

計畫編號：CCMP89-RD-027

行政院衛生署八十九年度科技研究發展計畫

川芎有效成分之一 Tetramethylpyrazine 對以
內毒素誘發敗血性休克大鼠之治療評估-免
疫機轉之探討

委託研究報告

計畫委託機關：國防醫學院

計畫主持人：顏茂雄

研究人員：康孝先、李燕清、丁怡君

執行期間：88年07月01日至89年06月30日

本研究報告僅供參考，不代表本署意見

計畫編號：CCMP89-RD-027

各機關研究計畫基本資料庫之計畫編號：

行政院衛生署八十九年度科技研究發展計畫

川芎有效成分之一 Tetramethylpyrazine 對以
內毒素誘發敗血性休克大鼠之治療評估-免
疫機轉之探討

委 託 研 究 報 告

計畫委託機關：國防醫學院

計畫主持人：顏茂雄

研究人員：康孝先、李燕清、丁怡君

執行期間：88年07月01日至89年06月30日

目錄

中文摘要.....	II
英文摘要.....	IV
前言.....	1
材料與方法.....	2
結果.....	5
討論.....	7
結論與建議.....	9
參考文獻.....	10
圖一 a.....	14
圖一 b.....	15
圖二 a.....	16
圖二 b.....	17
圖三.....	18
圖四.....	19
圖五.....	20
圖六.....	21

編號：CCMP89-RD-027

川芎有效成份之一 Tetramethylpyrazine 對 以內毒素誘發敗血性休克大鼠之治療評 估—免疫機轉之探討

計畫主持人：顏茂雄

執行單位：國防醫學院

摘要

TMP (tetramethylpyrazine)，一種分離自中藥川芎根之主成份之一，曾廣用於中國治療心血管疾病，如：心絞痛、腦中風等。本研究目的在評估 TMP 對以內毒素，一種來自 *E. coli* 之多醣類脂蛋白 lipopolysaccharide 簡稱 LPS，在麻醉鼠誘發低血壓、心跳及血管對 NE 之低反應性、TNF α 及 NO 釋放之影響。雄性 Wistar-Kyoto 大白鼠經麻醉後，分別作股動靜脈插管作為記錄血壓、心跳及注射藥物用。實驗結果顯示，由靜脈注射 LPS(10 mg/kg, i.v.) 導致血壓明顯下降及心跳加快。相較當動物預注射 TMP(10 mg/kg, i.v.) 在給予 LPS 組相比較。另外，NE 在 LPS 組之升壓反應明顯降低，同時經

LPS 組之分離主動脈對 NE 之血管收縮反應也顯著降低。但預處理 TMP 組顯著改善 LPS 誘發 NE 之低升壓及低血管反應。此外，當給予 LPS 組血中 TNF α 與 NO 之作用很顯著，因預處理 TMP 而減少。同時 LPS 誘發早期之低血壓也顯著改善，此暗示，TMP 可能具抑制 eNOS 活性或減少 NO 釋放所致。然 TMP 本身對 ACh 舒血管作用無影響。由此結果認為 TMP 本身對 eNOS 活性並無抑制作用。綜合上述結果認為 TMP 具改善早期與晚期 LPS 誘發之循環衰竭，上述作用可能是因抑制各種循環因子、TNF α 及 NO 釋放所致。

關鍵詞：TMP (tetramethylpyrazine)，LPS (lipopolysaccharide)，TNF α (tumor necrosis factor- α)，NO (nitric oxide)，endotoxemia。

Beneficial Effects of Tetramethylpyrazine, an Active Constituent of Chinese Herbs, on Rats with Endotoxemia

Mao-Hsiung Yen

National Defense Medical Center

ABSTRACT

Tetramethylpyrazine, an inhibitor of phosphodiesterase, has been widely used for treatment of cardiovascular diseases in China. Here, we investigate the effects of tetramethylpyrazine on hypotension, vascular hyporeactivity to norepinephrine (NE), release of tumor necrosis factor- α and (TNF- α) and nitric oxide (NO) in a rat model of circulatory shock induced by bacterial endotoxin (*E. coli* lipopolysaccharide, LPS). Male Wistar-Kyoto rats were anesthetized and instrumented for the measurement of mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR). Injection of LPS (10 mg/kg, i.v.) resulted in fall in MAP and an increase of HR. In contrast, animals pretreated with tetramethylpyrazine (10 μ g/kg, i.p. at 30 min prior to LPS) maintained a significantly higher MAP, but tachycardia was further enhanced at 60 min and 120 min when compared to rats given only LPS (LPS-rats). The presser effect of NE (1 μ g/kg, i.v.) was also significantly reduced after treatment of rats with LPS. Similarly, the thoracic aorta obtained from rats after in vivo studies showed a significant reduction in the contractile responses elicited by NE (1 μ M). Pretreatment of LPS-rats with tetramethylpyrazine partially, but significantly, prevented this LPS-induced hyporeactivity to NE in vivo and ex vivo. The injection of LPS resulted in a

significant increase in the plasma TNF α level at 60 min, whereas the effect of LPS on the plasma nitrate (an indicator of NO formation) level increased in a time-dependent manner. This increment of both TNF α and nitrate levels induced by LPS was significantly reduced in LPS-rats pretreated with tetramethylpyrazine. The early hypotension caused by LPS was slightly, but significantly, prevented by pretreatment with tetramethylpyrazine, suggesting that tetramethylpyrazine affects the endothelial constitutive NOS (eNOS). This was examined by the effect of tetramethylpyrazine on acetylcholine (ACh, 1 μ M)-induced relaxation in rats treated with tetramethylpyrazine for 4 h. However, tetramethylpyrazine had no significant effects on the ACh-induced relaxation, indicating that tetramethylpyrazine does not affect the activity of eNOS. Thus, tetramethylpyrazine attenuates the early hypotension and the delayed circulatory failure caused by endotoxin in the rat. These effects may be due to inhibition of the release of circulation factors and TNF α , and suppression of neutrophil migration.

Key Words: tetramethylpyrazine; tumor necrosis factor- α ; nitric oxide; lipopolysaccharide; endotoxemia.

以上內文 (14 號字)

壹、前言

Tetramethylpyrazine (TMP)，一種中藥川芎根分離之主成份，前人研究顯示：TMP 可抑制 phosphodiesterase¹。此外，TMP 也發現來自非洲 *Jatropha podagrica* Hood，曾報告具抗菌作用。然 TMP 於中國大陸廣泛用於治療心絞痛及腦中風^{2 3}。此外，藥理研究發現具有以下幾種作用：(1) 減少動脈阻力及增加冠狀及腦血流^{4 5}；(2) 體內與體外實驗具抑制血小板功能³；(3) 改善微循環⁴；(4) 減少毛細血管之通透性⁶。本實驗室首先證明 TMP 可增加細胞內 c-AMP 及阻斷鈣自內質網釋放，相似作用機轉也曾在血小板發現¹⁷。

革蘭氏陰性菌引起敗血症之症狀如：發燒、腹瀉及低血壓對血管收縮劑之低血管反應性、心臟功能失常、器官血流分佈不全及嚴重產生瀰漫性血管內血液凝固，最後產生敗血性休克^{8 9}。死細菌引起急性病理生理作用它的主要成份是 LPS 由於它具毒作用簡稱內毒素。實驗性內毒素毒血症是一種敗血症之實驗模式並廣用於實驗動物。一般觀念認為 LPS 作用主要透過內生性介質，這些介質主要產自單核球噬食細胞¹⁰，這些介質目前已知如 TNF α 和 IL 等對內毒素作用特別重要¹¹，因它可誘發敗血性休克，應用 TNF α 之抗血清或抗體具有減輕 TNF α 引起死亡，及改善 sepsis 或內毒素引起血流動力之功能^{12 13}。本論文所應用內毒素模式曾被證明 LPS 具引發延遲性低血壓，此低血壓主要歸因於 NO 之過量產生，因而導致血管擴張所致^{14 15}。

有關 TNF α 與 NO 產生之間相互關係，Kosaka 等 1992 發現全身服用 TNF α 能促使 NO 產生增加¹⁶，同時增強血管舒張作用¹⁷，且引起血管對收縮劑產生低血管反應性^{18,19}。除 TNF α 外許多細胞素 (cytokines) 也曾證明可誘發 iNOS 表現在實驗性內毒素休克之模式^{15,20}。

在許多研究發現，凡能增加細胞內 c-AMP 之藥物 (如：adenosine²¹、PGE^{22,23}、PGI₂^{24,25}、phosphodiesterase inhibitors^{26,27})，均能抑制噬吞細胞及小白鼠對 TNF α 產生²⁸。phosphodiesterase 抑制劑可協同增強同時增加細胞內 c-AMP 藥物^{26,27}。pentoxifylline，一種 phosphodiesterase 抑制劑曾被證明不論人、活體動物或體外實驗具有抑制 TNF α ^{28,29}之釋放。

本研究為證明 TMP，一種 phosphodiesterase 抑制劑是否能抑制 LPS 誘發 TNF α 釋放進而改善循環衰竭及血管低反應性，研究結果認為 TMP 確實可改善內毒素引起之心臟血管功能，並以已知會明顯增加細胞內 cAMP 藥物：terbutaline 做 positive control。

貳、材料與方法

一、內毒素休克

雄性 Wistar-Kyoto 大鼠 (230-300 克) 購自國家動物中心。大鼠經腹腔注射 urethane (1.2 g/kg)。作支氣管插管以維持呼吸通暢並以電毯維持 37 °C，在頸動脈插管連接於壓力轉能器 (P23ID, Statham, Oxnard,

LA, U.S.A.) 測量動脈、平均血壓 (mean arterial blood pressure; M.A.P.) 及心跳 (heart rate; H.R.)，最後以 Goud In., Valley View, Ohio, U.S.A.，左頸靜脈插管作藥物服用。當外科手術完成。心血管指標穩定 20-30 分鐘才開始正式實驗。當血壓穩定後，分別注射 saline、TMP (10 mg/kg, i.v.) 或 terbutaline (0.3 mg/kg, i.v.)，在注射後 30 分鐘動物接受 saline 或 LPS (10 mg/kg, i.v.) 並偵測血壓及心跳達 6 小時。NE (1 µg/kg, i.v.) 之升壓反應於注射 LPS 前及注射 LPS 後每小時測試一次，直至 6 小時實驗完畢。同時每小時抽血 0.5 ml，分別定量 TNF α 及 nitrate (NO 生成指標)。每抽血 1 次，回補等體積 saline 以維持血量。

二、離體血管實驗

TMP 治療與未治療組於注射 LPS 後 6 小時，將動物犧牲，剪取主動脈作離體血管收縮與舒張反應。胸主動脈去除內皮，並以 ACh test 作為去內皮完整之指標。先以 NE (1 µM) 收縮血管，隨後加入 ACh (1 µM)，當舒張消失表示內皮去除完整，血管泡置於含 20 ml 之 Krebs 溶液，溶液成份 (mM) 表示：NaCl 118、KCl 4.7、KH₂PO₄ 1.2、MgCl₂ 1.2、CaCl₂ 2.5、NaHCO₃ 25 and glucose 11。實驗中加入 indomethacin (5.6 µM) 以去除 PGI₂ 作用。血管收縮舒張以 Grass FT 03 轉能器 (Grass Instrument Quincy, MA, U.S.A.) 連至 MacLab 記錄及分析系統 (AD Instruments Pty Ltd., Castle Hill, Australia) 記錄。血管以被動張力 2 gm

平衡 60-90 分，以 Kreb's solution 每 15 分鐘清洗一次。本實驗以 NE (1 μ M) 作為預前收縮劑。

為了測定 TMP 是否影響 eNOS 觀察，TMP 預處理 4 小時，取主動脈對 1 μ M ACh 之舒張反應。

三、TNF α 與 Nitrate 測定

注射 LPS 後，分別於 0、60、120、180 及 240 分中採血 0.5 ml 以測定 TNF α 與 nitrate 變化。將血於 7,200 gm 離心 3 分鐘取血漿分別以 Elisa kit (Genzyme Co., Cambridge, MA, U.S.A.) 及化學冷光儀測定 TNF α (siewers 280 NOA, Sievers INC., Boulder, CO, U.S.A.)。nitrate 濃度由標準曲線計算。

四、Neutrophil Chemotaxis

嗜中性球趨向活性是應用改良 Boyden Chamber 技術^{30 31}。Bodyden Chamber 底部加有 100 μ l 刺激劑 (25 μ M fMLP)，並以不含 PVP 膜 (5 μ m poresize, 140 μ m thickness) (neuro probe, U.S.A.) 將其浸泡於鈣 (1 mM)、鎂 (0.5 mM) 及 0.05 % 血清之生理食鹽水，以每毫升 2.5×10^5 細胞濃度懸浮液 200 μ l 加入 chamber 並預先處理 TMP 5、20、50 μ M 5 分鐘。培育於 37 $^{\circ}$ C 45 分鐘，移去過濾紙，固定並以 hemacolor 染色 (Merk, U.S.A.)。計算細胞停留於 Chamber 底部五個不同部位數目。資料以 fMLP 引發之轉移細胞總數相比之百分數表示。

五、材料

Acetylcholine chloride, bacterial lipopolysaccharide (*E. coli* serotype 0127:B8), terbutaline, norepinephrine bitartrate, N^w-nitro-L-arginine methylester, sod. nitrate and urethane 購自 sigma chemical company。

(Milwaukee, WI, U.S.A.)，所有溶液均以生理食鹽水或蒸餾水調配除 VCl₃ 外溶於 1N HCl，TMP 溶於 37 °C saline 或蒸餾水。

參、結果

一、TMP 改善 LPS 誘發心血管變化

未給 LPS 前，以 saline 與 TMP 預處理組之 MAP 與 H.R 並無統計差別 (Fig. 1)。經靜脈給予 LPS (10 mg/kg) 後，血壓於 15 分鐘左右顯著下降，於 60 分鐘左右回升至給 LPS 前的血壓值，於 2 小時左右血壓開始明顯下降，於 6 小時實驗完畢降至 80±4 mmHg，明顯低於 saline 組。Fig. 1b 表示 LPS 組心跳明顯上升。TMP 預處理組 (10 mg/kg, i.v.) TMP 本身對血壓並無改變。然而 TMP 具改善 LPS 引發早期與晚期低血壓，且 60 分鐘 TMP 更增加血壓，至於對 H.R 不但不改善反而增加心跳 (Fig. 1b)。預處理 terbutaline 組之血壓心跳變化類似 TMP 組，但心跳增加現象不如 TMP 組明顯。

二、TMP 改善活體與離體血管對 NE 低反應性

當注射 LPS 後 NE 之升壓反應隨 LPS 注射後呈時間依賴性之降低

(Fig. 2a)，至於對照組 NE 升壓反應並不會隨時間改變而改變。同時離體實驗也顯示，取自 LPS 處理組 6 小時之主動脈血管對 NE 反應顯著低於對照組 (Fig. 2b)，此外，TMP 及 terbutaline 治療組 NE 之升壓反應與血管低反應性顯著改善 (Fig. 2)。

三、 TMP 降低 LPS 引發血中 TNF α 上升

實驗動物各組其基礎 TNF α 含量並無改變，當注射 LPS 顯著於 1 小時增加血中 TNF α 含量 (Fig. 3)。而在假手術組並未見 TNF α 改變。亦即手術本身不會影響 TNF α 含量變化，至於預處理 TMP 及 terbutaline，血中 TNF α 含量顯著受抑制 (Fig. 3)。

四、 TMP 降低 LPS 引發血中 nitrate 增加現象

各組動物基礎 nitrate 含量並無差別。當注射 LPS 血中 nitrate 含量隨時間延長而增加，較未注射 LPS 前增加 22 倍 (Fig. 4)，假手術組血中 nitrate 含量也無影響。至於 TMP 及 terbutaline 預處理組血中 nitrate 含量顯著下降 (Fig. 4)。

五、 TMP 對 ACh 引起血管舒張反應影響

TMP 及 terbutaline 預處理 4 小時組對 ACh 引起舒血管反應與對照組並無差別 (Fig. 5)。

六、 嗜中性球化學趨向性 (neutrophil chemotaxis)

利用不含 polyvinylpyrrolidone 之 Boyden chamber 生物檢測評估

TMP 對 fMLP 引發嗜中性球之趨向性之影響。結果顯示 TMP (5、20、及 50 μ M) 具抑制 fMLP 引發嗜中性球之趨向性且成濃度相關性 (Fig. 6)。更且 TMP 在濃度達 50 μ M 可完全抑制其趨向性。

七、統計

所有圖與表均以 mean \pm S.E.M. 表示，n 代表動物數或血管數，資料先以 ANOVA 分析，並以 Scheffe's test 作事後比較。p < 0.05 表示具統計意義。

肆、討論

本研究結果顯示，TMP 防止 LPS 誘發早期與延遲性低血壓、增強心跳、改善血管對 NE 收縮反應、減少血中 TNF α 與抑制 nitrate 之生成。因此 TMP，一種 phosphodiesterase inhibitor 具改善動物之內毒素毒血症。同時由此實驗結果更加支持認為凡能增加細胞內 c-AMP 之藥物均可抑制 TNF α 釋放。

注射 LPS 至動物可模擬敗血性休克引起心臟血管功能改變許多特徵-包括低血壓、低血管反應性亦即對 NE 縮血管作用消失，這可能是高死亡率致病因。因此認為作為研究敗血性休克適當模式。最近研究顯示內毒素毒血症與 NO 過量產生有關，其理由是 Wang, 1991 與 Kosaka, 1992 曾發現利用電子平行磁場共振測定大白鼠與小白鼠血中 nitrosylated 血紅蛋白含量隨內毒素引起休克之時呈增加。本實驗也發現注射 LPS 後大鼠血中 nitrate (NO

形成指標) 顯著隨 LPS 注射時呈增加。此增加 NO 生成即是 LPS 引起敗血性休克重要病因。此結果與以往文獻許多報告相符，同時大量 NO 生成也可能是導致血管收縮 (如: NE, phenylephrine 及鈣離子) 反應變差重要原因之一。此外，不論活體或離體注射或給予非選擇性 NOS 抑制劑，均能改善血管低反應性。上述發現也在本實驗證實: (1) 血中 nitrate 過量產生; (2) 內毒素毒血症時不論活體或離體均引起低 NE 血管反應性。此外，本實驗也證實毒血症血中 TNF α 含量大量增加。

TMP，本實驗室證明是屬於一種 phosphodiesterase 抑制劑，在中國大陸曾廣用於治療心絞痛與腦缺血患者。TMP 具治療上述症狀，認為與其具有抗血小板凝集作用機轉為抑制細胞內鈣動用及增加細胞內 c-AMP 有關。本實驗證實預處理 TMP 確實具改善敗血性休克及改善血管對收縮劑低反應性，此作用可能經由其可抑制 TNF α 及 NO 釋放所致。Zabel 等曾發現增加細胞內 c-AMP 抑制 TNF α 釋放。另外，最近 Park 於 1995 及 Wn 於 1997 曾發現 iNOS 表現需鈣離子當增加細胞內 c-AMP 導致細胞內鈣離子減少，因而降低 iNOS 表現，最後減少 NO 生成。本實驗 TMP 具有增加細胞內 c-AMP 及減少細胞內鈣離子，上述可能是其改善內毒素毒血症之可能作用機轉。Bulut et. al., 1993 發現長久增加 macrophage 細胞內 c-AMP 可抑制 iNOS 表現，本實驗 TMP 可持續增加細胞內 c-AMP 與上述結果相致。

此外，TMP 也可能抑制 PAF 釋放，因從我們結果發現 TMP 可改善 LPS

誘導之早期低血壓，目前已知 LPS 引起此低血壓原因可能與 NO 釋放及刺激內皮釋放 PAF、Nistain 或 BK 等。然從實驗結果發現 TMP 不影響 ACh 舒血管作用此證明 TMP 不影響 NO 釋放。因此本實驗有待進一步探討 TMP 對其它循環因子如：PAF 釋放影響。Moncada 與 Nathan 均曾發現 cytokines 與 PAF 兩者具有協同 iNOS 表現作用，更值得進一步探討。

從分子層面觀之，TMP 可能影響訊息傳遞導致以影響 iNOS 表現。例如活化 NF κ B 可促使 iNOS 表現。最近研究顯示 dibutyl-CAMP 可興奮而非抑制 NF κ B 活性，在人類 myeloid cells。因此，TMP 抑制 iNOS 表現似乎與 NF κ B 無關。

伍、 結論與建議

一、 結論

TMP 可防止 LPS 誘發 TNF α 釋放之可能機轉，可能與其增加細胞內 c-AMP 有關，至於 TMP 抑制 iNOS 表現至少部份機轉是 TMP 減少內質網釋放鈣。最近更有實驗報告 c-AMP phosphodiesterase 抑制劑可抑制 cytokines，如 IL-2 釋放，同時，TMP 抑制 PAF 釋放也可能是 TMP 之治療之作用機轉。

二、 建議

繳交報告時間能延後執行，如此才有充分實驗執行較完整實驗成果。

陸、 參考文獻

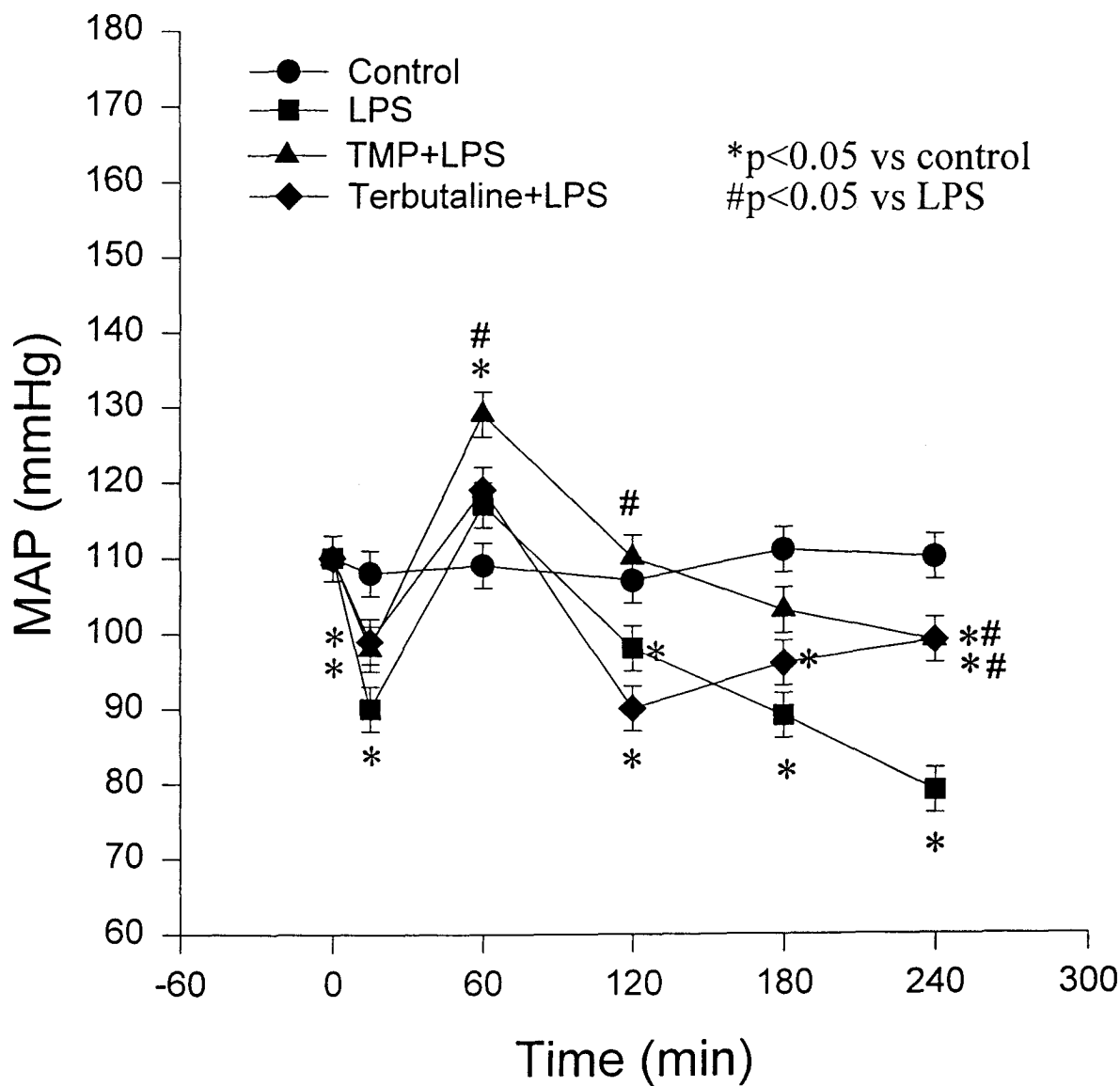
1. Wu, C.C., Chiou, W.F. and Yen, M.H. A possible mechanism of action and tetramethylpyrazine on vascular smooth muscle in rat aorta. *Eur. J. Pharmacol.*, 1989, 169:189-195.
2. Lu, C.S., Yin, M.H., Hung, Y.H., Pao, C. and Sung, C.F. Radix salviae miltorrhizae and Rhizoma ligustici wallichii in coronary heart disease. *Chin. Med. J.*, 1978, 4:43-46.
3. Lui Choung, Z.E. Simplified review of the effects of Chinese medical herbals on the cardiovascular system (original in Chinese). *Clin. Med. Res.*, 1978, 4:24-37.
4. Dai, X.Z. and Bache, R.J. Coronary and systemic haemodynamic effect of tetramethylpyrazine in the dog. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1985, 7:841-849.
5. Feng, M.G., Feng, G.H. and Zhou, Q.G. Effects of methylhesperidin on coronary, renal and cerebral circulation in dogs (original in Chinese). *Acta Pharmacol. Sinica*, 1988, 9:548-550.
6. Tuttle, R.S., Marmelstein, L., Trad, T., Reddy, S. and Radley, T. *In vitro* uterine response to tetramethylpyrazine, the active constituent of chung chong (a traditional Chinese medicine). *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1989, 161:1319-1323.
7. Liu, S.Y. and Sylvester, D.M. Antithrombotic/antiplatelet activity of tetramethylpyrazine. *Thromb. Res.*, 1990, 58:129-140.
8. Altura, B.M., Lefer, A.M. and Schumer, W. ed. *Handbook of Shock and Trauma*, 1983, Vol. 1: *Basic Science*. New York: Raven Press.
9. Parker, M.M., Shelhamer, J.H., Natason, C., Alling, D. and Parillo, J.E. Serial haemodynamic patterns in survivors and nonsurvivors of septic shock in humans. *Crit. Care Med.*, 1987, 15:923-929.

10. Nathan, C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J.*, 1992, 6:3051-3064.
11. Tracey, K.J. and Cerami, A. Tumour necrosis factor, other cytokines and disease. *Annu. Rev. Cell Biol.*, 1993, 9:317-343.
12. Beutler, B. and Cerami, A. The biology of cachectin/TNF α : primary mediator of the host response. *Ann. Rev. Immunol.*, 1989, 7:625-655.
13. Thiemermann, C., Wu, C.C., Szabo, C., Perretti, M. and Vane, J.R. Role of tumor necrosis factor in the induction of nitric oxide synthase in a rat model of endotoxin shock. *Br. J. Pharmacol.*, 1993, 110:177-182.
14. Stoclet, J.C., Fleming, I., Gray, G., Julou-Schaeffer, G., Schneider, F., Schott, C., Schott, C. and Parratt, J.R. Nitric oxide and endotoxemia. *Circulation*, 1993, 87(suppl V):V77-V80.
15. Thiemermann, C. The role of the L-arginine: nitric oxide pathway in circulatory shock. *Adv. Pharmacol.*, 1994, 28: 45-79.
16. Kosaka, H., Harada, N., Watanabe, M., Yoshihara, H., Katsuki, Y. and Shiga, T. Synergistic stimulation of nitric oxide hemoglobin production in rats by recombinant interleukin-1 and tumor necrosis factor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1992a, 189:392-397.
17. Kilbourn, R.G., Jubran, A., Gross, S.S., Griffith, O.W., Levi, R., Adams, J. and Lodato, R.F. Reversal of endotoxin-mediated shock by N^G-monomethyl-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1990b, 172:1132-1138.
18. Vicut, E. and Baudry, N. Nitric oxide and tumor necrosis factor in terminal arterioles of rat skeletal muscle. In: *The Biology of Nitric Oxide*, pp. 1992, 216-218.

19. Takahashi, K., Ando, K., Ono, A., Shimosawa, T., Ogata, E. and Fujita, T. Tumor necrosis factor- α induces vascular hyporesponsiveness in Sprague-Dawley rats. *Life Sci.*, 1992, 50:1437-1444.
20. Moncada, S., Palmer, R.M.J. and Higgs, E.A. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Rev.*, 1991, 43:109-142.
21. Parmely, M.J., Zhou, W., Edwards, C.K., Borchering, D.R., Silverstein, R. and Morrison, D.C. Adenosine and related carbocyclic nucleotide analogue selectively inhibit tumour necrosis factor- α production and protect mice against endotoxin challenge. *J. Immunol.*, 1993, 151:389-396.
22. Kark, U., Peters, T. and Decker, K. The release of tumour necrosis factor from endotoxin-stimulated rat Kupffer cells is regulated by prostaglandin E_2 and dexamethasone. *J. Hepatol.*, 1988, 7:352-361.
23. Endres, S., Fulle, H.J., Sinha, B., Stoll, D., Dinarello, C.A., Gerzer, R. and Weber, P.C. Cyclic nucleotides differentially regulate the synthesis of tumour necrosis factor- α and interleukin-1- β by human mononuclear cells. *Immunology*, 1991, 72:56-60.
24. Crutchely, D.J., Conanan, L.B. and Que, B.G. Effects of prostacyclin analogs on the synthesis of tissue factor, tumour necrosis factor- α and interleukin-1 β in human monocytic THP-1 cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1994, 271:446-451.
25. Sinha, B., Semmler, J., Eisenhut, T., Eigler, A and Endres, S. Enhanced tumour necrosis factor suppression and cyclic adenosine monophosphate accumulation by combination of phosphodiesterase inhibitors and prostanoids. *Eur. J. Immunol.*, 1995, 25:147-153.
26. Fischer, W., Schudt, C. and Wendel, A. Protection by phosphodiesterase

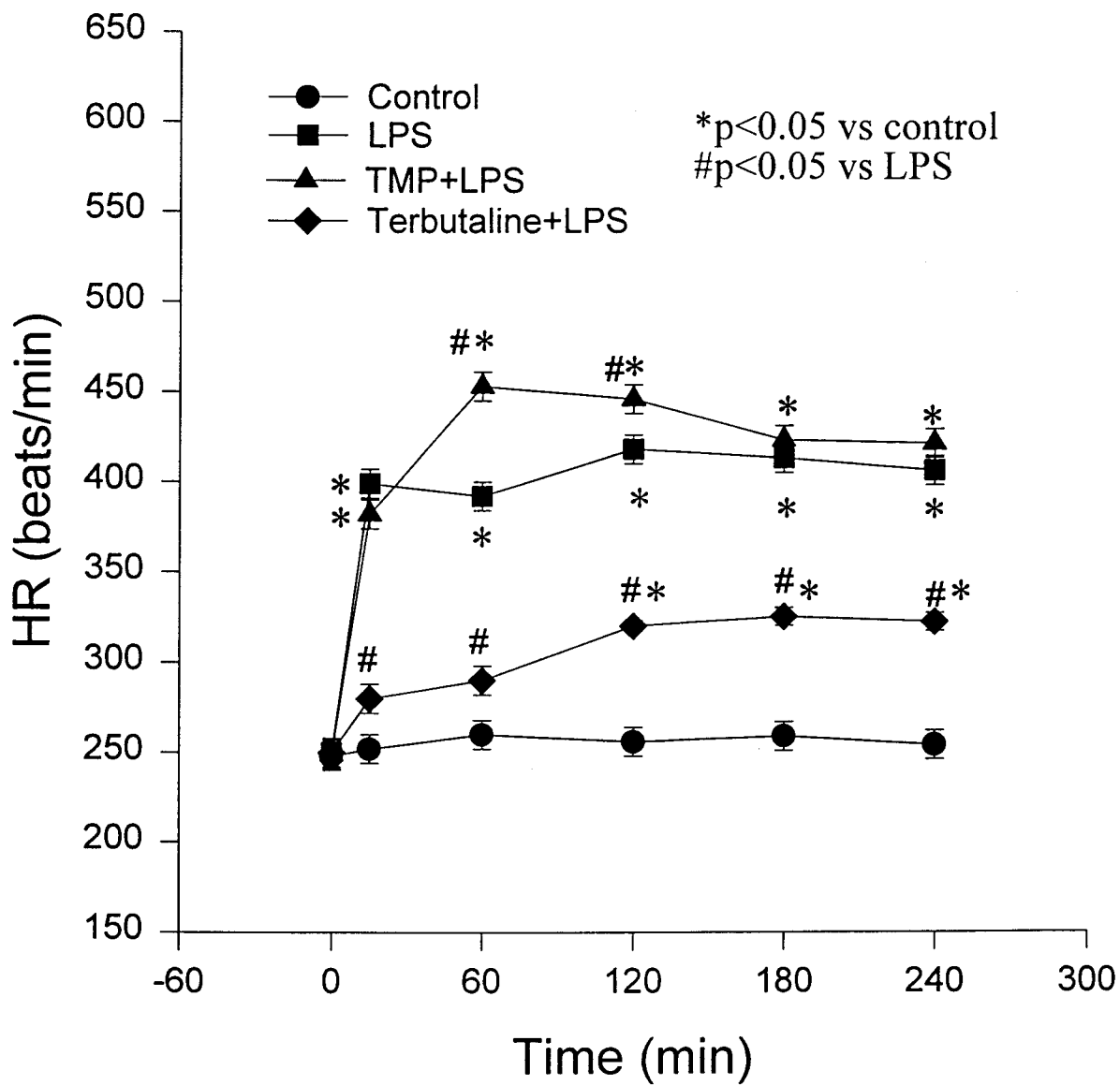
- inhibitors against endotoxin-induced liver injury in galactosamine-sensitized mice. *Biochem. Pharmacol.*, 1993, 45:2399-2404.
27. Reinstein, L.J., Lichtman, S.N., Currin, R.T., Wang, J., Thruman, R.G. and Lemasters, J.J. Suppression of lipopolysaccharide-stimulated release of tumour necrosis factor by adenosin: Evidence for A₂ receptors on rat Kupffer cells. *Hepatology*, 1994, 19:1445-1452.
 28. Zabel, P., Wolter, D.T., Schonharting, M.M. and Schade, U.F. Oxpentifylline in endotoxemia. *Lancet*, 1989, 334:1474-1477.
 29. Dezube, B.J., Sherman, M.L. Fridovich-Keil, J.L., Allen-Ryan, J. and Pardee, A.B. Down-regulation of tumour necrosis factor expression by pentoxifylline in cancer patients: A pilot study. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1993, 36:57-60.
 30. Falk, W., Gookwin, R.H., JR. and Leonard, E.J., A 48-well micro chemotaxis assembly for rapid and accurate measurement of leukocyte migration. *J. Immunol. Methods*, 1980, 33:239-247.
 31. Sehmi, R., Wardlaw, A.J., Cromwell, O., Kurihara, K., Waltmann, P. and Kay, A.B. Interleukin-5 delectively enhances the chemotactic response of eosinophils obtained from normal but not eosinophilic subjects. *Blood*, 1992, 79:2952-2959.

Fig.1a



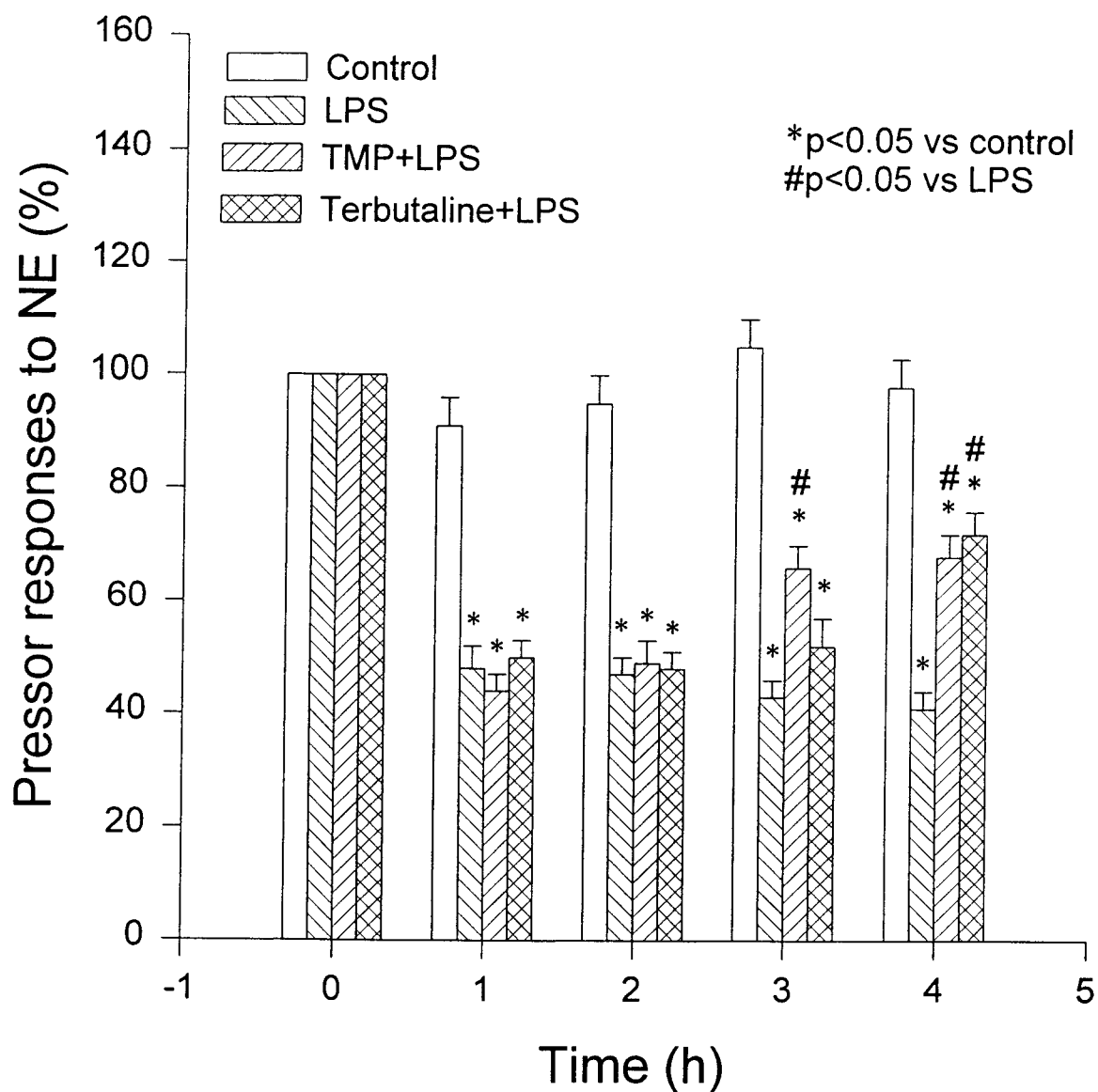
TMP 及 terbutaline 對麻醉鼠經靜脈注射每公斤五毫克內毒素誘發低血壓之影響。MAP 指平均動脈壓。資料以平均值 ± 標準誤 (mean ± standard error; SE) 表示；N 值等於 8。

Fig.1b



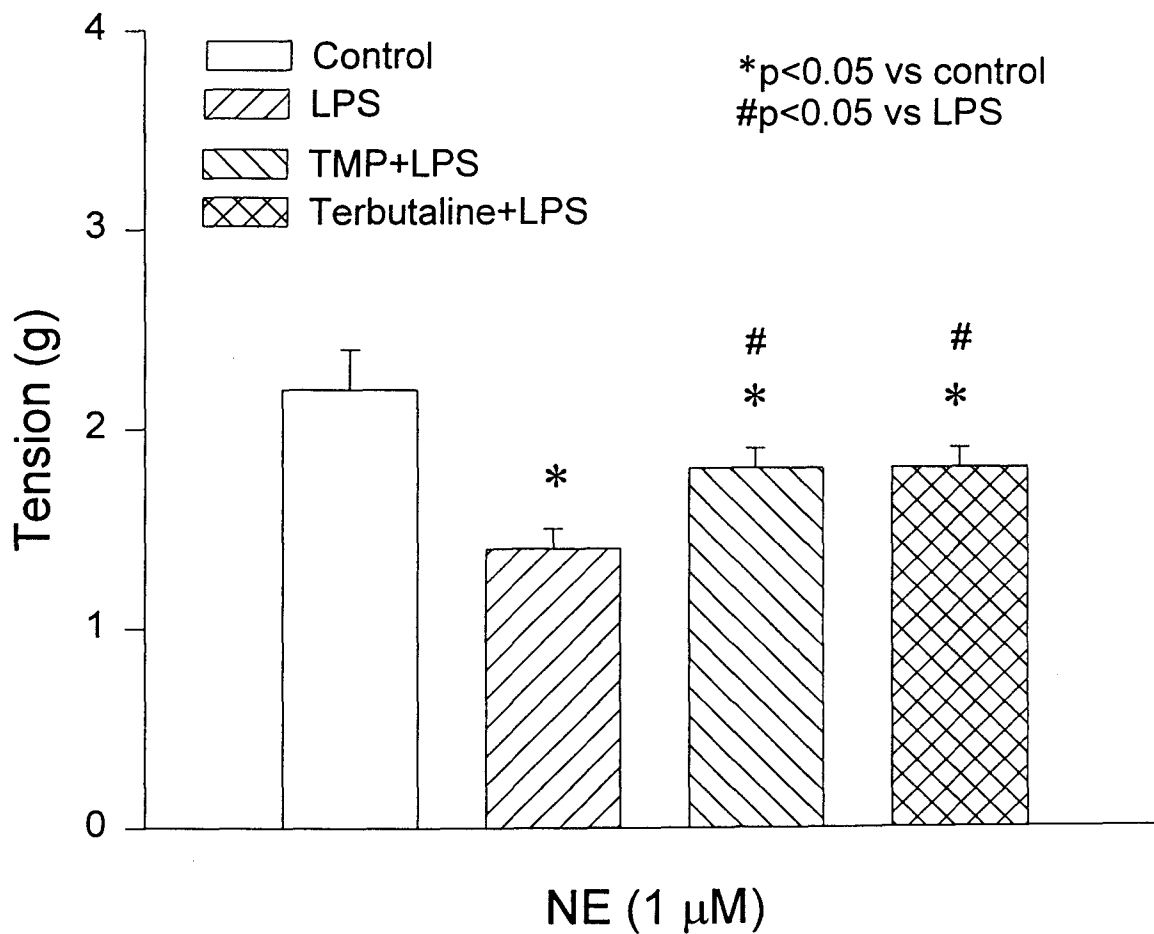
TMP 及 terbutaline 對麻醉鼠經靜脈注射每公斤五毫克內毒素引起心搏過速之影響。HR 指心跳。資料以平均值 ± 標準誤 (mean ± standard error; SE) 表示；N 值等於 8。

Fig. 2a



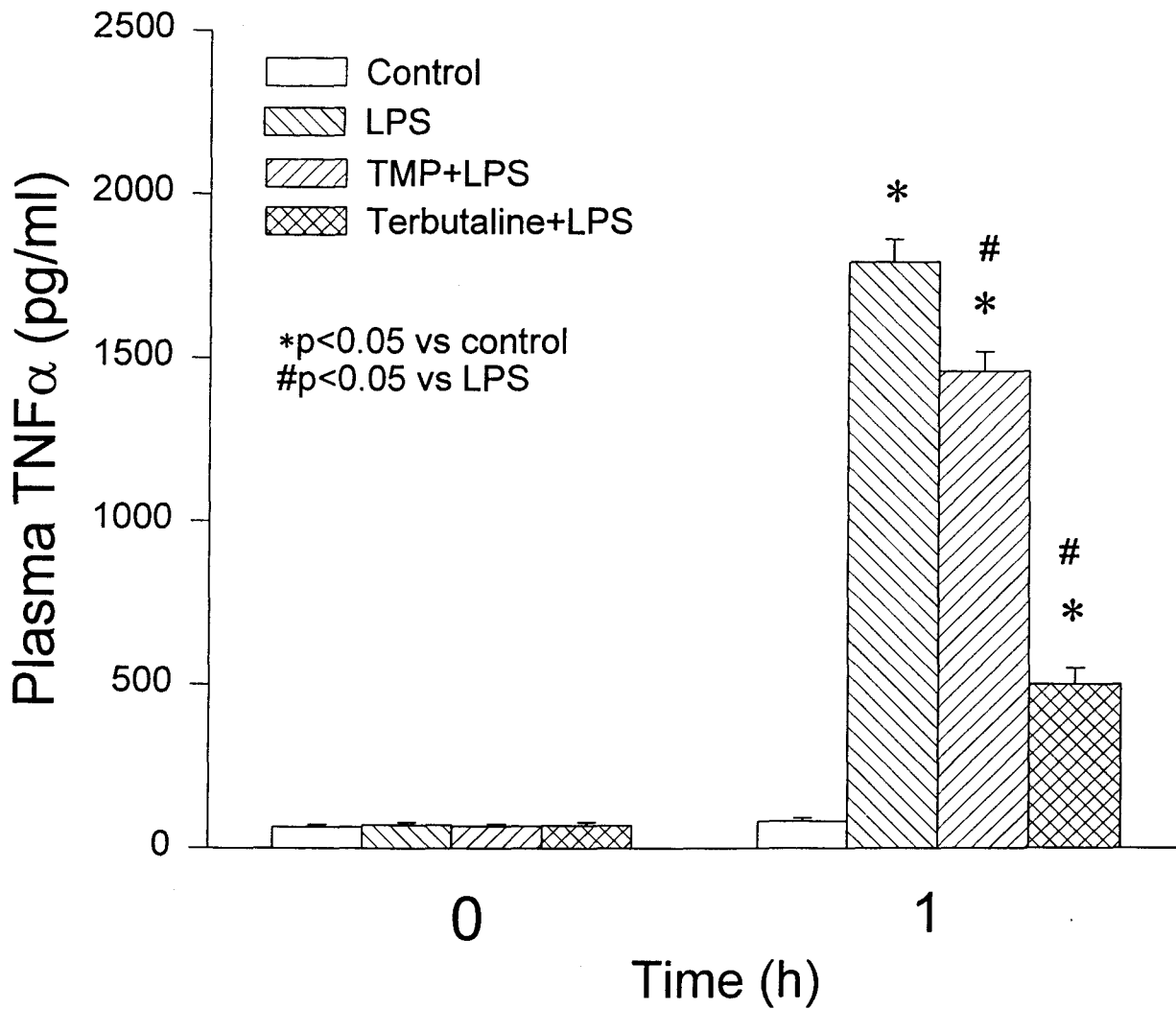
比較靜脈注射 norepinephrine (NE; 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 在對照組，內毒素組，
TMP 或 terbutaline 治療組不同時程之升壓反應 (以百分比表示)。資
料以平均值 \pm 標準誤 (mean \pm standard error; SE) 表示；N 值等於
8。

Fig. 2b



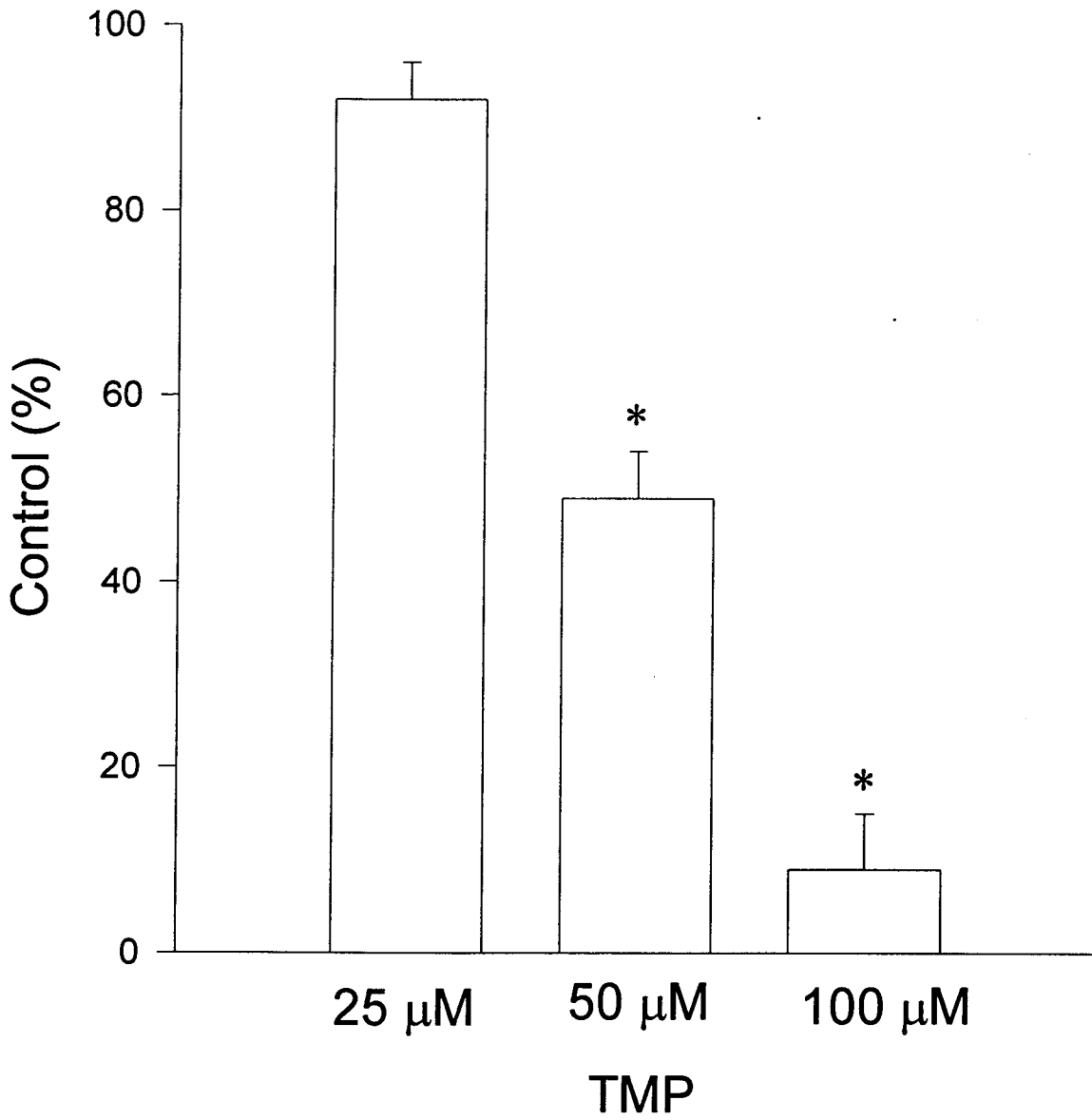
NE (norepinephrine) 在對照組、內毒素組、TMP 或 terbutaline 治療組離體主動脈血管環之收縮張力。資料以平均值 ± 標準誤 (mean ± standard error; SE) 表示；N 值等於 8。

Fig. 3



比較血漿中 TNF α 在對照組，內毒素組，TMP 或 terbutaline 治療組之濃度變化。資料以平均值 \pm 標準誤 (mean \pm standard error; SE) 表示；N 值等於 8。

Fig.6



觀察 TMP 對以 fMP 刺激中性球在人工細胞膜轉移之影響。