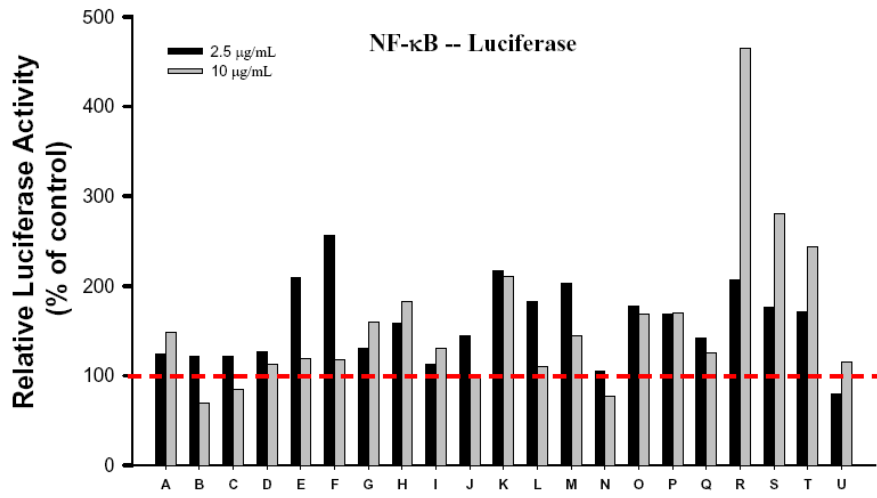
陸、参考文献

1. Arsur M, Cavin LG. Nuclear factor-kappaB and liver carcinogenesis. *Cancer Lett.* 2005;229:157-69.
2. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis *J. Chin. Invest.* 2005;115:209-218.
3. Bugianesi E. Non-alcoholic steatohepatitis and cancer. *Clin Liver Dis.* 2007;11:191-207.
4. Caldwell SH, Crespo DM, Kang HS, Al-Osaimi AM. Obesity and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2004;127(5 Suppl 1):S97-103.
5. Day CP. Non-alcoholic fatty liver disease: current concepts and management strategies. *Clin Med.* 2006;6:19-25.
6. Edwards PA, Kast HR, Anisfeld AM. BAREing it all: the adoption of LXR and FXR and their roles in lipid homeostasis. *J Lipid Res.* 2002;43:2-12.
7. El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma in USA. *Hepatol Res.* 2007 Sep;37 Suppl 2:S88-94.
8. Grisham, J.W. (2002) Molecular genetic alterations in primary hepatocellular neoplasms: Hepatocellular adenoma, hepatocellular carcinoma, and hepatoblastoma. *In: The Molecular Basis of Human Cancer*, W.B. Coleman, Tsongalis, G.J., ed. Totowa: Humana Press, pp. 269-346.
9. Herath NI, Leggett BA, MacDonald GA. Review of genetic and epigenetic alterations in hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006;21:15-21.
10. Kanno T, Kurioka N and Kim S. Implications of hyperechoic lesions in small hepatocellular carcinoma, *Gastroenterol Jpn* 1989; **24**, pp. 528–534.
11. Mosmann T Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. *J. Immunol. Methods* 1983;65:55-63.
12. Nordeen, SK Luciferase reporter gene vectors for analysis of promoters and enhancers. *Biotechniques.*1988;6:454-458.
13. Okuda K and Okuda H. Primary liver cell carcinoma. In: N. McIntyre, J.P. Benhamou, J. Bircher, M. Rizzetto and J. Rodes, Editors, *Oxford textbook of clinical hepatology*, Oxford University Press, Oxford, 1991; pp. 1019–1053.
14. Oka H, Yamamoto A, Kuroki T, Harihara S, Marumo T. Kims-R, Monna T. Prospective study of Chemopre-vention of hepatocellular carcinoma with

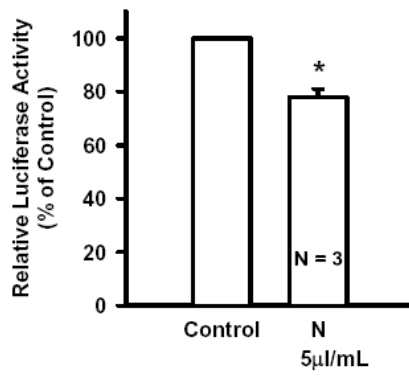
- Sho-saiko-to. *Cancer* 1995;76:747-749.
15. Pilpel, Y., Sudarsanam, P and Church, GM, Identifying regulatory networks by combinatorial analysis of promoter elements. *Nat. Genet.* 2001;29:153-159.
 16. te Boekhorst PA, Lowenberg B, Sonneveld P. Enhanced chemosensitivity in acute myeloid leukemia by hematopoietic growth factors: a comparison of the MTT assay with a clonogenic assay. *Leukemia.* 1993;7:1637-1644.
 17. Tsai CC, Chung YD, Lee HJ, Chang WH, Suzuku Y, Sugano S, Lin JY. Large-scale sequencing analysis of the full-length cDNA library of human hepatocellular carcinoma. *J Biomed Sci.* 2003;10:636-643.
 18. Tsai CC, Huang KW, Chen HF, Zhan BW, Lai YH, Lee FH, Lin CY, Ho YC, Chao YW, Su YC, Jane SW, Chen YC, Hsu CI, Li PH, Hsu HC, Suzuki Y, Sugano S, Lin JY. Gene expression analysis of human hepatocellular carcinoma by using full-length cDNA library. *J Biomed Sci.* 2006;13:241-249.
 19. Wang XW, Hussain SP, Huo TI, Wu CG, Forgues M, Hofseth LJ, Brechot C, Harris CC. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Toxicology.* 2002;181-182:43-7.
 20. Yahagi N, Shimano H, Hasegawa K, Ohashi K, Matsuzaka T, Najima Y, Sekiya M, Tomita S, Okazaki H, Tamura Y, Iizuka Y, Ohashi K, Nagai R, Ishibashi S, Kadowaki T, Makuuchi M, Ohnishi S, Osuga J, Yamada N. Co-ordinate activation of lipogenic enzymes in hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer.* 2005 ;41:1316-22.
 21. Yano H, Mizoguchi A, Fukuda K, Haramaki M, Ogasawara S, Momosaki S, Kojiro M. The herbal medicine Sho-saiko-to inhibits proliferation of cancer cell lines by inducing apoptosis and arrest at the G0/G1 phase. *Cancer Res.* 1994;54:448-454.
 22. Zaima N, Sugawara T, Goto D, Hirata T. Trans geometric isomers of EPA decrease LXRalpha-induced cellular triacylglycerol via suppression of SREBP-1c and PGC-1beta. *J Lipid Res.* 2006;47:2712-2717.
 23. 「於中國常用及試用之抗癌生藥及其處方例」，富田齊門，科學書院(1981)。
 24. 「現在中醫之癌治療之中藥」，郁仁存，東陽書店(1986)。

25. 「漢方癌治療」，Kazunori Fukuda，角川書店(2001)。
26. 「中國本草圖錄」(Vol.1~10)，蕭培根，台灣商務印書館(1988~1990)。
27. 「台灣原住民藥用植物彙編」，行政院中醫藥委員會(2002)。
28. 「台灣常用藥用植物圖鑑」(Vol. I、Vol. II、Vol. III)，行政院中醫藥委員會(2006)。

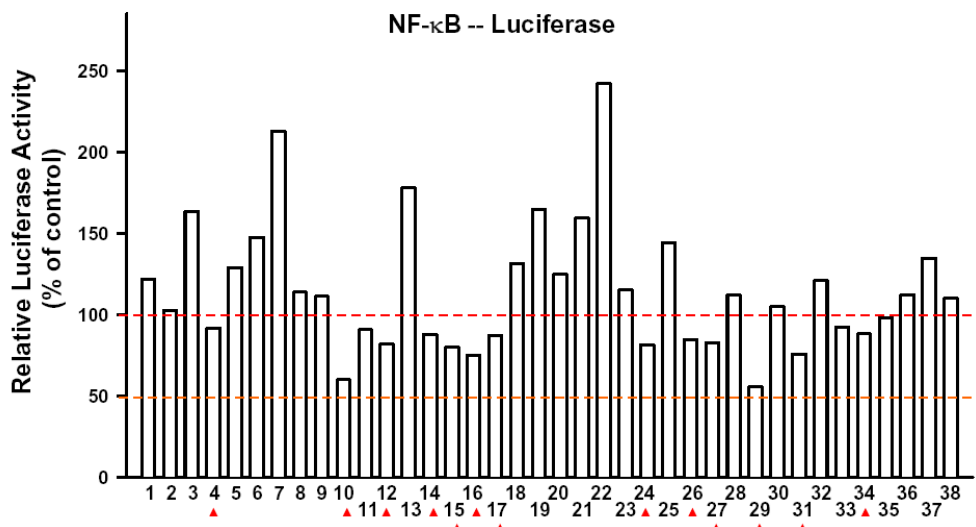
染、圖、表



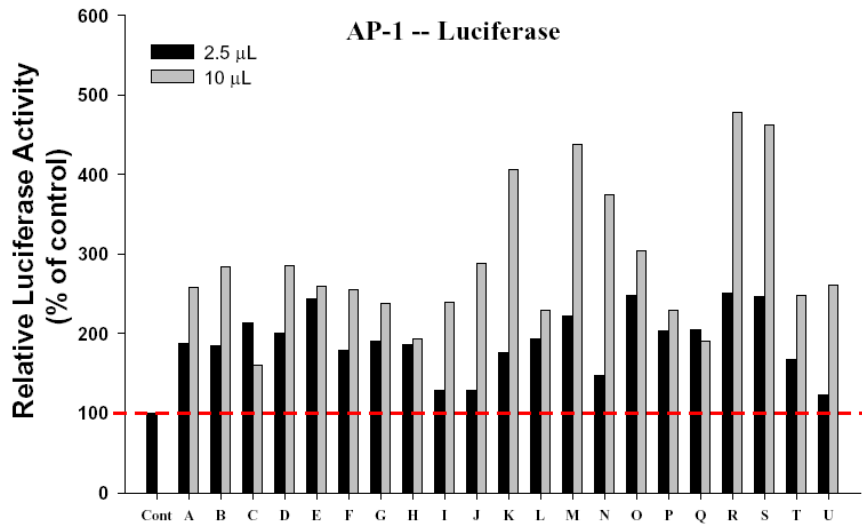
圖一



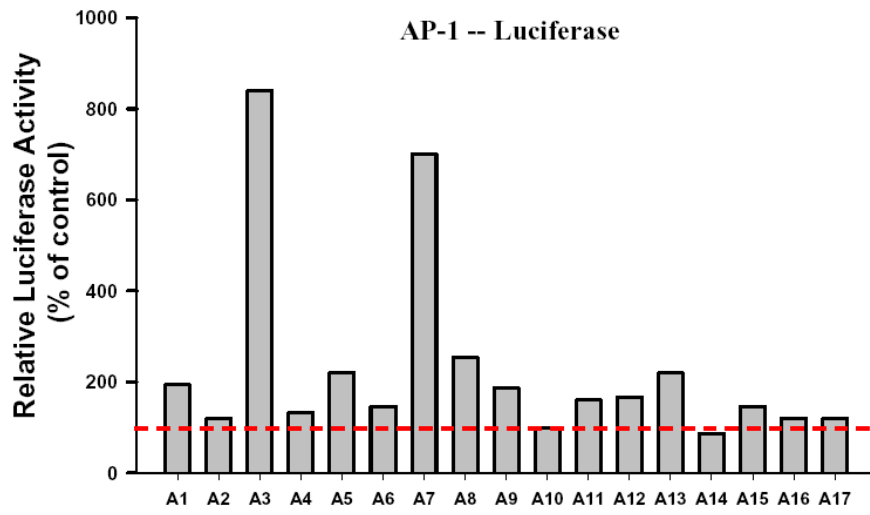
圖一~1



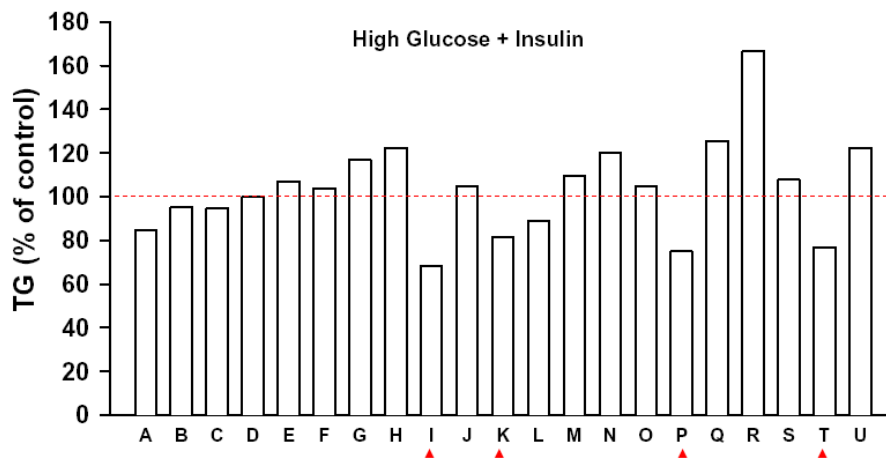
圖二



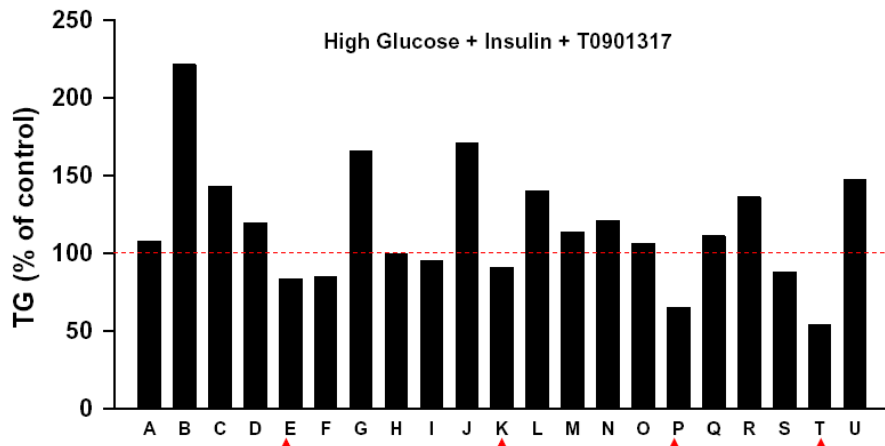
圖三



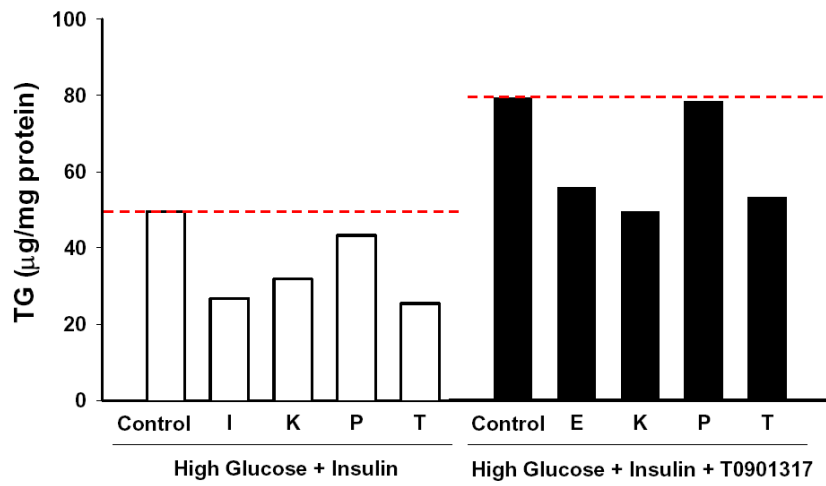
圖四



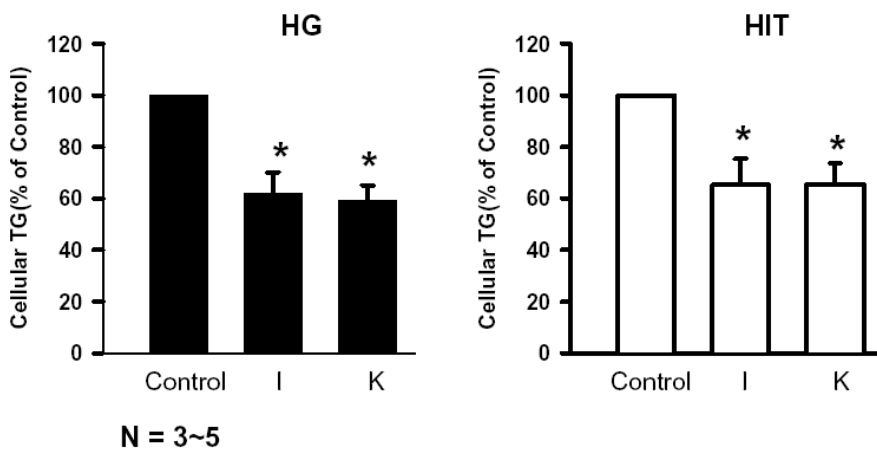
圖五



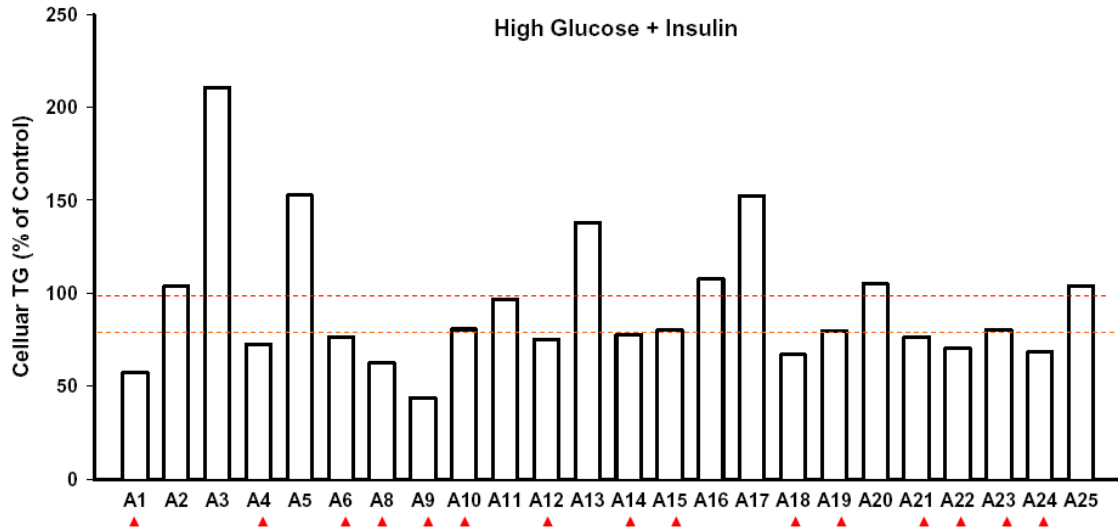
圖六



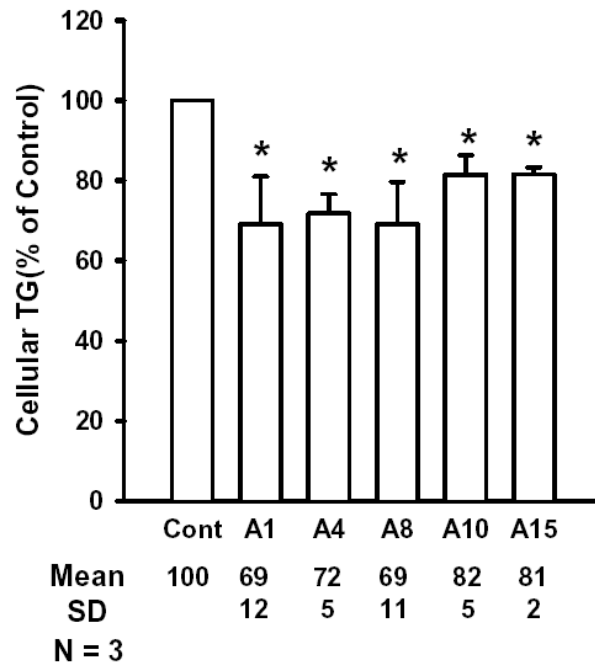
圖七



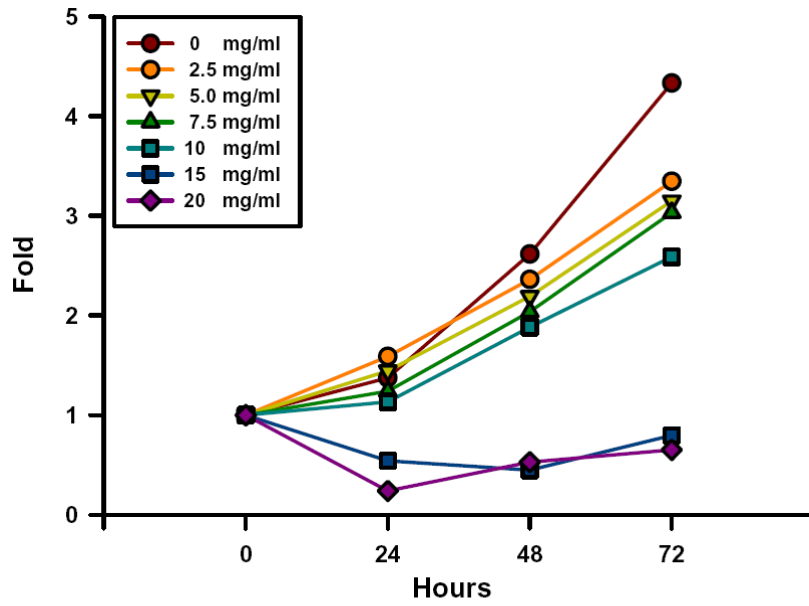
圖七~一



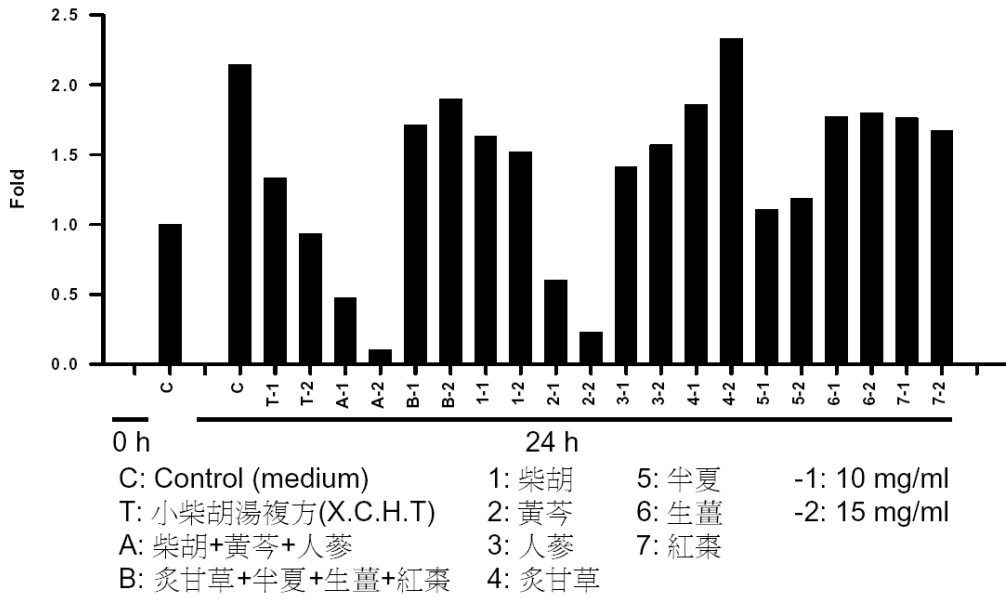
圖八



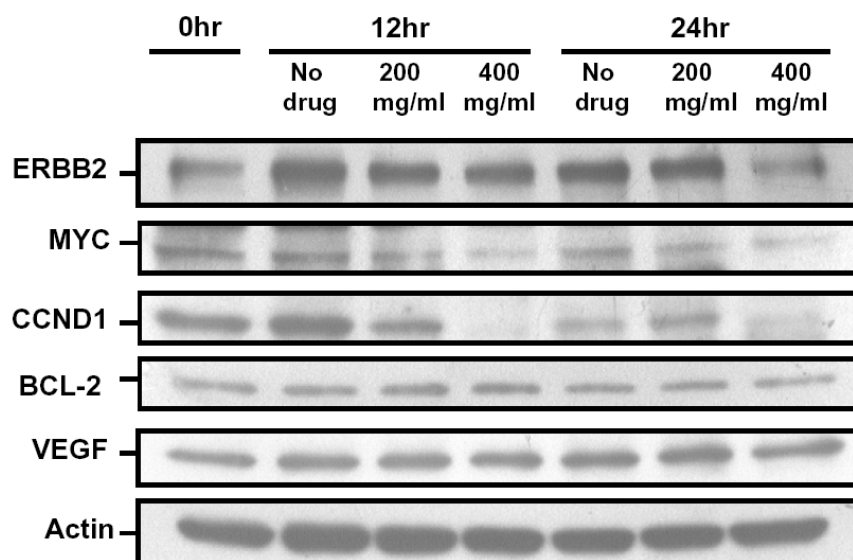
圖八~一



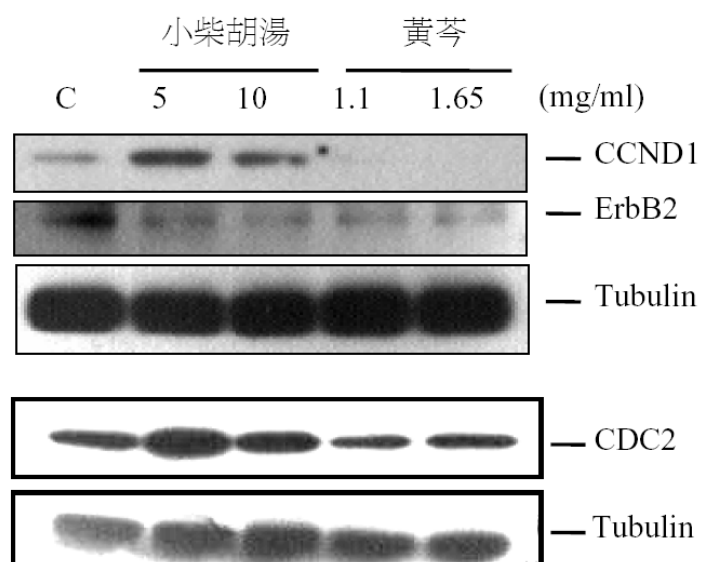
圖九



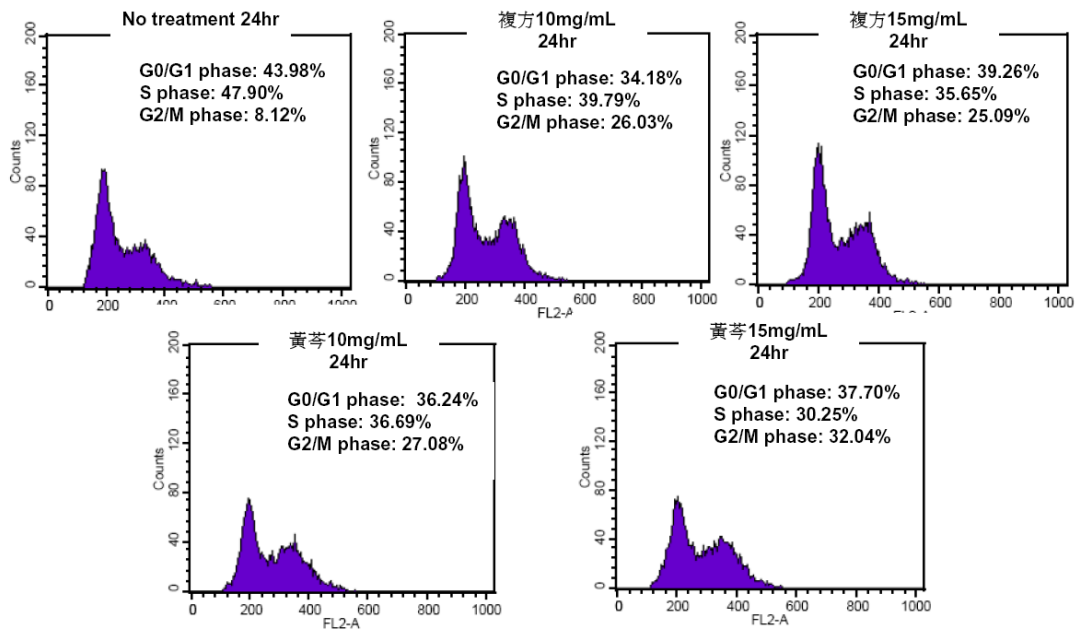
圖十



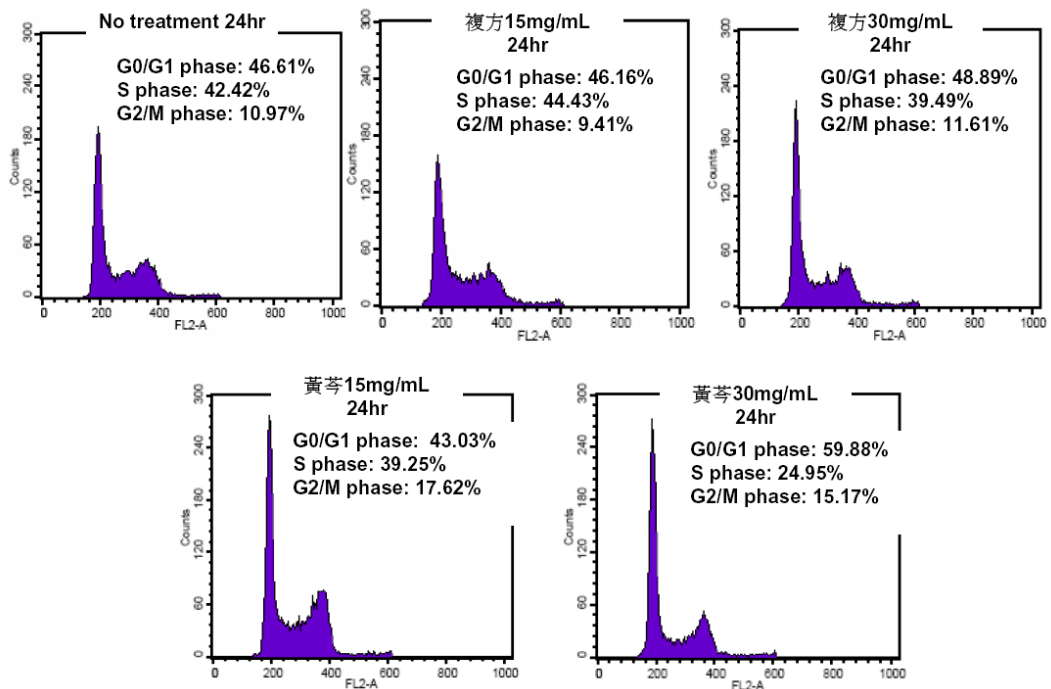
圖十一



圖十二



圖十三(A)



圖十三(B)

表一

Exp. 1					Exp. 2			
Dose	10 mg/ml		15 mg/ml		10 mg/ml		15 mg/ml	
Time	12 hrs	24 hrs	12 hrs	24 hrs	12 hrs	24 hrs	12 hrs	24 hrs
BCL2	-1.9	-2.8	-2.2	-3.6	-3.9	-3.7	-2.4	-5.5
CCND1	-1.6	-1.2	-1.7	-3.6	-2.2	-5.5	-3.7	-5.5
CDC2	1.5	-2.8	-1.4	-4.4	-1.4	-3.7	-1.9	-3.5
CDKN2A	3.5	1.9	1.7	2.6	1.3	1.3	1.6	2.5
ERBB2	-2.5	-2.6	-3.2	-16.6	-2.0	-9.2	-3.0	-11.3
TNFSF10	-1.7	-6.3	-14.9	-16.6	-9.8	-17.1	-19.0	-34.3

Exp. 3					Exp. 4			
Dose	10 mg/ml		15 mg/ml		10 mg/ml		15 mg/ml	
Time	12 hrs	24 hrs	12 hrs	24 hrs	12 hrs	24 hrs	12 hrs	24 hrs
BCL2	-2.5	-2.5	-2.3	-2.9	1.1	-3.0	-1.7	-7.5
CCND1	-2.4	-2.2	-1.5	-2.7	-1.4	-3.2	-3.4	-2.5
CDC2	-1.0	-1.5	-1.2	-1.5	1.5	-2.0	1.5	-4.4
CDKN2A	2.4	2.5	1.9	4.8	1.7	4.4	2.2	8.6
ERBB2	-26.0	-9.2	-13.9	-7.0	-9.5	-3.5	-16.0	-4.9
TNFSF10	-9.5	-3.6	-5.7	-9.2	-4.3	-4.9	-19.0	-19.0

表二

Time (hour)	12		24	
Conc.(mg/ml)	1.1	1.65	1.1	1.65
<i>ERBB2</i>	-10.6	-20.4	-30.9	-43.7
<i>CCND1</i>	-5.3	-4.6	-4.9	-9.2
<i>BCL2</i>	-2.2	-2.7	-3.0	-5.3
<i>TNFSF10</i>	-9.8	-5.5	-14.4	-22.6
<i>CDC2</i>	-3.0	-2.1	-4.4	-7.2

基因體探討抗肝癌及脂肪肝之中草藥計畫 —總計畫

林榮耀

財團法人台北市林榮耀教授學術教育基金會

摘要

研究目的：

本計畫之目標為提升基因體中醫藥研究，對中草藥抑制肝癌發生之可行性進行研究。總計畫實驗室協調、協助中藥製備並傳遞中藥至高醫吳永昌教授與台大呂紹俊教授以進行研究。

研究方法：

共有十三種中草藥以 100 °C 水萃取後，經濃縮成相當於原中草藥萃取液 1 g/ml。

我們使用肝癌細胞 Hep3B 作為細胞模式進行細胞增生實驗(MTT assay)及爬行實驗(Transwell migration assay)以研究中草藥之抗癌能力並進行機制研究。

結果與討論：

發現川山椒、拳蓼、麻黃、烏藥、延胡索具有抗癌轉移能力，我們進一步研究其抗癌的分子機制，發現拳蓼可有效抑制血管新生相關基因表現特別是抑制血管內皮生長因子接受器-2 (vascular endothelial growth factor receptor-2)表現，干擾其相關訊息傳遞路徑，其中包含 FAK 與 Src 磷酸化明顯被抑制，因而可抑制 actin filament 形成進而抑制癌細胞侵犯能力。川山椒與麻黃可抑制 actin filament 形成，其機制為抑制 FAK 訊息路徑。此外，我們也發現延胡索可抑制表皮生長因子接受體(epidermal growth factor receptor)之表現而抑制 Src 之磷酸化，此可能為延胡索抑制肝癌細胞移動與轉移之分子機制。經由此計畫之研究，我們鑑定出川山椒、拳蓼、麻黃與延胡索之水萃物能抑制肝癌轉移，值得進行進一步的臨床證明，此研究成果預期可應用於臨床治療晚期肝癌之轉移。

關鍵詞：中草藥、肝癌、癌細胞轉移

Genome-wide Studies on Anti-Hepatocellular Cancer and Fatty Liver Chinese Herbal Medicines-main Project

Jung-Yaw Lin

ABSTRACT

Aim:

This investigation is to promote the studies of Chinese medicines and to examine the inhibitory effects of Chinese herb medicines on hepatocellular cell carcinoma. The main project will assist the preparation of aqueous extracts from Chinese herb medicines and deliver to professor Wu Yang-Chang and professor Lu Shao-chun for investigation.

Method:

Thirteen kinds of Chinese herb medicines were extracted by water at 100 °C and concentrated to 1 g/ml. Hep3B cells were used as the cell model to investigate the effects of Chinese herb medicines on cancer cell proliferation and migration by using MTT assay and transwell migration assay. The anti-cancer molecular mechanism was studied by quantitative real-time PCR and Western blotting.

Results & Discussion:

The aqueous extracts of *Zanthoxylum bungeanum Maxim*, *Polygonum bistorta L*, *Ephedra distachya*, *Lindera strychnifolia* and *Corydalis Rhizoma* were found to exhibit anti-migrative activity on Hep3B cells. The anti-cancer molecular mechanism of these active Chinese herb medicines was further investigated. The results showed that the aqueous extracts of *Polygonum bistorta L* strongly inhibited the expression of vascular endothelial growth factor receptor-2 and disrupted the activation of FAK and Src signaling to suppress actin filament formation and cancer cell migration. The extracts of *Zanthoxylum bungeanum Maxim* and *Ephedra distachya* were demonstrated to inhibit actin filament formation and FAK signaling pathway to suppress cancer cell invasion. Furthermore, we also found that the aqueous extracts of *Corydalis Rhizoma* decreased the expression of epidermal growth factor receptor and then inhibited the phosphorylation of Src to suppress migration ability of Hep3B cells. By the results of this study, we identify *Zanthoxylum bungeanum Maxim*, *Polygonum bistorta L*, *Ephedra distachya* and *Corydalis Rhizoma* have the potential to suppress the metastasis of hepatocellular cell carcinoma cells. These results may be helpful for the treatment of late-stage hepatocellular cell carcinoma.

Keywords: Chinese herb medicine, hepatocellular cell carcinoma, cancer metastasis

壹、前言

中草藥已被發現對於多種疾病具有治療潛力，例如癌症、肝炎、糖尿病、高血壓等。最近有愈來愈多的研究發現中草藥萃取物能用來改善傳統抗癌療法的效用與降低化學治療的副作用產生。本計畫之目標為提升中醫藥研究，對中草藥抑制脂肪肝與肝癌發生之可行性進行研究。總計畫實驗室協調 GMP 藥廠供應可能具有抗癌保肝相關作用之中草藥之水草物、並傳遞中藥至高醫吳永昌教授、台大呂紹俊教授與林榮耀教授以進行研究。此外會定期舉行會議討論實驗進度與困難。

貳、材料與方法

一、中草藥萃取液之製備：

無菌中草藥萃取液混合均勻後分裝至 15 毫升離心管，以 1500 g、20 min 離心後，吸取上清液分裝備用，保存於室溫下。

二、肝癌細胞株之培養：

人類肝癌細胞株 Hep3B 細胞以 DMEM 加入 10% FBS、100 IU/ml Penicillin/Streptomycin、2 mM L-Glutamine、1X 非必需胺基酸作為細胞培養用之 complete medium。繼代培養或實驗種入細胞時，加入 1X Trypsin 在 37°C 培養 5 分鐘，以培養液沖下後，以 pipette aid 吸沖 30 下，以 1:3~1:6 的比例繼代培養或計數細胞種入新的細胞培養皿或 96 孔細胞培養盤之中。

三、分析中草藥萃取物之細胞毒性及抑制癌細胞功能：

(一) 將中草藥萃取物處理人肝癌細胞株 Hep3B cells，24 小時後分析其 IC₅₀，以 MTT 方法分析中草藥萃取物之毒性。

MTT assay：先將肝癌細胞培養於 DMEM 培養液中，其中含 10% 胎牛血清 (FBS) 及含 100 units/ml penicillin 和 100µg/ml streptomycin，長至培養瓶單層長滿 (confluent) 時，medium 以二至五滴的 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 (culture plate) 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 24 小時。之後將舊 medium 吸掉，將 100 l 含 MTT 之 medium (1: 9, final conc. 0.5 mg/ml，不含 FBS) 加入各 well，在上述環境繼續培養 1 hrs 後吸掉 medium，加入 100 l

DMSO, shake 使結晶完全溶解, 以 EIA reader 測定其在 540 nm 的吸光度。其 IC_{50} (50 % Inhibition Concentration) 即代表藥物能抑制 50 % 癌細胞生長之毒殺濃度。

- (二) 將中草藥萃取物處理 Hep3B cells, 12 及 24 小時將細胞萃取 mRNA 並反轉錄為 cDNA, 並以 Real-time PCR 方法測試細胞基因表現的變化。

RNA 分離及純化: 細胞株之 RNA 以 TRizol™ 萃取, 步驟簡述如下, 將 5×10^6 細胞以 1 ml TRizol™ 均勻懸浮後, 置於室溫約 5 分鐘, 加入 200 μ l 氯仿($CHCl_3$)劇烈搖晃 15 秒後靜至於室溫 5 分鐘, 12000 xg 於 4°C 離心 15 分鐘, 取上清液至新離心管中加入 0.5 ml Isopropanol 混合均勻後靜置於室溫 10 分鐘, 再以 12000 x g 於 4°C 離心 10 分鐘, 倒去上清液, 以 75% 酒精清洗, 7500 x g 離心 5 分鐘, 風乾 2 分鐘, 溶解於 50 μ l DEPC-ddH₂O 中, 可加熱至 60°C 作用 10 分鐘幫助 RNA 完全溶解。利用 spectrophotometer 測量 260 nm 與 280 nm 波長之吸光值, 且 260/280 的比值應該要大於 2.0, 以 260 nm 的吸光值定量 RNA 的濃度。

反轉錄即時聚合酶鏈鎖反應(RT-PCR)定量分析: 取定量的 RNA (1-5 μ g) 加入 1-5 μ l random hexamer (50 ng/ml) 或 oligo-d (T) (1mM), 於 70°C 反應 10 分鐘, 於 4°C 5 分鐘, 再加入有 buffer、DTT (10 mM) 及 dNTP (10 mM) 的混合液, 置於 42°C 5 分鐘後加入 1 μ l Superscript II™ RT, 於 42°C 反應 50 分鐘、70°C 反應 15 分鐘後, 於 4°C 終止反應, RNA 便完成反轉錄成 cDNA。以滅菌二次水將 cDNA 濃度調整為 50ng/ μ l, 取適量 cDNA 作為模板, 加入 5 μ l 10X Taq buffer、1 μ l 10mM dNTP、3' 與 5' 端引子(皆 10 μ M) 各 1 μ l, 及 0.5 μ l 5U/ μ l Taq DNA polymerase (Bioman), 並以滅菌二次水將總體積補至 50 μ l 以下述條件進行聚合酶連鎖反應(PCR), 反應結束後以 1% 洋菜膠體電泳圖譜觀察其產物。部分實驗以 RT-qPCR 做 RNA 定量, 於 0.5 ml 薄壁離心管中, 每管加有 5 μ l 的 4 倍稀釋的 cDNA 作 PCR 的模板, 並加入特异性引子正股(sense)和反股(antisense)及 SyBr Green master mix, 於聚合酶連鎖反應器(ABI 7300)進行反應。

- (三) 將中草藥萃取物處理 Hep3B cells, 24 小時後將細胞萃取細胞質蛋白, 以 SDS-PAGE 及 Western blotting, 偵測不同處理之細胞特定

蛋白質之表現量。

西方轉漬分析(Western blotting analysis)：細胞株之蛋白質萃取，步驟簡述如下，將 5×10^6 細胞以 lysis buffer 均勻懸浮後，樣品以沸水加熱 10 分鐘。於室溫 $12000 \times g$ 離心 10 分鐘，取上清液，經蛋白質濃度測試，進行 SDS-polyacrylamide 明膠電泳分析(電壓 200V) 60 分鐘。再經以電壓 100V 將蛋白質轉漬至 PVDF membrane，70 分鐘後以特定抗體進行免疫偵測反應。在室溫下 1 小時或在 4°C 中 16 小時，移除 blocking buffer 後，加入適當稀釋的一級抗體，視個別抗體，在室溫下用震盪器反應 1-2 小時，接著以 TBST 清洗 PVDF membrane 三次，每次時間為 5 分鐘。清洗過後，加入適當稀釋的二級抗體，使其與一級抗體結合，在室溫反應 1-1.5 小時。之後同樣以 TBST 清洗 PVDF membrane 三次，每次時間為 5 分鐘。最後，利用 enhanced-chemiluminescence (ECL) 系統與二級抗體上帶有的酵素 HRP(horse radish peroxidase) 進行反應，產生冷光，並以 Kodak Biomax light film 覆蓋於 PVDF membrane 上進行壓片數分鐘，洗片後即可獲得影像。

細胞內蛋白質定量：將剩餘之細胞液，利用市售 DC protein assay kit (Bio-rad) 進行定量：首先配製 BSA (bovine serum albumin) 標準品，濃度包括 $1.4\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 、 $0.7\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 、 $0.35\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 、 $0.175\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 、 $0\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ，各溶液體積為 $20\mu\text{l}$ 。另外將蛋白質樣品做適當稀釋至體積為 $20\mu\text{l}$ ，加入 $100\mu\text{l}$ 反應試劑 A 以及 $800\mu\text{l}$ 反應試劑 B 均勻混合，在室溫下反應 15 分鐘後，以分光光度計測量 O.D.₆₅₅ 之吸光值，繪製標準曲線可推算出蛋白質濃度。

(四) 分析 Cell cycle 之分佈，中草藥處理後，細胞用 propidium iodide 染色後用 flow cytometer 分析細胞之 cell cycle、G1/S、G2/M 等分佈。

細胞週期與細胞凋亡測定：癌細胞以受測藥物處理後，以 trypsin-EDTA 將細胞切下，洗滌離心後，隨即以 70% 酒精固定，並置於 4°C 隔夜。之後將細胞離心，去除上清液，並加入含有 $25\mu\text{g}/\text{ml}$ RNase 與 0.5 % Triton-X100 的 phosphate-buffered saline (PBS)，將細胞均勻打散，於 37°C 靜置 1 小時。接著將細胞以 $50\mu\text{g}/\text{ml}$ propidium iodide 染色，並以 flow cytometry 測定分析細胞週期 (G0/G1, S, G2/M) 與細胞凋亡 (sub G1)。

(五) 資料分析 (data analysis)

利用 SigmaPlot 統計軟體分析，當 $p < 0.05$ 表具顯著差異。

四、分析中草藥萃取物之抑制癌細胞移行：Hep3B cells 經 24 小時 serum starvation 之後，將細胞置入 Boydon Chamber 並於 medium 中加入中藥，經 8 小時培養後觀察其移行抑制情形。

細胞轉移能力試驗(migration assay)：於24-well inserts (BD, 353097) 上，將 5×10^4 細胞接種於insert上，並在insert內外各加入500 μ l 完全培養基，置入培養箱，待細胞穩定後，加入測試藥物，經24小時後收取下層細胞，以trypan blue計數。實驗結果與並與僅有溶液未加藥的控制組比較。

細胞侵犯能力試驗 (invasion assay)：取 100 μ l Matrigel (Becton-Dickinson；Mountain View, CA, 354234)置於24-well inserts (BD, 353097)上，於37°C培養30分鐘，使其膠體活化並凝結，次將 5×10^4 細胞接種於Matrigel上，並在insert內外各加入500 μ l 完全培養基，置入培養箱，待細胞穩定後，加入測試藥物，經24小時後收取下層細胞，以trypan blue計數。實驗結果與並與僅有溶液未加藥的控制組比較。

明膠酶譜法 (gelatinase zymography): 由於 matrix metalloproteinase (MMP)具有明膠酶活性的特點，於SDS-PAGE中加入明膠作為其基質，利用電泳依分子量大小分離後，並去除SDS後，加入酵素反應緩衝液隔夜培養，後經Coomassie Brilliant Blue R250染色，最後以退染劑退染，在可見光下顯影。藉以偵測MMP-9、MMP-2的活性。

蛋白質收取與定量--將 1×10^6 細胞培養於60 mm培養皿中，隔夜培養後，加入適當濃度之待測藥物，藥物處理一天後，收取培養液，在4°C下以1000轉離心，收取上清液即得所需之蛋白質。

膠體製備--內含0.1%明膠(Sigma,G3144-100G)的10% separating gel(配方如前述)

電泳--取5 μ l蛋白質加入樣品緩衝液(4 \times sample buffer, 1 Tris-HCl, pH6.8, 40% SDS, 0.5% Bromophenol blue, 20% Glycerol), 混和均勻並以55°C活化5分鐘後放在冰上靜置5分鐘，置入Separating gel，以電壓85特進行2小時30分鐘電泳。

呈色--電泳結束後取出膠片，以2.5% Triton X-100在室溫下搖晃清洗30分鐘，後加入100 μ l反應緩衝液(0.05 M Tris-HCl, pH 8.8, 5 mM CaCl₂, 0.02% NaN₃) 在37°C恆溫箱作用16小時，取出膠片以Coomassie Brilliant Blue R250染色3小時，後以退染劑(45% ethanol, 10% acetic acid)退染，最後用二次水清洗並浸泡，以可見光顯影。

參、結果

我們以Hep3B細胞為細胞模式篩檢十三種中草藥水萃物的抗癌活性，利用細胞增生實驗及細胞移行實驗分別求出這些中草藥水萃物的IC₅₀cytotoxicity (IC-C50)與IC₅₀migration (IC-M50)，將IC₅₀cytotoxicity除以IC₅₀migration後發現川山椒、拳蓼、麻黃、烏藥、延胡索具有明顯的抑制肝癌細胞能力(IC-C50/IC-M50分別為12.7, 11.3, 10.3, >6.9, 4.8，表一)。我們進一步研究拳蓼的抗癌分子機制，發現拳蓼水萃物可以抑制actin filament之形成而影響肝癌細胞之爬行能力(圖一)；並造成癌細胞的細胞週期停滯在G₀/G₁期(圖二)；利用西方轉漬分析發現拳蓼水萃物可明顯減少血管內皮生長因子接受器-2 (vascular endothelial growth factor receptor-2)的表現，進而影響其下游分子AKT與GSK的活化(圖三)，並可抑制FAK與Src的磷酸化而減少actin filament之形成(圖四)；除此之外，血管內皮生長因子的表現亦被拳蓼水萃物所抑制(圖五)。我們亦進行*in vivo*小鼠實驗以驗證拳蓼水萃物的抗癌活性與臨床應用之可能性，我們將癌細胞注射入免疫不全小鼠，並一周五次餵以拳蓼水萃物，目前實驗結果發現拳蓼水萃物可能具有抑制腫瘤生長之能力(圖六)。拳蓼水萃物的抗癌作用機制總結於圖七。

另外，我們發現川山椒水萃物亦可抑制Hep3B細胞的actin filament形成而減少肝癌細胞爬行(圖八)，並且發現FAK與AKT的磷酸化亦被明顯抑制而減少細胞爬行訊息(圖九)，Rac-1為FAK下游因子且與actin filament之調控有關，我們更進一步發現調控actin filament形成的重要因子Rac-1之活性也明顯減少(圖十)，由此推測川山椒水萃物是藉由抑制FAK與AKT訊息途徑來抑制肝癌細胞轉移能力。

而本計畫亦發現麻黃水萃物亦可抑制肝癌細胞的actin filament形成(圖十一)，我們進一步證明肝癌細胞的fibronectin表現量明顯被麻黃水萃物所減少，其下游訊息傳遞如Src、FAK與AKT的活化態都因此而受到抑制(圖十二)，而Rac-1之活性也明顯被麻黃水萃物所抑制(圖十三)，藉由這些結果我們可瞭解麻黃水萃物抑制肝癌細胞轉移之分子機制。

此外，延胡索水萃物可阻斷Hep3B細胞的actin filament形成(圖十四)，並造成癌細胞的細胞週期停滯在G₀/G₁期(圖十五)；藉由西方轉漬分析我們發現表皮生長因子接受體(epidermal growth factor receptor)的表現受到延胡索水萃物抑制，進而使其下游Src的活化減少(圖十六)，另外，延胡索水萃物亦可抑制hypoxia-inducible factor-1之表現並減少 β -catenin進入細胞核的量(圖十七)，這些成果闡釋了延胡索水萃物抗癌轉移的可能分子機制。

肆、討論

肝癌是目前最常見的癌症之一，並且有極高的致死率，有許多的環境因子與肝癌之形成與惡化相關，例如B型肝炎病毒、C型肝炎病毒、酒精等。肝癌的進程包含細胞分化能力降低、細胞增生異常、表皮細胞型態缺失、細胞侵犯與轉移能力增加。雖然現存的抗癌療法具有一定的抗癌效果，但是癌細胞抗藥性的產生與復發、並容易轉移至其他器官，再加上強烈難忍的副作用，造成治療成功率極低。因此，發展新的抗癌標的、降低化學療法的副作用、抑制癌細胞轉移是目前亟需完成的研究。

中草藥為中國數千年以經驗累積出的成果，與西方醫學不同之處為中草藥多以複方之形式呈現，與所謂的雞尾酒療法想法類似，每種化合物之濃度因此降低，相較於西方醫學的單一化合物而言，其形成副作用之可能性相對減少；此外，傳統西方抗癌療法多是針對一條訊息傳遞路徑以至數種化合物抑制之而達到殺死癌細胞之目的。但是癌細胞的特性之一就是抗藥性的產生，以往的臨床經驗發現病人在接受傳統療法之後確實可以痊癒，但是一段時間後復發卻是常見的情形，而且對原本的療法產生抗藥性，並且易轉移至其他器官而導致更高的致死率。因此，中草藥療法所用的策略可能具有發展出更好的抗癌療法的機會，中草藥可同時抑制多條癌化訊息路徑而減少復發機率，且癌細胞產生抗藥性的機會將可降到最低，所以發展中草藥抗癌療法將是未來可能的主流。

本計畫分析十一種中草藥水草物的 IC_{50-C}/IC_{50-M} ，篩選出川山椒、拳蓼、麻黃、延胡索之水草物具有明顯的抗癌細胞移行能力，以此方法篩選的中草藥將具有很好的抑制腫瘤轉移能力而有較低的細胞毒性，而可作為現有的傳統化學或放射線療法的輔助療法。此外，我們也將利用Chang normal cell line以評估其細胞毒性及臨床應用之可行性。我們進一步將其抗癌機制闡明，其分別具有類似或不同的分子機制，是否有合併使用的可能是值得探討的。另外，能否與現存的抗癌療法，如化學療法、輻射療法，或是標的療法，如針對血管內皮生長因子或細胞移行之藥物，合併使用以降低其副作用、減少抗藥性之產生、或達到加成效果也是值得研究。另外，這些中草藥中具有抗癌活性的化合物仍有純化分析的需要，除了可提供lead化合物來進一步修飾其結構增加其效果之外，我們也可以藉由瞭解其中含有的有效抗癌成分種類比例，進而發展出可能的雞尾酒抗癌療法。藉由整合各子計畫之成果與強項，我們將可幫助發展治療癌症、脂肪肝等肝病，已以提升病人的存活率與預後並提升其生活品質。

伍、結論與建議

此計畫建立了篩選具抗癌活性中草藥之流程，並因此鑑定出數種抗癌中草藥，其中，拳蓼的in vivo動物實驗已作，以此方式將可大量篩選具抗癌能力之中草藥，以期能對癌症治療有所貢獻。

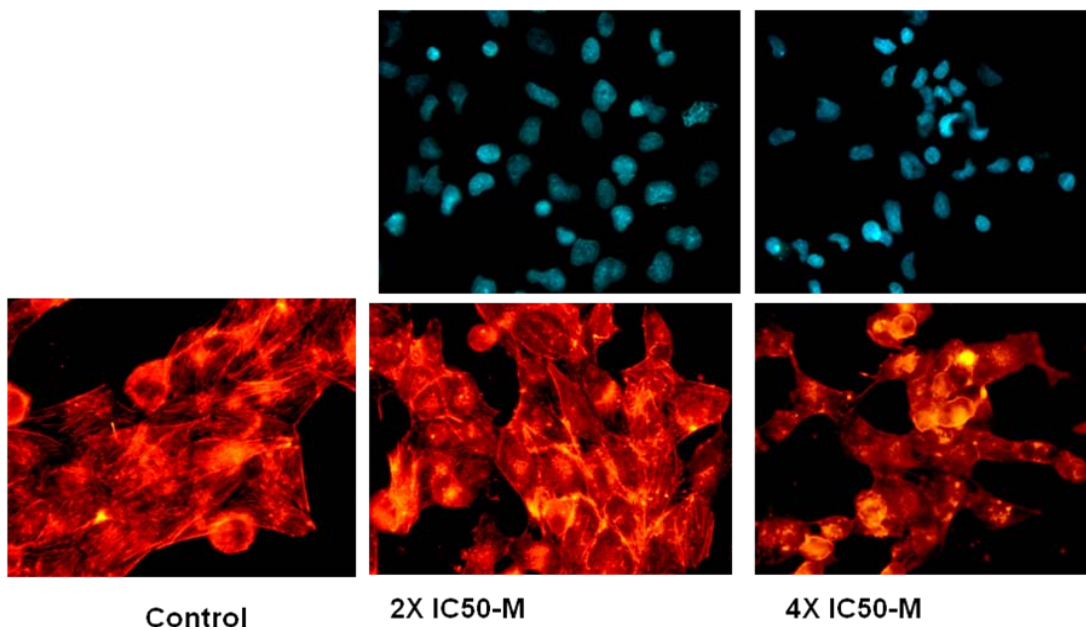
誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP99-RD-203 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

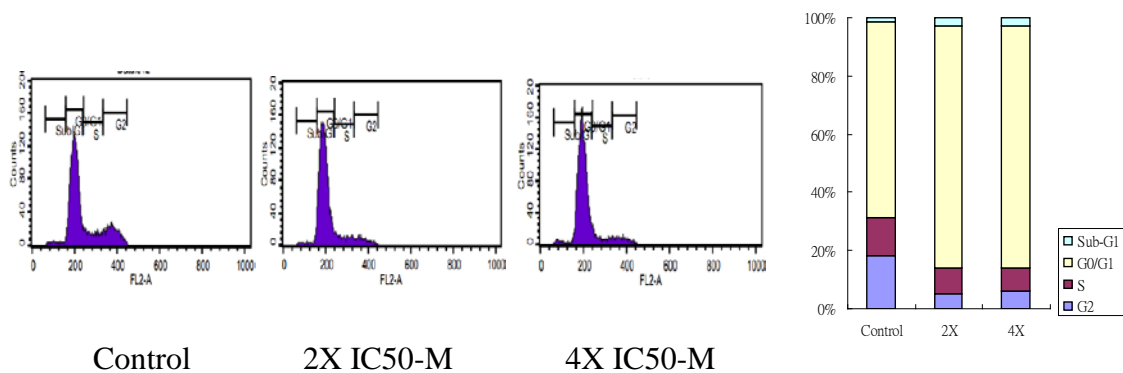
陸、圖、表

表一、已篩選抗癌活性之中藥水萃取物

		IC50-C (mg/mL)	IC50-M (mg/mL)	IC-C50/IC-M50
川山椒	<i>Zanthoxylum bungeanum</i> <i>Maxim</i>	11.5	0.9	12.7
拳蓼	<i>Polygonum bistorta</i> L	9.0	0.8	11.3
麻黃	<i>Ephedra distachya</i>	7.2	0.7	10.3
烏藥	<i>Lindera strychnifolia</i>	> 20.0	2.9	> 6.9
延胡索	<i>Corydalis Rhizoma</i>	4.3	0.9	4.8
麥門冬	<i>Ophiopogonis Radix.</i>	9.7	> 3.0	< 3.2
地黃	<i>Rehmannia glutinosa</i> <i>Libosch</i>	5.7	> 3.0	< 1.9
蛇床子	<i>Cnidium monnieri</i>	13.2	> 3.0	< 1.6
吳茱萸	<i>Evodiae Fructus</i>	4.6	> 3.0	< 1.5
白朮	<i>Atractylodes</i> <i>macrocephala</i> Koidz	4.4	> 3.0	< 1.5
蘇木	<i>Caesalpinia sappan</i> <i>Linn.</i>	0.7	0.5	1.4
大腹皮	<i>Areca catechu</i> L.	3.4	> 3.0	< 1.1
枸杞子	<i>Lycium chinense</i> Mill. / <i>Lycium carnosum</i> Hort.	> 20.0	> 3.0	--

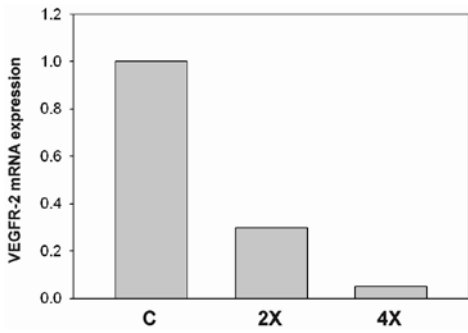


圖一、拳蓼可隨濃度增加減少Hep3B細胞的actin filament形成

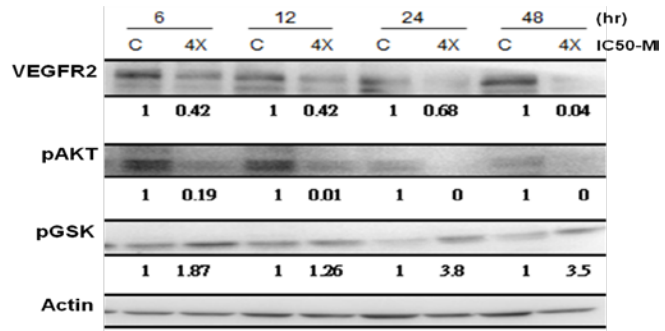


圖二、拳蓼造成 Hep3B 細胞之細胞週期停滯在 G0/G1 期。

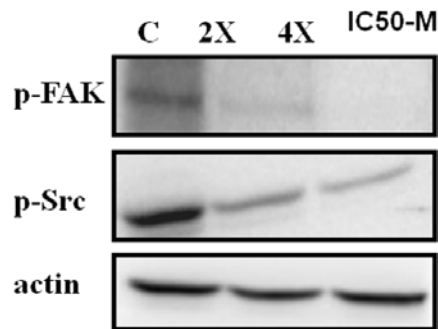
Real-time QPCR analysis



Western blot analysis

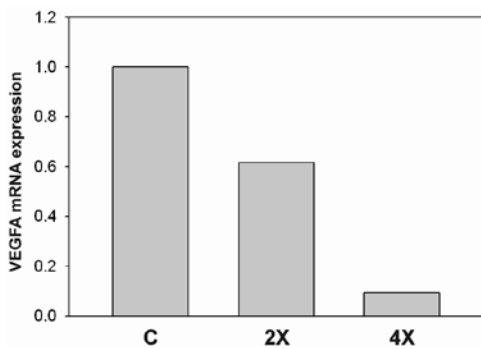


圖三、拳蓼抑制 Hep3B 細胞的血管新生相關生長因子接受器-2 之表現，並因此干擾相關訊息傳遞路徑

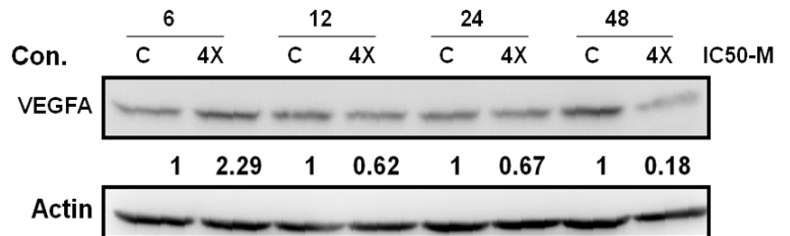


圖四、拳蓼抑制 Hep3B 細胞的 FAK 與 Src 之磷酸化

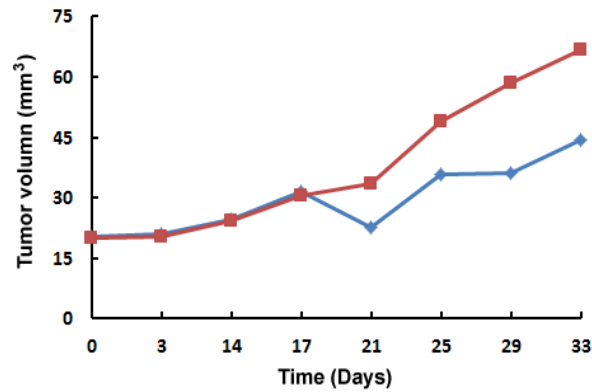
Real-time QPCR analysis



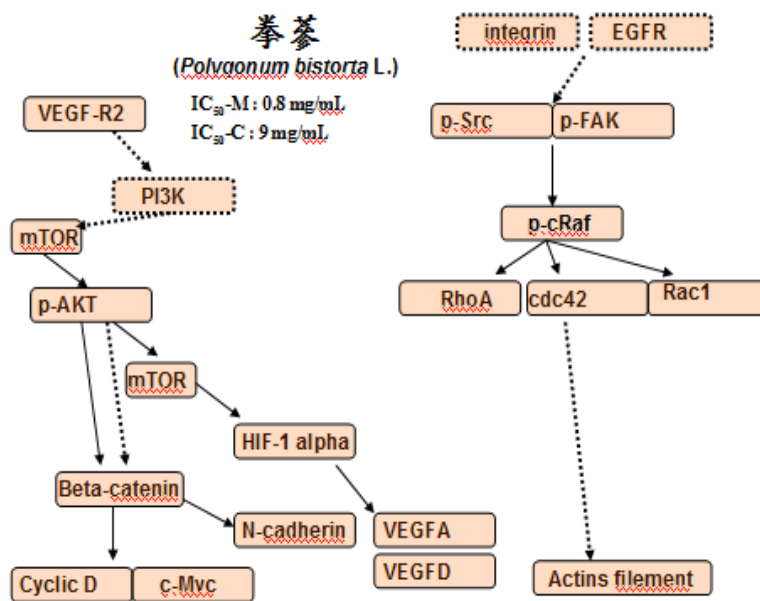
Western blot analysis



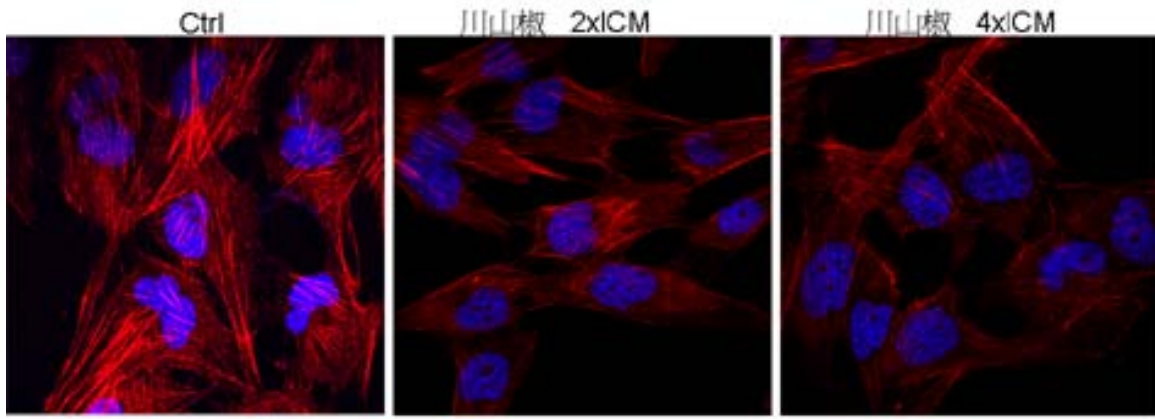
圖五、拳蓼抑制 Hep3B 細胞的血管內皮生長因子之表現



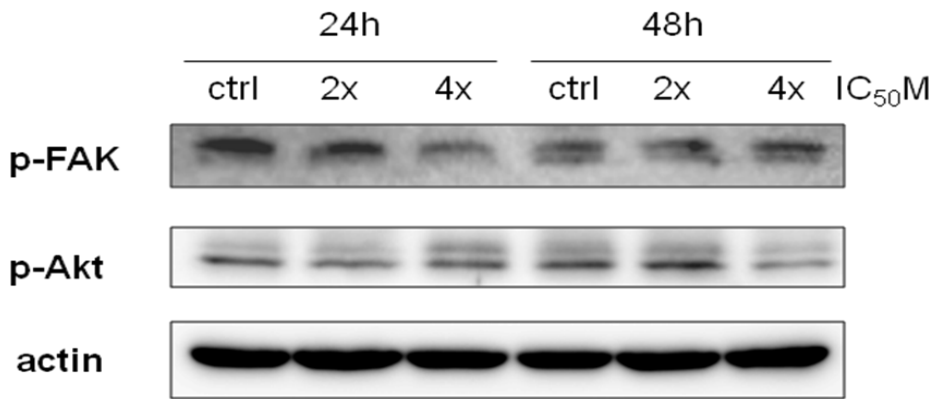
圖六、拳蓼抑制 Hep3B 細胞在免疫不全小鼠體內形成腫瘤之能力



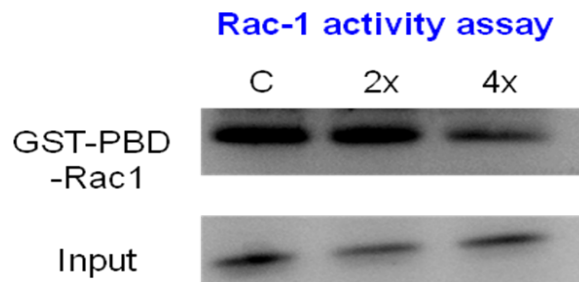
圖七、拳蓼的抗癌作用機制主要是抑制透過 VEGFR-2 接受體，干擾 Src 及 FAK 的活化，而抑制 actin filament 形成



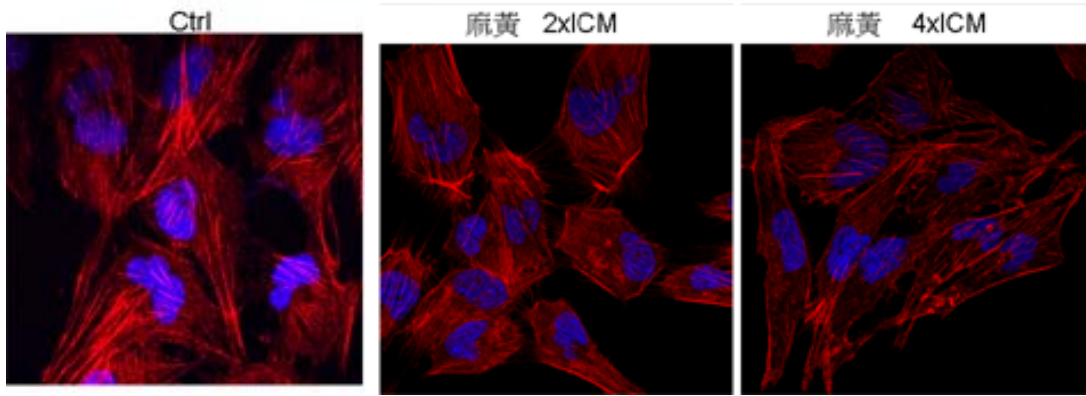
圖八、川山椒抑制 Hep3B 細胞的 actin filament 形成而減少癌細胞爬行



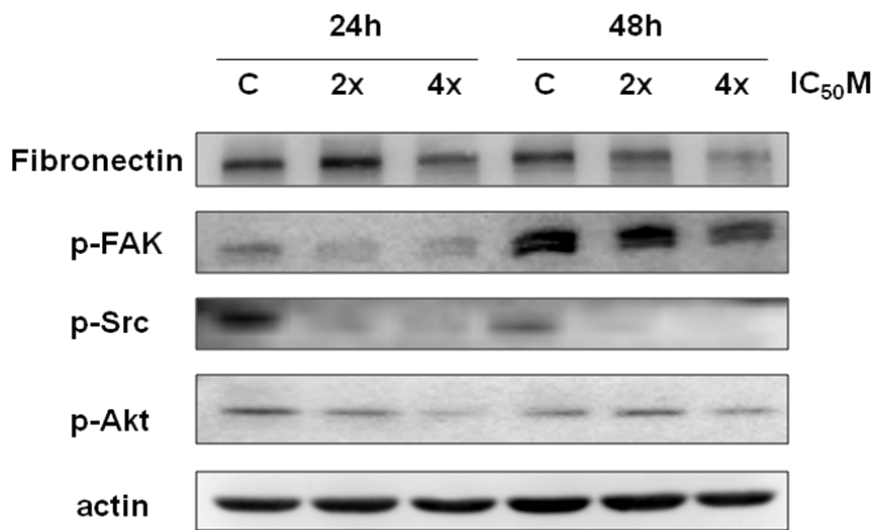
圖九、川山椒抑制 FAK 與 AKT 的磷酸化而減少細胞爬行訊息



圖十、川山椒減少调控 actin filament 形成的重要因子 Rac-1 之活性

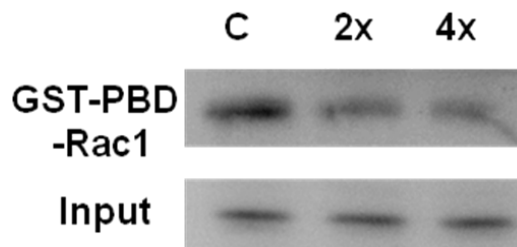


圖十一、麻黃抑制 Hep3B 細胞的 actin filament 形成

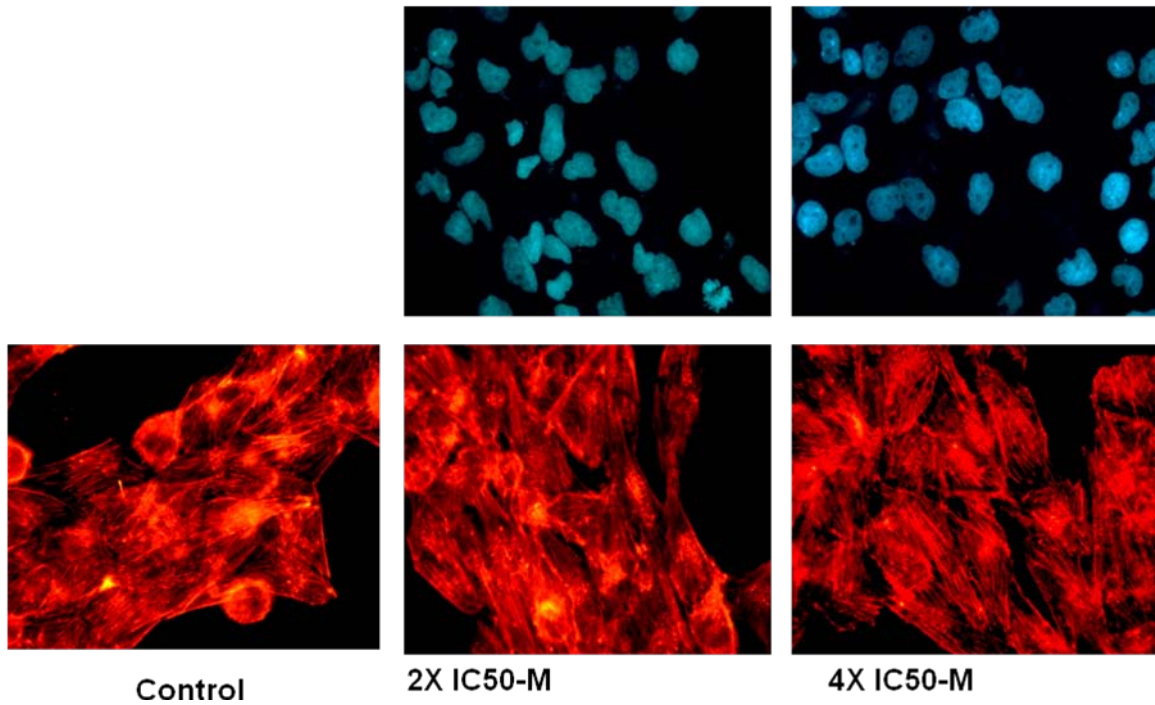


圖十二、麻黃抑制 Hep3B 細胞 fibronectin 表現，其下游訊息傳遞 Src、FAK 與 AKT 的活化態都因此而受到抑制。

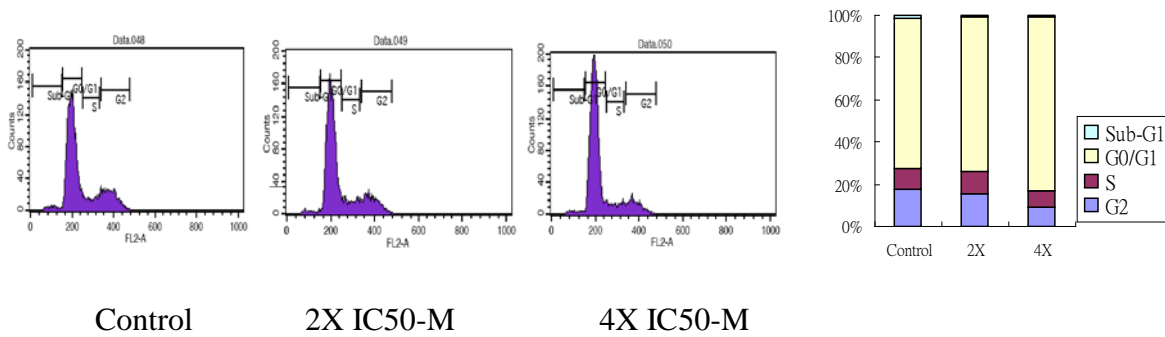
Rac-1 activity assay



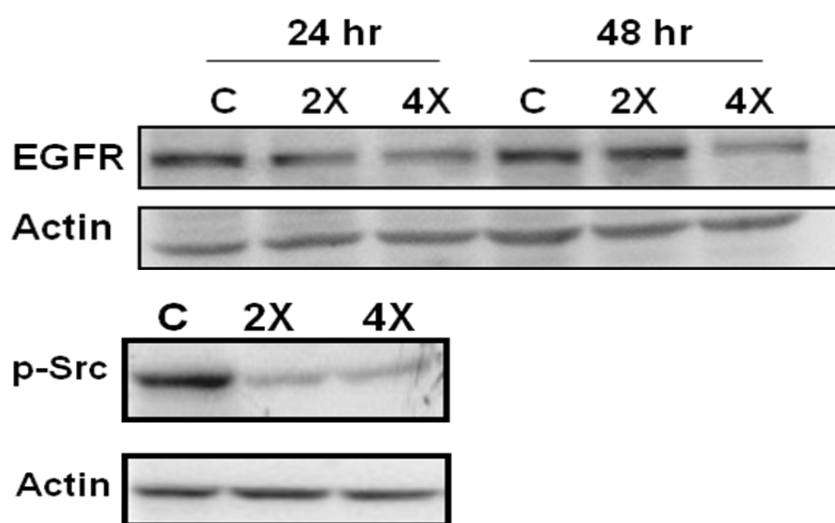
圖十三、麻黃抑制 Hep3B 細胞的 Rac-1 活性



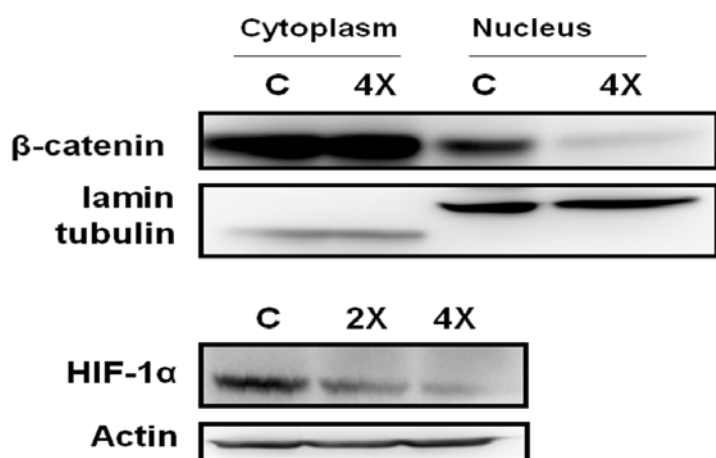
圖十四、延胡索阻斷 Hep3B 細胞的 actin filament 形成。



圖十五、延胡索造成 Hep3B 細胞之細胞週期停滯在 G0/G1 期



圖十六、延胡索抑制 Hep3B 細胞的表皮生長因子接受體之表現，進而使其下游 Src 的活化減少



圖十七、延胡索抑制 hypoxia-inducible factor-1 之表現並減少 β -catenin 進入細胞核的量。

基因體探討抗肝癌及脂肪肝之中草藥計畫 —子計畫三

呂紹俊

國立臺灣大學醫學院生物化學暨分子生物學研究所

摘要

研究目的：

由中草藥中篩選出可以降低肝細胞中三酸甘油酯的藥材，由這些藥材配製成新配方，再以動物實驗測試新配方預防非酒精性脂肪肝及脂肪肝炎的效果。

研究方法：

每 1 公克藥材萃取成 1 ml 的萃取液，經無菌處理後存放於室溫中備用。細胞實驗以 HepG2 為模式，在培養液中加入 1~4 $\mu\text{l/ml}$ 中藥萃取液，48 小時後分析細胞中 TG 含量及脂肪代謝相關基因 mRNA 表現量。動物實驗以 C57BL6 及 Syrian hamster 分別餵養 lipogenic diet 或 high fat/cholesterol diet，控制組及實驗組分別以胃管餵食水或是 B 配方 6~12 週。之後測量肝臟脂肪含量、肝臟組織切片分析及肝臟脂肪代謝及發炎相關基因 mRNA 表現量。

結果：

找到能夠降低肝細胞脂肪含量的中藥材複方兩種單方 13 種，將這些單方藥材區分為抑制肝臟脂肪合成或是促進脂肪酸氧化兩大類。與中醫師討論後做成配方，配方中含有這兩類藥材，以動物實驗來驗證新配方預防非酒精性脂肪肝及脂肪肝炎的效果。我們以 C57BL6 鼠測試了 4 個配方，其中 B 配方在小鼠模式中有明顯的預防非酒精性脂肪肝及脂肪肝炎的效果，在倉鼠的試驗也顯現相似的效果。

討論：

B 配方在兩個動物實驗模式都顯示具有明顯抑制非酒精性脂肪肝及脂肪肝炎的作用，部分作用是因為抑制脂肪合成作用及促進脂肪酸氧化，但詳細機制並不清楚。這個配方值得推廣但在這之前應該再進一步確認其作用及評估是否具有毒性。

關鍵詞：非酒精性脂肪肝、非酒精性脂肪肝炎、中草藥

Genome-wide Studies on Anti-hepatocellular Cancer and Fatty Liver Chinese Herbal Medicines-Subprogram III

Shao-Chun Lu

Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Medicine,
National Taiwan University

ABSTRACT

Aim:

The aim of this project is to screen Chinese herbs that could decrease cellular triacylglycerol and thus has potential to be used in the prevention of non-alcoholic fatty liver. New formulas are made from these herbs and then tested their effects on non-alcoholic fatty liver and non-alcoholic hepatosteatosis using animal models.

Method:

Herbs are extracted by boiling in water and concentrated to 1ml from 1 g of herb. In cell study, extracts were added to the culture medium of HepG2 to a final concentration of 1~4 $\mu\text{g/ml}$ and then incubated for 48 h. Cellular TG and levels of mRNA for genes related to lipid metabolism were determined. Animals, C57BL6J mice and Syrian hamsters, were fed with a lipogenic diet or a high fat/cholesterol diet for 6 to 12 weeks. Liver lipids, histology and levels of mRNA for genes related to lipid metabolism were analyzed.

Results:

Two well known herb formulas and 13 herbs were identified that could lower cellular TG. The 13 herbs were divided into 2 groups that can decrease TG synthesis or can increase lipid oxidation. And 2 formulas were made that all contain these 2 groups of herbs. Total of 4 formulas were evaluated in the mouse model. Only a new formula B is effective in prevention of non-alcoholic fatty liver and non-alcoholic hepatosteatosis in both mice and hamster animal studies.

Discussion:

Formula B is effective in the prevention of fatty liver in both mouse and hamster models. This formula is worthwhile to further evaluate its potential in prevention of non-alcoholic fatty liver and non-alcoholic hepatosteatosis.

Keywords: Non-alcoholic fatty liver, Nonalcoholic steatohepatitis, Chinese herbs

壹、前言

「脂肪肝」指的是肝臟中脂肪(主要是三酸甘油酯)的囤積至超過肝重 5% 以上或肝組織學上每單位面積呈現三分之一以上的脂肪；可分為酒精性脂肪肝(alcoholic fatty liver)和非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)，是除了病毒感染之外造成慢性肝炎的主要原因。造成非酒精性脂肪肝最主要的原因是肥胖及胰島素抗拒，感染 C 型肝炎或蛋白質營養不良等其它原因也可能引起肝臟脂肪的囤積(Geoffrey and Larter, 2006; Williams, 2006)。NAFLD 在美國的盛行率大約佔人口的 30% (Browning et al., 2004)，日本的調查發現 29% 健康成年人有 NAFLD (Jimba et al., 2005)，NAFLD 在中國的盛行率大約佔人口的 15% (Fan and Farrell, 2009)；國內的報導指出成年人口脂肪肝比率從 11.5% (Chen et al., 2006)到 39.8% (Fu et al., 2009)。

非酒精性脂肪肝疾病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)可以是單純的肝臟脂肪浸潤，Day & James (1998)提出所謂‘two-hit’ hypothesis 認為 NAFLD 早期是三酸甘油酯合成及輸入的速度高過脂肪氧化及其他排除的速度，使肝臟三酸甘油酯存積，之後若有 free fatty acid、氧化壓力或病毒感染等造成肝損傷的「第二擊」，則可能引起發炎反應導致 Nonalcoholic steatohepatitis (NASH)，肝功能指數(AST、ALT)升高。free fatty acid 及氧化壓力等會活化 NF- κ B，使肝細胞合成 TNF α 及 IL-6，肝細胞在發生發炎反應之後造成肝細胞壞死、纖維化、肝硬化等一連串的肝病變 (Neuschwander-Tetri BA & Caldwell SH, 2003; Choi & Diehl, 2008)。近年研究發現，NAFLD 患者會進展成慢性肝炎，約 20%~30% 會引起肝纖維化，且有一部份會進展成為肝硬化(Day, 2006)，甚至有演變成肝癌的機會(Geoffrey and Larter, 2006)。另外，脂肪肝與肥胖及胰島素抗拒有強烈的相關性，肝臟脂肪含量與胰島素敏感度成顯著的負相關(Adams et al., 2009; Choi & Diehl, 2008)。由於有 NAFLD 問題的人口眾多，因此 NAFLD 對肝臟的危害值得重視，但 NAFLD 目前仍無已被完全證實有效之藥物，因此中草藥在預防 NAFLD 的進一步發展或減輕脂肪肝之嚴重程度有發展的空間。非酒精性脂肪肝發生的機轉可能是肝臟脂肪合成增加、脂肪酸氧化減少、大量脂肪流入肝臟或是肝臟脂肪輸出量減少，或是幾種變化合併發生(Choi & Diehl, 2008)。在前面已經提到非酒精性脂肪肝常伴隨慢性肝發炎(chronic hepatic inflammation)，使 NF- κ B 活化引起 proinflammatory cytokines TNF α ，IL-6 及 IL-1 β 等的表現(Day, 2006)，這些發炎激素的產生是引發 NASH 及肝組織病變的主要原因(Crespo et al., 2001)。因此要預防脂肪肝變成為進一步的肝臟疾病，除了要能夠降低肝臟脂肪也要能抑制肝發炎才能達到目的。

因此這個計畫的目的是從中草藥中找出能夠降低肝細胞脂肪含量的藥材，將這些藥材的作用區分為抑制肝臟脂肪合成或是促進脂肪酸氧化兩大類。與中醫師討論後做成配方，配方中含有這兩類藥材，再以動物實驗來驗證新配方預防非酒精性脂肪肝及脂肪肝炎的效果。在前期計畫的研究我們已經篩選出幾個具潛力的配方，分別是黃連解毒湯、柴胡疏肝湯及我們配製的兩個新配方，我們稱為 A 配方及 B 配方。經過動物實驗發現前三者並沒有預防脂肪肝的作用，在這個計畫中我們測試了 B 配方，發現 B 配方在兩個動物模式中有明顯的預防非酒精性脂肪肝及脂肪肝炎的效果。

貳、材料與方法

中草藥萃取液之製備：

藥材由 GMP 藥廠以每 1 公克藥材萃取出 1 mL 的無菌包裝提供，無菌中草藥萃取液混合均勻後分裝至 15 毫升離心管，以 1500 x g、20 min 離心後，吸取上清液分裝備用，保存於室溫下。

用來篩選藥材條列如下：

複方藥材

小柴胡湯(水萃)	黃連解毒湯
小柴胡湯(酒精萃)	紫草根牡蠣湯
四逆散	柴胡舒肝湯
芎歸膠艾湯	散腫潰堅湯
桂枝加龍骨牡蠣湯	血府逐瘀湯
桂枝加朮附湯	半夏厚朴湯
桂枝茯苓丸	香蘇散
當歸芍藥散	柴胡龍骨牡蠣湯
核桃承氣湯	

單方藥材

枳實	厚朴	棉花根	柴胡	當歸尾
白芍	茯苓	細葉碎米蕨	炙甘草	葛根
黃耆	生薑	半枝蓮	川芎	生麻
大黃	紫蘇葉	紅花	枳殼	牡丹皮
黃連	龍膽	鬱金	香附	長春花
黃芩	栝樓根	莢朮	陳皮	劍葉鳳尾草
黃柏	知母	夏枯草	連翹	鴉膽子
山梔子	昆布	桔梗	荊三稜	山梔子
半夏	石上柏	五味子	莢朮	山慈菇
杜仲	蟾酥	黃獨	龍舌黃	雞血藤
苦參	酸棗仁			

細胞培養及中藥處理：人類肝癌細胞之 HepG2 細胞株，以含有 5% fetal bovine serum (FBS)、100U/ml penicillin 以及 100U/ml streptomycin 的 DMEM 培養在 37°C、含 5%CO₂ 的細胞培養箱中。細胞貼附於培養皿底部，當細胞快長滿時可進行繼代培養。將 6×10⁵ 的 HepG2 細胞培養於 6 孔盤培養隔夜後，在細胞處理或不處理 50nM T0901317 下，加入不同劑量 (0, 2.5 or 5 μl/ml) 各種中草藥萃取液，繼續培養 48 小時，收取細胞做三酸甘油酯、RT-PCR 及 Western blot 分析。

肝細胞 TG 含量分析：Hep G₂ 細胞培養於含 10%FBS 之 DMEM，每一 6 孔盤種 5 × 10⁵ 細胞，第二天細胞貼附後更換培養液，並加入上列的藥材萃取液 5-10 μl/ml，48 小時後收取細胞。以溶劑(chloroform/methanol)萃取脂質，取定量至乾淨試管中，以氮氣將溶劑吹乾後，測量 TG 含量。另一部份細胞則用於測量蛋白質含量，最後以 TG/蛋白質(TG μg/mg protein)表示，並予未加藥物處理之對照組比較。

RNA 分離及純化：細胞株之 RNA 以 TRizol™ 萃取，步驟簡述如下，將 5×10⁶ 細胞以 1 ml TRizol™ 均勻懸浮後，置於室溫約 5 分鐘，加入 200 μl 氯仿(CHCl₃) 劇烈搖晃 15 秒後靜至於室溫 5 分鐘，12000 xg 於 4°C 離心 15 分鐘，取上清液至新離心管中加入 0.5 ml Isopropanol 混合均勻後靜置於室溫 10 分鐘，再以 12000 x g 於 4°C 離心 10 分鐘，倒去上清液，以 75%酒精清洗，7500 x g 離心 5 分鐘，風乾 2 分鐘，溶解於 50 μl DEPC-ddH₂O 中，可加熱至 60°C 作用 10 分鐘幫助 RNA 完全溶解。利用 spectrophotometer 測量 260 nm 與 280 nm 波長之吸光值，且 260/280 的比值應該要大於 2.0，以 260 nm 的吸光值定量 RNA 的濃度。

反轉錄即時聚合酵素鏈鎖反應(RT-PCR)定量分析：取定量的 RNA (1-5 g)加入 1-5 l random hexamer (50 ng/ml) 或 oligo-d(T) (1mM)，於 70°C 反應 10 分鐘，於 4°C 5 分鐘，再加入有 buffer、DTT (10 mM)及 dNTP (10 mM) 的混合液，置於 42°C 5 分鐘後加入 1 l Superscript II™ RT，於 42°C 反應 50 分鐘、70°C 反應 15 分鐘後，於 4°C 終止反應，RNA 便完成反轉錄成 cDNA。以滅菌二次水將 cDNA 濃度調整為 50ng/μl，取適量 cDNA 作為模板，加入 5μl 10X Taq buffer、1μl 10mM dNTP、3'與 5'端引子(皆 10μM)各 1μl，及 0.5μl 5U/μl Taq DNA polymerase (Bioman)，並以滅菌二次水將總體積補至 50μl 以下述條件進行聚合酶連鎖反應(PCR)，反應結束後以 1% 洋菜膠體電泳圖譜觀察其產物。部分實驗以 RT-qPCR 做 RNA 定量，於 0.5 ml 薄壁離心管中，每管加有 5 μl 的 4 倍稀釋的 cDNA 作 PCR 的模板，並加入特異性引子正股(sense)和反股(antisense)及 SyBr Green master mix，於聚合酵素鏈鎖反應器(ABI 7300)進行反應。所使用引子序及 PCR 條件列於下表：

表一、RT-PCR 引子序列及反應條件

基因(GenBank)	序列(5' → 3')
<i>FAS</i> (NM_004104)	TGTTTGAGTTCGTGGAGCAG AACTCCAGGTTGTCCCTGTG
<i>ACC</i> (NM_001093)	CAAGAAGCAGGCAAACATCA GACAAACTCAGCGGGAGAAG
<i>ACO</i> (NM_007292)	GAACTCACCTTCGAGGCTTG CAGCTTCTCCCACAAGGAAG
<i>GPAT</i> (NM_020918)	AGTGAGGAATGGGGTGAGTG CAGTCACATTGGTGGCAAAC
<i>SREBP-1</i> (NM_001005291)	CGGAGAAGCTGCCTATCAAC GGTCAGTGTGTCCTCCACCT
<i>GAPDH</i> (NM_002046)	AAAGGATCCACTGGCGTCTTCACCACC GAATTCGTCATGGATGACCTTGGCCAG

表二、RT-qPCR 引子序列

基因 (GenBank)	方向	序列(5' →3')
<i>FAS</i> (NM_004104)	F	AGCCGCCATCTACAAC
	R	CGTCTTCCACACTATCG
<i>ACC</i> (NM_198834)	F	TTGATACTGGCTGGCTGGAC
	R	AGGAGTGAAGGAAGTTAGAGACG
<i>SREBP-1c</i> (NM_004176)	F	TCAGCGAGGCGGCTTTGGAGCAG
	R	CATGTCTTCGATGTCGGTCAG
<i>GAPDH</i> (NM_002046)	F	GCCAGTACAGCCGGGAAGAC
	R	GGAGTCGGTTAGCAGTATGTTGTC

西方轉漬分析(Western blotting analysis)：細胞株之蛋白質萃取，步驟簡述如下，將 5×10^6 細胞以 lysis buffer 均勻懸浮後，樣品以沸水加熱 10 分鐘。於室溫 12000 xg 離心 10 分鐘，取上清液，經蛋白質濃度測試，進行 SDS-polyacrylamide 明膠電泳分析(電壓 200V) 60 分鐘。再經以電壓 100V 將蛋白質轉漬至 PVDFmembrane，70 分鐘後以特定抗體進行免疫偵測反應。在室溫下 1 小時或在 4°C 中 16 小時，移除 blocking buffer 後，加入適當稀釋的一級抗體，視個別抗體，在室溫下用震盪器反應 1-2 小時，接著以 TBST 清洗 PVDF membrane 三次，每次時間為 5 分鐘。清洗過後，加入適當稀釋的二級抗體，使其與一級抗體結合，在室溫反應 1-1.5 小時。之後同樣以 TBST 清洗 PVDF membrane 三次，每次時間為 5 分鐘。最後，利用 enhanced-chemiluminescence (ECL)系統與二級抗體上帶有的酵素 HRP(horse radish peroxidase)進行反應，產生冷光，並以 Kodak Biomax light film 覆蓋於 PVDF membrane 上進行壓片數分鐘，洗片後即可獲得影像。

細胞內蛋白質定量：將剩餘之細胞液，利用市售 DC protein assay kit (Bio-rad)進行定量：首先配製 BSA(bovine serum albumin)標準品，濃度包括 1.4 μ g/ μ l、0.7 μ g/ μ l、0.35 μ g/ μ l、0.175 μ g/ μ l、0 μ g/ μ l，各溶液體積為 20 μ l。另外將蛋白質樣品做適當稀釋至體積為 20 μ l，加入 100 μ l 反應試劑 A 以及

800µl 反應試劑 B 均勻混合，在室溫下反應 15 分鐘後，以分光光度計測量 O.D.₆₅₅ 之吸光值，繪製標準曲線可推算出蛋白質濃度。

動物實驗：

動物實驗一：採用 C57BL/6 品系小鼠作為動物模式，十週齡的雄性 C57BL/6 小鼠購自台大醫學院實驗動物中心，將小鼠依體重分為 3 組，使各組間小鼠平均體重相近；同一組小鼠皆飼養於同一鼠籠，每隔三天紀錄體重，動物房溫度維持於 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ，光照週期 14 小時(上午 6 時至下午 8 時)，黑暗週期為 10 小時，飼養期為三週。三組動物分別為控制組餵養一般飲食，對照組及實驗組餵養自行設計配製之 lipogenic diet，實驗組以每公斤體重每天灌食相當於 25mg 的 B 配方，對照組則灌食同體積的水。C57BL/6 小鼠飼養 6 週後犧牲，犧牲前經過 16 小時的禁食，先秤體重後再以眼窩採血方式收集血液至含有 EDTA 抗凝劑(BD Vacutainer™)的 1.5ml 微量離心管中以防止血液凝集。之後迅速收集小鼠之肝臟組織，經秤重後以 PBS 潤洗，並迅速置於液態氮中，再儲存於 -80°C 以供日後分析。另外每隻小鼠各取一小塊肝臟組織置於 4% paraformaldehyde 中(組織和固定液的體積比例至少要 1:15)，在室溫下固定後，以清水洗滌並放入包埋夾中，送至台大醫院病理部進行石蠟包埋及切片。血液在 4°C 下以 3000rpm 離心 20 分鐘，將血漿和血球分離後，吸取上層的血漿，小量分裝後儲存於 -80°C ，以備分析三酸甘油酯 (Triglyceride, TG)、總膽固醇(Total cholesterol)含量、ALT 及 AST 活性。

動物實驗二：採用 Syrian hamster 作為動物模式，八週齡的雄性倉鼠從國家實驗動物中心購買，將倉鼠依體重分組，使各組間倉鼠平均體重相近；同一組倉鼠皆飼養於同一鼠籠，每周紀錄體重，動物房溫度維持於 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ，光照週期 12 小時，黑暗週期為 12 小時，飼養期為 8 週。各組動物分別為控制組(control)餵養一般飲食，對照組(High-fat high-cholesterol diet, HFC)、實驗組 1 (HFC+一倍藥量 mix A)及實驗組 2 (HFC+三倍藥量 mix A) 餵養自行設計配製之 High-fat high-cholesterol diet (11.5% corn oil, 11.5% coconut oil, 0.5% cholesterol)。實驗開始每天管餵實驗組新配之中藥配方 (mix A)，對照組管餵同體積的水。倉鼠飼養 12 週後犧牲，犧牲前經過 16 小時的禁食，先秤體重後再以心臟採血方式收集血液至含有 EDTA 抗凝劑 (BD Vacutainer™)的 1.5ml 微量離心管中以防止血液凝集。之後迅速收集倉鼠之肝臟組織，經秤重後以 PBS 潤洗，並迅速置於液態氮中，再儲存於 -80°C 以供日後分析。另外，每隻倉鼠各取一小塊肝臟組織置於 4% paraformaldehyde 中(組織和固定液的體積比例至少要 1:15)，在室溫下固定後，以清水洗滌並放入包埋夾中，送至台大醫院病理部進行石蠟包埋及切片；各取一小塊肝臟組織做冷凍包埋及冷凍切片。血液在 4°C 下以 3000rpm 離心 20 分鐘，將血漿和血球分離後，吸取上層的血漿，小量分裝後儲存於

-80°C，以備分析三酸甘油酯(Triglyceride, TG)、總膽固醇(Total cholesterol, TC)含量、ALT 及 AST 活性。

一般生化分析方法

一、血液生化分析

(一) 血漿三酸甘油酯測定

三酸甘油酯的測定是使用市售組合試劑(Randox)。分別取 5 μ l 序列稀釋之標準品(濃度分別為 0, 100, 200 mg/dl)及 5 μ l 樣品，加入 500 μ l 酵素試劑並混合均勻、室溫反應 10 分鐘。標準品及樣品中的三酸甘油酯經由 lipase, Glycerol-kinase 及 Glycerol-3-phosphate oxidase 等酵素的作用下產生 H₂O₂；H₂O₂ 和 4-aminophenazone 及 4-chlorophenol 反應，經由 peroxidase 的作用產生粉紅色的 quinoneimine。在 60 分鐘內利用分光光度計測定標準品及樣品於 O.D.500 之吸光值，繪製標準曲線可推算出樣品濃度。

(二) 血漿總膽固醇含量測定

總膽固醇的測定是使用市售組合試劑(Randox)。分別取 5 μ l 序列稀釋之標準品(濃度分別為 0, 100, 200 mg/dL)及 5 μ l 樣品，加入 500 μ l 酵素試劑並混合均勻、室溫反應 10 分鐘。標準品及樣品中的總膽固醇經由 Cholesterol esterase, Cholesterol oxidase 等酵素的作用產生 H₂O₂，H₂O₂ 和 phenol 及 4-aminoantipyrine 反應，經由 peroxidase 的作用產生粉紅色的 quinoneimine。在 60 分鐘內利用分光光度計測定標準品及樣品於 O.D.500 之吸光值，繪製標準曲線可推算出樣品濃度。

(三) ALT 活性測試

ALT 活性的測定是使用市售組合試劑(Randox)。取 25 μ l 樣品，加入 250 μ l 反應試劑，均勻混合後置於室溫 1 分鐘。樣品中的 ALT 將會催化反應試劑中的 α -oxoglutarate 及 L-alanine 使作用產生 L-glutamate 及 pyruvate，pyruvate、NADH 及 H⁺再經由 lactate dehydrogenase 催化形成 L-lactate 及 NAD⁺。此時利用分光光度計測定樣品於 O.D.340 之吸光質，記錄每分鐘之吸光質變化量，取前三分鐘之平均吸光質變化量，乘上 1746 後即可得知 ALT 活性 (U/l)。

(四) AST 活性測定

AST 活性的測定是使用市售組合試劑(Randox)。取 25 μ l 樣品，加入 250 μ l 反應試劑，均勻混合後置於室溫 1 分鐘。樣品中的 AST 將會催化反應試劑中的 α -oxoglutarate 及 L-aspartate 使作用產生 L-glutamate 及 oxaloacetate，oxaloacetate、NADH 及 H⁺再經由 malate dehydrogenase 催化形成 L-malate 及 NAD⁺。此時利用分光光度計測定樣品於 O.D.340 之吸光質，記錄每分鐘之吸光質變化量，取前三分鐘之平均吸光質變化量，乘上 1746 後即可得知 AST 活性 (U/l)。

二、肝臟脂質分析

(一) 肝臟脂質萃取

取約 0.2g 重的肝組織，解凍後加入 19 倍體積的萃取液 (chloroform:methanol =2:1)，以均質機 (Polytron, Kinematica AG, Littau, Switzerland)完全磨碎，再以濾紙(ADVANTEC 125mm)過濾後，置於 4°C 下加蓋玻璃試管中，以備之後三酸甘油酯及總膽固醇之測定。

(二) 肝臟三酸甘油酯測定

將經由萃取後之肝組織萃取液取出 20 μ l 至玻璃試管中，並讓其在抽氣櫃中完全揮發，之後同上述方法以市售組合試劑(Randox)測三酸甘油酯含量。

(三) 肝臟總膽固醇測定

將經由萃取後之肝組織萃取液取出 5 μ l 至玻璃試管中，並讓其在抽氣櫃中完全揮發，之後同上述方法以市售組合試劑(Randox)測總膽固醇含量。

三、肝臟脂質代謝基因表現量分析

(一) 組織 RNA 萃取與純化

取約 0.1g 的組織於研鉢中，以液態氮將組織急速冷卻後將組織磨碎，加入適量體積 trizol reagent，在仍有液態氮的情況下將組織與 trizol 混合物磨碎並移至新的 15 ml 離心管中，待其回溫至液態後，加入 0.2 倍 trizol reagent 體積之 CIAA (chloroform: isoamylalcohol = 24:1 (v/v))，劇烈搖盪 1 分鐘後，靜置於室溫下 10 分鐘後以 4°C，12,000 rpm 離心 15 分鐘，取上清液並加入等體積之 isopropanol，混合均勻後置於-20°C 沈澱。待隔夜後，取出以

4°C，12,000 rpm 離心 20 分鐘，移除上清液，以約 1 ml 70%酒精清洗 RNA 沉澱物，移除 70%酒精後，待 RNA 沉澱物略乾，以適量的 DEPC-H₂O 回溶 RNA，測量 O.D.260 以及 O.D.280 吸光值以定量 RNA 濃度及純度。

(二) 第一股 cDNA 合成

取 5 μ g 的 RNA 於 0.2ml 的離心管，以 DEPC-H₂O 將管內體積補至 13 μ l 後加入 1 μ l 10mM oligo-dT primer，接著於 70°C 加熱 10 分鐘後迅速冰浴，再加入 4 μ l 5X MMLV-RT buffer、1 μ l 10mM dNTP 及 1 μ l 200U/ μ l MMLV Reverse transcriptase (Promega)。以 25°C 反應 10 分鐘、42°C 反應 50 分鐘，最後 90°C 反應 5 分鐘終止反應。反應結束置於冰上 10 分鐘，加入 1 μ l 2U/ μ l RNase，於 37°C 反應 20 分鐘，完成第一股 cDNA 合成。

(三) 反轉錄酶 - 聚合酶連鎖反應 (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction)

以滅菌二次水將 cDNA 濃度調整為 50ng/ μ l，取適量 cDNA 作為模板，加入 5 μ l 10X Taq buffer、1 μ l 10mM dNTP、3'與 5'端引子 (皆 10 μ M)各 1 μ l，及 0.5 μ l 5U/ μ l Taq DNA polymerase (Biomax)，並以滅菌二次水將總體積補至 50 μ l 以下述條件進行聚合酶連鎖反應。反應結束後以 1% 洋菜膠體電泳圖譜觀察其產物。

(四) 定量聚合酶連鎖反應 (Quantitative-Polymerase Chain Reaction, Q-PCR)

利用 NCBI 搜尋欲定量基因之 mRNA 序列，以 ABI primer express 2.0 軟體設計引子，引子設計條件如下：Tm: 60 \pm 5C、primer length: 18-24、amplicon length: 75-200。選出三組最佳引子再利用 NCBI BLAST 功能確認每一對引子具有專一性，並將引子序列交由名欣生技公司合成。

20 μ l cDNA 以滅菌水將總體積補至 100 μ l，此時 cDNA 濃度為 50 ng/ μ l，取 2 μ l (100 ng) cDNA 當模板，加入 1 μ l 的引子混合液 (primer premix/ final conc. 40 nM)，並在避光條件下加入 10 μ l 2X SYBR (Abgene)，混合均勻並 spin down。利用定量聚合酶連鎖反應儀 (ABI-7300)進行定量聚合酶連鎖反應。

Q-PCR 溫度循環：

95°C 10 分鐘

95°C 10 秒鐘；60°C 1 分鐘，共 40 個循環

95°C 15 秒鐘

60°C 30 秒鐘

95°C 15 秒鐘，以偵測 melting curve，由 melting curve 可觀察是否有引子黏合 (primer dimer) 的現象產生。

【引子序列】

基因	方向	序列(5'至 3')
<i>GAPDH</i>	F	GCTGCCCAGAACATCATCCC
	R	ATGCCTGCTTCACCACCTTC
<i>F4/80</i>	F	GGCTGTGAGATTGTGGAAG
	R	GCAGGAAGGTGGCTATGG
<i>MCP-1</i>	F	GAGAGCCAGACGGGAGGAAGG
	R	GGTGAATGAGTAGCAGCAGGTGAG
<i>TNF-α</i>	F	CGAGTGACAAGCCTGTAGCC
	R	GAAGAGAACCTGGGAGTAGACAAG
<i>SREBP-1</i>	F	CCAGAGGGTGAGCCTGACAA
	R	AGCCTCTGCAATTTCCAGATCT
<i>CPT-1a</i>	F	CCGCCAATTCCAAAAAGTAACT
	R	CATTTGGTTTGTATCACTAGAGTCCATT
<i>ACO</i>	F	TCTGGAGATCACGGGCACTT
	R	TTTCCAAGCCTCGAAGATGAG

(五) 分析肝臟 SREBP-1、ACO、CPT-1a、F4/80、MCP-1、TNF- α mRNA 含量。

四、肝臟脂質代謝蛋白質表現量分析

(一) 組織蛋白質萃取

取約 0.1g 的組織於冰上切成碎片，加入 1ml lysis buffer (pH 7.5, 100mM NaCl, 20mM Tris-HCl, 1% Triton X-100, 1mM PMSF, 1mM DTT)，移至 1.5ml 的離心管後，在冰上以超音波震盪器將組織完

全打碎，置冰上 30 分鐘，並以 4°C，10,000rpm 離心 30 分鐘，取上清液，儲存於-80°C 以備日後以西方墨點法進行蛋白質分析。

(二) 蛋白質定量

組織蛋白萃取液利用市售 DC protein assay kit (Bio-rad) 進行定量：首先配製 BSA (bovine serum albumin) 標準品，濃度包括 1.4 μ g/ μ l、0.7 μ g/ μ l、0.35 μ g/ μ l、0.175 μ g/ μ l、0 μ g/ μ l，各溶液體積為 20 μ l。另外將蛋白質樣品做適當稀釋至體積為 20 μ l，加入 100 μ l 反應試劑 A 以及 800 μ l 反應試劑 B 均勻混合，在室溫下反應 15 分鐘後，以分光光度計測量 O.D.655 之吸光值，繪製標準曲線可推算出蛋白質濃度。

(三) 以西方墨點法(Western Blot)分析肝組織內蛋白質表現

將約 60 μ g 的蛋白質樣品與 5x loading buffer (含 10% β -mercaptoethanol) 以 1:4 比例均勻混合，在 99°C 下反應 10 分鐘，立即置於冰 10 分鐘，之後進行 SDS-polyacrylamide 明膠電泳分析 (電壓 200V) 60 分鐘。再經以電壓 100V 將蛋白質轉漬至 PVDF membrane，70 分鐘後以特定抗體進行免疫偵測反應。在室溫下 1 小時或在 4°C 中 16 小時，移除 blocking buffer 後，加入適當稀釋的一級抗體，視個別抗體，在室溫下用震盪器反應 1-2 小時，接著以 TBST 清洗 PVDF membrane 三次，每次時間為 5 分鐘。清洗過後，加入適當稀釋的二級抗體，使其與一級抗體結合，在室溫反應 1-1.5 小時。之後同樣以 TBST 清洗 PVDF membrane 三次，每次時間為 5 分鐘。最後，利用 enhanced-chemiluminescence (ECL) 系統與二級抗體上帶有的酵素 HRP (horse radish peroxidase) 進行反應，產生冷光，並以 Kodak Biomax light film 覆蓋於 PVDF membrane 上進行壓片數分鐘，洗片後即可獲得影像。

參、結果

我們以 HepG2 細胞中 TG 含量做為篩檢的標的，圖一顯示 B 配方的三種成分炙甘草、龍膽及五味子都有降低 HepG2 細胞中 TG 約 20% 的作用，而且有促進 HepG2 細胞脂肪氧化基因 AOX 及 CPT-1 的 mRNA 表現量的作用，而其中五味子更有抑制脂肪酸合成酶 (FASN) mRNA 的表現量。我們接著進行動物實驗，我們所採用的模式是以 C57BL6 小鼠餵食我們所設計的 lipogenic diet (參見表一) 六週；我們先後做過 4 個配方，包括--黃連解毒湯、柴胡舒肝湯、A 配方 (由荊三稜及莪朮組成) 及 B 配方 (由炙甘草、龍膽及五味子組成)。黃連解毒湯、柴胡舒肝湯、A 配方雖然在細胞實驗中顯現很好的抑制細胞內 TG 的作用，但在動物實驗卻沒有預防脂肪肝的作用，只有 B 配方在動物實驗中有較好的結果。C57BL6 小鼠餵食一般小鼠飼料做為控制組、對照組則餵食我們所設計的 lipogenic diet、而實驗組除了餵食 lipogenic diet 外，每 100 公克每天以胃管灌食相當於 25mg 藥材的 B 配方 (以水稀釋到 200 μ l)；對照組則是灌食相同體積的水。表二顯示餵食 lipogenic diet 會使肝臟重量、TG 及膽固醇含量明顯提高，而灌食 B 配方會使脂肪組織重量、肝臟 TG 及膽固醇含量明顯降低。組織切片 HE 染色明顯可以看到餵食 lipogenic diet 使肝臟中充滿了脂肪油滴，而灌食 B 配方使這些脂肪油滴明顯減少至接近控制組 (圖三)。以 qRT-PCR 測量肝臟中脂肪代謝相關基因 mRNA 表現量，顯示 lipogenic diet 使肝臟中控制脂肪合成的轉錄因子 SREBP-1 mRNA 表現量明顯增加，而灌食 B 配方減少 SREBP-1 mRNA 表現量。lipogenic diet 使使氧化脂肪酸的酵素 CPT-1 及 ACO mRNA 表現量明顯減少，而灌食 B 配方稍微抑制這個作用 (圖四)。我們也分析發炎相關基因肝臟 TNF- α , MCP-1 及 F4/80 mRNA 表現量，結果顯示 lipogenic diet 組這三個基因的 mRNA 表現量都明顯增加 (圖五)，顯示肝臟已經有發炎的現象，F4/80 mRNA 的增加也可解釋在組織切片所看到的巨噬細胞聚集在血管周邊的現象。

接著我們以餵食含 25% 脂肪及 0.5% 膽固醇 (high fat diet, HFD) 的倉鼠測試 B 配方是否仍具有預防脂肪肝的作用，表三顯示餵食 HFD 12 週會使肝臟重量明顯增加，但對體重、脂肪組織及腎臟重量則沒有明顯的影響。餵食 HFD 12 週使倉鼠肝臟及血漿 TG 及膽固醇濃度明顯增加，而每公斤體重餵食 10 mg (1 x) 或 30 mg (3 x) B 配方明顯減少肝臟 TG 及膽固醇含量，血漿 total-TG, total-cholesterol & LDL-cholesterol 濃度都明顯減少 (表四)。病理切片 HE 染色顯示 HFD 組肝臟有明顯的 microvascular steatosis，血管周圍有明顯的巨噬細胞入侵聚積的情形，而餵食 1 x 或 3 x B 配方的肝臟這些現象明顯的輕微許多 (圖六)。我們進一步以 trichrome staining 檢查肝臟纖維化的

情形，圖七顯示 HFD 組肝臟血管周圍有明顯的藍色染色，顯示倉鼠肝臟有嚴重的纖維化；而餵食 1 x B 配方的肝臟纖維化的情形明顯的輕微許多，而餵食 3 x B 配方肝臟纖維化的情形則幾乎看不到，將圖片放大觀察得更清楚(圖七 B)。這些結果顯示 B 配方在兩種動物模式中都可以有效的抑制脂肪肝的發生，同時也有預防肝纖維化的作用。

肆、討論

非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver)是常見的問題，可能演變成 cirrhosis, liver failure and hepatocellular carcinoma (Day CP, 2006)，Yahagi 等人(Yahagi et al. 2002)報導指出在 HCC 明顯的較高的脂肪合成的酵素活性，Bugianesi(Bugianesi E, 2007)也指出脂肪肝與 HCC 的發生有密切的關連。而國人罹患非酒精性脂肪肝的人口相當的多，雖然在沒有發展成非酒精性脂肪肝之前(NASH)並沒有臨床症狀或是立即的危險，但是非酒精性脂肪肝是有相當的機會發展成非酒精性脂肪肝或是更進一步嚴重的肝臟疾病，因此預防非酒精性脂肪肝是有必要的。我們開發 B 配方或許在這方面會有些應用價值，值得繼續研發。

雖然在細胞實驗篩選到一些可以降低肝細胞脂肪含量的藥材，但在經過動物實驗後發現只有 B 配方具有預防非酒精性脂肪肝及非酒精性脂肪肝的作用，因此我們推測 B 配方可能有其它的作用。依據衛生署的歸類，B 配方之組成藥材屬於可食用的藥材，因此它的毒性應該是很低的，可以開發成健康食品，也具有繼續開發誠心要的潛力。

非酒精性脂肪肝動物模式雖然與人類的非酒精性脂肪肝有相當的相似性，但 B 配方的應用價值仍須進一步臨床試驗。目前的動物實驗仍有幾個問題仍須盡快回答：(1)多少劑量下可以達到最好的效果？(2)其安全性如何？(3)是否有治療效果或是只有預防的作用？(4)這兩種動物模式是否充足？

伍、結論與建議

經過幾年的努力我們開發出 B 配方，動物實驗顯示 B 配方在小鼠餵食 lipogenic diet 及倉鼠餵食 high fat diet 引起的非酒精性脂肪肝動物模式中都可以有效的抑制脂肪肝的發生，同時也有預防肝纖維化的作用，值得繼續開發。也應該進一步確定 B 配方的效果，進行安全性評估，在沒有安全顧慮的情形下盡快申請專利。B 配方的作用機制可能超過篩選時的標的，是透過目前仍不清楚的機制發揮作用，這個機制應該深入探討，也將有助於將 B 配方改善到可以臨床使用。另外、也希望能夠在適當時機對 B 配方進行臨床試驗。進一步的研究需要更多人力物力的支援，或許可以引進生技產業進行產學合作一起研發。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP99-RD-205 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

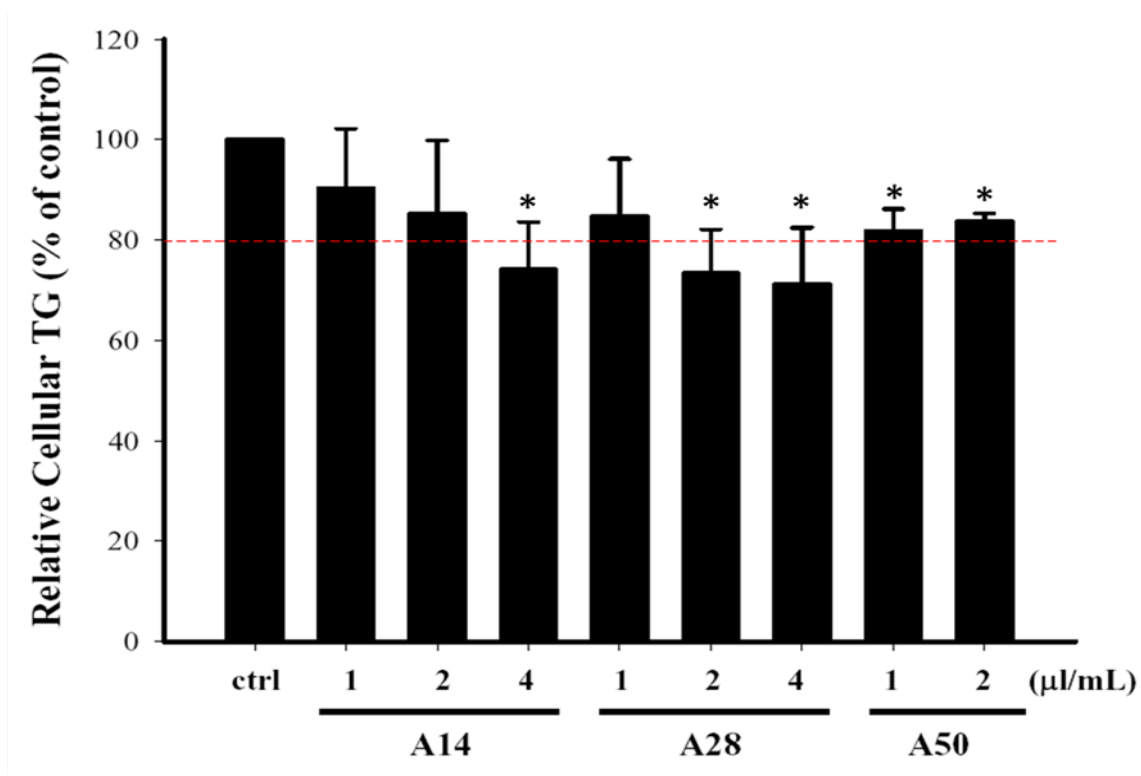
陸、參考文獻

1. Arsur M, Cavin LG. Nuclear factor-kappaB and liver carcinogenesis. *Cancer Lett.* 2005, 229:157-69.
2. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis *J. Clin. Invest.* 2005;115:209-218.
3. Bugianesi E. Non-alcoholic steatohepatitis and cancer. *Clin Liver Dis.* 2007, 11:191-207.
4. Caldwell SH, Crespo DM, Kang HS, Al-Osaimi AM. Obesity and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2004, 127(5 Suppl 1):S97-103.
5. Chen CH, Huang MH, Yang JC, Nien CK, Yang CC, Yeh YH, Yueh SK. Prevalence and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population of taiwan: metabolic significance of nonalcoholic fatty liver disease in nonobese adults. *J Clin Gastroenterol.* 2006, 40(8):745-52.
6. Day CP. Non-alcoholic fatty liver disease: current concepts and management strategies. *Clin Med.* 2006, 6:19-25.
7. Edwards PA, Kast HR, Anisfeld AM. BAREing it all: the adoption of LXR and FXR and their roles in lipid homeostasis. *J Lipid Res.* 2002, 43:2-12.
8. El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma in USA. *Hepatol Res.* 2007, 37 Suppl 2:S88-94.
9. Fu CC, Chen MC, Li YM, Liu TT, Wang LY. The risk factors for ultrasound-diagnosed non-alcoholic fatty liver disease among adolescents. *Ann Acad Med Singapore.* 2009 Jan;38(1):15-7.
10. Grisham, J.W. (2002) Molecular genetic alterations in primary hepatocellular neoplasms: Hepatocellular adenoma, hepatocellular carcinoma, and hepatoblastoma. *In: The Molecular Basis of Human Cancer*, W.B. Coleman, Tsongalis, G.J., ed. Totowa: Humana Press, pp. 269-346.
11. Herath NI, Leggett BA, MacDonald GA. Review of genetic and epigenetic alterations in hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006, 21:15-21.
12. Kanno T, Kurioka N and Kim S. Implications of hyperechoic lesions in small hepatocellular carcinoma, *Gastroenterol Jpn* 1989, 24:528–534.
13. Mosmann T Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. *J. Immunol. Methods*

- 1983, 65:55-63.
14. Nordeen, SK Luciferase reporter gene vectors for analysis of promoters and enhancers. *Biotechniques*.1988, 6:454-458.
 15. Okuda K and Okuda H. Primary liver cell carcinoma. In: N. McIntyre, J.P. Benhamou, J. Bircher, M. Rizzetto and J. Rodes, Editors, *Oxford textbook of clinical hepatology*, Oxford University Press, Oxford, 1991; pp. 1019–1053.
 16. Oka H, Yamamoto A, Kuroki T, Harihara S, Marumo T. Kims-R, Monna T. Prospective study of Chemopre-vention of hepatocellular carcinoma with Sho-saiko-to. *Cancer* 1995, 76:747-749.
 17. Pilpel, Y., Sudarsanam, P and Church, GM, Identifying regulatory networks by combinatorial analysis of promoter elements. *Nat. Genet.* 2001, 29:153-159.
 18. te Boekhorst PA, Lowenberg B, Sonneveld P. Enhanced chemosensitivity in acute myeloid leukemia by hematopoietic growth factors: a comparison of the MTT assay with a clonogenic assay. *Leukemia*. 1993, 7:1637-1644.
 19. Tsai CC, Chung YD, Lee HJ, Chang WH, Suzuku Y, Sugano S, Lin JY. Large-scale sequencing analysis of the full-length cDNA library of human hepatocellular carcinoma. *J Biomed Sci.* 2003, 10:636-643.
 20. Tsai CC, Huang KW, Chen HF, Zhan BW, Lai YH, Lee FH, Lin CY, Ho YC, Chao YW, Su YC, Jane SW, Chen YC, Hsu CI, Li PH, Hsu HC, Suzuki Y, Sugano S, Lin JY. Gene expression analysis of human hepatocellular carcinoma by using full-length cDNA library. *J Biomed Sci.* 2006, 13:241-249.
 21. Wang XW, Hussain SP, Huo TI, Wu CG, Forgues M, Hofseth LJ, Brechot C, Harris CC. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Toxicology*. 2002, 181-182:43-7.
 22. Yahagi N, Shimano H, Hasegawa K, Ohashi K, Matsuzaka T, Najima Y, Sekiya M, Tomita S, Okazaki H, Tamura Y, Iizuka Y, Ohashi K, Nagai R, Ishibashi S, Kadowaki T, Makuuchi M, Ohnishi S, Osuga J, Yamada N. Co-ordinate activation of lipogenic enzymes in hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer*. 2005, 41:1316-22.
 23. Yano H, Mizoguchi A, Fukuda K, Haramaki M, Ogasawara S, Momosaki S, Kojiro M. The herbal medicine Sho-saiko-to inhibits proliferation of cancer

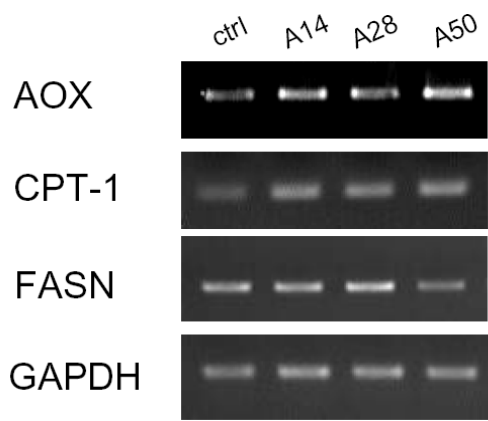
- cell lines by inducing apoptosis and arrest at the G0/G1 phase. *Cancer Res.* 1994, 54:448-454.
24. Zaima N, Sugawara T, Goto D, Hirata T. Trans geometric isomers of EPA decrease LXRalpha-induced cellular triacylglycerol via suppression of SREBP-1c and PGC-1beta. *J Lipid Res.* 2006, 47:2712-2717.
 25. 「於中國常用及試用之抗癌生藥及其處方例」，富田齊門，科學書院(1981)。
 26. 「現在中醫之癌治療之中藥」，郁仁存，東陽書店(1986)。
 27. 「漢方癌治療」，Kazunori Fukuda，角川書店(2001)。
 28. 「中國本草圖錄」(Vol.1~10)，蕭培根，台灣商務印書館(1988~1990)。
 29. 「台灣原住民藥用植物彙編」，行政院中醫藥委員會(2002)。
 30. 「台灣常用藥用植物圖鑑」(Vol. I、Vol. II、Vol. III)，行政院中醫藥委員會(2006)。

柒、圖、表



圖一、B 配方之各組成對 HepG2 細胞內三酸甘油酯(TG)之影響

HepG2 細胞以 1~4 μl/ml 炙甘草、龍膽、五味子處理 48 小時後，細胞中 TG 含量的變化。*與控制組比 $p < 0.05$ 。



圖二、B 配方之各組成對 HepG2 細胞內 Acyl-CoA oxidase (AOX)、carnitine palmitoyl transferase-1(CPT-1)及 fatty acid synthase (FASN) mRNA 含量之影響

HepG2 細胞以 2 μl/ml 炙甘草、龍膽、五味子處理 48 小時後，細胞中 AOX, CPT-1 及 FASN mRNA 含量以 RT-PCR 偵測。

表一、Lipogenic diet 組成

Diet ingredient	Lipogenic diet (g/kg diet)
Casein	180
Cornstarch	350
Sucrose	350
Soybean oil	50
Mineral mixture	50
Vitamin mixture	10
Cholesterol	10

表二、小鼠體重、內臟重量、血脂及肝臟脂肪含量

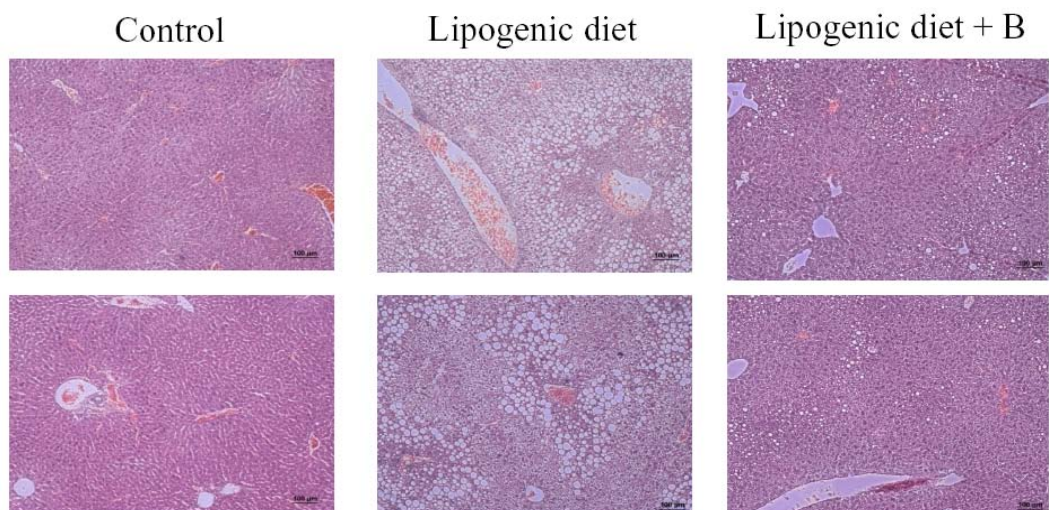
	Control (n=8)	Lipogenic diet (n=8)	Lipogenic diet + mixture B (n=7)
Body weight (g)	20.0± 0.8	21.2± 2.4	20.9± 0.8
Liver weight (g)	0.9± 0.1	1.2± 0.2 #	1.1± 0.1
Kidney weight (g)	0.3± 0.1	0.3± 0.0	0.2± 0.0
Abdominal fat (g)	0.5± 0.2	0.8± 0.3	0.4± 0.1 *
Plasma TG (mmol/l)	0.8± 0.1	0.6± 0.1	0.6± 0.1
Plasma-C (mmol/l)	1.6± . 0.1	1.5± 0.2	1.8± 0.2
Liver-TG (mg/g tissue)	26.3± 3.7	61.6± 15.0 #	55.1± 10.1
Liver-C (mg/g tissue)	3.2± 0.4	41.3± 4.9 #	19.9± 5.6 *
Liver-TG (mg/liver)	23.7± 6.1	73.7± 28.3 ##	58.7± 13.6 *
Liver-C (mg/liver)	2.8± 0.4	48.2± 7.8 ##	21.2± 6.8 **

TG: Triacylglycerol; C: cholesterol

p<0.05, ## p<0.01 Significant difference from control

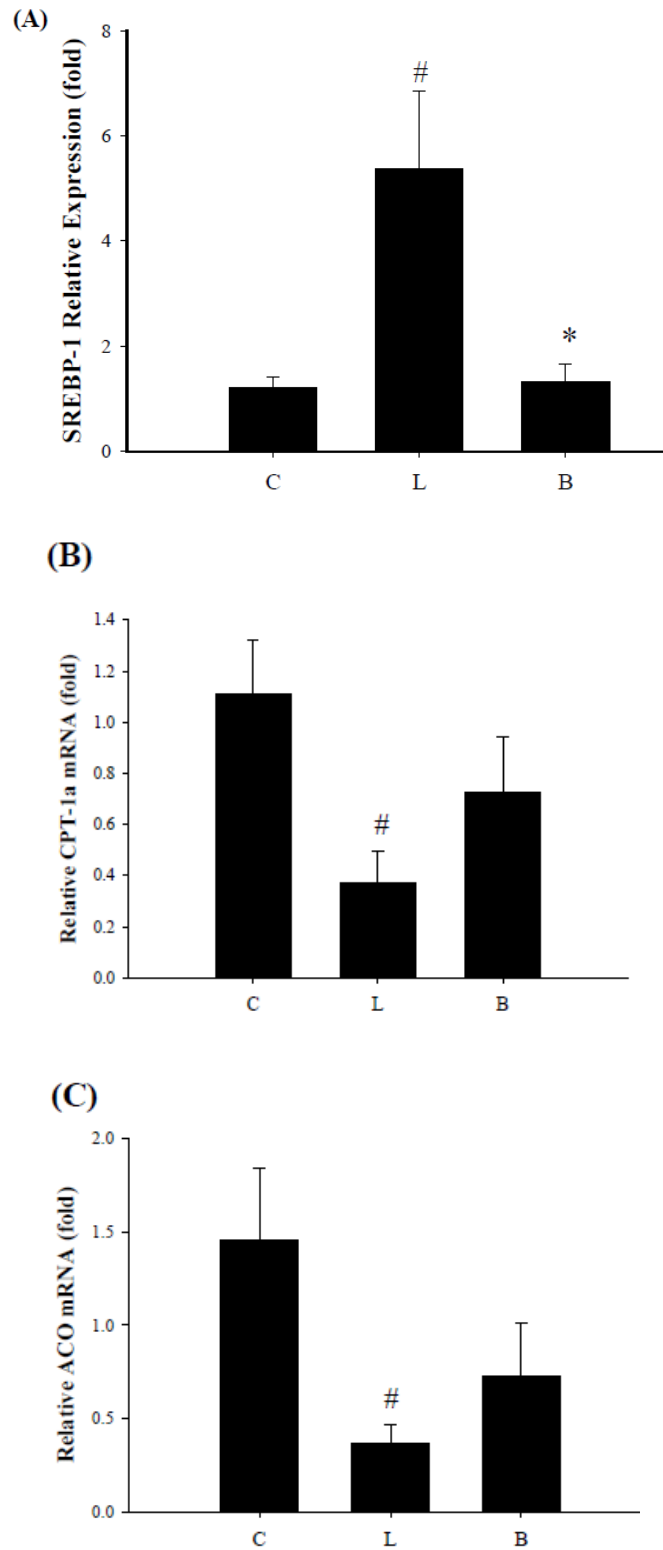
* p<0.05, **p<0.01 Significant difference from lipogenic diet

20



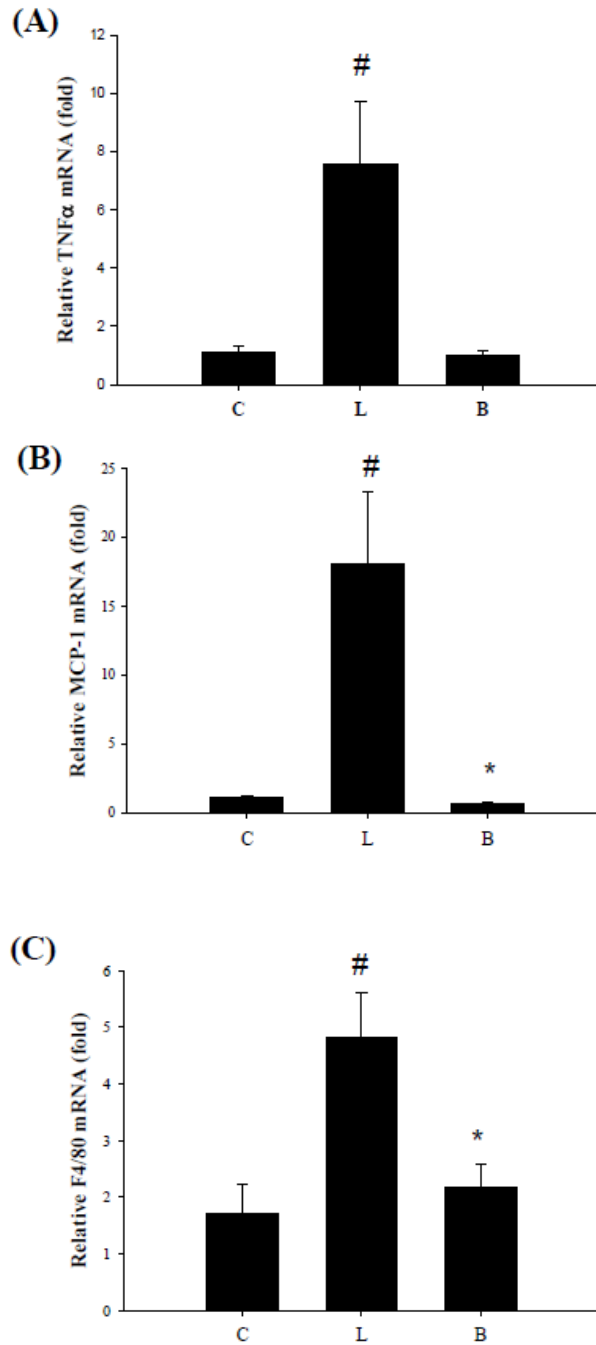
圖三、小鼠肝臟之組織切片

肝臟以石蠟包埋後切片，切片以 HE 染色(hematoxylin and eosin stain)，各組取兩隻動物的切片做為代表。



圖四、小鼠肝臟 SREBP-1C, CPT-1 及 ACO mRNA 含量的變化

肝臟 RNA 萃取及 RT-PCR 分析如方法所述, C: 控制組; L: lipogenic diet 對照組; B: lipogenic diet +B 配方組。[#] 與控制組比 $p < 0.05$; ^{*}與 lipogenic diet 對照組比 $p < 0.05$ 。



圖五、小鼠肝臟 TNF- α , MCP-1 及 F4/80 mRNA 含量的變化

肝臟 RNA 萃取及 RT-PCR 如上圖所述，C: 控制組; L: lipogenic diet 對照組; B: lipogenic diet +B 配方組。[#] 與控制組比 $p < 0.05$; ^{*}與 lipogenic diet 對照組比 $p < 0.05$ 。

表三、倉鼠體重及內臟重量

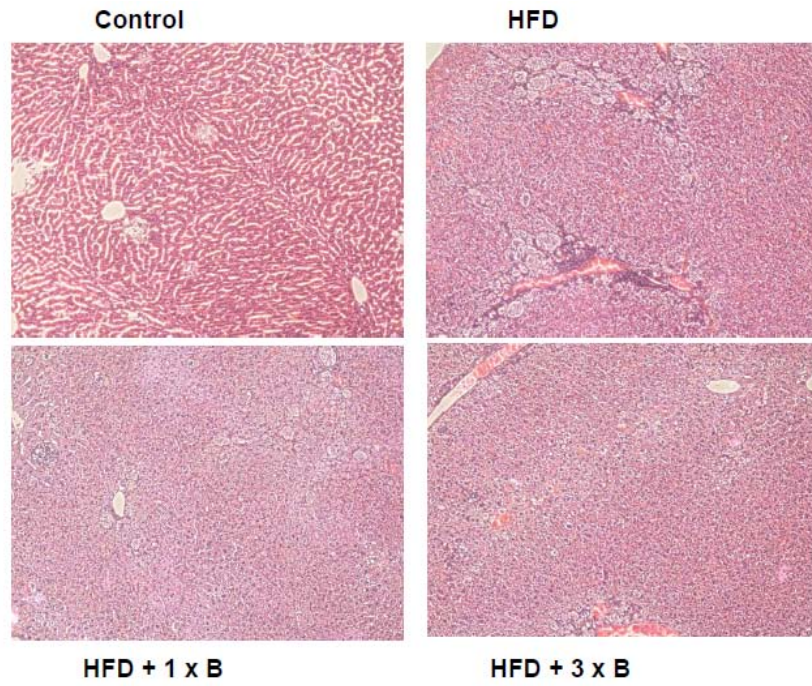
	Control (n=5)	HF diet (n=5)	HF diet + 1 X B (n=5)	HF diet + 3 X B (n=5)
Body weight (g)	136.6 ± 8.3	120.4 ± 14.1	119.3 ± 11.1	117.6 ± 14.3
Liver weight (g)	4.9 ± 0.8	7.3 ± 1.1 #	7.6 ± 1.0	7.0 ± 0.9
Kidney weight (g)	1.2 ± 0.3	0.9 ± 0.3	1.0 ± 0.2	0.9 ± 0.1
Epididymis fat (g)	3.1 ± 0.7	2.5 ± 0.6	2.2 ± 0.3	2.2 ± 0.6

與控制組比 $p < 0.05$

表四、倉鼠肝臟脂肪含量及血脂肪濃度

	Control (n=5)	HF diet (n=5)	HF diet + 1 X B (n=5)	HF diet + 3 X B (n=5)
Liver TG (mg/g liver)	4.0 ± 1.0	12.0 ± 1.6###	7.3 ± 2.2**	7.5 ± 2.0**
Liver TC (mg/g liver)	7.042 ± 2.4	85.03 ± 17.5###	47.3 ± 12.4*	52.5 ± 2.9**
Total-C (mg/dl)	132.9 ± 9.1	482.1 ± 161.9#	315.5 ± 21.0*	291.7 ± 17.1*
Total-TG (mg/dl)	173.9 ± 56.0	160.1 ± 29.88	97.2 ± 22.2**	102.1 ± 36.6*
VLDL-C (mg/dl)	14.2 ± 10.0	38.5 ± 5.7 #	39.7 ± 5.6	43.5 ± 10.3
LDL-C (mg/dl)	49.5 ± 5.4	280.5 ± 60.9#	118.1 ± 20.1**	87.9 ± 17.9 **
HDL-C (mg/dl)	61.3 ± 4.1	143.8 ± 9.2#	141.9 ± 7.5	142.9 ± 13.4

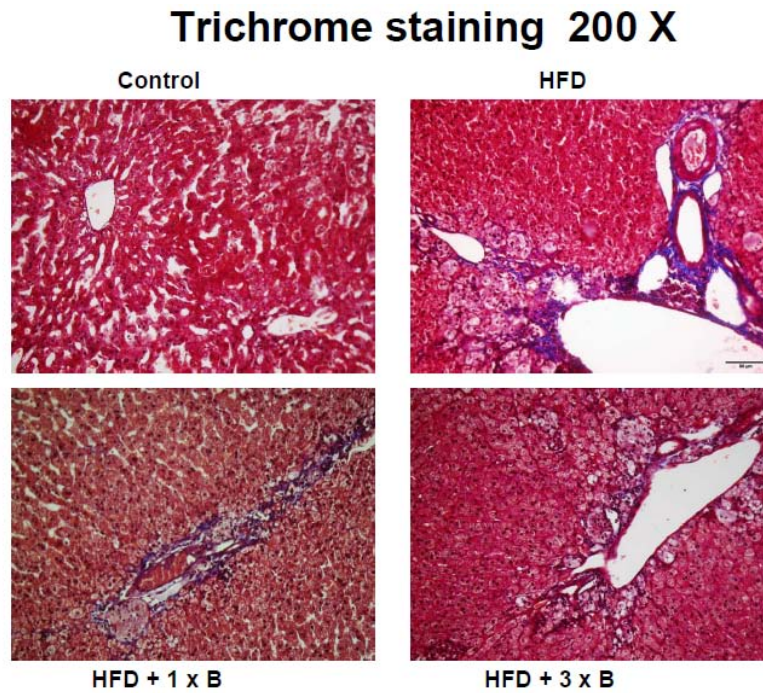
與控制組比 $p < 0.05$; ## 與控制組比 $p < 0.01$; * 與 HF diet 對照組比 $p < 0.05$; ** 與 HF diet 對照組比 $p < 0.01$



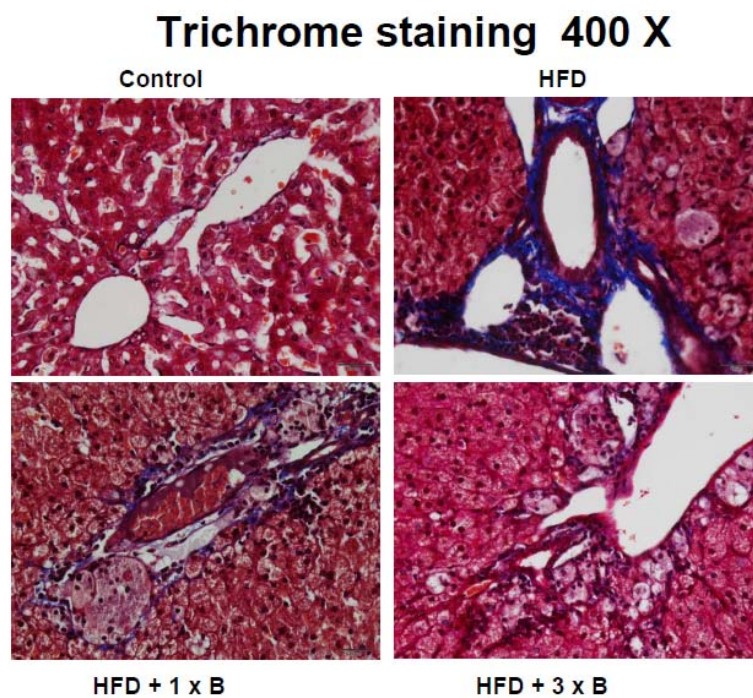
圖六、倉鼠肝臟之組織切片

肝臟以石蠟包埋後切片，切片以 HE 染色(hematoxylin and eosin stain)，圖片所視為最具代表性之切片結果，同組之其他動物的組織切片與此圖所示相近。

(A)



(B)



圖七、倉鼠肝臟之冷凍切片的 Trichrome 染色結果

冷凍包埋的肝臟組織切片以 Trichrome 染色以評估肝臟纖維化的情形，(A)為 200 倍放大的影像，(B) 為 400 倍放大的影像。

建立中醫藥法規諮詢平台，規劃中醫藥法規 制度(2-2)

陳憲堂

中華民國藥事品質改革協會

摘 要

本計畫目的為維護民眾中藥使用安全，建置有效的法規諮詢系統及作業平台，配合中醫藥有利發展的條件，研擬適合中醫藥環境之管理機制及法規。本計畫整合行政及法律資源，由具醫藥實務經驗之執業律師、法學教授及專業人員，組織「中醫藥法規諮詢小組」，建立中醫藥法規諮詢平台，就中醫藥委員會所交議之 41 項法規案件，提供法律見解及諮詢服務，並彙編提供各相關公、學、協會參考。本計畫並檢視各項有關中醫藥之行政規章及解釋令函共計 131 筆，蒐集、整理世界衛生組織、美國、歐盟、日本及中國大陸有關中醫藥法律規章計 24 篇，就中醫藥組織變革、中藥產品分類分級使用管理機制、與國際接軌之法規協合等方向，研擬適當法律位階之中醫藥管理法規及修正方向，依立法格式草擬藥事法修正草案及中藥材管理辦法等法規命令，提供中醫藥委員會作政策參考。另就中藥採輻射滅菌方式應行管理之架構，邀集中醫、藥學、法學專家學者、消費者團體及相關公、學、協會等共同座談研討，並繼續諮詢輻射滅菌專家更新管理規定，草擬「中藥輻射滅菌管制準則」草案，因應法律授權之藥事法，擬具修正條文案，提供中醫藥委員會作修法政策方向。

關鍵詞：用藥安全、法規諮詢、輻射滅菌

Study on Making a Regulation Consulting Platform and Reorganizing Regulations on Chinese Medicines (2-2)

Hsien-Tang Chen

Quality Improvement for Pharmaceutical Affairs Association, Taiwan

ABSTRACT

The purpose of this project is to maintain the safety for the Chinese medicine usage, to build an effective regulatory advisory system and operating platform to support the favorable conditions for development of Chinese medicine, and to develop appropriate management mechanisms and regulations. In this project, a task force of consultation regarding regulations of TCM from different backgrounds including medical, pharmaceutical and legislation specialists was formed by integration of the administrative and legal resources. The task force offered legal opinions and consulting corresponding to 41 legal cases related to TCM that CCMP submitted. And a collection of these legal opinions was listed systematically. In this study, we collected and sorted out 131 regulations and explanations related to TCM of Taiwan and 24 TCM regulations of the USA, European Union, Japan and Mainland China. Appropriate regulations and amendment including Pharmaceutical Affairs Act (藥事法) and Regulation on Management of Chinese medicinal materials (中藥材管理辦法) are proposed for policy-making reference based on the organization reform, categorized/graded applications of products, and harmonization of international regulations.

The draft of guideline for management of radiative sterilization for Chinese medicine and the related draft amendments to the Pharmaceutical Affairs Law was established and reviewed in a public seminar involved with Chinese medical, pharmaceutical, legislation experts, consumer societies and relative associations. Experts of radiative sterilization were consulted, and they provided the up-to-date international regulations. The draft amendment clauses are formulated and then made recommendations to CCMP.

Keywords: safety for the Chinese medicine usage, consultation of regulation and policy-making, radiative sterilization

壹、前言

中醫藥委員會以中醫藥研究為任務導向，目標在促進中醫現代化、中藥科學化及中醫藥國際化，以提供中醫藥管理政策之實證依據及重要醫藥衛生問題之解決對策，建構中醫藥醫療保健服務之優質環境。

面對人民期待品質優良安全有效之中藥產品，以及業界期待建構穩固基礎推動中藥產業發展，中藥產業應即建置良好的管理與輔導機制，並依循以追求高品質高服務以及高利潤的產業經濟共構下，將社會需求與經濟市場價值，透過法律的過程，將成為實現穩定成長的力量⁽¹⁾。

中醫藥之臨床經驗已為國際間公認在治療人類疾病上有許多發展空間，尤其是尋求臨床發展之主要目標，惟中藥成分複雜，有效成分不明，內含物質變異性大，方劑中常含有不純物及雜質，作用效果欠缺統計方法的確立，以及藥品安定性不易確定等之特性。

世界衛生組織及歐洲議會皆認為 CAM (Complementary and Alternative Medicine) 的重要性與日俱增，醫藥政策不容忽視，必須保證病人足以獲得經過適當訓練的最佳專業人員，以及具有可靠品質 (quality)、安全 (safety) 及療效 (efficacy) 的藥物⁽²⁾，歐洲議會認為必須評估中草藥具有臨床安全性及有效性⁽³⁾，並應公開聲明各草藥產品有關的風險⁽⁴⁾。

根據 2008 年第六十一屆世界衛生大會以 WHA61.21 號決議通過的「公共衛生、創新和智慧財產權全球戰略和行動計畫」，在研究與創新基礎上進一步發展傳統醫學，要求各國政府有責任保障本國人民的健康，應制定國家政策、法規和標準，作為國家綜合衛生體系的一部分，以確保傳統醫學的適當、安全和有效使用⁽⁵⁾。

WTO 及世界主要接受中草藥國家，皆以藥品之安全、有效、品質三個方向，建立法規基準，以保護消費者。世界各國在傳統醫藥組織分工上，多以獨立機關執行政策法規。例如中國大陸，國家食品藥品監督管理局 (由衛生部管理)，負責藥品、醫療器械註冊和監督管理，其中包括負責制定中藥、民族藥監督管理規範並組織實施，擬訂中藥、民族藥品質標準，組織制定中藥材生產品質管制規範、中藥飲片炮製規範並監督實施，組織實施中藥品種保護制度。國家中醫藥管理局 (亦由衛生部管理) 負責擬訂中醫藥政策法規，承擔中醫醫療、預防、保健、康復及臨床用藥等的監督管理責任。擬訂有關中西醫結合管理規範和技術標準，中藥資源的保護、開發和合理利用，中醫藥科學研究、技術開發規劃，指導中醫藥科研條件和能

力建設，管理國家重點中醫藥科研項目，促進中醫藥科技成果的轉化、應用和推廣。歐盟則以 EFCAM (the European Federation for Complementary and Alternative Medicine) 作為 CAM 促進整體健康 (holistic and integrated health care) 的一個合作平台，以提供民眾於需要時選擇之傳統醫療保健方式⁽⁶⁾。

96 年民間中藥支出 214 億 9500 萬元⁽⁷⁾，97 年中藥相關產品進口總值約 13.7 億元，中藥材約 3.95 億元⁽⁸⁾。而台灣中(草)藥相關市場約 250 億元新台幣，傳統中藥佔 7%，濃縮中藥佔 13%，食補佔 33%，保健品佔 47%⁽⁹⁾。

中藥由動、植、礦物等農作物形式存在的中藥材原料，進行加工炮製成為飲片，再經過藥廠在 GMP 的條件下製成製劑，其製造發展的過程中，每一個環節皆須科技政策與法規的介入。例如在中藥材原料部分，對於基原研發鑑定技術，以農業技術與管理投入中藥植物栽培，發展檢驗技術檢測主成分、生菌數與農藥重金屬殘留；在炮製的過程中，分析古方炮製方法研訂炮製規範，並比對炮製前後之成分與療效；對於飲片，則以放射線技術研發儲存方法，以及包裝技術；製劑部分，則研發製藥技術增進品質的均一性，以生物技術參與指標成分、有效成分之定量比對。中藥飲片之炮製方法，以及其減毒增效之效益，為我國文化資產，且具特殊性，除中國大陸以外，為世界各國所無。

由於中草藥成分複雜，有效成分不明，內含物質變異性大，方劑中常含有不純物及雜質，作用效果欠缺統計方法的確立，以及藥品安定性不易確定等之特性，故在專利保護上常有不易掌握的問題。中草藥產品如果以新療效（新適應症）作為專利保護的標的時，常會與西藥一樣，因為侵權行為常發生於藥商供應藥品的對象，致不易對其要求損害賠償，而產生盲點。專利法所規範的新發明，需具備未曾公開或無相同前案之「新穎性」，非為熟悉該項技術者所能輕易完成之「進步性」，以及具統計學意義及再現性之「產業利用性」三個要件。中草藥之新藥開發，可以申請專利法中有關「發明」標的，請求專利保護 20 年。例如新物質純化物或混合物，可以化學結構圖譜申請「物的發明」，可以新製造方法或新製造過程申請「方法的發明」，以及可以效能增加或新療效新適應症申請「用途的發明」。重要的是，必須打破對於中藥藥名的迷失，重新命名抽提物，以嶄新的複合物方式申請專利，才能真正的達到保護智慧財產的目的⁽¹⁰⁾。

現行中藥藥事相關法律規章⁽¹¹⁾，在實務執行上與國際法及現代科技管理未能相容契合，亦有不明確之處致執行時多有窒礙難行。為使中藥產品

有效安全，製造行銷符合經濟市場規模，研發資源充分有效利用，中藥流通正確符合消費者對健康的期待，必須制定周延的法令規範⁽¹²⁾予以配合，明確有效執行。故持續更新法規資料庫之內容，供業界及時查詢最新之法規資料，並依保護消費者用藥安全，以及維護業界生存發展空間，鬆綁法規擬具修正意見，方能達到提升我國中醫藥產業競爭力之目的。

與中藥製造與流通有關之法律規章，包括藥事法、藥師法、全民健康保險法、全民健康保險醫療辦法、全民健康保險藥價基準、健康食品管理法、藥師從事中藥製劑之製造、供應及調劑須修習中藥課程標準、藥師執行中藥業務管理辦法、植物抽取新藥臨床試驗基準、成藥及固有成方製劑管理辦法、行政院衛生署處理民間中藥驗方實施要點、藥品查驗登記審查準則、藥物樣品贈品管理辦法、藥品優良臨床試驗準則、藥物委託製造及檢驗作業辦法、藥物製造工廠設廠標準、藥物科技研究發展獎勵辦法、藥物製造業者檢查辦法。其中與業界經營發展最相關者，為攸關業界產能產值及成本效益之「藥物製造工廠設廠標準」，獎勵提昇品質經濟效益之「藥物科技研究發展獎勵辦法」，整合中藥藥食同源產品效能標示之「健康食品管理法及施行細則」，簡便快速審查機制之「藥品查驗登記審查準則」，適合中藥新藥臨床試驗之「藥品優良臨床試驗準則」及「植物抽取新藥臨床試驗基準」等。

中藥相關法規為保護消費者的法律，同時亦應在保護消費者之前提下，促進產業的發展。為因應現行中藥法規在實務上可能產生諸多適用上的問題，故宜儘速建立一個具有雙向溝通功能的互動模式，有效的法規諮詢平台，俾順利及時處理現行法規或解釋令函是否符合法制環境，以及是否符合業界需求，與世界各國相關法規系統比較分析，研擬一個適合中藥環境的整合管理機制，以及研擬修正適當的法規條文，提供中醫藥委員會作修法政策方向。

貳、材料與方法

整合行政及法律資源，建置有效的法規諮詢系統及作業平台，組織「中醫藥法規諮詢小組」，就中醫藥委員會及業界所提出之各項法律問題，提供法律見解及諮詢服務。並檢視現行之行政規章及解釋令函，比較世界衛生組織、美國、歐盟、日本及中國大陸有關之法律規章，就各國具有參考價值部分，提供中醫藥委員會參考。另研擬中藥輻射滅菌應行管理之相關法規內容，與推薦之專家學者座談，結論提供中醫藥委員會作政策參考。其執行方法如下：

- 一、繼續於中華民國藥事品質改革協會組織「中醫藥法規諮詢小組」，有效執行法規諮詢系統。
- 二、繼續利用中醫藥法規諮詢作業平台，採互動方式，供業界提問有關之中醫藥法規問題。
- 三、定期彙編中醫藥法規諮詢案件審議結果，依「產品製造管理相關案件」、「產品查驗登記管理相關案件」、「藥事專業人員法律行為管理相關案件」、「藥事機構管理相關案件」、「藥物廣告管理相關案件」、「法律爭訟事件」及「其他相關案件」之類別，分類整理，提供各相關公、學、協會參考。
- 四、繼續檢視現行之行政規章及解釋令函，比較世界衛生組織、美國、歐盟、日本及中國大陸有關之法律規章，就攸關政策面之各國有關中藥製造與流通管理具有參考價值部分，提供中醫藥委員會參考。
- 五、依據中醫藥委員會政策決定之中藥輻射滅菌作業準則及相關藥事法修正草案之法條，協助中醫藥委員會邀集相關公學協會舉辦公聽會或發布預告後，依照立法格式，擬具各項法規修正草案總說明及條文對照表，提供中醫藥委員會作修法政策參考。
- 六、配合中醫藥有利發展的條件，就中醫藥組織變革、中藥產品分類分級使用管理機制、與國際接軌之法規協合等方向，研擬適合中醫藥環境之管理機制及適當法律位階之法規，提供中醫藥委員會作政策參考。

參、結果

一、繼續於中華民國藥事品質改革協會組織「中醫藥法規諮詢小組」，有效執行法規諮詢系統。

- (一)「中醫藥法規諮詢小組」，由本計畫主持人陳憲堂（專長企業經營管理、藥事作業食物、藥事法規）、協同主持人余萬能（專長衛生法規、藥事法規、行政法），邀請中華民國藥事品質改革協會藥事作業品質評估委員會主任委員劉俊良主任委員等共計九人參加，另依案件內容性質視需要邀請相關法律或中藥學者專家，共同研議相關議案。
- (二)就中醫藥委員會所交議之法規諮詢案件，以及業界透過法規諮詢平台系統所詢問有關中醫藥法規問題，作成議案，討論提供法律諮詢意見。另有關中醫藥委員會同仁在工作上或業界所詢問之一般中醫藥法規案件，由主持人或協同主持人依法律原理原則回復，或徵詢小組成員審議後，作成法律諮詢意見回復。
- (三)「中醫藥法規諮詢小組」本年度分別於 100 年 12 月 21 日、2 月 17 日、3 月 30 日、6 月 29 日及 8 月 20 日共計召開審議 5 次，共計審議 41 個議案。
- (四)部分議題較緊急或較為單純，先以 e-mail 方式回覆，必要時提報中藥法政諮詢小組討論，共計回覆 10 個議題。
- (五)因案件類型較特殊另立專案處理，共計 2 案。
- (六)「中醫藥法規諮詢小組」本年度共計審議完成法律案件 41 案，依其性質分類如下表：

性質	件數
產品製造管理相關案件	7 件
產品查驗登記管理相關案件	5 件
藥事專業人員法律行為管理相關案件	4 件
藥事機構管理相關案件	17 件
藥物廣告管理相關案件	3 件
法律爭訟事件	2 件
其他相關案件	3 件
合計	41 件

議案及結論列表如下：

1. 產品製造管理相關案件（7 件）

議題	結論摘要
<p>案件編號：1-1 100 年 7 月 6 日修正發布之藥物製造業者檢查辦法第八條第二項明定，藥物製造業者後續追蹤管理之檢查，業者應於證明文件（公文核備函）有效期間屆滿之六個月前主動提出申請。倘業者屆時不提出申請，是否可以處分？又倘逾有效期後再提出申請，可否以新廠方式查察？</p>	<p>藥物製造業者檢查辦法並未明定法律效果，證明文件有效期間屆滿，未主動提出申請，自己失其證明效力，不得適用第八條第一項每二年檢查一次之頻率，其因非新設、遷移、擴建、復業或增加原料藥、劑型、加工項目、品項，其檢查尚無以新廠方式檢查之必要，如檢查發現有違反 GMP 之規定，自得依違反藥事法第 57 條之規定，依同法第 92 條之規定處分。</p>
<p>案件編號：1-2 GMP 中藥廠因藥品暫無市場，所以先行停業，又因空著設備浪費成本，希望於停業中先用來製造食品，向地方政府建設局及衛生局申請利用原藥廠設備製造食品，倘並非兼製食品，是否可以核准？地方衛生局是否可以直接同意其製造？是否需中央同意？其適法性如何？</p>	<p>藥商於停業狀態，倘申請利用原藥廠設備製造食品，應依藥事法第 27-1 條第一項之規定，申請復業，回復藥商狀態，再經查核符合兼製食品之條件（避免交叉污染並完成確效），方得為之。倘欲停止藥商業務，改專門生產食品，應依藥事法第 27-1 條第二項之規定，申請歇業，再經查核符合兼製食品之條件（避免交叉污染並完成確效），方得為之，地方衛生局尚無法直接同意其製造。</p>
<p>案件編號：1-3 GMP 中藥廠停業中，於同廠址內，但不在藥廠原核准製造藥品平面圖場所內，係於其他房間製造食品是否可以？地方衛生局是否有權同意其製造？是否需中央同意？其適法性如何？</p>	<p>中藥廠利用原有設備兼製食品，涉及是否交叉污染及是否完成確效，即屬中央衛生主管機關檢查權責，即使不在藥廠原核准製造藥品平面圖場所內之其他房間製造食品，仍需由中央衛生主管機關查核是否有交叉污染之可能情事，地方衛生局尚無權逕行同意其製造。</p>

議題	結論摘要
<p>案件編號：1-4 SARS 期間為因應酒精供應量，衛生署曾開放藥廠得以幫忙廠商代工從事酒精之稀釋作業，現今是否仍可以從事此項業務？</p>	<p>藥廠製造 75% 消毒酒精製劑，應依藥事法之規定，領有藥品許可證，方得製造。藥廠製造一般手部、皮膚清潔非醫療用途之含 75% 酒精商品產品，仍應依藥物製造工廠設廠標準第 40 條第八項規定，以藥廠利用原有設備兼製一般商品，應避免交叉污染，並完成確效，經查核符合兼製一般商品之條件（避免交叉污染並完成確效），方得為之。SARS 期間衛生署開放藥廠得協助廠商代工從事酒精之稀釋作業，應係屬緊急情況之急迫處置，倘已非緊急情況，似無從循例辦理。</p>
<p>案件編號：1-5 藥廠依規定回收之藥物，其執行銷毀之作業場所，是否有相關規定一定要在廠內執行？倘其廠內制定之 SOP 已說明可由物流業者自行銷毀者，是否適法？</p>	<p>依據藥物製造工廠設廠標準第 89 條規定「中藥廠對於退回之產品，應予鑑識並分別儲存；非...符合既定之規格者，該產品應予銷毀。」，則退回之產品既應予儲存銷毀，認應於廠內執行，並應將其處理過程及結果函報行政院衛生署備查。案內藥廠制定之 SOP 說明可由物流業者自行銷毀，核與藥事法第 80 條「製造或輸入之業者收回市售品連同庫存品一併依法處理」之規定不合。</p>
<p>案件編號：1-6 倘於原核定 GMP 廠製造場所樓層上方，以獨立空間製造食品，且經衛生主管機關核准，是否有適法上之疑義？</p>	<p>中藥廠倘於原核定 GMP 廠製造場所樓層上方，以獨立空間製造食品，應符合前揭標準各條文有關適當距離、作業場所隔離、禁止為作業場所人員共用或交叉通路及避免交叉污染完成確效之規定，衛生主管機關方得核准，否則即非適法。</p>

議題	結論摘要
<p>案件編號：1-7</p> <p>中央主管機關依藥物製造工廠設廠標準第三篇第二章中藥藥品優良製造規範與藥物製造業者檢查辦法第八條之規定，辦理中藥製造業者後續追蹤管理之檢查。受檢業者應於收到主管機關通知並於 2 個月內提具改善報告送審，倘業者遲遲不繳交改善報告，是否可以處分？主管機關為之處辦之法源依據為何？</p>	<p>受檢業者經主管機關通知於 2 個月內提具改善報告送審，倘業者未依限繳交改善報告送審，自屬違反藥物製造業者檢查辦法第 15 條規定，自得依違反藥事法第 71 條第一項之規定，依同法第 92 條第一項之規定，處新臺幣三萬元以上十五萬元以下罰鍰。並得依同條第三項之規定，由中央衛生主管機關公布藥廠或藥商名單，並令其限期改善，改善期間得停止其一部或全部製造、輸入及營業；屆期未改善者，不准展延其藥物許可證，且不予受理該製造廠其他藥物之新申請案件；其情節重大者，並得廢止其一部或全部之藥物製造許可。</p>

2. 產品查驗登記管理相關案件 (5 件)

議題	結論摘要
<p>案件編號：2-1</p> <p>廠商申請許可證變更，於法定處理期限內完成審查，主管機關以其「不符查驗登記準則規定及廠商逾期補正無法續辦變更，應予駁回申請，並請另案申請查驗登記」。惟於簽辦核駁結案之際，廠商於補件逾期後，卻來函要求換作他案代替，原繳納之查驗登記費變更為另案之查驗登記費。由於該案係不合法令規定無法續辦而予以結案，得否依規費法第 19 條之規定，逕將原（變更）案結案，並請廠商另以新案申請查驗登記？</p>	<p>本案既經審查，以「不符藥品查驗登記審查準則之規定」及「逾期補正逕予結案」駁回申請，建議明文駁回，並敘明理由，應請另案申請查驗登記。又因本案業經審查完成，係以「不符藥品查驗登記審查準則之規定」及「逾期補正」，屬可歸責於申請之事由，自得依規費法第 19 條但書之規定駁回，不予退還已繳之規費，亦無從將之變更為另案之查驗登記費用。</p>
<p>案件編號：2-2</p> <p>藥品查驗登記審查準則第 104 條所稱「企業識別 CIS」及「公司商標」是否不同？有一藥商「香蜂一條根商行」欲申請「香蜂一條根商行」為商標（有圖樣），則此商標究屬企業識別 CIS 或公司商標？</p>	<p>藥品查驗登記審查準則第 104 條第一項第一款第四目所稱「企業識別 CIS」與第二款第一目所稱「公司商標」，應屬不同規範，「企業識別 CIS」為「原核准文字內容未變更」，「公司商標」則屬「文字內容雖有變更，但不涉及藥品品質、用藥安全」，二者不同。</p>
<p>案件編號：2-3</p> <p>依藥品查驗登記審查準則第 104 條之規定，國產中藥製劑之標籤、仿單、包裝變更，倘符合「企業識別 CIS 之加印或變更」、「增印或變更..公司商標」等情形者，得自行變更，留廠備查。該條文所稱企業識別或公司商標，是否僅限於許可證持有之藥商所有？抑或經銷商或受委託製造者所有之企業識別或公司商標亦屬之？</p>	<p>基於平等原則，且無關產品品質安全療效，建議採否定說，藥品查驗登記審查準則第 104 條第一項所稱「企業識別」或「公司商標」，不限於許可證持有之藥商所有。</p>

議題	結論摘要
<p>案件編號：2-4 標籤、仿單上所刊載之經銷商，其所持有之公司商標或企業識別倘經授權予持有許可證之藥商使用，是否列屬藥品查驗登記審查準則第 104 條得自行增印或變更事項？</p>	<p>經銷商所持有之公司商標倘授權予持有許可證之藥商使用，自屬同準則第 104 條第一項第二款第一目所稱文字內容雖有變更但不涉及藥品品質用藥安全之「公司商標」者，其標籤、仿單、包裝得依第一項之規定，自行變更，於藥品優良製造規範書面作業程序詳實修正並作紀錄，留廠備查。</p>
<p>案件編號：2-5 現行中藥藥品許可證對於展延及變更事項，係採許可證正背面加註展延及變更事項之方式為之。倘未來展延及變更擬採重新發證方式，並調整證書費，其適法性如何？法定程序為何？</p>	<p>倘未來中藥藥品許可證之展延及變更，不復採加註方式，而擬改以重新發證，自得再依藥事法第 43 條及同法施行細則第 53 條之規定，由中醫藥委員會簽請行政院衛生署重定許可證格式，並完成法定行政程序後發布。至擬調整證書費，即應依規費法第 10 條之規定，計算直接材物料、人工及其他成本，並審酌間接費用擬定，並檢附成本資料，洽商規費主管機關（財政部）同意，並送立法院備查後公告之。</p>

3. 藥事專業人員法律行為管理相關案件（4 件）

議題	結論摘要
<p>案件編號：3-1 列冊中藥商之僱用人員，提供顧客人參切片的業務是否得宜？</p>	<p>列冊中藥商得依民眾提供之藥方從事不含毒劇中藥材之藥材配備，係指「列冊人員」而言；至其僱用人員如未具管理中藥販賣業者之資格，則不得為之。</p>
<p>案件編號：3-2 消費者向藥商購買飲片，為服用方便，為其切片、磨粉、甚至煎煮熬成湯，是否應親自為之？</p>	<p>中藥材之切片、磨粉或煎煮成湯，似涉屬專業行為，倘行政機關認定確屬專業行為，藥事法第 15 條之中藥商即應由專任駐店管理之中醫師或修習中藥課程達適當標準之藥師或藥劑生親自為之（藥事法第 28 條第二項參照），或第 103 條第一項及第二項之中藥商即應由列冊人員親自為之。</p>
<p>案件編號：3-3 台北市某中醫診所，傳真處方至高雄某中藥房，由所聘藥師調劑後，寄回該診所，是否適法？</p>	<p>應依下列法令規定查核其適法性：（一）處方箋傳真交由高雄市中藥商所聘藥師調劑，需經病患同意。（二）高雄市中藥商所聘藥師應依藥師法第 18 條之規定於調劑後簽名蓋章，添記調劑年、月、日，保存三年。（三）高雄市中藥商所聘藥師應完全履行法定調劑義務，包括確認取藥者交付藥品及用藥指導等相關之行為。（四）藥師以郵寄方式交付藥品，是否履行充分說明注意義務，以及所供應藥品之品質及正確性是否保障。</p>
<p>案件編號：3-4 醫藥分業政策，是否一定必須釋出處方箋？</p>	<p>醫藥分業政策目前採雙軌制，非一定必須釋出處方箋。</p>

4. 藥事機構管理相關案件（17 件）

議題	結論摘要
<p>案件編號：4-1 聘有藥師管理之藥商，提供顧客人參切片的業務是否得宜？</p>	<p>依藥事法第 28 條第二項聘有藥師管理之藥商，係屬前揭第 15 條之藥商，其提供顧客人參切片的業務，尚無限制。</p>
<p>案件編號：4-2 藥商應顧客要求將所購人參切片，應如何標示，方屬適法？</p>	<p>人參飲片屬藥品，其標示應依藥事法或主管機關之規定為之。藥商應顧客要求將所購人參切片，因屬供應特定人之代客服務，於切片完成之人參包裝上，得標示顧客姓名，以確認該特定人，避免服務對象錯。另為保障消費者使用安全，於包裝上標示切片日期及保存方法，亦屬適法。</p>
<p>案件編號：4-3 藥事法第 103 條之列冊中藥商，其歇業後不得再行復業之適法性如何？</p>	<p>「確具中藥基本知識及鑑別能力人員」其歇業後得再行申請登記，尚無疑義。藥事法第 103 條第二項列冊中藥商，因其與第一項「確具中藥基本知識及鑑別能力人員」不同，其歇業即不得再行復業。</p>
<p>案件編號：4-4 消費者向藥商購買飲片，為服用方便，為其切片、磨粉、甚至煎煮熬成湯，是否得以寄送到家方式為之？</p>	<p>保障藥品之品質、安全及有效性為藥事法所揭禁之目的，藥品是否得以郵寄方式為之，藥事相關法規尚無具體條文規範。惟相關組織法規，有審查許可郵寄藥品之職權規定，顯將郵寄藥品列為中央衛生主管機關之審查許可事項，亦即原則不得郵寄藥品，例外則需經主管機關許可，惟實務上尚無例可循。參照台北高等行政法院 96 年度簡字第 663 號判決，以郵寄方式送交消費者，若有使用疑難，並無法由廠商當面給予解說及操作示範，無法保障消費者之健康安全，因此對於</p>

議題	結論摘要
	<p>醫療器材之販售，實務見解係傾向認為不得以郵寄方式為之，又依藥事法，藥品同於醫療器材亦為藥事法所規範之對象，且相較於醫療器材，藥品對於消費者之健康安全可能產生更嚴重之影響，故依舉輕明重之理應可認為藥品之販售亦不得以郵寄方式為之。對於一般藥品，藥商任意以郵寄藥品方式為之，除其所聘專任駐店管理之藥師無法履行充分說明注意事項之義務外，郵寄方式對於所供應藥品之品質及正確性無法保障，且因資料不全難以追蹤管理，亦無從依藥事人員相同之標準加以監督，與藥事相關法規保障消費者用藥權益之目的相違，故相關子法規及解釋令函乃以特殊情況之例外方式處置，並由主管機關審查，惟相關作用法規並無明確之規定可資適用，建議主管機關明確解釋予以規範。</p>
<p>案件編號：4-5 藥事法第 103 條之列冊中藥商，所稱「其歇業即不得再申請列冊」與「其歇業即不得再申請復業」是否為同一概念？有無法律保留原則適用？</p>	<p>藥事法第 103 條之列冊中藥商，所稱「其歇業即不得再申請列冊」，應係指列冊中藥商不再經營後，不得再行申請列冊。而「其歇業即不得再申請復業」，因與藥事法所規定復業係停業之後續行為不合，應係不得再行申請列冊之誤，而屬同一概念。</p>
<p>案件編號：4-6 藥事法第 103 條第二項列冊中藥商，其歇業後不得復業是否適法？</p>	<p>藥事法第 103 條第二項規定所稱「中藥從業人員」，係屬八十二年二月五日藥事法修正公布前曾經中央衛生主管機關審核予以列冊</p>

議題	結論摘要
	<p>登記者，倘其歇業即不具「有繼續經營事實」，自無從再行申請列冊。惟所稱「歇業後再行復業」，核與藥事法之規定不合，應係更正為「歇業後再行開業」或「歇業後再行申請藥商登記」，方屬正辦。</p>
<p>案件編號：4-7 嘉義縣衛生局因案於法院辯論庭上，原告質疑藥事法第 103 條第二項規定並未明定中藥從業人員申請資格之法律規定，何以行政院衛生署得自行訂定處理原則規定？法官詢問申請「曾經營中藥者繼續經營中藥販賣業務處理原則」之法源依據？</p>	<p>行政院衛生署 88 年 7 月 5 日衛署中會字第 88036704 號公告「藥事法第 103 條第二項中藥從業人員繼續經營中藥販賣業務登記換照作業事宜」，依藥事法第 103 條第二項規定，於民國 82 年 2 月 5 日前確已經營中藥之從業人員，其繼續經營中藥販賣業務登記換照作業程序，包括登記審查、修習中藥課程及如何至經營所在地方衛生主管機關換領藥商許可執照；係依職權就藥事法第 103 條第二項之規定，公告登記換照作業程序，並訂定審核條件，作為執行該條文之依據，公告當時因行政程序法尚未制定公布，故屬職權命令之法規命令型態，依現行行政程序法之規定，該執行作業程序，具有對民眾之拘束力，體例屬法規解釋。後行政院衛生署將民國 82 年 2 月 5 日前確已經營中藥之從業人員，其繼續經營中藥販賣業務登記換照作業程序，轉由地方處理執行，並依行政指導方式，制定附件之處理原則，提供地方衛生局參酌辦理，正本同時發給公會，符合公告週知程序，認屬行政程序法第 15 條第二項「行政機關因業務上之需要，得</p>

議題	結論摘要
	依法規將其權限之一部分，委託不相隸屬之行政機關執行之。」之權限委託。本案事實乃仍係依藥事法第 103 條第二項之規定所定請求登記審查事項，其雖以「申請」為名，仍屬執行藥事法第 103 條第二項之規定，其適法性並無疑義。
<p>案件編號：4-8</p> <p>GMP 藥廠得否接受醫療院所委託製造、加工、分包裝藥品？其法源依據如何？違反如何處理？</p>	<p>醫療院所無許可證，無從依藥事法之規定委託製造。且治療就診之特定病患，其疾病未盡相同，斷無從事前統一處方內容預先製造。又與醫療法及藥事法之規定不符，顯非適法。</p>
<p>案件編號：4-9</p> <p>按藥事法第 51 條規定「西藥販賣業者，不得兼售中藥；中藥販賣業者，不得兼售西藥。但成藥不在此限。」，亦即中藥販賣業者可兼售西藥成藥，則同法第 103 條之藥商得否依第 51 條販賣西藥成藥？</p>	<p>依藥事法第 103 條規定所管理之列冊中藥商，係依法核給中藥販賣業藥商許可執照，故其依藥事法第 51 條規定兼售西藥成藥，尚屬適法。</p>
<p>案件編號：4-10</p> <p>藥事法第 51 條所稱「兼售」，是否與同法第 15 條規定之「零售」相同，但不包含「批發」業務？</p>	<p>藥事法第 51 條所稱「兼售」，文義並未限縮僅為零售；又同法相關條文亦無限制，則認該「兼售」應包含「零售」及「批發」在內。</p>
<p>案件編號：4-11</p> <p>屬 82 年 2 月 5 日修正藥事法第 103 條第二項人員，行政院衛生署定有七大類人員，其中第五類屬合夥人之列冊中藥商，其換領藥商執照是否有時間限制？適法性為何？</p>	<p>藥事法 82 年 2 月 5 日修正公布之第 103 條第二項人員屬第五類合夥人之列冊中藥商，依行政院衛生署各該解釋令函之規定，其換領藥商執照尚無時間限制，惟其應限於 82 年修正藥事法之人員，與現行法並無關聯。</p>
<p>案件編號：4-12</p> <p>行政院衛生署 85 年 9 月 7 日衛署藥字第 85052829 號函示「第 5 類</p>	<p>藥事法 82 年 2 月 5 日修正公布之第 103 條第二項人員屬第五類合夥人之列冊中藥商，其於原負責人</p>

議題	結論摘要
<p>列冊中藥商應俟原負責人歇業時，由證明書登載之合夥人，檢同歇業證明文件，並依換照程序及條件，申請換領藥商許可執照，繼續營業」。倘合夥人係於原負責人歇業多年後，才去辦理換照事宜，衛生單位據以辦理之適法性為何？</p>	<p>歇業多年後，才去辦理換照事宜，衛生機關查核倘符合行政院衛生署八十五年九月七日衛署藥字第八五〇五二八二九號函釋之換照程序及條件，據以辦理，其適法性尚無疑義。</p>
<p>案件編號：4-13 行政院衛生署 85 年 9 月 7 日衛署藥字第 85052829 號函示「第 5 類列冊中藥商應俟原負責人歇業時，由證明書登載之合夥人，檢同歇業證明文件，並依換照程序及條件，申請換領藥商許可執照，繼續營業」。倘合夥人多年來未從事中藥販賣業務，且原負責人已歇業多年，是否應核准該合夥人申請換領藥商許可執照繼續營業？其適法性為何？</p>	<p>藥事法 82 年 2 月 5 日修正公布之第 103 條第二項人員屬第五類合夥人之列冊中藥商，其原負責人歇業已多年，期間合夥人亦多年未從事中藥販賣業務，依據前開認定屬各該人員其列冊權利，尚無時間限制，衛生機關倘經查核符合行政院衛生署八十五年九月七日衛署藥字第八五〇五二八二九號函釋之換照程序及條件，自應核准該合夥人申請換領藥商許可執照繼續營業。</p>
<p>案件編號：4-14 藥事法（82 年 2 月 5 日修正）第 103 條屬第五類列冊登記人員（合夥人）於 84 年業經向原址主管機關申請換照，案經核准，並同意遷移地址至另一縣市，除於證明書註記外，並副知新址主管機關，惟其並未再向新址主管機關申請換照，事隔 17 年再行申請，是否適法？</p>	<p>倘其當時未依規定程序換領藥商許可執照而在該址繼續營業，應請其速向新址衛生局申請補正。惟倘其當時並未依規定程序換領藥商許可執照，且未在該址有繼續營業事實，核與藥事法（82 年 2 月 5 日修正）第 103 條第二項之規定有違，自無從再行換領藥商許可執照。</p>
<p>案件編號：4-15 某公司所營事業資料為酒精批發業、乙類成藥零售業、藥品檢驗業、化粧品批發業、化粧品零售</p>	<p>法無限制，倘其行為結果未違藥事法相關條文意旨，似無相當理由予以禁止。</p>

議題	結論摘要
<p>業、醫療器材批發業、西藥批發業、西藥零售業、中藥零售業...等，惟申請藥商執照後，依藥事法第 14 條規定，是否只可從事藥商之業務？藥商名稱可否因該公司名稱為○○○○檢驗公司，而同意藥商名稱為○○○○檢驗公司？是否會因易使人產生額外連結效果，藥品公司也可做檢驗項目等疑義？該公司之是否可從事非藥商之業務項目，如藥品檢驗？</p>	
<p>案件編號：4-16 94 年中藥全面實施 GMP 以前，已領有製造業藥商許可執照者，未依藥事法第 57 條之規定查核通過 GMP，其倘從事製藥行為，是否得視為與藥商登記事項不符，依違反藥事法施行細則第 15 條藥商應自事實發生之日起 15 日內，向原核准登記之衛生主管機關申請辦理變更登記為販賣業或停業之規定，依違反藥事法第 27 條第一項之規定，依同法第 92 條規定論處？</p>	<p>領有製造業藥商許可執照之傳統中藥廠，未依規定實施 GMP，其倘從事製藥行為，違反藥事法第 57 條第二項之規定。如未從事製藥行為，尚無違反藥事法第 27 條之規定。</p>
<p>案件編號：4-17 領有中藥製造業藥商許可執照之中藥製造業者，如無從事製藥行為，是否應申請停業？倘以經衛生主管機關查核無「營業事實」(無從事製藥行為)，將其有關證照註銷是否適法？</p>	<p>依藥事法第 27-1 條之規定，皆由藥商自主決定是否申請停業，尚無法強制其必須申請停業。</p>

5. 藥物廣告管理相關案件（3 件）

議題	結論摘要
<p>案件編號：5-1 依行政院衛生署 97.11.17 衛署藥字第 0970320050 號函對產品資訊定義略以：「中藥：只限刊登藥物名稱、劑型、處方內容、用量、用法、效能、注意事項及廠商名稱、地址，並得加貼與標籤仿單核定本相符之實體照片。」，然中藥材依現行規定尚無需申請藥品許可證，倘藥商將中藥材之產品資訊放置於自家網站，而產品資訊可否依本草綱目之記載來刊登？</p>	<p>中藥材因無需申請藥品許可證，無劑型、處方內容、用量、用法、效能、注意事項等核定事項，故中藥材產品資訊僅得刊登藥物名稱。函釋產品資訊限許可證持有之藥商網站，於中藥材應可類推適用為輸入或製造該中藥材之藥商，故其中藥材之產品資訊僅得放置於輸入或製造該中藥材藥商之自家網站。本案問題癥結在於中藥材為藥事法所規範，應屬藥品，惟現行尚無需申請藥品許可證，不宜再行擴張解釋。</p>
<p>案件編號：5-2 藥品許可證由 A 藥商移轉至 B 藥商，原 A 藥商所申請核准之廣告也已將屆期，倘藥品許可證已移轉至 B 藥商，則其廣告得否由 B 藥商提出展延，亦或需重啟新案申請廣告核准？</p>	<p>展延應由原申請藥商提出申請，藥品許可證既已移轉為新藥商，原藥商已無從提出展延申請，而新藥商亦與原核准不符，自無從由新藥商提出展延，應請新藥商重新申請廣告核准。</p>
<p>案件編號：5-3 藥品許可證由 A 藥商移轉至 B 藥商，原 A 藥商所申請核准之廣告得否繼續刊播至屆期為止？</p>	<p>藥品許可證雖由原藥商移轉至新藥商，倘原藥商依原藥品許可證所製造輸入之藥品，經依藥事法施行細則第 37 條第二項之規定，自核准變更之日起六個月內收回市售品連同庫存品送經直轄市或縣(市)衛生主管機關驗章，即得繼續依原核准標示販賣，其原藥商原申請核准之廣告既與原核准相符，自得繼續刊播至廣告屆期為止。</p>

6. 法律爭訟事件 (2 件)

議題	結論摘要
<p>案件編號：6-1 檢察署之起訴書或法院之判決書倘與主管機關之見解不同時，應如何處置？</p>	<p>依實務而論，行政機關對於行為人所為之違反行政法規之行為，係處於第一線之地位，但囿於相關調查權行使相較於檢調單位之限制為大，而無法即時充分蒐集相關證據，然依職權又須做出相關之行政處分，極有可能與檢察官之起訴書之認定事實有所差異，則就事實證據，倘行政機關尚未臻明確，而初步認定行為人之行為亦可能有刑事責任時，不妨將該案件移請檢調偵辦，若經檢察官起訴，則可認為確有該等情事，行政機關即可據此作成裁罰性之行為處分，惟仍須受行政法院最後之審查，自不待言；若行政機關之認定與檢察官之見解不同時，行政機關仍可本於職權認定作出行政處分，待人民向法院為救濟請求，並經行政法院判決確定後，再檢視是否應自為撤銷處分或維持原處分。</p>
<p>案件編號：6-2 某甲因製劑重金屬殘留超量，經地檢署以偽藥罪處分緩起訴，或經起訴法院以偽藥罪判決定讞，惟該案件經衛生主管機關判定應係屬藥事法第 21 條第一項第三款之劣藥，則衛生主管機關是否必須依同法第 78 條第一項第一款之規定，廢止其所有證照？</p>	<p>行政機關與司法機關就事實之認定，雖非相互拘束，惟司法機關倘以向行政機關詢問所得結果，作為偵查審判依據，則行政機關即不宜再行推翻。倘行政機關仍認應自行認定，即須非常慎重，且有堅強之具體理由。本案製劑重金屬殘留超量，經衛生主管機關判定應係屬藥事法第 21 條第一項第三款「藥品中一部或全部含有污穢或異物者」之劣藥，倘該案非經行政機關移送，從未向衛生主管機關詢問，其</p>

議題	結論摘要
	<p>實體認定係經被告單獨認罪協商所作成之緩起訴處分或簡式（易）判決定讞，則認行政機關仍得自行認定事實，據以判定。倘經判定確屬藥事法第 21 條第一項第三款之劣藥，自無同法第 78 條第一項第一款廢止其所有證照規定之適用。</p>

7. 其他相關案件（3 件）

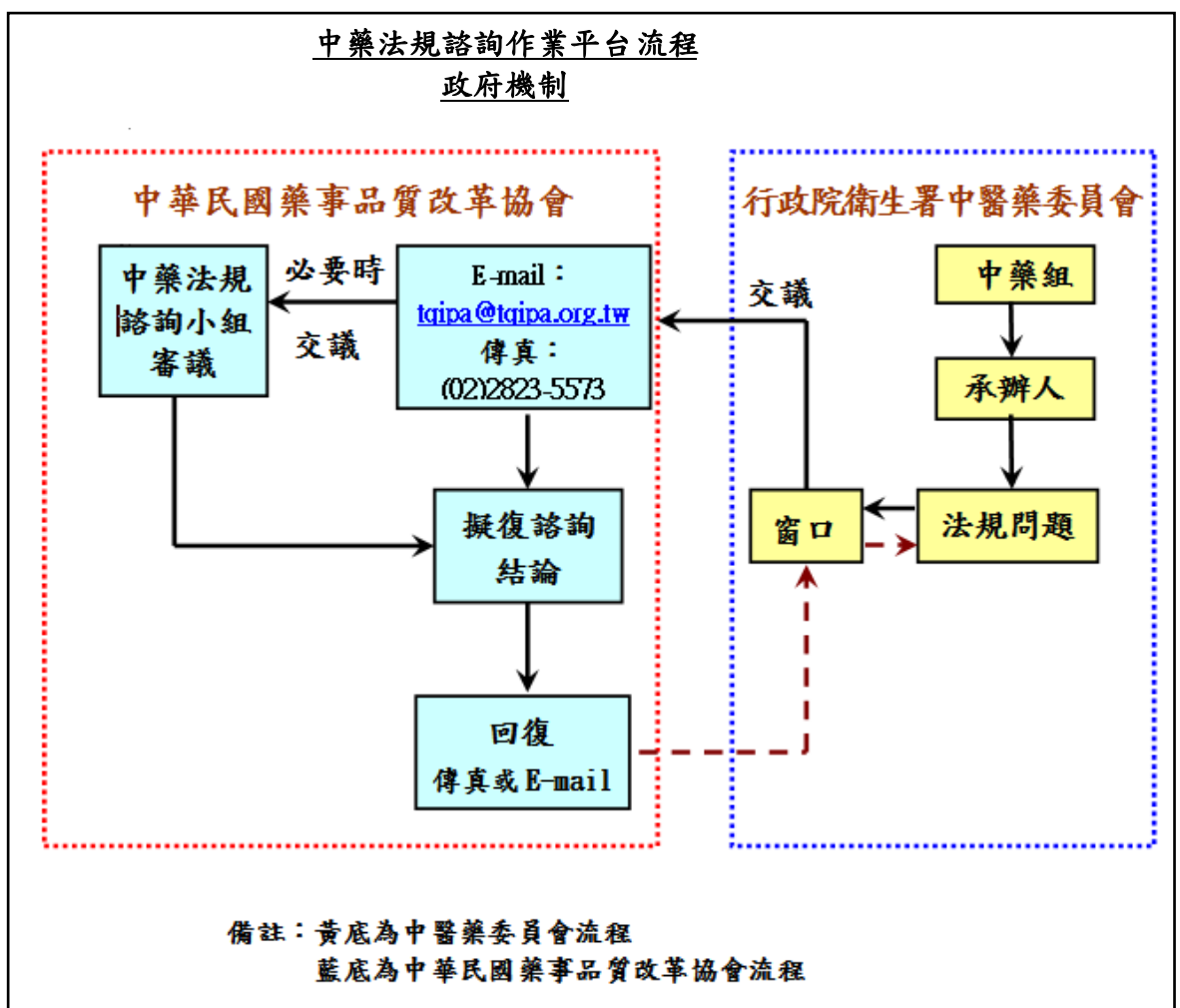
議題	結論摘要
<p>案件編號：7-1 醫療機構係指供醫師執行醫療業務之機構，是否得以販賣化粧品、食品等商品？醫師處方化粧品、食品是否適宜？</p>	<p>販賣化粧品、食品等商品係屬商業行為，依商業登記法之規定，應辦理商業登記，醫療機構屬性特殊，實務上尚無准許登記為商業或營業之例。醫師如應醫療需求，處方化粧品（例如皮膚醫學、美容醫學）或食品（例如嬰兒配方奶粉、病人用特殊營養食品），依醫療法第 67 條及醫師法第 12 條之規定，將處置方法記載於病歷，尚屬適法。</p>
<p>案件編號：7-2 確認「偽禁藥廢止藥商全部證照處理原則（修正草案）」</p>	<p>確認「偽禁藥廢止藥商全部證照處理原則（修正草案）」，惟請行政院衛生署注意，倘地檢署不起訴處分或法院無罪判決結果，行政院衛生署依據結果審查仍認應予廢止藥商全部證照，各該當事人以地檢署不起訴處分或法院無罪判決作為行政救濟理由，應予妥善因應答辯。</p>
<p>案件編號：7-3 台灣官方或民間派員參加大陸相關專業委員會為委員，是否有臺灣地區與大陸地區人民關係條例第 33 條之適用？</p>	<p>台灣官方及民間派員參加大陸相關專業委員會為委員，依據臺灣地區與大陸地區人民關係條例第 33 條之規定及行政院大陸委員會公告，應屬禁止。</p>

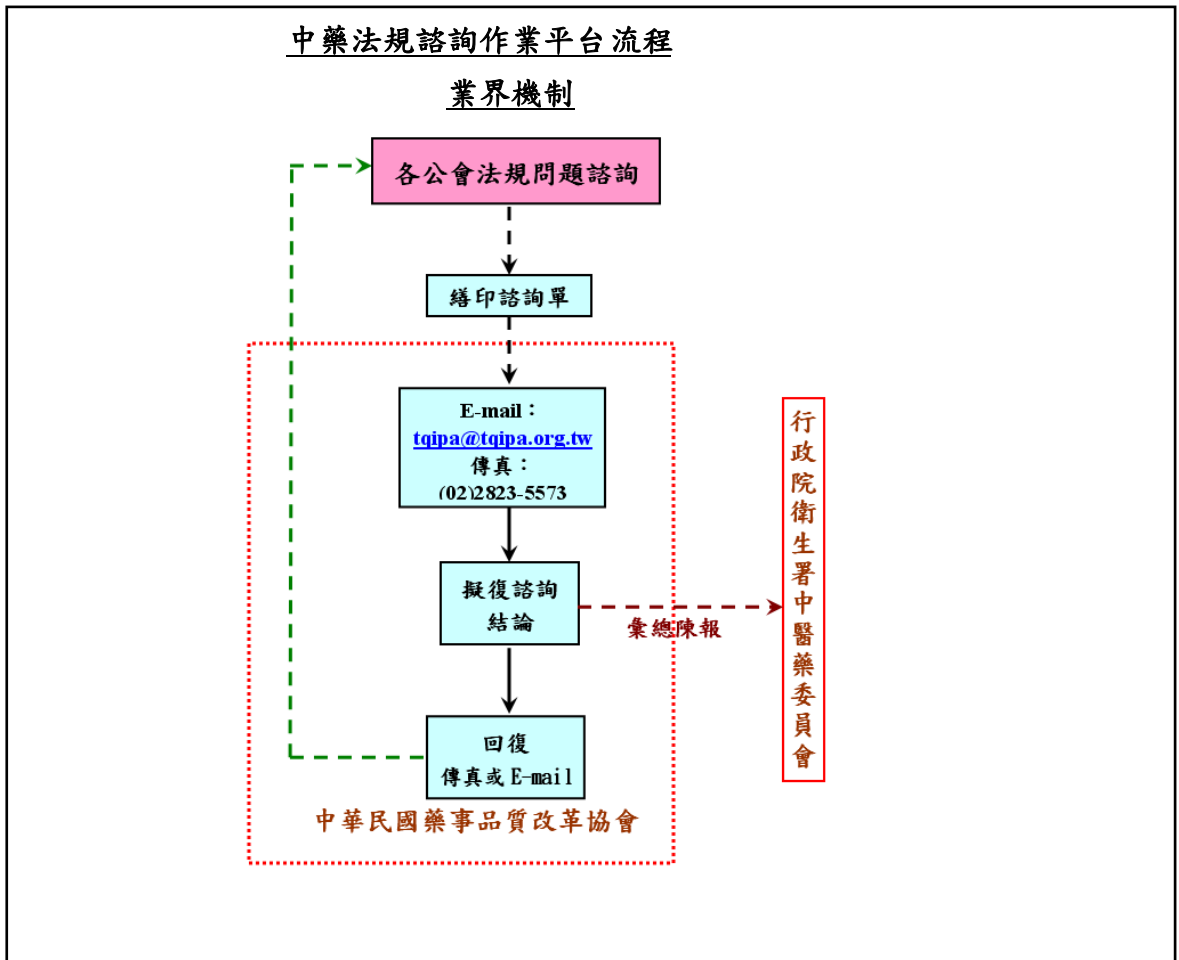
(七) 本計畫計完成 10 件即時及 41 件詳細法律諮詢服務案件，除即時提供政府官員適法性簽核意見，爭取時效外，案件彙編分類依事實、法條適用、推論及結論理由，提供政府及業界方便查閱。

二、繼續利用中醫藥法規諮詢作業平台，採互動方式，供業界提問有關之中醫藥法規問題。

(一) 中醫藥委員會尚未於資訊系統建立一個電子郵件信箱地址(e-mail address)，繼續由中華民國藥事品質改革協會提供電子郵件(tqipa@tqipa.org.tw)及傳真專線(02-28235573)回復業界。

(二) 中藥法規諮詢作業平台流程，分為「政府機制」及「業界機制」二大部分，繼續執行。流程如下：





(三) 中醫藥委員會業於 100 年 3 月 15 日以衛中會研字 1000002962 號行文各相關公會

(四) 計有中醫藥委員會轉來台灣區中藥工業同業公會及台灣區製藥工業同業公會函詢 3 件，提供意見法律諮詢意見回復如下：

1. 台灣區中藥工業同業公會函請中醫藥委員會有關將傳統中藥製劑納入健保給付品項事宜，由中醫藥委員會轉來，提供意見法律諮詢意見回復。

回覆意見如下：

處方藥依健保法之規定應給付，所以是合理要求。但是因為中藥現採按日申報給付（一日 30 元），故本案建議行文健保局，請該局依健保法之規定，開放申請藥價或將來文所列處方藥納入給付。又可先簽請主管或主委考量所建議後，再行轉文。

2. 台灣區製藥工業同業公會建議 GMP 藥廠可以接受醫療院所委託製造、加工、分包裝處方藥品事宜，由中醫藥委員會轉來，

提供意見法律諮詢意見回復。

回覆意見如下：

- (1) 來函說明一有關「院內製劑可說是中藥處方權的延伸」一節，查處方行為為醫療行為之一環，係應特定病患之病情，經診治後開具處方箋之行為；調劑行為亦為醫療行為之一環，係由該經診治之特定病患持處方箋，再由藥事人員受理依法定程序調劑供應藥品之行為。故處方行為係屬醫療法及醫師法所定醫師義務，其處方用藥係依特定病患診斷之結果而為，非為醫師專屬權利，則所稱「中藥處方權」於法尚屬有間。
- (2) 又來函說明一有關「把處方變成製劑，不僅可以滿足臨床需要，也方便中醫師調劑」一節，查藥廠依法僅得製造販賣所製造之藥品，與醫療機構之調劑供應藥品無涉，尚非得受委託執行後端調劑行為，則所稱「把處方變成製劑」，顯將屬醫療行為之調劑行為，與屬商業行為之製造藥品行為混為一談，恐有邏輯謬誤。
- (3) 來函說明二有關「建議中醫醫療院所依中醫理論及臨床經驗之方劑配方，得以委託 GMP 藥廠製造」一節，查藥品製造、加工或委託製造，皆須由符合藥品優良製造規範之藥品製造業者，依據藥品許可證查驗登記所定之製造程序為之，則醫療院所既無藥品許可證，則委託 GMP 藥廠製造方劑配方，於現行法規尚有不合。
- (4) 又查病患需經醫師診治，依各人病情取得處方箋，則每人之處方藥品內容未盡相似，其既已特定，尚無從事前製造相同處方之藥品。又藥廠依許可證所製造之中藥製劑，單、複方在所多有，醫療院所依據病患主訴診斷處方，自可由單方製劑調配或調製，或由複方製劑加單方調配或調製，並無困難。
- (5) 故，藥品調劑屬醫療行為，依法必須在醫療機構或藥局內由專業人員執行；藥品製造屬商業（製造販賣）行為，依法必須販售予醫療機構、藥局或藥商，指示供應或販賣；二者分別法定，尚不得混同。醫療院所無法申請查驗登記取得許可證，即無從依藥事法之規定委託製造。且治療就診之特定病患，其疾病未盡相同，倘事前統一處方內容，預先製造，顯

不合理。又倘容許醫療院所委託製造處方內容藥品，則亦需平等容許藥局或藥商委託藥廠配製指示藥或成藥，果如此，必將紊亂法制，背離醫療法及藥事法之法目的，顯非適法。

3. 有關臺灣製藥公會提出之「中醫醫療院所中藥製劑委製管理辦法」草案，以及修訂藥品查驗登記審查準則第七十五條增訂第八款「得以醫療機構開立之處方為處方依據」及第七十九條增訂第五款「依據醫療機構開立之處方者，得參考相關固有典籍所載」。以利申請藥品查驗登記許可。是否符合現行法令規定可供執行之方案？

回覆意見如下：

藥品查驗登記審查準則修正草案條文對照表

修正條文	現行條文	諮詢意見
<p><u>第 75 條</u> 中藥之處方依據應符合下列規定：</p> <p>一、以中央衛生主管機關公告之基準方為處方依據，其劑型、處方內容，應與基準方所載者相同。但出典不同者，不在此限。</p> <p>二、固有典籍所載之處方，得為處方依據。本章所稱固有典籍，係指醫宗金鑑、醫方集解、本草綱目、本草拾遺、本草備要、中國醫學大辭典及中國藥學大辭典。</p> <p>三、以內政部核發或其後經中央衛生主管機關換發之非屬固有典籍收載之藥品許可證，不得為處方依據。</p> <p>四、非屬前款所列之其他典籍，與其他藥商藥品許可證之處方，得為參考依據。</p> <p>五、申請外銷專用許可證，得以輸入國藥典、基準方或其訂單要求為參考依據。</p>	<p><u>第 75 條</u> 中藥之處方依據應符合下列規定：</p> <p>一、以中央衛生主管機關公告之基準方為處方依據，其劑型、處方內容，應與基準方所載者相同。但出典不同者，不在此限。</p> <p>二、固有典籍所載之處方，得為處方依據。本章所稱固有典籍，係指醫宗金鑑、醫方集解、本草綱目、本草拾遺、本草備要、中國醫學大辭典及中國藥學大辭典。</p> <p>三、以內政部核發或其後經中央衛生主管機關換發之非屬固有典籍收載之藥品許可證，不得為處方依據。</p> <p>四、非屬前款所列之其他典籍，與其他藥商藥品許可證之處方，得為參考依據。</p> <p>五、申請外銷專用許可證，得以輸入國藥典、基準方或其訂單要求為參考依據。</p>	<p>修正增列第八款，符合修正目的。</p>

修正條文	現行條文	諮詢意見
<p>六、處方依據之劑型，應與擬製造、輸入者相符，如為湯劑或應為煎煮者(如煮散)，不宜作為傳統丸劑、散劑。</p> <p>七、含有茶葉之感冒(咳嗽)製劑，除別有規定外，其一日茶葉之最大添加量為三點七五公克。</p> <p>八、<u>得以醫療機構開立之處方為處方依據。</u></p> <p>檢附處方依據，應記載所據之參考許可證字號或書名、版次及頁數，並應附依據影本。</p>	<p>六、處方依據之劑型，應與擬製造、輸入者相符，如為湯劑或應為煎煮者(如煮散)，不宜作為傳統丸劑、散劑。</p> <p>七、含有茶葉之感冒(咳嗽)製劑，除別有規定外，其一日茶葉之最大添加量為三點七五公克。</p> <p>檢附處方依據，應記載所據之參考許可證字號或書名、版次及頁數，並應附依據影本。</p>	
<p><u>第 79 條</u></p> <p>填載查驗登記申請書之效能或適應症欄，應符合下列規定：</p> <p>一、如係依據中央衛生主管機關公告之基準方者，所載應與基準方相同。</p> <p>二、如係依據固有典籍者，所載應與典籍相符。</p> <p>三、如係依據其他藥商之藥品許可證者，所載應與其相符。</p> <p>四、如係完成臨床試驗，應依核備之臨床試驗報告擬定效能或適應症。</p> <p><u>五、依據醫療機構開立之處方者，得參考相關固有典籍所載。</u></p>	<p><u>第 79 條</u></p> <p>填載查驗登記申請書之效能或適應症欄，應符合下列規定：</p> <p>一、如係依據中央衛生主管機關公告之基準方者，所載應與基準方相同。</p> <p>二、如係依據固有典籍者，所載應與典籍相符。</p> <p>三、如係依據其他藥商之藥品許可證者，所載應與其相符。</p> <p>四、如係完成臨床試驗，應依核備之臨床試驗報告擬定效能或適應症。</p>	<p>1.修正增列第五款，符合修正目的。</p> <p>2.惟既依據醫療機構開立之處方，顯與固有典籍所載不同，故建議參照<u>行政院衛生署處理民間中藥驗方實施要點</u>有關「臨床療效判定，必要時作毒性試驗」之規定，備具相關臨床療效判定資料。</p> <p>3.建議文字再修正為「如係依據醫療機構開立之處方者，應提出臨床療效判定。」。</p>

中醫醫療院所中藥製劑委製管理辦法草案

條文	說明	諮詢意見
第一條 為加強中醫醫療院所中藥製劑委製管理，依藥事法第八條規定及藥品查驗登記審查準則，制定本辦法。	法源仍不明確，先引用藥事法第八條「醫師處方藥品」	1.藥事法第八條「醫師處方藥品」，尚無法成為本辦法之授權依據，建議刪除，僅依據藥品查驗登記審查準則第七十五條及第七十九條之規定。 2.子法規再制定相關執行內容，宜以類似「要點」等名稱為之。 3.建議修正條文為「為加強中醫醫療機構中藥製劑委製管理，依藥品查驗登記審查準則第七十五條及第七十九條之規定，制定本要點。」
第二條 本辦法所稱中醫醫療院所中藥製劑，乃指中醫醫療院所依據其臨床需要非固有成方製劑，應依本辦法管理之。	名詞定義	1.醫療機構為醫療法之法定名稱，醫療院所宜修正為 醫療機構 。 2.建議修正條文為「本要點所稱中醫醫療機構中藥製劑，係指中醫醫療機構依據其臨床需要，所擬具之非固有成方製劑。」
第三條 申請人應為依法設立之中醫醫療院所，並具有中藥販賣業藥商執照。其持有中藥製劑委製許可證，以十張為限。	申請人資格，需為中醫醫療院所，且具有販賣業藥商資格才得以依本辦法提出申請許可證，並管理藥證數量	1.依據藥事法及現行各相關法規，醫療機構無法領有中藥販賣業藥商執照。 2.建議修正條文為「 醫療機構 申請 委製中藥製劑 以十張為限。」
第四條 其委託製造應依「藥物委託製造及檢驗作業準則」辦理之。 受託製造廠應為符合藥物製造工廠設廠標準第三編規定之藥物工廠。	受託製造資格	建議修正條文為「 醫療機構申請委製中藥製劑 ，應依藥物委託製造及檢驗作業準則 有關委受者之規定 辦理之。」
第五條 本辦法所稱之中藥製劑，僅限於中醫醫療院所由執業中醫師處方使用，並得供應同醫療體系其他分院調劑。	使用範圍	建議修正條文為「 醫療機構委製 之中藥製劑，僅得供應 該醫療機構及其分設之醫療機構 使用。」

條文	說明	諮詢意見
第六條 中藥製劑委製之申請與管理依「藥品查驗登記審查準則」規定辦理之。 其處方內容不得含有毒性藥材。 同時包裝需明顯標示「本製劑僅限醫院使用」。	申請方式仍依查登方式審查	建議修正條文為「(第一項) 醫療機構委製之 中藥製劑, 應由受託者 依藥品查驗登記審查準則之規定辦理之。(第二項) 前項 處方內容不得含有毒性藥材, 包裝 應 明顯標示「本製劑僅限 (申請人) 醫院使用」。
第七條 <u>違反本辦法之規定者, 得依藥事法及相關法律等相關規定為之。</u>	仍有醫師法及相關法律需遵守	各法律皆有規定, 建議刪除。 建議另定施行日, 修正條文為「 本要點由行政衛生署發布日施行 」。

三、定期彙編中醫藥法規諮詢案件審議結果, 依「產品製造管理相關案件」、「產品查驗登記管理相關案件」、「藥事專業人員法律行為管理相關案件」、「藥事機構管理相關案件」、「藥物廣告管理相關案件」、「法律爭訟事件」及「其他相關案件」之類別, 分類整理, 提供各相關公、學、協會參考。

(一) 將中醫藥法規諮詢小組之審議結論加以整理, 彙整中醫藥法規諮詢小組 5 次會議共計 41 個議題, 並將議題分為「產品製造管理相關案件」、「產品查驗登記管理相關案件」、「藥事專業人員法律行為管理相關案件」、「藥事機構管理相關案件」、「藥物廣告管理相關案件」、「法律爭訟事件」及「其他相關案件」七類, 製作「中醫藥法規諮詢小組 101 年法案彙編(全)」, 如附件一。

(二) 法案彙編每四個月彙報, 分別以 101 年 4 月 5 日(101)藥改字第 101012 號、100 年 7 月 6 日(101)藥改字第 101035 號、101 年 9 月 26 日(101)藥改字第 101042 號函陳中醫藥委員會作為法規實務運用, 並提供給各界參考。

四、繼續檢視現行之行政規章及解釋令函, 比較世界衛生組織、美國、歐盟、日本及中國大陸有關之法律規章, 就攸關政策面之各國有關中藥製造與流通管理具有參考價值部分, 提供中醫藥委員會參考。

(一) 每月檢視我國現行之行政規章及解釋令函, 與世界衛生組織、美國、歐盟、日本及中國大陸有關之法律規章比較分析, 分析結果提報「中醫藥法規諮詢小組」審議。

(二)就世界衛生組織、美國、歐盟、日本及中國大陸有關下列中藥藥事相關法律資訊網頁查詢：

1. 世界衛生組織 WHO Collaborating Centres for Traditional Medicine
(<http://www.who.int/medicines/areas/traditional/collabcentres>)
2. 美國 FDA 之 Botanical Review Team (BRT)
(http://www.fda.gov/cder/Offices/ODE_V_BRT)
及 Government Printing Office (GPO) (<http://www.gpoaccess.gov>)
3. 歐盟 Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC)
(<http://www.emea.europa.eu/htms/general/contacts/HMPC>)
4. 日本厚生勞動省 (<http://www.mhlw.go.jp>)
5. 中華人民共和國國家食品藥品監督管理局
(<http://www.sda.gov.cn>)
及國家中醫藥管理局 (<http://www.satcm.gov.cn>)

(三)定期上網，以關鍵字：世界衛生組織-Traditional Medicine；美國-botanical、herbal；歐盟-Traditional Herbal Medicinal Products (THMP) 及 herbal；日本-漢方；中國大陸-中药，蒐集、整理與我國中藥相關流通管理法令規章比較分析，提交「中醫藥法規諮詢小組」報告分析結果。

(四)蒐集、整理各國中藥流通管理與相關事件之最新法律規章解釋令函等資訊，共計收集有參考價值者 24 篇，其中、歐盟 16 篇、日本厚生勞動省 3 篇及中國大陸 5 篇，其重要內容列表如下：

1. 歐盟 HMPC16 篇：

發布單位	發布時間	名稱	重要內容
HMPC	2011 年	Regulatory Q&A on herbal medicinal products	常見中草藥問答集
HMPC	2012 年	HMPC work programme for 2012-2015	批准 2012 至 2015 年工作方案，目的為訂定中醫藥立法框架加強中藥材的整合

發布單位	發布時間	名稱	重要內容
HMPC	2012 年	Reflection paper on the use of starting materials and intermediates collected from different sources in the manufacturing of biological medicinal products	對生物醫療藥品的起源之回饋意見
HMPC	2012 年	Overview of comments received on the draft Public statement on the use of herbal medicinal products containing thujone (EMA/HMPC/732886/2010)	對使用草藥產品含側柏酮(thujone)的公開聲明草案(EMA/HMPC/732886/2010)之回收意見概述
HMPC	2012 年	Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP)Annex I - Definitions	良好藥物安全監測指南(GVP)-定義
HMPC	2012 年	Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP)Module I – Pharmacovigilance systems and their quality systems	良好藥物安全監測指南(GVP)-藥物監測系統及品質系統
HMPC	2012 年	Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP)Module VI – Management and reporting of adverse reactions to medicinal products	良好藥物安全監測指南(GVP)-藥品不良反應之管理與回報
HMPC	2012 年	Procedure on the publication of HMPC public statements when Community herbal monographs on herbal	尚未建立專論(monograph)之草藥物質、製劑及(或)其組合專論建立程序

發布單位	發布時間	名稱	重要內容
		substances, preparations and/or combinations thereof are not established	
HMPC	2012 年	Procedure for the systematic review of Community herbal monographs and supporting documents	草藥專論系統和證明文件的審查程序
HMPC	2012 年	Concept paper on non-pharmacopoeial reference standards for herbal substances, herbal preparations and herbal medicinal products / traditional herbal medicinal products	草藥物質、草藥製劑和草藥產品/傳統草藥產品，非藥典參考標準的概念文件
HMPC	2012 年	Uptake of the traditional use registration scheme and implementation of the provisions of Directive 2004/24/EC in EU Member States	歐盟成員國對「(中草藥)傳統使用註冊方案」及「2004/24/EC」指令規定之執行程度報告
HMPC	2012 年	Periodic Safety Update Reports under the new EU Pharmacovigilance Legislation (and the interface between the Risk Management Plan and the Development Safety Update Report)	根據新的歐盟藥物安全監測法規之定期安全性更新報告，(風險管理計畫和安全性發展更新報告之間的介面)
HMPC	2012 年	Questions and answers on practical transitional measures for the implementation of the pharmacovigilance legislation	這份文件提供關於新的藥物安全監測法規((歐盟)規例第 1235/2010 號指令 2010/84/EU)初始階段的運作的實際考慮因素

發布單位	發布時間	名稱	重要內容
HMPC	2012 年	Guideline on the Investigation of Drug Interactions	「藥物交互作用研究準則」；新的醫藥產品及已上市的藥物應評估藥物交互作用動力學之潛力。亦適用於醫藥產品對其他藥物，以及其他藥物對醫藥產品兩種情形下對其效果之影響。此外，食物攝取量的影響亦需要進行調查。藥物和藥物交互作用潛力通常先以體外研究再進行體內研究。交互作用的研究結果通常被用來作為基礎以預測有關的交互作用機制。治療建議的制定乃根據臨床相關發現的交互作用可能性去做劑量上或治療監測的調整
HMPC	2012 年	eXtended EudraVigilance Medicinal Product Report Message (XEVPRM)	本文件旨在提供以通用技術文件(CTD)格式提出傳統草藥產品(THMPs)之指導意見幫助申請人提交意見書
HMPC	2012 年	Guideline on the use of the CTD format in the preparation of a registration application for traditional herbal medicinal products	本文件為藥物交互作用調查的指導原則

2. 日本厚生労働省 3 篇：

發布單位	發布時間	名稱	重要內容
日本厚生労働省	平成 23 年 12 月 13 日	漢方生薬製剤に用いる原料生薬の放射性物質検査検査方法のガイドライン	漢方草薬製剤使用原料草薬的放射物質検査辦法指導方針(guildline)
日本厚生労働省	平成 23 年 10 月 14 日	放射性物質に係る漢方生薬製剤の取扱いについて	關於與放射性物質相關之漢方草薬製剤的使用
日本厚生労働省	平成 24 年	生薬及び漢方生薬製剤の製造管理及び品質管理に関する基準(日本製薬団体連合会自主基準)について	關於草薬及漢方草薬製剤的製造管理與品質管理基準(日本製薬團體聯合會自訂基準)

3. 中國國家食品藥品監督管理局 5 篇：

發布單位	發布時間	名稱	重要內容
中國國家食品藥品監督管理局	2012 年 2 月 20 日	關於徵求進一步加強含麝香等藥材中成藥品種監督管理意見的通知	加強含麝香等藥材中成藥品種的監督管理
中國國家食品藥品監督管理局	2012 年 3 月 19 日	药品定期安全性更新报告撰写规范	指導藥品生產企業起草和撰寫《定期安全性更新報告》的技術文件，也是藥品不良反應監測機構評價《定期安全性更新報告》的重要依據
中國國家食品藥品監督管理局	2012 年 5 月 7 日	关于板蓝根分散片等 32 种药品转换为非处方药的通知	中國國家食品藥品監督管理局將板藍根分散片等 32 種藥品(化學藥品 3 種、中成藥 29 種)轉換為非處方藥之說明書範本
中國國家食品	2012 年 6 月 28 日	关于做好 2012 年度药品电子监管工作的通知	自 2012 年度對進口藥品中的麻醉藥品、精神藥品、血

發布單位	發布時間	名稱	重要內容
藥品監督管理局			液製品、疫苗、中藥注射劑及基本藥物增補品種實施電子監管
中國國家食品藥品監督管理局	2012年8月1日	国家食品药品监督管理局关于印发加强药用辅料监督管理有关规定的通知	進一步加強藥用輔料生產和使用管理，保證藥品質量，督促相關單位遵照執行及監督檢查之作業

4. 經法政小組討論，分別以 101 年 4 月 9 日(101)藥改字第 101013 號函及 100 年 9 月 28 日(101)藥改字第 101043 號函陳行政院衛生署中醫藥委員會參考。

5. 各項法規資訊詳細內容，如附件二。

(五)每月彙整衛生署各單位（包括食品藥物管理局、健保局等）及中醫藥委員會所發布有關中藥之法規命令、行政規章及解釋令函，查詢法務部及司法院有關之司法判解、判解函釋及裁判書等相關法律資料，每半年依格式提供中醫藥委員會，更新各欄位資料。

1. 共計查得：行政函釋 13 筆、法規 17 筆、裁判書 94 筆及司法判解 7 筆，合計 131 筆。

2. 101 年 4 月 8 日以(101)藥改字第 101016 號函更新行政函釋 9 筆、法規 7 筆、裁判書 54 筆及司法判解 5 筆，合計 75 筆。

3. 101 年 9 月 21 日以(101)藥改字第 101041 號函更新行政函釋 4 筆、法規 10 筆、裁判書 40 筆及司法判解 2 筆，合計 56 筆。

五、依據中醫藥委員會政策決定之中藥輻射滅菌作業準則及相關藥事法修正草案之法條，協助中醫藥委員會邀集相關公學協會舉辦公聽會或發布預告後，依照立法格式，擬具各項法規修正草案總說明及條文對照表，提供中醫藥委員會作修法政策參考。

(一)本計畫於 100 年 9 月 15 日邀集消費者團體、中藥業界、藥師公會、中藥商公會、中醫師公會、中藥藥學及法學專家學者召開「中藥材輻射滅菌管理架構（草案）」座談會，報告「國內中藥界實施輻射滅菌現況調查報告」，並邀請與會專家學者清華大學核子工程與科學研究所周鳳英教授針對「國際對食藥品輻射現況及其輻射研究成果」進行專題報告。

(二)座談會重點如下：

1. 從安全、品質及療效三層面分析輻射方式滅菌。安全面，經輻射滅菌效果佳，中藥材更加衛生安全；品質面來講，多數藥材幾乎沒有改變；療效部分依照各種中藥材狀況不同而有所差異。若以此角度切入，輻射方式滅菌實屬適合推廣之技術，卻多年未行，原因何在？

(1) 對於「輻射」的相關知識民眾瞭解有限，若再加上訊息不夠公開透明，又缺乏科學證據的情況下，自然會造成消費者疑慮。

(2) 民眾擔心採用輻射照射方式處理後產生的後續問題，如：輻射殘留、生物異變等狀況，以目前的科技醫療水準，尚無法解決。

(3) 為解決大眾因不了解而產生的疑慮，積極的「推廣」及「說明」是必要的。主管機關應訂定「法律」及「規範」，針對民眾則用「教育」及「宣傳」的方式達成目標。

(4) 中草藥輻射照射滅菌考量到成本效益，宜鎖定昂貴不易取得的珍貴藥材。若使用年限長或易取得之中藥材亦照射，會使製造成本負擔加重。

(5) 是否推廣科學中藥均採輻射照射方式滅菌，尚有討論空間。

2. 輻射方式滅菌的缺點究竟為何？

對中醫藥界而言，金錢花費是主要的問題。再者，就是安全管控，照射廠商如何謹慎縝密的控管其設施配備，則屬另一層面的考量。

3. 中藥材不得進行重複照射。但含水份低之中藥材為控制病蟲害，經主管機關許可，得進行重複照射，其總累積吸收劑量不得超過10kGy。是否妥適？

(1) 訂定累積吸收劑量標準主要考慮以下兩點：

A. 中藥材確實達到滅菌效果

B. 中藥材藥性及化學組成是否改變

(2) 各中藥材達到滅菌效果的輻射照射量分歧性高，數值不一，最大吸收量的訂定，尚待更多的科學實驗證據資料佐證。

(3) 因各種類中藥材所能承受之輻射劑量不同，故應採用正面列舉公告，經科學證據實驗佐證後，訂出許可吸收劑量，該品

項藥材方可在該劑量下，進行輻射方式滅菌。

(4)多數中藥材 10kGy 照射量下可達滅菌效果。但依照各藥材特性及菌株種類仍存在變數。

(5)曾針對「薄荷」進行輻射照射，研究發現 3kGy 之劑量下 HPLC 色譜即產生改變，顯示其成分有改變。

4. 對於經輻射方式滅菌的中藥材進行標示。

(1)有經過輻射方式滅菌之中藥材，應予明確的標示，以維護消費者「知」的權益。

(2)新功藥品工業有限公司表示，短時間內張貼輻射滅菌標籤的作法只會引起消費者恐慌，並不會有正向意見。

5. 整個輻射方式滅菌的過程及可能引發之後果，是否立法管理？應由誰承擔整體責任？而相關管理辦法之規範對象又為何？

(1)中醫師全聯會認為只要現況有採用輻射方式滅菌，一定要有相關的法律及配套的管理辦法。

(2)制定管理架構應內外一致，不僅針對國內廠商要求，國外進口之中藥材也必須同樣進行規範。

(3)新功藥品工業有限公司認為針對客訴及責任承擔，若對藥材的原料或在製成過程中將藥材送去照射，之後產品發生問題，應由廠商來負責。且不需要張貼已接受輻射照射之標籤，因為即使加貼標籤，對廠商而言責任問題依然不會轉移，反而會造成部分消費者流失。

(4)台灣區製藥公會認為中藥材不完全屬於藥品。中藥材有藥食同源，若要訂定相關管理，是否應考慮分等級管理。

(5)輻射滅菌管理架構是在管理設備材料，還是在管理產品？應該要釐清，才能分別訂定管理法規。

6. 共識結論：

(1)中藥材採取輻射方式滅菌，應經科學的認證，並以正面列舉的方式公告劑量和產品品項。

(2)任何經輻射方式滅菌之中藥材，均應標示。

(3)是否採輻射方式滅菌，係屬廠商選擇，故相關產品責任宜由廠商負責。

(三)依據各界意見，擬妥「中藥輻射滅菌作業準則」及相關藥事法修正草案之法條如下：

中藥輻射滅菌管制作業準則（草案）

條文	說明
<p>第1條 本準則為確保中藥材產品具有顯著滅菌殺蟲效果，達到防霉、防蛀、防走油等防變質目的，以安全、正確之方式實施輻射滅菌，並保證消費者使用衛生安全以及危害通報，依藥事法第五十七條第六項之規定訂定之。</p>	目的及法源。
<p>第2條 中藥業者輸入、製造、販賣之中藥材，採輻射方式滅菌者，適用本準則之規定，本準則未規定者，依其他有關輻射防護法規之規定。</p>	特別規定。
<p>第3條 本準則相關定義如下： 一、輻射滅菌：係指按照游離輻射防護法之規定，以 γ 射線、X 射線或加速電子對中藥材產品進行加工之過程。 二、輻射量測定：在某一特定點對指定的吸收媒介所吸收的輻照劑量進行測量。 三、吸收劑量：係指每單位重量經輻射滅菌之中藥材產品所吸收劑量之總和。 四、劑量分布：係指最高吸收劑量的極限值和最低吸收劑量在整個批量產品中吸收劑量之空間分佈。 五、劑量限值：係指各中藥材產品之最高或最低輻照吸收劑量。中藥材產品任何部分之吸收劑量不得低於或高於主管機關所定之特定值。</p>	相關名稱定義。
<p>第4條 為達下列目的之中藥材，得使用輻射方式滅菌： 一、抑制發芽：破壞種子生長點，始其無法分裂生長發育，以降低產品失重、延長保存期間。 二、殺死昆蟲：去除所含昆蟲與蟲卵，以減少昆蟲對中藥材的傷害與使用安全。 三、去除霉菌：殺除霉菌與孢子，以減少中藥材外觀破壞與使用安全。 四、去除致病菌。</p>	規範中藥材得使用輻射方式滅菌之目的。
<p>第5條 主管機關應以不影響藥材之有效性、一致性及安全性，公告適合輻射滅菌之藥材。 業者得依主管機關公告品項，選擇不同之滅菌方式。</p>	主管機關應公告適合輻射滅菌之藥材。
<p>第6條 主管機關應依藥材特性不同，訂立藥材最高受照射劑量。 業者可依實際品管狀況調整所需劑量。</p>	主管機關應訂立藥材最高受照射劑量。
<p>第7條 中藥材得使用下列輻射滅菌之電離輻照源（射源）： 一、放射性核元素鈷 60（Co-60）或銫 137（Cs-137）產生之 γ 射線。</p>	得使用輻射滅菌之電離輻照源。

條文	說明
<p>二、 機械源產生能量小於或等於 5 MeV 之 X 射線。</p> <p>三、 電子加速器產生能量低於 10MeV 之電子束。</p>	
<p>第 8 條</p> <p>中藥材接受輻射滅菌之最大吸收劑量，不得高於 10kGy，不得危及消費者之安全 and 健康，不得對中藥材結構之完整性、功能性質、感官屬性產生不利影響。</p> <p>最小吸收劑量應足以實現所要達到的技術目的。</p>	<p>規範接受輻射滅菌之最大吸收劑量及最小吸收劑量。</p>
<p>第 9 條</p> <p>實施輻射滅菌之業者，其設施及人員應依游離輻射防護法之規定。</p>	<p>設施及人員應依游離輻射防護法之規定。</p>
<p>第 10 條</p> <p>實施輻射滅菌之作業場所、設施及品保制度，應符合食品衛生管理法所定食品良好衛生規範（GMP）及食品安全管制系統（HACCP）之規定。</p>	<p>規範作業場所、設施及品保制度。</p>
<p>第 11 條</p> <p>實施輻射滅菌之中藥材產品，包裝應予識別及編碼，相關參數如日期、時間、輻射源強度、最低和最高劑量、溫度等應予記錄。</p>	<p>包裝應予識別及編碼。</p>
<p>第 12 條</p> <p>為防止交叉污染，中藥材產品應區分輻射照射滅菌和非輻射照射滅菌，待輻射滅菌中藥材與已輻射滅菌的中藥材應當分別放置，其貯存及輻照區域亦應區隔。</p>	<p>應防止交叉污染。</p>
<p>第 13 條</p> <p>輻射滅菌應依每種中藥材產品特性，進行劑量分布測量，並製作紀錄。輻射量測定，應參照 ISO/ASTM 之標準操作。</p>	<p>應進行劑量分布測量。</p>
<p>第 14 條</p> <p>採輻射滅菌方式之藥材，業者應至少提供感官性狀、指標成分、毒理研究及微生物等安全性評價資料。</p>	<p>業者應提供安全性評價資料。</p>
<p>第 15 條</p> <p>實施輻射滅菌之程序，應建立包括定量劑量測定在內的完整記錄，供相關主管機關查核。</p>	<p>應建立完整記錄，供主管機關查核。</p>
<p>第 16 條</p> <p>輻射滅菌應在完成包裝後，方得實施。</p> <p>實施輻射滅菌，應確認輻射照射不影響包材之特性及貯藏之安定性。</p>	<p>應在完成包裝確認安定性後實施。</p>
<p>第 17 條</p> <p>實施輻射滅菌前，應確認中藥材及其包裝材料按照食品衛生管理法所定衛生安全及品質之標準，且能夠有效隔離再污染及蟲害。</p>	<p>應確認包裝材料符合法令規定。</p>
<p>第 18 條</p> <p>中藥材不得進行重複照射。但含水份低之中藥材為控制病蟲害，經主管機關許可，得進行重複照射，其總累積吸收劑量不得超過 10kGy。</p>	<p>不得重複照射及例外情形。</p>

條文	說明
<p>第 19 條 經檢驗背景輻射值為 0.2 微西弗之產品，應即銷毀。</p>	背景輻射值限量銷毀。
<p>第 20 條 經輻射滅菌之中藥材，應標示下列安全資訊： 一、產品輻照日期。 二、作業批號。 三、產品批號。 四、分裝或開封後之保存方式及保存期限。 五、輻照劑量。 六、輻照業者名稱、地址、聯絡電話。</p>	應標示之安全資訊。
<p>第 21 條 出售給最終消費者之散裝中藥材，應在產品盛裝容器上標明產品名稱及輻射滅菌處理方式如「經輻射滅菌」、「經電離輻照處理」等字樣。</p>	應在散裝容器標示內容。
<p>第 22 條 輻射滅菌之中藥材引起不良反應發生時，業者得知後應填具通報書，連同相關資料，向中央衛生主管機關或其委託機構通報。 前項中央衛生主管機關或其委託機構，於必要時，得向醫療機構、藥局及藥商請求提供不良反應病人之就醫紀錄、給藥紀錄或產品資料，醫療機構、藥局及藥商不得拒絕。</p>	不良反應通報及業者義務。
<p>第 23 條 違反本準則之規定者，依游離輻射防護法、食品衛生管理法及藥事法相關規定處辦。</p>	違反規定之處置。
<p>第 24 條 本準則自發布日施行。</p>	施行日。

配合制定「中藥輻射滅菌管制作業準則」，藥事法第 57 條修正增列第六項法律授權，擬具草案條文對照表如下：

藥事法第 57 條修正草案條文對照表

修正條文	現行條文	說明
<p>第 57 條 製造藥物，應領有工廠登記證。但經中央衛生主管機關核准為研發而製造之藥物，不在此限。藥物製造工廠或場所之設備及衛生條件，應符合藥物製造工廠設廠標準，經衛生及工業主管機關檢查合格後，始予核准登記；其廠址或場所遷移者，應申請變更登記。</p> <p>藥物之製造符合中央衛生主管機關規定者，藥商得繳納費用，向中央衛生主管機關申領證明書。</p> <p>藥物之國外製造廠，準用前二項之規定，並由中央衛生主管機關定期或依實際需要赴廠檢查之。</p> <p>前四項之申請條件、審查程序、核准基準及其他應遵行之事項，由中央衛生主管機關會同中央工業主管機關定之。</p> <p><u>藥物以輻射方式滅菌之管制作業及標示管理之準則，由中央衛生主管機關定之。</u></p>	<p>第 57 條 製造藥物，應領有工廠登記證。但經中央衛生主管機關核准為研發而製造之藥物，不在此限。藥物製造工廠或場所之設備及衛生條件，應符合藥物製造工廠設廠標準，經衛生及工業主管機關檢查合格後，始予核准登記；其廠址或場所遷移者，應申請變更登記。</p> <p>藥物之製造符合中央衛生主管機關規定者，藥商得繳納費用，向中央衛生主管機關申領證明書。</p> <p>藥物之國外製造廠，準用前二項之規定，並由中央衛生主管機關定期或依實際需要赴廠檢查之。</p> <p>前四項之申請條件、審查程序、核准基準及其他應遵行之事項，由中央衛生主管機關會同中央工業主管機關定之。</p>	<p>配合制定「中藥輻射滅菌管制作業準則」，增列第六項。</p>

(四)依據所擬具之「中藥輻射滅菌作業準則」及相關藥事法修正草案之法條，諮詢相關專家學者，討論中藥輻射滅菌管理相關問題，不同劑量照射對藥材影響之差異，目前實驗結果成分不致因照射而改變，並比較國外目前之開放標準，以及輻射滅菌對於中藥品質的影響。議題及整理討論結果如下：

1. 製作議題如下：

(1)是否參考國際標準（WHO 等）程序進行照射？

a.使用哪些輻射滅菌方法？使用劑量為何？

b.藥材需經過哪些前處理？

c.定量實驗的藥材重量、體積、數量、批數、重複次數...等。

d.是否有方法驗證輻射是否均勻、完全？（劑量是否達到標準

或每批具有一致性)

- e. 輻射滅菌後是否應進行毒性測試，毒性測試方法有哪些？結果為何？
- f. 進行輻射滅菌時，哪些品項有特殊值得注意、探討的現象？
 - (a) 是否所有藥材皆適合使用輻射方法進行滅菌？
 - (b) 例外為何？原因？（如有效成分被分解或改變...等）
 - (c) 已有研究結果之藥材有哪些？
- g. 是否應針對包裝材料進行研究？哪些包材不適合輻射滅菌？或是包材種類是否影響劑量？
- h. 進行輻射滅菌後，建議如何保存與儲存藥材？

(2) 針對規範方式的建議

- a. 認為輻射滅菌方法是否適合用於中藥材？業界有哪些疑慮？如何針對疑慮進行改善或解決？
- b. 對於中藥材實施輻射滅菌有何建議？
- c. 哪些品項適合使用？
- d. 建議應規定進行哪些毒性測試？
- e. 建議規定照射後的輻射殘留如何訂定？
- f. 是否認為應規定標示？應標示哪些項目？
- g. 不同之中藥材，以輻射方式滅菌之照射劑量是否不同？是否應建立管理機制？植物不同部位、產地、採收時間等是否也會影響照射劑量？需根據何種指標訂定不同標準。

(3) 照射廠商相關問題

- a. 提供輻射滅菌的機構是否應有認證？應有哪些認證？由什麼單位進行認證？
- b. 國內的輻射機構是否能符合國際規範（如歐盟、美國、中國...等）？是否能取得其他國家的認可？
- c. 進行輻射滅菌之產品上市後，其品質責任應由藥材廠商或照射廠商負責？

2. 於 2012 年 4 月 25 日拜訪中國生化科技股份有限公司郭建榮經理及中國醫藥大學張永勳教授，討論結論如下：

- (1) 因為無國際相關標準程序，照射程序多為自行設計。
- (2) 主要輻射滅菌方法包括 γ 射線、X-ray 及 e-beam 三種。中國生化使用 Co60 (γ 射線) 射源，照射程序已標準化，劑量

則控制在一個循環 (round) 5kGy，依劑量需求調整循環次數。

- (3) 未限制藥材前處理方式，由委托廠商自行訂定。
- (4) 中國生化之輻射劑量偵測採用美國 Far West 公司的軟片型輻射劑量計，並以符合美國國家標準的方式偵測校正。照射前後以分光光度計計讀光吸收值，再以電腦程式計算出吸收劑量值。
- (5) 輻射滅菌照射中藥材之研究成果可查詢清華大學周鳳英教授、中國醫藥大學張永勳教授、台灣大學郝龍斌教授、食工所錢明賽副所長、核能研究所陳家杰教授、中國醫藥大學姚俊旭教授的研究資料，海洋大學也有相關研究，建議進一步查詢。
- (6) 張永勳教授認為進行輻射滅菌時，有效成分可能氧化，或較不安定的成分會受到影響。但大規模研究可能浪費研究資源。建議問卷詢問廠商哪些藥材最容易發霉、長菌或生蟲，針對這類藥材規畫研究方向較有用處。曾做過達到滅菌之兩倍、三倍劑量之有效成份研究，如此設計研究，較有參考價值。
- (7) 包材使用學問很大，應研究包材的耐受度及顏色變化等。目前大部份的材料都可以進行照射，除 PP 不可超過 30 kGy，但一般照射不會超過 30 kGy，因此可說無限制。(理論上麻布袋的包裝也是可以，只是照完之後很快就會失去滅菌效果，無實質意義)。
- (8) 照射之前先將產品包裝好，後續保存與儲存問題就不大。
- (9) 適用輻射滅菌的品項如不耐高溫、成分易揮發或茶包類產品，如果沒有滅菌過，菌量一定不合標準，而茶包本身為沖泡用途，若使用傳統高溫滅菌方式，則會失去風味及有效成分。
- (10) 建議應進行毒性測試實找一些極端的例子，較可能有顯著結果。
- (11) 輻射滅菌為射線穿透，其實無輻射粒子殘留問題，還需要教育消費者。其實有方法可以檢測產品是否有經過輻射照射，但成本很高。目前沒有標準實驗室可以檢測，沒有能

力檢測的情況下，不易建立管理方法。不同種類產品檢測方法都不同，歐盟目前已建置十種食品輻射照射檢驗方法。

(12) 產品經照射應標示，若是僅某一添加物有照射則不必標，但在歐盟是規定單一添加物若有照射就需要在旁以文字註明。標示有可能造成消費者恐慌，產品履歷制度若建立，出問題可追查，可解決標不標示的問題。

(13) 動、植、礦物以輻射方式滅菌之照射劑量應有不同考量。中國對單方有建立完整參考資料，歐洲規定 10kGy（已有規範），而美國是規定 herb 類 30kGy 以下。黴菌因為會產生內孢子，可抗輻射，所需劑量較高。

(14) 國內沒有針對輻射滅菌之認證方式，但中國生化有配合廠商進行過 GMP 查廠。中國生化已通過 ISO9000（品質）及 ISO13485（醫療器材品質）認證。另 PICs GMP 中有一章節在探討輻射滅菌，可供參考。

(15) 考量應以利益大於風險為主，顧慮產品安全性與有效性為出發點進行管理，藥材廠商與照射廠商兩者間為商業合作的關係，經輻射滅菌之產品強調的仍是廠商的「產品責任」。

(五) 蒐集各國新增相關輻射滅菌資料，引用輻射滅菌法之內容，定義何謂食品照射、食品照射之目的、照射技術之特點及方法、照射食品對成分產生之影響，整理各種輻射滅菌照射方法及過程，分析各種中藥在經過輻射滅菌後產生之影響，以及各國關於中藥輻射滅菌法律規定，分析如下：

1. ISO 於 2011 年 11 月 23 日發布「ISO 14470:2011 Food irradiation -- Requirements for the development, validation and routine control of the process of irradiation using ionizing radiation for the treatment of food. (食品輻照-輻照過程中使用的電離輻射處理食品的開發、驗證和常規控制要求)」，ISO 14470:2011 規範了使用電離輻射照射治療食物的過程中開發，驗證和常規控制的要求，並建立符合要求的準則。其中包括使用放射性核素 ^{60}Co 或 ^{137}Cs ，電子束或 X 射線發生器的照射過程。在 ISO 14470:2011 中的規範是食品輻照程序之最低限度要求。ISO 14470:2011 並未針對欲輻照食品之生產和/或收成、收成後處理、儲存、運輸及包裝等過程進行規範。只著重於照射過程中，可能會影響輻照食品的安全性或品質方的問題。ISO 14470:2011

亦未針對職業安全與輻照設施的設計和操作及設備測量與檢測有相關要求。ISO 14470:2011 並不免除使用者應遵守與適用之法律規範。

2. 歐洲食品安全局 The European Food Safety Authority (EFSA)在 2003 年發表了「Revision of the opinion of the Scientific Committee on Food on the irradiation of food (食品科學委員會對食品輻照之意見【修訂】)」。歐洲食品安全局於 2011 年發表了三篇相關論文 (ESFA Journal)「Statement summarising the Conclusions and Recommendations from the Opinions on the Safety of Irradiation of Food adopted by the BIOHAZ and CEF Panels」、「Scientific Opinion on the efficacy and microbiological safety of irradiation of food」及「Scientific Opinion on the Chemical Safety of Irradiation of Food」,分別為歐盟執行委員會 (European Commission) 之 Panel on Biological Hazards (BIOHAZ Panel)與 Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF Panel)針對食品輻照安全的綜合結論與建議、食品輻照的確效與微生物安全性之科學意見及食品輻照的化學安全性之科學意見。

EFSA 專家認為,使用食品輻照的消費者有沒有微生物風險。但照射方法應僅被視為減少食物中的病原體的方法之一。食品照射應該是一個綜合性的食品安全管理方案(包括良好的農業、製造及衛生操作)的一部分。而輻照過程中形成的物質,大部分與其他類型的食品加工過程(如熱處理)所形成之物質含量相近。

目前歐洲的輻照食品數量非常有限,僅有某些研究報告指出極高劑量照射之動物食品會使貓隻產生神經性的問題,這些影響被發現僅在貓。然而此現象的成因與機制尚未獲得解釋,將需要進一步研究,以評估對人類健康之影響。

BIOHAZ and CEF Panels 建議,可輻照食品的劑量決定不應只根據食品類別,還應該考量細菌種類、需降低的菌量水平(the level of bacterial reduction required)、食品是新鮮、冷凍或經乾燥處理,或食物的脂肪或蛋白質含量等因素。也應考慮到食品的供消費者選擇之產品的多樣性,如即食食品(ready-to-eat foods)

等。

在歐盟，所有的食物或已輻照食品的配料必須標明「輻照 (irradiated)」或「電離輻射處理 (treated with ionising radiation)」，以便讓消費者作出明智的選擇。

3. 美國關於食品製造、加工及處理過程中之輻照規定於 21 CFR 179 (Irradiation in the Production, Processing and Handling of Food) 中，條文包括：

§ 179.21 - Sources of radiation used for inspection of food, for inspection of packaged food, and for controlling food processing. (用於食品檢查、包裝食品檢查及控制食品加工所使用之輻射源)

§ 179.25 - General provisions for food irradiation. (食品輻照之一般規定)

§ 179.26 - Ionizing radiation for the treatment of food. (以離子化輻射處理食品)

§ 179.30 - Radiofrequency radiation for the heating of food, including microwave frequencies. (用於食品加熱之輻射頻率，包括微波頻率)

§ 179.39 - Ultraviolet radiation for the processing and treatment of food. (以紫外線加工或處理食品)

§ 179.41 - Pulsed light for the treatment of food. (以脈衝光處理食品)

§ 179.43 - Carbon dioxide laser for etching food. (以二氧化碳雷射刻蝕食品)

§ 179.45 - Packaging materials for use during the irradiation of prepackaged foods. (預先包裝食品輻照之包裝材料)

4. 英國食品標準局 (Food Standards Agency) 於今 (2012) 年 4 月 27 日更新，輻照食品 (Irradiated Food) 資訊問答網頁 (<http://www.food.gov.uk/safereating/irradfoodqa/>)。內容包含：

(1) What is food irradiation? 何謂食品輻照？

(2) Is food irradiation safe? 食品輻照是否安全？

(3) Does food irradiation change the food in any way? 食品輻照是否造成食品在任何方面的改變？

- (4) Which categories of foods may be irradiated and sold in the UK? 在英國哪些種類食品可以被照射並販售？
- (5) Can irradiated food be imported into the UK? 輻照食品是否可輸入英國？
- (6) What methods of food irradiation are permitted? 哪些照射方法是被允許的？
- (7) Where are foods irradiated? 食品在何處進行輻照？
- (8) How do I know if a food has been irradiated? 如何得知某食品是否經過輻照？
- (9) What checks are carried out? 有哪些檢驗方式？
- (10) Is it safe to eat food that has been through a X-ray scanner, for example at airports? 食用經過 X 光掃描機（如機場）的食品是否安全？
- (11) How do I store or handle irradiated food? 經輻照的食品如何儲存與處理？

該官方網頁該官方網頁說明食品照射是消費者的選擇及標示問題，而非食品安全問題。食品標準局認為照射為一安全的加工技術，並由食品標準局負責照射機構的安全檢查（inspection），進行定期調查，並發給證照（issues licenses），以確保產品正確標示。英國僅有一個食品照射機構，授權範圍包括乾香草，香料和蔬菜調味料。根據英國 2009 年 The Food Irradiation (England) Regulations 之規定，在英國可以被照射並販售的食品及其最大容許平均劑量（maximum overall average dose）如下：

- 水果 fruit, 2kGy
- 蔬菜 vegetables, 1kGy
- 穀物 cereals, 1kGy
- 鱗莖和塊莖 bulbs and tubers, 0.2kGy
- 乾香草，香料和蔬菜調味料 dried aromatic herbs, spices and vegetable seasonings, 10kGy
- 魚類和貝類 fish and shellfish, 3kGy
- 家禽 poultry, 7kGy

而依據 The Food Irradiation (England) Regulations 2009 之製造、輸入及販售規定，某些經照射之食品可輸入至英國，條件是必須由經認可的機構進行照射並附有正確的證明文件，威爾斯、北愛爾蘭

及蘇格蘭也有平行的規範（parallel legislation）。

允許的照射方法包括：

- gamma rays from the radionuclide cobalt-60
- gamma rays from the radionuclide caesium-137
- X-rays generated from machine sources operated at or below an energy level of 5MeV
- electrons generated from machine sources operated at or below an energy level of 10MeV

主要的方法主要的方法為加馬射源（gamma sources）及電子束（electron beams）英國僅有一家認可的照射機構，有超過 20 間照射機構分布於歐盟其他會員國，另有 10 間照射機構在歐洲之外（南非 3 間；印度 3 間；泰國 2 間；土耳其 1 間；瑞士 1 間）。歐盟以外的許多國家允許某些食物照射，包括美國，印尼，以色列，泰國，俄羅斯，中國，南非，印度和土耳其。然而，只有經由歐洲委員會批准的設施照射的食物，可以輸入到英國販售。

所有經照射的食品均需標示為「irradiated」或「treated with ionising radiation」，若照射的食品為另一食品之添加物，則應標示於該添加物旁。若是未經包裝並是直接食用的產品（如在餐廳），則必須加註（mark）或標示（label）在菜單、通知或票券上，以供消費者做選擇。針對如何知道如果食品已被輻照，目前已有檢測方法。但確無法測出使用劑量，因此才必須規範照射機構必須過發證（licensed），以確定給予的照射劑量。目前已有 10 種有歐洲標準化委員會（European Committee for Standardisation, CEN）建立之標準測試可供驗證不同的輻照食品，包括草藥和香料，家禽和肉類含骨和含脂肪的產品。（CEN 標準請參考 Europa 網站：http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/irradiation/anal_methods_en.htm）。僅少數材料核准用於照射食品之包裝（註：此處指連包裝一起照射），如果未來食品照射漸漸廣泛使用，還有許多其他材料需要經過測試，食品標準局正在進行研究。

5. 中國衛生部於 1997 年 5 月 20 日，發布《鈷 60 輻照中藥滅菌劑量標準》（內部試行）通知：

「為繼承和發揚我國中醫藥特色和優勢，積極鼓勵和利用先進的科學技術和現代手段，推進中醫藥的發展和創新，提高中藥品質和衛生標準，國家科委在“六五”“七五”“八五”期間組織生產、科研、教學、檢定、輻照等單位，對“鈷 60 輻照中藥滅菌劑量標準”進行了大量、系統、深入的科研工作，並通過國家

科委、衛生部、核工業總公司組織專家驗收鑒定。現發佈“鈷 60 輻照中藥滅菌劑量標準”(內部試行)，目前此方法僅用於國內流通中藥的滅菌，請各單位遵照執行。」

「鈷 60 輻照僅是中藥滅菌的輔助手段，各級衛生行政部門要按照有關法規監督“標準”的執行，防止濫用輻照滅菌。國家中醫藥管理局應根據“鈷 60 輻照中藥滅菌劑量標準”(內部試行)，加強中藥品質管制工作，並制定具體實施辦法。」

內容包含：

1. 適用範圍
2. 標準制定依據
3. 輻照裝置應具備的條件
4. 待輻照中藥應具備的條件
5. 輻照滅菌劑量
6. 注意事項

附表包含：

- 允許輻照藥材品種
- 允許低劑量(3kGy)輻照藥材品種
- 不允許輻照藥材品種
- 允許輻照中成藥品種

允許輻照的中藥材品種共 198 種，中成藥 70 種，允許低劑量(3kGy)輻照的中藥材品種 5 種，不允許輻照的中藥材品種有 2 種。5.1 中規定輻照滅菌應不大於下列數值：散劑：3kGy，片劑：3kGy，丸劑：3kGy，中藥原料粉：3kGy。

六、配合中醫藥有利發展的條件，就中醫藥組織變革、中藥產品分類分級使用管理機制、與國際接軌之法規協同等方向，研擬適合中醫藥環境之管理機制及適當法律位階之法規，提供中醫藥委員會作政策參考。

(一)配合中醫藥委員會所委辦有關中醫藥有利發展條件之研究計畫成果，研擬適合中醫藥環境之管理機制及法規。

(二)協助中醫藥委員會研擬「中藥材管理辦法」(草案)如下：

中藥材管理辦法（草案）

條文內容	說明
<p>第一條 本辦法依藥事法（以下簡稱本法）第十條第三項規定訂定之。</p>	本辦法之法律授權。
<p>第二條 中藥材之品目如附表，其中屬藥食兩用者，可同時供食品使用。</p>	中藥材之分類及範圍。採正面列舉，藥食兩用註記方式公告。
<p>第三條 供藥用之中藥材應依本法第三十九條第一項規定，申請查驗登記，取得藥品許可證。</p>	中藥材應辦理查驗登記之範圍。
<p>第四條 中藥材藥品許可證之類別，依安全性分為原料專用、調劑及原料用、調劑調配及原料用三類。 屬原料專用之中藥材，准用本法原料藥之規定。 屬調劑及原料用之中藥材，准用本法醫師處方藥品之規定，亦可同時供為原料藥使用。 屬調劑調配及原料之中藥材，准用本法成藥之規定，亦可同時供為原料藥使用。</p>	中藥材藥品許可證之類別及管理。毒劇類中藥材得供中醫師處方使用者（如附子），核以調劑及原料用類別；不得供中醫師處方使用者（如鉛丹），則核以原料專用類別。
<p>第五條 中藥材之輸入，由本法第十五條第一項第二款、第十六條及第一百零三條之藥商為之。</p>	中藥材輸入資格之限制。
<p>第六條 中藥材之輸入，應檢具下列文件，向中央衛生主管機關或其委託之機構申請查驗： 一、入關時提具輸出國中央或地方衛生主管機關所開具之檢驗證明文件，或經中央衛生主管機關認證之民間檢驗機構所出具之檢驗證明文件，經審查合格後放行。 二、未取得前款所定輸出國之檢驗證明文件者，應於關口留置並抽驗，合格者出具檢驗證明文件後放行。 三、已領有藥品許可證或依本法第十六條第二項規定輸入自用原料者，得依許可證明文件放行，免附檢驗證明文件。</p>	中藥材輸入查驗應檢具之文件。
<p>第七條 中藥材輸入之查驗，應包含基原鑑定、含量測定、污穢或異常物質檢驗，及其他經中央衛生主管機關公告應執行之項目。</p>	中藥材輸入查驗之檢驗項目。
<p>第八條 中藥材輸入之查驗，中央衛生主管機關得予抽驗，不合格者不准放行，已放行者，應予收回。 前項不合格者，中央衛生主管機關應增加該輸入商所有中藥材之抽驗比例，半年內再次不合格者，自不合格之日起半年內停止受理其中藥材輸入之申請。</p>	中藥材輸入查驗之抽驗及相關限制。

條文內容	說明
<p>第九條 中藥材之製造、加工、炮製、分裝及包裝，應符合藥物製造工廠設廠標準第二篇第二章中藥藥品優良製造規範之規定。 中藥材之炮製方法，依據台灣傳統藥典之規定。</p>	<p>中藥材製造及炮製方法之規定。</p>
<p>第十條 中藥材除依本法第三十九條第一項規定申請查驗登記者外，應標示下列事項： 一、廠商名稱及地址。 二、品名。 三、批號。 四、製造日期及有效期間或保存期限。 五、重量。 六、保存條件。 七、炮製方法，但未經炮製者免予刊載。</p>	<p>中藥材包裝標示之規定。</p>
<p>第十一條 中藥材之檢驗方法及標準，應依中華藥典、台灣傳統藥典及中央衛生主管機關公告之污穢或異常物質限量標準之規定。</p>	<p>中藥材檢驗方法及標準之規定。</p>
<p>第十二條 中藥材之批發，應提供輸入時之檢驗證明文件，或藥廠開立之檢驗證明文件。 消費者要求提供或檢視前項檢驗證明文件，販賣者不得拒絕。</p>	<p>批發中藥材應提供檢驗證明文件之規定。</p>
<p>第十三條 供藥用之中藥材應於藥商之營業處所販賣。</p>	<p>中藥材販賣地點之限制。</p>
<p>第十四條 供醫療機構、藥局或藥商調劑或調配使用之中藥材，以領有藥品許可證者為限。</p>	<p>中藥材供調劑調配使用之限制。</p>
<p>第十五條 中藥材經拆封後，應將原包裝保留至該藥材使用完畢為止。 中藥材之貯存及運送，應依其保存條件，並注意安全衛生、乾燥、通風、防霉、防蟲、防鼠。</p>	<p>中藥材使用、貯存及運送之規定。</p>
<p>第十六條 醫療機構、藥局及藥商對於因中藥材所引起之嚴重不良反應，或中藥材有嚴重不良品之情形，應向中央衛生主管機關或其委託之機構進行通報。</p>	<p>中藥材不良反應及不良品之通報義務。</p>
<p>第十七條 申請藥物廣告之中藥材，以領有藥品許可證者為限。未經查驗登記，不得宣稱或標示醫療效能。</p>	<p>中藥材廣告及宣稱療效之限制。</p>

條文內容	說明
第十八條 依本法第二十二條第一項公告禁用，或來源屬野生動物保育法之中藥材，僅得供學術研究使用。其製造或輸入，應申請中央衛生主管機關及野生動物保育主管機關專案核准，並按月向中央衛生主管機關報核使用數量、結存及處理方式。	經公告禁用及保育類中藥材之管理方式。
第十九條 本辦法自發布後三個月施行。	施行日。

(三)協助中醫藥委員會研擬「偽禁藥廢止藥商全部證照處理原則」(草案)如下：

偽禁藥廢止藥商全部證照處理原則 (草案)

依據：

- 一、藥事法第 78 條第一項第一款「經稽查或檢驗為偽藥、劣藥、禁藥及不良醫療器材，除依本法有關規定處理外，並應為左列處分：一、製造或輸入偽藥、禁藥及頂替使用許可證者，應由原發證照機關，廢止其全部製造、輸入許可證、工廠登記證及營業許可執照。」。
- 二、以認定藥事法第 78 條第 1 項第 1 款規定為行政罰法所定具裁罰性之不利行政處分為原則。
- 三、倘得認定行為人具違法性及有責性（故意過失），自無待於判決確定即應為之，倘尚無法認定行為人是否有故意過失，俟判決確定方予為之，亦應屬適法。

處理原則：

一、經衛生主管機關鑑定（稽查或檢驗）為偽藥或禁藥

處理原則	地方主管機關	中央主管機關
中央或地方衛生主管機關移送地檢署偵辦	○	○
中央及地方衛生主管機關互為通知	○	○
地檢署起訴（認定有故意過失）函知	○	○
中央及地方衛生主管機關互為通知	○	○
廢止其全部製造、輸入許可證		○
廢止其工廠登記證	○	
廢止其藥商許可執照	○	

二、經司法機關確認為偽藥或禁藥

處理原則	地方主管機關	中央主管機關
中央或地方衛生主管機關移送地檢署偵辦	○	○
中央及地方衛生主管機關互為通知	○	○
無法認定是否有故意過失	○	○
收受法院判決書或地檢署緩起訴處分書	○	○
中央及地方衛生主管機關互為通知	○	○
廢止其全部製造、輸入許可證		○
廢止其工廠登記證	○	
廢止其藥商許可執照	○	

三、經衛生主管機關自行知悉為偽藥或禁藥

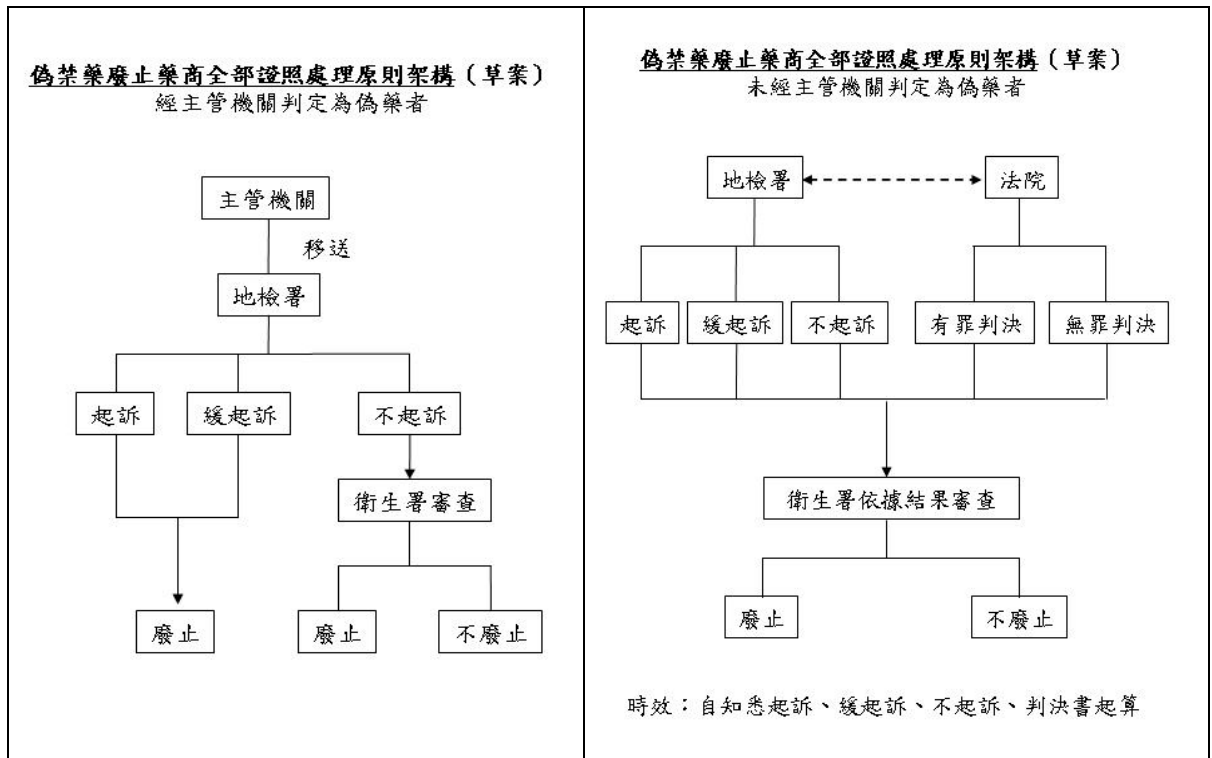
處理原則	地方主管機關	中央主管機關
法院判決書或地檢署緩起訴處分書未通知		
知悉法院判決書或地檢署緩起訴處分書	○	○
函知中央衛生主管機關	○	
判定判決書或緩起訴處分書是否適法 判定原則： （一）該案是否曾向行政機關詢問，將所得結果作為偵查審判依據 （二）是否有堅強之具體理由，認應自行認定（不適法）		○
中央衛生主管機關判定判決書或緩起訴處分書適法者		○
中央衛生主管機關通知地方衛生主管機關		○
處分時效自知悉開始起算	○	○
廢止其全部製造、輸入許可證		○
廢止其工廠登記證	○	
廢止其藥商許可執照	○	

四、中央衛生主管機關判定判決書或緩起訴處分書適法性之法律見解：

- (一)行政訴訟事件，行政機關對作成行政處分之事實基礎認定，或法律適用之合法性，倘與行政法院之認定不同，而受行政法院為撤銷行政處分之判決，行政機關自應以法院之認定及見解為重作成行政處分之依據。
- (二)行政法院應本於調查所得自行認定事實，不受刑事判決所認定事實之拘束；刑事判決與行政處分，原可各自認定事實，有最高行政法院 44 年判字第 48 號及 75 年判字第 309 號判例可參。故行政與刑事就事實之認定，尚非必須相互拘束。
- (三)行政機關與司法機關就事實之認定，雖非相互拘束，惟司法機關倘以向行政機關詢問所得結果，作為偵查審判依據，則行政機關即不宜再行推翻。倘行政機關仍認應自行認定，即須非常慎重，且有堅強之具體理由

(四)倘案非經行政機關移送，法院從未向衛生主管機關詢問，其實體認定係經被告單獨認罪協商所作成之緩起訴處分或簡式（易）判決定讞，則認行政機關仍得自行認定事實，據以判定。

(四)所擬「偽禁藥廢止藥商全部證照處理原則」(草案)經「中醫藥法規諮詢小組」審議後，再與中醫藥委員會中藥組研議，結論修正「偽禁藥廢止藥商全部證照處理原則架構(草案)」及「偽禁藥廢止藥商全部證照處理原則(草案)」如下，移請中醫藥委員會依行政作業程序簽核：



偽禁藥廢止藥商全部證照處理原則（修正草案）

一、經衛生主管機關鑑定（稽查或檢驗）為偽藥或禁藥

處理原則	地方主管機關	中央主管機關
中央或地方衛生主管機關移送地檢署偵辦	○	○
中央及地方衛生主管機關互為通知	○	○
1.地檢署起訴		
地檢署回函通知或知悉（認定有故意過失）		
中央及地方衛生主管機關互為通知	○	○
廢止其全部製造、輸入許可證		○
廢止其工廠登記證	○	
廢止其藥商許可執照	○	
2.地檢署緩起訴處分		
地檢署回函通知或知悉（認定有罪）		
中央及地方衛生主管機關互為通知	○	○
廢止其全部製造、輸入許可證		○
廢止其工廠登記證	○	
廢止其藥商許可執照	○	
3.地檢署不起訴處分		
地檢署回函通知或知悉（刑事認定無罪）		
中央及地方衛生主管機關互為通知	○	○
中央衛生主管機關依職權行政審查認定（權力分立原則）		○
認定為偽禁藥有故意過失（反之結案）		○
通知地方衛生主管機關		○
廢止其全部製造、輸入許可證		○
廢止其工廠登記證	○	
廢止其藥商許可執照	○	
4.法院判決無罪定讞		
中央及地方衛生主管機關互為通知	○	○
中央衛生主管機關依職權行政審查認定（權力分立原則）		○
（1）仍認定為偽禁藥有故意過失（維持原處分）		
通知地方衛生主管機關		○
（2）認同法院無罪判決		
通知地方衛生主管機關		○
撤銷原廢止其全部製造、輸入許可證處分		○
撤銷原廢止其工廠登記證處分	○	
撤銷原廢止其藥商許可執照處分	○	

二、經衛生主管機關自行知悉為偽藥或禁藥

處理原則	地方主管機關	中央主管機關
法院判決書（有罪）或地檢署緩起訴處分書未通知，中央或地方衛生主管機關自行知悉		
中央及地方衛生主管機關互為通知	○	○
中央衛生主管機關依職權行政審查認定判決書或緩起訴處分書是否適法（權力分立原則） 判定原則： （一）該案是否曾向行政機關詢問，將所得結果作為偵查審判依據 （二）是否有堅強之具體理由，認應自行認定（不適法）		○
1.判定判決書或緩起訴處分書適法○		
通知地方衛生主管機關（結案）		○
2.判定判決書或緩起訴處分書不適法		
通知地方衛生主管機關(處分時效自知悉開始起算)		○
廢止其全部製造、輸入許可證		○
廢止其工廠登記證	○	
廢止其藥商許可執照	○	

肆、討論

本計畫中藥法規諮詢作業平台流程，分為「政府機制」及「業界機制」二大部分。由於法規解釋不在業界諮詢平台服務範圍，如諮詢問題涉及法規解釋或行政處分，請業界依程序向中醫藥委員會行文處理。案經中醫藥委員會轉來台灣區中藥工業同業公會及台灣區製藥工業同業公會函詢 3 件，提供法律諮詢意見，此平台模式可作為中醫藥委員會內部諮商機制。

中藥材（飲片）係屬藥事法所規範，建立管理辦法賦予定義及常規性之管理方式，並修正藥事法相關授權法條，以保護消費者使用安全，至屬重要，已刻不容緩。

為使中藥產品有效安全，製造行銷符合經濟市場規模，研發資源充分有效利用，中藥流通正確符合消費者對健康的期待，建立一個有效中藥管理架構，進而制定符合中藥業界期待，亦能滿足民眾用藥品質安全需求的「中藥」專章或專法，本計畫認為應予重視。

伍、結論與建議

本計畫獲致下列結論：

- 一、本計畫已完成定期蒐集、整理美國、歐盟、日本及中國大陸有關中藥藥事法律規章解釋令函；由「中藥法政諮詢小組」具法學及藥學執業實務背景之研究人員定期審議相關法律諮詢案件；蒐集法務部及司法院有關中藥之法規資訊、司法判解、判解函釋及裁判書等相關法律資料更新，將所彙集之資料，納入中醫藥委員會資訊平台查詢更新，提供政府及業界諮詢。
- 二、「中藥法政諮詢小組」法規諮詢案件來源，計有中醫藥委員會所交議之法規案件，每月蒐集所得之各國中藥法規最新資訊，中華民國藥事品質改革協會研議之有關中藥法律案件之實務與法規問題，可協助政府及業界解決法規適用問題。本計畫計完成 10 件即時及 41 件詳細法律諮詢服務案件，除即時提供政府官員適法性簽核意見，爭取時效外，案件彙編分類依事實、法條適用、推論及結論理由，提供政府及業界方便查閱，諮詢之官員多認滿意，並鼓勵支持。
- 三、定期整理更新司法院、法務部及行政機關有關中藥之法規資訊、司法判解、行政函釋及裁判書等相關法律資料，有助政府有關機關及中藥業界快速查詢法規、判例及行政解釋。
- 四、為確保中藥材產品具有顯著滅菌殺蟲效果，達到防霉、防蛀、防走油等防變質目的，以安全、正確之方式實施輻射滅菌，並保證消費者使用衛生安全以及危害通報，完成「中藥輻射滅菌管制作業準則」(草案)及「藥事法第五十七條」之修正草案，提供政府參考。

本計畫作成下列建議：

- 一、「中藥法政諮詢小組」提供法規專業諮詢之平台，建議中醫藥委員會充分利用此平台功能，協助適法性之行政行為。
- 二、「中藥法規諮詢彙編」係所有法政小組之心血及智慧結晶，提供政府充分利用，並繼續累積案例，作為執法之參考。
- 三、中藥材採取輻射方式滅菌，業界僅少數使用，係屬廠商選擇，故相關產品責任宜由廠商負責。建議應經科學的認證，並以正面列舉的方式公告劑量和產品品項，並建立危害通報及發布（或報導）機制，加強宣導。俟與業界充分溝通認同，民眾明白安全資訊後，再行提案修正相關法規。

四、中藥材（飲片）產品屬性特殊，有其歷史文化背景，建議加速制定相關管理辦法，俾儘早落實品質管制及專業管理機制。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP100-RD-102 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

(參考文獻：按“台灣醫誌”編排方式(例：Travell JG, Rinzler S, Herman M. Pain and Disability of Shoulder and Arm. J Am Med Asso 1942, 120:417-422.))

1. 中草藥產業技術教學資源中心：中草藥產業技術與研發。92年12月出版。P.414。
2. WHO and CoE Policy on CAM。
3. Guideline on Quality of Herbal Medicinal Products/Traditional Herbal Medicinal Products。
4. Guideline on the assessment of clinical safety and efficacy in the preparation of community herbal monographs for well-established and of community herbal monographs/entries to the community list for traditional herbal medicinal roducts/substances/preparations (EMEA/HMPC/104613/05)。
5. 世界衛生組織 2008 年 11 月 8 日傳統醫學大會北京宣言。
6. 歐盟法律系統資料庫 <http://www.pharmalaw.org>
7. 行政院衛生署：民間部門醫療保健支出統計。2008/12/11。
8. 97 年財政部關稅總局進出口貨物、數量、價值統計表。
9. 經濟部 2008 年台灣中草藥產業概況。
10. 全國法規資料庫 <http://law.moj.gov.tw>。
11. 行政院衛生署：藥事法解釋彙編。行政院衛生署 87 年 9 月出版。
12. 陳櫻琴等著：醫療法律。五南圖書出版股份有限公司 2005 年 11 月三版。

其他參考資料：

1. 中醫藥委員會：台灣建置中草藥臨床試驗環境計畫成果摘要暨管理法規彙編。98 年 8 月，第 3 頁。
2. 中醫藥委員會：推動中醫藥之發展十年有成---行政院衛生署中醫藥委員會十週年會慶系列活動(中醫藥委員會 94.10.18 發布新聞)
3. 行政院衛生署：透過兩岸搭橋計畫，加強中草藥合作機制(行政院衛生署 2008/12/19 發布新聞)
4. 行政院衛生署：加速中醫藥之科學化與現代化(行政院衛生署 2008/06/20 發布新聞)

相關網頁：

1. WHO <http://www.who.int/medicines>
2. 立法院法律系統資料庫 <http://lis.ly.gov.tw/lgcgi/lglaw>

中藥法規相關研究：

1. 財團法人醫藥品查驗中心：加強藥品審核機制與法規協合化。
2. 財團法人醫藥品查驗中心：建立健全之中藥新藥法規環境。
3. 財團法人中華景康藥學基金會：我國製藥業智財權與衛生法規整合性服務與相關機制。
4. 國防醫學院藥品製造研究所：藥物法規國際化的評估。
5. 台灣區製藥工業同業公會：中醫藥法律規章適用及執行查緝宣導教育計畫。
6. 行政院衛生署中醫藥委員會：歐洲地區中醫藥法規暨科技管理交流計畫。

台灣特有菊科植物之抗發炎與護肝功能的 研發(2-2)

徐麗芬

中央研究院/農業生物科技研究中心

摘要

菊科植物為台灣第三大維管束植物，其中多數種類常用為台灣的民俗草藥，其中薊屬的植物一般被認為具有護肝之功效。本計畫針對台灣本土特有薊屬植物：阿里山薊為目標，以科學實驗系統驗證其是否真正具有護肝功能及確認主要活性成分，並評估其開發為抗發炎或護肝功能之保健食品的潛力。本計畫將建立系統化之體外試驗平台(*in vitro* assay platform)，包括：巨噬細胞株(macrophage)以及肝細胞株(hepatocytes)，利用此二類細胞分別進行篩選具有抗發炎與保護肝細胞損傷之生物活性成分。實驗結果顯示，阿里山薊的地下部(根部)抽出物具有抗發炎活性，且與地上部抽出物比較後發現不具細胞毒性，並且可保護 APAP 誘導小鼠肝臟細胞(FL83B)損傷的效果。在分析阿里山薊的地下部不同分層抽出物發現，乙酸乙酯層(EA)較其它分層含有高量總多酚類化合物。由根部 EA 層再經由逆相中壓管柱色層分析(RP-MPLC)繼續劃分為五個劃分層(EA1~EA5)，其中 EA3、EA4 與 EA5 利用 Sephadex LH-20 管柱進行分離次分劃層獲得 EA3-1~3-6、EA4-1~4-6 以及 EA5-1~5-3。並完成這些次分劃層之抗炎活性分析、建立化學指紋圖譜與產率分析。並由 EA5-3 分離出一聚烯類化合物 heptadeca-1,9-diene-11,13-diyne-8-ol (1) 作為活性指標成分。此外利用體內實驗動物模式(*in vivo* animal model)，細菌內毒素脂多醣與 D-半乳糖胺(LPS/D-GalN)所誘導之猛爆性肝炎(fulminant hepatitis)及肝損傷動物系統來評估 EA5-3 抽出物的護肝功效並獲得良好之預防效果。肝損傷小鼠肝指數 AST 與 ALT 均有因餵食 EA5-3 而有降低之效果。在相關分子作用機制上，主要抑制促發炎因子：COX-2、iNOS、NF- κ B、IL-6 及 TNF- α 之表達，這些抑制作用主要是透過負調節 IKK/NF- κ B 訊息傳遞途徑，本研究結果顯示，阿里山薊具有潛力進一步發展為保健食品。

關鍵詞：阿里山薊、抗發炎、護肝作用、保健食品

Research and Development of Endemic Compositae Plant in Taiwan as Anti-inflammatory and Hepatoprotective Agents (2-2)

Lie-Fen Shyur

Agricultural Biotechnology Research Center, Academia Sinica

ABSTRACT

Compositae plants are the third biggest flowering plants in Taiwan. Many of the Compositae plants have been frequently practiced as folk medicines locally, such as thistle plants, which have been anecdotally claimed for hepatoprotective effects. The objective of this project is to investigate and evaluate the potential anti-inflammatory and hepatoprotective bioactivities of an endemic thistle plant in Taiwan, *i.e.*, *Cirsium arisanense* Kitamura. The preparation and fractionation protocols for the plant extract of *C. arisanense* were established and standardized. Bioactive extracts or phytochemicals identified from the target herb were evaluated for their potentials to be further development into hepatoprotective functional food. In this project, *in vitro* assay platform using macrophage RAW264.7 cell line and normal hepatocytes FL83B cell line have been established, in attempt to evaluate the bioactivities of bioactive extract fractions or derived phytochemicals on anti-inflammation, preventing drug or toxin-induced hepatocytes damages. We observed that the enriched EA fraction of *C. arisanense* root extracts possess anti-inflammatory activity in macrophage cell system with little cytotoxicity as compared to the extracts prepared from the stem and leaf tissues of the plant. Furthermore, EA fraction of root extracts also exhibited protective effect against APAP-induced hepatotoxicity in FL83B cells. Phytochemically, we have observed that EA fraction of *C. arisanense* root extracts contain high level of total polyphenols. The root EA fraction was then divided using MPLC to obtain EA1-EA5 fraction. The EA3, EA4 and EA5 were further separated using Sephadex LH-20 to obtain EA3-1~6, EA4-1~6 and EA5-1~3. The LC fingerprints of the bioactive fractions EA5-3 and EA4-4 were established. A polyacetylenic compound (**1**) was purified from EA5-3 fraction and its structure was elucidated as heptadeca-1,9-diene-11,13-diyne-8-ol which is used as the index compound of the bioactive fraction EA5-3. The *in vivo* pharmacological bioactivities of EA5-3 against LPS/D-GalN-induced fulminant hepatitis in mouse model systems were studied. Our results show that EA5-3 was effectively prevented LPS/D-GalN induced acute hepatitis in mice, as the AST and ALT indexes were decreased in the EA5-3 treatment group. The molecular mechanism(s) underlying the bioactivity observed for EA5-3 was at least in part through inhibiting proinflammatory mediators' activity or expression that include COX-2, iNOS, IL-6 and TNF- α by deregulating upstream

IKK/NF- κ B signaling pathway.

Keywords: *Cirsium arisanense* Kitamura, anti-inflammation, hepatoprotection, healthy foods

壹、前言

台灣乃肝炎、肝硬化及肝癌盛行地區之一，根據行政院衛生署之統計資料顯示，慢性肝病及肝硬化等肝臟疾病為近十年來十大死亡原因之第七或第八位，每年死亡人數約在三千人以上。國人罹患肝臟疾病之主因為病毒感染；此外，藥物濫用、長期酗酒、熬夜、過度勞累以及缺乏均衡營養等亦為國人罹患肝臟疾病之原因。一旦罹患肝臟疾病就需要長期治療，而在整個醫療過程中，不僅是患者本身，甚至於整個家庭成員都會受到影響。若是肝臟罹患者不斷增加，對於整個醫療系統、社會及國家亦是一種沉重的負擔，因此如何預防肝臟疾病也是今日醫藥衛生研究的重要課題之一。衛生署的健康食品法中，並有健康食品之護肝功能評估施行之方法，供科研界與台灣之生技公司進行相關科研或建字號產品的發展。

中草藥在東方經幾千年的「類人體試驗」，常宣稱(claim)其具有抗發炎或增強免疫力等功能或效用，而坊間的中草藥或其製劑也常被宣稱具有「清熱解毒、保肝或防癌」等功效，但大多仍缺乏科學客觀與實驗室或臨床之證據來加以佐證。近年來，由於生物科技的大幅提昇，與現代醫療息息相關之植物藥物(botanical drug)及植物天然化合物(phytocompound)等相關研究，已成為未來藥物或保健食品研究與開發的目標。特別在強調預防醫學的今日社會中，如何開發與評估真正具有預防特定疾病功效的中草藥健康食品，將是今後國家基礎與應用科學發展領域中最重要以及最值得探討的研究課題之一。因此，中草藥保健食品之推動發展、現代化及科學化，在基礎研究、經濟及社會層面上都是臺灣今日非常重要的議題。

由於猛爆性肝炎(fulminant hepatitis)是一項具有致死性的疾病，在短時間內會造成肝細胞大量死亡，因此在臨床治療上極具有其重要性(Williams, 1996; Riedemann *et al.*, 2003)。故我們針對此種疾病建立快速驗證具有護肝功效之植物化合物的小鼠動物模式。我們利用脂多醣(lipopolysaccharide, LPS)與 D-半乳糖胺(D-galactosamine, D-GalN)共同投予的方式誘導小鼠猛爆性肝炎。此動物模式除了可以觀察猛爆性肝炎之動物存活率(survival rate)以外，亦可進一步藉由 DAPI (4,6 diamidino-2-phenylindole)螢光染劑進行細胞核染色觀察肝細胞核型態之差異(細節請參見前述成果報告部分)。此猛爆性肝炎動物模式可用來篩選並驗證具有抑制肝炎之植物化合物。

由植物發展具潛力之健康食品進而量產化，是需要專精與深入之科學研究為根基。本計畫將利用先進之細胞學、有機生化學等科學實驗系統，

從事台灣常見藥草之潛在護肝功能的研發。本計畫將製備標準化之植物抽出物，利用系統化之體外試驗平台(*in vitro* assay platform)進行篩選抗發炎與保護肝細胞損傷之活性植物萃取成分，並以嚴謹之體內(*in vivo*)動物實驗系統，亦即四氯化碳誘導小鼠肝損傷或猛爆性肝炎之動物模式來評估這些成分的護肝功效，進而規範出有效的抗發炎與護肝之藥草組合。由本計畫鑑定的活性草藥化合物經設計後，得以單一、多重成分或活性抽出物分離部之組合為配方，研發作為護肝功能之保健食品、食品補充品。

台灣因地形、區域之特殊性，有多種原生或常用的藥用植物已發展成為民俗草藥，但大都缺乏嚴謹或系統性科學證據來佐證其功效。由於薊屬植物被廣泛認為具有護肝的功效，如：乳薊(Milk Thistle)所含的 *silymarin* 為治療肝臟疾病的藥物成分。故本計畫以台灣本土特有植物「阿里山薊」為目標，以實驗系統驗證其是否真正具有護肝功能，並評估其開發為保健食品的潛力。目前僅有一篇文獻報告指出，阿里山薊粗抽出物對於治療 Alzheimer 藥物 Tacrine 造成小鼠急性肝損傷具有保護之效果(Ku *et al.*, 2008)。但是尚未有研究直接針對阿里山薊於抗發炎活性以及常用肝損傷動物模式進行完整與深入的研究。透過本計畫之執行，我們預期獲得阿里山薊在猛爆性肝炎中具預防或治療效果的活性成分。並依據衛生署公告的「健康食品安全及功效評估方法」之「健康食品之護肝功能(針對化學性肝損傷)評估方法」進行預防或治療老鼠肝損傷之活性評估，以作為目標藥草開發成健康食品之重要依據。

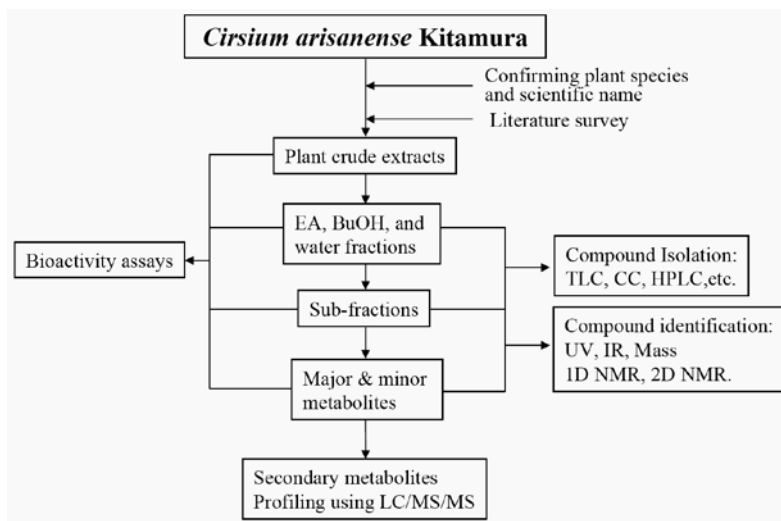
貳、材料與方法

一、製備標準化之草藥抽出物供活性測試

【研究方法】

(一)建立標準化目標藥草抽出物之製備流程

我們與中興大學林管處處長王升陽教授合作，由王博士採集與提供本計畫所需的台灣原生種阿里山薊(*Cirsium arisanense* Kitamura)藥草材料。取每年春夏季開花期的阿里山薊全株植物為材料，乾燥後，分別採取地上部(Aerial)與地下部(Root)，浸泡於 70% ethanol 中 3 天，連續萃取兩次，以濾紙過濾，接著將阿里山薊地上部與地下部萃取液以減壓濃縮方式移除 ethanol，最後再經過冷凍乾燥方式去除水分，將所得之藥草抽出物秤重。接著以實驗室建立之適用系統，進行不同有機溶媒的抽取以及針對各分劃層進行管柱之分離與純化，此部分工作如下圖所示。



(二)依生物活性為導向之分離策略利用一般、MPLC 或 HPLC 管柱來進一步精製與分離活性抽出物與成分，並大量製備供活性測試使用。

二、篩選出具有抑制小鼠巨噬細胞(RAW 264.7 cells)發炎反應以及保護肝實質細胞(FL83B or Clone 9 hepatocytes)損傷之活性抽出物

【研究方法】

(一)小鼠巨噬細胞株發炎反應之模式

許多研究報告指出，當巨噬細胞受到刺激與誘導，例如酒精、細菌內毒素(LPS)，會產生數種細胞激素(cytokine)，包括：tumor necrosis factor- α (TNF- α)與 interleukin-6 (IL-6)等致發炎物質，而導致慢性肝臟損傷(Purohit and Russo, 2002)。此外，當巨噬細胞受到

刺激時，inducible nitric oxide synthase (iNOS)會被誘導而生成 NO (Nanji *et al.*, 2003)。當 NO 過度生成時，除了會造成體內處於慢性發炎狀態外，過量的 NO 也會與氧自由基($O_2^{\bullet-}$)反應生成更具毒性之 peroxynitrite ($OONO^-$)，而毒害正常細胞、組織，並造成 DNA damage (Ohshima and Bartsch, 1994)。因此，若是能夠抑制過量的 NO 產生，或許可減少因 peroxynitrite 等自由基所導致的過氧化傷害，並避免過度慢性發炎反應之發生。故本實驗將利用抑制 LPS 誘導巨噬細胞株 RAW264.7 所產生之 NO，作為評估活性草藥成份抑制巨噬細胞發炎反應之指標。另外，草藥抽出物/成份對於 RAW264.7 細胞生存率之影響也要同時進行分析。

- RAW264.7 cells 之培養、發炎介質 NO 含量之測定(Griess assay)以及細胞毒性測試(MTT assay)，所採用之分析方法將依照本實驗室已發表的系統(Shyur *et al.*, 2008)。

(二)小鼠肝實質細胞(FL83B cells)損傷之模式

FL83B cells 之培養以 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)培養液(含 10% FBS 與 0.1% penicillin-streptomycin solution)培養於 37°C、5% CO₂ 之培養箱中，細胞密度為 1×10^6 cells/mL。FL83B cells 細胞損傷之評估指標：本實驗選用大部分研究中常用來直接造成肝實質細胞毒性之投予物，如：LPS/D-GalN 進行誘發肝實質細胞損傷。藉由細胞壞死與細胞生存率之測定來篩選具有保護肝實質細胞損傷之藥草抽出物/成份。細胞生存率之分析：此步驟同 RAW264.7 cells 細胞毒性測試部分所述。

(三)統計分析方法

統計分析方法將使用 SAS 軟體(version 9.0; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)執行。以單因子變異數分析法(one-way ANOVA)以及費歇檢定(Fisher's test)比較各組間之差異。所有數值均以 Mean \pm SD 表示，P < 0.05 表示具有統計上之意義。

三、建立活性藥草抽出物之化學指紋圖譜做為未來發展成保健產品時之 CMC 指標

針對活性抽出物部分，利用本實驗室既有之代謝產物體學 (metabolomics)技術系統包括：高壓液相層析(HPLC)、氣相層析質譜分析(GC-MS)、液相層析質譜分析(LC-MS)、核磁共振圖譜分析(NMR)等聯用分析技術(hyphenated technology)來建立活性藥草抽出物之化學指紋圖譜以作

為品質管制之標準。

四、建立損傷小鼠動物模型系統評估活性草藥成分之體內護肝功能性評估

【研究方法】

由體外活性試驗結果，評估最適當活性成分或抽出物的組合，並利用一般或 HPLC 管柱來進一步大量製備與純化活性成分以供應研究體內生物活性之用。

(一)細菌內毒素脂多醣與 D-半乳糖胺(LPS/D-GalN)所誘導之猛爆性肝炎之肝損傷小鼠模型的試驗條件之藥物投予、設計與指標分子測定如下。其中猛爆性肝炎動物是以 50 μ g LPS+800mg D-GalN/kg body weight (BW)處理小鼠 8 小時。

1. 實驗動物之飼養與分組：本研究擬使用年齡相同之雄性 BALB/c 品系 4~5 週齡小鼠，供應充足之動物飼料(Rodent Laboratory Chow 5001)與蒸餾水予以小鼠自由攝食，每週紀錄體重 1 次。待適應環境 1 週後，依照小鼠血液生化值 AST 與 ALT 進行分組，大致之實驗設計與分組如下：(A)正常飲食組、(B)正常飲食+植物抽出物低劑量組、(C)正常飲食+植物抽出物高劑量組、(D)LPS/D-GalN 處理組、(E) LPS/D-GalN 處理+植物抽出物低劑量組、(F) LPS/D-GalN 處理+植物抽出物高劑量組，每組 10 隻。
2. 實驗設計與流程：依照以上的方式飼養，5 週齡小鼠先以草藥餵食處理一小時之後再腹腔注射 LPS/D-GalN，或先行注射 LPS/D-GalN 再草藥餵食處理一小時，8 小時之後犧牲。收集其血清，測定動物之肝損傷指數 ALT 與 AST。收集犧牲動物之血液，並取出各臟器進行病理切片染色 (H&E staining)或免疫染色 (immuno-histochemical staining)。將取出之肝臟均質後，取肝臟均質液測定其 TBARS 值以評估動物體內氧化程度及抗氧化酵素 SOD、catalase、glutathione peroxidase 之活性。

(二)統計分析方法

統計分析方法將使用 SAS 軟體(version 9.0; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)執行。以單因子變異數分析法(one-way ANOVA)以及費歇檢定(Fisher's test)比較各組間之差異。所有數值均以 Mean \pm SD 表示， $P < 0.05$ 表示具有統計上之意義。

參、結果與討論

本實驗以台灣本土特有薊屬植物阿里山薊(*Cirsium arisanense* Kitamura) 為材料，分為地上部(aerial part) 與地下部 (roots)，分別以 70% 乙醇進行萃取得到 70%EtOH 粗抽物，再以 hexane、ethyl acetate、butanol 與 water 進行分配萃取，經由一氧化氮 NO assay 發現地上與地下部分之 EA 層抑制細菌內毒素誘導產生的 NO 效果最強，但由 MTT assay 可知地上部分具有細胞毒性，因此選擇地下部分之 EA 層作為後續研究標的。

阿里山薊活性 EA 層與單一成分 syringin 之護肝功能初步分析：

利用四氯化碳誘導小鼠肝損傷模式系統，進行根部總粗抽物、EA 層以及 EA 層之純化物 syringin 的體內活性分析。結果顯示，施打四氯化碳會造成小鼠血清中 AST 與 ALT 值分別上升至 1659 ± 438 與 4212 ± 1255 U/L，而經由管餵 70% 酒精粗抽物 (50 mg/kg BW)，AST 與 ALT 分別降至 589 ± 81 與 2052 ± 210 U/L；管餵 EA 根部粗抽物 10 mg/kg BW 與 50 mg/kg BW，AST 與 ALT 分別降至 640 ± 70 與 2263 ± 503 U/L；以及 538 ± 120 與 1360 ± 601 U/L；管餵正對照組 silymarin (10 mg/kg BW)，AST 與 ALT 分別降至 713 ± 74 與 1921 ± 331 U/L；管餵 EA 層分離之純物質 Syringin 2 mg/kg BW 與 10 mg/kg BW，AST 與 ALT 分別為 1491 ± 454 與 4445 ± 1339 U/L；以及 1463 ± 339 與 4407 ± 1145 U/L (圖一 A)。在 H&E 染色結果方面，此次實驗並未觀察到四氯化碳造成之脂肪堆積或纖維化等病理現象(圖一 B)。在體重方面，各組間並無顯著差異。在肝、腎與肺等器官方面，未接受四氯化碳施打的 vehicle 對照組之肝臟與體重比值為 $5.28\pm 0.54\%$ ，而接受四氯化碳施打的各組別之肝臟與體重比值在 $5.68\pm 0.64\%$ 至 $6.53\pm 0.82\%$ 之間，具顯著差異($P<0.05$)。其餘包括肺臟與腎臟，各組別間皆無顯著差異(圖二)。由數據顯示，EA 層之純物質 syringin 並無明顯改善四氯化碳造成之肝損傷，並非 EA 層之活性成分。

利用活性為導向策略分離 EA 層之活性抽出成分：

我們針對 EA 層抽出物進行一系列的管柱分離與純物質的分離工作。根部 EA 層經由逆相中壓管柱色層分析(RP-MPLC)以甲醇及水當溶劑梯度流析得到 EA1 至 EA5 等五個分離層，以及進一步利用 Sephadex LH-20 管柱進一步劃分 EA3 (21.5%)、EA4 (13.8%)與 EA5 (27.5%)，並計算出各層收率(圖三)。

由 NO assay 得知 EA3、EA4 及 EA5 分離層之抗發炎活性很顯著 (圖

四)，再將 EA3 與 EA5 以 Sephadex LH-20 管柱進行分子大小分離，各得到六個次劃分層 (EA3-1~EA3-6 與 EA4-1~EA4-6)，同樣將這些次劃分層 (subfractions) 分別進行活性測試，發現其中之 EA3-4、EA3-5 具有顯著活性， IC_{50} 數值分別為 EA3-4 = 27.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 與 EA3-5 = 8.47 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (圖五)，但 EA3-5 高濃度時(> 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$)具有毒性。將 EA3-4 及 EA3-5 以 reverse phase HPLC，MeOH / H₂O 梯度沖提，並與去年完成之阿里山薊指紋圖譜比對可以發現 EA3-5 的主要成分為 ethyl caffeate。

將 EA4 繼續分化為 EA4-1~6，經活性測試以 EA4-4 抑制 NO 形成活性最高，再進一步以 reverse phase HPLC 進行分離，得到了九個次劃分片段 (EA4-4-A 至 EA4-4-I)，活性測試的結果發現 EA4-4-A、EA4-4-C 與 EA4-4-F 具有較佳之活性， IC_{50} 數值分別為 15.52、34.95 與 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (圖六)。此外，並測試 EA5-3 抑制 NO 活性(A)及建立其 HPLC 指紋圖譜(B)，由 EA5-3 分離出一純化合物 heptadeca-1,9-diene-11,13-diyn-8-ol (**1**)及鑑定出結構，並建立其標準檢量線與測定出其在 EA5-3 之含量為 1.69% (圖七)。

化合物 **1** 是一個無色油狀物，藉由電灑式質譜所測得之分子量 245 可推知其分子式為 C₁₇H₂₄O (不飽和度 6)，化合物 **1** 的紅外光光譜在 3422 cm^{-1} 處有吸收峰，可推測其含有 OH 基，化合物 **1** 的紫外光光譜在 252, 266, and 282 nm 三處都有吸收訊號，可推測其骨架屬於聚乙炔類。化合物 **1** 溶於氘仿下的氘譜可發現一個三分裂的甲基(δ 1.00)、三個雙鍵上的次甲基(δ 5.73, 5.80, and 6.27)、一組末端雙分裂亞甲基(δ 4.94, 5.00)、和一個接有氧原子的次甲基(δ 4.18)訊號。而由碳譜與 DEPT 圖譜可得知化合物 **1** 共有 17 個碳，分別為三個雙鍵上的次甲基(δ 108.8, 138.9, and 148.5)、一個末端亞甲基(δ 114.3)、四個 sp 混成軌域的四級碳(δ 65.1, 73.0, 75.0, and 84.5)、一個接有氧原子的次甲基(δ 72.1)、六個脂肪類的亞甲基(δ 21.5, 21.7, 25.0, 28.7, 33.6, and 36.8)、和一個甲基(δ 13.5)。這些核磁共振圖譜資料可推得六個不飽和度，因此表示化合物 **1** 是一個長鏈的結構。經由仔細的比對化合物 **1** 與已知聚乙炔化合物的物理與化學資料，發現它是一個已知化合物，名稱為 heptadeca-1,9-dien-11,13-diyn-8-ol。

CAR5-3 化學指紋圖譜之建立採用高效能液相層析儀 (high performance liquid chromatography)，使用 Phenomenex Luna Phenyl-hexyl 5 μm HPLC 分析級管柱 (250 \times 4.6 mm)，分析條件為：梯度沖提液 50%~80% acetonitrile/water，沖提流速 0.5 ml/min，指標化合物的滯留時間為 31.8 min。

並建立指標化合物 (**1**) 的檢量線：用指標化合物先分別配置濃度

1.0、0.6、0.2、0.1 mg/mL，再使用高效能液相層析儀，並用 Phenomenex Luna Phenyl-hexyl 5 μ m HPLC 分析級管柱 (250 \times 4.6 mm) 分離，分析條件為：梯度沖提液 80%~100% acetonitrile/water，沖提流速 0.5 ml/min，指標化合物的滯留時間為 11.3 min，記錄訊號底下的積分面積，每個濃度都做三重複，最後使用 Excel 分析軟體製作檢量線圖。

阿里山薊活性成分之分子作用機制：

利用西方墨點分析法研究活性成分 EA4-4 與 EA5-3 及其次分劃層之分子作用機制。由圖八結果顯示，EA4-4 與 EA5-3 均可顯著抑制經 LPS 刺激之老鼠巨噬細胞中 iNOS、COX-2 蛋白質之表達，但不會影響 COX-1 蛋白質；此外；抗氧化壓力蛋白質 HO-1 會因抵抗氧化壓力而表現增加。因已知上游轉錄因子 NF- κ B (p65) 之活化可調控 COX-2 與 iNOS 之表達，因此進一步利用西方墨點分析法分析結果發現，預處理 EA5-3 會顯著抑制 LPS 處理所引起之 IKK α / β 磷酸化，並減少 I κ B 之磷酸化作用。此外，EA5-3 亦可有效抑制 LPS 所誘導之 JNK 與 STAT3 磷酸化而活化之現象。

我們進一步利用 immunohistochemical analysis 發現 EA4-4 與 EA5-3 即其次分劃層具有抑制 LPS 誘導巨噬細胞中轉錄因子 NF- κ B (p65) 蛋白質之核轉移活性 (圖九、十)。用 ELISA assay 分析巨噬細胞分泌的 IL-6 與 TNF- α 的情形，由圖十一結果顯示，EA4-4 與 EA5-3 處理組可有效抑制發炎相關細胞激素 IL-6 與 TNF- α 之產生 ($P < 0.05$)。綜合這些結果，可了解阿里山薊活性成分 EA5-3 與 EA4-4 是透過抑制 IKK/NF κ B 訊息途徑，而抑制促發炎因子產生因而達到抗發炎之效果。

活性抽出物 EA5-3 之體內保護 LPS/D-GalN 誘導急性肝毒性的功能研究：

利用 LPS/D-GalN 誘導小鼠肝損傷模式系統，進行 CA5-3 與保肝藥 silymarin 的體內活性分析。結果顯示，施打 LPS/D-GalN 會造成小鼠血清中 ALT 與 AST 值分別上升至 24170 \pm 3673U/L 與 11270 \pm 1769 U/L，而經由預先管餵阿里山薊萃取物 EA5-3 低劑量處理組(10mg/kg BW)，AST 與 ALT 分別降到 8510 \pm 1290 與 3770 \pm 114 U/L，而預先管餵 EA5-3 高劑量處理組 (Pre-CA50)，ALT 與 AST 分別降到 2000 \pm 541U/L 與 1060 \pm 329 U/L (圖十二 A)，與 LPS/D-GalN 處理組有顯著性差異 ($P < 0.05$)，管餵正對照組 silymarin (Pre-SM50 與 Post-SM50)，ALT 與 AST 分別降至 11000 \pm 1632 與 5420 \pm 541 U/L，與 LPS/D-GalN 處理組亦有顯著性差異 ($P < 0.05$)。H&E 染色結果顯示，LPS/D-GalN 處理組之肝臟肝門靜脈區域出現紅血球浸潤且發炎之現象，而給予 EA5-3 與 SM 處理之肝臟組織中，發炎與紅血球浸潤現象明顯較

LPS/D-GalN 處理組少(圖十二 B)。

在肝、腎與肺等器官方面，未接受 LPS/D-GalN 的 sham 對照組之肝臟與體重比值為 $5.4 \pm 0.4\%$ ，而接受 LPS/D-GalN 施打的各組別之肝臟與體重比值在 $5.0 \pm 0.3\%$ 至 $5.7 \pm 0.3\%$ 之間，無顯著差異。其餘包括肺臟與腎臟，各組別間皆無顯著差異(圖十三)。

TBARS 分析結果中指出，Sham 組、LPS/D-GalN 組、Pre-CA10、Pre-CA50、Post-CA50、Pre-SM50 及 Post-SM50 之肝臟 TBARS 值分別為 2.93 ± 0.60 、 3.84 ± 0.92 、 3.23 ± 0.23 、 2.92 ± 0.48 、 3.67 ± 1.01 、 1.59 ± 0.27 及 2.53 ± 0.35 nmole MDA/mg protein(表一)。由此可知，LPS/D-GalN 會引起小鼠體內之自由基增加導致脂質氧化產物丙二醛增加，使體內 TBARS 值提高；但 Pre-CA50 與 Pre-CA10 處理組與 post-SM50 處理組之 TBARS 值顯著低於 LPS/D-GalN 組，且與 Sham 處理組之 TBARS 值未有顯著性差異，藉此結果可推論阿里山薊 EA5-3 與 SM 皆有助於清除小鼠體內自由基之功效。另 GPx 抗氧化酵素活性結果中指出，LPS/D-GalN 誘導小鼠肝損傷情況下，小鼠體內防禦機制被激發，使得 LPS/D-GalN 處理組之 GPx 酵素活性顯著高於 sham 處理組，但只有 Pre-SM50 可降低 GPx 活性，其他處理組則不顯著(表一)。

單一劑量口服急性毒性試驗：

本研究是依據美國 FDA 單一劑量口服急性毒性試驗方法，來設計與測試阿里山薊 EA 層抽出物之急毒性。以四週齡大雄性 BALB/c 品系小鼠進行口服急性毒性試驗。試驗共分為四組，分別為溶劑對照組(5% DMSO/PBS)、50 mg/kg、250 mg/kg 及 500 mg/kg，每組 20 隻小鼠。所有動物均飼養在中研院農生中心核心動物設施中，採 12 小時日夜光照週期。開始試驗前記錄體重一次，並在小鼠給藥前予以禁食隔夜。溶劑對照組、50 mg/kg、250 mg/kg 處理組採一次口服給藥方式投藥，500 mg/kg 則以間隔一小時方式分二次投藥。給藥後供應充足飼料及飲水自由攝食，每天觀察動物一次(死亡率、外觀、眼睛、活動力、食慾等)，每二天稱重一次。每個處理組連續觀察 7 天，7 天後犧牲 10 隻小鼠，進行解剖觀察，同時採血進行全血球計數及血清生化值分析，並採取肝、腎、脾、肺等臟器，以了解試驗物質對動物器官毒性作用。每處理組之另 10 隻小鼠則連續觀察 14 天，試驗結束後同樣犧牲進行解剖觀察，同時採血進行全血球計數及血清生化值分析，並採取肝、腎、脾、肺等臟器。所有肉眼可觀察到有病變的器官與組織均須進行組織病理檢驗。

阿里山薊乙酸乙酯層(Ethyl Acetate, EA)抽出物安全性評估

本研究以 BALB/c 品系小鼠，對阿里山薊活性乙酸乙酯層(Ethyl Acetate, EA)抽出物進行安全性評估。處理組分為四組：溶劑對照組(5% DMSO/PBS, sham)、阿里山薊 EA 層抽出物 50 mg/kg (EA-50)、250 mg/kg (EA-250)、以及 500 mg/kg (EA-500)，以上處理均採口服方式投藥。觀察項目為試驗結束死亡率或存活率、試驗期間體重變化、主要臟器重和體重比例重量指數、以及血液全血球計數分析。

在試驗 7 天和 14 天後，四個處理組的所有小鼠存活率均為 100%。亦即 EA-50、EA-250、EA-500 三個阿里山薊 EA 層抽出物劑量，不會造成小鼠死亡。在體重變化方面(圖十四)，四個處理組小鼠平均體重均隨著試驗天數增加，但各組間沒有統計上差異。所有處理對 BALB/c 小鼠肺、腎、脾三個臟器重和體重比例變化沒有顯著差異(圖十五)；但是在肝重和體重比例上，EA-50、EA-250、EA-500 處理組的小鼠，在給藥後 7 天肝臟重量指數略比溶劑對照組降低；給藥後 14 天肝臟重量指數(圖十六)，EA-500 處理組略低於其它三個處理組。

血液全血球計數分析結果顯示，試驗 7 天後 EA-50 組的白血球數(white blood cell, WBC)會略高於其他組(表二)，平均值為 7.8 ± 0.4 (單位: $10^9/L$)；EA-50 組同時在淋巴細胞(lymphocyte absolute count, LYM)上平均為 5.9 ± 0.6 (單位: $10^9/L$)略高於對照組的 3.1 ± 1.5 。其它項血液參數，則對照組和三個阿里山薊給藥組間沒有明顯差異。在給藥 14 天後(表三)，EA-500 組在白血球數和中性粒細胞絕對數值(neutrophil absolute count, NEU)二個參數上平均值較其他組別低；而在中性粒細胞百分比率(neutrophil percent, % N)一項，則是 EA-50 和 EA-250 略低於對照組，但對照組和 EA-500 組間的中性粒細胞百分比率沒有差別。EA-500 處理會略提高 BALB/c 小鼠的紅血球分佈寬度(red cell distribution width, RDW)。但綜合而言，阿里山薊 EA 抽出物對小鼠各式血球之分布影響不顯著。

肆、結論與建議

薊屬植物被廣泛認為具有護肝的功效，故本計畫以台灣本土特有植物「阿里山薊」為目標，由地下部 EA fraction 分離獲得活性分割層 EA4-4 與 EA-5-3，並已建立其指紋圖譜。由活性 EA-5-3 並純化得到活性成分 heptadeca-1,9-diene-11,13-diyne-8-ol(1)。並已探討相關分子作用機制。重要結論綜合如下：

- 依活性導向之分離策略，有效的將阿里山薊之抗發炎性活性抽出成分 (EA5-3) 分離與鑑定。
- 已建立活性抽出物(EA5-3)之化學指紋圖譜，並首次鑑定出阿里山薊會聚乙烯化學物(1)。
- 本研究首次指出 heptadeca-1,9-diene-11,13-diyne-8-ol(1) 具有抗發炎活性。
- 抗發炎活性抽出物之 EA4-4 與 EA5-3 分子作用機制是經由負調節 IKK/NF- κ B 訊息傳遞途徑與下游之促發炎因子 iNOS、COX-2、IL-6 與 TNF- α 之表達。
- EA5-3 有效保護 LPS/D-GalN 引發之小鼠急性肝損傷。

誌謝

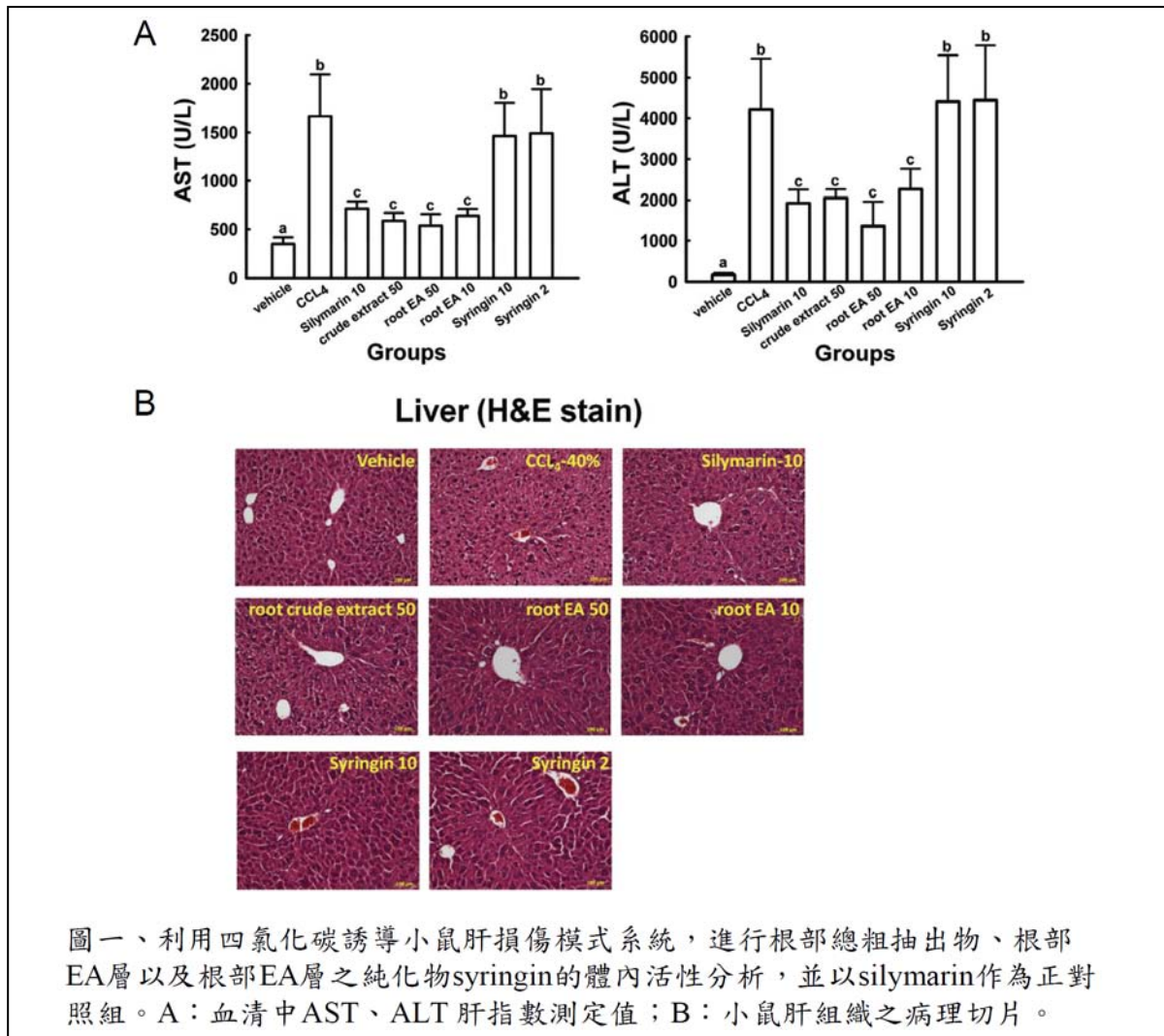
本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP100-RD-109 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

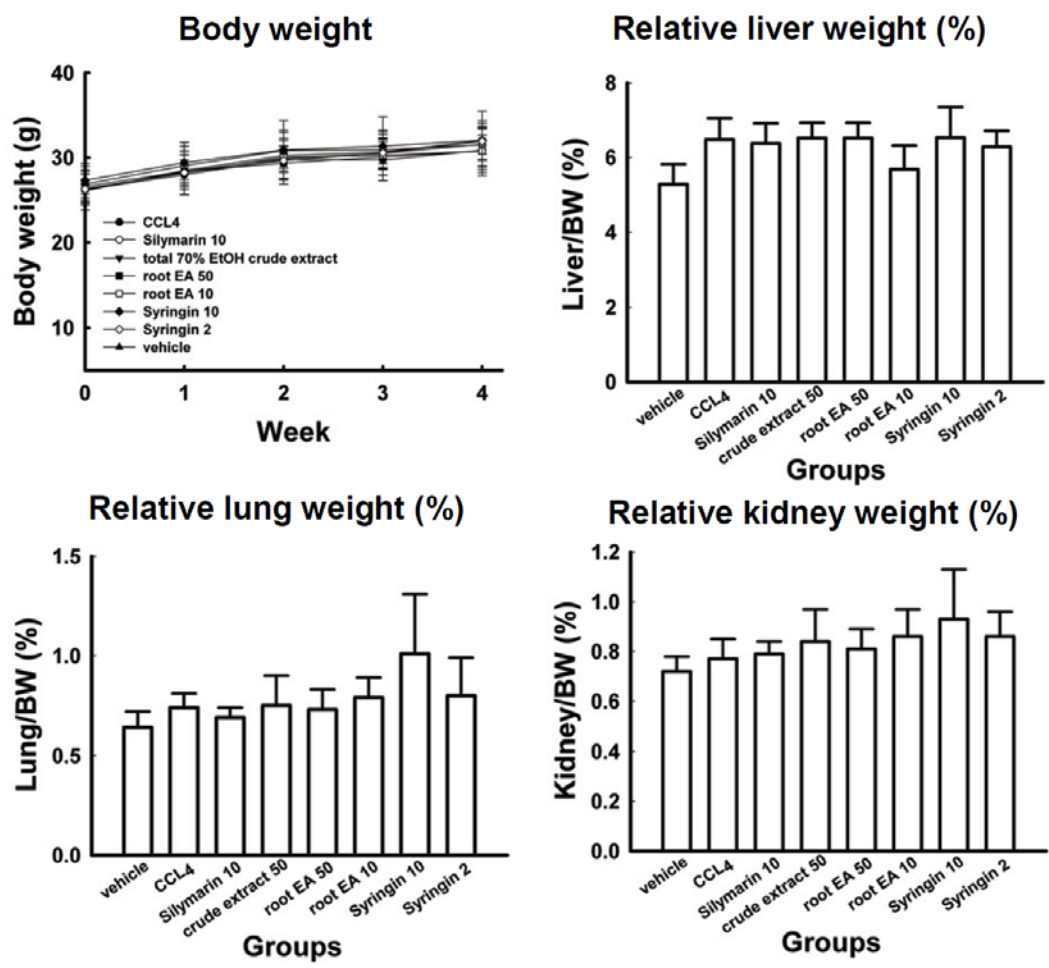
伍、參考文獻

1. Chang CY, Chen YL, Yang SC, Huang GC, Tsi D, Huang CC, Chen JR and Li JS: Effect of schisandrin B and sesamin mixture on CCl₄-induced hepatic oxidative stress in rats. *Phytother Res* 2009; 23: 251-256.
2. Chiang YM, Lo CP, Chen YP, Wang SY, Yang NS, Kuo YH and Shyur LF: Ethyl caffeate suppresses NF-kappaB activation and its downstream inflammatory mediators, iNOS, COX-2, and PGE₂ in vitro or in mouse skin. *Br J Pharmacol* 2005; 146: 352-363.
3. Friedman SL: Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000; 275: 2247-2250.
4. Huang CC, Lo CP, Chiu CY, and Shyur LF: Deoxyelephantopin, a novel multifunctional agent suppresses mammary tumor growth and lung metastasis and doubles survival time in mice. *Bri J Pharm* 2010; 159: 856-871.
5. Ku KL, Tsai CT, Chang WM, Shen ML, Wu CT and Liao HF: Hepatoprotective effect of *Cirsium arisanense* Kitamura in tacrine-treated hepatoma Hep 3B cells and C57BL mice. *Am J Chin Med* 2008; 36: 355-368.
6. Lin YL, Wu CH, Luo MH, Huang YJ, Wang CN, Shiao MS and Huang YT: *In vitro* protective effects of salvianolic acid B on primary hepatocytes and hepatic stellate cells. *J Ethnopharmacol* 2006; 105: 215-222.
7. Ohshima H and Bartsch H: Chronic infections and inflammatory processes as cancer risk factors: possible role of nitric oxide in carcinogenesis. *Mutat Res* 1994; 305: 253-264.
8. Purohit V and Russo D: Cellular and molecular mechanisms of alcoholic hepatitis: introduction and summary of the symposium. *Alcohol* 2002; 27: 3-6.
9. Ramm GA: Isolation and culture of rat hepatic stellate cells. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13: 846-851.
10. Riedemann NC, Guo RF and Ward PA: The enigma of sepsis. *J Clin Invest* 2003; 112: 460-467.
11. Sakata R, Ueno T, Nakamura T, Sakamoto M, Torimura T and Sata M: Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits platelet-derived growth factor-induced proliferation of human hepatic stellate cell line LI90. *J Hepatol* 2004; 40: 52-59.

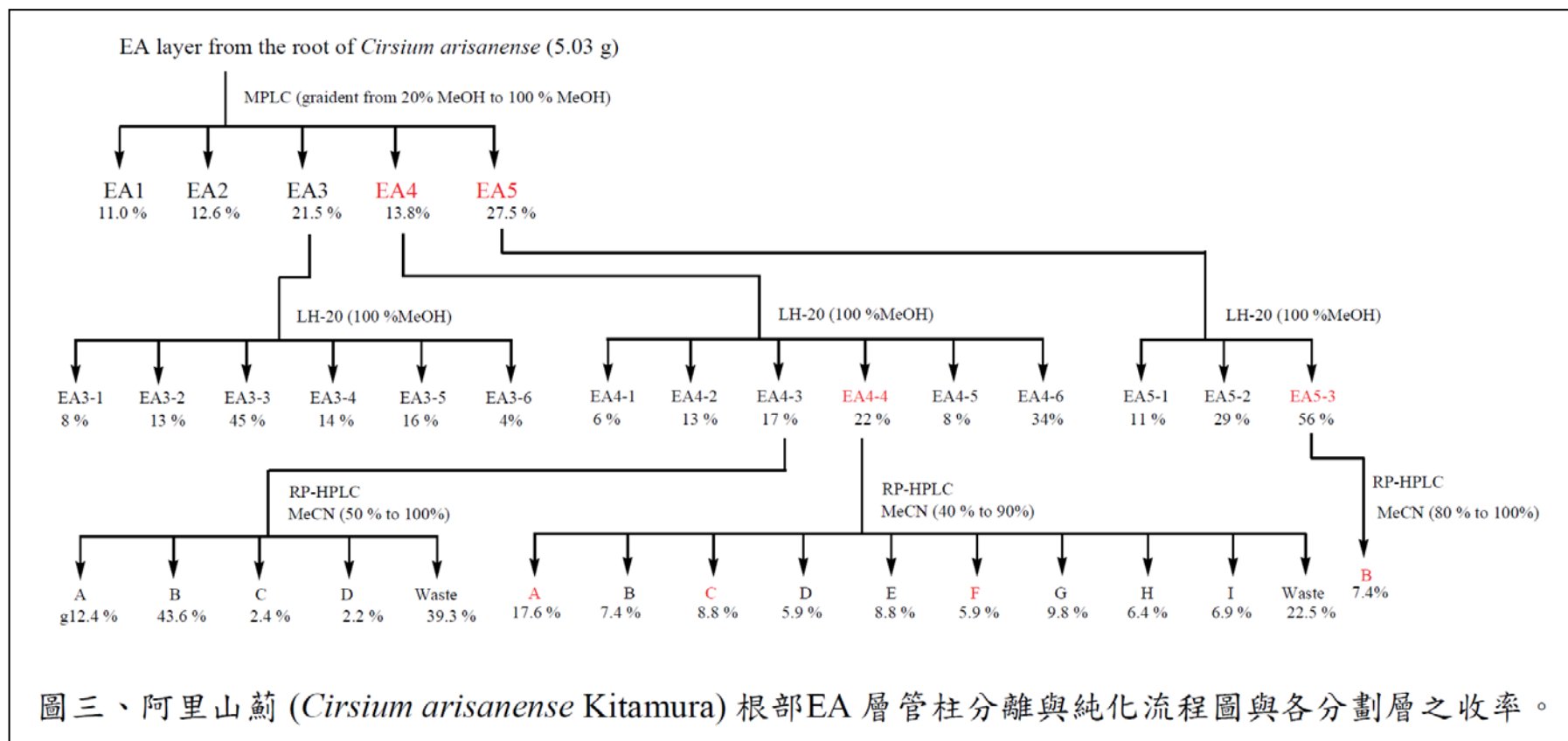
12. Shyur LF, Chen CH, Lo CP, Wang SY, Kang PL, Sun SJ, Chang CA, Tzeng CM and Yang NS: Induction of apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells by phytochemicals from *Anoectochilus formosanus*. *J Biomed Sci* 2004; 11: 928-939.
13. Shyur LF, Huang CC, Lo CP, Chiu CY, Chen YP, Wang SY and Chang ST: Hepatoprotective phytochemicals from *Cryptomeria japonica* are potent modulators of inflammatory mediators. *Phytochemistry* 2008; 69: 1348-1358.
14. Weber LW, Boll M and Stampfl A: Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Rev Toxicol* 2003; 33: 105-136.
15. Williams R: Classification, etiology, and considerations of outcome in acute liver failure. *Semin Liver Dis* 1996; 16: 343-348.
16. Yang SC, Huang CC, Chu JS and Chen JR: Effects of beta-carotene on cell viability and antioxidant status of hepatocytes from chronically ethanol-fed rats. *Br J Nutr* 2004; 92: 209-215.
17. 健康食品護肝功能評估方法修訂草案 (針對四氯化碳誘導化學性肝損傷) (98年11月03日)
18. 行政院衛生署健康食品安全性評估方法，衛署食字第 88037803 號。

陸、圖、表

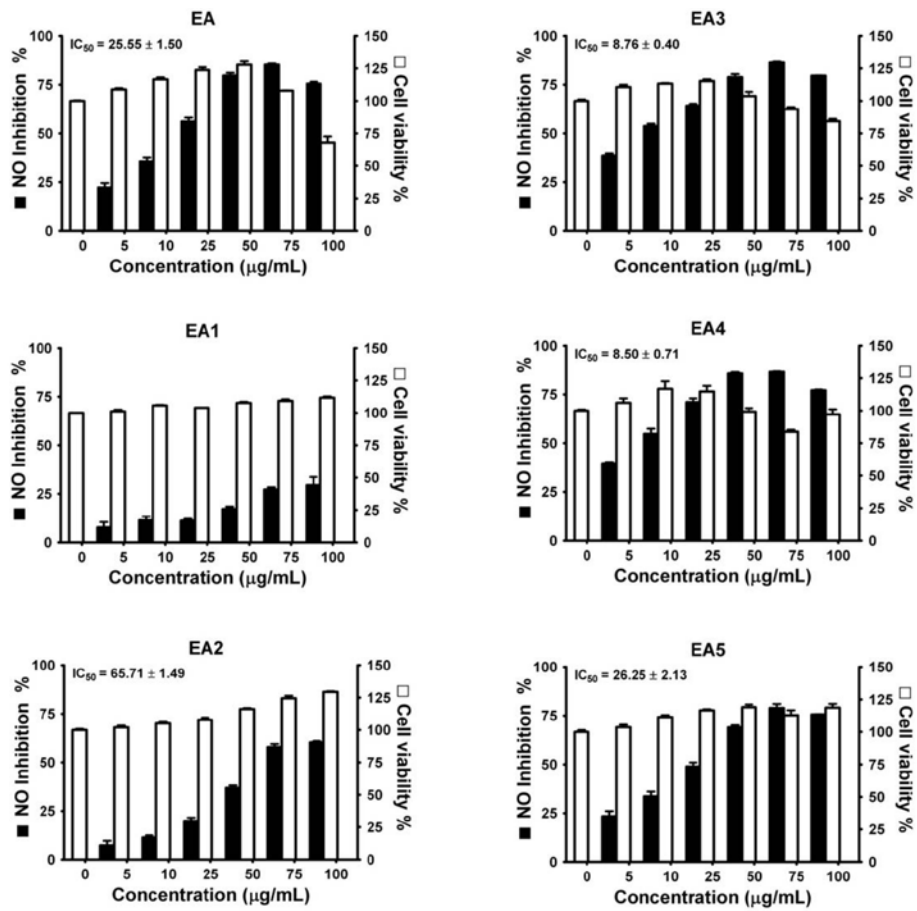




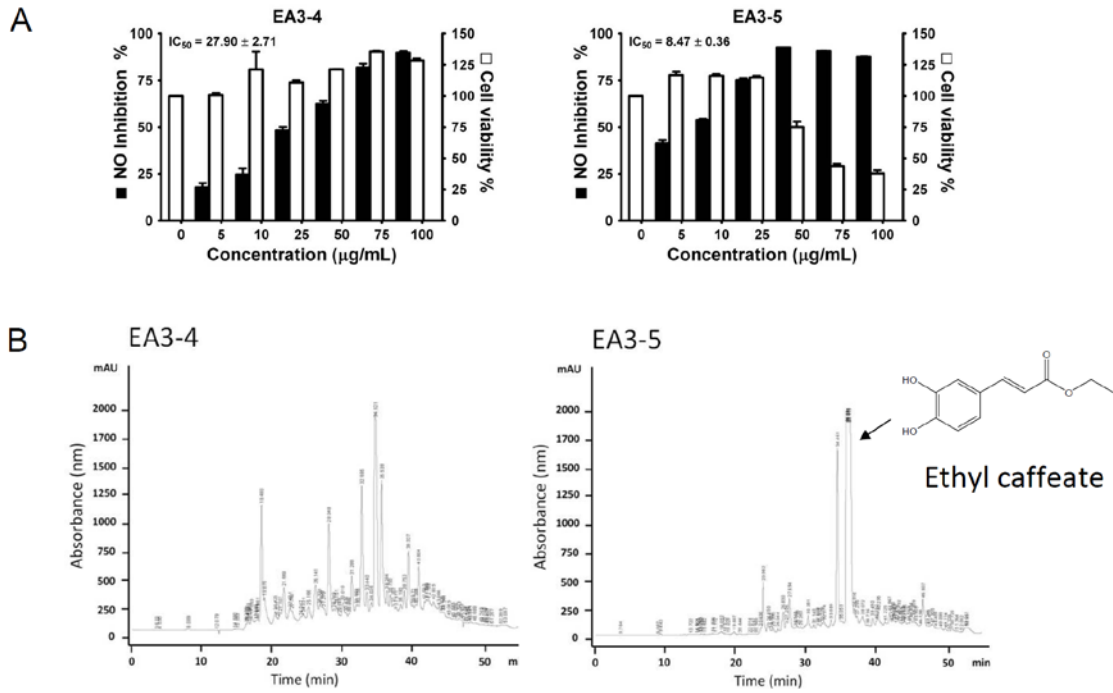
圖二、四氯化碳誘導小鼠肝損傷實驗之各組別實驗動物試驗期間之體重趨勢以及器官(肝、肺、腎)和體重相對比值之分析。



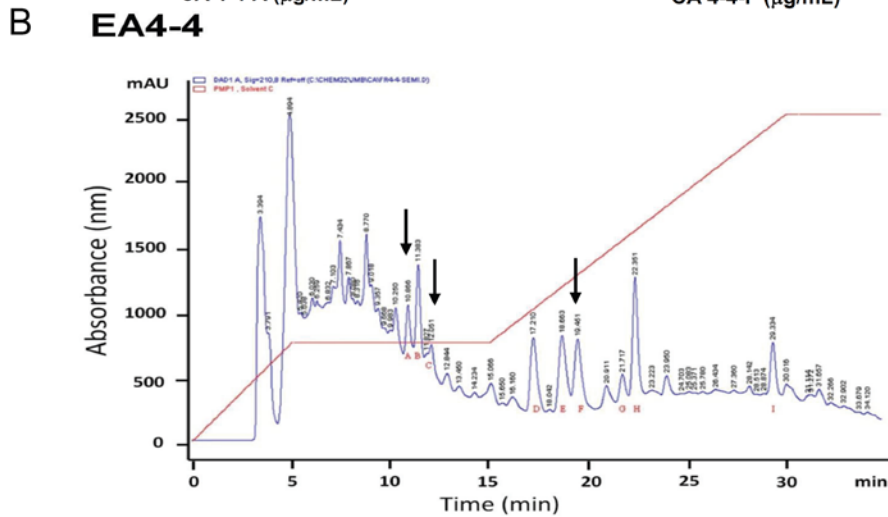
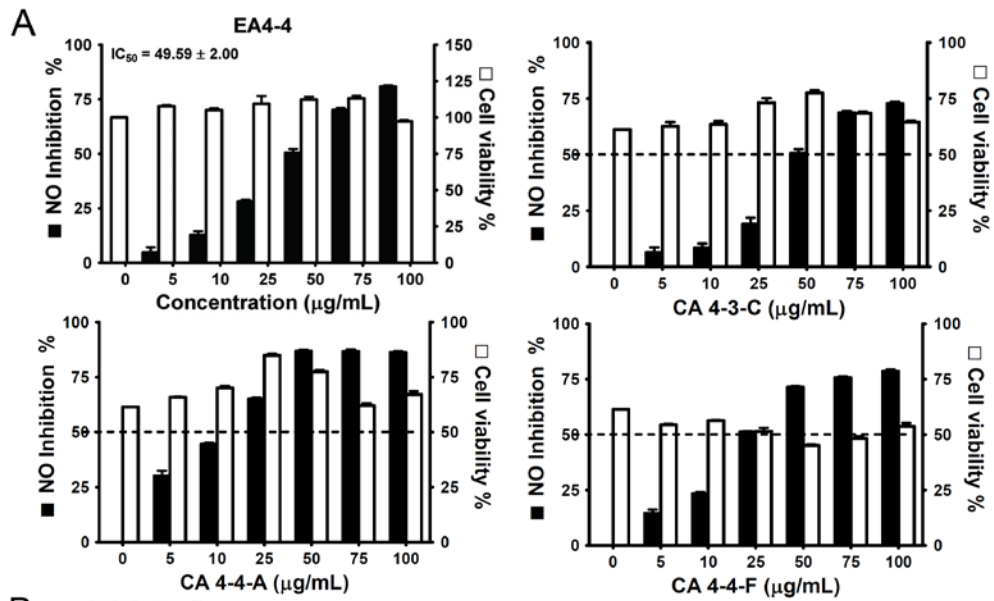
圖三、阿里山薊 (*Cirsium arisanense* Kitamura) 根部EA層管柱分離與純化流程圖與各分劃層之收率。



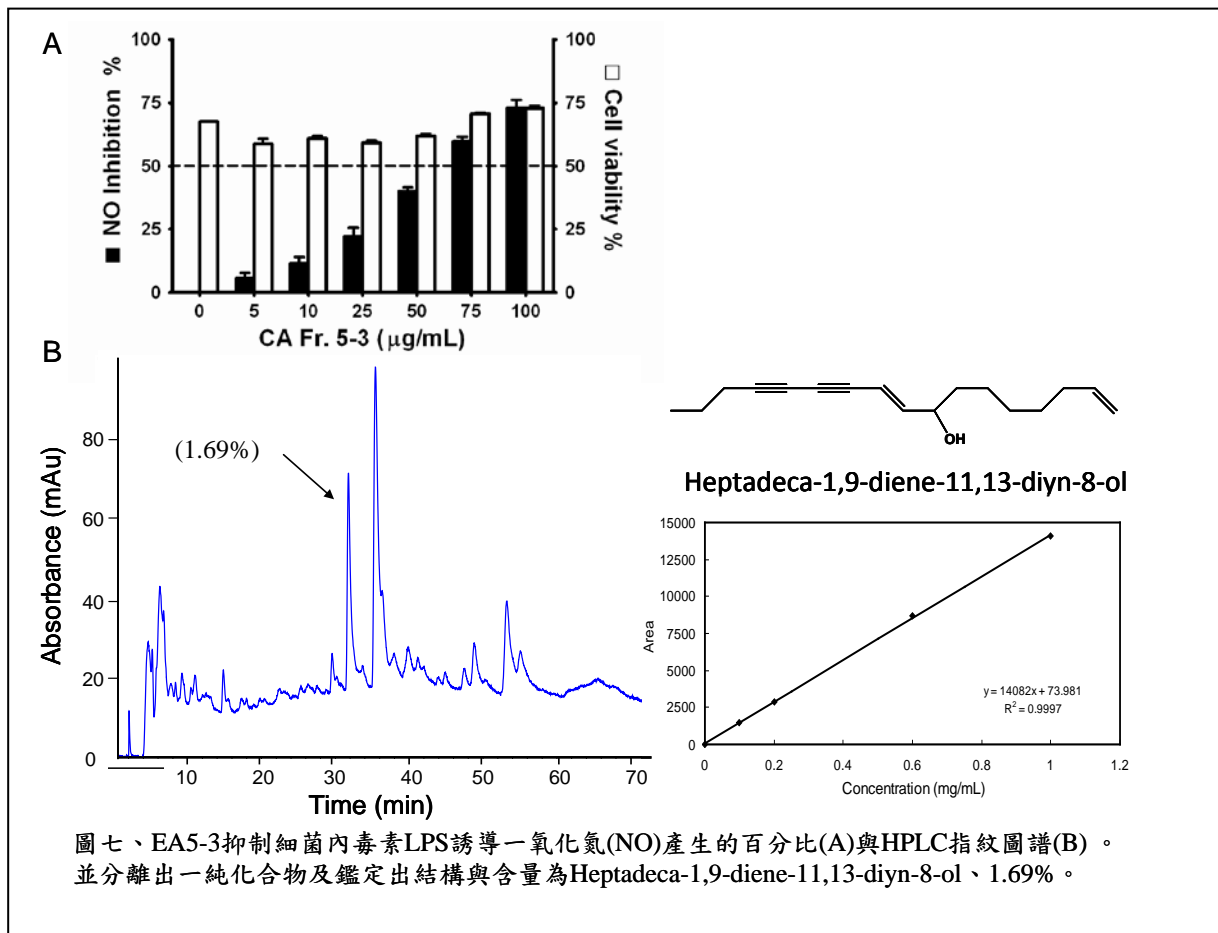
圖四、以抑制細菌內毒素LPS誘導一氧化氮(NO)產生的百分比表示阿里山薊 (*Cirsium arisanense* Kitamura) 根部EA層次劃分(EA1~EA5)之抗發炎活性。

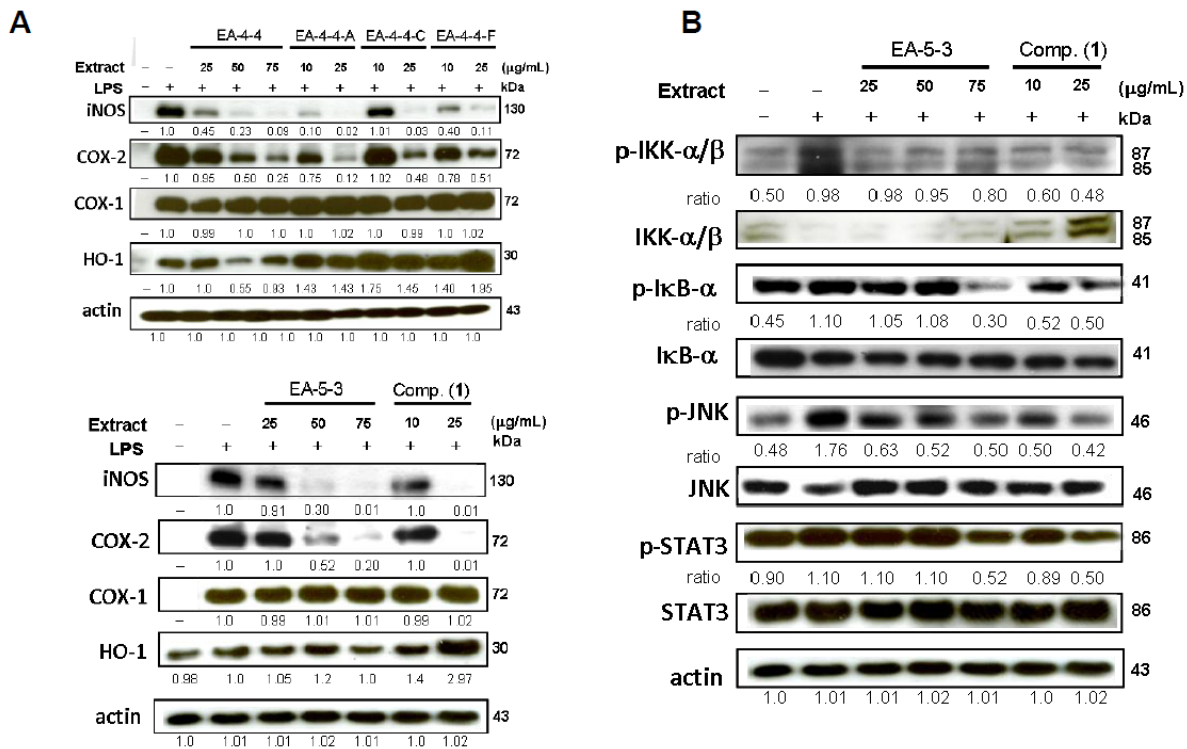


圖五、以抑制細菌內毒素LPS誘導一氧化氮(NO)產生的百分比表示阿里山薊 EA3之次分層EA3-4與EA3-5之抗發炎活性(A)與EA3-4、EA3-5分層之HPLC化學圖譜分析(B)。由EA3-5分層純化與鑑定出化合物ethyl caffeate。

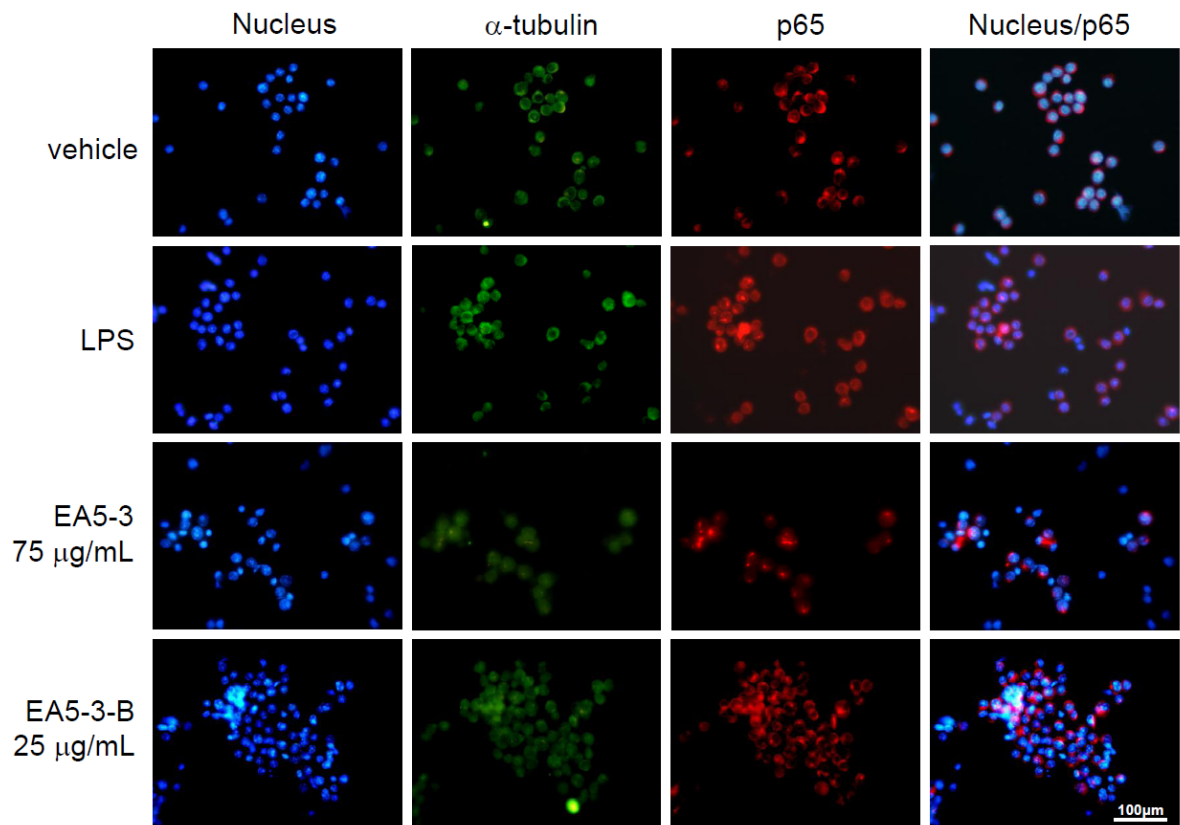


圖六、以抑制細菌內毒素LPS誘導一氧化氮(NO)產生的百分比表示阿里山薊 EA4-4、EA4-4-A、EA4-4-C與EA4-4-F次分層抗發炎活性(A)與EA4-4之HPLC化學圖譜分析(B)。

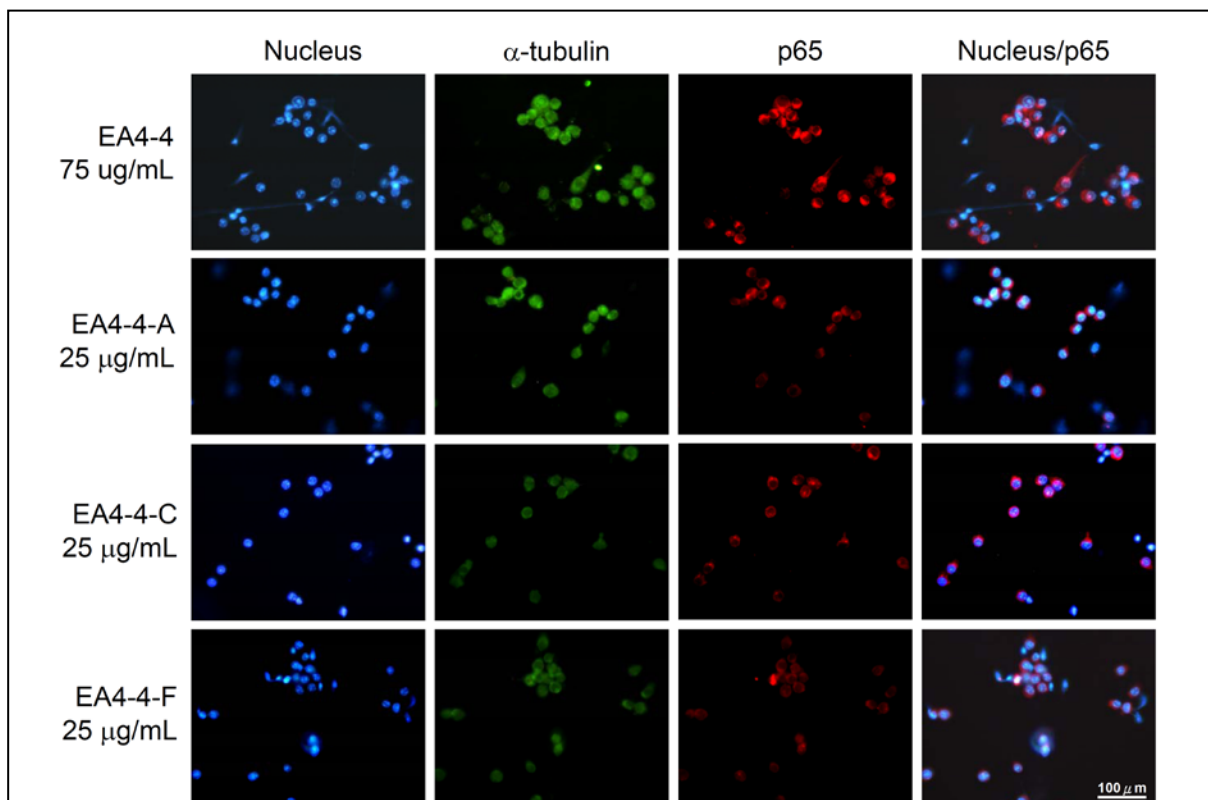




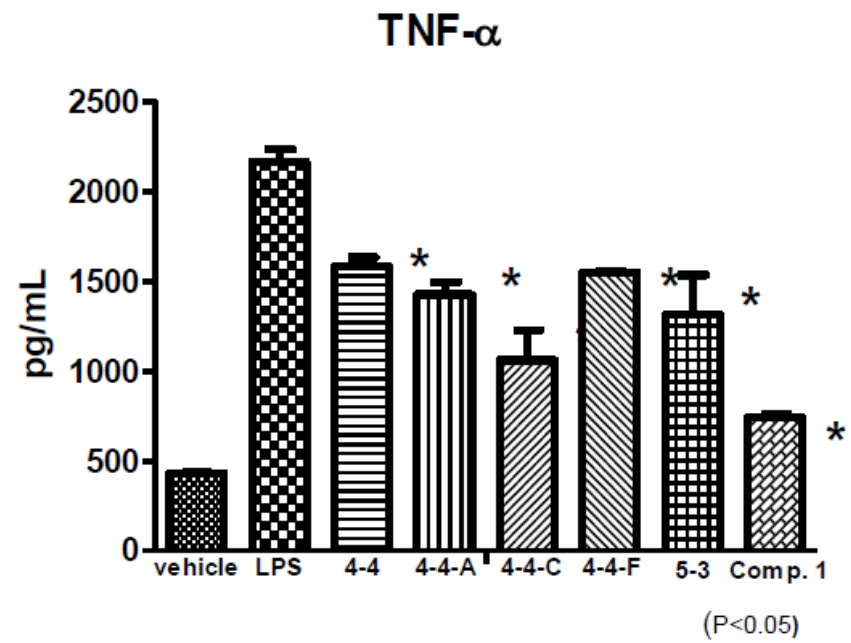
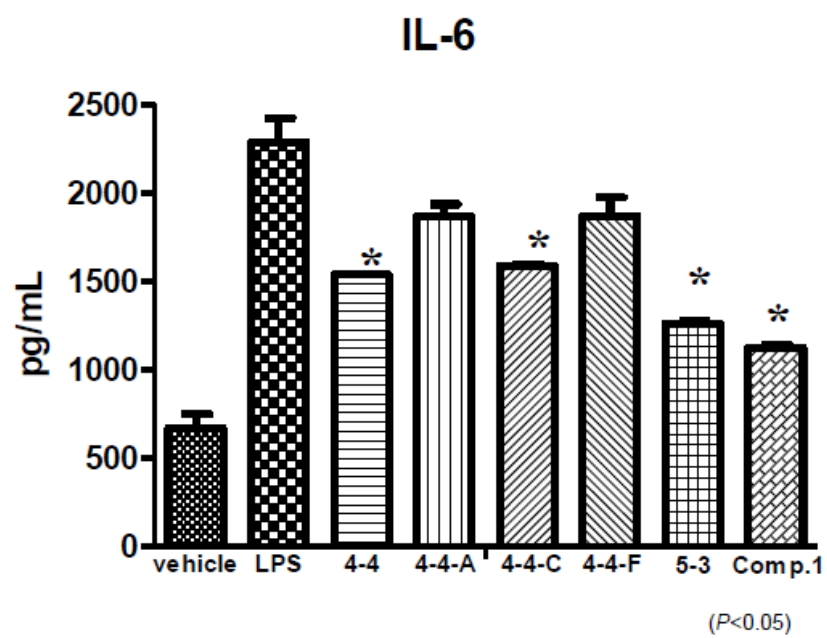
圖八、不同阿里山薊萃取物EA4-4與EA5-3與其次分離物之西方點墨法分析。(A) EA4-4與EA5-3對於iNOS、COX-1、COX-2與HO-1表現之影響。(B) EA5-3與Comp. (1)對於I κ B, IKK, JNK, STAT3磷酸化之影響。



圖九、EA5-3 與 Comp(1)成分抑制 LPS 誘導 NF-kB(p65)蛋白質核轉移活性。

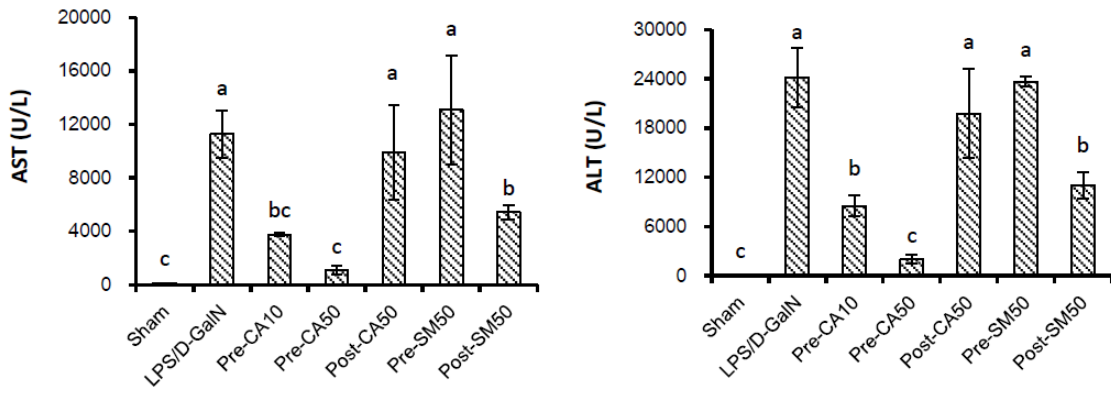


圖十、EA4-4、EA4-4-A、EA4-4-C與EA4-4-F成分抑制LPS誘導NF- κ B(p65)蛋白質之核轉移活性。



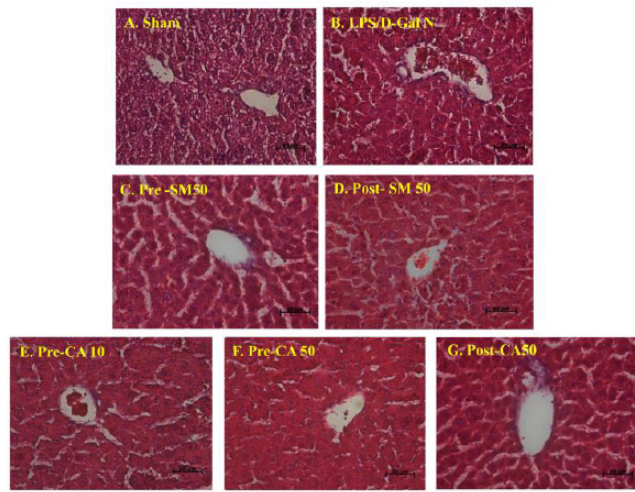
圖十一、不同阿里山薊抽出物抑制LPS刺激老鼠RAW246.7細胞產生IL-6與TNF- α 細胞激素的效果。

A



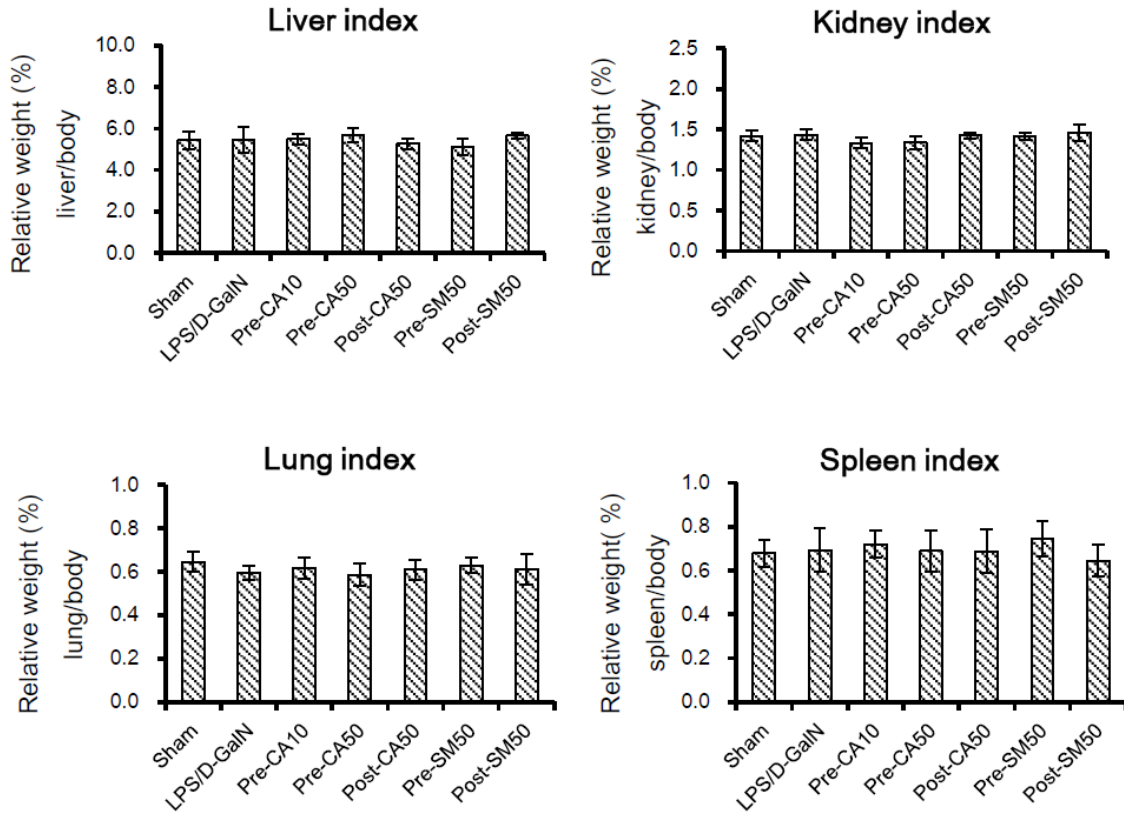
Liver (H&Estain)

B



圖十二.(A) 小鼠血清 AST 與 ALT 活性分析(B)阿里山薊 EA 5-3 層抽出物對細菌內毒素與脂多醣胺誘導 BALB/c 小鼠急性肝損傷之病理分析(H&E staining)。

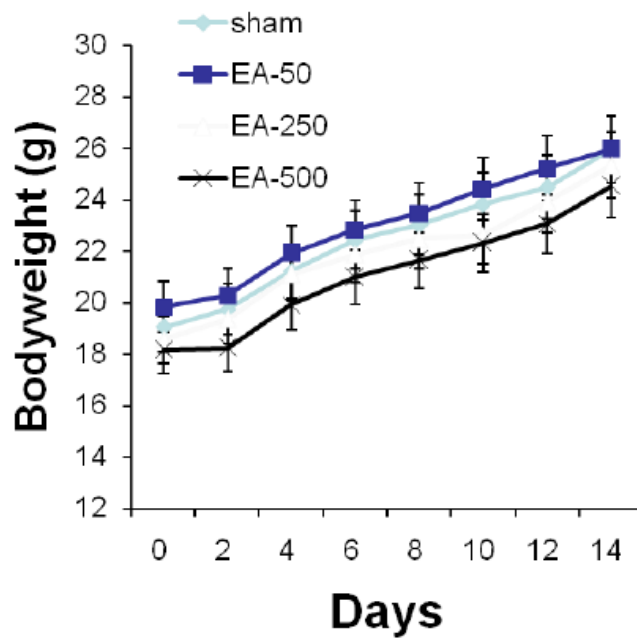
Organ index



(All treatments show no significantly different.)

圖十三、小鼠各臟器之重量指數比

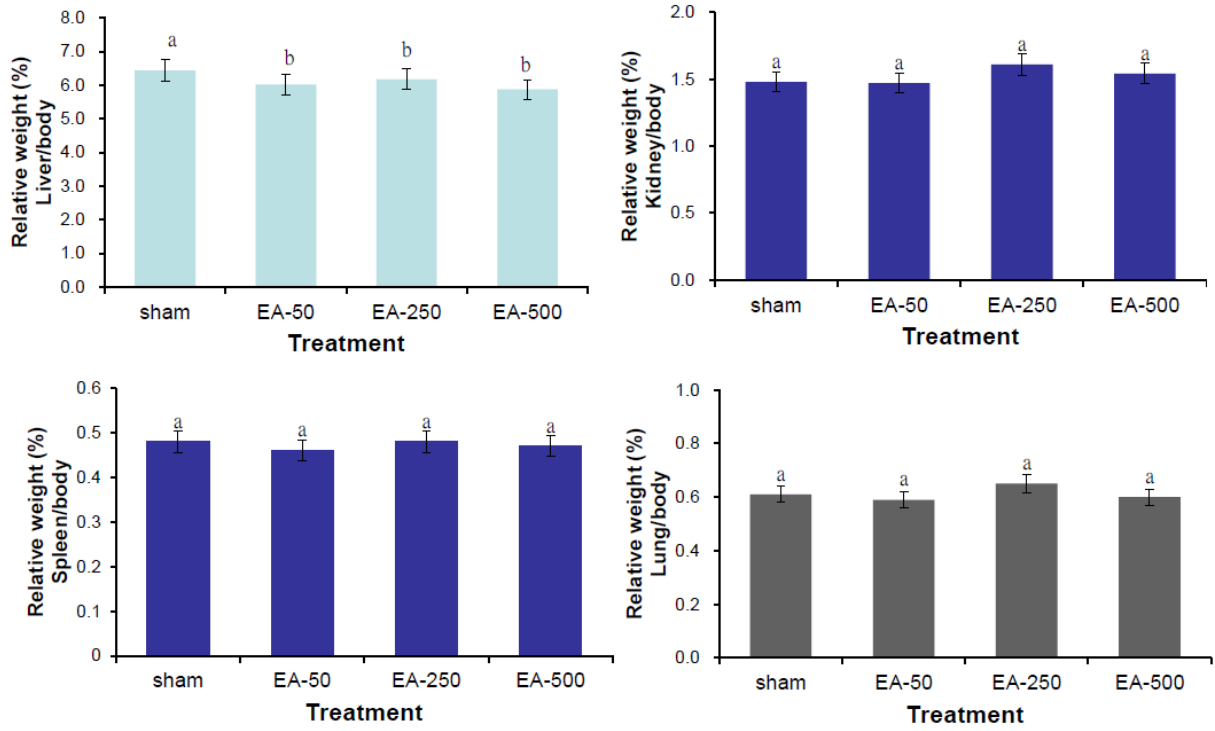
Mouse body weight



圖十四、阿里山薊活性EA抽出物之急毒試驗結果。小鼠分別餵食50、250、500 mg/kg BW 後之體重變化。

At 7 days

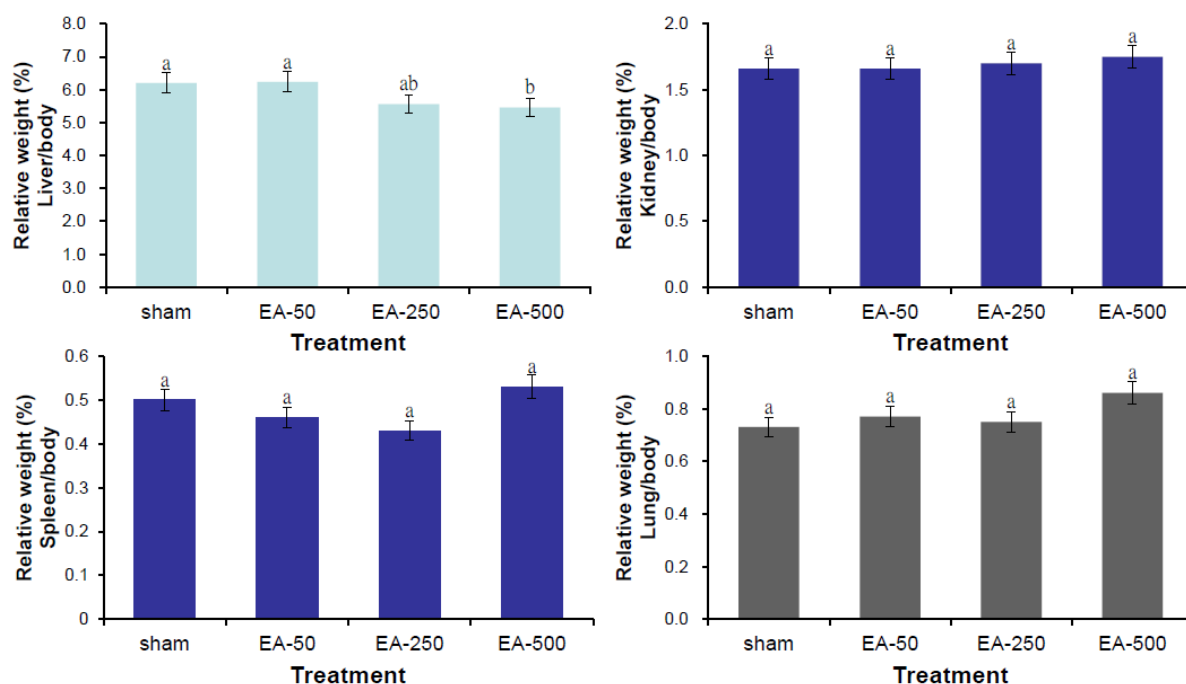
Organ weight index



圖十五、阿里山薊活性EA抽出物之急毒試驗結果。小鼠分別餵食50、250、500 mg/kg BW 第7天之肝臟、脾臟、腎臟與肺臟之重量指數。

At 14 days

Organ weight index



圖十六、阿里山薊活性EA抽出物之急毒試驗結果。小鼠分別餵食50、250、500 mg/kg BW 第14天之肝臟、脾臟、腎臟與肺臟之重量指數。

表一、小鼠肝臟 TBARS 值與抗氧化酵素 GPx 活性

Group	TBARS (nmole MDA/mg protein)	GPx (U/mg protein)
Sham	2.93±0.60 ^{ac}	1182.4±152.5 ^a
LPS/D-GalN	3.84±0.92 ^b	2528.7±165.6 ^{bc}
Pre-CA10	3.23±0.23 ^{abc}	2442.8±621.5 ^c
Pre-CA50	2.92±0.48 ^{ac}	2846.0±241.0 ^b
Post-CA50	3.67±1.01 ^{ab}	2493.4±87.7 ^{bc}
Pre-SM50	1.59±0.27 ^d	1975.0±345.4 ^d
Post-SM50	2.53±0.35 ^c	2146.1±300.7 ^{cd}

($P < 0.05$)

表二、小鼠分别喂食50、250、500 mg/kg BW 第7天之全血血球分析。

At 7 days		completed blood cell counts									
Treatment	WBC	NEU	LYM	MONO	EOS	BASO	%N	%L	%M	%E	%B
Sham	5.1±1.5 ^b	1.7±0.8 ^a	3.1±1.5 ^b	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	34.4±15.6 ^{ab}	59.0±15.5 ^{ab}	2.4±1.9 ^a	2.7±1.7 ^a	1.5±1.2 ^a
EA-50	7.8±0.4 ^a	1.4±0.1 ^a	5.9±0.6 ^{ab}	0.1±0.1 ^a	0.2±0.2 ^a	0.1±0.1 ^a	17.6±1.0 ^a	75.9±4.3 ^a	1.8±1.8 ^a	3.2±2.4 ^a	1.5±0.8 ^a
EA-250	6.0±2.0 ^b	1.2±0.2 ^a	4.5±0.3 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	20.6±3.4 ^a	74.9±1.1 ^a	1.1±1.1 ^a	1.9±1.3 ^a	1.4±0.9 ^a
EA-500	5.6±2.0 ^b	1.2±0.3 ^a	3.9±1.8 ^b	0.2±0.1 ^a	0.2±0.1 ^a	0.2±0.1 ^a	22.4±6.2 ^b	67.1±11.3 ^b	3.5±1.4 ^a	4.3±3.4 ^a	3.2±1.5 ^a

Treatment	RBC	Hb	Ht	MCV	MCH	MCHC	RDW	PLT
Sham	9.9±0.2 ^a	15.3±0.1 ^a	50.5±0.6 ^a	51.3±0.6 ^a	15.6±0.1 ^a	30.4±0.2 ^a	23.4±1.2 ^a	927.2±100.8 ^a
EA-50	9.5±0.2 ^a	14.6±0.2 ^a	49.4±0.8 ^a	51.8±0.7 ^a	15.6±0.3 ^a	30.1±0.3 ^a	21.3±2.2 ^a	872.3±16.5 ^a
EA-250	9.9±0.4 ^a	15.1±0.5 ^a	50.2±1.7 ^a	51.0±0.7 ^a	15.3±0.3 ^a	30.0±0.3 ^a	30.0±0.3 ^a	934.0±87.9 ^a
EA-500	9.9±0.3 ^a	15.0±0.4 ^a	50.6±1.6 ^a	51.3±0.6 ^a	15.1±0.3 ^a	29.6±0.5 ^a	29.6±0.5 ^a	823.2±263.8 ^a

Different letters denote statistical difference. (n= 4~5, $p < 0.05$)

WBC ($10^9/L$): white blood cell, NEU ($10^9/L$): neutrophil absolute count, LYM ($10^9/L$):lymphocyte absolute count, MONO ($10^9/L$): monocyte absolute count, EOS ($10^9/L$): eosinophil absolute count, BASO ($10^9/L$): basophil absolute count, %N: neutrophil percent, %L: lymphocyte percent, %M: monocyte percent,%E: eosinophile percent, %B: basophil percent.

RBC ($10^{12}/L$): red blood cell, Hb (g/dL): hemoglobin, Ht (%): hematocrit, MCV (f L): mean corpuscular volume, MCH (pg): mean corpuscular hemoglobin, MCHC (g/dL): mean corpuscular hemoglobin concentration, RDW (%): red cell distribution width, PLT: platelet.

表三、小鼠分别喂食50、250、500 mg/kg BW 第14天之全血血球分析。

At 14 days		completed blood cell counts									
Treatment	WBC	NEU	LYM	MONO	EOS	BASO	%N	%L	%M	%E	%B
Sham	5.1±1.4 ^a	1.6±0.6 ^a	3.3±1.5 ^{ab}	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.0 ^a	32.3±13.9 ^{ab}	62.5±15.2 ^{bc}	2.1±1.8 ^a	1.6±1.6 ^a	1.6±0.8 ^a
EA-50	6.0±0.9 ^a	1.0±0.1 ^a	4.7±0.8 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^a	16.9±2.1 ^c	78.8±2.1 ^a	0.7±0.5 ^a	2.1±0.6 ^a	1.4±0.5 ^a
EA-250	6.2±1.5 ^a	1.2±0.1 ^a	4.7±1.3 ^{ab}	0.1±0.1 ^a	0.1±0.0 ^a	0.1±0.1 ^a	20.0±3.0 ^{bc}	74.8±3.7 ^{ab}	1.3±1.0 ^a	2.3±0.4 ^a	1.7±1.0 ^a
EA-500	3.0±1.2 ^b	1.0±0.3 ^b	1.8±1.1 ^b	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	0.1±0.0 ^a	35.7±12.0 ^a	56.2±13.6 ^a	2.8±1.1 ^a	3.6±3.0 ^a	1.7±1.5 ^a

Treatment	RBC	Hb	Ht	MCV	MCH	MCHC	RDW	PLT
Sham	9.9±0.5 ^{ab}	15.2±0.7 ^a	50.8±2.3 ^a	51.1±0.9 ^a	15.6±0.1 ^a	29.9±0.3 ^a	20.9±1.5 ^b	677.0±185.3 ^a
EA-50	10.2±0.2 ^a	15.5±0.3 ^a	52.2±1.1 ^a	51.0±0.6 ^a	15.6±0.3 ^a	29.8±0.4 ^a	21.0±1.1 ^b	702.8±100.7 ^a
EA-250	9.6±0.2 ^b	14.9±0.3 ^a	49.7±0.8 ^a	51.7±0.5 ^a	15.3±0.3 ^a	30.0±0.2 ^a	20.2±0.7 ^b	792.6±25.1 ^a
EA-500	9.8±0.3 ^{ab}	15.1±0.3 ^a	50.0±1.5 ^a	51.1±0.1 ^a	15.1±0.3 ^a	30.2±0.3 ^a	22.7±0.8 ^a	722.7±172.2 ^a

Different letters denote statistical difference. (n= 4~5, $p < 0.05$)

WBC ($10^9/L$): white blood cell, NEU ($10^9/L$): neutrophil absolute count, LYM ($10^9/L$):lymphocyte absolute count, MONO ($10^9/L$): monocyte absolute count, EOS ($10^9/L$): eosinophil absolute count, BASO ($10^9/L$): basophil absolute count, %N: neutrophil percent, %L: lymphocyte percent, %M: monocyte percent,%E: eosinophile percent, %B: basophil percent.

RBC ($10^{12}/L$): red blood cell, Hb (g/dL): hemoglobin, Ht (%): hematocrit, MCV (f L): mean corpuscular volume, MCH (pg): mean corpuscular hemoglobin, MCHC (g/dL): mean corpuscular hemoglobin concentration, RDW (%): red cell distribution width, PLT: platelet.

新型核酸分子等溫擴增技術於中藥材基因體基源鑑定之研究—以常見誤用及混用中藥材之基源為例(2-2)

李孟修
中國醫藥大學

摘要

中藥品質管制的目的，在於辨別真偽、參雜及品質的優劣，以確保臨床的療效。而誤用、混用以及偽劣藥材，不僅無助於疾病之治療，甚至會危害國人的健康。因此，如何有效鑑定及管控中藥材，為當前刻不容緩的重要課題。中草藥分子鑑定是運用 DNA 分子遺傳標記技術，直接分析中草藥原植物的基因型而非表現型(如型態及化學成分)，不受材料來源、環境因素、樣品形態(原品、粉末或片狀)影響，樣品少數即可進行實驗。

本計劃應用等溫圈環式核酸擴增法(LAMP)，以三種常見易誤混用藥材為模式藥材，針對中藥材正品藥材之目標基因如核糖體核基因(例如 ITS)中的 6 個特異區域，設計 4 種特異引子(Primer)，並在恆溫條件下(60°C)完成標的基因之核酸擴增(Amplification)反應，藉以區辨正品及其易誤、混用藥材。對直立白薇(*Vincetoxicum atratum* Bunge)、十大功勞屬(*Mahonia spp.*)、枸骨(*Ilex cornuta*)與黃耆(*Astragalus membranaceus*)等藥材之恆溫圈環式核酸擴增法，此法具有高特異性且可快速的鑑定這些藥材之基源。

運用並建立 LAMP 做為植物基因體鑑別的方法，可針對中藥材正品與其混用藥材基因組，設計特定引子，藉由最佳化反應條件，可觀察中藥材正品及混用藥材的 LAMP 檢測效果，其靈敏度和特異性皆相當高，此研究為中草藥分子鑑定技術提供了一鑑定種強而有力的新方法。

關鍵詞：中藥品質管制、等溫圈環式核酸擴增法、誤混用藥材

Study on Genomic Authentication of Chinese Herbal Medicine Using a Novel Isothermal Nucleic Acid Amplification Technology- Creating an Authentication Model for Mis-identified Medicinal Herb Species and Its Adulterants (2-2)

Meng-Shiou Lee
China Medical University

ABSTRACT

Quality control plays a vital role in the development of translating the traditional medicines into modern evidence-based therapies. Authentication of traditional Chinese medicine (TCM) is generally recommended for the standardization and quality control of herbal products and herb related investigations. It has been shown that counterfeits and inferior medicinal material reduce TCM quality and cause cases which patients do not recover or even die. Hence, authentication is an essential step for clinical application and accurate experimental studies of TCM. In recent years, the DNA molecular biology method have now become a popular method for the identification and authentication of TCM and developed to be a more effective, accurate, reliable and sensitive technology.

Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay is a potential method that is capable of amplifying DNA with high specificity, rapidity, and efficiency under isothermal conditions. The method is under isothermal conditions (60°C) using four to six specifically designed primers. One key feature of the LAMP is using *Bst* DNA polymerase instead of *Taq* DNA polymerase in the reaction. Therefore, the aim of this study is to use LAMP assay for the detection of ITS sequence in two plants of similar species such as *Cynachum stauntonii* and *Vincetoxicum atratum*, *Mahonia spp.* and *Ilex cornuta*, *Astragalus membranaceus* and *Hedysarum polybotrys*. In this study, the LAMP method for rapid and sensitive detecting three herbal plants is successfully established, and the LAMP method will be applied for the detection of adulterants. It might be an alternative method to rapid authenticates the TCM at the market in the future.

Keywords: Quality control in the traditional medicines, Loop-mediated isothermal amplification, adulterants

壹、前言

台灣大約 90% 中藥材皆需仰賴中國進口。目前臺灣市售中草藥也由於藥材來源混淆、同名異物及同物異名的情形，造成藥材基原混雜¹。藥用成分含量大幅降低及替代藥材水準不一的情形，使得品質難以掌控，容易發生誤用、混用以及偽劣藥材等問題，嚴重影響療效及用藥之安全性。中藥品質管制的目的，在於辨別真偽、參雜及品質的優劣，以確保臨床的療效。誤用、混用以及偽劣藥材，對於病情不但沒幫助，甚至危害國人的健康。因此如何有效鑒定及管控中藥材，為當前刻不容緩的重要課題。

中藥材的「真偽優劣」，就是中藥的「品種」與「質量」²。所謂「真偽」，即是指中藥材「品種」的正確性，使用之是否為正品。而藥材的「優劣」，即是指「質量」的好壞，是指藥材中影響療效的化學成分的定性與定量標準。而中藥品質控制涉及許多環節，是一個多學科整合的複雜工程。品種的確認鑒定應為中草藥品質管制的首要環節。中國著名本草生藥學家謝宗萬教授在論述中藥品種鑒定的重要性時曾精闢地指出：「品種一錯，全盤皆否。」言下之意，中藥的品質控制研究首先要確定品種，在此基礎上才能開展有效的工作³。本計劃的中心思想，明確指出了中草藥製造流程中，由於中藥材基原(品種)的不同，所以不同的植物基因有不同的遺傳多態性(polymorphism)，也造成其表現型(化學成分)的多態性，進而影響到藥材的質量與臨床療效。因此，藥材品種是影響中藥臨床療效的重要因素。

中草藥分子鑒定(Authentication by molecular biology methods)是運用 DNA 分子遺傳標記技術(DNA genetic marker technology)，直接分析中草藥原植物的基因型而非表現型(如型態及化學成分)，不受材料來源、環境因素、樣品形態(原品、粉末或片狀)影響，樣品少數即可進行實驗^{4,5}。具有重複性好、靈敏度高的優點，為中草藥品種鑒定上強大的工具。其他方法如外觀鑒定法、顯微鑒定法，化學分析皆會受藥材的種植環境、採集、儲存和炮製而影響鑒定的結果。由此可知，DNA 分子鑒定為中草藥品種鑒定的最佳方法，其準確度在其他方法之上。使用 DNA 分子鑒定技術的研究方法，是對於中藥材基原的基因多態性在分子層次上的檢測，也是中草藥藥材製造流程中最上游(中草藥品種)的品質管控⁶。

恆溫圈環式核酸擴增法(Loop Mediated Isothermal Amplification, LAMP)⁷為 Notomi 等於 2000 年開發的一種新穎的恆溫核酸擴增方法，其特點是針對目標基因中的 6 個特異區域設計 4 種特異引子(Primer)，在恆溫條

件下(60—65°C)利用一種具有鏈置換活性(Chain displacement activity)的 DNA 聚合酶(*Bst* DNA polymerase)，保溫幾十分鐘，即可完成核酸擴增(Amplification)反應⁷。並不需要反覆對模版(Template) DNA 進行熱變性(Denaturation)及長時間的溫度迴圈。而結果觀察則直接根據反應副產物焦磷酸鎂(Magnesium Pyrophosphate)沉澱的濁度鑒定⁸、電泳的進行⁷，或藉由螢光染劑 SYBR Green I 的添加而顯色變化，其螢光強度檢測可以即時定量 PCR (Real-Time PCR)進行，或直接以肉眼判斷檢體的陰、陽性，即可對不同來源之基因體鑑別⁹。LAMP 是一種嶄新的 DNA 擴增方法，具有簡單、快速、特異性強的特點，具有替代 PCR 方法的可能性，也為大多源自 PCR 技術的中草藥分子鑒定技術提供了一種強而有力的新方法。近年來，已有研究運用 LAMP 做為植物基因體鑑別的有效方法¹⁰⁻¹⁴。本計畫在第一年中，即針對中藥材正品與其混用藥材基因組如白花蛇舌草(與多花水線草)、蒲公英(與兔兒菜)、粉防己(與廣防己)等 3 種，設計特定引子，並最佳化反應條件、分析方法的檢測靈敏度和特異性，觀察中藥材正品及混用藥材的 LAMP 檢測效果。而第二年度則選用另外三種模式藥材-白前(與白薇)、十大功勞屬(與枸骨葉)、及黃耆(與紅耆)共 3 種之 LAMP 快速鑒定方法建立。

綜合以上所述，要想確保中藥療效穩定、確切，就需在「鑒別真偽(品種鑒定)」的基礎上，建立有效之「中藥基原鑑別的分標記」，運用該分子標記開發高精確性、低成本及高靈敏度的分析方法，這為本計劃的核心價值及目的，以中草藥分子鑒定新技術—恆溫圈環式核酸擴增法(LAMP)，建構中草藥的品質管制平台，為中藥品質管制做好上游(品種部分)的嚴格把關，無疑是一套可實際利用的品管標準。

貳、材料與方法

一、實驗材料

白前(*Cynachum stauntonii* (Dence.) Schltr. ex Levl.; 簡稱 CS)、白薇(*Vincetoxicum atratum* Bunge.; 簡稱 VA)、十大功勞(*Mahonia japonica* (Thunb. ex Murray) DC.; 簡稱 MJ)、狹葉十大功勞(*Mahonia fortunei* (Lindl.) Fedde; 簡稱 MF)、阿里山十大功勞(*Mahonia oiwakensis* Hayata; 簡稱 MO)及枸骨(*Ilex cornuta* Lindl. ex Paxt.; 簡稱 IC)之實驗部位為葉片，而黃耆(*Astragalus membranaceus*; 簡稱 AM)與紅耆(*Hedysarum polybotrys*; 簡稱 HP)在台灣鮮少人種植該，無法取得新鮮的葉片，因此使用經過確切之市售生藥材料來進行實驗。

主要收集地如下：柳葉白前(CS1)、直立白薇(VA1)、枸骨(IC1)採自中國醫藥大學藥園；十大功勞(MJ2)、狹葉十大功勞(MF2)、阿里山十大功勞(MO11)、枸骨(IC2)採自南投清境；十大功勞(MJ3)、狹葉十大功勞(MF1)採自中清交流道；阿里山十大功勞(MO5、MO7)採自嘉義阿里山；狹葉十大功勞(MF3)採自台中自然科學博物館；市售黃耆(AM)、紅耆(HP)購自台中藥行。

二、儀器與化學品

植物基因體 DNA 抽取試劑及套組(Geneaid)、*Taq* DNA polymerase (Protech)、pGEM-T Easy vector (Promega)、0.1 kb DNA ladder marker 核酸標準品、Plasmid DNA extraction kit (Geneaid)、限制酵素 *EcoR* V (Takara)、寡核酸引子合成及定序(委由相關生技公司)、PCR 儀器(Biorad, DNA Engine)、研鉢、液態氮、試藥級異戊醇(2-Propanol)、氯仿(Chloroform)與丙酮(Acetone)、鹽類 KH_2PO_4 、水等。

三、植物材料之基因體 DNA 的萃取

將生藥材以打粉機粉碎後，秤取 1 公克粉末進行植物 Genomic DNA 的抽取。植物 Genomic DNA 的抽取則根據 Geneaid's genomic extraction mini kit (Geneaid, Taipei, Taiwan)手冊之操作步驟進行。最後，將管柱沖出之 Genomic DNA，經 SpinVac 乾燥後，於-20°C 的冰櫃中保存。另以分光光度計測定於波長 260 nm 之吸光值估算 DNA 的濃度。

四、ITS 基因片段的選殖

取 50 ng 的藥材 Genomic DNA，進行 PCR 反應將 ITS 基因片段擴增出。PCR 反應總體積 50 μl ，反應液包含 2 μl template DNA、10 pmole PCR primers-TCM1(5'-CACAAA g CCC g TC g CTCCTACC g A-3')，

TCM2(5'-ACTCgCCgTTACTAggggAA-3')、1 μ l 的 25 mM dNTP、10 μ l 的 PCR buffer、8.5 μ l 的 ddH₂O 及 1 μ l 的 *Taq* DNA polymerase。反應溫度由循環溫控儀(Thermocycler)控制，流程為起始變性溫度 95°C 4 分鐘，一個循環後，變性溫度 95°C 1 分鐘，鏈合溫度 60°C 45 秒；延展溫度 72°C 30 秒，循環 35 個週期；最後展延溫度 72°C 5 分鐘，結束循環後溫度降回 4°C。之後取 PCR 反應產物 5 μ l，注入 1% 瓊脂膠中，以 100V 電壓進行電泳分析，隨後以 Ethidium Bromide 染色 30 秒，於 UV 光下呈色觀察。之後，利用 pGEM T-vector cloning kitrup 進行 ITS 基因片段的基因選殖。其步驟如下，將 PCR 產物 2 μ l 加入 1 μ l 的 pGEM T-vector 及無菌水，將反應溶液確實混勻，置於室溫反應 5 分鐘，以完成 DNA 的接合反應。之後再轉型入大腸桿菌中 (*E. coli* Top10F')，並再次對 ITS 基因組做定序，以確認其序列的正確性。序列比對則以美國國家衛生研究院 NCBI Genbank 中的 BLAST 功能進行比對。

五、LAMP 引子之設計

LAMP 引子的設計則根據本實驗所選殖的各種藥材之 ITS 序列，進行專一性引子設計。專一性引子皆以引子開拓者 V4 軟體(The primer Explorer V4 software, Eiken Chemical Co. Ltd. Tokyo, Japan)進行分析與設計。我們選取 ITS1/ITS2 序列的位置來設計恆溫環式核酸增幅反應所需的兩條外(F3、B3)、兩條內(FIP、BIP)共四條引子，其中 FIP 的引子序列由 F1c (c 表互補序列)與 F2，BIP 則為 B1c 與 B2 兩條引子連結而成。所有引子的核酸序列並以美國國家衛生研究院(NCBI)基因庫網站內之序列比對軟體(Blast program)與其基因庫進行比對分析，確保所使用之引子不會與其他核酸或基因有非特異結合。

六、LAMP 反應之進行

恆溫圈環式核酸增幅法(LAMP)的試驗中，先加入已萃取的植物 Genomic DNA 置於 0.2 mL PCR 反應管中，隨後分別加入 inner primers- FIP 與 BIP (10 pmol/each)、及 outer primers- F3 與 B3 (10 pmol/each)、dNTP (2.5 mM/each)、0.8 M betaine、0.1% Tween20、10 mM (NH₄)₂SO₄、8 mM MgSO₄、10 mM KCl、20 mM Tris-HCl pH 8.8，最後加入 8 U *Bst* DNA polymerase (New England Biolabs, U.S.A.)。將反應管置於 60°C 下反應 1 小時後，以 80°C 作用 10 分鐘終止反應。反應結果以 2% 瓊脂膠於 100V 電壓條件下進行 30 分鐘電泳，隨後以 Ethidium Bromide 染色 30 秒，再以純水洗淨脫色後置於紫外光燈箱上觀察結果。

七、LAMP 靈敏度測試

萃取後的植物 genomic DNA 經 NanoVue 分光光度計(GE Health, USA) 定量後，將之以滅菌水稀釋為 100 ng、10 ng、1 ng、100 pg、10 pg、1 pg、100 fg、10 fg、1 fg 等濃度後，加入 LAMP 反應試劑，於 60°C 下反應 1 小時後，再以 80°C 終止反應 10 分鐘。反應產物以 2% 洋菜膠進行電泳後，隨後以 Ethidium Bromide 染色 30 秒，於 UV 光下呈色觀察。LAMP 產物亦可加入 100X SYBR Green I (Invitrogen, USA) 1 μ l，於 UV 光觀察是否有綠色螢光產生。

八、LAMP 時間測試

萃取後的植物 genomic DNA 加入 1 μ l 於 LAMP 反應試劑中，於 60°C 下反應不同時間：15、30、45、60 分鐘等，再以 80°C 終止反應 10 分鐘。LAMP 反應產物以 2% 洋菜膠進行 DNA 電泳後，以 Ethidium Bromide 溶液染色，於 UV 光下觀察是否有 LAMP 產物出現。

參、結果

一、各藥材 ITS 序列之取得：

本計劃用以設計 LAMP 引子之序列模版為各藥材植株之 ITS 基因序列。欲取得該序列，我們將蒐集來的各式原藥材：柳葉白前(*Cynachum stauntonii* (Dence.) Schltr. ex Levl.)及其誤用品-直立白薇(*Vincetoxicum atratum* Bunge)；十大功勞(*Mahonia japonica* (Thunb. ex Murray) DC.；*Mahonia fortunei* (Lindl.) Fedde；*Mahonia oiwakensis* Hayata)及其誤用品-枸骨(*Ilex cornuta* Lindl. ex Paxt.)；以及黃耆(*Astragalus membranaceus*)及其誤用品-紅耆(*Hedysarum polybotrys*)等，摘取葉片並經風乾後，抽取其 Total Genomic DNA 後，再以 18S 及 26S rDNA 的同源序列為 ITS 之擴增引子，進行 PCR，以放大各植株的 ITS 基因片段。接著將這些放大後，具有特異性 DNA 序列的 ITS 片段，如圖 1 (Fig. 1)，選殖到 pGEM-T Easy vector 中，進行解序。為了確定我們所選殖的 ITS 片段是否正確，我們利用美國國家衛生院(NCBI)之 Genbank 資料庫，藉由搜尋與比對各藥材之 ITS1 和 ITS2 序列，以獲取日後 LAMP 引子設計所需的相關資訊。相關比對結果與序列差異位置已列表於附錄，各序列間的差異為後續 LAMP 引子設計所需的相關資訊。相關比對結果與序列差異位置已列表於附錄一至附錄四，各序列間的差異為後續 LAMP 引子設計所需的相關資訊。

二、柳葉白前(*Cynachum stauntonii* (Dence.) Schltr. ex Levl.)及其誤用品-直立白薇(*Vincetoxicum atratum* Bunge)兩種藥材之 LAMP 法快速基原鑑定：

經比對柳葉白前與直立白薇的 ITS1 與 ITS2 序列後，我們以這些序列作為 LAMP 引子設計的基礎，並完成相關引子之設計。各引子之型式與序列標示如表一與表二(Table 1：CS；Table 2：VA)。

(一) LAMP引子反應效力(Reactivity Effect)與特異性(Specificity)分析

取目標藥材之 Genomic DNA (CS 與 VA)作為模版 DNA，分別使用我們設計之用於 *Cynachum stauntonii* 的 4 組 LAMP 引子 (CS-ITS1、CS-ITS2、Nu-CS-ITS1 及 Nu-CS-ITS2) 以及用於 *Vincetoxicum atratum* 的 3 組 LAMP 引子 (VA-ITS1、VA-ITS2 及 Nu-VA-ITS1)，進行 LAMP 引子效力與特異性分析(如圖 2 與圖 4；Fig. 2 and Fig. 4)。在上半年的實驗成果中，觀察電泳結果顯示，CS-ITS1 與 CS-ITS2 兩組 LAMP 引子，對於目標 Genomic DNA (CS) 與其誤用藥材之 Genomic DNA (VA)，皆無 LAMP 的 Ladder-like

pattern 產生，意味著該兩組引子無法執行 LAMP 反應，顯示其不適用於柳葉白前真偽藥材的分子鑑定；爾後，為了改善 CS 之 LAMP 引子的效力，我們根據先前得到之 ITS 基因序列，重新設計了兩組的 LAMP 引子，分別為：Nu-CS-ITS1 及 Nu-CS-ITS2。然而儘管新設計的 LAMP 引子，能利用 LAMP 反應對目標核酸片段進行放大，卻同樣亦會放大 VA 的特定基因片段，顯示該兩組引子並無鑑別能力，如圖 2 (Fig. 2)。同樣地，我們將設計完成之 *Vincetoxicum atratum* 的 LAMP 引子(VA-ITS1、VA-ITS2 和 Nu-VA-ITS1)，進行 LAMP 引子特異性分析(如圖 4；Fig. 4)，於電泳結果可見到 VA-ITS2 的引子能放大目標 DNA，使典型的 ladder-like pattern 產生，而非標的之 Genomic DNA (CS)，則無 LAMP 的訊號出現，且藉由 SYBR Green I 染劑的添加，使 LAMP 產物產生染色，進而產生的螢光發散訊號，我們亦確認了其 LAMP 陽性反應的發生，如圖 4 (Fig. 4)。然而觀察其他兩組引子的電泳結果發現，VA-ITS1 無法順利執行 LAMP 反應，而 Nu-VA-ITS1 則缺乏良好的辨識能力。上述結果顯示 VA-ITS2 的 LAMP 引子組，相較於其它引子對，具有較佳的特異性，代表該 LAMP 引子可初步用於直立白薇真偽藥材的分子鑑定。

(二) LAMP引子靈敏性(Sensitivity)分析

由於截至目前為止，對於柳葉白前與直立白薇之 LAMP 快速基原鑑定方法的開發上，我們只完成針對直立白薇鑑定用的 VA-ITS2 LAMP 引子對，因此我們更進一步進行該引子對於樣品濃度敏感性的測試。使用 VA-ITS2 引子於不同稀釋濃度的直立白薇 Genomic DNA 中，進行引子靈敏性分析，結果顯示，該引子擴增反應所需之直立白薇最低核酸需求量为 1 ng，如圖 5 所示 (Fig. 5)。另外，我們也發現 VA-ITS2 引子對，可在 30 分鐘內完成 LAMP 反應的進行(如圖 6；Fig. 6)，顯示 LAMP 基原鑑定方法的迅速特性，對於鑑識過程的助益。

三、十大功勞(*Mahonia japonica* (Thunb. ex Murray) DC.；*Mahonia fortunei* (Lindl.) Fedde；*Mahonia oiwakensis* Hayata) 及其誤用品-枸骨 (*Ilex cornuta* Lindl. ex Paxt.) 等四種藥材之 LAMP 法快速基原鑑定：

經比對十大功勞屬與枸骨的 ITS1 與 ITS2 序列後，我們以這些序列作為 LAMP 引子設計的基礎，並完成相關引子之設計。各引子之型式與序列

標示如表三與表四(Table 3 : Mahonia ; Table 4 : IC)。

(一) LAMP引子反應效力(Reactivity Effect)與特異性(Specificity)分析

取目標藥材之 Genomic DNA (*Mahonia spp.*與 IC)作為模版 DNA，分別使用我們設計之用於 *Mahonia spp.*的 3 組 LAMP 引子 (Mah-ITS1、Mah-ITS2 及 Nu-Mah-ITS1)以及用於 *Ilex cornuta* 的 2 組 LAMP 引子(IC-ITS1、IC-ITS2)，進行 LAMP 引子效力與特異性分析(如圖 7 與圖 10 ; Fig. 7 and Fig. 10)。上半年的結果顯示，Mah-ITS1 引子對能有效地放大 *Mahonia japonica* 與 *Mahonia oiwakensis* 的 ITS 片段，但對於 *Mahonia fortunei* 的核酸樣本，其反應不甚理想，而 Mah-ITS2 不論於十大功勞屬或枸骨的樣品中，皆無 LAMP 反應發生(如圖 7 ; Fig. 7)，顯示 Mah-ITS1 具有較佳的特異性，但仍有需改良的空間。為了進一步提昇其特異性，我們根據先前得到之 ITS1 基因序列，重新設計了一組 LAMP 引子：Nu-Mah-ITS1，經測試其 LAMP 反應效力與特異性後，新引子對可有效地於 *Mahonia fortunei* 的核酸樣本中產生 LAMP 反應，同時亦保有特異性(如圖 7 ; Fig. 7)，顯示 LAMP 引子可用於十大功勞屬真偽藥材的分子鑑定。另外，將設計完成之 *Ilex cornuta* 的 LAMP 引子(IC-ITS1 與 IC-ITS2)，進行 LAMP 引子特異性分析(如圖 10 ; Fig. 10)，於電泳結果可見到 IC-ITS1 的引子可放大目標枸骨的 Genomic DNA，使典型的 ladder-like pattern 產生，而非標的之 Genomic DNA (*Mahonia spp.*)，則無 LAMP 的訊號出現。且藉由 SYBR Green I 染劑的添加，使 LAMP 產物產生染色，進而產生的螢光發散訊號，我們亦確認了上述引子其 LAMP 陽性反應的發生，如圖 7 與圖 10 (Fig. 7 and Fig. 10)，顯示這些 LAMP 引子可用於十大功勞屬與枸骨真偽藥材的分子鑑定。

(二) LAMP引子靈敏性(Sensitivity)分析

將十大功勞(*Mahonia japonica*)及枸骨(*Ilex cornuta*)核酸進行一系列稀釋，分別使用 Mah-ITS1 與 Nu-Mah-ITS1 以及 IC-ITS1 的 LAMP 引子，並於相同的條件下進行 LAMP 引子靈敏性分析(如圖 8，11 ; Fig. 8 and Fig. 11)。而 Mah-ITS 與 Nu-Mah-ITS1 於 LAMP 反應中所需之 *Mahonia japonica* Genomic DNA，其核酸擴增的最少核酸需求量，分別為 1 ng (如圖 8A) 及 100 pg (如圖 8B)，兩者相差約為 10 倍，顯示經調節後之 LAMP 引子對除了擁有更佳的

LAMP 效力與特異性外，其靈敏性亦大幅提昇，足堪作為十大功勞屬基原鑑定之用。另外，如圖 11 (Fig. 11)所示，IC-ITS1 對於核酸擴增所需求的最少核酸量為 1 pg，亦突顯該組 LAMP 引子的可用性。Nu-Mah-ITS1 與 IC-ITS1 引子對，均可在 45 分鐘內完成 LAMP 反應的進行(如圖 9，圖 12；Fig. 9 and Fig. 12)，顯示 LAMP 方法優於一般傳統鑑定方法的迅速效率。

四、黃耆(*Astragalus membranaceus*)及其誤用品-紅耆(*Hedysarum polybotrys*)兩種藥材之LAMP法快速基原鑑定：

經比對黃耆與紅耆的 ITS1 與 ITS2 序列後，我們以這些序列作為 LAMP 引子設計的基礎，並完成相關引子之設計。各引子之型式與序列標示如表三與表四(Table 5：AM；Table 6：HP)。

(一) LAMP引子反應效力(Reactivity Effect)與特異性(Specificity)分析

取目標藥材之 Genomic DNA (*Mahonia spp.*與 IC)作為模版 DNA，分別使用我們設計之用於 *Astragalus membranaceus* 的 3 組 LAMP 引子 (AM-ITS1、AM-ITS2 及 Nu-AM-ITS2) 以及用於 *Hedysarum polybotrys* 的 4 組 LAMP 引子 (HP-ITS1、HP-ITS2、Nu-HP-ITS1 及 Nu-HP-ITS2)，進行 LAMP 引子效力與特異性分析(如圖 13 與圖 16；Fig. 13 and Fig. 16)。結果顯示，AM-ITS1 與 Nu-AM-ITS2 等 LAMP 引子對能有效地放大 *Astragalus membranaceus* 的 ITS 片段，而對誤用品紅耆的核酸樣本則無任何 LAMP 反應發生；使用 LAMP 引子對 AM-ITS2 於反應中，發現其不論於黃耆或紅耆的核酸樣品中，皆無 LAMP 反應發生(如圖 13；Fig. 13)，上述結果顯示前兩者引子對具有較佳的 LAMP 反應效力。觀察圖 16 的結果可發現，設計完成之 *Hedysarum polybotrys* 的 LAMP 引子對 HP-ITS1 及 HP-ITS2，對於執行 LAMP 反應的效力並不理想，僅只有 HP-ITS2 引子對可產生反應，而於電泳膠片上留下微弱的 ladder-like pattern 訊號(如圖 16；Fig. 16)，顯示該兩組 LAMP 引子對需作最適化的調整。然而，使用重新設計後之 LAMP 引子對 Nu-HP-ITS1 及 Nu-HP-ITS2 於相同的試驗中卻發現，Nu-HP-ITS2 與前述的兩組 LAMP 引子相同，無法順利引發 LAMP 反應，而 Nu-HP-ITS1 雖能有效地對目標核酸片段進行放大，卻同樣亦會對 AM 的特定基因片段起 LAMP 反應，顯示該組引子並無鑑別紅耆與黃耆核酸分子的能力，相關結果如圖 16 所示

(Fig. 16)。

(二) LAMP引子靈敏性(Sensitivity)分析

透過前述特異性的結果，我們選用 AM-ITS1、Nu-AM-ITS2 與 HP-ITS2 作為靈敏性測試的 LAMP 引子對，於不同稀釋濃度的核酸樣品中進行引子靈敏性的分析(如圖 14 和圖 17；Fig. 14 and Fig. 17)。結果發現，各 LAMP 引子對所需之目標核酸最低量分別為 100 pg (如圖 14A)、1 pg (如圖 14B)以及 100 ng (如圖 17)。由圖 14 的結果顯示 Nu-AM-ITS2 的靈敏性優於 AM-ITS1，因此我們進一步測試 Nu-AM-ITS2 執行 LAMP 反應的速度，結果如圖 15(Fig. 15) 所示，該組 LAMP 引子可於 30 分鐘內完成反應，顯示 Nu-AM-ITS2 可作為開發 LAMP 快速鑑別黃耆真偽藥品方法之用。

肆、討論

中藥品質管制對於中草藥科學化或現代化的發展相當重要，尤以源頭藥材基源的正確性，扮演重要的關鍵。中國著名本草生藥學家謝宗萬教授在論述中藥品種鑒定的重要性時曾精闢地指出：「品種一錯，全盤皆否。」言下之意，中藥的品質控制研究首先要確定品種，在此基礎上才能開展有效的工作³。藥材基源鑒定，除了顯微切片與化學成分或指紋圖譜分析外，應用分子技術進行基源的鑒定，由於該法具有其準確性與再現性。因此，在現有基源鑒定的基礎下，建立與發展其他並行的代替確定法，確有其必要性，以加強其基源鑒定的正確性。恆溫圈環式核酸擴增法(Loop Mediated Isothermal Amplification, LAMP)，為核酸擴增技術之一種。由於與傳統 PCR 的引子設計有所不同，因此可提升偵測的靈敏度與縮短反應時間。LAMP 技術與 PCR 方法，大多應用於病原體的檢測，目前另有研究已成功應用 LAMP 於其他藥用植物之鑒定如人參等。由於該檢測技術所需的核酸量少，靈敏度高，且所需的設備花費亦低(僅需簡易的定溫裝置如水浴槽)。因此在中藥產業之基源鑒定的實務上，極適合開發相關的檢測套組。本計劃延續第一年的實驗設計與經驗，選用另外三種藥材-白前(與白薇)、十大功勞屬(與枸骨葉)、及黃耆(與紅耆)共 3 種，以作為 LAMP 快速鑒定方法建立的模式材料。本計劃截至目前為止，已完成對直立白薇(*Vincetoxicum atratum* Bunge)、十大功勞屬(*Mahonia spp.*)及枸骨(*Ilex cornuta*)與黃耆(*Astragalus membranaceus*)等藥材的 LAMP 引子設計。在此針對各藥材之 LAMP 引子開發結果進行個別的討論。

一、白前與白薇之 LAMP 法的建立

筆者於上半年針對柳葉白前(*Cynachum stauntonii*)的 ITS1 或 ITS2 的序列為模版所設計之 LAMP 引子對：CS-ITS1 與 CS-ITS2，經筆者的測試結果發現皆無法有效執行 LAMP 反應，顯然此兩組引子存在某些原因，致使無明顯的核酸放大效果(圖 2)。推測其原因，筆者認為主要原因為柳葉白前葉片中的 ITS 套數不足，當以柳葉白前各 LAMP 引子中的 CS-ITS2-F3 與 CS-ITS2-B3 作為引子，藉 PCR 反應對各 ITS 模版進行放大，使各 ITS 模版 DNA 的套數增加，接著再將放大後的產物投予 LAMP 試驗時，能有效地開啟 LAMP 反應的進行(圖 3, Lane 4)。上述的結果顯示，單純自柳葉白前葉片萃取之 ITS 套數明顯不足以提供 LAMP 反應的進行，也突顯了本次所設計的 LAMP 引子對，其核酸敏感度不足的缺點。筆者後續根據相同的 ITS

序列重新設計白前鑑定用之 LAMP 引子：Nu-CS-ITS1 及 Nu-CS-ITS2，經測試後發現該兩組引子對能啟動 LAMP 反應的進行，顯示新的引子克服了套數不足的問題，但其對於誤用品白薇的核酸亦可起到放大的作用，顯見其特異性不足為分子鑑定之用。而在白薇的 LAMP 鑑別引子部份，上半年所設計之 VA-ITS2 引子對具有良好的特異性，然而其目標核酸量的需求達 1 ng，顯見其靈敏性不足。然而，該引子對仍保有 LAMP 法反應速率快，檢測時間短的特性，可於 30 分鐘內完成對白薇核酸分子的檢驗，仍可見其應用價值。

二、十大功勞屬與枸骨之 LAMP 法的建立

筆者於上半年已成功完成十大功勞屬與枸骨 LAMP 引子的設計。然而除了枸骨的 LAMP 引子外，針對十大功勞屬真偽鑑定用的 LAMP 引子仍存在 LAMP 反應效力及靈敏性不足的問題。筆者後續針對該問題進行十大功勞屬 LAMP 引子的調整，重新設計新的一組 LAMP 引子：Nu-Mah-ITS1，經測試後發現其能有效提昇整體反應的進行，同時該組引子對核酸的需求量亦明顯降低，由先前的 1 ng (如圖 8A) 降至 100 pg (如圖 8B)，兩者相差約 10 倍，且枸骨 LAMP 引子對核酸的需求量為 1 pg，兩組引子皆可於 45 分鐘內完成對相關藥材的鑑定，顯示該兩組 LAMP 引子於藥用植物檢驗具有相當大的應用性。

三、黃耆與紅耆之 LAMP 法的建立

針對此部份方法的建立，筆者利用定序後的 ITS 序列進行 LAMP 引子的設計。三組用於鑑別黃耆核酸分子的 LAMP 引子中，AM-ITS1 與 Nu-AM-ITS2 皆可有效地擴增黃耆的 ITS 基因片段，惟兩者靈敏性有較大的差別，前者需 100 pg (如圖 14A)，而後者則為 1 pg (如圖 14B)。另外，筆者亦設計了四組用於紅耆分子鑑定用的 LAMP 引子對，其中 HP-ITS1 及 HP-ITS2，對於執行 LAMP 反應的效力並不理想，僅只有 HP-ITS2 引子對可產生反應，且其靈敏性亦不佳，核酸需求量約 100 ng；然而透過增加紅耆 ITS 核酸樣本套數，我們發現可促使 HP-ITS1 啟動 LAMP 反應(如圖 18)，顯示樣品套數不足為其 LAMP 反應不佳的主因。而在使用重新設計後之 LAMP 引子對 Nu-HP-ITS1 及 Nu-HP-ITS2 於相同的試驗中卻發現，前者雖能有效地對目標核酸片段進行放大，但對於黃耆樣品亦能發生 LAMP 反應，而後者無法順利引發 LAMP 反應，顯示該組引子並無鑑別紅耆與黃耆核酸分子的能力。為此，對於紅耆相關 LAMP 引子的設計，筆者認為可透過引入 Loop Primer 的設計或是增加 Nu-HP-ITS1 引子對上與黃耆序列有差

異的位置，針對其特異性進行強化，並保留其可運行 LAMP 反應效力的策略，來重新設計紅耆 LAMP 引子。

伍、結論與建議

- 一、本計劃為延續 99 年度「新型核酸分子等溫擴增技術於中藥材基因體基源鑑定之研究」之後案，挑選外觀或性狀與正品中草藥相似，但卻具有不同中藥活性或是毒性之誤用品為鑑定方法開發之模式植物，各正品與誤用品之比較請參考附錄五所示。我們於 99 年度的計劃中，已利用所開發之 LAMP 鑑定方法，對市售中草藥，如：白花蛇舌草及蒲公英，作初步的混用情形調查，發現台灣地區對這些常見中草藥的混用相當嚴重。然而除了前述的兩種中草藥外，本計劃選用之其他模式中草藥於台灣地區之混用情況，卻尚無相關報導呈現。有鑑於市場調查乃一耗費心力，但具有極大預防效果及應用價值之工作，透過投入本計劃所建立之 LAMP 鑑定方法，其快速、專一且靈敏度高的特性，相信將付予混用誤用情況之研究相當大的貢獻。
- 二、本研究以白薇、十大功勞屬、枸骨及黃耆等藥材為模式植物，成功完成相關 LAMP 引子之設計，並試驗確認其引子的反應性。依據實驗的結果，筆者認為其中最成功的案例為十大功勞屬與枸骨之 LAMP 鑑定方法的開發。探究其成功主因，應是在於兩者的序列差異性大。當真偽品間的核酸序列差異性大時，針對其變異區域，可以提供較多的 LAMP 引子設計模版位置選擇，並可於這些已具備序列專一性的 LAMP 引子，再從中篩選同時擁有核酸高靈敏性的引子對組合，以提昇 LAMP 方法開發的成功率。因此筆者認為後續可繼續選擇適用 LAMP 法鑑定技術開發的模式植物，同時並針對不同的 Biomarker 如粒線體或葉綠體基因體，從個別基因組中篩選真偽品間核酸序列差異變化較大的基因序列，做為優先之序列參考，以進一步設計 LAMP Primers，屆時亦可提高鑑別率的效度。然而，目前粒線體或葉綠體基因體中，可供植物品種鑑定的 Biomarker 尚鮮少，是一個未來開發藥材分子鑑定值得發展之重點方向。
- 三、本研究所設計相關藥材 LAMP 引子的靈敏度範圍在 1 ng 至 1 pg 之間，然而尚有用於白前與紅耆鑑定的 LAMP 引子尚未開發成功。探究其原因發現，造成兩種藥材引子不適用的主因起於樣品套數不足所致，但由於 LAMP 技術向來標榜其檢測速度快，特異性高，靈敏性佳的優點，因此由於樣品套數而導致的 LAMP 效力減弱結果，也突顯了該 LAMP 引子的靈敏性不足。為此，未來對於該兩種藥材的 LAMP 引

子開發，可能需要藉由 Loop Primer 的引入以求進一步提升其 LAMP 反應的特點。針對此一研究經驗，對於日後應用於其他中藥材的 LAMP 鑑定技術開發時，相信將可作為改良相關引子設計方法的參考。

- 四、綜合 99 年度與本年度計劃之經驗，顯示 LMAP 法無法有效地應用於所有藥材，如：本年度計劃所選用的白前與紅耆等，皆無有效的 LAMP 引子設計。歸咎其主因，筆者認為是真偽藥材間之種間內之 ITS 序列差異性不大使然，此點亦會造成 LAMP Primers 設計上之困難度增加，而使鑑別效果不彰。其次，正如傳統的 PCR 法相同，若欲分辨 LAMP 法可否應用於易發生真偽品誤用情形之中藥材時，仍需作引子的活性反應測試，才能明確確認 LAMP 法是否適用。為此，筆者認為後續欲以 LAMP 法作為藥材鑑定方法之開發技術時，可盡可能提高 LAMP Primers 的試驗組套數，以提高成功機率。再者，誠如結論與建議第二點所述，即可針對不同的 Biomarker 的 DNA 序列，例如：本計劃所使用之 ITS，以及篩選葉綠體 DNA 上的特定序列作為 LAMP 引子設計的模版，以增加可供利用的引子設計參數。此外，藥材分子鑑定技術的建立，確實可提供一個藥材真偽鑑定的快速選擇性替代法。然而，搭配藥材外觀、組織切片或是成份分析等其他鑑定方法，仍不可偏廢，須依鑑定當下的需要情況共同使用，以真正確保藥材鑑定的正確性。
- 五、筆者認為完全以 ITS 序列作為藥材鑑別的依據，並無法有效解釋藥材品種之間的差異，且不同的藥材的鑑別可能需要搭配不同的 Biomarker。因此，若冒然以 ITS 序列作為藥材鑑別的分標記，仍可能造成誤判，特別若是將 ITS 序列編入中華藥典中，作為藥材辨別的準則，筆者認為仍需審慎評估。
- 六、由於 LAMP 反應性的偵測，可藉由螢光染劑的添加而快速呈色，可以結合單機螢光訊號的讀取，進行大量樣品的高速檢測。
- 七、結合數種藥材的 LAMP 引子設計，未來可同時且即時對數種藥材進行檢測，建立以 LAMP 反應為基礎的檢測流程。
- 八、由於該檢測技術所需的核酸量少，靈敏度高，儘管引子合成所需之費用較傳統 PCR 法略高，但由於該法不需價格高昂的特殊溫控設備，僅需簡易的定溫裝置如水浴槽，且其他各項技術開發支出，如：酵素、分析工具與人員訓練等皆與傳統方法相當，使得 LAMP 法之整體花費遠低於傳統 PCR 方法(Table 7)。因此筆者認為在中藥產業之基源鑑定的實務上，LAMP 法極適合作為開發相關的檢測套組的基礎技術。

- 九、為避免藥材 Genomic DNA 抽取的品質不佳，而造成基因體序列無法建立，故盡可能選用新鮮採擷藥材測試。
- 十、本計畫年度原定完成三對正品與誤用品共六種藥材之 LAMP 檢測的建立。根據實施計劃之現況，現已完成四種藥材之 LAMP 引子設計與試驗，符合計劃目標。各藥材植株所選擇之鑑定用 LAMP 引子開發位置及適用之 LAMP 引子對名稱整理於表格八，分別簡述如下：白薇—VA-ITS2、十大功勞屬—Nu-MA-ITS1、枸骨—IC-ITS1、黃耆—Nu-AM-ITS2。(Table 8)

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP100-RD-111 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. 張永勳：台灣市售易誤用、混用中藥材之鑑別。《國際藥用植物產業發展研討會專刊》，2004，185-198 頁。
2. 康廷國：中藥鑑定學。中國中醫藥出版社，北京，2003。
3. 萬德光，裴瑾：論中藥品種鑒定在中藥品質控制中的地位和作用。《成都中醫藥大學學報》，2000，**23**: 1-3, 12, 64 頁。
4. Yip PY, Chau CF, Mak CY and Kwan HS: DNA methods for identification of Chinese medicinal materials. *Chin Med* 2007; **2**: 9.
5. Zhang YB, Shaw PC, Sze CW, Wang ZT and Tong Y: Molecular authentication of Chinese herbal materials. *J Food Drug Anal* 2007; **15**: 1-9.
6. 邵鵬柱，曹暉：中藥分子鑒定。復旦大學出版社，上海，2004。
7. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N and Hase T: Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res* 2000; **28**: E63.
8. Mori Y, Kitao M, Tomita N and Notomi T: Real-time turbidimetry of LAMP reaction for quantifying template DNA. *J Biochem Biophys Methods* 2004; **59**: 145-157.
9. Parida MM, Santhosh SR, Dash PK, Tripathi NK, Saxena P, Ambuj S, Sahni AK, Lakshmana Rao PV and Morita K: Development and evaluation of reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and real-time detection of Japanese encephalitis virus. *J Clin Microbiol* 2006; **44**: 4172-4178.
10. Sasaki Y and Nagumo S: Rapid identification of *Curcuma longa* and *C. aromatica* by LAMP. *Biol Pharm Bull* 2007; **30**: 2229-2230.
11. Sasaki Y, Komatsu K and Nagumo S: Rapid detection of *Panax ginseng* by loop-mediated isothermal amplification and its application to authentication of Ginseng. *Biol Pharm Bull* 2008; **31**: 1806-1808.
12. Sasaki Y, Fujimoto T, Aragane M, Yasuda I and Nagumo S: Rapid and sensitive detection of *Lophophora williamsii* by loop-mediated isothermal amplification. *Biol Pharm Bull* 2009; **32**: 887-891.
13. Lee D, La Mura M, Allnutt TR and Powell W: Detection of genetically modified organisms (GMOs) using isothermal amplification of target DNA

sequences. *BMC Biotechnol* 2009; **9**: 7.

14. Lee D, La Mura M, Allnut T, Powell W and Greenland A: Isothermal amplification of genetically modified DNA sequences directly from plant tissues lowers the barriers to high-throughput and field-based genotyping. *J Agric Food Chem* 2009; **57**: 9400-2.

柒、圖表

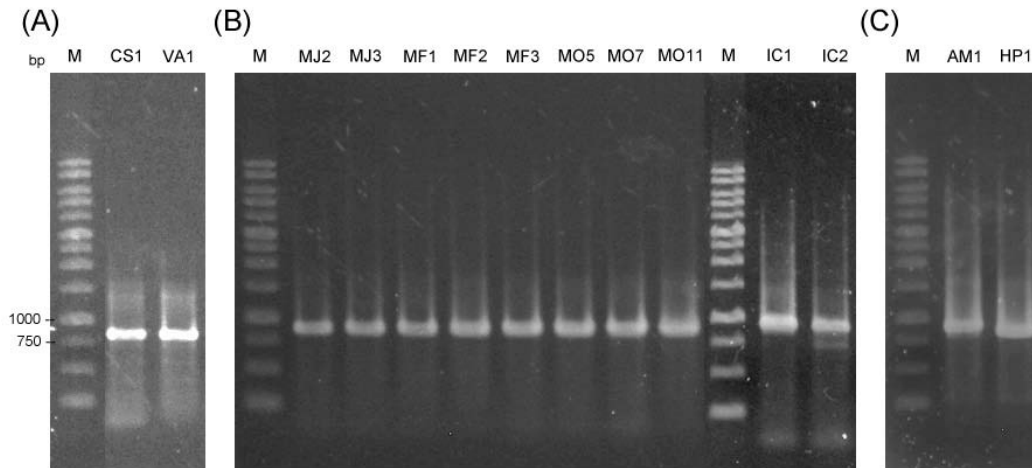


Fig. 1 PCR results of *Cynanchum stauntonii*, *Vincetoxicum atratum*
(A) *Mahonia* spp., *Ilex cornuta*
(B) *Astragalus membranaceus* and *Hedysarum polybotrys*
(C) genomic DNA targeting 18S-ITS1-5.8S-ITS2-26S region.

The PCR products were electrophoresed in 1.0% agarose gel for 30 min. Lane M: 1 kd DNA marker, lane CS1: *Cynanchum stauntonii*, lane VA1: *Vincetoxicum atratum*, lane MJ2-MJ3: *Mahonia japonica*, lane MF1-MF3: *Mahonia fortunei*, lane MO5-MO11: *Mahonia oiwakensis*, lane IC1-IC2: *Ilex cornuta*, lane AM1: *Astragalus membranaceus*; lane HP1: *Hedysarum polybotrys*.

Table 1 LAMP primers used in this study for authentication of *Cynanchum stauntonii*

Primer name	Type	Length	Sequence (5'-3')
CS-ITS1-F3	Forward outer	17-mer	ATCCTTGTACCGAATGA
CS-ITS1-B3	Backward outer	19-mer	TATTATATAACAACATTTTC
CS/VA-ITS1-FIP	Forward inner (F1c+F2)	35-mer	CAAGTCGCCGACCCACA GTTCCGAAAATCACAAGC AGCGAAATAGAGGACGG
CS-ITS1-BIP	Backward inner (B1c+B2)	38-mer	CCCCCTTTAATCCCCGCG GCC
CS-ITS2-F3	Forward outer	15-mer	GTCGTCCCCCCTCC
CS/VA-ITS2-B3	Backward outer	16-mer	GCCCCTCGCTGAAGGG
CS-ITS2-FIP	Forward inner (F1c+F2)	35-mer	GCACGGGAAGCCA ACTT CCCGTCCCGAAAGGGTC G
CS-ITS2-BIP	Backward inner (B1c+B2)	35-mer	GTACGCGAGTTGCCGGCA ATCTCGCACGGGGTCCG TCCTTGTACCGAATGACC
Nu-CS-ITS1-F3	Forward outer	18-mer	
Nu-CS-ITS1-B3	Backward outer	20-mer	CCCTTTAATCCCCGCGGG CC
Nu-CS-ITS1-FIP	Forward inner (F1c+F2)	45-mer	CAACAAGTCGCCGACCC ACACCGAACACGTTCCG AAAATCACAAG CGGACGCGTCGAGCATCG
Nu-CS-ITS1-BIP	Backward inner (B1c+B2)	49-mer	AAAACAAAAGAAGGCCG TCCTCTATTTTCGCT CGTCCCCCCTCCCCCGC
Nu-CS-ITS2-F3	Forward outer	18-mer	
Nu-CS-ITS2-B3	Backward outer	18-mer	GCTGAAGGGACTCGTCTC
Nu-CS-ITS2-FIP	Forward inner (F1c+F2)	38-mer	GCGCCGAGGGAACCGTT GTTGGGGGCGGAAGTTG GCTT CGTCGCGACAAGTGGTG
Nu-CS-ITS2-BIP	Backward inner (B1c+B2)	40-mer	GTCGCACGGGGTCCGAAT GCTCC

Table 2 LAMP primers used in this study for authentication of *Vincetoxicum atratum*

Primer name	Type	Length	Sequence (5'-3')
VA-ITS1-F3	Forward outer	17-mer	ATCCTCGTACCGAATGA
VA-ITS1-B3	Backward outer	17-mer	TATTATACAACATTTTC
CS/VA-ITS1-FIP	Forward inner (F1c+F2)	35-mer	CAAGTCGCCGACCCACA GTTCCGAAAATCACAAGC GGCGAAATAGAGGACGG
VA-ITS1-BIP	Backward inner (B1c+B2)	39-mer	CCCCCTTTTAAATCCCCGC GCC
VA-ITS2-F3	Forward outer	15-mer	GTCGTCCCCCCTCA
CS/VA-ITS2-B3	Backward outer	16-mer	GCCCCTCGCTGAAGGG
VA-ITS2-FIP	Forward inner (F1c+F2)	35-mer	GCACGGGAAGCCAATT CCTGTCCCGAAAGGGTCG
VA-ITS2-BIP	Backward inner (B1c+B2)	35-mer	GTACGCGAGTTGCCGGCA ATCTCGCACGGGGTCCA
Nu-VA-ITS1-F3	Forward outer	18-mer	TCCTCGTACCGAATGACC
Nu-VA-ITS1-B3	Backward outer	21-mer	CCCTTTTAAATCCCCGCG GCC
Nu-VA-ITS1-FIP	Forward inner (F1c+F2)	45-mer	CAACAAGTCGCCGACCC ACACCGAACACGTTCCG AAAATCACAAG
Nu-VA-ITS1-BIP	Backward inner (B1c+B2)	49-mer	CGGACGCGTCGAGCATCG AAAACAAAAGAAGGCCG TCCTCTATTTTCGCC

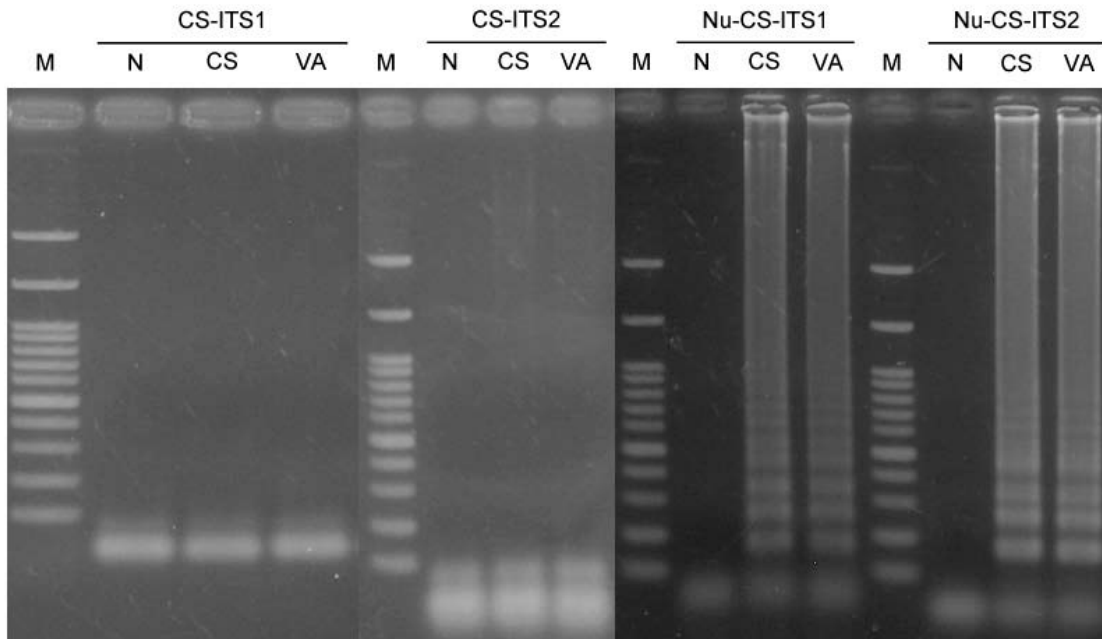


Fig. 2 Detection of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) products of *Cynanchum stauntonii* (CS) using DNA electrophoresis.

The panels represent LAMP products detected using DNA electrophoresis. LAMP reactions were performed using specifically designed LAMP primer set of CS-ITS1, CS-ITS2, Nu-CS-ITS1 and Nu-CS-ITS2, when the addition of genomic DNA of *Cynanchum stauntonii* (CS) and *Vincetoxicum atratum* (VA) as templates, respectively. Lane N, negative control of LAMP reaction; lane M, molecular markers (100 bp).

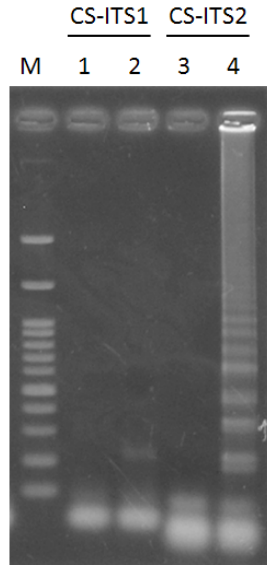


Fig. 3 Detection of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) products of *Cynanchum stauntonii* using amplicons from F3-B3-primed PCR.

The panels represent LAMP products detected using DNA electrophoresis. LAMP reactions were performed using specifically designed LAMP primer sets of CS-ITS1 and CS-ITS2, respectively when the addition of genomic DNA of *Cynanchum stauntonii* amplicons as templates, respectively. Lane M, molecular markers (100 bp). Lane 1 and lane 3, negative control of LAMP reaction; lane 2 and lane 4, the LAMP reaction using amplicon as templates.

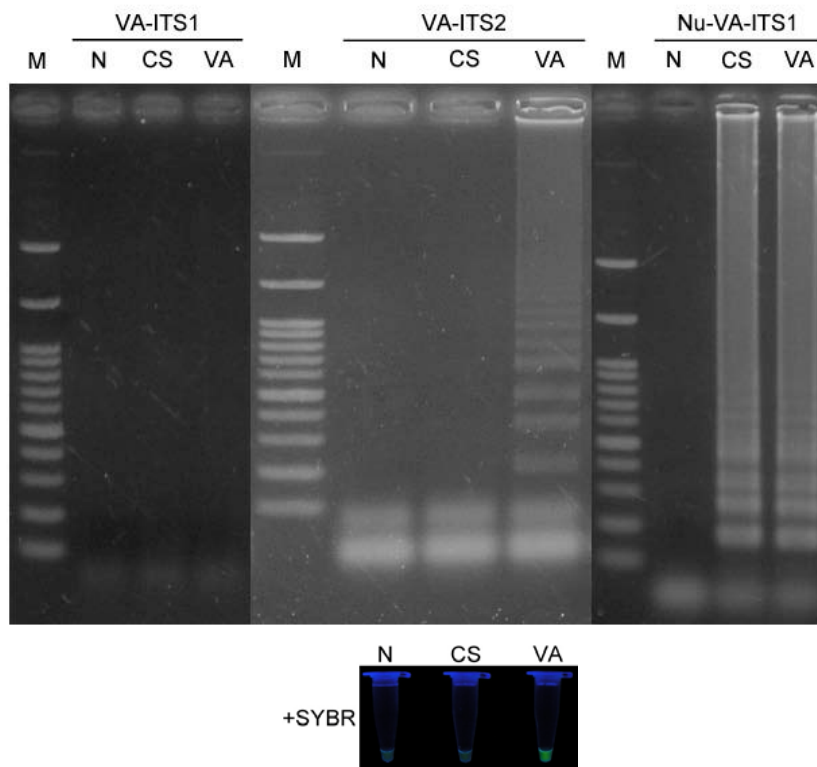


Fig. 4 Detection of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) products of *Vincetoxicum atratum* (VA) using DNA electrophoresis and fluorescence illumination.

The upper and lower panels represent LAMP products detected using DNA electrophoresis and fluorescence illumination, respectively. The LAMP products shown in the lower panel stained with SYBR Green I (SYBR) were visualized under UV excitation. LAMP reactions were performed using specifically designed LAMP primer set of VA-ITS1, VA-ITS2 and Nu-VA-ITS1, when the addition of genomic DNA of *Cynanchum stauntonii* (CS) and *Vincetoxicum atratum* (VA) as templates, respectively. Lane N, negative control of LAMP reaction; lane M, molecular markers (100 bp).

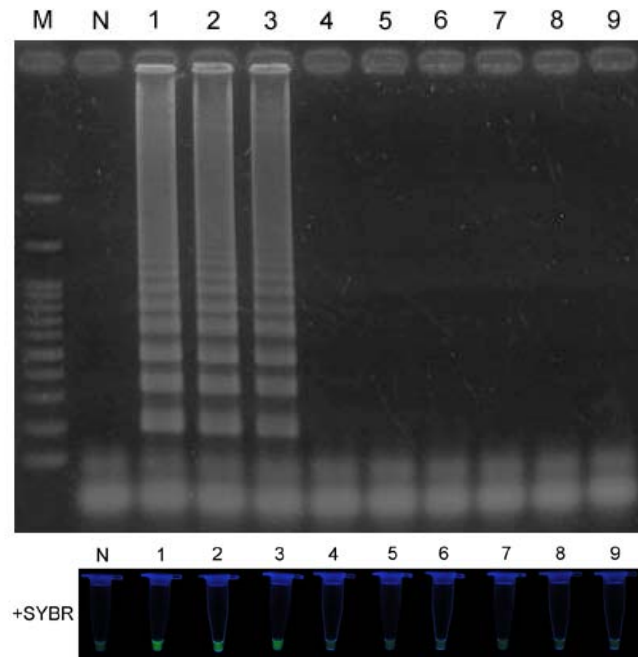


Fig. 5 Sensitivity analysis of the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for authentication of *Vincetoxicum atratum* (VA).

LAMP reactions was performed using specifically designed LAMP primer sets of VA-ITS2 with various quantities of genomic DNA of *Vincetoxicum atratum* as template. The upper and lower panels of the individual figure represented LAMP products detected using DNA electrophoresis and fluorescence illumination, respectively. The LAMP products shown in the lower panel stained with SYBR Green I (SYBR) were visualized under UV excitation. Lane M, molecular marker (100 bp); lane N, negative control; lane 1-9, template comprising various amounts of genomic DNA, namely, 100 ng, 10 ng, 1 ng, 100 pg, 10 pg, 1 pg, 100 fg, 10 fg, 1 fg, respectively.

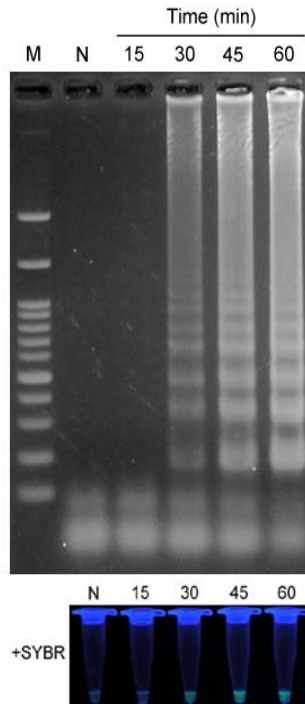


Fig. 6 Optimization of LAMP reaction time for authentication of *Vincetoxicum atratum* (VA).

LAMP reactions were performed using specifically designed LAMP primer sets of VA-ITS2 when 100 ng of genomic DNA of *Vincetoxicum atratum* as templates were added. The upper and lower panels of the individual figure represented LAMP products detected using DNA electrophoresis and fluorescence illumination, respectively. The LAMP products shown in the lower panel stained with SYBR Green I (SYBR) were visualized under UV excitation. Lane M, molecular marker (100 bp); lane N, negative control; the lanes labeled with numbers, namely 15, 30, 45 and 60, illustrated the reaction times used for performing LAMP reactions.

Table 3 LAMP primers used in this study for authentication of *Mahonia spp.*

Primer name	Type	Length	Sequence (5'-3')
Mah-ITS1-F3	Forward outer	19-mer	TGTTGAAACCTGCATAGCA
Mah-ITS1-B3	Backward outer	20-mer	AATACCATCTTGCAAAAGC A
Mah-ITS1-FIP	Forward inner (F1c+F2)	45-mer	TCGAGGGAAGGAGTCCAA GAGACCCTCGCGAACTTG TGAACAACCT
Mah-ITS1-BIP	Backward inner (B1c+B2)	49-mer	CGAGAAGTGCCCTTGTCG GCATTCTCCATTTAATTTTC CTTGGCGCTGA
Mah-ITS2-F3	Forward outer	17-mer	TGCCTGGGGGTTTGAGA
Mah-ITS2-B3	Backward outer	17-mer	GATGCAAATGCCTCCCG TCCCCGCTAGGGGAACGC
Mah-ITS2-FIP	Forward inner (F1c+F2)	39-mer	AACGCGAGCCCCCAACA CAC
Mah-ITS2-BIP	Backward inner (B1c+B2)	37-mer	CGGCCAAGCTCCCGACAA GCCAGCCCTTCAGTTATGG
Nu-Mah-ITS1-F3	Forward outer	24-mer	AACTTGTGAACAACCTATAT TGGGA
Nu-Mah-ITS1-B3	Backward outer	25-mer	AGTCGTTCAAATATCAGAT AAGCAA
Nu-Mah-ITS1-FIP	Forward inner (F1c+F2)	47-mer	AAGAATGCCGACAAGGGC ACTTCTCGGATACGGGTCT CATGGACTCC
Nu-Mah-ITS1-BIP	Backward inner (B1c+B2)	48-mer	ATAACAAACTCGGCGCGAT CAGCGCAAAAGCAAGGGC AAGCTATTTCC

Table 4 LAMP primers used in this study for authentication of *Ilex cornuta*

Primer name	Type	Length	Sequence (5'-3')
IC-ITS1-F3	Forward outer	17-mer	TGCCTGGGGGTTTGAGA
IC-ITS1-B3	Backward outer	17-mer	GATGCAAATGCCTCCCG
IC-ITS1-FIP	Forward inner (F1c+F2)	39-mer	TCCCCGCTAGGGGAACGC
			AACGCGAGCCCCCAAC ACAC
IC-ITS1-BIP	Backward inner (B1c+B2)	37-mer	CGGCCAAGCTCCCGACA
			AGCCAGCCCTTCAGTTAT GG
IC-ITS2-F3	Forward outer	18-mer	CCGGATATTGCGGGAGTT
IC-ITS2-B3	Backward outer	16-mer	TCGCGGTTCGGAGCACC
IC-ITS2-FIP	Forward inner (F1c+F2)	40-mer	CTTGTCGTGACGTCCATC
			GTGGAAATTGGCCTCCCG TTCA
IC-ITS2-BIP	Backward inner (B1c+B2)	38-mer	TGCGTCATGTCGTGAGGC
			ACCAAGGGTGCACAGGG TCG

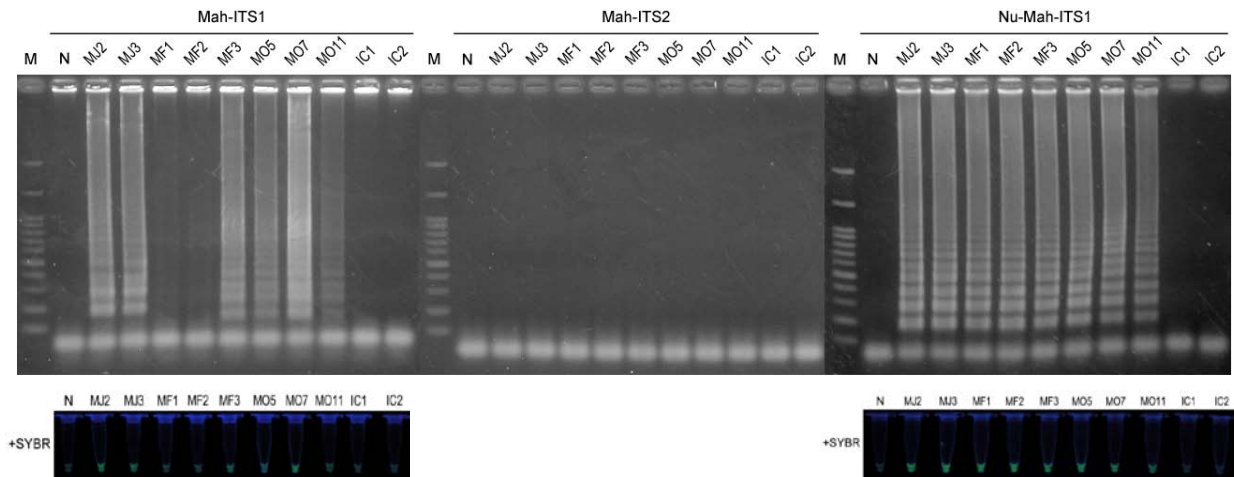


Fig. 7 Detection of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) products of *Mahonia* spp. using DNA electrophoresis and fluorescence illumination.

The upper and lower panels represent LAMP products detected using DNA electrophoresis and fluorescence illumination, respectively. The LAMP products shown in the lower panel stained with SYBR Green I (SYBR) were visualized under UV excitation. LAMP reactions were performed using specifically designed LAMP primer set of Mah-ITS1, Mah-ITS2 and Nu-Mah-ITS1, when the addition of genomic DNA of *Mahonia japonica* (MJ2-MJ3), *Mahonia fortunei* (MF1-MF3), *Mahonia oiwakensis* (MO5-MO11) and *Ilex cornuta* (IC1-IC2) as templates, respectively. Lane M, molecular markers (100 bp); lane N, negative control of LAMP reaction.

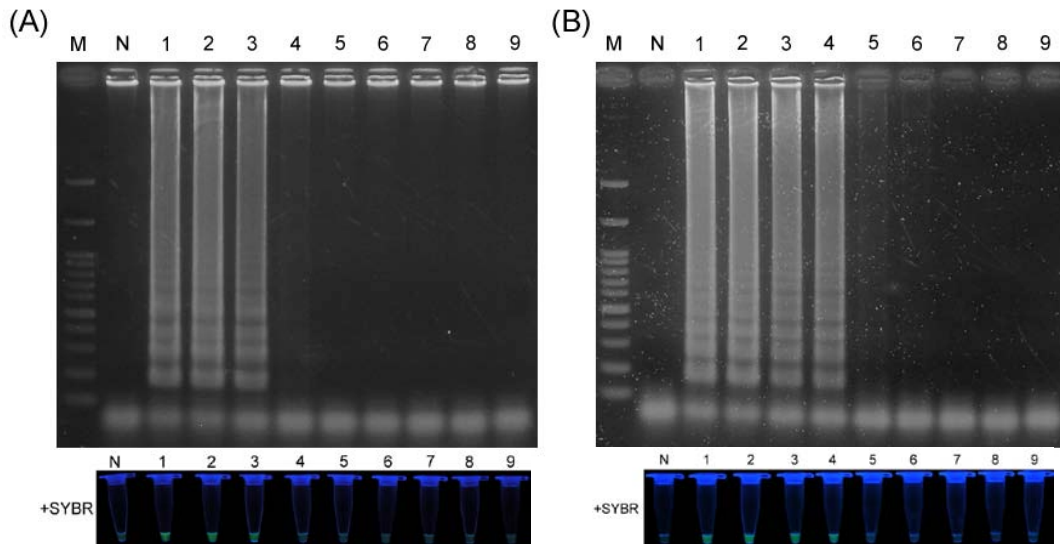


Fig. 8 Sensitivity analysis of the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for authentication of *Mahonia japonica* (MJ).

LAMP reactions was performed using specifically designed LAMP primer sets of Mah-ITS1 (A) and Nu-Mah-ITS1 (B) with various quantities of genomic DNA of *Mahonia japonica* as template. The upper and lower panels of the individual figure represented LAMP products detected using DNA electrophoresis and fluorescence illumination, respectively. The LAMP products shown in the lower panel stained with SYBR Green I (SYBR) were visualized under UV excitation. Lane M, molecular marker (100 bp); lane N, negative control; lane 1-9, template comprising various amounts of genomic DNA, namely, 100 ng, 10 ng, 1 ng, 100 pg, 10 pg, 1 pg, 100 fg, 10 fg, 1 fg, respectively.

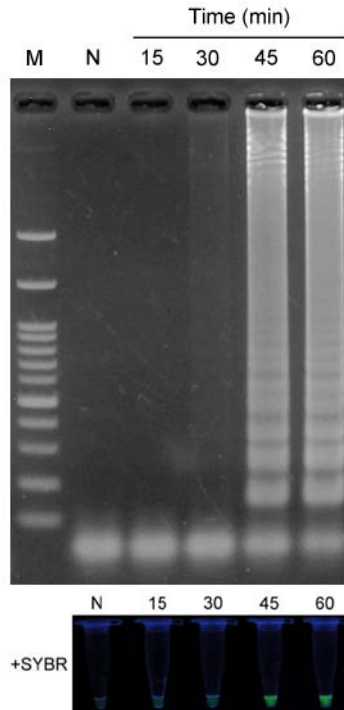


Fig. 9 Optimization of LAMP reaction time for authentication of *Mahonia japonica* (MJ).

LAMP reactions were performed using specifically designed LAMP primer sets of Nu-Mah-ITS1 when 100 ng of genomic DNA of *Mahonia japonica* as templates were added. The upper and lower panels of the individual figure represented LAMP products detected using DNA electrophoresis and fluorescence illumination, respectively. The LAMP products shown in the lower panel stained with SYBR Green I (SYBR) were visualized under UV excitation. Lane M, molecular marker (100 bp); lane N, negative control; the lanes labeled with numbers, namely 15, 30, 45 and 60, illustrated the reaction times used for performing LAMP reactions.

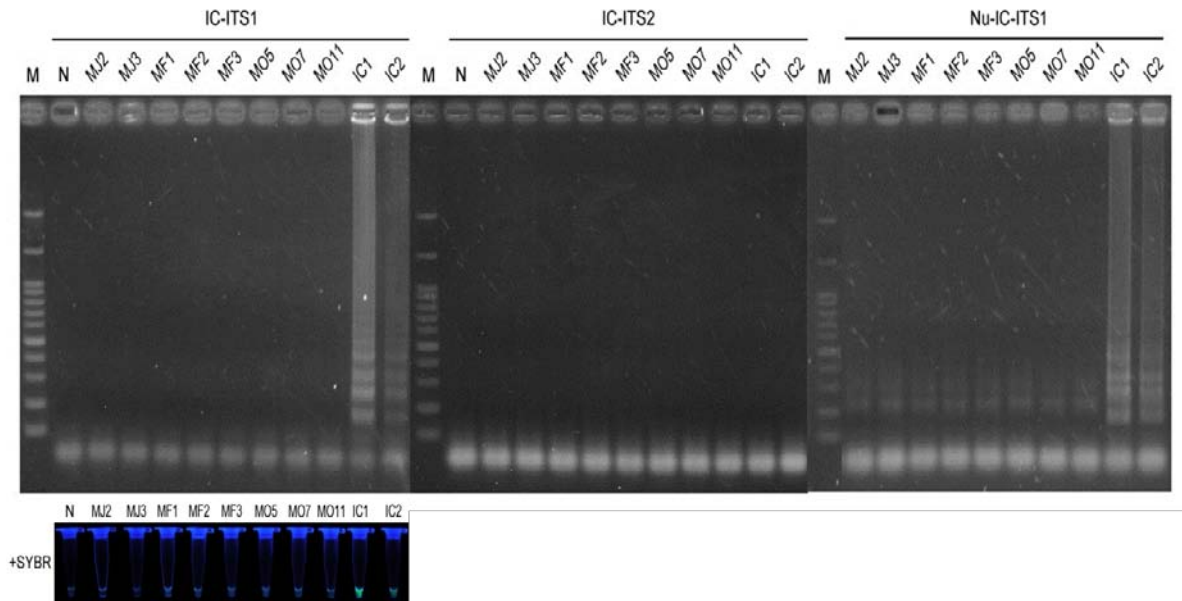


Fig. 10 Detection of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) products of *Ilex cornuta* (IC) using DNA electrophoresis and fluorescence illumination.

The upper and lower panels represent LAMP products detected using DNA electrophoresis and fluorescence illumination, respectively. The LAMP products shown in the lower panel stained with SYBR Green I (SYBR) were visualized under UV excitation. LAMP reactions were performed using specifically designed LAMP primer set of IC-ITS1 and IC-ITS2, when the addition of genomic DNA of *Mahonia japonica* (MJ2-MJ3), *Mahonia fortunei* (MF1-MF3), *Mahonia oiwakensis* (MO5-MO11) and *Ilex cornuta* (IC1-IC2) as templates, respectively. Lane M, molecular markers (100 bp); lane N, negative control of LAMP reaction.

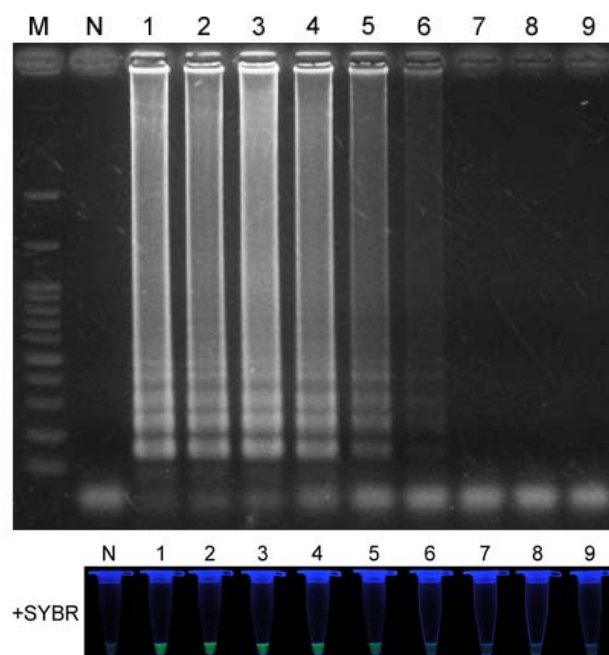


Fig. 11 Sensitivity analysis of the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for authentication of *Ilex cornuta* (IC).

LAMP reactions was performed using specifically designed LAMP primer sets of IC-ITS1 with various quantities of genomic DNA of *Ilex cornuta* as template. The upper and lower panels of the individual figure represented LAMP products detected using DNA electrophoresis and fluorescence illumination, respectively. The LAMP products shown in the lower panel stained with SYBR Green I (SYBR) were visualized under UV excitation. Lane M, molecular marker (100 bp); lane N, negative control; lane 1-9, template comprising various amounts of genomic DNA, namely, 100 ng, 10 ng, 1 ng, 100 pg, 10 pg, 1 pg, 100 fg, 10 fg, 1 fg, respectively.

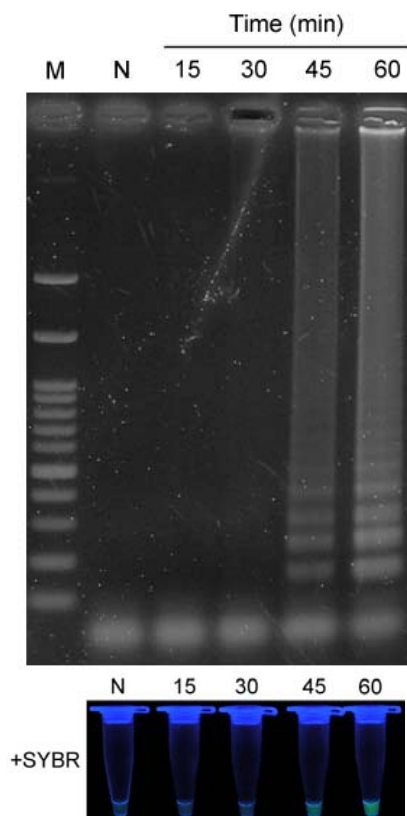


Fig. 12 Optimization of LAMP reaction time for authentication of *Ilex cornuta* (IC).

LAMP reactions were performed using specifically designed LAMP primer sets of IC-ITS1 when 100 ng of genomic DNA of *Ilex cornuta* as templates were added. The upper and lower panels of the individual figure represented LAMP products detected using DNA electrophoresis and fluorescence illumination, respectively. The LAMP products shown in the lower panel stained with SYBR Green I (SYBR) were visualized under UV excitation. Lane M, molecular marker (100 bp); lane N, negative control; the lanes labeled with numbers, namely 15, 30, 45 and 60, illustrated the reaction times used for performing LAMP reactions.

Table 5 LAMP primers used in this study for authentication of *Astragalus membranaceus*

Primer name	Type	Length	Sequence (5'-3')
AM/HP-ITS1-F3	Forward outer	19-mer	GTGAACCTGCGGAAGGAT C
AM-ITS1-B3	Backward outer	15-mer	GCACCACCGCCGAAG CAAAACACCCCAGCCATC
AM-ITS1-FIP	Forward inner (F1c+F2)	41-mer	CCTCCTTACATGCAGACC AACTA TTCCCCCTCCTGCCCCGAA
AM-ITS1-BIP	Backward inner (B1c+B2)	38-mer	CAGACGGGGCACATTGAT CG TTGCCCGATGCCTATTGC
AM-ITS2-F3	Forward outer	19-mer	A CCATATTATGGGGAGCGT
AM-ITS2-B3	Backward outer	19-mer	A GCGAGGCAACAACGCTC
AM-ITS2-FIP	Forward inner (F1c+F2)	36-mer	ACGTGTGATAGGAATTTT T TTGAGTCCTTGGTGGGGT
AM-ITS2-BIP	Backward inner (B1c+B2)	37-mer	GTGGTCTCGTGCTAACTC G CCCGAAGCCATTAGGTTG
Nu-AM-ITS2-F3	Forward outer	19-mer	A GGTCTCGTGCTAACTCG
Nu-AM-ITS2-B3	Backward outer	17-mer	
Nu-AM-ITS2-FIP	Forward inner (F1c+F2)	38-mer	AAAAATTCCTATCACACT GGTCTGCCTGGGCGTCAC AT
Nu-AM-ITS2-BIP	Backward inner (B1c+B2)	41-mer	ATGGCTTCCCGTGAGCGT TGTACACCCCACCAAGGA CTCAA

Table 6 LAMP primers used in this study for authentication of *Hedysarum polybotrys*.

Primer name	Type	Length	Sequence (5'-3')
AM/HP-ITS1-F3	Forward outer	19-mer	GTGAACCTGCGGAAGGAT C
HP-ITS1-B3	Backward outer	16-mer	GCACCACCCACGGGAT TTGAACACCCCGAGCCAT
HP-ITS1-FIP	Forward inner (F1c+F2)	42-mer	CCCCCCTTACATGCAGAC CAACTT GGTTCGCTCCCGGCAAA
HP-ITS1-BIP	Backward inner (B1c+B2)	41-mer	ACCTGCGGGGGTGA ACT GAACCA
HP-ITS2-F3	Forward outer	19-mer	TTGCCCTATGCCCAATGTC CCAAATCTGGCAGAGGC
HP-ITS2-B3	Backward outer	18-mer	G ATGAGACAACAACGCTC
HP-ITS2-FIP	Forward inner (F1c+F2)	37-mer	ACTAGTGATAGGCACTGT GC CCGAGTCCTTGGTAGGGT
HP-ITS2-BIP	Backward inner (B1c+B2)	38-mer	GTGGTCTCGTGGGTCACA CA
Nu-HP-ITS1-F3	Forward outer	18-mer	GTAGGTGAACCTGCGGA A
Nu-HP-ITS1-B3	Backward outer	17-mer	GGGGGTGCACTGAACCA TTGAACACCCCGAGCCAT
Nu-HP-ITS1-FIP	Forward inner (F1c+F2)	42-mer	CCCCCGATGCCTTACATG CAGACC TTGGGAGGGGGGCCACAT
Nu-HP-ITS1-BIP	Backward inner (B1c+B2)	40-mer	TGTTCCCTTGGCACATTCA GCGC
Nu-HP-ITS2-F3	Forward outer	19-mer	CCCGAAGCCATTAGGTTG A
Nu-HP-ITS2-B3	Backward outer	18-mer	GGTCTCGTGGGTCACACA GCACAGTGCCTATCACTA
Nu-HP-ITS2-FIP	Forward inner (F1c+F2)	39-mer	GAGTCTGCCTGGGCGTCA CAT TTGGCTTCCCGTGAGCGT
Nu-HP-ITS2-BIP	Backward inner (B1c+B2)	41-mer	TGTACACCCTACCAAGGA CTCGG

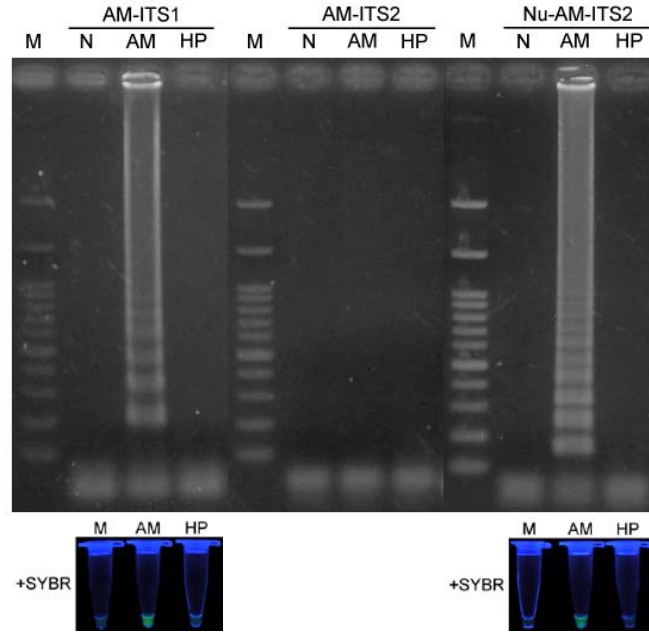


Fig. 13 Detection of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) products of *Astragalus membranaceus* (AM) using DNA electrophoresis and fluorescence illumination.

The upper and lower panels represent LAMP products detected using DNA electrophoresis and fluorescence illumination, respectively. The LAMP products shown in the lower panel stained with SYBR Green I (SYBR) were visualized under UV excitation. LAMP reactions were performed using specifically designed LAMP primer set of AM-ITS1, AM-ITS2 and Nu-AM-ITS2, when the addition of genomic DNA of *Astragalus membranaceus* (AM) and *Hedysarum polybotrys* (HP) as templates, respectively. lane M, molecular markers (100 bp); Lane N, negative control of LAMP reaction.

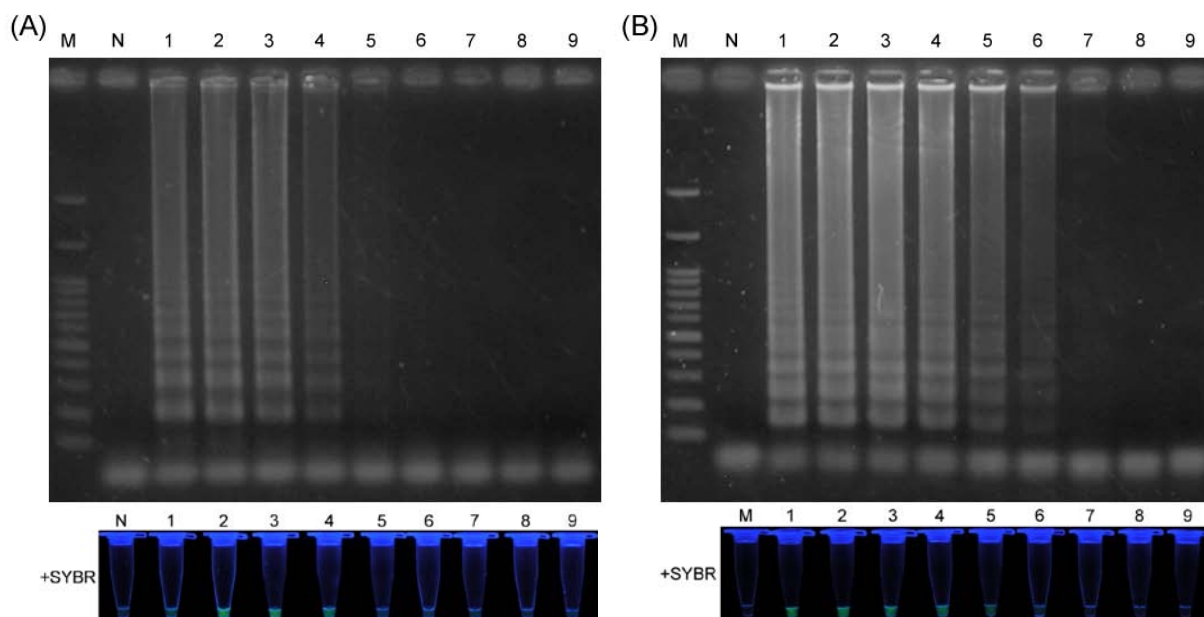


Fig. 14 Sensitivity analysis of the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for authentication of *Astragalus membranaceus* (AM).

LAMP reactions was performed using specifically designed LAMP primer sets of AM-ITS1 (A) and Nu-AM-ITS2 (B) with various quantities of genomic DNA of *Astragalus membranaceus* as template. The upper and lower panels of the individual figure represented LAMP products detected using DNA electrophoresis and fluorescence illumination, respectively. The LAMP products shown in the lower panel stained with SYBR Green I (SYBR) were visualized under UV excitation. Lane M, molecular marker (100 bp); lane N, negative control; lane 1-9, template comprising various amounts of genomic DNA, namely, 100 ng, 10 ng, 1 ng, 100 pg, 10 pg, 1 pg, 100 fg, 10 fg, 1 fg, respectively.

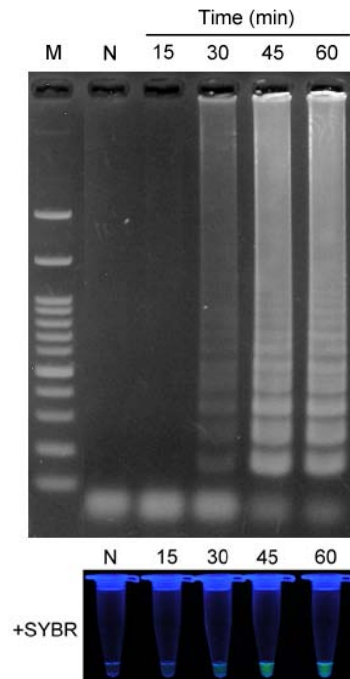


Fig. 15 Optimization of LAMP reaction time for authentication of *Astragalus membranaceus* (AM).

LAMP reactions were performed using specifically designed LAMP primer sets of Nu-AM-ITS2 when 100 ng of genomic DNA of *Astragalus membranaceus* as templates were added. The upper and lower panels of the individual figure represented LAMP products detected using DNA electrophoresis and fluorescence illumination, respectively. The LAMP products shown in the lower panel stained with SYBR Green I (SYBR) were visualized under UV excitation. Lane M, molecular marker (100 bp); lane N, negative control; the lanes labeled with numbers, namely 15, 30, 45 and 60, illustrated the reaction times used for performing LAMP reactions.

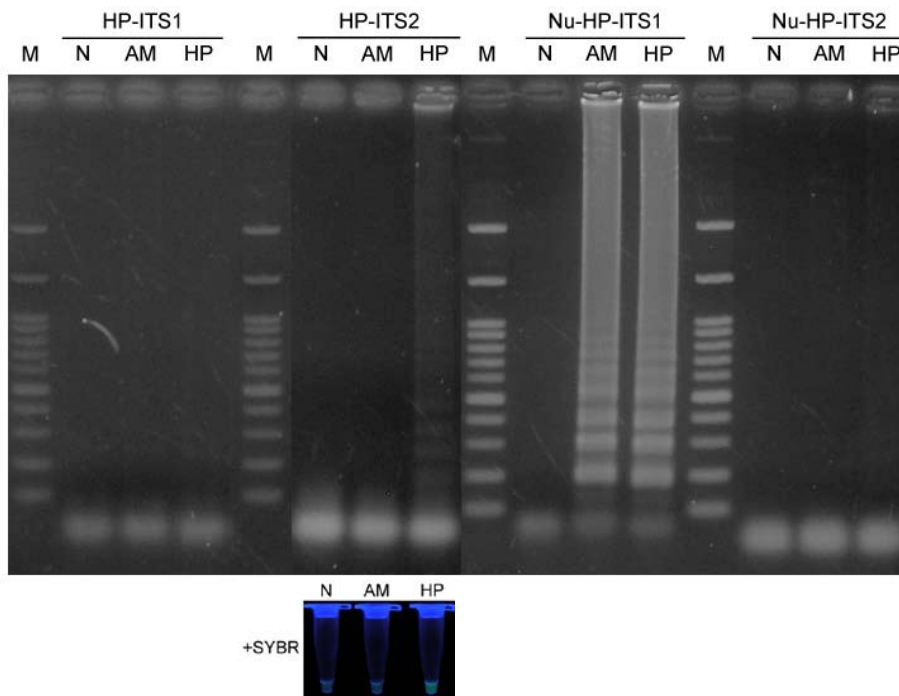


Fig. 16 Detection of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) products of *Hedysarum polybotrys* (HP) using DNA electrophoresis and fluorescence illumination.

The upper and lower panels represent LAMP products detected using DNA electrophoresis and fluorescence illumination, respectively. The LAMP products shown in the lower panel stained with SYBR Green I (SYBR) were visualized under UV excitation. LAMP reactions were performed using specifically designed LAMP primer set of HP-ITS1, HP-ITS2, Nu-HP-ITS1 and Nu-HP-ITS2, when the addition of genomic DNA of *Astragalus membranaceus* (AM) and *Hedysarum polybotrys* (HP) as templates, respectively. Lane M, molecular markers (100 bp); lane N, negative control of LAMP reaction.

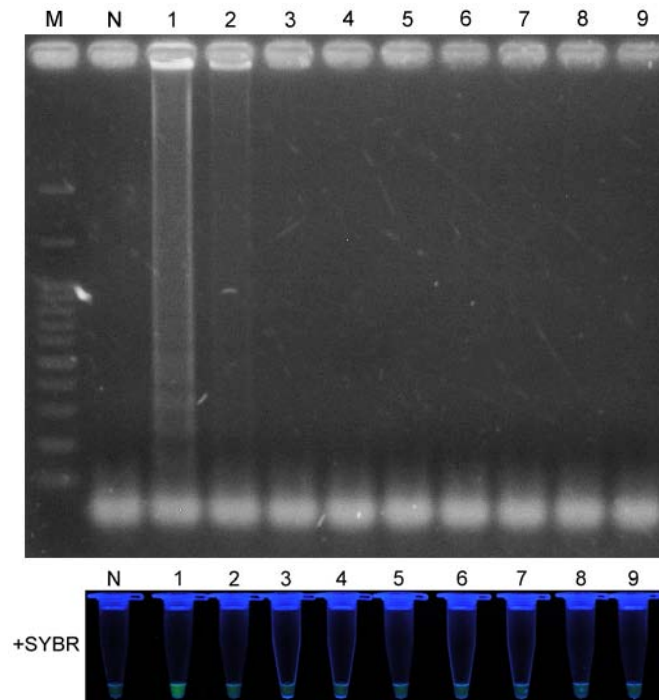


Fig. 17 Sensitivity analysis of the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for authentication of *Hedysarum polybotrys* (HP).

LAMP reactions was performed using specifically designed LAMP primer sets of HP-ITS2 with various quantities of genomic DNA of *Hedysarum polybotrys* as template. The upper and lower panels of the individual figure represented LAMP products detected using DNA electrophoresis and fluorescence illumination, respectively. The LAMP products shown in the lower panel stained with SYBR Green I (SYBR) were visualized under UV excitation. Lane M, molecular marker (100 bp); lane N, negative control; lane 1-9, template comprising various amounts of genomic DNA, namely, 100 ng, 10 ng, 1 ng, 100 pg, 10 pg, 1 pg, 100 fg, 10 fg, 1 fg, respectively.

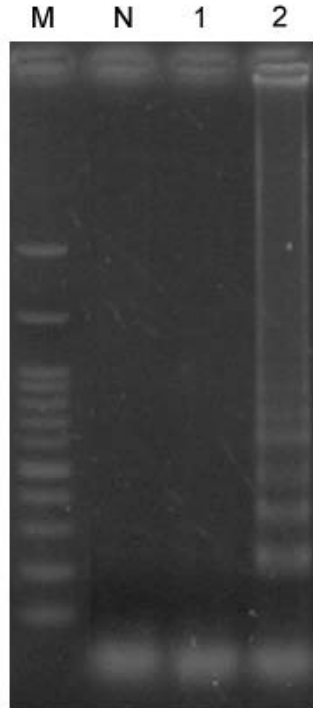


Fig. 18 Detection of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) products of *Hedysarum polybotrys* and *Hedysarum polybotrys* amplicon from F3-B3-primed PCR.

The panels represent LAMP products detected using DNA electrophoresis. LAMP reactions were performed using specifically designed LAMP primer sets of HP-ITS1 when the addition of genomic DNA of *Hedysarum polybotrys* (HP) and *Hedysarum polybotrys* amplicons as templates, respectively. Lane M, molecular markers (100 bp). Lane N, negative control of LAMP reaction; lane 1, the LAMP reaction using *Hedysarum polybotrys* as templates; lane 2, the LAMP reaction using *Hedysarum polybotrys* amplicon as templates.

Table 7 The cost comparison of nucleotides amplification methods between polymerase chain reaction (PCR) and loop-mediated isothermal amplification (LAMP).

	PCR	LAMP
試劑價錢	900~15,000 元 (視酵素品質與品牌而定)	1,300~6,300 元 (視品牌而定)
所需引子合成價錢 (10 元/mer)	340~420 元不等 (視引子所需長度而定)	1,140~1,220 元 (視引子所需長度而定)
引子設計費用	不需要 (皆有免費設計軟體可供使用)	
程式控溫裝置	72,000~80,000 元 (視裝置功能與品牌而定)	不需要
分析工具	DNA 膠體電泳裝置約 3,500~5,000 元 SYBR Green I 染劑 0.03 元/反應	
操作人員訓練費 (103 元/小時)	皆可於約 8 小時即訓練完成 故需 824 元	

Table 8 Summary results of the LAMP methods development in this study.

	Species	LAMP primer	Specificity	Sensitivity	Reaction time
(1)	<i>Cynanchum stauntoni</i>	CS-ITS1	-		
		CS-ITS2	-		
		Nu-CS-ITS1	-		
		Nu-CS-ITS2	-		
	<i>Vincetoxicum atratum</i>	VA-ITS1	-		
		VA-ITS2	+	1 ng	30 min
(2)	Mahonia spp.	Nu-VA-ITS1	-		
		Mah-ITS1	+	1 ng	
		Mah-ITS2	-		
	<i>Ilex cornuta</i>	Nu-Mah-ITS1	+	100 pg	45 min
		IC-ITS1	+	1 pg	45 min
		IC-ITS2	-		
(3)	<i>Astragalus membranaceus</i>	Nu-IC-ITS1	-		
		AM-ITS1	+	100 pg	
		AM-ITS2	-		
	<i>Hedysarum polybotrys</i>	Nu-AM-ITS2	+	1 pg	30 min
		HP-ITS1	-		
		HP-ITS2	+	100 ng	
		Nu-HP-ITS1	-		
		Nu-HP-ITS2	-		

ITS1

CS_Common - - - - TCCTTGTACCGAATGACCTGCGAACACGTTCCGAAAATCACAAGCGCTGTTGCGC 55
VA_Common TCAAATCCTCGTACCGAATGACCTGCGAACACGTTCCGAAAATCACAAGCGCTGTTGCGC 60

CS_Common CCTTGCTCGGTGTGGGTGCGGCGACTTGTTCGCCGACGCGTCGAGCATCGAAAACAAAATC 115
VA_Common CCTTGCTCGGTGTGGGTGCGGCGACTTGTTCGCCGACGCGTCGAGCATCGAAAACAAAATC 120

CS_Common CGGCGCGGAAGCGCCAAGGACTAGCGAAATAGAGGACGGCCTTCCCGCGGCATCCTGGC 175
VA_Common CGGCGCGGAAGCGCCAAGGACTAGCGAAATAGAGGACGGCCTTCCCGCGGCATCCTGGC 180

5.8S

CS_Common CCGCGGGGATTAAA--GGGTCTCCAAATGAAAATGTTGTATAATAACAGTACGACTCTC 233
VA_Common CCGCGGGGATTAAAAGGGTCTCCAAATGAAAATGTTGTATA--ATAGAGTACGACTCTC 237

CS_Common GGCAACGGATATCTAGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAACCTGCGATAGTTGGTG 293
VA_Common GGCAACGGATATCTAGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAACCTGCGATAGTTGGTG 297

CS_Common TGAATTGCAGAAATCCCGTGAACCATGGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATT 353
VA_Common TGAATTGCAGAAATCCCGTGAACCATGGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATT 357

ITS2

CS_Common AGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACACGCATTGCGTCGTCCCCCCTCCCGCG 413
VA_Common AGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACACGCATTGCGTCGTCCCCCCTCAACCGTG 417

CS_Common TCCCGAAAGGGTCGCGGGCCTTAGCGTGGGGGGCGGAAGTTGGCTTCCCGTGCAGCGTTT 473
VA_Common TCCCGAAAGGGTCGCGGGCCTTAGCGTGGGGGGCGGAAGTTGGCTTCCCGTGCAGCGTTT 477

CS_Common GCGGCTAGCCTGAAACAACGGTTCCCTCGGCGCGGACGTCGCGACAAGTGGTGGTTCGTCG 533
VA_Common GCGGCTAGCCTGAAACAACGGTTCCCTCGGCGCGGACGTCGCGACAAGTGGTGGTTCGTCG 537

CS_Common AGATTGTACGCGAGTTGCCGGCAAGCTGCGTCGAGGGGAGCATTCGGACCCCGTGCAGAGA 593
VA_Common AGATTGTACGCGAGTTGCCGGCAAGCTGCGTCGAGGAGAGCATTTGGACCCCGTGCAGAGA 597

CS_Common CGAGTCCCTTCAGCGAGGGGCAATCGCAACGATTG 628
VA_Common CGAGTCCCTTCAGCGAGG----- 615

Appendix 1 Aligned sequences of ITS1-5.8S-ITS2 regions of *Cynanchum stauntonii* (CS) and *Vincetoxicum atratum* (VA).

ITS1

```

MJ_Common      -----ATTGTTGA----- 8
MF_Common      -----ATTGTTGA----- 8
MO_Common      -----ATTGTTGA----- 8
IC_Common      GCTGCCGGCAACGTCGCGAGAAGTCCACTGAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAAGTCG 60

MJ_Common      -----AACCTGCATA-----GCAGAA-AGAC 28
MF_Common      -----AACCTGCATA-----GCAGAA-AGAC 28
MO_Common      -----AACCTGCATA-----GCAGAA-AGAC 28
IC_Common      TAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTTCGATGCCTGCAAAGTAGAC 120

MJ_Common      TCG-CGAACTTGTGAACAACCTATAT-TGGGAG-----AGGGATACG-GGTCTCTTGG 78
MF_Common      TCG-CGAACTTGTGAACAACCTATAT-TGGGAG-----AGGGATACG-GGTCTCTTGG 78
MO_Common      TCG-CGAACTTGTGAACAACCTATAT-TGGGAG-----AGGGATACG-GGTCTCTTGG 78
IC_Common      CCGCGCGAACTTGTGTAATAAATATGCCGTTGGGGTTTGAGAAAGGGGTGCGCGAGCCCCCAA 179

MJ_Common      CTCCTTCCCTCGATTTC---GGACCGAG---AAGTGCCCTTGTTCGG---CATTCTTTGG 128
MF_Common      CTCCTTCCCTCGATTTC---GGACCGAG---AAGTGCCCTTGTTCGG---CATTCTTTGG 128
MO_Common      CTCCTTCCCTCGATTTC---GGACCGAG---AAGTGCCCTTGTTCGG---CATTCTTTGG 128
IC_Common      CACACTCCCCAGCCCCCTCGGGATTTGGCTTGCCTTCCCTAGCGGGGACGGGCCAAAG 239

MJ_Common      CTCTGATAAAAATAACAACTC-GGCGCGATCAGCGCCAAGGAAAATTAATGGAAA--TA 185
MF_Common      CTCTGATAAAAATAACAACTC-GGCGCGATCAGCGCCAAGGAAAATTAATGGAAA--TA 185
MO_Common      CTCTGATAAAAATAACAACTC-GGCGCGATCAGCGCCAAGGAAAATTAATGGAAA--TA 185
IC_Common      CTC---CGACAACGAACCCGGCGCTGCTGCGCCAAGGAAACAATACTGAAGGGCTG 295

MJ_Common      GCTTGCCCTTGCTTT-----TGCA-AGATGGTATT-GCTTATCTGATATTTGAA- 232
MF_Common      GCTTGCCCTTGCTTT-----TGCA-AGATGGTATT-GCTTATCTGATATTTGAA- 232
MO_Common      GCTTGCCCTTGCTTT-----TGCA-AGATGGTATT-GCTTATCTGATATTTGAA- 232
IC_Common      GCTTGCCCGTGTCCCGTTCGCGGGCTGCAACGGGAGGCAATTGCACTCTTTGAAATCTAAA 355

5.8S
MJ_Common      CGACTCTCGGCAATGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGAT 292
MF_Common      CGACTCTCGGCAATGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGAT 292
MO_Common      CGACTCTCGGCAATGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGAT 292
IC_Common      CGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGAT 415

```

Appendix 2 Aligned sequences of ITS1-5.8S regions of *Mahonia japonica* (MJ)、*Mahonia fortune* (MF)、*Mahonia oiwakensis* (MO) and *Ilex cornuta* (IC).

ITS1

AM_Common TCGATGCCTTACATGCAGACCAACTAGTGAATCTGTTTGAATACTTAGGGATGGCT - GGG 59
 HP_Common -----GCAGACCAACTTGTGAATCTGTTTGAATACCTGGGATGGCTCGG 46

AM_Common GTGTTTTGCACCACGACCTCCCTTTGGGTGGGGGTGGTGCGCAATGCGT - TCCCCCTCC 118
 HP_Common GTGTTCAACTCCTCGACCTCCCTTGAATTGGGAGGGGGGCCACATTGTGGTTCCGCTCC 106

AM_Common TGCCCGAACACAAACCCCGGCGCTCAATGCGCCAAGGAAGTAAAATTCGAT - CAATGTGC 177
 HP_Common CGGCAAACCCAAACCCCGGCGCTGAATGTGCCAAGGAAGTAAAATTTGGTTCAATGCAC 166

AM_Common CCC - GTCGGCCCGGAGACGGTGCCTTCGGCGG - TGGTGCCTTGTACAT - - - - - GATAC 228
 HP_Common CCCCGCAGGCCCGGAGACGGTGCCTCCCGTGGTGGTGCCTTGACGCATTATATTTAATAT 226

5.8S

AM_Common AGAATGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATG 288
 HP_Common AAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTAGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATG 286

AM_Common CGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCG 348
 HP_Common CGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCG 346

ITS2

AM_Common CCCGAAGCCATTAGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACATATCGTTGCCCGATGCC 408
 HP_Common CCCGAAGCCATTAGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACATATCGTTGCCCTATGCC 406

AM_Common TATTGCAGTGTGATAGGAATTTT - TAGGGCGAATGATGGCTTCCCGTGAGCGTTGTTGCC 467
 HP_Common CAATGCTTAGTGATAGGCACTGTGGAGGGCGAATGTTGGCTTCCCGTGAGCGTTGTTGTC 466

AM_Common TCGCGGTTGGTTGAAAATTGAGTCCCTTGGTGGGGTGT - -GCCATGATAGATGGTGGTTCGA 525
 HP_Common TCATGGTTGGCTGAAAACCGAGTCCCTTGGTAGGGTGTGGCCATGATAGATGGTGGTTGT 526

AM_Common GTTAGC - ACGAGACCCATCATGTGTACGCTCCCATAATATGGCTTCGA - TGACCCACA - 582
 HP_Common GTGACCCACGAGACCGATCATGTGGC - CTCGCCAGATTGGCCTCCAGTGACCCACGT 585

AM_Common GCGTCTTTGACTCTCATGA 602
 HP_Common GCGTCTTTGAGCGCTCTTGA 605

Appendix 4 Aligned sequences of ITS1-5.8S-ITS2 regions of *Astragalus membranaceus* (AM) and *Hedysarum polybotrys* (HP).

Appendix 5、誤用或混用物之生物活性與本來中藥的差別

	生物活性	毒性作用
(1) 白花蛇舌草	抗菌、消炎、活血、利尿、清熱、利濕、解毒。誘導癌細胞細胞凋亡、抑制 NF-kappaB 致癌蛋白、抑制腫瘤細胞的生長。抑制低密度脂蛋白的氧化	
多花水線草	具有清熱解毒、消腫止痛功效。清熱解毒。治瘧疾，腸癰，腫毒，燙傷。	
蒲公英	清熱解毒、散結、通乳汁、利膽及利尿之功效。主治脾胃鬱火、乳癰、癰瀝、疔毒、熱淋、乳少等症。抗菌作用、抗真菌作用。	
(2) 兔兒菜	清熱解毒、消腫排膿、涼血止血。主治肺膿瘍、肺熱咳嗽、急慢性肝炎、腸炎、腸癰、痢疾、膽囊炎、盆腔炎、瘡癤腫毒、陰囊濕疹、吐血、衄血、血崩、跌打損傷。體外抗白血病、保肝作用。	
粉防己	利尿消腫、祛風止痛，用於水腫腳氣、小便不利、風濕痺痛、濕疹瘡毒、高血壓症。現時中醫應用防己的經驗：偏於利濕而走裡，可利小便以消腫。	
(3) 廣防己	祛風止痛，清熱利水，用於濕熱身痛、風濕痺痛、下肢水腫、小便不利。現時中醫應用防己的經驗：偏於去風而走外，用去風濕以止痛。	
馬兜鈴屬	具有抗腫瘤、抗菌、抗炎、鎮痛、抗生育以及對心血管等的藥理作用。	腎毒性及致突變性和致癌性。
(4) 柳葉白前	具有降氣，消痰，止咳之功效。	
直立白薇	具有清熱涼血，利尿通淋，解毒療瘡的功效。	
十大功勞	十大功勞葉苦涼，入肺經。清熱補虛，止咳化痰。清熱力較強，主治骨蒸潮熱、頭暈耳鳴、心煩目赤等。	
(5) 枸骨	骨葉苦涼，入肝腎經。清熱養陰，補肝益腎。補肝腎益氣血、祛風濕作用強，主治肺癆咳嗽勞傷失血、腰膝痠軟、風濕痺痛等。	高劑量(10 mg/kg·d)易導致活胎率低、流產、死胎等。
(6) 黃耆	具有益氣固表，利尿，托毒、排膿，斂瘡生肌的作用。	
紅耆	托毒、排膿。	

減肥中草藥之藥效與肝腎毒性的評估(2-2)

劉怡旻
大仁科技大學

摘要

研究目的：

本計畫針對澤瀉和決明子以及藥材炮製品，鹽澤瀉與炒決明子，評估是否具有改善高熱量飼料引至實驗動物罹患肥胖症之效果，同時針對長期服用這些待測中藥及其炮製品後是否可能引至肝毒性、腎毒性進行評估。

研究方法：

本研究利用成人建議治療劑量，分別將澤瀉和其鹽製炮製品(每日 5~10 克)以及決明子與其炒製後所得之炮製品(每日 10~15 克)以大白鼠相對於人體之代謝係數進行換算後的劑量利用胃管每日單一次餵食的方式連續十二周投予至肥胖大鼠；本計畫投予至實驗大鼠的澤瀉與鹽澤瀉其每日口服劑量範圍為 0.5-1.0 克；投予決明子與炒決明子至實驗大鼠的每日口服劑量範圍為 1-1.5 克。實驗期間定期觀察肥胖大鼠體重以及白色脂肪組織重量的變化，配合白色脂肪細胞病理切片分析所得結果，評估待測中藥材及其炮製品減肥之藥效。藉由血液中肝功能生化指數麩丙酮酸轉胺基酶 (glutamyl pyruvic transaminase, GPT) 及麩草酸轉胺基酶 (glutamyl oxaloacetic transaminase, GOT) 與血漿肌酐酸 (serum creatinine)、血尿素氮 (blood urea nitrogen) 濃度的變化與肝臟與腎臟病理切片分析所得結果，評估待測中藥材及其炮製品對實驗動物肝臟以及腎臟傷害的可能性。

結果與討論：

連續餵食十二周後可見澤瀉及其鹽製炮製品均有改善肥胖大鼠血脂異常的效力，同時具有抑制白色脂肪細胞體積增大以及減緩脂質過氧化與肝臟脂肪異常蓄積的作用；這項作用可能與增加肝臟氧化體增殖活化受體 (peroxisome proliferators activated receptor α , PPAR α) 以及脂質氧化相關酵素 acetyl-CoA oxidase (ACO) 的表現有關。鹽澤瀉的這些效力均較未炮製者為佳。炒決明子調節血脂異常與體脂肪不易形成的功效與增強肝臟氧化體增殖活化受體 PPAR α 與脂質氧化酵素 ACO 蛋白的表現量亦較未炮製品顯著。不論是澤瀉及其鹽製炮製品

或是決明子與炒決明子於本計畫使用劑量下服用十二周均不會造成實驗大鼠肝腎功能的異常。綜合本計畫評估的結果，應用於調降體脂之目的，使用澤瀉宜應以鹽製炮製品為優先考量，選用決明子宜以炒製品為佳。

關鍵詞：肥胖、澤瀉、決明子、炮製品、肝毒性、腎毒性

Evaluation on the Anti-obesity Efficacy as Well as Kidney and Liver Toxicity Induced by Chinese Medicinal Plants (2-2)

I-Min Liu
Tajen University

ABSTRACT

Aim:

The aim of the study was on the evaluation of the effects of *Alisma* rhizome and *Classiae* semen, and the processed products on the amelioration of high energy diet-induced obesity in rats. In addition, the possible hepatotoxicity or nephrotoxicity induced by long-term administration of these anti-obesity herbal medicines and its processed products will be evaluated.

Method:

In folk medicine, the recommended daily oral dose of *Alisma* rhizome and *Classiae* semen are 5-10 and 10-15 g per adult per day, respectively. The dose of the tested herbal medicine was calculated by multiplying the recommended dose of intake per kilogram by the human metabolism coefficient to get the dose of intake per day of rats. The obesity rats were dosed by oral gavage once per day for 12 weeks with unprocessed *Alisma* rhizome and its salt-processed product ranged from 0.5-1.0 g/kg. The approximate daily oral dose of unprocessed *Classiae* semen and stir-fried product for rat is ranged from 1-1.5 g/kg. The efficacy of the tested herbal medicines on the weight reduction were evaluated by the changes in body weight and white adipocyte weight in obesity rats, as well as the results from the biopsy in white adipocytes during the experimental period. Changes in the plasma levels of glutamic pyruvic transaminase and glutamic oxaloacetic transaminase and the levels of blood urea nitrogen and plasma creatinine concentration were determined. The pathological evaluation was further performed to evaluate the pathology of hepatotoxicity and nephrotoxicity.

Results & Discussion:

The dyslipidemia in obesity rats was improved after being fed unprocessed *Alisma* rhizome or its salt-processed product for 12 weeks. The unprocessed *Alisma* rhizome and its salt-processed product also lowered hepatic lipid droplet accumulation and the size of epididymal adipocytes, and caused reductions in lipid peroxidation in HFD-fed rats. The benefit effects of unprocessed *Alisma* rhizome and its salt-processed product were related with increasing in the expression of hepatic levels of peroxisome proliferators activated receptor (PPAR) α and acetyl-CoA oxidase (ACO). However, the capacity of salt-processed *Alisma* rhizome on the controlling visceral fat accumulation and related protein expression were more potent than that produced by unprocessed product. The efficacy of stir-fried *Classiae* semen on the regulation of dyslipidemia and visceral fat accumulation as well as enhancement on hepatic PPAR α and ACO expression was more potent than those produced by unprocessed product. Neither the tested herbal medicines nor the processed products caused the hepatotoxicity or nephrotoxicity in HFD-fed rats. It suggested that basing on the recommended daily oral dose, salt-processed *Alisma* rhizome or stir-fried *Classiae* semen was taken into the first consideration on controlling visceral fat accumulation when comparing to the unprocessed product.

Keywords: obesity, *Alisma* rhizome, *Classiae* semen, processed products, hepatotoxicity, nephrotoxicity

壹、前言

中醫對肥胖症可分為脾虛痰濁，脾胃實熱，肝郁氣滯，脾腎陽虛等配以不同藥方治療肥胖症，確實可做到減肥的最好效果。藥性屬於利水滲濕的常用減肥中藥澤瀉(*Alismatis Rhizoma*)，為澤瀉科(*Alismataceae*)植物澤瀉(*Alisma orientalis* (Sam.) Juzep.)的乾燥塊莖。澤瀉主含澤瀉醇 A、B、C (alisol A, B, C)及其乙酸酯、表澤瀉醇 A (epialisol A)、環氧澤瀉烯(alismoxide)等成分，具有利尿、降血脂、抗動脈粥樣硬化、抗脂肪肝、抗炎、降血糖及減肥等藥理作用(Imai et al., 1970)。但是，澤瀉能讓肝臟、腎臟出現腫脹，具有肝毒性、腎毒性；曾有 B 肝患者因服用含澤瀉的中藥，導致血液、肝、腎多種器官中毒而死亡(Yuen et al., 2006)。此外，減肥方劑中常見的決明子(*Semen Cassiae*)又叫草決明、馬蹄決明、假綠豆，為豆科(*Leguminosae*)植物決明(*Cassia obtusifolia* L.)或小決明(*Cassia tora* L.)的成熟種子。決明子主含蒽醌類化合物大黃素、大黃酚、大黃素甲醚、決明素(obtusin)、決明子素(obtusifolin)及其苷類，有清熱潤腸通便作用(葉定江，2001a)。實驗及臨床應用證明具有抑制血清膽固醇升高和動脈粥樣硬化斑塊形成的作用，降血脂療效好。決明子生用有苦寒甘潤、潤腸通便之效，長期飲用對身體不利(葉定江，2001a)。由於中藥材大多是生藥，其中不少藥材必須經過特殊的炮製處理，才能更符合治療需要，充分發揮藥效。因此，按照不同的藥性和治療要求而有多種炮製方法。澤瀉經炮製後，其水溶性絨出物均有不同程度的增加，尤以鹽製品最高。此外，鹽製澤瀉能引藥下行，並能增強瀉熱作用，能達到利尿而不傷陰的效果(葉定江，2001b)。決明子炒後能緩其寒性，減緩滑腸作用，有平肝養腎的效果(葉定江，2001a)。

為了將中藥療效科學化與解明可能引致之副作用，本年度計畫將利用高熱量飼料誘發之食源性肥胖動物模式，針對澤瀉和決明子，與其藥材炮製品，分別為鹽澤瀉與炒決明子，利用中醫臨床成人建議治療劑量，以大白鼠相對於人體之代謝係數進行換算後的劑量投予至食源性肥胖大鼠探討待測物是否具有不易使餵食高熱量飼料的實驗大鼠引至肥胖的活性；並評估長期性服用這些待測中藥材及其炮製品對實驗大鼠的肝臟與腎臟功能的影響。此外可瞭解長期服用這些待測中藥及其炮製品後是否可能引至實驗動物肝臟、腎臟的損傷，進一步找出待測藥物的安全劑量及最佳的治療時程。所得結果可提供為中藥安全使用的依據，並可為產官學界日後進行相關中草藥研究及政策訂定及推行的參考。此外經由本計畫實施所得的結果

將有助於民眾瞭解減肥中草藥的活性與可能引致的副作用，不僅可以減少誤服中草藥不幸中毒的事件發生，同時可以減少健保醫療費用的支出，也達到中藥用藥安全管理以及維護國民健康的目的。

貳、材料與方法

一、炮製方法

(一)炮製方法

研究使用之中藥材生品(澤瀉與決明子)購自台灣中部的貿易公司。其炮製方法如下：

1. 鹽澤瀉

取淨澤瀉片(100 kg)，用鹽水(食鹽 2 kg)拌勻，悶潤，待鹽水被吸盡後，置炒製容器內，用文火加熱，炒至微黃色，取出晒涼。篩去碎屑備用(葉定江，2001b)；炮製流程圖如下所示。

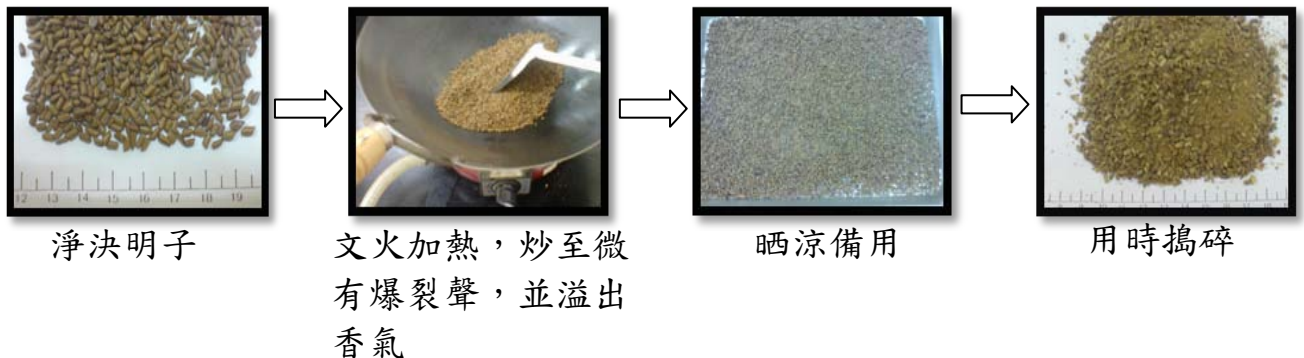
鹽澤瀉炮製流程圖



2. 炒決明子

取淨決明子，置炒製容器內，用文火加熱，炒至微有爆裂聲，並溢出香氣時，取出晒涼備用。用時搗碎(葉定江，2001a)。炮製流程圖如下所示。

炒決明子炮製流程圖



二、指標成分分析

(一)儀器

本實驗所使用之高效能液相層析儀系統裝置包含兩個層析幫浦(Shimadzu LC-10AD)，注射器(Rheodyne 7125, 20 μ L loop)，光電二極體偵測器(Shimadzu SPD M10A photodiode Array)，資料處理器(Shimadzu CBM-M10A)；揮發光散射偵測器為 Shimadzu ELSD-LT 型；高效液相層析-質譜儀系統裝置包含質譜儀(Finnigan LCQ advantage)，層析幫浦(TSP LC quaternary pump P-4000)，紫外光偵測器(TSP UV-2000)，控制器(TSP SN-4000)，離子源(Finnigan ESI interface)，資料處理軟體(Finnigan Xcalibur)；酸鹼測定儀為 Suntex SP-2200 型；超音波震盪器為 Elma Transsonic Sigital；離心機為 Hettic Universal 配置 10 mL(15mL) \times 12 轉盤；自動定量吸管 Nichiryo 100-1000 μ L、0.5-5 mL 及 BIOHIT(Germany)20-200 μ L 各一支；前置管柱為 Guard-Pak μ -Bondapak C18 (Millipore, Milford, MA, USA)；分離管柱為 Hypersil Hypercarb。

(二)配製標準品溶液及製作檢量線

取澤瀉醇 B-23-醋酸酯(Alisol B 23-acetate)、大黃素(emodin)或是蘆薈大黃素(aloe-emodin) 50 mg，精確稱定，溶於 10 mL 去離子水中，使配成已知濃度為 5 mg/mL 之內標準品溶液(IS)。澤瀉醇 B-23-醋酸酯、大黃素以及蘆薈大黃素皆購自 Sigma-Aldrich, Inc. (Saint Louis, Missouri, USA)。微量滴管吸取適量之標準品溶液或稀釋標準品溶液體積並用去離子水稀釋至體積為 1.0 mL，之後加入 200 μ L 之 IS 溶液，作為製作檢量線之各濃度之標準品溶液。

(三)分析條件

高效液相層析儀設定流速 0.2 mL/min，流動相為(A) 0.1% HCOOH(pH 2.75)，(B) CH₃OH，(A) (B) 兩液以線性梯度進行沖提，其比例開始為 100:0，5 分鐘時為 100:0，20~35 分鐘時為 62:38，45 分鐘時為 40:60，55 分鐘時為 0:100，60~65 分鐘時為 0:100，平衡 30 分鐘；揮發光散射偵測器偵測溫度設為 55 $^{\circ}$ C，氣體壓力為 270 kPa，Gain 值為 8(ELSD 之條件係本實驗室評估過較佳的參數值)；HPLC 經過 UV-2000 偵測後直接進入質譜儀 LCQ，使用 ESI 界面，離子源條件為 Sheath gas flow rate：40 arb，Aux gas：20 arb，I spray voltage：4.5 kv，capillary temp：200 $^{\circ}$ C (arb = arbitrary unit)；

實驗係以 LCQ-tune 軟體在 tune 模式下操控，將目標離子的強度調整至最大，sucrose 標準溶液(1 mg/mL)用 syringe pump 以 5 μ L/min 流速注入，同時以流速 200 μ L/min 的 MeOH 沖提以模擬 LC-MS 線上分析時的狀況。

(四)分析方法確效試驗

各成分分別取低、中、高三種不同濃度之標準溶液進行同日間(intra-day，在 24 小時內注射 3 次)及異日間(inter-day，注射之每針間隔超過 24 小時，並且在 7 天內注射完畢)試驗，求其相對標準偏差值(RSD%)，並確認準確性、精確性、再現性與回收率。

1. 準確性、精確性及再現性

準確性、精確性及再現性主要是以 Within-run 及 between-run 來評估。用以確定在不同的執行時間相同的的分析方法下仍具穩定性。其評估方法可分成：

- (1) 檢量線的評估：檢量線以 Between-run 的方式執行，以確認分析方法中檢量線的線性關係，以及反算檢量線各樣品點之平均濃度的準確性和精確性。
- (2) 品管檢體的評估：以 Within-run 及 between-run 分析含已知不同濃度的品管 (Quality Control, QC) 檢體，由於分析物在品管檢品中的濃度已知，藉由所得到的平均預測值與實際值之間的差異便可評估每次分析之準確性、精確性及再現性。
- (3) 最低定量極限(LLOQ) 樣品評估：以 Within-run 及 between-run 分析含 LLOQ 的樣品，因加入所分析物質的標準品，在低分析物下進行相關的檢品處理與分析，估計是否有明顯干擾與分析定量結果。並可評估分析 LLOQ 的準確性、精確性及再現性。

以個別濃度的變異係數(coefficient of variation, %CV)，作為精確性及再現性的評估依據，其值可根據： $\%CV = (\text{standard deviation (SD) of concentration} / \text{mean concentration}) \times 100\%$ 。目前生物分析方法可接受的標準為，除了 LLOQ 需 $\%CV \leq 20.0\%$ 外，其餘均為 $\%CV \leq 15.0\%$ 。準確性為個別樣品平均的相對誤差(relative error, %RE)，即：

$$\%RE = \frac{(\text{mean of calculated concentration} - \text{nominal concentration})}{\text{nominal concentration}} \times 100\%$$

可接受的標準為，除了 LLOQ 需 $\%RE \leq \pm 20.0\%$ 外，其餘均為 $\%RE \leq \pm 15.0\%$ 。

Within-run 及 between-run 的執行方式為執行五天，即有五次的 Within-run 來評估精確性、準確性及再現性。再以五天的 Within-run 評估 between-run。執行步驟如下：

- (1) 每次執行所需之樣品為空白檢體、含內部標準品的空白檢體、一組檢量線及品管檢體 H (1800 pg/mL)、M (200 pg/mL)、及 L (60 pg/mL) 個六重複；LLOQ (20 pg/mL) 執行六重複。
- (2) 每天製備執行一次 Within-run，重複進行五天。五天 Within-run 執行結束後評估 between-run。

2. 回收率測試

回收率的測試主要的目的為確認分析方法在生體檢體上的萃取率的效能。其萃取回收率並不需為100%，但其分析物與內部標準品的萃取回收率須相似。萃取回收率的評估以低、中及高三種不同濃度來評估，以確認此分析方法在不同的檢體濃度下回收率均有準確性及再現性。

分析物回收率的執行步驟如下：

- (1) 準備兩組的樣品(標示為Processed及Unprocessed)，每組樣品均為高、中、及低三濃度並各三重複。
- (2) 一組樣品(Processed)分別於製備前加入體積20 μL 高、中及低三濃度。
- (3) 另一組樣品(Unprocessed)均添加20 μL 操作溶液之溶媒，即 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ ($v/v = 50/50$) 作為使其於製備過程為等同體積。
- (4) 回溶後將一組樣品(Processed)添加20 μL 操作溶液之溶媒，即 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ ($v/v = 50/50$)；另一組樣品(Unprocessed)添加20 μL 高、中及低三濃度。

內部標準品回收率的執行步驟如下：

- (1) 準備兩組的樣品(標示為Processed 及Unprocessed)，每組樣品各三重複。
- (2) 加入20 μL 分析物當作製備過程的校正誤差用。
- (3) 一組樣品(Processed)加入10 ng/mL 100 μL betaxolol操作溶液的濃度；另一組樣品(Unprocessed) 加入100 μL 操作溶液

之溶媒，即 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (v/v = 50/ 50)。

(4) 回溶後將一組樣品(Processed)添加 100 μL 操作溶液之溶媒，即 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (v/v = 50/ 50)；另一組樣品(Unprocessed) 添加 100 μL 10 ng/mL betaxolol 操作溶液。

三、急毒性試驗(acute toxicity)

選用週齡8週之BALB/cByJNarl雄性小鼠(購自財團法人國家實驗研究院國家實驗動物中心，飼養於大仁科技大學動物中心)，每組10隻，實驗前禁食一晚，但不禁水。以口服方式投予急性極限測試(acute limit test)劑量5 g/kg，每天至少觀察動物二次，觀察中毒症狀及紀錄十四天內體重變化和死亡情形。若有死亡則進一步計算出半數致死劑量(median lethal dose, LD_{50})，以為日後投與至實驗動物劑量的參考(Litchfield and Wilcoxon, 1949)。

四、效力評估

(一)體內活性評估

1. 肥胖大鼠的誘導

將週齡 8 週的雄性 Wistar 大鼠(購自財團法人國家實驗研究院國家實驗動物中心，飼養於大仁科技大學動物中心)分為對照組(control group)及高熱量組(high energy group)。對照組以正常飼料(3.8 kcal/g, 21% kcal protein, 67% kcal carbohydrate, 12% kcal fat)飼養，而高熱量組以高熱量飼料(5.24 kcal/g, 20% kcal protein、20% kcal carbohydrate、60% kcal fat;)飼養(Ricci and Levin, 2003)。飼養至少 4 週後，確定高熱量組之體重顯著高於對照組 20%後，對照組繼續以正常飼料飼養。

2. 給藥的方式

澤瀉的成人建議劑量為每日 5~10 克(凌一揆，2004a)，決明子成人有效治療量每 10~15 克(凌一揆，2004b)。本計畫將以人體建議劑量為參考：澤瀉與其鹽製炮製品將採取每日 5, 7.5 與 10 克的口服劑量，決明子與炒製品將採取每日 10, 12.5 與 15 克的口服劑量，換算實驗動物相對於人體之代謝係數後投與至食源性肥胖大鼠。有關劑量換算法採用衛生署健康食品減肥功能評估草案方式，依據體重 60 公斤之成人除以受試物之每日人體建議攝取量，可得每公斤體重之建議攝取量，再乘以實驗動物相對於人體之代謝係數，即可得該實驗動物每日攝取劑量。大白鼠相對於人體之代謝係數為 6.25。經由代謝係數換算，本

計畫投予至實驗大鼠的澤瀉與其鹽製炮製品每日每公斤的口服劑量為 0.5, 0.75 與 1.0 克；投予決明子與炒製品至實驗大鼠的每日每公斤的口服劑量為 1, 1.25 與 1.5 克。臨床常用西藥 fenofibrate 於 100 mg/kg/day 的口服劑量可有效活化實驗大鼠體內的過氧化體增殖活化受體(peroxisome proliferators activated receptor α , PPAR α)(Zhou et al., 2008)，本計畫是以餵食 fenofibrate (購自 Sigma-Aldrich, Inc.)的肥胖大鼠當為正對照組。本計畫利用胃管每日單一次餵食的方式餵食肥胖大鼠待測物與 fenofibrate 連續十二周。

3. 減肥效果的評估

減肥效果的評估是參考衛生署「健康食品之不易形成體脂肪功能評估方法」(衛署食字第 0960403113 號公告)來進行。

(1) 在飼養期間(三個月)，各組別的實驗動物皆需觀察每日體重與攝食量的變化，並於實驗末計算食物利用率(feed efficiency ratio, FER)，計算公式如下： $FER = (\text{weight gain} \div \text{food intake}) \times 100\%$

(2) 待實驗結束，將動物全部犧牲，進行以下項目變化之分析：

a. 由頸動脈採血，進行下列生化指標檢測：

(a) 血脂質-利用酵素法及比色原理測量三酸甘油酯(TG)、總膽固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL-C)及高密度脂蛋白膽固醇(HDL-C)濃度。

肝功能評估-利用酵素法及比色原理測量血液中肝功能生化指數GPT及GOT的變化。

(b) 腎功能評估-利用酵素法及比色原理測量血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)和血肌酐酸(creatinine)的含量(Kassirer, 1971; Tanganelli et al., 1982)。

(c) 電解質平衡狀態-利用酵素法及比色原理測量血中鈉及鉀的含量(Berry et al., 1988; 1989)。

b. 於採血結束後，進行下列項目變化之分析：

(a) 肝臟脂質-以生理食鹽水沖洗離體肝臟，以Folch等人的方法萃取脂質後，測量肝臟三酸甘油酯與總膽固醇濃度(Floch et al., 1957)，同時利用TBA (thiobarbituric acid)之呈色法(測定在532 nm之吸光值)來測定脂質過氧化

之產物丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量的變化。

(b) 脂肪細胞數目及大小-取下實驗動物腎周圍及睪丸周圍之脂肪組織，判定脂肪細胞之數目以及大小。

(c) 脂肪組織之脂解酶(lipoprotein lipase, LPL)活性-取 0.1g 睪丸脂肪組織，以生理鹽水洗淨後，用濾紙吸乾水分，秤重。然後，以均質機將脂肪組織均質化並離心後，取上清液，利用購自 BioAssay Systems (CA, USA)之分析試劑(QuantiChrom™ Lipase Assay Kit, Cat. No. DLPS-100)以比色之方法評估脂解酶活性 (Morimoto et al., 2001)。

c. 脂肪細胞相關激素的定量

為評估標的中草藥粗萃取物影響 3T3-L1 脂肪細胞分化的效力是否與調控脂肪細胞激素的釋放有關，本計畫亦進行實驗動物血中脂肪細胞相關激素的定量。實驗進行所需使用之 adiponectin 檢測組(Cat. No. A0434EK)購自 AdipoGen Inc. (Seoul, Korea)；leptin 檢測組(Cat. No. EZRL-83K)購自 LINCO Research, Inc.；resistin 檢測組(Cat. No. RD391016200)採購自 BioVendor Laboratory Medicine, Inc. (NC, USA)。

(二)體外活性評估

1. 胞內三酸甘油酯(TG)含量測定

將 3T3-L1 脂肪細胞(購自食品工業研究所菌種保存及研究中心;BCRC 60159)放在含有 10%小牛血清(calf serum)的 DMEM 培養基中，置於 37°C 恆溫箱通以 95% air + 5% CO₂。使用 Merck Ecoline 25 (Triglycerides GPO-PAP) kit，利用酵素呈色法(GPO-PAP)進行測定。取分化至第八天的 3T3-L1 脂肪細胞以 PBS 潤洗 2 次，加入 1% Triton X-100 (in PBS)後靜置約 5 分鐘以 lysis 細胞，再收集 supernatant 至玻璃試管內進行超音波震盪，讓細胞膜破碎更完全，即完成 sample 前處理。實驗前新鮮配製所需要之 A、B reagent 溶液，A 液、B 液、sample 以 80:20:1 比例於玻璃試管中混合均勻，靜置於室溫下 10 分鐘或 37°C、5 分鐘再於室溫下一小時內以分光光度計測定 500 nm 之吸光值並另做標準曲線比對，經計算後可得細胞內三酸甘油酯濃度，再

將所測得三酸甘油酯之濃度除上蛋白質濃度即可得結果。

2. 細胞毒性分析

將 3T3-L1 脂肪細胞依 1×10^4 cells/well 放入 96-well plate 中，以 50 μ L high-glucose DMEM 培養，並分別加入適當濃度的待測物一起培養 48 小時，再加入 20 μ L 的 MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide] solution 於培養箱中培養 5 小時後以 1300 rpm 離心 3 min，吸去 80 μ L medium，再加入 80 μ L 的 DMSO 後放入培養箱 5 分鐘，以溶出 formazan 停止 MTT 反應。以 ELISA reader 測波長 540 nm 吸光值，觀察數值變化。

五、病理切片觀察

自浸泡於 10% 福馬林之肝、腎中同一位置上分割一小塊，放入包埋盒內，再將此組織以脫水滲腊機(LIPSHOW)脫水一夜後進行石蠟包埋，置於 -20°C 中，接著以旋轉式切片機(YAMATO)進行組織切片(厚度約為 5 μ m)，放入烘箱中，使石蠟烘乾固定，最後再以蘇木青與伊紅染色 Hematoxylin-Eosin stain (H&E stain)。於光學顯微鏡下觀察各組肝、腎細胞之特異情況及組織病理變化，比較並拍照評估。組織病理學切片方面，利用 H&E stain 觀察肝、腎細胞的受損、脂肪變性、壞死、纖維化等變化。病理變化的評量分析，則委請病理專科醫師，在不清楚本實驗設計的情況下對所有切片進行評估比較，再以所得平均值來進行各組之間的差異性分析。肝、腎細胞發炎的程度、脂質變性、肝細胞壞死及纖維化等予以半定量分析。其評分標準共分成五個等級(0~4 分)：“0”代表完全沒有(absent)；“1”代表少量(>25%)；“2”代表輕微(26-50%)；“3”代表中等程度(51-75%)；“4”代表極嚴重(>76%)。

六、西方點墨分析法(Western blotting)

實驗動物離體肝臟中過氧化體增殖活化受體(PPAR α)以及脂質氧化相關酵素 acetyl-CoA oxidase (ACO)的蛋白量藉由西方點墨分析法進行評估。利用 Bio-Rad Laboratories (Richmond, USA)製造的蛋白質分析試劑偵測蛋白質含量後，將適當濃度的蛋白質煮沸 5 分鐘進行 denature。接著，製備 12% 之下層凝膠(separating gel)，待下層凝固後再倒入 5 % 之上層凝膠(stack gel)。將電泳緩衝液到入電泳槽內，再將適量蛋白質注入到每一個 well，進行蛋白質的分離。之後，將跑完電泳之凝膠放在已濕潤的濾紙上，將事先以甲醇浸泡過的 PVDF 轉漬膜放於凝膠上，再以溼潤的濕潤覆蓋於

PVDF 膜上方，置於轉漬槽內，於 4°C 的環境下進行轉漬。待轉漬完成後，將 PVDF 膜以 PBST buffer 清洗 15 分鐘，再將 PVDF 浸潤於含 3% BSA 的 PBS buffer 中，於室溫下將 PVDF 膜上的非特異性結合位阻斷。接著，將 PVDF 浸潤於含 3 % BSA 及適量的一級抗體的 PBS 緩衝液中，於 4°C 冷房內緩慢振盪隔夜。之後，以 PBST buffer 洗 PVDF 六次，每次 10 分鐘。再將 PVDF 浸潤於含 3% BSA 及適量 anti-sheep IgG antibody 的 PBS buffer 中，於室溫下緩慢振盪 2 hr。重覆以 PBST buffer 洗 PVDF 六次，每次 10 分鐘。最後，將 PVDF 膜上水漬滴乾，加入 ECL detection kit，將 PVDF 封存於塑膠袋中，再以 X-光片予以壓片。本計畫所使用之一級抗體包括 PPAR α (Cat. No. sc-1985)、ACO (Cat. No. sc-98499) 以及 β -actin (Cat. No. sc-130656) 購自 Santa Cruz Biotechnology, Inc. (CA, USA)。

七、統計分析

本計畫實驗結果之數據，以 one-way ANOVA analysis 分析變異數，再以 Scheffe's multiple range test 檢定其間差異之顯著性，凡 p 值小於 0.05 以下，則認為其差異據統計意義。

參、結果

一、指標成分分析

(一) 澤瀉與鹽澤瀉之指標成分含量分析：

澤瀉醇 B-23-醋酸酯(Alisol B 23-acetate)之檢量線公式為: $y = 2.02e+003 x + -8.15e+003$ ($r = 0.9956$; 圖一(A))。澤瀉與鹽澤瀉所含澤瀉醇 B-23-醋酸酯之分析圖譜如圖一(B)所示。澤瀉與其鹽製炮製品所含澤瀉醇 B-23-醋酸酯分別為 622.84 ± 0.73 與 $393.67 \pm 0.51 \mu\text{g/g}$ 。澤瀉醇 B-23-醋酸酯之同日間試驗(intra-day)及異日間試驗(inter-day)分析之相對標準偏差結果如表一所示。

(二) 決明子與炒決明子之指標成分含量分析：

圖二為決明子與炒決明子所含大黃素(emodin)與蘆薈大黃素(aloe-emodin)之含量分析圖譜。大黃素與蘆薈大黃素之檢量線公式分別為: $y = 3.07e+004 x + 3.47e+005$ ($r = 0.9983$; 圖二(A))和 $y = 9.93e+003 x + 1.13e+005$ ($r = 0.9988$; 圖二(B))。決明子與炒決明子所大黃素之含量分別為 4.58 ± 0.11 與 $7.78 \pm 0.08 \mu\text{g/g}$ (圖二(C))。蘆薈大黃素在決明子與炒決明子的表現量分別為 6.99 ± 0.07 與 $8.79 \pm 0.09 \mu\text{g/g}$ (圖二(D))。大黃素與蘆薈大黃素之同日間試驗及異日間試驗分析之相對標準偏差結果如表一所示。

二、3T3-L1 脂肪細胞內脂肪蓄積之影響

(一) 澤瀉與鹽澤瀉及其指標成分對 3T3-L1 脂肪細胞內脂肪蓄積之影響

由圖三(A)Oil-Red O 染色所得結果可知，成熟 3T3-L1 脂肪細胞內油脂蓄積的程度會因澤瀉($1 \mu\text{g/mL}$)或是鹽澤瀉($1 \mu\text{g/mL}$)的作用而有減緩的現象。澤瀉醇 B-23-醋酸酯($1 \mu\text{mol/L}$)對成熟 3T3-L1 脂肪細胞內油脂蓄積的抑制率約為 $36.1 \pm 5.6\%$ ，與 fenofibrate ($1 \mu\text{mol/L}$)產生的抑制效力($43.9 \pm 4.8\%$)類似。成熟 3T3-L1 脂肪細胞內油脂蓄積的定量結果如圖三(B)所示。

澤瀉($1 \mu\text{g/mL}$)或是鹽澤瀉($1 \mu\text{g/mL}$)亦有減緩 3T3-L1 脂肪細胞內三酸甘油酯(TG)形成的作用(圖三(C))。澤瀉醇 B-23-醋酸酯($1 \mu\text{mol/L}$)對 3T3-L1 脂肪細胞內三酸甘油酯形成的抑制效力($30.1 \pm 6.2\%$)與 fenofibrate 於同作用濃度產生的結果($40.6 \pm 7.4\%$)較為相近(圖三(C))。

(二) 決明子與炒決明子及其指標成分對 3T3-L1 脂肪細胞內脂肪蓄積之影響

成熟 3T3-L1 脂肪細胞內油脂蓄積的程度會因決明子(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)或是炒決明子(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的作用而有所調降。大黃素(1 $\mu\text{mol}/\text{L}$)與蘆薈大黃素(1 $\mu\text{mol}/\text{L}$)亦能抑制成熟 3T3-L1 脂肪細胞內油脂的蓄積，以大黃素(抑制率為 $31.2 \pm 6.7\%$)產生的作用較相近 fenofibrate($41.9 \pm 8.1\%$)於同作用濃度(1 $\mu\text{mol}/\text{L}$)產生的效果。成熟 3T3-L1 脂肪細胞內油脂表現程度的 Oil-Red O 染色圖以及定量結果分別如圖四(A)與四(B)所示。

決明子(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)或是炒決明子(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)對於 3T3-L1 脂肪細胞內三酸甘油酯的形成皆能產生抑制的作用(圖四(C))。雖然不及 fenofibrate 於同作用濃度(1 $\mu\text{mol}/\text{L}$)產生的效果($41.4 \pm 6.3\%$)，大黃素(1 $\mu\text{mol}/\text{L}$)與蘆薈大黃素(1 $\mu\text{mol}/\text{L}$)亦能減緩 3T3-L1 脂肪細胞內三酸甘油酯的形成量，其抑制率分別為 33.4 ± 5.7 與 $26.3 \pm 7.2\%$ (圖四(C))。

三、3T3-L1脂肪細胞之毒性評估

(一) 澤瀉與鹽澤瀉及其指標成分對 3T3-L1 脂肪細胞之毒性

在可抑制 3T3-L1 脂肪細胞內脂質蓄積之作用濃度下(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，澤瀉與其鹽製炮製品皆不會有抑制 T3-L1 脂肪細胞增生的現象，細胞存活率接近 96%，如圖五(A)所示。澤瀉醇 B-23-醋酸酯與 fenofibrate 在可抑制 3T3-L1 脂肪細胞內脂質蓄積之作用濃度下(1 $\mu\text{mol}/\text{L}$)對 3T3-L1 脂肪細胞的存活率亦不會有明顯的影響(圖五(A))。

(二) 決明子與炒決明子及其指標成分對 3T3-L1 脂肪細胞之毒性

如圖五(B)所示，決明子或是炒決明子在可抑制 3T3-L1 脂肪細胞內脂質蓄積之作用濃度下(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)對 3T3-L1 脂肪細胞的存活率並不會造成影響。大黃素與蘆薈大黃素在可抑制 3T3-L1 脂肪細胞內脂肪蓄積之作用濃度(1 $\mu\text{mol}/\text{L}$)下對於 3T3-L1 脂肪細胞的增生亦沒有顯著的抑制作用；3T3-L1 脂肪細胞的存活率均在 96% 以上(圖五(A))。

四、急毒性試驗

(一) 澤瀉與鹽澤瀉的急毒性試驗結果：

於 5 g/kg 的餵食劑量下，澤瀉與其鹽製炮製品皆不會引起實

驗小鼠中毒或死亡的現象。試驗期間各組動物活動正常，毛皮光澤度好。故生澤瀉與鹽澤瀉之半數致死劑量(LD₅₀)皆大於 5 g/kg (表二)。

(二) 決明子與炒決明子的急毒性試驗結果：

車前子與炒車前子於 5 g/kg 的餵食劑量下，皆不會引致實驗小鼠中毒或死亡；可知車前子與其炒製炮製品之半數致死劑量(LD₅₀)皆大於 5 g/kg (表二)。

六、肥胖大鼠體重的變化

(一) 澤瀉與鹽澤瀉對肥胖大鼠體重變化的影響：

相對於餵食正常飼料(RCD)的大鼠，連續十二週餵食高脂飼料的大鼠體重有明顯增加的現象(表三)。餵食中劑量(0.75 g/kg/day)或是高劑量(1.0 g/kg/day)的澤瀉連續十二週後，肥胖大鼠體重持續增加的現象有緩減的趨勢；尤其以高劑量(1.0 g/kg/day) 澤瀉抑制體重增加的效果較為顯著，抑制率約為 13.3%，雖然其產生的作用不似常用西藥組 fenofibrate (100 mg/kg/day; 抑制率約為 24.5%)的效果明顯。低劑量(0.5 g/kg/day) 澤瀉對於改善肥胖大鼠體重增加的現象較無明顯作用(表三)。

連續餵食鹽澤瀉十二週後，高劑量(1.0 g/kg/day)鹽澤瀉抑制肥胖大鼠體重增加的效果與 fenofibrate (100 mg/kg/day)的作用類似，抑制率約為 20.3%；較中劑量(0.75 g/kg/day; 抑制率約為 16.8%)或是低劑量(0.5 g/kg/day; 抑制率約為 12.9%)所引致的作用明顯(表三)。於相同劑量作用下，鹽澤瀉對減緩肥胖大鼠體重增加的功效較未炮製品所產生的作用強(表三)。

(二) 決明子與炒決明子對肥胖大鼠體重變化的影響：

連續餵食決明子與炒決明子十二週後，決明子或是炒決明子於高劑量(1.5 g/kg/day)的作用下對肥胖大鼠體重的增加均能產生明顯的抑制作用，大鼠體重增加的比率分別降為 26.7± 6.4 與 13.1± 5.2%。炒決明子於高劑量(1.5 g/kg/day)的作用下抑制肥胖大鼠體重持續增加的效力約為 19.7%與 fenofibrate(100 mg/kg/day)的作用(抑制率約為 24.5%)較為將近(表四)。

七、肥胖大鼠攝食行為的影響

(一) 澤瀉與鹽澤瀉對肥胖大鼠攝食行為的影響：

相對於餵食正常飼料的大鼠，連續餵食溶劑十二週的肥胖大

鼠其攝食量(food intake)並沒有明顯差異，但是食物利用率(FER)與飲水量(water intake)有偏高的趨勢，如表三所示。連續餵食十二週後，肥胖大鼠的攝食量或是飲水量並不會隨著澤瀉餵食量的增加而有明顯的差異，但是食物利用率會隨著澤瀉餵食量的增加而隨之下降(表三)。

不論是在何種餵食量的作用下，肥胖大鼠連續餵食鹽澤瀉十二週後，其攝食量或是飲水量相較於溶劑投與組並不會有明顯的差異性，但是食物利用率會隨著鹽澤瀉餵食量的增加而隨之下降(表三)。於高劑量作用下，鹽澤瀉($64.1 \pm 9.2\%$)對減緩肥胖大鼠食物利用率增加的效力較未炮製品($40.6 \pm 8.4\%$)來的明顯。Fenofibrate (100 mg/kg/day)連續餵食十二週後，不會影響肥胖大鼠的攝食與飲水量，但對肥胖大鼠食物利用率的增加有明顯的緩解作用(表三)。

(二) 決明子與炒決明子對肥胖大鼠攝食行為的影響：

如表四數據所示，連續餵食十二週後，肥胖大鼠的攝食量或是飲水量並不會隨著決明子餵食量的增加而有明顯的差異，但是肥胖大鼠對食物的利用率會隨著決明子餵食量的增加而隨著下降。肥胖大鼠連續餵食炒決明子十二週後，大鼠的攝食量或是飲水量亦不會有明顯的變化，可是肥胖大鼠對食物的利用率會隨著炒決明子餵食量的增加而隨之減少(表四)。於高劑量(1.5 g/kg/day)作用下，炒車前子降低肥胖大鼠對食物利用率的效力($62.3 \pm 10.1\%$)較生品產生的作用($31.9 \pm 6.7\%$)為強(表四)。

八、肥胖大鼠臟器與脂肪重量的變化

(一) 澤瀉與鹽澤瀉對肥胖大鼠臟器與脂肪重量變化的影響：

相較於餵食正常飼料的大鼠，肥胖大鼠的棕色脂肪組織(brown adipose tissue, BAT)以及位於副睪旁(epididymal)、腎週邊(perirenal)、腸系膜(mesenteric)與鼠蹊部附近(inguinal)的白色脂肪組織(white adipose tissue, WAT)與肝臟等臟器的重量均有增加的現象(表五)。肥胖大鼠的腎臟以及比目魚肌(soleus muscle)的重量與餵食正常飼料的大鼠相比並沒有明顯的差異(表五)。

連續餵食澤瀉或是鹽澤瀉十二週後，肥胖大鼠位於副睪旁、腎週邊、腸系膜與鼠蹊部附近的白色脂肪(WAT)重量的增加均有緩減的現象；高劑量(1.0 g/kg/day)鹽澤瀉產生的抑制作用較為明顯，

與 fenofibrate (100 mg/kg/day)的作用相近(表五)。澤瀉或是鹽澤瀉連續餵食十二週後，肥胖大鼠棕色脂肪(BAT)的重量雖然有減輕的趨勢，但與餵食溶劑的肥胖大鼠相比較並沒有統計上的差異($P>0.05$)。在高劑量(1.0 g/kg/day)澤瀉或是鹽澤瀉連續餵食十二週，肥胖大鼠肝臟腫大的情形有緩減的趨勢，尤其以鹽澤瀉產生的效力較為顯著(表五)。不論是澤瀉或是鹽澤瀉對肥胖大鼠腎臟以及比目魚肌(soleus muscle)的重量均不會造成影響(表五)。

(二) 決明子與炒決明子對肥胖大鼠臟器與脂肪重量變化的影響：

相對於溶劑處理組，肥胖大鼠位於副睪旁、腎週邊以及腸系膜與鼠蹊部附近的白色脂肪的重量在連續餵食決明子與炒決明子十二週後有減少的趨勢，且呈劑量相關性。高劑量(1.5 g/kg/day)炒決明子抑制白色脂肪重量增加的作用(抑制率為 29.1%)較生品於相同作用劑量下所得結果(抑制率為 20.2%)明顯，與 fenofibrate (100 mg/kg/day)產生的作用(抑制率為 30.4%)類似(表六)。連續十二週餵食肥胖大鼠高劑量(1.5 g/kg/day)的決明子或是炒決明子，棕色脂肪的重量雖然相較於溶劑處理的肥胖大鼠有減輕的現象(抑制率分別為 2.1 與 3.6%)，但並沒有統計上的差異($P>0.05$)。

連續餵食十二週決明子或是炒決明，肥胖大鼠肝臟腫大的情形有改善的現象(表六)，尤其以高劑量(1.5 g/kg/day)炒決明子產生的作用較為顯著。決明子與炒決明皆不會影響肥胖大鼠腎臟以及比目魚肌的重量。

九、肥胖大鼠血脂的變化

(一) 澤瀉與鹽澤瀉對肥胖大鼠血脂的影響：

如表七所示，肥胖大鼠血漿中總膽固醇(TC)、三酸甘油酯(TG)以及低密度膽固醇(LDL-C)與游離脂肪酸(FFA)的數值相較於餵食正常飼料大鼠所得數據，均有明顯偏高的現象。連續給予肥胖大鼠生澤瀉十二週後，血漿中總膽固醇、三酸甘油酯、低密度膽固醇與游離脂肪酸數值偏高的情形則有減緩的現象，且呈劑量相關性。鹽澤瀉連續作用十二週後亦能調降肥胖大鼠血漿總膽固醇、三酸甘油酯、低密度膽固醇與游離脂肪酸異常偏高的數值。高劑量(1.0 g/kg/day)鹽澤瀉產生的血脂調降作用較其他實驗組別所得結果明顯，與 fenofibrate(100 mg/kg/day)產生的作用較為相近(表七)。連續十二週給予澤瀉或是鹽澤瀉亦能提升肥胖大鼠血漿中原

先表現較低的高密度膽固醇；在相同的劑量作用下，鹽澤瀉產生的這項效果較生柴胡為佳。

(二) 決明子與炒決明子對肥胖大鼠血脂的影響：

高劑量(1.5 g/kg/day)決明子連續作用十二週後，肥胖大鼠血漿中總膽固醇、三酸甘油酯以及低密度膽固醇與游離脂肪酸數值偏高的現象皆有減緩的趨勢；總膽固醇、三酸甘油酯以及低密度膽固醇與游離脂肪酸的調降率分別為 26.7、27.1、49.2 與 34.8% (表八)。高劑量(1.5 g/kg/day)炒決明子連續作用十二週後亦能改善肥胖大鼠原先血漿中總膽固醇(調降率為 34.1%)、三酸甘油酯(調降率為 34.7%)、低密度膽固醇(調降率為 61.1%)與游離脂肪酸(調降率為 43.2%)異常偏高的情形(表八)。連續十二週給予決明子或是炒決明子亦可提升肥胖大鼠血漿中高密度膽固醇的表現值(表八)。高劑量(1.5 g/kg/day)炒決明子產生的血脂調降作用或是對高密度膽固醇的提升效果與 fenofibrate (100 mg/kg/day)引致的活性較為相近(表八)。

十、肥胖大鼠肝臟脂質的變化

(一) 澤瀉與鹽澤瀉對肥胖大鼠肝臟脂質的影響：

肥胖大鼠肝臟中總膽固醇與三酸甘油酯的表現量均較餵食正常飼料大鼠所得數值為高(表七)。連續餵食澤瀉或是鹽澤瀉十二週後，肥胖大鼠肝臟中總膽固醇與三酸甘油酯數據偏高的現象會隨著待測物餵食量的增加而有緩減的趨勢，尤其以鹽澤瀉在高劑量(1.0 g/kg/day)所產生的調降作用(抑制肝臟中總膽固醇與三酸甘油酯的效力分別為 35.4 與 36.8%)與 fenofibrate (100 mg/kg/day)產生的效果(抑制肝臟中總膽固醇與三酸甘油酯的效力分別為 44.1 與 43.7%)相似(表七)。

(二) 決明子與炒決明子對肥胖大鼠肝臟脂質的影響：

肥胖大鼠連續餵食決明子十二週後，肝臟中總膽固醇與三酸甘油酯數據偏高的現象會隨著餵食量的增加而有緩減的現象(表八)。炒決明子連續作用十二週後亦能改善肥胖大鼠原先肝臟中總膽固醇以及三酸甘油酯異常偏高的情形，且呈劑量相關性。在相同劑量作用下，炒決明子產生的肝臟脂質調降作用較生品產生的效力明顯(表八)。炒決明子在高劑量(1.5 g/kg/day)對肥胖大鼠產生的肝臟脂質調降作用(抑制肝臟中總膽固醇與三酸甘油酯的效力分

別為 33.1 與 35.1%)與 fenofibrate (100 mg/kg/day)產生的效果(抑制肝臟中總膽固醇與三酸甘油脂的效力分別為 44.1 與 43.7%)相近(表八)。

十一、肥胖大鼠血中脂肪細胞激素(adipocytokine) 的變化

(一) 澤瀉與鹽澤瀉對肥胖大鼠血中脂肪細胞激素濃度的影響：

高脂飼料引致食源性肥胖大鼠血漿中的阻抗素(resistin)以及瘦體素(leptin)的表現值均有異常提升的情形，約為餵食正常飼料大鼠所得數值的 2 倍(表九)。連續給予肥胖大鼠澤瀉十二週後，血漿中阻抗素以及瘦體素的表現值均會隨著投與劑量的增加而隨之下降。相較於於高劑量(1.0 g/kg/day)作用所得結果，鹽澤瀉較未炮製品有佳調降肥胖大鼠血漿中阻抗素(抑制率分別為 41.3 與 37.6%)以及瘦體素(抑制率分別為 30.4 與 24.1%)表現異常的作用(表九)。鹽澤瀉於高劑量(1.0 g/kg/day)作用下，對肥胖大鼠產生調降血漿中阻抗素以及瘦體素表現異常的效力與 fenofibrate 於 100 mg/kg/day 的作用劑量產生的效果(調降阻抗素以及瘦體素的效力分別為 47.6 與 39.7%)較為相似(表九)。

連續給予澤瀉十二週後，肥胖大鼠血漿中脂聯素(adiponectin)異常低下的現象並沒有明顯的改善作用(表九)。雖然不及 fenofibrate(100 mg/kg/day)產生的效果($17.1 \pm 4.9\%$)，鹽澤瀉於高劑量(1.0 g/kg/day) 連續作用十二週後，對肥胖大鼠血漿中脂聯素的表現值具有較顯著($P < 0.05$)的提升作用；鹽澤瀉(1.0 g/kg/day)對脂聯素的提升率約為 $7.3 \pm 3.8\%$ (表九)。

(二) 決明子與炒決明子對肥胖大鼠血中脂肪細胞激素濃度的影響：

連續給予肥胖大鼠決明子或是炒決明子十二週後，大鼠血漿中原先表現過高的阻抗素以及瘦體素均有調降的現象，且成劑量相關性(表十)。於高劑量(1.0 g/kg/day)作用下，炒決明子調降肥胖大鼠血漿中阻抗素(39.8%)與瘦體素(32.2%)的效果較生品(調降阻抗素以及瘦體素的效力分別為 27.2 與 23.8%)為佳；高劑量(1.0 g/kg/day)炒決明子產生的這些效果與 fenofibrate (100 mg/kg/day)的效力相似(表十)。

連續作用十二週後，決明子並無法有效地提升肥胖大鼠血漿中脂聯素表現低下的情形(表十)。炒決明子於高劑量(1.0 g/kg/day)連續作用十二週後，對肥胖大鼠血漿中脂聯素的提升作用較為顯

著($P < 0.05$)，與 fenofibrate(100 mg/kg/day)產生的效果較為相近。炒決明子(1.0 g/kg/day)與 fenofibrate(100 mg/kg/day)對肥胖大鼠血漿中脂聯素的提升率分別為 11.4 ± 4.3 與 $16.9 \pm 5.1\%$ (表十)。

十二、肥胖大鼠血中電解質的變化

(一) 澤瀉與鹽澤瀉對肥胖大鼠血中電解質的影響：

高脂飼料引致食源性肥胖大鼠血中的電解質，包括鈉離子、鉀離子、氯離子以及鈣離子，與餵食正常飼料大鼠的數值相比較並無明顯差異(表十一)。澤瀉或鹽澤瀉在不同劑量連續作用十二週皆不會影響肥胖大鼠血中電解質的表現量(表十一)。Fenofibrate (100 mg/kg/day) 連續作用十二週也不會造成肥胖大鼠血中電解質數值的異常(表十一)。

(二) 決明子與炒決明子對肥胖大鼠血中電解質的影響：

決明子在不同劑量連續作用十二週並不會對肥胖大鼠血中電解質，如鈉離子、鉀離子、氯離子與鈣離子表現的數值有所影響(表十二)。即使在高劑量(1.5 g/kg/day) 決明子連續作用十二週後亦不會引致肥胖大鼠血中電解質濃度的異常 (表十二)。

十三、肥胖大鼠肝、腎功能相關生化指數的變化

(一) 澤瀉與鹽澤瀉對肥胖大鼠肝、腎功能相關生化指數的影響：

相較於餵食正常飼料的大鼠，高脂飼料引致食源性肥胖大鼠血液中 GPT 及 GOT 的數據有偏高的趨勢，同時有高尿素氮(BUN)以及高血清肌酸酐(serum Cr)的情形(表十三)。連續餵食肥胖大鼠高劑量(1.0 g/kg/day)的澤瀉十二週後，不論是 GOT、GTP、尿素氮(BUN)與血清肌酸酐(serum Cr)的數值均明顯地降低，調降效力分別為 13.9、43.1、16.7 與 19.4% (表十三)。但是，高劑量(1.0 g/kg/day)澤瀉的效力不及 fenofibrate (100 mg/kg/day)所產生的效果(對 GOT、GTP、尿素氮與血清肌酸酐的調降率分別為 20.1、51.2、33.3 與 23.1%；表十三)。

連續餵食十二週後，高劑量(1.0 g/kg/day)鹽澤瀉對肥胖大鼠原先 GOT、GTP 以及尿素氮(BUN)與血清肌酸酐(serum Cr)異常偏高的數值亦具有改善的作用，調降率分別為 17.2、49.2、32.9 與 21.4% (表十三)。高劑量(1.0 g/kg/day)鹽澤瀉的這項效力與 fenofibrate (100 mg/kg/day)產生的效果較為相近。

(二) 決明子與炒決明子對肥胖大鼠肝、腎功能相關生化指數的影響：

由表十四的數據顯示，給予決明子連續十二週後，肥胖大鼠原先異常偏高的 GOT、GTP、尿素氮(BUN)以及血清肌酸酐(serum Cr)均有調降的現象，且具有劑量相關性。隨著炒決明子投與劑量的增加，調降肥胖大鼠過度表現的 GOT、GTP、尿素氮(BUN)以及血清肌酸酐(serum Cr)的功效亦會隨之增強(表十四)。

在高劑量(1.5 g/kg/day)炒決明子的作用下，對肥胖大鼠 GOT、GTP、尿素氮(BUN)以及血清肌酸酐(serum Cr)的調降效力接近 fenofibrate (100 mg/kg/day)所產生的作用。即使是在高劑量(1.5 g/kg/day)的作用下，決明子所產生的效果卻不及 fenofibrate (100 mg/kg/day)的效力(表十四)。

十四、肥胖大鼠脂質過氧化物(MDA)含量與脂解酶(LPL)活性的變化

(一) 澤瀉與鹽澤瀉對肥胖大鼠脂質過氧化物含量與脂解酶活性的影響：

相較於餵食正常飼料的大鼠，高脂飼料引致食源性肥胖大鼠肝臟中的脂質過氧化物 MDA 含量有偏高的現象，但是脂肪組織之脂解酶(LPL)活性有低下的情形(表十五)。連續十二週餵食肥胖大鼠 fenofibrate(100 mg/kg/day)後，脂質過氧化物 MDA 的表現值約為溶劑處理組數據的一半。Fenofibrate (100 mg/kg/day)對於肥胖大鼠脂肪組織中脂解酶活性過低的現象也有提升的作用，約為溶劑處理組所的數據的 3 倍，接近餵食正常飼料大鼠的表現值(表十五)。連續作用十二週後，高劑量(1.0 g/kg/day)鹽澤瀉調降肥胖大鼠肝臟中脂質過氧化物 MDA 異常偏高的功效(48.1%)較生品(31.2%)產生的效力明顯(表十五)。

連續餵食澤瀉或是鹽澤瀉十二週後，肥胖大鼠脂肪組織之脂解酶活性均有提升的現象，且具劑量相關性(表十五)。在高劑量(1.0 g/kg/day)作用下，鹽澤瀉提升脂解酶活性的這項作用(約為原數值的 2.2 倍)較生品(約為原數值的 1.8 倍)產生的效力明顯(表十五)。高劑量(1.5 g/kg/day)鹽澤瀉改善肥胖大鼠肝臟脂質過氧化物 MDA 的異常偏高與提升脂肪組織脂解酶活性的效力與 fenofibrate (100 mg/kg/day)產生的效果較為相近(表十五)。

(二) 決明子與炒決明子對肥胖大鼠脂質過氧化物含量與脂解酶活性的影響：

連續給予肥胖大鼠決明子十二週後，大鼠肝臟中異常偏高的

脂質過氧化物 MDA 會隨著餵食劑量的增加而隨之解緩(表十六)。相較於生品在相同劑量作用下產生的效果($30.8 \pm 7.4\%$)，高劑量(1.5 g/kg/day)炒決明子對肥胖大鼠肝臟中異常增高之脂質過氧化物 MDA 產生的調降作用($51.1 \pm 6.7\%$)較為顯著(表十六)。

於高劑量(1.5 g/kg/day)作用下，炒決明子提升肥胖大鼠脂肪組織脂解酶活性的效力(約為溶劑處理組所得數值的 1.7 倍)較未炮製品引致的作用(約為溶劑處理組所得數值的 1.5 倍)為佳(表十六)。

十五、肥胖大鼠白色脂肪組織蓄積的變化

(一) 澤瀉與鹽澤瀉對肥胖大鼠白色脂肪組織的影響：

由組織病理學檢查顯示，相對於餵食正常飼料的大鼠($2,892.2 \pm 172.3 \mu\text{m}^2$)，肥胖大鼠副睪旁的白色脂肪組織有明顯細胞肥大($6,288.4 \pm 212.6 \mu\text{m}^2$)，伴隨外觀呈現不規則的現象(圖六)。Fenofibrate (100 mg/kg/day)連續作用十二週後可使肥胖大鼠副睪旁的白色脂肪面積減少為 $2,671.8 \pm 183.2 \mu\text{m}^2$ (圖六)。連續十二週投予高劑量(1.0 g/kg/day)的澤瀉或是鹽澤瀉，大鼠的副睪旁白色脂肪細胞的面積可分別減為 $4,803.5 \pm 167.8$ 與 $3,964.3 \pm 176.8 \mu\text{m}^2$ 。肥胖大鼠副睪旁白色脂肪細胞形狀不整的現象亦因澤瀉、鹽澤瀉或是 fenofibrate 的作用而有改善(圖六)。

(二) 決明子與炒決明子對肥胖大鼠白色脂肪組織的影響：

連續十二週投予高劑量(1.5 g/kg/day)的炒決明子可改善肥胖大鼠原先副睪旁白色脂肪細胞過度肥大的現象，脂肪面積減少為 $3,064.4 \pm 174.1 \mu\text{m}^2$ (圖七)。決明子(1.5 g/kg/day)亦有改善肥胖大鼠副睪旁白色脂肪組織細胞肥大的作用，可使白色脂肪細胞面積縮小為 $5,361.7 \pm 194.3 \mu\text{m}^2$ ，但其效力不及同劑量炒製品所產生的效果(圖七)。對於肥胖大鼠副睪旁白色脂肪細胞原先形狀不整的現象也因決明子或是炒決明子的作用而有所改善。

十六、肥胖大鼠腎臟與肝臟病理切片的結果

(一) 澤瀉與鹽澤瀉對肥胖大鼠腎臟與肝臟病理學變化的影響：

相較於餵食正常飼料的大鼠，肥胖大鼠腎絲球細胞並無異常的現象。在高劑量(1.5 g/kg/day)澤瀉或是鹽澤瀉連續作用十二週後並不會對肥胖大鼠的腎絲球細胞造成傷害(圖八、表十七)。相較於餵食正常飼料的大鼠，肥胖大鼠有明顯脂肪肝與肝細胞發炎的現象(圖九、表十七)。在高劑量(1.0 g/kg/day)的澤瀉或是鹽澤瀉連

續作用十二週後，肥胖大鼠的脂肪肝有輕度改善的情形，但是兩者的效力均不及 fenofibrate (100 mg/kg/day)的作用(圖九、表十七)。於相同的作用劑量下，鹽澤瀉減緩肝臟脂肪蓄積與肝細胞發炎的效力較未炮製的澤瀉為佳(圖九、表十七)。

(二) 決明子與炒決明子對肥胖大鼠腎臟與肝臟病理學變化的影響：

高劑量(1.5 g/kg/day)的決明子或炒決明子連續作用十二週亦不會對肥胖大鼠的腎絲球細胞造成損傷(圖十、表十八)。連續十二週投予高劑量(1.5 g/kg/day)的炒決明子，肥胖大鼠肝臟脂肪蓄積過度與廣泛性發炎的情形均有減緩的效果；決明子亦有相似的作用但是不及炒製品所產生的效力(圖十、表十八)。即使是在高劑量(1.5 g/kg/day)決明子或是其炒製品的作用下，改善肥胖大鼠脂肪肝與肝細胞發炎的作用仍不及 fenofibrate (100 mg/kg/day)所產生的效力(圖十一、表十八)。

十七、肥胖大鼠肝臟 PPAR α 與 ACO 蛋白的表現量

(一) 澤瀉與鹽澤瀉對肥胖大鼠肝臟 PPAR α 與 ACO 蛋白表現量的影響：

如圖十二所示，fenofibrate (100 mg/kg/day)連續作用十二週可將肥胖大鼠肝臟中原先表現低下的 PPAR α 與 ACO 蛋白量提升至接近餵食正常飼料大鼠的表現值量。在高劑量(1.0 g/kg/day)的澤瀉或鹽澤瀉連續作用十二週後，肥胖大鼠肝臟的 PPAR α 的蛋白量分別提升至餵食正常飼料大鼠表現量的 66%與 72% (圖十二)。肥胖大鼠肝臟中表現低下的 ACO 蛋白可因高劑量(1.0 g/kg/day)澤瀉或鹽澤瀉的作用提升為餵食正常飼料大鼠表現量的 62%與 73% (圖十二)。

(二) 決明子與炒決明子對肥胖大鼠肝臟 PPAR α 與 ACO 蛋白表現量的影響：

連續十二週投予高劑量(1.5 g/kg/day)的決明子，肥胖大鼠中表現低下的 PPAR α 與 ACO 蛋白有提升的現象，分別為餵食正常飼料大鼠表現量的 68%與 71% (圖十三)。炒決明子改善肥胖大鼠肝臟中 PPAR α 與 ACO 蛋白表現量低下的效力較未炮製品明顯：高劑量(1.5 g/kg/day)炒決明子連續作用十二周可使肥胖大鼠中肝臟中 PPAR α 與 ACO 蛋白的表現量分別提升為餵食正常飼料大鼠表現值的 75%與 85% (圖十三)。

肆、討論

澤瀉成人有效治療量每日 5~10 克(凌一揆, 2004a), 決明子的成人建議劑量為每日 10~15 克(凌一揆, 2004b)。本計畫以大白鼠相對於人體之代謝係數(6.25)進行劑量換算, 針對澤瀉與決明子及其炮製品對血脂肪調節與體重控制藥效及連續給藥的安全性進行評估。由急毒性試驗結果可知待測中藥(生澤瀉與生決明子)以及炮製品(鹽澤瀉與炒決明子)之半數致死劑量(LD₅₀)皆大於 5 g/kg, 顯示此兩種藥材及其炮製品之口服急性毒性甚低(CCOHS 2005)。由血脂檢測數據可知生澤瀉或是鹽澤瀉可降低高脂飼料引致食源性肥胖大鼠血漿中異常偏高的總膽固醇、三酸甘油酯以及低密度脂蛋白。對於肥胖大鼠血漿中過度表現的游離脂肪酸, 生澤瀉或是鹽澤瀉亦有調降的作用。此外, 生澤瀉或是鹽澤瀉具有提升肥胖大鼠原先血漿高密度脂蛋白表現量低下的能力。生決明子與炒決明子對於上述肥胖大鼠血脂異常的現象亦有改善的作用。可知上述待測中藥包括其炮製品於本計畫設計的劑量範圍與餵食間期確實具有血脂調降的作用。

在哺乳類動物體中, 脂肪組織是貯存及供應能量的重要部位, 同時也負責醣類及脂質代謝的衡定。研究已知脂肪細胞會分泌許多種蛋白質並稱為脂肪細胞激素, 包括阻抗素與瘦體素等。這些脂肪細胞激素會影響胰島素阻抗性以及葡萄糖的代謝 (Matsuzawa, 2006)。由實驗結果可知鹽澤瀉相較於同一作用劑量的未炮製品有較佳調降肥胖大鼠血漿中阻抗素以及瘦體素表現異常的作用; 於同一作用劑量下, 炒決明子調節肥胖大鼠血漿中阻抗素與瘦體素的效果亦較生品為佳。高脂飼料引致肥胖大鼠白色脂肪組織重量增加的情形, 可因澤瀉與決明子以及炮製品(鹽澤瀉與炒決明子)的作用而緩解。由病理切片結果可得待測中藥及其炮製品對食源性肥胖大鼠白色脂肪細胞體積增大的現象均有抑制的作用。可知待測中藥不論是澤瀉或是決明子, 包括其炮製品鹽澤瀉或是炒決明子, 皆可藉由抑制白色脂肪細胞體積的擴大, 降低脂質蓄積的機會, 進而改善脂肪細胞激素分泌的異常, 而達到體重調控的效果。

高脂飼料引致的食源性肥胖大鼠, 其肝臟重量明顯大於正常飲食之大鼠, 然而腎臟重量則無明顯異差。可能是因飲食中添加膽固醇會造成血漿及肝臟等組織膽固醇堆積 (Garg et al., 1985; Fungwe et al., 1993)。故添加膽固醇會造成脂質及膽固醇於肝臟中累積, 導致脂肪肝 (hepatic steatosis) 產生; 此為肝臟重量增加之可能原因。由病理切片結果可知生品澤瀉或是決

明子及其炮製品包括鹽澤瀉或是炒決明子對食源性肥胖大鼠已形成的脂肪肝有輕度改善的作用，可能是減緩肝臟重量持續增加的原因之一。

肝臟 MDA 可做為肝臟脂質過氧化的指標(Ohkawa et al., 1979)。高脂飼料引致的食源性肥胖大鼠，肝臟 MDA 數值明顯高於正常飲食之大鼠。然而，增加待測中藥以及其炮製品的投與劑量則可降低食源性肥胖大鼠肝臟 MDA 的表現。研究指出，心血管疾病或動脈硬化形成，除了與血漿總膽固醇的濃度過高有關外，亦與血漿中低密度脂蛋白的氧化有關(Sugden et al., 1993)。可知生品澤瀉或是決明子及其炮製品包括鹽澤瀉或是炒決明子，除了降血脂作用外，亦有良好抗氧化的效力，具有預防心血管疾病或動脈硬化的效果。

餵食攝取高脂肪飲食之大鼠，其 GOT 與 GPT 值明顯高於正常飲食組，探究其可能原因為高膽固醇飲食引起肝臟代謝負擔，使血清 GOT 與 GPT 濃度提高。經投予生澤瀉或是鹽澤瀉，食源性肥胖大鼠血清 GOT 與 GPT 濃度明顯低於溶劑處理組；生決明子與其經炒製後所得之炮製品亦有類似的作用。故推論針對待測的兩種中藥及其炮製品，於本計畫使用的每日口服劑量範圍連續服用三個月可有效減輕高膽固醇飲食所引起脂肪堆積於肝臟而誘發之肝臟傷害。由肝臟的病理切片結果可知待測中藥(生澤瀉與生決明子)以及炮製品(鹽澤瀉與炒決明子)對高脂飼料引致肥胖大鼠肝臟發炎的現象有緩減的效力；可能與改善肝臟脂質過度蓄積，進而降低脂質過度氧化，減少肝臟 MDA 的形成有關。

體內脂質代謝是很複雜的機制，可能透過脂肪酸的合成及分解影響脂質的平衡，其中 LPL 主要是水解富含三酸甘油酯的乳糜微粒及 VLDL (Preiss-Landl et al., 2002)。而 fibrates 可藉由活化過氧化體增殖活化受體(PPAR α)的表現而增加 LPL 的活性，促進三酸甘油酯水解(Schoonjans et al., 1996)。雖然待測中藥(生澤瀉與生決明子)以及炮製品(鹽澤瀉與炒決明子)調節血脂異常與體脂肪不易形成的功效均不如臨床常用的降血脂藥物 fenofibrate，但確實具有提升食源性肥胖大鼠體內 LPL 活性低下的作用。推測待測中藥(生澤瀉與生決明子)以及炮製品(鹽澤瀉與炒決明子)調節血脂異常與體脂肪不易形成的功效因與直接或間接活化 PPAR α 有關。PPAR α 是經由調控細胞內脂質 β -氧化包括 acetyl-CoA oxidase (ACO)、microsomal triglycerides transfer protein、medium chain acyl-CoA dehydrogenase 等相關酵素基因的表現，來影響細胞的脂肪酸 β -氧化(Ljungberg et al., 2007)。雖有效力的差異，計畫執行所得結果確實可知攝取待測中藥(生澤瀉與生決明子)

以及炮製品(鹽澤瀉與炒決明子)均可以增加肝臟轉錄因子PPAR α 與ACO的表現。可知待測中藥以及炮製品調降血脂與減少脂肪蓄積的作用與促進體內脂質代謝有關，其調節血脂異常與體脂肪不易形成的效力作用機轉值得繼續探討。

將澤瀉與決明子以及炮製品(鹽澤瀉與炒決明子)與藥材之指標成份，包括澤瀉醇 B-23-醋酸酯、大黃素或是蘆薈大黃素等，加入成熟 3T3-L1 脂肪細胞中進行培養，評估這些藥材或成分對細胞內脂質與三酸甘油酯濃度的影響。待評估中藥及其炮製品與指標成分皆可抑制 3T3-L1 細胞內脂質的蓄積與三酸甘油酯的形成:炮製品的抑制效力會優於生品；決明子所含的大黃素其抑制作用較蘆薈大黃素為佳。待評估中藥及其炮製品之指標成份如澤瀉醇 B-23-醋酸酯、大黃素或是蘆薈大黃素在實驗的作用濃度並無抑制 3T3-L1 脂肪細胞增生的作用，細胞存活率皆> 96%。可知澤瀉與決明子及其炮製品(鹽澤瀉與炒決明子)與指標成分在本計畫選用實驗濃度作用下並不會有細胞毒性或抑制細胞增生的現象，但具有促進白色脂肪細胞脂質分解或抑制脂質產生的效果。

由於中藥材大多是生藥，其中不少藥材必須經過特殊的炮製處理，才能更符合治療需要，充分發揮藥效。事實上我們已於第一年度的研究計畫得知醋製柴胡相較於生品具有較佳抑制白色脂肪細胞體積增大以及減緩脂質過氧化與肝臟脂肪異常蓄積的作用；這項作用可能與醋製可增加柴胡皂苷 D 的釋出，增加肝臟氧化體增殖活化受體 PPAR α 以及脂質氧化相關酵素 ACO 的表現有關。至於製首烏調節血脂異常與體脂肪不易形成的功效與增強肝臟氧化體增殖活化受體 PPAR α 與脂質氧化酵素 ACO 蛋白的表現量均不如生品，可能與黑豆汁拌蒸後會降低藥材大黃素的釋出相關。由本年度計畫執行結果可知澤瀉經鹽製後所含指標成分澤瀉醇 B-23-醋酸酯的釋出量有減少的現象。決明子經炒製後，大黃素與蘆薈大黃素的釋出量均較生品為高。對食源性肥胖大鼠，不論是血脂調降或是體脂肪不易形成的功效與增強肝臟轉錄因子 PPAR α 與 ACO 的表現效力，鹽製澤瀉的效力皆較未炮製品為佳。可知澤瀉醇 B-23-醋酸酯並不是引致鹽澤瀉具有調節血脂異常與體脂肪不易形成功效的主要成分，鹽製後可能會增加澤瀉其他有效成分的釋出，值得繼續探討。而且在食源性肥胖大鼠，炒決明子調節血脂異常與體脂肪不易形成的功效以及促進肝臟脂質代謝相關蛋白 PPAR α 與 ACO 的表現效力均較生品為佳；可知大黃素與蘆薈大黃素是炒決明子產生血脂調降或是體脂肪不易形成活性的主要成分。

有些中草藥長期使用容易引致肝、腎毒性，尤其在減重過程容易因減重速度過快而導致電解質不平衡引起急性腎衰竭的危險。食源性肥胖大鼠在服用待測中藥(生澤瀉與生決明子)以及炮製品(鹽澤瀉與炒決明子)連續三個月後，即使在高劑量作用下，並不會出現血中電解質異常的現象。食源性肥胖大鼠高尿素氮(BUN)以及高血清肌酸酐(serum creatinine)的症狀會因為餵食待測中藥(生澤瀉與生決明子)以及炮製品(鹽澤瀉與炒決明子)同樣地具有減緩的作用。可知在本計畫使用的每日口服劑量範圍(生澤瀉與鹽澤瀉為 0.5, 0.75 與 1.0 g/kg; 生決明子與炒決明子為 1, 1.25 與 1.5 g/kg)連續服用三個月，待測中藥及其炮製品並不會對食源性肥胖大鼠的腎功能造成損傷。由腎臟病理切片的結果可以了解待測中藥(生澤瀉與生決明子)以及炮製品(鹽澤瀉與炒決明子)並不會引致腎絲球細胞的異常，更可以佐證本計畫使用的每日口服劑量範圍(生澤瀉與鹽澤瀉為 0.5, 0.75 與 1.0 g/kg; 生決明子與炒決明子為 1, 1.25 與 1.5 g/kg)連續服用三個月可以調節食源性肥胖大鼠血脂異常與白色脂肪細胞過度蓄積的現象，但是不會對實驗大鼠的腎臟造成傷害。

臨床用於調降血脂的藥物 fenofibrate，其膠囊劑型(200 mg)的健保價一顆約為新台幣 20 元。本計畫使用的澤瀉及其炮製品一台斤的售價約在新台幣 100~120 元; 決明子與其炒製品一台斤的售價約在新台幣 80~100 元。本計畫施行所得結果證實澤瀉及其鹽製炮製品或是決明子與其炒製品均有改善肥胖大鼠血脂異常與體脂肪不易形成的功效，連續使用並無引致肝腎毒性的副作用；若能實際應用於保健醫療必能提高藥材的經濟價值。可惜的是，中藥多以煎劑或科學中藥粉末劑型居多，易造成使用者不易攜帶或吞服。若能進一步將具有保健功效或具有治療效力的中藥材或是其炮製品製成膠囊劑型，提高服藥的便利性，必能提高中藥於臨床的應用性與國際保健醫療市場的能見度；本計畫實施的結果可為中藥日後發展應用的參考。

伍、結論與建議

本研究利用成人建議治療口服劑量，分別將澤瀉及其鹽製炮製品(每日 5~10 克)以及決明子與其炒製品(每日 10~15 克)以大白鼠相對於人體之代謝係數(6.25)進行換算後的劑量投予至食源性肥胖大鼠。連續餵食十二周後可見澤瀉及其鹽製炮製品均有改善肥胖大鼠血脂異常的效力，同時具有抑制白色脂肪細胞體積增大以及減緩脂質過氧化與肝臟脂肪異常蓄積的作用；這項作用可能與增加肝臟氧化體增殖活化受體 PPAR α 以及脂質氧化相關酵素 ACO 的表現有關。但是鹽澤瀉的這些效力均較生品為佳。澤瀉經鹽製後所含指標成分澤瀉醇 B-23-醋酸酯的釋出量有減少的現象。可知澤瀉醇 B-23-醋酸酯並不是引致鹽澤瀉具有調節血脂異常與體脂肪不易形成功效的主要成分，鹽製後可能會增加澤瀉其他有效成分的釋出，值得繼續探討。至於生品決明子調節血脂異常與體脂肪不易形成的功效與增強肝臟氧化體增殖活化受體 PPAR α 與脂質氧化酵素 ACO 蛋白的表現量均不如炒製品，可能與炒製後降低藥材大黃素與蘆薈大黃素的釋出相關。不論是澤瀉及其鹽製炮製品或是決明子與其炒製品於本計畫使用劑量下服用十二周均不會造成實驗大鼠肝腎功能的異常。綜合本計畫評估的結果，應用於調降體脂之目的，使用澤瀉宜應以鹽製炮製品為優先考量，選用決明子宜以炒製品為佳。本計畫為標的研究藥材及其炮製品連續作用十二周，屬於重複劑量亞慢毒性試驗所得結果。若要正式用於臨床或是保健預防的目的宜進一步進行慢性(>6 個月)毒性試驗，確定其長期使用之安全性。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP100-RD-112 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. 凌一揆，中藥學，知音出版社。P. 124，2004a。
2. 凌一揆，中藥學，知音出版社。P. 256-257，2004b。
3. 葉定江，中藥炮製學，知音出版社。P. 87-88，2001a。
4. 葉定江，中藥炮製學，知音出版社。P. 197-198，2001b。
5. Berry MN, Mazzachi RD, Pejakovic M, and Peake MJ: Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-2298.
6. Berry MN, Mazzachi RD, Pejakovic M, and Peake MJ: Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989; 35: 817-820.
7. CCOHS: What is an LD50 and LC50, Canada's National Occupational Health and Safety Resource: Canadian Centre for Occupational Health and Safety. 2005; <http://www.ccohs.ca/oshanswers/chemicals/ld50.html>
8. Floch J, Lees M, and Stanley GHS: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J Bio Chem* 1957; 226: 497-502.
9. Fungwe TV, Cagen LM, Cook GA, Wilcox HG, and Hermberg M: Dietary cholesterol stimulates hepatic biosynthesis of triglyceride and reduces oxidation of fatty acid in the rat. *J Lipid Res* 1993; 34: 933-941.
10. Garg ML, Snoswell AM, and Sabine JR: Dietary cholesterol modifies both cholesterol content and fatty acid profiles of hepaticmicrosomal membranes. *Nutr Rep Inter* 1985; 32: 17-26.
11. Imai Y, Matsumura H, Aramaki Y. Hypocholesterolemic effect of alisol A-24-monoacetate and its related compounds in rats. *Jpn J Pharmacol* 1970; 20: 222-228.
12. Kassirer JP: Clinical evaluation of kidney function-tubular function. *New Eng J Med* 1971; 285: 499-502.
13. Litchfield JT, Wilcoxon FA. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmacol Exp Ther* 1949; 96: 99-113.
14. Ljungberg A, Linden D, Ameen C, Bergstrom G, and Oscarsson J: Importance of PPAR alpha for the effects of growth hormone on hepatic lipid and lipoprotein metabolism. *Growth Horm IGF Res* 2007; 17: 154-164.
15. Matsuzawa Y. The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS Lett* 2006;

- 580: 2917-2921.
16. Morimoto C, Kameda K, Tsujita T, and Okuda H: Relationships between lipolysis induced by various lipolytic agents and hormone-sensitive lipase in rat fat cells. *J Lipid Res* 2001; 42: 120-127.
 17. Ohkawa H, Ohishi N, and Yagi K: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
 18. Preiss-Landl K, Zimmermann R, Hammerle G, and Zechner R: Lipoprotein lipase: the regulation of tissue specific expression and its role in lipid and energy metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13: 471-481.
 19. Ricci MR, and Levin BE: Ontogeny of diet-induced obesity in selectively bred Sprague-Dawley rats. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol* 2003; 285: R610-R618.
 20. Schoonjans K, Staels B, and Auwerx J: The peroxisome proliferator activated receptors (PPARS) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1302: 93-109.
 21. Sugden MC, Holiness MJ, and Howard RM: Changes in lipoprotein lipase activities in adipose tissue, heart and skeletal muscle during continuous or interrupted feeding. *Biochem J* 1993; 292: 113-119.
 22. Tanganelli E, Prencipe L, Bassi D, Cambiaghi S, and Murador E: Enzymatic assay of creatinine in serum and urine with creatinine iminohydrolase and glutamate dehydrogenase. *Clin Chem* 1982; 28: 1461-1464.
 23. Yuen MF, Tam S, Fung J, Wong DK, Wong BC, Lai CL. Traditional Chinese medicine causing hepatotoxicity in patients with chronic hepatitis B infection: a 1-year prospective study. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24:1179-1186.
 24. Zhou JY, Zhou SW, Zhang KB, Tang JL, Guang LX, Ying Y, Xu Y, Zhang L, and Li DD: Chronic effects of berberine on blood, liver glucolipid metabolism and liver PPARs expression in diabetic hyperlipidemic rats. *Biol Pharm Bull* 2008; 31: 1169-1176.

柒、圖、表

表一、澤瀉醇 B-23-醋酸酯(Alisol B 23-acetate)、大黃素(emodin)與蘆薈大黃素(aloe-emodin)之同日間試驗(intra-day)及異日間試驗(inter-day)分析之相對標準偏差。

Table 1. Precision of the intra-day and inter-day measurements on alisol B 23-acetate, emodin and aloe-emodin

Compounds	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	RSD %	
		Intra-day	Inter-day
Alisol B 23-acetate	20.00	1.11	2.61
	2.50	1.01	1.85
	0.31	3.08	2.45
Emodin	20.00	2.80	2.39
	2.50	1.18	1.55
	0.31	2.99	2.48
Aloe-emodin	20.00	1.22	1.88
	2.50	1.37	1.46
	0.31	3.02	2.23

Values were obtained from 4 determinants of each group.

表二、澤瀉(unprocessed *Alisma rhizome*)與鹽澤瀉(salt-processed *Alisma rhizome*)以及決明子(unprocessed *Classiae semen*)和炒決明子(stir-fried *Classiae semen*)對BALB/cByJNarl小鼠的急毒性試驗結果。

Table 2. Acute oral toxicity of raw and proceed herbs in BALB/cByJNarl mice

Groups	Treatment dose (g/kg)	dead/treated mice	Symptoms of toxicity
unprocessed <i>Alisma rhizome</i>	5	0/10	None
salt-processed <i>Alisma rhizome</i>	5	0/10	None
unprocessed <i>Classiae semen</i>	5	0/10	None
stir-fried <i>Classiae semen</i>	5	0/10	None

none: no toxic symptom during the observation period.

表三、連續餵食澤瀉(unprocessed AR)、鹽澤瀉(salt-processed AR)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠體重、食物利用率與攝食和飲水量的變化。

Table 3. Changes on the body weight (BW), feed efficiency ratio (FER), food and water intake in HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed *Alisma rhizome* (AR), salt-processed AR or fenofibrate

Groups	Initial BW (g/rat)	Final BW (g/rat)	Food intake (g/rat/day)	Water intake (ml/rat/day)	FER (%)
RCD-fed					
Vehicle	181.1 ± 7.8	198.9 ± 6.2 ^b	20.5 ± 5.9	72.3 ± 10.2 ^a	86.8 ± 10.2 ^b
HFD-fed					
Vehicle	182.1 ± 7.3	255.7 ± 8.1	24.9 ± 6.8	89.4 ± 8.4	295.6 ± 17.6
Unprocessed AR (g/kg/day)					
0.5	180.9 ± 7.6	244.1 ± 7.9	23.3 ± 7.1	87.9 ± 9.2	271.2 ± 15.9
0.75	178.9 ± 6.4	233.2 ± 7.2 ^a	22.8 ± 5.9	84.6 ± 10.1	238.1 ± 16.2 ^a
1.0	182.3 ± 8.1	221.2 ± 6.4 ^b	22.4 ± 6.9	82.4 ± 8.5	176.1 ± 18.5 ^b
Salt-processed AR (g/kg/day)					
0.5	180.1 ± 8.2	222.3 ± 6.7	23.7 ± 6.2	84.5 ± 9.3	178.1 ± 16.8 ^b
0.75	181.8 ± 6.9	212.1 ± 7.9 ^a	22.6 ± 6.7	82.6 ± 9.1	134.2 ± 17.5 ^b
1.0	181.4 ± 7.1	205.3 ± 8.3 ^b	22.4 ± 7.2	79.3 ± 8.9	106.7 ± 15.2 ^b
Fenofibrate (100 mg/kg/day)	180.1 ± 9.2	200.5 ± 7.8 ^b	20.1 ± 7.1	78.6 ± 8.7	101.4 ± 16.1 ^b

The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values (mean ± SD) were obtained from each group of 8 animals in each group during after 12 weeks of the experimental period. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated HFD-fed rats in each group, respectively.

表四、連續餵食決明子(unprocessed CS)、炒決明子 (stir-fried CS)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠體重、食物利用率與攝食和飲水量的變化。

Table 4. Changes on the body weight (BW), feed efficiency ratio (FER), food and water intake in HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed *Classiae semen* (CS), stir-fried CS or fenofibrate

Groups	Initial BW (g/rat)	Final BW (g/rat)	Food intake (g/rat/day)	Water intake (ml/rat/day)	FER (%)
RCD-fed					
Vehicle	181.3 ± 9.2	201.4 ± 7.3 ^b	21.4 ± 6.1	73.1 ± 8.5 ^a	92.7 ± 14.6 ^b
HFD-fed					
Vehicle	181.3 ± 8.1	258.3 ± 6.8	25.6 ± 7.0	91.2 ± 8.4	300.8 ± 21.7
Unprocessed CS (g/kg/day)					
1.0	180.9 ± 7.6	246.5 ± 7.4	24.7 ± 7.1	88.7 ± 7.8	265.6 ± 17.8
1.25	181.8 ± 8.2	237.5 ± 6.2 ^a	23.5 ± 8.2	85.3 ± 9.2	237.2 ± 18.6 ^a
1.5	180.4 ± 8.4	228.4 ± 5.9 ^b	23.1 ± 9.3	83.0 ± 8.6	207.8 ± 19.3 ^a
Stir-fried CS (g/kg/day)					
1.0	181.5 ± 8.2	224.5 ± 7.1	24.4 ± 7.2	85.2 ± 10.3	176.2 ± 16.5 ^a
1.25	181.4 ± 7.8	214.2 ± 7.5 ^a	23.7 ± 6.9	84.3 ± 8.8	138.4 ± 17.2 ^b
1.5	181.9 ± 7.7	207.4 ± 6.9 ^b	22.6 ± 8.1	81.8 ± 9.1	113.8 ± 20.1 ^b
Fenofibrate (100 mg/kg/day)	180.8 ± 9.7	202.5 ± 8.2 ^b	20.1 ± 7.9	79.3 ± 8.9	107.6 ± 15.2 ^b

The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values (mean ± SD) were obtained from each group of 8 animals in each group during after 12 weeks of the experimental period. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated HFD-fed rats in each group, respectively.

表五、連續餵食澤瀉(unprocessed AR)、鹽澤瀉(salt-processed AR)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠臟器與脂肪重量的變化。

Table 5. Changes on the tissue weights in HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed Alisma rhizome (AR), salt-processed AR or fenofibrate

Groups	Liver (g/100 g BW)	Kidney (g/100 g BW)	Soleus muscle (mg/100 g BW)	BAT (mg/100 g BW)	WAT (mg/100 g BW)			
					Epididymal	Perirenal	Mesenteric	Inguinal
RCD-fed								
Vehicle	9.8 ± 0.6	1.3 ± 0.3	47.1 ± 4.9	42.8 ± 8.1	297.5 ± 12.6 ^b	169.4 ± 11.4 ^b	116.8 ± 9.4 ^b	139.6 ± 10.2 ^b
HFD-fed								
Vehicle	13.1 ± 0.8	1.3 ± 0.2	48.2 ± 5.1	50.8 ± 9.3	413.6 ± 17.4	258.5 ± 12.8	172.5 ± 10.2	212.4 ± 12.4
Unprocessed AR (g/kg/day)								
0.5	12.6 ± 0.5	1.3 ± 0.2	48.6 ± 3.8	49.1 ± 7.8	383.7 ± 14.3	238.3 ± 12.6	168.2 ± 12.4	196.4 ± 11.7
0.75	12.2 ± 0.9	1.3 ± 0.3	48.3 ± 4.2	48.7 ± 8.4	352.9 ± 16.2 ^a	207.4 ± 11.3 ^a	151.6 ± 9.6 ^a	172.4 ± 11.1 ^a
1.0	11.7 ± 0.7	1.3 ± 0.4	49.3 ± 5.6	47.6 ± 9.1	321.5 ± 13.1 ^a	193.3 ± 10.8 ^a	140.2 ± 10.3 ^a	152.7 ± 9.2 ^b
Salt-processed AR (g/kg/day)								
0.5	12.1 ± 0.6	1.3 ± 0.3	47.8 ± 4.4	46.4 ± 9.2	360.7 ± 12.1 ^a	210.3 ± 13.1	162.9 ± 12.4	184.6 ± 10.6
0.75	11.5 ± 0.9	1.3 ± 0.2	48.8 ± 5.3	46.2 ± 8.5	331.4 ± 15.4 ^a	192.9 ± 11.2 ^a	148.4 ± 11.6 ^a	162.1 ± 8.7 ^a
1.0	10.6 ± 1.2	1.3 ± 0.4	48.1 ± 3.7	45.9 ± 8.1	302.2 ± 14.2 ^b	182.4 ± 9.7 ^b	123.6 ± 9.4 ^b	143.5 ± 9.4 ^b
Fenofibrate (100 mg/kg/day)								
	9.5 ± 0.7	1.3 ± 0.3	47.8 ± 4.5	45.8 ± 7.9	288.1 ± 13.3 ^b	171.3 ± 12.1 ^b	120.4 ± 8.7 ^b	137.1 ± 8.5 ^b

The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values (mean ± SD) were obtained from each group of 8 animals in each group during after 12 weeks of the experimental period. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated HFD-fed rats in each group, respectively.

表六、連續餵食決明子(unprocessed CS)、炒決明子(stir-fried CS)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠臟器與脂肪重量的變化。

Table 6. Changes on the tissue weights in HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed *Classiae semen* (CS), stir-fried CS or fenofibrate

Groups	Liver (g/100 g BW)	Kidney (g/100 g BW)	Soleus muscle (mg/100 g BW)	BAT (mg/100 g BW)	WAT (mg/100 g BW)			
					Epididymal	Perirenal	Mesenteric	Inguinal
RCD-fed								
Vehicle	10.1 ± 0.7	1.3 ± 0.1	46.8 ± 5.3	43.7 ± 7.3	291.6 ± 12.9 ^b	172.8 ± 12.3 ^b	117.8 ± 10.3 ^b	138.2 ± 11.4 ^b
HFD-fed								
Vehicle	13.4 ± 0.6	1.3 ± 0.2	48.7 ± 4.2	51.6 ± 8.4	417.8 ± 15.6	263.7 ± 11.9	174.2 ± 11.4	218.6 ± 10.6
Unprocessed CS (g/kg/day)								
1.0	12.8 ± 0.6	1.3 ± 0.3	49.1 ± 5.6	50.1 ± 6.9	376.1 ± 13.2 ^a	243.1 ± 10.7	169.1 ± 13.6	202.1 ± 12.1
1.25	12.4 ± 0.8	1.3 ± 0.4	48.8 ± 4.6	49.7 ± 7.2	345.8 ± 14.3 ^a	211.6 ± 12.4 ^a	153.1 ± 12.1	180.3 ± 13.4 ^a
1.5	11.9 ± 0.7	1.3 ± 0.3	49.7 ± 5.1	48.6 ± 8.5	315.2 ± 15.2 ^b	197.2 ± 9.8 ^b	141.6 ± 11.7 ^a	164.6 ± 10.1 ^a
Stir-fried CS (g/kg/day)								
1.0	12.3 ± 0.7	1.3 ± 0.2	48.3 ± 5.3	47.3 ± 8.1	353.5 ± 11.9 ^a	214.5 ± 10.9 ^a	160.2 ± 14.1	189.5 ± 9.8
1.25	11.6 ± 0.8	1.3 ± 0.3	49.3 ± 4.9	47.1 ± 6.7	324.8 ± 13.6 ^b	189.7 ± 12.4 ^a	142.8 ± 12.3 ^a	170.8 ± 10.2 ^a
1.5	10.8 ± 1.1	1.3 ± 0.5	48.6 ± 4.1	46.8 ± 8.2	296.2 ± 12.8 ^b	178.4 ± 10.3 ^b	120.8 ± 10.1 ^b	141.7 ± 8.7 ^b
Fenofibrate (100 mg/kg/day)								
	9.7 ± 0.9	1.3 ± 0.2	48.3 ± 4.5	46.1 ± 7.4	290.1 ± 14.7 ^b	173.9 ± 11.6 ^b	118.4 ± 9.4 ^b	139.2 ± 9.1 ^b

The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values (mean ± SD) were obtained from each group of 8 animals in each group during after 12 weeks of the experimental period. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated HFD-fed rats in each group, respectively.

表七、連續餵食澤瀉(unprocessed AR)、鹽澤瀉(salt-processed AR)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠血脂與肝臟脂質的變化。

Table 7. Changes on lipid levels in plasma and liver from HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed Alisma rhizome (AR), salt-processed AR or fenofibrate

Groups	Plasma lipids (mg/dL)					Hepatic lipids ($\mu\text{mol/g}$ liver)	
	TC	TG	LDL-C	HDL-C	FFAs	TC	TG
RCD-fed							
Vehicle	100.1 \pm 7.3 ^b	72.5 \pm 7.2 ^b	36.4 \pm 3.2 ^b	49.2 \pm 3.7 ^a	31.2 \pm 4.8 ^b	23.2 \pm 3.2 ^b	29.8 \pm 6.8 ^b
HFD-fed							
Vehicle	154.1 \pm 11.6	134.5 \pm 7.6	98.4 \pm 4.2	29.2 \pm 4.2	68.1 \pm 4.7	46.2 \pm 3.7	65.3 \pm 7.4
Unprocessed AR (g/kg/day)							
0.5	142.3 \pm 10.4	130.3 \pm 8.1	84.1 \pm 5.3 ^a	32.2 \pm 3.9	62.6 \pm 5.1	41.9 \pm 4.2	60.4 \pm 7.5
0.75	122.8 \pm 9.2 ^a	118.6 \pm 9.4 ^a	59.8 \pm 4.7 ^a	39.1 \pm 3.2 ^a	53.4 \pm 4.3 ^a	37.8 \pm 3.5 ^a	54.9 \pm 6.6
1.0	111.2 \pm 6.8 ^a	98.2 \pm 8.3 ^b	47.8 \pm 4.1 ^b	43.8 \pm 4.1 ^a	43.5 \pm 4.9 ^b	34.9 \pm 3.8 ^a	48.8 \pm 6.1 ^a
Salt-processed AR (g/kg/day)							
0.5	130.1 \pm 8.9	125.7 \pm 6.8	71.3 \pm 5.7 ^a	33.7 \pm 2.9	60.8 \pm 5.1	39.1 \pm 4.2	58.3 \pm 7.8
0.75	112.4 \pm 7.6 ^a	104.2 \pm 7.2 ^a	50.5 \pm 5.1 ^b	41.1 \pm 3.4 ^a	51.8 \pm 4.8 ^a	36.5 \pm 4.9 ^a	49.1 \pm 6.9
1.0	101.8 \pm 7.8 ^a	88.4 \pm 5.1 ^b	38.2 \pm 4.5 ^b	46.1 \pm 3.7 ^a	40.6 \pm 5.2 ^b	30.9 \pm 3.8 ^a	42.4 \pm 7.1 ^a
Fenofibrate (100 mg/kg/day)	98.9 \pm 8.1 ^b	80.6 \pm 4.8 ^b	34.6 \pm 4.3 ^b	48.2 \pm 4.2 ^a	36.5 \pm 4.6 ^b	25.8 \pm 4.0 ^b	36.7 \pm 5.9 ^b

The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values (mean \pm SD) were obtained from each group of 8 animals in each group during after 12 weeks of the experimental period. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated HFD-fed rats in each group, respectively.

表八、連續餵食決明子(unprocessed CS)、炒決明子(stir-fried CS)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠血脂與肝臟脂質的變化。

Table 8. Changes on lipid levels in plasma and liver from HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed *Classiae semen* (CS), stir-fried CS or fenofibrate

Groups	Plasma lipids (mg/dL)					Hepatic lipids ($\mu\text{mol/g}$ liver)	
	TC	TG	LDL-C	HDL-C	FFAs	TC	TG
RCD-fed							
Vehicle	103.1 \pm 9.2 ^b	79.8 \pm 9.3 ^b	35.4 \pm 4.3 ^b	51.7 \pm 4.1 ^a	32.6 \pm 5.1 ^b	23.2 \pm 3.2 ^b	29.8 \pm 6.8 ^b
HFD-fed							
Vehicle	161.3 \pm 10.4	140.6 \pm 8.7	102.5 \pm 5.3	30.7 \pm 3.8	71.2 \pm 6.2	46.2 \pm 3.7	65.3 \pm 7.4
Unprocessed CS (g/kg/day)							
1.0	149.7 \pm 8.9	136.2 \pm 10.2	88.7 \pm 4.9 ^a	33.8 \pm 4.2	66.4 \pm 4.9	41.9 \pm 4.2	60.4 \pm 7.5
1.25	130.3 \pm 7.3 ^a	124.1 \pm 9.6 ^a	64.4 \pm 5.2 ^a	41.1 \pm 3.7 ^a	56.8 \pm 5.3 ^a	37.8 \pm 3.5 ^a	54.9 \pm 6.6
1.5	118.2 \pm 7.1 ^b	102.6 \pm 7.9 ^b	51.8 \pm 4.3 ^b	45.9 \pm 3.9 ^a	46.4 \pm 4.8 ^b	34.9 \pm 3.8 ^a	48.8 \pm 6.1 ^a
Stir-fried CS (g/kg/day)							
1.0	135.6 \pm 6.8	129.8 \pm 7.3	74.2 \pm 6.4 ^a	35.4 \pm 4.5	63.5 \pm 6.1	39.1 \pm 4.2	58.3 \pm 7.8
1.25	117.5 \pm 9.2 ^a	107.7 \pm 6.7 ^a	52.9 \pm 4.9 ^b	43.1 \pm 3.7 ^a	54.1 \pm 4.7 ^a	36.5 \pm 4.9 ^a	49.1 \pm 6.9
1.5	106.3 \pm 8.3 ^b	91.4 \pm 7.8 ^b	39.6 \pm 5.1 ^b	48.4 \pm 4.4 ^a	40.4 \pm 5.3 ^b	30.9 \pm 3.8 ^a	42.4 \pm 7.1 ^a
Fenofibrate (100 mg/kg/day)	101.3 \pm 9.1 ^b	84.2 \pm 8.9 ^b	35.2 \pm 4.8 ^b	49.3 \pm 5.1 ^a	38.1 \pm 6.3 ^b	25.8 \pm 4.0 ^b	36.7 \pm 5.9 ^b

The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values (mean \pm SD) were obtained from each group of 8 animals in each group during after 12 weeks of the experimental period. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated HFD-fed rats in each group, respectively.

表九、連續餵食澤瀉(unprocessed AR)、鹽澤瀉(salt-processed AR)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠血中脂肪細胞激素的變化量。

Table 9. Changes on plasma levels of adipokines in HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed Alisma rhizome (AR), salt-processed AR or fenofibrate

Groups	Resistin (ng/mL)	Leptin (ng/mL)	Adiponectin (ng/mL)
RCD-fed			
Vehicle	55.6 ± 10.6 ^b	42.7 ± 3.4 ^b	716.5 ± 30.6 ^b
HFD-fed			
Vehicle	116.2 ± 12.7	80.8 ± 4.4	510.3 ± 25.7
Unprocessed AR (g/kg/day)			
0.5	104.9 ± 11.6	72.7 ± 5.7	514.2 ± 21.6
0.75	81.8 ± 9.1 ^a	68.9 ± 4.1	525.4 ± 19.1
1.0	72.3 ± 7.6 ^a	61.3 ± 6.2 ^a	547.8 ± 20.2
Salt-processed AR (g/kg/day)			
0.5	99.2 ± 12.4	69.4 ± 4.3 ^a	521.4 ± 22.7
0.75	79.3 ± 10.3 ^a	65.4 ± 3.9 ^a	536.2 ± 24.3
1.0	68.4 ± 9.6 ^b	56.2 ± 4.6 ^b	547.9 ± 21.8
Fenofibrate (100 mg/kg/day)	60.7 ± 9.3 ^b	48.7 ± 3.8 ^b	598.7 ± 28.4 ^a

The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values (mean ± SD) were obtained from each group of 8 animals in each group during after 12 weeks of the experimental period.

表十、連續餵食決明子(unprocessed CS)、炒決明子(stir-fried CS)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠血中脂肪細胞激素的變化量。

Table 10. Changes on plasma levels of adipokines in HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed *Classiae semen* (CS), stir-fried CS or fenofibrate

Groups	Resistin (ng/mL)	Leptin (ng/mL)	Adiponectin (ng/mL)
RCD-fed			
Vehicle	57.5 ± 9.4b	47.1 ± 4.1b	702.2 ± 31.4 b
HFD-fed			
Vehicle	117.4 ± 10.2	84.6 ± 5.2	504.7 ± 26.8
Unprocessed CS (g/kg/day)			
1.0	107.9 ± 12.3	76.3 ± 6.1	521.3 ± 25.1
1.25	96.2 ± 8.9a	72.3 ± 4.3 a	543.1 ± 20.3
1.5	85.1 ± 6.4a	64.4 ± 5.3a	554.8 ± 19.6
Stir-fried CS (g/kg/day)			
1.0	102.1 ± 11.6	70.8 ± 4.9 a	539.7 ± 21.5
1.25	81.5 ± 9.8a	66.7 ± 5.1a	550.3 ± 24.2
1.5	70.4 ± 10.1a	57.3 ± 4.8 b	564.7 ± 26.7a
Fenofibrate (100 mg/kg/day)	61.2 ± 8.4 b	50.7 ± 5.6 b	590.2 ± 22.6a

The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values (mean ± SD) were obtained from each group of 8 animals in each group during after 12 weeks of the experimental period.

表十一、連續餵食澤瀉(unprocessed AR)、鹽澤瀉(salt-processed AR)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠血中電解質的變化量。

Table 11. Changes on serum electrolyte levels in HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed Alisma rhizome (AR), salt-processed AR or fenofibrate

Groups	Na ⁺ (mequiv/L)	K ⁺ (mequiv/L)	Cl ⁻ (mequiv/L)	Ca ²⁺ (mequiv/L)
RCD-fed				
Vehicle	140.3 ± 11.2	9.3 ± 1.5	78.8 ± 2.3	12.8 ± 1.3
HFD-fed				
Vehicle	139.4 ± 10.3	9.0 ± 1.4	79.6 ± 2.2	12.9 ± 0.9
Unprocessed AR (g/kg/day)				
0.5	140.9 ± 9.6	8.9 ± 1.7	80.2 ± 2.6	12.8 ± 1.2
0.75	139.2 ± 10.1	9.3 ± 1.1	80.3 ± 3.1	12.6 ± 1.1
1.0	140.2 ± 8.9	9.0 ± 1.2	80.7 ± 2.4	12.7 ± 0.8
Salt-processed AR (g/kg/day)				
0.5	139.2 ± 11.4	9.4 ± 1.3	80.6 ± 3.3	13.0 ± 0.9
0.75	139.8 ± 12.3	9.1 ± 1.9	78.4 ± 2.8	12.9 ± 1.1
1.0	141.7 ± 10.6	8.9 ± 1.6	79.8 ± 2.5	13.1 ± 1.2
Fenofibrate (100 mg/kg/day)	140.7 ± 9.7	8.7 ± 1.8	78.7 ± 3.2	12.8 ± 1.3

The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values (mean ± SD) were obtained from each group of 8 animals in each group during after 12 weeks of the experimental period.

表十二、連續餵食決明子(unprocessed CS)、炒決明子(stir-fried CS)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠血中電解質的變化量。

Table 12. Changes on serum electrolyte levels in HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed *Classiae semen* (CS), stir-fried CS or fenofibrate

Groups	Na ⁺ (mequiv/L)	K ⁺ (mequiv/L)	Cl ⁻ (mequiv/L)	Ca ²⁺ (mequiv/L)
RCD-fed				
Vehicle	138.9 ± 10.3	9.5 ± 1.6	80.4 ± 2.3	12.7 ± 1.5
HFD-fed				
Vehicle	137.5 ± 11.4	9.2 ± 1.1	81.2 ± 3.1	12.6 ± 1.2
Unprocessed CS (g/kg/day)				
1.0	139.5 ± 11.6	9.3 ± 1.5	81.8 ± 2.4	12.7 ± 1.3
1.25	137.8 ± 9.7	9.5 ± 1.3	81.9 ± 2.8	12.3 ± 1.4
1.5	138.8 ± 10.3	9.2 ± 1.2	82.3 ± 3.2	12.4 ± 1.1
Stir-fried CS (g/kg/day)				
1.0	137.8 ± 8.9	9.6 ± 1.9	82.2 ± 2.9	12.9 ± 1.3
1.25	138.4 ± 9.4	9.3 ± 1.4	80.1 ± 3.1	12.6 ± 1.2
1.5	139.2 ± 11.6	9.1 ± 1.7	81.4 ± 3.2	12.8 ± 0.9
Fenofibrate (100 mg/kg/day)	139.3 ± 10.8	8.9 ± 1.1	80.4 ± 2.7	12.8 ± 1.2

The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values (mean ± SD) were obtained from each group of 8 animals in each group during after 12 weeks of the experimental period.

表十三、連續餵食澤瀉(unprocessed AR)、鹽澤瀉(salt-processed AR)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠肝、腎功能相關生化指數的變化。

Table 13. Changes on liver and kidney function tests in HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed Alisma rhizome (AR), salt-processed AR or fenofibrate

Groups	GOT (U/L)	GPT (U/L)	Serum Cr (mg/dL)	BUN (mg/dL)
RCD-fed				
Vehicle	128.2 ± 9.2 ^a	29.8 ± 5.2 ^b	0.4 ± 0.2	20.2 ± 2.1 ^a
HFD-fed				
Vehicle	172.7 ± 10.1	63.4 ± 7.1	0.6 ± 0.1	36.9 ± 1.9
Unprocessed AR (g/kg/day)				
0.5	156.5 ± 10.3	57.0 ± 6.4	0.5 ± 0.2	32.1 ± 2.7
0.75	151.6 ± 13.7	45.8 ± 5.6 ^a	0.5 ± 0.1	31.5 ± 2.2 ^a
1.0	148.5 ± 11.5	36.1 ± 4.8 ^b	0.5 ± 0.1	30.6 ± 2.3 ^a
Salt-processed AR (g/kg/day)				
0.5	153.3 ± 12.3	51.2 ± 7.9	0.5 ± 0.2	31.2 ± 2.4 ^a
0.75	148.5 ± 10.5	41.2 ± 6.8 ^a	0.5 ± 0.1	30.6 ± 1.6 ^a
1.0	144.1 ± 14.7	32.3 ± 5.6 ^b	0.4 ± 0.1	29.9 ± 1.8 ^a
Fenofibrate (100 mg/kg/day)	139.5 ± 12.2 ^a	30.7 ± 6.2 ^b	0.4 ± 0.1	29.0 ± 2.1 ^a

The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values (mean ± SD) were obtained from each group of 8 animals in each group during after 12 weeks of the experimental period. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated HFD-fed rats in each group, respectively.

表十四、連續餵食決明子(unprocessed CS)、炒決明子(stir-fried CS)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠肝、腎功能相關生化指數的變化。

Table 14. Changes on liver and kidney function tests in HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed *Classiae semen* (CS), stir-fried CS or fenofibrate

Groups	GOT (U/L)	GPT (U/L)	Serum Cr (mg/dL)	BUN (mg/dL)
RCD-fed				
Vehicle	126.9 ± 9.7 ^a	29.5 ± 4.8 ^b	0.5 ± 0.3	19.8 ± 2.7 ^a
HFD-fed				
Vehicle	170.7 ± 12.3	62.8 ± 6.7	0.5 ± 0.2	36.1 ± 3.1
Unprocessed CS (g/kg/day)				
1.0	154.9 ± 10.7	56.4 ± 5.2	0.4 ± 0.2	31.5 ± 2.5
1.25	150.1 ± 11.6	45.3 ± 4.9 ^a	0.5 ± 0.1	30.9 ± 2.8
1.5	147.5 ± 9.8	35.7 ± 4.2 ^b	0.4 ± 0.2	29.9 ± 2.2 ^a
Stir-fried CS (g/kg/day)				
1.0	151.8 ± 11.4	50.7 ± 6.1	0.5 ± 0.2	30.6 ± 2.6 ^a
1.25	147.0 ± 10.3	40.8 ± 5.7 ^a	0.4 ± 0.1	29.8 ± 2.4 ^a
1.5	142.7 ± 12.1	31.9 ± 5.2 ^b	0.5 ± 0.1	29.3 ± 1.9 ^a
Fenofibrate (100 mg/kg/day)	138.1 ± 10.2 ^a	30.4 ± 4.3 ^b	0.4 ± 0.3	28.4 ± 2.5 ^a

The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values (mean ± SD) were obtained from each group of 8 animals in each group during after 12 weeks of the experimental period. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated HFD-fed rats in each group, respectively.

表十五、連續餵食澤瀉(unprocessed AR)、鹽澤瀉(salt-processed AR)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠脂質過氧化物含量與脂解酶活性的變化。

Table 15. Changes on hepatic MDA and LPL activity in HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed Alisma rhizome (AR), salt-processed AR or fenofibrate

Groups	hepatic MDA (nmol/g tissue)	LPL (U/mL)
RCD-fed		
Vehicle	12.4 ± 1.7 ^b	1.7 ± 0.2b
HFD-fed		
Vehicle	33.1 ± 2.2	0.5 ± 0.1
Unprocessed AR (g/kg/day)		
0.5	32.5 ± 1.5	1.0 ± 0.2a
0.75	28.9 ± 1.4a	1.2 ± 0.4a
1.0	22.8 ± 1.8a	1.4 ± 0.3b
Salt-processed AR (g/kg/day)		
0.5	29.5 ± 1.6	1.2 ± 0.2b
0.75	25.3 ± 1.9	1.5 ± 0.1b
1.0	17.2 ± 1.3b	1.6 ± 0.3b
Fenofibrate (100 mg/kg/day)	14.6 ± 1.1b	1.6 ± 0.2b

The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values (mean ± SD) were obtained from each group of 8 animals in each group during after 12 weeks of the experimental period. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated HFD-fed rats in each group, respectively.

表十六、連續餵食決明子(unprocessed CS)、炒決明子(stir-fried CS)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠脂質過氧化物含量與脂解酶活性的變化。

Table 16. Effects on hepatic MDA and LPL activity in HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed *Classiae semen* (CS), stir-fried CS or fenofibrate

Groups	hepatic MDA (nmol/g tissue)	LPL (U/mL)
RCD-fed		
Vehicle	12.6 ± 2.1 ^b	1.8 ± 0.3 ^b
HFD-fed		
Vehicle	33.7 ± 2.4	0.6 ± 0.2
Unprocessed CS (g/kg/day)		
1.0	33.1 ± 2.1	1.1 ± 0.3 ^a
1.25	29.4 ± 1.8	1.3 ± 0.2 ^a
1.5	23.3 ± 1.7 ^a	1.5 ± 0.2 ^b
Stir-fried CS (g/kg/day)		
1.0	29.0 ± 2.2	1.3 ± 0.2 ^b
1.25	24.8 ± 1.7 ^a	1.6 ± 0.1 ^b
1.5	16.5 ± 1.5 ^b	1.6 ± 0.2 ^b
Fenofibrate (100 mg/kg/day)	15.1 ± 1.6 ^b	1.7 ± 0.3 ^b

The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values (mean ± SD) were obtained from each group of 8 animals in each group during after 8 weeks of the experimental period. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated HFD-fed rats in each group, respectively.

表十七、連續餵食澤瀉(unprocessed AR)、鹽澤瀉(salt-processed AR)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠肝臟脂肪蓄積和肝臟發炎程度的定量結果。

Table 17. Results of histopathological findings in livers of HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed Alisma rhizome (AR), salt-processed AR or fenofibrate

Groups	Hepatic steatosis (0-4)	Inflammation
RCD-fed		
Vehicle	0 b	0
HFD-fed		
Vehicle	3.21 ± 0.71	3.47 ± 0.46
Unprocessed AR (g/kg/day)		
0.5	3.20 ± 0.68	3.52 ± 0.31
0.75	3.15 ± 0.59	3.27 ± 0.53
1.0	2.93 ± 0.66	2.80 ± 0.42
Salt-processed AR (g/kg/day)		
0.5	3.03 ± 0.82	3.64 ± 0.38
0.75	2.89 ± 0.73	3.37 ± 0.27
1.0	2.62 ± 0.64	3.01 ± 0.41
Fenofibrate (100 mg/kg/day)	1.84 ± 0.57 a	2.03 ± 0.23a

The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values (mean ± SD) were obtained from each group of 8 animals in each group during after 12 weeks of the experimental period. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated HFD-fed rats in each group, respectively.

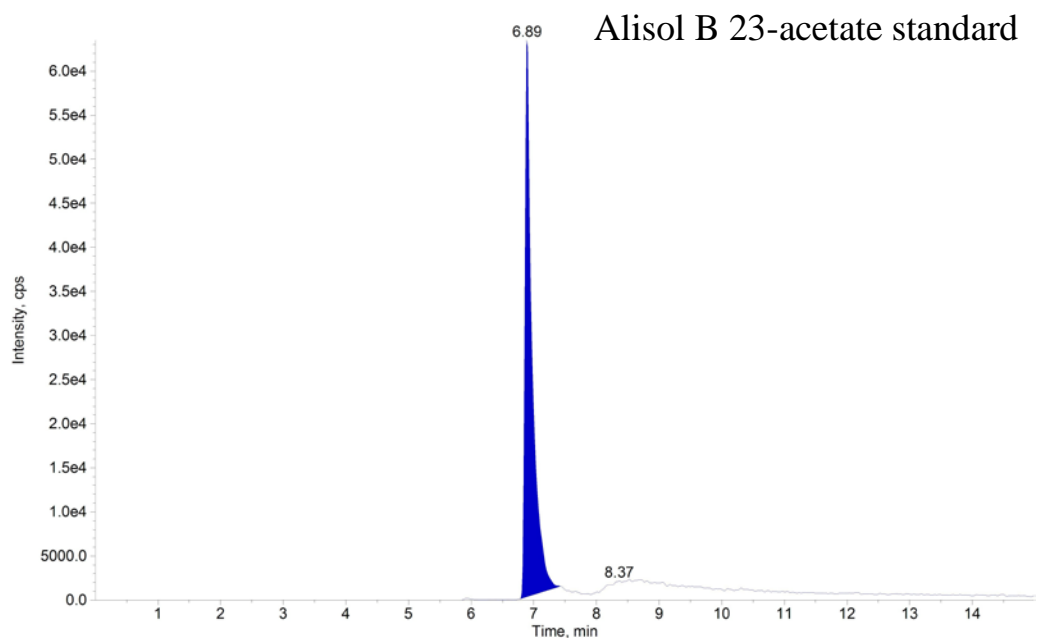
表十八、連續餵食決明子(unprocessed CS)、炒決明子(stir-fried CS)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠肝臟脂肪蓄積和肝臟發炎程度的定量結果。

Table 18. Results of histopathological findings in livers of HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed *Classiae semen* (CS), stir-fried CS or fenofibrate

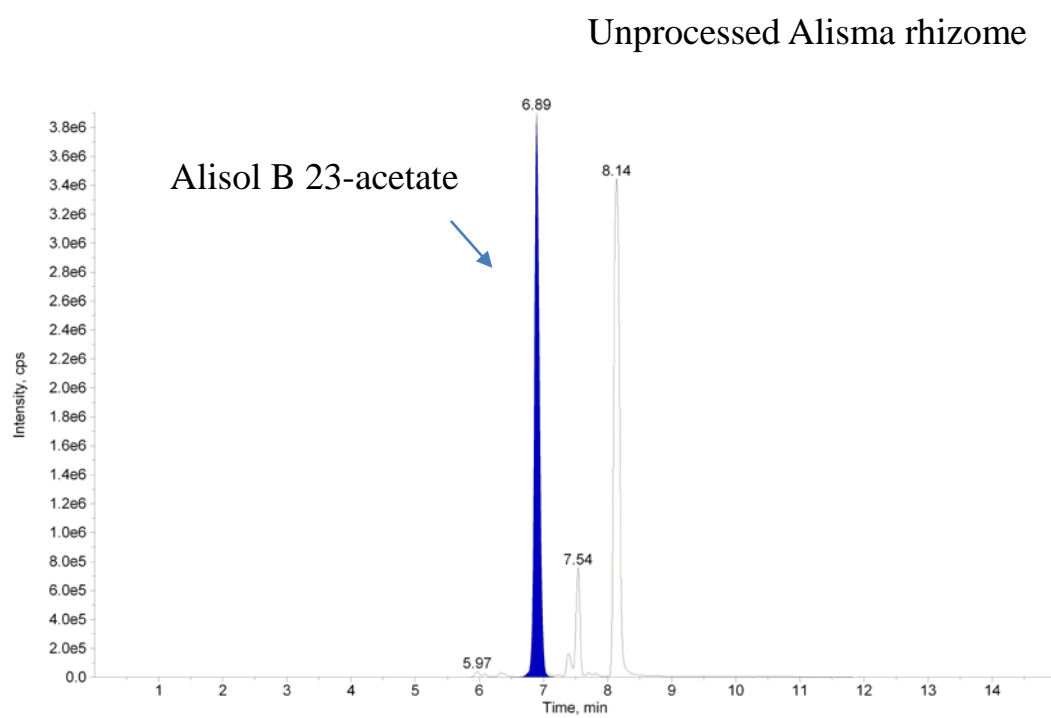
Groups	Hepatic steatosis (0-4)	Inflammation
RCD-fed		
Vehicle	0 ^b	0
HFD-fed		
Vehicle	3.53 ± 0.42	3.57 ± 0.52
Unprocessed CS (g/kg/day)		
1.0	3.36 ± 0.35	3.62 ± 0.47
1.25	3.12 ± 0.47	3.43 ± 0.62
1.5	2.64 ± 0.53	3.12 ± 0.38
Stir-fried CS (g/kg/day)		
1.0	3.17 ± 0.61	3.24 ± 0.45
1.25	2.83 ± 0.49	3.18 ± 0.36
1.5	2.34 ± 0.51	2.91 ± 0.52
Fenofibrate (100 mg/kg/day)	1.96 ± 0.63 ^a	2.14 ± 0.33 ^a

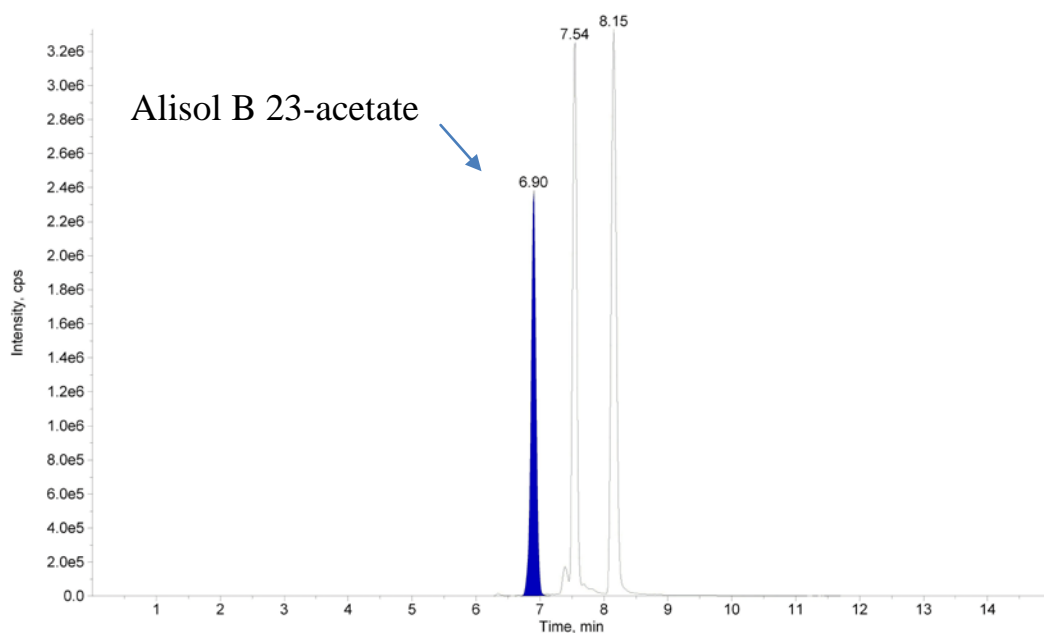
The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values (mean ± SD) were obtained from each group of 8 animals in each group during after 12 weeks of the experimental period. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated HFD-fed rats in each group, respectively.

(A)



(B)

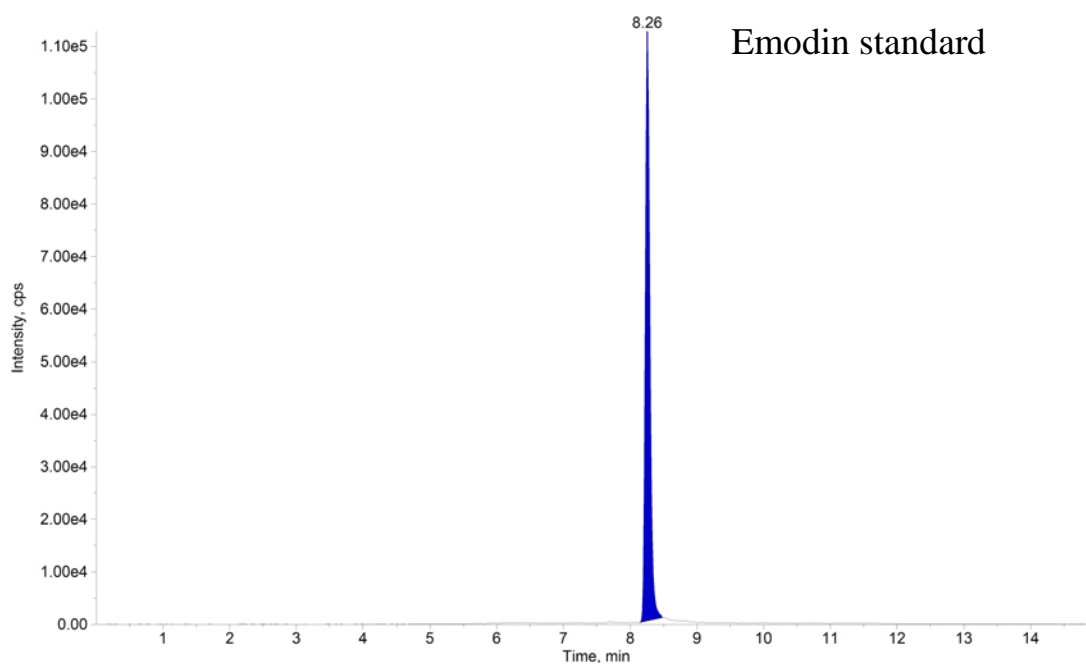




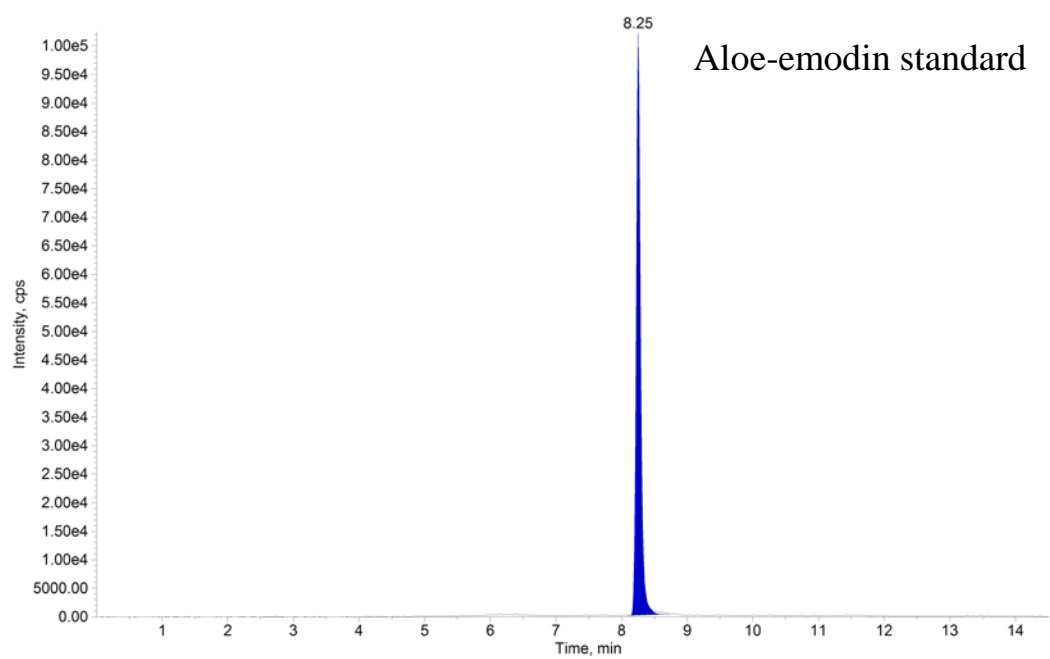
圖一、澤瀉醇 B-23-醋酸酯(Alisol B 23-acetate)之標準品(A)與澤瀉與鹽澤瀉所含澤瀉醇 B-23-醋酸酯(B)之分析圖譜之含量分析圖譜。

Figure 1. Chromatograms of Alisol B 23-acetate standard (A) and Alisol B 23-acetate in unprocessed or salt-processed *Alisma* rhizome (B).

(A)

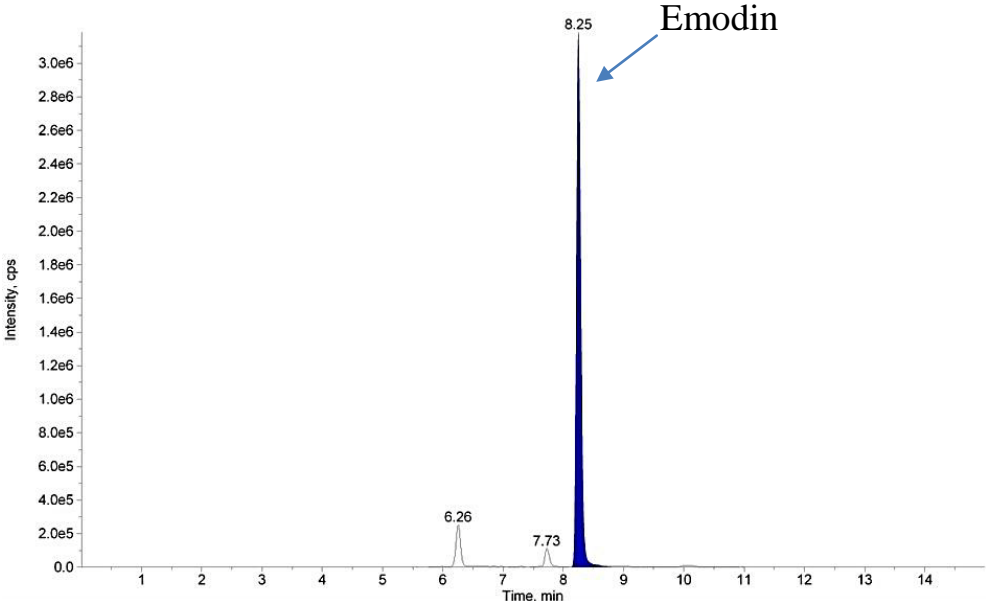


(B)

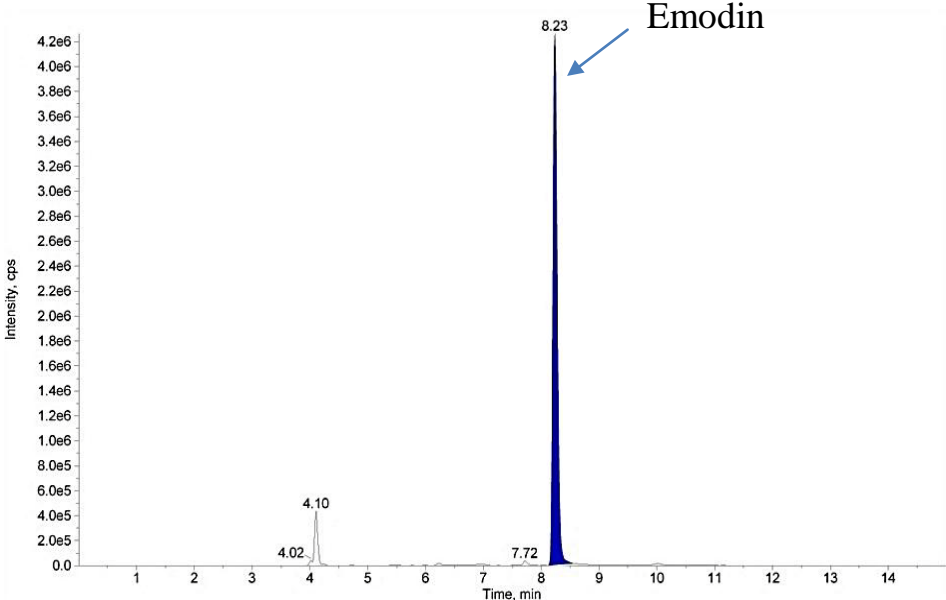


(C)

Unprocessed *Classiae* semen

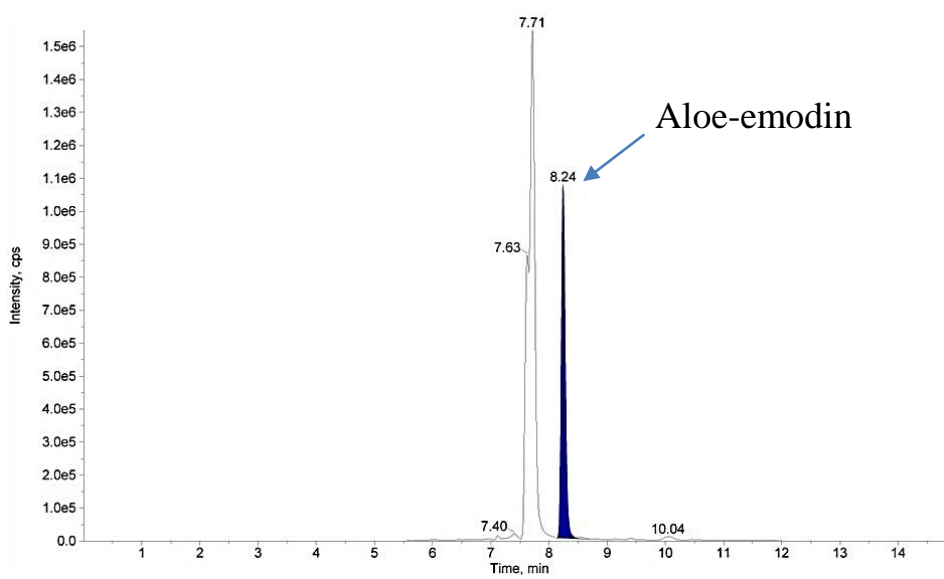


Unprocessed *Classiae* semen

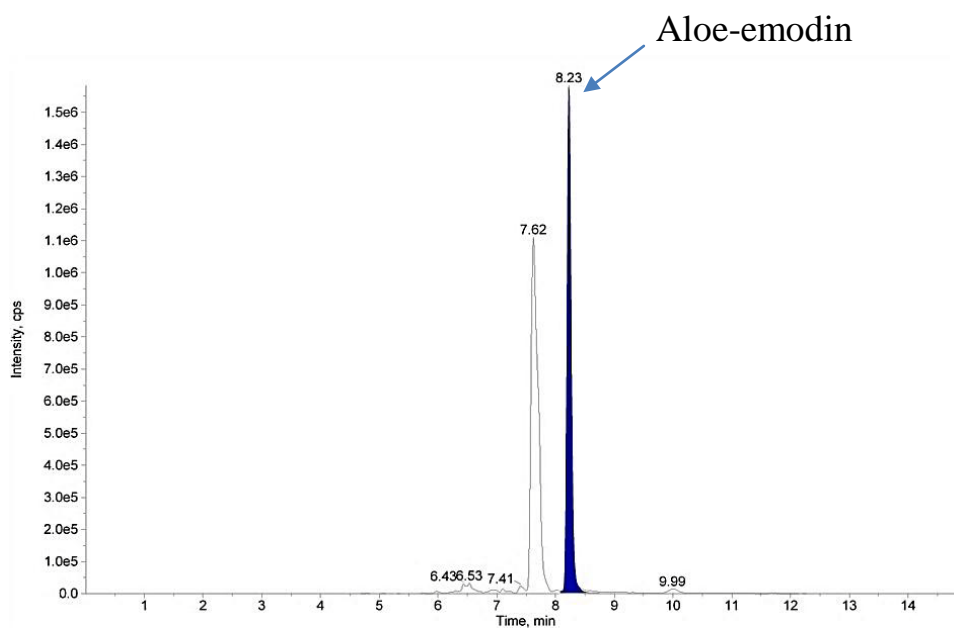


(D)

Unprocessed *Classiae* semen



Unprocessed *Classiae* semen

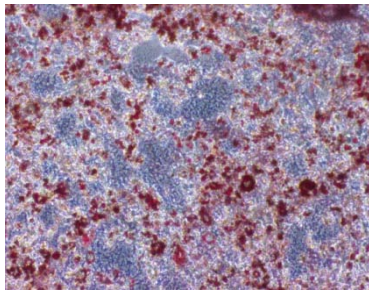


圖二、大黃素(emodin)標準品(A)、蘆薈大黃素(aloe-emodin) 標準品(B)、決明子與炒決明子所含大黃素(C)與蘆薈大黃素(D)之含量分析圖譜。

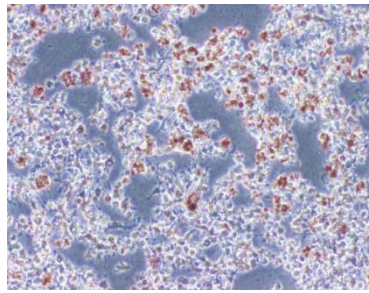
Figure 2. Chromatograms of emodin standard (A), aloe-emodin standard (B), emodin (C) and aloe-emodin (D) in unprocessed or stir-fried *Classiae* semen.

(A)

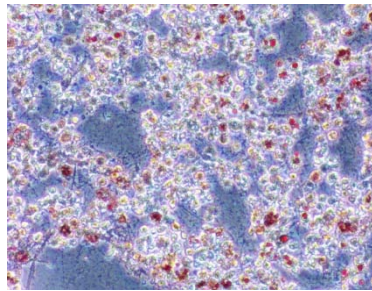
Vehicle



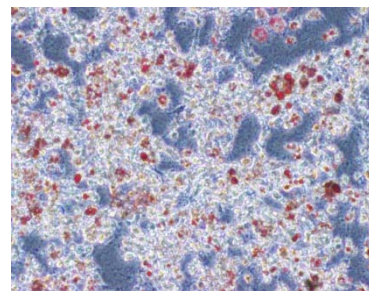
Fenofibrate



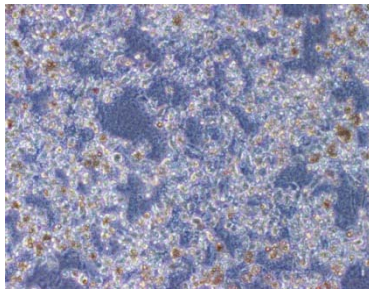
UPAR



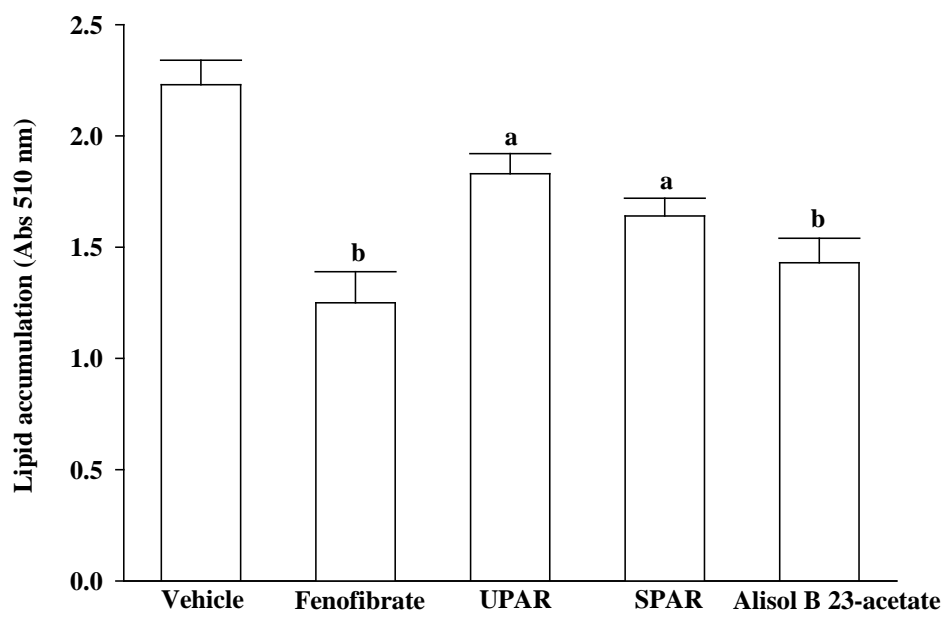
SPAR



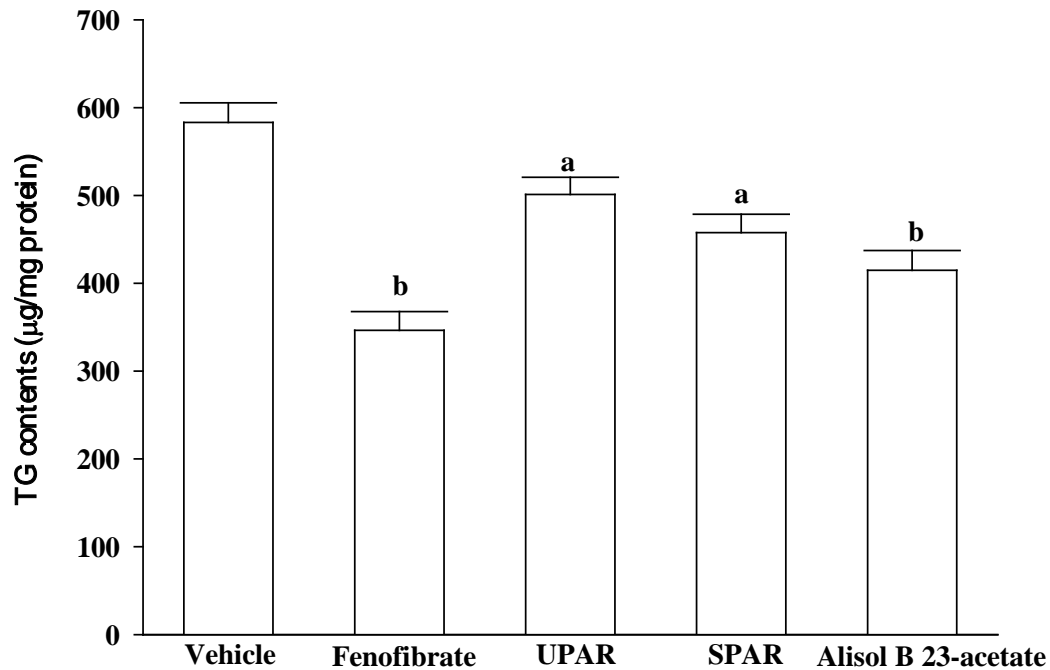
Alisol B 23-acetate



(B)



(C)



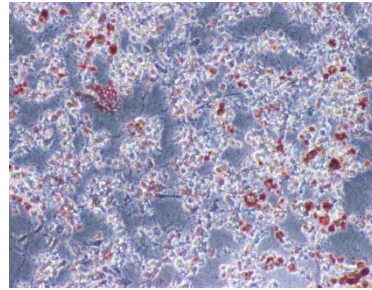
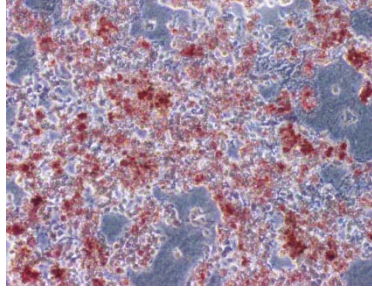
圖三、澤瀉、鹽澤瀉及其指標成分澤瀉醇 B-23-醋酸酯與臨床常用西藥 fenofibrate 對 3T3-L1 脂肪細胞內脂肪蓄積之影響。(A)3T3-L1 脂肪細胞分化第八天以 Oil-Red O 染色所得圖片(x100)，(B) 利用 510 nm 波長檢測藉由所得之吸光值評估 Oil-Red O 染色所得脂肪蓄積量。(C) 3T3-L1 脂肪細胞分化第八天後細胞內三酸甘油酯(TG)含量的變化量。

Figure 3. Effects of unprocessed Alisma rhizome (UPAR, 1 µg/mL), salt-processed Alisma rhizome (SPAR, 1 µg/mL), alisol B 23-acetate (1 µmol/L) or fenofibrate (1 µmol/L) on lipid contents in 3T3-L1 adipocytes. (A) Photographed with a microscope (x100) shown the Oil red O staining on differentiated 3T3-L1 adipocytes at day 8. (B) Quantitative analysis of oil red O stained cells at optical density 510 nm. (C) Triglyceride (TG) assay of cells at day 8. The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values were expressed as mean with SD (n = 5 per group) in each column. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated group.

(A)

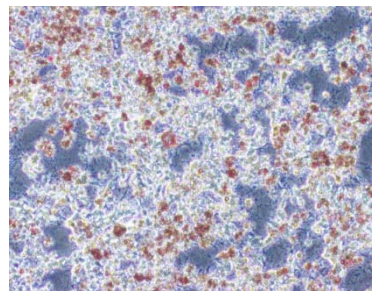
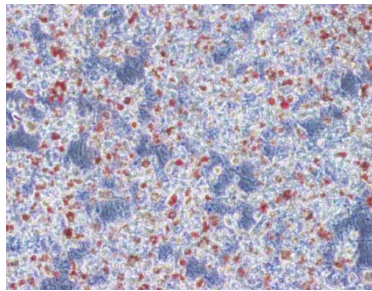
Vehicle

Fenofibrate



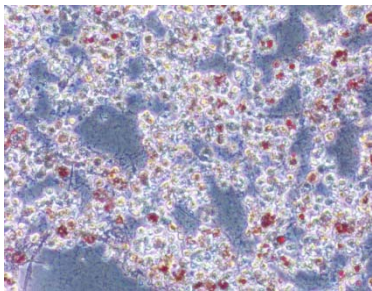
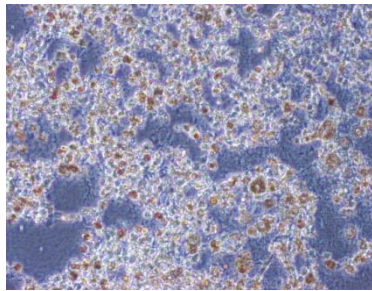
UPCS

SFCS

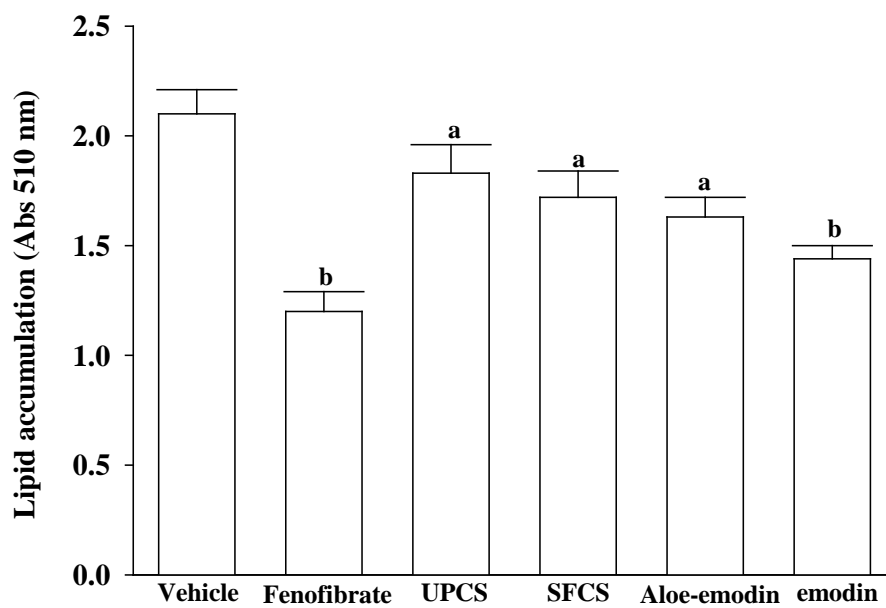


Aloe-emodin

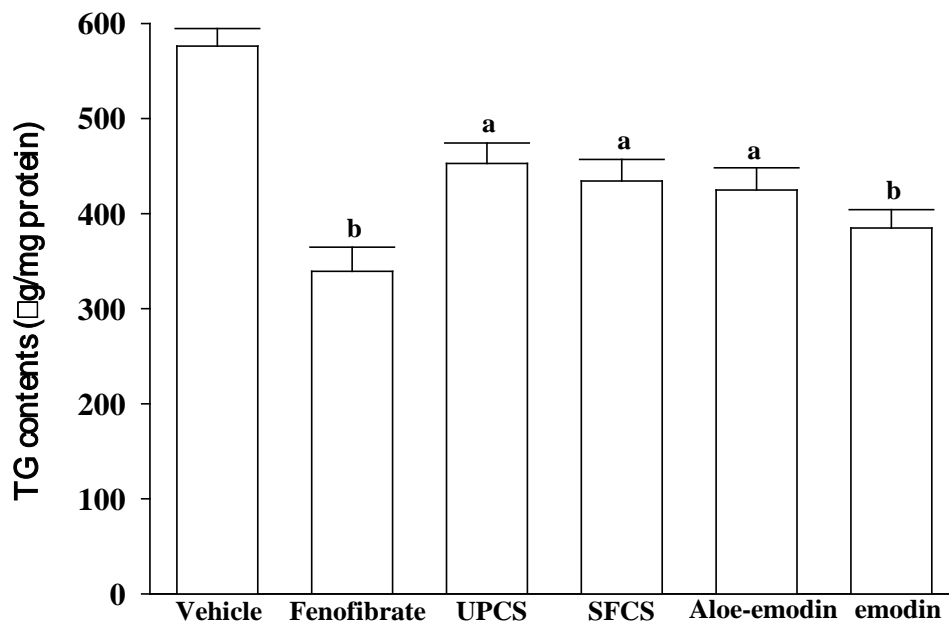
Emodin



(B)

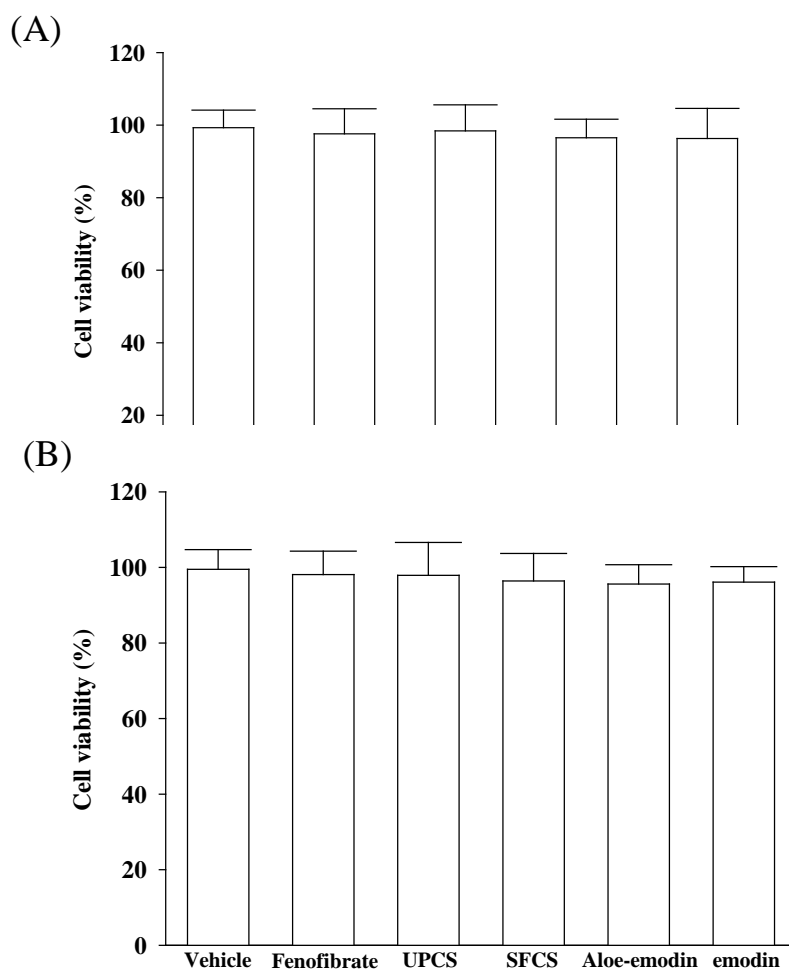


(C)



圖四、決明子、炒決明子及其指標成分大黃素與蘆薈大黃素與臨床常用西藥 fenofibrate 對 3T3-L1 脂肪細胞內脂肪蓄積之影響。(A)3T3-L1 脂肪細胞分化第八天以 Oil-Red O 染色所得圖片(x100)。(B)利用 510 nm 波長檢測所得之吸光值評估以 Oil-Red O 染色後所得脂肪蓄積量。(C) 3T3-L1 脂肪細胞分化第八天後細胞內三酸甘油酯(TG)含量的變化量。

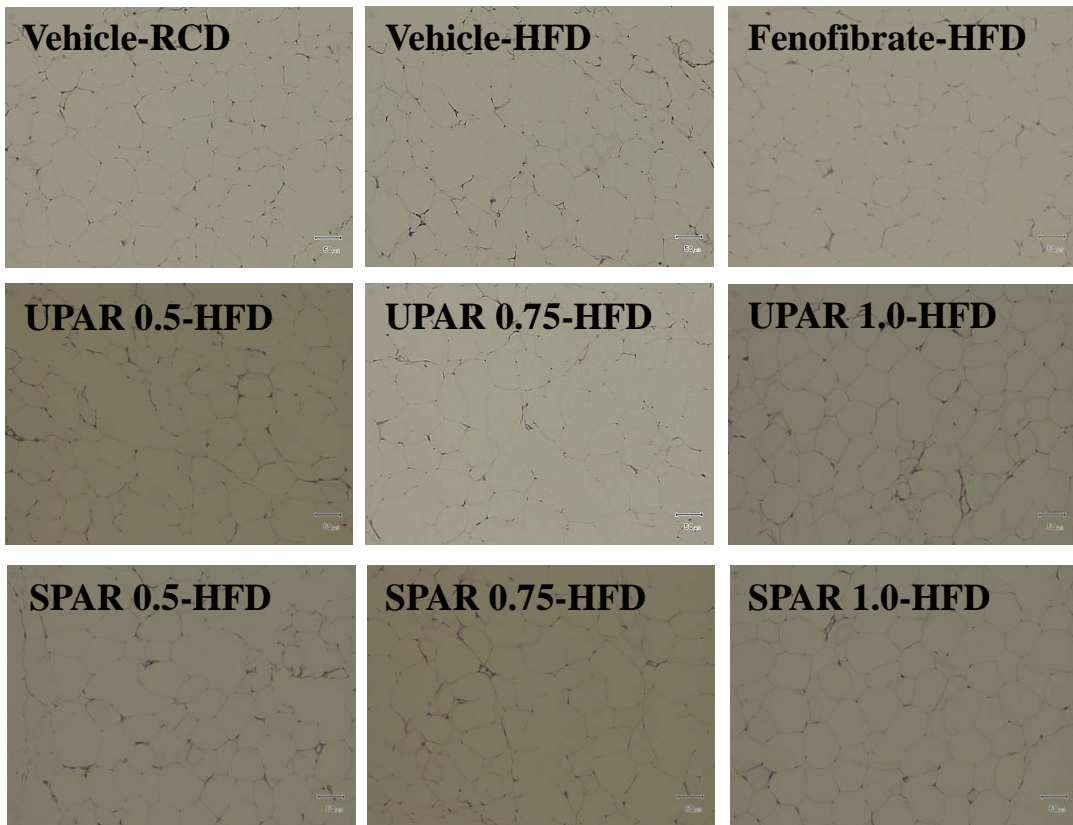
Figure 4. Effects of unprocessed *Classiae* semen (CS) (UPCS, 1 µg/mL), stir-fried *Classiae* semen (SFCS, 1 µg/mL), emodin (1 µmol/L), aloe-emodin (1 µmol/L) or fenofibrate (1 µmol/L) on lipid contents in 3T3-L1 adipocytes. (A) Photographed with a microscope (x100) shown the Oil red O staining on differentiated 3T3-L1 adipocytes at day 8. (B) Quantitative analysis of oil red O stained cells at optical density 510 nm. (C) Triglyceride (TG) assay of cells at day 8. The vehicle (distilled water) used to solve the tested medications was given at the same volume. Values were expressed as mean with SD (n = 5 per group) in each column. aP < 0.05 and bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated group.



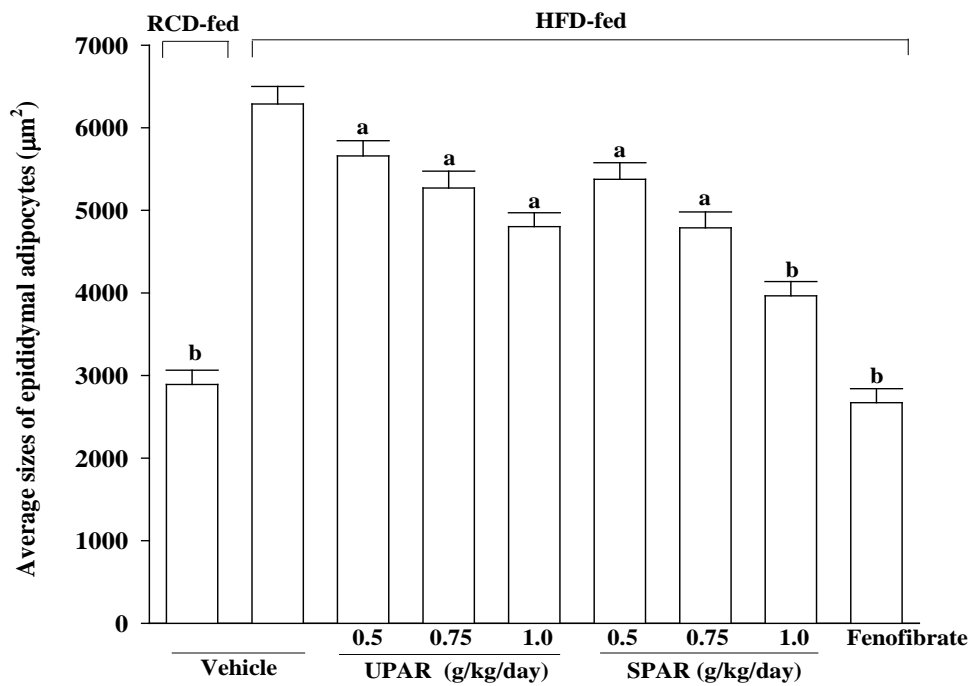
圖五、待測中藥與其炮製品及指標成分和臨床常用西藥 fenofibrate 對 3T3-L1 脂肪細胞之存活率的影響。(A)澤瀉與鹽澤瀉及其指標成分澤瀉醇 B-23-醋酸酯與 fenofibrate 對 3T3-L1 脂肪細胞之毒性評估結果。(B) 決明子與炒決明子及其指標成分大黃素與蘆薈大黃素與 fenofibrate 對 3T3-L1 脂肪細胞之毒性評估結果。

Figure 5. Effects of the tested herbals and its' proceed products and indicator compounds or fenofibrate on cell viability in 3T3-L1 adipocytes. (A) Changes of cell viability in 3T3-L1 adipocytes treated with unprocessed *Alisma rhizome* (UPAR, 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), salt-processed *Alisma rhizome* (SPAR, 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), alisol B 23-acetate (1 $\mu\text{mol}/\text{L}$) or fenofibrate (1 $\mu\text{mol}/\text{L}$). (B) Changes of cell viability in 3T3-L1 adipocytes treated with unprocessed *Classiae semen* (CS, 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), stir-fried *Classiae semen* (SFCS, 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), emodin (1 $\mu\text{mol}/\text{L}$), aloe-emodin (1 $\mu\text{mol}/\text{L}$) or fenofibrate (1 $\mu\text{mol}/\text{L}$). Values were expressed as mean with SD ($n = 5$ per group) in each column.

(A)



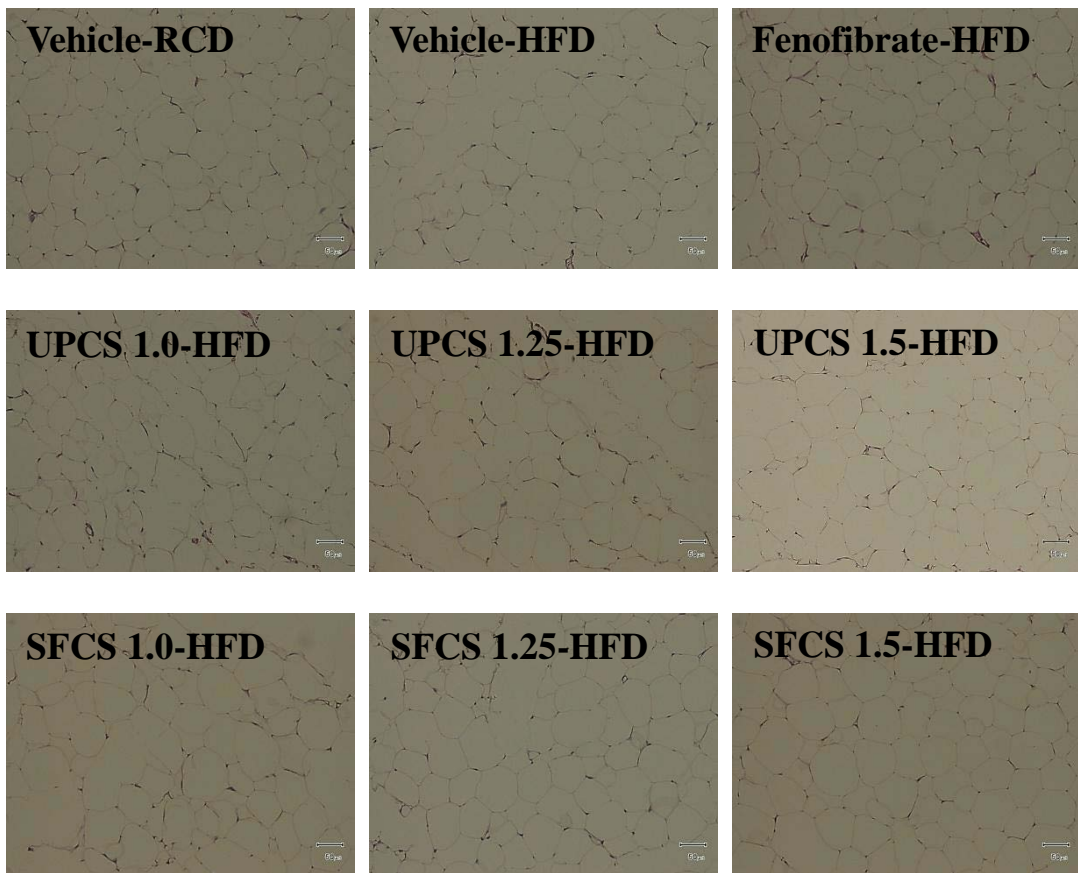
(B)



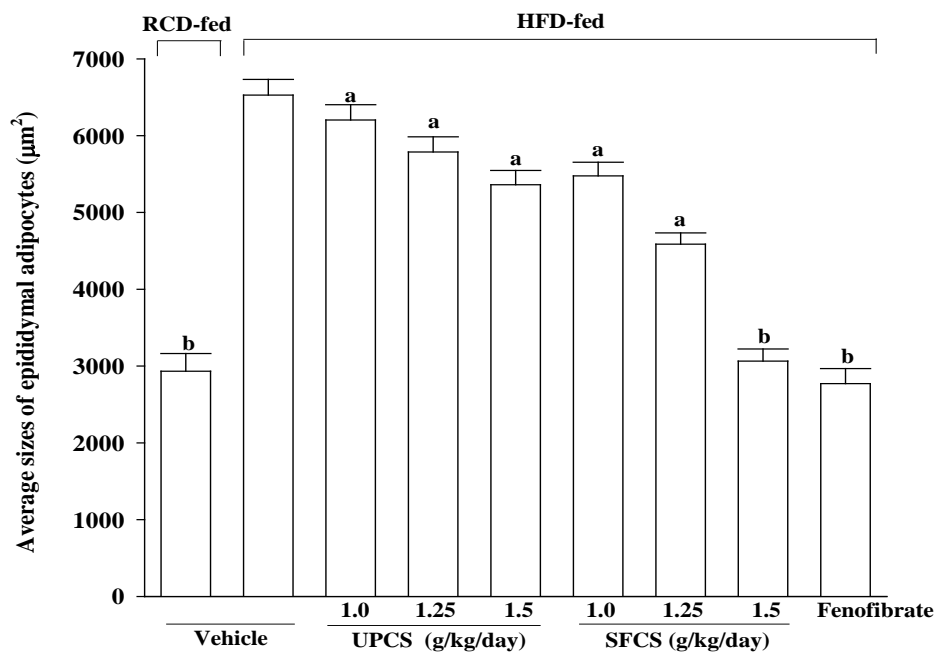
圖六、連續餵食澤瀉(unprocessed AR)、鹽澤瀉(salt-processed AR)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠副睪旁白色脂肪細胞組織切片圖(A)與脂肪細胞大小的定量結果(B)。

Figure 6. Histopathological findings in epididymal white adipose tissue of HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed *Alisma rhizome* (AR), salt-processed AR or fenofibrate. Rats not receiving any treatment were given the same volume of vehicle (distilled water) used to solve the test medications. (A) Photomicrographs are of tissues isolated from vehicle-treated RCD-fed rats (vehicle-RCD), vehicle-treated HFD-fed rats (vehicle-HFD), unprocessed AR (0.5 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPAR 0.5-HFD), unprocessed AR (0.75 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPAR 0.75-HFD), unprocessed AR (1.0 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPAR 1.0-HFD), salt-processed AR (0.5 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SPAR 0.5-HFD), salt-processed AR (0.75 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SPAR 0.75-HFD), salt-processed AR (1.0 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SPAR 1.0-HFD) or fenofibrate (100 mg/kg/day)-treated HFD-fed rats (fenofibrate-HFD). (B) The size and number of epididymal adipocytes in a fixed area (1,000,000 μm^2) were measured. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated HFD-fed rats in each group, respectively.

(A)

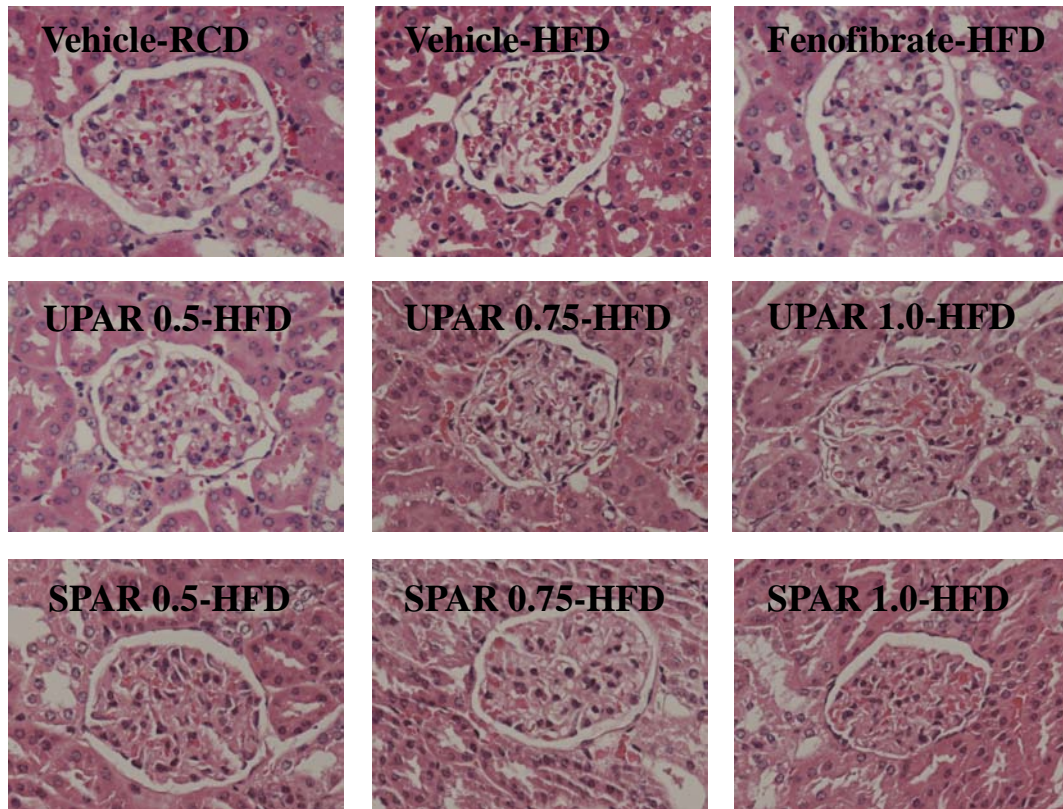


(B)



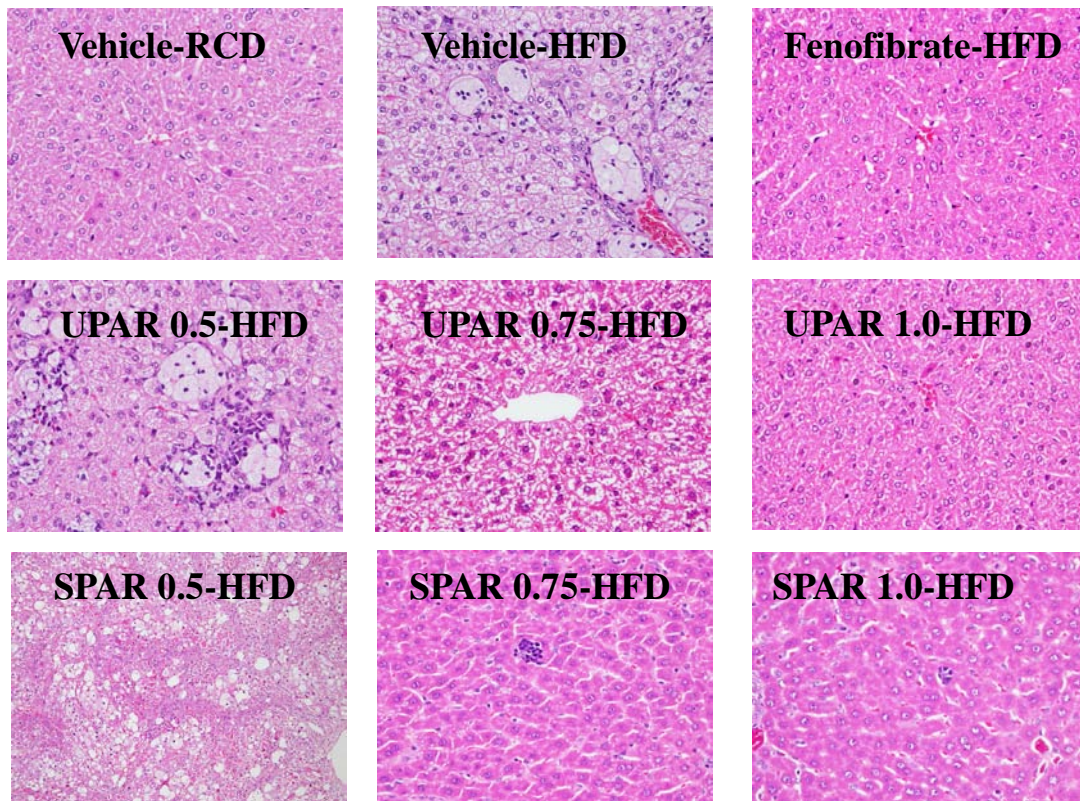
圖七、連續餵食決明子(unprocessed CS)、炒決明子(stir-fried CS)或是臨床用藥fenofibrate十二周後，肥胖大鼠副睪旁白色脂肪細胞組織切片圖(A)與脂肪細胞大小的定量結果(B)。

Figure 7. Histopathological findings in epididymal white adipose tissue of HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed *Classiae semen* (CS), stir-fried CS or fenofibrate. Rats not receiving any treatment were given the same volume of vehicle (distilled water) used to solve the test medications. (A) Photomicrographs are of tissues isolated from vehicle-treated RCD-fed rats (vehicle-RCD), vehicle-treated HFD-fed rats (vehicle-HFD), unprocessed CS (1.0 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPCS 1.0-HFD), unprocessed CS (1.25 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPCS 1.25-HFD), unprocessed CS (1.5 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPCS 1.5-HFD), stir-fried CS (1.0 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SFCS 1.0-HFD), stir-fried CS (1.25 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SFCS 1.25-HFD), stir-fried CS (1.5 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SFCS 1.5-HFD) or fenofibrate (100 mg/kg/day)-treated HFD-fed rats (fenofibrate-HFD). (B) The size and number of epididymal adipocytes in a fixed area (1,000,000 μm^2) were measured. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated HFD-fed rats in each group, respectively.



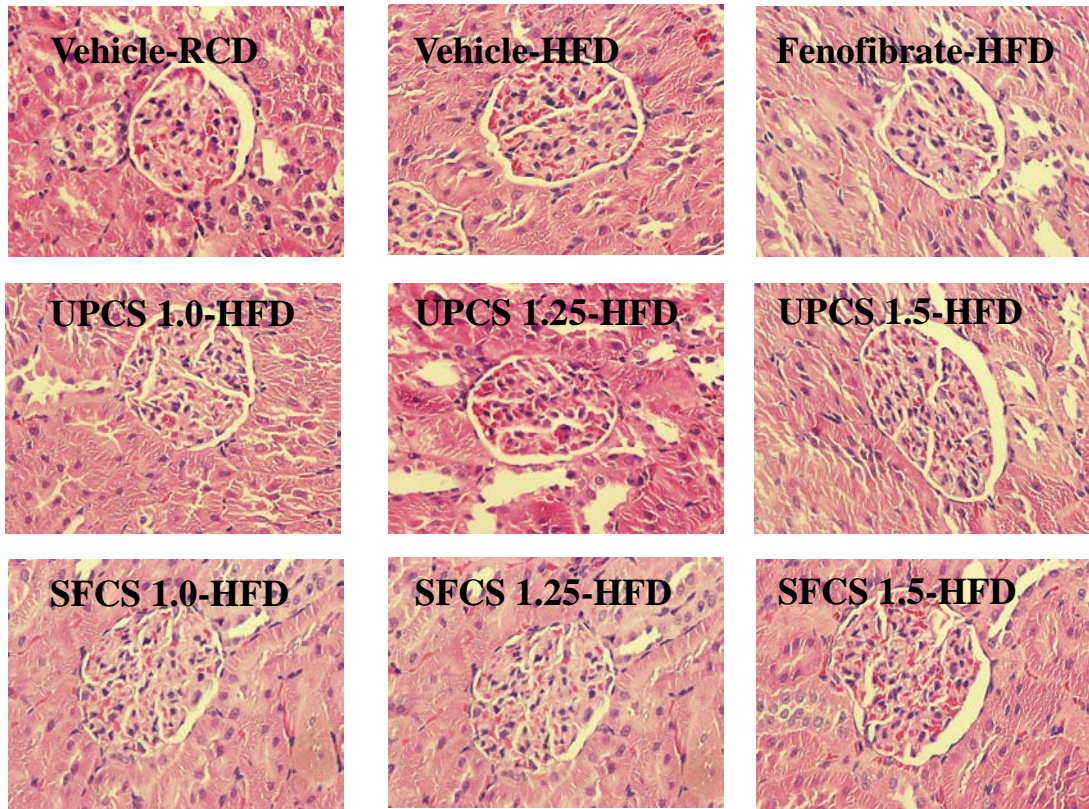
圖八、連續餵食澤瀉(unprocessed AR)、鹽澤瀉(salt-processed AR)或是臨床用藥fenofibrate十二周後，肥胖大鼠的腎臟病理切片圖。

Figure 8. Histopathological findings in kidney of HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed Alisma rhizome (AR), salt-processed AR or fenofibrate. Rats not receiving any treatment were given the same volume of vehicle (distilled water) used to solve the test medications. Photomicrographs were taken at a magnification of x400. Photomicrographs are of tissues isolated from vehicle-treated RCD-fed rats (vehicle-RCD), vehicle-treated HFD-fed rats (vehicle-HFD), unprocessed AR (0.5 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPAR 0.5-HFD), unprocessed AR (0.75 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPAR 0.75-HFD), unprocessed AR (1.0 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPAR 1.0-HFD), salt-processed AR (0.5 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SPAR 0.5-HFD), salt-processed AR (0.75 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SPAR 0.75-HFD), salt-processed AR (1.0 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SPAR 1.0-HFD) or fenofibrate (100 mg/kg/day)-treated HFD-fed rats (fenofibrate-HFD).



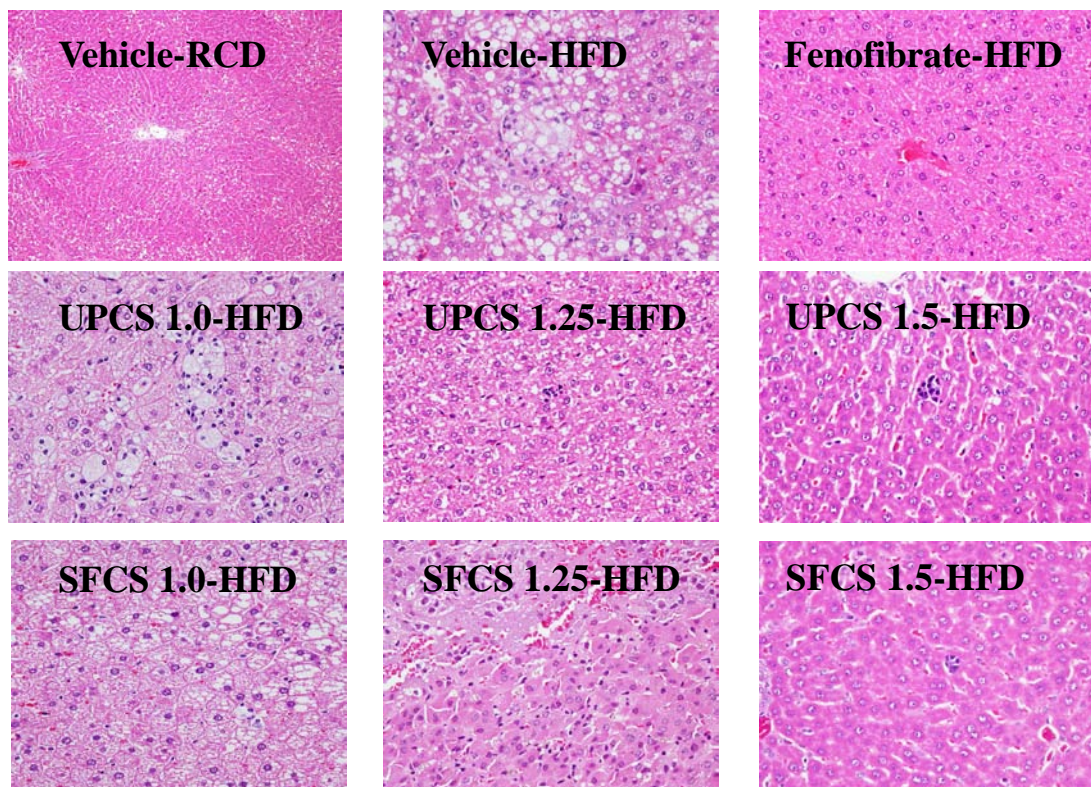
圖九、連續餵食澤瀉(unprocessed AR)、鹽澤瀉(salt-processed AR)或是臨床用藥fenofibrate十二周後，肥胖大鼠的肝臟病理切片圖。

Figure 9. Histopathological findings in liver of HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed *Alisma rhizome* (AR), salt-processed AR or fenofibrate. Rats not receiving any treatment were given the same volume of vehicle (distilled water) used to solve the test medications. Photomicrographs were taken at a magnification of x400. Photomicrographs are of tissues isolated from vehicle-treated RCD-fed rats (vehicle-RCD), vehicle-treated HFD-fed rats (vehicle-HFD), unprocessed AR (0.5 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPAR 0.5-HFD), unprocessed AR (0.75 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPAR 0.75-HFD), unprocessed AR (1.0 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPAR 1.0-HFD), salt-processed AR (0.5 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SPAR 0.5-HFD), salt-processed AR (0.75 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SPAR 0.75-HFD), salt-processed AR (1.0 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SPAR 1.0-HFD) or fenofibrate (100 mg/kg/day)-treated HFD-fed rats (fenofibrate-HFD).



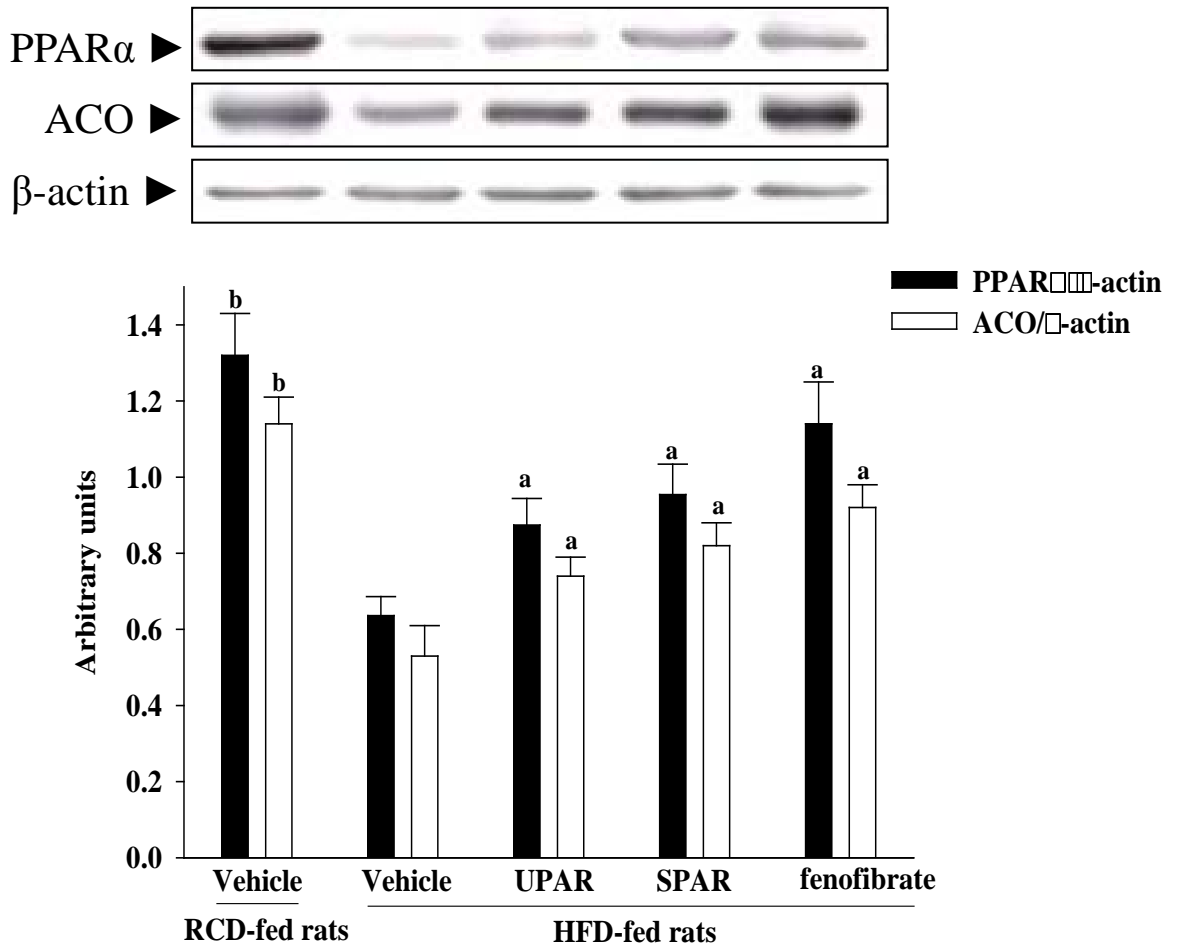
圖十、連續餵食決明子(unprocessed CS)、炒決明子(stir-fried CS)或是臨床用藥fenofibrate十二周後，肥胖大鼠的腎臟病理切片圖。

Figure 10. Histopathological findings in kidney of HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed *Classiae semen* (CS), stir-fried CS or fenofibrate. Rats not receiving any treatment were given the same volume of vehicle (distilled water) used to solve the test medications. Photomicrographs were taken at a magnification of x400. Photomicrographs are of tissues isolated from vehicle-treated RCD-fed rats (vehicle-RCD), vehicle-treated HFD-fed rats (vehicle-HFD), unprocessed CS (1.0 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPCS 1.0-HFD), unprocessed CS (1.25 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPCS 1.25-HFD), unprocessed CS (1.5 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPCS 1.5-HFD), stir-fried CS (1.0 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SFCS 1.0-HFD), stir-fried CS (1.25 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SFCS 1.25-HFD), stir-fried CS (1.5 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SFCS 1.5-HFD) or fenofibrate (100 mg/kg/day)-treated HFD-fed rats (fenofibrate-HFD).



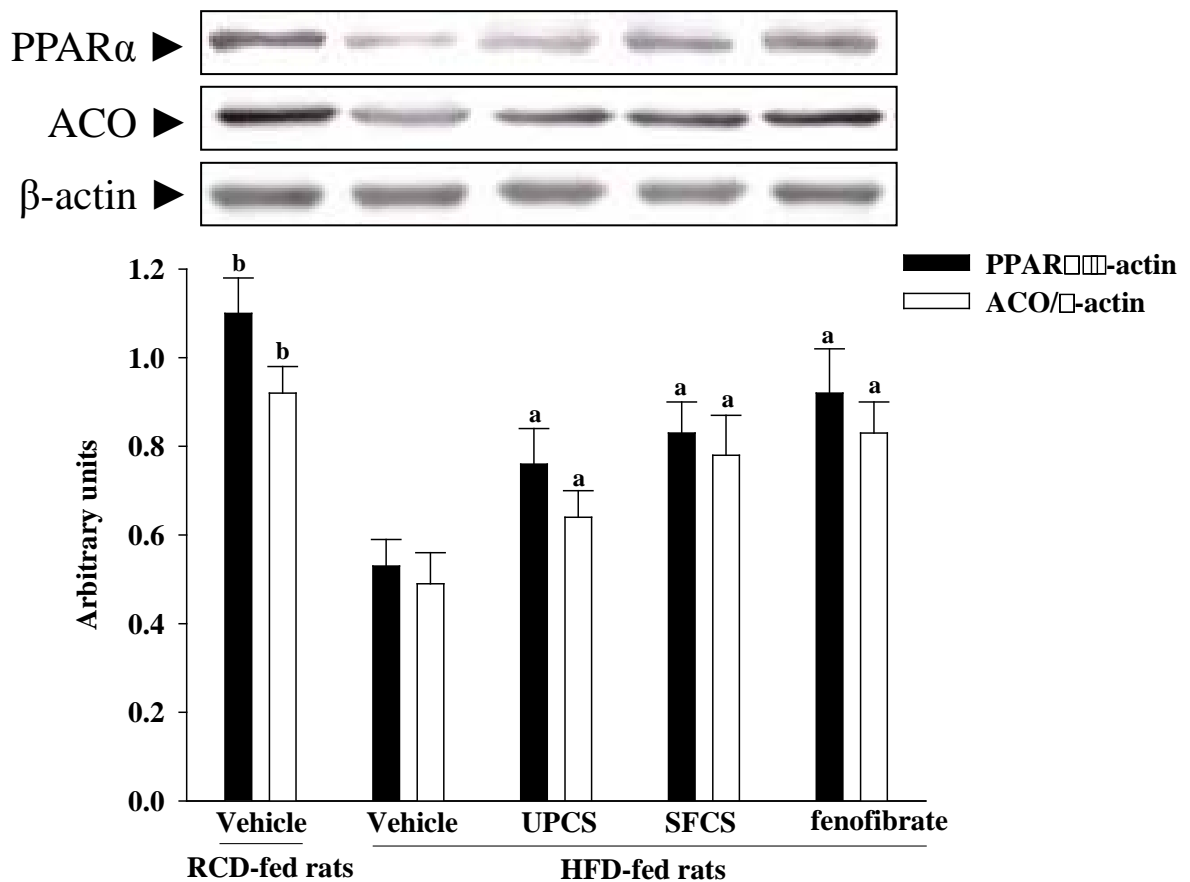
圖十一、連續餵食決明子(unprocessed CS)、炒決明子(stir-fried CS)或是臨床用藥fenofibrate十二周後，肥胖大鼠的肝臟病理切片圖。

Figure 11. Histopathological findings in liver of HFD-fed rats receiving 12-weeks treatment with unprocessed *Classiae semen* (CS), stir-fried CS or fenofibrate. Rats not receiving any treatment were given the same volume of vehicle (distilled water) used to solve the test medications. Photomicrographs were taken at a magnification of x400. Photomicrographs are of tissues isolated from vehicle-treated RCD-fed rats (vehicle-RCD), vehicle-treated HFD-fed rats (vehicle-HFD), unprocessed CS (1.0 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPCS 1.0-HFD), unprocessed CS (1.25 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPCS 1.25-HFD), unprocessed CS (1.5 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (UPCS 1.5-HFD), stir-fried CS (1.0 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SFCS 1.0-HFD), stir-fried CS (1.25 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SFCS 1.25-HFD), stir-fried CS (1.5 g/kg/day)-treated HFD-fed rats (SFCS 1.5-HFD) or fenofibrate (100 mg/kg/day)-treated HFD-fed rats (fenofibrate-HFD).



圖十二、連續餵食澤瀉(unprocessed AR)、鹽澤瀉(salt-processed AR)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠肝臟 PPAR α 與 ACO 蛋白的表現量。

Figure 12. Representative immunoblots of protein expression of PPAR α and ACO in livers of HFD-fed rats receiving 12-week treatment with unprocessed *Alisma rhizome* (UPAR; 1.0 g/kg/day), salt-processed AR (SPAR; 1.0 g/kg/day) or fenofibrate (100 mg/kg/day). Rats not receiving any treatment were given the same volume of vehicle (distilled water) used to solve the test medications. Similar results were obtained with an additional 4 replications. Quantification of protein levels expressed as mean with SD (n = 5 per group) in each column. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated HFD-fed rats in each group, respectively.



圖十三、連續餵食決明子(unprocessed CS)、炒決明子(stir-fried CS)或是臨床用藥 fenofibrate 十二周後，肥胖大鼠肝臟 PPAR α 與 ACO 蛋白的表現量。

Figure 13. Representative immunoblots of protein expression of PPAR α and ACO in livers of HFD-fed rats receiving 12-week treatment with unprocessed *Classiae semen* (UPCS; 1.5 g/kg/day), stir-fried CS (SFCS; 1.5 g/kg/day) or fenofibrate (100 mg/kg/day). Rats not receiving any treatment were given the same volume of vehicle (distilled water) used to solve the test medications. Similar results were obtained with an additional 4 replications. Quantification of protein levels expressed as mean with SD (n = 5 per group) in each column. ^aP < 0.05 and ^bP < 0.01 compared to the values of vehicle-treated HFD-fed rats in each group, respectively.

白藜與蜜紅葡萄及其成分之製劑製備暨其 抗光老化及抗光致癌性機制之探討(2-2)

溫國慶

中國醫藥大學 藥用化妝品學系

摘 要

研究目的：

本篇研究目的以 Myricetin、Quercetin、白藜及蜜紅葡萄為標的，進行其抑制皮膚光老化及抗光致癌相關機制的探討，亦將上述標的物製備四種奈米結構脂質載體 (nanostructured lipid carriers, NLC)，探討其藥物載體物化性質及經皮吸收效果，以開發載藥率高、經皮吸收佳、且安定性佳的新劑型。

研究方法：

利用西方點墨法檢測 Myricetin、Quercetin、白藜及蜜紅葡萄是否抑制纖維母細胞經 UVB 誘導之光老化及及光致癌之相關訊息傳遞。

以四種不同界面活性劑製備而成的 NLC 系統包覆蜜紅葡萄莖 50% 乙醇萃取物及白藜 50% 乙醇萃取物，並測定其粒徑、粒子分散指數及粒子表面電位等物化性質。進一步以裸鼠皮膚和人工膜進行經皮吸收及釋放實驗，並利用清除 DPPH 試驗評估穿透後之溶液及皮內所含萃取物之抗氧化能力。

結果與討論：

一、抗皮膚光老化

- (一) Myricetin 可抑制 UV 所誘發之纖維母細胞 MMP-1, -3 之表現，而此活性係透過抑制 p-JNK 及 p-ERK，及抑制 Smad-7、c-Jun、c-fos 之表現。
- (二) 白藜萃取物可抑制 UV 所誘發之纖維母細胞 MMP-3, -9 之表現，而此活性係透過抑制 p-JNK 及 p-ERK 之表現。
- (三) 蜜紅葡萄萃取物可抑制 UV 所誘發之纖維母細胞 MMP-9 之表現，而此活性係透過抑制 p-JNK 及 p-ERK 之表現。

二、抗光致癌性

- (一) Myricetin 可增加經 UV 照射後之纖維母細胞產生細胞凋亡，經由減少

bcl-2、增加 p21 與 p-p53 之表現。且抑制 MMP-2 之表現。

(二) Myricetin 可抑制 UV 所誘發之纖維母細胞 p-I κ B 與 NF κ B 之表現。

(三) Quercetin 可增加經 UV 照射後之纖維母細胞產生細胞凋亡，經由減少 bcl-2 之表現。

三、NLC 之製備

(一) 以 NLC-My-Tw 系統包覆含 0.05% (w/v) 白藜及蜜紅葡萄萃取物，其粒徑均最小。

(二) 含 Myverol 之白藜萃取物 NLC 的安定性最佳。

(三) 以 NLC-My-Tw 系統包覆蜜紅葡萄萃取物及白藜萃取物進行體外穿透試驗，其經皮受藥端溶液之 DPPH 清除率最好。且其皮膚均質液之 DPPH 清除率亦是最好。

關鍵詞：楊梅黃酮、槲皮素、白藜、蜜紅葡萄、奈米結構脂質載體、光老化、光癌化

The Investigation on Preparations of *Ampelopsis japonica*, *Vitis vinifera* x-*Vitis* *Labrus Cal.* and Their Active Constituents and Their Mechanisms for Anti-Photoaging and Anti-Photocarcinogenesis (2-2)

Kuo-Ching Wen

Department of Cosmeceutics, China Medical University

ABSTRACT

Aim:

This study aimed to investigate the effects of anti-photoaging and anti-photocarcinogenesis and their mechanisms of *Ampelopsis japonica*, *Vitis Vinifera* x-*Vitis labrus*, myricetin and quercetin after UVB exposure. In order to develop high drug loading, good percutaneous absorption and stable novel dosage, four kinds of nanostructured lipid carriers (NLC) of myricetin, quercetin, *Ampelopsis japonica* and *Vitis Vinifera* x-*Vitis labrus*, were prepared through investigating their physico-chemical properties and *in vitro* percutaneous absorption test.

Method:

The western blotting was applied for investigating the effects of anti-photoaging and anti-photocarcinogenesis and their signal transduction of *Ampelopsis japonica*, *Vitis Vinifera* x-*Vitis labrus*, myricetin and quercetin after UVB induced in fibroblasts.

Four kinds of nanostructured lipid carriers (NLC) of myricetin, quercetin, both 50 % ethanol *Ampelopsis japonica* extract and *Vitis Vinifera* x-*Vitis labrus* extract consisted of four surfactants were prepared for testing their particle size, particle dispersion index (PDI) and zeta potential. In addition, *in vitro* test, nude mouse skin was adopted for percutaneous absorption and skin deposit studies, and artificial membrane used for release study. Then, evaluated the antioxidant activities of

Ampelopsis japonica extract and *Vitis Vinifera* x-*Vitis labrus* extract of NLC using DPPH assay.

Results & Discussion:

1. Anti-photoaging

- a. Myricetin inhibited UV-induced MMP-1 and -3 expression in fibroblasts via inhibiting p-JNK, p-ERK, Smad7, c-Jun and c-fos expression.
- b. *Ampelopsis japonica* extract inhibited UV-induced MMP-3 and -9 expression in fibroblasts via inhibiting p-JNK, p-ERK expression.
- c. *Vitis Vinifera* x-*Vitis labrus* extract inhibited UV-induced MMP-9 expression in fibroblasts via inhibiting p-JNK, p-ERK expression.

2. Protection of photocarcinogenesis

- a. Myricetin increased UV-induced apoptosis in fibroblasts via inhibiting bcl-2 and MMP-2 expression, and increasing p21 and p-p53 expression.
- b. Myricetin could inhibit UV-induced p-I κ B and NF κ B expression in fibroblasts.
- c. Quercetin increased UV-induced apoptosis via inhibiting bcl-2 expression.

3. Preparation of NLC containing extracts

- a. The particle sizes of both NLC-My-Tw containing 0.05% *Ampelopsis japonica* extract and *Vitis Vinifera* x-*Vitis labrus* extracts are smallest.
- b. The NLC of *Ampelopsis japonica* extract containing Myverol is more stable than that of other surfactants.
- c. The results of *in vitro* percutaneous absorption test indicated that both of the receptor fluid and skin deposit in *Ampelopsis japonica* and *Vitis Vinifera* x-*Vitis labrus* extract of NLC possessing good DPPH scavenging activities

Keywords: myricetin, quercetin, *Ampelopsis japonica*, *Vitis vinifera* x-*Vitis labrus*, nanostructured lipid carrier, photoaging, photocarcinogenesis

壹、前言

皮膚存在多種蛋白分解酵素，可降解細胞外基質，如基質金屬蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)為鋅依賴性之內生性胜肽酶，由纖維母細胞或角質細胞分泌出之形態為不活化態(proMMPs)，細胞所分泌之某些蛋白酶可將之激活，而引起皮膚基底膜之細胞外基質(extracellular matrix, ECM)降解，為引起結締組織衰變。

MMPs 如 MMP-1 (interstitial collagenase)與 MMP-3 (stromelysin-1)，均與細胞基底膜細胞基質之衰變有關(Chung, 2003; Fisher et al., 2001)，目前研究指出 MMP-1, 3 與 9 與膠原蛋白之降解有關(Fisher et al., 1996)，而 MMP-3 亦間接或直接參與了 MMPs 之活化，另有研究指出第一型膠原蛋白之分解酵素為 MMP-1、MMP-8 (neutrophil collagenase)及 MMP-13 (collagenase-3)。皮膚細胞中 MMP 含量，將會直接影響到皮膚彈性與皺紋產生。

紫外光照射是造成皮膚老化之環境因子危害中最重要的因素(Ulrich et al., 2004)，將導致皮膚提前老化、局部或全身性之免疫反應及光致癌性。紫外光照射會觸動細胞表面及細胞內之訊息傳遞，引起皮膚發炎反應、皮膚老化及光致癌性，而引起皮膚增厚、產生細紋、粗糙、乾燥、鬆弛及色素沉著此乃因角質細胞增生、膠原蛋白纖維被破壞以及黑色素細胞增生所致(Brenneisen et al., 2002a; Chung, 2003)。

此外，具文獻報導長期慢性曝露於陽光為形成基底細胞癌(basal cell carcinoma)及鱗狀細胞癌(squamous cell carcinoma)之主要病因(Kwa et al., 1992)。而 UVB 之致癌性約為 UVA 的 1,000-10,000 倍。UVB 及較小波長的 UVA 會引起實驗老鼠產生皮膚癌(Cole et al., 1986; de Gruijl et al., 1993)。DNA 會吸收 UVB 的能量而誘發光產物如環丁烷嘧啶雙體(cyclobutane pyrimidine dimmers, CPDs)，此與哺乳類細胞癌有高達 80%的相關 (Matsui and DeLeo, 1995; Pfeifer et al., 2005)。曝露於 UVB 及 UVA 導致致癌係透過調控上游的轉錄因子，又稱之為 UV 感應(UV response)。UVA 所調控的上游路徑主要為 MAPKs (mitogen-activated protein kinases)的 p38 及 JNK，進而誘發 AP-1 and COX-2 表現(Bachelor and Bowden, 2004)。然而 UVB 所誘發的轉錄因子為 AP-1, NF- κ B 及 p53 (Li et al., 2001)。由實驗證明經 UVB 照射會引起並促進老鼠皮膚癌，而 UVA 則只是促進劑(Cooper and Bowden, 2007)。

化妝品或外用製劑應用於皮膚表面，較為大眾關心的，是否能吸收進

入皮膚深層產生作用，因此本研究進一步進行劑型之改良及穿皮吸收試驗以促進皮膚吸收並做為其功效之實證依據。

由脂質所構成奈米級的膠體給藥系統—脂質奈米微粒 (lipid nanoparticles) 組成分子安全並具有控制釋放的能力 (Muller et al., 2007; Puglia et al., 2008)，因而廣泛應用於醫療藥物，藥物包覆脂質奈米微粒可提高藥物治療效果、對生物體耐受性佳等 (Hu et al., 2008)，應用於眼部具有高的生可用率 (Cavalli et al., 2002)，且能通過血腦障壁，具有標靶性 (Yang et al., 1999)。

固態脂質奈米微粒 (solid lipid nanoparticles, SLN) 是以固態的天然或合成的脂質如卵磷脂、三酸甘油酯等為基質，將藥物包裹其中，經不同方法製成粒徑介於 50~1000 nm 之間的固態膠體給藥系統 (Castelli et al., 2005)。與微脂粒、乳劑相比，以固態脂質取代液態油脂，藥物被包覆於固態脂質中而達到更好的控制釋放和緩釋效果。此外使用生物相容性脂質作為載體基質，避免使用有機溶劑而減少急、慢性毒性 (Luo et al., 2006)。

雖然 SLN 具有上述優點，且具大規模生產潛力 (Mehnert and Mader, 2001)。而其載藥量稍受限，且儲存過程中藥物有可能被排擠出晶格。另 SLN 因突釋效應 (burst effect)，對於延長藥物的作用時間稍不足，以及貯存後可能會發生粒子增長、粒子聚集，多晶型轉化甚至發生凝膠化，變成固態凝膠 (Muller et al., 2002)。

改良的奈米結構脂質載體 (nanostructured lipid carriers, NLC) (Muller et al., 2002)。載藥能力提高，可避免突釋現象 (burst release)，物理穩定性佳，不易發生凝膠化。據 Hu 等人研究 Clobetasol propionate-NLC 的溫度對載藥量的影響。結果顯示 NLC 比 SLN 的載藥量更高 (Hu et al., 2006)。Saupe 等人發現儲存溫度對 NLC 長期穩定性幾乎無影響 (Saupe et al., 2005)。

SLN 和 NLC 應用於化妝品，可延長香水釋放時間、保護化學不穩定的有效成份如輔酶 Q10 和 retinol 被降解 (Jenning and Gohla, 2001)；粒子顆粒大小近似二氧化鈦因此能反射紫外光具有防曬的功能，與紫外光阻斷劑 (UV-blocker) 合用製成的乳劑、乳霜更能有效防曬 (Muller et al., 2007; Muller et al., 2002)。

局部應用 Quercetin 可抑制紫外線所造成皮膚的傷害及發炎反應 (Aquino et al., 2002; Casagrande et al., 2007; Casagrande et al., 2006)。然而光會造成 Quercetin 降解，而降低其對抗皮膚光氧化的能力，使 Quercetin 的應用受限。又存在溶液、懸浮液或是固體狀態的 Quercetin 都會因光而導致分

解(Smith et al., 2000; Vayalil et al., 2004; Vicentini et al., 2007)為了進一步探索 Quercetin 的應用，有研究報告以乳劑(emulsion, Em)作為包覆 Quercetin，可降低 1.9 倍的光降解率，並且在三個月的儲存期中能維持其光穩定性(Scalia and Mezzena, 2009)。

綜合上述以及上年度計畫執行之結果，除選定 myricetin 及 quercetin 成分及白藜及蜜紅葡萄作為標的繼續進行其抑制 MMPs 活性之上游調控機制之探討，包括對 MAPKs (JNK, ERK, p-38), AP-1 (c-Jun, c-Fos), S-mad, bcl-2, p-21, p-p53, NF-kB/p65 等之表現之外。並進行新劑型之開發，將上述標的物製作固態脂質奈米粒(Solid lipid nanoparticles, SLN)及兩種奈米結構脂質載體 (nanostructured lipid carrier, NLC-Amorphous (NLC-A), NLC-Oil /Fat/ water (NLC-O/F/W))，比較其與傳統乳劑之經皮吸收效果，以開發載藥率高、經皮吸收佳、且安定之新劑型。

貳、材料與方法

一、Myricetin、Quercetin、白藜蘆萃取物與蜜紅葡萄對抗光老化與光癌化作用及機制探討

(一) 材料製備

材料與試藥之製備如下：Upper gel buffer-stacking buffer (0.5 M Tris-HCl, pH 6.8) 高壓滅菌後備用。Lower gel buffer-running buffer (1.5 M Tris-HCl, pH 8.8) 稱取適量 Tris 加去離子水混合均勻，以 12 N HCl 調整 pH 至 8.8。經高壓滅菌後備用。10 倍 Laemmli tank buffer 稱取 Tris 及 glycine 適量，以水至 500 mL，高壓滅菌後備用。此貯備溶液使用前需稀釋成 1 倍，稀釋方式如下：取 50 mL 的 Laemmli tank buffer (10 倍) 及 5 mL 10% SDS，加水至 500 mL 即得。8 倍 Transfer buffer 稱取 Tris 及 glycine 適量加水至 1 L (pH 8.3)，高壓滅菌後備用。使用前需稀釋成 1 倍。4 M NaCl：稱取 233.8 g NaCl，加水至 500 mL，經高壓滅菌後備用。取 4 M NaCl 溶液 312.5 mL、1 M Tris-HCl 50 mL 及 137.5 mL H₂O 混合均勻，即成 5 倍 TBS，使用前以水稀釋成 1 倍即得。4 倍 sample buffer 係取 glycerol 4 mL、bromophenol blue 40 mg、upper stacking buffer 5 mL、SDS 400 mg 混合均勻後，分裝至微量離心管中，每管 0.9 mL，貯存於 -20°C，使用前加 2-mercaptoethanol 100 μ L。10% SDS 取 1 g SDS 溶於 10 mL 水中。10% APS 取 0.1 g APS 溶於 1 mL 水中。TTBS 是取 200 mL TBS 加入 200 μ L Tween 20。MTBS 取 50 mL TBS 加入 2.5 g 脫脂奶粉。

(二) UVB 照射實驗

將細胞接種 10 cm dish 長至 9 分滿時，加入不同濃度之檢品反應後，分別給予適當紫外光照射劑量，再加入不同濃度的檢品處理後進行下列試驗

(三) 分離細胞內細胞質之蛋白質

以 lysis buffer 破碎細胞，再予以離心的方式取得蛋白質，以備蛋白質分析用。接種適當細胞數長滿後，加入待測檢品培養後，將 medium 吸除，以冰的 PBS 清洗。再加入 lysis buffer，以刮棒將細胞全數打下，移至微量離心管。以 4°C 離心 12000 \times g，10 分鐘後吸取上清液，上清液即為細胞質蛋白。

(四) 西方點墨法測檢品對 bcl-2, bax, p-p53, p21 及 NF-kB/p65 蛋白質表現

先對於細胞萃取液進行蛋白質定量。取細胞液加入 Bradford's reagent 反應 10 分鐘後，於 595 nm 測定吸光值。各細胞檢品與 4 倍 sample buffer 以 3:1 比例混合後，於 100°C 乾域鍋處理 10 分鐘，各取待測樣品蛋白質，以 10% 之 SDS-PAGE，進行電泳。再將其轉印至 PVDF 轉印膜。將轉印膜加入 MTBS 搖盪 1 小時以 TTBS (含有 1% Tween 20 之 TBS 溶液) 清洗數次，再加入一次抗體置於 4°C 冰箱中搖盪至隔夜，移去一次抗體，再以 TTBS 清洗數次後，加入二次抗體置於室溫搖盪 1~2 小時，移去二次抗體，再以 TTBS 清洗數次。最後移去 TTBS 加入 ECL 顯影，利用 LAS-4000 紀錄影像，並以 multi Gauge V2.2 進行定量分析。

二、蜜紅葡萄莖 50% 乙醇萃取物與白藜 50% 乙醇萃取物之 NLC 製作與經皮吸收實驗

(一) NLC 製備方法

取兩個圓底茄型瓶分別將配方中的油相物質、界面活性劑；水相物質以及蜜紅葡萄莖與白藜萃取物和去離子水精確秤量置入圓底燒瓶中，同時置入水溫控制槽於 85°C 中加熱後，將水相緩緩加入油相，再以探頭式細胞破碎儀震盪即完成配方的製備 (Fang et al., 2008)。

(二) 配方基本性質試驗方法

使用粒徑與表面電位檢測儀 (Malvern, Zetasizer Nano-ZS 90, UK) 測量樣品的粒徑 (size distribution)、粒子分散度指標 (polydispersity indexes) 以及粒子表面電位 (zeta potential)，以了解配方的物理性質。粒徑測定是將樣品以去離子水稀釋 100 倍後注入兩面拋光的 cuvette (Plastibrand, 1.5 mL disposable cuvette, Germany) 之中，於室溫下放入粒徑與表面電位檢測儀中，選擇 size 選項做偵測，進行三重複取其平均值即得到配方粒子平均粒徑與粒子分散度指標 (Teskac and Kristl, 2010)。表面電位測定將樣品以去離子水稀釋後注入表面電位專用的特製容器 (Trekintal, DTS 1016, Taiwan) 於室溫放入粒徑與表面電位檢測儀中，選擇 zeta potential 選項做偵測，進行三重複取其平均值即得到配方的表面電位 (Teskac and Kristl, 2010)。

(三)載體安定性實驗

將製備好的配方以去離子水稀釋 100 倍成溶液後，連續二星期觀測其粒子大小與表面電位的變化以評估藥物載體的穩定性。

(四)體外穿透實驗

本實驗選用 6~8 週齡的正常雌性裸小鼠(ICR-Foxn1nu strain)皮膚作為體外經皮實驗。取下其背部的皮膚、剔除皮下組織、脂肪後，裁剪成適量大小置於載玻片上並以保鮮膜密封後置入夾鍊袋儲存於冰箱備用。

採用 Franz 直立式擴散裝置(vertical Franz diffusion cell)為一組直立分離式的雙層擴散玻璃容器，上層的施藥端(donor compartment)為中空玻璃管，下層受藥端(receptor compartment)是一圓柱狀雙層玻璃槽，內層為充滿緩衝溶液的擴散槽，側面外接中空的取樣口作為收集藥物的出口，外層連接 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 循環水維持恆溫。

在多磁點攪拌器(Thermo Scientific, Variomag poly 15, Germany)上用塑膠水管連接每一個直立式擴散裝置後，開啟循環水浴裝置使玻璃外槽充滿 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 水維持恆溫。取鼠皮角質層面朝上置於受藥端中間圓型小孔處，再放上施藥端並以金屬夾固定使其緊密結合，兩端接觸內截面積為 0.95 cm^2 。接著由取樣口注入含 30% 乙醇的 pH 7.4 磷酸鹽緩衝液適量，置入磁石並設定多磁點攪拌儀以 600 rpm 定速旋轉。分別在固定的時間點抽取適量樣品並立即注入適量的磷酸鹽緩衝液(內含 30% 乙醇)以維持體積恆定。

(五)體外穿透之萃取物清除自由基之能力

利用 DPPH 進行受藥端被釋放出之萃取物清除自由基能力之實驗。於 96 well 中分別加入不同時間點由受藥端抽取之樣品與新鮮配置的 DPPH (200 μM) 甲醇溶液，以磷酸鹽緩衝液加入 DPPH 甲醇溶液當作對照組，以甲醇作為空白對照組，均勻混和於 37°C 下靜置 30 min，以 ELISA 於 517 nm 波長下測其吸光值，其計算 DPPH 清除率之方程式如下。

$$\text{Scavenging effect \% (capacity to scavenging the DPPH radical)} = \left(\frac{[(A_{\text{control at 517 nm}} - A_{\text{blank at 517 nm}}) - (A_{\text{sample at 517 nm}} - A_{\text{blank at 517 nm}})]}{(A_{\text{control at 517 nm}} - A_{\text{blank at 517 nm}})} \right) \times 100$$

(六)皮內所含之萃取物清除自由基之能力

本方法參照 Kitagawa 等人實驗方法(Kitagawa et al., 2009)。將體外穿透實驗結束的裸小鼠皮取下以甲醇清洗後秤重並剪成碎片置入離心管中，加入 2 mL 的甲醇並利用超音波細胞破碎儀設定條件 4 °C，振幅 40%每分鐘間隔 5 秒混合均勻，共震盪 5 分鐘後，以離心機離心 10 分鐘後取上清液再以 DPPH 進行其清除自由基能力之試驗，方法同上。

(七)體外釋放之萃取物清除自由基之能力

選用透析膜(Molecular weight cutoff = 12~14 kDa)將透析膜浸泡於去離子水。取出人工膜平貼在受藥端中間圓型小孔處，再放上施藥端並以金屬夾固定使其緊密結合，實驗方法與體外穿透實驗相同(Li et al., 2009; Teskac and Kristl, 2010)，其清除 DPPH 自由基之試驗方法同上

(八)統計方法

統計以 SigmaPlot 10.0 軟體採用 Unpaired Student's t-test，以 $p < 0.05$ 分辨兩種不同條件之間是否具有統計上的意義。

參、結果

一、白藜萃取物與蜜紅葡萄萃取物抗氧化活性

(一) 清除 DPPH 自由基能力

探討白藜及蜜紅葡萄萃取物之清除 DPPH 自由基能力，以抗壞血酸(ascorbic acid)為正對照組。結果如圖 3、4 所示，白藜萃取物於濃度 5、10、50、100 及 500 g/mL 時，其清除 DPPH 之能力分別為 $12.9 \pm 2.1\%$ 、 $27.4 \pm 3.5\%$ 、 $94.5 \pm 1.0\%$ 、 $96.7 \pm 0.1\%$ 及 $98.1 \pm 5.8\%$ ； IC_{50} 為 24.5 g/ mL，而正對照組抗壞血酸於濃度 50 g/mL 之清除率為 $93.9 \pm 5.3\%$ 。

蜜紅葡萄萃取物於濃度 5、10、100 及 500 g/mL 時，其清除 DPPH 之能力分別為 $16.9 \pm 3.0\%$ 、 $49.1 \pm 3.7\%$ 、 $88.8 \pm 2.1\%$ 及 $97.5 \pm 0.3\%$ ； IC_{50} 為 10.5 g/ mL，而正對照組抗壞血酸於濃度 50 g/mL 之清除率為 $7.7 \pm 0.0\%$ 。

(二) 抑制 AAPH 誘導紅血球溶血之能力

探討白藜及蜜紅葡萄萃取物其對 AAPH 自由基誘導紅血球溶血之影響，模擬萃取物於體內之抗自由基活性。結果顯示如圖 5、6 所示，加入 AAPH 之紅血球中分別加入不同濃度白藜萃取物之磷酸緩衝溶液，濃度 10 g/mL 於 2 小時即有顯著抑制溶血之活性，其抑制 AAPH 自由基誘導紅血球溶血之百分率為 $60.9 \pm 9.7\%$ ，隨著白藜萃取物濃度的增加(50、100 及 500 g/mL)而遞增($75.8 \pm 3.3\%$ 、 $86.1 \pm 2.6\%$ 及 $95.3 \pm 1.1\%$)。

蜜紅葡萄萃取物抑制溶血之活性於濃度 10 g/mL，2 小時即有顯著抑制溶血之活性，其抑制 AAPH 自由基誘導紅血球溶血之百分率為 $61.4 \pm 11.9\%$ ，隨著白藜萃取物濃度的增加(50、100 及 500 g/mL)而遞增($74.9 \pm 10.4\%$ 、 $76.6 \pm 6.5\%$ 及 $94.9 \pm 2.9\%$)。

二、白藜萃取物與蜜紅葡萄萃取物之安全性

以不同濃度 5-200 g/mL 之白藜與蜜紅葡萄萃取物處理纖維母細胞，再以 MTT assay 測定細胞存活率，結果顯示圖 7、8 所示，顯示皆對細胞存活率無顯著之影響。

三、Myricetin、Quercetin、白藜萃取物與蜜紅葡萄對抗光老化與光癌化作用及機制探討

(一) Myricetin 對光老化之作用與機制

1. UV 對第 I 型膠原蛋白原之影響

UV 照射能量選擇 $UV\ 40\ mJ/cm^2$ 進行實驗。以濃度 $5\sim 50\ \mu M$ 之 myricetin 分別預先處理纖維母細胞 1 小時，再以 $UV\ 40\ mJ/cm^2$ 照射，續以上述各濃度之 myricetin 處理 24 小時，觀察第 I 型膠原蛋白原表現之變化。結果如圖 9 所示，纖維母細胞經 $UV\ 40\ mJ/cm^2$ 照射後，第 I 型膠原蛋白原似完全降解。而經 myricetin 處理，於濃度 5 、 25 及 $50\ \mu M$ 第 I 型膠原蛋白均未回復。

2. UV 對 MMP-1, -3, -9 之表現

試驗方法同(一) 1. UV 對第 I 型膠原蛋白原之影響。試驗後觀察 MMP-1, -3, -9 表現之變化。結果如圖 9 所示，纖維母細胞經 $UV\ 40\ mJ/cm^2$ 照射後，MMP-1 表現為 UV 處理前之 1.3 倍。而經 myricetin 處理，於濃度 5 、 25 及 $50\ \mu M$ 之 MMP-1 表現各分別為 UV 處理前之 1.2、1.1 及 0.8 倍。正對照組 EGCG 於 $1\ \mu M$ 之 MMP-1 表現為 UV 處理前之 1.2 倍。

對 MMP-3 表現之變化結果如圖 9 纖維母細胞經 $UV\ 40\ mJ/cm^2$ 照射後，MMP-3 表現為 UV 處理前之 1.3 倍。而經 myricetin 處理，於濃度 5 、 25 及 $50\ \mu M$ 之 MMP-3 表現各分別為 UV 處理前之 1.0、0.7 及 1.0 倍。正對照組 EGCG 於 $1\ \mu M$ 之 MMP-3 表現為 UV 處理前之 1.2 倍。對 MMP-9 表現之變化結果如圖 9，纖維母細胞經 $UV\ 40\ mJ/cm^2$ 照射後，MMP-9 表現為 UV 處理前之 0.9 倍。而經 myricetin 處理，於濃度 5 、 25 及 $50\ \mu M$ 之 MMP-9 表現，各分別為 UV 處理前之 0.8、0.7 及 0.7 倍。正對照組 EGCG 於濃度 $1\ \mu M$ 之 MMP-9 表現為 UV 處理前之 0.5 倍。

3. UV 對 MAP kinase 的影響

試驗方法同(一) 1. UV 對第 I 型膠原蛋白原之影響。試驗後觀察 MAP kinase 磷酸化之改變。結果如圖 10 所示，纖維母細胞經 $UV\ 40\ mJ/cm^2$ 照射後，p38 磷酸化顯著增加為 UV 處理前之 7.4 倍。而經 myricetin 處理，於濃度 5 、 25 及 $50\ \mu M$ 之 p-p38 表現各分別為 UV 處理前之 7.6、7.2 及 5.5 倍。正對照組 EGCG 於 $1\ \mu M$ 之 p-p38 表現為 UV 處理前之 2.5 倍。

纖維母細胞經 $UV\ 40\ mJ/cm^2$ 照射後，JNK 磷酸化增加為 UV 處理前 1.2 倍。而經 myricetin 處理，於濃度 5 、 25 及 $50\ \mu M$

之 *p*-JNK 表現各分別為 UV 處理前之 0.8、0.7 及 0.7 倍。正對照組 EGCG 於 1 μ M 之 *p*-JNK 表現為 UV 處理前之 0.5 倍。

纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm^2 照射後，ERK 磷酸化增加為 UV 處理前之 1.2 倍。而經 myricetin 處理，於濃度 5、25 及 50 μ M 之 *p*-ERK 表現，各分別為 UV 處理前之 1.1、1.0 及 0.9 倍。正對照組 EGCG 於濃度 1 μ M 之 *p*-ERK 表現為 UV 處理前之 1.3 倍。

4. UV 對 Smad-3, -7 和 *c*-Jun, *c*-Fos 的影響

試驗方法同(一) 1. UV 對第 I 型膠原蛋白原之影響。試驗後觀察 Smad-3, -7 和 *c*-Jun, *c*-Fos 之改變。結果如圖 11 所示，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm^2 照射後，Smad-3 表現為 UV 處理前之 0.8 倍。而經 myricetin 處理，於濃度 5、25 及 50 μ M 之 Smad-3 表現各分別為 UV 處理前之 0.9、0.9 及 0.9 倍。正對照組 EGCG 於 1 μ M 之 Smad-3 表現為 UV 處理前之 1.2 倍。

Smad-7 表現之變化結果如圖 11，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm^2 照射後，Smad-7 表現為 UV 處理前之 1.1 倍。而經 myricetin 處理，於濃度 5、25 及 50 μ M 之 Smad-7 表現各分別為 UV 處理前之 1.1、0.8 及 0.9 倍。正對照組 EGCG 於 1 μ M 之 Smad-7 表現為 UV 處理前之 1.2 倍。

c-Jun 表現之變化結果如圖 3，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm^2 照射後，*c*-Jun 表現為 UV 處理前之 2.2 倍。而經 myricetin 處理，於濃度 5、25 及 50 μ M 之 *c*-Jun 表現，各分別為 UV 處理前之 1.6、1.0 及 1.4 倍。正對照組 EGCG 於濃度 1 μ M 之 *c*-Jun 表現為 UV 處理前之 0.9 倍。

c-Fos 表現之變化結果如圖 11，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm^2 照射後，*c*-Fos 表現為 UV 處理前之 1.4 倍。而經 myricetin 處理，於濃度 5、25 及 50 μ M 之 *c*-Fos 表現，各分別為 UV 處理前之 1.4、1.3 及 1.1 倍。正對照組 EGCG 於濃度 1 μ M 之 *c*-Fos 表現為 UV 處理前之 1.3 倍。

(二) Myricetin 對抗光癌化之作用與機制

1. UV 對 bcl-2 的影響

bcl-2 表現之變化結果如圖 12，纖維母細胞經 UV 80 mJ/cm^2 照射後，bcl-2 表現為 UV 處理前之 0.9 倍。而經

myricetin 處理，於濃度 10、25 及 50 μM 之 bcl-2 表現，各分別為 UV 處理前之 0.8、0.8 及 0.8 倍。正對照組 EGCG 於濃度 10 μM 之 bcl-2 表現為 UV 處理前之 0.7 倍。

2. UV 對 p21 與 p-p53 的影響

p21 表現之變化結果如圖 13，纖維母細胞經 UV 80 mJ/cm^2 照射後，p21 表現為 UV 處理前之 0.9 倍。而經 myricetin 處理，於濃度 10、25 及 50 μM 之 p21 表現，各分別為 UV 處理前之 1.0、1.1 及 1.1 倍。正對照組 EGCG 於濃度 10 μM 之 p21 表現為 UV 處理前之 0.9 倍。

p-p53 表現之變化結果如圖 13，纖維母細胞經 UV 80 mJ/cm^2 照射後，p-p53 表現為 UV 處理前之 1.1 倍。而經 myricetin 處理，於濃度 10、25 及 50 μM 之 p-p53 表現，各分別為 UV 處理前之 1.1、1.3 及 1.2 倍。正對照組 EGCG 於濃度 10 μM 之 p21 表現為 UV 處理前之 0.8 倍。

3. UV 對 MMP-2 的影響

MMP-2 表現之變化結果如圖 14，纖維母細胞經 UV 80 mJ/cm^2 照射後，MMP-2 表現為 UV 處理前之 1.3 倍。而經 myricetin 處理，於濃度 10、25 及 50 μM 之 MMP-2 表現，各分別為 UV 處理前之 1.2、1.1 及 1.1 倍。正對照組 EGCG 於濃度 10 μM 之 MMP-2 表現為 UV 處理前之 0.9 倍。

(三) Myricetin 對 NF-kB/p65 之作用與機制

1. UV 對 p-IkB 的影響

p-IkB 表現之變化結果如圖 15，纖維母細胞經 UV 80 mJ/cm^2 照射後，p-IkB 表現為 UV 處理前之 1.1 倍。而經 myricetin 處理，於濃度 10、25 及 50 μM 之 p-IkB 表現，各分別為 UV 處理前之 1.1、1.1 及 0.8 倍。正對照組 EGCG 於濃度 10 μM 之 p-IkB 表現為 UV 處理前之 0.9 倍。

2. UV 對 NF-kB/p65 的影響

NF-kB/p65 表現之變化結果如圖 15，纖維母細胞經 UV 80 mJ/cm^2 照射後，NF-kB/p65 表現為 UV 處理前之 1.3 倍。而經 myricetin 處理，於濃度 10、25 及 50 μM 之 NF-kB/p65 表現，各分別為 UV 處理前之 1.1、1.1 及 0.9 倍。正對照組 EGCG 於濃度 10 μM 之 NF-kB/p65 表現為 UV 處理前之 0.8 倍。

(四) Quercetin 對光老化之作用與機制

1. UV 對第 I 型膠原蛋白原之影響

UV 照射能量選擇 $UV\ 40\ mJ/cm^2$ 進行實驗。以濃度 5-50 μM 之 quercetin 分別預先處理纖維母細胞 1 小時，再照射 $UV\ 40\ mJ/cm^2$ ，續以各濃度之 quercetin 處理 24 小時，觀察第 I 型膠原蛋白原表現之變化。結果如圖 8 所示，纖維母細胞經 $UV\ 40\ mJ/cm^2$ 照射後，第 I 型膠原蛋白原表現顯著降為 UV 處理前之 0.2 倍。而經 quercetin 處理，於濃度 5、25 及 50 μM 顯著減少第 I 型膠原蛋白原表現，各分別為 UV 處理前之 0.2、0.3 及 0.1 倍。正對照組 EGEG 於濃度 1 μM 則使第 I 型膠原蛋白原表現量減少至 UV 處理前之 0.2 倍。

2. UV 對 MMP-1, -3, -9 之表現

試驗方法同 (四) 1. UV 對第 I 型膠原蛋白原之影響。試驗後觀察 MMP-1 表現之變化。結果如圖 16 所示，纖維母細胞經 $UV\ 40\ mJ/cm^2$ 照射後，MMP-1 表現為 UV 處理前之 0.9 倍。而經 quercetin 處理，於濃度 5、25 及 50 μM 之 MMP-1 表現各分別為 UV 處理前之 0.9、1.0 及 0.6 倍。正對照組 EGEG 於 1 μM 之 MMP-1 表現為 UV 處理前之 0.6 倍。

對 MMP-3 表現之變化結果如圖 16，纖維母細胞經 $UV\ 40\ mJ/cm^2$ 照射後，MMP-3 表現為 UV 處理前之 0.8 倍。而經 quercetin 處理，於濃度 5、25 及 50 μM 之 MMP-3 表現各分別為 UV 處理前之 0.8、0.9 及 0.6 倍。正對照組 EGEG 於 1 μM 之 MMP-3 表現為 UV 處理前之 0.5 倍。

對 MMP-9 表現之變化結果如圖 8，纖維母細胞經 $UV\ 40\ mJ/cm^2$ 照射後，MMP-9 表現為 UV 處理前之 0.7 倍。而經 quercetin 處理，於濃度 5、25 及 50 μM 之 MMP-9 表現，各分別為 UV 處理前之 0.6、0.6 及 0.4 倍。正對照組 EGCG 於濃度 1 μM 之 MMP-9 表現為 UV 處理前之 0.4 倍。

3. UV 對 MAP kinase 的影響

試驗方法同 (四) 1. UV 對第 I 型膠原蛋白原之影響。試驗後觀察 MAP kinase 磷酸化之改變。結果如圖 17 所示，纖維母細胞經 $UV\ 40\ mJ/cm^2$ 照射後，p38 磷酸化減少為 UV 處理前之 0.7 倍。而經 quercetin 處理，於濃度 5、25 及 50 μM 之

p-p38 表現都分別為 UV 處理前之 0.7 倍。正對照組 EGCG 於 1 μ M 之 *p*-p38 表現為 UV 處理前之 0.5 倍。

纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm^2 照射後，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm^2 照射後，JNK 磷酸化輕微增加為 UV 處理前之 1.1 倍。而經 quercetin 處理，於濃度 5、25 及 50 μ M 之 *p*-JNK 表現各分別為 UV 處理前之 1.4、1.1 及 1.0 倍。正對照組 EGCG 於 1 μ M 之 *p*-JNK 表現為 UV 處理前之 1.1 倍。

纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm^2 照射後，ERK 磷酸化減少為 UV 處理前之 0.5 倍。而經 quercetin 處理，於濃度 5、25 及 50 μ M 之 *p*-ERK 表現，各分別為 UV 處理前之 1.0、0.4 及 0.5 倍。正對照組 EGCG 於濃度 1 μ M 之 *p*-ERK 表現為 UV 處理前之 0.4 倍。

4. UV 對 Smad-3 和 Smad-7 的影響

試驗方法同 (四) 1. UV 對第 I 型膠原蛋白原之影響。試驗後觀察 Smad-3 和 Smad-7 之改變。結果如圖 18 所示，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm^2 照射後，Smad-3 表現為 UV 處理前之 0.7 倍。而經 quercetin 處理，於濃度 5、25 及 50 μ M 之 Smad-3 表現各分別為 UV 處理前之 1.3、1.5 及 1.0 倍。正對照組 EGCG 於 1 μ M 之 Smad-3 表現為 UV 處理前之 0.9 倍。

Smad-7 表現之變化結果如圖 18，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm^2 照射後，Smad-7 表現為 UV 處理前之 0.7 倍。而經 quercetin 處理，於濃度 5、25 及 50 μ M 之 Smad-7 表現各分別為 UV 處理前之 0.9、1.0 及 0.6 倍。正對照組 EGCG 於 1 μ M 之 Smad-7 表現為 UV 處理前之 0.5 倍。

5. UV 對 *c*-Jun 和 *c*-Fos 的影響

試驗方法同(四) 1. UV 對第 I 型膠原蛋白原之影響。試驗後觀察 *c*-Jun 和 *c*-Fos 之改變。結果如圖 19 所示，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm^2 照射後，*c*-Jun 表現為 UV 處理前之 0.9 倍。而經 quercetin 處理，於濃度 5、25 及 50 μ M 之 *c*-Jun 表現各分別為 UV 處理前之 1.4、1.6 及 1.0 倍。正對照組 EGCG 於 1 μ M 之 *c*-Jun 表現為 UV 處理前之 0.8 倍。

c-Fos 表現之變化結果如圖 19，纖維母細胞經 UV 40

mJ/cm² 照射後，*c-Fos* 表現為 UV 處理前之 1.4 倍。而經 quercetin 處理，於濃度 5、25 及 50 μM 之 *c-Fos* 表現各分別為 UV 處理前之 2.0、1.7 及 1.5 倍。正對照組 EGCG 於 1 μM 之 *c-Fos* 表現為 UV 處理前之 1.6 倍。

(五) Quercetin 對抗光癌化之作用與機制

1. UV 對 *bcl-2* 的影響

bcl-2 表現之變化結果如圖 20，纖維母細胞經 UV 80 mJ/cm² 照射後，*bcl-2* 表現為 UV 處理前之 0.9 倍。而經 quercetin 處理，於濃度 10、25 及 50 μM 之 *bcl-2* 表現，各分別為 UV 處理前之 0.8、0.8 及 0.7 倍。正對照組 EGCG 於濃度 10 μM 之 *bcl-2* 表現為 UV 處理前之 0.8 倍。

(六) 白藜萃取物對光老化之作用與機制

1. UV 對 MMP-1, -3, -9 之表現

UV 照射能量選擇 UV 40 mJ/cm² 進行實驗。以濃度 50-200 μg/mL 之白藜萃取物分別預先處理纖維母細胞 1 小時，再照射 UV 40 mJ/cm²，續以各濃度之白藜萃取物處理 24 小時，觀察 MMP-1, -3, -9 表現之變化。結果如圖 21 所示，試驗後觀察 MMP-1 表現之變化。結果如圖 21 所示，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm² 照射後，MMP-1 表現為 UV 處理前之 2.9 倍。而經白藜萃取物處理，於濃度 50、100 及 200 μg/mL 之 MMP-1 表現各分別為 UV 處理前之 0.9、7.6 及 0.7 倍。正對照組 EGCG 於 1 μM 之 MMP-1 表現為 UV 處理前之 1.3 倍。

MMP-3 表現之變化結果如圖 21，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm² 照射後，MMP-3 表現為 UV 處理前之 1.1 倍。而經白藜萃取物處理，於濃度 50、100 及 200 μg/mL 之 MMP-3 表現各分別為 UV 處理前之 1.0、0.9 及 0.9 倍。正對照組 EGCG 於 1 μM 之 MMP-3 表現為 UV 處理前之 0.9 倍。

對 MMP-9 表現之變化結果如圖 21，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm² 照射後，MMP-9 表現為 UV 處理前之 1.1 倍。而經白藜萃取物處理，於濃度 50、100 及 200 μg/mL 之 MMP-9 表現，各分別為 UV 處理前之 1.0、0.6 及 0.4 倍。正對照組 EGCG 於濃度 1 μM 之 MMP-9 表現為 UV 處理前之 1.3

倍。

2. UV 對 MAP kinase 的影響

試驗方法同 (六) 1. UV 對 MMP-1, -3, -9 之表現。試驗後觀察 MAP kinase 磷酸化之改變。結果如圖 22 所示，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm² 照射後，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm² 照射後，JNK 磷酸化輕微增加為 UV 處理前之 1.0 倍。而經白藜蘆萃取物處理，於濃度 50、100 及 200 μg/mL 之 *p*-JNK 表現各分別為 UV 處理前之 1.0、1.0 及 0.9 倍。正對照組 EGCG 於 1 μM 之 *p*-JNK 表現為 UV 處理前之 0.9 倍。

纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm² 照射後，ERK 磷酸化減少為 UV 處理前之 1.2 倍。而經白藜蘆萃取物處理，於濃度 50、100 及 200 μg/mL 之 *p*-ERK 表現，各分別為 UV 處理前之 0.7、0.7 及 0.4 倍。正對照組 EGCG 於濃度 1 μM 之 *p*-ERK 表現為 UV 處理前之 0.5 倍。

(七) 白藜蘆萃取物對抗光癌化之作用與機制

1. UV 對 bcl-2 的影響

bcl-2 表現之變化結果如圖 23，纖維母細胞經 UV 80 mJ/cm² 照射後，bcl-2 表現為 UV 處理前之 0.8 倍。而經白藜蘆萃取物處理，於濃度 50、100 及 200 μg/mL 之 bcl-2 表現，各分別為 UV 處理前之 0.8、0.8 及 0.8 倍。正對照組 EGCG 於濃度 10 μM 之 bcl-2 表現為 UV 處理前之 0.8 倍。

(八) 蜜紅葡萄萃取物對光老化之作用與機制

1. UV 對 MMP -3, -9 之表現

UV 照射能量選擇 UV 40 mJ/cm² 進行實驗。以濃度 5~50 μM 之蜜紅葡萄萃取物分別預先處理纖維母細胞 1 小時，再照射 UV 40 mJ/cm²，續以各濃度之蜜紅葡萄萃取物處理 24 小時，觀察 MMP -3, -9 表現之變化。結果如圖 24 所示，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm² 照射後，MMP-3 表現為 UV 處理前之 1.1 倍。而經蜜紅葡萄萃取物處理，於濃度 50、100 及 200 μg/mL 之 MMP-3 表現各分別為 UV 處理前之 1.0、1.0 及 1.0 倍。正對照組 EGCG 於 1 μM 之 MMP-3 表現為 UV 處理前之 1.2 倍。

MMP-9 表現之變化結果如圖 24，纖維母細胞經 UV 40

mJ/cm² 照射後，MMP-9 表現為 UV 處理前之 1.2 倍。而經蜜紅葡萄萃取物處理，於濃度 50、100 及 200 µg/mL 之 MMP-9 表現，各分別為 UV 處理前之 1.1、1.0 及 0.9 倍。正對照組 EGCG 於濃度 1 µM 之 MMP-9 表現為 UV 處理前之 1.2 倍。

2. UV 對 MAP kinase 的影響

試驗方法同 (八) 1. UV 對 MMP -3, -9 之表現。試驗後觀察 MAP kinase 磷酸化之改變。結果如圖 25 所示，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm² 照射後，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm² 照射後，JNK 磷酸化輕微增加為 UV 處理前之 1.5 倍。而經蜜紅葡萄萃取物處理，於濃度 50、100 及 200 µg/mL 之 *p*-JNK 表現各分別為 UV 處理前之 1.2、1.5 及 0.9 倍。正對照組 EGCG 於 1 µM 之 *p*-JNK 表現為 UV 處理前之 0.9 倍。

纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm² 照射後，ERK 磷酸化增加為 UV 處理前之 1.8 倍。而經蜜紅葡萄萃取物處理，於濃度 50、100 及 200 µg/mL 之 *p*-ERK 表現，各分別為 UV 處理前之 1.5、1.9 及 1.6 倍。正對照組 EGCG 於濃度 1 µM 之 *p*-ERK 表現為 UV 處理前之 1.7 倍。

3. UV 對 Smad-3, -7 和 *c*-Jun, *c*-Fos 的影響

試驗方法同 (八) 1. UV 對 MMP -3, -9 之表現。試驗後觀察 Smad-3, -7 和 *c*-Jun, *c*-Fos 之改變。結果如圖 26 所示，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm² 照射後，Smad-3 表現為 UV 處理前之 0.8 倍。而經蜜紅葡萄萃取物處理，於濃度 50、100 及 200 µg/mL 之 Smad-3 表現各分別為 UV 處理前之 1.1、0.6 及 0.7 倍。正對照組 EGCG 於 1 µM 之 Smad-3 表現為 UV 處理前之 0.5 倍。

Smad-7 表現之變化結果如圖 26，纖維母細胞經 UV 40 mJ/cm² 照射後，Smad-7 表現為 UV 處理前之 1.0 倍。而經蜜紅葡萄萃取物處理，於濃度 50、100 及 200 µg/mL 之 Smad-7 表現各分別為 UV 處理前之 0.9、0.9 及 0.9 倍。正對照組 EGCG 於 1 µM 之 Smad-7 表現為 UV 處理前之 1.0 倍。

四、蜜紅葡萄莖 50% 乙醇萃取物與白藜 50% 乙醇萃取物之 NLC 製作與經皮吸收實驗

(一) 含蜜紅葡萄萃取物及白藜萃取物之 NLC 劑型物化性質

圖 27 表示四種不同劑型之 NLC 空白組與包覆蜜紅葡萄萃取物及白藜萃取物之粒子平均粒徑，其中 HR 為蜜紅葡萄 50% 乙醇萃取物之簡稱，而 AR 為白藜 50% 乙醇萃取物之簡稱。含蜜紅葡萄萃取物之 NLC 劑型粒子平均粒徑範圍為 141~210 nm，而含白藜萃取物之 NLC 劑型粒子平均粒徑範圍為 131~258 nm。由圖中顯示，包覆蜜紅葡萄萃取物之 NLC-My-Pf 和未包覆 NLC-My-Pf 空白劑型相比，粒子粒徑大小沒有明顯變化，而包覆白藜萃取物之 NLC-My-Pf 粒子粒徑有明顯 ($p<0.001$) 增加。而 NLC-My-Tw 包覆蜜紅葡萄萃取物與白藜萃取物之粒徑大小都較 NLC-My-Tw 空白劑型小。而以 NLC-Le-Pf 包覆蜜紅葡萄萃取物後，其粒徑有所下降，包覆白藜萃取物對粒徑大小則無影響。以 NLC-Le-Tw 包覆蜜紅葡萄萃取物對粒徑大小無影響，包覆白藜萃取物後其粒徑則會下降。

圖 28 表示四種不同劑型之 NLC 空白組與包覆蜜紅葡萄萃取物及白藜萃取物之 PDI 值，不論包覆蜜紅葡萄萃取物或白藜萃取物，其粒子分散度指標值皆小於 0.3，顯示分散度良好。

圖 29 表示四種不同劑型之 NLC 空白與包覆蜜紅葡萄萃取物及白藜萃取物之表面電位，由表 1 及表 2 可知以 NLC-My-Pf、NLC-My-Tw 及 NLC-Le-Tw 包覆不論是蜜紅葡萄萃取物或白藜萃取物，其表面電位皆會有所上升 ($p<0.001$)，但以 NLC-Le-Pf 包覆蜜紅葡萄萃取物反會使表面電位下降，包覆白藜萃取物則無太大變化。綜觀結果，四種包覆蜜紅葡萄萃取物之 NLC 劑型其表面電位介於 -29~-38 mV 之間，而包覆白藜萃取物之 NLC 劑型其表面電位介於 -26~-36 mV 之間。

(二) 載體安定性實驗

由圖 30 可發現四種不同 NLC 劑型包覆蜜紅葡萄萃取物或白藜萃取物後，在第 0 天所製備之粒徑由大到小依序排列皆為 NLC-My-Pf、NLC-Le-Pf、NLC-Le-Tw 與 NLC-My-Tw。經過二週後，包覆蜜紅葡萄萃取物之 NLC 劑型，除 NLC-My-Tw 粒徑由 141.93 ± 5.9 nm 增加為 160.43 ± 4.3 nm ($p<0.05$)，NLC-Le-Pf 粒徑由 194.33 ± 1.0 nm 下降為 185.23 ± 3.1 nm ($p<0.01$) 外，其餘變化皆無顯著性差異。而包覆白藜萃取物之 NLC 劑型，除

NLC-My-Tw 粒徑由 128.37 ± 4.2 nm 增加為 165.57 ± 0.6 nm ($p < 0.001$) 具顯著性差異外，其餘劑型皆無明顯變化。其時間與分散指數變化柱狀圖如圖 31，在二週內的分散指數皆在 0.1~0.3 範圍之間波動，表分散度良好。四種不同劑型之 NLC 包覆蜜紅葡萄萃取物與白藜萃取物其時間與粒子表面電位變化如圖 32，二週內包覆蜜紅葡萄萃取物之 NLC 劑型除 NLC-My-Pf 由 -30 mV 升為 -29 mV 外 ($p < 0.05$)，其餘皆無明顯變化，然包覆白藜萃取物之 NLC 劑型其表面電位皆有明顯變化，NLC-My-Pf 由 -30 mV 降為 -34 mV ($p < 0.01$)，NLC-My-Tw 由 -27 mV 降為 -35 mV ($p < 0.001$)，NLC-Le-Pf 由 -39 mV 升為 -33 mV ($p < 0.001$)，NLC-Le-Tw 由 -35 mV 升為 -29 mV ($p < 0.001$)，綜觀以上結果雖有少許下降，但所有劑型之表面電位皆介於 -25~-35 mV 之間。

(三) 體外經皮吸收試驗受藥端溶液清除 DPPH 之能力

由於萃取物的成分複雜，並考量到其中有效指標成分 myricetin 和 resveratrol 低於高效能液相層析儀的最低定量濃度 (limit of quantity, LOQ) 所以不適宜定量分析指標成分穿透皮膚的含量。但為了釐清以 NLC 劑型包覆萃取物後是否能促進萃取物之穿透效果，依據 (98) 年度「台灣產葡萄科植物應用於抗光老化化妝品之開發—抑制基質金屬蛋白酶及彈力蛋白酶之探討」，發現蜜紅葡萄及白藜具有強抗氧化作用，其 DPPH 試驗 IC_{50} 分別為 24.5 ± 3.2 $\mu\text{g/mL}$ 及 10.5 ± 3.1 $\mu\text{g/mL}$ ，因此採用以 NLC 包覆與未包覆之檢品，進行體外經皮吸收試驗受藥端溶液清除 DPPH 實驗，作為萃取物是否經穿透皮膚且具抗氧化活性 (Mahdi et al., 2011)。

以下為利用 6~8 週齡的無毛鼠皮膚進行包覆蜜紅葡萄萃取物與白藜萃取物之體外穿透實驗結果，以評估四種不同處方之 NLC 劑型個別促進萃取物經皮膚吸收後清除 DPPH 自由基的能力。

從圖 33 發現，四種不同 NLC 劑型包覆蜜紅葡萄萃取物後，以 NLC-My-Tw 清除 DPPH 能力最佳，其清除率高於同樣含有 5 mg 蜜紅葡萄萃取物的懸浮液(控制組)，且在第 10 小時達到最大清除率 $47.9 \pm 3.8\%$ ，其次為 NLC-Le-Tw，其清除率亦高於控制組，惟在第 12 小時低於控制組，其中以 NLC-My-Pf 清

除 DPPH 的能力最差。

圖 34 為四種不同的 NLC 劑型包覆白藜萃取物後，清除 DPPH 能力之比較圖，發現以 NLC-My-Tw 之清除 DPPH 能力為最佳，在第 10 小時高於同樣含有 5 mg 白藜萃取物的懸浮液(控制組)，且達最大清除率 $53.3 \pm 2.3\%$ ，其次為 NLC-Le-Tw，其清除率在 6 小時達到 $43.4 \pm 2.6\%$ ，較低者為 NLC-My-Pf 及 NLC-Le-Pf，其中又以 NLC-Le-Pf 較為差。

從以上結果發現，四種不同 NLC 劑型會因界面活性劑的不同而影響萃取物穿透後清除 DPPH 的能力，以 Tween 80 系統優於 Pluronic F 68 系列。

(四) 經皮試驗後之皮膚均質液清除 DPPH 能力

將上述經皮試驗後的裸小鼠皮膚均質化，再利用甲醇復溶進行清除 DPPH 自由基的簡單試驗。結果如圖 35 所示，當包覆白藜萃取物的四種不同劑型平均清除力為 $4.98 \pm 1.33\%$ ，四者並無顯著性差異。而包含蜜紅葡萄萃取物的四種處方中以 NLC-My-Tw 系統清除力 $16.96 \pm 0.52\%$ 最高，是 NLC-Le-Pf 的 2.12 倍，NLC-Le-Tw 的 3.53 倍。包覆蜜紅葡萄萃取物的 NLC-My-Pf 的結果未列在本圖中，乃因結果呈負值需進一步確認驗證。

(五) 體外釋放後清除 DPPH 能力

圖 36 及圖 37 發現體外釋放後清除 DPPH 能力在第 30 小時的時候包覆蜜紅葡萄萃取物者，以 NLC-Le-Pf 為佳，其次為 NLC-Le-Tw。然包覆白藜萃取物以 NLC-Le-Tw 為佳，NLC-Le-Pf 次之。且不論包覆蜜紅萃取物或白藜萃取物，以 NLC-My-Tw 包覆之劑型皆在第 10 小時達最大清除率，而以 NLC-My-Pf 包覆蜜紅葡萄萃取物同樣在第 10 小時達到最大清除率，包覆白藜萃取物則在第 8 小時達到最大清除率。

從以上結果發現，萃取物釋放後清除 DPPH 能力同樣受到界面活性劑之影響，在時間較長的情況下以 Lecithin 系統優於 Myverol 系統，而添加 Myverol 之 NLC 劑型會在第 8-10 小時間達最大清除率。

肆、討論

當皮膚受到紫外線的暴露後，會增加 ROS 的產生，並調控基因及蛋白質的表現，進而造成皮膚光老化 (Brenneisen et al., 2002b; Hase et al., 2000)。其主要機轉為，ROS 會促使 ERK、JNK 及 p38 磷酸化，並活化 AP-1，接著誘導 MMPs 的表現，而降解膠原蛋白，並同時影響 TGF- β 之訊號傳遞，使膠原蛋白的合成減少，形成皮膚老化 (Park et al., 2012; Rittie and Fisher, 2002)。許多文獻皆證實若有效抑制 MMPs、MAP kinase 與 AP-1 訊息傳遞，可減緩皮膚老化 (Kim et al., 2012; Park et al., 2012; Wen et al., 2011)。因此，針對 myricetin、quercetin、白藜蘆提取物及蜜紅葡萄萃取物等進行探討是否可抑制人類纖維母細胞經 UVB 誘導之 MMPs 表現，並進一步探討其上游之訊號傳遞。實驗結果顯示 UVB 40 mJ/cm² 會誘導纖維母細胞 MAP kinase 磷酸化、c-Jun、c-Fos 及 MMP-1, -3, -9 之蛋白質表現增加。經 myricetin、quercetin、白藜蘆提取物及蜜紅葡萄萃取物等處理後可使 MAP kinase 磷酸化、c-Jun、c-Fos 及 MMP-1, -3, -9 蛋白質表現量下降。

此外，已證實 UVB 會造成 DNA 產生損傷。若誘導細胞凋亡或修復 DNA 損傷，可減少已受損的細胞持續累積，避免造成惡性腫瘤的產生 (Katiyar et al., 2011)。實驗結果顯示 UVB 80 mJ/cm² 會誘導纖維母細胞 p21 與 p-p53 之表現及減少 bcl-2 之表現，並誘導細胞凋亡，然添加 myricetin 可穩定經 UV 照射後之纖維母細胞產生之細胞凋亡。此外，myricetin 可抑制 UV 所誘發之纖維母細胞 p-I κ B、NF κ B 與 MMP-2 之表現，減少光癌化之產生。

依據 (99) 年度「白藜蘆與蜜紅葡萄及其成分之製劑製備暨其抗光老化及抗光致癌性機制之探討」，發現包覆 myricetin 及 quercetin 之 NLC 系統的穿透速度、皮內含量和釋放速度最高，因此本年度計畫沿用 (99) 年度計畫之 NLC 系統包覆蜜紅葡萄莖 50% 乙醇萃取物及白藜蘆 50% 乙醇萃取物探討其劑型之物化性質及經皮吸收之效果。

四種不同界面活性劑系統中 (NLC-My-Pf, NLC-My-Tw, NLC-Le-Pf, NLC-Le-Tw) 油相界面活性劑 Myverol、Lecithin 其油水平衡指標 (Hydrophile-lipophile balance, HLB) 分別為 7 及 3，和 Pluronic F 68 與 Tween 80 兩種水相界面活性劑 HLB 依序為 29 和 15 (Fang et al., 2008)，配方中萃取物的濃度為 0.05% (w/v)。

從結果得知不論是包覆蜜紅葡萄萃取物或白藜蘆萃取物之 NLC，其粒徑

大小受 Pluronic F 68 與 Tween 80 兩種水相界面活性劑之影響較大，較不受油相界面活性劑 Myverol、Lecithin 之影響，其中以添加 Pluronic F 68 之配方粒徑較大，添加 Tween 80 之配方粒徑較小，可能是因水相界面活性劑比例較高，而對配方的粒子平均粒徑相對造成影響，此結果與(99)年計畫以 NLC 包覆 Myricetin、Quercetin 及 Resveratrol 之結果有相同趨勢。但界面活性劑的不同對包覆萃取物之 NLC 粒子分散度指標的變化較無明顯的相關性，而對粒子表面電位的影響除了 NLC-Le-Pf 系統外，其餘劑型在包覆蜜紅葡萄萃取物或白藜萃取物後，皆會使帶負電之表面電位上升，但所有 NLC 劑型之表面電位範圍還是介於 -25~-35 mV 之間。

在安定性試驗結果顯示，不論包覆蜜紅葡萄或白藜萃取物，在二週後除 NLC-My-Tw 系統之平均粒徑大小有增加外，其餘 NLC 劑型皆無明顯變化，而 NLC-My-Tw 系統之粒徑雖有增加但還是低於添加 Pluronic F 68 系統之 NLC。有關 PDI 值之結果顯示，有添加 Myverol 之劑型組，其 PDI 值會隨著時間而有所上升，但所有劑型之 PDI 值還是維持在 0.25 以下，顯示其分散度仍屬良好。雖添加 Myverol 劑型組之 PDI 值會隨著時間上升，但在包覆白藜萃取物後其表面電位絕對值會隨著時間而稍有增加，表示白藜可能具穩定含 Myverol NLC 之效果。

在體外皮膚穿透試驗，從經時累積穿透皮膚溶液（受藥端）之 DPPH 清除率的結果顯示，不論是包覆蜜紅葡萄萃取物或白藜萃取物，皆以 NLC-My-Tw 系統之清除率最好，並在第 10 個小時達到最高清除率，甚至高於同樣含有 0.05% (w/v) 萃取物的懸浮液(控制組)，因此我們認為以 NLC-My-Tw 系統包覆蜜紅葡萄萃取物或白藜萃取物具促進萃取物穿透皮膚之效果。另外此結果與粒子粒徑大小具相關性，添加 Pluronic F 68 之配方粒徑較大，其經時累積受藥端溶液之 DPPH 清除率也較低，而添加 Tween 80 之配方粒徑較小，其 DPPH 清除率亦相對較高，可能是因粒子小而較易穿透過皮膚。

於體外皮膚穿透試驗結束後，其皮膚均質液之 DPPH 清除率結果顯示，以 NLC-My-Tw 系統包覆蜜紅葡萄萃取物或白藜萃取物留存在皮內所含之抗氧化能力高於其他三個系統，此結果與經時累積受藥端溶液之 DPPH 清除率呈相同趨勢，顯示以 NLC-My-Tw 系統包覆蜜紅葡萄萃取物或白藜萃取物為一較佳的選擇。

在體外釋放後清除 DPPH 自由基方面，其 DPPH 清除率皆遠小於體外穿透皮膚試驗之受藥端溶液之 DPPH 清除率，推測其原因可能為選擇

之透析膜分子量不足以讓萃取物通過，而導致清除 DPPH 效果不佳。另有關油相界面活性劑之影響，在第 30 小時以含有 Lecithin 系統之 DPPH 清除率優於 Myverol 系統。

伍、結論與建議

一、抗皮膚光老化

- (一) Myricetin 可抑制 UV 所誘發之纖維母細胞 MMP-1, -3 之表現，而此活性係透過抑制 p-JNK 及 p-ERK，及抑制 Smad-7、c-Jun、c-fos 之表現。
- (二) 白藜萃取物可抑制 UV 所誘發之纖維母細胞 MMP-3, -9 之表現，而此活性係透過抑制 p-JNK 及 p-ERK 之表現。
- (三) 蜜紅葡萄萃取物可抑制 UV 所誘發之纖維母細胞 MMP-9 之表現，而此活性係透過抑制 p-JNK 及 p-ERK 之表現。

二、抗光致癌性

- (一) Myricetin 可增加經 UV 照射後之纖維母細胞產生細胞凋亡，經由減少 bcl-2、增加 p21 與 p-p53 之表現。且抑制 MMP-2 之表現。
- (二) Myricetin 可抑制 UV 所誘發之纖維母細胞 p-I κ B 與 NF κ B 之表現。
- (三) Quercetin 可增加經 UV 照射後之纖維母細胞產生細胞凋亡，經由減少 bcl-2 之表現。

三、NLC 之製備

- (一) 以 NLC-My-Tw 系統包覆含 0.05% (w/v) 白藜及蜜紅葡萄萃取物，其粒徑均最小。
- (二) 含 Myverol 之白藜萃取物 NLC 的安定性最佳。
- (三) 以 NLC-My-Tw 系統包覆蜜紅葡萄萃取物及白藜萃取物於體外穿透試驗，其經皮受藥端溶液之 DPPH 清除率最好。且其皮膚均質液之 DPPH 清除率亦是最好。
- (四) 擬添加促進劑於配方中，探討是否能有效提升萃取物之經皮吸收抗氧化效果。
- (五) 因 NLC-My-Tw 系統包覆蜜紅葡萄萃取物及白藜萃取物之穿透皮膚及皮內抗氧化活性最好，未來可利用此系統繼續進行後續實驗，如應用於動物試驗之作用探討等。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP100-RD-113 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. Aquino R, S Morelli, A Tomaino, M Pellegrino, A Saija, L Grumetto, C Puglia, D Ventura, and F Bonina: Antioxidant and photoprotective activity of a crude extract of *Culcitium reflexum* H.B.K. leaves and their major flavonoids. *Journal of ethnopharmacology* 2002; 79: 183-191.
2. Bachelor MA, and GT Bowden: UVA-mediated activation of signaling pathways involved in skin tumor promotion and progression. *Seminars in cancer biology* 2004; 14: 131-138.
3. Brenneisen P, H Sies, and K Scharffetter-Kochanek: Ultraviolet-B irradiation and matrix metalloproteinases: from induction via signaling to initial events. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2002a; 973: 31-43.
4. Brenneisen P, H Sies, and K Scharffetter-Kochanek: Ultraviolet-B irradiation and matrix metalloproteinases: from induction via signaling to initial events. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2002b; 973: 31-43.
5. Casagrande R, SR Georgetti, WA Verri, Jr., MF Borin, RF Lopez, and MJ Fonseca: In vitro evaluation of quercetin cutaneous absorption from topical formulations and its functional stability by antioxidant activity. *International journal of pharmaceutics* 2007; 328: 183-190.
6. Casagrande R, SR Georgetti, WA Verri, Jr., DJ Dorta, AC dos Santos, and MJ Fonseca: Protective effect of topical formulations containing quercetin against UVB-induced oxidative stress in hairless mice. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology* 2006; 84: 21-27.
7. Castelli F, C Puglia, MG Sarpietro, L Rizza, and F Bonina: Characterization of indomethacin-loaded lipid nanoparticles by differential scanning calorimetry. *International journal of pharmaceutics* 2005; 304: 231-238.
8. Cavalli R, MR Gasco, P Chetoni, S Burgalassi, and MF Saettone: Solid lipid nanoparticles (SLN) as ocular delivery system for tobramycin. *International*

- journal of pharmaceutics* 2002; 238: 241-245.
9. Chung JH: Photoaging in Asians. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* 2003; 19: 109-121.
 10. Cole CA, PD Forbes, and RE Davies: An action spectrum for UV photocarcinogenesis. *Photochem. Photobiol.* 1986; 43: 275-284.
 11. Cooper SJ, and GT Bowden: Ultraviolet B regulation of transcription factor families: roles of nuclear factor-kappa B (NF-kappaB) and activator protein-1 (AP-1) in UVB-induced skin carcinogenesis. *Current cancer drug targets* 2007; 7: 325-334.
 12. de Gruijl FR, HJ Sterenborg, PD Forbes, RE Davies, C Cole, G Kelfkens, H van Weelden, H Slaper, and JC van der Leun: Wavelength dependence of skin cancer induction by ultraviolet irradiation of albino hairless mice. *Cancer Res.* 1993; 53: 53-60.
 13. Fang JY, CL Fang, CH Liu, and YH Su: Lipid nanoparticles as vehicles for topical psoralen delivery: Solid lipid nanoparticles (SLN) versus nanostructured lipid carriers (NLC). *Eur J Pharm Biopharm* 2008; 70: 633-640.
 14. Fisher GJ, HC Choi, Z Bata-Csorgo, Y Shao, S Datta, ZQ Wang, S Kang, and JJ Voorhees: Ultraviolet irradiation increases matrix metalloproteinase-8 protein in human skin in vivo. *J. Invest. Dermatol.* 2001; 117: 219-226.
 15. Fisher GJ, SC Datta, HS Talwar, ZQ Wang, J Varani, S Kang, and JJ Voorhees: Molecular basis of sun-induced premature skin ageing and retinoid antagonism. *Nature* 1996; 379: 335-339.
 16. Hase T, K Shinta, T Murase, I Tokimitsu, M Hattori, R Takimoto, R Tsuboi, and H Ogawa: Histological increase in inflammatory infiltrate in sun-exposed skin of female subjects: the possible involvement of matrix metalloproteinase-1 produced by inflammatory infiltrate on collagen degradation. *The British journal of dermatology* 2000; 142: 267-273.
 17. Hu FQ, SP Jiang, YZ Du, H Yuan, YQ Ye, and S Zeng: Preparation and characteristics of monostearin nanostructured lipid carriers. *International journal of pharmaceutics* 2006; 314: 83-89.
 18. Hu FQ, Y Zhang, YZ Du, and H Yuan: Nimodipine loaded lipid nanospheres prepared by solvent diffusion method in a drug saturated aqueous system.

- International journal of pharmaceutics* 2008; 348: 146-152.
19. Jennings V, and SH Gohla: Encapsulation of retinoids in solid lipid nanoparticles (SLN). *Journal of microencapsulation* 2001; 18: 149-158.
 20. Katiyar SK, SK Mantena, and SM Meeran: Silymarin protects epidermal keratinocytes from ultraviolet radiation-induced apoptosis and DNA damage by nucleotide excision repair mechanism. *PloS one* 2011; 6: e21410.
 21. Kim KC, SS Kang, J Lee, D Park, and JW Hyun: Baicalein Attenuates Oxidative Stress-Induced Expression of Matrix Metalloproteinase-1 by Regulating the ERK/JNK/AP-1 Pathway in Human Keratinocytes. *Biomol Ther* 2012; 20: 57-61.
 22. Kitagawa S, Y Tanaka, M Tanaka, K Endo, and A Yoshii: Enhanced skin delivery of quercetin by microemulsion. *J Pharm Pharmacol* 2009; 61: 855-860.
 23. Kwa RE, K Campana, and RL Moy: Biology of cutaneous squamous cell carcinoma. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1992; 26: 1-26.
 24. Li D, TG Turi, A Schuck, IM Freedberg, G Khitrov, and M Blumenberg: Rays and arrays: the transcriptional program in the response of human epidermal keratinocytes to UVB illumination. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 2001; 15: 2533-2535.
 25. Li HL, XB Zhao, YK Ma, GX Zhai, LB Li, and HX Lou: Enhancement of gastrointestinal absorption of quercetin by solid lipid nanoparticles. *Journal of Controlled Release* 2009; 133: 238-244.
 26. Luo Y, DW Chen, LX Ren, XL Zhao, and J Qin: Solid lipid nanoparticles for enhancing vinpocetine's oral bioavailability. *Journal of Controlled Release* 2006; 114: 53-59.
 27. Mahdi ES, AM Noor, MH Sakeena, GZ Abdullah, MF Abdulkarim, and MA Sattar: Formulation and in vitro release evaluation of newly synthesized palm kernel oil esters-based nanoemulsion delivery system for 30% ethanolic dried extract derived from local *Phyllanthus urinaria* for skin antiaging. *International journal of nanomedicine* 2011; 6: 2499-2512.
 28. Matsui MS, and VA DeLeo: Photocarcinogenesis by ultraviolet A and B. *Skin Cancer: Mechanisms and Human Relevance.* CRC Press; Boca Raton

- 1995; 21-30.
29. Mehnert W, and K Mader: Solid lipid nanoparticles - Production, characterization and applications. *Advanced drug delivery reviews* 2001; 47: 165-196.
 30. Muller RH, RD Petersen, A Hommoss, and J Pardeike: Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. *Advanced drug delivery reviews* 2007; 59: 522-530.
 31. Muller RH, M Radtke, and SA Wissing: Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs. *International journal of pharmaceutics* 2002; 242: 121-128.
 32. Park G, DS Jang, and MS Oh: Juglans mandshurica leaf extract protects skin fibroblasts from damage by regulating the oxidative defense system. *Biochemical and biophysical research communications* 2012; 421: 343-348.
 33. Pfeifer GP, YH You, and A Besaratinia: Mutations induced by ultraviolet light. *Mutation research* 2005; 571: 19-31.
 34. Puglia C, P Blasi, L Rizza, A Schoubben, F Bonina, C Rossi, and M Ricci: Lipid nanoparticles for prolonged topical delivery: an in vitro and in vivo investigation. *International journal of pharmaceutics* 2008; 357: 295-304.
 35. Rittie L, and GJ Fisher: UV-light-induced signal cascades and skin aging. *Ageing research reviews* 2002; 1: 705-720.
 36. Saupe A, SA Wissing, A Lenk, C Schmidt, and RH Muller: Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) -- structural investigations on two different carrier systems. *Bio-medical materials and engineering* 2005; 15: 393-402.
 37. Scalia S, and M Mezzena: Incorporation of quercetin in lipid microparticles: Effect on photo- and chemical-stability. *J Pharmaceut Biomed* 2009; 49: 90-94.
 38. Smith GJ, SJ Thomsen, KR Markham, C Andary, and D Cardon: The photostabilities of naturally occurring 5-hydroxyflavones, flavonols, their glycosides and their aluminium complexes. *J Photoch Photobio A* 2000; 136: 87-91.
 39. Teskac K, and J Kristl: The evidence for solid lipid nanoparticles mediated cell uptake of resveratrol. *International journal of pharmaceutics* 2010; 390:

61-69.

40. Ulrich C, T Schmook, MM Sachse, W Sterry, and E Stockfleth: Comparative epidemiology and pathogenic factors for nonmelanoma skin cancer in organ transplant patients. *Dermatol. Surg.* 2004; 30: 622-627.
41. Vayalil PK, A Mittal, and SK Katiyar: Proanthocyanidins from grape seeds inhibit expression of matrix metalloproteinases in human prostate carcinoma cells, which is associated with the inhibition of activation of MAPK and NF kappa B (Retracted article. See vol. 33, pg. 1121, 2012). *Carcinogenesis* 2004; 25: 987-995.
42. Vicentini FTMC, SR Georgetti, JR Jabor, JA Caris, MVLB Bentley, and MJV Fonseca: Photostability of quercetin under exposure to UV irradiation. *Lat Am J Pharm* 2007; 26: 119-124.
43. Wen KC, IC Shih, JC Hu, ST Liao, TW Su, and HM Chiang: Inhibitory Effects of Terminalia catappa on UVB-Induced Photodamage in Fibroblast Cell Line. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM* 2011; 2011: 904532.
44. Yang SC, LF Lu, Y Cai, JB Zhu, BW Liang, and CZ Yang: Body distribution in mice of intravenously injected camptothecin solid lipid nanoparticles and targeting effect on brain. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society* 1999; 59: 299-307.

柒、圖、表

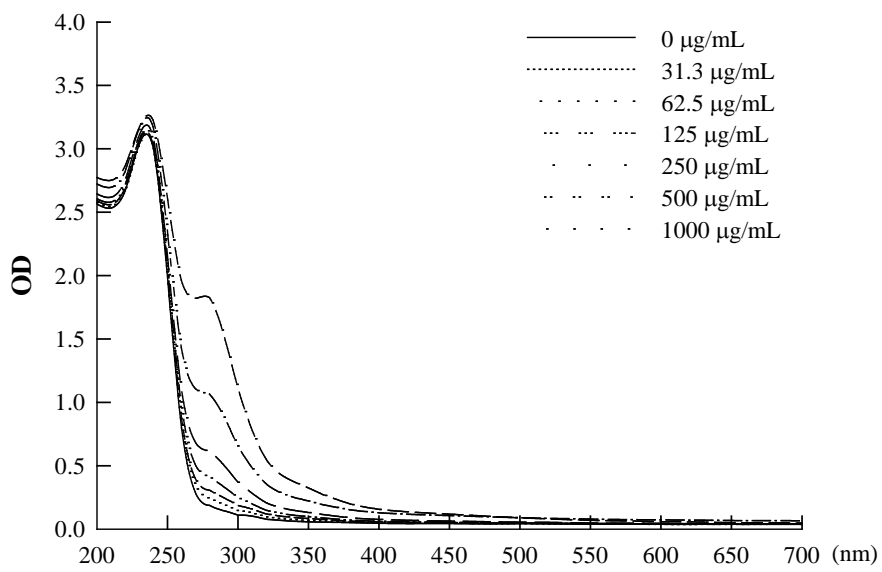


圖 1、50%白蔘根萃取物之吸光值特性

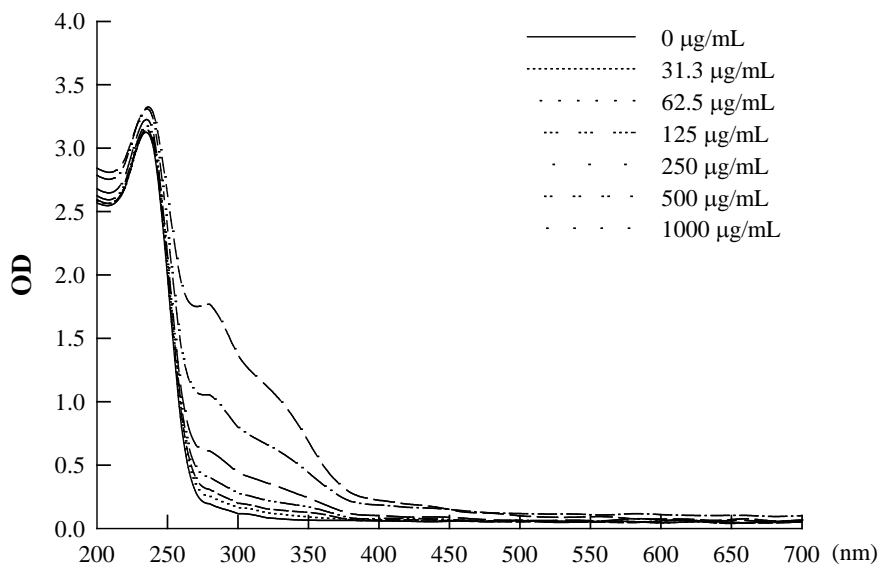


圖 2、50%蜜紅葡萄莖萃取物之吸光值特性

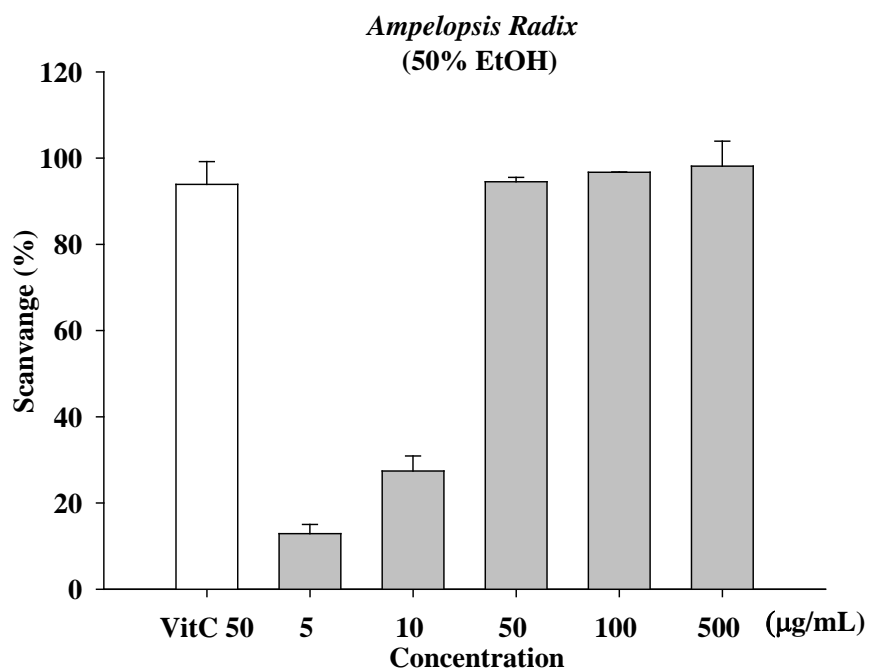


圖 3、50%白藜根萃取物之 DPPH 自由基清除活性評估

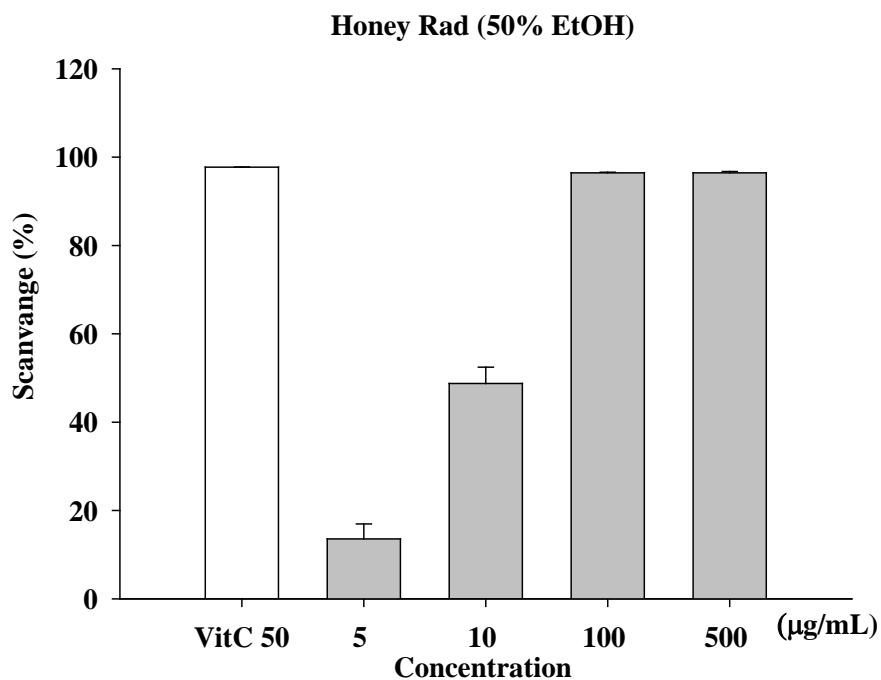


圖 4、50%蜜紅葡萄莖萃取物之 DPPH 自由基清除活性評估

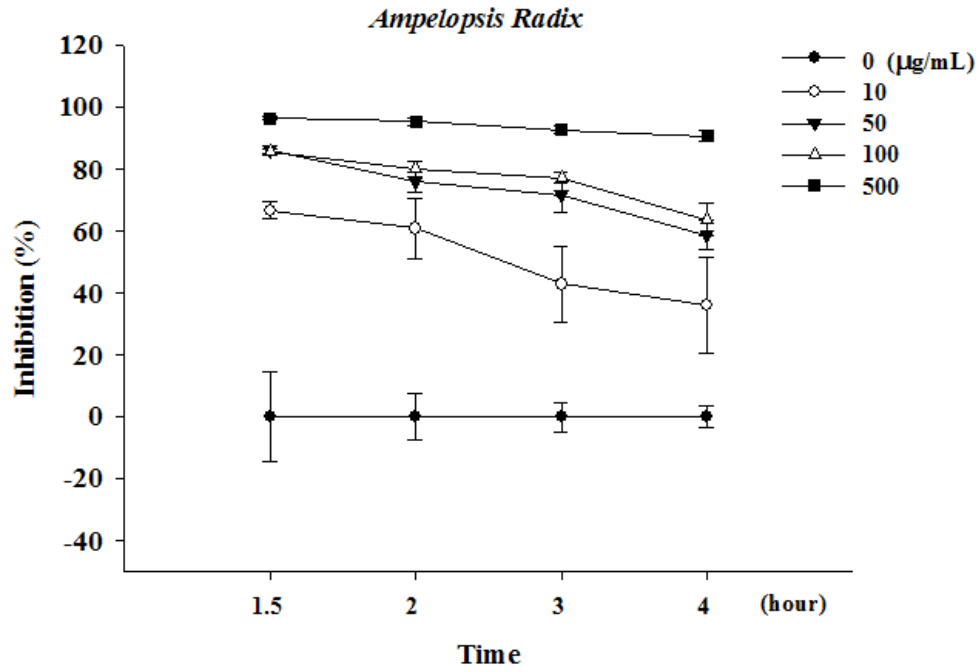


圖 5、50%白藜根萃取物之 AAPH 誘導紅血球溶血活性評估

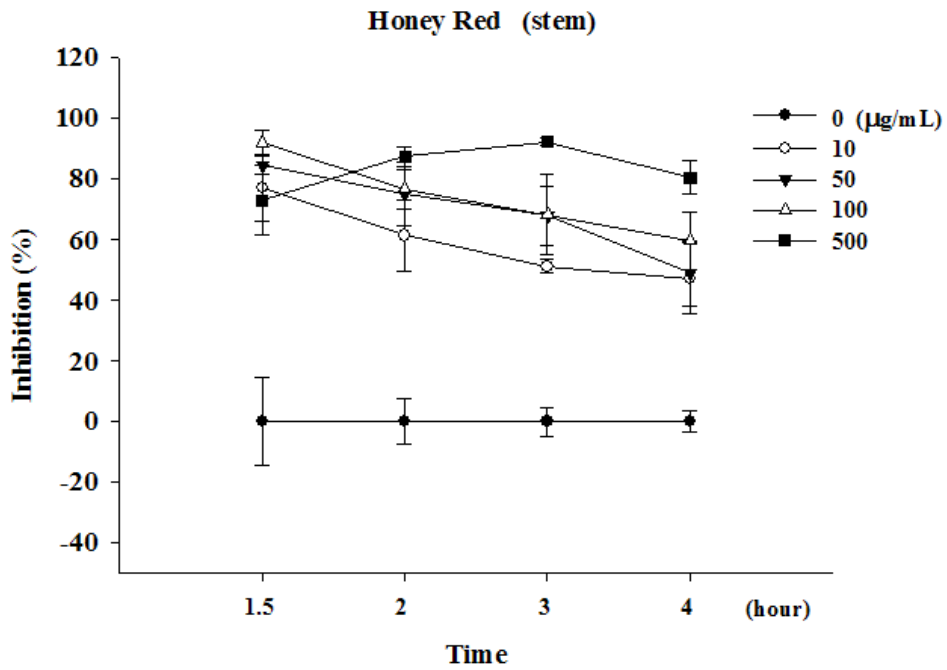


圖 6、50%蜜紅葡萄莖萃取物之 AAPH 誘導紅血球溶血活性評估

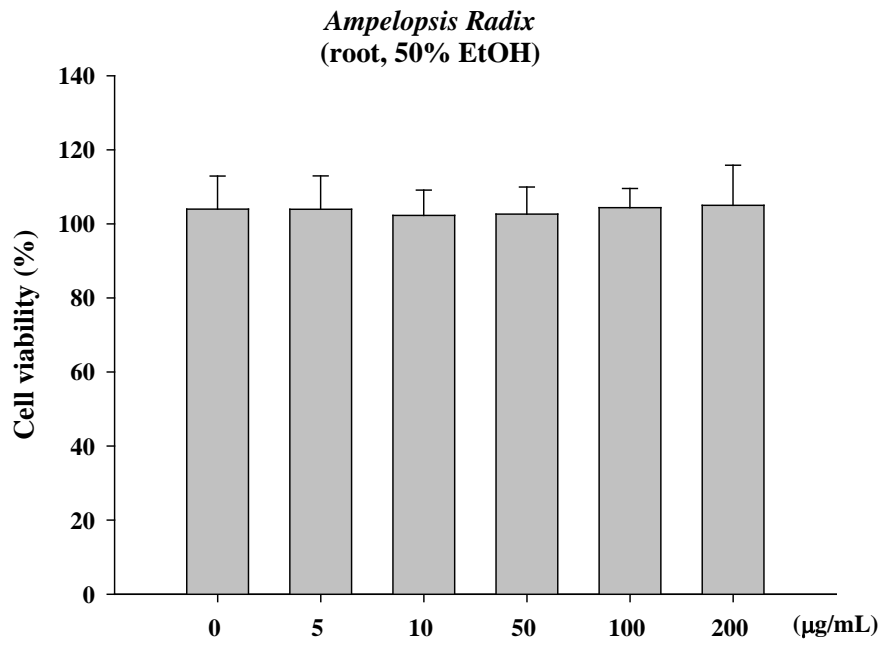


圖 7、50%白藜根萃取物之細胞存活率

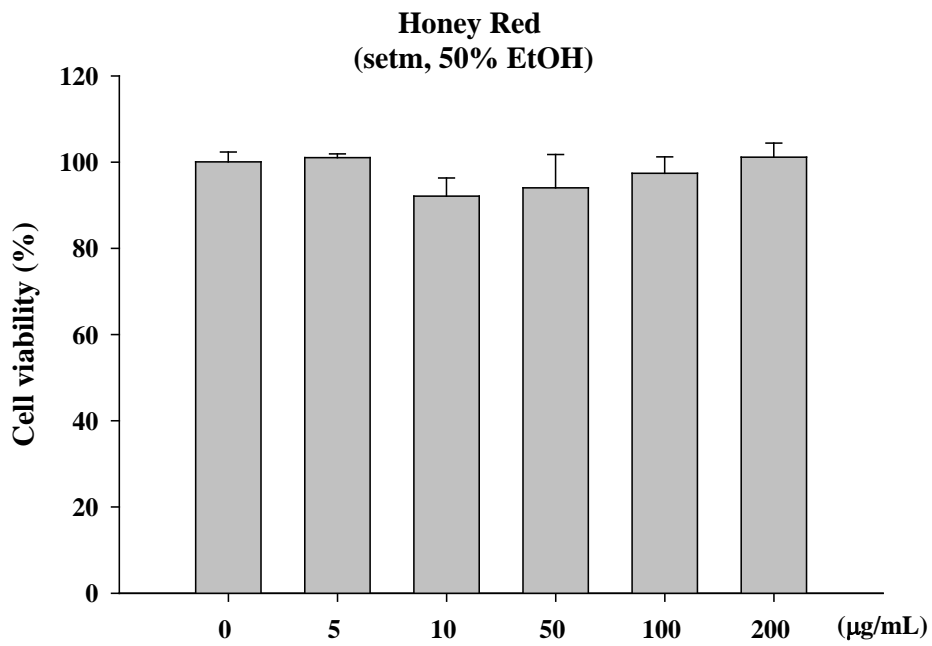


圖 8、50%蜜紅葡萄莖萃取物之細胞存活率

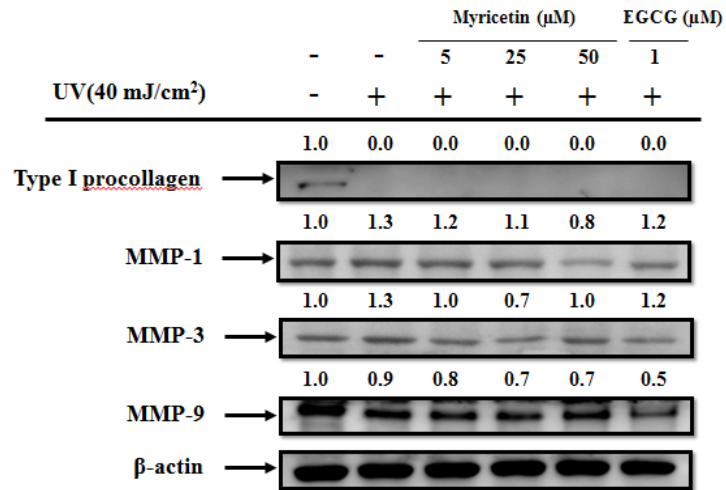


圖 9、Myricetin 對受到 UV 照射人類纖維母細胞其 Type I procollagen、MMP-1、MMP-3 及 MMP-9 表現量之影響。
EGCG:(-)-epigallocatechin gallate

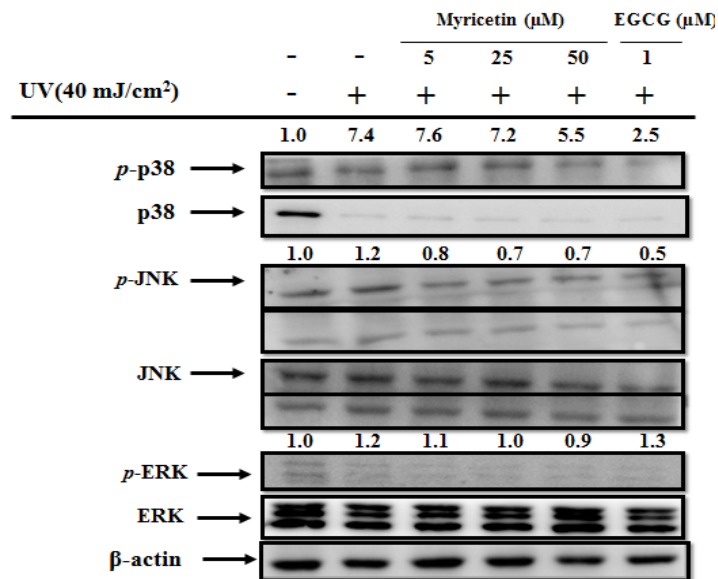


圖 10、Myricetin 對受到 UV 照射人類纖維母細胞其 MAPK kinase 磷酸化之影響。EGCG:(-)-epigallocatechin gallate

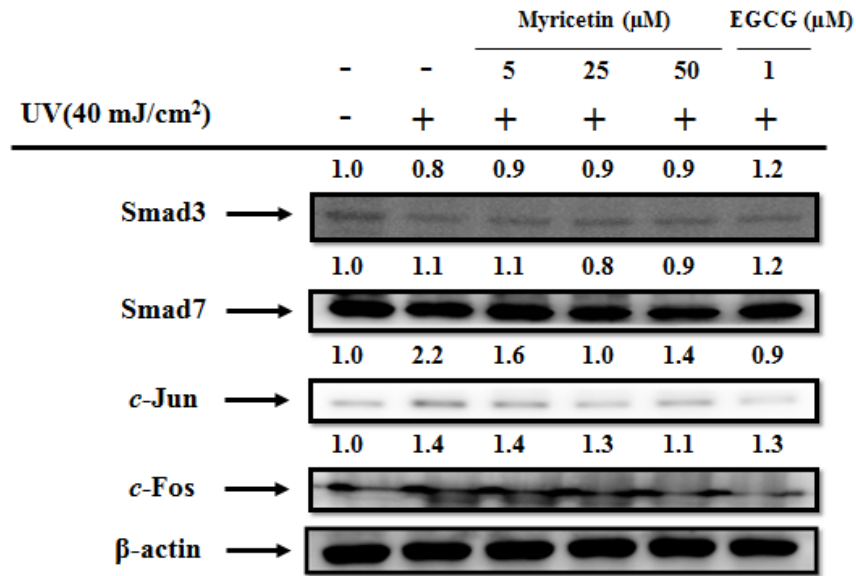


圖 11、Myricetin 對於受到 UV 誘發的人類纖維母細胞其 Smad3、Smad7、c-Jun 及 c-Fos 表現量之影響。EGCG:(-)-epigallocatechin gallate

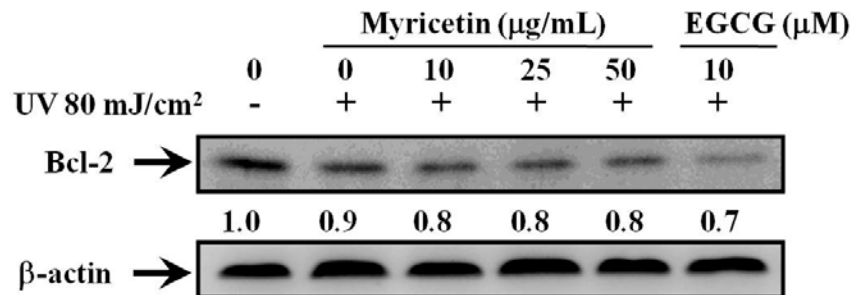


圖 12、Myricetin 對於受到 UV 誘發的人類纖維母細胞其 bcl-2 表現量之影響。EGCG:(-)-epigallocatechin gallate

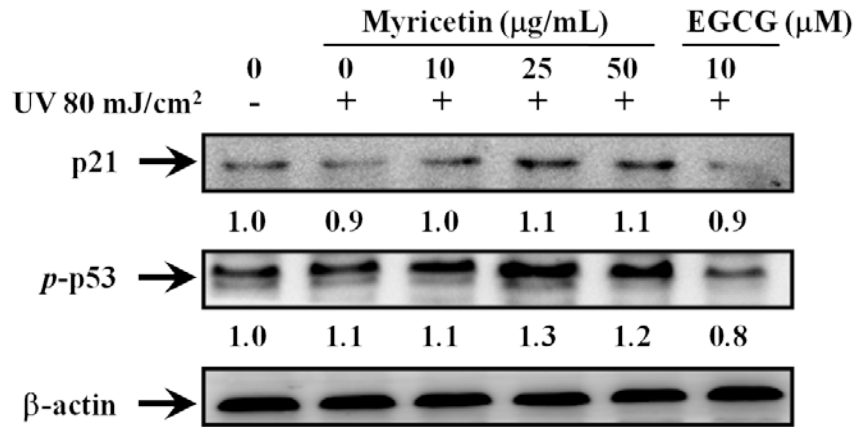


圖 13、Myricetin 對於受到 UV 誘發的人類纖維母細胞其 p21 與 p-p53 的表現量之影響。EGCG:(-)-epigallocatechin

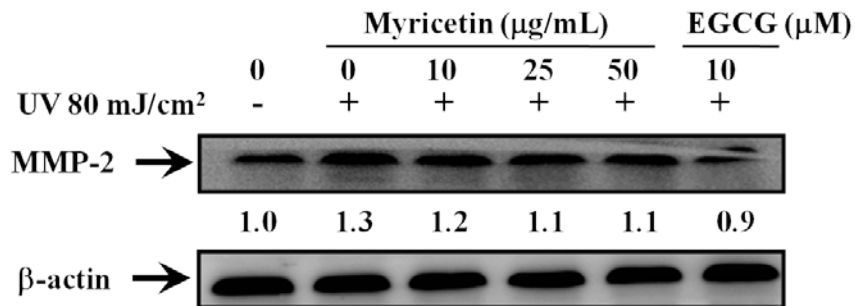


圖 14、Myricetin 對於受到 UV 誘發的人類纖維母細胞其 MMP-2 表現量之影響。EGCG:(-)-epigallocatechin

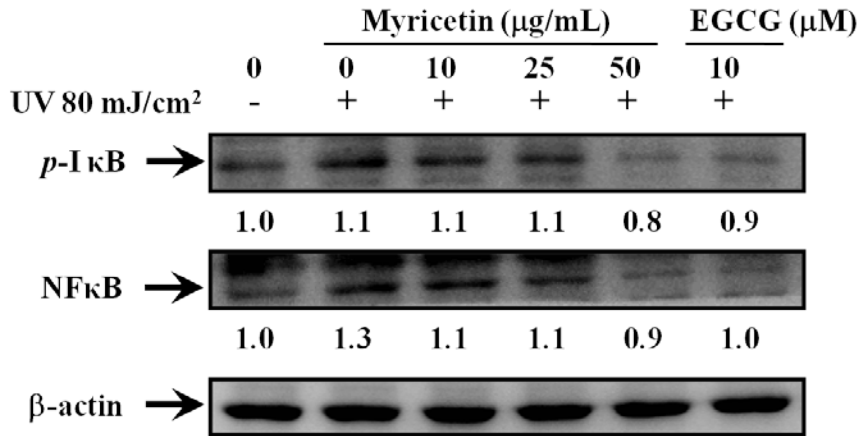


圖 15、Myricetin 對於受到 UV 誘發的人類纖維母細胞其 *p*-IκB 與 NFκB 表現量之影響。EGCG:(-)-epigallocatechin

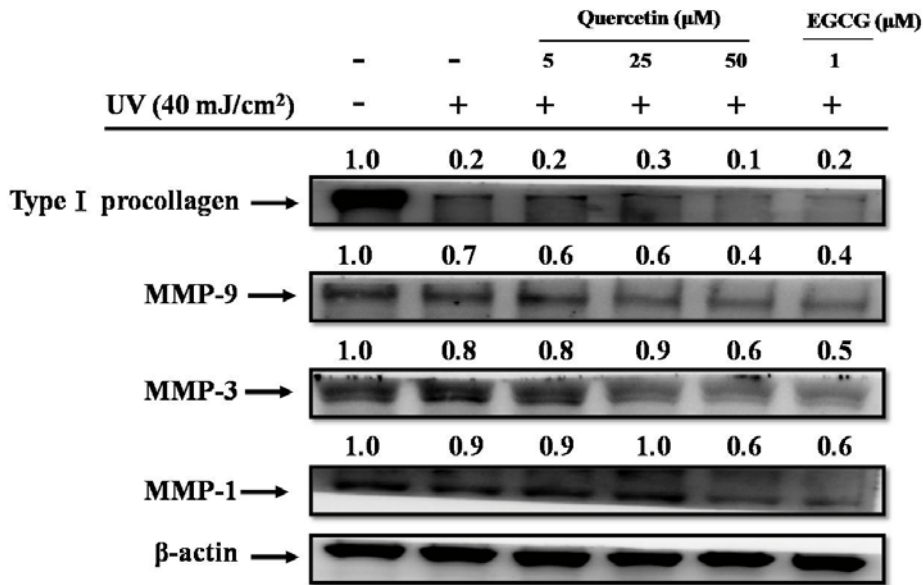


圖 16、Quercetin 對於受到 UV 誘發的人類纖維母細胞其膠原蛋白原、MMP-1、MMP-3 及 MMP-9 表現量之影響。EGCG:(-)-epigallocatechin gallate

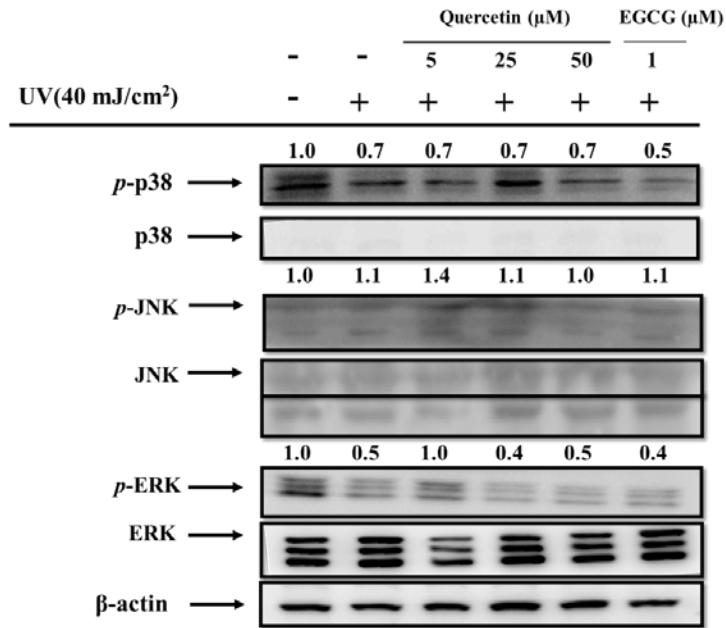


圖 17、Quercetin 對受到 UV 照射人類纖維母細胞其 MAPK kinase 磷酸化表現量之影響。EGCG:(-)-epigallocatechin gallate

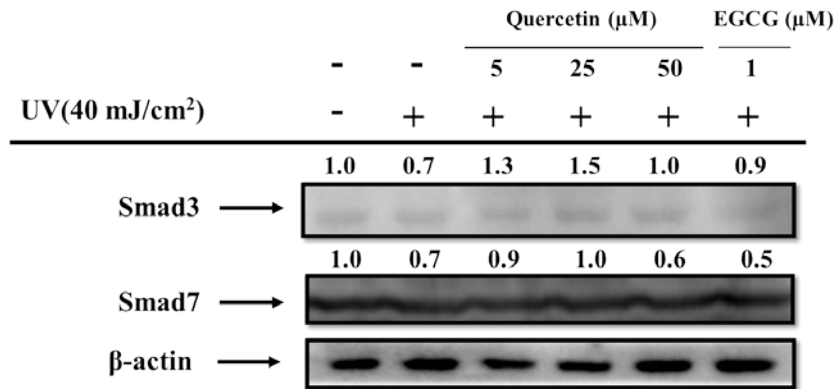


圖 18、Quercetin 對於受到 UV 誘發的人類纖維母細胞其 Smad3 及 Smad7 表現量之影響。EGCG:(-)-epigallocatechin gallate

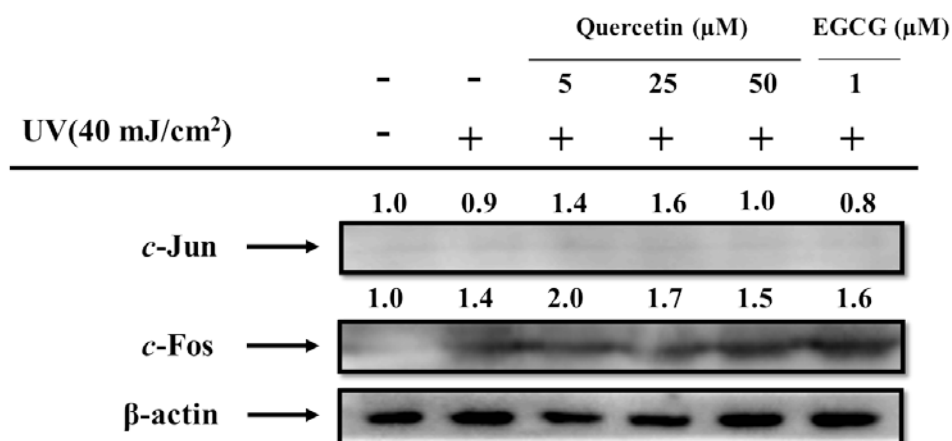


圖 19、Quercetin 對於受到 UV 誘發的人類纖維母細胞其 *c-Jun* 及 *c-Fos* 表現量之影響。EGCG:(-)-epigallocatechin gallate

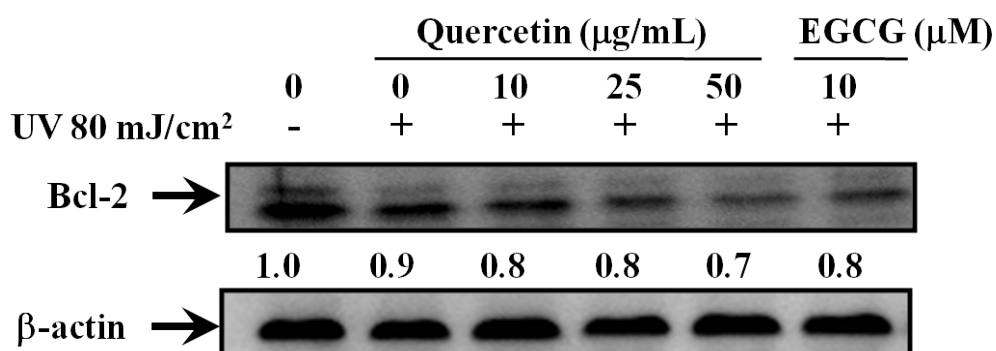


圖 20、Quercetin 對於受到 UV 誘發的人類纖維母細胞其 *bcl-1* 表現量之影響。EGCG:(-)-epigallocatechin gallate

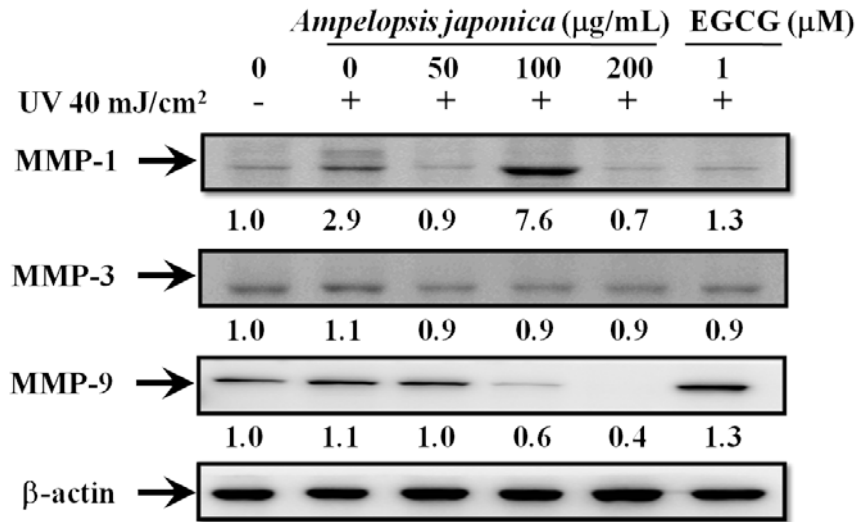


圖 21、白藜萃取物對於受到 UV 誘發的人類纖維母細胞其 MMP-1、MMP-3 及 MMP-9 表現量之影響。EGCG:(-)-epigallocatechin gallate

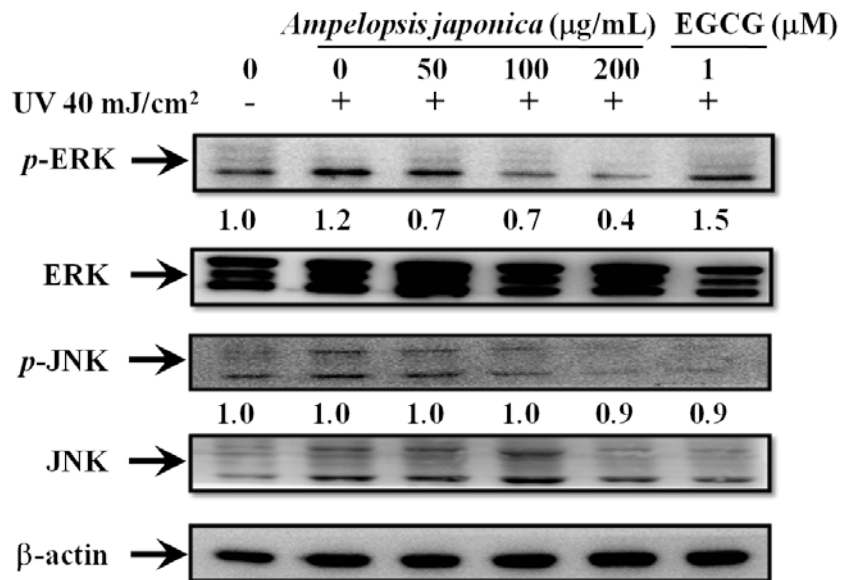


圖 22、白藜萃取物對受到 UV 照射人類纖維母細胞其 MAPK kinase 磷酸化表現量之影響。EGCG:(-)-epigallocatechin gallate

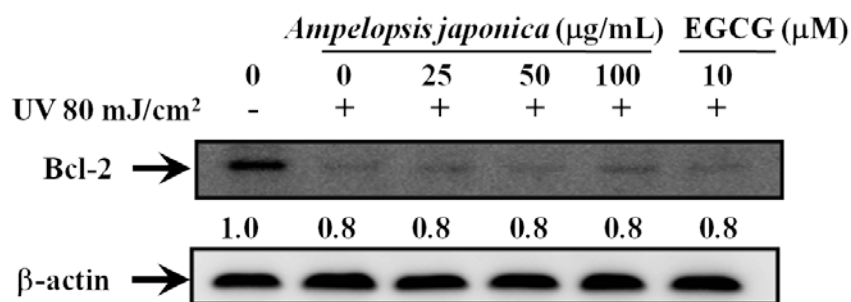


圖 23、白藜萃取物對受到 UV 照射人類纖維母細胞其 bcl-2 表現量之影響。
EGCG:(-)-epigallocatechin gallate

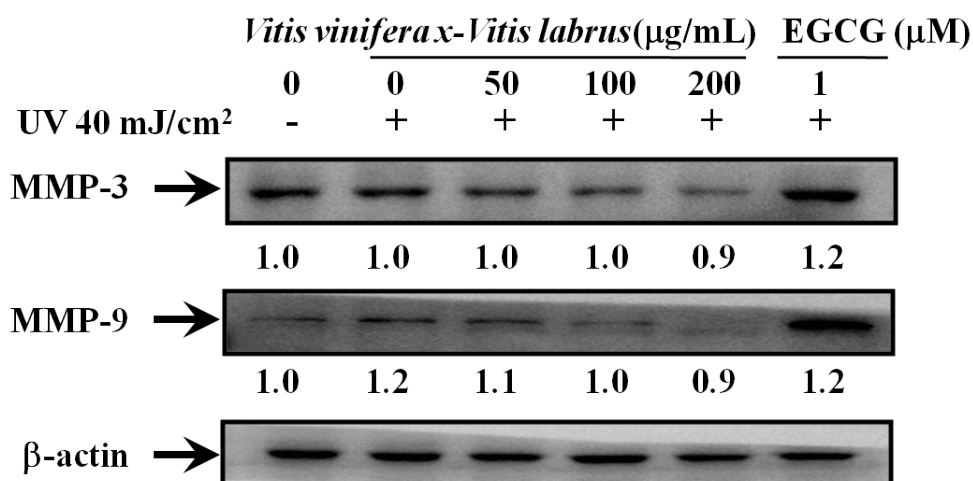


圖 24、蜜紅葡萄萃取物對於受到 UV 誘發的人類纖維母細胞其 MMP-3 及
MMP-9 表現量之影響。EGCG:(-)-epigallocatechin gallate

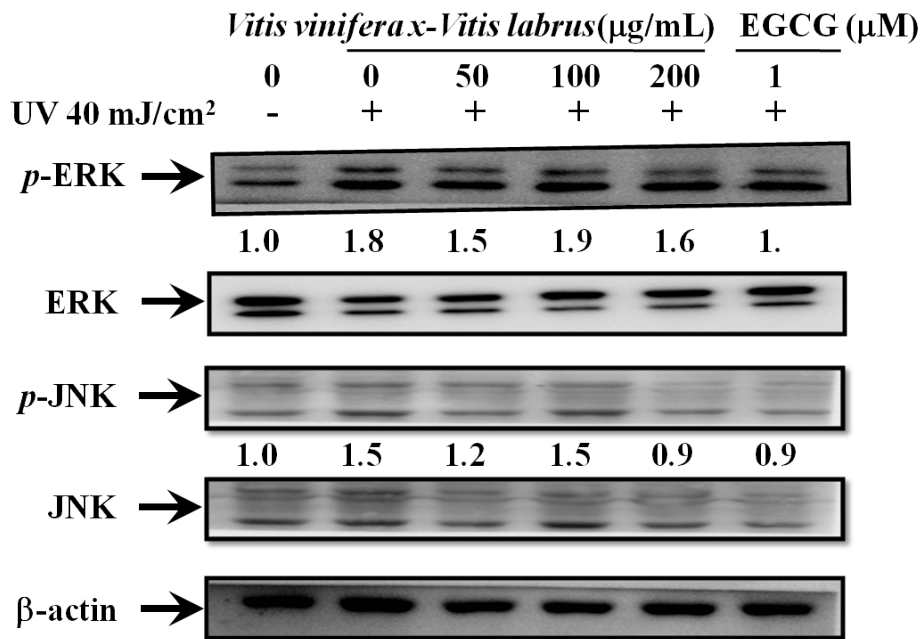


圖 25、蜜紅葡萄白藜萃取物對受到 UV 照射人類纖維母細胞其 MAPK kinase 磷酸化表現量之影響。EGCG:(-)-epigallocatechin gallate

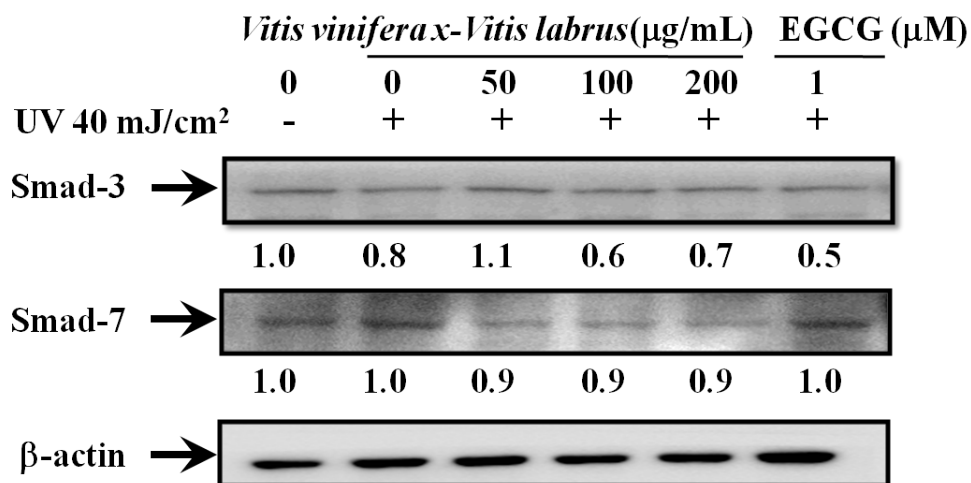


圖 26、蜜紅葡萄對於受到 UV 誘發的人類纖維母細胞其 Smad3 及 Smad7 表現量之影響。EGCG:(-)-epigallocatechin gallate

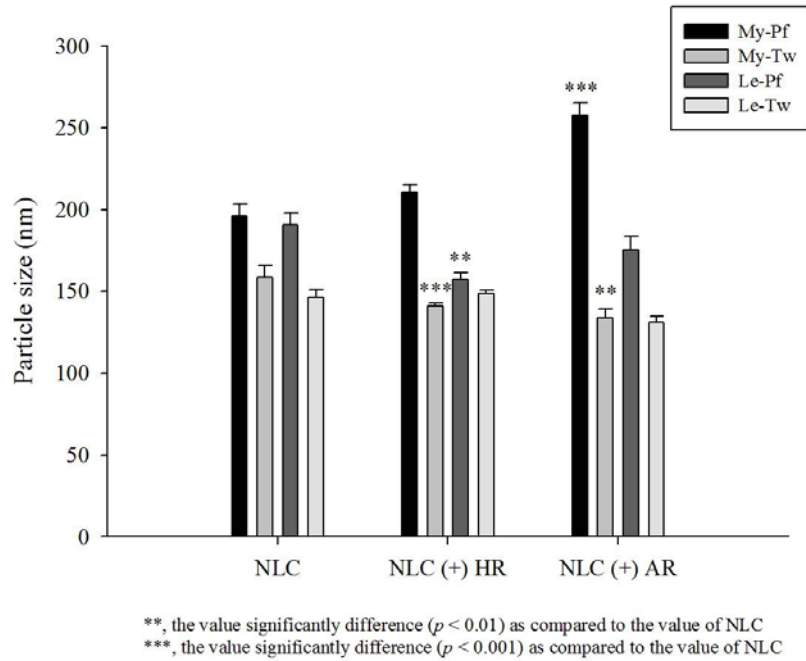


圖 27、四種 NLC 系統包覆蜜紅葡萄萃取物與白藜萃取物之粒徑大小

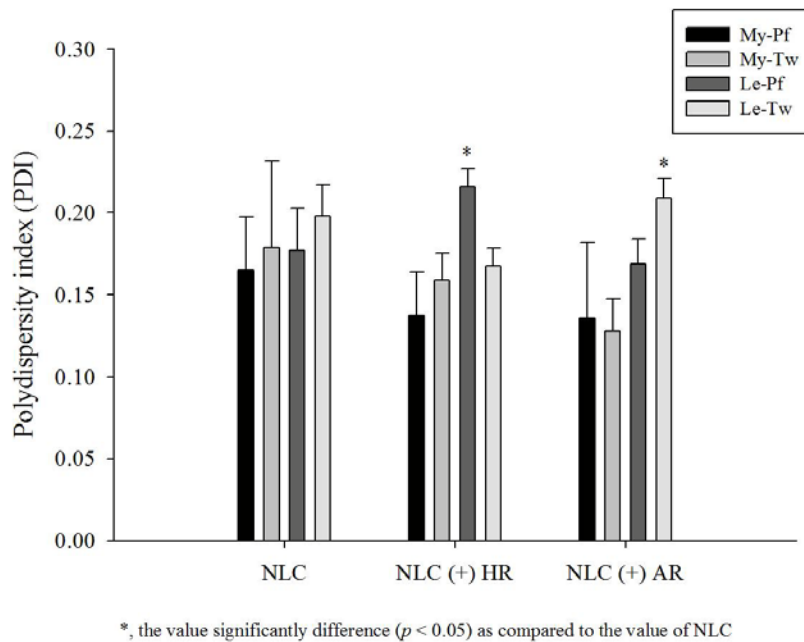


圖 28、四種 NLC 系統包覆蜜紅葡萄萃取物與白藜萃取物之粒子分散度指數

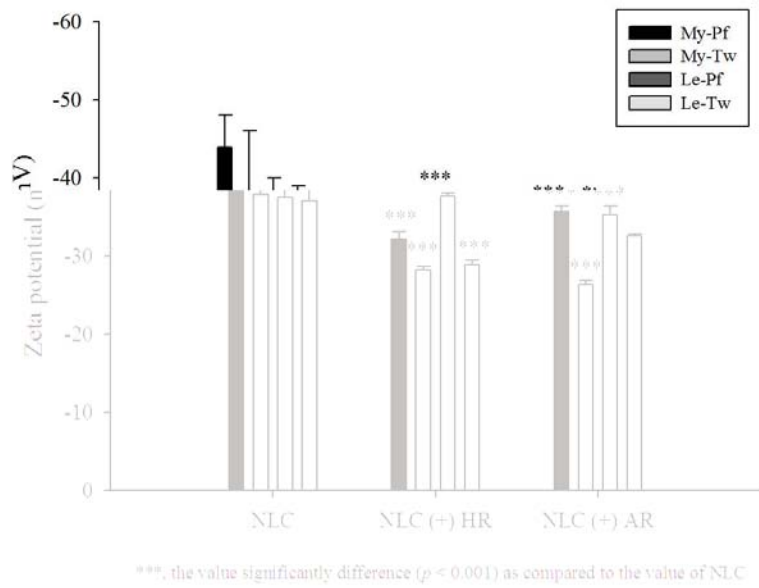


圖 29、四種 NLC 系統包覆蜜紅葡萄萃取物與白藜萃取物之粒子表面電位

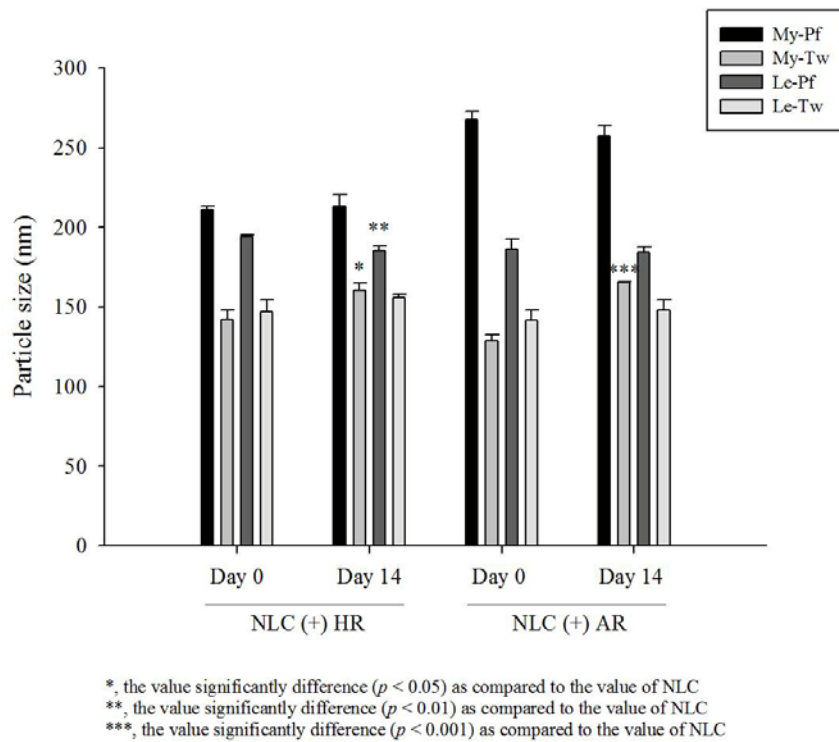


圖 30、四種 NLC 系統包覆蜜紅葡萄萃取物與白藜萃取物之時間與粒子粒徑變化圖

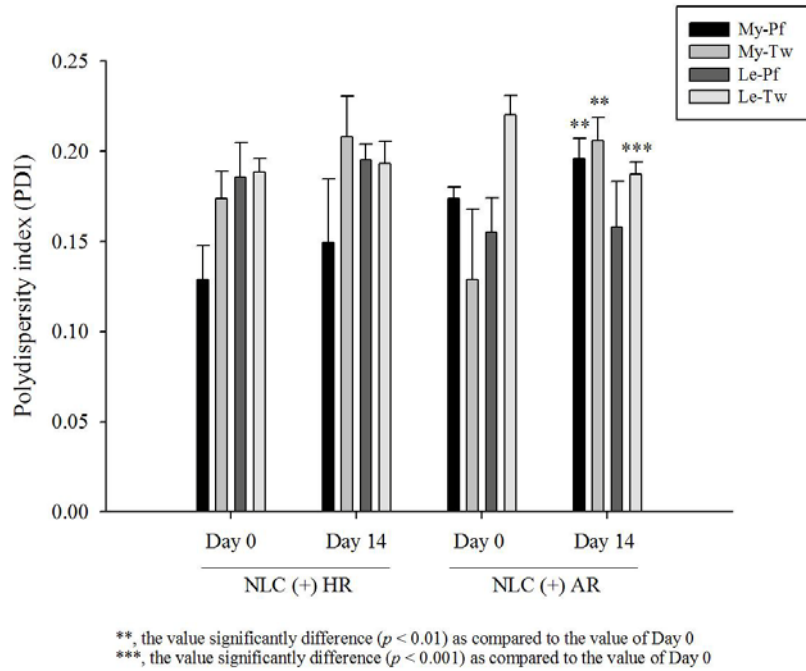


圖 31、四種 NLC 系統包覆蜜紅葡萄萃取物與白藜萃取物之時間與粒子分散度指數變化圖

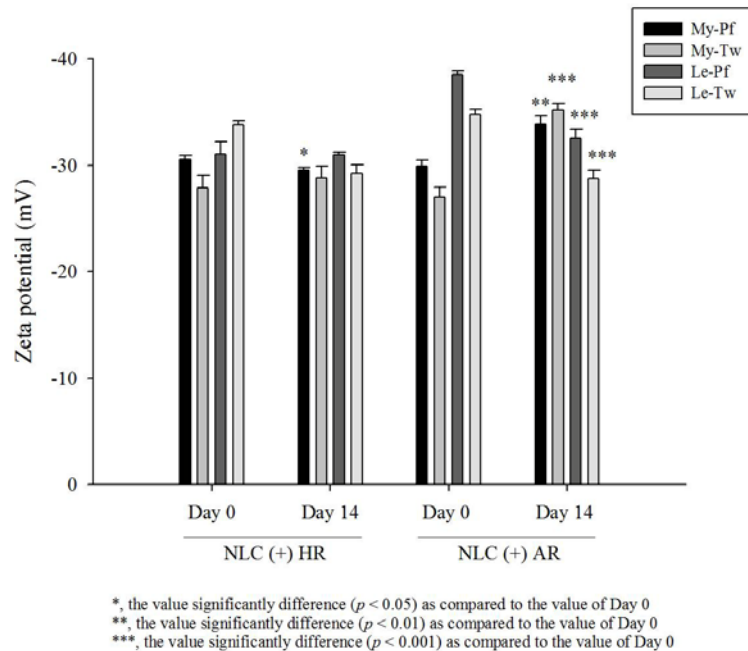


圖 32、四種 NLC 系統包覆蜜紅葡萄萃取物與白藜萃取物之時間與粒子表面電位變化圖

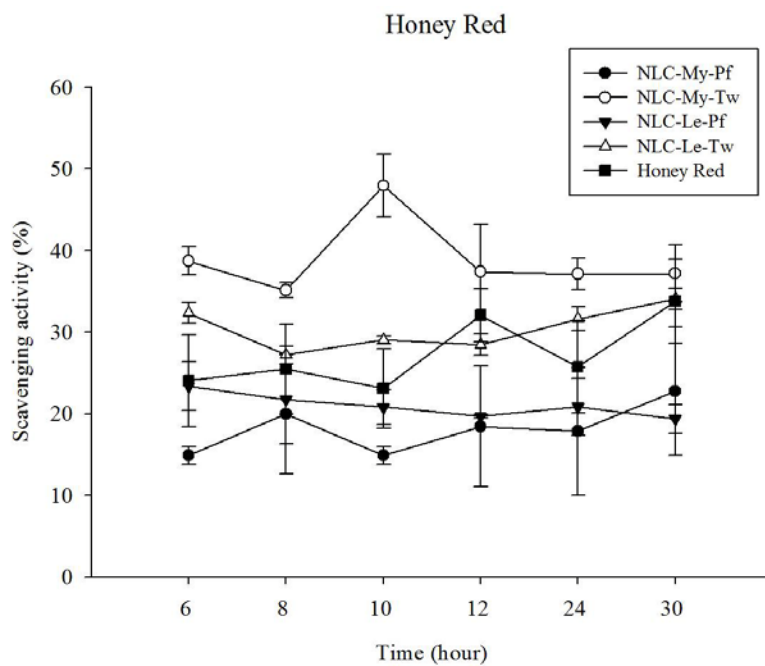


圖 33、蜜紅葡萄萃取物在四種 NLC 系統經時累積受藥端溶液之 DPPH 清除率

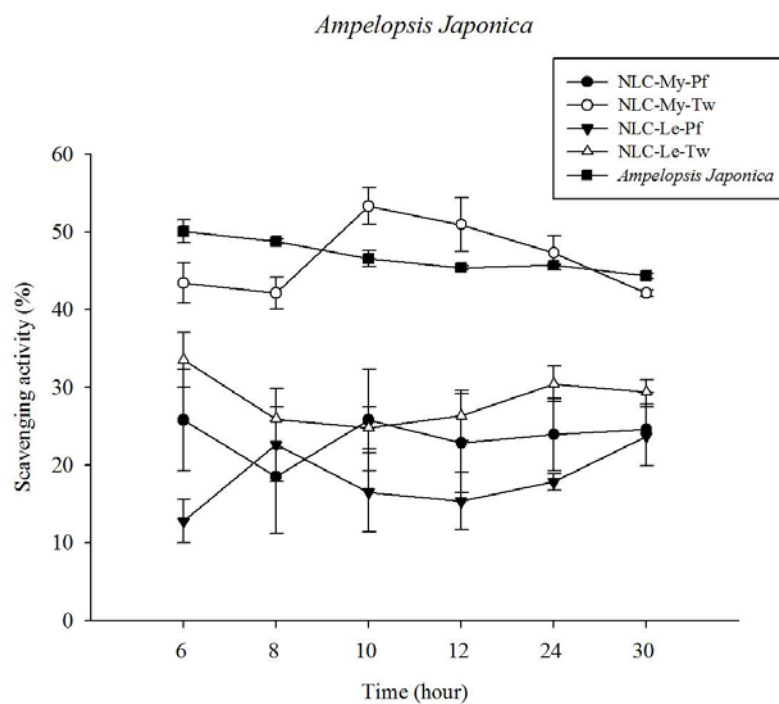


圖 34、白藜萃取物在四種 NLC 系統經時累積受藥端溶液之 DPPH 清除率

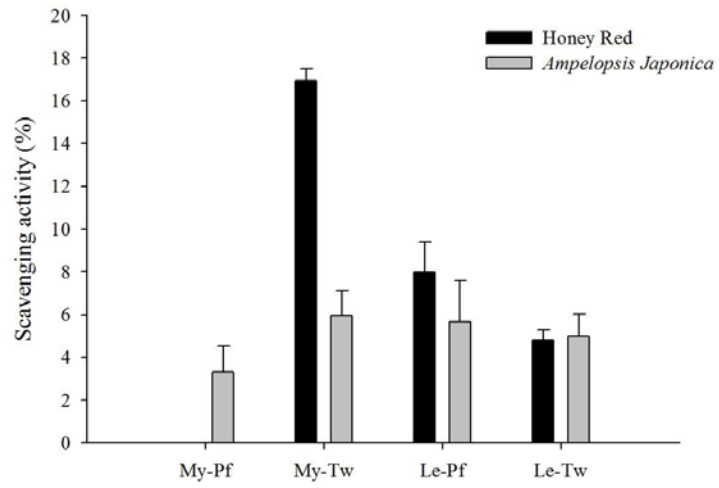


圖 35、四種 NLC 系統包覆萃取物經皮試驗後之皮膚均質液 DPPH 清除率

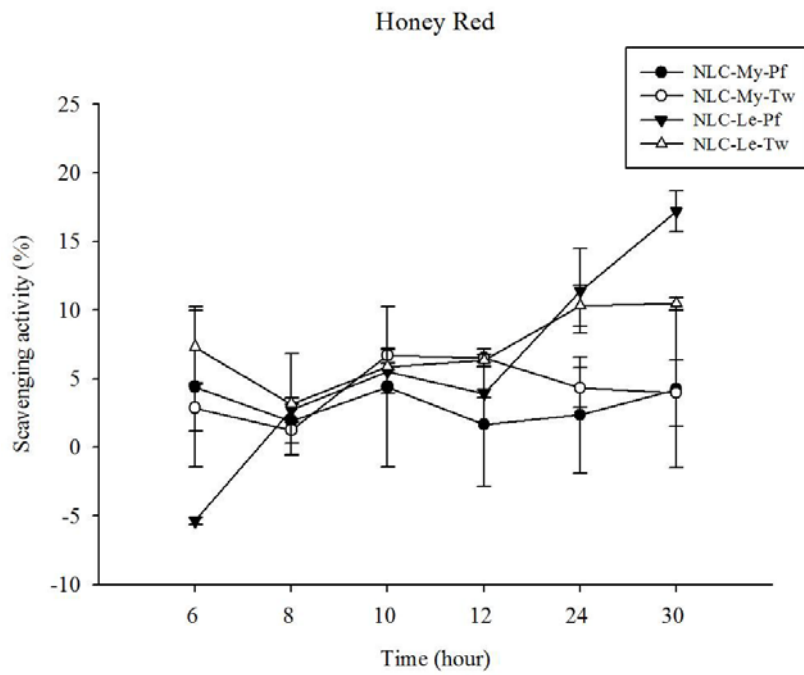


圖 36、蜜紅葡萄萃取物在四種 NLC 系統經時累積釋放之 DPPH 清除率

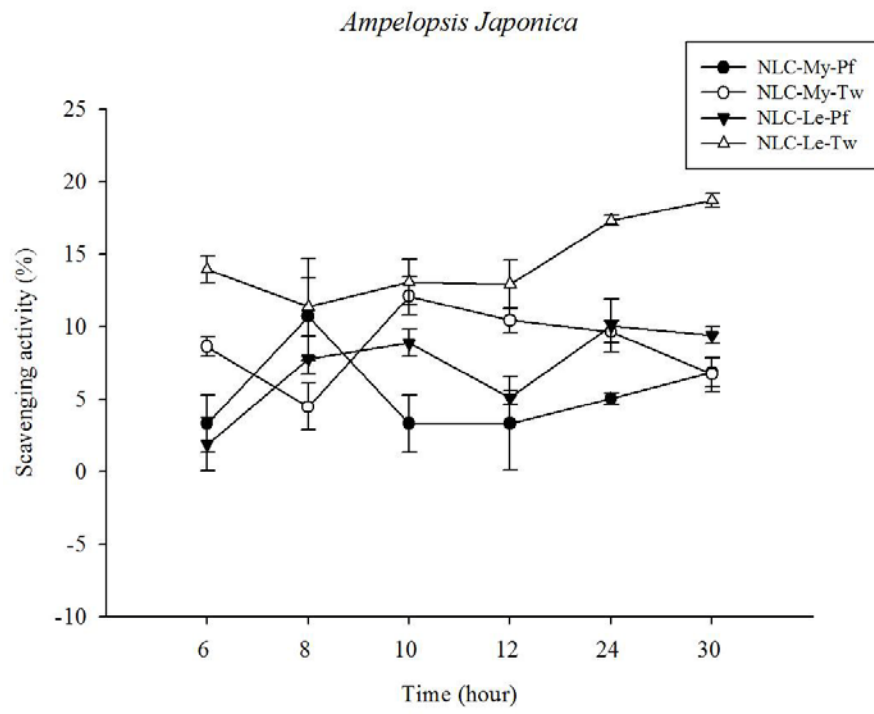


圖 37、白藜萃取物在四種 NLC 系統經時累積釋放之 DPPH 清除率

表 1、含蜜紅葡萄萃取出之 NLC 配方粒徑、粒子分散度指數及粒子表面電位

Formulation	Size (nm)	PDI	Zeta potential (mV)
NLC-My-Pf	210.4 ± 4.8	0.14 ± 0.03	-32.2 ± 0.9
NLC-My-Tw	141.2 ± 1.7	0.16 ± 0.02	-28.2 ± 0.3
NLC-Le-Pf	157.5 ± 4.1	0.17 ± 0.01	-37.7 ± 0.4
NLC-Le-Tw	148.8 ± 1.5	0.22 ± 0.01	-28.8 ± 0.6

NLC, nanostructured lipid carrier. My, Myverol 18-04 K. Pf, Pluronic F 68. Le, Lecithin. Tw, Tween 80. PDI, Polydispersity indexes. Each value represents the mean ± S.D. (n = 3).

表 2、含白藜萃取出之 NLC 配方粒徑、粒子分散度指數及粒子表面電位

Formulation	Size (nm)	PDI	Zeta potential (mV)
NLC-My-Pf	257.6 ± 7.7	0.14 ± 0.05	-35.6 ± 0.8
NLC-My-Tw	133.7 ± 5.4	0.13 ± 0.02	-26.3 ± 0.6
NLC-Le-Pf	175.3 ± 8.0	0.17 ± 0.01	-35.3 ± 1.1
NLC-Le-Tw	131.2 ± 3.5	0.21 ± 0.01	-32.5 ± 0.3

NLC, nanostructured lipid carrier. My, Myverol 18-04 K. Pf, Pluronic F 68. Le, Lecithin. Tw, Tween 80. PDI, Polydispersity indexes. Each value represents the mean ± S.D. (n = 3).

台灣常用中藥方劑與抗凝血藥物 Warfarin、 Ibuprofen 之交互作用分析(2-1)

蔡金川、楊玲玲
義守大學、中國醫藥大學附設醫院

摘要

中西藥可否併用？如何併用藥物才會達到安全，有效降低副作用和毒性之系統分析迄目前為止尚無完整之數據可提供醫療參考。中藥配合現代醫療之輔助療法已深受世界之重視與許多研究亦發現其對疾病治療能提升疾病治癒率、緩和症狀或縮短病程，由此可提高治癒效益、改善病患疾痛及降低醫療成本。因此如何建立完善中西藥併用方法之相關安全資料，減少中西藥併用所生之毒性或造成血中藥物濃度過量之副作用，方可提升民眾就醫信心，增加癒後療效及對維護醫療品質均會有相當的助益並具正向的價值，更開啟臺灣醫療發展新頁。近年來有許多藥物中毒之報告，而將中毒怪罪於是中藥之毒性，此有待急需澄清中藥對人體之毒性印象。另民眾在慢性病及難治疾病常會接受中西醫治並同時服用中西藥或含中草藥之健康食品，令現在許多醫院也都開設中西醫聯合門診。然而其間之中西藥併用所生之毒性或副作用，迄今國內外之研究之草藥或單一之中藥，鮮有中藥方劑相關之文獻。

本計畫選擇台灣最常用之中藥方劑(衛生署公告之標準方劑 100 種)為準則。首期針對預防及治療血栓疾病的口服抗凝血劑 (Warfarin) 第二年期則選定常用的消炎止痛藥 (Ibuprofen) 為研究對象，進行中藥與人類血清蛋白結合能力之藥物定量分析。Warfarin 與 Ibuprofen 都會與血漿中之白蛋白 (albumin) 結合，因此，常會與競爭白蛋白結合則會使游離的 Warfarin 與 Ibuprofen 增加，Warfarin 將使得病人之凝血時間增長，進而造成出血的危險。另 Ibuprofen 將使得藥物不良反應發生的機率提高如肝傷害。研究方式將以模擬人血清蛋白濃度於攝氏溫度 37 度分別將 Warfarin 或 Ibuprofen 及中藥方劑作用 1 小時，利用 10 kDa 的分子篩分離游離態的 Warfarin (或 Ibuprofen) 以高效能液相層析儀 (HPLC) 定性及定量。利用楊教授實驗室已建立多年之分析平台將可快速進行目前市售或常用之中藥方劑與西藥之交互作用分析。再選擇影響 Warfarin 與人血清蛋白結合之中藥方劑，進一步利用螢光光譜分析探討中藥方劑影響 Warfarin 與蛋白結合的變化。最後研究 Warfarin 與中藥方劑併用時與蛋白質之結合能力在動物體內之吸收分佈、代謝排泄情形。及是否影響血小板功能或凝血功能，是否進而造成出血的危險產生不良影響？是否有藥物加乘、或相斥作用等反應？過量 Ibuprofen 將造成肝傷害後續並利用動物模式研究中藥方劑與 Ibuprofen 併用影響肝臟功能與代謝的關

係。本研究結果將提供中藥方劑在臨床應用上與 Warfarin 或 Ibuprofen 併用所產生之交互作用和副作用資訊，將可預防或降低副作用以及減少藥害之發生。

關鍵詞：中藥方劑、Warfarin、Ibuprofen、人類血清蛋白、中西藥物交互作用、快速分析平台、血中 Warfarin、Ibuprofen 濃度影響、血小板與血液凝集作用、肝功能、性別議題

Analysis of Drug Interaction between Warfarin, Ibuprofen and Regular Chinese Medicinal Prescriptions in Taiwan (2-1)

Jin-Chuan Tsai, and Ling Ling Yang
I Shou University, and China Medical University Hospital

ABSTRACT

Can we use the western drug and traditional Chinese medicinal prescriptions (TCMP) together? So far, there is not yet complete as of data can provide medical information which is efficient and reliable between western drugs and TCMP. How to arrange the different types of western drugs and concurrent with TCMP? And where can tell us it is safety, effective and low side effects and toxicity for out body systems? Chinese medicine and modern medical care HSA been well received adjuvant therapy can improve the treatment of diseases, alleviate symptoms or shorten the disease course, which can improve the healing benefits, reduce pain and patient's illness medical costs. So, how to establish and improve the methods used in medicine and related safety information, and use of Chinese medicine to reduce toxic drug concentrations in blood or cause side effects overdose. To seek medical treatment only to enhance public confidence, increase efficiency and maintain good prognosis for quality of care they will have considerable help benefits and a positive value, but also open a new page in Taiwan's medical development. Recent years, many reports of drug and herb interactions need to clarify the toxicity of TCMP on the body. We choose to focus on the common chronic diseases to see the impact on the human body that combined intake the TCMP and western medicine. Otherwise, the department of integrated Chinese and western medicine was established in many Hospital. The researches on the interactions between Weston drug and TCMP are rare. The studies were focus on the interaction between on one single herbal medicine and Weston drug.

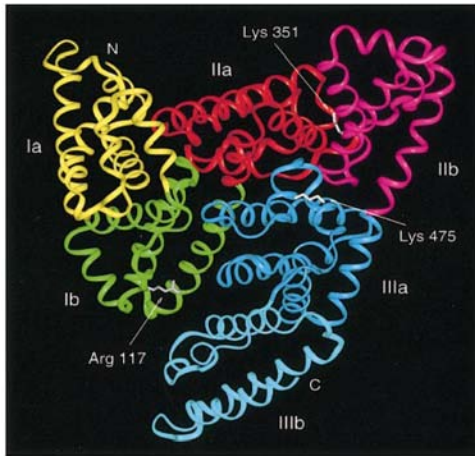
This project uses top-hundred of Chinese medicinal formulas (dispensing according to standard TCMP published by Department of Health, Executive Yuan, R.O.C.), and commonly used drug- warfarin and ibuprofen for analysis their drug herb interaction. In this study, we evaluated drugs interaction by carried out with human serum albumin (HSA) as our model which is a transfer protein and 90% mainly content of vascular system, drugs have to be bound with it before arrived at destination. So, a first, fast, and reliable analysis mode is setup to analyze the HSA binding capacity. It is reported that warfarin and ibuprofen could binding with HSA. If warfarin combined with TCMP which would affect human serum albumin, the concentration change of free form of warfarin would change the clotting time of patients. The side effect of ibuprofen combined with TCMP wound increase the injury of liver. Initial screening to a fixed concentration of HSA incubated at 37°C which

contained with warfarin or ibuprofen and TCMP for 1 hour, using 10 kDa molecular sieves for separation of the unbound form of warfarin or ibuprofen and determinate the qualitative and quantitative by HPLC. Therefore, the use of the laboratory analysis platform to quickly create commonly used TCMP is currently commercially available, or interaction of conditions to reduce the drugs on the human body under the unknown cause of toxicity. Besides, we use the method of fluorescence spectra to analysis the affect between warfarin and HSA. Furthermore, we choose the TCMP that affects the binding between warfarin (or ibuprofen) and HSA to analysis the absorption, distribution, and elimination of warfarin. Besides, the affect on platelet and blood coagulation function and the side effect will be analyzed. The animal model will be used to study on the injury of liver and the interaction between ibuprofen and TCMP. The results of this study will provide information on drug interaction between warfarin or ibuprofen and TCMP and be success to determine the other criteria drugs for a better future, the detail information of medicines and other related protein binding parameters is valuable collected and referred. Finally, we will classify the TCMP into the major used of female, children, and the elderly.

Keywords: Traditional Chinese medicinal prescriptions, warfarin, ibuprofen, human serum albumin, herb-drug interaction, high-throughput platform, pharmacokinetic, platelet and blood coagulation function, liver function, gender issue

壹、前言

在的計畫中過去 CCMP, CCMP98-RD-016 的研究指出¹, 2005 年的 100 萬健保抽樣歸人檔, 其 1997-2007 年所有健保資料檔為母群體, 做為研究材料, 其中使用 Warfarin 同時併用含抗凝血中藥複方 (使用率最高的前四名包含補陽院 (包含亞東醫院、台北新光醫院) 的衛教單張上面都宣導病人不要同時並用丹還五湯、血府逐瘀湯、身痛逐瘀湯、疏經活血湯、獨活寄生湯。) 因此 Warfarin 併用中藥方劑的現象確實有發生, 並且使用 Warfarin 並用中藥方劑 (內含當歸, 川牛膝、川芎、白芍、桃仁、紅花等) 亦有產生不良反應的報導。同時蒐集各大醫參、當歸、人參等中藥。在過去文獻當中, 也有記載 Warfarin、Ibuprofen 會與銀杏²、薑等產生藥物不良反應的記錄³。然而目前對於併用產生的風險尚無正式的研究, 因此本計畫選擇此兩品做為主要的研究項目。本研究計畫將採用衛生署公告之標準方劑 100 種為準則項藥, 進行處方之調劑、萃取、濃縮、乾燥。方劑煎液以 HPLC-DAD 全波段高效益相層析儀進行指紋圖譜分析, 將收集義大附醫近三年 Warfarin 與 Ibuprofen 之併用頻率及臨床副作用反應, 並首期針對預防及治療血栓疾病的口服抗凝血劑 (Warfarin) 為研究對象進行中藥與人類血清蛋白結合能力之藥物定量分析。定量後探討方劑煎液與 Warfarin 西藥競爭人類血清蛋白相同結合位置 (site I 如圖一)⁴, 本研究將針對中藥影響 Warfarin 與人類血清蛋白結合能力之藥物定量分析。而後挑選影響最大的中藥方劑以動物模式進行藥物吸收與代謝的分析, 並且觀察併用影響血小板功能或凝血功能 (eg. bleeding time) 以明瞭 Warfarin 對抗凝血作用的影響; 第二年期選擇使用率高的消炎止痛藥 (Ibuprofen) 為研究對象進行中藥與人類血清蛋白結合能力之藥物定量分析。定量後方劑煎液與 Ibuprofen 西藥競爭人類血清蛋白相同結合位置 (site II 如圖一)⁴, 本研究將針對中藥影響 Ibuprofen 與人類血清蛋白結合能力之藥物定量分析, 並利用螢光檢測中西藥併用後對其蛋白質結合的影響。同時利用肝臟酵素快速篩選模式來探討中藥方劑影響 Ibuprofen 經由肝臟代謝的反應。綜合以上實驗結果, 挑選併用可能對 Ibuprofen 影響最顯著的中藥方劑進行動物體內實驗研究中藥方劑併用 Ibuprofen 對 Ibuprofen 代謝的影響與對肝臟毒性的影響。



Site I : Warfarin (subdomain IIa)^{4, 5}
Site II : Ibuprofen, diazepam
(subdomain IIIa)⁴
Site III : Aspirin, Digitoxin^{5, 6}

圖一、Albumin protein binding site
(以上內文為 14 號字)

貳、材料與方法

一、實驗材料

(一) 中藥方劑藥材及藥劑等化學品製備

衛生署公告 100 種常用中藥方劑標準方劑之組成藥材購自於中藥行，經鑑定炮製處理之飲片提供處方調劑，西藥藥物標準品 (Warfarin, Ibuprofen) 將購置於 Sigma (St. Louis, Mo., 63178 USA)。分子篩超過濾膜 10,000 Da (Millipore, Billerica, Mass. USA)，人類血清蛋白，Bradford 試劑，HPLC 使用之分析級移動相溶液 (Acetonitrile 及 Acetate) 將購置 Merck. USA 廠牌，所有藥劑及化學藥品均為試藥級。

(二) 中藥方劑之製備

依據衛生署公告「中藥濃縮製劑制定指標成分定量法及規格注意事項」之標準湯劑製作，以常用中藥方劑之市售中藥材，分別進行鑑定、炮制之飲片乾燥、粉碎處理，粉碎後藥材以 20 倍體積浸置於水中，在 100°C 中萃取 2 小時，過濾後之濾液進行減壓濃縮或直接冷凍乾燥，最後所得之成分儲藏於 -20°C 冰箱。

(三) HPLC-DAD 指紋圖譜建立

精秤萃取並冷凍乾燥後的常用中藥方劑 5 mg/ml 溶解於水與甲醇溶液中，尋找最佳之移動相以高效能液相層析儀，利用 HILIC 管柱進行分析。實驗中會依照不同的中藥方劑進行調整分離及分析的條件與移動相，同時實驗室中有其他的 column，有需要才會選用其他種層析管柱 (如：C-18 column 等) 進行指紋圖譜的建立。HPLC 分析條件與方法在實驗進行中依各個處方進行調整，此資料將詳述結果中

(四) 快速分析結合模式平台

1. 以 HPLC 分析中藥方劑影響 Warfarin 在血清蛋白功能區塊 I 的結合能力¹²

蛋白結合模式分為三組，分別為(1)控制組：此乃 Warfarin 結合於 HSA 之標準結合能力組；(2)實驗組：加上中藥方劑處方萃取溶液進行影響結合能力測試組；(3)空白組：不加入任一中西藥。此三組之血清蛋白體積配置 800 ul (最後濃度為 4.2%)，控制組加入不同濃度且最後濃度過量 (分子數比值大於

20 倍) 的 Warfarin (100 ul), 以此數據可得標準結合曲線。而實驗組則分為 A 組及 B 組。A 組以固定中藥方劑處方萃取溶液濃度 (100 ul) 及不同濃度的 Warfarin (100 ul); 而 B 組以固定 Warfarin (100 ul) 濃度及不同濃度的中藥方劑處方萃取溶液 (0-100 ul) 及, 最後總體積為 1 ml。所有組別皆置於 37 °C 反應 1 小時後, 經由 10 kDa 分子篩過濾以 ddH₂O 沖提 5 次取得游離態的 Warfarin。主要偵測游離態的 Warfarin 則利用 C18 管柱在 HPLC 上進行分離及定量, 移動相分為 Acetonitrile : Water : Acetic Acid (60 : 39 : 1 ; (v/v/v)), 以 UV 偵測 220 nm 下 Warfarin 含量, 同時加入分子數比 1 : 2 之 Ibuprofen 及 Salicylic Acid 標準品, 目的為 Internal Control, 並阻擋中藥方劑處方萃取溶液在 Domain II & III 的結合區結合, 此二者可分別在 220 nm 及 304 nm 偵測及定量。

2. 游離態 Warfarin 結合能力之計算

從 HPLC 結果可積分底面積求得相對含量(莫爾數, Y 軸) 的 Warfarin, 被置換出來或增加結合的 Warfarin 則隨著模式 A 組或 B 組的圖表中觀察影響的程度。圖表中的 X 軸用不同濃度的中藥方劑 (A 組) 或 Warfarin (B 組) 對上 Y 軸表示的未結合的 Warfarin。計算置換率 (Replacement value, RV) 的方程式如下:

$$RV = (\text{Mole}_{(\text{實驗組})} - \text{Mole}_{(\text{控制組})}) / \text{Mole}_{(\text{控制組})}$$

Mole : 游離態 Warfarin 之莫爾數

(五) 分析蛋白結合常數之變化分析中西藥併用結合結構螢光之變化

16, 17

同上述, 由 2.5 平台所得具有明顯影響 Warfarin 結合能力的中藥方劑將進一步瞭解結合結構螢光之變化。偵測方式同樣以不需要標示結合物之 Tryptophane 位置改變為觀察方式, 以求得 Warfarin 結合常數之影響。以相同配置溶液製備血清蛋白及中藥方劑溶液, 實驗對照組與實驗組, 使用中藥方劑萃取物或 Warfarin 混合已知濃度的血清蛋白 (對照組) 或 Warfarin 蛋白混合物加入中藥方劑萃取物蛋白混合物 (實驗組), 加入後隨時間記錄螢光之變化。所得之數據亦可利用 Model fitting 及數學運算出結合常數。

(六) 體內動物實驗

將影響 Warfarin 與蛋白結合最明顯的兩組中藥方劑探討 Warfarin 與方劑對於老鼠凝血功能的影響。Warfarin 在不同性別(公及母)動物的血液組成、代謝、吸收、與凝血時間影響，以了解性別因素是否影響 Warfarin 在體內代謝之結果。動物分組及藥物投予途徑如下：

1. 口服給予生理食鹽水
2. 口服給予中藥方劑六味地黃丸
3. 口服給予中藥方劑知柏六味地黃丸
4. 口服給予 Warfarin 2 mg/kg。
5. 口服給予 Warfarin 與中藥方劑六味地黃丸
6. 口服給予 Warfarin 與中藥方劑知柏六味地黃丸。

(1) 凝血時間量測：

小鼠出血時間量測 (Measurement of bleeding time in mice) 各 30 隻 8 週齡 ICR 品系雌性及雄性小鼠隨機平均分入 6 個處理組 (N=5)，處理組分別為控制組 (vehicle control; 0.9%NaCl 生理食鹽水)，歐服寧 Warfarin 處理組 (W; 2 mg/kg BW)，六味地黃丸組 (D1; 960 mg/kg BW)，知柏地黃丸 (D2; 780 mg/kg BW)，六味地黃丸合併歐服寧處理組 (D1+W)，知柏地黃丸合併歐服寧處理組 (D2+W)；六味地黃丸或知柏地黃丸水萃液，每日以口服 0.2 mL 方式給予 2 次，兩次間隔 8 小時(上午 8 時，下午 4 時)，無中藥處理組則同時口服給予等體積生理食鹽水；在最後一次口服投與中藥 1 小時後，歐服寧處理組以口服方式給予 0.1 mL 歐服寧，其餘各組給予等體積生理食鹽水，於 1 小時後，小鼠以 isofluran 氣化麻醉 (Matrx VIP3000[®] vaporizer, USA) 方式進行麻醉。量測出血時間，於麻醉小鼠之尾巴尖端 2 mm 處，以手術刀片截斷，快速將尾巴浸入裝有 37°C 生理食鹽水之透明玻璃管，並開始以碼表記錄血流時間，直至觀察到血流停止的一瞬間。動物於試驗完成時，直接以過量二氧化碳犧牲，並進行心臟採血供後續試驗分析。

(2) 血液組成及 (3) 血中 Warfarin 濃度量測

Warfarin 與方劑併用各 30 隻 8 週齡 ICR 品系雌性及雄性小鼠隨機平均分入 6 個處理組 (N=5) 動物分組及藥物投予途徑如下：

- a. 口服給予生理食鹽水
- b. 口服給予中藥方劑六味地黃丸
- c. 口服給予中藥方劑知柏六味地黃丸
- d. 口服給予 Warfarin 2 mg/kg。
- e. 口服給予 Warfarin 與中藥方劑六味地黃丸
- f. 口服給予 Warfarin 與中藥方劑

處理組分別為控制組 (vehicle control; 0.9% NaCl 生理食鹽水)，歐服寧 Warfarin 處理組 (W; 2 mg/kg BW) (Prof Kano 發表於 J Ethnopharmacol. 2002 Sep;82(1):35-40. Pharmacokinetic interactions between warfarin and kangen-karyu, a Chinese traditional herbal medicine, and their synergistic action.)，六味地黃丸組 (D1; 960 mg/kg BW)，知柏地黃丸 (D2; 780 mg/kg BW)，六味地黃丸合併歐服寧處理組 (D1+W)，知柏地黃丸合併歐服寧處理組 (D2+W)；六味地黃丸或知柏地黃丸水萃液，每日以口服 0.2 mL 方式給予 2 次，兩次間隔 8 小時 (上午 8 時，下午 4 時)，無中藥處理組則同時口服給予等體積生理食鹽水；在最後一次口服投與中藥 1 小時後，歐服寧處理組以口服方式給予 0.1 mL 歐服寧，其餘各組給予等體積生理食鹽水，於 1 小時後以心臟採血方式採取血液，以血液分析以轉速 6000 rpm 離心後取得血清，並應用高效液相層析儀 (HPLC-DAD) 分析血液樣本中 Warfarin 濃度。老鼠血清中 Warfarin 含量以 HPLC (HITACHI, Tokyo, Japan) 測試，取血清 100 μ L 加入乙醚 200 μ L 後萃取且震盪 10 sec 使其均勻混合，並置入離心機以轉速 12000 rpm、5 min 離心，抽取上清液 10 μ L 打入 HPLC。

參、結果

一、中草藥與 Warfarin 交互作用之文獻資料

本計畫文獻資料搜尋到 Warfarin 同時併用含抗凝血中藥複方的衛教單張皆宣導病人勿同時服用丹還五湯、血府逐瘀湯、身痛逐瘀湯、疏經活血湯、獨活寄生湯。) Warfarin 併用中藥方劑併用中藥方劑(內含當歸,川牛膝、川芎、白芍、桃仁、紅花等)亦有產生不良反應的報導。同時蒐集各大醫參、當歸、人參等中藥。在過去文獻當中,也有記載 Warfarin、Ibuprofen 會與銀杏、薑等產生藥物不良反應的記錄。

行政院衛生署中醫藥委員會之中西藥交互作用查詢中可搜尋到 Warfarin 與其他中草藥之交互作用,發現中草藥會影響 Warfarin 在人體內的作用機制,可能使抗凝血作用顯著增加或使其降低,嚴重可導致增加出血的危險。亦有文獻記載使用 Warfarin 與中草藥併用會造成不良的副作用,舉例來說,Warfarin 與銀杏合併使用會造成作用顯著增加導致腦內出血,而丹蔘、當歸與 Warfarin 併用也會使其過度抗凝血,增加出血量。

二、HPLC-DAD 指紋圖譜建立

在 HPLC-DAD 指紋圖譜結果可得知不同中藥方劑因其組成分不同,其在不同吸收波長下具不同的曲線變化。本試驗以波長 OD_{254nm} 、 OD_{280nm} 、 OD_{365nm} 及 OD_{220nm} 進行,發現 100 種中藥基準方劑以 OD_{280nm} 可清楚分離中藥方劑內組成分波峰,結果如圖二所示。

三、HPLC 分析中藥方劑影響 Warfarin 在血清蛋白的結合能力

為探討 100 種中藥方劑進行與 Warfarin 藥物交互作用之分析,並以 HPLC 定量 warfarin 藥物濃度為準則。依照實驗方法中設定之 RV(replacement value)定義進行中藥方劑影響 Warfarin 與血清蛋白結合之血中濃度變化分析體外實驗目前(如表一),依基準中藥組成分不同,所造成之影響也有差異性。結果顯示六味地黃丸會促進 warfarin 與血清蛋白之結合,增加率 RV 值為 11.41%,顯示其可增加 Warfarin 與 HSA 結合的能力;而部分方劑具有減少 Warfarin 與 HSA 結合的能力,增加率 10% 以上的方劑有 26 種,會取代 warfarin 與血清蛋白結合,分別為知柏地黃丸、濟生腎氣丸、柴葛解肌湯、人參敗毒散、補陽還五湯、散腫潰堅湯、如意黃金散、調經丸、十神湯、柴胡桂枝湯、柴陷湯、四逆散、小建中湯、茵陳蒿湯、薏苡仁湯、潤腸湯、響聲破笛丸、安中散、乙字湯、消痔丸、溫經湯、芎歸膠艾湯、當歸芍藥湯、生化湯、黃連上清丸及瓜蒌枳實湯等,而知柏地黃丸

RV 值為-20.54 %，減少率達 20 % 以上，顯示此中藥會取代 Warfarin 與血清蛋白 HSA 的結合，也因此以六味地黃丸及知柏地黃丸進行動物藥物動力學試驗。

四、中西藥併用結合結構螢光之變化

從 HPLC 分析結果所得到較具影響及代表性的中藥方劑 27 種，將進一步了解與 HSA 併用後影響血清蛋白結構螢光之變化。以激發光 280 nm 並且於散射光為 380 nm 的波長下觀察結果並作圖，得到結果為下圖四所示，顯示中藥方劑可影響 HSA 與血清蛋白的結構變化，其結果佐證了 HPLC 所分析之結果。

五、六味地黃丸或知柏地黃丸合併抗凝血劑歐服寧 warfarin 血中 Warfarin 濃度影響

從 HPLC 分析結果所得到較具影響及代表性的中藥方劑六味地黃丸及知柏地黃丸將進一步了解與 Warfarin 併用後影響血清中濃度之變化。血中 Warfarin 濃度量測以心臟採血方式採取血液，轉速 6000 rpm 離心後取得血清，並以乙醚萃取後以轉速 12000 rpm 離心後取得上清液後使用高效液相層析儀 (HPLC-DAD) 分析血液樣本中 Warfarin 濃度，表三結果顯示，六味地黃丸中會使血液中 Warfarin 濃度降低，而知柏地黃丸者則使 Warfarin 濃度增加。

六、六味地黃丸或知柏地黃丸合併抗凝血劑歐服寧 warfarin 對於小鼠出血時間與血液組成之影響

本試驗以口服方式給予 CD-1 小鼠中草藥方劑六味地黃丸或知柏地黃丸，並探討中草藥方劑與西藥歐服寧 (warfarin) 之藥物交互作用關係對於血液凝集之影響。

小鼠單獨給予中草藥方劑或合併歐服寧處理與控制組 (單純給予生理食鹽水) 比較，在血液生化分析上，並無明顯差異，顯示本試驗給予 960 mg/kg BW 六味地黃丸或 780 mg/kg BW 知柏地黃丸或合併給予 2mg/kg BW 之歐服寧，並無造成動物急毒性之血清生化值變化 (附錄一)；然而各實驗組之肝臟酵素溶出 GOT 與 GPT 值超出正常範圍，可能由於血清稀釋後分析導致運算乘以稀釋倍數後，是導致數值失真之情形。血液學顯示血小板總數 (表三) 在雄性小鼠給予中草藥方劑均有增加血小板數量，尤其是單獨給予知柏地黃丸處理組之平均增加血小板數目最為明顯，一般而言，母鼠血小板含量與血小板平均大小均高於雄性小鼠。但整體而言，中草藥方劑知柏地黃丸些微增加血小板數量並無統計學上的顯著差異，且各實驗組

血小板數目均落於正常範圍。血小板平均大小 (MPV) 均低於正常範圍，是否由於 CD-1 小鼠品系之特徵，有待進一步的考證，但在本試驗，實驗各組間亦無顯著差異。

凝血形成可分為內源性與外源性路徑，內源性路徑活化的凝血反應，可由 aPTT (active partial thromblastin time) 時間之測量進行診斷；而外源性路徑活化的凝血反應，本試驗利用 PT (prothrombin time) 時間進行凝血反應時間的測量；出血時間則利用小鼠尾巴出血試驗測量凝血時間。一般而言，試驗測量之各項凝血反應結果顯示，公鼠較母鼠對於試驗處理藥物的反應敏感，分析母鼠對於藥物處理，凝血反應測量不明顯，可能導因於具有平均比公鼠較高的血液血小板數量，且血小板平均大小亦高於公鼠，在抗凝血反應，可能相較不受到歐服寧藥物處理的影響。後續結果討論主要以公鼠試驗結果為主，或合併公母鼠數據作討論。

表三為測量 aPTT 結果所示，歐服寧給予小鼠，於 1 小時後犧牲進行採血，離心取得去除血小板之血漿進行試驗，於 37°C 下，加入 phospholipid (cephalin)，並以 kaolin 溶液與 Ca 離子溶液加入後誘發內源性凝血反應，測量血液凝固時間；結果顯示單獨給予抗凝血藥物歐服寧 (warfarin) 組，與中草藥方六味地黃丸或知柏地黃丸均比控制組些微延長 aPTT 時間，但並無顯著差異；反之，中草藥方劑合併西藥歐服寧則會降低 aPTT 時間，aPTT 時間縮短原因不明，可能於採集血液時，造成組織過度傷害釋出磷脂質活化凝血有關，但確切原因有待進一步探討。aPTT 時間的延長則可能導因於先天性的凝血因子 XII, XI, IX 與 VIII 的缺乏，而後天性因素則有可能因為 Vit K 的缺乏，歐服寧藥物處理對於 aPTT 之影響不大，但過量的歐服寧則還是有可能顯著的延長 aPTT，本試驗單獨給予中草藥方劑均稍微延長 aPTT 時間，不排除藥物成分中有與特定凝血因子產生直接作用的可能性。

圖五與圖六分別為公鼠與母鼠尾巴出血時間試驗結果 (tail bleeding time)，附錄二則為結合公母小鼠所有資料的整理結果，由附錄二顯示口服給予 2 mg/kg BW 歐服寧處理組顯著 ($P = 0.034$) 的較控制組延長出血時間，但公母鼠分別統計則無顯著差異，歐服寧處理均較控制組延長平均出血時間。公鼠結果圖三中可發現，知柏地黃丸單獨或合併歐服寧則分別顯著的 ($P < 0.05$) 較歐服寧處理組減少出血時間，反之，六味地黃丸合併歐服寧則比歐服寧單獨處理略微增加出血時間。一般而言，中草藥方劑或歐服寧的作用在母鼠則較不明顯。

圖七為測量中草藥方劑單獨處理或合併歐服寧對凝血原時間 (PT；

prothrombin time) 之結果，由圖七 A 公鼠結果顯示歐服寧可以延長 PT 時間，而又以知柏地黃丸合併歐服寧顯著的延長 PT 時間，此外，知柏地黃丸單獨處理組之平均 PT 時間比歐服寧組增加而低於兩種中西藥物合併處理的時間，此結果顯示知柏地黃丸之成分可能具有獨立影響 PT 時間的能力，且與歐服寧合併處理下具有加成的效果。圖七 B 為母鼠 PT 時間結果，2 mg/kg BW 歐服寧口服給予，於 1 小時候採集血液進行測試 PT 時間，並無顯著改變 PT 時間。

綜而言之，小鼠（公鼠）給予 2 mg/kg BW 的歐服寧處理顯著的延長出血時間，但是在建議濃度範圍 2 mg/kg BW 內，歐服寧則僅些微增加出血時間，此結果與過去 FDA 調查服用歐服寧的副作用報告結果相似，報告顯示在 2007 至 2011 年間，4 萬多人的使用者中僅有 4 人有造成出血不正常的現象，建議濃度範圍內歐服寧對於凝血的作用僅影響凝血原時間 PT。本試驗結果亦發現，於公鼠給予高劑量 2 mg/kg BW，1 小時候採血試驗下，歐服寧可延長公鼠 PT 時間，但對於母鼠給予一半劑量 2 mg/kg BW 則無明顯影響，可見歐服寧的作用可能在短時間內需要較高的濃度方能達到延長 PT 時間的效果，而當劑量減半於短時間內，並無明顯影響 PT 時間，此結果亦由 HPLC 分析血清中歐服寧 warfarin 濃度證實，公鼠血液中含有較高濃度歐服寧 4.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，而母鼠則含有較低濃度平均 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，因此 PT 時間在藥物處理公鼠之影響遠大於母鼠。另由表二 HPLC 分析中藥方劑影響血清蛋白結合能力試驗中顯示，知柏地黃丸可以取代 warfarin 對血清的對血清蛋白的結合，反之六味地黃丸則具有促進歐服寧與血清蛋白結合能力，在本試驗結果之 PT 時間測量結果顯示，知柏地黃丸與歐服寧合併作用下，PT 時間顯著的($P = 0.0175$)比單獨歐服寧組延長，而 aPTT 時間亦不受影響，顯示中草藥方劑知柏地黃丸與西藥歐服寧的交互作用是主要造成 PT 時間延長的原因；有趣的是知柏地黃丸雖然在合併歐服寧作用下，延長 PT 時間，但小鼠尾巴出血時間試驗中(mouse tail bleeding time)，公鼠給予知柏地黃丸單獨處理($P = 0.003$)或合併歐服寧處理($P=0.018$)均顯著的縮短尾巴出血時間，此看似相矛盾的結果可由 aPTT 時間結果說明，兩種中草藥方劑在合併西藥歐服寧處理下，均減少 aPTT 時間（但無統計顯著差異），在結合增加血液中平均血小板數目(亦無統計顯著差異)，推測在兩種影響結果合併作用下，知柏地黃丸在與歐服寧交互作用下縮短尾巴出血時間是有可能發生，且由於知柏地黃丸單獨處理下亦有縮短出血時間之趨勢 ($P = 0.115$) (附錄二)，可見知柏地黃丸除了在血清蛋白結合上與西藥歐服寧產生競爭結合作

用外，其藥物本身對於凝血活化的作用機轉可能也彼此具有獨立功能。小鼠尾巴出血時間的測定，基本涵蓋整體凝血作用包含內源性與外源性凝血活化的路徑，若整合公母鼠所有資料進行統計分析（如附錄二），整體而言歐服寧處理(≥ 2 mg/kg BW)是可以顯著的比控制組延長出血時間，而只有知柏地黃丸單獨處理下，中草藥方劑知柏地黃丸可以顯著的減少出血時間，當與在高劑量下可延長出血時間的歐服寧合併處理時，則產生互相抵消的效應，而無明顯改變小鼠尾巴出血時間的結果；知柏地黃丸是否可以減少血液凝血時間，目前尚無資料定論，但是由 RV 結果顯示其可能具有高度競爭歐服寧與血清蛋白結合位置，推測也有可能作為 antagonist 角色，競爭歐服寧在 vitamin K epoxide reductase 的結合位置，進而阻斷歐服寧對於該酵素的影響，關於此部分的進一步的研究可能在未來需要深入探討，此外，中草藥方劑在性別上選擇性的影響本試驗體外或體內結果，更加深中草藥物作用的複雜性。

肆、討論

民間常用之中藥複方多有組成不同的情況，或是組成比例有所差異，為求實驗的完整性，本計畫參考行政院衛生署中醫藥委員會所公佈之基準中藥方劑前 100 種進行實驗，所調製之複方組成也已公佈內容為主。進行文獻搜尋結果方面，目前大部分研究為常見之單方草藥與西藥之間的交互作用，原因為西方使用習慣與國人不同，因此建立複方中藥與西藥之交互作用研究有其必要性。

在本計畫建立快速分析平台所探討之西藥為 Warfarin，Warfarin 為一種口服預防血栓形成的有效藥物，被譽為血液稀釋劑(blood thinner)，屬於香豆素類維生素 K 拮抗劑，在腸胃道的吸收快而且完全，所以使用最廣泛。但已有許多文獻探討 Warfarin 與中草藥合併使用後之風險，也有許多研究指出 Warfarin 與丹參、當歸萃取物合併服用後，加強了抗凝血作用而有大大出血反應；而參(高麗)與蘆薈則是降低 Warfarin 之抗凝血效果。

本計畫之快速分析平台主要重點為 HPLC 之定性與定量分析，此方法之優點為可同時探討多種中藥方劑與西藥併用之影響，並且能藉由簡單公式計畫得到濃度變化與影響能力之相關性。因此利用 HPLC 系統篩選 100 種中藥方劑後，發現約有 2 種中藥方劑會增加 Warfarin 與 HSA 結合，其餘中藥方劑則是減少 Warfarin 與 HSA 結合。可以進一步分析是否因組成成分影響中藥方劑增加或減少 Warfarin 與 HSA 結合，則另外仰賴其他分析試驗。

利用 Warfarin 與 HSA 結合導致 HSA 結構上之改變造成螢光變化來進一步佐證 HPLC 系統分析結果。在探討中藥方劑影響 Warfarin 與 HSA 結合導致 HSA 結構上之改變造成螢光變化，主要是觀察蛋白上的胺基酸 tryptophan，因其化學結構中有一個苯環，使 tryptophan 具有強 UV 吸光值與螢光反應，因此不須另外標的其他螢光物質，可在化學實驗時依其與配位體結合造成結構改變，藉由特定波長激發後觀察螢光變化。由本試驗結果可得知，在中藥方劑與 Warfarin 併用後會造成 tryptophan 結構改變，並隨著濃度下降而改變效果也隨之降低。因此推斷中藥方劑可能藉由增加或取代 Warfarin 與 HSA 的結合，而影響 tryptophan 結構的改變，進而造成螢光的變化。

中草藥方劑六味地黃丸與知柏地黃丸的藥物成分組成差異並不大，知柏地黃丸比六味地黃丸多出兩種草藥物，是否該兩種藥草是造成與西藥歐服寧產生交互作用的主要原因，其作用機轉仍須進一步的研究證實，本計

畫以分析西藥歐服寧的濃度作為中草藥方劑交互作用指標，自 100 種中藥方劑中，明確的定位出其中 26 種方劑可取代西藥歐服寧與血清蛋白之結合，而其中知柏地黃丸方劑具有最大的 RV 值，而六味地黃丸具有最小 RV 值；由動物試驗中，口服給予知柏地黃丸小鼠（公鼠為主），再合併給予歐服寧，其血液中具有比六味地黃丸處理組平均三倍以上的歐服寧測量濃度，顯示知柏地黃丸中的黃柏與知母二種藥物成分是主要造成血液中游離歐服寧量增加，但六味地黃丸具有所有知柏地黃丸的基礎藥物組成卻有負的 RV 值，代表可促使歐服寧與血清蛋白結合，推測不影響凝血功能，雖然知柏地黃丸合併歐服寧處理並未增長小鼠尾巴出血時間，卻產生中西藥物交互作用，顯著的比歐服寧單獨處理延長 PT 時間，是否黃柏與知母於知柏地黃丸中草藥方劑中具有在凝血作用上獨立的藥物機轉，或者可結抗歐服寧的抗凝血作用機轉，仍須進一步研究，本實驗初步結果也推測與縮短 aPTT 時間的作用與增加血液中血小板平均數量可能有關，有關知柏地黃丸之中西藥物交互作用上，後續仍有許多努力的空間。

由以上實驗結果可證實本計畫所建立的中西藥交互作用快速分析平台之可行性，並且能夠進行定性與定量分析，可提供臨床上併用中西藥建議之劑量，強化中藥用藥安全並增加國人用藥之安全。

伍、結論與建議

經本計畫實驗結果證實快速分析中西藥併用影響血清蛋白結合能力平台之可行性，不僅可作為快速分析參考，並且可進行數據定量以提供臨床使用劑量之參考，以降低藥物多重及多樣性使用對人體產生之毒性與副作用。另外，具有改變藥物對血清吸收影響之中藥方劑，及以藥物動力及藥效等研究。研究成果架設於中藥用藥安全網以提供並維護給全球使用中醫藥之安全醫療資訊，更可開啟臺灣中醫藥醫療安全實證醫學發展之新頁。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP101-RD-003 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

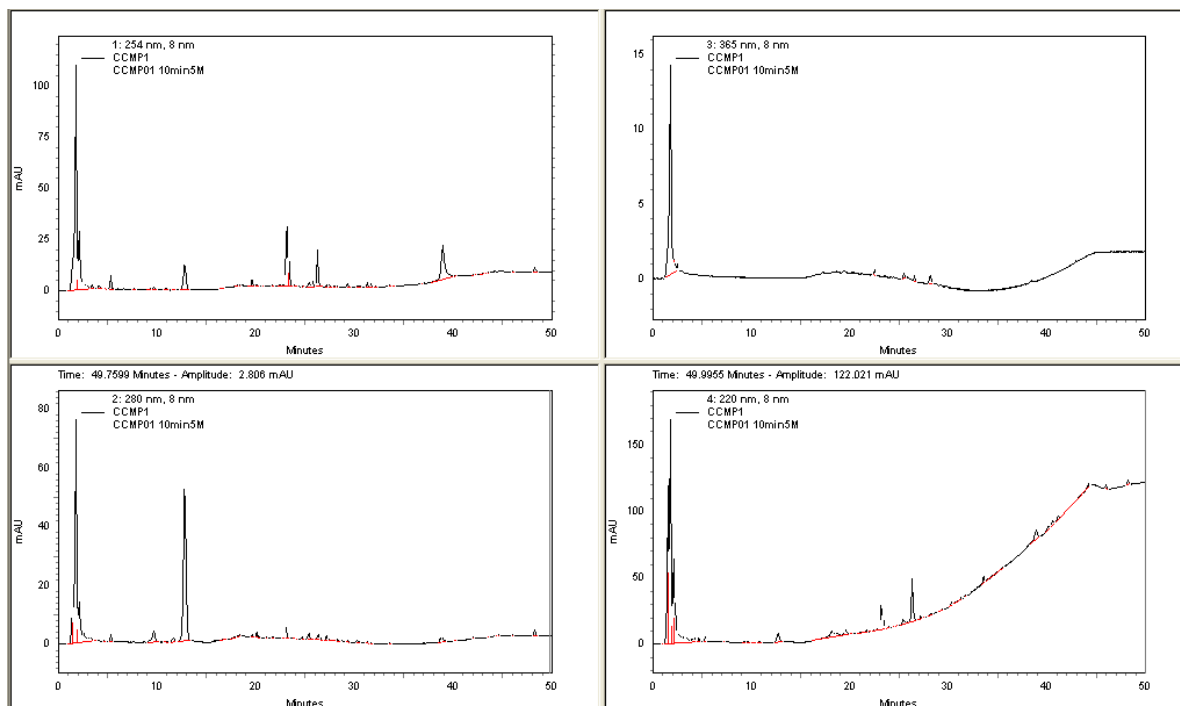
陸、參考文獻

1. 賴榮年。台灣抗凝血西藥及非類固醇止痛藥與科學 中藥併用及交互作用之藥物流行病學研究。中醫藥年報 第 28 期 第 8 冊 291-388。
2. Na D.H., Ji H.Y., Park E.J., Kim M.S., Liu K.H., Lee H.S. Evaluation of Metabolism-Mediated Herb-Drug Interactions. *Arch Pharm Res* 2011, 34, 1829-1842.
3. Izzo1 A.A., Ernst E. Interactions Between Herbal Medicines and Prescribed Drugs: an update systematic review. *Drugs*. 2009; 69, 1777-1798.
4. Mandula H., Parepally J.M.R., Feng R., Smith R.. Role of Site-Specific Binding to Plasma Albumin in Drug Availability to Brain. *The Journal of Pharmaceutical Sciences and Experimental Therapeutics*. 2006, 317(2) 667-675.
5. Ulrich, K. H.. Relations between high-affinity binding sites of markers for binding regions on human serum albumin. *Biochemistry Journal*. 1985, 225, 629-638.
6. Herve F., Urien S., Albengres E., Duche J.C., and Tillement J.P.. Drug binding in plasma. A Summary of Recent Trends in the Study of Drug and Hormone Binding. *Clinical Pharmacokinetics*. 1994, 26(1), 44-58.
7. Chen K., Lo A.C., Yeung J. H. K., Woo K. S.. The effect of Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) on warfarin pharmacodynamics and pharmacokinetics of warfarin enantiomers in rats. *Journal of Pharmacy & Pharmacology*. 1995, 47, 402-406.
8. Adriane F.B.. Herb-Drug Interactions. *The Lancet*. 2000, 355, 134-138.
9. Makino T., Wakushima H., Okamoto T., Okukubo Y., Deguchi Y., Kano Y.. Pharmacokinetic interaction between warfarin and kangen-karyu, a Chinese traditional herbal medicine, and their synergistic action. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002, 82, 35-40.
10. Lockwood G.F., Albert K.S., Szpunar G.J., Wagner J.G. Pharmacokinetics of Ibuprofen in Men--III : Plasma Protein Binding. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 1983, 11(5), 469-482.
11. Foye W.O., Lemke T.L., Williams D.A. Foye's principles of medicinal chemistry. *Lippincott Williams & Wilkins; Sixth Edition edition*. 2007,

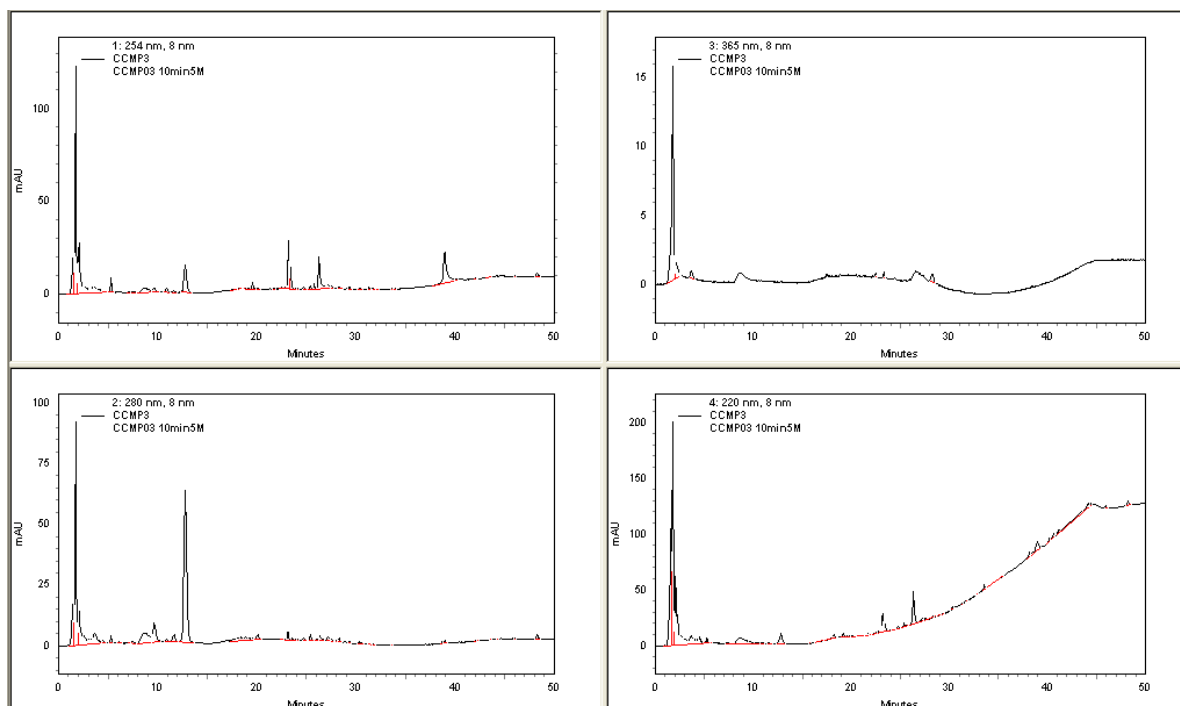
- 267-268.
12. Zhu M., Chan K.W., Ng L.S., Chang Q., Chang S., Li R.C.. Possible influence of ginseng on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of warfarin in rats. *Journal of Pharmacy & Pharmacology*. 1998, 51, 175-180.
 13. Ishida S., Kinoshita M., Sakiya Y., Taira Z., Ichikawa T.. Glycyrrhizin binding site on human serum albumin. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 1992, 40(1), 275-278.
 14. Ishida S., Sakiya Y., Ichikawa T., Kinoshita M., Awazu S.. Binding of glycyrrhizin to human serum and human serum albumin. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 1989, 37(1), 226-228.
 15. Kosa T., Maruyama T., Otagiri M.. Species differences of serum albumins: drug binding sites. *Pharmaceutical Research*. 1997, 14(11), 1607-1613.
 16. Silva D., Cortez C.M. Louro S.R.W. Quenching of the intrinsic fluorescence of bovine serum albumin by chlorpromazine and hemin. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2004, 37(7), 963-968.
 17. Rohacova J., Marin M.L., Miranda M.A.. Complexes between Fluorescent Ciholic Acid Dericatives and Human Serum Albumin. A Photophysical Approach To Investigate the Binding Behavior. *Journal of Physical Chemistry B*. 2010, 114, 4710-4716.

柒、圖表

No.1 六味地黃丸



No.3 知柏地黃丸



圖二、100種標準中藥方劑指紋圖

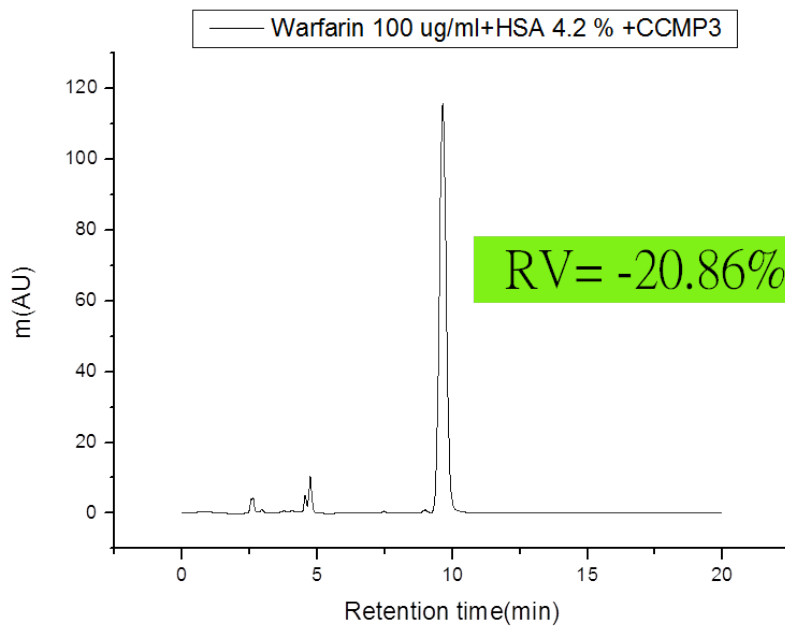
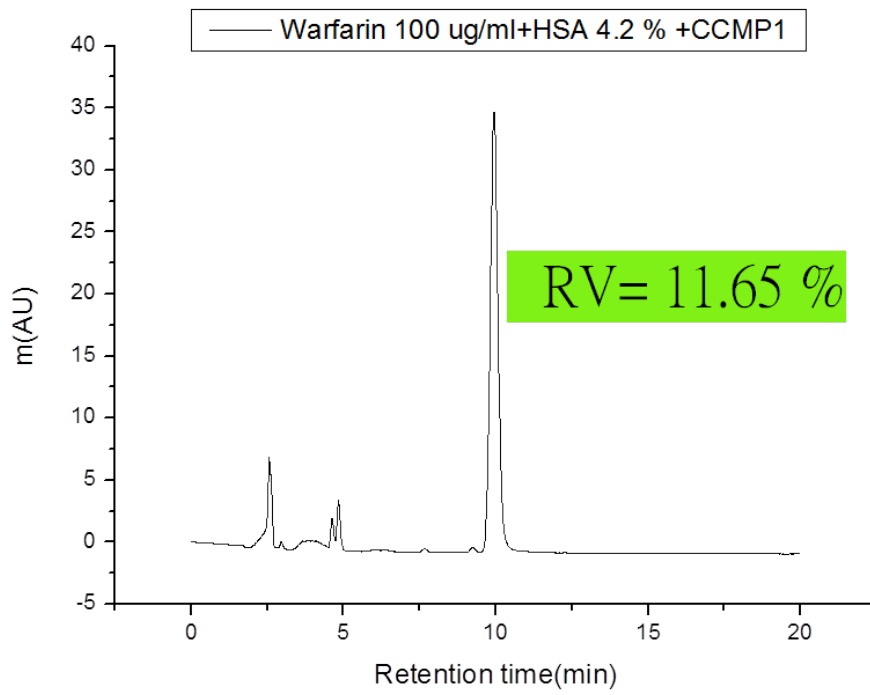
表一、100種中藥方劑與 Warfarin 交互作用之影響

編號	中藥方劑	RV (%)	編號	中藥方劑	RV (%)
No.1	六味地黃丸	11.41 ± 0.20	No.51	玉女煎	-5.55 ± 0.52
No.2	八味地黃丸	-3.15 ± 0.18	No.52	荊芥連翹湯	-8.49 ± 0.42
No.3	知柏地黃丸	-20.54 ± 0.32	No.53	滋陰降火湯	-12.32 ± 0.78
No.4	杞菊地黃丸	-3.72 ± 0.42	No.54	當歸龍薈丸	-9.60 ± 0.77
No.5	四物湯	-2.53 ± 0.75	No.55	清肺湯	-6.35 ± 0.45
No.6	補中益氣湯(丸)	-4.49 ± 0.49	No.56	金沸草散	-7.36 ± 1.17
No.7	歸脾湯	-0.63 ± 0.78	No.57	當歸六黃湯	-5.87 ± 0.58
No.8	養心湯	0.52 ± 0.77	No.58	散腫潰堅湯	-10.67 ± 0.31
No.9	人參養榮湯(丸)	7.62 ± 0.18	No.59	排膿散	-7.13 ± 0.41
No.10	百合固金湯(丸)	3.89 ± 0.49	No.60	如意黃金散	-11.44 ± 0.20
No.11	秦艽鱉甲散	-2.52 ± 0.33	No.61	完帶湯	-0.11 ± 0.50
No.12	益氣聰明湯	-6.70 ± 0.51	No.62	調經丸	-11.15 ± 0.05
No.13	八珍湯(丸)	-6.15 ± 0.48	No.63	聖愈湯	-9.92 ± 0.43
No.14	濟生腎氣丸	-10.91 ± 0.29	No.64	十神湯	-9.90 ± 0.20
No.15	十全大補湯(丸)	-6.44 ± 0.59	No.65	升麻葛根湯	-8.37 ± 0.31
No.16	還少丹	-5.85 ± 0.79	No.66	辛夷散	-8.58 ± 0.17
No.17	黃耆五物湯	-5.65 ± 0.12	No.67	桃仁承氣湯	-9.01 ± 1.08
No.18	桂枝湯	1.55 ± 0.86	No.68	大柴胡湯	-8.65 ± 0.89
No.19	小青龍湯	-8.00 ± 0.72	No.69	防風通聖散	-8.41 ± 0.08
No.20	葛根湯	0.61 ± 0.38	No.70	柴胡桂枝湯	-10.47 ± 0.17
No.21	柴葛解肌湯	-11.87 ± 1.16	No.71	芍藥甘草湯	0.17 ± 0.42
No.22	人參敗毒散	-11.64 ± 0.64	No.72	柴陷湯	-10.47 ± 0.07
No.23	川芎茶調散	-8.43 ± 0.17	No.73	四逆散	-14.05 ± 0.30
No.24	荊防敗毒散	-6.02 ± 0.17	No.74	橘核丸	-14.14 ± 0.28
No.25	五積散	-7.25 ± 0.82	No.75	七寶美髯丹	-9.54 ± 1.10
No.26	逍遙散	-10.79 ± 0.57	No.76	大黃牡丹皮湯	-7.10 ± 0.65
No.27	加味逍遙散	-8.72 ± 0.25	No.77	芍藥湯	-7.88 ± 0.68
No.28	烏藥順氣散	-1.10 ± 0.39	No.78	桂枝茯苓丸	-9.01 ± 0.42
No.29	蘇子降氣湯	-4.94 ± 0.45	No.79	當歸拈痛湯	-9.10 ± 0.58
No.30	越鞠丸	-7.42 ± 0.64	No.80	當歸四逆湯	-7.48 ± 0.44
No.31	疏經活血湯	-0.26 ± 0.28	No.81	真武湯	-5.39 ± 0.19
No.32	抵當湯	-5.70 ± 0.42	No.82	小建中湯	-16.98 ± 0.18
No.33	血府逐瘀湯	1.74 ± 0.78	No.83	羌活勝濕湯	-1.95 ± 0.71
No.34	補陽還五湯	-13.95 ± 0.30	No.84	茵陳蒿湯	-9.53 ± 0.52
No.35	正骨紫金丹	-4.53 ± 0.20	No.85	薏苡仁湯	-15.37 ± 1.23
No.36	桃紅四物湯	-5.06 ± 0.25	No.86	潤腸湯	-13.45 ± 0.25
No.37	消風散	-2.36 ± 0.81	No.87	響聲破笛丸	-18.25 ± 0.23
No.38	上中下通用痛風丸	-6.56 ± 0.58	No.88	安中散	-11.91 ± 0.54
No.39	蠲痺湯	-7.63 ± 0.69	No.89	乙字湯	-14.35 ± 0.18

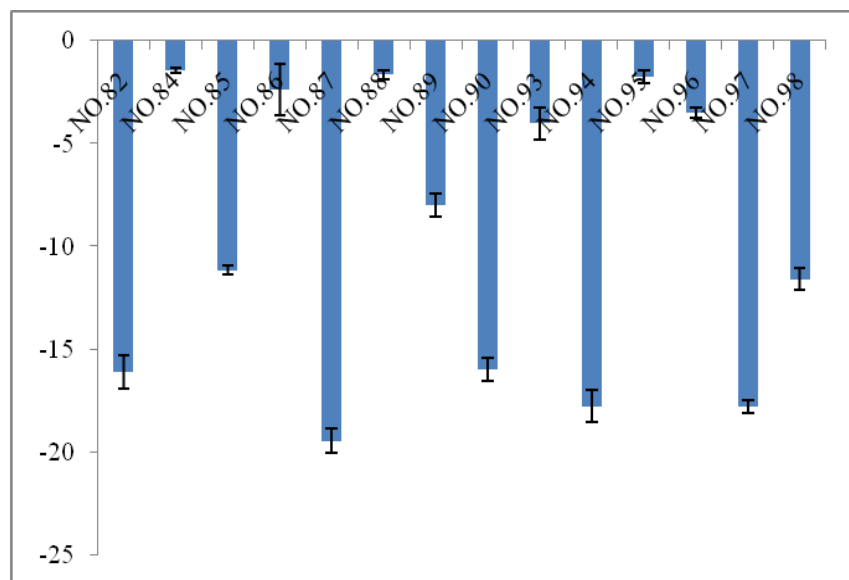
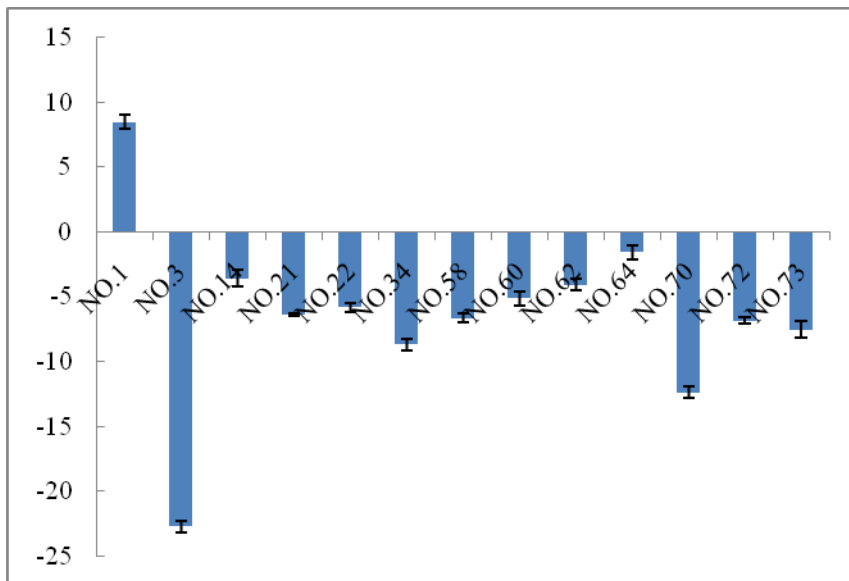
編號	中藥方劑	RV (%)	編號	中藥方劑	RV (%)
No.40	三痹湯	-9.16 ± 0.25	No.90	消痔丸	-13.88 ± 0.47
No.41	獨活寄生湯	-7.14 ± 0.14	No.91		
No.42	小續命湯	-6.77 ± 0.11	No.92	八味帶下方	-1.03 ± 0.71
No.43	清暑益氣湯	-1.51 ± 0.92	No.93	溫經湯	-12.21 ± 0.62
No.44	葶藶分清飲	6.74 ± 0.69	No.94	芎歸膠艾湯	-18.15 ± 0.53
No.45	茵陳五苓散	-3.49 ± 0.16	No.95	當歸芍藥湯	-13.52 ± 0.53
No.46	五淋散	-2.31 ± 0.37	No.96	生化湯	-12.25 ± 0.33
No.47	甘露飲	2.99 ± 0.45	No.97	黃連上清丸	-17.97 ± 0.18
No.48	龍膽瀉肝湯(丸)	4.31 ± 0.60	No.98	瓜蒌枳實湯	-12.15 ± 0.15
No.49	清胃散	-5.52 ± 0.78	No.99	連翹敗毒散	-7.68 ± 0.81
No.50	甘露消毒丹	-2.71 ± 0.46	No.100	補陰湯	-6.44 ± 0.58

表二、RV 值超過 10% 以上之中藥方劑

編號	中藥方劑	RV (%)	編號	中藥方劑	RV (%)
No.1	六味地黃丸	11.41 ± 0.20	No.84	茵陳蒿湯	-9.53 ± 0.52
No.3	知柏地黃丸	-20.54 ± 0.32	No.85	薏苡仁湯	-15.37 ± 1.23
No.14	濟生腎氣丸	-10.91 ± 0.29	No.86	潤腸湯	-13.45 ± 0.25
No.21	柴葛解肌湯	-11.87 ± 1.16	No.87	響聲破笛丸	-18.25 ± 0.23
No.22	人參敗毒散	-11.64 ± 0.64	No.88	安中散	-11.91 ± 0.54
No.34	補陽還五湯	-13.95 ± 0.30	No.89	乙字湯	-14.35 ± 0.18
No.58	散腫潰堅湯	-10.67 ± 0.31	No.90	消痔丸	-13.88 ± 0.47
No.60	如意黃金散	-11.44 ± 0.20	No.93	溫經湯	-12.21 ± 0.62
No.62	調經丸	-11.15 ± 0.05	No.94	芎歸膠艾湯	-18.15 ± 0.53
No.64	十神湯	-9.90 ± 0.20	No.95	當歸芍藥湯	-13.52 ± 0.53
No.70	柴胡桂枝湯	-10.47 ± 0.17	No.96	生化湯	-12.25 ± 0.33
No.72	柴陷湯	-10.47 ± 0.07	No.97	黃連上清丸	-17.97 ± 0.18
No.73	四逆散	-14.05 ± 0.30	No.98	瓜蒌枳實湯	-12.15 ± 0.15
No.82	小建中湯	-16.98 ± 0.18			



圖三、六味地黃丸與知柏地黃丸與 Warfarin 交互作用之 HPLC 圖



圖四、Warfarin 與 27 種中藥方劑併用後影響血清蛋白結構螢光之變化

表三、小鼠管餵中藥方劑 Warfarin 併用 2 mg/kg Warfarin 後之血球中濃度、
血液組成與凝血時間表

Warfarin 濃度($\mu\text{g/mL}$) Mean + SD						
	C	W	W+D1	W+D2	D1	D2
雄性小鼠	-	4.75 \pm 0.62	0.13 \pm 0.01	3.19 \pm 0.11	-	-
雌性小鼠	-	0.074 \pm 0.008	0.055 \pm 0.009	0.138 \pm 0.010	-	-

	正常範圍	控制組	歐服寧	歐服寧+六 味地黃丸	歐服寧+知 柏地黃丸	六味地黃丸	知柏地黃丸	SEM
雄性小鼠 Male								
WBC (k/uL)	1.8-10.7	9.30	6.09	4.21	8.15	7.33	7.33	1.78
RBC (M/uL)	6.36-9.42	6.06	7.05	4.88	7.67	8.08	5.59	0.88
HCT (%)	35.1-45.4	41.04	44.40	31.80	50.20	53.97	32.55	5.54
PLT (k/uL)	592-2972	554.60	838.00	681.50	997.00	1011.00	1661.25	209.53
MPV (fl)	5.0-20.0	4.04	3.88	3.35	3.83	3.63	4.40	0.41
雌性小鼠 Female								
WBC (k/uL)	1.8-10.7	5.40	7.06	5.20	5.17	6.38	6.15	1.22
RBC (M/uL)	6.36-9.42	7.15	7.62	6.93	8.61	8.34	7.37	0.85
HCT (%)	35.1-45.4	45.73	48.40	43.30	53.17	52.20	45.58	5.41
PLT (k/uL)	592-2972	1161.50	1335.00	1235.40	1111.17	1348.80	993.50	208.45
MPV (fl)	5.0-20.0	4.30	4.65	4.20	4.33	4.66	4.68	0.45

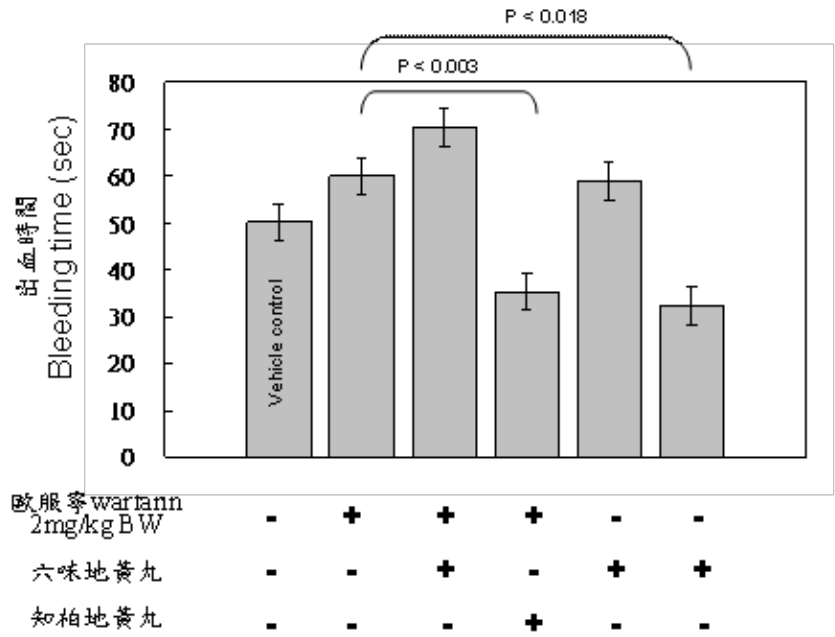
mean \pm SEM

	控制組	歐服寧	歐服寧+六 味地黃丸	歐服寧+知 柏地黃丸	六味地黃丸	知柏地黃丸	SEM
雄性小鼠							
APTT (sec)	26.1	29	22.13	23.47	32.43	30.20	2.85
Normalized Ratio	1	1.11	0.85	0.90	1.24	1.16	
雌性小鼠							
APTT (sec)	23.17	24.88	31.17	28.82	26.02	28.90	1.5
Normalized Ratio	1	1.07	1.35	1.24	1.12	1.25	

mean ± SEM

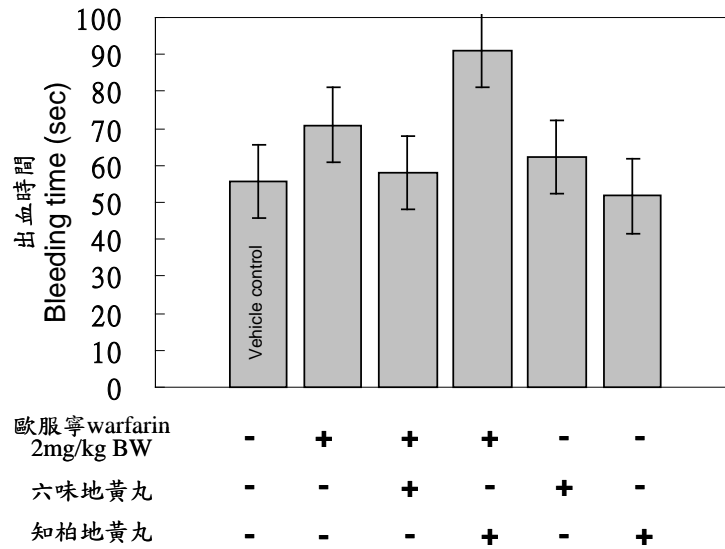
- 註：1. C：為不加 Warfarin 之老鼠血清空白組；W：為加了 Warfarin 之老鼠血清對照組
W+D1：加了 Warfarin 與六味地黃丸之老鼠血清；W+D2：加了 Warfarin 與知柏地黃丸之老鼠血清
D1：為加了六味地黃丸之老鼠血清對照組；D2：為加了知柏地黃丸之老鼠血清對照組
2. 中藥六味地黃丸或知柏地黃丸合併抗凝血劑歐服寧 warfarin 對於血液血球，白血球 (WBC；k/ μ L)，紅血球 (RBC；M/ μ L)，血容比 (HCT；%)，血小板數量 (PLT；K/ μ L) 與血小板平均大小 (MPV；fL) 之影響。結果表示以 mean \pm SEM；n = 5。
3. 中藥六味地黃丸或知柏地黃丸合併抗凝血劑歐服寧 warfarin 對於部分活化凝血原時間 (activated partial thromboplastin time；aPTT) 之影響。處理組與控制組間無顯著差異；中藥處方合併

aPTT 時間，反之單獨使用略微增加 aPTT。



圖五、六味地黃丸或知柏地黃丸合併抗凝血劑歐服寧 warfarin 對於雄性小鼠出血時間之影響。

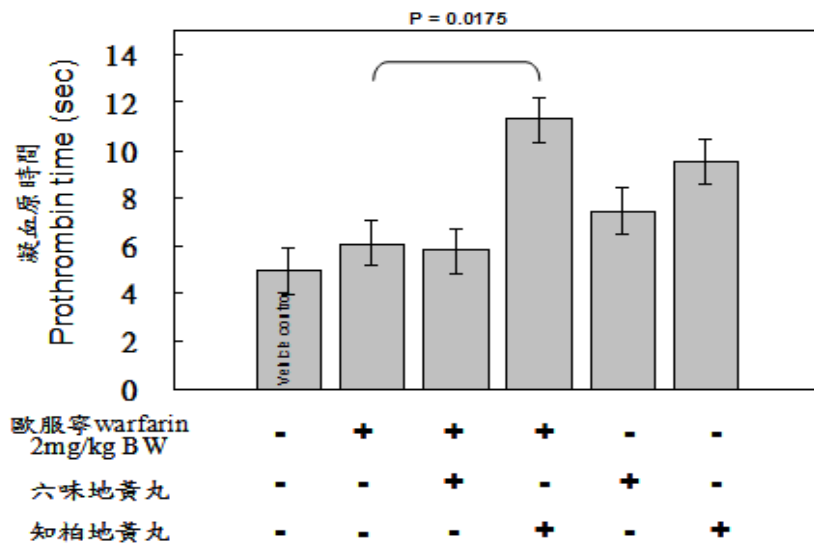
註：條狀圖代表各組平均出血時間 (mean ± SEM; n = 5)，除控制組給予生理食鹽水外，其餘各組分別口服給予 2 mg/kg BW 的歐服寧，六味地黃丸或知柏地黃丸。歐服寧於最後中藥給予 1 小時後以口服給予；並於歐服寧給予 1 小時後進行出血時間測量。各處理組與單獨口服歐服寧組進行比較。



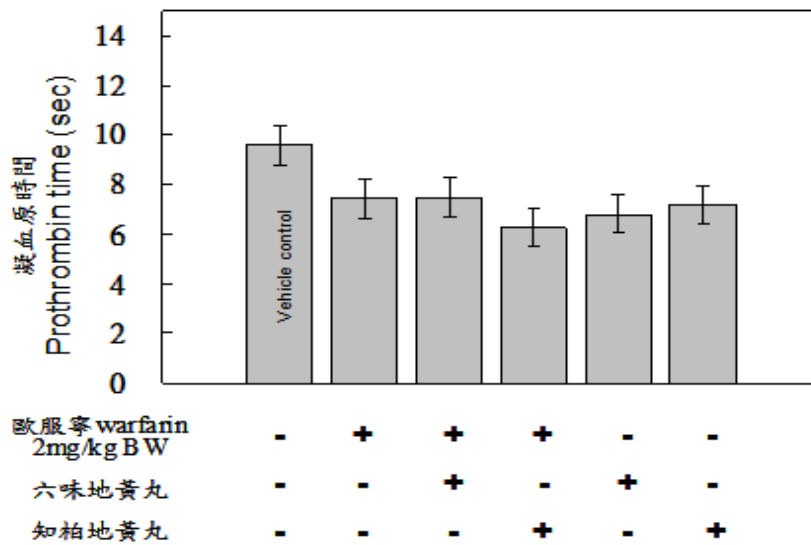
圖六、六味地黃丸或知柏地黃丸合併抗凝血劑歐服寧 warfarin 對於雌性小鼠出血時間之影響。

註：條狀圖代表各組平均出血時間 (mean ± SEM; n = 5)，除控制組給予生理食鹽水外，其餘各組分別口服給予 2 mg/kg BW 的歐服寧，六味地黃丸或知柏地黃丸。歐服寧於最後中藥給予 1 小時後以口服給予；並於歐服寧給予 1 小時後進行出血時間測量。各處理組與單獨口服歐服寧組進行比較。

A.



B.



圖七、中藥處方，六味地黃丸或知柏地黃丸單獨或合併抗凝血劑歐服寧 warfarin 對於雄性 (A) 與雌性 (B) 小鼠凝血原時間之影響。

註：條狀圖代表各組平均凝血時間 (mean ± SEM; n = 5)，除控制組給予生理食鹽水外，其餘各組分別口服給予 2 mg/kg BW 的歐服寧，六味地黃丸或知柏地黃丸。歐服寧於最後中藥給予 1 小時後以口服給予；並於歐服寧給予 1 小時後進行出血時間測量。各處理組與單獨口服歐服寧組進行比較。

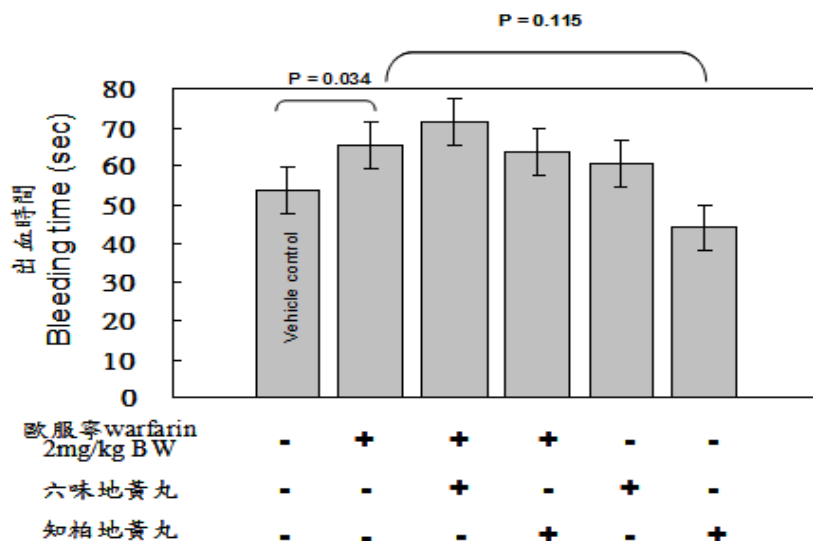
附錄一

正常供給飼糧與水之小鼠，以口服給予中草藥處方 — 六味地黃丸或知柏地黃丸單獨或合併抗凝血劑歐服寧對小鼠血液生化分析值之影響。小鼠口服中草藥處方二次，間格 8 小時，於最後一次投藥後 1 小時，口服給予抗凝血劑歐服寧 (2 mg/kg BW)，並於 1 小時後犧牲進行心臟採血分析，各血液分析值項目在各處理組間無顯著差異。由於血清總量限制，血清經稀釋後進行測量 GOT 與 GPT 值，計算後濃度於實驗各組均超出正常範圍，但處理組間與控制組並無顯著差異，顯示中草藥物或歐服寧藥物處理並無明顯毒性。

血液生化分析	正常範圍	控制組	歐服寧	歐服寧+六味地黃丸	歐服寧+知柏地黃丸	六味地黃丸	知柏地黃丸	SEM
GOT (IU/L)	69-191	702.67	602.67	736.00	548.00	336.00	652.00	33.45
GPT (IU/L)	26-120	188.00	936.00	270.67	293.33	140.00	184.00	35.72
T-bili (mg/dL)	0.3-0.9	0.73	0.76	0.77	0.72	0.71	0.77	0.00
T-p (g/dL)	4.3-6.4	3.33	3.33	3.60	3.47	3.33	3.33	0.03
Alb (g/dL)	2.5-4.8	2.93	3.07	3.20	3.07	2.80	2.93	0.02
Globulin (g/dL)	0.60	0.40	0.40	0.40	0.40	0.53	0.40	0.01
A/G	NA	29.33	30.67	32.00	30.67	22.00	29.33	0.28
T-Chol (mg/dL)	63-174	70.67	70.67	49.33	70.67	72.00	64.00	1.17
TG (mg/dL)	71-164	28.00	85.33	54.67	53.33	80.00	82.67	2.12

mean ± SEM

附錄二、



桃仁承氣湯及三黃瀉心湯併用 aspirin 治療 缺血後腦中風及降低神經行為缺陷之交互 作用與引起胃出血、顱內出血和蜘蛛膜下腔 出血之風險評估(2-1)

許準榕
臺北醫學大學

摘 要

腦中風是血管性疾病致死及發病的主要原因之一，影響人類健康甚鉅。中醫在腦中風的治療上，常用桃仁承氣湯及三黃瀉心湯做為臨床方劑；另一方面，西醫臨床上常用抗血小板藥物，如 aspirin 來治療中風。目前台灣有許多患者常會同時併用傳統中藥方劑與西藥如 aspirin 來治療或預防腦血管疾病，因此了解其相關的交互作用與副作用是值得深入研究的重要課題。

本計畫利用自體凝血塊引起中腦動脈阻塞的腦中風模式，來評估不同劑量的桃仁承氣湯和三黃瀉心湯，分別併用不同劑量 aspirin 下，其治療缺血後腦中風與降低因腦中風所引起之神經行為缺陷的交互作用及引起出血等風險評估及同時探討其可能作用機制。

研究結果發現桃仁承氣湯(0.25, 0.5 克/公斤/天)能有效的減少 中大腦動脈阻塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 手術所造成之腦部傷害，提高 HIF-1 α 、iNOS 的表現，並抑制 TNF- α 、及 active caspase-3 及自由基的表現；而三黃瀉心湯 (0.1, 0.2 克/公斤/天)對於 MCAO 手術所造成之腦部傷害則沒有明顯的抑制作用，在 HIF-1 α 、iNOS、TNF- α 、active caspase-3 及自由基的表現上，亦無明顯差別。

本研究結果顯示，桃仁承氣湯透過減少 TNF- α 、active caspase-3 及自由基的表現來抑制中風；另外，也可能透過增加 HIF-1 α 、iNOS 表現來使腦部受損區域的血管新生程度增加，進而抑制腦組織持續壞死。相較於三黃瀉心湯，桃仁承氣湯為較有效的中風後治療方劑。

關鍵字：桃仁承氣湯、三黃瀉心湯、aspirin、缺血性腦中風、神經行為缺陷

Comparative Studies of Tao-Ren-Cheng-Qi Tang or San-Huang-Xie-Xin Tang with Aspirin on Neuroprotection and Lowering the Neurobehavioral Deficits in Rat Ischemic Stroke: Evaluation the Risks of Inducing Gastric Bleeding, Intracerebral Hemorrhage, and Subarachnoid Hemorrhage (2-1)

Joen-Rong Sheu
Taipei Medical University

ABSTRACT

Stroke is the third leading cause of mortality and morbidity in the world. In China, Tao-Ren-Cheng-Qi Tang and San-Huang-Xie-Xin Tang has long been used by traditional Chinese physicians to treat ischemic stroke. On the other hand, aspirin are routinely used to prevent ischemic stroke clinically. Nevertheless, many studies indicate that taking aspirin will increase the risk of excessive bleeding. In Taiwan, a large amount of patients often simultaneously use TCM and aspirin to treat or prevent cerebralvascular diseases. Consequently, to investigate the interactions and possible risks of these drugs combination is important and warrant study.

A combination of three doses of Tao-Ren-Cheng-Qi Tang or San-Huang-Xie-Xin Tang with two different doses of aspirin were used in this project to investigate their interactions and risks during the autologous blood clot-induced ischemic stroke and neurobehavioral deficits in rats. In addition, this project will also be performed the bleeding risk and explores the possible mechanisms.

Our results show that Tao-Ren-Cheng-Qi Tang (0.5 and 0.25 g/kg) reduced MCAO (middle cerebral artery occlusion)- induced brain injury, but San-Huang-Xie-Xin Tang has no effect in reducing the damage of brain. Tao-Ren-Cheng-Qi Tang also inhibited MCAO-induced TNF- α and active caspase-3 expression, the protein expression of iNOS and HIF-1 α was enhanced. The protective effect of Tao-Ren-Cheng-Qi Tang on MCAO-induced brain injury may mediate through inhibition of TNF- α and active caspase-3 expression and sequentially suppressed cell apoptosis, and the upregulation of iNOS and HIF-1 α may induce the

calibrate angiogenesis, following mediate the brain recovery.

Keywords: ischemic stroke, rt-PA, Xue Fu Zhu Yu Tang

壹、前言

根據衛生署統計，腦血管疾病為台灣男性及女性的第3大死因，以2000年WHO世界人口年齡結構為基準計算標準化死亡率，腦血管疾病患者的男性死亡率為女性之1.5倍。腦中風屬於腦血管疾病的其中一類，也稱作急性腦血管病變，其為所有單一類疾病致死率的第一位。腦中風主要影響通到腦部以及腦內部的血管，當血管被血液的栓塊或是因為破裂而造成血液無法正常供應氧氣及養分至腦部時，就會發生腦中風的現象。一旦腦部發生血液供應不足的情形，在短短數秒內，腦部的細胞就會開始死亡。腦中風的種類主要分為缺血性和出血性兩大類。根據統計，在台灣地區，有百分之八十是缺血性的腦中風，出血性腦中風大約佔百分之二十。本計畫所要探討的主要是缺血性腦中風的藥物治療，因此以下將對缺血性腦中風作詳細的介紹。

缺血性腦中風一般又可分為腦血栓(thrombus)或腦栓塞(embolus)，通常是由於血栓所形成的部位不同而作區別：腦血栓是指動脈本身粥狀硬化，血管壁逐漸變厚，管腔狹窄，終至完全阻塞，以致其所灌流的腦細胞因缺血及缺乏養分供應而壞死；腦栓塞是指腦內血管被血液中來自體內其他部位所產生之栓子阻塞後，以致血流中斷而產生缺血性壞死，這類的栓子多由心臟或頸動脈而來。缺血性腦中風的病人當中，約有三分之二的病患於早期症狀較輕微時得以生存，但大部分的人會因為局部腦細胞壞死而明顯地感覺到運動方面或是意識上的障礙。在腦中風發生四十八小時以上之患者腦部發現，部分腦組織會呈現間斷性去極化作用發生，稱作缺血半影區(penumbra)，也就是缺血較不嚴重之區域，它是環繞在缺血中心周圍組織部份，在沒有積極治療的情況下，缺血半影區會逐漸阻塞導致更進一步的反應產生，如：興奮性毒害、去極化的蔓延以及缺血後之發炎反應產生。如果可以維持此區域的血液灌流強度及養分供應，藉以使得神經細胞生存，可以避免長期性的腦部傷害發生(Obrenovitch et al., 1995；Strong et al., 2000；Phan et al., 2002)。然而腦中風所造成的傷害機轉是一種很複雜的反應，主要的傷害源自於血流受阻而產生低血氧(hypoxia)及血糖過低(hypoglycemia)。當養分供應受阻導致能量下降將會引發一連串的相關反應。細胞內主要能量來源為腺苷三磷酸(adenosine 5-triphosphate, ATP)，當ATP下降之後會引起細胞內相關的酵素或生理反應無法正常進行，而造成後續的傷害產生；例如：位在細胞膜上控制細胞內外離子平衡的鈉-鉀幫浦，

為一種需要 ATP 的腺苷三磷酸水解酶(ATPase)，當細胞缺乏 ATP 時，這種離子幫浦的功能就會降低，而導致細胞外鉀離子及細胞內鈣、鈉、氯等離子蓄積。然而細胞本身具有回饋機制可調控此種離子不平衡狀態，乃利用離子交換幫浦(transporter)設法調控細胞膜各離子電位至穩定的狀態，但其副作用卻會造成大量的鈣離子內流至細胞膜內，如此一來便會引起神經末梢一種興奮型的胺基酸-麩氨酸(glutamate)的大量釋放。當麩氨酸通過突觸前麩氨酸通道接到下游突觸受體上，這些受體分成兩種：離子通道型(ionotropic glutamate receptor)與代謝型(metabotropic glutamate receptor)；離子通道型為 N-methyl-d-aspartate (NMDA)、2-amino-3-(3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-yl) propionate (AMPA)及 kainate 接受體；代謝型受體主要為 GTP-binding protein。離子通道型的麩氨酸接受體被活化主要會使鈉、鈣、鉀離子的通透性變高；代謝型麩氨酸接受體被活化後，主要使一些儲存於突觸後神經元內之鈣離子釋放，這些突觸後接受體的活化就是造成神經興奮性毒害產生的主因(Arundine et al., 2003)。興奮性毒害除了鈣離子內流外，還包括鈉、氯離子以及水分被動傳輸至細胞膜內，進一步產生水腫、細胞膜損傷、神經壞死等傷害；除此之外，細胞內鈣的提高也會造成粒線體鈣離子大量蓄積，使 ATP 的製造停止，鈣離子活化磷脂質分解酶(phospholipases)、蛋白酶(proteinases)及內切酶(endonucleases)，進而將磷脂質、蛋白質及核酸大量分解以及使麩氨酸大量的釋出傳播到鄰近的細胞造成興奮性毒害擴散(Arundine et al., 2003；Moro et al., 2004；Slevin et al., 2005)。

缺血性中風的治療主要可以分為三大類：一、血栓溶解劑，二、抗血小板藥物，三、神經保護製劑。在血栓溶解劑方面，這類用藥的選擇並不多，目前唯一為美國 FDA 所核可的藥物是 recombinant tissue-type plasminogen activator (rt-PA)，在發生缺血性中風三個小時內投與 rt-PA 治療，可以有效改善中風病患預後也較佳。儘管 rt-PA 至今仍是治療缺血性腦中風的首選藥物，但由於其使用時機之緊迫性以及費用過高等問題，導致 rt-PA 治療上的限制過於嚴苛。rt-PA 若超過它的黃金使用時段，很可能會造成更嚴重的副作用產生，反而使病人因為顱內出血等而導致死亡危險性增加。

相對於血栓溶解劑，另一類的抗血小板藥物(如 aspirin, clopidogrel 等)亦被使用於不適用血栓溶解劑治療的病人(例如中風後三小時未使用 rt-PA)，來避免血管血栓的發生。血小板在缺血性中風發生時被大量活化，

並且釋放血栓素 A₂ (thromboxane A₂)等凝血物質，引起血小板進一步的凝集反應，導致中風程度惡化。因此抗血小板藥物可能透過抑制血栓形成，因而降低腦缺血梗塞面積，同時亦可避免短時間內再發生二次中風及肺栓塞的危險，因而可減少病患的死亡率(Sandercock et al., 2009)。

目前 aspirin 被建議使用於治療缺血性腦中風(Adams et al., 2007)；在兩項大型隨機、非盲、介入性研究(International Stroke Trial, IST；Chinese Acute Stroke Trial, CAST)中顯示，中風病人在發病後 48 小時內連續給予 aspirin (300 毫克/天) 14 天，可明顯的降低中風的復發率和死亡率。另外，以 43,041 位病人為研究對象，發現發病後及時給與 aspirin 治療，可明顯的提升中風治療成效與痊癒機率(Sandercock et al., 2009)。因此目前 aspirin 的相關藥物已被北美洲、歐洲及日本等許多國家列為治療腦中風的標準治療藥物。

在另一方面，神經保護製劑也被用來治療缺血性腦中風。當缺血性腦中風發生時，局部血栓阻塞造成神經壞死，但是圍繞在缺血中心外之缺血半影區細胞，仍然具有部分生理活性，如果血栓未移除或是血液的再灌流可能會導致神經細胞的二度傷害。因此這類神經保護劑其目的就是要使這些造成二度傷害的程度減少，進而保護腦部神經，但目前這類製劑尚未被正式核可使用(Ren et al., 2004)。

傳統中醫以中風起病之快速，症狀之多變化，猶如風邪善行而數變，故傳統中醫將中風之發病機制多歸因於體內氣血虧虛、肝鬱化火、痰濕內盛或臟腑功能失調；同時可能因酗酒飽食、勞倦內傷或憂思惱怒等而導致氣血阻滯、腦脈痹阻而成。病位在腦，與心、肝、脾、腎臟器關係密切，其病理屬性屬本虛標實、上實下虛；以肝腎不足、氣血虧虛為本，痰濁、風火、肝陽、瘀血為標。因此傳統中醫的治療方式多利用去瘀血、活血絡，加以通腑法，熄肝陽、瀉心火為治療準則。

桃仁承氣湯出自《傷寒論》，由桃仁、桂枝、芒硝、大黃及甘草組成，具有通腑、活血化瘀的功效。本方為治療瘀血內結，下焦蓄血證的主方。方劑中之桃仁、大黃相配合可破血逐瘀，是本方的主藥；同時桂枝可通血脈，芒硝可軟堅助下，甘草可緩和諸藥之峻烈。雖然在台灣並無此方劑在中風方面應用的報導，但此方劑在中國大陸臨床上已被證實對治療腦中風有顯著的療效(焦波濤, 2000；霍光旭, 2005)。

另一知名苦寒藥，三黃瀉心湯出自《金匱要略》，由大黃、黃連、黃芩所組成；此方劑對於熱甚且迫血妄行之吐血、便血、上消化道出血等具有療效；同時三黃瀉心湯亦具有瀉心邪熱之功效，已被證實具有抗發

炎、抗自由基的活性(Liou et al., 2011)，另外對於缺血後再灌流引起的心臟損傷也具有保護作用(Liou et al., 2011)。同樣地，本方劑在台灣亦無中風方面應用的報導，然而在中國大陸臨床上已被證實對相關的心血管疾病具有一定的療效(呂永贊等, 2008)。

雖然血栓溶解劑至今仍是治療缺血性中風的首選藥物，但是若病患超過黃金三小時後才施打，可能就會造成更嚴重的副作用產生；另外血栓溶解劑價格昂貴，且依照健保局規定，血栓溶解劑應由神經內、外專科醫師施打，施打處所應有加護病房或同等級之設施，種種條件使得血栓溶解劑的使用備受限制。因此研究血栓溶解劑替代藥物(如 aspirin)對缺血性腦中風的療效及副作用確實有其必要性。

近年有許多研究提到 aspirin 併用其他抗血小板藥物(例如：clopidogrel)，較單獨給與 aspirin 具有更好治療缺血性中風或預防二次中風的效果(Markus et al., 2005)，但是長期下來可能會有出血的副作用，包括胃出血、蜘蛛膜下腔出血及顱內出血。儘管 aspirin 與其他抗血小板藥物併用的效果及風險已被廣泛研究及探討，但 aspirin 併用中藥方劑來治療缺血性腦中風的研究卻幾乎沒有，相當可惜。因此如何併用中藥傳統方劑來加成 aspirin 治療缺血性腦中風的效果並避免其出血風險，是一值得深入研究的課題。為了中醫藥的使用在缺血性腦中風的臨床治療上能更為完備，且為國際所接受，本實驗室特邀美國約翰霍普金斯大學童瑞恭教授，協助建立最新的大鼠自體凝血塊引發缺血性腦中風模式(thromboembolic stroke model)，此一動物模式更符合病患中風時的狀況，對中風的臨床治療提供更為完善的研究模式，利用此一模式研究中醫藥治療，將讓中醫治療更為人所接受。

本計畫第一年，我們在自體凝血塊引起腦中風之老鼠，分別餵食低、中、高三種不同劑量之桃仁承氣湯(0.25, 0.5, 1.25 克/公斤/天；一般臨床建議用量為 16 克/人/天，依此轉換為老鼠劑量大約為 0.25 克/公斤/天)或三黃瀉心湯(0.1, 0.2, 0.5 克/公斤/天；一般臨床建議用量為 6 克/人/天，依此轉換為老鼠劑量大約為 0.1 克/公斤/天)，同時併用兩種不同劑量之 aspirin (2 和 5 毫克/公斤/天；一般臨床建議用量為 100 毫克/人/天，依此轉換為老鼠劑量大約為 2 毫克/公斤/天)，分別餵食 1、2 及 3 個月後，比較其改善腦部缺血面積的差異性及神經行為缺陷的變化；同時測量手術後及餵食過程中腦部血流的變化。同時進一步分析其可能的作用機制，如測量腦組織中與細胞凋亡有關的蛋白表現(如 MMP-9, caspases, HIF-1 α , TNF- α 等)以及自由基(如

OH⁻)的變化。

由於 aspirin 在臨床上已廣被使用在治療急性中風或者是預防中風，因此我們推測桃仁承氣湯及三黃瀉心湯併用 aspirin 對於治療缺血性腦中風可能具有加成效果。透過本計畫的完成，預期將闡明桃仁承氣湯及三黃瀉心湯分別併用 aspirin 治療腦中風的療效及引起出血的可能性，以提供確切的實證數據做為臨床之參考依據。

貳、材料與方法

一、大鼠自體血塊引發中腦動脈血管阻塞/再灌流模式

本實驗使用的活體動物為大鼠 250-350 g (品系 Wistar)，參考 Krueger 等人(2002)之方法加以修飾。老鼠以 3 % isoflurane (溶於 95 % O₂ 和 5 % CO₂) 氣體混和器麻醉並以 2 % isoflurane 維持麻醉。頸部皮膚由中線切開，找出右側總頸動脈(right common carotid artery)、外頸動脈(external carotid artery)、與內頸動脈(internal carotid artery)，將前一天製備好之大鼠血塊，經由外頸動脈插入至內頸動脈，即造成右側大腦中動脈(right middle cerebral artery)之阻塞(ischemia)，然後縫合傷口，使老鼠自然甦醒。我們將利用行為測試確認大鼠處於成功的單一側的腦部缺血。待一小時後，再麻醉老鼠，利用 rt-PA (8 mg/kg)溶解血塊以促使血液再灌流(reperfusion)至缺血腦區域。二十四小時後，將腦組織取下做進一步的分析。手術過程中老鼠體溫均維持在溫度 37°C。

二、腦梗塞區域(infarct size)之測定

參照 Bederson & Pitts 等人(1986a)的方法及原理，待二十四小時的血液再灌流後，使用 chloral hydrate 400 mg/kg 麻醉老鼠後，併用二氧化碳進行安樂死(euthanasia)。於低溫及含氧下將大腦組織取出，將之冠狀切片成 2 mm 厚度。以 2 % TTC (2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride)在溫度 37°C 下染色 30 分鐘後，隨即放入 10 % formaldehyde solution 固定。隔天，腦切片用數位相機照相(Nikon Coolpix 5000)，最後以影像分析軟體(Image-Pro Plus)計算腦梗塞體積之百分比(% infarction volume)，參考 Swanson 等人(1990)之公式，以排除腦水腫之干擾：

A：同側腦半球(右腦)未受損面積

B：對側腦半球(左腦)面積

校準後的腦受損率： $(B - A) / B \times 100 \%$

三、組織蛋白質抽取及西方墨點法

大鼠經手術二十四小時之後，腹腔注射劑量 400 mg/kg 水合氯醛(chloral hydrate)加以麻醉後，併用二氧化碳進行安樂死，再以 50-100 ml 之 PBS 由大鼠左心室進行灌流，並剪開右心房讓血液與灌流液流出。大鼠在灌流後，小心的取下大腦並將其冠狀切片，從腦前頂端部分開始算起，取 3-9 mm 的部分再分離成左右大腦半球，以液態氮急速冷卻後儲存於-70°C 備用。組織由-70°C 回溫之後，於 4°C 下加入 lysis buffer (50 mM HEPES buffer,

containing 100 mM KCl, 10 mM MgCl₂, 10 mM NaH₂PO₄, EDTA 5 mM and protease inhibitors including aprotinin 10 µg/ml, PMSF 1 mM, and leupeptin 10 µg/ml, and phosphatase inhibitors including NaF 10 mM, sodium orthovanadate 1 mM and sodium pyrophosphate 5 mM)加以研磨。經研磨過後之均質液於 4°C、10000 ×g 下離心 30 分鐘，小心抽取其上清液保存於-70°C。將均質液依 Bradford(1976)的方法測定其蛋白質含量，並使用牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)為標準品。

將實驗處理後取得之以定量之細胞內蛋白質成分以 5:1 的體積比例加入 6 x sample loading dye (350 mM Tris-base, 30 % Glycerol, 350 mM SDS, 175 µM bromophenol blue, 600 mM DTT, pH 6.8)充分混勻，並在 100°C 加熱約 5 分鐘，使蛋白質 denature 後，快速置於冰上至少 5 分鐘，以避免回溫過程中酵素影響蛋白質表現，最後在 4°C 下以轉速 5000 rpm 離心 5 分鐘後備用。再以 10 % SDS gel 於 running buffer (25 mM Tris-base, 192 mM Glycerol, 0.1 % SDS, pH 8.3)下，以 200 V/80 mA 進行電泳分離。隨後將膠片置於 transfer buffer (1 M Tris-base, 20 % methanol, 150 mM glycine, pH 8.3)下，以 70 V/300 mA 進行電泳轉漬 3 小時，使膠片上之蛋白質轉移至 nitrocellulose membrane (NC; Hybond-C)或 polyvinylidene fluoride microporous membrane (PVDF; Hybond-P)表面，隨後將轉漬膜浸潤在 4°C 的 blocking buffer (5 % non-fat milk, 10 mM Tris-base, 100 mM NaCl, 0.1 % Tween 20, pH 7.5)中，搖晃 40 分鐘後，以 TBST (10 mM Tris-base, 100 mM NaCl, 0.1 % Tween 20, pH 7.5) 清洗轉漬膜 3 次，每次 10 分鐘，之後加入一級抗體(primary antibody)，於室溫下搖晃作用 2 小時。在用 TBST 清洗轉漬膜四次，每次 7 分鐘，之後再加入標記有 horseradish peroxidase (HRP) 的二級抗體(secondary antibody)，於室溫下反應 1 小時，再以 TBST 清洗轉漬膜四次，每次 7 分鐘。最後使用冷光反應劑 enhanced chemiluminescence (ECL) Western blotting detection reagent 使底片感光，以偵測蛋白質的表現情形。最後將成像後的底片掃描輸入電腦，以影像分析軟體(Bio-1D version 99)作分析處理。

四、神經缺陷分級(neurological deficits)

根據 Bederson 等人(1986b)以及 Lee 等人(2002)所作之分級制度，評估大鼠中風後運動神經受損的程度。分別在第一小時與第二十四小時的血液再灌流時，請旁觀者先判定大鼠的行為模式，再將大鼠處以其他的實驗。此分級制度詳述如下，若大鼠呈現較嚴重的等級，以較嚴重的等級分類。神經學檢查過程歷時 3~5 分鐘。

首先溫和地握住大鼠尾巴使其懸掛距離地面一公尺，觀察前掌彎曲的現象。若大鼠的兩前掌能均衡延展向地面，並且沒有觀察到其他的神經缺損現象，為正常的老鼠，表示 0 級。有腦梗塞的大鼠會將前肢一致性地往腦損傷半球的對側(contralateral)收縮；而前肢收縮隨著損傷的程度不同而改變，輕度的收縮如腕彎曲、肩內收和肘僵直。較嚴重收縮則造成腕、肘完全彎曲與肩的內收和向內旋轉。大鼠有上述程度的前肢收縮且沒有其他異常時，歸類為第 1 級。大鼠被放置於軟質塑膠塗覆的大紙(counter protection paper, Kimberly Clarke)上時，會以爪子緊緊抓住紙張。以手抓住老鼠的尾巴，從肩後施以力量直到大鼠的前肢滑動數英吋。依此步驟從不同的方向操作數次，正常或輕微中風的大鼠對於不同方向的拉力有相同的抵抗力，嚴重中風的大鼠對朝麻痺體側的橫向施力會減低抵抗力，歸類為第 2 級。接著讓大鼠自由活動，觀察其繞圈的行為，若老鼠往麻痺的體側移動，歸類為第 3 級。若大鼠喪失走路或困難於行走，歸類為第 4 級。

觀察過程假使大鼠呈現間歇性抽搐(convulsions)或是持續性意識混亂(sustained disturbances of consciousness)，將排除於實驗外。原因可能是在手術的過程中，由於細線的插入，產生機械性傷害使腦動脈破裂，導致蜘蛛網膜下腔出血(Belayev et al., 2003)。

五、自由基測定方法

本實驗利用 Bruker EMX ESR spectrometer (電子順磁共振儀)來測定自由基的表現，測定時實驗儀器的設定參數如下：3456 ± 50 G; power of 0.635 mW; a modulation frequency of 100 kHz; a frequency of 9.663 GHz; a modulation amplitude of 1 G; receiver gain of 6.3×10^{-4} ; a time constant of 81.92 ms; and a conversion time of 327.68 ms. 測定方法如下：離心收集組織上清液後加入電子順磁共振儀之試管，在試管中測定不同實驗組的大鼠腦部，在藥物治療缺血性腦梗塞前後所產生的自由基變化。抑制比例的換算公式為：1 - [signal height (brain homogenate)/signal height (solvent control)].

六、實驗設計：給藥劑量、時間、動物分組及評估

本實驗之給藥設計為：利用自體凝血塊引發動物腦血管梗塞後 24 小時，以胃管餵食低、中、高三種不同劑量的桃仁承氣湯(GMP 藥廠股份有限公司)和三黃瀉心湯(GMP 藥廠股份有限公司)，分別併用兩種不同劑量的 aspirin 1, 2 及 3 個月後，評估其腦梗塞面積與因腦中風所引起之神經行為缺陷的差異。

註：

1. 桃仁承氣湯一般臨床建議用量為 16 克/人/天，依此劑量轉換為老鼠劑量大約為 0.25 克/公斤/天 (基準量)。
2. 三黃瀉心湯一般臨床建議用量為 6 克/人/天，依此轉換為老鼠劑量大約為 0.1 克/公斤/天 (基準量)。
3. Aspirin 一般臨床建議用量為 100 毫克/人/天，依此轉換為老鼠劑量大約為 2 毫克/公斤/天 (基準量)。

實驗分組為：

- (1) 未進行手術(sham)組
- (2) 餵食蒸餾水(控制)組
- (3) 單獨給與 aspirin (5 毫克/公斤/天)分別餵食 1, 2 及 3 個月。
- (4) 單獨給與桃仁承氣湯 (0.5 克/公斤/天)分別餵食 1, 2 及 3 個月。
- (5) 單獨給與三黃瀉心湯 (0.2 克/公斤/天)分別餵食 1, 2 及 3 個月。
- (6) 餵食低、中、高三種不同劑量之桃仁承氣湯 (0.25, 0.5 克/公斤/天)同時併用兩種不同劑量之 aspirin (2 及 5 毫克/公斤/天)分別餵食 1, 2 及 3 個月。
- (7) 餵食低、中、高三種不同劑量之三黃瀉心湯 (0.1, 0.2 克/公斤/天)同時併用兩種不同劑量之 aspirin (2 及 5 毫克/公斤/天)分別餵食 1, 2 及 3 個月。

依以上分組進行實驗，樣本數每組皆為 6 隻 (公鼠 3 隻，母鼠 3 隻; 性別議題); 依 2000 年 WHO 統計資料顯示，中風患者男性死亡率為女性之 1.5 倍; 因而本計畫亦探討此二方劑併用 aspirin 治療缺血性腦中風，其效用在不同性別上是否具有性別差異性。

七、數據分析

實驗數據皆以平均值±標準誤差(means ± S.E.M.)表示，控制組與餵食藥物組之間的差異，實驗的統計則以 one-way ANOVA 作統計分析。若有意義差別，再以 Newman-Keuls 方法比較各組間的差異性，若 $P < 0.05$ 則表示有意義的差別。

參、結果

- 一、從鼠腦冠狀切片染色中可看到，中大腦動脈阻塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)組不論是 1、2 或 3 個月，其造成的腦損傷皆可達到 40% 以上(圖一至圖六)；另外，單獨餵食 aspirin 5 mg/kg 的組別，在 1、2 或 3 個月後，其腦損傷的程度與 MCAO 組相較，並無明顯差異(圖一至圖六)。相較於 MCAO 組，我們發現單獨給予桃仁承氣湯(0.5 g/kg/day)、併用桃仁承氣湯(0.5, 0.25 g/kg/day)與 aspirin(2 mg/kg/day)、併用桃仁承氣湯(0.5, 0.25 g/kg/day)與 aspirin (5 mg/kg/day)，不論是在 1、2 或 3 個月，皆顯著抑制 MCAO 造成的腦損傷(圖一至圖三)。而在餵食三黃瀉心湯的組別，不論是單獨給予三黃瀉心湯(0.2 g/kg/day)、併用三黃瀉心湯(0.2, 0.1 g/kg/day)與 aspirin(2 mg/kg/day)、併用三黃瀉心湯(0.2, 0.1 g/kg/day)與 aspirin(5 mg/kg/day)，不論是在 1、2 或 3 個月，其腦損傷程度與 MCAO 組相比，皆無統計差異(圖四至圖六)。
- 二、圖七顯示進行手術後，單獨餵食 aspirin (5 mg/kg/day) 1、2 或 3 個月後，其神經缺陷等級與 MCAO 組別並沒有明顯的差異，而單獨給予桃仁承氣湯(0.5 g/kg/day)、及併用桃仁承氣湯(0.5 g/kg/day)與 aspirin(5 mg/kg/day)的組別，自第一次測量點(手術後 10 天)，其神經缺陷等級與 MCAO 組別相比，已有明顯差別。另外不論是單獨給予三黃瀉心湯(0.2 g/kg/day) (圖八)，或是併用三黃瀉心湯(0.2 g/kg/day)與 aspirin(5 mg/kg/day)的組別，神經缺陷等級與單獨餵食 aspirin(5 mg/kg/day) 組及 MCAO 控制組，在 1、2 及 3 個月後皆無明顯差別。而在腦血流部分，給予桃仁承氣湯(0.5 g/kg/day)、及併用桃仁承氣湯(0.5 g/kg/day)與 aspirin(5 mg/kg/day)的組別，明顯的較單獨餵食 aspirin (5 mg/kg/day) 與 MCAO 的組別高(圖九)，而不論是單獨給予三黃瀉心湯(0.2 g/kg/day) (圖十)，或是併用三黃瀉心湯(0.2 g/kg/day)與 aspirin(5 mg/kg/day)的組別，其腦血流與 MCAO 組別相比，都沒有具統計意義的差別。
- 三、我們更深入的討論藥物在體內作用可能的分子機轉，我們發現單獨餵食 aspirin (5 mg/kg/day) 1 或 3 個月後，其 HIF-1 α 、iNOS、TNF- α 、caspase-3 與氫氧自由基的表現與 MCAO 組別並沒有明顯的差異，給予桃仁承氣湯(0.5 g/kg/day)、及併用桃仁承氣湯(0.5 g/kg/day)與 aspirin(5 mg/kg/day)的組別，其 HIF-1 α 、iNOS 的表現明顯的較單獨餵食 aspirin (5 mg/kg/day) 與 MCAO 的組別高，而 TNF- α 、caspase-3 與氫氧自由基的表現則是被抑制下來(圖十一、圖十二、圖十五、圖十六)。另外，不論是單獨給予三黃瀉心湯(0.2 g/kg/day) (圖八)，或是併用三黃瀉心湯(0.2 g/kg/day)與 aspirin(5 mg/kg/day)的組別，其 HIF-1 α 、iNOS、TNF- α 、

caspace-3 與氫氧自由基的表現在 1 或 3 個月後，與 MCAO 組別並沒有明顯的差異。(圖十三、圖十四、圖十七、圖十八)

肆、討論

- 一、首先本計劃先建立大鼠自體血塊引發中動脈血管阻塞/再灌流模式(MCAO)動物實驗模式，單獨餵食溶劑之控制組進行手術後，腦部切片相較於未進行手術的組別有明顯的差異，產生腦梗塞的面積大約為百分之四十，證明了此一動物實驗模式確為可行。桃仁承氣湯及三黃瀉心湯，此兩方劑在中醫學，皆使用於治療中風症狀。依實驗分組進行實驗後，由染色的腦部切片及統計數據結果顯示，中風後給予桃仁承氣湯(0.5 或 0.25 g/kg/day)，不論是否併用 aspirin，都能非常明顯的抑制中風所造成的腦實質傷害。而給予三黃瀉心湯(0.1 或 0.2 g/kg/day)的組別，不論是否併用 aspirin，都無法減少中風所造成的腦損傷。以上結果顯示顯示中風後給予桃仁承氣湯，可能具有的保護腦部的效果(圖一至圖六)。
- 二、在圖七至圖八中，我們則發現在比較 MCAO (○)以及給予桃仁承氣湯(0.5 g/kg/day) (▽)的組別後，其因缺血性中風所導致神經缺陷引起行為變化的等級，相對 MCAO 組具有統計上的差異。在腦血流量的曲線圖中，我們發現給與桃仁承氣湯，其腦血流量相對於 MCAO 組也具有顯著的提升(圖九、圖十)。另外，在給予三黃瀉心湯的組別，不論是神經缺陷行為變化等級或是腦血流量，相對於 MCAO 組別都沒有顯著的差異。以上結果說明了以桃仁承氣湯治療缺血性腦中風，的確有可能改善人類中風後的行為表現。
- 三、圖十一、圖十二、圖十五、圖十六顯示，相對於未進行手術的組別(lane 1)，單獨餵食溶劑並進行 MCAO 手術之控制組(lane 2)在 1 及 3 個月後，其大腦組織中 HIF-1 α 、TNF- α 、caspase-3、iNOS 和 OH \cdot 的表現量均有明顯的增加，而餵食桃仁承氣湯(0.5 g/kg/day)、及併用桃仁承氣湯(0.5 g/kg/day)與 aspirin(5 mg/kg/day)的組別(lanes 4、5)與控制組(lane 2)相較，其 TNF- α 、caspase-3及自由基等會造成細胞走向凋亡(apoptosis)的因子，都明顯的被抑制下來；而 HIF-1 α 、iNOS 等因子則顯著的表現出來；研究指出，在中風後期(1 及 3 個月) HIF-1 α 、iNOS 的表現會使血管增生(angiogenesis) (Liao et. al., *Brain Res.* 2009)，進而促進大腦實質的複元，達到保護腦細胞以減少腦部傷害的效果。而由圖十三、圖十四、圖十七、圖十八，則可以發現不論是否併用 aspirin，餵食三黃瀉心湯(0.1 或 0.2 g/kg/day)的組別 1 及 3 個月後，其腦組織中 HIF-1 α 、

TNF- α 、caspase-3、iNOS 和 OH \cdot 的表現量，相對於 MCAO 組別都沒有明顯的差異。

伍、結論與建議

傳統中醫常使用桃仁承氣湯及三黃瀉心湯來治療中風，但本研究結果顯示，桃仁承氣湯單獨使用或併用 aspirin 皆能透過減少 TNF- α 、active caspase-3 及自由基的表現來抑制中風；另外，也可能透過增加 HIF-1 α 、iNOS 表現來使腦部受損區域的血管新生程度增加，進而抑制腦組織持續壞死。相較於三黃瀉心湯，桃仁承氣湯為較有效的中風後治療方劑。本計劃的完成對桃仁承氣湯及三黃瀉心湯臨床上於中風病例的使用，增加了其學理根據，使中西藥兩者併用的治療方式更為醫學界所認同，但在臨床的使用劑量及用法，則須更多的臨床應用實例，來加以印證。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP101-RD-004 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

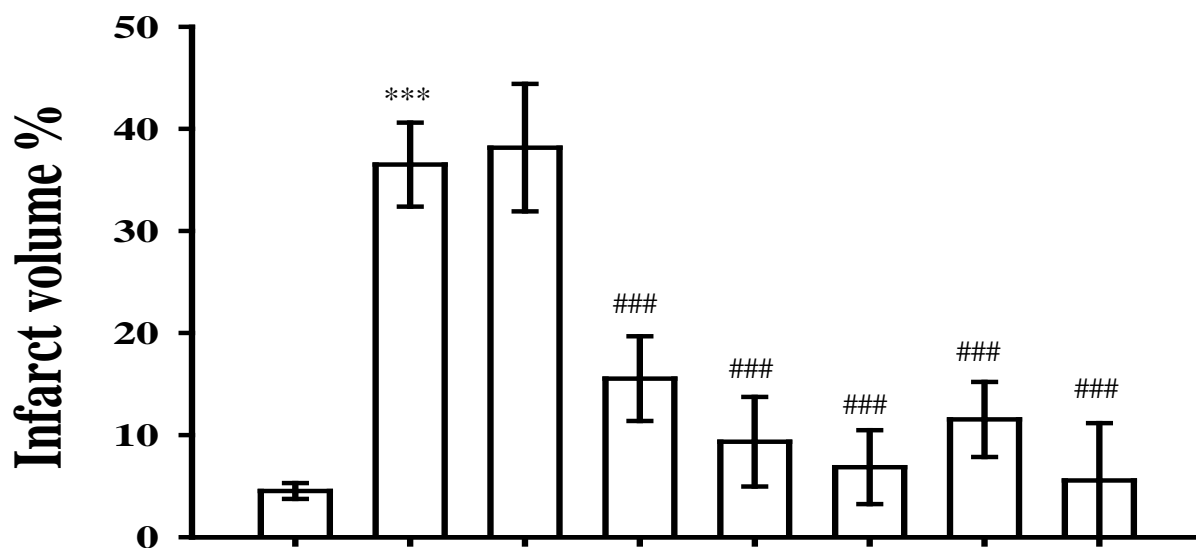
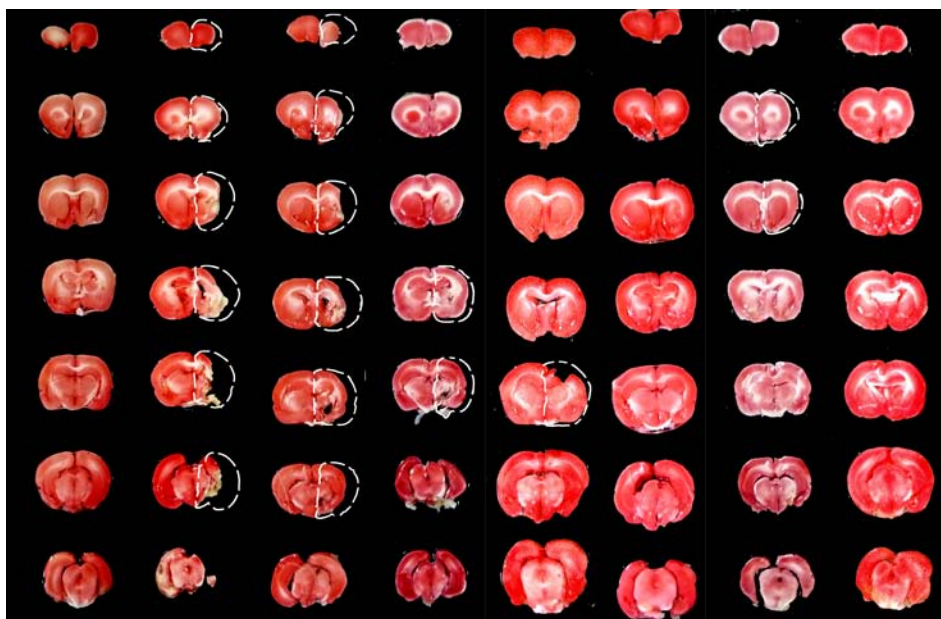
1. 許準榕 (2006) 建立中草藥預防中風之動物模式研究。行政院衛生署中醫藥年報 23:199-222.
2. 呂永贊、張薛光 (2008) 金匱要略瀉心湯方證研究。河南中醫。28:7-9.
3. 焦波濤 (2000) 桃核承氣湯治療急性腦出血 30 例臨床觀察。天津中醫學院學報。19:13-14.
4. 霍光旭 (2005) 大黃牡丹湯治療急性出血中風臨床觀察。中醫藥臨床雜誌。17:316-317.
5. Adams H.P., Adams C.R., Gregory T.B., Anthony F.Z., Goldstein L.B., Grubb R.L., Higashida R., Kidwell C., Kwiatkowski T.G., Marler J.R., Hademenos G.J. (2007) Guidelines for the Early Management of Patients With Ischemic Stroke. *Circulation* 115:e478-e534.
6. Arundine M., Tymianski M. (2003) Molecular mechanisms of calcium-dependent neurodegeneration in excitotoxicity. *Cell Calcium* 34: 325-337.
7. Ay I., Francis J.W., Brown R.H. Jr. (2008) VEGF increases blood-brain barrier permeability to Evans blue dye and tetanus toxin fragment C but not adeno-associated virus in ALS mice. *Brain Res* 1234:198-205.
8. Bederson J.B., Pitts L.H., Germano S.M., Nishimura M.C., Davis R.L., Bartkowski H.M. (1986b) Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats. *Stroke* 17: 1304-1308.
9. Bederson J.B., Pitts L.H., Tsuji M., Nishimura M.C., Davis R.L., Bartkowski H. (1986a) Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke* 17: 472-476.
10. Belayev L., Khoutorova L., Deisher T.A., Belayev A., Busto R., Zhang Y., Zhao W., Ginsberg M.D. (2003) Neuroprotective effect of SolCD39, a novel platelet aggregation inhibitor, on transient middle cerebral artery occlusion in rats. *Stroke* 34: 758-763.
11. Chang Y., Hsiao G., Chen S.H., Chen Y.C., Lin J.H., Lin K.H., Chou D.S.,

- Sheu J.R. (2007) Tetramethylpyrazine suppresses the HIF-1 α , TNF- α , and active caspase-3 expression in middle cerebral artery occlusion-induced brain ischemia in rats. *Acta Pharmacol Sinica* 28: 327-333.
12. **Hsiao G.**, Chen Y.C., Lin J.H., Lin K.H., Chou D.S., Lin C.H., Sheu J.R. (2006) Inhibitory mechanisms of tetramethylpyrazine in middle cerebral artery occlusion (MCAO)-induced focal cerebral ischemia in rats. *Planta Medica* 72: 411-417.
 13. **Krueger K.** and Busch E. (2002) Protocol of a thromboembolic stroke model in the rat: review of the experimental procedure and comparison of models. *Invest Radiol* 37: 600-608.
 14. **Lee E.J.**, Chen H.Y., Wu T.S., Chen T.Y., Ayoub I.A., Maynard K.I. (2002) Acute administration of Ginkgo biloba extract (EGb 761) affords neuroprotection against permanent and transient focal cerebral ischemia in Sprague-Dawley rats. *J Neurosci Res* 68: 636-645.
 15. **Lee S.T.**, Chu K., Sinn D.I., Jung K.H., Kim E.H., Kim S.J., Kim J.M., Ko S.Y., Kim M., Roh J.K. (2006) Erythropoietin reduces perihematomal inflammation and cell death with eNOS and STAT3 activations in experimental intracerebral hemorrhage. *Journal of Neurochem.* 96:1728-1739.
 16. **Liou S.F.**, Ke H.J., Hsu J.H., Liang J.C., Lin H.H., Chen I.J., Yeh J.L. (2011) San-Huang-Xie-Xin-Tang Prevents Rat Hearts from Ischemia/Reperfusion-Induced Apoptosis through eNOS and MAPK Pathways. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2011:915051.
 17. **Liou S.F.**, Hsu J.H., Liang J.C., Ke H.J., Chen I.J., Wu J.R., Yeh J.L. (2011) San-Huang-Xie-Xin-Tang protects cardiomyocytes against hypoxia/reoxygenation injury via inhibition of oxidative stress-induced apoptosis. *J Nat Med.* DOI:10.1007/s11418-011-0592-0.
 18. **Longa E.Z.**, Weinstein P.R., Carlson S., Cummins R. (1989) Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke* 20: 84-91.
 19. **Markus H.S.**, Droste D.W., Kaps M., Larrue V., Lees K.R., Siebler M., Ringelstein E.B. (2005) Dual antiplatelet therapy with clopidogrel and aspirin in symptomatic carotid stenosis evaluated using doppler

- embolic signal detection: the Clopidogrel and Aspirin for Reduction of Emboli in Symptomatic Carotid Stenosis (CARESS) trial. *Circulation* 111:2233-2240.
20. **Moro M.A.**, De A.J., Leza J.C., Lorenzo P., Fernandez A.P., Bentura M.L., Bosca L., Rodrigo J., Lizasoain I. (1998) Neuronal expression of inducible nitric oxide synthase after oxygen and glucose deprivation in rat forebrain slices. *Eur J Neurosci* 10: 445-456.
 21. **Obrenovitch T.P.** (1995) The ischaemic penumbra: twenty years. *Cerebrovasc Brain Metab* 7: 297-323.
 22. **Phan T.G.**, Wright P.M., Markus R. (2000) Salvaging the ischaemic penumbra: more than just reperfusion. *Clin Exp Pharmacol* 29: 1-10.
 23. **Qi Z.X.** and Du C.B. (2008) Local microcirculation changes in rabbits with glucocorticoid-induced avascular necrosis of femoral head following Taohong Siwu decoction treatment. *J Clin Rehab Tissue Eng Res* 12: 2104-2107.
 24. **Ren M.**, Leng Y., Jeong M., Leeds P.R., Chuang D.M. (2004) Valproic acid reduces brain damage induced by transient focal cerebral ischemia in rats: potential roles of histone deacetylase inhibition and heat shock protein induction. *J Neurochem* 89: 1358-1367.
 25. **Sandercock P.A.**, Counsell C., Gubitz G.J., Tseng M.C. (2008) Antiplatelet therapy for acute ischaemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev* 16:CD000029.
 26. **Shi H.** and Shi L. (2006) The clinical effect of modified Taohongsiwu decoction on diabetes peripheral neuropathy. *J Hunan Univ Chin Med* 21: 38-39.
 27. **Slevin M.**, Krupinski J., Kumar P., Gaffney J., Kumar S. (2005) Gene activation and protein expression following ischaemic stroke: strategies towards neuroprotection. *J Cell Mol Med* 9: 85-102.
 28. **Strong A.**, Smith S., Whittington D., Meldrum B., Parsons A., Krupinski J., Hunter J., Patel S., Robertson C. (2000) Factors influencing the frequency of fluorescence transients as markers of peri-infarct depolarisations in focal cerebral ischaemia. *Stroke* 31: 214-222.
 29. **Sugawara T.**, Ayer R., Jadhav V., Zhang J.H. (2008) A new grading system

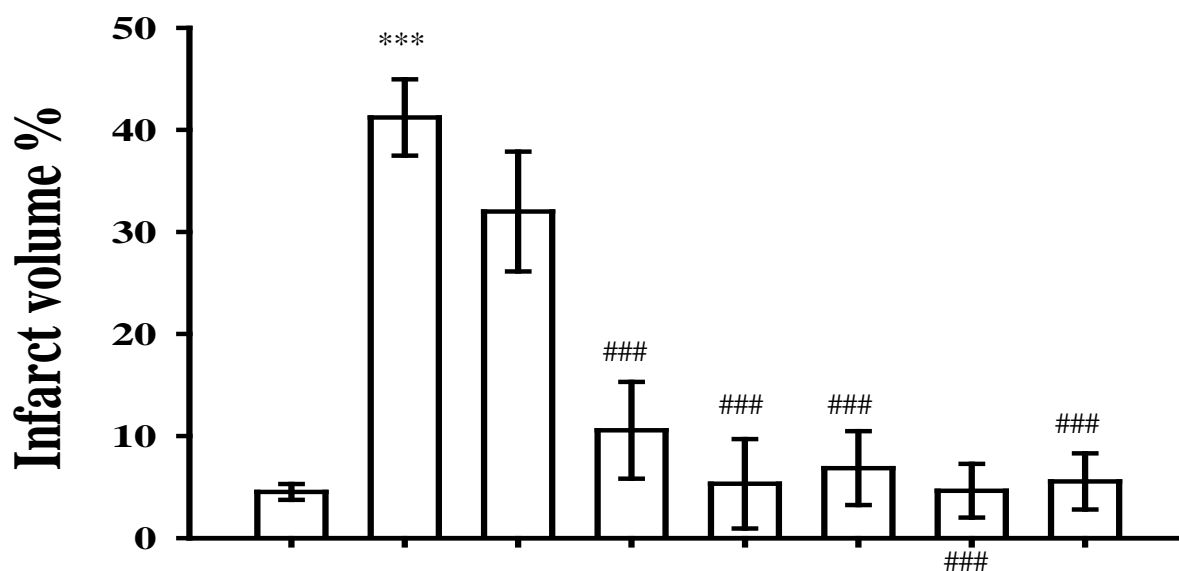
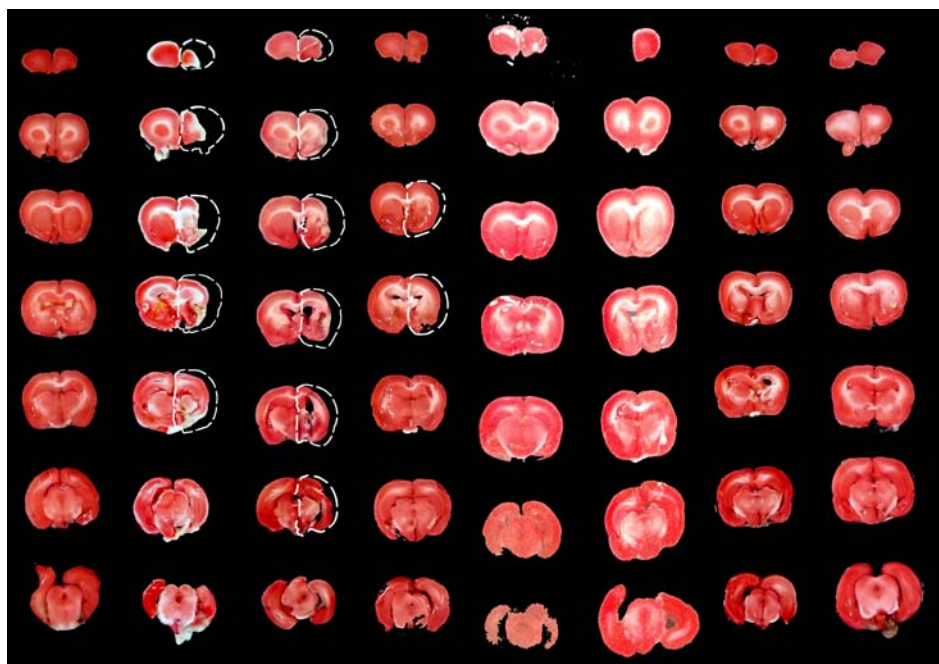
- evaluating bleeding scale in filament perforation subarachnoid hemorrhage rat model. *J Neurosci Methods* 167: 327-334.
30. **Suzuki H.**, Hasegawa Y., Chen W., Kanamaru K., Zhang J.H. (2010) Recombinant osteopontin in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Ann Neurol* 68: 650-660.
 31. **Swanson R.A.**, Morton M.T., Tsao W.G., Savalos R.A., Davidson C., Sharp F.R. (1990) A semiautomated method for measuring brain infarct volume. *J Cereb Blood Flow Metab* 10: 290-293.
 32. **Ward J.L.**, Adams S.D., Delano B.A., Clarke C., Radhakrishnan R.S., Weisbrodt N.W., Mercer D.W. (2010) Ketamine suppresses LPS-induced bile reflux and gastric bleeding in the rat. *J Trauma*. 68:69-75.
 33. **Yang J.M.** (2007) Therapeutic effect observation of 154 cases of coronary artery disease angina using Taohongsiwutang (THSW). *Chin J Modern Med* 17: 2268-2275.
 34. **Zhang X.H.**, Rohini P., She H., Mao Z., Yepes M. (2007) Tissue-Type Plasminogen Activator and the Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein Mediate Cerebral Ischemia-Induced Nuclear Factor- κ B Pathway Activation. *Am J Pathol* 171:1281-1290.

染、圖、表



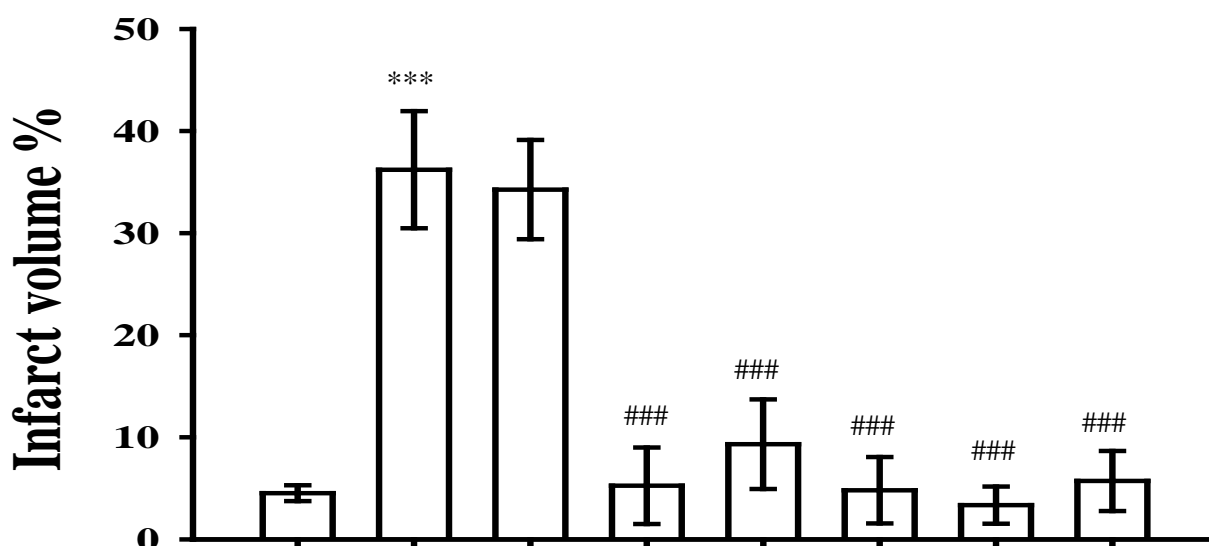
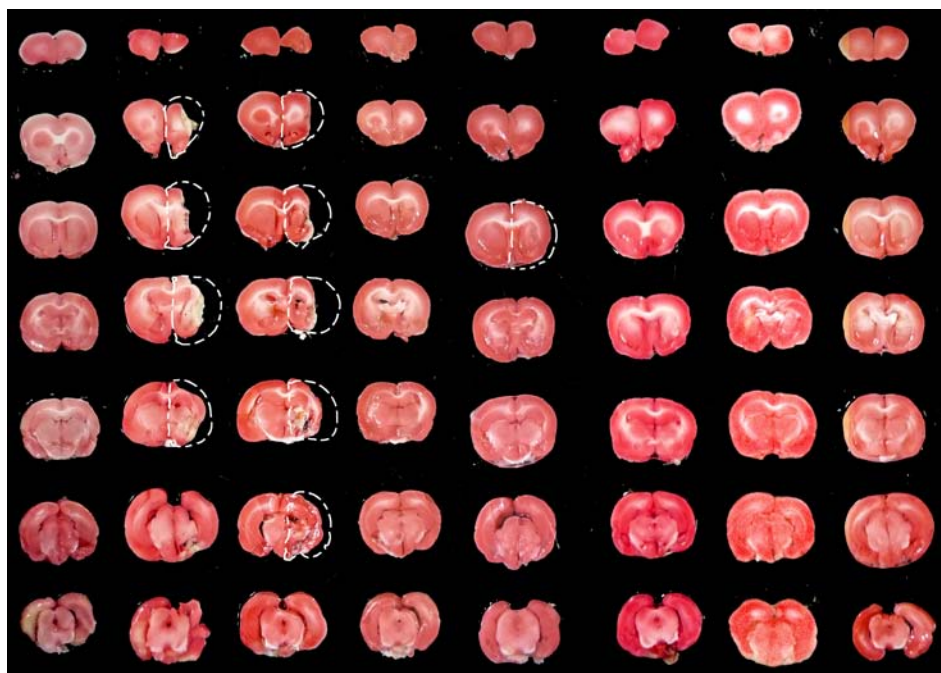
MCAO	-	+	+	+	+	+	+	+
桃仁承氣湯(0.25 g/kg/day)	-	-	-	-	+	-	+	-
桃仁承氣湯(0.5 g/kg/day)	-	-	-	+	-	+	-	+
aspirin 2 mg/kg	-	-	-	-	+	+	-	-
aspirin 5 mg/kg	-	-	+	-	-	-	+	+

圖一、桃仁承氣湯併用aspirin一個月後，對MCAO手術造成大鼠腦梗塞的保護效果，實驗動物數量每組各為六隻



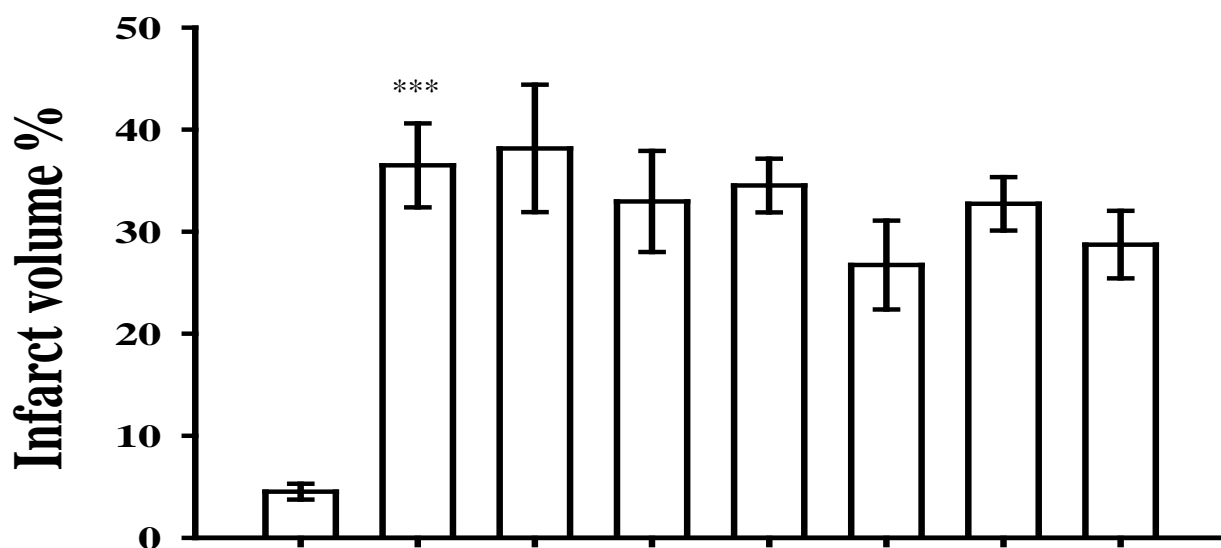
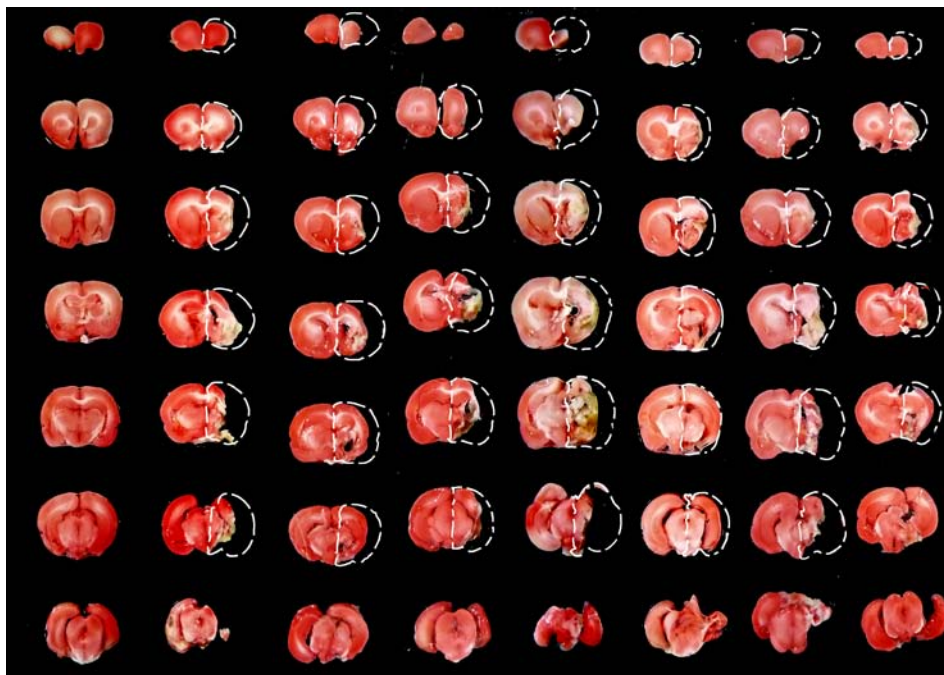
MCAO	-	+	+	+	+	+	+	+
桃仁承氣湯(0.25 g/kg/day)	-	-	-	-	+	-	+	-
桃仁承氣湯(0.5 g/kg/day)	-	-	-	+	-	+	-	+
aspirin 2 mg/kg	-	-	-	-	+	+	-	-
aspirin 5 mg/kg	-	-	+	-	-	-	+	+

圖二、桃仁承氣湯併用aspirin二個月後，對MCAO手術造成大鼠腦梗塞的保護效果，實驗動物數量每組各為六隻



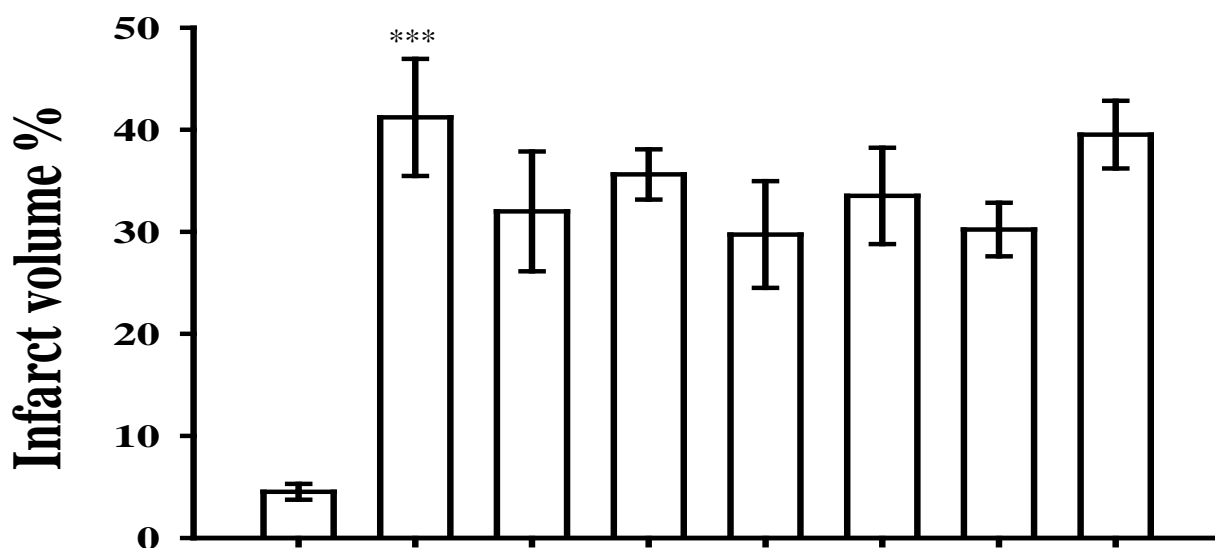
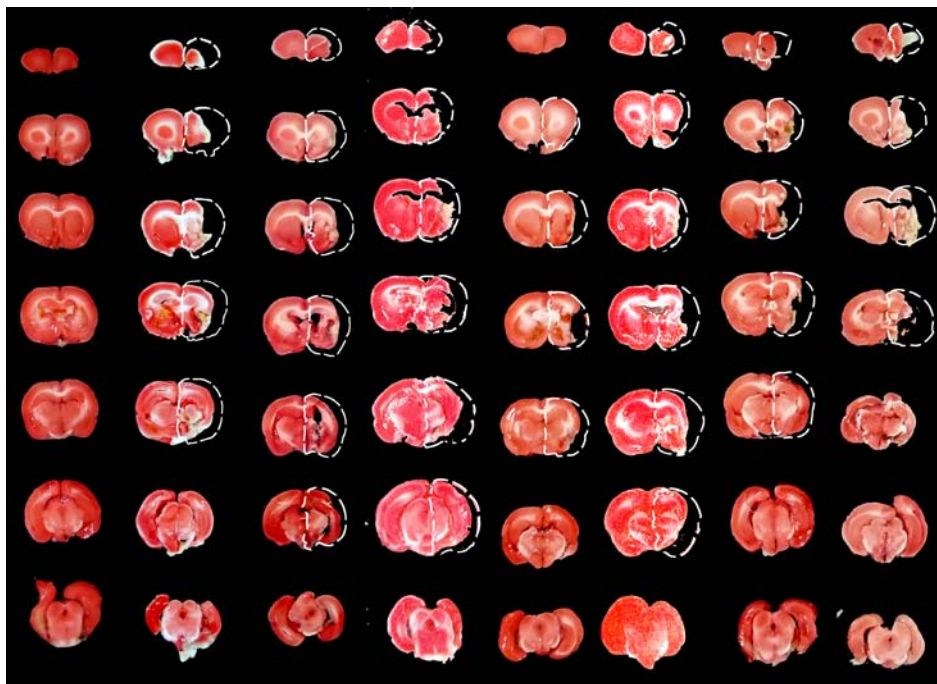
MCAO	-	+	+	+	+	+	+	+
桃仁承氣湯(0.25 g/kg/day)	-	-	-	-	+	-	+	-
桃仁承氣湯(0.5 g/kg/day)	-	-	-	+	-	+	-	+
aspirin 2 mg/kg	-	-	-	-	+	+	-	-
aspirin 5 mg/kg	-	-	+	-	-	-	+	+

圖三、桃仁承氣湯併用aspirin三個月後，對MCAO手術造成大鼠腦梗塞的保護效果，實驗動物數量每組各為三隻



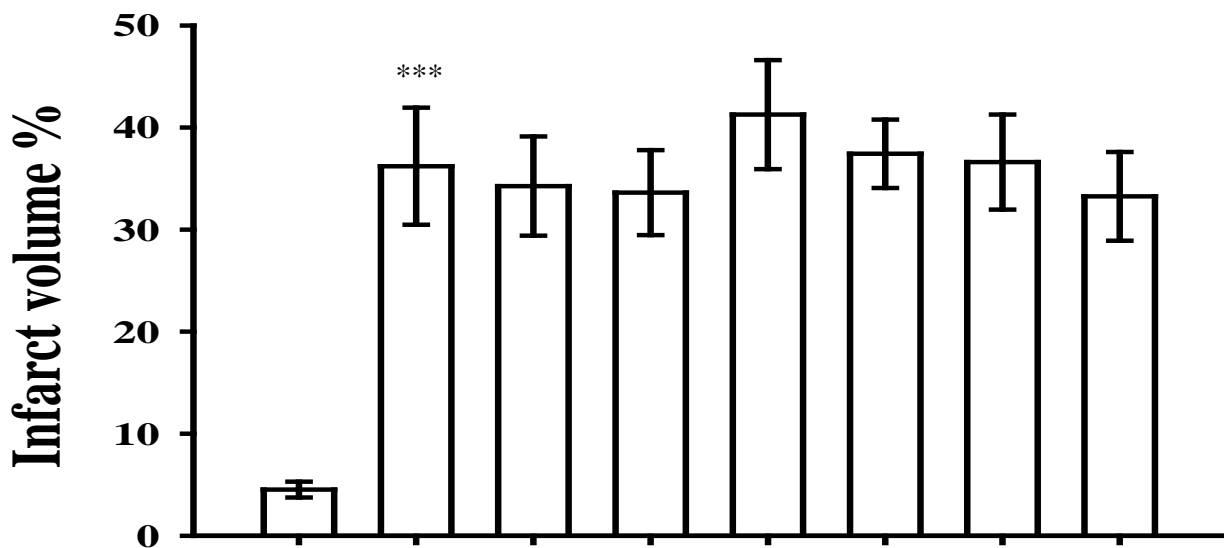
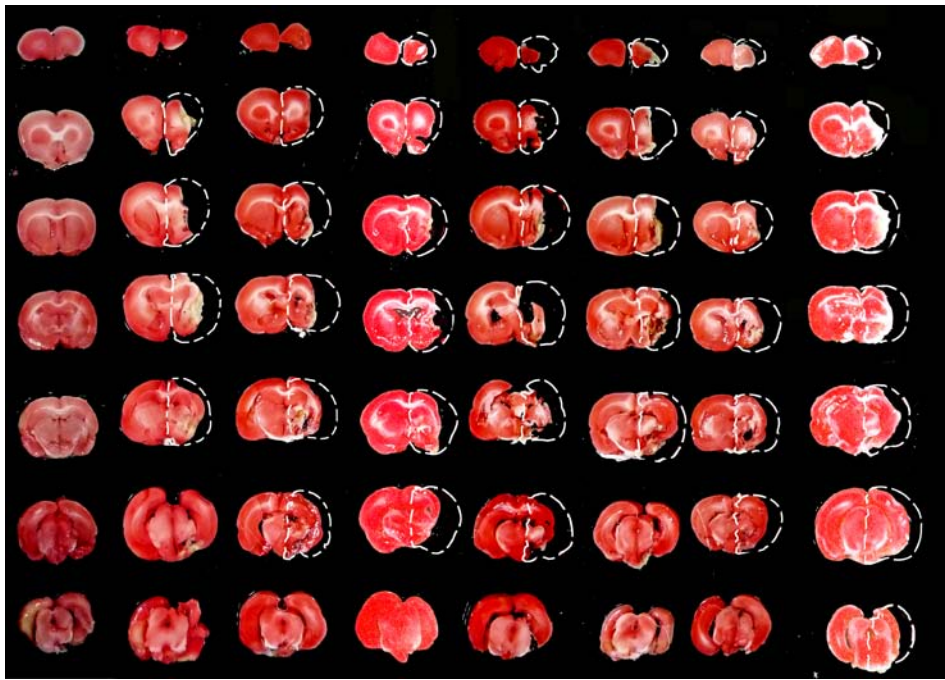
MCAO	-	+	+	+	+	+	+	+
三黃瀉心湯(0.25 g/kg/day)	-	-	-	-	+	-	+	-
三黃瀉心湯(0.5 g/kg/day)	-	-	-	+	-	+	-	+
aspirin 2 mg/kg	-	-	-	-	+	+	-	-
aspirin 5 mg/kg	-	-	+	-	-	-	+	+

圖四、三黃瀉心湯併用aspirin一個月後，對MCAO手術造成大鼠腦梗塞的保護效果，實驗動物數量每組各為六隻



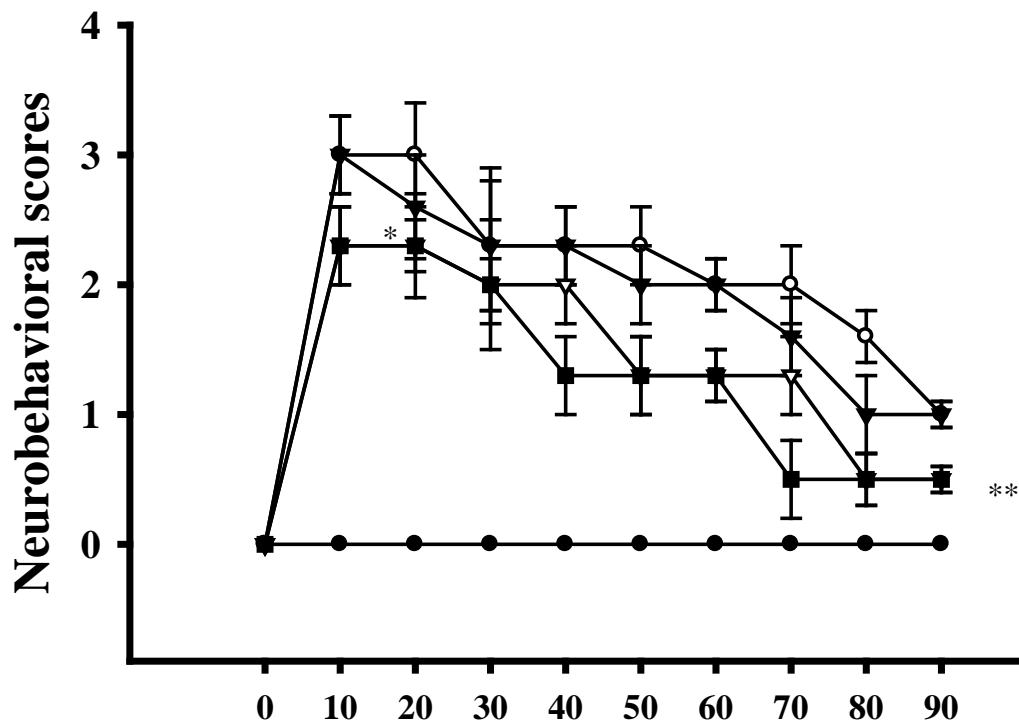
MCAO	-	+	+	+	+	+	+	+
三黃瀉心湯(0.25 g/kg/day)	-	-	-	-	+	-	+	-
三黃瀉心湯(0.5 g/kg/day)	-	-	-	+	-	+	-	+
aspirin 2 mg/kg	-	-	-	-	+	+	-	-
aspirin 5 mg/kg	-	-	+	-	-	-	+	+

圖五、三黃瀉心湯併用 aspirin 二個月後，對 MCAO 手術造成大鼠腦梗塞的保護效果，實驗動物數量每組各為六隻



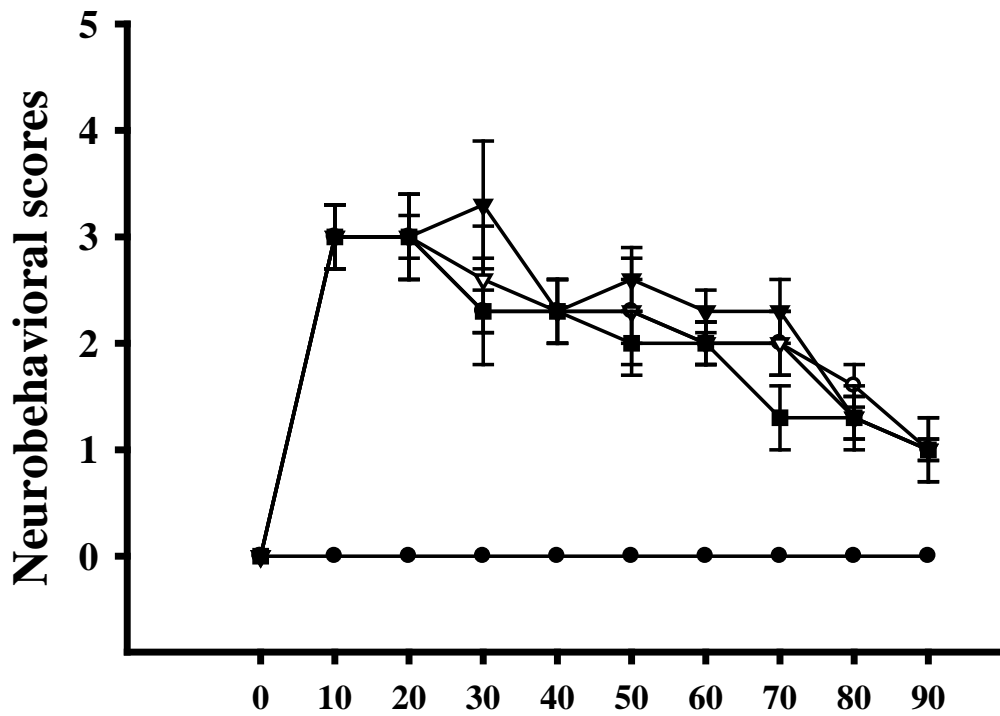
MCAO	-	+	+	+	+	+	+	+
三黃瀉心湯(0.25 g/kg/day)	-	-	-	-	+	-	+	-
三黃瀉心湯(0.5 g/kg/day)	-	-	-	+	-	+	-	+
aspirin 2 mg/kg	-	-	-	-	+	+	-	-
aspirin 5 mg/kg	-	-	+	-	-	-	+	+

圖六、三黃瀉心湯併用aspirin三個月後，對MCAO手術造成大鼠腦梗塞的保護效果，實驗動物數量每組各為三隻



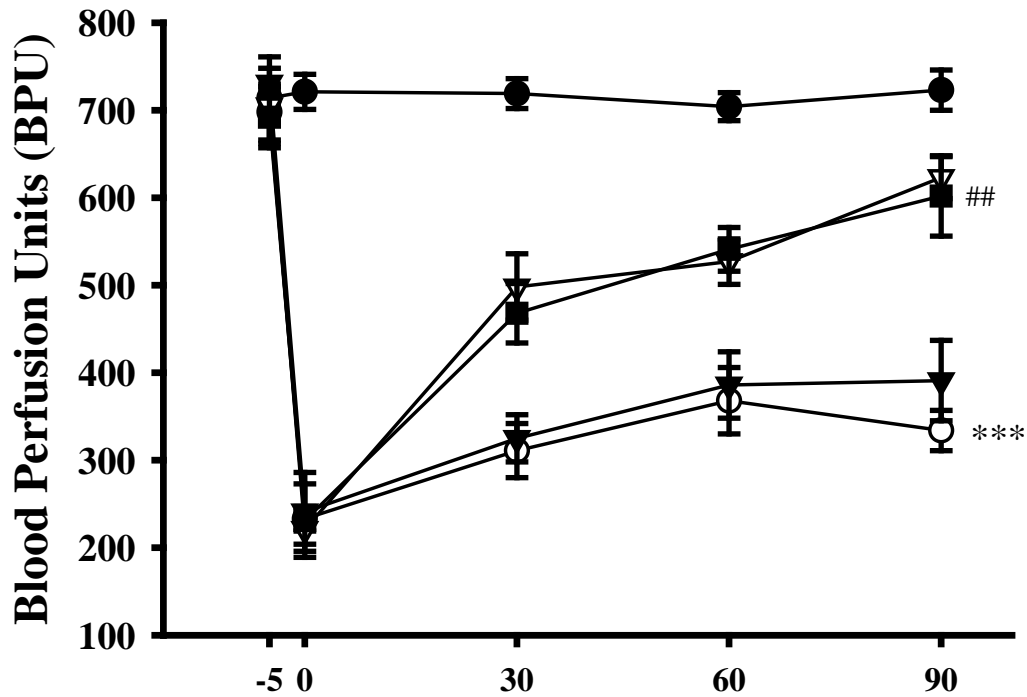
圖七、桃仁承氣湯併用 aspirin 後，對 MCAO 手術造成大鼠腦梗塞後的神經缺陷等級影響

MCAO 手術後大鼠進行神經行為缺陷測試，分級方式如實驗方法中所敘述。實驗分組共分為五組：(●) 未進行手術控制組 (sham group)、(○) MCAO 控制組、(▼) 手術後 24 小時給予 aspirin (5 mg/kg/day) 組、(▽) 手術後 24 小時給予桃仁承氣湯 (0.5 g/kg/day) 組、(■) 手術後 24 小時給予桃仁承氣湯 (0.5 g/kg/day) 併用 aspirin (5 mg/kg/day) 組。實驗動物數量每組各為六隻。



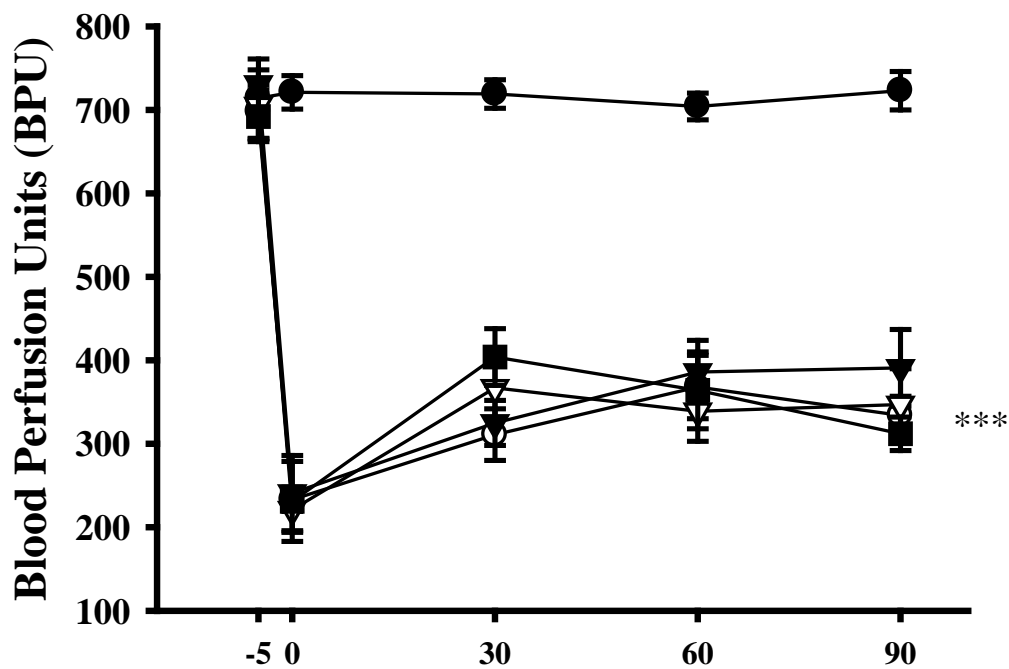
圖八、三黃瀉心湯併用 aspirin 後，對 MCAO 手術造成大鼠腦梗塞後的神經缺陷等級影響

MCAO 手術後大鼠進行神經行為缺陷測試，分級方式如實驗方法中所敘述。實驗分組共分為五組：(●) 未進行手術控制組 (sham group)、(○) MCAO 控制組、(▼) 手術後 24 小時給予 aspirin (5 mg/kg/day) 組、(▽) 手術後 24 小時給予三黃瀉心湯 (0.2 g/kg/day) 組、(■) 手術後 24 小時給予三黃瀉心湯 (0.2 g/kg/day) 併用 aspirin (5 mg/kg/day) 組。實驗動物數量每組各為六隻。



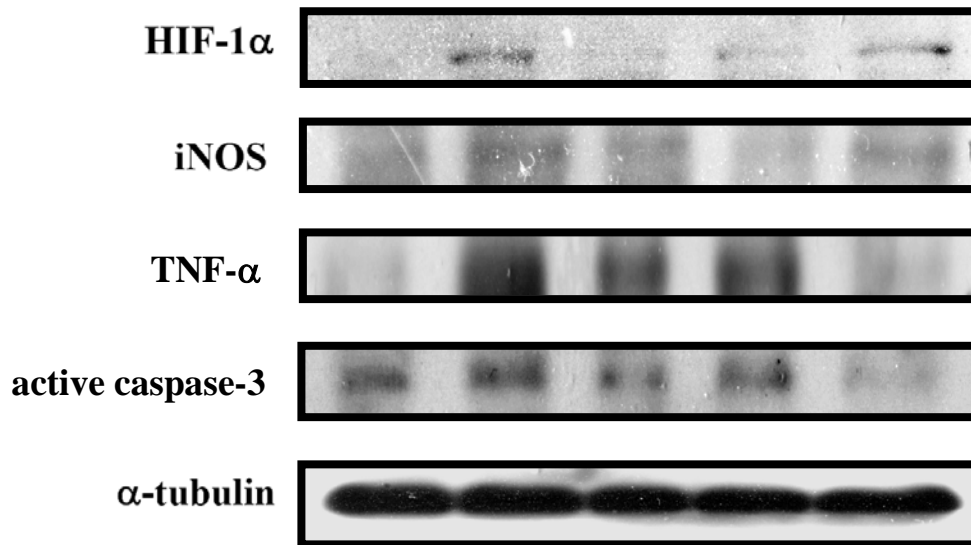
圖九、桃仁承氣湯併用 aspirin 後，對 MCAO 手術造成大鼠腦梗塞後的腦血流量影響

MCAO 手術後利用都卜勒雷射血流探測儀，於頭蓋骨外定位處對大鼠進行區域腦血流偵測。實驗分組共分為五組：(●) 未進行手術控制組 (sham group)、(○) MCAO 控制組、(▼) 手術後 24 小時給予 aspirin (5 mg/kg/day) 組、(▽) 手術後 24 小時給予桃仁承氣湯 (0.5 g/kg/day) 組、(■) 手術後 24 小時給予桃仁承氣湯 (0.5 g/kg/day) 併用 aspirin (5 mg/kg/day) 組。實驗動物數量每組各為六隻。



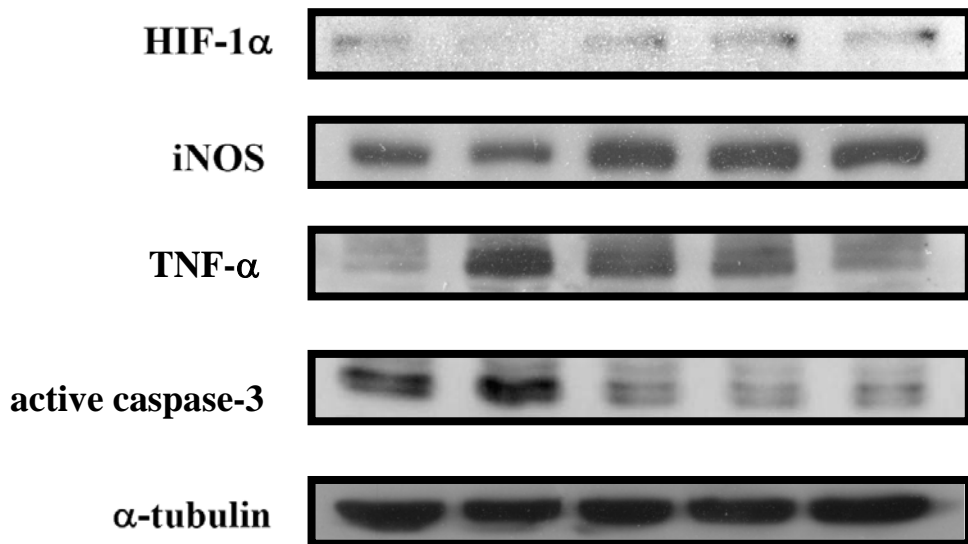
圖十、三黃瀉心湯併用 aspirin 後，對 MCAO 手術造成大鼠腦梗塞後的腦血流量影響

MCAO 手術後利用都卜勒雷射血流探測儀，於頭蓋骨外定位處對大鼠進行區域腦血流偵測。實驗分組共分為五組：(●) 未進行手術控制組 (sham group)、(○) MCAO 控制組、(▼) 手術後 24 小時給予 aspirin (5 mg/kg/day) 組、(▽) 手術後 24 小時給予三黃瀉心湯 (0.2 g/kg/day) 組、(■) 手術後 24 小時給予三黃瀉心湯 (0.2 g/kg/day) 併用 aspirin (5 mg/kg/day) 組。實驗動物數量每組各為六隻。



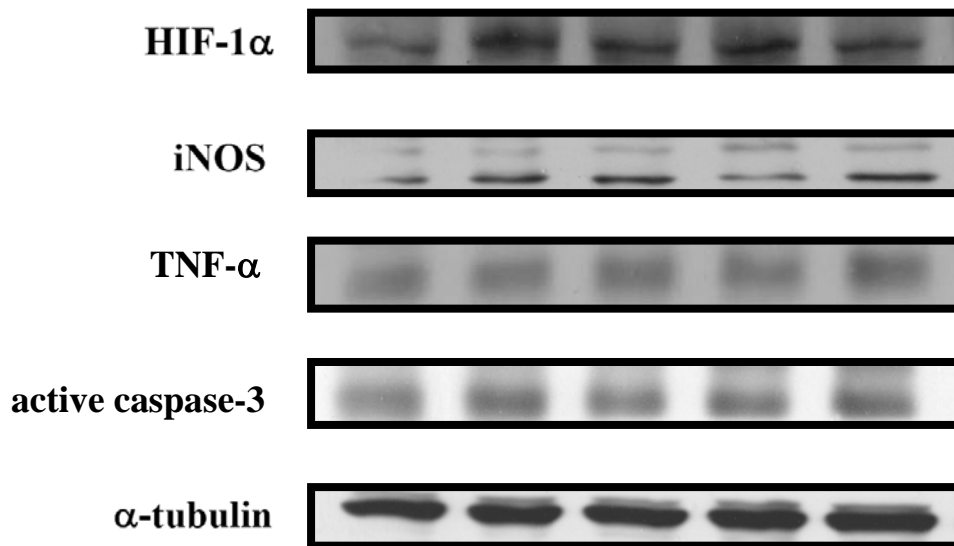
MCAO	-	+	+	+	+
桃仁承氣湯(0.5 g/kg/day)	-	-	-	+	+
aspirin 5 mg/kg	-	-	+	-	+

圖十一、MCAO手術後，餵食桃仁承氣湯併用aspirin一個月，對HIF-1 α 、iNOS、TNF- α 、caspase-3表現的影響



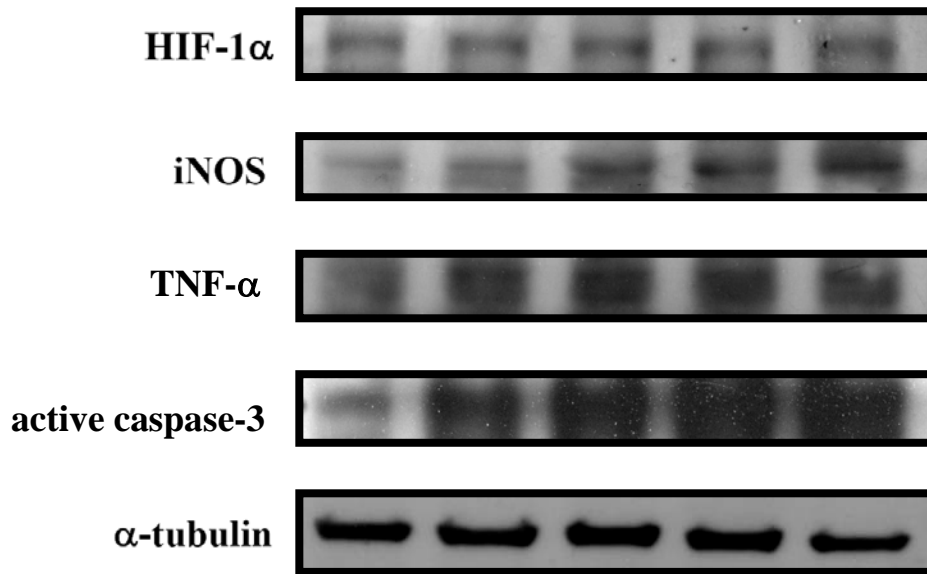
MCAO	-	+	+	+	+
桃仁承氣湯(0.5 g/kg/day)	-	-	-	+	+
aspirin 5 mg/kg	-	-	+	-	+

圖十二、MCAO手術後，餵食桃仁承氣湯併用aspirin三個月，對HIF-1 α 、iNOS、TNF- α 、caspase-3表現的影響



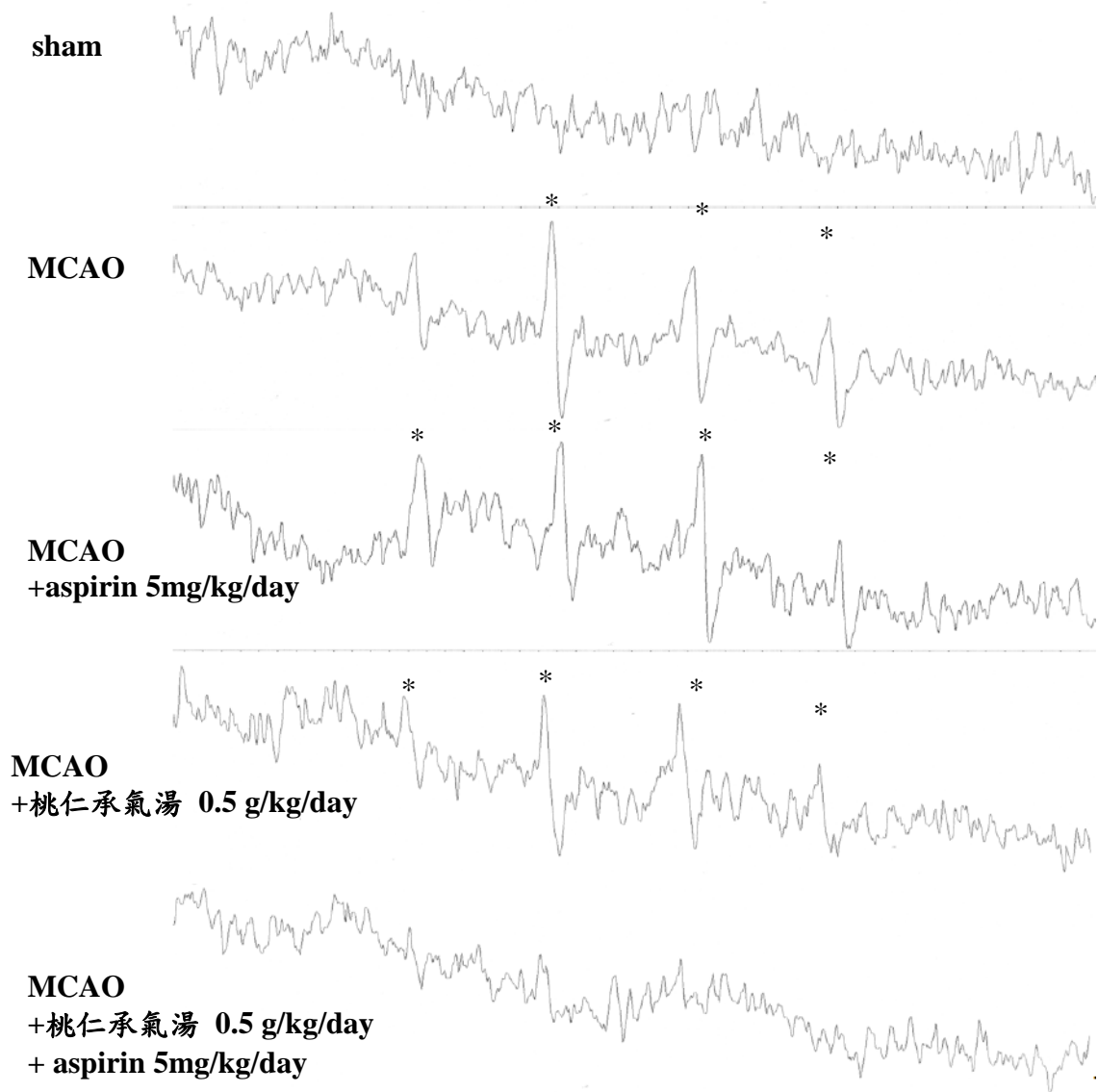
MCAO	-	+	+	+	+
三黃瀉心湯(0.2 g/kg/day)	-	-	-	+	+
aspirin 5 mg/kg	-	-	+	-	+

圖十三、MCAO手術後，餵食三黃瀉心湯併用 aspirin 一個月，對HIF-1 α 、iNOS、TNF- α 、caspase-3表現的影響

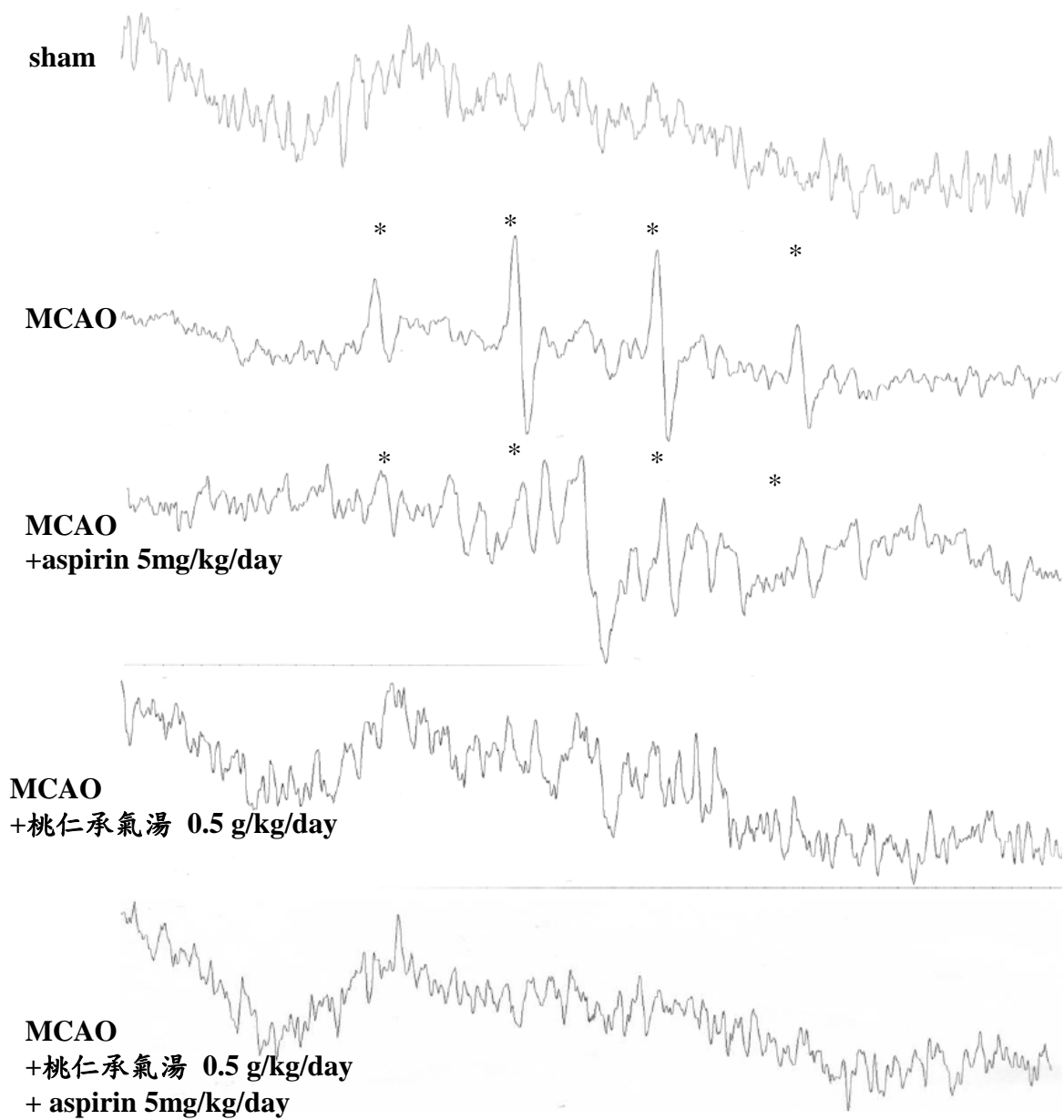


MCAO	-	+	+	+	+
三黃瀉心湯(0.2 g/kg/day)	-	-	-	+	+
aspirin 5 mg/kg	-	-	+	-	+

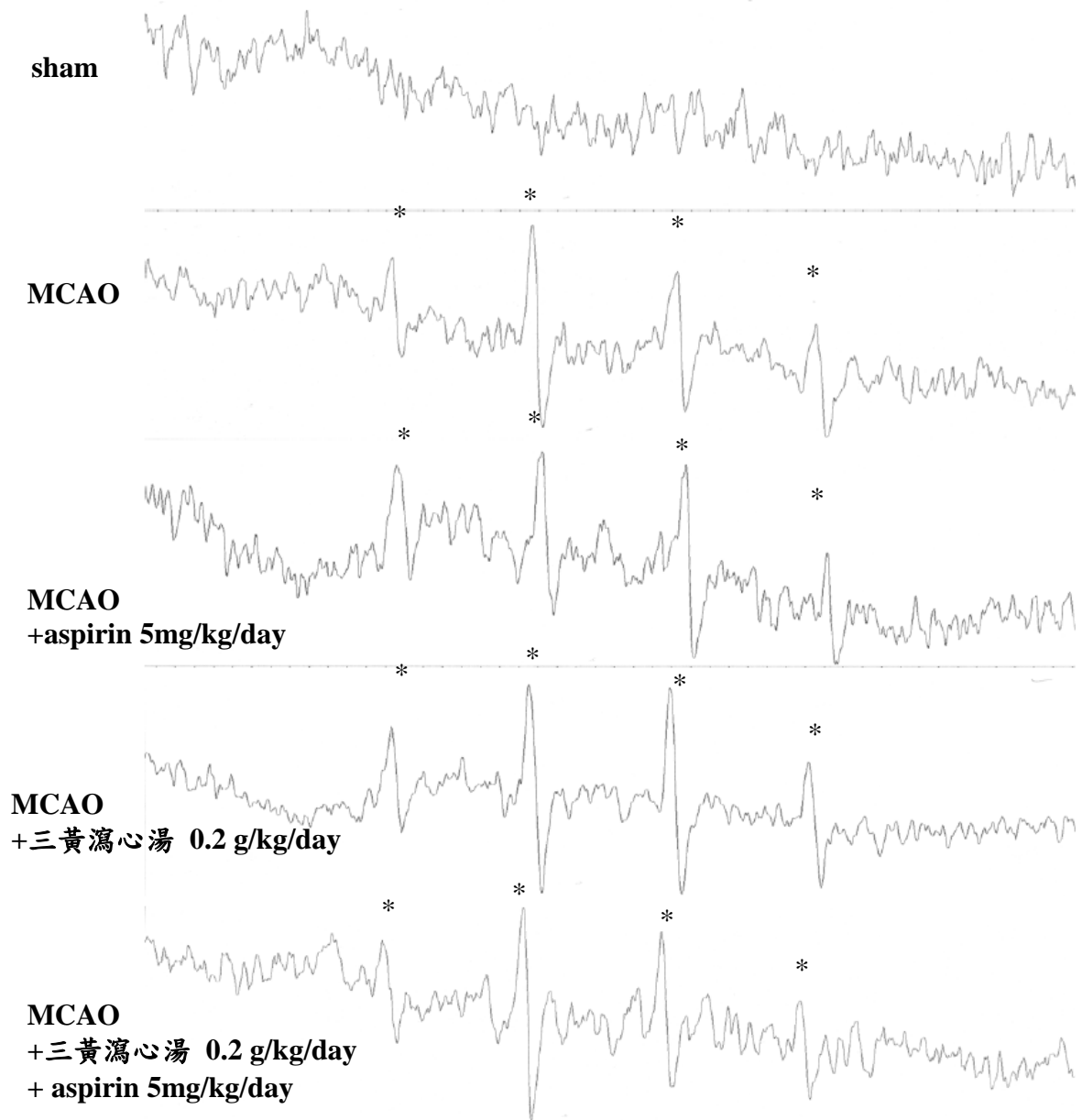
圖十四、MCAO手術後，餵食三黃瀉心湯併用aspirin三個月，對HIF-1 α 、iNOS、TNF- α 、caspase-3表現的影響



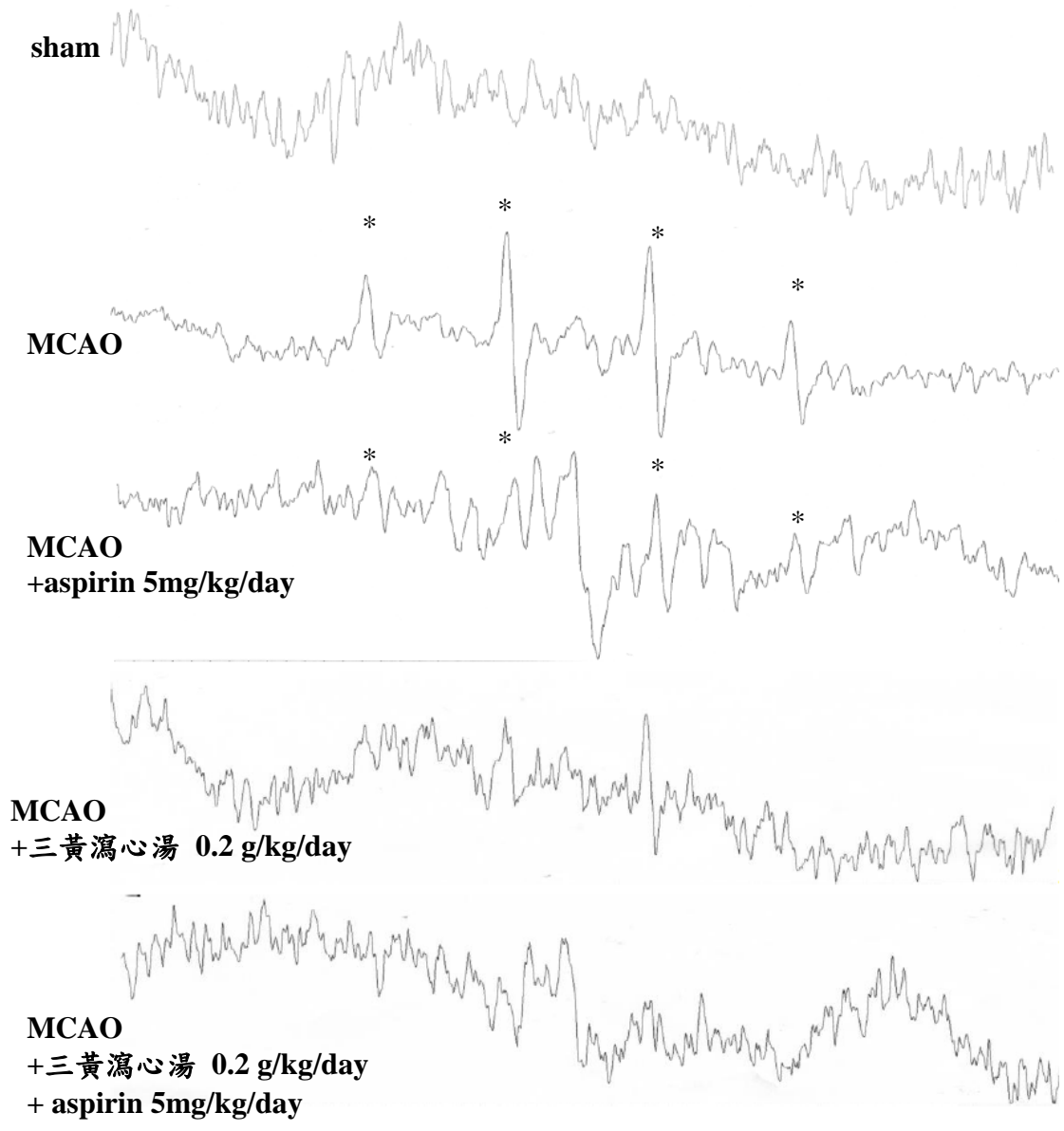
圖十五、利用電子自旋共振儀(ESR)觀察，MCAO手術後，餵食桃仁承氣湯併用aspirin一個月，其對鼠腦中自由基(OH•)之影響



圖十六、利用電子自旋共振儀(ESR)觀察，MCAO手術後，餵食桃仁承氣湯併用aspirin三個月，其對鼠腦中自由基(OH•)之影響



圖十七、利用電子自旋共振儀(ESR)觀察，MCAO手術後，餵食三黃瀉心湯併用aspirin一個月，其對鼠腦中自由基(OH•)之影響



圖十八、利用電子自旋共振儀(ESR)觀察，MCAO手術後，餵食三黃瀉心湯併用aspirin三個月，其對鼠腦中自由基(OH•)之影響

中醫臨床辨證診斷術語之共識(2-1)

張恒鴻
台灣中醫診斷學會

摘要

研究目的：

中醫臨床診療以辨證論治為基礎，應用中醫四診所得資訊，進行病機之分析。為使病患獲得明確且系統化的中醫診療服務，中醫學界近年來積極發展現代化的學術架構與臨床技能訓練，整合醫界共識，期能有助於建構中醫臨床診斷規範。

研究方法：

本研究擬透過一系列的研討方式，建構中醫辨證診斷術語之涵義和臨床應用共識。由臨床醫師分別組成六個核心小組、外部專家小組及諮詢專家小組，定期集會討論，期能形成學術與臨床應用兼容之共識。

結果與討論：

核心小組自 2012 年 2 月至 12 月止，共計討論 69 次，於 3-12 月間舉行 9 次專家月會，11 月間舉辦 1 次大型研討會，選出中醫診斷學主要參考文獻書籍 12 種，並完成 31 項辨證診斷術語的共識，包括：風、寒、暑、濕、燥、火、熱、腦(髓)、痰、飲、心、心包、腎、膀胱、脾、胃、肝、膽、三焦、命門、胞宮、胎產、月經、陰、陽、神、津液、大腸、小腸、飲食及勞逸。臨床診斷相關問題的討論與釐清，將有助於中醫理論與臨床的進一步發展。

關鍵詞：中醫、辨證、術語、共識

Consensus on TCM terminology for Pattern Identification in Clinical Diagnosis (2-1)

Chang, Hen-Hong

Formosan Association of Clinical Diagnosis in TCM

ABSTRACT

Aim:

Pattern identification is the foundation of clinical diagnosis in TCM. In pattern identification, information retrieved from the four examinations is used for analysis and identification of pathogenic mechanism. In order to achieve a more definite and systemic quality in clinical service, TCM scholars have worked on modernization of academic structure and clinical skill training programs, and on establishment of consensus amongst medical professionals, hoping to develop the consensus in clinical diagnosis.

Method:

A series of expert meetings are conducted to establish consensus in meaning and application of TCM medical terminology. Clinical specialists involved in this study are divided into 6 core panels, one external expert panel, and one consulting expert panel. Routing expert meetings are conducted, hoping to achieve consensus among these medical professionals concerning our proposed subjects.

Result and Discussion:

A total of 69 core panel meetings are conducted before February 12, 2012. Nine monthly meetings are conducted between March and December. One major symposium is conducted in November, in which 12 medical reference texts for TCM clinical diagnosis are chosen, and 31 TCM medical terms including wind, cold, summer heat, dampness, dryness, fire, heat, brain (marrow), phlegm, rheum, kidney, bladder, triple burner, life gate, yin, yang, spirit, fluid, liver, stomach, large intestine, small intestine, diet, activity and inactivity, are discussed for establishment of consensus. Discussion and clarification of medical issues for clinical diagnosis may be helpful for future development of TCM.

Keywords: TCM, pattern identification , terminology , consensus

壹、前言

一、研究背景與現況：

辨證論治是中醫診療的核心所在，中醫師經由望、聞、問、切等四診，對患者進行病情的資訊蒐集，所得資訊經由中醫師的理解歸納，總結出相關「辨證」，依此「診斷」得以選擇合適的處方對病患進行診療。

據江氏^[1]所做統計，自 1990 至 2010 年間，「證」研究之文獻發表逐年增長，中文文獻自 2006 年開始，年產超過 25000 篇文章，且以每年增加 2000 篇的趨勢成長，另據戴氏^[2]辨證研究的新技術與新方法之應用一文，目前對辨證的研究技術，除了傳統的生理、病理及分子檢測技術外，近年來逐漸重視最新技術的引入，如基因體學、蛋白質體學及代謝體學，辨證研究的相關資訊探勘方法，也已發展多達十餘種。以上顯示近年來對「證」研究的重視及聚焦是逐年增加，且對「辨證」的研究技術與方法也同時不斷改良精進。而國內的學者在證候診斷基準研究方面也做了許多努力^[3-10]，取得不錯的進展，對證候診斷基準的規範化有了進一步的貢獻。

目前中醫辨證標準，國家級以上具有代表性的有世界衛生組織於 2007 年公告的《International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region》、中華人民共和國於 1997 年公佈的《中醫臨床診療術語》及 2006 年公佈的《中醫基礎理論術語》。但國際間中醫學者與臨床專家提出之辨證標準多有差異，中醫師彼此之間對於「證」的內涵也有著不同的想法。雖然不同的術語規範可以彰顯不同體系或領域的獨特性，卻也阻礙知識的交流與發展。從西醫的發展歷程來看，疾病能夠依照明確且一致的方法診斷，並使用數據正確描述疾病的相關特性，作為療效評量與研發的基礎，是西醫快速普及的關鍵。如趙氏^[11]所說「在目前證候研究沒有形成『金標準』的情況下，應當加強證候概念及相關專業術語的規範化研究。」以及李氏^[12]在關於 WHO/ICTM 術語問題的幾點建議中提到「在術語、干預、信息和分類等四個專題中，術語組是基礎中的基礎，只有術語組確定相關術語的定義和表達之後，其他三個組的工作才能實質性地開展起來，這一點是歷次討論會上各國專家的一致意見，也是目前本項工作所面對的客觀現實。」因此辨證診斷術語之涵義和臨床應用規範，乃是進一步發展中醫研究和中醫治療的先決條件，藉由辨證診斷術語共識化的努力，搭建可溝通的知識平台，方能找到進步之方向，共識化後的「辨證診斷術語」可促進中醫界的研究與臨床交流，也更能與其他領域溝通。

二、研究目的：

本研究以建立中醫辨證診斷術語涵義及臨床應用之共識為目標，就中醫辨證的重要術語字彙，探討其涵義和臨床應用，致力於形成中醫界共識，並能毫無障礙地在中醫相關領域交流使用。

貳、材料與方法

一、建構本研究計畫之範圍及決定工作範圍及優先順序

自兩岸中醫教科書以及長庚大學傳醫所歷年討論資料，歸納分析出相關「常用辨證診斷術語」共計 91 項（附件一），為本計劃之研究範圍。並從 91 項「常用辨證診斷術語」中，針對常見病因病性如風、寒、暑、濕、燥、火、飲食、勞逸等，以及常見病位層次如心、肝、脾、肺、腎、膽、胃、大腸、小腸、膀胱、三焦、陰、陽等，挑出臨床常用的 30 項，於第一年先進行討論，並依據「常用辨證診斷術語」的相關串聯性及專家小組負責醫師之專長進行分配。

二、中醫「常用辨證術語」的涵義及臨床應用相關文獻之蒐集整理：

（一）「常用辨證術語」相關文獻蒐集：

1. 中醫診斷學文獻蒐集整理。
2. 中醫基礎理論文獻蒐集整理。
3. 中醫辭典文獻蒐集整理。
4. 國家級以上中醫辨證標準文獻蒐集整理。
5. 中醫藥委員會相關出版品專書，參考比較。

（二）「常見證名」相關文獻蒐集：

1. 中醫診斷學文獻蒐集整理。
2. 中醫證候鑒別診斷學文獻蒐集整理。

三、組成專家小組：

本研究共計組成六個核心小組、外部專家小組及諮詢專家小組。核心小組包括長庚大學小組、恩主公醫院小組、林口長庚小組、北市中醫小組、台北慈濟小組及桃園長庚小組，合計約 25 位臨床中醫師，諮詢專家為相關領域研究人員及西醫相關學者專家共計約 5 位。外部專家的邀請以中南部中醫臨床醫師為優先，主要參與專家月會之討論。

四、專家小組討論之標準流程：

經 3 次專家討論會議後定案。分 7 個步驟完成。

（一）將該「常用辨證診斷術語」所需討論的文獻內容，依辨證術語字彙的特性，如因、位、性、機等，分數層討論。基本分層如下：

1. 病因：季節特點、基本性質、生成方式、傳變途徑、所影響的生理功能、病理表現。
2. 病位：解剖部位、藏府絡屬、藏象學說、生理特質、生理功能、

病理表現。

3. 病性：基本性質、特點、形成方式、影響生理功能、病理表現。

4. 病機：基本性質、特點、形成方式、影響生理功能、病理表現。

(二) 自文獻中選取適合做為共識建立的「涵義」描述文句，依所分各層填入內容。

(三) 根據所選取的內容進行討論，確認各層內容的必要性。

(四) 得到「常用辨證診斷術語」的各層臨床應用涵義共識，合併修整。

(五) 驗證 I：以過去研討結果之內容，對照是否有涵蓋在小組共識內容中，如果有不同之處，則討論，並修改之。

(六) 驗證 II：將小組共識內容套用至「常見證名」中，檢查「小組共識」是否可用以解釋「常用證名」，如果無法解釋，則討論修改之，並記錄問題。

(七) 根據第五、六步驟，修改「常用辨證診斷術語」的涵義及臨床應用共識，得到最終版本的小組共識，並將最後修改完成的小組共識，以及討論期間所遭遇的問題、共識形成的關鍵步驟等條列記錄並建檔，於專家月會討論。

五、小型專家研討會：

每月舉辦一次聯合各專家小組之共同討論會，透過小型研討會，分享各小組負責之「常用辨證診斷術語」涵義及臨床應用共識的成果，並探討該共識於臨床操作應用的可行性與重點，以期廣納建言，淬鍊出更合乎臨床應用之涵義共識。

六、舉辦大型學術研討會：

每年舉辦一次大型學術研討會，透過大型學術研討會，分享與會專家對「常用辨證診斷術語」臨床操作的經驗，並提出「常用辨證診斷術語」之涵義及臨床應用共識，共同研討修正。

參、研究結果與討論

一、涵義共識簡表：

風（邪）	風性輕揚開泄，善行數變；具有易襲陽位、發病急、傳變快、遊走不定等特點。
寒（邪）	寒為陰邪，其性凝滯收引；具有易傷陽氣，易致氣血不通、腠理閉塞、筋脈攣急的特點。
暑（邪）	暑為夏季外感熱邪之一，其性上升發散；具易擾心神、耗氣傷津的特性。
濕（邪）	濕性重濁、黏滯、趨下；易阻礙氣機、纏綿難癒。
燥（邪）	燥為秋季主氣，燥性乾澀，燥易傷肺；多以津枯液少為特徵。
火（邪）	火為陽邪，其性炎上；具有耗氣傷津、生風動血，擾動心神之特性。
熱（邪）	熱為陽邪，具有耗氣傷津、生風動血之特性。
飲食	飲食致病，指攝食有失常度，易損傷脾胃；主要包括飲食失節、不潔及偏嗜等。
勞逸	勞逸致病，是指長期過度勞累或過度安逸，導致生理功能失調。
痰	指水液凝聚而質稠，停於身體各部位而致病。
飲	指清稀水液停於體腔各處而致病。
心	心居胸中；主血脈、主神明；與小腸相表裡。在體合脈，開竅於舌，其華在面，在志為喜，在液為汗。
心包	心包乃心外之包膜；心包經與三焦經互相絡屬，互為表裡；心包代心受邪，如溫病「熱入心包」或「痰濁蒙蔽心包」常出現神昏、譫語等症。
肝	肝位於橫膈之下，右脅之內；主疏泄、主藏血；與膽互為表裡。在體合筋，開竅於目，在志為怒，其華在爪，在液為淚。
腎	腎位於腰部；主藏精，主司人體生長發育與生殖；與膀胱互為表裡，並同司水液代謝；生髓、充腦，並有納氣功能；在體合骨，開竅於耳及二陰，在志為恐，其華在髮，在液為唾。
脾	脾居中焦；主運化水穀精微、統血；與胃互為表裡。脾氣升清，喜燥惡濕。在體合肌肉，開竅於口，在志為思，其華在唇，在液為涎。
胃	胃居中焦；主司受納、腐熟水穀；與脾互為表裡。以通降為順，喜潤惡燥。
膽	膽居右脅下；貯存與排泄膽汁並主決斷；與肝互為表裡。
小腸	小腸位於腹中；主司受盛化物，泌別清濁；與心互為表裡。
大腸	大腸位於腹中；主司傳化糟粕，主津；與肺互為表裡。

膀胱	膀胱位於小腹中央；能氣化津液，貯尿與排尿；與腎互為表裡。
三焦	三焦為全身氣機升降出入之道路及津液氣化運行之場所。
胞宮	狹義指子宮，廣義為女子內生殖器官（包括子宮、輸卵管和卵巢等），主司孕育胎產等功能。
月經	指女子子宮週期性出血的生理現象。其相關病理變化包括週期、經期、經量、經色、經質及伴隨症狀。
胎	狹義指孕而未生的胎兒，廣義指妊娠期間之生理與病理變化。
腦(髓)	腦為髓海，由腎精所充養，為心神所居之處。
陰	陰代表人體形質津液。陰成形，主靜，其性生寒，下降、內守、抑制。
陽	陽代表人體機能活動。陽化氣，主動，其性生熱，上升、衛外、興奮。
津液	津液是人體一切正常水液的總稱；充養濡潤人體各組織器官。
神	神主宰和協調總體生命活動，主要表現於意識、思維、情志。

二、各項術語成果討論

(一) 「風(邪)」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>風性輕揚開泄，善行數變；具有易襲陽位、發病急、傳變快、遊走不定等特點。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於風的涵義規範，主要的描述用語取自：印會河主編的《中醫基礎理論》(高等醫藥院校教材)，包括「風為春季的主氣」、「風為陽邪，其性開泄，易襲陽位」、「風性善行而數變」、「風為百病之長」；鄧鐵濤主編之《中醫診斷學》(高等醫藥院校教材)，包括「風為百病之長，其性輕揚開泄，善行數變，具有發病急，消退快，游走不定等特點...」；陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「風屬陽邪，為百病之長，其性輕揚，善行數變...」；馬建中所著《中醫內科學》提到「風邪的特性：一是善變...，二是其性輕揚、浮越，易於發泄...，三是風邪為患，四季均有，是外感病的主因...」；馬建中所著《中醫診斷學》提到「風的特性是善行而數變...，風性輕揚...，風性急暴、躁動...」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「風性開泄」、「風(易)傷陽位」、「風性主動」、「善行數變」、「風為百病之長」。</p>
<p>納入項目及討論</p>	<p>1. 「輕揚開泄」及「善行數變」是各參考書籍談論「風」的特性時，一定會討論到的項目，與會專家對此並無異議。「輕揚」意指風邪最易侵犯人體的上部和肌表，如《素問·骨空論》說：「風從外入。」《素問·太陰陽明論》也說：「傷於風者，上先受之。」因此風邪最常侵犯頭面部，表現出頭痛、頭昏、面腫等症；風邪常首先犯肺，表現出鼻塞、咳嗽等症；風邪多先襲表，出現脈浮、惡風、發熱等表症；「開泄」意指風邪襲表時，其致病易造成汗孔開闔失利，使腠理疏鬆、透泄，而表現汗出、惡風等症狀；《素問·風論》曰：「風者，善行而數變」，「善行」是指風邪致病具有病位游移，行無定處的特性。例如「痺證」中「風痺」的表現為游走性關節疼痛，痛無定處；以及「風疹塊」的皮膚瘙癢，隱現不定，發無定處。均為此一特性的表現。「數變」則是指風邪所致的疾病，一般發病多急，病程傳變也較快，消失也快。</p>

	<p>2. 由於「輕揚開泄」、「善行數變」等詞語較為抽象，為便於使用者掌握「風」的臨床操作應用，在特性的後面又加上臨床操作應用特點，如「易襲陽位」、「發病急」、「傳變快」、「遊走不定」等。</p>
<p>排除項目及討論</p>	<p>1. 「主動」：雖然是風的特性之一，風邪致病常可見動搖不定的特點，如暈眩、抽搐、震顫等症狀。但實際上我們在「善行數變」的內涵中已經講到動字，「行」和「變」實際上就是動態的概念。而且「肝風內動」、「熱極生風」、「血虛生風」等證，其臨床見症亦有頭暈目眩、四肢抽搐、肢麻、震顫、強直，乃至口眼喎斜，半身不遂，卒然昏倒，不省人事等，表現雖然與風邪相似，但致病原因非屬風邪，此等表現屬於內風病機。為避免臨床操作上的混淆，在此研究討論中將「主動」排除在外。</p> <p>2. 「風為春季的主氣」：雖然風是春季主氣，但風邪致病四季皆可發生，並非限於單一季節，風邪侵襲人體，多發於氣候突然改變，寒暖失常的時候。因此節令特點不列入主要涵義共識的描述中。</p> <p>3. 「風為百病之長」：風邪為六淫病邪的主要致病因素，古人認為寒、濕、燥、火、熱等邪氣多依附於風而侵犯人體，而為風寒、風熱、風火、風濕、風燥等證，故風邪實為外邪致病的先導，是外感致病因素的總稱。但是臨床實際治療時，辨證用藥上是依「風寒」、「風熱」、「風火」、「風濕」、「風燥」等證而分別治療，治療重點常為「寒」、「熱」、「火」、「濕」、「燥」。因此就臨床操作應用的角度而言，「風為百病之長」的重要性不足，故在此研究討論中將其排除在外。</p> <p>4. 「風屬陽邪」：排除理由同「風為百病之長」。</p>

(二) 「寒(邪)」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>寒為陰邪，其性凝滯收引；具有易傷陽氣，易致氣血不通、腠理閉塞、筋脈攣急的特點。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於寒的涵義規範，主要的描述用語取自：陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「寒為陰邪，易傷陽氣，其性凝滯，易致氣血不通，不通則痛。寒性收引則腠理閉塞、經脈拘急...」；印會河主編的《中醫基礎理論》(高等醫藥院校教材)，包括「寒為冬季主氣」、「寒邪為病有外寒、內寒之分，外寒指寒邪外襲，其致病又有傷寒、中寒之別」、「寒為陰邪，易傷陽氣」、「寒性凝滯」、「寒性收引」；柯雪帆所著《中醫外感病辨治》提到「寒邪四季皆有，以冬季以及氣候驟然轉冷時多見。...」；馬建中所著《中醫內科學》提到「寒為陰邪，其氣凝閉，易傷陽氣，主收引，主疼痛。...」；張伯臾主編《中醫內科學》(高等醫藥院校教材)提到「寒為陰邪，易傷人陽氣。致病多在冬季，其他季節雖亦可見到，但畢竟不如冬令之甚。... 寒性收引、凝滯，故易出現筋脈拘攣和氣血阻滯而疼痛等症狀。...」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「寒邪」、「寒易傷陽」、「寒性凝滯」、「寒性收引」。</p>
<p>納入項目及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「陰邪」：寒與熱相對而言，寒為陰盛的表現，故其性屬陰，寒為陰，熱為陽，陰陽具互相制約的關係，陰偏盛則陽氣反為陰寒所侮。因此感受寒邪，最易損傷人體陽氣，故《素問·陰陽應象大論》曰：「陰勝則陽病。」《素問·至真要大論》又提到：「諸病水液，澄澈清冷，皆屬於寒。」臨床表現為排泄物清稀者，皆屬寒致病，如感冒初起，鼻流清涕，屬風寒；小便清長，大便澄澈清冷者，多屬虛寒內生，這是確定寒性病機的要點之一。 2. 「凝滯」：人體氣血津液之運行無阻，全賴陽氣的溫煦推動。一旦陰寒之邪偏盛，損傷陽氣，溫煦推動功能減弱，則經脈氣血運行遲滯而不行，津液運行輸布失常，變生氣滯、瘀血、痰濁、內濕等，概為寒邪所凝閉阻滯之故。《素問·舉痛論》曰：「寒氣入經而稽遲，泣而不行，客於脈外則血少，客於脈中則氣不通，故卒然而痛。」

	<p>3. 「收引」：收引，即收縮牽引之意。《素問·舉痛論》曰：「寒則氣收」、「寒氣客於脈外則脈寒，脈寒則縮踈，縮踈則脈絀急，絀急則外引小絡，故卒然而痛。」《靈樞·歲露》曰：「寒則皮膚急而腠理閉。」寒邪侵襲人體，可造成氣機收斂，毛竅腠理閉塞，侵及經絡關節，可使筋脈收縮攣急，而出現屈伸不利。</p> <p>4. 由於「陰邪」、「凝滯」、「收引」等詞語較為抽象，為便於使用者掌握「寒」的臨床操作應用，在特性的後面又加上臨床操作應用特點，如「易傷陽氣」、「氣血不通」、「腠理閉塞」、「筋脈攣急」等。</p>
<p>排除項目 及討論</p>	<p>1. 「主痛」：寒邪是引起疼痛的主要原因，但實際上寒、熱、虛、實皆可導致疼痛。寒所導致的疼痛，主要是因為機體受寒使經脈收縮，造成脈道內運行的氣血相對減少，又因寒則凝滯，加重阻礙了脈中氣血的運行，以致經絡氣機不暢而感到疼痛。此為《素問·舉痛論》提到「客於脈外則血少，客於脈中則氣不通」的疼痛機理。後世「寒主痛」之說即本於此。因此可知「寒主痛」的機理是由於「收引」、「凝滯」使機體氣血凝滯、運行不暢，因而疼痛，故「寒」與「痛」並非直接相關，而是經由寒的特性所造成的結果，因此不納入共識中。</p> <p>2. 「寒為冬季主氣」：柯雪帆《中醫外感病辨治》提到：「寒邪四季皆有，以冬季以及氣候驟然轉冷時多見。」顯然寒邪致病並非限於單一季節，寒邪侵襲人體，多發於氣候突然改變，寒暖失常的時候。討論共識應思考臨床診斷應用特性，寒邪的季節特性在臨床辨證上並沒有特殊性，因此節令特點不列入主要涵義共識的描述中。</p>

(三) 「暑(邪)」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>暑為夏季外感熱邪之一，其性上升發散；具易擾心神、耗氣傷津的特性。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於暑的涵義規範，主要的描述用語取自：李經緯主編《中醫大辭典2版》提到「暑/病因，六淫之一。暑為陽邪，多在夏季致病。...臨床表現高熱、口渴、脈洪大、多汗等...易耗氣傷津...」；周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「暑是夏季之主氣。暑為炎熱之氣所化，暑氣太過，傷人致病，則為暑邪。暑邪致病，有明顯的季節性，主要發生在夏至以後，立秋之前。...」、「暑性炎熱」、「暑性升散」、「暑多夾濕」；印會河主編的《中醫基礎理論》(高等醫藥院校教材)，包括「暑為夏季的主氣，乃火熱所化」、「暑為陽邪，其性炎熱」、「暑性升散，耗氣傷津」、「暑多挾濕」；馬建中所著《中醫診斷學》提到「六淫中有暑和火而無熱，但暑和火致病，都有熱象表現，性質都屬於熱...暑則為外感熱邪中的一種，有季節性。」；鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》(高等醫藥院校教材)，提到「暑為夏令主氣」、「暑熱之邪最易傷元氣，尤多耗液傷津」；陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「暑為陽邪、其性炎熱，最易耗氣傷津。心主火，暑邪亦屬火，極易內傳，傷及心營。暑必夾濕，常與濕邪相合為病。...」；馬建中所著《中醫內科學》提到「暑邪的特性：一是上升發散... 二是暑為陽邪，容易耗氣傷陰... 三是暑兼濕熱二氣，故暑邪每多挾濕... ；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「summerheat 暑；暑邪/summerheat as a pathogenic factor, only occurring in summer, characterized by hotness and evaporation, also called pathogenic summerheat」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「暑性炎熱」、「暑性升散」、「暑易夾濕」、「暑易擾心」、「傷津耗氣」。</p>
<p>納入項目及討論</p>	<p>1. 「夏季」：暑邪致病有明顯的季節特點，主要發生夏至以後的小暑、大暑。《素問·熱論》曰：「先夏至日者為病溫，後夏至日者為病暑。」，《素問·瘧論》又曰：「夏傷於暑，</p>

	<p>熱氣盛。」</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. 「外感熱邪」：暑與火、熱有共性，性質都屬於熱，三者實是異名而同類。暑邪為火熱之氣所化，暑邪傷人致病多出現一系列陽熱症狀，如壯熱，心煩，面赤，脈象洪大等。如《素問·生氣通天論》所言「因於暑，汗，煩則喘喝，靜則多言，體若燔炭，汗出而散。」 3. 「上升」：心為火藏，主神明，又主血脈，若暑邪侵襲人體，則易上犯頭目，內擾心神，造成頭暈目眩，心神失守，或清竅閉塞。耿學英《內經對暑邪治病的認識》說：「暑邪是天之邪氣之一，常直接侵犯人體頭部和體表上半部」。 4. 「發散」：暑邪侵犯人體，多直入氣分，使腠理開泄而汗出，汗出過多，則耗傷津液，津液虧損，即可出現口渴喜飲，尿赤短少等症；氣隨津泄，甚則出現氣陰兩虧之象。《素問·舉痛論》曰：「炅則腠理開，營衛通，汗大泄，故氣泄矣。」 5. 由於「上升」、「發散」等詞語較為抽象，為便於使用者掌握「暑」的臨床操作應用，在特性的後面又加上臨床操作應用特點，如「易擾心神」、「耗氣傷陰」等。
<p>排除項目 及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「暑易夾濕」：暑邪多挾濕，是由於暑熱季節常多雨潮溼，加上人們貪嗜涼飲，因此暑邪為病常易挾濕，在本研究討論中，希望將討論的「相關辨證術語」的涵義共識盡量簡化，因「暑易夾濕」在臨床操作上並非直接應用於診斷暑證，只是說明「暑」易與「濕」同時出現的情形，因此將其排除在研究成果之外。 2. 「暑性炎熱」、「暑為陽邪」、「暑為陽邪」等詞語，實際上已包含在「暑為夏季外感熱邪之一」的概念之中，故不再重複於涵義共識中。

(四) 「濕(邪)」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>濕性重濁、黏滯、趨下；易阻礙氣機、纏綿難癒。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於濕的涵義規範，主要的描述用語取自：葉天士《臨證指南醫案》：「濕為重濁有質之邪，若從外而受者，皆從地中之氣升騰，從內而生者，皆由脾陽之不運。」；李經緯主編《中醫大辭典2版》提到「濕屬陰邪，性質重濁而黏膩，能阻滯氣的活動，影響脾的運化。...」；周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「濕為長夏主氣」、「濕為陰邪」、「濕性重濁」、「濕性粘滯」、「濕性趨下」；印會河主編的《中醫基礎理論》(高等醫藥院校教材)，包括「濕為長夏主氣」、「濕邪為病，亦有外濕、內濕之分」、「濕性重濁」、「濕為陰邪，易阻遏氣機，損傷陽氣，濕性重濁，其性類水，故為陰邪」、「濕性粘滯」、「濕性趨下，易襲陰位」；馬建中所著《中醫診斷學》提到「濕邪致病與氣候環境的潮濕有一定的關係，多發于夏秋季節...」、「濕為陰邪濕性粘膩，不除去，病程一般較長...」、「濕性停滯多出現身體沉重、四肢困倦、頭重如裹等症狀...」、「濕邪容易侵犯脾胃...」；鄧鐵濤主編《中醫診斷學》(高等醫藥院校教材)提到「濕為長夏之氣，是一種重著陰邪，四季均有發病...」、「濕邪重濁向下，傷人下部為與風淫之病相反...」、「濕性污濁...」；陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「濕為陰邪，易傷陽氣，易礙氣機，其性重濁，粘滯不爽，病多纏綿難愈...」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「濕阻氣機」、「濕易傷陽」、「濕性重濁」、「濕性黏滯」、「濕性趨下」。</p>
<p>納入項目及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「重」：濕邪易阻礙氣機，使人感到身體困倦，頭重如裹，如《素問·生氣通天論》曰：「因於濕，首如裹。」 2. 「濁」：是濕邪致病的病理現象所歸納出的特性，濕邪致病多出現大便溏瀉、下痢粘液膿血、小便混濁、婦女白帶過多、濕疹、浸淫流水等分泌物穢濁不清的症狀。 3. 「黏滯」：濕邪的性質粘膩停滯，有來緩去遲的特點，如《素問·五運行大論》所說：「其性靜兼，其德為濡」，故濕邪致病，徐而不驟，潛伏於內，積久乃發」致病後的症狀表現多呈緩慢地由輕到重，常纏綿難愈，病程遷延，不易速

	<p>癒或反復發作。</p> <p>4. 「趨下」：相對而言，濕邪為病多先起於下部，如濕邪所致的水腫多以下肢較為明顯，故《素問·太陰陽明論》曰：「傷於濕者，下先受之。」《靈樞·百病始生篇》曰：「濁濕傷下」而《靈樞·邪氣臟腑病形篇》也說：「身半以下者，濕中之也」。</p> <p>5. 由於「重濁」、「黏滯」、「趨下」等詞語較為抽象，為便於使用者掌握「濕」的臨床操作應用，在特性的後面又加上臨床操作應用特點，如「易阻礙氣機」、「纏綿難癒」等。</p>
<p>排除項目 及討論</p>	<p>1. 「濕為陰邪，易傷陽氣」：在濕邪的致病特點中提到濕性重濁易阻礙氣機，阻礙氣機之後容易造成脾胃運化失常而損傷脾胃，由於脾胃損傷才導致機體陽氣損傷。另外，無形之寒熱易依附有形之濕邪而侵襲人體，若寒濕襲人，則寒邪才是導致陽氣損傷的主因。因此濕邪顯然並非造成陽氣損傷直接因素。</p> <p>2. 「濕為長夏主氣」：雖然濕的發病季節多在夏日，但是實際上不論是在什麼季節都有可能發病，如《六因條辨·傷濕辨論》所說：「不獨夏秋 四時兼有」，而且從臨床上來看，反而跟環境的潮濕與否最有關係，只要環境過於潮濕，如《素問·痿論》所說：「有漸於濕，以水為事，若有所備，居處相濕，肌肉濡漬，痺而不仁，發為肉痿。故下經曰：肉痿，得之濕地也。」因此將「季節特點」排除涵義共識之外。</p>

(五) 「燥(邪)」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>燥為秋季主氣，燥性乾澀，燥易傷肺；多以津枯液少為特徵。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於燥的涵義規範，主要的描述用語取自：周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「燥為秋季主氣。...」、「燥性乾澀」、「燥易傷肺」；印會河主編的《中醫基礎理論》(高等醫藥院校教材)，包括「燥為秋季主氣，以其天氣不斷斂肅，空氣中缺乏水分之濡潤...」、「燥性乾澀，易傷津液」、「燥易傷肺」；馬建中所著《中醫診斷學》提到「燥，是指臨床上出現一系列乾燥的症候，主要由於津血耗傷所引起，但也有感受燥邪所致。前者屬於內燥，後者屬於外燥。」；朱文峰主編的《中醫診斷學2版》(中醫藥學高級叢書)，提到「燥淫證，因外界氣候乾燥，耗傷津液，以皮膚、口鼻、咽喉乾燥等為主要表現的證候。」；陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「燥邪發病多在秋季，每多傷肺。燥甚則乾，臨床多以津枯液少為特徵。...」；張伯臾主編的《中醫內科學》(高等醫藥院校教材)，包括「燥邪致病，易傷津液...」、「燥邪又易傷肺，使肺失宣肅...」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「dryness 燥；燥邪/dryness as a pathogenic factor characterized by dryness and is apt to injure the lung and consume fluid, also called pathogenic dryness」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「燥性乾澀」、「燥易傷肺」。</p>
<p>納入項目及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「秋季主氣」：秋季天氣肅斂，秋涼而勁急乾燥，主氣為燥。初秋有夏熱之餘氣，燥與溫熱結合而侵犯人體，則多見溫燥病證；深秋又有近冬之寒氣，燥與寒邪結合侵犯人體，多見涼燥病證。 2. 「燥性乾澀」：燥性乾，是自《黃帝內經》以來中醫學界對燥氣特性的一個共識，如《素問·陰陽應象大論》曰：「燥勝則乾」，就是基於這樣的一種認識而來。而劉完素《素問玄機原病式》提到：「諸澀枯涸，乾勁皺揭，皆屬於燥。」將燥邪致病的特點進一步上升為燥邪易傷津液的規律性認識，把很多津液缺失的表現歸因於感受燥邪而致，如燥邪

	<p>在表可有鼻咽乾燥、咽乾口渴、皮膚乾澀甚則皸裂等表現，隨著其入裡入臟，還會傷及肺津、胃液、肝血、腎陰，使氣、血、津液滯澀難行，引起一系列相應的表現，如毛髮不榮、小便短少、大便乾結等症狀。</p> <p>3. 「燥易傷肺」：溫病學派對外感病理論的創新，最突出的表現就是感邪途徑的變化，如葉天士《臨證指南醫案·秋燥》曰：「溫自上受，燥自上傷，理亦相等，均是肺氣受病…」。秋燥一症，氣分先受，治肺為急。」燥邪自口鼻與肌表侵入人體後，首先波及與口鼻相通的肺，損傷肺氣、肺津，造成肺氣宣肅失職，出現乾咳、少痰、痰液粘稠或痰中帶血等表現。</p> <p>4. 由於「燥性乾澀」較為抽象，為便於使用者掌握「燥」的臨床操作應用，在特性的後面又加上臨床操作應用特點，如「津枯液少」等。</p>
<p>排除項目 及討論</p>	<p>本討論內容以六淫之燥為目標，燥有分內外，外燥即指六淫之燥，內燥多為它邪轉化而來，劉河間認為和風、寒、熱、玄府氣液病變及亢害承制有關，而《實用中醫辭典》說：「內燥是由於陰津耗傷而出現的燥證，多在熱病後期或吐、瀉、出汗、出血過多，損傷津液所致，也有因營養障礙、瘀血內阻致使津血不能滋潤而起。」其臨床表現為骨蒸潮熱、心煩口渴、唇舌乾燥、皮膚皸裂、毛髮不榮、肌肉消瘦、大便秘結、小便短少等陰虛血少之證。由於內燥並非由燥邪直接所造成，因此不在此次討論範圍之內。</p>

(六) 「火(邪)」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>火為陽邪，其性炎上；具有易耗氣傷津、生風動血，擾動心神之特性。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於火的涵義規範，主要的描述用語取自：陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「火與熱為同類，火為熱之極，熱為火之漸...」、「火熱為陽邪，其性炎上，易耗氣傷津，且易生風動血...」、「臨床以高熱、煩渴、汗出、神昏譫狂、四肢抽搐、吐血衄血為常見症狀」；馬建中所著《中醫內科學》提到「火邪多由風、寒、暑、濕、燥等外邪在體內轉化而成，與溫、熱同類，只是程度不同，所謂「溫為熱之漸，火為熱之極」」、「其特性為：一是發病較急，傳變迅速... 二是容易入心動風... 三是容易傷陰動血...」；張伯臾主編的《中醫內科學》（高等醫藥院校教材），包括「火乃熱之極...」、「火為陽邪，其性上炎...」、「火邪最易迫津外泄，消灼陰液...」、「火邪又能生風動血...」；周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「火熱旺於夏季...」、「火(熱)為陽邪，其性炎熱趨上」、「易擾心神」、「易傷津耗氣」、「易擾心神」、「易生風動血」、「易致腫癰」；印會河主編的《中醫基礎理論》（高等醫藥院校教材），包括「火熱為陽盛所生，故火熱常可混稱...」、「火熱為陽邪，其性炎上」、「火易耗氣傷津」、「火易生風動血」、「火易致腫瘍」；朱文峰主編的《中醫診斷學2版》（中醫藥學高級叢書），提到「火、熱、溫邪的性質同類，僅有輕重、緩急等程度之別」、「火熱為陽邪，其性炎上」、「火為陽邪，具有炎上、耗氣傷津、生風動血、易致腫瘍等特性」；WHO所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「火; 火邪/fire as a pathogenic factor characterized by intense heat that is apt to injure fluid, consume qi, engender wind, inducing bleeding, and disturb the mental activities, also called pathogenic fire」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「火性炎上」、「火易生風」、「火易動血」、「耗氣傷津」、「火易擾心」。</p>

<p>納入項目 及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「火為陽邪」：《素問·陰陽應象大論》曰：「陽勝則熱」，陽主動而向上，火熱之性，燔灼焚焰且升騰上炎，故屬於陽邪，火邪傷人，可見高熱、惡熱、煩渴、汗出、脈洪數等症。 2. 「其性趨上」：《素問·至真要大論》曰：「諸逆衝上，皆屬於火。」火邪具有燔灼向上的性質，致病熱象顯著，多見於人體上部，常見面紅目赤、舌邊尖紅或口舌生瘡，或牙齦腫痛。 3. 「耗氣傷津」：《素問·陰陽應象大論》曰：「壯火食氣，氣食少火，壯火散氣，少火生氣。」《素問·舉痛論》又曰：「炅則腠理開，榮衛通，汗大泄，故氣泄。」說明正常的生理之火能生氣，而過亢的壯火則耗傷元氣；火熱之邪，易迫津外泄，消灼陰液，使人體陰津耗傷，氣依附津液而存在，故汗多則氣隨汗泄，故火邪致病，除熱象外，往往伴有口渴喜冷飲，咽乾舌燥，小便短赤，大便秘結等津液耗傷之症。 4. 「生風動血」：《素問·至真要大論》曰：「諸熱瞀瘖，皆屬於火。」又《醫論三十篇》曰：「火鬱熾於內，熱極而生風。」火邪傷及人體，常燔灼肝經，耗傷陰津，使筋脈失其滋養濡潤，致肝風內動，出現四肢抽搐、目睛上視、頸項強直、角弓反張等症。火邪可加速血行，甚則灼傷脈絡，迫血妄行，而致各種出血或發斑。 5. 「易擾心神」：《素問·至真要大論》曰：「諸躁狂越，皆屬於火。」火邪具有容易擾亂心神的性質。
<p>排除項目 及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「易致腫瘍」：火熱是腫瘍癰疽病因病機的主要因素，如《靈樞·癰疽》曰：「大熱不止，熱勝則肉腐，肉腐則為膿，故名曰癰。」《素問·至真要大論》又曰：「諸癰癢瘡，皆屬於心。」張介賓解釋為：「心屬火，其化熱，故瘡瘍皆屬於心也。」但臨床上腫瘍癰疽的病機中心環節是「不通」，故《靈樞·刺節真邪》提到：「虛邪之中人也...搏於脈中，則為血閉，不通則為痛。」《醫宗金鑒·卷六十一·癰疽總論歌》也說：「癰疽原是火毒生，經絡阻隔氣血凝。」因此

	<p>腫瘍癰疽形成的過程應是先有各種原因造成「不通」的病機，接著才有火、熱、毒的產生，因此在討論「火」、「熱」的特性時，暫不將其納入。</p>
--	---

(七) 「熱(邪)」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>熱為陽邪，具有耗氣傷津、生風動血之特性。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於熱的涵義規範，主要的描述用語取自：周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「火熱旺於夏季...」、「火(熱)為陽邪，其性炎熱趨上」、「易擾心神」、「易傷津耗氣」、「易擾心神」、「易生風動血」、「易致腫 癰」；印會河主編的《中醫基礎理論》(等中醫研究參考教材2版)，包括「熱為夏季主氣，是陽氣盛的表現...」、「溫、熱、火三者，都屬陽邪，故溫熱、火熱常混稱，但又有差別。溫為熱之漸，火 為熱之極，這是病邪程度上的差別。以形象言，熱無形而火有形可見。以臨床症狀看， 外感溫熱多表現為全身性的陽熱亢盛症狀，如發熱，常可致高熱、口渴、大汗、脈洪大等。火多表現為某一臟腑的功能亢進，如心火、肝火、胃火等，並有燔灼炎上、動血及易致腫瘍的特性。」、「熱易化火上炎」、「熱易傷津耗氣」、「熱盛可生風動血」、「熱邪夾毒，易致腫瘍」；馬建中所著《中醫診斷學》提到「六淫中有暑和火而無熱，但暑和火致病，都有熱象表現，性質都屬於熱，三者實是異名而同類，... 」；鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》(高等醫藥院校教材)提到「火和熱只有程度上的不同，熱之極便是火，火為熱之體，熱為火之用」；陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「火與熱為同類，火為熱之極，熱為火之漸...」、「火熱為陽邪，其性炎上，易耗氣傷津，且易生風動血...」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「heat 熱;熱邪 / heat as a pathogenic factor that causes heat pattern/syndrome, also called pathogenic heat. 」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「陽勝則熱」、「陰虛則熱」、「熱勝則腫」、「炅則氣泄」、「熱擾神明」。</p>

<p>納入項目 及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「陽邪」：《素問·陰陽應象大論》曰：「陽勝則熱」。陽主動而向上，火熱之性，燔灼焚焰且升騰上炎，故屬於陽邪。 2. 「耗氣傷津」：《素問·陰陽應象大論》曰：「壯火食氣，氣食少火，壯火散氣，少火生氣。」《素問·舉痛論》又曰：「炅則腠理開，榮衛通，汗大泄，故氣泄。」說明正常的生理之火能生氣，而過亢的壯火則耗傷元氣；火熱之邪，易迫津外泄，消灼陰液，使人體陰津耗傷，氣依附津液而存在，故汗多則氣隨汗泄，故火邪致病，除熱象外，往往伴有口渴喜冷飲，咽乾舌燥，小便短赤，大便秘結等津液耗傷之症。 3. 「生風動血」：《素問·至真要大論》曰：「諸熱瞀瘖，皆屬於火。」又《醫論三十篇》曰：「火鬱熾於內，熱極而生風。」熱邪熾盛，傷及營血，燔灼肝經，筋脈失養而動風，出現四肢抽搐、角弓反張、目睛上視、頸項強直等症。熱邪還可加速血液運行，甚則灼傷脈絡，迫血妄行，而致各種出血或發斑。
<p>排除項目 及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「易致腫瘍」：火熱是腫瘍癰疽病因病機的主要因素，如《靈樞·癰疽》曰：「大熱不止，熱勝則肉腐，肉腐則為膿，故名曰癰。」《素問·至真要大論》又曰：「諸癰癢瘡，皆屬於心。」張介賓解釋為：「心屬火，其化熱，故瘡瘍皆屬於心也。」但臨床上腫瘍癰疽的病機中心環節是「不通」，故《靈樞·刺節真邪》提到：「虛邪之中人也……搏於脈中，則為血閉，不通則為痛。」《醫宗金鑒·卷六十一·癰疽總論歌》也說：「癰疽原是火毒生，經絡阻隔氣血凝。」因此腫瘍癰疽形成的過程應是先有各種原因造成「不通」的病機，接著才有火、熱、毒的產生，因此在討論「火」、「熱」的特性時，暫不將其納入。

(八) 「飲食」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>飲食致病，指攝食有失常度，易損傷脾胃；主要包括飲食失節、不潔及偏嗜等。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於飲食的涵義規範，主要的描述用語取自：李經緯主編的《中醫大辭典 2 版》提到「由於飲食失調致病的一類病因。通常包括飲食失節，飢飽失常，或暴飲暴食，或飲酒無度，或飲食不潔，或飲食偏嗜等。飲食所傷直接影響脾胃導致脾胃功能失調，並可併發他病，是內傷疾病的致病因素之一。」；周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「飲食... 是維持生命和保持健康的的基本條件... 若飲食失宜，又可成為致病因素，而引起多種疾病，飲食失宜致病，主要是損傷脾胃，進而又可引起多種多樣的病理變化，飲食失宜是內傷病的主要致病因素之一，主要包括飲食不節、飲食不潔、飲食偏嗜三個方面。」；印會河主編的《中醫基礎理論》(高等中醫研究參考叢書)提到「飲食所傷，是指由於飲食失節，暴飲暴食，飢飽失常；或飲食偏嗜，或飲食不潔等原因而導致疾病的發生。」；鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》(高等中醫研究參考叢書 2 版)提到「飲食要有一定的節制，勞逸要合理安排。否則也會降低機體的抵抗力或影響臟腑的生理機能，使人體產生疾病，甚或使人早衰。」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「dietary irregularities 飲食不節 /diet harmful to health, including ingestion of raw, cold or contaminated food, voracious eating or excessive hunger, predilection for a special food, alcohol addiction, etc.」。李德新主編的《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「飲食失宜」、「飲食不節」、「飲食不潔」、「飲食偏嗜」。</p>
<p>納入項目及討論</p>	<p>1. 「飲食不節」：主要是由於饑飽無常而導致脾胃的損傷，如《靈樞·五味》曰：「穀不入，半日則氣衰，一日則氣少矣。」《素問·痹論》亦曰：「飲食自倍，脾胃乃傷。」治療法則方面，《丹溪心法·飲食勞倦》提到：「夫由於饑餓不飲食與飲食太過，雖皆不節，然必明其二者之分。饑餓胃虛，此為不足；飲食停滯，此為有餘。惟其不足，故宜補益；</p>

	<p>惟其有餘，故宜消導。」</p> <p>2. 「飲食不潔」：指吃了不乾淨或是已經酸腐變質的飲食物，導致疾病的產生。</p> <p>3. 「飲食偏嗜」：是不良的進食習慣，包括對飲食物的特別喜好或是不喜歡進食，造成體內的某些營養成分過剩或是不足，導致疾病的產生，如《素問·五臟生成》說：「是故食咸則脈凝泣而變色；多食苦則皮槁而毛拔；多食辛則筋急而爪枯；多食酸，則肉胝而唇揭；多食甘則骨痛而髮落，此五味之所傷也。」《素問·生氣通天論》也說：「高粱之變，足生大丁。」</p>
<p>排除項目 及討論</p>	<p>1. 無相關排除項目討論。</p>

(九) 「勞逸」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>勞逸致病，是指長期過度勞累或過度安逸，導致生理功能失調。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於勞逸的涵義規範，主要的描述用語取自：李經緯主編的《中醫大辭典 2 版》提到「勞逸作息本是人類生存和繁衍的行為方式，但是如果氣候反常，飲食失調及人的各種活動過極，就成為導致疾病的根本原因。」；周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「勞動與休息的合理調節，也是人類生存和保持健康的必要條件，勞逸失當是指長時間的過度勞累和過度安逸，即過勞、過逸。過勞和過逸，也可以使人生病而成為致病因素。」、「過勞：勞力過度... 勞神過度... 房勞過度...」、「過逸，即過度安逸，既不勞動，又不運動，長期安閒少動，或長期用腦過少等，導致氣血運行不暢，臟腑功能減退，產生諸多病變。」；印會河主編的《中醫基礎理論》(高等醫藥院校教材)提到「過勞是指過度勞累。包括勞力過度，勞神過度和房勞過度三個方面。」、「過度安逸是指過度安閒，不參加勞動，又不運動。」；鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》(高等中醫研究參考叢書)提到「正常的勞動，有助於氣血運行，筋骨勁強，增強體質，促進健康。若勞累太過，則易耗傷正氣，以致積勞成疾。過度的安逸，缺少勞動鍛煉，會使氣血運行不暢，亦可招致疾病。」；陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「過勞：損傷元氣。倦怠無力，嗜臥，懶言，飲食減退，脈緩大或浮或細。」、「過逸：氣血運行不周，氣血郁滯。體胖行動不便，動則喘喝，心悸短氣，肢軟無力。」；李德新主編的《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「勞逸失度 maladjustment between work and rest /過度勞累和過度安逸的總稱」。</p>
<p>納入項目及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「過度勞累」：過勞的主要因素為：1.勞力過度，《素問·舉痛論》曰：「勞則氣耗」，長期勞力太過，易導致內臟精氣耗損，功能減退，筋骨勞傷，組織損傷，久則積勞成疾。2.勞神過度，易耗傷心脾，損傷肝血。3.房勞過度則耗傷腎精腎氣。 2. 「過度安逸」：過逸，則氣血運行不周，肌肉鬆緩，筋骨脆弱，故常感肢體乏力而易疲勞。這種現象乃是因為筋骨活

	<p>動懈惰造成氣血運動不周而產生的現象。如《素問·宣明五氣篇》所說：「久視傷血，久臥傷氣，久坐傷肉，久立傷骨，久行傷筋，是謂五勞所傷」實際上已包括了過勞、過逸兩個方面。</p>
<p>排除項目 及討論</p>	<p>1. 無相關排除項目討論。</p>

(十) 「痰」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>指水液凝聚而質稠，停於身體各部位而致病。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於痰的涵義規範，主要的描述用語取自：馬建中所著《中醫診斷學》提到「中醫學所說的痰，有 狹義和廣義兩個不同含義狹義的痰僅指咯出的痰液；廣義的痰可以留在體內的經絡、臟腑各處，表現出不同的症候...」、「痰的產生，主要由于肺、脾、胃、腎等臟腑功能失常，使津液不能化生、輸布和排泄，或津液被熱(火)煎熬而成...」、「痰本身是一種病理產物，但在形成之後，又成爲致病因素...」；鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》(高等醫藥院校教材)提到「痰證是指水液凝結，質地稠厚，停聚於臟腑、經絡之間而引起的病證。」；陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「痰證是指水液凝聚而質稠，停於身體各部位所引起的病證。」；朱文鋒所著《證素辨證學》提到「痰：體內水液凝聚成痰，痰濁停積或流竄，所表現的吐痰，形體肥胖之類證候。」；WHO所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「phlegm 痰 / (1) pathologic secretions of the diseased respiratory tract, which is known as sputum; (2) the viscous turbid pathological product that can accumulate in the body, causing a variety of diseases.」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「痰、phlegm。機體水液代謝障礙所形成的質地黏稠的病理產物。屬繼發性致病因素。」</p>
<p>納入項目及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「凝聚而質稠」：葉天士《臨證指南醫案》說：「津液凝滯，不能輸布，留於胸中，水之清悉變為濁，水積陰則為飲，飲凝陽則為痰」說明水、濕、痰及飲，四者同出一源，治療上亦從肺脾腎三臟入手，但四者間又有些許差別，痰多是由外感六淫、七情內傷或飲食勞逸失宜等，使肺、脾、腎及三焦氣化功能失常，導致水液停滯凝聚而成。《赤水玄珠·卷六》曰：「痰飲，膠固稠黏者痰也、清而稀薄者飲也，痰飲為病，所感不同。」 2. 「停於身體各部位」：《丹溪心法·痰》曰：「痰之為物，隨氣升降，無處不到... 凡痰之為患，為喘為咳，為嘔為利，

	<p>為眩暈，心嘈雜，怔忡，驚悸，為寒熱痛腫，為痞膈，為壅塞，或胸脅間漉漉有聲，或背心一片常為冰冷，或四肢麻痺不仁。」因此有「百病多由痰作祟」、「怪病多痰」等說法，正體現「痰」可停留於身體各部位造成病理現象。</p>
<p>排除項目 及討論</p>	<p>1. 「痰之有形無形」：臨床上「痰」可分有形、無形兩類。有形之痰是指視之可見，觸之可及或聽之有聲者，如咯痰、喉間痰鳴、痰核、大便粘稠如涕等；無形之痰是指有痰的常見症狀，但卻視之不見，觸之不可及或聽之無聲者，如失眠、眩暈、胸悶短氣、腕痞、肢麻不遂等，但這類的病證如按治痰法去治療，則同樣可以收到效果。因此所謂的「無形之痰」只是肉眼尚不能直接觀察到，但其本質與有形之痰是一致的，因此在涵義共識中，不特別強調痰的有形與無形。</p>

(十一) 「飲」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>指清稀水液停於體腔各處而致病。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於飲的涵義規範，主要的描述用語取自：陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「飲證：是指水飲質地清稀，停滯於胃腸、心肺、胸脅等處所致的證候。」；馬建中所著《中醫內科學》提到「凡由於運化水液的功能失常，而使體液停積於局部的，即叫做飲，因水飲停積的部位不同，臟腑受病和出現的證狀也不同，故有痰飲、懸飲、溢飲、支飲之區分。」；鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》（高等醫藥院校教材）提到「飲證之作，多因臟腑陽氣虛衰，不能溫化水液，或感受寒濕，阻滯氣機，或其它疾病導致氣機升降失常，水液代謝障礙等因素引起」；張伯臾主編的《中醫內科學》（高等醫藥院校教材）提到「飲為臟腑功能失調以致水液在體內不得輸化，停聚在某些部位而發生的一類疾病... 由於水飲停積的部位不同，而分為痰飲、懸飲、溢飲、支飲四類...」；李經緯主編的《中醫大辭典2版》（高等醫藥院校教材）提到「飲證 /病證名。見《證治匯補》。指體內過量水液不得輸化，停留或滲注於某一部位而發生的病證。...」；朱文鋒所著《證素辨證學》提到「飲：水飲停聚於肺、心包、胸脅、胃腸等處，所表現的心胸積液之類證候。」；WHO所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「fluid retention pattern/syndrome 飲證 /a pattern/syndrome marked by dizziness, thoracic and epigastric stuffiness sensation, vomiting of clear fluid, slippery tongue coating and string-like pulse.」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「飲、retained fluid。機體水液代謝障礙形成的質地清稀的病理產物。屬繼發性致病因素。」</p>
<p>納入項目及討論</p>	<p>1. 「清稀」：《景岳全書·痰飲》：「痰之與飲，雖曰同類，而實有不同也。蓋飲為水液之屬，凡嘔吐清水及胸腹膨滿，吞酸噯腐，渥渥有聲等證... 是即所謂飲也。若痰有不同於飲者，飲清澈而痰稠濁。」飲的形成多因臟腑陽氣虛衰，不能溫化水液；或感受寒濕，阻滯氣機；或因其他疾病導</p>

	<p>致氣機升降失常，而致水液內停成為病理產物。相對而言，多牽涉到寒，不管內寒或外寒，或是臟腑陽氣虛衰，無法溫化，因此質地會比較清稀，正如葉天士《臨證指南醫案》所說「津液凝滯，不能輸布，留於胸中，水之清悉變為濁，水積陰則為飲，飲凝陽則為痰」。</p> <p>2. 「停於體腔各處」：相對於現代多有專書討論痰的治療，飲的治療原則及分類仍是承襲金匱四飲而來，包括「飲停腸胃，則腸鳴瀝瀝，嘔吐清水，脘腹痞脹，謂之痰飲；飲停胸脅，則咳唾引痛，胸脅脹滿，謂之懸飲；飲停心肺，則咳嘔痰涎，心悸胸悶，氣喘，甚至不能平臥，謂之懸飲；泛濫肌膚，則身重疼痛，肢體浮腫，謂之溢飲。」歸納之，水飲停積的部位多為體腔空隙處，不同於痰之周身上下、無處不到。涵義共識中另有一結論：若是已吐出的水液則不再以「飲」稱之，統稱「痰飲」。</p>
<p>排除項目及討論</p>	<p>1. 無相關排除項目討論。</p>

(十二) 「月經」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>指女子子宮週期性出血的生理現象。其相關病理變化包括週期、經期、經量、經色、經質及伴隨症狀。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於月經的涵義規範，主要的描述用語取自：李經緯主編的《中醫大辭典 2 版》提到「女子一般在 14 歲左右月經即開始來潮，到 50 歲左右，月經即自行斷絕，中間除妊娠及哺乳期外，通常一月來潮一次，每次持續約為 3~7 天。因其每月均按期而來，故稱。」；周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「是女子生殖器官發育成熟後週期性子宮出血的生理現象。」、「當女子 14 歲左右，由於腎精充盛，在天癸的作用下，胞宮發育成熟。任脈通，衝脈盛，月經開始按時來潮。到了 50 歲左右（更年期）因腎精衰少，天癸竭，衝任二脈氣血不足，則月經停止〔絕經〕。」；印會河主編的《中醫基礎理論》（高等醫藥院校教材）提到「主要有如下三個方面的生理因素：(1)「天癸」的作用：生殖器官的發育，全賴於「天癸」… (2) 衝、任二脈的作用：衝、任二脈，起於胞中。衝脈與腎經並行，與陽明脈相通，能調節十二經脈的氣血，有「衝為血海」之稱；任主胞胎，在小腹部與足三陰經相會，能調節全身的陰經，有「陰脈之海」之稱。… (3)心、肝、脾三臟的作用：心主血、肝藏血、脾為氣血生化之源而統血，對於全身血液的化生和運行均有調節作用…」；馬建中主編的《中醫診斷學》提到「月經周期一般為 28 天左右，每次來潮約持續 3 至 4 天，亦有多至 5、6 天的，色正紅。若有異於這種情況，要檢查是否為病…」；鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》（高等醫藥院校教材）提到「機體發生疾病時，常可影響月經出現異常改變，因此，根據月經的週期、量、色、質等的異常改變，亦可推斷疾病的寒熱虛實性質，臨床診察時，應注意詢問月經的週期，行經的天數，月經的量、色、質、有無閉經或行經腹痛等表現。」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「menstrual disease 月經病 /a collective term for diseases characterized by abnormal interval, duration, quantity, color, quality of menses,</p>

	non-physiological stoppage, as well as manifest symptoms with the periods or around menopause, the same as emmeniopathy.」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「月經、menstruation。/育齡婦女週期性、規律性的子宮出血」。
納入項目及討論	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「子宮週期性出血」：月經為女子生殖器官發育成熟後，子宮出血的生理現象，除妊娠及哺乳期外，通常一月來潮一次，每次持續約為3~7天。 2. 「週期、經期、經量、經色、經質及伴隨症狀」：月經為病的表現與女子胞為病的表現基本相同，月經的病變包括週期、經期、量、色、質等的異常改變，以及行經腹痛等表現，中醫相關的病症名包括「月經先期」、「月經後期」、「月經先後不定期」、「月經過多」、「月經過少」、「崩漏」、「閉經」、「痛經」、「經行前後諸症」、「經行頭痛」、「經行發熱」、「經行泄瀉」、「經行感冒」、「經行失眠」及「經行口糜」等等。
排除項目及討論	<ol style="list-style-type: none"> 1. 月經為生理現象，無特殊生理功能。

(十三) 「胎」的涵義與臨床應用共識：

成果	狹義指孕而未生的胎兒，廣義指妊娠期間之生理與病理變化。
主要參考資料	對於胎的涵義規範，主要的描述用語取自：魏迺杰主編的《實用英文中醫辭典》提到「fetal 胎 tai: Of or related to the fetus or the prenatal period.」；李經緯主編的《中醫大辭典 2 版》提到「胎：胎孕而未出生的幼體。又稱胎元。」；周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「女子發育成熟後，兩性交媾、兩精相合，就構成了胎孕。受孕之後，月經停止來潮，氣血通過衝任二脈注入胞宮，以養育胎兒。女子胞是胎兒在母體內發育的場所。」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「胎 fetus /孕而未出生的幼體」。
納入項目及討論	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「孕而未生的胎兒」：「胎」字的定義，《漢語大字典》解釋：「人和哺乳動物孕於母體內而未生的幼體。如：懷胎；胚胎。」《說文·肉部》曰：「胎，婦孕三月也。」《禮記·月令》提到：「毋殺孩蟲、胎、夭、飛鳥。」孔穎達疏：「胎，謂在腹中未出。」綜合以上，討論的最後，對胎字的認識為「孕而未生的胎兒」。 2. 「妊娠期間之生理與病理變化」：胎的孕育，是一個複雜的生理現象，與心、肝、脾、腎(天癸)和衝、任二脈的關係最為密切。母體受孕後，陰血聚於衝任以養胎，導致孕婦本身處於陰血偏虛，陽氣偏亢的生理狀態；同時隨著胎體漸長，對氣機升降的影響也逐漸增大。因妊娠期間之生理或病理變化而產生的病症名，包括：「惡阻」、「子腫」、「子暈」、「子癩」、「胎漏」、「胎動不安」、「胎死不下」、「滑胎」、「胎萎不長」、「異位妊娠」、「子嗽」、「子淋」等。
排除項目及討論	1. 無相關排除項目討論。

(十四) 「心」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>心居胸中；主血脈、主神明；與小腸相表裡。在體合脈，開竅於舌，其華在面，在志為喜，在液為汗。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於心的涵義規範，主要的描述用語取自：李經緯主編《中醫大辭典 2 版》提到「五臟之一。與小腸相表裡。主神明，是精神、意識、思維等高級中樞神經活動的主宰，對其他臟腑的功能活動起領導作用... 又主血脈，血液的運行有賴於心的推動... 此外，心又主汗... 心在竅為舌... 」；周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「心位於胸中，兩肺葉之間，橫膈膜之上，其形似倒垂的蓮蕊，外有心包衛護。心的主要生理功能是主血脈，主藏神... 心在腑合小腸，在體主脈，其華在面，開竅於舌，在志為喜，在液為汗。」；印會河主編的《中醫基礎理論》(高等醫藥院校教材)，包括「心居於胸腔，膈膜之上，圓而尖長，形似倒垂的未開蓮蕊，有心包衛護於外。」、「心的生理功能主要有兩方面，一是主血脈，二是主神志」、「心開竅於舌，其華在面，在志為喜，在液為汗」、「手少陰心經與手太陽小腸經在心與小腸之間相互絡屬，故心與小腸相為表裡」；馬建中所著《中醫診斷學》提到「心的主要生理功能是主血脈和藏神，故由各種原因引起心的陰陽氣血失調，出現血脈運行失常和精神情志改變的病理表現，統屬於心的病症。」；鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》(高等醫藥院校教材)，提到「心居胸中、兩肺之間，外有心包護衛，主血脈，藏神志。」；朱文鋒主編的《中醫診斷學 2 版》(中醫藥學高級叢書)，提到「心居胸中，與小腸相表裡，開竅於舌，在體合脈，其華在面。心的主要生理功能為主血脈和主神明。」；陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「心居胸中，心包絡護衛於外，為心主之宮城。於少陰心經循臂內側後緣，下絡小腸，與小腸互為表裡。心開竅於舌，在體合脈，其華在面。心的主要生理功能之一是主血脈，具有推動血液在脈道中運行不息的作用；另一則是主神明，為人體精神和意識思維活動的中樞，心的病變主要反映在心臟本身及其主血脈功能的失常、心神的意識思維等精神活動的異常。」；張伯臾主編的《中醫內科學》(高等醫藥院校教材)提到「心主血脈，又主神</p>

	<p>明，所以心的病理表現主要是血脈運行的障礙和情志思維活動的異常」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「heart 心 /the organ located in the thoracic cavity above the diaphragm, which controls blood circulation and mental activities.」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「屬五臟。居胸腔之內，膈膜之上，心包衛護其外。主神明、血脈，為五臟六腑之大主。」、「心惡熱」、「心藏神」、「心志喜」、「心主言」、「心主血脈」、「心主血」、「心主脈」、「心華在面」、「心開竅於舌」、「舌為心之苗」、「心主汗」、「心合小腸」。</p>
<p>納入項目 及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「心居胸中」：取自《中醫診斷學圖表解》：心居胸中，心包絡護衛於外，為心主之宮城。首句先標示「心」的解剖位置。 2. 「主血脈」：心主血脈包括心主血與心主脈（在體合脈）兩個部分，指心具有推動血液在脈管中正常運行的功能。故《素問·痿論》曰：「心主身之血脈」《素問·五臟生成論》亦曰：「諸血者，皆屬於心。」 3. 「主神明」：《素問·靈蘭秘典論》曰：「心者，君主之官，神明出焉。」《靈樞·邪客》也提到：「心者，五臟六腑之大主也，精神之所舍也。」徐靈胎注曰：「心為一身之主，臟腑百骸皆聽命於心，故為君主；心藏神，故為神明之用。」指心具有統帥全身藏府、形體、經絡、官竅等生理活動以及主司意識、思維及情志等心理活動的功能，故《醫學入門·臟腑》說：「心者，一身之主，君主之官。有血肉之心，形如未開蓮花，居肺下肝上是也。有神明之心，神者，氣血所化，生之本也，萬物由之盛長，不著色象，謂有何有？謂無複存，主宰萬事萬物，虛靈不昧者是也。」 4. 「開竅於舌」：心開竅於舌主要可藉以下兩點來理解，其一為心主血脈，而舌體血脈豐富可直接反應血脈的功能變化。其二為心與舌體間有經脈互相聯繫，如《靈樞·經脈》曰：「手少陰之別... 循經入於心中，繫舌本」。故《素問·

	<p>陰陽應象大論》曰：「南方生熱，熱生火... 在體為脈，在臟為心... 在竅為舌...在志為喜。」</p> <p>5. 「其華在面」：《靈樞·邪氣藏府病形》曰：「十二經脈，三百六十五絡，其血氣皆上於面而走空竅。」由於面部血脈極其豐富，心主血脈，故心之精氣盛衰可外顯於面部。故《素問·六節藏象論》：「心者生之本，神之變也。其華在面，其充在血脈。」</p> <p>6. 「在志為喜」：《素問·陰陽應象大論》曰：「在臟為心...在志為喜。」指出喜樂的情志變化與心的生理功能相關。</p> <p>7. 「在液為汗」：《素問·宣明五氣篇》曰：「五藏化液，心為汗」可經由血汗同源與心主血脈兩個方向去理解，故《素問·經脈別論》曰：「精而奪精，汗出於心。」</p>
<p>排除項目 及討論</p>	<p>1. 「心與夏氣相通應」：雖然心與夏氣相通應，但心病四季皆可發生，並非限於單一季節，因此藏府與節令相配的部分不列入主要涵義共識的描述中。</p>

(十五) 「小腸」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>小腸位於腹中；主司受盛化物，泌別清濁；與心互為表裡。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於小腸的涵義規範，主要的描述用語取自：李經緯主編的《中醫大辭典 2 版》提到「六腑之一。上接幽門，與胃相通，下連大腸，包括回腸、空腸、十二指腸。主要功能是主化物而分別清濁，它承接胃腐熟的飲食再行消化，有「受盛之腑」、「受盛之官」之稱。食糜在小腸再經過消化並分別清濁，精華部分營養全身，糟粕歸大腸，水液歸於膀胱。」；周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「小腸位於腹中... 小腸與心，通過經脈相互絡屬，構成表裡關係。小腸的主要生理功能是主受盛化物和泌別清濁。」；印會河主編的《中醫基礎理論》（高等醫藥院校教材）提到：「小腸... 小腸與心有經脈互相絡屬，故與心相為表裡。小腸的主要生理功能是受盛、化物和泌別清濁。」；馬建中所著《中醫診斷學》提到「小腸的泌別清濁功能失調而引起的腹瀉，與脾失健運有關」；鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》（高等中醫研究參考叢書），提到「小腸的功能，主要在於接受胃已腐熟之飲食水穀，進行分清泌濁，精微歸於脾，糟粕輸於大腸。」；馬建中所著《中醫內科學》提到「小腸始於幽門括約肌處，與胃相通，上連大腸，兩者相合處為闌門。其經脈絡心。其主要功能是主化物，而分別清濁。小腸為病，其表現為清濁不分，轉輸障礙，證見小便不利，大便泄瀉，常概括在脾的病證之內。」；張伯臾主編的《中醫內科學》（高等中醫研究參考叢書），提到「小腸受盛胃中水谷，主轉輸清濁，清者輸於各部，濁者滲入膀胱，下注大腸。」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「small intestine 小腸 /one of the six bowels, whose main function is to receive food content of the stomach, further digest it and absorb nutrients and water.；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「小腸主受盛」、「小腸主化物」、「小腸主液」、「泌別清濁」。</p>
<p>納入項目及討論</p>	<p>1. 「受盛化物」：《難經·四十二難》說：「小腸重二斤十四兩，長三丈二尺，廣二寸半，徑八分分之少半，左回迭積十六</p>

	<p>曲，盛穀二斗四升，水六升三合合之大半。」小腸的受盛作用表現在承接由胃下傳而來的經初步消化的水穀食糜，而化物作用指的是，對其進一步消化為精微與糟粕。</p> <p>2. 「泌別清濁」：將承接自胃初步消化而下行的水穀食糜，進一步消化吸收，把水穀精微轉輸於脾以營養周身，並把剩餘的糟粕和水液，下注於大腸或滲於膀胱而排出體外。</p>
<p>排除項目 及討論</p>	<p>1. 「主液」：由於在小腸的「泌別清濁」功能中，已經概括小腸參與了水液代謝的過程，因此「主液」之概念已包括在其中，所以不再重複於涵義共識中提及。</p>

(十六) 「肝」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>肝位於橫膈之下，右脅之內；主疏泄、主藏血；與膽互為表裡。在體合筋，開竅於目，在志為怒，其華在爪，在液為淚。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於肝的涵義規範，主要的描述用語取自：周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「肝位於腹部，橫膈之下，右脅之內。肝的主要生理功能是主疏泄，主藏血。肝在府合膽，在體主筋，其華在爪，開竅於目，在志為怒，在液為淚。」；李經緯主編《中醫大辭典 2 版》提到「與膽相為表裡。居於脅下，其經脈布於兩脅。肝主藏血，有貯藏和調節血液的功能... 又主筋... 又主疏泄... 又主謀慮... 肝開竅於目... 」；印會河主編的《中醫基礎理論》（高等醫藥院校教材），包括「肝位於腹部，橫膈之下，右脅之內。」、「肝為魂之處，血之藏，筋之宗。」、「肝在五行屬木，主動，主升。」、「肝的主要生理功能是主疏泄和主藏血。」、「肝開竅於目，主筋，其華在爪。在志為怒，在液為 泪。」；馬建中所著《中醫診斷學》提到「肝膽病症的範圍很廣... 但概括起來，不外乎肝的「疏泄」和「藏血」兩方面的功能障礙所致。」；鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》（高等醫藥院校教材），提到「肝體位居右脇、膈下腹中，以三焦分屬下焦部位。」、「肝臟的主要功能為主疏泄，主謀慮，主藏血，調血，開竅於目，外候其華在爪。」、「肝 臟的生理特點更具有：肝性剛喜柔，肝體為陰肝用為陽。」；朱文鋒主編的《中醫診斷學 2 版》（中醫藥學高級叢書），提到「肝位於右脅，肝膽互為表裡，肝開竅於目，在體合筋，其華在爪。肝的主要生理功能為主疏泄和主藏血。足厥陰肝經循陰器，過少腹，布脅肋，系目上額交巔頂。」；陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「肝位於右脅，膽附於肝，肝與膽有經脈屬絡，互為表裡。足厥陰肝經繞陰器，循少腹，布脅肋，系目上額交巔頂。足少陽膽經屬膽絡肝，繞行頭身之側。肝開竅於目，在體合筋，其華在爪。肝的主要生理功能是主疏泄，其性升，喜條達惡抑鬱... 肝主藏血，具有貯藏血液，調節血量的功能。...」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「liver 肝 /the organ located in the right</p>

	<p>hypochondrium below the diaphragm, which stores blood, facilitates the coursing of qi, and is closely related to the function of the sinews and eyes.」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「肝主疏泄」、「肝主謀慮」、「肝藏魂」、「肝志怒」、「肝藏血」、「肝主升發」、「肝為剛臟」、「肝體陰用陽」、「肝主筋」、「肝華在爪」、「肝主目」、「肝開竅於目」、「肝為淚」、「肝惡風」、「肝合膽」。</p>
<p>納入項目 及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「在體合筋」：筋，包括肌腱及韌帶，附於骨，聚於關節，是連接關節與肌肉，與關節運動密切相關的組織。肝主筋，《素問·平人氣象論》曰：「藏真散於肝，肝藏筋膜之氣也。」全身筋腱關節的運動屈伸功能，須賴肝的精血滋養而維持，《素問·陰陽氣象大論》曰：「肝生筋。」 2. 「開竅於目」：《素問·金匱真言論》曰：「東方青色，入通於肝，開竅於目，藏精於肝。」《靈樞·脈度》又曰：「肝氣通於目，肝和則目能辨五色矣。」目為肝竅，其功能需賴肝的精氣濡養而維持。 3. 「在志為怒」：正常限度內的情緒發泄，在生理意義上可協同維持機體的生理平衡，過度與不及則會造成機體不良的反應，肝主精神情志之怒，《素問·舉痛論》說：「怒則氣逆，甚則嘔血及飧泄。」 4. 「其華在爪」：爪即爪甲，指指甲與趾甲。《素問·六節藏象論》說：「肝者，罷極之本，魂之居也。其華在爪，其充在筋，以生血氣。」爪甲賴肝的精氣濡養而維持，其色澤形態可以反映出肝臟功能。 5. 「在液為淚」：淚通淚，為肝之精血所化。 6. 「主疏泄」：肝主疏泄，泛指肝氣具有疏通、條達、升發等綜合生理功能。肝在五行中歸屬於木，古人以木氣的沖和條達之象來類比肝的疏泄功能，正常生理狀態下，肝的主要功能是主疏泄，其性升發，主條達，主要表現在舒暢全身氣機，調節情志，助脾胃運化，疏泄膽汁，推動血液和津液運行等幾個方面。若肝失條達，疏泄失宜，則氣機鬱滯或紊亂，升降無度，出入失節，而使組織器官功能失調

	<p>而發生多種病變，因此說「肝惡抑鬱」。</p> <p>7. 「主藏血」：《素問·五藏生成》曰：「人臥則血歸於肝。」肝主藏血，具有貯藏血液，調節血量的功能。</p>
<p>排除項目 及討論</p>	<p>1. 「體陰而用陽」：「體陰而用陽」是對肝生理病理功能的概括。「體」是指肝臟的本體，「用」則為肝臟的功能活動。陰陽是相對而言的，上與下、動與靜、藏與泄、左與右，皆可分陰陽。因此「肝體陰而用陽」也是相對而言，如：肝的功能以主管疏泄、條達氣血運行為主，故肝用為陽；肝內藏陰血，故肝體為陰。由於相關的生理功能已經在共識涵義中提及，因此不使用「體陰而用陽」作為涵義共識內容。</p>

(十七) 「膽」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>膽居右脅下；貯存與排泄膽汁並主決斷；與肝互為表裡。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於膽的涵義規範，主要的描述用語取自：李經緯主編的《中醫大辭典 2 版》提到「六腑之一。又屬奇恆之腑。附於肝，內藏膽汁，助胃消化... 膽的功能稱膽氣。膽氣除分泌膽汁外，還包括中樞神經的部分功能... 足少陽膽經絡於肝，與肝相表裡，病變常互相影響。」；周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「膽位於右脅下，與肝相連，附於肝之短葉間。膽與肝通過經脈相互絡屬，構成表裡關係。膽是中空的囊狀器官，又稱膽囊。膽內貯藏膽汁，膽汁又叫精汁、清汁，故又稱膽為「中精之府」、「中清之府」、「清淨之府」...膽又屬於奇恆之腑之一... 主要生理功能是貯藏排泄膽汁和主決斷。」；印會河主編的《中醫基礎理論》(高等醫藥院校教材)，包括「膽，居六腑之首，又隸屬於奇恆之腑。膽與肝相連，附於肝之短葉間；肝和膽又有經脈相互絡屬，而為表裡。」、「膽的主要生理功能是貯存和排泄膽汁。」；朱文鋒主編的《中醫診斷學 2 版》(中醫藥學高級叢書)，提到「膽附於肝，肝膽互為表裡，膽的生理功能為貯藏和排泄膽汁以助消化，並「主決斷」。膽的病變則多見口苦，黃疸，消化異常及膽怯、驚悸等。膽病則有膽郁痰擾證及肝膽濕熱證。」；陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「膽附於肝，肝與膽有經脈屬絡，互為表裡」、「膽為「清靜之府」能貯藏和排泄膽汁，以助脾胃對飲食物的消化。並與情志活動有關，故有「膽主決斷」之說」、「膽的病變多表現為膽鬱痰擾證及肝膽並見的肝膽濕熱證。」；馬建中所著《中醫內科學》提到「膽成梨形，由結締組織而附於肝臟下面，貯藏膽汁。其主要功能是膽汁之貯存、濃縮、及供需輸送。主決斷，與肝相表裏。」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「gallbladder 膽 /one of the six bowels, which, connecting with the liver,stores and discharges bile.」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「膽 gallbladder /屬六腑和奇恆之腑。膽附於肝。貯存、排泄膽汁，助肝氣之疏泄。」、「膽主決斷</p>

	gallbladder dominating decision 中正之官 / 膽，具有助心判斷事物、作出決定的功能。」
納入項目及討論	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「貯存與排泄膽汁」：此功能主要是中醫相關的論述，如《東醫寶鑒》提到：「肝之餘氣，泄於膽，聚而成精」等，再結合近代西醫學理論之後，逐漸演進而成，雖然膽汁的貯存與排泄功能歸屬於膽，但是實際上，膽汁的貯存與排泄還需要在肝的疏泄功能正常的情況下，才能正常運行。 2. 「主決斷」：指膽在精神思維過程中，具有判斷及決定的作用。如《素問·靈蘭秘典論》說：「膽者，中正之官，決斷出焉。」
排除項目及討論	<ol style="list-style-type: none"> 1. 無相關排除項目討論。

(十八) 「脾」的涵義與臨床應用共識：

成果	脾居中焦；主運化水穀精微、統血；與胃互為表裡。脾氣升清，喜燥惡濕。在體合肌肉，開竅於口，在志為思，其華在唇，在液為涎。
主要參考資料	對於脾的涵義規範，主要的描述用語取自：周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「脾位於腹中，與胃腑以膜互連，脾胃同主消化... 主要生理功能是主運化，主統血。脾在腑合小腸，在體主肌肉，開竅於口，其華在唇，在志為思，在液為涎。」；李經緯主編《中醫大辭典 2 版》提到「五臟之一。與胃相為表裡。主運化水穀精微，輸布全身，供應各方面的需要，維持人體的正常的功能活動...脾與胃為營血化生之源，故稱為後天之本。又主運化水濕，對體內水分的輸布有重大影響... 又能統血，統攝血液於脈管內而不致外溢。又主肌肉，肌肉的豐滿及活動正常與否，與脾的功能有密切關係...脾開竅於口，其榮在唇...脾的功能狀態亦往往可從唇色反映出來...」；印會河主編的《中醫基礎理論》(高等醫藥院校教材)，包括「脾位於中焦，在膈之下」、「主要生理功能是主運化、升清和統攝血液」、「太陰脾經與足陽明胃經，相互絡屬於脾胃，脾和胃相為表裡」、「脾開竅於口，其華在唇，在五行通土，在志為思，在液為涎，主肌肉與四肢。」；馬建中所著《中醫診斷學》提到「脾、胃和腸的主要生理功能是腐熟水穀、運化精微、傳化糟粕。所以，它們的病理表現主要是消化、吸收、輸布、排泄等生理功能的異常。」、「脾宜升則健，胃宜降則和...反之，脾失健運、胃失和降，則是病理現象。」；鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》(高等醫藥院校教材)，提到「脾居腹中，經脈連胃，故互為表裡。「脾轉輸之精微，上輸心肺，變化為營血，所以脾既是血液化生之源，同時有統攝血液之功；此外，脾主升清陽之氣；主運化水濕而喜燥惡濕；脾開竅於口，其華在唇。所以脾病的主要表現在運化、升清、統血等方面的病變。」；朱文鋒主編的《中醫診斷學 2 版》(中醫藥學高級叢書)，提到「脾居中焦，與胃相表裡，開竅於口，在體合肉，主四肢，其華在唇。脾的主要生理功能為主運化和主統血，其氣主升。」；陳家旭所著《中醫

	<p>診斷學圖表解》提到「脾位居中焦，與胃相表裡，脾主肌肉、四肢，開竅於口，其華在唇，外應於腹。脾的主要生理功能是運化水穀、水濕，輸布精微而藏營，為氣血生化之源，故有後天之本之稱；脾又主統血，其氣主升，喜燥惡濕。」； WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「spleen 脾/the organ located in the middle energizer below the diaphragm, whose main function is to transport and transform food, upbear the clear substances, keep the blood flowing within the vessels, and is closely related to the limbs and flesh.」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「主運化，升清，統血，為後天之本，氣血生化之源。」、「脾主運化」、「脾主後天」、「脾（胃）為氣血生化之源」、「脾為生痰之源」、「脾藏營」、「脾主統血」、「脾不主時」、「脾旺不受邪」、「脾主四肢」、「脾主肌肉」、「脾華在唇」、「脾開竅於口」、「脾合胃」、「脾惡濕」、「脾為涎」、「脾志思」、「脾藏意」。</p>
<p>納入項目及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「主運化」：《素問 · 靈蘭秘典論》曰：「脾胃者，倉廩之官，五味出焉。」《素問 · 厥論》亦曰：「脾主為胃行其津液。《素問·經脈別論》曰：「飲入於胃，遊溢精氣，上輸於脾，脾氣散精，上歸於肺，通調水道，下輸膀胱，水精四布，五經並行。」飲食物經脾、胃消化後，須賴脾的運化功能，才能將水穀精微及水液布散於全身，使五藏六府、四肢百骸等組織、器官得到資養，以維持正常的生理功能。 2. 「統血」：脾統血的作用機制是脾氣對血的固攝作用，稱做「脾能攝血」，其出處較明確的說法來源於明朝薛立齋所著《薛氏醫案》說：「心主血，肝藏血，而其統在脾」，臨床是指衛氣對營血的固攝作用，如《素問·生氣通天論》曰：「陽者，衛外而為固也...陽強不能密，陰氣乃絕。」衛氣為陽，營血為陰，衛陽對營血的運行具有約束、調節作用，若衛陽功能失常，就可能導致營血不循常道，溢出脈外。 3. 「脾氣升清」：脾氣升清概括了兩方面，其一是將水穀精

	<p>微物質上輸於心、肺。其二是主升提，維持體內臟腑於正常位置。</p> <ol style="list-style-type: none"> 4. 「喜燥惡濕」：喜燥惡濕是脾的生理特性，相對於胃的喜潤惡燥。與其脾運化水液的生理功能高度相關。脾屬太陰濕土，需要乾燥的環境來保持平衡，脾氣健旺，水液正常運化四布，則無痰飲水濕停聚。若脾氣虛衰造成痰飲水濕內生，濕邪入侵人體，就會造成運化失常，即「濕困脾」。故《素問·至真要大論》曰：「諸濕腫滿，皆屬於脾。」 5. 「在體合肌肉」：指脾的運化功能與肌肉的形態功能有密切的相關性，因此《素問·陰陽應象大論》說：「脾生肉...在體為肉」《素問·痿論》也說：「脾主身之肌肉」。 6. 「開竅於口」：《靈樞·脈度》「脾氣通於口，脾和則口能知五穀矣」指人的食欲以及味覺皆與脾的功能高度相關。 7. 「在志為思」：《素問·陰陽應象大論》提到：「脾...在志為思」思出於心，而脾應之，正常限度內的思慮，生理上並無不良反應，但過度則會造成氣機不暢，運化失常，如《素問·舉痛論》所說：「思則心有所存，神有所歸，正氣留而不行，故氣結矣。」 8. 「其華在唇」：唇的血管分佈豐富，其色澤與全身氣血狀態相關，而脾胃為氣血生化之源，所以唇的色澤是否紅潤，實際是脾功能狀態的外在表現。 9. 「在液為涎」：涎是口腔消化液中較清稀的部分，由脾所化生，故《素問·宣明五氣論》說：「五藏化液...脾為涎。」
<p>排除項目及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「主四肢」：《素問·太陰陽明論》曰：「四肢皆稟氣於胃，而不得至經，必因於脾，乃得稟也。」由於脾胃為氣血生化之源，全身的肌肉，都需要依靠脾胃所運化的水谷精微來營養，而四肢的功能形態與肌肉有高度關聯性，因此「脾在體合肌肉」實已概括「脾主四肢」，故不再重覆提及。

(十九) 「胃」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>胃居中焦；主司受納、腐熟水穀；與脾互為表裡。以通降為順，喜潤惡燥。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於胃的涵義規範，主要的描述用語取自：李經緯主編的《中醫大辭典 2 版》提到「六腑之一。主受納與腐熟飲食，所化生的水谷精微通過脾的運化，輸布於五臟六腑，營養全身。」；周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「胃位於腹腔上部，上接食道，下通小腸... 是飲食物出入胃腑的通道。胃與脾，同居中焦，通過經脈相互絡屬，構成表裡關係。胃的主要生理功能主受納和腐熟水谷，胃的生理特性主通降，喜潤惡燥。」；印會河主編的《中醫基礎理論》(高等醫藥院校教材)，包括胃，又稱胃脘，分上、中、下三部... 主要生理功能是受納與腐熟水谷，胃以降為和。」；馬建中所著《中醫診斷學》提到「脾、胃和腸的主要生理功能是腐熟水穀、運化精微、傳化糟粕。所以，它們的病理表現主要是消化、吸收、輸布、排泄等生理功能的異常。」；鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》(高等中醫研究參考叢書)，提到「就胃本腑功能來講，其作用為：主受納、腐熟水穀其性質：主通降，以降為和。」；朱文鋒主編的《中醫診斷學 2 版》(中醫藥學高級叢書)，提到「胃居中焦，與脾相表裡，其功能為主受納、腐熟水谷。胃氣以降為順，性喜潤而惡燥。」；陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「胃居中焦，與脾相表裡。胃主受納、腐熟水谷，為「水谷之海」。胃氣以降為順，喜潤惡燥。胃病以受納、腐熟功能障礙及胃失和降、胃氣上逆為主要病理改變。」；馬建中所著《中醫內科學》提到「胃... 主要功能是分泌功能與消化功能、主消化、主降，與脾相表裏，其特性喜潤惡燥。」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「stomach 胃 /one of the six bowels, whose main function is to receive and initiate food digestion.」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「胃主受納」、「胃主腐熟」、「胃主通降」、「胃主降濁」、「胃喜柔潤」。</p>

<p>納入項目 及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「通降」：胃主通降是胃的生理特性，與脾氣之升相對，脾胃之氣相互協調，則飲食物可正常消化吸收及排泄，如《素問·逆調論》所說：「陽明者胃脈也，胃者，六腑之海，其氣亦下行，陽明逆，不得從其道，故不得臥也。」 2. 「受納」：《靈樞·腸胃》說：「胃紆曲屈，伸之長二尺六寸，大一尺五寸，徑五寸。」《靈樞·平人絕穀》中也記載：「受水穀三斗五升，其中之穀常留二斗，水一斗五升而滿。」指胃的生理功能具有接受和容納飲食物的作用。 3. 「腐熟水穀」：《難經·三十一難》說：「中焦者，在胃中脘，不上不下，主腐熟水穀。」《靈樞·營衛生會》也說：「中焦，亦併胃中，出上焦之後。此所受氣者，泌糟粕，蒸津液，化其精微，上注於肺脈，乃化而為血，以奉生身，莫貴於此。」胃受納飲食物後，經胃的腐熟作用進行初步消化後，精微部分經胃上輸於脾，脾輸布至肺及全身，而大部分食糜則由胃的通降作用，輸送到小腸，作進一步消化。
<p>排除項目 及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 無相關排除項目討論。

(二十) 「大腸」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>大腸位於腹中；主司傳化糟粕，主津；與肺互為表裡。</p>
<p>主要參考 資料</p>	<p>對於大腸的涵義規範，主要的描述用語取自：李經緯主編的《中醫大辭典 2 版》提到「六腑之一。上接闌門，與小腸相通，下連肛門（包括結腸和直腸八大腸接納小腸下注的消化物，吸收剩餘的水分和養料，使之形成糞便，傳送至肛門排出體外。是整個消化過程的最後階段，有「傳導之腑」、「傳導之官」之稱。）；周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「大腸居於腹中... 大腸與肺，通過經脈相互絡屬，構成表裡關係。大腸的主要功能是傳化糟粕、主津。」；印會河主編的《中醫基礎理論》（高等醫藥院校教材）提到：「大腸亦居腹中，其上口在闌門處緊接小腸，其下端緊接肛門。大腸與肺有經脈相互絡屬，而為表裡。大腸的主要生理功能是傳化糟粕。」；馬建中所著《中醫診斷學》提到「大腸的傳化糟粕功能失常而致腹瀉或便秘者，與脾失健運、胃失和降都有關。」；鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》（高等中醫研究參考叢書），提到「大腸是接受經過小腸泌別清濁後所剩下的食物殘渣，再吸收其中多餘的水液，形成大便，經肛門而排出體外。」；朱文鋒主編的《中醫診斷學 2 版》（中醫藥學高級叢書），提到「大腸、小腸的病變主要反映在傳導功能和泌別清濁功能失常，臨床表現一是泄瀉、便秘、下痢膿血等大便的異常；二是腹脹、腹痛、腸鳴等腹部症狀。」；陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「肺與大腸互為表裡，大腸主傳導、排泄糟粕。」；馬建中所著《中醫內科學》提到「大腸主傳導，主要功能是水穀糟粕形成糞便，經肛門排出體外；其經脈絡於肺，與肺相表裏。大腸的主要病理表現為腹瀉和便秘。」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「large intestine 大腸 /one of the six bowels, which receives waste passed down from the small intestine and then forms it into stool before discharging it from the body」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「大腸主傳導」、「大腸主津」。</p>

<p>納入項目 及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「傳化糟粕」：《素問·靈蘭秘典論》說：「大腸者，傳道之官，變化出焉」《醫經精義·臟腑之官》也說：「變化出之字，謂小腸中物至此，精汁盡化，變為糟粕而出。」大腸將可供人體利用之精微水液作最後的吸收，把接受自小腸之消化物變化成為糟粕。 2. 「主津」：在糟粕的形成過程中，大腸會將可供利用的水分再吸收，借由這個作用，糟粕會形成糞便，此大腸參與的水液調節代謝功能稱為「主津」。
<p>排除項目 及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「主傳導」：由於接受自小腸之消化物在大腸停留的期間，不單僅是經過的「傳導」功能，更重要是將「變化」成為糟粕的功能，因此「化」所代表的意義遠大於「導」，所以討論中，決定以「傳化」作為主要的涵義共識規範內容。

(二十一)「腎」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>腎位於腰部；主藏精，主司人體生長發育與生殖；與膀胱互為表裡，並同司水液代謝；生髓、充腦，並有納氣功能；在體合骨，開竅於耳及二陰，在志為恐，其華在髮，在液為唾。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於腎的涵義規範，主要的描述用語取自：馬建中所著《中醫診斷學》提到「腎藏精氣、主骨生髓，為人體生殖發育的根本腎的氣化功能，調節人體的水液代謝。故腎的病變，主要表現為精髓不足、生殖機能減退和水液的代謝與排泄障礙。」；鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》(高等醫藥院校教材)，提到「主要功能為藏精，生髓，又主納氣，開竅於耳，司二陰。」、「腎為先天之本，生命之根」、「腎者，……精之處也，其華在髮」(《素問·六節藏象論》)、「腎」開竅二陰」(《素問·金匱真言論》)；陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「腎位於腰部，左右各一，其經脈與膀胱相互絡屬，故互為表里。腎在體為骨，主骨生髓充腦，開竅於耳及二陰，其華在髮。腎的主要生理功能是主藏精，主管人體生長、發育與生殖。腎內寄元陰元陽，為臟腑陰陽之根本，故又稱腎為「先天之本」。腎的特性是宜潛藏，即元陰元陽宜固藏，不宜耗泄妄動。此外，腎又主水，並有納氣功能...」；印會河主編的《中醫基礎理論》(高等醫藥院校教材)，包括「腎位於腰部，脊柱兩旁，左右各一」、「主要生理功能為藏精，主生長、發育、生殖和水液代謝；腎主骨生髓，外榮於髮，開竅於耳和二陰，在志為恐與驚，在液為唾。」、「足少陰腎經與足太陽膀胱經相互絡屬於腎與膀胱，腎與膀胱在水液代謝方面亦直接相關，故腎與膀胱相為表裡。」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「kidney 腎/a pair of organs located in the lumbar region, which store vital essence, promote growth, development, reproduction, and urinary function, and also have a direct effect on the condition of the bone and marrow, activities of the brain, hearing and inspiratory function of the respiratory system.」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「腎藏精」、「腎主先天」、「腎</p>

	<p>主生殖」、「腎主納氣」、「腎主水液」、「腎主封藏」、「腎主骨」、「腎主骨髓」、「腎華在髮」、「腎主技巧」、「腎主耳」、「腎開竅於耳」、「腎開竅於二陰」、「腎藏志」、「腎志恐」、「腎為唾」、「腎惡燥」、「腎合膀胱」。</p>
<p>納入項目 及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「主骨、生髓、充腦」：《素問·宣明五氣篇》曰：「五臟所主，...腎主骨。」《素問·五臟生成篇》亦曰：「腎之合骨也。」《素問·陰陽應象大論》曰：「腎生骨髓。」《素問·痿論》曰：「髓者，骨之充也。」《靈樞·海論》曰：「腦為髓之海。」因此可知，腎臟健旺，則骨堅、筋骨健而能耐勞，腎精充則髓足，上注於腦，髓海滿實，則耳目聰明，思維敏捷。故腎氣的盛衰直接和腦、髓、骨的生長，發育和功能情況有關。 2. 「開竅於耳及二陰」：《素問·陰陽應象大論》曰：「在竅為耳」《靈樞·脈度》亦曰：「腎氣通於耳，腎和則耳能聞五音矣。」耳是聽覺器官，腎的精氣充足，聽覺才能靈敏，所以說腎開竅於耳。二陰是指前陰與後陰，前陰是人體排尿與生殖的器官，後陰是人體排泄糞便的器官，兩者的功能都與腎之氣化及固攝作用密切相關，因此《素問·金匱真言論》說：「腎... 開竅二陰。」 3. 「在志為恐」：正常限度內的情緒發泄，在生理意義上可協同維持機體的生理平衡，過度與不及則會造成機體不良的反應，腎主精神情志之恐，《素問·陰陽應象大論》提到：「腎... 在志為恐。」前人認為五臟的精氣相併於腎，如腎經經脈的脈氣不足，或腎水不足以及肝、心、胃的某些病症，均可能出現「恐」的證候；恐的結果又能傷精傷腎，所以有「腎在志為恐」的說法。 4. 「其華在髮」：頭髮的營養雖然來源於血，但其生機，根源於腎氣，毛髮可反映出體內腎氣的盛衰，青壯年而腎氣充盛之人，頭髮茂密光澤，年老體弱而腎氣虛弱之人，毛髮往往容易枯槁脫落，因此《素問·六節藏象論》說：「腎者，……精之處也，其華在髮。」 5. 「在液為唾」：唾是口腔消化液中較黏稠的部分，由腎精所

	<p>化，《素問·宣明五氣論》說：「五藏化液... 腎為唾。」古代養生家有吞唾以養腎精之說。</p> <p>6. 「主藏精」：腎主封藏，《素問·六節藏象論》曰：「腎者主蛰，封藏之本，精之處也。」腎所封藏之腎精，是指得自父母的「先天之精」與部分輸送至腎的水谷精微「後天之精」，兩者結合而產生，是人體生長發育生殖的最基本物質，故稱腎為「先天之本」、「生命之根」。</p> <p>7. 「與膀胱職司水液代謝」：腎合三焦、膀胱二腑主津液，與脾、肺二臟共司體內水液代謝和調節，是人體水液代謝的重要臟器，故《素問·逆調論》曰：「腎者水臟，主津液。」</p> <p>8. 「納氣」：腎有攝納肺氣，保持呼吸深度的作用，《醫砭·雜病·氣》曰：「氣根於腎，亦歸於腎，故曰腎納氣...。」臨床上一般的久病咳喘，特別是年老腎虛患者，多有納氣困難，出現呼吸表淺的症狀，需要用補腎納氣的方法來治療。</p>
<p>排除項目及討論</p>	<p>1. 「先天之本」、「臟腑陰陽之本」「腎宜固藏」：三者的概念皆包括在「腎主藏精」的項目中，因此不再重複提出。</p>

(二十二)「膀胱」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>膀胱位於小腹中央；能氣化津液，貯尿與排尿；與腎互為表裡。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於膀胱的涵義規範，主要的描述用語取自：馬建中所著《中醫診斷學》提到「膀胱主津液，為胞之府，氣化乃能出，號州都之官，諸病皆干之。」；馬建中所著《中醫內科學》提到「膀胱為梨形，但脹滿尿液時呈橢圓狀，位於骨盆腔之內，其主要功能是貯藏和排泄尿液，化氣行水。」；李其忠《中醫形體官竅理論與臨床研究》提到：「臍下中央部位為小腹，小腹兩旁為少腹。」、「臍下至毛際之小腹，為腸、胞宮、膀胱所居。」陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「膀胱為州都之官，具有貯尿和排尿的功能。膀胱病多見濕熱證，至於膀胱虛證多責之於腎虛。」；張伯臾主編的《中醫內科學》（高等醫藥院校教材），提到「膀胱位於少腹，其經脈絡腎，其生理功能主要為貯存津液，而化氣行水。」；李經緯主編《中醫大辭典2版》提到「位於下腹部，在臟腑中，居於最下處，是水液匯聚之所，有津液之腑、州都之官之稱。膀胱主要功能是貯藏水液，經過氣化之後排出小便...」；印會河主編的《中醫基礎理論》（高等醫藥院校教材），包括「膀胱位於小腹中央，是貯尿和排尿的器官。」、「在腎和膀胱的氣化作用下，膀胱適度地開合，使尿液及時排出體外。」；朱文鋒主編的《證素辨證學》，提到「膀胱：病位證素「膀胱」，主要指膀胱排尿功能失常所表現的證候。」；WHO所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「bladder 膀胱；胞 /one of the six bowels, which stores and discharges urine.」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「膀胱主藏津液」、「膀胱氣化」。</p>
<p>納入項目及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「小腹中央」：李其忠《中醫形體官竅理論與臨床研究》提到：「臍下中央部位為小腹，小腹兩旁為少腹。」、「臍下至毛際之小腹，為腸、胞宮、膀胱所居。」，膀胱正確的位置應該在小腹中央。 2. 「貯尿」：《素問·靈蘭秘典論》：「膀胱者，州都之官，津液藏焉...」人體的水液經各藏府組織氣化、代謝及利用之

	<p>後，最終不可利用的部分，會被排泄到膀胱進行儲存。</p> <p>3. 「排尿」：《素問·靈蘭秘典論》：「膀胱者，州都之官，津液藏焉，氣化則能出。」儲存在膀胱的尿液達到一定量的程度之後，經由腎的氣化功能，可使膀胱開闔功能正常發揮而排出尿液。</p>
<p>排除項目 及討論</p>	<p>1. 「主氣化」：人體水液代謝過程中，水液是通過肺、脾、腎、三焦、大腸、小腸等各臟腑的氣化作用，通過代謝後，經腎的氣化作用，生成尿液，下注於膀胱，儲存在膀胱的尿液達到一定量的程度之後，經由腎和膀胱的氣化功能，可使膀胱開闔功能正常發揮而排出尿液。對於，水液代謝形成尿液的過程中，「氣化」的功能是由膀胱所主，或是腎所主，或是水液代謝路徑中各藏府皆有主的問題。與會專家討論到最後，初步的共識，認為水液代謝形成尿液的過程中只要水液代謝路徑中各藏府的氣化功能失常，尿液便無法正常形成，因此「主氣化」並非膀胱或腎所特有之功能，小便的利與不利，其氣化的功能，應當是包括所有與水液代謝路徑相關之藏府的氣化功能。因此膀胱的功能描述中，不列入「主氣化」而代之以「氣化津液」。</p>

(二十三)「心包」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>心包乃心外之包膜；心包經與三焦經互相絡屬，互為表裡；心包代心受邪，如溫病「熱入心包」或「痰濁蒙蔽心包」常出現神昏、譫語等症。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於心包的涵義規範，主要的描述用語取自：李經緯主編《中醫大辭典 2 版》提到「心包 /心包絡的簡稱，詳該條。」、「心包是心的外膜，附有絡脈，是通行氣血的道路，合稱心包絡，一般簡稱心包。它是心的外衛，有保護心臟的作用。」；印會河主編的《中醫基礎理論》(高等醫藥院校教材)，包括「心包絡，簡稱心包，又可稱「膻中」是包在心臟外面的包膜，具有保護心臟的作用。心包的形態和部位，古人也有描述。《醫學正傳》說「心包絡，實乃裹心之包膜也，包於心外，故曰心包絡也。《醫貫》亦說：「心之下有心包絡，即膻中也，象如仰盂，心即居其中。」心居包絡之中，膻中在心之外，所以《內經》比之為心之宮城，如《靈樞·脹論》說：「膻中者，心主之宮城也」在經絡學說中，手厥陰經歸於心包絡，與手少陽三焦經相為表裡，故心包絡亦稱為臟。但在藏象學說中，認為心包絡是心之外圍，有保護心臟的作用，所以外邪侵襲於心，首先包絡受病。」；馬建中所著《中醫診斷學》提到「心包症的主要表現是神志不清譫語狂躁，以至完全昏迷。在某些外感熱病過程中出現嚴重的煩躁、嗜睡和舌尖震顫等症狀，往往是邪入心包的先兆，應當予以注意。」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「Pericardium 心包;心包絡 /the outer covering of the heart, including the pericardium collateral」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「心包絡 pericardium /心臟外圍的包膜。具有保護心臟的作用。」</p>
<p>納入項目及討論</p>	<p>1. 「心包代心受邪」：《靈樞·邪客》：「心者，五臟六腑之大主也，精神之所舍也……邪不能容，容之則心傷……故諸邪之在於心者，皆在於心之包絡。包絡者，心主之脈也。」歷代雖對心包絡是否屬一獨立臟器有爭議，但對其生理功</p>

	能的認識則是一致的，皆認為心包絡是心之外圍，有保護心臟的作用，但實際上，心包受邪所出現的病理現象與心受邪是一致的，在辨證及治療上也大略相同。
排除項目及討論	1. 無相關排除項目討論。

(二十四)「三焦」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>三焦為全身氣機升降出入之道路及津液氣化運行之場所。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於三焦的涵義規範，主要的描述用語取自：李經緯主編《中醫大辭典 2 版》提到「六腑之一。是臟腑外圍最大的腑，又稱外腑、孤腑。有主持諸氣，疏通水道的作用。」；馬建中所著《中醫診斷學》提到「三焦為相火之用，分佈命門元氣，主升降出入，游行天地之間，總領五臟六腑，營衛經絡，內外上下左右之氣，號中清之府，上主納，中主化，下主出。」；張伯臾主編的《中醫內科學》(高等醫藥院校教材)，包括「正常生理情況下，水液的輸布排泄，主要依靠三焦的作用。三焦主持全身的氣化，為內臟的外府，是運行水谷津液的道路，氣化則水行。」；印會河主編的《中醫基礎理論》(高等醫藥院校教材)，包括「三焦，為六腑之一，是上、中、下三焦的合稱。」、「三焦是氣升降出入的通道，亦是氣化的場所。」、「三焦有疏通水道，運行水液的作用，是人體水液升降出入的道路。」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「triple energizers 三焦 /a collective term for the three portions of the body cavity, through which the visceral qi is transformed, also widely known as triple burners」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「決瀆之官」、「孤腑」。</p>
<p>納入項目及討論</p>	<p>1. 「氣機升降出入之道路」：此處所討論的「三焦」，是藏府病位的「三焦」，而非溫病學所提三焦辨證之「三焦」。作為氣機升降出入的相關文獻，如《難經·六十六難》曰：「三焦者，元氣之別使。」由於人體內各藏府之氣的升降運行，如脾氣升、胃氣降、肝氣升發、肺氣下降等皆是以三焦作為道路而運行，因此才有三焦主氣的說法產生。而三焦作為運行津液的道路之相關文獻，如《素問·靈蘭秘典論》曰：「三焦者，決瀆之官，水道出焉。」《難經·三十一難》曰：「三焦者，水穀之道路，氣之所終始也。」《聖濟總錄·痰飲總論》曰：「三焦者，水穀之道路，氣之所終始也。三焦調適，氣脈平勻，則能宣通水液，行入於經，化而為</p>

	<p>血，灌溉周身；若三焦氣塞，脈道壅閉，則水飲停積，不得宣行，聚成痰飲。」</p> <p>2. 「津液氣化運行之場所」：此項目由是三焦為「全身氣機升降出入之道路」及「津液運行之道路」兩者的功能綜合而表現，是由於三焦為津液運行之道路，同時又為全身各臟腑之氣的升降出入之道路，氣與津液相互依存，在三焦內產生津液氣化的作用。</p>
<p>排除項目 及討論</p>	<p>1. 「三焦主氣」：三焦有主持人身諸氣，總司全身氣機和氣化的功能。三焦是全身各臟腑之氣的升降出入之道路。也就是說，氣運行於周身臟腑，是通過三焦的通道來實現，但氣化的功能，主要執行者為各臟腑之氣，「三焦」僅提供空間，「氣化的功能」應是由相關藏府之氣所共同完成。因此，三焦為全身氣機升降出入及津液運行之道路，津液氣化之場所。</p>

(二十五)「胞宮」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>狹義指子宮，廣義為女子內生殖器官（包括子宮、輸卵管和卵巢等），主司孕育胎產等功能。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於胞宮的涵義規範，主要的描述用語取自：李經緯主編的《中醫大辭典 2 版》提到「胞宮 /見《婦人大全良方》卷十四。亦名子宮、子臟、子處、女子胞、胞臟、血臟。是婦女、排出月經和孕育胎兒的器官，屬奇恆之府。位於帶脈之下，小腹之中，前有膀胱，後有直腸，下口連接陰道，在臟腑與天癸、衝、任、督、帶共同作用之下，完成其生理功能。詳見女子胞條。」；周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「女子胞，又稱胞宮、子宮、子臟，位於小腹部，在膀胱之後，直腸之前，下與陰道相連。呈倒置的梨形。女子胞是女性的內生殖器官，具有主持月經和孕育胎兒的作用。」；印會河主編的《中醫基礎理論》（高等醫藥院校教材）提到「女子胞，又稱胞宮，即子宮，位於小腹部，在膀胱之後，呈倒梨形。女子胞是發生月經和孕育胎兒的器官。」；朱文鋒所著《證素辨證學》提到「病位證素「胞宮」，主要指月經、帶下、胎產失常等所表現的證候。證候特徵：月經期、量、色、質的異常，痛經、經閉、崩漏，惡露不下或不暢，帶下量多，胞宮腫塊等，既為病位在胞宮的特徵症，又常是其主症。小腹疼痛，陰道流血，性慾衰退，不孕，滑胎、早產等症，其病位亦常與胞宮有關。常見證型：寒凝胞宮證、胞宮痰濕證、胞宮疲滯證、胞宮虛寒[陽虛]證、胞宮濕熱證、胞宮血熱證、胞宮虛寒血疲證、胞宮陽虛寒凝證、胞宮血熱陰虛證等。」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「Uterus 胞；胞宮；女子胞 / (in women) organ in which offspring is carried and nourished while it develops before birth.」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「胞宮 uterus with its appendages 女子胞 /屬奇恆之腑。女性內生殖器官的總稱。」</p>
<p>納入項目及討論</p>	<p>1. 「子宮」：「子宮」一詞為中醫固有之名稱，出自《神農本草經·紫石英條》，又名女子胞、胞宮，屬奇恆之府。是女</p>

	<p>子主要生殖臟器。具有「定期藏瀉」、「週期性」及「節律性」等生理特點。</p> <p>2. 「女子內生殖器官（包括子宮、輸卵管和卵巢等）」：女性內生殖器以解剖學歸類，一般指「陰道」、「子宮」、「輸卵管」、「卵巢」。若是以中醫的功能概括性來區分，由於「陰道」所產生的疾病在中醫多歸類於帶下疾病，與「胞宮」主司孕育胎產的功能有所不同，因此在此處暫時先將「陰道」排除於「胞宮」的涵蓋範圍之外。</p> <p>3. 「主司孕育胎產」：具有「主持月經」、「排出月經」、「發生月經」、「通調月經」及「孕育胎兒」的作用。故女子胞的生理功能失調，主要表現在經、帶、胎、產的異常；氣血失調，心、肝、脾、腎功能失常，衝任失調，皆可引起胞宮功能失常。</p>
<p>排除項目 及討論</p>	<p>1. 「陰道」：同納入項目及討論的第2點。</p>

(二十六)

(二十七)「腦(髓)」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>腦為髓海，由腎精所充養，為心神所居之處。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於腦(髓)的涵義規範，主要的描述用語取自：李經緯主編《中醫大辭典 2 版》提到「腦為奇恆之腑之一。又名髓海、頭髓。指顱腔中的髓質，下通脊髓... 腦與全身骨髓有密切聯系... 腦為精髓和神明高度匯聚之處，人的視覺、聽覺、嗅覺、感覺、思維記憶力等，都是與腦的作用有關。」；周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「腦，深藏於頭部，居顱腔之中，其外為頭面，內為腦髓，腦由髓匯聚而成，與脊髓相通，故又稱腦為髓海。」、「主宰生命活動」、「主精神活動」、「主感覺運動」、「髓，有腦髓、脊髓、骨髓之分，這三者均由腎精所化生。脊髓上通於腦，精成而腦髓生。」；印會河主編的《中醫基礎理論》(高等醫藥院校教材)，包括「腦居顱內，由髓匯集而成」；鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》(高等醫藥院校教材)，提到「精充髓足，上注於腦，腦海滿實，則耳日聰明，思維敏捷。」；朱文鋒主編的《中醫診斷學 2 版》(中醫藥學高級叢書)，提到「腦，藏於顱腔之內，上至顱囟，下至風府，是人體極為重要的一個器官。中醫學將腦隸屬於奇恆之府，其功能與肢體運動、視覺、聽覺、嗅覺、語言以及一切神經精神活動有關。」；朱文鋒所著《證素辨證學》提到「病位證素：心神[腦]，主要指神明之心[腦]的意識思維等精神活動失常所表現的證候。」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「brain 腦 /one of the extraordinary organs enclosed within the skull where the marrow converges, and the spirit, mental activities as well as thinking take place.」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準 /中醫基礎理論術語》提到「腦為髓海」、「精明之府」。</p>
<p>納入項目及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「髓海」：腦之相關文獻描述有《靈樞 · 海論》：「腦為髓之海，其輸上在於其蓋，下在風府」《素問 · 五藏生成篇》：「諸髓者，皆屬於腦。」《說文》：「腦，本作腦，頭髓也。」腦為髓所聚而成，與髓的關係密切，故稱腦為髓海。 2. 「腎精」：《靈樞 · 經脈》曰：「人始生，先成精，精成而腦

	<p>髓生。」《素問·五臟生成篇》曰：「腎之合骨也」《素問·陰陽應象大論》曰：「腎生骨髓」《素問·痿論》曰：「髓者，骨之充也。」《靈樞·海論》曰：「腦為髓之海」臨床上，腦病多從腎治，骨、髓、腦之病症，責之於腎，腎精足則骨長而堅，筋骨健而耐勞；精充髓足，上注於腦，腦海滿實，則耳目聰明，思維敏捷。</p> <p>3. 「心神」：雖然現代科學實證，精神思緒的功能為腦所主，但是在中醫學上神的治療理論仍多從藏府理論論治，由心所主，因此在中醫大辭典中仍僅提及「腦為神明高度匯聚之處」而非神明所居之處。討論中修正為「腦為心神所居之處」希望在中西醫理論中找尋一個適當的平衡點，能兼顧中醫治療理論與西醫實證，希冀未來腦科學有重大突破後，中西理論進一步匯通之時，此段文字當再作適切之修正。</p>
<p>排除項目 及討論</p>	<p>1. 「精明之府」：《素問·脈要精微論》曰：「頭者，精明之府，頭傾視深，精神將奪矣。」「精明之府」經考證為「眼」，故排除。</p>

(二十八)「陰」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>陰代表人體形質津液。陰成形，主靜，其性生寒，下降、內守、抑制。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於陰的涵義規範，主要的描述用語取自：陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「根據陰陽學說中陰與陽的基本屬性... 凡見抑制、沉靜、衰退、晦暗等表現的裡證、寒證、虛證；以及症狀表現於內的、向下的、不易發現的；病邪性質為陰邪致病，病情變化較慢等，可歸屬為陰證。」；印會河主編的《中醫基礎理論》(高等中醫研究參考叢書)提到「陰陽，是中國哲學的一對範疇。長期以來均以陰和陽來確定相互對立又相互關聯事物的各自屬性... 相對靜止的、內守的、下降的、寒冷的、晦暗的事物，屬於陰。」；李經緯主編《中醫大辭典 2 版》提到「陰一般代表重濁的、形質的、衰退的、靜止的、下降的或寒性的一面...」；魏迺杰所著《實用英文中醫辭典 2 版》提到「The dark, female, receptive principle that stands in complementary opposite to yang」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「yin 陰 /In Chinese philosophy, the feminine, latent and passive principle (characterized by dark, cold, wetness, passivity, disintegration, etc.) of the two opposing cosmic forces into which creative energy divides and whose fusion in physical matter brings the phenomenal world into being.」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「陰、yin：與陽對稱。具有內裡的、向下的、暗晦的、抑制的、重濁的、形質的等屬性的事物及其運動屬於陰。」、「陰成形」。</p>
<p>納入項目及討論</p>	<p>就形態而言：《中醫基礎理論術語標準》「陰氣指形質」《中醫大辭典 2 版》「形質的」；就功能而言：《中醫基礎理論術語標準》「陰主成形的功能，與陽化氣相對。陰主靜而凝，聚則有形而成形。」；就運動的方向而言：《中醫基礎理論高等教材》「靜止的、內守的、下降的。」《中醫大辭典 2 版》「行於內裡的、向下的。」《中醫基礎理論術語標準》「內裡的、向下的」《中醫診斷學圖表解》「表現於內的、向下的、不易發現的。」；就性質</p>

	<p>而言：《中醫大辭典 2 版》「重濁的、衰退的、靜止的、下降的或寒性的一面。」《中醫基礎理論術語標準》「暗晦的、抑制的、重濁的。」《中醫基礎理論高等教材》「寒冷的、晦暗的事物，屬於陰。」《中醫診斷學圖表解》「抑制、沉靜、衰退、晦暗等表現」綜合以上認識，陰的臨床應用特性為「陰代表人體形質津液。陰成形，主靜，其性生寒，下降、內守、抑制。」</p>
<p>排除項目及討論</p>	<p>1. 「重濁」、「晦暗」：此二項在討論上，認為比較接近疾病的特性描述，故暫不列入。</p>

(二十九)「陽」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>陽代表人體機能活動。陽化氣，主動，其性生熱，上升、衛外、興奮。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於陽的涵義規範，主要的描述用語取自：陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「根據陰陽學說中陰與陽的基本屬性，臨床上凡見興奮、躁動、亢進、明亮等表現的表證、熱證、實證；以及症狀表現於外的、向上的、容易發現的；病邪性質為陽邪致病，病情變化較快等等，一般都可歸屬為陽證。」；印會河主編的《中醫基礎理論》（高等中醫研究參考叢書）提到「陰陽，是中國哲學的一對範疇。長期以來均以陰和陽來確定相互對立又相互關聯事物的各自屬性。一般地說，凡是具有劇烈運動看的、外向的、上升的、溫熱的、明亮的事物，屬於陽...」；李經緯主編《中醫大辭典 2 版》提到「陽是與陰相對的一類事物或性質。我國古代哲學家認為陰陽是貫串於一切事物的兩個對立面，陽一般代表輕清的、功能的、亢進的、運動的、上升的或熱性的一面...」、「就功能與形態來說，陽氣指功能；就臟腑功能來說，指六腑之氣；就營衛之氣來說，指衛氣；就運動的方向和性質來說，則行於外表的、向上的、亢盛的、增強的、輕清的為陽氣。」；魏迺杰所著《實用英文中醫辭典 2 版》提到「The bright, male, active principle that stands in complementary opposition to yin.」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「yang 陽 /In Chinese philosophy, the masculine, active and positive principle (characterized by light, warmth, dryness, activity, etc.) of the two opposing cosmic forces into which creative energy divides and whose fusion in physical matter brings the phenomenal world into being.」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「陽、yang。與陰對稱。具有外表的、向上的、明亮的、亢盛的、輕清的、功能的等屬性的事物及其運動屬於陽。」、「陽化氣、yang forming qi。陽主化氣的功能，與陰成形相對。陽主動而散，散則無形而化氣。」</p>

<p>納入項目 及討論</p>	<p>就形態而言：《中醫基礎理論術語標準》「陽主動而散，散則無形而化氣」；就功能而言：《中醫大辭典 2 版》「陽氣指功能」；就運動的方向而言：《中醫大辭典 2 版》「行於外表的、向上的」《中醫基礎理論術語標準》「外表的、向上的」《中醫基礎理論高等教材》「具有劇烈運動著的、外向的、上升的事物，屬於陽」《中醫診斷學圖表解》「症狀表現於外的、向上的、容易發現的。」；就性質而言：《中醫大辭典 2 版》「亢盛的、增強的、輕清的為陽氣。」《中醫基礎理論術語標準》「明亮的、亢盛的、輕清的」《中醫基礎理論高等教材》「溫熱的、明亮的事物，屬於陽。」《中醫診斷學圖表解》「見興奮、躁動、亢進、明亮等表現。」綜合以上認識，陰的臨床應用特性為「陽代表人體機能活動。陽化氣，主動，其性生熱，上升、衛外、興奮。」</p>
<p>排除項目 及討論</p>	<p>1. 「輕清」、「明亮」：此二項在討論上，認為比較接近疾病的特性描述，故暫不列入。</p>

(三十) 「津液」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>津液是人體一切正常水液的總稱；充養濡潤人體各組織器官。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於津液的涵義規範，主要的描述用語取自：鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》(高等醫藥院校教材)提到「津液是人體正常水液的總稱。它遍布全身，隨氣流注，內外上下，無處不到...」、「津液對於維持人體的生命活動，至為重要，諸如臟腑之濡潤，肌膚之潤澤，關節之滑利，骨髓之充盈，無不與津液的濡養滋潤有關。」；陳家旭所著《中醫診斷學圖表解》提到「津液是人體正常水液的總稱，有滋養臟腑，潤滑關節，濡養肌膚等作用。其生成與輸布，主要與脾的運化、肺的通調、腎的氣化功能有密切關係。」；李經緯主編的《中醫大辭典2版》提到「飲食精微通過胃、脾、肺、三焦等臟腑的作用而化生的營養物質。在脈內的，為組成血液的成分；在脈外的，遍布於組織間隙之中。津和液通常並提，但二者在性質、分布和功用方面，均有不同之處。」、「泛指一切體液及其代謝產物。」；印會河主編的《中醫基礎理論》(高等醫藥院校教材)提到「津液，是機體一切正常水液的總稱，包括各臟腑組織器官的內在體液及其正常的分泌物，如胃液、腸液、涕、淚、唾等。」、「津液有滋潤和濡養的生理功能。」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「fluid and humor 津液 /a general term for all kinds of normal fluid in the body, except the blood, also known as body fluids」；李德新主編之《中華人民共和國國家標準/中醫基礎理論術語》提到「津液 fluid and liquid /津與液的總稱。人體的正常水液，構成人體和維持生命活動的基本物質。」。</p>
<p>納入項目及討論</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「正常水液」：指人體各臟腑組織的正常體液和正常的分泌物，包括胃液、腸液、關節液、和涎、唾、涕、淚、汗等。 2. 「充養濡潤」：津液的功能包括「滋養臟腑：濡養和滋潤各臟腑組織器官的作用」、「濡養肌膚：滋潤皮毛肌膚的作用」、「潤澤孔竅-滋潤和保護眼、鼻、口等孔竅作用」、「充養和滑利血脈：組成血液的基本物質」、「潤滑關節：促進關節屈伸起作用」，由於以上功能在描述上的用語多有重

	<p>疊，因此討論中針對簡化涵義取得共識，認為「充養濡潤」便足以概括津液的相關功能。</p>
<p>排除項目及討論</p>	<p>1. 「津與液的區別」：雖然津與液在中醫概念上是有區別的，如：津之性質清稀，流動性大，主要布散於體表皮膚、肌肉和孔竅等部位，並滲入血脈，起滋潤作用者；液之性較為稠厚，流動性較小，灌注於骨節、臟腑、腦、髓等組織器官，起濡養作用者。但是兩者在臨床應用概念卻常常有所混淆，如：五液若是套用液的概念，則應該是灌注於骨節、臟腑、腦、髓等組織器官，起濡養作用者，但實際上五液卻是主要布散於體表皮膚、肌肉和孔竅等部位，由於這是承襲已久的問題，不易立即釐清並使大家接受，因此在討論相關涵義時將津與液合併為「津液」進行討論。</p>

(三十一)「神」的涵義與臨床應用共識：

<p>成果</p>	<p>神主宰和協調總體生命活動，主要表現於意識、思維、情志。</p>
<p>主要參考資料</p>	<p>對於神的涵義規範，主要的描述用語取自：李經緯主編的《中醫大辭典 2 版》提到「廣義指人體生命活動的總稱；狹義指思維意識活動。」；周學勝所著《中醫基礎理論圖表解》提到「人體之神，有廣義與狹義之分。廣義之神，是指整個人體生命活動的外在表現；狹義之神，是指人的精神、意識、思維活動。」；印會河主編的《中醫基礎理論》（高等中醫研究參考叢書 2 版）提到「中醫學中，神的含義主要有三：一是指自然界物質運動變化的功能和規律... 二是指整個人體生命活動的外在表現。一般稱之為廣義的神。... 三是指人的精神活動，包括意識、思維和情志活動，一般稱之為狹義的神...」；鄧鐵濤主編的《中醫診斷學》（高等中醫研究參考叢書 2 版）提到「神是人的特徵，唯有人才具有思維意識活動，這是以臟腑氣血為物質基礎的一種機能，是逐漸形成和發展起來的。」、「以元神和識神來概括自動調節機能和思維意識活動，這也是科學的抽象，是符合實際的簡明的概念，使神的基本概念更加明確具體。」、「神既是一身之主宰，必然於全身皆有表現，往往通過目光、面色、表情、言談舉止、感覺反應、聲息體態、舌象脈象等呈現於外，其中最突出的是表現於目光。」；朱文峰主編的《中醫診斷學 2 版》（中醫藥學高級叢書），提到「神有廣、狹二義。狹義之神是指心所主之精神意識思維活動；廣義之神是指人體整個生命活動的外在表現，是對機體臟腑組織功能活動和精神意識狀態等方面的高度概括，包括精神意識、思維活動、面色、眼神、形體動態、語言、呼吸和對外界的反應等各個方面。」；WHO 所出版《WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region_FINAL》提到「mind 神 /mental activities, referring to mentality, consciousness, thinking and feeling」、「spirit 神 /spiritual activities」、「vitality 神 /manifestations of vital functioning」。</p>
<p>納入項目及討論</p>	<p>1. 「主宰和協調總體生命活動」：神是一種建立在物質基礎之上的生命活動，是機體生命活動的最高主宰。中醫認為各</p>

	<p>個藏府組織器官並不是彼此不相關聯而孤立的生理單位，而是借由神為最高主宰來支配並互相協調各藏府功能活動，從而產生整體功能，如《素問·移精變氣論》說：「得神者昌，失神者亡。」</p> <p>2. 「意識、思維、情志」：神的基本概念，一指自然界之神，指自然界物質變化功能，二指人體之神。此處我們討論的目標是臨床應用涵義，因此將自然界之神排除在外。而人體之神又分成，廣義：指整個人體生命活動的表現，及狹義：指人的精神、意識、思維活動。由於我們討論的重點在於臨床應用的涵義，應用四診操作辨別有神無神，但是大部分的證名在涉及神的時候，多指精神意識的部分，因此討論是以廣義的人體之神為範圍，以狹義之神為重點。</p>
<p>排除項目 及討論</p>	<p>1. 「神的生成及藏府歸屬」：神主宰形體的生命機能。有形體才有生命，有生命才產生精神活動和具有生理功能。形乃神之宅，神乃形之主。無神則形不可活，無形則神無以附，二者相輔相成，不可分離，神的生成，在中醫基礎理論中屬「形神統一論」的範疇，在神的病位辨證上，常與藏府相關，形傷而損及神的部分，與藏府的相關性較大，因此不列入討論。而人的精神活動是大腦的生理功能，即是大腦對外界事物或信息所產生的反映。中醫學將人的精神活動分屬於五藏，而主要歸屬於「心藏神」的功能。所以，心藏神，從一定意義上來說，就是以心代腦。神的功能歸屬於五藏或腦，多年來有相當多的論戰，在中醫的藏象治療理論中，神的病位歸屬，無庸置疑的分屬五藏，並由心所主，但腦科學理論近年的不斷進步，現代的知識成果中，中醫學也無法忽視。除了在中醫證名出現了瘀阻腦絡、火擾腦神、血虧腦虛等，更有中醫腦病的專書問世。在此僅討論神在臨床應用上的涵義，至於神的藏府歸屬，則暫時擱置。</p>

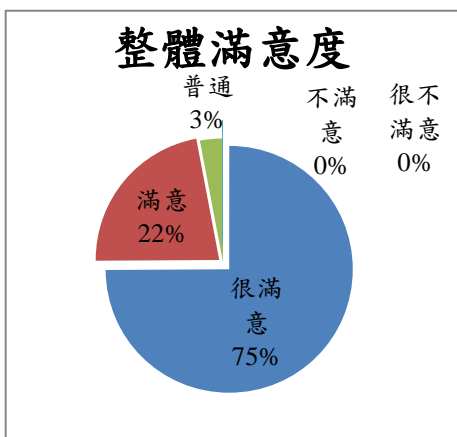
三、研討會成果

本研究計畫執行過程中，於民國 101 年 11 月 18 日，於桃園長庚紀念醫院 B2 國際會議廳舉辦主題為「中醫辨證論治之理論與實際」研討會(附件二)。本研討會邀請二位大陸教授演講，分別為廈門大學醫學院 王彥暉副院長與澳門科技大學科大醫院中醫醫療服務總監莫蕙教授。

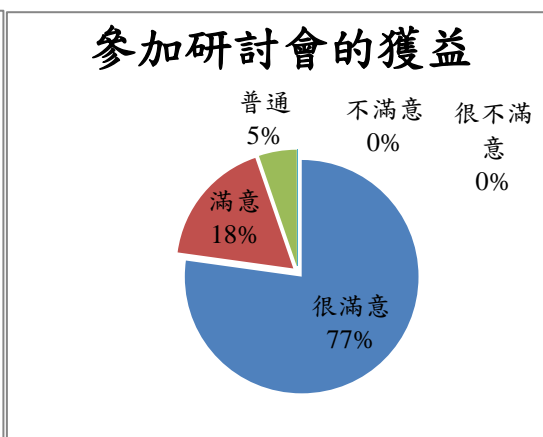
王彥暉副院長之演講主題為「談外感濕熱病和內傷濕熱病辨治的區別」及「中醫對癌症的認識與防治特點」，以中醫辨證診斷術語「濕」、「熱」及「腫瘤」為主體，內容談及如何利用三者的病理特性去進行疾病的鑒別診斷與處方治療；莫蕙教授演講主題則為「月經病的診斷及鑒別診斷」及「不孕症的診斷與治療」，與中醫辨證診斷術語研究計畫之「月經」、「胎產」及「胞宮」有相關性，內容談及「月經」與「不孕」之概念與臨床鑒別診斷及處方治療，以臨床實際病症，對於運用辨證術語之相關問題做了實際的示範並引出討論。

交流討論時段：與會貴賓除王彥暉副院長對本計畫給予肯定支持以外，另有莫蕙教授針對「陰」的涵義共識中「生寒」項目提出補充見解，以及長庚大學中醫系沈建忠主任對「風」、「寒」、「暑」、「濕」、「燥」、「火」及「熱」是否應加上附註「(邪)」而成為「風(邪)」、「寒(邪)」、「暑(邪)」、「濕(邪)」、「燥(邪)」、「火(邪)」及「熱(邪)」以避免混淆，提出意見。此點與小組討論時，馮曄醫師之見解一致，已予以採納並擬進行進一步共識討論。

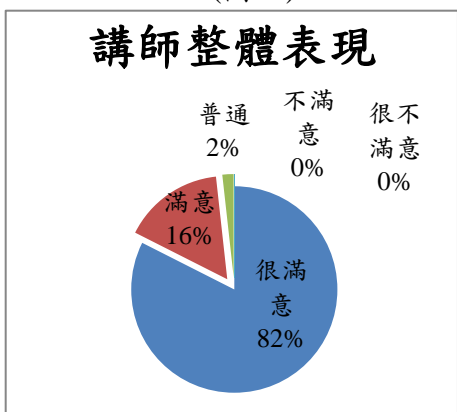
「中醫辨證論治之理論與實際」研討會實際參與人數達 105 人，已達成預定目標，同時針對回收的滿意度問卷進行分析，「整體滿意度」項目(圖一)：很滿意 75%、滿意 22%、普通 3%、不滿意 0%、很不滿意 0%；「參加研討會的獲益」項目(圖二)：很滿意 77%、滿意 18%、普通 5%、不滿意 0%、很不滿意 0%；「講師整體表現」項目(圖三)：很滿意 82%、滿意 16%、普通 2%、不滿意 0%、很不滿意 0%；「研討會主題」項目(圖四)：很滿意 77%、滿意 21%、普通 2%、不滿意 0%、很不滿意 0%。



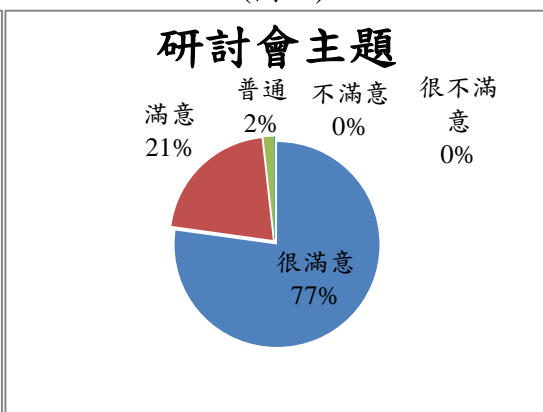
(圖一)



(圖二)



(圖三)



(圖四)

肆、綜合結論

本研究擬透過一系列的溝通研討方式，建構「中醫辨證診斷術語」之涵義和臨床應用共識。可提供中醫界臨床、教學、研究之參考。

中醫臨床上，「辨證論治」是中醫師的診療手段，由「望」、「聞」、「問」、「切」，四診的資訊蒐集，經由中醫師的思維去理解統合，最後以「辨證診斷術語」的形式呈現出來，但中醫師對「辨證診斷術語」的定義與解釋卻不盡相同，亟待建立共識及臨床應用規範。

無論為加強醫病溝通，促進中西醫合作，提升醫療品質，建立實證研究基礎或為中醫現代化、國際化，均需建構明確的學術語彙，建構學術平台長期進行系統性之工作。

由於中醫辨證診斷術語的涵義與臨床應用一直以來未進行共識規範化，本研究在進行專家的共識討論時，發現各家的辨證診斷術語涵義與臨床應用不一致，部分術語且呈現涵義模糊的情形，如何建立共識與臨床應用規範，將對中醫的教學成效與研究品質造成影響。中醫辨證診斷術語之標準規範，目前大陸已於 1997 年公佈的《中醫臨床診療術語》及 2006 年公佈的《中醫基礎理論術語》建立中醫辨證術語規範的雛型，雖未完善，但終於踏出中醫術語學(Terminologies of traditional Chinese medicine)的第一步。世界衛生組織更在 2007 年 9 月公告中醫術語標準(WHO standardize Chinese medicine terms)，顯示建構中醫辨證的專業術語已成趨勢，但這些標準與規範是由部分學者所編撰而成，「辨證診斷術語標準」並非經由共識形成，提出之辨證診斷標準與其他中醫學者及臨床專家多有差異，中醫藥界應以前瞻的眼光，推動中醫辨證術語的共識規範化，做出整合，製作一套當前最可行的辨證術語涵義與臨床應用規範，期望走在時代的前端，為中醫事業提供語言平台，這將是一件刻不容緩的大事。

訂定中醫辨證診斷術語的涵義與臨床應用共識規範，最主要的目的是使醫者臨證時對病患病因病機的辨證判定能達到一致性，並提高辨證臨床操作應用的精準度，以下列出研究成果之未來可能發展方向以供相關單位與後續研究人員參考：

- 一、就教學而言：提供醫學院學見實習生及住院醫師學習中醫診療有關中醫辨證術語的涵義與臨床應用共識規範，提升中醫診斷教學的效率。
- 二、就臨床而言：有助於中醫師在臨床診治病患時，提高辨證的客觀性與精準度。

三、就研究而言：提供中醫辨證術語的涵義與臨床應用共識規範，無論在中醫基礎研究上，或在中藥新藥開發的臨床試驗上，均可大幅提高一致度與可重複性，並可建立中醫資訊交流的合作平台，共享研究成果，將有助於中醫藥產業之國際化。

研究計劃進行時，亦曾遭遇困難，以下列出相關問題及解決方案以供相關單位與後續研究人員參考：

- 一、目前公佈的診斷術語規範，多以證型及症狀為規範，但近年社會變遷快速及西醫學的融入，醫師因應臨床而不斷創造新證型，如何使計劃成果可承擔新證型，是一大考驗。我們認為針對構成證型的關鍵術語進行共識規範，並以此關鍵術語重組出複合證型，應有助於解決問題。但由於關鍵術語具高度概括性，因此應對其臨床操作應用涵義凝聚共識。
- 二、中醫文獻資料龐大，參考資料的選擇也是一大難題。由於各家流派內容分歧，所以在參考資料的選擇上，以統整過的教科書為主，包括中醫診斷學、中醫基礎理論，再加上具有公信力之辭典，已頒布的國際標準、外國標準等為主要參考資料。各家學說則由各小組討論時自行參考補充。
- 三、涵義的描述應以白話文或經典原文為主。由於本研究計劃成果的使用對象設定為中醫專業相關背景，應對經典原文有所認識，且涵義以簡潔為主，因此應以經典原文為主要描述用語，解釋不足的部分，輔以白話文的補充。

伍、建議

透過此次的計畫研究顯示，中醫師彼此之間對於「辨證診斷術語」的內涵有著不同的想法。導致「辨證診斷術語」之臨床應用與涵義呈現多元，這對中醫的學術與醫學的傳承將形成障礙。此次研究已建立中醫辨證診斷術語共識的研究模式，期望中醫界能一致努力，儘速將中醫辨證診斷術語共識規範化，並建立常態機制，持續進行更新維護，為未來中醫的教學、研究與臨床打下穩固的根基。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP101-RD-005 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. Jiang M, Zhang C, Zheng G, Guo H, Li L, Yang J, Lu C, Jia W, and Lu A: Traditional chinese medicine zheng in the era of evidence-based medicine: a literature analysis. Evid Based Complement Alternat Med. 2012;2012:409568. Epub 2012 Jun 6.
2. Dai J, Sun S, Cao H, Zheng N, Wang W, Gou X, Su S, and Zhang Y: Applications of New Technologies and New Methods in ZHENG Differentiation. Evid Based Complement Alternat Med. 2012;2012:298014. Epub 2012 May 22.
3. 高尚德：五種常見疾病中醫證型診斷基準之研究（3-1）--慢性 C 型肝炎中醫證型診斷基準之研究。中醫藥年報 2004；第 22 期 第 4 冊, 1-60.
4. 高尚德：五種常見疾病中醫證型診斷基準之研究（3-2）--慢性 C 型肝炎中醫證型診斷基準之研究。中醫藥年報 2004；第 22 期 第 4 冊, 61-106.
5. 林宏任：五種常見疾病中醫證型診斷基準之研究（3-1）--慢性 B 型肝炎中醫證型診斷基準之研究。中醫藥年報 2004；第 22 期 第 4 冊, 107-176.
6. 林宏任：五種常見疾病中醫證型診斷基準之研究（3-2）--慢性 B 型肝炎中醫證型診斷基準之研究。中醫藥年報 2004；第 22 期 第 4 冊, 177-218.
7. 林建雄：五種常見疾病中醫證型診斷基準之研究（3-1）--糖尿病主要證型診斷基準之研究。中醫藥年報 2004；第 22 期 第 4 冊, 219-238.
8. 林建雄：五種常見疾病中醫證型診斷基準之研究（3-2）--糖尿病主要證型診斷基準之研究。中醫藥年報 2004；第 22 期 第 4 冊, 239-304.
9. 馮曄：五種常見疾病中醫證型診斷基準之研究（3-1）--停經後婦女骨質疏鬆症主要證型診斷基準之研究。中醫藥年報 2004；第 22 期 第 4 冊, 305-322.
10. 馮曄：五種常見疾病中醫證型診斷基準之研究（3-2）--停經後婦女骨質疏鬆症主要證型診斷基準之研究。中醫藥年報 2004；第 22 期 第 4 冊, 323-416.
11. 李照國：關於 WHO/ICTM 術語問題的幾點建議。中西醫結合學報 2012；第 10 卷第 1 期, 114-116.
12. 趙暉，吳崇勝，陳家旭：中醫證候診斷標準研究的方法學探討。上海中醫藥大學學報 2008；第 22 卷第 4 期, 47-50.

附件一、辨證常用術語：

風	濕	寒	火	燥	暑
腦髓	痰飲	腎	三焦	陰	熱
神	津液	命門	胞宮	陽	膀胱
心	肝	脾	月經	飲食	小腸
心包	膽	胃	胎產	勞逸	大腸
肺	氣	血	痿	厥	外傷
鬱滯壅阻	虛虧	瘀	疝	痹	閃挫
疝	積	蓄	消	陷	先天
痞	癌瘤	結癰疽瘡瘍	亡	脫	遲軟
動風	瘟疫	蟲	精	閉	藥治
失制	瘴癘	七情	癲狂	勞損傷	毒物
化火	陽明病	少陽病	衛分證	營分證	上焦
太陽病	少陰病	厥陰病	氣分證	血分證	中焦
太陰病	胸	肩背	官竅	五體	下焦
頭	腹	腰	上肢	下肢	經
頸項					

附件二、中醫辨證論治之理論與實際研討會



研討會會場

中醫辨證論治之理論與實際			
指導單位：	衛生署中醫藥委員會		
主辦單位：	台灣中醫學會	桃園長庚紀念醫院中醫部	
協辦單位：	台北市中醫公會	桃園醫學醫學會	
研討會日期：	民國101年11月18日(星期日)		
研討會地點：	桃園長庚紀念醫院第2國際會議廳		
時間	主題	主講者	主持人
08:00-08:30	報到		
08:30-08:40	開幕致詞	台灣中醫學會 陳建忠學士	
08:40-09:20	探討在溫熱病和 西醫溫熱病	廈門大學醫學院 王景輝副院長	桃園長庚紀念醫院 張恆鴻副院長
09:20-09:30	討論/休息		
09:30-10:10	辨證之辨證論治	廈門大學醫學院 王景輝副院長	長庚大學中醫系 李景岳 陳建忠主任
10:10-10:30	茶歇		
10:30-11:10	月經病的辨別 處方與辨證	澳門科技大學 中醫藥學院 張景教授	長庚大學中醫系 陳建忠主任
11:10-11:20	討論/休息		
11:20-12:00	不孕症的診斷與治療	澳門科技大學 中醫藥學院 張景教授	長庚大學中醫系 陳建忠主任
12:00-12:00	綜合討論		
報名期限：即日起至11月12日下午5時止			
報名電話：03-3192400 ext:2076 (報名部) 傳真電話:03-3294841			
詳情請參閱: http://www.gmhs.org.tw			
(議程如有變動，請以當日現場公佈為主)			

研討會海報



研討會會場



茶敘時間



貴賓簽到



貴賓合照

中醫系統化服務發展規劃研究計畫

賴才雅

財團法人工業技術研究院

摘要

中醫系統化服務發展是指將中醫醫療照護行為、流程、參與者及科技化設備，以資通訊技術進行整合式的整體服務解決方案發展。內涵包括醫療照護服務相關資料的標準化與數位化、並透過流程化的資訊串連與交換，由智能化軟體進行決策支援分析，產生具有個別化價值的醫療照護知識，以提升醫療照護品質，並促進營運管理效率。

本計畫透過專家會議及學研合作，邀集並整合國內中醫專家，針對中醫系統化服務發展，包括資訊化、智能化及系統化等階段性目標，進行主題式的討論及合作產出，並於未來擴展至兩岸合作發展。達成之期末成果如下：

- (一) 本計畫自 3 月至 12 月，共計舉辦 6 場次中醫專家工作小組座談會，另考量專家團隊業務繁忙，改由本計畫團隊採拜訪形式，針對各工作議題分別拜訪中醫專家計 16 場次，並彙整會議結論公佈於中醫資訊化服務發展交流平臺，以廣泛徵求討論意見，預計於 11 月 30 日產出主題性工作小組期末彙整報告 1 份。
- (二) 維護並推廣中醫資訊化服務發展交流平臺之使用，將相關工作成果彙整於知識庫並以網路平台推廣，目前瀏覽人次已達 1093 人次。
- (三) 透過現況查證、文獻探討、專家座談等規劃，產出「中醫系統化服務發展規劃報告書」1 份，其內容包含緒論、中醫醫療照護服務現況、歷年研究成果彙整、困難與挑戰、機會與趨勢、中醫系統化服務發展規劃及結論等章節，希望提供主管機關作為中醫服務系統化發展之參考依據。

關鍵詞：中醫、系統化服務、資通訊技術

Research on Chinese Medicine Systematic Service Development and Future Strategies

LAI, TSAI-YA
Industrial Technology Research Institute

ABSTRACT

Chinese Medicine information and communication technology(ICT) applications refers to the systematic development of Chinese Medicine services, considering health care service actors, behaviors, processes, and technological equipments, to support the ICT solutions integration for overall services.

The goal of this project is to generate insights from related research reviews and collect opinions from expert meetings and interviews to establish strategies from TCM service system development.

1. From March to October 2012, 5 expert meetings 16 interviews have been performed to collect opinions from multi-disciplinary experts. Conclusions have been published at the TCM information exchange platform.
2. TCM information exchange platform has been developed to enhance research outcome publication and knowledge exploration. On thousand and ninety-three times of usage have been recorded.
3. TCM system service development strategic reports have been composed based on information collected from research outcome review, current market review, literature review, expert meetings, and expert interviews. Chapters of the report are included: overview, current status, research outcome review, difficulties and challenges, opportunities and trends, and conclusion. The report is intended to serve as a reference for the government to consider future planning for TCM development.

Keywords: Chinese Medicine, Service Systems, Information and Communication Technology

壹、前言

中醫系統化服務發展是指將中醫醫療照護行為、流程、參與者及科技化設備，以資通訊技術進行整合式的整體服務解決方案發展。內涵包括醫療照護服務相關資料的標準化與數位化、並透過流程化的資訊串連與交換，由智能化軟體進行決策支援分析，產生具有個別化價值的醫療照護知識，以提升醫療照護品質，並促進營運管理效率。

因應政府六大新興產業之智慧醫療發展的政策方針，本計畫將彙整中醫藥委員會過去研究成果，參考西方醫學服務資訊化系統化的歷程，廣納領域專家之意見，提出整合科技與資通訊技術的中醫系統化服務發展規劃，以供未來中醫系統化服務發展之參考。

貳、材料與方法

透過現況查證、文獻探討、專家座談等規劃，蒐集並彙整 1983~2011 年中醫藥委員會歷年委託計畫、中醫資訊化碩博士論文及台灣中醫相關專利等中醫醫療照護服務資訊化科技應用現況，計 207 件，並透過內容分析法進行文獻整理及歸納分析，盤點中醫科技化資訊化發展缺口，產出「中醫系統化服務發展規劃報告書」。

參、結果

本計畫透過專家會議及學研合作，邀集並整合國內中醫專家，針對中醫系統化服務發展，包括資訊化、智能化及系統化等階段性目標，進行主題式的討論及合作產出，並於未來擴展至兩岸合作發展。達成之期末成果如下：

- 一、本計畫自 3 月至 12 月，共計舉辦 6 場次中醫專家工作小組座談會，另考量專家團隊業務繁忙，改由本計畫團隊採拜訪形式，針對各工作議題分別拜訪中醫專家計 16 場次，並彙整會議結論公佈於中醫資訊化服務發展交流平臺，以廣泛徵求討論意見，已於 11 月 30 日產出主題性工作小組期末彙整報告 1 份。
- 二、持續維護並推廣中醫資訊化服務發展交流平臺之使用，將相關工作成果彙整於知識庫並以網路平台推廣，目前瀏覽 1093 人次，已達預期目標。
- 三、透過現況查證、文獻探討、專家座談等規劃，產出「中醫系統化服務發展規劃報告書」1 份，其內容包含緒論、中醫醫療照護服務現況、歷年研究成果彙整、困難與挑戰、機會與趨勢、中醫系統化服務發展規劃及結論等章節，希望可以提供主管機關作為中醫服務系統化發展之參考依據。

肆、討論

鑒於台灣在資通訊領域的先進發展，以及於 3C 產品國際產業價值鏈的重要角色，於中醫科技化與系統化服務發展面，參考西方醫學在醫療資訊領域發展的歷程，從醫院端的資訊系統建立與整合，到醫院之外遠距健康照護服務網絡的建立，積極結合產官學研資源投入，尤其包括中醫診斷治療在服務面與資訊面標準化的建置工作，參與晉身國際之機會。參照西醫醫療資訊的分類層別，初分從分子生物、組織器官、臨床個人及群體公共衛生四個層次，參照中醫本體論、研究方法論與資通訊技術發展的趨勢，將中醫的醫療健康資訊範疇歸納如圖 1。

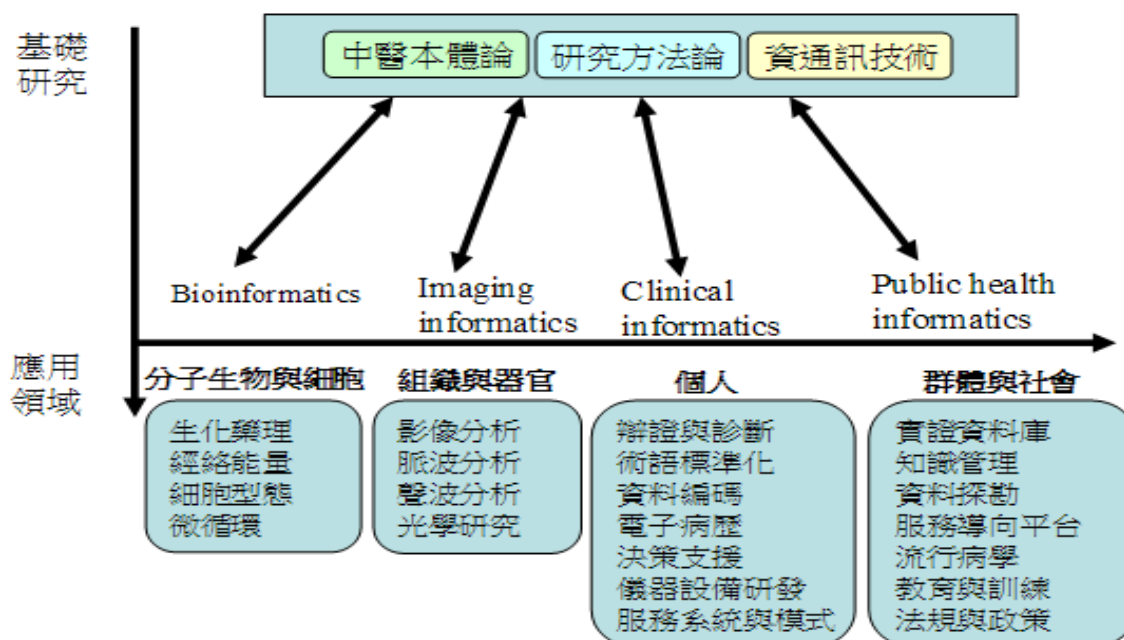


圖 1、中醫醫療健康資訊範疇

一、生化與組織器官層次

過去傳統中醫給大眾非侵入式的診察概念，因此在組織器官，甚至於分子生物的層次，雖然在影像/聲音/波型辨識研究的層面，已經有許多可以應用的技術，但礙於客觀描述出的現象與中醫本體論所呈現的臨床應用詮釋，還有許多在實驗室到臨床間的待解謎團，需借重西醫解剖及細胞基因學的理論，累積足夠的實證資料，建立科學化的基礎。

二、臨床應用

中醫臨床服務以辨證論治為施行的核心，其中診斷主要是以當下的症狀的採集為基礎，考量個人的體質、過去病史與環境的影響因素，依據辨證理論進行病因、病性、病機、病位的分析，一般較為熟悉的理論包括：八綱、經絡、臟腑、氣血、陰陽等。即時治療策略決定，包括中藥、針灸、推拿、按摩、拔罐、刮痧、氣功、食療、音療等多種治療手段，令人體達到調和與平衡而康復。因此，辨證論治是中醫的重要特色，症狀是中醫辨證的基本元素，也是臨床診療的基礎。

中醫診斷與治療標準之建置，將可提高中醫病症診斷的精準度，使醫者臨症時，對病患症狀採集判定的操作過程具有一致的標準，始利推展中醫系統化。

表 1、西方醫療資訊中經常應用的資訊標準

醫療健康應用領域	國際標準
Diagnoses	ICD-10
Procedures	CPT-4
Process	IHE
Text reports	HL7 CDA
Documentation: Problem lists, Nursing	SNOMED CT
Lab Results	LOINC
Demographics, Encounters, Units	HL7
Instrument Data Exchange	IEEE 11073
Retail Pharmacy	NCPDP
Inpatient Pharmacy	NDP-RT/RxNorm

表 1 彙整西方醫療資訊中經常應用的資訊標準，包括：診斷、流程、記錄、檢驗、用藥、儀器設備資料傳輸等，相較之下，中醫目前尚未有任何資訊標準可言，連臨床診斷在目前台灣的健保架構中，都是借用 ICD9 之中西醫的疾病診斷碼，選取與病人症狀相近的進行記錄。雖然健保針對特殊疾病開放舌診與聞診的診察給付，但舌診與聞診儀器的使用以記錄的目的為主，與中醫診斷辨證相關的特偵訊號截取、判讀與詮釋，仍然屬於小

型研究的規模，尚未達成共識，更遑論普及應用。由此可知，目前中醫界在標準面可以說還有很大的努力空間。

透過國內中醫診斷資訊化與術語標準化之發展，完備中醫系統化之重要基礎，促成未來相關醫療器材及系統設備產業的投入，並且由於知識管理及決策支援等軟體的發展，提昇整合式健康管理服務之能量。預期未來串連西醫的醫療照護智能化發展成果，以及雲端技術之應用，提供完整且連續性的個人化健康服務支援。

三、公共衛生應用

中西醫由於本體概念的差異，在流行病學與生物統計學上的發揮也呈現截然不同的樣態。中醫由於辯證理論以及介入手法搭配性變化複雜，評估檢驗方法並未經過一般西方科學定性定量的檢驗，過去少見大型臨床研究設計。法規保險及教育面改變與提升的動力，便因此少了強而有力的實證基礎。

經由術語及資料結構業界共識著手，推動中醫醫療健康資訊與國際標準組織接軌，同時進行跨單位的資料串接與匯總，建立臨床實驗結果資料庫，以資料探勘技術加速累積臨床實驗實證數據，強化中西醫結合健康照護的鍵結，進而有機會確立台灣在國際醫療健康資訊研發領域的特色，也開創台灣相關產業新的國際發展機會。

伍、結論與建議

中醫系統化服務發展是指將中醫醫療照護行為、流程、參與者及科技化設備，以資通訊技術進行整合式的整體服務解決方案發展。內涵包括醫療照護服務相關資料的標準化與數位化、並透過流程化的資訊串連與交換，由智能化軟體進行決策支援分析，產生具有個別化價值的醫療照護知識，以提升醫療照護品質，並促進營運管理效率。過去中醫研發成果，在專業知識的引導之下，可經由方法論的應用與設計，透過資通訊及現代相關科技工程的實現，產生多樣化的研發成果。因此，在資訊化、服務化及系統化的發展方向上，並非完全沒有基礎。

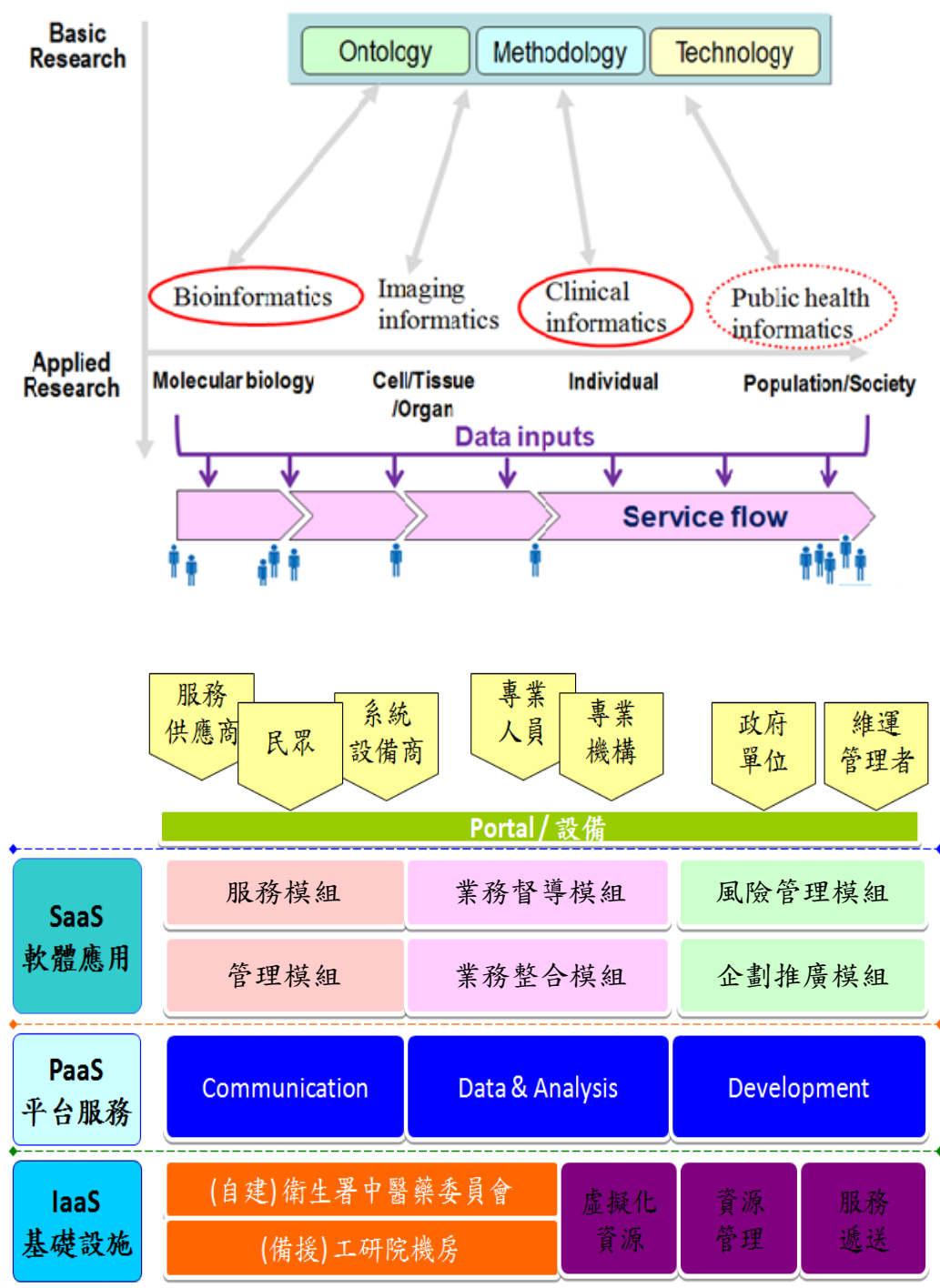


圖 2、傳統研發成果轉換為系統化服務之概念示意

以圖 5 所示，目前中醫在各個應用研究領域層次(生化與組織器官、臨床應用、公共衛生)，均有相關成果累積，首先可將既有的實驗室及臨床研究實證的資料彙整，依據中醫本體概念進行分類及資料庫建置儲存，達到資訊化的目的。為達到這樣的目標，必須參照術語及診斷標準化的成果，先確認分類的邏輯與方法，建立資料庫的架構，以最小單元化的概念引導，追求未來資訊儲存、串連、交換、輸出、運用等的最佳品質與最優效能。

下一步之目標則是基於研究成果資訊化，提升到服務化及流程化的層次。依據實務功能需求，建立服務的構想，將服務流程步驟展開，同時盤點所牽涉到的人員及設備，進行各功能項目價值定義與資訊產出互動之架構建立。

資訊流與服務流的結合，背後牽涉到一個完整的系統架構概念，與實際的規劃與建置。圖五中的雲端系統架構，將基礎設施、平台服務、以及軟體應用的層次展開，示意由資通訊科技所支援的系統化服務模式，以政府主管單位的角色進行呈現。各項雲服務與管理模組的細部規劃，並非本次計畫案之目標，因此以示意的方式呈現。政府單位在未來醫療健康雲的架構中，可考量加入對於中醫科技化服務發展的督導管理及專業服務架構。

本計畫所提出之中醫系統化服務(圖 6)，乃是基於盤點中醫藥委員會過去之成果，並考量各項研究成果之成熟度、完整性與市場機會，以儘可能發揮過去成果為考量，分別依據資料庫與智慧系統發展建置、診斷與評估標準建置、及儀器應用與服務建置等三個面向展開，期能在資料處理、儀器應用及臨床發展等面向，建立互相支援整合的效應。在接下的三年當中(FY102~FY104)，逐年完備科技化發展的基礎建設，年度成果在對外發布時，也能產生加成的效果，促成中醫臨床實證資料庫及臨床診察照護服務自動化與智慧化系統的實現，完成中醫系統化服務的願景。

一、資料庫與智慧系統發展建置

本類別工作項目乃是針對中醫科技發展之任務為主，強調與資通訊技術整合之重要性，建議於 FY102 年蒐集個案研究報告準則，並參考各大醫學中心的臨床個案報告規範，建立符合中醫本體論之個案研究專家資料庫架構，詳細反映出中醫辨證診斷之概念；進而在 FY103 進行個案研究匯入與推廣，充實資料庫的內容，將專業知識更有效率地提供醫師參考，有效提升臨床中醫醫療服務的品質。同時，參考個案報告研究在證型證候的描述與定義，完成證型證候資料的分析，建立證型證候資料庫的架構；FY104 則將證型證候資訊與理學及療效資訊進行連結與分析，建立證型證候的實

證資料庫。

二、診斷與評估標準建置

本類別工作項目強調在中醫本體專業上進行深耕，強調由中醫專業產學研團隊以及學協會擔任此任務。建議繼續投入術語與診斷標準化，鑒於 ICD-11 將在 2014 (FY103)年公告實施，國內也應積極規劃專家小組投入 ICD-11 中醫國際編碼的參與，及早促成全民健保中醫診察項目上中醫編碼的制定與使用，與國際標準及早接軌。臨床智則與療效標準的建立，影響到臨床實證效度的評估與驗證，可參考過去在個案研究上對診療效果的描述，在 FY102 先期投入臨床治則與療效指標的建立，並依據這樣的基礎，在 FY103 完成診斷評估標準的建立。這部分的成果，整合前述的證候證型資料分析架構，以及理學成效的關聯性分析模型，便可挹注成為中醫診察與照護決策支援智慧系統的基礎，促進該系統在 FY104 的開發與驗測。

三、儀器應用與服務建置

本類別工作由儀器研發專家與臨床中醫專業工作者結合，並透過流程面的整合，以積極建立儀器實證效標為目的。鑒於目前已經有許多學界專家及部分業界投入中醫診察相關儀器開發，建議中醫藥委員會 FY102 應將主力放在診察儀器的臨床效標建立上，一方面使得業界在開發驗測儀器時有規範可循，另一方面也使的儀器設備在臨床的應用上，有可供監測診察的基準。從臨床應用的角度上來看，FY102 同時也應積極地規範目前已經有的儀器設備於臨床時的應用標準(code of practice)，降低各種儀器在使用上的風險，同時保障醫事人員及民眾，促進業者投入的意願。由於儀器設備產出的資訊可以成為診察行為的具體依據，使得中醫的辨證論治可以被追蹤及評量，並匯入醫院資訊系統進行訊息的交換與互相參酌。因此，符合國際醫療資訊處理的自動化臨床流程建立(資訊流與服務流)，也是 FY102 可以先期投入的工作，促進中醫流程與既有的醫院流程融合，擴充國際 IHE(Integrating the Healthcare Enterprise)的範圍，並在 FY103 依據不同疾病的需求，建立中西醫整合資訊匯流的 clinical pathway，以及自動化臨床監測指標建立。

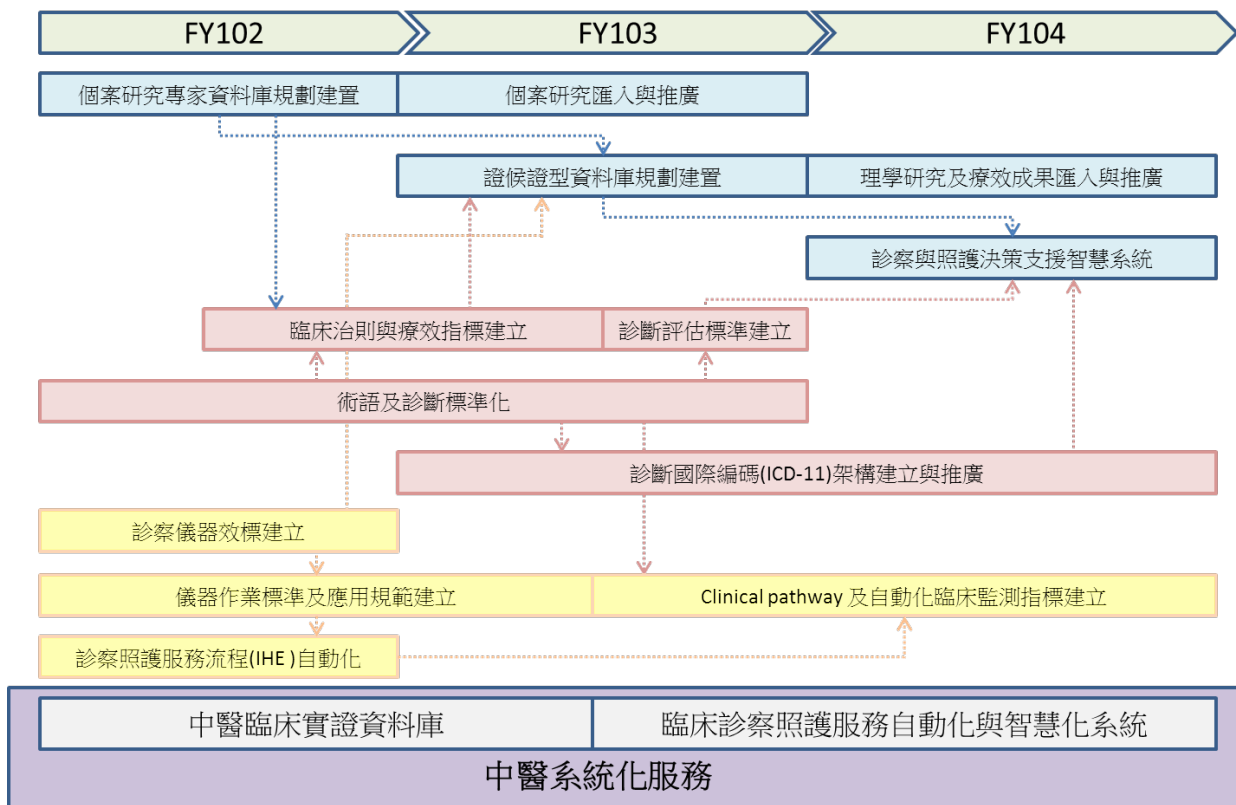


圖 3、中醫系統化服務發展規劃藍圖

透過此發展規劃藍圖，將可達到中醫科技化目標，並在技術面透過模組化、系統化、平台化、雲端化之發展，促成從中醫師與病人一對一的互動，提升到團隊與組織的層次，最終透過由網絡連結跨時區及地理區的個案，共同提供完整的服務。在新的二十一世紀人口結構改變的驅動力之下，中西醫整合性照護的理想，透過資通訊技術進行整合，預期將帶來健康照護的新契機。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP101-RD-006 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. 98 年全民健康保險統計，統計分析 - 醫療給付，
http://www.nhi.gov.tw/Resource/webdata/Attach_16083_2_醫療給付-ch_會後修正.pdf，2010/11/01。
2. GRB 智慧搜尋系統，<http://grbsearch.stpi.narl.org.tw/GRB/>。
3. Shortliffe, E.H. & Cimino, J.J. Biomedical Informatics, Springer, 2006.
4. World Health Organization, Chapter 23: Traditional Medicine conditions – Module I (Beta draft), International Classification of Diseases version 11, <http://www.who.int/classifications/icd11/caveats.html>, 2012.
5. World Health Organization, WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region, 2007.
6. Xie Zhufan, English Translation of Common Terms in Traditional Chinese Medicine, China TCM Pub. Co., Beijing, 2004.
7. 中國醫藥學院中西醫病名對照研究小組，臨床常見疾病之中西醫病名對照初探，行政院衛生署中醫藥委員會委託研究計畫 DOH-CCM-7908，1990。
8. 行政院衛生署，100 年國人主要死因統計(以 ICD-10 編碼)，
http://www.doh.gov.tw/CHT2006/DM/DM2_p01.aspx?class_no=25&now_fod_list_no=0&level_no=2&doc_no=84788, 2012/5/25
9. 行政院衛生署中醫藥委員會中醫藥資訊網，<http://www.ccmp.gov.tw/>。
10. 林昭庚，中國醫學病症及病名分類之研究，行政院衛生署中醫藥委員會委託研究計畫 CCMP91-RD-003，2002。
11. 知識通訊評論，中國傳統醫藥的新時代，知識通訊評論月刊，111 期，2012/01/18。
12. 洪錦墩、李卓倫、黃昱瞳，未來十年人口變遷對中醫醫療服務及人力政策影響的預測，行政院衛生署委託研究計畫 CCMP97-RD-029，2008。
13. 國民健康局，台灣中老年身心社會生活狀況長期追蹤(第六次)調查，2007。
14. 經濟部智慧財產局中華民國專利資料檢索系統，
<http://twpat.tipo.gov.tw/tipotwoc/tipotwkm>
15. 臺灣博碩士論文知識加值系統，
<http://ndltd.ncl.edu.tw/cgi-bin/gs32/gsweb.cgi/ccd=e20ik6/webmge?Geticket=1>

加味六君子湯在腫瘤小鼠模式中的抑癌 療效評估及機轉探討

傅淑玲

國立陽明大學傳統醫藥學研究所

摘 要

研究目的：

加味六君子湯，是臨床上常使用的扶正類藥物，經常用於癌症的中醫藥輔助治療中，臨床應用上，扶正固本類藥方被視為可降低化放療的毒副作用，但對於腫瘤本身的影響，亟待探討。本研究欲探討加味六君子湯的抗癌作用及其可能的作用機轉，並了解其與化療並用後是否可增強抗癌效果並降低化療所誘發之毒性。

方法：

本研究利用免疫健全之原生性小鼠及免疫缺失小鼠兩種模式，選用兩種癌症細胞株作皮下注射：膀胱癌細胞株(MBT-2)、肺癌細胞株(LLC-1)，觀察腫瘤生長情形，並進行安全性評估(體重監測、血清生化指標、全血球計數)。抗癌機轉方面，以偵測腫瘤組織區域之免疫細胞聚集及活化的情形，評估藥物是否透過免疫機轉調節達到抗癌療效；另利用免疫缺失小鼠模式，評估藥物治療是否有直接抑制癌細胞的作用，並以免疫組織染色法(IHC)及原位細胞凋亡螢光偵測(TUNEL assay)，探討其機轉。最後，在肺癌小鼠模式中，觀察加味六君子湯和化療藥併用後的腫瘤生長情形及其安全性。

結果與討論：

在本研究系統中，免疫健全小鼠與免疫缺失小鼠模型中，中藥治療組可見膀胱癌細胞生長受到抑制，達到統計上的顯著差異，安全評估各項指標均顯示沒有明顯毒性反應。由於免疫相關實驗中，各組之間未見差異，配合免疫缺失小鼠的腫瘤生長抑制結果，可證實加味六君子湯在該模型中，直接抑制癌細胞是其主要機轉。根據 IHC-Ki67 及 TUNEL assay 之結果，發現中藥治療後，癌細胞生長

能力降低，但細胞凋亡現象則不明顯，證實加味六君子湯在該動物模型中，主要透過減緩癌細胞生長而達到抑癌作用。加味六君子湯與化療藥物併用後，沒有增強其抗癌效果，亦沒有引發明顯毒副作用。

關鍵詞：扶正、六君子湯、癌症、抗癌作用

Investigate the Anti-cancer Efficacy of Modified Liow-Jiun-Tzyy-Tang in Tumor Mouse Model and Study Its Action Mechanisms

Shu-ling Fu

Institute of Traditional Medicine, National Yang-Ming University

ABSTRACT

Purpose:

Cancer is the leading cause of death in Taiwan. A compound herbal formula (modified Liow-jiun-Tzyy-Tang; mLJTT) which could “reinforce the healthy qi” has been used to improve the life quality of the outpatients widely. This project investigated the anticancer effects of mLJTT and its underlying action mechanism. We also investigated whether combined treatments of mLJTT and chemotherapy had synergistic effects on tumor regression and reduce the chemotherapy-induced toxicity.

Experimental design and methods:

The anticancer activity of mLJTT was evaluated using xenograft tumorigenesis assays in both immune-competent and immune-compromised mice. The syngeneic mice were treated with drugs or vehicles, then the tumor volumes were monitored and the parameters of drug safety were recorded. To investigate whether the anticancer activity of mLJTT involves activation of immune system, the expression of anti-cancer related cytokines in tumors was measured using ELISA, and the accumulation of tumor-infiltrating leukocytes at tumor sites was detected by H&E staining and qRT-PCR. To investigate whether the anticancer activity of mLJTT results from its cytostatic or/and cytotoxic effects on cancer cells, the tumor sections were analyzed with immunohistochemical staining of Ki67 for measuring cell proliferation and with TUNEL assays for detecting apoptosis.

Results and Discussion:

In this study, mLJTT treatment caused significant tumor regression in both immune-competent or immune-compromised nude mice inoculated with bladder or lung cancer cells without causing toxicity. The expression of anticancer-associated cytokines and the presence of tumor-infiltrating leukocytes at tumor sites were not induced in C3H/HeN mice after mLJTT treatment. Our data indicated the anticancer activity of mLJTT mainly resulted from its inhibitory effects on cancer cells. Notably, according to the results of IHC-ki67 and TUNEL assay, we validated that cancer cell proliferation was reduced. Co-treatment of mLJTT with chemotherapeutic drug doxorubicin in lung cancer model did not show enhanced therapeutic effects or apparent toxicity.

Keywords: reinforce the healthy qi, Liow-jiun-Tzyy-Tang, anticancer effects

壹、前言

癌症死亡率自 1982 年至今連續 27 年來，一直高居國內死亡率之第一位，民國 97 年國人因癌症死亡人數為 3 萬 8913 人，佔所有死亡人數的 27.3%，標準化死亡率為每 10 萬人口 133.7 人，每 13 分 30 秒就有 1 人死於癌症[1]。

照顧癌症及癌末病患，並提升其生活品質是政府既定政策。在癌症患者的治療中，目前還是以西醫療法為標準主流，包括手術、化療、放射線治療等。這些治療可以提高病患存活率並降低復發率，但也會帶來相當程度之副作用，對於病人的療程、生活品質及預後造成影響。

由於中藥在台灣的使用率相當高，有 60% 的健保使用者尋求過中醫藥的治療方法，其中大多是同時患有一到數種慢性疾患的民眾，不乏癌症患者，他們期望中醫藥能達到緩和放、化療毒副作用、改善生活品質、免疫力調節、減少癌症復發及轉移的機率等等效果 [2]。但是，常常在病急之下，尋求各種缺乏足夠醫學根據的可能治療方式，而忽略了可能潛藏的危險。以科學方法驗證中草藥應用於或輔助現有癌症之治療效果，是一重要課題。

近年來以中藥作為癌症治療之輔助療法，已逐漸被應用於癌症病人身上，而現有之研究及文獻亦顯示此合併療法對病人有實質的幫助和療效。其中扶正藥物被視為可降低化放療的毒副作用，亦可強化骨髓造血機能進而增進病人免疫力，降低腫瘤復發[3-6]。

中醫傳統理論中，認為腫者，腫大也；瘤者，留居也；腫大成塊，留居在一起而不消散之物謂之腫瘤。早在殷墟出土的甲骨文中，就有「瘤」的病名記載。惡性腫瘤在中醫屬於「癥瘕」、「積聚」等範疇，屬於全身為虛，局部為實的疾病。在治療上，有數種治則與方法，主要分成兩種：「扶正補虛法」及「祛邪抗癌法」。扶正補虛法是以各種手段來調節人體的陰陽、氣、血、臟腑和經絡的生理功能，提高機體的免疫抗病力，增強體質，延緩病情，抑制癌症發展；祛邪抗癌法則是利用清熱解毒、活血祛瘀、化痰軟堅、以毒攻毒等方法，來祛除癌症腫瘤，達到抗癌、抑癌的效果[7]。

本實驗室合作者許中華醫師以扶正觀點，發展出一扶正中藥複方(加味六君子湯)，初步臨床觀察發現此複方藥應用於放、化療後之癌症病人可改善病患臨床數據及緩解放化療之副作用。加味六君子湯是以六君子湯為本，含有 *Radix codonopsis* (黨參)、*Atractylodes Rhizoma* (白朮)、*Poria cocos* (茯苓)、*Radix Glycyrrhizae* (甘草)、*Herba pogostemonis* (藿香)、*Fructus*

Ligustri Lucidi (女貞子)及 *Radix astragali* (黃耆)。六君子湯在中醫臨床上已使用多年，能理氣健脾、燥濕化痰，於相關的臨床研究上，有增加白血球、血紅素，及提高腎上腺皮質功能、提升免疫力之效，同時也可減輕噁心嘔吐、乏力等副作用[8]。

此外，加味六君子湯中的部份藥材及其成份，在臨床前試驗的藥理學研究中亦被證實具有抗癌及免疫調節的功能。例如茯苓提取物及其成份被證實可調控細胞激素的表現，活化 Toll-like receptor 4 (TLR4)相關免疫活性，強化小鼠的免疫力[9-11]。黃耆被發現有抗發炎、提昇免疫力，在體外及活體系統被證實對癌細胞有毒殺及抑制生長等作用[12-14]。黃耆中的醣蛋白及多醣類在腫瘤小鼠中可強化抗癌免疫活性 [13]。亦有文獻報導，女貞子成份可造成腦癌細胞細胞凋亡，增加癌細胞對抗癌藥物的敏感度，並抑制發炎相關分子的釋放[15-17]。黨參中的多醣類被證實可作為免疫佐劑，並促進淋巴細胞的增生[18, 19]。白朮成份的藥理作用主要是抑制癌細胞生長及造成細胞凋亡[20, 21]。

由於癌細胞常常因為抑癌基因的突變而逃脫正常細胞生長與死亡機轉的調控，許多抗癌藥物的主要作用在於抑制癌細胞生長或誘發癌細胞死亡。抑制癌細胞生長多半緣自於對細胞週期(cell cycle)之抑制而造成癌細胞死亡的機轉有細胞凋亡(apoptosis)，細胞壞死(necrosis)及自我吞噬(autophagy)[22]。其中又以細胞凋亡最為普遍。進行細胞凋亡的細胞特徵為 genomic DNA 呈現階梯化斷裂，指標性酵素羣 caspase 活性上升，而且調控性蛋白 Bcl-2 表現量會下降[23, 24]。自我吞噬最近也被發現是造成癌細胞死亡的重要機轉，進行自我吞噬的細胞往往在細胞質出現許多微濾泡，且指標性蛋白 LC3-II 的含量會增加，而調控性蛋白 Beclin 的表現量會上升 [25, 26]。

除了直接作用於癌細胞的藥物外，癌症免疫療法，也就是藉由活化免疫系統來抑制癌細胞，近年來亦逐漸受到重視。癌症免疫療法的策略很多，其中經由活化 Toll-like receptor (TLR)進而活化初體免疫及後天免疫已有不少成功的例子。像是臨床上使用的抗癌藥 BCG 及 OK-432 在膀胱癌及頭頸部癌都被證實具有抗癌免疫活性，且此活性與 TLR4 之作用相關[27, 28]。與抗癌免疫性有高度關連性之免疫細胞包含殺手細胞、巨噬細胞、CD8⁺ T 細胞及樹突細胞。前三者具有毒殺腫瘤細胞的作用，樹突細胞則是主要的抗原呈現細胞，有助於後天性免疫系統之啟動[28, 29]。Th1 細胞激素(TNF- α , IL-12, IFN- γ)之產生與宿主抗癌免疫性之誘發亦有高度關連性[30, 31]。具有

抗癌作用的靈芝及雲芝分別被發現可藉由 TLR2 及 TLR4 途徑而活化抗癌免疫活性[32, 33]。

近年來的證據顯示許多抗癌藥物的作用機轉是多重的。例如過去一些原被認為只是單純毒殺癌細胞的藥物，最近被發現可導致死亡之癌細胞釋放 alarmin 蛋白質羣，進而活化免疫系統以增進抑癌效果[34, 35]。所以目前認為結合化療與免疫療法應可強化抑癌效果。事實上，越來越多癌症研究者認為複合式療法是有臨床發展潛力的。以乳癌治療為例，化療及免疫療法並用有協同作用[36-38]。中醫藥的治療原則中，以「君、臣、佐、使」的指導原則，加上藥物歸經、性味的不同，搭配出對證治療的藥方，即是複合式療法的概念。以本計畫所研究之加味六君子湯為例，其扶正的治療效用，臨床觀察上發現，能緩解癌症正規治療引起的許多毒副作用，而此複方在研究上發現內含許多抗癌及免疫調節的成份，因此，推測此複方的抗癌活性極可能具有多重作用機轉，以扶正、祛邪兩種概念來輔助正規癌症治療。目前以加味六君子湯複方形式探討其抗癌效果的報導十分有限，關於此複方在腫瘤動物模式中的抗癌效果及作用機轉亦尚未有相關文獻發表，加味六君子湯在抗癌應用上的發展潛力仍需要進行更多研究進一步探討。

中草藥雖然已有數千年之使用經驗，但其藥效卻普遍缺乏實驗證據支持，療效參差不齊，於癌症的療效及輔助應用需求上，卻與日俱增。實證醫學是一種以科學方法，嚴格驗證藥物之作用，經過反覆的研究分析來確定藥物之效用。因此為落實中草藥為現代醫療體系的一環，以科學方法驗證中草藥之療效，是一重要課題。本研究以數個腫瘤小鼠模式系統，探討加味六君子湯抑癌之療效和作用機轉，同時驗證此藥物發展為癌症治療佐劑之可能性。

貳、材料與方法

一、加味六君子湯的製備方法

將加味六君子湯所含之藥材黨參、白朮、茯苓、黃耆、藿香、女貞子、甘草之水萃取液，依重量比例 2:2:2:2:2:1:1 秤取後混合，以無菌之二次水萃取 30 分鐘，冷卻後置於零下 20 度保存。本研究所使用之藥材，由民間藥廠提供。藥材基源鑑定及品質檢定(微生物試驗及重金屬檢測)均附有相關之檢驗報告。

二、細胞株及實驗動物

膀胱癌細胞 MBT-2 由陽明大學黃麗華老師提供，肺癌細胞 LLC1 來源為 ATCC (美國細胞株中心)，培養方式參考已發表之文獻[38, 39]。實驗動物為裸鼠、C57BL/6 小鼠及 C3H/HeN 小鼠(均使用公鼠)，購自國家實驗動物中心。

三、小鼠腫瘤模式之建立

以皮下注射方式將癌細胞(10^6)植入小鼠背部後，待腫瘤長至 100~150 mm^3 後進行藥物實驗。針對原生性小鼠(syngeneic mice)腫瘤模式，考量細胞及小鼠必須為相同品系，所以將膀胱癌細胞 MBT-2 植入 C3H/HeN 小鼠，肺癌細胞 LLC1 則植入 C57BL/6 小鼠。此外，將 MBT-2 植入裸鼠背部以觀察免疫系統不全情況下藥物對腫瘤生長的影響。本計畫動物實驗內容已通過『陽明大學實驗動物照護及使用委員會』審查(同意書編號 1001246)。

四、腫瘤小鼠之藥物處理流程

(一)單獨處理加味六君子湯：

腫瘤小鼠隨機分成三組，口服方式灌食加味六君子湯或無菌水(對照組)，每天一次，連續 14 天。另以具有抗癌免疫療效的臨床抗癌藥物 OK-432 作為正對照組(腹腔注射，兩天一次，計 6 次)。給藥期間，定期測量小鼠的腫瘤大小、體重與存活率。最後一次給藥後間隔 24 小時即收集組織、血清等樣品進行分析。

(二)加味六君子湯與doxorubicin並用：

腫瘤小鼠隨機分成兩組，尾靜脈注射 doxorubicin (1.5 mg/kg, i.v)或藥物的溶媒(每 7 天注射一次，共計注射 2 次)。投藥或溶媒治療的小鼠進一步分成二組，並且以口服方式餵食加味六君子湯或無菌水(對照組)，每天一次，持續 14 天。定期測量小鼠的腫瘤大小、體重與存活率。最後一次給藥後間隔 24 小時即收集組織、

血清等樣品進行分析。

五、療效評估及機轉探討

(一)探討加味六君子湯抑制膀胱癌小鼠腫瘤的作用機轉

1. 利用原生性小鼠膀胱癌模式探討加味六君子湯之抑癌效果是否與活化免疫系統有關：如果免疫系統與藥物抑癌作用有關，腫瘤區域應能偵測到免疫細胞活化及抗癌相關細胞激素及趨化素的增加。此部分之詳細實驗流程參考本實驗室最近發表之文獻 [39]。

(1) 偵測灌食加味六君子湯之腫瘤小鼠其腫瘤區域是否有腫瘤浸潤白血球的聚集：小鼠依據上述之實驗流程接受藥物處理後犧牲，將腫瘤部分切下以福馬林固定，石蠟包埋切片後進行組織染色(*H&E stain*)。染色後之白血球因大小及形態與腫瘤細胞有極大差別，故能初步判斷腫瘤區域是否有浸潤白血球的累積。

(2) 偵測灌食加味六君子湯之腫瘤小鼠其腫瘤區域是否有抗癌相關細胞激素($\text{TNF-}\alpha$, IL-12 , $\text{IFN-}\gamma$)之產生：過去對癌症免疫療法的研究發現 Th1 細胞激素($\text{TNF-}\alpha$, IL-12 , $\text{IFN-}\gamma$)之產生與宿主抗癌免疫性之誘發有高度關連性[30, 31]。將小鼠犧牲後，取出腫瘤，在研鉢中以液態氮將腫瘤組織搗碎，加入萃取緩衝液與腫瘤組織混合後作用 20 分鐘後，收取上清液並定量上清液內蛋白質的濃度。取總蛋白質含量為 $500\mu\text{g}$ 的腫瘤組織抽取液以酵素免疫分析法(ELISA)偵測其中各種細胞激素($\text{TNF-}\alpha$, $\text{IFN-}\gamma$, IL-12 , IL-2)的表現情形。

(3) 偵測灌食加味六君子湯之腫瘤小鼠，其腫瘤區域是否有抗癌相關趨化素(CXCL9 and CXCL10)之產生：趨化素主要作用為吸引白血球細胞之移動，過去對癌症免疫療法的研究發現，數個趨化素(CXCL9 and CXCL10)的產生有助於增進腫瘤區域之浸潤白血球的累積。進而增進抗癌免疫性[40, 41]。我們使用定量反轉錄聚合酶鏈鎖反應 (quantitative reverse transcription PCR, qRT-PCR)來偵測這兩種趨化素。小鼠犧牲後，將腫瘤取出在研鉢中以液態氮將腫瘤組織搗碎，溶於 TRIZOL 後進行 RNA 抽取，經反轉錄酶作用後合成 cDNA 後，進行定量即時聚合酶鏈鎖反應(qRT-PCR)。

詳細過程及所使用的引子序列均參考本實驗室最近發表之文獻[39]。

(4) 探討灌食加味六君子湯之腫瘤小鼠，其腫瘤區域聚集的免疫細胞活化情形(殺手細胞、巨噬細胞、樹突細胞、CD8⁺ T細胞)：與抗癌免疫性有高度關連性之免疫細胞包含殺手細胞、巨噬細胞、CD8⁺ T細胞及樹突細胞。前三者具有毒殺腫瘤細胞的作用，樹突細胞則是主要的抗原呈現細胞，有助於後天性免疫系統之啟動[28, 29]。我們以定量反轉錄聚合酶鏈鎖反應，偵測腫瘤組織中這些細胞特有之標誌基因(CD11b, CD11c, CD4, CD8)的表現情形，確認何種免疫細胞與加味六君子湯之抗癌免疫性有關。

2. 探討加味六君子湯之抑癌效果是否是經由直接影響癌細胞，分項研究目標如下：

(1) 加味六君子湯對免疫缺失之腫瘤小鼠的腫瘤生長是否有抑制作用：將膀胱癌細胞皮下注射至免疫缺失小鼠背上，定期量測腫瘤大小及生長。排除了免疫系統的考量，本實驗可測試藥物本身對腫瘤細胞的作用情形。

(2) 探討加味六君子湯對膀胱癌細胞是否有毒殺作用或抑制癌細胞生長：以 TUNEL assay 檢測腫瘤區域是否有細胞凋亡(apoptosis)。另外，腫瘤組織切片也會進一步以免疫組織染色法偵測細胞增生標記蛋白(proliferation marker) Ki 67 的表現情形，驗證藥物是否可抑制癌細胞生長。

3. 探討加味六君子湯對不同處理之膀胱癌腫瘤小鼠的體重、血液生化指標及血球細胞數的影響。為評估各種治療方式對小鼠的副作用，小鼠在接受各種上述治療之後，抽取小鼠血液並分離出血清，委由中研院基因突變鼠核心實驗室以全自動生化分析儀(Roche Integra 400 plus)分析檢體中 ALT、AST、Creatinine、BUN 等血液生化指標。另抽取小鼠血液，委由中研院基因突變鼠核心實驗室以 Cell Dyn 3700 血液學分析儀分析檢體中 RBC(紅血球)、WBC(白血球)、PLT(血小板)等血球數量。

(二) 評估加味六君子湯在肺癌小鼠動物模式中的抑癌效果

肺癌是台灣臨床上常見的癌症，致死率極高。加味六君子湯對肺癌是否也有抑制作用，是非常值得探討的主題。

1. 探討加味六君子湯對肺癌腫瘤小鼠中腫瘤生長的影響：如前述流程將肺癌細胞 LLC1 植入 C57BL/6 小鼠，建立肺癌腫瘤小鼠模型。實驗步驟及腫瘤小鼠之藥物處理流程如上述。
2. 探討加味六君子湯對肺癌小鼠腫瘤抑制的作用機轉：腫瘤組織切片以上述之 H&E staining、TUNEL assay 及 Ki67 免疫組織染色等不同方法分析藥物效果是否可增加浸潤白血球的聚集、增進細胞凋亡或抑制癌細胞生長。
3. 探討加味六君子湯對不同處理之肺癌腫瘤小鼠的體重、血液生化指標及血球細胞數的影響。小鼠在接受各種治療之後，抽取小鼠血液並分離出血清，委由中研院基因突變鼠核心實驗室以上述方法分析檢體中 ALT、AST、CREATININE、BUN 等血液生化指標及分析檢體中 RBC(紅血球)、WBC(白血球)、PLT(血小板)等血球之數量。

(三) 測試加味六君子湯和化療並用後可否增強化療效果並降低化療所誘發之毒性

我們將以肺癌小鼠動物模式測試加味六君子湯與 doxorubicin 並用的效果，及對化療所引起的毒性是否有改善效果。

1. 探討加味六君子湯對不同處理(化療、加味六君子湯或兩者並用)之腫瘤小鼠的腫瘤生長的影響及作用機轉：肺癌小鼠動物模式建立方法如上述，待腫瘤長至 100-150mm³ 後，隨機分成兩組並以尾靜脈注射 doxorubicin (1.5 mg/kg, i.v) 或藥物的溶媒 (每 7 天注射一次，共計注射 2 次)。投藥或溶媒治療的小鼠進一步分成二組，口服餵食加味六君子湯或無菌水(對照組)，每天一次，持續 14 天。定期測量小鼠的腫瘤大小、體重與存活率。
2. 為評估合併使用的抑癌作用機轉，腫瘤組織切片以上述之 H&E staining, TUNEL assay 及 Ki67 免疫組織染色等不同方法評估不同處理方式下浸潤白血球的聚集、細胞凋亡或腫瘤細胞生長是否受到影響。
3. 探討加味六君子湯對不同處理(化療、加味六君子湯或兩者並用)之腫瘤小鼠的體重、血液生化指標及血球細胞數的影響。為評估各種治療方式對小鼠的副作用，小鼠在接受各種治療

之後，抽取小鼠血液並分離出血清，委由中研院基因突變鼠核心實驗室以上述方法分析檢體中 ALT、AST、CREATININE、BUN 等血液生化指標及分析檢體中 RBC(紅血球)、WBC(白血球)、PLT(血小板)等血球之數量。

六、統計方法

實驗所得數值皆以平均值±標準誤呈現。統計之比較方法採用單因子變異數分析(one-way ANOVA)之統計方法，變異數同質性檢定 >0.05 時，事後檢定採用 LSD，變異數同質性檢定 <0.05 時，事後檢定採用 Games-Howell， p 值 <0.05 視為達到統計上的顯著差異。IHC-Ki67 及 mRNA 之統計分析採用 Mann-Whitney Test 之統計方法， p 值 <0.05 視為達到統計上的顯著差異。

參、結果

加味六君子湯之各單方藥材，皆委由民間製藥廠提供單方水萃之無菌濃縮液，並進行相關之基原鑑定、農藥、重金屬、有效成份之檢定，附有報告，其藥材基原鑑定及使用比例如[表一]所示。

在實驗進行之前，須先測試加味六君子湯的劑量，並評估其劑量效應。在小規模的測試中，中低劑量 750mg/kg b.w 之療效與中高劑量 1000mg/kg b.w 相似[圖一]，因臨床建議用量換算小鼠之相對應使用劑量為 1500mg/kg b.w，而 1500mg/kg b.w 使用 7 天後發現在血清生化指標(肝腎功能)上有較大毒性，故不予採用[圖一]。選用中高劑量 1000mg/kg b.w，接近臨床用量較具有參考價值，且沒有明顯毒性，並有明顯抑癌療效，符合實驗需求。故以下所有實驗皆給予 1000mg/kg b.w 之劑量。

經連續 14 天灌食 1000mg/kg b.w 的加味六君子湯之後，定期量測腫瘤大小並記錄腫瘤大小。結果顯示加味六君子湯無論在膀胱癌-同源小鼠模型、膀胱癌-免疫缺失小鼠模型、肺癌-同源小鼠模型中，皆能減緩腫瘤生長，達統計上的顯著差異($p < 0.05$)。加味六君子湯在本實驗條件中，確有抑癌之能力。[圖二]由於在膀胱癌-免疫缺失小鼠模型中，加味六君子湯亦能減緩腫瘤生長，顯示加味六君子湯的抑癌能力，部分是透過直接影響癌細胞的生長或促進癌細胞死亡之機轉達成。

為了偵測加味六君子湯的抑癌作用是否與免疫活化有關，我們將小鼠的腫瘤組織取下，抽取蛋白質定量後，量測 1mg 總蛋白中各種細胞激素的含量。於膀胱癌-同源小鼠中，加味六君子湯處理之小鼠在腫瘤區域，皆未見抗癌相關之細胞激素(TNF- α 、IFN- γ 、IL-2、IL-12)含量有顯著增加，而正對照組 OK-432 處理之小鼠在腫瘤區域相關之細胞激素(IFN- γ 、IL12)則有明顯上升的情形[圖三，A]。於肺癌-同源小鼠模型腫瘤區域，皆未見抗癌相關之細胞激素含量有顯著增加[圖三，C]。另於膀胱癌-同源小鼠模型中，取小鼠之脾臟，磨細過篩後，以緩衝液去除紅血球，並分離出脾臟免疫細胞，體外培養 72 小時後，收取培養液後量測培養液中由脾臟免疫細胞分泌至培養液中的各種細胞激素含量。結果發現，加味六君子湯處理之小鼠其脾臟免疫細胞並未分泌較多抗癌相關的細胞激素[圖三，B]。上述結果顯示加味六君子湯處理之小鼠整體性的免疫活性並未提升。

在膀胱癌-同源小鼠、肺癌-同源小鼠模型中，腫瘤組織取下並經處理後，進行定量反轉錄聚合酶鏈鎖反應(qPCR)，偵測抗癌相關的免疫細胞(輔助性

T cell、毒殺性 T cell、巨噬細胞、樹突細胞)表面抗原基因的表現量，以瞭解在腫瘤區域免疫細胞聚集及活化的情形。結果顯示，加味六君子湯處理之小鼠其腫瘤區域並未有明顯免疫細胞聚集之情形，而正對照組 OK-432 處理之小鼠在腫瘤區域免疫細胞(毒殺性 T cell、巨噬細胞、樹突細胞、自然殺手細胞)則有明顯上升的情形[圖四]。

膀胱癌-同源小鼠模型中，將腫瘤組織取下並經處理後，作組織切片及 H&E 染色，觀察腫瘤區域癌細胞形態及免疫細胞浸潤的情形，結果顯示，對照組的腫瘤組織，有較明顯壞死區域，推測腫瘤過大造成腫瘤內側之細胞因缺氧而有壞死現象，而加味六君子湯與正對照組壞死區域則較不明顯。相對於 OK-432，加味六君子湯處理之小鼠腫瘤區域並未觀察到有明顯的免疫細胞浸潤情形[圖五]。肺癌-同源小鼠模型中，對照組亦有相同之壞死情況，而藥物治療各組別，壞死區域較少。此外，藥物治療之各組別亦未見明顯之免疫細胞浸潤情形[圖五]。

由於膀胱癌-免疫缺失小鼠模型中，加味六君子湯治療後，膀胱癌細胞生長受到抑制[圖二，B]，顯示其抑癌機轉部分來自於抑制癌細胞的生長或是促進癌細胞死亡。為探討該部分之機轉，以免疫組織染色法偵測腫瘤組織切片中，細胞生長指標因子 Ki67 的表現情形，Ki67 存在於細胞核內，是細胞增殖的標誌蛋白，在細胞週期處於 G₁、S、G₂/M 時，皆可大量表現，細胞處於靜止期(G₀)則不表現此蛋白。結果顯示，對照組癌細胞大量表現 Ki67，顯示多數細胞正在進行增殖的細胞週期，加味六君子湯治療組則明顯減少許多，達統計上的顯著差異[圖六]。

此外，在膀胱癌-免疫缺失小鼠模型中，以 TUNEL assay 方法偵測腫瘤組織切片中的凋亡細胞(發綠色螢光)，並另以一螢光染料 DAPI 標定細胞核(發藍色螢光)，計算所有細胞中，凋亡細胞的比例。另以 Western blot 偵測凋亡相關蛋白 caspase 3 活化情形結果顯示。加味六君子湯治療後，並未見腫瘤細胞有明顯的細胞凋亡情形[圖七、圖八]。

於膀胱癌同源小鼠模型中，連續給予 14 天 1000mg/kg 加味六君子湯，評估其體重、肝功能、腎功能、全血球計數，以瞭解加味六君子湯是否會引起相關的毒性。結果顯示，小鼠體重未下降；肝腎功能與對照組相比，未明顯上升，顯示其沒有引起肝腎毒性[圖九]；全血球計數結果顯示，與正常小鼠得到的參考值相比，腫瘤小鼠之白血球數量增加，但治療組與對照組之間並無差異。腫瘤小鼠的紅血球、血小板數量與正常小鼠相比，有下降趨勢，但各組之間亦無達統計上的顯著差異[表二]。

於肺癌同源小鼠模型中，連續給予 14 天 1000mg/kg 加味六君子湯，評估其體重、肝功能、腎功能、全血球計數，以瞭解加味六君子湯是否會引起相關的毒性，並觀察中西藥併用是否會引起毒副作用。結果顯示，各組小鼠體重未下降；肝腎功能與對照組相比，未明顯上升，顯示其沒有引起肝腎毒性[圖十]；全血球計數結果顯示，與正常小鼠得到的參考值相比，腫瘤小鼠之白血球數量增加，但治療組與對照組之間並無差異。腫瘤小鼠的紅血球、血小板數量與正常小鼠相比，有下降趨勢，但各組之間亦無差異[表三]。另外，為評估加味六君子湯與化療藥物併用後，是否能緩解化療藥物引起的骨髓抑制副作用，故抽取股骨中之骨髓細胞(Bone marrow cells)進行計數，結果顯示，化療藥物組之骨髓細胞數量相較其他組別略有下降，而併用加味六君子湯與化療藥之組別，骨髓細胞數量略有回升，但各組之間未達統計上之顯著差異[表三]。

於膀胱癌-免疫缺失小鼠模型中，連續給予 14 天 1000mg/kg 加味六君子湯，評估其體重、肝功能(AST、ALT)、腎功能(BUN、CREATININE)，以瞭解加味六君子湯是否會引起相關的毒性。結果顯示，小鼠體重未下降；肝腎功能與對照組相比，未明顯上升，顯示其沒有引起肝腎毒性[圖十一]。

本計畫於評估中西藥併用之前，已先於 C3H/HeN 老鼠做小型測試，以決定在本實驗系統中可用的 doxorubicin 濃度。Doxorubicin 以 2 mg/kg、3 mg/kg、4 mg/kg 的濃度，每週靜脈注射一次，記錄其腫瘤大小。初步結果發現，於 3 mg/kg、4 mg/kg 的濃度下，一週後腫瘤縮小至不可量測的大小，且老鼠活動力明顯下降，而 2 mg/kg 的濃度下，老鼠活動力稍差，且給予 2 次靜脈注射後，腫瘤縮小至不可量測的大小[圖十二]。因此，於肺癌-同源小鼠的模型中，採用 1.5 mg/kg 的濃度，作為 doxorubicin 之有效濃度，以利於實驗後續分析之需求。

此外，肺癌同源小鼠之中藥投藥方式與膀胱癌同源小鼠一樣，皆是每天灌食中藥萃取液給予老鼠食用。劑量決定乃依據膀胱癌同源小鼠模型之劑量(1000mg/kg)，經測試後此劑量有其療效及無毒性反應，故沿用該劑量。

肆、討論

綜合以上結果，在膀胱癌-同源小鼠模型、膀胱癌-免疫缺失小鼠模型中，加味六君子湯治療後，腫瘤有減緩生長的趨勢。而在探討加味六君子湯免疫調節一系列的實驗中，加味六君子湯處理後腫瘤組織中與抗癌免疫性相關的免疫細胞或細胞激素，都無顯著增加。此外，在膀胱癌-免疫缺失小鼠模型中，加味六君子湯亦能緩腫瘤生長，顯示加味六君子湯的抑癌能力主要是透過對癌細胞直接抑制作用。免疫組織染色實驗中，經由生長指標因子 Ki67 的表現情形顯示，加味六君子湯能減緩腫瘤細胞生長，達到顯著差異；另 TUNEL assay 及活化態 caspase 3 表現量之結果顯示，加味六君子湯治療後，未見明顯細胞凋亡的情形。綜合上述結果，我們得知，在這個模型及實驗設計中，加味六君子湯能抑制腫瘤生長，主要是透過抑制腫瘤細胞的增殖而達成。

在肺癌-同源小鼠模型中，加味六君子湯治療後，腫瘤亦有減緩生長的情形，達到統計上的顯著差異，中西藥併用後，腫瘤生長的情形類似西藥組的結果，未因中藥加入後有更明顯的抑制。偵測免疫活性的系列實驗中，各組之間亦未有顯著差異。為評估加味六君子湯與化療藥物併用後，是否能緩解化療藥物引起的骨髓抑制副作用，故抽取股骨中之骨髓細胞(bone marrow cells)作計數，結果顯示，化療藥物組之骨髓細胞數量相較其他組別略有下降，而併用加味六君子湯與化療藥之組別，骨髓細胞數量略有回升，但各組之間未達統計上之顯著差異。由於本系統所使用之西藥的劑量屬於中低劑量，因此，西藥組未見明顯的毒副作用(肝、腎功能上升或骨髓抑制)，中西藥併用後，亦無明顯的毒副作用。此外，中西藥併用的結果，亦未能更有效抑制腫瘤生長。中西藥併用在此系統下顯示，是安全的，但療效並不明顯。未來於中西藥併用的前提下，可再謹慎評估 Doxorubicin 之劑量，以提供合理之系統來探討中西藥併用之效應。此外，本系統僅對於腫瘤生長及各種安全性之協同作用進行觀察與評估，並未對於藥物滯留體內引起的交互作用之中長期影響進行探討，此部份之評估有待後續實驗進行更深入的探討。

針對加味六君子湯在膀胱癌-同源小鼠模式及是肺癌-同源小鼠模式中之腫瘤之抑制效果進行比較，根據腫瘤生長曲線圖[圖二]，中藥治療組相對於對照組之生長速率，在相同濃度下，加味六君子湯對於膀胱癌之抑制效果較佳。MBT-2 細胞株相對於 LLC-1 細胞株而言，屬於惡性度較低、轉移

能力較差的癌細胞，因此，實驗結果亦屬合理。

本實驗之腫瘤小鼠模型，是將腫瘤細胞注入背部皮下，此異位性腫瘤與原位(肺部或膀胱)腫瘤模式不同。異位移植模式是指癌細胞移植到動物體內的位置，並不是原來癌症發生的位置。異位移植模式於剛開始進行動物實驗時，有容易觀察其療效之優點；原位移植模式則是將癌細胞移植到原來動物體內癌症發生的位置，較能模擬癌症發生的進程及微環境，而缺點是不容易建立動物模型及不容易觀察腫瘤的生長情形。在初步建立本實驗所需之三種動物模型時，異位性移植模式提供了一個相對簡單及直接的觀察模式來評估加味六君子湯應用於抑癌的可行性。因此，本實驗設計採取異位性腫瘤之模式進行實驗。原位移植模式，其優點是發生癌化的部位及微環境與人類癌症發生的情形相近，未來若要更深入研究探討加味六君子湯抑癌的應用性及機轉時，實應考慮使用原位腫瘤模式進行實驗。

伍、結論與建議

加味六君子湯是臨床常用中藥，在中醫治則中，能理氣健脾、燥濕化痰、滋腎養陰，應用於癌症正規治療後的患者身上，主要是用以減緩癌症治療的毒副作用，改善其生活品質，然而，補益類中藥對於腫瘤本身的影響，卻亟需以實證的研究去證實。在過去的研究中，加味六君子湯的各單味草藥，都有相關的免疫調節或是抑癌、抗癌能力，在此，我們以中醫複方的概念加以組合，並證實在三種小鼠模型中，加味六君子湯都有抑癌的效果，且主要是經由直接抑制癌細胞的增殖能力而達成。安全性的評估上，加味六君子湯的使用在該系統中是安全無虞的。本研究中，中西藥併用未能更有效減緩腫瘤生長，但也不會讓腫瘤增大。在安全性方面，中西藥併用亦無引發毒副反應。因此，中西藥併用是可行的。

本計畫之設計，欲探討加味六君子湯是否有抑癌效果及其可能機轉，以及合併化療藥物使用後之效應。在之前的文獻中，加味六君子湯中的部份藥材及其成份，在臨床前試驗的藥理學研究中曾被證實具有抗癌及免疫調節的功能(請參考第 8 頁)，但複方形式之抑癌效果或免疫調節效果並未見討論，因此，本計畫以複方之形式，探討加味六君子湯的抑癌療效。機轉探討方面，主要是探討其抑癌效果是透過活化免疫系統或是直接抑制癌細胞而達到抑癌療效。故實驗設計以有免疫力之小鼠模型以及沒有免疫力之小鼠模型，並配合免疫相關細胞及細胞激素之偵測，以了解是否有免疫系統的活化及參與之機轉。結果顯示加味六君子湯並未活化免疫系統。而不論是膀胱癌或肺癌模式系統，在免疫力缺失之小鼠中腫瘤生長都受到抑制，也佐證了加味六君子湯抑癌的機轉並非經由免疫系統調節，而是直接抑制癌細胞生長或是毒殺癌細胞而造成。此外，在分子機轉層面，偵測癌細胞增生的蛋白分子標誌 Ki67，進一步證實加味六君子湯可抑制癌細胞生長，至於加味六君子湯對癌細胞的細胞週期及其相關調控蛋白質羣的影響，則有待進一步的探討。至於加味六君子湯是否能毒殺癌細胞，在幾種細胞死亡的途徑中，本計畫已先探討細胞凋亡的可能性，在細胞凋亡的實驗中，以 TUNEL assay 偵測組織切片之凋亡細胞，發現各組間並無顯著差異，此外，另以 Western blot 偵測腫瘤組織之細胞凋亡相關的蛋白標誌 caspase-3 活化情形(圖八)，結果與 TUNEL assay 一致，這些結果顯示，加味六君子湯並未透過誘發癌細胞之細胞凋亡現象而導致癌細胞死亡。至於加味六君子湯是否可造成其他形式之細胞死亡(例如 autophagy)，則有待更進一步的系列

實驗來探討。

本研究計畫已發表研討會壁報論文 1 篇(台灣天然物化學研究生研討會，2012 年)，預計再發表研討會壁報論文 1 篇(第 21 屆細胞與分子生物新知研討會，2013 年)，及投稿發表 SCI 論文 1 篇。此計畫培育相關生物科技人才共 4 人，皆已列入研究人員之名單中，研究人員參與了動物模型之建立、動物實驗之進行、分生及組織染色相關實驗、研究設計與問題討論，皆達到人才培育之標準及目的。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP101-RD-016 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. 行政院衛生署：公共衛生年報 98 年版。台北：行政院衛生署；2009。
2. Liao HL, Ma TC, Chiu YL, Chen JT, Chang YS: Factors influencing the purchasing behavior of TCM outpatients in Taiwan. *J Altern Complement Med* 2008, 14(6):741-748.
3. Zhang M, Liu X, Li J, He L, Tripathy D: Chinese medicinal herbs to treat the side-effects of chemotherapy in breast cancer patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2007(2):CD004921.
4. 袁曉暉：六君子湯治療化療致白細胞減少的療效分析。 *中國醫藥導報* 2008, 5(34):61-62.
5. 黃敏雯, 洪裕強：中醫六君子湯加味治療肺癌化療術後病例報告。 *台灣中醫科學雜誌* 2009, 4(1):44-53.
6. 謝慶良, 郭世芳, 張光遠, 呂瑾立：癌症患者氣虛、血瘀辯證之研究。 *台灣醫誌* 2007, 12:109-116.
7. 陳貴廷, 楊思澍： *實用中西醫結合診斷治療學* 中國醫藥科技；1991。
8. 林孟志：六君子湯對於非小細胞肺癌病人以化學治療後其免疫調控基因組表現及臨床預後之影響 (Genomic Expressions and Outcomes in non Small Cell Lung Cancer Patients Treated with Combinations of Liu Jun Zi Tang and Chemotherapy). *中醫藥年報* 2010:299-318.
9. Chang HH, Yeh CH, Sheu F: A novel immunomodulatory protein from *Poria cocos* induces Toll-like receptor 4-dependent activation within mouse peritoneal macrophages. *J Agric Food Chem* 2009, 57(14):6129-6139.
10. Spelman K, Burns J, Nichols D, Winters N, Ottersberg S, Tenborg M: Modulation of cytokine expression by traditional medicines: a review of herbal immunomodulators. *Altern Med Rev* 2006, 11(2):128-150.
11. Chen X, Zhang L, Cheung PC: Immunopotential and anti-tumor activity of carboxymethylated-sulfated beta-(1-->3)-d-glucan from *Poria cocos*. *Int Immunopharmacol*, 10(4):398-405.
12. Kurashige S, Akuzawa Y, Endo F: Effects of astragali radix extract on carcinogenesis, cytokine production, and cytotoxicity in mice treated with a carcinogen, N-butyl-N'-butanolnitrosoamine. *Cancer Invest* 1999, 17(1):30-35.

13. Li J, Bao Y, Lam W, Li W, Lu F, Zhu X, Liu J, Wang H: Immunoregulatory and anti-tumor effects of polysaccharopeptide and Astragalus polysaccharides on tumor-bearing mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2008, 30(4):771-782.
14. Lin J, Dong HF, Oppenheim JJ, Howard OM: Effects of astragali radix on the growth of different cancer cell lines. *World J Gastroenterol* 2003, 9(4):670-673.
15. An HJ, Jeong HJ, Um JY, Park YJ, Park RK, Kim EC, Na HJ, Shin TY, Kim HM, Hong SH: Fructus Ligustrum lucidi inhibits inflammatory mediator release through inhibition of nuclear factor-kappaB in mouse peritoneal macrophages. *J Pharm Pharmacol* 2007, 59(9):1279-1285.
16. Jeong JC, Kim JW, Kwon CH, Kim TH, Kim YK: Fructus ligustri lucidi extracts induce human glioma cell death through regulation of Akt/mTOR pathway in vitro and reduce glioma tumor growth in U87MG xenograft mouse model. *Phytother Res*, 25(3):429-434.
17. Zhang JF, He ML, Qi D, Xie WD, Chen YC, Lin MC, Leung PC, Zhang YO, Kung HF: Aqueous extracts of Fructus Ligustri Lucidi enhance the sensitivity of human colorectal carcinoma DLD-1 cells to doxorubicin-induced apoptosis via Tbx3 suppression. *Integr Cancer Ther* 2010, 10(1):85-91.
18. Sun YX: Immunological adjuvant effect of a water-soluble polysaccharide, CPP, from the roots of *Codonopsis pilosula* on the immune responses to ovalbumin in mice. *Chem Biodivers* 2009, 6(6):890-896.
19. Yongxu S, Jicheng L: Structural characterization of a water-soluble polysaccharide from the roots of *Codonopsis pilosula* and its immunity activity. *Int J Biol Macromol* 2008, 43(3):279-282.
20. Kang TH, Bang JY, Kim MH, Kang IC, Kim HM, Jeong HJ: Atractylenolide III, a sesquiterpenoid, induces apoptosis in human lung carcinoma A549 cells via mitochondria-mediated death pathway. *Food Chem Toxicol* 2011, 49(2):514-519.
21. Ye Y, Wang H, Chu JH, Chou GX, Chen SB, Mo H, Fong WF, Yu ZL: Atractylenolide II induces G1 cell-cycle arrest and apoptosis in B16 melanoma cells. *J Ethnopharmacol* 2011, 136(1):279-282.

22. Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, Abrams J, Alnemri ES, Baehrecke EH, Blagosklonny MV, El-Deiry WS, Golstein P, Green DR *et al*: Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell Death Differ* 2009, 16(1):3-11.
23. Sprick MR, Walczak H: The interplay between the Bcl-2 family and death receptor-mediated apoptosis. *Biochim Biophys Acta* 2004, 1644(2-3):125-132.
24. Kerr JF, Winterford CM, Harmon BV: Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer* 1994, 73(8):2013-2026.
25. He C, Klionsky DJ: Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu Rev Genet* 2009, 43:67-93.
26. Meijer AJ, Codogno P: Regulation and role of autophagy in mammalian cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2004, 36(12):2445-2462.
27. Akazawa T, Masuda H, Saeki Y, Matsumoto M, Takeda K, Tsujimura K, Kuzushima K, Takahashi T, Azuma I, Akira S *et al*: Adjuvant-mediated tumor regression and tumor-specific cytotoxic response are impaired in MyD88-deficient mice. *Cancer Res* 2004, 64(2):757-764.
28. Okamoto M, Oshikawa T, Tano T, Ohe G, Furuichi S, Nishikawa H, Ahmed SU, Akashi S, Miyake K, Takeuchi O *et al*: Involvement of Toll-like receptor 4 signaling in interferon-gamma production and antitumor effect by streptococcal agent OK-432. *J Natl Cancer Inst* 2003, 95(4):316-326.
29. D'Agostini C, Pica F, Febbraro G, Grelli S, Chiavaroli C, Garaci E: Antitumor effect of OM-174 and cyclophosphamide on murine B16 melanoma in different experimental conditions. *Int Immunopharmacol* 2005, 5(7-8):1205-1212.
30. Lee CF, Chang SY, Hsieh DS, Yu DS: Treatment of bladder carcinomas using recombinant BCG DNA vaccines and electroporative gene immunotherapy. *Cancer Gene Ther* 2004, 11(3):194-207.
31. Lee CH, Wu CL, Shiau AL: Toll-like receptor 4 mediates an antitumor host response induced by *Salmonella choleraesuis*. *Clin Cancer Res* 2008, 14(6):1905-1912.
32. Hsu HY, Hua KF, Lin CC, Lin CH, Hsu J, Wong CH: Extract of Reishi polysaccharides induces cytokine expression via TLR4-modulated protein

- kinase signaling pathways. *J Immunol* 2004, 173(10):5989-5999.
33. Lu H, Yang Y, Gad E, Wenner CA, Chang A, Larson ER, Dang Y, Martzen M, Standish LJ, Disis ML: Polysaccharide krestin is a novel TLR2 agonist that mediates inhibition of tumor growth via stimulation of CD8 T cells and NK cells. *Clin Cancer Res* 2011, 17(1):67-76.
 34. Zitvogel L, Apetoh L, Ghiringhelli F, Kroemer G: Immunological aspects of cancer chemotherapy. *Nat Rev Immunol* 2008, 8(1):59-73.
 35. Menard C, Martin F, Apetoh L, Bouyer F, Ghiringhelli F: Cancer chemotherapy: not only a direct cytotoxic effect, but also an adjuvant for antitumor immunity. *Cancer Immunol Immunother* 2008, 57(11):1579-1587.
 36. Morse MA, Wei J, Hartman Z, Xia W, Ren XR, Lei G, Barry WT, Osada T, Hobeika AC, Peplinski S *et al*: Synergism from combined immunologic and pharmacologic inhibition of HER2 in vivo. *Int J Cancer* 2010, 126(12):2893-2903.
 37. Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, Criollo A, Ortiz C, Lidereau R, Mariette C, Chaput N, Mira JP, Delaloge S *et al*: The interaction between HMGB1 and TLR4 dictates the outcome of anticancer chemotherapy and radiotherapy. *Immunol Rev* 2007, 220:47-59.
 38. Chen L, Huang TG, Meseck M, Mandeli J, Fallon J, Woo SL: Rejection of metastatic 4T1 breast cancer by attenuation of Treg cells in combination with immune stimulation. *Mol Ther* 2007, 15(12):2194-2202.
 39. Lin YS, Huang LD, Lin CH, Huang PH, Chen YJ, Wong FH, Lin CC, Fu SL: In vitro and in vivo anticancer activity of a synthetic glycolipid as TLR4 activator. *J Biol Chem* 2011.
 40. Harlin H, Meng Y, Peterson AC, Zha Y, Tretiakova M, Slingluff C, McKee M, Gajewski TF: Chemokine expression in melanoma metastases associated with CD8+ T-cell recruitment. *Cancer Res* 2009, 69(7):3077-3085.
 41. Mei K, Wang L, Tian L, Yu J, Zhang Z, Wei Y: Antitumor efficacy of combination of interferon-gamma-inducible protein 10 gene with gemcitabine, a study in murine model. *J Exp Clin Cancer Res* 2008, 27:63.

柒、圖、表

表一、加味六君子湯組成藥材之基原及配伍比例

plants	Original	ratio
黨參	<i>Codonopsis pilosula (Franch.) Nannf.</i>	2
茯苓	<i>Poria cocos(Schw.) Wolf</i>	2
白朮	<i>Atractylodes macrocephala Koidez.</i>	2
甘草	<i>Glycyrrhiza uralensis Fisch.</i>	1
女貞子	<i>Ligustrum lucidum Ait.</i>	1
黃耆	<i>Astragalus membranaceus (Fisch.) Bge. var. mongholicus (Bge.) Hsiao</i>	2
藿香	<i>Pogostemon cablin (Blanco) Bench.</i>	2

表二、加味六君子湯安全性評估-膀胱癌同源小鼠模型之全血球計數

組別\項目	WBC ($\times 10^9/L$)	Neu (%)	Lym (%)	Mono (%)	RBC ($\times 10^9/L$)	HGB (g/dL)	HCT (%)	PLT ($\times 10^9/L$)
Control	4.9±0.8	66.9±3.5	21.0±2.5	7.4±0.8	5.6±0.5	10.5±0.7	37.5±2.0	706.2±47.4
mLJTT	4.2±0.4	69.2±3.1	21.7±2.6	6.4±1.2	5.6±0.5	9.6±0.9	34.1±3.1	769.8±51.1
OK432	3.6±0.4	52.0±8.2	25.9±4.7	4.6±1.3	6.6±0.7	11.0±0.9	39.9±3.5	987.0±64.7

註：

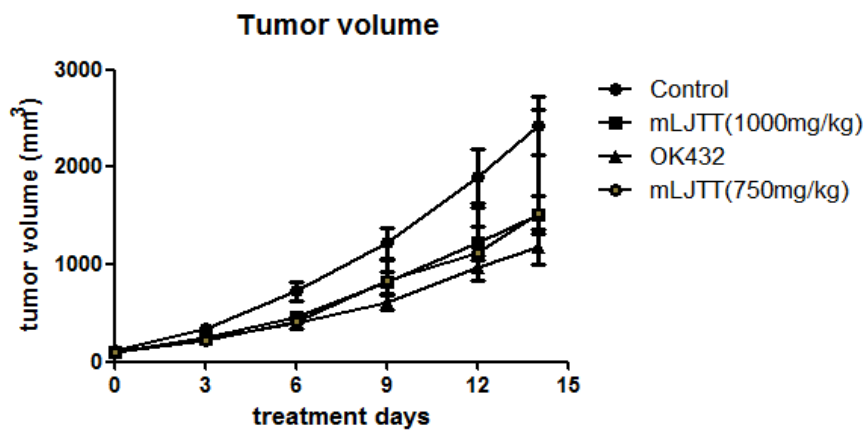
1. WBC: White blood cell; Neu: Neutrophil; Lym: Lymphocyte; Mono: Monocyte; RBC: Red blood cell; HGB: Hemoglobin concentration ; HCT: Hematocrit ; PLT: Platelet
2. 正常小鼠參考值 (mean ±SD, male, n=6): WBC: $1.72 \pm 0.6 \times 10^9/L$; Neu: $31.3 \pm 12.6 \%$; Lym: $60.7 \pm 12.7 \%$; Mono: $3.2 \pm 1.3 \%$; RBC: $7.8 \pm 0.6 \times 10^9/L$; HGB: $12.6 \pm 0.8 \text{ g/dL}$; HCT: $46.1 \pm 2.6 \%$; PLT: $761.3 \pm 101.1 \times 10^9/L$

表三、加味六君子湯安全性評估-肺癌同源小鼠模型之全血球計數及骨髓細胞 (Bone marrow cells; BMC)計數

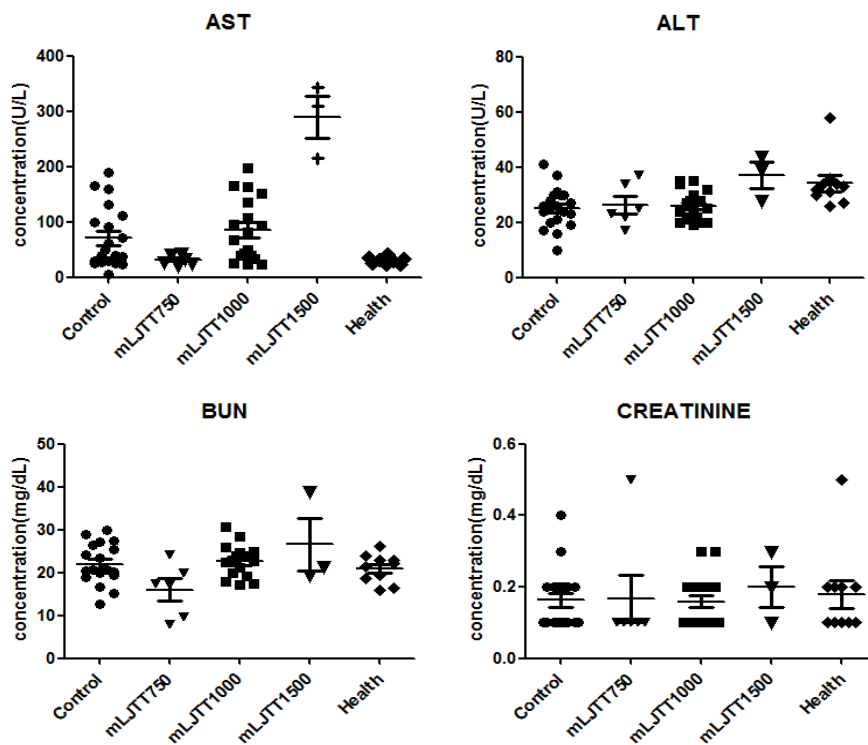
組別\項目	WBC ($\times 10^9/L$)	Neu (%)	Lym (%)	Mono (%)	RBC ($\times 10^9/L$)	HGB (g/dL)	HCT (%)	PLT ($\times 10^9/L$)	BMC ($\times 10^7/\text{per femurs}$) (n=2-3)
Control	7.8±1.2	53.9±2.4	34.1±2.0	6.1±0.6	5.4±0.3	8.5±0.4	32.2±1.2	477.8±30.3	2.5±0.2
mLJTT	9.1±0.9	55.5±4.5	29.1±2.8	8.4±1.2	5.6±0.3	8.8±0.4	34.1±1.5	511.2±35.6	2.2±0.2
Dox	7.6±1.1	53.3±3.9	31.4±3.3	8.3±1.3	4.8±0.5	7.7±0.6	29.4±2.4	644.0±48.9	2.0±0.3
D+mLJTT	5.2±0.5	51.9±2.0	32.9±2.0	7.8±0.9	4.9±0.5	7.9±0.6	30.9±2.4	532.6±51.1	2.3±0.2

註：
 正常小鼠參考值(mean ±SD, male, n=3):WBC: $1.9 \pm 0.7 \times 10^9/L$; Neu:12.4 ±3.4 %; Lym:78.3 ±5.9 % ; Mono:4.9 ±3.5 % ;
 RBC: $7.3 \pm 0.1 \times 10^9/L$; HGB:10.9 ±0.2 g/dL ; HCT: 43.4 ± 0.75% ; PLT: $1046.3 \pm 64.3 \times 10^9/L$

A.



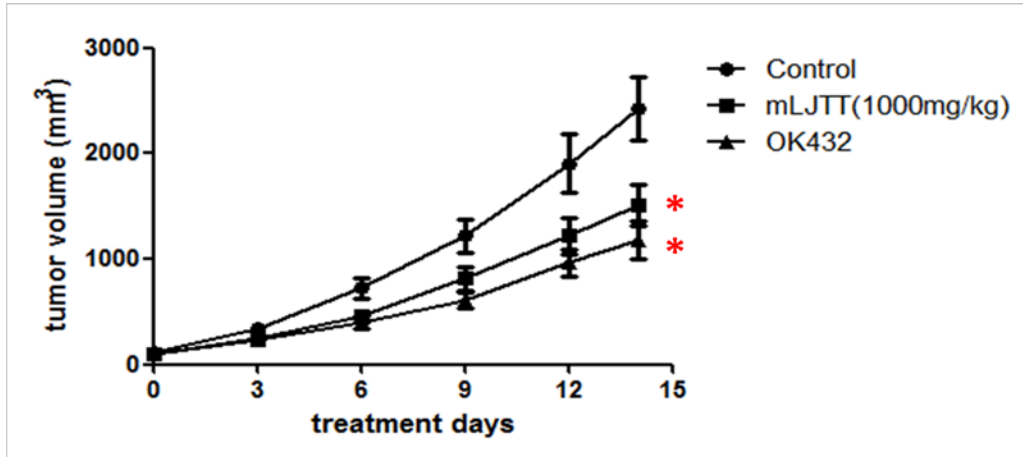
B.



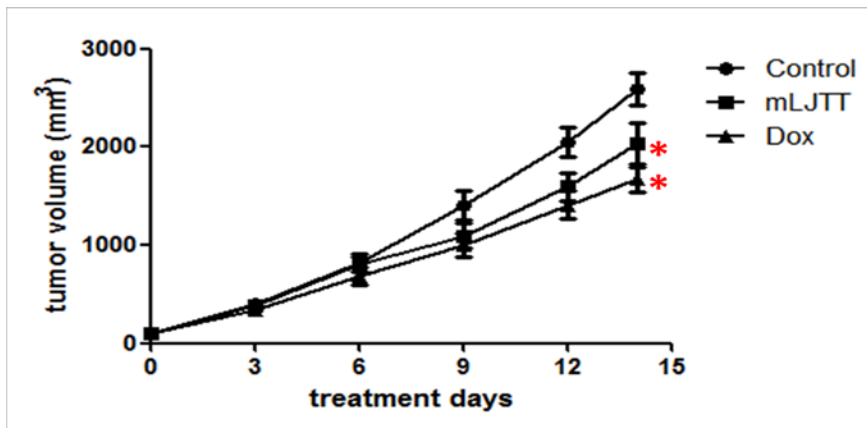
圖一、加味六君子湯之劑量效應評估

在實驗進行之前，須先測試加味六君子湯的劑量，並評估其劑量效應。結果顯示，在膀胱癌-同源小鼠模型中，用中高劑量 1000mg/kg b.w，接近臨床用量較具有參考價值，且沒有明顯毒性，並有明顯抑癌療效，符合實驗需求。故以下所有實驗皆給予 1000mg/kg b.w 之劑量。A.在小規模的測試中，中低劑量 750mg/kg b.w 之療效與中高劑量 1000mg/kg b.w 相似。B.臨床建議用量換算小鼠之相對應使用劑量為 1500mg/kg b.w，而 1500mg/kg b.w 使用 7 天後發現在血清生化指標(肝、腎功能)上有較大毒性，故不予採用。

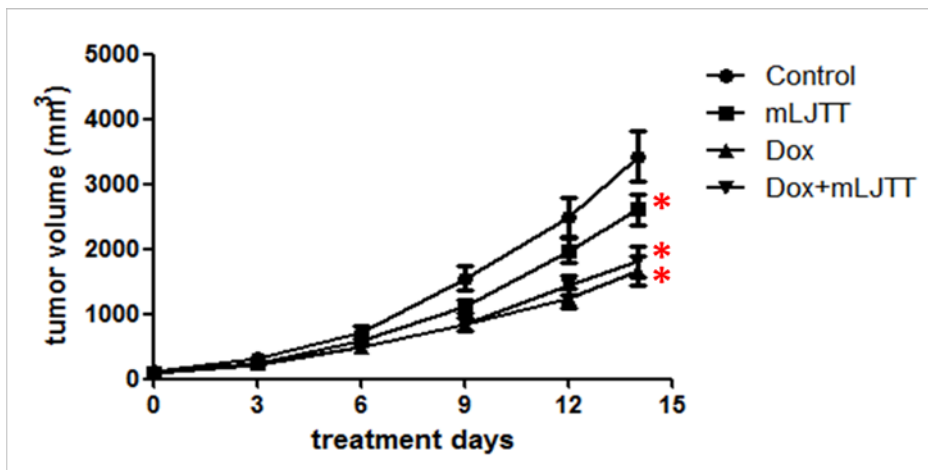
A.



B



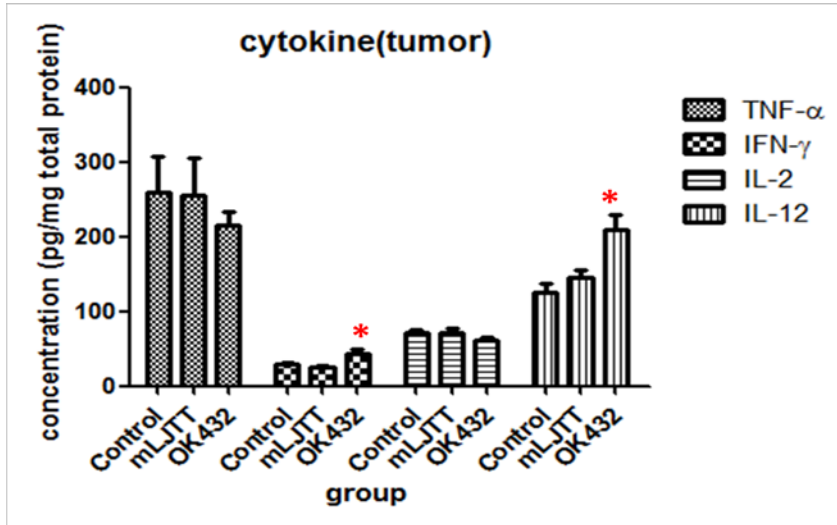
C.



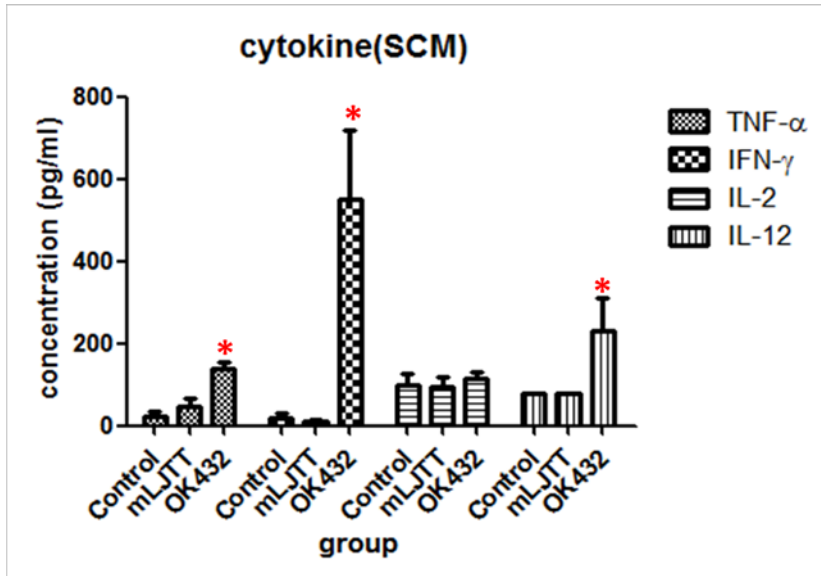
圖二、經治療後腫瘤體積大小變化

經連續 14 天灌食 1000mg/kg 的加味六君子湯之後，定期量測並記錄腫瘤大小。腫瘤測量公式：腫瘤體積=1/2×(長×寬×寬)。A.膀胱癌細胞皮下植入同源小鼠(C3H/HeN)背上；B.膀胱癌細胞皮下植入免疫缺陷鼠(nude mice)背上；C.肺癌細胞皮下植入同源小鼠(C57BL/6)背上。* 代表達統計上的顯著差異(p<0.05)。

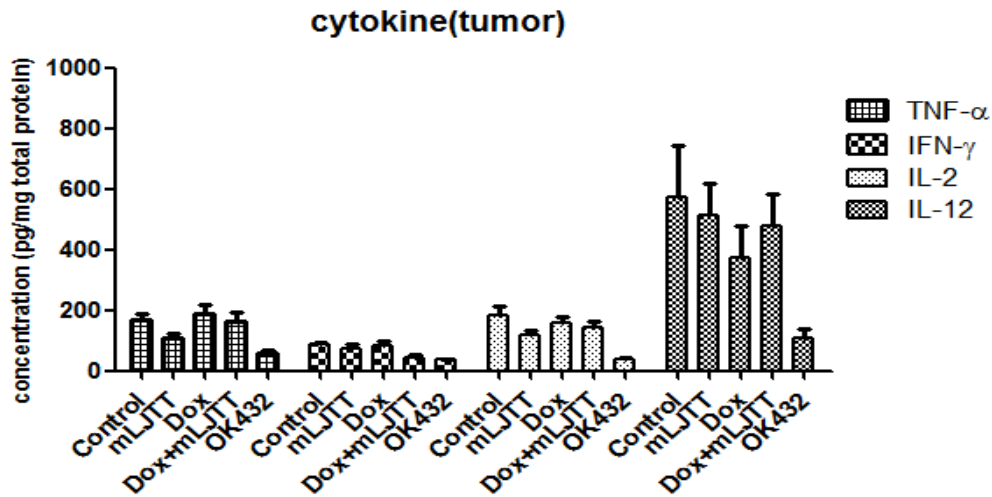
A.



B.



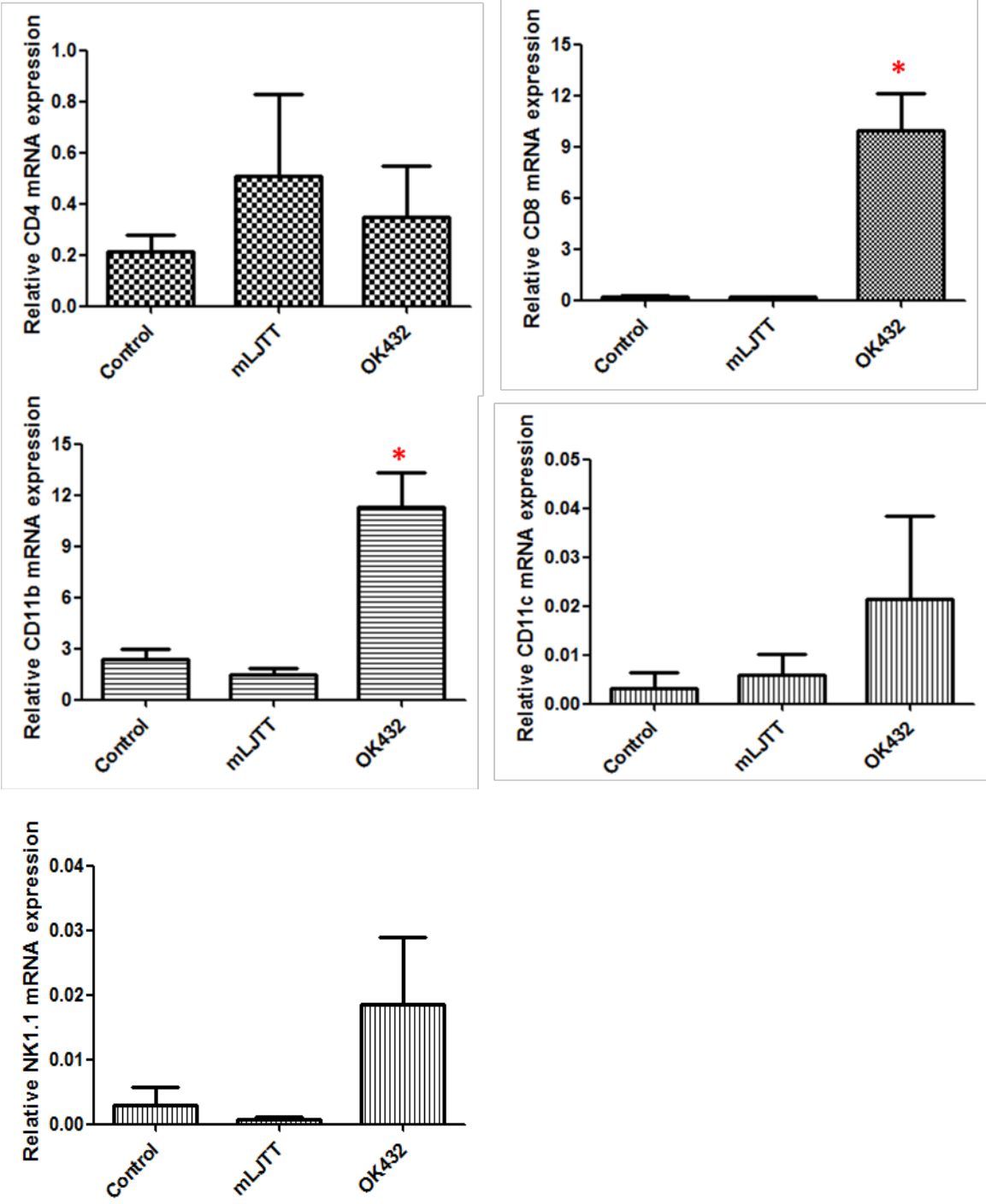
C.



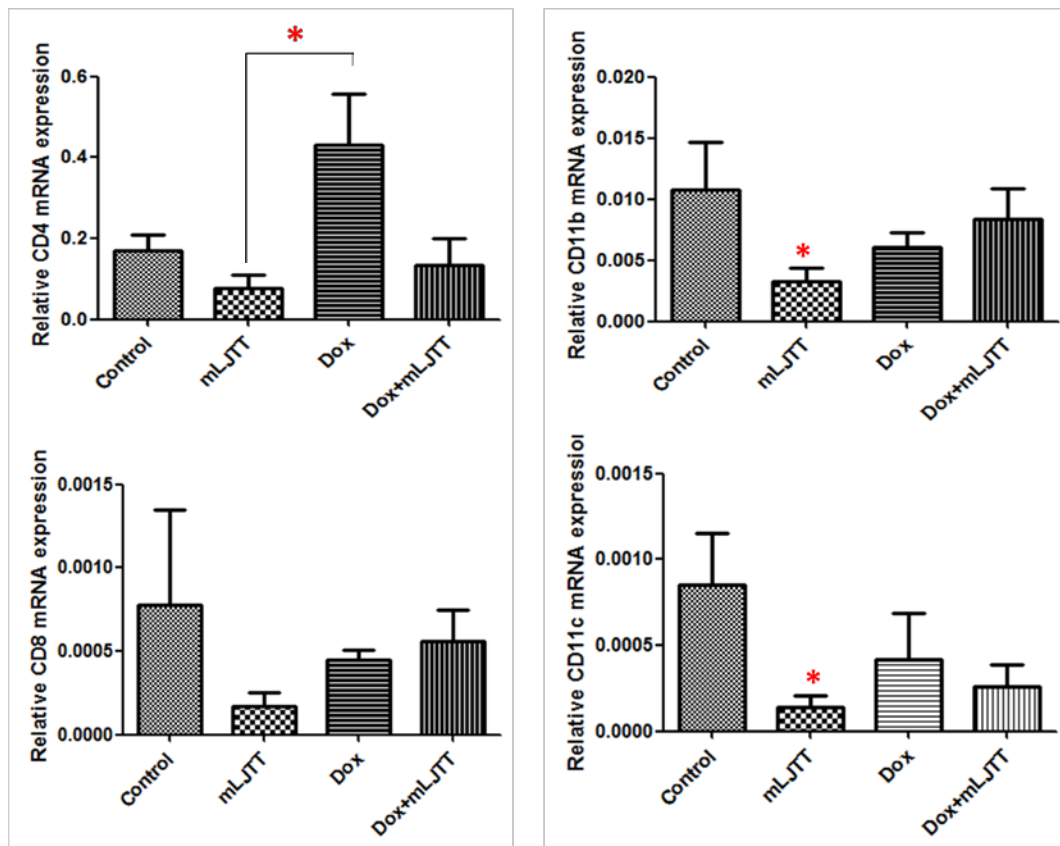
圖三、經治療後腫瘤區域及脾臟細胞抗癌相關的細胞激素表現量

小鼠犧牲後，將腫瘤小鼠的腫瘤組織取下，於液態氮中研磨成細粉後，用萃取液抽取蛋白質，定量後，量測 1mg 總蛋白中，各種細胞激素的含量。A.膀胱癌細胞植入同源小鼠，於腫瘤組織量測的細胞激素含量。B. 膀胱癌-同源小鼠模型中藥物處理後，於脾臟細胞之培養液中，量測脾臟免疫細胞分泌之細胞激素含量。C.肺癌細胞植入同源小鼠，於腫瘤組織量測之細胞激素含量。* 代表達統計上的顯著差異($p < 0.05$)。

A.

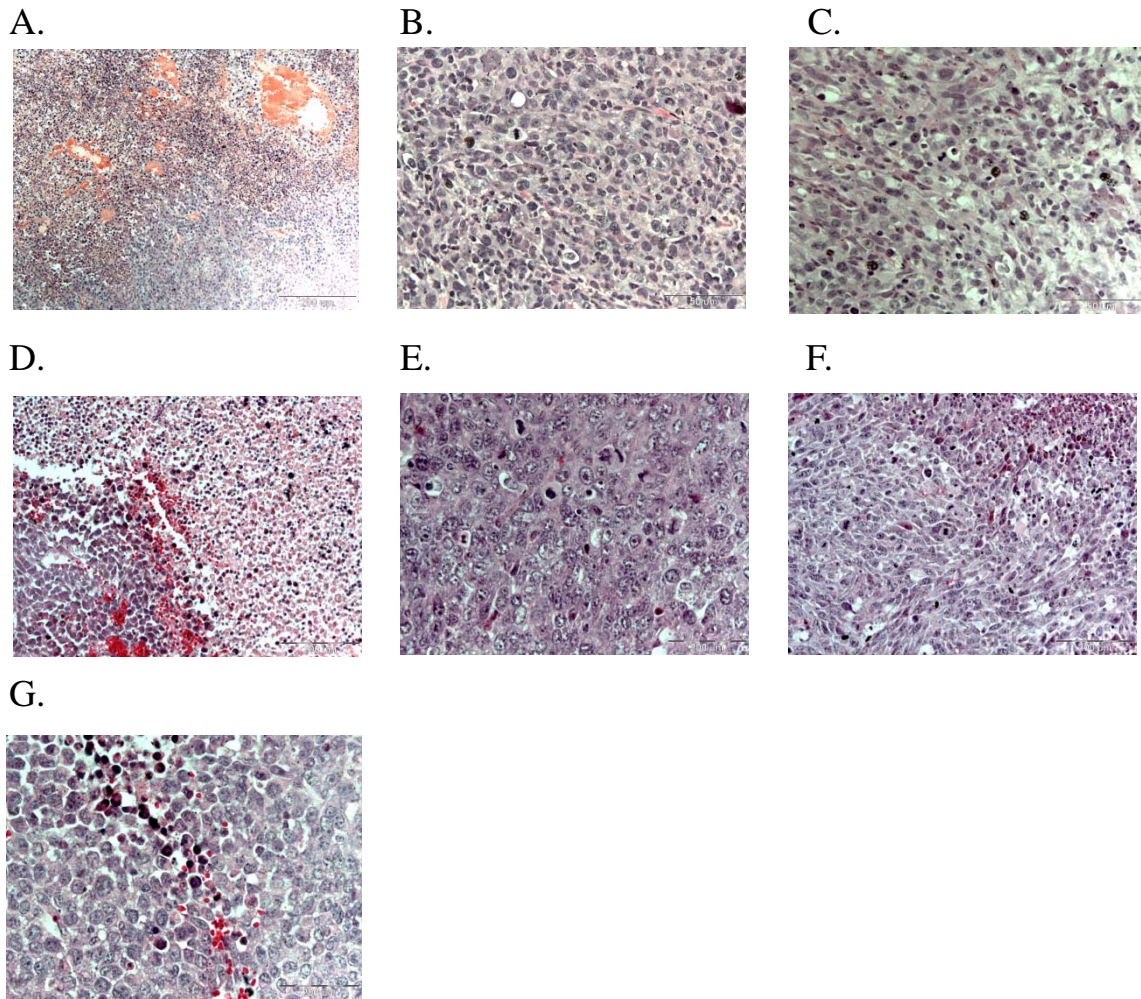


B.



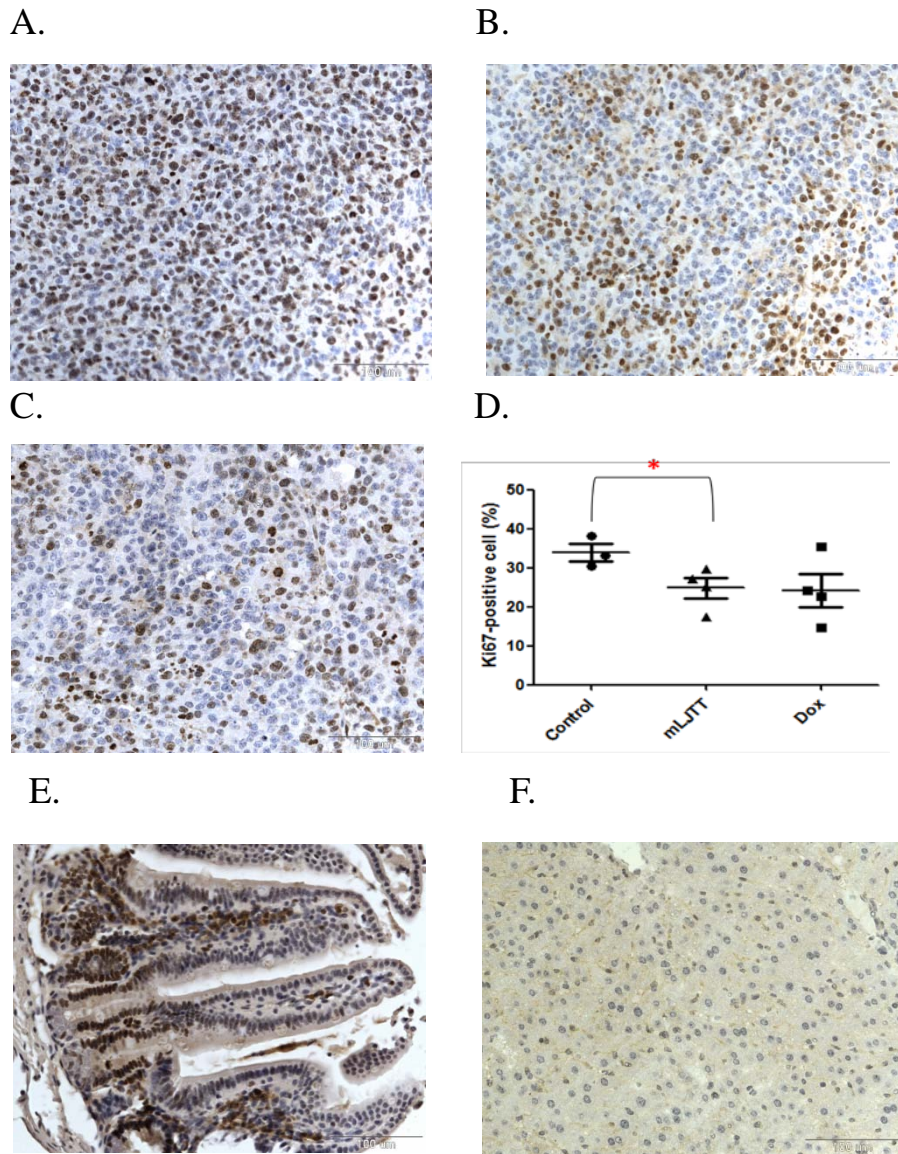
圖四、腫瘤小鼠的腫瘤區域之免疫細胞聚集及活化的表現

小鼠犧牲後，將腫瘤組織取下，抽取 RNA，定量後，反轉錄成 cDNA，進行定量反轉錄聚合酶鏈鎖反應，偵測抗癌相關的免疫細胞表面抗原基因的表現量，以瞭解在腫瘤區域免疫細胞聚集及活化的情形。A.膀胱癌-同源小鼠模型之腫瘤區域的基因表現量。B.肺癌-同源小鼠模型之腫瘤區域的基因表現量。(CD4 是輔助性 T cell 的專一性表面抗原，CD8 是毒殺性 T cell 的專一性表面抗原，CD11b 是巨噬細胞的專一性表面抗原，CD11c 是樹突細胞的專一性表面抗原，NK1.1 是自然殺手細胞的專一性表面抗原)。* 代表統計上的顯著差異($p < 0.05$)。



圖五、腫瘤區域病理組織切片-免疫細胞浸潤情形

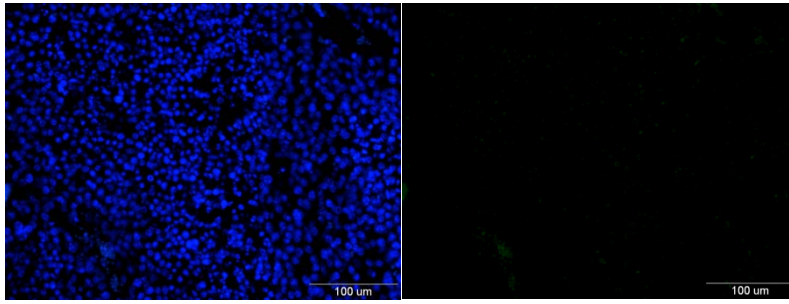
腫瘤組織取下後，以福馬林固定，石蠟包埋後作組織切片及H&E染色。
 A. 膀胱癌-同源小鼠模型之對照組；B. 膀胱癌-同源小鼠模型之加味六君子湯組；C. 膀胱癌-同源小鼠模型之正對照組(OK-432)；D. 肺癌-同源小鼠模型之對照組；E. 肺癌-同源小鼠模型之加味六君子湯組；F. 肺癌-同源小鼠模型之化療藥物組(doxorubicin)；G. 中西藥併用組（加味六君子湯與doxorubicin併用）。



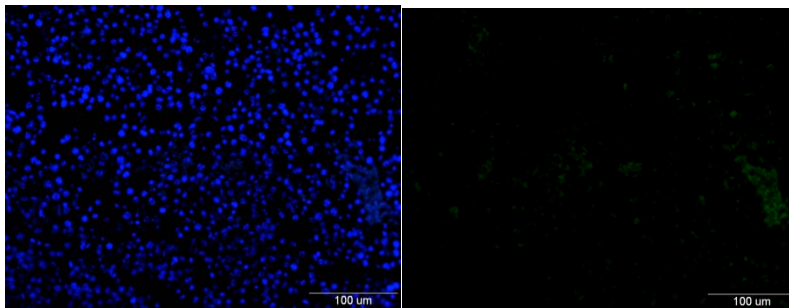
圖六、經治療後腫瘤小鼠之腫瘤區域癌細胞生長抑制情形

在膀胱癌-免疫缺失小鼠模型中，將腫瘤組織取下後，以福馬林固定，石蠟包埋後作組織切片，以免疫組織染色法觀察細胞生長指標因子 Ki67 的表現。A.對照組；B.加味六君子湯組；C.正對照組(doxorubicin)。D.統計量化的結果。E.免疫組織染色實驗設置之正對照組，為小鼠腸道組織切片，已知腸道絨毛底部有一直處於增殖的細胞，故以該組織切片作為實驗之正對照組。F.免疫組織染色實驗設置之對照組，未使用 Ki67 之一級抗體，未染上任何細胞核，排除實驗組偽陽性的可能性。* 代表達統計上的顯著差異 ($p < 0.05$; $n = 3-4$)。

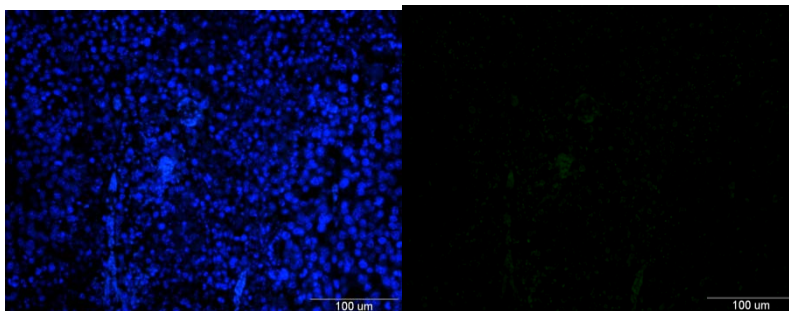
A.



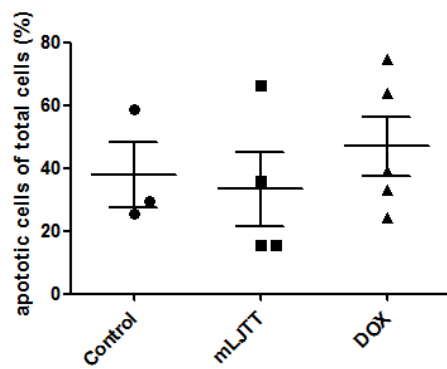
B.



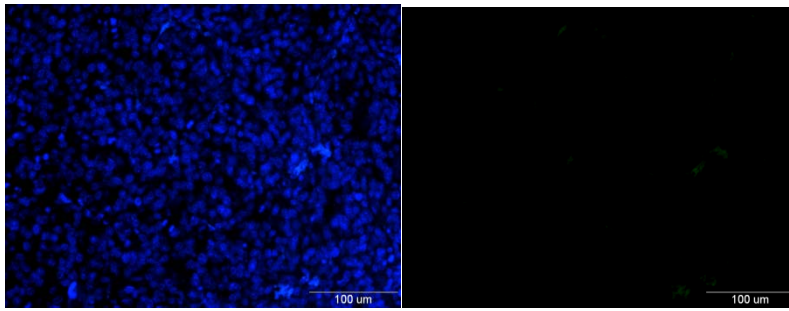
C.



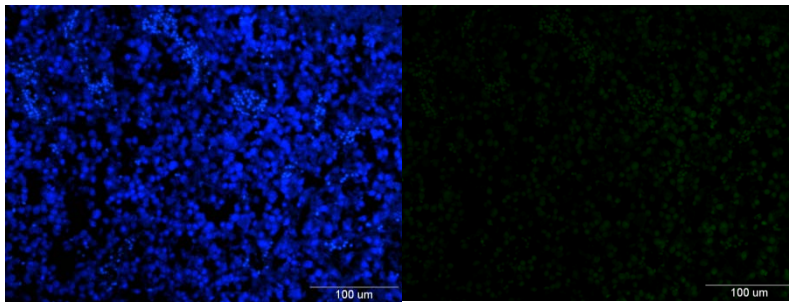
D.



E.

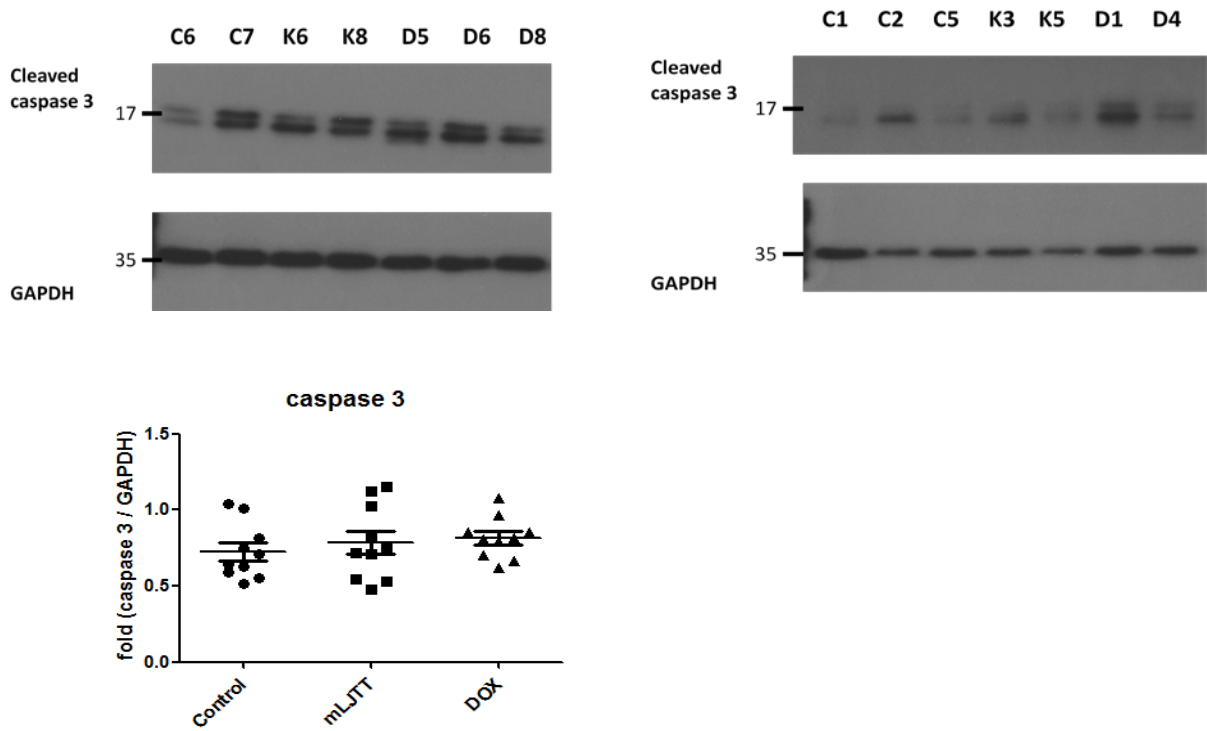


F.



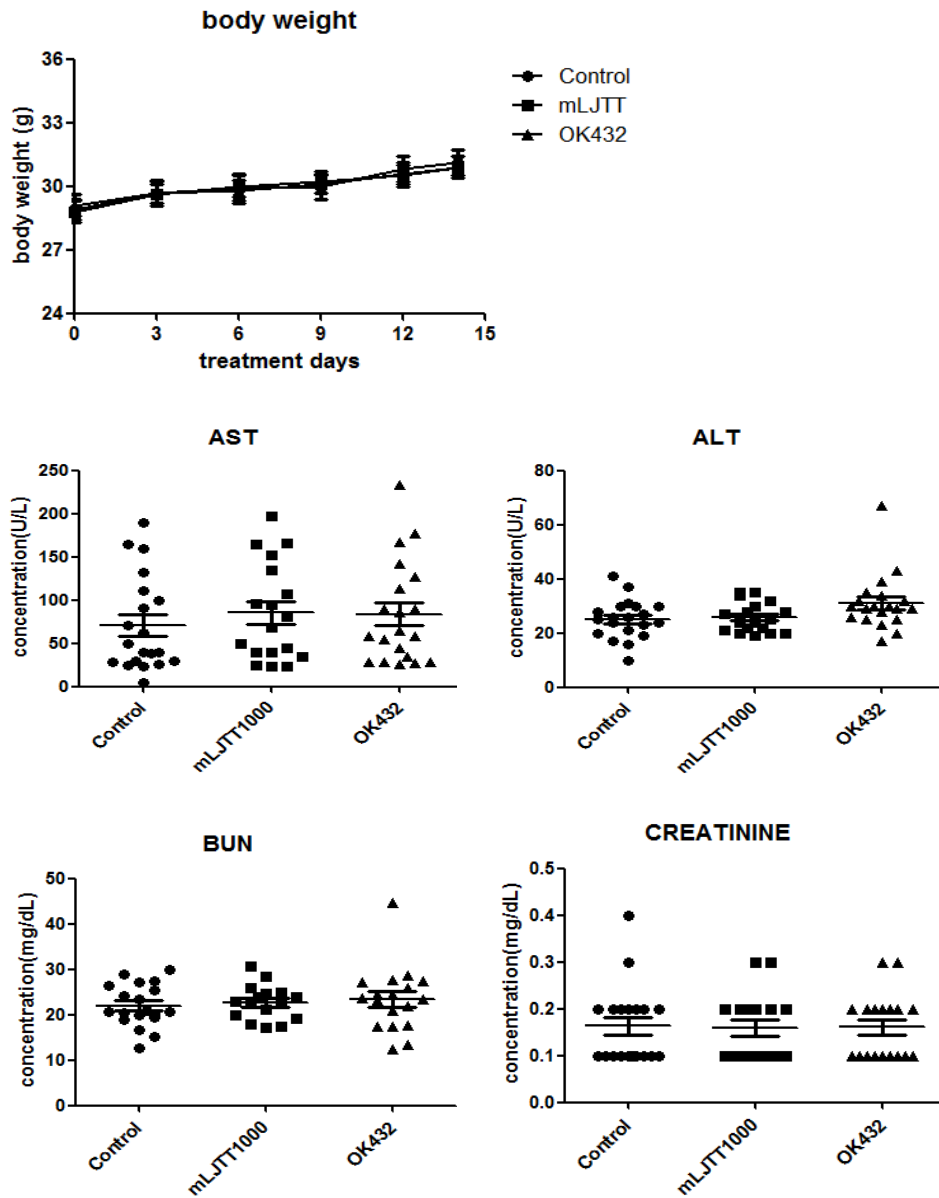
圖七、經治療後腫瘤小鼠之腫瘤區域癌細胞凋亡情形

在膀胱癌-免疫缺失小鼠模型中，將腫瘤組織取下後，以福馬林固定，石蠟包埋後作組織切片，以 TUNEL assay 方法標定凋亡細胞(發綠色螢光)，另以一螢光染料標定細胞核(發藍色螢光)，計算所有細胞中，凋亡細胞的比例。A.對照組。B.加味六君子湯組。C.正對照組(Dox)。D.統計量化結果。E. 驗證 TUNEL assay 實驗的對照組，未加入 terminal deoxynucleotidyl transferase，無法進行 DNA 接合反應，用以調整螢光的背景值。F. 驗證 TUNEL assay 實驗的正對照組，組織切片以 DNase 處理過，確保 DNA 斷裂，用以確認 TUNEL assay 的實驗有正確操作。



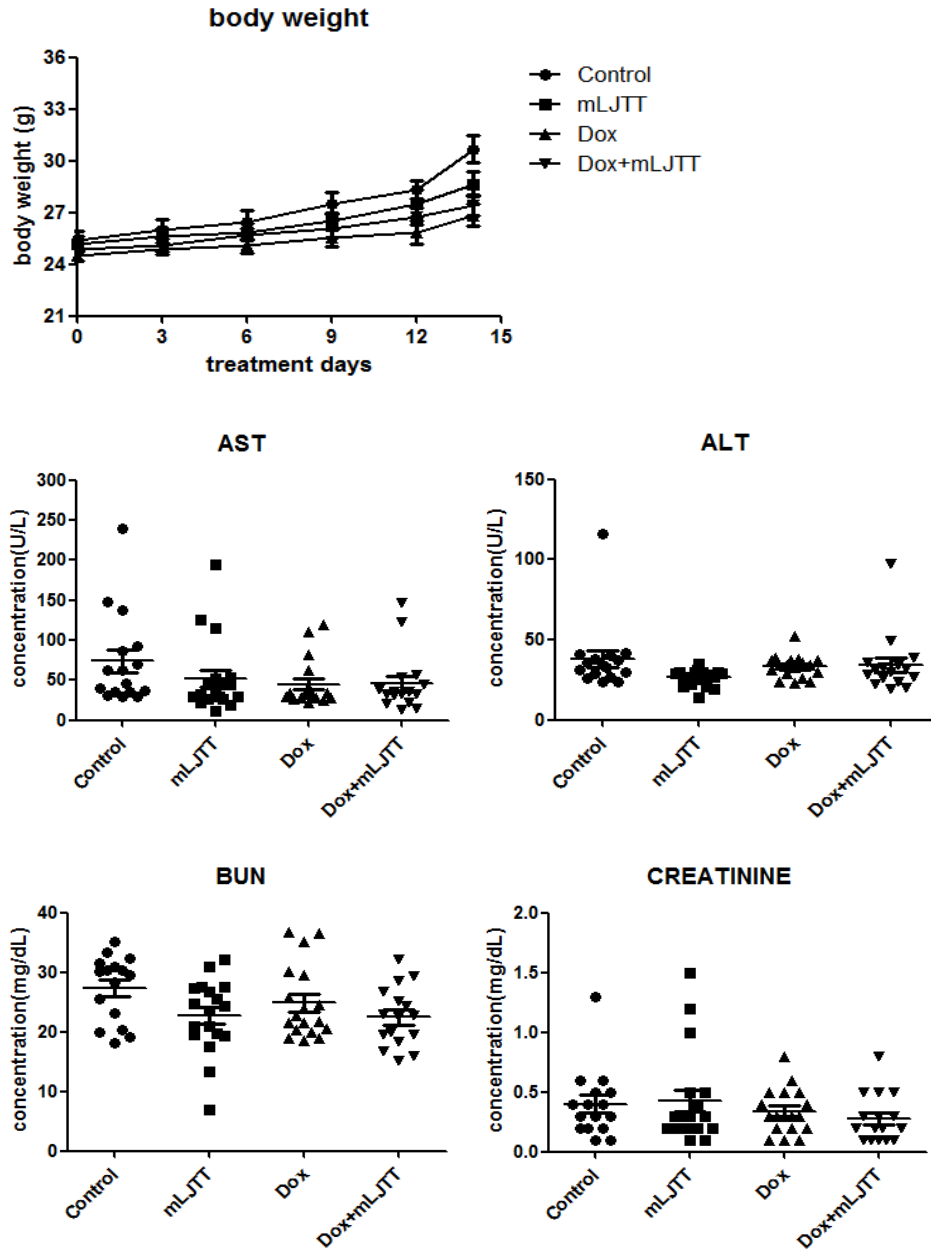
圖八、經治療後腫瘤小鼠之腫瘤組織中 caspase 3 active form 之表現情形

在膀胱癌-免疫缺失小鼠模型中，抽取腫瘤組織之蛋白，以 Western blot 方法偵測活化態 caspase 3 的表現量。上方圖片僅呈現部分資料，全數資料之量化結果於下圖。



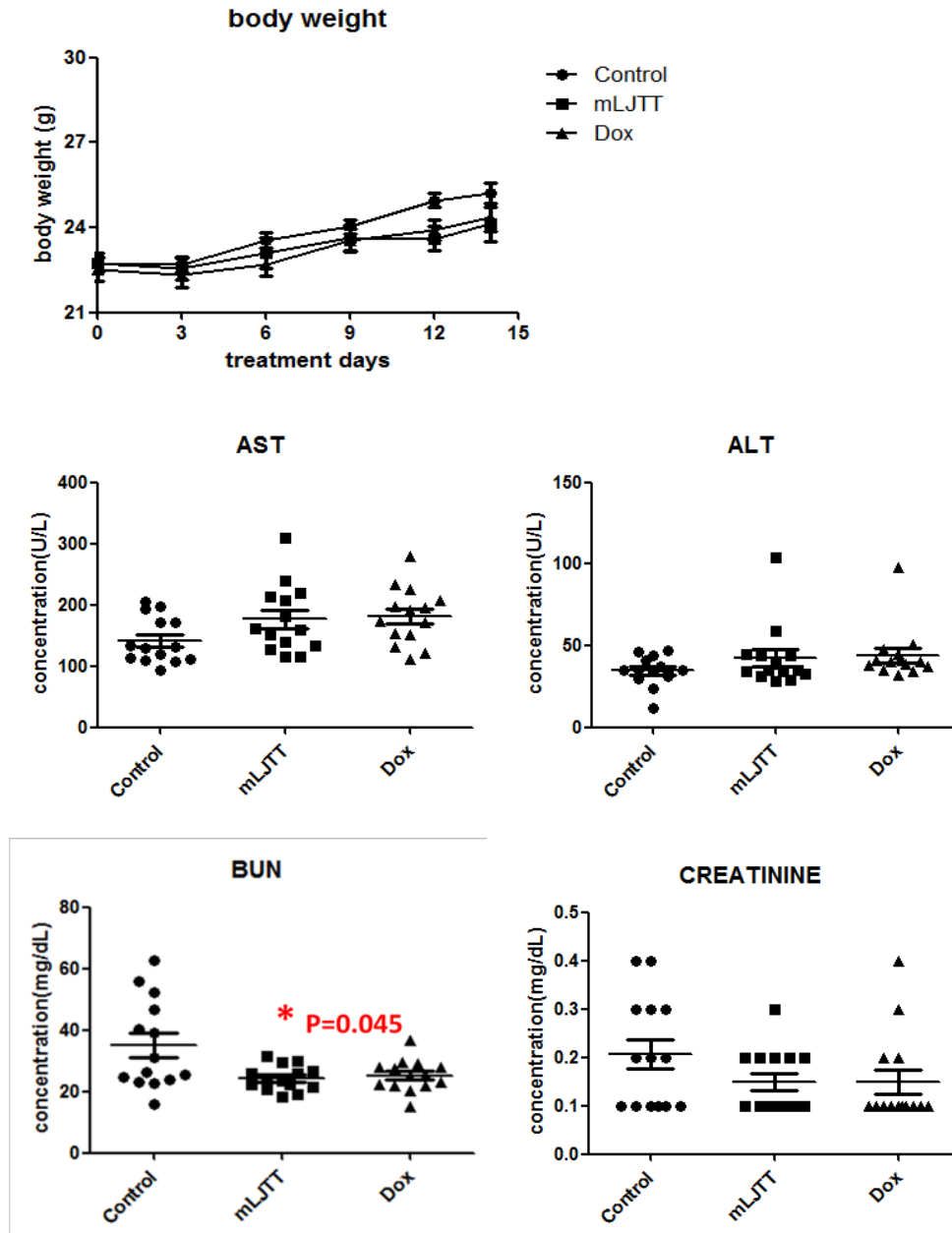
圖九、加味六君子湯安全性評估-膀胱癌同源小鼠模型

於膀胱癌同源小鼠模型中，連續給予 14 天 1000mg/kg 加味六君子湯，評估其體重、肝功能、腎功能，用以瞭解加味六君子湯是否會引起相關的毒性。



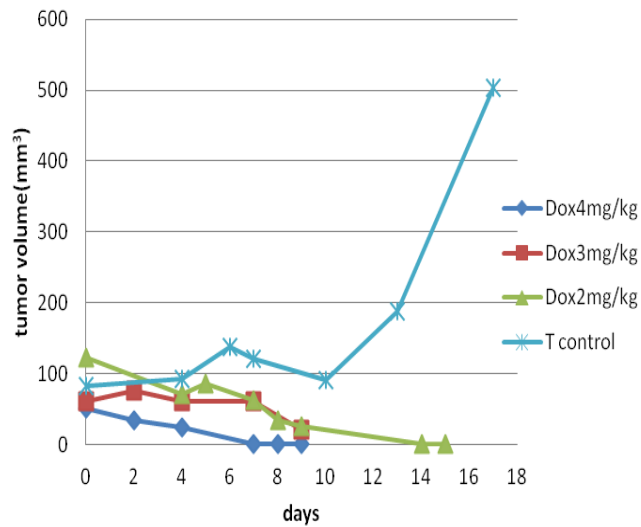
圖十、加味六君子湯安全性評估-肺癌同源小鼠模型

於肺癌同源小鼠模型中，連續給予 14 天 1000mg/kg 加味六君子湯，評估其體重、肝功能(AST、ALT)、腎功能(BUN、CREATININE)，用以瞭解加味六君子湯是否會引起相關的毒性。



圖十一、加味六君子湯安全性評估-膀胱癌-免疫缺失小鼠模型

於膀胱癌-免疫缺失小鼠模型中，連續給予 14 天 1000mg/kg 加味六君子湯，評估其體重、肝功能(AST、ALT)、腎功能(BUN、CREATININE)，用以瞭解加味六君子湯是否會引起相關的毒性。



圖十二、doxorubicin 之劑量評估

開始使用 doxorubicin 之前，先於 C3H/HeN 老鼠做小型測試，以瞭解在本實驗系統中可用的 doxorubicin 濃度。Doxorubicin 以 2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg 的濃度，每週靜脈注射一次，記錄其腫瘤大小。結果發現於 3mg/kg、4mg/kg 的濃度下，一週後腫瘤縮小至不可量測的大小，且老鼠活動力明顯下降，2mg/kg 的濃度下，老鼠活動力稍差，且給予 2 次靜脈注射後，腫瘤縮小至不可量測的大小，因此，於中西藥合併療效組別評估時，採用 1.5mg/kg 的 doxorubicin 濃度，進行後續實驗。

建構中西醫合作治療癌症研究平台(2-1)

陳方佩

臺北榮民總醫院傳統醫學科

摘要

本報告是一個兩年期計畫的第一年，報告包含臨床、教學與研究。

- 一、臨床實務方面，為改善現行中西醫聯合門診主要以中醫或西醫單獨看診的缺點，我們已提出中西醫整合門診的概念，乃是中醫與西醫共同看診的平台，面對同一癌症病人，經過辨病(診斷)之後，分別經過中醫(辯症論治)及西醫(診斷治療)的雙向溝通，提出共同治療的共識與治療方針。利用資訊室整合中醫與西醫門診的代碼 0AE 為中西整合治療癌症門診，病人掛號此特別門診後，由西醫經由診斷步驟(SOA)確認疾病及 ICD-9 疾病代碼，此為診斷(西醫)或中醫(辨病)的依據。之後經中醫的辨症(辨証)或西醫的鑑別診斷，兩人或依序討論出治療共識，並分別開列治療方針與處方。
- 二、教學方面，定期舉辦中醫對癌症治療有幫助的課程。
- 三、研究方面，從 2012 年 8 月至 2012 年 11 月 20 日，至台北榮總中醫癌症特別門診及中西醫聯合門診之病人共有 2,165 人次，其中癌症病人約 1,522 人次。同期間本研究共收案 39 人(乳癌 28 人、大腸癌 4 人、肺癌 5 人、卵巢癌 1 人、舌癌 1 人)。其中 28 位乳癌受試者於使用中藥前、使用後一個月追蹤檢驗血清中女性相關荷爾蒙，如女性荷爾蒙(E2)及卵巢刺激素(FSH)，結果顯示中藥使用後一個月檢驗女性荷爾蒙(E2)會略為降低，但卵巢刺激素(FSH)與使用中藥前差不多。在生活品質方面，由於計畫收案時間過於短暫，影響使用本平台後的分析結果，仍需進一步追蹤。

本兩年期計畫，第一年我們以建構中西醫整合癌症門診為主，目前已經結束，利用第一期的經驗，第二年則以建構中西醫整合會診(住院)平台為主。隨著時代的進步，癌症病患對治療期中所需要的支持與幫助，都有極高的期待與盼望。因此只要經過科學驗證的整合醫療方法，都應該被納入正規的醫療體系。本計畫所提的中心思想，乃是藉著中醫與現代醫學互補，找到具有實證(evidence-based)，又對病人較無傷害(favorable benefit/risk ratio)的癌症治療方針，以期在未來能對癌症病人找到最具成本效益的中西醫合作治療照護的常規模式。

關鍵詞：癌症、中醫、整合醫療、實證

Platform Establishment of Integrative Chinese-Western Medical Treatment for Cancer Patients (2-1)

Fang-Pey Chen

Taipei Veterans General Hospital Center for traditional medicine

ABSARACT

There is consensus that cancer treatment in modern medicine or Western medicine follows the generally accepted NCCN guideline. However, cancer patients seek complementary & alternative medicine (CAM) to relieve their discomfort or mental stress induced by modern medicine. Nevertheless, traditional Chinese medicine (TCM), by definition, is not CAM in Taiwan. How to integrate TCM and modern medicine in treatment of cancer patients remains a challenging problem and an important issue in Taiwan.

The aims of this 2-year project are to establish a platform for integrated TCM and Western medicine (ICWM, denoted as IM) in treatment of cancer patients. In the first year, the aim is to establish a platform for IM cancer treatment for out-patient clinics, while in the second year, it is to establish a platform for IM cancer treatment for in-patient service by consultation.

There are three directions in this proposal, namely, clinical-, teaching-, and academic ones. On clinical aspect, a platform for both TCM and modern medicine doctors to care a cancer patient will be established, which is based on a common language from patient's chief complaints and a definite diagnosis provided by an international ICD-9 code, followed by treatment plans proposed by each specialists. On teaching aspect, education programs in TCM will provide for those medical and paramedical personnel. On research aspect, there were 2,334 consecutive patients followed from Aug. 2012 to Nov. 2012. Among these patients, 1,641 were cancer patients. After informed consent, 40 patients were included and longitudinally followed by questionnaire for quality of life and serum E2 and FSH levels. Due to time limited, the parameters assessed are of no statistical significance. More patients and longer duration are needed to complete the study. Nonetheless, the results of the first year project provide important information and invaluable experience to conduct the 2nd year project. The results of this 2-year project provide an impact on TCM and modern medicine doctors and also provide an evidence-based health care for those patients with different cancers in Taiwan.

Keywords: cancer, Chinese medicine, integrative medicine, evidence-based

壹、前言

隨著西方醫學科技的進步，明確診斷與治療的方針已經成為全世界上癌症防治上的共識(National Comprehensive Cancer Network, NCCN 癌症治療共識)。但是癌症病患因治療期間所產生的副作用，已經嚴重地影響到病患的生活品質，許多癌症病人因此去尋找現代醫學以外的醫療系統以改善症狀或是心理的慰藉。根據美國國家補充及另類療法研究中心(NCCAM)的定義，非慣用醫療(unconventional medicine)，是相對於現今主流醫學(西醫或現代醫學)的名稱，包含了五大部分。1. 另類醫療。2. 身心醫學(Body-mind intervention)。3. 生物性療法。4. 肢體操作療法。5. 能量醫學。根據一九九七年的統計，接近百分之四十的病人，一年約六億兩千九百萬人次，消費達二百一十億美元用於非慣用療法，而最重要的是百分之五十以上的金額出自病人的自費項目。造成如此大的使用量，就其原因有三。其一，病人的迫切需求：病人在心理上或實際生理上，感覺到現今主流醫學在治療疾病(尤其是癌症)種種層面上的不滿與不足。其二，廠商的大力推銷。其三，衛生單位的樂見其成。

即便如此，傳統中醫在臺灣已經存在許久，有著嚴謹的教育制度與法律規範。因此如果依 NCCAM 的定義，補充另類療法是當今社會無法律規範也沒有教育制度的醫療系統，然而傳統中醫在臺灣是被認可具有正統性，不屬於補充另類療法的。相較於中國大陸的醫療制度中，中西醫整合的醫療系統比較混亂，臺灣的中醫與西醫則分別有嚴謹的規範，是有其重要的歷史背景與應用價值。

現行整合醫療的情況

	國外	台灣	大陸
內容	CAM	中醫/西醫分治	中西醫結合
中醫佔 CAM比例	< 10%	70%	90%
保險給付	沒有	有	有
使用法	新領域	中低收入	均有

一般而言，癌症是危害人類生命甚鉅的一種疾病。國內外的專家學者都致力於尋求解決各種癌病患的臨床問題。以乳癌為例，目前全世界的醫師對乳癌的治療已具有全球廣泛的共識，臺灣健保局乳癌醫療給付改善方案試辦計畫，在各醫院已經結合外科、血液腫瘤科、放射腫瘤科、放射診斷科、病理科、整形外科、復健科、營養師等多專科整合醫療團隊開始運作。針對乳癌病例治療前診斷、分期、治療狀況、治療新知分享、乳癌治療品質指標等，更加能促進乳癌治療的照護品質，再加上個案管理師提供定期的追蹤及諮詢，可提高病人對治療的遵從性。

然而，為了尋求症狀的改善，許多癌症病人自行尋求補充另類療法的比例越來越高。根據國外統計，約有三分之一的病人會使用補充另類療法，但這種比例在乳癌病人更高。反觀在臺灣，中醫藥的使用有其傳統文化社會背景，因此中醫藥佔臺灣使用補充另類療法約百分之七十。根據國人的健保資料庫顯示，臺灣有使用中醫藥的比例在攝護腺癌、肝癌及乳癌病人分別為 24.9-26.9% (6,7)，25% (8)，35.6% (9)。但是由於中國傳統醫學在華人地區早已融入民眾的生活中，然而對草藥的概念而言，中國人常有吃中草藥可以「有病治病，沒病強身」的錯誤觀念。除此之外，國人尋訪中醫幾乎未曾也不敢讓西醫的主治醫師知道，造成中醫與西醫在治療上面的困擾，甚至在中藥合併使用西藥時，是否有造成可能的交互作用，都是會影響癌症治療上的重要考量。

近年來，中醫與西醫在政策上或實質上的溝通有著重大的進展。許多醫療院所都有中西醫聯合門診。但是由於在觀念上及實際執行上(如健保給付等細節問題)，此種門診大多是病人分別看診中醫與西醫，中醫師與西醫師在病情上並無實質溝通，造成病人的看診負擔與醫師之間的誤會。實際上，如何讓中醫師與西醫師在面對同一病人時，可於問診與治療處方時相互溝通，給病人方便，是一重要且極待改善的課題。本計畫提出 1. 中西醫同時看病人，2. 中西醫有溝通的門診或會診平台，應是臺灣中西整合治療癌症病人的良好模式。

為了提供良好的中醫與西醫配合的癌症治療策略，過去我們已經著手癌症整合醫療臨床實務的討論與執行，發現中西醫整合治療乳癌病人，經過針灸的治療，不僅在症狀的程度上有改善，在心理上也有極大的助益。但是這都是初步的結果，需要一個合理可行的中西整合治療癌症平台的建立，才能找到合適的臨床路徑。本計畫所提的中心思想，乃是藉著中醫與現代醫學互補，找到具有實證(evidence-based)，又對病人較無傷(favorable

benefit/risk ratio)的癌症治療方針，以期在未來能對癌症病人找到最具成本效益的中西醫合作治療照護的常規模式。

貳、材料與方法

一、癌症病人到中醫癌症特別門診或癌症整合門診主動要求使用藥，經過辨病(診斷)之後，分別經過中醫(辯症論治)及西醫(診斷治療)的雙向溝通，提出共同治療的共識與治療方針，由研究人員解釋研究內容後，簽署同意書，並於使用中藥前、使用後一個月、六個月、十二個月追蹤檢驗血清中女性相關的荷爾蒙，例如女性荷爾蒙(E2)及卵巢刺激(FSH)若非乳癌病患，則改以檢測相關的腫瘤指標(tumor markers)。(如圖一)，因實際收案日期為 101 年 8 月 7 日至 101 年 11 月 27 日，故執行收案期間僅 4.5 個月，故無法完成追蹤到第三次(六個月)及第四次(十二個月)的抽血，已納入明年度計畫持續追蹤之。

二、受試者數目：

第一年預計收集 40 名受試者參與門診中西整合計畫，截至 2012 年 11 月 27 日，共收案 40 人(其中乳癌 28 人、大腸癌 4 人、肺癌 6 人、卵巢癌 1 人、舌癌 1 人)。

三、選擇標準：

(一) 納入條件：自 2012 年 5 月至 2014 年 4 月，在台北榮總治療的癌症病患，不分何種癌症，期別：stage 0, 1, 2, 3, 4，年齡二十歲至八十歲，主動到癌症中西整合醫療門診或至中醫癌症特別門診(第一年)要求使用中藥的病患。

(二) 排除條件：孕婦，有慢性肝病(Bilirubin > 2 mg/dl)，慢性腎病(Creatinine > 2 mg/dl)，急性心肌梗塞病患，裝置心律調節器的病患，非癌症病患、癌症末期有合併心肺衰竭病患(安寧病患)，術後經精神科診斷為憂鬱的病患及個案不願簽署同意書者將予排除。

(三) 病人問卷如附錄一、二、三。

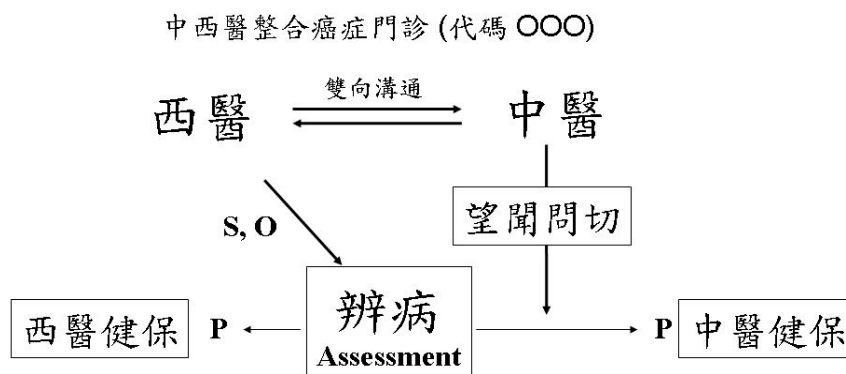
(四) 相關配合檢驗：於中藥使用前，使用一個月，六個月及十二個月檢驗血清中女性相關的荷爾蒙(E2)及卵巢刺激素(FSH)，以及相關腫瘤指標。

參、結果

第一年：建立中西整合治療癌症門診平台。

一、臨床實務方面

(一)為了改善現行中西醫聯合門診主要以中醫或西醫單獨看診的缺點，本計畫提出中西醫整合門診的概念，乃是中醫與西醫共同看診的平台，面對同一癌症病人，經過辨病(診斷)之後，分別經過中醫(辯症論治)及西醫(診斷治療)的雙向溝通，提出共同治療的共識與治療方針。面對同一癌症病人，經過辨病(診斷)之後，分別經過中醫(辯症論治)及西醫(診斷治療)的雙向溝通，提出共同治療的共識與治療方針。利用資訊室整合中醫與西醫門診的代碼(OAE 為中西整合治療癌症門診)，病人掛號此特別門診後，由西醫經由診斷步驟(SOA)確認疾病及 ICD-9 疾病代碼，此步驟為診斷(西醫)或中醫(辨病)的主要依據。之後經由中醫的辨症(辨証)或西醫的鑑別診斷，兩人或依序討論出治療共識，並分別開列治療方針與處方。除此臨床中西醫的平台之外，亦包含了教學與臨床研究之配合，達到臨床，教學，研究的整合平台。



(二)訂定中西醫合作治療病歷規範及格式。根據上圖所示，為了配合全球疾病統一編碼，將以 ICD-9 編碼為主要辨病欄位。因為症狀的描述是由病人提供 (主訴)，此欄位與診斷為中西醫共同欄位。另外分別規劃西醫的處置欄位及中醫辨症(証)的處置欄位，詳見表四。執行本年度計畫結束後，已了解中西醫合作平台的重要性，並已制訂中西醫合作治療病歷規範及格式，西醫部份或中醫部份的紀錄均可由同一視窗中分別拉出，但是僅能瀏覽，無法加入不同醫學之欄位。

(三)制定中西醫整合治療癌症照護治療方針：當病人進入中西醫整合門診看診時，當下若中西醫診斷或治療上有歧見，皆可在診間內直接溝通討論出治療共識，並分別開列治療方針與處方。中醫與西醫根據診斷及疾病的特性與程度，例如器質性或是功能性，感染性或非感染性，急重症或是慢性病等，互相討論出同時性或是階段性的治療方針與策略。

中西醫整合治療原則如下：

1. 器質性(organic disorders)、急症、重症，例如癌症，良性腫瘤，呼吸衰竭等，以西醫為主，中醫為輔。
2. 功能性(functional disorders)，例如便秘，腸胃不適，以中醫為主，西醫為輔。
3. 感染性，例如：菌血症、細菌性感染以西醫為主、中醫為輔。
4. 同一病程中器質性會影響功能性，功能性也會演化成器質性。一般而言，西方醫學對於器質性改變的疾病療效較佳，反之，中醫藥對於功能性的變化比較有改善的空間。
5. 同時性或階段性的治療。在疾病的治療過程中，運用去除病源，減低併發症(通常運用西醫)等等，與促進復原的方法(通常運用中醫藥)，如何在過程中考慮合併使用的優缺點，與階段性(先西後中)或是(先中後西)的治療策略，必須要全盤性的考量。

(四)進行中西醫整合作治療癌症之臨床療效評估，本計畫出及目標著重：中西醫結合對病人的症狀改善程度，與生活品質改善程度作為療效評估。又醫療成本分析：進入中西醫整合門診平台之病人，經相互轉診後，只須收一次的掛號費，及配置一名護理人員即可，相當於少收 100 元掛號費及減少一名人事費用支出，因本計畫自收案起至今為期只有 4 個月，尚無法長期的追蹤出病人再住院率、疾病復發率、併發症等。又醫療成本分析預計使用成本效果分析，因其效果單位要以延長壽命之年數、存活個案數為自然單位，故本計畫研究時間尚不足以評估，待兩年期計畫完成結束後，再做完整成本分析。

(五)建立中西醫合作治療須具備之硬體設備及中西醫、藥、護等人力資格標準，包括：

1. 我們將以不同的症狀的臨床量表與生活量表，進行收案病人的療效評估，具體提出中西醫合作治療之實證依據。
2. 經由諮詢小組（由中、西醫師跨部科組成）每月集會，以研擬出中西醫合作治療應具備的配備與人力標準

癌症整合醫療臨床實務討論會七月份講題為扶正中醫藥對於癌症治療與研究經驗分享，九月份講題為禪修的療癒力量—正念(mindfulness)在癌症心裡照顧的運用，十月份講題為癌症中西醫互補療法，十一月份講題為癌症病人之美術療癒。(詳如表一)

(六)規劃並搜尋臨床中西藥物合併治療癌症之藥物資訊：注重中藥、西藥之交互作用，詳見如下表格：

1. 中草藥對 HER2/erbb2 影響之文獻探討

Inhibition	
	中草藥
分子層次	Houttuyninum (魚腥草/臭腥草) Celastrol (雷公藤紅素/南蛇藤素) 11,11'-Dideoxy-verticillin(ZH-4B) (<i>Shiraia bambusicola</i> , 竹黃) Honokiol (厚朴酚) (<i>magnolia</i> , 木蘭) <i>Cimicifuga</i> species(升麻) black cohosh (黑升麻/北美升麻) Danshen (<i>Salvia miltiorrhiza</i> , 丹蔘) Giant knotweed rhizome (虎杖) Quercetin (槲黃素/槲皮素)
動物模型	Houttuyninum (魚腥草/臭腥草) 11,11'-Dideoxy-verticillin (<i>Shiraia bambusicola</i> , 竹黃) Celastrol (雷公藤紅素/南蛇藤素)
流行病學	none
臨床試驗	none
Activation	
	中草藥
分子層次	Si-Wu-Tang (SWT) 四物湯 ferulic acid(FA) (<i>Angelica sinensis</i> , 當歸)

動物模型	none
流行病學	none
臨床試驗	none

2. 中草藥對 ER/ESR1 影響之文獻探討

Inhibition	
	中草藥
分子層次	Prunella vulgaris(夏枯草) Coptis rhizoma powder(<i>Coptidis japonica</i> , 黃連粳稻) Ganoderma lucidum(<i>G. lucidum</i> , 靈芝) Vitex Negundo(牡荊) Wogonin(<i>Scutellaria baicalensis</i> , 黃芩) Tanshinone IIA(<i>Salvia miltiorrhiza</i> , 丹參) Cornus officinalis(山茱萸)
動物模型	Prunella vulgaris(夏枯草) Vitex Negundo(牡荊) Wogonin(<i>Scutellaria baicalensis</i> , 黃芩) Tanshinone IIA(<i>Salvia miltiorrhiza</i> , 丹參)
流行病學	None
臨床試驗	None
Activation	
	中草藥
分子層次	Calycosin(<i>Radix Astragali</i> , 黃耆) Phytoestrogens(植物雌激素) Kaempferol(<i>Kaempferia galanga L.</i> , 山奈; 高良薑; 良薑) Radix Astragali (黃耆) and Radix Angelicae Sinensis (當歸) Epimedium(<i>Epimedium brevicornum</i> , 小檗科淫羊藿) Calycosin(<i>Radix Astragali</i> , 黃耆) Si-Wu-Tang(四物湯)
動物模型	Calycosin(<i>Radix Astragali</i> , 黃耆) TG-decoction Epimedium(<i>Epimedium brevicornum</i> , 小檗科淫羊藿)

流行病學	None
臨床試驗	None

(七)根據所提治療臨床路徑，建立中西整合治療癌症的護理照護常規：進入中西醫整合平台提供之治療臨床路徑，病人經過西醫師診治後，由西醫師說明此計畫之目的及方法後，講解合併使用中西藥物之注意事項及可能之交互作用，現仍以西醫治療處方為主，待看完中西醫整合醫療門診後，由護理師衛教其返家後之飲食宜忌、針對癌症放化療常見副作用之自我保健方法，如：穴位選取及穴位按摩之技巧。當若出現嚴重併發症及其副作用發生時，則可連絡傳統醫學或返診，經醫師診治後，提供中西醫整合門診相關資料並予以轉介。

二、教學方面

定期舉辦中醫對癌症治療有幫助的相關課程。於 2012 年 11 月 30 日舉辦癌症非藥物處置研習會。(詳如表二)

三、研究方面

- (一) 從 2012 年 8 月至 2012 年 11 月 27 日，至台北榮總中醫癌症特別門診及中西醫聯合門診之病人共有 2,334 人次，其中癌症病人約為 1,641 人次。同期間本研究共收案 40 人(其中乳癌 28 人、大腸癌 4 人、肺癌 6 人、卵巢癌 1 人、舌癌 1 人)。平均年齡 56.4 歲。
- (二) 其中 28 位乳癌受試者於使用中藥前、使用後一個月追蹤檢驗血清中女性相關的荷爾蒙，例如女性荷爾蒙(E2)及卵巢刺激素(FSH)，結果如圖三及圖四，看到結果中藥使用後一個月檢驗女性荷爾蒙(E2)會略為降低，但卵巢刺激素(FSH)與使用中藥前差不多。由於時間較短，利用此平台的病人其生活品質，在 MOS SF-12 健康相關生活品質問卷裡，不管是生理上(PCS)或是心理上(MCS)，都沒有統計學上差異。(圖五)有幾點可解釋此結果。(1)收案至結案時間過短，即使有稍微改變的趨勢，亦仍無統計意義。(2)由於時間短暫無法收到足夠個案數，無法將癌症病人的期數，復發與否，還是末期影響評估的干擾因素排除。若要達到如此的分層分析，必須要有夠長的時間(通常一年至兩年)與個案數，方能適當的執行之。

(三) 中醫藥對於癌症病人的實證研究在臺灣尚未有足夠的證據，因此，先以有意願來本院中醫看診的癌症病人為主，實驗設計乃是垂直追蹤型研究。若有機會，能夠加上對照組的個案當然是最好的實驗設計。

肆、討論

本計畫為了改善現行中西醫聯合門診主要以中醫或西醫單獨看診的缺點，特別提出中西醫整合門診的概念，乃是中醫與西醫共同看診的平台，面對同一癌症病人，經過辨病(診斷)之後，分別經過中醫(辯症論治)及西醫(診斷治療)的雙向溝通，提出共同治療的共識與治療方針。經由資訊室整合中醫與西醫門診的代碼 (OAE 為中西整合治療癌症門診)，病人掛號此特別門診後，由西醫經由診斷步驟(SOA)確認疾病及 ICD-9 疾病代碼，此步驟為診斷(西醫)或中醫(辨病)的主要依據，在未來，ICD-11 會加上中醫的診斷，如此一來，中西醫的診斷可同時出現在本平台的診斷編碼中。藉著統一的 ICD-11 編碼，分別規劃西醫的處置欄位及中醫辨症(証)即處置欄位。

本計畫預定制定中西醫整合治療癌症照護計畫，並訂定臨床治療路徑。例如中醫與西醫根據診斷及疾病的特性與程度，例如器質性或是功能性，感染性或是非感染性，急重症或是慢性病等，互相討論出同時性或是階段性的治療方針與策略。並著手進行中西醫整合作治療癌症之臨床療效評估，醫療成本分析，具體提出中西醫合作治療之實證依據。

教學方面，本院利用此平台，共同舉行中西醫癌症整合醫療臨床實務討論會，七月份講題為扶正中醫藥對於癌症治療與研究經驗分享，九月份講題為禪修的療癒力量—正念(mindfulness)在癌症心裡照顧的運用，十月份講題為癌症中西醫互補療法，十一月份講題為癌症病人之美術療癒。並規劃臨床中西藥物合併治療之藥物資訊，由專病臨床中西藥合併治療之藥物資訊，建立臨床中西藥物合併治療之藥物資訊架構。根據所提治療臨床路徑，建立中西整合治療癌症的護理照護常規。

研究方面，從 2012 年 8 月至 2012 年 11 月 27 日，至台北榮總中醫癌症特別門診及中西醫聯合門診之病人共有 2,334 人次，其中癌症病人約為 1,641 人次。同期間本研究共收案 40 人（其中乳癌 28 人、大腸癌 4 人、肺癌 6 人、卵巢癌 1 人、舌癌 1 人）。平均年齡 56.4 歲。由於時間過短，這對研究者或是病人都是不合理的。其中 28 位乳癌受試者於使用中藥前、使用後一個月追蹤檢驗血清中女性相關的荷爾蒙，例如女性荷爾蒙(E2)及卵巢刺激素(FSH)，看到結果中藥使用後一個月檢驗女性荷爾蒙(E2)會略為降低，但卵巢刺激素(FSH)與使用中藥前差不多。在生活品質方面，由於時間短暫無法收到足夠個案數，無法將癌症病人的期數，復發與否，還是末期影響

評估的干擾因素排除。若要達到如此的分層分析，必須要有夠長的時間(通常一年至兩年)與個案數，方能適當的執行之。

伍、結論與建議

本兩年期計畫預定於 2012 年 6 月 1 日至 2013 年 12 月 15 日，但因行政因素及人體試驗委員會審查行政因素，造成計畫執行與收案自 2012 年 8 月至 2012 年 11 月 27 日止，計畫的執行受阻，造成研究平台雖然建立，卻無法立即看到病人在生活品質包括生理上或心理上的改善。

計畫執行在臨床中醫部份，應無問題，但是在西醫方面，需要有更多的時間去相互瞭解，這是長期的時間累積，無法在本計畫執行期間完成，有鑑於此，期望政府單位應簡化行政流程，以達當今政府所要求的便民措施與政策。也期望第二年的計畫能順利執行，能提供中醫與西醫在癌症整合醫療的模式。讓本計畫所得的結果能造福臺灣的癌症病人，也加強中醫與西醫的互相了解與信任。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP101-RD-025 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. Eisenberg DM et al. Unconventional medicine in the United States: Prevalence, cost and pattern of use. *N Eng J Med* 1993; 328:246-252.
2. Shih SF et al. Insurance covered and noncovered complementary and alternative medicine utilization among adults in Taiwan. *Soc Sci Med* 2008;67:1183-1189.
3. Ernst E & Cassileth BR. The prevalence of complementary & alternative medicine in cancer: a systematic review. *Cancer* 1998;83:777-782.
4. Burstein HJ et al. Use of Alternative Medicine by Women with Early-Stage Breast Cancer. *New Eng J Med* 1999; 340:1733-1739.
5. Saquib J, Madlensky L, Kealey S, Saquib N, Natarajan L, Newman VA, Patterson RE, Pierce JP. Classification of CAM use and its correlates in patients with early-stage breast cancer. *Integr Cancer Ther.* 2011;2:138-147.
6. Lin YH, Chen KK, Chiu JH. Prevalence, Patterns and Costs of Chinese Medicine Use among Prostate Cancer Patients: a Population-based Study in Taiwan. *Integr Cancer Ther* 2010; 9:16-23.
7. Lin YH, Chen KK, Chiu JH. Use of Chinese medicine among prostate cancer patients in Taiwan: A retrospective longitudinal cohort study. *Int J Urol.* 2011;18:383-386.
8. Lin YH, Chiu JH. Use of Chinese medicine among liver cancer patients in Taiwan. *J Altern Complement Med* 2010;16: 527-528.
9. Lin YH, Chiu JH. Use of Chinese medicine by women with breast cancer: A nationwide cross-sectional study in Taiwan. *Complement Ther Med.* 2011;19:137-143.
10. Chang CJ, Chiu JH, Tseng LM, Chang CH, Chien TM, Wu CW, Lui WY. Si-Wu-Tang and Its Constituents Promote Mammary Duct Cell Proliferation by Upregulation of HER-2-signaling. *Menopause* 2006;13:967-976.
11. Chang CJ, Chiu JH, Tseng LM, Chang CH, Chien TM, Wu CW, Lui WY. Modulation of HER2 expression by ferulic acid on human breast cancer MCF7 cells. *Eur J Clin Invest* 2006;36:588-596.
12. Fang-Pey Chen, Tzeng-Ji Chen, Yen-Ying Kung, Yu-Chun Chen, Li-Fang Chou, Fan-Jou Chen, Shinn-Jang Hwang. Usage frequency of traditional

- Chinese medicine in Taiwan. *BMC Health Serv Res.* 2007;7:26.
13. Chen FP, Kung YY, Chen YC, Jong MS, Chen TJ, Chen FJ, Hwang SJ. Frequency and pattern of Chinese herbal medicine prescriptions for chronic hepatitis in Taiwan. *J Ethnopharmacol.* 2008;17;117(1):84-91.
 14. Fang-Pey Chen, Maw-Shiou Jong, Yu-Chun Chen, Yen-Ying Kung, Tzeng-Ji Chen, Fun-Jou Chen, Shinn-Jang Hwang. Prescriptions of Chinese herbal medicines for insomnia in Taiwan during 2002. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2009 Apr 1.
 15. Maw-Shiou Jong, Shinn-Jang Hwang, Yu-Chun Chen, Tzeng-Ji Chen, Fun-Jou Chen, Fang-Pey Chen. Prescriptions of Chinese Herbal Medicine for Constipation under the National Health Insurance in Taiwan. *Journal of Chinese Medical Association*;73(7):375-383.

柒、圖、表

表一、癌症整合醫療臨床實務討論會題目

日期	講題	講員
101.6.26	暫停一次	
101.7.17	扶正中醫藥對於癌症治療與研究經驗分享	許中華
101.8.21	暫停一次	
101.9.18	禪修的療癒力量—正念(mindfulness)在癌症心裡照顧的運用	石世明
101.10.16	癌症中西醫互補療法	吳景崇
101.11.27	癌症病人之美術療癒	郭育誠
101.12.18	以健保資料庫看臺灣病人中醫藥的利用	林宜賢

時間：每個月固定一次的星期二中午 12:15-13:15

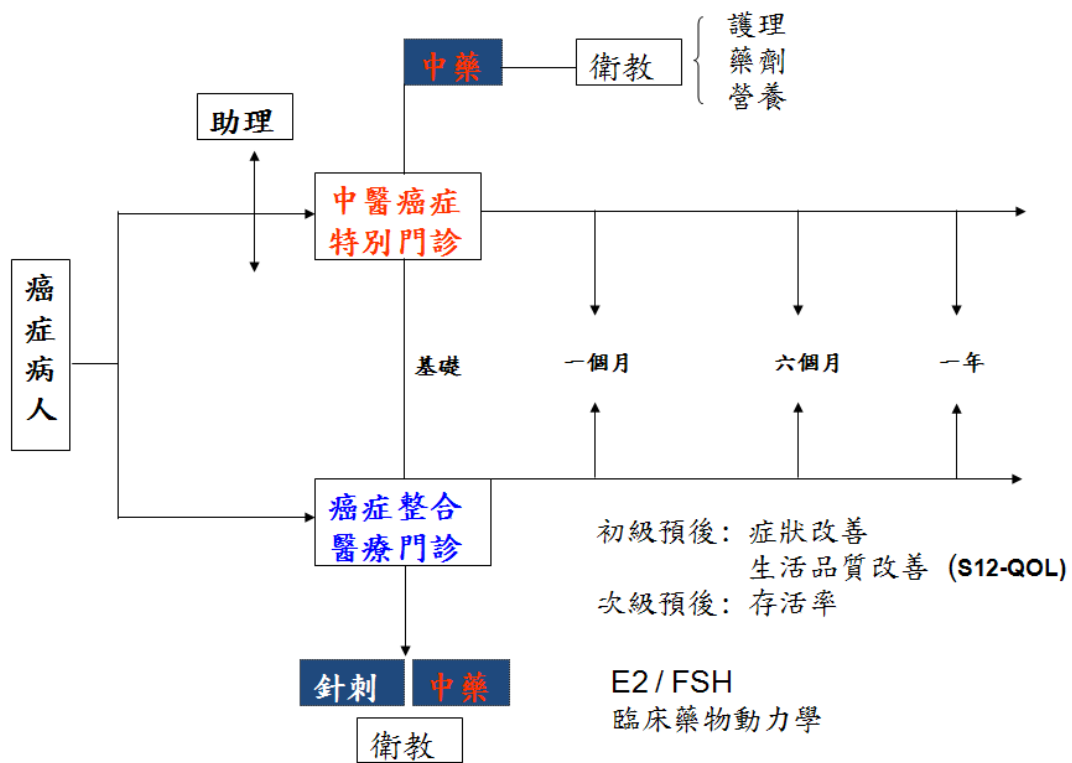
地點：癌病中心中正樓地下一樓會議室

表二、舉辦癌症非藥物處置研習會議程表

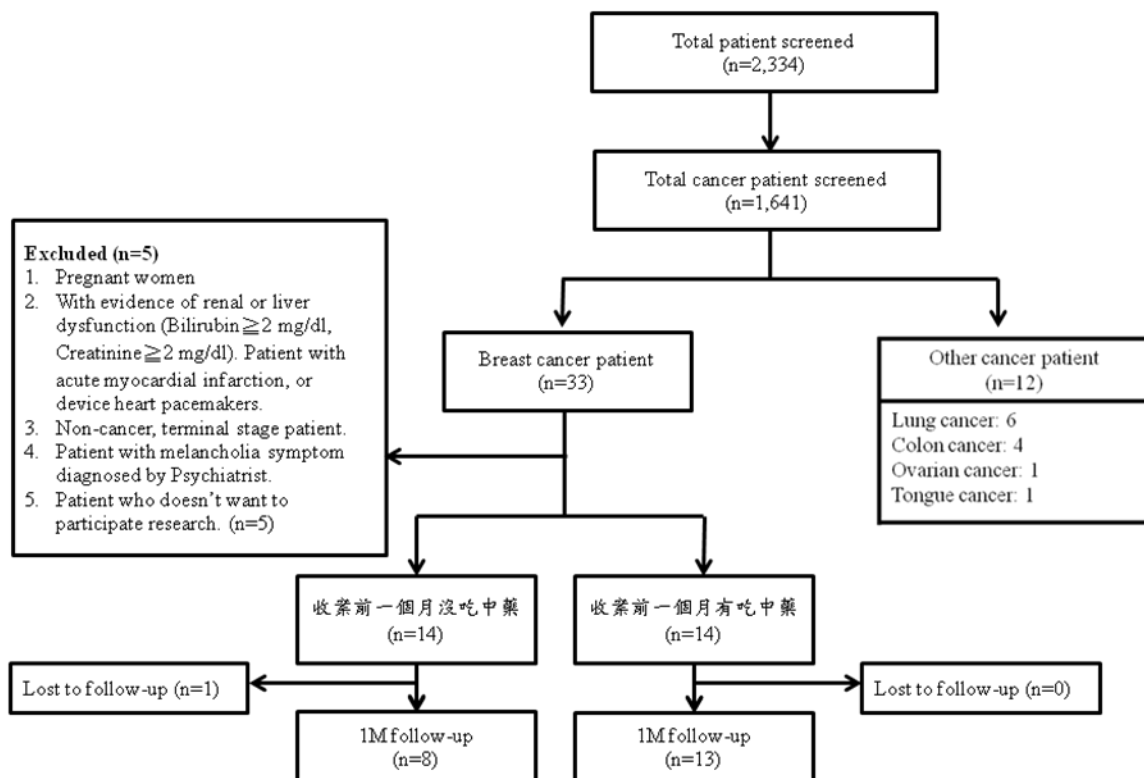
時間	主 題	主講人
08:00~08:10	報 到	齊珍慈護理長 林信偵護理師
08:10~08:20	長官致詞	顏上惠 主任 傅玲 副主任
08:20~09:10	癌症的整合醫療現況	邱仁輝 教授
09:10~10:00	中醫經絡與穴位按摩	賴榮年副教授
10:00~10:10	茶 敘	
10:10~11:10	穴位按摩實際操作	賴榮年副教授 明金蓮督導長
11:10~12:00	芳香療法理論	林貴春執行長
12:00~13:00	午 餐	
13:00~14:30	芳香療法及實際操作	林貴春執行長
14:30~14:50	茶 敘	
14:50~15:40	正念冥想在癌症治療的角色	石世明老師
15:40~17:10	正念冥想實際操作	石世明老師
17:10~	～賦 歸～	

表三、「中西醫整合治療癌症」病歷規範

台北榮總傳統醫學科「中西醫整合治療癌症」病歷規範								
姓名	病歷號碼	性別	會診日期		年 月 日			
			出生日期		年 月 日 (歲)			
主訴								
進入中西醫整合門診主要問題								
現在病史								
過去病史								
中醫四診	望診	面色						
		舌診	苔		色		體	
	聞診	語音						
		氣味						
	問診							
	切診							
理學檢查								
實驗室檢查								
西醫診斷								
中醫診斷 (証型)								
病機分析								
西醫處置								
中醫處置								



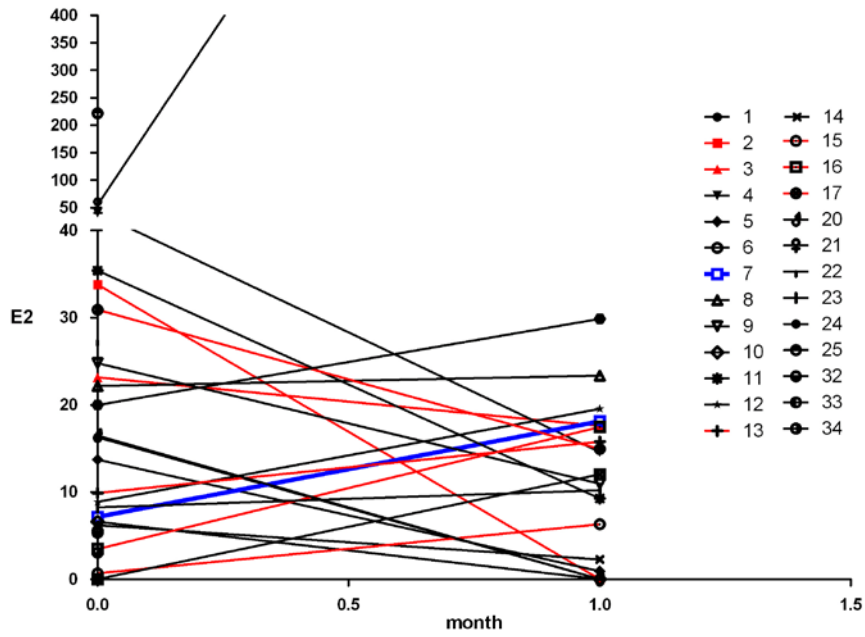
圖一、研究流程



*2012年8月至11月27日門診資料。

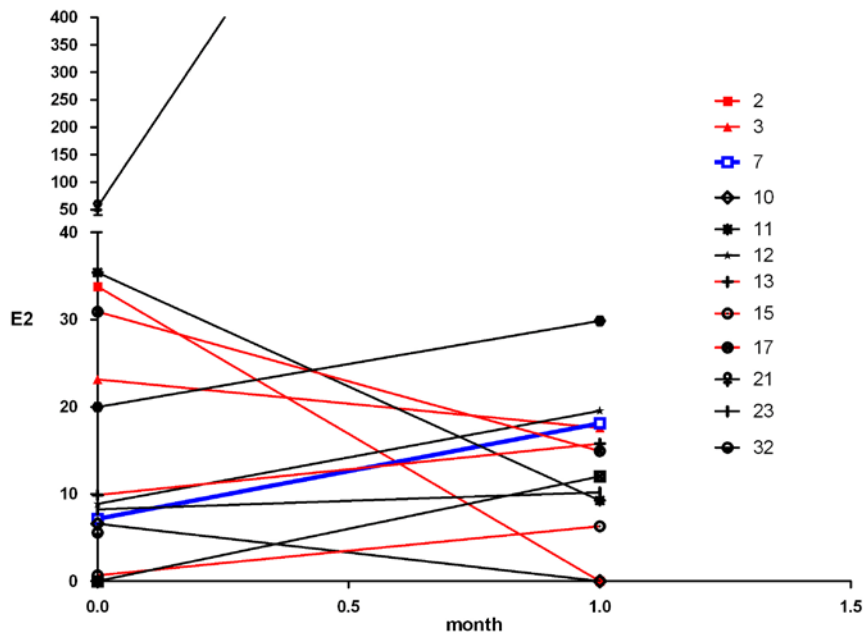
圖二、受試者流程

E2-20121121(Total breast ca. patients)



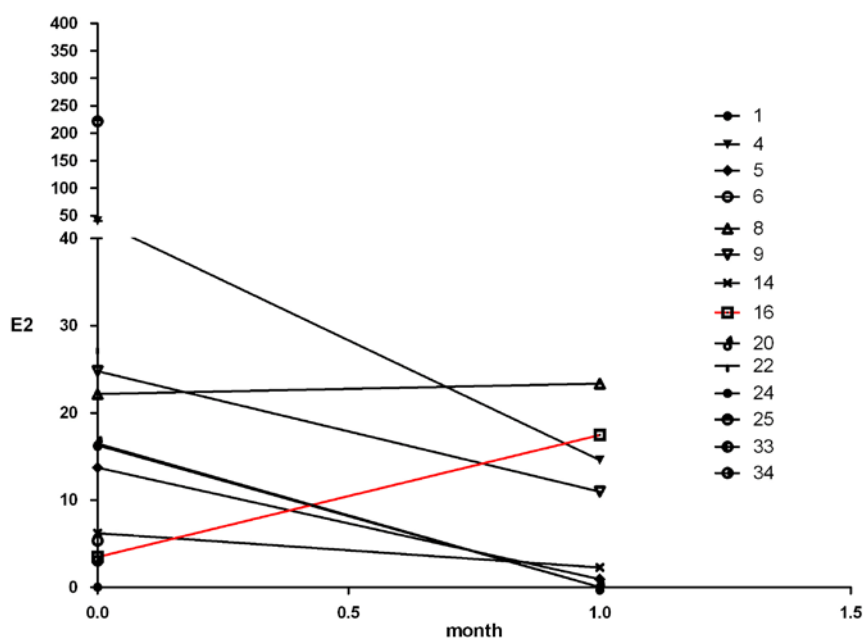
(A)全部乳癌病人

E2-20121121(Breast ca. patients- | 個月前吃中藥)



(B)乳癌病人(收案前一個月有吃中藥)

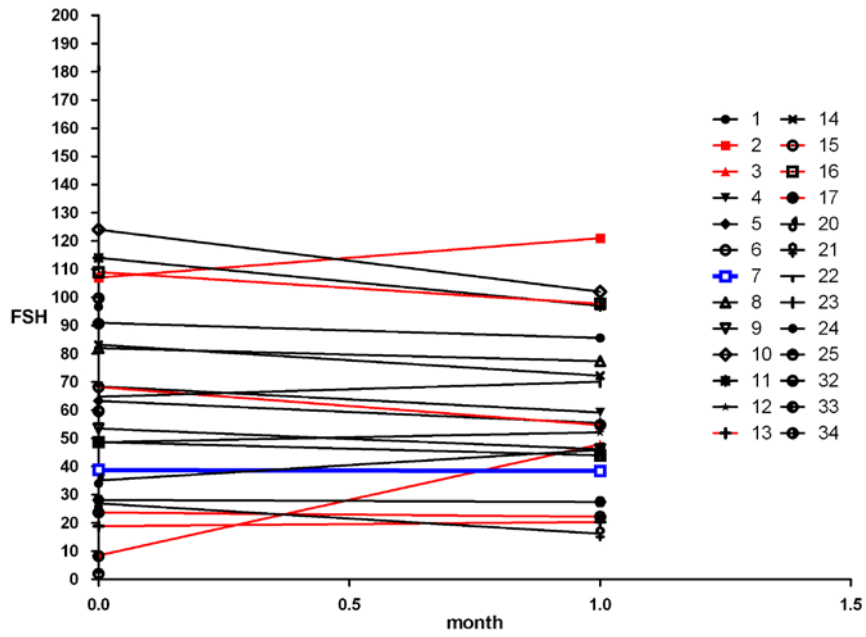
E2-20121121(Breast ca. patients- 1 個月前沒吃中藥)



(C)乳癌病人(收案前一個月沒有吃中藥)

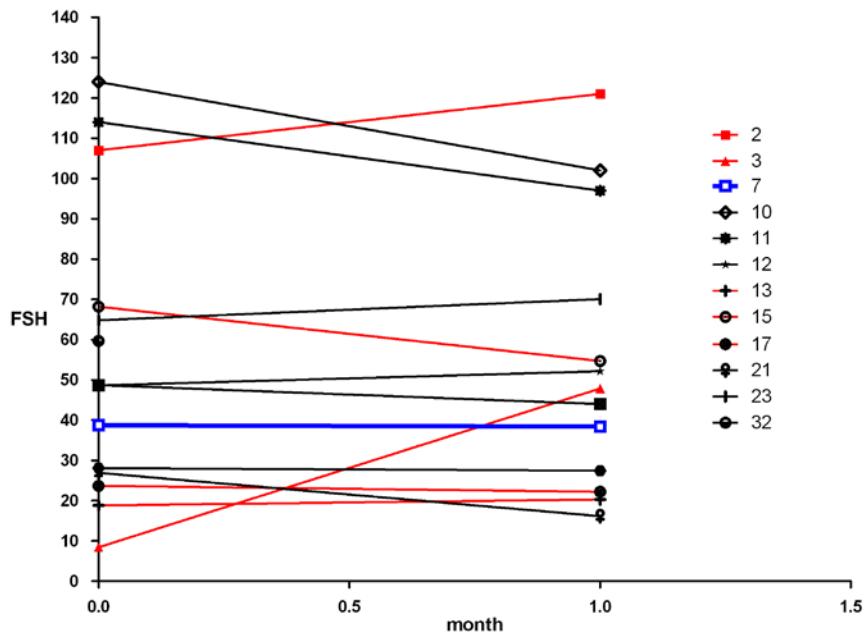
圖三、乳癌受試者於使用中藥前、使用後一個月追蹤檢驗血清中女性荷爾蒙(E2)變化趨勢圖

FSH-20121121(Total breast ca. patients)



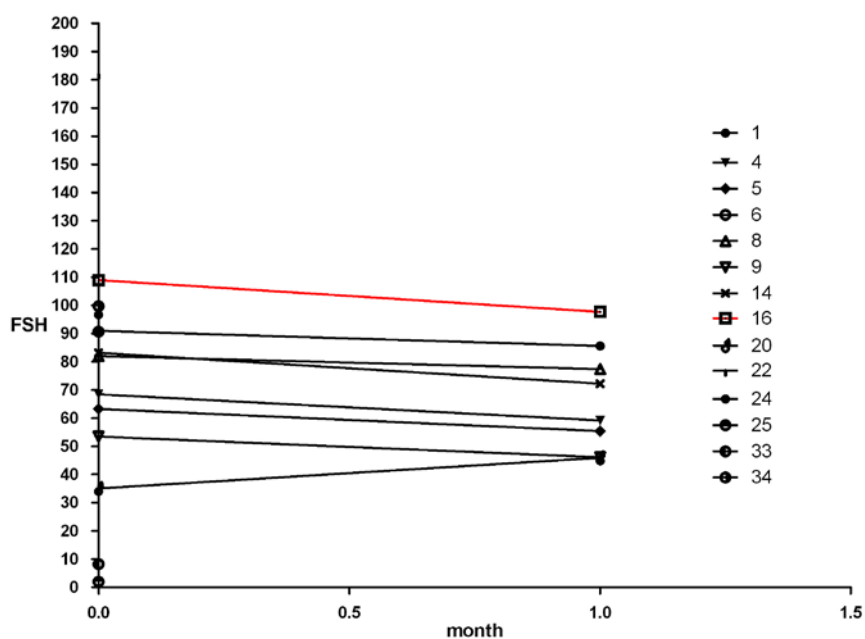
(A) 全部乳癌病人

FSH-20121121(Breast ca. patients- 1個月前有吃中藥)



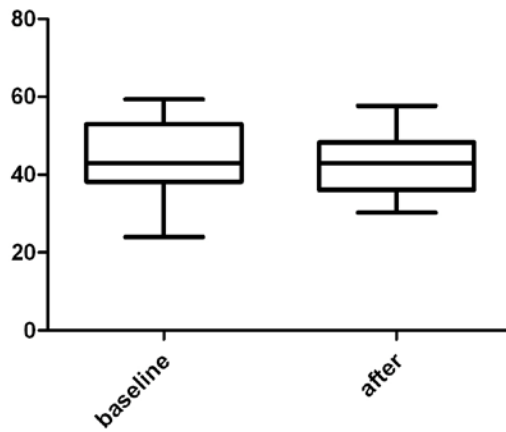
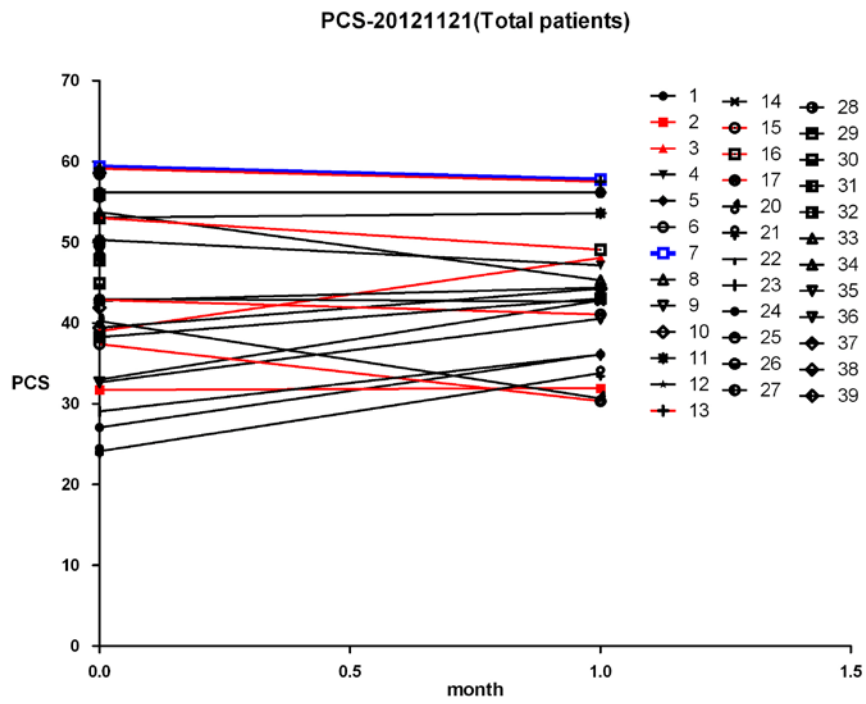
(B) 乳癌病人(收案前一個月有吃中藥)

FSH-20121121(Breast ca. patients- 1個月前沒有吃中藥)

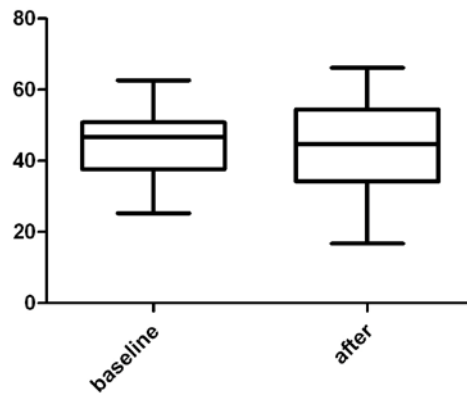
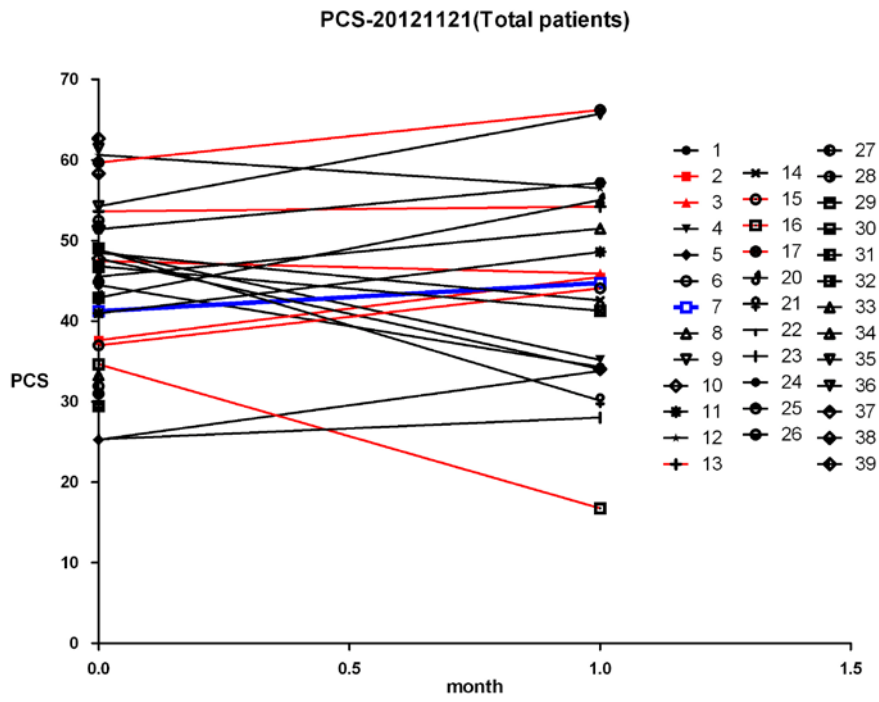


(C) 乳癌病人(收案前一個月沒有吃中藥)

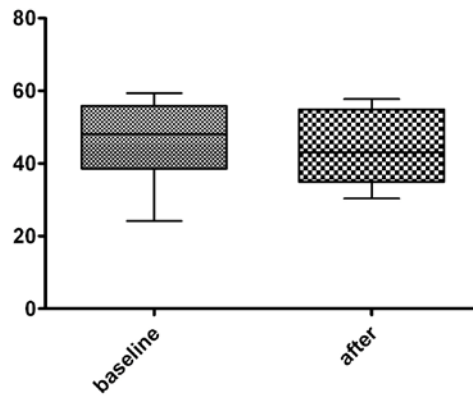
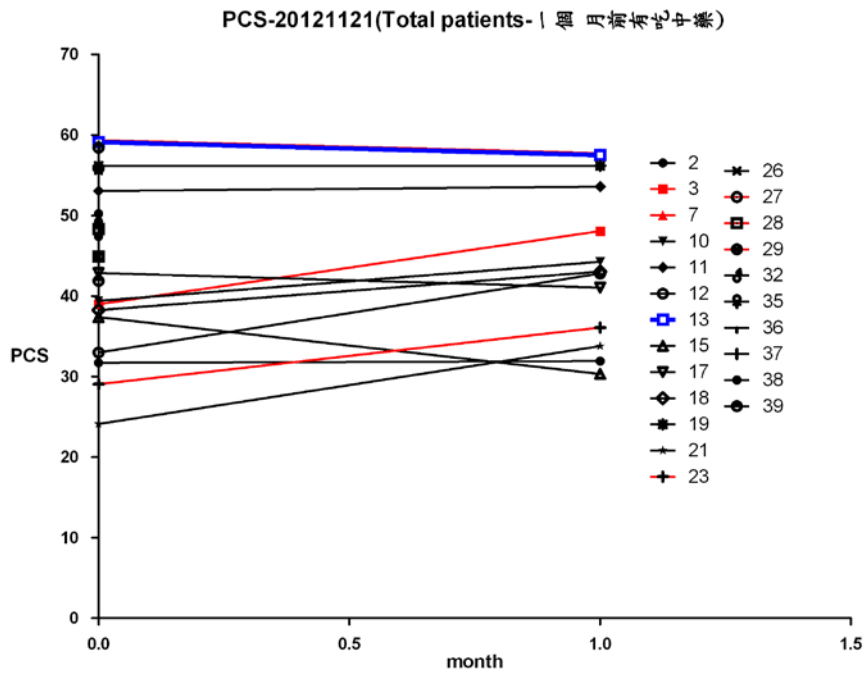
圖四、乳癌受試者於使用中藥前、使用後一個月追蹤檢驗血清中卵巢刺激素(FSH)變化趨勢圖



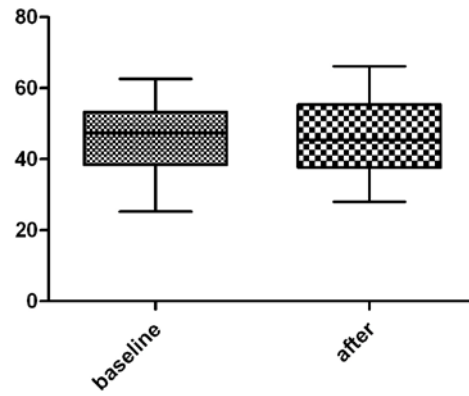
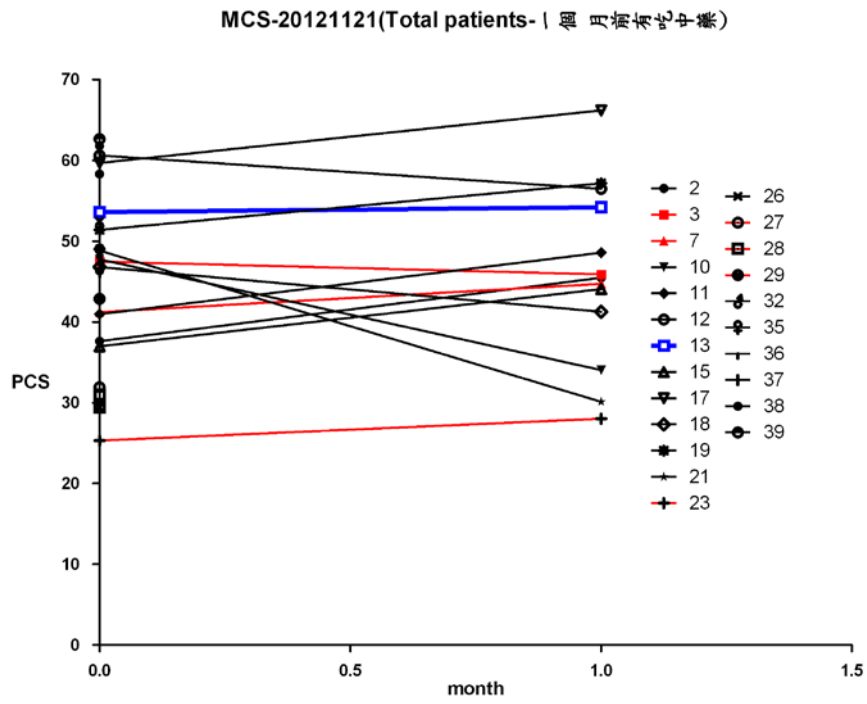
(A)全部癌症病人-生理上(PCS)追蹤趨勢圖



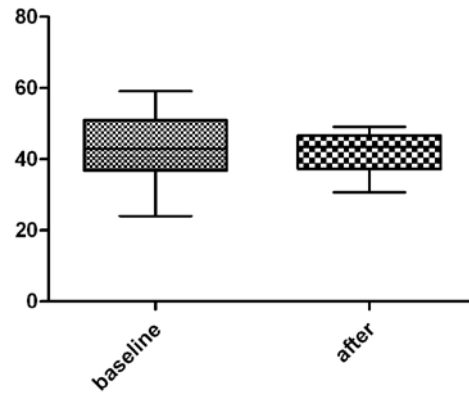
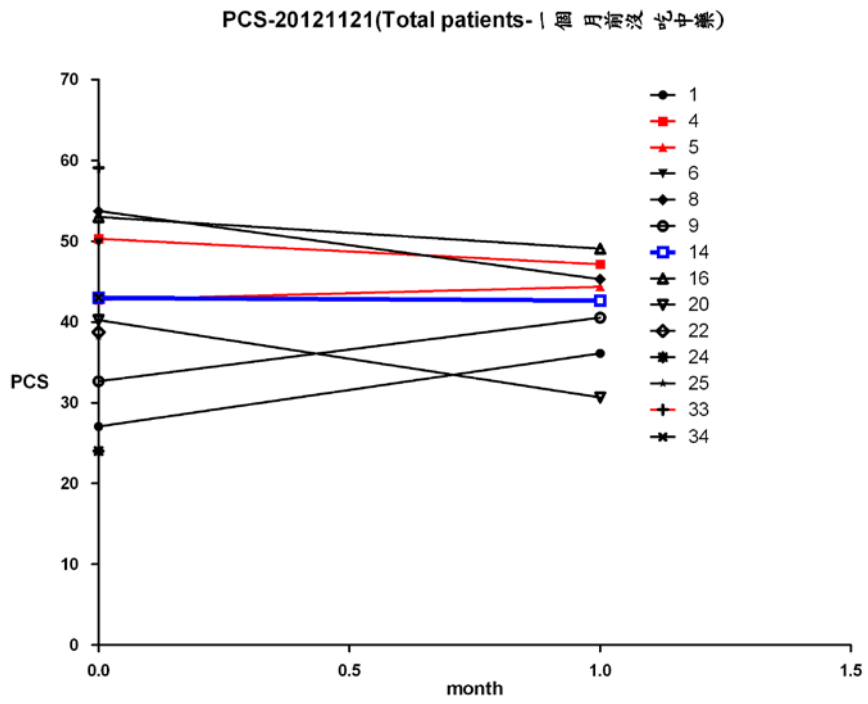
(B)全部癌症病人-心理上(MCS)追蹤趨勢圖



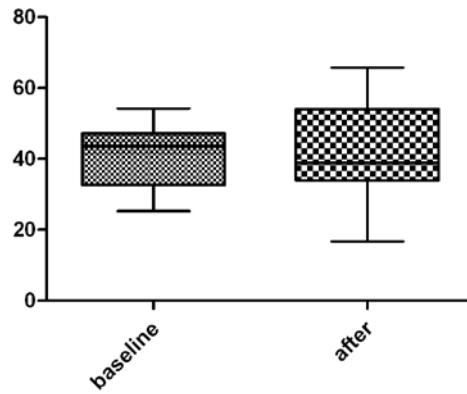
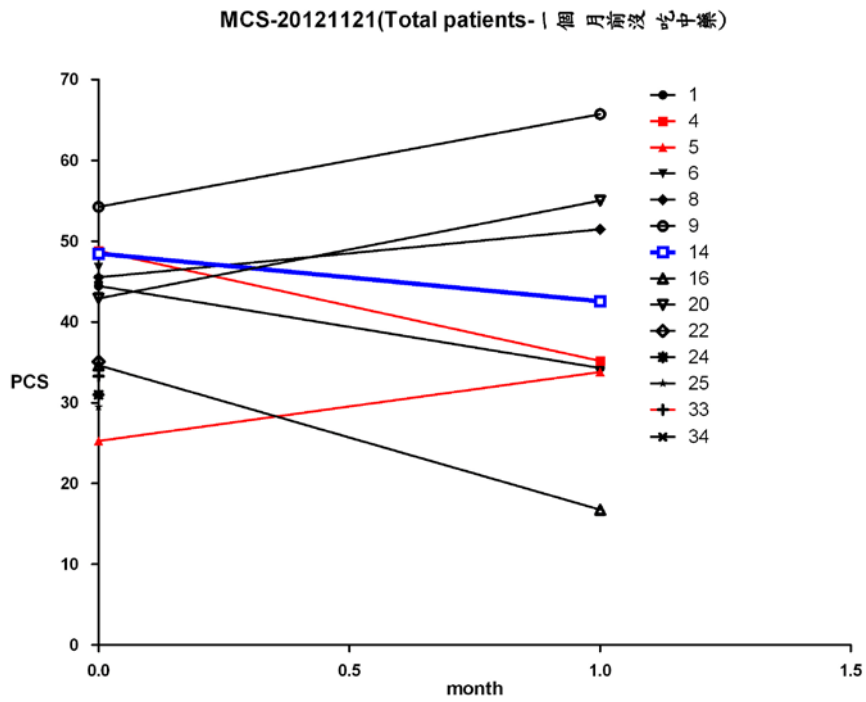
(C)全部癌症病人(收案前一個月有吃中藥)-生理上(PCS)追蹤趨勢圖



(D)全部癌症病人(收案前一個月有吃中藥)-心理上(MCS)追蹤趨勢圖



(E)全部癌症病人(收案前一個月沒有吃中藥)-生理上(PCS)追蹤趨勢圖



*MOS SF-12 健康相關生活品質問卷，生理上(PCS)或是心理上(MCS)

(F) 全部癌症病人(收案前一個月沒有吃中藥)-心理上(MCS)追蹤趨勢圖

圖五、全部癌症受試者於使用中藥前、使用後一個月追蹤生活品質

附錄一、台北榮總中西醫學整合門診—基礎資料評量表

門診日期：____年/____月/____日；編號：_____

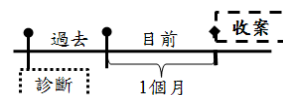
- i. 姓名：_____ ii. 病歷號碼：_____ 編號：_____
- iii. 性別：1男 2女 iv. 出生日期：民國____年____月____日
- v. 何種癌症 0乳癌 1肺癌 3肝癌 4結腸直腸癌 5胃癌 6子宮頸癌 6其他_____
- vi. 期數：00 1Ia 2Ib 3IIa 4IIb 5IIIa 6IIIb 7IIIc 8IV 9其它：_____
- vii. 請問否曾接受下列治療？
- (1) 手術根除_____ 0否 1是
- (2) 化療_____ 0否 1是
- (3) 放射線治療(電療)_____ 0否 1是
- (4) 標靶治療_____ 0否 1是
- (5) 賀爾蒙治療_____ 0否 1是
- (5-a) () H/T 0無 1Tamoxifen 2Anastrozole(AI) 3GnRH 4Tam+AI
5Letrozole 6其它：_____

一、基本資料

- [1] 連絡電話：(H)_____ (手機)_____
- [2] 教育程度：1未受正規教育 2國小/小學 3國(初)中 4高中(職) 5大專/大學 6研究所級以上 7其它：_____
- [3] 婚姻狀況：1未婚/單身 2已婚/同居 3離婚/分居 4喪偶 5其它：_____
- [4] 宗教信仰：1無任何宗教信仰 2燒香、拜拜或是民間傳統信仰 3佛教
4道教 5一貫道 6基督教 7天主教 8回教 9其它：_____

二、為了調查中西醫學整合治療癌症患者的效益，請回答您覺得最適合的答案。

- [5] 在癌症治療過程中，您曾出現哪些不舒服的副作用？請依序選出三個分別填入(1)、(2)、(3)
- (1) () (2) () (3) ()
- ①疲倦 ①噁心 ②嘔吐 ③關節肢體疼痛 ④失眠 ⑤食慾降低 ⑥腹瀉 ⑦便秘 ⑧臉潮紅
⑨掉頭髮 ⑩陰道出現分泌物或乾燥 ⑪白血球數目降低 ⑫內臟疼痛 ⑬焦慮不安
⑭手臂水腫 ⑮骨質疏鬆 ⑯口腔炎或口乾舌燥 ⑰情緒低落 ⑱心悸 ⑲容易發怒
⑳緊張 ㉑肌肉強度降低 ㉒頭痛 ㉓高膽固醇或高血脂 ㉔血栓 ㉕其它：_____
- [6] 其中，您最想消除的3種副作用？請依序選出三個分別填入(1)、(2)、(3)
- (1) () (2) () (3) ()
- ①疲倦 ①噁心 ②嘔吐 ③關節肢體疼痛 ④失眠 ⑤食慾降低 ⑥腹瀉 ⑦便秘 ⑧臉潮紅
⑨掉頭髮 ⑩陰道出現分泌物或乾燥 ⑪白血球數目降低 ⑫內臟疼痛 ⑬焦慮不安
⑭手臂水腫 ⑮骨質疏鬆 ⑯口腔炎或口乾舌燥 ⑰情緒低落 ⑱心悸 ⑲容易發怒
⑳緊張 ㉑肌肉強度降低 ㉒頭痛 ㉓高膽固醇或高血脂 ㉔血栓 ㉕其它：_____
- [7] 您過去是否找過其他的治療方法來改善這些症狀？..... 0否 1是 2其它：_____



承上題，答案為『是』者，請繼續下列的問題。

[8] 除了西醫的治療外，您目前開始合併使用下列的另類療法？

※請依註一內容，選擇適合的選項填入括號中

名稱	過去*有無使用	目前*有無使用	目前繼續使用情形(註一) ①完全停止 ①很少 ②偶爾 ③常常
(1) 傳統中草藥	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	()
(2) 針灸	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	()
(3) 能量康復：氣功、太極拳	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	()
(4) 民俗療法：推拿、刮痧	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	()
(5) 健康食品(含保健食品)	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	()
(6) 整脊療法：瑜珈	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	()
(7) 按摩及芳香療法	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	()
(8) 心靈康復，收驚	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	()
(9) 催眠	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	()
(10) 其它：_____	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	0 <input type="checkbox"/> 無 1 <input type="checkbox"/> 有	()

註一：使用頻率之情形如下：

①完全停止：不再使用 ①很少：一個月內使用一次

②偶爾：一個月內使用二次 ③常常：一個月內使用四次以上

[9] 您會考慮使用這些另類療法最主要的目的是什麼？請依序選出三個分別填入(1)、(2)、(3)

(1) () (2) () (3) ()

①使癌症痊癒 ①預防癌症復發 ②減緩癌症的進行 ③減輕癌症的症狀

④減輕西醫治療帶來的副作用 ⑤加強西醫治療的效果

⑥加強自己的免疫能力 ⑦因為他人的推薦介紹，所以姑且試一試

⑧使他人安心 ⑨無 ⑩其它(請說明)：_____

三、整合醫療療程1—問題列表及照顧計畫

[10] 病人主訴

※請依註二內容，選擇適合的選項填入括號中

日期	優先處理的症狀(註三)	註二：病人主訴，請選擇一個填入括號 ①諮詢 ①疼痛 ②失眠 ③焦慮 ④腸胃道功能 ⑤更年期/停經 ⑥化療的副作用：噁心、嘔吐、白血球數目降低 ⑦免疫調節 ⑧關節肢體疼痛 ⑨無 ⑩其它：_____
	(1) ()：主要症狀 (2) ()：次要症狀 (3) ()：第三症狀	

[11] 症狀實際改善評估

※請依註三內容，選擇適合的選項填入括號中

初次症狀表現程度	追蹤症狀表現程度(註三)
(1) () 主要症狀 [10-1] 的分數	(a) () 1 ^m (b) () 3 ^m (c) () 6 ^m (d) () 12 ^m
(2) () 次要症狀 [10-2] 的分數	(a) () 1 ^m (b) () 3 ^m (c) () 6 ^m (d) () 12 ^m

附錄二、台北榮總中西醫學整合門診－滿意度調查問卷

	1. 很 滿意	2. 滿 意	3. 普 通	4. 不 滿 意	5. 很 不 滿 意	6. 不 知 道
一、<u>診療過程</u>						
1. 醫師在診察時會耐心傾聽我的病情.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. 醫師在做檢查或治療時，有充分說明及解答我的疑問.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. 醫師在診察時有尊重我的個人隱私.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. 您覺得醫師的醫療專業.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. 您認為中西醫整合醫學門診的方便度（不必中醫西醫兩邊跑）.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. 整體而言，您對於中西醫整合醫學門診的滿意度為.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

	1. 很 滿意	2. 滿 意	3. 普 通	4. 不 滿 意	5. 很 不 滿 意	6. 不 知 道
二、<u>診間環境及設施</u>						
1. 您覺得診間內舒適.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. 您覺得診間內的環境乾淨清潔.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. 您覺得診間的空調適當.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. 您覺得診間內的設施（如座椅、地板等）整齊清潔.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

	1. 很 滿意	2. 滿 意	3. 普 通	4. 不 滿 意	5. 很 不 滿 意	6. 不 知 道
三、<u>工作人員服務態度</u>						
1. 您覺得醫師的態度親切友善.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. 您覺得護理人員的態度親切友善.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. 您覺得行政人員的態度親切友善.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

附錄三、MOS SF-12 健康相關生活品質

◎ 個案代碼： _____ or _____ ◎ 填表日期： ____年 ____月 ____日

1. 一般來說，您認為您目前的健康狀況是？(請僅勾選一項答案)

1. 極好的 2. 很好 3. 好 4. 普通 5. 不好

2. 下面是一些您日常可能從事的活動，請問您目前健康狀況會不會限制您從事這些活動？
如果會，到底限制有多少？(每行請僅勾選一項答案)

活 動	會，受到很多限制	會，受到一些限制	不會，完全不受限制
a. 中等程度活動，例如搬桌子、拖地板、打保齡球、或打太極拳			
b. 爬數層樓樓梯			

3. 在過去四週內，您有多少時間曾因為身體健康問題，而在工作上或其他日常活動方面有下列任何的問題？(每行請僅勾選一項答案)

	一直都是	大部份時間	有時	很少	從不
a. 完成的工作量比您想要完成的較少					
b. 可以做的工作或其他活動的種類受到限制					

4. 在過去四週內，您有多少時間曾因為情緒問題(例如，感覺沮喪或焦慮)，而在工作上或其他日常活動方面有下列的問題？(每行請僅勾選一項答案)

	一直都是	大部份時間	有時	很少	從不
a. 完成的工作量比您想要完成的較少					
b. 做工作或其他活動時不如以往小心					

5. 在過去四週內，身體疼痛對您的日常工作(包括上班及家務)妨礙程度如何？(請僅勾選一項答案)
1. 完全沒有妨礙 2. 有一點妨礙 3. 中度妨礙 4. 相當多妨礙 5. 妨礙到極點

6. 下列各項問題是關於過去四週內您的感覺及您對周遭生活的感受，請針對每一問題選一最接近您感覺的答案。在過去四週內有多少時候……(每行請僅勾選一項答案)

	一直都是	大部份時間	有時	很少	從不
a. 您覺得心情平靜？					
b. 您精力充沛？					
c. 您覺得悶悶不樂和憂鬱？					

乳癌預後之中醫舌診指標(2-1)

蔣依吾

國立中山大學資訊工程系

摘要

研究目的：

於 90 至 92 年計畫主持人帶領下，已發展可自動分析舌部影像特徵之中醫舌診電腦化系統，並經中醫藥委員會申請專利，於 2008 年 4 月獲准發明專利 ("舌診系統及其方法"，中華民國專利證書發明第 I296110 號)，復於 98、99 年進行自動化舌診系統與中醫師診斷一致性研究，證實中醫舌診電腦化系統具高度自身一致性及符合舌診專家判讀之外部一致性，可降低傳統舌診因環境及人為因素影響，一致性偏低之缺失，俾利對舌象進行大規模定性及定量分析，提供客觀之診斷標準。

本計畫旨透過中醫舌診電腦化系統對乳癌進行客觀評估，以非侵入拍攝方式取得乳癌病患和正常人舌頭影像，經自動化舌診系統分析後，統計出乳癌病患與正常人舌象特徵差異，其後以乳癌病患舌象特徵與院方提供之病患西醫檢驗資料進行交叉比對，以找出可評估患者病況之舌象特徵，其判別依據將可提供醫師於臨床診斷上之參考。

研究方法：

與彰化基督教醫院合作，使用非侵入式舌頭拍攝收集乳癌病患(為實驗組，共計 60 人)和正常人(為對照組，共計 70 人)之舌頭影像，透過自動化舌診系統並統計分析兩者舌頭之舌色、苔色、苔之程度、裂紋、朱點、瘀點、齒痕、津液、舌形九大項特徵，歸納乳癌病患者與正常人舌象顯著差異處，據以鑑別乳癌患者與正常人。其後依乳癌舌象分析和乳癌病患西醫檢驗結果，結合中西醫醫學資訊，自觀察舌象特徵評估乳癌腫塊發病部位(於胸部左側或右側)，同時分析舌象特徵與乳癌期數之間顯著差異項目。

結果與討論：

已共收集乳癌病患 60 例，正常人 70 例，透過自動化舌診系統進行對乳癌病患與正常人之舌象特徵研究與比較，其中兩項中重要成果為：(1)找出乳癌病患與正常人舌象特徵顯著差異部份，發現兩者間以津液面積($p=0.018$)、舌苔肝膽右區($p=0.025$)、舌苔腎區($p=0.000^*$)、舌苔厚薄($p=0.000^*$)、舌質肝膽右區($p=0.025$)、舌質腎區($p=0.000^*$)、齒痕數量($p=0.019$)、齒痕最小面積($p=0.011$)、齒痕肝膽右區數量($p=0.000^*$)、齒痕心肺區數量($p=0.023$)、朱點數量($p=0.009$)、朱點最大面

積($p=0.000^*$)、朱點肝膽右區個數($p=0.001$)、朱點心肺區個數($p=0.000^*$)皆達顯著水準，代表上述舌象特徵表現會因有否罹患乳癌而有數據上之差別，可進一步藉此鑑別乳癌患者與正常人。(2)以 Logistic Regression 導出預測模型，其中舌苔脾胃($p=0.013$)、舌苔最大面積($p=0.006$)、舌頭整體長寬比($p=0.021$)、齒痕肝膽左區數量($p=0.027$)、朱點脾胃區個數($p=0.034$)為影響發腫瘤病部位之因子，並且能以因子影響程度預測腫瘤發病於胸部左側或右側。此兩項成果對其再加強資料訓練，增加準確度後，未來將可實踐在臨床診治，對於中醫師診察時將具有莫大助益與參考價值。

關鍵詞：乳癌預後、自動化舌診系統、Logistic Regression、 p -value

The TCM Indices of Tongue Diagnosis for the Prognosis of Breast Cancer (2-1)

John Y. Chiang

Department of Computer Science and Engineering National Sun Yat-sen University

ABSTRACT

Aim:

Led by project director from 1991 to 1993, it has developed a Tongue computerized system which analyzes the tongue characteristic automatically, and from 2009 to 2010, we did the research about The Study on the Agreement between Automatic Tongue Diagnosis System and Traditional Chinese Medicine Practitioners. We prove that the results of this study lead us to conclude that ATDS is effective in preventing influence of external factors and can provide TCM practitioners with objective and precise diagnostic data. This project aims to make an objective assessment about breast cancer through TCM tongue computerized system. To search the tongue characteristic which will be assessed the disease so that the doctors will refer the discrimination in the clinical diagnosis.

Research Methods:

With the help of Changhua Christian Hospital, We use the non-invasive way to shoot the tongue image of breast cancer patients and normal people. Tongue images through automated tongue diagnosis system and statistical analysis of both tongue Feature, summarized in breast cancer patients with normal tongues significant difference to identify breast cancer patients and healthy subjects. The next step is according to Tongue analysis in accordance with breast cancer information and breast cancer patients pathology Laboratory Information combination of Chinese and Western medicine information, and self-observation Tongue features to assess the incidence of breast cancer tumor site (on the the chest left or right), while analysis of the significant differences between the tongue-like characteristics and breast cancer installments projects.

Results and discussion:

This project has collected 60 breast cancer patients and 70 normal people. The two important results are that (1) We found the outstanding differences of tongue image situation between breast cancer patient and normal people. The main differences are body fluid area · right area of Tongue hepatobiliary, the kidney area of tongue, the tongue coating thickness, the hepatobiliary right area of tongue, kidney area of tongue quality, the scalloped quantity, scalloped minimum area, number of right area of

scalloped hepatobiliary, the number of scalloped cardiopulmonary area, number of Zhu points, Zhu points maximum area, the number of right zone of hepatobiliary of Zhu points, Zhu point cardiopulmonary zone number. The above tongue characteristics mean the situations that breast cancer occurred, and the information would identify the breast cancer patients and normal people. (2) We use the Logistic Regression to predict model. The factors that would lead to the disease place are Tongue stomach, the the tongue maximum area, the tongue overall aspect ratio, number of scalloped hepatobiliary left, Zhu points stomach characteristics of the zone number.

Keywords: the prognosis of breast cancer, TCM, Logistic Regression, p- value

壹、前言

乳癌之判定主要係透過低劑量 X 光乳房攝影、超音波檢查及乳房磁振造影[1,2]，乳房攝影時須以機器擠壓乳房造成不適，易誤判組織緻密之乳房為偽陰性及程序具輻射性，超音波檢查則無法顯示整體乳房區域，影像定位困難，且非侵入式之乳房攝影及超音波檢查均無法鑑別乳房良性或惡性腫瘤，多須佐以侵入式之組織切片檢查，進行病理組織或細胞學化驗進行確認，磁振造影利用磁場與人體水分子共振，透過不同方向掃描乳房，難以偵測乳癌初期之鈣化現象，導致乳癌判定困難。

乳癌預後即指藉由腫瘤疾病之各種臨床表現，如受癌侵犯之局部淋巴結數目、原發腫瘤大小、荷爾蒙接受體陽性率、病人有無體重減輕等因子，預測病人經治療後，未來病情變化。且每位帶有不良預後因子病人，可加以適當輔助治療，使癌症完全根除。對部份已痊癒病人，可避免多餘治療、減少副作用。要預知何種病人會復發或痊癒，均依賴預後因子之掌握和分析。目前乳癌預後有和信治癌中心醫院公布「乳癌預後評估圖譜」，根據淋巴管侵犯、發病年齡、淋巴結轉移數目、女性荷爾蒙接受體、腫瘤大小等幾個關鍵性數據，可幫助瞭解乳癌病人預後之病情發展，而這些瞭解與評估對於未來醫師替病人規劃治療計劃將有重要影響。

本計畫於乳癌採取中醫舌診判斷方式，除此之外，本實驗更是首度以中醫舌診對特定疾病進行研究之嘗試。中醫看病注重望、聞、問、切，舌診為望診重要診斷內容之一[3,4,5,6]，通過舌診瞭解體內寒、熱、虛、實及臟腑血氣之盈虧，以中醫整體性之觀點，治療注重整體失調情況，調整氣血臟腑平衡，通過綜合治療達到痊癒目的。傳統舌診判讀往往易受醫師主觀認定、經驗累積及當時環境因素影響，缺乏客觀指標，無法達到研究上可重複性之要求，為實現舌診客觀化及定量化目標，已發展具高度一致性之自動化舌診系統[4,5]，自動化舌診系統包括舌頭影像擷取及分析兩大部分，高品質且穩定影像將可提高後續舌部影像分析之正確性；而舌頭影像分析將舌頭以外之部分去除，利於後續特徵擷取步驟針對剩餘之舌部區域進行特徵辨識及擷取。經一致性研究證實自動化舌診系統可減少或消除傳統診斷上環境因素對舌診影響，對舌象特性作定性及定量分析，能提供客觀之診斷標準，降低舌診結果差異。舌診是一種簡而易行且有實務價值之輔助診斷方法，妥善運用舌診療法更有利於確定治療原則並選擇合適藥方，舌診與現代電腦科學結合，更能提升臨床診斷正確率及治癒成效；所

以使用舌診量化後客觀之結果作為判斷病徵之依據，對推動中醫舌診現代化發展具有重大成效。

本計畫以非侵入式拍攝舌頭並觀察乳癌病患(實驗組)和正常人(對照組)舌象表現，透過自動化舌診系統擷取舌象特徵[7,8,9]，舌色分為淡白、偏淡、淡紅、偏紅、紅、絳、紫黯；苔色分為白苔、黃苔、染苔；苔之程度分為無苔、薄苔、厚苔、剝苔；舌質、裂紋、朱點、瘀點和齒痕皆分為無、輕、中、重；津液分為無津、少津、平津、多津；舌形分為胖大、適中、瘦小、舌體正常、偏左或偏右。各舌象特徵經單因子變異數分析(One-way ANOVA)方法統計和比較，挑選出實驗組和對照組兩組間差異之舌象特徵 (p -value <0.05)，初步得到評斷罹患乳癌與否之影響項目，另外藉由院方所提供西醫檢驗資訊，自舌象特徵對發病部位進行預測評估，與比對不同期數乳癌患者間有否具顯著差異項目，以利作為後續期數評估時之重要因子。

貳、材料與方法

一、資料收集與分類

與彰化基督教醫院合作，其研究對象為經院方診斷為乳癌病患和無重大病症如：心臟病、敗血症等，無需長期服用藥物之正常人，由院方取得參與實驗者同意，使用非侵入式拍攝方式收集乳癌病患(實驗組)和正常人(對照組)之舌頭影像，其中乳癌患者之舌頭影像依病情嚴重性分為 0 至 4 期。收集資料條件與規格如下：

(一)招募來源：彰基中醫部門診患者

(二)收案條件(inclusion criteria)：

1. 經專科醫師診斷為乳癌患者(ICD-9 為 174-174.9)
2. 男性、女性皆收案
3. 簽署 IRB 同意書(本計畫申請 IRB 編號：120512，詳見附錄一，受試者同意書參見附錄二)

(三)排除條件(exclusion criteria)：

1. 無法配合簽署同意書者
2. 懷孕婦女
3. 急性感染之患者
4. 有癌症轉移至腦部狀況，有認知缺損狀況如痴呆或譫妄者

(四)預計收案人數：60-100 人 (實際共計 130 人)

(五)分成兩組：

1. 實驗組：乳癌患者 30-50 人(實際共計 60 人)
2. 對照組：無明顯疾病之正常人 30-50 人(實際共計 70 人)

本期計畫收案期間自民國 101 年 6 月至 101 年 9 月止符合收案標準且完成者，其中實驗組共收集實驗組 60 組資料，對照組 70 組，所有舌診影像均經彰化基督教醫院中醫部羅綸謙、陳嘉允、陳文娟等臨床經驗達 3 年以上之中醫師判讀，其中所收集之 60 位乳癌病患資料均為女性，因此無法依男、女性之比例分析探討實驗組與對照組男、女差異，僅依循每期乳癌病患所占比例歸分類歸納如下：

(一)第零期：9 位，占實驗組總數 15%，無轉移病歷。

(二)第一期：11 位，占實驗組總數 18%，無轉移病歷。

(三)第二期：25 位，占實驗組總數 42%，無轉移病歷。

(四)第三期：14 位，占實驗組總數 23%，無轉移病歷。

(五)第四期：1位，占實驗組總數2%，且發生遠端轉移。

二、研究工具

舌診儀：彰化基督教醫院與中山大學資訊工程學系所研發之自動化舌診儀，以數位影像為其依據，配合電腦自動化舌診系統，建立一套客觀之中醫舌診判讀標準[10,11]。其舌診儀設備包括固定相機支撐部與放置下巴舌診座臺，用以固定舌頭拍攝位置，其兩者間連接一軌道，視取像範圍和環境可彈性調整相機至舌診檢查部間距離。舌診檢查部左側則設置校正色卡，由12種顏色組成，相機所擷取之色卡與自動化舌診系統內標準色塊相比較，由兩者間參數差異作為取像色彩、亮度校正之依據。

依取像所用設備、環境與拍攝者注意事項如下：

- (一) 舌診光學影像研究所使用舌診儀器：相機為Canon數位相機，燈光為外接環形燈標準色溫燈光組，使用校色板校正，舌診攝影工作在太陽燈下進行，拍照時，色卡盡量置於觀景窗內左半邊中央，確保光線均勻照射在色卡上，以提升影像色彩校正精準度。
- (二) 環境燈光位置和相機參數之設定：隨環境不同，燈光擺放位置和燈管數會影響相機取像色調，故拍攝時可預先因應環境變化調整相機參數設定，諸如快門、光圈、感光度、焦距等參數搭配下擷取舌診影像。

三、自動化舌診系統

舌診於臨床上完全依中醫師個人知識與經驗，缺乏客觀與定量，因此發展出自動化舌診系統，自動化舌診系統經有共識中醫師團隊和無共識中醫師團隊比對個別所診斷之舌象特徵，由研究中證實自動化舌診系統具高度一致性，因此做為本計劃重要分析項目之一，以進行對舌象特徵之判讀。

自動化舌診系統為擷取舌部影像，影像解析度為4272×2848，對其像素進行亮度、色彩校正後，藉由分析經亮度及顏色補償之舌部影像中不同部位顏色分佈、偵測牙齒區域、嘴唇與牙齒及舌頭邊緣、口腔內部不被光源照射之黑色區域，可初步決定舌部影像中包含舌頭之一矩形區域，再透過主動輪廓法則推導矩形區域中包圍舌頭邊緣之內、外曲線上控制點，經修正控制點位置以平滑化邊緣曲線，進而決定準確之舌頭區域；於舌頭區域辨識之前處理步驟成完後，即進入舌頭特徵擷取之核心處理，舌頭特徵之擷取主要係依舌頭區域之長寬比例、鄰近像素之色彩分佈狀態、各像素之色彩成分、位置、形狀、數目等，做為判定各項舌頭特徵之準則，據以擷

取裂紋、瘀斑、齒痕、朱點、苔色、胖瘦、津液、舌形等舌診觀察重點，並進一步產生長度、面積、個數、厚薄等，而舌象特徵實際長寬值則依色卡於影像中所佔像素與色卡實際長寬間比例關係進而推算，並將舌頭區分為脾胃區、肝膽左區、肝膽右區、腎區、心肺區等區域，如圖 1 所示。五臟六腑精氣上榮於舌，臟腑病變可由舌象反映出來，其中又以舌與心和脾胃最為重要。以正常舌象為例，其特點為舌色淡紅鮮明，舌質滋潤，舌體大小適中，舌態柔軟靈活，津液潤澤適中，舌苔均勻，薄白而潤，相較之下，乳癌患者舌象則常有舌質暗紅、瘀斑、苔微黃且苔薄，口燥咽乾等現象[12]，如圖 2。其整體系統處理流程如圖 3。

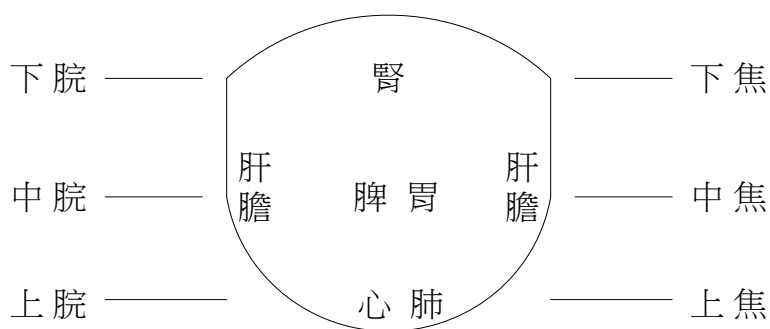


圖 1、舌頭分部與人體部位關係圖



圖 2、乳癌患者和正常人之舌頭影像

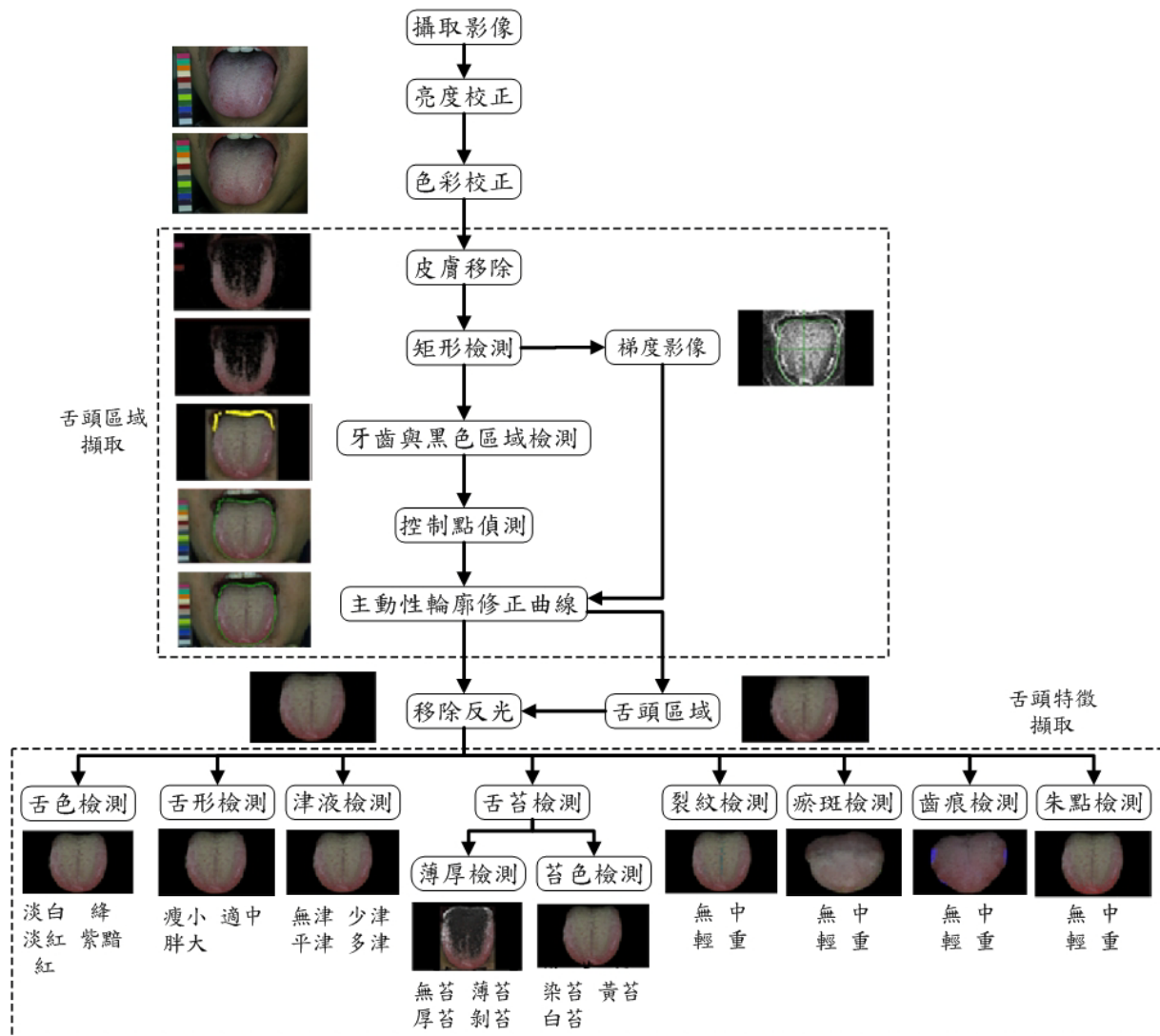


圖 3、自動化舌診系統流程

對於舌頭特徵擷取整體詳細歸納為：

- (一) 舌色：分為淡白、偏淡、淡紅、偏紅、紅、絳、紫黯。
- (二) 舌形：分為胖大、適中、瘦小、舌體正常、偏左或偏右。
- (三) 津液：包含整體面積與津液多寡。
- (四) 舌苔：包含苔色、數量、平均面積、最大面積、最小面積、薄厚度且舌苔可區分為脾胃區、肝膽左區、肝膽右區、腎區、心肺區。
- (五) 舌質：區分為脾胃區、肝膽左區、肝膽右區、腎區、心肺區。
- (六) 裂紋：包含數量、平均面積、最短長度、最長長度。
- (七) 瘀斑：包含數量、平均面積、最大面積、最小面積且瘀斑可區分為脾胃區、肝膽左區、肝膽右區、腎區、心肺區。
- (八) 齒痕：區分為脾胃區、肝膽左區、肝膽右區、腎區、心肺區。

(九) 朱點：包含數量、平均面積、最大面積、最小面積且舌苔可區分為脾胃區、肝膽左區、肝膽右區、腎區、心肺區。

三、資料統計與分析

於實驗組與對照組所擷取出舌頭特徵數據，透過單因子變異數分析(One-way ANOVA)挑選出兩者間顯著差異特徵，可依對應舌象特徵據以鑑別乳癌病患與正常人，以作為往後統計模型訓練評估依據。

顯著判定取決醫學統計中 p -value 結果， p -value 是指在虛無假設成立條件下，大於或等於現有統計量之概率，可以理解為現有統計量是由抽樣誤差所造成之概率。換言之， p -value 基本功能，是顯示實驗組與對照組在觀察上之分別緣於隨機而發生之概率，當所得 p -value 非常小(例如 $p=0.001$)時，便有理由推論或相信，實驗組與對照組在實驗結果根本上是有分別。

p -value 計算基於機率條件，其數值是來自統計檢定方法計算結果。統計檢定於當前臨床研究中廣泛地被應用，產生結果也經常被視為該研究是否有價值之決定性因素。因此本計劃初步以單因子變異數分析(One-way ANOVA)檢測乳癌患者與正常人於舌象特徵數據差異情形。單因子變異數分析(One-way ANOVA)只考慮一個影響因素，目的在於考驗一個因子對各個獨立樣本所造成之影響，分析各組之間平均值是否相等。

單因子變異數分析(One-way ANOVA)將總變異數分為兩個部分：各樣本間之差異(稱為組間變異)，會發生系統性變異及隨機性變異；樣本本身每次實驗之差異(稱為組內變異)，僅發生隨機性變異。預期藉由單因子變異數分析(One-way ANOVA)檢定組間變異是否明顯大於組內變異。其檢測方法可歸納如下[13,16]：

(一) 分析資料包含 k 個群組，每個群組內包含不等量樣本資訊，資料分部狀態表示如下表 1。

表 1、資料群

群組 1	群組 2	...	群組 i	...	群組 k
x_{11}	x_{12}		x_{1i}		x_{1k}
x_{21}	x_{22}		x_{2i}		x_{2k}
x_{31}	x_{32}		x_{3i}		x_{3k}
.	.		.		.
.	.		.		.
$x_{n_1 1}$	$x_{n_2 2}$		$x_{n_i i}$		$x_{n_k k}$

(二) 利用所有樣本資料算出總平均數，可表示為：

$$\bar{\bar{x}} = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} x_{ij}, \text{ 其中 } N = \sum_{j=1}^k n_j$$

求得第 j 個群組平均數，可表示為：

$$\bar{x}_j = \frac{1}{n_j} \sum_{i=1}^{n_j} x_{ij}$$

透過總平均數與各群組平均數可以求得組間與組內變異，將其整理如下：

$$\text{SSTR(組間變異)} = \sum_{j=1}^k n_j (\bar{x}_j - \bar{\bar{x}})^2, \text{ 其對應 } df_{\text{between}} = k - 1$$

$$\text{SSE(組內變異)} = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (x_{ij} - \bar{x}_j)^2, \text{ 其對應 } df_{\text{within}} = N - k$$

$$\text{SST(總變異)} = \text{SSTR} + \text{SSE}, \text{ 其對應 } df_{\text{total}} = N - 1$$

(三) 為了檢定在單因子變異數分析(One-way ANOVA)中之虛無假設，須

計算 F 統計量：

$$F = \frac{MSTR}{MSSE} , \text{ 其中 } MSTR = \frac{SSTR}{df_{between}} , MSSE = \frac{SSE}{df_{within}}$$

此一 F 檢定所得 p -value 是一個具有 $F(I-1, N-1)$ 分佈之隨機變數，大於或等於這個 F 統計量所得出結果之機率。將單因子變異數分析(One-way ANOVA)整理如下表：

表 2、單因子變異數分析(One-way ANOVA)分析摘要

來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(均方和)	F
組間	k-1	SSTR	SSTR/(k-1)	MSTR/MSE
組內	N-k	SSE	SSE/(N-k)	
總和	N-1	SSTR+ SSE		

單因子變異數分析(One-way ANOVA)表中 F 值與臨界值 $F_{\alpha}(k-1, N-k)$ 比較後，若 $F > F_{\alpha}(k-1, N-k)$ ，代表有足夠證據證明群體間平均數不完全相同；若 $F < F_{\alpha}(k-1, N-k)$ ，則代表群體間平均數相等。

從單因子變異數分析(One-way ANOVA)得出顯著差異結果後，再以 Logistic Regression 分析舌頭特徵對乳癌發病部位影響。Logistic Regression 主要使用於反應變數而二元性資料，例如「成功」或「失敗」[14]。Logistic Regression 與傳統迴歸分析性質相似，用來處理類別性資料問題，由於類別性資料是屬於離散型資料，所以必須將此離散型資料轉為介於 0 與 1 之間連續形資料型態，才可以對轉換過後之連續型資料作迴歸。而主要目的，是為找出類別型態之反應變數和一連串解釋變數之間關係，因此和迴歸分析中最大差別在於反應變數型態之不同，所以 Logistic Regression 在運用上也需符合傳統迴歸分析一般假設，也就是避免解釋變數之間共線性問題，以及符合常態分配和避免殘差存在自我相關等之統計基本假設[15]。Logistic Regression 模型在統計運用上已極為普遍，不但對於二元化離散型資料使用率高，尤其在醫學方面之使用更為廣泛。

Logistic Regression 模型可表示如下[17,18]：

$$\Pr(G = 1 | X = x) = \frac{e^{f(x)}}{1 + e^{f(x)}} \text{ , 其中 } f(x) = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_p x_p$$

Pr 代表成功機率，G 代表事件類別， β 為各因子相關係數， x 為變數因子，隨 x 變數增大，其反應機率會從一個極端走向另一個極端(如預測情況由事件 0 變為事件 1)。

參、結果

一、乳癌與正常人比對分析結果

本實驗中分為 2 群組，實驗組 60 例，對照組 70 例，總共 130 筆樣本量。所擷取舌像特徵分為裂紋、瘀斑、齒痕、朱點、舌苔及舌質並區分為脾胃區、肝膽左區、肝膽右區、腎區、心肺區等區域共計 41 項特徵。表 3 至表 6 為使用單因子變異數分析(One-way ANOVA)分別就每個特徵中實驗組與對照組分析結果。

由計算表可顯示於津液面積($p=0.018$)、舌苔肝膽右區($p=0.025$)、舌苔腎區($p=0.000^*$)、舌苔厚薄($p=0.000^*$)、舌質肝膽右區($p=0.025$)、舌質腎區($p=0.000^*$)、齒痕數量($p=0.019$)、齒痕最小面積($p=0.011$)、齒痕肝膽右區數量($p=0.000^*$)、齒痕心肺區數量($p=0.023$)、朱點數量($p=0.009$)、朱點最大面積($p=0.000^*$)、朱點肝膽右區個數($p=0.001$)、朱點心肺區個數($p=0.000^*$)以上特徵項目其 p -value 皆達顯著標準(p -value <0.05)，代表會因罹患乳癌與否存有顯著差異。

表 3、乳癌與正常人之特徵項目分析結果

舌象特徵	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
津液面積	組間	1	0.2420	0.2420	5.71	0.018
	組內	128	5.4278	0.0424		
	總和	129	5.6698			
舌苔整體 (%)	組間	1	42	42	0.09	0.759
	組內	128	57302	448		
	總和	129	57345			
舌苔脾胃區 (%)	組間	1	150	150	0.27	0.602
	組內	128	69945	546		
	總和	129	70094			
舌苔肝膽左區 (%)	組間	1	8	8	0.01	0.928
	組內	128	121132	946		
	總和	129	121139			
舌苔肝膽右區 (%)	組間	1	4873	4873	5.17	0.025
	組內	128	120648	943		
	總和	129	125520			
舌苔腎區 (%)	組間	1	27006	27006	13.05	0.000
	組內	128	264972	2070		
	總和	129	291978			
舌苔心肺區 (%)	組間	1	9	9	0.02	0.886
	組內	128	53719	420		
	總和	129	53728			
舌苔個數	組間	1	3.59	3.59	2.08	0.152
	組內	128	221.03	1.73		
	總和	129	224.62			
舌苔平均面積 (cm^2)	組間	1	199	199	1.37	0.244
	組內	128	18584	145		
	總和	129	18783			
舌苔最小面積 (cm^2)	組間	1	135296738	135296738	0.20	0.655
	組內	128	8.636E+10	674661013		
	總和	129	8.649E+10			
舌苔最大面積 (cm^2)	組間	1	566	566	2.31	0.131
	組內	128	31338	245		
	總和	129	31904			

表 4、乳癌與正常人之特徵項目分析結果

舌象特徵	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
舌苔厚薄度(薄苔)	組間	1	6125	6125	15.35	0.000*
	組內	128	51069	399		
	總和	129	57194			
舌苔厚薄度(厚苔)	組間	1	6125	6125	15.35	0.000*
	組內	128	51069	399		
	總和	129	57194			
舌質整體(%)	組間	1	42	42	0.09	0.759
	組內	128	57302	448		
	總和	129	57345			
舌質脾胃區(%)	組間	1	150	150	0.27	0.602
	組內	128	69945	546		
	總和	129	70094			
舌質肝膽左區(%)	組間	1	8	8	0.01	0.928
	組內	128	121132	946		
	總和	129	121139			
舌質肝膽右區(%)	組間	1	4873	4873	5.17	0.025
	組內	128	120648	943		
	總和	129	125520			
舌質腎區(%)	組間	1	27006	27006	13.05	0.000*
	組內	128	264972	2070		
	總和	129	291978			
舌質心肺區(%)	組間	1	9	9	0.02	0.886
	組內	128	53719	420		
	總和	129	53728			
整體舌頭長寬比(長/寬)	組間	1	0.0826	0.0826	1.64	0.202
	組內	128	6.4341	0.0503		
	總和	129	6.5167			
裂紋數量	組間	1	7.62	7.62	1.77	0.186
	組內	128	551.49	4.31		
	總和	129	559.11			
裂紋平均面積(cm^2)	組間	1	0.0083	0.0083	0.39	0.532
	組內	128	2.6987	0.0211		
	總和	129	2.7070			

表 5、乳癌與正常人之特徵項目分析結果

舌象特徵	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
裂紋最短 長度(cm)	組間	1	0.0044	0.0044	0.23	0.636
	組內	128	2.5012	0.0195		
	總和	129	2.5056			
裂紋最長 長度(cm)	組間	1	0.0123	0.0123	0.54	0.465
	組內	128	2.9320	0.0229		
	總和	129	2.9443			
齒痕數量	組間	1	28.14	28.14	5.66	0.019
	組內	128	636.13	4.97		
	總和	129	664.28			
齒痕平均 面積(cm ²)	組間	1	0.01055	0.01055	3.92	0.050
	組內	128	0.34461	0.00269		
	總和	129	0.35516			
齒痕最大 面積(cm ²)	組間	1	0.000862	0.000862	2.94	0.089
	組內	128	0.037566	0.000293		
	總和	129	0.038428			
齒痕最小 面積(cm ²)	組間	1	0.04115	0.04115	6.71	0.011
	組內	128	0.78549	0.00614		
	總和	129	0.82665			
齒痕脾胃 區數量	組間	1	0.04	0.04	0.02	0.896
	組內	128	265.93	2.08		
	總和	129	265.97			
齒痕肝膽 左區數量	組間	1	0.237	0.237	0.57	0.451
	組內	128	53.186	0.416		
	總和	129	53.423			
齒痕肝膽 右區數量	組間	1	14.668	14.668	19.25	0.000*
	組內	128	97.555	0.762		
	總和	129	112.223			
齒痕心肺 區數量	組間	1	1.386	1.386	5.26	0.023
	組內	128	33.721	0.263		
	總和	129	35.108			
朱點數量	組間	1	141017	141017	7.01	0.009
	組內	128	2576342	20128		
	總和	129	2717359			

表 6、乳癌與正常人之特徵項目分析結果

舌象特徵	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
朱點平均面積(cm^2)	組間	1	0.0000005	0.0000005	2.42	0.122
	組內	128	0.0000282	0.0000002		
	總和	129	0.0000288			
朱點最小面積(cm^2)	組間	1	0.0000000	0.0000000	1.17	0.282
	組內	128	0.0000010	0.0000000		
	總和	129	0.0000010			
朱點最大面積(cm^2)	組間	1	178206	178206	50.05	0.000*
	組內	128	455770	3561		
	總和	129	633976			
朱點脾胃區個數	組間	1	1158	1158	0.12	0.726
	組內	128	1199384	9370		
	總和	129	1200542			
朱點肝膽左區個數	組間	1	7	7	0.06	0.812
	組內	128	14806	116		
	總和	129	14812			
朱點肝膽右區個數	組間	1	2087	2087	10.59	0.001
	組內	128	25233	197		
	總和	129	27320			
朱點腎區個數	組間	1	1.1	1.1	0.06	0.804
	組內	128	2248.5	17.6		
	總和	129	2249.6			
朱點心肺區個數	組間	1	85546	85546	23.78	0.000*
	組內	128	460476	3597		
	總和	129	546022			

二、舌象特徵與腫瘤發病部位比對分析結果

就西醫檢驗而言，乳癌患者可由乳房攝影檢查腫瘤部位，透過驗血方式進行治療前之評估與治療後追蹤，經驗院方所提供病患西醫檢驗資料，主要分成以下項目：

表 7、乳癌病患西醫檢驗項目說明

檢驗項目	說 明
乳癌期數	<p>據國際抗癌聯合會及美國癌症聯合委員會，將罹患乳癌診斷期數依照腫瘤大小、腋下淋巴結轉移與否、遠處是否轉移等三項目定義為 TNM 系統，分為以下五階段：</p> <p>第零期：即為原位癌，為最早期乳癌，期癌細胞仍在乳腺管基底層內尚未轉移。</p> <p>第一期：腫瘤小於兩公分以下之浸潤癌，且腋下淋巴結無癌細胞轉移。</p> <p>第二期：腫瘤在兩公分至五公分之間的浸潤癌或腫瘤為兩公分以下，但有一至三顆腋下淋巴結之癌細胞轉移情形。</p> <p>第三期：局部廣泛性乳癌，為腫瘤大於五公分之浸潤癌且腋下淋巴結具有癌細胞轉移或胸壁皮膚有浸潤性乳癌，或發現鎖骨上淋巴結有癌細胞轉移情形或有四顆以上之腋下淋巴結具有癌細胞轉移情形。</p> <p>第四期：即已有遠處器官轉移之轉移性乳癌，如肝、肺、骨骼等。</p>
發病部位	<p>乳癌腫瘤發生部位主要分為乳房左側或右側，乳癌初期發生於其中一側機率較高於雙側同時發病，而單側腫瘤切除後，若再復發也可能由單側轉變為雙側乳癌。</p>
CEA	<p>為癌胚抗原，屬醣蛋白。可自細胞中分泌到細胞外，因此可以經由抽血測得血中濃度是否出現異常。目前 CEA 在臨床上之主要用途在癌症治療後之追蹤，如腸胃道癌症、非小細胞肺癌、乳癌等惡性疾病。作用於定期為病患監測血中 CEA 濃度變化，來判斷腫瘤是否復發。</p>
CA153	<p>是一種高分子量醣蛋白。多在乳癌病患血液中發現，可作為協助診斷乳癌工具。高數值之 CA153 與腫瘤大小有關，且表示手術後預後會不好。</p>
Cr	<p>稱為血清肌酐，是腎臟功能重要指標，血清肌酐升高意味著腎功能之損害。</p>

檢驗項目	說明
GOT、GPT	為肝細胞製造所製造之酵素，GOT 存在於肝細胞之外，也存在於肌肉與心肌，而 GPT 只存於肝細胞內。當肝臟發炎時，肝細胞會壞死，GOT、GPT 就會進入血液中，造成肝指數升高，因此醫療上常以此作為肝臟發炎或受損程度評估。
WBC、PTL、Hb	WBC 為白血球數值，白血球之功能在於保護人體，抵抗外來異物或病菌之侵害；PTL 為血小板數值，可幫助血液凝結；Hb 為血紅素數值，功能為將氧氣運送到全身各部位。於乳癌治療期間，其化學治療藥物會影響骨髓，使此三項功能無法正常製造，因此乳癌治療過程常會對此三項數值進行嚴密監測。
Hct	血球容積比，檢查在一定量血液中含有多少比例之紅血球。

首先僅對舌象特徵項目與乳癌發生部位分析，據收集結果統計乳癌病患發病部位於右側者計 32 例；於左側者 27 例；於雙側者 1 例，因雙側資訊量過少無法納入評估，故於此只針對左右側分析，組別分為發病於右側與發病於左側 2 組，總共 59 筆樣本量，整理如表 8.至表 11。

由計算表顯示於舌苔整體($p=0.022$)、舌苔脾胃區($p=0.013$)、舌苔平均面積($p=0.010$)、舌苔最大面積($p=0.006$)、整體舌頭長寬比($p=0.021$)、齒痕數量($p=0.019$)、齒痕最小面積($p=0.011$)、齒痕肝膽左區數量($p=0.027$)、朱點脾胃區個數($p=0.034$)，以上特徵項目其 p -value 皆達顯著標準(p -value <0.05)，代表會因疾病部位不同而存有顯著差異。

表 8、對發病部位之特徵項目分析結果

舌象特徵	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
津液面積	組間	1	0.1215	0.1215	3.30	0.075
	組內	57	2.0995	0.0368		
	總和	58	2.2211			
舌苔整體 (%)	組間	1	2431	2431	5.53	0.022
	組內	57	25073	440		
	總和	58	27504			
舌苔脾胃區 (%)	組間	1	3479	3479	6.55	0.013
	組內	57	30278	531		
	總和	58	33757			
舌苔肝膽左區 (%)	組間	1	2579	2579	2.91	0.094
	組內	57	50591	888		
	總和	58	53171			
舌苔肝膽右區 (%)	組間	1	286	286	0.31	0.580
	組內	57	52549	922		
	總和	58	52835			
舌苔腎區 (%)	組間	1	7824	7824	3.90	0.053
	組內	57	114413	2007		
	總和	58	122238			
舌苔心肺區 (%)	組間	1	208	208	0.48	0.491
	組內	57	24718	434		
	總和	58	24926			
舌苔個數	組間	1	1.12	1.12	0.58	0.451
	組內	57	111.02	1.95		
	總和	58	112.14			
舌苔平均面積(平方公分)	組間	1	949	949	7.19	0.010
	組內	57	7529	132		
	總和	58	8478			
舌苔最小面積 (cm^2)	組間	1	591761735	591761735	1.19	0.281
	組內	57	2.842E+10	498594740		
	總和	58	2.901E+10			
舌苔最大面積 (cm^2)	組間	1	1413	1413	8.30	0.006
	組內	57	9709	170		
	總和	58	11122			

表 9、對發病部位之特徵項目分析結果

舌象特徵	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
舌苔厚薄 度(薄苔)	組間	1	879	879	1.97	0.166
	組內	57	25487	447		
	總和	58	26366			
舌苔厚薄 度(厚苔)	組間	1	879	879	1.97	0.166
	組內	57	25487	447		
	總和	58	26366			
舌質整體 (%)	組間	1	2431	2431	5.53	0.022
	組內	57	25073	440		
	總和	58	27504			
舌質脾胃 區(%)	組間	1	3479	3479	6.55	0.013
	組內	57	30278	531		
	總和	58	33757			
舌質肝膽 左區(%)	組間	1	2579	2579	2.91	0.094
	組內	57	50591	888		
	總和	58	53171			
舌質肝膽 右區(%)	組間	1	286	286	0.31	0.580
	組內	57	52549	922		
	總和	58	52835			
舌質腎區 (%)	組間	1	7824	7824	3.90	0.053
	組內	57	114413	2007		
	總和	58	122238			
舌質心肺 區(%)	組間	1	208	208	0.48	0.491
	組內	57	24718	434		
	總和	58	24926			
整體舌頭 長寬比(長 /寬)	組間	1	0.2205	0.2205	5.64	0.021
	組內	57	2.2289	0.0391		
	總和	58	2.4494			
裂紋數量	組間	1	1.10	1.10	0.88	0.351
	組內	57	71.14	1.25		
	總和	58	72.24			
裂紋平均 面積 (cm^2)	組間	1	0.0087	0.0087	0.60	0.442
	組內	57	0.8242	0.0145		
	總和	58	0.8329			

表 10、對發病部位之特徵項目分析結果

舌象特徵	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
裂紋最短 長度(cm)	組間	1	0.0089	0.0089	0.63	0.432
	組內	57	0.8084	0.0142		
	總和	58	0.8173			
裂紋最長 長度(cm)	組間	1	0.0085	0.0085	0.58	0.451
	組內	57	0.8410	0.0148		
	總和	58	0.8495			
齒痕數量	組間	1	7.18	7.18	1.78	0.188
	組內	57	230.21	4.04		
	總和	58	237.39			
齒痕平均 面積 (cm ²)	組間	1	0.00542	0.00542	2.42	0.126
	組內	57	0.12771	0.00224		
	總和	58	0.13312			
齒痕最大 面積 (cm ²)	組間	1	0.000236	0.000236	0.93	0.338
	組內	57	0.014401	0.000253		
	總和	58	0.014637			
齒痕最小 面積 (cm ²)	組間	1	0.00761	0.00761	2.16	0.147
	組內	57	0.20057	0.00352		
	總和	58	0.20818			
齒痕脾胃 區數量	組間	1	1.02	1.02	0.40	0.528
	組內	57	144.17	2.53		
	總和	58	145.19			
齒痕肝膽 左區數量	組間	1	1.873	1.873	5.17	0.027
	組內	57	20.635	0.362		
	總和	58	22.508			
齒痕肝膽 右區數量	組間	1	0.073	0.073	0.32	0.572
	組內	57	12.876	0.226		
	總和	58	12.949			
齒痕心肺 區數量	組間	1	0.001	0.001	0.00	0.946
	組內	57	11.626	0.204		
	總和	58	11.627			
朱點數量	組間	1	141017	141017	7.01	0.009
	組內	57	2576342	20128		
	總和	58	2717359			

表 11、對發病部位之特徵項目分析結果

舌象特徵	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
朱點平均面積(cm^2)	組間	1	0.0000000	0.0000000	0.06	0.803
	組內	57	0.0000140	0.0000002		
	總和	58	0.0000140			
朱點最小面積(cm^2)	組間	1	0.0000000	0.0000000	0.84	0.363
	組內	57	0.0000010	0.0000000		
	總和	58	0.0000010			
朱點最大面積(cm^2)	組間	1	0.0000001	0.0000001	0.11	0.747
	組內	57	0.0000714	0.0000013		
	總和	58	0.0000715			
朱點脾胃區個數	組間	1	56216	56216	4.72	0.034
	組內	57	678844	11910		
	總和	58	735060			
朱點肝膽左區個數	組間	1	419	419	3.24	0.077
	組內	57	7360	129		
	總和	58	7779			
朱點肝膽右區個數	組間	1	4.4	4.4	0.07	0.789
	組內	57	3482.5	61.1		
	總和	58	3486.9			
朱點腎區個數	組間	1	25.5	25.5	1.96	0.167
	組內	57	740.2	13.0		
	總和	58	765.7			
朱點心肺區個數	組間	1	1	1	0.00	0.983
	組內	57	90001	1579		
	總和	58	90002			

當發病部位不同時，據單因子變異數分析(One-way ANOVA)得出其在舌苔整體(p=0.022)、舌苔脾胃區(p=0.013)、舌苔平均面積(p=0.010)、舌苔最大面積(p=0.006)、整體舌頭長寬比(p=0.021)、齒痕數量(p=0.019)、齒痕最小面積(p=0.011)、齒痕肝膽左區數量(p=0.027)、朱點脾胃區個數(p=0.034)之舌特徵存有顯著差異，因此以發病部位對上述項目進行 Logistic Regression，其他未達顯著水準之特徵則可不考慮，反應變數為 0(左側)、1(右側)，以 1 設定為事件發生，探討各因子對發病部位影響，分析結果如表 12。

從結果看出整體舌頭長寬比對於發病部位預測之 Logistic Regression 模型，其 p=0.01<0.05 達顯著水準，表示整體舌頭長寬比與發病部位表現有顯著關聯，其發生於右側部位之機率公式表示為：

$$\frac{e^y}{e^y + 1}$$

其中 $y=4.528+ 0.00995 \times \text{舌苔脾胃} + 0.01042 \times \text{舌苔最大面積} - 4.403 \times \text{舌頭整體長寬比} + 1.0923 \times \text{齒痕肝膽左區} - 0.007393 \times \text{朱點脾胃}$ 。透過計算所得數值越高代表越有可能發病於右側。

表 12、以 Logistic Regression 分析舌特徵對發病部位影響

Predictor	Coef	SE Coef	Z	P	Odds Ratio	Odds Ratio 95% CI	
						Lower	Upper
Constant	4.528	2.378	1.90	0.057			
舌苔脾胃區	0.00995	0.02888	0.34	0.731	1.01	0.95	1.07
舌苔最大面積	0.01042	0.04853	0.21	0.830	1.01	0.92	1.11
整體舌頭長寬比	-4.403	1.720	-2.56	0.010	0.01	0.00	0.36
齒痕肝膽左區數量	1.0923	0.7270	1.50	0.133	2.98	0.72	12.39
朱點脾胃區個數	-0.007393	0.007641	-0.97	0.333	0.99	0.98	1.01

三、病情期數與舌象特徵比對分析結果

據收集結果依期數統計，第 0 期者 9 例；第 1 期者 11 例；第 2 期者 25 例；第 3 期者 14 例；第 4 期者 1 例，組別依期數不同分為 5 組，總共 60

筆樣本量，整理如表 13.至表 16.。

由計算表顯示於舌苔肝膽左區($p=0.019$)、舌質肝膽左區($p=0.019$)、裂紋平均面積($p=0.041$)、裂紋最短長度($p=0.040$)、裂紋最長長度($p=0.042$)、朱點平均面積($p=0.014$)，以上特徵項目其 p -value 皆達顯著標準(p -value <0.05)，代表會因期數不同而存有顯著差異。

表 13、期數不同之特徵項目分析結果(五期)

舌象特徵	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
津液面積	組間	4	0.0528	0.0132	0.33	0.857
	組內	55	2.2046	0.0401		
	總和	59	2.2575			
舌苔整體 (%)	組間	4	1868	467	0.96	0.436
	組內	55	26689	485		
	總和	59	28557			
舌苔脾胃區 (%)	組間	4	2442	611	1.03	0.399
	組內	55	32513	591		
	總和	59	34955			
舌苔肝膽左區 (%)	組間	4	10340	2585	3.24	0.019
	組內	55	43866	798		
	總和	59	54207			
舌苔肝膽右區 (%)	組間	4	1687	422	0.45	0.773
	組內	55	51664	939		
	總和	59	53351			
舌苔腎區 (%)	組間	4	5816	1454	0.68	0.609
	組內	55	117640	2139		
	總和	59	123456			
舌苔心肺區 (%)	組間	4	766	192	0.43	0.784
	組內	55	24345	443		
	總和	59	25111			
舌苔個數	組間	4	2.88	0.72	0.36	0.836
	組內	55	109.86	2.00		
	總和	59	112.73			
舌苔平均面積 (cm^2)	組間	4	605	151	1.03	0.398
	組內	55	8045	146		
	總和	59	8650			
舌苔最小面積 (cm^2)	組間	4	688898846	172224711	0.33	0.854
	組內	55	2.833E+10	515111903		
	總和	59	2.902E+10			
舌苔最大面積 (cm^2)	組間	4	1039	260	1.37	0.257
	組內	55	10441	190		
	總和	59	11480			

表 14、對發病部位之特徵項目分析結果

舌象特徵	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
舌苔厚薄 度(薄苔)	組間	4	2358	589	1.32	0.274
	組內	55	24557	446		
	總和	59	26914			
舌苔厚薄 度(厚苔)	組間	4	235	589	1.32	0.274
	組內	55	24557	446		
	總和	59	26914			
舌質整體 (%)	組間	4	1868	467	0.96	0.436
	組內	55	26689	485		
	總和	59	28557			
舌質脾胃 區(%)	組間	4	2442	611	1.03	0.399
	組內	55	32513	591		
	總和	59	34955			
舌質肝膽 左區(%)	組間	4	10340	2585	3.24	0.019
	組內	55	43866	798		
	總和	59	54207			
舌質肝膽 右區(%)	組間	4	1687	422	0.45	0.773
	組內	55	51664	939		
	總和	59	53351			
舌質腎區 (%)	組間	4	5816	1454	0.68	0.609
	組內	55	117640	2139		
	總和	59	123456			
舌質心肺 區(%)	組間	4	766	192	0.43	0.784
	組內	55	24345	443		
	總和	59	25111			
整體舌頭 長寬比(長 /寬)	組間	4	0.3481	0.087	2.27	0.073
	組內	55	2.1038	0.0383		
	總和	59	2.4519			
裂紋數量	組間	4	6.63	1.66	1.39	0.251
	組內	55	65.77	1.20		
	總和	59	72.40			
裂紋平均 面積 (cm^2)	組間	4	0.1364	0.0341	2.68	0.041
	組內	55	0.6988	0.0127		
	總和	59	0.8352			

表 15、期數不同之特徵項目分析結果(五期)

舌象特徵	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
裂紋最短 長度(cm)	組間	4	0.1343	0.0336	2.70	0.040
	組內	55	0.6852	0.0125		
	總和	59	0.8196			
裂紋最長 長度(cm)	組間	4	0.1385	0.0346	2.67	0.042
	組內	55	0.7133	0.0130		
	總和	59	0.8518			
齒痕數量	組間	4	5.58	1.39	0.33	0.859
	組內	55	235.35	4.28		
	總和	59	240.93			
齒痕平均 面積 (cm^2)	組間	4	0.00385	0.00096	0.41	0.804
	組內	55	0.13079	0.00238		
	總和	59	0.13464			
齒痕最大 面積 (cm^2)	組間	4	0.000904	0.000226	0.89	0.474
	組內	55	0.013911	0.000253		
	總和	59	0.014815			
齒痕最小 面積 (cm^2)	組間	4	0.00462	0.00116	0.31	0.871
	組內	55	0.20599	0.00375		
	總和	59	0.21061			
齒痕脾胃 區數量	組間	4	7.28	1.82	0.72	0.583
	組內	55	139.45	2.54		
	總和	59	146.73			
齒痕肝膽 左區數量	組間	4	2.195	0.549	1.48	0.221
	組內	55	20.405	0.371		
	總和	59	22.600			
齒痕肝膽 右區數量	組間	4	0.984	0.246	1.13	0.353
	組內	55	11.999	0.218		
	總和	59	12.983			
齒痕心肺 區數量	組間	4	0.762	0.191	0.96	0.435
	組內	55	10.888	0.198		
	總和	59	11.650			
朱點數量	組間	4	132049	33012	1.63	0.180
	組內	55	1114987	20272		
	總和	59	1247036			

表 16、期數不同之特徵項目分析結果(五期)

舌象特徵	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
朱點平均面積(cm^2)	組間	4	0.0000029	0.0000007	3.44	0.014
	組內	55	0.0000115	0.0000002		
	總和	59	0.0000144			
朱點最小面積(cm^2)	組間	4	0.0000000	0.0000000	0.33	0.854
	組內	55	0.0000010	0.0000000		
	總和	59	0.0000010			
朱點最大面積(cm^2)	組間	4	0.0000041	0.0000010	0.83	0.514
	組內	55	0.0000679	0.0000012		
	總和	59	0.0000719			
朱點脾胃區個數	組間	4	110378	27595	2.40	0.061
	組內	55	633236	11513		
	總和	59	743614			
朱點肝膽左區個數	組間	4	466	117	0.87	0.485
	組內	55	7331	133		
	總和	59	7797			
朱點肝膽右區個數	組間	4	366.1	91.5	1.61	0.185
	組內	55	3130.8	56.9		
	總和	59	3496.9			
朱點腎區個數	組間	4	9.4	2.4	0.17	0.952
	組內	55	756.7	13.8		
	總和	59	766.2			
朱點心肺區個數	組間	4	6626	1656	1.08	0.376
	組內	55	84379	1534		
	總和	59	91004			

第 4 期案例只有 1 例，尚不足以做為常態評估資訊，因此另外只針對 0 至 3 期患者進行顯著差異分析，組數為 4 組，總共 59 筆樣本量，分析結果如表 17. 至表 20.。據分析發現於舌苔肝膽左區($p=0.037$)、朱點平均面積($p=0.012$)、朱點脾胃區個數($p=0.036$)達顯著標準，相較於以五期為分組之結果項目較少，其中舌苔肝膽左區、朱點平均面積為共有特徵。

表 17、期數不同之特徵項目分析結果(四期)

舌象特徵	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
津液面積	組間	3	0.0502	0.0167	0.42	0.741
	組內	55	2.2046	0.0401		
	總和	58	2.2548			
舌苔整體 (%)	組間	3	773	258	0.53	0.663
	組內	55	26689	485		
	總和	58	27462			
舌苔脾胃區 (%)	組間	3	999	333	0.56	0.641
	組內	55	32513	591		
	總和	58	33513			
舌苔肝膽左區 (%)	組間	3	7255	2418	3.03	0.037
	組內	55	43866	798		
	總和	58	51121			
舌苔肝膽右區 (%)	組間	3	1171	390	0.42	0.743
	組內	55	51664	939		
	總和	58	52835			
舌苔腎區 (%)	組間	3	1468	489	0.23	0.876
	組內	55	117640	2139		
	總和	58	119109			
舌苔心肺區 (%)	組間	3	631	210	0.48	0.701
	組內	55	24345	443		
	總和	58	24976			
舌苔個數	組間	3	1.33	0.44	0.22	0.881
	組內	55	109.86	2.00		
	總和	58	111.19			
舌苔平均面積 (cm ²)	組間	3	136	45	0.31	0.818
	組內	55	8045	146		
	總和	58	8181			
舌苔最小面積 (cm ²)	組間	3	680707977	226902659	0.44	0.725
	組內	55	2.833E+10	515111903		
	總和	58	2.901E+10			
舌苔最大面積 (cm ²)	組間	3	792	264	1.39	0.255
	組內	55	10441	190		
	總和	58	11233			

表 18、期數不同之特徵項目分析結果(四期)

舌象特徵	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
舌苔厚薄 度(薄苔)	組間	3	2311	770	1.73	0.172
	組內	55	24557	446		
	總和	58	26867			
舌苔厚薄 度(厚苔)	組間	3	2311	770	1.73	0.172
	組內	55	24557	446		
	總和	58	26867			
舌質整體 (%)	組間	3	773	258	0.53	0.663
	組內	55	26689	485		
	總和	58	27462			
舌質脾胃 區(%)	組間	3	999	333	0.56	0.641
	組內	55	32513	591		
	總和	58	33513			
舌質肝膽 左區(%)	組間	3	7255	2418	3.03	0.037
	組內	55	43866	798		
	總和	58	51121			
舌質肝膽 右區(%)	組間	3	1171	390	0.42	0.743
	組內	55	51664	939		
	總和	58	52835			
舌質腎區 (%)	組間	3	1468	489	0.23	0.876
	組內	55	117640	2139		
	總和	58	119109			
舌質心肺 區(%)	組間	3	631	210	0.48	0.701
	組內	55	24345	443		
	總和	58	24976			
整體舌頭 長寬比(長 /寬)	組間	3	0.1166	0.087	2.27	0.073
	組內	55	2.1038	0.0383		
	總和	58	2.2205			
裂紋數量	組間	3	6.27	2.09	1.75	0.168
	組內	55	65.77	1.20		
	總和	58	72.03			
裂紋平均 面積 (cm^2)	組間	3	0.0816	0.0272	2.14	0.106
	組內	55	0.6988	0.0127		
	總和	58	0.7804			

表 19、期數不同之特徵項目分析結果(四期)

舌象特徵	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
裂紋最短 長度(cm)	組間	3	0.0793	0.0264	2.12	0.108
	組內	55	0.6852	0.0125		
	總和	58	0.7645			
裂紋最長 長度(cm)	組間	3	0.0839	0.0280	2.16	0.104
	組內	55	0.7133	0.0130		
	總和	58	0.7973			
齒痕數量	組間	3	2.04	0.68	0.16	0.924
	組內	55	235.35	4.28		
	總和	58	237.39			
齒痕平均 面積 (cm^2)	組間	3	0.00233	0.00078	0.33	0.806
	組內	55	0.13079	0.00238		
	總和	58	0.13312			
齒痕最大 面積 (cm^2)	組間	3	0.000725	0.000242	0.96	0.420
	組內	55	0.013911	0.000253		
	總和	58	0.014637			
齒痕最小 面積 (cm^2)	組間	3	0.00219	0.00073	0.20	0.899
	組內	55	0.20599	0.00375		
	總和	58	0.20818			
齒痕脾胃 區數量	組間	3	5.73	1.91	0.75	0.525
	組內	55	139.45	2.54		
	總和	58	145.19			
齒痕肝膽 左區數量	組間	3	2.104	0.701	1.89	0.142
	組內	55	20.405	0.371		
	總和	58	22.508			
齒痕肝膽 右區數量	組間	3	0.950	0.317	1.45	0.238
	組內	55	11.999	0.218		
	總和	58	12.949			
齒痕心肺 區數量	組間	3	0.739	0.246	1.24	0.302
	組內	55	10.888	0.198		
	總和	58	11.627			
朱點數量	組間	3	124346	41449	2.04	0.118
	組內	55	1114987	20272		
	總和	58	1239333			

表 20、期數不同之特徵項目分析結果(四期)

舌象特徵	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
朱點平均面積(cm^2)	組間	3	0.0000025	0.0000008	4.01	0.012
	組內	55	0.0000115	0.0000002		
	總和	58	0.0000140			
朱點最小面積(cm^2)	組間	3	0.0000000	0.0000000	0.44	0.725
	組內	55	0.0000010	0.0000000		
	總和	58	0.0000010			
朱點最大面積(cm^2)	組間	3	0.0000022	0.0000007	0.59	0.625
	組內	55	0.0000679	0.0000012		
	總和	58	0.0000700			
朱點脾胃區個數	組間	3	105774	35258	3.06	0.036
	組內	55	633236	11513		
	總和	58	739010			
朱點肝膽左區個數	組間	3	448	149	1.12	0.349
	組內	55	7331	133		
	總和	58	7779			
朱點肝膽右區個數	組間	3	356.2	118.7	2.09	0.113
	組內	55	3130.8	56.9		
	總和	58	3486.9			
朱點腎區個數	組間	3	8.9	3.0	0.22	0.885
	組內	55	756.7	13.8		
	總和	58	765.7			
朱點心肺區個數	組間	3	6489	2163	1.41	0.250
	組內	55	84379	1534		
	總和	58	90868			

四、從期數與發病部位觀察驗血數值

依乳癌病患檢驗數值對乳癌期數採分析單因子變異數分析(One-way ANOVA)，組別為 0 至 3 共 4 組，因院方提供之資料除 CEA、CA153 數值較為完整外，其餘數據並非為每位病患皆有進行檢驗，因此排除，單以 CEA 與 CA153 作為分析項目，兩項目資料皆完整者，0 期者有 6 例，1 期者有 9 例，2 期者有 21 例，3 期者有 10 例，共 46 筆樣本量，分析結果如表 21。從結果中發現每項檢驗值 p -value 皆未達顯著水準，代表檢驗值不因乳癌期數不同而有差異，無法根據檢驗值推斷患者目前期數。

表 21、期數與驗血項目比較分析結果

檢驗項目	來源	DF(自由度)	SS(平方和)	MS(平均平方和)	F(檢定)	P(顯著性)
CEA	組間	3	0.38	0.13	0.11	0.951
	組內	42	46.55	1.11		
	總和	45	46.93			
CA153	組間	3	52.5	17.5	0.71	0.550
	組內	42	1032.4	24.6		
	總和	45	1084.9			

接續以 CEA、CA153 分析是否與發病部位有相關影響，採 Logistic Regression，反應變數為 0(左側)、1(右側)，以 1 設定為事件發生，探討各因子對發病部位影響，分析結果如表 22。就結果而言，兩種檢驗項目對發病部位皆未達顯著水準，無法依檢驗項目評估發病部位。

表 22、以 Logistic Regression 分析驗血項目對發病部位影響

Predictor	Coef	SE Coef	Z	P	Odds Ratio	Odds Ratio 95% CI	
						Lower	Upper
Constant	0.3386	0.6686	0.51	0.613			
CEA	0.3279	0.3741	0.88	0.381	1.39	0.67	2.89
CA153	0.01042	0.04853	-0.98	0.329	0.93	0.80	1.08

肆、討論

就本次分析，主要進行四個部份之統計歸納，以下分別說明之。

一、乳癌病患比對正常人之舌象特徵

從客觀數據分析結果，由津液面積、舌質、舌苔、齒痕與朱點於肝膽右區具有顯著值，可作為鑑定罹患乳癌與否之重要項目，預期於下一期計畫中，使用本次所歸納結果，從顯著差異特徵項目推導其影響程度，從而制定評估模型，如此便可自舌象特徵數據推論受測者是否為乳癌病患。

二、舌象特徵對腫瘤發病部位之影響

已制定預測方式，主要以舌苔脾胃、舌苔最大面積、舌頭整體長寬比、齒痕肝膽左區、朱點脾胃顯著特徵作為影響因子，各因子皆有其影響腫瘤發病部位程度相關係數，目前已可將所得特徵因子參數代入預測模型計算腫瘤發病於左側或右側機率，將來只需藉由收集更多資訊訓練影響因子相關係數，使預測精準度提高。

三、比對期數不同時之舌象特徵顯著項目

在於乳癌期數案例方面，第4期人數較少，不足作為常態資訊參考。

四、從期數與發病部位觀察驗血數值

由分析結果，CEA、CA153 數值不會因乳癌期數或發病部位不同而有顯著差異。

伍、結論與建議

舌診是中醫診斷疾病重要方法，於中醫理論中講究整體療法，中醫認為疾病發生並非單一原因，常與其他生理機轉息息相關，因此強調整體調理而非治療單一疾病，因人體生理機轉運作即是互有牽連，因此單一系統疾病也可能出現其他系統之不適症狀。以人體免疫系統生理機轉為例，人體免疫系統中細胞激素在免疫調節中，可同時扮演正向或回饋作用角色，因此細胞激素之調節功能角色猶如中醫五行理論中相生相剋調節模式，故疾病之治療一定是以整體為治療目標，反觀於單一疾病則缺乏確切診斷與醫療標準。病情診斷往往取決於醫師主觀意識、臨床經驗或環境變化之影響，造成治療方式隨著醫師不同而有差異，亦沒有統一數據與客觀標準。因此本為期兩年計畫針對特定疾病-乳癌，進行大規模舌診取樣之首度嘗試，本計畫擬以科學統計量化方式，以舌診儀與具高度一致性舌診自動化系統為輔，針對乳癌西醫檢驗資訊(病理資訊有期數、發病部位、癌細胞有否轉移，驗血檢測方面則有 CEA、CA153、Cr、GOT、GPT、WBC、PTL、Hb、Hct)之不同統整各時期舌象特徵變化，同時評估乳癌患者與一般正常人舌象相異之處，訂定判讀標準，建立乳癌預後之中醫舌診指標，並透過中西醫醫學資訊，統計分析出其乳癌相關資訊。不僅突破傳統中醫概論整體病症之觀念，同時提供量化數據結果，人類不再只憑知識、臆測和推論，而有可信方法能加以驗證，使乳癌診斷和治療持續地改進，達到及早發現有效診治之效果。期望藉由本研究收集台灣地區乳癌患者之舌診特徵，除輔助醫師客觀診斷外，亦能使患者瞭解相關病情狀況，或提供西醫醫師在治療乳癌病患時可參考依據，從而加強結合中西醫治療，促進乳癌患者健康，並且有助於中醫結合現代化科學儀器，輔助治療診斷，提供客觀評估模式，從而提昇中醫醫療品質。

本年度計畫已初步執行舌頭取像並進行整合與分類，同時評估可做為參考之舌象特徵項目，希望於下年度計畫中利用現有之舌頭影像資訊及舌象依據，再次收集更多相關影像及病理資訊，增加資料準確度以進一步撰寫預測模型程式。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP101-RD-026 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. 巴克曼等。認識乳癌的症狀與治療。智庫出版。
2. 吳秋文。乳房疾病與乳癌。健康世界雜出版社。
3. Jenn Lung Su. Standardized Tongue Diagnosis (3-3)-The Study of Characteristic for Tongue Image in Specific Disease, Yearbook of Chinese Medicine and Pharmacy 2006, 24(6):pp.277-298,.
4. Lun-Chien Lo, **John Y. Chiang**, Tsung-Lin Cheng and Pei-Shuan Shieh. Visual Agreement Analyses of Traditional Chinese Medicine -A Multiple Dimensional Scaling Approach. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2012.
5. Lun-Chien Lo, Tsung-Lin Cheng, Wen-Jiuan Chen, Yung-Fu Chen and **John Y. Chiang**. The Study on the Agreement between Automatic Tongue Diagnosis System and Traditional Chinese Medicine Practitioners. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2012.
6. 肖二鋼，王益民。「中醫舌診研究的回顧與展望」。天津中醫藥(TIANJIN JOURNAL OF TRADITIONAL CHINESE MEDICINE) 2004，23(3): pp.348-350。
7. 葉信育，蔣依吾，陳建仲。中醫舌診電腦化之特徵擷取方法。工程科技與中西醫學應用研討會 1998，pp.244-251。
8. 林巧玲。從舌像捕捉舌象-以長庚中醫舌診儀為主的討論。國立清華大學歷史研究所碩士論文，2005。
9. 張永賢、邱創乾。以色彩學探討中醫舌象之研究。第六十六屆國醫節中醫學術研討會，1996。
10. 陳冠臻，蔣依吾，陳建仲，林宏任。中醫舌診電腦化教學與評量。工程科技與中西醫學應用研討會 2000，pp.50-57。
11. 蔣依吾，陳建仲，張恆鴻，馬建中。電腦化中醫舌診系統。中國中西醫結合雜誌 2000，12(2): pp.145-147。
12. 尚瑞梅。舌體大小臨床意義與客觀化計量化研究。浙江中醫雜誌 1993，11: pp.518。
13. 呂金河。變異數分析。三民書局出版。1993。
14. 王濟川，郭志剛。Logistic 迴歸模型: 方法及應用。五南圖書出版股份有限公司。2004。
15. 廖創興。個體經濟學(上)。高點文化事業有限公司。2005。
16. Kutner, M., Nachtsheim, C., and Neter, J. Applied Linear Regression Models (4th ed.). Columbus, OH: McGraw-Hill 2004.

17. J. Li, J. Bioucas-Dias, and A. Plaza. Semi-supervised hyperspectral image segmentation using multinomial logistic regression with active learning. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing* 2010, 48: pp. 4085–4098.
18. T. Hastie, R. Tibshirani, J. Friedman. *The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference, and Prediction*. Springer 2009.

中醫症狀術語作業標準化(2-1)

羅綸謙

財團法人彰化基督教醫院

摘要

研究目的：

中醫在歷代醫家的傳承當中以師徒制及文字傳承為主要方式。時至今日亦是如此，但是在現今資訊化的時代，資訊資料的取得與儲存已較已往方便許多，對於中醫學的學習與臨床的歧異也日漸明顯，中醫診斷建立在主觀的症狀與客觀的證候之上，而中醫學者及臨床醫師對於症狀以及證候的定義、取得方式以及認知存在明顯的差異，因此建立中醫名詞術語的標準化為使中醫學發揚光大之基礎。

研究方法：

本研究之研究方法初起籌備專家委員會由中區及南區醫學中心中醫部、基層資深中醫師及中醫診斷學專家共同組成專家委員會，訂定症狀術語、參考書目以及決定症狀術語需要的內容與訂定流程。利用各醫院醫師內部組成專家小組分組研討，收集並統整意見資料，每月召開專家委員會例行月會，統整進度和意見，並於月會中提出各小組對於症狀的涵義即操作型定義之意見。

結果與討論：

本年度共完成三十項症狀術語準化，計有口乾、口渴、心悸心慌、胸悶、頭痛、項強、腰際痠痛、背痛、便秘、泄瀉、咳嗽、痰、白帶、痛經、咽喉痛、頭暈、喘、頻尿、五心煩熱、惡風、惡寒、關節肌肉痠痛、自汗、盜汗、腹痛、腹脹、倦怠感、納差、不寐、多夢等症狀術語之涵義與操作型定義。

本年度之與會專家在參與專家委員會時提出同一症狀名詞，因時空的變遷、歷代各朝代醫家的闡釋亦有不同，因此對於症狀名詞的涵義以及操作型定義可先以包含現今大多數中醫界使用的範圍為主，尤其應以問診為主，將問診延伸至症狀的操作，在往後的專家會議中在繼續將症狀做更深入的討論。

關鍵詞：中醫、症狀、診斷、標準化

The Consensus of Standardization Operational Procedure for Terminologies in Traditional Chinese Medicine Symptom (2-1)

Lun-Chien Lo
Changhua Christian Hospital

ABSTRACT

Aim:

Syndrome differentiation is the characteristic of traditional Chinese medicine (TCM) diagnosis, and symptom inquiry is one of the most important part of TCM syndrome differentiation. It is also important to enable patients to obtain an objective, clear and scientific TCM services. Thus, our mission is to integrate differences and establish a unified diagnostic criterion in Taiwan.

Methods:

In this study, we expect to standardize the definition and operational procedure of TCM symptoms by panel meeting. The panel was composed of the experts from TCM department in medical center, senior clinician form TCM clinic, and diagnostics professional. We hope to form a consensus by a regular monthly meeting of discussion, get opinions from all sides by holding a national seminar, and reach a consensus of the standardization of definition and operational procedure for diagnostic terms in TCM symptoms by the medical profession.

Results & Discussion:

In this year, we have completed standardization of definition and operational procedure for TCM symptoms. Thirty symptoms were included such as dry mouth, thirst, palpitations, profuse dreaming etc.

After discussion, experts all agreed that the standardization for terminologies in TCM symptom must build on the previous consensus, especially the definition of symptom, we adapted the generalized definition of the chosen thirty symptoms. We also standardized operational procedure of these symptoms for identification and differential diagnosis.

Keywords: Traditional Chinese Medicine, Symptom, Diagnosis, Standardization

壹、前言

中醫是一門具有悠遠歷史的醫學，對生命觀照，深植於東方文化最高精神---天人合一的理念上，亦即將人與自然視為一體，認為人對自然規律的違背，是罹病的一大主因，並從整體觀出發，重視人體各生理功能系統間的有機連結，藉由較為自然的方式，以調治生病的「人」去治病，而不單將焦點置於病灶，予以破壞或壓抑。隨著世世代代不斷地實踐、修正、傳承、整理與累積，先輩浩瀚的經驗，最終匯聚成中醫獨特而有效的理論體系與治療方式。相較於世界各地的傳統醫療，中醫非但展現了無比的壽命與韌性，更具備不可思議的高度與成熟度。

目前公認，中醫診療的精髓，是為辨證論治。辨證中的「證」字，普遍之定義乃指證候（一說為證型）言。證候具體是指個體在發生疾病後的特殊臨床表現，這些表現會隨著疾病的不同階段、個體體質、飲食起居、風土環境、以及時間等條件而有所差異，並富有中醫生理病理學的獨特色彩。而蒐集歸納患者的臨床表現---包含主觀的症狀與客觀的徵候，依照中醫理論，藉由邏輯析辯的過程，以確立證候（或證型），名之為「辨證」（即中醫之診斷），再依證候訂立治則，遣方用藥，是為辨證論治。由此可知，辨證論治的首要關鍵，正在於運用中醫「望、聞、問、切」四診，對症狀與徵候作正確地擷取與判定。

然而長期以來，不論在台灣或中國，中醫學者與臨床專家對於每個症狀與徵候的具體定義和擷取方式的認知常存在著差異，對於各證候之意涵，以及所提出之辨證標準，亦有所不同，且一般皆未提及具體評量指標。這般多頭馬車的情形，不僅深深妨害了醫師間對於病情的溝通，也影響到病患照護的連續性與品質。雖說不同的術語與規範可以彰顯不同體系或領域的獨特性與正統性，但實際上卻對知識的交流和醫學的進步造成了阻礙。綜觀現代醫學的發展，即可知曉其快速普及與成長的一大原因，就在於能運用明確且具一致性的方式診斷疾病，並使用客觀的數據予以量化描述，作為療效評估的指標與研發新療法的依據。換而言之，確立症狀與徵候的名詞定義與操作規範，縮小辨證差距，並凝聚臨床醫療人員對診斷標準產生共識，無疑是非常重要的並且是建立中醫醫療品質與推展醫療業務的重要基礎。

近年來，台灣中醫學者在證候診斷的基準化方面已做了許多貢獻⁽¹⁻⁸⁾，並取得了長足的進展，為證候診斷規範化的研究奠定了基石。中國學者梁

茂新更對中醫症狀量化的方法提出獨到見解⁽⁹⁾。

如何在可操縱的環境下，經由客觀而科學的方法和程序，將感官經驗的素材，整理成具普遍性和規律性的知識，是本研究的精神。希冀藉由定義出症狀與徵候診斷之含意和操作規範，初步凝聚起中醫界之共識，作為日後持續發展中醫療效研究的充要條件；而最終標準化後的術語也將更能清楚且有效率地與其他領域溝通，而非以往雞同鴨講、各說各話的局面。自內而外都能有共同的語言，所謂「車同軌、書同文」，對於達到中醫現代化與國際化的理想，應是重要而關鍵的一步。

由於近代公共衛生、糧食供給、以及醫學知識與技術的進步，許多傳染病與急重症已能得到良好地控制，人類的壽命得以不斷延長(指已開發中國家而言)。然而，也因為壽命的延長，社會結構逐漸趨向老化，傳染病與急重症的控制也使疾病譜發生改變，一些好發於老年人的慢性病，諸如糖尿病、高血壓、和心腦血管病變等，已然成為社會醫療資源支出的主軸，並且有不斷攀升的趨勢。罹患慢性病之患者，多需長期照護與服藥，且因為慢性病併發症所造成的失能與失用，更形成了社會的重擔。目前常見的就醫模式，是病患在被現代醫學診斷後，或因不願接受其治療、或不滿足於其治療選項、或在接受其治療後仍不符期待等情況下，往往再會主動尋求非主流醫學的治療。

依國際期刊統計，中醫非但被華人所運用，即使在非華人族群，使用中醫療法的比率也正逐漸增加。在歐美地區，中醫被西醫療體系將定義為補充療法 (complementary therapy) 之一 (NCCAM, 2002)。Lim, Sadarangani, Chan 與 Heng (2005)於新加坡不同族群的調查結果顯示，華人僅佔受訪者的 73.9%，卻有 88% 受訪者使用中醫療法。66% 接受調查的印度人在過去一年內使用中醫療法，僅 24% 使用其傳統的 Ayurvedic Medicine⁽¹⁰⁾。

老年人接受中醫治療的比率佔 41%，遠高於年輕族群。台灣相關的報告指出中醫醫療服務使用率增加與老年人口比率增加呈正相關的現象^(11,12)。尤其是老年人口每增加 1%，平均每人每年中醫醫療使用率增加 8.2%，此現象可能與老年人罹患慢性病或是疾病嚴重度的比例較高，因而提升其求助傳統中醫服務的意願⁽¹¹⁾。

另一方面，已有許多調查指出癌症病患使用中醫藥/中草藥治療的現象⁽¹³⁾。針對早期癌症適當使用整合手術、化學治療、放射治療等各種不同的策略，能有很好的治療效果。但對於轉移擴散的末期癌症，上述療法除短暫延長生命、減輕疼痛外，「治癒」仍遙不可及，此時，台灣固有的中醫醫

療體系往往成為民眾的主要求助對象之一。杜（1992）針對 25 位乳癌病人的問卷調查結果，發現僅 32%病患單純尋求西醫治療，68%的病人會同時使用中醫或其他民俗療法（如草藥、推拿）等⁽¹⁴⁾。辛、邱、胡、程、陳(1996)針對某醫學中心緩和病房 194 位癌末病患的調查結果，超過 5 成的受訪者使用中草藥來治療或減緩癌症的進展⁽¹⁵⁾。

由以上文獻可知，中醫體系在於老化、慢性病或是癌症造成的耗損性需求，提供了大量的服務，然而因症狀、徵候與證型定義的不明確，使得中醫臨床研究難以呈現成果，或是因研究的不統一而容易遭受質疑。對單一病人而言，在主動尋求中醫診療時，若能以疾病的根本問題為主軸，正確評估病患病情變化、評值服藥前後反應與療效，方能針對病患需求提供適當的服務；對研究而言，如能有統一的症狀與徵候定義和操作模式，就更能夠呈現研究成果。

訂定中醫症狀與徵候名詞定義與操作規範，近程的目標的主要是使醫者能對病患臨床表現的判定達到一致性，並提高精準度。按本研究計劃之成果於臨床層面有助於臨床醫師在診治病患時，提高中醫辨證的實用性與精準度，從而提高療效。在研究層面可以提供中醫辨證診斷的操作規範，在臨床試驗與中藥新藥開發上，中醫藥療效評估將有共通的語言，以提高研究品質及發展。另外於教學層面本成果有關中醫四診症狀與徵候蒐集與判定的操作規範，將可作為醫學院學生、見實習生及住院醫師學習中醫診斷學時之教材，以提升學習中醫診斷學的有效性與正確性。

長久以來台灣中醫教育所使用之教科書，都以中國中醫學者所編撰的教材為主，出自台灣中醫專家學者之手者，數量著實有限，質量皆精者，更是屈指可數，這般情形，對台灣中醫藥之發展與國際化，實非良好的發展。除此之外，基於台灣與中國風土民情實非相同，長年下來台灣之中醫藥早已發展出不同於中國之特色，且台灣中醫老中青三代，並不乏學藝兼優的傑出醫者，另外亦因整合醫學的抬頭，如今世界各地鑽研中醫的學者與醫師越來越多，其中尤以美國、加拿大、英國與德國等最為活躍，這些學人在研討中醫時，亦都由基礎中醫名詞研讀，在學術領域，對名詞術語的定義做規範，有著無比的象徵意義，近年來台灣不遺餘力在中醫藥臨床、研究與產業投入的時間、人力、財力與物力，更應該在中醫基礎領域上領先國內外中醫界。

再者，如前已述及的，整合醫學是未來醫療的趨勢，中醫藥將在其中扮演舉足輕重的角色，就現實層面考量，這是相當驚人的商機，亦是台灣

能在國際嶄露頭角的機會。中國政府針對中醫藥在世界的發展已積極佈局多年，台灣在諸多主客觀因素的影響下，卻落後甚多，若再無法奮起直追，發展出屬於台灣中醫己身的標準，導入我們的特色，勢必將被中國邊緣化且被韓國取代，這肯定會是國家的損失。綜上所述，本計劃訂立中醫症狀斷術語作業標準化之成果，在教育、醫療、保健、研究、產業、文化與國家發展等諸層面，皆會有不同程度的影響。對於解決現今中醫界因名詞術語不一致所導致的誤解與空耗，更有迫切的需求。

貳、材料與方法

本研究分為兩個步驟，第一部分於第一年度前 2 個月完成籌組工作以及擬定作業流程。第二部分將持續針對症狀標準化作業，進行資料收集以及討論。

一、第一階段以建構籌備專家委員會、建置症狀操作標準作業流程、各醫院間之行政聯繫、以及分組研討目標訂定為主要目標。

(一)組成專家委員會：本研究目的在於建立具有良好共識的中醫症狀標準操作定義，唯有豐富臨床經驗、學術背景以及從事教學的專家，方能針對形成中醫症狀的相關因素之臨床表現，進行深入的討論。根據本研究的目的，擬延攬專家成立委員會，由本團隊統籌，延攬中區及南區醫學中心中醫部如彰化基督教醫院、中國醫藥大學、台南奇美醫院、台中榮總、中山醫學大學及基層資深中醫師於中醫診斷學專長之專家學者，組成 10-15 名之專家委員會，每月進行討論。並邀請相關領域研究人員，參與會議討論。

(二)決定主要參考書目：古今歷代對於中醫診斷均有專書，而現今各臨床醫師對於診斷參考用書多以個人學習及臨床經驗為主，因此決定主要參考書目為討論共識之基礎。將依國際標準規範，如 WHO international standard terminologies on traditional medicine in the western pacific region 及中醫診斷相關教科書，如馬建中《中醫診斷學》、鄧鐵濤《中醫診斷學》、朱文鋒《中醫診斷學》、姚乃禮《中醫症狀鑑別診斷學》、李經緯《中醫大辭典》、陸壽康《中醫症狀治療學》做為參考資料。針對男性以及女性在症狀表現上的鑑別，如女性下腹痛需再考慮與生殖系統相關的生理病理機轉，以及婦科及產科常見症狀等女性特有症狀進行相關文獻整理及討論。

(三)建立作業標準流程：針對文獻蒐整、彙整及討論模式建立作業標準流程。建立流程包含：擬定”症狀術語標準作業流程”、測試”症狀術語標準作業流程”以及”症狀術語標準作業流程”定案等三個步驟。

(四)決定主要討論之症狀術語：中醫診斷學專書上之術語為數眾多，無法全部討論，因此針對專家共識擬定出之參考書目，討論臨床常用中醫症狀診斷術語，分配各醫院間工作以及訂定工作進度。

二、第二階段以古今文獻蒐整、定期分組小組研討、專家討論、建構中醫

症狀標準操作定義規範為主要目標。

- (一)古今文獻蒐整：以專家共識討論會議決定之主要參考書目，並針對參考書目內相關症狀闡釋整理歸納並提出至專家會議決議，決定主要討論症狀並再進一步進行分析整理各書本內容，建立相關症狀術語資料庫。將依國際標準規範，如 WHO international standard terminologies on traditional medicine in the western pacific region 及中醫診斷相關教科書，如馬建中《中醫診斷學》、鄧鐵濤《中醫診斷學》朱文鋒《中醫診斷學》、姚乃禮《中醫症狀鑑別診斷學》、李經緯《中醫大辭典》、陸壽康《中醫症狀治療學》做為參考資料。並針對男性以及女性在症狀表現上的鑑別，如女性生殖系統相關症狀如白帶、痛經等生理病理機轉，以及婦科及產科常見症狀等女性特有症狀進行相關文獻整理及討論。
- (二)分組研討會議：透過各專家定期小組會議，針對各症狀術語以及操作流程進行細部討論，並訂定標準化操作流程，形成各專家小組共識。
- (三)專家討論會議：每月召開專家討論會議，通過專家會議分享各專家小組對症狀標準作業進行討論之經驗與成果，並由專家所提供中醫症狀操作經驗，並邀請全國中醫診斷學專家學者進行相關討論歸納，以提供規範建構之參考並建立共識。
- (四)舉辦研討會：與相關學會合辦，開放臨床中醫師參與討論。針對專家討論會議討論之症狀與臨床結合共同研討，期盼能達到初步中醫界的共識。

參、結果

本年度於七月份召開第一次專家會議，邀請長庚醫院張恒鴻副院長、中國醫藥大學附設醫院楊中賢主任、大林慈濟醫院陳柏全主任等中醫界學者進行第一次專家會議、會中由彰化基督教醫院羅綸謙主任針對本計劃之工作內容及工作對中醫界之重要性進行報告，並由與會專家學者針對症狀術語標準化之流程以及未來之方向進行討論。因單一症狀除了針對患者疾病病情描述外亦有可能包含廣義、狹義、生理、病理等多種不同的解釋，因此對於症狀術語標準化之內容最後達成共識應包含廣義的症狀涵義，即針對未來的中醫師應該如何了解此症狀術語之內涵以及症狀術語的臨床操作模式，如各中醫師應如何詢問患者，或是可針對症狀發生之輕重、時間、頻率、併發症狀、誘發情形、伴隨症狀及可緩解之方式進行詢問，不但可對於患者之症狀有更明確的了解，同時也可藉由類似的詢問方式作為中醫辨證之參考。

本年度共討論三十個症狀術語，其涵義及臨床操作模式概列如下：

一、口乾：

(一)涵義：自覺口中乾燥少津，但不一定有飲水要求。

(二)臨床操作模式：不欲飲或飲不多、依臨床症狀可伴隨胸脘痞悶、納呆可能為濕熱鬱蒸；伴隨飲後不適，水入即吐可能為水飲內停；伴隨漱水不欲嚥、舌下絡脈怒張可能為瘀血內停；伴隨鼻咽乾燥、乾咳無痰可能為肺燥津傷。

二、口渴：

(一)涵義：口乾想喝水

(二)臨床操作模式：可詢問患者飲水的量、飲水次數、飲水溫度、並配合觀察患者舌苔舌津，飲水喜涼並伴有舌津少為氣分熱或陰虛有熱。舌津少或無舌苔少為陰虛火旺或有水濕痰飲。

三、心悸心慌：

(一)涵義：病人自覺心跳。

(二)臨床操作模式：每因情緒波動或勞累過度而誘發，且常伴胸悶、氣短、暈眩、失眠、健忘、耳鳴等症。

四、胸悶：

(一)涵義：胸部有滿悶不舒的感覺。

(二)臨床操作模式：胸部：兩乳中（膻中穴）之上謂之胸。胸下兩乳

中間至鳩尾處，謂之膺胸。悶：堵塞不暢，滿悶不舒。病機：胸部氣機不暢。可能的病因：外邪束表，肝氣郁結，痰濕內蘊，瘀血阻滯。

五、頭痛：

- (一) 涵義：由於壓力過大、緊張過度、神經衰弱、過度疲勞、睡眠質量差等因素引起的頭部感到緊繃，如帶子緊束頭部一樣，並不時伴有頭痛、頭暈、記憶衰退、煩躁、頭憋漲、麻木等癥狀。
- (二) 臨床操作模式：太陽病頭痛，多在頭後部下連于項，惡風寒，脈浮緊。少陽病頭痛，多在頭兩側，往來寒熱，脈弦細。陽明病頭痛，多在前額部，自汗、發熱、不惡寒，脈浮緩而長。太陰病頭痛多全頭痛沉重如裹，必有痰、身重，或腹脹，脈沉緩。少陰病頭痛，發作劇烈，連於腦，齒面及指甲發青，足寒氣逆，脈沉細。厥陰病頭痛，頭頂痛，吐涎沫，厥冷，脈浮緩。

六、項強：

- (一) 涵義：項強，乃指頸部連及背部處，接近枕骨下方的位置，有肌肉強直感，不能順利俯前後仰及左右順利轉動而言。
- (二) 臨床操作模式：風濕犯表、邪熱傷津、金瘡風毒、扭挫傷均可出現項強症狀，並可由患者指出部位與範圍。

七、腰際酸痛：

- (一) 涵義：腰部酸楚不適，綿綿不已，伴有腰部輕度疼痛，稱腰酸，又稱腰酸痛；腰痛是指腰部的一側或兩側發生疼痛而言；是腰脊部疼痛的症狀，因腰脊相鄰，其疼痛部位或以腰部正中脊部為重，或在脊柱兩側為甚，故一般稱腰脊痛，或稱為腰痛。
- (二) 臨床操作模式：腰脊痛一症，新病多實證，久病多虛證；臨床操作可詢問腰部不同性質疼痛，可以判斷致病原因，如腰部冷痛，以脊骨痛為主，活動受限，多為寒濕痺證，腰部冷痛，小便清長，屬腎虛。腰部刺痛，固定不移，屬閃挫跌鋪瘀血。

八、背痛：

- (一) 涵義：指背部因某種原因引起疼痛的一種自覺症狀，可引及肩、胸、心下、腰部。
- (二) 臨床操作模式：詢問位背部不同部位的疼痛及其性質，可以判斷背痛的病因病位；例如：風寒侵襲背痛，背痛板滯，兼有惡寒，脈浮緊，若肩背痛不可回顫者，此為手太陽經受邪，如背痛項強，

腰似折，頸似拔，此足太陽經不通行；有內外兩因，虛實迥異。

九、便秘：

- (一) 涵義：排便次數減少，或排便困難(無論便軟、便硬)。
- (二) 臨床操作模式：糞便在腸道內滯留過久，出現排便次數減少，三日以上不大便或一週內排便少於 2-3 次者。糞便在腸道內滯留過久、或因其它因素，造成大便乾硬，甚則如羊糞狀，以致大便排出困難；或大便不硬，但腸道蠕動緩慢，甚至不蠕動，導致大便排出困難。

十、泄瀉：

- (一) 涵義：大便質軟、或如水樣，俗稱拉肚子。
- (二) 臨床操作模式：大便質軟或稀薄或水樣，或可伴見完穀不化(食物未消化完全之殘渣)，但未見夾雜膿血。大便質軟或稀薄或水樣，可伴見排便次數增多(跟患者自己平日比)、腹痛，但未見裏急後重。

十一、咳嗽：

- (一) 涵義：突然的用力且有聲響的由咽喉排出肺部空氣，常伴咯痰特徵的一種症狀。
- (二) 臨床操作模式：咳嗽一症，首當鑒別其為外感咳嗽還是內傷咳嗽。
外感咳嗽：由感受六淫之邪而起，兼有相應的外感症狀，起病急，病程短；內傷咳嗽：有較長的咳嗽病史，多兼臟腑虧損的症狀，起病緩，病程長。

十二、痰：

- (一) 涵義：某些疾病的病理產物或致病因素。有廣義、狹義之分。狹義之痰指呼吸道分泌的病理產物。廣義的痰指病因病證。
- (二) 臨床操作模式：指呼吸道分泌的病理產物:如熱痰、寒痰、燥痰等。
指病因病證：如風痰、痰火、痰濕、痰濁、頑痰、宿痰、伏痰、痰飲、痰包、痰核、痰症等。

十三、白帶：

- (一) 涵義：生理性帶下：健康的婦女陰道口經常有些無色無臭、稍具黏性而不稠的液體潤澤其間，使之不乾澀，為量不多，不會滲出體外者，這是正常的帶下，不必治療。病理性帶下：帶下的量明顯增多，色黃綠或乳白，質地粘稠、甚至如豆腐渣樣，有酸臭味或魚腥味，或伴有腰痠、小腹悶痛等症狀者。此乃中醫所稱帶下病之範圍。

(二) 臨床操作模式：若量過多有味，並伴有腰腹酸痛等，則屬病態。多因脾虛肝鬱，濕熱之邪下注，帶脈失約，任脈不固所致。因於脾虛者，白帶量多，兼見神疲，面黃，肢冷，便溏等症。治宜健脾除濕。方用完帶湯；因於肝鬱者，白帶時多時少，兼見精神不暢，頭眩，胸悶乳脹等症，治宜疏肝解鬱，方用加減逍遙散；因於濕熱下注者，帶下有腥臭氣味，兼有陰癢，頭暈倦怠等症，治宜清熱利濕，方用龍膽瀉肝湯。此外，虛寒、虛熱、痰濕等均可引起白帶增多。

十四、痛經：

- (一) 涵義：正值經期或行經前後，出現周期性小腹疼痛，或痛引腰骶，甚或痛劇不能忍受，稱為痛經，或稱經行腹痛。
- (二) 臨床操作模式：經前腹痛、少腹硬滿，是氣滯血瘀。小腹冷痛，遇溫則減輕者，多屬寒凝或陽虛；經期或經後小腹隱痛，多屬氣血兩虛所致。

十五、咽喉痛：

- (一) 涵義：咽喉痛，或稱喉嚨痛、咽嗌痛，是指咽喉部位的疼痛而言。
- (二) 臨床操作模式：咽喉之俗稱，泛指今之口咽部和喉咽部。《醫學心悟，咽痛》：“咽者，少陰經脈所過之地也，熱邪攻之，則咽痛。”寒邪直中下焦，逼其無根失守之火，發揚於上，亦令咽痛。然必有利清穀，四肢厥冷等證。

十六、頭暈：

- (一) 涵義：指頭腦昏暈而感覺自身或周圍景物旋轉，甚者有噁心嘔吐之症。
- (二) 臨床操作模式：《醫碯·眩暈》：“暈與運同，旋轉也，所見之物皆旋轉如飛，世謂之頭旋是也。暈，即頭暈，是自身或周圍景物旋轉。

十七、喘：

- (一) 涵義：喘為呼吸頻率較快或伴有呼吸型態異常的表現。
- (二) 臨床操作模式：患者自覺呼吸較平時快，或伴有呼吸不順暢、呼吸困難，甚則出現張口抬肩、鼻翼煽動，更甚者，出現煩躁不安，面唇指甲青紫，肢冷汗出。

十八、頻尿：

- (一) 涵義：患者自覺排尿次數增加，甚則一日十餘行之情形，每次尿量減少。

- (二) 臨床操作模式：先詢問患者平日排尿頻率、尿量，以此為基準再詢問患者目前之排尿頻率、尿量及伴隨症狀以判斷患者是否有頻尿。

十九、五心煩熱：

- (一) 涵義：五心煩熱是指兩手心、足心發熱及自覺心胸煩熱，而體溫有的升高，有的並不升高的一種虛煩發熱症狀。
- (二) 臨床操作模式：五心是指兩手心、足心及心胸。五心煩熱可由內傷、外感病症所致，內傷主要是陰血虛虧，多見於虛勞病中；外感則多因熱病後期，餘邪未清所致。

二十、惡風：

- (一) 涵義：患者吹風覺身體難耐不適厭惡感，避風可緩解。
- (二) 臨床操作模式：詢問患者是否因風直接吹拂體表而有不適感如皮毛聳起、身冷、寒顫等見症而有厭惡感、下意識欲穿衣或換位置避之。若無風吹拂時症狀是否緩解無厭惡感。問診時亦同時詢問伴隨症狀，以判斷屬於外感或內傷。

二十一、惡寒：

- (一) 涵義：患者雖不當風亦覺寒冷、身體難耐不適感。
- (二) 臨床操作模式：詢問患者是否覺身冷而有厭惡感欲穿衣，雖穿多衣物仍覺身冷，並詢問是否有發熱之見症，並經由臨床四診判斷屬於外感或內傷。

二十二、關節肌肉痠痛：

- (一) 涵義：指上下肢筋脈、肌肉、關節疼痛的症狀。
- (二) 臨床操作模式：《內經》稱其為肢節痛、骨痛。《素問·痺論》所論述的痺證如行痺、痛痺、著痺等，均是以關節痛為主要表現的病症。其後又常根據關節疼痛部位，而有不同的名稱。痺證以肢體關節肌肉疼痛為主要特徵，其發病波及全身關節肌肉。

二十三、自汗：

- (一) 涵義：自汗，指人體不因勞動、氣候炎熱，服用發汗藥物等因素而全身性汗出過多，異於平常的症狀。
- (二) 臨床操作模式：汗出部位：局部(頭、背)或全身？汗量多寡：量少細細綿綿，如霧濕衣；量多如水涔涔，通身如浴。汗本身：味濃重或清？質黏或稀？冷汗或熱汗？發作時間：整日、或晨起、或夜間等？天冷或天熱？當時濕度如何？加重因子：飲熱汗出？活動加甚？緩解因子：伴隨因子：畏冷？怕風？氣短？乏力？疲累？怕

熱？

二十四、盜汗：

- (一) 涵義：以入睡後汗出異常，醒後汗出即止為特徵的症狀。
- (二) 臨床操作模式：汗出部位：局部(頭、項、背)或全身？汗量程度：量少細細綿綿，如霧濕衣；量多如水涔涔，通身如浴。汗本身：味濃重或清？質黏或稀？冷汗或熱汗？發作時間：睡後即汗出？加重因子：著衣與蓋被的情況？室內冷或熱？又濕度如何？緩解因子：是否醒後即停？伴隨因子：潮熱感？顴紅？五心煩熱？心悸怔忡？胸悶？體溫高或不高？睡眠狀況？多夢？易醒？怕熱？畏冷？怕風？咳嗽？

二十五、腹痛：

- (一) 涵義：患者自覺橫膈以下至骨盆入口以上之位置的疼痛不適感。
- (二) 臨床操作模式：請患者明確表示出不適位置，鳩尾以下、曲骨以上之部位。並請患者描述疼痛的程度(可忍受、痛不可忍、按壓痛等)。有無特殊性質(如悶、脹、刺、抽痛感等)。特殊定位(如右下腹部，整個腹部等)。發病新久(急、慢性)。持續時間(如陣發、鎮日等)。加重因子(如疲倦、運動等)。緩解因子(如休息、熱敷、按壓等)。或伴隨症狀(如發熱惡寒、咳嗽等等)。

二十六、腹脹：

- (一) 涵義：患者自覺腹部(一部分或全腹部)脹滿不適，或腹部明顯脹大，腹皮绷紧。可伴有相關的症狀，如嘔吐、腹瀉、噯氣等。
- (二) 臨床操作模式：醫者可進行理學檢查理學檢查，叩診多為鼓音(tympanic sound)。部位：腹部；發作型態：飯前、飯後或整天；加重或緩解因素：飲食或情緒；伴隨症狀：如嘔吐、腹瀉、噯氣、便秘等。

二十七、倦怠感：

- (一) 涵義：患者自覺精神萎靡困倦，肢體懈怠乏力。(精神或肉體)。
- (二) 臨床操作模式：詢問患者平日精神、工作、家庭狀況，是否整日均覺精神不濟，或上午工作時精神佳、下午或晚上始覺倦怠感，詢問相關身體症狀、心理狀態、四診合參是否為臟腑虛損或是精神壓力。

二十八、納差：

- (一) 涵義：患者自覺食慾不佳、不欲飲食或食少即覺飽脹，食量較正

常食量減少。

- (二) 臨床操作模式：詢問患者平日飲食狀況，如三餐進食時間點、食量、以及消化情形，與目前不適症狀相比較；並詢問發病新久、最近飲食狀況是否有不正常、排便狀況是否有改變或是有生活、工作環境等壓力，四診合參、判斷為外感或內傷。

二十九、不寐：

- (一) 涵義：以經常性的睡眠時間減少、或品質不佳、以致白天的情緒、生活與工作品質受影響。
- (二) 臨床操作模式：睡眠時間：就寢時間？多久才能入睡？起床時間？實際可入睡多小時？異常睡眠型態：入睡困難：全無睡意、徹夜不眠？欲睡而睡不著？淺眠易醒：睡而易醒、醒而難再眠？睡眠品質：晝日精神：精神不濟、乏力感、注意力不集中、情緒改變、心理上的憂慮等。

三十、多夢：

- (一) 涵義：症狀名。自覺睡眠時夢境不斷，醒後感睡眠品質不佳，甚至影響白天精神。
- (二) 臨床操作模式：多夢是患者自覺症狀，常暗示著某種程度的睡眠障礙，也可為失眠的兼症。醫師面對多夢的主訴，應從整體睡眠的角度去思考。正常人偶或得夢，醒來無不適者，不必介意，患者主訴多夢後，醫師應進一步詢問整體睡眠狀況，尤當詢問淺眠與否、夜尿與否、再詢問夢境內容，對於特別的夢境，如夢魘、夢驚、夢交、夢水、夢墜等，或夢語的內容等，對中醫都有臨床鑑別的價值。另外睡眠前的思維狀態（檢討過去？計畫未來？三省吾身？閱讀小說？）亦當詢問。最後，尚應詢問患者生活各方面明顯的或潛在的可能壓力。

本年度共舉行六次專家會議，由中南部醫學中心資深中醫師帶領各院內小組進行討論，如中國醫藥大學附設醫院楊中賢主任及林宏任主任、大林慈濟醫院陳柏全主任、台中榮民總醫院蔡真真主任，中山醫學大學附設醫院陳雅吟主任、台南奇美醫院許堯欽主任，以及彰化基督教醫院羅綸謙主任共計分為六個小組進行討論，由各小組針對分配的症狀進行院內討論，並將結論於專家會議中提出，參見附錄二專家諮詢會議會議記錄。其中專家會議亦邀請各教學醫院及基層診所資深中醫師共同參與討論，如長庚醫院張恒鴻副院長、台北慈濟醫院陳建霖主任、中國醫藥大學附設醫院

曹榮穎主任、嘉義基督教醫院洪培修主任、佑生堂中醫診所黃進明醫師、東方中醫診所柯富揚醫師、秀傳紀念醫院呂友文主任等與會討論，經由專家討論針對症狀涵義與操作型定義能達到初步共識。

除了每月舉辦專家會議，本計劃於 101 年 11 月 18 日於長庚紀念醫院桃園分院舉辦常見疾病之中醫臨床診斷與治療學術研討會，希望能藉由討論使中醫專家學者對於本計畫探討中醫症狀術語與臨床之重要性，研討會詳細成果請參照研討會成果報告。

肆、討論

中醫的診斷主要是以症狀的採集為基礎，並依據中醫的辨證理論進行病因病機的分析。因此，症狀是中醫辨證的基本元素，也是臨床診療的基礎。而目前中醫四診診斷症狀術語在表述時是繁雜且細瑣，長期以來，一直缺乏客觀及有共識的診斷標準，亦難將診察結果予以精確的量化，而究其原因都是由於診斷症狀術語的判定未被重視。

與會專家學者多數認為，同樣一個症狀名詞，散於不同經典醫書，所呈現或表達的涵義可能都不盡相同，更何況時至今日，各個門派、各家學說百家爭鳴、各抒己見，其結果造成醫者之間症狀的談論容易南轅北轍，無法對焦，也易使學生難於學習效仿。

與會專家舉例：五更泄瀉，脾腎陽虛很重要，那如何鑑別脾腎陽虛，就是臨床鑑別診斷重要的地方，有臨床鑑別診斷意義的項目可以優先做。例如頭痛，哪個地方痛為頭痛，痛的形式是脹痛、刺痛等痛的方法，在臨床上要如何問，也是操作中可以考量的流程。例如有專家提到腰際痠痛，是否要分成腰痠及腰痛兩個症狀，有學者就認為不需要分的太細，分的太細反而會失真或容易會遺漏某些重要的地方，所以應該要一起討論，在這種架構下，再去細分他們的差異性。

而在定義症狀部分，專家們提出首先要定義症狀，不需多加著墨於廣義或狹義的定義，主要在問診的操作，問病人的結果就是症狀，應將問診延伸至症狀的操作，總而言之要有症狀的定義及症狀的操作型定義。症狀時序性的部份，不該把問到的症狀湊在一起辨證，而是要依照病程的發展去推演症狀，這是往後可以應用的。目前彰基這裡會參考中醫相關書籍（已選定）內容，將挑選出來的症狀定義相關文獻整理完整，再經由專家會議完成症狀涵義與操作型定義。

在症狀操作的部份，臨床上症狀的重要鑑別診斷可以先做出來，問診方式有人是用脈診、舌診或問診等不同的方式去看症狀，每個醫師的經驗不同，舉例來說：五心煩熱，肝腎陰虛很重要，那如何鑑別肝腎陰虛，就是臨床鑑別診斷重要的地方，有臨床鑑別診斷意義的項目可以優先做。例如腹痛，哪個地方痛為腹痛，痛的形式是脹痛、刺痛等痛的方法，在臨床上要如何問，也是操作中可以考量的流程。參考西醫量表有涵義而沒有具體操作的方法，對疾病的診斷的貢獻有限。針對中醫症狀的判別，可以參考西醫行之有年或是全球通行的適用量表，如果合用可拿來直接使用，若

是西醫所沒有的那中醫再來做，是較好的方法，如中醫領域與復健科的若有主題部分相近，可請教中醫系畢業於西醫相關領域服務者。

在症狀項目挑選部分，對婦科而言痛經很重要，可考慮放入症狀術語的討論項目，目前所訂出的症狀是從目前參考資料文獻中精選，痛經的部分在婦科中很重要，但相對於參考資料可能並不是常見的。症狀項目得增減還可以再討論，目前選的症狀非最後定案，也可以從中醫十問歌裡的症狀優先做。症狀術語共識形成方式：先將草稿或表格定案，包括涵義與操作兩部分，操作裡面要有什麼項目，可以商量再訂出，而後分組分工作業，在專家會議上發表與討論和修正結果或是接續小組沒有討論的部分，比起將書目資料逐一鍵入的繁雜工作，分組作業較佳。

伍、結論與建議

一、結論

今年度本計畫將臨床常見三十項症狀之涵義與臨床操作模式透過各教學醫院及專家諮詢形成共識呈現。

二、建議

- (一) 症狀定義：不需多加著墨於廣義或狹義的定義，主要在問診的操作，症狀時序性的部份是要依照病程的發展去推演症狀，這是往後可以應用的。
- (二) 症狀操作：臨床上症狀的重要鑑別診斷可以先做，並搜尋文字起源(如說文解字)可幫助醫者在學習上更加有感覺，在臨床意義部分，可針對中、西醫臨床上的診斷意義，同時可納入西醫參考名詞及定義，有些症狀名詞在西醫已經有詳細的定義可參考，另外也可利用已有的客觀指標或量表，做為與西醫溝通之平台，亦可討論相關期刊或 EBM，實證醫學是目前趨勢，若有相關資料可以一起補充。
- (三) 症狀項目挑選：目前所訂出的症狀是從目前參考資料文獻中精選，症狀的挑選可以從常見的症狀做起，例如：中醫十問歌裡的症狀，另外，婦、兒科常見的症狀也可以優先考慮。
- (四) 應用限制：本研究主要為經由專家會議使中醫症狀術語能有初步之一致性，本計畫執行至今僅半年餘，在經過多次專家會議之後發現許多症狀名詞可同時用於症狀名、亦可使用於診斷名詞，容易造成臨床使用上之混淆，如經痛與痛經，前者為症狀名、後者為診斷病名，因此在應用上對於類似中醫字詞易造成混淆，此為現階段發現之限制，希望能藉由來年專家會議之持續探討釐清此類術語，另現階段術語討論僅為初步成果，對於能應用於臨床醫師並獲得共識，仍有需努力的空間。因此除了上述議混淆字詞外，其餘如正確操作症狀之過程，以及症狀術語在西醫方面是否有不同解釋，亦造成臨床醫師使用之不便，同為現階段應用之限制，也希望能在未來的專家會議中及計畫執行逐步解決相關疑慮。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP101-RD-035 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. 高尚德 五種常見疾病中醫證型診斷基準之研究 (3-1) --慢性 C 型肝炎中醫證型診斷基準之研究。中醫藥年報 第 22 期 第 4 冊, 1-60, 2004
2. 高尚德 五種常見疾病中醫證型診斷基準之研究 (3-2) --慢性 C 型肝炎中醫證型診斷基準之研究。中醫藥年報 第 22 期 第 4 冊, 61-106, 2004
3. 林宏任 五種常見疾病中醫證型診斷基準之研究 (3-1) --慢性 B 型肝炎中醫證型診斷基準之研究。中醫藥年報 第 22 期 第 4 冊, 107-176, 2004
4. 林宏任 五種常見疾病中醫證型診斷基準之研究 (3-2) --慢性 B 型肝炎中醫證型診斷基準之研究。中醫藥年報 第 22 期 第 4 冊, 177-218, 2004
5. 林建雄 五種常見疾病中醫證型診斷基準之研究 (3-1) --糖尿病主要證型診斷基準之研究。中醫藥年報 第 22 期 第 4 冊, 219-238, 2004
6. 林建雄 五種常見疾病中醫證型診斷基準之研究 (3-2) --糖尿病主要證型診斷基準之研究。中醫藥年報 第 22 期 第 4 冊, 239-304, 2004
7. 馮曄 五種常見疾病中醫證型診斷基準之研究 (3-1) --停經後婦女骨質疏鬆症主要證型診斷基準之研究。中醫藥年報 第 22 期 第 4 冊, 305-322, 2004
8. 馮曄 五種常見疾病中醫證型診斷基準之研究 (3-2) --停經後婦女骨質疏鬆症主要證型診斷基準之研究。中醫藥年報 第 22 期 第 4 冊, 323-416, 2004
9. 梁茂新 洪志平, 中醫症狀量化的方法初探, 中國醫藥學報, 1994,9(3):37-39
10. M.K. Lim, P. Sadarangani, H.L. Chan, J.Y. Heng. Complementary and alternative medicine use in multiracial Singapore. *Complementary Therapies in Medicine*, 2005;13, 16-24
11. 蔡文正、龔佩珍·中醫醫療利用成長與醫師數增加之關係·臺灣公共衛生雜誌, 2001;20(6)463-474·
12. 康健壽; 李金鳳; 陳介甫; 周碧瑟·病患利用中西醫門診相關因素·臺灣

- 醫學會雜誌，1994;93 (Suppl · 1)，49-55。
13. Chatwin J. & Tovey P. Complementary and alternative medicine (CAM), cancer and group-based action: a critical review of the literature *Journal of Cancer Care*, 2004;13, 210–218
14. 杜異珍·文化對女性乳癌病患醫療行為之影響。榮總護理，1992;9 (2)，127-133。
15. 辛隆士、邱泰源、胡文郁、程劭儀、陳慶餘·癌末病人之另類治療行為·中華家醫誌，1996;6(3)，127-137。

以動物模式評估比較硃砂單方及含硃砂之複方中藥對於肝臟和腎臟毒性損傷與安全性研究(2-2)

黃俊發、蘇奕彰、陳雅雯、吳錦景
中國醫藥大學

摘要

本研究計畫之目的為：探求在較長時間暴露含硃砂之複方中藥是否會引起肝臟與腎臟毒性反應產生與產生之時間及其可能作用機轉？並且比較相關毒性反應與硃砂單方所引起損傷之差異性為何？及停止暴露含硃砂之複方中藥後，其所引起肝腎毒性反應是否具有可逆性？

本研究計畫所選用不含與含硃砂之複方中藥為天王補心丹與五寶散。在進行動物實驗前，先以感應耦合電漿質譜儀(ICP-MS)來分析所購得複方中藥所含汞與其他金屬含量的差異。接續，在給予實驗動物(雄性鼯鼠)餵食市售水飛硃砂(III)-10 mg/kg/day、不含硃砂之天王補心丹濃縮散(1200 mg/kg/day)與五寶散(250 mg/kg/day)、及含硃砂之天王補心丸與加味五寶散(使所餵食之硃砂劑量為 10 mg/kg day)於不同時間(2-4 週)分析血液、肝腎中汞金屬濃變化、肝腎功能指標改變、組織顯微構造改變、以及與肝臟腎臟毒性損傷相關指標變化情形。

由分析結果發現：實驗動物(鼯鼠)血液與肝臟組織樣品中汞金屬濃度在餵食硃砂組與含硃砂之天王補心丸與加味五寶散 3 週後有明顯的增加；大腦皮質組織則是在餵食 4 週的時間後才要較明顯的汞金屬蓄積。而在腎臟組織中，則是發現在餵食市售水飛硃砂 2 週時間，汞金屬就顯著的蓄積在腎臟組織中，且隨著劑量的增加，汞金屬蓄積的量就更為顯著。然而，含硃砂之天王補心丸與加味五寶散組織實驗動物則是在連續餵食在 3 週後汞金屬含量才有意義的增加(汞金屬含量：天王補心丸組 < 加味五寶散組)，到餵食 4 週時，汞金屬含量與餵食市售水飛硃砂相類似。而餵食市售水飛硃砂-10 mg/kg/day 組在連續餵食 3 週後，肝功能生化指標有明顯的增加，同時造成相關毒性損傷指標(包含：脂質過氧化(LPO)產生、穀胱甘肽(GSH)含量改變、Caspase-3 與 GPx 傳訊核糖核酸(mRNA)變化)改變；然而，餵食含硃砂之天王補心丸與加味五寶散之實驗動物則是在連續餵食 4 週後有明顯的肝臟毒性損傷產生。而在腎臟組織中：連續給予實驗動物餵食市售水飛硃砂 2 週後，即引起腎臟損傷(尿液中蛋白含量增加、脂質過氧化產生、Kim-1, Caspase-3, GPx 等與毒性傷害有關之傳訊核糖核酸改變)產生，且隨著餵食時間的增加，相關傷害指標表現程度更是明顯；餵食含硃砂之天王補心丸與加味五寶散組鼯鼠則是在連續餵食 3 週後才會有明顯的腎臟毒性損傷產生。此外，連續餵食

市售水飛砒砂、含砒砂之天王補心丸與加味五寶散3週並停藥1-4星期後，餵食水飛砒砂、含砒砂之天王補心丸與加味五寶散所引起實驗動物之肝臟毒性損傷在停止餵食2週後即有明顯的回復；而腎臟組織毒性損害則是在停止餵食4週後才有較明顯改善，且含砒砂之複方中藥組的回復效果較砒砂單方組要好。

綜合本研究計畫之實驗結果所獲得結論為：(1).含砒砂之複方中藥(天王補心丸與加味五寶散)在較長時間(> 3週)暴露下仍會造成肝腎毒性傷害，但卻能延遲單獨暴露低劑量(10 mg/kg)砒砂單方之肝腎毒性損傷產生時間(約延遲一週時間)；(2).低劑量(10 mg/kg)砒砂單方與含砒砂之複方中藥(天王補心丸與加味五寶散)所引起之肝腎毒性損傷反應在停止暴露後是可逆的(肝臟毒性損傷相關偵測指標約在停藥2週(14天)後回復，腎臟毒性損傷之相關偵測指標則是約在停藥4週(28天)後回復)，且含砒砂之複方中藥對於損傷的回復效果較砒砂單方要來的好；(3).推估人類使用含砒砂之複方中藥中所含砒砂單方安全劑量人為：0.05~0.07 g/day，連續使用的期限則可延長至21天；(4).2次砒砂之使用期間應至少間隔28天以上。

關鍵詞：含砒砂之複方中藥、肝臟、腎臟、毒性反應、安全劑量、使用期限

Studies of Toxicological Effects and Safe Evaluation of Liver and Kidney by the Single and Compound Cinnabar used in *In Vivo* System (2-2)

Chun-Fa Huang, Yi-Chang Su, Ya-Wen Chen, Chin-Ching Wu
China Medical University

ABSTRACT

The aim of this research project was: (1).to investigate the toxic effect and initiation time of compound TCM with cinnabar (Tian-Wang-Bu-Xin-Dan and Wu-Bao-San)-induced in liver and kidney of mice; (2).to explore the possible mechanisms of compound cinnabar-induced liver and kidney injuries; (3).to compare the different effects between compound and single cinnabar used in liver and kidney; (4). To analysis whether the toxicological effects of compound TCM with cinnabar-induced liver and kidney injuries can be reversed after stop exposing to cinnabar?

The results showed that it was found that mercury could significant accumulate in both whole blood and liver sample after oral administration of male ICR mice with single cinnabar (10 mg/kg/day), T.W.B.S.D.(+) and W.B.S.(+) (contain cinnabar-10 mg/kg) for 3 consecutive weeks and found that in the cerebral cortex for 4 consecutive weeks. Mercury accumulation in kidney was significantly after single cinnabar exposed for 2 consecutive weeks; however, T.W.B.S.D.(+) and W.B.S.(+) were found that after 3 consecutive weeks exposure.After oral administration with single cinnabar (10 mg/kg/day) for 3 consecutive weeks, the results showed that it could cause the impairment of liver functions (including: GOT, GPO, LDH,), destroy tissue structure, and change in the related biomarkers of toxic injuries (including: LPO production, GSH depletion, alteration the mRNA expressions of toxicological effect) in liver, which was accompanied with significant mercury accumulation. But these effects of that in T.W.B.S.D.(+) and W.B.S.(+) groups were markedly observed after 4 consecutive weeks treatment. In addition, it was found that kidney functions (including: urine protein and urine creatinine) were significant dysfunction after oral administration with single cinnabar (10 mg/kg/day) for 2 consecutive weeks, and these effects of that in T.W.B.S.D.(+) and W.B.S.(+) groups were appeared after 3 consecutive weeks treatment. Moreover, the toxic effects of single cinnabar, T.W.B.S.D.(+), or W.B.S.(+)-induced liver and kidney injuries (for 3 consecutive weeks exposure) could be reversed after withdrawal from 1 to 4 weeks (2 weeks withdraw in liver; 4 weeks withdraw in kidney), and the efficacy was T.W.B.S.D.(+) and W.B.S.(+) groups more than the single cinnabar group.

Taken together, these results provide the important evidence that: (1). long-term (> 3 weeks) exposure to T.W.B.S.D.(+), and W.B.S.(+)(the compound TCM with low-dose cinnabar (10 mg/kg) can impair organ functions and injuries in liver and kidney, but that can delay the initiation time of toxic effects more than single cinnabar (> 2 weeks); (2). the toxicological effects of single cinnabar, T.W.B.S.D.(+), or W.B.S.(+)-induced liver and kidney injuries can be reversed after withdrawal exposure, and the efficacy of that in T.W.B.S.D.(+), or W.B.S.(+) is more than single cinnabar. Beside on these results and previous findings (the non-observable neurotoxic effects dose of cinnabar), it can help us to calculate that the safe dosage and regimen period of the compound TCM with low-dose cinnabar in human is 0.05-0.07 g/day, and not more than 21 consecutive days, and it must be withdrew for more than 28 consecutive days between 2 time used.

Keywords: Compound TCM with cinnabar; Liver; Kidney; Toxicological effects; Safe dosage; Regimen period

壹、前言

中醫臨床用於治療精神障礙之藥物-硃砂，屬於重鎮寧神類型之常用藥，其乃因硃砂有清心寧神之功，對多種原因引起的心悸怔忡，均有治療作用。亦是許多方劑中不可或缺之重要成分(Liu et al., 2008)。硃砂(Cinnabar)，又稱丹砂，乃是一種天然來源的礦物性中藥（來自天然的辰砂礦石），其主要成分為硫化汞(HgS)。然而，天然辰砂礦石常夾雜一些其他物質，像是：雄黃、磷灰石、瀝青質...等。因此，傳統中醫藥對於硃砂之配製須經一系列嚴謹的過程（包含：將辰砂礦跟研精細、去除雜質、遵循古法用水飛法製成極細之粉末），才能獲得純度高且藥性佳之硃砂(江金德，1991; Esponiza et al., 1995; Hardy et al., 1995; Pharmacopoeia of China, 2005)。二千多年來，硃砂在中醫臨床使用之主要療效為：鎮靜安神、心煩、失眠、眩暈治癲狂、明目、解毒、腫毒、瘡瘍...等，而歷代醫藥典籍對於硃砂臨床療效亦有許多記載：【神農本草經】：硃砂乃上品藥之首，有「養精神、安魂魄、益氣明目」之功效；唐代【藥性論】認為，硃砂可鎮心、主抽風，強調其安神鎮靜的作用；明代醫家李時珍在【本草綱目】中更進一步認為，硃砂可「明目、安胎、解毒、發汗，隨佐使而見功，無所往而不可」，皆證實硃砂臨床療效。然而，硃砂在中醫臨床使用上，鮮少單獨使用，大多以複方入藥，自古以來一直將單獨、多量或長期使用硃砂列為禁忌。歷代醫藥典籍對於硃砂的毒性，亦有許多考證：

【本草綱目】入則熱而毒，能殺人；

【雷公炮製藥性解】質性沉滯，勿宜多用，煉者，大熱解毒；

【本草逢原】丹砂入火則烈毒，能殺人，急以生羊血、童便、金針等解毒

【本草從新】獨用多用，乏人呆悶。

由於天然硃砂藥材(辰砂礦石)經研末成粉、除去雜質、水飛精製後，其內所含硫化汞(HgS)成分達95%以上。當進入體內後，硫化汞所含之汞金屬會經由胃腸道吸收進入血液中，再透過血液循環將汞金屬運送至全身各個器官中蓄積，包含：大、小腦皮質、腦幹、心、肺、肝、腎等器官，進而造成毒性損傷(中藥毒理學，1989; Chuu et al., 2001a)。此外，也有名眾因不當使用硃砂(將硃砂以火烹烤，吸入汞蒸氣)，造成死亡之案例報告(Kang-Yum and Oransky, 1992; Liu et al., 2008; Pigatto and Guzzi, 2008)。因此，導致許多民眾與報章雜誌將硃砂誤認為是和一般大家所熟知含汞之劇毒-甲基汞

(MeHg)一樣，是屬於毒性很強之化學物質。然而，這些對於硃砂在中醫藥的使用上而言，皆屬不正確的觀念。

在先前許多醫藥典籍記載中指出：硃砂是許多中藥固有成方中不可或缺的重要成分，扮演著重要的角色，且功效顯著(「醫宗金鑑」-朱砂安神丸；「聖濟總錄」-丹砂丸；「景岳全書」-天王補心丹；「醫宗金鑒」-五寶散)。在現代藥理學研究亦證實了：低劑量硃砂使用下，確實具有降低大腦興奮性、降低腦中 serotonin(5-HT)含量而減低焦慮感、鎮靜安神與安眠作用(Huang et al., 2007; Wang et al., 2007; Zhuo et al., 2009)。然而，在毒性試驗中發現：給於實驗動物餵食高劑量硃砂或硫化汞後，發現會造成大量之汞金屬蓄積於腦部各組織、肝臟、腎臟等重要器官，並且造成神經系統功能損傷；即使在低劑量硃砂的暴露且長時間使用下，仍是會引起神經毒性反應產生與腦部、肝臟、腎臟組織等汞金屬大量的蓄積(Huang et al., 2007; 2008a and 2008b; Kang-Yum and Oransky, 1992; Young et al., 2002)。

過去文獻報告指出：在低劑量硃砂的使用下，的確具有鎮靜之功效；且代藥理學研究亦證實了：在餵食低劑量硃砂後，確實具有降低大腦興奮性、降低腦中 serotonin(5-HT)含量而減低焦慮感、鎮靜安神與安眠作用(Huang et al., 2007; Wang et al., 2007; Zhuo et al., 2009)。然而，在動物實驗中發現：給於實驗動物餵食高劑量硃砂或硫化汞後，發現會造成大量之汞金屬蓄積於腦部各組織、肝臟、腎臟等重要器官，並且造成神經系統功能損傷，(Chuu et al., 2001; Young et al., 2002)；而在更長時間且低劑量硃砂的暴露下，仍是會引起神經毒性反應產生(Huang et al., 2007; 2008b; Kang-Yum and Oransky, 1992)。

中醫藥委員會對於確保民眾中藥用藥安全之相關議題，一直以來是十分重視，並且投入大量研究經費來訂定出許多中藥之明確功效、安全用藥劑量與使用時間。其中，關於許多複方中藥中不可或缺的主要成分-硃砂之藥理功效、毒性作用、使用安全劑量與安全時間、與相關硃砂用藥安全政策的訂定，亦是中醫藥委員所重視的重要課題！依據之前研究結果所推估出：硃砂單方使用之安全劑量與使用時間，是依據一系列神經功能評估與毒性損傷試驗之實驗結果所推測出來(蕭水銀，2002)。然而，硃砂或硫化汞(HgS)進入動物體內後，其所含之汞金屬會經由腸胃道吸收、血液運送，最後除累積在腦部組織外，亦會大量蓄積於肝臟與腎臟組織中(為體內汞金屬最主要且最大量的蓄積組織)。因此，必須將硃砂對於肝腎組織產生毒性傷害之相關反應，納入硃砂使用之安全性評估中，以便能更清楚的確定硃

砂使用之安全性。此外，硃砂在中醫臨床使用上多是以複方為主，鮮以單方使用；同時，硃砂亦是許多固有成方中不可缺少的重要成分(如：天王補心丹、五寶散…等)。故必須再加以探討硃砂與其他中藥合用時，對於肝腎毒性影響是否會有所改變(加強或降低毒性反應)。此外，有對於硃砂所引起肝腎毒性傷害是否具有可逆性(因委員在 100 年度計劃報告審查中提出此一重要的問題：硃砂所引起肝腎毒性損傷是否具有可逆性)，也將納入硃砂使用之安全性評估中，以便能更清楚的確定硃砂使用之安全時間。

因此，本年度之計畫所擬定的研究重點為：1. 探求在較長時間暴露含硃砂之複方中藥(選定含硃砂之複方中藥：天王補心丹與五寶散)，是否會引起肝臟與腎臟毒性反應產生與產生之時間？2. 探討：含硃砂之複方中藥引起毒性損傷之可能作用機轉；3. 並且比較相關毒性反應與硃砂單方所引起損傷之差異性為何(加強或降低硃砂對於肝腎組織毒性反應)？4. 同時觀察及分析：停止暴露含硃砂之複方中藥後，其所引起肝腎毒性反應是否具有可逆性？藉由執行本研究計劃所獲得之重要成果為基礎下，再配合先前以硃砂所引起神經毒性傷害為指標所得到的結果，進而能更準確的推估硃砂使用之安全劑量與安全時間。

貳、材料與方法

一、研究設計與實驗步驟如下：

- (一)首先，在蘇教授的協助下，取得含與不含砒砂之複方中藥-天王補心丹、五寶散；
- (二)以感應耦合電漿質譜儀(ICP-MS)分析本研究計畫所使用含與不含砒砂之複方中藥-天王補心丹、五寶散樣品中汞及其他重金屬含量差異；
- (三)將雄性成年鼯鼠(6-8週大)分成：對照組(餵食去離子水)、餵食砒砂(10 mg/kg)組、餵食含砒砂之複方中藥(天王補心丹-1200 mg/kg/day、五寶散-250 mg/kg/day；使所餵食之砒砂劑量為10 mg/kg)，每組實驗鼯鼠之數量為10隻(n=10)，並記錄實驗鼯鼠每週進食與飲水量；
- (四)在餵食2-4週時間後，收集鼯鼠之血清與尿液樣本，迅速保存於-80°C冰箱中。待實驗樣品收集完畢後，進行分析血清生化值與尿液中之肝、腎功能指標變化。而測定分析之指標包含：麩胺酸草醋酸胺基轉酶(GOT)、麩胺酸丙酮酸胺基轉酶(GPT)、乳酸脫氫酶(LDH)、尿素氮(BUN)、血清肌酸酐(Creatinine)；尿液中蛋白含量(Urine protein)、與血清肌酸酐...等，藉以求出含砒砂之複方中藥引起肝臟、腎臟毒性損傷作用之起始時間；
- (五)於適當之暴露時間(肝、腎功能生化分析指標產生顯著變化)，將鼯鼠犧牲後，收集鼯鼠血液、肝臟、腎臟，迅速保存於-80°C冰箱中。待實驗樣品收集完畢後，接著繼續進行相關檢測分析，包含：測定血液與肝臟、腎臟組織樣品中汞金屬含量變化、及肝腎組織病理檢查實驗(組織染色切片，觀察分析組織顯微構造改變)等實驗，以便能夠確認含砒砂之複方中藥引起肝臟及腎臟組織毒性反應與損傷程度、及與砒砂單方所引起損傷之差異性；此外，也進一步分析肝臟、腎臟組織脂質過氧化(Lipid peroxidation, LPO)產生、穀胱甘肽(Glutathione, GSH)變化、抽取組織核糖核酸(RNA)，以即時定量聚合酶連鎖反應(Real-time quantitative RT-PCR)偵測組織毒性傷害有關之傳信核糖核酸(mRNA)變化情形，藉以試著探求出含砒砂之複方中藥引起肝腎組織毒性損傷之作用機轉及與砒砂單方所引起損傷之差異性；

(六)此外，我們也將給予實驗動物餵食含砒砂之複方中藥（天王補心丹、五寶散），連續餵食 3 週 3 後，停止餵食藥物，並在停止餵食藥物後 1-4 星期時間，將鼯鼠犧牲後，收集鼯鼠血液、血清與尿液樣本、肝臟、腎臟，迅速保存於-80°C 冰箱中。待實驗樣本與組織收集完畢後，接著繼續進行相關檢測分析，包含：檢測血清生化值與尿液中之肝、腎功能指標變化；測定血液與肝臟、腎臟組織樣品中汞金屬含量變化；及肝腎組織病理檢查實驗（組織染色切片，觀察分析組織顯微構造改變）等實驗，藉以觀察暴露低劑量砒砂單方及含砒砂之複方中藥引起肝臟及腎臟組織毒性反應是否具有可逆性？

二、實驗材料與方法如下：

(一) 實驗動物準備、藥物餵食與樣品收集：

我們將從樂斯科生物科技股份有限公司選購雄性成年(6-8 週大)或幼年(3 週大)鼯鼠 (Male ICR mice)，並遵守動物管理委員會的照護與使用規範來進行實驗的操作。每 8 隻鼯鼠飼養在一個籠位，並維持其飼養環境溫度在 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ，相對溼度 $50 \pm 20\%$ ，每 12 小時循環更換燈照時間，供應實驗室專用之固體飼料和充足的飲水。所有的實驗動物在實驗進行前都先進入動物中心適應環境，並控制實驗進行時間都在 8:00 AM 到 05:00 PM 的時間執行。在實驗進行中，於每天上午固定時間餵食暴露藥物(砒砂單方(10 mg/kg)、含砒砂之複方中藥(天王補心丹-1200 mg/kg/day、五寶散-250 mg/kg/day；使所含砒砂劑量為 10 mg/kg)、不含砒砂之複方中藥(天王補心丹-1200 mg/kg/day、五寶散-250 mg/kg/day)，控制組給予餵食去離子水，每組實驗鼯鼠之數量為 10 隻($n = 10$)。並於每週紀錄各組鼯鼠之體重變化、飲水與飼料進食量。

(二) 血液、肝臟與腎臟組織汞金屬含量分析：

血液與組織樣品中汞金屬含量測定是依據 Huang 等人(2007)的方法來進行。取 0.2 mL 血液或 0.2 公克之組織放入 15mL 之耐熱耐酸試管中，加入 0.3 mL 之王水(鹽酸:硝酸=3:1)後，蓋上蓋子，放入 56°C 培養箱中作用 24 小時候，置於 4°C 中環境中降溫；接著加入定量稀釋液混合後，以 3000 轉離心取上清液，以感應耦合電漿質譜儀(ICP-MS)測定樣品中汞金屬含量。

(三) 血漿中天門冬胺酸轉胺酶(GOT)之測量：

血漿中天門冬胺酸轉胺酶將利用天門冬胺酸轉胺酶商業分析套裝試劑(購自 Tecoduag, USA)。方法簡述如下：取 50 ul 血漿及標準液(等倍稀釋)至 96 孔盤中，加入 100 uL 受質混合液均勻混合，於 37°C 下避光反應 10 分鐘後，再加入 0.1N 之鹽酸 1 mL 混合後，以分光光度計(Spectrophotometer)測量 530 nm 之吸光值，套入公式計算正確濃度(Song et al., 2011)。

(四) 血漿中丙胺酸轉胺酶(GPT)之測量：

血漿中丙胺酸轉胺酶將利用商業分析套裝試劑(購自 Tecoduag, USA)來進行偵測。方法簡述如下：取 20 uL 血漿及標準液(等倍稀釋)至 96 孔盤中，加入 100 uL 受質混合液均勻混合，於 37°C 下避光反應 30 分鐘後，加入 100 uL 反應劑反應 10 分鐘，再加入呈色劑再反應 10 分鐘後。最後以分光光度計(Spectrophotometer)測量 502nm 之吸光值，套入公式計算正確濃度。

(五) 血漿中尿素氮(BUN)之測量：

血漿中尿素氮分析是使用商業分析套裝試劑(購自 bioassaysys, USA)。分析方法簡述如下：取 5 uL 血漿及標準液(5 mg/dl)至 96 孔盤中，加入反應試劑 200 uL 均勻混合，室溫反應 20 分鐘(濃度低時反應 50 分鐘)，利用酵素連結免疫分析讀盤儀(ELISA Reader)測量 520nm(低濃度用 430nm)之吸光值。經由與標準濃度之吸光值換算後，求出正確濃度 (Snykers et al., 2007)。

(六) 乳酸脫氫酵素(LDH)之測量：

血漿中乳酸脫氫酵素測量是採用標準化商業分析套裝試劑組(購自 bioassaysys, USA)來進行 LDH 含量之分析。分析方法簡述如下：取出 10 uL 血漿與標準液(等倍稀釋)至 96 孔盤中，之後加入 200 uL 受質混合液，在室溫下避光反應 25 分鐘後，利用酵素連結免疫分析讀盤儀(ELISA Reader)測量 565nm 之吸光值。經由與標準濃度之吸光值換算後，求出正確濃度(Lu et al., 2008)。

(七) 血漿及尿液中肌酸酐(Creatinine)之測量：

利用肌酸酐分析套裝試劑(購自 bioassaysys, USA)來進行血漿及尿液中肌酸酐濃度分析。分析方法簡述如下：取 30 uL 之檢體與標準液(等倍稀釋)至 96 孔盤中，隨後加入反應混合液 100 uL 試劑 A 與試劑 B 反應 5 分鐘，利用酵素連結免疫分析讀盤儀(ELISA

Reader)測量 510nm 之吸光值。經由與標準濃度之吸光值換算後，求出正確濃度 (Wang et al., 2006)。

(八) 血漿與組織中脂質過氧化(LPO)產生分析：

將肝臟與腎臟組織置入等張緩衝液(25mM HEPES, pH 7.4, 含 250 mM 蔗糖)中，將之均質化並離心 13,000 轉 10 分鐘後，取其上清液使用。取等量之血漿或組織均質液放入 96 孔微量分析盤中，加入脂質過氧化分析試劑(Calbiochem, USA)在 45°C 反應 1 小時後，利用酵素連結免疫分析讀盤儀(ELISA Reader)測量樣品中之 586nm 吸光值，經由與標準濃度之吸光值換算後，求出樣品中濃度。同時，並且分析待測樣品中蛋白質含量(與蛋白質偵測分析試劑反應後，偵測 570 nm 吸光值，測得樣品中蛋白質濃度)。最後，在經與蛋白質濃度校正後，求得正確脂質過氧化產生之變化量 (Huang et al., 2007)。

(九) 尿液中蛋白含量(Urine protein)之測量：

利用標準化商業分析套裝試劑組 (購自 Pierce, Rockford, IL, USA)。分析方法簡述如下：取 10 uL 尿液及標準液(等倍稀釋)至 96 孔盤中，加入 100 uL 反應試劑均勻混合，37°C 下反應 30 分鐘，利用酵素連結免疫分析讀盤儀(ELISA Reader)測量 570nm 的吸光值。經由與標準濃度之吸光值換算後，求出正確濃度。

(十) 組織中穀胱甘肽(GSH)之測量：

將肝臟組織置入等張緩衝液(25mM HEPES, pH 7.4, 含 250 mM 蔗糖)中，將之均質化並離心 13,000 轉 20 分鐘後，取其上清液使用。麩胱甘肽含量之測量使用 GSH 商業分析套組(購自 Sigma-Aldrich, USA)，分析方法簡述如下：取 10 uL 組織樣品液與標準液(等倍稀釋)至 96 孔盤中，加入受質混合液 90 uL，於 37°C 下避光反應 1 小時，最後以螢光讀盤儀測量螢光強度(激發光 390nm，放射光 478 nm)，經由與標準濃度之螢光值換算後，求出樣品中 GSH 濃度。同時，並且分析待測樣品中蛋白質含量(與蛋白質偵測分析試劑反應後，偵測 570 nm 吸光值，測得樣品中蛋白質濃度)。最後，在經與蛋白質濃度校正後，求得正確組織中麩胱甘肽之變化量 (Yen et al., 2011)。

(十一) 組織訊息核糖核酸(mRNA)變化分析：

與組織毒性傷害有關之訊息核糖核酸(mRNA)變化情形分

析方法如下(Yen et al., 2011)：

1. 核糖核酸(RNA)萃取：

利用異硫氰酸胍及苯酚混合液(Trizol-Phenol)將組織細胞溶解釋放出核糖核酸，加入氯仿使核糖核酸存於水相，再加入異丙醇將核糖核酸沉澱，最後回溶於焦炭酸二乙酯水(DEPC 水)，並測量 260nm 的吸光值以定量核糖核酸(RNA)濃度。

2. RNA 反轉錄(Reverse-transcription)反應：

將純化之核糖核酸與反轉錄酶(RT enzyme)、三磷酸鹽(dNTP)、緩衝液及隨機引子(random primers)依比例混合均勻後，置於聚合酶連鎖反應器以37°C反應2小時，70°C反應15分鐘，完成反應得到互補去氧核糖核酸(cDNA)。

3. 即時定量聚合連鎖反應(Real-Time Quantitative PCR)：

將所得互補去氧核糖核酸(cDNA)加上適當之專一性引子(primer)及螢光染劑-賽巴格林染劑(Syber Green, Applied Biosystem (ABI), USA)，置入即時定量聚合酶連鎖反應器(StepOnePlus™)，於95°C變性2分鐘後，以95°C 10秒鐘及64°C 30秒鐘進行30次反應，最後在72°C反應10分鐘。並以軟體進行分析定量。

(十二) 組織病理學檢查：

實驗鼯鼠於暴露藥物不同時間後，給深度麻醉後(Zoletil 50 (100 mg/kg))，將其犧牲，迅速收集肝臟與腎臟組織後，浸泡於4%福馬林(Para-formaldehyde)將組織固定，接著將肝臟及腎臟組織，復經一系列不同濃度的酒精脫水、石蠟包埋，連續切片及H-E (hematoxylin-eosin)染色，以進行組織病理學之研究(觀察分析組織顯微構造改變；放大倍數為400倍)。

(十三) 實驗數據之統計：

實驗數據以平均值 ± 標準差(Mean ± standard deviation (S.D.))表示，而每組實驗動物數目皆超過6以上($n \geq 6$)。實驗組與控制組間之差異以 Student's *t* test 加以評估，分別以 '**' 表示： $p < 0.05$ ；'***' 表示： $p < 0.01$ 者表示具統計學上的差異。

參、結果與討論

一、含與不含硃砂之複方中藥-天王補心丹、五寶散之汞金屬與其他毒性金屬含量測定：

我們首先分析從市面上購得：天王補心丹濃縮散(不含硃砂)、天王補心丸(含硃砂)、加味五寶散(含硃砂)、及蘇教授所配製五寶散(除不含硃砂，藥材成分與比例與製藥廠生產之加味五寶散相同)之複方中藥，來分析所含之汞與其他毒重金屬之含量。由分析的結果發現：不含硃砂之複方中藥-天王補心丹濃縮散(T.W.B.S.S.(-))在鋁(Al; $1.27 \pm 0.11 \mu\text{g/g}$)、鋇(Ba; $0.13 \pm 0.01 \mu\text{g/g}$)、銅(Cu; $0.11 \pm 0.02 \mu\text{g/g}$)、鎂(Mg; $17.44 \pm 0.46 \mu\text{g/g}$)；五寶散(W.B.S.(-))在鋁(Al; $28.35 \pm 0.34 \mu\text{g/g}$)、鋇(Ba; $0.84 \pm 0.08 \mu\text{g/g}$)、鉻(Cr; $0.39 \pm 0.04 \mu\text{g/g}$)、錳(Mn; $5.15 \pm 0.29 \mu\text{g/g}$)、鎳(Ni; $4.33 \pm 0.17 \mu\text{g/g}$)、鎂(Mg; $73.74 \pm 2.43 \mu\text{g/g}$)、鐵(Fe; $9.66 \pm 1.279 \mu\text{g/g}$)等金屬有較高含量。然而，在含硃砂之複方中藥-天王補心丸(T.W.B.S.S.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))的複方中藥樣品中則是發現：除了含有金屬汞(Hg)外，其他毒性重金屬，包含：鋁(Al)、鋇(Ba)、鈣(Ca)、錳(Mn)、鐵(Fe)等含量比不含硃砂之天王補心丹濃縮散及五寶散高出許多(表一)。

二、餵食含與不含硃砂之複方中藥-天王補心丹、五寶散對於實驗動物體重、進食與飲水量之影響：

接著我們分別給予實驗動物(鼯鼠)餵食市售水飛硃砂(III)-10 mg/kg/day、不含硃砂之天王補心丹濃縮散(1200 mg/kg/day)與五寶散(250 mg/kg/day)、及含硃砂之天王補心丸與加味五寶散(使所餵食之硃砂劑量為10 mg/kg day)於不同時間(2-4 週)將鼯鼠犧牲後觀察含與不含硃砂之複方中藥對於鼯鼠肝、腎功能之影響。由初步的實驗結果觀察到：實驗動物(鼯鼠)在餵食含與不含硃砂之複方中藥的過程中，對於每星期體重(圖一)、食物的進食量(表二)並無明顯的改變，這與先前已報告之實驗結果相類似(即在較低劑量(10-100 mg/kg/day)之水飛硃砂餵食實驗動物，並不會對動物之體重與進食量有明顯改變)(Huang et al., 2007, and 2008;

衛生署中醫藥年報，第 28 期)。而在飲水量變化中則是發現：在餵食中藥複方之實驗動物的每週平均飲水量在餵食第 2 週時就較控制組及餵食硃砂單方組要來的少，且含硃砂之複方中藥組出現的時間較不含硃砂組要提早一星期時間；然而，在餵食含與不含硃砂之複方中藥組別之間則是沒有顯著的差異(表三)。

三、對於血液、肝臟與腎臟組織中汞金屬含量之改變：

進一步的分析血液、肝臟與腎臟、及大腦皮質組織樣品中之汞金屬發現：鼯鼠血液與肝臟組織樣品中汞金屬濃度在餵食低劑量砒砂單方(10 mg/kg/day)與含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))3週後有明顯的增加(圖二-A、B)；大腦皮質組織則是在餵食4週的時間後才要較明顯的汞金屬蓄積(圖二-D)。而在腎臟組織中，則是發現在餵食市售水飛砒砂(10 mg/kg/day)2週時間，汞金屬就顯著的蓄積在腎臟組織中，且隨著劑量的增加，汞金屬蓄積的量就更為顯著(圖二-C)。然而，含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))組之實驗動物則是在連續餵食在3週後汞金屬含量才有意義的增加，到餵食4週時，汞金屬含量與餵食市售水飛砒砂相類似。

四、餵食含砒砂之複方中藥對於實驗動物肝腎功能之影響：

在肝臟功能血清生化值分析發現：餵食市售水飛砒砂-10 mg/kg/day 組(砒砂單方組)在連續餵食3週後，血漿中GPT與LDH含量有明顯的增加，而GOT則是在餵食4週後才有增加；而餵食含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))則是在連續餵食4週後肝臟功能相關之血清生化值才顯著的上升(圖三)。而在腎臟功能相關生化值檢測分析則是發現：不論是在餵食砒砂單方組或是含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))組動物，其血漿中尿素氮(BUN)與肌酸酐(Creatinine)皆沒有顯著的改變(圖四)。分析尿液中蛋白含量(Urine Protein)則是發現：餵食砒砂-10 mg/kg/day 組鼯鼠在2週時尿液中蛋白含量就有些微的增加，在餵食3週與4週之後，增加的程度更是明顯，而尿液中肌酸酐(Urine Creatinine)含量則是在餵食3週後才有增加的情形；而餵食含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))組鼯鼠則是在連續餵食3週後才會有明顯的增加(圖五)。

五、餵食含砒砂之複方中藥後對於引起腎臟與肝臟組織傷害相關毒性損傷指標之變化情形：

在相關文獻資料檢索後得知：汞金屬所引起毒性傷害最主要是因汞金屬在進入哺乳動物體內後，大量的蓄積在組織中，並且誘發氧化性壓力損傷產生(Huang et al., 2008 and 2011; Chen et al., 2012)。因此，我們進一步的探討暴露砒砂單方與含砒砂之複方中藥對於引發肝腎毒性損傷是否也與氧化性壓力損傷產生有關。在本計畫之實驗結果發現：在連續餵食低劑量市售水飛砒砂2週後，腎臟組織有明顯的脂質過氧化(LPO)產生(圖六-B)，穀

胱甘肽(GSH)含量較控制組相比較下也有意義減少(圖七-B)，且隨著餵食時間的增加影響的程度也越為明顯。然而，餵食含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))組則是在連續餵食 3 週後，才會出現上述反應。在肝臟組織則是在實驗動物連續餵食 3 週之市售水飛砒砂後，組織中脂質過氧化(LPO)產生(圖六-A)與穀胱甘肽(GSH)含量減少(圖七-A)才有較為明顯反應；然而，餵食含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))組則是在連續餵食 4 週後，才有造成肝臟組織之脂質過氧化(LPO)產生(圖六-A)與顯著穀胱甘肽(GSH)含量減少(圖七-A)。

在一些研究報告亦指出(Yen et al., 2011; Wu et al., 2011)：當受到毒性重金屬或藥物作用而引起氧化性壓力產生，造成細胞死亡與器官損傷過程中，會使得一些與細胞組織毒性傷害有關之重要傳訊核糖核酸(mRNA)產生改變，包含：kidney injury molecule-1 (Kim-1, 為腎臟傷害之偵測指標)、Glutathione peroxidase (GP_x , 與氧化壓力損傷有關)、Caspase-3 (為細胞凋亡之重要偵測指標)。同時，在 100 年度之計畫研究成果也發現：上述這些與毒性傷害有關之重要傳訊核糖核酸(mRNA)改變在較長時間且低劑量(10 and 100 mg/kg)暴露砒砂單方下所引起之肝腎組織損傷中亦會顯著的產生改變。因此，我們進一步的分析這些重要傳訊核糖核酸(mRNA)是否在暴露含砒砂之複方中藥下所引起肝腎組織損傷反應中亦會產生改變。由實驗結果發現：給予連續餵食 3 週 10 mg/kg 砒砂組實驗動物，肝臟組織中 Caspase-3(1.14 ± 0.08 倍 of 控制組, $**p < 0.01$)、及 GP_x (0.92 ± 0.02 倍 of 控制組, $*p < 0.05$)傳訊核糖核酸(mRNA)有較明顯改變；而餵食含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))組則是在連續餵食 4 週後，肝臟組織中 Caspase-3 傳訊核糖核酸(mRNA)才有明顯增加、及 GP_x mRNA 才有明顯的減少反應(圖八-A and B)。而在腎臟組織中則是發現：在連續 2 週暴露 10 mg/kg 砒砂單方組實驗動物，其腎臟組織之 Kim-1(1.24 ± 0.05 倍 of 控制組, $**p < 0.01$)(圖九-A)與 Caspase-3(1.29 ± 0.08 倍 of 控制組, $**p < 0.01$)(圖九-B)mRNA 有明顯的增加， GP_x 則是明顯的減少(0.93 ± 0.02 倍 of 控制組, $**p < 0.01$)(圖九-C)。而餵食含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))組則是在連續餵食 3 週後，上述傳訊核糖核酸(mRNA)才有明顯的改變，在連續餵食 4 週後，改變的程度更為顯著。

六、餵食砒砂單方與含砒砂之複方中藥 3 週後及停藥後 1-4 週對於實驗動物體重、進食與飲水量之影響：

為了進一步探求暴露低劑量水飛砒砂單方及含砒砂之天王補心丸

(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))所引起之肝腎毒醒損傷反應是否具有可逆性，因此實驗動物在給予連續餵食低劑量水飛砒砂單方及含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))3 週(引起肝腎毒性反應)後，停止餵食藥物觀察 1-4 週，並分析各項肝腎功能與毒性損傷指標之變化。

由圖十及表四結果顯示：給於實驗動物連續餵食 10 mg/kg 砒砂單方與含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))1-3 週以及停止餵食後(停藥後)1-4 週的過程中(圖十)，對於每星期體重之變化、與食物的進食量(表四)並無明顯的改變。而在每週飲水量變化的統計則是發現：在餵食中藥複方之實驗動物的每週平均飲水量在餵食第 2 週時就較控制組及餵食砒砂單方組要來的少；而在停止餵食藥物(停藥)後第 1 週時此一現象隨即消失，及與控制組及餵食砒砂單方組間之每週飲水量沒有差異！

七、餵食砒砂單方與含砒砂之複方中藥 3 週後及停藥後 1-4 週對於血液、肝臟與腎臟組織中汞金屬含量之改變：

由圖十一之實驗結果發現：血液與肝臟組織樣品中之汞金屬濃度在餵食低劑量砒砂單方(10 mg/kg/day)與含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))3 週後有明顯的增加；而在停止餵食一週後則血液(圖十一-A)與肝臟(圖十一-B)組織中汞金屬濃度就顯著下降，且隨著停藥時間增加(2-4 週)，汞金屬濃度下降程度則更為顯著(肝臟組織約在停藥後 2 週時砒砂單方組、含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))組與控制組間即沒有統計學上之差異；血液組織則是在停藥後 4 週時才產生)，並且餵食含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))組之效果較餵食砒砂單方組、及加味五寶散(W.B.S.(+))組要來的顯著。腎臟組織樣品中之汞金屬濃度在餵食低劑量砒砂單方(10 mg/kg/day)與含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))3 週後有明顯的增加，但餵食含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))組之腎臟組織中汞金屬蓄積濃度較餵食低劑量砒砂單方組與含砒砂之加味五寶散(W.B.S.(+))組要低許多(圖十一-C)；在停止餵食一週後在餵食含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))組腎臟組織汞金屬含量亦有顯著的降低，而餵食低劑量砒砂單方組則是要在停止餵食二週後腎臟組織汞金屬蓄積量才有明顯的減少；在停止餵食四週後仍可以觀察到在餵食低劑量砒砂單方組與加味五寶散(W.B.S.(+))組腎臟組織汞金屬蓄積量與控制組相比還是有增加的情形(有統計學上的差異)。

八、餵食砒砂單方與含砒砂之複方中藥 3 週後及停藥後 1-4 週對於實驗動

物肝腎功能之變化：

在肝臟功能血清生化值分析發現(圖十二)：在連續餵食低劑量市售水飛砒砂-10 mg/kg/day 3 週後，血漿中 GPT 與 LDH 含量有明顯的增加，而在停止餵食一週後則血漿中 GPT 與 LDH 異常的情形則已消失；餵食含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))組則是在 3 週時造成血漿中 LDH 不正常的上升(控制組 vs. T.W.B.S.D.(+) vs. W.B.S.(+) : 191.22±6.74 U/L vs. 235.72±14.15 U/L vs. 234.33±15.11 U/L)，而在停止餵食一週後則是加味五寶散(W.B.S.(+))組之血漿中 LDH 濃度較控制組相比較仍有明顯的增加(控制組 vs. W.B.S.(+) : 206.74±6.45 U/L vs. 231.97±10.90 U/L)，在停止餵食二週後則是回復到與控制組相似之結果。在腎臟功能相關生化值檢測分析則是發現：不論是在低劑量砒砂單方組或是含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))組動物在連續餵食 3 週後，其血漿中尿素氮(BUN)與肌酸酐(Creatinine)皆沒有顯著的改變。尿液中蛋白含量(Urine protein)與肌酸酐(Urine Creatinine)檢測則是發現：在連續 3 週餵食低劑量砒砂單方、及含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))之實驗動物，尿液中蛋白含量(Urine protein)與肌酸酐(Urine Creatinine)皆顯著的上升(圖十三-A、B)；在停止餵食一週後，各實驗組之尿液中蛋白含量(Urine protein)與肌酸酐(Urine Creatinine)則是有下降的情形，尤其以含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))組最為顯著(與控制組相比無統計學上之差異性)，而餵食含砒砂之加味五寶散(W.B.S.(+))組與砒砂單方組則是分別在停止餵食二週及四週後尿液中肌酸酐(Urine Creatinine)與尿液中蛋白含量(Urine protein)才會回復到與控制組相類似。

九、餵食砒砂單方與含砒砂之複方中藥 3 週後及停藥後 1-4 週對於引起肝腎組織傷害相關毒性損傷指標之變化情形：

由圖十四、圖十五、圖十六與圖十七之結果顯示：實驗動物在連續 3 週餵食市售水飛砒砂(砒砂單方)後，肝臟組織中脂質過氧化(LPO)含量(圖十四-A)及 Caspase-3 傳訊核糖核酸(mRNA)(圖十六-A)與控制組相比較有明顯的增加、穀胱甘肽(GSH)含量(圖十五-A)及 Glutathione peroxidase (GP_x, 與氧化壓力損傷有關) mRNA 則是顯著減少(圖十五-B)；餵食含砒砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))組之實驗動物肝臟組織則是沒有明顯的改變；而在停止餵食 1-2 週後，則砒砂單方所以引起之毒性損傷指標之反應則是回復到與控制組相類似。同時，在腎臟組織中則是觀察到：在連續餵食低劑量市售水飛砒砂(砒砂單方)、及含砒砂之天王補心丸

(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+)) 3 週後所引起脂質過氧化(LPO)含量(圖十四-B)、kidney injury molecule-1 (Kim-1, 為腎臟傷害之偵測指標)mRNA(圖十七-A)、及 Caspase-3 mRNA(圖十七-B)增加與穀胱甘肽(GSH)含量(圖十五-B)及 GP_x RNA(圖十七-C)表現減少之毒性損傷反應則是在停止餵食二週後, 才有較明顯的回復, 尤其是含硃砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))組在停止餵食二週後與控制組相比較已無明顯差異, 而餵食加味五寶散(W.B.S.(+))組則是要到停止餵食四週後回復的情形與控制組相比較無明顯差異; 餵食硃砂單方組則是在停止餵食四週後脂質過氧化(LPO)含量以無明顯增加, 但穀胱甘肽(GSH)含量減少(圖十五-B)與 Caspase-3 mRNA 增加(圖十七-B)之程度雖有回復, 但與控制組相比較仍有統計上之差異性存在。

十、餵食硃砂單方與含硃砂之複方中藥 2-4 週後及停藥後對於引起肝腎組織顯微構造之影響:

由圖十八結果顯示: 給於實驗動物連續餵食 10 mg/kg 硃砂 3 週後, 肝臟組織出現部份之肝細胞死亡與細胞組織間隙有膠原蛋白的產生(箭頭所指處, 圖十八-A), 且連續餵食 4 週後, 肝細胞死亡與細胞組織間隙膠原蛋白產生之情形則更為顯著(圖十八-B); 而在連續餵食 10 mg/kg 硃砂 3 週後, 接著停止餵食 2 週的時間後, 則是觀察到硃砂單方所引起之肝細胞死亡與細胞組織間隙膠原蛋白產生的情形幾乎恢復與控制組相似(仍有些許的細胞組織間隙膠原蛋白產生)(圖十八-C)。餵食含硃砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))組則是在連續餵食 4 週後才有明顯產生肝臟細胞死亡與細胞組織間隙有膠原蛋白的產生(箭頭所指處, 圖十八-B)。

在腎臟組織構造形態之影響方面: 連續餵食 2 週 10 mg/kg 硃砂組實驗動物之腎臟組織, 在組織形態上發現腎小管管腔中有黏液蓄積、腎小管細胞有脫落的情形產生(箭頭所指處, 圖十九-A), 且隨著餵食時間的增加, 上述損傷情形之嚴重程度更加的顯著(圖十九-B)。餵食含硃砂之天王補心丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))組則是在連續餵食 3 週後, 腎臟組織構造形態之損傷才出現(腎小管管腔中有黏液蓄積、腎小管細胞有脫落)(箭頭所指處, 圖十九-B)。而在連續餵食 10 mg/kg 硃砂 3 週後, 接著停止餵食 4 週的時間後, 則是觀察到硃砂單方所引起腎臟組織中腎小管管腔中黏液蓄積及腎小管細胞脫落之損傷有明顯的回復, 但仍有部分腎小管管腔中有些許黏液蓄積情形(箭頭所指處, 圖十九-C); 餵食含硃砂之天王補心

丸(T.W.B.S.D.(+))與加味五寶散(W.B.S.(+))組之腎臟組織構造形態則是回復到與控制組相類似(圖十九-C)。

肆、結論與建議

綜合本研究計畫之實驗結果，我們所獲得之結論與建議如下：

- 一、在連續餵食低劑量水飛矽砂(矽砂單方-10 mg/kg/day) 2 週(14 天)時會引起腎臟毒性損傷產生，而肝臟毒性反應產生之時間則是在餵食 3 週(21 天)後出現；
- 二、含矽砂之複方中藥(本計畫中使用：天王補心丸與加味五寶散(使其所餵食之矽砂劑量為 10 mg/kg day))在較長時間的餵食下亦會造成肝臟與腎臟毒性傷害；然而，出現毒性損傷之時間較餵食矽砂單方約延遲一星期的時間(肝臟與腎臟毒性產生時間分別是在連續餵食 4 週(28 天)與 3 週(21 天)後出現)；
- 三、餵食矽砂單方及含矽砂之複方中藥(本計畫中使用：天王補心丸與加味五寶散)所引起的肝腎毒性反應(連續餵食 3 週(21 天))，在停止暴露後，其所產生之肝腎毒性損傷似乎是具有可逆性。肝臟毒性損傷相關偵測指標約在停藥 2 週(14 天)後回復，腎臟毒性損傷之相關偵測指標則是約在停藥 4 週(28 天)後回復；
- 四、餵食含矽砂之複方中藥(天王補心丸與加味五寶散)所引起的肝腎毒性反應作用，在停止暴露後所產生之回復效果較餵食矽砂單方要來的好；
- 五、中醫臨床對於矽砂的使用大多以複方形式，鮮少以矽砂單方單獨使用。本計畫之實驗結果發現：給予實驗動物較長時間且連續餵食矽砂單方，則是會藉由引起氧化性壓力損傷(Oxidative stress; 或是所謂自由基(reactive oxygen species, ROS))，破壞細胞內抗氧化酵素與引起細胞死亡，造成肝臟與腎臟組織毒性損傷；同時，也發現：給予實驗動物餵食含矽砂之複方中藥(天王補心丹與加味五寶散)，雖然血液及組織中汞金屬含量仍是會顯著的蓄積，但與矽砂單方相比較，其能延長肝臟與腎臟組織毒性損傷出現時間及毒性損傷之反應程度。由於含矽砂之複方中藥含有其他藥材(如：天王補心丹中-生地、人參、丹參、茯苓、桔梗、遠志、酸棗仁(所含阿魏酸)、天冬、當歸、五味子(所含-五味子乙素、五味子酚))；加味五寶散中-琥珀(所含琥珀酸)、冰片、牛黃(所含牛黃酸))已證實具有抗氧化作用存在，因此在初期(短時間)與矽砂合併使用下，能保護肝臟與腎臟細胞組織免於受到矽砂所含汞金屬引起之氧化性壓力損傷。但是，不論是矽砂單方或是含矽砂之複方中藥，在長時間的使用下，矽砂所含之汞金屬還是會經由體內胃腸道消化吸

收、經由血液運送之全身個組織中大量的蓄積，進而造成器官組織毒性損傷反應出現(包含：肝臟與腎臟組織)；

六、綜合本年度研究計畫之結果，我們進一步的推估人類使用含硃砂之複方中藥之安全劑量與安全期程為： $10 \text{ mg (水飛) 硃砂/kg 體重/day (所使用複方中藥中所含有硃砂單方的劑量)} \times 50 \sim 70 \text{ kg (成人平均體重)} \times 1/10$ (人類對於化學物質之敏感性為鼠類 10 倍) = $50 \sim 70 \text{ mg(水飛) 硃砂(所使用複方中藥所含有硃砂單方的總劑量)/day}$ ，連續使用不可超過 21 天；且 2 次使用之間應至少相間隔 28 天以上。但是我們必須特別聲明此推估人類使用硃砂單方與含硃砂之複方中藥之安全劑量與安全期程乃根據本研究計畫所規畫之一系列肝腎功能毒性損傷之實驗結果來加以推估。然而，若是需更精確的推算(訂定) 人類使用硃砂單方與含硃砂之複方中藥之安全劑量與安全期程，則是需要將硃砂(包含：單方及含硃砂之複方中藥)在此一推估安全劑量與安全期程下之所產生之鎮靜安神作用與神經毒性相關反應、及對於其他系統組織可能傷害反應...等結果來做整體的考量後，再重新做此評估及計算『人類使用硃砂單方與含硃砂之複方中藥之安全劑量與安全期程』會更為適切妥當。

本研究計畫承蒙中醫藥委員會大力支持，讓我們能順利執行本研究計畫所設立之各項目標，並且獲得相當多重要之結果，進而能對此一重要之議題「硃砂單方及含硃砂之複方中藥對於肝臟和腎臟毒性損傷、用安全劑量及使用安全期限」能有更深入、清楚且完整的探討與了解。期望執行本研究計畫所獲成之重要成果能夠提供給中醫藥衛生相關單位作為使用硃砂單方及含硃砂之複方中藥在使用安全性之相關政策訂定上的科學化理論基礎與重要參考依據！

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP101-RD-101 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. 江金德，中藥科學藥性大辭典，大眾書局，台北，1991。
2. 神農本草經，商務印書館，台北，1955。
3. 明·李時珍，本草綱目，人民衛生出版社，1957。
4. 唐·甄權，藥性論。
5. 明·李中梓，雷公炮製藥性解，中國中醫出版社。
6. 清·吳儀洛輯，本草從新，上海古籍出版社，1995。
7. 中藥毒理學，啟業書局，台北，1989。
8. 清·吳謙著，符錦滄/重校，新編醫宗金鑑，世一出版社，1982。
9. 明·張景岳，景岳全書，人民衛生出版社，2007。
10. 蕭水銀 (2002)，市售硃砂之成分分析、毒性及安全劑量之研究，行政院衛生署中醫藥委員會委託研究計畫成果報告 (CCMP91-RD-118)。
11. 衛生署中醫藥年報，第 28 期，第 6 冊，P207-244。
12. Chuu, J. J., Liu, S. H., and Lin-Shiau, S. Y. (2001). Effects of methyl mercury, mercuric sulfide and cinnabar on active avoidance responses, Na⁺/K⁺-ATPase activities and tissue mercury contents in rats. *Proc Natl Sci Counc Repub China B* **25**, 128-136.
13. Espinoza, E. O., Mann, M. J., and Bleasdel, B. (1995). Arsenic and mercury in traditional Chinese herbal balls. *N Engl J Med* **333**, 803-804.
14. Hardy, A. D., Sutherland, H. H., Vaishnav, R., and Worthing, M. A. (1995). A report on the composition of mercurials used in traditional medicines in Oman. *J Ethnopharmacol* **49**, 17-22.
15. Huang CF, Hsu CJ, Lin SH, Lin-Shiau SY. Neurotoxicological mechanism of methylmercury induced by low-dose and long-term exposure in mice: oxidative stress and down-regulated Na⁺/K⁺-ATPase involved. *Toxicology Letters* 2008a; 176:188-197.
16. Huang, C. F., Hsu, C. J., Liu, S. H., and Lin-Shiau, S. Y. (2008b). Ototoxicity induced by cinnabar (a naturally occurring HgS) in mice through oxidative stress and down-regulated Na⁽⁺⁾/K⁽⁺⁾-ATPase activities. *Neurotoxicology* **29**, 386-396.
17. Huang, C. F., Liu, S. H., and Lin-Shiau, S. Y. (2007). Neurotoxicological effects of cinnabar (a Chinese mineral medicine, HgS) in mice. *Toxicol Appl*

- Pharmacol* **224**, 192-201.
18. Kang-Yum, E., and Oransky, S. H. (1992). Chinese patent medicine as a potential source of mercury poisoning. *Vet Hum Toxicol* **34**, 235-238.
 19. Liu, J., Shi, J. Z., Yu, L. M., Goyer, R. A., and Waalkes, M. P. (2008). Mercury in traditional medicines: is cinnabar toxicologically similar to common mercurials? *Exp Biol Med (Maywood)* **233**, 810-817.
 20. Pigatto, P. D., and Guzzi, G. (2008). The clinical toxicity of cinnabar. *Exp Biol Med (Maywood)* **233**, 1479; author reply 1480.
 21. Pharmacopoeia of China. (2005). Chemical Industry Press, Beijing.
 22. Wang, Q., Yang, X., Zhang, B., Yang, X., and Wang, K. (2007). The anxiolytic effect of cinnabar involves changes of serotonin levels. *Eur J Pharmacol* **565**, 132-137.
 23. Wu CT, Sheu ML, Tsai KS, Chiang CK, and Liu SH: Salubrinal, an eIF2alpha dephosphorylation inhibitor, enhances cisplatin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in a mouse model. *Free Radic Biol Med* 2011; 51: 671-680.
 24. Young, Y. H., Chuu, J. J., Liu, S. H., and Lin-Shiau, S. Y. (2002). Neurotoxic mechanism of cinnabar and mercuric sulfide on the vestibulo-ocular reflex system of guinea pigs. *Toxicol Sci* **67**, 256-263.
 25. Zhou, X., Wang, Q., and Yang, X. (2009). [Progresses on mechanisms of pharmacological and toxicological effects of cinnabar]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* **34**, 2843-2847.
 26. Yen CC, Ho TJ, Wu CC, Chang CF, Su CC, Chen YW, Jinn TR, Lu TH, Cheng PW, Su YC, Liu SH, and Huang CF. (2011). Inorganic arsenic causes cell apoptosis in mouse cerebrum through an oxidative stress-regulated signaling pathway. *Arch Toxicol* **85**, 565-575.
 27. Yen CC, Liu SH, Chen WK, Lin RH, Lin-Shiau SY. (2002). Tissue distribution of different mercurial compounds analyzed by the improved FI-CVAAS. *J Anal Toxicol* **26**, 286-295.

陸、圖、表

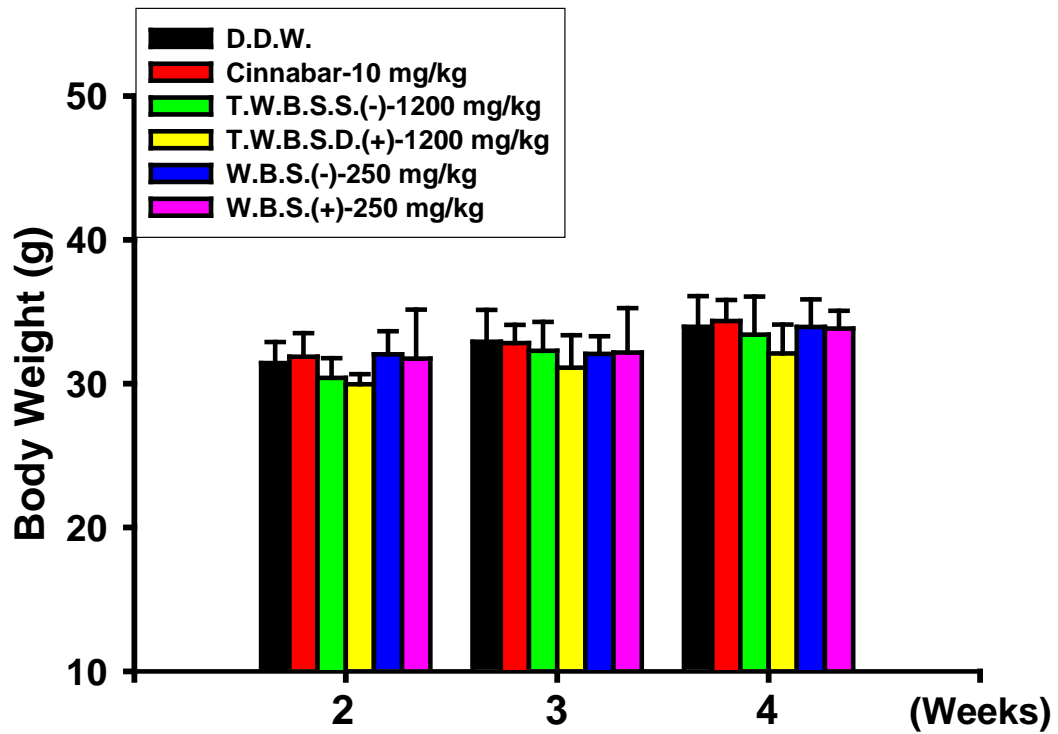
表一、市售硃砂樣品中所含汞與其他微量金屬含量分析

µg/g	Cinnabar-3	T.W.B.S.D.(-)	T.W.B.S.D.(+)	W.B.S.(-)	W.B.S.(+)
Hg	858200 ± 2828.4	0.03 ± 0.01	11.98 ± 0.43	0.02 ± 0.00	28449.7 ± 506.37
Al	0.65 ± 0.10	1.27 ± 0.11	22.73 ± 0.55	28.35 ± 0.34	9.99 ± 0.12
As	0.44 ± 0.09	N.D.	N.D.	0.02 ± 0.00	N.D.
Ba	11.44 ± 1.01	0.13 ± 0.01	4.95 ± 0.07	0.84 ± 0.08	11.23 ± 0.31
Pb	0.17 ± 0.07	N.D.	0.06 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.24 ± 0.02
Cr	N.D.	N.D.	0.12 ± 0.01	0.39 ± 0.04	N.D.
Mn	N.D.	0.06 ± 0.01	0.54 ± 0.03	5.15 ± 0.29	0.48 ± 0.07
Ni	N.D.	0.05 ± 0.01	0.17 ± 0.02	4.33 ± 0.17	0.30 ± 0.02
Ca	10.84 ± 0.26	5.03 ± 0.24	151.74 ± 3.81	59213 ± 1366	616.44 ± 14.28
Cu	N.D.	0.11 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.09 ± 0.02
Mg	3.52 ± 0.44	17.44 ± 0.46	283.63 ± 3.26	73.74 ± 2.43	40.10 ± 1.40
Fe	0.24 ± 0.03	0.14 ± 0.03	9.02 ± 0.10	9.66 ± 1.27	1.10 ± 0.12
Se	6.91 ± 0.1	N.D.	N.D.	0.05 ± 0.01	N.D.
Zn	0.15 ± 0.05	0.15 ± 0.03	0.29 ± 0.06	0.27 ± 0.04	0.28 ± 0.02

1. T.W.B.S.S.(-): 天王補心丹濃縮散(不含硃砂); T.W.B.S.D.(+): 天王補心丸(每 1000 毫克含 9 毫克硃砂);

W.B.S.(-): 五寶散(不含硃砂); W.B.S.(+): 五寶散(每 1000 毫克含 40 毫克硃砂)。

2. Data were presented mean ± standard deviation (S.D.)



圖一、餵食硃砂單方、天王補心丹濃縮散(不含硃砂; T.W.B.S.S.(-))、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、五寶散(不含硃砂; W.B.S.(-))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 2-4 週後對於鼯鼠體重之影響(每組實驗動物數量為 10 隻鼯鼠($n = 10$))。

表二、實驗動物每週進食量之變化

Group	Weeks		
	2	3	4
Control	47.07 ± 2.19	48.35 ± 0.21	53.48 ± 1.33
Cinnabar 10mg/kg	47.95 ± 2.54	53.17 ± 7.88	54.07 ± 0.45
T.W.B.S.D.(-)	45.83 ± 4.12	50.38 ± 2.09	52.59 ± 0.25
T.W.B.S.D.(+)	45.16 ± 1.31	47.03 ± 3.15	51.26 ± 0.81
W.B.S.(-)	47.04 ± 1.36	47.48 ± 1.03	53.82 ± 0.58
W.B.S.(+)	45.83 ± 0.24	52.75 ± 5.30	54.08 ± 4.12

1. Food consumption was expressed g/week/mice.

2. T.W.B.S.S.(-): 天王補心丹濃縮散(不含硃砂); T.W.B.S.D.(+): 天王補心丹(含硃砂);

W.B.S.(-): 五寶散(不含硃砂); W.B.S.(+): 五寶散(含硃砂)。

3. Data were presented mean ± standard deviation (S.D.) and $n = 10$ for each group.

表三、實驗動物每週飲水量之變化

Group	Weeks		
	2	3	4
Control (D.D.W.)	70.40 ± 0.02	68.05 ± 1.81	69.65 ± 1.62
Cinnabar 10mg/kg	70.68 ± 5.67	62.01 ± 2.49	60.03 ± 4.56
T.W.B.S.D.(-)	69.78 ± 2.16	58.57 ± 0.37*	57.85 ± 3.75*
T.W.B.S.D.(+)	58.48 ± 0.99**	58.94 ± 0.40*	53.35 ± 7.28*
W.B.S.(-)	65.09 ± 4.47	62.14 ± 9.34	52.08 ± 0.46**
W.B.S.(+)	66.38 ± 6.54	50.18 ± 1.99**	58.93 ± 0.95*

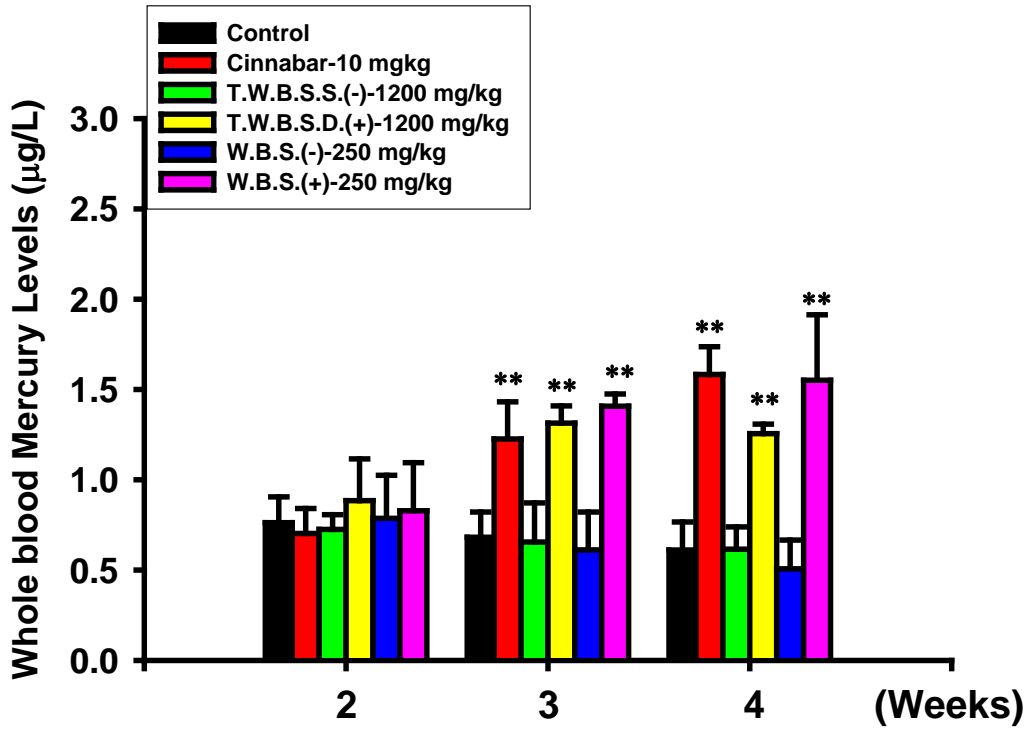
1. Water consumption was expressed mL/week/mice.

2. T.W.B.S.S.(-): 天王補心丹濃縮散(不含硃砂); T.W.B.S.D.(+): 天王補心丹(含硃砂);
W.B.S.(-): 五寶散(不含硃砂); W.B.S.(+): 五寶散(含硃砂)。

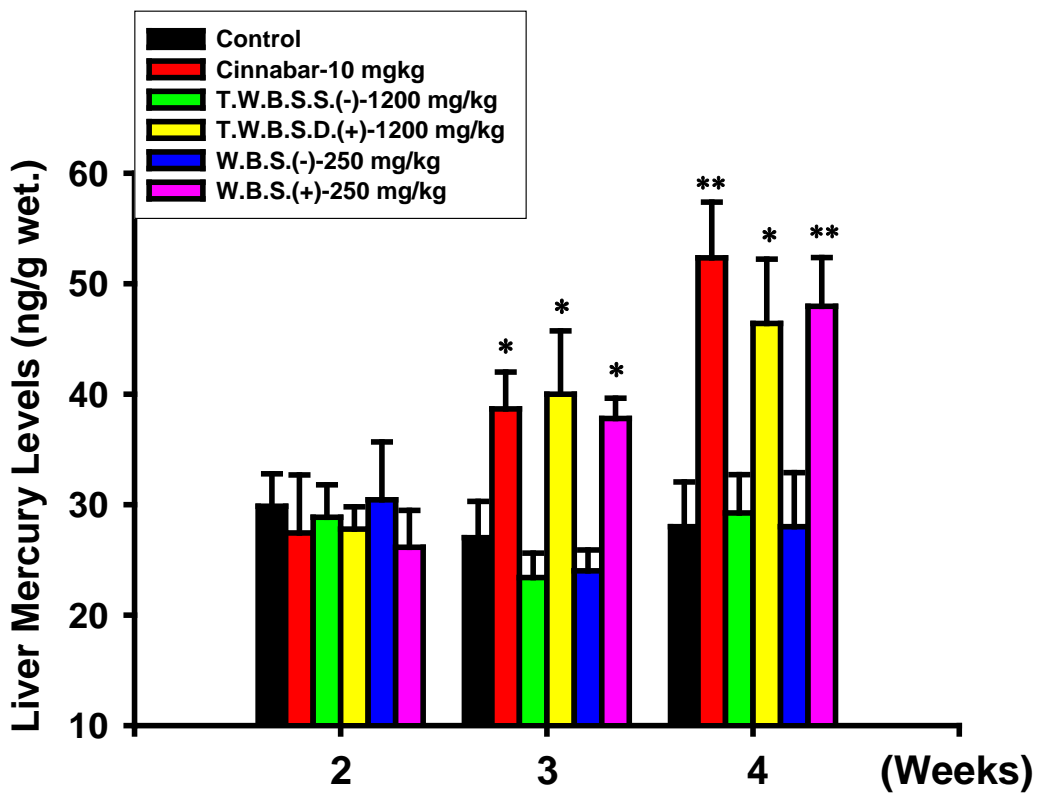
3. Data were presented mean ± standard deviation (S.D.) and $n = 10$ for each group.

4. * $p < 0.05$ as compared with control group; ** $p < 0.01$ as compared with control group.

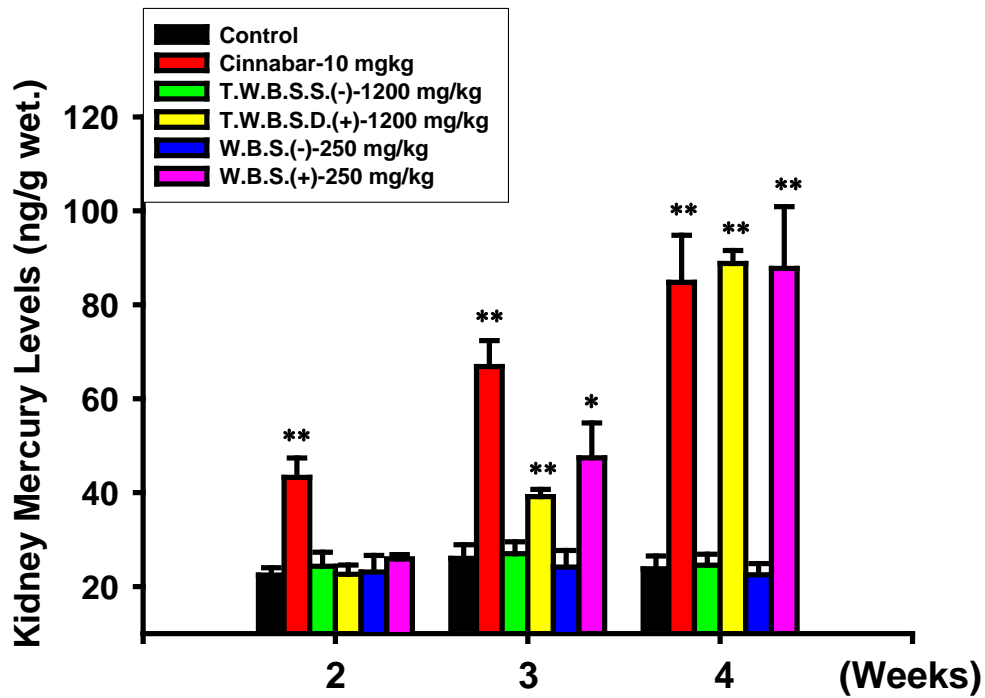
圖二、A



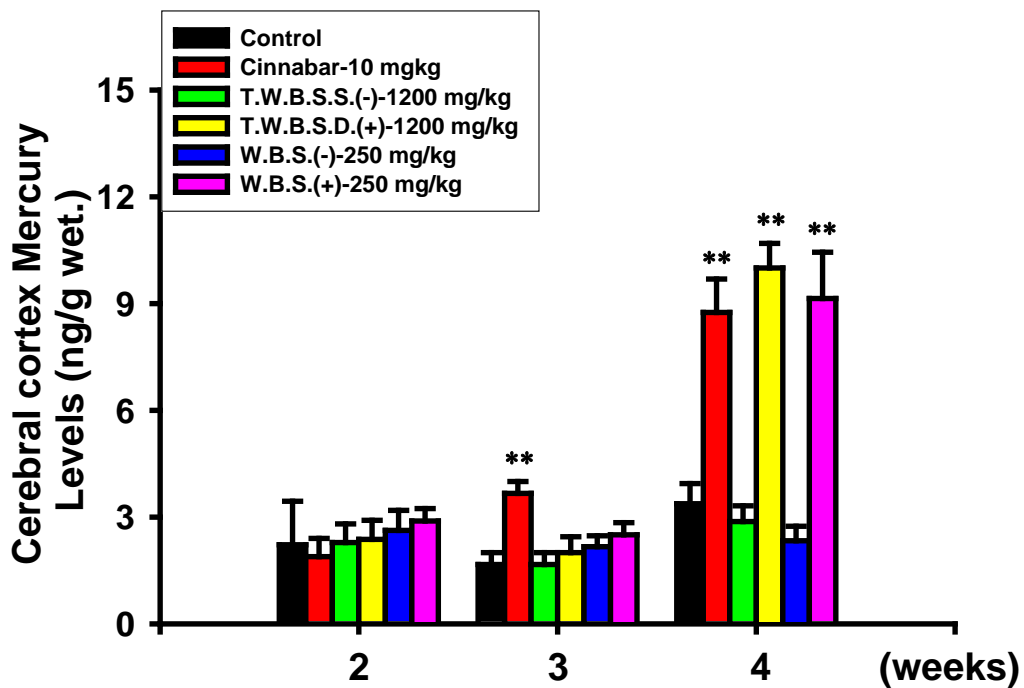
圖二、B



圖二、C

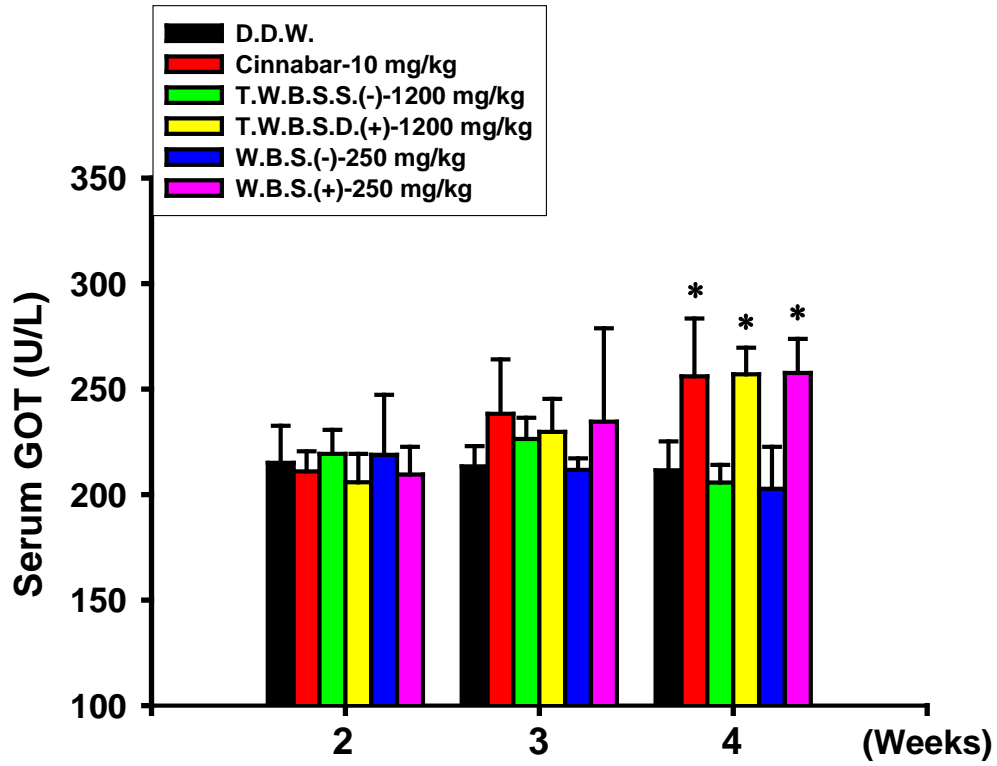


圖二、D

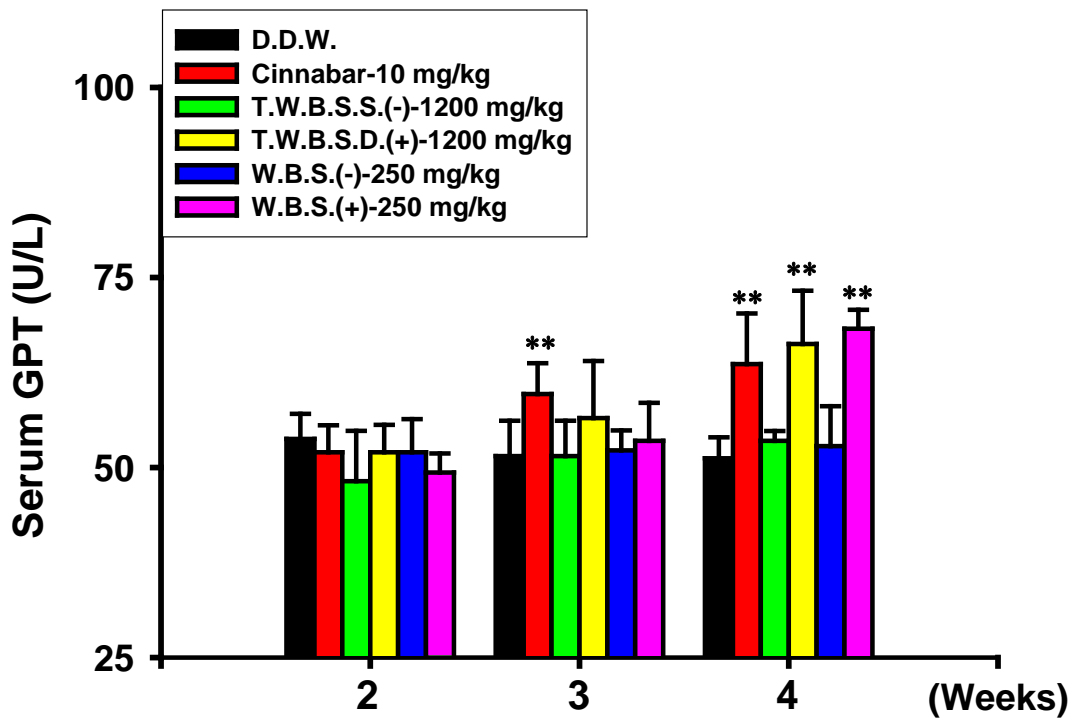


圖二、餵食硃砂單方、天王補心丹濃縮散(不含硃砂; T.W.B.S.S.(-))、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、五寶散(不含硃砂; W.B.S.(-))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 2-4 週後齧鼠血液(A)、肝臟(B)、腎臟(C)、大腦皮質(D)組織中汞金屬含量之變化(每組實驗動物 $n = 10$; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)。

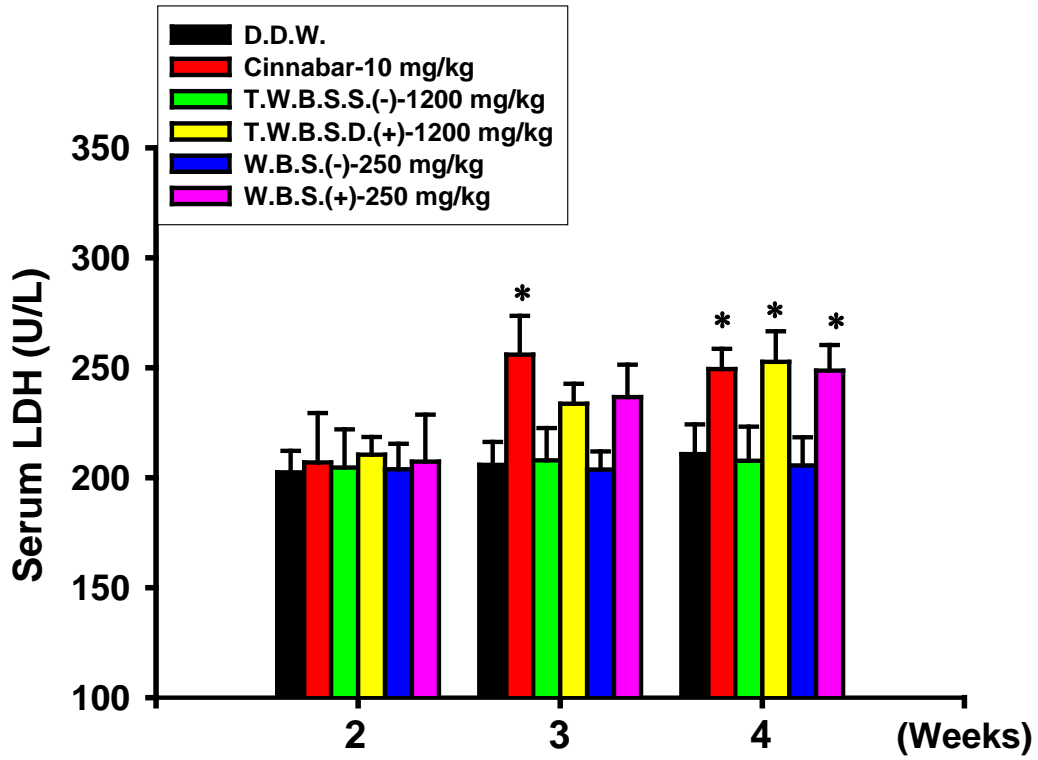
圖三、A



圖三、B

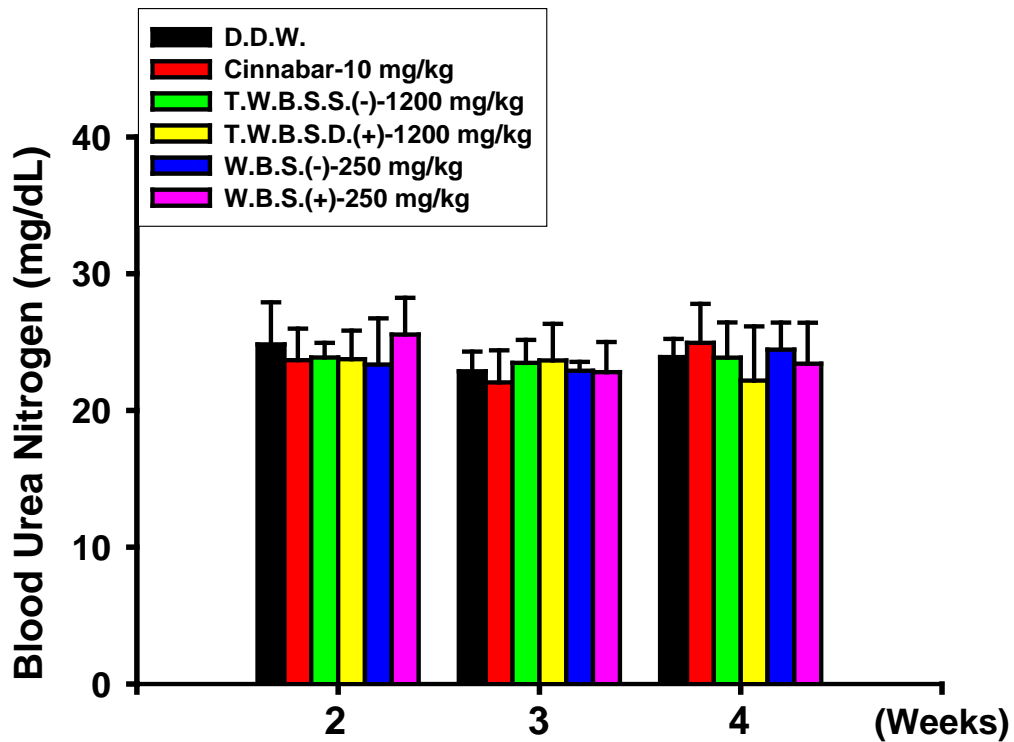


圖三、C

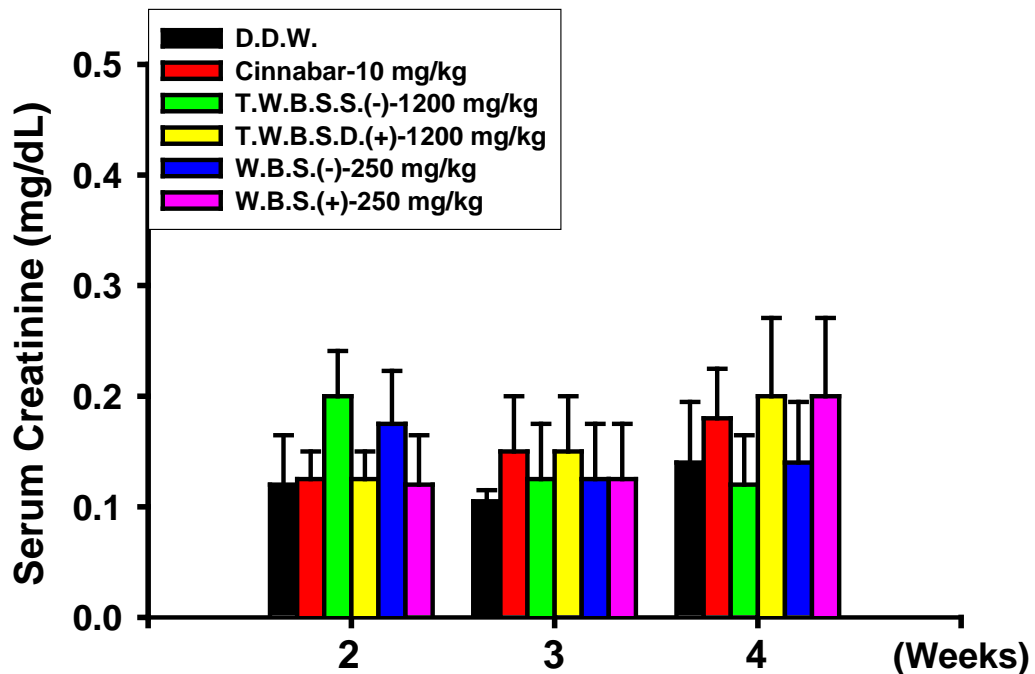


圖三、餵食硃砂單方、天王補心丹濃縮散(不含硃砂; T.W.B.S.S.(-))、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、五寶散(不含硃砂; W.B.S.(-))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 2-4 週後小鼠血清中 GOT(A)、GPT(B)、LDH(C)含量之變化(每組實驗動物 $n = 10$; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)。

圖四、A

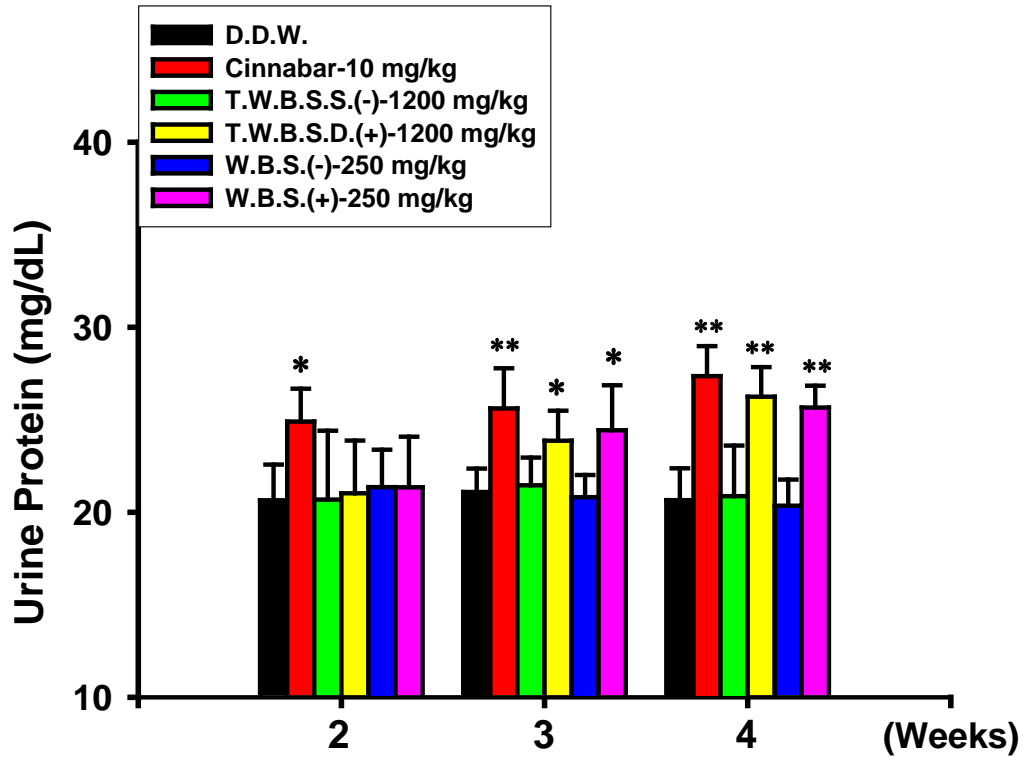


圖四、B

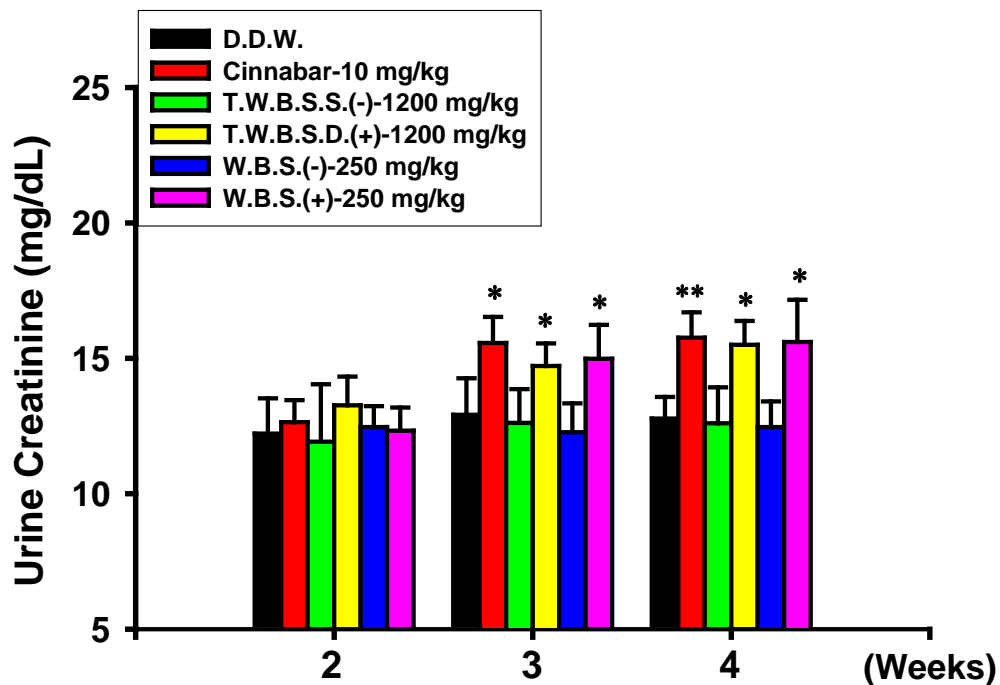


圖四、餵食硃砂單方、天王補心丹濃縮散(不含硃砂; T.W.B.S.S.(-))、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、五寶散(不含硃砂; W.B.S.(-))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 2-4 週後鼯鼠血清中 BUN(A)、Creatinine(B)含量之影響(每組實驗動物 $n = 10$)。

圖五、A

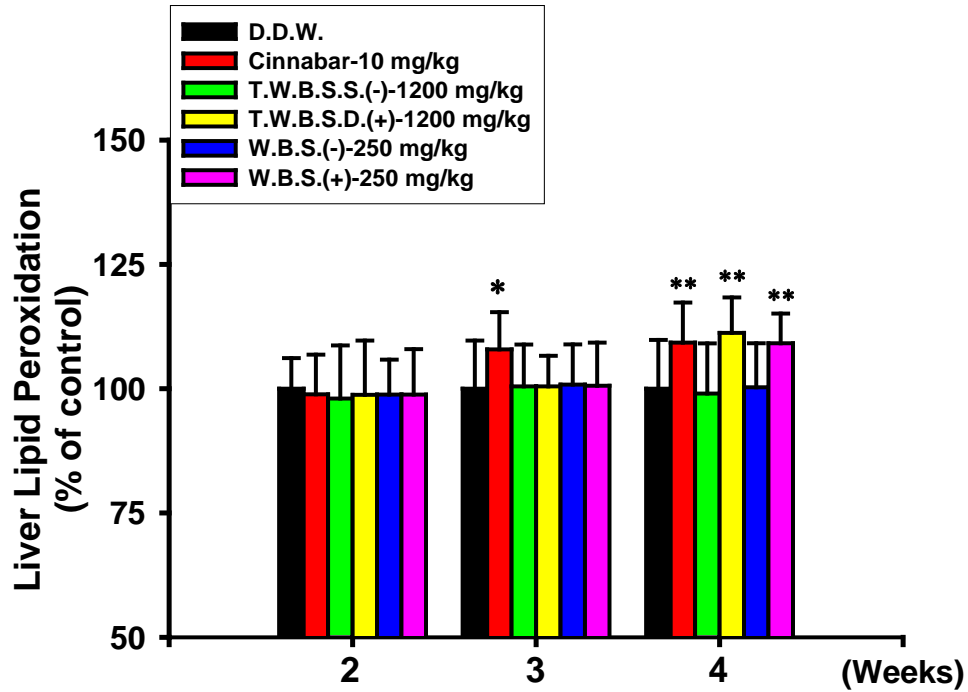


圖五、B

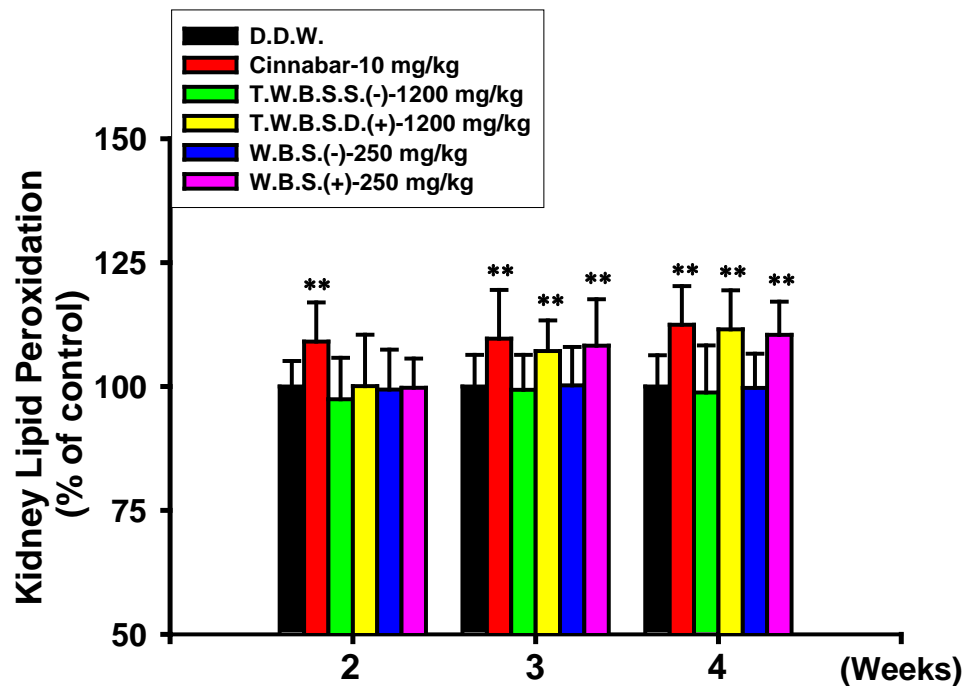


圖五、餵食硃砂單方、天王補心丹濃縮散(不含硃砂; T.W.B.S.S.(-))、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、五寶散(不含硃砂; W.B.S.(-))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 2-4 週後鼯鼠尿液中尿蛋白含量(A)、尿液 Creatinine(B)含量之變化(每組實驗動物 $n = 10$; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)。

圖六、A

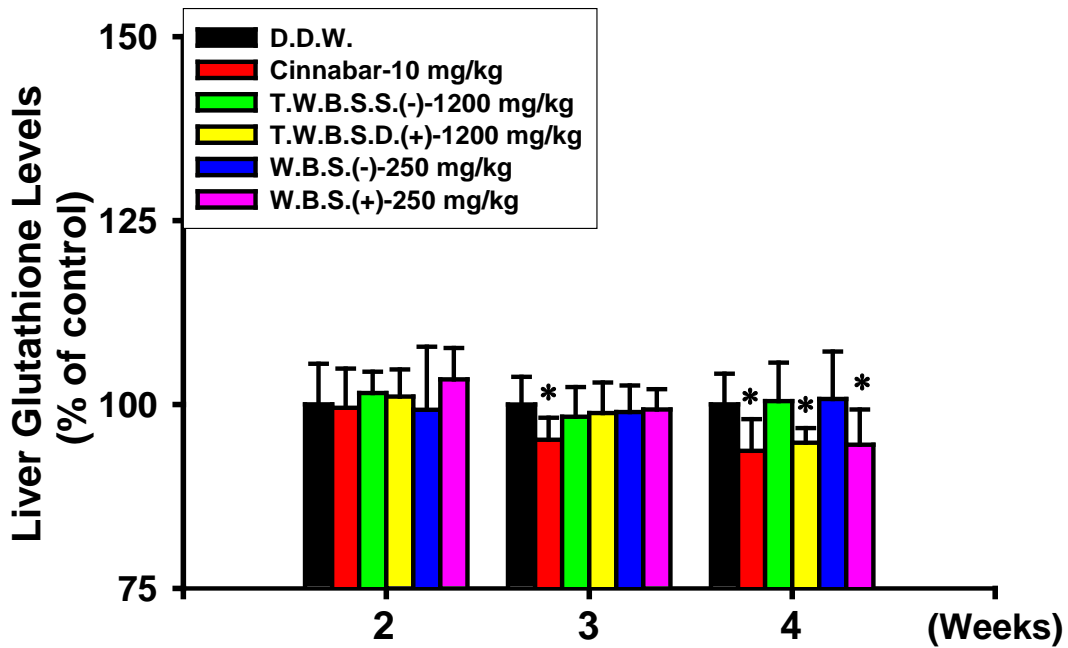


圖六、B

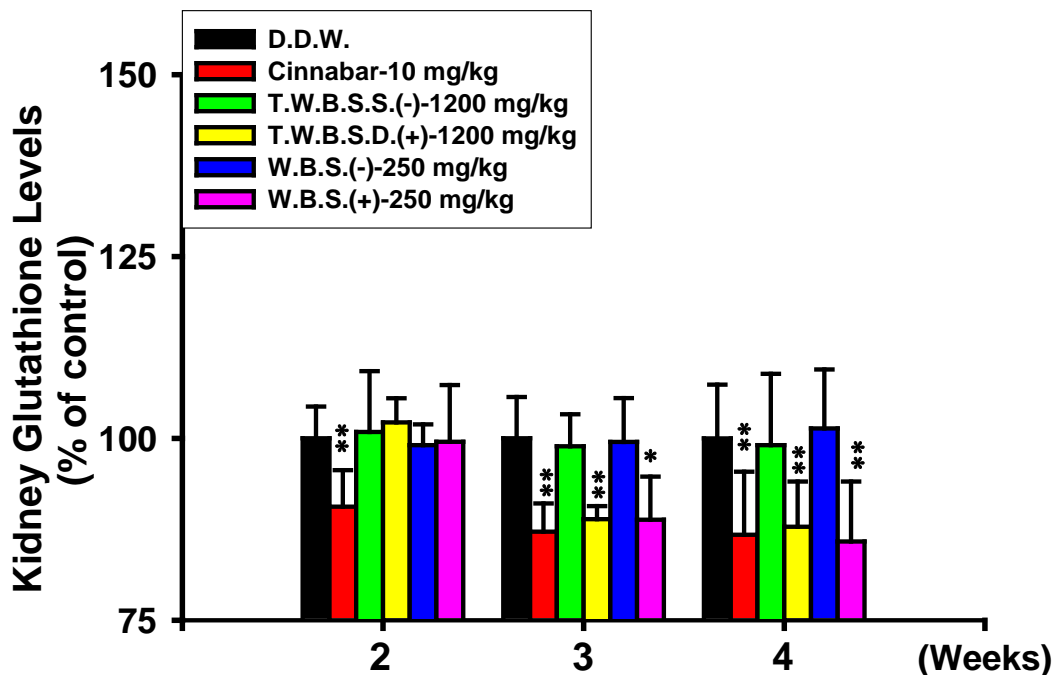


圖六、餵食硃砂單方、天王補心丹濃縮散(不含硃砂; T.W.B.S.S.(-))、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、五寶散(不含硃砂; W.B.S.(-))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 2-4 週後對於引起鼯鼠肝臟(A)、腎臟(B)組織脂質過氧化(Lipid peroxidation, LPO)含量產生之影響(每組實驗動物數量為 10 隻鼯鼠($n = 10$); * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)

圖七、A

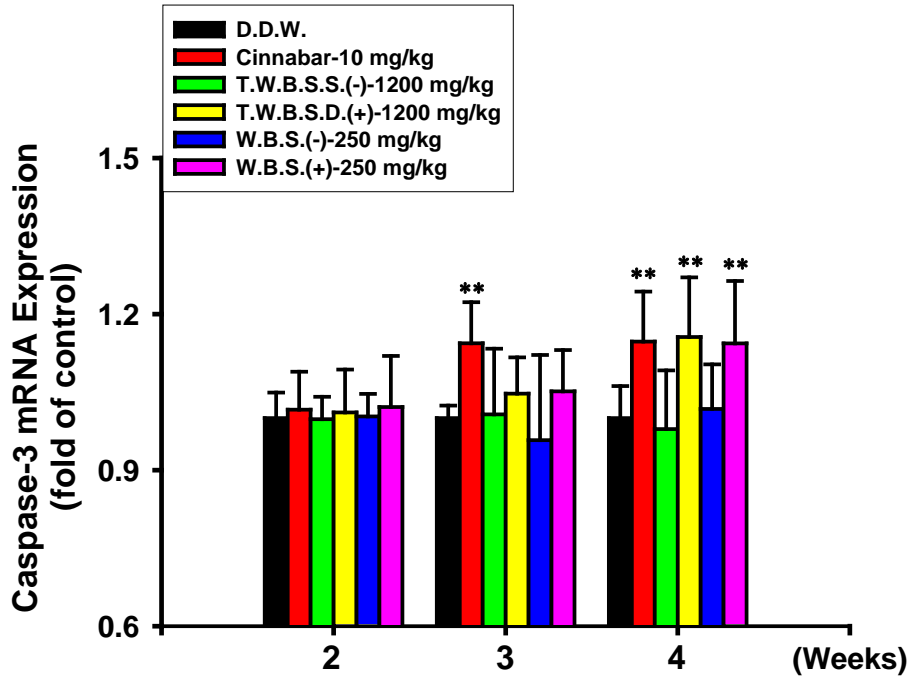


圖七、B

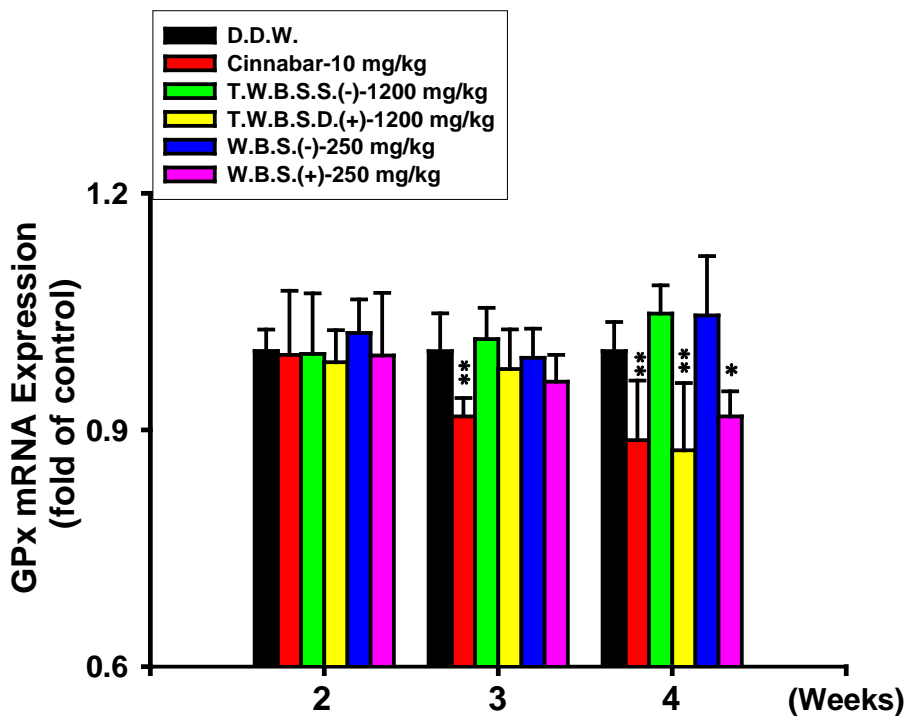


圖七、餵食硃砂單方、天王補心丹濃縮散(不含硃砂; T.W.B.S.S.(-))、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、五寶散(不含硃砂; W.B.S.(-))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 2-4 週後對於引起鼯鼠肝臟(A)、腎臟(B)組織穀胱甘肽(Glutathione)含量產生之影響(每組實驗動物數量為 10 隻鼯鼠($n = 10$)); * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)

圖八、A

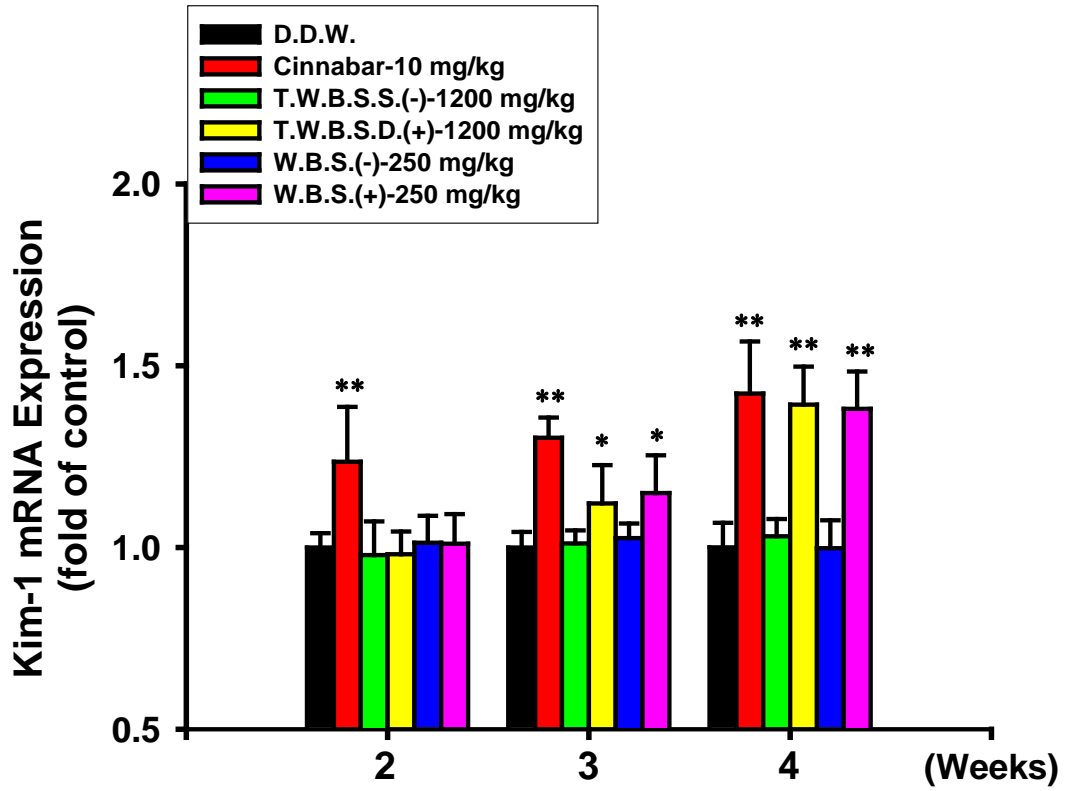


圖八、B

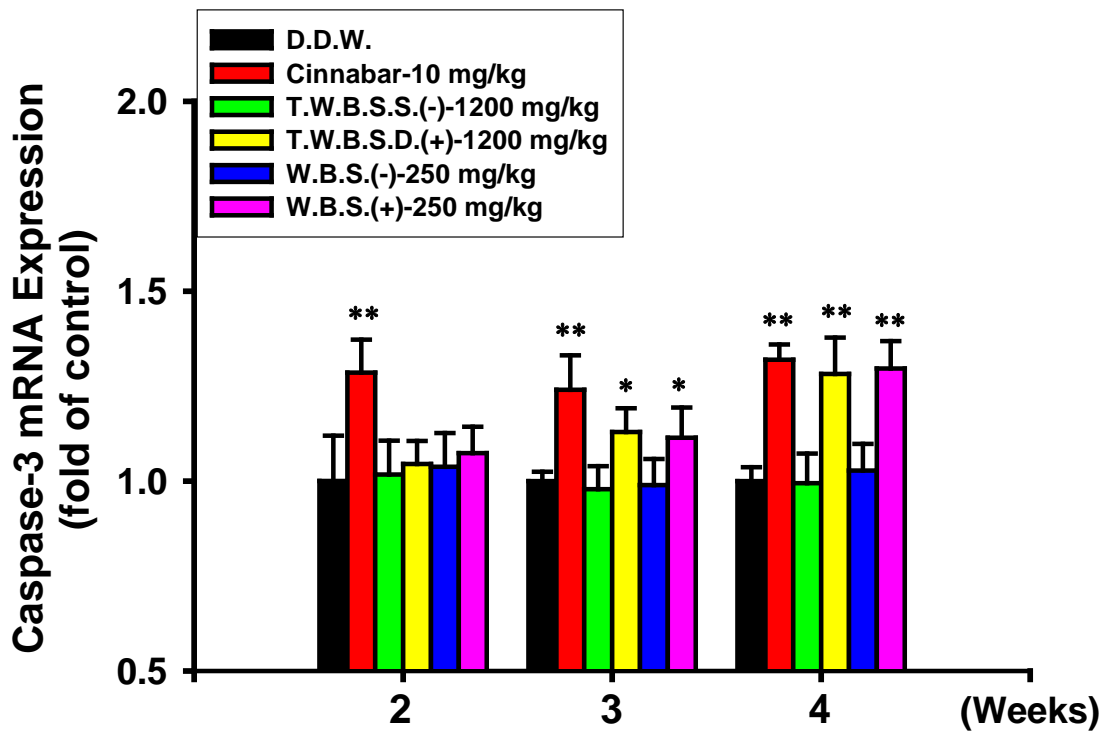


圖八、餵食硃砂單方、天王補心丹濃縮散(不含硃砂; T.W.B.S.S.(-))、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、五寶散(不含硃砂; W.B.S.(-))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 2-4 週後對於引起鼯鼠肝臟組織毒性傷害有關之傳訊核糖核酸 ((A)Caspase-3; (B).GPx mRNA) 改變情形(每組實驗動物數量為 10 隻鼯鼠 ($n = 10$); * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)

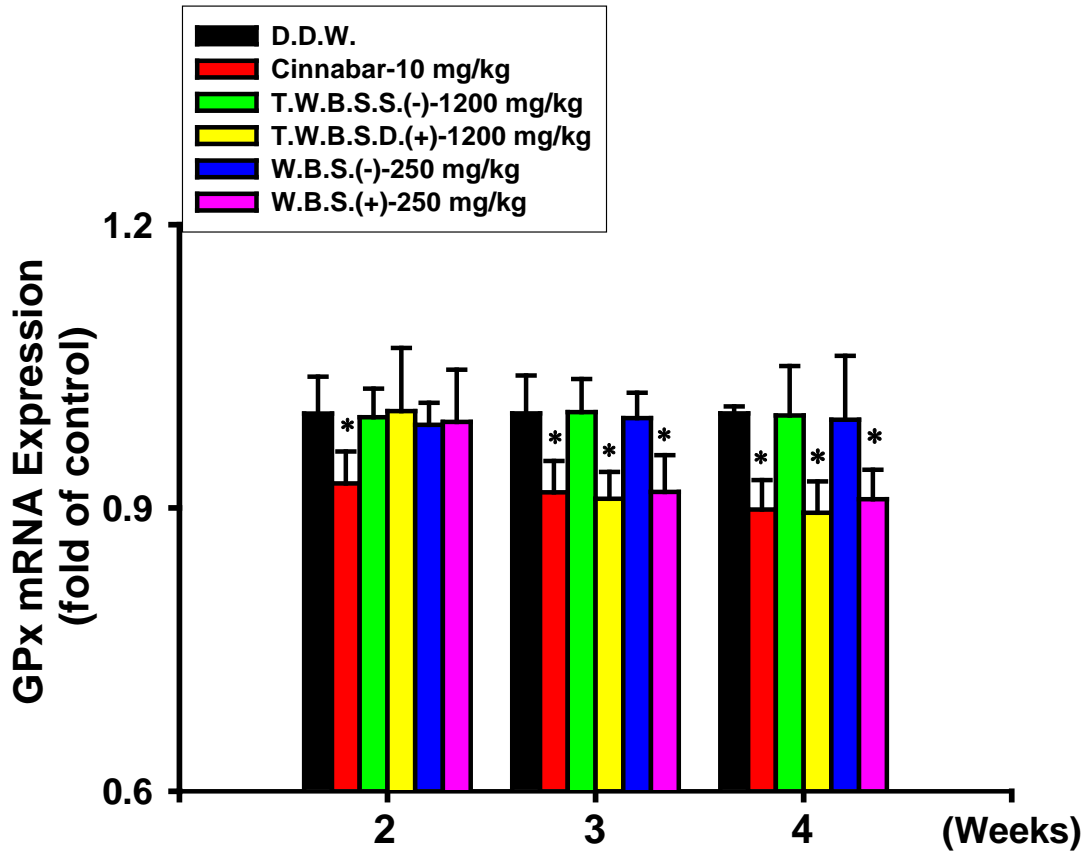
圖九、A



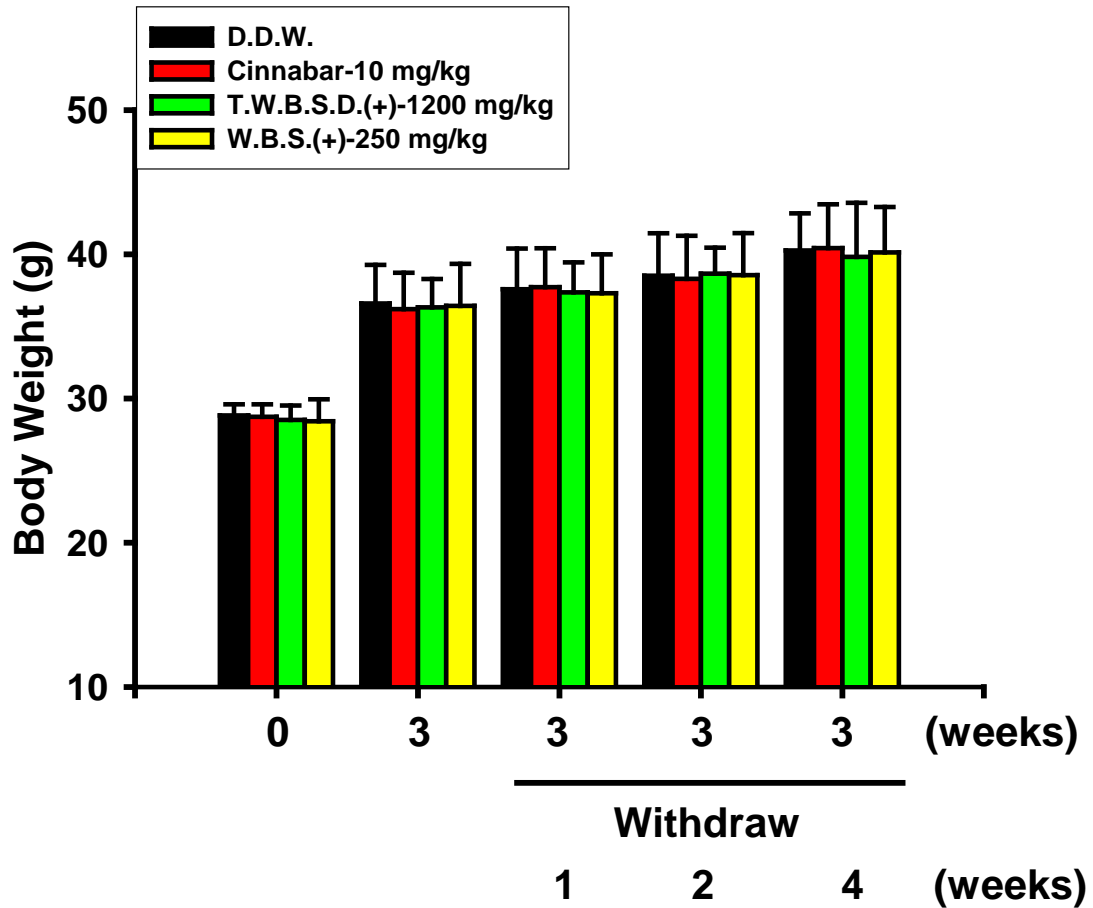
圖九、B



圖九、C



圖九、餵食硃砂單方、天王補心丹濃縮散(不含硃砂; T.W.B.S.S.(-))、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、五寶散(不含硃砂; W.B.S.(-))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 2-4 週後對於引起鼯鼠腎臟組織毒性傷害有關之傳訊核醣核酸((A).Kim-1; (B).HO-1; (C).Caspase-3; GPx mRNA)改變情形(每組實驗動物數量為 10 隻鼯鼠($n = 10$); * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)。



圖十、餵食硃砂單方、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 1-3 週後及停藥後 1-4 週後對於鼯鼠體重之影響(每組實驗動物數量為 10 隻鼯鼠($n = 10$))。

表四、實驗動物每週進食量之變化(2)

Group	Weeks					
	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks (Withdraw 1 week)	5 weeks (Withdraw 2 week)	7 weeks (Withdraw 4 week)
Control (D.D.W.)	48.3 ± 3.2	47.0 ± 3.3	56.3 ± 8.5	52.9 ± 2.3	58.8 ± 3.1	56.0 ± 0.9
Cinnabar 10mg/kg	48.8 ± 3.0	48.3 ± 2.3	57.0 ± 7.7	55.9 ± 7.0	59.3 ± 4.8	57.8 ± 4.9
T.W.B.S.D.(+)	48.0 ± 2.6	47.0 ± 2.6	57.9 ± 7.9	53.2 ± 6.9	58.7 ± 5.2	56.5 ± 1.1
W.B.S.(-)	47.4 ± 3.3	45.8 ± 2.4	55.4 ± 7.2	51.8 ± 4.1	59.0 ± 4.4	57.2 ± 5.6

1. Food consumption was expressed g/week/mice.

2. T.W.B.S.D.(+): 天王補心丹(含硃砂); W.B.S.(+): 五寶散(含硃砂)。

3. Data were presented mean ± standard deviation (S.D.) and $n = 10$ for each group.

表五、實驗動物每週飲水量之變化(2)。

Group	Weeks					
	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks (Withdraw 1 week)	5 weeks (Withdraw 2 week)	7 weeks (Withdraw 4 week)
Control (D.D.W.)	60.8 ± 7.4	71.8 ± 5.3	70.9 ± 5.8	68.3 ± 3.7	71.8 ± 4.7	74.7 ± 2.9
Cinnabar 10mg/kg	62.2 ± 4.9	66.1 ± 5.7	69.8 ± 6.5	70.1 ± 6.7	76.0 ± 7.9	75.8 ± 8.9
T.W.B.S.D.(+)	61.8 ± 3.4	62.4 ± 6.2*	58.3 ± 4.9*	62.5 ± 5.5	70.2 ± 4.4	76.4 ± 14.3
W.B.S.(-)	61.5 ± 9.7	63.1 ± 4.1*	59.9 ± 5.4*	63.4 ± 5.7	73.3 ± 9.3	73.1 ± 7.2

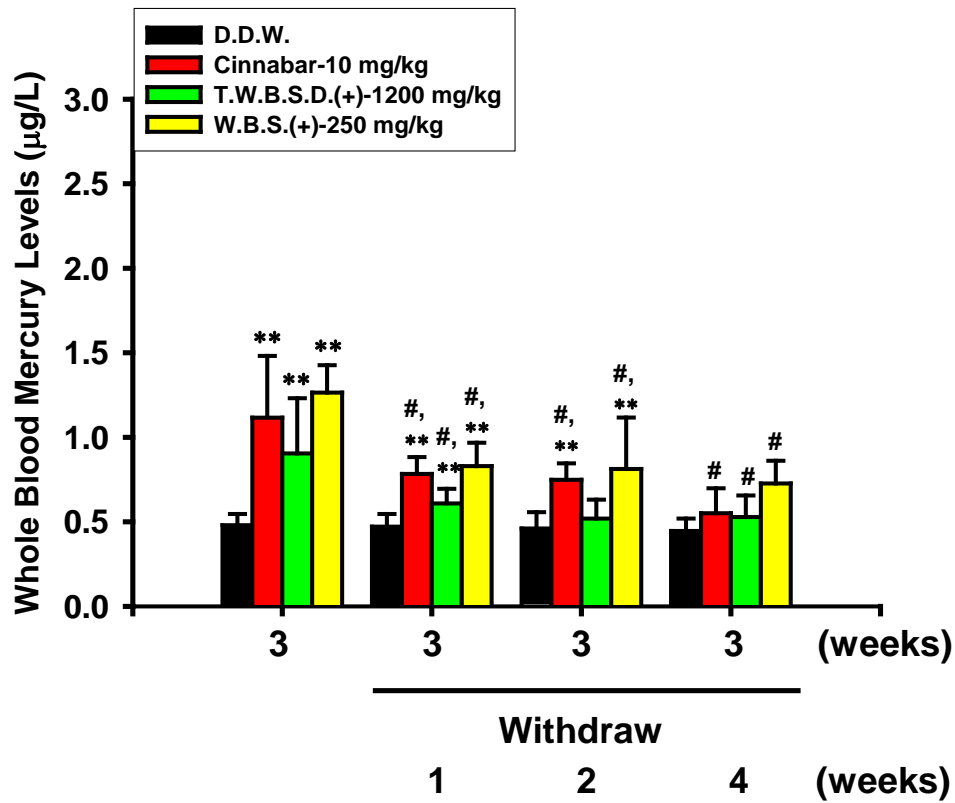
1. Water consumption was expressed mL/week/mice.

2. T.W.B.S.D.(+): 天王補心丹(含硃砂); W.B.S.(+): 五寶散(含硃砂)。

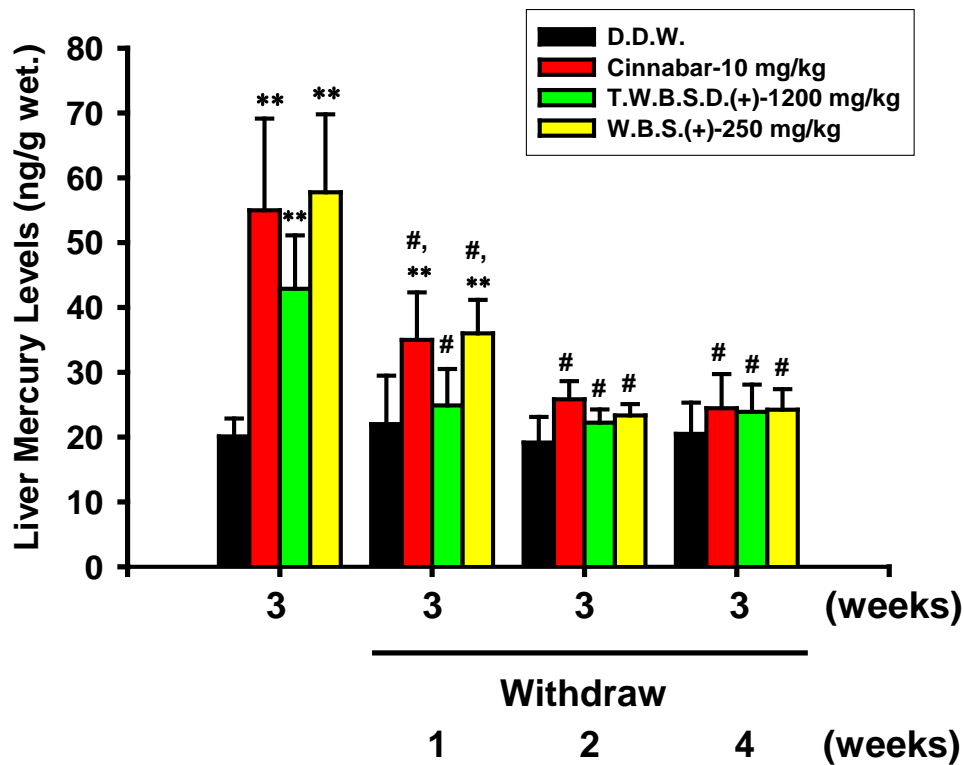
3. Data were presented mean ± standard deviation (S.D.) and $n = 10$ for each group.

4. * $p < 0.05$ as compared with control group.

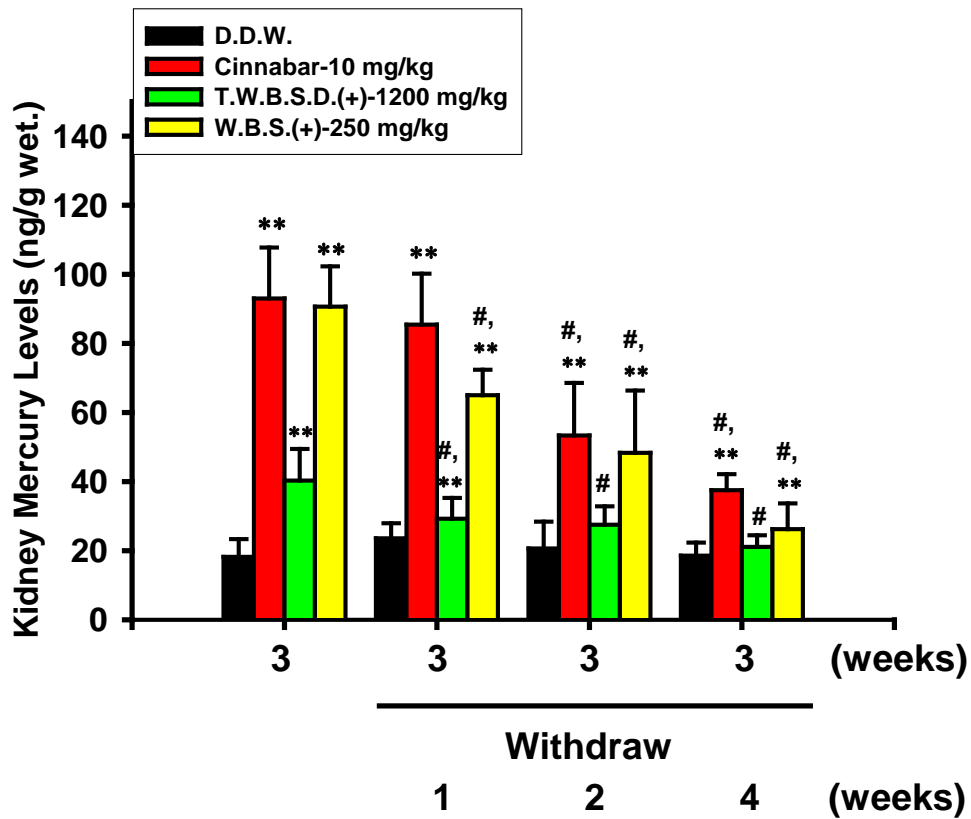
圖十一、A



圖十一、B

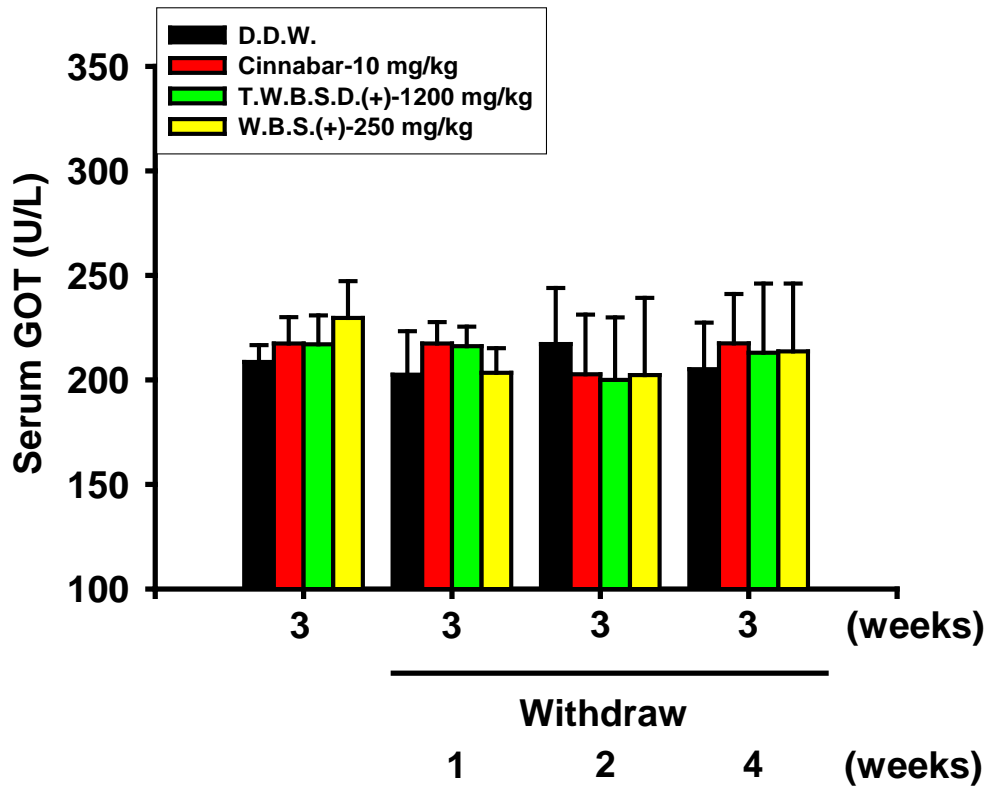


圖十一、C

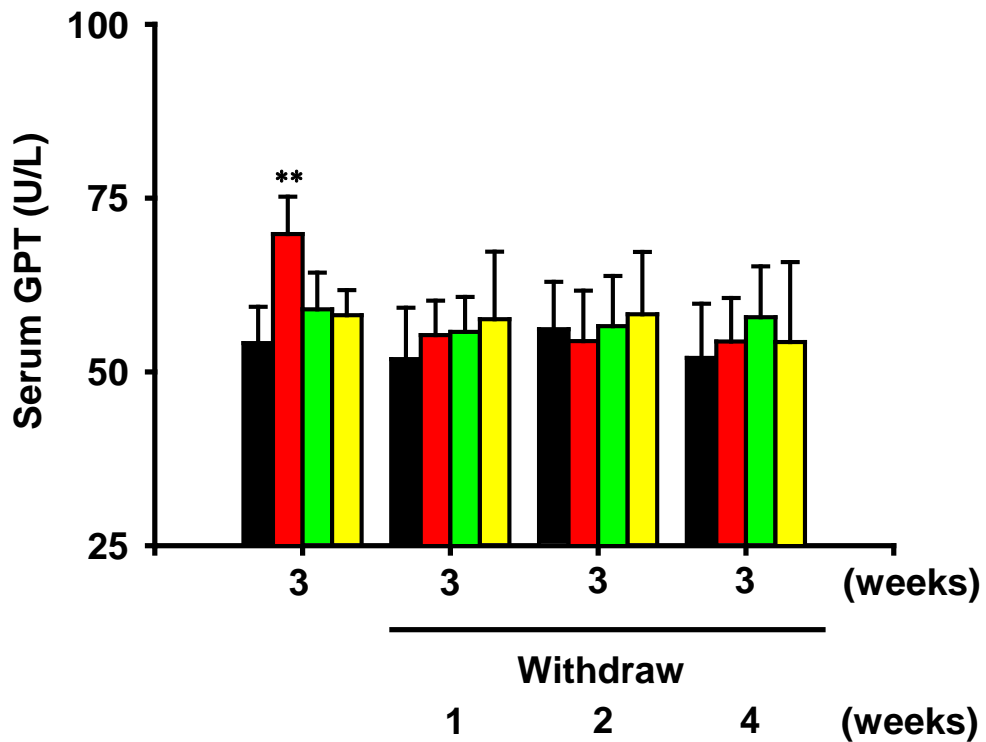


圖十一、餵食硃砂單方、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 3 週後及停藥後 1-4 週後對於鼯鼠鼯鼠血液(A)、肝臟(B)、腎臟(C)組織中汞金屬含量之變化(每組實驗動物 $n = 10$; ** $p < 0.01$; # $p < 0.05$ 與餵食 3 週之組別比較)。

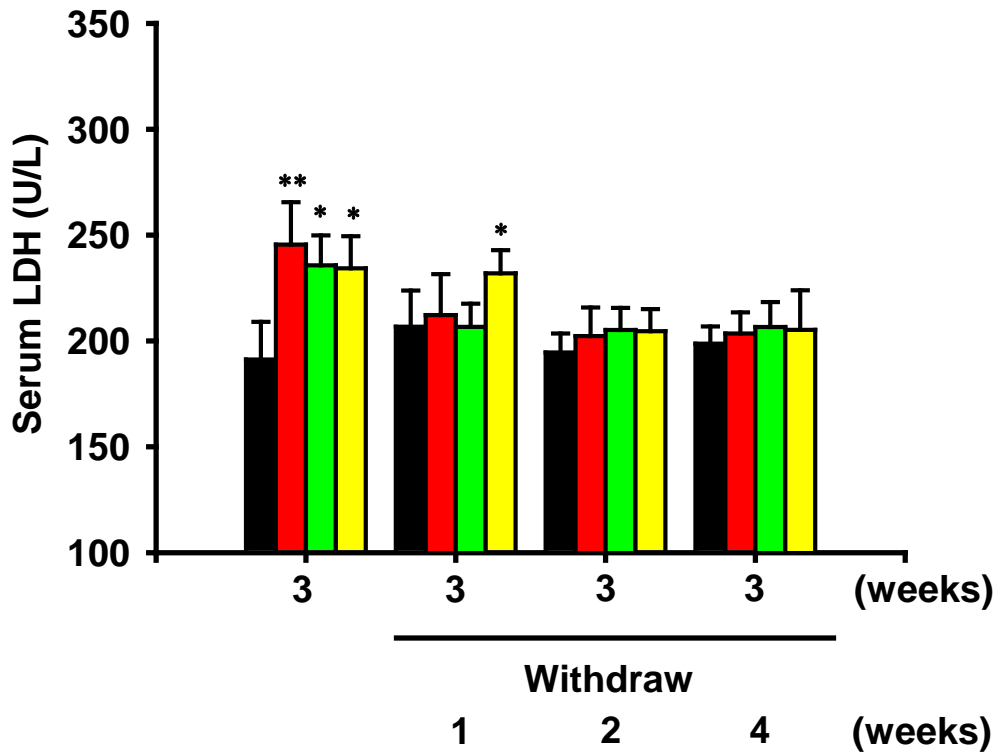
圖十二、A



圖十二、B

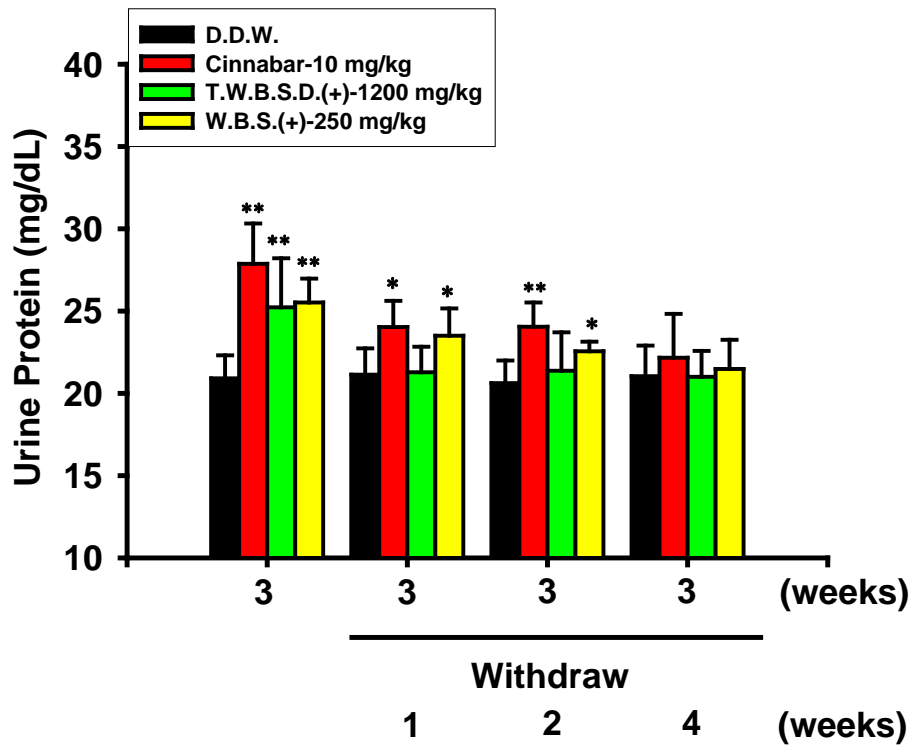


圖十二、C

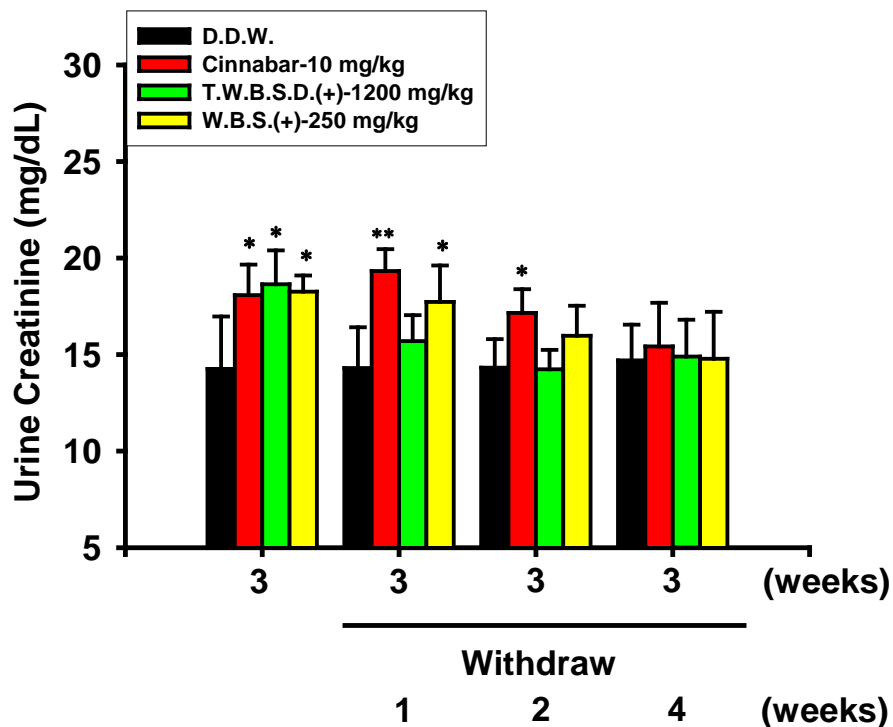


圖十二、餵食硃砂單方、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 3 週後及停藥後 1-4 週後鼯鼠血清中 GOT(A)、GPT(B)、LDH(C)含量之變化(每組實驗動物 $n = 10$; $p < 0.05$; $** p < 0.01$)

圖十三、A

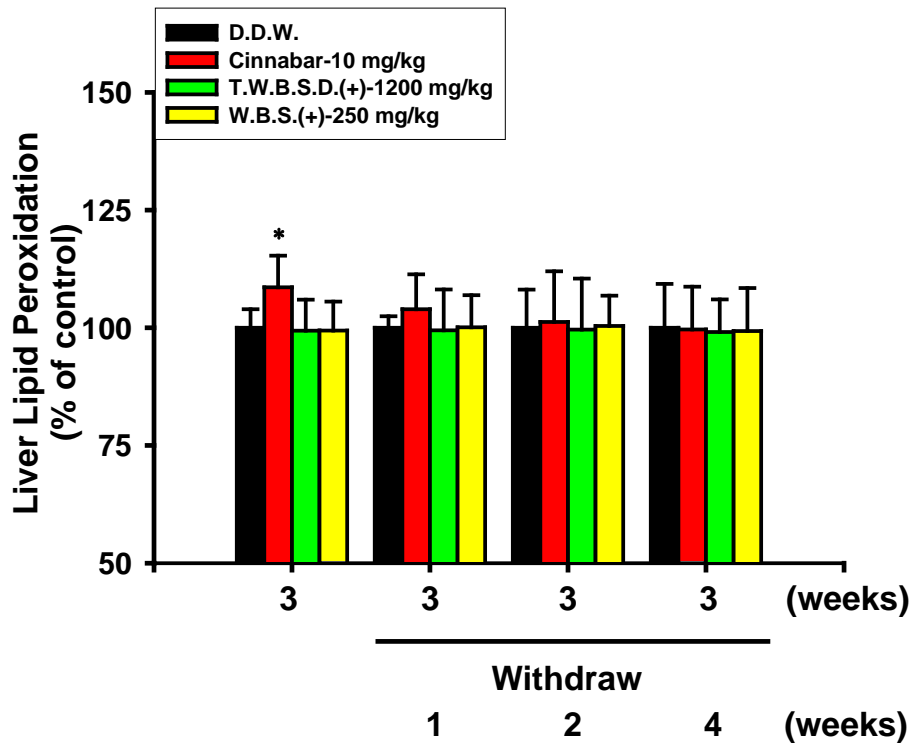


圖十三、B

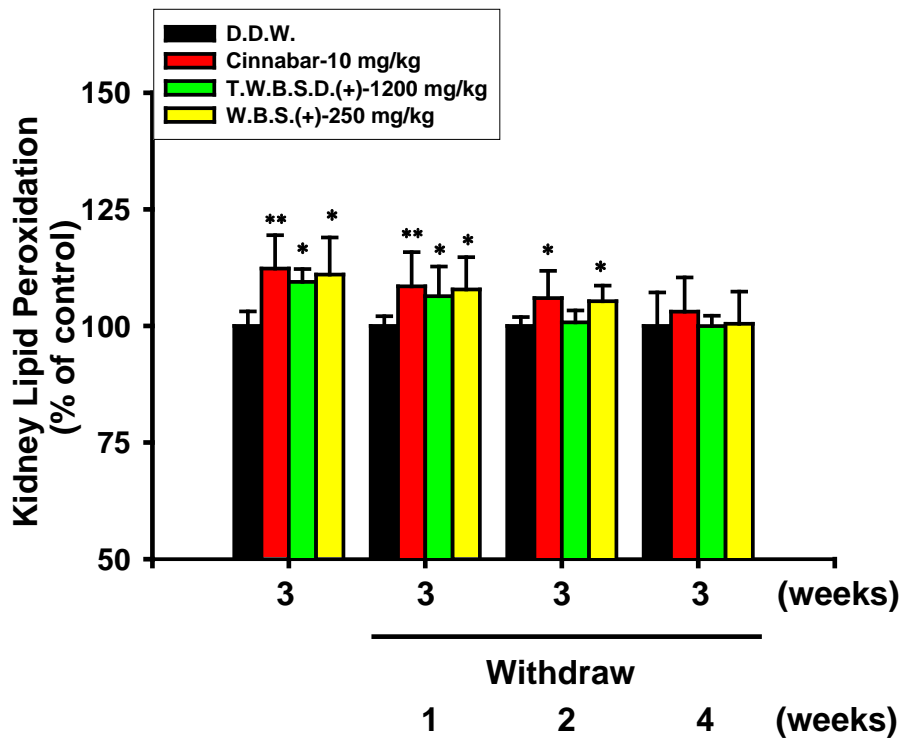


圖十三、飼食硃砂單方、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 3 週後及停藥後 1-4 週後鼯鼠尿液中尿蛋白含量(A)、尿液 Creatinine(B)含量之變化(每組實驗動物 $n = 10$; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)。

圖十四、A

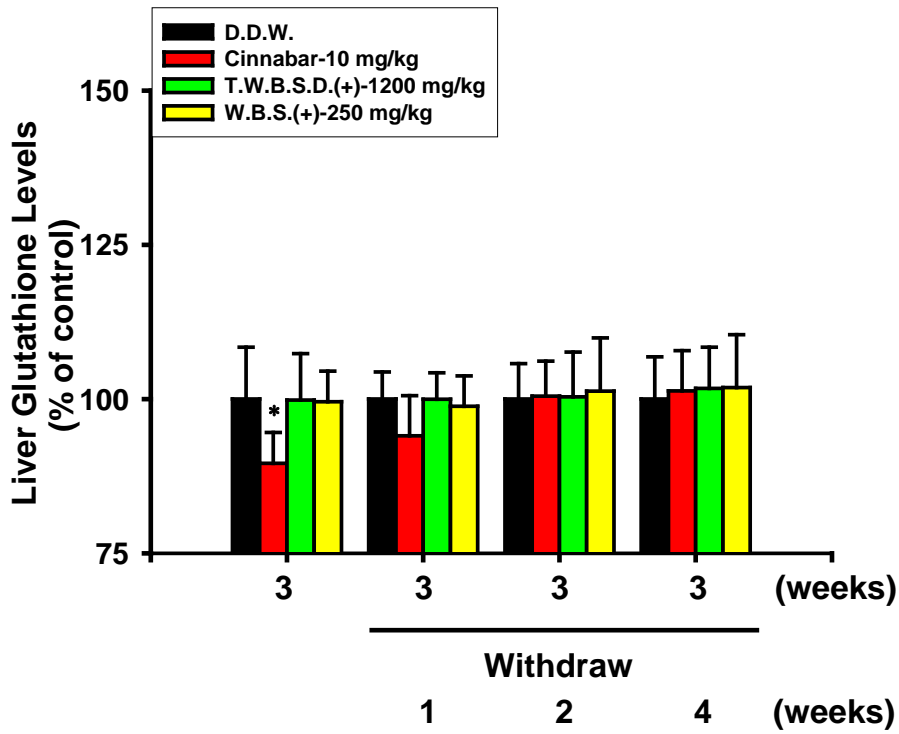


圖十四、B

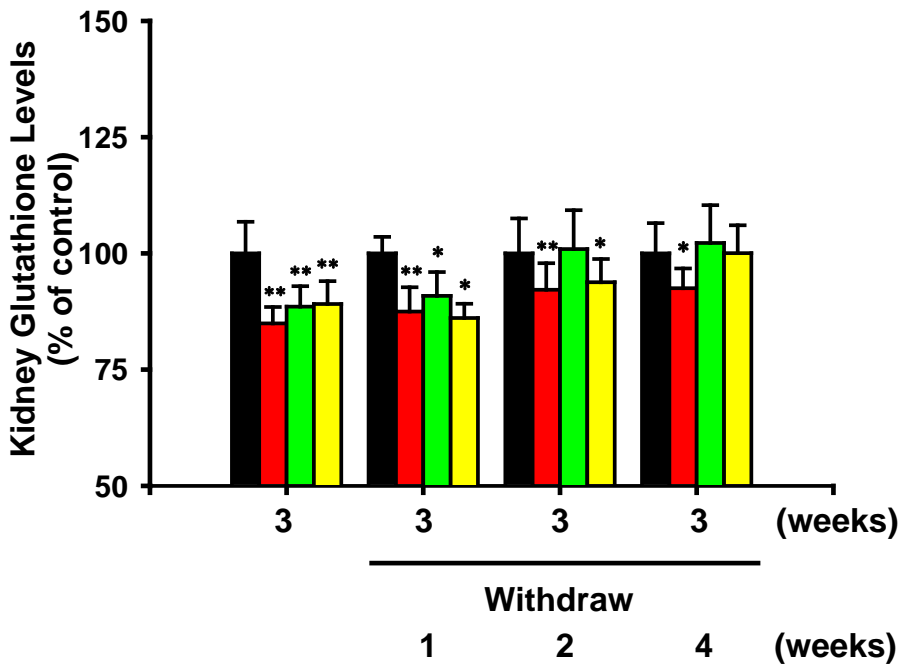


圖十四、飼食硃砂單方、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 3 週後及停藥後 1-4 週後對於引起鼯鼠肝臟(A)、腎臟(B)組織脂質過氧化(Lipid peroxidation, LPO)含量產生之影響(每組實驗動物數量為 10 隻鼯鼠($n = 10$); * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)

圖十五、A

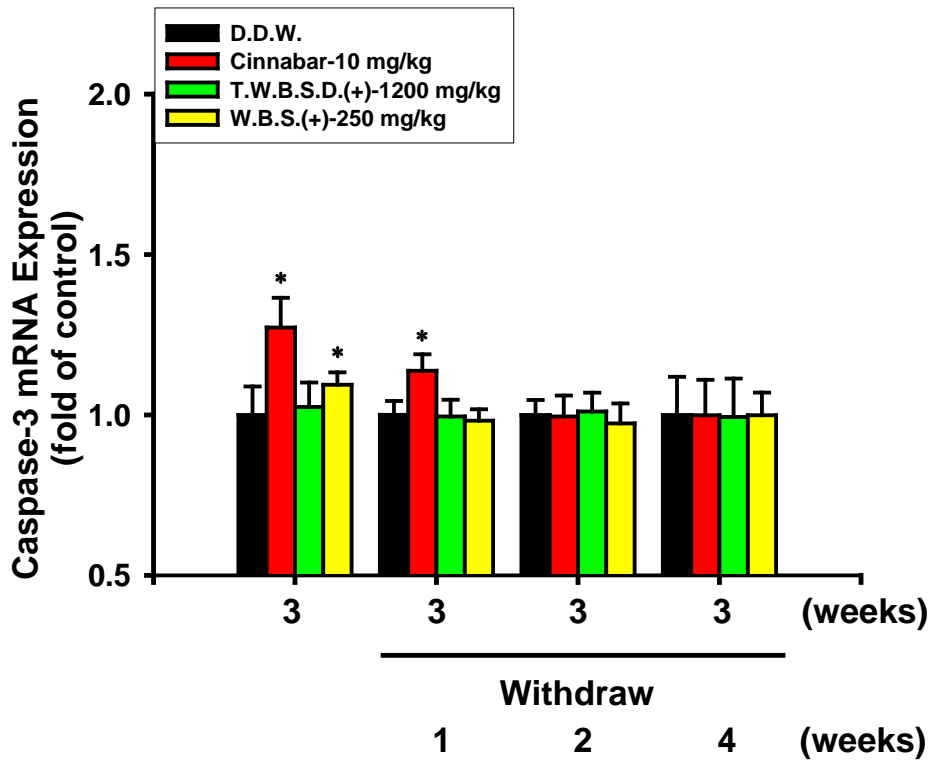


圖十五、B

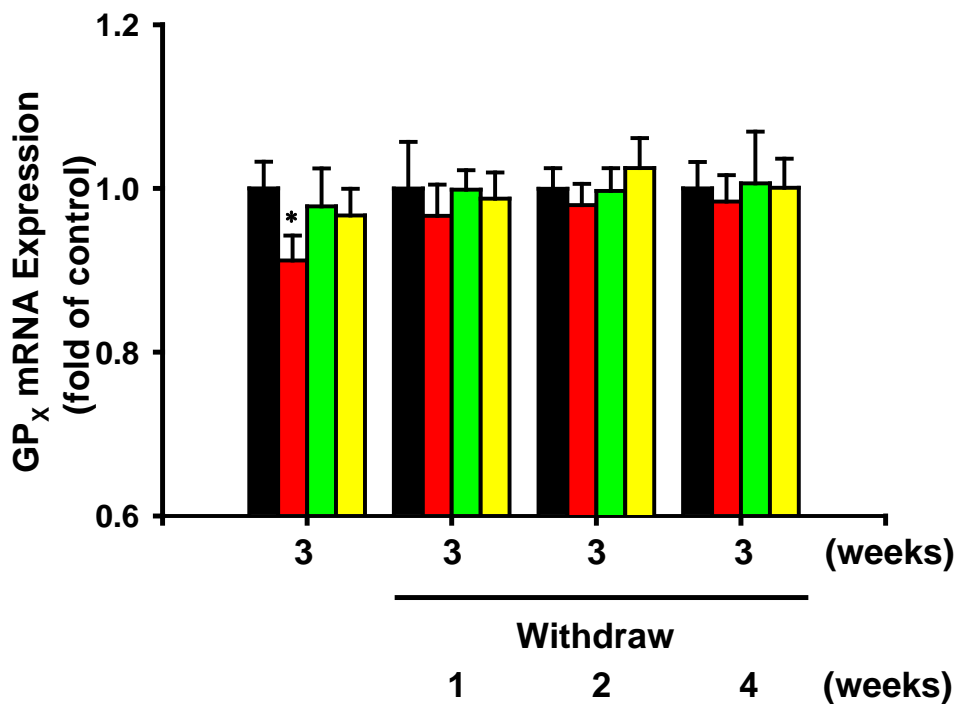


圖十五、餵食硃砂單方、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 3 週後及停藥後 1-4 週後對於引起鼯鼠肝臟(A)、腎臟(B)組織穀胱甘肽(Glutathione)含量產生之影響(每組實驗動物數量為 10 隻鼯鼠($n = 10$); * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)

圖十六、A

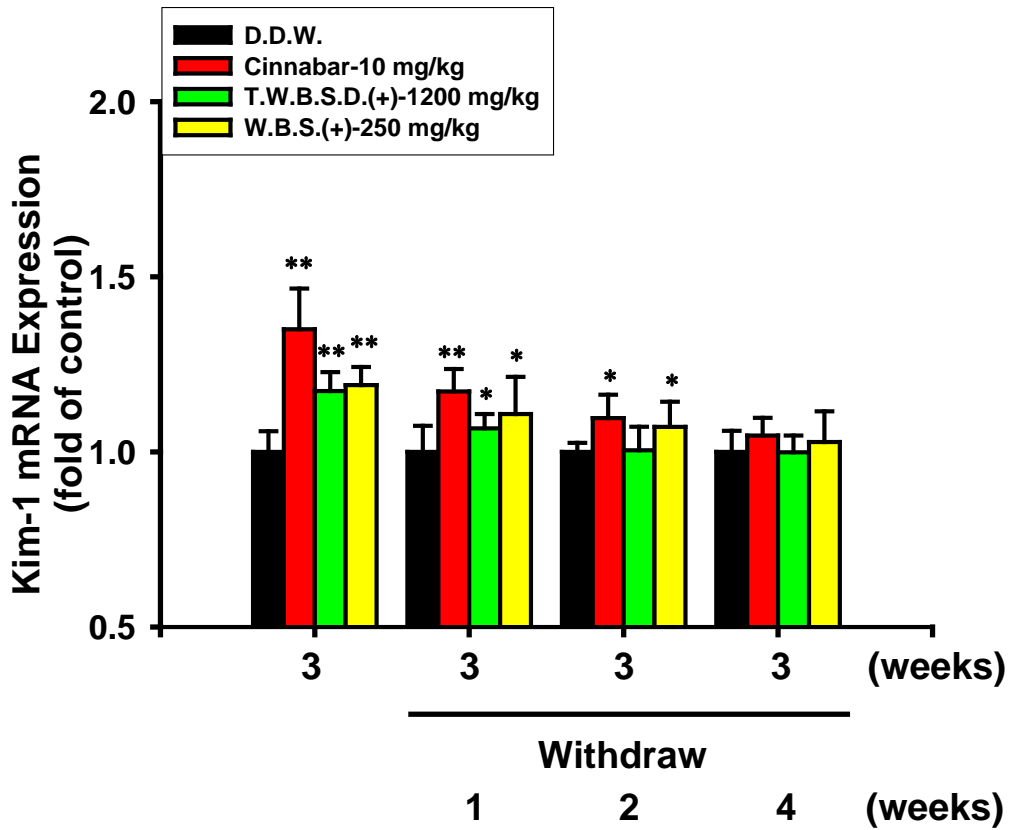


圖十六、B

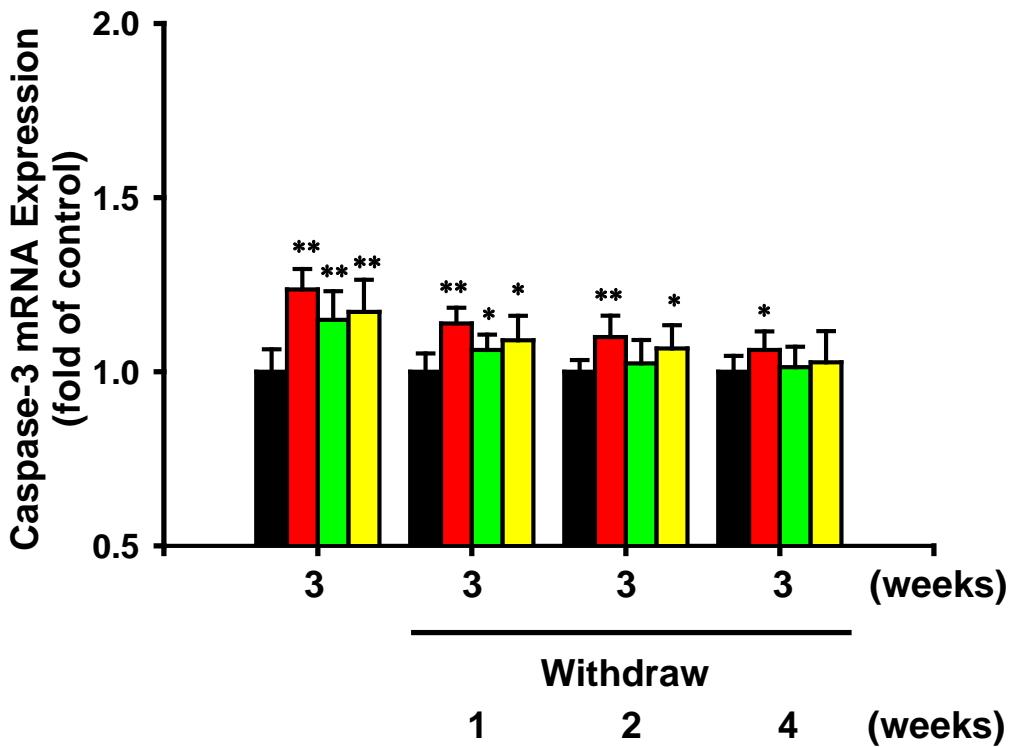


圖十六、飼食硃砂單方、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 3 週後及停藥後 1-4 週後對於引起鼯鼠肝臟組織毒性傷害有關之傳訊核糖核酸((A)Caspase-3; (B).GPx mRNA)改變情形(每組實驗動物數量為 10 隻鼯鼠($n = 10$); $*p < 0.05$)

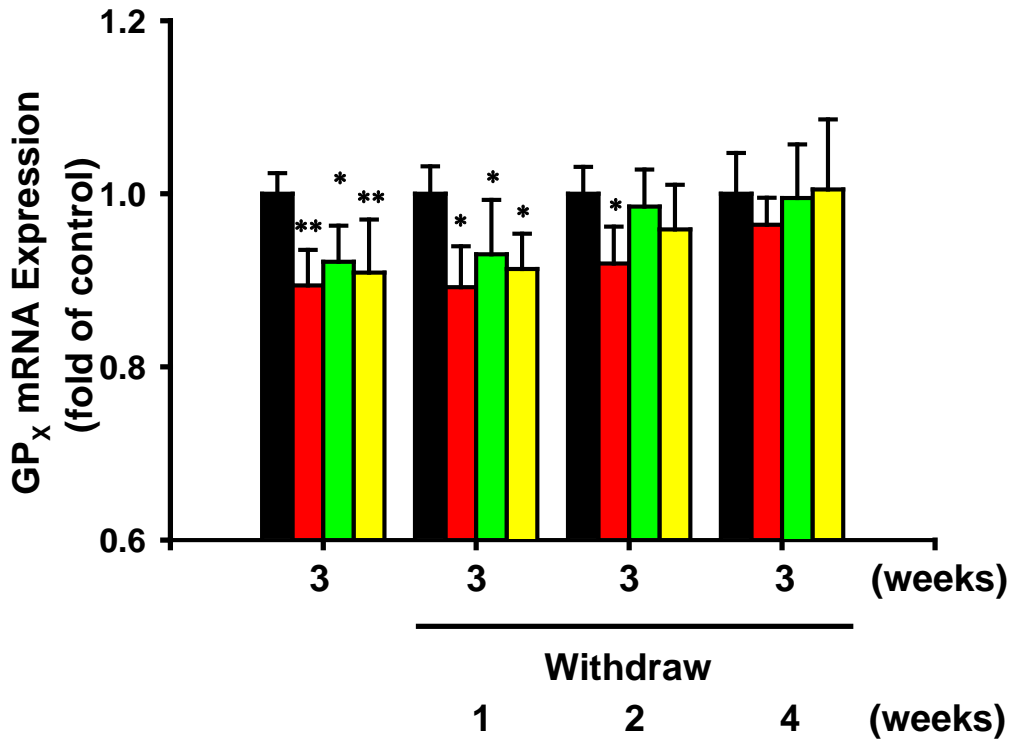
圖十七、A



圖十七、B

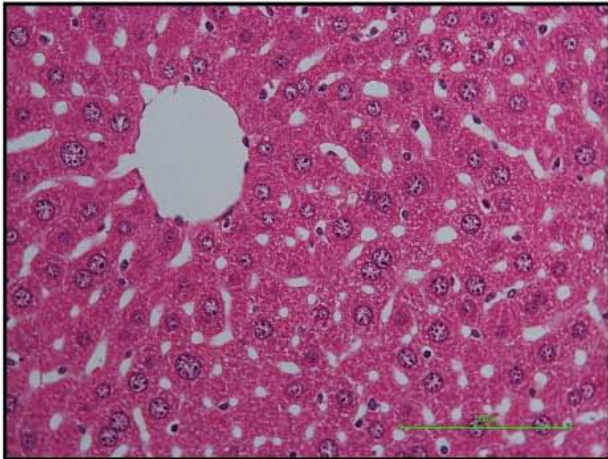


圖十七、C

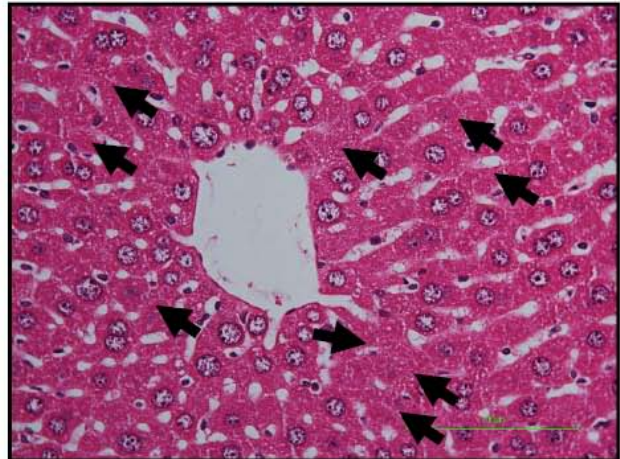


圖十七、餵食硃砂單方、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 3 週後及停藥後 1-4 週後對於引起鼯鼠腎臟組織毒性傷害有關之傳訊核醣核酸((A).Kim-1; (B).HO-1; (C).Caspase-3; GPx mRNA)改變情形(每組實驗動物數量為 10 隻鼯鼠($n = 10$); * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)

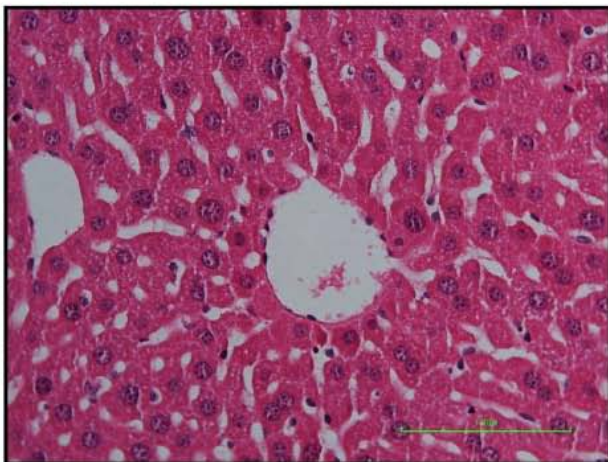
(A).連續餵食3週)



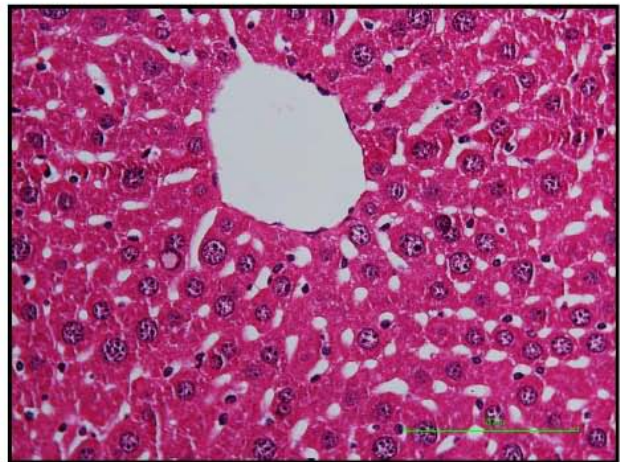
D.D.W



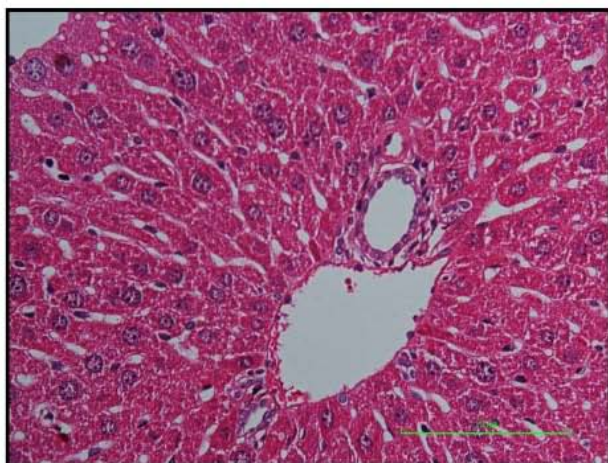
Cinnabar-10 mg/kg



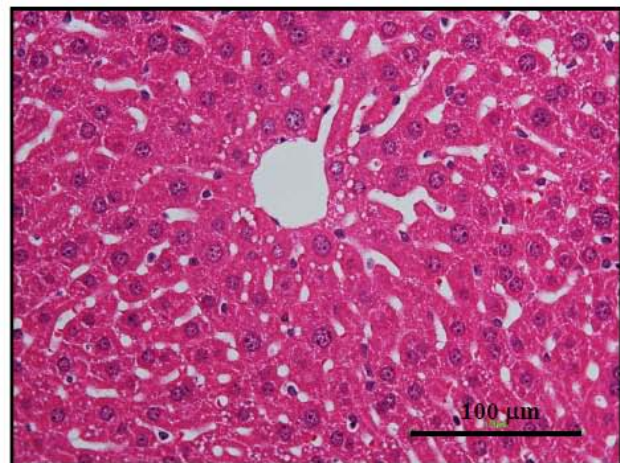
T.W.B.S.S.(-)-1200 mg/kg



T.W.B.S.S.(+)-1200 mg/kg

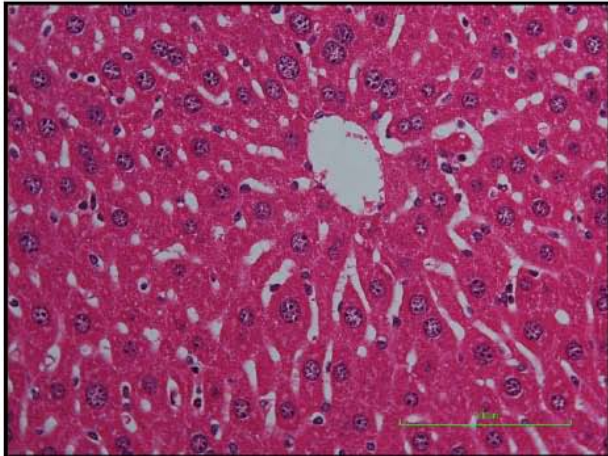


W.B.S.(-)-250 mg/kg

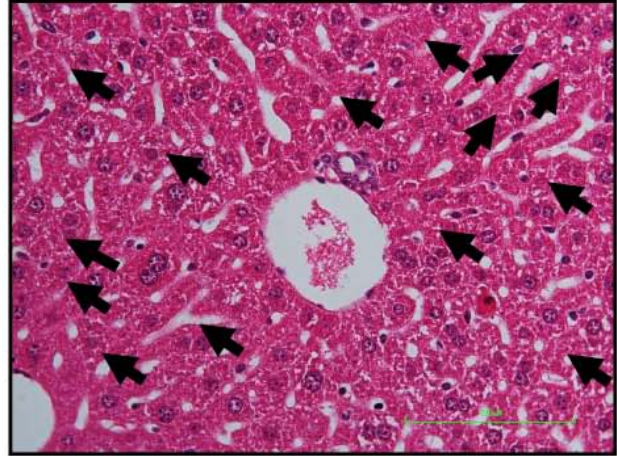


W.B.S.(+)-250 mg/kg

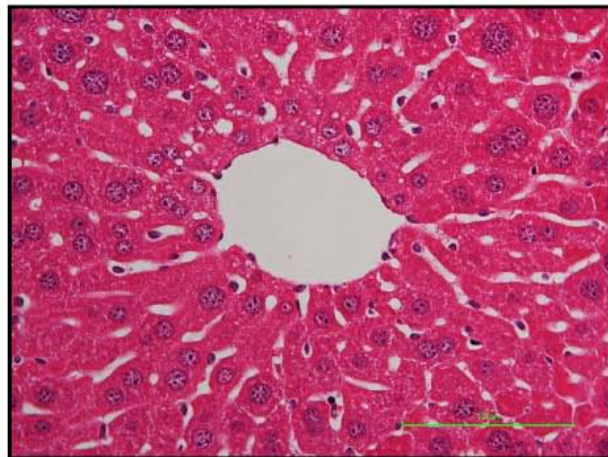
(B).連續餵食4週



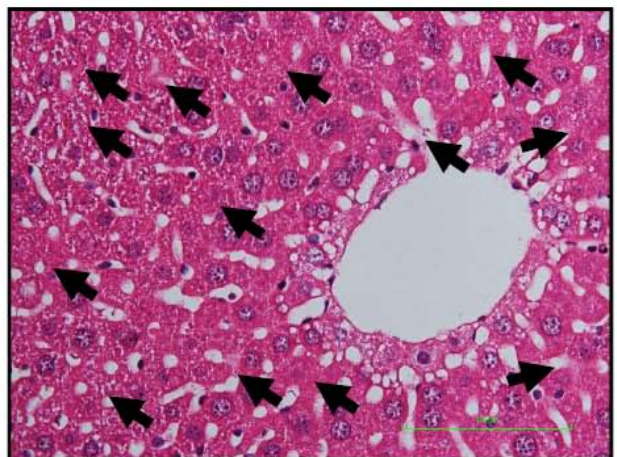
D.D.W



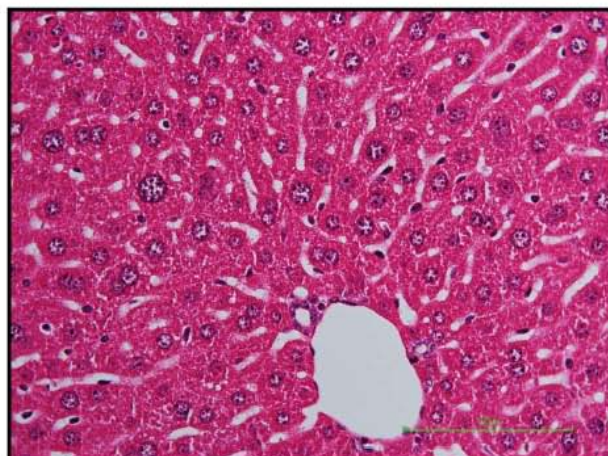
Cinnabar-10 mg/kg



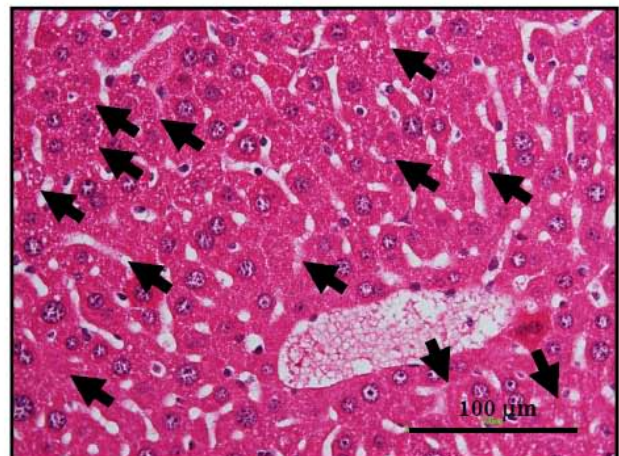
T.W.B.S.S.(-)-1200 mg/kg



T.W.B.S.S.(+)-1200 mg/kg

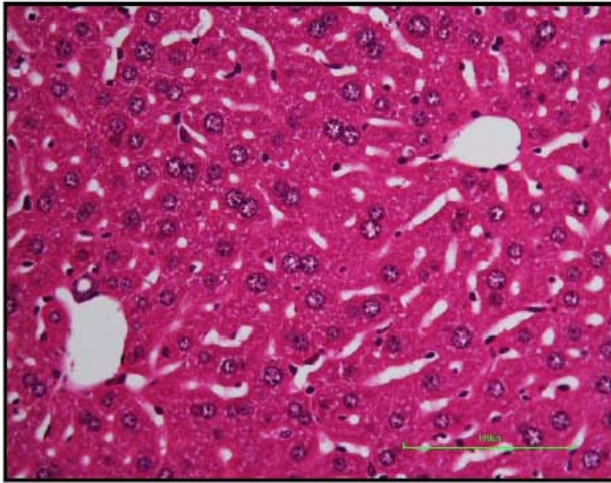


W.B.S.(-)-250 mg/kg

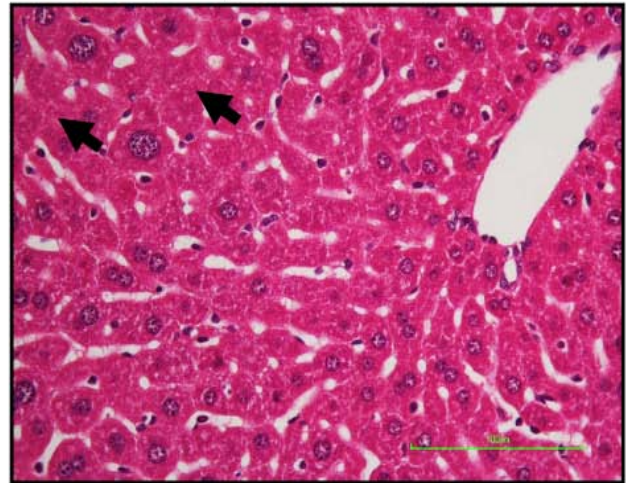


W.B.S.(+)-250 mg/kg

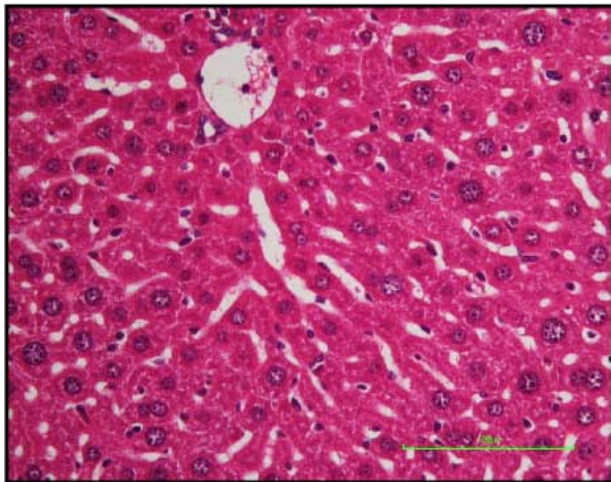
(C). 餵食3週, 停藥2週



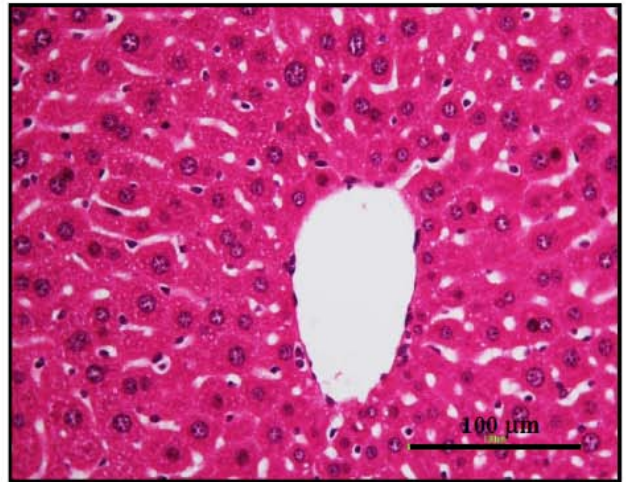
D.D.W



Cinnabar-10 mg/kg



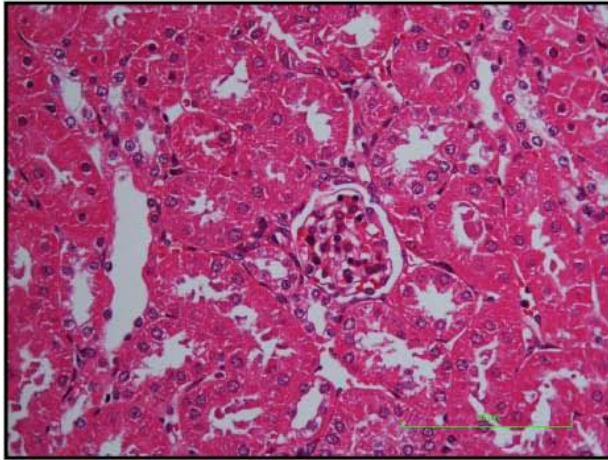
T.W.B.S.S.(+)-1200 mg/kg



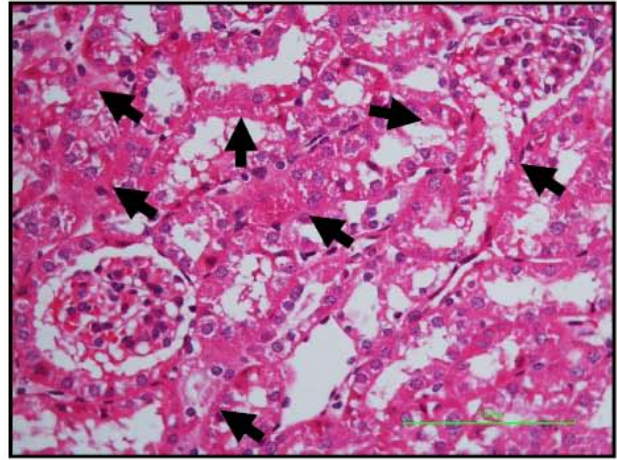
W.B.S.(+)-250 mg/kg

圖十八、餵食硃砂單方、天王補心丹濃縮散(不含硃砂; T.W.B.S.S.(-))、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、五寶散(不含硃砂; W.B.S.(-))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 3週(A)、4週(B)後、及停藥後2週(C)對於鼯鼠肝臟組織顯微構造(組織結構)之影響(箭頭指示：細胞死亡、膠原蛋白產生；放大倍率：400X)

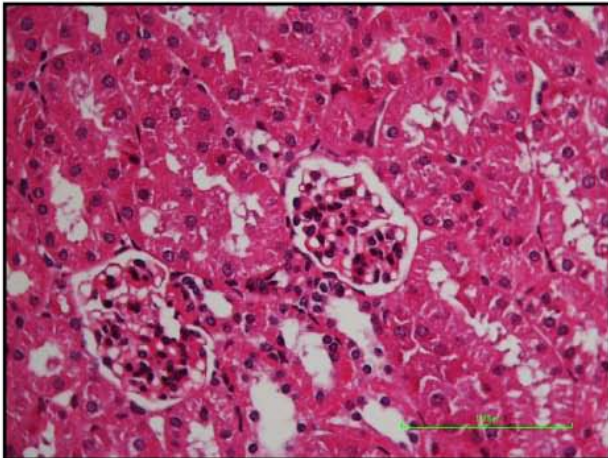
(A).連續餵食2週



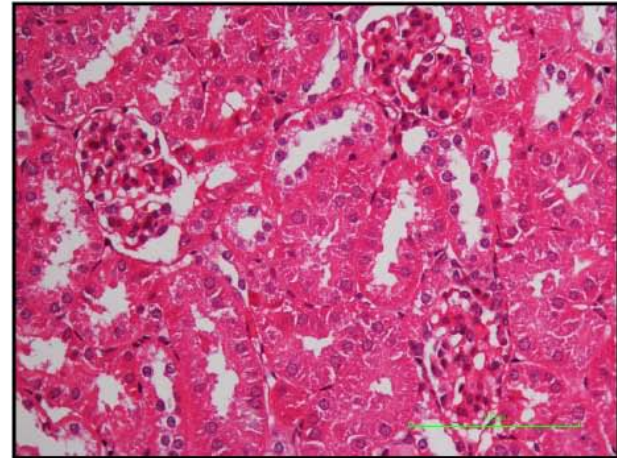
D.D.W



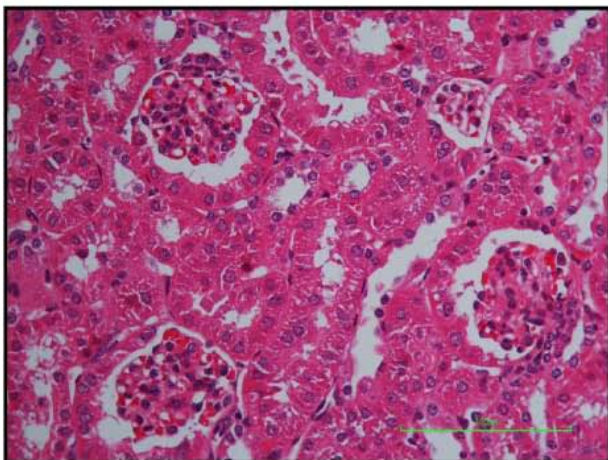
Cinnabar-10 mg/kg



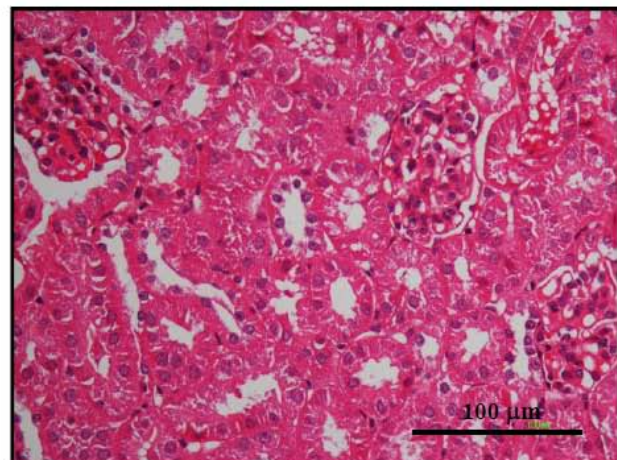
T.W.B.S.S.(-)-1200 mg/kg



T.W.B.S.S.(+)-1200 mg/kg

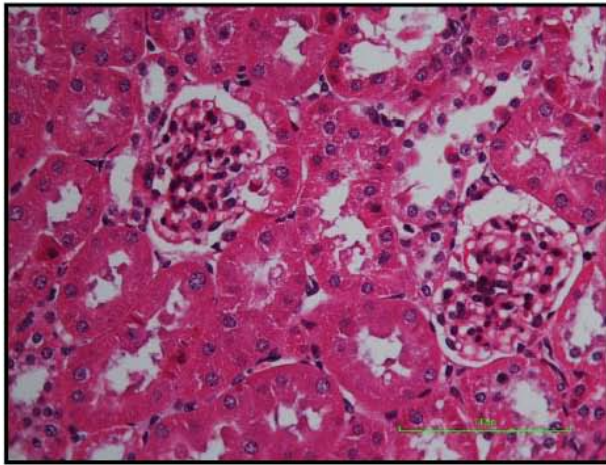


W.B.S.(-)-250 mg/kg

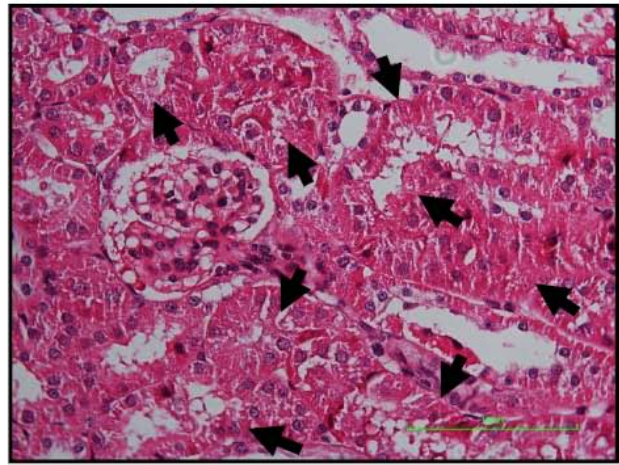


W.B.S.(+)-250 mg/kg

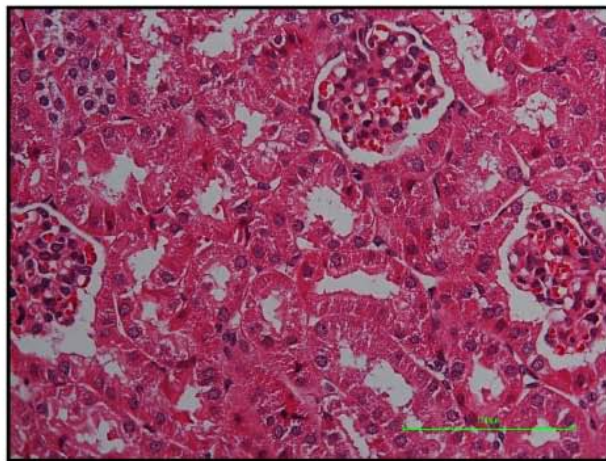
(B).連續餵食3週



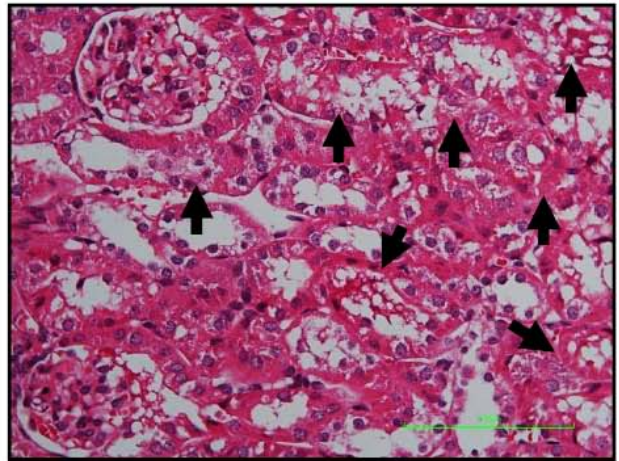
D.D.W



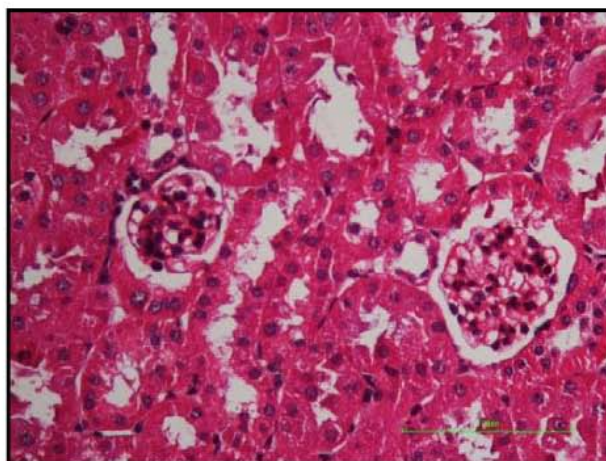
Cinnabar-10 mg/kg



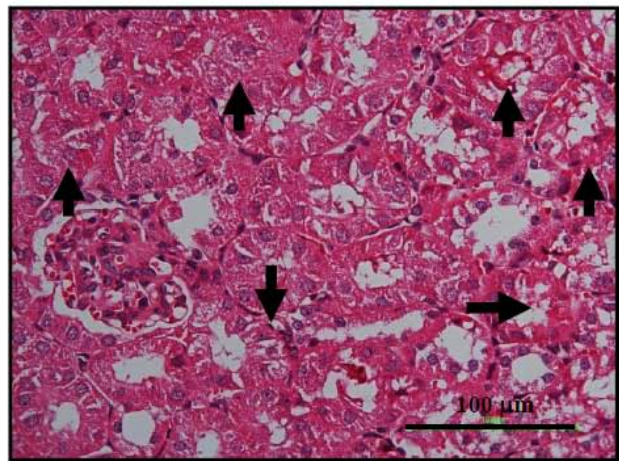
T.W.B.S.S.(-)-1200 mg/kg



T.W.B.S.S.(+)-1200 mg/kg



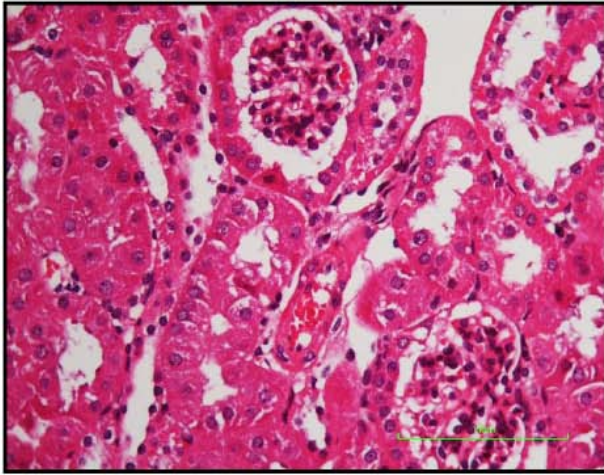
W.B.S.(-)-250 mg/kg



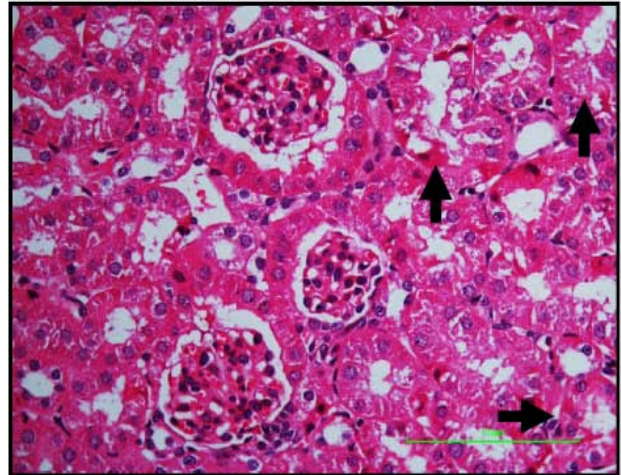
W.B.S.(+)-250 mg/kg

圖十九、C

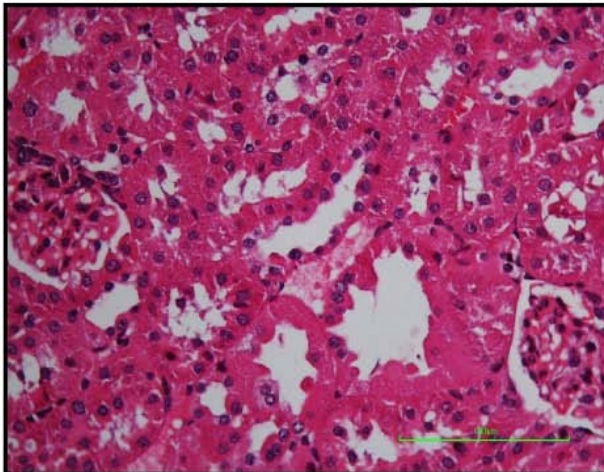
(C).連續餵食3週後,停藥4週



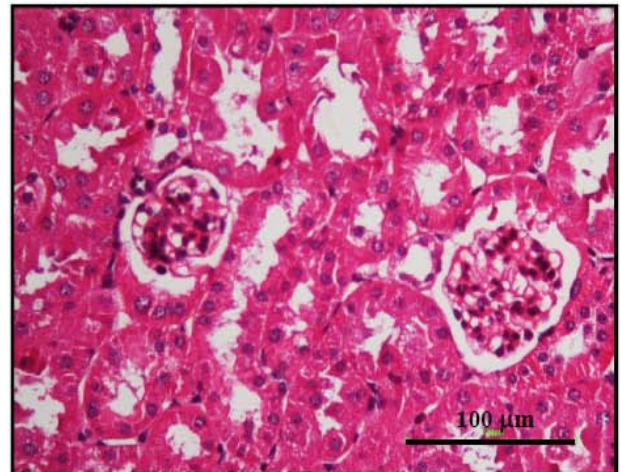
D.D.W



Cinnabar-10 mg/kg



T.W.B.S.S.(+)-1200 mg/kg



W.B.S.(+)-250 mg/kg

圖十九、餵食硃砂單方、天王補心丹濃縮散(不含硃砂; T.W.B.S.S.(-))、天王補心丹(含硃砂; T.W.B.S.D.(+))、五寶散(不含硃砂; W.B.S.(-))、與五寶散(含硃砂; W.B.S.(+)) 2週(A)、3週(B)後、及停藥後4週(C)對於鼯鼠腎臟組織顯微構造(組織結構)之影響(箭頭指示：細胞脫落、黏液蓄積；放大倍率：400X)

中西醫療法對非小細胞性肺癌病人預後之長期效益：個案配對研究—「中西醫療法對非小細胞性肺癌病人預後之長期效益(2-2)」

唐婉如
長庚大學

摘要

研究目的：

比較西醫治療與合併療法(合併中西醫治療)對非小細胞性肺癌病人預後(存活率、症狀困擾、身體活動功能、及生活品質)之長期效果。

研究方法：

本研究為兩年期之縱貫性研究，臺灣北、南兩所醫學中心中同步收案。個案為初診斷對為非小細胞性肺癌之患者，筆者透過主治醫師詢問個案對本研究的興趣，有興趣者會請研究助理與之聯絡說明研究方法並在個案同意下簽屬研究同意書。筆者依個案意願將之分配至西醫組與合併組，西醫組接受傳統化療，合併組除了接受傳統化療之外也定時接受中醫診療並依其證型給予適當的治則。筆者以症狀困擾表(Symptom Distress Scale, SDS)、身體活動功能量表(Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status Rating, ECOG-PSR)與生活品質量表(European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire, EORTC QLQ C-30 & EORTC QLQ-LC13)等測量工具在正式治療前(基準點資料，T1)、治療後第 1 個月(T2)、3 個月(T3)、6 個月(T4)、與 12 個月(T5)，分別測量兩組個案的症狀困擾、身體活動功能、及生活品質等重要變項。

結果與討論：

截至目前為止，共接觸 108 位符合收案條件的非小細胞性肺癌初診斷病人，其中 24 位(22.2%)拒絕參加研究，目前共收案 54 位接受西醫治療及 30 位接受中西醫合併療法的非小細胞性肺癌病人，反應率為 77.8%。經資料分析顯示，於 T1 時間點上，兩組個案在基本人口學與疾病嚴重度的變項上並無不同，代表兩組個案在基準點(T1)之同質性很高。誠如文獻所言，肺癌之預後較差，五年存活率只有 10-15%，本研究於收案過程中已有 16 位個案死亡(西醫組：11 位；合併組：5 位)，佔所有個案的 19.0%。根據卡方檢定(chi-square test)，兩組個案在 ECOG-PSR (T3)中，合併組個案比西醫組個案有較好的身體活動功能($p=0.033$)，依廣義估計

方程式(Generalized Estimating Equation, GEE)分析顯示，兩組個案在 SDS、EORTC QLQ-LC13 上並無不同，但是在 EORTC QLQ C-30 的身體功能與角色功能層面中，合併組個案比西醫組個案好，且達到統計上的顯著差異($p=0.023$ 和 $p=0.034$)。

建議衛生署中醫藥委員會能繼續支持類似研究，讓中西醫合併療法的效益能透過長期跨機構研究，在不同癌症別或相同癌症別但不同類型(如小細胞性肺癌及非小細胞性肺癌)上獲得測試，以便建立中西醫合作模式臨床路徑的實證資料庫。

關鍵詞：非小細胞性肺癌、中西醫療法、症狀困擾、身體活動功能、生活品質

Long-term Benefit of Chinese and Western Therapies for the Prognosis of Non-Small Cell Lung Cancer Patients (2-2)

Woung-Ru Tang
Chang Gung University

ABSTRACT

Research purpose:

To compare the long-term effect of western medicine and combined (Chinese and western medicine combined treatment) on the prognosis (survival rate, symptom distress, performance status, and quality of life) of patients with non-small cell lung cancer.

Method:

This 2-year longitudinal study concurrently enrolled the subjects at two medical centers in the northern and southern Taiwan. The subjects were the patients newly diagnosed with non-small cell lung cancer. The author asked the patients if they were interested to participate in this study through the attending physicians. The research assistant was requested to contact the patients interested in participating in this study, explain the research method to them, and have them sign the Informed Consent Form under their agreement. The author assigned the subjects to the western medicine group and combined group according to their willingness. The western medicine group received the traditional chemotherapy, while the combined group regularly received both traditional chemotherapy and Chinese medicine treatment. In addition, the combined group was provided with adequate treatment according to their physical constitution. The author used measurement tools, such as Symptom Distress Scale, (SDS), Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status Rating(ECOG-PSR), and European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire(EORTC QLQ C-30 & EORTC QLQ-LC13) to measure important variables, such as symptom, distress, performance status, and quality of life, of the two groups at baseline before the formal treatment (Baseline, T1), 1 month after the treatment (T2), 3 months after the treatment (T3), 6 months after the treatment (T4), and 12 months after the treatment (T2), respectively.

Results & Discussions:

To date, the author has been in touch with a total of 108 patients newly diagnosed with non-small cell lung cancer who met the inclusion criteria. 24 of them (22.2%) refused to participate in this study because they were afraid that their families would be worried. A total of 54 patients with non-small cell lung cancer have been enrolled to

receive western medicine treatment, and 30 patients with lung cancer have been enrolled to receive the Chinese and western medicine combined treatment, with a response rate of 77.8%. According to the data analysis, there was no difference in the basic demographic information and disease severity variables between the two groups at the time point of T1, suggesting that the homogeneity between the two groups at baseline (T1) is very high. As indicated in previous studies, the prognosis of lung cancer is poorer, and the 5-year survival rate is only 10-15%. During the process of this study, 16 patients passed away (western medicine group: 11 patients; combined group: 5 patients) (19.0% of the total subjects). According to the analysis of chi-square test, the ECOG-PSR (T3) of the combined group were better than that of the western medicine group($p=0.033$). Generalized Estimating Equation (GEE), there was no difference in SDS and EORTC QLQ-LC13 between the two groups. However, the performance status and role function of EORTC QLQ C-30 of the combined group were better than that of the western medicine group. In addition, the difference reached statistical significance ($p=0.023$ and $p=0.034$, respectively).

Committee on Chinese Medicine and Pharmacy Department of Health, Executive Yuan is advised to continuously support similar studies to help test the effectiveness of Chinese and western medicine combined treatment in patients with different cancer or the same cancer of different types (e.g. small cell lung cancer and non-small cell lung cancer) through long-term and cross-institutional studies to facilitate the establishment of empirical database for clinical pathway to Chinese and western medicine collaborative model.

Keywords: Non-small cell lung cancer, Chinese and western medicine combined treatment, Symptom distress, Performance status, Quality of life

壹、前言

肺癌是全世界癌症死亡率的第一名，在國內最近幾年衛生署公佈的男女十大癌症死因排名，肺癌也一直名列前茅¹。根據世界衛生組織的分類，肺癌依照生物特性、治療和預後的不同，則可大致分為小細胞癌(small cell lung cancer；SCLC)約佔所有肺癌的比率 12~15%和非小細胞癌(non-small cell lung cancer；NSCLC)約佔所有肺癌比率的 85~88%²。NSCLC 多由吸菸引起，多發生在男性，雖然癌細胞小，但是快速分裂並迅速擴散到其他器官，通常發生在肺部中央靠近肺門位置，容易往大的支氣管發展。NSCLC 又可分為三種類型：1.腺癌(Adenocarcinoma)，約占非小細肺癌 50%，是肺癌中最常見的類型，大多發生於女性，沒抽菸罹患肺癌者多屬此類，常長在肺部邊緣的腺體組織，多半有遠端轉移之後才出現臨床症狀。2.鱗狀細胞癌(Squamous cell cancer)，約占非小細肺癌之 20%，常見於男性吸菸者，多半長在肺部中央靠近肺門位置，早期為局部向外延伸的轉移，後期則經血路擴散。3.大細胞癌(Large cell cancer)，約占非小細肺癌之 10%，主要發生在肺部周邊組織，雖然生長速度較緩慢，但常有早期轉移的現象²。

肺癌分期的目的主要是提供治療的選擇及作為判斷預後的指標，也可當成描述疾病的統一標準。SCLC 一般採美國榮民醫院(Veterans Administration Lung Cancer Study Group)之兩階段分期：1.局限期(limited stage)，腫瘤局限在單側胸廓內的病灶，可被涵蓋入一個放射線治療計畫的範圍。2.擴散期(extensive stage)，超過局限期範圍，有惡性肋膜積水，或出現遠端轉移情形。NSCLC 則是根據美國癌症聯合委員會(American Joint Committee on Cancer Staging, AJCC)的分期法，2009 年 10 月公佈了第七版的癌症分期³。肺癌期別的訂定分別依照：腫瘤大小(T)、淋巴結的狀況(N)及是否遠端轉移(M)的三大因素，再將之分成 I 至 IV 期。

SCLC 因容易早期轉移，故多以化學治療為主要的治療方式，有時也建議化學治療加放射線治療合併使用⁴。NSCLC 的治療以手術、化學治療與放射線治療為主，視病患狀況與疾病情形、癌症期別，可能使用單一或合併的方式治療。各國針對該癌症第 I 與 II 期病患的治療指引，皆建議使用手術治療；對於 IIIA 期的病患，若可接受手術切除病灶，則建議使用手術治療，若不可切除，則建議使用同時化學放射線治療；對於 IIIB 期的病患，有指引建議使用放射線治療或加上化學治療，部分指引則建議使用同步化療放射線治療；對於 IV 期的病患，目前仍以化學治療為主^{2,5}。

中醫對肺癌的治療在大陸已十分風行，特別是針對老年人罹患晚期(III-IV 期)之非小細胞性肺癌(NSCLC)的治療上⁶⁻¹²。肺癌的中醫治療十分重視證候。證是證據而候是外觀(亦即病人的臨床表現)，以四診(望、聞、問、切)獲取證候，再進行辨證治療^{8, 13-14}。中醫對肺癌的治療不像西醫這麼標準化，反之非常有個別性。一般而言，當確立診斷但病人尚未出現腫瘤相關症狀時，選擇以「辨病論治」(如使用白花蛇舌草、黃藥子、蒲公英、黃芩、半枝蓮、天門冬、豬苓、乾蟾皮、龍葵、山慈姑...)為主，「辨症論治」為輔再加上適當的引經藥(如:百部、百合)等方式治療；如果病人已出現腫瘤相關症狀，則視病人的證型(肺脾氣虛、肺熱痰阻、肺胃陽虛、氣滯血瘀..等等)以「辨證」和「辨病」論治相結合的治則處理^{8, 15}。臨床上病人的「證」在不同的疾病階段可能會改變，因此要隨之轉換處方不能拘泥於某一處方而錯失治療良機⁸。此外，以肺癌為例，中醫又可大分為有根據(泛指宮廷醫療根據病人脈象給藥，多半為合方治療，如藿香正氣散或易咳散治療)、及無根據(多以土茯苓、刺五加、蒲公英等做單方治療)，多數中醫建議合方治療而非單方治療¹⁰。若依據中華中醫協會對人類體質的分類，又包含 9 大體質，再考慮男、女不同性別，因此治療就可大分為 18 種(9×2(男&女)=18)，如果加上節氣(春、夏、秋、冬)之考量，其治療處方可謂包羅萬象¹⁶。

近年來中西醫合併療法對肺癌病人預後的效益已逐漸形成共識⁸⁻⁹，專家認為中西醫合併療法對肺癌病人的預後比只用西醫或純中醫療法來的有效¹⁷，它不但可以增進化療效果、降低化療不適症狀、更可促進病人生活品質。研究者發現以放射線治療合併中醫治療可減少晚期(stage III-IV)肺癌病人接受化療的療程，延長化療之間距，因此對病患生活品質的提升與延長生存期有正面的效果⁶。此外，也有學者針對晚期肺癌病人使用純中醫或合併中西醫療法進行兩個療程(6-8 週)的觀察，發現合併治療組的病人比純中醫組的病人有較佳的近期療效，也不會造成免疫功能受損，因此建議晚期肺癌病患使用中西醫合併療法¹¹。周等人⁷更以前瞻隨機對照研究來比較接受化療、純中醫治療、及中西醫合併療法的晚期肺癌病人之預後，以 Cox Regression 分析發現合併療法與純中醫治療組的死亡率比化療組低，此外，也發現性別、體重、身體活動功能、血液濃度、腫瘤大小、與治療方式是影響肺癌病人生存之重要預後因素。在另一份隨機臨床試驗中，研究者亦發現使用 Feiji recipe(為一種複方中醫煎劑)的中醫組與化療合併 Feiji recipe 對 NSCLC 病人生活品質(特別是在角色、社交、疲憊、及整體健康上)

的維持都較化療組為佳¹⁰。另外，也有學者運用開放性非隨機對照研究來檢視西醫治療與順序性中西醫療法(先完成放療/化療之後再使用中藥 4-6 個月)對晚期肺癌預後的效益，結果發現中西醫合併療法組的個案在第 2 及第 3 年生存率上明顯的優於西醫組個案，其生存期也比西醫組延長 6 個月⁸。從一份前瞻性隨機控制的跨機構臨床試驗，學者也發現接受中西醫合併療法的 NSCLC 個案比接受化療的個案，有較佳的生活品質和較長的生存期¹²。由以上文獻統整中不難看出中醫及中西醫合併療法對肺癌病患預後及生活品質的效益。

國內外研究發現肺癌病人 5 年存活率僅 11-15% 左右¹⁸⁻²⁰，可能與肺癌初期多無症狀，因此三分之二的病人發生症狀並確定診斷時已屬晚期(Stage III B-IV)²¹ 有關。五年存活率指的是凡診斷出為癌症患者，經過正規西醫治療後，五年之內平均存活的機率。國際間更以五年存活率當成癌症病人預後的重要指標¹⁴。此外，根據筆者回顧最近三年的文獻顯示，學者常以存活率^{14, 22-23}、癌症侵入程度²⁴、平均存活時間²⁴⁻²⁸、癌症復發與否²⁹、生活品質^{25, 27, 30}、身體活動功能²⁷、疼痛強度²⁷、整體健康狀況²⁷、及因治療副作用而中斷治療²² 等做為肺癌病人對治療之預後指標。因此在參考上述文獻之後，於本研究中，筆者以存活率、症狀困擾、身體活動功能、及生活品質等為評估中西醫療法對肺癌病人預後之長期效果指標。

貳、材料與方法

筆者以個案配對研究(Matched case-control study)，在控制可能的干擾變項(性別、和腫瘤期別)之後，長期追蹤接受西醫療法、與合併療法的非小細胞性肺癌初診斷個案。本研究之理論架構是依據相關文獻所得延伸而出，個體本著自身的基本屬性(年齡、性別、教育程度、與經濟狀況)與相關治療資料(共病性、肺癌期別、自覺整體健康狀況、與對治療的整體評估)，加上檢查結果和對治療花費的考量，會選擇不同的治療方法來對抗肺癌的威脅，進而衝擊預後指標。而治療期間透過主、客觀預後指標(存活率、症狀困擾、身體活動功能、及生活品質)的長期追蹤可瞭解不同療法(西醫治療、及合併療法)之效果，研究架構如圖一 (p.22)。

一、收案機構與個案數

筆者採方便取樣(Convenience sampling)在北、南長庚醫療系統中收取 54 位接受正規西醫治療及 30 位接受合併治療的非小細胞性肺癌初診斷病人。凡符合下列條件者，均列為可能的收案對象：

1. 年滿 20 歲之成人
2. 初診斷為非小細胞性肺癌且癌症分期為 III-IV 者
3. 接受西醫、或合併療法的非小細胞性肺癌病人
4. 了解研究目的與過程並同意參與研究者

如果個案的中醫診療項目與肺癌無關，則不會列入收案之考量。此外，個案若呈現意識不清及無法溝通者則排除於本研究中。

二、研究工具

研究工具包括症狀困擾量表、生活品質量表、身體活動功能量表、及個案基本資料表。以下敘述研究工具之信效度：

(一)症狀困擾量表 Symptom Distress Scale (SDS)

本研究採用賴³¹修訂自 McCorkle & Young³²所發展的症狀困擾量表來測量不同組別個案之症狀困擾，共計 22 題。量表採 Likert 五分法計分，1 分表示完全沒有不舒服，5 分代表該症狀非常嚴重困擾病人。總分介於 22-110 分之間，分數越高表示症狀困擾程度越高。此量表已廣被使用於癌症相關研究中，具有良好的信效度^{31,33}。在本研究中，SDS 的內在一致性為 0.89。

(二)生活品質量表 European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire (EORTC QLQ C-30 & EORTC

QLQ-LC13)

正在接受治癒性治療的癌症病人其生活品質的測量應關注的是健康相關的生活品質，而健康相關生活品質量表又可分為一般性測量及特定疾病別測量。本研究採用歐洲癌症治療與研究組織所推薦的 EORTC QLQ C-30 量表來測量接受西醫治療或接受合併療法的肺癌病人的一般性生活品質。EORTC QLQ C-30 是由 Aaronson 等人於 1993 年所發展³⁴，歷經修改目前推薦使用 3.0 版本。此版本共 30 題，包含五個功能次量表(身體、角色、認知、情緒、及社交)、癌症常見症狀(疲憊、疼痛、噁心嘔吐、呼吸困難、食慾降低、失眠、便秘、和腹瀉)、及兩個單一題測量(Single item indicator)，分別為第 29 及 30 題針對整體健康和整體生活品質做測量。除了兩題單一測量採 1-7 數字記分(1=非常差、7=極好)之外，其餘題目皆採 1-4 數字記分(1=完全沒有、2=有一點、3=相當多、4=非常多)。在本研究中，EORTC QLQ C-30 整體量表的內在一致性為 0.88，而各次量表的內在一致性介於 0.77 和 0.93 之間。

針對特定疾病別生活品質的測量，筆者採用 EORTC QLQ-LC13，這是歐洲癌症治療與研究組織針對肺癌病人與治療所發展出來的特定疾病別生活品質測量工具，用來評估肺癌相關症狀及肺癌病人接受化療或放療後生活品質的改變，通常搭配 EORTC QLQ C-30。EORTC QLQ-LC13 共有 13 題，採 1-4 數字記分(1=完全沒有、2=有一點、3=相當多、4=非常多)。這兩份國際知名的生活品質問卷已被翻譯成多國語言，廣被世界各國學者應用於腫瘤相關的臨床試驗中，具有良好的信效度³⁵。在本研究中，EORTC QLQ-LC13 的內在一致性為 0.81。

(三) 身體活動功能量表 Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status Rating (ECOG-PSR)

ECOG-PSR 在歐洲廣被用來測量癌症病人的身體活動功能。範圍 0-4 分，0 分表示完全可以自由活動，4 分為完全沒辦法自己活動，必須依賴別人幫忙自我照顧。分數越高，代表身體活動功能愈差³⁶。效度方面，ECOG-PSR 與 KPS (The Karnofsky's index of performance status) 之相關性很高($r = 0.87$)³⁶。由於 ECOG-PSR 只有 1 題，故沒有內在一致性信度資料。此份量表簡

單易使用，可由病人自行填答，或由家屬與照護者代為評估。

(四)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，內容包括人口學特性及相關治療資料兩大方面。人口學變項包括：年齡、性別、教育程度、宗教、婚姻狀況及自覺經濟狀況等。相關治療資料則包括：過去病史、共病性、肺癌分期、患病期間、治療處方與劑量、及自覺整體健康狀況。此外，也包含實驗室檢查數據(Hb, WBC, N/L, Platelet 和 GOT/GPT..等)及理學檢查數據(Chest X-ray, Chest CT, 病理切片, 頸部超音波)等資料。筆者亦評估個案自覺西醫療法與合併療法的效果、及是否規律使用該療法等。因為根據研究顯示，若個案認為療法效果很好，會比認為療法沒效果或效果不好的人有較少的不適症狀及較佳之生活品質³⁷，因此對治療的遵從行為可能會增加，進而影響預後，所以了解個案對治療的想法與是否規律接受治療十分重要。

三、資料收集過程

經過近兩年不斷的溝通和努力，筆者已與兩所收案機構中的胸腔科及中醫部醫師們建立共識。兩位研究助理分別負責跟診林口與高雄長庚肺癌個案數最多的主治醫師，其它主治醫師於看診過程中若發現符合收案條件之個案，隨即先跟病人簡單說明本研究的目的，若病人有意願進一步了解本研究的方法及義務，在病人的同意下，主治醫師會通知研究助理，再由研究助理與個案聯繫，做更深入的說明並取得研究同意書。正式取得個案親自簽名的同意書後才開始收集資料。針對不願參與或中途退出的個案，除了紀錄其原因之外，研究人員亦從病歷中收集個案年齡、性別、教育程度、及癌症分期等資料，以便未來比較拒絕研究、中途退出、和完成研究者在基本人口學資料與疾病嚴重度上有無不同，詳細收案流程圖請見圖二(p.23)。

本兩年期研究之資料收集點共 5 點，分別於個案確診後但尚未開始治療前(Baseline, T1)、開始治療後第一個月(T2)、第三個月(T3)、第六個月(T4)、及第十二個月(T5)。研究人員於各個收案時間點，皆親自前往病房或門診收集研究所需資料(包括 SDS、EORTC QLQ C-30 & EORTC QLQ-LC13、ECOG-PSR、及相關治療資料)。基本人口學資料只有在 T1 才需收集。至於客觀資料，如實驗室檢查數據、理學檢查資料、或肺癌分期與治療等，皆由研究人員前往機構中閱讀病歷而取得。

四、資料處理方法

(一) 資料處理軟體：Statistical Package for the Social Science (SPSS 17.0)

(二) 資料分析方法：在輸入資料前後，研究者與研究助理重複檢查資料輸入之正確性。本研究顯著水平 α 為 0.05.依研究目的將資料分析的方式分為描述性統計及推論性統計，茲敘述如下：

1. 描述性統計：依照變項不同的數據尺度，而使用不同的描述性統計方法。資料的尺度可分為四種：等比(ratio)、等距(interval)變項是屬於連續型資料，常以最大值、最小值、平均值及標準差等來描述，如年齡變項；名義(nominal)、和次序(ordinal)變項，則是屬於類別型資料，常以次數分配、百分比來描述，如：性別、和教育程度等變項³⁸。
2. 推論性統計：因肺癌病程動態多變，醫師會依病況調整治療方式，原則上研究團隊並不會排除病人，但會繼續追蹤其治療方式並詳細登錄證型、治則、處方、與劑量等相關資料。還好經統計分析，西醫組與合併治療組的肺癌病人在尚未開始治療之前(Baseline, T1)其基本人口學及疾病變項上並無不同，因此筆者在沒有控制任何干擾變項之下，使用廣義估計方程式(Generalized estimating equations, GEE)，比較兩組個案在結果變項(如: SDS、及 EORTC QLQ C-30 & EORTC QLQ-LC13)上的差異。由於 ECOG-PSR 是屬於類別型資料並非連續型資料，因此筆者不能使用 GEE 而採卡方檢定來比較兩組在不同時間點上身體活動功能有無差異。

參、結果

截至 101 年 12 月 4 日為止，我們共接觸 108 位符合收案條件的肺癌初診斷個案，其中 24 位拒絕參加研究(12 位是家屬拒絕，6 位是病人拒絕，6 位是已參加其他臨床試驗)，84 位個案完成 T1 的資料收集，反應率(response rate)為 77.8% (定義：於研究期間接觸多少符合選樣條件的個案，而真正參與研究且回答研究資料的個案又有幾位，之間的比率=84/108=77.8%)。專家建議 60%的反應率，本研究的反應率為 77.8%應可不用擔心反應偏差(response bias)的問題³⁹。研究個案追蹤圖請見圖三(p.24)。為求慎重，筆者分析 24 位拒絕參與者和 84 位參與者在基本人口學資料與疾病嚴重度上有無差異，發現除了年齡之外其它變項並無不同。拒絕參與者的平均年齡比參與者大，且達到統計上的顯著差異(67.21±13.31 vs 60.28±11.04, p= 0.011) (見表一, p.28)。

84 位參與者中，54 位個案接受正規西醫療法(A 組:西醫治療組)，其平均年齡為 61.3±11.12 歲、以男性為主(64.8%)、多數為已婚(88.9%)、教育程度多為國中或國中以下層級(72.2%)、72.2%無工作、半數個案認為經濟狀況為中等程度足夠(50.0%)、一半以上的個案(57.4%)除了罹患肺癌之外，同時也有其它共存疾病，如高血壓或糖尿病等等。77.8% 個案罹患肺腺癌、癌症期別多為第四期(72.2%)、50.0%接受傳統化學治療、化療藥物多使用 Docetaxel 加上 Cisplatin (44.2%) (請見表二, p.29)。

84 位參與者中，30 位個案接受中西醫合併療法(B 組:合併治療組)，其平均年齡為 58.31±10.79 歲、以男性為主(73.3%)、多數為已婚(80.0%)、教育程度多為國中或國中以下層級(46.7%)、63.3%無工作、66.7%個案認為經濟狀況為中等程度足夠、半數個案(50.0%)除了罹患肺癌之外，同時也有其它共存疾病，如高血壓或糖尿病等等。60.0% 個案罹患肺腺癌、癌症期別多為第四期(53.3%)、60.0%接受傳統化學治療、化療藥物多使用 Docetaxel 加上 Cisplatin (60.0%) (請見表二, p.29)。

合併組的個案於治療過程中，由研究助理主動以電話關心，並依其化療所出現的副作用情形幫忙個案做中醫門診掛號，讓特定中醫師 (林口長庚: 楊主任；高雄長庚: 黃部長)為其看診，並依個案所出現的證型提供個別化的治則，目的在降低化療副作用及提升個案生活品質。研究過程中，平均每位合併組個案看診中醫之次數為 12.1 次(SD=8.8, 實際範圍=2-32 次)。合併組個案在各個收案時間點 (T2-T5)的中醫證型與治則相關統計資料請見表三(p.31)。由表三可知合併組個案較常見的中醫證型是氣陰兩虛、氣血淤滯、痰

濕蘊肺、和陰虛內熱；其治則多為益氣養陰、養陰清熱、健脾燥熱、和活血散瘀。

筆者以獨立樣本 T 檢定及卡方檢定等統計方法，發現在尚未接受任何正式治療前(Baseline,T1)，兩組之人口學與疾病嚴重度等相關變項上，並未達到統計上的顯著差異(請見表二, p.29)，顯示兩組個案在人口學與疾病嚴重度的同質性很高，為筆者所樂見之情形。此外，在重要結果變項(如身體活動功能、生活品質、和症狀困擾)的分析上，兩組在尚未接受任何正式治療前(Baseline,T1)，西醫組在一般性生活品質(EORTC QLQ C-30)肺癌常見症狀中的疼痛與呼吸會喘項目上，顯著的高於合併組($P<0.05$)。此外，西醫組在疾病特定生活品質(EORTC QLQ -LC13)的呼吸困難項目上，顯著的高於合併組($P<0.05$)，其餘變項皆未達到統計之顯著差異($p>0.05$)(見表四,P.33)。

此外，筆者以卡方檢定針對 T2、T3、T4、T5 之身體活動功能狀態，比較兩組之間的差異，結果顯示在 T3 時間點上，合併組在執行日常活動正常，可以從事所有活動而無限制的比例上高於西醫組，且達到統計顯著差異($P=0.033$)(見表五-八，P.35-38)。根據廣義估計方程式(Generalized Estimating Equation, GEE)分析，經調整時間效應，顯示在一般性生活品質(EORTC QLQ C-30)的身體功能與角色功能層面中，合併組個案比西醫組個案好，且達到統計上的顯著差異($p<0.05$)(見表九，P.39)。雖然在 GEE 分析中，合併組在生活品質中的疼痛、呼吸會喘、和呼吸困難等症狀上都顯著低於西醫組，但因為在基準點(T1)測量上兩組就有差異，因此需進一步以 GEE 分析，比較兩組於各時間點上，在以上症狀的改變量，發現兩組並無顯著差異(見表十, p.40)。

肆、討論

傳統中醫療法(Traditional Chinese medicine, TCM)是台灣民眾最常使用的補充性/替代性醫療(Complementary alternative therapy, CAM)⁴⁰⁻⁴¹。雖然如此，無論是一般民眾⁴²⁻⁴⁴或是癌症病人⁴⁵⁻⁴⁶，其心目中最好的治療方式仍是以西醫為主，CAM 或 TCM 為輔的治療觀念。王等⁴⁷強調中醫治療可以貫穿整個癌症治療過程，在不同癌症階段配合西醫，可以降低西醫治療的副作用減輕不適症狀、提高病人生活品質、與延長生存期。TCM 對癌症病人在治療過程中副作用的效益已被少數質性研究證實⁴⁸⁻⁴⁹。雖然如此，在欠缺量性實證的情形下，依據筆者的臨床觀察，癌症病人在林口長庚醫學中心同時併用中西醫療法的比率並不高。本研究由胸腔科醫師主動詢問病人對 TCM 使用的意願，即便如此也只有 35.7%的個案同意使用。根據研究顯示，台灣癌症病人 TCM 訊息的獲得常來自親友或病友而非醫護人員⁵⁰，臨床上癌症病人若提起 TCM 的使用，多半不能獲得醫師的支持¹⁶。本研究在胸腔科醫師主動詢問之下，29.7%的肺癌病人真正使用了 TCM，比 Pu 等⁵¹研究五大癌症別中之肺癌病人之使用率稍高(16.03%)。也許是因為研究族群的不同，過去許多研究發現女性較常使用 TCM^{40, 45, 50-53}，但本研究聚焦於以男性為主的肺癌上，因此發現男性的使用者較女性為多。

本研究根據資料分析，發現相較於西醫組個案，合併組個案有較好的身體活動功能與角色功能，與來自中國大陸學者針對非小細胞性肺癌所做的研究結果雷同^{10, 54-56}，但兩組個案在其他重要變項上(症狀困擾、疾病相關生活品質、和死亡率)，並無顯著差異($p > 0.05$)，這與其他學者所見不同^{7-8, 57-58}。可惜的是，上述證明 TCM 或合併療法效益的文獻中，只有一篇是刊登在 SCI 雜誌¹⁰，其它文章都是出自中國大陸境內期刊^{7-8, 54-61}，且在方法學及測量工具的選擇上良莠不齊(例如有學者以身體活動功能量表來測量生活品質⁵⁹⁻⁶¹)。

檢視 ECOG-PSR 曲線圖，顯示整體合併組個案身體活動功能有進步(見圖四, p 25)，針對本研究合併組個案有較好 ECOG-PSR (T3)、和 EORTC QLQ C-30 的身體功能與角色功能的解釋上，有鑒於 EORTC QLQ C-30 的身體功能次量表之分數是由 5 個題目所組成，而 ECOG-PSR 為單一題的數據，加上我們合理的推測身體活動功能好的個案才能行使其角色功能，因此為了深入了解合併組個案使用中藥哪類配方對身體活動功能有效，我們以 EORTC QLQ C-30 的身體功能數據為主，仔細檢視每個時間點上分數變化

之曲線圖，若個案之 T5 分數大於 T1、或 T5 分數等於 T1 而且 T5 分數大於 T4 或 T5 分數等於 T4 者，就被認定是身體功能有進步者。發現符合以上條件之合併組個案共有五位(ID: 32, 35, 48, 52 & 56)(見圖五-九, p 25-27)，接著再一一整理出這些個案的證型、治則、與方藥(見表十一, p 41)，並請教中醫專家(黃部長與楊主任)哪些藥材會對身體活動功能有益？中醫專家認為所有的中藥都是搭配病人的證型所開的處方，是基於整體性的考量不能分開來看，沒有辦法說哪一個藥材對身體活動功能有效¹⁰ (Personal communication with 黃部長 on Dec 05, 2012)，但是楊主任表示，要促進病人身體活動功能(體力)，不外乎補虛(包括補氣、補血、補陽、和補陰)，雖不建議針對某一成分來分析，但可由病人的證型、治則、與處方(複方)中來釐清邏輯。例如某位個案(ID:32)於 T3 出現脾虛證型，醫師給予香砂六君子湯和補中益氣湯來補氣，都對體力有益；同個案在 T4 出現氣陰兩虛證型，醫師給予香砂六君子湯、參苓白朮散、和補中益氣湯來補氣，都對體力有益；同個案在 T5 出現氣血瘀滯和氣陰兩虛證型，醫師給予參苓白朮散、補中益氣湯、和舒經活血湯來補氣及活血，都對體力有益。

以 ID:56 而言，個案於 T2-T4 都出現痰濕證型，這類個案會有肢體重拙感因此要讓個案肢體輕鬆，所以給予二陳湯，另外個案也有氣陰兩虛證型，因此給予香砂六君子湯補氣；同個案在 T5 出現肺陰虛證型，因此給予知柏地黃丸補陰。

此外，ID:35 個案於 T1-T5 都出現氣血瘀滯證型，這類個案因血瘀會產生肢體不順暢因此要讓個案活血化瘀，所以給予血府逐瘀湯(Personal communication with 楊主任 on Dec 05, 2012)^{8, 10, 15, 62-63}。以上陳述與中醫書本及期刊有類似觀點，並可說明上述案例與身體活動功能有關之證型、治則、與處方之間的關係。

針對本研究兩組個案在其他重要變項上(症狀困擾、疾病相關生活品質、和死亡率)，並無顯著差異($p > 0.05$)的解釋上，筆者推測導致以上結果的原因可能與中藥的使用、個案數太少、和測量時間點的選擇等因素有關。在中藥的使用上，根據本人過去與醫學院學生所做過的質性研究⁴⁹及其它文獻¹⁶之論述，中醫對癌症病人的療效非短期所能體現，它是一種長期調養的理念，需長期使用才能看出效益。雖然合併組有 30 位病人同意接受合併療法，但在長達一年的研究過程中，其平均看診次數為 12.1 ± 8.8 ，實際範圍差異很大介於 2-32 次之間，有些個案接受合併治療不到一個月就已往生(N=2)，有些個案表示服用中藥時的味道會加重化療所導致的噁心嘔吐，因

而選擇斷續服藥。如果個案只使用過一兩次中醫療法，或服用中藥的遵從性欠佳，要證明其對肺癌病人長期預後的效益著實不易。

在個案數的考量上，個案數太小的情況下也有可能讓筆者無法看到兩組在重要結果變項(例如：症狀困擾、和特定疾病之生活品質)上的差異。非小細胞性肺癌的預後較差，病人的治療也充滿許多的不確定性，本研究 84 位個案中已有 16 位(19.0%)(11 位西醫組；5 位合併組)死亡。加上非小細胞性肺癌病人的化療用藥不少(本研究中共有 9 種)，在每類化療藥物下的個案數太少，對研究之內在與外在效度都會造成很大的威脅⁶⁴，這是本研究最大的限制所在。過去有看到 TCM 或合併療法效益的文章，個案數多半介於 60 - 200 之間^{7-8, 10-11, 55-58}，因此若能再接再勵持續收案，相信可以大大增加筆者看到合併療法對肺癌病人長期預後效益的機會。

此外，在測量時間點上，本研究之測量時間點是與個案來院做化療的時間點相配合，特別是配合醫院在治療過程中的療效評估時機（化療後第三個月：T3；化療後第六個月：T4），但是通常在這些測量時間點上，並不是個案最不舒服的時候，因此可能影響到西醫組與合併組之間在重要結果變項上的比較。建議未來研究者可加入測量日誌 (Daily log)，例如每次化療後 2-4 天為化療副作用最明顯的時間點⁶⁵，雖然在極度不舒服的狀況下要個案填寫問卷非常困難，但過去學者曾建議使用單一測量 (single item indicator) 來減輕個案答題負荷⁶⁶。未來對此主題有興趣的研究者，可以請個案將症狀困擾、生活品質、身體活動功能、和有無規律服用中藥等相關資訊都以單一測量 (single item indicator) 方式記錄於症狀日誌中以利日後統計分析之用，如此也許可以更清楚地看到合併治療對非小細胞性肺癌個案長期預後的效益。

本研究中，中西醫合併治療的定位旨在降低化療副作用及提升生活品質。根據文獻⁶⁷⁻⁷⁰及臨床經驗得知，多數肺癌病人會在第 2-3 次化療之間經歷較明顯的副作用，本研究也發現合併組個案於 T2(化療後第一個月)的中醫就診人數比 T5(化療後第十二個月)來的多(22 人 vs 15 人)，呼應了文獻所言^{68,70}，合併組個案可能因為於化療過程中產生較明顯之副作用，因此較多人尋求中醫診治，整個化療週期結束後(化療後第六個月：T4)，即因副作用減少而降低了中醫使用上的需求，特別是在 T5(化療後第十二個月)時間點上。

仔細分析合併組中醫診治之相關資料發現，他們出現之證型多為氣陰兩虛、氣血瘀滯、陰虛內熱、和痰濕蘊肺；而治則多與益氣養陰、養陰清

熱、健脾燥熱、和活血散瘀有關，這與李金瀚⁸所發現的四種常見證型，如肺脾氣虛型、肺熱痰阻型、肺胃陽虛型、及氣滯血瘀型，不完全相同。有可能是因為 TCM 加入癌症治療時間點的不同所導致。本研究合併組的個案是化療與中醫同時使用，而李所採用的是順序性療法，也就是肺癌病人完成正規化學治療或放射線治療後才開始使用中藥。相同的是李與本研究都沒有固定使用某一中藥方，完全依賴合格中醫師透過辨證論治的方式依證型來決定治則。此外，病人有無共病性(Cormorbidity)問題、所使用的化療藥物的種類，都有可能影響到病人的證型與治則，這方面的推測有待更多實證研究之證實。未來有興趣的學者可以考慮選擇肺癌期別與化療用藥都十分類似的個案，例如小細胞性肺癌個案，做跨國或跨機構的合作，以獲得更多有關於肺癌中醫治療的相關證型、治則、及方藥的客觀資料。不過與其他研究^{10, 16, 50}相同的是，本研究接受 TCM 治療的個案，截至目前為止，皆未出現與服用中藥有關的副作用而中斷治療，符合民眾對中醫溫和、無害之看法⁴⁹。

本研究發現，同意使用合併治療的個案多為南部個案(60.0%)，他們的教育程度較高與依據台灣 1997-2003 本土健保資料庫之分析，看出中南部居民對 TCM 的使用率較高⁴⁰，和國外許多研究發現教育程度高者傾向使用 CAM 雷同^{52, 71-73}，雖然根據健保資料庫分析顯示，台灣民眾使用 TCM 的理由多半與呼吸道和肌肉骨骼問題有關^{40-41, 53}。可惜的是這些大型資料庫分析並未特別提及 TCM 使用與教育程度之間的相關性^{40, 53}，但 Pu 等人⁵¹的研究中，針對台灣五大癌症別(乳癌、子宮頸癌、肺癌、肝癌、與直腸癌)個案(N=2034)所做的合併療法調查中發現，22-5%的癌症病人同時使用中西醫治療，教育程度較高或經濟情況較好者傾向同時併用中西醫治療，其中教育程度的發現與本研究所見雷同。台灣中南部居民因區域文化的影響較傾向使用 TCM^{40, 51}，由於本研究同步在台灣北部與南部醫學中心中收案，發現多數(60.0%)合併組個案的確來自南部醫學中心，亦與文獻所見類似。

研究的限制與建議：

本研究所遭遇到最大的困難在於個案數太少和中西醫合併療法組的治療狀況不一，這對研究的外在與內在效度都不利。雖然林口與高雄長庚醫學中心每年約有 1000 多位肺癌初診斷個案，礙於胸腔科由醫師所主導的臨床新藥試驗眾多，多數病例會在胸腔科科會中被瓜分走，影響筆者收案之進度，筆者多次拜訪當時之胸腔科主任(楊 00 醫師：為現任桃園分院 000)，他表示院內醫師的臨床試驗多針對非小細胞性肺癌個案，建議筆者招收小

細胞性肺癌的病患，一來避免和醫師們的研究競爭個案，二來小細胞性肺癌的個案只能做化療，並且只有兩種藥物可以使用，對研究的干擾會較低。礙於研究已進行到一半，必須依合約書內容執行不能任意更動，因此苦撐下來。建議未來研究者可複製本研究於小細胞性肺癌族群，彙集更多實證來證明合併療法之效益。

另外，本研究中每位個案沒有固定的中醫看診時間表，合併組個案接受中醫診治的次數不一($M\pm SD=12.1\pm 8.8$)，大部分個案平均 2~4 週回診一次，但也有少數個案每週都接受中醫診治。以林口長庚為例，除非個案因打完化療不舒服，否則大多數是由中醫師決定何時回診，一般而言平均 3~4 週看診一次。但以高雄長庚為例，中醫師是以病患病情穩定狀況來做決定，醫師會以個案就診紀錄，判別病患的病情是否惡化或有無新增其它不適症狀，若都沒有以上情形，中醫師會認為此病患處於穩定狀態，就會讓病患自行決定下次看診時間，通常病患約 2 週回診一次(配合化療回診時間)。高雄長庚有兩位個案情況較特殊，每週看中醫師門診一次，一位是因為病情不穩定，中醫師決定此個案應每週回診，另一位則屬於病情穩定，但個案本身很積極主動請研究助理預約每週看診。筆者與相關專家討論後認為，如果可以將合併組個案看診時間與西醫組配合，甚至設計以中西醫聯合門診方式，將有助於統一合併組個案的中醫就診次數，讓介入措施更符合科學之標準，也可減少合併組個案來回奔波於醫院中看診之負擔。礙於本研究中，每收案機構都由一位固定中醫執行診療，但配合研究的胸腔科醫師眾多，因此在現實情境中無法做到中西醫聯合門診的理想境界，若能由固定一位中醫與固定一位西醫執行診療，將可控制因診療者所導致的干擾，使研究結果更精確。但是如果由固定一位中醫師與一位西醫師執行診療，相對地因個案數的受限，勢必也會大大延長收案的時間，其中利弊得失值得未來對此主題有興趣的研究者深思。

雖然本研究合併組個案的中醫診治皆由研究助理協助掛號並親自陪同看診，因此可以非常仔細的紀錄個案就診時的主訴，何時開始使用中醫治療，詳細登錄他們的證型、治則、與方藥等相關資料，但是他們是否按照醫囑定時服用中藥則不得而知。筆者建議未來研究者可利用日誌來瞭解合併組個案使用中藥的遵從性，以增加研究結果的內在效度。另外，本研究中少數個案因中藥味道導致噁心，建議未來研究者針對此類個案可以將中藥置於膠囊中，降低中藥氣味的刺激，讓個案可以順利吞服，以減低合併組個案的流失率。

我們發現，在基準點的重要結果變項分析中，兩組即在一般生活品質 (EORTC QLQ C-30) 的疼痛和呼吸會喘，和疾病相關生活品質(EORTC QLQ-LC13)中的呼吸困難項目中呈現顯著差異，西醫組明顯的比合併組差。雖然之後 GEE 分析在以上項目上有統計顯著差異，但不代表顯著差異是因中醫治療加乘效果所導致。經與本研究共同主持人之一統計學專家張玉坤老師討論此問題後，張老師建議應針對這些在基準點兩組有統計顯著差異的項目，再進一步以 GEE 比較兩組在各個時間點上的差異，而不能單看組別效益。因此我們做了更多統計分析，當我們以 GEE 看組別×時間(interaction)效益發現，合併組在各時間點上的症狀困擾改變量，相較於西醫組並無顯著差異，所以可確定西醫組個案的疼痛、呼吸會喘、和呼吸困難等症狀顯著較合併組差，並非是中醫治療的加乘效果所造成。建議未來從事中西醫整合療法的研究團隊都需有統計專家的參與，在資料分析上應特別小心組別效益和組別×時間(interaction)效益的區別，才能正確解讀研究發現以免誤導讀者。

從研究接近尾聲的經驗中，我們發現合併組的個案不斷詢問研究助理是否可以繼續幫忙掛號並支付中醫的掛號費用，這反映出個案想繼續接受中醫診療的心情，參與本計畫的胸腔科醫師也表示，於看診過程中若有肺癌病人詢問有關中草藥治療相關問題，他們比較知道如何依據病人需求給與具體的建議。回想剛執行本研究之初，胸腔科醫師對於轉介病人給中醫師大多抱持保守的態度、甚至事先篩選疾病嚴重度較低的病人加入本研究，經過一年半不斷的溝通磨合已獲得明顯的改善，特別是胸腔科醫師對中醫治療的態度轉變是筆者所樂見的，未來若能透過更多中西醫合作研究計畫，讓雙方不斷了解各自的治療方法與理念，相信對癌症整合性照護會有莫大的貢獻。

伍、結論與建議

根據資料分析，接受合併治療的肺癌病人在一般性生活品質的身體活動功能及角色功能上比接受西醫治療的肺癌病人好，但是在其他重要變項上（症狀困擾、疾病相關生活品質、和死亡率）兩組並無差異。未來對此主題有興趣的學者若能在中醫使用次數、個案數、和收案時間點上做更佳的考量，應該可以看出合併療法對肺癌病人長期預後的明顯效益。本人謹代表研究團隊感謝衛生署中醫藥委員會對本研究經費之提供，讓研究得以順利推動，未來若繼續補助此類計畫，累積更多接受合併治療的個案資料，並在研究方法學上不斷精進，甚至在相同癌症但不同細胞類型（eq: 小細胞肺癌 vs 非小細胞性肺癌）或不同癌症別（大腸直腸癌、乳癌、肝癌...）上複製本研究，相信對建構中西醫整合醫療模式與癌症照護品質都有正面的助益。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP101-RD-102 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. 行政院衛生署. 98 年度死因統計完整統計表. 2010; http://www.doh.gov.tw/CHT2006/DM/DM2_2_p02.aspx?class_no=440&now_fod_list_no=11397&level_no=4&doc_no=76512. Accessed 2010 年 12 月 13 日.
2. 國家衛生研究院. 肺癌臨床指引. 台北: 臺灣癌症臨床研究合作組織; 2004.
3. American Joint Committee on Cancer. Lung Cancer Staging. 2009 <http://www.cancerstaging.org/staging/posters/lung12x15.pdf> American Joint Committee on Cancer Retrieved October, 2009.
4. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Guidelines for Patients. 2010; <http://www.nccn.com/images/patient-guidelines/pdf/nsclc.pdf>, National Comprehensive Cancer Network Retrieved 2008.
5. Robinson A, Chesters, J., & Cooper, S.: People's choice: complementary and alternative medicine modalities. *Complementary Health Practice Review*. 2007;12:99-119.
6. 韓明權、蘇普梅、黃海茵、龍為紅、秦麗萍、秦萍等人: 序貫化、放療結合中藥治療 54 例晚期非小細胞肺癌患者的預後分析. *中西醫結合學報*. 2003;1:195-198.
7. 周岱翰、林麗珠、周宜強、羅榮城、劉魁鳳、賈英杰等人: 中醫藥治療 III~IV 期非小細胞肺癌的預後因素分析. *Chinese Journal of Cancer*. 2005;24:1252-1256.
8. 李金瀚: 中醫藥用作晚期非小細胞肺癌鞏固性治療對照性臨床觀察. *中國肺癌雜誌*. 2007;10:520-522.
9. 阮廣欣、周蕾、劉嘉湘: 老年晚期肺癌中西醫藥物治療研究進展. *中國肺癌雜誌*. 2008;11:805-810.
10. Tian JH, Liu LS, Shi ZM, et al.: A randomized controlled pilot trial of "Feiji Recipe" on quality of life of non-small cell lung cancer patients. *Am J Chin Med*. 2010;38:15-25.
11. 蔣霆輝、吳士延、陳越、張慶荃、張微微、沈旭波等人: 聯合介入化療對接受中醫治療的晚期老年肺癌患者免疫功能的影響. *介入放射學雜誌*. 2010;19:489-492.

12. Xu ZY, Jin CJ, Zhou CC, et al.: Treatment of advanced non-small-cell lung cancer with Chinese herbal medicine by stages combined with chemotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2011;137:1117-1122.
13. 徐振曄: 循證醫學與肺癌治療. *中西醫結合學報*. 2003;1:151-154.
14. 吳宜鴻、喬聖琳. 癌症中西醫合療事典. 台北: 三采; 2006.
15. 蘇三稜: 肺癌證治方藥. *中醫藥研究論叢*. 2006;9:24-33.
16. Xu W, and Towers AD, and Li P, and Collet JP: Traditional Chinese medicine in cancer care: perspectives and experiences of patients and professionals in China. *Eur J Cancer Care (Engl)*. 2006;15:397-403.
17. Zhou Y GW, Li K: Chinese herbal medicine in the treatment of lung cancer. *Chinese herbal medicine in the treatment of lung cancer / Asian Journal of Traditional Medicines*. 2008;3:1-11.
18. 中央健康保險局. 台灣結腸癌、肺癌及乳癌病患 5 年存活率與歐美國家水準相近. 2005;
http://www.nhi.gov.tw/information/news_detail.asp?menu=1&menu_id=&News_ID=527. Accessed 2007 年 12 月 18 日.
19. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2008. 2008;
http://www.cancer.org/docroot/STT/STT_0.asp. Accessed December 12, 2008.
20. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al.: Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin*. 2008;58:71-96.
21. Tyson LB: Non-small cell lung cancer: new hope for a chronic illness. *Oncol Nurs Forum*. 2007;34:963-970.
22. Herbst RS, O'Neill VJ, Fehrenbacher L, et al.: Phase II study of efficacy and safety of bevacizumab in combination with chemotherapy or erlotinib compared with chemotherapy alone for treatment of recurrent or refractory non small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25:4743-4750.
23. Chen D, Xing K, Henson D, et al.: Developing prognostic systems of cancer patients by ensemble clustering. *J Biomed Biotechnol*. 2009;2009:632786.
24. Annakkaya AN, Arbak P, Balbay O, et al.: Effect of symptom-to-treatment interval on prognosis in lung cancer. *Tumori*. 2007;93:61-67.
25. Cassileth BR, Lusk EJ, Guerry D, et al.: Survival and quality of life among patients receiving unproven as compared with conventional cancer therapy.

- N Engl J Med.* 1991;324:1180-1185.
26. Hirsch FR, Herbst RS, Olsen C, et al.: Increased EGFR gene copy number detected by fluorescent in situ hybridization predicts outcome in non-small-cell lung cancer patients treated with cetuximab and chemotherapy. *J Clin Oncol.* 2008;26:3351-3357.
 27. Muers MF, Stephens RJ, Fisher P, et al.: Active symptom control with or without chemotherapy in the treatment of patients with malignant pleural mesothelioma (MS01): a multicentre randomised trial. *Lancet.* 2008;371:1685-1694.
 28. Yang CH, Yu CJ, Shih JY, et al.: Specific EGFR mutations predict treatment outcome of stage IIIB/IV patients with chemotherapy-naive non-small-cell lung cancer receiving first-line gefitinib monotherapy. *J Clin Oncol.* 2008;26:2745-2753.
 29. Pennathur A, Luketich JD, Heron DE, et al.: Stereotactic radiosurgery for the treatment of lung neoplasm: experience in 100 consecutive patients. *Ann Thorac Surg.* 2009;88:1594-1600; discussion 1600.
 30. Hlubocky FJ, and Ratain MJ, and Wen M, and Daugherty CK: Complementary and alternative medicine among advanced cancer patients enrolled on phase I trials: a study of prognosis, quality of life, and preferences for decision making. *J Clin Oncol.* 2007;25:548-554.
 31. 賴裕和: 門診接受化學治療病人之症狀困擾及居家護理需求探討. *護理研究.* 1998;6:279-289.
 32. McCorkle R, Young K: Development of a symptom distress scale. *Cancer Nurs.* 1978;1:373-378.
 33. 吳美樺: 自我調節方案對初次接受化學治療乳癌病患因應疲憊之成效。未發表的碩士論文，高雄：高雄醫學大學護理學研究所碩士班。2007。
 34. Aaronson NK, Ahmedzai S, Bergman B, et al.: The European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: a quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. *J Natl Cancer Inst.* 1993;85:365-376.
 35. 季瑋珠、楊志新、許駿、賴佳君: 癌症病人特定疾病 EORTC 生活品質量表簡介. *台灣醫學.* 2002;6:220-227.
 36. Buccheri G, Ferrigno D, Tamburini M: Karnofsky and ECOG performance

- status scoring in lung cancer: a prospective, longitudinal study of 536 patients from a single institution. *Eur J Cancer*. 1996;32A:1135-1141.
37. Roscoe JA, Morrow GR, Hickok JT, et al.: The efficacy of acupressure and acustimulation wrist bands for the relief of chemotherapy-induced nausea and vomiting. A University of Rochester Cancer Center Community Clinical Oncology Program multicenter study. *J Pain Symptom Manage*. 2003;26:731-742.
38. 史麗珠. 進階應用生物統計學: 連續資料分析(含 SPSS 使用說明). 台北: 學富; 2003.
39. Polit D, Hungler B. *Nursing Research: Principles and methods* (4th ed). New York: J. B. Lippincott Company; 1991.
40. Chang LC, Huang N, Chou YJ, et al.: Utilization patterns of Chinese medicine and Western medicine under the National Health Insurance Program in Taiwan, a population-based study from 1997 to 2003. *BMC Health Serv Res*. 2008;8:170.
41. Daly M, and Tai CJ, and Deng CY, and Chien LY: Factors associated with utilization of traditional Chinese medicine by white collar foreign workers living in Taiwan. *BMC Health Serv Res*. 2009;9:10.
42. Eisenberg DM, Kessler RC, Van Rompay MI, et al.: Perceptions about complementary therapies relative to conventional therapies among adults who use both: results from a national survey. *Ann Intern Med*. 2001;135:344-351.
43. Sirois FM: Motivations for consulting complementary and alternative medicine practitioners: a comparison of consumers from 1997-8 and 2005. *BMC Complement Altern Med*. 2008;8:16.
44. Kristoffersen AE, Fonnebo V, Norheim AJ: Do cancer patients with a poor prognosis use complementary and alternative medicine more often than others? *J Altern Complement Med*. 2009;15:35-40.
45. Li-chun C, L Ic: Patterns of complementary therapy use by homebound cancer patients in Taiwan. *Appl Nurs Res*. 2004;17:41-47.
46. 陳玉萍、曾振淦、曾雁明、洪志宏: 放射腫瘤癌患接受西醫、中醫與各類療法的相關性調查分析. *放射治療與腫瘤學*. 2008;15:289-300.
47. 王曉、林志商、陳黎明、談勇、于勇、夏登杰: 中醫在婦科惡性腫瘤治

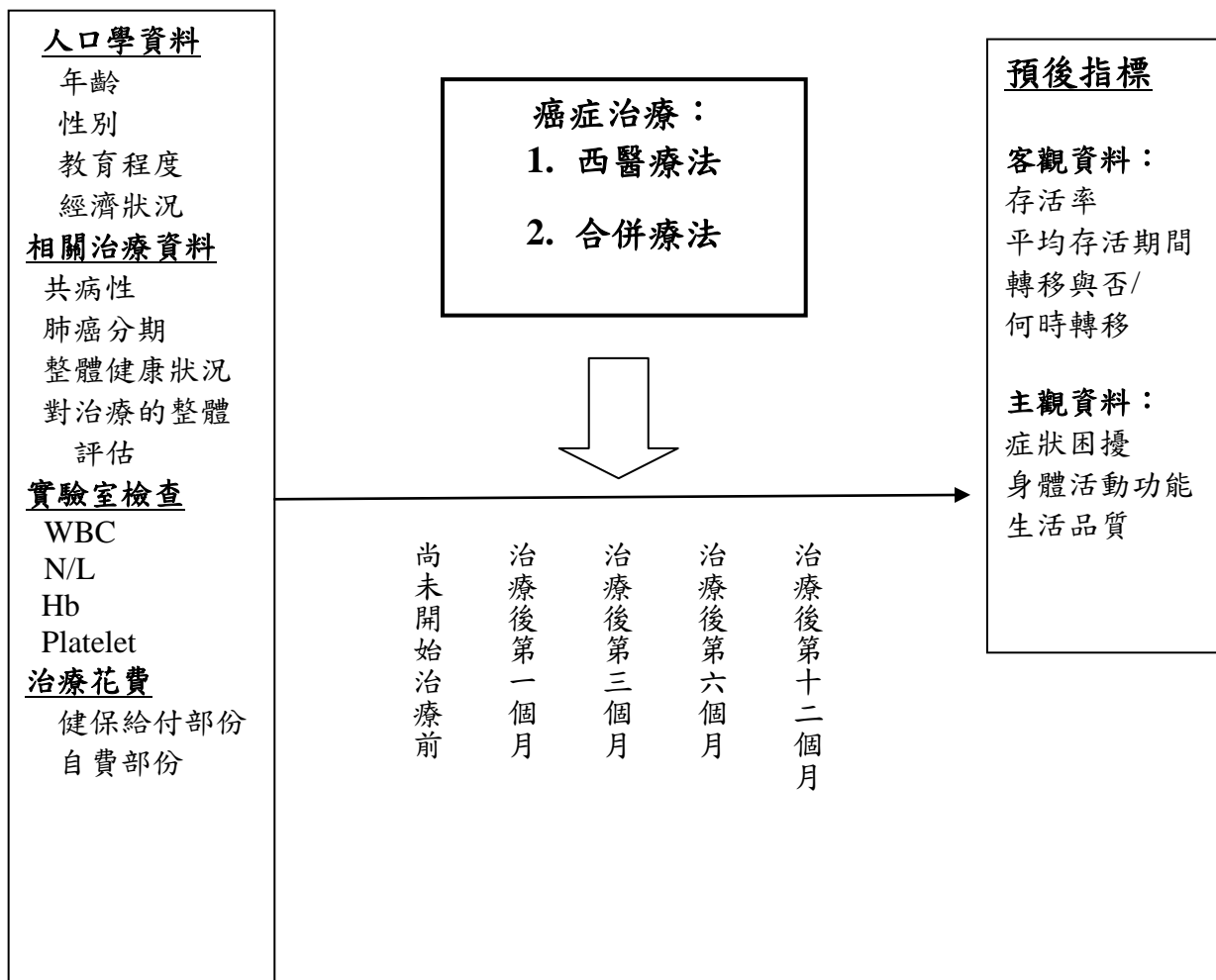
- 療中的作用和地位. *台灣中醫科學*. 2008;3:26-33.
48. Simpson PB; Family beliefs about diet and traditional Chinese medicine for Hong Kong women with breast cancer. *Oncol Nurs Forum*. 2003;30:834-840.
 49. Liu CH, Tang, W. R., Wang, H. M., Lee, K. C.; Cancer Patients' Experience of Combined Treatment with Conventional and Traditional Chinese Medicine: A Bio-psycho-social Phenomenon. *Cancer Nursing*. 2011;34:495-502.
 50. Liu JM, Chu HC, Chin YH, et al.; Cross sectional study of use of alternative medicines in Chinese cancer patients. *Jpn J Clin Oncol*. 1997;27:37-41.
 51. Pu CY, andLan VM, andLan CF, andLang HC; The determinants of traditional Chinese medicine and acupuncture utilization for cancer patients with simultaneous conventional treatment. *Eur J Cancer Care (Engl)*. 2008;17:340-349.
 52. Druss BG, Rosenheck RA; Association between use of unconventional therapies and conventional medical services. *JAMA*. 1999;282:651-656.
 53. Chen FP, Chen TJ, Kung YY, et al.; Use frequency of traditional Chinese medicine in Taiwan. *BMC Health Serv Res*. 2007;7:26.
 54. Lin HS, Li DR; Multi-center randomized clinical study on Shenqi-fuzheng injection combined with chemotherapy in the treatment for lung cancer. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. 2007;29:931-934.
 55. Wang XM, Xin H, Yang Z, et al.; Clinical study on treatment of advanced stage non-small cell lung cancer by guben xiaoliu capsule. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 2004;24:986-988.
 56. Yao Y; Effects of Feiji decoction for soothing the liver combined with psychotherapy on quality of life in primary lung cancer patients. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*. 2012;15:27-33.
 57. Chen YZ, Li ZD, Gao F, et al.; Effects of combined Chinese drugs and chemotherapy in treating advanced non-small cell lung cancer. *Chin J Integr Med*. 2009;15:415-419.
 58. Zhang T, Ma SL, Yue JH; Clinical study on toxicity-attenuation effect of Yiguan Decoction in treatment of non-small cell lung cancer with NP protocol of chemotherapy. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*.

- 2007;27:396-399.
59. Liu F: Clinical Observation to Non-small-cellular Lung Cancer Treated with Fuzheng Guben Decoction and Chemic-therapy. *Journal of Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine*. 2007.
 60. 嚴桂英、徐振暉、鄧海濱、萬智勇、張磊、朱嬌玉: 抗瘤增效方聯合化療對中晚期非小細胞肺癌患者腫瘤標誌物影響的隨機對照研究. *中西醫結合學報*. 2011;9:525-530.
 61. 馮利、花寶金、朴炳奎: 肺癌平II號改善肺癌患者生存質量臨床研究. *中國中醫藥信息雜誌*. 2006;12-13.
 62. 張晉賢. 中醫學概論. 台北: 永大; 2011.
 63. 沈春堂. 漢方藥性. 台北: 黃金屋; 2010.
 64. Burns N, Grove SK. The practice of nursing research: Appraisal, synthesis, and generation of evidence (6th ed.). . Philadelphia: Saunders; 2009.
 65. Barsevick AM, Dudley W, Beck S, et al.: A randomized clinical trial of energy conservation for patients with cancer-related fatigue. *Cancer*. 2004;100:1302-1310.
 66. Youngblut JM, Casper GR: Single-item indicators in nursing research. *Res Nurs Health*. 1993;16:459-465.
 67. Richardson A, Ream E, Wilson-Barnett J: Fatigue in patients receiving chemotherapy: patterns of change. *Cancer Nursing*. 1998;21:17-30.
 68. 黃怡菁、史麗珠、余志騰、唐婉如: 肺癌病患化療期間之疲憊軌跡. *腫瘤護理雜誌*. 2005;2:1-11.
 69. Lee YH, andTsai YF, andLai YH, andTsai CM: Fatigue experience and coping strategies in Taiwaness lung cancer patients receiving chemotherapy. *Journal of Clinical Nursing*. 2008;17:876-883.
 70. 周繡玲、朱基銘、唐婉如: 肺癌病人化學治療期間疲憊型態-縱貫性研究. *腫瘤護理雜誌*. 2008;8:33-43.
 71. Hsiao AF, Wong MD, Goldstein MS, et al.: Complementary and alternative medicine use among Asian-American subgroups: prevalence, predictors, and lack of relationship to acculturation and access to conventional health care. *J Altern Complement Med*. 2006;12:1003-1010.
 72. McGrady E, Betz M: Predictors of the Choice of Acupuncture as Compared to Conventional Medicine for the Treatment of Pain. *Integrative Medicine*

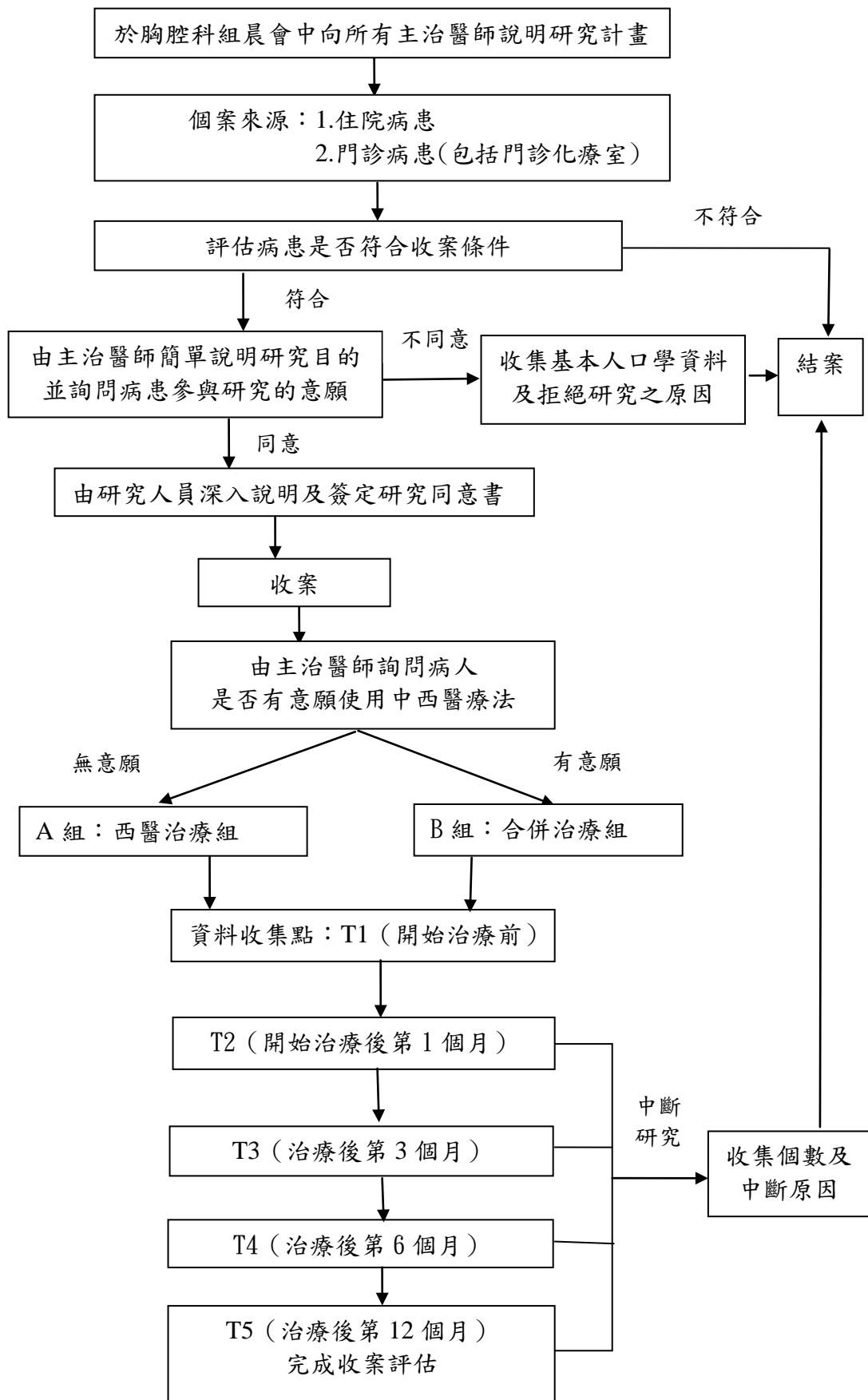
Innovision Communications. 2008;7:34-41

73. Vapiwala N, Mick R, Hampshire MK, et al.: Patient initiation of complementary and alternative medical therapies (CAM) following cancer diagnosis. *Cancer J*. 2006;12:467-474.

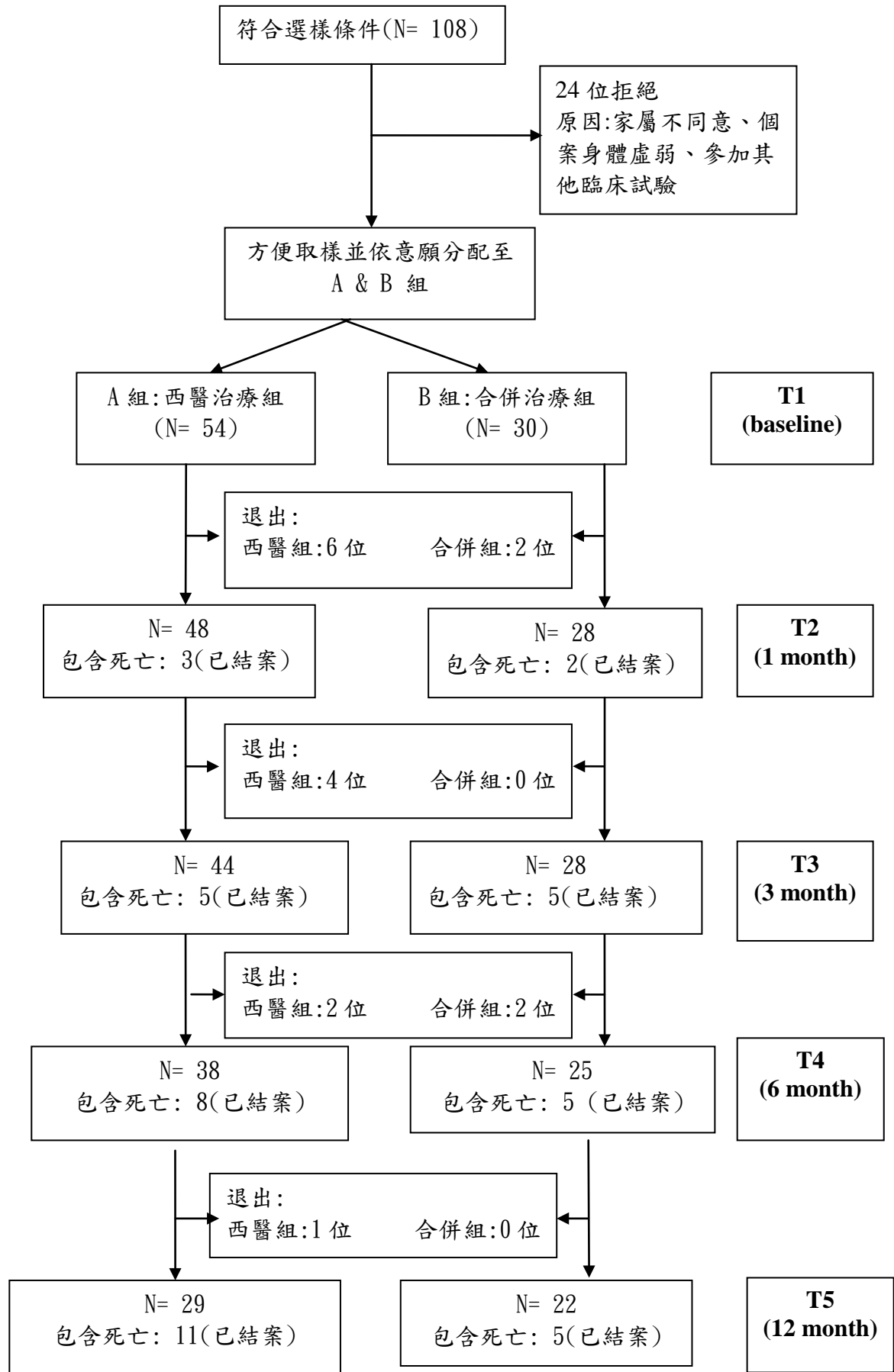
柒、圖、表



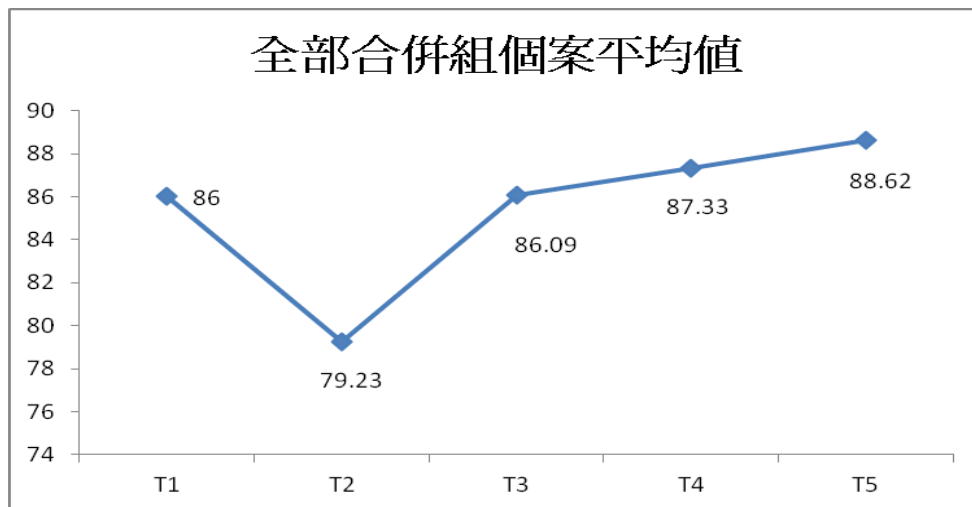
圖一、研究架構



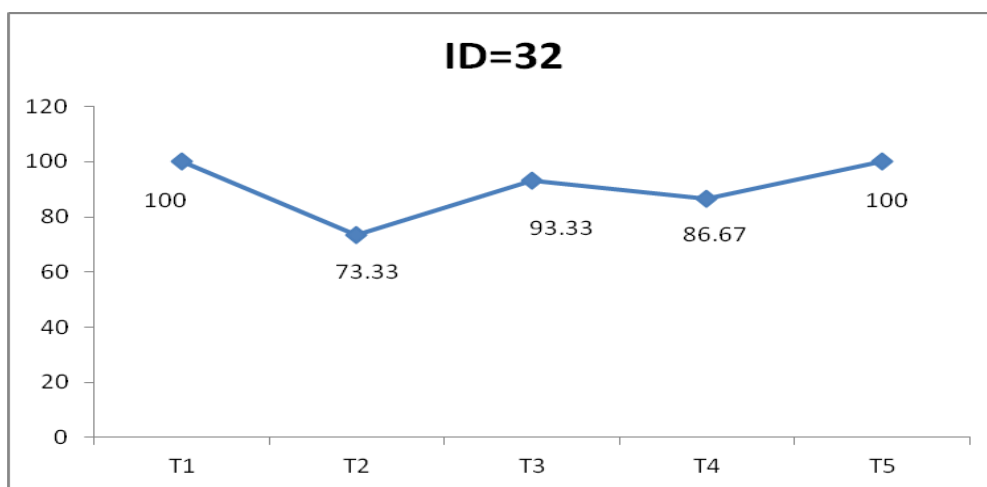
圖二、收案流程圖



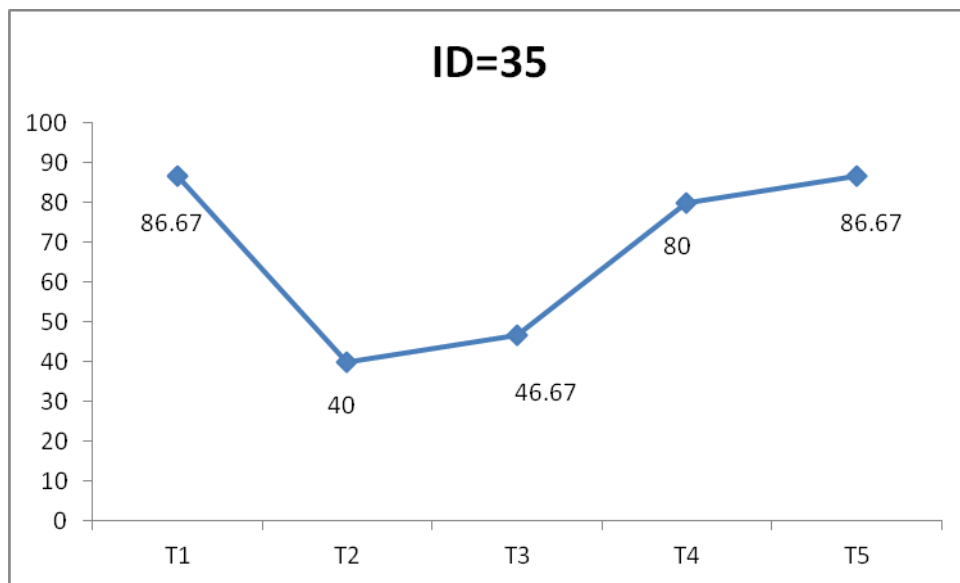
圖三、研究個案追蹤圖



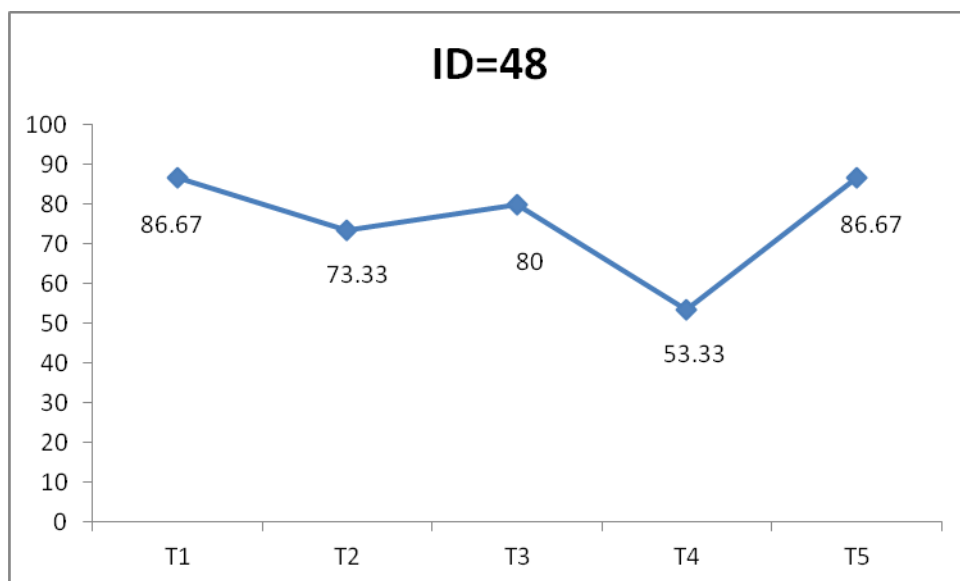
圖四、全部合併組個案身體功能曲線圖



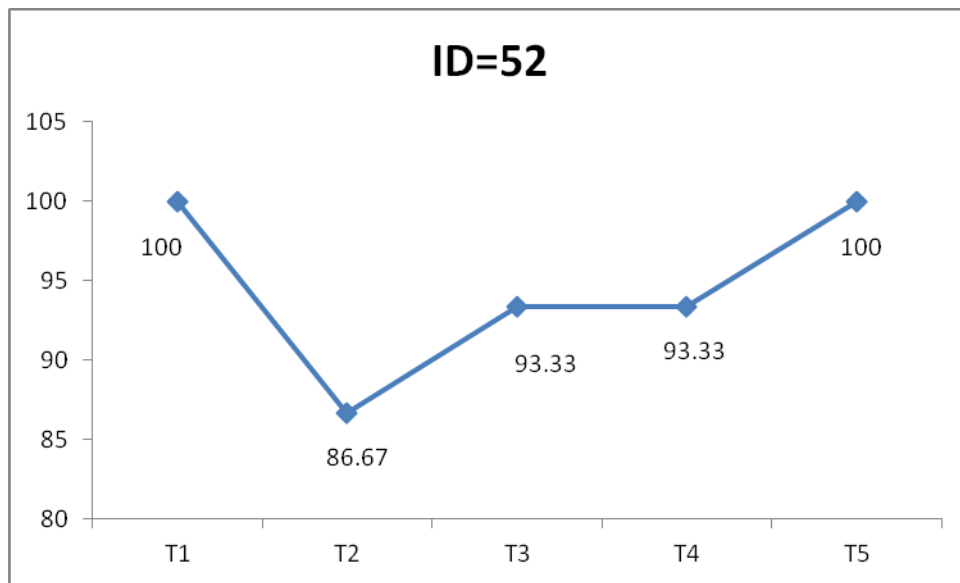
圖五、ID 32 個案身體功能曲線圖



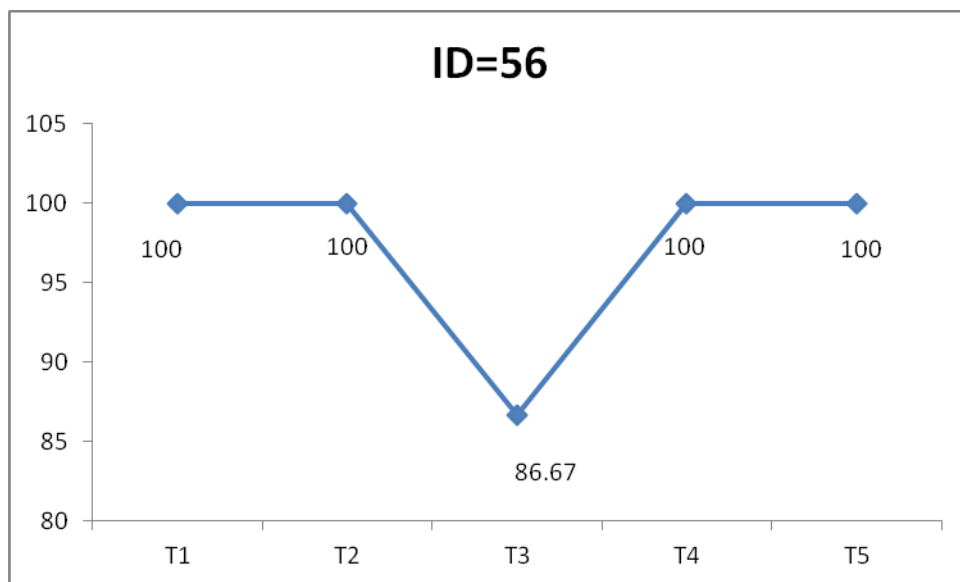
圖六、ID 35 個案身體功能曲線圖



圖七、ID 48 個案身體功能曲線圖



圖八、ID 52 個案身體功能曲線圖



圖九、ID 56 個案身體功能曲線圖

表一、參與者與拒絕參與者在人口學與疾病嚴重度之比較 (N= 108)

變項	參與者 (N= 84) 人數 (%)	拒絕參與者 (N= 24) 人數 (%)	P 值
年齡 Mean±SD	60.28±11.04	67.21±13.31	0.011
性別			
男	57 (67.9)	13 (56.5)	0.311
女	27 (32.1)	10 (43.5)	
遺漏值	0	1	
教育程度			
國中以下	53 (63.1)	13 (81.3)	0.369
高中職	19 (22.6)	2 (12.5)	
大專以上	12 (14.3)	1 (6.3)	
遺漏值	0	8	
癌症期別			
第三期	29 (34.5)	7 (30.4)	0.806
第四期	55 (65.5)	16 (69.6)	
遺漏值	0	1	

表二、兩組在基準點人口學與疾病嚴重度之比較 (N= 84)

		西醫組 (N= 54) N (%)	合併組 (N= 30) N (%)	P 值
年齡		61.33±11.12	58.31±10.79	0.236 ^b
Mean±SD				
性別	男	35 (64.8)	22 (73.3)	0.423
	女	19 (35.2)	8 (26.7)	
死亡數		11 (20.4)	5 (16.7)	0.901
婚姻狀況	未婚/單身	2 (3.7)	2 (6.7)	0.742 ^a
	已婚/同居	48 (88.9)	24 (80.0)	
	離婚/分居	1 (1.9)	1 (3.3)	
	喪偶	3 (5.6)	3 (10.0)	
教育程度	國中以下	39 (72.2)	14 (46.7)	0.055
	高中職	10 (18.5)	9 (30.0)	
	大專以上	5 (9.3)	7 (23.3)	
工作狀況	無工作	39 (72.2)	19 (63.3)	0.550
	有工作	15 (27.8)	11 (36.7)	
經濟狀況	不足夠	22 (40.7)	8 (26.7)	0.189 ^a
	中等程度足夠	27 (50.0)	20 (66.7)	
	足夠	5 (9.3)	2 (6.7)	
共病性	無	23 (42.6)	15 (50.0)	0.671
	有(HTN,DM)	31 (57.4)	15 (50.0)	
肺癌類型	Adenocarcinoma	42 (77.8)	18 (60.0)	0.341 ^a
	Large cell carcinoma	1 (1.9)	0 (0.0)	
	Squamous cell carcinoma	8 (14.8)	10 (33.3)	
	Non-small cell carcinoma	3 (5.6)	2(6.7)	
癌症期別	ⅢA	3 (5.6)	4 (13.3)	0.186 ^a
	ⅢB	12 (22.2)	10 (33.3)	
	Ⅳ	39 (72.2)	16 (53.3)	

		西醫組 (N= 54) N (%)	合併組 (N= 30) N (%)	P 值
治療方式	化學治療	27 (50.0)	18 (60.0)	0.688 ^a
	化學+放射治療	13 (24.1)	7 (23.3)	
	標靶治療	8 (14.8)	4 (13.3)	
	化學+標靶治療	3 (5.6)	0 (0.0)	
	標靶+放射治療	3 (5.6)	1 (3.3)	
化療藥物	Docetaxel + Cisplatin	19 (44.2)	15 (60.0)	0.085 ^a
	Gemcitabine	2 (4.7)	2 (8.0)	
	Pemetrexed disodium + Cisplatin	7 (16.3)	2 (8.0)	
	Oral Vinorelbine + Cisplatin	5 (11.6)	3 (12.0)	
	Docetaxel	9 (20.9)	0 (0.0)	
	Gemcitabine+	1 (2.3)	3 (12.0)	
	Cisplatin			

a: Fisher's Exact test

b: Independent t- test

表三、合併組個案中醫常見之證型與治則

證型	T2 (N=22)	T3 (N=20)	T4 (N=17)	T5 (N=15)
肺陰虛				1
血熱風燥，肺氣不宣	1	1		
肝鬱脾差				
氣血兩虛+肺竅不適				1
氣血瘀滯	1	3	2	1
氣血瘀滯+雪膚風燥	1			
氣血瘀滯+胃火上炎	1			
氣血瘀滯+氣陰兩虛	2			2
氣血瘀滯+肺失肅降		1		
氣血瘀滯+陰虛內熱		1	1	1
氣血瘀滯+氣陰兩虛+血膚風燥				
氣血瘀滯+陰虛內熱	1			
氣陰兩虛	3	6	3	4
氣陰兩虛+胃氣上逆	1			
氣陰兩虛+兼挾疾瘀	1			
陰虛內熱	1			
陰虛內熱+肺氣鬱滯				
陰虛內熱+胃氣上逆	1			
脾肺氣虛	1			
脾胃氣虛	1			1
脾氣虛	1	4	3	2
脾氣虛微濕熱	1			
脾虛納差		1		
痰濕蘊肺	1	2	3	2
痰濕蘊肺+胃陰不足	1			
痰濕蘊肺+氣陰兩虛	1	1		
痰濕蘊肺+疾淤交結			1	
脾濕化熱				
濕濁內蘊,脾虛	1			
和胃止嘔			1	
胃氣上逆，肝腎不足			1	
風熱上犯			2	
行氣化痰	1			1

證型	T2 (N=22)	T3 (N=20)	T4 (N=17)	T5 (N=15)
行氣化痰+益氣養陰	1			
行氣化痰+養陰清熱				
行氣化痰+解毒散節			1	
行氣化滯				
行氣化滯+益氣養陰				
行氣化滯+健脾燥熱	1			
活血行氣化痰		1		
活血散瘀	1	2	3	1
活血散瘀+益氣養陰	2			2
活血散瘀+益氣養陰+疏風止癢				
活血散瘀+益氣養陰+宣肺化痰		1		
活血散瘀+健脾燥熱+益氣養陰	1			
活血散瘀+疏風止癢	1			
益氣養陰	3	6	1	3
益氣養陰+寧心安神				
益氣養陰+和胃降逆	1			
健脾益氣				1
健脾燥熱	4	4	4	3
健脾燥熱+加活通路				
健脾燥熱+益氣養陰	1	2	2	
清熱涼血，宣肺止咳	1	1		
清肺止痰			1	
疏肝理氣，健脾益氣				
補益氣血				1
養陰清熱	3	2	1	3
養陰清熱+寧心安神				
養陰清熱+和胃降逆	1			
上清風熱，疏風止癢			1	
補養肝腎，潤肺養陰，宣肺止咳			1	
解毒散節			1	

表四、兩組在基準點身體活動功能、生活品質、與症狀困擾、與體重之比較(N= 84)

	西醫組 (N= 54) N (%), Mean±SD	合併組 (N= 30) N (%), Mean±SD	P 值
ECOG			
0 日常活動正常，可以從事所有活動而無限制	25 (46.3)	21 (70.0)	0.167 ^a
1 無法從事費力的活動，但可下床，且可從事一般的輕度工作	23 (42.6)	6 (20.0)	
2 臥床活動時間<50%，偶而需協助才可下床，亦可自我照顧，但無法從事一般工作，醒時有>50% 的時間是站的	3 (5.6)	1 (3.3)	
3 臥床時間>50%，可從事有限的自我照顧，醒時有>50%的時間是臥床或坐在椅子上	3 (5.6)	2 (6.7)	
4 完全臥床，無法自我照顧，亦無法下床或坐在椅子上	0 (0.0)	0 (0.0)	
EORTC QLQ-C30			
身體功能	79.63±21.49	86.00±23.77	0.214
角色功能	81.79±28.27	90.00±23.41	0.180
情緒功能	77.93±23.52	81.94±15.79	0.406
認知功能	82.41±21.58	85.56±20.87	0.519
社會功能	73.77±29.60	80.00±20.72	0.263
整體生活品質	50.00±26.50	56.67±24.60	0.261
疲倦	27.98±26.85	20.00±21.52	0.166
疼痛	27.16±27.34	15.56±20.96	0.047
噁心嘔吐	6.48±16.32	10.56±22.95	0.347
呼吸會喘	29.01±29.71	16.67±24.37	0.046
難以入睡	28.39±29.96	24.44±26.16	0.547
食慾不振	23.46±28.69	17.78±27.31	0.379
便秘	9.88±22.08	23.33±61.99	0.152
腹瀉	4.94±11.95	4.44±11.52	0.855
財務困難	20.99±26.93	24.44±26.66	0.563
EORTC QLQ-LC13			
呼吸困難	27.78±24.01	14.07±17.73	0.008
咳嗽	42.59±27.79	35.56±21.32	0.199
咳血	7.41±15.41	5.56±15.37	0.599

	西醫組 (N= 54)	合併組 (N= 30)	P 值
	N (%), Mean±SD	N (%), Mean±SD	
口腔疼痛	6.17±15.96	3.33±13.42	0.412
吞嚥困難	6.17±15.96	3.33±10.17	0.382
手腳針刺感	6.79±13.55	5.56±12.63	0.683
掉頭髮	6.79±13.55	4.44±11.52	0.426
胸痛	22.22±22.43	22.22±20.22	1.000
手臂肩膀疼痛	16.05±24.00	15.56±16.91	0.921
其他部位疼痛	22.22±27.47	13.33±18.77	0.084
服用止痛藥	12.35±16.25	7.78±14.34	0.187
SDS			
整體分數	32.09±8.69	30.20±6.97	0.309
噁心	1.22±0.69	1.27±0.52	0.760
嘔吐	1.13±0.52	1.23±0.50	0.376
食慾影響	1.65±0.85	1.30±0.54	0.024
失眠	1.76±1.00	1.67±0.66	0.614
疼痛	1.85±0.92	1.60±0.62	0.140
疲倦	1.83±0.97	1.53±0.57	0.124
排便情形 (排便有問題)	1.24±0.51	1.43±0.68	0.182
排尿情形 (排尿有問題)	1.13±0.39	1.13±0.35	0.966
呼吸困難	1.85±0.98	1.33±0.55	0.003
咳嗽	2.22±0.98	1.97±0.77	0.222
腹脹	1.28±0.63	1.40±0.62	0.417
口乾	1.63±0.71	1.60±0.68	0.852
口腔/食道疼痛、潰爛	1.17±0.47	1.17±0.53	1.000
焦躁不安	1.57±0.90	1.40±0.62	0.351
無法集中精神	1.52±0.89	1.53±0.73	0.938
外觀改變	1.24±0.67	1.13±0.43	0.433
出血	1.28±0.76	1.17±0.46	0.470
顫抖/忽冷忽熱	1.20±0.53	1.10±0.31	0.327
發燒	1.19±0.55	1.10±0.31	0.437
麻木感	1.31±0.47	1.23±0.43	0.434
胸悶	1.59±0.79	1.53±0.57	0.719
胃灼熱感	1.24±0.31	1.37±0.56	0.354
痛苦指數(單一測量)	4.04±2.60	3.47±2.37	0.325
體重	61.54±11.23	63.13±10.20	0.532

a: Fisher's Exact test

表五、兩組在治療後一個月(T2)身體活動功能之比較 (N= 71)

	西醫組 (N= 45) N (%)	合併組 (N= 26) N (%)	P 值
ECOG			
0 日常活動正常，可以從事所有活動而無限制	14 (31.1)	12 (46.2)	0.580
1 無法從事費力的活動，但可下床，且可從事一般的輕度工作	22 (48.9)	11 (42.3)	
2 臥床活動時間<50%，偶而需協助才可下床，亦可自我照顧，但無法從事一般工作，醒時有>50%的時間是站的	4 (8.9)	1 (3.8)	
3 臥床時間>50%，可從事有限的自我照顧，醒時有>50% 的時間是臥床或坐在椅子上	5 (11.1)	2 (7.7)	
4 完全臥床，無法自我照顧，亦無法下床或坐在椅子上	0 (0.0)	0 (0.0)	

表六、兩組在治療後三個月(T3)身體活動功能之比較 (N= 62)

	西醫組 (N= 39) N (%)	合併組 (N= 23) N (%)	P 值
ECOG			
0 日常活動正常，可以從事所有活動而無限制	8 (20.5)	12 (52.2)	0.033
1 無法從事費力的活動，但可下床，且可從事一般的輕度工作	23 (59.0)	10 (43.5)	
2 臥床活動時間<50%，偶而需協助才可下床，亦可自我照顧，但無法從事一般工作，醒時有>50%的時間是站的	6 (15.4)	0 (0.0)	
3 臥床時間>50%，可從事有限的自我照顧，醒時有>50% 的時間是臥床或坐在椅子上	2 (5.1)	1 (4.3)	
4 完全臥床，無法自我照顧，亦無法下床或坐在椅子上	0 (0.0)	0 (0.0)	

表七、兩組在治療後六個月(T4)身體活動功能之比較 (N= 50)

	西醫組 (N= 30) N (%)	合併組 (N= 20) N (%)	P 值
ECOG			
0 日常活動正常，可以從事所有活動而無限制	8 (26.7)	12 (60.0)	0.082
1 無法從事費力的活動，但可下床，且可從事一般的輕度工作	15 (50.0)	8 (40.0)	
2 臥床活動時間<50%，偶而需協助才可下床，亦可自我照顧，但無法從事一般工作，醒時有>50%的時間是站的	3 (10.0)	0 (0.0)	
3 臥床時間>50%，可從事有限的自我照顧，醒時有>50% 的時間是臥床或坐在椅子上	3 (10.0)	0 (0.0)	
4 完全臥床，無法自我照顧，亦無法下床或坐在椅子上	1 (3.3)	0 (0.0)	

表八、兩組在治療後 12 個月(T5)身體活動功能之比較 (N= 35)

	西醫組 (N= 18) N (%)	合併組 (N= 17) N (%)	P 值
ECOG			
0 日常活動正常，可以從事所有活動而無限制	8 (44.4)	6 (35.3)	0.854
1 無法從事費力的活動，但可下床，且可從事一般的輕度工作	8 (44.4)	9 (52.9)	
2 臥床活動時間<50%，偶而需協助才可下床，亦可自我照顧，但無法從事一般工作，醒時有>50%的時間是站的	2 (11.1)	2 (11.8)	
3 臥床時間>50%，可從事有限的自我照顧，醒時有>50% 的時間是臥床或坐在椅子上	0 (0.0)	0 (0.0)	
4 完全臥床，無法自我照顧，亦無法下床或坐在椅子上	0 (0.0)	0 (0.0)	

表九、兩組以 GEE 分析生活品質、症狀困擾、與體重之比較(N= 84)

依變項	自變項	Estimate	Error	X ² 值	P 值
身體功能	合併組	8.22	2.69	5.171	0.023
角色功能	合併組	8.79	4.14	4.497	0.034
情緒功能	合併組	-0.60	2.93	0.041	0.839
認知功能	合併組	4.87	3.67	1.757	0.185
社會功能	合併組	4.46	3.79	1.382	0.240
整體生活品質	合併組	4.61	3.47	1.764	0.184
疲倦	合併組	-5.67	3.82	2.205	0.138
疼痛	合併組	-10.09	3.93	6.594	0.01
噁心嘔吐	合併組	1.57	2.43	0.419	0.517
呼吸會喘	合併組	-7.66	3.47	4.863	0.027
難以入睡	合併組	-5.54	4.59	1.456	0.228
食慾不振	合併組	-2.79	3.74	0.557	0.455
便秘	合併組	1.67	3.98	0.177	0.674
腹瀉	合併組	-0.42	2.81	0.022	0.882
財務困難	合併組	5.55	4.34	1.630	0.202
呼吸困難	合併組	-9.49	3.14	9.153	0.002
咳嗽	合併組	-4.78	4.19	1.303	0.254
咳血	合併組	-1.36	1.94	0.492	0.483
口腔疼痛	合併組	-2.88	2.43	1.401	0.236
吞嚥困難	合併組	-3.33	3.19	1.084	0.298
手腳針刺感	合併組	-2.32	2.73	0.720	0.396
掉頭髮	合併組	-4.31	3.46	1.554	0.212
胸痛	合併組	-1.15	3.46	0.110	0.740
手臂肩膀疼痛	合併組	-0.74	3.48	0.045	0.832
其他部位疼痛	合併組	-4.92	3.51	1.963	0.161
服用止痛藥	合併組	-3.37	2.36	2.041	0.153
SDS	合併組	-1.56	1.35	1.330	0.249
痛苦指數	合併組	-0.76	0.40	3.625	0.057
體重	合併組	1.06	2.32	0.209	0.648

註：以西醫組做為參考組

表十、GEE 分析比較兩組在各時間點在特定症狀的改變量(N= 84)

依變項	自變項	Estimate	Error	X ² 值	P 值
疼痛	合併組×T5 ^b	-3.46	7.36	0.221	0.639
	合併組×T4 ^c	-3.56	6.64	0.287	0.592
	合併組×T3 ^d	7.63	6.18	1.525	0.217
	合併組×T2 ^e	6.96	5.89	1.395	0.238
呼吸會喘	合併組×T5 ^b	5.31	8.40	0.400	0.527
	合併組×T4 ^c	4.32	7.71	3.356	0.267
	合併組×T3 ^d	1.69	7.34	0.053	0.818
	合併組×T2 ^e	7.02	6.84	1.053	0.305
呼吸困難	合併組×T5 ^b	6.33	5.81	1.187	0.276
	合併組×T4 ^c	6.02	5.83	6.743	0.795
	合併組×T3 ^d	3.66	5.59	0.429	0.513
	合併組×T2 ^e	2.61	4.87	0.288	0.592

b: 以西醫組×T5做為參考組

c: 以西醫組×T4做為參考組

d: 以西醫組×T3做為參考組

e: 以西醫組×T2做為參考組

表十一、ID 32,35,48,52 & 56 個案症型、治則、與方藥

ID=32(林口長庚院區)			
時間	証型	治則	處方
T3	脾虛納差		<p>1.香砂六君子湯 (組成：白朮 5 克、茯苓 5 克、半夏 2.5 克、陳皮 2 克、木香 2 克、砂仁 2 克、甘草 2 克、人參 2.5 克、生薑 5 克)</p> <p>2.補中益氣湯 (組成：黃耆 6 克、當歸 2 克、升麻 1 克、白朮 2 克、人參 4 克、柴胡 1 克、陳皮 2 克、大棗 2 克、生薑 3 克、炙甘草 4 克)</p> <p>3.甘露飲 (組成：茵陳蒿 2.5 克、炙甘草 2.5 克、枇杷葉 2.5 克、石斛 2.5 克、生地黃 2.5 克、熟地黃 2.5 克、天門冬 2.5 克、黃芩 2.5 克、麥門冬 2.5 克、枳殼 2.5 克)</p>
T4	氣陰兩虛	健脾燥濕	<p>1.小青龍湯 (組成：半夏 4 克、麻黃 4 克、炙甘草 4 克、細辛 1.5 克、桂枝 4 克、白芍 4 克、乾薑 4 克、五味子 1.5 克)</p> <p>2.香砂六君子湯 (組成：白朮 5 克、茯苓 5 克、半夏 2.5 克、陳皮 2 克、木香 2 克、砂仁 2 克、甘草 2 克、人參 2.5 克、生薑 5 克)</p> <p>3.參苓白朮散 (組成：人參 3 克、白朮 3 克、大棗 1.5 克、茯苓 3 克、白扁豆 2.3 克、山藥 3 克、甘草 3 克、桔梗 1.5 克、蓮子肉 1.5 克、砂仁 1.5 克、薏苡仁 1.5 克)</p> <p>4.補中益氣湯 (組成：黃耆 6 克、當歸 2 克、升麻 1 克、白朮 2 克、人參 4 克、柴胡 1 克、陳皮 2 克、大棗 2 克、生薑 3 克、炙甘草 4 克)</p>
T5	氣血瘀滯、 氣陰兩虛	活血散 瘀、益氣養 陰	<p>1.參苓白朮散 (組成：人參 3 克、白朮 3 克、大棗 1.5 克、茯苓 3 克、白扁豆 2.3 克、山藥 3 克、甘草 3 克、桔梗 1.5 克、蓮子肉 1.5</p>

		克、砂仁 1.5 克、薏苡仁 1.5 克) 2.補中益氣湯 (組成：黃耆 6 克、當歸 2 克、升麻 1 克、白朮 2 克、人參 4 克、柴胡 1 克、陳皮 2 克、大棗 2 克、生薑 3 克、炙甘草 4 克) 3.疏經活血湯 (組成：當歸 2 克、威靈仙 2 克、川芎 1 克、茯苓 1 克、牛膝 2 克、生薑 3 克、生地黃 2 克、防風 1 克、蒼朮 2 克、甘草 1 克、桃仁 2 克、龍膽草 1 克、防己 1 克、陳皮 2 克、白芍 2.5 克、白芷 1 克、羌活 1 克) 4.清肺湯 (組成：甘草 0.6 克、竹茹 2 克、陳皮 2 克、茯苓 2 克、天門冬 1.5 克、梔子 1.5 克、貝母 2 克、當歸 2 克、黃芩 3 克、麥門冬 1.5 克、杏仁 1.5 克、生薑 3 克、大棗 2 克、桑白皮 2 克、五味子 0.4 克、桔梗 2 克)
--	--	--

ID=35 (高雄長庚院區)

時間	証型	治則	處方
T1	氣血瘀滯	活血散瘀	血府逐瘀湯 (組成：桃仁 6 克、當歸 4.5 克、柴胡 1.5 克、紅花 4.5 克、枳殼 3 克、牛膝 4.5 克、桔梗 2.3 克、甘草 1.5 克、赤芍 3 克、川芎 2.3 克、生地黃 4.5 克)
T2	氣血瘀滯	活血散瘀	血府逐瘀湯
T3	氣血瘀滯	活血散瘀	血府逐瘀湯
T4	氣血瘀滯	活血散瘀	血府逐瘀湯
T5	氣血瘀滯	活血散瘀	血府逐瘀湯

ID=48(高雄長庚院區)

時間	証型	治則	處方
T1	痰濕蘊肺	健脾燥濕、活血通路	蒲公英、丹參、浙貝母、白芥子、葶藶子、仙鶴草、溫膽湯
T2	氣血瘀滯、氣陰兩虛	活血散瘀、益氣養陰	丹參、阿膠、桑螵蛸、款冬花、紫菀、生脈散、雞血藤、芡實

T3	氣血瘀滯、 氣陰兩虛、 肺失肅降	活血散 瘀、益氣養 陰、宣肺化 痰	1.橘皮竹茹湯 (組成：橘皮 4.8 克、竹茹 2.4 克、大棗 2.4 克、生薑 4.8 克、甘草 2.4 克、人參 1.2) 2.清燥救肺湯 (組成：桑葉 7.5 克、人參 2 克、甘草 2.5 克、杏仁 2 克、枇杷葉 2 克、阿膠 2 克、石膏 6.5 克、麥門冬 3 克、胡麻仁 2.5 克) 3.生脈散 (組成：人參 10 克、麥冬 10 克、五味子 5 克)
T4	和胃止嘔	健脾益氣	1.浦黃、2.浙貝母、3.滑石(自費)、4.海螵蛸、5.橘皮竹茹湯 (組成：橘皮 4.8 克、竹茹 2.4 克、大棗 2.4 克、生薑 4.8 克、甘草 2.4 克、人參 1.2) 6.胃苓湯 (組成：蒼朮 3 克、白朮 3 克、茯苓 3 克、豬苓 2 克、澤瀉 2 克、陳皮 3 克、厚朴 3 克、肉桂 1 克、甘草 1.5 克、生薑 1 克、大棗 1 克)
T5	氣血瘀滯、 氣陰兩虛	活血散 瘀、益氣養 陰	1.橘皮竹茹湯 2.清燥救肺湯 3.半夏白朮天麻湯 (組成：黃柏 0.5 克、半夏 1.5 克、澤瀉 1 克、天麻 1 克、黃耆 1 克、乾薑 0.5 克、白朮 1.5 克、麥芽 1 克、人參 1 克、蒼朮 1 克、茯苓 1.5 克、陳皮 1.5 克、神麴 1 克)
ID=52(高雄長庚院區)			
時間	証型	治則	處方
T2	脾肺氣虛	健脾燥濕	1.參苓白朮散 (組成：人參 3 克、白朮 3 克、大棗 1.5 克、茯苓 3 克、白扁豆 2.3 克、山藥 3 克、甘草 3 克、桔梗 1.5 克、蓮子肉 1.5 克、砂仁 1.5 克、薏苡仁 1.5 克) 2.玉竹、3.竹茹、4.薏苡仁、5.蒲公英、6.合歡皮、7.夜交藤

T3	痰濕蘊肺、 血虛風咸	健脾燥 濕、疏風止 癢	1.參苓白朮散、2.薏苡仁、3.蒲公英、 4.藕節、5.荷葉、6.消風散 (組成：當歸 2.5 克、蟬蛻 2.5 克、苦參 2.5 克、生地黃 2.5 克、知母 2.5 克、石 膏 2.5 克、蒼朮 2.5 克、牛蒡子 2.5 克、 胡麻 2.5 克、防風 2.5 克、荊芥 2.5 克、 木通 1.25 克、甘草 1.25 克)
T4	風熱上犯	上清風 熱、疏風止 癢	1.菊花、2.白鮮皮、3.地膚子、4.溫清散、 5.茜草、6.洗肝明目湯 (組成：川芎 1.5 克、連翹 1.5 克、防風 1.5 克、蔓荊子 1.5 克、黃連 1.5 克、黃 芩 1.5 克、梔子 1.5 克、生地黃 1.5 克、 石膏 1.5 克、甘草 1.5 克、當歸 1.5 克、 決明子 1.5 克、 桔梗 1.5 克、蒺藜 1.5 克、荊芥 1.5 克、 薄荷 1.5 克、羌活 1.5 克、菊花 1.5 克、 赤芍 1.5 克)、
T5	脾胃氣虛	健脾益氣	1.白鮮皮、2.澤蘭、3.澤瀉、4.地膚子 5.參苓白朮散 (組成：人參 3 克、白朮 3 克、大棗 1.5 克、茯苓 3 克、白扁豆 2.3 克、山藥 3 克、甘草 3 克、桔梗 1.5 克、蓮子肉 1.5 克、砂仁 1.5 克、薏苡仁 1.5 克) 6.黃連解毒湯 (組成：黃連 6 克、黃芩 6 克、黃柏 6 克、梔子 6 克)

ID=56(林口長庚院區)

時間	証型	治則	處方
T2	痰濕蘊肺、 胃陰不足	養陰清熱	1.半夏瀉心湯 (半夏 2 克、黃芩 1.5 克、黃連 1 克、甘 草 1 克、人參 1.5 克、大棗 1 克、乾薑 1.5 克) 2.香砂六君子湯 (白朮 5 克、茯苓 5 克、半夏 2.5 克、陳 皮 2 克、木香 2 克、砂仁 2 克、甘草 2 克、人參 2.5 克、生薑 5 克) 3.二陳湯 (半夏 5 克、茯苓 5 克、陳皮 4 克、生 薑 3 克、甘草 1 克)

			4.酸棗仁湯 (酸棗仁 15 克、知母 3 克、茯苓 5 克、川芎 3 克、甘草 1 克)
T3	痰濕蘊肺、氣陰兩虛	養陰清熱	1.半夏瀉心湯 (半夏 2 克、黃芩 1.5 克、黃連 1 克、甘草 1 克、人參 1.5 克、大棗 1 克、乾薑 1.5 克) 2.香砂六君子湯 (白朮 5 克、茯苓 5 克、半夏 2.5 克、陳皮 2 克、木香 2 克、砂仁 2 克、甘草 2 克、人參 2.5 克、生薑 5 克) 3.二陳湯 (半夏 5 克、茯苓 5 克、陳皮 4 克、生薑 3 克、甘草 1 克) 4.酸棗仁湯 (酸棗仁 15 克、知母 3 克、茯苓 5 克、川芎 3 克、甘草 1 克)
T4	痰濕蘊肺	解毒散節	1.魚腥草 2.白鮮皮 3.半夏瀉心湯 (半夏 2 克、黃芩 1.5 克、黃連 1 克、甘草 1 克、人參 1.5 克、大棗 1 克、乾薑 1.5 克) 4.香砂六君子湯 (白朮 5 克、茯苓 5 克、半夏 2.5 克、陳皮 2 克、木香 2 克、砂仁 2 克、甘草 2 克、人參 2.5 克、生薑 5 克) 5.黃連解毒湯 (黃連 6 克、黃芩 6 克、黃柏 6 克、梔子 6 克) 6.消風散 (當歸 2.5 克、蟬蛻 2.5 克、苦參 2.5 克、生地黃 2.5 克、知母 2.5 克、石膏 2.5 克、蒼朮 2.5 克、牛蒡子 2.5 克、胡麻 2.5 克、防風 2.5 克、荊芥 2.5 克、木通 1.25 克、甘草 1.25 克) 7.真人活命飲 (金銀花 2 克、陳皮 1.5 克、防風 0.7 克、貝母 1 克、乳香 0.5 克、當歸 1.5 克、

			白芷 1 克、天花粉 1 克、沒藥 0.5 克、皂角刺 0.5 克、甘草 1 克) 8.酸棗仁湯
T5	肺陰虛	養陰清熱	1.魚腥草 2.白鮮皮 3.知柏地黃丸 (知母 2 克、熟地黃 8 克、黃柏 2 克、山茱萸 4 克、山藥 4 克、茯苓 3 克、牡丹皮 3 克、澤瀉 3 克) 4.疏經活血湯 (當歸 2 克、威靈仙 2 克、川芎 1 克、茯苓 1 克、牛膝 2 克、生薑 3 克、生地黃 2 克、防風 1 克、蒼朮 2 克、甘草 1 克、桃仁 2 克、龍膽草 1 克、防己 1 克、陳皮 2 克、白芍 2.5 克、白芷 1 克、羌活 1 克) 5.消風散 (當歸 2.5 克、蟬蛻 2.5 克、苦參 2.5 克、生地黃 2.5 克、知母 2.5 克、石膏 2.5 克、蒼朮 2.5 克、牛蒡子 2.5 克、胡麻 2.5 克、防風 2.5 克、荊芥 2.5 克、木通 1.25 克、甘草 1.25 克) 6.真人活命飲 (金銀花 2 克、陳皮 1.5 克、防風 0.7 克、貝母 1 克、乳香 0.5 克、當歸 1.5 克、白芷 1 克、天花粉 1 克、沒藥 0.5 克、皂角刺 0.5 克、甘草 1 克) 7.酸棗仁湯

糖尿病新型中醫藥之轉譯醫學研究(2-2)

侯庭鏞
中國醫藥大學

摘要

研究目的：

糖尿病(Diabetes mellitus)是體內胰島素不足或細胞產生胰島素抗性而導致血糖濃度無法降低，造成高血糖症的發生。目前臨床治療糖尿病的策略，大多是使用注射胰島素或口服降血糖藥物等方法控制血糖。然而在糖尿病長程的病程發展過程中，除了血糖的控制外，還須留意糖尿病併發症的發生，如：低血糖症、酮酸中毒、心血管疾病、慢性腎衰竭、視網膜病變等，這些併發症往往造成死亡率及醫療費用的攀升。許多研究認為這些併發症高度關聯到醣化血色素(HbA1c)，因此若能控制 HbA1c 就可能減緩或降低併發症的發生。

研究方法：

本研究經由臨床治療經驗分析可能具控制 HbA1c 之中醫藥方劑，再透過基礎實驗驗證中醫方劑在控制 HbA1c 的療效及機轉，進一步探究其調控 HbA1c 是否可減緩或降低糖尿病併發症的發生。

主要發現：

我們以中央健保局所推動「全民健保論質計酬計劃」中的糖尿病病患(ICD-9-CM250)為研究對象進行統計分析，發現六味地黃丸、玉泉丸、白虎加參湯、知柏地黃丸、濟生腎氣丸、杞菊地黃丸、甘露飲、白虎湯、竹葉石膏湯、八味地黃丸等中醫方劑較常使用，其中 TCM-DM 可以明顯地降低病患的 HbA1c 值。為了證實其療效及機轉，我們將 TCM-DM 餵食第二型糖尿病鼠，發現 TCM-DM 單獨使用或併用西藥都可以降低小鼠的血糖及 HbA1c，而且也可以降低死亡率。進一步經由 DNA 微陣列及其他分生試驗，發現 TCM-DM 可以活化胰島素及 peroxisome proliferator-activated receptors 訊息傳導路徑，影響糖類或脂肪的代謝，進而改善糖尿病小鼠的血糖及 HbA1c 數值，此外也可以降低與腎臟有關的血清生化值，暗示 TCM-DM 可能可以改善糖尿病腎病變。接著，我們利用 HPLC 及蛋白質二維電泳，分析 TCM-DM 的化合物及蛋白質指紋圖譜，同時也利用甘草酸為參考成分，進行 TCM-DM 組成份的定量分析，這些結果可以在未來進行臨床試驗或申請專利時，作為 TCM-DM 品質管控的依據，以便確認每一批 TCM-DM 品質的一致性。最後，我們將低、中、高劑量的 TCM-DM 餵食小鼠後，進行 TCM-DM 的 28 天毒理試驗，結果顯示 TCM-DM 在小鼠試驗中沒有明顯可見的毒性現象。

結論及建議事項：

本研究透過 Physiological (HbA1c、血糖)、Biochemical Investigations (血清生化) 及 Pharmacogenomic (DNA 微陣列) 等方式進行基礎研究驗證，已將臨床觀察到具有控制 HbA1c 潛能的特定中醫方劑 TCM-DM 利用科學驗證證實其功效，確定其最適用病程、投與時間及劑量等細節，並完成品質管控的基礎及毒理試驗的分析，這些結果，將提高未來臨床試驗的合理性及成功率，進而加速未來中醫方劑植物新藥專利的申請。

關鍵詞：糖尿病、中醫藥、轉譯醫學

Translational Medicine Study of New Chinese Medicinal Herbs for Diabetes (2-2)

Tin-Yun Ho
China Medical University

ABSTRACT

Aim:

Diabetes mellitus (DM) refers to a group of common metabolic disorders that share the phenotype of hyperglycemia. Administration of glucose-lowering agents, such as insulin, and insulin secretagogues, such as tolbutamide, has been used for the glycemic management of DM. In addition to hyperglycemia, DM leads to several complications, including retinopathy, nephropathy, and neuropathy. Clinical studies showed that reductions in glycated hemoglobin A1c (HbA1c) directly reflect improvements in glycemic control and diabetic complications. Therefore, the specific aims of this study are to find the Chinese medicinal formula with HbA1c-lowering potential and to further elucidate the molecular mechanism and therapeutic effect of this formula on the DM and diabetic complications.

Methods:

Chinese medicinal formulae with HbA1c-lowering potentials were analyzed for their therapeutic effects and mechanisms by glucose tolerance test and DNA microarray. The chemical and protein constituents of TCM-DM were analyzed by HPLC and 2-dimensional electrophoresis (2-DE), respectively. The 28-day toxicity test of TCM-DM was further performed.

Major Findings:

By surveying the National Health Insurance Database for the DM patients who administer both Chinese medicinal formula and clinical agents, we found that TCM-DM significantly lowered the HbA1c level in patients. Oral administration of TCM-DM decreased both the blood glucose levels and the HbA1c levels in type II diabetic mice, and the decrease was dose dependent. DNA microarray and molecular biology techniques further showed that TCM-DM significantly activated insulin and peroxisome proliferator-activated receptors signaling transduction pathways, affected several pathways involved in glucose and lipid metabolism, and, in turn, decreased the blood glucose and HbA1c levels in diabetic mice. In addition, the levels of serum biochemical parameters, such as blood urea nitrogen and creatinine, were decreased by TCM-DM, suggesting that TCM-DM could improve the diabetic nephropathy. The chemical and protein components of TCM-DM were further analyzed by HPLC and 2-DE, respectively. Data showed that HPLC fingerprinting map and 2-DE protein profiling could be the standard for quality control of TCM-DM. Furthermore, the

28-day toxicity test showed that TCM-DM displayed no toxicity in mice.

Conclusion & Suggestion:

In conclusion, the physiological investigations (HbA1c and blood glucose level), biochemical investigations (serum biochemical parameters), and pharmacogenomic investigations (microarray analysis) have been performed to elucidate the molecular mechanisms of TCM-DM on DM. Additionally, this project is a translational medicine study that connects the basic molecular studies and clinical studies of TCM-DM.

Keywords: Diabetes, Chinese medicinal herbs, Translational medicine

壹、前言

糖尿病 (Diabetes mellitus) 是一種慢性的代謝性疾病，其致病原因通常是由於體內胰島素缺乏或功能不全，亦或者是先天的基因加上後天環境造成周邊組織的胰島素抗性，以致於對醣類的利用能力減低，甚至完全無法利用，進而造成體內血糖過高及蛋白質與脂肪代謝的異常。根據世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 的相關統計顯示，糖尿病患者的總數一直呈現驚人的成長，從 1985 年的三千萬人，到 2000 年的一億七千萬人，依照其成長數率，推估到了 2030 年，全球糖尿病患病人數將到達三億三千萬 (Wild et al., 2004)。由於盛行率及發生率的逐年增加，糖尿病已成為現階段主要的公共衛生課題。

根據致病機轉的差異，1997 年美國糖尿病學會 (American Diabetes Association) 將糖尿病分成四類：一、第一型糖尿病：又稱為胰島素依賴型糖尿病，是由於分泌胰島素的 β 細胞受自體免疫系統的攻擊而破壞殆盡，以致無法分泌胰島素，必需每天注射胰島素。第一型糖尿病約佔所有糖尿病患 5-10%。因為遺傳的原因，所以第一型糖尿病容易出現家族性，家族間若有胰島素依賴型糖尿病，其子女約有 10% 會在 50 歲左右發病，若是有同卵雙胞胎，發病率約 25-50%，發病的高峰期集中在青春期也是特徵，女性約在 10-12 歲，男性約在 12-14 歲。二、第二型糖尿病：又稱為非胰島素依賴型糖尿病，導因於分泌胰島素不足或是胰島素抗性糖尿病 (身體組織對胰島素的反應不良)，前者是醣類攝取過多，使胰島素分泌趕不上，因慢性分泌不足所引起的；後者是對脂肪細胞表面的胰島素受體產生抵抗，阻礙了胰島素的結合，致胰島素無法發揮其應有的功能。第二型糖尿病佔 90-95%，其中約三分之一不知道自己患有糖尿病。通常是在 45 歲以後發病，在明顯感受到症狀，或是引發併發症之前，大多數的患者都是不太理會而沒有好好控制。三、妊娠糖尿病：是指在懷孕過程中發生的糖尿病。四、其他：可以找到明確病因的糖尿病，包括特定基因突變、其他內分泌疾病、藥物、感染等，佔所有糖尿病患 1-2% (Davidson, 1991; Gabir et al., 2000)。

臨床治療糖尿病的策略，除了飲食控制和減輕體重外，大多是使用注射胰島素或口服降血糖藥物等方法控制血糖，除胰島素之外，根據藥物的作用機制，目前西醫所用的口服降血糖藥劑可分為五大類：一、磺醯尿素類 (sulfonylureas)，可促進胰臟分泌胰島素及增加組織細胞之胰島素的接受器；二、安息香酸衍生物，可刺激胰島素之分泌；三、雙胍類 (biguanides)，

可抑制胃腸吸收糖分、抑制肝臟製造糖分、及促進組織利用糖分；四、 α -葡萄糖酶抑制劑 (α -glucosidase inhibitors)，可抑制雙糖分解為腸道可吸收之單糖；五、胰島素敏感劑，可降低周邊組織與肝臟細胞對胰島素的阻抗性。然而，上述藥物各具不同副作用，舉例而言，磺醯尿素類藥物會使病患發生皮疹及低血糖之現象；安息香酸衍生物會導致低血糖；雙胍類藥物會造成胃腸不適及乳酸中毒； α -葡萄糖酶抑制劑會使病患胃腸不適；而胰島素敏感劑則會導致肝功能異常及肝細胞傷害 (DeFronz, 1999; Bode and Battelino, 2010)。

此外，在糖尿病長程的病程發展過程中，除了血糖的控制外，還須留意糖尿病併發症的發生，如低血糖症 (hypoglycemia)、酮酸中毒 (ketoacidosis, DKA)、糖尿病血管病變、糖尿病腎病變、視網膜病變、神經病變及微血管 (microvascular) 病變等 (Yakubovich and Gerstein, 2011)。這些併發症往往造成死亡率及醫療費用的攀升。許多研究認為這些併發症高度關聯到醣化血色素 (glycated hemoglobin, HbA1c) (Fowler and Vasudevan, 2010)。糖尿病的病人，經常需要測血糖值來監督血糖控制的情形，並作為調整藥量的依據。但血糖值只代表抽血當時的血糖高低，而較長時期的血糖控制情形，則須靠 HbA1c 來反應。1968 年 Rabber 首先指出 HbA1c 增加於糖尿病的臨床病程中，具有重要意義。紅血球在血液中運行時，血中的葡萄糖可進入紅血球中而依附在血紅素上，形成 HbA1c。HbA1c 的量與血中葡萄糖的平均濃度成正比的關係。血糖越高，HbA1c 的比例就越高，此反應不需酵素參與，為不可逆反應。血紅素一旦被葡萄糖依附後，就會一直保持這種狀態，直到此紅血球死亡為止。一旦 HbA1c 形成於血色素中，便存在於整個紅血球的生命週期中，而紅血球的壽命是 120 天，所以，HbA1c 可用來反應最近三個多月來的血糖控制狀況。研究指出，若能控制 HbA1c 就可能減緩或降低併發症的發生，因為西藥治療常因 HbA1c 控制不良產生嚴重的併發症，因此越來越多糖尿病患者會借助中醫藥或替代醫學輔助治療糖尿病。

本研究架構是由臨床的經驗，透過科學實驗的驗證，之後再導引至臨床。我們已經由全民健保統計分析出一個具有明顯調控 HbA1c 之治療方劑 (代號為 Traditional Chinese Medicine for Diabetes; TCM-DM)，為證實其療效及機轉，我們利用 streptozocin (STZ) 結合高脂飲食誘發與人類第二型糖尿病致病機轉最為類似的動物模式 (Mu et al., 2006)，再利用此一動物模式驗證 TCM-DM 確實具控制 HbA1c 及血糖值的效果，並經由血清生化值的測量確認 TCM-DM 是否會增加胰島素的量達到血糖控制，且是否可以

降低與腎病變相關的指標，例如血中尿素氮（blood urea nitrogen (BUN)）及肌酸酐（creatinine），最後我們利用 DNA 微陣列分析 TCM-DM 作用的機轉及影響的路徑。HbA1c 數值及血中葡萄糖濃度皆是本計畫要監測之數值，至於血糖及 HbA1c 的因果關係及主導之機轉，將藉由其它實驗（例如 DNA 微陣列、免疫組織化學染色法等）加以釐清。雖然 TCM-DM 為中醫傳統使用方，由健保資料庫的分析，發現此方劑可能具有調降 HbA1c 的潛能，但仍須經由動物實驗確認此方劑單獨使用或是合併西藥使用具有調降 HbA1c 的作用，同時確認其作用機轉，以利未來申請 IRB 進行臨床試驗之用。本研究透過 Physiological (HbA1c、血糖)、Biochemical Investigations (血清生化) 及 Pharmacogenomic (DNA 微陣列) 等方式進行基礎研究驗證，期望將臨床觀察到的現象利用科學驗證證實其功效，確定其最適用病程、投與時間及劑量等細節，未來再推向臨床試驗。

貳、材料與方法

一、以流行病統計學方法分析全民健保資料庫，找到具改善 HbA1c 潛能之中醫方藥，並以此作為臨床經驗觀察的起點及後續實驗的基礎

本項研究是利用健保資料庫的資訊，以「全民健保論質計酬計劃」所收納的糖尿病病患使用西醫治療或合併中西醫藥治療的 HbA1c 變化情況為基礎，尋找具有控制 HbA1c 及治療糖尿病潛力之中醫方藥。該計畫的糖尿病病患 (ICD-9-CM250) 之納入準則為加入計畫後滿一年，且有持續定期接受追蹤者為研究對象，分析符合上述準則的糖尿病病患其單獨使用西醫治療或合併中西醫藥治療的 HbA1c 變化情況，並進一步分析合併中西醫藥治療的研究對象加入論質計酬計劃期間使用方劑的種類及 HbA1c 變化情況。本計畫主要針對健保資料庫中糖尿病病患使用排名前 10 名的方劑，利用「全民健保論質計酬計劃」中的糖尿病病患為研究對象，進行深入的分析及探究，之後將效應較明顯的方劑 TCM-DM 作為本計畫之主標的，進一步探究其動物試驗的療效、作用機轉及未來應用於臨床試驗的可能性。

二、以動物平台驗證中醫方藥 TCM-DM 之調整血糖及控制 HbA1c 的效應

為了探討中醫方藥 TCM-DM 之調整血糖及控制 HbA1c 的效應，我們採用正常小鼠 (BALB/c) 及第二型糖尿病鼠做為動物模式。第二型糖尿病鼠是利用高脂飲食及低劑量 STZ 所誘發，方法概述如下：四週齡大的 BALB/c 公鼠先投予高脂飼料三週，然後注射低劑量的 STZ (90-100 mg/kg)，繼續投予高脂飼料三週，於老鼠十週齡時測其空腹四至六小時血糖值，空腹血糖值大於 250 mg/dL 的老鼠即為第二型糖尿病鼠 (Luo et al., 1998)。

中醫方藥 TCM-DM 調整血糖效應的測定方法為葡萄糖耐受性試驗 (glucose tolerance test)，方法為將小鼠禁食 18 小時後，以腹腔注射方式給予高濃度的葡萄糖溶液 (4 g/kg)，再於不同時間利用尾靜脈採血測量血糖值 (Polotsky et al., 2003)。經前驅實驗證實葡萄糖溶液以腹腔注射的方式給予小鼠，可以使小鼠維持穩定的高血糖狀態。而以腹腔注射葡萄糖溶液 (0.5-4 g/kg) 進行劑量反應的測試，發現血糖濃度會隨著葡萄糖注射濃度的上升而增加，在腹腔注射 30 分鐘後，血糖濃度會達到高峰，而 2 小時後，血糖濃度會下降成背景值。因此我們利用每公斤體重 4 公克的葡萄糖濃度、腹腔注射的條件，進行 TCM-DM 調整血糖的實驗。至於中醫方藥 TCM-DM 控制 HbA1c 的測定方法為採取全血後，再利用自動分析儀

(COBAS Mira Plus, Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) 測定 HbA1c 數值 (%)。

三、具改善 HbA1c 潛能之中醫方劑 TCM-DM 的作用機轉分析

(一) DNA 微陣列分析

因為 DNA 微陣列可觀測到受調控的基因種類，也可進一步利用生物資訊軟體分析影響及作用的路徑為何，因此我們摘取與葡萄糖調控有關的肌肉組織，進行 DNA 微陣列分析。

1. RNA 樣品之製備

RNA 樣品是以 RNeasy Mini kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) 製備。RNA 樣品先利用分光光度計 (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) 進行 RNA 的定量，A260/A280 比值大於 1.8 的樣品則進一步利用 Agilent 2100 bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) 評估其 RNA 的品質。只有當樣品的 RNA integrity number 高於 8.0 時，才會用於下述的微陣列實驗分析。

2. 微陣列的流程

將 RNA (5 µg) 先利用 MessageAmp™ aRNA kit (Ambion Austin, TX, USA)，經由試管內轉錄的步驟加以放大。放大的 RNA (amplified RNA, aRNA) 再和 Cy5 染劑進行化學反應，將 Cy5 染劑標定到 aRNA 上，使得 aRNA 成為帶有螢光標定的 aRNA。螢光標定完成後，將螢光標定的 aRNA 與 Whole Genome OneArray™ (Phalanx Biotech Group, Hsinchu, Taiwan) 混合，於 50°C 經過一夜的雜合反應後，藉由清洗步驟將非專一性結合的 aRNA 從晶片上清除。接著將晶片以離心的方式使之乾燥，並利用 Axon 4000 掃描器 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) 進行螢光強度的掃描。我們使用 genepix 4.1 軟體 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) 對晶片上每一點的 Cy5 螢光強度進行分析。每一點的訊號經由扣除周圍背景值的方式校正其強度。我們刪除作為內在控制的探針 (probe) 或是訊雜比 (signal-to-noise ratio) 小於零的點。通過這些門檻的點藉由 limma package 軟體的 R 程式進行歸一化 (normalization)。

3. 利用生物資訊軟體分析具改善 HbA1c 潛能之中醫方藥的作用機轉及影響路徑

將 TCM-DM 所影響基因除以對照組所影響基因之歸一化數值，計算出基因的表現倍數 (fold change) 後，選取表現倍數大於 1.5 倍或小於-1.5 倍的基因進行生物路徑分析 (pathway analysis)。生物路徑分析的方法為利用 limma package 軟體中的 geneSetTest 功能進行運算，生物路徑的資料庫來源為 ArrayTrack (<http://www.fda.gov/nctr/science/centers/toxicoinformatics/ArrayTrack/>)，

其包含來自於 KEGG (<http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>) 及 PathArt (Jubilant Biosys) 的共 352 個生物路徑資料。除了生物路徑分析外，我們也將表現有差異的基因利用 Medical Subject Headings (MeSH) (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>) 資料庫分析表現有差異的基因之作用機轉、影響的路徑及與疾病的關連度。

(二) 利用酵素連結免疫吸附分析法 (enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA)、細胞增生試驗及免疫組織化學染色法驗證 TCM-DM 的作用機轉

血清中胰島素及 c-peptide 濃度的測定是分別採用 Rat/Mouse insulin ELISA kit (Millipore, St. Charles, Missouri, USA) 及 Mouse c-peptide ELISA kit (Shibayagi, Japan)。TCM-DM 與胰島素接受器結合後誘發後續接受器磷酸化及葡萄糖轉運分子 (glucose transporter 4; GLUT4) 分佈到細胞膜的分析是分別採用 ELISA (DuoSet[®] IC, Human Phospho-Insulin R, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) 及免疫組織化學染色法。TCM-DM 對 peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) 活性的影響是利用 TCM-DM 處理 HepG2/PPAR 後，再測定冷光酵素的活性 (Kao et al., 2012)，在此試驗的同時，我們也進行細胞毒殺試驗 (Li et al., 2012)，以確定 TCM-DM 對 PPAR 活性與細胞活性的影響。

四、具改善 HbA1c 潛能之中醫方藥 TCM-DM 的品質管控

我們藉由高效液相層析儀 (HPLC) 及蛋白質二維電泳進行 TCM-DM 的品質管控。HPLC 的方法為將 TCM-DM 利用乙醇萃取後，再利用 RP-18 管柱 (SUPELCO, Discovery HS C18, 4.6×250 mm, 5 μm) 以 1 ml/min 的流速進行沖提，並利用 254 nm 波長進行偵測。沖提時的移動相由 1% CH₃CN-1.0% H₃PO₄ 所組成，移動相的濃度梯度為：0-30 分鐘從 5% CH₃CN

到 60% CH₃CN；30-50 分鐘從 60% CH₃CN 到 90% CH₃CN；50-60 分鐘從 90% CH₃CN 到 100% CH₃CN。蛋白質二維電泳的方法為將 TCM-DM 的組成份以水萃取後，先利用 IPG strip 藉由等電點的原理進行一維電泳分離，再利用 SDS-PAGE 藉由分子量的不同進行二維電泳分離。

五、中醫方藥 TCM-DM 之安全性評估

這項實驗的目的為測試中醫方藥 TCM-DM 在高、中、低 3 種劑量下，對動物可能產生之毒性影響，同時測定 TCM-DM 的半致死量。實驗方法為小鼠連續 28 天餵食中醫方藥，每天觀察動物至少二次，以確定小鼠的狀態，並定期測量小鼠的體重及食物消耗量。餵食 28 天後，將存活的小鼠安樂死，在剖檢前先收集血液樣品，以進行血液與血清生化分析。屍體解剖時，肉眼觀察及記錄小鼠的器官與組織之變化，並測量主要臟器重量，同時進行組織病理檢驗。

參、結果

一、健保資料庫的分析

我們以中央健保局所推動「全民健保論質計酬計劃」中的糖尿病病患 (ICD-9-CM250) 為研究對象，為能使「全民健保論質計酬計劃」發揮效果，我們納入的準則為加入計畫後滿一年且有持續定期接受追蹤者。統計結果符合定義的人數共有 9,973 人，單獨使用西藥的糖尿病患者有 9,444 人，合併使用西藥及中醫方劑的糖尿病患者有 529 人 (第一年研究結果)。雖然本計畫所分析的糖尿病患者單獨使用西藥及合併使用中西藥的樣品數有差異 (單獨使用西藥的糖尿病患者有 9,444 人，合併使用西藥及中醫方劑的糖尿病患者有 529 人)，但因本項研究屬於回溯性研究，病患組成固定，因此即使樣本數差異大，仍將符合原來設計方法的所有病人都列入統計，而樣本數的差異也同時反應中西醫使用比例的現況。

由中央健保局所推動的「全民健保論質計酬計劃」中的糖尿病病患統計分析中，發現以六味地黃丸、玉泉丸、白虎加參湯、知柏地黃丸、濟生腎氣丸、杞菊地黃丸、甘露飲、白虎湯、竹葉石膏湯、八味地黃丸等中醫方劑較常使用 (第一年研究結果)。

在分析中醫方劑改善 HbA1c 的情形後，發現 TCM-DM 可以明顯地降低病患的 HbA1c 值，改善的結果見圖一。接著，我們分析使用 TCM-DM 的病人併合使用西藥的種類，結果發現病患併合使用 metformin、sulfonylurea、 α -glucosidase inhibitor、triazolidinedione (TZD) 及胰島素的比分別分別是 32/38、34/38、10/38、19/38 及 7/38，病患服用 TCM-DM 的服藥時間和 HbA1c 的測量值見。因為目前臨床上降血糖的西藥除了胰島素外，其他西藥對 HbA1c 並無明顯的改善現象，而由上述統計結果也呈現單獨使用西藥組並無改善 HbA1c 的效果，但合併 TCM-DM 卻可以明顯地降低 HbA1c，這個結果顯示使用 TCM-DM 降低 HbA1c 的效果及優勢，因此本計畫進一步針對 TCM-DM 進行療效及機轉的探究。

二、利用動物模式分析 TCM-DM 調整血糖的療效

我們利用正常小鼠及第二型糖尿病鼠為模式，分析 TCM-DM 調整血糖的活體效應。將 TCM-DM 以不同劑量餵食正常小鼠，再利用葡萄糖耐受性試驗進行分析。圖二 (A) 顯示，與對照組相比，TCM-DM 呈現明顯調降血糖的功效，而且調降血糖的效應呈現劑量反應，因此後續的實驗皆以 200 mg/kg 為 TCM-DM 的試驗劑量。

我們進一步利用高脂飲食及低劑量的 STZ 誘發第二型糖尿病動物模式，將空腹 4 小時後血糖值大於 250 mg/dL 的小鼠隨機分配為對照組及實驗組，實驗組每天投予 200 mg/kg TCM-DM，對照組則投予等量的水。接著，在第 10、20 及 30 天分別採血測量空腹血糖值，結果顯示，對照組的血糖值分別為 405.00 ± 46.94 、 443.33 ± 54.55 、 273.33 ± 17.56 mg/dL，實驗組的血糖值則分別為 161.00 ± 57.66 、 200.00 ± 139.53 、 122.67 ± 67.09 mg/dL (圖二 (B))，而於第 30 天以葡萄糖耐受性試驗進行分析，也發現與對照組相比，TCM-DM 呈現明顯調降血糖的效應 (圖二 (C))，這些結果顯示 TCM-DM 具有調整血糖的活體效應。

三、利用動物模式分析 TCM-DM 調整 HbA1c 的效應

利用高脂飲食及低劑量的 STZ 誘發第二型糖尿病動物模式，將空腹 4 小時後血糖值大於 250 mg/dL 的小鼠隨機分配為對照組及實驗組，實驗組每天投予 200 mg/kg TCM-DM，對照組投予等量的水。在第 10、20 及 30 天分別採血測量 HbA1c 值，對照組的 HbA1c 值分別為 6.76 ± 0.09 、 6.70 ± 0.02 、 $6.77 \pm 0.26\%$ ，而實驗組的 HbA1c 值則分別為 5.71 ± 0.60 、 5.03 ± 0.63 、 $4.80 \pm 0.28\%$ (圖三)，連續餵食 TCM-DM 10 天已可明顯地降低 HbA1c，而隨著餵食時間的增加，TCM-DM 降低 HbA1c 的效果更加顯著，這些結果顯示 TCM-DM 可以明顯地降低第二型糖尿病鼠的 HbA1c 數值。

為了分析 TCM-DM 單獨或併用降血糖用藥 TZD 控制 HbA1c 的效果，我們將第二型糖尿病小鼠隨機分為對照組、中藥組、中藥併用西藥組及西藥組，中藥組每天投予 200 mg/kg TCM-DM，中藥併用西藥組每天投予 200 mg/kg TCM-DM 和 20 mg/kg TZD，西藥組每天投予 20 mg/kg TZD，對照組則投予等量的水，於投藥後第 10、20、30、45、60 及 90 天分別採血測量 HbA1c 值，並於投藥後第 30 天量測血糖值。在血糖的部份，TCM-DM 及 TZD 如預期一般可以降低第二型糖尿病小鼠的血糖，TCM-DM 併用 TZD 也會降低血糖，但並沒有加乘效應，不會造成病態低血糖的狀態。在 HbA1c 的部份，量測結果為第 10 到 45 天對照組、中藥組、中藥併用西藥組及西藥組的 HbA1c 值分別為 8.89 ± 5.42 、 7.84 ± 4.00 、 7.95 ± 3.92 、 $9.09 \pm 5.29\%$ ；第 60 天四組的 HbA1c 值分別為 9.83 ± 4.32 、 7.07 ± 1.94 、 6.94 ± 1.80 、 $10.97 \pm 4.49\%$ ；第 90 天四組的 HbA1c 值則分別為 10.15 ± 5.42 、 7.30 ± 1.92 、 7.06 ± 2.02 、 $9.96 \pm 3.44\%$ (圖四)，這些結果顯示，投與 TZD 後 HbA1c 的數值與對照組相似，但是 TCM-DM 單獨或併用 TZD 與對照組相比則有較佳的控制 HbA1c 效果，我們認為西藥 TZD 雖可控制血糖，但並無控制 HbA1c

的效果，而 TCM-DM 單獨或併用 TZD 有控制 HbA1c 的效果，主要在於 TCM-DM 之功效，此外，這些結果也再次驗證 TCM-DM 單獨或併用西藥可以降低糖尿病病患 HbA1c 的效果。

除了定期量測 HbA1c 外，在實驗過程中我們也同時監測四組的生存曲線，結果發現第二型糖尿病鼠在未經治療的狀態下，於 110 天後的存活率為 6/10，西藥組為 8/10，中藥併用西藥組為 9/10，而中藥組為 10/10(圖五)，這些結果顯示 TCM-DM 不僅可以降低第二型糖尿病鼠的 HbA1c 數值，也可以降低死亡率。

四、具改善 HbA1c 潛能中醫方劑 TCM-DM 作用機轉的分析

我們取上述動物與葡萄糖調控有關的肌肉組織樣品，萃取 RNA，再利用分光比色計及 Agilent 2100 bioanalyzer 評估 total RNA 的品質。接著將 total RNA 經由試管內轉錄的步驟加以放大。放大的 RNA (aRNA) 再和 Cy5 染劑進行化學反應，並將 Cy5 染劑標定到 aRNA 上。螢光標定完成後，將螢光標定的標的物與 Whole Genome OneArray™ 進行雜合反應。接著，藉由螢光強度的掃描、歸一化等分析後，將 TCM-DM 所影響基因除以對照組所影響基因之歸一化數值，計算出基因的表現倍數 (fold change) 後，發現表現倍數大於 1.5 倍的基因共有 46 個，而表現倍數小於 -1.5 倍的基因共有 28 個 (表一)。其中，stearoyl-CoA desaturase (delta-9-desaturase) 為脂肪酸代謝中一個重要的關鍵酵素、glycogen phosphorylase 在肝醣分解的步驟中扮演相當重要的角色、pyruvate dehydrogenase lipoamide kinase isozyme 4 與醣類代謝有關。接著，再選取表現倍數大於 1.5 倍或小於 -1.5 倍的基因與 MeSH (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>) 的資料進行相似性分析或是進行生物路徑分析 (pathway analysis)。在與 MeSH 進行相似性分析方面，表二顯示，TCM-DM 所影響的基因種類非常類似於第二型糖尿病 ($p=0.001$) 或糖尿病併發症，包括尿毒症 ($p=0.003$)、黃斑病變 ($p=0.003$)、糖尿病視網膜病變 ($p=0.008$) 及糖尿病血管病變 ($p=0.010$) 等所影響的基因；而在生物路徑的分析上，TCM-DM 會明顯地影響與糖類或脂肪代謝有關的訊息傳導路徑，包括 citrate cycle ($p=1.45\times 10^{-9}$)、PPAR signaling pathway ($p=0.000311$)、fatty acid metabolism ($p=0.000142$)、free fatty acid (FFA) signaling pathway ($p=0.001233$) 等，也會影響胰島素訊息傳導路徑 ($p=0.000117$) (表三)，這些結果代表 TCM-DM 可能可以藉由影響與第二型糖尿病或糖尿病併發症有關的基因，透過影響與糖類或脂肪代謝有關的訊息傳導路徑，而達到調整血糖的活體功效。

因為 DNA 微陣列的結果顯示 TCM-DM 的作用機轉與胰島素及 PPAR 訊息傳導路徑有關，此外，TCM-DM 所影響的基因種類也與第二型糖尿病或糖尿病併發症所影響的基因相似，因此我們利用後續試驗，驗證 DNA 微陣列的分析結果。將 TCM-DM 餵食第二型糖尿病鼠 30 天後，收集血清測定胰島素、C-peptide、BUN 及 creatinine 的濃度，結果顯示，與對照組比較，TCM-DM 明顯增加血液中胰島素和 C-peptide 的含量，代表 TCM-DM 可以增加胰島素的新生合成，此外，TCM-DM 也可以明顯降低 BUN 和 creatinine 的濃度，暗示 TCM-DM 可能可以改善糖尿病腎病變（圖六）。

此外，我們將 TCM-DM 處理細胞後，再測定胰島素受體磷酸化的程度及 PPAR 的活性，結果顯示 TCM-DM 可以結合到胰島素受體，進一步刺激胰島素受體的磷酸化（圖七），也可以刺激 PPAR 的活性，而且呈現劑量反應（圖八）。因為胰島素訊息傳導路徑的活化會導致 GLUT4 分布到細胞膜，因此我們利用免疫組織化學染色分析 TCM-DM 餵食第二型糖尿病鼠 30 天後的肌肉組織，結果顯示 TCM-DM 確實可以增加肌肉組織中 GLUT4 的表現量（圖九），這些結果代表 TCM-DM 可以活化胰島素及 PPAR 訊息傳導路徑，影響糖類或脂肪的代謝，進而改善糖尿病小鼠的血糖及 HbA1c 數值，此外也可以降低與腎臟有關的血清生化值，暗示 TCM-DM 可能可以改善糖尿病腎病變。

五、具改善 HbA1c 潛能中醫方劑 TCM-DM 之品質管制及基源成分鑑定

本項試驗先藉由薄層色譜層析（TLC）進行 TCM-DM 的成分分析，再藉助高效液相層析法（HPLC）進行 TCM-DM 的指紋圖譜分析及特定成份的定量分析，接著將此一特定成分與已知核磁共振參數的化合物進行比對，以完成固定基緣、固定組成中醫方藥的品質管制分析。除了計畫中所提藉由薄層色譜層析分析及高效液相層析儀鑑定化學組成分之外，因應本計畫所探勘到的新穎活性機轉，我們額外利用蛋白質二維電泳分析 TCM-DM 的蛋白質組成，以做為未來進行 TCM-DM 品質管制的參考。本項試驗的結果描述如下：

在 TCM-DM 的品質管制及鑑定分析方面，先藉助薄層色譜層析 TLC 分析檢驗 TCM-DM 所含的化學成分類型及相關物化性質。計畫中所使用的 TCM-DM（竹葉石膏湯）分讓自「GMP 藥廠股份有限公司」，組成中藥符合行政院衛生署制定「中華中藥典」之規範，該藥廠針對提供給本計畫使用之 TCM-DM 的中藥組織性狀、含量測定及 TLC 分析等相關報告表見附錄。

接著，我們利用高效液相層析法 HPLC 進行 TCM-DM 的指紋圖譜分析及特定成份的定量分析。先將 TCM-DM 經實驗室標準步驟(甲醇) 萃取後，利用 RP-18 管柱，流動相溶液為 CH₃CN-1.0% H₃PO₄，以梯度方式由 0-30 分鐘 (0-60% CH₃CN)、30-50 分鐘 (60% CH₃CN -100% CH₃CN) 沖提，流速為 1 ml/min，檢測波長為 254、230、210 nm。TCM-DM 在 254、230、210 nm 吸收波長的 HPLC 指紋圖譜可以作為日後 TCM-DM 品管標準的參考 (第一年研究結果)。

因為顧慮到以甲醇為溶媒與一般實際使用水或酒精為溶媒，萃取到的化學成份有所不同，因此我們進一步將 TCM-DM 以水萃取經烘乾後，再以乙醇沖提，接著將 TCM-DM 萃取液利用 RP-18 管柱，流動相溶液為 CH₃CN-1.0% H₃PO₄，以梯度方式由 0-30 分鐘 (5-60% CH₃CN)、30-50 分鐘 (60% CH₃CN-90% CH₃CN)、50-60 分鐘 (90% CH₃CN-100% CH₃CN) 沖提，流速為 1 ml/min，檢測波長為 254 nm。結果顯示，含量較多的化學組成份於 47.3 分鐘時被沖提出來 (圖十 (A))，此一特定的 HPLC 指紋圖譜也可作為日後 TCM-DM 品管標準的參考。

在 TCM-DM 的基源成分鑑定方面，在特定成份的部分將 HPLC 圖譜的沖提時間比對本校中國藥學暨中藥資源學系黃慧琪老師所建立的中藥標準品之 HPLC 圖譜後，推測於 47.3 分鐘時被沖提出來的化學組成份有可能是甘草酸 (glycyrrhizin)，因此利用本校已分析之核磁共振 (NMR) 圖譜的參數為化學位移 (chemical shift) δ 值在甲基 24、28、23、25-26、29 及 27 分別是 0.82、0.85、1.08、1.13、1.16 及 1.41 之甘草酸標準品進行比對，並進行此一方藥之甘草酸的定量。將已分析 NMR 圖譜的甘草酸標準品藉由上述的條件進行 HPLC 的分析，結果也發現甘草酸在 47.3 分鐘被沖提出來 (圖十 (B))，而且 TCM-DM 中甘草酸的含量為 0.090 mg/mL，為 TCM-DM 總量的 0.9%。

因此由上述試驗，已進行 TCM-DM 的中藥組織性狀、含量測定及 TLC 等分析，並利用 HPLC 進行 TCM-DM 的指紋圖譜分析，及併合先前結構分析數據完成之特定成份的定量分析。綜而上述結果，在本計畫中已完成藉由薄層色譜層析 (TLC) 及高效液相層析儀 (HPLC) 進行具改善 HbA_{1c} 潛能之中醫方藥 TCM-DM 的品質管制及基源成分鑑定。

除了計畫中所提藉由 TLC 分析及 HPLC 鑑定化學組成分之外，因應本計畫所探勘到的新穎活性機轉，我們額外利用蛋白質二維電泳分析 TCM-DM 的蛋白質組成。我們先取 TCM-DM 的水萃液進行全波長掃描，

結果顯示，在 280 nm 吸收波長偵測到一明顯的波峰（圖十一（A）），代表 TCM-DM 的水萃液中可能含有蛋白質。接著，我們利用蛋白質二維電泳分析 TCM-DM 的蛋白質指紋圖譜，結果顯示 TCM-DM 所含的蛋白質大多為中性到鹼性的蛋白質，蛋白質分子量的分布很均勻（圖十一（B））。我們進一步將利用液態層析質譜儀 LC/MS-MS 鑑定這些蛋白質的種類，分析結果可能可以在未來進行臨床試驗或申請專利時，作為 TCM-DM 品

六、具改善HbA1c潛能中醫方劑TCM-DM之安全性評估

這項實驗的目的為測試中醫方藥 TCM-DM 在高、中、低三種劑量下，是否會對動物產生毒性。我們將實驗動物隨機分配成對照組、低劑量（200 mg/kg，相當於人體一倍劑量）、中劑量（1,000 mg/kg，相當於人體五倍劑量）、高劑量（2,000 mg/kg，相當於人體十倍劑量），小鼠連續餵食 TCM-DM 28 天，每天觀察動物至少二次，以確定小鼠的狀態，並於每週測量小鼠的體重及食物消耗量。結果顯示，對照組、低劑量組、中劑量組和高劑量組的老鼠全數存活，而且對照組、低劑量組、中劑量組和高劑量組小鼠的平均體重分別為 22.17 ± 1.40 、 21.77 ± 1.33 、 21.97 ± 0.70 及 22.53 ± 1.83 g；四組小鼠每天每隻平均的食物消耗量分別為 3.75 ± 0.35 、 3.59 ± 0.47 、 3.60 ± 0.27 、 3.78 ± 0.39 g，顯示四組小鼠的體重及食物消耗量並無明顯差異（圖十二）。待實驗結束後，在剖檢前先收集血液樣品，以進行血液與血清生化分析。在肝功能血清生化指標方面，對照組、低劑量組、中劑量組和高劑量組小鼠的胺基轉移酶 GOT 值分別為 1444.29 ± 858.61 、 1987.14 ± 1035.47 、 1385.00 ± 491.43 、 1797.86 ± 924.00 U/L；GPT 值分別為 223.57 ± 105.50 、 316.43 ± 195.68 、 229.29 ± 91.58 、 296.43 ± 157.63 U/L，雖然平均值略有改變，但因為個體差異大（標準差大），進行統計分析後並無差異，代表四組小鼠的肝腎指數並無顯著差異（表四）。接著，我們測定肝臟、腎臟及生殖腺的重量，表四顯示四組小鼠肝臟及腎臟重量差異不大（對照組、低劑量組、中劑量組和高劑量組小鼠的肝臟重量分別為 1195.04 ± 106.32 、 1134.47 ± 140.20 、 1115.10 ± 114.41 、 1182.79 ± 129.92 mg；腎臟重量分別為 337.33 ± 39.00 、 348.64 ± 38.17 、 356.33 ± 27.22 、 357.71 ± 42.57 mg），也無顯著差異，在性腺重量的部分，對照組、低劑量組、中劑量組和高劑量組小鼠的性腺重量分別為 272.93 ± 40.31 、 199.01 ± 16.02 、 218.23 ± 35.88 、 213.73 ± 40.2 mg，我們推測可能是因為解剖後，肉眼可見母鼠的卵巢及子宮周圍會被脂肪包覆，無法完全將性腺獨立開，因此將性腺摘除下來測量性腺重量時，易受腹部脂肪量的干擾，而餵食 TCM-DM 小鼠其性腺周圍的脂肪較對照組為少，因此

造成 TCM-DM 組的性腺重量較對照組低。進一步進行病理切片的檢查，發現四組小鼠的肝臟及腎臟組織病理切片也沒有明顯病變（圖十三）。這些結果顯示，TCM-DM 在小鼠試驗中沒有明顯可見的毒性現象。

肆、討論

糖尿病可依照對胰島素的依賴性分為兩型，第一型糖尿病又稱為胰島素依賴性糖尿病（insulin-dependent diabetes mellitus），是一種自體免疫疾病。由於第一型糖尿病的患者體內無法生產胰島素，所以必須終生給與胰島素治療，停藥不久會發生酮酸中毒，若未加妥善處理，則會有死亡的危險。第二型糖尿病又稱為非胰島素依賴性糖尿病（non-insulin-dependent diabetes mellitus），典型的第二型糖尿病患者以肥胖者居多，通常在中年後發病。第二型糖尿病患者主要因為遺傳、飲食習慣與肥胖等因素，造成體內長時間高血糖的狀態，而身體為了有效控制血糖，所以升高體內胰島素的分泌量，進而造成血中高胰島素的現象。但隨著時間的增加，周邊各組織細胞逐漸對胰島素產生抗性，而血糖也因此失去控制，當血糖濃度高於腎臟回收血中糖類的最高效能時，便產生“糖尿”的現象。目前第二型糖尿病所用的降血糖藥有五大類，其可經由降低身體糖分的吸收、抑制肝臟的糖質新生、促進胰島素的分泌、降低周邊組織細胞對胰島素的抗性或直接給予適量的胰島素等機轉，來控制患者的血糖。雖然部分患者僅給予單一藥物便可有效地控制糖尿病患的三大指標—空腹血糖值、餐後血糖值和HbA1c的糖化百分比，但仍有很多患者需要使用兩種以上的藥物，才能有效地控制血糖（Powers, 2001）。

就目前臨床上降血糖的策略而言，第一型糖尿病患者僅有胰島素可用，而第二型糖尿病的部分患者可藉由飲食控制與適度運動來控制血糖，但大部分患者仍需給予一種或數種不同作用機轉的降血糖藥或胰島素來控制血糖。根據 Dall 等（2008）的研究顯示，美國每位使用胰島素的糖尿病患者每年平均花費 751 美元購買胰島素，而每位使用降血糖藥的患者每年花費約 697 美元購買降血糖藥，雖然如此，並非所有患者的 HbA1c 都可控制在 7% 之內。Ramsdell 等（2003）的藥物經濟學研究報告指出，一個能將第二型糖尿病患者之 HbA1c 控制在 7% 之內的用藥策略，治療前三年的花費在 3,500-5,000 美元左右。此外，糖尿病也與其他代謝性疾病有一定程度的關連，而且患者在長期血糖失控的情況下，還會誘發腎臟與眼部的病變，所以從流行病學與經濟學的角度來看，糖尿病藥物的市場仍極具成長的空間，尤其在本計畫所鎖定之 HbA1c 控制之藥物使用上。

在本計畫藉由中央健保局所推動的「全民健保論質計酬計劃」中的糖尿病病患統計分析中，發現 TCM-DM 可以明顯地降低病患的 HbA1c 值，

因此我們先利用動物試驗確定 TCM-DM 具有調整血糖及調整 HbA1c 的效應，接著利用 DNA 微陣列及其他分生試驗（包括胰島素受體交互作用、轉錄因子報導試驗、免疫組織化學染色等）進行機轉的分析。結果顯示 TCM-DM 可以活化胰島素及 PPAR 訊息傳導路徑，影響糖類或脂肪的代謝，進而改善糖尿病小鼠的血糖及 HbA1c 數值，而且也可以降低死亡率。TCM-DM 為固有成方「竹葉石膏湯」，來源為『傷寒卒病論』，其主要功效為清熱生津，益氣和胃。竹葉石膏湯是由白虎湯衍化而來的。白虎湯證為正盛邪實，竹葉石膏湯方證為大熱已衰、餘熱未清，而氣津兩傷。方中竹葉、石膏清熱除煩以祛熱邪為君；人參麥冬益氣生津以補正虛為臣；半夏和逆止嘔，其性雖溫但與清熱生津之藥配伍、則溫燥之性去而降逆之用存，且能轉輸津液、恢復脾運、並行人參、麥冬之滯而調和胃氣為佐；甘草、粳米調養胃氣為使也。諸藥合用、既能清未盡之餘熱、又可補已耗之氣陰、邪正兼顧、為一清補之劑。凡熱病過程中、發熱不退、氣陰兩傷之證皆可使用。竹葉石膏湯在現代應用主要用於治療糖尿病、肺炎、支氣管炎、肺結核、感冒、流感等。TCM-DM 雖然可用於治療糖尿病，但從未有文獻指出可以控制 HbA1c 進而控制糖尿病併發症。經由統計分析中央健保局所推動「全民健保論質計酬計劃」的資料後，我們發現該方劑具有明顯調降糖尿病患 HbA1c 之潛能，因此本計畫將其視為新穎的調降 HbA1c 中醫方劑，強調其可控制 HbA1c 進而控制糖尿病併發症，並在未來將以「用以降低醣化血色素之中草藥組合物」作為專利提案名稱，進行專利的申請及佈局。

中醫利用方劑及單味藥治療糖尿病已有長久的經驗 (Li et al., 2004; Qi et al., 2010), 2004 年 Li 等人提及了數十個經由實驗證實具有治療糖尿病及預防糖尿病併發症功效的中醫藥，包括：黃耆 (Radix Astragali seu Hedysari)、熟地黃 (Radix Rehmanniae)、天花粉 (Radix Trichosanthis)、葛根 (Radix Puerariae)、人參 (Radix Ginseng)、黃精 (Rhizoma Polygonati)、黃連 (Rhizoma Coptidis)、枸杞子 (Fructus Lycii)、茯苓 (Poria)、蒼朮 (Rhizoma Atractylodis)、知母 (Rhizoma Anemarrhenae)、麥門冬 (Radix Ophiopogonis)、女貞子 (Fructus Ligustri Lucidi)、五味子 (Fructus Schisandrae)、蘆根 (Rhizoma Phragmitis)、澤瀉 (Rhizoma Alismatis)、菟絲子 (Semen Cuscutae)、淫羊藿 (Herba Epimedii)、威靈仙 (Radix Clematidis)、石斛 (Herba Dendrobii)、附子 (Radix Aconiti)、刺五加 (Radix Acanthopanax Senticosi)、大黃 (Radix et Rhizoma Rhei)、半夏 (Rhizoma Pinelliae) 等。而由中藥所組成的複方，例如六味地黃丸、玉泉丸、白虎加

參湯、知柏地黃丸、濟生腎氣丸、杞菊地黃丸、甘露飲、白虎湯、竹葉石膏湯、八味地黃丸等，更是常見的治糖尿病方劑。雖然這些中草藥療法已有長久的臨床使用經驗，不過許多中草藥的作用機制並不清楚，而且長期服用中草藥對人體的毒性也仍待釐清。因此，本研究用現代科學方法來研究探討傳統中醫藥可否降低糖尿病控制不良導致併發症的發生及治療機制，希望提供未來糖尿病照護更完整藥物開發之選擇。

伍、結論與建議

我們由全民健保資料庫統計分析，已發現一個具有明顯調降糖尿病患 HbA1c 之中醫方劑—TCM-DM。為了證實其療效及機轉，我們將 TCM-DM 餵食第二型糖尿病鼠，發現 TCM-DM 單獨使用或併用西藥都可以降低小鼠的血糖及 HbA1c，而且也可以降低死亡率。進一步經由 DNA 微陣列及其他分生試驗，發現 TCM-DM 可以活化胰島素及 PPAR 訊息傳導路徑，影響糖類或脂肪的代謝，進而改善糖尿病小鼠的血糖及 HbA1c 數值，此外也可以降低與腎臟有關的血清生化值，暗示 TCM-DM 可能可以改善糖尿病腎病變。接著，我們利用 HPLC 及蛋白質二維電泳，分析 TCM-DM 的化合物及蛋白質指紋圖譜，同時也利用甘草酸為參考成分，進行 TCM-DM 組成份的定量分析，這些結果，可以在未來進行臨床試驗或申請專利時，作為 TCM-DM 品質管控的依據，以便確認每一批 TCM-DM 品質的一致性。最後，我們將低、中、高劑量的 TCM-DM 餵食小鼠後，進行 TCM-DM 的 28 天毒理試驗，結果顯示 TCM-DM 在小鼠試驗中沒有明顯可見的毒性現象。因此，本研究透過 Physiological (HbA1c、血糖)、Biochemical Investigations (血清生化) 及 Pharmacogenomic (DNA 微陣列) 等方式進行基礎研究驗證，已將臨床觀察到具有控制 HbA1c 潛能的特定中醫方劑 TCM-DM 利用科學驗證證實其功效，確定其最適用病程、投與時間及劑量等細節，並完成品質管控的基礎及毒理試驗的分析，這些結果，將提高未來臨床試驗的合理性及成功率，進而加速未來中醫方劑植物新藥專利的申請。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP101-RD-103 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. Bode BW and Battelino T: Continuous glucose monitoring. *Int J Clin Pract Suppl* 2010; 166: 11-15.
2. Dall T, Mann SE, Zhang Y, Martin J, Chen Y, and Hogan P: Economic costs of diabetes in the U.S. in 2007. *Diabetes Care* 2008; 31: 596-615.
3. Davidson MB: Diabetes mellitus: diagnosis and treatment, 3rd edn. Churchill Livingstone, New York, NY, 1991.
4. DeFronzo RA: Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 1999; 131: 281-303.
5. Fowler GC and Vasudevan DA: Type 2 diabetes mellitus: managing hemoglobin A(1c) and beyond. *South Med J* 2010; 103: 911-916.
6. Gabir MM, Hanson RL, Dabelea D, Imperatore G, Roumain J, Bennett PH, and Knowler WC: The 1997 American Diabetes Association and 1999 World Health Organization criteria for hyperglycemia in the diagnosis and prediction of diabetes. *Diabetes Care* 2000; 23: 1108-1112.
7. Gabir MM, Hanson RL, Dabelea D, Imperatore G, Roumain J, Bennett PH, and Knowler WC: Plasma glucose and prediction of microvascular disease and mortality: evaluation of 1997 American Diabetes Association and 1999 World Health Organization criteria for diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* 2000; 23: 1113-1118.
8. Kao CH, Hsiang CY, and Ho TY: Assessment of chitosan-affected metabolic response by peroxisome proliferator-activated receptor bioluminescent imaging-guided transcriptomic analysis. *PLoS ONE* 2012; 7: e34969.
9. Li CC, Hsiang CY, Lo HY, Pai FT, Wu SL, and Ho TY: Genipin inhibits lipopolysaccharide-induced acute systemic inflammation in mice as evidenced by nuclear factor- κ B bioluminescent imaging-guided transcriptomic analysis. *Food Chem. Toxicol.* 2012; 50: 2978-2986.
10. Li WL, Zheng HC, Bukuru J, and De Kimpe N: Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. *J Ethnopharmacol* 2004; 92: 1-21.
11. Luo J, Quan J, Tsai J, Hobensack CK, Sullivan C, Hector R, and Reaven GM: Nongenetic mouse models of non-insulin-dependent diabetes mellitus.

Metabolism 1998; 47: 663-668.

12. Mu J, Petrov A, Eiermann GJ, Woods J, Zhou YP, Li Z, Zycband E, Feng Y, Zhu L, Roy RS, Howard AD, Li C, Thornberry NA, Zhang BB. Inhibition of DPP-4 with sitagliptin improves glycemic control and restores islet cell mass and function in a rodent model of type 2 diabetes. *Eur J Pharmacol* 2009;623(1-3):148-54.
13. Polotsky VY, Li J, Punjabi NM, Rubin AE, Smith PL, Schwartz AR, and O'Donnell CP: Intermittent hypoxia increases insulin resistance in genetically obese mice. *J Physiol* 2003; 552: 253-264.
14. Powers AC: Diabetes mellitus. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 15th ed., E. Braunwald, A.S. Fauci, D.L. Kasper, S.L. Hauser, D.L. Longo, J.L. Jameson (eds), p.2109-2137, 2001.
15. Qi LW, Liu EH, Chu C, Peng YB, Cai HX, and Li P: Anti-diabetic agents from natural products--an update from 2004 to 2009. *Curr Top Med Chem* 2010; 10: 434-457.
16. Ramsdell JW, Braunstein SN, Stephens JM, Bell CF, Botteman MF, and Devine ST: Economic model of first-line drug strategies to achieve recommended glycaemic control in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Pharmacoeconomics* 2003; 21: 819-837.
17. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, and King H: Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projection for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27: 1047-1053.
18. Yakubovich N and Gerstein HC: Serious cardiovascular outcomes in diabetes: the role of hypoglycemia. *Circulation* 2011; 123: 342-348.

柒、圖、表

表一、TCM-DM 所活化或抑制的基因表單^a

Gene symbol	Description	GeneBank ID	Fold change
2200002J24Rik	Hypothetical protein LOC69147	NM_026961	-6.95
Mt1	Metallothionein-1 (MT-1)	NM_013602	-1.96
Clec2g	C-type lectin domain family 2 member F (Clr-c)	NM_027562	-1.85
Wwox	WW domain-containing oxidoreductase	NM_019573	-1.82
Pear1	Platelet endothelial aggregation receptor 1 precursor	NM_152799	-1.81
Xirp2	Xin actin-binding repeat-containing protein	NM_001024618	-1.74
Pygm	Glycogen phosphorylase, muscle form	NM_011224	-1.69
Pdk4	Pyruvate dehydrogenase kinase isozyme 4	NM_013743	-1.68
Slc25a4	ADP/ATP translocase 1	NM_007450	-1.68
Ttn	Titin (Connectin)	NM_011652	-1.67
Ifi2712a	Interferon, alpha-inducible protein 27 like 2A	NM_029803	-1.66
Atp2a1	Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 1	NM_007504	-1.65
Glul	Glutamine synthetase (GS)	NM_008131	-1.63
Syt1	Synaptotagmin-1 (SytI)	NM_009306	-1.63
Srl	Sarcalumenin precursor	NM_175347	-1.62
Col3a1	Collagen alpha-1(III) chain precursor	NM_009930	-1.57
Cugbp2	CUG-BP- and ETR-3-like factor 2 (CELF-2)	NM_001110231	-1.57
Actn3	Alpha-actinin-3	NM_013456	-1.56
E2f6	Transcription factor E2F6 (E2F-6)	NM_033270	-1.55
Pfkm	6-Phosphofructokinase, muscle type	NM_021514	-1.54
Tpi1	Triosephosphate isomerase (TIM)	NM_009415	-1.54
Cfd	Complement factor D precursor	NM_013459	-1.53
Parp3	poly (ADP-ribose) polymerase family, member 3	NM_145619	-1.52
Ano1	Anoctamin-1	NM_178642	-1.52
Acr	Acrosin precursor	NM_013455	-1.52
Cox7a1	Cytochrome c oxidase polypeptide	NM_009944	-1.51

Gene symbol	Description	GeneBank ID	Fold change
	7A1		
Cd164	CD164 antigen	NM_016898	-1.50
Acadl	Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase,	NM_007381	-1.50
Apoc1	Apolipoprotein C-I precursor (Apo-CI)	NM_007469	1.50
H47	Selenoprotein S (SelS)	NM_024439	1.54
Atpif1	ATPase inhibitor, mitochondrial precursor	NM_007512	1.54
Bcas1	Breast carcinoma-amplified sequence 1 homolog	NM_029815	1.55
Cox6a1	Cytochrome c oxidase subunit 6A1	NM_007748	1.56
Ltf	Lactotransferrin precursor (Lactoferrin)	NM_008522	1.56
Ctnnd2	Catenin delta-2	NM_008729	1.56
Sbsn	Suprabasin precursor	NM_172205	1.56
Trim29	Tripartite motif-containing protein 29	NM_023655	1.56
Defb6	Beta-defensin 6 precursor	NM_054074	1.57
Cox8a	Cytochrome c oxidase subunit 8A, mitochondrial precursor	NM_007750	1.63
Dck	Deoxycytidine kinase	NM_007832	1.64
Krtdap	Keratinocyte differentiation-associated protein precursor	NM_001033131	1.65
Mtap2	Microtubule-associated protein 2 (MAP-2)	NM_008632	1.65
Mgll	Monoglyceride lipase (MGL)	NM_011844	1.66
Laptm4a	Lysosomal-associated transmembrane protein 4A	NM_008640	1.67
Asprv1	Retroviral-like aspartic protease 1 precursor	NM_026414	1.69
1700063I17Rik	Protein FAM24A precursor	NM_183272	1.69
Ly6g6c	Lymphocyte antigen 6 complex locus protein G6c precursor	NM_023463	1.69
Bok	Bcl-2-related ovarian killer protein	NM_016778	1.74
Dsp	Desmoplakin	NM_023842	1.78
Dmkn	Dermokine precursor	NM_028618	1.88
Lgals7	Galectin-7 (Gal-7)	NM_008496	1.89
2010007H12Rik	UPF0683 protein C7orf47 homolog	NM_027242	1.91

Gene symbol	Description	GeneBank ID	Fold change
Upb1	Beta-ureidopropionase	NM_133995	1.97
Akap7	A-kinase anchor protein 7	NM_018747	1.97
Rshl1	Radial spoke head-like protein 1	NM_001159671	2.01
Dbi	Acyl-CoA-binding protein (ACBP)	NM_007830	2.01
Cstb	Cystatin-B (Stefin-B)	NM_007793	2.05
Sprr4	Small proline-rich protein 4	NM_173070	2.08
Scd1	Acyl-CoA desaturase 1	NM_009127	2.14
Acot5	Acyl-coenzyme A thioesterase 5 (Acyl-CoA thioesterase 5)	NM_145444	2.18
Crct1	cysteine-rich C-terminal 1	NM_028798	2.19
Lrrn3	Leucine-rich repeat neuronal protein 3 precursor	NM_010733	2.20
Tead3	Transcriptional enhancer factor TEF-5	NM_011566	2.23
Psap11	Proactivator polypeptide-like 1 precursor	NM_175249	2.25
Kif2a	Kinesin-like protein KIF2A	NM_008442	2.45
Gnas	Protein ALEX	NM_022000	2.60
Krt17	Keratin, type I cytoskeletal 17	NM_010663	2.76
Krt14	Keratin, type I cytoskeletal 14	NM_016958	2.77
Nupr1	Nuclear protein 1 (Protein p8)	NM_019738	2.82
Daam2	Disheveled-associated activator of morphogenesis 2	NM_001008231	2.82
Pdzd2	PDZ domain containing 2	NM_001081064	2.84
Idi2	isopentenyl-diphosphate delta isomerase 2	NM_177197	3.09
Spag9	C-jun-amino-terminal kinase-interacting protein 4	NM_027569	3.28
St6galnac3	Alpha-N-acetylgalactosaminide alpha-2,6-sialyltransferase 3	NM_011372	7.48

^a 將 TCM-DM (200 mg/kg) 連續餵食第二型糖尿病鼠 30 天後，萃取肌肉 RNA，再進行 DNA 微陣列分析。表單上列出的基因為表現倍數大於 1.5 倍或小於-1.5 倍的基因。

表二、利用全基因體反應圖譜分析 TCM-DM 與疾病相關基因的關聯^a

MeSH disease term	<i>p</i> value^b	Classification
Diabetes Mellitus, Type 2	0.001	Metabolic and cardiovascular disease
Uremia	0.003	Genitourinary system
Macular Degeneration	0.005	Ophthalmology and eye disease
Diabetic Retinopathy	0.008	Genitourinary system
Diabetic Angiopathies	0.010	Cardiovascular disease

^a 將 TCM-DM (200 mg/kg) 連續餵食第二型糖尿病鼠 30 天後，萃取肌肉 RNA，再進行 DNA 微陣列分析。之後選取表現倍數大於 1.5 倍或小於-1.5 倍的基因與 MeSH (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>) 的資料進行相似性分析。

^b *p* 值是利用 limma package 軟體中的 geneSetTest 功能進行運算後所得到的數據。

表三、TCM-DM 所影響的生物路徑

Pathway ^a	<i>p</i> value ^b
Oxidative phosphorylation	4.77×10^{-13}
Citrate cycle (TCA cycle)	1.45×10^{-9}
Insulin signaling pathway	0.000117
IGF Signaling Pathway	0.000142
Arginine and proline metabolism	0.000233
PPAR signaling pathway	0.000311
Fatty acid metabolism	0.000747
FFA Signaling Pathway	0.001233

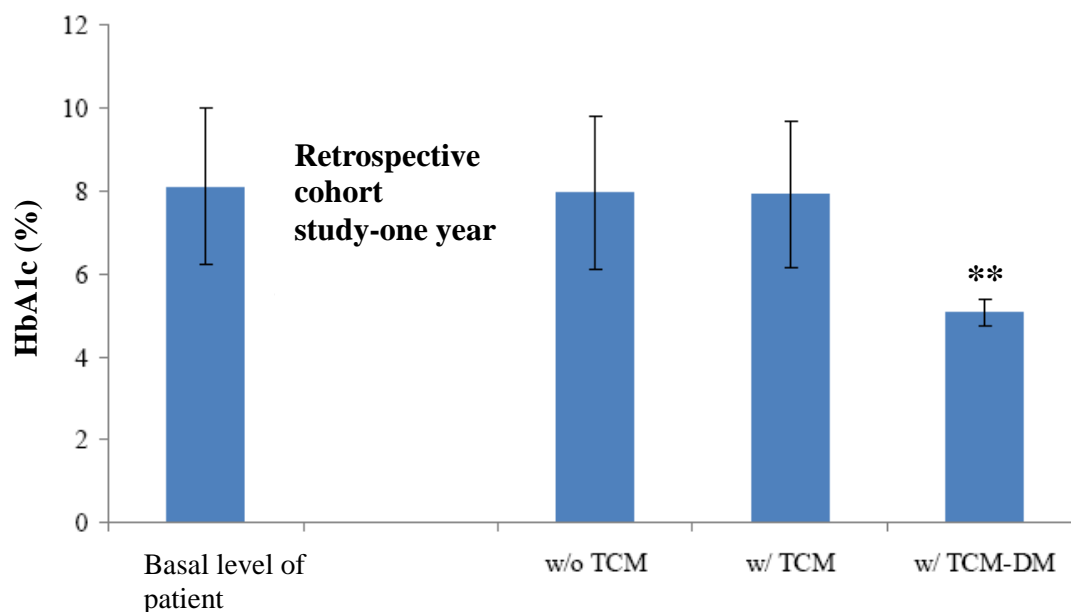
^a 將 TCM-DM (200 mg/kg) 連續餵食第二型糖尿病鼠 30 天後，萃取肌肉 RNA，再進行 DNA 微陣列分析。之後選取表現倍數大於 1.5 倍或小於-1.5 倍的基因進行分析。

^b *p* 值是利用 limma package 軟體中的 geneSetTest 功能進行運算後所得到的數據。

表四、TCM-DM 的安全性評估—臟器及血清生化值分析^a

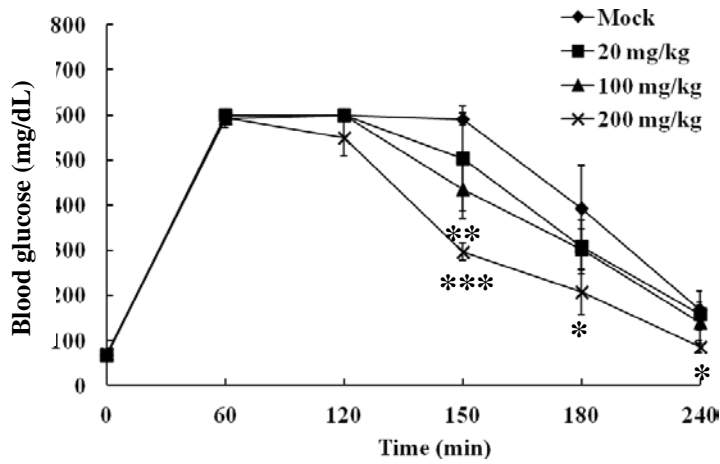
	Mock	200 mg/kg	1,000 mg/kg	2,000 mg/kg
臟器稱重				
Liver (mg)	1,195.04±106.32	1,134.47±140.20	1,115.10±114.41	1,182.79±129.92
Kidney (mg)	337.33±39.00	348.64±38.17	356.33±27.22	357.71±42.57
Gonad (mg)	272.93±40.31	199.01±16.02	218.23±35.88	213.73±40.23
血清生化檢驗				
GOT (U/L)	1,444.29 ± 858.61	1,987.14 ± 1035.47	1,385.00 ± 491.43	1,797.86 ± 924.00
GPT (U/L)	223.57 ± 105.50	316.43 ± 195.68	229.29 ± 91.58	296.43 ± 157.63
BUN (mg/dL)	25.00 ± 4.08	30.00 ± 7.64	20.00 ± 4.08	30.00 ± 7.64
CREA (mg/dL)	0.93 ± 0.19	0.79 ± 0.27	0.93 ± 0.19	1.14 ± 0.48

^a 將低劑量（200 mg/kg，相當於人體一倍劑量）、中劑量（1,000 mg/kg，相當於人體五倍劑量）、高劑量（2,000 mg/kg，相當於人體十倍劑量）的 TCM-DM 連續餵食正常小鼠，28 天後將小鼠犧牲，收集老鼠的肝臟、腎臟及生殖器官進行秤重，收集血清進行肝腎功能血清生化值的測定。結果以平均值±標準差（n=7）表示。

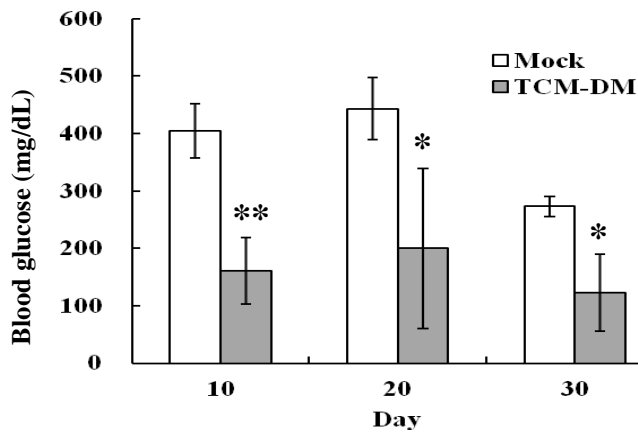


圖一、中醫方劑 TCM-DM 改善 HbA1c 的潛能分析。以中央健保局所推動「全民健保論質計酬計劃」中的糖尿病病患為研究對象，資料來自 2001 年至 2004 年。呈現的結果為所有病患的 HbA1c 基準數值 (basal level of patient; n=9,973)、一年後單獨服用西藥病患 (w/o TCM; n=9,444)、合併服用西藥和中醫方劑病患 (w/ TCM; n=529)、及合併服用西藥和 TCM-DM 病患 (w/ TCM-DM; n=38) 之 HbA1c 數值。結果以平均值±標準差表示。** $p < 0.01$ ，與合併服用西藥和中醫方劑組相比。

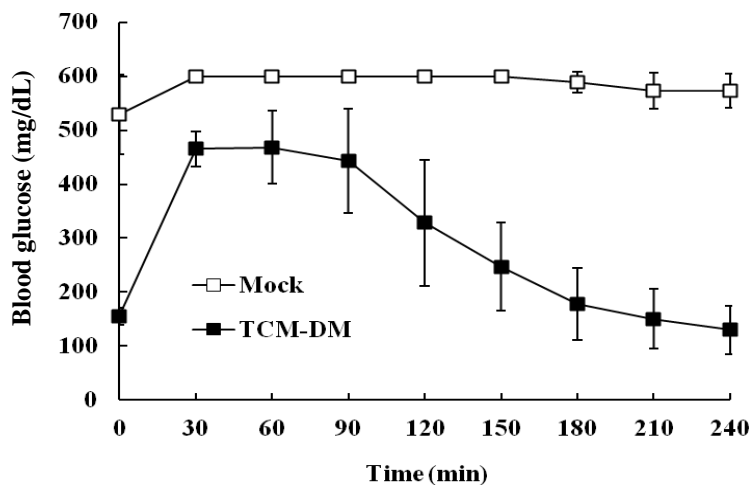
(A)



(B)



(C)



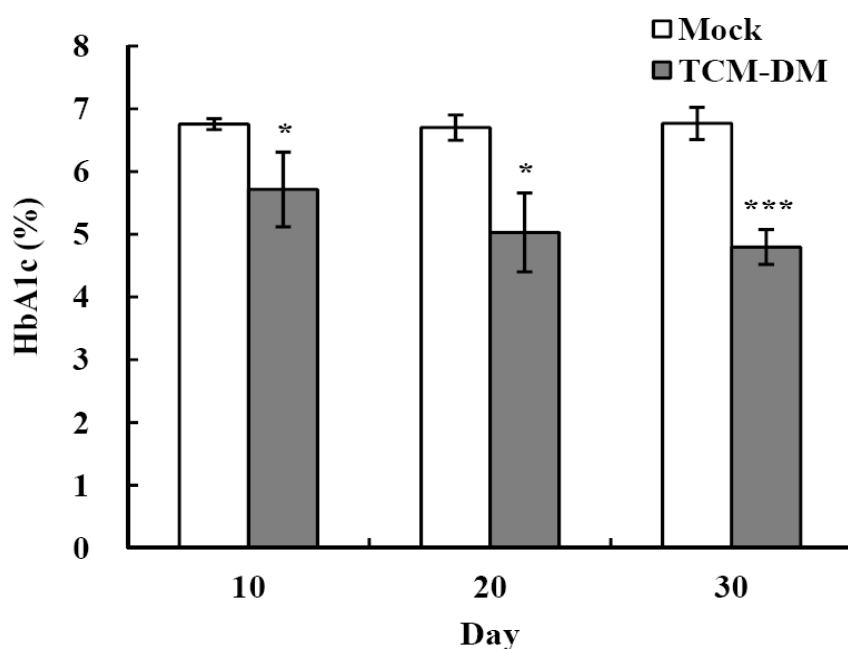
圖二、TCM-DM 調整血糖的活體分析。

(A) TCM-DM 的劑量反應。將正常小鼠禁食 18 小時後，再將不同劑量的 TCM-DM 餵食小鼠。15 分鐘後，將每公斤體重 4 公克的葡萄糖溶液

以腹腔注射的方式投與小白鼠，進行葡萄糖耐受性試驗。

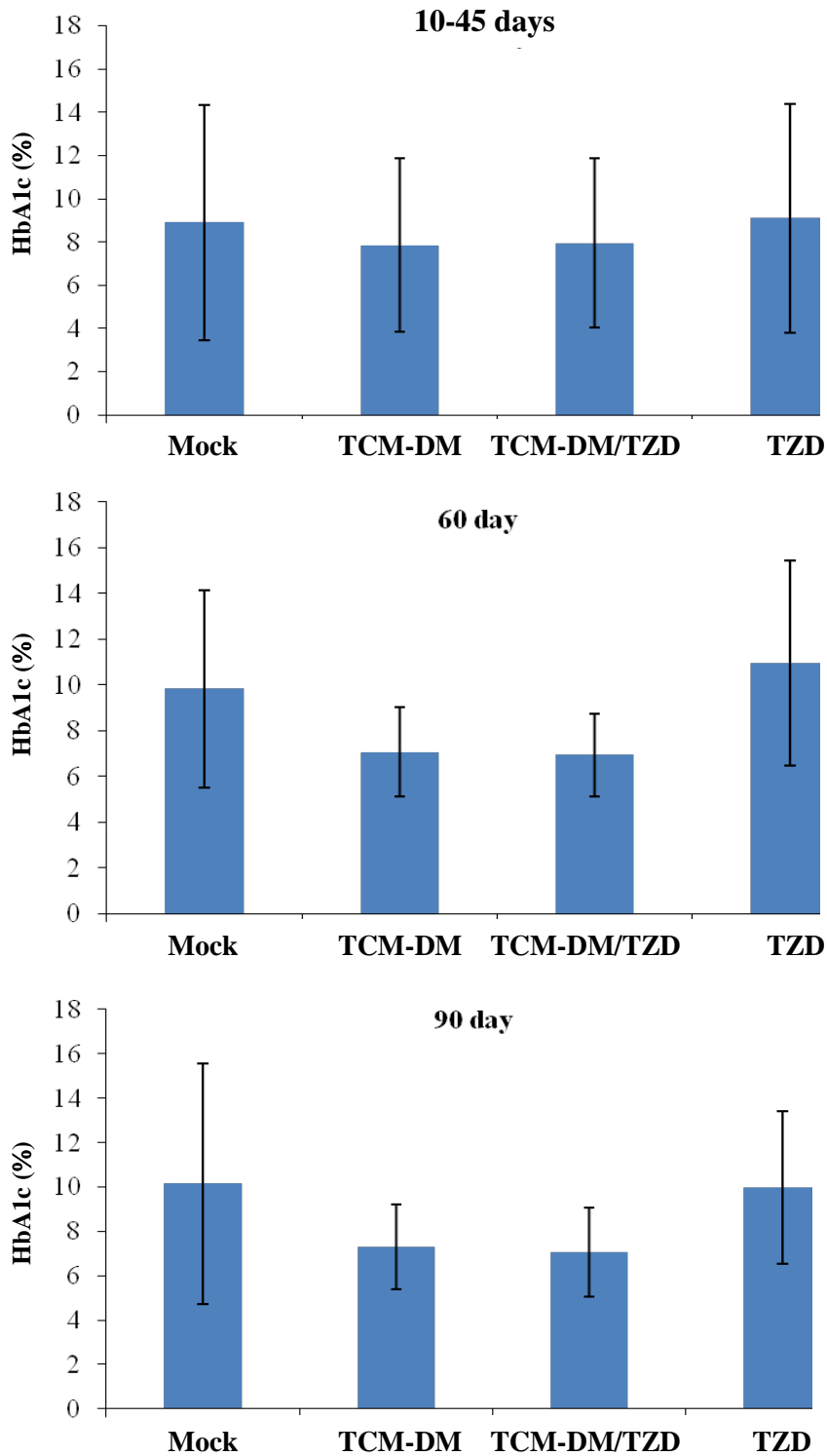
(B) TCM-DM 的餵食天數效應。將 TCM-DM (200 mg/kg) 連續餵食第二型糖尿病鼠，並於餵食後的第 10、20 及 30 天測定空腹血糖值。

(C) TCM-DM 餵食 30 天的降血糖效應。將 TCM-DM (200 mg/kg) 連續餵食第二型糖尿病鼠 30 天，再進行葡萄糖耐受性試驗。結果以平均值±標準差 (n=6-10) 表示。* $p < 0.05$ ；** $p < 0.01$ ；*** $p < 0.001$ ，與對照組 (mock) 相比。

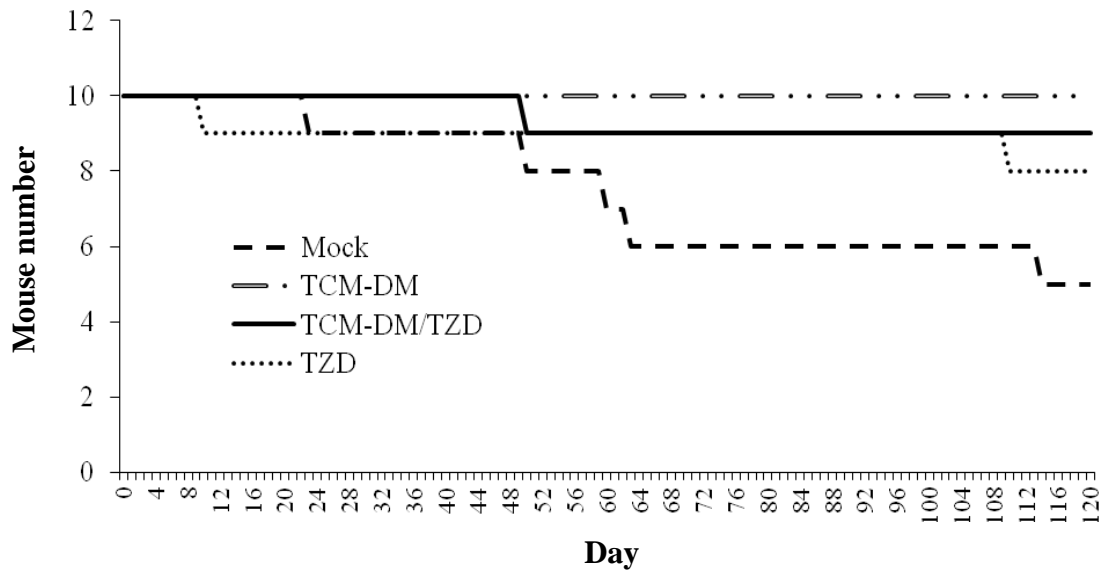


圖三、TCM-DM 調整第二型糖尿病鼠 HbA1c 的分析。將 TCM-DM (200 mg/kg) 連續餵食第二型糖尿病鼠，並於餵食後的第 10、20 及 30 天測定 HbA1c 值 (%)。

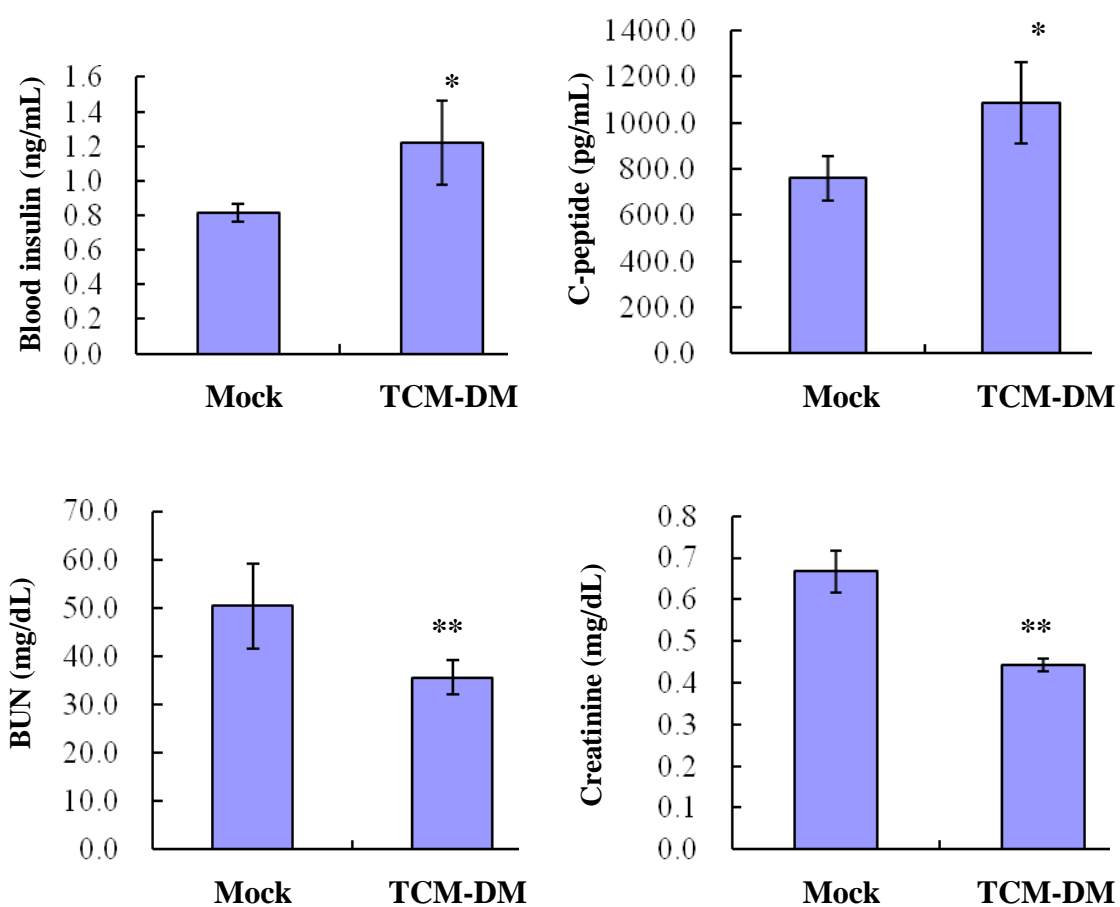
結果以平均值±標準差 (n=10) 表示。* $p < 0.05$ ；*** $p < 0.001$ ，與對照組 (mock) 相比。



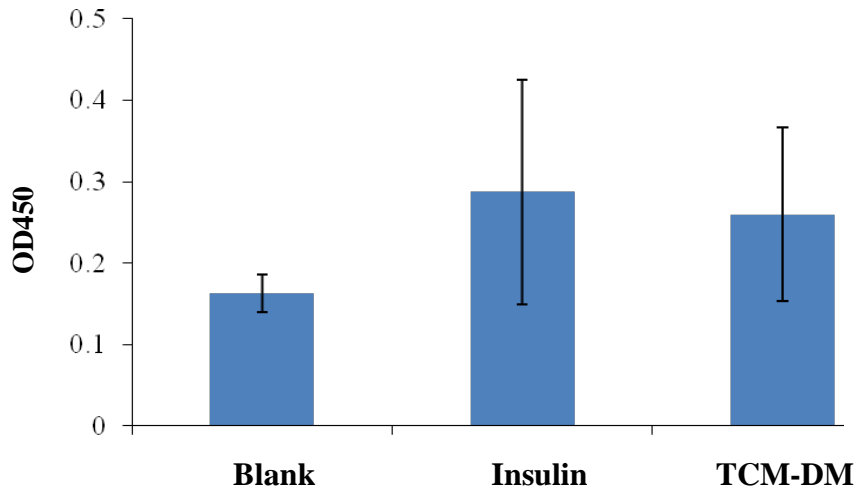
圖四、TCM-DM 併合西藥 Triazolidinedione(TZD)對第二型糖尿病鼠 HbA1c 的效應。將 TCM-DM (200 mg/kg) 單獨或併合 TZD (20 mg/kg) 連續餵食第二型糖尿病鼠後，再於不同時間測定 HbA1c 值 (%)。結果以平均值±標準差 (n=10) 表示。



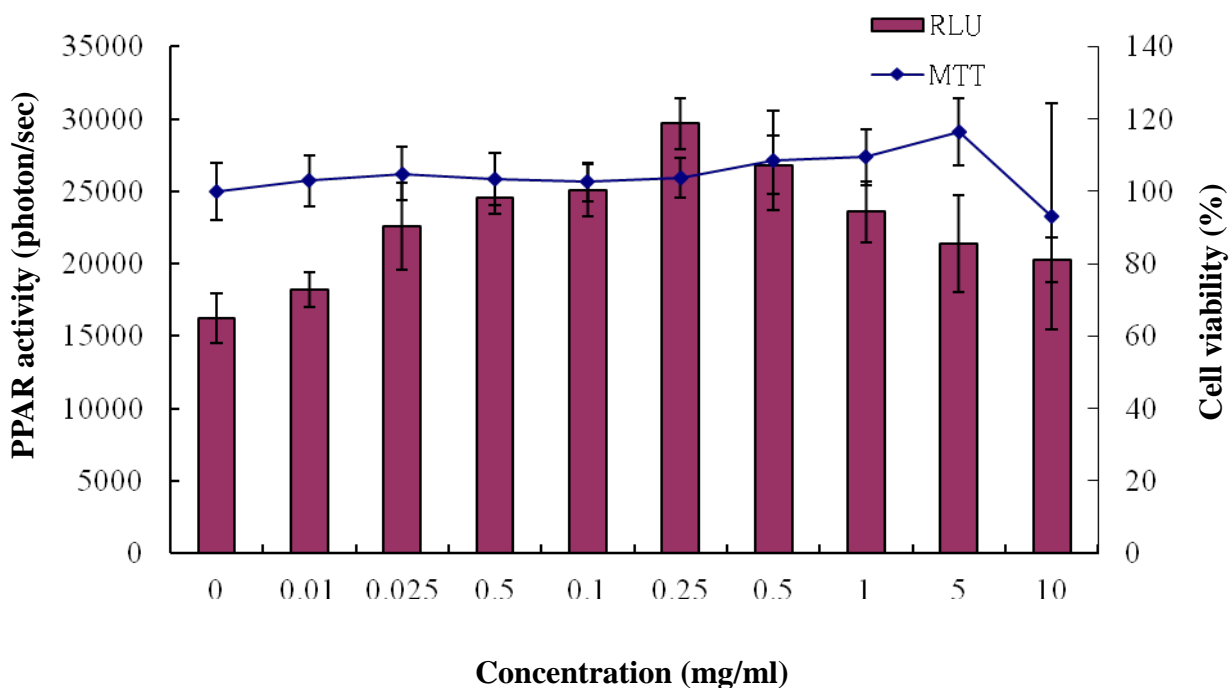
圖五、長程投與 TCM-DM 併合西藥 Triazolidinedione (TZD) 對第二型糖尿病鼠的生存曲線分析。將 TCM-DM (200 mg/kg) 單獨或併合 TZD (20 mg/kg) 連續餵食第二型糖尿病鼠後，再記錄小鼠的存活數量。餵食前每組各 10 隻小鼠。



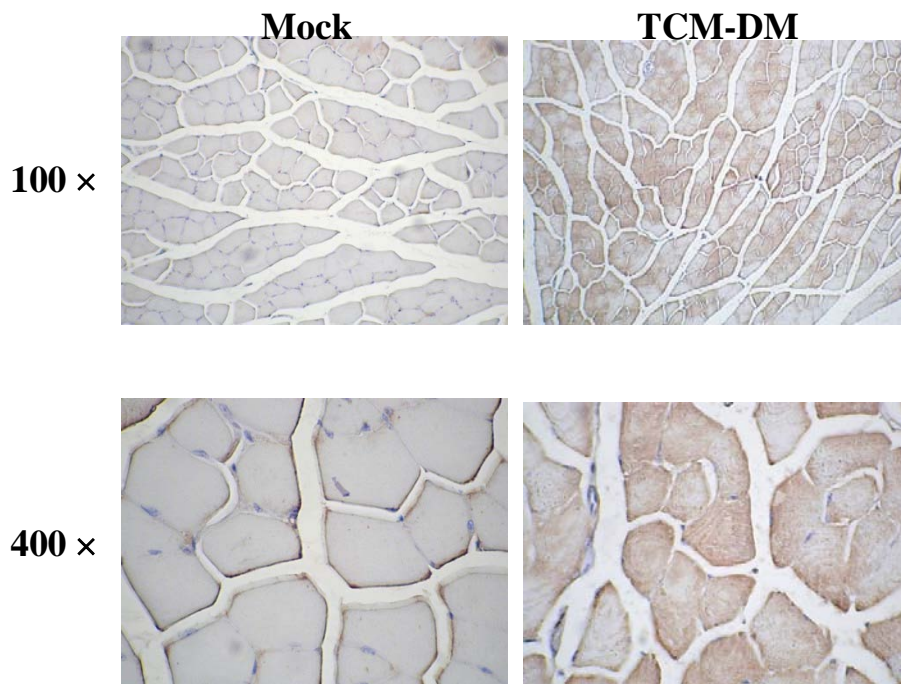
圖六、TCM-DM 對小鼠血清中胰島素、C-peptide、血中尿素氮 (BUN) 及肌酸酐 (creatinine) 濃度的分析。將 TCM-DM (200 mg/kg) 連續餵食第二型糖尿病鼠 30 天後，再收集小鼠血清，分析胰島素、C-peptide、BUN 及肌酸酐等濃度。結果以平均值±標準差 (n=6) 表示。* $p < 0.05$ ；** $p < 0.01$ ，與對照組 (mock) 相比。



圖七、TCM-DM 與胰島素接受器交互作用的分析。將胰島素 (10 $\mu\text{g/ml}$) 或 TCM-DM (50 $\mu\text{g/ml}$) 處理 HepG2 細胞，30 分鐘後，收集細胞，萃取蛋白質，再利用 ELISA 進行分析。結果以平均值 \pm 標準差 (n=6) 表示。Blank 代表 ELISA 未加樣品組。

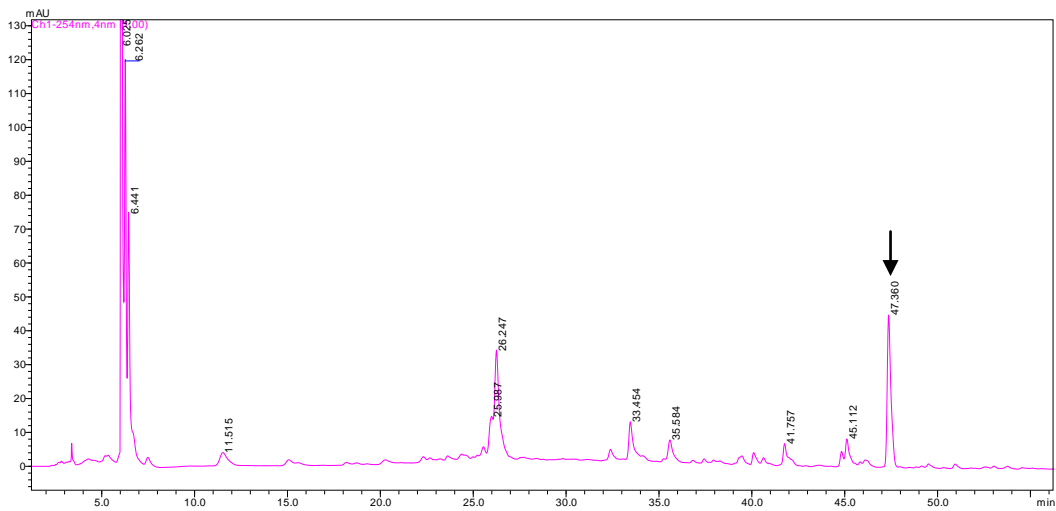


圖八、TCM-DM 對 PPAR 活性的影響。將不同濃度的 TCM-DM 處理 HepG2/PPAR 細胞，16 小時後，測定冷光酵素的活性與細胞存活率。柱狀圖為 PPAR 的活性（以冷光值 photon/sec 表示），線性圖為細胞的活性。結果以平均值±標準差（n=6）表示。

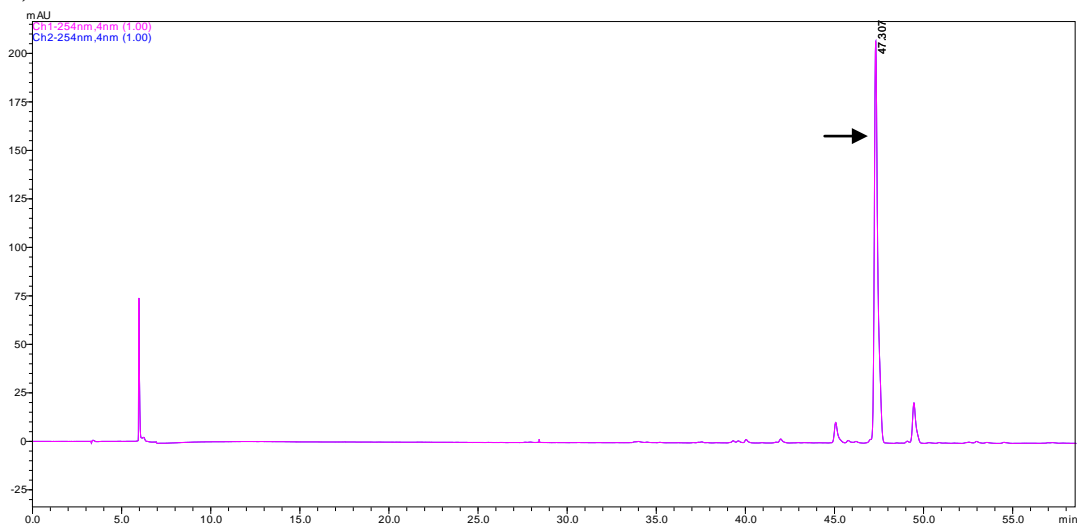


圖九、TCM-DM 對葡萄糖轉運分子 (GLUT4) 表現的影響。將 TCM-DM (200 mg/kg) 連續餵食第二型糖尿病鼠 30 天後，取老鼠的肌肉固定切片，再與 anti-GLUT4 抗體進行免疫組織化學染色的測定。放大倍數為 100×及 400×。

(A)

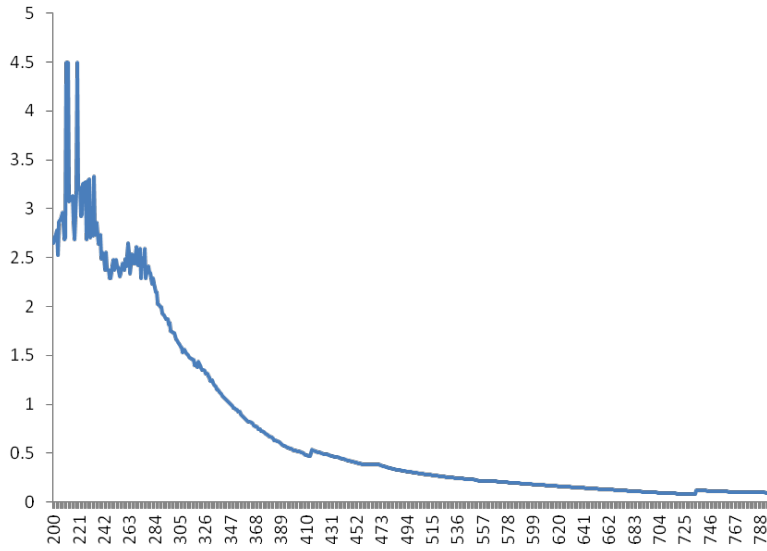


(B)

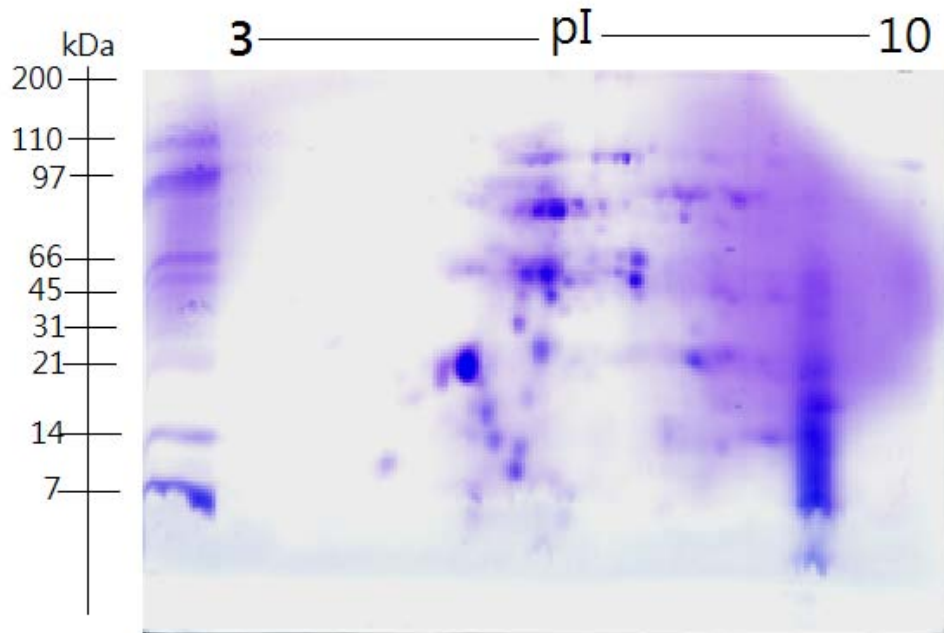


圖十、利用高效液相層析儀 (HPLC) 進行 TCM-DM 的品質管制。將 TCM-DM 利用乙醇萃取後，以 RP-18 管柱分析，再利用 254 nm 波長偵測。(A) TCM-DM 的 HPLC 圖譜。(B) TCM-DM 方劑組成份之一——甘草的化合物甘草酸 (glycyrrhizin) 之 HPLC 圖譜。箭頭表示甘草酸的位置。

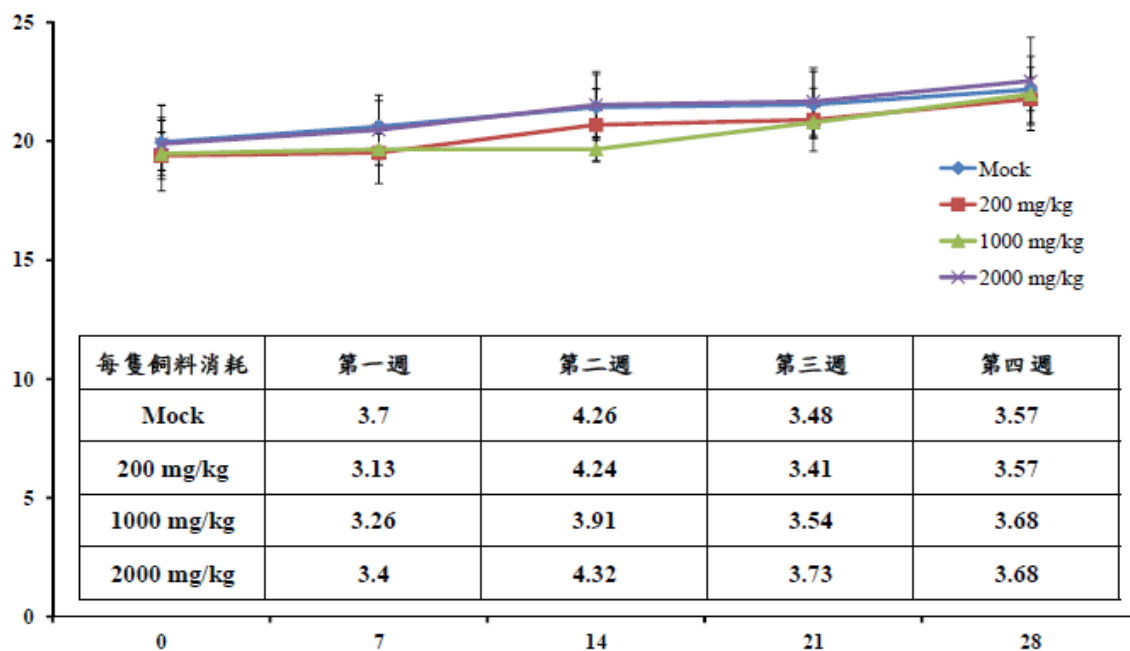
(A)



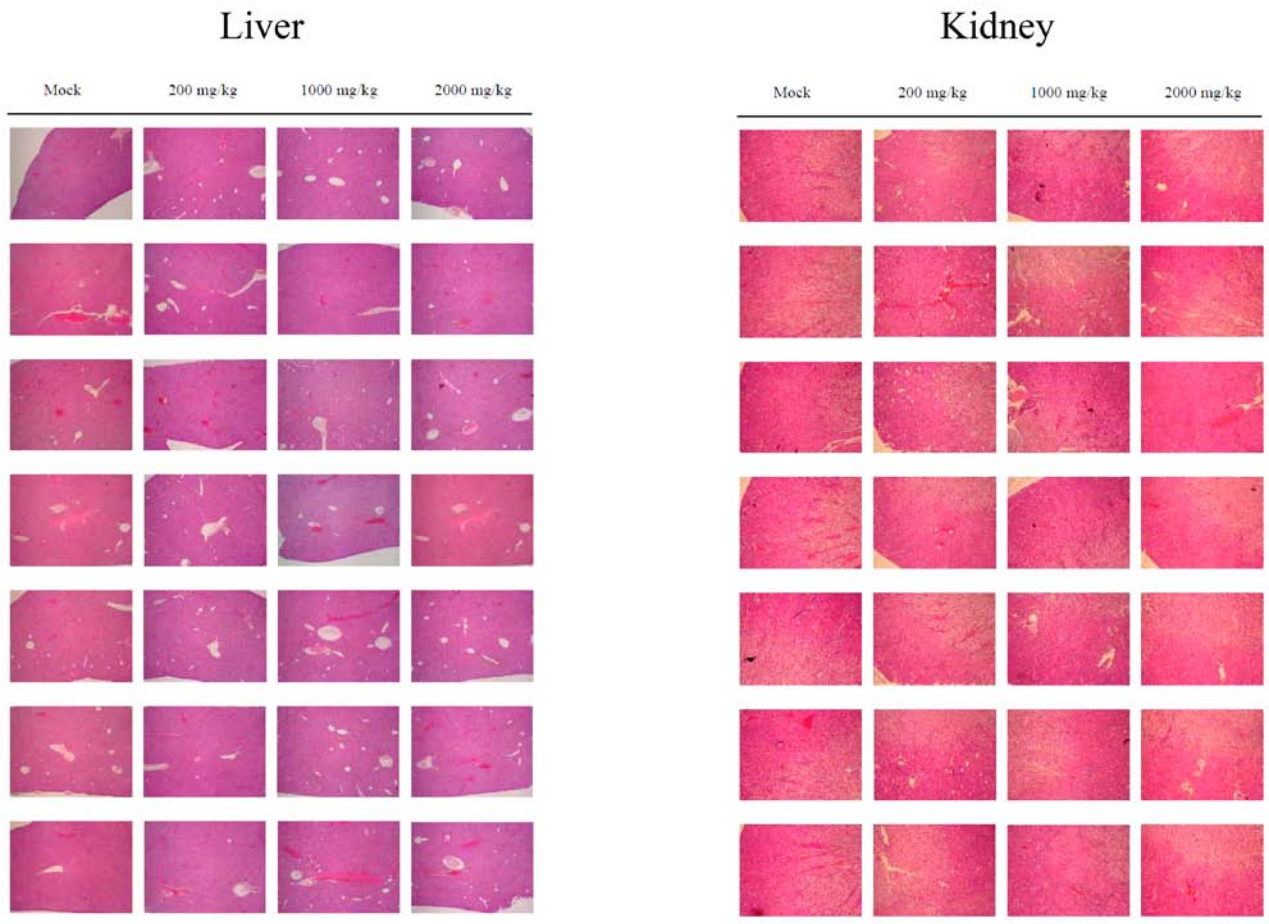
(B)



圖十一、利用分光比色計及蛋白質二維電泳進行 TCM-DM 的品質管制。將 TCM-DM 利用水萃取後，再進行分析。(A) 200-800 nm 全波長的掃描。(B) 蛋白質二維電泳的分析。



圖十二、TCM-DM 的安全性評估—體重及食物消耗量。將低劑量（200 mg/kg，相當於人體一倍劑量）、中劑量（1,000 mg/kg，相當於人體五倍劑量）、高劑量（2,000 mg/kg，相當於人體十倍劑量）的 TCM-DM 連續餵食正常小鼠，再於 7、14、21 及 28 天時測定體重與食物消耗量。線形圖為小鼠的平均體重（公克），表格為小鼠的平均食物消耗量（公克）。



圖十三、TCM-DM 的安全性評估—病理切片分析。將低劑量（200 mg/kg，相當於人體一倍劑量）、中劑量（1,000 mg/kg，相當於人體五倍劑量）、高劑量（2,000 mg/kg，相當於人體十倍劑量）的 TCM-DM 連續餵食正常小鼠，28 天後將小鼠犧牲，收集老鼠的肝臟及腎臟固定切片，再利用 H&E 染色判讀。放大倍數為 100×。

「綠茶提煉物-EGCG」補充治療合併高血脂的第二型糖尿病病人之療效評估(2-2)

許中華

臺北市立聯合醫院 林森中醫院區

摘要

第二型糖尿病 (Type II D.M.)，在臨床上頗為常見，因糖尿病及其併發症是造成國人死亡之十大死因之一；因糖尿病而求診另類療法或傳統中醫藥頗為普遍，然而國內相關之研究尚未有較具嚴謹之臨床評估報告。根據美國所作研究，65% 成年人會尋求另類或補充療法；國內研究指出 80% 曾服用過中藥或草藥以控制血糖。許多動物試驗顯示以 EGCG (Epigallocatechin Gallate) 為主的綠茶萃取物，具有改善胰島素阻抗性及降低膽固醇及三酸甘油酯。本研究亦計畫藉由雙盲、隨機、對照方式進行初步臨床實驗，來探討綠茶萃取物是否具有改善第二型糖尿病人之胰島素阻抗性之療效。也分析綠茶提煉物與相關荷爾蒙及其他因子之關連，以進一步探討其可能機轉。本試驗共收入 92 名受試者，經過隨機分派成試驗組與對照組各 46 人，試驗組服用 500mg 綠茶萃取物 EGCG 一日三次，而對照組服用相同頻率與劑量的 cellulose，連續服用 16 周後，結果顯示試驗組的中性脂肪酸從原來 178.2 ± 105.3 降低到 159.3 ± 91.6 ($p = 0.03$)，高密度膽固醇從 49.5 ± 13.6 上升到 52.2 ± 15.7 ($p=0.04$)，而對照組無統計上差異；在胰島素阻抗性，試驗組的 HOMA-IR index 從 5.4 ± 3.9 減少到 3.5 ± 2.0 ($p=0.004$)，而對照組亦無統計上差異，然而在組間比較皆未達顯著差異；在生活品質方面，試驗組的 WHOQOL-BREF 生理分數上升不論在組內或組間比較皆具統計顯著意義。此結果說明綠茶萃取物可能具有改善第二型糖尿病人之胰島素阻抗性與降低中性脂肪酸之療效，尚待更大規模的臨床試驗結果加以佐證。

關鍵詞：第二型糖尿病、胰島素阻抗、綠茶萃取物 EGCG

The Effect of Green Tea Extract on Type 2 Diabetes with Hyperlipidemia (2-2)

Chung-Hua Hsu
Linsen and Chinese Medicine Branch, Taipei City Hospital

ABSTRACT

Type II diabetes mellitus (Type II DM) is a high prevalence disease in clinics, and its complications are also included in the ten top death causes in Taiwan. It is common for type II DM patients to look for complementary alternative medicine (CAM) and Traditional Chinese Medicine (TCM), which is currently lack of well designed, restricted clinical assessments or evidence. According to previous reports, 65% adults in the U.S.A. would seek for CAM for all kinds of health problems. Further more, Dr. Wang of National Taiwan University revealed that there are 80% of Taiwanese DM patients used TCM drugs or folk herb drugs to control blood sugar level. There were reports of animal studies showed that green tea extract, EGCG (Epigallocatechin Gallate), have effects of lowering cholesterol and triglycerides level and improvement of insulin resistance. The aim of this study is to investigate the therapeutic effects of green tea extract on insulin resistance improvement and related hormone peptides by a double-blinded, randomized and controlled clinical trial. This trial enrolled 92 participants randomized into 2 arms, each arm 46 participants. Participants in therapeutic arm took 500mg EGCG, three times a day, p.o., for 16 weeks, and those in control arm took cellulose with the same dose and frequency. The results showed triglyceride decreased from 178.2 ± 105.3 to 159.3 ± 91.6 ($p = 0.03$) and High Density Lipid cholesterol increased from 49.5 ± 13.6 to 52.2 ± 15.7 ($p=0.04$) in therapeutic arm, but no significant difference in control arm. The HOMA-IR index decreased from 5.4 ± 3.9 to 3.5 ± 2.0 ($p=0.004$) in therapeutic arm, but no significant difference in control arm. However, no significant differences existed in between groups comparison. The physical component of WHOQOL-BREF increased in therapeutic arm with statistical significance. Our study suggested that green tea extract EGCG may improve the insulin resistance and decrease triglyceride in patients with type II DM. The further large scale study will be necessary to conduct.

Keywords: Type II diabetes mellitus, green tea extracts EGCG, insulin resistance

壹、前言

一、背景

(一) 政策或法令依據

1. 生物科技是政府鼓勵發展之項目
2. 綠茶或茶葉是台灣重要之傳統農業之一，台灣氣候適合種植，農業委員會茶葉改良場也鼓勵相關研究

(二) 許多動物試驗顯示以 EGCG (Epigallocatechin Gallate) 為主的綠茶提煉物，具有改善胰島素阻抗性及降低膽固醇及三酸甘油脂。

(三) 另類醫學在國際間發展迅速，許多相關臨床研究也進行中，在台灣雖然中醫藥研究已經進行許多年，然而較具符合現代方法學之臨床研究，還不是很多，相信透過本研究，可以訓練更多中醫或中西結合臨床研究更多之人才。預計可以訓練 3-6 位中醫藥臨床研究人員。

(四) 國內外相關之文獻探討。

1. 綠茶提煉物對於治療第二型糖尿病及血脂肪改善有許多文獻報導，根據文獻顯示，主要有效成分是 EGCG，如參考文獻之 3(Kao YH) 4.(Wolfram S)等，都顯示綠茶提煉物改善第二型糖尿病及血脂肪。
2. 有許多報導喝綠茶對身體有益，但缺乏本土嚴謹之臨床研究
3. 陽明大學傳醫所蔡東湖教授之研究團隊，已經在 EGCG 動物模型之藥物動力學取得許多相關經驗，也發表許多論文。今年一位博士研究生以本 sample 作為人體藥物動力學之研究，計畫主持人是其共同指導老師之一。
4. 綠茶及 EGCG 是具有潛力之研究，中央研究廖述宗院士及許多學者已經做了許多相關研究。
5. 中央大學高永旭教授，也有許多動物研究，顯示 EGCG 具有相關之療效。
6. 農委會茶葉改良場，經多年努力，已經能夠由綠茶茶葉純化 EGCG 相關技術本研究所用之 Samples 就是由該單位提供。
7. 綠茶提煉物之相關研究，具本土性，值得做長期之探討。

二、現況

糖尿病 (D.M.)，在臨床上頗為常見，因糖尿病及其併發症是造成國人死亡之十大死因之一，因糖尿病而求診另類療法或傳統中醫藥頗為普遍，然而國內相關之研究尚未有較具嚴謹之臨床評估報告。糖尿病或高血脂患者，有許多人

會尋求中草藥、另類療法及天然食品補充治療，雖然有許多相關之療效被報導，但是相關研究或報導大都缺乏嚴謹之研究設計或僅僅是個案報導。

2006 國科會補助計畫，探討綠茶提煉物治療肥胖之療效分析，計劃已完成 (double-blind placebo randomized trial)，本計劃通過本院 IRB，並在美國國家衛生研究院之 clinical trial gov 臨床試驗網站註冊。本研究團小組之前以研究顯示，在所有服用者不良反應觀察，EGCG 很安全且副作用低。且在許多動物及細胞研究都顯示 EGCG 具有相關療效。

三、目的

本計劃所要達成之總目標：

- (一) 探討「綠茶提煉物-EGCG」是否可以改善胰島素阻抗性。
- (二) 探討「綠茶提煉物-EGCG」是否可以改善高血脂。
- (三) 探討「綠茶提煉物-EGCG」是否影響相關荷爾蒙之關係。
- (四) 建立中醫及另類補充醫學符合現代化研究模式
- (五) 對於參與之工作人員，預期可獲之訓練。

貳、材料與方法

一、綠茶提煉物的製備

- (一)本萃取物由農委會茶葉改良場提煉並提供，主要為陳英玲博士經多年之技術已可完全純化，並委由民間公司包裝。
- (二)試驗組綠茶萃取物含 57% EGCG (80.83% 兒茶素，total catechins)，安慰劑以膳食纖維 (cellulose) 成分做成，如圖一。
- (三)所有樣品經食品工業研究所及工研院分析，無論農藥殘留、塑化劑含量、重金屬殘留都符合標準，檢驗報告如圖二 (a)、(b) 與 (c)。
- (四)綠茶萃取物成份分析表如表一。



圖一、(a) 試驗組：綠茶萃取物 EGCG



圖一、(b) 安慰劑：膳食纖維 cellulose



檢驗報告

報告編號： UF/2010/10130

日期： 2010年1月14日

頁數： 1 of 4

台北市信義區永百路302號8F之1

以下測試之樣品係由供應廠商所提供及確認：

產品名稱： 兒茶素
產品型號： EGCG98
送樣日期： 2010年01月05日
測試日期： 2010年01月06日

委託測試項目： 有機氯農藥、有機磷農藥及 LC 87項農藥定量分析

測試方法： 本測試參考中華民國國家標準CNS 13570-2方法—食品中殘留農藥檢驗方法：多重殘留分析方法(II)(88/08/04公告)；衛生署公告食品中殘留農藥—多重殘留分析方法(三)(公告字號：署授食字第0981800273號公告)及衛生署公告食品中殘留農藥—多重殘留分析方法(四)(公告字號：署授食字第0981800278號公告)。以氣相層析串聯離子阱質譜儀(GC/MS/MS)及液相層析串聯質譜儀(LC/MS/MS)檢測。

測試結果： 此份樣品共檢測223項農藥(詳附錄)，其檢出項目見下表。

測試項目		測試結果 ppm(mg/kg)	方法偵測極限 ppm(mg/kg)
貝芬替	Carbendazim	0.03	0.01

備註：1.本報告不得分離，分離使用無效。

2.檢測結果若大於方法偵測極限則匯整上表中，本次檢測項目及方法偵測極限分別詳列於附錄中。

- END -

Signed for and on behalf of
SGS Taiwan Ltd.


Enoch Huang
Asst. Manager

Unless otherwise stated the results shown in this test report refer only to the sample(s) tested. This test report cannot be reproduced, except in full, without prior written permission of the Company. 除非另有說明，此報告結果僅對測試之樣品負責。本報告未經本公司書面許可，不可部份複製。

This Test Report is issued by the Company under its General Conditions of Service printed overleaf or available on request and accessible at http://www.sgs.com/terms_and_conditions.htm. Attention is drawn to the limitation of liability, indemnification and jurisdiction issues defined therein. Any holder of this Test Report is advised that information contained hereon reflects the Company's findings at the time of its intervention only and within the limits of Client's instructions, if any. The Company's sole responsibility is to its Client and this document does not exonerate parties to a transaction from exercising all their rights and obligations under the transaction documents. Any unauthorized alteration, forgery or falsification of the content or

圖二、(a) 本綠茶萃取物 EGCG 未檢出有機氯、有機磷等農藥殘留。

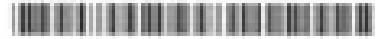
檢驗報告

雷絕科技股份有限公司

報告編號： FA/2011/89020

日期： 2011/07/06

頁數： 1 of 1



以下測試之樣品係由供應廠商所提供及確認：

產品名稱：	兒童書
生產廠商：	雷絕科技股份有限公司
產品型號/批號：	—
製造日期：	—
保存期限：	—
送樣日期：	2011/06/17
測試日期：	2011/06/18

測試結果：

測試項目	測試方法	測試結果	單位
可塑劑/塑化劑	—	—	—
鄰苯二甲酸單基丁酯(BBP)	衛生署公布之參考檢驗方法「食品中鄰苯二甲酸類物之檢驗方法」執行檢驗。	未檢出	ppm
鄰苯二甲酸二丁酯(DBP)		未檢出	ppm
鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)		未檢出	ppm
鄰苯二甲酸二辛酯(DNOP)		未檢出	ppm
鄰苯二甲酸二異壬酯(DMP)		未檢出	ppm
鄰苯二甲酸二異癸酯(DIOP)		未檢出	ppm

備註：1. 本報告不得分發、分發使用或再版。

2. 本檢驗係為因應塑化劑汙染事件，快速檢驗暫訂為1 ppm。
- END -



Unless otherwise stated the results shown in this test report refer only to the sample(s) tested. This test report cannot be reproduced, except in full, without prior written permission of the Company. 除非另有註明，上述所有檢驗數據均只適用於所檢之樣品。本報告不得分發、分發使用或再版。
This Test Report is issued by the Company under its General Conditions of Service printed manual or available on request and accessible at http://www.sgs.com.tw/terms_and_conditions.htm. Attention is drawn to the limitation of liability, indemnification and jurisdiction issues defined therein. Any holder of this Test Report is advised that information contained herein reflects the Company's findings at the time of its examination only and under the scope of Client's instructions, if any. The Company's sole responsibility is to the Client and this document does not constitute parties in a transaction that constitutes all their rights and obligations under the transaction documents. Any unauthorized alteration, forgery or falsification of the content or appearance of this document is unlawful and offenders may be prosecuted to the fullest extent of the law.

圖二、(b) 本綠茶萃取物 EGCG 未檢出可塑劑或塑化劑殘留

檢驗報告

報告編號： UF/2010/10130A-01

日期： 2010年01月14日

頁數： 1 of 1



以下測試之樣品係由承辦廠商所提供及確認：

產品敘述： 綠茶葉
產品型號： EGCG88
送樣日期： 2010年01月06日
測試日期： 2010年01月06日

此單位是kg
標值是500mg
=0.000500kg
此項數據
=x*0.000500

測試結果：

測試項目	CAS NO.	測試方法	測試結果	檢測極限	單位
銅 (Cu)	007440-00-8	本測試參考USEPA method 3051, 以感應耦合電漿質譜儀(ICPMS) 分析。	0.364	0.010	ppm (mg/kg)
砷 (As)	007440-38-2	本測試參考USEPA method 3051, 以感應耦合電漿質譜儀(ICPMS) 分析。	0.0448	0.010	ppm (mg/kg)
鉛 (Pb)	007439-92-1	本測試參考USEPA method 3051, 以感應耦合電漿質譜儀(ICPMS) 分析。	0.0137	0.010	ppm (mg/kg)
鎘 (Cd)	007440-43-9	本測試參考USEPA method 3051, 以感應耦合電漿質譜儀(ICPMS) 分析。	N.D.	0.010	ppm (mg/kg)
汞 (Hg)	007439-97-6	本測試參考USEPA method 3051, 以感應耦合電漿質譜儀(ICPMS) 分析。	N.D.	0.010	ppm (mg/kg)

備註：1. 本報告不符分級，分級使用無效。

2. 低於方法檢測極限之測定值以 "N.D." 表示。

- END -

Signed for and on behalf of
SGS Taiwan Ltd.



Unless otherwise stated, the results shown in this test report refer only to the samples tested. This test report cannot be reproduced, stored in full, without prior written permission of the Company. 除非另有註明，此報告的檢驗結果之數值均只對本公司所檢驗之樣品負責。本報告之內容不得未經本公司之同意而重印。

This Test Report is issued by the Company under its General Conditions of Service printed on each of its reports and accessible at <http://www.sgs.com.tw> and <http://www.sgs.com>. Attention is drawn to the limitation of liability, indemnification and jurisdiction clause defined therein. Any holder of this Test Report is advised that the Company's consented herein releases the Company's liability in the field of its intervention only and within the limits of User's instructions, if any. The Company's sole responsibility is to its Client and the equipment does not warrant parties to a transaction their conformity of their rights and obligations under the transaction documents. Any unauthorised alteration, forgery or falsification of any part of the Test Report or any part of this document is unlawful and offenders may be prosecuted to the fullest extent of the law. 2010-01-14 10:29:58

圖二、(c) 本綠茶萃取物 EGCG 未檢出超標重金屬殘留

表一、綠茶萃取物成份分析表

Component	% in weight	Daily dose (in mg)
EGCG (Epigallocatechin gallate)	57.12	856.8
ECG (Epicatechin gallate)	15.74	236.1
EGC (Epigallocatechin)	7.70	115.5
EC (Epicatechin)	4.80	71.9
GCG (Gallocatechin gallate)	4.25	63.7
GC (Gallocatechin)	<0.07	<1.05
Caffeine	<0.07	<1.05
Cellulose	10.3	155.0

二、研究對象與場所：

本研究對象以台北市立聯合醫院林森（中醫）院區一般內科、家醫科、中醫科、等門診之病人為主，本計畫將收集 92 位第二型糖尿病患為研究對象。

研究期限：100 年 01 月 01 日至 101 年 12 月 31 日

病人分組：分為 2 組

治療時間：16 週

試驗設計：雙盲、隨機、對照方式進行本試驗

隨機分配方法：將利用統計軟體產生一組隨機亂數表，用來決定依時間先後次序進入試驗之受試者，被隨機分為 2 組：綠茶提煉物 A 組（500 mg, tid, A 組）、及對照 B 組（cellulose, 500mg），每天 3 次飯後(TID PC) 服用 16 週。

(一)試驗設計

以隨機、雙盲、對照且交叉方式進行，符合本臨床實驗之納入、排除標準之患者，經試驗前講習說明，隨機分為二組：A 組（EGCG）、B 組（cellulose），每組收集病人 46 人，一共 92 人。

1. A 組（EGCG）：每天服用綠茶萃取物 EGCG 500mg 早中晚共三次計十六週後。
2. B 組（cellulose）：每天先服用安慰劑 500mg 早中晚共三次計十六週後。
3. 以試驗前後生化指標，包括空腹血糖、胰島素、胰島素阻抗性 (HOMA-IR)、血脂肪、肥胖相關荷爾蒙、BMI、腰圍、腰臀比、生活品質（WHOQOL-BREF）、中醫肥胖證型問卷作評估。

(二)隨機分配方式

本計劃為雙盲隨機試驗，利用 SAS 系統軟體，設計出一組隨機表，用狀況排列隨機分派 (permuted-block randomization method)，來決定依據時間先後順序進入實驗之受試者，應該接受何種組別處理。患者被告知有一半機會先服用 cellulose，再服用綠茶萃取物 EGCG。參與本計劃之臨床醫師並不知道其所治療的病患為先接受綠茶萃取物 EGCG 或 cellulose，所有資料由計畫主持人保管。

(三)研究對象之納入與排除條件

納入條件

1. 年齡20至60歲
2. 第二型糖尿病病患>1年，且接受穩定(total daily dose 未變更 > 3個月)的血糖藥物治療， $5.7\% < \text{HbA1C} < 10.0\%$ ， $130\text{mg/dl} < \text{空腹血糖} < 200\text{mg/dl}$
3. 空腹三酸甘油酯 $\geq 150\text{mg/dl}$ 或 空腹LDL $\geq 100\text{mg/dl}$
4. $18\text{kg/m}^2 < \text{BMI} < 30\text{kg/m}^2$
5. 意識清楚且能自由活動為志願參與試驗計劃並完成簽署同意書

排除條件

1. 肝功能異常GPT大於80mg/dl
2. 腎功能異常 (serum creatinine) 大於1.8mg/dl以上
3. 懷孕、半年內預定懷孕者及授乳婦女 (pregnancy test (urine))
4. 使用胰島素控制血糖之T2DM病人
5. 6個月內有嚴重合併症如心肌梗塞、腦中風、嚴重外傷、重大手術者；其他特殊疾病經醫師評估不適合加入者
6. 對接受治療順從性不佳者經醫師評估不適合加入者

受試者在納入試驗後，使用刺激素島素分泌口服藥物者，使用藥物的量及種類在試驗期間不應改變，除非遇有特殊狀況。

(四)進行步驟

經收案之受試者 (符合納入排除條件並已了解試驗目的完成受試者同意書之填寫)

→ 病史詢問暨基本資料填寫

→ 隨機分組為A組與B組

→ 基準點受試者資料收集

→ 服用綠茶萃取物 (A組) 或安慰劑 (B組) 十六週後受試者資料收

集

→ 試驗完成。

資料收集項目如下：

1. 測量：身高、體重以測量身體質量指數 (BMI)、腰圍 (WC)、腰臀比 (Waist-Hip-Ratio, WHR)、血壓、脈搏
2. 填寫：生活品質量表 WHOQOL-BREF，肥胖中醫證型量表、不良反應紀錄表
3. 抽血：High-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), Apo-lipoprotein B (APOB), Apo-lipoprotein A1 (APOA1), triglyceride (TG), total Cholesterol, insulin, leptin, ghrelin, adiponectin, creatinine, GOT, GPT, uric acid, glucose, HbA1c etc.

(五)療效指標

1. 主要療效指標：空腹三酸甘油脂、空腹膽固醇、HDL、LDL在第16週與基準點之變化百分比
2. 次要療效指標：空腹血糖、HbA1C、胰島素抵抗性及相關賀爾蒙與蛋白質如leptin、adiponectin、ghrelin、fasting insulin resistance、APOB、APOA1在第16週與基準點之變化百分比

(六)療效指標之測量方式

1. 身體質量指數 (BMI)
 - (1) 受測者緊著輕便衣物，雙手下垂，雙腳併攏，測量身高（公分至小數以下一位）及體重（公斤至小數以下一位）
 - (2) 依公式計算身體質量指數：身體質量指數＝體重(公斤)/身高(公尺)的平方。
2. 腰臀圍之測量：受測者緊著輕便衣物，雙手下垂雙腳併攏，以標準皮尺在自然呼吸終期，測量腰圍及臀圍（公分至小數以下一位）。測量時受測者閉目，測量者為同一人，每次測量三次，取其平均值，測量之結果不讓受測者知道。
 - (1) 腰圍 (WC)：側面肋骨最下緣與前上腸骨脊中點水平線
 - (2) 臀圍：兩側股骨大轉子水平線
 - (3) 腰臀比 (Waist-Hip-Ratio, WHR)：腰圍/臀圍
3. 生活品質評估：本研究採用世界衛生組織 (WHO) 生活品質問卷台灣版 (WHOQOL-BREF)，此問卷為世界衛生組織以及國際間評估生

活品質時廣泛採用的問卷，為一般心理測驗工具。

4. 血液檢查：所有血液檢查都使用標準化模式。抽血在上午八點至九點間完成，且受試者必須空腹超過8小時，來檢測受試者血中主要療效指標的濃度。

(1) 血液檢查：triglyceride (TG)，Cholesterol (Chol)，high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C)，low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C)。

(2) Apo-lipoprotein B：血漿中的 Apo-lipoprotein B 濃度將使用放射性同位元素標識的免疫檢定法 (Linco Research, Inc., St. Charles, MO, USA)。

(3) Apo-lipoprotein A1：血漿中的 Apo-lipoprotein A1 濃度將使用放射性同位元素標識的免疫檢定法 (Linco Research, Inc., St. Charles, MO, USA)。

(4) Insulin：血漿中的 insulin：血漿中的 Insulin 濃度將使用放射性同位元素標識的免疫檢定法 (Linco Research, Inc., St. Charles, MO, USA)。

(5) Leptin：血漿中的 leptin 濃度將使用放射性同位元素標識的免疫檢定法 (Linco Research, Inc., St. Charles, MO, USA)。

(6) Adiponectin：部分全血樣本將在 4°C 離心，取 1ml 的血漿急速冷凍 (-80°C) 來做荷爾蒙分析。血漿中 adiponectin 的濃度將用放射性同位元素標識的免疫檢定儀器 (Linco Research, Inc., St. Charles, MO, USA)。這個儀器使用 double-antibody/ polyethylene glycol 技術，利用 ¹²⁵I-labeled adiponectin 以及一個多種類的 adiponectin rabbit antiserium。

(7) Ghrelin：血漿中 ghrelin 濃度將使用放射性同位元素標識的免疫檢定法 (Linco Research, Inc., St. Charles, MO, USA)，以 ¹²⁵I-labeled ghrelin 作為追蹤標的。這個分析方式測定的極限值為 10ng/ml。

(七) 安全性指標

1. 不良事件反應 (adverse event) 紀錄。
2. 生命徵象檢查 (vital signs) 包括體溫、血壓、脈搏及體重。
3. 身體理學檢查。
4. 實驗室檢查數值包括一般血液、生化、尿液。

5. 評估方法：每次回診時，監測生命徵象，遇有特殊狀況，以電話與工作人員聯繫；試驗前後監測肝、腎功能。

(八)退出條件

1. 試驗期間，不遵守醫囑者 (drug compliance < 60%，或不願意返診)。
2. 試驗期間，懷孕者。
3. 試驗期間，發生重大疾病或住院不適合繼續參加者。
4. 試驗期間，因故更改用藥，經醫師評估不適合繼續參加者。
5. 試驗期間，受試者自願離開/退出。
6. 其他經醫師評估不適合繼續參加者。
7. 受試者lost of follow-up or death。

(九)資料統計分析方式

1. 資料分析母群體：被隨機分派之受試者 (意圖治療群體，intent-to-treat population)
2. 提早終止實驗、退出實驗、以及缺失資料之處理：依組別進行資料彙整與分析，並列表中途退出之理由及時間點，對於缺失資料之整理，將採用 last-value-carried-forward 順序，進行缺失資料的估算。
3. 一般統計方法
 - (1) 所有統計檢定將以雙邊 (two-side)，以顯著水準為0.05之方式執行。
 - (2) 所有信賴區間為95%信賴區間，療效指標的主要母體分析為意圖治療群體 (intent-to-treat population)。
 - (3) 主要假設：綠茶萃取物EGCG組降低胰島素阻抗性優於安慰劑組
4. 基本資料分析方法
 - (1) 針對連續變量，將使用 Student t-test 來進行組間比較
 - (2) 針對類別變量，使用 Chi-square test 來進行組間比較。
 - (3) 當比較其基本資料有差異時，將使用 Generalized Estimating Equations 方法。
5. 主要療效指標分析方法

將使用Student t-test來進行組間比較，並同時將以 Paired t-test 來檢定組內之變化，針對類別變量將使用Chi-square test。
6. 次要療效指標分析方法

將使用Student t-test來進行組間比較，並同時將以 Paired t-test 來檢定組內之變化，針對類別變量將使用Chi-square test。

7. 意圖治療(ITT)之定義

ITT (Intent to treat population) , 至少服用一次劑量試驗藥物之受試者。

參、結果

在基本資料方面，試驗組服用EGCG前後並無明顯差異；對照組在臀圍與收縮壓部分卻達到統計顯著的差異，對照組的臀圍從服用前的 99.3 ± 4.0 減少到 97.6 ± 9.1 ($p=0.02$)，收縮壓則從服用前的 137.2 ± 20.2 減低到 131.6 ± 14.5 ($p=0.03$)，且臀圍在組間比較的差異百分比亦達到統計顯著之差異，試驗組 $0.6\pm 3.4\%$ 相較於對照組 -1.6 ± 4.1 ($p=0.01$)。

在空腹血脂肪方面，試驗組服用EGCG 16周後的空腹三酸甘油脂從 178.2 ± 105.3 降低至 159.3 ± 91.6 且達到統計顯著之意義 ($p=0.03$)，對照組則從 198.3 ± 127.9 上升至 208.2 ± 118.2 ，儘管試驗組下降百分比為 -2.1 ± 38.5 ，而對照組為 18.8 ± 58.3 ，在組間比較部份卻未達到統計顯著差異 ($p=0.07$)；試驗組的空腹膽固醇從 195.5 ± 37.4 些微降低至 193.6 ± 40.0 但未達統計顯著之差異；HDL從 49.5 ± 13.6 上升至 52.2 ± 15.7 且達到統計顯著之意義 ($p=0.04$)，HDL在對照組服用前為 46.7 ± 11.6 服用後為 46.8 ± 11.4 ，在下降百分比部分，試驗組為 6.1 ± 16.0 ，對照組為 1.9 ± 17.9 ，但未達到統計意義；LDL在試驗組的服用前 109.7 ± 31.9 與服用後 111.8 ± 37.7 ，LDL在對照組的服用前 115.2 ± 35.4 服用後則是 111.9 ± 32.4 ；因此就EGCG對血脂肪的影響而言，EGCG可以降低空腹三酸甘油脂達到2.1%，也可以提升HDL 6.1%。

在空腹血糖與胰島素阻抗性方面，試驗組服用EGCG 16周後的空腹血糖從 139.2 ± 45.1 上升至 148.2 ± 48.1 ，反觀對照組的空腹血糖從 152.2 ± 53.5 些微降低到 151.6 ± 61.7 ，兩組組內比較皆未達到統計顯著意義。至於HbA1c，試驗組並無明顯差異，其數值分別為 7.5 ± 1.6 與 7.5 ± 1.7 ，對照組也是無太大差異，分別為 7.7 ± 1.8 與 7.5 ± 1.7 。在insulin方面，試驗組從 15.6 ± 10.4 達到統計意義的降低到 9.3 ± 4.2 ($p=0.000$)，對照組從 17.0 ± 14.8 達到統計意義的降低到 12.3 ± 7.5 ($p=0.039$)，但兩組的差異百分比卻未達到統計顯著的差異。另本研究以HOMA-IR index評估胰島素阻抗性的程度，試驗組的HOMA-IR從 5.4 ± 3.9 降低到 3.5 ± 2.0 ，並達到統計顯著意義 ($p=0.004$)，對照組的HOMA-IR則從 5.9 ± 4.5 降低到 4.7 ± 3.4 ，不過沒有達到統計顯著意義。因此就EGCG對於血糖與胰島素阻抗的影響是，服用16周的EGCG對於空腹血糖值與糖化血色素HbA1c並無明顯差異，但是EGCG可以降低insulin以及HOMA-IR index的胰島素阻抗性。

在obesity related hormone peptides的部份，試驗組的leptin從 7.7 ± 5.4 上升到 8.3 ± 5.8 ，但無統計上之差異；ghrelin在試驗組的變化無統計意義，但在對照組則有統計差異從 598.4 ± 227.8 下降至 440.3 ± 184.3 ($p=0.002$)，且組間差異亦達到

統計顯著 ($p=0.025$)；Adiponectin在兩組皆有統計意義的上升，不過組間差異卻無，試驗組從 5227.0 ± 5294.3 上升至 6723.3 ± 5146.5 ($p=0.051$)，對照組從 3630 ± 2913.5 上升至 5270 ± 3804.6 ($p=0.000$)；在發炎指數HSCRP方面，兩組皆有統計意義的上升，不過組間差異卻無，試驗組從 0.26 ± 0.27 上升至 0.36 ± 0.36 ($p=0.013$)，對照組從 0.21 ± 0.21 上升至 0.28 ± 0.27 ($p=0.04$)；在Apolipoprotein A1方面，兩組皆有統計意義的上升，不過組間差異卻無，試驗組從 137.9 ± 34.5 上升至 191.7 ± 74.5 ($p=0.000$)，對照組從 134.5 ± 30.3 上升至 165.9 ± 54.5 ($p=0.002$)；在Apolipoprotein B100方面，兩組亦皆有統計意義的上升，不過組間差異卻無，試驗組從 95.6 ± 27.6 上升至 130.0 ± 62.0 ($p=0.001$)，對照組從 99.4 ± 25.9 上升至 116.7 ± 40.5 ($p=0.006$)；在Glucagon like peptide-1 (7-36)方面，僅試驗組有統計意義的上升，不過組間差異卻無，試驗組從 142.9 ± 119.0 上升至 255.3 ± 163.1 ($p=0.001$)。

在生活品質部份，WHOQOLBREF的健康方面，僅試驗組有統計意義的上升 ($p=0.001$)，且組間差異亦然 ($p=0.048$)，試驗組從 62.1 ± 14.1 上升至 68.1 ± 12.3 。在環境方面，僅試驗組有統計意義的上升 ($p=0.01$)，但組間差異不然，試驗組從 74.6 ± 13.5 上升至 79.5 ± 8.9 。暗示服用EGCG可以改善受試者

肆、討論

本研究的主要療效指標為空腹三酸甘油脂、空腹膽固醇、HDL、LDL 在第 16 週與基準點之變化百分比。次要療效指標則是空腹血糖、HbA1C、胰島素抵抗性及相關賀爾蒙。以下針對這幾項參數進行討論：

本研究發現連續服用 16 週的綠茶萃取物 EGCG 可以降低空腹三酸甘油脂達到 2.1%，也可以提升 HDL 6.1%。但是對於空腹總膽固醇與 LDL，本研究並無統計顯著的影響，但 2010 年的研究指出讓代謝症候群的肥胖患者服用綠茶八周可發現 LDL-cholesterol 與 LDL/HDL 比值相較於對照組有下降的趨勢 ($p < 0.1$) [55]。另一 2012 年的研究指出停經後婦女每日服用 400 至 800 毫克的 EGCG，相當於每天喝綠茶 5 至 10 杯，對於降低 LDL-cholesterol 與胰島素血清濃度皆有助益的效果[56]。但另一針對肥胖男性的研究卻發現 EGCG 對於 LDL 並無影響[57]，因此表示 EGCG 在血脂肪的影響可能會因為研究族群的性別不同而有不同的影響，可能暗示 EGCG 降低血脂肪的保護效果與女性荷爾蒙有關，這樣的假設需要更多的臨床試驗投入來清楚了解。依據本試驗 TG 組間比較結果，按照樣本數公式計算，取第一型誤差 Desirable significant level $\alpha=5\%$ ，檢定力 $1-\beta=80\%$ ，樣本數須達五萬人之多才叫做大規模，可能受到本試驗之受試者標準差過大所致，因此在除了擴大樣本數之外，可能也要考慮患者血脂肪的分佈全距，以減少標準差過大之問題。

在血糖與胰島素抵抗的方面，本試驗中服用 16 周的 EGCG 對於空腹血糖值與糖化血色素 HbA1c 並無明顯差異，但是 EGCG 可以降低 insulin 以及 HOMA-IR index 的胰島素抵抗性。目前知道胰島素抵抗性是第二型糖尿病的早期指標，也有文獻指出長期服用綠茶可以降低糖尿病的發生率[58]，先前研究指出 EGCG 與其他的 catechins 可以藉由提高胰島素活性來預防高血糖的發生[59]，我們團隊先前針對肥胖的第二型糖尿病患者(BMI 平均約 30)之研究也發現服用 16 周的 EGCG 可以降低 HOMA-IR index 與糖化血色素 HbA1c[60]，但在本研究中合併高血脂的糖尿病患者(BMI 平均約 26)可以降低 HOMA-IR index 卻無法降低糖化血色素 HbA1c 與空腹血糖值，可能跟兩試驗的族群的 BMI 數值不同而對糖化血色素的降低效果有所不同。

在肥胖相關荷爾蒙胜肽方面，EGCG 可以增加 Glucagon like peptide-1，Apolipoprotein B100，Apolipoprotein A1 的血清濃度。細胞實驗指出 EGCG 可以藉由提高 LDL receptor 的表現改善膽固醇代謝並且減少細胞外的 apoB 100[61]，另一細胞實驗指出 EGCG 可以增加細胞內的脂肪微粒形成並且減少 apoB-100

VLDL 與三酸甘油脂的分泌[62]，這或許可以暗示本試驗中 EGCG 可能藉由提高了 Apolipoprotein B100 的表現量來降低血液中三酸甘油脂的濃度；同時 EGCG 也藉由提高了 Apolipoprotein A1 的表現量來增加血液中 HDL 的濃度。

另外在受試者的健康相關生活品質方面，EGCG 組在 WHOQOL-BREF 問卷中的生理分數，無論是組內或是組間比較皆具有統計顯著的上升了 13.3%，說明 EGCG 組不僅在檢驗數據上有改善，在個人感受的生活品質上也有所提升。

此外在不良反應方面，本試驗中 EGCG 服用十六週後並無肝功能或腎功能的改變，儘管有文獻提及 EGCG 可能會引發肝毒性是因為 EGCG 或是其代謝產物會在特殊情況下影響患者的代謝，引發肝臟的氧化壓力。在少部分的個案中肝毒性可能也與同時服用的藥物有關[63]。

伍、結論與建議

本研究發現連續服用 16 週的綠茶萃取物 EGCG 可以降低空腹三酸甘油脂達到 2.1%，也可以提升 HDL 6.1%。在血糖與胰島素阻抗的方面，服用 16 周的 EGCG 對於空腹血糖值與糖化血色素 HbA1c 並無明顯差異，但是 EGCG 可以降低 insulin 以及 HOMA-IR index 的胰島素阻抗性。因此在健康相關生活品質方面，WHOQOL-BREF 生理分數可提高 13.3%。至於肥胖相關荷爾蒙胜肽方面，EGCG 可以增加 Glucagon like peptide-1，Apolipoprotein B100，Apolipoprotein A1，Adiponectin 的血清濃度，但僅止於組內比較有統計意義。綜上所述，綠茶萃取物 EGCG 具有降低三酸甘油脂，提升高密度膽固醇 HDL，減低胰島素阻抗性的潛力，其機轉可能與 Glucagon like peptide-1，Apolipoprotein B100，Apolipoprotein A1，Adiponectin 等胜肽有相關，需要後續更進一步與大規模的臨床試驗來分析。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP101-RD-104 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. Mokdad AH, et al. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001 *JAMA* 2003; 289:76-79.
2. Must A, et al. The disease burden associated with overweight and obesity. *JAMA* 1999; 282:1523-1529.
3. Kao YH, et al. Tea, obesity, and diabetes, *Mol Nutr Food Res*, 2006. 50: 188-210.
4. Wolfram S, et al. Anti-obesity effects of green tea: from bedside to bench. *Mol Nutr Food Res* 2006; 50:176-87.
5. Lin JK and Lin SY. Mechanisms of hypolipidemic and anti-obesity effects of tea and tea polyphenols. *Mol Nutr Food Res* 2006; 50:211-7.
6. Moyers SB and Kumar NB. Green tea polyphenols and cancer chemoprevention: multiple mechanisms and endpoints for phase II trials. *Nutr Rev.* 2004; 62: 204-11
7. Wu CH, et al. Relationship among habitual tea consumption, percent body fat, and body fat distribution. *Obes Res.* 2003; 11:1088-95.
8. Balentine DA, et al. The chemistry of tea flavonoids. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1997; 37: 693-704.
9. Lin J, et al. Green tea polyphenol epigallocatechin gallate inhibits adipogenesis and induces apoptosis in 3T3-L1 adipocytes. *Obes Res.* 2005 ;13:982-90.
10. Wu BT, et al. The apoptotic effect of green tea (-)-epigallocatechin gallate on 3T3-L1 preadipocytes depends on the Cdk2 pathway. *J Agric Food Chem*, 2005; 53: 5695-5701.
11. Furuyashiki T, et al. Tea catechin suppresses adipocyte differentiation accompanied by down-regulation of PPARgamma2 and C/EBPalpha in 3T3-L1 cells. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2004 ; 68: 2353-9.
12. Chantre P and Lairon D. Recent findings of green tea extract AR25 (Exolise) and its activity for the treatment of obesity. *Phytomedicine.* 2002 ; 9:3-8.
13. Dulloo AG, et al. Efficacy of a green tea extract rich in catechin polyphenols and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation in humans. *Am J Clin Nutr.* 1999 ; 70: 1040-5.
14. Rumpler W, et al. Oolong tea increases metabolic rate and fat oxidation in men. *J Nutr.* 2001; 131: 2848-52

15. Komatsu T, et al. Oolong tea increases energy metabolism in Japanese females. *J Med Invest.* 2003; 50:170-5.
16. Westerterp-Plantenga MS, et al. Body weight loss and weight maintenance in relation to habitual caffeine intake and green tea supplementation. *Obes Res.* 2005; 13: 1195-204.
17. Nagao T, et al. Ingestion of a tea rich in catechins leads to a reduction in body fat and malondialdehyde-modified LDL in men. *Am J Clin Nutr.* 2005; 81:122-9.
18. Matthews D, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985; 28: 412-419.
19. Onora E, et al. HOMA-Estimated Insulin Resistance Is an Independent Predictor of Cardiovascular Disease in Type 2 Diabetic Subjects: Prospective data from the Verona Diabetes Complications Study. *Diabetes Care.* 2002; 25: 1135-1141.
20. Kovacs EM, et al. Effects of green tea on weight maintenance after body-weight loss. *Br J Nutr.* 2004 ;91:431-7.
21. Raederstorff DG, et al. Effect of EGCG on lipid absorption and plasma lipid levels in rats. *J Nutr Biochem.* 2003; 14: 326-32
22. Löest HB, et al. Green tea extract inhibits the lymphatic absorption of cholesterol and alpha-tocopherol in ovariectomized rats. *J Nutr.* 2002; 132: 1282-8.
23. Yokozawa T, et al. Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. *J Agric Food Chem.* 2002; 50: 3549-52
24. Miura Y, et al. Tea catechins prevent the development of atherosclerosis in apoprotein E-deficient mice. *J Nutr.* 2001; 131:27-32.
25. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Throm Vasc Biol.* 2000; 20:1595-1599.
26. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:1930-1935.
27. Statnick MA, Beavers LS, Conner LJ, et al. Decrease expression of apM 1 in omental and subcutaneous adipose tissue of human with type 2 diabetes. *Int J Exp Diabetes Res* 2000; 1:81-88.
28. Singhal A, et al. Adiponectin predicts insulin resistance but not endothelial

- function in young, healthy adolescents. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90: 4615-4521.
29. Fernandez-Real JM, et al. Adiponectin is associated with vascular function independent of insulin sensitivity. *Diabetes Care.* 2004; 27:739-745.
30. Farvid MS, et al. Association of adiponectin and resistin with adipose tissue compartments, insulin resistance and dyslipidaemia. *Diabetes Obes Metab.* 2005; 7:406-413
31. Shimada M, et al. Dietary Supplementation with Epigallocatechin Gallate Elevates Levels of Circulating Adiponectin in Non-Obese Type-2 Diabetic Goto-Kakizaki Rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2007; [Epub ahead of print]
32. Potenza MA, et al. EGCG, a green tea polyphenol, improves endothelial function and insulin sensitivity, reduces blood pressure, and protects against myocardial I/R injury in SHR. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007; 292: E1378-87.
33. Kao YH, et al. Modulation of endocrine systems and food intake by green tea epigallocatechin gallate. *Endocrinology.* 2000; 141:980-7.
34. Liao S, et al. Green tea: biochemical and biological basis for health benefits. *Vitam Horm.* 2001; 62: 1-94.
35. Chow HHS, Cai Y, Alberts DS, Hakim I. et al. Phase I Pharmacokinetics study of tea polyphenols following single-dose administration of epigallocatechin gallate and polyphenol. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001; 10:53-58
36. Henning SM, et al. Bioavailability and antioxidant activity of tea flavanols after consumption of green tea, black tea, or a green tea extract supplement. *Am J Clin Nutr.* 2004; 80:1558-64.
37. Chow HH, et al. Pharmacokinetics and safety of green tea polyphenols after multiple-dose administration of epigallocatechin gallate and polyphenon E in healthy individuals. *Clin Cancer Res.* 2003; 9:3312-9.
38. Lin LC, et al. Determination of (-)-epigallocatechin gallate in rat blood by microdialysis coupled with liquid chromatography. *J Chromatogr A.* 2004; 1032:125-8.
39. Fang JY, et al. Transdermal delivery of tea catechins and theophylline enhanced by terpenes: a mechanistic study. *Biol Pharm Bull.* 2007; 30: 343-9.
40. Lin LC, et al. Pharmacokinetics of (-)-epigallocatechin-3-gallate in conscious and freely moving rats and its brain regional distribution. *J Agric Food Chem.* 2007;

55: 1517-24.

41. Warden BA, et al. Catechins are bioavailable in men and women drinking black tea throughout the day. *J Nutr.* 2001; 131:1731-7.
42. Tuomilehto J., Lindstrom J., Eriksson J. G., et al. The Finnish Diabetes Prevention Study Group Prevention of Type 2 Diabetes Mellitus by Changes in Lifestyle among Subjects with Impaired Glucose Tolerance. *N Engl J Med* 2001; 344:1343-1350
43. Lawlor DA, Smith GD, and Ebrahim S. Life course influences on insulin resistance: findings from the British women's heart and health study. *Diabetes Care* 2003; 26: 97-103
44. Fujiwara T, Yoshioka S, Yoshioka t, Ushiyama I, Horikoshi H. Characterization of new oral antidiabetic agent CS-045: studies in KK and ob/ob mice and Zucker fatty rats. *Diabetes* 1988; 37:1549-1558
45. Nolan JJ, Lodvik B, Beerdsen P, Joyce M, Olefsky J. Improvement in glucose tolerance and insulin resistance in obese subjects treated with troglitazone. *N Eng J Med* 1994;331:1188-1193.
46. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA: Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: closed association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:1930-1935.
47. Spranger J, Kroke A, Mohlig M Bergmann MM, Ristow M, Boeing H, Pfeiffer AF: Adiponectin and protectin against type 2 diabetes. *Lancet* 2003; 361:226-228..
48. Lindsay RS, Funahashi T, Hanson RL, Matsuzawa Y, Tanaka S, Tataranni PA, Knowler WC, Krakoff J: Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population. *Lancet.* 2002; 360:57-58.
49. Daimon M, Oizumi T, Saitoh T, Kameda W, Hirata A, Yamaguchi H, Ohnuma H, Igarashi M, Tominaga M, Kato T. Decreased serum levels of adiponectin are a risk factor for progression to type 2 diabetes in Japanese population: the Funagata study. *Diabetes Care* 2003; 26: 2015-2020.
50. Havel PJ. Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: leptin, acylation stimulating protein and adiponectin. *Lipidology* 2002; 13:51-59.
51. Matthias BS, Eris S, Nader R, and Frank BH. Relationship between adiponectin

- and glycemic control, blood lipids and inflammatory markers in men with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 1680-1687.
52. Yeh GY, Eisenberg DM, Kaptchuk TJ, Phillips RS. Systematic Review of Herbs and Dietary Supplements for Glycemic Control in Diabetes *Diabetes Care* 2003; 26: 1277-1294.
53. Garrow D, and Egede LE. Association Between Complementary and Alternative Medicine Use, Preventive Care Practices, and Use of Conventional Medical Services Among Adults With Diabetes *Diabetes Care* 2006; 29: 15-19.
54. Egede LE, Ye X, Zheng D, and Silverstein MD. The Prevalence and Pattern of Complementary and Alternative Medicine Use in Individuals With Diabetes *Diabetes Care* 2002; 25: 324-329.
55. Basu A. Green tea supplementation affects body weight, lipids, and lipid peroxidation in obese subjects with metabolic syndrome. *J Am Coll Nutr.* 2010; 29: 31-40.
56. Wu AH. Effect of 2-month controlled green tea intervention on lipoprotein cholesterol, glucose, and hormone levels in healthy postmenopausal women. *Cancer Prev Res (Phila).* 2012; 5: 393-402.
57. Brown AL. Effects of dietary supplementation with the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate on insulin resistance and associated metabolic risk factors: randomized controlled trial. *Br J Nutr.* 2009; 101(6):886-94.
58. Iso H, Date C, Wakai K, et al. The relationship between green tea and total caffeine intake and risk for self-reported type 2 diabetes among Japanese adults. *Ann Intern Med* 2006;144:554-562.
59. Anderson RA, Polansky MM. Tea enhances insulin activity. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 7182-7186
60. Hsu CH, Liao YL, Lin SC, Tsai TH, Huang CJ, Chou P: Does supplementation with green tea extract improve insulin resistance in obese type 2 diabetics? A randomized, double-blind, and placebo-controlled clinical trial. *Altern. Med. Rev.* 2011;16:157-163
61. Goto T, Saito Y, Morikawa K, Kanamaru Y, Nagaoka S. Epigallocatechin gallate changes mRNA expression level of genes involved in cholesterol metabolism in hepatocytes. *Br J Nutr.* 2012; 107(6): 769-73.
62. Li L etc., Epigallocatechin gallate increases the formation of cytosolic lipid

droplets and decreases the secretion of apoB-100 VLDL. *J Lipid Res.* 2006; 47:67-77.

63. Mazzanti G etc., Hepatotoxicity from green tea: a review of the literature and two unpublished cases. *Eur J Clin Pharmacol.* 2009; 65: 331-341

柒、圖、表

Figure 1. trial profile and design

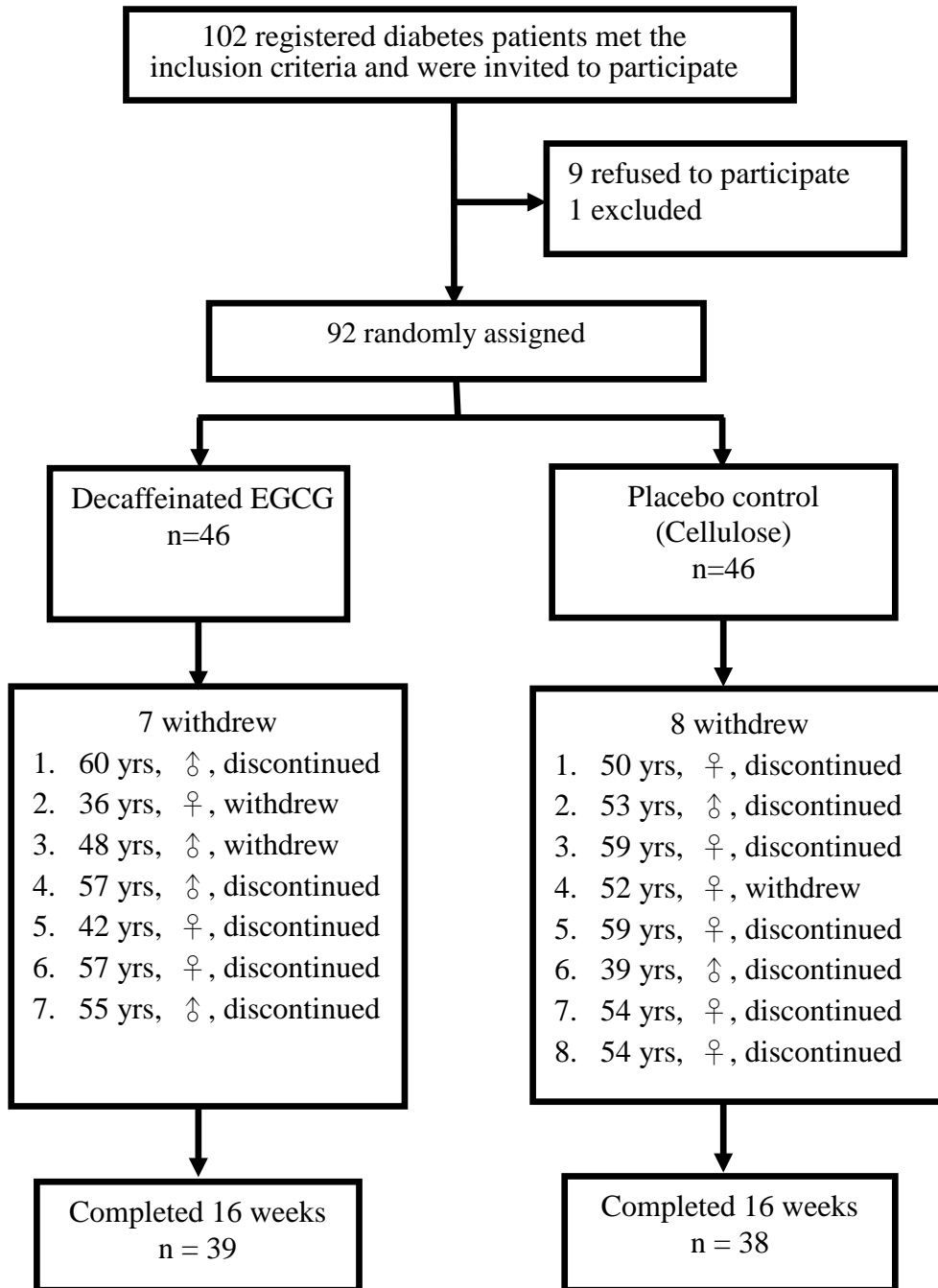


Table 1. Demographic data of participants

	Decaffeinated EGCG (n=39)	Placebo(cellulose) (n=38)
Gender(male/female)	14/25	18/20
Age (years)	55.0 (\pm 6.6)	53.5 (\pm 7.0)
Time since diagnosis of diabetes (years)	5.2 (\pm 5.9)	4.1 (\pm 4.3)
Family history of diabetes, yes (n)	27	27
Height (cm)	159.2 (\pm 0.1)	160.2 (\pm 0.1)
Body weight (kg)	66.4 (\pm 13.2)	68.8 (\pm 13.6)

Data expressed as a mean with standard deviation in parenthesis.

Table 2. Within-group anthropometric, blood pressure, and laboratory data at baseline and after 16 weeks

Variable	Decaffeinated EGCG (n=39)			Placebo (cellulose) (n=38)		
	baseline	After 16 weeks	p-value	baseline	After 16 weeks	p-value
Anthropometric						
Weight, kg	66.4±13.2	66.0±13.3	0.09	68.8±13.6	68.6±13.7	0.69
Body mass index, kg/m ²	26.2±4.2	26.0±4.0	0.058	26.4±4.6	26.4±4.4	0.54
Waist circumference, cm	83.9±9.8	85.2±12.1	0.17	87.8±11.0	87.5±8.4	0.69
Hip circumference, cm	96.4±9.5	96.9±9.3	0.30	99.3±4.0	97.6±9.1	0.02
Waist hip ratio	0.86±0.07	0.87±0.07	0.60	0.88±0.60	0.90±0.45	0.06
Systolic blood pressure, mmHg	133.4±18.6	135.3±18.1	0.48	137.2±20.2	131.6±14.5	0.03
Diastolic blood pressure, mmHg	78.9±10.8	78.1±11.1	0.68	84.5±15.3	80.5±9.1	0.05
Heart rate, bpm	76.9±13.0	77.6±13.7	0.59	75.9±10.9	76.6±13.1	0.56
Laboratory data						
Alanine transaminase (IU/L)	31.1±17.6	31.8±19.9	0.71	28.1±12.1	28.3±13.1	0.87
Creatinine, mg/dL	0.74±0.17	0.74±0.19	0.68	0.77±0.18	0.77±0.17	1.0
eGFR, %	75.8±13.5	75.2±14.2	0.57	75.6±13.0	75.7±13.3	0.91
Uric acid, mg/dL	5.2±1.3	5.3±1.4	0.53	5.4±1.4	5.7±1.3	0.07
Triglyceride, mg/dL	178.2±105.3	159.3±91.6	0.03	198.3±127.9	208.2±118.2	0.38
Total cholesterol, mg/dL	195.5±37.4	193.6±40.0	0.67	206.7±47.6	207.4±55.6	0.89
Low density lipoprotein, mg/dL	109.7±31.9	111.8±37.7	0.55	115.2±35.4	111.9±32.4	0.48
High density of lipoprotein, mg/dL	49.5±13.6	52.2±15.7	0.04	46.7±11.6	46.8±11.4	0.94
Fasting blood sugar, mg/dL	139.2±45.1	148.2±48.1	0.07	152.2±53.5	151.6±61.7	0.88
Glycemic hemoglobin, HbA1c, %	7.5±1.6	7.5±1.7	0.70	7.7±1.8	7.5±1.7	0.054

Variable	Decaffeinated EGCG (n=39)			Placebo (cellulose) (n=38)		
	baseline	After 16 weeks	p-value	baseline	After 16 weeks	p-value
Hormone peptides						
Insulin, IU/L	15.6±10.4	9.3±4.2	0.000	17.0±14.8	12.3±7.5	0.039
HOMA-IR index	5.4±3.9	3.5±2.0	0.004	5.9±4.5	4.7±3.4	0.11
Leptin	7.7±5.4	8.3±5.8	0.46	7.6±7.6	8.1±6.5	0.51
Ghrelin	537.8±255.1	499.7±172.1	0.44	598.4±227.8	440.3±184.3	0.002
Adiponectin	5227.0±5294.3	6723.3±5146.5	0.051	3630±2913.5	5270±3804.6	0.000
HSCRp	0.26±0.27	0.36±0.36	0.013	0.21±0.21	0.28±0.27	0.04
Apolipoprotein A1	137.9±34.5	191.7±74.5	0.000	134.5±30.3	165.9±54.5	0.002
Apolipoprotein B100	95.6±27.6	130.0±62.0	0.001	99.4±25.9	116.7±40.5	0.006
Glucagon like peptide-1 (7-36)	142.9±119.0	255.3±163.1	0.001	194.4±232.9	220.4±180.3	0.60
WHOQOL-BREF						
Physical	62.1±14.1	68.1±12.3	0.001	66.6±10.8	69.3±14.3	0.08
Psychological	70.9±15.5	72.3±12.1	0.42	74.1±14.5	74.2±12.8	0.95
Social	74.5±13.9	77.4±10.4	0.12	74.8±18.8	76.7±13.6	0.49
Environment	74.6±13.5	79.5±8.9	0.01	75.6±14.1	76.2±11.9	0.75
Short Form 12						
Physical condition score	46.5±8.9	46.2±8.1	0.75	48.7±8.2	48.0±6.8	0.47
Mental condition score	49.3±8.4	51.1±8.8	0.28	49.3±10.3	50.9±9.0	0.29

Table 3. The reduction percentage between groups in anthropometric, blood pressure, and laboratory data at baseline and after 16 weeks

Variable	Reduction %		
	Decaffeinated EGCG (n=39)	Placebo (cellulose) (n=38)	p-value
anthropometric data			
Weight, kg	-0.7±2.2	-0.2±3.5	0.47
Body mass index, kg/m ²	-0.7±2.2	-0.2±3.5	0.47
Waist circumference, cm	1.5±6.9	0.1±5.0	0.29
Hip circumference, cm	0.6±3.4	-1.6±4.1	0.01
Waist hip ratio	0.8±7.2	1.8±4.9	0.50
Systolic blood pressure, mmHg	-3.0±1.3	-3.0±10.6	0.11
Diastolic blood pressure, mmHg	0.0±13.7	-3.0±13.8	0.35
Heart rate, bpm	1.4±1.1	1.0±1.0	0.88
Biochemical data			
Alanine transaminase (IU/L)	5.4±29.9	5.5±36.1	0.99
Creatinine, mg/dL	0.0±0.1	0.0±0.1	0.62
eGFR, %	-0.6±10.1	0.5±10.4	0.62
Uric acid, mg/dL	2.8±16.9	7.8±20.6	0.25
Triglyceride, mg/dL	-2.1±38.5	18.8±58.3	0.07
Total cholesterol, mg/dL	-0.1±14.1	0.8±14.4	0.78
Low density lipoprotein, mg/dL	2.5±21.8	1.2±23.9	0.80
High density of lipoprotein, mg/dL	6.1±16.0	1.9±17.9	0.29
Fasting blood sugar, mg/dL	7.7±21.7	-0.1±12.3	0.05
Glycemic hemoglobin, HbA1c, %	-0.4±6.7	-1.9±7.0	0.34
Insulin, IU/L	-5.0±105.7	100.8±550.2	0.24
HOMA-IR index	14.6±176.7	124.6±685.2	0.34
Hormone peptides			
Leptin	27.3±67.1	33.8±79.2	0.70
Ghrelin	13.8±64.9	-15.4±44.9	0.025
Adiponectin	53.9±66.3	56.8±64.7	0.84
HSCRP	147.3±411.8	105.6±220.3	0.58
Apolipoprotein A1	40.3±51.9	28.1±49.4	0.29
Apolipoprotein B100	40.1±55.9	21.0±42.5	0.10
Glucagon like peptide-1 (7-36)	200.6±455.9	140.3±272.5	0.48

Variable	Reduction %		
	Decaffeinated EGCG (n=39)	Placebo (cellulose) (n=38)	p-value
WHOQOL-BREF			
Physical	13.3±23.7	4.3±14.9	0.048
Psychological	4.6±16.9	2.3±18.0	0.57
Social	7.2±23.0	16.0±72.8	0.47
Environment	10.0±24.9	3.0±22.8	0.20
Short Form 12			
Physical condition score	0.4±12.3	-0.2±13.4	0.91
Mental condition score	5.0±23.3	5.7±22.2	0.25

全民健康保險對於濃縮中藥給付之合理性 及對策研究(2-1)

鄭慧文

中華民國藥事品質改革協會

摘要

本計畫目的為促進產業發展，維護民眾中藥使用安全，檢討分析全民健康保險對於濃縮中藥給付藥費及藥事服務費之合理性，成立專家規劃小組，調查分析全民健康保險支付制度有關中西醫門診藥費及藥事服務費給付規定之差異，就法規面探討中醫門診法定調劑人員之立法背景，以及參與調劑之比例及經濟面原因，實際調查分析中醫醫療機構門診處方箋使用濃縮中藥之製劑數目及處方日數，專業調劑中藥之合理時間及合理調劑量，推估藥事服務費及藥費之合理成本，並由處方調劑專業人員之獲得性，及藥事法管理之法制性，研議藥品製造供應及藥事服務之合理成本，規劃濃縮中藥合理健保給付藥費及藥事服務費之政策方案，與產官學座談研討規劃合理給付方案，提供中醫藥委員會政策參考。

本計畫發現，中醫健保藥事服務費遠低於西醫，是造成藥師不願進入中醫調劑最可能的原因。建議健保比照西藥粉劑作業加成給付之機制，合理調整給付中藥調劑價格，並規劃中醫健保給付分級管理制度之對策。

關鍵詞：濃縮中藥、全民健保、藥費、藥事服務費、日劑量、成本分析

Study on Developing Reasonable Payments of Concentrated Chinese Medicine for National Health Insurance (2-1)

Cheng, Hui-Wen

Quality Improvement for Pharmaceutical Affairs Association, Taiwan

ABSTRACT

The purpose of this project is to promote industrial development, maintain the safety for the Chinese medicine usage, and review if the payments of concentrated Chinese medicine and pharmaceutical service from National Health Insurance are reasonable. Survey and analysis on the payment system of National Health Insurance were conducted, and the legislative background of the statutory dispenser of Chinese medicine was also discussed through an effective regulatory advisory system. And an optimal cost of pharmaceutical service was evaluated through the analysis on preparation quantities, dispensing time and workloads, production cost of the pharmaceutical companies in accordance with availability of professionals, the legal system of pharmaceutical affairs. A policy on reasonable payment was discussed in workshops with industrial, governmental and academic experts and has been made recommendations to CCMP.

We have found that the dispensing fee of Chinese medicine being much lower than it of Western medicine may be the main reason that pharmacists do not want to step into Chinese medicine dispensing. A bonus payment system for medicine powder formulations like Western medicine payment system is suggested. And the dispensing fee for Chinese medicine could be adjusted reasonably, further more; a countermeasure for the classification management system of Chinese medical care in National Health Insurance could be schemed.

Keywords: concentrated Chinese medicine, National Health Insurance, prescription charge, pharmaceutical service fee, daily dose, Cost Analysis

壹、前言

依醫療法及藥事法之規定，中藥之調劑，僅修習中藥課程達適當標準之藥師（藥師法）、中醫師（醫療法）得為之，藥事法 103 條第一項確具中藥基本知識及鑑別能力人員得在中醫師監督之下為之（1）。惟醫療機構認為，藥事法第 37 條第四項規定「中藥之調劑，除法律另有規定外，應由中醫師監督為之。」，係指「任何人在中醫師監督之下即可調劑」，且因健保支付費用不合理，因此，產生目前中醫醫療機構低價違法聘非藥事人員調劑之情事。

經查中醫門診健保給付藥事服務費每張 20 點（藥師）10 點（中醫師或其受監督者），藥費每日 30 元（最多 7 日）。目前中醫醫院有 18 家，中醫診所 3,217 家，合計 3,235 家。中醫門診總額約 200 億/年。99 年健保支付之藥事服務費，醫院平均 16.9 點/件，顯示部分未聘藥師；診所平均 8.4 點/件，顯示大部分未聘藥師，且部分未申報（2）。藥品費佔醫療費用 28.98%，醫院平均 292.0 點/件，顯示平均開十天份藥，惟因只給付七日則七日藥費每日 41.8 元，不足成本；診所 149.0 點/件，顯示平均開五天份藥（3）。

分析中醫健保每家每月獲利情形，中醫門診處方每日約 120,777 張，健保支付醫院：藥費+藥事服務費 820,117 點/月，調劑：435 件/日，合理調劑量 70 張/日，應有藥事人員至少 6 人。健保支付診所藥費+藥事服務費 33,502 點/月。因為給付不合理，因此中醫醫療機構（尤其中醫診所）請正式藥事人員利益不足（4）。

自全民健保施行以來，在所有法源俱備之下，合格中藥調劑人力不足之問題一直無法獲得實務上的改善。雖然近年來衛生署加強各式持續教育，提升藥事人員的中藥調劑能力，但在中醫門診總額和中藥調劑費不足之情況下，中醫特約門診或特約藥局在調劑人力成本上，無法獲得同西醫門診的調劑費水準，聘用合格藥事人員成為基層的負擔，造成國家大量培育具有中藥專業能力之藥師，無法進入中醫藥領域服務。

依據全民健康保險支付標準之規定，藥品調劑費在西醫基層為一般處方給付（7 天以內）特約藥局 45 點，醫師親自調劑 41 點，聘藥師調劑 30 點。在中醫基層為「修習中藥課程達適當標準之藥師（A31/20 點）」及「中醫師親自調劑（A32/10 點）」（5），故僅「修習中藥課程達適當標準之藥師」或「中醫師親自調劑」始得申報調劑費。

現行藥事服務費點值計算方式，於醫院、牙醫門診及中醫門診總額，

維持以每點 1 元核算；於西醫基層總額，在社區藥局申報金額未超過 8 億元前，採每點 1 元核算，若金額超過 8 億元，則自當月份起改採浮動點值（6）。

中醫藥委員會以中醫藥研究為任務導向，目標在促進中醫現代化、中藥科學化及中醫藥國際化，以提供中醫藥管理政策之實證依據及重要醫藥衛生問題之解決對策，建構中醫藥醫療保健服務之優質環境。面對人民期待品質優良安全有效之中藥產品，以及業界期待建構穩固基礎推動中藥產業發展，中藥產業應即建置良好的管理與輔導機制，並依循以追求高品質高服務以及高利潤的產業經濟共構下，將社會需求與經濟市場價值，透過法律的過程，將成為實現穩定成長的力量（7）。

中藥相關法規為保護消費者的法律，同時亦應在保護消費者之前提下，促進產業的發展。為因應現行中醫藥費及藥事服務費在實務上可能產生諸多適用上的問題，故宜儘速分析評估問題癥結，建立一個符合業界合理需求之給付制度，研擬適合中藥調劑環境的整合管理給付機制，以及研擬修正適當的法規條文，提供中醫藥委員會及中央健康保險局作為改革修法政策方向，實屬刻不容緩。

貳、材料與方法

- 一、於中華民國藥事品質改革協會組織「濃縮中藥健保藥價評估小組」，有效評估分析濃縮中藥健保給付問題，建立合理藥價及藥事服務費計算方式。
 - (一)由計畫主持人鄭慧文顧問、協同主持人余萬能、邀請中醫執業、中藥製造及調劑供應專家學者，組織「濃縮中藥健保藥價評估小組」。
 - (二)邀請中醫藥委員會中藥組及中央健康保險局醫療管理組及醫材藥品組主管官員指導，就濃縮中藥健保給付藥費及藥事服務費之合理性，處方調劑專業人員之獲得性及藥事法管理之法制性，研議藥品製造供應及藥事服務之合理成本，規劃濃縮中藥合理健保給付藥費及藥事服務費之政策方案，提供中醫藥委員會政策參考。
- 二、調查分析全民健康保險支付制度有關中西醫門診藥費及藥事服務費給付規定之差異
 - (一)分析全民健康保險法及相關子法規有關中西醫門診醫療使用藥品之規定。
 - (二)分析全民健康保險法及相關子法規有關中西醫門診藥品使用調劑供應所需藥費及藥事服務費之支付制度。
 - (三)比較分析全民健康保險法及相關子法規有關中西醫門診藥品使用調劑供應所需藥費及藥事服務費支付制度之差異比較。
 - (四)分析資料提交「濃縮中藥健保藥價評估小組」研議討論作為召開座談會研討會議資料。
- 三、就法規面探討中醫門診法定調劑人員之立法背景，以及參與調劑之比例及經濟面原因，就法規問題提供法律諮詢
 - (一)由醫療法及藥事法之相關條文規定，探討中醫藥之調劑專業分工法制情形及立法背景。
 - (二)由衛生福利部歷年（96-100 年）全民健康保險衛生統計資料有關中西醫門診健保申報醫療費用，比較門診人次數與法定調劑人員參與調劑情形。
 - (三)由經濟面探討法定調劑人員參與中醫門診調劑之影響因素。
 - (四)與中醫藥委員會洽議有關中藥調劑之法規問題，就中醫藥委員會提出之問題，由中華民國藥事品質改革協會之律師，提供法律諮詢（預計 18 件）。

- (五)分析資料提交「濃縮中藥健保藥價評估小組」研議討論作為召開座談會研討會議資料。
- 四、調查分析中醫門診處方箋使用濃縮中藥之製劑數目及處方日數，作為評估藥費及藥事服務費改革之參據。
- (一)向國家衛生研究院洽取（購）近五年中醫門診資料庫有關處方箋使用濃縮中藥之製劑數目及處方日數，計算平均數。
- (二)調查分析處方內容有關疾病分類及使用藥品之差異。
- (三)處方使用濃縮中藥之製劑數目，複方製劑與單方製劑皆以相同方式計數（亦即固有方製劑算一種製劑，單方製劑亦算一種製劑）。
- (四)由取得之資料庫探討以簡表（即以日劑量申報一日藥費）方式及詳細藥品種類申報之比例情形。
- (五)分析資料提交「濃縮中藥健保藥價評估小組」研議討論作為召開座談會研討會議資料。
- 五、邀請中央健康保險局及中醫藥委員會及專家學者與業界舉辦二場中藥調劑健保合理給付座談會。
- (一)邀請中央健康保險局及中醫藥委員會參加二場中藥調劑健保合理給付座談會。
- (二)由「濃縮中藥健保藥價評估小組」及專家學者（包括中醫師、藥師及中藥製造）與業界座談研討二場中藥調劑健保合理給付制度。
- (三)第一場專家座談於健保法規政策資料收集完成後召開，研討中醫處方調劑之健保支付制度。
- (四)第二場專家座談於健保資料庫收集完成後召開，研討中醫處方調劑有關藥事服務費之健保合理支付標準。
- 六、提具總結報告。
- (一)彙報「中醫醫療機構中藥調劑於中醫藥及健保法規分析」。
- (二)彙整所提出具體之法律修正內容，敘明修正理由及法律見解。

參、結果

一、於中華民國藥事品質改革協會組織「濃縮中藥健保藥價評估小組」，有效評估分析濃縮中藥健保給付問題，建立合理藥價及藥事服務費計算方式。

(一)依計畫書規劃邀集中醫執業、中藥製造及調劑供應專家學者，組織「中藥濃縮製劑健保藥價評估小組」，進行濃縮中藥健保給付問題討論。

(二)於民國 102 年 4 月 9 日召開第一次「中藥濃縮製劑健保藥價評估小組」第一次專家會議，研議規劃「全民健康保險對於濃縮中藥給付之合理性及對策研究方向」，議題及結論如下（會議紀錄如附錄一）：

1. 健保給付中醫門診藥費之合理性探討。

(1) 目前健保給付中醫門診藥費僅 30 元，依中藥標準複方調劑為例（24~36 克/日），所需藥費必然超出 30 元，其不足處可能由民眾自費負擔或改開立較便宜的藥；此外，現行中藥申請許可證需進行安全性、有效性等品質檢驗，導致製藥廠製造成本提高，進而影響醫院診所採購藥品之考量。上述問題亦應一併探討，以提出修正參考。

(2) 本研究今年度先就法規面分析健保給付藥費及藥事服務費問題，發現中醫藥事服務費遠低於西醫，而可能造成低價聘用非藥事人員調劑；進一步，計畫執行分析中醫健保資料庫探討一日藥費之合理需求，提出健保及藥事法規政策修正參考。於計畫第二年時，分析中醫醫療機構使用濃縮中藥之品項數採購價格及中藥廠濃縮中藥之製造銷售成本，推估合理給付金額。

2. 中醫醫療機構調劑人員之訂定。

(1) 因「醫療機構設置標準」所規定之中醫機構藥事人員數較為嚴謹，專家建議可參考「醫院評價標準」作為研究考量依據。

(2) 因本研究從法規面分析中醫法定藥事人員之問題，而「醫療機構設置標準」被授權於醫療法第 12 條第三項，故目前依此標準進行評估。

3. 如何推估合理中醫健保給付藥費與藥事服務費。
 - (1) 因同一基準方在不同製造廠其配方及價格並無統一，在分析藥費時需注意健保資料庫同一基準方是否具相同代號。另外，建議計畫執行可朝計算目前中醫門診藥師平均工作量（一個藥師一月/一日需調劑幾張處方箋），進而推算合理藥事服務費。
 - (2) 中央健保局公告資料顯示同一基準方不同製造廠具不同藥品代號，而健保資料庫是依其公告代號鍵入。
 - (3) 計畫將依委員建議進行藥事服務費推估。
4. 計畫所推估之藥事服務費與實際中醫醫療體系狀況之差異。
 - (1) 因計畫分析資料來源為健保資料庫，是由醫療機構端向健保局申請之資料，無法得知處方箋中健保無給付之品項及病人自費的部份，計畫執行結果應如何評估實際情況？
 - (2) 本研究計畫分析結果是屬低估，會列於健保給付修正建議中說明，請主管單位應以本研究結果為最低值參考依據。
5. 社區藥局進場中藥調劑之可行性。
 - (1) 許多社區藥局無足夠人力可同時調劑中藥與西藥，並且中藥調劑須另設置調劑空間與中藥存放位置，添置中藥包藥機、集塵器等中藥調劑使用設備。又社區藥局所調劑之中藥處方箋量未必足夠抵成本開銷。如此，社區藥局進場協助中醫藥調劑之對策是否可行？
 - (2) 除本計畫研究推估合理健保給付中醫門診藥費及藥事服務費，提出修正參考供中央主管單位外，還須藉助各地區藥師公會等相關單位協助，推廣藥局接受中藥處方箋。專家所提之事項亦會紀錄於本研究結果以作為健保給付修正參考依據。
6. 中藥調劑健保合理給付對策。
 - (1) 專家建議除健保合理給付價格調整外，另可規劃中醫健保給付分級管理制度之對策，如按中醫醫療機構申報健保處方張數等因素，規劃不同給付點數之參考。
 - (2) 計畫先分析健保資料庫計算健保合理支付藥費及藥事服務費。專家建議、將列入健保給付中醫門診藥費及藥事服務費修正參考供主管機關參考。

二、調查分析全民健康保險支付制度有關中西醫門診藥費及藥事服務費給付規定之差異。

為增進我國國民健康，衛生福利部自民國八十四年三月一日正式開辦全民健康保險業務，訂定全民健康保險法及相關子法規，規定各項健保藥物、保險醫事服務機構申報與保險給付等事項，以提供良好之醫療服務。本章將彙整現行全民健康保險法有關中西醫門診在醫療使用藥品規定、藥品使用調劑供應所需藥費及藥事服務費之支付制度；進一步比較中西醫門診藥費及藥事服務費在支付制度之差異。

(一)全民健康保險法及相關子法規有關中西醫門診醫療使用藥品之規定

依據全民健康保險法（100年6月29日修）第40條及第42條規定，當病人發生疾病、傷害事故或生育時，保險醫事服務機構應依訂定醫療辦法及病人醫療需求提供保險醫療服務，如醫療服務及藥物屬高危險、昂貴或有不當使用之虞者，應於使用前報經中央健康保險局審查同意，惟不限情況緊急者。此外，全民健康保險法第71條，規定病人在門診診療後，得向醫療機構索取處方箋，交付保險醫事服務機構調劑、檢驗、檢查或處置，以保障病人被告知用藥內容與自由選擇調劑處所之權利，得到正確用藥知識，並矯正民眾偏差的就醫行為與服藥觀念。藉此醫藥分工制度，由醫師專責診察、處置及處方決定治療病患使用之藥品，藥師則專責調劑，維護藥品安全及品質，提供病患最充分的用藥諮詢服務，得以雙層檢核為民眾用藥把關。

各醫事服務機構在使用醫療藥品時，需符合全民健康保險藥品給付規定方能申請給付，其中包含該藥品之許可證登載適應症、處方合理之含量或規格、病患年齡等項目；並依此規定通則第三項，醫師得按病患病情需要，每次開給七日以內之藥量，慢性疾病病患則得一次給予三十日以內之用藥量，以避免藥物濫用。

全民健康保險所納入之給付藥品，是根據「全民健康保險藥物給付項目及支付標準」第11條所收載，由主管機關核准通過查驗登記並取得藥品許可證之藥品，由限制對應之醫師科別使用，或經主管機關核准專案進口而未領有藥品許可證之藥品且屬必要藥品或罕見疾病用藥者；中藥藥品在此條中則被規定，中藥新藥需按藥品優良試驗規範（GCP）進行臨場試驗，並通過新藥查驗

登記各項審查作業取得認證，或為主管機關核准經由 GMP 中藥濃縮廠製造之「調劑專用」及「須由醫師（中醫師）處方使用」之濃縮中藥為限；複方濃縮中藥並應列屬主管機關整編之「臨床常用中藥方劑基準方」。除此之外，成藥及醫師藥師藥劑生指示用藥並不列入保險給付範圍。

(二)全民健康保險法及相關子法規有關中西醫門診藥品使用調劑供應所需藥費及藥事服務費之支付制度

我國全民健康保險即將醫藥分工制度設計在內，並另有藥事法確立限縮醫師調劑之範圍，使醫師於醫療、藥師於藥事，分工合作以服務病人。特別的是，醫事服務機構在申報費用亦是按醫藥分帳制度，依醫療服務給付項目及支付標準報主管機關核定。門診醫療給付費用總額，得依醫師、中醫師、牙醫師門診診療服務、藥事人員藥事服務及藥品費用分別設定分配比率，於提供醫療服務之次月一日起六個月內申報。此外，全民健康保險法第 64 條明列，經中央健康保險局核定不予給付之處方，若為醫師開立交於其他保險醫事服務機構調劑、檢驗、檢查或處置後，且可歸責於醫師時，該費用應自該醫師所屬之醫療機構申報之醫療費用核減之。

門診醫療之藥費及藥事服務費依「全民健康保險醫療服務給付項目及支付標準」規定，藥事服務費包含處方確認、處方查核、藥品調配、核對及交付藥品、用藥指導、藥歷管理及藥品耗損、包裝、倉儲、管理等成本費用，其支付標準會依不同門診別有所不同，以下將表列呈現西醫及中醫門診藥事服務費及藥費支付點數：

(三)比較分析全民健康保險法及關子法規有關中西醫門診藥品使用調劑供應所需藥費及藥事服務費支付制度之差異比較

由表一至表三所示，中西醫門診藥費及藥事服務費支付點數不同，現行中醫門診總額有關中藥調劑費之點值，維持以每點 1 元核算，尚不採浮動點值方式計算。中醫基層藥費以日計酬，給付 30 點，不似西醫門診因調劑小兒劑量進行加成；中醫基層之藥品調劑費，如由修習中藥課程達適當標準之藥師調劑者，給付 20 點；由中醫師親自調劑者，給付 10 點，相較於西醫基層之藥品調劑費，為一般處方（7 天以內）由特約藥局調劑者，給付 45 點，

醫師親自調劑者，給付 41 點，診所聘藥師調劑者，給付 30 點。顯示中醫門診支付點數給付差距遠低於西醫門診。

進一步，以「優良藥品調劑作業規範 GDP」比較中西醫門診調劑之差異發現（表四），中藥濃縮製劑係屬粉劑或散劑，與西藥多為錠劑或膠囊不同，其調劑過程幾與西藥兒科粉劑之調劑作業相同，更因成人所需劑量遠高於小兒劑量，調劑時產生大量粉塵，所需調劑設備及儲備空間皆高於西藥，但未能有比照西藥粉劑作業有加成給付之機制。又根據健保局 99 年「西醫基層總額醫療專業服務品質報告」與 97~99 年「門診醫療費用明細」發現，中西醫基層門診處方天數平均為 5.73：6.83（天），顯示中醫調劑一張處方箋相較於西醫需要較長的時間成本。

三、就法規面探討中醫門診法定調劑人員之立法背景，以及參與調劑之比例及經濟面原因，就法律問題提供諮詢

2011 年 5 月間，中央健康保險局發現中醫診所多未聘用合格藥事人員調劑，導致是否得給付中藥調劑費之疑慮，引發中醫診所存續及是否對無照調劑人員就地合法之恐慌。中醫門診藥事服務費與藥費無法獲得同西醫門診水準，可能造成中醫基層聘用合格藥事人員之負擔。故本章就醫療法及藥事法探討中醫藥調劑分工及立法背景，並從衛生署統計資料比較中西醫調劑情形，探討法定調劑人員參與中醫門診調劑之經濟面影響因素。

（一）由醫療法及藥事法之相關條文規定，探討中醫藥之調劑專業分工法制情形及立法背景

依據藥事法第 37 條第四項授權行政院衛生署制定藥品優良調劑作業準則第 3 條之規定「本準則所稱調劑，係指藥事人員自受理處方箋至病患取得藥品間，所為之處方確認、處方登錄、用藥適當性評估、藥品調配或調製、再次核對、確認取藥者交付藥品、用藥指導等相關之行為」。藥事法第 102 條亦明定，醫師依自開處方，親自調劑之情況，於全民健康保險實施二年後，將僅限於在省（市）衛生主管機關公告無藥事人員執業之偏遠地區醫療急迫情形為限。強制啟動醫藥分業制度，確立醫藥分工制度之法律基礎。

處方調劑作業，係以「再確認處方」機制，確認所使用之藥物有無「交互作用（interaction）」、有無「配伍禁忌（incompatibility）」、有無「禁忌證（contraindication）」、有無「劑量錯誤（例如超過劑量 overdose）」、有無「劑型錯誤（例如腸溶錠不可磨粉使用已面降

低效價增加危害)」，經由「監督制衡 (Check and Balance)」之偵錯除錯機制，確保病患醫療用藥的品質及正確性。

醫療機構之藥事人員皆應專任親自依藥品優良調劑作業準則之規定，執行處方調劑工作。依據醫療法第 12 條第三項授權訂定之「醫療機構設置標準」，規定中醫醫院應具備中藥調劑人員，應按中醫師數二分之一以上計算，其中半數應為中醫師或修習中藥課程達適當標準之藥師；中藥調劑人員包括中醫師、修習中藥課程達適當標準之藥師及藥事法第 103 條第一項所定人員等三類。中醫診所應視業務需要設置修習中藥課程達適當標準之藥師或藥事法第 103 條第一項之人員；藥事人員資格應符合藥事法第 102 條第二項及藥師法第 20-1 條之規定。

有關藥事法第 103 條第一項所定人員，係民國 59 年「藥物藥商管理法」制定之前已存在之中藥業者，藥物藥商管理法視為專業人員。臺灣高等法院則認為該類人員依藥事法第 103 條及第 15 條規定雖有調劑之業務，亦即可以在藥品及份量不能改變的情形下改變處方之劑型，例如磨粉、熬膏，但因同法第 37 條第 4 項「中藥之調劑，除法律另有規定外，應由中醫師監督為之。」之限縮，中醫師、藥師才有調劑權，而確具人員只有調劑之業務，亦即必須在中藥房內接受中醫師監督來調劑，不能沒有中醫師監督且離開營業處所調劑。另衛生福利部依此法之規定，認為領有研習中藥課程證明書之藥劑生，得執行中藥之調劑，惟應由中醫師監督為之。

此法係民國 59 年「藥物藥商管理法」第 54 條第三項「中藥之調劑，應由中醫師監督為之」沿用迄今，睽諸當時之立法意旨，係因當時中醫師人力不足因應藥商所聘為調劑業務，且另有熟諳藥性人員及確具中藥基本知識及鑑別能力人員皆可調劑，故不採「由中醫師親自為之」，而採「由中醫師監督為之」。又「藥物藥商管理法」第 54 條於 82 年修正為藥事法現行第 37 條條文，其第四項「除法律另有規定外」之立法意旨，係指藥師法第 15 條第二項所定修習中藥課程達適當標準之藥師得執行中藥製劑之製造、供應及調劑。87 年再修正藥事法，再增加第 102 條第四項「經國家考試及格者」得執行中藥調劑業務之法律規定。

故，具有中藥調劑資格之專業人員，除中醫師及修習中藥課程達適當標準之藥師得專任獨立執行中藥調劑外，確具中藥基本知識

及鑑別能力人員及領有研習中藥課程證明書之藥劑生，亦得於中醫師監督下為之。但僅由此法文義觀之易生誤解，乃有醫療機構認為，該條項係指「任何人在中醫師監督之下即可調劑」。而健保支付中藥處方藥品調劑費用，係以醫療機構設置標準所認定之中藥調劑人員：中醫師、修習中藥課程達適當標準之藥師為支付對象，目前排除領有研習中藥課程證明書之藥劑生。

(二)由衛生福利部歷年(96-100年)全民健康保險衛生統計資料有關中西醫門診健保申報醫療費用，比較門診人次數與法定調劑人員參與調劑情形

中西醫之醫療給付不均，中醫特約門診或特約藥局在調劑人力成本上，無法獲得同西醫門診調劑費水準。根據衛生福利部公開之健保統計資料，以中西醫門診藥費申請件數代表門診人次，分別比較96年至100年中西醫門診藥費申請點數之差異(表五)，發現中醫門診申請件數相較於西醫門診長期居後，約佔所有門診申請件數0.13%，其100年中醫門診藥費申請點數為6,770百萬點(佔5.6%)，亦遠低於西醫醫院門診藥費申報83,109百萬點(佔69.0%)及西醫基層門診的25,850百萬點(佔13.5%)。進一步發現，五年內中醫門診藥費成長幅度雖為最高達26.0%，但實際申報點數幅度卻為最低，僅增加1,397百萬點，西醫基層門診增加有2,654百萬點，西醫醫院門診增加達16,782百萬點為最高。

同樣地，比較96至100年之藥事服務費申報點數(表六)，結果顯示中醫門診平均申報佔不到所有門診之一成，而西醫醫院及西醫基層門診則是各佔四成及五成之多。特別的是，在民國99年中醫門診申請件數及點數為負成長，相較於98年中醫門診申報點數成長幅度為-39.0%，僅申請206百萬點(佔0.18%)；並且該現象延續至民國100年，中醫門診申報點數僅142百萬點(佔0.12%)。

以98年健保中西醫基層門診申報藥費點數計算，健保支付中醫醫院藥費加上中藥調劑費平均每月約82萬點，每家醫院平均每日調劑435件，按照健保合理調劑量每日70張需有藥事人員一人計算，醫院應聘有藥事人員至少6人。另健保支付中醫診所藥費加上中藥調劑費平均每月約3.35萬點，尚不足聘請一位藥師。因此中醫醫療機構(尤其中醫診所)因為健保給付之不合理，造成聘用正式藥事人員之利益不足。

(三)由經濟面探討法定調劑人員參與中醫門診調劑之影響因素

中醫基層診所聘用藥師比例低，可能受到中醫執業型態對藥師需求影響，我國部分中醫執業型態是以推拿、針灸等項目進行治療，對藥師的需求可能是較低。在排除中醫執業型態的可能因素後，就經濟面探討法定調劑人員參與中醫門診調劑比例低的原因，歸納以下 3 點：

1. 中醫基層門診就診業務量不大

從表五申報藥費件數可知，中醫門診相較於西醫門診低，我國民眾就醫比例以西醫為主，民眾使用中醫醫療例用率不高，在 91 年度「中醫醫療利用率及其影響因素探討」研究指出民眾中醫醫療使用率只有 22%。顯示中醫基層門診業務量可能不足依支付藥師薪水，故無聘請法定調劑人員。

2. 中醫藥材、設備成本費用高

近年來中藥材因氣候、大陸人資、貨幣通膨等因素，造成中藥材成本提高；並且中藥調劑屬粉劑或散劑與西藥多為錠劑或膠囊不同，調劑空間須加強控管粉塵收集，調劑所需攪拌機、攪棒、研鉢、天平，分包包裝機等設備高於西藥。硬體設備所需費用即高於西醫，為儉省開銷維持中醫基層門診營運，可能是無聘請法定調劑人員因素之一。

3. 中西醫調劑環境與健保給付藥事調劑費之差異

健保支付費用不合理，可能是不足以支應聘請合格藥事人員之費用因素之一。中西醫健保支付不一，在同工同酬的基準下，藥師可能考量其差異而選擇不進入中醫門診調劑。

(四)與中醫藥委員會洽議有關中藥調劑之法規問題，就中醫藥委員會提出之問題，由中華民國藥事品質改革協會之律師，提供法律諮詢 18 件。

1. 中醫醫療機構之法定人員及處方調劑人員為何？

(1)依據醫療法第 12 條所定醫療機構設置標準，中醫醫療機構之醫師組成為負責醫師（應有二年以上醫師訓練，不含調劑中醫師）及處方醫師。

(2)中醫醫療機構法定之中藥調劑人員包括中醫師（依據藥事法第 37 條第四項）、修習中藥課程達適當標準之藥師（依據藥師法第 15 條第二項）及藥事法 103 條第一項所定人員（確

具中藥基本知識及鑑別能力人員)等三類，調劑人員應按中醫師數二分之一以上計算，其中半數應為中醫師或修習中藥課程達適當標準之藥師。

2. 中醫醫療機構納入全民健康保險給付之中藥藥品為何？

(1)中藥製劑之類別如下：

處方藥：標示限由中醫師處方使用、調劑專用。多為濃縮(科學)中藥，健保給付。

指示藥：標示由中醫師指示使用(藥師亦得指示)。多為傳統中藥之丸、散、膏、丹。

成藥：無特別標示。多為傳統中藥之丸、散、膏、丹。

(2)西藥以產品安全性為主，定有處方藥審查基準、指示藥審查基準、成藥審查基準及乙類成藥審查基準。中藥僅以是否濃縮為分類基礎，尚未建立分類審查基準。宜推動中藥依產品安全性建立分類審查基準。

(3)依據全民健康保險藥物給付項目及支付標準第 11 條之規定，納入全民健康保險給付之藥品，包括主管機關核准通過查驗登記並取得藥品許可證之藥品，且其許可證類別為限由醫師使用或需由醫師處方使用，或經主管機關核准專案進口而未領有藥品許可證之藥品且屬必要藥品或罕見疾病用藥者。

(4)納入全民健康保險給付之中藥藥品，包括依中藥新藥查驗登記須知之規定，依「藥品優良臨床試驗規範(GCP)」進行臨床試驗，且通過新藥查驗登記(NDA)各項審查作業，取得主管機關核發藥品許可證之新藥；以及主管機關核准經由 GMP 中藥濃縮廠製造之「調劑專用」及「須由醫師(中醫師)處方使用」之濃縮中藥為限；複方濃縮中藥並應列屬主管機關整編之「臨床常用中藥方劑基準方」。

3. 醫療機構是否必需交付處方箋給病患？病患持處方箋如何依法選擇調劑處所調劑？

(1)依全民健康保險醫療辦法第 6 條第一項之規定，特約醫院、診所應將門診處方交由保險對象，自行選擇於該次就醫之特約醫院、診所或其他符合規定之保險醫事服務機構調劑。

(2)依全民健康保險醫療辦法第 15 條第一項之規定，保險對象

持特約醫院、診所醫師交付之處方箋，應在該特約醫院、診所調劑或選擇至特約藥局調劑。

4. 中醫醫療機構之整體醫療行為為何？法定處方箋之要件為何？
 - (1) 中醫醫療機構之整體醫療行為分為前端的診療行為以及後端的調劑行為。診療行為包括診斷、處置、處方，並開具處方箋記載病歷。診療行為原則需於機構內由中醫師親自執行。調劑行為包括受理處方注意義務、確認處方義務、依方取藥義務、藥袋標示義務、確認領受人交付義務及充分說明義務。
 - (2) 依據醫師法、藥師法及藥品優良調劑作業準則之規定，法定處方箋之要件，包括開立處方日期、病人姓名、性別、年齡、病名、藥品名稱、劑型及單位含量、劑量、數量、用法、用藥指示、處方醫師署名或蓋章、所屬醫療機構名稱地址及電話。
5. 藥品調劑作業之法定義務為何？
 - (1) 依據藥品優良調劑作業準則之規定。
 - (2) 藥品調劑作業之法定義務包括受理處方箋、處方確認（合法性、完整性與處方期限有效性）、處方登錄、用藥適當性評估（劑型劑量、交互作用、禁忌證）、藥品調配（依處方箋內容選取正確藥品）、計數正確數量、書寫藥袋或貼標籤、包裝、藥品調製（依處方箋改變原劑型或配製新製品）、再次核對（治療期間內均未超過藥品保存期限）、確認取藥者交付藥品、交付對象為交付處方箋者、用藥指導。
6. 中醫醫療機構購用藥品需注意的幾個問題
 - (1) 委託藥商配製藥品：涉及未經核准，擅自製造偽藥（刑事責任）
 - (2) 將市售產品抽取部分混合並標示新名稱供應：涉及將他人產品抽換或摻雜之偽藥（刑事責任）
 - (3) 含馬兜鈴酸、砒砂藥材之毒害藥品：涉及明令公告禁止毒害藥品之禁藥（刑事責任）
 - (4) 藥品含重金屬、農藥殘留、硫酸鋇、二氧化硫超過限量：涉及含有污穢或異物之劣藥（行政責任）
7. 是否一定要有處方箋才能調劑？傳統診所手寫病歷、手寫藥

袋，藥師先依照病歷上的處方調劑藥品，之後才列印正式處方箋，可否？

- (1)藥品調劑，依法一定要有處方箋，而且調劑後依法必須保存三年（管制藥品及毒劇藥品五年）。如果醫師不願配合開具處方箋，違反醫療法及健保法之規定，藥師應主動告知後，宜取具證據（例如錄音），以求自保。
- (2)藥品調劑，應依藥品優良調劑作業準則之規定步驟執行，但如符合邏輯，其次序未必確循所定順序。
- (3)例如醫院藥劑部門為減少病患等藥時間，多數是先依診間所傳輸之藥袋或列印資訊，先行執行其他調劑藥品步驟（例如確認處方無疑義），病人之後才拿處方箋來領藥，經由比對無誤，再確認領受人交付藥劑，並進行諮詢，完成全部作業。
- (4)傳統診所手寫病歷、手寫藥袋，藥師先依照病歷上的處方調劑藥品，之後才列印正式處方箋，如符合藥品優良調劑作業準則規定之全部作業步驟執行，應屬適法。

8. 保險對象因故未能及時繳驗保險憑證或身分證件者，保險醫事服務機構應如何處理？

- (1)依全民健康保險醫療辦法第4條之規定，保險對象就醫因故未能及時繳驗健保卡或身分證件者，保險醫事服務機構應先行提供醫療服務，收取保險醫療費用，並開給符合醫療法施行細則規定之收據。保險對象於就醫之日起十日內（不含例假日）或出院前補送應繳驗之文件時，保險醫事服務機構應將所收保險醫療費用扣除保險對象應自行負擔之費用後退還。
- (2)依全民健康保險醫療辦法第5條之規定，因不可歸責於保險對象之事由，致保險對象未能依前條規定期限內，補送應繳驗之證明文件時，得檢附保險醫事服務機構開具之保險醫療費用項目明細表及收據，依全民健康保險法第五十六條規定，向保險人申請核退自墊醫療費用。

9. 診所第二位藥師可任用沒二年資歷藥師嗎？任用後，診所向健保局應如何申報，沒資歷藥師調劑的處方，要用有二年資歷藥師申報健保給付嗎？若第二位藥師無二年資歷，則有二年資歷之第一位藥師是否可以出國？

- (1)依藥師法第 20-1 條第 2 項之規定，醫療機構聘藥師提供藥事服務者，其藥師至少應有一人具備二年以上實際調劑執業經驗，始得提供藥品調劑服務。亦即診所僅要有一位藥師具備二年以上實際調劑執業經驗，其他藥師則無資歷限制。
- (2)依據全民健康保險醫事服務機構特約及管理辦法第 40 條以下之規定，藥局得申請為全民健康保險之特約藥局，即係以藥局為申請健保給付之主體。
- (3)無論診所藥師人數資歷，只要是健保核准登錄之藥師，其皆得申報藥事服務費用，並以診所名義申報健保給付。
- (4)依據法律保留原則，限制人民權利須有法律規定，觀諸藥師執行業務相關法規皆未有「第二位藥師無二年資歷，則有二年資歷之第一位藥師不可出國」之相關規定。健保既給付第二位藥師，則第一位藥師出國，自無不得給付之規定。
- (5)惟須注意的是，若第一位藥師出國，第二位藥師仍受合理調劑量之健保給付限制。

10. 診所飲片自費，販賣即飲包、保健食品及藥品（非處方藥）是否違法？

- (1)只要記載於病歷，即屬於醫療行為，就不違法，但是否正當合理，受醫師同儕制約，事後受醫事審議評定。
- (2)如果未記載於病歷，只是單純販賣保健食品，因未申請商業登記（且因機構性質為醫療服務亦無法登記）違反商業登記法。另如要求護理師或藥師賣東西，與各人員法不合，恐受醫療法第 57 條規範，將處罰鍰。
- (3)如果未記載於病歷，只是單純販賣藥品（非處方藥），因未申請藥商登記（且因機構性質為醫療服務亦無法登記）違反藥事法第 27 條之規定，將處罰鍰。

11. 秘方和中藥藥證有無扞格？

- (1)申請中藥查驗登記請領許可證，其處方依據需以固有典籍（法定為醫宗金鑑、醫方集解、本草綱目、本草備要等）為準，如否，即應提出臨床試驗之科學證據（與西藥同）。
- (2)秘方多為固有成方之加減方，如以藥材（飲片）形式販賣，尚無法律限制。如自行煎煮或成丸散膏丹，給予另一名稱，即屬藥事法第 20 條第一項第一款「未經核准，擅自製造」

之偽藥，應負刑事責任。

12. 業經核准之健保特約藥局，再行另聘第二位以上藥師，依法向衛生主管機關申請登錄執業經核准後，其執行處方調劑業務申報全民健康保險藥費及藥事服務費如何核計？

(1)查以往健保特約藥局另聘第二位以上藥師，經衛生主管機關核准執業登錄後，須向衛生主管機關以電話聯絡或傳真之方式告知該藥師到職日等資料，方得完成申辦程序，向中央健康保險局申報全民健康保險藥費及藥事服務費用，衛生局即依此申辦告知之日為計算費用核付起始日。

(2)復查衛生福利部醫事人員資訊管理系統與貴局網站連線已建置完成，藥師申辦執業登錄等相關資訊，均得在該網站中已有互為通報機制，健保特約藥局藥師如有新聘或辭聘或其他異動，已無需再以電話聯絡或傳真之方式告知貴局，應請衛生局確認同意健保特約藥局再行另聘第二位以上藥師，其執行處方調劑業務申報全民健康保險藥費及藥事服務費自各該藥師執業登錄之日起核計。

13. 中醫診所是否必須釋出處方箋？

(1)依全民健康保險醫療辦法第 6 條第一項之規定，中醫診所應將門診處方交由保險對象，自行選擇於該次就醫之診所或其他符合規定之保險醫事服務機構（如社區藥局）調劑。

(2)依全民健康保險醫療辦法第 6 條第二項之規定，中醫診所限於專長或設施不足，對於需轉由其他保險醫事服務機構提供調劑服務之保險對象，應開立處方，交其前往其他保險醫事服務機構（如社區藥局），接受醫療服務。

(3)故中醫診所尚未聘請合格調劑人員，即應依全民健康保險醫療辦法第 6 條第二項之規定，開立處方箋交付保險對象，至社區藥局調劑。倘聘有合格調劑人員，即應依全民健康保險醫療辦法第 6 條第一項之規定，開立處方箋交付保險對象，由保險對象自由選擇在該診所調劑，或至社區藥局調劑，並未必須釋出處方箋。

14. 社區藥局得否拒絕調劑保險對象持中醫診所開具之處方箋？

(1)依藥師法第 12 條第一項之規定，藥師執行調劑業務，非有正當理由，不得拒絕為調劑。

- (2)依大法官釋字第 689 號解釋，依社會通念認非不能容忍者，即具正當理由。
- (3)故社區藥局依社會通念認非不能容忍者，例如未具備中藥調劑資格、無中藥調劑設備或缺乏中藥調劑之藥品等，即具正當理由，方得予拒絕。
- (4)至倘因健保給付過低，具有資格、設備及藥品之藥局拒絕調劑，即難謂正當理由，應有藥師法第 12 條第一項規定之適用。

15. 診所藥師無受理處方箋，其調劑是否有適法之疑義？

- (1)法定處方箋之內容，應包含處方年、月、日、病人姓名、性別、年齡、藥名、劑量、用法、醫師署名或蓋章等項，分別規定於藥師法第 16 條、醫師法第 13 條及藥品優良調劑作業準則第 18 條。
- (2)藥師應受理完整處方箋，按法定程序完成調劑作業，藥師法第 16 條至第 19 條、全民健康保險法第 64 條、第 71 條及全民健康保險醫療辦法第 15 條，皆有明文規定。其處方箋應於調劑後由該調劑藥師簽名蓋章，添記調劑年、月、日，保存三年，含有麻醉或毒劇藥品者保存五年。如有詢問醫師確認使用之藥品，或請醫師更換藥品之情事，並應於處方箋加以註明，違者可依藥師法第 22 條之規定，處調劑藥師新臺幣二千元以上一萬元以下罰鍰。醫療機構未依處方箋調劑，將依全民健康保險醫事服務機構特約及管理辦法第 37 條之規定，扣減其申報之相關醫療費用之十倍金額。
- (3)醫師倘未依規定開具處方箋，即有違反醫師法第十三條之規定，應依同法第 29 條之規定，處新臺幣二萬元以上十萬元以下罰鍰。
- (4)倘醫療機構未能督導所屬醫事人員依各該醫事專門職業法規規定執行業務，即違反醫療法第 57 條之規定，將依同法第 102 條第一項之規定，處醫療機構新臺幣五萬元以上二十五萬元以下罰鍰。
- (5)查處方箋文本之留存，向為衛生主管機關及消費爭議訴訟之查核重點。診所未依規定開具處方箋，藥師僅憑病歷或繳費證明上之藥品明細據以調劑，實有違反藥師法、醫療法及全

民健康保險法之規定。

16. 保險對象掛號診療時欠卡，處方箋含有數種藥品，皆有健保碼，但皆括弧「自費」，社區藥局如何依法處理？
 - (1)保險對象掛號診療時欠卡，醫療院所依全民健康保險醫療辦法第4條之規定，以保險對象因故未能及時繳驗健保卡或身分證件就醫，先行提供醫療服務，收取保險醫療費用，並開給符合醫療法施行細則規定之收據；而後保險對象於就醫之日起十日內補卡或送應繳驗之文件，醫療院所將所收保險醫療費用扣除保險對象應自行負擔之費用後退還。
 - (2)欠卡當時所開具之處方箋因需收取費用，故當時處方箋含有數種藥品，皆有健保碼，但皆括弧「自費」，但事後補卡後，醫療機構卻未將處方箋括弧「自費」部分銷除。故健保特約藥局必須與原處方醫療院所及開方醫師聯繫詳情，於紙本處方箋上由調劑藥師予以刪除括弧「自費」，但需註明與醫師聯繫時間及結果，方屬適法。
17. 醫療院所同時開具健保處方箋及自費處方箋（並未註明自費），應如何處理，方屬適法？
 - (1)查全民健康保險醫療辦法第8條規定，保險醫事服務機構於補驗健保卡時，應於健保卡登錄就醫紀錄及可累計就醫序號之就醫類別一次後發還，則欠卡時所註明之「自費」註記，理當於補卡完成後由醫療院所端予以註銷。
 - (2)另需考量者，慢性病連續處方箋是否可以免註記「自費」方式處理，第一張處方箋調劑自費後補卡退費，倘為避免保險對象不補卡而持第二及第三張慢性病連續處方箋調劑情事，亦可以壓單俟補卡時發還方式處理。
 - (3)醫療院所同時開具健保處方箋及自費處方箋（並未註明自費），已成社會常態，惟因醫師未向保險對象說明係自費，致保險對象認為藥師違法收取費用，經常引發爭執。
 - (4)醫療院所倘同時開具健保處方箋及自費處方箋，其自費處方箋應註明自費，並向保險對象說明。
18. 某醫院開立之慢性病連續處方箋，每次開立天數為二十八日，領藥次數為三次，惟該處方箋上載明本處方箋有效期間為九十日，是否適法？

(1)全民健康保險醫療辦法第 23 條第一項規定「本保險處方箋有效期間，自處方箋開立之日起算，一般處方箋為三日（遇例假日順延），慢性病連續處方箋依各該處方箋給藥日數計，至多九十日；處方箋逾期者，保險醫事服務機構不得調劑。」。

(2)本案某醫院開立之慢性病連續處方箋，每次開立天數為二十八日，領藥次數為三次，依法理應以「處方開立日數乘以領藥次數」（即八十四日）為其處方箋有效期間。

(3)倘有效期間為九十日，則民眾倘於同日，持開立天數為二十八日領藥次數為三次之慢性病連續處方箋，連同切結文件，於有效期間最後一日，一次領取該慢性病連續處方箋之總給藥量；並同時持另一領藥次數為三次之慢性病連續處方箋，連同切結文件，於有效期間第一日，一次領取該慢性病連續處方箋之總給藥量；則健保特約藥局得否給予六次之總給藥量？即生疑義。

(4)故，該處方箋上載明本處方箋有效期間為九十日，應屬錯誤，仍應以處方箋給藥日數計為八十四日計算。

四、調查分析中醫門診處方箋使用濃縮中藥之製劑數目及處方日數，作為評估藥費及藥事服務費改革之參據。

本研究為探討臺灣中醫門診處方箋濃縮中藥使用概況，使用衛生福利部釋出中華民國 96~100 年「全民健保處方及治療醫令明細檔_門急診」（中醫別），及衛生福利部中央健康保險署授權財團法人國家衛生研究院（以下簡稱國衛院）建置之全民健康保險資料庫百萬歸人檔（2000~2011），是從全臺在保者隨機取 100 萬人擷取各年度之就醫資料。

(一)近五年中醫門診資料庫有關處方箋使用濃縮中藥之製劑數目及處方日數，計算平均數。

以國衛院 2000-2011 年百萬歸人檔分析 96~100 年的健保資料，剔除無開立濃縮中藥之處方，計算處方使用濃縮中藥之製劑數目，複方製劑與單方製劑數皆以相同方式計數（即單複方製劑皆以一種製劑計算），結果顯示近五年使用濃縮中藥的處方張數增加 15%（表七），其平均處方濃縮中藥製劑數目約有 5 種，而調劑多屬粉劑或散劑，其繁複程度大於西醫錠劑膠囊，建議將處方內製劑數目納入藥事服務費成本考量之一。而處方使用濃縮中藥平

均處方日數為 6.8 天。

(二)調查分析處方內容有關疾病分類及使用藥品之差異。

以國衛院 2000-2011 年百萬歸人檔，分析中醫門診疾病分類 (ICD9 碼) 對照使用中藥之差異。是以 96~100 年中醫門診就診前五十名疾病探討 (表八)，此前五十名疾病申報藥費總點數占當年度藥費申報點數五至六成，屬中醫藥費主要支出疾病。其中，將此五十名疾病分成耳鼻喉科、腸胃科、婦女疾病、部位疼痛 (頸、背、關節) 四大類疾病，而頭痛、睡眠障礙、心悸、眩暈、頻尿、痤瘡等疾病則一併歸為其他類。結果顯示，近五年中醫就診疾病科別相似，主要以耳鼻喉科為中醫門診為所支藥費最高之疾病，其次為腸胃科。

(三)由取得之資料庫探討以簡表 (即以日劑量申報一日藥費) 方式及詳細藥品種類申報之比例情形。

中醫藥費採日計額，即不論藥品開立明細一日固定給付 30 點，基層診所可以簡表 (無藥品明細) 申報給付。本研究以國衛院 2000-2011 年百萬歸人檔分析，資料庫 96~100 年所具中醫藥費申報件數約占全國中醫藥費申報件數 4%。

近五年處方以簡表申報占藥費申報件數比例 (表九)，每年占 0.66%~0.90%，平均為 0.8% 之比例，回推 96-100 年全國簡表累積申報件數約有 1,170,036 件 ((五年總申報藥費件數 5,850,182 件 / 0.04) x 0.008)。推估九成以上中醫處方可申報藥費者是具有開藥行為 (有開藥明細)，應由中藥調劑資格之專業人員進行處方確認、藥品調劑、處方登錄等調劑事項，得申報藥事服務費。

(四)由取得之資料庫探討中醫藥事服務費申報。

研究是以衛生福利部釋出中華民國 96~100 年「全民健保處方及治療醫令明細檔_門急診」(中醫別)，分析全國中醫門診藥費及藥事服務費申報情況。

表十顯示 96~100 年全國中醫門診藥費申報型態，以 100 年相較於 96 年藥費申報件數成長率達 18.75%，其平均申報藥費點數從 197.05 點/件 (96 年) 提高至 209.12 點/件 (100 年) 提升 6.13%，平均處方日數已達 6.96 天，與表七所示使用濃縮中藥平均處方日數相近，皆已逼近「全民健康保險醫療服務給付項目及支付標準」規定中醫藥費一般案件給藥天數不得超過七日之上限。

接續，以同資料庫分析藥事服務費申報如表十一所示，惟此資料庫自 98 年 9 月始有藥事服務費申報記錄，故 96~98 全年藥事服務費資料從缺(以-表示)。結果發現 100 年之藥事服務費申報為負成長-5.92%，僅申報 9,493,168 件。另外，將藥事服務費申報點數區分「申報 10 點件數」、「申報 20 點件數」，分別表示由「中醫師親自調劑/中醫師監督為之」及「修習中醫課程達適當標準之藥師調劑」件數，發現兩年間由「中醫師親自調劑/中醫師監督為之」之件數均占總申請件數之半數以上(99 年：71.43%、100 年：50.87%)，而「修習中醫課程達適當標準之藥師調劑」之比例分別為 28.42%、48.96%。而兩年均有 0.1% 藥事服務費申報點數>20 點之件數，其申報案件屬「中醫其他專案」、「中醫至無中醫鄉巡迴或獎勵開業服務」、「中醫現代科技加強醫療服務方案」等特殊申報案件。

將 99、100 年全國中醫藥事服務費申報除上藥費申報件數，發現藥事服務費申報占藥費申報件數比例從 99 年第一季 74.04% 降至 99 年第三季 40.21%，爾後趨於三成申報比例(圖一)。

(五)由取得之資料庫進行合理中醫藥事服務費試算。

依據衛生署 100 年度衛生統計及醫事管理系統，100 年度現行中醫門診有 3,427 家(健保 3,140 家)，執業中醫師 5,556 人，具合格中藥學分藥師 34,474 人，於西醫機構服務藥師 12,729 人，扣除於西醫醫療機構服務藥師人數後，計算每位執業中醫師應有 3.91 位合格中藥學分藥師，而各中醫門診(中醫醫院及診所)則具 6.35 人，表示現行中醫門診法定調劑人員是滿足需求。但 101 年 8 月醫事管理系統資料，全國服務於中醫醫療機構的藥師為 172 人(醫院 31 人，診所 141 人)，顯示中醫基層聘用藥師比例僅 4.48%。

本研究以藥費申報件數為中醫門診須進行藥品調劑之基準，由 96~100 年全國藥費申報件數，設定三種一日合理處方調劑量(70, 80, 100 張)，推估合理調劑藥事人員需求(表十二)。將藥費申報件數除以勞基法工作日數(1 週五個工作天乘 52 週扣除國定假日 11 日 249 天)，再除上計算一日合理處方調劑量(70, 80, 100 張)，以 100 年為例，工作日數 302 天、一日合理處方調劑量 70 張之所需藥師為 1,859 人。而現行服務於中醫機構藥師不達本表所列之藥事人員需求。

接續以中醫醫療機構數試算，假設每家中醫診所應由至少 1 位藥師調劑，而中醫醫院至少 5 位，按全國藥費申報件數為中醫門診須進行藥品調劑之基準，每位藥師每月 5 萬元薪資為藥事人員薪資成本，即（中醫醫療機構數 x12 月 x50,000 元）/當年申報藥費件數，試算 96 至 100 年合理藥事服務費（表十三）。平均每年所需 3032 位藥師，應支付藥事服務費點數平均為 60.73 點。

五、邀請中央健康保險局及中醫藥委員會及專家學者與業界舉辦二場中藥調劑健保合理給付座談會。

(一)於民國 102 年 6 月 4 日召開「中醫處方調劑之健保支付制度座談會」。研討中醫處方調劑之健保支付制度，議題與結論摘要如下：(會議紀錄如附錄二)：

1. 法規面探討中醫健保調劑處方問題。

中醫調劑需要一個合法又專業的環境，但就現實經濟面考量，造成現在聘請非藥師調劑狀況發生，並非我們所樂見的。法規的部份建議本計劃提出修法建議，以確立中醫法定調劑藥事人員，以免現行狀況持續惡化。

2. 研討中醫處方調劑之健保支付制度。

(1)中醫師和藥師要尊重雙方專業，許多大型中醫醫院聘請藥師調劑，診所較有讓非專業藥師進行調劑。這可能是經濟因素造成，除要突破此因素外，另須考量藥師是否願意進入中醫界，要讓藥師瞭解中西醫調劑環境之差異，如中醫粉劑、機器操作等；建議計劃可至中西醫院瞭解。

(2)中醫健保是用「總額」計算，若要將聘請藥師調劑的費用併入總額討論，我想中醫師意願大概不大，但如何另外向健保局申請此費用，是我們正討論與建議的方向。中醫師重視民眾的用藥安全，但經濟因素也是大家的考量。

(3)中醫師希望有合法中醫藥事調劑人員/中藥師，或西藥師修習中醫知識課程進入，目前正尋考試院的模式朝中醫醫事輔助人員進行規劃，以期未來在中醫調劑方面能夠符合民眾的期待，提升中醫用藥安全。

(4)目前中醫點值低於一塊以下，提高藥費和藥品調劑費較為困難，但在協商因素和非協商因素之外有一品質提升方案，專案專款專用，可作為醫藥界共同努力的方向。以藥品調劑為

例，向官商說明為考量民眾用藥安全，中藥調劑所需工作環境配置費用、人力支配比西醫高且繁瑣，並試算一方劑成本，由藥師公會與中醫師公會共同向健保局提出方案，爭取專案專款費用。

(5)臺灣中醫藥產業發展，也要讓消費者代表、雇主代表瞭解現況。

(6)總額支付幅度每年會由各總額的議事會議計算，尊重中醫師公會全國聯合會對總額運作，醫師和藥品的分配。

(7)因健保對中藥是不核價，以日計酬。對現行高漲的中藥影響較大，不過總額額度是由健保會決定非健保局，爭取調高調劑費，健保局樂觀其成，屆時我們會配合來進行調整。

3. 研討全民健康保險對於濃縮中藥給付於同病同酬及同工同酬之合理性。

(1)調劑費用應納入人、作業場所，設備、租金等費用，合理估算一張處方箋需多少投入，才能安全交付到民眾手上。中藥調劑含機器設備明顯比西藥複雜，但調劑費比西醫低。建議考量所有成本，或許能按部就班改善費用支出。

(2)部分中醫診所業務低，若沒請藥師即中醫師自調進行申報以符合規定。我主張中醫師應該要守法，希望有好的中醫醫事環境，西藥師進入中藥亦贊成，但最完美的是能夠有中藥師出現。

(3)中醫師的理想，希望能在好的環境下進行就診，符合民眾對中醫的期待。但過渡時期牽涉到法規、經濟問題要解決，同工同酬我們是希望能夠這樣做，應該有這樣的支持。

4. 中醫門診總額品質保證保留款實施方案，得否將調劑納入提升中醫醫療服務品質。

(1)這個方案是中醫師公會去標案後分配，總額委託中醫推動，健保局站在監督的立場，品質若不夠好會被扣錢。雖然中醫也希望能夠提升調劑，但要加入至這筆費用中，可能有經濟面的問題產生，建議往外加的方向努力。

(2)品質保證保留款過去在總額非協商因素中，每年固定有一筆款項。但費協會（現在的健保會）許多委員認為，應有品質後再給經費，故現在是每年七月由各總額報告總額運作狀

況，專家評估後決定隔年款項，「優」、「良」才有品保款，「可」是零。

- (3)用品質保證保留款鼓勵調劑的精神正確，但要考量品保款本身的不確定性，並且這比例很低僅 0.1%。
- (4)健保局也有向署裡爭取提高中醫調劑費，但行政院對於總額的協議只有建議權沒有決定權，決定權在健保會進行協商該年度每年成長的幅度。
- (5)無效醫療倘若通過，各部門省下的錢也是希望落實到各總額點值，總額已經框定，不會跨越部門流動到中醫。
- (6)建議中醫師和藥師公會同時提案，在中醫門診總額品質保證保留款實施方案外，提出試辦專款專案計畫，說明藥品調劑佔中醫醫療很大的決定因素，目前因為經費不足，沒有好的薪資結構導入，難以聘請專業藥事人員提升品質，而這不僅是中醫師公會的需求，藥師也希望進入中醫。
- (7)起初可能無法與西藥同工同酬但能增加，並且不論提案結果所得經費，在產業立場，這樣的狀況會讓中藥更蓬勃，我們樂觀其成。
- (8)我們一直在關切中藥調劑人員合法問題，民眾去中醫診所看病，但裡面調劑人員卻不是合法的人，這是很嚴重的事情。
- (9)調劑費給付絕對影響調劑人員進來，總額上限固定 4.5%，但中醫總額原就比其他部門低，請教健保局長官，如果推動這個政策需要 20 億，應如何爭取？
- (10)建議從衛生署提到行政院，在經建會時候提出。因健保總額成長率是經建會協商提升上限，最後落實到各部門。
- (11)每年總額增加比率固定，不會因為其他部門沒達上限，而挪用給其他部門超過上限。
- (12)不可能一次有 20 億相當於 10% 的成長，但可以分年逐步去調高完成目標，同時說服消費者讓消費者知道有這個需求。

5. 濃縮中藥之品質與成本。

- (1)中藥材近年漲價造成中藥廠很大的負擔，以大陸常用中藥材資料，最早回溯 2007 年約 1 千點，最高是 2011 年 8 月漲到 3 千 2 百點，現在則落在 2 千 6 百點左右，而健保開辦自 1995 年到 2007 間中藥材也漲了不少。

- (2) 中藥廠要漲價成本也很困難，因為中醫師健保局給付沒有增加，藥品調劑費又沒有申請，相當於所有成本要在 30 元內解決。
- (3) 製造和原廠成本只能藉設備自動化降低；安全性檢驗越來越嚴格，如重金屬、微生物、黃麴毒素等項。每個處方成本不一，很難計算一天成本。希望讓藥費回歸到藥材，藥廠還能做好藥。
- (4) 很多單位都有藥品檢驗，建議和政府反應我們在什麼品項上增加技術成本。
- (5) TFDA、健保局、中醫藥委員彼此應有連結，讓健保給付能做適當加成。
- (6) 藥費如果增加，亦須透過中醫師總額釋放改善調劑狀況，讓中醫藥界逐步擴大補助；相信言之有理的反應，應該可以通過。
- (7) 要健保局或健保會提高藥費其實很困難，因為這是含在總額裡。非協商因素和物價指數有相關連，可能從此部份進行調漲比較有可能。
- (8) 中藥藥材在我們的藥物擬定項目及支付標準中，已擬定是醫師處方的濃縮製劑才行，是屬於可調劑單方；如為複方，必須是公告的 337 方，目前已有兩百方列入。若不是這些品項，即便取得中醫藥委員會核發許可證，原則上我們是不把它列正面表列給付。
- (9) 針對 DMF 或其他的品質提升方案，必須先澄清，因為中藥不是每個都做核價，不會逐個提升藥品價格。
- (10) 在非協商因素中有個醫療成本服務改變的指標，由主計處定期調查物價波動，確實中醫這幾年在非協商因素部份的成長率高過西醫，只是總體放在總額上，不會落到各藥價本身。
- (11) 如果中醫師公會想要用這個費用來調高藥費，只要不超過非協商因素的成長率，基本上我們不會反對，要由中醫師公會內部決議。
- (12) 中藥製劑品質的提升與健保無關，近幾年中藥進口管制增加許多檢驗。今年公告臺灣中藥年鑑第二版中，藥材定量也已經從 36 個藥材變成 106 個！中醫藥委員會主管機關已經要

求藥廠管控很多品質部份，越來越多傳統製劑也被公告限量異常物質要求。

(13)藥材配成飲片沒有健保的問題，中醫師可以適當的轉換成本給消費者；但濃縮製劑只有 337 方有健保給付，沒辦法調整。品質一直被要求提升增加成本，有很多藥廠在苦撐當中，之後，或許會有藥廠放棄市場或轉做外銷、食品、化妝品。

(14)在總額制度之下要改變不容易。建議計畫分析中醫診所及醫院，有無藥師調劑的成本狀況，做出一個品質成本試算，提供給健保局。長期還須請中醫藥委員執行法規上面的修正，謝謝。

(二)於民國 102 年 10 月 28 日召開「中醫處方調劑有關藥事服務費之健保合理之付標準座談會」。研討中醫處方藥事服務費之健保支付制度，共討論 4 個議題，議題與結論摘要如下：(會議紀錄如附錄三)：

1. 中醫藥事服務費申報比例不及一半之問題。

(1)中醫管理很亂，調劑人員等法規沒進步。99 年藥事服務費申報減少，是因為健保局強力稽查中醫師是否親自調劑，造成有一半的人不報，親自調劑的有報。

(2)中醫調配雙軌制的問題應解決。

(3)申報降低，除主管機關要調查中醫師申報部份。我們應該要教育民眾品質是需要價格的。

2. 研討中醫藥事服務費健保合理支付標準。

(1)實際藥師調劑是否一日可配 80 張？在中醫藥司品質的管控，藥品費用確實上漲，但健保局的角度不同，沒調整藥費。在中醫總額下，要提高藥事服務費來壓縮中醫的點值可能很難，藥師調劑是不是對中醫會更好，中醫師對藥師的專業可能還有質疑。

(2)中醫需要人力，但藥師進入中醫，除了人力足夠，有沒有讓中醫界成長的方向，如就診率增加（目標 30%）、讓國人對中醫有好的觀感，不是第二線的選擇？藥費漲的很高，一天可能就 30 或更多。中間有很多問題要解決，這個問題還要討論藥師加入有沒有好的發展？一起共利，不然有時候只是為了服務費的問題，而且在總額預算下真的不好操控。

- (3)藥師調劑不僅只有依方取藥，還包括確認處方之完整性、判斷性服務、用藥說明及照護諮詢等，都要加在藥事服務費上。在醫院中醫設置標準，醫師和藥師比是 2:1，要是沒符合光是建置都有問題。另外，醫院評鑑條文規訂 60 張濃縮中藥一名藥師，60 張以上就要兩個，飲片 20 張一個藥師，建議再計算 60 張的情況。
- (4)中醫門診一天約 30 張處方，按資料粗算，不論診所大小，一天平均 41 張處方，建議再計算 40 張的情況。
3. 研討藥師對中醫及其專業訓練之需求。
- (1)希望建備完整中醫醫療體制，不要讓非專業人員進行中醫服務。
- (2)中藥處方調劑不像教科書，藥師確認的功能不大，質疑醫師只是造成干擾，不像西醫有醫藥分業的好處，要如何讓藥師發揮專業也是問題。
- (3)管理者和實際上有落差，中醫在應徵藥師、復健師上沒有人有意願進來，很難異業結盟。
- (4)藥師除調劑外，可以做判斷性服務，如阿斯匹靈與中藥共用的問題，藥師也有學中藥西藥的部份，其他藥品品質、產品驗收也可以，這是其他調劑人員比不上。
- (5)藥師中藥能力可能在藥學教育要處理，醫師質疑藥師能力，是不是繼續教育不夠，或是脫離一開始中國醫學大學在中醫中藥修 86 個學分，現在只要 16 個學分，藥學教育可能有差別，造成中醫師認為藥師沒那個專業。
- (6)和臺灣藥學會連絡，教育界的意見認為除了基本 16 個專業學分外，還有其他基礎學分可補足，已請他們提請意見，會再向各大教學醫院等教育單位，請他們表達意見。請問他們在用 16 學分藥師的困難及建議，看是否能達到共識。
- (7)課程的背景足夠，但要做了才知道。藥師可以做很多事情，或許中醫師與藥師界流通不是這麼多，彼此不了解產業環境也是個問題。
4. 研討中醫處方釋出之可行性。
- (1)假設人不進中醫醫療院所，中醫處方箋釋出至藥局調劑，藥局 30 張中醫處方箋加上其他西藥處方箋，社區藥局這樣也

能在 80 張處方箋合理量下執行，其意願會增加。

- (2)中醫處方是中醫師在診斷的考量。藥師是否瞭解釋出處方的診斷內容？
- (3)因為現行 ICD9 不大符合中醫病名，ICD11 又未普及，建議中醫建立一個可以對應的疾病名稱的代碼，讓藥師在後端幫醫師確認，兩人共同照顧病人。
- (4)中藥在不同廠牌，品質的均一性不同，中醫師依照習慣的廠牌去開藥。釋出處方箋後，藥局藥師應該要配合中醫診所，不會換廠牌。
- (5)中醫醫院有針對藥學系實習生、PGY 實行教案的部份，未來社區藥局要是有能力做這塊，要實行可以依循醫院的方法，相信成功的機會滿大的。
- (6)或許可以擬辦一個試辦計畫，讓社區藥局接中醫診所處方，先小規模的，有成效後再進行推廣。

肆、討論

- 一、健保給付中醫門診藥費不合理。目前健保給付中醫門診藥費僅 30 元，依中藥標準複方調劑為例（24~36 克/日），所需藥費必然超出 30 元，其不足處可能由民眾自費負擔或改開立較便宜的藥。現行中藥申請許可證需進行安全性、有效性等品質檢驗，導致製藥廠製造成本提高，進而影響醫院診所採購藥品之考量。
- 二、中醫藥事服務費遠低於西醫，而可能造成低價聘用非藥事人員調劑。
- 三、許多社區藥局無足夠人力可同時調劑中藥與西藥，並 58 且中藥調劑須另設置調劑空間與中藥存放位置，添置中藥包藥機、集塵器等中藥調劑使用設備。又社區藥局所調劑之中藥處方箋量未必足夠抵成本開銷。因此，應仔細評估社區藥局進場協助中醫藥調劑之對策。
- 四、專家建議除健保合理給付中藥調劑價格調整外，另可規劃中醫健保給付分級管理制度之對策，如按中醫醫療機構申報健保處方張數等因素，規劃不同給付點數之參考。
- 五、中西醫門診藥費及藥事服務費支付點數不同，現行中醫門診總額有關中藥調劑費之點值，維持以每點 1 元核算，尚不採浮動點值方式計算。中醫基層藥費以日計酬，給付 30 點，不似西醫門診因調劑小兒劑量進行加成；中醫基層之藥品調劑費，如由修習中藥課程達適當標準之藥師調劑者，給付 20 點；由中醫師親自調劑者，給付 10 點，相較於西醫基層之藥品調劑費，為一般處方（7 天以內）由特約藥局調劑者，給付 45 點，醫師親自調劑者，給付 41 點，診所聘藥師調劑者，給付 30 點。顯示中醫門診支付點數給付差距遠低於西醫門診。
- 六、以「優良藥品調劑作業規範 GDP」比較中西醫門診調劑之差異發現，中藥濃縮製劑係屬粉劑或散劑，與西藥多為錠劑或膠囊不同，其調劑過程幾與西藥兒科粉劑之調劑作業相同，更因成人所需劑量遠高於小兒劑量，調劑時產生大量粉塵，所需調劑設備及儲備空間皆高於西藥，但未能有比照西藥粉劑作業有加成給付之機制。又根據健保局 99 年「西醫基層總額醫療專業服務品質報告」與 97~99 年「門診醫療費用明細」發現，中西醫基層門診處方天數平均為 5.73：6.83（天），顯示中醫調劑一張處方箋相較於西醫需要較長的時間成本。
- 七、處方調劑作業，係以「再確認處方」機制，確認所使用之藥物有無「交互作用（interaction）」、有無「配伍禁忌（incompatibility）」、有無「禁

忌證 (contraindication)」、有無「劑量錯誤 (例如超過劑量 overdose)」、有無「劑型錯誤 (例如腸溶錠不可磨粉使用已面降低效價增加危害)」，經由「監督制衡 (Check and Balance)」之偵錯除錯機制，確保病患醫療用藥的品質及正確性。醫療機構之藥事人員皆應專任親自依藥品優良調劑作業準則之規定，執行處方調劑工作。依據醫療法第 12 條第三項授權訂定之「醫療機構設置標準」，規定中醫醫院應具備中藥調劑人員，應按中醫師數二分之一以上計算，其中半數應為中醫師或修習中藥課程達適當標準之藥師；中藥調劑人員包括中醫師、修習中藥課程達適當標準之藥師及藥事法第 103 條第一項所定人員等三類。中醫診所應視業務需要設置修習中藥課程達適當標準之藥師或藥事法第 103 條第一項之人員；藥事人員資格應符合藥事法第 102 條第二項及藥師法第 20-1 條之規定。

- 八、健保支付中藥處方藥品調劑費用，係以醫療機構設置標準所認定之中藥調劑人員：中醫師、修習中藥課程達適當標準之藥師為支付對象，目前排除領有研習中藥課程證明書之藥劑生。
- 九、以 98 年健保中西醫基層門診申報藥費點數計算，健保支付中醫醫院藥費加上中藥調劑費平均每月約 82 萬點，每家醫院平均每日調劑 435 件，按照健保合理調劑量每日 70 張需有藥事人員一人計算，醫院應聘有藥事人員至少 6 人。另健保支付中醫診所藥費加上中藥調劑費平均每月約 3.35 萬點，尚不足聘請一位藥師。因此中醫醫療機構 (尤其中醫診所) 因為健保給付之不合理，造成聘用正式藥事人員之利益不足。
- 十、中醫基層診所聘用藥師比例低，可能受到中醫執業型態對藥師需求影響，我國部分中醫執業型態是以推拿、針灸等項目進行治療，對藥師的需求可能是較低。在排除中醫執業型態的可能因素後，就經濟面探討法定調劑人員參與中醫門診調劑比例低的原因，首為中醫基層門診就診業務量不大，民眾中醫醫療使用率只有 22%，中醫基層門診業務量可能不足依支付藥師薪水，故無聘請法定調劑人員。
- 十一、近年來中藥材因氣候、大陸人資、貨幣通膨等因素，造成中藥材成本提高；並且中藥調劑屬粉劑或散劑與西藥多為錠劑或膠囊不同，調劑空間須加強控管粉塵收集，調劑所需攪拌機、攪棒、研鉢、天平，包包裝機等設備高於西藥。硬體設備所需費用即高於西醫，為儉省開銷維持中醫基層門診營運，可能是無聘請法定調劑人員因素之一。

- 十二、健保支付費用不合理，可能是不足以支應聘請合格藥事人員之費用因素之一。中西醫健保支付不一，在同工同酬的基準下，藥師可能考量其差異而選擇不進入中醫門診調劑。
- 十三、中醫師希望有合法中醫藥事調劑人員/中藥師，或西藥師修習中醫知識課程進入，目前正尋考試院的模式朝中醫醫事輔助人員進行規劃，以期未來在中醫調劑方面能夠符合民眾的期待，提升中醫用藥安全。
- 十四、目前中醫點值低於一塊以下，提高藥費和藥品調劑費較為困難，但在協商因素和非協商因素之外有一品質提升方案，專案專款專用，可作為醫藥界共同努力的方向。以藥品調劑為例，向官商說明為考量民眾用藥安全，中藥調劑所需工作環境配置費用、人力支配比西醫高且繁瑣，並試算一方劑成本，由藥師公會與中醫師公會共同向健保局提出方案，爭取專案專款費用。
- 十五、調劑費用應納入人、作業場所，設備、租金等費用，合理估算一張處方箋需多少投入，才能安全交付到民眾手上。中藥調劑含機器設備明顯比西藥複雜，但調劑費比西醫低。建議考量所有成本，或許能按部就班改善費用支出。
- 十六、部分中醫診所業務量低，若沒請藥師，中醫師就需親自進行調劑。中醫師的理想，希望有好的中醫醫事環境，符合民眾對中醫的期待。但過渡時期牽涉到法規、經濟問題要同時解決，希望能夠達到同工同酬的目標。健保署也爭取提高中醫調劑費，但行政院對於總額的協議只有建議權沒有決定權，決定權在健保會進行協商該年度每年成長的幅度。
- 十七、品質保證保留款過去在總額非協商因素中，應有品質後再給經費，故現在是每年七月由各總額報告總額運作狀況，專家評估後決定隔年款項，「優」、「良」才有品保款，「可」是零。用品質保證保留款鼓勵調劑的精神正確，但要考量品保款本身的不確定性，並且這比例很低僅 0.1%。
- 十八、中醫師和藥師公會應在中醫門診總額品質保證保留款實施方案外，提出試辦專款專案計畫，說明藥品調劑佔中醫醫療很大的決定因素，目前因為經費不足，沒有好的薪資結構導入，難以聘請專業藥事人員提升品質，而這不僅是中醫師公會的需求，藥師也希望進入中醫。

- 十九、不可能一次有 20 億相當於 10% 的成長，但可以分年逐步去調高完成目標，同時說服消費者讓消費者知道有這個需求。
- 二十、中藥廠要漲價成本也很困難，因為中醫師健保局給付沒有增加，藥品調劑費又沒有申請，相當於所有成本要在 30 元內解決。
- 二十一、在非協商因素中有個醫療成本服務改變的指標，由主計處定期調查物價波動，確實中醫這幾年在非協商因素部份的成長率高過西醫，只是總體放在總額上，不會落到各藥價本身。
- 二十二、中醫管理很亂，調劑人員等法規沒進步。99 年藥事服務費申報減少，是因為健保局強力稽查中醫師是否親自調劑，造成有一半的人不報，親自調劑的有報。
- 二十三、中醫師對藥師的專業可能還有質疑，也在思考藥師調劑是不是對中醫會更好。中醫需要人力，但藥師進入中醫，除了人力足夠，有沒有讓中醫界成長的方向，如就診率增加（目標 30%）、讓國人對中醫有好的觀感，不是第二線的選擇？
- 二十四、藥師調劑不僅只有依方取藥，還包括確認處方之完整性、判斷性服務、用藥說明及照護諮詢等，都要加在藥事服務費上。在醫院中醫設置標準，醫師和藥師比是 2:1，要是沒符合光是建置都有問題。
- 二十五、藥師調劑所做判斷性服務，解決如阿斯匹靈與中藥共用的中藥西藥交互作用問題，這是其他調劑人員比不上的，是藥師參與中醫發展最重要的基礎。
- 二十六、藥師進入中醫醫療院所，受限於機構功能，協助中醫藥發展不易。但處方箋及健保給付跟著藥師走，中醫處方箋釋出至藥局調劑，藥局經營可以在每人每日 80 張處方箋合理量下執行，30 張中醫處方箋加上其他（50 張）西藥處方箋，社區藥局意願必會增加。
- 二十七、現行 ICD9 不大符合中醫病名，ICD11 又未普及，建議中醫建立一個可以對應的疾病名稱的代碼，讓藥師在後端協助醫師確認，兩人共同照顧病人。
- 二十八、中藥在不同廠牌，品質的均一性不同，中醫師依照習慣的廠牌去開藥。釋出處方箋後，藥局藥師應該要配合中醫診所，不會換廠牌。可以考量規劃一個試辦計畫，讓社區藥局接中醫診所處方，先小規模的，有成效後再進行推廣。

伍、結論與建議

本計畫依據研究結果，作成下列結果：

- 一、目前健保給付中醫門診藥費僅 30 元，依中藥標準複方調劑為例(24~36 克/日)，所需藥費必然超出 30 元，因給付中醫門診藥費不合理。其不足處可能由民眾自費負擔或改開立較便宜的藥。
- 二、現行中藥申請許可證需進行安全性、有效性等品質檢驗，導致製藥廠製造成本提高，進而影響醫院診所採購藥品之考量。
- 三、中醫藥事服務費遠低於西醫，是造成低價聘用非藥事人員調劑最可能的原因。
- 四、許多社區藥局無足夠人力可同時調劑中藥與西藥，並且中藥調劑須另設置調劑空間與中藥存放位置，添置中藥包藥機、集塵器等中藥調劑使用設備。又社區藥局所調劑之中藥處方箋量未必足夠抵成本開銷。因此，應仔細評估社區藥局進場協助中醫藥調劑之對策。
- 五、除健保合理給付中藥調劑價格調整外，另可規劃中醫健保給付分級管理制度之對策，如按中醫醫療機構申報健保處方張數等因素，規劃不同給付點數之參考。
- 六、中藥濃縮製劑係屬粉劑或散劑，與西藥多為錠劑或膠囊不同，其調劑過程幾與西藥兒科粉劑之調劑作業相同，更因成人所需劑量遠高於小兒劑量，調劑時產生大量粉塵，所需調劑設備及儲備空間皆高於西藥，但未能有比照西藥粉劑作業有加成給付之機制。
- 七、健保支付中藥處方藥品調劑費用，係以醫療機構設置標準所認定之中藥調劑人員：中醫師、修習中藥課程達適當標準之藥師為支付對象，目前排除領有研習中藥課程證明書之藥劑生。
- 八、中醫基層門診就診業務量不大，民眾中醫醫療使用率只有 22%，中藥材成本提高，中醫基層門診業務量可能不足依支付藥師薪水，故無聘請法定調劑人員。
- 九、提高中醫藥費和藥品調劑費可在協商因素和非協商因素之外的品質提升方案，專案專款專用，可作為醫藥界共同努力的方向。以藥品調劑為例，向官商說明為考量民眾用藥安全，中藥調劑所需工作環境配置費用、人力支配比西醫高且繁瑣，並試算一方劑成本，由藥師公會與中醫師公會共同向健保局提出方案，爭取專案專款費用。
- 十、不可能一次有 20 億相當於 10% 的成長，但可以分年逐步去調高完成目

標，同時說服消費者讓消費者知道有這個需求。

- 十一、藥師進入中醫，除了增加人力外，應有讓中醫界發長的方向，如就診率增加（目標 30%）、讓國人對中醫有好的觀感，不再是第二線的醫療選擇。
- 十二、藥師調劑所做判斷性服務，解決如阿斯匹靈與中藥共用的中藥西藥交互作用問題，這是其他調劑人員比不上的，是藥師參與中醫發展最重要的基礎。
- 十三、藥師進入中醫醫療院所，受限於機構功能，協助中醫藥發展不易。但處方箋及健保給付跟著藥師走，中醫處方箋釋出至藥局調劑，融合中西醫調劑，並給予中西藥物諮詢，醫療問題轉介給合作醫療機構，必能對中醫藥有最大幫助。
- 十四、可以考量規劃一個試辦計畫，讓社區藥局受理中醫診所釋出之處方，依照中醫師習慣的廠牌給藥。先小規模的，有成效後再進行推廣。

本計畫依據研究結果，作成下列建議：

- 一、研討全民健康保險對於濃縮中藥給付於同病同酬及同工同酬之合理性。**建議規劃中醫健保給付分級管理制度之對策，如按中醫醫療機構申報健保處方張數等因素，規劃不同給付點數之參考。**
- 二、建議要教育民眾「品質是需要價格」的基本觀念。
- 三、希望建備完整中醫醫療體制，不要讓非專業人員進行中醫服務。
- 四、健保支付調劑費用，應納入人、作業場所，設備、租金等費用，合理估算一張處方箋需多少投入，才能安全交付到民眾手上。中藥調劑含機器設備明顯比西藥複雜，但調劑費比西醫低。建議繼續執行藥品成本分析，精算合理支付費用。
- 五、建議在中醫門診總額品質保證保留款實施方案，比照西醫兒科磨粉**加成給付**費用，專款專用。
- 六、提出試辦計畫，讓社區藥局接中醫診所處方，先小規模的，有成效後再進行推廣。
- 七、因為現行 ICD-9 疾病分類不大符合中醫病名，建議推動 ICD-11，並建立一個可以對應中醫的疾病名稱的代碼，讓藥師在後端協助醫師確認，兩人共同照顧病人。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP102-RD-007 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. 醫療機構設置標準。
2. 衛生福利部中央健康保險局：99 年全民健康保險醫療統計。
3. 中華民國藥事品質改革協會；中醫門診合理支付制度分析。
4. 中華民國藥事品質改革協會；中醫門診合理支付制度分析。
5. 全民健康保險支付標準。
6. 衛生福利部全民健康保險醫療費用協定委員會第 109 次會議決議。
7. 中草藥產業技術教學資源中心：中草藥產業技術與研發。92 年 12 月出版。P.414。

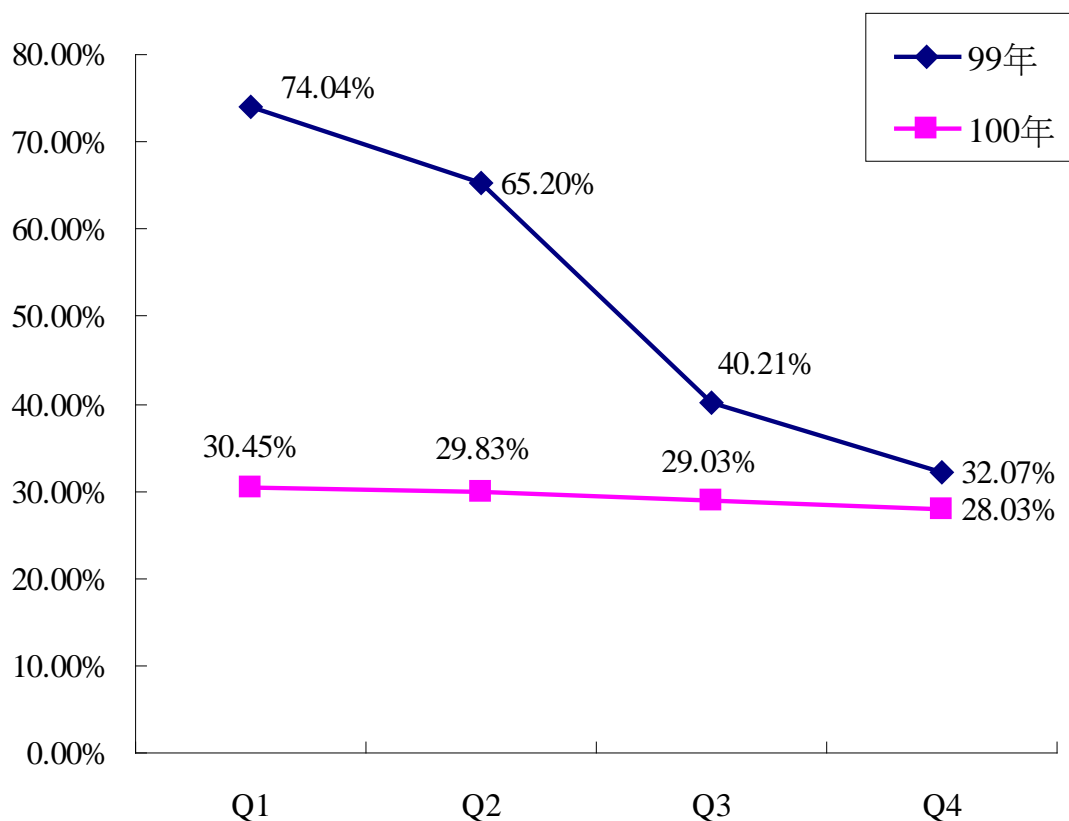
其他參考資料：

1. 衛生福利部：加速中醫藥之科學化與現代化（衛生福利部 2008/06/20 發布新聞）
2. 財團法人醫藥品查驗中心：建立健全之中藥新藥法規環境。
3. 臺灣區製藥工業同業公會：中醫藥法律規章適用及執行查緝宣導教育計畫

相關網頁：

1. WHO <http://www.who.int/medicines>
2. 立法院法律系統資料庫 <http://lis.ly.gov.tw/lgcgi/lglaw>

柒、圖、表



圖一、中華民國 99、100 年中醫藥事服務費申報比例

1. 資料分析來源：衛生福利部-全民健康保險處方及治療醫令明細檔_門急診（申報藥事服務費件數/藥費件數）
2. Q1:1~3 月總和；Q2:4~6 月總和；Q3:7~9 月總和；Q4:10~12 月總和

表一、西醫門診藥事服務費

診療項目	特約藥局	基層院所		地區醫院	區域醫院	醫學中心	支付點數
		醫自 師調 親劑	藥員 事調 人劑				
醫院部分							
一般處方給藥（7天以內）					v	v	47
				v			42
慢性病處方給藥13天以內					v	v	47
				v			42
慢性病處方給藥14-27天					v	v	59
				v			52
慢性病處方給藥28天以上					v	v	69
				v			64
診所及藥局部分（每人每日80件內；山地離島地區每人每日100件內）							
一般處方給付（7天以內）	v						45
			v				30
		v					11
慢性病處方給藥14-27天	v						56
			v				32
		v					21
慢性病處方給藥28天以上	v						66
			v				42
		v					32
診所及藥局部分（每人每日81-100件內；山地離島地區每人每日101-120件內）							
	v		v				15

表二、西醫門診藥費

診療項目	特約藥局	基層院所	支付點數
12歲以上者及12歲（含）以下未處方原瓶包裝口服液劑者	v	v	22
12歲（含）以下處方原瓶包裝口服液劑者			
1種	v	v	31
2種	v	v	37
3種或3種以上	v	v	41

註：(1) 每件給藥日數不得超過3日。

(2) 「健保用藥品項查詢一清單」之備註欄位，有「口服液劑（原瓶包裝）」註記者屬原瓶包裝口服液劑藥品。

表三、中醫門診藥事服務費及藥費支付標準

診療項目	支付點數
藥品調劑費	
修習中藥課程達適當標準之藥師調劑	20
中醫師親自調劑	10
每日藥費	30

- 註：(1) 未開藥者不得申報藥品調劑費。
- (2) 修習中藥課程達適當標準之藥師調劑者，須先報備，經證明核可後申報。
- (3) 同一疾病或症狀之診治需連續門診者，不得每次只給一日份用藥否則將累計其給藥日數，僅支付第一次就醫之診察費。
- (4) 除指定之慢性病得最高給予三十日內之用藥量外，一般案件給藥天數不得超過七日。

表四、中西醫門診調劑差異

優良藥品調劑作業規範 (GDP)	西醫	中醫
<p>第一章 總則 四、本規範所稱調劑處所，係指從事調劑處方箋、放置調劑藥品、調劑器具、設備及其他必要物品之場所。</p>	▲	▲ 中藥調劑設備多，需要較大空間。
<p>第一章 總則 五、本規範所稱調配，係指調劑作業過程中，依處方箋選取正確藥品、計數正確數量、書寫藥袋或貼標籤、包裝等過程之行為。</p>	▲	▲▲ 中藥分包、包裝耗時更久，程序多。
<p>第一章 總則 六、本規範所稱調製，係指調劑作業過程中，基於病患之個別需要，依醫師所開處方箋，改變劑型或配製新製品之行為。</p>	▲	▲▲▲ 調製過程藥品的均勻混合，或是研製，耗時可比西藥兒科粉劑作業。
<p>第三章 環境設施 十三、藥事作業處所設施及其他建築部分應該保持清潔整齊，並且能夠保護民眾及工作人員之安全。</p>	▲	▲▲▲ 多為粉劑作業，粉塵場所易受潮沾黏，除加強清潔外，還有調劑藥事人員呼吸系統的職業工安危害。
<p>第四章 調劑設備 二十四、調劑處所應視調劑作業需要，備有下列設備及器具： 〈一〉應有藥盤、藥匙、符合藥典規定之調劑用水、藥膏板、調藥刀、攪棒、杵、研鉢、其他適當器皿、調劑用天平（秤）、量筒或量杯。</p>	▲	▲▲▲ 多為粉劑作業，少量除了西藥的錠劑作業，幾乎悉數需要攪拌機、攪棒、研鉢、天平，分包包裝機。
<p>第五章 藥品保存 二十九、藥品之包裝或容器應包括下列各項： 〈一〉應依藥品性質使用適當材質包裝或容器，避免受到濕氣與光線破壞，以及傳送、使用當中所帶來的機械性傷害。</p>	▲	▲▲ 中藥調劑包裝耗材等同西醫住院單一作業，每次服用量都需有耗材；而中藥又有容易受潮結塊變質特性，調劑耗損成本更多。

表五、中華民國 96~100 年中西醫門診藥費申請點數

年度	西醫醫院門診		西醫基層門診		中醫門診		所有門診	
	申請件數	申請點數	申請件數	申請點數	申請件數	申請點數	申請件數	申請點數
96	71,730 (33.7%)	66,327 (69.5%)	112,838 (53.0%)	23,196 (24.3%)	27,156 (12.8%)	5,373 (5.6%)	212,959	95,310
97	72,614 (33.6%)	72,531 (70.9%)	113,879 (52.7%)	23,558 (23.0%)	28,531 (13.2%)	5,738 (5.6%)	215,999	102,371
98	74,296 (33.2%)	75,313 (70.3%)	117,808 (52.6%)	24,718 (23.1%)	30,701 (13.7%)	6,306 (5.8%)	224,073	107,076
99	75,197 (32.9%)	75,582 (68.2%)	121,327 (53.0%)	24,363 (22.0%)	30,418 (13.3%)	6,336 (5.7%)	228,801	110,871
100	77,126 (32.4%)	83,109 (69.0%)	126,667 (53.3%)	25,850 (19.8%)	32,129 (13.5%)	6,770 (5.6%)	237,805	120,655
累增幅度	7.5%	25.3%	12.3%	11.4%	18.3%	26.0%	11.6%	26.6%

單位：千件、百萬點。資料來源為衛生福利部健康保險局，96~100 年門診醫療費用明細。

表六、中華民國 96~100 年中西醫門診藥事服務費申請點數

年度	西醫醫院門診		西醫基層門診		中醫門診		所有門診	
	申請件數	申請點數	申請件數	申請點數	申請件數	申請點數	申請件數	申請點數
96	71,727 (34.7%)	4,196 (40.1%)	106,607 (51.5%)	5,632 (51.6%)	27,140 (13.1%)	311 (0.3%)	206,868	10,321
97	72,630 (34.6%)	4,459 (42.0%)	108,356 (51.6%)	5,646 (53.2%)	28,071 (13.4%)	323 (0.3%)	210,022	10,614
98	74,271 (34.3%)	4,786 (43.0%)	111,969 (51.7%)	5,815 (52.2%)	28,973 (13.4%)	338 (0.3%)	216,476	11,140
99	75,197 (36.0%)	4,986 (43.4%)	115,908 (55.5%)	6,042 (52.6%)	15,874 (7.6%)	206 (0.18%)	208,865	11,487
100	77,119 (37.0%)	5,211 (43.4%)	119,872 (57.5%)	6,357 (53.0%)	9,409 (0.45%)	142 (0.12%)	208,339	12,003
累增幅度	7.5%	24.12%	12.4%	12.9%	-65.3%	-54.3%	0.7%	16.3%

單位：千件、百萬點。資料來源為衛生福利部健康保險局，96~100 年門診醫療費用明細。

表七、中華民國 96~100 年中醫門診處方使用濃縮中藥製劑數目

健保申報\年別	96	97	98	99	100
使用濃縮中藥處方張數	1,071,185	1,118,135	1,198,301	1,171,491	1,229,956
濃縮中藥製劑數目	5.08 ± 2.41	5.15 ± 2.43	5.25 ± 2.49	5.27 ± 2.49	5.28 ± 2.50
使用濃縮中藥平均處方日數	6.59	6.69	6.82	6.92	7.00

資料來源：國衛院 2000-2011 年百萬歸人檔-門診處方及治療醫令明細檔

表八、中華民國 96~100 年中醫門診就診前五十名疾病所占藥費比例

年科別	疾病藥費申報點數	藥費比例(%)
96	112,415,032	52.48%
耳鼻喉科	23,921,919	21.28%
腸胃科	26,080,287	23.20%
婦女疾病	13,872,015	12.34%
部位疼痛(頸、背、關節)	13,501,045	12.01%
其他	35,039,765	31.17%
97	147,641,700	65.08%
耳鼻喉科	50,788,745	34.40%
腸胃科	28,583,433	19.36%
婦女疾病	16,535,870	11.20%
部位疼痛(頸、背、關節)	14,055,490	9.52%
其他	37,678,162	25.52%
98	160,157,010	64.63%
耳鼻喉科	51,842,824	32.37%
腸胃科	32,079,449	20.03%
婦女疾病	18,225,868	11.37%
部位疼痛(頸、背、關節)	14,286,005	8.92%
其他	43,722,864	27.03%
99	157,965,390	64.17%
耳鼻喉科	50,627,907	32.05%
腸胃科	31,529,892	19.96%
婦女疾病	17,707,920	11.21%
部位疼痛(頸、背、關節)	14,122,106	8.94%
其他	43,977,565	27.84%
100	167,217,750	64.09%
耳鼻喉科	55,265,466	33.05%
腸胃科	31,737,929	18.98%
婦女疾病	17,608,029	10.53%
部位疼痛(頸、背、關節)	14,915,823	8.92%
其他	47,690,502	28.52%

表九、中華民國 96~100 年中醫門診簡表申報件數

年別	申報藥費件數	簡表件數 (%)
96	1,083,431	9,110 (0.84%) ^a
97	1,129,812	8,656 (0.77%)
98	1,211,171	9,912 (0.82%)
99	1,184,813	10,697 (0.90%)
100	1,240,955	8,179 (0.66%)

1.資料來源：國衛院 2000-2011 年百萬歸人檔-門診處方及治療醫令明細檔

^a:簡表件數：簡表件數占申報藥費件數比例

表十、中華民國 96~100 年每月中醫門診處方藥費申報型態

健保申報\年別	96	97	98	99	100
申報藥費件數	27,281,497	28,697,701	30,972,569	30,697,643	32,399,348
總申報藥費(點)	5,375,876,254	5,737,720,400	6,310,598,820	5,849,175,493	6,227,942,291
平均申報藥費(點/件)	197.05	199.94	203.75	206.72	209.12
平均處方日數	6.57	6.66	6.73	6.88	6.96

資料來源:衛生福利部-全民健康保險處方及治療醫令明細檔_門急診(中醫別)

表十一、中華民國 96~100 年每月中醫門診處方藥事服務費申報型態

健保申報\年別	96	97	98	99	100
申報藥事服務費件數	-	-	-	16,026,801	9,493,168
總申報藥事服務費	-	-	-	206,636,338	142,042,848
平均申報藥事服務費(點/件)	-	-	-	13.23	14.9475
申報 10 點件數	-	-	-	11,448,251	4,828,832
申報 20 點件數	-	-	-	4,555,446	4,648,128
申報>20 點件數	-	-	-	23,104	16,208

1.資料來源:衛生福利部-全民健康保險處方及治療醫令明細檔_門急診(中醫別)

2.藥事服務費自 98 年 9 月始記錄至全民健康保險處方及治療醫令明細檔_門急診(中醫別)

表十二、中華民國 96~100 年每月中醫門診合理藥事人員需求

健保申報\年別	96	97	98	99	100
申報藥費件數	27,281,497	28,697,701	30,972,569	30,697,643	32,399,348
中醫醫療機構數 ^a	2,794	2,888	2,957	3,024	3,140
合理處方箋調劑量 所需藥師 ^b					
40 處方箋/日	2,739	2,881	3,110	3,082	3,253
60 處方箋/日	1,826	1,921	2,073	2,055	2,169
70 處方箋/日	1,565	1,646	1,777	1,761	1,859
80 處方箋/日	1,370	1,441	1,555	1,541	1,626
100 處方箋/日	1,096	1,153	1,244	1,233	1,301

1.資料來源:資料來源:衛生福利部-全民健康保險處方及治療醫令明細檔_門
急診

^a:中醫醫療機構數為中醫醫院及診所總和，資料來源:中央健康保險署

^b:合理處方箋調劑量所需藥師：申報藥費件數/249 天（勞基法工作天數）/
一日合理處方調劑量（40,60,70,80,100）

表十三、中華民國 96~100 年合理藥事服務費試算

年別	96	97	98	99	100
中醫醫療機構數 ^a	2,794	2,888	2,957	3,024	3,140
中醫醫院	22	21	17	15	15
中醫診所	2,772	2,867	2,940	3,009	3,125
所需藥師人數	2,882	2,972	3,025	3,084	3,200
藥事服務費給付點數	63.38	62.14	58.60	60.28	59.26

^a:中醫醫療機構數為中醫醫院及診所總和，資料來源:中央健康保險署

附錄一、「中藥濃縮製劑健保藥價評估小組」102 年第一次會議紀錄

中華民國藥事品質改革協會

「中藥濃縮製劑健保藥價評估小組」102 年第一次專家會議紀錄

一、報告事項：

- (一) 簡要說明「全民健康保險對於濃縮中藥給付之合理性及對策研究」計畫
- (二) 法規面探討中醫健保調劑處方問題
- (三) 現行中西醫門診藥品使用調劑供應所需藥費及藥事服務費之支付制度分析
- (四) 計畫執行分析之中醫門診醫令資料庫變項

二、討論事項：

- (一) 案由：健保給付中醫門診藥費之合理性探討。

說明：專家表示，目前健保給付中醫門診藥費僅 30 元，依中藥標準複方調劑為例（24~36 克/日），所需藥費必然超出 30 元，其不足處可能由民眾自費負擔或改開立較便宜的藥；此外，現行中藥申請許可證需進行安全性、有效性等品質檢驗，導致製藥廠製造成本提高，進而影響醫院診所採購藥品之考量。上述問題亦應一併探討，以提出修正參考。

決議：本研究今年度先就法規面分析健保給付藥費及藥事服務費問題，發現中醫藥事服務費遠低於西醫，而可能造成低價聘用非藥事人員調劑；進一步，計畫執行分析中醫健保資料庫探討一日藥費之合理需求，提出健保及藥事法規政策修正參考。於計畫第二年時，分析中醫醫療機構使用濃縮中藥之品項數採購價格及中藥廠濃縮中藥之製造銷售成本，推估合理給付金額。

- (二) 案由：中醫醫療機構調劑人員之訂定。

說明：因「醫療機構設置標準」所規定之中醫機構藥事人員數較為嚴謹，專家建議可參考「醫院評價標準」作為研究

考量依據。

決議：因本研究從法規面分析中醫法定藥事人員之問題，而「醫療機構設置標準」被授權於醫療法第 12 條第三項，故目前依此標準進行評估。

(三) 案由：如何推估合理中醫健保給付藥費與藥事服務費。

說明：因同一基準方在不同製造廠其配方及價格並無統一，在分析藥費時需注意健保資料庫同一基準方是否具相同代號。另外，建議計畫執行可朝計算目前中醫門診藥師平均工作量（一個藥師一月/一日需調劑幾張處方箋），進而推算合理藥事服務費。

決議：1. 中央健保局公告資料顯示同一基準方不同製造廠具不同藥品代號，而健保資料庫是依其公告代號鍵入。2. 計畫將依委員建議進行藥事服務費推估。

(四) 案由：計畫所推估之藥事服務費與實際中醫醫療體系狀況之差異。

說明：因計畫分析資料來源為健保資料庫，是由醫療機構端向健保局申請之資料，無法得知處方箋中健保無給付之品項及病人自費的部份，計畫執行結果應如何評估實際情況？

決議：本研究計畫分析結果是屬低估，會列於健保給付修正建議中說明，請主管單位應以本研究結果為最低值參考依據。

(五) 案由：社區藥局進場中藥調劑之可行性。

說明：專家表示，許多社區藥局無足夠人力可同時調劑中藥與西藥，並且中藥調劑須另設置調劑空間與中藥存放位置，添置中藥包藥機、集塵器等中藥調劑使用設備。又社區藥局所調劑之中藥處方箋量未必足夠抵成本開銷。如此，社區藥局進場協助中醫藥調劑之對策是否可行？

決議：除本計畫研究推估合理健保給付中醫門診藥費及藥事服務費，提出修正參考供中央主管單位外，還須藉助各地

區藥師公會等相關單位協助，推廣藥局接受中藥處方箋。專家所提之事項亦會紀錄於本研究結果以作為健保給付修正參考依據。

(六) 案由：中藥調劑健保合理給付對策。

說明：專家建議除健保合理給付價格調整外，另可規劃中醫健保給付分級管理制度之對策，如按中醫醫療機構申報健保處方張數等因素，規劃不同給付點數之參考。

決議：計畫先分析健保資料庫計算健保合理支付藥費及藥事服務費。專家建議將列入健保給付中醫門診藥費及藥事服務費修正參考供主管機關參考。

附錄二、「中醫處方調劑之健保支付制度座談會」會議紀錄

中華民國藥事品質改革協會

102年「中醫處方調劑之健保支付制度座談會」會議紀錄

一、議題討論與建議：

(一) 案由：法規面探討中醫健保調劑處方問題。

說明：藥事法 37 條第四項「中藥之調劑，除法律另有規定外，應由中醫師監督為之」字面易產生誤解，造成坊間有許多中醫診所聘請非藥事人員調劑。但醫療機構設置標準與中藥事法 103 條第一項規定，中藥調劑僅修習中藥課程達適當標準之藥師、中醫師、確具中藥基本知識及鑑別能力人員得在中醫師監督之下得為之。

建議：同意案由說明，中醫調劑需要一個合法又專業的環境，但就現實許多經濟面考量，造成現在聘請非藥師調劑狀況發生，並非我們所樂見的。法規的部份建議本計劃提出修法建議，以確立中醫法定調劑藥事人員，以免現行狀況持續惡化。

(二) 案由：研討中醫處方調劑之健保支付制度。

說明：現行中醫調劑健保支付是以日計酬，一張處方支付 30 元藥費，一次最多開七天共 210 元，然一複方一天服用三次約 30 克，其藥費成本即超出支付額，又中醫藥事調劑費僅 20 元，造成中醫處方在調劑上有很多不敷成本的狀況發生，是否就健保支付制度，請各位專家提請建議。

建議：

1. 中醫師和藥師要互相尊重雙方專業，在許多大型中醫醫院是聘請藥師調劑，診所較有讓非專業藥師進行調劑狀況發生。這可能是經濟因素造成，未來除要在這方面突破外，另要考量藥師是否願意進入中醫界，讓藥師瞭解中西醫調劑環境之差異，如中醫粉劑、機器操作等狀況；建議計劃可至中西醫院瞭解此狀況。
2. 目前中醫健保是用「總額」計算，若要將聘請藥師調劑的費用併入總額討論，我想中醫師意願大概不大，

但如何將此費用另外向健保局申請是我們之前就有討論也建議的方向。中醫師重視民眾的用藥安全，但經濟因素也是大家的考量。

3. 中醫師希望有合法中醫藥事調劑人員/中藥師，也歡迎西藥師修習中醫知識課程進入，目前正尋考試院的模式朝中醫醫事輔助人員進行規劃，不過這個法正在研修當中。以期未來在中醫調劑方面能夠符合民眾的期待，中醫用藥安全能夠向上提升。
4. 在總額的預算下，目前中醫點值是低於一塊以下，想要提高藥費和藥品調劑費較為困難，但在協商因素和非協商因素之外還有一個品質提升方案，專案專款專用，是醫藥界可以去共同努力的方向。以藥品調劑為例，向官商說明為考量民眾用藥安全，中藥調劑所需工作環境配置費用、人力支配比西醫高且繁瑣，並經由試算一個方劑的成本，由藥師公會與中醫師公會共同向健保局提出方案，另外爭取一筆專案專款費用。要讓臺灣中醫藥產業發展，我們也該讓消費者代表、雇主代表瞭解現況。
5. 總額支付有個精神是每年讓各總額的議事會議計算決定總額支付的幅度。我們尊重中醫師公會全國聯合會對總額運作，醫師和藥品要如何分配等。
6. 因為健保對於中藥是不核價，以日計酬，所以確實對於現行高漲的中藥影響較大，不過自健保開放後，總額額度是在健保會決定而不是健保局，要爭取調高調劑費，健保局樂觀其成，屆時我們會配合來進行調整。

(三) 案由：研討全民健康保險對於濃縮中藥給付於同病同酬及同工同酬之合理性。

說明：同病同酬是法條，同工同酬是法理，而中西醫藥品調劑費明顯具有差距。以磨粉為例，小兒科磨粉單位是毫克，而中醫磨粉達 5 克，並且中醫磨粉包裝相較西醫要使用較多儀器。但健保支付制度在中西醫不一樣，中醫師跟藥師又不一致，希望站在同病同酬及同工同酬上能夠修

正，或許不能降低西醫健保支付，但希望能提高中醫健保。

建議：

1. 建議調劑費用除了人以外，應納入作業場所，設備、租金等費用，合理估算一張處方箋需多少投入，才能安全交付到民眾手上。常理可以瞭解中藥調劑包含機器設備明顯比西藥複雜，但目前調劑費還是比西醫低。希望我們把所有考量計算進來，不可能一步改善所有費用支出，可能還是要按部就班。
2. 目前我們內部也有發現調劑的問題，有些中醫診所業務低，如果沒有請藥師，就只能中醫師自調進行申報符合規定。我主張中醫師應該要守法，也希望能有好的中醫醫事環境來解決這個問題，西藥的藥師來職業中藥也是贊成，但最完美的是能夠有所謂的中藥師出現。中醫師也希望能夠在好的環境下進行就診，能夠符合民眾對中醫的一個期待，這是我們的理想。當然過渡時期牽涉到法規、經濟的問題要去解決，同工同酬我們是希望能夠這樣做，應該有這樣的支持。

(四) 案由：中醫門診總額品質保證保留款實施方案，得否將調劑納入提升中醫醫療服務品質。

說明：品質保留款是在總額下面，但是否可從協商因素中外加1~2%？我們試算是要再18億的費用，即是中醫200億加上18億共計218億。假設總額提升不了，我們可能建議提出一個品質保留款，在第一代健保實施就有針對品質有5%的保留款，後來才納入總額內每年檢討。我們希望說，假設調劑也是品質的一環，是否中醫門診總額品質保留款實施方案可以納入中醫調劑討論。或許從自費減少無效醫療或品質提升方案等各方想法，希望聽聽各位專家的意見。

建議：

1. 就了解，這個方案是中醫師公會承接再分配給會員，有點像是工程施工，總額委託中醫去推動，健保局站

在監督的立場，品質若沒管好就會被扣錢。若要在這筆費用內加上調劑部份，雖然中醫也希望能夠提升這塊，但這就回歸經濟面的問題，在中醫內部可能很難接受，外加可能有機會。

2. 過去承如教授說的，品質保證保留款是在總額內，非協商因素中，固定每年都有一筆款項。但因為費協會（現在的健保會）很多委員認為不應每年固定給款項，而是有品質後再給錢，所以現在是每年七月由各總額報告總額運作狀況，由專家評估品質決定隔年款項，「優」、「良」才有品保款，「可」是零，而且這個比例很低只有 0.1%，也不是每年都有。用品質保證保留款去鼓勵調劑的精神是對的，只是要考量品保款本身的不確定性；各總額別可以爭取想要的品質提升方案，另提計畫來支付總額的錢。健保局也有在思考提高中醫調劑費的部份，在總額向署裡爭取，但行政院對於總額的協議只有建議權沒有決定權，決定權在健保會，每年九月會去協商該年度每年成長的幅度。至於無效醫療的部分倘若通過，省下的錢各部門也是希望落實到各總額點值，不會跨越部門從醫院流動到中醫，總額已經框定，沒有一個團體會去把它的錢拿給別人。
3. 建議中醫師和藥師公會同時提案，認為藥品調劑是佔中醫醫療很大的決定因素，目前因為經費不足，沒有好的薪資結構導入，難以聘請專業藥事人員提升品質，並且這不僅是中醫師公會的需求，藥師也希望進入中醫。像健保局長官所提，在中醫門診總額品質保證保留款實施方案外，提出試辦專款專案計畫，起初，也許無法跟西藥同工同酬，但可以增加。無論提案結果被砍多少，還是建議提案，站在產業立場，這樣的狀況會讓中藥更蓬勃，我們樂觀其成。
4. 我們一直在關切中藥調劑人員合法問題，民眾去中醫診所看病，但裡面調劑人員卻不是合法的人，這是很嚴重的事情。調劑費給付絕對影響調劑人員進來，我

們組內也準備和業界討論。同樣固定總額上限 4.5%，但中醫原本就比其他部門低，想請教健保局長官，如果今天我必須要 20 億推這個政策，應該要怎麼爭取？

5. 建議從衛生署提到行政院，在經建會的時候就必須提。因為健保總額成長率是經建會來協商提升上限，最後落到每個部門的部份。每年總額增加比率是固定的，不會因為其他部門沒達上限，而挪用到一個部門使得超過上限。今天不管在總額內還是總額外，都是健保的錢，你希望一次有 20 億相當於 10% 的成長是不可能的！但是你可以分年，逐步去調高完成你的目標，同時說服消費者讓消費者知道這個需求。

(五) 案由：濃縮中藥之品質與成本。

說明：如先前所提，健保支付藥費及藥事服務費是不敷藥品成本，因明年這個計畫的執行會朝成本分析提出報告，想請業界的各位專家在這個議題上給予建議。

建議：

1. 中藥材近年漲價造成中藥廠很大的負擔，我以大陸常用中藥材的價格資料，最早回溯 2007 年約 1 千點，最高是 2011 年 8 月約漲到 3 千 2 百點，現在則經常落在 2 千 6 百點左右，而健保開辦自 1995 年到 2007 間中藥材應該也漲了不少。各個中藥廠負擔沉重，要漲價成本也很困難，因為中醫師健保局這邊的給付沒有增加，而藥品調劑費非藥師沒有申請，相當於所有成本要在 30 元內解決。另外製造和原廠成本，只能藉設備自動化降低成本；檢驗安全性的把關越來越嚴格，現在還要做重金屬、微生物、黃麴毒素等項，每個處方成本不一樣，很難計算一天成本。更何況是好/貴的藥材要怎麼使用？真的希望可以藥費回歸到藥材上，或許藥廠還能做好藥。
2. 現在很多單位都有藥品檢驗，建議和政府反應我們在什麼品項上增加技術成本，TFDA、健保局、中醫藥委員也應該彼此要有連結，讓健保給付能做適當的加成。如果藥費增加，可能也要透過中醫師總額釋放改善調劑狀況，讓中醫藥界

逐步擴大補助，如先前所提，總額雖然是固定，但言之有理的去反應，應該可以通過。

3. 要健保局或健保會提高藥費其實很困難，因為這是包在總額裡。我認為非協商因素和物價指數有相關連，可能那個部份在進行調漲是比較有可能。
4. 中藥藥材在我們的藥物擬定項目及支付標準中，已擬定是醫師處方的濃縮製劑才可以，是屬於可調劑單方；如為複方，必須是公告的 337 方裡面，目前已有兩百方列入。若不是這些品項，即便取得中醫藥委員會核發的許可證，原則上我們是不把它列正面表列給付。針對 DMF 或其他的品質提升方案，必須先澄清，因為中藥不是每個都做核價，不會逐個提升藥品價格。
5. 在非協商因素中有個醫療成本服務改變的指標，由主計處定期調查物價波動，確實中醫這幾年在非協商因素部份的成長率是高過西醫，只是總體放在總額上，不會落到各藥價本身。如果中醫師公會想要用這個費用來調高藥費，只要不超過非協商因素的成長率，基本上我們不會反對，可這就要由中醫師公會內部決議。
6. 中藥製劑品質的提升與健保無關，即便健保有無調漲，近幾年中藥進口管制增加許多檢驗。今年公告臺灣中藥年鑑第二版中，藥材定量也已經從 36 個藥材變成 106 個！中醫藥委員會主管機關已經要求藥廠管控很多品質部份，越來越多傳統製劑也被公告限量異常物質要求。藥材配成飲片沒有健保的問題，中醫師可以適當的轉換成本給消費者；但濃縮製劑只有 337 方有健保給付，沒辦法調整。品質一直被要求提升增加成本，有很多藥廠在苦撐當中，這幾年我想放棄市場也是有可能，或轉做外銷、食品、化妝品。
7. 在總額制度之下要改變不容易。建議計畫可以分析中醫診所及醫院，有藥師調劑和沒藥師調劑的成本狀況，做出一個品質成本的計算，提供給健保局。長期，就可能要請中醫藥委員會來執行法規上面的修正，謝謝。

八、結論

感謝各位專家建議，本次會議紀錄將附於「全民健康保險對於濃縮中藥給付之合理性及對策研究」供中醫藥委員會參考。計劃分析健保資料庫之結果提下次濃縮中藥專家座談會，最後再總體請各位專家學者討論有中醫調劑藥事服務費之健保合理支付標準。

中華民國藥事品質改革協會
102年「研討中醫處方調劑有關藥事服務費之健保合理支付標準座談會」會議紀錄

一、報告：中醫處方調劑有關藥事服務費之分析報告

二、議題討論建議：

(一) 案由：研討中醫藥事服務費申報比例問題。

說明：健保資料庫分析結果，中醫藥事服務費申報比例降低，始於99年第三季(40.21%)，爾後持平約三成之申報比例。其影響當年度申報及後續申報比例低的可能因素？

結論：

1. 中醫管理很亂，調劑人員等法規沒進步。99年藥事服務費申報減少，是因為健保局查中醫師是否親自調劑，造成有一半的人不報，但實際調劑狀況不知道。其實我們對這狀況也無所適從，政策太亂，上面有兩派說法，主管機關也給我們很大壓力。所以我們現在有兩派，1.不報、2.親自調劑的有報。
2. 西藥就是處方釋出或請藥師，中醫雙軌並行。
3. 整個申報掉下來，醫師想法是我不去申請你也不能抓我，10點可能對中醫師太少，這是主管機關不管有沒有申報都要查的部份。醫師對藥師的貢獻懷疑，中醫有中醫的專業，但專業封閉也很難將中醫行銷全世界。個人贊成藥師如果只是包藥裝藥，可能也不會進去中醫。我們應該要教育民眾品質是需要價格的。

(二) 案由：研討中醫藥事服務費健保合理支付標準。

說明：針對計畫中醫藥事服務費計算提請建議。

結論：

1. 以老師估算的方法(80/一天)，一個藥師一天可以做到80張?而且中醫總額，是先扣除藥費再去算其他，藥費不會影響到診療費，但是藥事服務費是給藥師的，這

是個拉鋸戰。在中醫藥司品質的管控，藥品費用確實上漲。在健保局的角度認為，西藥基層因為藥價調整一直降，但是中藥一直沒被降喔！兩方角度不同，我們藥廠也很難賣出去，品質提升方案，西藥是品項別，但是中藥是日藥費，特優的品質要如何給藥價真的很難。藥師調劑是不是對中醫會更好，中醫師對藥師的專業可能還有質疑，在這樣的狀況下，要提高藥事服務費來壓縮中醫的點值可能真的很難。雙軌制的問題不解決就會一直存在這個問題。

2. 應該是可以，不過藥費和藥事服務費是否失衡？其實我們是很需要人力啦，但法規上比較畸形，我覺得討論這個議題要站在互利共生下談，藥師進入中醫，除了人力足夠，有沒有讓中醫界成長的方向，如就業率增加、讓國人對中醫有好的觀感，不是第二線的選擇？處方箋釋出誰配？藥費漲的很高，一天可能就 30 或更多。中間有很多問題要解決，我覺得這個問題還要討論藥師加入有沒有好的發展？一起共利，不然有時候只是為了服務費的問題，而且在總額預算下真的不好操控。
3. 藥師在醫院裡面不僅只有調劑，還包括核對、藥品驗收、藥品檢驗報告等，這都要加在藥事服務費身上。在醫院針對品質的部份，中醫設置標準，醫師和藥師比是 2:1，要是沒符合光是建置都有問題。另外，醫院評鑑條文規訂 60 張濃縮中藥一名藥師，60 張以上就要兩個，飲片 20 張一個藥師。所以建議計劃再計算 60 張的情況。醫院藥局最基本的規範，調劑與核對不能是同個人，所以至少要兩個人，不過診所就不知道。
4. 一天大約有幾張處方箋？
5. 約 30 張，40 張比例應該不高，1000 張/月是非常有制度，或長時間門診。
6. 總額預算下，拿藥事服務費勢必壓縮到中醫師。健保費不成長，所有都刮完後，就會沒有藥事服務費，一定會產生這個排擠。有沒有哪些疾病不用給付？可以挪

用出給藥事服務費？我們已經用比較嚴苛的環境去試算，都要這樣。我大略粗算，不論診所大小，一天平均41張處方，那我們在試算40與60張的資料。

(三) 案由：研討藥師對中醫及其專業訓練之需求。

說明：藥師進入中醫調劑之必要性及中醫師對藥師所需專業訴求探討。

結論：

1. 西醫分很多科，藥品交互作用在各別專業很重要。可是中藥的調劑，處方不像教科書，藥師確認的功能，在中醫坦白講效應不大，如果去質疑醫師只是造成干擾，不像西醫有醫藥分業的好處。藥師要進入中醫調劑，到底可以提供什麼專業在這方面？診所找不到藥師，釋出處方箋也有問題，無法可守。
2. 希望建備完整的中醫醫療體制，但感覺中醫師因為本身是合法藥事人員，好像比較不想要其他醫事人員參予。我們主管機關其實是希望給民眾一個良好的醫療服務，不要讓非專業人員進行中醫服務，想要協助中醫界，但是中醫界好像不急，比方說前兩年被查，排除在醫療服務體系後，好像也沒有看到中醫界有像持續教育等改善問題的解決方案。
3. 大家都想要合法，管理者和實際上（我們）的想法有落差。我們應徵復健師沒人有意願進來，很難異業結盟。藥師進來秤藥相信也會有很大的挫折，看數據和討論下來是真的很需要這樣做，可是實際上要怎麼解決，藥師專業發揮也是一個問題。不是請高級勞工，這樣對藥師也很可惜。
4. 一般藥師被界定在調劑，但其實藥師真的很好用，在中藥調劑人員，判斷性服務只有藥師可以做到，像是阿斯匹靈與中藥共用的問題，藥師也有學中藥西藥的部份，這是其他調劑人員比不上。其他藥品品質、產品驗收也有，是因為大家把藥師界定在調劑，讓藥師也以為自己只有調劑的功能上。

5. 中藥藥師能力可能在藥學教育要處理，以前中醫師念的其實我們藥師都有唸過，但是為什麼現在不行?剛剛聽起來醫師認為藥師可能沒有那個能力，是不是繼續教育不夠，或是脫離一開始中國醫學大學在中醫中藥修 86 個學分，現在只要 16 個學分，藥學教育可能有差別，造成中醫師認為藥師沒那個專業，轉請小弟小妹。
6. 之前我們有和中醫師談過對藥師的需求，我們也和臺灣藥學會連絡，教育界的意見認為除了基本 16 個專業學分外，但有其他基礎學分補足，我們有請他們提請意見，會再向各大教學醫院等教育單位，請他們表達意見。請問他們在用 16 學分藥師的困難及建議，看是否能達到共識。
7. 其實課上再多，職場不去中醫，很明顯這個產業的消長，今天如果以藥師的立場，我會去西藥界不會去中藥界。個人認為有些課程的背景足夠，但要做了才知道。藥師可以做很多事情，也或許中醫師與藥師界流通不是這麼多，彼此不了解產業環境也是個問題。

(四) 案由：研討中醫處方釋出之可行性。

說明：若中藥診所釋出處方給社區藥局調配其可行性?

結論：

1. 我們希望藥師進入中醫，如果處方箋釋出藥局，藥局 30 張中醫處方箋加上其他西藥處方箋，社區藥局這樣也能有 80 張處方箋可以做。假設人不進中醫醫療院所，這樣可能可以，是不是?
2. 中醫處方箋是不是對藥師很難看得懂?
3. 中醫處方是中醫師的診斷，下的處方不是說很神秘，只是這是醫師在診斷的考量。
4. 現行 ICD9 是不是不符合中醫?那 ICD11 符合嗎?因為中醫一直沒有辦法對上一個疾病名稱，假設有一個可以對應的，這樣你的診斷和藥師就可以配合。藥師現在看到 ICD9,可是不知道是什麼。假設這個問題可以

解決藥師也可以判斷。藥師在後端幫醫師確認，兩人共同照顧。

5. 另外，西藥有身體可用率的監測，原開發和後來的替代性可以承認，但中藥在不同廠牌，品質的均一性不同，中醫師當然依照習慣的廠牌去開藥，要是釋出處方箋後，藥局用別的廠牌可能吃不出我要的效果，這個責任是藥師負責嗎？還是我可以要求不換藥廠？
6. 藥品品質追溯到最後是原料藥材，中醫藥司也一直要求，藥廠出廠也是依檢驗指標，以前是定性，現在已經漸漸往定量管理，在製程就做調控了，我們也希望給中醫需要的藥。
7. 因為固有成方藥材比例可能有些落差，但都是合法的。這不是質疑，只是這每家藥廠的比例不大一樣。
8. 藥師原則不會換廠牌。以西藥來說有上萬種，廠牌也很多，中藥相對於西藥少，相信是可以辦的到。這也是一個物流的問題，社區藥局應該也知道它會配到的附近診所，依照客源準備藥品。
9. 在我們醫院中藥本身有針對藥學系實習生、PGY 實行教案的部份，目前在中藥局，藥師是有能力做這塊，只是說要如何延續這塊，其實未來社區藥局要是有能力做這塊，要實行可以依循醫院的方法，相信成功的機會滿大的。
10. 這個案子很大，牽扯層面很廣，包括中醫、中藥、法規、健保，每個層面都站在自己的立場要達到共識真的很需要時間，一步到位可行性不高，謝謝各位先進提出很多意見，依漸進式方式，希望可以讓政策往下走。
11. 西醫藥品可以被取代的，但是中醫是規定方，藥材不被取代。我們計畫可以建議，是不是可以依照消費者物價指數調漲。另外，或許可以擬辦一個試辦計畫，讓社區藥局接中醫診所處方，先小規模的，有成效後再進行推廣。

八、結論

依各位專家建議，本次會議紀錄將附於「全民健康保險對於濃縮中藥給付之合理性及對策研究」供衛生福利部參考。

中西醫整合住院治療手術或放化療後癌症 病人之模式研究(2-1)

許中華

臺北市立聯合醫院林森中醫院區

摘 要

研究目的：

計畫旨在建構癌症專病中西醫整合住院醫療模式，進行臨床療效評估，發展最適當的中西醫共同照護臨床治療路徑，中西醫藥併用模式、護理照護常規等；並提出成本分析及中西醫合作住院治療執行之困難度與可能之阻力，作為未來制訂醫療保險政策與中西醫住院治療收治標準的參考。

研究方法：

選擇癌症患者作為研究範圍，針對每年 50 人次，兩年共 100 人次的癌症患者手術或放化療後合併症住院治療的實際過程，來制定醫師、護理、藥劑等相關規範及流程，同時分析病患住院前後生活品質之主觀滿意度，嘗試以中醫輔助診斷儀器包括心律變異性分析、經絡能量分析儀，脈診儀等作為臨床療效評估之客觀工具，並探討其可行性與困難度。

結果與討論：

本計劃已收案 50 人次，其中住院治療可改善氣虛證與血虛證，提升營養狀態，改善放化療副作用，建議持續收案以觀察長期療效。

關鍵詞：中西醫整合、癌症、住院

Integrative Model of Western Medicine and Traditional Chinese Medicine in Hospitalization for Cancer Patients after Surgery, Radiotherapy, or Chemotherapy (2-1)

Chung-Hua Hsu

Linsen and Chinese medicine branch, Taipei City Hospital

ABSTRACT

Aim:

This study is focused to construct an integrative model of western and Chinese medicine in hospitalization for cancer patients. We try to assess the clinical therapeutic effect and develop the appropriate clinical pathway, combination model of western medicine and Chinese medicine, and nursing regulations. We also propose the analysis of cost, difficulties in hospitalization and provide the suggestion for the policy of health insurance.

Method:

This study will enroll 100 cancer patients, 50 people per year, in hospitalization for treatment of complications after surgery, radiotherapy, or chemotherapy. The database will be used to propose the medical, nursing, and pharmaceutical rules and pathways. Quality of life of these patients before and after hospitalization will be assessed. The diagnostic tools such as heart rate variability analyzer, automatic reflective diagnostic system, and pulse sphygmometry device will be used to assess therapeutic effect. Finally, the feasibility and difficulties of hospitalization will be evaluated.

Results & Discussion:

This study has enrolled 50 people. During inpatient treatment course, patients' qi

deficiency and blood deficiency got improved, their nutritional status raised, and their side effects due to radio-chemotherapy got improved, too. We suggested continuing this study to evaluate the long-term effect.

Keyword: integrative model of western and Chinese medicine, cancer, hospitalization

壹、前言

癌症死亡率自 1982 年至今連續 27 年來，一直高居國內死亡率之第一位，民國 97 年國人因癌症死亡人數為 3 萬 8913 人，佔所有死亡人數的 27.3%，標準化死亡率為每 10 萬人口 133.7 人，每 13 分 30 秒就有 1 人死於癌症。〔1〕照顧癌症及癌末病患，並提升其生活品質是政府既定政策。因為國人習慣多元看病就診，所以中西藥併用的情形在癌症患者身上相當常見，其中之利弊，實有賴進一步釐清。中西醫整合治療癌症的發展乃為時勢所趨，國內外已有許多研究指出中西醫整合治療對癌症或癌末病人有實質的療效和生活品質的提升。

在世界各地，輔助及替代療法(Complementary and Alternative Medicine, CAM)，包含中醫藥、營養補充、精神及宗教支持…等，已廣泛的被應用於癌症病人的輔助治療。〔2-4〕在國內的輔助及替代療法之使用及其相關因素之全國性調查亦顯示，在一年內使用過一種以上之輔助及替代療法的使用率為 85.65%〔5〕。這麼多人會選擇使用輔助及替代療法乃是因為不滿意於西醫主流醫學，並發現輔助及替代療法更能符合人們對身心靈及健康照護的核心價值。因而當被診斷出有癌症時，隨之而來的病痛折磨，以及接受西醫治療後可能產生的副作用，種種不適的症狀，使得人們的身心疲憊與痛苦。然而對於輔助及替代療法似乎需求大增，有些研究認為對癌症患者的治療是有益且安全的，但是大部分仍缺乏足夠的證據。在台灣，中醫藥在對台灣民眾的醫療照護一直扮演一個重要的角色，甚至亦納入健保體系之中。過去數十年來，中醫藥的使用都在持續的增加之中。陳等人指出，在台灣地區一份六年的研究調查中，62.5% 患者曾接受過中醫藥的治療。〔6〕另外近年來在亞洲地區針對癌症患者的治療也有相關報導，如陳等人於 2008 年報導，在中國上海地區對於 5046 位女性乳癌病患進行訪問，CAM 的使用率高達 97.2%，並且在傳統中醫藥(TCM)的使用率更佔有 76.9% 之多，其中 Chinese herbal medicine(CHM)即佔有 76.8%〔7〕。而在 2009 年 Shih 等人的報導中，針對 403 位新加坡癌症病人進行問卷調查，TCM 的使用率為 48.5%〔8〕。由此可見，在亞洲地區，TCM 作為癌症輔助治療的比例相當高。在癌症患者的治療中，目前還是以西醫療法為標準主流，包括手術、化療、放射線治療、生物療法等等。這些治療可以提高病患存活率並降低復發率，但也會帶來相當程度之副作用，對於病人的療程、生活品質及預後造成影響。同時因為國內民眾仍有多元看病之習慣，所以中西藥併用的

問題：如中西藥併用的時機、中西藥併用的優劣、可能發生交互作用的風險評估等等、都還沒有足夠的醫學根據。而癌症患者或是家屬，常常在病急之下，尋求各種可能之治療方式，而忽略了可能潛藏的危險，甚至花大錢而徒勞無功，輕則危害身體，重則葬送性命。癌症患者在接受化放療之後，會出現不等程度之副作用：包括：倦怠、骨髓抑制(白血球、紅血球、血小板下降)、噁心、食慾不振、黏膜炎、口乾、腹瀉或便秘、肝腎毒性、疼痛等等。例如在乳癌治療中，疲累是最廣泛且不易控制的副作用[9,10]，高達 99%的病人從被診斷到接受治療期間，感到不同程度的疲累，且疲累程度不會因接受的治療方式不同而有異[11]。而骨髓抑制造成的白血球低下亦是常見的副作用，且是很多患者中斷治療的原因，在中醫屬於「血虛」、「虛勞」、「血証」等。癌症患者疲累與白血球低下的症狀對照中醫的觀點，屬於中醫「虛證」的範圍，國內一醫學中心的研究結果指出，在不同種類的癌症中，以肺癌和乳癌氣虛的程度最嚴重[12]。這些的證型的變化與否也是有待進一步的研究。〔13〕在國內醫學中心使對於中醫藥治療癌症患者化療、放療的副作用也有一些研究，例如：三軍總醫院的秦醫師研究針刺與干擾素[14]、台灣師大研究四君子湯對免疫功能之調節作用皆有正面效果[15]。在治療化、放療之副作用方面，國內高醫[16]、清大及中國醫藥學院[17]等均有論文報告中藥對於實驗動物放射線照射之保護作用。大陸學者翟忠舟等在惡性腫瘤病人放療時同時應用放療一號，主要功能為益氣補腎、健脾養血活血、軟堅化癥等作用，與對照組相比，放療一號組的外周血象和免疫功能得到較好的保護，能明顯提高放療完成率[18,19]。國內研究指出，在不同種類的癌症患者中，臨床上常出現疲倦、食慾不振、頭暈以及皮膚色素沈著、腫塊或出血等氣虛、血癥的臨床表現。癌症患者因接受手術、化療、放射治療，在臨床上常表現疲倦、食慾不佳、呼吸氣短、頭暈目眩等全身性虛弱症狀，屬於中醫「虛證」的範圍，因此中醫會使用「扶正」的方式來調理癌症病人，作為體質調養、白血球低下的輔助治療。國內研究指出癌症組患者的氣虛證、血癥證比非癌症組患者高，而晚期癌症比早期癌症有較高的氣虛、血癥分數，另外癌症患者經過中藥治療減少氣虛與血癥的分數比非癌症組患者多[12]。本計畫根據中醫的扶助正氣之原則，針對住院之癌症患者進行中醫藥輔助治療，並在住院前後接進行一次問卷評估，以了解中醫藥對於癌症患者的放化療副作用症狀控制、生活品質改善、證型變化。有研究顯示，中醫藥中的補氣藥和活血化癥藥可以增加多形核白血球(PMN)的功能[12,20]。也有研究指出使用六君子湯治療化療

藥物所致白血球減少，改善骨髓造血功能及免疫功能低下[21]。台灣也有使用六君子湯改善癌症患者症狀之報告〔22〕。本計畫嘗試根據 patient reported outcome (PRO) 的概念來發展中醫住院療效的軟性指標，因此使用多種量表作為住院療效的評估指標，其中包括放化療副作用、疲累程度、健康相關生活品質及營養狀態之評估。本計畫將使用美國 National Cancer Institute 所發展的量表 Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 4.0 來評估癌症患者手術或放化療後的不良反應，經國外多項研究，此問卷有良好信效度並已廣泛使用在多項臨床試驗中〔23-25〕。另外癌症相關疲累(cancer related fatigue)也是本計劃欲評估的軟性指標之一，我們採用美國學者 David Cella 博士所提出的癌症相關疲累診斷調查準則問卷，該學者引用國際疾病分類標準(ICD-10)建立了一套的癌症相關疲累之診斷工具並實際於臨床運用[26]。至於健康相關生活品質方面，由於生活品質是近年來癌症照護欲加重視的指標，本計畫亦將採用 WHOQOL-BREF Taiwan version 來評估住院前後的生活品質差異，該問卷的內部一致度為 0.70 to 0.77，其信度為 0.41 to 0.79，內部效度為 0.53 to 0.78，並已用於多種疾病如肥胖與癌症的評估[28,29]。此外，由於放化療副作用或癌症疾病本身導致的營養不良，也常常是影響癌症病患預後與生活品質的重要因素，因此本計畫也會評估住院癌症患者的營養狀態，我們使用 the scored Patient-Generated Subjective Global Assessment (PGSGA)來評估，此種營養量表也已多運用在癌症患者[30,31]。最後論及中醫證型的部分，本計畫欲分析癌症患者的中醫證型分佈以及住院前後證型是否有所變化，本計劃採用院區發展之癌症中醫體質證型問卷，此乃邀請國內中醫專家根據虛證(陰虛、陽虛、血虛、氣虛)之診斷標準，建立適合中醫臨床工作者評估之問卷，再進行修改並建立專家效度，其信度為 0.88，效度為 0.89。並已運用在乳癌患者與其他癌症之證型分析上。[29,32]

貳、材料與方法

本計畫擬於同時有中、西醫師診療之醫院，研究如何建立中西醫合作住院之療效指標。以臨床上常見、西醫多採保守治療、且中醫療效不錯的癌症手術放化療後合併症調理(complications of surgery, radiotherapy or/and chemotherapy for cancer)作為研究主題。針對癌症病人住院接受治療放化療或手術後後遺症的中西醫整合治療模式。研究團隊試圖以此類疾病為例建立以中醫治療為主，西醫診斷為輔的中西醫整合治療的中醫住院模式與療效指標。

【硬體設備】

本計畫擇於臺北市立聯合醫院林森中醫院區進行。以位於五、六樓設立之急性病床 27 床作為研究病房。依照《醫療機構設置標準》規定，整棟建物有空調系統，並有廚房可供膳；每樓層均設有一護理站，並有貯藏室、汙物室、配膳室；每間病室均設有衛浴室、存放櫃、病床間之隔離圍簾，每床均設有與護理站之呼叫設備。

院區現有專任西醫師 8 位、兼任西醫師 10 位，均具有專科醫師資格，另有兩位跨院區腫瘤專科醫師合作，一位兼任腫瘤專科醫師；專任中醫師 26 位，其中兼具安寧緩和專科醫師 1 位，兼具中、西醫師資格者 6 位；護理人員 15 位。醫護人力足以全力配合。

【研究流程】

本計畫為非侵入性無對照組的觀察型研究，為記錄使用中醫藥輔助之癌症住院病患的中醫證型與放化療副作用、疲累程度、健康相關生活品質及營養狀態之評估並探討其住院前後之差異與評估指標之間的相關性。預計在每次住院未治療前先做基準點問卷評估，之後出院當天再做一次評估，若住院超過兩週者每兩周記錄乙次。為了追蹤同一病人多次放化療後住院的長期療效，本計畫採用人次為單位，預計於兩年內完成 100 人次可評受試者。此計畫不影響所有病人原本住院既定之療程與檢驗檢查，且本計畫也會紀錄病人住院期間所有的檢驗檢查資料，包括血液、生化、腫瘤指標檢查與中醫診斷儀器如舌診儀、脈診儀、經絡能量分析儀與心率變異性分析。

【受試者納入排除條件】

一、選擇標準：

研究對象的獲得乃透過本院之住院患者。同意參與研究之個案，需在

研究同意書上簽名，以溝通沒有困難、能看懂及會填寫問卷量表為基本條件。其納入標準為：

- (一)經病理診斷確認之癌症病人
- (二)年齡介於 20-70 歲
- (三)正在接受手術或放化療、標靶治療或結束上述治療半年內者

二、排除標準：

- (一)針對癌症之手術或放化療、標靶治療治療結束超過半年者
- (二)身體質量指數 ECOG 達到四分者
- (三)正在使用呼吸器者
- (四)經解釋後不願意或意識模糊無法簽署受試者同意書者。
- (五)其他經醫師評估不適合繼續參加者

本計畫為記錄使用中醫藥輔助之癌症住院病患的中醫證型與放化療副作用、疲累程度、健康相關生活品質及營養狀態之評估並探討其住院前後之差異與評估指標之間的相關性。預計在每次住院未治療前先做基準點問卷評估，之後出院當天再做一次評估，若住院超過兩週者每兩周記錄乙次。其評估項目包括如下。

1. 中醫證型問卷：(參見附錄)
2. 癌症相關疲累問卷(參見附錄)
3. 健康相關生活品質問卷(參見附錄)
4. 營養評估問卷(參見附錄)
5. 放化療副作用評估表 National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) (參見參考文獻之連結)

參、結果

本計畫是以癌症為例，針對癌症病人住院接受治療放化療或手術後遺症的中西醫整合治療模式。本團隊試圖以此建立中醫治療為主，西醫診斷為輔的中西醫整合治療的中醫住院模式。從過去住院照護的經驗與本計畫第一年度的收案過程中我們嘗試設計出中西醫整合住院之病例格式與住院療效評估指標。本計畫住院病患平均住院天數為 6.8 天，接近一週，所以我們預劃標準住院流程的住院天數為七至十天，而每位病患我們皆給予扶正補氣養陰的寬心飲作為中藥治療，其組成為黨參、白朮、茯苓、甘草、黃耆、女貞子、藿香。每日一包服用，除此之外我們會每天固定時間給與病人芳香與音樂治療，芳香療法以檀香為主要精油，而音樂療法則以普門品為主要音樂。此舉目的是為了觀察固定中藥治療方向在各項療效指標的變化。而其他治療將會因應病人需求而個別給與。

本計畫自 1 月 23 日開始執行，迄今已於 3 月 28 日舉辦乙次專家諮詢會議，會中決議邀請本院區許中華醫師、陳建宏醫師、馬偕醫院放射腫瘤科賴允亮醫師、亞東醫院放射腫瘤科謝忱希醫師、中興院區血液腫瘤科簡采汝醫師、以及中醫癌症病友會林渝潼女士、楊運德先生擔任中西醫整合治療癌症研究諮詢小組成員。

經與本院癌症病患照護團隊討論，本研究計畫團隊設計出【中西醫整合治療癌症住院病歷格式】如圖一，並且紀錄數例病患後，已初步規劃出本院癌症住院病患病歷格式，預計待本院病歷委員會通過後將正式施行於本院病房。

至於建立中西醫整合住院治療癌症須具備之硬體設備及中西醫、藥、護等人力資格標準分述如下：

硬體設備部分參考《醫療機構設置標準》規定，需有中央空調系統，並有專屬廚房可供膳；至少需有一個樓層的護理站，建議病房樓層設有貯藏室、汗物室(內有投幣式洗衣機、投幣式烘衣機、洗濯台)、配膳室(內有蒸飯箱、微波爐)；每間病室均設有衛浴室、存放櫃、病床間之隔離圍簾，每床均設有與護理站之緊急呼叫設備。

人力部分建議需有專任或兼任西醫專科醫師至少 3 名，其中包含一名腫瘤專科醫師合作，負責病房迴診與會診處置；專任中醫主治醫師至少 3 名，負責病房迴診與病患治療，中醫住院醫師至少 5 名，負責病房輪班值班與每日病患照顧；護理人員至少 5 名，負責病房輪班值班與病患照護；

藥師至少 3 名負責病房藥物煎煮與輪班值班；檢驗人員至少 2 名負責病房檢驗事宜與輪班值班；並有營養師一名與廚師一名負責營養與飲食提供，共計 16 名醫護人員與 7 名配合團隊人員。

計劃收案進度截至 11 月 22 日止，本計畫業已收案男性 16 例，女性 45 例，共計 61 例病患。其中乳癌十六例、卵巢癌八例、輸卵管癌六例、肺癌十例、大腸癌六例、鼻咽癌七例、甲狀腺癌兩例、白血病兩例、肝癌兩例、舌癌一例、胃癌一例。

其中 61% 有遠處轉移，64.3% 接受化學治療，基本生命徵象部份：平均年齡為 54.0 ± 8.0 歲，BMI 平均為 $23.2 \pm 3.8 \text{kg/m}^2$ ，平均收縮壓為 118.7 ± 11.6 、舒張壓為 $78.8 \pm 7.8 \text{mmHg}$ ，平均心跳為 $74.1 \pm 13.4 \text{mmHg}$ 。中醫證型部份最常見的證型為氣虛證 24 例、氣滯證 18 例、陽虛與陰虛證各 17 例。日常體能狀態 ECOG 的部分，百分之九十以上為零至一分。營養狀況與生活品質部份，PGSGA 營養評估平均為 3.2 分。生活品質 SF12 身體健康指數為 35 分，心理健康指數為 46 分。平均住院天數為 6.8 天。

在療效評估指標分析方面，本計劃擬以中醫證型、生活品質量表、ARDK 經絡能量分析儀、HRV 心律變異性分析儀、放化療副作用評估表、PGSGA 營養評估、血液生化指標等等七個面向進行住院療效評估。

首先以中醫證型量表部分，本計劃受試者氣虛證比例從住院前的 52.2% 下降至住院後的 29.7%，並達到統計顯著意義($p=0.047$)。血虛證比例從住院前的 35.6% 下降至住院後的 11.1%，並達到統計顯著意義($p=0.02$)。然而其他證型並無統計顯著之變化。表示本計劃的受試者經由住院治療後可達到氣虛與血虛的改善。

第二在健康相關生活品質量表方面，本計劃受試者 SF12 生理健康面向從住院前的 34.8% 上升至住院後的 36.9%，但未達到統計顯著意義。WHOQOL 生理健康面向從住院前的 49.6% 上升至住院後的 58.2%，但也未達到統計顯著意義($p=0.02$)。其他面向並無統計顯著之變化。

第三在 ARDK 經絡能量分析方面，住出院前後的十二經絡能量值皆為 21.9 低於參考正常值(30-60)且無明顯變化，脾經平均值從 18.5 上升至 23.1 具有統計的趨勢($p=0.07$)；在個別經絡分析上，左側肺經從 24.7 上升至 30.7($p=0.02$)，左側心經從 17.4 上升至 21.1($p=0.04$)，左側手三陽經從 21.1 上升至 28.2($p=0.02$)，而右側脾經從 12.7 上升至 17.1 達到統計顯著($p=0.04$)。

第四在 HRV 心律變異性分析方面，自律神經總活性雖有上升，但未達統計意義。副交感神經活性從 63% 上升至 67.5%，交感神經活性從 37% 下

降至 32.5%，皆有統計上的趨勢($p=0.07$)，且交感/副交感平衡指標從 0.6 下降至 0.5($p=0.04$)，顯示出住院治療後會傾向副交感神經活性較強的趨勢。

第五在放化療副作用方面，副作用總得分從 8.4 顯著下降至 6.3(P 值 0.01)，其他各個副作用中只有疼痛項目有顯著下降從 1.2 降至 0.7。

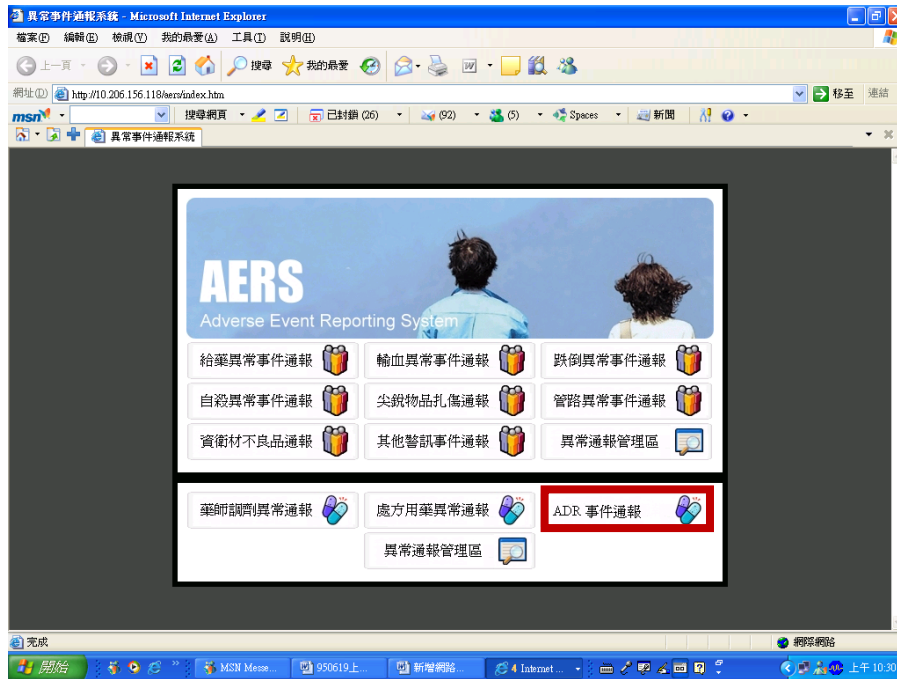
第六在 PGSGA 營養評估方面，總得分從 3.2 顯著下降至 2.9(P 值 0.02)，在腸胃相關症狀上並無明顯差異。

第七在血液生化指標方面，生化指標中空腹血糖值從 84 顯著上升至 89(P 值 0.004)，總膽固醇從 182.5 顯著上升至 200(P 值 0.047)；血液指標血紅素從 12.4 顯著上升至 12.9(P 值 0.02)；乳癌腫瘤指標 CA153 從 10.3 顯著上升至 13.2(P 值 0.04)。

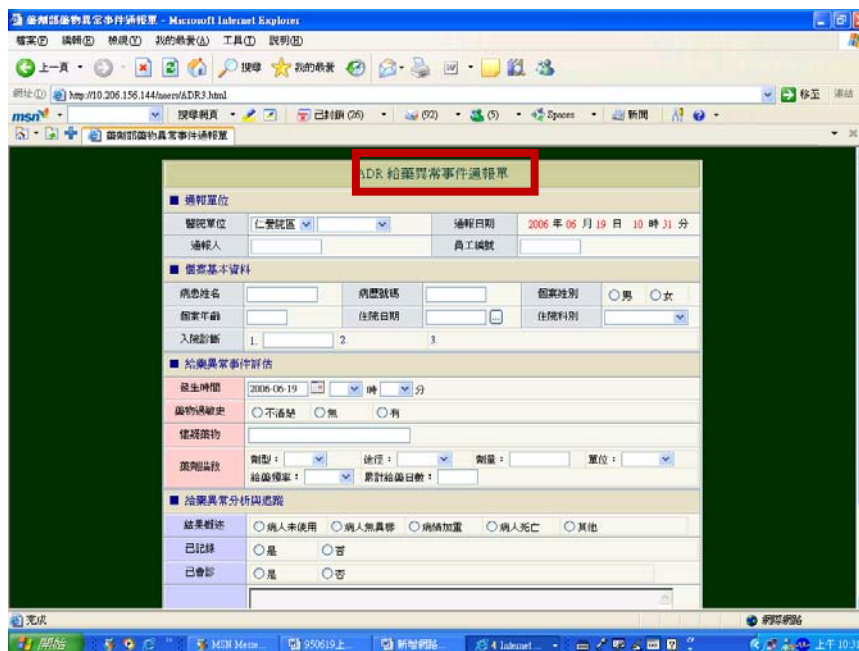
此外，在癌因性疲累的比較上，住院時有九名患者符合，出院時僅有一名，也可看出在住院過程對於癌因性疲累的影響。

而經由本年度執行計劃後，經與本院癌症病患照護團隊討論，本研究計畫團隊設計出【中西醫整合治療癌症住院醫藥護流程】，並且紀錄數例病患後，已初步規劃成型，如圖二。凡符合納入排除條件之癌症病人需要中醫照護減輕放化療副作用或癌症本身之不適者，經中醫師診療後或西醫師轉介中醫師收治住院，凡住院之病患視病情需要與病患狀態於住院前兩日接受血液生化檢查、中醫儀器檢測、與問卷評估，並由藥劑師評估現狀用藥，營養師評估營養狀態，住院期間接受中醫藥或針灸治療，必要時給予西藥治療與靜脈輸液，出院時再次接受與入院相同檢查以評估療效。

至於不良反應警示通報系統，目前已初步建立通報流程，如圖三，凡醫護人員發現疑似不良反應者，除與負責主治醫師通報外，亦需填寫黃色通報卡，內容如圖四，通報本院藥劑科 ADR 藥師後，由該藥師收集資料評估確認，再轉送藥委會 ADR 工作小組審核決定是否通報，一旦決定則通報北區 ADR 通報中心與本院區，本院網路通報之網址：<http://10.206.156.118/aers/index.htm>，其介面如下，



點選 ADR 事件通報後，資料輸入完成後，儲存通報單即可完成本院網路通報。



截至目前為止，今年度尚未發生藥物不良反應事件通報。

肆、討論

本計畫針對癌症病人接受治療放化療或手術後遺症後給予中西醫整合輔助治療。本計劃平均住院治療天數為一週，每天給予扶正補氣養陰的寬心飲作為中藥治療，以及芳香與音樂療法，目的是為了觀察固定中藥治療方向在各項療效指標的變化。而其他治療將會因應病人需求而個別給與。

在中醫證型方面，本研究所統計的癌症證型共有六種，其中氣虛、血虛證比例在住院治療後皆有明顯的下降，符合本計劃中醫住院治療採取扶正益氣的方向。然而健康相關生活品質方面雖然在住院期間有些微上升但未達到統計差異，預估若是治療期間拉長，將可看到更顯著的差異。

在儀器檢測方面，ARDK 經絡能量分析儀顯示在左側心包經與心經有顯著的上升，並且接近儀器之正常值(28-60)，而在右側脾經也有顯著的上升，亦是符合本住院治療方向以補氣健脾為主。反觀 HRV 經絡能量分析儀在住院後顯現促進副交感神經活性興奮為主，故交感副交感平衡指標有顯著的偏移。推測與本計劃給與芳香與音樂療法使病人放鬆身心有關，此結果與心經、心包經能量增加是否相呼應，值得進一步試驗來驗證。

在放化療副作用的療效差異上，雖然各項副作用分數皆有下降，惟有疼痛與總得分下降達到統計顯著，推測與分數差距不高以及病人收案數不夠大有關。或許再持續累積收案個數後將可達到顯著差異。

在營養評估方面，PGSGA 總得分有統計顯著的下降，說明病患接受中醫輔助治療可達到提升營養狀態的好處，因其腸胃道症狀計分數皆有下降，且在生化指標上面觀察到空腹血糖值與總膽固醇皆有程度不等的上升，雖然白蛋白從 3.7 上升到 4.1 未達統計顯著，仍可觀察出本計劃中醫扶正益氣為主的治療在營養方面的提升。或許來年計劃可以此類指標作為主要療效評估指標。至於血紅素也有顯著上升接近 1mg/dL 的差距，推測和中醫扶正益氣，補氣生血有關，但其相關性值得進一步研究分析。

針對本計劃收入之住院病患不論證型皆服用寬心飲，主要考量是因為本團隊認為癌症病患接受放化療後的主要病機為氣陰兩虛，其他證型皆為兼證，因此氣滯證可為氣虛演變至氣機推動不利而氣滯，陽虛證可為氣虛損及陽，寒化轉成陽虛證，血虛證亦為氣虛不能生血，導致血虛；血瘀證則是氣虛不能行血或再加上藥毒因素導致血瘀。故皆導因於氣虛為主，所以給與以四君子湯為主要組成的寬心飲治療。

中醫住院的部分，因為需病人自費，導致受試者來源有所侷限，病人

會因為經濟上的考量而無法參與計畫，造成收案上的困難，目前收案人數雖符合進度，但若只局限於大腸癌、肺癌與乳癌患者的話，將會面臨收案人數不足的問題，為求開發參加計畫之病友族群，將持續藉中醫癌症病友會每月會中宣傳以及針對中醫癌症門診初診患者舉辦中醫癌症寬心營隊，以尋求適合收案之病友，以求收案順利。

伍、結論與建議

因為目前計畫尚在進行，部分受試者尚未完全結束試驗，所以成效部分還未能完全分析完畢，但從病人的回饋上，中西醫結合住院確實對於病人心身有所助益，可以提升營養狀態、促進副交感神經活性、改善癌症相關疲累等方面，我們建議住院模式的天數可能至少七天才能顯示出中醫住院的療效。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部計畫編號 CCMP99-RD-008 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. 行政院衛生署公共衛生年報98年版
2. Crystal K., Allan S., Forgeson G et al. The use of complementary/alternative medicine by cancer patients in a New Zealand regional cancer treatment centre. *N. Z. Med. J* 2003; 116:U296.
3. Maakarrinec G, Shumay DM, Kakai H et al. Ethnic differences in complementary and alternative medicine use among cancer patients. *J Altern Complement Med* 2000; 6:531-538.
4. Morris KT, Johnson N, Homer L et al. A comparison of complementary and alternative medicine use between breast cancer patients and patients with other primary tumor sites. *Am J Surg* 2000;179:407-411.
5. 林寬佳,陳美麗,葉美玲,許中華,陳逸倫,周碧瑟歐(2009)輔助及替代療法之使用及其相關因素之全國性調查. *台灣衛誌*. 28;1:53-67.
6. Chen FP, Chen TJ, Kung YY et al Use of Traditional Chinese medicine in Taiwan.*BMC health Service Research*. 2007;7:26.
7. Chen et al., The Use of Complementary and Alternative Medicine Among Chinese Women with Breast Cancer. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine* 2008, 14(8):1049.
8. Shih et al., Complementary and Alternative Medicine (CAM) usage in Singaporean adult cancer patients. *Annals of Oncology* 2009, 20:752
9. Patricia A. Ganz, Julianne E. Bower. Cancer related fatigue: A focus on breast cancer and Hodgkin's disease survivors. *ActaOncologica*, 2007, 46: 474-479.
10. Andrykowski MA, Schmidt JE, Salsman JM et al. Use of a case definition approach to identify cancer-related fatigue in women undergoing adjuvant therapy for breast cancer. *J ClinOncol* 2005;23:6613-6622.
11. Julianne E. Bower, Patricia A. Ganz, Katherine A. et al. Fatigue in Breast Cancer Survivors: Occurrence, Correlates, and Impact on Quality of Life. *J ClinOncol*, 2000,18:743-753.
12. 謝慶良、郭世芳、張光遠、呂瑾立(2007),癌症患者氣虛、血瘀辯證之研究。中台灣醫誌12:109-116
13. 郭世芳(2006),氣虛血瘀證在癌症患者之分析研究。中西醫結合研究所碩

士論文。

14. Chen WC, Hau DM, Chen KT, Wang MI, Lin IH. Protective effects of GynostemmaPentaphyllum in .-irradiated mice. American Journal of Chinese Medicine. 1988, XXXIV:83-92, 1996.Chin TF, Lin JG, Wang SY. Induction of circulating interferon in humans by acupuncture. American Journal of Acupuncture 16:319-322
15. Tseng J, Li TL. Si-Jun-Zi-Tang regulate granulocyte macrophage colonystimulating factor secretion by human peripheral blood mononuclear cells. American Journal of Chinese Medicine 1996, XXIV:45-52
16. Hsu HY, Lin CC. Restoration of radiation injury in mice by two Chinese medicine prescriptions Kue-Pi-Tang and Jen-Sheng-Yang-Yung-Tang. Phytotherapy Research. 1992, 6:294-299
17. Lin IH, Hau DM, Su MJ, Chen WC. Effects of Glycyrrhizae and Glycyrrhizic acid on radiation injury in mice. American Journal of Chinese Medicine. 1996: 3-4
18. 何善台(2004)輔助性中醫治療對於接受放射及化學治療之頭頸癌住院病人之效益。中醫藥年報，22:227-307
19. 翟忠舟、趙仲威、翟超峰等(2000)放療同時服用放療一號堅持治療情況的報告。內蒙古醫學雜誌，32:44-45。
20. 洪傳岳,活血化癥中藥對人體白血球功能的影響。行政院衛生署計畫編號 DOH-85-CM-031
21. 袁曉輝(2008) 六君子湯治療化療致白細胞減少的療效分析.中醫中藥，5:61-62.
22. 黃敏雯、洪裕強(2009)中醫六君子湯加味治療肺癌化療術後病例報告。台灣中醫科學雜誌4(1):44-53
23. Trotti A, Colevas AD, Setser A, et al. CTCAE v3.0: development of a comprehensive grading system for the adverse effects of cancer treatment, SeminRadiatOncol, 2003, 13:176–181
24. NCI. CTCAE. Available from: URL: <http://evs.nci.nih.gov.rpa.lib.ym.edu.tw/ftp1/CTCAE/About.html>. Accessed May, 17, 2010.
25. Lacouture ME, Maitland ML, Segaert S, et al. A proposed EGFR inhibitor dermatologic adverse event-specific grading scale from the MASCC skin

- toxicity study group. *Support Care Cancer*, 2010, 18: 509–522
26. Cella, D, Davis, K, Breitbart, W et al, Cancer - related fatigue: prevalence of proposed diagnostic criteria in a United States sample of cancer survivors. *Journal of Clinical Oncology* 2001,19: 3385-3391.
 27. Yao, G., Chung, C.W., Yu, C.F., Wang, J.D. Development and verification of validity and reliability of the WHOQOL-BREF Taiwan version. *Journal of the Formosan Medical Association*, 2002, 101: 342-351
 28. Chang CY, Huang CK, Chang YY, et al. Cross-validation of the Taiwan version of the Moorehead–Ardelt Quality of Life Questionnaire II with WHOQOL and SF-36. *Obes Surg*. 2010; 20:1568-74.
 29. Hsu CH, Lee CJ, Chien TJ, et al. The Relationship between Qi Deficiency, Cancer related Fatigue and Quality of Life in Cancer Patients. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*.2012; 2: 129-135
 30. Read JA, Crockett N, Volker DH, et al. Nutritional assessment in cancer: comparing the Mini-Nutritional Assessment (MNA) with the scored Patient-Generated Subjective Global Assessment (PGSGA). *Nutr Cancer*. 2005; 53: 51-6.
 31. Read JA, Choy ST, Beale PJ, Clarke SJ. Evaluation of nutritional and inflammatory status of advanced colorectal cancer patients and its correlation with survival. *Nutr Cancer*. 2006; 55: 78-85.
 32. Chien TJ, Song YL, Lin CP, The Correlation of Traditional Chinese Medicine Deficiency Syndromes, Cancer Related Fatigue, and Quality of Life in Breast Cancer Patients. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2012; 2: 204-210

柒、圖、表

表一、基本資料表

		n	%	Mean(SD)
性別	男性	11	22.4	
	女性	38	77.6	
年齡(歲)				54.0(8.0)
身體質量指數 (kg/m ²)				23.2(3.8)
收縮壓 (mmHg)				118.7(11.6)
舒張壓 (mmHg)				78.8(7.8)
日常體能狀態 Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)	0 (正常)	20	40.8	
	1 (有症狀)	25	51.0	
	2 (臥床時間 < 50%)	2	4.1	
	3 (臥床時間 > 50%)	2	4.1	
	4 (完全臥床)	0	0	
癌症診斷	腸胃道癌症	7	14.6	
	乳癌	13	27.1	
	肺癌	7	14.3	
	頭頸癌	7	14.3	
	生殖系統癌症	13	26.5	
	血癌、淋巴瘤	2	4.1	
現行治療	化療	32	65.3	
	非化療	17	34.7	
治療目標	治癒性治療	32	65.3	
	緩和治療	11	22.4	
	治癒性治療後追蹤	6	12.2	
疾病狀況	無疾病徵兆	1	2.0	
	疾病停滯	4	8.2	
	局部侵犯	13	26.5	
	轉移	30	61.2	
平均住院天數				6.8(3.0)

表一之一、基本資料表

		n	%	Mean(SD)
中醫證型	氣虛證	24	49.0	
	血虛證	16	32.7	
	陰虛證	17	34.7	
	陽虛證	17	34.7	
	氣滯證	18	36.7	
	血瘀證	10	20.4	
營養狀況	A 組			
癌因性疲憊症	有	9	18.4	
	無	40	81.6	
臺灣簡明版世界衛生組織 生活品質問卷	生理健康			56.9(19.6)
	心理			66.7(20.8)
	社會關係			75.1(14.0)
	環境			73.1(15.1)
MOS SF-12 健康相關生活品質問卷	生理健康分數			35.5(10.5)
	心理健康分數			46.0(10.9)

表二、住院前後癌症中醫證型及生活品質變化

	before	after	p value
癌症中醫證型	n(%)	n(%)	
氣虛證	52.2	29.7	0.047
血虛證	35.6	11.1	0.02
陰虛證	36.2	45.9	0.38
陽虛證	36.2	28.6	0.49
氣滯證	38.3	40.5	1.00
血瘀證	22.2	11.8	0.37
生活品質 SF-12			
PCS	34.8(10.9)	36.9(12.2)	0.10
MCS	46.1(10.0)	45.7(10.0)	0.79
生活品質 WHOQOL-BREF			
身體	49.6(21.4)	58.2(19.2)	0.10
心理	66.1(20.6)	70.4(15.1)	0.37
社會	73.6(16.0)	71.8(16.0)	0.46
環境	72.1(15.8)	68.2(14.4)	0.07

表三之一、住院前後經絡能量差異

	住院	出院	p value
	Mean(SD)	Mean(SD)	
十二經絡平均能量	23.6(15.8)	23.8(18.2)	0.61
手三陰	26.7(19.3)	30.2(24.8)	0.23
肺經	31.7(22.6)	34.2(24.0)	0.46
心經	22.7(17.6)	26.1(21.2)	0.19
心包經	25.8(19.6)	30.2(22.9)	0.14
手三陽	32.4(23.2)	30.3(24.8)	0.55
大腸經	31.9(23.4)	29.4(24.6)	0.27
三焦經	37.9(26.5)	32.8(26.2)	0.43
小腸經	27.4(22.0)	28.6(26.3)	0.74
足三陰	18.0(13.1)	21.2(16.9)	0.19
脾經	18.5(14.5)	23.1(19.3)	0.07
肝經	18.9(15.2)	22.8(19.7)	0.13
腎經	16.7(15.0)	17.7(17.6)	0.74
足三陽	17.3(13.2)	17.6(13.8)	0.86
胃經	19.2(18.1)	18.1(17.6)	0.64
膽經	11.5(14.1)	11.5(15.0)	0.97
膀胱經	21.2(16.5)	23.2(17.7)	0.37

表三之二、住院前後兩側經絡能量差異

	左側			右側		
	住院	出院	p value	住院	出院	p value
	Median	Median		Median	Median	
十二經絡平均能量	19.4	21.6	0.38	23.4	22.2	0.73
手三陰	21.1	28.2	0.02	26.9	26.5	0.91
肺經	24.3	33.4	0.26	37.5	30.8	0.61
心經	17.4	21.1	0.04	20.4	20.9	0.87
心包經	24.7	30.7	0.02	21.7	24.6	0.50
手三陽	26.7	23.9	0.51	32.0	27.4	0.72
大腸經	23.6	21.1	0.47	32.3	23.6	0.30
三焦經	35.7	26.2	0.20	38.3	33.4	0.33
小腸經	20.3	17.5	0.88	19.8	20.9	0.78
足三陰	15.1	16.5	0.26	16.7	18.3	0.25
脾經	15.1	16.7	0.14	12.7	17.1	0.04
肝經	16.2	17.4	0.15	16.3	16.2	0.38
腎經	14.0	10.1	0.87	10.9	12.2	0.41
足三陽	17.7	15.6	0.97	15.0	16.3	0.83
胃經	17.0	12.9	0.78	15.3	11.5	0.28
膽經	7.5	7.3	0.64	6.7	4.5	0.67
膀胱經	15.7	19.4	0.53	13.6	21.2	0.20

*無母數分析

表四、住院前後神經活性差異

	住院	出院	
HRV	Median	Median	p value
自律神經活性 (Total power)	2025.0	2352.5	0.45
副交感神經活性(LF%)	63.0	67.5	0.07
交感神經活性 (HF%)	37.0	32.5	0.07
交感/副交感平衡指標	0.6	0.5	0.04
LF	288.0	335.5	0.34
HF	411.0	468.0	0.32
VLF	981.0	1525.0	0.40
5分鐘內不規則心跳數	3.0	2.5	0.86
Variance	2025.0	2450.5	0.28
RMMSD	63.0	73.5	0.22
PNN50	23.4	37.3	0.27

*無母數分析

表五、住院前後放化療副作用差異

	住院	出院	p value
疲倦	1.4(0.7)	1.2(0.5)	0.11
貧血	0.9(0.6)	0.7(0.7)	0.06
疼痛	1.2(0.8)	0.7(0.8)	0.01
腹瀉	0.5(0.7)	0.3(0.5)	0.20
便秘	0.8(0.7)	0.7(0.8)	0.20
噁心	0.7(0.8)	0.4(0.6)	0.11
嘔吐	0.5(0.7)	0.3(0.5)	0.16
食慾不振	1.1(1.0)	0.9(0.8)	0.17
失眠	1.4(0.8)	1.2(0.9)	0.23
副作用總得分	8.4(4.3)	6.3(3.6)	0.01

表六、住院前後營養狀況及生化值差異

	before	after	p value
PG-SGA			
PG-SGA 總得分	3.2(2.0)	2.9(1.6)	0.02
腸胃副作用	%	%	
沒食慾、不想吃	0.0	0.0	
噁心	9.8	0.0	0.12
嘔吐	2.4	0.0	1.0
便秘	19.5	17.5	1.0
腹瀉	4.9	2.6	1.0
口痛	2.4	2.5	1.0
口乾	0.0	2.6	0.49
嗅覺困擾	0.0	0.0	
沒興趣	0.0	0.0	
吞嚥困難	0.0	0.0	
易飽脹	19.5	12.5	0.55
疼痛	4.9	4.9	1.0

表七、住院前後血液生化值差異

	住院	出院	p value
	Median	Median	
CEA	2.0	2.1	0.89
CA-125	26.5	20.1	0.35
CA-153	10.3	13.2	0.03
SCC	1.2	2.65	0.66
sugar AC	84	89.0	0.004
BUN	14	14.0	0.50
creat	0.6	0.6	0.17
T bill	0.5	0.3	1.0
albumin	3.7	4.1	0.25
GOT	23.0	22.0	0.53
GPT	25.5	23.0	0.44
Na	140.0	138.0	1.0
Chol	182.5	200.0	0.047
K	3.9	4.3	0.18
TG	84.5	99.0	0.26
HDL	53.0	57.0	0.41
LDL	103.5	121.0	0.24
Cl	102.0	102.0	0.16
LDH	456.0	420.0	0.11
CRP C	1.3	0.6	0.68
WBC	4.8	5.0	0.49
RBC	4.2	4.3	0.04
Hb	12.4	12.9	0.02
Ht	37.2	37.2	0.16
MCV	88.1	88.0	0.002
MCH	29.9	30.7	0.35
MCHC	33.5	34.2	0.02
Platelet	201.0	213.0	0.40

	住院	出院	
	Median	Median	p value
NEUT	56.0	58.0	0.93
LYMP	31.9	33.0	0.64
MONO	6.1	5.8	0.30
EOSIN	2.2	1.7	0.05
BASO	0.3	0.3	0.47

*無母數分析

台北市立聯合醫院
中西醫整合癌症病患住院病例紀錄(一)

病歷號碼：
姓名：
床號：

姓名：	性別： <input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女	出生日期：民國	年	月	日 (年齡 歲)	住院日期：	年	月	日
籍貫：	出生地：	現居地址：							
婚姻：	血型：	宗教信仰：	職業：	(勞心/勞力)					
一、 主訴									
<hr/> <hr/> <hr/>									
二、 過去病史									
<hr/> <hr/> <hr/>									
三、 現病史									
<hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>									
四、 個人史									
飲食習慣： <input type="checkbox"/> 素食 <input type="checkbox"/> 葷食 <input type="checkbox"/> 辛辣 <input type="checkbox"/> 其他_____									
過敏： <input type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 藥物_____； <input type="checkbox"/> 食物_____									
抽菸：_____包/天，_____年；喝酒：_____瓶/天，_____年 (酒類_____)									
運動： <input type="checkbox"/> 無固定運動 <input type="checkbox"/> 有固定運動 (種類：_____ 頻率：_____次/天週月)									
生活環境： <input type="checkbox"/> 都市 <input type="checkbox"/> 住宅區 <input type="checkbox"/> 商業區 <input type="checkbox"/> 工業區 <input type="checkbox"/> 農區 <input type="checkbox"/> 山區 <input type="checkbox"/> 河邊 <input type="checkbox"/> 其他_____									
家庭狀況： <input type="checkbox"/> 獨居 <input type="checkbox"/> 與人同住 (<input type="checkbox"/> 父 <input type="checkbox"/> 母 <input type="checkbox"/> 配偶 <input type="checkbox"/> 子 <input type="checkbox"/> 女)									
五、 家族史									
<hr/> <hr/> <hr/>									

圖一、中西醫整合治療癌症住院病歷格式

台北市立聯合醫院
中西醫整合癌症病患住院病例紀錄（四）

病歷號碼：

姓名：

床號：

中醫體質證型

下面有幾個中醫體質相關症狀之問題，請依據您個人感受的程度，作出回答，謝謝！

請問，最近一週以來，您是不是常常覺得有下列症狀發生：

A1 全身疲憊無力或感覺精神不振	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 不是
A2 不想說話或者說話聲音低微	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 不是
A3 不想活動	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 不是
B1 頭暈	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 不是
B2 臉色蒼白或指甲顏色蒼白	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 不是
C1 眼睛乾澀或口乾舌燥情形	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 不是
C2 夜間盜汗	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 不是
C3 手心發熱或臉紅潮熱	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 不是
D1 怕冷	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 不是
D2 手脚冰冷	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 不是
E1 呼吸不順	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 不是
E2 胸悶或胸部脹痛	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 不是
F1 用力按壓身體會有刺痛的感覺	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 不是
G1 食慾降低	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 不是
G2 吃飽後肚子容易悶、脹	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 不是
G3 您喜愛的飲食溫度為何？	<input type="checkbox"/> 熱 <input type="checkbox"/> 溫 <input type="checkbox"/> 冷 <input type="checkbox"/> 都可以

1. 舌邊尖瘀斑(以瘀斑數目勾選) (0) (1-3) (4-6) (7-9) (>9)
2. 指甲色暗瘀斑(以有瘀斑手指數目勾選) (0) (1-3) (4-6) (7-9) (>9)
3. 落髮(以落髮量勾選) (0%) (25%) (50%) (75%) (>75%)

七、理學檢查

Vital signs: BP _____mmHg PR _____/min RR _____/min BT _____°C

Consciousness: clear drowsy stupor semicoma coma

疼痛分數 (VAS: 0-10 分): _____ ECOG(0-5 分): _____

ECOG PERFORMANCE STATUS*

Grade	ECOG
0	Fully active. able to carry on all pre-disease performance without restriction
1	Restricted in physically strenuous activity but ambulatory and able to carry out work of a light or sedentary nature, e.g., light house work, office work
2	Ambulatory and capable of all selfcare but unable to carry out any work activities. Up and about more than 50% of waking hours
3	Capable of only limited selfcare, confined to bed or chair more than 50% of waking hours
4	Completely disabled. Cannot carry on any selfcare. Totally confined to bed or chair
5	Dead

Am J Clin Oncol 5:649-655, 1982.

圖一、中西醫整合治療癌症住院病歷格式(續)

台北市立聯合醫院
 中西醫整合癌症病患住院病例紀錄 (八)

病歷號碼：
 姓名：
 床號：

d. 拉肚子					
e. 其他					

肆、癌症患者化放療後副作用調理評估表

日期 _____ 患者姓名 _____ 病歷號碼 _____					
症狀	等級 1	等級 2	等級 3	等級 4	等級 5
疲倦 (Fatigue)				X	X
貧血 (Anemia)					
疼痛 (Pain)				X	X
腹瀉 (Diarrhea)					
便秘 (Constipation)					
噁心 (Nausea)				X	X
嘔吐 (Vomitting)					
食慾不振 (Anorexia)					
失眠 (Insomnia)				X	X

圖一、中西醫整合治療癌症住院病歷格式(續)

台北市立聯合醫院 病歷號碼：
中西醫整合癌症病患住院病例紀錄 (一〇) 姓名：
床號：

20

病患整體營養評估

病歷號： _____ 姓名： _____
 出生日期： _____ 性別： 男 女 日期： ____ / ____ / ____ 評估者： _____

(一)病患填寫部分：

A1. 體重變化

過去一目前體重狀況： 一個月前的體重 _____ 公斤
 目前體重 _____ 公斤 六個月前的體重 _____ 公斤
 身高 _____ 公分

兩個星期前，體重呈現：
降低(1) 沒有改變(0) 增加(0)

A1 得分(由營養師填寫)

A2. 攝食情況

最近幾個月食物攝取量，與平常比較：

沒改變(0) 多 少(1)

目前情況：(單選)

正常飲食，但較少(1) 少許固體食物(2)

液體食物(3) 營養補充品(3)

非常少(4)

僅靠管灌或靜脈注射營養(0) A2 得分(由營養師填寫)

A3. 腸胃症狀(可複選)

有無下列問題，影響近兩星期攝食情形：

沒有問題(0) 沒食慾、不想吃(3)

噁心(1) 嘔吐(3)

便秘(1) 腹瀉(3)

口痛(2) 口乾(1)

嗅覺困擾(1) 沒興趣(1)

吞嚥困難(1) 易飽脹(1)

疼痛部位(1)? _____

其他(1) (如：沮喪、經濟、或牙齒問題) A3 得分(由營養師填寫)

A4. 功能性活動力(單選)

最近幾個月身體情況是：

正常(0)

與平常不同，但日常生活仍能自我料理(1)

感覺不舒服，但臥床或靜坐不長於半天(2)

輕微活動，長時間臥床或靜坐(3)

幾乎完全臥床(3)

A4 得分(由營養師填寫)

A. 總分(由營養師填寫)

A1 _____ + A2 _____ + A3 _____ + A4 _____ =

圖一、中西醫整合治療癌症住院病歷格式(續)

台北市立聯合醫院 病歷號碼：
中西醫整合癌症病患住院病例紀錄 (一一) 姓名：
床號：

(二) 營養師填寫部分：B. 疾病與營養需求相關
 所有疾病相關診斷 _____
 主要疾病階段(請圈選) I II III IV 其他 _____
 年齡 _____
 治療方式 手術 放射 化療 其他 _____
 疾病種類分數 _____
 種類 _____ 得分 _____

癌症	1
後天免疫不全症後群	1
神經或心臟惡病質	1
痔瘡、開放性傷口或瘻管	1
創傷	1
>65 歲以上	1

B 得分

C. 代謝壓力
 無壓力(0) 低度壓力(1)
 中度壓力(2) 高度壓力(3)

代謝壓力分數

壓力 無(0) 低度壓力(1)
 發燒 沒有發燒 <38°C
 發燒時數 無 <72hrs
 類固醇 無 低劑量類固醇
(≤2 mg prednisone/d)

壓力 中度壓力(2) 高度壓力(3)
 發燒 38-38.8°C >38.8°C
 發燒時數 72hrs >72hrs
 類固醇 中劑量類固醇 高劑量類固醇
(10-20 mg prednisone/d) (≥20 mg prednisone/d)

C 得分

身體檢查	無缺乏	輕度缺乏	中度缺乏	重度缺乏
腹部觸診:	0	+1	+2	+3
下肢窩	0	+1	+2	+3
皮下脂肪層	0	+1	+2	+3
腸胃氣	0	+1	+2	+3
腸疝	0	+1	+2	+3
肌肉觸診:	0	+1	+2	+3
頸部肌肉	0	+1	+2	+3
橫膈肌肉	0	+1	+2	+3
肩膀	0	+1	+2	+3
高腳背	0	+1	+2	+3
虎口肌	0	+1	+2	+3
手腕肌	0	+1	+2	+3
肘關節肌	0	+1	+2	+3
肘關節肌	0	+1	+2	+3
腸疝	0	+1	+2	+3
體液滲漏情況:	0	+1	+2	+3
聲音	0	+1	+2	+3
風聲	0	+1	+2	+3
腹水	0	+1	+2	+3
腸疝	0	+1	+2	+3
II 總分	0	+1	+2	+3

PG-SGA 總得分: A + B + C + D =

評估結果:

PG-SGA 總得分	營養狀況分級	建議
0-1 分	營養良好 (SGA-A)	目前不需要介入，但在治療過程定期進行評估。
2-3 分	輕度營養不良 (SGA-B)	針對疾病症狀或症狀僅，對病患及家屬進行衛教。
4-8 分	中度營養不良 (SGA-B)	高營養、護理和營養的介入來緩解疾病症狀。
≥9 分	嚴重營養不良 (SGA-C)	讓目前病患無法需要營養的介入。

圖一、中西醫整合治療癌症住院病歷格式(續)

癌症病人(包含大腸癌、乳癌、肺癌或其他癌症)

納入條件 1. 年齡介於 20-70 歲 2. 正在接受手術或放化療、標靶治療或結束上述治療半年內	排除條件 1. 針對癌症之手術或放化療、標靶治療治療結束超過半年者 2. 身體質量指數 ECOG 達到四分者 3. 正在使用呼吸器者
--	--

中醫師診療後收治住院



經西醫師診療後轉介收治住院

入院檢查(day 1-2)

中醫師		藥劑師	護理師、營養師
血液生化量測 1. 血液檢驗 2. 生化檢驗 3. 癌症指數	中醫儀器檢測 1. 經絡能量分析儀 2. 心率變異性分析 3. 脈診儀 4. 舌診儀	評估藥物劑量安全性 中西藥物共用衛教	評估生命徵象 評估營養狀態 (PGSGA) 給與營養與護理衛教
問卷評估 1. 放化療副作用評估表 (NCI CTCAE) 2. 中醫證型問卷 3. 癌症相關疲累問卷 4. 生活品質問卷			



住院治療(day 1-7) 維持原西醫用藥

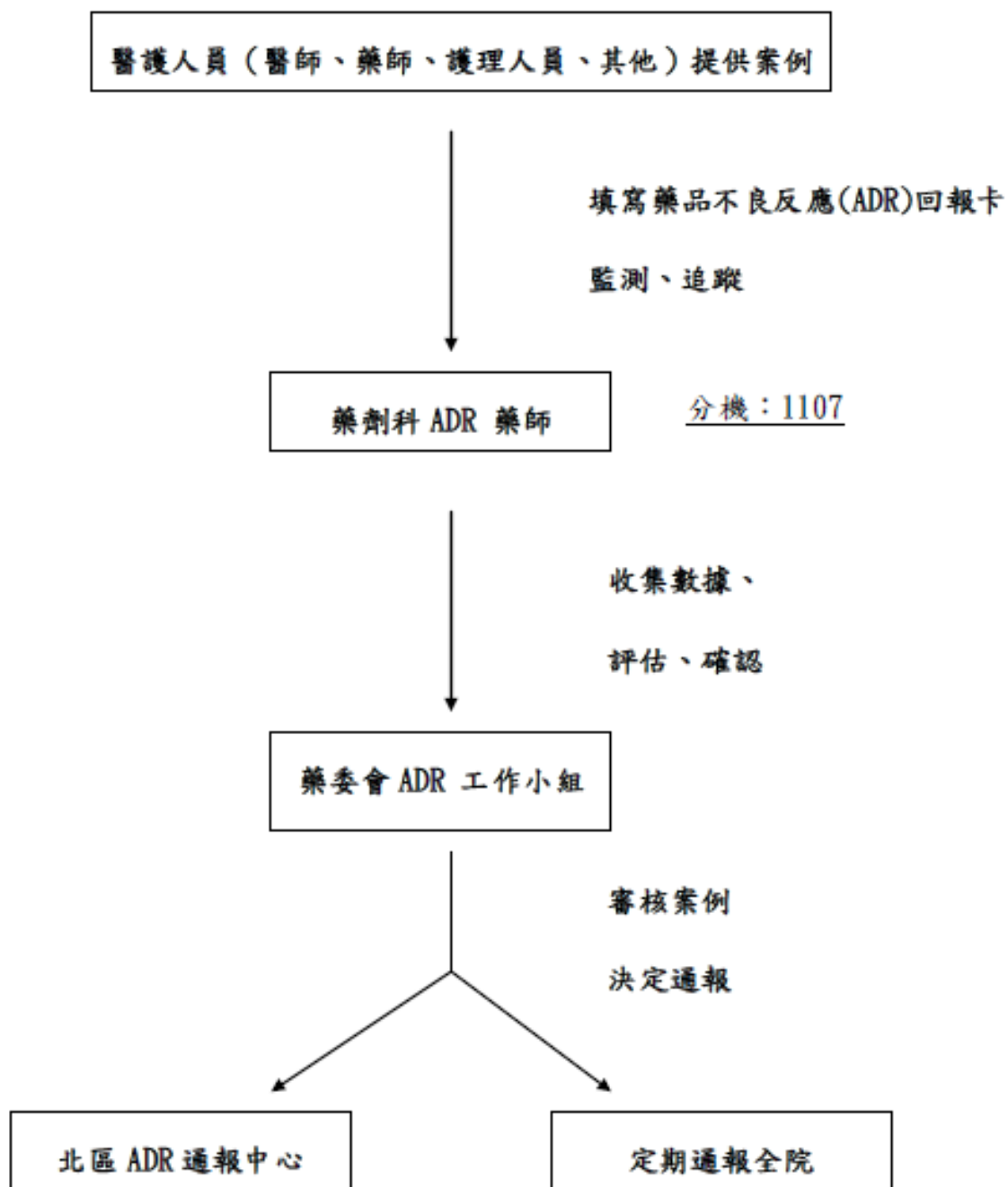
中醫師	藥劑師	護理師、營養師
中藥治療 1. 水煎湯藥 2. 科學中藥 針灸推拿	調劑寬心飲與科學中藥 監控中西藥物不良反應與交互作用	芳香音樂療法 藥膳食療



出院評估(day 7-10)			
中醫師		藥劑師	護理師、營養師
血液生化量測 1. 血液檢驗 2. 生化檢驗 3. 癌症指數	中醫儀器檢測 1. 經絡能量分析儀 2. 心率變異性分析 3. 脈診儀 4. 舌診儀	給與出院用藥說明	評估生命徵象 評估營養狀態 (PGSGA) 給與居家護理與營養衛教
問卷評估 1. 放化療副作用評估表 (NCI CTCAE) 2. 中醫證型問卷 3. 癌症相關疲累問卷 4. 生活品質問卷			

圖二、中西醫整合治療癌症住院醫藥護流程

臺北市立聯合醫院林森中醫院區藥物不良反應通報流程



圖三、藥物不良反應通報流程

藥物不良反應回報卡

病歷號: _____ 門診或病房/床: _____ 科別: _____

回報日期: _____ 回報者姓名: _____

你是: 醫師 藥師 護理師 營養師 放射診斷師

其他, 單位: _____

懷疑之藥物: _____

藥物之投予: _____

(藥名, 劑型, 途徑, 劑量, 給藥頻率, 起始日期)

目前發生的藥物不良的反應: 請描述

藥物不良反應發生日期: _____

此不良反應有無記錄在病歷上 有, 沒有

是否已會診相關專科醫師確認 是 否 (專家確認時效性重要)

圖四、藥物不良反應回報卡

中醫藥年報(光碟版)第四期

總目錄

計畫編號	計畫名稱	執行機構	計畫主持人
CCMP96-RD-013	中醫藥相關研究成果之專利評估暨專利申請(2-1)	臺北榮民總醫院	王世仁
CCMP97-RD-117	中醫藥相關研究成果之專利評估暨專利申請(2-2)	臺北榮民總醫院	王世仁
CCMP96-RD-206	人類癌症基因體以驗證探討抗癌中草藥-子計畫六、中草藥調節抑癌基因對抗肝癌機制的探討(2-2)	國立臺灣大學	呂紹俊
CCMP99-RD-203	基因體探討抗肝癌及脂肪肝之中草藥計畫—總計畫	財團法人台北市林榮耀教授學術教育基金會	林榮耀
CCMP99-RD-205	基因體探討抗肝癌及脂肪肝之中草藥計畫—子計畫三	國立臺灣大學	呂紹俊
CCMP100-RD-102	建立中醫藥法規諮詢平台，規劃中醫藥法規制度(2-2)	中華民國藥事品質改革協會	陳憲堂
CCMP100-RD-109	台灣特有菊科植物之抗發炎與護肝功能的研發(2-2)	中央研究院	徐麗芬
CCMP100-RD-111	新型核酸分子等溫擴增技術於中藥材基因體基源鑑定之研究—以常見誤用及混用中藥材之基源為例(2-2)	中國醫藥大學	李孟修
CCMP100-RD-112	減肥中草藥之藥效與肝腎毒性的評估(2-2)	大仁科技大學	劉怡旻
CCMP100-RD-113	白藜蘆醇與蜜紅葡萄及其成分之製劑製備暨其抗光老化及抗光致癌性機制之探討(2-2)	中國醫藥大學	溫國慶
CCMP101-RD-003	台灣常用中藥方劑與 Warfarin、Ibuprofen 之交互作用分析(2-1)	義守大學、中國醫藥大學	蔡金川 楊玲玲
CCMP101-RD-004	桃仁承氣湯及三黃瀉心湯併用 aspirin 治療缺血後腦中風及降低神經行為缺陷之交互作用與引起胃出血、顱內出血和蜘蛛膜下腔出血之風險評估(2-1)	臺北醫學大學	許準榕
CCMP101-RD-005	中醫臨床辨證診斷術語之共識(2-1)	台灣中醫診斷學會	張恒鴻
CCMP101-RD-006	中醫系統化服務發展規劃研究計畫	財團法人工業技術研究院	賴才雅
CCMP101-RD-016	加味六君子湯在腫瘤小鼠模式中的抑癌療效評估及機轉探討	國立陽明大學	傅淑玲
CCMP101-RD-025	建構中西醫合作治療癌症研究平台(2-1)	臺北榮民總醫院	陳方佩
CCMP101-RD-026	乳癌預後之中醫舌診指標(2-1)	國立中山大學	蔣依吾
CCMP101-RD-035	中醫症狀術語作業標準化(2-1)	財團法人彰化基督教醫院	羅綸謙

計畫編號	計畫名稱	執行機構	計畫主持人
CCMP101-RD-101	以動物模式評估比較硃砂單方及含硃砂之複方中藥對於肝臟和腎臟毒性損傷與安全性研究(2-2)	中國醫藥大學	黃俊發 蘇奕彰 陳雅雯 等
CCMP101-RD-102	中西醫療法對肺癌病人預後之長期效益：個案配對研究－「中西醫療法對非小細胞性肺癌病人預後之長期效益(2-2)」	長庚大學	唐婉如
CCMP101-RD-103	糖尿病新型中醫藥之轉譯醫學研究(2-2)	中國醫藥大學	侯庭鏞
CCMP101-RD-104	「綠茶提煉物-EGCG」補充治療合併高血脂的第二型糖尿病病人之療效評估(2-2)	臺北市立聯合醫院	許中華
CCMP102-RD-007	全民健康保險對於濃縮中藥給付之合理性及對策研究(2-1)	中華民國藥事品質改革協會	鄭慧文
CCMP102-RD-010	中西醫整合住院治療手術或放化療後癌症病人之模式研究(2-1)	臺北市立聯合醫院	許中華
CCMP102-CP-014	含黃耆或含紅耆的中藥基準方之免疫調節藥理評估與比較	中國醫藥大學	張文德
CCMP102-CP-015	中藥廠稽查人員培訓	社團法人中華無菌製劑協會	秦福壽
M02G3121	市售中藥材監測計畫	勝昌製藥廠股份有限公司	李威著
M03G3111	中藥產業經營管理人才培訓	中華民國中藥商業同業公會全國聯合會	陳順達
	辨識易混淆中藥材人才培訓	弘光科技大學、中國醫藥大學、新生醫護管理專科學校	何玉鈴 張永勳 高駿彬 等
	中藥檢驗人才培訓	中華民國製藥發展協會	莊武璋
M03G3130	三十種傳統製劑污穢物質背景值調查	中國醫藥大學	余建志
	中藥廠實施 PIC/S GMP 之推動規範	社團法人中華無菌製劑協會	李世裕
	五種中藥指標成分對照品之製備	國立嘉義大學	陳立耿
M03G9338	中藥濃縮製劑品質監測及評估	景博科技股份有限公司	李宏萍
M03G9339	含中藥材創意商品開發	臺北醫學大學	侯文琪 王靜瓊
M03G9340	中藥 GMP 實務及 PIC/S GMP 法規教育訓練	臺灣製藥工業同業公會	陳威仁
MOHW103-CMAP-M-113-000301	全國中藥不良反應通報系統整合與資料庫維護及通報教育訓練	長庚醫療財團法人桃園長庚紀念醫院	童承福
MOHW103-CMAP-M-113-000302	中藥新藥臨床試驗計畫及中心查核作業	臺北榮民總醫院	郭英調

計畫編號	計畫名稱	執行機構	計畫主持人
MOHW103-CMAP-M-113-000303	中藥傳統製劑微生物總生菌數調查	景博科技股份有限公司	李宏萍
MOHW103-CMAP-M-114-000412	腳底按摩相關研究	國立臺北護理健康大學	鍾聿琳
MOHW103-CMAP-M-114-000413	建立民俗調理管理模式計畫	中國醫藥大學	徐新政
MOHW103-CMAP-M-114-000414	中醫藥國際合作策略與發展趨勢分析	財團法人生物技術開發中心	劉祖惠
MOHW103-CMAP-M-114-000415	推動國內 SCI 國際中醫藥學術期刊	國立臺灣大學	沈立言
MOHW103-CMAP-M-114-000417	中藥炮製之數位化學習教材製作	臺北醫學大學	王靜瓊
MOHW103-CMAP-M-114-000419	臺灣中藥典科學應用研究(2-1)	新生醫護管理專科學校、中國醫藥大學、弘光科技大學	高駿彬 張永勳 何玉鈴 等
MOHW103-CMAP-M-114-122405	建構中醫藥就醫用藥安全衛生教育模式(3-3)	財團法人林明芳教授臨床藥學發展基金會	李宜勳
MOHW103-CMAP-M-114-122407	臺灣中藥典英譯暨中藥典彩色圖鑑編修出版(2-2)	弘光科技大學、中國醫藥大學、新生醫護管理專科學校	何玉鈴 張永勳 高駿彬 等
MOHW103-CMAP-M-211-000301	教學醫院成立中藥臨床試驗中心	國立成功大學醫學院附設醫院	張智仁
MOHW103-CMAP-M-212-000301	教學醫院成立中藥臨床試驗中心	中國醫藥大學附設醫院	蔡長海
MOHW103-CMAP-M-212-000302	教學醫院成立中藥臨床試驗中心	中山醫學大學附設醫院	魏正宗
MOHW103-CMAP-M-212-000303	教學醫院成立中藥臨床試驗中心	義大醫療財團法人義大醫院	蔡金川

刊名：中醫藥年報（光碟版）
副刊名：第四期
出版機關：衛生福利部
發行人：蔣丙煌
編輯委員：黃怡超 高文惠 褚文杰 康翠秀 蔡素玲 陳聘琪 陳昭蓉 游婉如
助理編輯：劉舜華 謝采蓓 郭勁麟 蘇葦娟
地址：臺北市南港區忠孝東路六段 488 號
網址：<http://www.mohw.gov.tw>
電話：(02)8590-6666
傳真：(02)8590-7076
出版年月：2015 年 12 月
創刊年月：2012 年 10 月
期刊頻率：年刊
版次：第 1 版第 1 刷
其他類型版本說明：本刊另登載於中醫藥資訊網（網址為：<http://www.mohw.gov.tw>）
印製單位：尚暉文化事業有限公司
電話：(02)2958-6010
地址：220 新北市板橋區板新路 103 號 4 樓之 1
展售處：國家書店松江門市
地址：104 臺北市松江路 209 號 1 樓
電話：(02)2518-0207
<http://www.govbooks.com.tw>
五南文化廣場
地址：400 臺中市中山路 6 號
電話：(04)2226-0330 轉 821
<http://www.wunanbooks.com.tw>
定價：新臺幣 110 元整

GPN：4610202502

ISSN：2305-087X

©欲利用本書全部或部分內容者，須徵求衛生福利部同意或書面授權©



衛生福利部
Ministry of Health and Welfare
促進全民健康與福祉

©欲利用本書全部或部分內容者，須徵求衛生福利部同意或書面授權©