中醫藥委員會

中醫藥年報

第十四期第一冊



行政院衛生署中醫藥委員會編印
中華民國八十五年五月出版

中醫藥委員會

中醫藥年報

第十四期第一冊

行政院衛生署中醫藥委員會編印
中華民國八十五年五月出版

序

目前科技雖然發達，但現階段對生命科學的認識仍然有限，因此在持續現代醫學研究之餘，加強中醫藥的研究發展是現階段醫學研究的重心，期望透過研究，充分理解及發揮幾千年來先賢在醫藥方面所累積的許多寶貴經驗與傳承。

中醫中藥是我國傳統文化中的瑰寶，政府向極重視，早期於內政部衛生司就設有中醫藥委員會之諮詢單位，民國六十年行政院衛生署成立後，中醫藥委員會仍負責中醫藥有關之諮詢業務。由於各界對中醫中藥的日益重視，民國七十六年七月二十九日修正「行政院衛生署組織法」第十七條，明訂中醫藥委員會掌理中醫中藥各項行政事務，而依此規定所研擬之「行政院衛生署中醫藥委員會組織條例」草案，則於民國七十六年十一月二十一日送請立法院審議。在中醫藥界之敦促與關心中醫、中藥之立法委員大力支持下，於民國八十三年十二月十五日經立法院三讀通過，同年十二月三十日由總統公布實施。歷經十個月的籌備，八十四年十一月一日正式成立行政院衛生署中醫藥委員會，成為行政院衛生署所屬之獨立機關。

加強中醫藥的研究發展，是行政院衛生署的重要業務之一，因此衛生署近年來每年均寬籌經費來進行中醫藥研究，七十八年度研究經費約為一千萬元，進行二十四項研究，七十九年度進行三十項研究，八十年度進行六十九項研究，八十一年度進行六十六項研究，而研究預算逐漸增加至八十二年度之四千七百餘萬元，進行七十四項研究，近年來研究預算緊縮為三千餘萬元，不過八十三年度仍進行了六十四項研究，八十四年度則進行了六十一項研究計畫。至於所進行之中醫藥研究計畫，其研究成果輪流在中國醫藥學院、台北醫學院、高雄醫學院舉辦研究成果發表會，使國人瞭解國內中醫藥研究發展情形，同時也提供國內中醫藥從業人員繼續教育、吸收新知識的機會。每年的

研究成果也均刊載於行政院衛生署中醫藥年報，以提供國內外學者專家之參考，自民國七十年出版年報第一期，迄今已出版至第十一期，由於去年籌備本會的成立，人少事繁，致八十二及八十三年度的成果報告未能及時出版，而於今年併同八十四年度的成果報告，同時出版年報第十二、十三、十四期，未來每年將能配合年度研究成果報告定期出版年報一期，以提供各界之參考。

新成立的中醫藥委員會設有中醫組、中藥組、研究發展組及資訊典籍組四個組，在中醫組的業務，未來將加強與中醫界的連繫與溝通，輔導進行中醫師繼續教育，提昇中醫醫療服務的水準；在中藥組的業務方面，則將加強中藥藥品查驗與管理，中藥廠的輔導與獎勵，以提升中藥製藥工業水準，促進中藥科學化；在研究發展組方面，未來將加強中醫藥與針灸的基礎與臨床的研究，加強中醫診斷儀器的開發，配合野生動物保育進行有關保育類動物性中藥材代用品的研究。以往中醫藥的研究發展，係以鼓勵學術界進行中醫藥研究為導向，民國七十七年以前，每年進行不到七項的研究，近年來每年申請中醫藥研究計畫者約有一百二十項，同意委託辦理約六、七十項，足見從事中醫藥研究者確實大輻增加；由於國人十大死因中的心臟疾病、糖尿病、高血壓性疾病及氣喘等疾病，現代醫學目前並無治癒的適當療法，因此未來中醫藥的研究將以這些疾病為導向進行研究，希望中醫藥的研究能在慢性疾病方面有進一步的貢獻；資訊典籍組主要業務係由中醫藥典籍的電腦化，建立中醫藥典籍查詢系統，屆時醫藥學界的使用者，藉著電腦連線作業，即可順利查詢到所需要的中醫藥相關資料；期望未來在本會四個組的配合下，使中醫藥行政與研究能密切配合，加速中醫的現代化與中藥的科學化，爰為序

主任委員　蘇貫中　謹誌

中華民國八十五年五月一日

中醫藥年報第十四期第一冊

目　　錄

1. 傳統中藥導引白血病細胞株在體外進行程序死亡作用之研究(Ⅰ)……陳博明…… 1
2. 中藥薑黃素延長移植心臟存活期的研究……王水深…… 23
3. 瘀血症患者之血清SOD活性及過氧化脂質之研究 ……陳明豐…… 37
4. 精密陶瓷半導體對於實驗動物鎮痛機轉之研究……蔡輝彥…… 51
5. 中醫治療單純疱疹之研究(Ⅲ)……鍾楚紅…… 69
6. 針刺鎮痛之分子生物學機轉研究……孫維仁…… 107
7. 中藥方劑對於單核球所分泌細胞激素的作用……張建國…… 133
8. 補氣健脾藥對黏膜免疫系統之影響(Ⅰ)四君子湯……曾哲明…… 141
9. 常用抗心律不整與活血化瘀藥對心律不整和高血脂疾病臨床治療藥效之研究(Ⅲ)……賴文德…… 185
10. 台產延胡索抗血栓藥物研究……林勝豐…… 225
11. 天灸及其修改灸法抗腫瘤效應及其作用機轉之研究(Ⅰ)……郝道猛…… 237
12. 土鱉蟲對骨折癒合效果的研究……王天美…… 271
13. 男性口服避孕藥（雷公藤）的藥物純化、作用機轉的臨床試用的初步試驗……江漢聲…… 287
14. 當歸拈痛湯對乙型第一介白質及甲型腫瘤壞死因子之訊息核醣核酸之影響……劉宏文…… 307
15. 陰虛病人血液中微量元之研究(Ⅱ)……宋茂林…… 321
16. 針刺麻醉大白鼠足之皮膚溫度反應機轉與穴道定位之研究……吳振華…… 345
17. 中藥對不孕及生殖影響之研究(Ⅲ)……曾啓瑞…… 377
18. 電針體穴刺激對激烈運動前後生理反應影響之研究……林正常…… 385

19. 以血海穴穴位處皮下注射鍀-99m過鍀酸鹽下腔
靜脈顯影術觀察下腔靜脈疾病……吳重慶…… 425
20. 傳統中醫辨證論治治療過敏性鼻炎臨床探討……吳振龍…… 437
21. 中醫藥治療支氣管哮喘之評估(Ⅶ)……高尙德…… 455
22. 中西醫治療骨折的動物實驗差異性評估
—以家兔脛骨骨折後之固定方式探討……謝銘勳…… 465
23. 濕熱濕痰方劑對人類精子活動力的
體外試驗評估……陳榮洲…… 485
24. 活血化瘀藥對於高血壓患者治療機轉之
評估(Ⅳ)……張瑞璋…… 503
25. 抗風濕中藥臨床作用機轉之研究……張德明…… 523
26. 冷飲冰水對天竺鼠氣管收縮的影響……吳惠東…… 533
27. 中醫虛症對輻射曝照反應差異之研究……梁永昌…… 541
28. 琥珀散治療痛經的臨床實驗研究……張白欣…… 557
29. 中醫藥對住院病人壓瘡療效評估……許堯欽…… 601

編號 DOH84-CM-026

傳統中藥導引白血病細胞株在體外進行程序死亡 (apoptosis) 作用之研究 (I)

In Vitro Apoptosis in the Human Leukemia Cell Lines Induced by Chinese Herbs

陳博明

台北榮民總醫院

摘　　要

Apoptosis 爲目前在眞核生物中，所發現的一種特殊細胞死亡程序，包括細胞形態改變，染色質濃縮，核內 DNA 退化分解爲多段等一連串細胞反應。目前發現不少抗癌藥物，如治療白血病的 Retinoic acid, Ara-c, Adriamycin, Cisplatin, Etopside 等，皆可誘導細胞進入 apoptosis，甚至其治療癌細胞的作用，即是經 apoptosis 的機轉。故我們利用光學顯微鏡免疫細胞化學，電泳等細胞生物學和分子生物學技術，觀察細胞型態，染色質，核內 DNA 等經藥物作用後，白血病細胞株所產生的變化，試圖以 HL-60 白血病細胞株能否對藥物作用產生 apoptosis 爲反應指標。我們在這一年計劃中，將 50 種純化中藥作用於 HL-60 白血病細胞株等，結果找出二種中藥純化物 GM-10 及 PGL-2 可能具有直接或間接抗癌作用，我們使用 Wight's 染色，DNA 電泳分析，以及 Apoptest kit 測定，證明 GM-10 及 PGL-2 對 HL-60 細胞株具有 Apoptosis 作用，希望有助於新抗癌藥物之發現，並對癌症治療有所貢獻。

關鍵詞：抗癌藥物，細胞程序死亡 (Program cell death, apoptosis)

keyword: Apoptosis programmed cell death, tumoricidal effects

Summary

Apoptosis which leads to programmed cell death is ubiquitous in eukaryotic cells and characterized by chromatin condensation, cytoplasmic vacuolization and nucleosomal segmentation. Many anti-cancer drugs, e.g., Retinoic acid, Ara-C, Adriamycin, Cisplatin and Etoposide, have been found to exert their tumoricidal effects by inducing apoptosis in cancer cells. In the present study , apoptosis induced in HL-60 cells was used as an index of tumoricidal effects in screening Chinese herb drugs. Among the 50 purified Chinese herb drugs we tested, two, GM-10 and PGL-2, were found to be capable of inducing apoptosis in HL-60 cells. The apoptosis-inducing phenomena were evidenced by morphologic change, DNA laddering, and characteristic nuclear distribution in flowcytometry. The results is encouraging in viewpoints of finding out new effective tumoricidal drugs.

計畫內容

計畫緣起：請敘述本計畫產生之背景及重要性，如：(1) 政策或法令依據，(2)問題狀況或發展需求,(3)國內外相關研究之文獻探討,(4)本計畫與醫療保健之相關性等。

癌症是目前重要得死亡原因，醫學界都以開發新抗癌藥物爲致力發展的目標.已有很多研究文獻指出細胞程序死亡(pro-gram cell death, apoptosis) 與抗癌藥物的作用機轉間有相當的關聯性存在。 藥物可能藉著活化 Apoptosis 機轉而增加癌細胞對抗癌藥物的敏感性。 但也有文獻指出 Apoptosis 只是細胞承受致死傷害的後續現象，與藥物的抗癌作用並無重要相關性。 故 Apoptosis 與抗癌藥物間相互扮演的確實角色，亟待吾等深入的加以探討以期瞭解機轉開發新抗癌藥物。臨床使用維他命 A 酸(Retinoic acid) 治療急性前髓性白血病患，其作用即誘導細胞分化，成熟後進入細胞程序死亡機轉，達到癌症治療的效果。本計畫即希望藉著促使細胞進行程序死亡的現象作指標，篩選出具有抗癌藥效的中藥。已知 Anthracyclin group 及 Cytosine arabinoside 能引導 Apoptosis 。而在純化中藥也發現類似構造，如 Anthaquinone,Anthraquinone-2-carboxylic acid 等。故我們預期從中藥篩選出具有誘導分化或 Apoptosis 活性的抗癌新藥。本科在以往的研究中，中藥方劑大部分取自粗萃取物(crude extract),其藥效隨內含物種類而異，較難求得單純的有效成份，誠如六年前從 800 種中藥發現四種具有誘導分化的活性，但爲求得有效成份卻發現其 activity 隨純化而降低。有鑑於此，自 84 年起，已商請北醫徐鳳麟教授提供純化中藥成份 50 種，研究其對 HL-60,BALL,CTV-1,MOLT-4,U-937 等白血病細胞株，誘導 Apoptosis 的活性，並且配合以上四種具誘導分化活性之中藥，及其生物反應修飾物(Biological responsemodifier),以瞭解

抗癌中藥的作用機轉及有效成份，以利新抗癌藥物的開發及研究癌症治療的新方向。

實施方法及進行步驟：請詳細說明實施本年度計畫所採用之方法及步驟，研究計畫應詳細說明研究設計、資料收集及分析方法。

一. 中藥配製:

取得 50 種純化中藥，以 DMSO 溶解後，再以培養液稀釋至所須濃度。

二. 細胞株培養:

白血病細胞株如: HL-60, CTV-1, BALL, Molt-4, U937 等，以 10%FBS 之 RPMT 培養在 37°C, 5%Co2 的 incubator 。

三. 藥物試驗:

調配出所須濃度自 100uM 作 10 倍 titer dilution，並將癌細胞 10000/well 共同培養於 96 well plate，於第 1,2,3,4 天取出測定其存活率，並配合 IL-2, Interferon, OK432 等作相加成作用分析。

四. Trypan blue 或 MTT 存活率分析:

1.Trypan blue 染色法: 取出作用後細胞，與等量 trypan blue 染色液混合均勻後，置於細胞計數器(Hemacytometer)以光學顯微鏡觀察、深染成藍色爲死細胞，求出其百分率可得存活率。

2.MTT 存活率分析法:

各於作用天數時，吸去細胞之上清液後、加入 MTT (3-(4,5-dimethyl thiazol-2-yl)2, 5-diphenol tetrazolium bromide 2mg/ml) 50ul/well 於 37°C, 2.5 小時取出 96 well plate 於 2000rpm, 4°C 離心

10 min 後，吸去上清液，加入 150ul DMSO 以 O.D.492nm 測定吸光值並由標準線求出存活率。

五. 細胞型態學:

由存活率求出半致死量 ID50 後，以 ID50 培養細胞並於第 1,2,3,4 天分別取出適量細胞，於 cytospin 在 1000rpm 離心 5min 製成抹片並迅速以-20°C aceton 固定 5 min 後，作 Wright's stam，置於光學顯微鏡觀察。

六. 細胞免疫學:

製成之 cytospin 抹片，以 4°C formal aceton 固定 30sec，風乾後，以 20 倍稀釋的 normal rabbit serum 作用 20min，去除 non-specific binding 後，加上單株抗體(Mol, Mo2, My4, Leu4, Leu9, Tll, T4, T8, B1, B4, K 等)室溫下作用 30min，以 Tris buffer wash，再加入 Rabbit anti mouse Ab 作用 30min 後 wash，加入 DAKO APAAP complex 反應 30min 後 wash，加呈色劑作用 20min 後，wash，風乾後，以蘇木精作對比染色(counter stain) 5min 後，wash，封片後鏡檢。

七. APOPTEST kit 測定:

取出作用後細胞(30ul, 500/ul)，置於試管中，避光加入 apoptosis 特定染液 APOSTAIN 100ul，混勻後置於室溫下 10min 後，以 Flow cytometry 分析。

八. 細胞核內 DNA 分析:

1.DNA 萃取: 取出足量細胞以 lysis buffer(Tris 0.01M, NaEDTA 0.01M,

NaCl 0.15M, SDS 20%-proteinase K)於 65°C, 3 小時後，離心取上清液以 phenol- chloroform 去蛋白，以 Ethanol 沉澱 DNA 後，眞空乾燥。

2.DNA 電泳分析：取適量 DNA 溶於 TE buffer，置入 1.8% agarose gel 之 running well 以進行電泳作用後，以 ethyldium bromide 染色後，分析其 pattern 。

連續性計畫之執行成果概要（新申請之計畫可概述主持人過去曾執行之相關計畫成果）。

結果:

A.預備實驗:

首先從已知的抗癌藥物引導的細胞程式死亡作用(Apoptosis)觀察其間的相關性。取適當濃度之抗癌藥物與 HL-60 白血病細胞(2×10^4)於 96 Well 中共同培養 4 天，每天取出細胞以 Trypan blue 染色計算細胞存活率。

(a)臨床使用之抗癌藥物，包括 cytosine arabinoside, Daunomycin, Epirubincin 及 Vincrcstin 等四種。

(b)對 HL-60 細胞之毒殺作用 Cytotoxicity 於第四天達到 65-95% (圖 1-4)。

(c)以 Wright's stain 法染藥物作用後細胞抹片，可見 Apoptosis 之現象

B.篩選 50 種中藥

利用以上模式，篩選從台北醫學院徐鳳麟教授提供的 50 種不同來源之純化中藥。

(a)初步觀察有 42 種對 HL-60 白血病細胞株有 Cytotoxicity(濃度由 10 倍到 100 倍不等) (表 1)。

(b)作用型式可分爲兩種型態

(i)迅速致死型: 在用藥後第一天細胞存活率就降至 20%以下，細胞迅速死亡。

(ii)緩慢致死型: 在用藥後第四天細胞存活率才降至 20%以下，細胞緩慢死亡。

(c)由以上 42 種進行第二次篩選，發現兩種純化中藥有意義，包括 GM-10 及 PGL-2 。

(i)GM-10

屬於南洋果類山竹果皮之 GM-10 成份，作用濃度在 25.3uM 對 HL-60 作用 4 天其 Cytotoxicity 達到 80%。如濃度較高時 HL-60 細胞完全死亡(圖 5)。

(ii)PGL-2

來源爲肯氏蒲桃果實之 PGL-2 成份，作用濃度在 86.7uM 於第四天，可使 HL-60 細胞存活率(cell viability)降爲 30%(圖 6)。

C.証明方式:

(a)作用型式與細胞種類

以不同來源的癌細胞株(HL-60, CTV-1, BALL, Molt-4, U937 等)爲標靶細胞(target cell)，發現 GM-10 及 PGL-2 純化中藥皆有

Cytotoxicity 作用，此類似抗癌作用並無細胞種類差異(表 2)。

(b) 以 Wright's stain 染色法，發現藥物作用後細胞具有典型的 Apoptosis 特徵(圖 7,8)。

(c)細胞程式死亡測試組(GM-10)

GM-10 作用後之 HL-60 細胞，以 Apoptest kit 染色之，再經 Flow cytometry 分析亦顯示有半數以上(55.1%)的細胞具有程式死亡趨勢 (Apoptosis tendency) 圖 9)。

(d)DNA Gel Analysis(GM-10)

大量收集 GM-10 藥物作用後細胞之 DNA，藉 DNA 膠體電泳分析，得知其細胞 DNA 有明顯斷裂現象(fragmentation)而形成連續階段梯狀之 DNA ladder pattern，大異於空白對照組的單條狀(Single band)，顯示典型 Apoptosis 特性(圖 10)。

討論:

一.在我們預備實驗中，我們首先將已知在 Apoptosis 之抗癌藥劑如 Daunomycin , Vincristin, Cytosine arabinoside 及 Epirubicin 等作爲控制模式，以証明我們技術上沒有問題，其後在篩選過程中發現 42 種中藥都有 Cytotoxicity 之作用，但問題是我們以 DMSO, alcohol 及蒸餾水在溶解過程中是否會影響培養液之 PH 值或者有 non-specific 的 Cytotoxicity 作用。故我們以中藥稀釋 10 倍以下爲基準並測定其 PH 值。同時我們亦以 Wright stain 來檢驗中藥對 HL-60 細胞有無 Apoptosis 作用，最後我們發現 GM-10, PGL-2 在比較低的濃度下有

Apoptosis 作用。我們同時以 DNA gel 分析法及 Apoptest 法來証明我們最初之實驗無誤。

二.在以往的研究中一些誘導分化物如 anthracyclin group 之藥物或 retinoic acid 等除有 Apoptosis 作用同時亦有將 blast cell 誘導分化到成熟且具有功能之作用。我們亦尋求 GM-10 是否亦有細胞成熟分化之功能。故將 HL-60 cell 長期加入少量(1/100), 無法証明有分化誘導作用, 此 GM-10 之作用機轉是否與其他具有分化誘導作用及 Apoptosis, 作用之抗癌藥物不同亦是將來要討論之問題。

三.GM-10 及 PGL-2 不但對 HL-60 細胞株有 Cytotoxicity 作用並呈現 Apoptosis 現象, 而且對其他 Monoblast 由來的 U937, CTU-1 細胞株以及淋巴性白血病細胞株(BALL 及 Molt-4 等)亦具有相同之 Apoptosis 作用。此兩種純化中藥如加以更深入研究, 可能將來對白血病之治療有所助益。

四.綜合以上結果, 顯示兩種新抗癌細胞株之中藥(GM-10, PGL-2)確實具有誘導細胞程式死亡作用(Apoptosis)之能力。我們希望將來作更深入研究以瞭解其確實機轉, 俾有助於開發出深具潛力的抗癌新藥。

重要參考文獻：依一般科學論文之參考文獻撰寫體例，列出所引用之參考文獻，並於計畫內容引用處標註之。

1. Dyson JED, Simmons DM, Daniel J, Mc Laughlin JM, Quirke P, and Bird CC. Kinetic and physical studies of cell death induced by chemotherapeutic agents or hyperthemia. Cell Tissue Kinet 19:311-324, 1986.

2. Barry MA, Behnke CA and Eastman A: Activation of programmed cell death (apoptosis) by cisplatin, other anticancr druugs, toxins and hyperthemia. Biochem Pharmacol 40: 2353-2362,1990.

3. Kaufmann SH: Induction of endonucleolytic DNA cleavage in human acute myelogenous leukemia cells by etoposide, camptothecin, and other cytotoxic anticancer drugs: A cautionary note. Cancer Res 49: 4870-5878, 1989.

4. Dive C and Hickman TA: Drug-traget interactions: only the first step in the commitment to a programmed cell death? Br J cancer 64: 192-196, 1991.

5. Lennon SV, Martin SJ and Cotter TG: Dose-dependent induction of apoptosis in human tumor cell lines by widely diverging stimuli. Cell Prolif 24: 203-214, 1991.

6. Sen S, D'incalci M. Apoptosis, Biochemical events and relevence to cancer chemotherapy. FEBS Lett 307:122-127,1992.

7. Schwartzman RA, Cidlowski JA. Apoptosis: the biochemistry and molecular biology of programmed cell death. Endocr Rev 14:133-151, 1993.

8. Chen ZX, Xue YQ, Zhang R et al. A clinical and experimental study on all-trans retinoic acid-treated acute promyelocytic leukemia patients. Blood 78:1413-1419. 1991.

9. Huan ME, Ye Yc, Chen SR et al. Use of all-trans retinoic acid in treatment of acute promyelocytic leukemia. Blood 72:567,1988.

10. Warrel RP, Frankel SR, Miller WH et al. Differentiation therapy of acute promyelocytic leukemia with tretinoin. NEJM 324:1385-1393, 1991.

11. Breitman TR, Collins SJ, Keene BR Terminal differentiation of human promyelocytic leukemic cells in primary culture in response to retinoic acid. Blood 57:1000-1004, 1981.

12. Martin SJ, Bradley JG, Cotter TG. HL-60 cells induced to differentiate trwards neutrophils subsequently die via apoptosis. Clin. Exp. Immunol. 79:1418-1422, 1990.

13. Rosenberg, S. A.: Immunotherapy of cancer using interleukine-2: current status and future prospects. Immunol. Today 9:58-62, 1988.

14. Rosenberg, S.A., Lotze, M. T., Muul, L. M. et al.: A progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine activated killer cells and interleukin-2 or high-dose interleukine alone. N. Engl. J. Med. 316:889-897, 1987.

15. Talpaz, M., Kantarjian, H.M., McCredie, K.B. et al.: Clinical investigation of human alpha interferon in chronic myelogenous leukemia. Blood 69: 1280-1288, 1987.

16. Asano, S., Ogura, H., Tani, K. et al.: Several new approaches to improvement of interferon-alpha therapy in chronic myelogenous leukemia. Eur. J. Cancer (Suppl. 4) :S21-S25, 1991.

17. Talpaz, M., Kanatrjian, H.M., Kurzrock, R. et al.: interferon-alpha produces sustained cytoge-netic responses in chronic myelogenous leukemia: Philadelphia chromosome-poitive patients. Ann Intern. Med. 114:532-538, 1991.

18. Buzaid, A. C., Robetone, A., Kisala, C. et al.: Phase II study of interferon alpha-2a, recombinant (Roferon-A) in metastatic renal cell carcinoma. J. Clin. Oncol. 5:1083-1089, 1987.

19. Umeda, T. and Nijima, T.: Phase II study of alpha interferon on renal cell carcinoma: Summary of three collaborative trials. Cancer 58:1231-1235, 1986.

20. Uchida A. Hoshino T: Clinical studies on cell-midiated immunity in patients with malig. nant disease. I. Effect of immunotherapy with OK-432 on lymphocyte subpopulation and phytomitogen responsiveness in vitro. Cancer 45:476-483. 1980.

21. Ono T, Kurata S, Wakabayash: K. et al: Ingibitory effect of a streptococcal preparation (OK-432) on the nucleic acid synthesis in tumor cells in vitro. Gann 64:59-69, 1973.

22. McConkey, DJ, Hartzell P, Nicotera P and Orrenius S. Calcium activited DNA fragmentation kills immuture thymocytes. FASEBJ 3:1843-1848, 1989.

23. Wyllie AH: cell Death. Int Rev Cytol. 17:(Suppl) 755-785, 1986.

24. Jen-Kou LIn and Chen-Kung Chou: in Vitro Apoptosis in the Human Hepatoma Cell Line Induced by Transforming Growth Factor B1 Cancer Res 52, 385-388, January 15,1992.

25. Oskar S. Frankfurt, Daniel Seckinger and Everett V. Sugarbaker: apoptosis and growth inhibition in sensitive and resistant leukemic cells treated with anticancer durgs. Int. J Onco. 4:481-489, 1994.

26. Anni M. Warri, Riikka L. Huovinen, Aire M. Laine, Paula M. Martikainen, Pirkko L. Harkonen: Apoptosis in Toremifene-Induced Growth Inhibition of Human Breast Cancer Cells In Vivo and In Vitro. J Natl Cancer Inst. vol 85, No. 17 September 1, 1993.

表1.42種抗癌藥物對HL-60細胞之致死型式

型式	抗癌藥物編號
TYPE I No=27	PGL-2 PGL-11 PGL-13 PGL-34 PGL-35 PGL-48 CHE-4 CHE-5 CHE-7 CHE-14 RH-141 9 10 P2 P3 EL-2 EL-4 EL-5 SCF-4 SCF-5 RL-12 SC-4 ARJ-2 Acu-5 GM-10 SCF-2 SCF-4
TYPE II No=15	PGL-1 PGL-15 PGL-25 AL-3 AL-4 CHE-1 RHA-3 RH-343 12 P1 SCF-3 RL-5 Y3 CHE-11 CHE-12

*TYPE I : 迅速致死型，於用藥後第一天，細胞存活率低於20%.
*TYPE II: 緩慢致死型，於用藥後第四天，細胞存活率低於20%.

表2. GM-10及 PGL-2 純化中藥對各種白血病細胞株之毒殺細胞作用(Cytotoxicity %)

Drug	GM-10					PGL-2				
cell line	d1	d2	d3	d4	d5	d1	d2	d3	d4	d5
HL-60	82.5	60.1	31.0	20.6	0	45.2	40.8	37.5	22.1	0
BALL	62.4	43.9	30.5	20.1	0	63.5	48.2	21.0	0	
CTV-1	65.3	39.8	20.1	0		76.2	43.8	26.2	7.2	0
Molt-4	97.4	80.2	54.2	18.1	0	90.5	77.1	60.5	24.2	0
U937	78.2	38.5	10.7	0		98.7	78.2	38.5	10.7	0
NB-4	70.2	33.5	10.0	0		98.7	70.2	33.5	8.2	0

Cytosine arabinoside

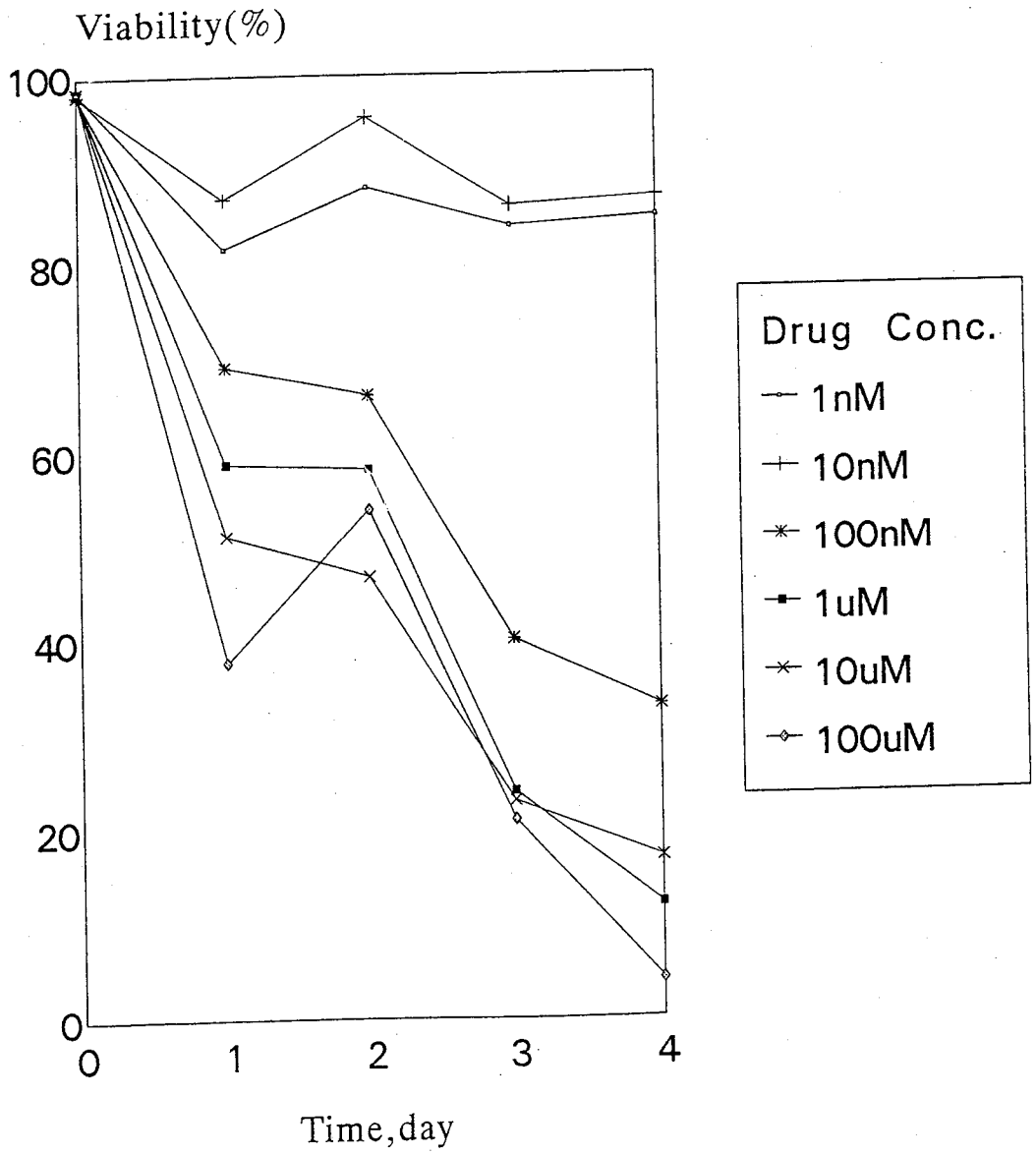


圖 1. 臨床抗癌藥物Cytosine arabinoside 對HL-60之致死作用

Daunomycin

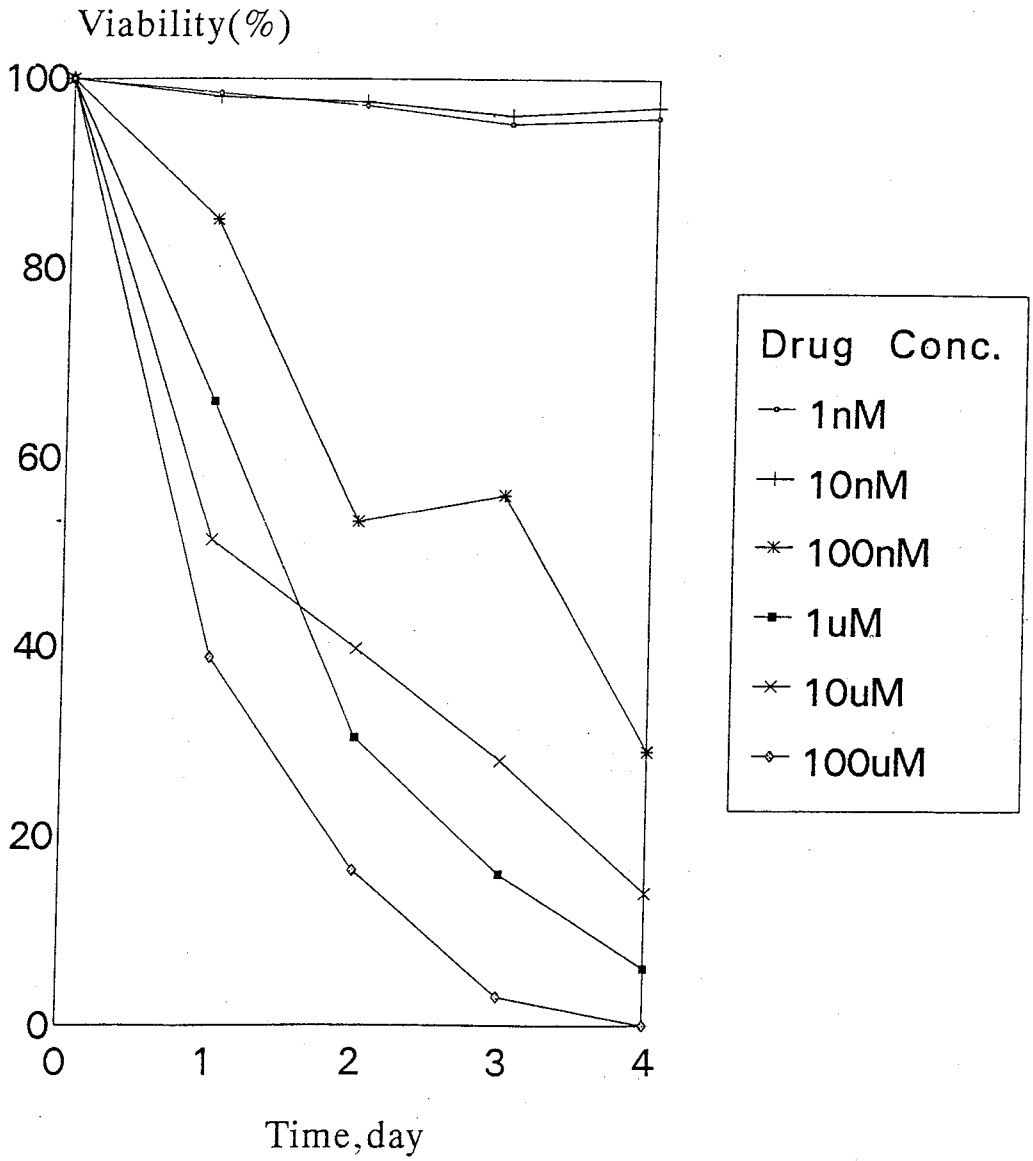


圖 2. 臨床抗癌藥物Daunomycin對HL-60之致死作用

Epirubicin

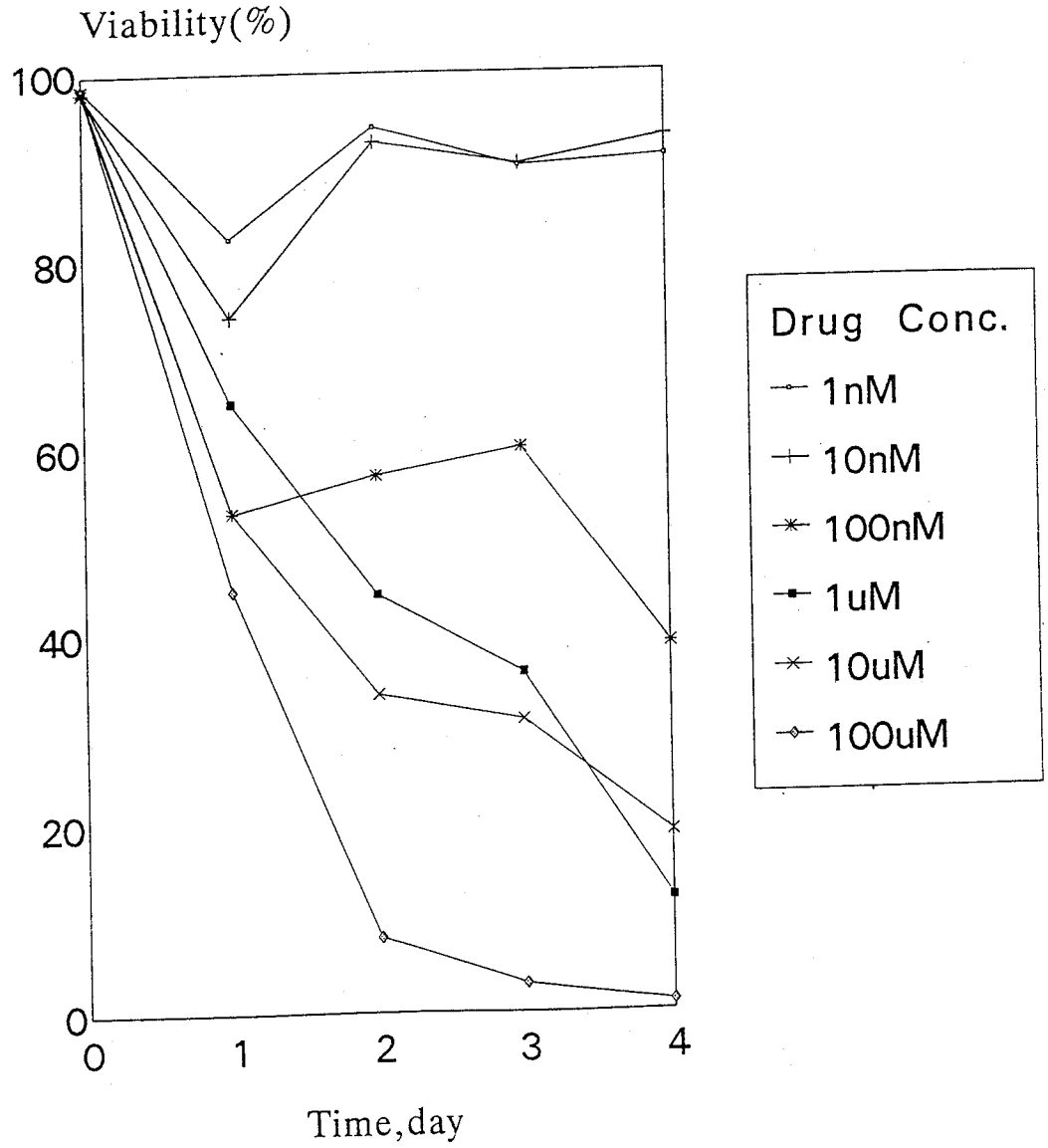


圖 3. 臨床抗癌藥物Epirubicin對HL-60之致死作用

Vincristin

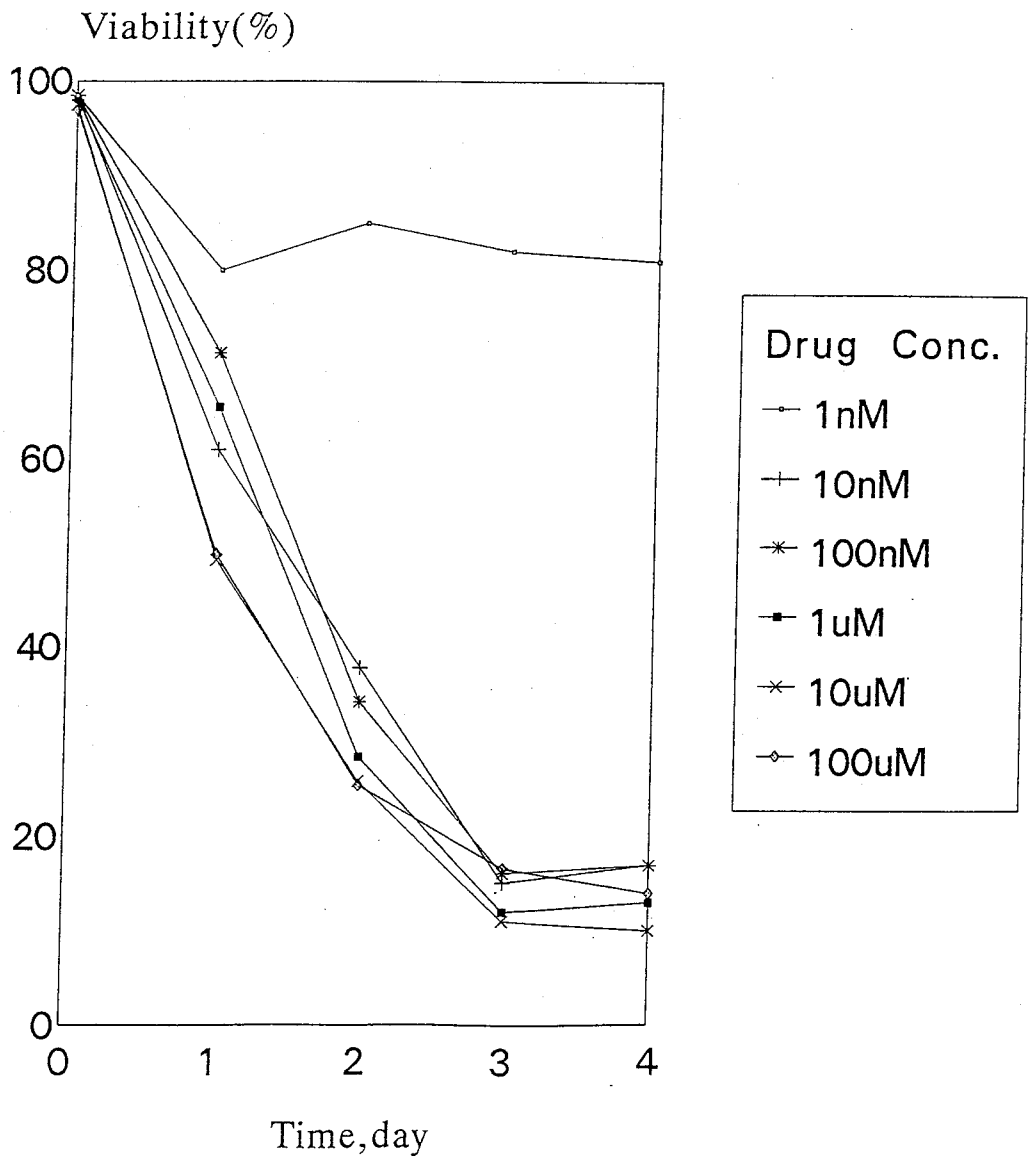


圖 4. 臨床抗癌藥物Vincristin對HL-60之致死作用

GM-10

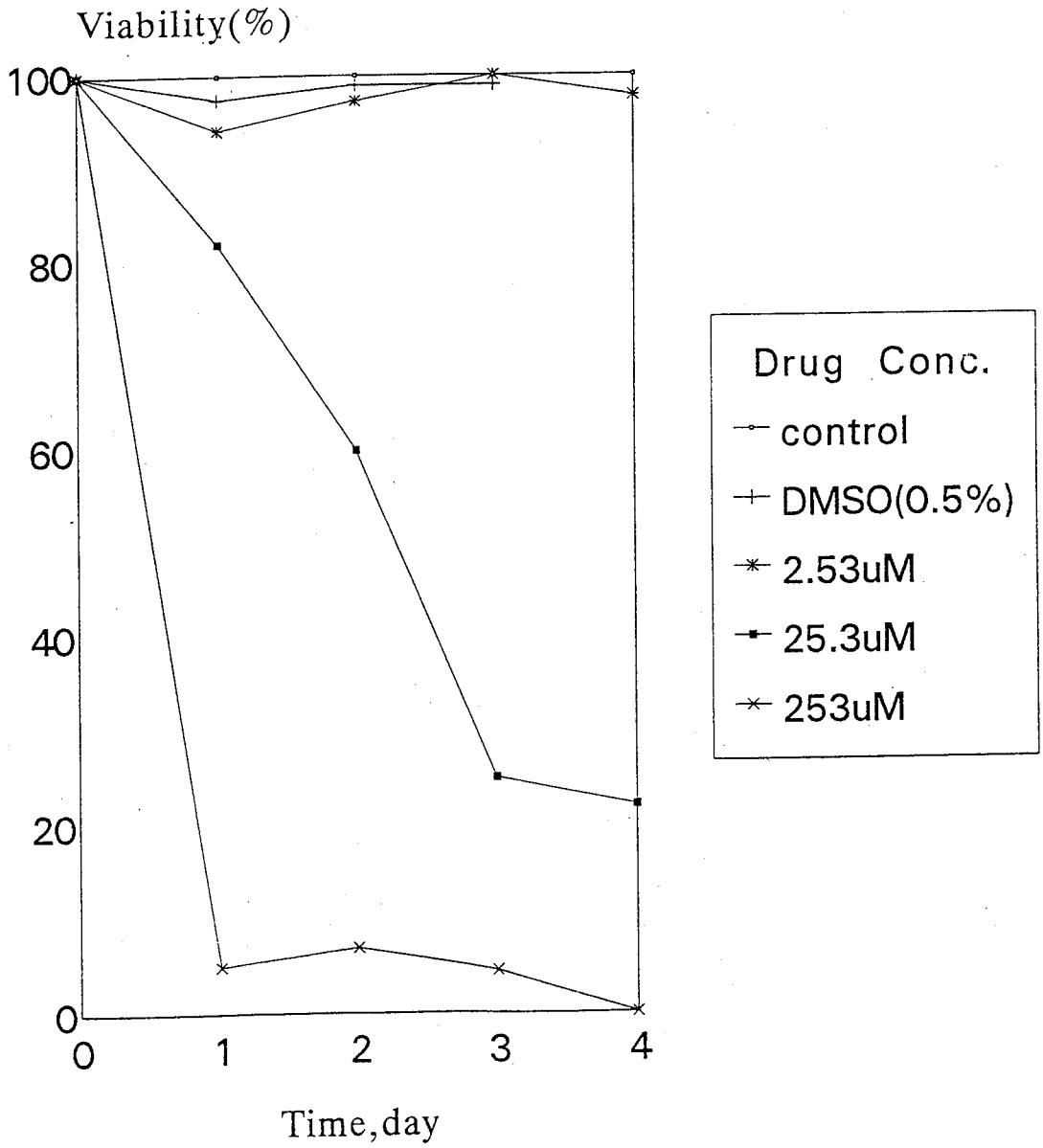


圖 5. 抗癌藥物GM-10對HL-60之致死作用

PGL-2

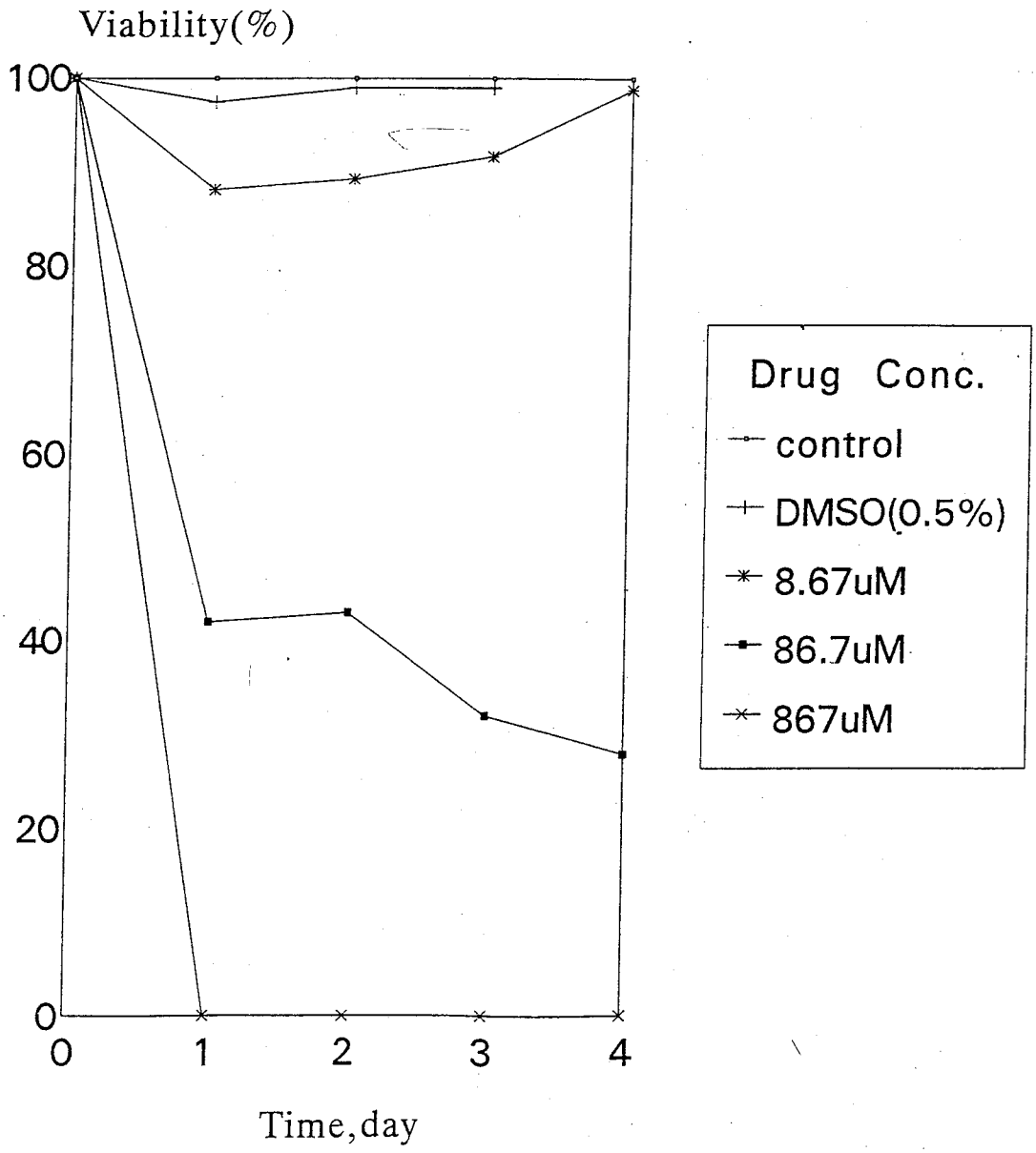


圖 6. 抗癌藥物PGL-1對HL-60之致死作用

圖 7. GM-10作用後之Wright's 染色

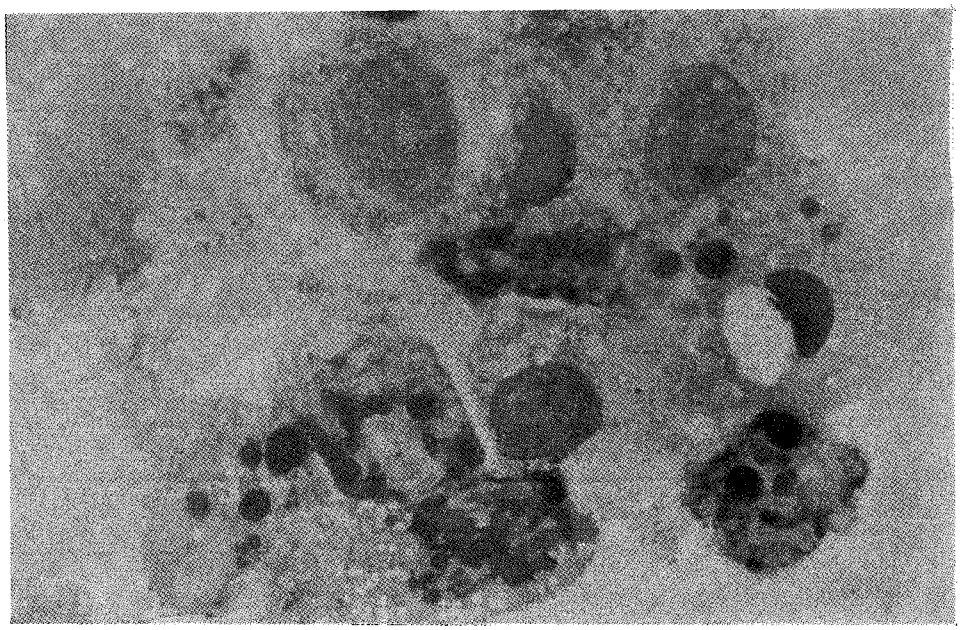


圖 8. PGL-2作用後之Wright's 染色

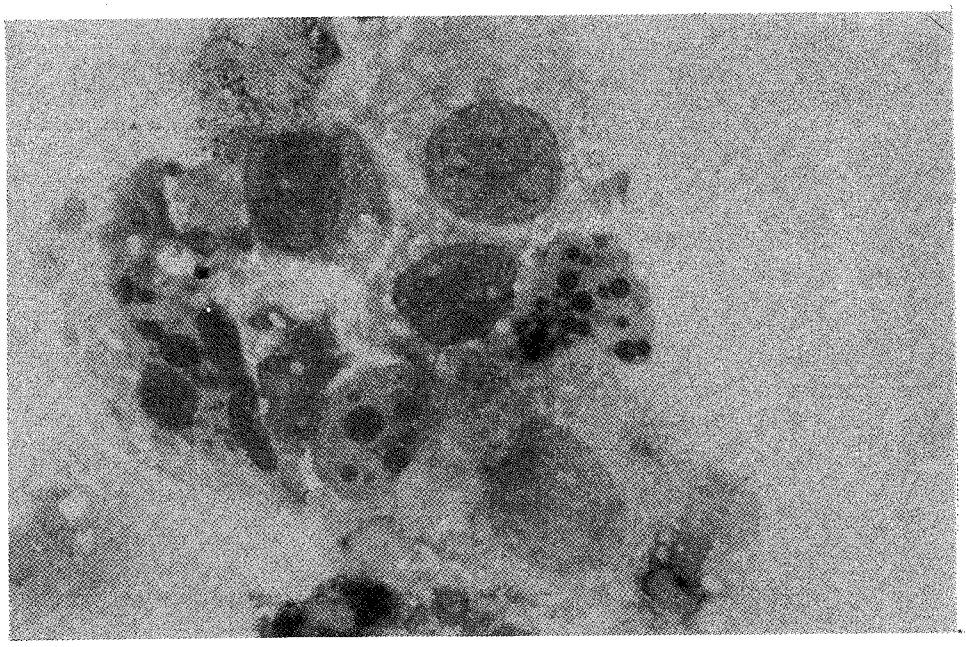
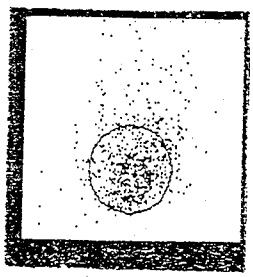
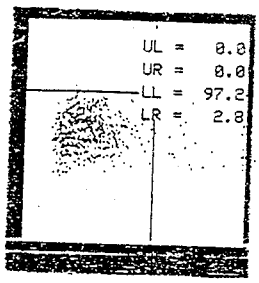
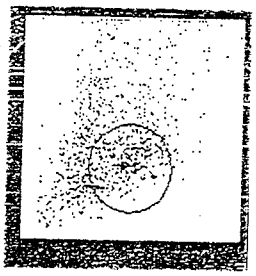


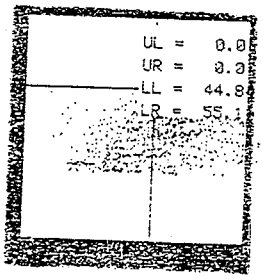
圖 9. HL-60白血病細胞株之程序死亡趨勢





A 對照組：培養基處理四天後細胞程序死亡趨勢
(左圖)圓圈內是選定的大部份細胞
(右圖)垂直線左側是未染上Apostain之細胞97.2%
垂直線右側是染上Apostain之細胞佔2.8%





B 處理組：GM-10 處理四天細胞程序死亡趨勢
(左圖)圓圈內是和對照組同位置的大部份細胞
(右圖)垂直線左側是未染上Apostain之細胞44.8%
垂直線右側是染上Apostain之細胞佔55.1%

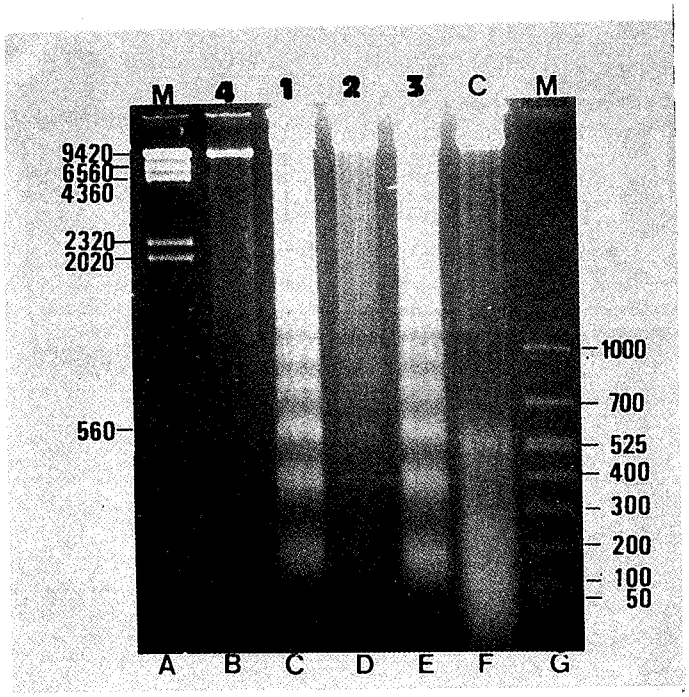


圖 10 ： DNA fragmentation in cells undergoing 中藥

lane B 、C 、D 、E 是 HL-60 經中藥作用後細胞之 DNA 經一連串抽取過程後所得之 DNA fragments 。

lane B 爲加藥培養 4 天後之 DNA fragments 。
lane C 爲加藥培養 1 天後之 DNA fragments, 可以看到很清楚的 DNA fragment bands 。
lane D 爲加藥培養 2 天後之 DNA fragments 。
lane E 爲加藥培養 3 天後之 DNA fragments, 也可以看到很清楚的 DNA fragment bands 。
lane A 爲λ/Hind III Digest Marker
lane G 爲 BioMarker Low
lane F 爲 control group

編號 DOH84-CM-027

中藥薑黃素延長移植心臟存活期的研究

Prolongation of cardiac allograft by curcumin

王水深　朱樹勳　黃慧貞

台大醫學院

摘　　要

心臟移植已被公認爲心臟衰竭末期病人的最後有效治療方法。心臟移植後死亡的主要原因之一便是排斥反應。中藥薑黃素具有免疫抑制和抗增生等特性，所以我們設計大鼠心臟移植實驗來研究薑黃素對移植心臟的延長效果，並觀察其副作用。

我們利用重約 200 — 300 克的純種雄性大鼠做心臟移植，以 Brown-Norway 大鼠做心臟接受者，以 Brown-Norway 和 Lewis 交配之第一子代做心臟移植捐贈者。實驗組自術前一天開始每天肌肉注射薑黃素 50mg/kg，對照組則自術前一天開始每天肌肉注射等容積（1.0 毫升）之生理食鹽水，直到移植心臟停止跳動爲止，此時我們就犧牲大鼠，抽取血液做生化檢查，取下移植心臟及其肝、腎等器官做病理檢查。

十隻心臟移植的大鼠接受薑黃素 50mg/kg 注射，移植心臟的存活期爲 10.8 ± 2.8 天。另外十隻心臟移植的大鼠，接受同容積（1.0 毫升）的生理食鹽水注射，移植心臟的存活期爲 8.8 ± 2.9 天。兩組間並無明顯差異 ($p = 0.065$)。生化檢查顯示並無明顯肝、腎等器官之毒性。而 GOT、CK、CK-MB 在兩組皆異常升高，顯然和心臟受排斥傷害造成心肌變性壞死有關。

由本實驗顯示薑黃素在每天肌肉注射50mg/kg劑量下，無法延長移植心臟的存活期。但因薑黃素具有免疫抑制、抗增生、抗發炎、清除自由基等特性，若和其他較強之免疫抑制劑如環孢靈合用，或可更加延長移植心臟的存活期。

壹、報告英文摘要

Prolongation of cardiac allograft by curcumin

Shoei-Shen Wang, Shu-Hsun Chu, Huei-Chen Huang
Medical College, National Taiwan University

Heart transplantation has been established as a definite therapy for terminal heart failure patients. After transplantation one of the major causes of death was rejection. Curcumin, which was isolated from the crude extract of rhizomes of Curcuma longa, possesses both immunosuppressive and antiproliferative activities in vivo. Therefore we designed this rat cardiac allotransplantation to investigate the effect and adverse reaction of curcumin.

Male inbred rats weighing 200-300 grams were used for study. Brown-Norway (BN) rats were used as recipients, with (Lewis x BN)F1 rats as donors. Abdominal heterotopic cardiac transplantation was performed with microsurgical technique. After transplantation the experiment group received curcumin 50 mg/kg intramuscular injection every day until rejection. The control group received same volume (1.0 mL) normal saline intramuscular injection every day until rejection. Then the rats were sacrificed. The blood was collected for renal function, liver function, complete blood cell count, Creatine kinase (CK), and CK-MB studies. The heart, liver and kidney also received careful pathological examinations.

The survival of the ten transplanted BN rats receiving daily curcumin 50 mg/kg injection was 10.8 ± 2.8 days. The survival of another ten transplanted BN rats receiving normal saline injection was 8.8 ± 2.9 days. The difference between the two groups was not statistically significant (p=0.065). No deterioration of liver or kidney functions was noted in both groups. Abnormally elevated GOT, CK, and CK-MB values were noted in both groups, which might be due to degeneration and destruction of myocytes from severe rejection.

With a daily intramuscular injection dose of 50 mg/kg, curcumin did not prolong the survival of cardiac allograft in a model of (Lewis x BN)F1 to BN rats. Yet curccumin can inhibit the proliferative response of blood mononuclear cells and vascular smooth muscle cells, and has anti-inflammatory activity, and is also a free radical scavenger. Therefore we will perform further study to investigate its concomitant use with other potent immunosuppressive agents to prolong the survival of the cardiac allografts.

貳、報告內容

(一)前言

心臟移植已確定爲心肌衰竭末期病人的最後治療方法，移植後如何避免排斥的發生以延長移植心臟的存活期是目前全世界共同努力研究的目標。由於共同主持人黃慧貞教授發現自薑黃之根莖提煉出來之薑黃素(curcumin)有很好的免疫抑制作用,可以抑制血液中單核細胞的增生，且可抑制血管平滑肌的增生，減少血管狹窄(冠狀動脈狹窄是心臟移植長期存活者主要死亡原因之一)，在心臟移植的領域可能很有用途(1)。文獻上有關薑黃素的研究很多，如薑黃素有很好的抗發炎作用 (1-3)，可抑制血小板凝集，增生PGI2合成，減少血栓形成(4、5)，抑制蛋白激酵素C(6)，抗氧化(7、8)，抗癌(9-14)，殺菌(15)，清除自由基(14)，降低脂質(16、17)，但沒有發現有關延長移植心臟存活期的延究。故我們率先選用薑黃素先以大鼠心臟移植做試驗，觀測其效果和副作用，以利將來臨床應用。

(二)材料與方法

1.大鼠心臟移植:

利用重約 200-300克之同族(Inbred strain) 雄性大鼠做實驗,以Brown-Norway大鼠做心臟接受者，以Brown-Norway和 Lewis 大鼠交配之第一子代 (F1)做心臟捐贈者。心臟移植方法依Sun Lee(18)進行腹部異位心臟移植，即捐贈心臟之大白鼠麻醉後，先注入肝素(heparin)，再開胸，注射心肌麻痺液後，切掉左肺，留下右肺及心臟整個取下放到 4℃食鹽水中。接著麻醉接受心臟之Brown-Norway大鼠， 剖腹後將主動脈和下腔靜脈分離，利用顯微手術技巧，以 9-0 Nylon將捐贈心之主動脈與接受心之腹主動脈吻合，手術後每天早上，中午，晚上各一次觸診此移植心臟跳動情形。

2.研究設計:

二十隻Brown-Norway大鼠隨機分爲兩組：實驗組自移植前一天開始肌肉注射薑黃素 50 mg/kg，手術後持續注射至移植心臟停止心跳爲止。對照組則自前一天開始注射同容積的生理食鹽水，亦持續注射至移植心臟停止心跳爲止。

3.資料收集：

記錄每隻大鼠之移植心臟停止跳動時間做爲存活期。一旦移植心臟停止跳動後，便要犧牲此大鼠，抽取血液檢查血球（包括白血球，紅血球，血小板，血色素）及生化檢查，包括血糖，澱粉酵素，尿酸，血脂肪（包括膽固醇，三酸甘油脂等）電解質（鈉、鉀、氯、鈣)，肝功能(包括Direct and Indirect Bilirubin、GOT、GPT、Alk-p、LDH、CK、rGT、ZTT、mucoprotein等)，及腎功能（BUN、Creatinine)。同時取下移植心臟做病理切片檢查，證實排斥的發生，急性心臟排斥的判定係依據Billingham之標準如下（19、20)：

	輕　　度	中　　度	重　　度
血　管	內皮細胞腫脹	血管周圍出現小淋巴球和親派洛寧大單核細胞	血管周圍大量細胞浸潤，內皮細胞極度腫脹
心內膜	水　腫	內膜下出現纖維性滲出物	大量細胞(包括多核細胞)浸潤
心肌細胞	微纖維分離，核周圍出現空胞狀	微纖維繼續分離，核 周圍空胞狀更明顯	繼續變性至局部肌細胞溶解
心肌間質	輕度纖維性滲出物，少量淋巴球	纖維性滲出物漸多，細胞浸潤亦多	明顯多核細胞浸潤，出血，大量纖維性滲出物

同時亦取下肝臟和腎臟做病理學檢查，以觀察薑黃素對肝，腎等器官有無不良影響。

4.分析方法：

實驗結果的資料以平均值(Mean)±標準差 (Standard deviation)表示。實驗組和對照組的比較採用 Student's t test，$p<0.05$ 才表示統計學上有顯著差異。

(三)結果

十隻接受心臟移植的大鼠，每天注射薑黃素50mg/kg後，移植心臟的存活期爲10.8±2.8天。另外十隻接受F1心臟移植的大鼠，每天注射同容積(1.0毫升)的生理食鹽水後，移植心臟的存活期爲8.8±2.9天，兩組間並無明顯差異(p=0.065)

生理檢查顯示實驗組和對照組並無明顯差異，但GOT、CK值及CK-MB兩組皆顯然異常上升，可能和心肌損壞有關(表一)

病理檢查實驗組和對照組之肝臟、腎臟和心臟並無明顯差異(圖1-3)

表一：生化檢查結果

	實驗組	對照組	*p* 值
Hb	11.3±1.9	12.3±1.6	0.11
GOT	198±93	169±25	0.82
GPT	39±11	42±9	0.76
BUN	21±2	22±3	0.77
Creatinine	0.59±0.07	0.45±0.07	<0.05
CK	540±107	601±130	0.13
CK-MB	315±89	350±128	0.75

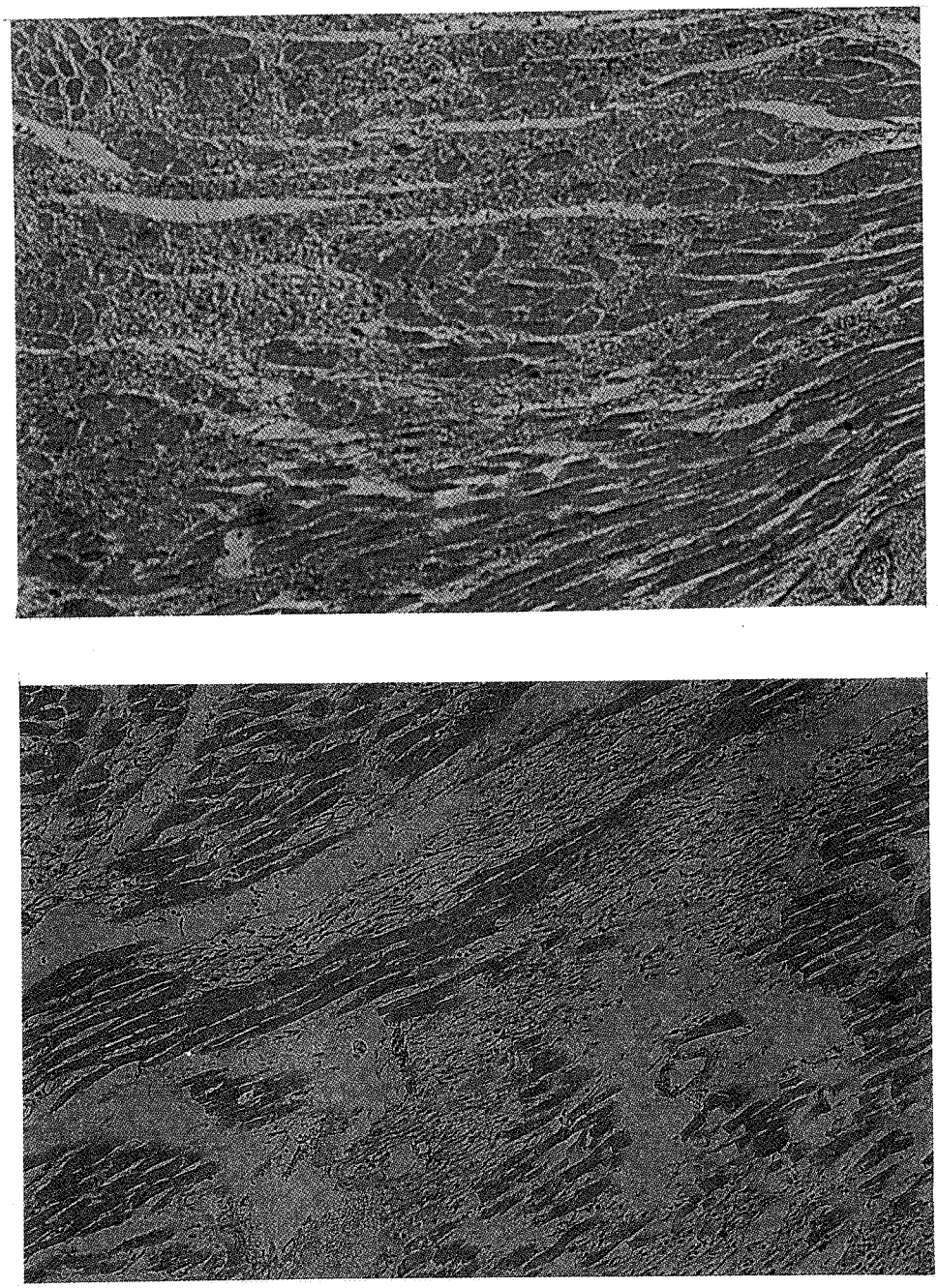


圖 1：移植心臟顯示心肌壞死，心肌間質及血管周圍有大量淋巴球浸潤，是嚴重排斥之病理變化。
上：實驗組(存活9天)，下：對照組(存活7天)

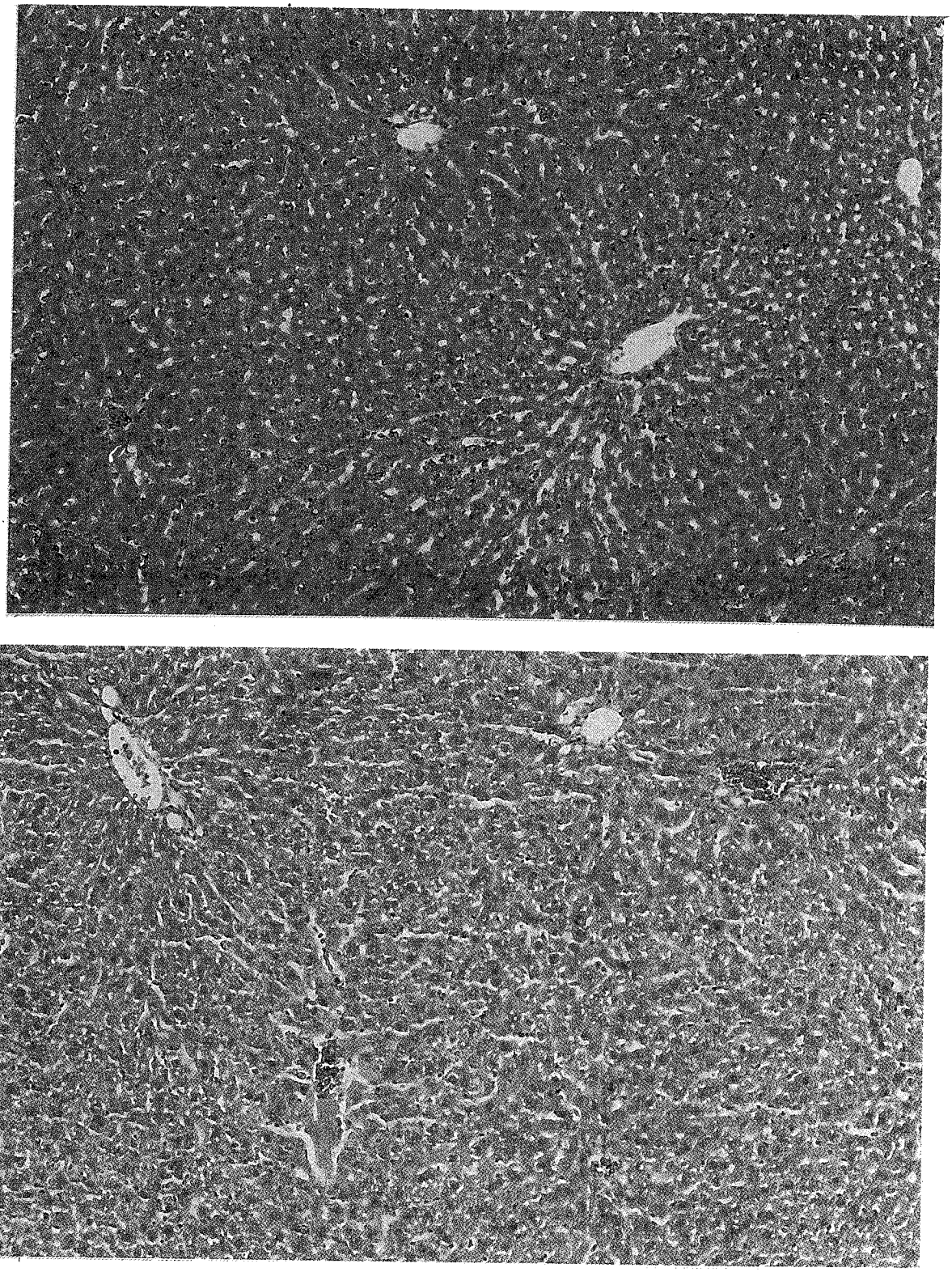


圖 2：肝臟無明顯病理變化。上：實驗組，下：對照組

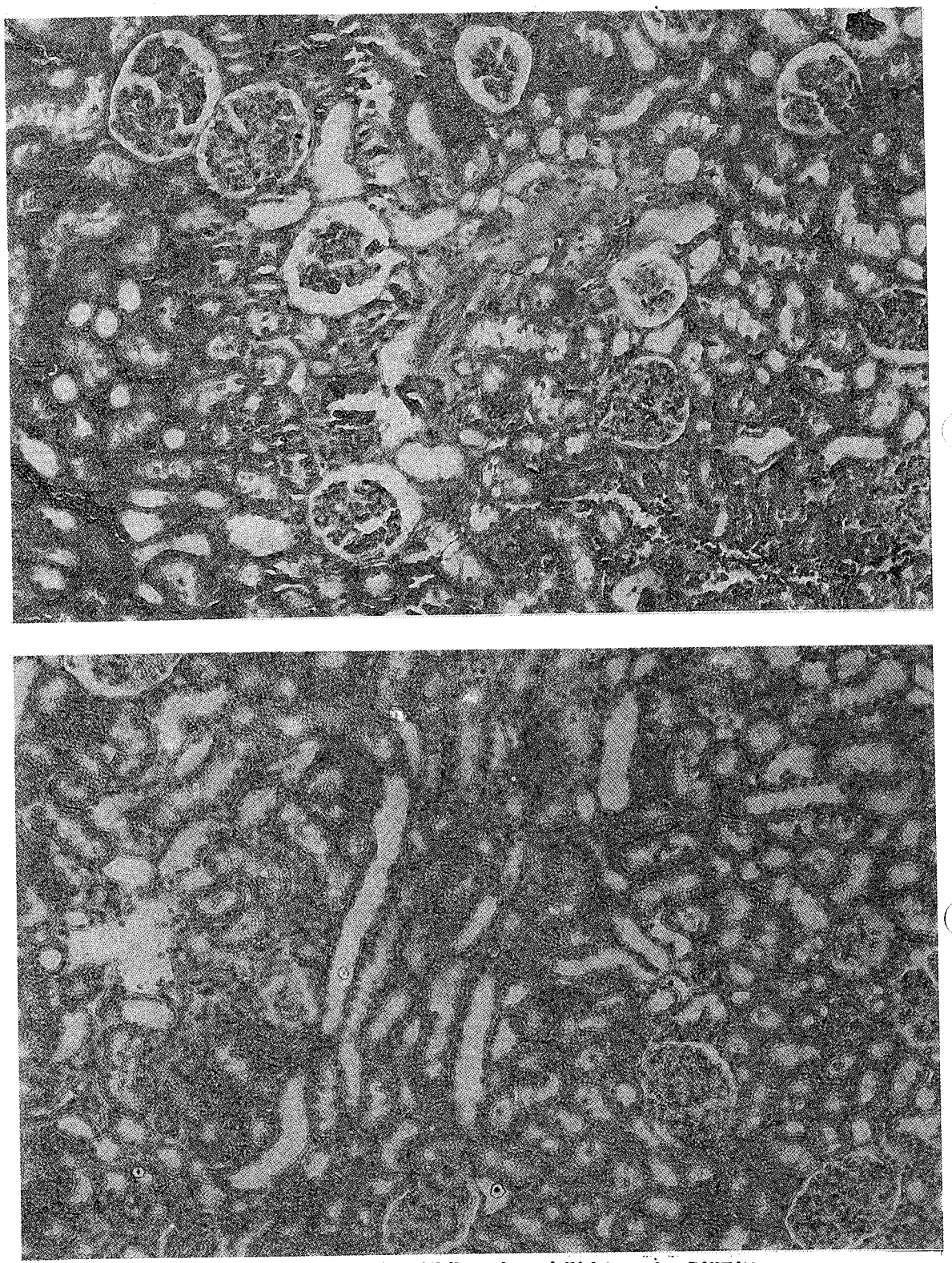


圖 3：腎臟無明顯病理變化。上：實驗組，下：對照組

(四)討論

移植心臟發生排斥時，可摸出其收縮力明顯減少。且因細胞間質加大並有淋巴球等單核細胞浸潤及大量纖維性滲出物，使整個心臟明顯變大，病理切片亦可明顯看到心肌細胞解離壞死，偶而亦可見到小血管栓塞。病理切片所看到的單核細胞絕大多數爲 T淋巴球，所增加的抑制性/毒殺性T淋巴球一方面對急性排斥的免疫反應，部分則因爲心肌壞死後非特異性刺激而聚集在壞死組織的周圍(21)

在試管實驗，薑黃素可以抑制單核細胞及血管平滑肌的增生(1)，並可對抗手術後的發炎反應(1-3)，且有抗氧化清除自由基等作用(7、8、14)，理論上應可延長移植器官的存活期。但我們在老鼠做心臟移植實驗，雖然自8.8±2.9天延長爲10.8±2.8天，但統計學上並無顯著差異。可能因爲免疫抑制效果較弱，臨床上無法單獨做爲有效的抗排斥藥物。

由於實驗組和對照組之肝、腎機能並無明顯差異，顯示薑黃素在50mg/kg之劑量下並無明顯之肝、腎等器官之毒性，GOT，CK，CK-MB在兩組皆異常上升，應和排斥時，心肌明顯破壞有關，在兩組排斥之移植心臟之病理變化可見到明顯單核球浸潤及心肌細胞變性和壞死(圖1)。

(五)結論與建議

本研究顯示注射薑黃素50mg/kg和注射同體積(1.0毫升)生理食鹽水之移植心臟的存活期並無明顯差異(10.8±2.8天對8.8±2.9天，p=0.065)，表示單獨使用該劑量之薑黃素做爲抗排斥藥物時，無法避免嚴重急性心臟排斥的發生，但使用該劑量下並無肝或腎毒性。由於本藥具有抗發炎(1-3)，減少血栓形成(4、5)，抗氧化(7、8)，清除自

由基(14)，降血脂(16、17)等效果，若和目前臨床上廣泛使用之抗排斥藥物如環孢靈等併用，可能會有效延長移植心臟的存活期。

(六)參考文獻

1. Huang HC, Jan TR, Yeh SF：Inhibitory effect of curcumin an anti-inflammatory agent, on vascular smooth muscle cell proliferation. Eur J Pharmacol. 1992；221：381-4

2. Ammon HP, Wahl MA：Pharmacology of Curcumin longa. (Review)Planta Medica. 1991；57：1-7

3. Satoskar RR, Shah SJ, Shenoy SG：Evaluation of anti-inflammatory property of curcumin (diferuloyl methane) in patients wit hpost-operative inflammation. International J Clinic Pharmacol Thera & Toxicol. 1986；24：651-4

4. Srivastava R, Dikshit M, Srimal RC, Dhawan BN：Anti-thrombotic effect of curcumin. Thrombosis Research. 1985；40：413-7

5. Srivastava R, Puri V, Srimal RC, Dhawan BN：Effect of curcum on platelet aggregation and vascular prostacyclin synthesis. Arzneimittel-Forschung. 1986；36：715-7

6. Liu JY, Lin SJ, Lin JK：Inhibitory efffects of curcumin on protein kinase C activity induced by 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate in NIH 3T3 cells. Carcinogenesis. 1993；14：857-61

7. Reddy AC, Lokesh BR：Studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver microsomes. Molecular & Cellular Biochemistry. 1992；111：117-24

8. Donatus IA, Sardjoko, Vermeulen NP：Cytotoxic and

cytoprotective activities of curcumin. Effects on paracetamolinduced cytotoxicity, lipid peroxidation and glutathione depletion in rat hepatocytes. Biochem Pharmacol. 1990 ; 39 : 1869-75

9. Huang MT, Lysz T, Ferraro T, Abidi TF, Laskin JD, Conney AH : Inhibitory effects of curcumin on in vitro lipoxygenase and cyclooxygenase activities in mouse epidermis. Cancer Research 1991 ; 51 : 813-9

10. Huang TS, Lee SC, Lin JK : Suppression of c-Jun/AP-1 activation by an inhibitor of tumor promotion in mouse fibroblast cells. Proc Natl Acad Sci USA. 1991 ; 88 : 5292-6

11. Azuine MA, Bhide SV : Chemopreventive effect of turmeric against stomach and skin tumors induced by chemical carcinogens in Swiss mice. Nutrition & Cancer. 1992 ; 17 : 77-83

12. Nagabhushan M, Bhide SV : Curcumin as inhibitor of cancer. J Am Coll Nutrition. 1992 ; 11 : 192-8

13. Huang MT, Wang ZT, Georgiadis CA, Laskin JD, Conney AH : Inhibitory effects of curcumin on tumor initiation by benzo〔a〕pyrene and 7,12-dimethylbene〔a〕anthracene. Carcinogenesis. 1992 ; 13 : 2183-6

14. Shih CA, Lin JK : Inhibition of 8-hydroxydeoxyguanosine formation by curcumin in mouse fibroblast cells. Carcinogenesis. 1993 ; 14 : 709-12

15. Dahl TA, McGowan WM, Shand MA, Srinivasan VS : Photokilling of bacteria by the natural dye curcumin. Arch Microbiol. 1989 ; 151 : 183-5

16. Yasni S, Imaizumi K, Nakamura M, Aimoto J, Sugano M :

Effects of curcumin xanthorrhiza Roxb. and curcuminoids onthe level of serum and liver lipids, serum apolipoprotein A\I and lipogenic enzymes in rats. Food Chem Toxicol. 1993 ; 31 : 213-8

17. Soudamini KK, Unnikrishnan MC, Soni KB, Kuttan R : Inhibition of lipid peroxidation and cholesterol levels in mice by curcumin. Indian J Physiol Pharmacol. 1992 ; 36 : 239-43

18. Lee S, Macedo AR, Curtes GP, Lee D, Orloff MJ : A simplified model for heterotopic rat heart transplantation. Transplantation 1982 ; 12 : 524-9

19. Wang SS : Heart transplantation. Medicine Today. 1985 ; 12 : 524-9

20. Billingham ME, Cary NRB, Hammond ME, Kemnitz J, Marboe C, McCallister HA, Snovar DC, Winters GL, Zerbe A : A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection. J Heart Transplant 1990 ; 9 : 587-93

21. Forbes RDC, Lowry RP, Gomersall M, Blackburn J : Comparative immunohistologic studies in an adoptive transfer model of acute rat cardiac allograft rejection. Transplantation 1985 ; 40 : 77-85

編號 DOH84-CM-028

瘀血症患者之血清 SOD 活性及過氧化脂質之研究

陳明豐　牟聯瑞　張瑞璋　吳重慶　陳忠仁
陳榮聰　陳彥欽　謝明雄　王淑貞　廖　珍

台南市立醫院

摘　　要

本研究目的乃是探討瘀血證和游離基之間的關係。我們由臨床上觀察20名正常人、20名肝硬化及20名冠心病患者的瘀血狀態並測定其血清過氧化脂質代謝物MDA及SOD活性。瘀血狀態之判定乃根據日本寺澤捷年(1983)提出的瘀血診斷標準，區分爲非瘀血狀態（瘀血指數20點以下）、瘀血病態（瘀血指數介於20—40點）及重度瘀血病態（瘀血指數大於40點）。MDA濃度以TBA-HPLC法測定。SOD活性則以亞硝酸法測定。

結果顯示，20名正常人皆爲非瘀血狀態，而肝硬化及冠心病患者皆爲瘀血病態或重症瘀血病態。瘀血病態與重度瘀血病態患者血清MDA值分別爲1.85 ± 0.50及2.20 ± 0.56nmol/ml，明顯地高於非瘀血組1.20 ± 0.46nmol/ml。但SOD則三組之間並無明顯差異。此結果顯示肝硬化及冠心病患者易合併瘀血病態。而瘀血病態患者血中過氧化脂質濃度有明顯昇高的趨勢。過氧化脂質在瘀血病態中的角色值得進一步探討。

Plan number: DOH-84-CM-028

Title of plan: The study on SOD activities and lipid peroxide concentrations in serum of patients with syndrome of blood stasis

Executive institution: Tainan Municipal Hospital

Study members: Ming-Feng Chen (chief leader)
Lein-Ray Mo (Associate leader)
Jei-Chang Chang(Associate leader)
Chung-Chieng Wu
Jong-Ring Chen
Rong-Song Chen
Yen-Chin Chen
Ming-Chaong Sei
Su-Jen Wang
Jen Lyau

Abstract:

The aim of this study is to investigate the relationship between the syndrome of blood stasis and free radicals. Subjects for study included twenty healthy humans, twenty patients with liver cirrhosis and twenty patients with coronary heart disease. They were evaluated for blood stastic status according to the rules supposed by Terazawa (1983) in Japan. In the same time, their serum concentrations of lipid peroxide (MDA) and SOD activities were detected. Subjects were divided into three groups according to their blood stasis index (BSI). The non-blood-stasis group represented their BSI lower than 20 points. The blood- stasis group represented their BSI between 20-40 points. And the severe blood- stasis group had their BSI greater than 40 points. MDA concentraction was measured with a TBA-HPLC method. On the other hand, SOD activity was measured by a nitrite method.

The results revealed that all of the healthy humans belonged to the non-blood-stasis group. However, all of the patients with liver cirrhosis or coronary heart disease belonged to the blood-stasis-group or severe blood-stasis group. The MDA concentrations in blood-stasis group and serere blood-stasis group were 1.85 ± 0.50

and 2.20 ± 0.56 nmol/ml, respectively, significantly greater than that of non-blood-stasis group with 1.20 ± 0.46nmol/ml. There were no difference between the SOD activities in these three groups.

These results suggest that the patients with liver cirrhosis or coronary heart disease have a tendency to become blood stasis. Moreover, the serum lipid peroxides significantly increase in patients with syndrome of blood stasis. The role of lipid peroxide in the generation of syndrome of blood stasis is worthful of further study.

(一)前言

近年來活性氧(active oxygen)與過氧化脂質(lipid peroxide)兩者皆被發現是組織傷害及引起炎症的強力因子而受到注目。它們不但與Behcet病(1)，川崎病(MCLS)(2)、SLE(3)、火傷(4)等及各種炎症疾病(5-10)有關。也與腦心血管阻塞性疾病(11-13)、糖尿病(14-15)等成人病有關。更進一步與白內障(16)、黑斑(17-18)、皺紋(19)等老化現象有密切關係。甚至成為發癌的促進因子(promoter)(20-22)。因此，如何捕捉體內過剩的活性氧及抑制過多過氧化脂質形成以治療成人病及預防癌症的發生已成為最近熱門的話題。SOD(Superoxide dismutase)是體內消除superoxide(O_2^-)最強力的酵素(enzyme)(23)。可是由於它是大分子量的蛋白，會被消化液破壞。因此，不能口服只能注射。再加上其注射後在人體內的半衰期很短(只有6分鐘)，阻礙了它在慢性疾患的應用(24)。最近學者們發現天然植物中含有具抗氧化活性的小分子物質(如Vit E, caroten, flavonoid, tannin, polyphenol等)(24)。它們不但能消除各種活性氧(O_2^-, H_2O_2, OH等)，且能抑制過氧化脂質的形成(24)。由於它們不是大蛋白，不被消化液破壞，所以能經口服而發生效果(24)。口服抗氧化劑開發中，中藥的清除游離基的效果日益倍受注目(25)。其中又

以驅瘀血劑(26,27)最被重視。由於腦、心血管阻塞的病人血清過氧化脂質明顯高於正常人(28)。而這些病人臨床上也常出現傳統醫學的「瘀血證」且常以活血化瘀中藥治療(26,29,30)。因此，我們懷疑瘀血證之發生可能與游離基的過度產生有關。而活血化瘀的藥物之有效，游離基的清除作用可能是重要機轉之一。為了證實我們的想法，本研究擬對瘀血證與游離基的關係進行探討。體內游離基壽命相當短不易測定。然而其容易攻擊脂質形成過氧化脂質，壽命較長容易測定。因此，我們對瘀血證患者測定其血清中過氧化脂質的代謝產物Malondialdehyde(MDA)之濃度及SOD的活性。進一步比較瘀血證及非瘀血證患者之間SOD活性及MDA濃度的差異。並且探討MDA濃度與瘀血程度的關係。

(二)材料及方法

在中醫部就診病人依日本寺澤等人提出的瘀血證診斷基準(31)評估其瘀血程度。瘀血的診斷基準如表1。

表1. 瘀血診斷分數表

瘀血 分數					
	男	女		男	女
眼窩部色素沈著	10	10	臍旁壓痛抵抗(左)	5	5
臉部色素沈著	2	2	臍旁壓痛抵抗(右)	10	10
皮膚粗燥 1)	2	5	臍旁壓痛抵抗(正中)	5	5
嘴唇暗紅色	2	2	回盲部壓痛抵抗	5	2
齒槽肉暗紅色	10	5	S 狀結腸部壓痛抵抗	5	5
舌頭暗紅、紫色	10	10	肋脅部壓痛抵抗	5	5
細　絡 2)	5	5	痔　瘡	10	5
手掌紅斑	2	5	月經異常		10
皮下出血	2	10			

評定基準：1）20點以下非瘀血病態，21點以上瘀血病態，40點以上為重症瘀血病態。

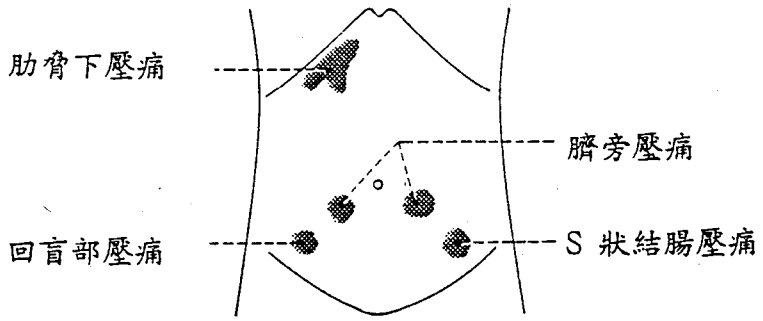
2）若該現象相當明顯，則如表給予分數。若為輕度表現給予1/2分數。

3）腹部壓痛如圖1

注 1）皮膚乾燥、粗燥、皸裂

2）毛細血管擴張，蜘蛛狀血管瘤

圖1.



我們選擇二十名正常人、二十名肝硬化及二十名冠心病患者當研究對象。首先評估其瘀血指數，再進行抽血及檢驗。其步驟如下：

病人經一夜的禁食後，早上空腹以一般試驗管採血5cc。採血結束後，待血球沈澱，僅速離心分離血清，將血清置於－20℃下冷凍。SOD活性測定於一週內，MDA濃度測定於兩週內完成。測定方法如下：

(一)SOD 活性測定

血清SOD活性測定採亞硝酸測定法(32)。其測定方法如下:

1. 血清檢體20ul加入2mmol/l hydroxyamine。HCL 0.1ml 及 2mmol/l hypoxanthine 0.1ml 及硼酸緩衝液 (140mmol/l KH_2PO_4, 78mmol/l NaB_4O_4 pH8.2) 0.1ml, 充分混合。
2. 加入蒸餾水使全量成為0.9ml, 於37℃下incubation 3分鐘。
3. Incubation 後加入20U/ml hypoxanthine oxidase (以1mmol/l EDTA 溶液溶解)0.1ml, 於37℃下反應30分鐘。
4. 接下來加入發色液(含30mg/dl sulfonic acid 及 300ug/dl N-1-naftyletylendiamine. HCL之16.7% 醋酸溶液2ml。於室溫放置30分鐘後, 測定550nm之吸光度。
5. 活性值可由sigma社之標準SOD樣品作成的標準曲線求得。

(二)MDA濃度的測定

MDA的測定以HPLC法實施(33)。其檢驗方法如下:

(1) 每一個試管中先加入0.75ml H_3PO_4, 然後分別取50ul 之TEP (tetraethoxypropane) standard solution, 或血清樣本, 再以蒸餾水調整各試管最終體積為1.5ml。
(2) 鎖緊管蓋, 於100℃沸水中煮60分鐘後, 立即置於冰水中直至操作HPLC。MDA-TBA複合物於酸性中穩定, 而於中性或鹼性環境下分解; 但是樣品必保持中性方可注入HPLC進行分析。因此煮沸過的樣品必須在注入HPLC前10分鐘內, 各別的予中性化處理。
(3) 中性化的方法如下: 取0.5ml煮沸過樣品至裝有0.5ml methanol-NaOH 溶液之polypropylene microtube中, 蓋緊蓋子以Vortex混合後, 在9500g下離心5分鐘, 使血漿內之蛋白沈澱。

(4) HPLC分析:

分析檢體前先以40% methanol run 30分鐘, 80% methanol run 30分鐘, 40% methanol 再run 30分鐘, 繼之改用mobile phase 直至baseline穩定, 設定好條件, 由Blank 往高濃度依次分析。mobile phase 是400ml HPLC用methanol 及 600ml之 potassiun phosphate buffer solution 混合脫氣溶液。HPLC條件採用JASCO Model 880-PU儀器; JASCO SIL C_{18} Column (5umϕ); UV-VIS detector。操作條件為波長532nm; Pump控制流速: 1.4ml/ml。

(三)結果

(一)正常人、肝硬化及冠心病患者的瘀血指數

如圖2所示, 20名正常人皆屬於非瘀血狀態。其瘀血指數為12±5(mean±SD)。而肝硬化患者中有14名屬於瘀血病態(瘀血指數=30±10), 另6名屬於重度瘀血病態(瘀血指數=48±12)。此6名重症瘀血病態肝硬化患者都合併門脈高血壓及腹水。

另外, 冠心病患者中有15名屬於瘀血病態(瘀血指數=28±10), 另5名屬於重度瘀血病態(瘀血指數=46±12)。後者皆為罹患心肌梗塞且心導管證實為多枝冠狀動脈阻塞者。此結果顯示肝硬化及冠心病患者易合併瘀血病態, 且病情越嚴重者, 其瘀血病態更為明顯。

(二)非瘀血正常人與瘀血病態患者血清MDA濃度

如圖3所示, 血清MDA值於非瘀血組(n=20)為1.20±0.46, 瘀血病態組(n=29)為1.85±0.50, 重度瘀血病態組(n=11)為2.20±0.56nmol/ml。瘀血病態組與重症瘀血病態組皆在統計學上有意義地高於非瘀血組($P<0.05$ 及 $P<0.01$), 但是彼此之間卻沒有統計學上

的差異。此結果顯示瘀血病態患者血中過氧化脂質有昇高趨勢。且瘀血病態更嚴重者其過氧化脂質更高。

(三)非瘀血正常人與瘀血患者血中SOD活性值

血清SOD值於非瘀血組、瘀血病態組及重度瘀血病態組分別為26±8，29±10，30±8U/ml。三組之間並無任何統計學上的差異。

(四)結論

以上結果顯示過氧化脂質的昇高與瘀血病態有密切關係。由於組織缺血時容易誘發氧自由基，導致過氧化脂質的產生。另一方面，過氧化脂質被認為是動脈硬化及肝硬化的重要促進因子之一。此兩者引起血流不暢，造成瘀血病態的出現。因此，我們認為過氧化脂質的昇高可能是瘀血的結果，但又可以成為瘀血病態的重要促進因子。

圖2.

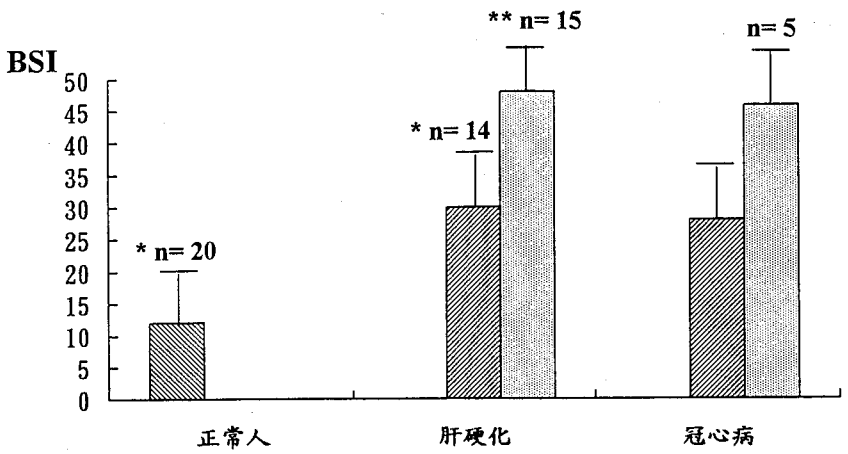
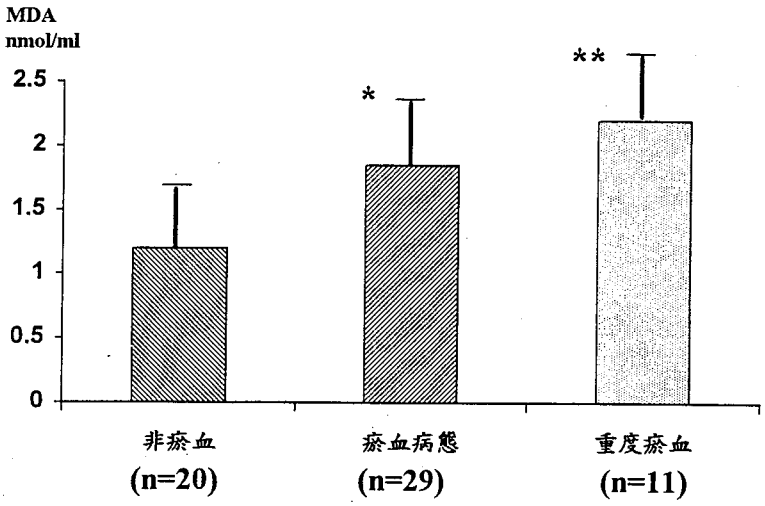


圖3.



(五)參考資料

1. Niwa, Y., Miyake, S., Sakane, T., Shingu, M. and Yokoyama M.: Auto-oxidative damage in Behcet's disease-endothelial cell damage following the elevated oxygen radicals generated by stimulated neutrophils. Clin. Exp. Immunol., 49:247-255 (1982)
2. Niwa, Y. and Sohmiya K.: Enhanced neutrophilic functions in mucocutaneous lymph node syndrome, with special reference to the possible role of increased oxygen intermediate generation in the pathogenesis of coronary thromboarteritis. J. Pediatr., 104:56-60 (1884)
3. Niwa, Y., Sakane, T., Shingu, M. and Miyachi, Y.: Role of stimulated neutrophils from patients with systemic lupus

erythematosus in tissue injury, with special reference to serum factors and increased active oxygen species generated by neutrophils. Inflammation, 9:163-172 (1985)

4. Nishigaki, I., Hagihara, M., Hiramatsu, M., Izawa, I. and Yagi, K.: Effect of thermal injury on lipid peroxide levels of rat. Biochem. Med., 24:185-189 (1980)
5. Niwa, Y., Kanoh, T., Sakane, T., Soh, H., Kawai, S. and Miyachi, Y.: Detection of enhanced lipid peroxide levels in patients with inflammatory skin diseases. J. Clin. Biochem. Nutr., 2:245-251 (1987)
6. Niwa, Y., Sakane, T., Shingu, M. and Yokoyama, M.M.: Effect of stimulated neutrophils from the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis on lymphocytes--a possible role of increased oxygen radicals generated by the neutrophils. J. Clin. Immunol., 3:228-240 (1983)
7. Niwa, Y., Sakane, T., Shingu, M., Yanagida, I., Komura, J. and Miyachi, Y.: Neutrophil-generated active oxygens in linear IgA bullous dermatosis. Arch. Dermatol., 121:73-78 (1985)
8. Emerit, I., Housset, E. and Feingold, J.: Chromosomal breakage and scleroderma: studies in family members. J. Lab. Clin. Med., 88:81-86 (1976)
9. Emerit, I. and Michelson, A.M.: Chromosome instability in human and murine autoimmune disease: anticlastogenic effect of superoxide dismutase. Acta. Physiol. Scand. (Suppl.) 492:59-65 (1980)
10. Miyachi, Y., Uchida, K., Komura, J., Asada, Y. and Niwa, Y.: Auto-

oxidative damages in cement dermatitis. Arch. Dermatol. Res., 277:288-292 (1985)

11. McCord, J.M. and Roy, R.S.: The pathophysiology of superoxide: role in inflammation and ischemia. Can. J. Physiol. Pharmacol., 60:1346-1352 (1982)
12. Burton, K.P., McCord, J.M. and Ghai, G.: Myocardial alterations due to free- radical generation. Am. J. Physiol., 247:H776-H783 (1984)
13. Yagi, K.: Increased serum lipid peroxides initiate atherogenesis. Bio Essays, 1:58- 60 (1984)
14. Grankvist, K., Marklund, S. and Taljedal, I.B.: Superoxide dismutase is a prophylactic against alloxan diabetes. Nature, 294:158-160 (1981)
15. Heikkila, R.E., Winston, B., Cohen, G. and Barden, H.: Alloxan-induced diabetes-evidence for hydroxyl radical as a cytotoxic intermediate. Biochem Pharmacol. 25:1085-1092 (1976)
16. Zigler, J. S. Jr., Bodaness, R.S., Gery, I. and Kinoshita, J.H.: Effects of lipid peroxidation producets on the rat lens in organ culture: a possible mechanism of cataract initiation in retinal degenerative disease. Arch. Biochem. Biophys., 225:149-156 (1983)
17. Tomita, Y., Hariu, A., Kato, C. and Seiji, M.: Radical production during tyrosinase reaction, dopa-melanin formation, and photoirradiation of dopamelanin. J. Invest. Dermatol., 82:573-576 (1984)
18. Tomita, Y. and Seiji, M.: Inactivation mechanism of tyrosinase in mouse melanoma. J. Dermatol., 4:245-249 (1977)
19. 丹羽靱負：活性氧、過氧化脂質及SOD的臨床意義．日皮會誌

96:1346-1357 (1986)

20. Oberley, L.W. and Buettner, G.R.: Role of superoxide dismutase in cancer: a review. Cancer Res. 39:1141-1149 (1979)
21. Kensler, T.W., Bush, D.M. and Kozumbo, W.J.: Inhibition of tumor promotion by a biomimetic superoxide dismutase Science. 221:75-77 (1983)
22. Michelson, A.M. and Buckingham, M.E.: Effects of superoxide radicals on myoblast growth and differentiation. Biochem. Biophys. Res. Commun., 58:1079-1086 (1974)
23. McCord, J.M. and Fridovieh, J.: Superoxide dismutase, an enzymic function for erythrocuprein (Hemocuprein) J. Biolog. Chem., 244:6049-6055 (1969)
24. Niwa, Y. and Miyachi, Y.: Antioxidant action of natural health products and Chinese herbs. Inflammation, 10:79-91 (1986)
25. 奥田拓男，吉川敏一編：free radical 與和漢藥。國際醫學出版社，東京。 P42-70 (1990)
26. 茅惠明、韓新民、陳賢眞、余永敏：補陽還五湯對缺血性中風不同病期血漿脂質過氧化物水平影響。中西醫結合雜誌 13:539-540 (1993)
27. 宗平平、閻田玉、龔明敏：化瘀湯消除自由基的臨床及實驗研究。中西醫結合雜誌 13:591-593 (1993)
28. 辻井正：過氧化脂質相關的研究(第2報)；血清過氧化脂質的測定法及各種疾患的動態檢討。奈良醫誌 27:480-488 (1976)
29. 余眞、陳可冀、錢振淮等：川芎沖劑對冠心病患者血小板功能及前列腺素代謝的影響。7:8-11 (1987)

30. 李連選：抗心肌缺血中藥研究發展。中西醫結合雜誌 7:57-59 (1987)

31. 寺澤捷年：瘀血證的症候解析及診斷基準的提倡。日東洋醫誌 34:1-3 (1983)

32. Oyanagui, Y.: Reevaluation of assay methods and establishment of hit for superoxide dismutase activity. Anal. Biochem. 42:290-296 (1984)

33. Wong, S.H.Y., Knight, J.A., Hopfer, S.M. et al.: Lipoperoxides in plasma as measured by liquid-chromatographic separation of Malondialdehyde-Thiobarbituric acid adduct. Clin. Chem. 33:214-220 (1987)

編號 DOH84-CM-029

精密陶瓷半導體對於實驗動物鎮痛機轉之研究

蔡輝彥　程文志　陳玉芳　*張永賢　**陳介甫

中國醫藥學院　藥理學科暨基礎醫學研究所　*復健醫學系
**國立中國醫藥研究所

摘　　要

精密陶瓷半導體主要是由一些過渡元素的氧化物所組成的，例如：錳(Mn)、鈷(Co)、和鎳(Ni)等。精密陶瓷半導體它在平時是一種不良導體，但當加熱到36度以上時，它就會變成一種良導體，並且會放出波長4-30um的遠紅外線。本研究室先前的研究中，將精密陶瓷半導體埋穴於老鼠的「足三里」時，發現其具有很明顯的鎮痛作用，由於精密陶瓷半導體的效用與溫度的變化有很密切的關係，故本研究也觀察在不同溫度下強制鼷鼠游泳是否會影響精密陶瓷半導體埋穴的鎮痛作用，獲得以下的結果：將精密陶瓷半導體埋穴於「足三里」可產生很明顯的中樞及週邊的鎮痛作用，當在埋穴腳浸入較高的溫度時，其產生的鎮痛作用會更明顯。而且將精密陶瓷半導體埋穴於「足三里」可加強強制鼷鼠游泳所產生的鎮痛作用，此加強作用可能與adrenergic神經元關係較密切。

STUDIES OFANALGESIC MECHANISM OF FINE CERAMIC SEMICONDUCTOR IN THE EXPERIMENTAL ANIMAL

Huei-Yann Tsai, Wen-Che Cheng, Yuh-Fung Chen, Yung-Hsien Chang and Chieh-Fu Chen*

Department of Pharmacology and Institute of Basic Medical Sciences, School of Rehabilitation*, China Medical College, Taichung, Taiwan, R.O.C.
National Research Institute of Chinese Medicine**, Taipei, Taiwan, R.O.C.

Our previous studies reported that embedding fine ceramic semiconductors in the acupuncture point (Zusanli, S36) could produce obvious antinociception. Owing to that a change of temperature would influence the analgesic effectiveness of fine ceramic semiconductor; therefore, in this study we detected whether forced swimming stress in different temperatures would influence the analgesia of fine ceramic semiconductors which were embedded in the acupuncture point (Zusanli, S36) of mice. We obtained the following results: To embed fine ceramic semiconductor in the acupuncture point (Zusanli, S36) produced remarkable central and peripheral antinociception. It became more obvious when the leg of embedded side dipped into water of higher temperature (40 ℃). The antinociception of fine ceramic semiconductor was enhanced by forced swimming stress in different temperatures. And the mechanism of potentiation might be achieved mainly via adrenergic neurons.

前　　言

幾千年前我們的祖先就已經在使用『陶瓷器』了，舉凡一般日常生活的容器、磚瓦至保衛疆土的兵器等等，皆是靠著人類的智慧結晶所得的成果。隨

著科技愈來愈發達，陶瓷的應用也隨著愈來愈精密，例如：航太工業、情報雷達、人體的代用骨骼、牙科材料等等，近來更把它應用在生物醫學方面，在這方面精密陶瓷更結合了中國固有的針灸理論，用來減輕關節炎、肌肉痛等神經疼痛，目前市面上所見的針灸絆即是這類產品〔1-4〕。

紅外線分爲近、中、遠三種，而三種不同在於波長的差異，至於它們的範圍各家說法不一，但是一般區分爲：近紅外線爲 0.75 -1.5 um ，而中紅外線爲1.5 -5.6 um ，遠紅外線則爲 5.6 -1000 um ，由於波長的不同，其效果亦有差異，遠紅外線的滲透性最強，即較容易深達體內深部，容易作到熱線傳導。近紅外線與中紅外線的熱能形式有如電子或振動形式，但是，遠紅外線則呈振動、旋轉、純旋轉三種形態，而形態愈多，滲透性則愈強，遠紅外線的治療效果，癥結所在即在其滲透性〔1-3〕。而精密陶瓷半導體所放出的紅外線較偏向遠紅外線，所以其效果更強。

在所有的『物理療法』中都會提及：「中度的加熱作用具有很強的鎮痛作用。」「加熱則作用於知覺神經末端，而使其產生鎮痛作用。」遠紅外線它能溫暖皮膚的表面，其滲透性只維持在中等的深度，絕不會輻射的太深，遠紅外線會透過表皮，穿越汗線，然後到達皮下組織爲止，在此聚集著許多微血管，如果血管擴張，則血流量就會大增，就能祛除大部分的疼痛。

疼痛是由致痛物質所引起的，致痛物質是在疼痛的部位所產生的，而且不斷地堆積在一個部位，因而產生疼痛，原本致痛物質乃是由於血液循環不順暢所產生的產物，而遠紅外線具有溫熱的效果，擴張血管，增加血液循環，帶走許多的致痛物質，當致痛物質被帶走以後，就不會覺得痛了，這就是遠紅外線藉著溫熱作用所產生的鎮痛效果。此外，遠紅外線的功用尚有熱傳導、代謝物的淨化作用、皮膚的靜脈運動反射、體內溫度的上升等等。精密陶瓷半導體之所以會有鎮痛效果，主要是其產生的遠紅外線，造成溫熱作用所產生的鎮痛效果〔3〕。

本研究室先前的研究中〔5-6〕發現，將精密陶瓷半導體埋穴於老鼠的、足三里穴道時，發現其具有很明顯的鎮痛作用，且可延長鼷鼠游泳的耐力。由於精密陶瓷半導體的效用與溫度的變化有很密切的關係，所以本研究更進一步觀察在不同溫度下強制性鼷鼠游泳是否會影響精密陶瓷半導體埋穴的鎮痛作用。

材 料 與 方 法

一. 福馬林試驗(Formalin test)

本試驗是使用28-35克之雄性ICR鼷鼠，在給予游泳壓力 5分鐘後於鼷鼠之右後腳背皮下注射 25 μ1 之 1% formalin-saline 溶液，注射完立即將鼷鼠放於觀察箱中，每隔五分鐘記錄鼷鼠咬或舔右後腳注射部位之累積秒數，共記錄40分鐘。將 0-5分的累積秒數稱爲早期(early phase)的痛覺反應時間， 而將 15-40 分的累積秒數加起來稱爲晚期(late phase)的痛覺反應時〔7-15〕。

二.強制性游泳實驗(Forced Swimming Stress test)

體重28-35克之雄性ICR系鼷鼠，放入攝氏 20、30、40 度的水槽中，水槽的規格爲： 33.5X33.5X18.5 cm3，實驗時水深爲12cm。強迫其游泳 3分鐘， 3分鐘一到即把鼷鼠取出，放置在觀察箱內休息 5分鐘，並用衛生紙將其身上的水分吸乾，等 5分鐘一到，即進行福馬林試驗〔16〕。

三.精密陶瓷半導體的鎮痛作用

本實驗是使用28-35克之雄性ICR鼷鼠，於作此實驗三天前，在乙醚麻醉下，將精密陶瓷埋入相當於人類、足三里穴道的位置，待清醒後，按照平常飼養的方式，讓其隨意攝食及飲水。由於本實驗是要探討溫度對於精密

陶瓷鎮痛效應的影響，所以本實驗就設計三種溫度來作比較，即攝氏20、30與40度。在實驗前15分，將埋片的部位浸入實驗所須溫度的水中維持10秒後，取出置於觀察箱內，等15分一到即做福馬林試驗，對照組則在足三里穴道處埋入壓克力片。

四.強制性游泳對於精密陶瓷半導體鎮痛作用之影響

體重28-35克之雄性ICR系鼷鼠，在作此實驗前三天，於乙醚麻醉下，將精密陶瓷半導體或壓克力片埋入相當於人類足三里穴道的位置，待清醒後，按照平常飼養的方式，讓其隨意攝食及飲水。實驗開始時，將鼷鼠分別放入攝氏 20、 30、或 40 度的水槽中，強迫其游泳 3分鐘， 3分鐘一到即把鼷鼠取出，放置在觀察箱內休息 5分鐘，並用衛生紙將其身上的水分吸乾，等 5分鐘一到，即進行福馬林實驗。

五.強制性游泳對於精密陶瓷半導體的鎮痛機轉之探討

體重28-35克之雄性於實驗前三天經埋穴處理過的ICR系鼷鼠，分別於游泳壓力施行前 30,15,10或10分鐘，以腹腔給藥的方式給予 Naltrindole, Naloxone、 Prazocin 以及 Yohimbine，游泳壓力施行後 5分鐘，以福馬林試驗來觀察其鎮痛作用是否會受這些試劑影響。

六. 實驗結果之統計分析

本研究結果的數據，是以 Unpaired Student's t-test 的方法做統計，用來分析其間差異的顯著性，凡是 P 值小於 0.05 時，則認爲其具有統計的意義。

結　　果

一　精密陶瓷半導體的鎮痛作用

將鼷鼠埋穴腳分別浸於攝氏 20, 30, 40 度的水中，以福馬林試驗來觀察其產生的鎮痛作用，發現埋精密陶瓷半導體於足三里的鼷鼠，於三種不同的水溫下強迫游泳後，均可抑制福馬林引起的早期(early phase)和晚期(late phase)的痛覺反應，而除了埋壓克力片的鼷鼠在攝氏 20 度的水溫游泳後，無法抑制福馬林所引起的晚期痛覺反應外，其餘的各組鼷鼠在各個水溫下強迫其游泳，均可抑制福馬林引起的早期(early phase)和晚期(late phase)的痛覺反應。如圖 1 所示。這些結果顯示不管是埋精密陶瓷半導體或者是壓克力片於足三里時，在三種不同溫度下均會產生鎮痛作用，而且埋精密陶瓷半導體的較明顯。

二. 強制性游泳與精密陶瓷半導體引起的鎮痛作用之交互影響

埋精密陶瓷半導體或壓克力片的鼷鼠於不同水溫下強迫游泳時，各組鼷鼠的簡寫分別爲 Fs20, Fs30, Fs40, fs20, fs30 ， fs40，發現福馬林引起的早期痛覺反應可被 Fs20, Fs30, Fs40 及 fs40 這幾組抑制，而晚期的痛覺反應則可被 Fs30, Fs40 及 fs40 所抑制。如圖 2 所示。這些結果顯示埋精密陶瓷半導體或者是壓克力片的鼷鼠均可加強強制性游泳所引起的痛覺反應，不過埋精密陶瓷半導體組要比埋壓克力組來的有效。

三. 精密陶瓷半導體及強制性游泳引起鎮痛作用機轉之探討

1. Opioid 接受器拮抗劑之影響

在強迫游泳施行前 15 分鐘給予 Naloxone (1, 5 mg/kg i.p.)發現，在攝氏 20 度下，低劑量可加強精密陶瓷半導體對於早期痛覺反應的鎮痛作用，並可加強所有組別鼷鼠對於晚期痛覺反應的抑制作用，如圖3 所示；而

在攝氏 30、40 度的水溫下， Naloxone 可逆轉控制組及埋壓克力組的鼷鼠的早期痛覺反應，對於埋精密陶瓷半導體組並沒有影響。如圖 4，5 所示。

於強迫游泳施行前 30 分鐘皮下給予 naltrindole (1 mg/kg)，由 圖 6，7，8 得知 naltrindole 對於精密陶瓷加強強制性游泳的鎮痛作用，不管是在那一個水溫下，均不會影響其作用。只會阻斷強制鼷鼠於攝氏 20 度水溫下游泳所產生的鎮痛作用。

2. α-Adrenergic 接受器拮抗劑之影響

於強迫游泳施行前 10 分鐘，分別腹腔投予 Prazosin、 Yohimbine，發現投與 Prazosin 可加強所有組別鼷鼠在三種水溫下游泳產生的鎮痛作用，尤其以抑制晚期的痛覺反應最明顯，如圖 9，10，11 所示。而事先給予 Yohombine 在攝氏 20 度的水溫下，均可加強所有組別所產生的鎮痛作用，而於攝氏 30、40 度的水溫下，其可加強埋壓克力及埋精密陶瓷半導體鼷鼠對於早期痛覺反應的抑制作用，亦可加強控制組老鼠游泳所抑制的晚期痛覺反應。如圖 12，13，14 所示。

討　　論

精密陶瓷半導體是由一些過渡元素的氧化物在攝氏 1250 度高溫下灼燒成的產物，其於平時是一不良導體，當在其表面加熱到攝氏 36 度以上時，如接觸到體溫時，它就會變成一個良導體，而且會放出波長 4-30 μm 的遠紅外線〔5〕〔6〕〔17〕。由於遠紅外線具有很強的溫熱效果，較先進的國家藉由它的溫熱效應將它應用到三溫暖，促進人體血液循環以消除病痛〔1-3〕，目前亦有學者將它與傳統中國的針灸原理結合在一起，即是利用其產生的溫熱效應

透過穴道以達到鎮痛的作用〔5〕〔6〕〔17〕，本研究室於先前的報告中已證實，將精密陶瓷半導體埋穴於〝足三里〞穴道，發現會產生很明顯的鎮痛作用〔5〕〔6〕〔17〕，又有報告顯示精密陶瓷半導體隨著加熱溫度的升高其放出遠紅外線的量就會愈多，而在本研究室先前的報告中，當時並未探討溫度改變對其影響，而於本研究報告中將精密陶瓷半導體埋穴於鼷鼠〝足三里〞穴道，經浸入不同溫度的水槽後發現，均有很明顯的鎮痛作用產生，而埋壓克力片於〝足三里〞的鼷鼠於不同溫度下亦有明顯的鎮痛作用，這可能是因爲壓克力片以及精密陶瓷半導體，藉著物理性的刺激穴道使得鼷鼠產生鎮痛作用，學者發現在穴道埋線時亦會有明顯的鎮痛作用產生〔5〕〔6〕，可能也是基於上述的原因所造成的。有報告指出扎針刺激穴道會使皮膚和深部溫度昇高〔18〕〔19〕，果真如此就有助於精密陶瓷半導體放出遠紅外線，然後藉著溫熱作用達到鎮痛的效果，由結果可看出，埋精密陶瓷半導體於〝足三里〞所產生的鎮痛作用似乎比埋壓克力要強，可見物理性的刺激亦會使精密陶瓷半導體放出遠紅外線出來，而達到鎮痛的作用。由結果亦可得知，浸埋穴腳的水溫愈高時，精密陶瓷的鎮痛作用亦會愈強。

在強制性游泳及精密陶瓷半導體之間的交互作用方面，由結果得知精密陶瓷半導體均會加強強制鼷鼠於不同水溫下游泳產生的鎮痛作用，而埋壓克力的鼷鼠僅會加強強制鼷鼠於攝氏 40 度的水溫下游泳所產生的鎮痛作用，埋壓克力的鼷鼠亦有如此的現象可能是因爲攝氏 40 度的高溫，加上游泳所散發出來的熱量藉著壓克力片直接刺激穴道所致。由於強制性游泳的鎮痛機轉與 opioid 和 α - adrenergic 接受器有關，所以於本研究中即利用 opioid 和 α - adrenergic 接受器的拮抗劑來觀察是否會影響精密陶瓷半導體增強強制鼷鼠游泳所產生的鎮痛作用，由實驗結果得知埋精密陶瓷半導體與埋壓克力片的鼷鼠所產生的鎮痛作用，是由不同的作用機轉所媒介，因爲埋壓克力片於〝足三里〞的鼷鼠對於強制游泳產生的中樞鎮痛作用，在三種不同的水溫下均可被 naloxone 阻斷，

而埋精密陶瓷半導體的鼷鼠則不受影響。而週邊的鎮痛作用，仍出現 naloxone 增強鎮痛的現象，這可能又是 naloxone 作用到 κ - opioid 接受器所引起的，不過此現象並沒在埋精密陶瓷半導體的鼷鼠，於高溫下(攝氏 30 或 40 度) 強制游泳所產生的鎮痛作用中被發現。若事前投與 naltrindole 並不會影響埋精密陶瓷半導體或埋壓克力片的鼷鼠對於強制性游泳所產生的鎮痛作用。由此可見埋壓克力片於〝足三里〞的鼷鼠對於強制游泳產生的中樞鎮痛作用，可能是由 μ - opioid 接受器所媒介，而精密陶瓷半導體對於強制性游泳產生的鎮痛作用機轉，可能與 opioid 接受器關係較不密切。

在 α - adrenergic 接受器拮抗劑方面，事前投與 prazosin 和 yohimbine 均可增強埋壓克力片或埋精密陶瓷半導體的鼷鼠所產生的中樞鎮痛作用，而且以 prazosin 的效果最強。

由上述分析結果可得一結論，即是利用福馬林試驗觀察得知，埋精密陶瓷半導體於鼷鼠的〝足三里〞，會加強強制游泳所產生的鎮痛作用，而且埋精密陶瓷半導體的鼷鼠強制性游泳，其產生鎮痛作用的機轉主要是由 adrenergic 神經元所媒介，而與 opioid 接受器關係較不密切。

結　論

將精密陶瓷半導體或者是壓克力片埋穴於〝足三里〞，均有很明顯的鎮痛作用產生，不過精密陶瓷半導體的作用要比埋壓克力片產生的鎮痛來的強。而且當在埋穴腳浸入較高的水溫時，不管是將精密陶瓷半導體或者是壓克力片埋穴於〝足三里〞的鼷鼠，其產生的鎮痛作用會更明顯。

由實驗結果得知，將精密陶瓷半導體或者是壓克力片埋穴於〝足三里〞，均可加強強制性鼷鼠游泳所產生的鎮痛作用。埋壓克力片組鼷鼠的加強鎮痛作

用主要是由 μ - opioid 接受器所媒介；而埋精密陶瓷半導體之鼷鼠的加強作用，可能與 adrenergic 神經元有關。

參 考 資 料

1. 山崎敏子：遠紅外線健康法，14-36 頁；159-195 頁，青春出版社，1993
2. 山崎敏子：遠紅外線的醫學，7-23 頁；32-54 頁，青春出版社，1993
3. 松原英多：遠紅外線的祕密，31-170 頁，正義出版社， 1991.
4. 張永賢：鍼灸與精密陶瓷，中國醫藥學院導報 128 期，1992 .
5. Tsai HY, Kang YW, Chen YF and Chang YH : Comparison of the efficacy between fine ceramic semiconductor and tranditional chinese physical therapies. *J. Chin. Med.* 5(1): 1994;1-8.
6. Chang YH, Tsai HY, Huang WS, Kang YW, Mukaiyama K and Mukaiyama S : Evaluation of the effects of acupuncture fine ceramics. *The 7th Int. Cong. Ori. Med. Abstract I*, 1992; 125-126.
7. Hunskaar S, Fasmer OB and Hole K : Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *J. Neurosci. Methods* 1985;14:69-76.
8. Ohkubo T, Shibata M, Takahashi H and Inoki R : Roles of substance P and somatostatin on transmission of nociceptive information induced by formalin in spinal cord. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1990;252(3): 1261-1268.
9. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H and Inoki R : Modified formalin test : characteristic biphasic pain response. *Pain* 1989; 38: 347-352.
10. Tjolsen A., Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH and Hole K : The formalin test: an evaluation of the mathod. *Pain* 1992;51: 5-17.
11. Guy E. R. and F. V. Abbott : The behavioral response to formalin in pre-weanling rats. *Pain* 1992;51: 81-90.
12. Hole K and Tjolsen A : The tail-flick and formalin tests in rodents: changes in

skin temperatures as a confunding factor. *Pain* 1993;53: 247-254.

13. Coderre T J, Fundytus ME, Mckenna JE, Dalal S and Melzack R : The formalin test: a validation of the weighted-scores method of behavioral pain rating. *Pain* 1993;54: 43-50.

14. Dickenson A H and Sullivan AF : Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neurons in the rats : differential response to an intrathecal opiate administered pre or post formalin. *Pain* 1987;30; 349-360.

15. Heapy CG, Jamieson A and Russel NJW : Afferent C-fiber and A-δ fiber activity in models of inflammation. *Br. J. Pharmacol.* 1987;90: 164-170.

16. Kamei J, Hitosugi H, Misawa M, Nagase H and Kasuya Y : δ-Opioid receptor-mediated forced swimming stress-induced antinociception in the formalin test. *Psychopharmacology* 1993;113: 15-18.

17. Chang YH, Wu CH, Mukaiyama K and Mukaiyama S: Clinical application of fine ceramic semiconduction acupuncture for pain patients. *The 7th Int. Cong. Ori. Med. Abstract I*, 1992;373-374.

18. 吳家鏡：最新針灸療法，2-6 頁；36-41 頁；109-132 頁，正言出版社，1989.

19. 針灸作用機理研究，12-37 頁；156-182 頁，啓業書局有限公司，1985.

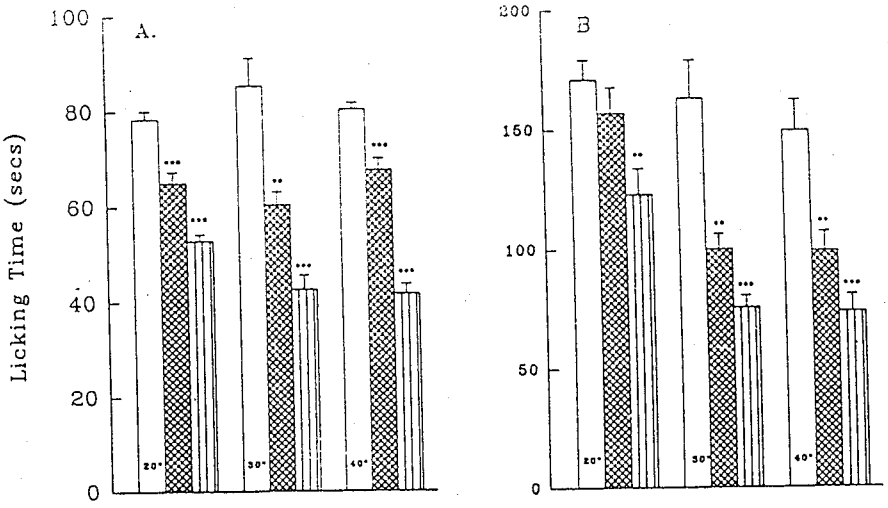


Fig. 1 The effect of fine ceramic semiconductor in different temperatures (20°, 30°, 40°C) on the early (A) and late (B) phases of formalin test in mice.
▭ : Control; ▨ : Acrylic strip-embedded mice; ▥ : Fine ceramic semiconductor-embedded mice.
Each bar represents mean±S.E. (N=10).
. p<0.01 ; *. p<0.001, compared with control, respectively.

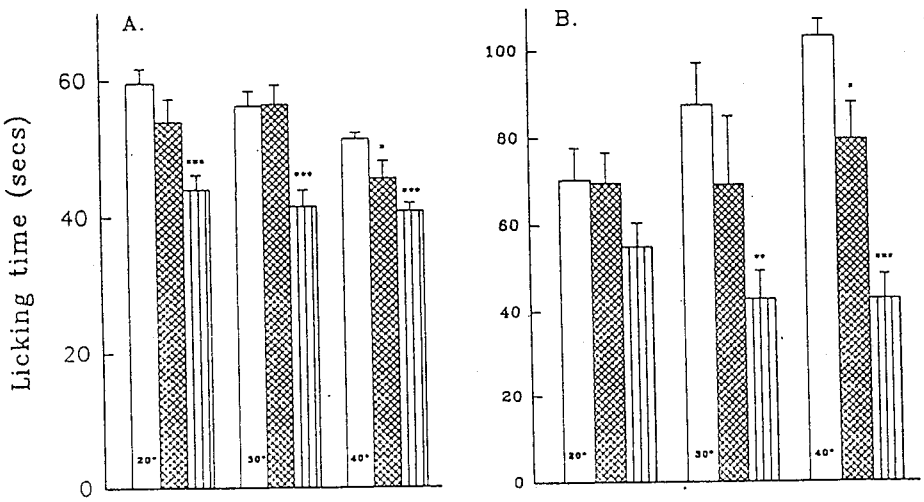


Fig. 2 The effects of fine ceramic semiconductor in different temperatures (20°, 30°, 40°C) on the early (A) and late (B) phases of formalin test in mice, which pretreated with forced swimming stress for 3 min.
▭ : Mice pretreated with forced swimming stress ; ▨ : Acrylic strip-embedded mice pretreated with forced swimming stress; ▥ : Fine ceramic semiconductor-embedded mice pretreated with forced swimming stress.
Each bar represents mean±S.E. (N=10).
*. p<0.05 ; **. p<0;01 ; ***. p<0.001 , compared with control, respectively.

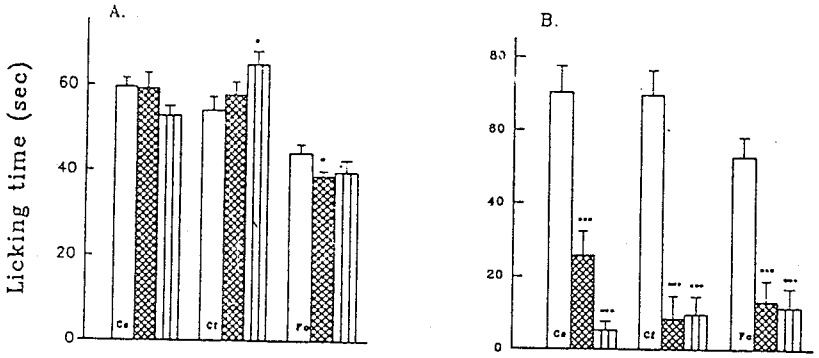


Fig. 3 The influences of naloxone in the antinociception of Fc on the early (A) and late (B) phases of formalin test in mice , which pretreated with forced swimming stress in 20°C for 3 min.
Cs: Mice pretreated with saline & swimming stress ; Cf: Acrylic strip-embedded mice pretreated with swimming stress ; Fc : Fine ceramic semiconductor-embedded mice pretreated with swimming stress.
□: Control; ▨,▥: pretreated intraperitoneally with 1 mg /kg and 5 mg/kg of naloxone, respectively.
Each bar represents mean±S.E. (N=10).
*. $p<0.05$; ***. $p<0.001$, compared with control, respectively.

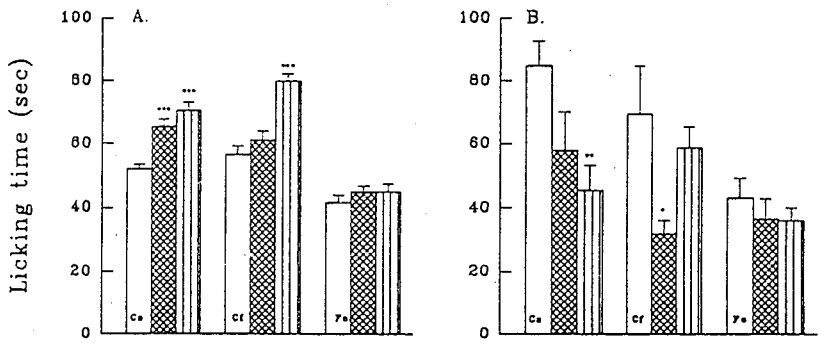


Fig. 4 The influences of naloxone in the antinociception of Fc on the early (A) and late (B) phases of formalin test in mice , which pretreated with forced swimming stress in 30°C for 3 min.
Cs: Mice pretreated with saline & swimming stress ; Cf: Acrylic strip-embedded mice pretreated with swimming stress ; Fc : Fine ceramic semiconductor-embedded mice pretreated with swimming stress.
□: Control; ▨,▥: pretreated intraperitoneally with 1 mg /kg and 5 mg/kg of naloxone, respectively.
Each bar represents mean±S.E. (N=10).
*. $p<0.05$; **. $p<0.01$; ***. $p<0.001$, compared with control , respectively.

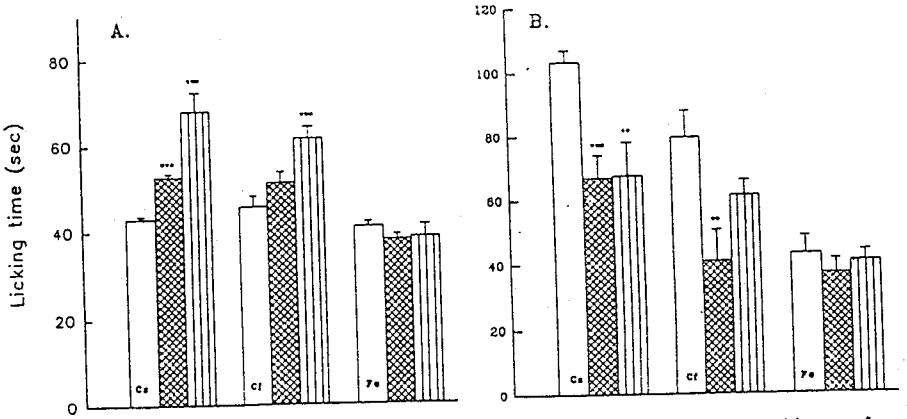


Fig. 5 The influences of naloxone in the antinociception of Fc on the early (A) and late (B) phases of formalin test in mice, which pretreated with forced swimming stress in 40°C for 3 min.
Cs : Mice pretreated with saline & swimming stress ; Cf : Acrylic strip-embedded mice pretreated with swimming stress ; Fc : Fine ceramic semiconductor-embedded mice pretreated with swimming stress.
□: Control ; ▨, ▥ : pretreated intraperitoneally with 1 mg/kg and 5 mg/kg of naloxone, respectively.
Each bar represents mean±S.E. (N=10).
. $p<0.01$; *. $p<0.001$, compared with control, respectively.

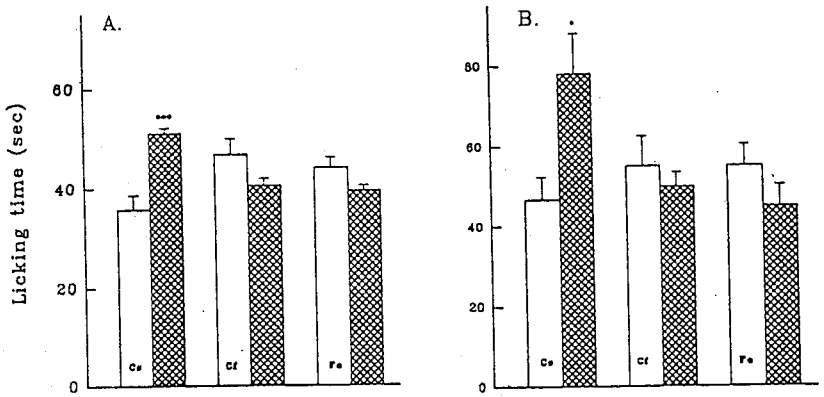


Fig. 6 The influences of naltrindole in the antinociception of Fc on the early (A) and late (B) phases of formalin test in mice , which pretreated with forced swimming stress in 20°C for 3 min.
Cs : Mice pretreated with saline & swimming stress ; Cf : Acrylic strip-embedded mice pretreated with swimming stress ; Fc : Fine ceramic semiconductor-embedded mice pretreated with swimming stress.
□ : Control ; ▨: pretreated with naltrindole(1 mg/kg s.c.).
Each bar represents mean±S.E. (N=10).
*. $p<0.05$; ***. $p<0.001$, compareed with control, respectively.

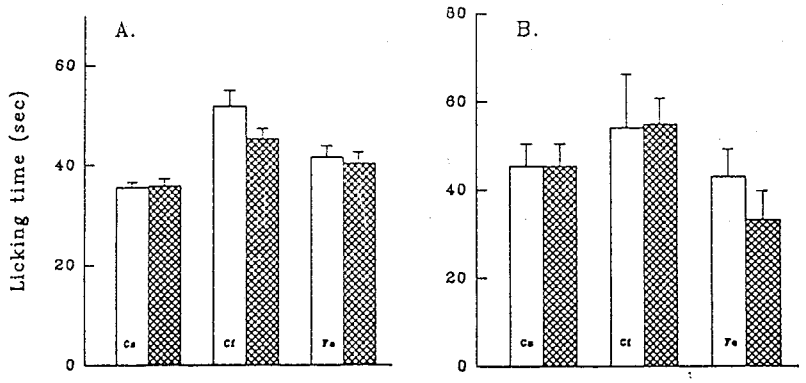


Fig. 7 The influences of naltrindole in the antinociception of Fc on the early (A) and late (B) phases of formalin test in mice , which pretreated with forced swimming stress in 30°C for 3 min.
Cs : Mice pretreated with saline & swimming stress ; Cf ; Acrylic strip-embedded mice pretreated with swimming stress ; Fc : Fine ceramic semiconductor-embedded mice pretreated with swimming stress.
□ : Control ; ▨: pretreated with naltrindole(1 mg/kg s.c.).
Each bar represents mean±S.E. (N=10).

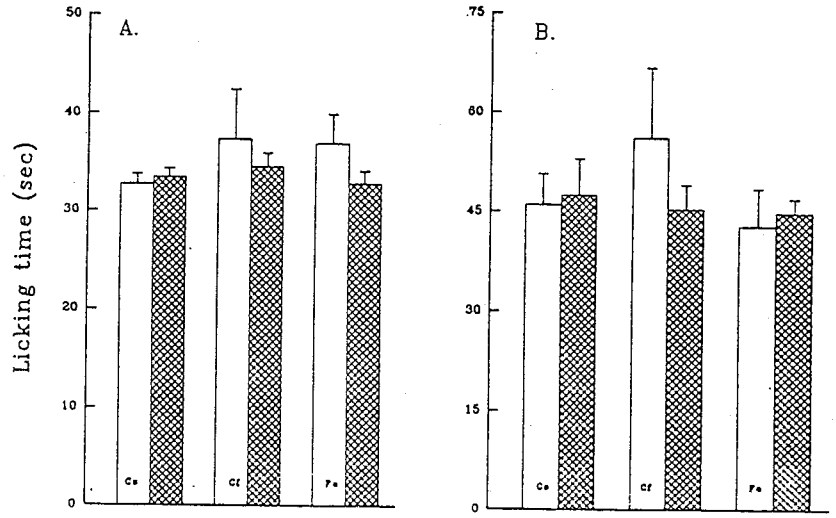


Fig. 8 The influences of naltrindole in the antinociception of Fc on the early (A) and late (B) phases of formalin test in mice, which pretreated with forced swimming stress in 40°C for 3 min.
Cs: Mice pretreated with saline & swimming stress ; Cf : Acrylic strip-embedded mice pretreated with swimming stress; Fc: Fine ceramic semiconductor-embedded mice pretreated with swimming stress.
□: Control; ▨: pretreated with naltrindole (1 mg/kg s.c.).
Each bar represents mean±S.E. (N=10).

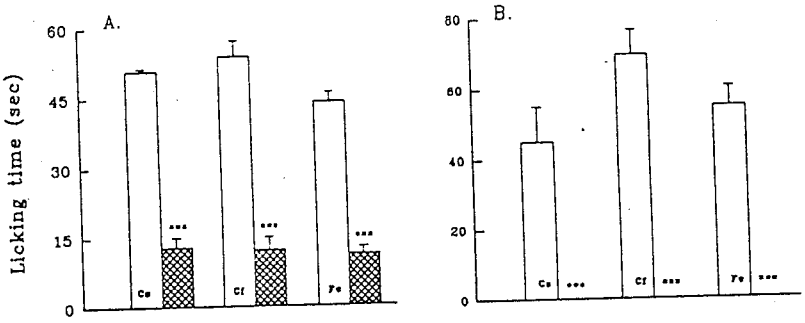


Fig. 9 The influences of prazosin in the antinociception of Fc on the early (A) and late (B) phases of formalin test in mice, which pretreated with forced swimming stress in 20°C for 3 min.
Cs: Mice pretreated with saline & swimming stress ; Cf: Acrylic strip-embeddeb mice pretreated with swimming stress; Fc: Fine ceramic semiconductor-embedded mice pretreated with swimming stress.
□: Control; ▨ : pretreated with prazosin (1 mg/ kg i.p.).
Each bar represents mean±S.E. (N=10).
***. $p<0.001$, compared with control, respectively.

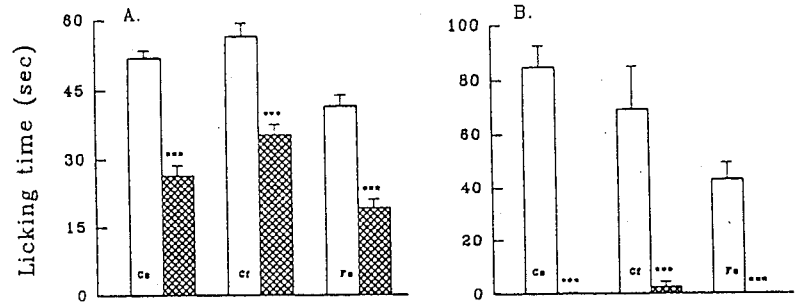


Fig. 10 The influences of prazosin in the antinociception of Fc on the early (A) and late (B) phases of formalin test in mice, which pretreated with forced swimming stress in 30°C for 3 min.
Cs: Mice pretreated with saline & swimming stress ; Cf: Acrylic strip-embeddeb mice pretreated with swimming stress; Fc: Fine ceramic semiconductor-embedded mice pretreated with swimming stress.
□: Control; ▨ : pretreated with prazosin (1 mg/ kg i.p.).
Each bar represents mean±S.E. (N=10).
***. $p<0.001$, compared with control, respectively.

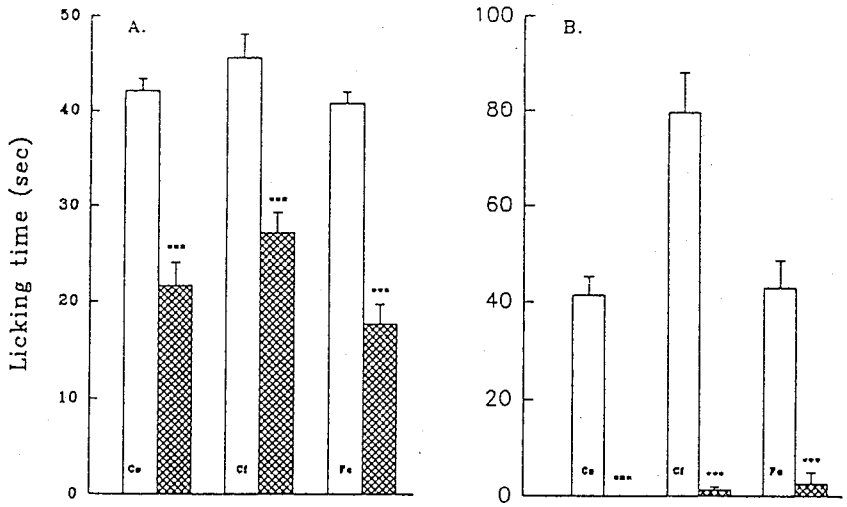


Fig. 11 The influences of prazosin in the antinociception of Fc on the early (A) and late (B) phases of formalin test in mice, which pretreated with forced swimming stress in 40°C for 3 min.
Cs : Mice pretreated with saline & swimming stress ; Cf : Acrylic strip-embedded mice pretreated with swimming stress ; Fc : Fine ceramic semiconductor-embedded mice pretreated with swimming stress.
□: Control; ▨: pretreated with prazosin(1 mg/kg i.p.).
Each bar represents mean±S.E. (N=10).
***. $p<0.001$, compared with control, respectively.

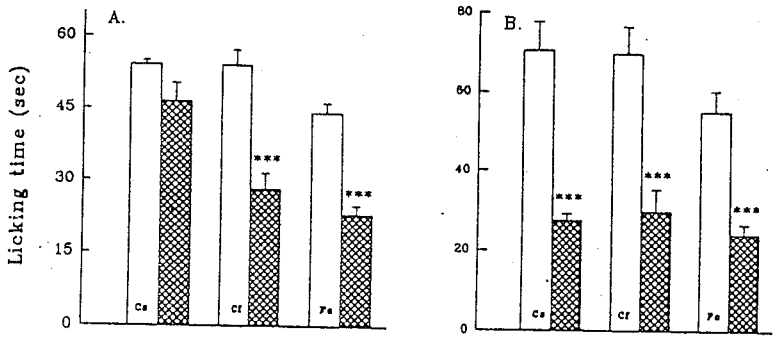


Fig. 12 The influences of yohimbine in the antinociception of Fc on the early (A) and late (B) phases of formalin test in mice, which pretreated with forced swimming stress in 20°C for 3 min.
Cs: Mice pretreated with saline & swimming stress; Cf: Acrylic strip-embedded mice pretreated with swimming stress ; Fc : Fine ceramic semiconductor-embedded mice pretreated with swimming stress.
□: Control; ▨: pretreated with yohimbine (1 mg/kg i.p.).
Each bar represents mean±S.E. (N=10).
***. $p<0.001$, compared with control, respectively.

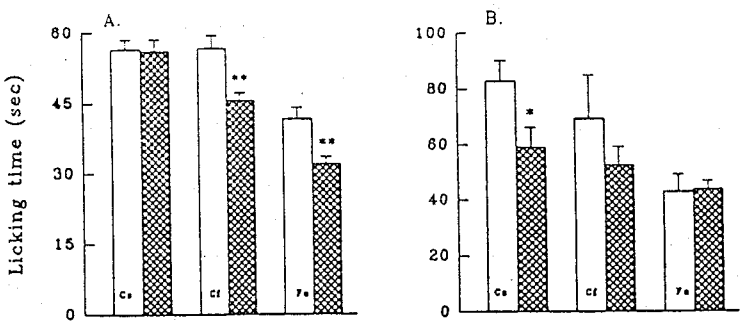


Fig. 13 The influences of yohimbine in the antinociception of Fc on the early (A) and late (B) phases of formalin test in mice, which pretreated with forced swimming stress in 30°C for 3 min.
Cs: Mice pretreated with saline & swimming stress; Cf: Acrylic strip-embedded mice pretreated with swimming stress ; Fc : Fine ceramic semiconductor-embedded mice pretreated with swimming stress.
□: Control; ▨: pretreated with yohimbine(1 mg/kg i.p).
Each bar represents mean±S.E. (N=10).
*. $p<0.05$; **. $p<0.01$, compared with control, respectively.

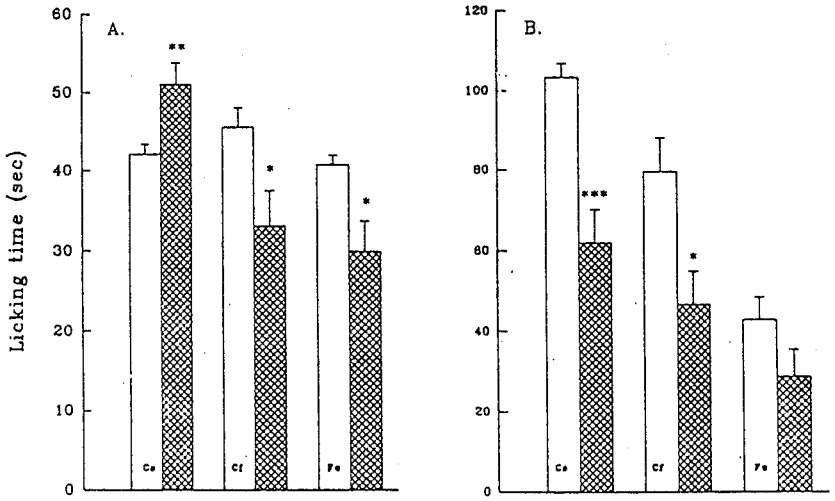


Fig. 14 The influences of yohimbine in the antinociception of Fc on the early (A) and late (B) phases of formalin test in mice, which pretreated with forced swimming stress in 40°C for 3 min.
Cs : Mice pretreated with saline & swimming stress ; Cf : Acrylic strip-embedded mce pretreated with swimming stress; Fc: Fine ceramic semiconductor-embedded mice pretreated with swimming stress.
□: Control; ▨: pretreated with yohimbine (1 mg/kg i.p.).
Each bar represents mean±S.E. (N=10).
*. $p<0.05$; **. $p<0.01$; ***. $p<0.001$, compared with control , respectively.

編號 DOH84-CM-030

中醫治療單純疱疹之研究（Ⅲ）

鍾楚紅　林振文　高尚德　邱泰惠　劉武哲

私立中國醫藥學院

摘　　要

本計畫建立四種給藥途徑爲篩檢中藥材抽取物抗Ⅰ型單純疱疹病毒之模式，分爲同時給藥途徑、治療給藥途徑、預防給藥途徑及管外給藥途徑，以針對抗Ⅰ型單純疱疹病毒之複製早期，複製晚期，寄主細胞預防及病毒中和之能力，進行研究。本計畫於81年度已初篩檢95％乙醇中藥粗抽取物之抗單純疱疹病毒之功效；83年度篩檢水層中藥抽取物之抗單純疱疹病毒功效。本年度(84年度)經由細胞毒性試驗得對Vero 細胞無毒性（即細胞存活率最接近90％者）之百分之五十乙醇抽取物之最高濃度（即最低細胞毒殺濃度），爲1mg/ml有2種，0.1mg/ml有4 種，0.01mg/ml有12種，0.001mg/ml有4種。本研究是使用細胞病變法、抑制百分之五十感染率、病毒斑點試驗等來作抗Ⅰ型單純疱疹病毒篩選，結果顯示22種中藥材之百分之五十乙醇抽取物分別(1) 14種(63. 6％)於同時給藥途徑有效，(2) 7種(31.8％)於治療給藥有效，(3) 14種(63.6％)於預防給藥途徑有效，(4) 12種(54.5％)於管外給藥途徑有效。四種給藥途徑皆有效之中藥材水層抽取物只有海藻、喜樹等二種。

Study of anti-Herpes Simplex Virus Herbal Drugs in Chinese Medicine (III)

50% ethanol extract of 22 herbal drugs was selected for anti-herpes simplex type 1 virus study. The viruses were inoculated into the Africa green monkey cell line, Vero, which was cultured in our laboratory. The relative minimum concentration of cytotoxicity (MCC) of herbal drug was tested to the Vero cells and the relative MCC of 2 herbal drugs was 1 mg/ml, of 4 herbal drugs was 0.1 mg/ml, of 12 herbal drugs was 0.01 mg/ml, of 4 herbal drugs was 0.001 mg/ml. Four types of drug administration were tested in this study, namely simulteneous administration, therapeutic administration, preventive administration, and premix in vitro administration. Our results showed that 14 of the 22 herbal drugs (63.6%) were effective in simulteneous administration; 7 of the 22 herbal drugs (31.8%) were effective in therapeutic administration; 14 of the 22 herbal drugs (63.6%) were effective in preventive administration; 12 of the 22 herbal drugs (54.5%) were effective in premix in vitro administration. Only Sargassum fusiforme(Harv.) Setch., Camptotheca acuminata Dcne. were effective in all four types of drug administration.

前 言

中國古典醫籍中記載一些食用植物及草藥具有預防或治療

傳染病，其眞正的功效爲世人所關切。今日的傳染病中，西藥能有效治療或預防病毒感染的並不多。若能從中國古典醫籍記載的食用植物或草藥中，尋找出抗病毒的成份，將爲人類一大福音。單純庖疹病毒爲常見危害人類的病毒，可以引發身體許多部位感染，如口，唇，眼或黏膜組織等，嚴重時更可能引發腦膜炎或角膜結疤而導致失明(1，2)。目前大量文獻報導有關單純庖疹病毒感染免疫抑制的病人，如愛滋病病患(3,4,5,)，器官移植病患(6,7)，而引發肺炎、腦膜炎等。因此單純疱疹病毒之治療方法仍未令人滿意的治療方式。目前較爲有效治療單純疱疹病毒的藥物大多選用 acyclovir 來抑制病毒 DNA 的合成(8,9,10)。Acyclovir 雖然有臨床療效，但是長期使用導致抗藥性的單純庖疹病毒的發生及再複發機會增加。值得注意的是，近五年來，發現單純疱疹病毒對 acyclovir臨床治療上有抗藥性增加之趨勢，且實驗室鑑定出單純疱疹病毒對 acyclovir感受性明顯地下降(11,12,13,14)，導致症狀惡化，增加單純疱疹治療的困難度。因應臨床上出現抗藥性單純庖疹病毒株，開發新的更具有專一性，有高療效的，但是較無毒性的藥物來治療疱疹病毒爲當務之急。

中醫古典醫籍中雖然沒有〝單純疱疹〞的記載，但是類似單純疱疹的症狀在歷代醫籍中皆有詳細記載且治法完備。據現代中醫學者的考據發現的單純疱疹相當於中醫的〝熱瘡〞，〝火瘡〞(15，16)。目前中醫對〝熱瘡〞，〝火瘡〞的臨床治療效果頗令人滿意。依據中醫醫籍中之記載，包括烏藥、青木香、石葦、劉寄奴、海藻、敗醬草、蒲公英、馬尾松、夏枯草、鹽膚木、銀花、虎杖、馬齒莧、大青葉、芙蓉葉、赤芍、貫眾、

側柏葉、射干、喜樹、黃精、龍膽瀉肝湯、馬齒莧合劑等22種臨床上常用於療〝熱瘡〞,〝火瘡〞的單味中藥與處方之水層抽取物(17,18,19,20,21,22)。本研究計劃爲篩檢中醫食用植物及草藥抗單純疱疹病毒之有效成分，首先我們利用試管外細胞培養技術，評估此22中藥材抽取物之毒性，再以試管外細胞培養病毒技術(23,24,25,26,27,28)，建立四種給藥途徑，如同時給藥，治療給藥，預防給藥，及管外給藥途徑，分別針對 I 型單純疱疹病毒之複制早期，複制晚期，寄主細胞預防及中和病毒之能力，計數抑制 100倍或10倍等百分之五十感染組織培養的病毒量，了解藥材抽取物抗I型單純疱疹病毒的能力。本計劃已於八十一、八十三年度初篩檢百分之九十乙醇及水層中藥抽取物之抗 I 型單純疱疹病毒功效。本年度(八十四年度)繼續篩檢百分之五十乙醇中藥抽取物之抗I型單純疱疹病毒的功效。

材料與方法

一.中藥材粗抽取物之製備

選購 22 種臨床上常用於治療〝熱瘡〞〝火瘡〞之單味中藥及處方，經基源鑑定無誤，以百分之五十乙醇抽取，再以眞空減壓冷凍乾燥法加以濃縮成粉末備用。使用時稱取 100 mg抽取物溶於 1 ml Eagles 培養液(GIBCO,U.S.A.)，加熱攪拌使完全溶解。

二.細胞培養

以 Eagles 培養液含10% FCS，2% anti-mycoplasma，1% Streptomycin-Penicillin，0.5% Fungizone 培養 Vero 細胞(源自非洲綠猴腎細胞)於37℃,5% CO2 培養箱(Forma Scientufic,U.S.A.)使細胞生長爲單層備用。

三.病毒培養

取已生長在75cm^2 flask(Nunclon，Denmark，USA)呈 90% 單層之 Vero 細胞加1 ml I 型單純疱疹病毒(台北榮民總醫院病毒室，52192-1，6/18/92)，放在震盪器上搖晃 1 小時以增加病毒對細細胞的吸附。1 小時後將 1 ml 的病毒液吸掉，再加入新鮮的培養液，於37 ℃，5% CO2 培養箱中將感染細胞冰凍，再解凍，離心，收集上清液爲病毒之原倍 培養。四天後，計數病毒濃度。病毒濃度以病毒斑點數計算(PFU)得知原倍病毒濃度爲 3750 PFU/ml。

四.藥物毒性試驗

以 Eagles 培養液對粗抽取物做不同濃度的稀釋。取 Vero細胞用磷酸緩衝液沖洗後，再以 Trypsin 作用使細胞變圓後打下來。以 0.5% Trypan blue exclusion試驗做活細胞計數，調整每毫升中有5x10^4 個 Vero 細胞。將細胞加入96格培養盤中，亦將每個不同濃度的百分之五十乙醇中藥抽取物加入 96格培養盤中。對照組則不加中藥抽取物，只加 Eagles式培養液。置於37 ℃， 5% CO2 培養箱中。於48小時後將原有之培養液吸掉，並用磷酸鹽

緩沖液沖洗,加入 50 mg/ml MTT (3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide salt) 作用 4 小時,再加入萃取緩衝液,在 570nm 下測其吸光度(29，30)。以對照組爲不加中藥抽取物，其吸光度爲百分之百的存活率，實驗組爲加入各種稀釋中藥濃度，其吸收值除對照組的吸收值，求出每個不同濃度的中藥抽取物的細胞存活率，得知中藥材抽取物對 Vero 細胞的毒性。

五.抗單純庖疹病毒試驗

取對 Vero 細胞無毒性之最高濃度粗抽取物，以如下四種給藥途徑進行抗 HSV-1 病毒試驗。

(一)同時給藥途徑

每毫升 $2x10^5$ 個的細胞溶液加入96格培養盤。取百分之九十細胞的藥物濃度爲抗病毒試驗的藥物濃度加入96格培養盤，同時加入的連續十倍稀釋病毒溶液，培養於 37 ℃，5% CO2 培養箱中，四天後，觀察 Vero 細胞是否有病毒引起之細胞病變現象(cytopathic effect，CPE)產生。再計算出 50% 組織培養感染劑量(TCID50) 則可知道在此種給藥途徑下，中藥抽取物抗單純疱疹病毒的能力。

(二)治療給藥途徑

取 Vero 細胞($2x10^5$ /ml)的溶液加入 96 well plate 中，並加入連續十倍稀釋病毒溶液。培養於 37 ℃，5% CO2 培養箱中。一小時後，加入中藥抽取物，37 ℃，5% CO2 培養箱中培養。四天後，計算出

50% 組織培養感染劑量，則可知道在此種給藥途徑下，中藥抽取物抗單純疱疹病毒的能力。

(三)預防給藥途徑

取細胞溶液及中藥抽取物溶液到 96 well plate 中，培養於 37 ℃，5% CO2 培養箱中，24小時後，再加入的連續稀釋病毒溶液，培養於 37 ℃，5% CO2 培養箱中。四天後，計算 TCID50,則可知道在此種給藥途徑下,中藥抽取物抗單純疱疹病毒的能力。

(四)管外給藥途徑

取細胞溶液加入 96 well plate 中。用無菌試管取等量的中藥抽取物溶液和連續稀釋病毒溶液，在試管中混合完全作用 2 小時後，取加入 96 well plate 中與細胞作用。於 37 ℃，5% CO2 培養箱中培養。四天後，計算 50% 組織培養感染劑量， 則可知道在此種給藥途徑下,中藥抽取物抗單純疱疹病毒的能力。

六、百分之五十感染劑量之測量

取細胞溶液加入24格培養盤中，培養至細胞長滿，加入稀釋的病毒溶液及不同稀釋濃度的中藥抽取物於24格培養盤，然後再加入0.12%高級瓊脂(Noble agar，Difco)溶液。培養五天後，加入福馬林固定，移去瓊脂，使用結晶紫染液染色。以未加入任何中藥及病毒溶液爲空白組，只加入病毒溶液爲控制組，與實驗組比較之，可得到中藥抽取物抑制或增加百分之五十感染劑量。

結　果

一、藥物毒性：以非洲綠猴腎臟細胞Vero株測定 22 種中藥抽取物之毒性，結果選擇百分之九十細胞存活的藥物濃度爲最低細胞毒性濃度，如馬齒莧、側柏、喜樹爲例，其最低細胞毒性濃度(即接近百分之九十的細胞存活的藥物濃度)分別爲 1 mg/ml，o.o1 mg/ml，0.001 mg/ml(圖一，圖二，圖三)。此結果最低細胞毒性濃度爲 1 mg/ml有二種，即海藻，馬齒莧等；0.1 mg/ml有四種，即蒲公英，夏枯草，虎杖，烏藥等；0.01mg/ml有十二種，即大青葉爵床科，劉寄奴，馬齒莧合劑，青木香，龍膽瀉肝湯，黃精，側柏，射干，貫眾，鹽膚木，石葦，銀花等；0.001 mg/ml有四種，即敗醬草，芙蓉菊，喜樹，赤芍等(表一)。

二、抗 I 型單純疱疹病毒

(一)、同時給藥途徑即細胞培養瓶內同時加入百分之五十乙醇中藥抽取物和單純疱疹病毒，初篩檢發現抽取物有抗病毒效果的包括蒲公英、夏枯草、海藻、喜樹、大青葉爵床科、寄奴、龍膽瀉肝湯、側柏、射干、鹽膚木、石葦、烏藥、虎杖、赤芍、夏枯草等十四種，佔全部 22 種中藥材之63.6% ，其中最有效的爲海藻、鹽膚木，其可抑制10倍 TCID50 病毒量繁殖(圖四)。

(二)、治療給藥途徑即細胞培養瓶內先種病毒 1 小時後，再加百分之五十乙醇的中藥抽取物。初篩檢抽取物有抗病毒效果的包括喜樹、夏枯草、海藻、劉寄奴、馬齒莧、烏

藥、蒲公英等 七 種，佔全部 22 種中藥材之 31.8% ，其中最有效的爲馬齒莧，其可抑制 10 倍 TCID50 病毒量繁殖(圖五)。

(三)、預防給藥途徑即細胞培養瓶內先加百分之五十乙醇中藥抽取物 1 天後，再種病毒。篩檢發現抽取物有抗病毒效果的包括海藻、喜樹、大青葉爵床科、赤芍、劉寄奴、青木香、馬齒莧、側柏、射干、敗醬草、鹽膚木、芙蓉菊、烏藥、夏枯草等 十四 種，佔 22 種中藥材之 63.6% ，其中以赤芍、射干、側柏之病毒抑制能力爲抑制10倍 TCID50 病毒量繁殖(圖六)。

(四)、管外給藥途徑即百分之五十乙醇中藥抽取物和病毒事先在細胞外接觸再加入細胞培養瓶內。初篩檢發現抽取物有抗病毒效果的包括喜樹、蒲公英、海藻、夏枯草、大青葉爵床科、芙蓉葉、赤芍、鹽膚木、敗醬草、側柏、馬齒莧、黃精、青木香等十二種，佔二十二種中藥材之54.5% ，其中以海藻、敗醬草之抑制 1000 倍 TCID50 病毒量繁殖，爲最有功效(圖七)。

三、細胞病變：除了利用抑制百分之五十組織培養感染劑量倍數的病毒濃度來研究抗單純疱疹病毒能力外，還觀察細胞病變程度。同時加入十倍稀釋的病毒濃度及藥物抽取物於細胞中培養。四天後，記錄細胞病變程度，分別以病變細胞百分比：< 10 %，25 %，50 %，75 %，100 %，記爲 + −，+，++，+++，++++。細胞病變程度記錄爲 +− 有 2 種，+ 有 4 種，++有 8 種，+++有 4 種，++++有 4 種(表二)。其中記錄爲+ −是海藻和喜樹抽取物等有明顯抑

制細胞病變的程度(圖八)。

四、百分之五十感染劑量：測量中藥抽取物有效抑制或增加百分之五十感染劑量，可進一步了解各種中藥抗單純疱疹病毒的能力。以只加入病毒溶液爲控制組，計數其病毒斑點數，作爲百分之百感染。以喜樹、海藻、蒲公英爲例，各抽取物濃度分別爲 0.1 mg/ml,0.01 mg/ml，0.001 mg/ml時，計數病毒斑點數與控制組病毒斑點數比較，可得到抑制百分之五十感染率的抽取物濃度分別在0.01- 0.001，0.01- 0.001， 0.1- 0.01 mg/ml之間(圖九，圖十，圖十一，圖十二)。

此實驗結果顯示發現二十二種中藥抽取物大部份爲抑制病毒感染能力，少部份爲增進病毒感染能力。由抽取物抑制百分之五十感染劑量濃度可將抑制病毒感染能力分爲高、中、低三組，高抑制病毒感染能力有蒲公英、海藻、喜樹、赤芍等，其抽取物濃度在小於 0.01mg/ml以下，就可抑制百分之五十的感染劑量(表三)，其他中藥抽取物需較高濃度才能達到抑制百分之五十感染劑量。

五、病毒斑點試驗：綜合上述結果，選擇幾種有效中藥抽取物利用病毒斑點試驗方法，如同時給藥、管外給藥途徑，進一步確認這些中藥抽取物抗單純疱疹病毒的能力。在同時給藥試驗中，喜樹、海藻、蒲公英、大青葉爵床科、劉寄奴、黃精、馬齒莧等都有中抑制病毒功效，其中以海藻抑制百分之十病毒感染率最強(圖十三)。在管外給藥試驗中，喜樹、黃精等都有抑制病毒功效，其中以喜樹抑制百分之十病毒感染率最強(圖十四)。

討　論

病毒爲絕對寄生於細胞內之微生物，利用細胞的能量及酵素系統，幫助自身的繁殖，所以理想的抗病毒藥物應有特異的選擇性，以病毒爲靶，而不影響細胞的代謝與生長。本研究使用非洲綠猴Vero 細胞株評估中醫治療"熱瘡""火瘡"有效之22種單味中藥與處方百分之五十乙醇抽取物之藥物毒性試驗及進行同時、治療、預防、管外等四種抗單純庖疹病毒給藥途徑之試驗。綜合藥物毒性試驗與抗單純庖疹病毒試驗結果，可得知有效抗病毒之中藥抽取物之最低細胞毒殺濃度都在 0.1 mg/ml及0.01 mg/ml之間，且其抑制百分之五十感染的藥物濃度在0.01 mg/ml 及 0.001 mg/ml之間，顯示這些藥物毒性皆很低，而且有非常好的抗單純疱疹病毒能力。以海藻爲例，海藻的最低細胞毒殺濃度爲 1 mg/ml，抑制百分之五十感染的濃度爲 0.01 mg/ml至0.001 mg/ml之間，在四種給藥途徑皆能抑制10 倍百分之五十組織培養感染之病毒及使細胞病變程度小於百分之十。使用計數百分之五十組織培養感染劑量來作抗 I 型單純疱疹病毒篩選，結果顯示 22 種中藥材之水層抽取物分別 (1) 14 種(63.6%)於同時給藥途徑有效，(2) 7 種 (31.8%) 於治療給藥有效，(3)14 種 (63.6%) 於預防給藥途徑有效，(4) 12 種 (54.5%) 於管外給藥途徑有效。但這四種給藥途徑之抗病毒效果程度並不一致。四種給藥途徑皆有效之中藥材水層抽取物只有海藻、喜樹、夏

枯草等三種，其中以海藻、喜樹最爲有效(圖十五，圖十六)。四種給藥途徑中有三種有效的中藥材水層抽取物亦有蒲公英、大青葉爵床科、劉寄奴、馬齒莧、側柏、鹽膚木、烏藥、赤芍等八種，以蒲公英爲例，在同時給藥、感染給藥、管外給藥途徑有效，但是預防給藥途徑無效(圖十七)。四種給藥途徑中有兩種有效的中藥材有青木香、射干、敗醬草、芙蓉菊等四種。四種給藥途徑只有一種途徑有效的中藥材有龍膽瀉肝湯、黃精、石葦、虎杖等四種。四種給藥途徑皆無效的中藥材包括馬齒莧、貫眾、銀花等三種，佔全部篩檢中藥材之 13.6%。有效抗單純皰疹病毒的中藥，進一步分析其抗病毒能力，依細胞病變程度，抑制百分之五十感染劑量及藥物最低細胞毒殺濃度，可分爲二大類：(1)高特異性、高選擇性抗單純疱疹病毒的藥物，如海藻、喜樹等。抑制百分之五十感染劑量濃度低，無傷害 Vero 細胞病變程度低。(2)低特異性、低選擇性抗單純皰疹病毒的中藥，如馬齒莧、劉寄奴等，需高濃度才能抑制百分之五十感染劑量，對 Vero 細胞有毒性，且細胞病變程度爲百分之五十左右。有促進病毒感染，高濃度則無，顯示出抽取物含有促進及抑制的成份，其中大青葉馬鞭科在高濃度時，有促進單純疱疹病毒的感染，而青木香，石葦等在低濃度時亦有相同現象產生。中醫"熱瘡""火瘡"的致病原因並不見得全爲單純疱疹病毒所引起，所以經本研究發現中醫古籍用來治療 "熱瘡""火瘡"的單味中藥或處方並不完全適用於 I 型單純疱疹之治療。

本研究之單味中藥或處方其抗疱疹病毒機轉並未深入

探討，就本研究所設計之四種給藥途徑，初步將抗單純疱疹病毒機轉可分爲抗單純疱疹病毒感染之早期或晚期，對寄主細胞的預防及中和病毒的能力。目前研究結果發現(1)喜樹、海藻在四種給藥途徑皆有效，但以同時給藥及管外給藥途徑之功效非常好，而治療給藥途徑(病毒感染一小時候，再加入水層中藥抽取物)之功效較低。此結果表示喜樹、海藻之抗單純疱疹病毒功效機轉可能與抑制 I 型單純疱疹病毒之早期複製機轉有較高的專一性。(2) 百分之五十乙醇中藥抽取物之抗單純疱疹病毒功效，同時給藥及管外給藥途徑有功效非常好，而治療給藥途徑之功效較低的藥物有大青葉爵床科、側柏、鹽膚木、赤芍等。此結果表示四種藥物百分之五十乙醇抽取物之抗單純疱疹病毒功效機轉可能與I型單純疱疹病毒之早期感染有關。(3) 馬齒莧抽取物在治療給藥途徑有明顯地抑制病毒的複製，顯示馬齒莧抽取物可抑制 I 型單純疱疹病毒之晚期感染。因此這些中藥的百分之五十乙醇抽取物所含抑制 I 型單純皰疹病毒在 Vero 細胞株中的早期或晚期感染之研究可作進一步深入研究，將來或可了解其抑制病毒的機制是否與病毒早期或晚期在細胞中的複製有關。至於作成軟膏成爲外用藥測試，則仍待進一步臨床測試。有鑑於I 型單純疱疹之治療藥物爲數甚少，且每因藥物毒性或抗藥性之產生，而降低療效。中藥其性較溫和，種類繁多，或許可尋找出無毒性且無抗藥性之新藥來治療或預防單純疱疹，此爲本研究努力的目標。

參考文獻

1. Gold D., and Corry L. Acyclovir prophylaxis for herpes simplex virus infection. Antimicrob. Agents Chemother. 31:361-367,1987
2. McCulley J.P., Binder P.S., Kaufman H.E., O'Day D.M. and Poirier R.H. Adouble-blind, multicenter clinical trial of acyclovir vs idoxuridine for treatment of epithelial herpes simplex keratitis. Ophthalmology 89:1195-1200,1982.
3. Breinig MK. Kingsley LA. Armstrong JA. Freeman DJ. Ho M. Epidemiology of genital herpes in Pittsburgh: serologic, sexual, and racial correlates of apparent and inapparent herpes simplex infections. Journal of Infectious Diseases. 162(2):299-305, 1990 Aug.
4. Maier JA. Bergman A. Ross MG. Acquired immunodeficiency syndrome manifested by chronic primary genital herpes. American Journal of Obstetrics & Gynecology. 155(4):756-8, 1986 Oct.
5. Quinnan GV Jr. Masur H. Rook AH. Armstrong G. Frederick WR. Epstein J. Manischewitz JF. Macher AM. Jackson L. Ames J. et al. Herpesvirus infections in the acquired immune deficiency syndrome. JAMA. 252(1):72-7, 1984 Jul 6.
6. Ljungman P. Ellis MN. Hackman RC. Shepp DH. Meyers JD. Acyclovir-resistant herpes simplex virus causing pneumonia after marrow transplantation. Journal of Infectious

Diseases. 162(1):244-8, 1990 Jul.

7. Wade JC. McLaren C. Meyers JD. Frequency and significance of acyclovir-resistant herpes simplex virus isolated from marrow transplant patients receiving multiple courses of treatment with acyclovir. Journal of Infectious Diseases. 148(6):1077-82, 1983 Dec.
8. Whitley RJ. Gnann JW Jr. Acyclovir: a decade later [published erratum appears in N Engl J Med 1993 Mar 4;328(9):671]. [Review] New England Journal of Medicine. 327(11):782-9, 1992 Sep 10.
9. O'Brien JJ. Campoli-Richards DM. Acyclovir. An updated review of its antiviral activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. [Review] Drugs. 37(3):233-309, 1989 Mar.
10. Straus SE> Smith HA. Brickman C. de Miranda P. Mclaren C. Keeney RE. Acyclovir for chronic mucocutaneous herpes simplex virus infection in immunosupressed patients. Ann Intern Med 1982: 96:270-7
11. Englund JA. Zimmerman ME. Swierkosz EM. Goodman JL. Scholl DR. Balfour HH Jr. Herpes simplex virus resistant to acyclovir. A study in a tertiary care center. Annals of Internal Medicine. 112(6):416-22, 1990 Mar 15.
12. Sacks SL. Wanklin RJ. Reece DE. Hicks KA. Tyler KL. Coen DM. Progressive esophagitis from acyclovir-resistant herpes simplex. Clinical roles for DNA polymerase mutants

and viral heterogeneity?. Annals of Internal Medicine. 111(11):893-9, 1989 Dec 1.

13. Erlich KS. Mills J. Chatis P. Mertz GJ. Busch DF. Follansbee SE. Grant RM. Crumpacker CS. Acyclovir-resistant herpes simplex virus infections in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. New England Journal of Medicine. 320(5):293-6, 1989 Feb 2.
14. Coen DM. The implications of resistance to antiviral agents for herpesvirus drug targets and drug therapy. [Review] Antiviral Research. 15(4):287-300, 1991 May.
15. 常見皮膚病中醫療法,啓業書局,1989
16. 顧伯康等,中醫外科學,知音出版社,1989.
17. 唐,王冰,黃帝內經素問,旋風出版社,1974.
18. 清,張璐玉,張氏醫通,金藏醫通,1976.
19. 清,陳修園,陳修園醫書七十二種,文光圖書公司,1977.
20. 清,吳謙,醫宗金鑑,文化圖書公司,1981.
21. 清,林佩琴,類證治裁出版社,1986.
22. 清,王淇緒著,馬評之評,馬評外科症治全生集,新文豐出版公司,1977.
23. 鄭民實等,472種中草藥抗單純庖疹病毒的實驗研究,中西醫結合雜誌,第十卷等1期,1990.
24. 鄭民實等,藥學通報 16(7):388,1981.
25. 劉武哲,醫用病毒學及其研究方法,藝軒出版社,1990.
26. A.Oveta Fuller, Patricia G. Spear, J virology 55 (2):475,1985

27. RF Schinazi et al, Antimicrobial Agents and Chemotherapy 29(1):77, 1986
28. J Lazdins et al, Antiviral Research 13(4):175, 1990
29. Mosmann T, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : application to proliferation and cytotoxicity assays, J Immunol Methods, 65:55-63
30. Carmichael J, DeGraff WA, Gazdar AF, Minna JD, Mitchell JB, Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay:assessment of chemosensitivity testing Cancer Res 47:936-942, 1987

表一、藥物毒性：以非洲綠猴腎臟細胞測定 22 種中藥抽取物之毒性，將細胞加入 96 well plate 中，亦將每個不同濃度的中藥水層抽取物加入 96 well plate 中。對照組則不加中藥抽取物，只加 Eagles 式培養液。48小時後，加入 50 mg/ml MTT，在 570nm 下測其吸光度。

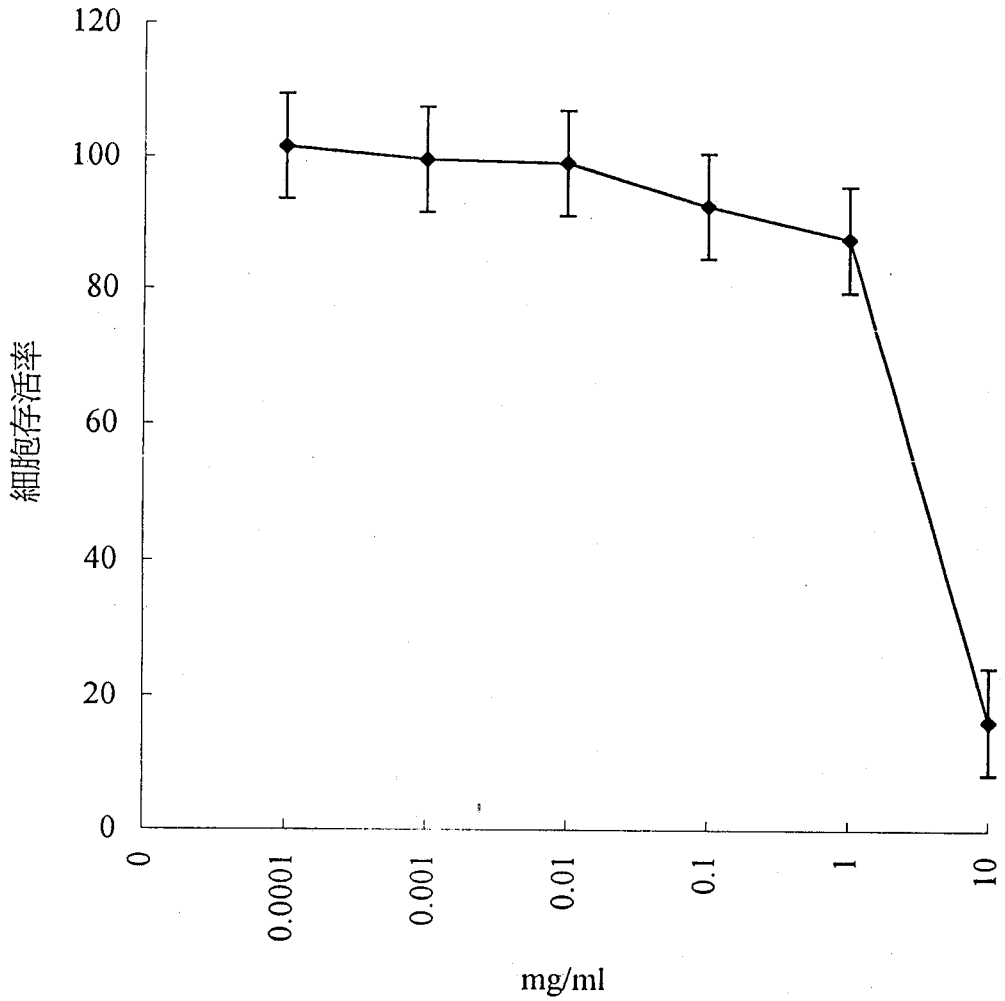
最低細胞毒性濃度	中藥名稱
1.0 mg/ml	馬齒莧、海藻
0.1 mg/ml	夏枯草、虎杖、烏藥、蒲公英
0.01 mg/ml	鹽膚木、銀花、青木香、劉寄奴、大青葉爵床科、側柏葉、射干、龍膽瀉肝湯、馬齒莧合劑、黃精、貫眾、石葦
0.001 mg/ml	敗醬草、芙蓉菊、赤芍、喜樹

表二、細胞病變：同時加入十倍稀釋病毒濃度及藥物抽取物於細胞中培養。四天後，記錄細胞病變程度，分別以病變細胞百分比：< 10 %，25 %，50 %，75 %，100 %，記爲 + −，+，++，+++，++++。

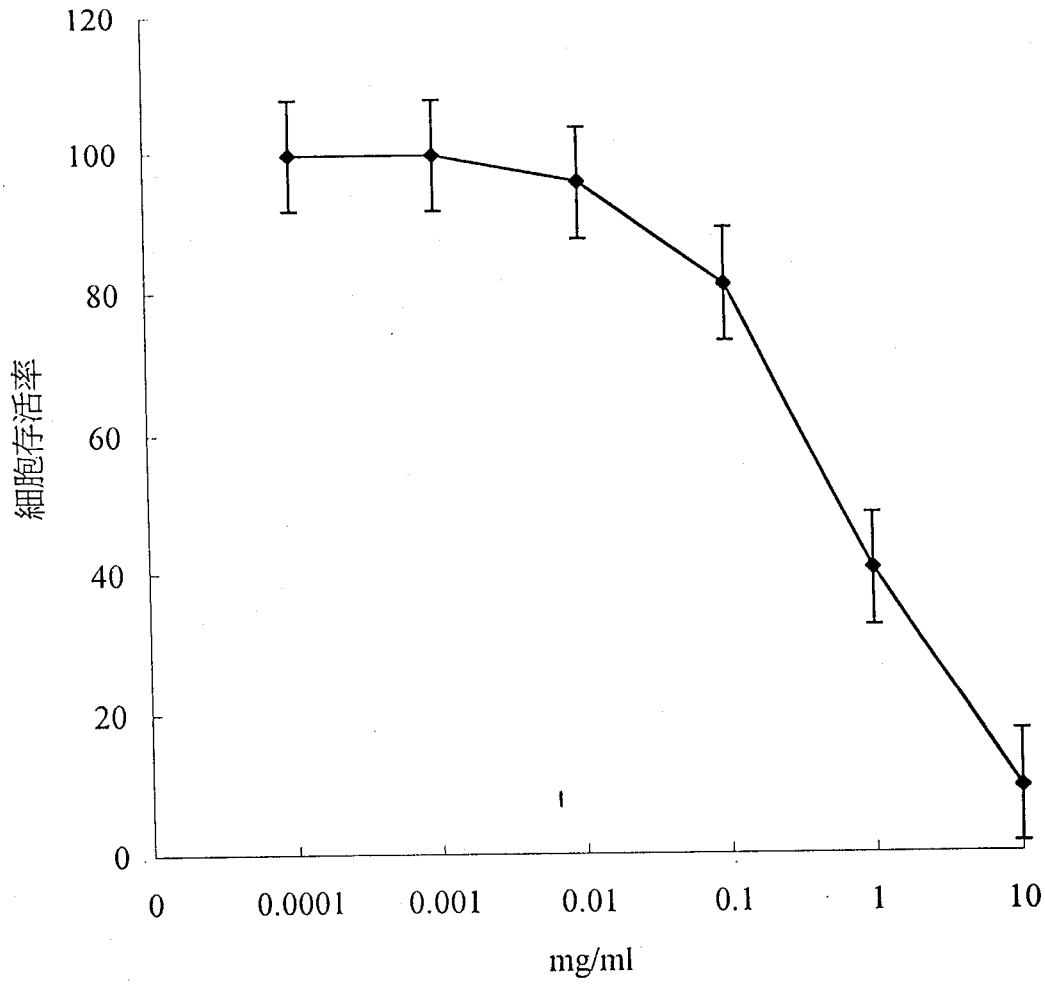
細胞病變程度	中藥名稱
+−	海藻、喜樹
+	鹽膚木、蒲公英、側柏、烏藥
++	赤芍、劉寄奴、馬齒莧、大青葉、爵床科、射干、夏枯草、龍膽瀉肝湯、石葦
+++	青木香、敗醬草、虎杖、芙蓉菊
++++	貫眾、黃精、馬齒莧合劑、銀花、控制組

表三、百分之五十感染劑量(ID50)之中藥水層抽取物濃度：以控制組病毒斑點數爲百分之百感染，中藥水抽取物之濃度爲 1 mg/ml，0.1 mg/ml，0.01 mg/ml，加入實驗組，由其病毒斑點數得百分之五十感染的抽取物濃度。

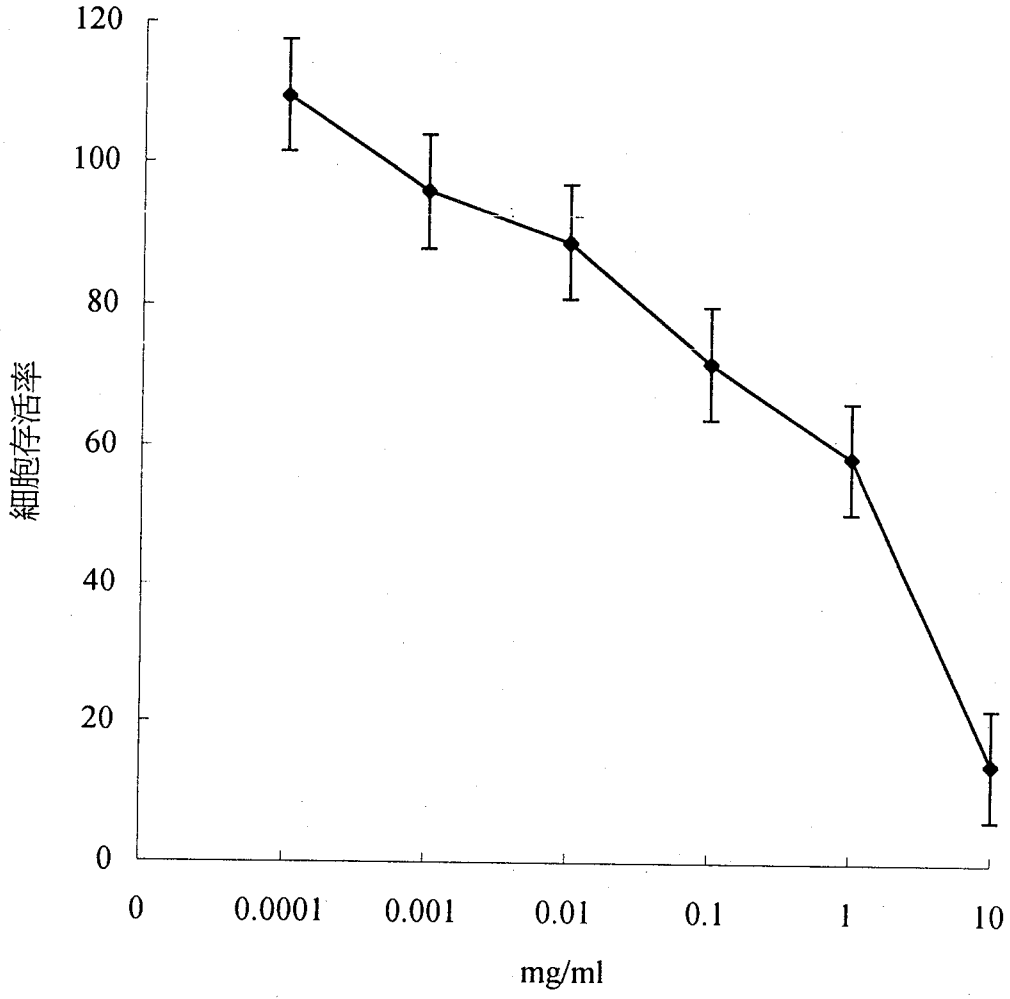
ID50濃度	中藥名稱
> 0.1 mg/ml	劉寄奴、馬齒莧
0.1~0.01 mg/ml	黃精、側柏葉、烏藥、射干、青木香、龍膽瀉肝湯、馬齒莧合劑、蒲公英、虎杖、夏枯草
0.01~0.001 mg/ml	海藻、喜樹
< 0.001 mg/ml	赤芍



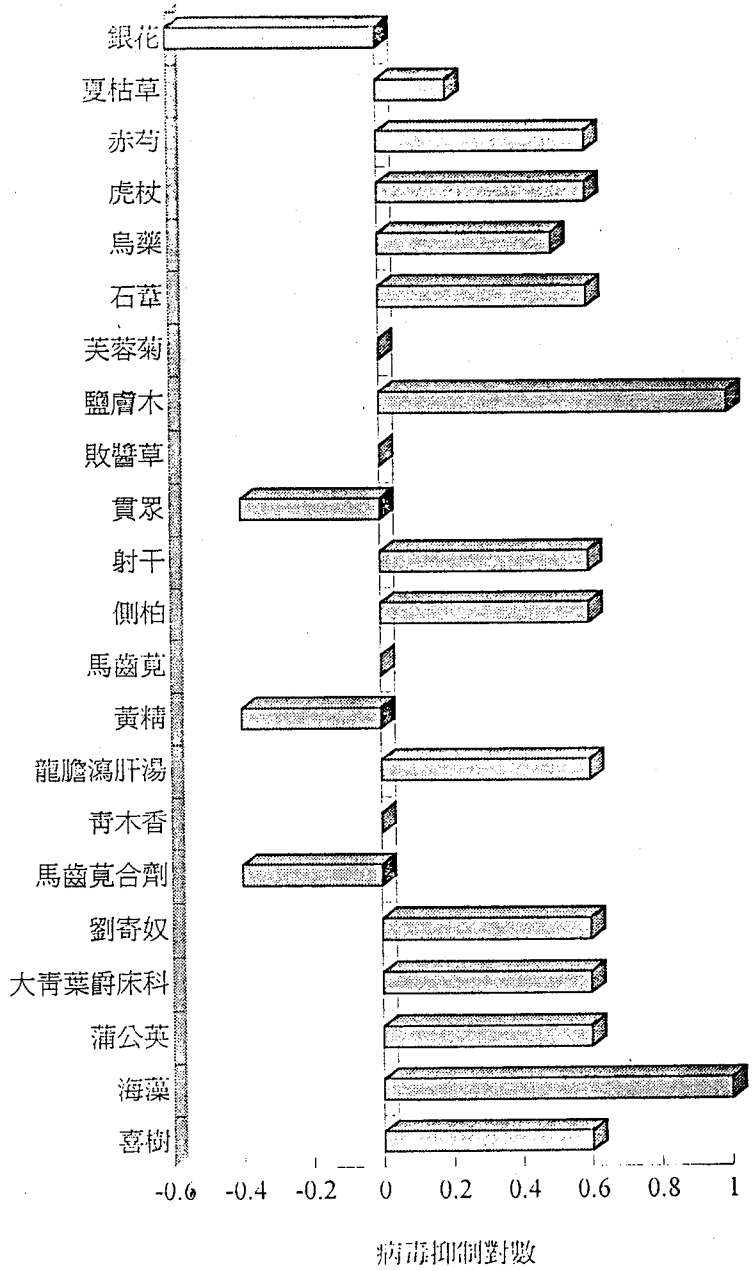
圖一、馬齒莧抽取物之藥物毒性試驗：每毫升5*10^4 細胞加入96格細胞培養盤後，再加入連續十倍稀釋的馬齒莧抽取物。在5% CO_2, 7 °C 的培養箱內培養二天後，加入MTT溶液反應四小時，加入萃取緩衝液停止反應。測量570 nm之吸光度。以對照組爲百分之百存活，實驗組之吸光值除對照組之吸光值，得到各種濃度作用下的細胞存活率。



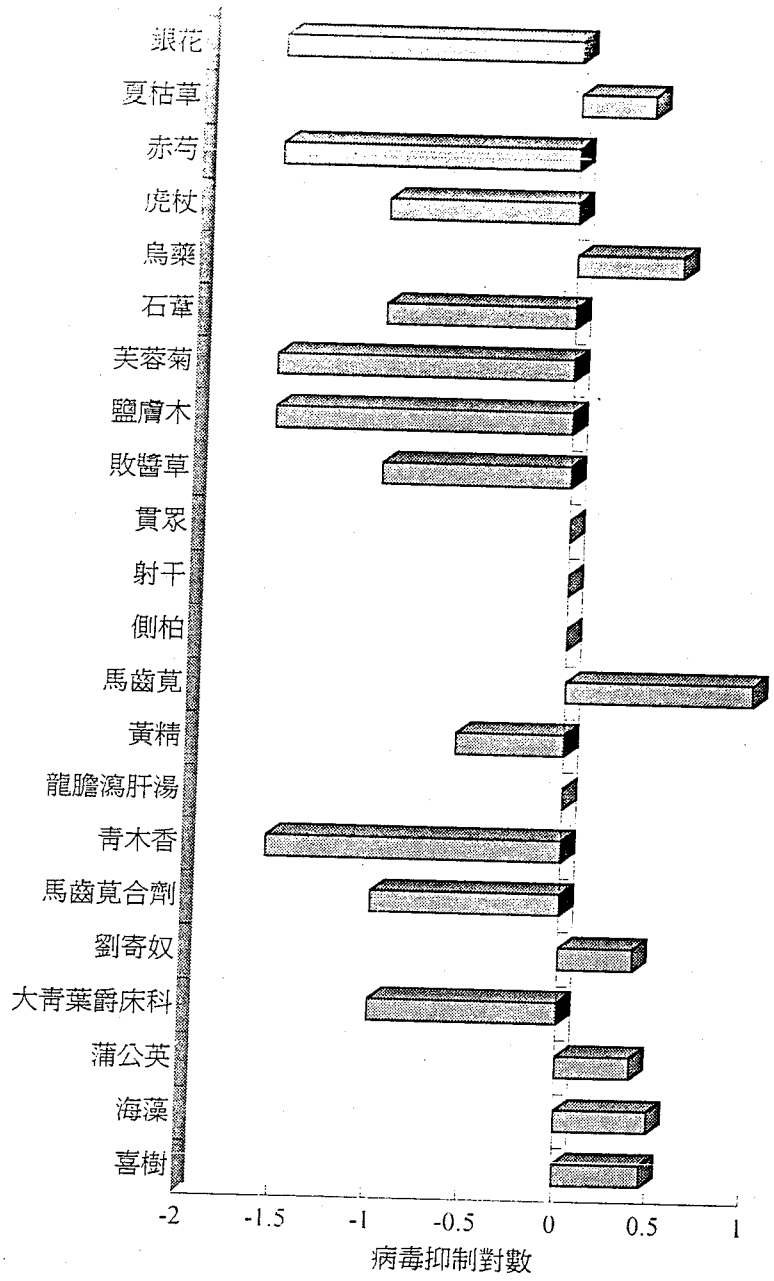
圖二、側柏抽取物之藥物毒性試驗：每毫升$5*10^4$ 細胞加入96格細胞培養盤後，加入連續十倍稀釋的側柏抽取物。在5% CO_2, 7 °C 的培養箱內培養二天後，加入MTT溶液反應四小時，加入萃取緩衝液停止反應。測量570 nm之吸光度。以對照組爲百分之百存活，實驗組之吸光值除對照組之吸光值，得到各種濃度作用下的細胞存活率。



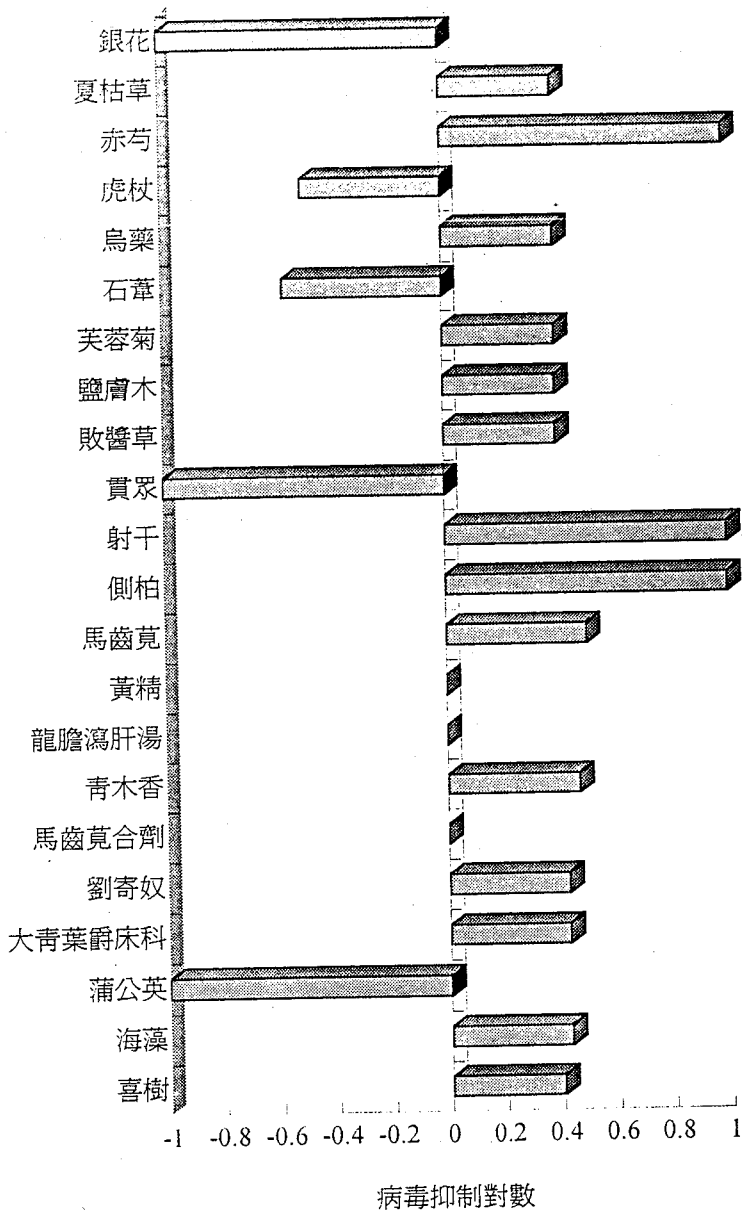
圖三、喜樹抽取物之藥物毒性試驗：每毫升5*10^4 細胞加入96格細胞培養盤後，加入連續十倍稀釋的喜樹抽取物。在5% CO_2, 7 °C 的培養箱內培養二天後，加入MTT溶液反應四小時，加入萃取緩衝液停止反應。測量570 nm之吸光度。以對照組爲百分之百存活，實驗組之吸光值除對照組之吸光值，得到各種濃度作用下的細胞存活率。



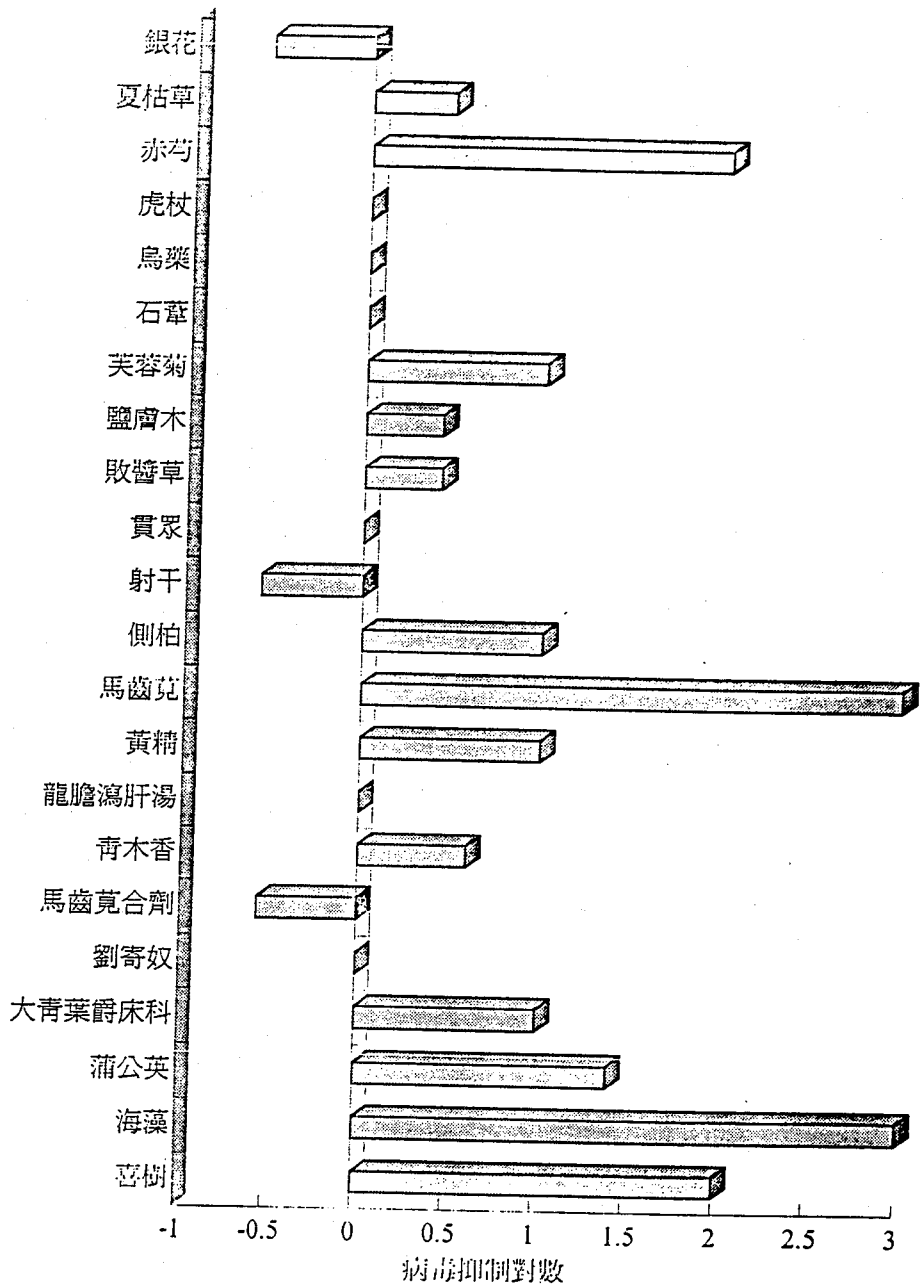
圖四、22 種中藥抽取物在同時給藥途徑之抗 I 型單純疱疹病毒試驗：每毫升 $2x10^5$ 個的細胞溶液加入96格培養盤。同時加入最低毒性藥物濃度及連續十倍稀釋病毒溶液，培養於 37 ℃，5 % CO_2 培養箱中培養四天。計算出對照組及實驗組之50%組織培養感染劑量(TCID50)，然後實驗組之TCID50除對照組之TCID50的比值取對數值，得病毒抑制對數。



圖五、22 種中藥抽取物在治療給藥途徑之抗 I 型單純疱疹病毒試驗：每毫升 $2x10^5$ 個的細胞溶液加入96格培養盤。加入連續十倍稀釋病毒溶液作用一小時後，再加入最低毒性藥物濃度培養於 37 ℃，5 % CO_2 培養箱中培養四天。計算出對照組及實驗組之50%組織培養感染劑量(TCID50)，然後實驗組之TCID50除對照組之TCID50的比值取對數值，得病毒抑制對數。

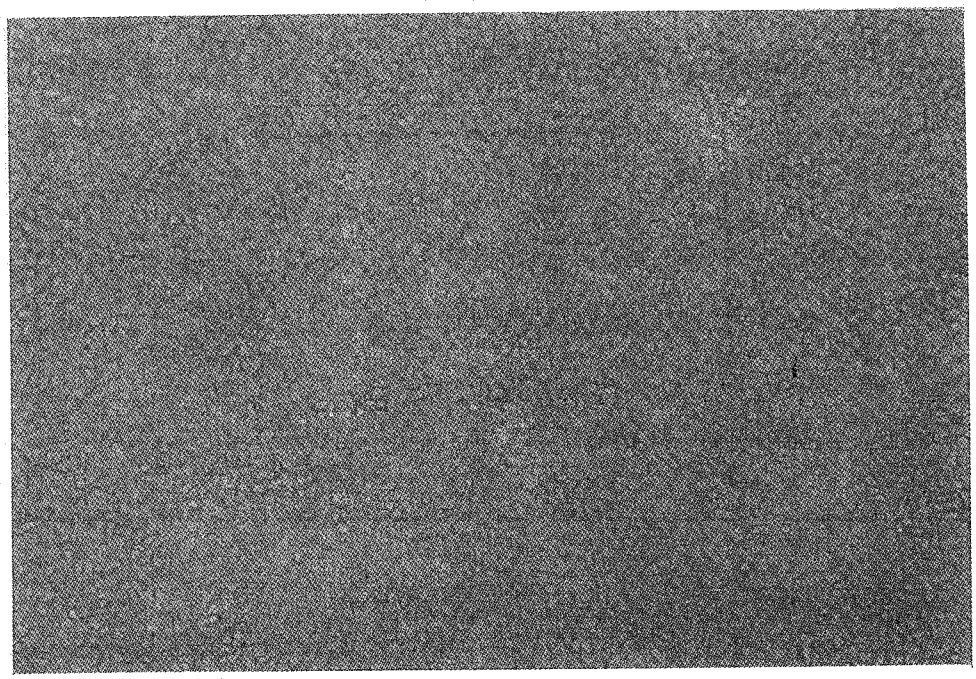


圖六、22 種中藥抽取物在預防給藥途徑之抗 I 型單純疱疹病毒試驗：每毫升 $2x10^5$ 個的細胞溶液加入96格培養盤。先加入最低毒性藥物濃度作用一天後，再加入連續十倍稀釋病毒溶液，培養於 37 ℃，5 % CO_2 培養箱中培養四天。計算出對照組及實驗組之50%組織培養感染劑量(TCID50)，然後實驗組之TCID50除對照組之TCID50的比值取對數值，得病毒抑制對數。

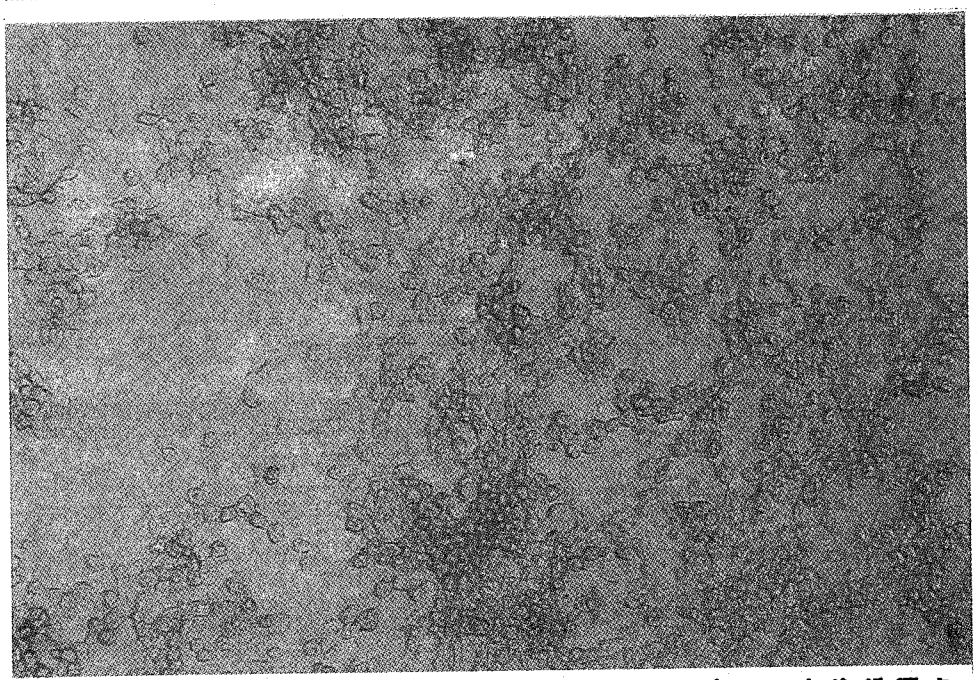


圖七、22 種中藥抽取物在管外給藥途徑之抗 I 型單純疱疹病毒試驗：每毫升 $2x10^5$ 個的細胞溶液加入96格培養盤。最低毒性藥物濃度及連續十倍稀釋病毒溶液管外作用一小時後，再加入96格培養盤中培養於 37 ℃，5 % CO_2 培養箱中培養四天。計算出對照組及實驗組之50%組織培養感染劑量(TCID50)，然後實驗組之TCID 50除對照組之TCID50的比值取對數值，得病毒抑制對數。

(a)

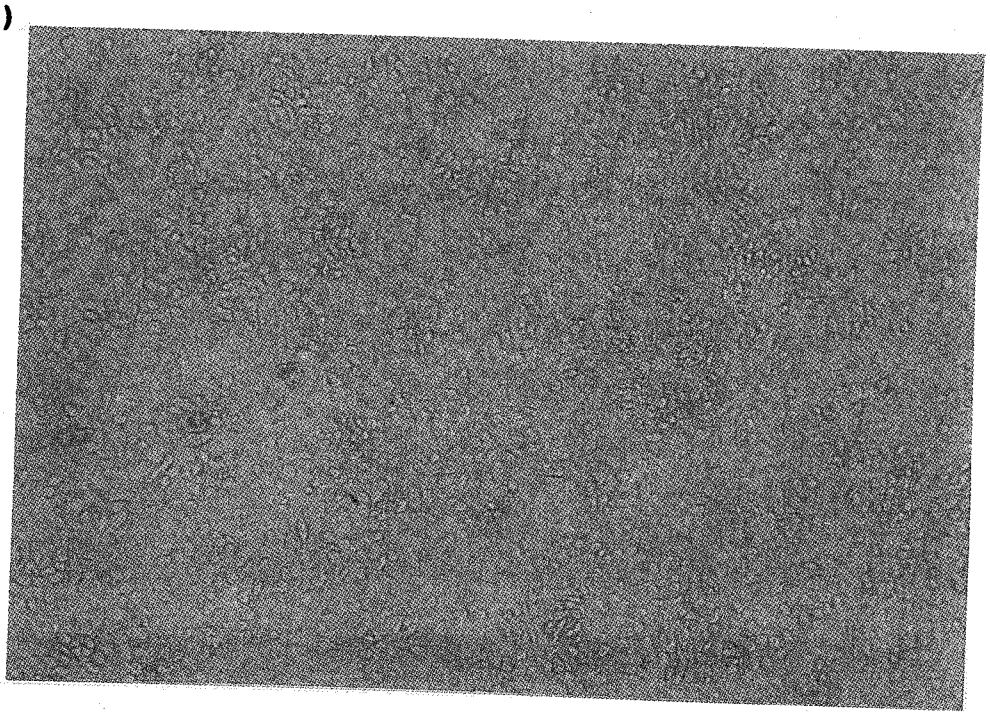


(b)

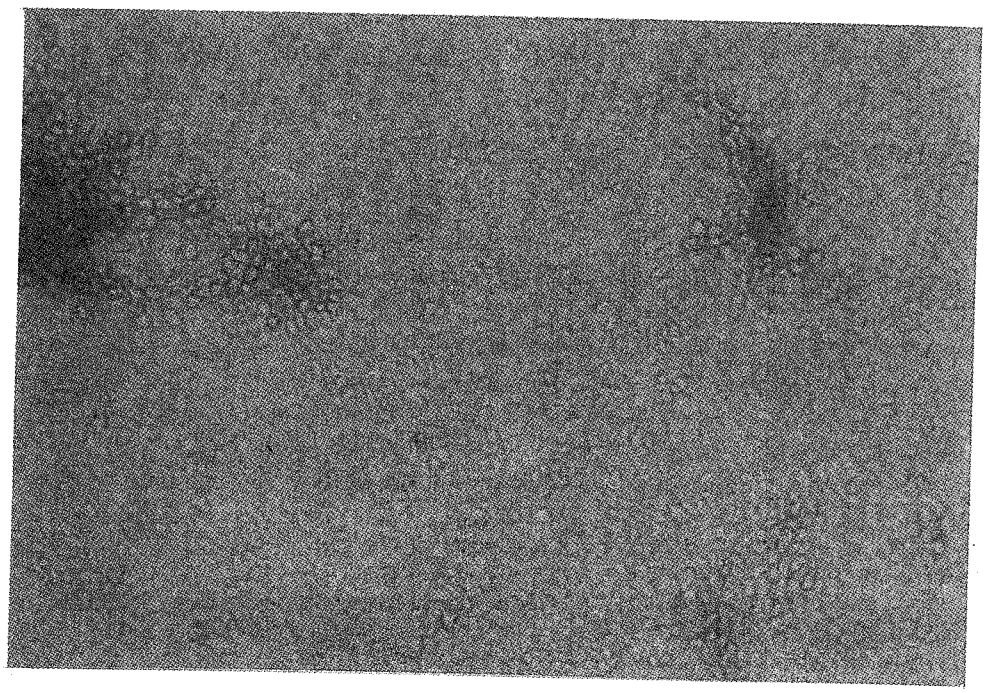


圖八、抗 I 型單純疱疹病毒之細胞病變試驗：同時加入十倍稀釋病毒濃度及藥物抽取物。四天後，記錄細胞病變程度。(a)未加抽取物及病毒液，(b)加病毒液，不加抽取物，(c)加0.001mg/ml喜樹抽取物及病毒液。(d)加0.001mg/ml海藻抽取物及病毒液。

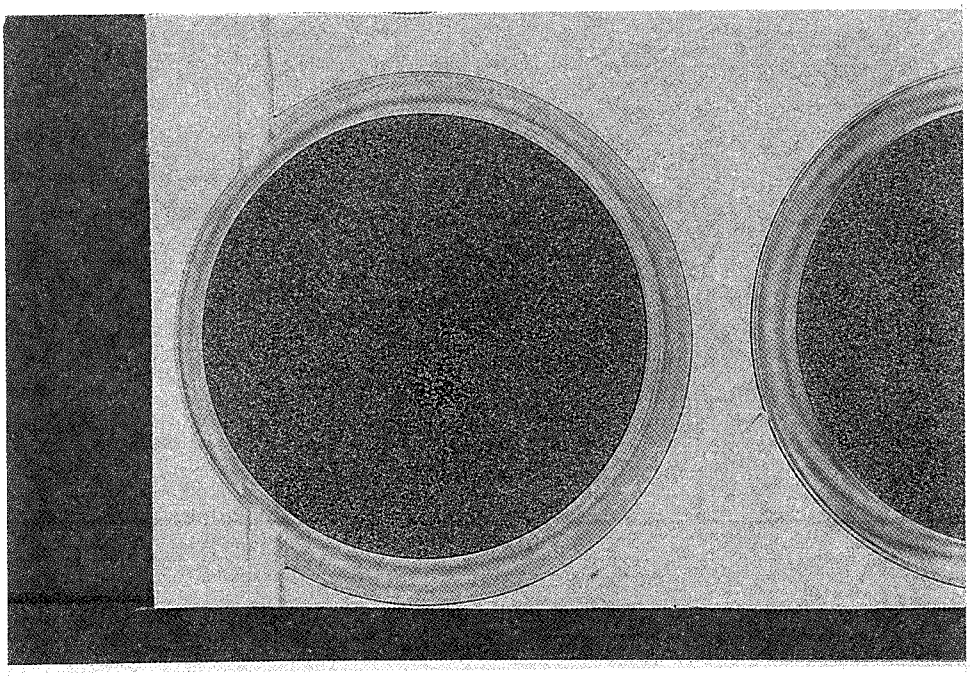
(c)



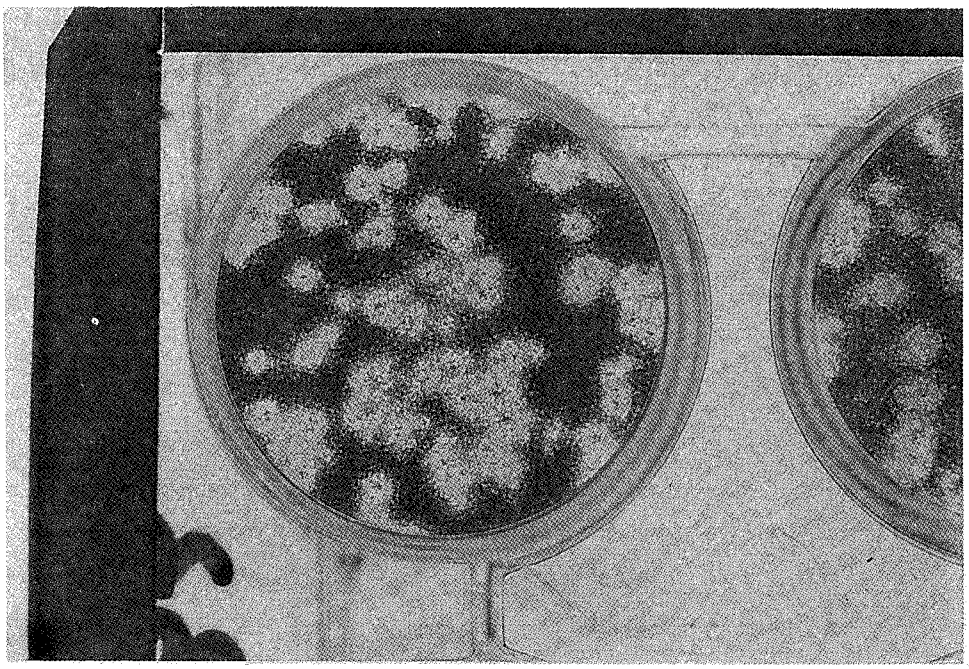
(d)



(a)

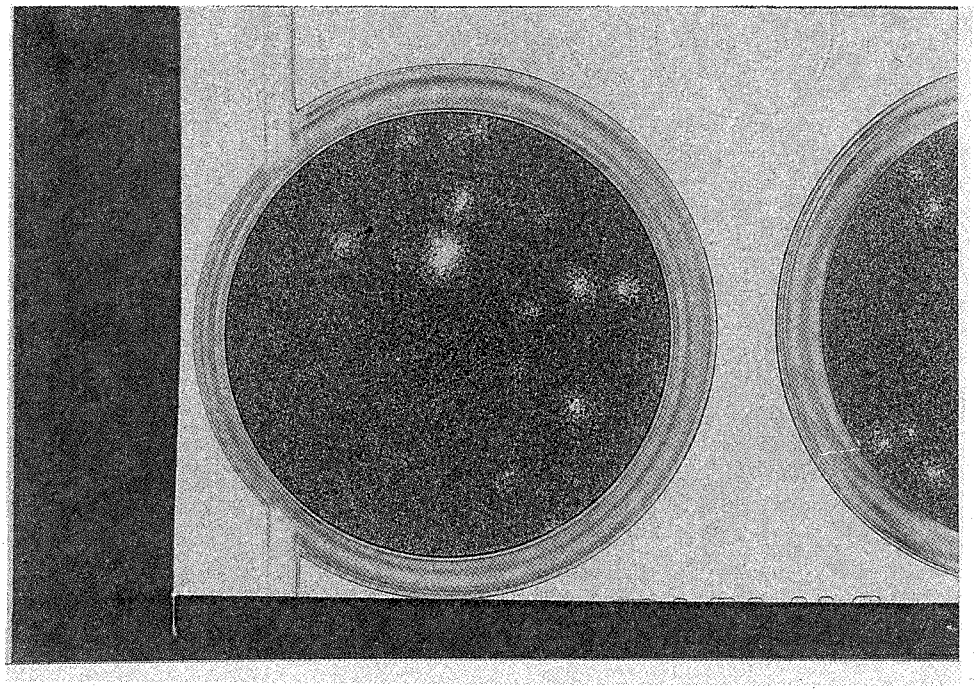


(b)

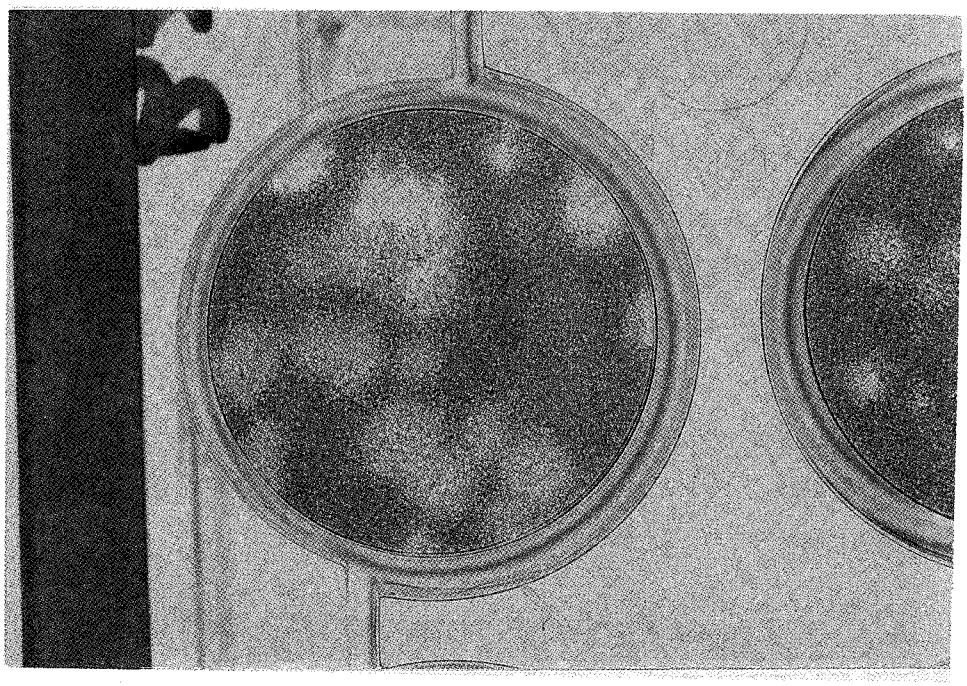


圖九、抗 I 型單純疱疹病病毒之病毒斑點試驗：取細胞溶液加入24格培養盤中，培養至細胞長滿，加入稀釋的病毒溶液及不同稀釋濃度的中藥抽取物於24格培養盤，然後再加入0.12%高級瓊脂(Noble agar，Difco)溶液。培養五天後，加入福馬林固定，移去瓊脂，使用結晶紫染液染色。(a)以未加入任何中藥及病毒溶液，(b)只加入病毒溶液，(c)加0.01 mg/ml 喜樹抽取物及病毒液，(d)加0.001 mg/ml 喜樹抽取物及病毒液。(e)加0.01 mg/ml 海藻抽取物及病毒液，(f)加 0.001 mg/ml 海藻抽取物及病毒液。

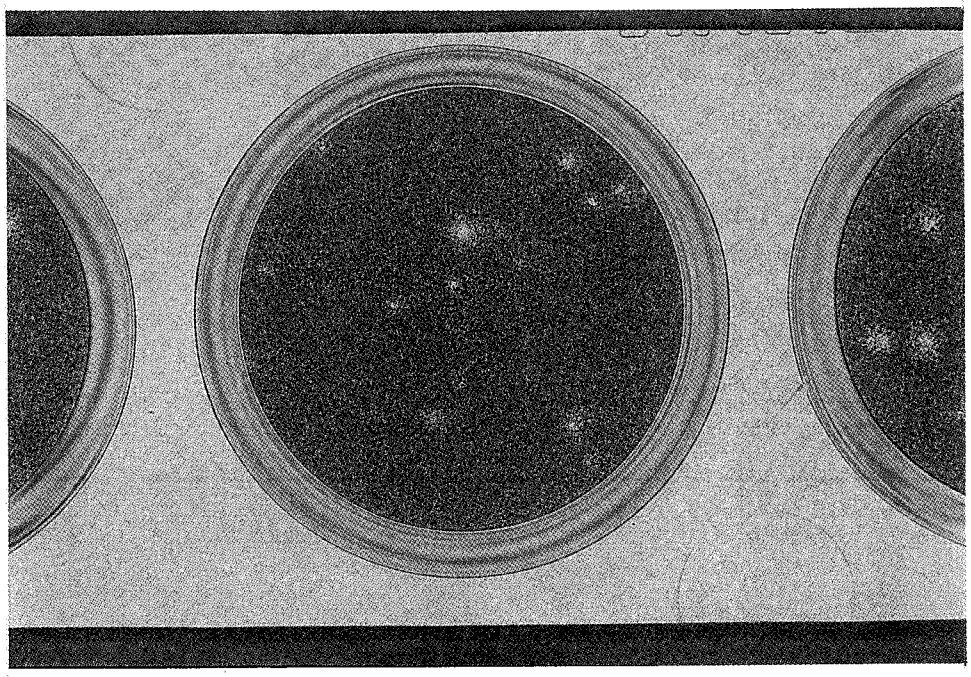
(c)



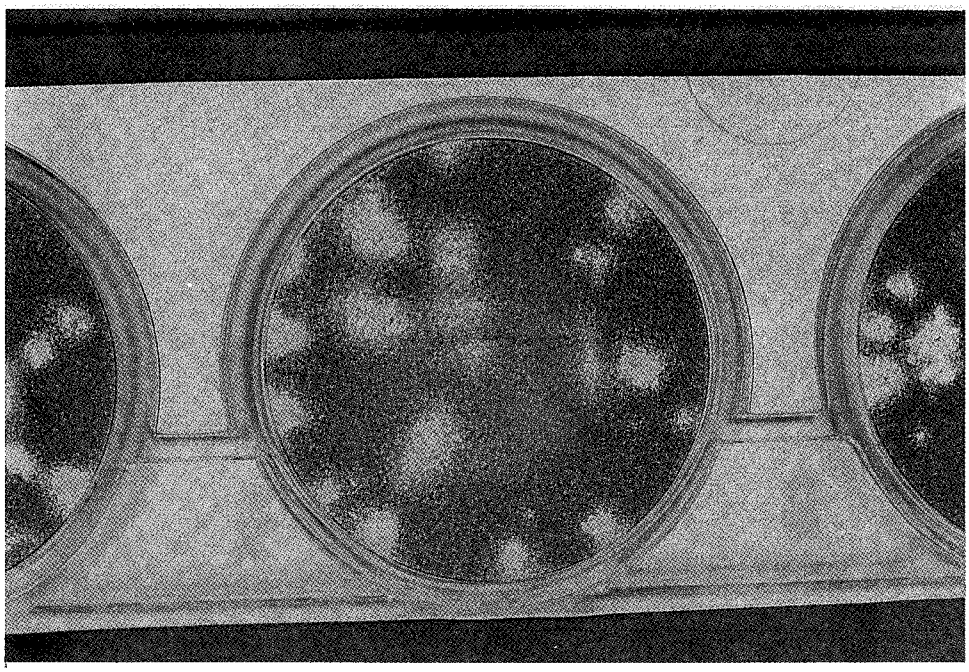
(d)

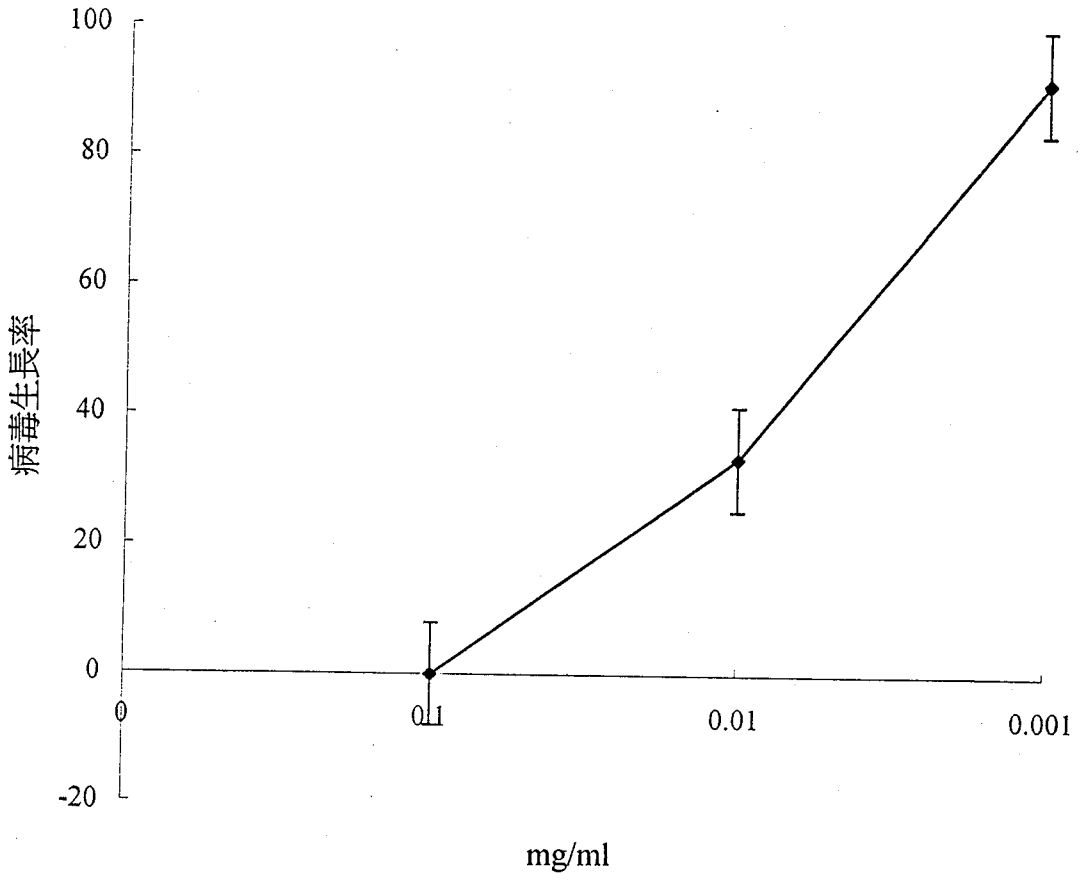


(e)

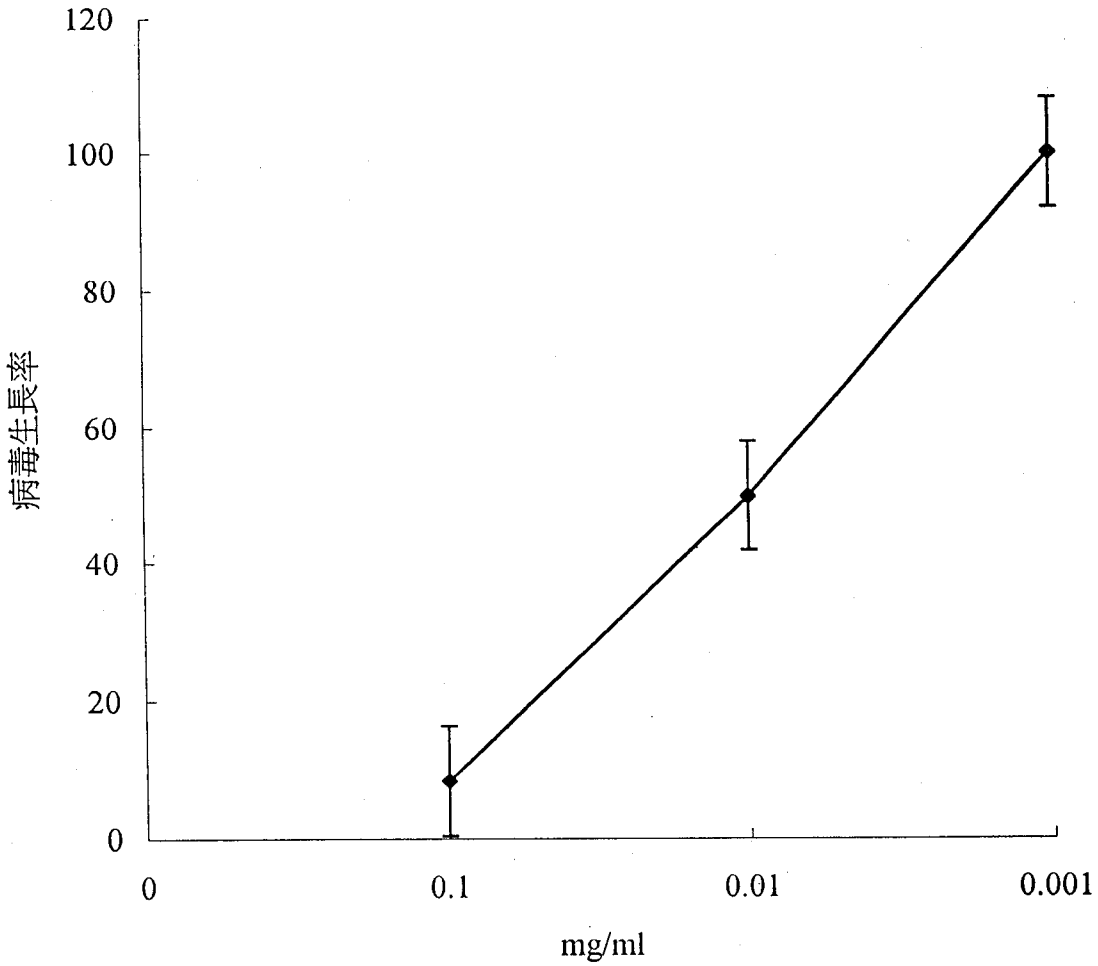


(f)

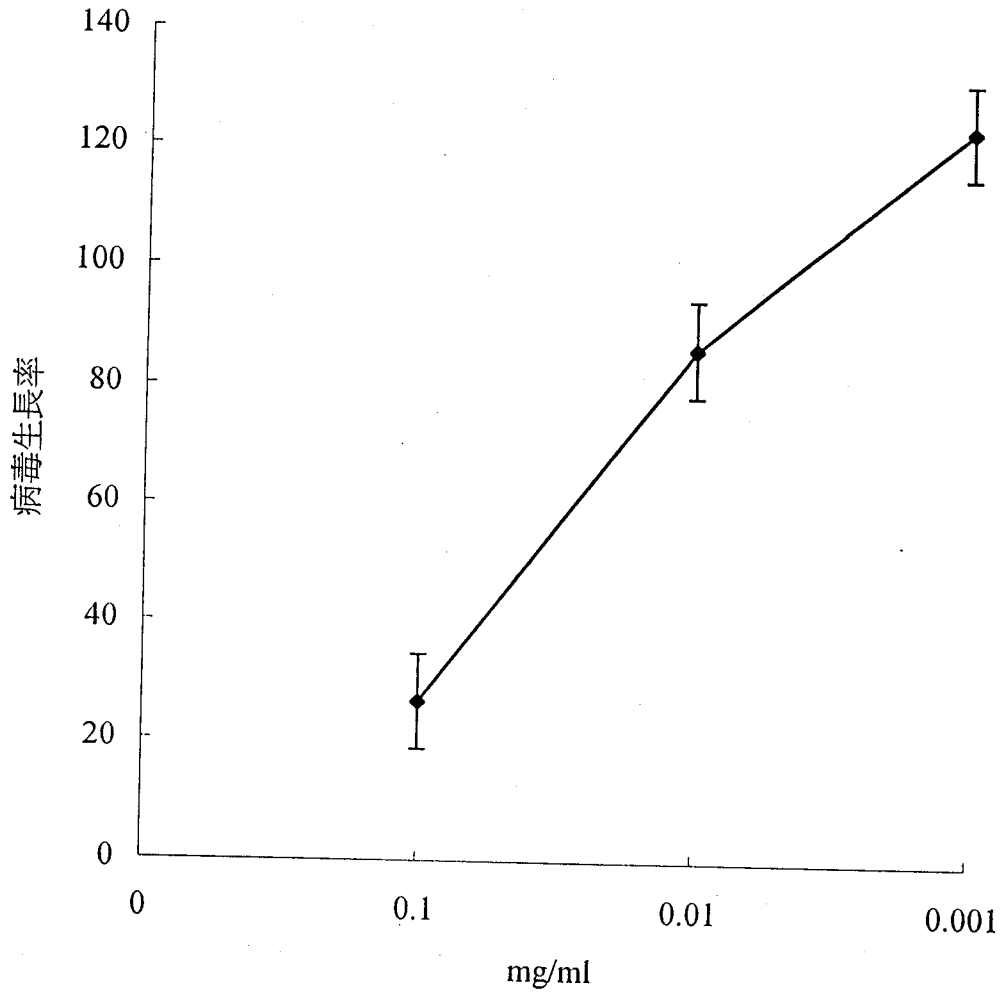




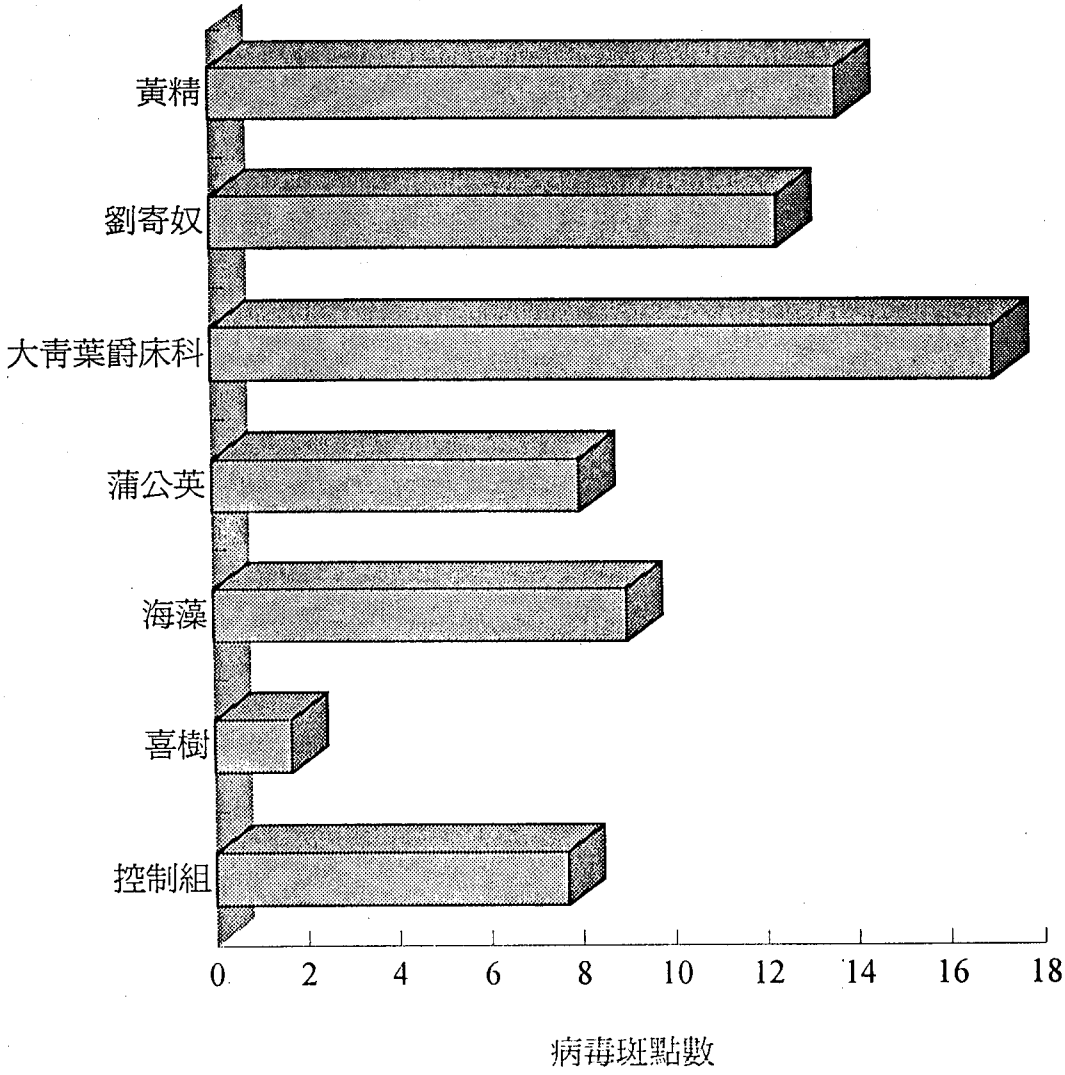
圖十、喜樹抗Ⅰ型單純疱疹病病毒之抑制百分之五十感染劑量之測量：由病毒斑點試驗計數只加入病毒溶液，及加不同抽取物濃度及病毒液的病毒斑數，可得到抑制百分之五十感染劑量的濃度。



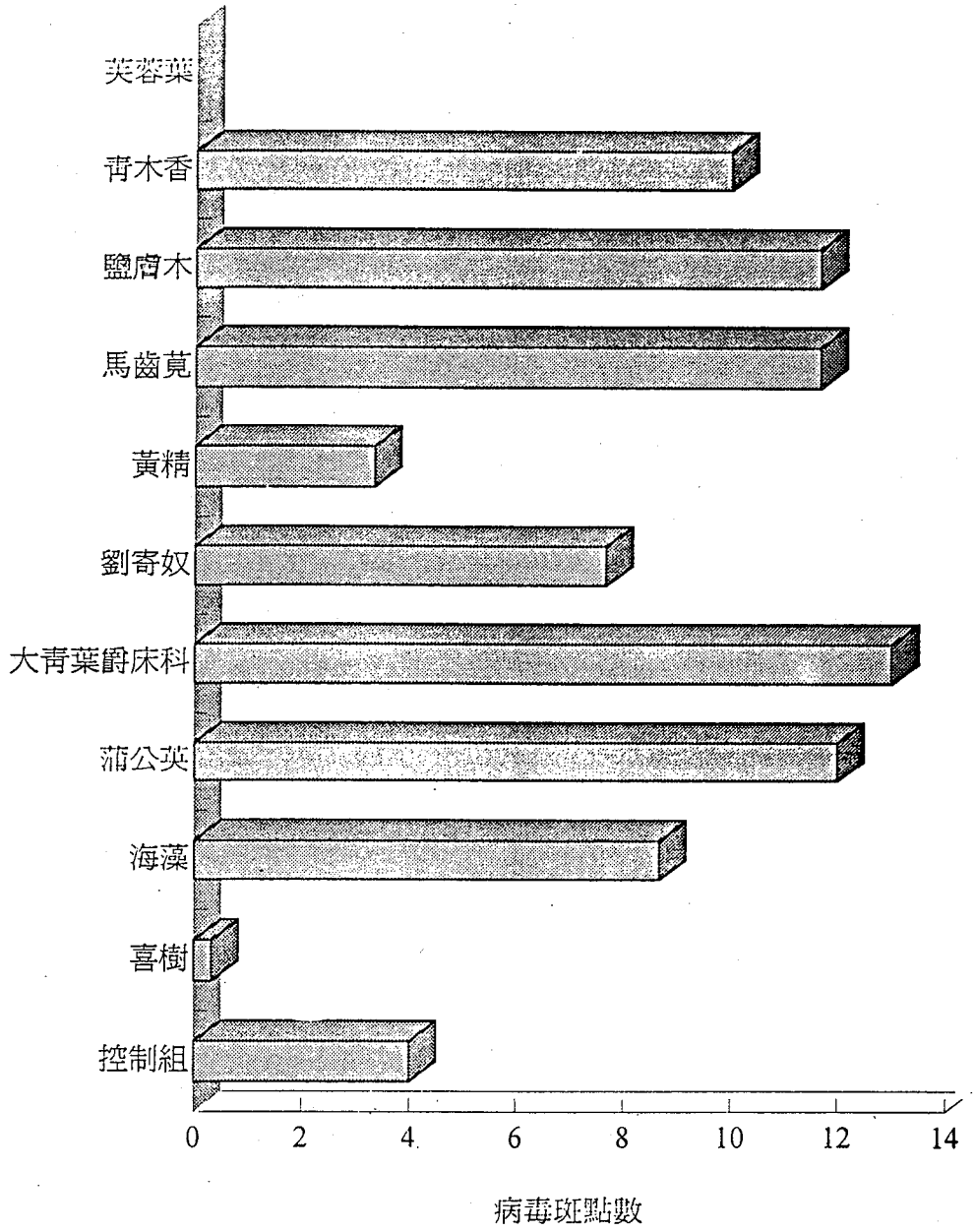
圖十一、海藻抗 I 型單純疱疹病病毒之抑制百分之五十感染劑量之測量：由病毒斑點試驗計數只加入病毒溶液，及加不同抽取物濃度及病毒液的病毒斑數，可得到抑制百分之五十感染劑量的濃度。



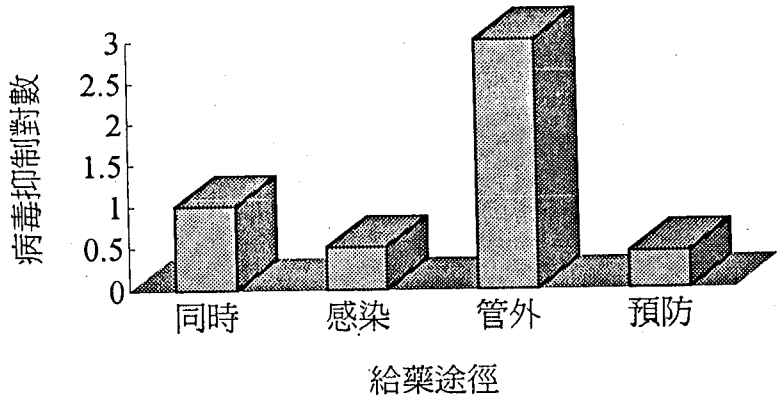
圖十二、蒲公英抗 I 型單純疱疹病病毒之抑制百分之五十感染劑量之測量：由病毒斑點試驗計數只加入病毒溶液，及加不同抽取物濃度及病毒液的病毒斑數，可得到抑制百分之五十感染劑量的濃度。



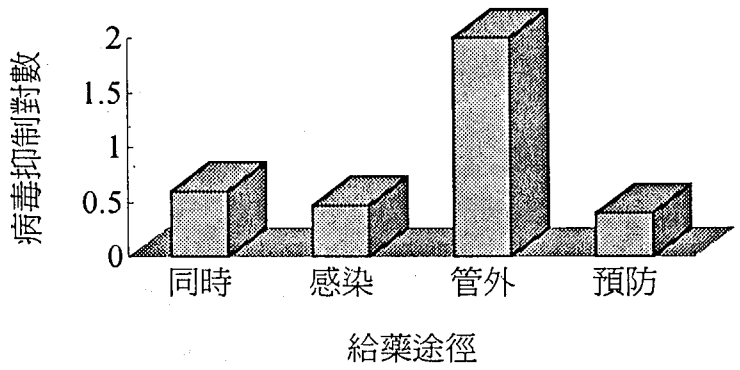
圖十三、同時給藥途徑之病毒斑點試驗：取細胞溶液加入24格培養盤中，培養至細胞長滿，加入稀釋的病毒溶液及稀釋濃度的中藥抽取物於24格培養盤，然後再加入0.12%高級瓊脂(Noble agar，Difco)溶液。培養五天後，加入福馬林固定，移去瓊脂，使用結晶紫染液染色。



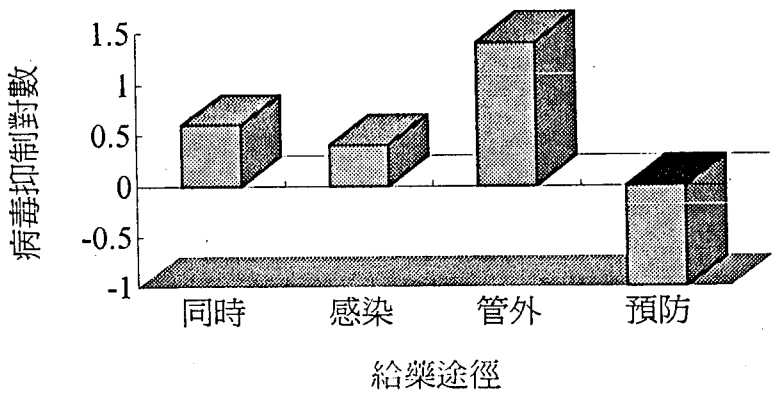
圖十四、管外給藥途徑之病毒斑點試驗：取細胞溶液加入24格培養盤中，培養至細胞長滿，加入事先已混合一小時之稀釋的病毒溶液及稀釋濃度的中藥抽取物於 24 格培養盤，然後再加入0.12%高級瓊脂(Noble agar，Difco)溶液。培養五天後，加入福馬林固定，移去瓊脂，使用結晶紫染液染色。



圖十五、海藻抽取物四種給藥途徑之抗 I 型單純疱疹病毒試驗



圖十六、喜樹抽取物四種給藥途徑之抗 I 型單純疱疹病毒試驗



圖十七、蒲公英抽取物四種給藥途徑之抗 I 型單純疱疹病毒試驗

編號 DOH84-CM-031

針刺鎮痛之分子生物學機轉研究
I. c-fos 細胞致癌基因在大白鼠脊髓背角之反應
II. 清醒及麻醉大白鼠針刺後對不同傷害性刺激之行爲反應的初步實驗結論

孫維仁　溫永銳　侯文詠

臺大醫院麻醉部

摘　　要

近年來，以Fos致癌基因在中樞神經的表達作電針鎮痛機轉的研究，已逐漸受到重視。這是因爲以fos的活動度做爲動物疼痛的指標，不只其出現的部位、數量代表了疼痛刺激的來源和大小，更重要的是Fos本身即參與了疼痛訊息的傳遞，與中樞神經系統對於疼痛的詮釋及處理有密切的關係，而其精確性、穩定性、及可重覆性遠比傳統的行爲觀察更爲優益。可是，行爲表現仍是動物疼痛反應最直接而有力的證據，若結合Fos基因表達與鎮痛行爲之表現，對鎮痛機制上的解釋，更具意義。

本次的研究仍主要承接81年度計劃的未完成部份，爲進一步澄清當時針刺後疼痛加重的現象，我們擴大比較了不同刺激模式反應。包括：⑴清醒大白鼠以埋線電針方式，測試對CO2脈衝雷射刺激及福馬林皮下注射，及⑵輕度麻醉的大白鼠以插針電針方式，接受來自閃尾測驗及福馬林注

射；觀察這些不同模式下，疼痛行爲改變及脊髓背角的Fos 核蛋白表達。結果，發現經60分鐘電針刺激，行爲上見不到有明顯止痛反應，在清醒大白鼠組甚至有疼痛加劇的現象，而Fos也是呈現傷害性刺激表現，與控制組無差異。對此不同於一般研究報告的結果，我們提出了「焦慮致痛」(anxiogenic hyperalgesia)的解釋，並認爲在輕度氣體麻醉下(0.5 % halothane)，可消除此一不利之因素。最後，我們認爲，由於針刺產生的鎮痛效果不大，必需選用適當電針模式及疼痛模式，才能減低不利的干擾因素，以突顯針刺鎮痛的效果。

前言

針灸在中國已流傳了兩千多年，雖然一直廣泛應用在各種臨床疾病治療上，但因原始學理建立在中國傳統醫學架構上，使其眞正作用機轉一直被蒙上了神秘的面紗。然而，近三十年來經大量現代科學的方式研究，許多的謎團已逐漸解開，這其中探討最深入、成就最大的就是針刺鎮痛的基礎研究[1]。

早期的鎮痛研究因發現周邊針灸穴位注射普卡因（procaine）可阻斷其止痛效果[2]及無法在偏癱或截癱病人的患側針刺產生針刺鎮痛[3]，因而判斷針刺的作用乃經由神經訊號傳入而啓動。此後，由於對疼痛機轉研究上的快速成長，1970年代起許多重要研究陸續發表：Andersson 等人証實針刺可提高正常成年人對牙髓疼痛刺激的閾值[4]；Chapman 以訊息偵測理論（signal detection theory）強調實驗方法學在針刺鎮痛的重要性[5]；對針刺止痛機轉的理論，也由最早的「門閥控制理論」[6]發展成「內源性嗎啡釋放」的止痛作用，其中又以 Mayer 以 naloxane 反轉針刺鎮痛的突破性研究之實驗最著名[7-10]。在同時「下行性抑制性機轉」也受到重視：經由針刺後中樞神經內不同的神經傳遞路徑（如 serotoninergic, norepinephrinergic pathway）之分析，證明針刺後的確有內源性疼痛調節性機轉[1,11]。近年來對針刺的研究已注意到腦內神經核間興奮及抑制的整合表現[12]；並發現不同的電針刺激頻率，低頻刺激（小於 10 Hz）或高頻刺激（大於 100 Hz）所誘發的神經遞物釋放及產生的止痛效果是不同的[13-16]，應証了傳統的針刺手法

確有其臨床意義。僅管如此，尚有極多的問題仍在爭議之中，如電針刺激與傷害性刺激是否相同？電針刺激的初級傳入是甚麼？而哪些通路可能參與傳遞過程？電針過程中腦內究竟有哪些區域被激活？「以痛制痛」是不是針刺鎮痛的主要機制？及針刺對慢性疼痛的長期效果如何？另外，由基因水平研究針刺鎮痛機轉尚少有涉及，使整個針刺鎮痛理論的架構未臻完備，而本研究的目的，在於建立自己的動物針刺鎮痛模型，並利用分子生物學在疼痛學研究上最新的科技，作為針刺止痛的學理探討及研究。而我們的工具是以免疫組織化學法(Immunohistochemistry) 分析原致癌基因 *c-fos* 在脊髓的表達。

以c-*fos*細胞原致癌基因(proto-oncogene)活動度來作為實驗動物疼痛的指標，是近年來疼痛學研究中嶄新的方法，它不止在神經核中可以用型態學的方法固定，量化和比較，且其精確性、可重覆性、及穩定性遠比傳統的行為觀察更為優益，而更重要的是c-*fos*的誘導與調節機制，已在分子生物學的研究中得到強烈的佐証，與細胞內訊息傳遞息息相關。以*c-fos*做為實驗動物疼痛指標好處包括：(1)沒有接受疼痛刺激的情況下，正常活動的清醒大白鼠其背角區幾乎完全沒有*c-fos*的表現。給予疼痛刺激後，在刺激同側背角負責痛覺的區域：lamina I/II/V，會出現大量的Fos，而在未受疼痛刺激的對側背角區則完全沒有出現，顯示Fos對痛覺具有高度專一性。(2)Fos蛋白平時含量甚低幾乎無法測得，然而一旦經誘導出現後，含量大增，毋需再經過其它強化程序，用標準的免疫染色法就可以染出，操作簡便，可信度極高。[17] (3)計算染有Fos標記的細胞核數目可以反應出刺激的強弱，具有半定量的效果。[18](4)可以參考其分佈情形，具有極佳的定位性(somatotopical presentation)。[19](5)不同的疼痛刺激會產生不同的表現，如：機械性疼痛，炎性疼痛(例如：結核菌素關節內注射[20]，福馬林皮下注射[21])，神經傷害疼痛模式[22]，內臟疼痛[23,24]。(6)Fos是核蛋白，所得到染色反應全部發生在細胞核內。利用雙重染色法(double labeling technique)，可以同時染出細胞質內其它蛋白的活動，提供強烈的神經細胞Fos轉譯後訊息。[25] (7)更重要的是，Fos的誘導與調節機

制已經在分子生物學的研究中得到強烈的佐證，與細胞內訊息傳遞息息相關。[26] 藉著Fos的激活，神經細胞核啓發一連串之蛋白質合成及細胞膜電位改變的反應，這種現象不啻為神經可塑性參與疼痛最直接的證據。[27] 因此，最近的研究一致推崇Fos免疫染色法是用來探索疼痛的神經活動度方法中，極為理想的工具。[28]

82年度的計劃中，我們已經發展出清醒活動大白鼠的埋線電針刺激模式，並且觀察了正常大白鼠（未經電針刺激）其c-*fos*細胞致癌基因在脊髓後角區的數量與分佈型態，但電針實驗的結果卻未能觀察到預期的針刺鎮痛效果。[29]雖然當時我們提出了「焦慮」造成疼痛閾值降低的看法，但為求慎重起見，我們擴大比較了清醒及麻醉下大白鼠在不同的電針刺激方式及疼痛模型下之反應，以期獲得一穩定可靠且利於c-fos免疫組織染色操作的動物行為模型，便於更進一步的研究。

材料及方法

一、動物準備(animal preparation)：

雄性Sprague-Dawley大白鼠，每隻體重約250~300克。每三隻一組飼養於籠內，光照與熄燈各12小時，自由進食。

二、疼痛模式

1. CO_2 脈衝雷射迴避測試（Laser-evoked Limb Escape Test）：

以不同功率之二氧化碳脈衝雷射（CO_2 pulse laser）照射大白鼠的後腳底，觀察因受熱疼痛而抬足之反應。大白鼠先置於網狀鐵籠內30分鐘，大白鼠可在鐵籠內自由活動，而雷射光可穿過網狀地板間空洞直接照射後足底。雷射刺激每次脈衝時間固定為30毫秒，直徑2厘米，與足底距離1公分，基礎功率定為6W，分別照射左右後腳各1次，若有提足至完全離開地面或舔足的疼痛反應視為此時之疼痛閾值（只是足部移動或半提足不算），若無此疼痛行為表現，則依8W → 10W → 12W → 15W 逐次提高功率（為避免組織傷

害，定最高功率為15W 稱作cut-off limit），每隔1分鐘重覆刺激一次至疼痛行為出現為止。

2. 閃尾反射測試 (tail flick test)：

大白鼠置入透明圓形的塑膠管中，使其無法在塑膠管中自由活動，但尾巴及後腳可自然露出管外，熱源來自一聚焦燈泡(約12.5W)照射尾部尖端1/3一固定黑點。將尾巴受熱刺激後因疼痛而移開的時間記錄為閃尾時間(tail flick latency; TFL)，可由自動計時器記錄下來。實驗開始後每隻老鼠先記錄三次TFL，每次間隔1分鐘，平均三次數值，定義為基礎疼痛閾值(basal pain threshold; BPT)，一般在4~6秒間。經電針刺激後再做三次，求平均之TFL，整個過程室溫維持23±1°C。另定義BPT的2倍為最長照射極限(cut-off limit)，超過這個時間則移開鼠尾，以避免不必要的組織傷害。

3. 福馬林實驗（Formalin Test）：

將1%福馬林50μ 以26G皮內針注射大白鼠右後足底皮下，然後置入網狀鐵籠內觀察白鼠的疼痛行為，其中：半提足或跛行為1分、全抬為2分、舔足或顫動為3分，由注射開始計錄至60分鐘，其間以我們自己研發的程式，自行記算出單位時間內的疼痛加權分數（weighted pain rating score），並繪出圖形。

三.電針模型 (Electroacupuncture)：

1. 插針模型：

兩隻不銹鋼針，直徑0.25毫米，插入大白鼠左後足相對於足三里穴（S36）的位置。其定位方法為脛骨粗隆（tibial anterior tuberosity）和腓骨頭（fibular head）間，距脛骨粗隆外5厘米，另一根針插入穴位下方約5厘米

處。電針刺激器連接在針頭裸露出皮膚的部份，輸出波寬0.2mS，方形波，刺激頻率選定低頻（2 Hz）及高頻（100Hz）兩類；強度調整由零起逐漸增加至局部肌肉收縮(大約為0.3-0.6 mA)，定義此刻強度為電針閾值(Electroacupuncture analgesia threshlod; EAT)。電針刺激開始強度由電針閾值起，依1-2-3倍每隔10分鐘增加一次，而後維持3倍EAT值連續刺激40分鐘，全部刺激時間為60分鐘。

2. 埋線模型：

腹腔內注射40mg/kg pentobarbital，待老鼠昏迷後將左小腿及前額剃毛。切開皮膚找出脛骨前肌(anterior tibialis muscle)的上1/3處，介於脛骨粗隆(tiabial anterior tuberosity)和腓骨頭(fibular head)間，在脛骨粗隆外5mm處，即足三里穴位(S36)。以22G皮下針穿透該處肌肉，再以15cm的絕緣不銹鋼線(25G)穿透後，將遠段導線裸露一截約5㎜，裸露遠端做成結節後拉回，裸線近端再作一結節，而固定於該肌肉上，僅肌肉內之該段電極裸露，兩端均為絕緣。同樣另一條導線以相同方式埋入穴位下方處，兩條導線上下各自間隔0.5cm，兩條電線另一端則沿著皮下穿透至前額預留的切口拉出，焊接於八角體導電接受器之後兩足上，以牙科水泥固定於前額顱骨上，即可完成手術。過程中以電針刺激器相連接，訂於0.5mA強度來測試，如後肢有明顯的ankle flexion動作，就表示手術成功。三天後待傷口及水泥乾涸後，檢視八角體有無脫落及神經肌肉損傷現象，5天後便可進行第一次測試。電針刺激器之輸出端已預焊上一陽性八角體，在短暫的Halothane麻醉下，將之覆蓋於老鼠前額之陰性八角體上做緊密接合。電針刺激器的參數及設定與插針模型相同。

四、清醒活動鼠的電針鎮痛試驗：

每組大白鼠5隻，進行上述的埋線手術，一週後檢查傷口無感染或

崩裂現象，則可分別進行脈衝雷射刺激實驗及福馬林實驗。（1）雷射組在電針前10分鐘，先依前述方法分別照射左右後腳三次，取其平均值，作為致痛的基礎功率（basal power）。之後進行電針刺激60分鐘，期間每隔30分鐘測雷射刺激的功率改變（test power）直到電針刺激結束後30分鐘，同組老鼠均採低頻及高頻進行測試。最後依下列公式一對時間作圖。（2）福馬林組鼠經短暫的Halothane麻醉後，將老鼠前額之陰性八角體與電針器短暫的Halothane麻醉下，將之覆蓋於老鼠前額之陰性八角體上做緊密接合接合，待清醒後在左腳底注射福馬林，置入觀察籠並計錄其60分鐘內的疼痛分數。

五、輕度麻醉鼠的電針鎮痛試驗：

健康成鼠每組五隻，分別進行閃尾測驗及福馬林實驗。清醒大白鼠先置入充滿Halothane氣體之密閉容器，至開始眨眼但不再活動時（約3-5分鐘），則移至麻醉氣體面罩下，通以含3% Halothane的純氧。10分鐘後，Halothane調成0.5%繼續維持20 分鐘。在此30分鐘麻醉氣體的吸入誘導期內，不斷以棉棒接觸眼瞼及外耳道觀查是否有眨眼及甩頭的反應，若兩者皆消失，則降低Halothane濃度至任一反射出現。我們的先期實驗顯示，在此濃度的麻醉下，大白鼠的閃尾時間並不因吸入麻氣時間延長而有所改變。電針在第30分鐘開始，採插針模式（如上述），共刺激60分鐘，電針停止後維持麻醉30分鐘，整個麻醉過程共2小時。（1）閃尾測驗組在電針前10分鐘（basal latency），及電針後每隔10分鐘（test latency）測一次至麻醉結束，同組老鼠先後受假電針（sham needle）、低頻電針、高頻電測試。記錄結果並依下列公式二對時間作圖。（2）福馬林組之大鼠以同樣麻醉誘導及電針處理，電針停止白鼠清醒後（約2-5分鐘），在右足底皮下注射福馬林，並計錄60 分鐘的疼痛分數。

公式一：

$$\text{Maximal percent effect (MPE) \%} = \frac{\text{test threshold - basal threshold}}{\text{cutoff limit - basal threshold}} \times 100\%$$

公式二：$$\text{MPE\%} = \frac{\text{test latency - basal latency}}{\text{cutoff limit - basal latency}} \times 100\%$$

六、脊髓背角**Fos**的染色（**Immunohistochemistry**）：

1.固定液之灌流程序(Transcardial Perfusion)：

2.取出大白鼠脊髓之程序(Spinal Cord Dissection)：

3.Fos-LI免疫組織染色法(Immunohistochemistry)：

一、冷凍切片：-20'C, 30mm

二、洗淨：

三、浸泡在0.5%H_2O_2

四、洗淨：

五、前阻斷反應:Blocking 10% GSA+0.3% Triton X

六、初級抗體反應：1:750 rabbit anti-c-*fos* polyclonal antibody, 室溫下24小時

七、洗淨：

八、次級抗體反應：1:200, biotinylated goat anti-rabbit IgG

九、洗淨

十、聚鏈反應:ABC polimerization[30]

十一、洗淨：

十二、呈色反應:DAB+nickel reaction

十三、洗淨：

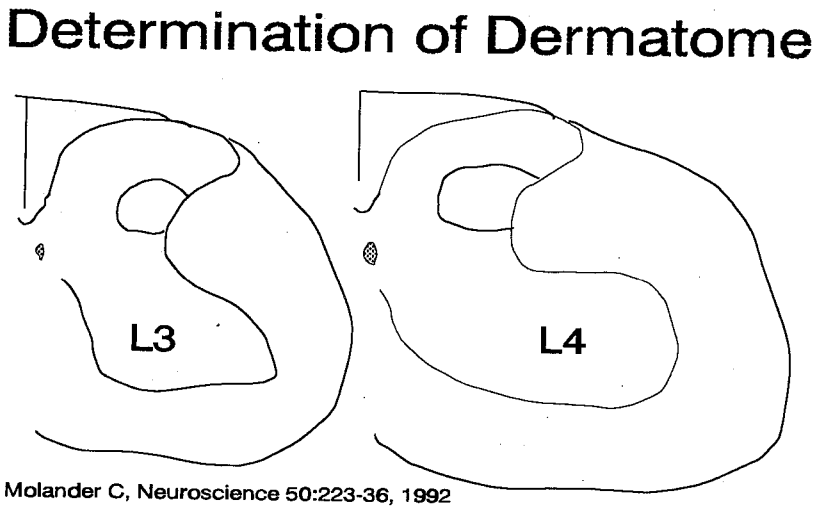
十四、展片：0.4% gelatin + alcohol

十六、脫水、乾躁：

4.型態分析(data analysis)：

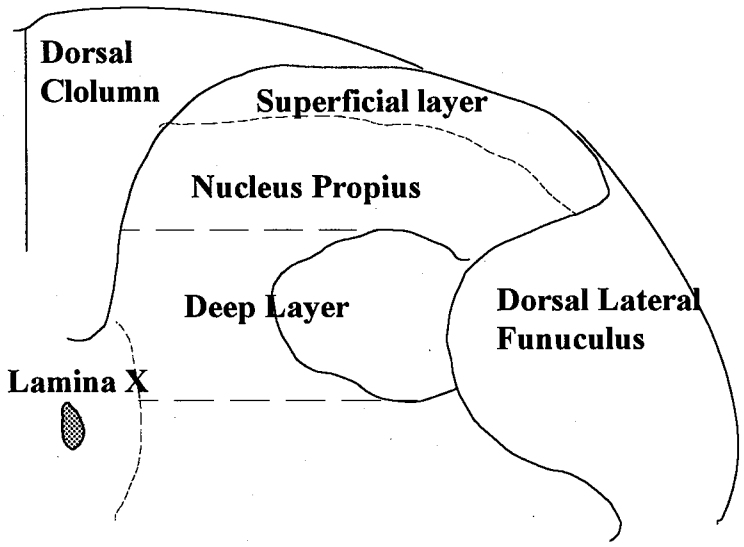
選定皮節　在低倍之dark field背景下審視脊髓切片，根據其白質及灰質之比例，及前角之形狀，可以將各皮節區之特定形態篩檢出來，其中L3有如尖頭鞋，L4有如鈍頭馬靴(見圖一)。然後記錄該切片在顯微鏡載物台上之座標，供日後篩選。

〈圖一〉



劃分皮節　在10x10x1.25倍之dark field下，選定該皮節之背角區，在Camua lucida下將背角之輪廓劃出，其中可以明顯劃出Reticular part之外型。取其上緣及下緣各做出一條平行線，便可訂出deep layer之邊界。Superficial layer和Nucleus propius(NP)的界限，由瀰漫於NP中的微細縱向神經束來區分，一般而言，S約佔1/3 NP約佔2/3的比例(見圖二)

圖二　大白鼠脊髓背角之分層法



繪圖　在10x10x1.25倍之bright field下，在光源高調至1/3強，打開Camera lucida，用深色筆逐一點出FOS-labeled之細胞核。染色之濃淡以能夠目測者為限，紅血球之型態及大小與FOS-labeled細胞核不同，應排除之。

計算　同一皮節區，共計算五片，選取FOS數量最多之三片做平均值。計算範圍由L1至L6，左右均測量之。

六、切片觀察及記數 (Inspection & Counting)

（一）準備工作(Preparation)

（1）封片

（2）編號：在每一組玻片的左側依序編上號碼，以方便找尋。

（3）調整顯微鏡：

（4）調整攝影裝置：

（二）選取適當的切片(Identification)

（三）攝影(Photocopy)

（四）分層計數法

（五）輸入電腦

（六）建檔

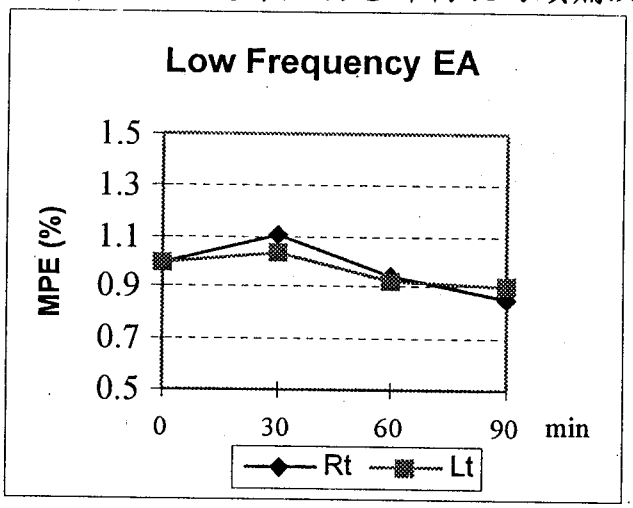
結果

一、清醒活動鼠的電針試驗結果

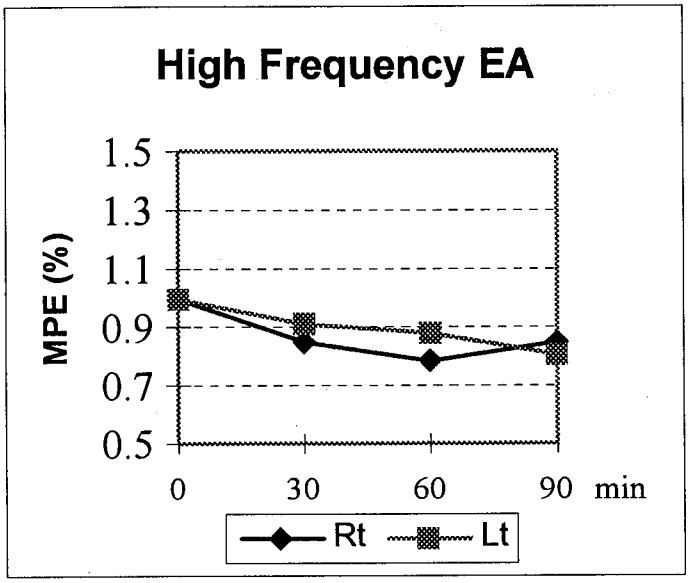
1. CO_2 脈衝雷射迴避測試

大鼠手術後5-7 天開始進行第一次的測試。短暫的Halothane麻醉後，將電針刺激器連接上覆蓋於老鼠前額之陰性八角體。通電流前先在左右足底各作一次的雷射照射，定為基礎功率（basal power）。初通電後可見埋線之腳（左足）有局部的肌肉收縮，電流提高至 3 倍 EAT 時，左腳有拍打地面的動作，大鼠在此時大多拱背、固定不動，偶而有躁動行為。在操作雷射照射時須暫停電針以利左足測定。結果如圖 3, 4，左右足的表現圖形相當一致，在低頻（2 Hz）組的止痛效果出現在電針後30分鐘，而在60及90分鐘（已中止電針刺激30分鐘）有疼痛略增加的情形。在高頻（100 Hz）組不但沒有止痛，疼痛過度的現象比低頻刺激嚴重。

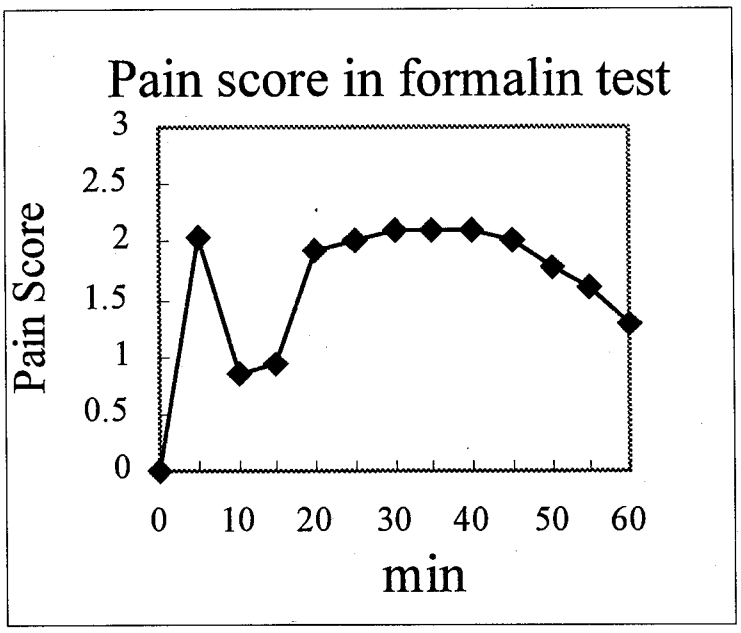
圖三、清醒活動鼠對低頻電針刺激的鎮痛反應



圖四、清醒活動鼠對高頻電針刺激的鎮痛反應



圖五、清醒活動鼠對低頻電針刺激的鎮痛反應



2. 福馬林測試 （圖五）

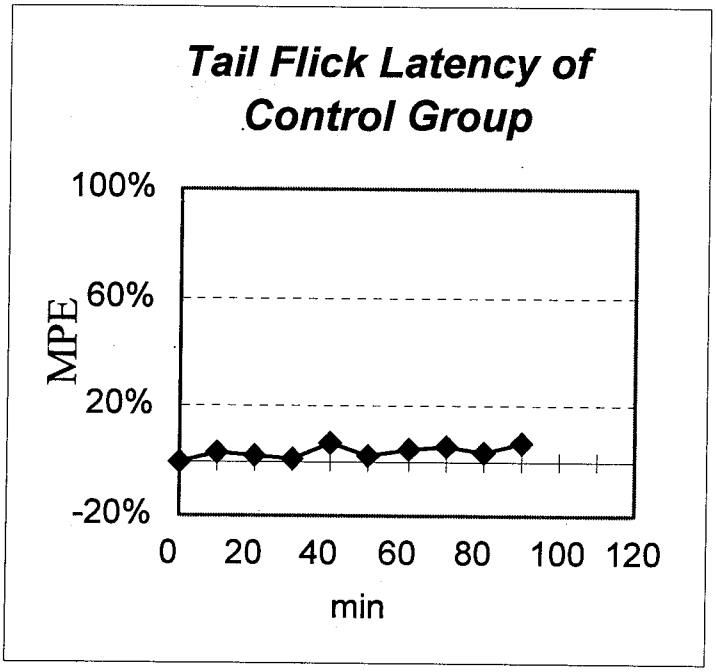
電針60 分鐘後在右足皮下注射 50 μl 1% 福馬林，可發現典型福馬林刺激的兩期疼痛反應。以單位時間的加權計分方式比較實驗組與對照組反應，顯示不因電針而出現有意義的鎮痛作用。

二、淺度氣體麻醉鼠的針刺結果

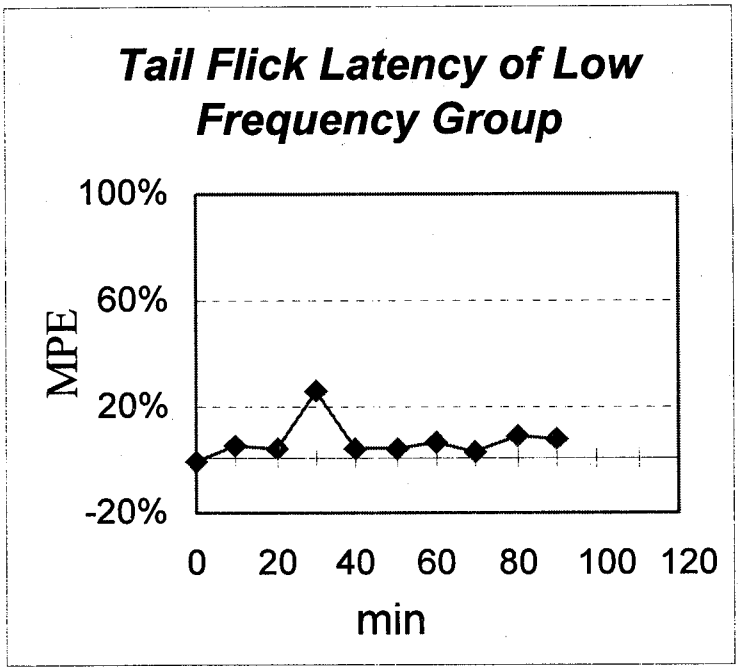
1. 閃尾測試

經過 30 分鐘的麻醉深度誘導，大部份的大鼠可至少維持眼瞼和外耳道反射任一保留。麻醉深度太深或太淺則出現反射消失，或大鼠身體身體自行扭動情形，需減低或加大Halothane 0.1% 。結果發現，不加電針只採麻醉（sham needle）時，閃尾時間不隨麻醉時間延長而提高（圖 6）。而低頻或高頻刺激下略有短暫疼痛閾值提高，但鎮痛效果微弱（圖 7, 8）。

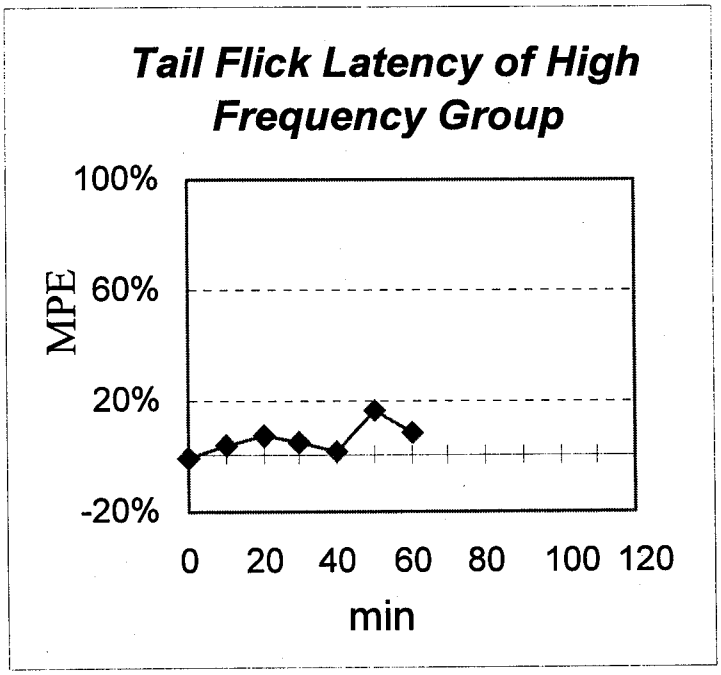
圖六、淺度氣體麻醉（0.5% Halothane）鼠的閃尾測試痛反應



圖七、淺度氣體麻醉（0.5% Halothane）鼠對低頻電針刺激的鎮痛反應



圖八、淺度氣體麻醉（0.5% Halothane）鼠對高頻電針刺激的鎮痛反應



2. 福馬林測試

停止麻醉後大鼠約在 3-5 分內清醒，但疼痛圖型與對照組無差異（與圖5 類似）。

結論

本實驗的原始目的在於利用針刺後神經細胞的 fos 表達，作為針刺鎮痛機制在基因層級的探討。由於疼痛現象是一連串訊號傳遞的綜合結果，而 c-fos 本身擔任訊息傳遞的第三級信差，代表了神經細胞對疼痛的後期處理。以 c-fos 細胞致癌基因的活性作為疼痛的指標，除了具有可以精確定性、定量及定位的好處外，因為 fos 蛋白和 jun蛋白結合形成二聚體後，可作用在 DNA 的特定區域(AP-1 site)，並啓動轉錄後續基因(如 proenkephalin，prodynorphin gene)，使疼痛訊息得以放大和延續[31]。因此，藉由 Fos 樣免疫反應活性(fos-like imnuno reactivity, FLI)的表達，可在疼痛或鎮痛的研究上，提供了探索在這一連串過程中神經系統活動度的極理想工具，也難怪有越來越多的人將FLI應用在針刺鎮痛的研究[32-37]。

然而，c-fos 在生理上屬於一種普及型的後續基因轉錄因子，可以同時接受多種刺激的感應。由於它缺乏對疼痛刺激的專一性，使其表現受到眾多環境因素所主導[38]。在 in vivo 的動物實驗中，強光、噪音、驚嚇等非疼痛刺激都可誘導腦幹及大腦皮質區 fos 的形成，在 in vitro 的細胞培養皿中，對多種藥物也都有反應[39]。換言之，除非在控制良好的環境下，否則出現大量標記的 c-fos 細胞核，亦不能斷言該神經細胞接受了疼痛刺激。因此，要將 c-fos 基因的表達應用在針刺鎮痛實驗，必需先建立一個環境變數單純（包括電針刺激及疼痛刺激）、有設計良好的對照組，並輔以此模型下的鎮痛行為當作佐証，這也就是我們在進行 c-fos 免疫組織化學分析前，嘗試各種針刺鎮痛的行為模型之目的。

由於目前學界尚未建立共通的電針鎮痛模型，以穴位插針通上電流並測量動

物的疼痛閾值改變，是最普遍的方式。以大白鼠為例，最早的實驗方式即是記錄老鼠在電針後的閃尾時間的延長[40]，而得到相當於嗎啡 0.5 mg/kg 腹腔注射的止痛效果[41,42]。然而，在我們的先期實驗中，卻無法在清醒 Sprague-Dawley 鼠上重覆得相同的結果，這與許多實驗室的經驗報告是相似的。我們發現，插針本身對清醒 Sprague-Dawley 鼠而言，是一極大的傷害性刺激，即使經過反覆訓練，或限制四肢活動，通上電流後仍有不斷掙扎、扭動身軀、或哀嚎等反應，使閃尾實驗無法進行。改用埋線模型後雖然不至有如此強烈的反應，但當電流強度調至 3 倍 EAT 時，仍有緊張躁動或固定不動（稱為 animal hypnosis）的不正常行為。實驗結果雖然在清醒鼠雷射組的低頻刺激下，前 30 分鐘略有疼痛閾值上昇，但顯然意義不大，反倒在大部份的電針時間內表現出「疼痛加劇」的現象，且不論在電針的同側或對側均無差異，此與我們 81 年度的熱板實驗結果是一致的。對此「電針致痛」的現象，我們曾提出了「焦慮」導致疼痛行為的解釋，此處為驗証我們的想法，故設計了淺度麻醉下的電針實驗，來消除此一因素的影響。

過去文獻上，沒有以吸入性氣體麻醉來進行進行電針鎮痛實驗的報告。當我們調整麻醉濃度在 0.5% Halothane 時，可使大白鼠的意識狀態維持在類似人類"鎮靜"程度的神經反射：此時大白鼠四肢無力撐起身體重量，兩眼半開或微開，以棉球捻細輕觸其眼瞼或外耳道，大多可以引起眨眼或甩頭的反射動作；更有意義的是，在此麻醉深度下，大白鼠的閃尾時間可長時間（2小時）維持不變，顯示在低濃度氣體麻醉下，不會改變大白鼠的疼痛閾值。這對針刺實驗提供了許多便利：首先，清醒白鼠不易插針的問題，可在淺度麻醉下解決；其次，由於氣體麻醉誘導容易，並可隨意控制麻醉深度，當關掉氣體後老鼠均在 3-5 分鐘內清醒至可自由活動的程度，如此可避免掉靜注或腹腔注射藥物時，麻醉深度不易控制的缺點；同時，可避免因電針刺激引起老鼠情緒上的恐懼害怕而加強或減弱疼痛的干擾因素。

在有關針刺鎮痛機轉的學說中，有人曾提出"stress induced analgesia" (SIA)

[43,44]。其理論是根據實驗証明：強迫大白鼠在冷水游泳（cold-water swim），或老鼠足底給予瞬間強烈的電擊（footshock）後，可提高其疼痛閾值；尤有甚者，SIA的鎮痛效果，可因不同的壓力刺激變數（如刺激種類、時間長短、次數多寡）而相異，顯示有不同的內源性鎮痛機制參與此反應[45-48]。由於針刺本身就是傷害性刺激，再加上四肢活動受限及通上電流，所造成的心理壓力必然不小，頗符合 SIA的條件，但果眞如此，則針刺鎮痛在臨床治療的意義就顯得微不足道。為此，Pomeranz提出了許多論點來反駁針刺鎮痛是經由SIA作用的說法[49]。因此，去除壓力因素是我們設計實驗之初時就欲極力避免的。然而，壓力一定只造成鎮痛作用嗎？其實不儘然，Mairer 等人就提出了對"可逃避"及"不可逃避"兩種心理壓力的反應[50,51]：當大鼠面臨「無法逃避」的電擊時，會表現出止痛的行為，反之在面對相同的電擊卻「可逃離」時，則無止痛的行為。類似的結論也可在人類出現：當焦慮或恐懼（anxiety/fear）來自可預期的災禍時，會出現止痛作用，而因未知的事件而恐懼時，會有疼痛過度（hyperalgesia）的現象[52,53]。此種「焦慮致痛」（anxiogenic hyperalgesia）[54]現象，可能就是本實驗一再觀察到針刺後反而更痛的較合理解釋。在我們比較清醒鼠及麻醉鼠的針刺反應圖形，可發現前者有明顯之疼痛過度情形，而麻醉後此現象消失，可見大腦皮質因受心理承受壓力表現出的焦慮反應，會覆蓋原有的針刺鎮痛效果，但麻醉下則可抑制焦慮帶來的負面影響。除此之外，大白鼠的品系差異也可能是造成相反針刺反應的因素。有些實驗室發現，Sprague-Dawley 系大白鼠對外界的刺激反應較其它品系（如Wistar系）強烈，而對電針表現出疼痛的反應；但因無良好的實驗証明，僅止於臆測。因此，選用適當品系動物，避免任何不必要之心理壓力，應是建立針刺鎮痛模型的重要條件。

進一步細究疼痛模型與針刺鎮痛上的關係可發現，雖然清醒鼠組所接受的雷射迴避測試及麻醉鼠組所接受的閃尾反射均以疼痛閾值的改變為指標，但迴避雷射刺激的疼痛行為如舉足或舔足，勢必動用較高層次的神經組織機構（如大腦皮

質）[55]，而閃尾反射卻只是涉及簡單的脊髓內突觸傳導[56]。所以，前者受到心理因素影響的程度應大於後者，表現出來的針刺反應可能因為受到數個機轉同時牽制而變得複雜，呈現不出唯一的止痛作用。至於福馬林引起的疼痛，包含了早發期的機械傷害性疼痛及遲發期的化學性疼痛，而兩者皆屬超疼痛閾值的疼痛（suprathreshold pain）。由於以針刺所能產生的止痛效果有限（約相當於大白鼠嗎啡 0.5 mg/kg 腹腔注射），對此福馬林引起的強烈疼痛大約只能達到部份的鎮痛作用，由此可解釋福馬林的加權計分圖形上見不到疼痛明顯的降低。

本實驗嚴格說來並不是一個完整的研究，仍屬初步的系統模型建立期，因此實驗數據我們暫不作嚴格的資料統計分析。雖然此研究尚未獲致良好的大白鼠針刺鎮痛效果，但不同於81年度的幾點結論包括：（1）我們對電針刺激下的疼痛過度的現象有更深的認識，有助於未來實驗設計之參考；（2）我們發現以 0.5% Halothane 進行淺度麻醉不改變疼痛閾值，且可有效避免心理壓力對鎮痛反應的影響；（3）由於針刺所具備的鎮痛效果不強，大約相當大白鼠腹腔 0.5 mg/kg 的嗎啡[41]或人類吸入 33% 的笑氣[57]，所以控制良好的對照組是必需的，它可提高止痛改善程度的敏感性。（4）綜合以上觀察可顯示，不同的電針刺激模式及不同的疼痛刺激模型都會直接地影響電針的止痛效果，故選用一種適當的止痛及致痛模型對針刺鎮痛實驗相當重要。最後，我們認為以 Fos 樣免疫反應活性作為針刺鎮痛研究的基本方向無誤，它確實優於過去實驗，可提供更多鎮痛機制上的解答，故未來目標的設定是完成包括針刺後動物的行為及Fos表達上的鎮痛証據，並利用Fos的激活與神經傳導及細胞內訊息傳遞密切相關之特性，對針刺鎮痛的機制作更完整的解釋。

Title : The Molecular Mechanism of Acupuncture Analgesia --- the Expression of c-*fos* Proto-oncogene in Rat Spinal Dorsal Horn

Affiliation: Anesthesiology Department, National Taiwan University

Hospital

Authors: Wei-Zen Sun, Yeong-Ray Wen, Wen-Yeong Hou

Abstract

The c-fos protooncogene encoding nuclear phosphoprotein, Fos, was recently emphasized as a major tool in the study of the mechanism of acupuncture analgesia. Fos protein, which participates in the transcriptional regulation and contributes to long-term adaptive and plastic response, was proposed as a useful noxious marker indicating its origin and magnitude. The fos expression in central nervous system after electroacupuncture (EA) stimulation represents the integration and modification of neuronal activity to both noxious and analgesic input. Though the specificity, stability, and repeatability of c-fos expression are superior to those of traditional behavioral response, the latter still remains the direct and faithful evidence in many aspects. The combination of c-fos expression and behavioral response to EA stimulation will result in the more reasonable explanation and more information.

The aim of present study was to clarify the result of our previous study in 1992, which demonstrating the hyperalgesic effect after EA stimulation. We establish many different EA and noxious models in this study to compare their results. Our models include: (1) Awake, freely movable Sprague-Dawley rats receiving CO_2 pulse laser escape test and formalin test; (2) Lightly anesthetized rats receiving tail-flick test and

formalin test. We documented the analgesic behavioral response and c-fos expression of these rats before and after EA for 60 minutes. Our results showed no obvious analgesic effect in behavioral response and c-fos expression in anesthetized group and awake group which receiving formalin test, and mild hyperagelsic effect in behavioral response in awake rats which receiving laser stimulus. We hypothesized the "anxiogenic hyperalgesia" to explain this unusual results, and we also proposed the light anesthesia with 0.5% halothane in rats could partially eliminate this anxiety-induced adverse factor. Moreover, we concluded that adequate EA model and noxious model are essential for the study of analgesic effct of EA in animals.

參考資料

1. Han JS: Neurochemiacl basis of acupucnture analgesia. Ann Rev Pharmacol Toxicol 1982 22:193-220.
2. Chiang CY, Chang CT, Chu HL, Yang LF. Peripheral afferent pathway for acupuncture analgesia. Sci. Sinica 1973;16:210-17
3. Levine D: Acupuncture in review: A mechnistic perspective. Am J Acupuncture 1980;8(1):5-17
4. Andersson SA, Ericson T, Holmgren E, Lindqvist G: Electroacupuncture. Effect on pain threshold measured with electrical stimulation of teeth. Brain Res 1973;63:393-96.
5. Chapman CR, Wilson ME, Gehrig JD: Signal detection evaluation of effects of acupuncture on the perception of painful dental stimulation. Adv Pain Res Ther 1976;1:775-79.
6. Melzack R, Wall PD: Pain mechanism: A new theory . Science 1965;150:971

7. Mayer DJ, Price DD, Rafii A. Acupuncture analgesia: Evidence for activation of a central control system as a mechanism of action. First World Congr. Pain, Florence p.276, 1974.
8. Mayer DJ, Price DD, Rafii A. Antagonism of acupuncture analgesia in man by the narcotic antagonist naloxane. Brain Res. 1977,121:368-72.
9. Postow E, Swicord ML. Modulated field and "windows" effects. CRC Hamdbook of Biological Effects Electromagnetic Field, C. Polk and E. Postow Eds. CRC Press, Boca Raton, FL,pp.425-62, 1986.
10. Bengt Sjolund, Margareta Eriksson. Electro-acupuncture and endogenous morphine. Lancet 1976;13:1085.
11. Takechige C, Sato T, Mera T, Hisamitsu T, Fang JQ: Descending pain inhibitory system involved in acupuncture analgesia. Brain Res Bull 1992;29:617-34.
12. He L: Involvement of endogenous opioid peptides in acupuncture analgesia. Pain 1987;31:99-121.
13. Fei H, Xie GX, Han JS: Low and high frequency electroacupuncture stimulation release (Met5)enkephalin and dynorphin A in rats spinal cord. Chin Sci Bull 1987;32:1496.
14. Fei H, Sun SL, Han JS: New evidence supporting differential release of enkephalin and dynorphin by low and high frequency electroacupuncture stimulation. Chin Sci Bull 1988;33:703
15. Han JS, Sun SL: Differential release of enkephalin and dynorphin by low and high frequency electroacupuncture in the central nervous system. Acupuncture: Sci Int (N.Y.)1990;1,19.
16. Chen XH, Han JS: All three types of opioids in the spinal cord are important for 2/15 Hz electroacupuncture analgesia. Europ J Pharmacol 1992;211:203-10.
17. Williams S, Evan GI, Hunt SP: Changing patterns of c-Fos in spinal neurons following thermal cutaneous stimulation in the rat. Neurosci 1990;36:73-81.
18. Gogas KR, Presley RW, Levine JD, Basbaum AI : The antinociceptive action of

supraspinal opioid results from an increase in descending inhibitory control: correlation of nociceptive behavior and c-fos expression. Neurosci 1991;42:617-28.

19. Bullitt E: Somatotopy of spinal nociceptive processing. J Comp Neurol 1991; 312:279-90.
20. Abbadie C, Besson JM: C-fos Expression in rat lumbar spinal cord during the development of adjuvant-induced arthritis. Neurosci 1992;48:985-993.
21. Menetrey D, Gannon A, Levine J.D,and Basbaum A.I.: Expression of c-Fos protein in interneurons and projection neurons of the rat spinal cord in response to noxious somatic, articular, and visceral stimulation. J Comp Neurol 1989;285:177-195.
22. Williams S, Evan G, Hunt SP: C-fos induction in the spinal cord after peripheral nerve lesion. Eur J Neurosci 1991;3:887-894.
23. Traub RJ, Herdegen T, Gebhart GF: Differential expression of c-fos and c-jun in two regions of the rat spinal cord following noxious colorectal distension. Neurosci Lett 1993;160:121-125.
24. Birder LA, de Groat WC: Increased c-fos expression in spinal neuron after irritation of the lower urinary tract in the rat. J Neurosci 1992;12:4878-4889.
25. Pretel S, Piekut DT: Enkephalin, substance P, serotonin axonal input to c-Fos-like immunoreactive neurons of the rat spinal cord. Peptides 1991;12:1243-1250.
26. Karin M, Smeal T: Control of transcription factors by signal transduction pathways: the beginning of the end. TIBS 1992;17:418-422.
27. Sheng M, Greenberg: The regulation and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system. Neuron 1990;4:477-85.
28. 孫維仁，陳大樑，范守仁，黃芳彥：止痛機轉與細胞致癌基因的關係，中華民國疼痛醫學雜誌 1991;1:101-103。
29. 孫維仁，侯文詠，溫永銳：針刺止痛和 c-fos 細胞致癌基因的關係(I)—方法論

及動物模式之建立。 81 年度衛生署中醫藥研究計劃成果報告 1992

30. Hsu SM, Raine L, Fanger H: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. J. Histochem. Cytochem 1981:29;577-580.

31. 孫維仁，侯文詠，謝正勇，劉健強，林瑞明： C-fos 細胞致癌基因在疼痛訊號傳遞過程中所伴演的角色。疼痛醫學雜誌 1994;4:75-88.

32. Ma QP, Zhou Y, Yu YX, Han JS: Electroacupuncture accelerated the expression of c-fos protooncogene in serotonergic neurons of nucleus raphe dorsalis. Int J Neurosci 1992;67:111-7.

33. Dai JL, Zhu YH, Li XY, Huang DK, Xu SF: C-fos expression during electroacupuncture analgesia in rats: an immunohistochemical study. Acupunct Electrother Res 1992;17:165-76

34. He L, Wang M, Gao M, Zhou J: Expression of c-fos protein in serotonergic neurons of rat brainstem following electroacupuncture. Acupunct Electrother Res 1992;17:243-8.

35. 紀如榮，王曉民，韓濟生：電針刺激可在大鼠脊髓誘發 Fos 樣蛋白的生成。生理學報 1992;44:394-400.

36. Lee JH, Beitz AJ: Electroacupuncturre modifies the expression of c-fos in the spinal cord induced by noxious stimulation. Brain Res 1992;577:80-91.

37. Lee JH, Beitz AJ: The distribution of brain-stem and spinal cord nuclei associated with different frequencies of electroacupuncture analgesia. Pain 1993;52:11-28.

38. Strassman AM, Vos BP, Mineta Y, Naderi S, Borsook D, Burstein R: Fos-like immunoreactivity in the superficial medullary dorsal horn induced by noxious and innocuous thermal stimulation of facial skin in the rat. J Neurophysiol 1993;70:1811-21.

39. Smeyne RJ, Vendrell M, Hayward M. Baker SJ et al: Continuous c-fos expression precedes programmed cell death. Nature 1993;363:166-9.

40. Ren MF, Han JS: An improved tail flick test and its application in study of acupuncture analgesia. Acta Physiol Sin 1978;30:204.
41. Takeshige C: Differentiation between acupuncture and non-acupuncture points by association with analgesia inhibitory system. Acupunct Electrother Res 1985;10:195-203.
42. Sato T, Takeshige C, Shimizu S: Morphine analgesia mediated by activation of the acupuncture-analgesia-producing system. Acupunct Electrother Res 1991;16:13-26.
43. Lewis JW Cannon JT, Liebeskind JC: Opioid and nonopoid mechanism and stress analgesia. Science 1980;208:623-5.
44. Klide AM: Acupuncture-produced surgical analgesia. Prob Vet Med 1992;4:200-6.
45. Akil H, Young E, Walker JM, Watson SJ: The many possible roles of opioids and related peptides in stress-induced analgesia. Ann New York Sci 1986;467:140-53.
46. Terman GW, Liebeskind JC: Relation of stress-induced analgesia to stimulation-produced analgesia. Ann New York Sci1986;467:300-8.
47. Watkins LR, Mayers DJ: Organization of endogenous opiate and nonopiate pain control systems. Science 1982;216:1185-92.
48. Tierney G, Carmody J, Jamieson D: Stress analgesia: the opioid analgesia of long swims suppresses the non-opioid analgesia induced by short swims in mice. Pain 1991;46:89-95.
49. Pomeranz B: Relation of stress-induced analgesia to acupuncture analgesia. Ann New York Acad Sci 1986;467:444-7.
50. Marier SF, Drugan RC, Grau JW: Controllability, coping behavior and stress-induced analgesia. Pain 1982;12:47-56
51. Marier SF, Sherman JE, Lewis JW, Terman GW, Liebeskind JC: The opioid/non-opioid nature of stress-induced analgesia and learned helplessness. J Exp Psychol : Aim Behav Proc 1983;9:80-90.
52. Willer JC, Dehan H, Cambier J: Stress-induced analgesia in humans: endogenous

opioids and naloxane reversible depression of pain reflexes. Science 1981;212:689-91.

53. Beecher HK: Anxiety and pain. J Am Med Assoc 1969;209:1080.
54. Vidal C, Jacob J: hyperalgesia induced by emotional stress in the rat: An experimental animal model of human anxiogenic hyperalgesia. Ann New York Acad Sci 1986:72.
55. Hargreaves K, Dubner R, Brown F, Flores C, Joris J: A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. Pain 1987;32:77-88.
56. D'Amour FE, Smith D: A method for determining loss of pain sensation. J Pharm Exp Ther 1041;72:74-9.
57. Chapman CR, Gehrig JD, Wilson ME: Acupuncture compared with 33% nitrous oxide for dental analgesia. Anesthesiology 1975;42:532-37.

編號 DOH84-CM-032

中藥方劑對於單核球所分泌細胞激素的作用

Evaluation the secretions of cytokines of monocyte after reaction with combinations of Chinese herb.

張建國

臺北市立仁愛醫院

摘　　要

細胞激素不管是對於免疫系統或其它細胞與細胞之間的相互作用均佔有非常重要的角色。而單核球能分泌多種細胞激素，因此很適合爲研究對象；又傷寒論及今匱要略的方劑主要是用於病原感染人體後的種種狀況。所以本研究的主要目的是探討其中的方劑可促進或抑制單核球所分泌的細胞激素，並探討其臨床意義。

我們利用三黃瀉心湯及附子湯之水或水酒各半煎劑的淬取液，以不同濃度分別作用於人類單核球細胞。結果顯示，三黃瀉心湯對於IL-1 β 及TNF-α 的mRNA產量有抑制作用，而附子湯則反而有促進作用，而且二方又以水酒各半的煎劑的作用更明顯。

ABSTRACT

The cytokines are very important for immunological

system or other cells or organ systems of animals. In the past, the researcher of chinese medicine always paid attention to the stimulation effects of cytokines of herb drugs, very rare focused on the inhibition effects of these drugs. In this study, we used two combinations of herb drugs that were used commonly in clinics to evalute the secretions of cytokines of monocytes. We found the "San-Hwan Sha Shin Tan"(三黃瀉心湯) had suppression effect of the expression of IL-1β & TNF-α mRNA, but "Who Dze Tan"(附子湯) had stimulation effect of the expression of IL-1β & TNF-α mRNA.

一、前言

細胞激素(cytokine)不管是對於免疫系統或其他細胞與細胞之間的相互作用，均佔有非常重要的角色。在過去中藥的研究，雖然有一些探討中藥與細胞激素之關係，但大部分的研究均偏重於對各種細胞激素之促進作用，除了我們報告的茯苓可抑制IL-1β, TNF-α, GM-CSF, IL-6之產生外(1-6)，幾乎沒有探討此問題；而目前的研究以顯示，能刺激細胞激素分泌固然重要，但抑制或調整其分泌也佔有非常重要的角色；如過多的IL-1分泌會造成高燒、嗜睡、疲倦、組織的破壞、血管硬化，甚至於引起休克或死亡(7-11)，因此抑制這些細胞激素分泌的方藥研究是相當重要的。

單核球在免疫系統佔有非常重要的地位，經過適當的刺激，它可分泌多種細胞激素，如IL-1, TNF, IL-6等等(12-19)，特別是IL-1經由它的作用，除了可刺激單核球本身產生一系列的細胞激素，再經由這些激素去刺激其它細胞

外，它也可使T細胞活化，增強NK cell之活性。因此利用單核球(monocyte)可分泌多種細胞激素的特性來研究中藥方劑的作用，是相當好的模式。過去我們利用此一模式，研究中藥中補氣藥及祛寒藥中單味藥對單核球所分泌各種細胞激素的作用，得到相當好的結果(1, 24-26)。本研究將近一步利用過去所建立的方法，來探討中藥方劑對於單核球所分泌各種細胞激素的作用。又傷寒論及今匱要略中的方劑已被使用數千年，而且目前尚被中醫界所廣泛使用，因此本研究將以傷寒論中的附子湯及今匱要略中的三黃瀉心湯爲中心，探討它們對於單核球細胞所分泌細胞激素的作用。

過去研究中藥的方法，偏重單味藥的成份及作用分析，這樣的方法有其價值，但很難解釋中藥方的實際作用，因一般中醫在用藥治病上，常是應用多味藥物組成的方劑，由於每一味藥的成份有數十或數百種，其成份作用已非常複雜。而由多味藥所組成的方劑更是複雜，若要一一探討其成份作用後，在綜合其整體作用，這種方法不僅不合實際，而且困難重重。因此我們將採用的方法是以整個方劑對單核球所分泌的細胞激素的作用，又由於這些激素會造成人類整個個體的反應，因而我們就可了解方劑對人體的影響。藉由這樣的模式，我們便可推廣至其他的組織、器官系統，因而建立中醫治病的西方醫學基礎，已達成中西醫一元化。

未來我們將進一步探討其作用機轉及重藥有效成份分析。

二、材料及方法

(1)方劑之處理：自中藥房購買三黃瀉心湯、附子湯所需的藥物，再根據中醫傳統的處方法，配合成以上的方劑。將方劑以水煎煮，至剩餘一半之液體，再將藥湯以10000 x g離心10分鐘，收集上清液後，以0.2 μ之minipore濾紙無菌過濾，再以Speed Vac蒸乾，此萃取物視爲100%之藥劑，實驗時依此再溶於培養液中，無菌濾過後使用。

(2)單核球之分離與培養：由健康捐血者所得之內含抗凝劑之血液，緩慢注入盛有15毫升之Ficoll-Hypaque的離心管中，在室溫中以400 x g離心30分鐘，待血球分層後吸取含有單核細胞之白色中間層，單核細胞以培養基洗三次

後調成2x106 cell/ml，細胞隨後以每個well一毫升之量分置入24 well細胞培養盤中，於37℃，含5%CO2，100%濕度之培養箱中培養3小時，洗去非附著性細胞，再加入0.5ml之新鮮培養基，其中含50%、40%、30%、20%、10%、0%等之方劑淬取液。細胞再放入培養箱中培養於1小時、3小時、6小時、18小時及24小時後，分別取出培養液，測定IL-1β，TNF-α及GM-CSF的濃度。

(3)對Lipopolysaccharide (LPS)內毒素之定量：由於LPS的存在相當廣泛，而單核球又很容易被其activation，因此測定方劑中LPS的含量將非常重要。LPS的測定是以LAL (Limulus amebocyte Lysate) test定量之，其方法如kit所示。

(4)細胞激素mRNA之測定：我們利用quantitative RT-PCR的方法以β actin當internal control，同時偵測IL-1β及β-actin RT-PCR後產物之比值及TNF-α及β-actin RT-PCR後產物之比值，藉此就可了解不同方劑溶度對細胞產生TNF-α及IL-1β量之變化。

β-actin之primer sequences如下：

5' primer: 5'-TACGCCAACACAGTGCTGTCTG-3'

3' primer: 5'-GTCGAATTCCTGCTTGCTGATCCACATCTGC-3'

TNT-α之primer sequences如下：

5' primer: 5'-TGAATTCAGCCCTCTGGCTCAGGCAGTC-3'

3' primer: 5'-GTCGAATTCCTGCTTGCTGATCCACATCTGC-3'

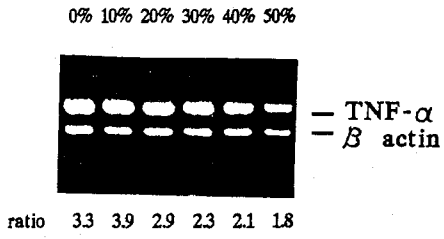
IL-1β之primer sequences如下：

5' primer: 5'-GGTGATGTCTGGTCCATATG-3'

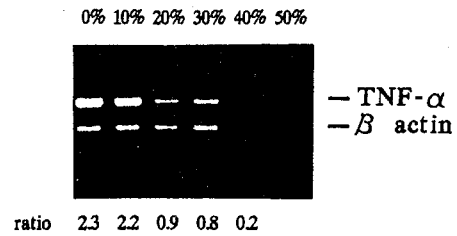
3' primer: 5'-TGTCATTACTTTCTTCTTCTCCTTG-3'

三、結果

(一) 三黃瀉心湯對單核球細胞分泌TNF-α mRNA之作用

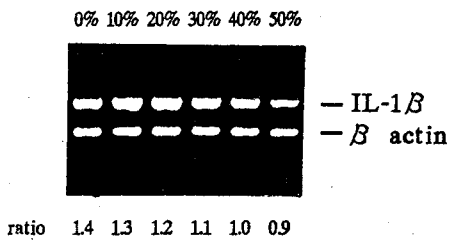


水煎劑

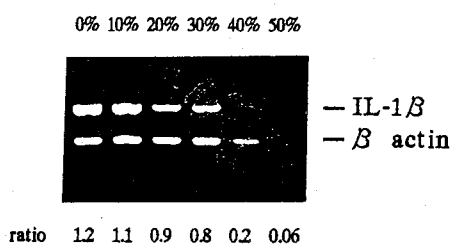


水酒各半煎劑

(二) 三黃瀉心湯對單核球細胞分泌IL-1β mRNA之作用

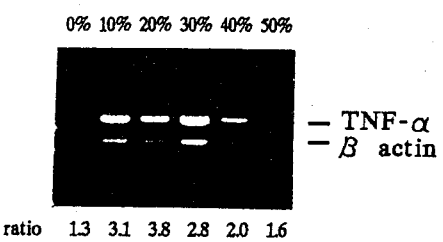


水煎劑

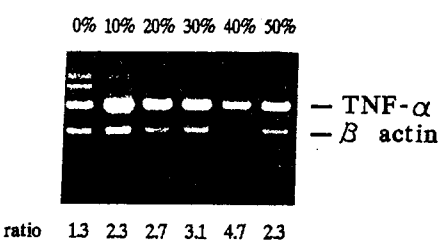


水酒各半煎劑

(三) 附子湯對於單核球細胞分泌TNF-α mRNA之作用

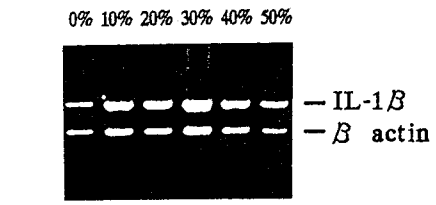


水煎劑

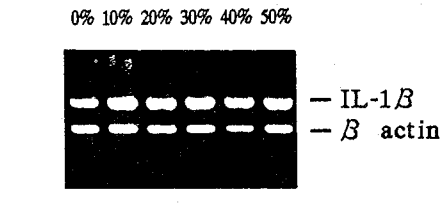


水酒各半煎劑

(四) 附子湯對於單核球細胞分泌IL-1βmRNA之作用



水煎劑



水酒各半煎劑

三、討論

三黃瀉心湯不論是水煎或水酒各半煎劑對於單核球細胞表現之IL-1β及TNF-α之mRNA均有抑制作用，而又以水酒各半煎的抑制作用更明顯；又附子湯則有相反的作用，它的水及水酒各半煎劑對於IL-1β及TNF-α均有促進作用，而且又以水酒各半之煎劑促進之作用更明顯。由這樣的研究方式，我們建立了中藥方劑的研究模式，除了可探討方劑對於某種細胞系統之作用外，也可探討不同製劑之作用效果。而且也可在分子層次來進一步的觀察其作用。

雖然本實驗無法完全顯示出三黃瀉心湯及附子湯的確切作用，但由我們所得的結果看來，此二方劑有部份的作用是透過IL-1β及TNF-α的促進或抑制作用而產生的。經由這樣的研究結果，我們就可了解爲什麼長久以來，三黃瀉心湯被用於實熱引起的症狀，而附子湯被用於氣血俱虛的虛寒狀態。

四、參考文獻：

1. Tseng J and Chang JG: Suppression of TNF-α, IL-1β, IL-6 and GM-

CSF secretion from human monocytes by an extract of Porial Cocos. Chinese J Microbiol Immunol 25:1-11, 1992.
2. 行政院衛生署中醫藥年報第6期、第7期及第8期。
3. 中國方藥學，啓業書局。
4. 孫孝洪：中醫治療學原理，四川科學技術出版社。
5. 中醫免疫學，啓業書局。
6. 中西醫結合治療肝炎肝硬化，啓業書局。
7. Dinarello CA: IL-1 and IL-1 antagonist, Blood 77: 1627-1652, 1991.
8. Dinarello CA, Wolff SM: The role of IL-1 in disease NEJM 328: 106-113, 1993.
9. Arend WP: IL-1 receptor antagonist -- A new member of the IL-1 family, JCI 88: 1445-1451, 1991.
10. Dinarello CA, Thompson RC: Blocking IL-1: IL-1 receptor antagonist in vivo and vitro, Immunology Today 12: 404-410, 1991.
11. Larrick JW: Native IL-1 inhibitors, Immunology Today 10: 61-67, 1989.
12. Johnston RB Jr: Monocytes and macrophages, NEJM 381: 747-752, 1988.
13. Nathan CF: Secretory products of macrophages, JCI 79: 319-326, 1987.
14. Lee GR et al: Wintrobe's Clinical Hematology, 9th edition, Vol.1, P267-298, 1993.
15. Hajto T et al: Increased secretion of TNF-α, IL-1, IL-6 by human mononucleaar cells exposed to β-galactoside specific letin from clinically applied Mistleton extract, Cancer Res 50: 3322-3326, 1990.
16. Smith DM et al: Coordinated Induction of autocrine TNF, IL-1 in normal human monocytes and implication for monocyte-mediated cytotoxicity, Cancer Res 50:3146-3157, 1990.
17. Firestein GS et al: Quantitative analysis of cytokine gene expression in Rheumatoid arthritis. J Immunol 144: 3347-3353, 1990.
18. Last-Barney K et al: Synergistic and overlapping activities of

TNF-α and IL-1. J Immunol 141: 527-530, 1988.
19. Sariban E et al: Transcriptional and posttranscriptional regulation of TNF gene expression in human monocytes. JCI 81: 1506-1510, 1988.
20. Eisenberg SP et al: Primary structure and functional expression from cDNA of a human IL-1 receptor antagonist 343: 341-346, 1990.
21. Carter DB et al: Purification, Cloning, expression and biological characterization of an IL-1 receptor antagonist protein. Nature 344: 633-638, 1990.
22. Liu TC et al: Rapid molecular diagnosis of hemoglobin variants by RT-PCR of reculocyte mRNA and direct sequencing. Hemoglobin 16: 379-388, 1992.
23. 傷寒論科學化新註，承淡安註解，旋風出版社印行。
24. Chang JG, Shih PP, Chang JY, Wang FY, Tseng J: The stimulating effect of Radix Aconitium extract on cytokines secretion by human mononuclear cells. Planta Medica 60: 576-578, 1994.
25. Chang CP, Chang JY, Wang FY, Tseng J, Chang JG: The effect of Evodia Rutacorpa extract on cytokines secretion by human mononuclear cell in vitro. Am J Chinese Med 23: 173-180, 1995.
26. Chang CP, Chang JY, Wang FY, Chang JG: The effect of chinese medicinal herb Zingiberis rhizoma extract on cytokine secretion by human peripheral blood mononuclear cells. J Ethnopharmacology. in press, 1995.

編號 DOH84-CM-033

補氣健脾藥對黏膜免疫系統之影響（Ⅰ）四君子湯

曾哲明　陳安德　張玉冬　呂丹妮

國立台灣師範大學生物系

摘　　要

四君子湯主要以口服湯劑的方式服用，故消化道之黏膜免疫系統爲最先受到藥物9刺激的部位。本研究以A型免疫球蛋白(IgA)分泌爲指標，在離體狀態下測試四君子湯及其單方對黏膜免疫系統的影響。實驗結果顯示四君子湯在含有B淋巴球、T淋巴球及單核球等細胞之人類周邊血液單核細胞培養中，可促使活細胞增加IgA之分泌，此促進功能與四君子湯中的茯苓有關。但是四君子湯對人類扁桃腺及純化之週邊血液B淋巴球，則有顯著之胞殺作用，IgA之分泌量也隨之減少，此胞殺作用與四君子湯中黨參與茯苓有關。四君子湯對分泌IgA之細胞株，Dakiki，有顯著之胞殺作用，但却明顯的促進IgA之分泌，此促進作用可能與茯苓有關。總之，在沒有T淋巴球及單核球輔助之下，B淋巴球之存活率對四君子湯及其單方很敏感，但是在T淋巴球及單核球存在下，四君子湯對IgA之分泌具有促進作用；此外，對轉型之後之腫瘤細胞株也有促進IgA分泌的功能。

ABSTRACT

Shy-Jiun-Tsi-Tang is mainly administerred by oral. Therefore, the mucosal immune system on the gastrointestinal tract should be the major area that is directly stimulated by the drug. Since the Immunoglobulin A (IgA) secretion was considerred as a indicator of the mucosal immune function, the experimental design in this study is to investigate the possible regulatory effect of Shy-Jiun-Tsi-Tang and its major ingradients on the IgA secretion by human B lymphocytes. Results indicated that Shy-Jiun-Tsi-Tang might enhanced IgA secretion by unfractionated human peripheral B cells. However, the same treatment resulted in a drastic cytotoxicity to the unfractionated human tonsil B cells togather with a significant decrease in the amount of IgA secretion When the unfractionated B cells were replaced by the highly purified B cells, the drug treatment also resulted in cytotoxicity and a significant reduction in IgA secretion. An IgA secreting human lymphoblastoid cell line, Dakiki, was subsequently assayed for its sensitivity to the drug. Results suggested that the drug caused a significant cytotoxicity but an increase in IgA secretion. The study therefore concluded that Shy-Jiun-Tsi-Tang showed cytotoxic effect to the B cells in the absense of T lymphocytes and monocytes. However, with the help of T lymphocytes and monocytes, the drug might augment IgA secretion by B cells without showing cytotoxic effect. In addition, the drug should cytotoxic effect on the transformed B lymphoblasts but enhanced IgA secretion by the same cell lines.

前言

黏膜免疫系統是外來致病原接觸人體時所遭遇的第一線防禦，黏膜免疫系統一方面以「非特異性免疫反應」〔例如發炎反應〕在感染初期消滅致病原，或減輕致病原之致病力，另一方面則引發「特異性免疫反應」，針對特定之致病原

施行防禦措施，而 A 型免疫球蛋白(IgA)就是此黏膜系統中特異性免疫反應之主導者(1)，例如在唾液中 IgA ： IgG 之比值可高達 100 比 1(1)。

IgA 的重要性可由選擇性 IgA 缺失症病人身上獲得證明。選擇性 IgA 缺失(Selective IgA deficiency syndrome)在健康捐血者中約佔五百分之一(2)，這類病人常帶有自我免疫性疾病(Autoimmune disease)(3)、過敏性體質(4)、腸胃道不正常(2)及經常性呼吸道疾病(2)，得到某種癌症(如胃癌)之機率也較正常人高(2)。 IgA 是對抗病毒感染之重要因素之一(1)， IgA 對防止流行性感冒等病毒誘發之疾病極爲重要。

造成 IgA 缺失或分泌不足的機轉至今尚不明確，既有之研究報告指出數種可能性，包括 B 淋巴球成熟過程有缺失(5)，輔助 IgA 製造之輔助性 T 細胞不正常(6)及 IgA 由組織中形成雙倍體，再分泌到腸腔或呼吸腔之過程出了問題(7)。透過藥物之使用，也會造成 IgA 製造分泌能力的改變，如苯妥英(Phenytoins)、海因(hydantoin)等抗癲症及青黴素(d-penicillamine)等藥物皆可造成 IgA 缺失症(2)。

中藥主要以口服湯劑或藥丸爲施用手段，與這些藥物直接接觸的即爲黏膜層，故中藥對腸胃道之黏膜免疫系統所產生之影響，應該是中藥藥理中不可忽視的一環。本研究之重點放在補氣健脾藥，對 IgA 分泌之影響這一類藥材自古即被用來增強脾胃功能，大陸文獻已有報導，黃耆能提升鼻分泌中 IgA 之濃度(8)，但其他補氣藥對 IgA 分泌之影響尚無人加以研究。

四君子湯主治脾胃氣虛，能補氣健脾、利水消腫，是補氣的基本處方。本方以補氣的黨參爲主藥，佐以白朮與茯苓，在配合有調合諸藥作用的炙甘草所構成(9)。方中黨參甘溫，扶脾養胃，補中益氣，爲本方君藥。白朮苦溫，健脾燥濕，扶助運化，爲本方臣藥。茯苓甘淡，合白朮以健脾滲濕，爲本方佐藥。炙乾草甘溫益氣，補中和胃，爲本方使藥。合用以奏甘溫益氣、健脾養胃之效(10)。

黨參屬桔梗科植物，學名是 Codonopsi pilosula (Franch) Nanuf ，根含有皂甘、微量生物鹼、菊糖(Inulin)及植物固醇、木栓酮、蒲公英酰醇乙酸酯(11)。藥理作用包括：使動物具有抗疲勞及耐高溫的能力；高濃度能抑制人類淋巴球有絲

分裂，而低濃度能促進之；使小鼠巨噬細胞數量明顯增加，吞噬功能增強，細胞內 DNA 、 RNA 及多種酵素增加；提升紅血球血紅素之量，降低淋巴球數目；可升高血糖、降低血壓、增強反射和呼吸節律；抗炎、祛痰鎮咳；對奈氏腦膜炎球菌、白喉桿菌、卡他雙球菌、大腸桿菌、金黃色葡萄球菌、人型結核桿菌；有不同程度的抗抑作用。功效主要是補中益氣、生津養血(12)。

白朮屬菊科植物，學名爲 Atraclylodes macrocephala Koidz 。根莖含揮發油(11)，有明顯而持久的利尿作用，並增加鈉的排泄量，有降低血糖及抗血凝作用(13)，水浸液對絮狀表皮癬菌及星形奴卡氏菌有抑制作用(14)。白朮能增強網狀內皮系統的吞噬功能，且能明顯促進小腸蛋白質的合成，對消化功能紊亂的脾虛泄瀉或便泌均有治療作用(12)。臨床証明白朮煎劑口服，可使淋巴細胞轉化率及血清 IgG 含量顯著上升，具有免疫刺激作用(14)，白朮有補氣健脾、燥濕利水、止汗、安胎的功效(12)。

茯苓是多孔菌科植物茯苓的乾燥菌核，學名爲 Poria cocos(Schw.)Wolf ，多寄生在松樹根上。菌核含β-茯苓聚糖(β-Pachyman)，約占乾重 93%此外還含樹膠、甲殼質、蛋白質、脂肪、固醇、卵磷脂、葡萄糖、組氨酸、膽鹼，β-茯苓聚糖分解酵素、脂肪酵素、蛋白酵素(13)。茯苓能利尿，乙醇提取物能使家兔降血糖、增強離體蛙心之收縮與心跳率，對金黃色葡萄球菌、大腸桿菌、變形桿菌，均有抑制作用，茯苓次聚糖對小鼠肉瘤 $_{180}$ 抑制率可達 96.88%。在臨床應用上，有(1)利尿滲濕：消除蛋白尿，治療因代謝功能紊亂，和各種營養缺乏的下肢浮腫，治腳氣病。(2)健脾補氣：增加胃腸道的消化吸收，制止泄瀉。補腎安神；茯苓有良好的滋補功效，能鎮定安眠(15)。

甘草屬於豆科植物，學名爲 Glycyrrhiza uralensis Fisch.，根和根狀莖含甘草甜素(Glycyrrhizin)甘草的藥理作用包括：(1)鹽皮質激素及糖皮質激素樣作用；促進鈉、水的滯留，排鉀增加，增強和延長可體松(cortisone)的作用，機制爲抑制皮質激素在体內破壞，或減少與蛋白質結合，使血中游離皮質激素濃度升高，從而增強其作用。(2)抗炎、抗過敏：可能和抑制組織氨對血管的通透性，或降低

細胞對刺激的反應性有關。(3)增加干擾素產生。(4)抗消化道潰傷作用。(5)對腸管、子宮等平滑肌，有明顯解除痙攣的作用。(6)可解毒解毒機制可能是，甘草水解後可釋出葡萄糖醛酸與毒物結合解毒，其次甘草甜素對毒物有吸附作用，與藥用碳一樣，在胃內吸附毒物減少毒物吸收而解毒。(7)鎮咳祛痰。(8)鎮痛(9)抗菌(10)降血脂。在臨床應用上，可治療產後腦垂体前葉機能減退，帕金森氏病、胃及十二指腸潰瘍症、肺結核、肝炎、心率不整、食物中毒、尿崩症、慢性咽炎(12)。

本計畫之研究目的爲：

1.培養 Dakiki 細胞株，求出其生長速率， IgA 分泌率及最佳生長狀況。

2.建立分離人類周邊血液 B 淋巴球之流程。

3.製備人參甘草白朮茯苓之生藥萃取液。

4.生物效應實驗。即將生藥萃取液與 Dakiki 或正常 B 淋巴球一起培養，測定實驗組與控制組 IgA 分泌量，並以統計方法比較其差異。

5.製備四君子湯。

6.進行四君子湯之生物效應實驗，測定實驗組與控制組 IgA 分泌量，並以統計方法比較其差異。

7.由所獲之實驗結果解釋四君子湯及其藥方中單一藥材之藥理，分泌是否具調節作用，藉由正常 B 淋巴球可得知補氣藥對 IgA 分泌細胞之產生是否具誘導作用。

材料與方法

1.黨參、白朮、茯苓、炙甘草、四君子湯萃取液之製備：

自迪化街老成記中藥店，購得同一批黨參、白朮、茯苓、甘草，將黨參、白朮、茯苓磨成粉末，每 5 g 加 100 ml 50% ethanol ，於甘油浴中加熱(105±5°C)，煎煮至剩一半體積，再將藥湯以 10,000 xg ， 37°C 離心 30 分鐘，收集上清液於 Speed Vac 中抽乾稱重，重新溶於培養液 RPMI-1640〔含 10%FCS〕中，體積與

原上清液同以 10,000 xg 離心 30 分鐘，再用 0.2μ minipore 無菌過濾後備用。炙甘草之製備，則是用 60 g 甘草片，加入 15 g 蜂蜜、 3.75 g 酒拌勻， 8-10 小時後，以甘油浴炒炙，上下翻動，至乾爽不黏手，再磨成粉末，之後所有步驟都同前。四君子湯則以黨參：白朮：茯苓：炙甘草=1.5g ： 1.5g ： 1.5g ： 0.75g 的比例，溶於 105 ml ， 50% ethanol ，其餘步驟同上。

2.人類周邊血液非附著性細胞之分離與培養：

由健康捐血者獲得之血液立即與檸檬酸鈉 sodium citrate(dihydrate)混合後，以 1 x PBS 等倍稀釋後即緩慢注入盛有 15 毫升之 Ficoll-Hypaque 的離心管，在室溫中以 400 xg 離心 30 分鐘，待血球分層之後，吸取含有單核細胞之白色中間層，單核細胞以培養液(RPMI-1640 中含有 10%胎牛血清 fetal calf serum ， 2nM L-glutamine ， 100unit/ml penicillin ， 100μg/ml streptomycin)洗三次後，加入 100 ml 培養基，將細胞液分置於 10 個細胞培養皿中，以 37°C ， 5%二氧化碳， 100%濕度中培養，附著於培養盤的細胞，主要是單核球或巨噬細胞， 3 小時後取出非附著性細胞，調成 $2x10^7$viable cells/ml ，細胞隨後以每個 well 0.25 毫升之量加入 24 well 細胞培養盤中，再加入 0.25 毫升含中藥萃取液之培養液，細胞放入培養箱培養， 4 天後吸取淋巴球上清液，計算細胞總數與存活率，並測定 IgA ， IgG ， IgM ， IgE 之濃度。

3.人類扁桃線單核細胞之分離與培養：

扁桃線來自有扁桃線肥大的兒童，及扁桃線長期發炎的成人。將手術切下的扁桃線，泡在 70% ethanol 30 秒，用 PBS 沖洗三次，再置於細網上剪成碎塊以細胞研磨器磨碎，使細胞分離而懸浮在細胞培養液中，離心後去除上清液，拍散細胞，加入 4 ml cold RBC lysing buffer (EDTA-NH_4Cl)，作用 10 分鐘，以去除紅血球，作用後立刻加入 76ml 細胞培養液，離心，去除上清液，將細胞液移至 10 個細胞培養皿中，以 37°C ， 5%二氧化碳， 100%濕度中培養，使附著於培養皿

上，1小時後取出非附著性細胞，調成 $2x10^7$ viable cells/ml，隨後以每個 well 0.25 毫升之量加入 24 well 細胞培養盤中再加入 0.25 毫升含中藥萃取液之培養液，細胞放入培養箱培養，4天後，吸取淋巴球上清液，計算細胞總數與存活率，並測定 IgA，IgG，IgM，IgE 之濃度。

4.測 IgA：

首先將 mouse anti-human IgA (Zymed，CA)，用 PBS 稀釋成 1 μg/ml，加入 96 格的 ELISA plate(Nunc.Denmark)，每格加入 50 μl 後，放在 4°C，18 小時，翌日，拿出 plate，用 0.05%PBS-Tween20 洗四次，吸乾。以 PBS-gelatin 進行 blocking，每格加入 50 μl，37°C 中作用 60 分鐘。作用之前，人類周邊血液非附著性細胞上清液稀釋爲 1/6 或 1/8，人類扁桃線非附著性細胞上清液，則稀釋爲 1/15 或 1/20，IgA 標準液序列稀釋爲：1，0.5，0.25，0.125，0.0625，0.031，0.0150μg/ml 等各濃度。取出在 37°C 作用之 plate，以 0.05% PBS-Tween20 洗四次，吸乾，分別加入待測樣品以及標準液各 50 μl，在 37°C 中作用兩小時。拿出 ELISA plate 續用 0.05% PBS-Tween20 清洗四次並吸乾。再加入 goat anti-human IgA-HRP (用 PBS/gelatin 稀釋 1/2500)，每格加入 50 μl，以後處理與測 IgG 者相同，然後參考標準曲線，計算出各待測樣品所含 IgA 之濃度。

5.以 Panning method 分離 B 淋巴球：

將已知濃度的 Rabbit anti-human Ig，用 Tris uffer(0.05M，PH=9.5)稀釋爲 30 μg/m，總体積 10 ml，配好後倒入 plate 中搖勻，放在 4°C 中 18 小時，翌日倒出 plate 中的 Ig，用 cold PBS-10%FCS 5ml 洗 plate 四次，緩慢的由 plate 中央滴入 3 ml 細胞液(10^7 cells/ml)，細胞在 4°C 中附著 1 小時，去除非附著性細胞，用 PBS-10% FCS 5ml 洗 plate 四次，最後再以 1ml 玻璃 pipette，沖下附著的 B 淋巴球，將 B 淋巴球懸浮液離心備用，B 淋巴球隨後以螢光免疫法，測定其純度。

6.Dakiki 細胞株之培養：

Dakiki 細胞爲 Epstein-Barr Virus 轉型而成之淋巴球細胞株(16)，爲懸浮性之細胞，所用之培養基爲 RPMI-1640 添加 10%胎牛血清， L-glutamine 及 Penicillin/Streptomycin。細胞培養在含 5%二氧化碳， 100%濕度， 37°C 之培養箱中，活細胞數以 Trypan blue 之方法以血球計數盤測定之，每四天分株一次，細胞濃度維持不超過 $1x10^6$/ml 。

7.數據統計分析：

本實驗數據間之比較， Dakiki 細胞株以無母數分析法 Kruskal-Wallis 分析之，人類周邊血液、扁桃線淋巴球及純化的 B 淋巴球則以無母數分析法 Friedman 分析之，人類周邊血液、扁桃線的 B 淋巴球同時也以 Two-way ANOVA 分析之， $P<0.05$ 則有顯著差異。

結　果

1.四君子湯及其單方對周邊血液單核球細胞分泌 IgA 的影響：

四君子湯劑量在每 $5x10^6$ 細胞加入 3.0mg/ml 時，可使細胞存活率顯著下降($P<0.05$)，但是不影響細胞總數 (死細胞數+活細胞數) (表一)，可是在此劑量之下， IgA 之分泌卻沒有顯著之抑制作用 (圖一)，劑量在 1.0mg/ml 時，使細胞存活率顯著下降($p<0.05$)，但不影響細胞總數(表二)，也不顯著影響 IgA 之分泌(圖二)。 黨參、白朮及炙甘草對細胞總數、存活率及 IgA 之分泌都沒有顯著影響(表三、表四、表五)(圖三、圖四、圖五)

2.四君子湯及其單方對扁桃線單核細胞分泌 IgA 的影響：

四君子湯不影響細胞總數，但在 3.0 mg/ml 之劑量下，可顯著抑制細胞存活率 ($p<0.05$)(表六)，在此劑量之下， IgA 分泌也受到顯著的抑制 ($p<0.05$)，這

是扁桃線細胞與周邊血液細胞不同之處(圖六)。

茯苓在 1.0 mg/ml 之劑量之下，有顯著抑制細胞總數增加與存活率的現象 ($p<0.05$)(表七)，但對於 IgA 之分泌無顯著影響(圖七)。黨參在 12.0 mg/ml 之劑量之下，不影響細胞總數(表八)，但顯著抑制了細胞存活率及 IgA 之分泌 ($p<0.05$)(圖八)。白朮不影響細胞總數及存活率，但在 10.0 mg/ml 之下，顯著抑制了 IgA 之分泌 ($p<0.05$)(圖九)。炙甘草則對扁桃線細胞沒有任何顯著之影響(表十，圖十)。

3.四君子湯及茯苓對純化之周邊血液 B 淋巴球分泌 IgA 之影響：

四君子湯之劑量在高於 0.75 mg/ml ，即顯著抑制了細胞數的增加 ($p<0.001$)，但是在 3.0 mg/ml 之劑量之下，才見到存活率顯著下降 ($p<0.001$)(表十一)，而 IgA 之分泌量在高於 0.75 mg/ml 時，即有顯著之抑制現象 ($p<0.01$)(圖十一)。

由於 B 淋巴球純化之後，細胞總數不足，無法針對所有四君子湯之單方進行試驗，故只挑選茯苓作爲試驗單方。茯苓在 0.6 mg/ml 之劑量或高於此劑量下，細胞存活率及 IgA 之分泌量皆造成顯著之抑制 ($p<0.001$)(表十二，圖十二)，但是總細胞數並未受影響。

4.四君子湯及其單方對 Dakiki 細胞株分泌 IgA 的影響：

Dakiki 爲一種經過 Epstein-Barr Virus 轉型之 B 淋巴球細胞株，可持續分泌大量之 IgA 。四君子湯對 Dakiki 細胞的生長無顯著影響，但是對劑量高於 1.25 mg/ml 時其存活率有抑制作用 ($p<0.05$)，相反的，四君子湯對 Dakiki 分泌 IgA 的能力，在 2.5 mg/ml 時有顯著促進作用 ($p<0.05$)(圖十三)。 Dakiki 之存活率對茯苓及甘草皆很敏感，高於 1.25mg/ml 之茯苓即顯著抑制了 Dakiki 之活細胞數(圖十四)，而高於 0.625 mg/ml 之甘草亦對 Dakiki 有顯著之胞殺作用 ($p<0.05$)(圖十五)。不過茯苓劑量即使高到 2.5 mg/ml ，對 IgA 之分泌量仍無顯著之影響(圖十

四)，而甘草在高於 2.5 mg/ml 之劑量下，則完全抑制了 IgA 之分泌(圖十五)，在此劑量下， Dakiki 之細胞存活率亦等於零。

黨參對於 Dakiki 之生長及 IgA 分泌皆無顯著影響(圖十六)。白朮在 2.5 mg/ml 時對活細胞數有抑制，對 IgA 分泌有促進現象，但是皆未達到顯著差異之標準(圖十七)。

討　論

本研究計畫針對四君子湯及其單方對 IgA 分泌之影響，作了廣泛的探討，實驗用之 B 細胞則來自不同之組織。人類周邊血液單核球細胞(PMNC)約含 5-10%之 B 淋巴球， 70%左右之 T 淋巴球， 15-20%之單核球 (17)，故當中藥加入 PBMC 之培養基中，除了負責製造抗体的 B 細胞受到刺激之外， T 細胞及單核球也直接受到中藥的影響。扁桃腺的情況也很類似，含有 50-70%之 B 淋巴球，35% T 淋巴球及 2-5%之單核球 (17)，不過扁桃腺所含之 B 淋巴球，所佔之比例較多，且一般是在活化狀態，並直接參與黏膜免疫系統之工作。

由 PBNC 及扁桃線之細胞組成觀之，實驗結果所得之 IgA 分泌量，反映的是一個綜合性的現象，即 B 淋巴球本身 IgA 之分泌能力加上 T 淋巴球與單核球調節 IgA 分泌的結果。 IgA 分泌受到許多因素的調節， IL-2 、 IL-4 及 anti-CD40 ，可使扁桃腺 B cell 分泌 IgA (18)。在 IL-2 與 SAC 的刺激下， IL-6 可加強 B cell 分泌 IgA (19)。鼠類在 IL-5 的刺激下， IgA 分泌受到抑制 (20)。以 IL-10 、 SAC 、 anti-CD40 mAb 加入 IgA-deficient 病患周邊血液單核細胞中，可使病人產生 IgA (21)。 IL-15 和重組型 CD-40L 可使 IgA 與其他 Ig 分泌量提高 (22)。當細胞受到 anti-IgM 及 anti-CD40 刺激後，加入 TGF-β 會使 $sIgD^+$分泌 IgA 顯著增加，但 $sIgD^-$則不生 IgA ， TGF-β 可能作用在 Ig 類別轉換 (class switch)。加入 IL-10 也可使 IgA 分泌增加 (23)。 可見調節 IgA 分泌，需要 sIgs 的串連、 CD40L 、

IL-10 和 TGF-β 的存在，而 IL-6 ， IL-5 ， IL-2 多少也對 IgA 分泌有影響。

爲了進一步探討中藥是直接或間接影響 IgA 之分泌，本研究利用 Panning 技術，將 B 細胞純化至 99% (圖十八)，再以中藥處理；此外，又利用分泌 IgA 的細胞株 Dakiki 進行實驗，在 Dakiki 細胞培養基中， 100% 是 B 淋巴球。

研究結果顯示，周邊血液單核細胞整体而言受到四君子湯的影響很明顯，即此中藥在較高劑量下(3.0 mg/ml)，對細胞有胞殺作用(細胞總數不變，但細胞活性降低)，不過由於 IgA 分泌量未受影響；故可能仍然存活的細胞，有增加 IgA 分泌之現象，即單一細胞之分泌量增加。四君子湯的四種單方之中，只有茯苓的表現與四君子湯類似，故四君子湯對周邊血液單核細胞的影響，應該是來自茯苓。

如果將 B 淋巴球純化出來，發現 B 細胞變的對中藥很敏感，在原先之四分之一劑量下 (0.75 mg/ml) 即有顯著之胞殺作用，而 IgA 分泌量跟著銳減，可見在混合細胞群之中， T 細胞及單核球促進了單一細胞 IgA 分泌量的增加，一旦 T 細胞及單核球被去除之後， B 細胞不但容易死亡，且沒有足夠的活細胞維持 IgA 之分泌。茯苓的表現也吻合了四君子湯的藥性。

四君子湯及單方對扁桃腺細胞之胞殺作用也很明顯，除了白朮及甘草之外，對扁桃腺細胞之存活率皆有影響。四君子湯對 IgA 之分泌量也有抑制作用，可能是由於扁桃腺中 B 淋巴球所佔之比例比血液中之 B 細胞高出 10 倍，而 T 細胞及單核球相對之下減少所致，當 B 淋巴球得不到足夠的輔助時，對藥物就比較敏感。茯苓使細胞活性下降，但對 IgA 分泌無顯著影響，可能茯苓本能對 IgA 分泌的輔助功能較強；此現象符合本實驗室先前之報導 (23)。白朮對細胞活性沒有影響，但是也參與抑制 IgA 的工作。

Dakiki 細胞是 EB 病毒轉型的細胞，爲 100% B 淋巴球，實驗結果顯示，四君子湯有明顯的胞殺作用，而這種胞殺作用應該是四君子湯中的茯苓及甘草所引起的，黨參及白朮對 Dakiki 的生長沒有影響。這種胞殺現象與扁桃腺細胞(60-70% B 淋巴球)及純化之 B 細胞(99% B 淋巴球)之實驗結果吻合，即在沒有足

夠之 T 淋巴球輔助之下， B 淋巴球的存活率對藥物是敏感的。

有趣的是四君子湯顯著的增加了 Dakiki 細胞的 IgA 分泌量，顯然四君子湯對 IgA 分泌的調節，也可能直接作用在 B 淋巴球本身，而不經過 T 淋巴球；不過這種現象在正常之 B 淋巴球身上並未發現，且四種單方中，除了甘草及茯苓有顯著胞殺作用之外，只有甘草對 IgA 分泌產生抑制現象，這是由於分泌 IgA 之細胞都死亡所致。茯苓使細胞存活率下降，但 IgA 分泌未受影響，故可能四君子湯對 IgA 分泌的促進作用來自茯苓。

結論與建議

整体而言，四君子湯對 IgA 之分泌是正面的。在正常之血液單核細胞中，四君子湯透過對 T 淋巴球單核球的影響，間接維持了 B 淋巴球活性及 IgA 之分泌，如果 B 淋巴球爲 EB 病毒轉型細胞，則四君子湯可直接促進 IgA 之分泌。這些對 IgA 分泌的調節功能，可能都透過四君子湯中的茯苓而達成。不過以黏膜免疫系統的 B 細胞 (扁桃腺) 而言，最主要的藥物影響是胞殺作用，即高劑量(高於 1 mg/ml)可能造成淋巴球的死亡，這可能與黏膜系統淋巴結中， T 淋巴球的數量與功能不足有密切的關係。如果口服之四君子湯劑濃度太高，則對黏膜免疫系統的細胞是負面的，較佳的服用方式是口服較低濃度之四君子湯，讓腸胃吸收入血液中，再使四君子湯發揮對 IgA 分泌的促進作用。進一步的動物模式試驗及臨床試驗將可證明依據離体實驗結果所獲得的結論。

參考文獻

1. Tomasi TB: Secretory immunoglobulins. N Engl J Med 1972; 287: 500.

2. Burks AW, Stelle RW: Selective IgA deficiency. Annal allergy 1986; 57: 3-8.

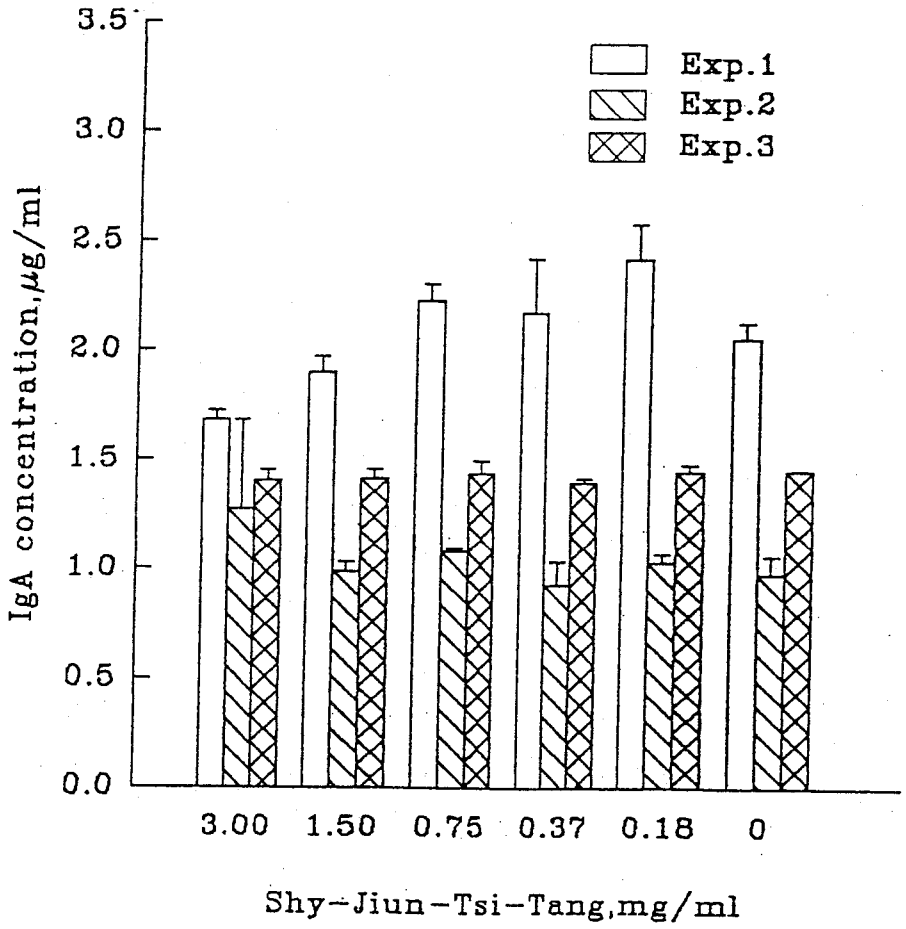
3. Ammann AJ, Hong R:Selective IgA deficiency: presentation of 30 cases and a review

of the literature. Medicine 1971; 60: 223-233.

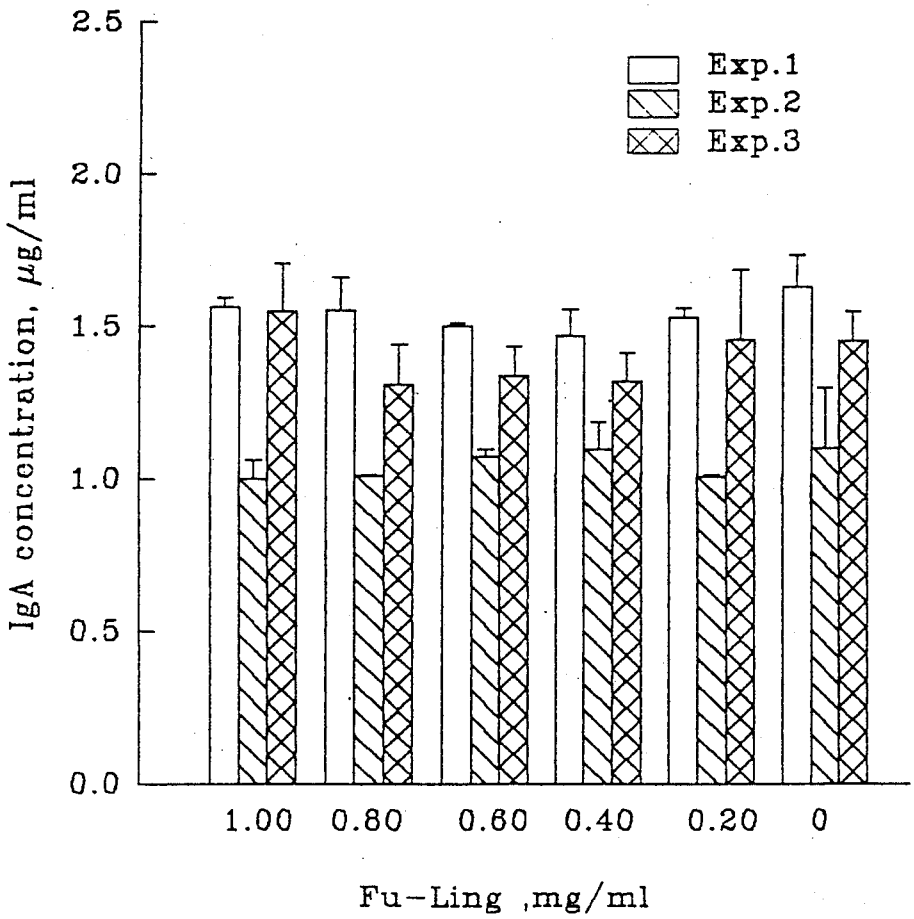
4. Stokes CR, Taylor B, Turner MW: Association of house-dust and grass-pollen allergies with specific IgA antibody deficiency. Lancet 1974; 2974: 485-488.
5. Conley ME, Cooper MD: Immature IgA B cell in IgA-deficient patients. N Engl J Med 1981; 305: 495-497.
6. Waldmann TM, Broder S, Krakauer R, et al:Deffect in IgA secretion and in IgA specific suppressor cells in patients with selective IgA deficiency. Assam Phys 1976; 89: 215-223.
7. Nussinson E, Lahav M, Berebi A, et al:Secretory piece and IgA deficiency in a patient with Waldenstrom's macroglobulinemia. Am J Gastro 1986; 81(10): 995-998.
8. 孫孝洪: 中藥治療原理. 四川科學技術出版社, 1992.
9. 楊志一: 中醫方劑學釋義. 文光圖書出版社, 1984; pp.225-227.
10. 中國醫學科學院藥物研究所等編: 中藥志. 人民衛生出版社, 1979; pp.152-155.
11. 顏正華: 中藥學. 知音出版社, 台北, 1991; pp.332-334, 739-742, 759-767.
12. 高正釗: 新編中藥大辭典(上、中、下). 新文豐出版社, 台北, 1985; pp.544-550,566-570, 1592-1596, 2798-2880.
13. 王筠默, 周金黃: 中國藥理學, 上海科學技術出版社, 上海, 1986; pp.116-117, 238-241, 246-251.
14. 劉接寶: 臨床實用彩色科學中藥大典 (國際中文版 2). 立得出版社, 1982; pp.66-68.
15. Steinitz M, Klein G: EBV-Trans-formation of surface IgA-posive human lymphocytes. J Immunol 1980; 125(1): 194-196.
16. Chretien I, Pene J, Briere F, et al: Regulation of human IgE synthesis. I. Human IgE synthesis in vitro is determind by the reciprocal antagonistic effects of interleukin 4 and interferon-γ. Eur J Immunol 1990; 20: 243-251.
17. Punnonen J, Aversa GG, Vanderkerckhove B, et al: Induction of isotype switching

and Ig production by $CD5^+$ and $CD10^+$ humanfetal B cells. J Immunol 1992; 148: 3398-3404.

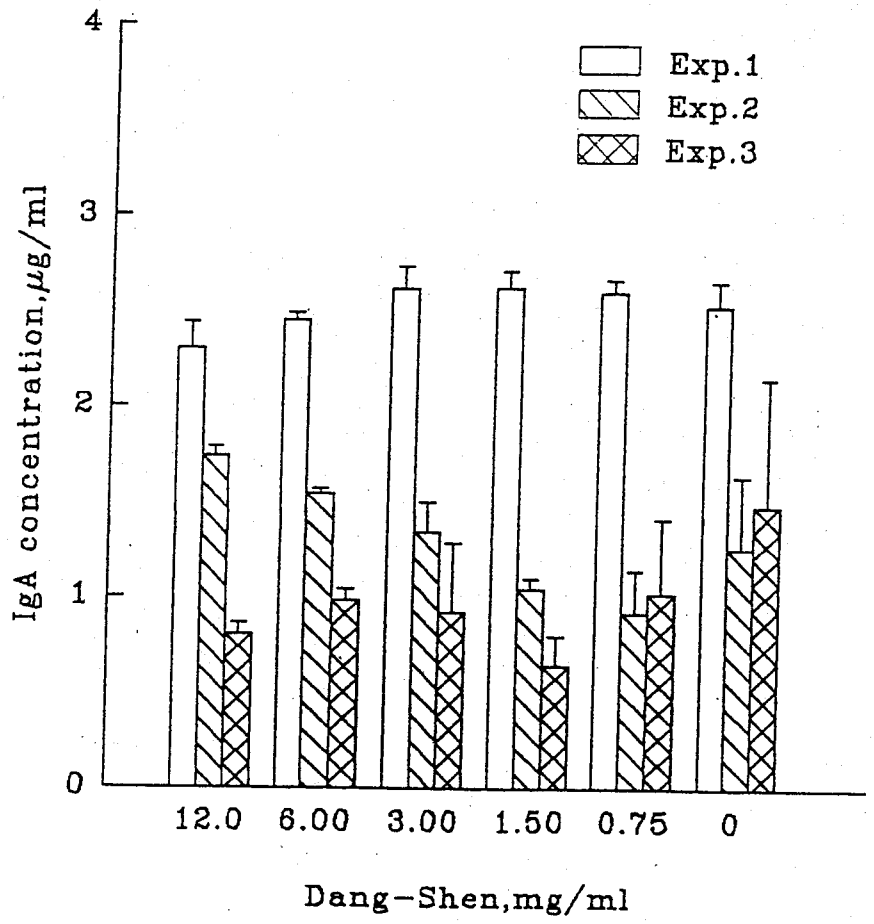
18. Splawski JB, Mcanally LM, Lipsky PE: IL-2 dependence of the promotion of human B cell differentiation by IL-6(BSF-2). J Immunol 1990; 144: 562-569.
19. Morikawa K, Oseko F, Morikawa S et al: Recombinaat human IL-5 augments immunoglobulin generation by human B lymphocytes in the presence of IL-2. Cell Immunol 1993; 149: 390-401.
20. Briere F, Bridon J-M, Chevet D, et al:Interleukin 10 induces B lympocytes from IgA-deficient patients to secrete IgA. J Clin Invest 1994; 94: 97-104.
21. Armitage RJ, Macduff BM, Eisenman J,et al: IL-15 has stimulatory activity for the induction of B cell proliferation and differentiation. J Immunol 1995; 154: 483-490.
22. Defrance T, Vanbervliet B, Briere F et al: Interleukin 10 and transforming growth factor β cooperate to induce anti-CD40-activated naive human B cell to secrete immunoglobulin A. J Exp Med 1992; 175: 671-682.
23. 呂丹妮, 余淑絹, 曾哲明: 茯苓對人體血液淋巴球分泌免疫球蛋白的影響. Biol Bull NTNU 1994; 29(1): 43-51.



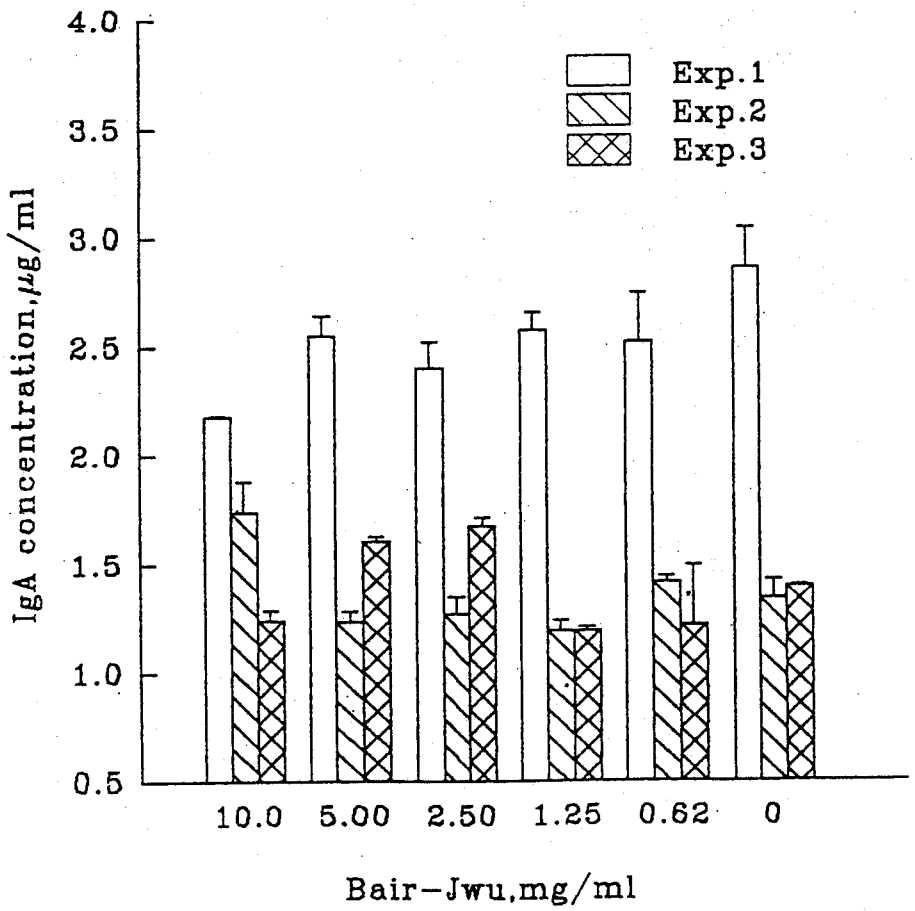
圖一、 四君子湯對人類週邊血液單核細胞分泌 IgA 的影響



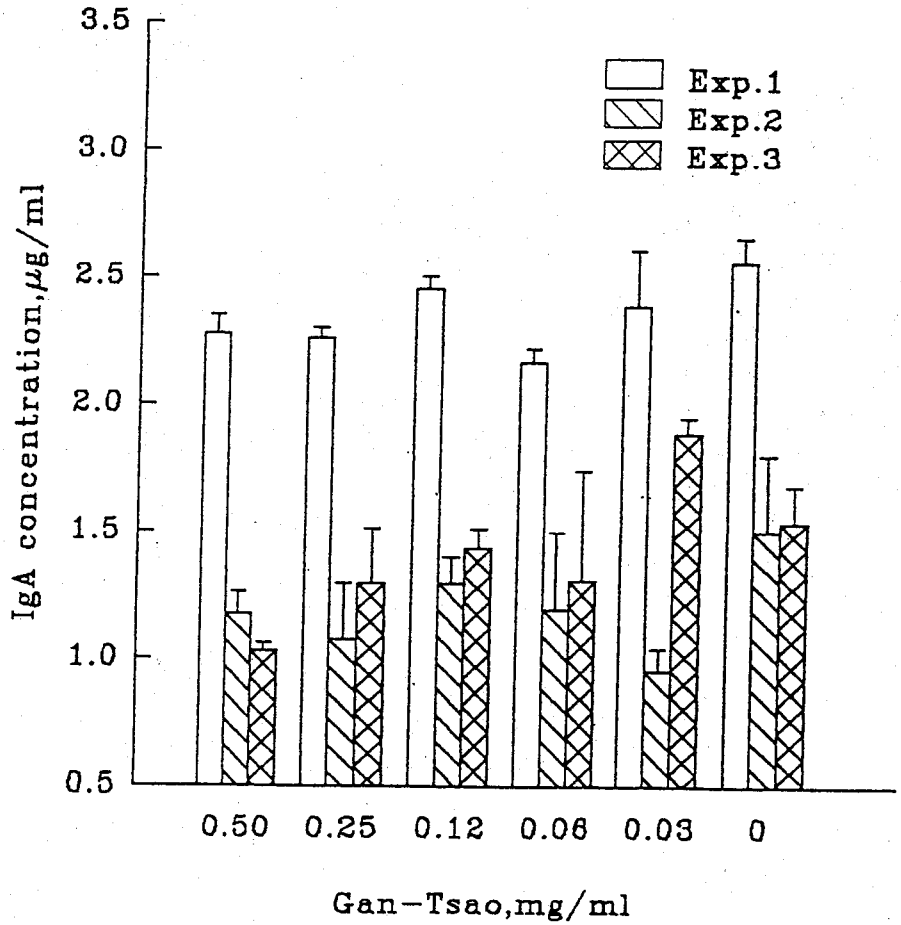
圖二、 茯苓對人類週邊血液單核細胞分泌 IgA 的影響



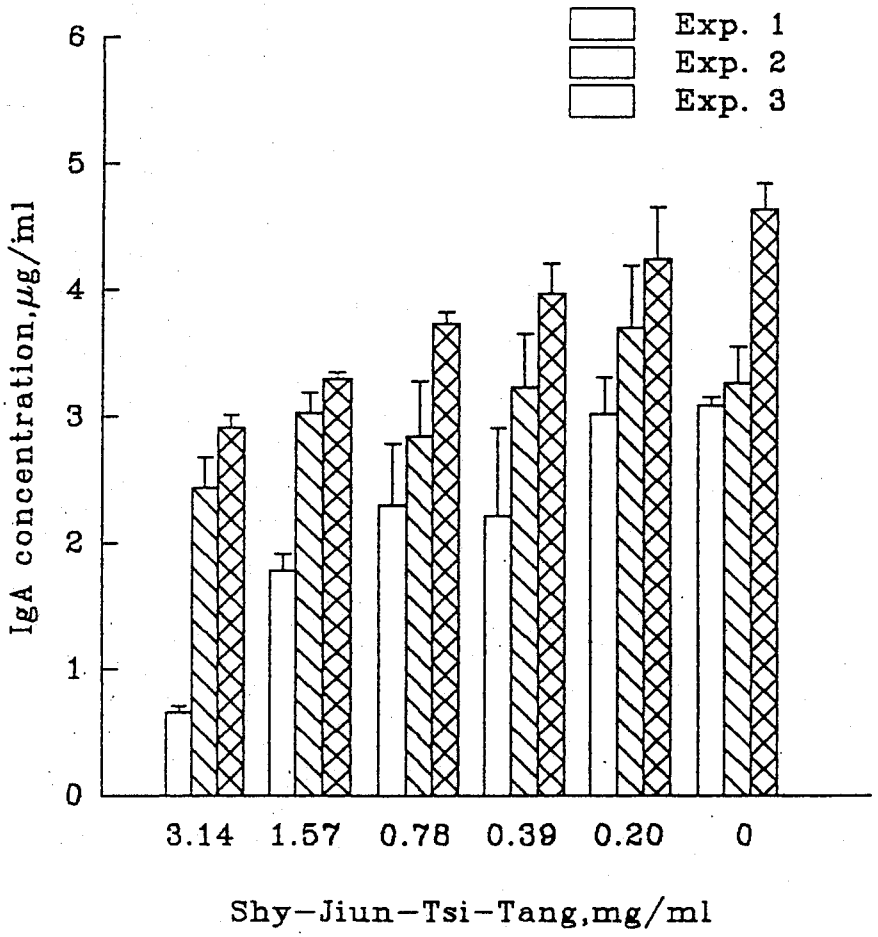
圖三、 黨參對人類週邊血液單核細胞分泌 IgA 的影響



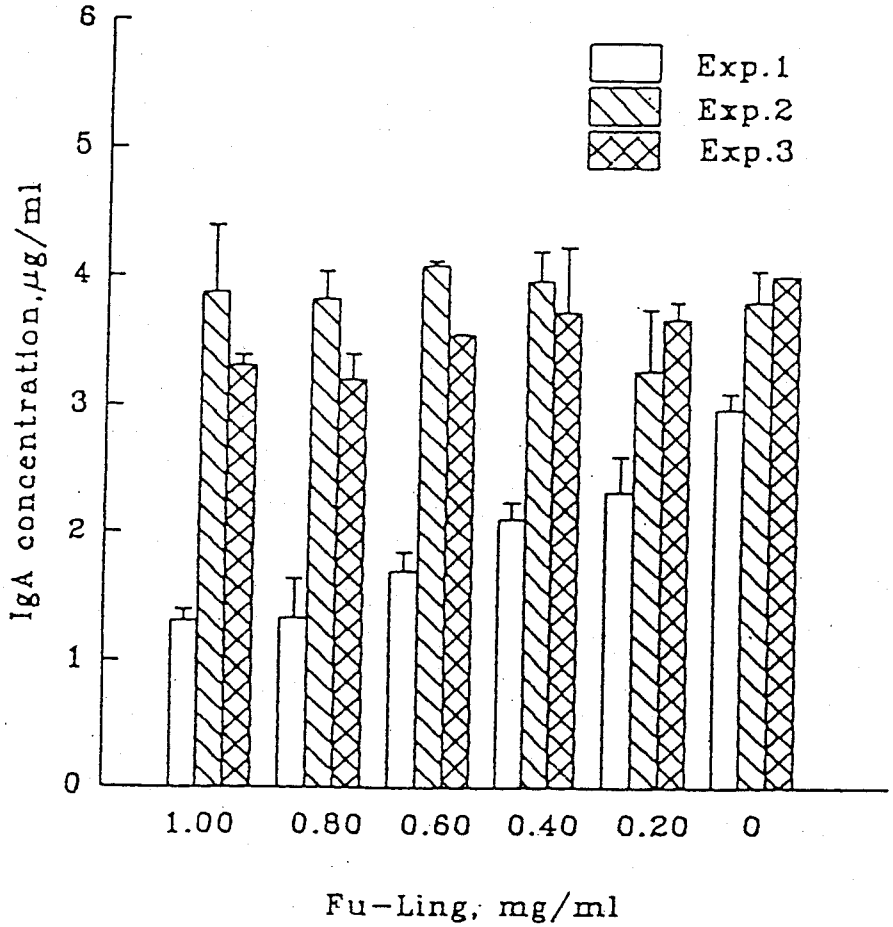
圖四、 白朮對人類週邊血液單核細胞分泌 IgA 的影響



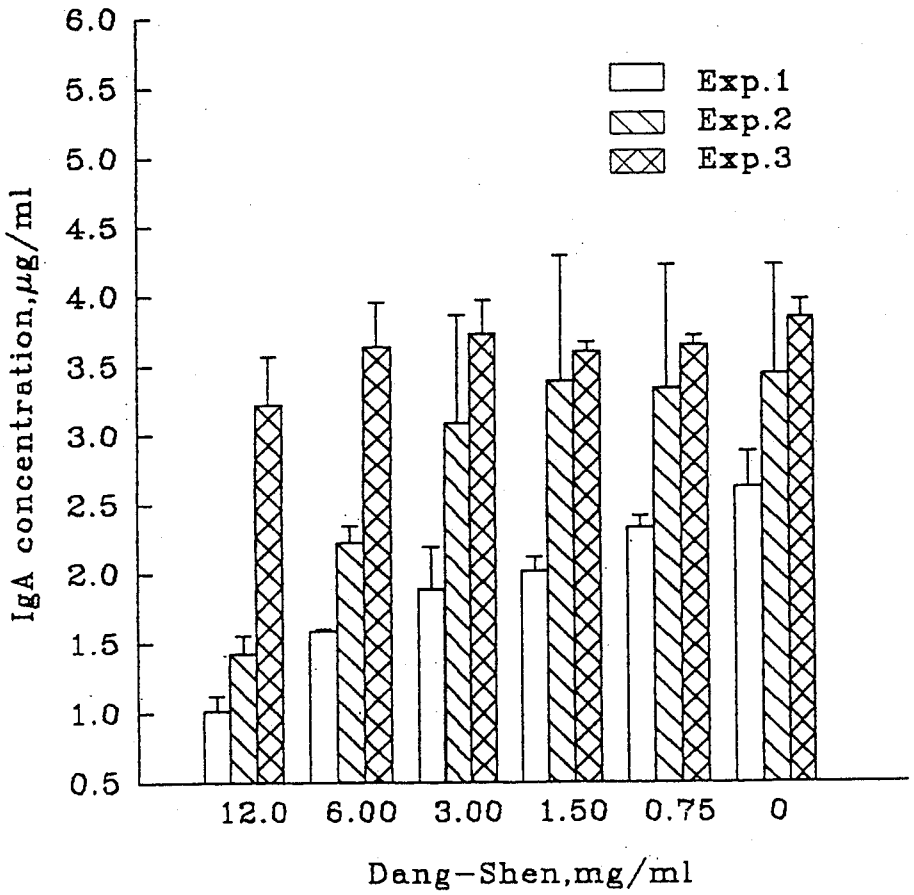
圖五、 甘草對人類週邊血液單核細胞分泌 IgA 的影響



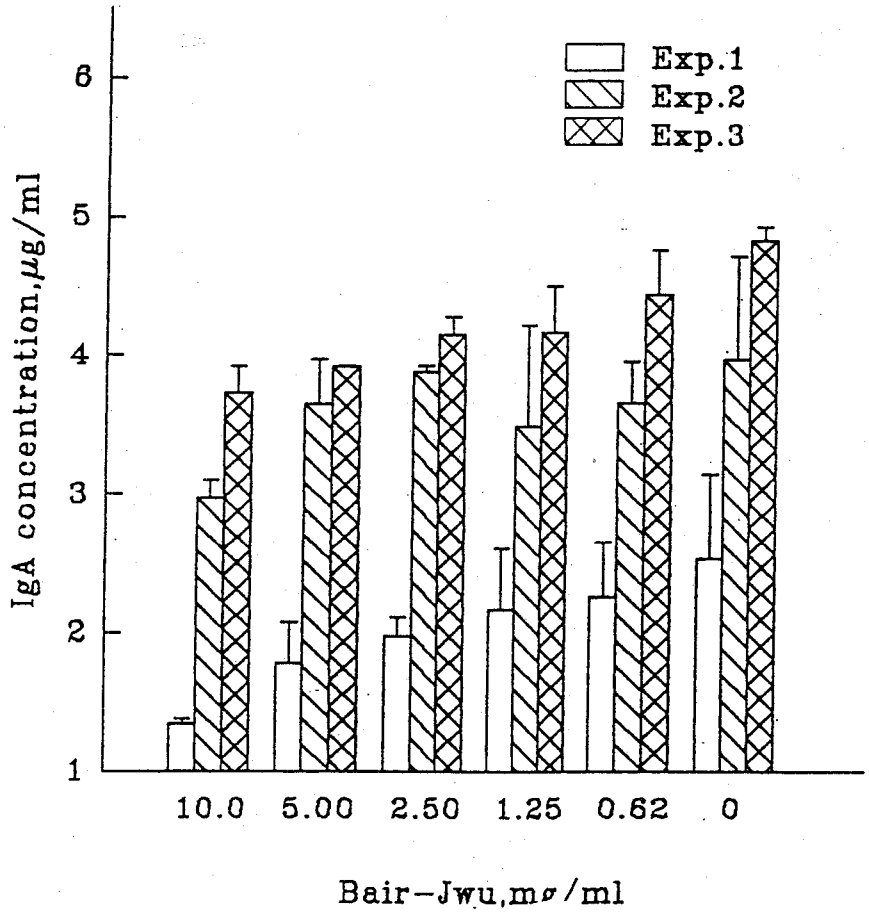
圖六、 四君子湯對人類扁桃腺單核細胞分泌 IgA 的影響



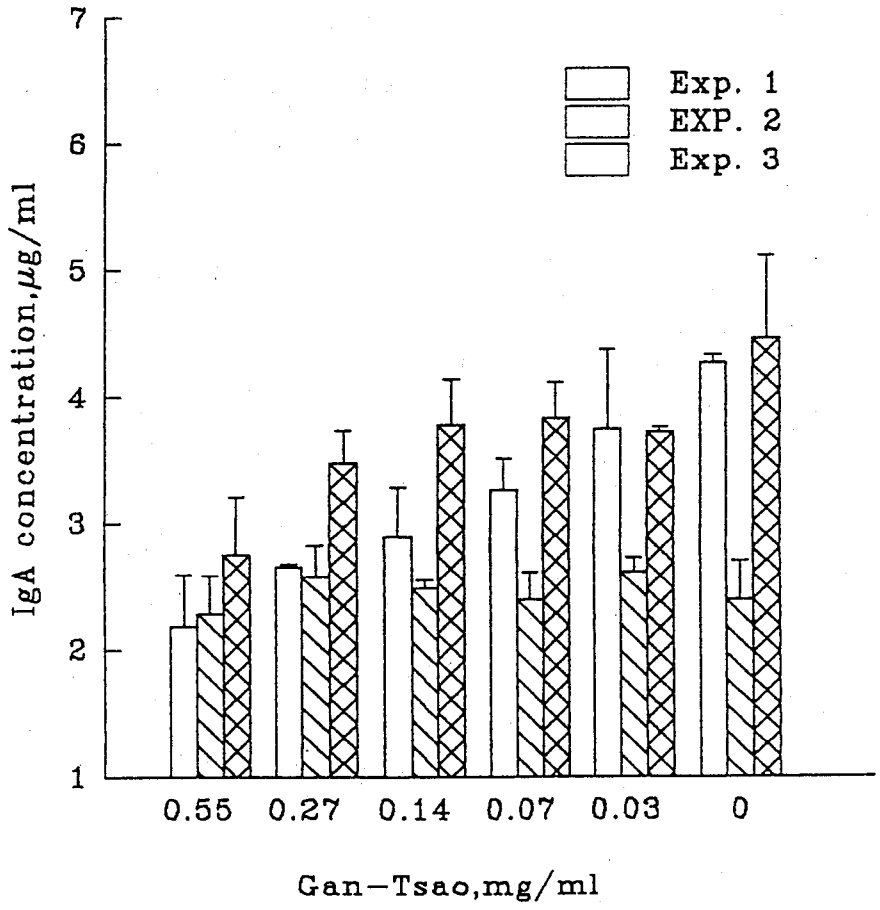
圖七、 茯苓對人類扁桃腺單核細胞分泌 IgA 的影響



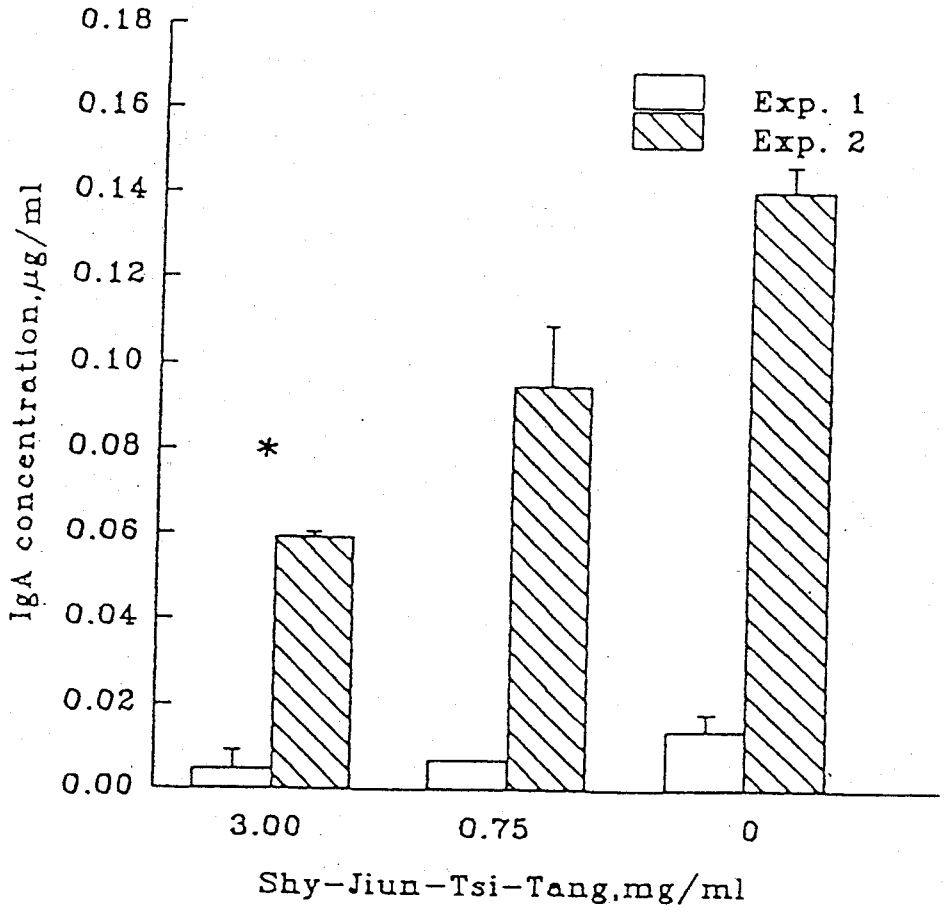
圖八、 黨參對人類扁桃腺單核細胞分泌 IgA 的影響



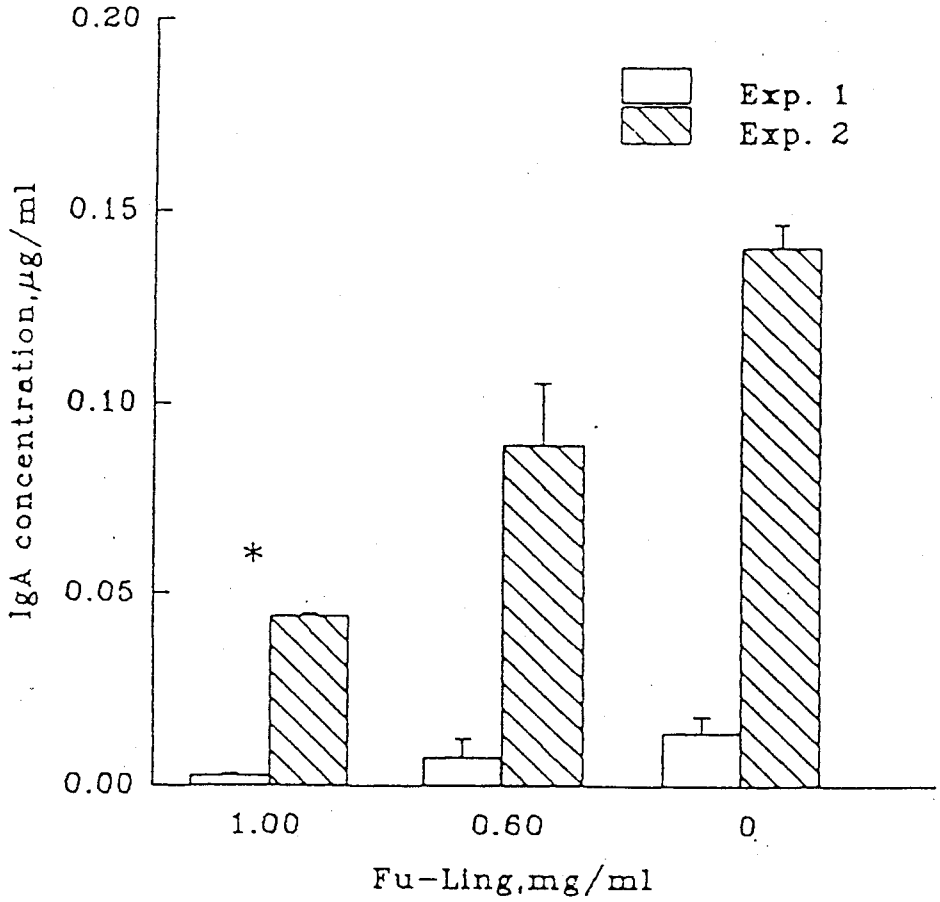
圖九、 白朮對人類扁桃腺單核細胞分泌 IgA 的影響



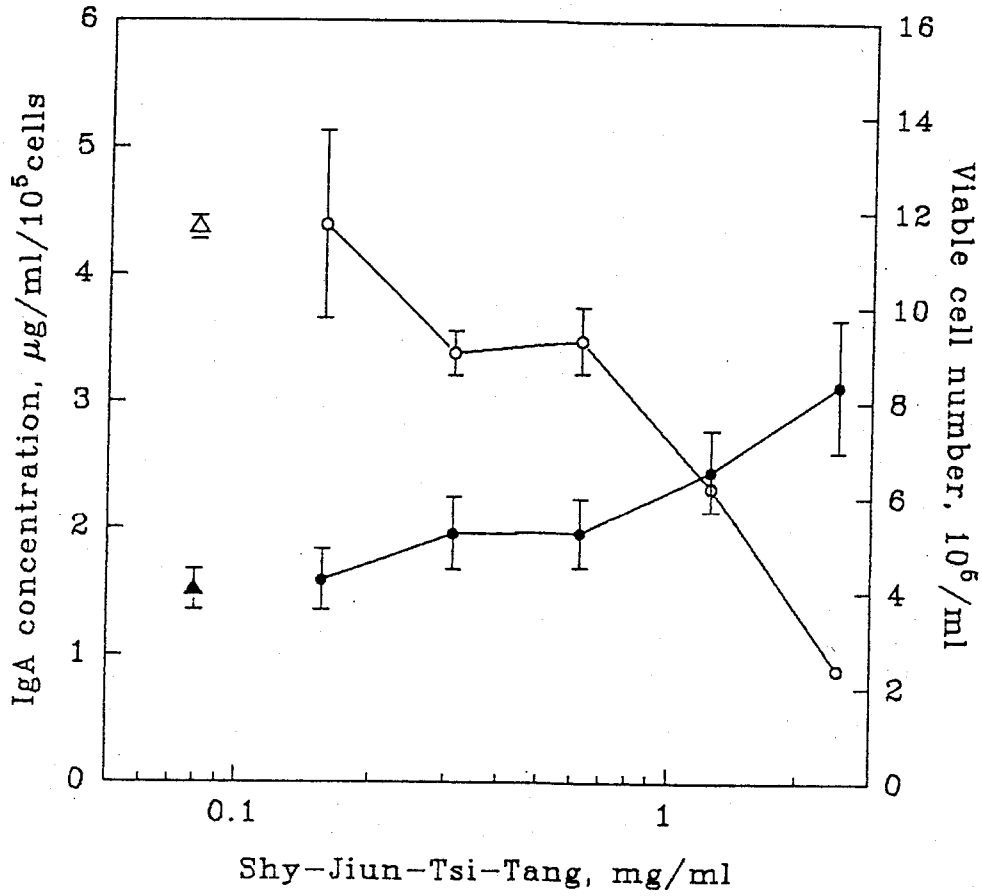
圖十、 甘草對人類扁桃腺單核細胞分泌 IgA 的影響



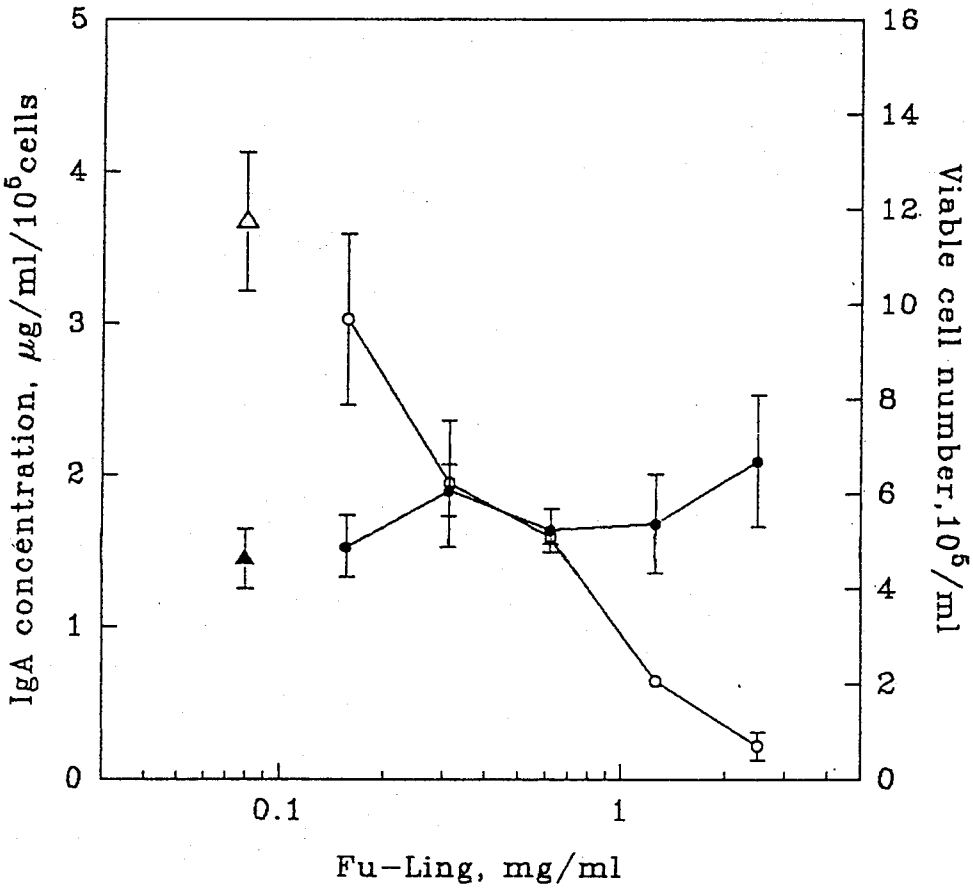
圖十一、 四君子湯對人類週邊血液 B 淋巴球分泌 IgA 的影響



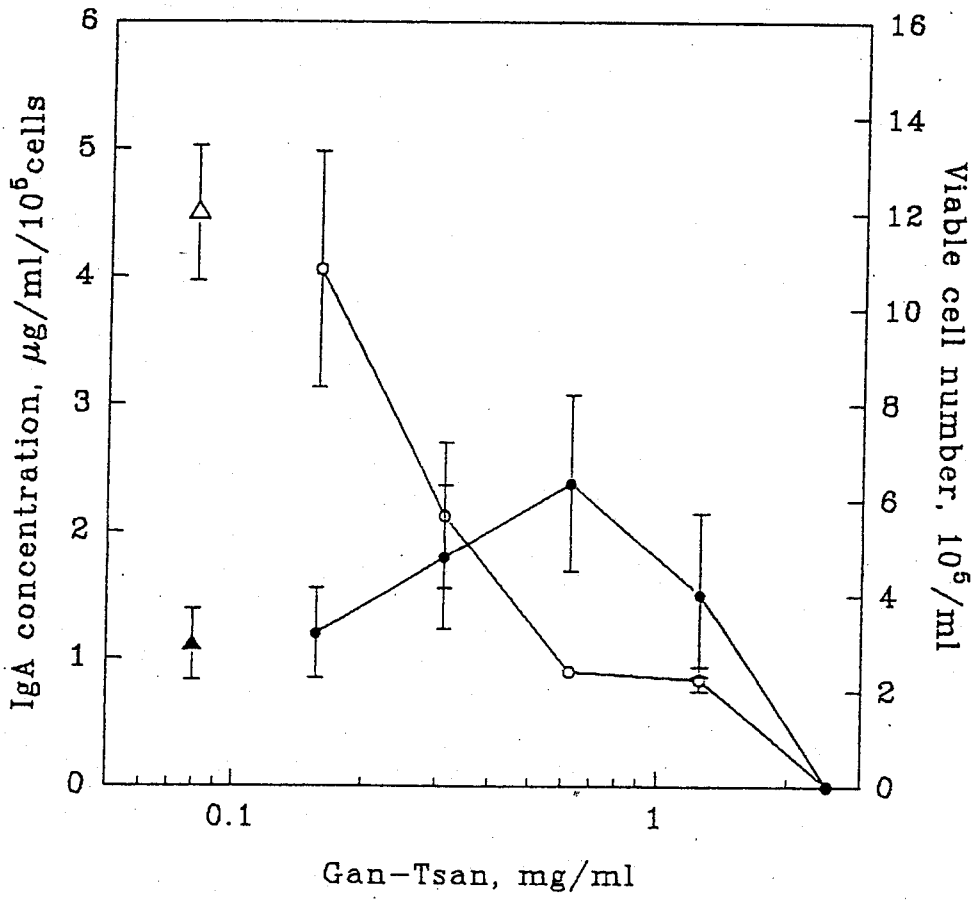
圖十二、 茯苓對人類週邊血液 B 淋巴球分泌 IgA 的影響



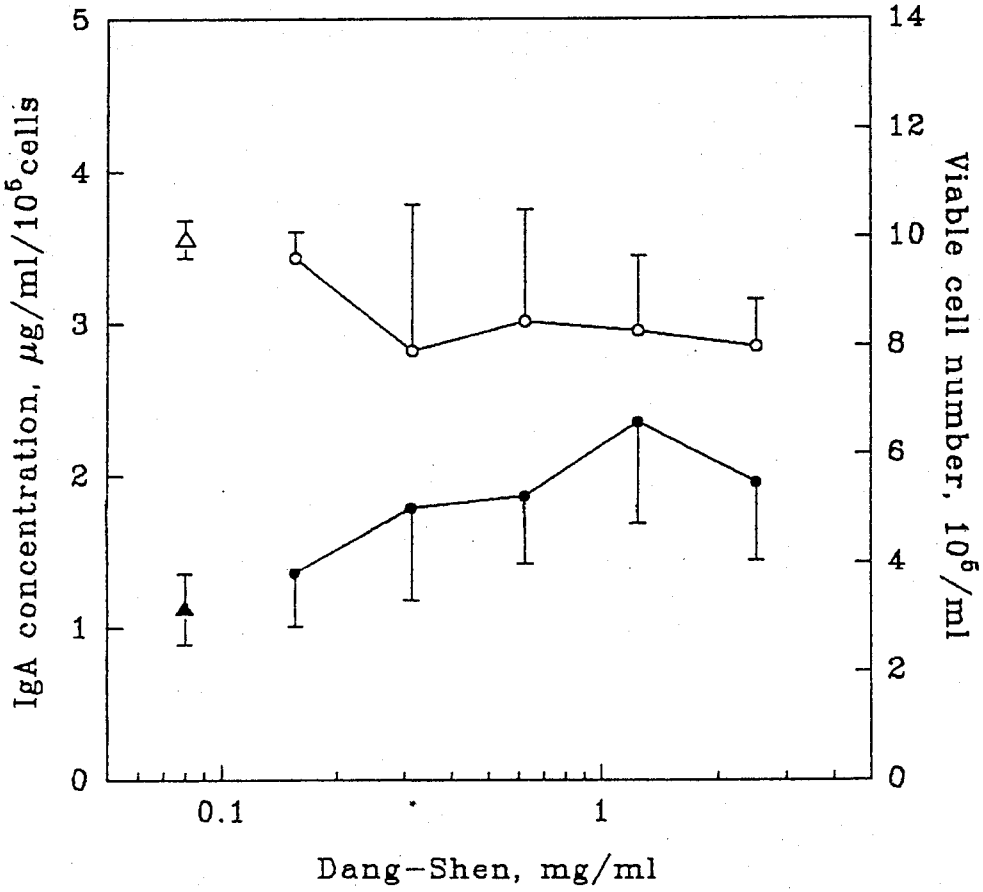
圖十三、 四君子湯對 Dakiki 細胞株生長及分泌 IgA 的影響



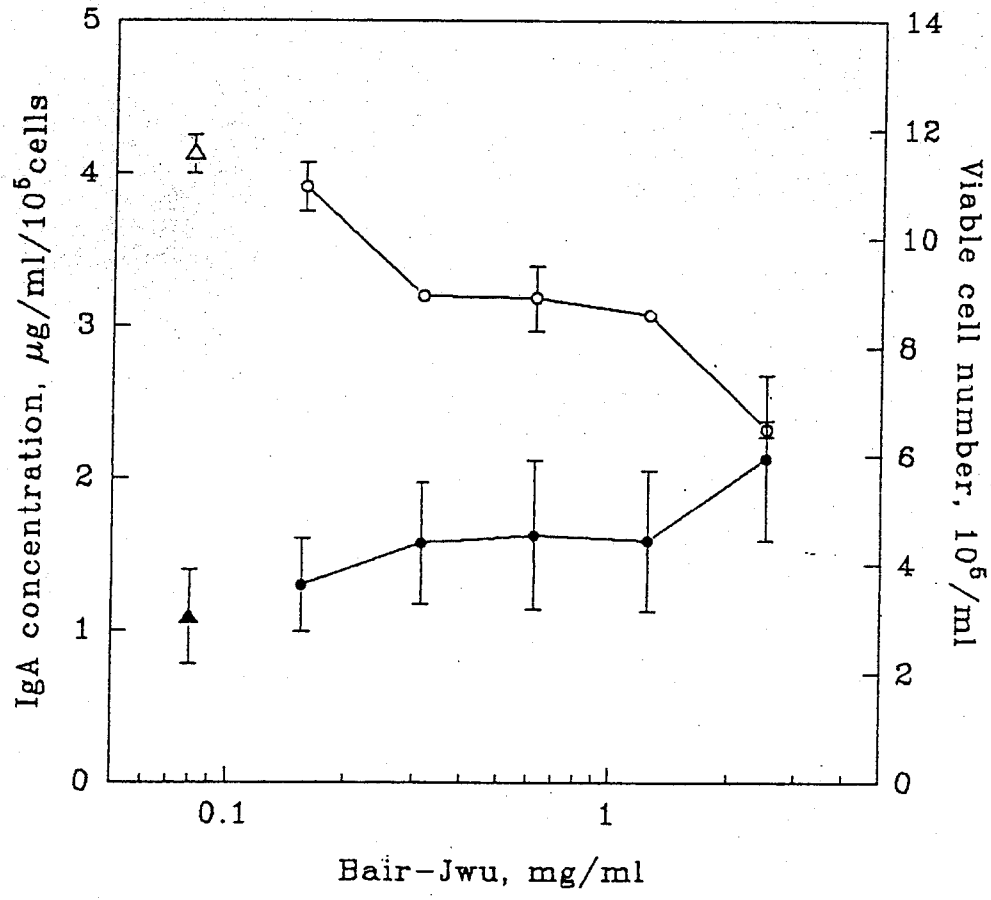
圖十四、 茯苓對 Dakiki 細胞株生長及分泌 IgA 的影響



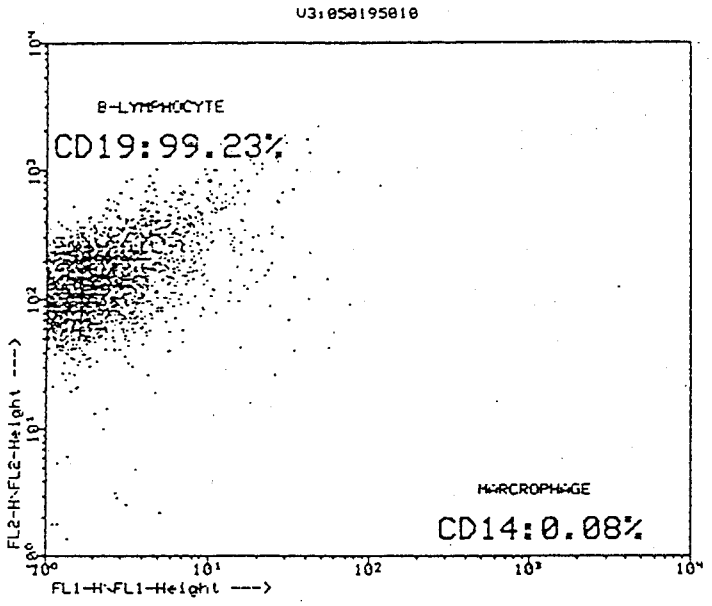
圖十五、 甘草對 Dakiki 細胞株生長及分泌 IgA 的影響

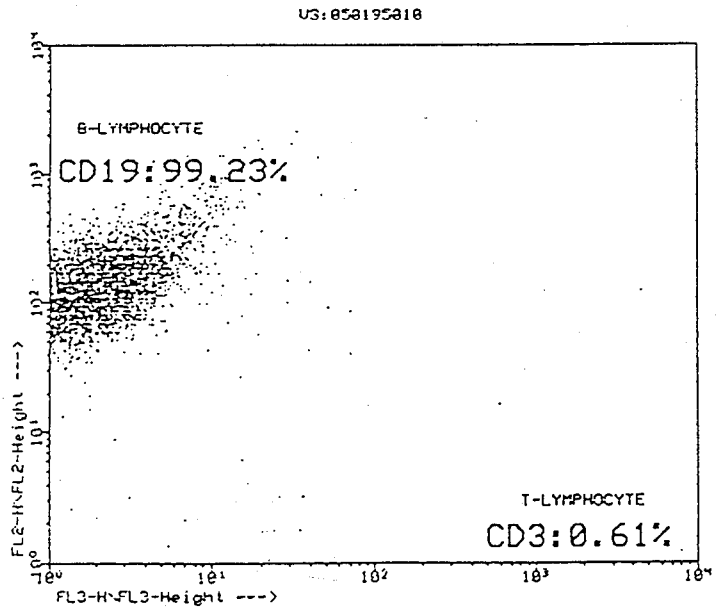


圖十六、 黨參對 Dakiki 細胞株生長及分泌 IgA 的影響



圖十七、 白朮對 Dakiki 細胞株生長及分泌 IgA 的影響





圖十八、免疫螢光法測定 B 淋巴球純度

表 1. 四君子湯對人類週邊血液單核細胞生長的影響

drug conc.(mg/ml) / Exp. no	3.00	1.50	0.75	0.37	0.18	0
1. total cell (10^6 cells/ml)	9.8	10.7	9.1	11.3	9.9	9.4
viability (%)	*78.6	86.0	86.5	87.1	89.1	88.9
2. total cell (10^6 cells/ml)	10.3	10.1	9.1	7.3	9.4	10.0
viability (%)	*80.3	83.7	90.3	90.2	89.3	89.8
3. total cell (10^6 cells/ml)	7.9	12.1	8.7	11.6	11.8	10.3
viability (%)	*51.0	73.8	81.5	83.7	80.8	80.0

表 2. 茯苓對人類週邊血液單核細胞生長的影響

Exp. no \ drug conc.(mg/ml)	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0
1. total cell (10^6 cells/ml)	5.7	4.4	6.8	4.5	4.8	5.2
viability (%)	*84.1	87.4	90.4	89.6	90.9	91.3
2. total cell (10^6 cells/ml)	8.7	8.5	8.4	8.8	10.7	7.4
viability (%)	77.7	83.2	84.2	85.3	88.3	90.9
3. total cell (10^6 cells/ml)	14.2	13.3	12.5	11.5	13.9	16.7
viability (%)	68.4	70.6	62.9	69.2	76.7	81.1

表 3. 黨參對人類週邊血液單核細胞生長的影響

drug conc.(mg/ml) / Exp. no	12.0	6.00	3.00	1.50	0.75	0
1. total cell (10^6 cells/ml)	14.0	11.4	12.2	8.9	8.1	8.7
viability (%)	81.4	89.0	84.4	87.1	82.0	86.2
2. total cell (10^6 cells/ml)	9.3	8.7	8.5	9.8	8.4	8.5
viability (%)	83.9	85.6	87.7	83.0	86.3	90.6
3. total cell (10^6 cells/ml)	8.6	9.4	10.4	11.4	8.2	9.6
viability (%)	76.7	80.2	84.6	83.3	84.2	82.3

表 4. 白朮對人類週邊血液單核細胞生長的影響

drug conc.(mg/ml) / Exp. no	10.0	5.00	2.50	1.25	0.62	0
1. total cell (10^6 cells/ml)	9.3	9.3	9.9	10.5	7.8	9.5
viability (%)	93.0	82.3	80.3	86.1	84.0	86.3
2. total cell (10^6 cells/ml)	8.5	8.7	9.7	10.0	9.6	8.9
viability (%)	75.7	83.2	87.1	91.5	90.0	96.1
3. total cell (10^6 cells/ml)	10.2	8.8	9.8	9.8	9.1	9.5
viability (%)	85.8	95.4	81.6	87.2	90.1	85.7

表 5. 甘草對人類週邊血液單核細胞生長的影響

drug conc.(mg/ml) / Exp no	0.50	0.25	0.12	0.06	0.03	0
1 total cell (10^6 cells/ml)	8.6	10.6	9.9	10.2	10.1	10.4
viability (%)	77.9	76.8	83.3	83.8	89.1	89.9
2.total cell (10^6 cells/ml)	8.6	12.2	9.8	9.7	12.8	10.5
viability (%)	80.7	83.6	86.2	88.1	87.1	88.0
3.total cell (10^6 cells/ml)	9.4	10.5	9.4	10.3	9.9	10.0
viability (%)	85.6	77.5	80.3	81.1	84.4	86.5

表 6. 四君子湯對扁桃腺單核細胞生長的影響

drug conc.(mg/ml) / Exp. no	3.00	1.50	0.75	0.37	0.18	0
1.total cell (10^6 cell/ml)	7.65±1.49	6.70±1.13	7.95±3.32	8.40±2.40	9.00±1.70	10.95±0.78
viability (%)	*20.60±3.39	*35.95±17.2	43.10±10.5	54.05±17.3	53.55±2.19	54.35±4.17
2.total cell (10^6 cell/ml)	9.38±0.50	10.15±0.21	8.30±0.42	9.36±0.49	8.10±0.14	9.00±0.00
viability (%)	*38.55±2.12	*61.45±1.48	76.15±1.20	78.80±3.46	76.80±0.57	75.55±6.29
3.total cell (10^6 cell/ml)	9.78±2.19	10.95±0.92	11.25±1.77	12.95±2.76	11.25±0.64	12.50±1.41
viability (%)	*57.20±15.4	*69.00±1.27	71.70±7.50	72.15±0.49	84.10±4.10	77.95±8.13

表 7. 茯苓對扁桃腺單核細胞生長的影響

drug conc.(mg/ml) / Exp. no	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0
1.total cell (10^6 cells/ml)	* 8.05±0.92	* 8.80±0.57	* 7.60±1.98	8.35±0.64	10.05±3.32	11.95±1.49
viability (%)	34.05±9.12	33.45±3.50	46.95±2.76	44.05±2.19	58.35±1.91	62.75±1.77
2.total cell (10^6 cells/ml)	* 9.05±1.34	* 8.50±0.57	* 9.35±0.64	10.55±1.06	11.15±0.21	11.15±0.21
viability (%)	53.00±2.12	65.85±3.32	76.85±1.91	73.40±1.77	68.15±0.21	73.40±0.35
3.total cell (10^6 cells/ml)	* 8.70±0.71	*10.80±1.27	* 7.60±0.21	8.85±0.64	14.75±5.02	13.60±0.28
viability (%)	68.95±0.92	61.40±2.55	71.65±3.32	75.75±0.64	82.30±3.54	82.85±0.35

表 8. 黨參對扁桃腺單核細胞生長的影響

drug conc.(mg/ml) / Exp. no	12.0	6.00	3.00	1.50	0.75	0
1.total cell (10^6 cells/ml)	7.15±1.63	8.35±1.20	8.45±1.49	8.30±0.71	10.70±0.28	13.35±2.19
viability (%)	*18.70±4.24	36.10±5.80	61.80±10.9	61.25±7.00	62.15±0.35	67.65±11.2
2.total cell (10^6 cells/ml)	8.95±8.95	7.95±0.87	7.70±1.27	9.47±1.06	10.02±1.27	9.00±1.27
viability (%)	*33.70±12.7	56.45±3.32	72.10±8.20	77.05±0.64	80.30±0.14	72.05±2.33
3.total cell (10^6 cells/ml)	12.70±4.38	11.75±0.21	11.55±2.62	11.75±0.07	12.25±0.78	15.35±0.56
viability (%)	*47.85±5.73	69.05±0.07	73.05±10.4	73.65±13.1	81.60±0.57	76.65±3.46

＊：$p<0.05$

表 9. 白朮對扁桃腺單核細胞生長的影響

drug conc.(mg/ml) / Exp. no	10.0	5.00	2.50	1.25	0.62	0
1.total cell (10^6 cells/ml)	7.80±2.40	8.00±2.40	9.40±4.67	12.00±4.81	11.75±3.18	11.40±3.39
viability (%)	*38.80±6.22	*33.05±8.70	52.55±4.74	51.55±7.07	55.60±7.21	56.50±1.13
2.total cell (10^6 cells/ml)	10.70±2.83	8.60±0.71	9.20±0.28	8.43±1.41	9.85±1.48	11.20±0.28
viability (%)	*54.70±3.96	*72.40±7.64	73.95±2.33	77.65±4.03	80.10±0.85	76.35±3.82
3.total cell (10^6 cells/ml)	11.55±1.34	9.40±1.06	11.00±0.71	11.80±0.14	13.05±1.77	13.55±1.91
viability (%)	*67.50±0.71	*76.75±4.88	81.30±3.11	82.25±4.60	76.00±3.25	75.20±0.88

表 10. 甘草對扁桃腺單核細胞生長的影響

drug conc.(mg/ml) / Exp. no	0.50	0.25	0.12	0.06	0.03	0
1. total cell (10^6 cells/ml)	* 8.83±0.28	*10.60±1.56	*11.40±3.96	*10.15±0.78	10.60±1.13	11.00±2.26
viability (%)	42.40±13.9	47.25±17.8	57.20±5.44	53.90±4.95	56.80±14.0	52.50±11.0
2. total cell (10^6 cells/ml)	* 9.40±1.13	* 8.20±0.14	* 9.05±1.63	*10.31±2.26	15.10±0.71	16.00±0.00
viability (%)	68.95±9.40	72.00±4.67	71.05±2.05	77.50±1.06	80.50±2.40	78.10±0.00
3. total cell (10^6 cells/ml)	*10.60±0.85	*11.10±0.57	* 10.55±1.06	* 9.80±0.99	12.50±0.99	12.85±1.63
viability (%)	72.55±9.12	75.30±14.0	74.95±2.12	74.55±0.49	79.55±8.56	73.65±1.06

表 11. 四君子湯對人類週邊血液 B 淋巴球生長的影響

Exp. no \ drug conc.(mg/ml)	3.00	0.75	0
1. total cell (10^5 cells/ml)	* 6.15± 0.07	* 5.85± 0.00	8.00± 0.50
viability(%)	*22.35± 6.58	53.80± 0.00	64.80± 2.69
2. total cell (10^5 cells/ml)	* 7.58± 0.32	* 6.80± 0.21	7.95± 0.21
viability(%)	*43.30± 2.26	64.30± 3.68	63.95± 6.58

表 12. 伏苓對人類週邊血液 B 淋巴球生長的影響

drug conc.(mg/ml) / Exp. no	1.00	0.60	0
1. total cell (10^5 cells/ml)	18.50± 0.14	15.53± 0.74	20.75± 0.35
viability(%)	*23.35± 1.91	*8.60± 0.14	36.55± 2.19
2. total cell (10^5 cells/ml)	7.40± 2.90	7.03± 0.81	8.00± 0.50
viability(%)	*32.65± 1.34	*43.80± 6.08	64.80± 2.69
3. total cell (10^5 cells/ml)	7.70± 1.49	7.95± 0.07	7.95± 0.21
viability(%)	*46.55± 2.05	*56.95± 6.29	63.95± 6.58

編號 DOH84-CM-034

常用抗心律不整與活血化瘀藥對心律不整和高血脂疾病臨床治療藥效之研究（Ⅲ）

The Pharmacological Effect of Antiarrhythmia and Anticoagulant Drugs on Arrhythmia and Hyperlipidemia

賴文德　邱慧芬　張瑞璋

高雄醫學院

摘　　要

本計劃之研究，係針對「心律不整」及「高血脂」患者，採取中醫之治療方式，再配合活血化瘀藥物理論的應用，以比較兩者在治療上之效果。

本年度研究中，心律不整患者共20例，分A、B二組進行治療，A、B二組未服藥前均爲其對照組，A組之病患共14例，使用「炙甘草湯」治療，B組共6例，使用「炙甘草湯」1-2個月後，再加「三七」經四星期治療。另外，在高血脂病人共26例，分成C、D二組，C、D二組未服藥前爲對照組。C組之14例以自組之降脂方（何首烏、澤瀉、枸杞子、山楂、茵蔯、槐花）服用一個月。另一組爲D組之12例則使用自組之降脂方一個月後再加服「三七」四星期。

動物實驗方面結果顯示：A、B、C、D四組在主觀之症狀上與未治療前比較，大部份均有改善現象；對心律不整之病單用炙甘草湯（A組）

之療效似乎比炙甘草湯加三七（Ｂ組）之療效明顯，但是在血脂肪變化方面，雖然Ｃ、Ｄ二組均具降脂效果；但以Ｄ組（降脂方加三七）的降脂效果較Ｃ組（降脂方）爲佳($P < 0.05$），總而言之，Ａ、Ｂ二組之結果中以Ａ組之效果較明顯，而Ｃ、Ｄ二組之比較後發現加入三七對高血脂治療時與降脂方併用後對療效的增加是予以肯定的。

本年度之動物實驗方面，以不同劑量之炙甘草湯（0.26g/kg 及 0.50g/kg）注入大白鼠(rat)之股靜脈後記錄其心電圖(ECG)之變化，並以不同劑量之炙甘草湯分別加上較少劑量(0.06g/kg)及較高劑量(0.35g/k g)的三七後評估其心跳速率(HR)及全身血壓之變化，本研究之結果顯示不論是0.26g或0.50g/kg之炙甘草湯在加入三七後均可呈現較穩定地降低心跳速率的藥理作用。

ABSTRACT

The present study is focus on the pharmacological effect of antiarrhythmia Chinese herb on the treatment of antiarrhymia and hyperlipidemia disease. Patients were divided into four groups, (A, B & C, D), both control groups received Chi-Kan-Chou tong (炙甘草湯) & Chiang-Chih Fang (降脂方)。

The group A (14 cases) adminstrated Chi-Kan-Chou Tong (炙甘草湯) only, while the group B (6 cases) have adminstrated Chi-Kan-Chou Tong and anticoagulant San-Chi ginseng (三七), the effect of different treatment in A,B groups were evaluated after one month treatment.

Our results showed that both A, B, C, D groups have significant improvement in hypertension and heperlipidemia, Nevertheless, the group A has demostrated a more potently hypolipidemia effect ($P<0.05$) than group B.

For heperlipidemia treatment, the addition of San-Chi genseng into Chiang-Chi Fang has shown an significantsynergistic effect. Our data have demostrated the addition of anticoagulant herb: San-Chi genseng into the chinese traditional hyperlipidimia therapy is encouraged.

The pharmacological mechanism of San-Chi (三七) genseng was investigated by animal study. The heart rates (HR) and mean blood pressure (MBP) of Wistar's

rat were measured by Lead I method. (Fig 1) We found the combination of different dosege (0.06 g/kg & 0.35 g/kg) of San Chi either with 0.26 g/kg or 0.50 g/kg of Chi-Kan-Chou Tong all have shoon a significant effect on heart rates decline.

緒　言

心臟血管疾患，目前為台灣十大死因之一，而其中心律不整更是引起心血管疾病突然發作猝死的病因，此種病患目前之治療均是以種類繁雜之抗心律不整藥物來治療，而其中療效亦不理想，其中更有些藥物之副作用甚為明顯，本人希望能在西藥之治療模式外利用傳統之抗心律不整方如炙甘草湯、柴胡加龍骨牡蠣湯、半夏厚朴湯、甘麥大棗湯、及由本計劃協同主持人張瑞璋醫師，所組合之冠心方 1 號至 3 號中尋找出較有療效而副作用小之藥方，以作為日後治療之參考，另外亦希望研究活血化瘀藥物對於高血脂病人或心律不整病人合併高血脂症時，在降脂方和炙甘草湯的治療，同時外加三七或丹參的療效。

本計劃之完成希望能夠解決下列相關之問題，並尋求出一個較適合之治療模式：〈1〉. 抗心律不整病人使用抗心律不整中藥配合活血化瘀藥時之療效評估。〈2〉. 對於高血脂病人使用降脂方及加上活血化瘀藥物之療效評估。〈3〉. 對於心律不整病人服用中藥方與服用抗心律不整之西藥後兩者療效之比較。〈4〉. 對於較有危及生命之心律不整病人，採用已知療效西藥方減輕其劑量，並加上中藥後之臨床療效的評估。

材料與方法

(A) 研究對象：

選擇高雄醫學院附設中和醫院之心律不整和市立中醫醫院之高血脂的患者並合乎下列條件者，作為治療與追蹤之對象：

〈一〉. 治療前經血液常規檢查，血液生化檢查和尿液常規檢查，均

無肝腎功能異常現象者。

〈二〉. 曾經赴西醫醫院診療或檢驗所抽血檢查而確定無其他致病原因者，或因不明原因之高血脂患者。

〈三〉. 患者經第一次測量血脂肪以後，每天均測量血脂一次為期一星期，其間均呈高血脂狀態者。

(B) 使用之藥物：

心津不整患者使用之藥物為 "炙甘草湯"，其組成及製備方法如下：

炙甘草Glycyrrhizae Radix	3.0g
麥門冬Ophiopogonis tuber	6.0g
地黃 Rehmanniae Radix	6.0g
生　姜 Zingiberis Rhizoma	3.0g
桂　枝 Cinnamomi Cortex	3.0g
麻子仁 Cannamomi Cortex	3.0g
大　棗 Zizyphi Fructus	3.0g
人　蔘 Ginseng Radix	3.0g
阿　膠 Asini Gelatinum	2.0g

以上生藥製成浸膏 600 mg 加澱粉 400 mg 合為 1 公克，病人每次服用 5-6公克，1 天 4 次。

高血脂病人服用張瑞璋醫師組合之降脂方如下：

何首烏 Polygoni Wultiflari Radix	3.0g
澤　瀉 Alismatis Rhizoma	3.0g
枸杞子 Lycii Fructus	2.0g
山　楂 Crataegi Fructus	3.0g
茵　蔯 Aitemisiae Cabillaris Therba	3.0g
槐　花 Sophorae Flas	2.0g

以上共 16 g，分成 4 次服用，另外如有外加三七則每次服 1g，一天 4 次。

(C). 臨床病例之研究：

〈一〉. 心津不整中藥方對心室早期收縮(VPC)之療效評估：

選擇有經常性 (frequent) 心室早期收縮 (VPC) 及複合性 (complex) VPC 的病人，先做體表 12 導極之心電圖，並做 24 小時之 Holt 心電圖測定後給予病人，炙甘草湯，柴胡加龍

骨牡蠣湯等抗心律不整中藥之濃縮液，口服二週後或一個月內，再觀察心律不整病人心電圖之變化情形，同時在服藥前後，以心臟超音波來檢查病人在服藥前後之心臟功能變化，並可觀察併用活血化瘀藥方之療效。

藥物試驗過程

	服用抗心律整藥	服用抗心律不整加三七藥	服用抗心律不整加三七藥
停藥 2 週	1 個月	1 個月	2 個月
	生化檢驗 赫特氏 24 小時心電 心超音波檢查 心電圖	生化檢驗 赫特氏 24 小時心電 心超音波檢查 心電圖	生化檢驗 赫特氏 24 小時心電 心超音波檢查 心電圖

〈二〉. 活血化瘀藥對高血脂病人療效之評估：

(1). 高血脂的確立：

病人空腹時抽血，經由電泳 (electrophoresis) 檢查其血中膽固醇 (Cholesterol)，三酸甘油酯 (T.G.) 及高密度脂蛋白 (HDL) 等脂肪，如果病人的膽固醇 >250，T.G.>150，則先飲食控制二個禮拜，再測定一次。

(2). 療效評估：

Cholesterol，T.G.，和 HDL，如果仍然偏高則開始服用活血化瘀藥，一個月後再測定血中之膽固醇，三酸甘油酯及高密度脂蛋白，以觀察活血化瘀藥對高血脂病人之療效。另外於服藥期間亦同時追蹤 SGOT，SGPT，BUN，Creatinine 及 blood glucose 之變化以確定評估藥效，本研究所使用活血化瘀藥主要為三七、丹參、紅花、桃仁、三稜、莪朮、川芎、赤芍、牡丹皮、茜草等。

(D). 動物模式心臟血管作用

Wistar strain 250 - 350 克的雄性大白鼠先以 Pentobarbital sodium (Nembutal) 40 mg/kg 施行麻醉，然後進行氣管切開術，並插管使得實驗過程中動物能保持順暢呼吸，亦有利於急救.

(1) 股靜脈給藥：

左股靜脈 (femoral vein) 以內逕 0.58 mm, 外逕 0.97 mm 的 polyethylene tube (PE 50) 進行靜脈插管, 以利實驗中藥物的投予, 使用三通活栓 (3 - way stopcock), 一端接藥物的注射筒; 另一端接生理食鹽水的注射筒, 在給藥後可馬上注入些許的生理食鹽水, 以免藥品滯留於 PE 50 管中, 影響實驗的準確性. 左股動脈也以 PE 50 插入, 同樣使用三通活栓, 一端接 Heparin 溶液, 當動脈的脈衝 (pulse) 太强或 PE 管中有栓塞時, 可用於 flush; 另一端 Disposable Diaphragm Dome (TA 1019), 然後接到轉訊器, 經由放大器, 最後由記錄器加以記錄. 心電圖 (ECG) 的變化以三插頭 (NDM, GD 151 B) 連接放大器, 訊號收集後經記錄器而得. (圖一)

(2) 抗心律不整中藥及活血化瘀中藥之作用:

我們乃採用 Lead I 的記錄方式, 正極插入大白鼠左前肢, 負極插入右前肢, 接地端插入任意後肢. 而後開始進行炙甘草湯, 三七及丹參的心跳及血壓的評估. 大白鼠投予不劑量炙甘草湯 (0.26 g/kg 及 0.50 g/kg), 三七 (0.06 g/kg 及 0.35g/kg), 炙甘草湯加三七 (0.06 g/kg 及0.35 g/kg), 等幾組單獨或不同合併使用藥物之組合, 並觀察藥物加入後對大白鼠心跳速率及全身血壓之影響.

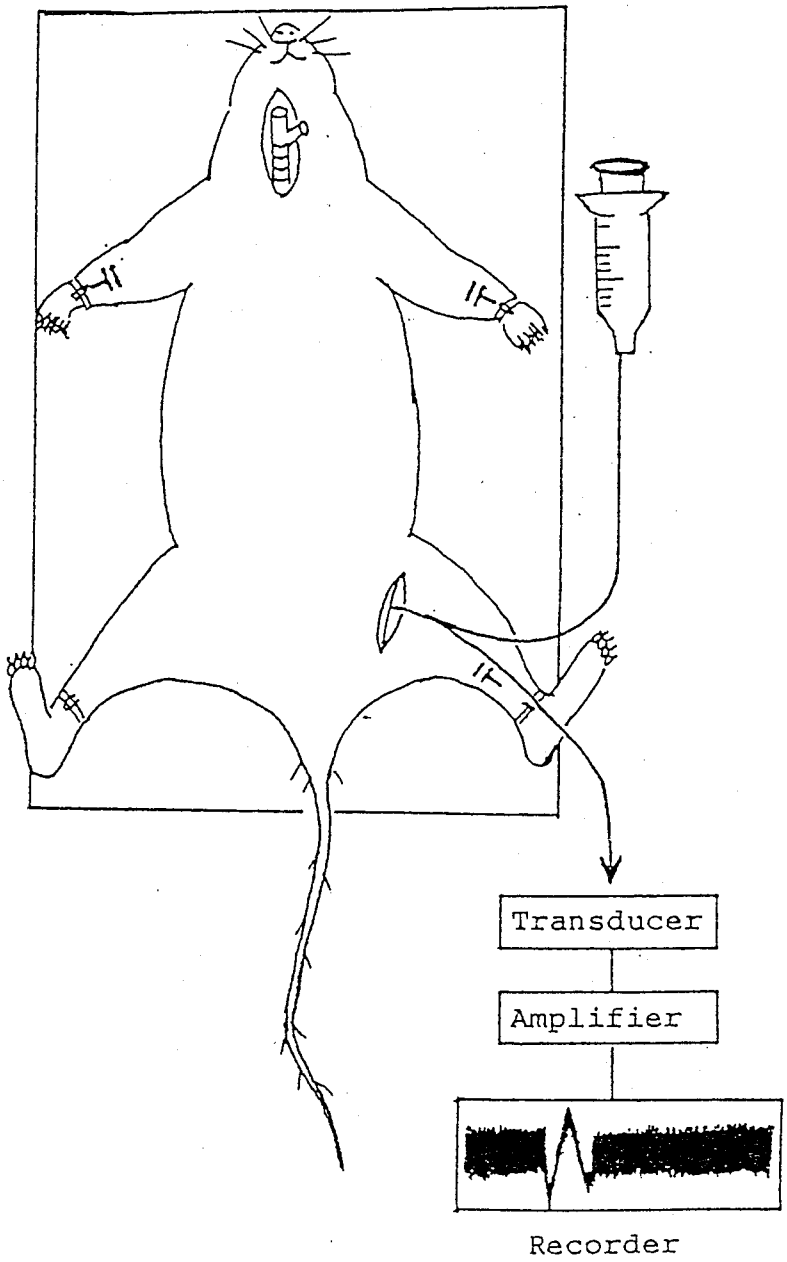


Fig. A diagrammatic representation of the apparatus used to record the heart rate and systemic blood pressure.

結果與討論

本研究所給病人所服用之抗心律不整處方為 "炙甘草湯" 及 "活血化瘀藥三七對於病人之肝腎功能，血糖及尿酸等並無顯著之影響. (表一) 而且對一般心電圖之 PR interval QRS duration, QT interval 及平均心跳在服藥的前後，並無有意義之差別. (表二)

因為心室期外收縮 (VPC) 是臨床上是最常見的心律不整現項象 (如圖二)，其寬廣的 QRS 波及倒轉的 T 波為典型的心室期外收縮之心電圖. 臨床上若心室期外收縮的數目超過 30 次/小時或心室期外收縮發生於病態的心臟血有心悸及心臟功能不良，即需治療，因此本研究服用炙甘草湯之病人 (A 組，詳見表三) 即以 VPC 為主.

目前兩藥在治療心室期外收縮之抗心律不整藥主要為 Quinidine, Procainamide, Mexitil 等藥效均不是很好，且有明顯副作用，本研究使之抗心律不整之處方 (炙甘草湯) 病人服用一個月後對心室期外收縮之療效，若以心室期外收縮數目減少 60 % 為基準，則有 40 % (14 例中改善率 60 % 以上者有 6 例) 之有效改善率 (圖三)，與目前常用之抗心律不整西藥比較並不遜色，且無抗心律不整西藥之副作用，目前之病患人數 14 例單服甘草湯 1-2 個月後，對心室期外收縮之療效如圖三，所示可見在病例 1-6 中其心室期外收縮大有顯著之減少，其改善率分別為 100 %, 79.7 %, 77.6 %, 64.2 %, 61.3 %, 及 60.8%，而病例 7 至 10 雖有減少，但效果並不明顯，而病例 10-14 則無明顯之效果，因此希望繼續收集更多病例，以期了解炙甘草湯眞正療效，並進一步地由動物實驗模式來探討其對心律不整之作用機轉.

另外將活血化瘀藥 -- 三七併用於炙甘草湯服用一個月之病人以評估其對改善心室期外收縮之療效結果並不明顯 (圖四)，因此希望改用併服丹參再繼續收集病例探討活血化瘀藥併服之療效.

在動物實驗方面，以較低劑量之炙甘草湯 (0.26g/kg) 在股靜脈注射對心跳之影響並不明顯，而以三七 (0.06g/kg 及較高劑量 0.35g/kg 與炙甘草湯 (0.26g/kg) 的併用似乎較單用有較顯著的抑制作用 (圖五六). 另外，以較高劑量之炙甘草湯 (0.5g/kg) 與不同劑量之三七 (0.g/kg 及 0.35 g/kg)併用似乎對心跳及血壓亦有較顯著而穩定的降低作

用．(圖七)

高血脂或大動脈循環或心臟傳導系統不良之病人，在臨床上容易造成動脈硬化及急性發作之心律不整心血管疾患之症候群，目前患有此種疾患之病人為數衆多，且易造成有生命威脅之慮，目前心臟血管疾患亦是十大死亡原因之一．據統計台灣地區 40 歲以上者高血脂之流行率為 25-30 %，如果未加妥善治療，會造成心臟，腎臟，腦部，眼睛等之併發症，引起狹心症，心肌梗塞，左心室肥大，腎臟衰竭，蛋白尿，尿毒症，腦中風，眼底血管出血等，這些疾病大都無法復原．由於許多患者正值盛壯有為之年，若罹患此等病症，對於個人，家庭或國家來說，均為一重大的損失．

本研究之目的，係希望對高血脂之患者，採取中醫之治療方式，投與降脂方劑，並配合活血化之理論，即根據已知藥理作用，此類具有以下七種功能：

〈一〉．擴張冠狀動脈血管，增强心肌缺氧而授力，增强心博出量．
〈二〉．舒張血管，解除血管痙攣，降低外周血管阻力，防止動脈硬化形成．
〈三〉．使微血管舒張，加快血流，防止 RBC 凝聚，改善血變性而使微循環改善．
〈四〉．抑制血小板凝，集降低血液黏度．
〈五〉．抗血栓形成，增强纖維蛋白溶解．
〈六〉．降血脂作用．
〈七〉．增强血小板 C-AMP，抑制血小板 phosphodiesterase，抑制血小板內 Arachdonic acid 代謝，減少 TXA2 的形成．

因此本年度研究以三七加入降脂方中以探討活血化瘀藥在 "高血脂" 病患中之降脂治療效果，依目前的結果顯示降脂方 (C 組) 及降脂方加三七 (D 組) 對臨床症狀均有明顯改善作用，而在高血脂病人服用之後測其 Cholesterol, Triglyceride, HDL, LDL, VLDL 等之血中濃度 (表四,五,六,七) 發現大部份均有改善作用．其中 28 個高血脂病例 14 個服用降脂方 (C 組) 12 個服用降脂方加三七 (D 組)，以降脂方加三七 (圖十七 - 二十三) 之作用較單用降脂方顯著 (圖八 - 十六)．

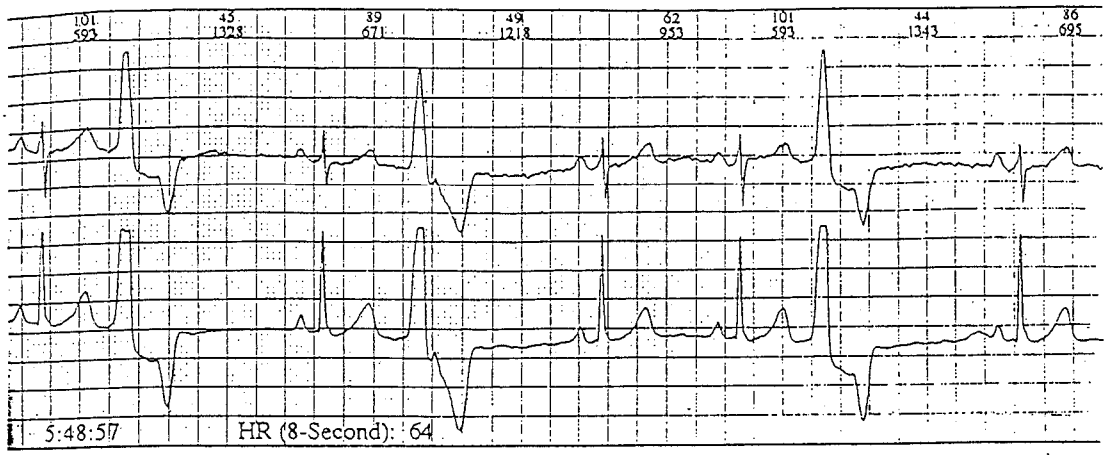
希望第四年的研究能獲得較多之動物實驗的結果後更深入地探討其藥理作用機轉和藥效之間相關性的評估．

本年度之研究已經完成下列三部份之相關研究：

(A). 以抗心律不整中藥方中之炙甘草湯及加上三七科學中藥粉劑給予心室早期收縮 (VPC) 之病人每天服用 3g (三七) 及 6g (炙甘草湯) 二種不同劑量，服用一個月評估療效後，再追蹤 1-3 個月以評估療效，對於較嚴重之病人做心臟導管電氣生理測試，以確立療效.

(B). 今年之動物實驗已完成以不同劑之炙甘草湯 0.26 g/kg 以及 0.35 g/kg 分別再加上小劑量 0.06 g/kg 以及較高劑量 0.35 g/kg 之三七對大白鼠之平均血壓和心跳速率之影響.

(C). 高血脂之病人以自組之降脂方觀察服藥前後之 Cholesterol, TG, HDL, LDL 及 VLDL 之變化值.



圖二 心室期外收縮 (VPC) 是臨床上最常見的心律不整現象，寬廣的 QRS 波及倒轉的 T 波爲典型之心室期外收縮之心電圖

表一：病人之血液生化值變化：

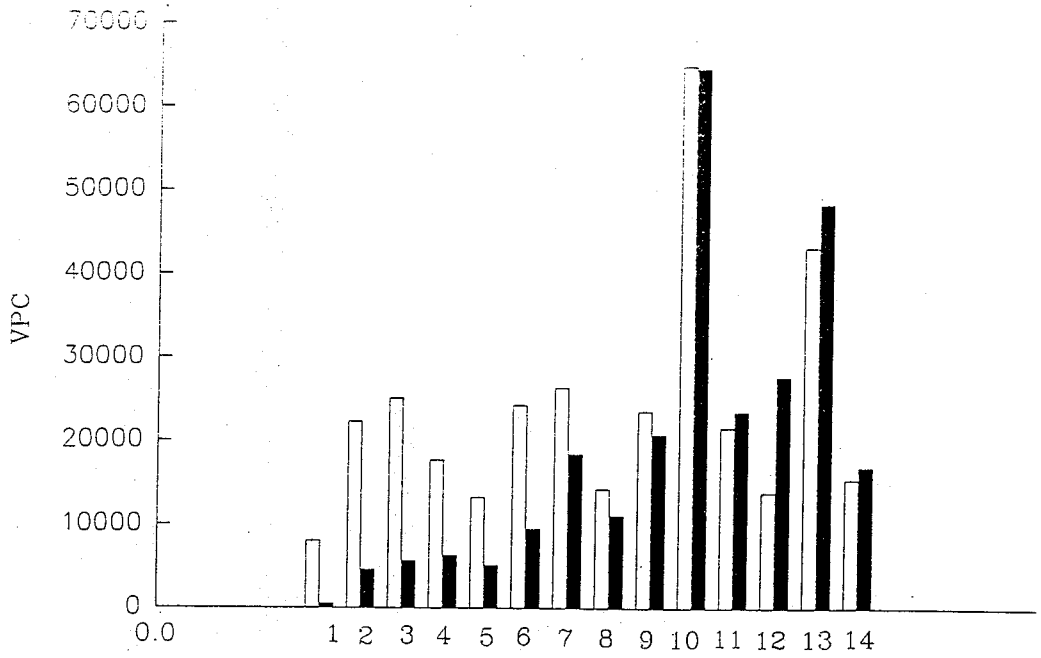
項　　目	服　藥　前	服　藥　後	P 值
Cholesterol	175.82± 23.08	169.28± 36.14	〉0.05
Triglyceride	130.30±145.81	128.32±111.98	" "
Sugar	95.22± 6.82	93.20± 6.54	" "
Uric acid	6.13± 2.21	6.62± 2.34	" "
BUN	14.88± 1.03	15.34± 3.14	" "
Creatinine	0.88± 0.16	0.91± 0.22	" "
Na	141.32± 2.65	139.38± 1.88	" "
K	3.99± 0.17	3.88± 0.32	" "
GOT	15.22± 8.55	15.66± 6.88	" "
GPT	13.36± 5.48	14.82± 6.43	" "

表二：病人服藥前後基礎心電圖之變化：

項　目	服藥前	服用炙甘草湯	服用炙甘草湯加三七	P 值
PR　間隔	0.14±0.02	0.15±0.02	0.15±0.02	〉0.05
QRS 間隔	0.10±0.02	0.09±0.01	0.09±0.02	" "
QT　間隔	0.34±0.06	0.34±0.03	0.34±0.03	" "
平均心跳	84.5±9.5	84.1±8.5	83.3±8.0	" "

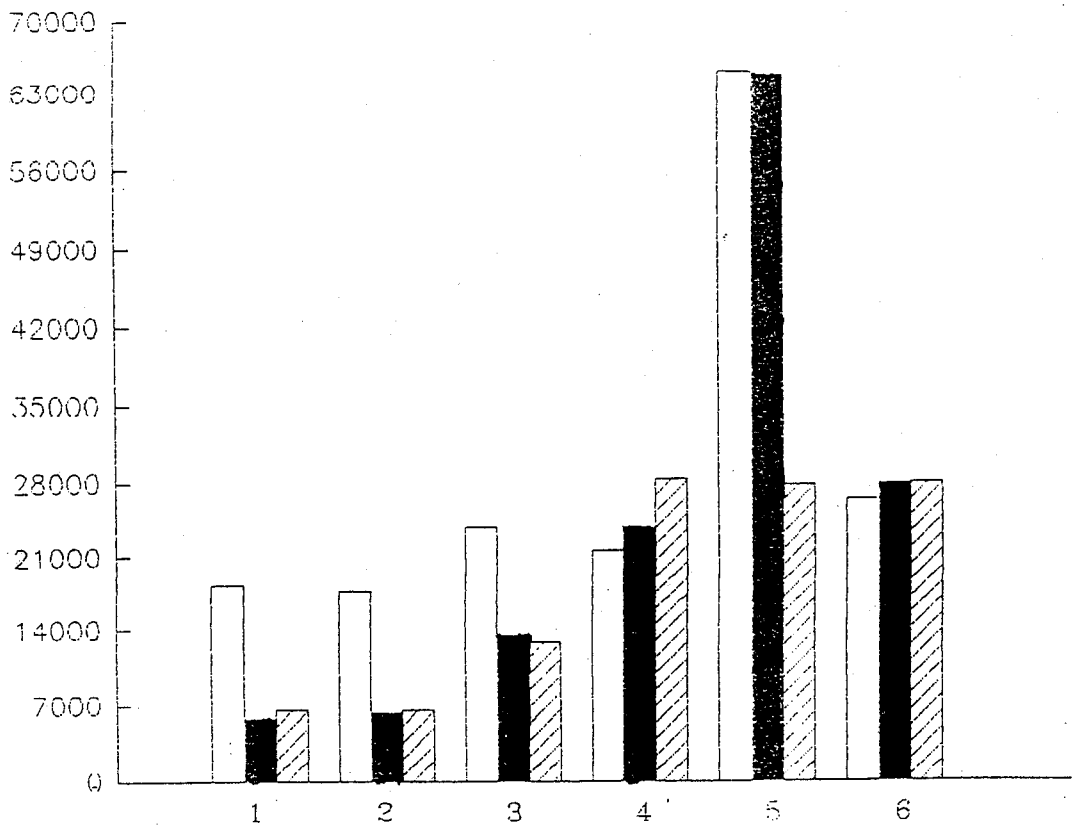
表三：病人之臨床表徵：

病例	年齡	性別	臨床診斷	疾病診斷
1	71	女	心 悸	心室期外收縮
2	60	男	" "	" "
3	34	女	" "	" "
4	45	男	" "	" "
5	35	女	" "	心室頻脈
6	60	男	" "	心室頻脈
7	38	女	" "	心室頻脈
8	50	女	" "	心室期外收縮
9	48	女	" "	" "
10	45	男	" "	" "
11	41	女	" "	" "
12	56	女	" "	" "
13	34	男	" "	" "
14	42	女	" "	" "



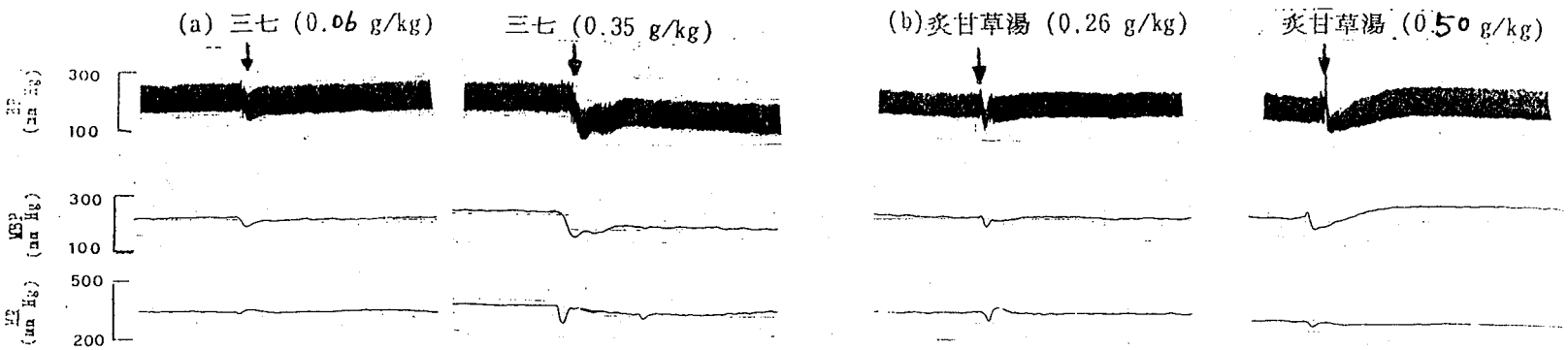
圖三：心律不整病人服用炙甘草湯前後之 24 小時赫特氏心電圖的變化

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
服藥前 VPC 值	8049	22324	25174	17685	13236	24287	26434	14259	23616	65060	21614	13801	43281	15408
服藥後 VPC 值	1	4532	5637	6338	5128	9520	18432	11073	20782	64768	23535	27757	48432	16824
改善百分率 (%)	100	79.7	77.6	64.2	61.3	60.8	30.3	22.3	12.0	0.4	<—>	<—>	<—>	<—>

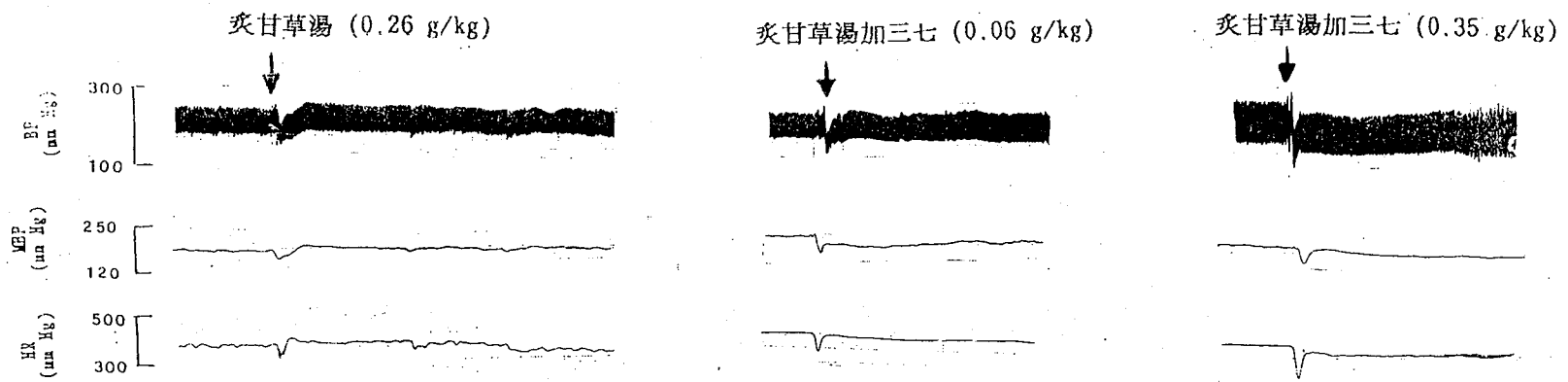


圖四：心律不整病人服用炙甘草湯前後與炙甘草湯加三七後之 24 小時赫特氏心電圖的變化。

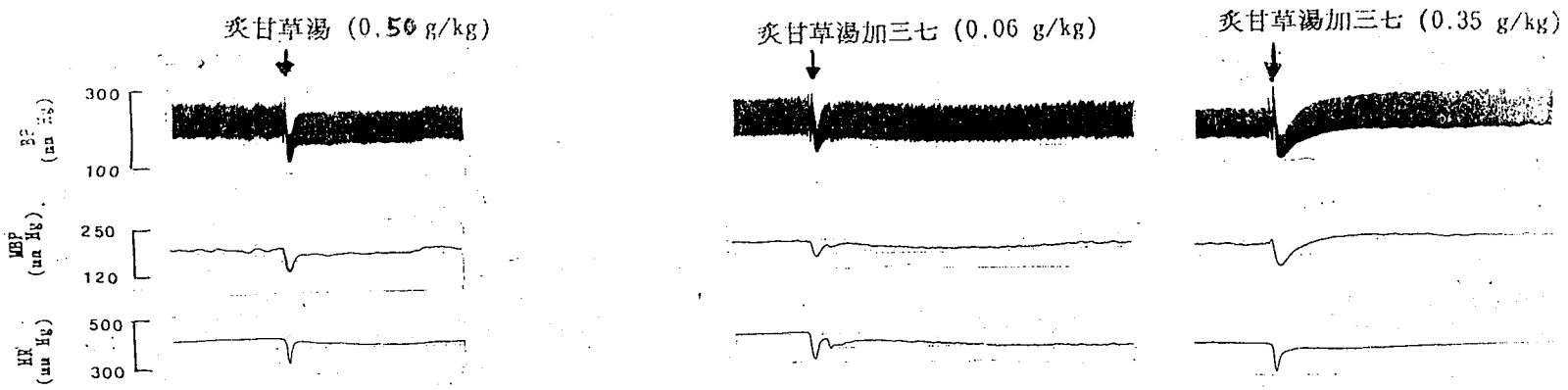
	1	2	3	4	5	6
服藥前 VPC 值	18282	17685	23825	21614	65060	26427
服藥後 VPC 值	5832	6338	13420	23535	64768	27842
改善百分率 (%)	68.1	64.2	43.7	〈—〉	0.4	〈—〉
服三七後 VPC 值	6621	6660	12924	28263	27813	27940
改善百分率 (%)	〈±〉	〈±〉	4	〈±〉	57	〈±〉



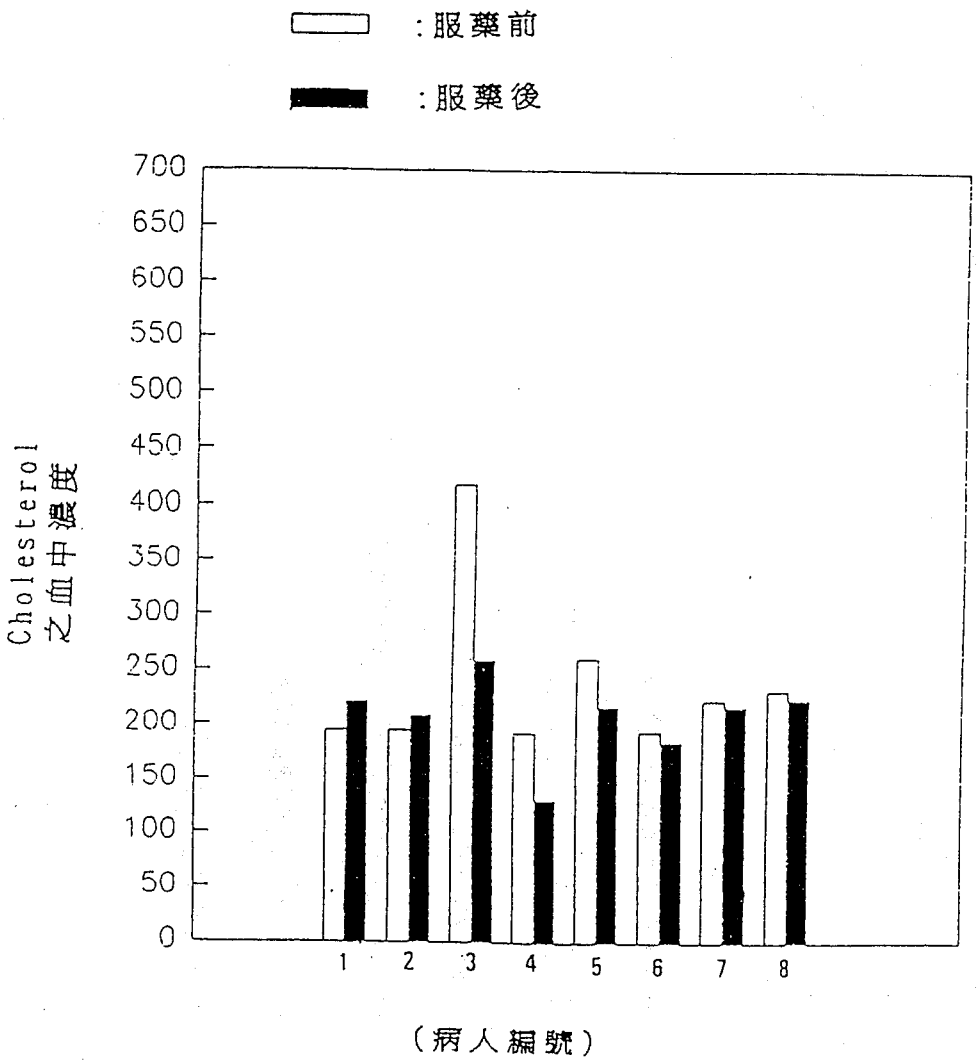
圖五：大白鼠經 IV 注射不同劑量之 (a) 三七 (b) 炙甘草湯後平均血壓 (MBP) 及心跳速率 (HR) 之變化圖



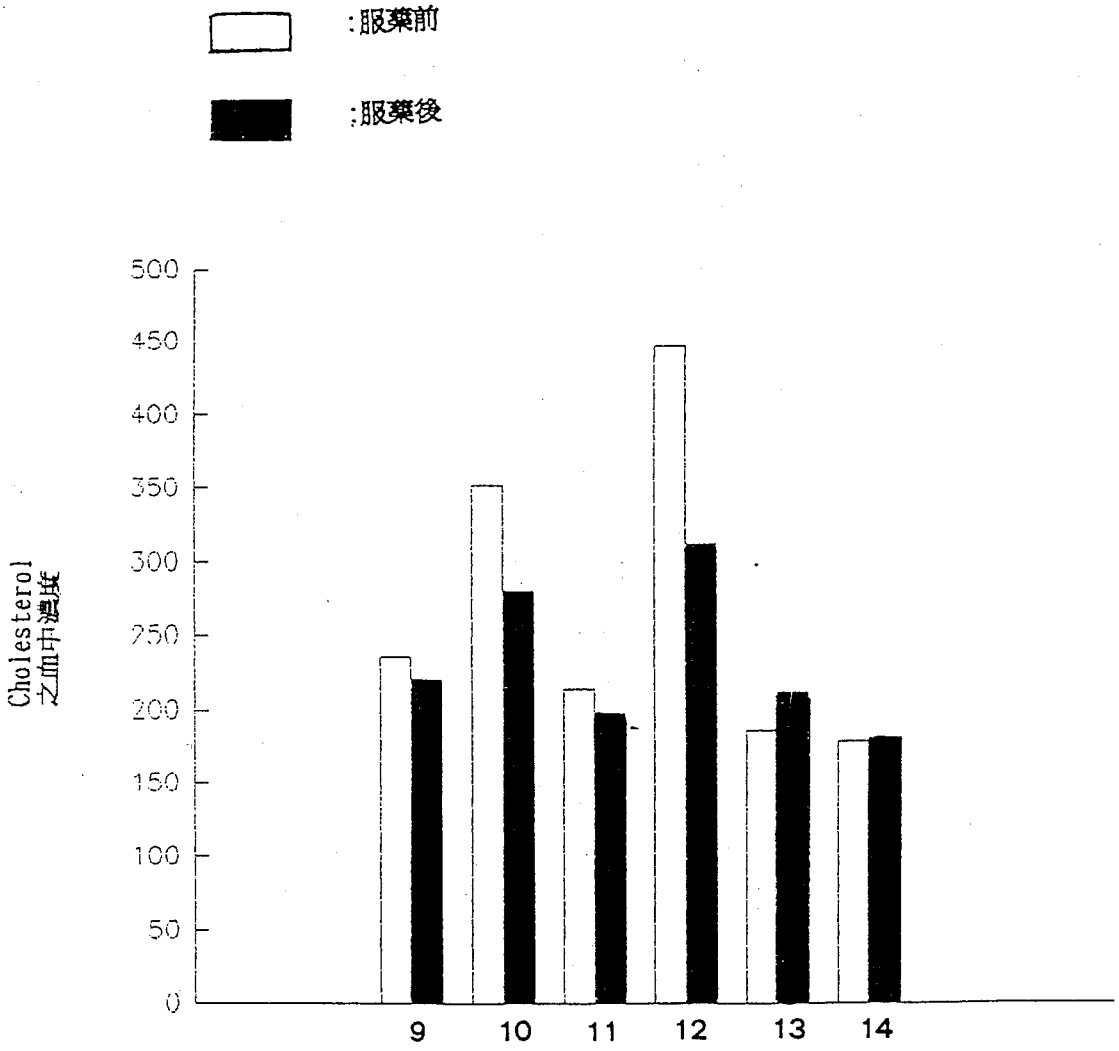
圖六：大白鼠經 IV 注射不同劑量 (0.06 g/kg, 0.35 g/kg) 之三七 與炙甘草湯 (0.26 g/kg) 心跳速率 (HR) 之變化圖



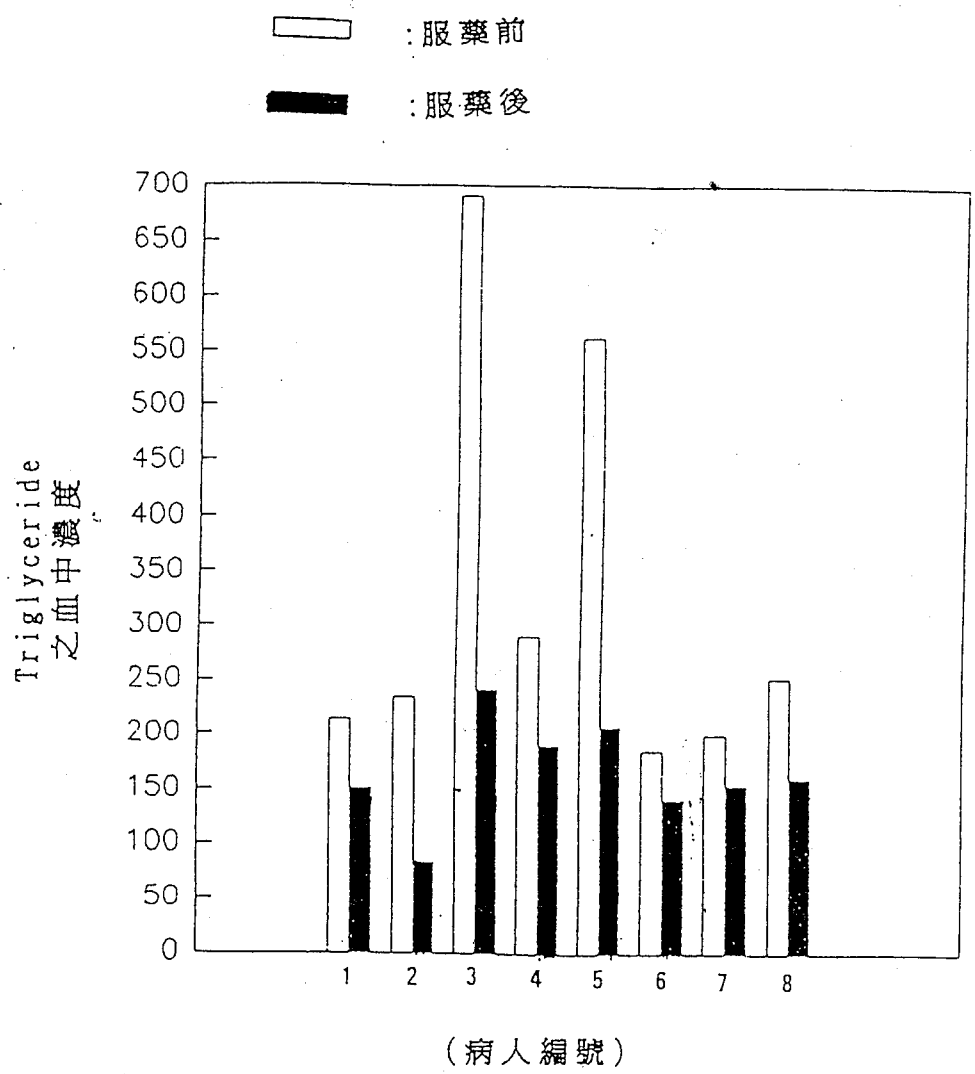
圖七：大白鼠經 IV 注射不同劑量 (0.06 g/kg, 0.35 g/kg) 之三七 與炙甘草湯 (0.50 g/kg) 心跳速率 (H.R) 之變化圖



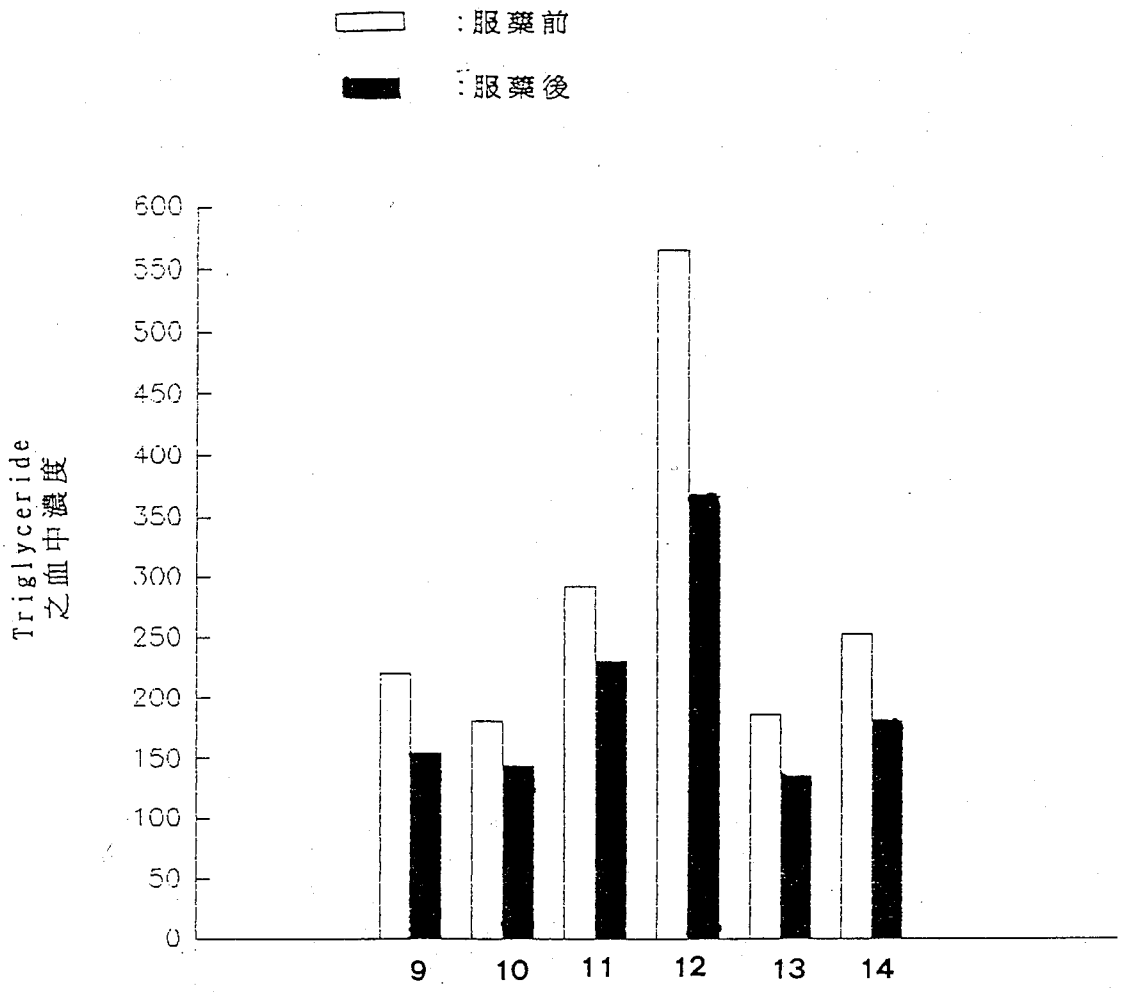
圖八：高血脂病人服用降脂方後血中 Cholesterol 的變化



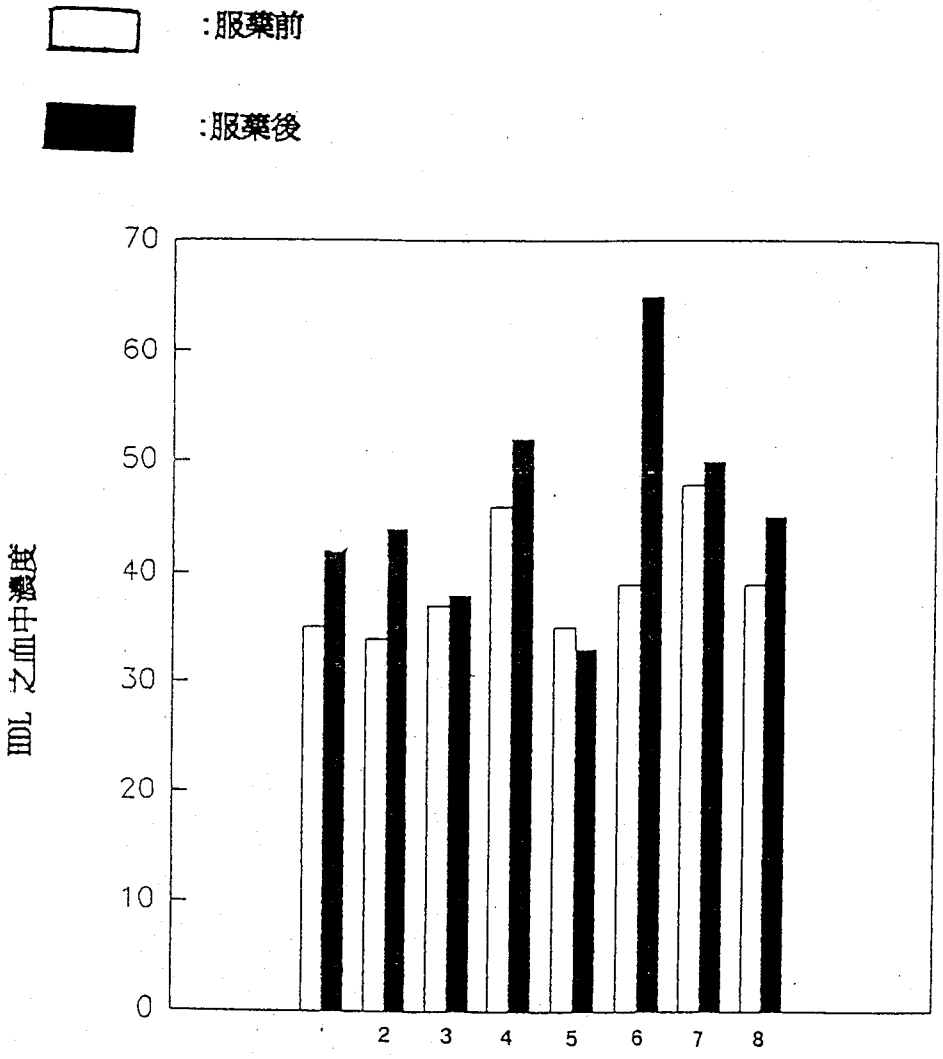
圖九：高血脂病人服用降脂方後血中 Chlesterol 的變化



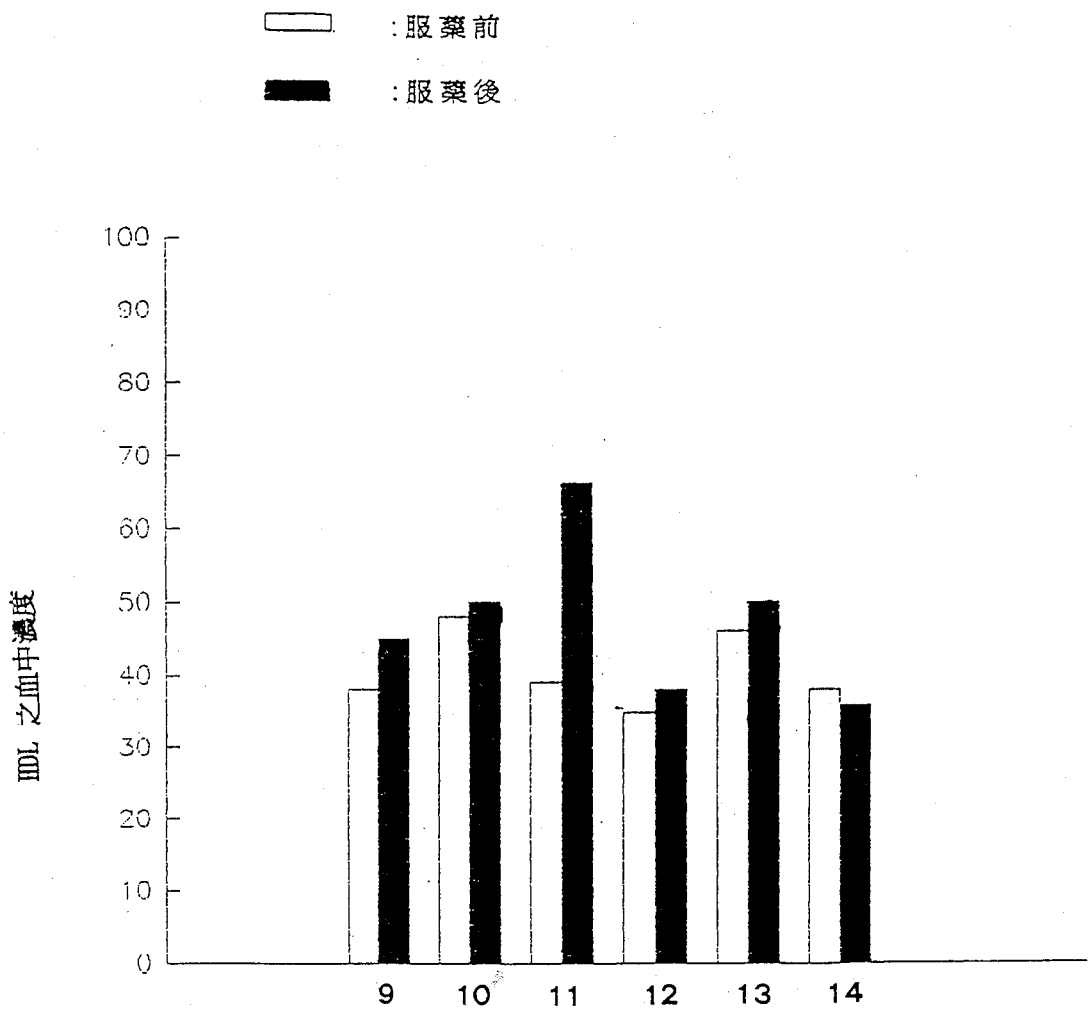
圖十：高血脂病人服用降脂方後血中 Triglyceride 的變化



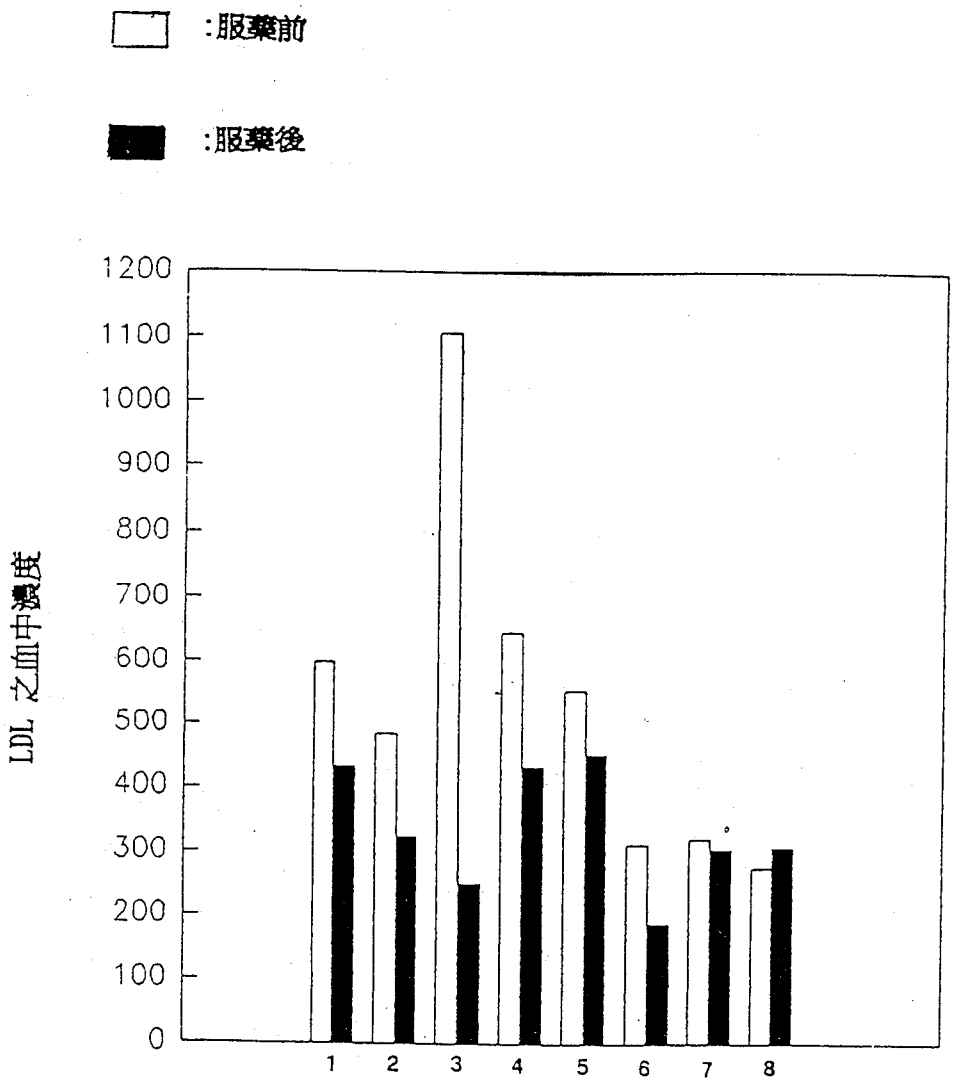
圖十一：高血脂病人服用降脂方後血中 Triglyceride 的變化



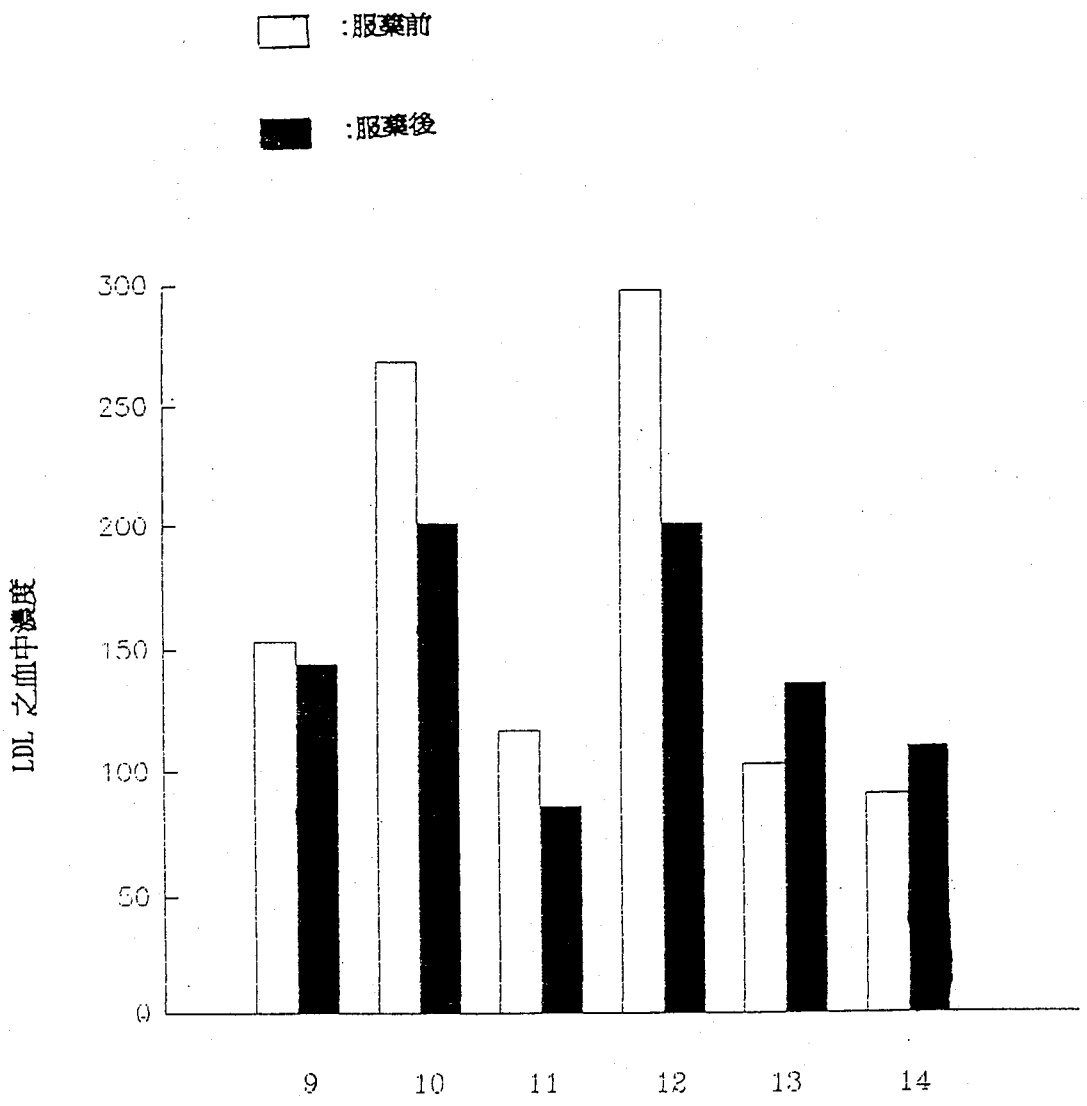
圖十二. 高血脂病人服用降脂方後血中 HDL 的變化



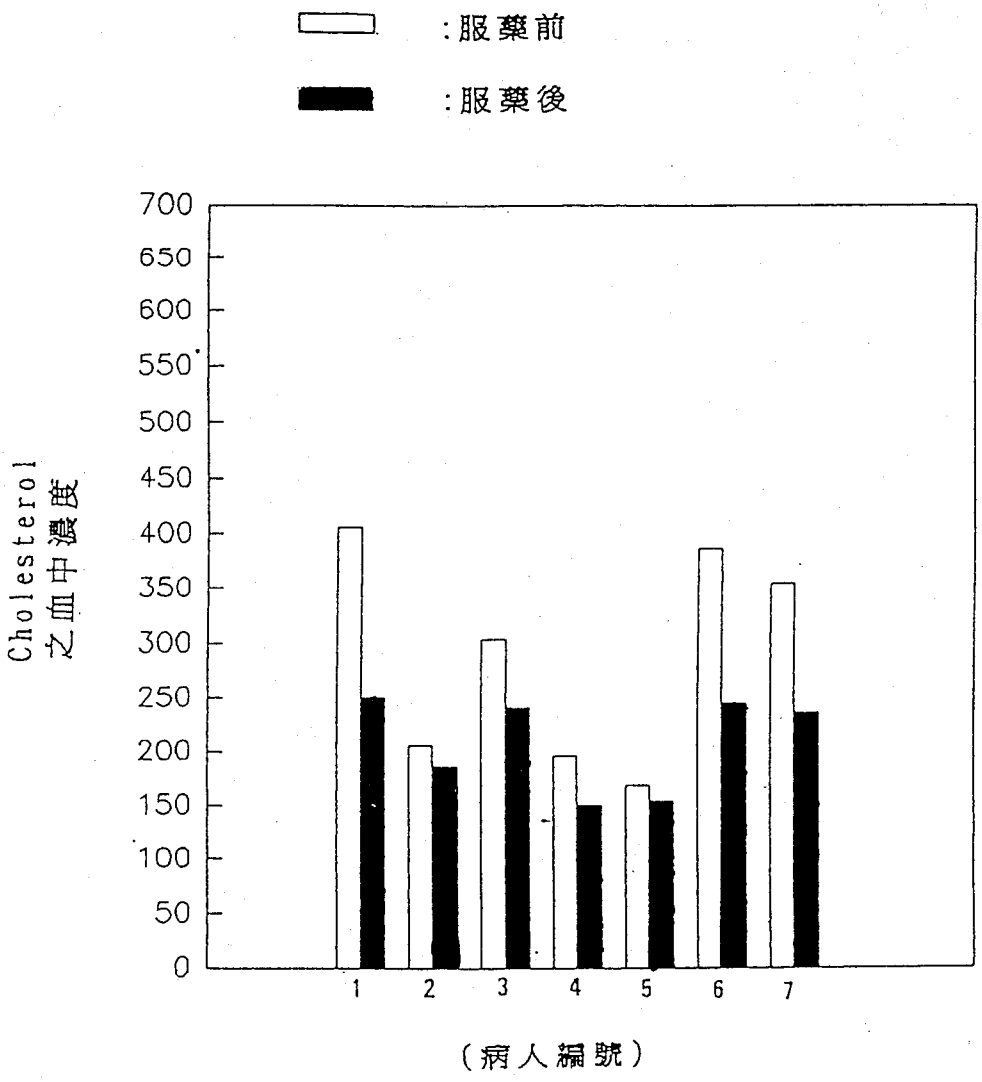
圖十三：高血脂病人服用降脂方後血中 HDL 的變化



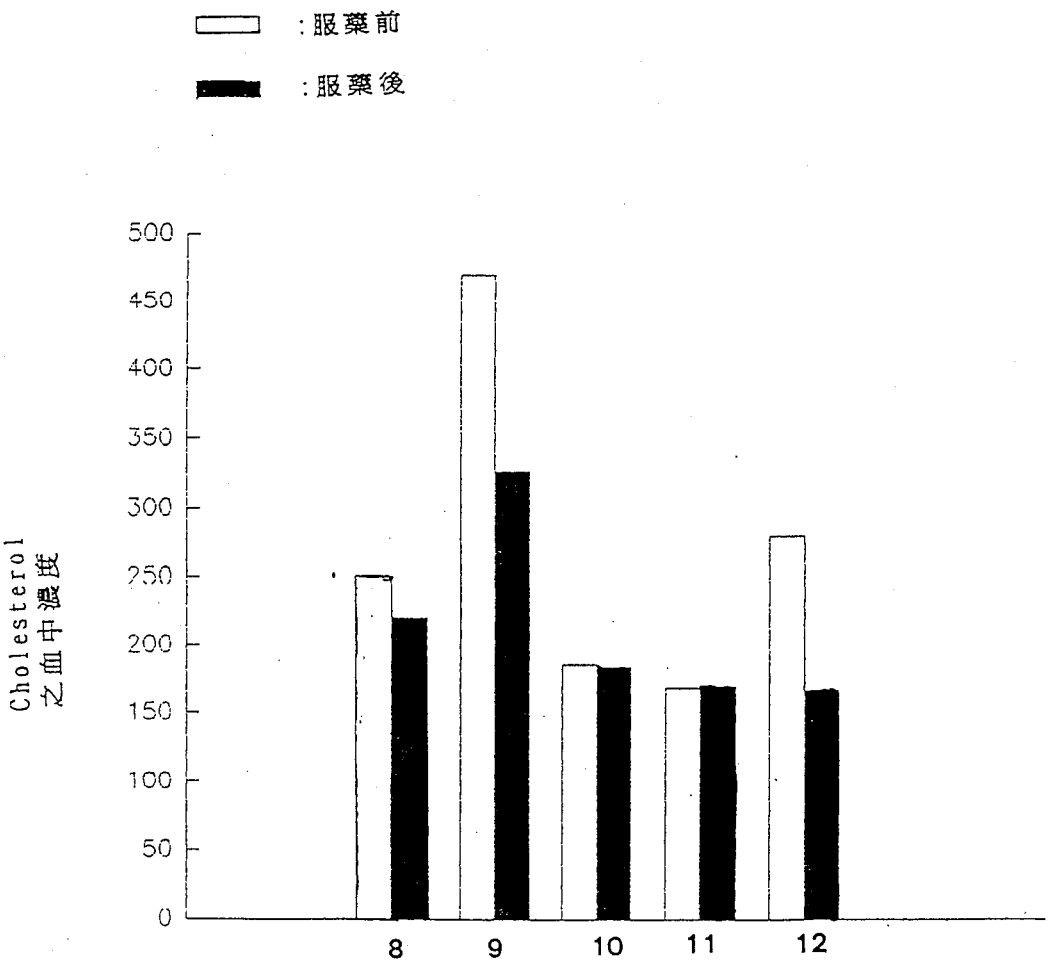
圖十四. 高血脂病人服用降脂方後血中 LDL 的變化



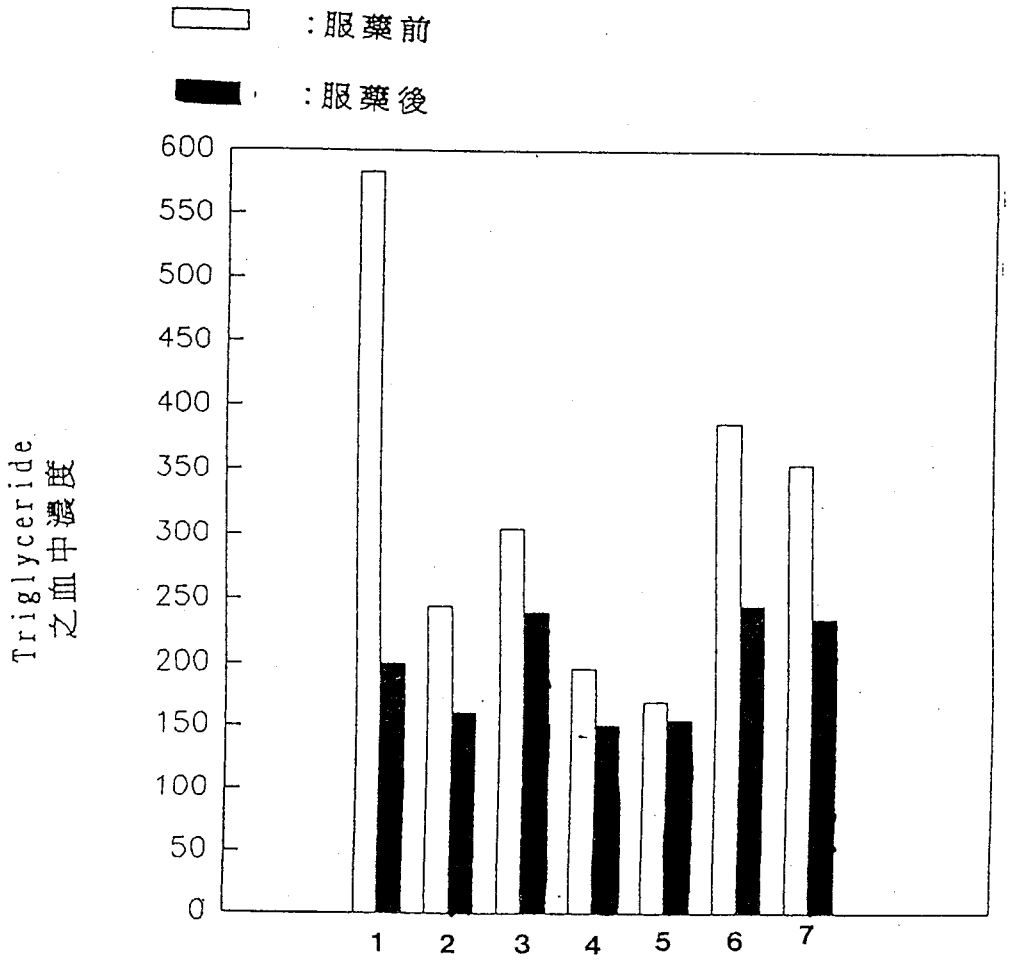
圖十五 高血脂病人服用降脂方後血中 LDL 的變化



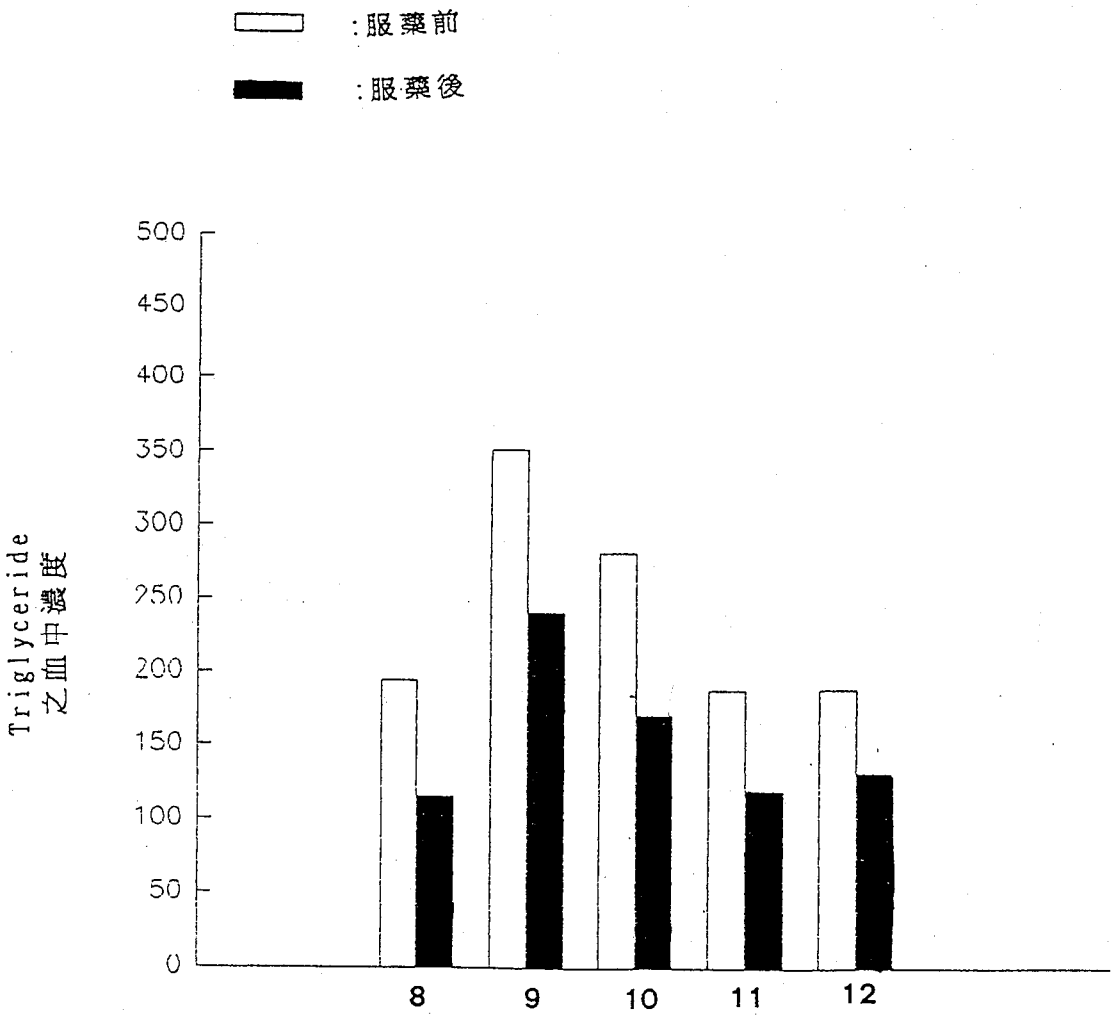
圖十六 高血脂病人服用降脂方加三七後血中 Cholestero



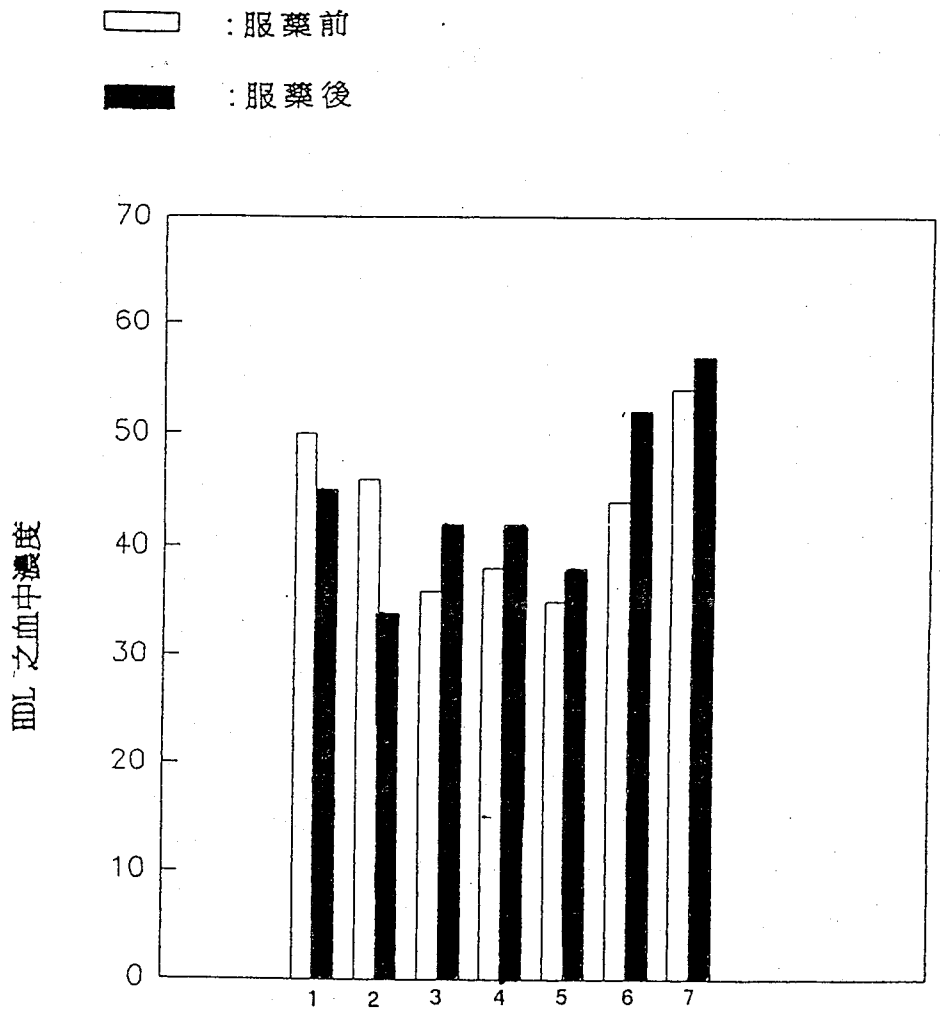
圖十五 高血脂病人服用降脂方加三七後血中 Chlesterol 的變化



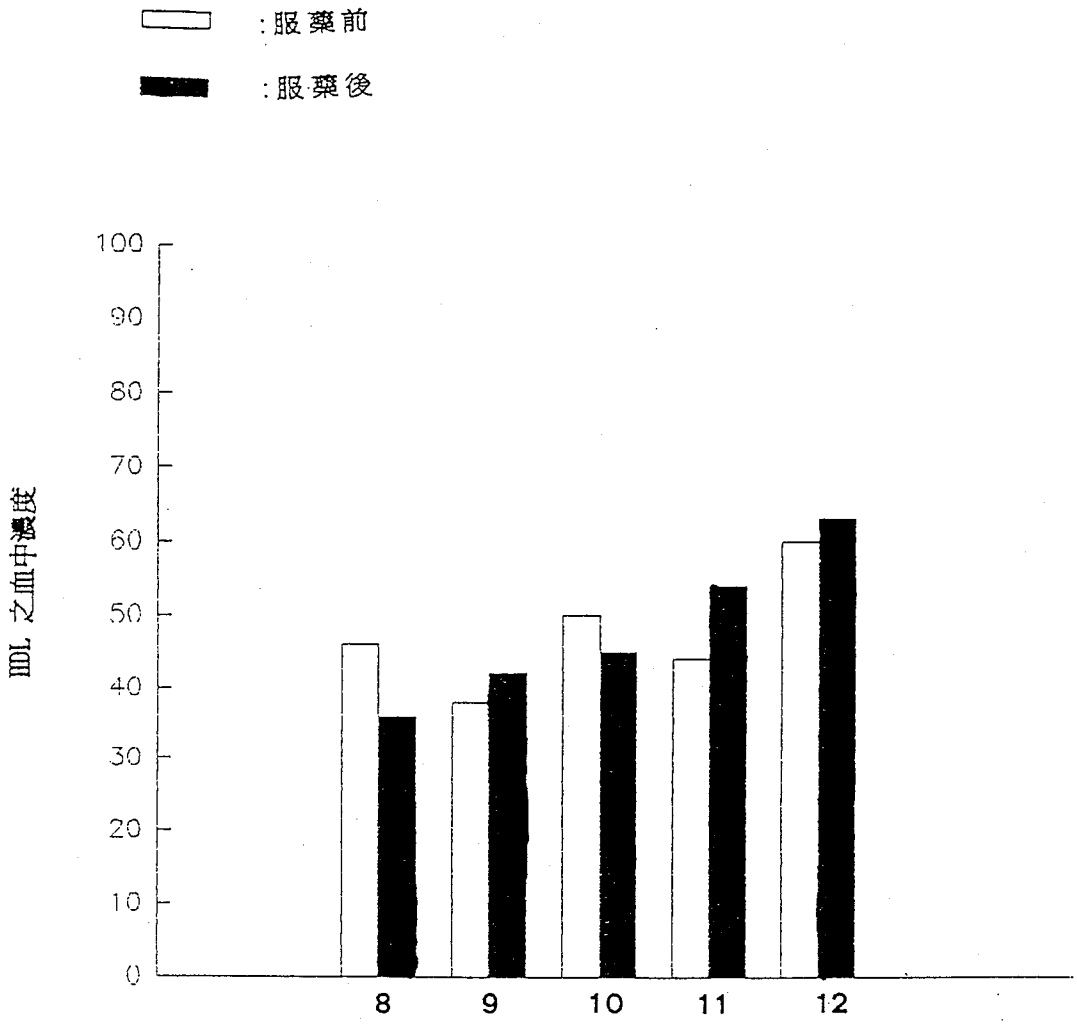
圖十八 高血脂病人服用降脂方加三七後血中 Triglyceride 的變化



圖十六 高血脂病人服用降脂方加三七後血中 Triglyceride 的變化



圖二十 高血脂病人服用降脂方加三七後血中 HDL 的變化



圖二十一 高血脂病人服用降脂方加三七後血中 HDL 的變化.

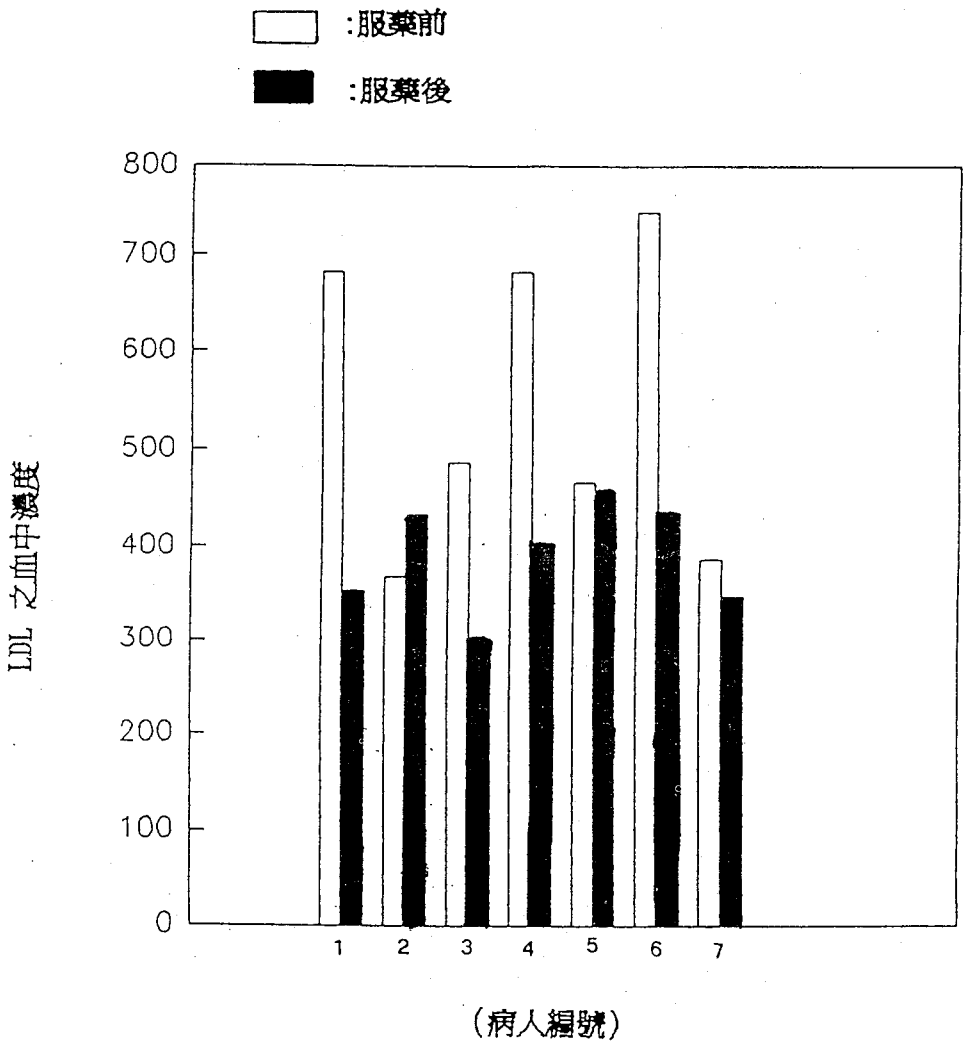
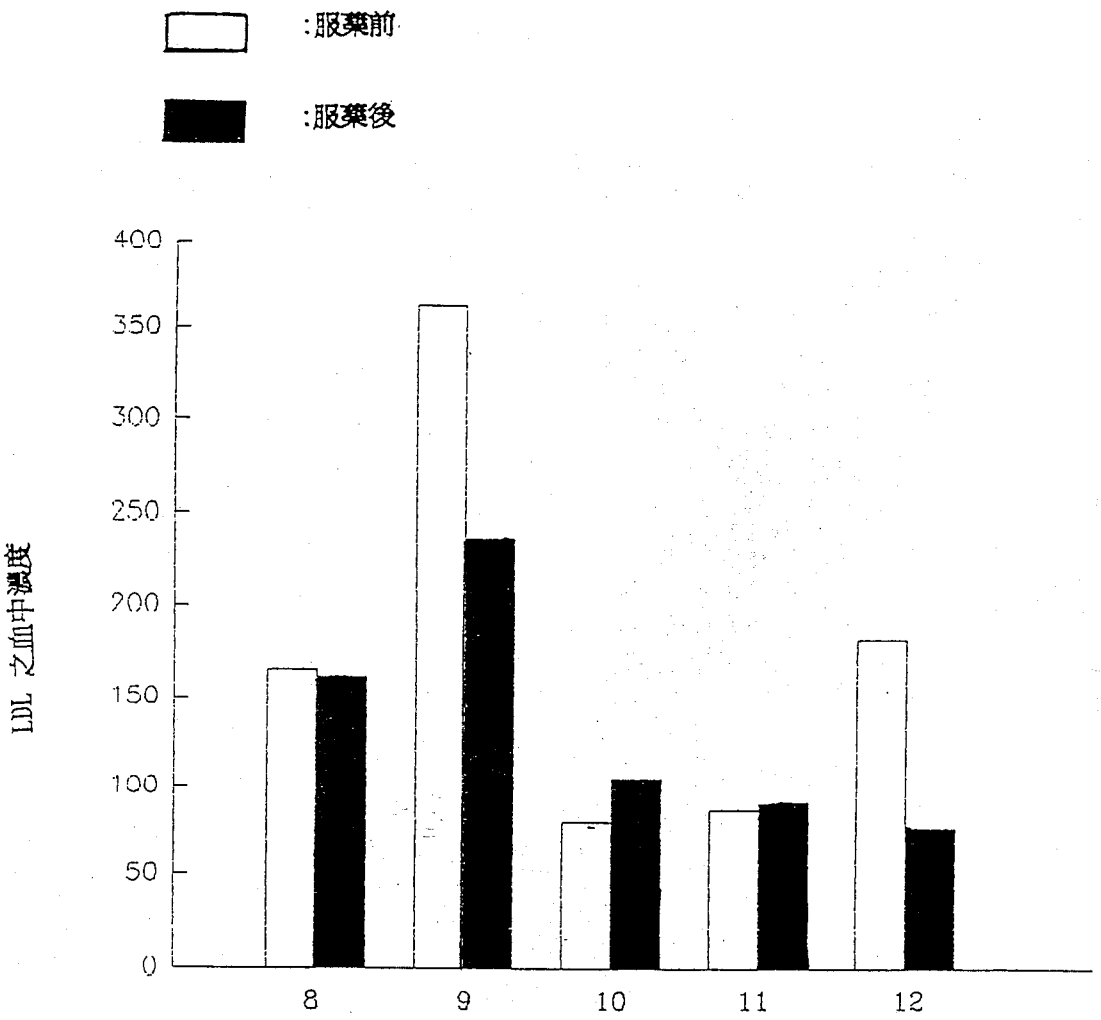


圖 二十二. 高血脂病人服用降脂方加三七後血中 LDL 的變化



圖二十三 高血脂病人服用降脂方加三七後血中 LDL 的變化

表四: 降脂方對高血脂中 Cholesterol, Triglyceride, HDL, LDL 改善百分率 (%)

檢驗項目		1	2	3	4	5	6	7	8
Cholesterol	服藥前	194	194	418	193	261	194	223	231
	服藥後	220	208	259	130	217	185	217	224
	改善率	<—>	<—>	38.0	32.6	63.3	4.6	2.7	3.0
Triglyceride	服藥前	213	233	691	290	562	185	199	251
	服藥後	150	83	241	190	206	140	154	160
	改善率	29.6	64.4	65.1	34.5	63.3	24.3	22.6	36.3
HDL	服藥前	35	34	37	46	35	39	48	39
	服藥後	42	44	38	52	33	65	50	45
	改善率	20.0	29.4	2.7	13.0	<—>	66.7	4.2	15.4
LDL	服藥前	598	485	1170	645	556	311	320	275
	服藥後	432	324	250	432	452	186	304	306
	改善率	27.8	33.2	77.4	33.0	18.7	40.2	5.0	<—>
VLDL	服藥前	299	246	67	86	333	94	54	275
	服藥後	174	181	114	94	270	85	28	28
	改善率	24.0	26.4	正常	18.9	正常	正常	正常	正常

表五：降脂方對高血脂中 Cholesterol, Triglyceride, HDL, LDL 改善百分率 (%)

檢驗項目		9	10	11	12	13	14
Cholesterol	服藥前	235	352	214	446	186	180
	服藥後	220	280	198	312	213	182
	改善率	6.4	20.4	7.5	30.0	14.5	1.0
Triglyceride	服藥前	220	180	292	564	186	253
	服藥後	154	144	230	366	136	180
	改善率	30.0	20.0	21.2	35.0	26.9	28.9
HDL	服藥前	38	48	39	35	46	38
	服藥後	45	50	66	38	50	36
	改善率	18.4	41.7	69.0	8.6	8.7	5.3
LDL	服藥前	153	268	117	298	103	91
	服藥後	144	201	86	201	136	110
	改善率	5.8	25	26.2	32.7	<—>	<—>

表六：降脂方加三七對高血脂中 Cholesterol, Triglyceride, HDL, LDL 改善百分率 (%)

檢驗項目		1	2	3	4	5	6	7
Cholesterol	服藥前	406	205	304	196	168	386	354
	服藥後	250	186	240	150	154	244	235
	改善率	38.4	正常	21.1	正常	正常	36.8	33.6
Triglyceride	服藥前	584	244	188	320	280	187	196
	服藥後	200	160	130	185	150	163	150
	改善率	65.8	34.4	30.9	42.2	46.4	12.8	23.5
HDL	服藥前	50	46	36	38	35	44	54
	服藥後	45	34	42	42	38	52	57
	改善率	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常
LDL	服藥前	684	368	486	684	466	747	386
	服藥後	350	432	302	403	457	435	347
	改善率	48.8	正常	正常	41.1	正常	41.8	正常
VLDL	服藥前	86	186	266	88	342	213	196
	服藥後	74	150	180	90	194	160	178
	改善率	正常	19.4	32.3	正常	43.3	24.9	9.2

表七：降脂方加三七對高血脂中 Cholesterol, Triglyceride, HDL, LDL 改善百分率 (%)

檢驗項目		8	9	10	11	12
Cholesterol	服藥前	250	470	186	168	280
	服藥後	220	326	184	170	166
	改善率	12.0	30.6	1.1	1.2	40.7
Triglyceride	服藥前	194	350	280	187	188
	服藥後	116	240	170	120	132
	改善率	35.0	31.4	39.3	35.8	29.8
HDL	服藥前	46	38	50	44	60
	服藥後	36	42	45	54	63
	改善率	21.7	10.5	10.0	2.3	5.0
LDL	服藥前	165	362	80	87	182
	服藥後	161	236	105	92	77
	改善率	2.7	34.8	<—>	<—>	58.0

參考文獻

1. 許扶甦 "活血化瘀之臨床研究與探討" 華鼎出版社. 1990; p.148-156, p.237-240, p.280-286.

2. Chun-Ching Lin. The clinical pharmacognosy (II). 1988; p.67-81, p.299-313.

3. Morganroth J, Horowitz LN. Flecainide: its proarrhythmic effect and expected changes on the surface electrocardiogram. Am J Cardiol. 1984; 53:89B.

4. Dunn M et al. Antithrombitic therapy in atrial fibrillation. Chest. 1986; 100:881.

5. Lang R et al. Superiority of oral verapamil therapy to digoxin in treatment of chronic atral fibrillation. Chest. 1983; 83:491.

6. Sodermark T et al. Effect of quinidine on maintaining sinus rhythm after conversion of atrial fibrillation or flutter: a multicenter study from Stockholm. Br Heart J. 1975; 37:486.

7. Jacob AS et al. Fatal ventricular fibrillation following verapamil in Wolff-Parkinson-White syndrome with atrial fibrillation. Ann Emerg Med. 1985; 14:159.

8. Davison R et al. Excessive serum lidocaine levels during maintenance infusions: mechanisms and prevention. Am Heart J. 1982; 104:203.

9. Wen-Ter Lai, Yeo-Shin Hwang, Jen-Lin Wang, Hon-Mo Chang: Effects of the oral calcium antagonist, Verapamil, in Chronic atrial fibrillation. Acta Cardio Sinica. 1986; 2:173-179.

10. Edward C. Huycke, Ngai X. Nguyen, Win-Ter Lai, Ruey J. Sung: Spontaneous conversion of atrial flutter to antidromic atrioventricular reciprocating tachycardia in the Wolff-Pardinson-White Symdrome. Am Heart J. 1988; 115:917-919.

11. Wen-Ter Lai, Edward C. Huycke, Ruey J. Sung: Supraventricular tachyarrythmias mechanisms, types, and management. Postgraduate Med. 1988; 83:209-219.

12. Ruey J. Sung, Edward C. Huycke, Wen-Ter Lai, Chuen-Den Tseng, Hui Chu, Edmund C. Keung: Clinical and electrophysiologic mechanisms of exercise-induced ventricular tachyarrthmias. PACE. 1988; 11:1347-1357.

13. Hon-Mo Chang, Yeo-Shin Hwang, Hong-Tu kuo, Wen-Ter Lai, Hong-Ming Lai, Ching-Jeng Lin, Jyh-Shyan Chang: Left ventricular hypertrophy as a possible indicator of systemic embolization in non-rheumatic atrial fibrillation. Kaohsiung J Med Sci. 1988; 4:677-681.

14. Wen-Ter Lai, Edward C. Huycke, Edmund C. Keung, Ngai X. Nguyen, Chuen-Den Tseng, Ruey J. Sung: Electrophysiologic manifestations of the excitable gap of orthodromic atrioventricular reciprocation tachycardia as demonstrated by single extrastimulation. Am J Cardio. 1989; 63:545-555.

15. Frick MH et al. Helsinki heart study: primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. N Engl J Med. 1987; 317:1237.

16. Ahrens EH. The diet-heart question in 1985: has it really been settled? Lancet. 1985; 1:1085.

17. Hoeg JM et al. An approach to the management of hyperlipoproteinemia. JAMA. 1986; 225:512.

18. Philips NR et al. Levels and interrelationships of serum and

lipoprotein cholesterol and triglycerides: association with adiposity and the consumption of ethanol, tobacco, and beverages containing caffeine. Arteriosclerosis. 1981; 1:13.

19. Kesaniemi YA, Grundy SM. Influence of gemfibrozil and clofibrate on metabolism of cholesterol and plasma triglycerides in man. JAMA. 1984; 251:2241.

20. Consensus Conference. Treatment of hypertriglyceridemia. JAMA. 1984; 251:1196.

21. J. Stessman, B. Leibel, Y. Yagil, R. Elaikim, D. Ben-Ishay. Nifedipine in the treatment of hypertension in the elderly. J Clin Pharmacol. 1985; 25:193-196.

22. Dai S., Chan MY., Lee SS., Ogle CW. Effects of Sophora flavescens Ait. on haemodynamics and ventricular fibrillation threshold in anaesthetized dogs. American Journal of Chinese Medicine. 1987; 15(1-2):53-57.

23. Ma YX. Cnen SY. Observations on the anti-aging, antihypertensive and antihyperlipemic effect of Apocynum venetum leaf extract. Chinese Journal of Integrated Traditional & Western Medicine. 1989; 9(6):335-7.

24. Jia B. Bao L. Effects of tiao-zhi-tang on lipoprotein and apolipoprotein in hyperlipemic patients. Chinese Journal of Integrated Traditional & Western Medicine. 1990; 10(1):22-4.

25. Shi Z. Liu C. Li R. Effect of a mixture of Acanthopanax senticosus and Elshotzia splendens on serum-lipids in patients with hyperlipemia. Chinese Journal of Integrated Traditional & Western Medicine. 1990; 10(3):155-6.

26. Bao YX. Zheng DS. Bian YT. Further exploration on the effect of some Chinese anti-arrhythmics on cardiac conductive system. Chinese Journal of Integrated Traditional & Western Medicine. 1987; 7(9):541-3.

27. Liang XC. Guo SS. Effect of jiang-zhi zhong-yao-pian on total cholesterol, triglyceride, TXB2, 6-keto-PGF1 alpha in hyperlipemic patients. Chinese Journal of Integrated Traditional & Western Medicine. 1991; 11(1):20-22.

28. Qiu WS., Chen KJ., Li CS. Hyperlipidemia treated with xiaobu jianfei pian. Chinese Journal of Integrated Traditional & Western Medicine. 1990; 10(9):532-4.

29. Huang YM., Shen SF. Experimental and clinical studies of the effect of dahuang zhechong wan on hyperlipemia. Chinese Journal of Integrated Traditional & Western Medicine. 1989; 9(10):589-592.

30. Li GR., J XG., L:u FH. Effects of neferine on transmembrane potentials of guinea pig myocardium. Acta Pharmacologica Sinica. 1989; 10(5):406-410.

31. Zhu X., Chu R. A comparison of anti-arrhythmic effects of four kinds of rhizoma seu radix Nomopterygii. China Journal of Chinese Materia Medica. 1990; 15(6):366-8.

32. Mei QB., Tao JY., Gao SB., Xu GC., Chen LM., Su JK. Anti-arrhythmic effects of Cordyceps sinensis(Berk.) Sacc. China Journal of Chinese Materia Medica. 1989; 14(10):616-8.

33. Hu XC., Cai FX., Tian JC., Feng XQ., Ma L. Antihyperlipidemic capsules in the treatment of hyperlipidemia and its clinical effect on hemorheology and aggregation of thrombocytes. Journal of Traditional Chinese Medicine. 1989; 9(3):199-202.

34. Li XJ., Zhang BH. Studies on anti-arrhythmia effects of panaxatriol saponins isolated from panax notoginseng. Acta Pharmaceutica Sinica. 1988; 23(3):168-173.

35. Wainwright CL., Parratt JR., Van BH. The antiarrhythmic effects of the nucleoside transporter inhibiter, R75231, in anaesthetized pigs. British J Pharmacology. 1993, 109(2):592-599.

36. Aupetit JF., Timour Q. Larbre JP., Loufoua-Moundanga J., Kioueh I. Lopez M., Faucon G. Arrhythmogenicity of antiarrhythmic drugs and intraventricular conductioon disorders: possible aggravation by myocardial ischemia--study in the porcine in situ heart. Cardiovascular Durgs & Therapy. 1993, 7(2):217-223.

37. Li BY., Zhang YC., Li WH. Effects of berbamine on contraction and Ca++ influx of pig basilar artery. Acta Pharmacologica Sinica. 1993, 13(5):412-416.

38. Wainwuight CL., Parratt JR. Effects of R-PIA, a selective A1 adenosine agonist, on haemodynamics and ischaemic arrhythmias in pigs. Cardiovascular Research. 1993, 27(1):84-89.

39. Muller CA., Opie LH., Peisach M., Pineda CA. Antiarrhythmic effect of the angiotensin converting enzyme inhibitor perindoprilat in a pig mode of acute regional myocardial ischemia. J Cardiovascular Pharmacology. 1992, 19(5):748-754.

40. Wilson AL., Womble SW., Prakash C., Cragoe EJ., Blair IA., Limbird LE. Novel amiloride analog allosterically modulates the alpha 2-adrenergic receptor but dose not inhibit Na+/H+ exchange. Molecular Pharmacology. 1992, 42(2):175-179.

41. Timour Q., Aupetit JF., Loufoua MJ., Kioueh I., Omar S., Chevrel G., Faucon G. Role of asynchronous activation of the ventricular fibres by an ectopic pacemaker in the accidents, especially fibrillation, caused by Ic antiarrhythmic drugs. Fundamental & Clinical Pharmacology. 1992, 6(4-5):159-167.

42. Winslow E., Mason R. Comparative hemodynamic effects of Org 7797, flecainide and propafenone in anesthetized pigs with developing myocardial infarcts. J Cardiovascular Pharmacology. 1992, 19(3): 435-441.

43. Timour Q., Aupetit JF., Loufoua MJ., Gerentes CI., Kioueh I. Faucon G. Class Ic antiarrhythmic drugs and myocardial ischaemia: study in the pig heart in situ. Narnyn-Schmiedebergs Archives of Pharmacology. 1991, 343(6):645-651.

44. Janse MJ., Wilms SF., Opthof T. Mechanism of antifibrillatory action of Org 7797, in regionally ischemic pig heart. J Cardiovascular Pharmacology. 1990, 15(4):633-643.

45. Winslow E., Martorana M., Bell P. Electrophysiologic effect of Org 7797, a new steroidal antiarrhythmic agent: comparison with class 1a, 1b, and 1c drugs. J Cardiovascular Pharmacology. 1989, 14(2):205-212.

編號 DOH84-CM-035

台產延胡索抗血栓藥物研究

Studies on the antithrombotic drug of Formosan Corydalis tashiroi

林勝豐　林忠男　林獻誠

高雄醫學院

摘　　要

由台產延胡索分離而得到的 palmatine，經半合成而得到的 Dihydropalmatine iodide 及 13-methylpalmatinum iodide 可抑制花生四烯酸與膠原所造成洗滌兔子血小板凝集，但對凝血胺及血小板活化因子 (PAF) 所引起之上述反應無影響，且 Dihydropalmatine iodide 及 13-methylpalmatinum iodide 可抑制人類富含血小板血漿因受 ADP 及腎上腺素所引發之凝集之第二相，而對第一相則無影響，且與所用之濃度有關，以上結果顯示 Dihydropalmatine iodide 與 13-methylpalmatinum iodide 二者之抗血小板作用是起因於抑制血栓素之形成而來。

英文摘要：

Studies on the antithrombotic of Formosan Corydalis tashiroi Sheng-Fung Lin, Chum-NanLin, Hsien-cheng Lin Department of Medicine,

School of Pharmaceutical Institute* and School of Techology for Medical Science.**Dihydropalmatine iodide and 13-methylpalmatinum iodide were synthesized from Formosan Corydalis tashiroi. Both antiplatelet agents were shown to inhibited the aggregation of washed rabbit platelets induced by arachidonic acid and collagen, but were not induced by thrombin and PAF. In human platelet-rich plasma, Dihydropalmatine iodide and 13-methylpalmatinum iodide inhibited the secondany, but not the primary aggregation induced by ADP and epinephrine, and in a concentration-dependent manner. It is concluded that the antiplatelet effects of Dihydropalmatine iodide and 13-methyphalmatinum iodide are due to the inhibition of thromboxane formation.

前　言

延胡索 (Corydalis) 是古方非常重要的方劑之一，有行血、活血散瘀止痛的功效，而被用於治療血栓症，跌打損傷，月經痛等疾病。

近代的科學研究也顯示由延胡索甲醇抽出物分離精製而得到的成分 protpine ，在體外實驗中具有抑制血小板凝集的功能(1)；而且在體內實驗中，具有抑制 ADP ， AA ， collagen 引發小白鼠急性肺栓塞死亡之功能(2)。

而台產延胡索 (Corydalis tashiroi) 的成分 palmatine 經半合成而得到的 (Dorydropalmatine iodide 及 13-methylpalmatinumiodide ，其構造、化學性質也被報告出來(3)(4)，因此吾人想試圖探討台產延胡索 (Corydalis tashiroi) 成分之抗血栓藥物之作用機制。

材料與方法

1. 由台產延胡索 (Formosan Corydalis tashiroi) 淬取分離 palmatine，再經半合成得到 Dihydropalmatine iodied 及 13-methylralmatinum iodide 可參考文獻(3)(4)。
2. Dihydropalmatine iodide,13-methylpalmetinum iodide 及 protopine 之結構可參考圖(1)，(2)，(3)。
3. 富含血小板血漿的製備

以 3.8% 的 sodium citrate 爲抗凝劑，與全血以 1:14(V/V) 之比例混合，在室溫下立刻以 90xg 離心 10 分鐘，所得上層液即爲富含血小板血漿。

4. 血小板懸浮液的製備

根據 Teng et al.(1987) 的方法，用 100mM EDTA 與兔子 (New Zealand White) 耳靜脈抽出以 1:14(V/V) 的比例混合，在室溫下立即以 90xg 離心 10 分鐘，取出上層富含血小板血漿後，再於 500xg 離心 10 分鐘。除去血漿後，將下層血小板以含有 EDTA(2mM) 及 bovine serum albumin(BSA,3.5mg/ml) 的 Tyrode 溶液懸浮之，並於相同轉速下離心 10 分鐘，所得血小板以不含 EDTA 的 Tyrode 溶液懸浮並離心後，再以 Tyrode 溶液使其懸浮，計算血小板數目，調整其計數爲 4.5×10^8 platelet /ml，最後加入 1mM Ca^{++}，靜置 30 分鐘後，進行實驗，Tyrode 溶液除了含有 BSA 外，其它組成如下：(mM)：Nacl(136.9)，Kcl(2.7)，Mgcl2(2.1)NaH_2po4(0.4)，NaHCO3(11.9)，glucose(11.1)

(4)血小板凝集反應測定

血小板凝集反應乃根據 O'Brien(1962) 之混濁度測定法，以 Lumi-aggregometer (Chrono-Log Co.U.S.A.) 測之，將製備好的血小板加入經 silicone 包衣的小玻璃管中，並以小磁棒做每分鐘 1200 轉的攪拌。若未特別說明，均在加入凝集引發劑前 3 分鐘添加抑制劑，全部過程皆在

37 °C下進行，爲了避免溶媒影響到凝集反應的測定學藥品溶於 DMSO 時， DMSO 的最終濃度皆控制在 0.5% 。

5. 試劑：

Collagen(Tyhe I ,lovine achilles tendon), anachidonic acid(AA), adenosine-5'-diphosphate (ADP, sodiumpalt) bovine serum albumin (BSA),indomenhacin, ethylenedcaminetetracetic acid(EDTA, disodium salt)sodcium citrate, epinephrine 等藥品皆購自 Sigme Chem.Co.,U.S.A.; thrombin (bovine) 購自 Park Davis Co.U.S.A; platelet activating factor (PAF) 購自 Calbiochem-Behring Co.,U.S.A.)

6. 資料分析：以 Student's T-test 處理。

結　果

1. Dihydropalmatine iodide 及 13-methylpalmatinum iodide 對於洗滌兔子血小板凝集的影響：

由 Table 1. 可知 Dihydropalmatine iodide (300μg/ml) 及 13-methylpalmatinum iodide(300μg/ml) 抑制了由花生四烯酸 (100μM,AA) 及膠原 (collagen 10μg/ml) 所引起洗條兔子血小板凝集作用，但不影響由凝血每 (Thrombin 0.1U/ml) 及血小板活化因子 (PAF 2nM) 所引起洗滌兔子血小板凝集作用。

2. Dihydropalmatine iodide 及 13-methylpalmatinum iodide 對於人類富含血小板血漿凝集的影響，由 Table 2 ， Table 3 及圖四、圖五來分析可看出 Dihydropalmatcire iodide 及 13-methylpalmatinum iodide 可抑制由 ADP 及腎上腺素 (epinephrine) 所引起人類富含血小板血漿之凝集作用，且與濃度有關。

討　論：

從本研究可以觀察到，由台產延胡索的成分 palmatine ，經半合成而得到的 Dih ydropalmatine iodide 及 13-methylpalmatinum iodide 可以抑制由花生四烯及膠原所引起洗滌兔子血小板凝集作用，但不影響由凝血酶及血小板活化因子所引起的上述反應，而在人類富含血小板血漿的凝集方面， Dihydropalmatine iodide(300ug/ml ， 150ug/ml) 可抑制由 ADP 所引起之人類富含血小板血漿所引起之凝集作用，而 13-methlpalmatinum iodide(300μg/ml,150μg/ml,100μg/ml) 可抑制由 ADP 所引起之人類富含血小板血漿所引起之凝集作用，而 Dihydropalmatine iodide(300μg/ml,150μg/ml, 100μg/ml) 可抑制由 epinephrine 所引起之人類富含血小板血漿之凝集作用， 13-methylpalmetinum iodide(300μg/ml,150μg/ml 及 100μg/ml) 也可抑制由 epinephrine 所引起之人類富含血小板血漿之凝集作用。

結　論：

與延胡索的成分 protopine 一樣，台產延胡索的成分 palmatine ，經半合成而得到的 Dihydropalmatine iodide300ug/ml 及 13-methylpalmatinum iodide(300μg/ml) 可抑制由花生四烯酸及膠原所引起之洗滌兔子血小板凝集作用；且 Dihydropalmatine iodide 及 13-methylpalmatinum iodide 亦可抑制由 ADP 及 Epinephrine 所引起之人類富含血小板血漿之凝集反應之第二相，而對第一相則無影響，因此其抗血小板作用主要是抑制於血栓素之形成而來， Dihydropalmatime iodide 及 13-methylpalmat-

inum iodide 其抑制作用在人類富含血小板血漿比在洗滌兔子血小板要強，且較有選擇性；且其構造與 protopine 類似，若在其結構上再加以修飾，合成，或許其抗血栓作用會更強，確實是值得進一步開發和應用。

致　謝：

感謝台大藥理研究所鄧哲明教授及柯逢年老師 在實驗方面的指導與協助。

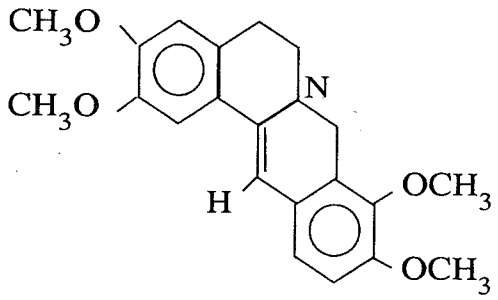
感謝研究助理柯宏慧小姐在實驗上之協助。

參考文獻

1. Matsuda, H; H.Shiomoto, S. Naruto, K. Namba and M.Kubo, 1988a, Antithrombotic action of methanol extract and alkaloid components from Corydalis tuber, PlantaMed.54, 27-33.
2. Matsuda, H.; H. Shiomoto, K. Namband M. Kubo 1988b. Effects of protopine on blood platelet aggregation; 1, planta Med.54, 498-501.
3. Lu. S.T; C.N.Lin and T.S.Wu, 1992, Studies on the alkaloid of Formosan Corydalis Part Ⅳ ,Alkaloid of Corydalis tashiroi Makino, J. Chinese Chem, Soc, 19,41.
4. Lu, S.T; J, F. Hwang, T.S.Wu; A.T.Mc Phail and K. H. Lee, 1989.

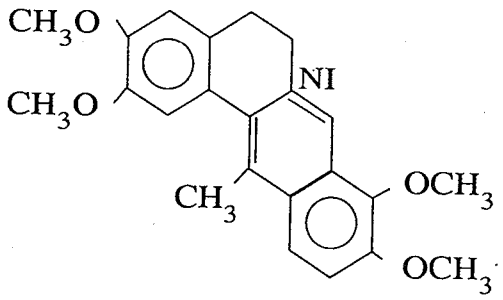
alkaloids of Corydalis pallida var. Sparsimamm (Ohcoi) Ohwi Phytochemistry 28; 1245.

Fig 1.



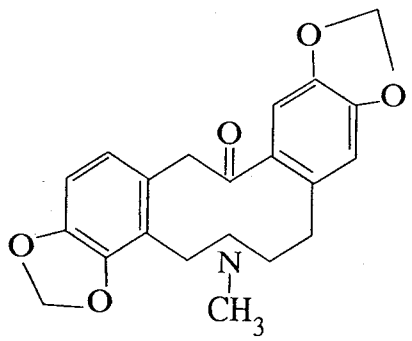
Dihydropalmatine iodide

Fig 2.



13-methylpalmatinum iodide

Fig 3.



protopine

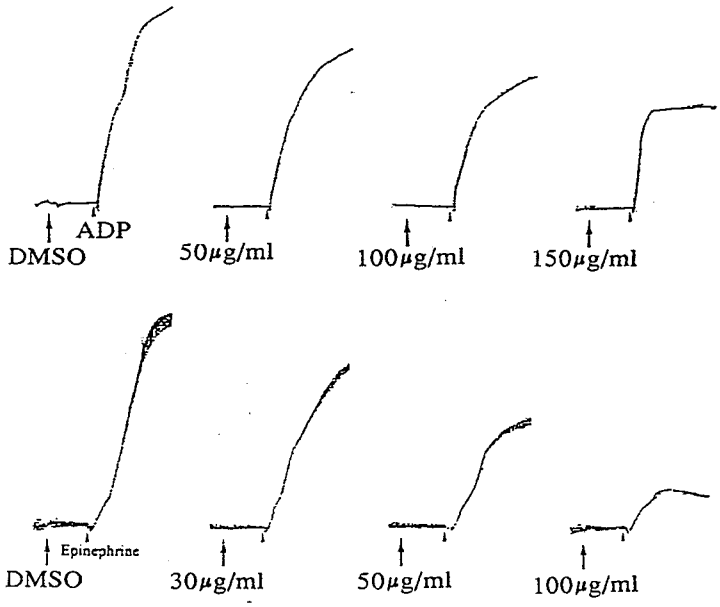


Fig 4. Inhibitory effect of Dihydropalmatine iodide of human platelet-rich plasma induced by ADP and epinephrine. Platelet-rich plasma was incubated with Dilrydropalmatine iodide of various concentrations DMSO (0.5%) for 3 min, then ADP (5μM) or epinephrine (5μM) was added to trigger the aggregation.

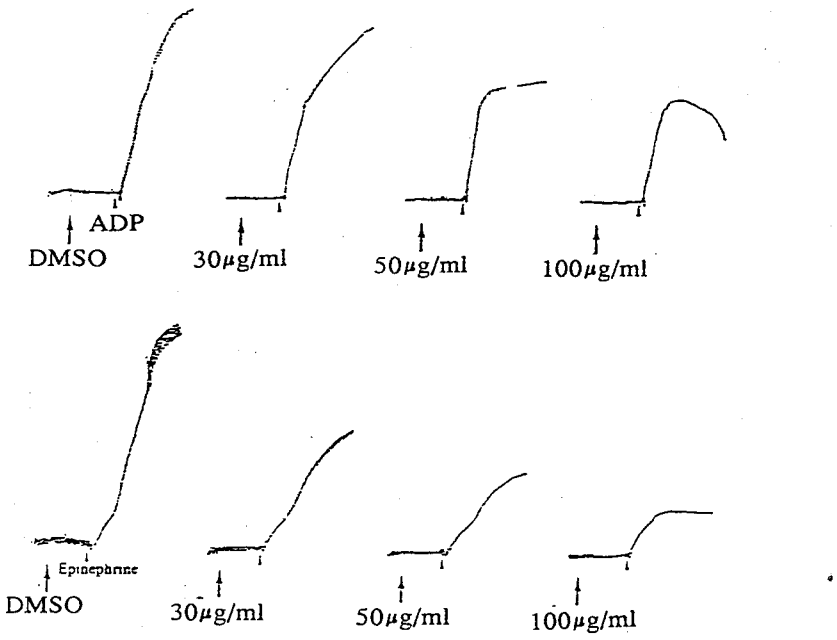


Fig 5. Inhibitory effect of 13-methylpalmatinum iodide on the aggregation of human platelet-rich plasma induced by ADP and epinephrine. Platelet-rich plasma was incubated with 13-methryl ralmatinum iodide of various concentrations or DMSO (2.5%) for 3 min, then ADP (5 μg/ml) or epinephrine (5 μM) was added to trigger the aggregation.

Table 1. Effect of Dihydropalmatine iodide and 13-methylpalmatinum iodide on the aggregation of washed rabbit platelets

Inducer	aggregation (%)		
	control	with Dihydropal-matine iodide	with 13-methylpalmat-inum iodide
Thrombin	86.2 ± 0.8(4)	83.1 ± 2.2(3)	81.7 ± 3.2(3)
arachidonic acid	82.7 ± 1.1(6)	70.8 ± 2.8***(3)	80.5 ± 1.5(3)
collagen	80.5 ± 0.6(3)	60.6 ± 5.7**(3)	57.1 ± 15.7(3)
PAF	88.5 ± 1.0(5)	83.5 ± 3.3(4)	85.1 ± 1.7(4)

Platelets were preincubated with Dihydroplmatine iodide (300ug/ml) and 13-methylpalmatinum iodide (300ug/ml) or 0.5%DMSO (control) at 37 °C for 1 min, then Thrombin (0.1%v/ml), arachidonic acid (100uM), collegen (10ug/ml), PAF (2nM) was added. Values are presented as mean ± .M. (n).

*:$p<0.05$, **:$p<0.01$, ***$p<0.001$ as compared with the respectcnie control.

Table 2. Effect of Dihydropalmatine iodide on the aggregation of human platelet-rich plasma.

Inducer	Dihydropalmatine iodide	Control		
		100ug/ml	150ug/ml	300ug/ml
ADP	97.4 ± .5.4(3)	89.2 ± 2.2*	22.3 ± 3.1**	9.4 ± 1.3**
Epinephrine	97.28 ± 7.52(3)	25.75 ± 2.92**	11.84 ± 5.89**	12.64 ± 4.34**

Human platelet-rich plasma was preiucubated with Dihydropalmatine iodide (100ug/ml, 150ug/ml or 300ug/ml) or 0.5% DMSO (control) at 37 °C for 1 min, then ADP (5uM) or Epinephrine (5uM) was added. Percent aggregation is presented as means ± S.E.M. (n).

*:$p<0.05$, **:$p<0.01$, ***:$p<0.001$ as compared with the respective control.

Table 3. Effect of 13-methylpalatimum iodide on the aggregation of human platelet-rich plasma.

Inducer	Control	13-methylpalmatinum iodide		
		100ug/ml	150ug/ml	300ug/ml
ADP	97.4 ± 5.4(3)	23.74 ± 2.4**	21.1 ± 1.4**	12.74 ± 3.0**
Epinephrine	97.28 ± 7.52(3)	21.94 ± 0.97**	26.1 ± 2.35**	13.96 ± 2.25**

Human platelet-rich plasma was preincubated with 13-methylpalmatinum iodide (100ug/ml, 150ug/ml or 300ug/ml) or 0.5% DMSO (control) at 37 °C for 1 min, then ADP (5uM) or Epinephruire (5uM) was added. Percent aggregation is presented as means ± S.E.M. (n).

*:$p<0.05$, **:$p<0.01$, ***:$p<0.001$ as compared with the respectine control.

編號 DOH84-CM-036

天灸及其修改灸法抗腫瘤效應及其作用機轉之研究（Ⅰ）

郝道猛　林昭庚

國立清華大學

摘　　要

灸療法是我國統醫學中的重要部份。本研究的目的，在探討兩種天灸及其修改灸法治療實驗性皮下腫瘤的療效，以供臨床治癌的參考，並探討其療效的部分機制，以供針灸醫學的實驗性理驗，藉以發揚我國傳統醫學。

本實驗選用 ICR 種系，6 至 8 週大的雄性鼷鼠 480 隻，將 1×10^7 個肉瘤 (Sarcoma-180) 細胞接種到鼷鼠臀部皮下，使腫瘤體積長至 $0.33 \pm 0.0\ 2cm^3$ 時，將荷瘤鼷鼠分爲腫瘤對照組及使用各種灸法處理之實驗組，包括直接艾條灸，（分爲 2，3 及 4 次處理）。天灸部份，包括蒜泥灸及斑蝥灸（皆分 3 及 4 次處理），另有蒜泥加艾條灸及斑蝥加艾條灸作爲其修改灸法。在施灸過程中，以測溫探針插入腫瘤內，測量溫度分佈情況以作爲溫度控制之基準。治療完成後，每天記錄鼠隻的存活情形，計算各組的死亡率，腫瘤控制率及平均存活時間，及延長壽命的比例，作爲療效評估的依據。本研究並用放射性 ^{86}Rb 追蹤法探求灸法處理後，腫瘤內血流情形。本研究結果顯示：艾條灸以施治 4 次者的療效較佳。天灸部份，不論是蒜泥灸或斑蝥灸的療效皆不彰。但其修改灸法，即在塗蒜泥或斑蝥之後再加以艾條灸後，均有顯著的療效。

本研究結果並顯示：施灸時腫瘤內溫度的分佈及其改變，以及施灸後，腫瘤內血流的情形，均可闡明其療效的部分機制。

Stuides on Antitumor Effect and its Mechanism of Natural Moxibustion and its Modifier (I)

Dou-Mong Hau[1], Jaung-Geng Lin[2]

1. Institute of Radiation Biology, National Tsing-Hua University, Hsinchu, Taiwan, R.O.C.
2. Institute of Chinese Medicine, China Medical College, Taichung, Taiwan, R.O.C.

ABSTRACT

Moxibustion is an important part in traditional Chinese medicine. The present study was conducted to compare the therapeutic effect of stick moxibustion, natural moxibustion and its modifier. A part of mechanism of the therapeutic effect in natural moxibustion and its modifier were also explored in the study.

In this research, male young mice (ICR strain), 6-8 weeks of age, were chosen to implant Sarcoma 180 cells (1×10^7) into the subcutaneous tissue of sacral part. When the subcutaneous tumor of mice grew to 0.33 ± 0.02 cm^3 in volume, tested mice were chosen randomly to divide into tumor control group and some experimental groups. The experimental groups were treated with stick moxibustion, natural moxibustion and its modifier. The natural moxibustion is that tumor is treated directly with mush of garlic or mylabris. The modifier of natural moxibustion is that the tumor is treated by stick moxibustion with a septum of garlic or mylabris mush.

The present results revealed that the natural moxibustion of garlic or

mylabris showed the lower therapeutic effect on the subcutaneous tumor of mice. However, the modifier of natural moxibustion of garlic or mylabris showed the better therapeutic effect on tumor. The results also revealed that the temperature changes in tumor during treatment of moxibustion, and the blood flow in tumor after moxibustion showed that the mechanism of the therapeutic effects in stick moxibustion, natural moxibustion and its modifier.

前言

科學進步日新月異，人類文明日益精進。醫學的迅速發展對人類健康的維持及科學的進步，扮演著很重要的角色。然而，在對抗疾病中卻遇到了棘手的難題，就是癌症的防治。難怪世人常談癌色變。不僅在歐美等先進國家，甚而在我國的台灣地區，癌症以成爲十大死亡原因的首位。爲了減少民眾的痛苦與死亡，進行有關的防治癌症的工作實在很重要。

目前應用在臨床上的治癌方法，有外科手術、放射治療、化學藥物治療及中草藥治療等方法。尚在開發及實驗中的療法有高溫療法，光動力療法及免疫療法等。在高溫療法中，則包括全身性及局部性高溫。在國外所用的局部性高溫有微波、超音波及射頻等方式。而在我國傳統醫學中的灸療法，實爲局部高溫療法的另一型式。

針灸爲我國傳統醫學的重要部分，在臨床上對一些疾病有很好的療效。然而其實驗性的基礎理論尚有待充實。況且，隨著時代的進步，針灸科學也需要充實與發揚。主持人多年來從事輻射生物學及基礎醫學的教學與研究，在針灸科學方面完成二十多篇研究報告，其中有關艾灸加強免疫及治癌的研究報告有 15 篇（1-15）。在國內外，也有一些相關的研究報告，證實灸法具有加強免疫力及抗瘤的效應（16-22）。以往本研究室採用灸法多爲艾粒灸，也曾用艾粒、

艾柱、 隔薑、 隔蒜等灸法做比較研究（ 11 - 13 ）。 於今見到有關天灸及雀啄灸式的艾條灸的記載（ 23 ）， 頗有興趣，擬將之加以改進， 藉以提升其療效， 以供臨床治療腫瘤改進的參考。 並擬引用放射性同位素 ^{86}Rb 追蹤法（ 24 ）， 探求每次用灸處理後， 腫瘤內供血情形， 以探討其治瘤療效的可能機制， 藉以充實針灸科學的實驗性理論。 希望能對我國傳統醫學的發揚有所貢獻。

材 料 與 方 法

一. 實驗材料:

(一). 實驗動物:

本實驗所用之動物，乃購自台大醫學院實驗動物中心， 爲 ICR 種系雄性鼷鼠， 6 至 8 週齡大， 共 480 隻， 餵以福壽實業股份有限公司出產之鼠類桿狀飼料， 並充分供給飲水。

(二). 癌細胞:

本實驗係選用肉瘤 180 細胞 (Sarcoma-180)， 以體內培養方式， 每次將 1×10^7 個癌細胞接種到鼷鼠腹腔， 每 7 天接種一次， 以維持癌細胞供應。

(三). 艾灸材料:

1. 艾條: 購自臺北同德堂國藥號。艾柱的圓徑約 1.5 公分;其長度爲 62.5 公分。艾條的平均重量爲 850-900 mg。

2. 蒜: 購自傳統市場。 蒜爲百合科植物。 將大蒜的鱗莖，

切成片狀，將之搗成蒜泥，作爲直接塗敷的天灸及其修改灸法之用。

3. 斑蝥：係由臺北鴻源生藥行提供。將屬於莞青科(Meloidea) 的斑蝥乾燥虫體研磨成細粉，以甘油調成每 3 ml 含 150 mg 斑蝥的濃稠度，作爲塗敷腫瘤表面的斑蝥灸（天灸）及其修改灸法之用 。

二. 實驗方法:

（一）腫瘤接種:

將長有腹水癌細胞的鼷鼠，以頸椎脫臼方式犧牲，取出腹水液。經均勻震盪後，與 0.4 % trypan blue 等量稀釋並染色，以血球計數器計數，用顯微鏡檢視，測定每毫升所含腹水癌活細胞數目。再以 1×10^7 個活腹水癌細胞，接種於鼷鼠後臀部皮下，待 7 - 10 天，俟其腫瘤體積大小長至 0.31 - 0.36 cm 時，將荷有腫瘤鼷鼠逢機分組，進行處理。

（二）腫瘤分組及處理:

所有實驗動物，除了腫瘤對照組（腫瘤對照組不予以任何處理者，共 30 隻鼠）外，其餘分爲以下數組:

1. 直接艾條灸:

直接以艾條在腫瘤表面以雀啄灸方式施治。分爲 2，3 及 4 次。每次灸治時間爲 10 分鐘。2，3 及 4 次之樣本數各爲 25 隻鼠，以下各組療程實驗隻數皆爲 25 隻。

2. 斑蝥天灸及其修改灸法:

將以調好的斑蝥液，塗敷在腫瘤表面，以斑蝥粉末糊塗滿於腫瘤表面，粉末不掉落爲主，分別施灸 3 及 4 次。其修改灸法乃以斑蝥塗敷後，再加以艾條灸之，僅施治4 次。雀啄灸方式不變。

3. 蒜泥天灸及其修改灸法:

以搗好的蒜泥，平敷於腫瘤表面上，蓋滿腫瘤成薄層爲止，施灸 3 及 4 次。其修改灸法乃在蒜泥塗敷後，再以雀啄艾條灸施治4 次。

(三) 實驗處理:

1. 每隻動物接受實驗時，將其固定於不　鋼固定架上，使鼷鼠處於平穩不掙扎的平趴狀態，作爲治療的準備。

2. 開始治療時，接受艾條灸者，以美國 YSI 公司出品的測溫探針，先行校正後，插入腫瘤內上、中、下層，各爲距離腫瘤表面 3，6，10 mm 的深處；及中層旁開 3 mm 與腫瘤外正常組織處（距腫瘤約 5 mm 處），共插五根探針，測量一次施灸由開始治療至結束的溫度分佈情形。

3. 治療過程中，以腫瘤最下層，與探針相連的溫度計顯示溫度達高溫療法的臨界溫度（42.5℃ - 43.0℃）及老鼠的反應爲度，作爲行雀啄灸的依據，並以控制臨界溫度的維持至療程完畢爲止。

4. 每次施灸需時約 10 分鐘，灸 5 分鐘時換另一艾條，一次施灸皆灸兩個小艾條。

5. 實驗完畢，鼠隻餵以充分的桿狀飼料及飲水，觀察

並記錄在 120 天內， 各組鼠隻的腫瘤控制及死亡情形。

6. 各實驗組動物在接受灸法處理後一小時內接受 ^{86}Rb 的尾靜脈注射 (i.v.)， 於注射後的第 1， 5 及 24 小時將腫瘤取下， 稱重，直接用自動 γ 計數器測定組織內所含有 ^{86}Rb 放射活性的強度 (cpm)， 以評估腫瘤內血流的相對大小。

（四）測定項目:

1. 溫度測量:

由測量溫度探針測出的溫度， 每兩分鐘測量一次，一個療程共記 5 次。

2. 腫瘤大小:

在 120 天的觀察中， 每 10 天記錄老鼠的腫瘤體積，利用游標尺測得。腫瘤體積計算，乃根據 Oda 公式: $V(cm^3) = a \times b \times c \times \pi / 6$; a. b. c 分別表腫瘤的長軸， 短軸及厚度。

3. 療效評估:

經由 120 天的觀察， 每天記錄老鼠的死亡情形。計算各組老鼠的平均存活時間， 存活率， 死亡率及腫瘤控制率，以檢視艾條灸與天灸的治療效果。

4. 腫瘤內 ^{86}Rb 的放射活性:

測量腫瘤內 ^{86}Rb 的放射活性， 以推測腫瘤內供血量的大小。 本研究取 25 mg RbCl (Sigma)， 以垂直管位置放入清

華大學開放式反應器（THOR, open reactor, 1 MW），其中子通率爲 10^{12} ncm^{-2} S^{-1}，經 24 小時，此時 ^{86}Rb 的比活性爲 0.25 mCi/mg。照射後之 RbCl 經冷卻一週後，溶於 20 ml 的生理食鹽水（注射用）以備用。

當皮下腫瘤經用天灸或其修改灸法處理後，在一小時內，自白鼠之尾靜脈徐徐注入 0.2 ml 之 $^{86}RbCl$（內含 43.8 μCi），然後分別經過 1, 5及 24 小時，用斷頸椎骨法犧牲動物，切下腫瘤及尾部裝入康氏管，直接用自動 γ 計數系統（Auto- γ Counting System, Model 5002, Packard），計數 ^{86}Rb 在組織中的活性（cpm）。然後將所測過之組織放入烘箱(90 - 100 ℃) 過夜，以使之烘乾。稱此乾重，算出每克(乾重) 組織的放射活性，並除以原來注入 0.2ml ^{86}Rb之活性，即爲該組織中單位重量所含 ^{86}Rb 活性的百分數（%/g 乾重）。

實驗結果

一. 直接艾條灸

1. 溫度分佈:

以腫瘤最下層 10 mm 深處的溫度達 42.5℃ - 43.0℃ 爲準。在施灸時，艾條與腫瘤表面約 1 公分的距離加熱時，至 2 分鐘時，溫度已到達，而此時最上層，即距離腫瘤下方 3 mm 深處的溫度達 58℃，維持此高溫達 8 分鐘，中層兩點的溫度約在 54℃ 左右; 且兩點差異不大。在施灸 10分鐘內，正常組織內的溫度僅稍微上升（圖1）。

2. 腫瘤體積:

經直接艾條灸 10 天後，發現有結痂現象，但自 20 天起少數鼠隻有腫瘤復發現象，而接受直接灸 2，3 及 4 次治療者，多數腫瘤的體積較腫瘤對照組者爲小，且有顯著的差異。至 120 天時，存活下來的鼠隻，皆測不出有腫瘤存在（表1）。

3. 存活率：

在 120 天的觀察記錄中，鼠隻因腫瘤未控制好而逐漸死亡，而未經治療的腫瘤對照組有最低的存活率，經直接灸治療者，以 4 次灸者有較高的存活率；3 次灸者次之，2 次灸者又稍低（圖 2）。

4. 療效評估：

在治療後 120 天內，腫瘤對照組的死亡率爲 88.33 %；腫瘤控制率爲 16.67 %；其平均存活時間爲 68.27 ± 30.54 天。而接受 2，3 及 4 次治療的組別，死亡率分別是 60 %，48%，及 44%；腫瘤控制率爲 48 %，68 % 和 72 %。而平均存活時間分別是 78.48 ± 40.59 天，94.24 ± 28.62 天和100.44 ± 24.72 天。以上各項皆以4 次治療者較佳，3 次者次之，2 次者略差。而以接受 3 次及 4 次治療者，平均存活時間與腫瘤對照組之間有顯著差異（$p < 0.01$），將其結果列於表 2。

二．蒜泥天灸及隔蒜泥艾條灸：

1. 溫度分佈：

經用蒜泥加艾條灸處理，加熱兩分鐘後，見腫瘤最下層溫度已達 42.5℃。且在施治過程中，溫度可繼續維持至 8 分鐘。約至 6 分鐘時，其最上層溫度可達 59℃ 以上。中層兩點溫度相差不大，維持在約 53℃ 左右。在施灸 10 分

鐘內， 正常組織內的溫度僅稍微上升（圖3）。

2. 腫瘤體積:

經用蒜泥天灸 3 及 4 次者， 腫瘤體積未見有良好控制， 腫瘤逐漸長大， 且與腫瘤對照組者之間有顯著差異。但經蒜泥加艾條灸組 4 次治療結束後， 至第 10 天見有結痂現象。後來僅有少數未能控制好， 而有復發現象， 其腫瘤大小與腫瘤對照組之間，見有顯著之差異（表3）。

3. 存活率:

經用3及4次蒜泥天灸，其存活率有下降之趨勢。 至觀察 120 天爲止， 3 及 4 次蒜泥天灸的存活率皆爲 32%， 略高於腫瘤對照組（16.67%）。 而隔蒜泥艾條灸4 次者則有較高的存活率， 其 SR_{120} 爲 72%（圖4）。

4. 療效評估:

就 120 天的死亡率來看， 蒜泥天灸3 次及 4 次的死亡率均爲 68%。 然而蒜泥加艾條灸 4 次處理者， 其死亡率卻爲 28 %;三者的腫瘤控制率分別是 36 %，32 %及 76 %; 平均存活時間分別爲 76.20 ± 32.93 天， 79.64 ± 30.10 天和 107.28 ± 21.54 天。 因此， 蒜泥加艾條灸 4 次處理者與腫瘤對照組之間有顯著之差異（ 表 4 ）。

三. 斑蝥天灸及隔斑蝥艾條灸:

1. 溫度分佈：

經用隔斑蝥艾條灸 2 分鐘後， 腫瘤最下層的溫度已達 42.5℃， 且在治療過程中， 溫度的維持變動不大。 在加熱兩分鐘後， 腫瘤中層兩點的溫度約維持在 55℃-56℃ 之間，而

最上層者則維持在 57 ℃-59 ℃ 之間，各維持 6 分鐘 (圖 5)。

2. 腫瘤體積:

經用斑蝥天灸 3 及 4 次處理者，腫瘤體積皆逐漸長大，以接受 3 次治療者，與腫瘤對照組相比，有顯著地增大。然而，斑蝥加艾條灸 4 次治療者，在治療後第 10 天，見有結痂現象，但少數有復發，多數與腫瘤對照組相比，其腫瘤體積較小 (表 5)。

3. 存活率:

接受斑蝥天灸 3 及 4 次處理者，其 120 天的存活率明顯下降，分別爲 20 % 及 24 %。其存活率略高於腫瘤對照組 (16.67 %)。但是斑蝥天灸再加上艾條灸者，其存活率明顯提昇，其 120 天的存活率爲 44 % (圖 6)。

4. 療效評估:

經用斑蝥天灸 3 及 4 次治療與隔斑蝥艾條灸 4 次處理者相比，其死亡率分別是 80 %，76 % 及 56 %。而腫瘤控制率分別爲 20 %，24 % 及 64 %。其平均存活時間以隔斑蝥艾條灸 4 次處理者爲最高 (89.24 ± 29.25 天)，其與腫瘤對照組之間有顯著的差異 ($p < 0.05$)。而斑蝥天灸 3 及 4 次者，其平均存活時間只有72.80 ± 26.60 天及 76.52 ± 28.21 天(表 6)。

四.腫瘤內 ^{86}Rb 的放射活性:

先將各組織內 ^{86}Rb 的放射活性 (cpm) 列於表 7，並將各組腫瘤的乾重列於表 8。根據以上之數據，求出各組腫瘤組織

內單位乾重所含^{86}Rb放射活性的百分數（%/g乾重）列於表9。結果顯示：經用艾條2，3及4次處理經24小時，其腫瘤內所含^{86}Rb放射活性，均較腫瘤對照組者顯著的降低。塗蒜泥配以艾條灸者亦如此。但僅塗以斑蝥灸3及4次者，經處理1小時後，其腫瘤內所含之^{86}Rb放射活性，卻顯著地增多。

MATERIALS AND METHODS

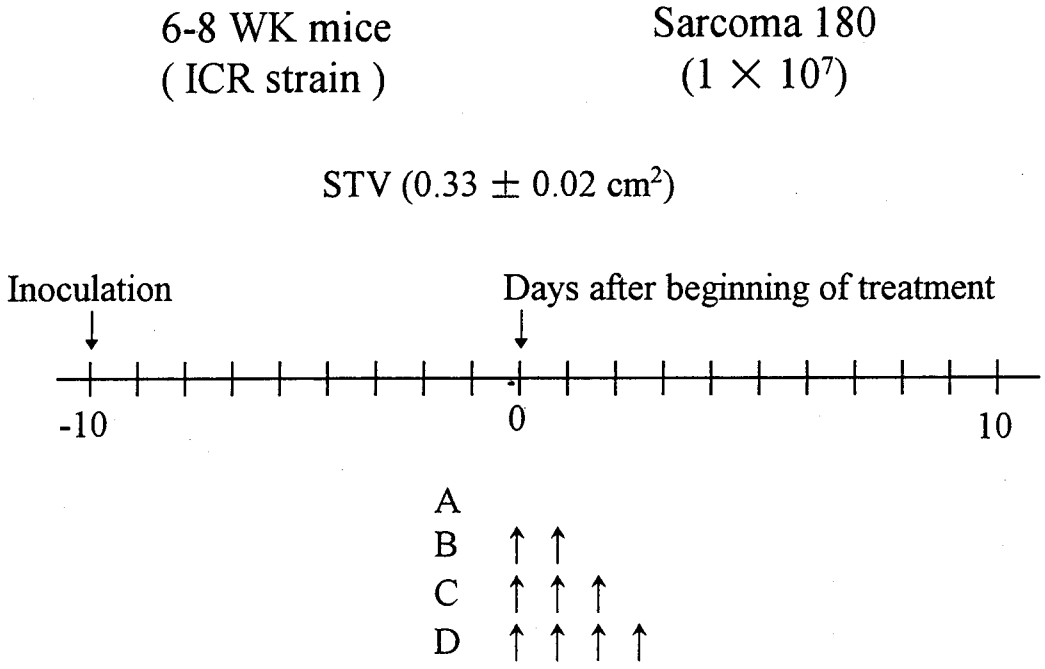


Fig. 1. Schedule of treatment with stick moxibustion and natural moxibustion. STV: Subcutanceous tumor volume. ↑: Time of stick moxibustion and natural moxibustion.

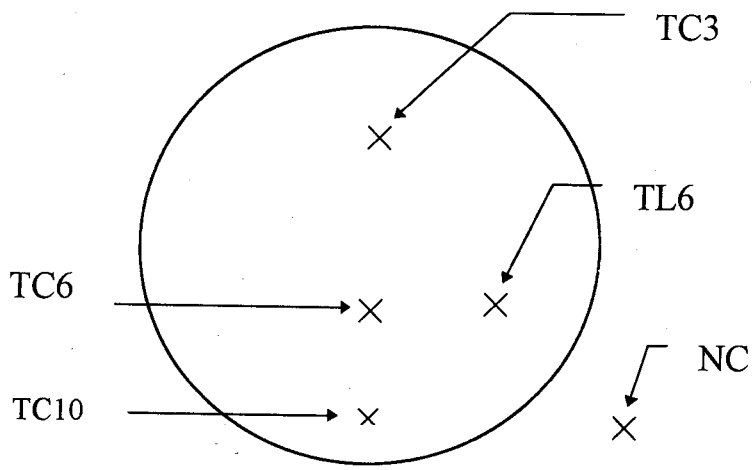


Fig. 2. Temperature were measured by thermometer. Probe in the tumor and in normal tissue. NC: Probe in normal tissue, TC3, TC6 and TC10 are probe positions; 3, 6 and 10 mm in central position; 6 mm in depth.

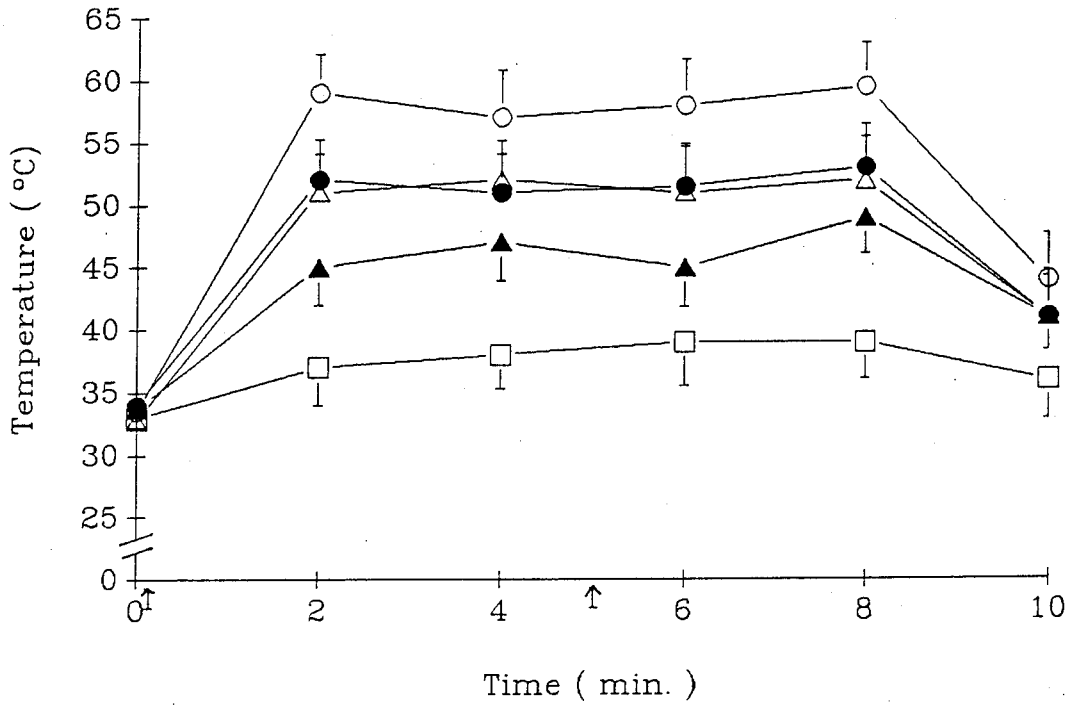


Fig. 3. Changes of temperature in subcutaneous tumor during direct stick moxibustion. ↑ : Time of adding moxibustion. NC (□) : Probe in normal tissue ; TL6 (△) : Probe in external position; TC3 (○), TC6 (●) and TC10 (▲) are probe positions 3 , 6 and 10 mm in central depth of tumor.

Table 1. Change in tumor volume (cm^3) of mice after treatment of direct moxibustion.

Treated condition		Days after beginning of treatment							
Mode	Fraction	0	10	20	40	60	80	100	120
Tumor control		0.33 ± 0.08 (30)	0.43 ± 0.31 (30)	0.69 ± 0.62 (30)	1.45 ± 1.24 (23)	1.77 ± 1.60 (17)	1.47 ± 2.26 (9)	ND (6)	ND (5)
DM	2	0.33 ± 0.09 (25)	..... (23)	0.12** ± 0.20 (22)	0.34** ± 0.06 (20)	0.22** ± 0.78 (14)	0.05* ± 0.12 (12)	0.12 ± 0.26 (12)	ND (10)
DM	3	0.35 ± 0.01 (25)	..... (25)	0.06** ± 0.03 (25)	0.37** ± 0.73 (25)	0.51** ± 1.11 (20)	0.35 ± 1.35 (15)	ND (13)	ND (13)
DM	4	0.35 ± 0.01 (25)	..... (25)	0.05** ± 0.18 (25)	0.36** ± 0.81 (25)	0.51** ± 1.13 (22)	0.76 ± 1.62 (19)	0.27 ± 1.01 (15)	ND (14)

*: $p< 0.05$; **: $p<0.01$ (Student's t-test)
DM: Direct stick moxibustion ; ND: Not detectable
..... : Scar ; ( ): Number of mice

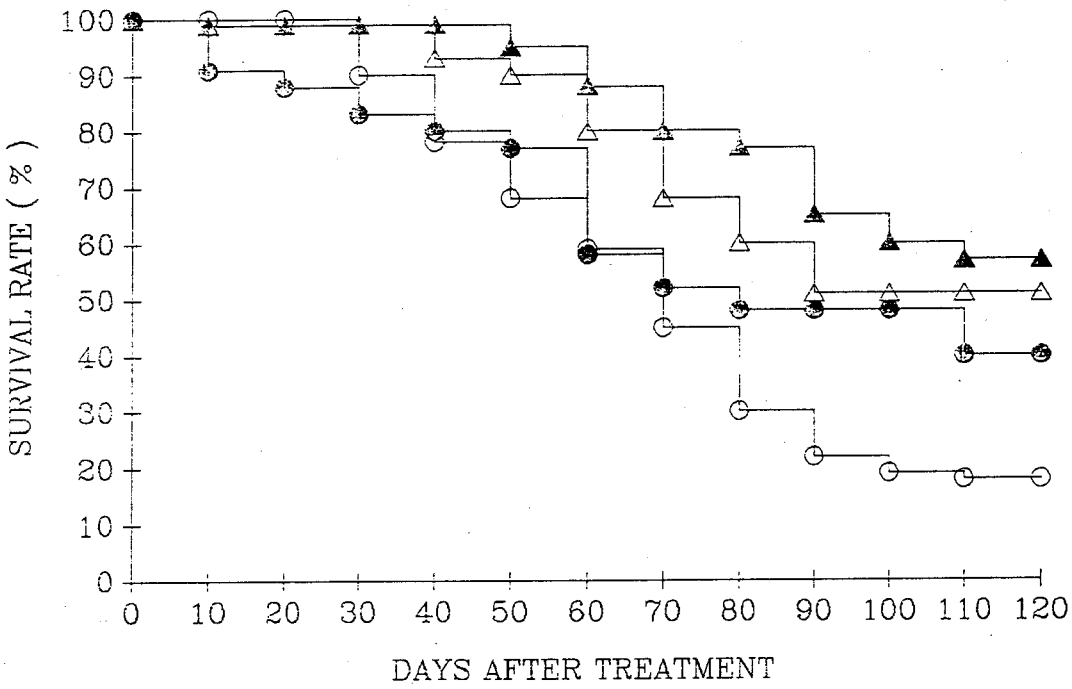


Fig. 4. Survival rate of mice bearing subcutaneous tumor after direct stick moxibustion (DM). TC : tumor control (○); DM2 (●), DM3 (△) and DM4 (▲) : moxibustion treated for 2, 3 and 4 times.

Table 2. Therapeutic effects of direct stick moxibustion on mice bearing subcutaneous tumor.

Treated condition Mode	Fraction	No. of mice	MR_{120} (%)	TCR_{120} (%)	MST_{120} (days)	ILS_{120} (%)
Tumor control		30	83.33	16.67	68.27 ± 30.54	
DM	2	25	60.00	48.00	78.48 ± 40.59	14.96
DM	3	25	48.00	68.00	94.24 ± 28.62**	38.04
DM	4	25	44.00	72.00	100.44 ± 24.72 **	47.12

**: $p < 0.01$ (Student's t-test); DM: Direct stick moxibustion
MR_{120} : Mortality rate within 120 days after DM
TCR_{120} : Tumor control rate within 120 days after DM
MST_{120} : Mean survival time within 120 days after DM

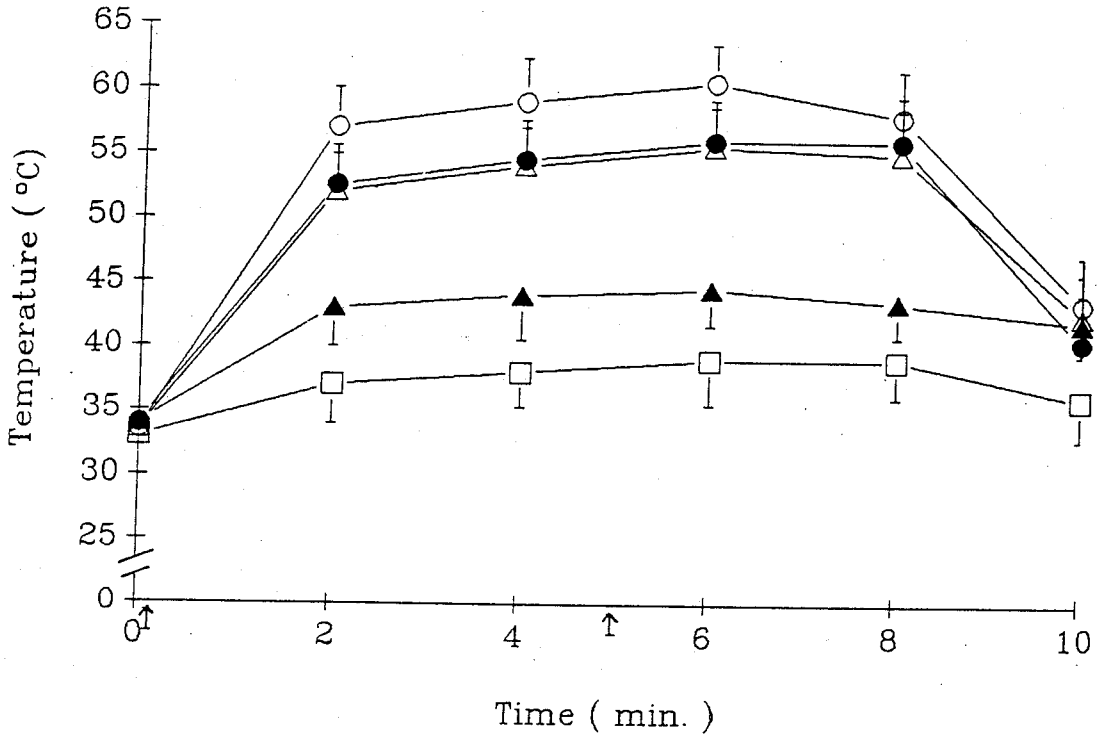


Fig. 5. Changes of temperature in subcutaneous tumor during indirect mushed garlic moxibustion. ↑ : Time of adding moxibustion.
NC (□) : Probe in normal tissue ; TL6 (△) : Probe in external position; TC3 (○), TC6 (●) and TC10 (△) are probe positions 3 , 6 and 10 mm in central depth of tumor.

Table 3. Change in tumor volume (cm^3) of mice after treatment of NmGM and ImGM.

Treated condition		Days after beginning of treatment							
Mode	Fraction	0	10	20	40	60	80	100	120
Tumor control		0.33 ± 0.08 (30)	0.43 ± 0.31 (30)	0.69 ± 0.62 (30)	1.45 ± 1.24 (23)	1.77 ± 1.60 (17)	1.47 ± 2.26 (9)	ND (6)	ND (5)
NmGM	2	.034 ± 0.09 (25)	0.66** ± 0.60 (25)	0.95* ± 1.06 (24)	1.7 ± 1.69 (23)	1.79* ± 2.45 (15)	0.47 ± 1.41 (9)	ND (8)	ND (8)
NmGM	4	0.36 ± 0.10 (25)	0.71* ± 0.62 (25)	1.18* ± 1.06 (25)	2.15 ± 1.93 (23)	2.57 2.63 (18)	ND (8)	ND (8)	ND (8)
ImGM	4	0.32 ± 0.10 (25)	..... (25)	0.04** ± 0.19 (25)	0.26** ± 0.7 (25)	0.61** ± 1.30 (24)	0.19* ± 0.84 (20)	ND (18)	ND (18)

*: $p< 0.05$; **: $p<0.01$ (Student's t-test)
NmGM : Natural mushed garlic moxibustion
ImGM : Indirect mushed garlic moxibustion
ND: Not detectable ; ..... : Scar ; ( ): Number of mice

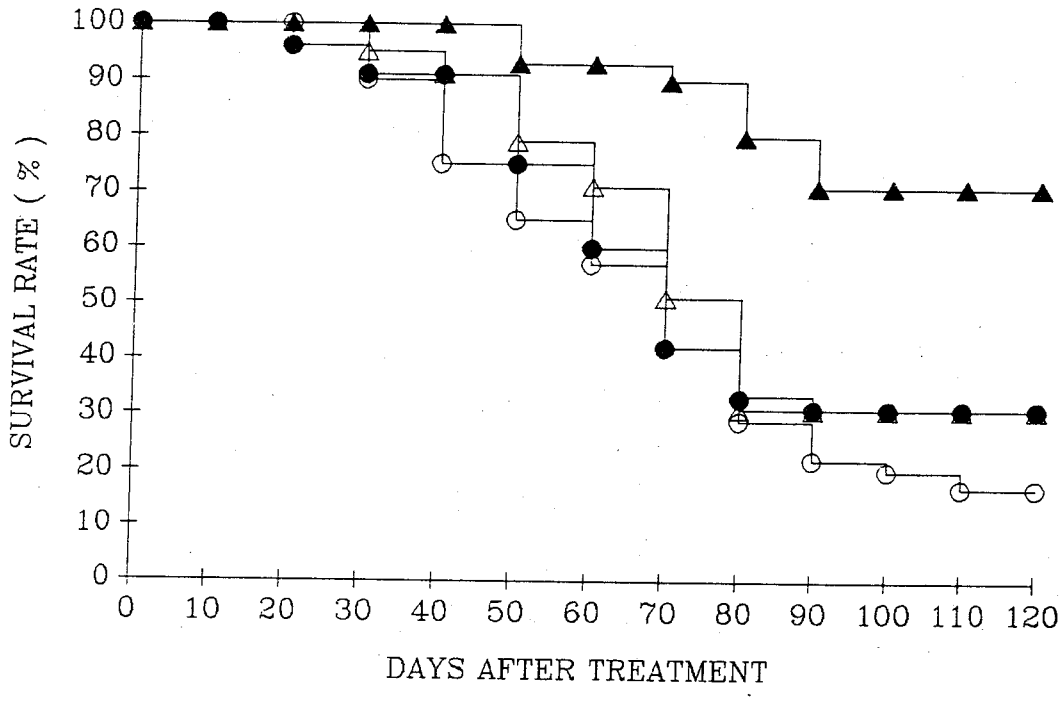


Fig. 6. Survival rate of mice bearing aubcutaneous tumor after natural mushed garlic moxi. (NmGM) and indirect mushed garlic moxibustion (ImGM). TC : tumor control (○) ; NmGM3 (●), NmGM4 (△) and ImGM4 (▲) : moxibustion treated for 3 and 4 times.

Table 4. Therapeutic effects of direct stick moxibustion on mice bearing subcutaneous tumor.

Treated condition Mode	Fraction	No. of mice	MR_{120} (%)	TCR_{120} (%)	MST_{120} (days)	ILS_{120} (%)
Tumor control		30	83.33	16.67	68.27 ± 30.54	
NmGM	2	25	68.00	36.00	76.20 ± 32.93	11.62
NmGM	4	25	68.00	32.00	79.64 ± 30.10	6.65
ImGM	4	25	28.00	76.00	107.28 ± 21.54**	57.14

**: $p < 0.01$ (Student's t-test); DM: Direct stick moxibustion
NmGM : Natural mushed garlic moxibustion
ImGM : Indirect mushed garlic moxibustion
MR_{120} : Mortality rate within 120 days after NmGM and ImGM
TCR_{120} : Tumor control rate within 120 days after NmGM and ImGM
MST_{120} : Mean survival time within 120 days after NmGM and ImGM

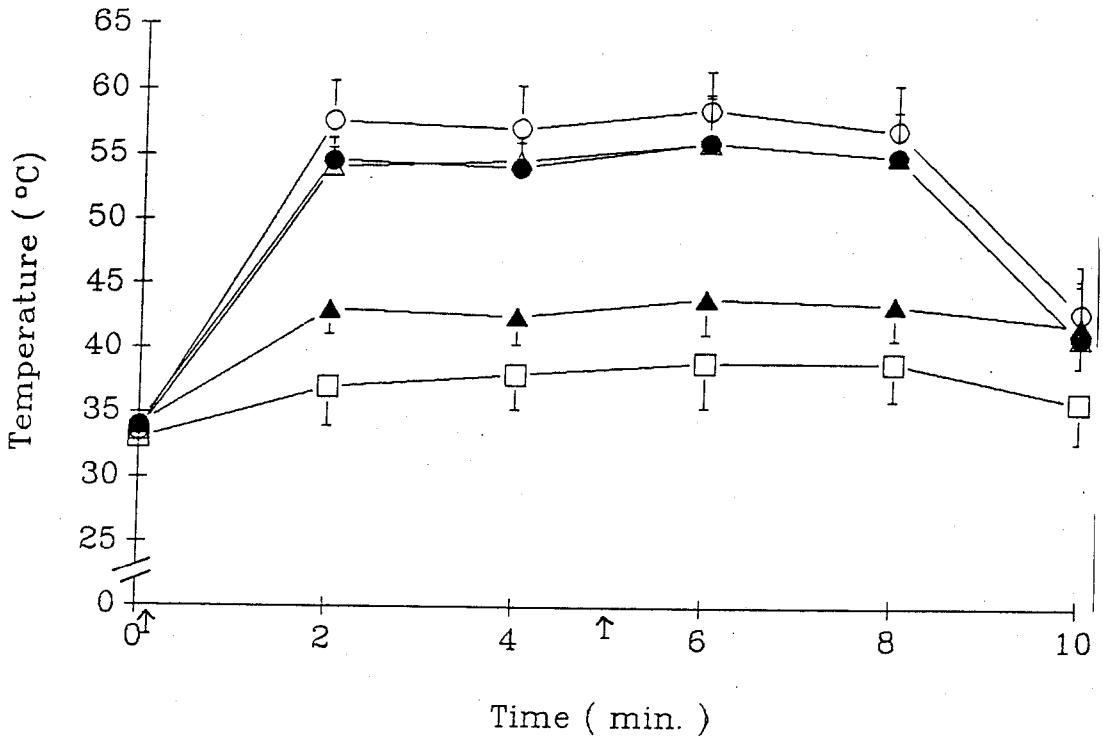


Fig. 7. Changes of temperature in subcutaneous tumor during indirect mylabris moxibustion. ↑: Time of adding moxibustion.
NC (□) : Probe in normal tissue ; TL6 (△) : Probe in external position; TC3 (○), TC6 (●) and TC10 (▲) are probe positions 3 , 6 and 10 mm in central depth of tumor.

Table 5. Change in tumor volume (cm^3) of mice after treatment of NMM and IMM..

Treated condition		Days after beginning of treatment							
Mode	Fraction	0	10	20	40	60	80	100	120
Tumor control		0.33 ± 0.08 (30)	0.43 ± 0.31 (30)	0.69 ± 0.62 (30)	1.45 ± 1.24 (23)	1.77 ± 1.60 (17)	1.47 ± 2.26 (9)	ND (6)	ND (5)
NMM	3	0.31 ± 0.08 (25)	0.65* ± 0.42 (25)	1.24** ± 0.73 (25)	2.34* ± 1.35 (23)	2.96 ± 2.23 (15)	2.26 ± 3.51 (7)	ND (5)	ND (5)
NMM	4	0.31 ± 0.09 (25)	0.63 ± 0.46 (25)	0.98 ± 0.75 (25)	1.72 ± 1.38 (23)	2.45 ± 2.11 (18)	0.63 ± 1.53 (7)	ND (6)	ND (5)
IMM	4	0.35 ± 0.09 (25)	..... (25)	0.10* ± 0.24 (25)	0.52 ± 0.8 (24)	0.93 ± 1.53 (20)	ND (13)	ND (11)	ND (11)

*: $p< 0.05$; **: $p<0.01$ (Student's t-test)
NMM : Natural mylabris moxibustion
IMM : Indirect mylabris moxibusion
ND : Not detectable ; ..... : Scar
( ) : Number of mice

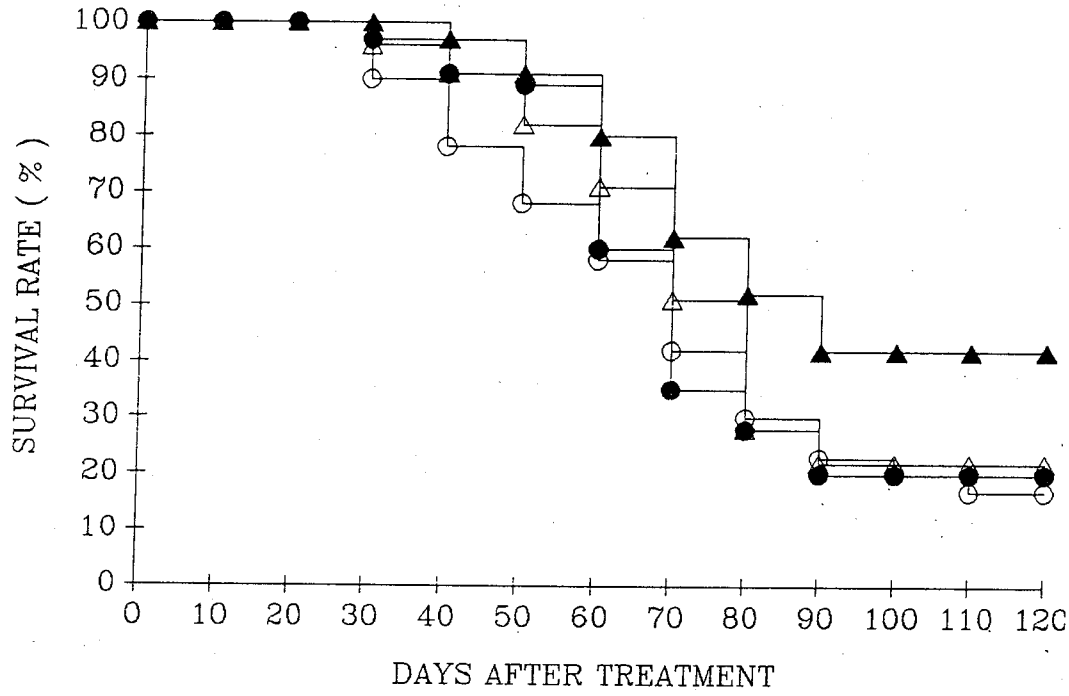


Fig. 8. Survival rate of mice bearing subcutaneous tumor after natural mylabris moxi (NMM) and indirect mylabris moxibustion (IMM). TC : tumor control (○); NMM3 (●), NMM4 (△) and IMM4 (▲) : moxibustion treated for 3 and 4 times.

Table 6. Therapeutic effects of direct stick moxibustion on mice bearing subcutaneous tumor.

Treated condition Mode	Fraction	No. of mice	MR_{120} (%)	TCR_{120} (%)	MST_{120} (days)	ILS_{120} (%)
Tumor control		30	83.33	16.67	68.27 ± 30.54	
NMM	2	25	80.00	20.00	72.80 ± 26.60	6.04
NMM	4	25	76.00	24.00	76.52 ± 28.21	12.08
IMM	4	25	56.00	64.00	89.24 ± 29.25*	30.72

**: $p < 0.01$ (Student's t-test) ; DM: Direct stick moxibustion
NMM : Natural mylabris moxibustion
ImGM : Indirect mylabris moxibustion
MR_{120} : Mortality rate within 120 days after NMM and IMM
TCR_{120} : Tumor control rate within 120 days after NMM and IMM
MST_{120} : Mean survival time within 120 days after NMM and IMM

Table 7. Changes of ^{86}Rb activity (cpm) in tumor of mice after treatment

Treated condition		Hours after treatment		
Mode	Fraction	1	5	24
Tumor control		2030±905	2739±1395	4104±2034
SM	2	417±211	157±71	326±171
SM	3	262±95	267±101	238±124
SM	4	578±227	425±230	368±244
NmGM	3	2220±1093	4538±1581	2983±645
NmGM	4	2251±1046	5007±314	2006±1033
NmGM+SM	3	531±59	325±78	356±206
NmGM+SM	4	564±344	592±33	187±51
NMM	3	3988±1261	2510±1444	4368±1518
NMM	4	3641±1993	4034±1987	1948±1023
NMM+SM	3	448±302	1299±392	836±632
NMM+SM	4	1436±661	735±129	1535±558

SM: Moxibustion of stick moxa
NmGM: Natural mushed garlic moxibustion
NMM: Natural mylabris moxibustion

Table 8. Changes of tumor size (gm, dry weight) in tumor of mice after treatment

Treated condition		Hours after treatment		
Mode	Fraction	1	5	24
Tumor control		0.551±0.233	0.373±0.123	0.685±0.210
SM	2	0.258±0.017	0.212±0.818	0.227±0.021
SM	3	0.232±0.062	0.160±0.025	0.162±0.038
SM	4	0.263±0.091	0.214±0.036	0.209±0.097
NmGM	3	0.332±0.187	0.335±0.016	0.236±0.087
NmGM	4	0.179±0.061	0.292±0.022	0.200±0.100
NmGM+SM	3	0.359±0.119	0.265±0.043	0.214±0.081
NmGM+SM	4	0.260±0.047	0.269±0.023	0.272±0.063
NMM	3	0.262±0.119	0.142±0.055	0.404±0.188
NMM	4	0.217±0.099	0.153±0.074	0.154±0.118
NMM+SM	3	0.180±0.080	0.242±0.054	0.199±0.070
NMM+SM	4	0.639±0.331	0.233±0.087	0.365±0.154

SM: Moxibustion of stick moxa
NmGM: Natural mushed garlic moxibustion
NMM: Natural mylabris moxibustion

Table 9. Changes of ^{86}Rb (% of ^{86}Rb/g, dry weight) uptake in tumor of mice after reatment

Treated condition		Hours after treatment		
Mode	Fraction	1	5	24
Tumor control		2.26±0.58	5.07±2.28	4.22±1.26
SM	2	0.85±0.37	0.39±0.14	0.76±0.33*
SM	3	0.66±0.33	0.94±0.51	0.77±0.36*
SM	4	1.20±0.44	1.03±0.41	0.88±0.34*
NmGM	3	3.97±2.16	5.82±1.98	6.24±2.13
NmGM	4	5.72±1.10	7.37±0.42	4.76±1.59
NmGM+SM	3	0.72±0.05*	0.54±0.18	0.70±0.15
NmGM+SM	4	0.95±0.38	0.94±0.06	0.35±0.13*
NMM	3	9.11±2.12*	9.90±2.24	8.15±2.09
NMM	4	9.24±2.93*	12.68±5.68	10.61±4.50
NMM+SM	3	1.30±0.29	3.04±0.25	2.92±1.67
NMM+SM	4	2.22±0.08	2.84±1.37	3.80±1.00

* : $p < 0.05$ (Student's t test)
SM: Moxibustion of stick moxa
NmGM: Natural mushed garlic moxibustion
NMM: Natural mylabris moxibustion

討 論

本實驗採用局部高溫療法的原理 (25)，結合傳統醫學灸法中之雀啄灸方式進行。將腫瘤內深層溫度控制在 42.5℃ 以

上，故對皮下腫瘤有較佳的療效。高溫療法導致細胞死亡的機制，是因高溫對細胞內的蛋白質及 DNA 造成抑制和破壞(26)。高溫使得細胞膜的流動性(fluidity)增加，而使細胞膜受損。而且高溫造成細胞膜通透性(permeability)的改變，而導致細胞死亡(27)。莫氏等認為: 高溫可能降低腫瘤細胞主要系統的活化，而使其核酸和蛋白質的合成受阻(28,)。另外高溫可抑制 DNA 的複製(29)，並抑制腫瘤細胞蛋白質及核酸的合成(30)。

經由高溫處理，腫瘤內的溫度較正常組織者為高，而使微血管受損，因而氧氣供應缺乏及無氧代謝增加，乳酸產量增加，使細胞內的 pH 值降低，而使細胞內的溶解體(lysosmes)容易破裂，放出大量分解 ，而致使細胞死亡(25, 31, 32)。另有報告指出: 高溫會造成腫瘤之胞核產生嚴重皺縮，細胞質中出現大液泡，而致細胞死亡(33); 高溫也會對粒線體造成破壞性的影響(34)。艾條是由艾絨捲捻作成，經由化學分析得知: 艾葉內含 eucalyptol 及 α、β-thujone 與 Choline，Adenine 及維生素等(35)。艾絨燃燒緩慢，火力溫和，直透肌膚而無灼熱感。明、繆希雍曾稱:「燃之熱氣內注，通經內骨，治百病」(36)。清、吳儀洛亦稱「艾葉苦辛，生溫熟熱」;「以火灸之，能透諸經，而除百病」(37)。曾有古書描述: 艾草味苦，性溫和，能除痰數倍，溫經止痛及解毒。另有古集記載: 艾性至熱，入火灸則上行，入藥服則下行(38)。艾條灸治癌腫塊，除高溫因子外，是否艾葉的成份有其作用，有待進一步研究。

大蒜是民間普遍使用的食物，具有很強的抗菌、消炎及健

胃強壯、鎮咳去痰作用。近年來曾有實驗報告，証實大蒜有抗腫瘤作用（39）。斑蝥，又名斑貓，味辛、性寒、有毒，傳統藥用以破瘀散結及解毒發泡（40），其主要成份為斑蝥素（Cantharidin）等。另有合成的斑蝥酸納可用於治療原發性肝癌、食道癌、肺癌 乳腺癌等多種癌症，有一定近期療效（41）。但本實驗結果顯示: 蒜泥天灸與斑蝥天灸在體外塗敷腫瘤的效果均不彰。但與艾條灸相配合後，其療效均佳，可能因為在體外須有高溫配合; 才能發揮大蒜及斑蝥的抗腫瘤效應。

曾有報告指出: 局部高溫能改變腫瘤的血流，可以用注入的^{86}Rb 表示之。高溫若能破壞腫瘤內的血管，則供給腫瘤的血量就會減少。於是^{86}Rb 分佈到腫瘤的含量亦隨之而減少（42, 43）。本研究結果顯示: 艾條灸 2, 3 及 4 次者均使腫瘤內血管破壞致分佈在腫瘤內^{86}Rb 活性大量降低。然而僅塗以斑蝥者，其腫瘤內^{86}Rb 放射活性遠較腫瘤對照組者為高，顯示斑蝥能促使血管擴大，而使血量增加，致該處的^{86}Rb 放射活性增加。

結 論

1. 本研究旨在探討兩種天灸及其修改療法治療實驗性皮下腫瘤（ST）的效果，以供臨床治癌的參考。並探討施灸前後腫瘤內血流情形，藉以說明其療效的部分機制。

2. 本研究結果顯示: 用艾條灸治療 ST 之效果，以施灸 4 次 者療效最佳，其平均存活時間（MST_{120}）為 100.44 天。其延長壽命之比例（ILS_{120}）為 47.12 %。

3. 在天灸中的斑蝥灸及蒜泥灸，其治療 ST 之效果均不佳，其 MST_{120} 均低於 80 天。

4. 斑蝥天灸的修改療法，即是塗斑蝥後施以艾條灸者，其治療 ST 之效果稍增，其 MST_{120} 增至 89.24 天，其 ILS_{120} 為 30.72 %。

5. 蒜泥天灸之修改療法，即先塗蒜泥後施艾條灸者，其治療 ST 之效果大增，其 MST_{120} 增至 107.28 天，其 ILS_{120} 為 57.14 %，比單獨的艾條灸 4 次的療效為佳。

6. 結果顯示: 經用艾條灸處理後，其腫瘤內所含 ^{86}Rb 放射 活性大量降低，而單獨塗以斑蝥者，其腫瘤內 ^{86}Rb 的放射活性有增多的趨勢。

參考文獻

1. Wu, J. C. and D. M. Hau, Preliminary study on the effects of moxibustion on the γ -ray irradiated mice. Acup. Res. Quart 4: 91-105, 1980.
2. Hau, D. M., Some hematological effects of moxibustion on the X -ray irradiated guinea pigs. Acup. Res. Quart. 5: 7-18, 1981.
3. Hau, D. M., Effects of moxibustion on the function of some Leukocytopoietic organs in mice. Acup. Res. Quart. 6: 11-21, 1982.
4. Wu, J. C. and D. M. Hau, Effects of moxibustion on the activity of acid and alkaline phosphatases in some

leukocytopoietic organs of mice. Acup. Res. Quart. 4: 111 - 121, 1982.
5. Hau, D. M., F. G. Lo, T. H. Chen and C. K. Yu, Preliminary study on effects of moxibustion on mice bearing subcutaneous tumor. Acup. Res. Quart. 8: 91-97, 1984.
6. Wu, J. C. and D. M. Hau, Effects of moxibustion on counts of leukocytes and splenic function in γ -ray-irradiated mice under general and local anesthesia. Acup. Res. Quart. 8: 51-58, 1984.
7. Hau, D. M., T. E. Chen, C. K. Yu, F. K. Lo, Y. Y. Wei and F.C. Song, The combined effects of fractionated irradiation and moxibustion on mice bearing subcutaneous tumor. Acup. Res. Quart. 9: 101-l-9. 1985.
8. 張永賢，郝道猛，黃玉治，艾灸對罹患皮下腫瘤小白鼠的影響，中醫學報，14: 127-138, 1988.
9. 陳太義，郝道猛，羅富剛，分次輻射與艾灸對罹患皮下腫瘤小白鼠的影響，中醫學報，14: 79-98, 1988.
10. Chang, Y. H., D. M. Hau and Y. T. Hung, Effects of irradiation and moxibustion on mice bearing breast cancer. China Med. Coll. Annu. Bull. 14: 139-146, 1988.
11. Hau, D. M., J. C. Wu, Y. H. Chen and J. T. Hwang, Effects of moxibustion on cellular immunocompetence of γ -irradiated mice. Am. J. Chin. Med. 17: 157-163, 1989.
12. Lin, J. G. and D. M. Hau, Effects of moxibustion on leukocyte counts and some leukocytopoietic organs in γ -ray-irradiated mice. J. Chinese Med. 2: 13-23, 1992.
13. Hau, D. M. and C. Chung, Effects of moxibustion of moxa-stick, moxa-grain, moxa-cream and infrerad irradiation on cellular immunocompetence of mice. The 7th Intl. Cong. Orient. Med. Taichung, p.285. 1992.

14. Hau, D. M., J. G. Lin and M. Chen, Effects of some moxibustion on experimented tumor. Chin. Biosci. 36: 74, 1993.
15. Hau, D. M., I. E. Lin and Y. C. Chou, Comparative study of therapeutic effects of some types of moxibustion on breast part of mice bearing subcutaneous tumor. The 5th Chin. Conf. Oncol. Soc. 8: 39, 1993.
16. Zhu, Y. W. Chen, I. Y. Hau, H. S. Zhang, Y., The influence of moxibustion on immune function in the treatment of Rheumateid Arthritis. Am. J. Acup. 19: 315-317, 1991.
17. Nagano, K., Immune enhancement through Acupuncture and secondary infections. Am. J. Acup. 19: 329-338, 1991.
18. 桂金水，朱凌云，許鳴等，艾灸抗小鼠腫瘤作用的實驗研究，針療學報，3: 1-2, 1990.
19. 李娟，蔣立范，胡桂清等，針灸對惡性腫瘤病人T淋巴細胞亞群的影響，中國針灸，2: 39-42, 1991.
20. 林文注，郭慧穎等，外周腎上腺素能系統在艾灸提高“阻蘆”小鼠免疫功能中的作用，江蘇中醫，3: 27-28, 1991.
21. 董勤，楊兆民，艾灸治療帶狀泡疹的療效觀察及免疫機制初探，江蘇中醫，4: 24-26, 1991.
22. 吳美倩，高鎮五，針灸之調節免疫功能概況，浙江中醫學院學報， 15: 51-52, 1991.
23. 章逢潤，耿俊英，中國灸療學，人民衛生出版社，北京，pp. 9-18, 1989.
24. Song, C. W., J. C. Lin, L. M. Chelstrom and S. K. Sahu, Induction of thermoresistance in tumor blood vessels. Int. J. Radiat. Biol. 60: 355-361, 1991.
25. Leith, J. T., R. C. Miller, E. W. Gerner and M. L. Boone, Hyperthermic potentiation: Biological aspects and appllications

to radiation therapy. Cancer 39: 483 - 487, 1977.

26. Hall, E. J., Radiobiology for the radiologist (4th Ed.), Lippincott Co., philadelphia, pp. 258 - 285, 1994.

27. Sato, C., T. Nakayabama, K. Kojima, Y. Nishimoto and W. Nakamal, Effects of hyperthermia on cell surface charge and cell survival in Mastcytoma cells. Cancer Res. 41: 4107 - 4110, 1981.

28. Moncovi B., A. Finassi-Agro, G. Rotilio, R. Strom, G. Moricca, A. Rossi-Fanelli, The biochemical mechanism of selective heat sensitivity of cancer cells. II. Studies on nucleic acids and protein synthesis. Eur. J. Cancer 5: 137 - 147, 1969.

29. Warters, R. L. and O. L. Stone, The effects of hyperthermia on DNA replication. Radiat. Res. 93: 71 - 84, 1983.

30. Storm R., A. Santoro, C. Crifro, A. Bozzi, B. Mondovi, A. R. Fanelli, The biochemical mechanism of selective heat sensitivity of cancer cells. IV. Inhibition of RNA synthesis. Eur. J. Cancer 9: 103 - 112, 1973.

31. Hall, E. J. and L. R. Towle, Biological effects of heat. Cancer Res. 44: 4708s - 4713s, 1984.

32. Gerweek, L. E., W. K. Dahlberg, L. F. Epstein and D. S. Shimm, Influence of nutrient and energy deprivation on cellular response to single and fractionated heat treatment. Radiat. Res. 99: 571 - 581, 1984.

33. Suit, H. and D. Dandophil, Hyperthermic effect on animal tissue. Radiology 123: 483 - 487, 1977.

34. Overgaard J., EEffect of hyperthermia on the cytochrome C oxidase activity in tumor cells. IRCS Med. Sci. Biochem. Cancer 3: 225 - 228, 1975.
35. Kobayashi, k., Organic components of moxa. Am. J. Chinese Med. 16: 179 - 185, 1988.
36. 黃維三，針灸科學，國立編譯館，台北, p.496, 1984.
37. 白耀祥，林文任，針灸與溫熱刺激關係的探討，針灸學報 4: 10 - 11, 1991.
38. 楊繼川，黃明堂，注解校勘大成，文光圖書有限公司，台北, p.472, 1988.
39. 高本釗，新編中醫大辭典 (上冊)，新文豐出版公司，台北, pp.119 - 120, 1979.
40. 許鴻源，簡明藥材學，新醫藥出版公司，台北, p.496, 1984.
41. 郁仁存，中醫腫瘤學 (上)，木鐸出版社，台北, pp. 196 - 197, 1987.
42. Song, C. W., Effect of local hyperthermia in blood flow and microenvironment: A review, cancer Res. 44: 47215-47305, 1984.
43.. Song, C. W., L. M. Chelstrom and J. H. Sung, Effects of a second heating on blood flow in tumors. Radiat. Res. 122: 66-71, 1990.

編號 DOH84-CM-037

土鱉蟲對骨折癒合效果的研究

王天美

國防醫學院　預防醫學研究所

摘　　要

紐西蘭種雄性大白兔80隻（平均體重2.8公斤）將之按隨機抽樣法分成四組；爲假性左側腓骨骨折組，簡稱對照組(Sham或S組）、假性左側腓骨骨折加口服(Oral, O)土鱉蟲(Tu-Bieh-Chung, TBC)組，簡稱對照口服組(S＋O組）、左側腓骨骨折組，簡稱骨折組（Fracture或F組）和左側腓骨骨折加口服TBC組，簡稱骨折口服組（F＋O組）。每組有20隻動物，分別於處理後八和十二週犧牲之。其中兩組動物的左側腓骨，經手術找到後，即將手術時切開之軟組織縫合好，稱爲S組。另兩組動物於左側腓骨幹中間鋸斷一長爲1公分的間隙後，將手術處周圍的軟組織縫合好，稱爲F組。經上述處理的動物的半數，以口服方式餵食1錢TBC的煎湯，分別稱爲S＋O組或F＋O組。所有動物右側腓骨則不做任何處理。動物犧牲後，以光源鏡學，螢光顯微鏡學和顯微放射攝影學來鏡檢外形與組織結構上的變化情形並加以分析。本實驗的目的旨在探討TBC：1）對骨組織的作用是局部性或是全身性，2)對動物骨折癒合過程中的骨中細胞，骨質量以及骨生成和骨吸收的影響情形，和3)在骨折癒合過程中的不同時間裡，對骨組織的塑型和再塑型等修復作用所扮演的角色。

腓骨骨折後八週，顯微放射攝影學（X光片）的觀察，F組動物在兩斷端間，具有較多的聯合骨痂的形成，並且進入了塑型(modeling)時期。

光源鏡鏡檢發現，F組在兩斷端間，有新的骨質生成。另外，螢光鏡鏡檢發現，F組在斷端兩側皮質骨旁及骨髓腔近封閉骨痂處，有大量骨質正在生成。此等結果顯示，正常骨折癒合過程中生理性修復期的進行。腓骨骨折後十二週，X光片上發現，F組的骨修復過程進入了塑型後期。光源鏡學發現，F組兩斷端間，繼續形成聯合骨痂，但並未連接兩側皮質骨。F＋O組於處理八週後，在骨折處光源鏡學發現，聯合骨痂的形成較F組多而明顯，且已幾乎聯接兩側皮質骨。X光片上亦分別發現，F＋O組骨修復過程都比F組快速，同時塑型的步驟進行的很好。在十二週的F＋O組，其腓骨的塑型修復情形，幾乎回復到未骨折前原來的外形。此時期兩斷端間的聯合骨痂繼續快速形成，且已完全聯接兩斷端的皮質骨。所有動物的右側腓骨以及S組＋O組的左側腓骨的X光片觀察，其不透X光射線(radiopaque)的程度幾乎相似，未見有像F組＋O組的左側腓骨不透X光射線般的變化。至於在光源鏡下鏡檢，S組和S＋O組與正常的骨組織並無二致。

綜上實驗結果知，TBC只對骨折處的骨組織具有修復的作用，同時還可加速骨折處各種骨痂的加速形成和骨生成的作用以及塑型和再塑型步驟的進行。簡言之，TBC的使用，對較長距離（1公分）的骨折有促進癒合時效的作用。

前言

骨折是指骨組織在受到外在或內在的某些因素，而使它的完整性和連續性發生了部份或完全的斷裂；然大多數是由外傷(1-4)或骨質疏鬆症(5,6)的因素所造成。臺灣地區在1990年對65歲以上人口骨折發生率調查之結果，顯示65歲以上男、女性骨質疏鬆症罹患率高達18.1%，而女性的罹患率又比男性高出一倍(7)。由此知骨質疏鬆症極易造成骨折的發生，因此對骨折的防治研究不容忽視。骨折後因局部組織的血液供應遭截斷，造成缺氧，而導致細胞死亡，出血和血腫形成等反應，接著有血管再生，死亡組織被吸收，原始造骨細胞的增殖和分化及折斷處骨癒合的發生(4,5,8,9)。中國醫學在防治骨折

方面，累積了豐富的經驗(1,10)，骨折在中國傳統醫學傷科治療項目中，佔著極重要的地位。

中國醫學對骨折患者，常有施以土鼈蟲（Tu-Bieh-Chung, TBC）(10-12)來治療之。因TBC在中國醫藥學的『中藥名方藥理與作用』(10)一書中，曾詳載主治跌打損傷，破一切血積和接骨等症。它有促使骨折癒合和功能恢復好等效果。TBC有上述好的治療骨折的臨床療效，然該藥對骨組織，特別是骨折癒合組織變化情形，則尚未有任何文獻報告。本研究旨在以口服的TBC，來探討它對骨折癒合在骨組織形態學上促進的效果。

以紐西蘭種雄性大白兔爲實驗動物，在腓骨骨折（Fracture或F）組和腓骨骨折加口服TBC（F＋O）組的各動物左側腓骨近側端的上脛腓關節下端約1.0公分處向下作一1.0公分長的鋸斷性骨折，並於F＋O組動物以口服方式給予TBC煎湯治療後，用骨組織形態學和顯微放射攝影學以及薄切片的技術，來探究TBC對較長距離骨折癒合過程中，細胞動力學，骨痂形成以及骨吸收和骨生成的影響情形。

材料和方法

壹、實驗方法：

本研究使用80隻體重約2.8公斤紐西蘭種雄性大白兔，以隨機抽樣法分成四組；每組20隻動物。每組再分爲二小組，每小組有10隻動物。動物以麻醉藥pentobarbital（30mg/kg）麻醉後，採側臥姿勢固定於手術臺上，只將左側腓骨以手術方式找到後，即將手術時切開之軟組織縫合，是爲假性左側腓骨骨折（Sham operation, S）組。將S組的半數，每天以口服

（oral，O）方式餵食1錢TBC的煎湯[13] 15ml，稱爲假性左側腓骨骨折加口服TBC（S＋O）組。將左側腓骨在上脛腓關節下方1.0公分處，使用前裝骨鑽頭（bone bur）的電鋸將腓骨橫向鋸斷，並向下截除部份該骨，使兩斷端相距1.0公分是爲左側腓骨骨折（Fracture，F）組。於腓骨鋸斷過程中，均配合生理食鹽水沖洗以避免產生高熱，破壞骨組織。將F組的半數每天以口服方式餵食TBC的煎湯15ml，稱爲左側腓骨骨折加口服TBC（F＋O）組。每隻動物的右側腓骨不作任何處理。所有動物於處理後八或十二週分別犧牲之。爲了測量骨的生物活性，所有動物均注射骨標示劑[14-16]，注射情形如下：

處理時間	骨標示劑（含注射方式及時間）	
組　別	Calcein* （靜脈注射）	Calcein* （靜脈注射）
八週組	犧牲前七天	犧牲前三天
十二週組	犧牲前七天	犧牲前三天

*注射的劑量爲每公斤體重給予皮下注射15mg的Calcein

貳、顯微放射攝影學

所有動物於犧牲當天，小心取下兩側的小腿，並仔細將其上的所有軟組織予以清除，使脛骨和腓骨完整顯現，而後分別於Ohmic顯微放射攝影儀（OM-603，Ohmic公司，東京，日本）進行顯微放射攝影術。

參、非脫鈣骨標本片的製作：

經顯微放射攝影處理後的腓骨和部份連接著的脛骨浸入10％磷酸緩衝甲醛液（10％phosphate-buffered formalin）中，固定48小時。用Villanueva骨染色劑（Villanueva

osteochrome bone stain, Polyscience Inc., Warrington, PA, USA）染色10天。再用酒精脫水，丙酮脫脂後，復以異丁烯酸甲酯（methyl methacrylate, Eastmen organic chemicals, Rochester, NY, USA）包埋劑包埋之。包埋好的腓骨標本，以慢速鋸片機（Isomet, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, USA）鋸成150μm厚的鋸片，以Maruto lapping machine（ML-521-D, Maruto公司，東京，日本）磨薄至100μm厚，作接觸式顯微放射攝影術，而後用氰丙烯酸膠（Cyanoacrylate glue, Aronalpha, Toagosei Chemical, Tokyo, Japan）黏在顯微鏡用的塑膠載玻片上，再繼續磨成20μm厚的薄片(17)。然後在光源及螢光顯微鏡下鏡檢，計量並分析之。

結果

壹．顯微放射攝影學觀察腓骨骨折後的變化情形：

一．術後八週X光片觀察：在F組（即左側腓骨在上脛腓骨關節下方約1.0公分處，向下有長1公分的腓骨缺損）斷端兩側的皮質骨間，似乎隱約可見織狀骨（woven bone）的形成，但兩斷端尚未連接在一起（圖1左）。在F＋O組（即同F組動物的腓骨處理外，另以口服方式給予TBC煎湯）斷端兩側皮質骨間，可見有較多的織狀骨出現，兩斷端則幾已連接在一起（圖1右）。

二．術後十二週X光片觀察：在 F組兩斷端處已連接在一起，可見許多癒合性骨痂形成，塑型和再塑型的步驟亦持續進行中（圖2左）。在F＋O組，各種骨痂除皆已形成外，錨定骨痂幾近消失（圖2右），顯示骨折後修復過程中的塑型時期已完成，並使腓骨外形恢復到幾近未

骨折前的外形。

三．S組（圖3）和S＋O組的左側腓骨以及所有各組動物的右側腓骨（圖1-3），都未見有與F組和F＋O組中左側腓骨（圖1-3）的不透光X射線（radiopaque）變化的情形。

貳．光源鏡學觀察腓骨骨折處的組織形態學變化情形：

一．術後八週：左側腓骨切片經Villanueva染色後，在光源鏡下鏡檢，發現 F組在斷端兩側的皮質骨處有聯合骨痂（uniting callus）的形成，但未連接兩側皮質骨。在F＋O組則發現兩側皮質骨間的聯合骨痂的形成幾近完成，且在其內可見較多的纖維組織和血管的存在。此種結果顯示，TBC 的使用可促進動物的骨骼在骨折後的癒合過程。在高倍率（400X）光源鏡下鏡檢，F＋O組在斷端兩側皮質骨處有較少的破骨細胞和較多的造骨細胞的出現。但在 F組同處，則只發現破骨細胞和造骨細胞都爲數不多。由於破骨細胞和造骨細胞的出現說明了皮質骨正在進行骨吸收和骨生成，即進行聯合骨痂的形成。同時，也可看出F＋O組的聯合骨痂形成多於F組的原因。在F組和F＋O組兩斷端間的骨髓腔內近封閉骨痂（sealing callus）處，有多量織狀骨的形成見於F＋O組中，惟此種骨痂在F組中只見中等量而已。在螢光顯微鏡下，可見F＋O組斷端兩側皮質骨旁和骨髓腔近封閉骨痂處，有大量骨質生成，惟此種現象在 F 組中並不明顯。

二．術後十二週：發現F組於斷端兩側皮質骨間已聯接在一起，錨定骨痂（anchoring callus）和聯合骨痂仍繼續存在，顯示塑型和再塑型的步驟，仍在積極進行中。在F＋O組，由於新生骨的塑型步驟的進行幾近完成，因此橋形骨痂（bridging callus）和錨定骨痂幾乎消

失，腓骨斷端皮質骨表面外形與完整（intact）腓骨的表面外形相近。

三．S組和S＋O組的左側腓骨以及所有動物的右側腓骨的顯微結構，未見有特殊的變化。

討論

TBC具有逐瘀，破積，通絡和理傷等的功用，在中國醫藥學上常用來主治癥瘕積聚，血滯經閉，跌打損傷和促使骨折癒合以及續筋骨等的病症[10-13]。本研究旨在以口服 TBC 方式治療於腓骨骨折的雄性大白兔，用骨組織形態學(bone histomorphometry)的技術，來探究該藥對較長距離的骨折癒合過程的修復作用所扮演的角色。

骨折癒合的過程，正常情況下可分爲三個主要時期：1)發炎時期，2)修復時期，3)再塑型時期[18]。發炎時期，可見出血，血凝塊，淋巴球增生和肉芽組織的依序出現。修復時期，則可見大量肉芽組織、織狀骨(woven bone)和板狀骨(lamellar bone)依次出現[19-21]。在修復時期的骨組織形成過程中，又可依位置的不同而有下列四種骨痂的形成：1)橋形骨痂（bridging callus），2)錨定骨痂（anchoring callus），3)聯合骨痂（uniting callus），和4)封閉骨痂（sealing callus）[22]。塑型時期，爲骨折癒合中重要的一個時期，此時期的作用主要是在骨折處使經由修復時期，所形成新的粗糙表面變的平滑，而恢復骨折前的同一外形[18]。骨折癒合的時期，在F＋O組斷端兩側皮質骨表面，有破骨細胞和造骨細胞的出現。其解釋理由爲TBC：1)刺激原始造骨細胞的增殖並進而使它分化成造骨細胞，2)促進單核細胞融合成破骨細胞，3)上述兩種因素的總合。骨折癒合的不同修復時期，可見於腓骨骨折後第八和十二週。在術後第八

週，修復時期和再塑型時期，同時見於F組和F＋O組中。骨痂形成的速度和量與F組比較，F＋O組有顯著增加的現象。其原因可能是TBC刺激大量的造骨細胞的形成，並出現於斷端附近，因而形成大量的骨組織（骨痂）。S組和S＋O組的左側假性骨折的腓骨以及所有動物右側完整（intact）的腓骨，在顯微放射攝影學的觀察，並未見有明顯不透X光射線的變化。

本研究成果顯示TBC對折斷的骨組織有促進修復和縮短療程的作用。

結論與建議

1．TBC具有促進折骨部位的修復作用。

2．TBC可縮短骨折癒合療程中的發炎期，並促使修復期的早日來到和加速進行。

3．TBC可促進原始造骨細胞的增殖和分化成造骨細胞以及增進其活性，另尚可加速單核細胞融合形成破骨細胞和增強其活性，而有利於折骨處新生骨的塑型和再塑型的進行。

4．TBC對較長骨折部位的骨組織的癒合療程有加快的作用。

5．對TBC作用於折骨癒合的機轉應予深入研究。

參考文獻

1. 戴新民：骨折,中醫傷科學. P.460-462, 啓業書局, 臺北市, 中華民國, 1978.

2. Harkess JW, Ramsey WC, Ahmadi B. 1984 : Principles of fractures and dislocations. In Rockwood CA Jr, Green DP (ed.) : Fracture. 2nd ed., pp.1-21, The J B Lippincott

3. 傅宇輝：長骨單純性骨折的修復,骨科學原理及應用(上). P.61-66, 大中國圖書公司, 臺北市, 中華民國, 1987.

4. Cruess RL. 1984 : Healing of bone, tendon andligament. In Rockwood CA Jr, Green DP(ed.) : Fracture. 2nd ed., pp.147-155, The JB Lippincott Company,Philadelphia,USA.

5. Riggs BL, Melton LJ III.1986 : Involutional osteoporosis. N Engl J Med, 314 : 1676-1686.

6. Wang TM. 1993 : Report of the 4th International Symposium on osteoporosis. Sciences and Development, Monthly, National Science Council, ROC, 2(10):1049-1051.

7. Lee TK. 1990 : Update on osteoporosis in Taiwan - - The geriatric study group of the Republic of China. 2nd Asian Symposium on osteoporosis. Proceeding editor : Chestnut C H, III, 8-12.

8. Simmons DJ. 1985 : Fracture healing perspective. Clin

Orthop, 200：100-113.

9. Simmons DJ. 1980 : Fracture healing. In Urist M R (ed.) : Fundamental and clincal bone physiology. 1st ed., pp.283-330, The JB Lippincott Company, Philadelphia, USA.

10. 陳奇：土鼈蟲,中藥名方藥理與應用. P.520-523, 南天書局, 臺北市, 中華民國, 1993.

11. 俞豪民：土鼈蟲,上海中醫藥雜誌. 3：14-17, 南天書局, 上海市, 1985.

12. 林祖侯：土鼈蟲, 雲南中醫學院院報. 9(1)：27-30, 貴州市, 1986.

13. 申海明：雲南白藥, 中成藥研究. (4)：21-24, 1985.

14. Olerud S, Lorenzi GL. 1970 : Triple fluorochrome labeling in bone formation and bone resorption. J Bone Joint Surg, 52(A)：274-276.

15. Ibsen KH. 1985 : Studies on the association of the tetracyclines. Clin Orthop, 200：85-86.

16. Jaworski ZFG. 1980 : Three dimensional aspects of lamellar bone formation and interpretation of the tetracycline labels in bone biopsy section. In bone Histomorphometry, 3rd International Workshop, Sun alley, May 28-June 2, pp.189-200.

17. Anderson C. 1982 : Embedding, section and staining. In

Anderson C (ed.) : Manual for the examination of bone. 1st ed., Boca Raton, Florida, USA, CRC Press Inc., pp.25-64.

18. Cormack DH. 1987 : Ham's histology. The JB Lippincott Company, Philadelphia, USA, pp.312-319.

19. Sevitt S. 1980 : Healing of fractures in man. In Owen R, Goodfellow J, Bullough P(eds.) : Scientific foundations of orthopaedics and traumatology. William Heinemann Medical Book, London, England, pp.258.

20. Sovitt S. 1981 : Bone repair and fracture healing in man. Churchill Livingstone, Edinburgh, England.

21. Simmons DJ. 1980 : Fracture healing. In Urist MR (ed.) : Fundamental and clinical bone physiology. The JB Lippincott Company, Philadelphia, USA, pp.283.

22. Weinmann JP, Sicher H. 1950 : Bone and bones. CV Mosby Company, St. Louis, USA, pp.285-312.

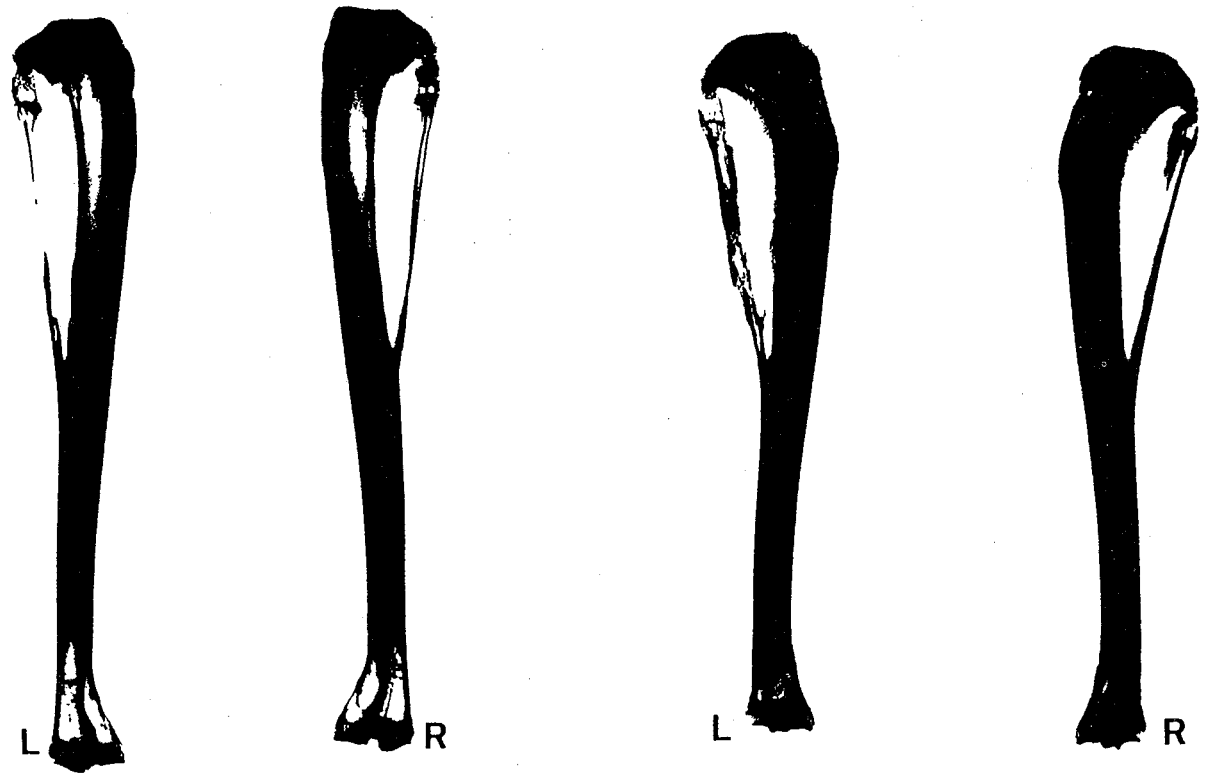


圖1.術後八週顯微放射攝影學觀察情形：左側腓骨斷端兩側皮質骨間，在F組(左)隱約可見織狀骨，兩斷端尚未連接在一起；在F+O組(右)可見較多的織狀骨，兩斷端幾已連接在一起(X1)。

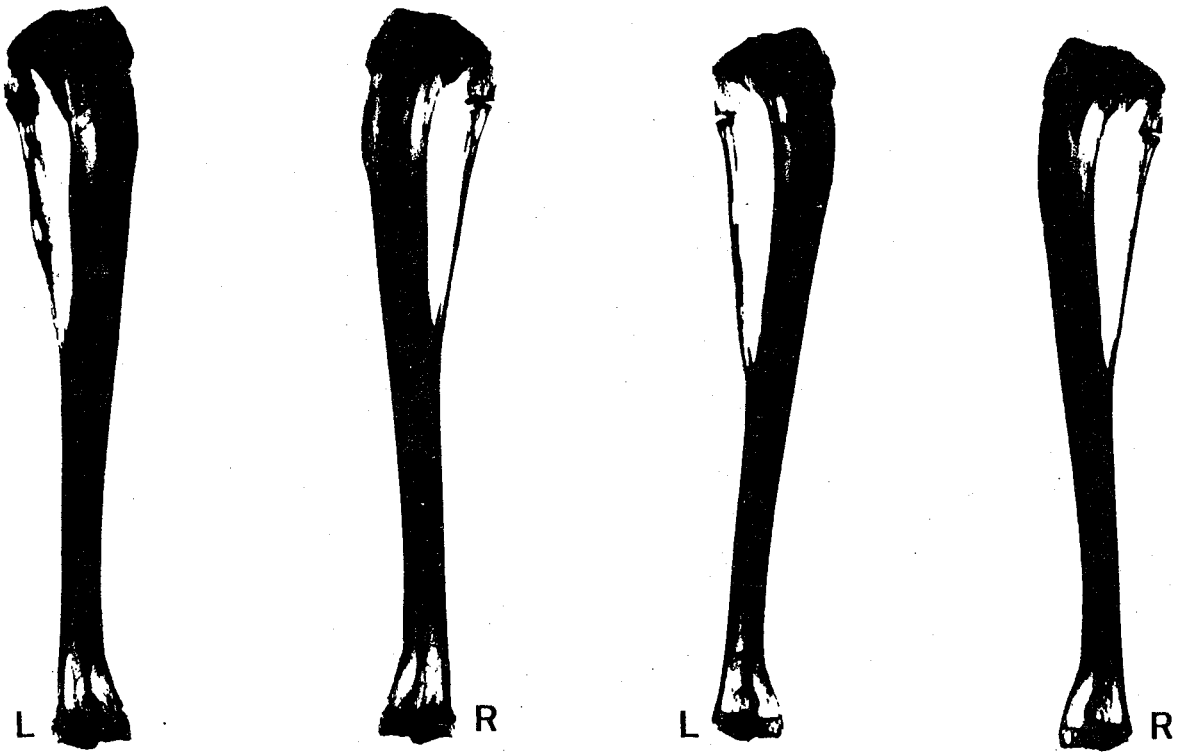


圖2.術後十二週顯微放射攝影學觀察情形：左側腓骨斷端處，在F組(左)可見錨定骨痂和聯合骨痂的形成，斷端已連接在一起；在F+O組(右)可見較多量的聯合骨痂形成和錨定骨痂幾近消失(X1)。

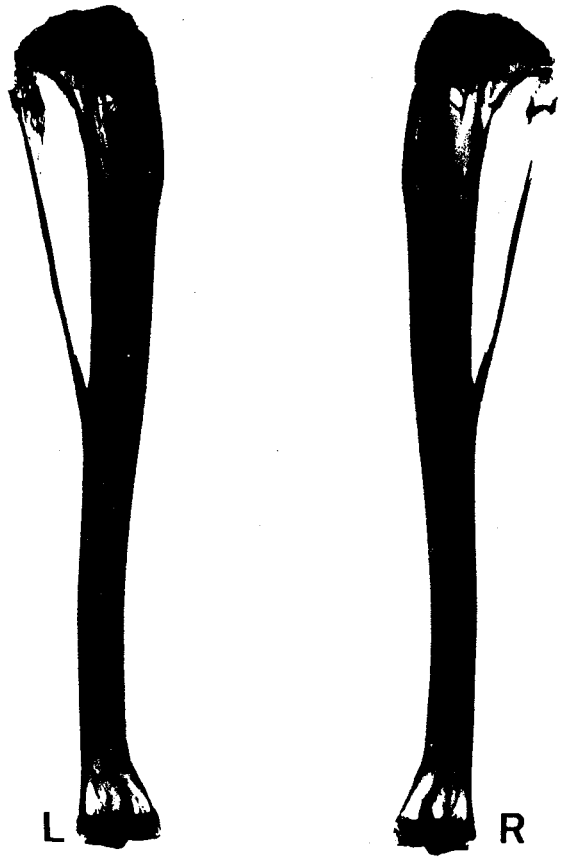


圖3.所有各組動物的右側腓骨以及S組的左側腓骨，其對X射線不透光的程度皆相近(X1)。

英文摘要

A Study of the Healing Response of the Fractured Bone to Tu-Beih-Chung

Teen-Meei-Wang

Institute of Preventive Medicine, National Defense Medical Center

Eighty New-Zealand male rabbits, weighing 2.8 kg, were randomly divided into 4 groups of 20 animals each. The rabbits of each group received sham operation on left hind limb as S group, sham operation and Tu-Bieh-Chung (TBC) Orally (O) as S + O group, fracture operation and removed 1.0 cm long of the shaft portion of left fibulae from 1.0 cm below the upper tibiofibular junction as F group, and fracture operation and TBC orally as F+O group. Animals were sacrificed at 8 or 12 weeks after operation, respectively. Seven days and 3 days prior to sacrifice, all animals were received 15 mg/kg of body weight of calcein, respectively. The fibulae were removed whole and assayed microradiographically and histomorphometrically for healing changes in gross appearance, callus formation and bone resorption and bone formation, and other elements. The results show the gross appearance of the S and S+O groups was not significantly different at all time intervals of treatment. The gross appearance of the F and F+O groups although showed significant differences at 8 weeks F treated group, separated fragments of fractured bone was still observed, however, fractured bone united together was observed at 8 weeks F+O treated group. At 8 weeks F+O treated group, the proceeding of modeling and remodeling was going on better than at 8 weeks F treated group. At 12 weeks F + O treated group, the gross appearance of fractured fibulae was almost recovered to the same appearance as preoperation. However, at 8 weeks F treated

group, the fractured fibula just united together. At 12 weeks F+O treated group, the process of modeling was complete and process of remodeling was still going on well. At 12 weeks F treated group, the processes of modeling and remodeling were proceeding regularly.

Based on these microradiographic and histomorphometric findings suggest that TBC not only could have a local therapeutic effect on a longer distance of fractured bone, but increase the callus formation and bone formation and the proceeding of bone modeling and remodeling processes.

編號 DOH84-CM-038

男性口服避孕藥（雷公藤）的藥物純化、作用機轉的臨床試用初步試驗

Purification, Mechanism Investigation and Clinical Trial of Tripterygium Wilfordii as Male Oral Contraceptive(phase I study)

江漢聲

台北醫學院泌尿科

摘　　要

基於整個醫療保健改善的需要，男性避孕藥的研發不僅能開啓人口控制的新紀元，也將解開男性不孕的許多奧祕，建立整個動物實驗、臨床實驗的完整體。而在所有男性避孕藥的研究方面來說，以中藥最具前瞻性，雖然 Gossypol 目前已無開發的價值，但雷公藤 (Tripterygium Wilfordii) 的抑制男性精蟲活動力在最近被發現，引起大陸許多學者積極的研究，根據本研究小組的評估，是相當有前途的一種新藥。

本研究計劃第一階段將在三年內對雷公藤的抽取、定性、純化、結構式判定，以及毒性試驗配合動物實驗和臨床試驗，對整個藥物是否能成爲很好的男性口服避孕藥，作一通盤瞭解。

在第一年的計劃中，我們一方面將雷公藤的抽取及各劃分部做一統和認定；另一方面我將進行動物餵食和睪丸內注射實驗來定位藥物作用機轉；同時也進行一般治療劑量的人體試驗，觀察實際藥效、全身毒性的有無回復性的多寡。

這個研究的最終目標是結合國內中藥和不孕的人才，以台灣目前科技背景，將男性避孕藥的研究突破，目前大陸發展現況爲中藥樹立新的指標，並建立國際上一定的地位。

雷公藤用於男性避孕藥的成兔實驗模式

前言

基於整個醫療保健改善的需要，男性避孕藥的研發不僅能開啓人口控制的新紀元，也將解開男性不孕的許多奧祕，建立整個動物實驗、臨床實驗的完整體。而在所有男性避孕藥的研究方面來說，以中藥最具前瞻性，雖然 Gossypol 目前已無開發的價值，但雷公藤（Tripterygium Wilfordii ）的抑制男性精蟲活動力再最近被發現，引起大陸許多學者積極的研究，根據本研究小組的評估，是相當有前途的一種新藥。

在第一年的計劃中，我們一方面將雷公藤的抽取及各劃分部做一統和認定；另一方面我將近行動物餵食和睪丸內注射實驗來定位藥物作用機轉。

這個研究的最終目標是結合國內中藥和不孕的人才，以台灣目前科技背景，將男性避孕藥的研究突破，目前大陸發展現況為中藥樹立新的指標，並建立國際上一定的地位。

Abstract

For the study of male contraceptives, Gossypol had ever been

sophisticated evealuated in the past year as both in animal models and in vitro study . However, because of the intolerable clinical side-effect, most of the study projects was terminated. Considering the improvement of the contraceptive trend in our society, newly developed male contraceptives, Tripterygium Wilfordii, is very particle, promising for our further study.

In our 3 year study project, the first phase will be focussed in the extraction, purification, qualitation and structure determination for the effective compound of Tripterygium Wilfordii. In the mean time, toxicity evaluation such as LD 50 will to performed in animal experiment for the preparation of early clinical trial.

We are going to do animal (rabbit) feeding, intratesticular injection assay with Tripterygium Wilfordii in the first year study. Serial biopsy as well as protein determination will be analyses to understand the mechanism of spermaidal effect. Meanwhile, traditional usual dose will be given to the volunteers to observe the drug effect, systemic toxicity (if any) and reversibility after discontinuing medication.

Final goal of this project is wishing to develop a perfect design for the study of Chinese herbal medicine. Through the discovery of a good male oral contraceptive we could develop more medication from our traditional medicine and establish a better academic status in the scientific field.

研究步驟、材料和方法

（1）本研究在第一年的研究執行步驟進行如下：

1.雷公藤研究之參考資料總整理：收集歷年來在大陸和世界各地有關雷公藤的研究報告和參考資料，研判以往做過研究的意義和缺失，評估將來在進行時的方向，可能遭遇的困難，如何以最短的時間得到最有意義的結果。

2.雷公藤材料之選取：雷公藤植物分布於浙江、江西、安徽、湖南、廣東、福建和台灣，藥草種類和藥效頗有差異，其中化合物成份可達20種以上，如果以雷公藤根乾燥後來抽取，鑑定成份，純化來做研究，須有一段很長的時間，並有專業的藥化知識配合才行，根據本研究小組多方接洽，透過可靠的管道，從大陸江蘇泰州製藥廠獲得相當純化的雷公藤抽取物T2來進行研究，省略掉先前的化合物抽取自製的過程。

3.動物實驗的設計：配合本研究小組在其他生殖研究的動物模式，決定以成兔為實驗的對象，而一般有關雷公藤的研究都是以雄性大鼠為材料。本研究的實驗設計分為雷公藤抽取化合物的口服和睪丸內注射模式，用以討論雷公藤各種劑型、劑量所引起動物睪丸急性、慢性的不同變化。

4.人體試驗的接洽：有接做男性避孕的口服藥臨床試驗，不容易為病人所接受，因為病人會擔憂失去男性功能或永久的生育力，所以祇能配合雷公藤在中藥的應用，於類風濕關節炎病人身上的臨床變化來做分析，本研究小組已和中國醫藥學院周昌德醫師接洽，從已在服用雷公藤病人身上進行臨床研究中。

材料：

（1）雷公藤抽取物：夠自江蘇泰州製藥廠，為TII
(Tripterygium Wilfordii GII)

劑量：1mg/0.1ml 0.75 alc
純度：0.95

（2）動物：本研究選取國產紐西蘭成兔為動物實驗材料，成兔為重約二公斤以上，可觀察到兩側睪丸均下降在陰囊中，以立於進行生殖研究。

方法：

（1）雷公藤抽取物T2成兔口服試驗

成兔五隻為一組，稱重，詳細檢查記錄睪丸大小和生殖器官外形正常，控制組為正常飲食，研究組則給予T2口服，計量為每日30 mg/kg/d 連續30天，觀察睪丸、生殖器官、體重、全身狀況之改變，在停藥後0天、35天、80天進行成兔之解剖，取下所有生殖器官，外觀觀察稱重之外，進行病理切片檢查，以臘石染色做病理變化診斷。

（2）雷公藤抽取物T2成兔睪丸內注射試驗

成兔兩隻為一組，稱重，詳細檢查記錄睪丸大小和生殖器官外形正常，進行一側睪丸內之注射，方法為在 KETAMINE 麻醉下，將成兔睪丸握擠出陰囊表面，以23號針頭將0.75% alc 1CC 溶液直接打入睪完被腋下。研究組在一側睪丸內打入 1mg/0.1ml 0.75 alc T2，控制組則打入同量生理食鹽水，另一側睪丸不打任何藥物。經過2週、4週、8週後，每一隻成兔觀察睪丸周圍和精道是否有外觀的改變，稱重，測量睪丸大小，進行解剖；取下所有生殖器官做病理切片，以臘石染色做病理變化之診斷。

結果和初步分析

(1.) 雷公藤抽取物T2成兔口服試驗：

停藥0天後的成兔可在睪丸切片內見到大部分的曲細精管呈現萎縮的現象，上皮細胞明顯受損，精原細胞變尖小，成熟的精細胞幾乎在管腔內見不到，而管腔壁的基底膜細胞則有增厚的現象，副睪丸小管內僅見到極少數的精蟲殘留。停藥後35天和80天的成兔其睪丸切片則與正常之睪丸切片無異，精原細胞圓熟而曲精小管和副睪丸小管內則充塞著成熟的精蟲。

(2.) 雷公藤抽取物T2成兔睪丸內注射試驗

注射後2週、4週、8週的成兔其注射75%alc T2側之睪丸切片可見在大部分曲精小管管腔中發現許多的Giant cell，其染色特徵則與Sprtoli cell 相同，管腔內之成熟精細胞明顯減少。

而注射75%alc側之睪丸切片內只能在少數小管管腔內發現Giant cell，且其通常單獨存在，不似對側有Giant cell ccumulation 之現象。而大部分管腔內之精細胞成熟過程皆無明顯變化。副睪丸小管內亦可見成熟精蟲充塞。

討論

本研究所採取的雷公藤抽取物化合物是雷公藤總醣（Total glycosicle of Tripterygium Wilfordii 簡稱 TII），此部份的基礎研究在大陸上以做過，並有充份的數據如下，是本研究所依據的一個基本：

1.TII是七個環氧二帖內酯化合物的化學結構（6）（圖１）內容物的化學名稱和化學方法結構請見附表（表１）。

2.從雷公藤中分解的六個化合物和ＴII的抗炎作用、免疫作用與抗生育作用（7）的劑量：ＬＤ50、ＥＤ100（ＰＯ）都有精確的研究（表２）。

3.ＴII對小鼠大鼠一般儀器的影響包括抑制炎性反應（1）（4）、抑制抗體反應、抑制體溫升高、抑制某些細菌的生長等作用，較明顯的作用是男人乳房增大。

4.ＴII對大鼠製精功能的影響包括精原小管萎縮變小、精原細胞小尖、成熟精細胞幾乎看不到，內質細胞增生、基底膜增厚等等（2）（4）。ＴII對小鼠的製精功能影響也差不多是一致的（3），服藥一個月(30mg/kg/d)有相當明顯的上述變化，但停藥2-3個月則製精功能慢慢恢復正常。

本研究在動物實驗中以兔子為模式，分別以口服雷公藤總醣（ＴII）和睪丸內注射的方式來證實雷公藤對雄性動物生殖能力卻有影響。這是我們第一年建立起來的動物實驗模式，將在後續幾年連續進行更進一步的研究，包括：

(1)不同劑量、不同時間服用的不同影響。

(2)可回復性的研究和討論。
(3)雷公藤所引起的睪丸生殖細胞變化的分子生物學探討。
(4)不同雷公藤成分（或以T4為研究重點）產生的影響評估。
(5)其他臟器的影響和人體可能副作用的避免。

臨床試驗方面，本研究所遭遇的困難事無法說服一般病人接受男性口服避孕藥的試用，必須合併在雷公藤其他中藥用途上來觀察病人的生育力改變。在後蓄幾年的工作中，我們將積極找尋服用雷公藤的病人，做精液分析和精蟲評估，累積到一定的病例數再做統計分析，以為下一波較大規模臨床試驗的準備。

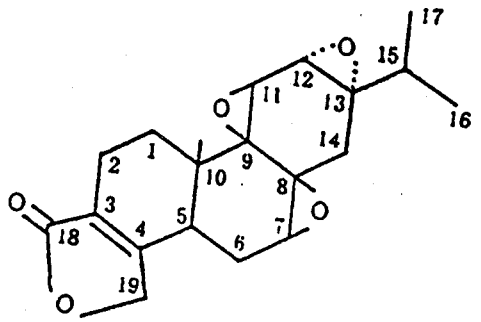


图 1 环氧二萜内酯化合物的基本结构
Elementary structure of diterpene lactone epoxide compound

表1 从雷公藤中分离的7个环氧二萜内酯化合物的化学结构

The chemical structures of 7 diterpene lactone epoxide compounds extracted from TW

Code	Chemical name	Structural formula	
		C_{14}	Others
T10	Triptolide	-OH	
T4	Tripchlorolide	-OH	C_{12}-Cl C_{13}-OH
T7	Triptonide	=O	
T8	Tripdiolide	-OH	C_{8}-a-OH
T9	Triptolidenol	-OH	C_{13}-OH
T11	Triptriolide	-OH	C_{12}-OH C_{13}-OH
L2	16-hydroxytriptolide	-OH	C_{16}-OH
TTG	Total glycosides		

表2　从雷公藤中分离的6个化合物及TⅠ的抗炎作用和免疫抑制作用与抗生育作用的剂量比值

Table　A comparison of doses necessary for antiinflammatory-immunosuppressive action and antifertility action of 6 compounds and TⅠ extracted from TW

Compound	$LD_{50}\pm1.96SLD_{50}$ (mg/kg, po, Karber's)	The lowest effective dose (po) in AFA (mg/kg×33d)	ED_{100}(po) AIA (mg/kg×1d)	ED_{100}(po) ISA (mg/kg×5d)	Dose ratio AIA/AFA	Dose ratio ISA/AFA
T4	1.65	0.026	0.53	0.17	20.4	6.53
	±0.13	(0.86)	(0.53)	(0.85)	(0.6)	(0.99)
T7	5.68	0.142	2.32	1.64	16.3	11.5
	±0.50	(4.69)	(2.32)	(8.2)	(0.5)	(1.8)
T8	0.80	0.02	0.39	0.21	19.5	10.5
	±0.08	(0.66)	(0.39)	(1.05)	(0.6)	(1.6)
T9	3.26	0.054	1.49	0.29	27.6	5.3
	±0.31	(1.65)	(1.49)	(1.45)	(0.9)	(0.9)
L2	0.92	0.027	0.54	0.17	20.0	6.3
	±0.11	(0.89)	(0.54)	(0.85)	(0.6)	(0.96)
T10	0.94	0.024	0.13	0.16	5.4	6.7
	±0.08	(0.79)	(0.13)	(0.80)	(0.2)	(1.0)
TⅡ	156.3	7.80	76.9	21.4	9.9	2.7
	±15.1	(257.4)	(76.9)	(107.1)	(0.3)	(0.4)





表3.上：口服雷公藤的成兔於停藥後0天取其睾丸切片可見明顯的曲精小管退化萎縮，精原細胞減少，管腔內已幾乎見不到成熟的精蟲。

下：放大圖。

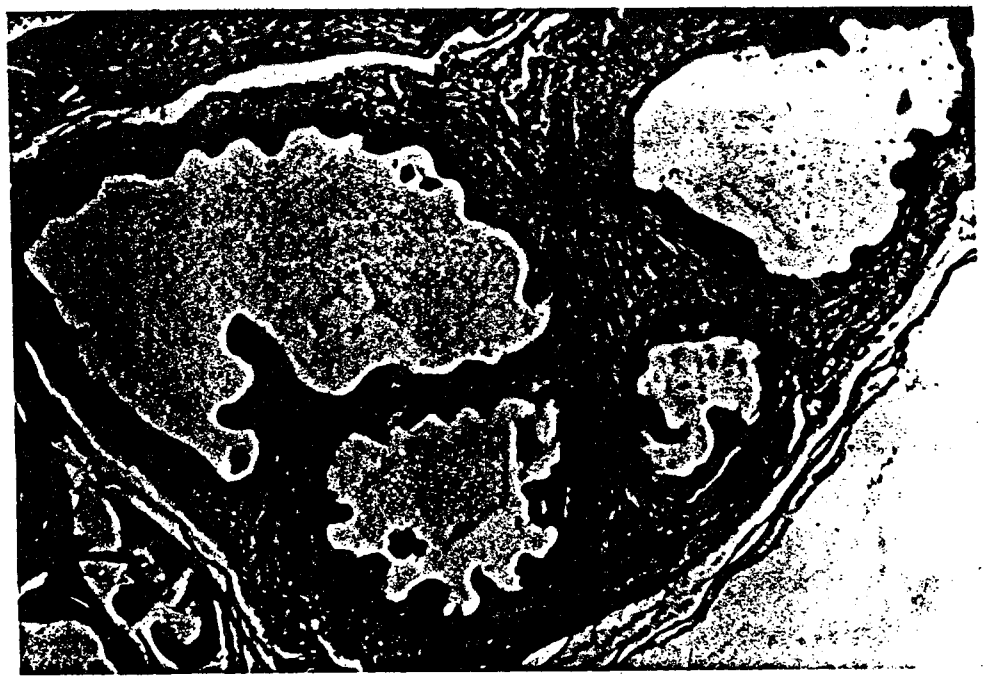


表4. 口服雷公藤的成兔於停藥後0天取其副睾丸切片可見精原細胞減少，管腔內已幾乎見不到成熟的精蟲。



表5. 口服雷公藤之成兔精停藥35天後其睾丸切片可見大部分的曲精小管皆已恢復正常，但仍可見到少數的曲精小管仍是退化萎縮的現象。

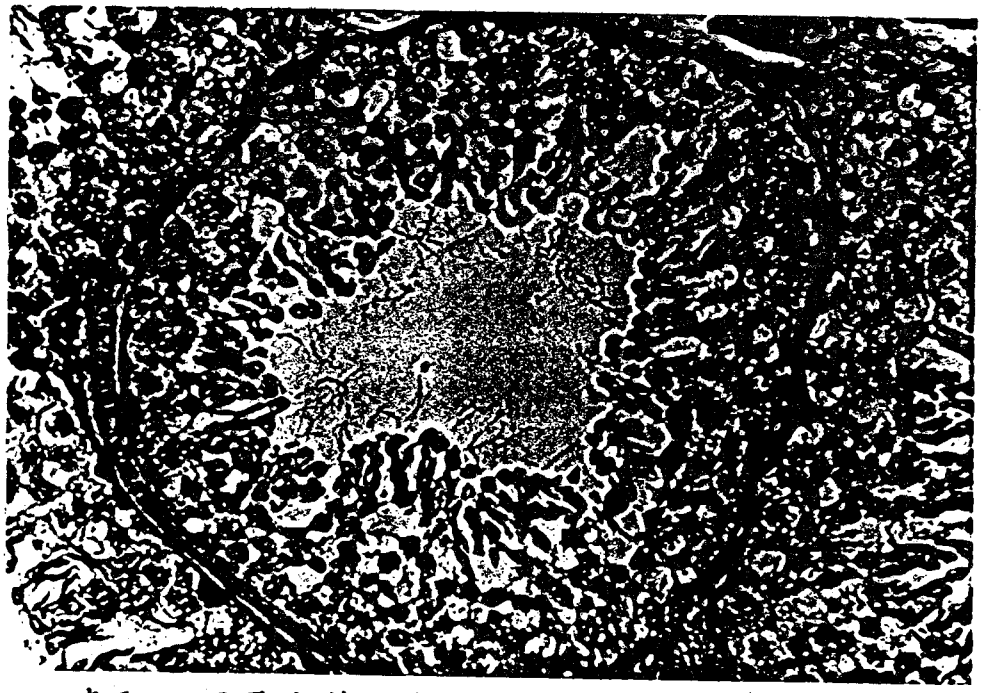


表6. 口服雷公藤之成兔停藥後80天後其睾丸切片可見正常之曲精小管。

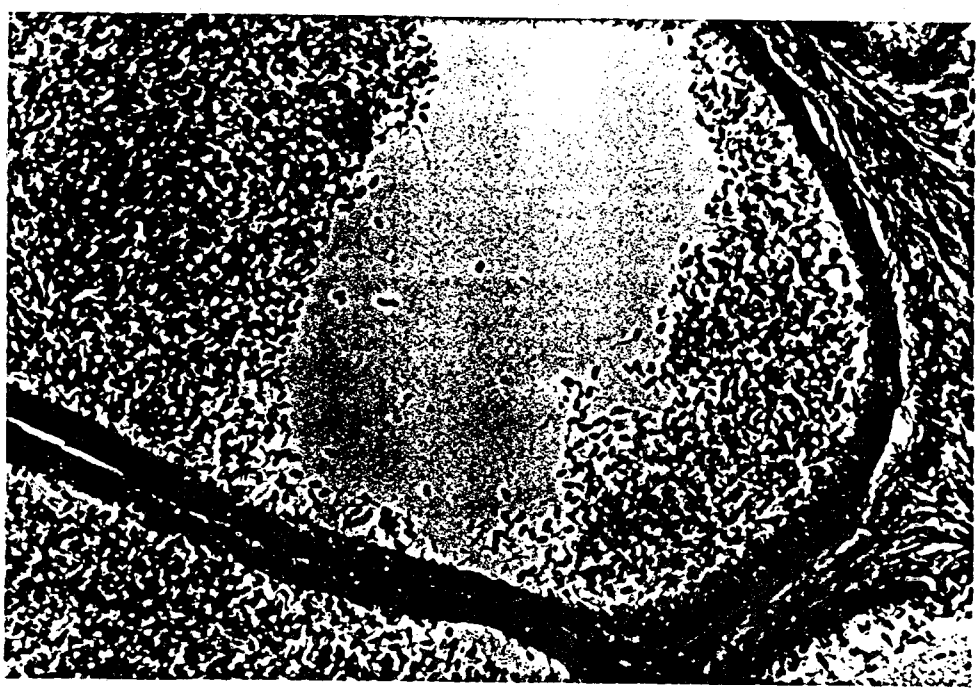
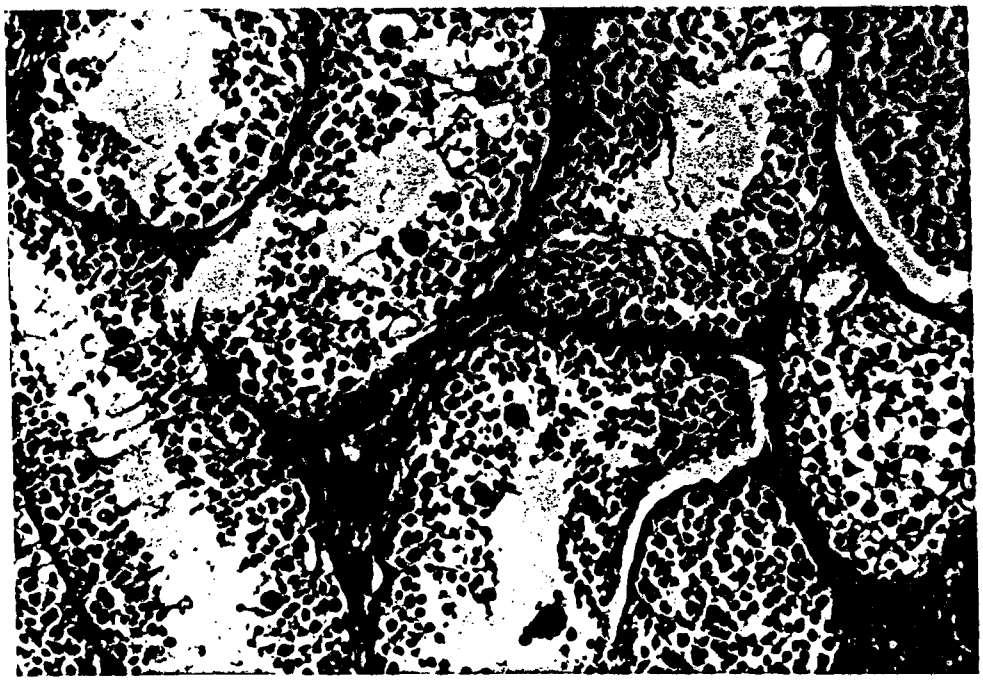


表7. 口服雷公藤之成兔于停藥80天後其副睾丸切片可見小管內充塞大量的成熟精蟲。



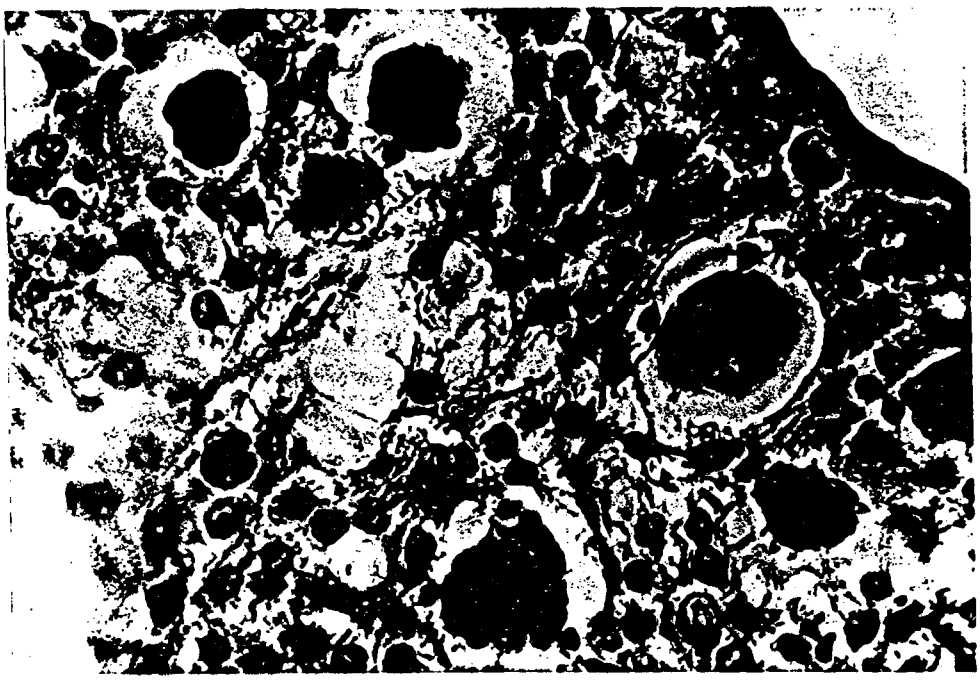


表8.上：成兔睪丸內注射75% alc TII後取其睪丸切片可見曲精小管內成熟精蟲減少，而管腔中有多數的多核巨細胞其染色與 Sertoli cell 類似。

下：放大圖，可清楚見到 Polymucleas Giant cells 。

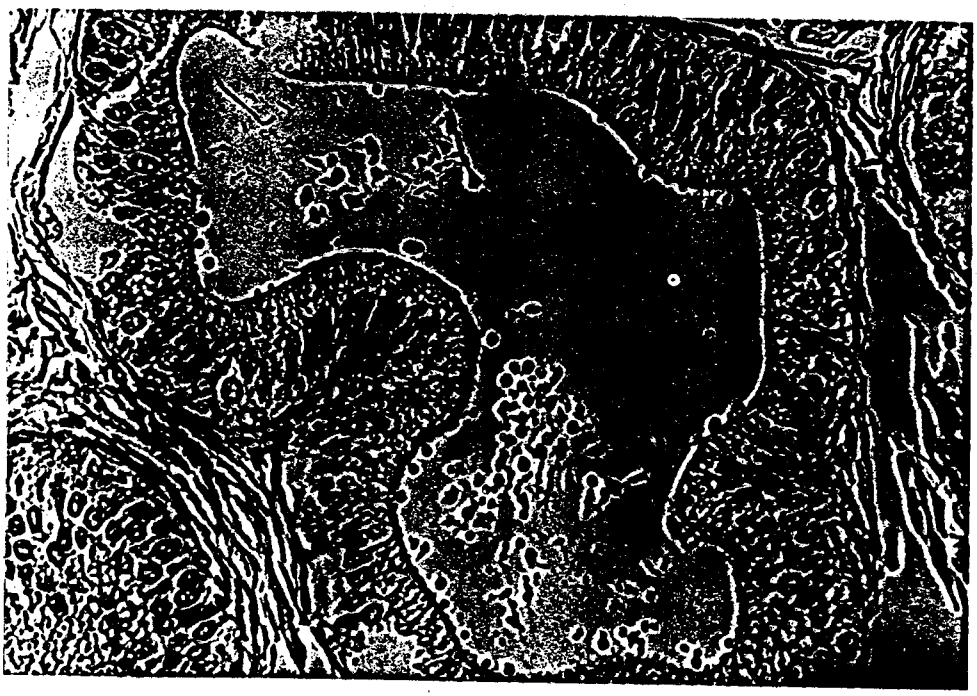


表9.成兔睾丸内注射75% alc TII後取其副睾丸切片可見副睾丸小管内只有少數精蟲分布。



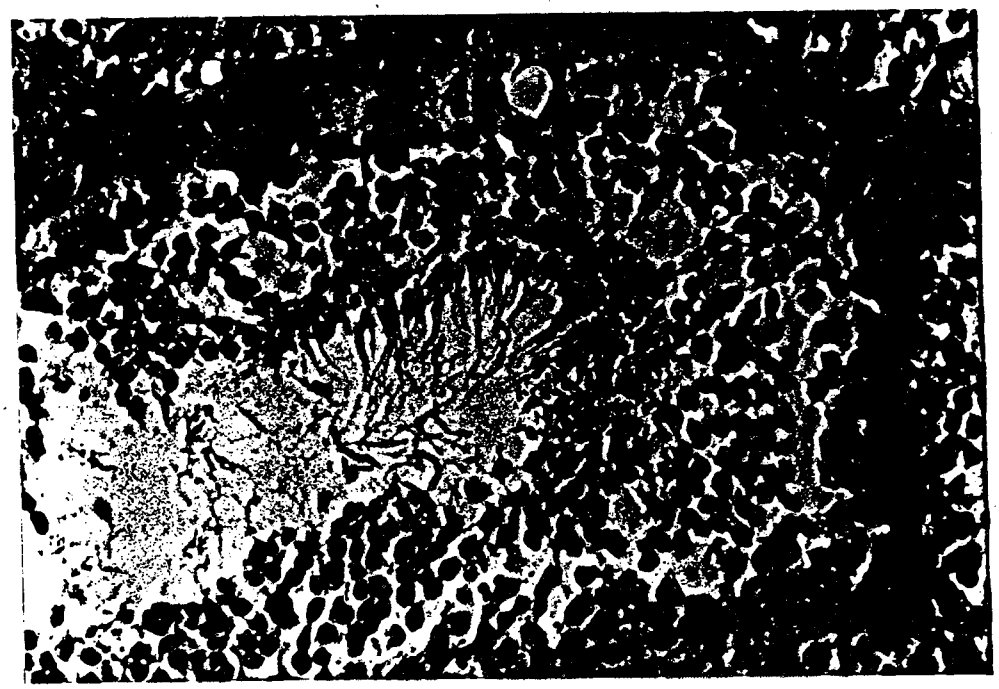


表10.上：成兔睪丸內注射75% alc 後取其睪丸切片可見正常之曲精小管橫切 。

下：放大圖，可清楚見到 Spermatids 和 Sperm。

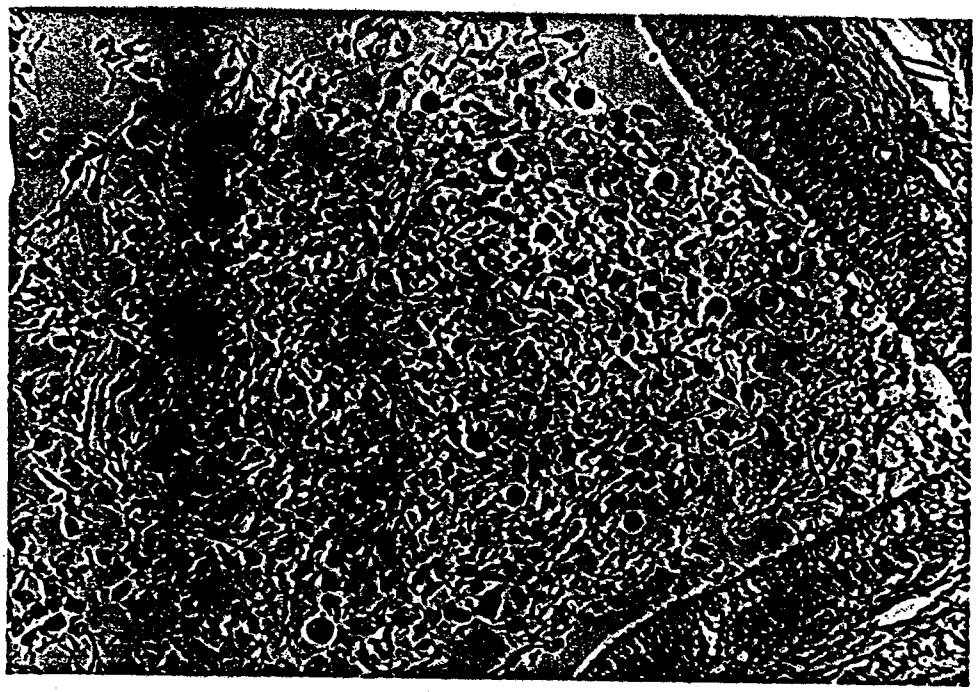


表11.成兔睪丸內注射75% alc 後取其副睪丸切片可見副睪丸內充塞有大量成熟精蟲。

重要文獻參考：

1.鄭家潤等；雷公藤總醣（TII）藥裡作用探討、中國醫學科學院學報、1983:5(2):73

2.鄭家潤等；雷公藤總醣（TII）對生殖器官的影響Ⅰ.對雄性大鼠的實驗、中國醫學科學院學報、1985:7(1):1

3.鄭家潤等；雷公藤總醣（TII）對生殖器官的影響Ⅰ.對小鼠生殖器官及生育能力影響的動態觀察、中國醫學科學院學報、1986:8(1):19

4.雷公藤總醣（TII）對大鼠小鼠生殖器官及生育能力的比較

5.葉惟三、黃玉苓等；雷公藤多醣極其單體T4對大鼠精子發生影響的初步觀察、中國醫學科學院學報、1991:13(4):235-240

6.鄭家潤等；雷公藤抗炎免疫及抗生育活性成分的篩選III.7個環氧二帖內酯化合物體內抗炎免疫活性的比較、中國醫學科學院學報、1991:13(6):391

7.鄭家潤等；雷公藤抗炎免疫及抗生育活性成分的篩選III.7個環氧二帖內酯化合物體內雄性抗生育活性的比較、中國醫學科學院學報、1991:13(6):398

8. Chiang, HS, Chang, TT, Chen, HM, and Yang, LL.:Caesalpinia sappan as a vaginal spermcidal: in vitro evaluation. Bulletin of Taipei Medical College 1991; 20:55-62.

9.八十年度衛生署科技研究發展計劃成果報告。四君子湯對男性不孕症之評估。(DOH-CCM-8011)

10.八十一年度衛生署科技研究發展計劃成果報告。補中益氣湯、牛車腎氣丸對男性不孕症之評估。(DOH-81-CM-009)

11.Quian SZ: The advancement in tripterygium research. Chinese J Androl 1992, suppl 6(3):42-45.

12. Jia, TH, Wang, XX, Xiu, HM et al: Ultrastructural observation on the immunological cells in semen from tripterygium wilfordii takers. Chinese J Androl 1992, suppl 6(3):117.

13.Zhang, JW, Matlin, SA, Stacey, V, Qian, SZ:Triptolide, an antifertility compound isolated from tripterygium wilfordee. Chinese J Androl 1992, suppl 6(3):129.

14.Dang, LK, Zhang, SL, Wang, Y, Dai, JF, Qiu, JS, Sun, YB: Studies on the mechanism of sperm damage treated by tripchlorolide (T4). Chinese J Androl 1992, suppl 6(3):114.

15. Akhtar FB, Marshall GR, Nieschlage E : Testosterone supplementation attenuates the antifertility effects of

an LHRH agonist in male monkeys. Int J Androl 1983b; 6: 461-468.

16. Wu FCW: Male contraception : current status and future prospects. Clin Endocrinol 1988; 29:443-465.

17. Moore HDM, Hartman TD: Localization by monoclonal antibodyeis of various surface antigens of hamster spermatozoa and the effect of antibody on fertilization in vitro. J Reprod Fertil 1984; 70:175-185.

18. Elsimar MC, Jose FM, Ione B, Sheldon JS: Antispermatogenic action of gossypol in men. Fertil Steril 1984; 42(3): 424-430.

19. Chiang, HS, Yang, LL, Chen HM, and Liang, WH: Effects of Chinese herbal medicines on the human sperm motility - evaluation of the in vitro study. J Urol ROC 1990; 1(1): 24-33.

20. Shih, IE, Chiang, HS, Yang, LL, and Tian TL:Antimotility effects of Chinese herbal medicines on human sperm. J Formosan Med Assoc 1990; 89(6): 466-469.

21. Chiang, HS, Wang, SP, and Hsu, FL : In vitro screening of antimotility effect on human sperm with polyphenolic compounds purified from Chinese herbal medicines. Adv Cont Deliv Syst 1992; 8:239-246.

編號 DOH84-CM-039

當歸拈痛湯對乙型第一介白質及甲型腫瘤壞死因子之訊息核醣核酸之影響

劉宏文

高雄醫學院

摘　　要

本研究的目的在於探討當歸拈痛湯之免疫調節作用。研究中，運用 Northern Blot 技術，來測定當歸拈痛湯作用下，乙型第一介白質及甲型腫瘤死因子之訊息核醣核酸之表現。結果顯示，當歸拈痛湯在 100ug/ml 及 1mg/ml 時，可有效抑制經 LPS 刺激的單核球之乙型第一介白質及甲型腫瘤壞死因子之訊息核醣核酸之表現。

本研究在分子醫學的層次上確證了當歸拈痛湯對乙型第一介白質及甲型腫瘤壞死因子之影響和彼等之訊息核醣核酸受抑制有關。

The effects of Dang-Gwei-Nein-Tong-Tang on interleukin-1β and tumor necrosis factor - alpha messenger RNA

SUMMARY

The purpose of this study is to investigate the immuno-modulatory effect of Dang-Gwei-Nein-Tong-Tang (DGNTT).

IL-1 β mRNA and TNF α mRNA expression of monocyte was measured by Northern blot to study the immunomodulatory effect of DGNTT.

The results showed that both IL-1 β mRNA and TNF α mRNA expression of monocyte & LPS stimulation could be effectively inhibited by DGNTT at 100 ug/ml and 1 mg/ml.

壹. 前言:

類風濕性關節炎（rheumatoid arthritis; RA）是一種主要侵犯關節的自體免疫性疾病。因其有關的致病機轉仍未十分瞭解，因此至今對此類疾病的治未療仍未十分令人滿意。有關 RA 致病機轉的最新研究很多，其中不少的研究指出 cytokines 是引起 RA 產生發炎及破壞的重要物質，而其中的 interleukin-1（ IL-1 ）和 tumor nerosis factor-α (TNF-α) 更扮演重要角色。因此抗風濕藥物對 IL-1 和 TNF-α 製造和分泌的影響與其療效有著很重要關係。

過去一年，吾等進行中藥治療類風濕性節炎之開發研究，令人振奮的在三種傳統的中藥方劑中發現當歸拈痛湯能有效的抑制體外的 IL-1β 和 TNF-α 兩種 cytokines 的產生，爲本方在 RA 的治療機轉提供了理論佐證。由於有了上述的發現，我們試圖進一步在分子醫學的層次上探討本方對 IL-1β 和 TNF-α 兩種 cytokines 的訊息核醣核酸（mRNA ）之影響以了解本方之影響層次是否和彼等之訊息核醣核酸有關，期能更深入了解本方之作用機轉。

貳. 材料和方法:

1. 當歸拈痛湯之淬取:

將所含各味中藥研磨、混合，而後依1克藥材加入 20ml 蒸餾水之比例，煮至剩餘一半之液體，將湯藥離心，收取上清液，再以 0.2μ minipore 濾紙過濾，再進行冷凍乾燥，而後再以 PRMI 做適當稀釋。

2. 單核球 (monocyte) 之分離:

使用 Nycoprep 1.0608 分離可得到 98% 純度之 monocyte 且存活率 > 95%。

3. 細胞之培養

取上述分離之單核球，以 RPMI 1640 完全培養基 (RPMI 1640 + 10% FBS + 100 ug/ml penicillin + 10 ug/ml streptomycin) 稀釋至 2 x10^6 cell/ml 後， 每 plate 加入 500 ul cell suspension，並添加 250 ul LPS (final concentration 0.1 mg/ml)，實驗組則再加入 250 ul 不同濃度之中藥，對照組加入 500 ul RPMI 1640 於 37℃，5% CO_2 培養 24 hrs、離心、收取細胞，淬取 RNA，進一步測定 IL-1β 及 TNF-α 之 mRNA 表現。

4. RNA extraction:

利用 ultraspec RNA kitt 分離 RNA，其方法簡述如下:

取 cultrue cell 加 ultraspec RNA solution 置 4℃，5 分鐘

↓

加 chloroform

↓

劇烈搖動 15 秒

↓

4℃，5 分鐘

↓

離心(12,000g)，4℃，5 分鐘

↓

取上清液至另一 tube

↓

加入等量 isopropanol，4℃，10 分鐘

↓

離心 (12,000g)，4℃，10 分鐘

↓

去除 supernatant

↓

以 75% Alcohol 洗 RNA pellet 二次

↓

Air Dry

↓

將 RNA pellet 溶於 DEPC treated water

5. IL-1β 和 TNF-α mRNA 之測量：

使用 Northern blot 方法測定，簡述如下：

Northern blotting:

Fifteen micrograms of total RNA were denatured with 6.5 % formaldehyde and 50 % formamide for 15 min at 55 ℃ and separated by electrophoresis through 1.2 % agarose gels containing 1.1 % formaldehyde. The gels were blotted onto a nitrocellulose membrane (Schleicher and Schuell Gmbh, Dassel,

Germany). The filters were hybridized with a random primed , 32-P labeled, 440 bp fragment of TNF α cDNA or 800 bp fragment of IL-1 β cDNA. The hybridized filters were then washed in 30 mmol/L NaCl, 3 mmol/L sodium citrate, and 0.1 % sodium dodecyl sulfate (at 65 ℃) and autoradiographed. The membrane was rehybridized with a 700 bp PstI fragment of β-actin probe to correct for fifference in loading. The signals on autoradiography were scanned with a Molecular Dynamic (Sunnyvale, CA) computing laser densitometer and MD ImageQuant software release version 3.22.

參. 結果:

（一）單核球經 LPS 刺激24小時後，不論是 IL-1β mRNA 或 TNF-α mRNA 比起對照組（未加 LPS ）皆有明顯的上昇。然而單核球在 LPS 刺激下又加入各種濃度的當歸拈痛湯時，則隨著濃度的不同、個體的不同，IL-1β mRNA 或 TNF-α mRNA 之變化有所不同。在每個個體之反應情形，請看圖 1～5。

（二）當歸拈痛湯對整體 IL-1β mRNA 之影響：
從圖六來看，80% 的個體在 100 ug/ml 的當歸拈痛湯作用下，IL-1β mRNA 的表現開始有下降趨勢，而在 1 ug/ml 時下降更爲明顯。整體來看，LPS 刺激後 IL-1β mRNA 的表現爲對照組的 8 倍，然加入當歸拈痛湯後，於 100 ug/ml 濃度時，IL-1β mRNA 的表現爲對照組 6．1 倍（爲 LPS 刺激組的75%）；於 1 ug/ml 濃度時，IL-1β mRNA 的表現爲對照組的 2．4 倍（ 爲 LPS 刺激組的30% ）。

（三）當歸拈痛湯對整體 TNF-α mRNA 之影響：

從圖七來看 80% 的個體在 100 ug/ml 的當歸拈痛湯作用下其 TNF-α mRNA 的表現即有明顯下降；而在 1 ug/ml 和 10 ug/ml 的當歸拈痛湯作用下，其 TNF-α mRNA 的表現即有下降。依整體平均值來看 TNF-α mRNA 的表現，在 LPS 刺激後，爲對照組的 6.7 倍。而隨著當歸拈痛湯的添加，在 100 ug/ml 時 TNF-α mRNA 的表現只有對照組的 3.5 倍（爲 LPS刺激組的 0.25 倍）。而在當歸拈痛湯 1 ug/ml 組的 2.9 倍（爲 LPS 刺激組的 0.43 倍）。

肆. 討論與結論:

當歸拈痛湯被用來治療關節炎已有千年歷史，去年我們證明了本方確可在體外抑制 LPS 刺激後 IL-1β 與 TNF-α 之產生，今年本研究則進一步證實了本方可抑制 LPS 刺激後IL-1β 與 TNF-α mRNA 之表現。此結果說明了具有抗炎作用之當歸拈痛湯之作用機轉中很重要之一個環結乃是透過了訊息核醣核酸之調控。這個結果使我們對當歸拈痛湯之作用機轉有了更深一層之認識。也將將使我們往後對中藥之研究能有一個更好的方向。

至於本方中，藥味眾多，那一個藥物對 IL-1β 與 TNF-α 之調節扮演著最重要之角色及其成份如何，目前尚無資料，未來仍有待進一步探討。

伍. 重要參考文獻:

1. Arnett FC, Edworthy X, Block DA et al: The 1987 revised ARA criteria for rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 30:S17,

1987.
2. Buchan G, Barrett K, Turner M et al: Interleukin-1 and tumor necrosis factor mRNA expression in rheumatoid arthritis: prolonged production of IL-1. Clin. Exp. Immunol. 73:449-455 1988.
3. Firestein GS, Alvaro-Gracia JM, Invaifler NJ: Quantitative analysis of cytokine gene expression in rheumatoid arthritis (abstract). Clin. Res. 37:586A, 1989.
4. Estagate JA, Symons JA, Wood NC et al: Correlation of plasma ilterleukin 1 level with disease activity in rheumatoid arthritis. Lancet II: 706-709, 1986.
5. Shore A, Jaglal S, Keystone EC: Enhanced interleukin 1 generation by monocytes in vitro is temporally linked to an early event in the onset or excerbation of rheumatoid arthritis. Clin. Exp. Immunol. 65: 293-302,1986.
6. Dayer J-M, Beutler B, Cerami A: Cachectin/tumor necrosis factor stimulated collagenases and prostaglandin E2 production by human synovial cells and derma fibroblasts. J. Exp. Med. 162: 2163-2168, 1985.
7. Yocum DE, Esparza L, Dubry S et al: Characteristics of tumor necrosis factor production in rheumatoid arthritis. Cell Immunol. 73:88-92. 1988.
8. Hopkin's SJ, Meager A: Cytokines in synovial fluid. II. The presence of tumor necrosis factor and interferon. Clin. Exp. Immunol. 73:88-92, 1988.
9. Saxan T, Palladino MA Jr, Heinegard D et al: Dectection of tumor necorsis factor but not tumor necorsis factor

B in rheumatoid arthritis fluid and serum. Arthritis Rheum. 31: 1041-1045, 1988.

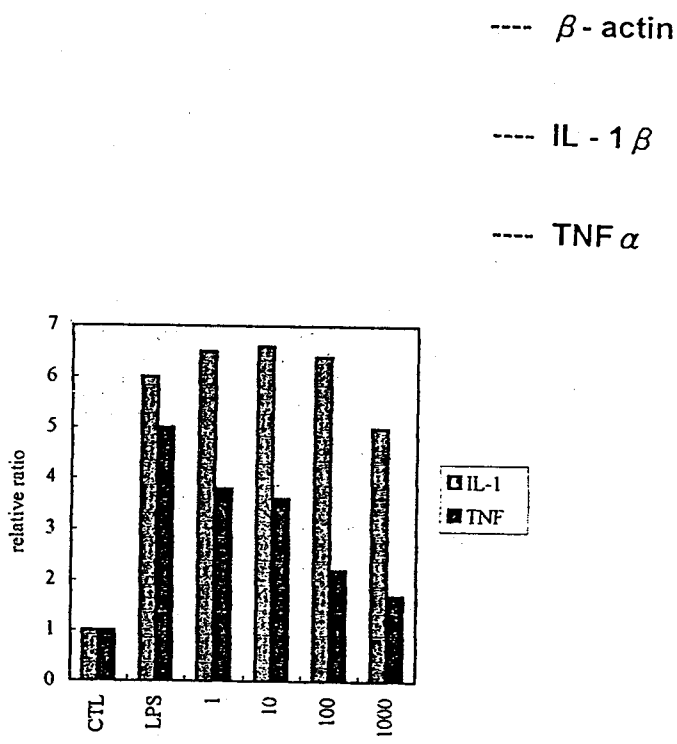


Fig 1. IL-1 β and TNF α mRNA expression in case 1.

---- β - actin

---- IL - 1 β

---- TNF α

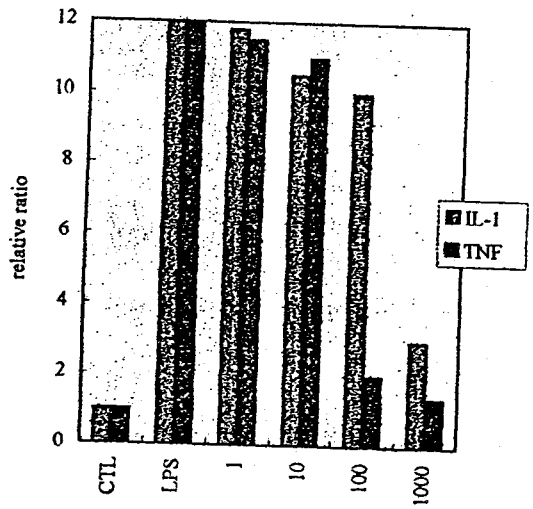


Fig 2. IL-1 β and TNF α mRNA expression in case 2.

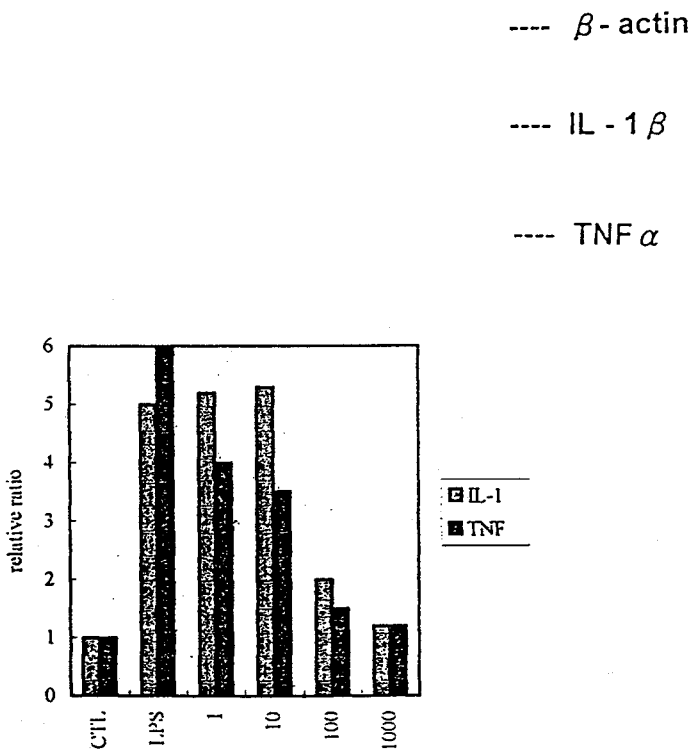


Fig 3. IL-1 β and TNF α mRNA expression in case 3.

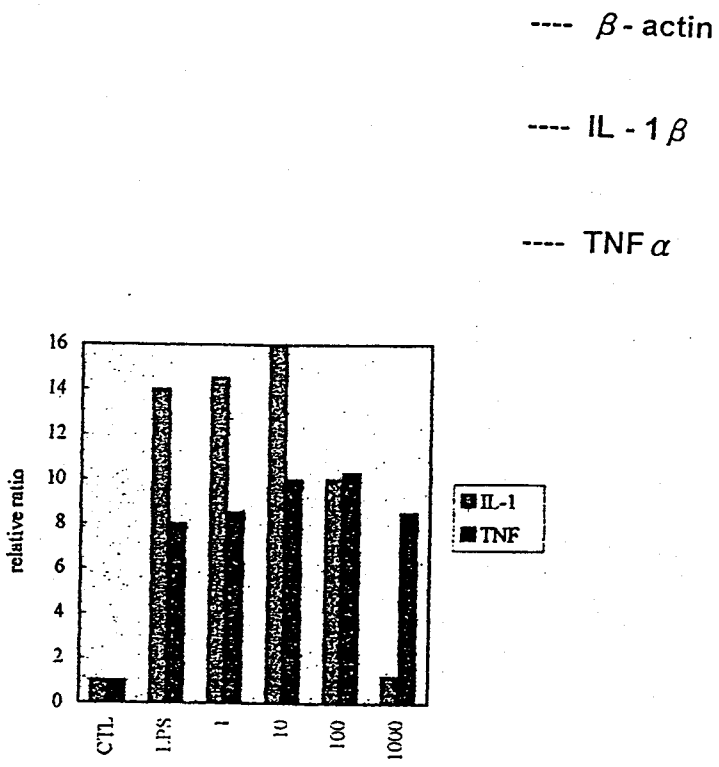


Fig 4: IL-1 β and TNF α mRNA expression in case 4.

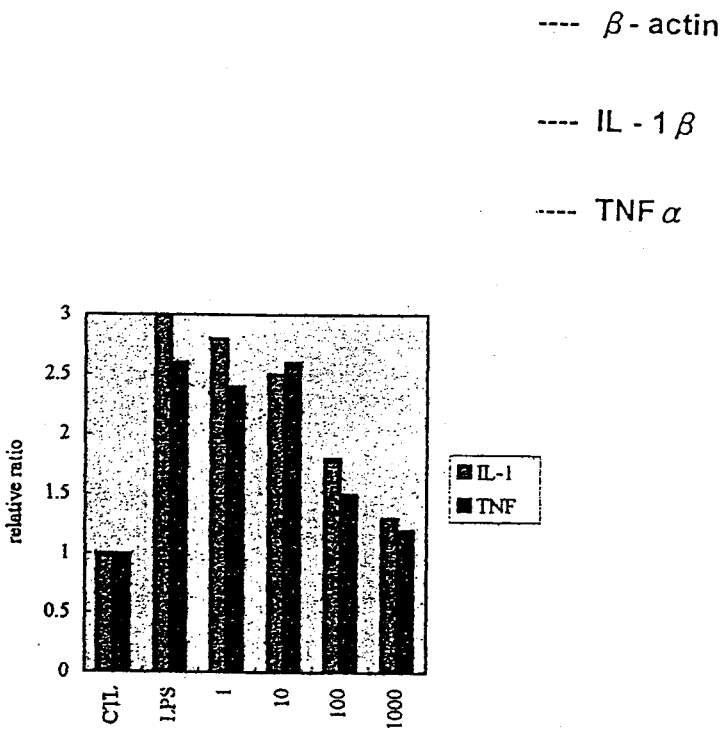


Fig 5. IL-1 β and TNF α mRNA expression in case 5.

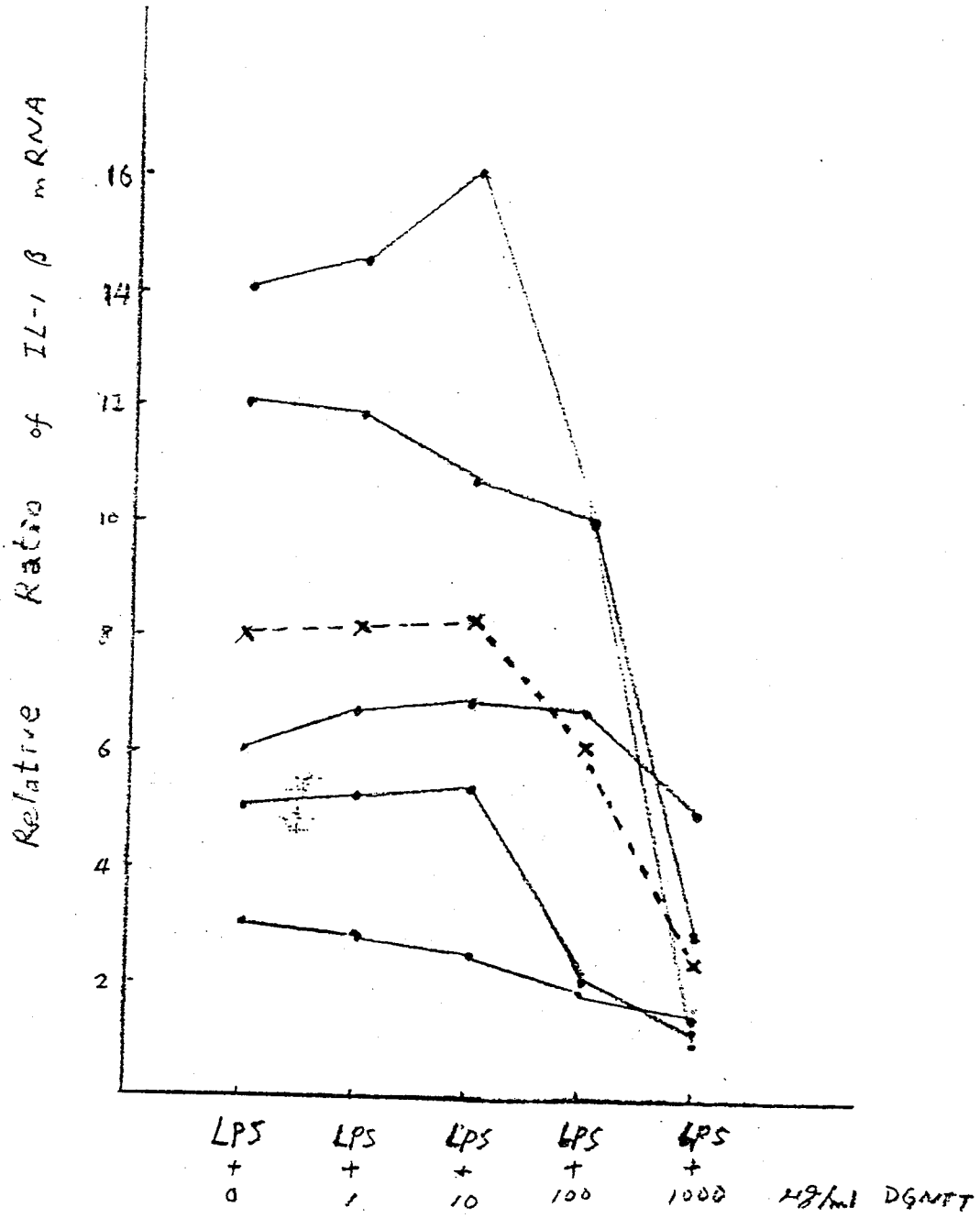


Fig. 6. Culmulative IL-1 β mRNA expression by DGNTT..
"X" → mean value

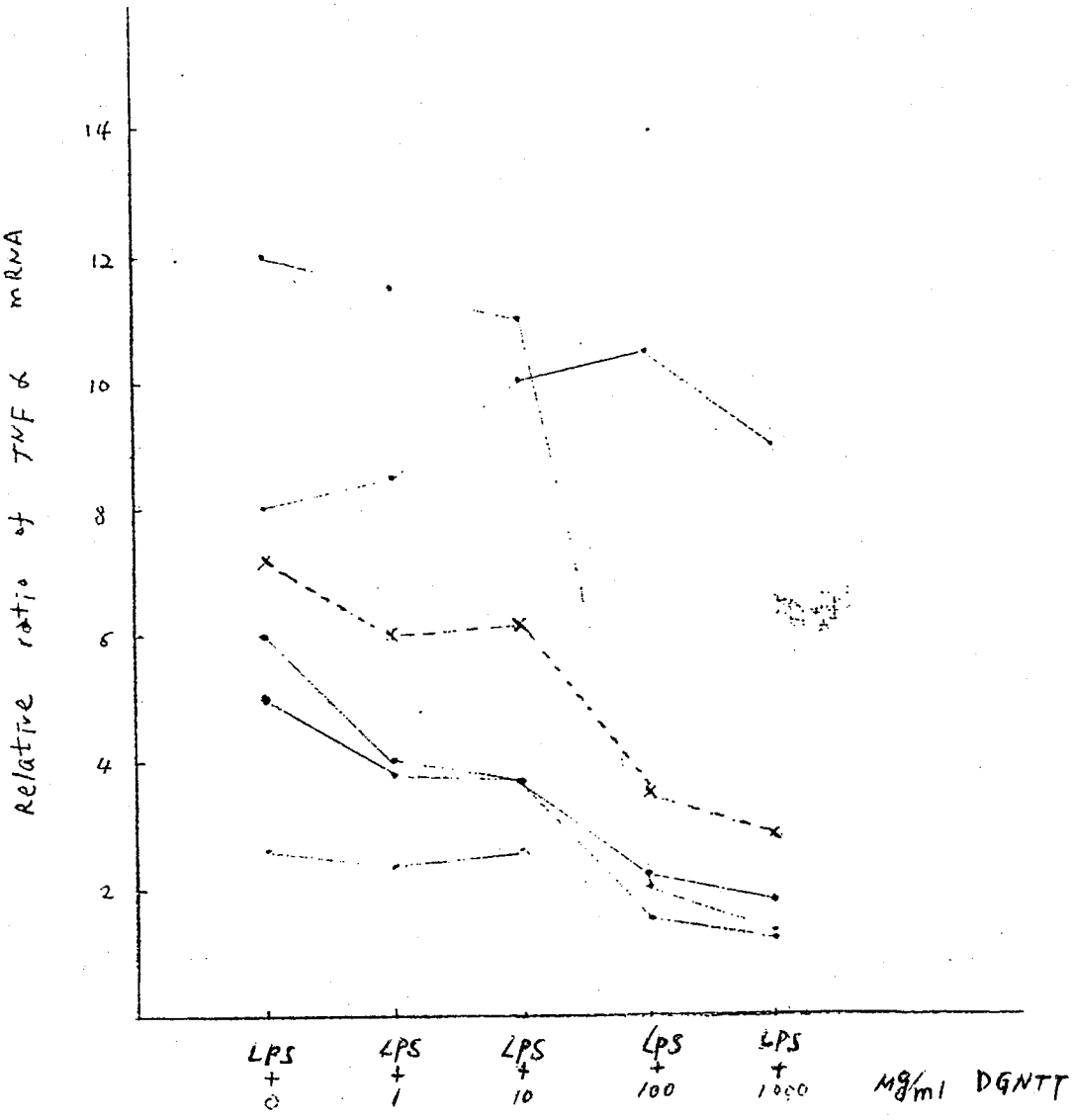


Fig 7. Culmulative IL-1 α mRNA expression by DGNTT.
"X" → mean value

編號 DOH84-CM-040

陰虛病人血液中微量元素之研究（Ⅱ）

宋茂林　鍾楚紅　高尚德　陳文枝　何威德

私立中國醫藥學院

摘　　要

應用原子吸收光譜分析法檢測肝陰虛患者33例，腎陰虛患者32例與正常對照組30例血清中鐵、銅、鋅、硒四種微量元素含量。分析結果發現肝陰虛與腎陰虛患者血清中，鐵平均含量分別爲1.27±0.58ppm，與1.23±0.56ppm，都較正常對照組、正常參考值爲高。肝陰虛患者血清中，銅平均含量爲0.78±0.20ppm，低於正常對照組與正常參考值。腎陰虛患者血清中，銅平均含量爲0.87±0.60ppm，比正常對照組稍高，但低於正常參考值。肝陰虛與腎陰虛患者血清中鋅平均含量分別爲2.03±1.12ppm，與1.47±1.16ppm，都低於正常對照組，但比正常參考值高。肝陰虛與腎陰虛患者血清中，硒平均含量分別爲115±76ppb與103±46ppb，都低於正常對照組，但在正常參考值範圍內。由33名肝陰虛，患者血清鐵、銅、鋅、硒含量變化與正常參考值之比較以及其分佈圖發現，肝陰虛患者血清鐵含量不正常率佔15.16％，血清銅含量不正常率佔24.24％，血清鋅含量不正常率佔90.91％，血清硒含量全都呈正常。由32名腎陰虛患者血清鐵、銅、鋅、硒含量變化與正常值之比較以及其分佈圖發現，腎陰虛患者之血清鐵含量不正常率佔9.38％，血清銅含量不正常率佔12.50％，血清鋅含量不正常率佔59.38％，血清硒含量全都呈正常。

前　　言

現代醫學知識的進步與分析技術的發展，使人類認識到許多無機元素不僅對人體的正常發育是必需的，而且對人體的其他生命活動也很重要，特別是一些必需的微量金屬元素，如 Fe, Cu, Zn, Se, Co, Cr, Mn, Mo … 等，在許多生物大分子如核酸，蛋白質，酶，激素，維生素 … 中具有特異的生理功能，它們是細胞正常新陳化謝所必需，也是人體新陳化謝的催化劑，這些元素的過多或缺乏就會引起人體的疾患。目前已發現的對生命必需的微量元素有 Fe, Zn, Cu, Co, Mn, Cr, V, Mo, Ni, Sn, Si, Se, Rb, I, F 等。這些元素在人體內均有一定的適量範圍，它們的生理功能可大體概括為：(1)是人體酶的活性中心。在人體內已發現的 1000 種　中有50-70% 以上需要微量元素參加或激活才能發揮酶的作用。如已知 Zn 與近100 種酶, Fe, Cu 與數十種酶, Se 與谷胱甘肽過氧化酶等的結構及功能密切相關。(2) 構成體內重要的載體，通過這些載體將占人體 99% 的常量(主要) 元素運送至全身各個細胞。如 Fe 是血紅素蛋白的重要組成分，通過它將氧運送至全身。(3) 參與激素和維生素的合成，影響內分泌系統。如 Cr 為維生素 B 的必要組成分，I 參與甲狀腺素的合成，缺 Mn 影響腦下垂體分泌生長激素。(4) 參與核酸化謝。如 Fe, Cu, Zn … 等可影響 RNA 與 DNA 的代謝。中醫傳統醫學一向以 " 證 " 為治療依據。" 辨證論治 " 是中國醫學最重要的治療基本原則，而 " 證 " 的研究是中醫理論研究的重要環節。在疾病的過程中，不同的生理，病理變化會形成不同的 " 證 "。本研究擬就屬於 " 肝陰虛 "、" 腎陰虛 " 證型之患者測定其血液中 Fe, Cu, Zn, Se 四種微量元素之變化，探索體內微量元素與中醫臨床 " 陰虛 " 證型的內在聯繫關係。

材料與方法

一、病患之篩選

於中國醫藥學院附設醫院中醫門診中依據中醫望，聞，問，切診斷方法與中醫辨證問卷表篩選 33 名 " 肝陰虛 " 、32 名 " 腎陰虛 " 證型患者並篩選 60名左右年齡相當之正常人為對照組 。" 肝陰虛 " 證之典型症狀有脇肋隱痛，或脇肋均痛喜揉按，頭暈目眩，兩目枯澀，視物模糊，肢體麻木，咽乾口燥，五心煩熱，盜汗，舌質紅干少津，苔少，脈弦細數 。" 腎陰虛 " 證之典型症狀為腰膝酸軟，腰痛，頭暈目眩，耳鳴耳聾，牙齒動搖，頭髮脫落，遺精尿多，五心煩熱，盜汗，咽乾舌燥，舌質紅，少津，舌苔少或見剝苔，脈細數。

二、檢體之採集與處理

1. 容器清洗 ：由於血清 Fe, Cu, Zn, Se 分析易引起污染，因此所用容器皆由惰性材料組成，如石英和聚丙烯等 。這些容器包括量瓶，燒杯，洗滌瓶等 。所有容器均根據 Moody 等之推薦方法清洗 。
2. 患者早晨空腹抽血 10 ml 。全血離心取血清備用。

三、微量元素之分析

1. 標準溶液配製：分別以 1.000 ± 0.002 g 之 Fe, Cu , Zn,Se ($FeCl_3$, $CuCl_2$, $ZnCl_2$, $SeCl_4$; Merck) 加 5 ml 超純 HNO 後加水稀釋至 1000 ml, 即成 1000 ppm 之標準貯存溶液。標準溶液乃將標準貯存溶液加水稀釋至適當濃度。其中 Fe,Cu,Zn 分別為 1ppm,Se 為 10-50 ppm 。

2. 全血離心取出之血清以高純度水稀釋至 5倍後直接以火燄式原子吸收光譜法 (FAAS)分析 Fe, Cu, Zn, 以石墨爐式原子吸收光譜法 (FAAS) 分析 Se 。本研究所用儀器為 Perkin-Elmer 5100 型原子吸收光譜儀 (Perkin-Elmer Co, U.S.A) 。

四、資料分析

Fe, Cu, Zn, Se 四種微量元素之測定資料整理蒐集後進行統計分析。

結　果

本研究之研究對象為中醫門診肝陰虛病人33名(男性18名，女性15名)，腎陰虛病人32名(男性18名，女性14名)，正常對照組30名(男性20名，女性10名)(表一)。研究結果顯示肝陰虛病人血清中鐵(Fe)，銅(Cu)，鋅(Zn)，硒(Se)等四種微量元素平均含量為鐵1.27±0.58 ppm (0.69-1.85 ppm)，銅(0.78±0.20 ppm(0.58-0.98 ppm)，鋅2.03±1.12 ppm (0.91-3.15 ppm)，硒115±76 ppb(39-191 ppb)。腎陰虛病人血清中鐵(Fe)，銅(Cu)，鋅(Zn)，硒(Se)等四種微量元素平均含量為鐵 1.23±0.56 ppm (0.67-1.79 ppm)，銅0.87±0.60 ppm(0.27-1.47 ppm)，鋅1.47±1.16 ppm(0.31-2.63 ppm)，硒103±46 ppb(57-149 ppb)。正常對照組血清中鐵(Fe)，銅(Cu)，鋅(Zn)，硒(Se)等四種微量元素平均含量為鐵1.33±0.54 ppm (0.79-1.87 ppm)，銅0.81±0.30 ppm (0.51-1.11 ppm)，鋅2.11±0.84 ppm(1.27-2.95 ppm)，硒122±59 ppb(63-181 ppb)(表二)。血清中鐵(Fe)，銅(Cu)，鋅(Zn)，硒(Se)理論上之正常參考值為鐵1.20±0.40 ppm (0.80-1.60 ppm)，銅 1.05±0.35 ppm(0.7-1.4 ppm)，鋅 1.05±0.35 ppm(0.7-1.4 ppm)，硒 225±175 ppb(50-400 ppb)(表二)。分析結果發現肝陰虛與腎陰虛病人血清中鐵平均含量均稍高於正常參考值而高於正常對照組(表二)。肝陰虛病人血清中銅平均含量低於正常參考值與正常對照組(表二)。腎陰虛病人血清中銅平均含量低於正常參考值但稍高於正常對照組(表二)。肝陰虛病人血清中鋅平均含量高於正常參考值，稍低於正常對照組(表二)。腎陰虛病人血清中鋅平均含量高於正常參考值但低於正常對照組(表二)。肝陰虛病人血清中硒平均含量低於正常參考值與正常對照組(表二)。腎陰虛病人血清中硒平均含量(57-149ppb)低於正常參考值與正常對照組，但均在正常參考值(50-400ppb)範圍內(表二)。統計分析結果顯示肝陰虛、腎陰虛病人血清中鐵、銅、鋅、硒含量與正常對照組四種微量元素含量間之差異在統計學上均有意義($p<0.05$)。若以肝陰虛、腎陰虛病人血清中鐵、銅、鋅、硒含量與四種微量元素之理論正常參考值比較並以分佈圖表示得到以下結果。33名肝

陰虛病人其血清鐵含量有2名偏低，3名偏高，其餘正常，即不正常者佔15.16%(表三，圖一)。血清銅含量有8名偏低，其餘正常，即不正常者佔24.24%(表三，圖二)。血清鋅含量有30名偏高，只有3名正常，即不正常者佔90.91%(表三，圖三)。血清硒含量則全部正常(表三，圖四)。32名肝腎虛病人其血清鐵含量有3名偏高，其餘正常，即不正常者佔9.38%(表四，圖五)。血清銅含量有4名偏高，其餘正常，即不正常者佔12.50%(表四，圖六)。血清鋅含量有1名偏低，18名偏高，不正常者佔59.38%(表四，圖七)。血清硒含量則全部正常(表四，圖八)。本研究所分析之30名正常對照組血清中鐵、銅、鋅、硒含量變化與理論正常參考值比較並以分佈圖表示，30名正常對照組之血清中鐵、銅、硒含量均在正常參考值範圍內，但血清鋅則有 28 名(93.33%)偏高(表五，圖九、十、十一、十二)。

討　　論

在人體鐵為負責氧氣輸送之Heme蛋白質內之主要成分，其亦含於氧化-還原系統之酵素內，為細胞色素 cytochrome 與酵素catalase及peroxidase 之成分。本研究結果發現肝陰虛與腎陰虛病人血清鐵平均含量雖較正常對照組與正常參考值為高但其平均含量肝陰虛0.69-1.85ppm，腎陰虛0.67-1.79ppm 數值仍在正常對照組(0.79-1.87ppm)與正常參考值(0.80-1.60ppm)範圍內。與正常參考值比較，33名肝陰虛病人有2名偏低，3名偏高，不正常者只佔 15.16% 。32名腎陰虛病人只有3名偏高，不正常者只佔9.38%。本研究結果與劉福春報告陰虛病人血清鐵含量明顯昇高之結果不太相符。銅是人體之必需微量元素，為人體氧化還原體系中一個極有效催化劑，是細胞內酶的組成分，為這些酶的活性所必需。這類酶都參與細胞內代謝的生物氧化與激素合成。銅對體內電子傳遞、氧化、還原、組織呼吸、新陳代謝、內分泌機能、激素及神經傳遞物質的形成均有重要作用。此外銅還有造血過程及維持中樞神經系統的正常生理功能。本研究結果顯示肝陰

虛病人血清銅平均含量低於正常對照組與正常參考值。33名肝陰虛病人其血清銅含量有8名低於正常參考值，不正常者佔24.24%。腎陰虛病人血清銅平均含量稍高於正常對照組，但低於正常參考值。32名腎陰虛病人有4名低於正常參考值，其不正常者佔12.50%。朱玖等曾報告陰虛病人血清中銅含量呈明顯昇高。而本研究結果顯示不論肝陰虛或腎陰虛，只有少數病人呈現血清銅含量偏低，而大多數病人血清銅含量正常。鋅為許多蛋白質、核酸合成酶的組成部分、DNA複製所需DNA聚合酶、合成核酸所需胸腺嘧啶核激等都含有鋅。目前已知至少八十多種酶的活性與鋅有關，所以鋅對醣類、脂類、蛋白質、核酸的代謝過程均極重要。此外鋅對免疫功能的增進、消除潰瘍、促進傷口癒合均有很好的效果。本研究結果顯示肝陰虛病人血清鋅平均含量高於正常參考值，稍低於正常對照組。33名肝陰虛病人有30名偏高，不正常者佔90.91%。腎陰虛病人血清鋅平均含量高於正常參考值，但低於正常對照組。32名腎陰虛病人有1名偏低，18名偏高，其不正常者佔59.38%。朱玖等曾報告提及肝腎陰虛型、脾腎陽虛型與其它分型病人血鋅含量變化有差異。硒是胱甘肽過氧化酶的組成分。胱甘肽過氧化酶能阻止過氧化物與自由基的形成防止癌症的發生，亦可預防吞噬細胞受過氧化物侵犯。缺硒被認為是炎症、腫瘤、衰老、心血管病等的總誘因。本研究結果顯示肝陰虛與腎陰虛病人血清硒平均含量低於正常對照組與正常參考值，但均在正常參考值範圍內。32名肝陰虛病人與32名腎陰虛病人其血清硒均正常。此結果與其他研究報告之結論相符。台灣陰虛病患雖較常見，但要收集標準的肝陰虛、腎陰虛病患仍屬不易，儘管本研究病例數不多，但由初步的研究結果揭示了鐵、銅、鋅三種微量元素與肝陰虛、腎陰虛證型間有某種關聯。提示了人們對微量元素與中醫症型辯證施治的關係應進一步深入研究探討，如此或可闡明中醫"證"的實質並提供這些疾病診療上的重要線所。

參　考　文　獻

1. 朱枚等．中醫雜誌 22(8), 1981

2. 王冠庭等．中西醫結合雜誌 2(3), 1982

3. 戴維正．中醫雜誌 24(5), 1983

4. 孔祥瑞．必需微量元素的營養,生理及臨床意義,第一版，合肥,安徽科學技術出版社，1982

5. B. Zsalt et al. Ann Rheum Dis 39, 1980

6. D.H. Brown et al. Ann Rheum Dis 38, 1979

7. 張洪魁，李華祥．中藥研究進展，第一版．北京，中國醫藥科技出版社。 1990

8. HA. S. Chroeder. 微量元素與人，陳榮三，張喧譯，科學出版社,1979

9. 馮子道．自然，4(2):119, 1981

10. 孔祥瑞等．中醫葯通訊 3:33, 1985

11. 徐立強．微量元素 (1-2):7, 1985

12. J.R. Moody, R.M. Lindstrom. Anal Chem 49:2264, 1977

13. M.J. Soriano, M. Dela Guardia. Talanta 31:347, 1984

14. S.M. Lin, J.L. Tsai, T.C. Pan. Kaohsiung J Med Sci 2:486, 1986

15. S.P. Ericson et. al. Clin Chem 32:1350, 1986

16. S.M. Lin, J.L. Tsai, T.C. Pan, Kaohsiung J Med Sci 3:128, 1987

表一、肝腎陰虛病人與正常對照組病例數

性別 / 人數 / 組別	男	女	合計
肝陰虛病人	18	15	33
腎陰虛病人	18	14	32
正常對照組	20	10	30

表二、肝陰虛病人組、腎陰虛病人組、正常對照組血清鐵、銅、鋅、硒平均測定值與正常參考值之比較

組別	例數	鐵 (Fe)	銅 (Cu)	鋅 (Zn)	硒 (Se)
肝陰虛病人	33	1.27±0.58	0.78±0.20	2.03±1.12	115±76
腎陰虛病人	32	1.23±0.56	0.87±0.60	1.47±1.16	103±46
對照組	30	1.33±0.54	0.81±0.30	2.11±0.84	122±59
正常參考值	——	1.20±0.40	1.05±0.35	1.05±0.35	225±175

表三、肝陰虛病人血清微量元素分析值與正常參考值(M±2SD)之比較

病患數 / 元素	< M－2SD (病患數) %	M±2SD (病患數) %	> M－2SD (病患數) %	合計病患數
鐵 (Fe)	2 6.06%	28 84.85%	3 9.09%	33 100%
銅 (Cu)	8 24.24%	25 75.76%	0 0%	33 100%
鋅 (Zn)	0 0%	3 9.09%	30 90.91%	33 100%
硒 (Se)	0 0%	33 100%	0 0%	33 100%

Fe: M±2SD = 1.20±0.40 ppm (0.8-1.6 ppm)

Cu: M±2SD = 1.05±0.35 ppm (0.7-1.4 ppm)

Zn: M±2SD = 1.05±0.35 ppm (0.7-1.4 ppm)

Se: M±2SD = 225±175 ppb (50-400 ppb)

表四、腎陰虛病人血清微量元素分析值與正常參考值(M±2SD)之比較

病患數 / 元素	< M－2SD (病患數) %	M±2SD (病患數) %	> M－2SD (病患數) %	合計病患數
鐵 (Fe)	0 0%	29 90.63%	3 9.38%	32 100%
銅 (Cu)	4 12.50%	28 87.50%	0 0%	32 100%
鋅 (Zn)	1 3.13%	13 40.63%	18 56.25%	32 100%
硒 (Se)	0 0%	32 100%	0 0%	32 100%

Fe: M±2SD = 1.20±0.40 ppm (0.8-1.6 ppm)

Cu: M±2SD = 1.05±0.35 ppm (0.7-1.4 ppm)

Zn: M±2SD = 1.05±0.35 ppm (0.7-1.4 ppm)

Se: M±2SD = 225±175 ppb (50-400 ppb)

表五、正常對照組血清微量元素分析值與正常參考值(M±2SD)之比較

病患數 / 元素	< M－2SD (病患數) %	M±2SD (病患數) %	> M－2SD (病患數) %	合計病患數
鐵 (Fe)	0 0%	30 100%	0 0%	30 100%
銅 (Cu)	0 0%	30 100%	0 0%	30 100%
鋅 (Zn)	0 0%	2 6.67%	28 93.33%	30 100%
硒 (Se)	0 0%	30 100%	0 0%	30 100%

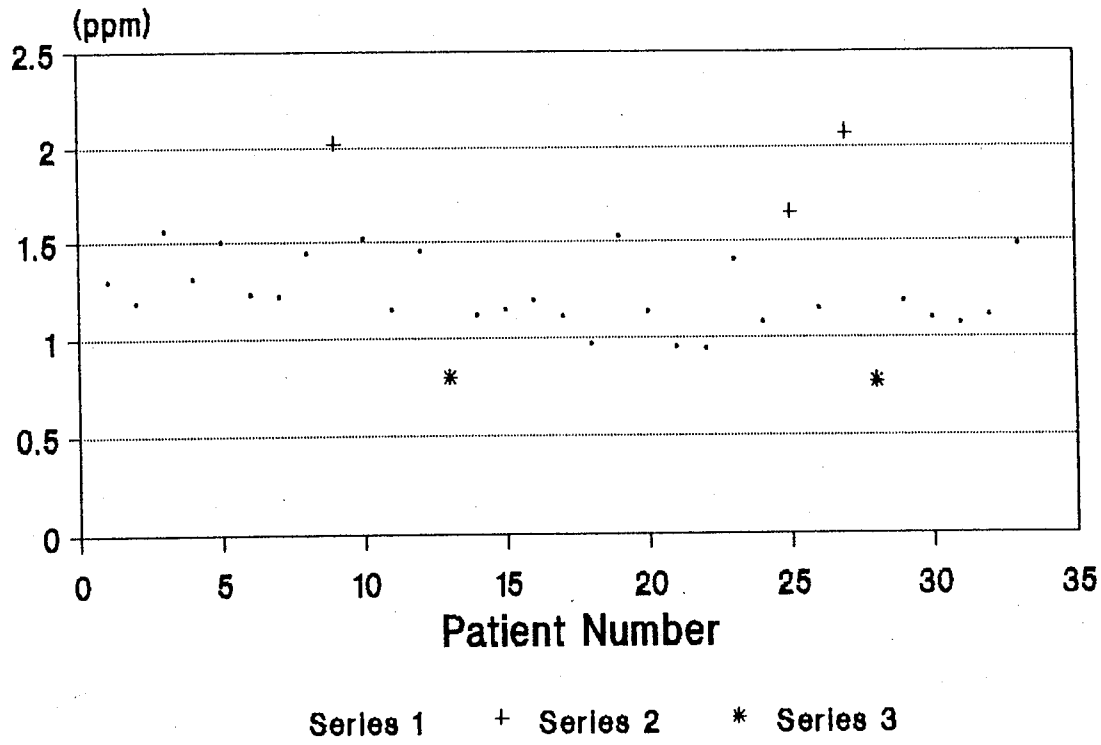
Fe: M±2SD = 1.20±0.40 ppm (0.8-1.6 ppm)

Cu: M±2SD = 1.05±0.35 ppm (0.7-1.4 ppm)

Zn: M±2SD = 1.05±0.35 ppm (0.7-1.4 ppm)

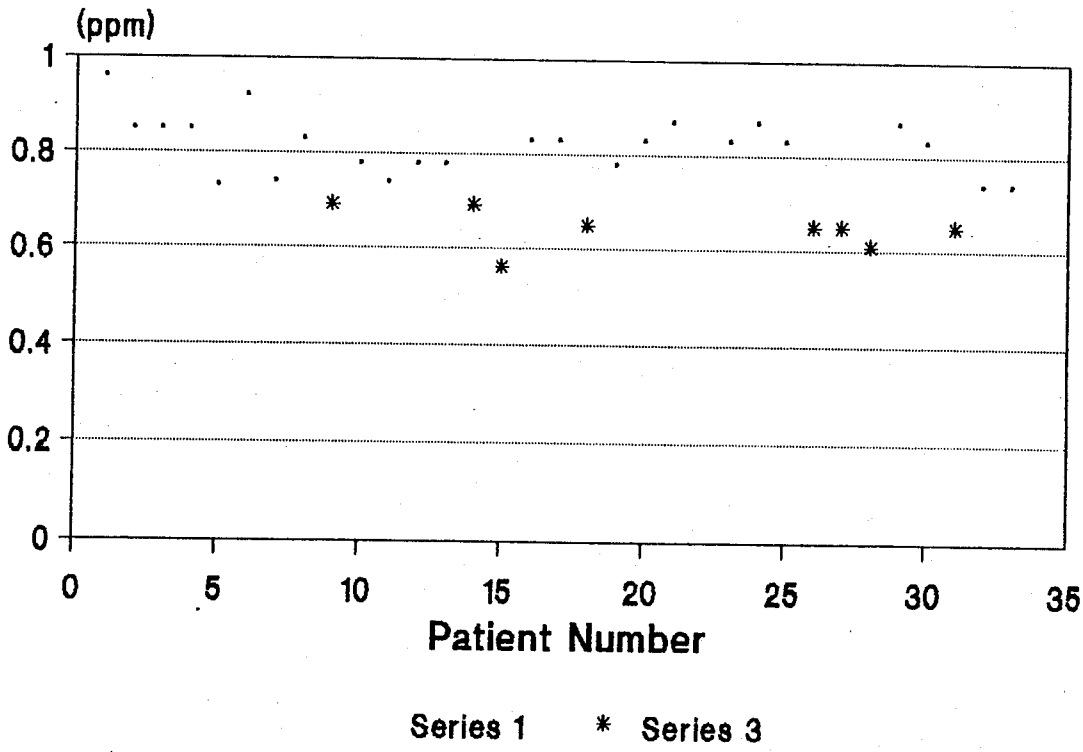
Se: M±2SD = 225±175 ppb (50-400 ppb)

圖一、肝陰虛病人血清微量元素鐵(Fe)之變化



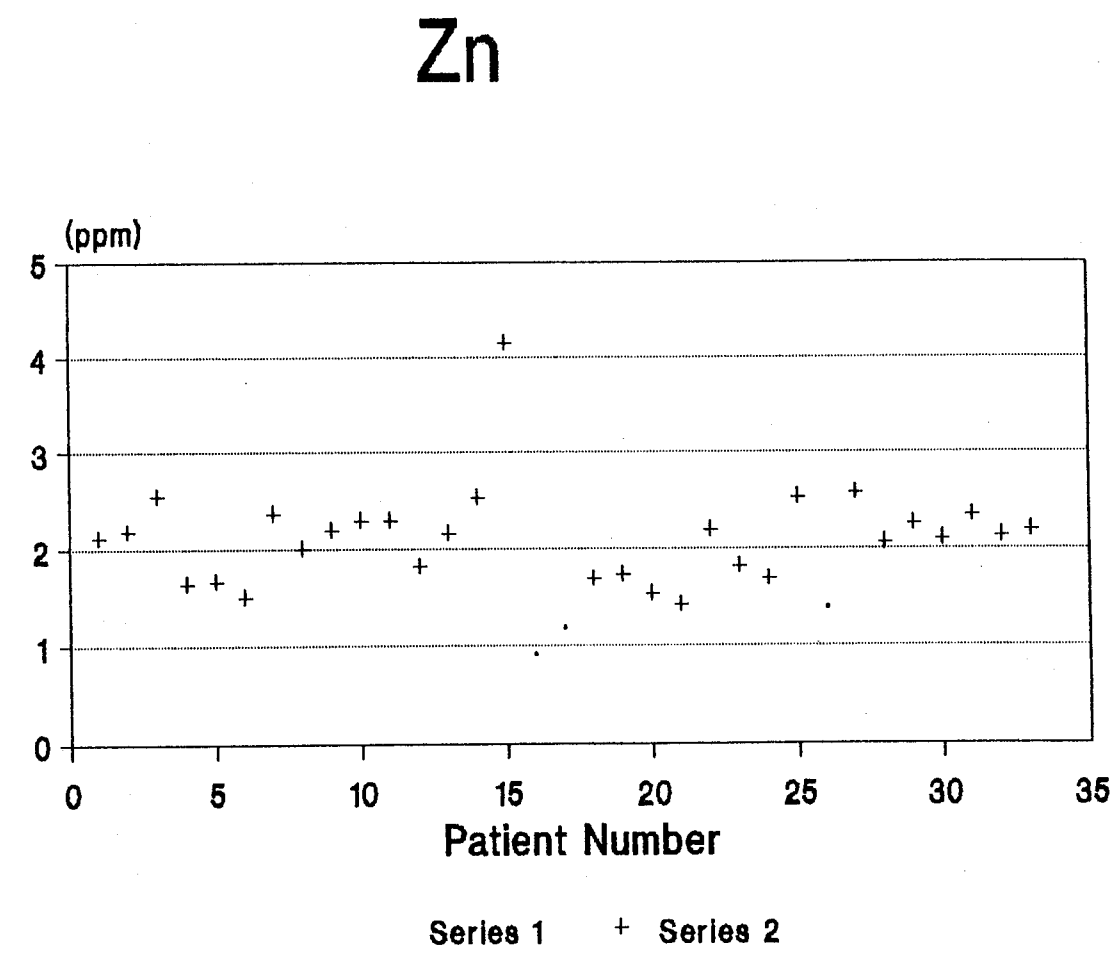
Series 1: Normal 2: High 3: Low

圖二、肝陰虛病人血清微量元素銅(Cu)之變化



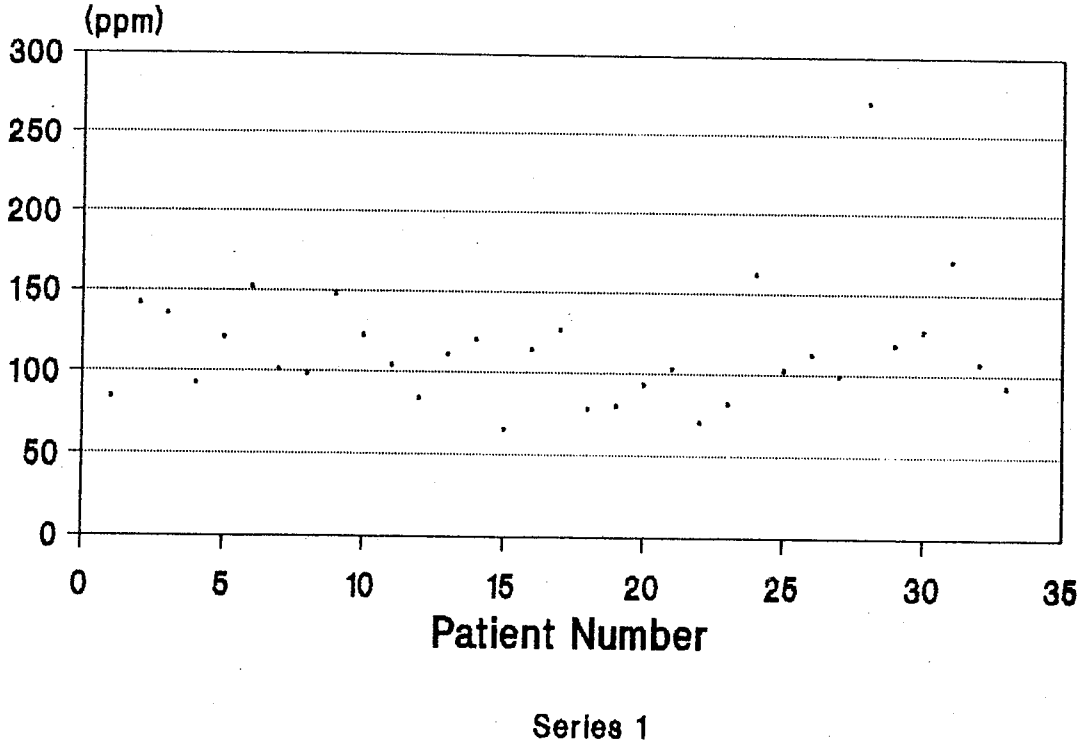
Series 1: Normal 2: High 3: Low

圖三、肝陰虛病人血清微量元素鋅(Zn)之變化



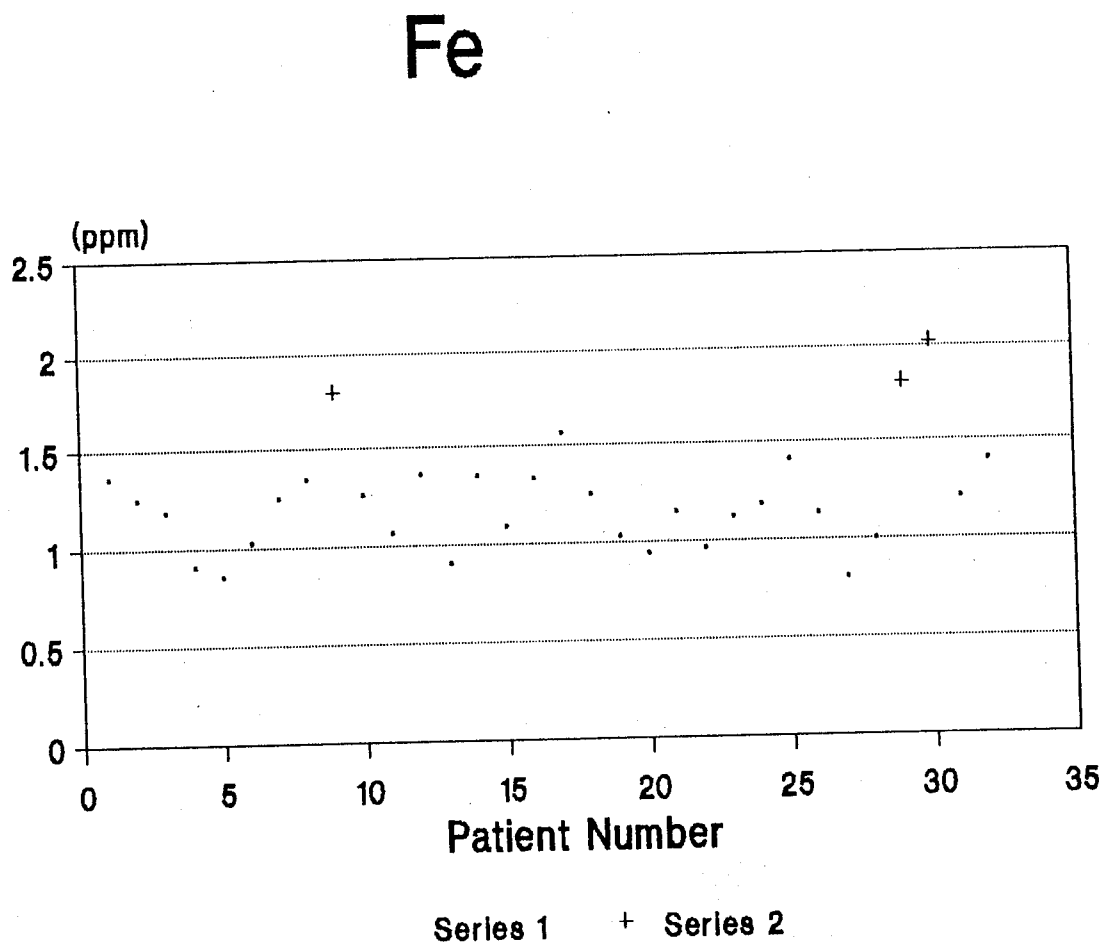
Series 1: Normal 2: High 3: Low

圖四、肝陰虛病人血清微量元素硒(Se)之變化



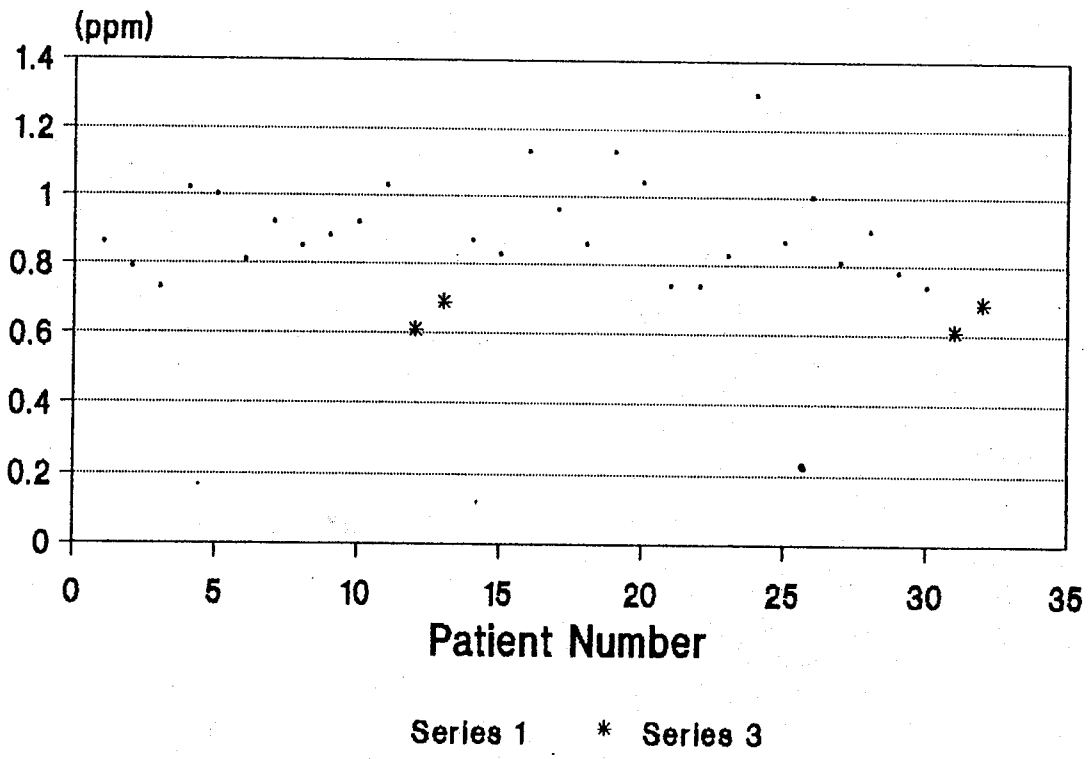
Series 1: Normal 2: High 3: Low

圖五、腎陰虛病人血清微量元素鐵(Fe)之變化



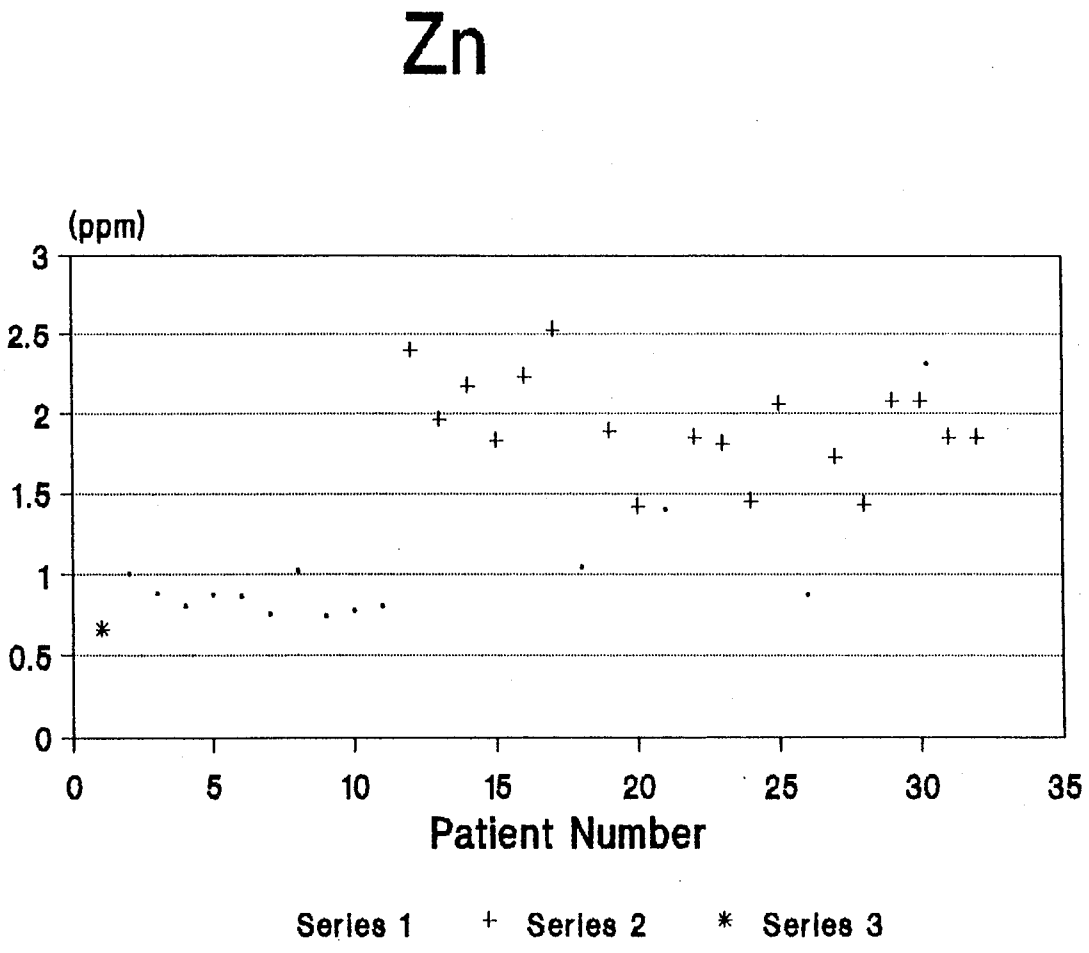
Series 1: Normal 2: High 3: Low

圖六、腎陰虛病人血清微量元素銅(Cu)之變化



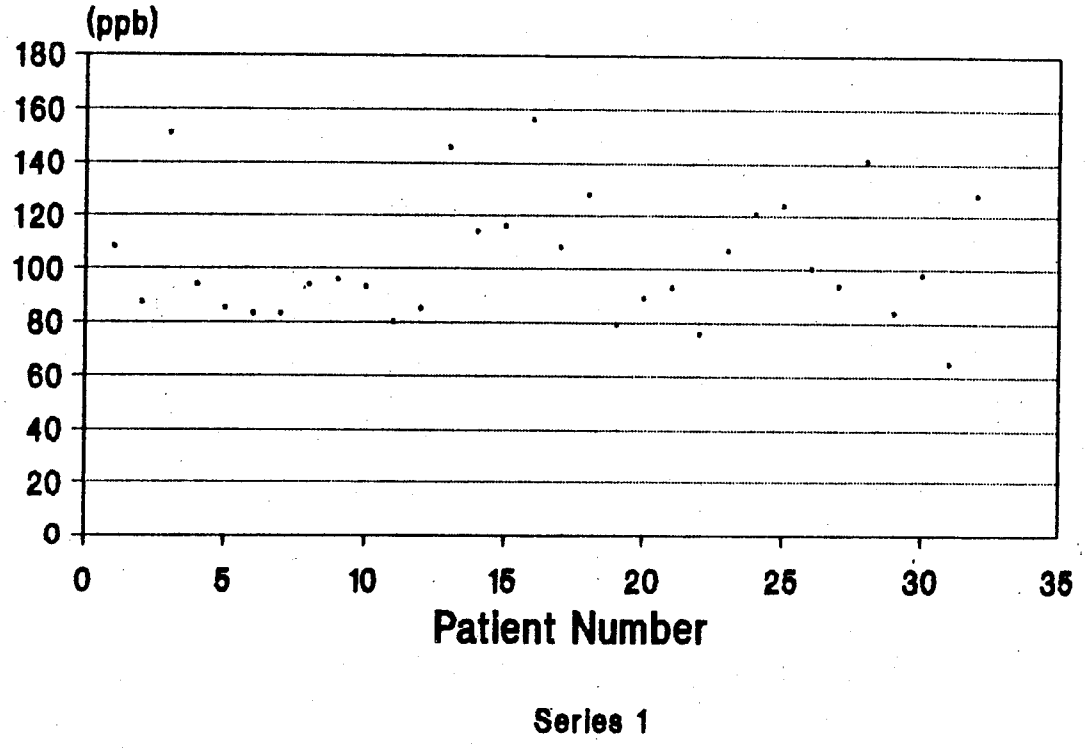
Series 1: Normal 2: High 3: Low

圖七、腎陰虛病人血清微量元素鋅(Zn)之變化



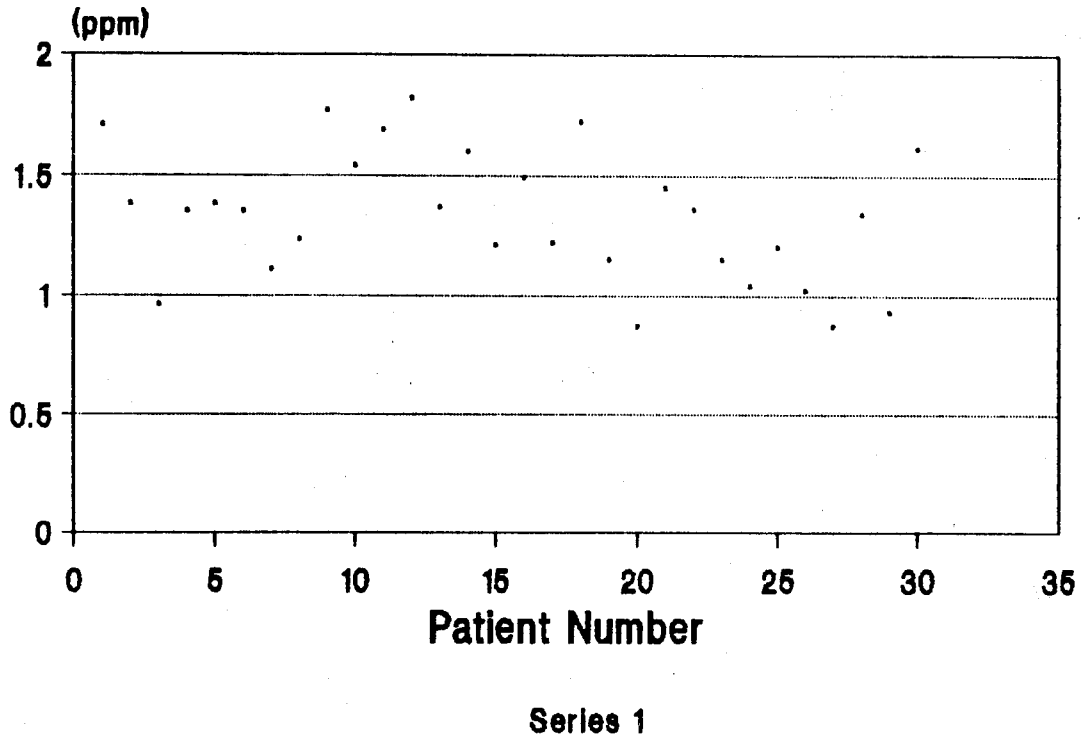
Series 1: Normal 2: High 3: Low

圖八、腎陰虛病人血清微量元素硒(Se)之變化



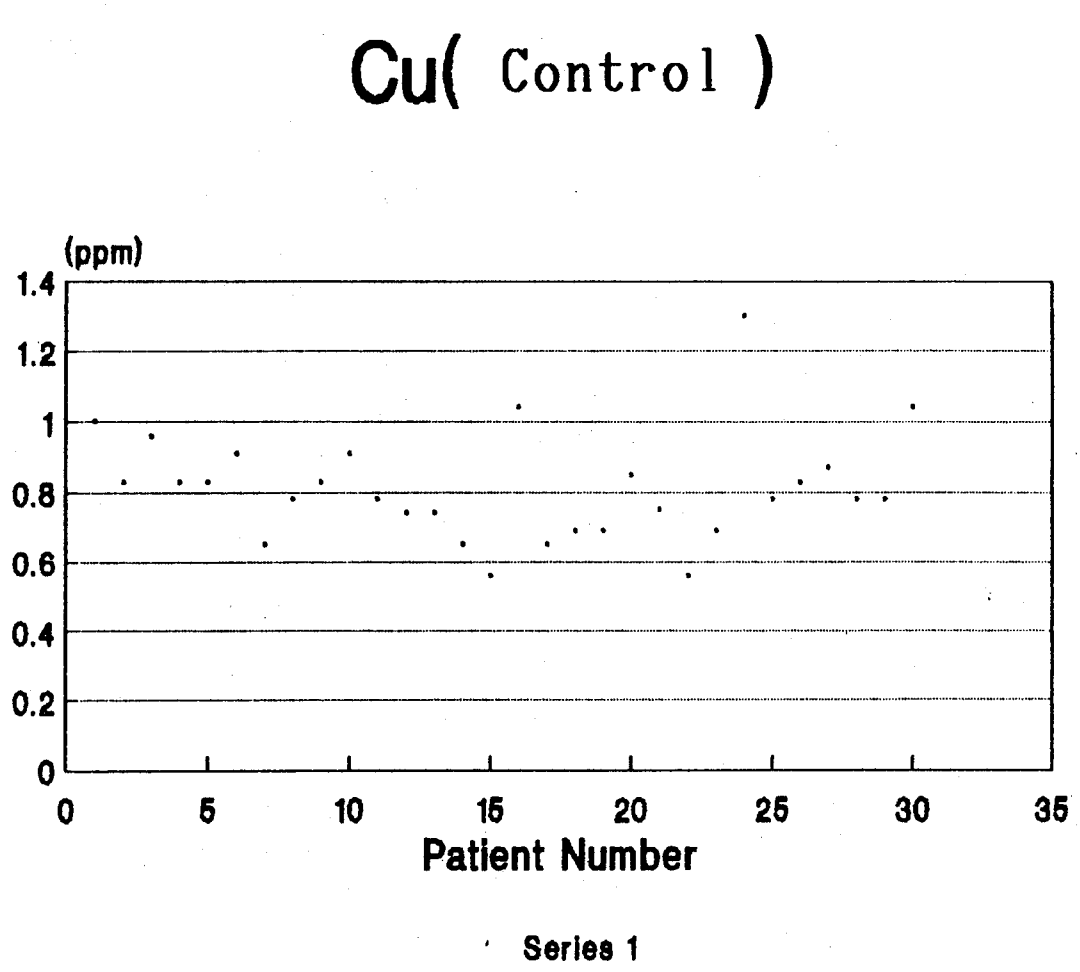
Series 1: Normal 2: High 3: Low

圖九、正常對照組血清微量元素鐵(Fe)之變化



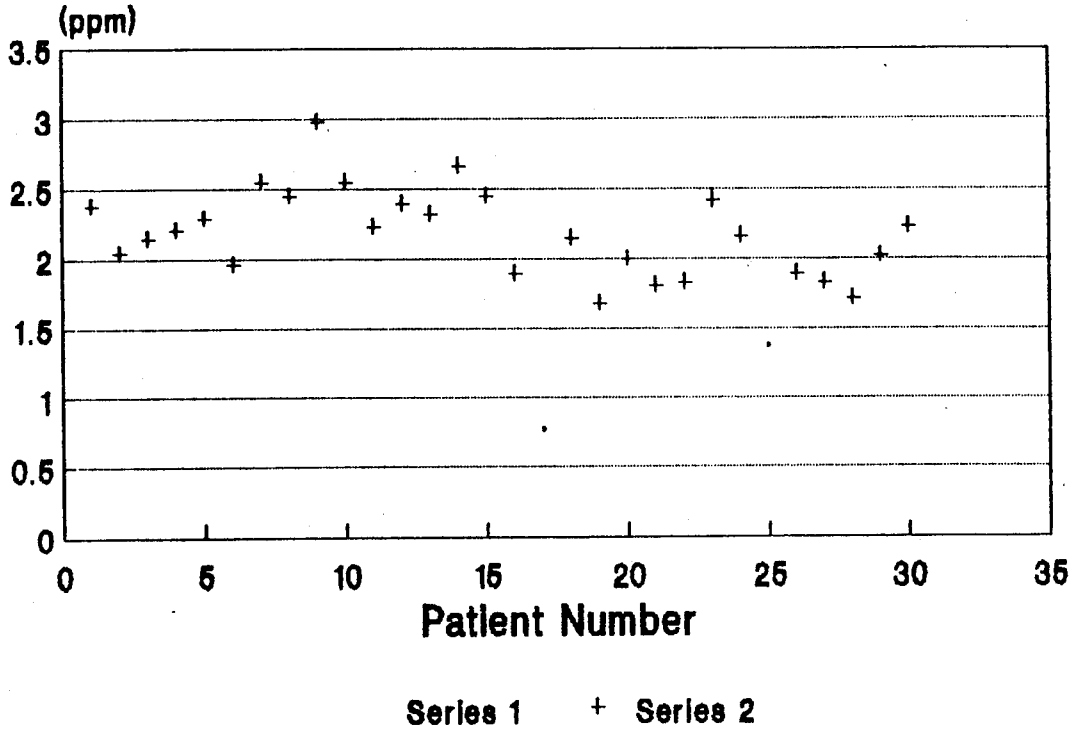
Series 1: Normal 2: High 3: Low

圖十、正常對照組血清微量元素銅(Cu)之變化



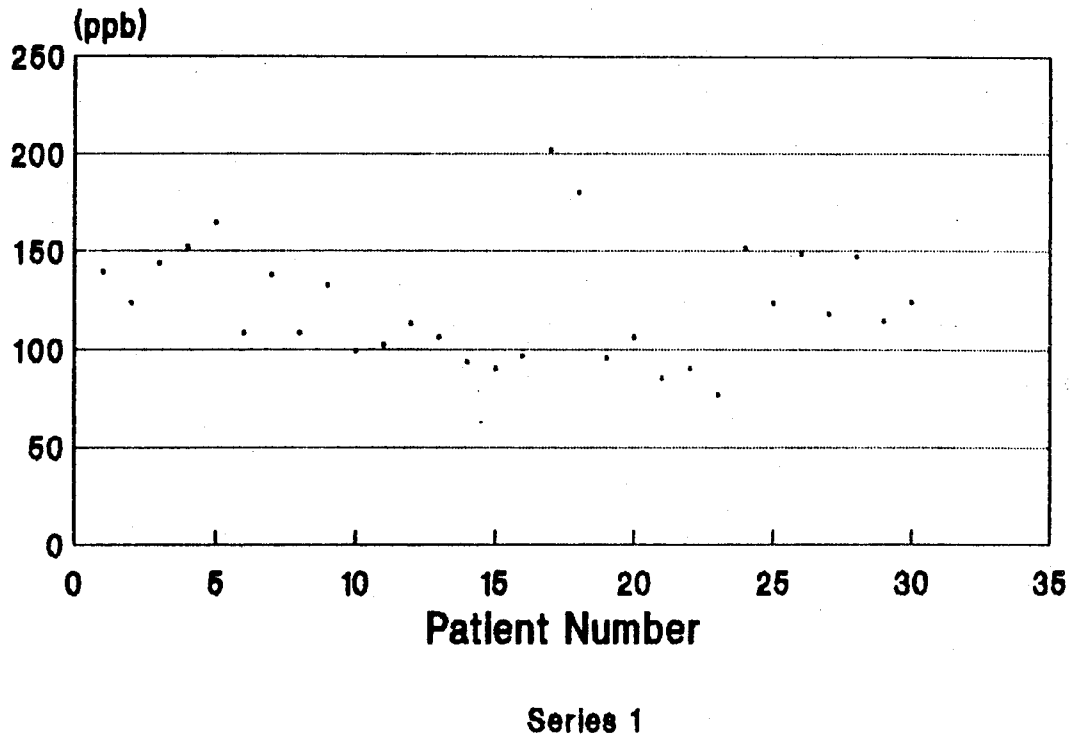
Series 1: Normal 2: High 3: Low

圖十一、正常對照組血清微量元素鋅(Zn)之變化



Series 1: Normal 2: High 3: Low

圖十二、正常對照組血清微量元素硒(Se)之變化



Series 1: Normal 2: High 3: Low

Study of Blood Trace Elements in Patients with Yin Deficiency Syndrome (Ⅱ)

The blood iron(Fe), copper(Cu), zinc(Zn) and selenium(Se) contents of 33 patients with liver yin

deficiency syndrome, 32 patients with kidney yin deficiency syndrome and 30 normal controls were measured by atomic absorption spectrophotometry (AAS). Our results showed that the mean blood Fe content of patients with liver yin deficiency syndrome and kidney yin deficiency syndrome were 1.27±0.58 ppm and 1.23±0.56 ppm respectively, both were higher than those of the control group and normal reference value. The mean blood Cu content of patients with liver yin deficiency syndrome was 0.78±0.20 ppm, lower than those of control group and normal reference value. The mean blood Cu content of patients with kidney yin deficiency syndrome was 0.87± 0.60 ppm, slightly higher than that of the control group but lower than that of normal reference value. The mean blood Zn content of patients with liver yin deficiency syndrome and kidney yin deficiency syndrome were 2.03± 1.12 ppm and 1.47±1.16 ppm respectively. Both were lower than that of the control group but higher than that of normal reference value. The mean blood Se content of patients with liver yin deficiency syndrome and kidney yin deficiency syndrome were 115±76 ppb and 103±46 ppb respectively, Both were lower than that of the control group but within that of normal reference value. For the liver yin deficiency syndrome group, the percent abnormality of blood Fe, Cu, Zn and Se content, as compared with normal reference value was 15.16%, 24.24%, 90.91% and 0% respectively. For the kidney yin deficiency syndrome group,the percent abnormality of blood Fe, Cu, Zn and Se content, as compared with normal reference value was 9.38%, 12.50%, 59.38% and 0% respectively.

編號 DOH84-CM-041

針刺麻醉大白鼠足之皮膚溫度反應機轉與穴道定位之研究

Mechanisms of Acupuncture Induced Skin Temperature Responses and Point Localization

吳振華　張永賢　陳芬芬

中國醫藥學院

摘　　要

針灸之鎮痛機轉已爲廣泛探討，腦內啡爲目前爲大家所一致認爲與針灸止痛作用有關的內生性鎮痛物質。另外，尙有一些學者認爲，除了腦內啡之外尙有一非腦內啡系統參與針灸的止痛作用，其中之一爲經由自主神經之血流管制，改善局部血流，然而其機轉仍未見有深一層的研究。

本實驗採用麻醉大白鼠作爲實驗動物以探討針灸的皮膚血管反應。經預試實驗顯示，針刺足三里引起大白鼠兩足掌的皮膚溫度升高，由此結果顯示以麻醉大白鼠作爲實驗模式得以進行更進一步的機轉研究。

有關針灸的皮膚血管反應機轉方面的探討，分爲二部份：㈠交感神經反射之可能機轉㈡局部軸突反射之可能機轉。第一部份的研究採脛神經截斷，以 lidocaine 作脛神經麻醉阻斷，以 guanethidine 作交感神經阻斷。結果發現：脛神經截斷，與脛神經麻醉阻斷明顯的使足掌皮膚溫度增高 5-6 ℃，此證明大白鼠足掌皮膚血管是經由脛神經交感神經的分佈管制。而針刺於一些情況下，可以引起相等程度的皮膚溫度昇高反應。此結果可能顯示，針刺的皮膚溫度昇高反應是由於交感神經的抑制作用，但是針刺的皮

膚溫度昇高反應在我們的實驗裡，爲2. 2 ± 0.45 ，此可能是有一些大白鼠對針刺尙未達到完全的反應，或是由於生物的變異性。而脛神經截斷，與脛神經麻醉阻斷與交感神經阻斷之後，針刺不再引起皮膚溫度增加，此結果亦顯示，其反應是經由交感神經的作用。第二部份的實驗，我們以 lidocaine 作足三里穴局部浸潤，結果發現，它亦抑制了針刺的皮膚溫度昇高反應，此結果似乎可以說明，局部軸突反射亦是針刺皮膚反應的原因，但是，還有一些相關證據顯示，對於作此結論，仍應作某種保留。而本研究亦繼續以 capsaicin 選擇性的破壞 C 神經纖維。

有關穴道電阻抗的測量，尙無發現與針刺皮膚的溫度變化有相關，但穴道電阻抗的測量方法尙須更進一步確定。

關鍵詞：針刺，皮膚溫度，足三里穴，交感神經，軸突反射。

ABSTRACT

Although the analgesic mechanisms to acupuncture have been well studied, the autonomic responses to acupuncture are the area rarely being explored. In order to study these mechanisms, an experimental model using anesthetized rats was tested.

Ours preliminary results indicate that manual acupucture to Tzusanli point induced a significant skin temperature increase in both hind paws. This acertain the aplicability to use this approach to do further mechanism studies.

The mechanisms studies include two parts, The first part, the study of the possible involvement of sympathetic nervous system. The second part, the role of the local axon reflex in this skin temperature response. In the first part of study, we employed tibia nerve section, tibia nerve anesthetic blockade by lidocaine, and guanethedine sympathetomy. The results showed that, in some rats, the rise in skin temperature caused by acupuncture acupuncture could be mimicked by nerve section and blockade, also, all these three sympathetic maneuvers eliminated the increase in skin temperature to acupuncture. These results, suggested that the increased skin temperature was due to withdrawal of tonic vasoconstrictor activity. Although, these degree of skin temperature changes were not observed in all experiments, the average paw skin temperature rise is 2.2 ± 0.45, that probably because in some rats, the

response to acupuncture is not fully expressed, or biovariabilty may acount for these results.
In the second part, we use lidocaine infiltration to Tsusanli point to test the possible axon reflex involvement, the results showed that lidocaine infiltration also removed the skin temperature response to acupuncture, this result may indicate a local axonal reflex partici-pation. However, there are also some other evidences that exclude this possibility. The conclusion about the axon reflex mechanism need to be reserved.

The impedance measurement of tissues including Tsusanli point was also carried out in order to optimized point localization, however, no correlation was found between impedance values and skin temperature response to Tsusanli acupunture. The measurement system required a further re-evaluation.

Key Words: acupuncture, Tsusanli, sympathetic nervous system, axon reflex, skin temperature.

誌謝

本研究承蒙行政院衛生署八十四年度中醫葯科技研究計劃編號 DOH84-CM-041 經費補助，紅外線熱象儀為日本 KAO 公司所捐贈，特此誌謝。此外，本研究是於中國醫藥學院中醫研究所進行的，要感謝歷任主任，黃維三支教授、林昭庚教授、張恆鴻教授之慷慨供應研究設備與場所，及中醫研究所研究生的技術上的支援。亦要感謝中山醫學院，羅俊民博士在電測量方面的適切建議，在此一併致謝。

第一章 前言

一、研究問題的背景

（一）皮膚血管的功能性解剖

功能：皮膚循環主要的功能，在於使熱得經由體表以對流的方式與環境進行交換(1)。

構造：供應皮膚的血管於皮膚深層形成一動脈叢，通常此動脈叢與皮膚平行，並由此分出小動脈，小動脈穿過皮層，到達毛乳頭下區再形成一血管叢，於此血管叢中有聯絡動脈血管叢與靜脈血管叢的微血管，並且有微血管上行至毛乳頭。具有高表面 -體積比的皮膚區，包括：手趾，腳趾，手，足，鼻，唇，耳，統稱爲尖端區（apical region）。於尖端區的皮膚血管除了有小動脈之外，還有許多動脈靜脈吻合（arteriovenous anastomoses）(2,3,4)，這是一種連接動脈與靜脈間的血管，而且，最重要的是，動脈靜脈吻合的血流增加時可以促進熱的有效散失。

神經支配：動脈，動脈靜脈吻合，靜脈，三者均有很多交感神經的分佈，(5).由於這種神經分佈，皮膚循環主要是由反射機構管制。而局部性或肌源性的管制，僅佔小部份。雖然，皮膚血流均由交感神經的反射所控制，但是，尖端區皮膚與非尖端區皮膚（nonapical regions）的反射表現是有很大的區別的。尖端區皮膚的自主神經管制似乎僅有腎上腺性的縮血管神經纖維末(2,6)，。β-腎上腺性接受器很少，或幾乎不存在，因此，於身體受熱時，尖端區皮膚的血流增加的反應主要是由於交感神經的腎上腺性縮血管神經活動降低所致。相反的，尖端區皮膚與非尖端區皮膚最大的區別在於，非尖端區皮膚完全沒有動脈靜脈吻合(2,5)。因此，非尖端區皮膚血流的增加是經由交換性血管的舒張。非尖端區皮膚的血流管制包括腎上腺性的，以及，很重要的，非腎上腺性的管制。腎上腺性的管制如同尖端區皮膚一樣，是屬於縮血管性的腎上腺性神經纖維，且β-接受器很少。非腎上腺性的管制，則由證據顯示，是交感神經主動性舒血管系統（active vasodilator system）(2,5,4,7)，此系統於非尖端區皮膚對體溫昇高時的皮膚血統增加的反應的貢獻，佔了 75 %以上，而於此反應中，

由於縮血管神經活動的降低，則少於 25 %[5]。雖然，主動性舒血管系統已被廣泛接受，但其機轉仍不十分明瞭。

（二）調節皮膚血流的因素

中樞神經反射的調節： 皮膚循環主要的功能，主要是體溫的調節，因此，中樞神經的體溫調節中心爲主要管制皮膚血流的機制。另外，影響自主神經活動的感壓反射，化學接受器反射，心肺感壓反射均對皮膚血流有重要的影響。

當身體受熱，體溫調節中樞引發反射性的皮膚交感神經抑制作用，產生選擇性的皮膚血管舒張，因而皮膚血流量增加，而促進散熱。此種血流增加是特殊的僅發生於皮膚，身體受熱時，肌肉的血流量是不變的。相反的，在環境溫度降低時，則產生反射性的皮膚血管收縮，因而皮膚血流下降。而影響心臟血管活動至大的各種感壓、化學反射，在引起全身血管收縮舒張反應時，亦同時引起皮膚血管的明顯變化。

當同時存在著幾種影響皮膚血流的因素，且對皮膚的血流量有競爭性的需求時，比如，當身體受熱與血壓降低的同時，或是運動時，皮膚與身體同時需要大量的血流供應，此時，皮膚血流量會產生某程度的妥協。

局部反射的調節：局部皮膚加熱或冷卻，機械性刺激，或傷害性刺激時，引起局部皮膚血流的變化。局部冷卻所引起的血管擴張於尖端區皮膚特別明顯，一般認爲，這是由於冷的刺激抑制了動脈靜脈吻合的血管平滑肌。 而局部皮膚加熱時，血管擴張的效果會擴及其週圍的皮膚，一般認爲此效果是由皮膚血管平滑肌所傳遞的，因爲，局部麻醉劑抑制此現象，而於去交感神經或感覺神經的皮膚，此現象仍然存在。當機械刺激夠強時，會產生一連串的反應，稱爲三重反應 （triple response）[2,5]。 發紅反應 （red reaction）局限於受傷部位，可能是由於受傷細胞所釋放的血管舒張物質所致，它並不需神經的支配。於火紅期（flare phase）時，皮膚發紅的現象擴大及其週圍的小動脈，

此現象明顯的爲一種軸突反射（axon reflex）。神經衝動經由受傷部位的感覺神經分別向中樞及逆向側支神經傳遞（antidromic conduction）。側支神經終止於受傷的周圍區域，並釋放出一種未知的舒血管物質，而引起受傷週圍的血管擴張。此期的反應需有完好的感覺神經。第三期爲條痕反應（ wheal），是局限於受傷區的皮膚水腫，這是由於微血管的通透性增加所致， 此局部水腫趨走了一部份血管，尤其是小靜脈的血液，因此，此處的皮膚呈現較蒼白。

肌源性與代謝的管制：皮膚通常有充足的，較代謝需要爲高的血液的供應，因此，代謝性的管制，在一般的情況下，認爲不甚重要。但是在其供應血流阻斷數分鐘，當血流恢復供應後，有反應性充血（reactive hyperemia）[5]，它究竟是屬代謝性或肌源性，仍不清楚。所謂肌源性的管制是爲，當皮膚血管受到牽扯刺激時的反應性充血現象[2,8]。

（三）皮膚血流的測量

由於人類皮膚較其他動物更容易探及，故大部分有關皮膚循環的知識是來自於人的研究。有幾種方法用來測量皮膚血流量，例如：靜脈血流阻斷式體積描記法（venous occlusion plethysmography），經皮熱流量（trans-cutaneous heat flow），皮膚溫度（skin temperature），放射性氙清除率（clearance of radioactive xenon）[1,2,5,9]，以及一較新的雷射都卜勒流速測試法（laser Doppler velocimetry）[10,11]。每一種測量各有其優缺點。在我們的研究中，採取皮膚溫度的測量來反血流量。通常，皮膚溫度除了局部皮膚血流之外，尚由許多因素決定。雖然，在本實驗中，並無作皮膚溫度與皮膚血流量間的定量，但由人類尖端區皮膚的實驗數據顯示，除了在較高的血流速之外，皮膚血流與溫度的關係大致是呈線性的[12,13]。因此，由本實驗由皮膚溫度所推測的皮膚血流量的變化，必須作某程度的保留。

二、研究問題的現況

針灸之鎮痛機轉已爲廣汎探討，閘門理論(14),腦內啡(15-17)爲目前爲大家所一致認爲與針灸止痛作用有關的內生性鎮痛物質。另外，尙有一些學者認爲，除了腦內啡之外尙有一非腦內啡系統參與針灸的止痛作用(18,18)，其中之一爲經由自主神經之血流管制，改善局部血流(19,20)，然而有關此一假說，目前僅有一些臨床的觀察(21,22)支持此項說法，他們發現針灸足三里與合谷引起手足，顏面廣汎皮膚血流量增加，而針灸的止痛效果發現與皮膚血管的擴張有相關性存在(23)，然而其機轉仍未見有深一層的研究。

因而，本研究爲了著手探討針灸所引致之皮膚血管反應機轉，乃採用麻醉大白鼠作爲實驗模式，以試驗其用於研究針灸所引致之皮膚血管反應之可行性，在我們的預試實驗裏(24)以紅外線熱像儀偵測大白鼠皮膚溫度，以研究針灸足三里所以引致的皮膚血管反應機轉。皮膚血管之舒縮反應以皮膚溫度變化顯示之，我們的預試實驗的結果顯示於針刺足三里的實驗組，兩足掌的皮膚溫度顯著的增高,皮膚溫度增加的程度，針刺側的足掌比對側的足掌較高．於針刺側足掌，其皮膚溫度於刺後 5分鐘達最高點（ +2.1±0.3 C ），而後，呈些微下降，但於實驗的三十分鐘內，均具顯著性差異．但是，手掌溫度的變化則無顯著性差異。由於此結果，亦確定，以麻醉大白鼠作爲實驗模式，得以進行更進一步的機轉研究,由預試實驗結果顯示，針灸足三里引起足掌皮膚溫度升高，此現象可能表示中樞交感神經系統或內分泌系統參與針灸所引致的皮膚血管反應．然而，亦不排除針灸所可能引致之局部皮膚血管反應。

然而，截至目前爲止，由以上方法，採用麻醉大白鼠作爲針灸實驗式，所遇到的一個問題即是如何確定穴道的位置，它不若於人施行針灸可由病人針感確定之，這也許是先前本實驗室的結果有較大的統計上的偏差值的可能因。

有關穴位的確定方法，早有人發現穴道部位的阻抗較一般皮膚爲低，即所

謂的良導絡。故本研究擬採用測量穴位電阻， 配合本研究的主題----針灸的皮膚血管反應機轉之研究，作爲定穴道位置的參考。

三、研究目的

針灸的止痛效果已廣被確認，且其止痛機轉有相當程度的研究。而針灸尙有止痛之外的醫療效果，其可能的原因之一爲：針灸對自主神經的調節的作用。針灸對自主神經的作用是一個很有興趣的研究主題。然而由於自主神經功能研究的困難，針灸於這方面的研究尙付闕如。皮膚溫度變化反映皮膚血管之舒縮，此爲交感神經調節的表現之一，經由皮膚溫度的變化，很容易觀察自主神經的調節功能。故本研究計劃擬採取測量麻醉大白鼠的皮膚溫度的方法，作爲研究針灸之自主神經調節作用之起始。

經由初步研究，以麻醉大白鼠的皮膚溫度變化來偵測皮膚血管對針灸的反應是可行的。因此擬再進行其機轉研究，以探測交感神經，腦內啡分泌，局部血管反射參與此針灸皮膚效應的可能性。於此部份本研究採用藥物阻斷，神經傳導阻斷，神經截斷等方法探討交感神經系統，內分泌系統或局部皮膚血管參與此針刺足三里所引致的皮膚血流增加反應之可能機轉。

於麻醉動物進行針灸實驗的一個問題爲穴道定位的不確定性，因於本研究中於實驗的同時，亦測量穴道的阻抗。由先前的研究顯示，生物組織的阻抗值取決於其結構上的特性(25)，且有證據顯示，穴道有較低的電阻抗。由於電阻抗是最重要的電特性之一，於本實驗中測量含有穴道組織的電阻抗，並對此電阻抗值作分析，以確定此體內測量電阻抗的方法，是否可以用於穴道的定位。亦將所測量的電阻值與針灸的皮膚血管反應作相關分析，以同時評估使用此法作穴道定位的可行性以及改善實驗結果差異值大的問題。

第二章 材料與方法

以重 250-350 克重的大白鼠作爲實驗動物，於實驗期間，動物飼養於具調設備，溫度控制於 25 ℃ 的動物房，餵以動物飼料與水。

實驗室溫度控制於 23 ℃ ，且儘量使室內空氣流動減至最低，實驗室照明以窗帘控制。以戊巴比妥（ 40 mg/kg ）麻醉，大白鼠於麻醉後置於實驗室內三十分鐘，以使其體溫與環境溫度達於平衡，並使之仰臥於一熱墊上，使其體溫維持於 37.5 ± 0.5 ℃。

一、預試實驗

預試實驗進行時，使大白鼠仰臥於一壓克力製的架子之中，此壓克力架的上層板有四個洞，用於使大白鼠的手足由伸出，而其手足掌以膠帶輕微固定於壓克力板面上並使其手足掌面平展向上，以紅外線熱象儀測量其皮膚表面溫度。本實驗室的紅外線熱象儀爲 San-ei Thermotracer 6T67，此儀器包括幾個部份，一個利用液態氮作用的紅外線照相機，一個彩色電視偵視器，一部電腦，此電腦具有儲存八個影象的記憶容量，而且可以因溫度範圍而設定 16 - 256 個顏色來區分溫度，而其記錄溫度的靈敏度可達 0.1 ℃。有一彩色影象錄影機可以儲存影象以供實驗後分析。亦有一彩色照相機可以拍攝影片。

每個實驗爲時 30 分鐘，針刺之前，記錄一次皮膚溫度，作爲時間零時的對照溫度。其餘在 1，2，5,10，15，20, 25，30 分鐘時各記錄一次，圖象以電腦與彩色攝影機儲存，實驗後再進行分析。皮膚溫度以特定區域面積的平均溫度爲讀數。

由於預試實驗結果顯示，皮膚溫度的變化主要發生在腳掌，手掌溫度無明顯差異，故在機轉的研究中僅觀察足掌溫度的變化。亦由於紅外線熱象儀無法

作溫度的連續測試，故在機轉的研究部份，捨紅外線熱象儀，而改用熱晶體作溫度測試，熱晶體探測器以醫用透氣膠帶輕固定於二側足掌上，皮膚溫度的變化的訊號則接 Coulbourn 數據擷取系統以記錄之。

二、機轉實驗

研究針刺足三里所引致的皮膚溫度增高的神經機轉的實驗分爲二個部份：

A、探討自主神經反射系統於此反應中所扮演的角色

此部份的研究又分成下列三組：（一）脛神經截斷組：脛神經（tibia nerve）以手術的方法分離出，於膝以下處截斷，而假截斷組其外科分離神經的步驟一樣，僅脛神經未截斷。並於手術的前後測量兩足掌的皮膚溫度。（二）脛神經阻斷組：於脛神經阻斷組以 lidocaine（ 0.1 ml, 1% ）注射於膝部的腘窩內，於對照組在同部位注射等容積的食鹽水。（三）交感神經阻斷：實驗採取 guanethedine 以阻斷交感神經腎上腺性神經纖維。Guanethidine hydrochloride（ 40 mg/kg, Sigma ） 以腹腔注射的方式，連續給葯一週。其對照則注射食鹽水。

B、探討局部反射參與針刺的皮膚反應的可能性

此部份的研究包括兩個實驗：（一）局部麻醉劑浸潤組：以局部麻醉劑 lidocaine （ 0.1 ml, 1% ）注射於足三里穴周圍，於對照組在同部位注射等容積的食鹽水。（二）痛覺 C- 神經纖維破壞組：以 注射於出生二天的幼鼠，據報告此法可以破壞對 capsaicin 敏感的 C- 神經纖維。而其對照則注射食鹽水。

針刺實驗的部份以金屬毫針，紮於足三里穴，以隨機方式選取左邊或右邊。於實驗的三十分鐘內，金屬針均留置於足三里穴，於溫度記錄的中間空檔

並以捻針刺激之。

實驗結果取反應的最大值，以統計軟體， MINITAB 作變異數分析.

三、電的測量

本研究採三電極的技術，測量含有穴道的組織的電阻抗（圖四）。此測量電極系統包括一醫用的測量肌電圖的同心電極。此電極有一不銹鋼外管（ 外徑 0.5mm, 長 4mm），中間爲一白金電線（電極面 0.07 mm2）。另一電極爲一單極絕緣針電極（外徑 0.35mm），僅針尖的部份未絕緣。測量時將同心針電極插人足三里穴，另一單極電極置於大白鼠大腿外側的皮下組織。含有 1 Hz 至 100 Hz 的交流電通在同心針電極的外管與單極針電極之間。反應電壓則於白金電極與單極電極間測量。電阻抗的測量儀器爲一電腦控制的鎖定放大器（ Stanford Research Institute ），在我們所有的測量，均使用 1 V, 1 Hz - 100 KHz 的正玄波，此電源經過一串聯的 1-M Ω 電阻，此實驗裝置得以供應一相當於 1 μamp 的定電流，於其他細胞組織培養的實驗中，證明對於細胞是無侵害性的。於我們電阻抗的分析研究裏，通常給予 5 - 40 個頻率的電流，測量時間爲 5 - 40 秒鐘。

生物組織的電性模式，可以以一最簡單的等效電路表示之（圖五）[26]。圖中的 Re, Ri, 和 Cm 分別代表細胞外阻力（ extracellular resistance），細胞內阻力（ intracellular resistance ）以及細胞膜電容（cell membrane capacitance）[24]。由於細胞由細胞外液，細胞內液及細胞膜所構成，而 細胞外液，細胞內液均爲電解液，故可視之爲電阻，將其指定爲 Re, Ri. 而細胞膜的電容爲 Cm。在此等效電路中，Re, Ri, Cm 的值則由測量的阻抗值，與一曲線套合的電腦程式計算得之。

第三章、結果:

一、預試實驗

圖一、表一、表二、的統計圖表顯示了預試實驗裏，，在此我們觀測了針灸於前後掌所引起的皮膚溫度變化，發現針刺所引起的皮膚溫度變化，主要是發生於刺激側的腳掌，並呈現具統計意義的差異，若是取其溫度變化值作比較時，則刺激對側的足掌，亦可見有較小的，但是有意義的溫度昇高現象(24)。因此，我們認爲，可以利用此動物實驗模式，再作進一步機轉的研究，於機轉的研究，我們捨棄前掌溫度的觀察，僅觀測後掌皮膚溫度的變化。

二、交感神經反射之可能機轉研究

在我們的機轉實驗裏，最先想印證，是否針灸的後皮膚溫度增高現象是由於交感神經的抑制作用。假若，針灸的作用僅是經由交感神經的抑制作用，當阻斷了此神經通路後，針灸應不改變或不增加皮膚溫度，並且，神經截斷或神經化學阻斷的後皮膚溫度反應，應會相當於或大於針灸所引起的皮膚溫度反應， 針對此點，本實驗採取三種方法，以阻斷交感神經，它們分別爲：脛神經截斷，脛神經以局部麻醉劑 lidocaine 阻斷，以 guanethidine 作化學交感神經去除。我們的結果列於表三、脛神經截斷，與脛神經的麻醉劑阻斷明顯的增加了皮膚的溫度，其中脛神經截斷組的皮膚溫度昇高了 6.1 ± 0.5 ($P < 0.01$), 脛神經的麻醉劑阻斷組的皮膚溫度昇高了 5.8 ± 0.7 ($P < 0.01$)，此結果亦同時說明了大白鼠的足底皮膚主要是由交感神經縮血管神經所支配。而以 guanethidine 處理的一組則未見皮膚溫度的上昇，這可能是由於在我們的實驗，大白鼠均經過一週以上 guanethidine 的慢性處理，此時體液，內分泌等因素已加入循環系統的代償用，

而使其皮膚有正常基準的血流量。而我們的觀察更發現，於一些對針灸反應特別大的大白鼠足底皮膚溫度增加的高度，達到了與脛神經截斷，與脛神經的麻醉劑阻斷組相等的程度。這使我們有理由認爲，針灸的主要作用是抑制了交感神經的縮血管作用。且針灸有可能能夠大程度的，或完全的抑制縮血管交感神經的活動。然而總的統計結果顯示， 針灸的皮膚溫度反應 2.2±0.45 小於（ $p < 0.01$) 脛神經截斷與脛神經的麻醉劑阻斷的皮膚溫度反應。這可能是由於，於一些大白鼠，針灸僅引起部份縮血管交感神經的抑制作用。

圖二、描繪了二個典型的，充份表現的針刺皮膚反應，上面的二記錄圖爲針刺的皮膚反應，並列的下一個記錄圖爲脛神經截斷的皮膚溫度反應，以供作對照，脛神經截斷的皮膚溫度，其皮膚溫度的變化，在我們的實驗裏，大多是 6 ℃ 左右，且神經截斷後，皮膚溫度在我們 1 小時的觀察期內，維持持續且穩定的增高狀態。 而針灸組的皮膚溫度，於 2 min 開始昇高，於 6 min 達到最高點，其皮膚溫度的變化，亦達到與脛神經截斷相等的高度；有些情況如第二個記錄圖所示，在 1 小時的觀察期內，針刺側的皮膚溫度維持在持續且穩定的增高狀態，且對側的皮膚溫度無明顯的變化；有些情況如第一個記錄圖所示，溫度昇高後呈波動的變化，在 1 小時左右回復原的皮膚溫度。還有一些爲數較少的情況，如圖二、最上面一個記錄圖所示，皮膚溫度的反應放射至對側足掌。圖上並顯示，脛神經截斷後，再與針刺，則不見有任何皮膚溫度反應。

三、局部軸突反射可能機轉的研究

這一部份的研究是在探討，是否我們的實驗結果是由於局部皮膚軸突反射所引起的，以及檢試，是否 capsaicin 敏感的 C 神經纖維是否參與此反應，在此，我們採取二種方法，一爲足三里穴局部麻醉劑浸潤，二爲系統性破壞 C 神經纖維的方法。而在局部麻醉劑浸潤的結果顯示，在局部麻醉劑浸潤後，針

刺不引起皮膚溫度無明顯的變化（$p > 0.05$）。

四、穴道電阻抗的量及穴道電阻抗及皮膚溫度反應的相關研究

至目前爲止，並無發現穴道電阻抗及皮膚溫度反應之間有相關性存在。而穴道電阻抗的測量方法，仍需再加改良與確定，但是仍然選取一些可能爲穴道的阻抗測量值作分析，其測量結果，如圖六，所示，而其測量的同相電位，異相電位，阻抗值，與相位角的穴道點與非穴道點的變化比值，則顯示於圖七。其結果亦如表五、所示，爲含足三里穴與不含足三里穴道的組織電阻抗值，與經阻抗值分析所得的 Re, Ri, Cm 值的比較。

第四章、討論

皮膚溫度用來測量皮膚血流，亦代表皮膚的交感神經活動，當交感神經興奮時，皮膚血管收縮，因而皮膚溫度降低，相反的，當交感神經被抑制時，皮膚血管舒張，皮膚溫度昇高。

由神經截斷與神經麻醉阻斷的結果顯示，當針灸的皮膚的血流增加的反應表現到最高時，幾乎可達到與神經截斷或阻斷相同的反應，再加上由 guanethidine 阻斷交感神經的實驗的結果，因此我們推論本研究所觀察到的後皮膚溫度昇高，最主要的是由於交感神經抑制作用。而主動血管擴張的機制較不可能。因爲，有兩個明顯的原因：假若存有如人類尖端區皮膚一樣的非腎上腺性的（non-adrenergic）主動血管舒張系統，則於麻醉劑阻斷後，針灸應可再繼續增加皮膚溫度。第二個理由爲，雖然，縮血管交感神經具有某些緊張性活神經活動，但主動血管舒張系統卻沒有，且在大部分的組織，血管舒張是由於交

感神經緊張性活動降低所致，骨骼肌則較特別，它可由腎上腺膽鹼性神經（sympathetic cholinergic vasodilator system）的興奮，來增加它的血流。(27, 28)。

雖然，神經截斷與麻醉阻斷的結果，強烈的支持僅有縮血管性神經支配大白鼠的足底皮膚，但是，仍然有可能舒血管性神經是存在的，此種情形爲：如果於基底的情況，縮血管性神經的活動很強，而針灸並未改變縮血管性神經的活動，而是刺激了舒血管性神經系統，這時針灸仍然可以引起皮膚血流的增加，而神經截斷或阻斷同時去除了縮血管性神經與舒血管性神經，而仍然可以得到一樣的結果。因此，有關主動血管舒張系統之研究，本研究亦擬使用 α-接受器阻斷劑，phentolamine(29)，經處理後亦不見針灸的血管舒張反應，此部份的結果，亦排除了主動血管舒張系統存在之可能。

各不同種別動物的交感神經皮膚分佈的差異亦可能會引起不同的皮膚血管反應， 雖然，較之於人類，動物的皮膚循環的神經管制，所知仍少， 但是有證據顯示，於貓和狗的足掌有主動舒血管系統(30,31)，但並非每一種動物皆然，如，大白鼠即無此主動舒血管系統(29,32)。再者，有證據顯示，於大白鼠的足掌皮膚有高度的內在性 α-腎上腺的神經活動(33)，而此神經活動受腎上腺髓質的影響，當去髓質後，交感神經節的刺激，或坐骨神經的刺激，均不再引起足掌皮膚血管收縮。另外，亦有證據顯示於大白鼠，當交感神經縮血管神經活動被抑制時，尖端區皮膚血流的增加是由發生於動脈靜脈吻合，而非微血管前小靜脈(34)。但在本篇研究中，尚未探及腎上腺等內分泌系統參與於此反應的可能性。

我們的實驗結果，除了可能的中樞的反射機構之外，亦有可能是後發生於足三里穴與足底皮膚的神經聯結，直接的刺激或傷害所引起的反應較不可能，因爲我們選擇的足三里，它與足底皮膚區仍有一段距離。但仍有可能，針刺刺激了足三里穴的痛覺 C-神經纖維末稍，經逆向傳導的路徑，到達足底皮膚，引起局部性的軸突反射（axon reflex）的皮膚火紅現象（flare），在我們局部麻醉劑

浸潤實驗的結果，似乎可以說明針刺增加足掌血流此一現象。但對於此點，作者認爲仍應持保留的態度。因爲在我們的實驗裏，仍有不少情況，針刺全然不引起皮膚溫度的變化，另有一些，雖然較少見，但是確實存在的，皮膚溫度反應放射到對側的現象，這些卻說明了針刺所引起的皮膚反應不是或不單單是局部的反射。而另一可能爲，局部麻醉劑的浸潤除了阻斷感痛 C 纖維，亦同時阻斷了向心性傳導的某些重要機件，因而阻礙了針刺的反應，或是感痛 C 纖維本身亦參與此反應，此則需以 capsaicin 作更特殊性的感痛 C 纖維阻斷。

我們的研究嘗試由交感神經系統的方向，來探討針灸的機轉，而與其他針灸對交感神經的效應的研究的結果的比較，其間仍然有一些差異，有些報告顯示針灸引起狗心臟血管系統的交感神經活動增加(35)．但是，另外有研究卻顯示，針灸降低交感神經活動，而使得周圍血管擴張(36-38)。 Omura(23) 的研究則顯示針灸最初引起短暫的交感神經刺激，而後跟隨著長時間的交感神經抑制。這些結果的差異可能是由於偵測交感神經活動技術上較爲困難，與動物種別，實驗情況上的差異。另外，也曾有報告，針刺的穴位，與針刺的技術的差異會產生不同的效果。手刺引起效果較長，較廣泛的，經由腦內啡系統的(15,16, 39)，而經皮電刺激則引起較短暫的，侷限於體節的，非腦內啡的止痛作用(14,16,40,41)所以，針灸的穴位，手法等亦有可能引致不同的交感神經活性的表現。

我們的研究僅觀查足掌皮膚溫度，其他部位的皮膚或更深層組織的血流變化無法由此實驗得知。但是，據其他的研究，大部分的操作刺激在肌肉與皮膚引起的交感神經反應是不同的(42)，因此，有可能神經與肌肉的交感神經也具有特殊性的，區域性的管制。在我們的預試實驗裏(24)，皮膚溫度變化僅於腳掌，手掌皮膚則無顯著的變化，並未見到如 Ernst & Lee 所報告的廣泛的交感神經緩解作用。有此不同結果的可能解釋爲，Ernst & Lee 他們的觀察是於清醒的人所進行的。而我們的實驗由於需要，用了戊巴比妥作麻醉。戊巴比妥麻醉會引起廣泛的中樞神經抑制，並減少自主神經的神經傳遞，或許是因爲這原因，而改

變了我們實驗的反應。 雖然，於本實驗需用到麻醉的製備，這可能會增加針灸結果的變異性，然而，這樣仍可能將實驗所得的結果推演至清醒的大白鼠，即使，沒有得到針灸之皮膚血管反應的絕對數值，亦可以表現出此反應的模式。

雖然，針灸的交感神經反應與止痛的交互作用的文獻報告較少，但是，也有不少的相關證據顯示，交感神經系統與痛覺有某種關聯存在，例如：於正常人，交感神經具有穩定皮膚痛覺閾值的作用(43)，以及紅外線熱象儀的研究顯示，慢性痛的皮膚區反映出冷點，急性痛則反應出熱點(44,45)。另外，在刺激背柱（dorsal column）時，發現鎮痛區的皮膚溫度亦增高。但是，在本研究中，僅觀察針灸對血流的影響，針灸的交感神經反應與止痛的間的關係仍有待探討。

第五章 結論與建議

一、本研究由大白鼠的針刺皮膚溫度反應推論至針刺的交感神經反應，在應用上應有所限制。

二、針刺皮膚溫度反應的變異性，由本實驗室長期的觀察，確實存在，或是由於穴道的定位，或是由於穴道本身的性質。

三、穴道電的測量的實驗由於大白鼠體積較小，其測量的控制較難掌握，擬採較大的動物，再重新測試。

參考資料：

1. Rowell,L.B. Human cardiovascular adjustments to thermal stress. Handbk. Physiolog. Sec. 2, 3 (2) :967-1024,1983.

2. Greenfield, A.D.M. The circulation through the skin. Handbk. Physiol. Sec. 2,2:1325-1351,1963.

3. Conrad, M.C. Functional anatomy of the circulation to the low extremities. Chicago, Year Book Medical Publishers, 1971.

4. Shepherd, J.T. Physiology of the Circulation in Human Limbs in Health and Disease. Philadephia, W.B. Sauders Co., 1963.

5. Roddie,I.C. Circulation to skin and adipose tissue. Handbk. Physiol. Sec.2,3 (1) :285-317,1983.

6. Gaskell, P. Are there sympathetic vasodilator nerves to the vessels of the hand. J. Physiol (Lond.) 131:647-656, 1956.

7. Edholm, O.G.; Fox, R.H.; MacPherson, R.K. Vasomotor control of the cutaneous blood vessels in the human forearm. J. Physiol.(Lond.) 139:455-465,1957.

8. Henricksen, O.; Sejrsen, P. Local reflex in microcirculation in human cutaneous tissue. Acta Physiol. Scand. 98:227-231.

9. Sejrsen,P. Blood flow in cutaneous tissue in man studied by washout of radioactive xenon. Circ. Res. 25:215-229, 1969.

10. Bonner, R.; Nossal, p. odel of laser-Doppler measurements of blood flow in tissue. Appl. Opt. 20:2097-2107

11. Johnson, J.M.; Taylor, W.F.; Shepherd, A.P.; Park, M.K. Laser-Doppler meaurement of skin blood flow: comparison with plethysmography. J. Appl. Physiol. 56:798-803, 1984.

12. Cooper K.E.; Cross K.W.; Greenfield A.D.M.; Hamiltom D.M.C.K.; and Scarborough H. A comparison of methods for guaging the blood flow through the hand. Clin. Sci. Lond. 8:217-234,1949.

13. Felder D.; Russ E.; Montgomery H.; and Horwitz O. Relationship in the toe of skin surface temperature to mean blood flow measured with a plethysmograph. Clin. Sci. Lond. 13:251-256.

14. Melzack R. Acupuncture and related forms of folk medicine. In: Wall PD, Melzack R. (eds) Textbook of Pain. Churchill Livingston,Edinburgh. 1984; 691-701.

15. Akil H, Mayer DJ, Liebeskind JC. Antagonism of stimulation produced analgesia by naloxone, a narcotic antagonist. Science. 1976; 191: 961-2.

16. Cheng RSS, Pomeranz B. Electroacupuncture in the treatment of post-□ traumatic sympathetic dystrophy (Sudeck's atrophy). Br. J. Anaesth. 1981; 53:899-901.

17. Mayer DJ, Price DD. Central nervous system mechanisms of analgesia. Pain. 1976; 2:379-404.

18. Cheng RSS, Pomeranz B. Electroacupuncture analgesia could be mediated by at least two pain relieving mechanisms, endorphin and non-endorphin systems. Life Sci. 1979; 25:1957-62.

19. Kaada B. Vasodilation induced by transcutaneous nerve stimulation in peripheral ischemia (Raynaud's phenomena and diabetic polyneuropathy). Eur. Heart J. 1982; 3:303-14.

20. Kaada B, Eieben O. In search of mediators of skin vasodilation induced by transcutaneous stimulation. II. Serotonin implicated.

Gen. Pharmacol. 1983; 14:635-64.

21.Ernst M, Lee MHM. Sympathetic effects of manual and electrical acupunture of the Tsusanli knee point: Comparison with the Hoku hand point sympathetic effects. Exp. Neurol. 1986; 94: 1-10.

22.Ernst M, Lee MH. Sympathetic vasomotor changes induced by manual & electrical acupuncture of the Hoku point visualized by thermography. Pain 1985; 21:25-33.

23. Omura Y. Pathophysiology of acupuncture treatment: effects of acupuncture on cardiovascular and nervous systems I. Acupunct Electrother Res 1975; 1:51-140.

24.Chen FF, Cheng YS. Skin temperature responses to acupuncture of the Tsusanli (S36) point in anethetized rats. Chin. Med. Coll. J. 2: 113-120, 1993.

25. Schwann HP. Electrical propertties and cell suspensions. Adv. biol. Med. Phys. 5:147-209. 1957.

26. Suguru Kimura, Tadaoki Morimoto, Tadashi Uyama, Yasumasa Monden, yohuke Kinoouch and Tadamitsu Iritani. Application of electrical impedance analysis for diagnosis of a pulmonary mass. Chest. 105: 1679-82.

27. Ganong, W.F. Cardiovascular regulatory mechanisms in: Review of Medical Physiology. 15th edition, Appleton & Lange.550-561, 1991.

28. Furness J.B.; Marshall J.M. Correlation of the directly observed responses of the mesenteric vessels of the rat to nerve stimulation and noradrenaline with the distribution of adrenergic nerve. J Physiol 75:239,1974.

29.O'Leary, D.S.; Johnson, J.M.; Taylor, W.F. Mode of neural control mediating rat tail vasodilation during heating. J. Appl. Physiol.

59:1533-1538, 1985.

30. Peter, W.; Riedel, W. Neurogenic non-adrenergic cutaneous vasodilation elicited by hypothalamic thermal stimulation in the dogts. Pflugers Arch. 395:115-120,1982.

31. Zimmerman, B.G. Comparison of sympathetic vasodilator innervation of hindlimb of the dog and the cat. Am.J.Physiol. 214:62-68, 1968.

32. Wyss, C.R.; Rowell, L.B. Lack of humanlike active vasodilation in skin of heat-stress baboons. J. Appl. Physiol. 41:528-531, 1976.

33. Willette R.N.; Hieble J.P.; Sauermelch C.F. Sympathetic regulation of cutaneous circulation in the rat. J of the Autonomic Nervous System. 32 (2) :135-144, 1991.

34. Richardson D.; Hu Q.F.; Shepherd S. Effects of invariant sympathetic activity on cutaneous circulatory responses to heat stress. J. Appl. Physiol. 71:521-9.1991.

35.Lee DC, Lee MO, Clifford DH. Cardiovascular effects of acupuncture in anetetized dogs. Am. J. Chin. Med. 1974; 2:271-82.

36.Lee MHM, Ernst M. The Sympatholytic effect of acupuncture as evidenced by thermography: a preliminary report. Orthop Rev 1983; 12: 62-72.

37.Lee GT. A study of electrical stimulation of acupuncture locus Tsusanli (St36) on mesenteric microcirculation. Am J Chin Med 1974; 2:53-66.

38.Lee MH, Sadove MS, Kim SI. Liquid crystal thermography in acupuncture theraphy. J. Acupunct 1976; 4:145-8.

39.Mayer DJ, Price DD. Central nervous system mechanisms of analgesia.

Pain 1976; 2:379-404.

40.Sjolund B, Eriksson M. The influence of naloxone om analgesia by peripheral conditioning stimulation. Brain res. 1979; 173:295-301.

41.Wall PD, Sweet WH. Temperary abolition of pain in man. Science 1967; 155:108-9.

42.Hagbarth DW, Hongell A, Wallin BG. Maneuvers affecting sympathetic outflow in human skin nerves. Acta Physiol.Scand. 84:177-186,1972.

43.Galetti R, Procacci PC. The role of the sympathetic nervous systems in the control of somatic pain and associated phenomena. Acta Neuroveg. 1966; 28:495-500.

44.Fischer AA. Thermography and pain. Arch. Physic Med. 1985; 62:542.

45.Wexler CE, Faanos. Lumbar, Thoracic and cervical thermography. J. Neurol. Orthop. Surg. 1979; 1:37-41.

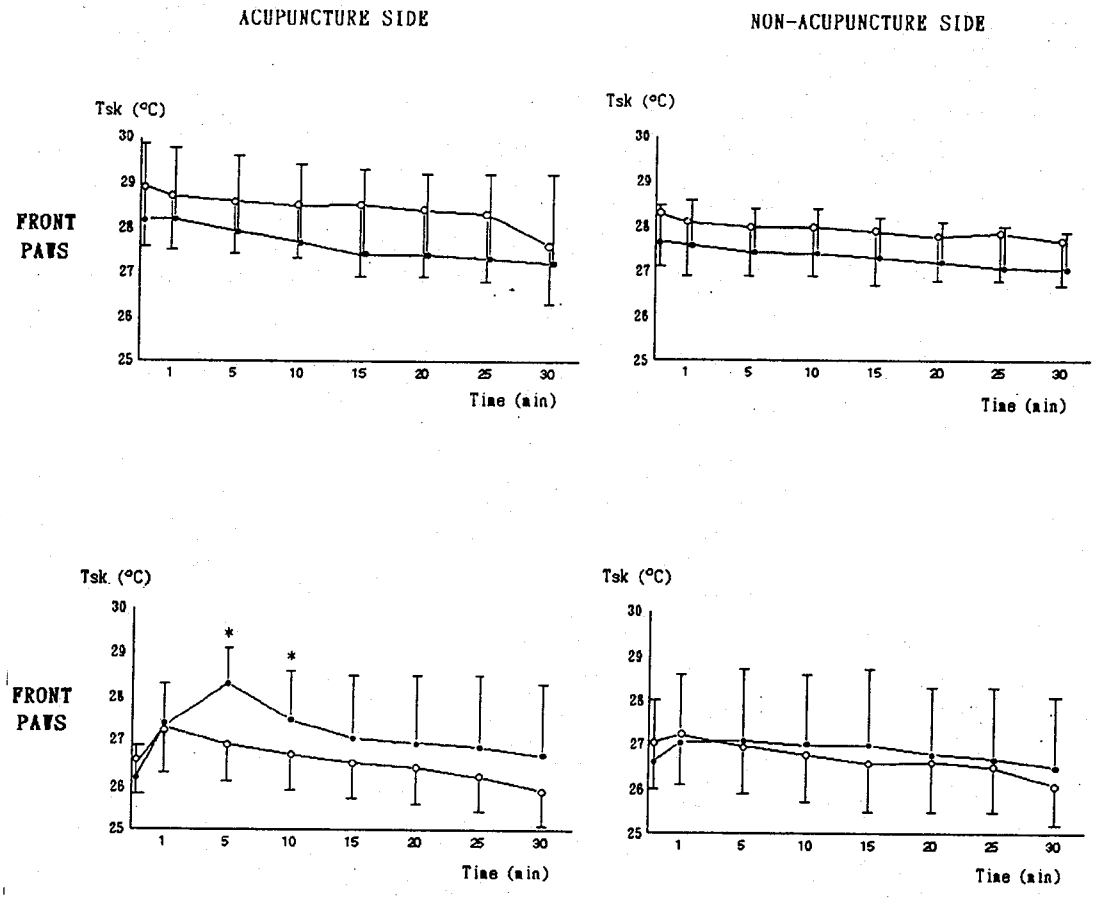
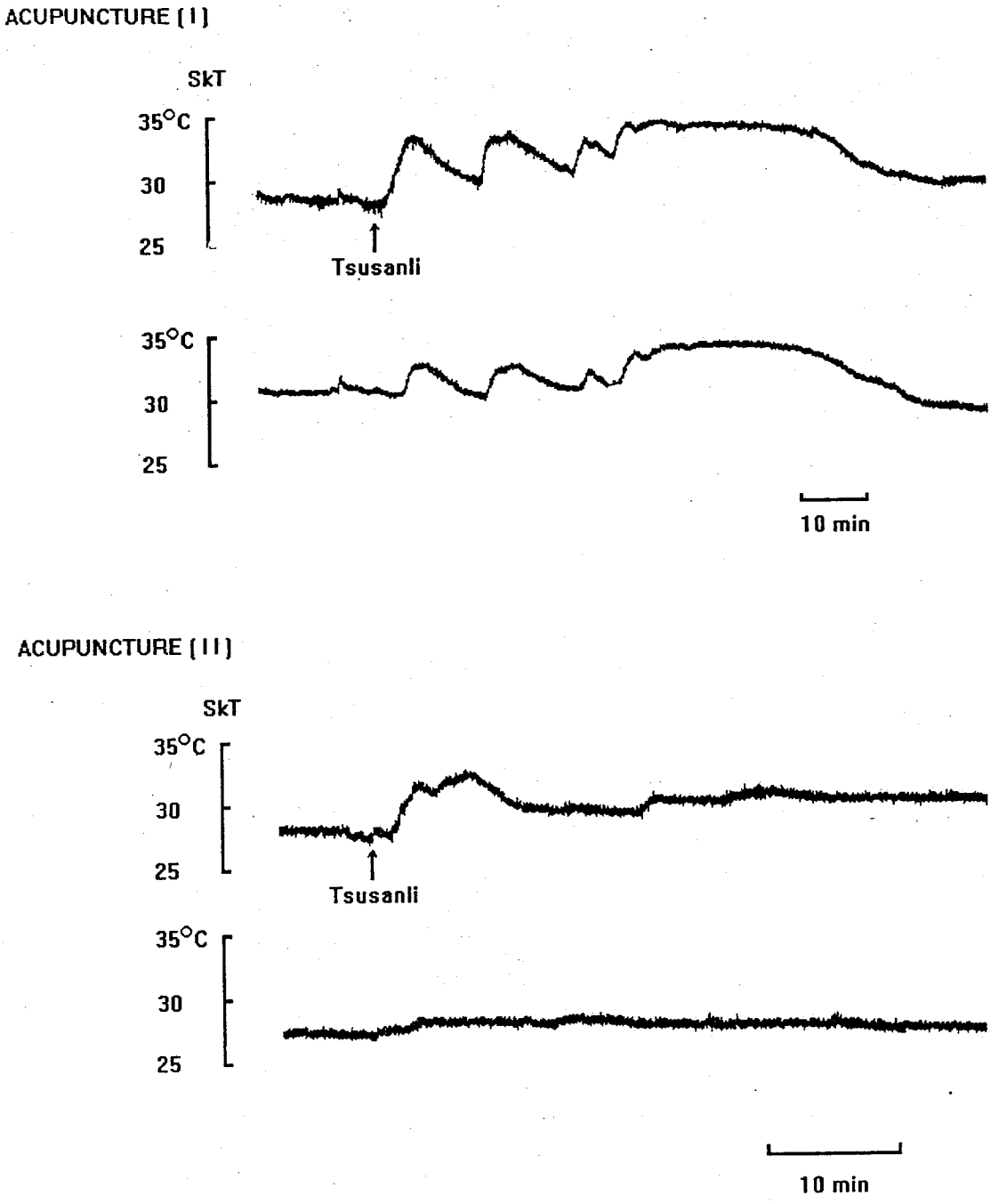
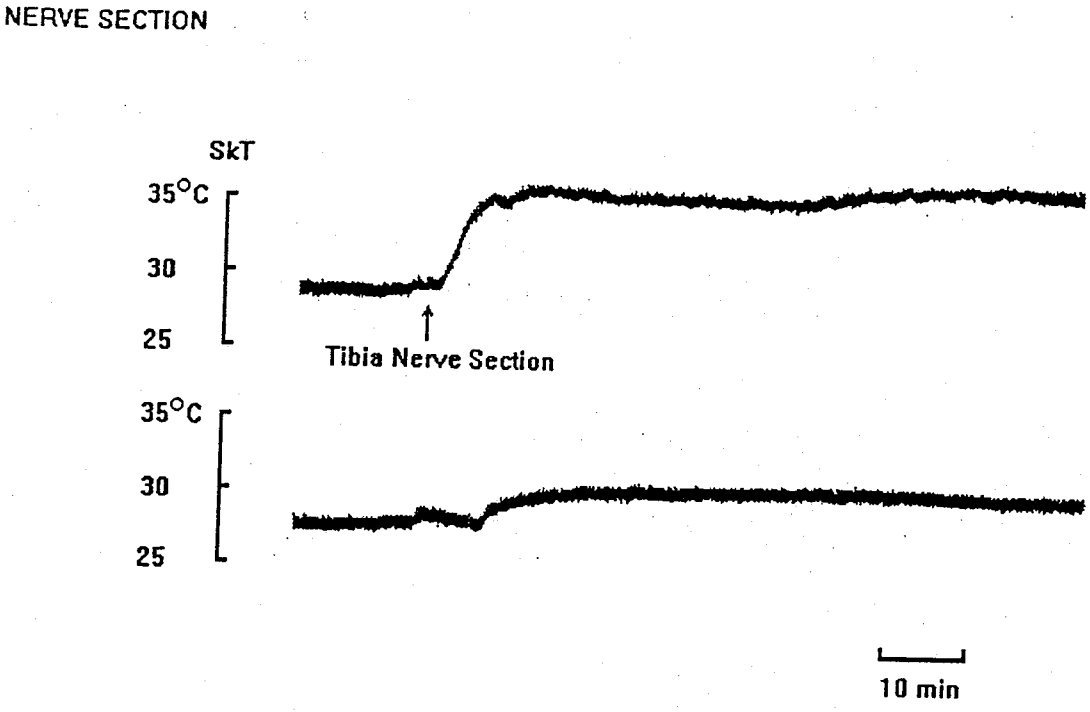


Fig 1. Mean Skin Temperature of Four Paws during Manual Acupuncture.
(Closed Circle) (N=14). Control Values (Open Circle) As Referrences
(N=14). Values are Mean ± S.D.

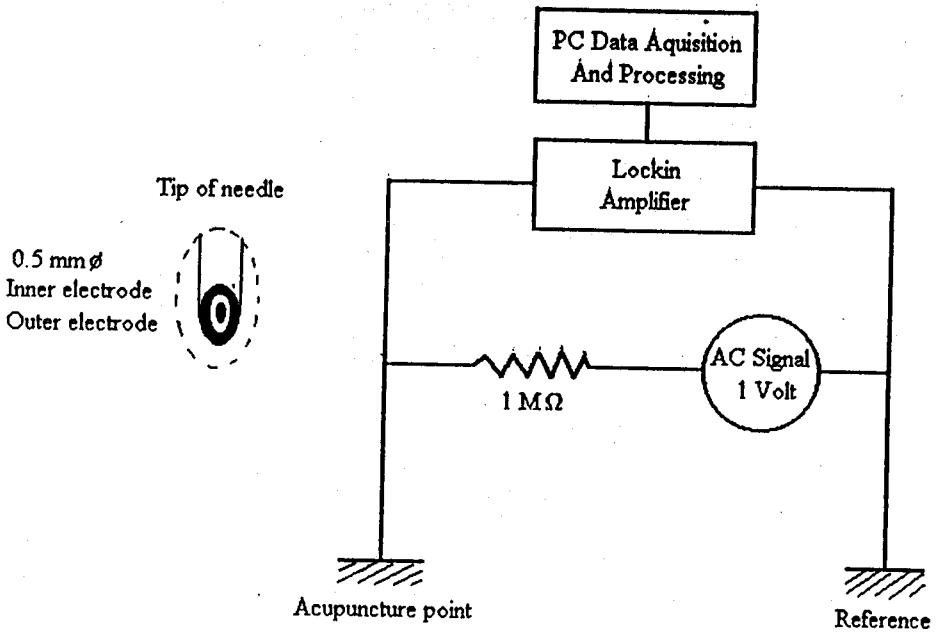
. 圖一、 針刺足三里時，大白鼠四足掌皮膚溫度的變化統計圖



圖二、 針刺大白鼠足三里時的皮膚溫度變化紀錄圖

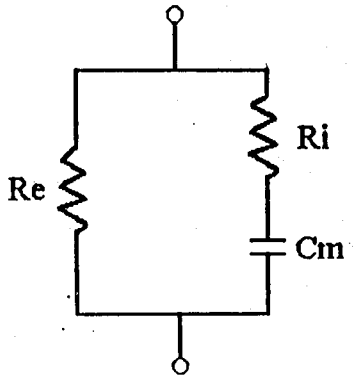


圖三、 大白鼠脛骨神經截斷時的皮膚溫度變化紀錄圖



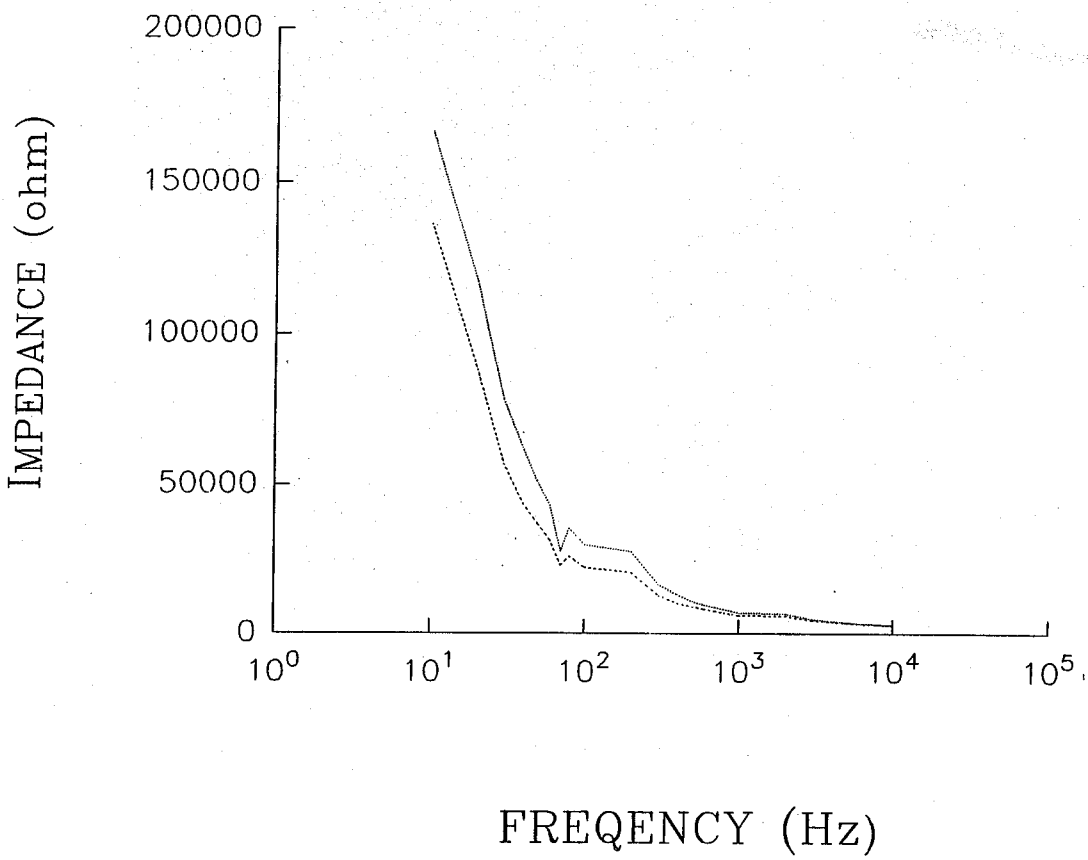
圖四、 穴道組織電阻抗紀錄的實驗裝置

Simple Equivalent Circuit

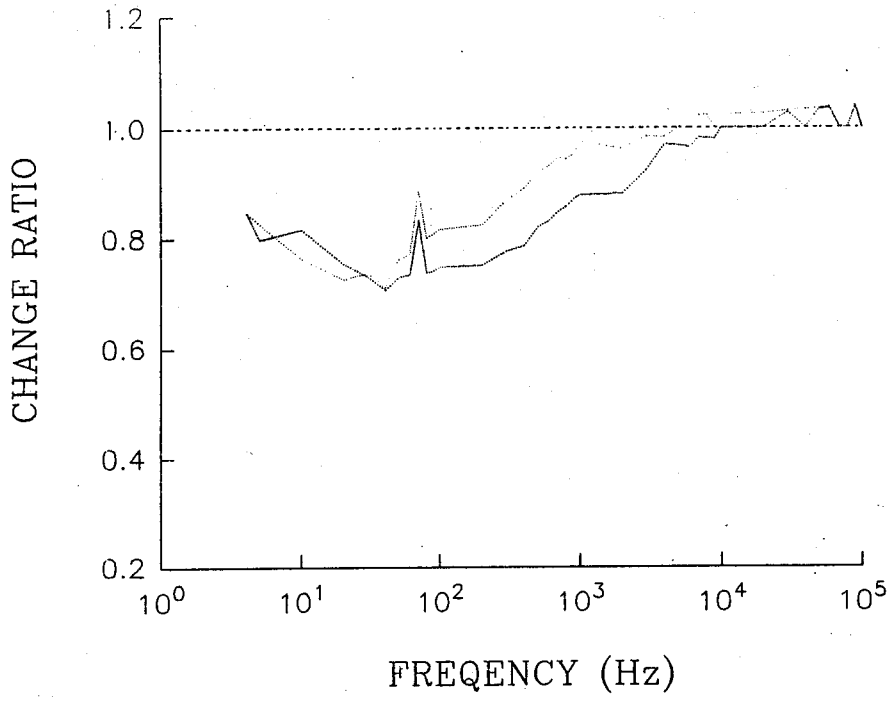


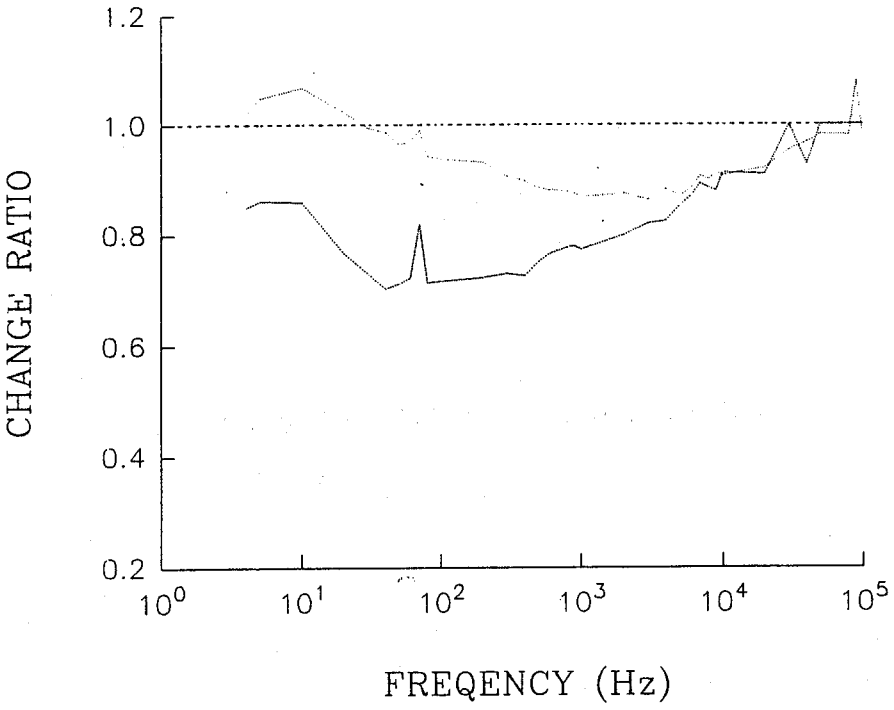
Re = extracellular resistance
Ri = intracellular resistance
Cm = cell membrane capacitance

圖五、 組織的等效電路



圖六、 含穴道組織與不含穴道組織電阻抗測量值的比較





圖七、 上圖：電阻，電阻抗值的變化率。下圖：電容抗，與相位角的變化率

Table 1

Significant Changes in Skin Temperature of Two-Way Analysis of Variance between Two Conditions

	F	P
Hind Paw of Acupuncture Side	76.4	< 0.01
Hind Paw of Non-Acupunture Side	19.2	< 0.01
Front Paw of Acupuncture Side	1.2	> 0.05
Front Paw of Non-Acupuncture Side	0.8	> 0.05

Note: Time: $t_1, t_5, t_{10}, t_{15}, t_{20}, t_{25}, t_{30}$.
Conitions: Control, Tsusanli acupuncture.

Table 2. Effects of Acupuncture to Tsusanli on Skin Temperature and Heart Rate

Group	Skin Temperature Response		Latency	Time to Peak	Heart Rate	
	Before	After			Before	After
I. Sham					321±15.	327±17
Acupunture Side	30.1±0.42	30.7±0.54	---	---		
Non-acupunture Side	31.0±0.49	30.6±0.62				
					314±18	295±18*
II. Tsusanli						
Acupunture Side	30.1±0.69	33.5±0.68*	213±62	438±63		
Non-acupunture Side	31.6±0.82	32.2±0.79	205±41	487±74		

Values are mean ± s.e.mean.

* Difference is statistically significant, P values less than 0.05

Table 3. Involvement of the sympathetic nervous system in changes in skin temperature in rat hind paw induced by acupuncture to Tsusanli

Treatment	Control	After Acupuncture	Difference
Sham (n=15)	30.7±0.47	32.6±0.54	1.9±0.58 *
N.Section (n=10)	36.3±0.45	36.1±0.43	0.2±0.08
Saline (n=15)	30.7±0.8	33.1±0.43	2.4±0.65 *
Lidocaine (n=10)	34.3±0.30	34.2±0.9	0.1±0.30
Saline (n=15)	29.2±0.18	31.4±0.32	2.2±0.45 *
Guanethidine (n=17)	30.6±0.58	30.9±0.49	0.3±0.18
Saline (n=15)	30.1±0.69	32.4±0.68	2.4±0.75 *
Phentolamine (n=15)	34.3±0.50	34.0±0.46	0.3±0.30

Values are mean ± s.e.mean.
* Difference is statistically significant, P value less than 0.05 (one-way analysis of variance).

Table 4. Effect of lidocaine infiltration and capsaicin pretreatment on changes in skin temperature in rat hind paw induced by acupuncture to Tsusanli

Treatment	Control	After Acupuncture	Difference
Control (n=15)	29.9±0.57	31.8±0.54	1.9±0.54 *
Lidocaine (n=15) Infiltration	29.7±0.21	30.3±0.27	0.6±0.16
Control (n=15)	29.2±0.18	31.3±0.32	2.1±0.30 *
Capsaicin (n=15) Pretretment	29.4±1.03	32.0±0.99	2.6±1.02 *

Values are mean ± s.e.mean.
* Difference is statistically significant, P value less than 0.05 (one-way analysis of variance).

Table 5. Measured Impedance Values

Measurement Items		Re, kΩ	Ri, kΩ	Cm, μF
I.	Control	10.20±0.96	10.20±0.96	13.30±2.49
(n=25)	Test	9.89±0.97	9.89±0.97	12.56±2.50
	Difference	0.31±0.08	0.31±0.08	0.74±0.24
II.	Control	10.45±0.98	10.45±0.98	12.57±1.87
(n=13)	Test	9.55±0.89	9.55±0.89	9.83±1.61
	Difference	0.90±0.16	0.90±0.16	2.74±0.50
III.	Control	15.97±0.57	15.97±0.57	28.57±2.20
(n=13)	Test	13.99±0.42	13.99±0.42	22.41±2.89
	Difference	1.99±0.36	1.99±0.36	4.79±2.33
Nerve Section	Control	15.08±1.40	15.08±1.40	27.20±5.06
(n=10)	Test	14.01±0.89	14.01±0.89	22.41±2.89
	Difference	1.07±0.56	1.07±0.56	4.79±2.33
Nerve Preparation	Control	15.54±1.46	15.54±1.46	29.07±5.35
(n=10)	Test	14.63±1.18	14.63±1.18	24.95±3.93
	Difference	0.91±0.58	0.91±0.58	4.11±2.51

Values are mean ± s.e.mean.

編號 DOH84-CM-042

中藥對不孕及生殖影響之研究（Ⅲ）
中藥對排卵及懷孕的影響
中藥方劑對排卵與胚胎發育影響之研究
—IN VIVO 系—

曾啓瑞　楊玲玲*
溫兆遠　靳淑媚

台北醫學院附設醫院婦產部生殖醫學中心
台北醫學院生藥研究所*

摘　　要

爲研究傳統中藥方劑對排卵及胚胎發育的影響，本實驗使用8-10週已達性成熟之ICR系母小白鼠，實驗組分別餵以四君子湯及四物湯，對照組則餵以生理食鹽水或不經任何處理，餵食期間爲兩次發情週期（共8天），隨後分別以過排卵處理(superouulation)後取得2細胞期胚胎之數量以及自然狀態下之生產率爲指標，評估此兩種中藥方劑對於誘導排卵及安胎的效果。結果顯示，該兩種中藥方劑在誘導排卵及安胎方面似無明顯效果。由於該兩種中藥方劑長久以來被廣泛應用於不孕症之治療，故其療效之有無似有待日後進一步研究求證後再下結論爲宜。

關鍵字：中藥、不孕、排卵、安胎

EFFECTS OF TRADITIONAL CHINESE MEDICINE ON OVULATION AND PREGNANCY -IN VIVO-

Chii-Ruey Tzeng, Ling-Ling Yang*, Jaw-Yuan Wen, Shu-Mei Chin

ABSTRACT

The purpose of the present study is to clarify the influence of traditional chinese medicine on ovulation and embryo development. 8-10 week-old female mice of the ICR strain were feed with the water extract of the Sijunzi and the Siwu Decoction for two estrous cycles and mated with mature male mice directly (group A) or after the treatment of superovulation (group B). Then, the percentage of pregnancy outcome in group A and the number of two-cell embryos obtained from group B was determined. In comparison with control group, it seems that those two drugs have not any benefit effect on ovulation and embryo development. We conclude that the real mechanisns of the two Chinese medicine need further elucidation.

Key words: Chinese medicine, infertility, ovulation, pregnancy outcome

Department of Obstetrics & Gynecology, Taipei Medical College Hospital

Gradute Institude of Pharmacognosy Science, Taipei Medical College*

前言

數種被廣泛認爲具有治療月經不順及安胎效果之傳統中藥方劑，如桂枝茯

苓丸、當歸芍藥散、四物湯、四君子湯等在不孕症的治療過程中，經常扮演著輔助性藥物的角色，且似乎具有一定程度的療效（1-4），特別是在改善體質或減輕因心理因素引起的不適，且具有副作用少、可長期服用等優點。不過，由於中藥方劑大多由數種生藥配方而成，故其有效成分及作用機轉至今仍多不詳。

本實驗試圖以四物湯、四君子湯等單一中藥方劑餵食8-10週大已達性成熟之ICR系母小白鼠，並以經過排卵處理（superovulation）後取得2細胞期胚胎之數量以及自然狀態下之生產率爲指標，評估此兩種中藥方劑對於誘導排卵及安胎的效果，以做爲進一步分析其有效成分及藥理作用的基礎。

材料與方法

一、中藥方劑的萃取與配製

四物湯及四君子湯分別依＜＜太平惠民和劑局方＞＞所載處方劑量（5，6），即：

1.四物湯：當歸、川芎、白芍藥、熟地黃各等分，每服三錢。

2.四君子湯：人蔘、甘草、茯苓、白術各等分，每服二錢。

加入10倍量水後，於70℃水流中迴流抽取兩次，每次6小時並趁熱過濾，如此反覆萃取3次後，將濾液集中於40℃下減壓濃縮，再經冷凍乾燥後儲存於-20℃冰櫃中以備使用。使用時加入0.95%生理食鹽水使之最終濃度爲2.14 x 10-2克／毫升。

二、餵食方法

以7公分長之餵食針將上述中藥方劑以2.14 x 10-4克／克（體重）之劑量餵入8-10週大ICR系母小白鼠（台大動物中心）胃部，每天一次，連續餵食8天

後，以2對2方式與成熟公鼠交配8天，並於每天上午檢視並記錄母鼠外陰部有無出現vaginal plug以確定交配與否。隨後並記錄產下仔鼠之母鼠數量以計算其生產率。

三、2細胞期胚胎之取得

取上述經餵食中藥方劑8天之母小白鼠，於腹腔內注射10IU PMSG（No. X09，中國化學製藥，台北，台灣），48小時後再以相同方法注射10IU HCG（HCG-Serono 500IU, Industria Farmaceutica Serono S.R.L., Roma, Italy）並以2對2方式與成熟公鼠交配，隔日上午觀察母鼠外陰部是否出現vaginal plug，以確定交配與否。HCG注射後48小時以頸椎脫臼法殺死母鼠，取出輸卵管，置於Dulbecco`s Phosphate-Buffered Saline（D-PBS）（Cat. No. 21300-025, Life Technologies, N. Y., USA）中，於解剖顯微鏡（Nikon, Tokyo, Japan）下，以30G針頭插入輸卵管，再以D-PBS將2細胞期胚胎沖出並分別計算數量。

四、實驗數據的統計分析

每種中藥方劑均做了一次以上的實驗，數據以平均值±標準誤差（Mean±Standard Error）的方式表示。

結果

一、中藥對排卵的影響

實驗一分爲4組，其中，實驗組2組，即：四物湯、四君子湯各餵食了9及10隻小白鼠，而對照組中生理食鹽水共餵食了7隻，其他不經任何處理者共5隻，實驗結果如表1顯示：各組（依序爲四物湯、四君子湯、對照組1生理食鹽水、對照組2）取得2細胞期胚胎之數量爲33.5、38.6、41.7、31.4，各組間無顯著差異。

表一　實驗中藥對排卵之影響

	2細胞期胚胎之數量
四物湯	33.5±5.8（10）
四君子湯	38.6±4.4（9）
對照組1（餵食生理食鹽水）	41.7±9.4（7）
對照組2（無餵食）	31.4±6.4（5）

註1.數值表示方式爲平均值±標準誤差（Mean±Standard Error）
註2.（）內數字表示（實驗之動物總數）
註3. 各組間無顯著差異

二、中藥對胚胎發育的影響

實驗二亦分爲4組，其中，實驗組2組，即：四物湯、四君子湯各餵食了33及31隻小白鼠，而對照組中生理食鹽水共餵食了25隻，其他不經任何處理者共26隻，實驗結果如表2顯示：各組（依序爲四物湯、四君子湯、對照組1生理食鹽水、對照組2）生產率分別爲23.9%、18.9%、23.3%、37.4%，各組間無顯著差異。

表二　實驗中藥對生產率之影響

	生　　產　　率
四物湯	23.9±2.4%（8／33）
四君子湯	18.9±2.2%（6／31）
對照組1（餵食生理食鹽水）	23.3±12%（7／25）
對照組2（無餵食）	37.4±28%（13／26）

註1.數值表示方式爲平均值±標準誤差（Mean±Standard Error）
註2.（）內數字表示（產下仔鼠之母鼠總數／實驗之動物總數）
註3. 各組間無顯著差異

討論

實驗結果顯示，在誘導排卵及安胎兩方面，兩種中藥方劑即：四物湯與四君子湯似無明顯效果。不過，基於下列各項因素考量，即：1.劑量是否不足（本實驗每天餵食劑量相當於成人一天服用的劑量）。2.餵食時間是否過短（本實驗餵食期間相當於2次發情週期）。3.人鼠間對於兩種中藥方劑中之有效成分其感受性是否有所差異。4.根據傳統中藥分類法，四君子湯及四物湯分屬補氣藥與補血藥。在治療不孕症方面，四君子湯較常應用於治療男性精子數目少、活動力弱。四物湯則主要用來治療貧血、月經不順。而兩種方劑具有之療效業經多方證實（4）。不過，傳統中醫在使用中藥方劑之際，通常會視各別情況而對其成分有所〝加減〞。本實驗中，餵食單一方劑的做法或許有可議之處。5.餵食過程中，由於餵食針經口深達胃部，勢難避免對小白鼠產生壓迫（**stress**），甚至造成生理上的傷害，而對中藥方劑的吸收產生不良影響。因此，該兩種中藥方劑是否確實不具任何療效，吾人未敢驟下斷語，仍有待日後進一步實驗求證。

前次實驗中，吾人得知在體外培養系中四物湯具有抑制胚胎發育的作用（7）。本實驗雖無法證實四物湯在誘導排卵及安胎方面具有療效，但亦不見其具有負面的影響。四物湯中抑制胚胎發育的成分是否在生體內經代謝後即不具毒性，抑或該成分僅對於發育中的胚胎具不良影響，仍有待進一步研究。根據研究指出（8），四君子湯及四物湯中均含有豐富的氨基酸，因此，在不產生負面影響的前提下，即使該兩種中藥方劑在治療不孕症方面不具療效，似乎亦可將之視爲一提供氨基酸的來源，即將之定位於天然〝健康食品〞。

參考文獻

1. C. G. Xie, X. H. Wang, et al., 1990. Treatment of dysmenorrhea with Danggui Shaoyao Powder. Abstracts of Chinese Medicines 4; 54.

2. J. R. Yuan, Y. Y. Li, et al., 1991. Experimental studies on the Siwu Decoction. Abstracts of Chinese Medicines 5; 361.

3. W. L. Deng, S. R. Gong, et al., 1988. Advance in pharmacological studies and clinical applications of Danggui Shaoyao Powder. Abstracts of Chinese Medicines 2; 230.

4. 瞿岳云：不孕不育治驗集成。湖南科學技術出版社（1994）。

5. 陳師文等：太平惠民和劑局方（1078）。人民衛生出版社（1959）。

6. 楊醫亞：中國醫學百科全書－方劑學。上海科學技術出版社（1988.5）。

7. 曾啓瑞等，1993.6：中藥對老鼠胚胎發育影響之研究。北醫學報22：43－46.

8. 千金醫方，1993.1：養身妙方－四君子湯。生命醫學1993－15：41。

編號 DOH84-CM-043

電針體穴刺激對激烈運動前後生理反應影響之研究

A Study on The Effects of Electroacupuncture on Exercise Induced Physiological Responses

林正常　林昭庚

國立台灣師範大學體育研究所
中國醫藥學院針灸研究中心

摘　　要

本研究的目的在於比較電針體穴刺激與電針非體穴刺激，對運動前、運動中及運動後心跳率、換氣量、氧攝取量、血液乳酸和運動強度自覺量表等生理反應影響的差異。受試者爲15名大學男生，平均年齡爲22.53歲，身高173.27公分，體重70.02公斤。受試者依平衡次序分別接受電針穴位刺激、電針非穴位刺激及無刺激三種實驗處理，並在跑步機上以80％ VO2 Max之運動強度連續跑12分鐘。非穴位的四點避開人體的經絡，做爲雙刺激足三里、雙間使穴對照位置。電針刺激採SU -608型電針儀，刺激強度爲10伏特、20毫安培、685赫茲。刺激時間分別爲運動前5-15分鐘和運動後第5-15分鐘。使用Sensormedics 2900能量代謝系統分析氣體。此外，每位受試者在運動前25分鐘和運動後5分鐘及20分鐘等三個時間分別抽取靜脈血，以比較各研究處理之上述三個時間的血液乳酸濃度。運動中並以Borg運動強度自覺量表，評估受試者的自覺疲勞程度，所得的資料經單因子變異數分析處理。本研究發現：(1)電針體穴刺激顯著降低安靜運動

前及運動後恢復期心跳率、換氣量與氧攝取量，但運動中無顯著差異。(2)電針體穴刺激足三里、雙間使穴顯著降低運動後及恢復期血乳酸水準與運動強度自覺量。本研究結果顯示電針體穴刺激有利於運動能力表現及運動後疲勞的恢復。

關鍵詞：電針刺激，心跳率，氧攝取量，換氣量，血液乳酸，運動強度自覺量。

A Study on The Effects of Electroacupuncture on Exercise Induced Physiological Responses

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of electroacupuncture on exercise induced physiological responses. Subjects were fifteen university males with average age, height and weight of 22.53 yrs, 173.27cm and 70.02 kgs respectively. Each subject performed three separate 12-minute treadmill runnings of 80% VO2max. oxygen consumption with treatments of electroacupuncture locus, electroacupuncture pseudo locus and with no stimulation. Electroacupuncture stimulate was applied on Tsu san-Li (S-36) and Jian-Chi (P5) locus while pseudo electroacupuncture stimulate was applied near the point of electroacupucture locus. Electrical stimulate was induced by a SU-608 electroacupuncture machine during 5th-15th minutes before exercise, and 5th-15th minutes post exercise. Heart rate, ventilation, oxygen consumption, blood lactate and rate of perceived exertion were collected and analysized with one-way repeated ANOVA. The results obtained from this study were as follows: (1) electroacupuncture significantly lowered heart rate, ventilation and oxygen consumption pre- and post-exercise while no significant difference of responses were found during exercise. (2) electroacupuncture significantly lowered recovery blood lactate and rate of perceived exertion following exercise. The results indi-

cated that electroacupuncture is beneficial to recovery from fatigue following severe exercise and might enhance exercise performance.

KEY WORD: ELECTROACUPUNCTURE, HEART RATE, VENTILATION, OXYGEN CONSUMPTION, BLOOD LACTATE, RATE OF PERCIVED EXERTION.

壹、前言

今日科學的進步是由多方面的知識與技術互相配合協調才能齊頭並進，某方面的發展常須接受其它方面知識和技術的協助，才能發展得更快更好。

針灸醫術的應用，已有數千年的歷史，爲中國醫學的重要組成部份，其治療廣泛，取效快速，療效顯著等，故數千年來仍爲廣大民眾所接受，目前正在世界各國快速的推廣與發展，深受醫學界之矚目，隨著針灸療效的提高與科研成果的不斷出現，世界衛生組織（WHO）於 1980年承認針灸能治療43種疾病[1]。上述顯示針灸有其價值存在，故針灸的世界性與學科綜合研究，是今後科學研究的主要課題之一，而針灸的蓬勃發展將是勢之所趨。

目前，國內外許多研究機構和醫療機構逐漸重視這一傳統醫術，並投入大量人力和物力，致力於針灸診療原理及臨床的實驗研究，從經絡、神經、體液等方面，運用解剖組織學、電生理學、生物化學及核醫學等方法，對“經絡、經穴與內臟的相關性”以及“其對全身的調整作用”，進行了大量的動物實驗和人體觀察。實驗研究結果證明針灸對人體生理機能具有調整及加強的作用[2]。有關針刺止痛面，已被研究的相當詳細，其止痛方式也有深入探討。針刺對人體機能具有

調控作用，使人體生理活動達到恆定狀態。對於心血管系統方面，有許多研究報告顯示針刺能改變心跳率、血壓及改善冠狀動脈血流降低血膽固醇、血脂肪，並應用於氣體代謝及呼吸功能之改善[3.4.5.6.7]。

近年來針灸的方法也受到體育運動界的重視，目的爲了能在高負荷量的訓練過程中調整機體，消除疲勞，使運動員能承受較長時間和較大運動量的訓練，進而提高運動能力的表現。

針灸效果不但能治療疾病，減輕疲勞的程度及提高神經的反應性，對於循環系統，血壓變化，氣體代謝和肺臟功能的改善也有重大的功效[8]。

由上述可知，刺激穴位對人體生理機能確有調整及加強作用。且在諸多針灸種類中，電針法是一種相當具有發展潛力的方法。其療效較快又明顯，操作方便，較爲能省人力，並可掌握輸入的能量，在實驗方面，也因而可以獲得較客觀的效果。

近年來，針灸臨床研究工作獲得相當程度的進展，國人對針灸與運動效果逐漸感興趣，相關研究亦日益受重視。在運動的效果方面，就這種針灸方法對運動效果，進一步做驗證，實深具意義。故本研究採用較嚴謹的實驗方法，以足三里穴與間使穴爲針刺法之體穴，進行體穴電針刺激法對運動前後生理反應影響之研究。

貳、研究目的

本研究的目的在於比較電針穴位與非穴位和無刺刺激時，對運動前、運動中與運動後心跳率、換氣量、氧攝取量、血液乳酸和運動強度自覺量表等生理反應效果的差異情形。

參、研究方法及步驟

本研究以15名自願參加的大學體育系男生爲研究對象，平均年齡22.53歲，體重70.02公斤，身高173.27公分。並分別接受三種實驗處理，其受試者基本資料統計表如表一所示。

表一　受試者基本資料記錄統計數值表

統計值	平均數	標準差	最大值	最小值
年齡（歲）	22.53	1.46	25.00	20.00
身高（公分）	173.27	6.36	187.00	166.00
體重（公斤）	70.02	9.72	89.80	61.40

本研究採用平衡次序(balanced order)之實驗程序進行，每位受試者接受電針穴位刺激、電針非穴位刺激和無刺激三種實驗處理後，在跑步機上以個人最大氧攝取量80%之運動強度,連續跑12分鐘。爲避免個別差異所造成之實驗誤差及有效控制運動強度，本研究先進行最大氧攝取量80%運動強度的測驗,再實施三種不同的實驗。

實驗方法與步驟包括八個部分：(一)實驗前準備階段；(二)最大氧攝取量測驗；(三)80%最大攝氧量運動強度之設定;(四)電針穴位刺激、電針非穴位刺激及無刺激之測驗；(五)氣體分析 ;(六)乳酸分析；（七）運動強度自覺量表測驗;(八) 資料處理。

每位受試者均須在平衡次序方式下，接受下列四次跑步機測驗：

1. 最大氧攝取量測驗。

2. 電針穴位刺激時之80%最大攝氧量連續跑12分鐘。

3. 電針非穴位刺激時之80%最大攝氧量連續跑12分鐘。

4. 無刺激時之80%最大攝氧量連續跑12分鐘。

本研究之電針非穴位與無刺激之測驗目的在於實驗對照，以卻除因疼覺或心理之影響。以下就各實驗階段加以說明。

(一)實驗前準備階段

1. 儀器之校正及檢視

(1)跑步機：本實驗採用Quiton65型跑步機與645型跑步機微電腦控制器，使用前依操作手冊之程序與方法進行坡度與速度之校正[9]。

(2)心電圖顯示器:本實驗採用Mennen Medical公司Horizon-2000型心電圖顯示器和無線電接受器，使用前檢查顯示器與2900氣體分析系統之連線，並校正二者間之電壓伏特量是否相當。

(3)2900電腦能量代謝測量系統:本實驗採用美國Sensormedics公司所製的2900電腦能量代謝系統(metabolic measurement cart)，使用前標準氣體經修蘭德氣體分析法分析確定O_2和CO_2的含量比例,再依操作手冊所列之程序進行氣量之比對和系統之測試。

(4)乳酸分析儀：採用美國Yellow Springs Instrument公司所製model 23L Lactate Analyzer分析測驗前後的乳酸值變化。依操作手冊所列之程序進行校正。

(5)檢視抽血針筒、止血帶、試管等抽血用具是否在清潔、安全及良好的使用狀態下。

2. 受試者之準備

正式實驗前發給每位受試者一份受試者須知及同意書，並向受試

者說明有關研究之目的與過程，同時要求受試者：

（1）於實驗前四十八小時，不得參加任何激烈運動，禁止喝酒及要求受試者食用平常之飲食，於實驗當天之測驗前不得抽煙。

（2）在實驗前30分鐘穿著運動服裝到達實驗室。

（3）實驗前，如果受試者不符合實驗之規定，則另定實驗時間。

3. 實驗環境記錄：

本研究之實驗進行時之溫度，在19-22℃之間。

（二）最大氧攝取量測驗

本實驗之測驗包括三個步驟：

1. 心電圖的安裝：

先用酒精擦拭受試者電極安裝部位，然後在電極片上塗上少許的電極糊，再以負極貼在受試者的胸骨柄上端，正極貼於左側第五肋骨和左鎖骨正中央向下垂線交點（即V_5位置），將電極導線接至心電圖無線電發報器，再將無線電發報器以皮套固定在受試者身上，並檢視心電圖顯示器是否正確的接收心電圖無線電發報器的訊號並顯示在螢幕上。

2. 採氣裝置：

以採集氣體之專用口罩，罩住受試者的鼻和嘴部，將呼出的氣體透過導氣管（蛇管）連接到2900能量代謝測量系統之氣體入口。

3. 最大氧攝取量測驗與80%最大氧攝取量運動負荷決定的方法：

在跑步機上以下列的運動負荷之設定跑至衰竭爲止。

階　段	時間	斜度	速度
第 一 階	1分鐘	10%	2.0mph

第 二 階	1分鐘	10%	2.5mph
第 三 階	1分鐘	10%	3.0mph
第 四 階	1分鐘	10%	3.5mph
第 五 階	1分鐘	10%	4.0mph
第 六 階	1分鐘	10%	4.5mph
第 七 階	1分鐘	10%	5.0mph
第 八 階	1分鐘	10%	5.5mph
第 九 階	1分鐘	10%	6.0mph
第 十 階	1分鐘	10%	6.5mph
第十一階	1分鐘	10%	7.0mph
第十二階	1分鐘	10%	7.5mph
第十三階	1分鐘	10%	8.0mph
第十四階	1分鐘	10%	8.5mph

再根據以下最大氧攝取量的判定標準求出最大氧攝取量：

(1)當運動量增加後，其攝氧量並無顯著的增加。

(2)最高心跳率每分鐘高於180次。

(3) 呼吸交換率大於1.1。

(4)已盡最大的努力。

若受試者達到上述四項中的三項，即判定該受試者達到個人的最大氧攝取量。

(三)80%最大攝氧量運動強度的設定：

以最大氧攝取量測驗過程中所獲得耗氧量與速度的資料，求得速度（縱座標）和氧攝取量（橫座標）之迴歸線，然後以個人最大氧攝取量乘以80%而求得80%最大攝氧量時的氧攝取量，再劃線或代入迴歸

方程式找出與此點相對的速度。

(四)電針穴位、電針非穴位與無刺激之測驗：

本實驗之每位受試者皆須分別接受電針穴位刺激、電針非穴位刺激和無刺激三種實驗處理，並以受試者個人最大氧攝取量80%之運動強度連續跑12分鐘爲測驗時之運動負荷，三次測驗皆間隔4天，以避免前次測驗殘留效果之影響。

電針刺激採用30號不銹毫針，正對所取之點直刺後，在針柄上接上電針機的電極，打開電源開關後，再逐漸調高輸出電流至所需的強度。

1. 電針體穴刺激與取穴方法：

本研究選定足三里與間使爲電針刺激之穴位。（圖一至圖二）

(1) 足三里穴

〔位置〕：膝眼下三吋，在脛骨前肌和伸趾長肌之間。

〔取穴〕：外膝眼直下三吋即爲本穴。

〔方法〕：直刺進針一吋，以受試者有麻電感，並放射到足背爲得氣指標。

〔功能〕：具有調和陰陽，補氣血，健脾胃，改善及加強身體代謝功能，並具有強壯作用，爲保健要穴。

(2) 間使穴

[位置]：位於掌紋後三吋，橈骨與尺骨間。

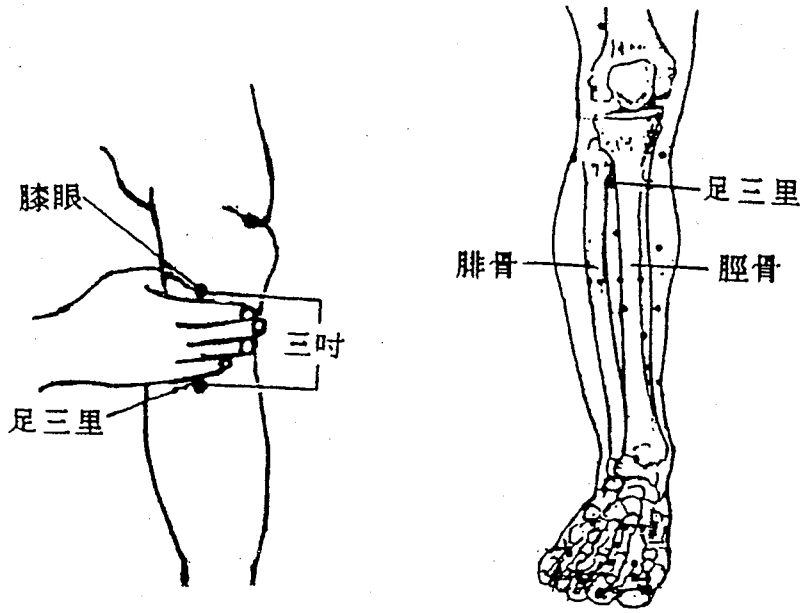
[取穴]：掌後第一橫紋正中直上三吋即爲本穴。

[方法]：直刺進針一吋，以受試者有脹麻感爲得氣指標。

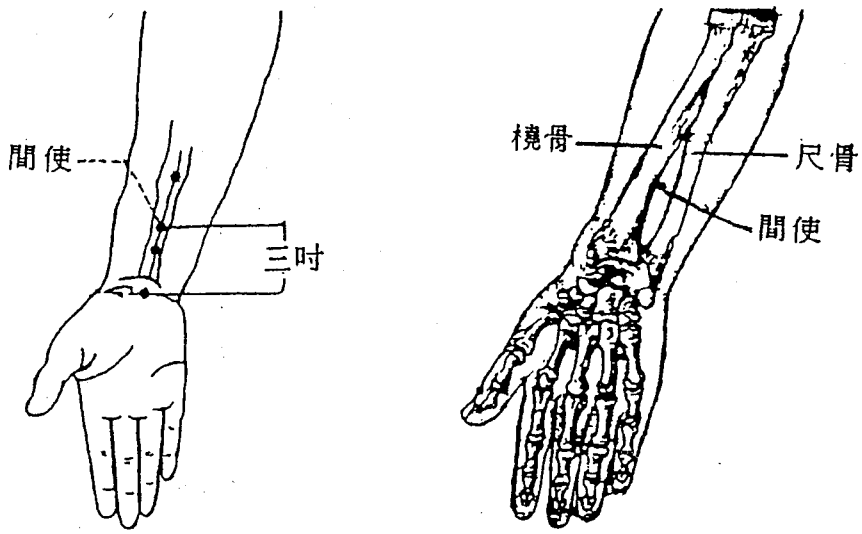
[功能]：能通心肺，補心養血，常用於治療心血管方面的疾病，對改善心血管功能有特殊的效果。

2. 電針非體穴刺激之測驗方法

方法係採用電針刺激上述二個體穴向外則旁開一公分處針刺一吋深。



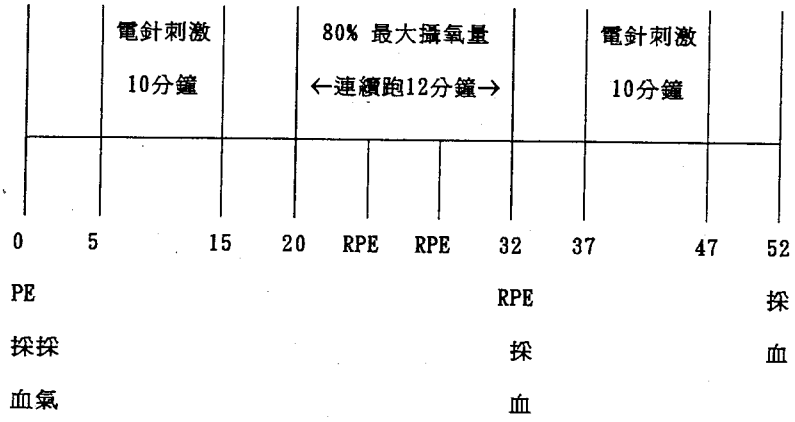
圖一　足三里取穴位置圖



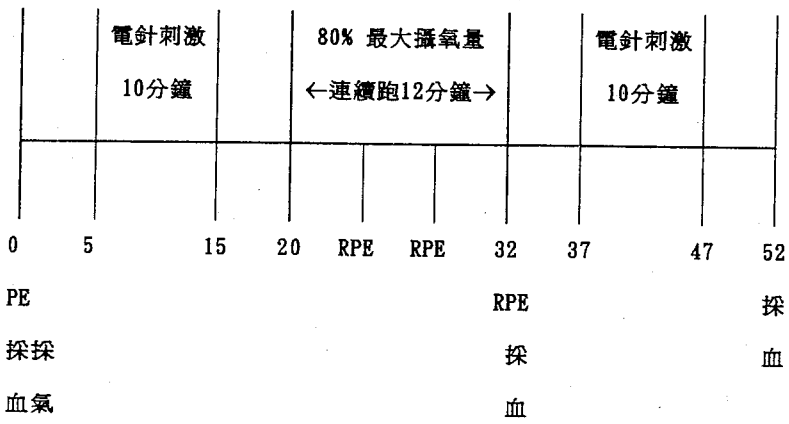
圖二　間使取穴位置

4. 實驗過程

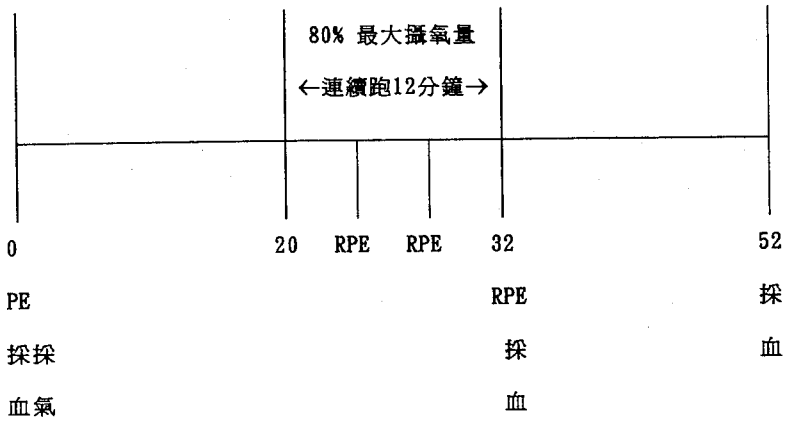
每位受試者必須接受電針穴位刺激和電針非穴位刺激與無刺激三種實驗處理，實驗過程如圖三至五。



圖三　電針穴位刺激時之實驗過程



圖四　電針非穴位刺激時之實驗過程



圖五　無刺激時之實驗過程

(五)氣體分析：

本實驗全程採氣，並以面罩將受試者呼出的氣體透過導氣管連接到能量代謝測量系統上做氣體分析，本實驗採用美國Sensormedics公司之2900型電腦能量代謝系統，全部採氣過程每20秒分析和記錄一次，並由印表機同時列印在報表紙上，分析項目包括換氣量、耗氧量、心跳率等。

(六)乳酸分析

1. 抽血—每次測驗前和運動後5分鐘及20分鐘各抽一次血液。

(1)器材：針筒、試管、抗凝血劑(EDTA)、棉花、酒精、阻血橡皮管、乳酸分析儀。

(2)方法：受試者坐在椅子上，手放在桌上,抽血人員先用止血橡皮管阻斷受試者手臂的血流，用棉花沾酒精擦拭抽血的部位，然後從橈靜脈抽取3cc左右的血液放在有抗凝血劑的試管內。

2. 分析：在當天即以乳酸分析儀，按照操作手冊所列的步驟分析

乳酸濃度。

(七)運動強度自覺量表測驗

本實驗採用1982年Borg等人發表的「15等級尺度量表」[10]於跑步測驗時每四分鐘詢問受試一次並記錄等級數值。

(八)資料處理

每種生理反應值採用單因子重複量數變異數分析法檢定運動前、中、及運動後不同實驗處理的反應是否有顯著的差異(α =.05)。

肆、結果

本研究各實驗過程收集之資料，經統計處理後所得之結果，分別敘述如後：

(一)心跳率

心跳率常被用作判定運動強度的指標，心跳率隨運動強度的增強而上升。表二是各種研究處理各時段心電圖記錄器所記錄心跳率之資料，共4個時段，資料經統計所得之平均數與標準差列於表二。

表二、各實驗處理各時段心跳率之平均數和標準差數值表

單位：次／分鐘

	電針穴位	電針非穴位	無刺激
安靜值	60.27	59.47	60.93
	(4.51)	(5.38)	(5.13)

刺激後運動前	54.93	58.73	60.40
	(5.61)	(4.30)	(4.26)
運動中	166.87	168.13	167.73
	(5.05)	(5.19)	(4.01)
恢復期再刺激後	79.07	87.60	88.00
	(8.20)	(10.39)	(8.77)

(　　):標準差

各種實驗研究處理之安靜值心跳率，經單因子重複量數變異數分析，由表三結果顯示，各種實驗處理於刺激前之安靜心跳率無顯著差異。

表三、各實驗處理刺激前安靜心跳率變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內(S)	2405.98	15	160.40	
實驗處理(A)	9.05	3	3.02	0.11
殘餘誤差(S×A)	1217.20	45	27.05	
全體(Total)	3632.23	63		

比較刺激後運動前各種實驗處理後的心跳率，由表四結果顯示，實驗處理間具統計上的顯著水準。經杜凱氏法事後比較，結果由表五可看出，電針穴位刺激之心跳率顯著地低於電針非穴位及無刺激處理(P<.05)。

表四、各實驗處理刺激後運動前心跳率變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內(S)	642.31	14	45.89	
實驗處理(A)	235.51	2	117.76	10.60*
殘餘誤差(S×A)	311.16	28	11.11	
全體(Total)	1188.98	44		

*P<.05

表五、各實驗處理刺激後運動前心跳率事後比較數值表

組別	電針穴位	電針非穴位	無刺激
電針穴位	——	*	*
電針非穴位	*	——	
無刺激	*		——

*P<.05

各實驗處理之運動中心跳率，經單因子重複量數變異數分析後，由表六結果顯示，各實驗處理之間，其心跳率並沒有達到顯著的差異水準。

表六、各實驗處理運動中心跳率變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內(S)	540.98	14	38.64	
實驗處理(A)	95.24	2	47.62	3.18
殘餘誤差(S×A)	918.42	28	14.98	
全體(Total)	1055.64	44		

恢復期再刺激後，各種實驗處理之心跳率統計分析後，結果由表七可看出，各實驗處理之間具統計上的顯著水準。經杜凱氏法事後比較，結果由表八看出,電針穴位刺激之心跳率顯著地低於電針非穴位和無刺激處理（P<.05）。

表七、各實驗處理恢復期再刺激後心跳率變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內(S)	2613.11	14	186.65	
實驗處理(A)	763.91	2	381.96	11.68*
殘餘誤差(S×A)	915.42	28	32.69	
全體(Total)	4292.44	44		

表八、各實驗處理恢復期再刺激後心跳率事後比較數值表

組別	電針穴位	電針非穴位	無刺激
電針穴位	——	*	*
電針非穴位	*	——	
無刺激	*		——

*P<.05

(二)換氣量

各實驗處理各時段換氣量之平均數和標準差如表九所示。

表九、各實驗處理各時段換氣量平均數和標準差數值表

單位：升／分鐘

	電針穴位	電針非穴位	無刺激
安靜值	9.93	9.61	9.67
	(1.29)	(1.07)	(0.95)
刺激後運動前	8.33	9.51	9.37
	(1.25)	(1.20)	(0.82)
運動中	92.86	94.43	93.15
	(7.90)	(12.15)	(12.01)
恢復期再刺激後	9.23	10.28	10.55
	(0.91)	(1.48)	(1.76)

(　　):標準差

各實驗處理之安靜換氣量，經單因子重複量數變異數分析，由表十可看出，各種實驗處理間刺激前之安靜值換氣量無顯著差異。

表十、各實驗處理刺激前安靜換氣量變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內(S)	33.06	14	2.36	
實驗處理(A)	0.91	2	0.45	0.64
殘餘誤差(S×A)	19.74	28	0.70	
全體(Total)	100.66	63		

各實驗處理刺激後運動前之換氣量，經統計分析後，結果由表十一顯示，各實驗處理間差異達顯著水準。經杜凱氏法事後比較結果，表十二顯示電針穴位刺激顯著低於非穴位刺激和無刺激處理(P<.05)。

表十一、各實驗處理刺激後運動前換氣量變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內(S)	34.11	14	2.44	
實驗處理(A)	12.41	2	6.20	9.86*
殘餘誤差(S×A)	17.61	28	0.63	
全體(Total)	64.13	44		

*P<.05

表十二、各實驗處理刺激後運動前換氣量事後比較數值表

組別	電針穴位	電針非穴位	無刺激
電針穴位	——		
電針非穴位		——	*
無刺激		*	——

*P<.05

各種實驗處理之運動中換氣量，經統計分析，結果如表十三所示，各實驗處理間未達顯著差異水準。

表十三、各實驗處理運動中換氣量變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內(S)	3985.05	14	284.65	
實驗處理(A)	21.00	2	10.50	0.30
殘餘誤差(S×A)	975.19	28	34.83	
全體(Total)	4981.25	44		

恢復期再刺激後，各實驗處理之換氣量，經單因子重複量數變異數分析，結果如表十四所示，各實驗處理之間達顯著差異水準。經杜凱氏法事後比較結果，表十五顯示電針穴位刺激顯著地低於電針非穴位和無刺激處理(P<.05)。

表十四、各實驗處理恢復期再刺激後換氣量變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內(S)	63.87	14	4.56	
實驗處理(A)	14.53	2	7.26	9.35*
殘餘誤差(S×A)	21.73	28	0.78	
全體(Total)	100.14	44		

*P<.05

表十五 、各實驗處理恢復期再刺激後換氣量事後比較數值表

組別	電針穴位	電針非穴位	無刺激
電針穴位	——		
電針非穴位		——	*
無刺激		*	——

*P<.05

(三)氧攝取量

各實驗處理時，以Gound 2900氣體分析系統分析收集的呼出氣體，以每分鐘每公斤體重之氧攝取量爲單位，共4個時段,資料經統計所得之平均數和標準差列於表十六。

表十六、各實驗處理各時段氧攝取量之平均數和標準差數值表

單位：毫升／公斤／分鐘

	電針穴位	電針非穴位	無刺激
安靜值	3.97	3.87	3.72
	(0.57)	(0.49)	(0.38)
刺激後運動前	3.17	3.78	3.97
	(0.12)	(0.32)	(0.55)

運動中	42.00	43.81	44.68
	(6.41)	(2.79)	(4.77)
恢復期再刺激後	3.54	4.26	4.44
	(0.54)	(0.22)	(0.39)

(　　):標準差

各實驗處理刺激前安靜氧攝取量，經單因子重複量數變異數分析後，結果如表十七所示，各種實驗處理之間並沒有顯著差異。

表十七、各實驗處理刺激前安靜氧攝取量變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內(S)	4.17	14	0.30	
實驗處理(A)	0.46	2	0.23	1.13
殘餘誤差(S×A)	5.72	28	0.20	
全體(Total)	10.34	44		

經不同實驗處理後，刺激後運動前之氧攝取量資料，經單因子重複量數變異數分析，所得之結果如表十八所示。由表十八可知，各實驗處理間差異達顯著水準。經杜凱氏法事後比較，結果如表十九，顯示電針穴位刺激的氧攝取量均顯著地低於非穴位和無刺激處理($P<.05$)。

表十八、各實驗處理刺激後運動前氧攝取量變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內(S)	2.67	14	0.19	
實驗處理(A)	5.29	2	2.64	23.86*
殘餘誤差(S×A)	3.10	28	0.11	
全體(Total)	11.06	44		

*P<.05

表十九、各實驗處理刺激後運動前氧攝取量事後比較數值表

組別	電針穴位	電針非穴位	無刺激
電針穴位	——		*
電針非穴位		——	
無刺激	*		——

*P<.05

各實驗處理之運動中氧攝取量，經統計處理，結果於表二十所示，實驗處理間未達顯著差異水準。

表二十、各實驗處理運動中氧攝取量變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內(S)	464.45	14	33.25	
實驗處理(A)	56.28	2	28.14	2.41
殘餘誤差(S×A)	326.46	28	11.66	
全體(Total)	848.19	44		

但是，於運動後第二段休息，各實驗處理之氧攝取量，經單因子重複量數變異數分析，結果由表二十一可看出，各實驗處理間差異達顯著水準。經杜凱氏法事後比較，由表二十二顯示，電針穴位刺激顯著地低於電針非穴位刺激和無刺激處理(P<.05)。

表二十一、各實驗處理恢復期再刺激後氧攝取量變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內(S)	2.35	14	0.17	
實驗處理(A)	6.80	2	3.40	21.38*
殘餘誤差(S×A)	4.45	28	0.16	
全體(Total)	13.61	44		

*P<.05

表二十二、各實驗處理恢復期再刺激後氧攝取量事後比較數值表

組別	電針穴位	電針非穴位	無刺激
電針穴位	——	*	*
電針非穴位	*	——	
無刺激	*		——

(四)乳酸值

受試者於接受各實驗處理時，於安靜時，運動後五分鐘及運動後二十分鐘所採取之血液經分析後，乳酸值之平均數與標準差如表二十三所示。

表二十三、各實驗處理各時段乳酸值之平均數和標準差數值表

單位：毫莫耳／升

	電針穴位	電針非穴位	無刺激
安靜值	1.09	1.15	1.09
	(0.11)	(0.22)	(0.15)
運動後	10.16	11.57	11.46
	(2.16)	(2.38)	(2.05)
恢復期再刺激後	2.64	4.40	4.05
	(1.28)	(1.58)	(1.44)

(　　):標準差

各實驗處理安靜值之乳酸值，經單因子重複量變異數分析，由表二十四可知，各處理之安靜值無顯著差水準。

表二十四、各實驗處理刺激前安靜乳酸值變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內(S)	0.70	14	0.05	
實驗處理(A)	0.03	2	0.02	1.17
殘餘誤差(S×A)	0.42	28	0.01	
全體(Total)	1.56	44		

而各實驗處理運動後及恢復期刺激後之乳酸值，經單因子重複量數變異數分析，結果由表二十五及二十七可看出，各實驗處理間差異達顯著水準，經杜凱氏法事後比較，結果於表二十六及表二十八顯示，電針穴位刺激顯著低於無刺激和電針非穴位刺激時($P<.05$)。

表二十五、各實驗處理運動後乳酸值變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內(S)	145.89	14	10.42	
實驗處理(A)	18.50	2	9.25	4.56*
殘餘誤差(S×A)	56.80	28	2.03	
全體(Total)	221.19	44		

表二十六、各實驗處理運動後乳酸值事後比較數值表

組別	電針穴位	電針非穴位	無刺激
電針穴位	——	*	*
電針非穴位	*	——	
無刺激	*		——

表二十七、各實驗處理恢復期再刺激後乳酸值變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內(S)	68.32	14	4.88	
實驗處理(A)	25.99	2	13.00	19.95*
殘餘誤差(S×A)	18.24	28	0.65	
全體(Total)	112.56	44		

*P<.05

表二十八、各實驗處理恢復期再刺激後乳酸值事後比較數值表

組別	電針穴位	電針非穴位	無刺激
電針穴位	——	*	*
電針非穴位	*	——	
無刺激	*		——

(五)運動強度自覺量之比較

運動強度自覺量(RPE)被用來作爲判定運動強度的指標。 各種研究處理，在受試者運動中產生了不同強度的感覺。表二十九是各實驗處理運動第中第4、第8、與運動結束時所測量的運動強度自覺量之平均數和標準差，表中可以看出，不同的實驗處理造成受試者對運動的執行有不同感受。

表二十九、各種實驗處理運動強度自覺量平均數和標準差之數值表

	電針穴位	電針非穴位	無刺激
運動中第4分鐘	11.00	12.20	12.07
	(1.36)	(1.26)	(0.90)
運動中第8分鐘	12.13	14.60	13.67
	(1.19)	(1.55)	(1.18)
運動結束時	13.13	16.07	15.80
	(1.19)	(1.80)	(1.70)

(　　):標準差

各種實驗處理運動中第4、第8與運動結束時之自覺量，經單因子重複量數變異數分析，結果由表三十、三十二與三十四可看出，各種處理之間達顯著差異水準。經杜凱氏法事後比較，結果由表三十一、三十三與三十五顯示，各時段電針穴位刺激的運動強度自覺量，皆顯著低於電針非穴位與無刺激時之水準($P<0.05$)。

表三十　各實驗處理運動中第4分鐘運動強度自覺量變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內（S）	23.00	14	1.64	
實驗處理（A）	13.00	2	6.50	5.00*
殘餘誤差（SXA）	36.36	28	1.30	
全體（Total）	72.31	44		

*P<.05

表三十一　各實驗處理運動中第4分鐘運動強度自覺量事後比較表

	電針刺激	電針非穴位	無刺激
電針穴位	——	*	*
電針非穴位	*	——	
無刺激	*		——

*P<.05

表三十二　各實驗處理運動中第8分鐘運動強度自覺量變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內（S）	41.20	14	2.94	
實驗處理（A）	46.53	2	23.27	20.70*
殘餘誤差（SXA）	31.47	28	1.12	
全體（Total）	119.20	44		

*P<.05

表三十三　各實驗處理運動中第8分鐘運動強度自覺量事後比較表

	電針刺激	電針非穴位	無刺激
電針穴位	——	*	*
電針非穴位	*	——	
無刺激	*		——

*P<.05

表三十四　各實驗處理運動結束時運動強度自覺量變異數分析摘要表

變異來源	SS	DF	MS	F
受試者內（S）	57.33	14	4.10	
實驗處理（A）	78.93	2	39.47	23.15*
殘餘誤差（SXA）	47.43	28	1.70	
全體（Total）	184.00	44		

*P<.05

表三十五　各實驗處理運動結束時運動強度自覺量事後比較表

	電針刺激	電針非穴位	無刺激
電針穴位	——	*	*
電針非穴位	*	——	
無刺激	*		——

*P<.05

伍、討論

有關針灸在臨床醫學方面的療效，目前已是舉世公認的事實，且非本研究主要目的之所在，因此，以下僅從運動生理學立場，就電針體穴刺激，在運動的生理反應上的意義加以討論。

（一）心跳率

本研究結果，電針穴位刺激與電針非穴位刺激和無刺激於運動前、中、後造成不同程度的生理反應。

受試者未接受刺激情況下的安靜心跳率，從表二可以看出，三種實驗處理間，並沒有顯著差異，且由於三種實驗處理間的平均數皆相當接近，顯示受試者參與實驗前的身體情況，相當的一致。

由變異數分析摘要表（表三）中，可以發現，三實驗處理間具統計上的顯著差異水準。由表二可以看出，受試者經過電針體穴刺激後，運動前安靜狀態的心跳率（54.93±5.61次／分），顯著低於電針非穴位刺激和無刺激時的心跳率（58.73±4.30和60.40±4.26次／分）。顯示電針體穴刺激降低心跳率的結論，在本研究得到肯定的結果。

本研究結果與林昭庚等人研究的結果稍有出入[9]，兩研究或許由於刺激強度不盡相同才造成結果上的差異，本研究結果顯示針刺體穴可能因刺激強度之不同而有稍降心跳率的結果。

至於，運動反應值的研究結果方面，本研究結果顯示，體穴針刺後，心跳率的運動反應，與電針非穴位刺激及無刺激時，並沒有顯著差異。體穴針刺對心跳率運動反應值的影響，並沒有研究文獻可資比較。恢復期再刺激後的心跳率，本研究結果顯示電針體穴刺激後恢復

期再刺激後的心跳率（79.07±8.20 ）低於電針非穴位刺激與無刺激時（87.60±10.39 與 88.00±8.77），而且達統計上的顯著差異。本研究的結果，同於張靜珍等人有關電針刺激穴位可使運動後心跳率恢復顯著加快的研究結果[12]。

（二）換氣量

換氣量有關運動生理學的研究較少。基本上，換氣量的上升，表示體內代謝水準與氧需求量的提升。

本研究結果，在各實驗處理間，差異具統計上顯著水準的，電針穴位刺激後，換氣量水準顯著低於電針非穴位與無刺激情況之時。因此，本研究結果也證實體穴刺激對換氣量的影響。本研究結果，針刺穴位的換氣量顯著低於電針非穴位與無刺激之時，顯示針刺本身對換氣量顯著的發生影響。

從表九中之資料顯示，運動後恢復期之電針穴位刺激實驗處理下的換氣量爲9.23±0.91升／分，低於電針非穴位之10.28±1.48升／分與無刺激時之10.55±1.76 升／分，在統計上也達顯著差異水準。

本研究結果顯示除運動中外，安靜與運動後恢復期換氣量均受電針體穴刺激的影響。

（三）氧攝取量

本研究有關氧攝取量各實驗處理測量與統計分析結果，如表十六至表二十二所示。電針體穴刺激後運動前的氧攝取量（3.17±0.57升／分）顯著低於電針非穴位與無刺激之處理情況（3.78±0.32升／分

與3.97±0.55升／分），在統計上也達顯著差異水準，因此本研究可證實針刺體穴之改變安靜攝氧水準。

由表二十可以看出，三種實驗處理後運動中的氧消耗水準間，未達顯著差異水準。顯示個人80% VO_2max非最大運動中的氧攝取量，並不因電針體穴刺激而顯著的上升或下降。

至於恢復期再刺激之氧攝取量，由表二十一可以看出，三實驗處理間具統計上的顯著差異水準。表二十二顯示，電針刺激處理情況之恢復期再刺激後的氧攝取量（3.54±0.54 ml/kg/min），顯著低於電針非穴位刺激（ 4.26±0.22 ml/kg/min ）與無刺激（ 4.44±0.39 ml/kg/min ）情況之時。

林大豐等人有關體穴刺激的研究中，發現電針刺激足三里與內關穴後，顯著地降低運動前安靜狀態的氧攝取量，在15分鐘75% VO_2max強度的運動中，氧攝取量與無電針刺激時並無顯著差異[13]，不過本研究結果發現運動後的氧攝取量因運動前與運動後各一次10分鐘的電針刺激而顯著下降。恢復期體穴針灸的效果，在本研究再獲得證實。本研究結果顯示，雖然運動中的氧攝取量不受電針體穴刺激的影響，安靜與恢復期氧攝取量卻可因針刺體穴而顯著下降。對恢復期氧攝取量，具有促進恢復的效果。

（四）乳酸值

乳酸是體內醣類無氧代謝的產物，在體內堆積的量，是生成與排除速率的綜合結果。血中乳酸量在運動生理學研究上的意義，代表活動中缺氧的狀態，以及身體處於酸化、骨骼肌疲勞的跡象。

本研究中,血液乳酸採自安靜、運動後5分鐘（代表運動反應值）以及運動結束後第20分鐘。統計分析結果，如表二十三所示。表二十四顯示刺激前安靜值三實驗處理間，沒有顯著差異。代表運動反應值之運動後 5分鐘乳酸值及運動後第20分鐘的乳酸值，三實驗處理間，由表二十五與表二十七變異數分析摘要表中，可以看出F 值達統計的

顯著水準。表二十六與表二十八顯示電針體穴刺激後的血乳酸值顯著低於電針非穴位與無刺激處理時。顯示針灸處理效果具有降低運動後血乳酸值的效果，運動者藉針灸處理可望在運動後恢復的較快。

在針刺穴位的效果方面，本研究結果同於林大豐有關足三里與內關穴位刺激，運動後顯著降低血乳酸值效果之研究，並證實針刺穴位在激烈運動後促進恢復的效果[14]。

同於耳穴貼壓刺激，林正常等人曾經發現75% VO2max強度運動後三十分鐘血乳酸值因雙耳肺、肝、皮質下、內分泌與三焦等穴位的貼壓刺激而顯著降低運動後 5分鐘與運動後20分鐘的血乳酸值[15]。

楊德安之報告指出，針刺對血中乳酸、丙酮酸和檸檬酸等皆有不同程度的影響，對運動員運動終止立即針刺足三里穴，20分鐘後血液乳酸值即恢復正常水準，顯示針刺對血液的成分有不同程度的影響[16]。從動物的實驗，Ying-Yi 等人發現針刺足三里穴可使血中腎上腺皮質激素含量增高，可能促進肝臟的乳酸轉化爲糖元，而降低血液乳酸的含量[17]。本研究證實電針體穴刺激，在降低運動後血乳酸濃度、促進疲勞恢復的實用效果。

（五）運動強度自覺量表

本研究進行運動測驗時，運動中每 4分鐘記錄受試者運動強度自覺量，藉以瞭解受試者在運動中，不同時段對運動強度的疲勞感受。由變異數分析摘要表中，可以看出，接受電針體穴刺激後，在各時段裡，受試者皆運動得較爲輕鬆。

國內數個針灸有關研究中，只有薩來欣等耳穴貼壓刺激研究中，探討耳穴貼壓刺激在運動強度自覺量疲勞程度的影響[18]。薩氏有關耳穴貼壓刺激可以減輕激烈運動時的自覺疲勞感的研究在本研究中獲得證實。

（六）綜合討論

爲探討針刺體穴刺激對運動前後生理反應的影響，本研究以雙足三里穴、雙間使穴等體穴，以及非穴位刺激等，進行刺激效果之研究。生理反應研究變項，包括心跳率、換氣量、氧攝取量、血乳酸值與運動強度自覺量表等。以上這些穴位與生理反應的研究變項之含蓋於研究對象內，是因爲它們與運動的執行關係較爲密切。

過去國內進行的數篇運動與針灸有關的研究當中，在研究設計上，往往不夠周延，忽略了實驗控制。本研究除在實驗處理上，分設電針體穴刺激、體穴非穴位刺激與無刺激等三種實驗處理外，在研究結果之結論，採取比較嚴謹的做法，換句話說，必須結果顯示體穴刺激效果顯著大於體穴非穴位與無刺激實驗處理時，其實驗處理的效果才能被認定。非體穴與無刺激的實驗控制處理，目的在去除針刺刺激本身對於肉體諸如疼痛刺激的影響，以及心理因素的影響。

本研究的生理指標中，可能受心理影響的，爲呼吸數與運動強度自覺度。心跳率、氧攝取量、血乳酸濃度，對一般人正常情況下並無法控制，因此在理論上，不受心理因素的影響。而且，受試者概爲不黯針灸理論者，對於何處是穴位，何處是爲非穴位根本沒有概念。因此，在實驗控制上，本研究在理論上，已做到最妥善的處理。

經考慮到這些疼痛、心理因素，經非穴位與無刺激處理，本研究獲得上述之研究結果。

綜合研究結果，在電針體穴刺激方面，經足三里穴與間使穴刺激，恢復期氧攝取水準與血乳酸水準皆顯著降低，在理論上，此兩生理指標，在身體之存在量共消長，乳酸水準高，氧需求量也高，反之亦然。本研究之資料顯示，較低乳酸水準，氧需求量下降，運動進行中與運動後運動者感覺較爲輕鬆。此研究結果顯示運動強度自覺量，受體內生理化學刺激的影響，而不僅僅單純是心理的感覺。

本研究實驗數據顯示，電針刺激足三里與間使穴，對促進恢復，降低運動疲勞感覺的效果。

陸、結論

本研究以十五名大學男學生爲受試對象，按平衡次序，進行最大氧攝取量測驗，以及足三里與間使穴電針穴位刺激、電針非穴位刺激及無刺激三種實驗處理。資料經統計分析，發現：

(1)電針體穴刺激顯著影響安靜與運動後心跳率、氧攝取量與換氣量水準。

(2)電針體穴刺激顯著降低運動後五分鐘及運動後二十分鐘血乳酸水準與運動強度自覺量。

本研究結果顯示電針足三里與間使穴刺激有利於運動能力表現及運動後疲勞的恢復。

參考文獻

1. 林昭庚：針灸學新論。台北：中國醫藥學院針灸研究中心出版，14頁，1992。
2. 陸壽康、胡伯虎和張兆發：針刺手法一百二十種，知青出版社，197-217頁，1994。
3. Liu ZC. Regulatory effects of acupuncture and moxibustion on simple obese complicated with hyperention. Chung Hsi I Chien Ho Tsa Chin 1990;10(9):522-5,515.
4. Wang DW, Jin YH. Present status of cesarean section under acupuncture anesthesia in China. Fukushima J Med Sci 1990 Dec;35(2):45-52.
5. Wang YJ, Wang SK. Effects of electroacupuncture at different hours on Leucine-enkephalin contents in rats brain region.

Chen Tzu Yen Chiu 1989;14(4):420-3.

6. Plummer JP Acupuncture and homeostasis:physiologic,physical (postural) and psychological.Am J Chin Med 1981;9(1):1-14.
7. Chang HT. Roles of acupuncture in medicine. Am J Chin Med 1982; 10(1-4):1-4.
8. 沈自尹：中醫理論現代研究。台北：啓業書局印行，579-590頁，1988。
9. Quinton Instrument Company Model 645 Programmble Treadmill Controller Technical Manual,1983 & Models 65 Treadmill Manual ,1986.
10. Borg, G. Psychological Bases of perceived exertion."Medicine and Science in Sports and Exercise" 14(5):377-381,1982.
11. 林昭庚、林正常和薩來欣：電針刺激間使穴和足三里穴對安靜心跳率，換氣量與氧攝取量的影響，大專院校體育總會八十三年度發表會專刊，313-324頁，1994。
12. 張靜珍、孫麗穎和裴廷輔：電針穴位刺激對正常人運動後疲勞恢復影響的實驗觀察。針灸論文摘要選編。北京：中國針灸學會出版，367-368頁，1987。
13. 林大豐、林昭庚和林正常：電針刺激對激烈運動後氧攝取量之影響，大專院校體育總會八十三年度發表會專刊，313-324頁，1991。
14. 林大豐：電針足三里和內關穴對激烈運動後乳酸排除效率影響之研究，體育學報，第十三輯，193-204頁，1991。
15. 林正常、林昭庚和薩來欣：〝耳穴貼壓刺激對激烈運動後乳酸排除速率影響之研究〞。台北：行政院衛生署專題研究報告書，1992。
16. 楊德安：實驗針灸入門，天津科學技術出版社，172-176頁，1986。
17. Ying-Yi, Liao Katsuo Seto, Hideo Saitoh and Maxazumi Awakami. "Effect of acupuncture on adrenocortical hormone production in rabbits with a central lesion" American Journal of Chinese

Medicine, Vol. 9, No. 1. 1981.
18. 薩來欣、林昭庚和林正常：耳穴貼壓刺激對激烈運動前後生理反應之影響，體育學報，第十七輯，287-306頁，1994。

謝　誌

本研究爲行政院衛生署專案補助而得以完成，在此謹致謝忱。

編號 DOH84-CM-044

以血海穴 (SP-10) 穴位處皮下注射鍶-99m 過鍶酸鹽下腔靜脈顯影術觀察下腔靜脈疾病

Observation of IVC disorder by SC-RNV 《 SP-10 》

吳重慶　姚維仁　邱南津

台南市立醫院、成大醫學院

摘　　要

本研究的主要目的是，以血海穴 (Sp-10) 穴位皮下注射鍶-99m 過鍶酸鹽，做靜脈顯影術偵測下腔靜脈是否有阻塞。

穴位皮下注射靜脈顯影術的做法是，以鍶-99m 過鍶酸鹽 1.5Ci 兩支，分別於兩側血海穴 (Sp-10) 皮下注射，注射後即開始以每 10 秒一張畫面的方式拍照腹部 32 張，接著爲骨盤部 28 張，若懷疑受檢者有下肢深部靜脈血栓症，則再於兩腳太谿穴 (k-3) 皮下注射鍶-99m 過鍶酸鹽 3mCi，先拍照小腿影像 32 張，再拍照大腿 32 張。除了穴位皮下注射靜脈顯影術以外，所有受檢者並都接受了彩色都卜勒超音波檢查，部份患者也做了腹部電腦斷層掃描、X 光靜脈攝影。

在 28 名受檢者中，有 17 名結果正常，11 名在穴位皮下注靜脈顯影術中，顯示出深部靜脈血流中斷或變模糊且伴隨有側肢循環，而判斷其有深部靜脈血栓症。其位置分別爲 3 位在腿部，6 位在下腔靜脈或骨盤腔，2 位在下腔靜脈、骨盤腔及腿部。此結果與彩色都卜勒超音波、腹部電腦斷層

掃描及X光靜脈攝影的結果一致。

由於下腔靜脈血栓症的症狀可能不明顯，又常合併下肢骨盤腔深部靜脈血栓，且多種情況都可造成下腔靜脈血栓症，並有可能導致致命的肺梗塞，因而需要一種兼具簡便、高敏感、又可同時偵側下肢、骨盤腔、下腔靜脈血栓症的檢查工具。由此次的研究顯示，穴位皮下注射鍀-99m過鍀酸鹽的靜脈顯影術，正具備了這些特點，故值得加以推廣，使其廣泛應用於臨床上。

關鍵字：deep vein thrombosis (DVT), acupuncture point, subcutaneous radionuclide venography.

【前言】

下腔靜脈（Inferior vena cava，簡稱IVC）的阻塞，是臨床上相當嚴重的疾病。根據過去學者的統計，發現IVC血栓的病人中，約有20%至30%的人會發生肺梗塞（Pulmonary embolism），若不仔細處理，即可能因而喪命。另一方面，由於只有32%的IVC血栓患者會在臨床上出現下肢浮腫或痛的症狀（1），所以除非有高度的警覺性，再配合上高敏感的檢查，方能及早偵測出IVC血栓，並予以適當的治療。

對於深部靜脈血栓症（Deep venous thrombosis，簡稱DVT）的檢查，可供採用的有彩色都卜勒超音波（color Doppler ultrasound）、X光靜脈攝影（X-ray venography）及同位素靜脈顯影術（Radionuclide venography）；其中同位素靜脈顯影術的操作方法有很多種，而穴位皮下注射同位素靜脈顯影術（Subcutaneous Radionuclide Venography，簡稱SC-RNV）是新近發展出來，且證實對下肢深部靜脈血栓的診斷相當可靠的一種方法（2,3）。有鑑於IVC血栓的嚴重性，我們嘗試以血海穴（SP-10）穴位皮下注射鍀-99m過酸鹽（Tc-99m pertechnetate），做同位素靜脈顯影術偵測IVC的阻塞，並與其他檢查對照，檢討在臨床上以SC-RNV偵測IVC阻塞的實用性。

【材料與方法】

總共有28位（15位男性，13位女性）患者接受SC-RNV檢查，平均年齡為60.3歲（標準差為12.9歲）。28名受檢者中，心衰竭併下肢浮腫有7位，肝硬化併發腹水有7位，下肢DVT有5位，肝腫瘤5位（包括三位原發性肝癌，一位惡性平滑肌瘤（Leiomyosarcoma），一位肝轉移，接受人工膝關節換置者有3位，股骨骨折者有1位。所有病人並都接受彩色都卜勒超音波的檢查以供對照。此外各有9位及7位患者做了腹部電腦斷層掃描及X光靜脈攝影。

SC-RNV的作法乃以Tc-99m pertechnetate 1.5 mCi兩支，分別於兩側血海穴（SP-10）皮下注射。注射後立刻以加馬攝影儀以每10秒一張畫面的方式，拍照腹部正面影像計32張，接著拍照骨盤部影像28張。若懷疑患者有下肢DVT，則再追加劑量，取Tc-99m pertechnetate 3 mCi兩支，分別皮下注射於兩腳的太谿穴（K-3），同樣地以每10秒一張畫面的方式，先拍照小腿32張，再拍照大腿32張。判讀SC-RNV檢查時，除了看這些動態影像外，並將同部位的動態影像加成（summation）起來，以得到較為清晰的加成影像供判讀。

SC-RNV檢查的結果，再與彩色都卜勒超音波、腹部電腦斷層掃描及X光靜脈攝影的結果對照。

【結果】

正常的SC-RNV影像可見到Tc-99m pertechnetate順暢地匯向深脈，由表淺股靜脈（Superficial femoral vein）向總股靜脈（Common femoral vein）、髂外靜脈（External iliac vein）、髂總靜脈（Common iliac vein）而至下腔靜脈，最後流至心臟（圖1）。若有深部靜脈血栓症發生，則在發生血栓的深部靜脈遠端，血流發生中斷或變模糊，且伴隨有明顯的側枝循環（collateral circulation）。

在28名受檢者中，共有11名由SC-RNV診斷為深部靜脈血栓症，其中6名在IVC和（或）骨盤腔有DVT（圖2及圖3），3位在腿部有DVT，2位在IVC、骨盤腔、腿部有DVT。

比較SC-RNV彩色都卜勒超音波掃描、X光靜脈攝影與電腦斷層掃描的結果皆一致。

【討論】

SC-RNV是我們從中國傳統醫學出發再發展出來的，一種利用同位素造影診斷深部靜脈血栓症的檢查方法。在我們過去的研究中，提出皮下組織離子化體液的傳輸管道假設，即由組織（液）至穴位處靜脈網，而表淺靜脈、交通靜脈、達到深部靜脈（4）。所以由穴位處皮下注射放射性同位素藥劑，藥物會很快速地進入靜脈，至於在非穴位處做皮下注射，其吸收的速度則較慢；因此可選擇從足部的太谿穴（K-3）皮下注射Tc-99m pertechnetate做下肢的靜脈攝影（5）。

在此次的研究中，我們目的為偵測較近端的IVC血栓症，因而選擇了位於膝部內側上方約6公分處的血海穴（Sp-10），作為皮下注射放射性同位素藥劑的位置，結果是相當理想。我們在正常的受檢者，看到了藥物快速、平順地進入深部靜脈，而後再經由IVC流回心臟。至於在DVT患者，則看到了明顯地血流中斷或變模糊的情形，且伴隨側枝循環。若懷疑病人有小腿的DVT，尚可再藉太谿穴注射做檢查。所以SC-RNV的方法，靜脈血從小腿回流心臟的途徑中，如發生了DVT，皆可偵測出來。

IVC血栓症雖只約佔DVT中的5%（1），但有幾項特點是值得注意的。首先IVC血栓症併有肺梗塞的機率高達20%至30%，是相當危險的；再者為其臨床症狀往往不明顯；且多種原因皆可引起IVC血栓症，例如長期臥床、接受腹部手術、懷孕、受傷（尤其是長骨骨折）、腫瘤等（1,6）。此外約有80%的IVC血栓症併有他處的DVT，其中尤

以髂骨（iliofemoral）及鼠鼷下（infraingninal）最多；而髂股DVT所引起肺梗塞的機會更高至30%至50%（1,7,8）。因此，對IVC血栓症的診斷，需要一項檢查程序簡易、適合做大量篩檢、靈敏度又高，且除了IVC外又可偵測骨盤腔、下肢DVT的方法。

綜觀目前的影像檢查方法，X光靜脈攝影由於其侵襲性、使用造影劑費用昂貴，顯然不適於做篩檢IVC血栓症。彩色都卜勒超音波為一優良的診斷方法，但必須有較高超的技術，又偵測兩腿至IVC是否有DVT，較枉費時間，且在髂腔窩（ilio-cava fossa）有時又會因消化道氣體橫阻導致診斷上的困難（9）。在此次的研究中，則顯示出血海穴注射Tc-99m pertechnetate的SC-RNV偵測IVC血栓的優點。

【結論與建議】

IVC血栓是一個不容忽視的問題，臨床醫師除了需有高度的警覺外，還需要一種具備高敏感度、程序簡便、安全、並同時可偵測下肢骨盤腔DVT等特性的檢查。血海穴注射Tc-99m pertechnetate的SC-RNV即具備了這些要求。因此，應該加以大力推廣，做為篩檢IVC血栓症的工具，如此一方面是病患的一大福音，另一方面也可讓我國傳統醫學觀念的穴位之說，在國際間獲得更進一步的肯定。

【參考文獻】

1. Faber SP, O'Donnell TF, Deterling RA, Millan VG, Callow AD : The clinical implications of acute thrombosis of the inferior vena cava. Surgery, Gynecology & Obsterics. 1984, 158: 141-144.

2. 吳重慶、鍾相彬、楊朝欽、彭錦池、鄭冠欣、朱秀蘭、陳金葉：皮下注射Tc-99m pertechnetate下肢靜脈射影術診斷深部靜脈血栓症：時間--放射活性曲線的診斷價值。核醫雜誌：1990; 3: 80-86.

3. Wu CC, Jong SB : Radionuclide venography of lower limbs by Subcutaneous injection: A clinical evaluation. Annals Nuclear Medicine. 1993; 7: 11-19.

4. Wu CC, Jong SB, Lin CC, Chen MF, Chen JR Chung C : Subcutaneous injection of Tc-99m pertechnetate at acupuncture points K-3 and B-60. Radioisotopes. 1990; 39: 261-263.

5. Chen MF, Wu CC, Jong SB, Lin CC: Differences in acupuncture Point Sp-10 and non-acupuncture point following subcutaneous injection of Tc-99m pertechnetate. Am J Chin Med. 1993 ; 21: 221-229.

6. Jackson BT, Thomas LM: Post-thrombotic inferior vena caval obstruction: A review of twenty-four patients. Bri Med J. 1974; 1: 18-22.

7. O'Donnell JF, Browse NL, Burnand KG, etal: The socio-economic effects of an ilio-femoral venous thrombosis. J Surg Res. 1977; 22: 483-488.

8. Mavor GE, Galloway JMD: Ilio-femoral thrombosis. Bri J Surg. 1967; 54: 1019-1025.

9. Franco G: Doppler pulsed and color echography of the inferior vena cava. Phlebolobie. 1993; 46: 389-92.

【英文摘要】

DETECTION OF THROMBUS IN INFERIOR VENA CAVA AND PELVIC DEEP VEINS BY SUBCUTANEOUS INJECTION RADIONUCLIDE VENOGRAPHY

Nan-Tsing Chiu, Chung-Chieng Wu*, Wei-Jen Yao, Kuo-Fang Chang

Department of Nuclear Medicine, National Cheng Kung University Hospital
*Department of Internal Medicine, Tainan Municipal Hospital, Tainan, Taiwan

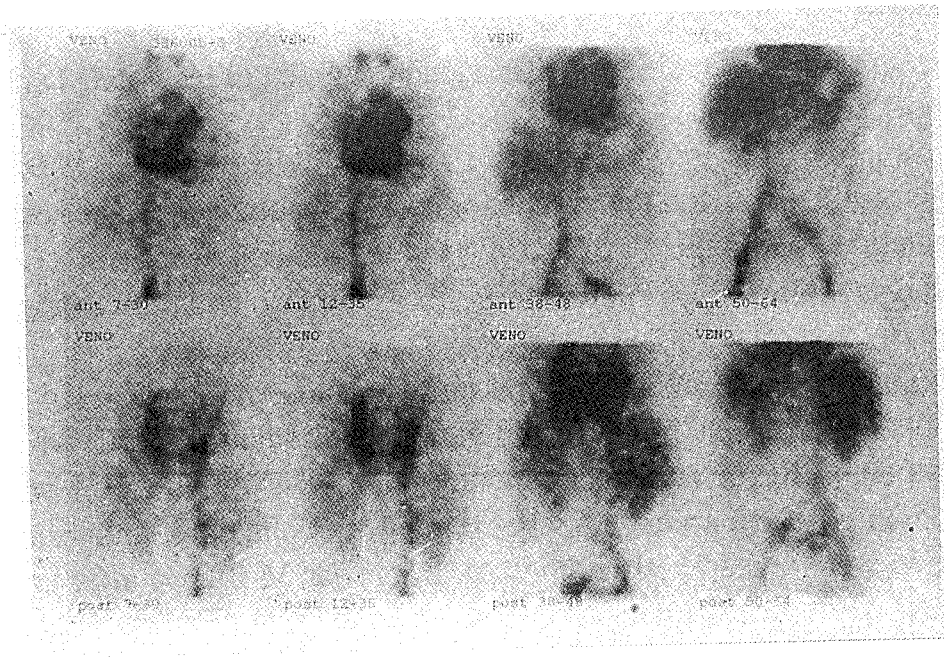
This study evaluated the practicability of subcutaneous injection radionuclide venography (SC-RNV) in diagnosing deep vein thrombosis (DVT) of inferior vena cava (IVC) and pelvic deep veins.

28 patients were included in this study because of the clinical symptoms or high risk of DVT. Tc-99m pertechnetate 1.5 mCi was injected on each side at the acupuncture point SP-10 (Xuehai) which is approximately 6 cm above the inner border of the patella. Images of the abdomen were taken at 10 seconds per frame for 36 frames after injection. The next 28 frames were taken over the pelvis. If DVT of the legs was suspected, additional injection of Tc-99m pertechnetate 3 mCi at acupuncture points K-3 (Taixi) of bilateral feet was performed. Totally 64 frames, 32 frames for lower legs and 32 frames for thighs, were taken subsequently. All the patients had color Doppler ultrasound (CDU) examination by an experienced doctor. CT and angiography were performed in some of the patients.

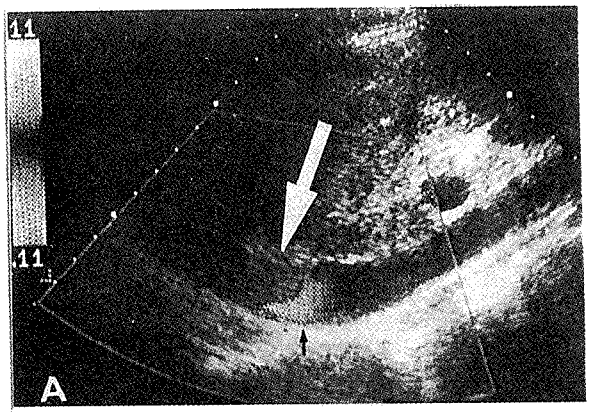
SC-RNV clearly demonstranted poor or non-visualization of deep veins with prominent collatcral venous drainage in 11 patients, including 3 in legs, 6 in IVC and/or pelvis, and 2 in IVC, pelvis and legs. These findings suggested DVT and the diagnoses were consistent with the results of CDU, CT scan and angiography.

SC-RNV is a simple, less technique dependent procedure. We find SC-RNV is not only useful in detecting DVT of legs but also a good screening test for IVC and pelvic DVT.

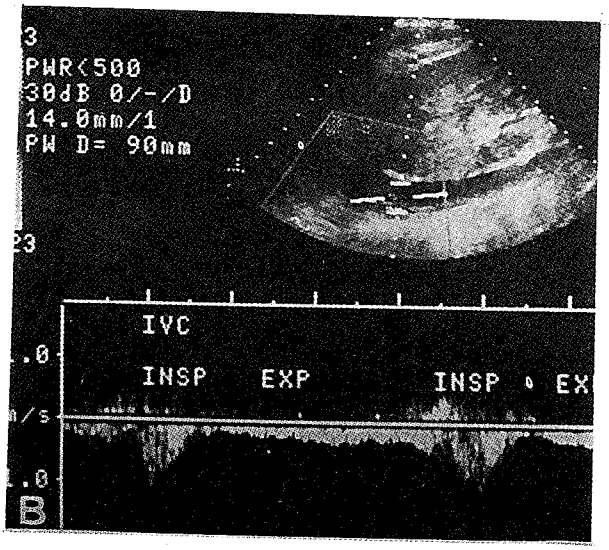
【圖片說明】



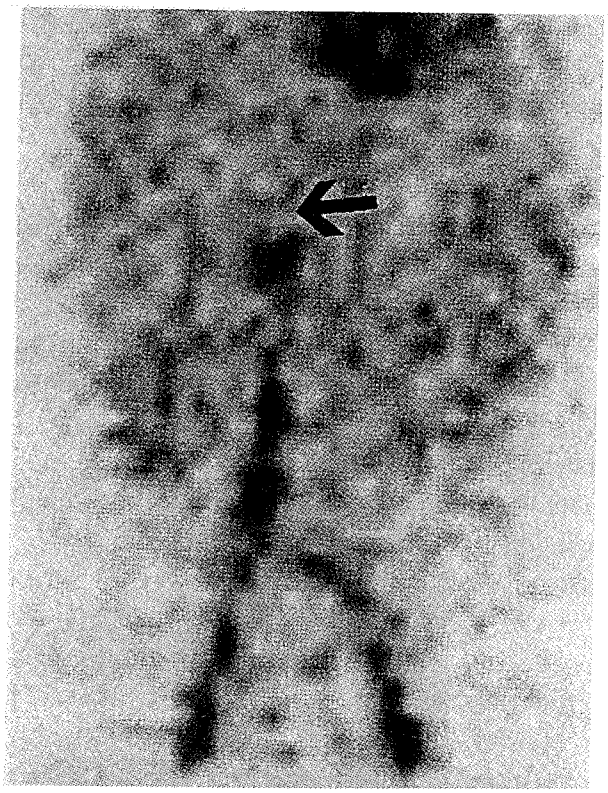
圖一. 正常的SC-RNV影像。上列是正面像，下列是背面像。由這些加成影像中可清晰看到股總靜脈、髂外靜脈、與下腔靜脈，且無血流中斷的現象。



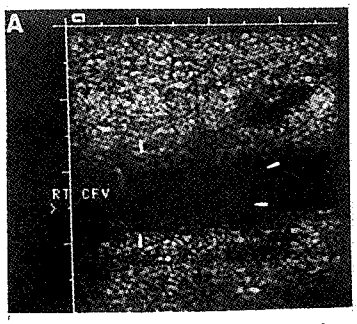
圖二.A)彩色都卜勒超音波顯示位於下腔靜脈的血栓（大箭頭），在其之前有血流訊號（小箭頭）。



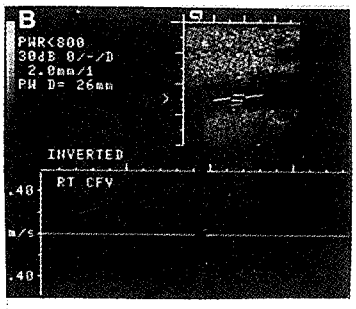
圖二.B)下腔靜脈的都卜勒頻譜分析顯示訊號會隨呼吸改變，但不受心臟收縮影響，此結果表示下腔靜脈有部份阻塞。



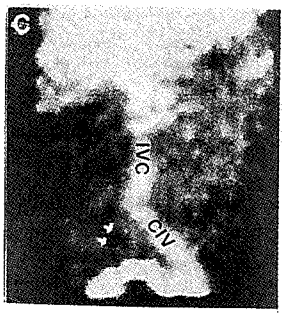
圖二.C)SC-RNV加成影像顯現在肝段的下腔靜脈有血流中斷的情形。



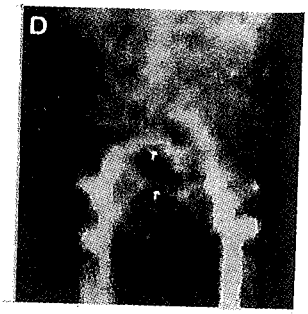
圖三.A)彩色都卜勒超音波顯示在右側股總靜脈（CFV）有呈現低超音波回音的血栓。



圖三.B)都卜勒頻譜分析顯示在右側股總靜脈內無都卜勒訊號，表示完全阻塞。



圖三.C)腹部SC-RNV影像可看出下腔靜脈（IVC）與左側髂總靜脈是通暢的，但右側股總靜脈則阻塞。



圖三.D)骨盤腔SC-RNV影像顯示來自右腿回流的靜脈血，經由側枝循環（小箭頭）注入左側的骨盤腔深部靜脈。

編號 DOH84-CM-045

傳統中醫辨證論治治療過敏性鼻炎臨床探討

Preliminary study of allergic rhinitis based on symptoms and signs

吳振龍　沈建忠　李明儒　呂恆明

台北市立和平醫院

摘　　要

本文於1994年7月到1995年6月，在結合西醫辨病與中醫辨證的前題下，在台北市立和平醫院中西醫聯合門診共收集246例過敏性鼻炎患者，年齡從3歲到66歲，按其合併氣喘或異位性皮膚炎之不同又可分爲四組，Group I爲過敏性鼻炎，佔60.16％，Group II爲過敏性鼻炎合併氣喘，佔25.61％，Group III爲過敏性鼻炎合併異位性皮膚炎，佔6.51％，GroupIV爲過敏性鼻炎合併氣喘及異位性皮膚炎，佔7.72％，按中醫辨證分型可分爲肺虛寒型、脾肺氣虛型、腎陽虛型及陰虛型四種，分別佔60.16％、25.61％、6.50％、7.72％。實驗室檢查包括Ig E、白血球總數、嗜酸性白血球總數、淋巴球總數、T淋巴球總數、B淋巴球總數、自然殺手細胞總數、記憶細胞總數、Niave T細胞總數、幫助性T細胞總數、抑制性T細胞總數及活化T3細胞總數。本研究在探討西醫辨病與中醫辨證的關係如何。實驗結果如下：

1. 過敏性鼻炎屬陰虛型其Ig E、白血球總數、嗜酸性白血球總數、T淋巴球總數、B淋巴球總數、Niave T細胞總數及抑制性T細胞總數比腎陽

虛爲高。

2. 過敏性鼻炎合併異位性皮膚炎和過敏性鼻炎合併氣喘及異位性皮膚火屬陰虛型，其Ig E、嗜酸性白血球總數較過敏性鼻炎和過敏性鼻炎合併氣喘屬陰虛型爲高。
3. 過敏性鼻炎合併氣喘屬陰虛型，其抑制T細胞總數較過敏性鼻炎屬腎陽虛型爲高。

Abstract

This study consisted of 248 patients of which the ages were between 3 and 66 in the OPD of Taipei Municipal Ho-Ping Hospital from Jul. 1994 to Jun. 1995. According to associated diseases of bronchial asthma or ectopic dermatitis, the patients were divided into four groups:group I for allergic rhinitis, group II for allergic rhinitis combined with bronchial asthma, groupIII for allergic rhinitis combined with ectopic dermatitis, group IV for allergic rhinitis combined with bronchial asthma and ectopic dermatitis. From Chinese medicine point of view, the patients were divived into Lung-Deficiency、Lung-Spleen-Deficiency、Kidney-Yan Deficiency and Yin-Deficiency Type by China Identification. The disease-related serum levels of Ig E、total white blood cells、total eosinophil counts、total lymphocytye counts、total memory cell counts、total Niave cell counts、total help T cell count、totalsuppress T cell count and total activated T3 cell count were also measured. We attempted to realize the difference among them. The results were analyzed with Duncan's Multiple Range Test The conclusion of the study is the following:

The results showed that Ig E、total white cells、total eosinophil count、total lymphocyte count、total T lymphocyte count、total B

lymphocyte count and total suppress T cell count of allergic rhinitis combined with Yin-deficiency Type were significantly lower than allergic rhinitis combined with Kidney-Yan Deficiency. Allergic rhinitis associated with ectopic dermatitis and/or bronchial asthma combined with Yin-deficiency Type showed that Ig E、total eosinophil count and total T lymphocyte count were significantly higher than allergic rhinitis associated with or withoutd bronchial asthma. Allergic rhinitis combined with Yin-deciciency Type showed that total suppress T cell count were significantly higher than allergic rhinitis combined with Kidney-Yan Deficiency.

前言

過敏性鼻炎的臨床特徵是慢性或持續性的存在鼻塞、流鼻水、打噴嚏或鼻癢，通常伴隨著結膜炎。本病常因曝露於空氣中的過敏原，如樹或野草花粉、家塵、動物皮屑及霉菌等等而誘發，一般可分爲全年型及季節型，鼻粘膜一般是蒼白和腫脹的，伴隨著透明分泌物。[1-2] 根據台大醫學院小兒科謝貴雄教授的研究調查顯示，台灣小兒過敏性鼻炎罹病率從1985年的7.84%到1991年的20.67%增加近三倍，[3] 根據台大耳鼻喉科門診病患調查顯示，每天門診的新病人中有一半是和過敏有關。[4] 由此可知，過敏性鼻炎在台灣有相當高的罹病率。

西方的過敏性鼻炎，相當於中醫的“鼻鼽”，[5-6] 目前中醫對於過敏性鼻炎的分型論治尚無統一，基本上可分爲一、肺虛寒型：症見清晨或遇風寒則噴嚏連作，鼻流清涕似水，得溫則症減，面色白，手足欠溫，神疲氣短，動輒易汗，舌淡苔薄白，脈細弱。二、脾虛型：症見鼻癢，噴嚏連作，涕白質粘，面色萎黃，神疲倦怠，腹脹便溏，舌質淡苔薄白或苔白膩，脈虛緩。三、腎陽虛型：症見清涕淋漓不止，噴嚏聲低而作，或鼻塞不聞香臭，或有腰膝酸軟，溲青而頻，耳鳴耳聾，畏寒肢冷，

舌淡質嫩，邊有齒痕，脈沉細，尺脈尤甚。[7-8]

鑑於國人如此高的發病率，有必要對此疾病做更積極的了解，近來之研究結果證實地理因素對體質的影響，[9] 因此本研究嘗試以中醫辨證之觀點，針對台北地區病人的體質狀態做一初步分析探討，期望能建立本病之治療模式。

材料及方法：

研究對象

於台北市立和平醫院耳鼻喉科成立中西醫過敏性鼻炎聯合門診，經西醫師篩選爲過敏性鼻炎者，病人如伴隨有氣喘者，由內、兒科醫師確定診斷，異位性皮膚炎由皮膚科醫師確定診斷，如果病人有慢性腎炎、慢性肝炎、心臟疾病、孕婦及其他慢性疾病尙在服中西藥治療者，不包含在本研究範圍。並將病人按疾病類型分爲Group I (Gr I)：過敏性鼻炎，GroupII (Gr II)：過敏性鼻炎合併氣喘，Group III (GrIII)：過敏性鼻炎合併異位性皮膚炎，Group IV (Gr IV)：過敏性鼻炎合併氣喘及異位性皮膚炎。

研究時間

自八十三年七月一日至八十四年六月三十日，共計一年。

辨證分型

共同症狀：慢性或持續性的存在鼻塞、流鼻水、打噴嚏或鼻癢。結合臨床其他症狀，依中醫辨證又可細分爲：

(1)肺虛寒型

主症：清晨或遇風寒則噴嚏連作，鼻流清涕似水，得溫則症減。

副症：易於外感，面色晃白，神疲，氣短呼吸不暢，動輒易汗，聲低。

(2)脾肺氣虛型

主症：清晨或遇風寒則噴嚏連作，鼻流清涕似水，得溫則症減。

副症：食少納呆，食後脘腹脹滿，大便軟或一日多次，面色萎黃

，肌肉消瘦，四肢困倦。

(3)腎陽虛型

主症：整日噴嚏連連，清涕難收，早晚較甚。

副症：頭昏眼花，肢冷身倦，腰膝酸軟，精神不振無法集中注意力，小便清長。

(4)陰虛型

主症：口苦咽燥，五心煩熱，溲黃，便乾，舌質紅，苔黃，脈細數。

副症：易於外感，面色晃白，神疲，氣短呼吸不暢，動輒易汗，聲低，食少納呆，食後脘腹脹滿，面塞萎黃，肌肉消瘦，四肢困倦。

上述分型中，主症併具副症中任何二項即屬之。

實驗診斷

1.血清IgE檢查

採用Baxter Diagnostics Inc.公司出品的Stratus Ig E Fluorometric Enzyme Immunoassay.其原理爲將老鼠單株抗Ig E抗體固定至玻璃纖維濾紙，加入檢體(當抗原)，可和固定於濾紙上的抗體結合爲抗原，抗原複合物，再加入抗體酵素複合物和已經結合到濾紙上的抗原作第二次結合，形成抗體－檢體抗原－抗體酵素複合物爲多層複合物。在適當時間後再加入基質液(Substrate)來和結合(Conjugate)上述中複合體的酵素作用而呈色，藉由酵素反應速率及其螢光量多寡，來定量血中抗體濃度。正常值：新生兒< 1.5 (IU/ML) ，嬰兒< 15(IU/ML)， 1-5歲< 60 (IU/ML)，6-9歲< 90(IU/ML)，10-15歲< 200(IU/ML)

2.末梢血液之檢查

採用TECHNICONH.1 System可檢查所有末梢血球包括紅血球、白血球、淋巴球、單核球、嗜伊紅性白血球、嗜鹼性性白血球及血小板之總數及分類。其基本原理包括三個步驟㈠、細胞化學：血

球的處理。㈡、細胞測量：實際測量分別細胞的特性。㈢、互除法：把測量結果轉換成細胞分類，細胞計數及細胞大小。

3.MAST多種過敏原測定

反應原理：將血清注入含有36種過敏原之崁板(pauel)內，血清中之抗體將會崁板上之過敏原(抗原)相結合，再加入抗IGE抗體之第二級抗體，此抗體會與前者抗原－抗體複合物相結合，形成更大的免疫複合體，再加入顯相劑，而顯相劑中爲呈色物質與前者複合體相結合而呈色。

4.淋巴球次群的檢查

治療前及治療後三個月分別抽血測量治療前後淋巴球次群的變化，包括淋巴球總數、T淋巴球總數、B淋巴球總數、自然殺手細胞、記憶細胞、Niave T細胞、幫助性T細胞、抑制性T細胞及活化T3細胞。

統計方法

所有數據以Duncan's Multiple Range Test做事後檢定分析之，P值小於0.05者具有統計意義，並以不同英文字母表示之，相同英文字母表示沒有差異。

結果

一、研究對象之一般資料

本研究共收集246位患有過敏性鼻炎者，男性166人，女性80人，年齡從3歲到66歲，平均年齡18.74±12.97歲，在Gr I有148例佔60.16%，男性有96人，女性有52人，GrII有63例佔25.61%，男性有41人，女性有22人，GrIII有16例佔6.51%，男性13人，女性3人，Gr IV有19例佔7.72%，男性14人，女性5人；246例中醫分型：肺虛寒型、脾肺氣虛型、腎陽虛型、陰虛型分別佔全體的60.16%、25.61%、6.50%、7.72%；Gr I 148例病患中肺虛寒型、脾肺氣虛型、腎陽虛型、陰虛型分別佔58.78%、29.73%、8.79%、2.70%，GrII 63例病患中肺

虛寒型、脾肺氣虛型、腎陽虛型、陰虛型分別佔49.20%、38.10%、6.35%、6.35%，GrIII 16例病患全屬陰虛型，Gr IV 19例病患中脾肺氣虛型、陰虛型分別佔5.26%、94.74%。(表一)

二、性別和Ig E、白血球、嗜酸性白血球、淋巴球、T淋巴球、B淋巴球、自然殺手細胞、記憶細胞、Niave T細胞、幫助性T細胞、抑制性T細胞及活化T3細胞之間觀係之分析

男性在Ig E濃度及嗜酸性白血球總數要比女性高，有顯著的統計學上差異，白血球、嗜酸性白血球、淋巴球、T淋巴球、B淋巴球、自然殺手細胞、記憶細胞、Niave T細胞、幫助性T細胞、抑制性T細胞及活化T3細胞之間則沒有差異，如表二。

三、西醫分類和Ig E、白血球總數、嗜酸性白血球、淋巴球總數、T淋巴球總數、B淋巴球總數、自然殺手細胞、記憶細胞、Niave T細胞、幫助性T細胞、抑制性T細胞及活化T3細胞之分析

過敏性鼻炎伴有異位性皮膚炎者其Ig E免疫球蛋白、嗜酸性白血球、淋巴球總數、T淋巴球總數、B淋巴球總數及Niave T細胞總數比祇有過敏性鼻炎者或合併氣喘爲高，有統計學上差異。(表三)

四、中醫分類和Ig E、白血球總數、嗜酸性白血球、淋巴球總數、T淋巴球總數、B淋巴球總數、自然殺手細胞、記憶細胞、Niave T細胞、幫助性T細胞、抑制性T細胞及活化T3細胞之分析

過敏性鼻炎屬陰虛型其Ig E免疫球蛋白、白血球總數、嗜酸性白血球、淋巴球總數、T淋巴球總數、B淋巴球總數、Niave T細胞總數及抑制性T細胞比腎陽虛型爲高，有統計學上差異，其結果和表三非常類似。(表四)

五、中醫分型和西醫分類在Ig E之分析

在西醫分類屬 GrIII及 GrIV，在中醫分類屬陰虛型其免疫球蛋白Ig E較Gr I 及GrII屬陽虛型爲高，所有陰虛型中免疫球蛋白Ig E以GrII最低，都有統計學上差異。(表五)

六、中醫分型和西醫分類在嗜酸性白血球總數之分析

在西醫分類屬GrIII及GrIV，在中醫分類屬陰虛型其嗜酸性白血球較GrⅠ及GrII屬陽虛型爲高，所有陰虛型中嗜酸性白血球以GrII最低，都有統計學上差異，此結果和表五非常類似。(表六)

七、中醫分型和西醫分類在T淋巴球總數之分析

在中醫屬陰虛型，在西醫分類屬GrIII及GrIV其T淋巴球總數較GrⅠ及GrII高，有統計學上差異。(表七)

八、中醫分型和西醫分類在抑制性T細胞總數之分析

在西醫分類屬GrII，在中醫分類屬陰虛型其抑制性T細胞總數較GrⅠ中屬陽虛型爲高，有統計學上差異。(表八)

中醫分型和西醫分類中，其它未列表說明包括白血球總數、淋巴球總數、B淋巴球總數、自然殺手細胞總數、記憶細胞總數、Niave T細胞總數、幫助性T細胞總數、及活化T3細胞總數則沒有差異。

九、不同類型疾病間之MAST過敏原測定之比較

西醫分類之GrⅠ、GrII、GrIII及GrIV主要之過敏原以滿(D.P和D.F)爲主

討論

在台灣大部份過敏性鼻炎屬於全年型，而有季節性加重，可能和多種過敏原有關，[1,10]經過敏原試驗檢查，最多的是滿。另外一個主要因素是隨季節變換而有加重之現象，如春夏及夏秋之際症狀會更明顯。[5,11]

本病從就醫治療的年齡層分佈來看，仍以小孩佔最多數，可見多數病患初次發病在青少年時期前，大陸一些專家認爲小兒過敏性鼻炎以脾虛型最常見，[7] 本研究發現台灣北部地區以肺虛寒型最常見，可能原因是北部地區生活水準較高，營養足夠，較沒有脾胃問題，反而天氣悶熱，家家有冷氣，嗜食冰涼，缺乏適度的運動，所以肺氣虛寒型佔多數，佔全體49.97%，《素問・評熱病論》“邪之所湊，其氣必虛”，中醫認爲肺氣虛，腠理疏鬆，衛外不固，風寒異氣容易侵襲人體，肺開竅於鼻

，易被外邪所侵，而出現鼻過敏症狀；脾肺氣虛佔全體28.05%，脾爲後天之本，氣血生化之源，脾陽氣虛，致陰寒內盛，不能化生水各精微上輸於肺，致使清陽不升，進而不能下滋潤於腎，致使元氣日漸虛損，衛外不固，兼濁陰上犯，鼻竅被外邪所侵而發病，正如《素問·玉機眞藏論》"中央土以灌回旁，……其不及，則令人九竅不通"；腎陽虛佔全體6.91%，本型平均年齡在51歲左右，是中醫分型中年紀最大的一群，有較長病史，"久病及腎"，腎爲水火之臟，腎陽虛衰則水外溢，如《素問·陰陽應大論》"氣大衰，九竅不到，下虛上實，涕泣俱出矣"。所以本病一般認爲與肺、脾、腎虛有關；[6,7]《諸病源侯論》"夫津液涕唾，得熱即乾燥，得冷則流溢，不能自收，肺氣通于鼻，其藏有冷，冷隨氣入乘於鼻，故使津液不能自收"，故一般認爲本病屬虛屬寒；然本病亦有屬熱者，劉河間《素門玄機原病式》"或言鼽爲肺寒者誤也，彼但見鼽涕鼻塞，過寒則甚，遂以爲然，豈知寒傷皮毛則腠理致密，熱氣怫郁，而病癒甚也"，可見本病亦有久郁化熱者，本病陰虛型佔全體17.07%。

嗜酸性白血球在所有過敏性疾病都有明顯增加，但合併有異位性皮膚炎增加最多，此在統計學上有顯著差異，OTT等學者研究顯示嗜酸性白血球有和異位性疾病的產生有關，病理切片也証實在眞皮層有嗜酸性顆粒蛋白(eosinophil gramele protein)的沉澱，因而認爲嗜酸性的去顆粒作用(degranulation)對異位性皮膚炎是相當重要的，因爲在同樣的切片中祇有偶而看到稀少的嗜中性白血球、彈性蛋白酵素或乳膽鐵質沉積(neutrophil elastase lactoferrin deposition)。[12] 在中醫分型上，肺虛寒型、脾肺氣虛型及腎陰虛型嗜酸性白血球都高於正常值(<300/μ l)，以陰虛型嗜酸性白血球最高，腎陽虛型白血球最低，且低於正常值，都有統計學上差異。(表四)

異位性皮膚炎患者白血球總數有增加之趨勢，GrIII、GrIV和Gr I 比較有統計學上差異，此和皮膚劇烈搔癢引發繼發性感染有關[13,14] (表三)；中醫以腎陽虛型最低，有統計學上差異，此和身體抵抗力降低有關，

陰虛型最高，也有統計學上差異，可能原因爲“陰虛生內熱”，白血球總數增加，代表有某方面感染，釋放出低量的內毒素(pyrogen)，使患者有發熱感或煩燥。(表四)

Ig E濃度在呼吸道過敏性疾病，包括過敏性鼻炎和氣喘、異位性皮膚炎及寄生蟲疾病都會有不正常的增加，[15,16] 在兒童同時有氣喘和過敏性鼻炎二種疾病者，Ig E濃度會增高，[17] 但合併有異位性皮膚炎時，Ig E濃度會比前二種疾病更高，[18-20] 從表三可發現有過敏性鼻炎合併異位性皮膚炎，及過敏性鼻炎合併有氣喘、異位性皮膚炎者和其他另二類型做比較，有較高的Ig E濃度，統計上有顯著的差異，說明主要決定因子在異位性皮膚炎；中醫分型來探討，陰虛型最高，腎陽虛型最低，二者皆有統計學上差異，陰虛型的影響因素爲異位性皮膚炎42例中有34例佔80.95%，而陽虛型族群都屬年紀大，免疫力降低有觀。

將異位性皮膚炎包含在過敏性鼻炎來研究，原因是本病常伴隨著氣喘及過敏性鼻炎二種疾病，Besnier醫生於1892年首先發表本病，疾病開始於嬰兒時期，其特點是全身性的皮膚搔癢、慢性、反覆性的發作，病情會隨季節而變化。[21]

結論

1. 過敏性鼻炎屬陰虛型其Ig E、白血球總數、嗜酸性白血球總數、T淋巴球總數、B淋巴球總數、Niave T細胞總數及抑制性T細胞總數比腎陽虛爲高。
2. 過敏性鼻炎合併異位性皮膚炎和過敏性鼻炎合併氣喘及異位性皮膚炎屬陰虛型，其Ig E、嗜酸性白血球總數較過敏性鼻炎和過敏性鼻炎合併氣喘屬陰虛型爲高。
3. 過敏性鼻炎合併氣喘屬陰虛型，其抑制T細胞總數較過敏性鼻炎屬腎陽虛型爲高。

參考文獻

1. Noble LS, Forbes RC, Woodbridge HB. Allergic Rhinitis Am Fam physician, 1995; 51:837-46.
2. Ng TP, Tan WC. Epidemilogy of allergic rhinitis and its associated risk factors in Singapore. Int J Epidermiol 1994; 23: 553-8.
3. Hsieh kH, Shen JJ.Prevalence of childhood asthma in Taipei, Taiwan, and other Asian pacific countries. J of asthma. 1988;25:73-82.
4. 張永青，李憲彥，徐茂銘.耳鼻喉科的過敏症. 當代醫學. 1989;14:804-9.
5. 張忠會 中醫治療過敏性鼻炎的臨床進展 1992;9:47-9.
6. 何東燦 中醫耳鼻喉科學 正中書局 1984:209-18.
7. 邵榮世，周維鎔 過敏性鼻炎証治探討 中醫藥研究 1992;1:52-3
8. 勾大君 加味玉屏風散治療變應性鼻炎250例觀察中西醫結合雜誌 ;11:288
9. 何裕民，高欽穎，嚴清，等人.從體質調研結果探討因時因地制宜治則.中醫雜誌. 1986;5:47-50.
10. Kaiser HB, Findlay SR, Georgitis JW, etal. Long-term treatment of pernnial allergic rhinitis with ipratropium bromide nasal spray 0.06%. J Allergy Clin Immunal 1995; 95:1128-32
11. Demichiei ME, Nelson L. Allergic rinitis.Am Fam Physician. 1998; 37147:251-63.
12. OTT NL, Gleich GJ, Peterson EA, etal. Assessment of eosinophil and neutrophil participation in atopic dermatitis: Comparison with the IGE-mediated late-phase reaction. J Allergy Clin Immunol 1994;94:120-8.
13. Leyden JE, Marples RR, Kligman AM: Staphyloccus aureus in the lesions of atopic dermatitis. Br J Dermatol 90:525,1974.

14. Aly R: Bacteriology of atopic dermatitis. Acta Derm Venereol (suppl) 92:16,1980.
15. Henderson LL, etal. Evaluation of IGE tests in an allergy ractice. J Allergy Clin Immunol 1971;48:361-5.
16. Ig E in trichinosis. Ann Intern Med. 1971;75:575-8.
17. Chen WC, Hsieh KH, Chen T-Hwei, etal. Intracutaneous tests, radioaller gosorbent tests, total serum IGE determinations, total eosinophil counts and nasal eosinophilia in the diganosis of allergic diseases. Asian Pacific Allerg Innun 1985;3:43-7
18. Berg T, Johanson SGO. IGE concentrations in children with atopic diseases. Int Arch Allergy Appl Immunol 1969;36:219-32.
19. Juhlin L, Johansson SGO, Bennich H, etal. Immunoglobulin E in dermatoses: levels in atopic dermatitis and urticaria. Arch Dermatol 100:12,1969.
20. Ogawa M, Berger PA, McIntyre OE, et al. Ig E in atopic dermatitis. Arch Dermatol 103:575,1971.
21. Besnier E: Premiere note et observations preliminaires pour sevir d'introducion a l'etude des prurigos diathesiques. Ann de Dermatol et Syphil 23:634,1892.

表一、過敏性疾病之基本特徵

組別	肺虛寒型			脾肺氣虛型			腎陽虛型			陰 虛 型		
人數(%)	人數	平均年齡	男/女	人數	平均年齡	男/女	人數	平均年齡	男/女	人數	平均年齡	男/女
Gr I 148(60.16) (頻率%)	87 (58.78)	18.85±12.75	62/25	44 (29.73)	21.16±15.54	24/20	13 (8.79)	51.77±14.41	6/7	4 (2.70)	20.00±22.05	4/0
Gr II 63(25.61) (頻率%)	31 (49.20)	19.95±17.60	18/13	24 (38.10)	15.62±14.00	18/6	4 (6.35)	52.75±3.77	3/1	4 (6.35)	39.25±22.51	4/0
Gr III 16(6.50) (頻率%)		—			—			—		16 (100.00)	8.00±3.48	13/3
Gr IV 19(7.72) (頻率%)		—		1 (5.26)	7.00	1/0		—		18 (94.74)	9.05±4.44	13/5
總計 246(100.00)	118		80/38	69		43/26	17		9/8	42		34/8
頻率%		47.97			28.05			6.91			17.07	

*：Mean±S.D.

表二、Ig E、嗜酸性白血球總數和性別之比較

		Ig E (IU/ml)	酸性白血球(/μl)
	人數	平均值	平均值
男	162	463.57 A	573.52 A
女	82	348.81 B	446.50 B

表三、西醫分類和Ig E、白血球總數、嗜酸性白血球、淋巴球總數、T 淋巴球總數、B 淋巴球總數、自然殺手細胞、記憶細胞、Niave T細胞、幫助性 T 細胞、抑制性 T 細胞及活化 T3 細胞之分析

分類	人數	Ig E(Iu/ml)	白血球總數	嗜酸性白血球	淋巴球總數	T淋巴球總數	B淋巴球總數	自然殺手細胞	記憶細胞	Niave T 細胞	幫助性T細胞	抑制性T細胞	活化T3細胞
Gr I	147	370.72 B	6905.2 B	455.43 B	2443.8 B	1690.8 B	394.07 B	353.87 A	455.50 A	466.61 B	935.9 A	694.6 B	173.95 A
Gr II	63	377.24 B	7526.0 AB	483.38 B	2464.6 B	1762.9 AB	402.07 B	236.71 A	415.08 A	573.46 AB	964.9 A	839.4 AB	176.50 A
Gr III	16	800.47 A	8455.6 A	948.12 A	2945.5 AB	2126.5 A	525.40 AB	287.07 A	427.20 A	739.60 A	1145.5 A	1004.1 A	167.60 A
Gr IV	18	701.76 A	8220.6 A	935.17 A	3003.7 A	2138.6 A	606.53 A	274.73 A	388.14 A	722.79 A	1135.6 A	877.2 AB	154.20 A

表四、中醫分類和Ig E、白血球總數、嗜酸性白血球、淋巴球總數、T 淋巴球總數、B 淋巴球總數、自然殺手細胞、記憶細胞、Niave T細胞、幫助性 T 細胞、抑制性 T 細胞及活化 T3 細胞之分析

分型	人數	Ig E(Iu/ml)	白血球總數	嗜酸性白血球	淋巴球總數	T淋巴球總數	B淋巴球總數	自然殺手細胞	記憶細胞	Niave T細胞	幫助性T細胞	抑制性T細胞	活化T3細胞
肺虛寒型	117	405.76 B	7388.0 AB	486.79 B	2417.9 AB	1711.0 AB	401.50 A	299.68 AB	438.03 A	495.88 A	937.9 A	705.8 BC	177.15 A
脾肺氣虛型	69	366.69 B	7122.1 B	472.22 B	2691.9 A	1857.6 A	443.56 A	398.12 A	445.04 A	566.08 A	1025.4 A	769.4 AB	170.12 A
腎陽虛型	17	108.51 C	5885.9 C	179.41 C	1968.4 B	1367.6 B	241.14 B	355.00 AB	518.29 A	296.71 B	815.0 A	537.7 C	181.57 A
陰虛型	41	709.31 A	8049.8 A	898.37 A	2862.1 A	2034.0 A	536.71 A	262.68 B	410.21 A	672.88 A	1085.4 A	937.4 A	161.62 A

表五、中醫分型和西醫分類在Ig E之分析

	肺虛寒型	脾肺氣虛型	腎陽虛型	陰虛型
Gr I	410.8 ABC	329.1 BC	104.3 C	823.5 A
Gr II	391.7 ABC	434.7 ABC	122.3 C	174.9 C
Gr III	—	—	—	800.5 A
Gr IV	—	387.3 ABC	—	720.3 AB

表六、中醫分型和西醫分類在嗜酸性白血球總數之分析

	肺虛寒型	脾肺氣虛型	腎陽虛型	陰虛型
Gr I	483.3 ABCD	447.4 BCD	136.2 D	980.0 A
Gr II	496.5 ABCD	508.9 ABCD	320.0 CD	392.5 CD
GrIII	—	—	—	948.1 AB
GrIV	—	660.0 ABC	—	951.4 AB

表七、中醫分型和西醫分類在 T 淋巴球總數之分析

	肺虛寒型	脾肺氣虛型	腎陽虛型	陰虛型
Gr I	1698.6 B	1794.6 AB	1269.4 B	1545.0 B
Gr II	1768.8 AB	2002.3 AB	1613.0 B	1611.7 B
GrIII	—	—	—	2126.5 AB
GrIV	—	2745.0 A	—	2095.3 AB

表八、中醫分型和西醫分類在抑制性 T 細胞總數之分析

	肺虛寒型	脾肺氣虛型	腎陽虛型	陰虛型
Gr I	696.1 AB	748.0 AB	461.4 B	694.5 AB
Gr II	750.7 AB	824.3 AB	728.5 AB	1105.7 A
Gr III	—	—	—	1004.1 AB
Gr IV	—	1056.0 A	—	864.4 AB

表九、不同類型疾病間之 MAST 過敏原測定之比較

	Gr I	Gr II	Gr III	Gr IV
測試人數(男/女)	33(17/16)	12(12/0)	10(9/1)	6(6/0)
陽性反應人數	26(78.79%)	12(100%)	9(90.00%)	5(83.33%)
陽性反應種類	家塵2例(6.06%) 滿(D.F)26(78.79%) 滿(D.P)26(78.79%) 蟑螂1例(3.03%) 狗毛1例(3.03%) 貓毛1例(3.03%) 狗牙根2例(6.06%) 蔬菜1例(3.03%) 蛤2例(6.06%) 蝦1例(3.03)	滿(D.F)10(83.33%) 滿(D.P)10(83.33%) 蟑螂1例(8.33%) 狗牙根1例(8.33%) 花生1例(8.33%)	家塵1例(10.00%) 滿(D.F)8(80.00%) 滿(D.P)8(80.00%) 狗毛1例(10.00%) 牙枝黴菌屬1例(10.00%) 青黴菌屬1例(10.00%) 交錯黴菌屬1例(10.00%) 螃蟹3例(30.00%) 蛤1例(10.00%)	家塵1例(16.67%) 滿(D.F)5(83.33%) 滿(D.P)5(83.33%) 蟑螂1例(16.67%) 狗毛1例(16.67%) 貓毛1例(16.67%) 念珠菌屬1例(16.67%) 青黴菌屬1例(16.67%) 玉蜀黍1例(16.67%) 螃蟹1例(16.67%) 蛤1例(16.67%) 蛋白1例(16.67%) 蝦2例(33.33%)

編號 DOH84-CM-046

中醫藥治療支氣管哮喘之評估（Ⅶ）

高尚德　蔡長海　周昌德　林錦水　林宏任

中國醫藥學院

摘　　要

爲了探討支氣管氣喘患者發炎細胞所釋放之發炎介質與中醫證型之關係，本研究利用酵素連結免疫吸附法(ELISA)測定肺熱型與肺寒飲型支氣管氣喘患者體外單核球產生組織胺及體外多形核白血球產生白三烯素C_4濃度之變化。結果發現：在組織胺方面，不管有否用PHA誘發，肺寒飲型支氣管氣喘患者，體外單核球產生組織胺濃度皆高於肺熱型支氣管氣喘患者，但只有在PHA誘發時具有統計學意義。在白三烯素C_4方面，二者並無顯著差異，我們同時發現血液嗜伊紅性白血球計數二組亦無差異。從以上結果，我們得知，中醫證型相反，治方相異之肺熱型、肺寒飲型支氣管氣喘患者組織胺濃度有所差異，白三烯素C_4與嗜伊紅性白血球濃度則無差異。

Clinical Evaluation of Chinese Medicine in Brochial Asthma （Ⅶ）

Kao S-T,Chou C-T,Lin J-S,Lin H-Z,Tsai C-H

China Medical College

Abstract

In order to understand the changes of inflamatory mediator in bronchial asthmatics of diverse Zheng categoried by traditional chinese medical systems, We examined the production of histamine in mononuclear cell and leukotriene C_4 in polymophonuclear cell in vitro of Lung heat type and Lung cold-phlegm type asthmatics children by ELISA respectively. The result are : the production of PHA-induced histamine in mononuclear cell of Lung cold-phlegm type asthmatic children was significantly higher than that of lung heat type.But,there was no stastically difference in production of leukotriene C_4 in ploymophonuclear cell and blood eosinophil count between Lung wat type and lung colod-phlegm asthmatic children.

前言

肥大細胞受到過敏原激發活化後，會引起去顆粒作用而釋放引起支氣管收縮之化學介質，組織胺是最重要的化學介質之一，肥大細胞活化時細胞膜發生改變，使得A2型燐脂胲釋放花生烯酸，花生烯酸進一步被Lipoxygenase代謝而產生白三烯素C_4等化學介質，白三烯素C_4會引起很強的支氣管收縮，近年來，有關氣喘之中醫治療文獻發表頗多，然而較偏重於臨床療效的評估，至於從中醫觀點去探討支氣管患者發炎介質與中醫證型之關係卻很少報導，本研究根據中醫證型不同，治法相異原則，藉助免疫學技術測定肺熱型、肺寒飲型支氣管氣喘患者體外發炎細胞釋放發炎介質組織胺與白三烯素C_4濃度差異，探討組織胺與白三烯素C_4在不同證型氣喘患者所扮演的角色。

材料與方法

一、患者之篩選：我們在中國醫藥學院小兒科中西合作特別門診中，依病史、物理檢查、肺功能測驗及過敏原檢查，診斷支氣管氣喘患者，然後依中醫辨證法則，篩選肺熱型與肺寒飲型二種類型支氣管氣喘患者，共篩選66位患者，其中肺熱型支氣管氣喘患者44例，男28例，女16例，平均9.7歲，肺寒飲型22例，男15例，女7例，平均9.6歲。

二、證型之診斷標準

（一）肺熱型：

【臨床表現】

主症：咳嗽聲高亢，氣喘息粗，痰稠色黃，口渴飲冷。

主舌：舌紅，舌苔黃乾。

主脈：脈滑數有力。

或見症：面紅目赤，口鼻氣熱，口唇紅赤乾燥，渴飲頻頻、痰涎壅盛，喉間痰鳴，鼻翼煽動，咳吐膿痰，胸悶胸痛，煩燥不安，發熱，肌膚熱手足溫，壯熱，小便黃赤短少臭穢。

或見症：舌降干，舌有紅點或芒刺，舌苔黃燥，舌苔黃厚粘膩。

或見脈：脈數，脈數有力，脈洪數，脈弦數，脈數實。

典型表現：高熱面赤，口鼻氣熱，咳嗽，氣喘息粗，痰稠色黃，舌紅或絳，苔黃，脈滑數。

【診斷標準】

（1）符合典型表現者。

（2）主症四個，并見本證任何舌象、脈象者。

（3）主症三個，或見症不少於兩個，并見本證任何舌象、脈象者。

（4）主症中“氣喘息粗，咳嗽聲高亢”以及或見症中“咳吐膿痰”，而見本證任何舌象、脈象者。

（5）主症中“咳嗽聲高亢，氣喘息粗”以及或見症中“痰涎壅盛，鼻翼煽動”，并見本證任何舌象、脈象者。

（二）肺寒飲型

主症：咳逆喘滿不得臥，咳咯泡沫稀痰量多，畏寒肢冷。

主舌：舌淡苔白滑。

主脈：脈弦細弱。

或見症：面色青晦，面色晃白，面目虛浮，背冷，口淡不渴或渴喜熱飲，胸悶氣急，喉中痰鳴如水雞聲，跗腫，身肢浮腫，小便清白，小便短少。

或見舌：舌淡紫濕潤；白膩苔，舌苔薄白滑利，舌苔灰白滑或膩，舌苔灰黑潤滑，苔醬色滑潤。

或見脈：脈弦滑，脈弦緊，脈濡緩，脈浮大虛數。

典型表現：咳逆喘滿不得臥，咳咯泡沫稀痰量多，面色青晦，背冷，舌淡苔白滑，脈弦細弱。

【診斷標準】

（1）符合典型表現者。

（2）主症三個，并見本證任何舌象、脈象者。

（3）主症中“咳逆喘滿不得臥，咳咯泡沫稀痰量多”，并見不少於兩個或見症，以及本證任何舌象、脈象者。

（4）主症中“咳逆喘滿不得臥，畏寒肢冷”，并見不少於兩個或見症，以及本證任何舌象、脈象者。

（5）主症中“咳逆喘滿不得臥”以及不少於四個或見症，并見本證任何舌象、脈象者。

三、血液檢體之抽取與處理

（一）1.抽取病人周邊血10ml，加入含0.2ml heparin的試管中。

2.離心（1500rpm、10min、4℃），取血漿冰凍於-70℃保存。

3.剩下的血，加入2% dextran，補回血漿量充份混合靜置於37℃，25分鐘。

4.取上層細胞層慢慢加入備有4ml Ficoll-Hypaque的試管中，離心（2000rpm、10min、22℃）。

5.取中間細胞層（lymphocyte,mononuclear cell）以RPMI-1640清洗兩次（2000rpm、10min、22℃）再以RPMI-1640培養液調成1.1×10^6/ml，分爲兩管備用。

6.取上層細胞層（polymorphonuclear cell）含RBC部份，加入7.5ml蒸餾水，搖10秒加入3.6% NaCl 2.5ml，混合再離心（2000rpm、10min、22℃），以RPMI-1640清洗兩次，調成2.2×10^6/ml，分爲兩管備用。

（二）Mononuclear cell(MNC)之培養

1.配製50μg/ml的phytohemagglutinin（PHA）於RPMI-1640培養液中。

2.MNC 1.1×10^6/ml，每0.9ml加入50μg/ml的PHA0.1ml，另一試管加入RPMI-1640培養液至相同容量。

3.置於37℃，5% CO_2 incubator培養3天。

4.離心（2000rpm、10min、22℃），收集上清液保存於-70℃，此MNC上清液用於測試組織胺。

（三）Polymorphonuclear cell（PMN）之培養

1.配置40μg/ml的Calcium ionophore A23187在RPMI-1640中培養液。

2.PMN2.2×10^6/ml，每0.9ml加入40μg/ml的A23178 0.1ml，令一試管加入RPMI-1640培養液至相同容量。

3.離心（2000rpm、10min、4℃），收集上清液保存於-70℃，此PMN上清液用於測試白三烯素C_4。

四、統計分析法：

使用SPSS（Statistical Package for Social Science）電腦軟體之Kruskal-Wallis 1-way ANOVA 分析法。

研究結果

一、體外單核球組織胺之產生濃度

1.未加植物凝血素（PHA）誘發

肺熱型支氣管氣喘組體外單核球組織胺產生濃度爲8.30±1.37ng/ml（M±SE），肺寒飲型支氣管氣喘患者爲13.00±2.19ng/ml，肺寒飲型高於肺熱型，但二組間並無統計學意義。

2.加植物凝血素（PHA）誘發

肺熱型支氣管氣喘組體外單核球產生組織胺濃度14.90±1.64ng/ml，肺寒飲型支氣管氣喘組爲24.67±3.31ng/ml，二組間有明顯差異，具統計學意義（$P<0.05$）。

二、體外多形核白血球白三烯素C_4產生濃度

1.未加A23187誘發

肺熱型支氣管氣喘組體外多形核白血球白三烯素C_4產生濃度爲15.50±2.24 pg/ml（M±SE），肺寒飲型支氣管氣喘組爲10.59±1.87pg/ml，二組間並無顯著差異。

2.加A23187誘發

肺熱型支氣管氣喘組體外多形核白血球白三烯素C_4產生濃度爲295.48±63.94 pg/ml（M±SE），肺寒飲型支氣管氣喘組爲369.07±90.27pg/ml，二組間並無顯著差異。

三、血液嗜伊紅白血球計數

肺熱型支氣管氣喘組血液嗜伊紅白血球計數爲435.74±54.08/mm^3，肺寒飲型支氣管氣喘組爲317.45±52.27/mm^3，二組間亦無顯著差異。

討論

組織胺（Histamine）在過敏反應中是一個很強的作用物質，在1910年Dale與Laidlaw (1) 觀察到靜脈注射組織胺能引起過敏反應的特徵後，首先提出在過敏反應中會釋放出組織胺，Best (2) 等後來證實肺組織中存有高濃度的組織胺，直到Weis（3）等在氣喘患者身上靜脈注射組織胺誘發哮鳴才認識到氣喘與組織胺的關係，用氣喘患者血液在試管中用專一性抗原激發亦證實會釋放組織胺（4、5），接著，數位研究學者發現氣喘惡化時患者血漿中組織胺濃度升高（6、7），1951年時，Schild等（8）描述肺組織經過敏原激發後釋放組織胺，並說明與被誘發的支氣管收縮相符合。

組織胺是一種血管活性與平滑肌收縮的介質，存在肥大細胞及嗜鹼性細胞的顆粒內，當抗原與肥大細胞表面的專一性IgE FcRI受體結合後即可刺激肥大細胞活化引起去顆粒作用，組織胺被釋放出來，這個過程主要是抗原與專一性IgE FcRI受體結合後，刺激肥大細胞膜磷脂代謝，造成鈣離子流入，引起顆粒內容物肥釋作用，使已形成的介質（主要是組織胺）釋放，同時，並使花生烯酸（arachidonic acid）代謝產生前列腺素及白三烯素C_4，而促使新介質的合成，這些介質直接對局部組織產生影響，引起肺部發生支氣管收縮、黏膜水腫及過度分泌而導致水腫。組織胺有三種受體，稱爲H_1，H_2，H_3，氣喘主要是經由H_1受體的作用，H_1受體的作用可被H1-blocker所阻斷（如astemizole、terfenadine、ketotifen等）(9-11)，靜脈注射與吸入組織胺經由H_1受體會誘發氣喘患者支氣管收縮，組織胺會增加血管與呼吸道上皮之通透性 (12)。白三烯素C_4具有很強的支氣管收縮作用，其強度約爲組織胺之1000-5000倍，在體外試

驗中，白三烯素C_4能刺激呼吸道之黏膜分泌，且其能增加天竺鼠呼吸道爲微血管之通透性。

本研究結果，肺熱型與肺寒飲型支氣管氣喘患者體外多形核白血球產生白三烯素C_4濃度並無明顯差異，血液中嗜伊性白血球計數亦無差異，但在體外單核球產生組織胺方面，加入PHA誘發時，肺寒飲型支氣管氣喘患者產生之濃度有意義的高於肺熱型支氣管氣喘患者，這個現象值得我們進一步研究。

結論與建議

利用酵素連結免疫吸附法（ELISA），檢測44例肺熱型，22例肺寒飲型支氣管氣喘患者，體外單核球組織胺與體外多形核白血球白三烯素C_4產生濃度。並比較二型血液中嗜伊紅白血球計數之差異。

我們得到以下結論：

一、肺寒飲型支氣管氣喘組體外單核球產生組織胺濃度，在加入PHA誘發時，其濃度有意義高於肺熱型支氣管氣喘組，未加PHA誘發時，則二組無顯著差異。

二、肺熱型與肺寒飲型支氣管氣喘組在體外多形核白血球白三烯素C_4產生濃度方面，二組無顯著差異。

三、肺熱型與肺寒飲型支氣管氣喘組血液嗜伊紅白血球計數，二組無顯著差異。

參考文獻

1. Dale HH, Laidlaw PP. The physiological action of betaimidazolylethylamine. J Physiol 1910; 41.
2. Best CH, Dale HH, Dudley HW, Thorpe WV. The nature of vasodilator constituents of certain tissue extracts. J Physiol 1927 ; 62: 397.

3. Weis S, Robb GP, Ellis LB. The systemic effects of histamine in man with special reference to the respons of the cardiovascular system. Arch Intern Med 1932; 49: 360.
4. Katz G. Cohen S. Experimental evidens for histamine release in allergy. JAMA 1941; 117 : 178.
5. Noah Jw, Brand A. Release of histamine in the blood of ragweed sensitive individuals. J Allergy 1954; 25 : 210.
6. Randolph TG, Racheman FM. The blood histamine level in asthma and in eosinophilia. J Allergy 1941; 12 :450.
7. De Garci PF. Chemical determination of histamine in blood in health and disease. J Allergy 1951; 22 : 429.
8. Schild HO, Hawkins OF, Mongar JL. Herxheimer H.Reactions of isolated human asthmatic lung and bronchial tissue to a specifie antigen : histamine release and muscular contraction. Lancet 1951; 2 : 376.
9. Stites DP, Terr AI. Basic and Clinical Immunology.seventh edition. Prentice-Hall International Inc. 1991.
10. Roitt IM, Brostoff J, Male Dk. Immunology. Second edittion. Gower Medical Publishing. London. New York. 1989.
11. Kuby J. Immunology. W.H.Freeman and Company, New York. 1992.
12. Baumgarten CR, Nichol RC, Naclerio RM, Lichtenstein LM,Norman PS, Proud D. Plasma kallikrein during experimentally-induced allergic rhinitis:Role of kinin formation and contribution to TAME-esterase activity in nasal secretions. J Immunol 1986; 137 : 977-982

編號 DOH84-CM-047

中西醫治療骨折的動物實驗差異性評估—以家兔脛骨骨折後之固定方式探討

Treatment of Fracture with Traditional Chinese Medicine and West Medicine Method: Experimental study with Fixation

謝銘勳　郭功立　黃德修

台北醫學院醫學系，附設醫院骨科

摘　　要

文獻上無人作中醫療法之骨癒合程度探討 (Stage of Bone Healing) 本計畫可作一深入探討，並比較西醫療法之異同，不管臨床上或組織學上，本計畫要使中醫療法由經驗之學進入科學化及理論化之深入研究探討。預期完成科學化、系統化、理論化之中醫治療骨折之分析，包括：

(A) 中西醫醫療骨折處理方式上之異同分析（方式）

(B) 中西醫醫療骨折之效果分析，包括骨癒合時間長短快慢

(C) 骨癒合程度及影響因素

(D) 軟組織的變化（皮膚、肌肉、肌腱……等）

(E) 臨近關節之活動度及將來之僵硬程度

(F) 復健時間及肌肉萎縮程度

(G) 整體療效（包括醫生及病人之主客關評估，及傳統關念）

研究目的：「人爲骨折」於脛腓骨上三分之一處，再行中西醫骨折之固定方式探討。

方式：我們初步研究，Semi Rigid Fixation 狀況，先期包括中醫之「天津模式」以骨折徒手復位後之夾板，緩衝棉紙、橡皮圈固定，（不超過上下關節），以骨折部位之肌肉均衡力及外在之 Semi Rigid Fixation，西醫方式則以傳統之骨折部位之一關節上及關節下之石膏術復位固定方式作爲目標；每隻兔子之右腳用中醫「天津模式」夾板固定、左腳用西醫石膏固定。脛骨粗隆往下 2cm 處作鋸斷之骨折（橫切之人爲骨折），且於脛骨平台下 2cm 處之腓骨也作前述相同之「人爲骨折」。

以 NWZ 家兔分成 6 組，(n = 60) 每組各 10 隻，一組爲控制組（未骨折），餘五組「人爲骨折」後分別於第 2、4、6、8、10 星期，作動物犧牲並行上述之中西醫保守治療方式作對照實驗（石膏組→實驗組 B、夾板組→對照組 A）並作上述之三種研究方式：a) 組織切片形態學觀察 b)X—光片檢查，c) 臨床理學檢查之評估。

我們的發現是：使用「天津模式」之中醫方式也能得到很好的骨癒合之成效，（包括骨癒合的量及骨癒合時間相接近），但是必須在 intensive Care 下，才會有上述結果，因爲以此種方式可能更易造成骨折端軸心彎曲 (Anguletion, Rotation) 或縮短 (Shortening) 之情形，但是關節上下活動好，不會僵硬；且肌肉萎縮較少。

關鍵詞：中西醫治療骨折之差異性，骨折之癒合性與固定，傳統中醫治療骨折之科學化。

英文摘要：

Results of Treatment of Artificially fractured tibio - fibula Either Traditional Chinese Maneuvers or Modern Orthopaedic Methods.

Treatment of fracture with Chinese medicine includes manually close reduction and fixation with board, cloth, cotton...etc. In orthopaedics, we use plasters or surgery with metallic plates and screws as fixation methods. There have already been many references aimed at stages of bone healing treated with west medicine method. There are

only few or even no references about fracture treatment with Chinese medicine method. This arouse us to design such an experiment.

Before the experiment, the rabbits were carefully anesthetized. After shaving and scrubbing, an incision along the tibial crest was made. The tibia and fibula were artificially fractured with saws 2 cm below tibial tuberosity. The skin and surrounding soft tissues were then sutured back. We arbitrarily treated the right legs with the traditional Chinese maneuvers, and the left legs with the modern Orthopedic methods.

In the Chinese maneuvers, the fractures were reduced manually, and then stabilized with tongue depressors and elastic rubbers with the fixation not extending above the knee and below the ankle joint. In the Orthopedic methods, after close reduction the fractures were stabilized with plaster casts and the knee and anke joints were also involved in the fixation.

The experimented rabbits were divided into six groups, with each group having ten rabbits. The first group was the placebo (not fractured), and the rabbits of the other five groups were sacrificed in the 2nd, 4th, 6th, 8th and 10th week. By observing the (a) histological sections (b) x-ray and (c) clinical physical examination, we made comparison between the Chinese maneuvers and the orthopedic methods.

We found that the results of Chinese maneuvers are similar to those treated with Orthopodic methods, including the amount of callus formed and the intervals in which bone union required. In the Chinese maneuvers, angulation, rotation or shortening were apt to occur, so the similar results can be only obtained under intensive care (frequently adjusting the positions of the tongue depressors). The joint motions above and below the fracture were well preserved, and muscle atrophies were fewly observed in the Chinese maneuvers.

前言：

傳統中醫治療骨折的方式有悠久歷史傳統及良好的療效，一般是以徒手復位後以夾板、布條、棉紙固定，而西醫處理骨折之石膏術固定外，必要時以手術金屬鋼板或鋼釘固定。目前為止西醫方式處理在臨床上，X—光上，組織切片下之骨折癒合已有科學方法追蹤了解，但以中醫方式處理，上述過程，文獻上尚缺乏詳盡之了解或報告，故有以下之問題待研究及發展。

1. 中西醫處理骨折固定方式之異同？優缺點？
2. 中醫處理骨折後整了〝骨癒合過程〞之科學化了解，（臨床，X—光、組織切片…等）包括，癒合時間，癒合程度，西醫方式處理之 STAGE OF FRACTURE HEALING 是否可完全應用在中醫方式處理上？
3. 上述狀況及問題，不管中西醫文獻皆缺少探探討，為發揚傳統中醫，更應以動物實驗了解，中醫方式處理的癒合及臨床狀況，更使中醫科學化，不要使中醫醫療永遠停留在經驗之學。，不要使中醫醫療永遠停留在經驗之學。

- 打破〝中醫醫療骨折〞的經驗之學而已，要以科學化，理論化、系統化，來了解整個過程，發揚光大傳統醫學；打破中醫醫療之秘方保守觀念。
- 本計畫針對比較中西醫醫療骨折固定之異同：

中醫傳統方式（"天津模式"）……1.

西醫保守療法，石膏術固定……2.

上述二種方式以動物實驗（以紐西蘭家兔NWZ……）對照，實驗、控制（二組）（以人為骨折達成）。

- 比較上述二組中西醫處理骨折之臨床上，X—光上，組織切片上之異同，或癒合時間之異同。
- 由癒合時間之差異性推論產生差異之原因，是否為〝固定度〞之差異引起，固定度指〝骨折斷端〞之固定程度。
- 上述三組之軟組織（皮膚、肌肉……）及鄰近之關節之變化（僵硬度、活動度）之差異。
- 復健及恢復正常生活，或支撐時間之研究。

上述中醫傳統方式是〝木條、夾板、布條、棉紙固定方式，而中醫骨折治療方式：以〝天津模式〞為主流。

本計畫以此〝天津模式〞為固定方式作研究。

目前全中國大陸應用最廣：即〝天津醫院模式〞，（〝中西醫治療骨折〞，出版處：人民出版社）此方式有德國人的研究及德文翻譯，武漢大學、北京大學的出版，治療骨折的書，也以此〝天津模式〞為原版本（見附件）。本人於德國學骨科時之ESSEN UNIVERSITY 之骨科主任 K. F. SCHLEGEL，曾研究此種傳統骨折方式，並有中文翻成德文之版本，本人曾參與研究及翻譯（見附件）。但全大陸目前大部份以中西醫合併方式治療骨折，也即此〝天津模式〞運用於大陸或華人之骨折治療方式。簡言之，其固定方式，強調內在肌肉均衡，外在固定壓力平均，（相似於Sarmiento Brace及Hinge Cast Brace等之理論），於人體之固定壓力標準，（以夾板固定下之平均壓力）

上肢

上臂：26～36mmHg

下肢

下臂：34～44mmHg

大腿：38～48mmHg

小腿：46～60mmHg

但本實驗以NWZ兔子進行〝天津模式〞固定，以求取中醫醫療骨折固定之最佳方式及理論基礎，為〝中醫科學化〞盡力。

- 由動物實驗（以家兔）分二組完成中西醫治療骨折固定方式之差異及優缺點之評估。
- 由實驗欲知道中醫醫療骨折之整個過程之 STAGE OF FRACTURE HEALING，（和西醫治療之差別在那裡？）
- 了解中醫方式治療後；過程和結果之差異由
  （a）組織切片檢查。
  （b）X－光片檢查。
  （c）臨床理學檢查。

來分析、探討，比較差意異性……等。
預期可減少關節僵硬及周圍軟組織、肌肉、不易萎縮，即實驗組A（天津模式）→容易 Malunion 或 Delyunion 在 Intrusive Care 下應包括經常追蹤固定有無固定脫失或轉位…等，一旦有不合解剖學位置隨時要給予重新使用〝天津模式〞包紮，尤其骨折初期，才能得到與西醫結果相通，除上述重點外，我們建議在關節處骨折或適度粉碎性骨折下，效果可能不好。

材料與方法：

一、實驗步驟：人為骨折

實驗動物：NWZ紐西蘭成熟白兔n=60，分成六組平均體重2.2 Kg，其一組為控制組，其餘五組為實驗組全身麻醉，用量：Ketamin 1 mg/kg + sodium pentothal 10mg/kg；肌肉住射下，進行第2,4,6,8,10人為動物犧牲觀察。

人為骨折，右下肢為實驗組一行做中醫骨折固〝天津模式〞。左下肢為實驗組B一行傳統西醫石膏術徒手復位固定術治療，屬一關節上一關節下固定，其以棉布為內襯避免傷害皮膚。

〝天津模式〞—徒手復位後，以夾板、橡皮、棉紙固定，且局限於骨折上下端部位內之固定，且夾板取偶數固定(一般為4片或6片)，本研究因限於兔子下肢體較小，僅用4片夾板，使上下關節游離，不固定。

材料：實驗組B(西醫)左下肢，傳統用之石膏、棉花。
實驗組A(中醫)右下肢，〝天津模式〞用之木條、夾板、棉布(代替棉紙)、橡皮圈(代替布條)
控制組：觀察(未"人為骨折")

方法：觀察實驗組B(左下肢)，實驗組A(右下肢)；於人為骨折後行〝天津模式〞固定與傳統石膏復位固定方式之治療流程之觀察過程及結果之差異性，由
a)組織形態學檢查(光學顯微鏡學及偏光鏡顯微鏡學檢查)
b)X-光切片檢查：決定骨癒合程度
c)臨床理學檢查

資料分析探討…等(含基礎及臨床醫學之探討)

關於 a)之分析
上述動物之骨折癒合情形(包括錯誤癒合，遲延癒合及骨癒合結果與 Study) 組織切片 能學分析觀察實驗組 A、B 與控制組 C，(利用光學顯微鏡檢查及偏光顯微鏡檢查

關於b):由放射X-光片 (使用X-ray Schmitog 500 MA) 診斷骨癒合程度及骨癒合的各個 Stage (發炎、修補、再造)

關於c):檢查實驗組(A、B)與控制組 C 之骨折部位之骨癒合情形(活動性、支撐力)，軟組織(皮膚)及肌肉萎縮情形，上下關節之功能(僵硬度)，間接判斷靜止或動態疼痛度…等。

二、顯微放射攝影學

所有動物於犧牲當天，取下兩側脛骨和腓骨，進行顯微放射攝影術。

三、非脫鈣骨標本片的製作：
依標準傳統方法製作

表一

	實驗組	控制組
NWZ不同隻兔子	A、B	C

表二

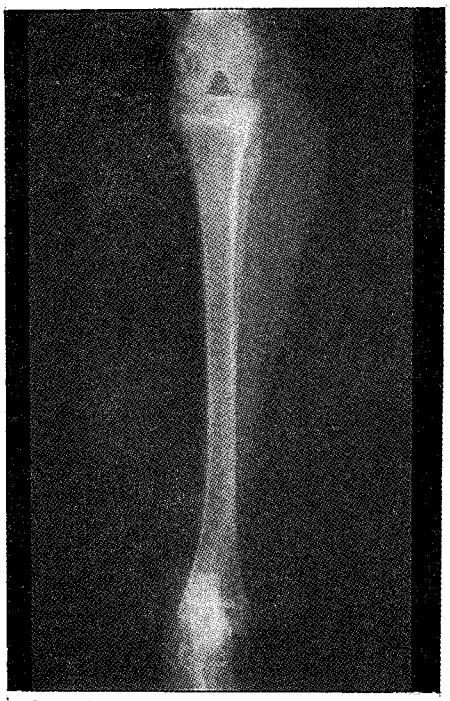
	實驗組 A	實驗組 B
NWZ同一隻兔子	右下肢脛腓骨	左下肢脛腓骨
	"天津模式"固定	石膏傳統固定

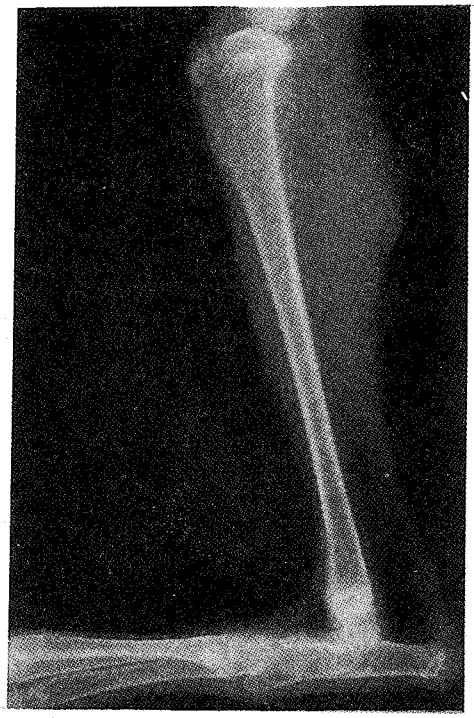
表三

組別	動物攜牲時間 動物數目N=60	第二週	第四週	第六週	第八週	第十週
實驗組 A、B	第一組	--				
	第二組		--			
	第三組			--		
	第四組				--	
	第五組					--
控制組 C	第六組	**	**	**	**	**

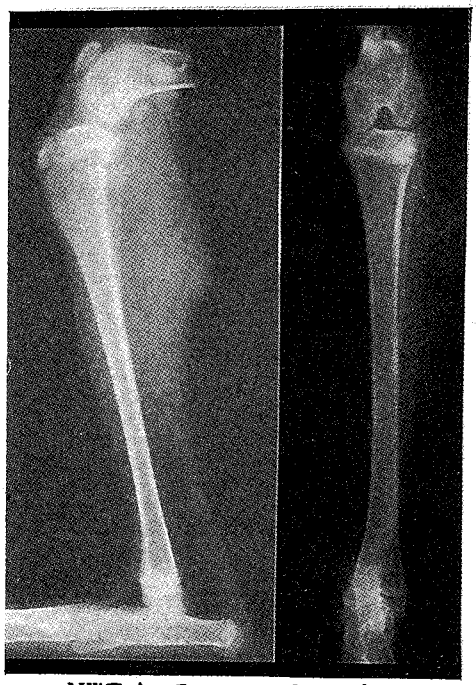
註：--處表動物已犧牲。觀察組(控制組)

註：**此處動物各犧牲二隻

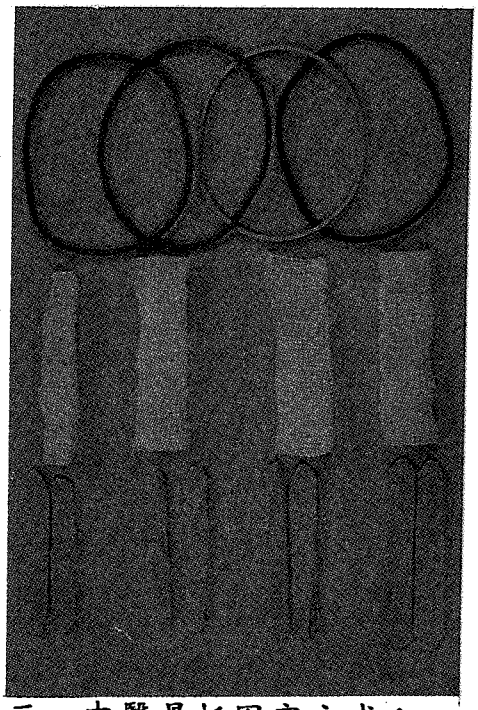




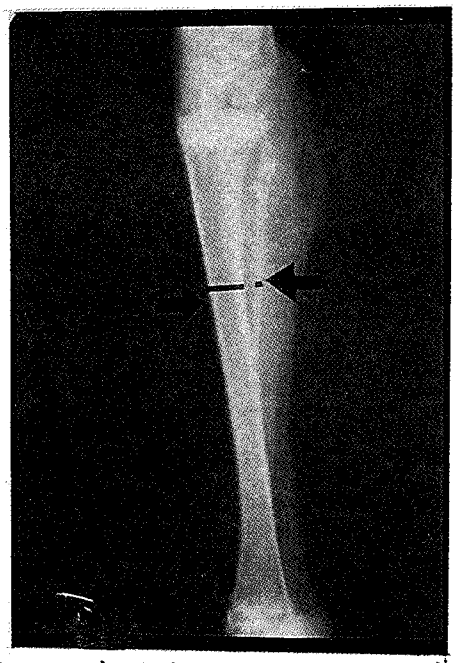
圖一A、B：NWZ兔子脛腓骨解剖、圖(一倍大小)



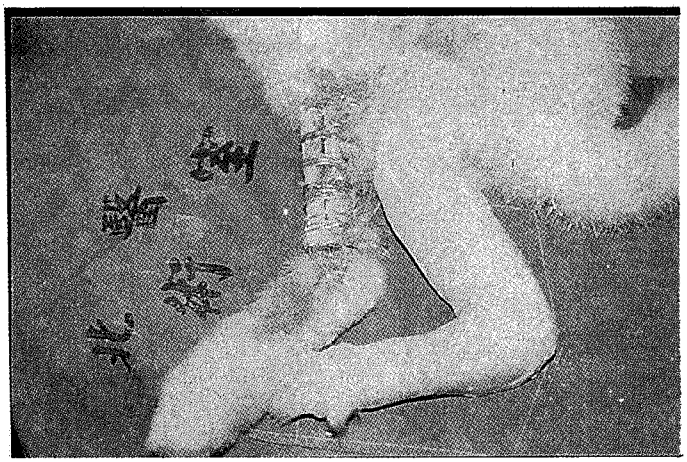
圖二、NWZ兔子脛腓骨正常下之 X-光 圖(AP Lat. View)



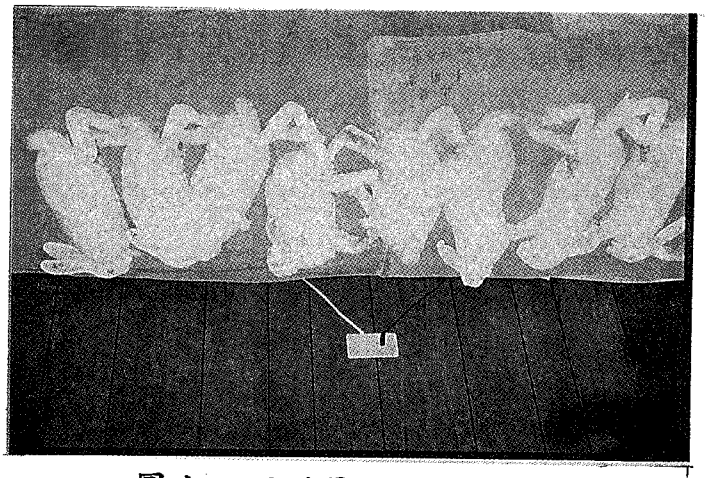
圖三、中醫骨折固定方式；最常見之〝天津模式〞使用之木板、夾板、棉布(紙)、橡皮圈(或布條)



圖四、實驗部位人為骨折示意圖，
脛腓骨上1/3處



圖五、脛腓骨人為骨折後，
於麻醉下行，實驗組A
（中醫）〝天津模式〞
固定及對照組（西醫）
石膏固定後之示意圖



圖六、脛腓骨人為骨折後、
本研究後、手術後、
麻醉後、恢復當中。

結果：

壹：組織形態學檢查，骨癒合情形

一)運用光學顯微鏡學及偏光顯微鏡學觀查

二)術後第二星期動物犧牲之觀察:

同隻動物之實驗組 A 與實驗組 B 比較，實驗組 B 之脛腓骨處皆有血凝塊存在及有少量肉芽組織增生，人為骨折後癒合過程(部份縮短發炎時間，進入修復時期加速)，在高倍率(400x)之光源鏡檢下，皮質骨處有破骨細胞及造骨細胞出現，此說明正在由壞死的皮質骨，正進行骨吸收和骨生長，即進行聯合骨痂形成；而實驗組 A 卻較慢，只有發現血球細胞和肉芽組織。上述二組皆有淋巴球增生，為慢性發炎現象，而另外實驗組 B 骨髓腔內有封閉骨痂(Sealing callus)處有少量纖狀骨的形成，而實驗組A 尚未見此現象。

三)術後第四星期動物犧牲之觀察：在實驗組 A 於骨折斷端旁之兩側皮質骨處，有新骨質形成，在實驗組 B 相對稱骨折處也有新的骨質生成，且骨量增加較多傾向。另外，在實驗組 B 的封閉骨痂處，

也有新生骨質；在螢光顯微鏡下，封閉骨痂處新形成大量骨質；於實驗組 A 之骨痂生成後較不明顯。

四)術後第六星期動物犧牲之觀察：實驗組 B 發現骨折處完整的聯合骨痂，且把兩側皮質骨處，繼續有新的骨質向中央區域生成，而進行聯合骨痂的形成，此時期在封閉骨痂處，亦有骨質形成，骨髓腔中有正常骨髓組成和細胞的存在。

五)術後第八星期動物犧牲之觀察：實驗組 A 之骨折處皮質骨間，繼續形成聯合骨痂，但尚未聯接兩側皮質骨；在實驗組 B 於骨折處，兩側皮質骨間聯合骨痂的形成已接近完成，但在聯合骨痂內，仍可具極少量之纖維組織及血管存在，同時由於新生骨的〝造型〞(Modeling) 和〝再造型〞(Remodeling)的進行，橋形骨痂和錨定骨痂已消失，使得骨折處皮質骨表面很光滑。

六)術後第十星期動物犧牲之觀察：原來骨折處骨癒合較慢之實驗組A也變成和實驗組 B 一樣，經新生骨的〝造型〞及〝再造型〞的進行，進而骨癒合處表面慢慢光滑，消失了橋形骨痂和錨定骨痂。

七)總之實驗組 A 癒合稍慢，且錯誤癒合、遲延癒合比例稍高。

貳、顯微放射線X光觀察脛腓骨變化情形

一)術後第二星期動物犧牲之觀察：不管實驗組 B 或實驗組 A 在脛腓骨人為骨折處，同隻動物對比，在X-光上均未發現有任何變化發生。

二)術後第四星期動物犧牲之觀察：在實驗組 B 骨折復位處發現X-光片上，有聯合骨痂和錨定骨痂的形成，但在實驗組 A 同一部位，在X-光片上，並無或稍許呈現任何X-射線變化而已。

三)術後第六星期動物犧牲之觀察：在實驗組 B 骨折處，X-光片上可發現大量錨定骨痂和橋形骨痂及較多聯合骨痂形成，但實驗組 A 之骨折處，在X-光片上發現較少量錨定骨痂和極少量聯合骨痂形成。

四)術後第八星期動物犧牲之觀察：實驗組 B 於骨折復位處，在X-光片上可見聯合骨痂已經聯接兩斷端的皮質骨，另外尚可見錨定骨痂和橋形骨痂的形成，此時已進行骨修復的晚期，即正在進行新

生骨的〝造型〞(Modeling)並準備進入〝再造型〞(Remodeling)時期;而實驗組 A 於骨折復位處有大量聯合骨痂和錨定骨痂的形成，且聯合骨痂的形成未完全，即未將骨折復位處之皮質骨聯合的很好。

五)後第十星期動物犧牲之觀察：原來骨折癒合處骨癒合較慢之實驗組 A ，也變成與實驗組 B 一樣，X-光可見，經新生骨的骨修復晚期，並進入新生骨的〝造型〞及〝再造型〞時期。

六)總之，實驗組 A 骨癒合稍慢，但不會慢二星期，最後也會骨癒合，只是錯誤癒合，(轉位、變形…)比例稍高，尤見於未密集照顧固定之病例。

參、臨床理學(physical examination)檢查結果

一)實驗組 A 比實驗組 B 骨癒合完全時間稍慢，約二星期；但實驗組 A 〝天津模式〞固定密集照顧及完整者，骨癒合時間應無差別(約6-10週)。

二)整體言，實驗組 A 比實驗組 B 較易錯誤癒合，遲延癒合…等。

三)實驗組 B ，稍笨重、活動較不便，實驗組可能比較不會造成活動不便或疼痛。

四)拆除固定後，實驗組 A 之肌肉萎縮程度小，上下關節不會僵硬，反之對照組，用石膏固定，可預期較久復健恢復期。

討論 (Discassion)

1.〝天津模式〞之緩充物（棉布），及多重夾板，多重橡皮(或固定布條)加上肌肉均衡方式來固定，可達到骨折之癒合，如同西醫包石膏之效果

2. Intensive care 加護觀察，隨時調整固定，避免失去解剖學位置（初期骨折，尤須注意）

3.只適用於單純骨折，粉碎性及開放性骨折盡量避免使用。

4.關節部位若無法復位，〝天津模式〞固定可能有困難，不採行。

5.於西醫骨折之治療原則，即需〝解剖學〞1)復位 2)緊密固定(Rigid-Fixation) 3)運動復健(Rehabilization)，而中醫治療也

有其特色，在傳統悠久歷史淵源下，其固定方式目前流行海內外最廣者為〝天津模式〞治療；今就此模式之固定模式與西醫骨折癒合傳統徒手復位石膏固定模式之差異相關性，探討，以西方科學化、理論化做西醫原理原則來分析實證〝天津模式〞的優缺點，中西醫治療骨折固定之差異性比較，本計畫之研究目的包括如下

(A)中西醫醫療骨折處理方式上之異同分析固定（方式）

(B)中西醫醫療骨折固定之效果分析，包括骨癒合時間長短快慢

(C)骨癒合程度及影響因素

(D)軟組織的變化（皮膚、肌肉、肌腱…等）

(E)臨近關節之活動度及將來之僵硬程度

(F)復健時間及肌肉萎縮程度

(G)整體療效（包括醫生及病人之主客關關評估，及傳統關念）

西醫之徒手復位石膏固定術，已有科學化根基，當作實驗組 B ，而〝天津模式〞當作實驗組 A ，且於同一動物(兔子)之脛腓骨人為骨折後，比較探討，以有理論及科學化之根基，實驗組 B 作為實驗組 A 之對照。骨折癒合的過程，正常情況下可分為三個主要時期：1)發炎時期 2)修復時期 3)再造型時期〔8〕。發炎時期，可見出血、血凝塊、淋巴球增加和肉芽組織的依序出現。修復時期，則可見大量肉芽組織、織狀骨(woven bone)和板狀骨(lamellar bone)依次出現〔9-11〕。在修復時期的骨組織形成過程中，又可依位置的不同而有下列四種骨痂的形成：1)橋形骨痂(bridging callus)， 2)錨定骨痂(anchoring callus)，3)聯合骨痂(uniting callus)，和封閉骨痂(sealing callus)〔12〕。再造型時期，為骨折癒合過程中最後的一個時期，此時期的作用主要是使經由修復時期在骨折處，所形成新的粗糙表面變的平滑，而恢復骨折前的同一外形〔8〕。

骨折癒合的修復時期，可見於脛腓骨骨折後第四、六、和八星期，並且在術後第八星期時，修復時期和再造型時期同時並存於實驗組 B 中。聯合骨痂和其他骨痂的形成於實驗組 B 和實驗組 A 中，有逐漸增加的趨勢。唯在實驗組 B 中骨痂形成的速度和量與實驗組 B 比較

有顯著增加的趨勢。其原因可能是就 Rigid Fixation 刺激大量的造骨細胞和破骨細胞形成並出現於骨折復位處附近，因而形成大量骨組織(骨痂)。腓腓骨人為骨折後的對照組，在X-光片上觀察修復過程的進行，只見於術後第四、六和八星期，而實驗組 B 進行的速度比實驗組 A 來得快。此點也可認定為是因為使用石膏術固定比〝天津模式〞之夾板固定當更緊密固定(Rigid Fixation)所致。
但在實驗組 A 〝天津模式〞固定較不易操作，且較"Semi-Rigid Fixation"，使產生肉芽組織增生及血塊減少或消失的趨勢較慢，相反的實驗組 B 更快，且生出破骨細胞及造骨細胞的形成，而實驗組會形成稍慢。

6.理學檢查證明〝天津模式〞操作，須密切而小心，初期骨折失去解剖學復位，馬上須夾板調整，以避免皮膚損傷，錯誤或遲延癒合及轉位、變形等。〝天津模式〞若能密切操作，也能良好之骨癒合成效，且可減少關節僵硬、肌肉萎縮，病人較舒服、減少復健期間、及早恢復活動功能。

結論與建議 (Conclusion and Further Study:)

- 〝天津模式〞之中醫骨折骨折方式，是傳統中醫留下來之治療精華，過去未能付予科學化的療程。結果，比較不為多數西醫接受。我們以西醫科學化的研究證明上述為Semi Rigid 且在 Intensive 的觀察照顧下，(初期隨時要調整骨折之徒手復位固定)在單純及非復雜性骨折下，也可使用上述〝天津模式〞治療，且能得到與西醫包石膏徒手復位下，一樣相當好的骨折癒合成功率。
- 此方法與西醫保守療法之 Savmiento Brace 此法固定是全在不超過骨折端之上下關節。及 Hinge Cast Brace 等之理論有相似處
- 但不完全相同，夾板間尚餘空隙，而 Brace 是整片的。
- 總之，此法與西醫之一關節上，一關節下之石膏固定方式，確實理論上不同；西醫之徒手復位後石膏外固定的原理不同。一關節上或下之固定可避免骨折位移，而此〝天津模式〞經本研究，可能是運用了〝內在肌肉均衡，外在固定壓力平均〞的優點及理論；

至於用多少壓力最恰當？有得進一步深入探討

- 於人體之固定壓力標準，（以夾板固定下之平均壓力）

上肢	上臂	26～36mmHg
	下臂	34～44mmHg
下肢	大腿	38～48mmHg
	小腿	46～60mmHg

- 可避免上下關節僵硬及骨折波及周圍肌肉萎縮減少。
- 造成錯誤癒合（縮短，轉位，角度彎曲）遲延癒合甚或不癒合的可能性更高，避免此惡果，密切追蹤，必要時要隨時調整，“天津模式”固定夾片及約束壓力

求證：須進一步人體實驗證明，中醫治療骨折固定之價值觀，只是起步，有待努力科學化解釋及運用。

全民健保實施，避免更大之醫療浪費；及正確治療病人，上述科學化研究之正負面研究成果，盼為中西醫學參考。另外與 Rigid fixation (鋼板固定或骨髓內釘固定)之比較，本研究群隨後下年度進行研究。

上述研究之正面效果，有待進一步改進天津模式深入西醫治療骨折之優缺點加以改善，與 Savimento brace 或 Hinge brace 同樣予以科學化化或取其優點，給予骨科學之發展奉獻，莫大助力，並使傳統中醫科學化。

1.Brighton CT. Principles of fracture healing. Instr course Lect 1984; XXXIII: 60--82.

2.Dehen E. Ambulatory treatment of the fracture tibia. Clin Orthop 1974; 105: 192.

3.Howell Ds, pita JC. Calcification of growth plate cartilage with special reference to studies on micropuncture fluids. Clin Orthop 1976; 118:208

4.Sarmiento a, Tatta LL, Tarr RR. The effects of function in fracture healing and stability. Instr course Lect 1984; XXXIII:83--106.

5.Terjesen T, Svenningsen S. Function promotes fracture healing. Acta Orthop Scand 1986; 57: 523.

6.Tajana G.F. Morandi M., Zembo M.M.: Osteogenesis according to the Ilizarov Technique in Man. Trans. 35th Ann. ORS, 14: 566, 1989(E).

7.Tucher H.: Management of Unstable Tibial Fractures Utilizing the method of Ilizarov. Forida Othopaedic Society Journal., 2 (2): 36-37, 1989(E).

8.Villa A., Paley D., Catagni M., Bell D., and Cattaneo R.: Modern Techniques in Limb Lengthening: Leighthening of the Forearm by the Ilizarov technique. Clin. Ortho. and Rel. Res., 250: 125-137, 1990(E)

9.Wolfson N., Hearn T.C., Thomason J.J. and Armstrong P.F: Modern Techniques in Limb Lengthening: Force and Stiffness Changes During Ilizarov Leg Lengthening. Clin. Ortho. and Rel. Res., 250: 58-60, 1990(E).

10.中西醫結合治病經驗匯編，商務印書館1977。

11.中西醫結合治療骨折，天津醫院1980。

12.朱士宗：中醫外科學，國立編譯館1980。

13.趙尙華：中醫外科心得集，中國醫藥出版社1981。

14.Cormack, D.H.:Ham's histology. p. 312-319, JB Lippincott Co., Philadelphia, USA, 1987.

15.Seevitt, S.: Healing of fractures in man. In Owen R, Goodfellow J, Bullough P(eds): Scientific Foundations of orthopaedics and Traumatology, p.258, William Heinemann Medical Book, London, England, 1980.

16.Sevitt, S.: Bone repair and fracture healing in man. Churchill Livingstone, Edinburgh, England, 1981.

17.Simmons, D.J.; Fracture healing. In Urist MR (ed): Fundamental and Clinical Bone Physiology. p.283, JB Lippincott Co., Philadelphia, USA, 1980.

18.Weinmann, J.P. and Sicher, H.: Bone and Bones. CV Mosby Co., St. Louis, USA, p.285-312, 1950.

19.杜懷棠:中國當代名醫驗方一五官、骨傷科、立得出版社 1992.

20.晁恩祥:中醫臨床各科現代研究進展，旺文出版 1993.

21.中西醫結合治療骨與關結損傷，武漢醫學院第一附屬醫院 1993.

22.K.F. Schlegel, Ming-Shium Hsieh....
Die Konservative chinesische Frakturenbehandlung, Enke 1982.

23.Editional and Annotations, Functional bracing and femoral fracture, JBJS Vol 63-B No.1 1981

24.Bernards F... etc Cast-Bracing for Fracture of the Femoral Shaftr JBJS Vol. 63-B No.1 1981

25.Douglus W. A Biomechanical Study of Cast-Bracing treatment of Femoral Shaft Fracture. JBJS Vol. 63-B No.1 1981

26.Vert Mooney...etc. Cast Bracing Treatment for fracture of the Distal part of the Femur. JBJS Vol.52-A No.8 1970

27.王天美:萬靈膏對骨癒合療效的組織形態學研究, DOH-CCM-8012 行政院衛生署, 1980-11-01至1990-06-30.

28.Hsieh, Ming-Shium. K.F. Schlegel, Die Konservative chinesische Frakturenbehandlung, Enke 1982.

編號 DOH84-CM-048

濕熱濕痰方劑對人類精子活動力的體外試驗評估

陳榮洲

中國醫藥學院　中醫學系

摘　　要

精子的品質是決定男性生殖機能最重要的因素，本研究爲了探討濕熱濕痰方劑對人類精子活動力的影響，選擇49例有效標本作統計分析。每例都先用美國漢米爾頓電腦自動分析儀(HTM-2030)分析其數目及活動力，並且以國際衛生組織(WHO)的標準，將精子數目爲每西西濃度在兩千萬以上，活動力在50％以上的精液歸爲「正常組」；而數目雖達兩千萬，但活動力小於50％者，歸爲「異常組」。在49例標本中，30例爲「異常組」，19例爲「正常組」。兩組精液分加中藥組、僅加Ham's F-10 solution之對照組。以活動力指數和前進活動力爲評估模式，觀察六君子湯、蒼莎導痰湯和二妙散，在1mg/ml、0.1mg/ml, 0.01mg/ml時對精子的影響。

研究的結果顯示，在實驗組的三種方劑中無論在60分鐘或120分鐘對「異常組」的「活動力」和「前進活動力」都有良好的刺激作用達到統計意義。在「正常組」中，60分鐘時，三種濕熱濕痰方劑除蒼莎導痰湯，1mg/ml外，刺激作用普遍不明顯，120分鐘時三種方劑在各濃度對精子活動力都有刺激作用達到統計意義。

前　言

凡夫妻有正常性生活，沒有避孕，在特定的期間(通常是指一年)，而仍然沒有懷孕者，稱為不孕症(1)。分兩種：一為原發性不孕症：指從未懷過孕而不孕者，千金要方稱：「全不產」(2)：一為繼發性不孕症：指曾有孕育，而後一年以上未再孕育者。千金要方稱：「斷緒」(3)。不孕在配偶中的發生率約佔10%至15%(4)，懷孕的可能性隨著年齡的增長而遞減，據統計，不孕因素屬於男方的約占30-50%(5)。因此，男性不孕症也是計劃生育工作中不可分割的一部份。

中醫學認為，男性不孕症的病因有先天的生理缺陷和後天的病理改變，先天的生理缺陷正如唐朝太僕令王冰最早提出的「五不男」之說，即「 天、漏、犍、怯、變 」五種病症。此類病證大多數非藥物所能取效。後天的病理改變主要是指因臟腑功能失調引起的精液異常、陽萎、早泄、遺精等病證。 由於腎藏精，主生殖，為先天之本；脾生化氣血以充先天，為後天之本。因此近年來對於精蟲活動力的研究，多著眼於補脾、補腎的方劑。

然而，不孕症患者除了脾、腎虧損外，更有因恣食膏粱厚味、煙酒過度，濕痰內生、濕熱下注而導致不孕的，濕熱濕痰方劑是否亦如上述補益方劑，有提高精子活動力的作用，是本研究探討的主要方向

材料與方法

一、材料

一．方劑的購買 ：

本實驗所使用的藥材，皆購自臺中中國醫藥學院附設醫院中藥局，並經鑑定真偽後，才列入使用。

各方劑之藥材如下：

人參　本品係五加科(Araliaceae)植物人參
Panax ginseng C.A.Meyer之乾燥根。

白朮　本品係菊科 (Compositae) 植物白朮
Atracytlodes macrocephala Koide.的乾燥根莖。

茯苓　本品係多孔菌科 (Polyporaceae) 植物茯苓
Poria cocos (schw.)wolff 的乾燥菌核。

甘草　本品係豆科（Leguminosae）植物甘草
Glycyrrhiza uralensis Fisch.的乾燥根及地下根狀莖。
陳皮　本品係芸香科（Rutaceae)植物福橘
Citrus reticulata Blanco等的乾成熟果皮。
半夏　本品係天南星科（Araceae）植物半夏
Pinellia ternata (Thunb.) Breit.等的乾燥塊莖。
蒼朮　本品係菊科（Compositae）植物南蒼朮
Atractylodes lancea (Thunb.) DC.的乾燥地下根狀莖。
香附　本品係莎草科（Cyperaceae）植物莎草
Cyperus rotundus L.乾燥地下塊莖。
南星　本品係天南星科（Araceae）植物天南星。
Arisaema erubescens (Wall.) Schott.的乾燥球狀塊莖。
枳殼　本品係芸香科（Rutaceae)植物酸橙。
Citrus aurantium L.的乾燥近熟果實。
黃柏　本品係芸香科（Rutaceae）植物黃柏。
Phellodendron amurense Rupr.除去栓皮的乾燥樹皮。

二．濕熱濕痰方劑之出處、組成及劑量。

六君子湯（婦人大全良方）(6)
組成：陳皮1錢 半夏1錢 人參2錢 白朮2錢 茯苓2錢 炙甘草1錢
藥物比例： 1：1：2：2：2：1

蒼莎導痰湯（萬氏婦人科）(7)
組成：蒼朮2兩 香附2兩 陳皮1兩5錢 白茯苓1兩5錢 枳殼1兩
半夏1兩 南星1兩 炙甘草1兩
藥物比例： 4：4：3：3：2：2：2：2

二妙散（丹溪心法）(8)
組成：蒼朮1兩 黃柏1兩
藥物比例： 1：1
各方劑所用抽取之劑量，以藥物比例配製，以利藥材的濃縮。

三．實驗用濃縮藥材的抽取與儲存：

將購自中藥局的藥材切碎後，以注射用蒸餾水（sterile water for ingection,中國化學製藥）及甲醇（methyl alchol,ultra pure級，AlPS chem CO.，LTD）為溶媒（蒸餾水及甲醇比例為1：1），振盪、浸漬十天，收集濾液四次，合併濾液,以減壓濃縮（Rotary Vacuum Evaporator,Eyela.日本）方式，（恆溫水槽定溫40 ℃，Eva-

porator 轉速定在5 ）。濃縮至乾燥，稱重，得各方劑之初抽取物。粗抽取物保存在 -20℃冰箱，實驗配藥時方取出。

各方劑之粗粉重及粗抽取物重量如下：

	粗粉重 (g)	粗抽取物重(g)
六君子湯	165.59	41.23
蒼莎導痰湯	197・99	40.23
二　妙　散	73・69	14.99

四・方劑溶液的配製 ：

本研究所使用的方劑溶液濃度為 1mg/ml，0.1mg/ml，0.01mg/ml・所使用的溶劑為 Ham's F-10 溶液 (IX，liguid with L-glutamine, 320-1500 AJ，500ml，Gibco，NEWYORK) 。

分別以下列方式配製:以分析天平(Mettler AJ100,Switzerland)稱取粗抽取物50mg、5mg，分別以少量F-10Solution溶解後,倒於50ml容量瓶，再緩慢加 F-10 Solu-tion至刻度線，蓋上栓子，充分混合，得1mg/ml、0.1 mg/ml實驗用方劑溶液，再取1.0ml,0.1mg／ml的方劑溶液，置於10ml容量瓶，緩慢加入 F-10 So-lution 至刻度線，蓋上栓子，充分混合，得0・01ml/mg 的方劑溶液，將溶液分別放人 50ml conical tube (greiner，labortechnik) 及 15ml conical tube (Evergreen.scientific,USA),標明編號,置於4℃冰箱儲存。(Gibco公司建議之儲存溫度為2℃-8℃) 。

五・實驗方劑溶液酸鹼值：

根據PH值測定儀(THE JENCO MODEL 6071 MICRO COMPUTER BASED BENCH PH METER)所檢測，三種實驗方劑溶液PH值如下：

表一・ 三種濕熱濕痰方劑溶液的PH值

觀察項	1mg/ml	0.1mg/ml	0.01mg／ml
六 君子 湯	7.22	7.25	7.35
蒼莎導痰湯	7.29	7.28	7.31
二　妙　散	7.47	7.29	7.25

六．精液樣本分正常組與異常組：

本研究操作分兩組進行，兩組之劃分，依國際衛生組織(WHO)之標準(9)：活動力>50%，精子數目>20百萬/毫升的劃歸為「正常組」，而精子數目>20百萬/毫升，但活動力<50%劃歸為「異常組」，精液樣本的酸鹼值均介於7.2至7.8之間(10)。

1．異常組來源：本研究從民國八十二年二月至六月間，自台中中國醫藥學院附設醫院中醫內科男性不孕症特別門診，對於無器質性病變的不孕男性搜集標本，刪除死精子症(NECROZOOSPERMIA)，送達時間超過一小時、操作時儲存資料不全等，計得30例有效分析標本，納入本研究之「異常組」。

2．正常組來源：為同時段內，由中國醫藥學院學生及社會人士所提供，刪除送達時間超過一小時、操作時儲存資料不全者，計得19例有效分析標本，納入本研究之「正常組」。

3．精液的搜集方法：正常組與異常組皆囑咐禁慾4 天，以手淫方式搜集，標本置於搜集盒內，在一小時內送達實驗室，運送途中，搜集盒挾在腋下保溫(11)。

二、方 法

一．精蟲數目，活動力(motility,%),前進活動力(Progressive,%)的測定

本研究對每一標本精蟲數目、活動力、前進活動力的測定，是採用美國漢米爾頓HAMILTON THRON RESEARCH 電腦輔助精蟲分析儀，機型為HTM-2030，搭配使用的軟體為 HTM IVOS Motility Analyzer Version8.1b，配合分析儀使用之Counting Chamber為Makler Counting Chamber (Sefi-Medical Instrument，Haifa，Israel)。

1．首次計數(Initial Count)：

用Digitial Micropipette(R880/A，Volac)扱取已液化的精液10ul，放在Makler Counting Chamber 內，小心蓋上蓋子，勿使產生氣泡,再載入(loading)精液自動分析儀，啟動分析儀，進行精蟲數目計數、活動力、前進活動力等指標分析。

2．實驗組分析，正常組及異常組皆採以下的方式分析：

用Digital micropipette(R880/B，volac)扱取100ul已配製

好之中醫方劑溶液及已液化精液置入試管 (12X75mm，pyrex) 內，以震盪器(VOREX MIXER，Model VM-100，Speed定在2)充分混合後，放入恆溫水槽內，分別在60分鐘及120分鐘後以 Micropipette 扱取10ul混合液，放在 Makler Counting Chamber內，用精液自動分析儀進行分析。

二．評估指標—活動力指數(motility index,%)，前進活動力(progressive,%)

電腦輔助精蟲分析法精子活動速率的等級分類：

1．Rapid (V>25)：精子活動速率大於25microns/Sec,所占的百分比（%）

2．Medium(10<V<25)：精子活動速率介於10與25microns/Sec所占的百分比（%）。

3．Slow (V<10)：精子活動速率小於10microns/sec所占的百分比（%）

4．Static：不動的精子所占的百分比(%)

$$\text{Motility index} = \frac{100\ (\text{Rapid}) + 75\ (\text{medium}) + 50\ (\text{slow})}{100}$$

本研究所用「前進活動力」指標定義如下：(12)

Progressive Criteria:

1.STR>So (So標準值為80%)

2.VAP>MVV] (MVV標準值為25micro/Sec)

STR：STR=VSL/VAP (精蟲游動線性指標比值)

VSL：是Progressive Velocity縮寫，is the straight-line distance between the begining and the end of a track divided by the time elapsed.

VAP：是Path velocity縮寫，is defined as the smoothed average Position of the CB，which reduces the effect of lateral head displacement and givers an average cell path velocity.

CB：the cell center of brightness.

三．實驗步驟：

1．在初次計數(initial Count)前半小時，先打開漢米爾頓Hamilton

精液自動分析儀，使機器內溫器調節器開始運作(機器內部設定之溫度為36.5℃)，並將 Makler Counting Chamker 載入精液分析儀，使 Makler Counting Chamber之溫度在操作時接近36.5℃。

2．準備10支試管（12×75mm.pyrex）。標明方劑代號，濃度代號，對照組，未加湯藥組。

3．自冰箱取出已配製好之中醫方劑溶液六君子湯、蒼莎導痰湯、二妙散，加上對照組（Ham's F-10 solution），共計10管，放在試管架上備用。用 Digital micropipette 扱取100ul放入試管內(或50ul，視精液量而定）並放於37℃恆溫槽內。

4．將送達之精液標本，先記錄採集標本時間，繼以BTB test paper測試PH值，並記錄精液的量；觀察精液之黏稠度，液化的情形，並在 Video狀態下，觀察異常之精子。

5．以 micropipette 扱取10ul已液化精液，滴入 Makler Counting Chamber 內，載入分析儀內，啟動分析儀，選擇分析範圍(field)，Hamilton 公司之操作手冊建議選擇2個 field，本研究為使分析之數值更具客觀化，將field 定在3，隨機選擇3個分析範圍，分析儀記錄此三個範圍進行分析，並將分析結果之平均值展示在螢幕上，並可列印或儲存在硬碟內。

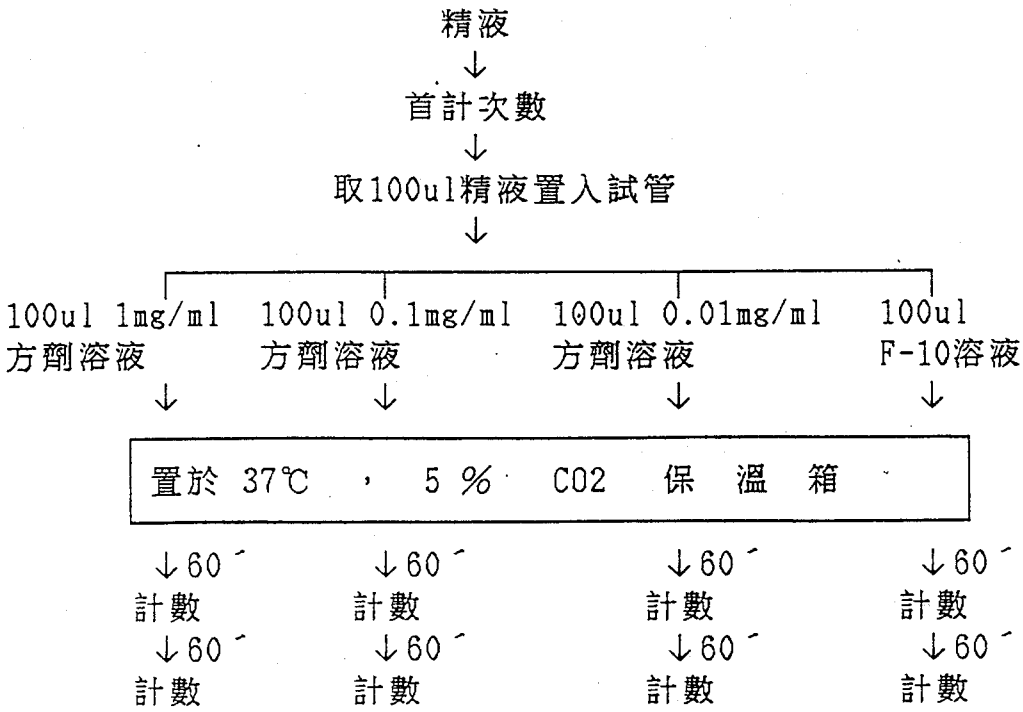
6．自恆溫水槽取出加了中藥方劑之試管，用micropipette扱取100ul(若精液量少於2ml，則取50ul)液化精液加入試管內，記錄時間，每隔二分鐘，加入另一方劑溶液，以震盪器混合，置於37℃，5% CO2保溫箱。

7．60分鐘後，將第一管取出，以震盪器充分混合，用micropipette扱取10ul混合液放入Makler Counting Chamber 內，載入分析儀，啟動分析儀後隨機選擇3個分析範圍(field)，按下分析鍵(F1功能鍵)，分析儀開始分析。將分析結果儲存在Hdata內，儲存時間僅需二、三秒，故分析儀有充裕時間在短時間內接受另一標本分析。

8．和第一管操作隔兩分鐘後，取第二支試管，震盪後用micropipette扱取10ul混合液放入Makler Counting Chamber 內，載入分析儀進行分析。以後陸續每隔二分鐘將試管內混合液扱取出作分析。

9．120分鐘後，重覆步驟7～8之操作，依序作完後，儲存至硬碟之Hdata內。

實驗流程如下：



四、統計分析：

本研究是以IBM相容軟體spss，採用paired - T test進行統計分析。

結　果

一.年 齡

正常組有19位，年齡由24歲到35歲，平均為28.58±3.02歲
異常組有30位，年齡由25歲到38歲，平均為30.93±3.33歲

表二． 正常組、異常組患者年齡均值

觀察項	N	Minimum	Maximum	Mean	Std.Dev.
正常組	19	24	35	28.58	3.02
異常組	30	25	38	30.93	3.33

二.精子數目

正常組精子數目由58.20到238.80百萬/毫升，平均為139.92±54.90百萬/毫升；異常組精子數目由20.90到212.70百萬/毫升，平均為78.29±42.72百萬/毫升。

表三· 正常組、異常組患者精子數目（百萬/毫升）均值

觀察項	N	Minimum	Maximum	Mean	Std.Dev.
正常組	19	58.20	238.80	139.92	54.90
異常組	30	20.90	212.70	78.29	42.72

三、對活動力的刺激效應

甲·異常組：

60分鐘時，三種濕熱濕痰方劑之活動力指數均值見下表，和對照組比較，三種方劑對精子活動力都有明顯的刺激作用，具統計意義。

表四· 60分鐘時，三種濕熱濕痰方劑和對照組及首次計數之活動力指數（%）均值

觀察項(mg／ml)		N	Minimum	Maximum	Mean	Std.Dev
六君子湯	(1)	30	0.00	44.63	16.29***	10.35
	(0.1)	30	0.00	35.85	14.68***	9.46
	(0.01)	30	1.80	42.58	16.54***	10.16
蒼莎導痰湯	(1)	30	4.50	38.78	16.85***	8.89
	(0.1)	30	0.00	38.20	15.75***	10.95
	(0.01)	30	0.00	41.03	16.23***	10.38
二妙散	(1)	30	3.30	50.00	18.90***	12.22
	(0.1)	30	0.00	50.05	18.35***	11.16
	(0.01)	30	4.20	47.73	17.25***	11.38
F-10對照組		30	0.00	33.88	9.45	8.19
首次計數		30	3.00	38.40	17.96	10.20

註:1.與F-10對照組比較：*p<0.05，**P<0.01，***P≦0.001
2.統計方式為paired t-test。

在異常組120分鐘時，三種濕熱濕痰方劑普遍比對照組刺激作用大。

表五．120分鐘時,三種濕熱濕痰方劑和對照組、及首次計數之活動力指數（%）均值

觀察項(mg／ml)		N	Minimum	Maximum	Mean	Std.Dev
六君子湯	(1)	30	0.00	38.00	16.82***	10.48
	(0.1)	30	0.00	37.50	14.59***	9.91
	(0.01)	30	0.00	40.15	14.69***	10.45
蒼莎導痰湯	(1)	30	0.00	35.00	15.74***	8.99
	(0.1)	30	0.00	55.60	15.75***	13.40
	(0.01)	30	0.00	42.88	16.04***	11.27
二妙散	(1)	30	0.00	29.95	12.55***	8.13
	(0.1)	30	0.00	48.00	16.77***	12.24
	(0.01)	30	0.00	42.53	14.92***	11.05
F-10對照組		30	0.00	25.90	6.54	7.57
首次計數		30	3.00	38.40	17.96	10.20

註:1.與F-10對照組比較：*p<0.05，**P<0.01，***P<0.001
2.統計方式為paired t-test。

乙．正常組：

在正常組60分鐘時,三種濕熱濕痰方劑之活動力指數均值如下表，和對照組比較,以蒼莎導痰湯(1mg/ml) 46.70±14.94最好。

表六． 60分鐘時，三種濕熱濕痰方劑和對照組及首次計數之活動力指數（%）均值

觀察項(mg／ml)		N	Minimum	Maximum	Mean	Std.Dev
六君子湯	(1)	19	16.35	71.75	43.76	13.86
	(0.1)	19	19.95	66.53	39.52	12.70
	(0.01)	19	16.73	60.25	40.24	13.40
蒼莎導痰湯	(1)	19	12.78	77.00	46.70	14.94
	(0.1)	19	16.98	66.50	45.14	11.49
	(0.01)	19	23.10	62.05	41.34	11.38

二妙散	(1)	19	14.75	54.48	38.93	11.66
	(0.1)	19	21.75	61.55	43.45	12.10
	(0.01)	19	11.75	66.83	41.74	14.29
F-10對照組		19	20.75	65.90	36.26	13.36
首次計數		19	43.68	70.00	59.50	7.62

註:1.與F-10對照組比較：*p<0.05
2.統計方式為paired t-test。

在正常組120分鐘時，三種濕熱濕痰方劑,對精子活動力均有刺激作用。

表七· 正常組120分鐘時，三種方劑和對照組及首次計數之活動力指數（%）均值

觀察項(mg／ml)		N	Minimum	Maximum	Mean	Std.Dev
六君子湯	(1)	19	18.80	61.50	39.85***	11.92
	(0.1)	19	16.45	57.50	32.72**	12.29
	(0.01)	19	16.80	74.15	33.96**	16.59
蒼莎導痰湯	(1)	19	10.28	61.75	40.75***	13.04
	(0.1)	19	25.38	56.25	38.56***	9.73
	(0.01)	19	12.75	65.00	34.39**	15.95
二妙散	(1)	19	15.75	58.63	33.72**	11.54
	(0.1)	19	13.65	53.95	32.89***	10.73
	(0.01)	19	13.00	58.93	33.24***	13.16
F-10對照組		19	6.90	42.20	21.23	9.26
首次計數		19	43.68	70.00	59.50	7.62

註:1.與F-10對照組比較：*p<0.05，**P<0.01，***P≦0.001
2.統計方式為paired T-test

四·對「前進活動力」的刺激效應：

甲.異常組:

在60分鐘時，三種濕熱濕痰方劑之「前進活動力」均值見下表，和對照組比較，都有明顯的刺激作用。

表八．60分鐘時，三種濕熱濕痰方劑和對照組及首次計數之前進活動力均值（%）

觀察項(mg／ml)		N	Minimum	Maximum	Mean	Std.Dev
六君子湯	(1)	30	0.00	31.1	10.44***	7.44
	(0.1)	30	0.00	25.3	10.16***	6.65
	(0.01)	30	0.00	29.9	10.77***	6.28
蒼莎導痰湯	(1)	30	0.00	23.9	10.22***	6.22
	(0.1)	30	0.00	38	10.83***	10.21
	(0.01)	30	0.00	31.4	11.15***	7.93
二妙散	(1)	30	0.00	50	14.10***	11.50
	(0.1)	30	0.00	38.5	13.58***	10.41
	(0.01)	30	0.00	38.8	10.9 ***	8.69
F-10對照組		30	0.00	19.4	4.07	4.31
首次計數		30	0.00	30	8.79	6.64

註：1.與F-10對照組比較：*p<0.05，**P<0.01，***P＜0.001
2.統計方式為paired T-test。

在異常組120分鐘時，三種濕熱濕痰方劑和對照組比較，都有明顯的刺激效果。

表九．120分鐘時，三種濕熱濕痰方劑和對照組及首次計數之前進活動力（%）均值

觀察項(mg／ml)		N	Minimum	Maximum	Mean	Std.Dev
六君子湯	(1)	30	0.00	33.00	11.68***	8.52
	(0.1)	30	0.00	22.20	8.37***	6.65
	(0.01)	30	0.00	29.20	9.03***	6.38
蒼莎導痰湯	(1)	30	0.00	25.00	9.98***	6.68
	(0.1)	30	0.00	55.60	11.51***	11.49
	(0.01)	30	0.00	29.00	9.97***	7.58
二妙散	(1)	30	0.00	27.30	8.20***	12.22
	(0.1)	30	0.00	32.00	10.58***	11.11
	(0.01)	30	0.00	29.00	9.32	11.38
F-10對照組		30	0.00	17.80	2.98	8.19
首次計數		30	0.00	30.00	8.79	10.20

註：1.與F-10對照組比較：*p<0.05，**P<0.01，***P＜0.001
2.統計方式為paired T-test。

乙．正常組：

60分鐘時正常組的前進活動力均值（%）如下，與對照組比較以蒼莎導痰湯(0.1mg/ml)、二妙散（0.1mg/ml）的效果較好。

表十．正常組60分鐘時，三種方劑和對照組及首次計數之前進活動力（%）均值

觀察項(mg／ml)		N	Minimum	Maximum	Mean	Std.Dev
六君子湯	(1)	19	11.90	42.90	27.95	9.64
	(0.1)	19	3.00	44.70	21.86	10.90
	(0.01)	19	4.10	46.00	27.03	12.21
蒼莎導痰湯	(1)	19	3.80	52.00	29.59	13.00
	(0.1)	19	12.90	48.20	29.37*	8.69
	(0.01)	19	12.50	54.80	26.31	9.35
二妙散	(1)	19	6.30	47.10	25.35	9.78
	(0.1)	19	13.70	47.50	29.49*	11.24
	(0.01)	19	5.00	52.20	29.46	12.00
F-10對照組		19	5.10	40.00	23.76	9.57
首次計數		19	12.60	44.20	32.41	8.92

註：1.與F-10對照組比較：*p<0.05，**P<0.01，***P＜0.001
2.統計方式為paired T-test。

在正常組120分鐘時，三種方劑之前進活動力均值如下表，和對照組比較，三種濕熱濕痰方劑對精子前進活動力都有刺激作用。

表十一．正常組120分鐘時，三種方劑和對照組及首次計數之前進活動力（%）均值

觀察項(mg／ml)		N	Minimum	Maximum	Mean	Std.Dev
六君子湯	(1)	19	10.90	45.50	26.08***	10.12
	(0.1)	19	6.80	50.00	22.80**	11.82
	(0.01)	19	9.40	54.80	23.04**	13.61
蒼莎導痰湯	(1)	19	6.80	42.00	26.86***	10.10
	(0.1)	19	10.20	40.90	24.01***	8.62
	(0.01)	19	7.80	48.00	21.49**	12.41

二妙散	(1)	19	8.00	40.60	19.64*	9.17
	(0.1)	19	7.80	45.00	21.06**	11.48
	(0.01)	19	4.00	44.00	19.82**	11.96
F-10對照組		19	1.20	27.90	12.45	7.29
首次計數		19	12.60	44.20	32.41	8.92

註:1.與F-10對照組比較：*p＜0.05，**P＜0.01，***P＜0.001
2.統計方式為paired T-test。

討　論

年齡可影響性激素水平和附性腺的分泌功能，並從而影響精漿中某些物質的含量及精子活動力，但是男子一生中激素水平變化最大的時期是青春發育期和更年期後，因此本研究所選測的對象為育齡期男子。1990年 Check JH 說：差的精子游動力可能在某些狀況下，與精液比較有關，甚過精子(14)。精液的洗滌步驟可以增加精子密度和洗去精漿中影響精子活動力的物質，如白血球、細菌、碎片、抗精子抗體、免疫細胞和前列腺素等，經洗滌後，除可增加精子密度外，還可增加精子活動力(15)。為避免此步驟影響自然狀態下對精子活動力的判讀，所以本研究皆取新鮮未經洗滌的精液來操作。

傳統精子活動力指數是使用目測的方式將不同活動力的精子予以分級，再用加權平均的方式得出一能大略代表該精子樣本之活動力指數，但這種目測的方式受限於技術員的主觀判斷。電腦輔助精子分析法能客觀地提供豐富的資料，以多元的方式描述精子的活動。根據吳建志.張東曜.江漢聲之研究報告(16)，精子活動力指數和電腦輔助精子分析法所得諸參數中，代表精子直線、快速游動者呈有意義的相關，因此，為了從電腦分析儀所提供的豐富資料中，對精子活動力產生一單一具體的概念，本研究合併兩者的特色，發展出一「電腦輔助精子分析法—精子活動力指數」。此種評估方式所得的「活動力指數」相較於傳統「活動力」的評估模式，在統計上具有一致性。

PH值可能影響精子活動力，然而本研究所使用的方劑溶液PH值，皆在精液正常PH值範圍內(17)。對精子活動力影響不大。

男性不孕，其病因病機複雜，歷代醫家對此病的治療累積了非常寶貴的經 驗，從大量的文獻資料來看,大多從「肝腎」、從「補」論治，然而臨床上，許多患者以補腎為主治療，效果不佳，若遵循辨

證論治的原則，結合實驗室檢查，從「濕熱」、「濕痰」論治取得一定的療效，究其原因，男性不孕者中，或過食膏粱厚味，煙酒無度，或過服溫腎壯陽之品，或素體濕盛、或脾失健運，則水穀精微不能輸布全身，反聚而為濕、積而成痰，使痰濕內生，阻遏氣機，擾亂精室，精液異常而導致不孕。陳士鐸云：「痰多者濕多也，濕多則精不純」；若痰濕內蘊日久，又可鬱而化熱，濕熱下注於腎，精室被擾，精液異常而不孕。張景岳云：「水穀之海，本賴先天為之主，而精血之海，又必賴後天為之資。」所以，只有脾胃健運，腎精才能充實，補腎方易生效。又脾胃為氣機升降之樞紐，脾胃健運，則肝氣疏泄條達。若脾失健運、痰濕久困，必損及腎陽，熏蒸肝膽，影響肝之疏泄。所以，調理脾胃對治療男性不孕症非常重要。

男性不孕症患者在目前臨床上較為多見的是屬生殖系感染所致的精液異常症，由此引起的不孕稱為感染性男性不孕．生殖系炎症有前列腺炎、睾丸炎、附睾炎、精囊炎、輸精管炎。其中尤以慢性前列腺炎為多見，在不孕及性功能障礙患者中占60%以上(18)。現代醫學經過大量研究證實，前列腺發炎時前列腺液發生一系列的病理改變，直接影響了精子的發生、成熟、排放直至獲能等全部過程，造成男性不孕。同時，由於細菌毒素等直接刺激前列腺內神經組織，干擾睾丸功能以及前列腺組織長期、慢性、反覆充血腫脹，表現出尿頻、餘瀝不盡、少腹及會陰脹痛，甚則小便灼熱、尿道口滴白，更甚則見血精、膿球，此即中醫所謂的「濕痰」、「濕熱」。

不孕症基礎研究應遵循來源於臨床，又服務於臨床的客觀規律，臨床上長期應用中藥治療不孕症的經驗，為該項研究奠定了可靠的基礎，重視整理這些寶貴的經驗，用以指導不孕症的基礎研究，可減少盲目性，提高成功率，從而促進不孕症研究的深入進行及臨床治療的發展。本研究基於朱丹溪「百病多有兼痰」的觀點，選取六君子湯、蒼莎導痰湯及二妙散來作評估，六君子湯出自婦人良方大全，為治療脾虛生痰的方劑，能健脾燥濕化痰(19)；蒼莎導痰湯出自萬氏婦人科(20)，治療「肥盛婦人，稟受甚厚，及恣於酒食之人，經水不調，不能成胎，謂之軀脂滿溢，閉塞子宮。」能燥濕健脾，行氣消痰(21)；二妙散出自丹溪心法(22)，治療筋骨疼痛因濕熱者，能健脾清熱燥濕(23)。

研究的結果顯示，在實驗組的三種方劑中無論在60分鐘或120分鐘，對「異常組」的「活動力」和「前進活動力」都有良好的刺激作用達到統計意義。在「正常組」中 60 分鐘時，三種濕熱濕痰方劑除蒼莎導痰湯(1mg/ml)，刺激作用普遍不明顯，120分鐘時三種方劑在各濃

度對精子活動力都有刺激作用達到統計意義。1990年江漢聲等人(24)，以活動力指數為評估模式，觀察正常精子在5mg/ml方劑溶液下的活動力變化，結果認為六君子湯對正常精子活動力無刺激作用，與本實驗120分鐘的結果不符合，可能是因為濃度差異以及江漢聲學者所評估的為30分鐘、60分鐘和90分鐘活動力指數總和的關係。

辨證與辨病是中西醫認識疾病的兩種不同方法，也是各自治療疾病的依據，證病結合、整體治療與局部治療相結合是不孕症治療中提高妊娠率的重要途徑，在本研究中，濕熱濕痰方劑在人體外對精子活動力及前進活動力，與F-10對照組比較都有明顯的刺激作用，意味著六君子湯、蒼莎導痰湯和二妙散適用於不孕症患者口服治療，至於其是否可應用於體外培養液作為精子活動刺激劑，有待進一步研究。

結論及建議

近年來對男性不孕症的研究，多著重於「補脾」、「補腎」的方劑，本研究則從濕熱濕痰的觀點，觀察六君子湯、蒼莎導痰湯和二妙散對人體外精子活動力的影響，結果發現三種方劑在60分鐘和120分鐘對「異常組」的精子活動力有刺激效果，對「正常組」而言，在60分鐘時，僅蒼莎導痰湯(1mg/ml)、二妙有刺激效果，120分鐘時三種方劑對精子活動力都有刺激作用，具有統計上的意義。

影響精子活動力的機轉有很多因素，六君子湯、蒼莎導痰湯及二妙散究竟影響何種機轉仍不清楚，有待後續的研究。

本研究計畫經費承蒙衛生署的補助得以順利完成，謹致十二萬分謝意。

參考資料

1 宋永魁總校閱，不孕症治療指南，藝軒圖書出版社，臺北，P.2，1989。
2 孫思邈，備急千金要方，國立中國醫藥研究所出版，臺北，P.17，

1980。
3 孫思邈，備急千金要方，國立中國醫藥研究所出版，臺北,P.17，1980。
4 佟慕光主編，不孕與不育，上海科學技術出版社，上海，P.345，1984。
5 徐福松編著，實用中醫泌尿生殖病學，千華出版公司,臺北,P.304，1989。
6 陳自明，婦人良方大全，瘡瘍門，文光圖書公司出版，臺北,P.41，1984。
7 吳塤村新編，萬氏婦人科，世一書局，臺南，P.10，1986。
8 王肯堂,醫統正脈全書,丹溪心法,新文豐出版公司,P.8845，1975。
9 Sharon BJ，Raphael j. The basic knfertility investigation，Fertil Steril 4：602，1991。
10 陳偉寶等，精液的檢查與分析，當代醫學雜誌,12：2,P104,1985。
11 陳偉寶等，精液的檢查與分析，當代醫學雜誌,12：2,P104,1985。
12 HTM IVOS operations manual version 8.0，Hamilton - Thron Research，P.36-37，1992。
13 HTM IVOS operations manual version 8.0，Hamilton - Thron Research，P.38 ，1992。
14 Check J.H，A.bollendorf.Improved motility of retrograde ejaculates by adding donor seminal plasma ，Archives of Andrology，25(1):41-3,1990。
15 江峰等，體外精子的洗滌、上游處理技術應用於丈夫精液人工授精，生殖與避孕雜誌，1：76，1992。
16 吳建志等，以不同方法測量精蟲活動力之比較，中華泌尿醫誌,3：3，P864，1992。
17 陳偉寶等，精液的檢查與分析,當代醫學雜誌,12：2,P104,1985。
18 馬德峰，慢性前列腺炎對男性不育及性功能障礙的影響及治療，吉林中醫藥，5：16，1991。
19 中醫大辭典編輯委員會編，實用中醫辭典，知音出版社，臺北，P.86，1992。
20 吳塤村新編，萬氏婦人科，世一書局，臺南，P.22，1986。
21 冷方南主編,中醫男科臨床治療學,知音出版社,臺北,P215,1992。
22 王肯堂,醫統正脈全書,丹溪心法,新文豐出版公司,P.8845,1975。
23 中醫大辭典編輯委員會編,實用中醫辭典,知音出版社,臺北,P4，1992。
24 江漢聲等，中藥對人類精蟲活動力的影響一體外實驗的效果評估，中華泌尿醫誌，1：1，P24-32，1990。

In Vitro Study of Shy Reh Shy Tran Prescriptions on the Human Spern Motility

Jung - Chou Chen

The quality of semen is the most important factors in male fertility . In order to prove the effect of Shy Ren Shy Tran prscriptions on the human sperm motility , we analixed forty nine cases of semen . Each semen is checked its concentration and motility computerixed semen analizer,HTM-2030.

We use the criterias of WHO which defined normal group with sperm number beyond 20 million/ml and the motility above 50%. The abnormal group was with sperm number beyond 20 million/ml ,but the motility lower than 50% . We selected nineteen normal and thirty abnormal cases . Each semen divided two groups ,one is the study group and anothor is the contrpl group.The effect on the sperm motility was evaluated with motility index and progressive. The prescriptions are Luh Jiun Tzyy Tang , Tssaag Sha Dao Tran Tang and Ell Miaw Saan.The concentrations of prescriptions are 1 mg/ml , 0.1 mg/ml and 0.01 mg/ml .

The result of Shy Reh Shy Tran prescriptions on the human sperm motility . (1) Abnormal group : Three kinds of chinese mefical prescriptions could enhance the sperm motility and progressive in vitro at both 60 minutes and 120 minutes with statistical signficance, (2) normal group : Tsaag Sha Dao Tarn Tarn (1mg/ml) and Ell Miaw Saan (0.1mg/ml) had better stimulating response on the human sperm motility at 60minutes,and all study groups had stimulating response at 120 minutes.

編號 DOH84-CM-049

活血化瘀藥對於高血壓患者治療機轉之評估（Ⅳ）

The Therapeutic Mechanism of Anticoagulant Herb on Hypertensives

張瑞璋　邱慧芬　賴文德

高雄醫學院

摘　　要

本研究之目的，係針對原發性高血壓患者，採取中醫之治療方式，或再配合活血化瘀理論的應用，以比較兩者在治療上之效果。

研究中，高血壓患者共150例，分A、B、C三組進行治療，A組共五十例，使用鉤藤散治療，B組共五十例，使用鉤藤散加丹參治療；C組共五十例，使用鉤藤散加三七治療，三組均給藥四週後，再作治療前後之療效比較。

結果顯示：三組病人在主觀之症狀上包括頭暈，頸項強強痛等，均有顯著改善；在血壓變化方面，三組均呈現降壓效果($P<0.05$)；但以B組（鉤藤散加丹參）及C組（鉤藤散加川七）的降壓效果較A組（鉤藤散）爲佳($P<0.05$)，顯示在高血壓之臨症治療時，若能配合活血化瘀療法，臨床之應有一定之價值。

本研究亦測定A、B、C三組之病人血小板凝集功能之差異，取病人血清收集PRP和PPP測定血小板之凝集反應後之透光度變化，發現使用鉤藤散再加活血化瘀藥（丹參）之B組及加活血化瘀藥（三七）之C組病

人，測其血小板凝集功能與Control和A組之病人比較，有相當之改變情形。

在大白鼠的動物心臟血管試驗中，自股靜脈注入劑量爲(0.35g/kg)之三七，丹參及鉤藤散，分爲單藥單劑量及合併用藥品(A)鉤藤散加三七(0.06 g/kg及0.35 g/kg)與(B)鉤藤散加丹參(0.35 g/kg)，因不同合併用藥而觀察藥效之差異，我們發現在單一用藥方面，三七低劑量時對血壓與心跳並無影響，而三七高劑量時和丹參及鉤藤散均具降壓與降低心跳之功能，而以丹參作用較爲明顯且呈二相式降壓效果，在合併用藥上鉤藤散經由加入活血化瘀藥之三七或丹參(0.06 g/kg及0.35 g/kg)後發現原來較不具心血管作用之三七(0.06 g/kg)與鉤藤散(0.35 g/kg)併用後呈現穩定之synergism的效果。

另外，丹參加鉤藤散亦呈現相加乘之效果，但不如鉤藤散加三七之相乘作用明顯而穩定，至於三七與丹參在血壓與心跳上之眞正作用機轉爲何，則待再繼續以專一(specific) α或β-blocker等藥物進行深入的作用機轉探討。

ABSTRACT

The present study is focus on the pharmacological effect of anticoagulant Chinese herb on the treatment of essential hypertension. Patients were divided into three groups (A,B & C), all the groups received Gou-Terng-Saan (鉤藤散).

The group A (50 cases) adminstrated Gou-Terng-Saan only, the group B (50 cases) have Gou-Terng-Saan and anticoagulant herb-Danshen (丹參) and the group C (50 cases) patient received Gou-Terng-Saan and San-Chi ginseng (三七), the effect of different drugs combination in A,B & C groups were evaluated after four weeks treatment.

Our results showed that all A,B & C groups have significant improvement in hepertension symptom. Nevertheless, the group B and C have demostrated a more potent antihypertensive effect ($P < 0.05$) than group A (Table 2), a similiar result was observed in the platelet coagulation test. (Fig. 4 - 7)

In animal model study, we found the Gou-Terng-Saan and Dan-shen both possess decreaing blood pressure and bradycardia effect. By contrast, the single dose of IV San-Chi Ginseng has very little effect on blood pressure and heart rate but the addition of San-Chi Ginseng with Guo-Terng Saan have demostrated a significant synergistic effect on decreasing systemic blood pressure and heart rate. (Fig 2 & 3)

The effect of Danshen with Gou-Terng-Saan have shown a marked potent effect than each drug single dose administration. Whereas, the stability of Danshen in potentiating the blood pressure effect of Gou-Terng Saan was not as better as San-Chi ginseng.

Our study has indicated the addition of anticoagulant herb to the traditional antihypertensive therapy is promissing.

緒 言

高血壓或微循環不良之病人，在臨床上很容易造成心血管疾患之症候群與急性發作，目前患有此種疾患之病人為數衆多，最為易造成有威脅生命之處，目前亦是十大死亡原因之一。

據統計台灣地區 40 歲以上者高血壓之流行率為 18～25 %，如果未加妥善治療，會造成心臟、腎臟、腦部、眼睛等之併發症，引起狹心症、心肌梗塞、左心室肥大、腎臟衰竭、蛋白尿、尿毒症、腦中風、眼底血管出血等，這些疾病大都無法復原。由於許多患者正值盛壯有為之年，若罹患此等病症，對於個人、家庭或國家來說，均為一重大的損失。

中醫自內經以來歷代典籍，雖無「高血壓」一詞之記載，但就傳統中醫之治療模式以辨證論治而言，現代醫學上所述之高血壓，其症狀在古代醫籍中即有相當豐富之記載，諸如眩暈、頭痛、腦轉、項强、耳鳴、目赤.....等，這些症狀在傳統之治療模式中，將其歸納為肝風內動、肝陽上亢、肝腎陰虛、氣滯血瘀.....等項目之下。因此，若對於內經以來之傳統醫籍文獻作一檢視，可知中醫對高血壓之認識及治療，具有其本身之豐富理論與經驗。

本研究之目的，係針對原發性高血壓之患者，採取中醫之治療方式，投與處方鉤藤散；並配合活血化瘀之理論應用，投與處方鉤藤散加丹參或三七，以探討活血化瘀藥在高血壓疾患中之降壓效果並以大白鼠之動物實驗來研究藥物降壓之機轉，同時兼作活化瘀藥對血小板之凝集作用的探討以供臨床治療之參考，並藉此提出中醫藥治病之統計數據及機制，希望本研究對我國傳統醫學中高血壓治療機轉之學術研究，有所貢獻。

材料與方法

一. 研究對象：

選擇高雄市立中醫醫院門診中之高血壓患者，合乎下列條件者，作為治療與追蹤之對象：

(一) 曾經赴西醫醫院診療而確定無其他致病原因者，或因不明原因之原發性高血壓患者。
(二) 治療前經血液常規檢查，血液生化檢查和尿液常規檢查，均無異常現象者。
(三) 患者經第一次測量血壓以後，每天均測量血壓一次為期一星期，其間均呈高血壓狀態者。(收縮壓大於 160 mmHg 或舒張壓大於 90 mmHg)。

二. 使用之藥物：

本研究之患者使用之藥物，為「本事方」中記載之鉤藤散或鉤藤散外加丹參或三七。其中鉤藤散之藥物組成及製備方法如下：

鉤	藤 (Uncaris rhynchopgylla)	382 mg
茯	苓 (Pachyma hoelen)	382 mg
人	參 (Panax ginseng)	382 mg
半	夏 (Pinellia tenta)	382 mg
甘	花 (Chrysanthemi Flos)	382 mg
生	薑 (Zinglber officinale)	192 mg
防	風 (Ledebouriella seseloides)	382 mg
石	膏 (Fibrous gypsum)	760 mg
甘	草 (Glycyrrhiza uralensis)	192 mg
陳	皮 (Citrus sinensis)	382 mg

以上生藥製成浸膏 600 mg 加澱粉 400 mg 合為 1 公克

三. 分組與治療方法

(一) 本研究病人分 A 、B 、C 三組治療，A 組服用藥物為鉤藤散，劑量每天十六公克分四次服用； B 組服用鉤藤散加活血化瘀藥物丹參，劑量為每天鉤藤散十六公克加丹參四公克， 分四次服用。 C 組服用鉤藤散加活血化瘀藥、三七，劑量為每天鉤藤散十六公克加三七四公克，分四次服用.

(二) A 組與 B 組與 C 組之病人採男性與女性分開，隨機配對，當一人為A組時下一位則為 B 組，另再一位為 C 組， 以次循環類推.

(三) 依中醫望聞問切四診、詳細詢問病史及症狀.

(四) 治療期間患者之作息及飲食習慣不變.

(五) 治療前除測量血壓外， 並作尿液常規檢查和血液生化檢查和一般生化檢查 (肝功能、腎功能、飯前血糖、 尿酸、膽固醇、三酸甘油酯、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白、 極低密度脂蛋白等檢驗) .

(六) 血壓之測量： 患者每次測量血壓前不得有抽煙與飲酒行為且均需休息三十分鐘，測血壓時採坐姿， 測其左臂肱功脈血壓三次，每次間隔休息五分鐘，取三次血壓之平均值.

四. 抗血小板凝集作用之測定：

以活血化瘀藥抑制經由 ADP 或 collagen 誘導之血小板凝集，取出之血液 9.0 me 加入 10 mm, EDTA 作抗凝劑，於離心機 1500 rpm 轉速離心 15 分鐘，取其上清液 platelet-rich plasma (PRP)，再拿其去掉上清液之血漿以 3000 rpm 轉速離心 15 分鐘，以 Tyrode's solution 清洗小板的小顆粒以去掉 EDTA.

利用混濁測定方法並且計算出凝集作用百分率，以血小板之懸浮物作爲吸光度 (A) 0%，血小板游離於 Tyrode's solution 中的吸光度 (A) 爲100%，利用下列公式：

$$\text{Aggregation}(\%) = \frac{\text{initial A-final A after aggregation}}{\text{initial A-A Of supending medium}}$$

五. 動物模式心臟血管作用

大白鼠心跳，血壓之試驗

Wistar 的大白鼠先以 Pentobarbital sodium (Nembutal) 40 mg/kg 施行麻醉，然後進行氣管切開術，並插管使得實驗過程中動物能保持順暢呼吸，亦有利於急救.

(a) 股靜脈給藥：

左股靜脈 (femoral vein) 以內逕 0.58 mm，外逕 0.97 mm 的 polyethylene tube (PE 50) 進行靜脈插管，以利實驗中藥物的投予，使用三通活栓 (3 - way stopcock)，一端接藥物的注射筒；另一端接生理食鹽水的注射筒，在給藥後可馬上注入些許的生理食鹽水，以免藥品滯留於 PE 50 管中，影響實驗的準確性. 左股動脈也以 PE 50 插入，同樣使用三通活栓，一端接 Heparin 溶液，當動脈的脈衝 (pulse) 太弱或 PE 管中有栓塞時，可用於 flush；另一端 Disposable Diaphragm Dome (TA 1019)，然後接到轉訊器，經由放大器，最後由記錄器加以記錄. 心電圖 (ECG) 的變化以三插頭 (NDM , GD 151B) 連接放大器，訊號收集後經記錄器而得.

(b) 降壓中藥及活血化瘀藥之作用：

我們乃採用 Lead I 的記錄方式，正極插入大白鼠左前肢，負極插入右前肢，接地端插入任意後肢．而後開始進行鉤藤散，三七及丹參的血壓及心跳的評估． 大白鼠投予相同劑量 (0.35 g/kg) 之不同藥物分別為鉤藤散，三七， 鉤藤散加三七 (0.06 g/kg 及 0.35 g/kg)，及丹參和鉤藤散加丹參等五組單獨或不同組合之藥物，並觀察藥物加入後對全身血壓和心跳之影響．

六．數據之評估：

本研究結果每次平均值±標準誤差來顯示，並以student's t-test平均值檢定來分析服藥結果之差異。

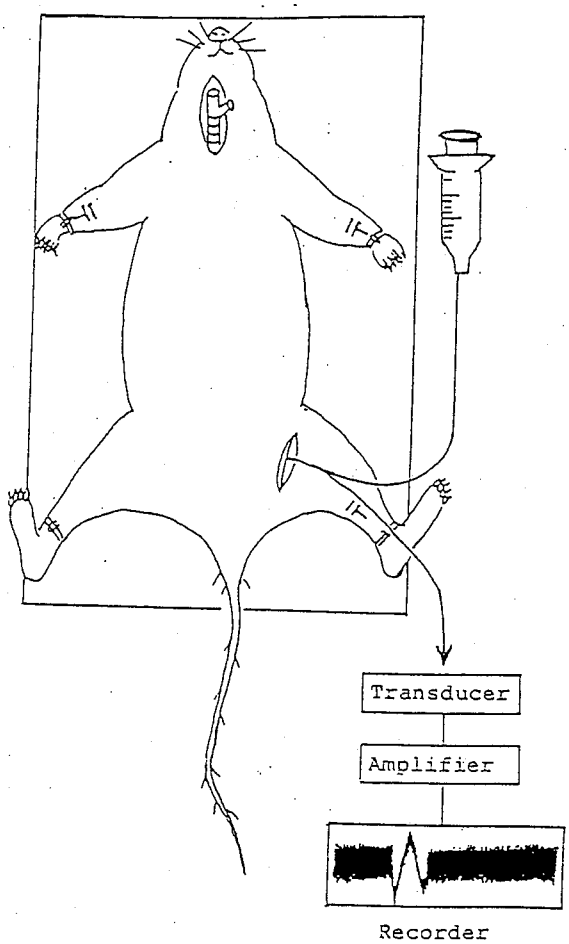


Fig —: A diagramatic representation of the apparatus used to record the heart rate and systemic blood pressure

結 果 與 討 論

本研究之就診病人一百五十例中，年齡以五十歲以上者居多 (佔 81 %) (圖一)

A、B、C 三組治療前後之肝腎功能均無顯著之差異，顯示此中藥處方，對肝腎功能，殆無影響。(表一)

A 組 (鉤藤散) 病例共五十例，使用鉤藤散治療，經四週治療後顯示其收縮壓由治療前之 179.40±6.58 mmHg 降為 161.30±9.30 mmHg；而舒張壓則由治療前之 110.80±4.78 mmHg 降為 94.60±4.08 mmHg。其降壓效果，在統計學上為有意義差別 ($P<0.05$). (表二之一)

B 組 (鉤藤散加丹參) 病例共五十例，使用鉤藤散加活血化瘀藥 (丹參) 治療，經治療四週後顯示：收縮壓由治療前之 176.40±7.52 mmHg 降為 150.60±7.16 mmHg，舒張壓由治療前之 107.6±6.13 mmHg 降為 90.40±5.86 mmHg。其降壓效果，在統計學上為有意義之差別 ($P<0.05$). (表二之二)

C 組 (鉤藤散加三七) 病例共五十例，使用鉤藤散加活血化瘀藥 (三七) 治療，經四週治療後顯示：收縮壓由治療前之 178.10±7.04 mmHg 降為 143.60±7.24 mmHg，舒張壓由治療前之 106.30±6.45 mmHg 降為 89.70±3.17 mmHg。其降壓效果，在統計學上為有意義之差別 ($P<0.05$). (表二之三)

A 組、B 組與 C 組三者均顯示有明顯之降壓作用 ($P<0.05$)，然而若就 A、B 兩組之降壓效果比較，結果顯示加有活血化瘀藥物 (丹參) 之 B 組，其降壓效果較 A 組為佳. 若就 A 組與 C 組兩組之降壓效果比較，結果亦顯示加有活血化瘀藥物 (三七) 之 C 組，其降壓效果較 A 組為佳. (表二) 至與 B, C 二組之降壓效果，血壓之數據似乎以三七加鉤藤散較低，但並不具統計上之意義，然而在使用鉤藤散時併用活血化瘀藥：丹參或三七對於降壓效果的增加是顯著地.

本研究亦測定 A、B、C 三組之病人血小板凝集功能之差異取病人

血清收集 PRP 和 PPP 測定血小板之凝集反應後之透光度變化，發現使用鉤藤散再加活血化瘀藥（丹參或三七）之 B、C 二組病人，其血小板凝集功能與 Control 和 A 組之病人比較，有相當之改善情形，（圖四～圖七）.

單一劑量 (0.06 g/kg) 的三七，靜脈注射對血壓和心跳並不產生影響（圖二），但是當三七加上鉤藤散之後卻可以明顯地加强鉤藤散的降壓作用（圖三），而且二藥併用後之 synergistic effect 明顯而平穩. 大白鼠由股靜脈注射不同組成之藥物，分別為鉤藤散，三七，丹參，鉤藤散加三七，鉤藤散加丹參等，發現血壓呈現二相反應 (biphasic response)：A phase 血壓先微下降後回穩，然後再急速下降，B phase 血壓回到正常，另外丹參加上鉤藤散靜脈注射後平均血壓則呈現較持穩後明顯之降壓但血壓本身之收縮及舒張壓呈現較大之變化.（圖四）所以在高血壓治療上使用傳統用藥鉤藤散外再併用活血化瘀藥之三七及丹參是可以明顯地增加降血壓的效果. 至於這些活血化瘀藥物之眞正藥理作用機轉尚有待更進一步的探討.

此現象顯示高血壓之臨症中藥治療時，若配合活血化瘀藥物，在治療上有相當改善作用與參考價值，是否繼續加入其它活血化瘀藥於高血壓之治療而可得相加或相乘的效果，則有待更進一步繼續深入的探討。

高血壓之中醫論治，就其症狀之表現而言，認為其原因主要由風、火、痰、虛所引起，如劉河間・素問玄機原病式：「風火皆屬陽，多為兼化，陽主手動，兩動相搏，則為之眩轉。」朱丹溪・丹溪心法：「頭眩.....治痰為主.....無痰不作眩。」朱丹溪・脈因證治：「眩暈因痰飲隨氣上，伏留於陽經，遇火則動。」靈樞・衛氣篇：「上虛則眩。」靈樞・海論：「髓海不足，則腦轉耳鳴，脛痠眩冒。」張景岳・景岳全書：「眩暈者，虛其八九，兼火兼痰，不過十之一二也。」葉天士・臨症指南醫案：「精液有虧，肝陰不足，血燥生熱，熱則風陽上升，竅絡阻塞，頭目不清，眩暈跌仆，甚則痙瘛瘛瘲矣。由以上先賢之典籍討論中，可以明白該等症狀之致病原因，雖離不開風、火、痰、虛四者，然而其中甚有關係者，當為「痰」矣。因此本研究中即先採此一治痰之觀念，作為治療高血壓之初步探討。

按，本研究所使用之鉤藤散，出自本事方・眩暈門，若就其組成藥物來分析，該方為由治痰之名方「二陳湯」（陳皮、半夏、茯苓、甘草）

加味（鉤藤、甘菊花、人參、防風、石膏、生薑）而來，二陳湯在傳統中醫學中，稱其為「治痰之總劑」此與丹溪先生所主張「頭眩治痰為主」遙相呼應，所加之藥味中，鉤藤、菊花、防風，為祛風之藥物、石膏退火，生薑祛痰，人參補虛。綜觀全方，對於風火痰虛引起之眩暈，恰為合治，無怪乎本事方稱其功效為治療肝厥眩暈，日本矢數道明、大塚敬節等先生，則將其應用以治療高血壓、動脈硬化等心血管疾患。

表一　病人肝腎功能治療前後之數值（無明顯之差異）

A 組（鉤藤散）(G.T.S alone)	治療前 pretreatment	治療後 postreatment
SGOT	20.92±1.70	21.06±1.74
SGPT	22.64±2.36	22.17±2.53
BUN	11.61±1.60	11.68±1.63
Creatinine	0.89±0.16	0.89±0.19

B 組（鉤藤散加丹參）(G.T.S + D.S)	治療前 pretreatment	治療後 postreatment
SGOT	20.47±1.96	20.51±2.86
SGPT	21.92±2.74	21.86±2.61
BUN	11.96±1.34	12.52±1.83
Creatinine	0.89±0.15	0.90±0.18

C 組（鉤藤散加三七）(G.T.S + S.C)	治療前 pretreatment	治療後 postreatment
SGOT	20.67±2.01	20.32±3.27
SGPT	21.57±2.31	21.69±2.49
BUN	12.37±1.30	12.28±1.29
Creatinine	0.91±0.21	0.96±0.39

說明 (Abbreviation)：G.T.S: Gou-Teng San（鉤藤散）
D.S.: Danshen（丹參）; S.C: Sanchi（三七）

表二　服藥四週後病人血壓之差異

(1) 服用鉤藤散四週後病人血壓之差異

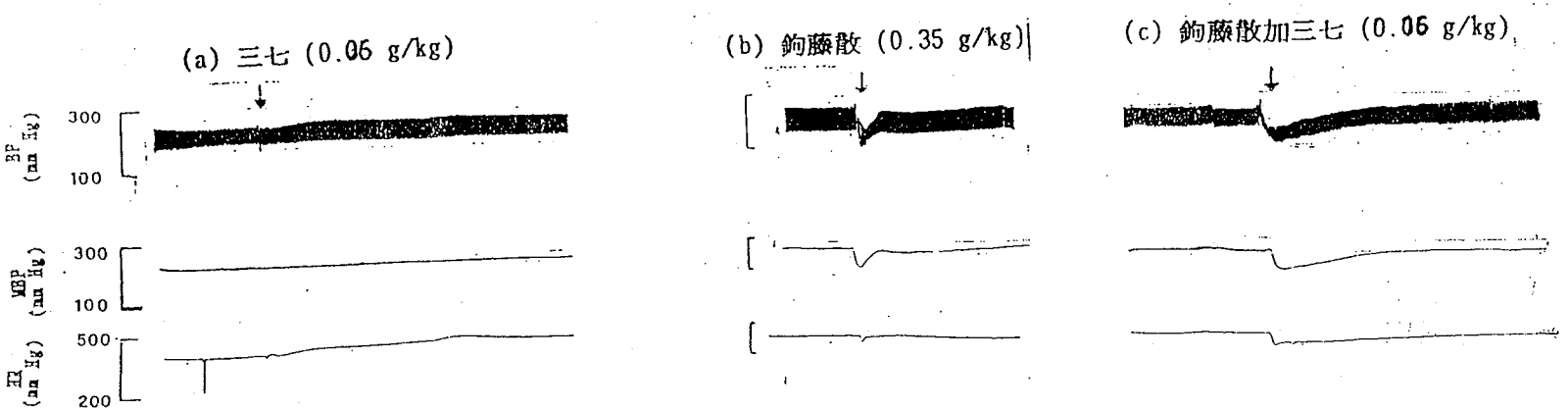
A 組 (50 case)	鉤藤散(16 g/天)	
	治療前	治療後
收縮壓 (毫米汞柱)	179.4±6.58*	161.3±9.30*
舒張壓 (毫米汞柱)	110.8±4.78*	94.6±4.08*
*P＜0.05 統計學上有意義差別		

(2) 服用鉤藤散加丹參四週後病人血壓之差異

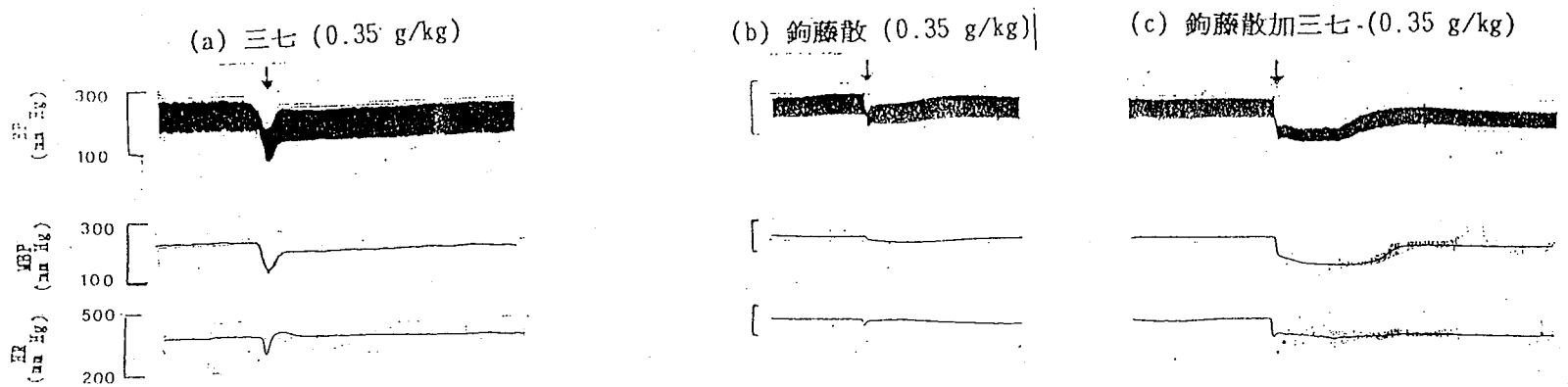
B 組 (50 case)	鉤藤散(16 g/天)加丹參(4 g)	
	治療前	治療後
收縮壓 (毫米汞柱)	176.4±7.52*	150.6±7.16*
舒張壓 (毫米汞柱)	107.6±6.13*	90.4±5.86*
*P＜0.05 統計學上有意義差別		

(3) 服用鉤藤散加三七四週後病人血　之差異

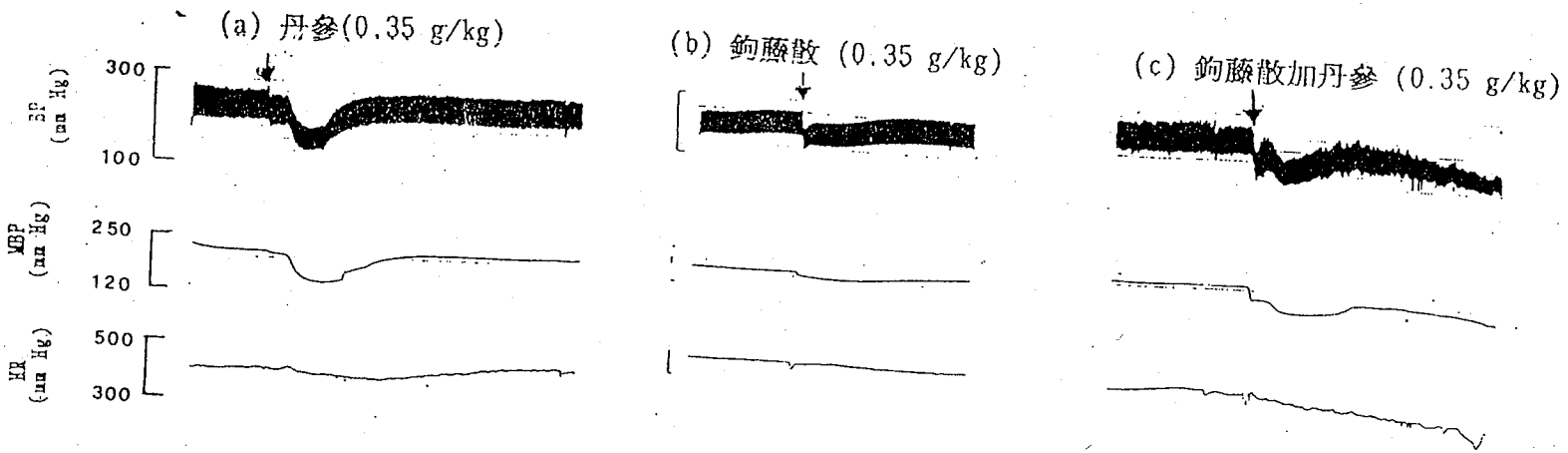
C 組 (50 case)	鉤藤散(16 g/天)加三七(4 g)	
	治療前	治療後
收縮壓 (毫米汞柱)	178.1±7.04*	143.6±7.24*
舒張壓 (毫米汞柱)	106.3±6.45*	89.7±3.17*
*P＜0.05 統計學上有意義差別		



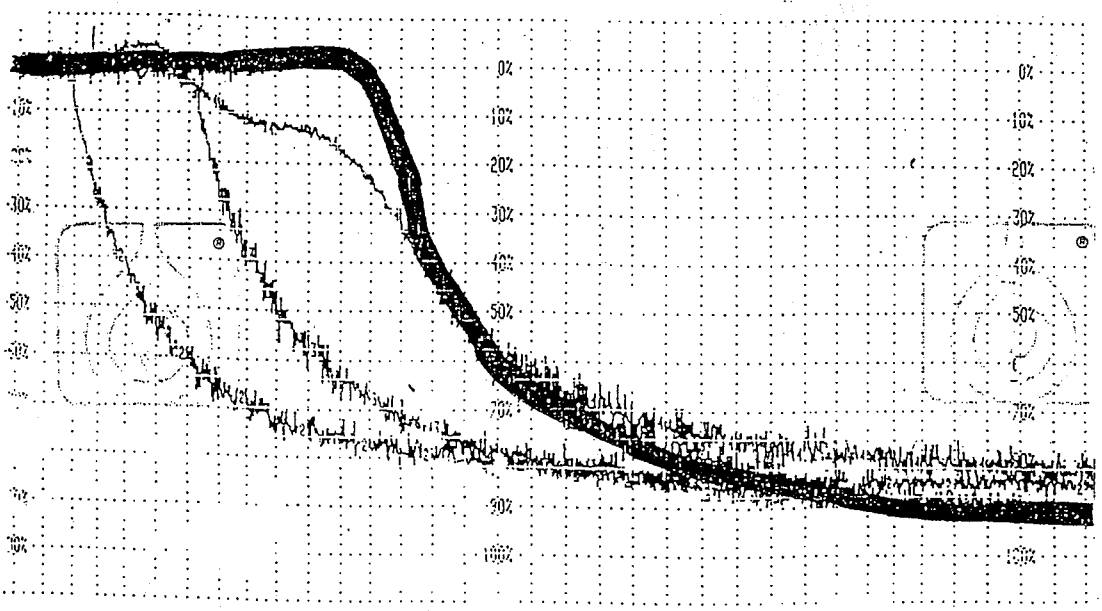
圖二：大白鼠經 IV 注射 (a) 三七 (b) 鉤藤散 (c) 鉤藤散加三七 (0.06 g/kg) 後血壓 (BP) 平均血壓 (MBP) 及心跳 (HR) 之變化圖



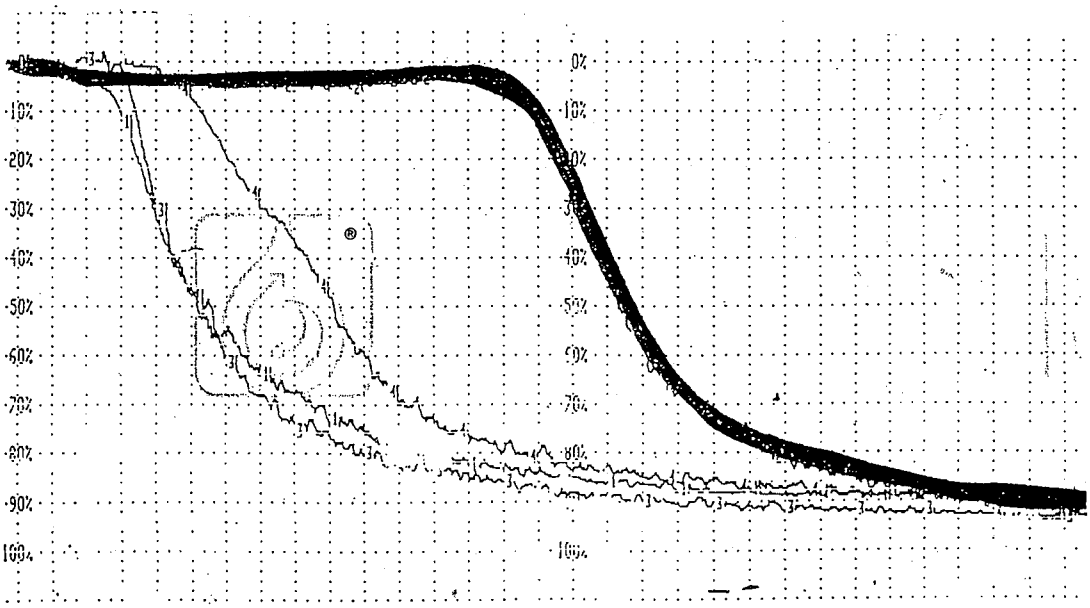
圖三：大白鼠經 IV 注射 (a) 三七 (b) 鉤藤散 (c) 鉤藤散加三七 (0.35 g/kg) 後血壓 (BP) 平均血壓 (MBP) 及心跳 (HR) 之變化圖



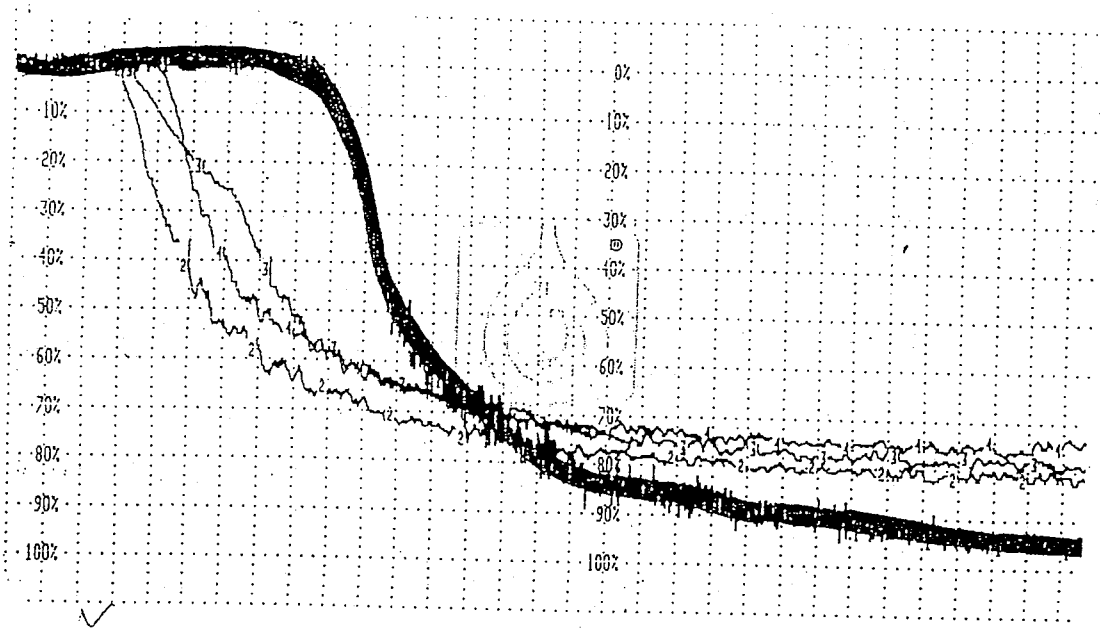
圖四：大白鼠經 IV 注射 (a) 丹參 (b) 鉤藤散 (c) 鉤藤散加丹參
後血壓 (BP) 平均血壓 (MBP) 及心跳 (HR) 之變化圖



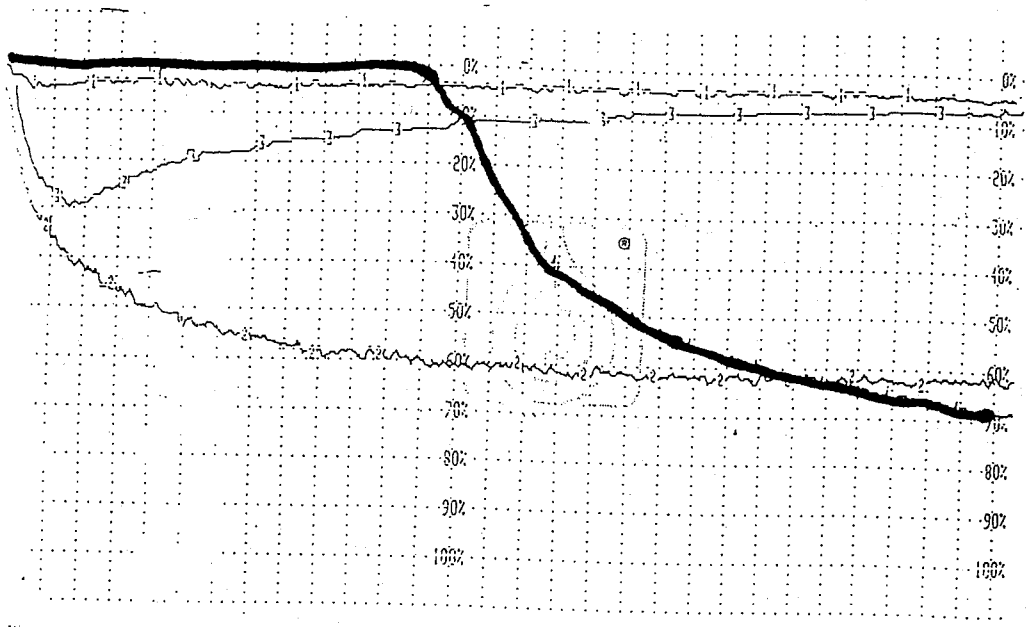
圖五：病人未經治療前之血小板凝集現象 (以 Collagen 當 inducer)



圖六：病人服用鉤藤散治療後之血小板凝集現象 (以 Collagen 當 inducer)



圖七：病人服用鉤藤散加丹參治療後血小板凝現象 (以 Collagen 當 inducer)



圖八：病人服用鉤藤散加三七治療後血小板凝現象 (以 Collagen 當 inducer)

參 考 資 料

1.許扶熬"活血化瘀之臨床研究與探討"華鼎出版社 · 1990; P.143-150, P.184-188, P.280-311.

2.Chun-Ching Lin. The clinical pharmacognosy (II) .1988; P.67-81, P.299-313.

3.Ault MJ, Ellrodt AG. Pathphyiologic events leading to the endorgan effects of acute hypertension. J Emerg Med. 1985; 3(Suppl. 2):10.

4.Anderson R, Reed WG. Current concepts in treatment of hypertensive urgencies. Am Heart J. 1986; 111:211.

5.Frohlich ED et al. Task force IV: systemic arterial hypertension. J Am Coll Cardiol. 1985; 6:1218

6.WHO. Guidelines for treatment of mild hypertension. Lancet. 1983; 1:457.

7.Kannel WB et al. Blood pressure and risk of coronary artery disease :the Framigham study. Dis Chest. 1969; 56:43.

8.Messerli FH. Pathophysiologic mechanisms in essential hypertension : a clue to the therapeutic approach. J Cardiovasc Pharmacol. 1984 ; 6(Suppl. 6):S875.

9.Kannel Wb et al. Hypertension and cardiac impairment increase stroke risk. Geriatrics. 1978; 33:71.

10.Frick MH et al. Helsinki heart study: primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. N Engl J Med. 1987; 317:1237.

11.Ahrens EH. The diet-heart question in 1985: has it really been settieed? Lancet. 1985; 1:1085.

12.Hoeg JM et al. An approach to the management of hyperlipoproteinemia. JAMA. 1986; 225:512.

13.Philips NR et al. Levels and interrelationships of serum and lipoprotein cholsterol and triglycerides: association With adiposity and the consumption of ethanol, tobacco. and beverages containing caffeine. Arterioscierosis. 1981; 1:13.

14.Kesaniemi YA, Grundy SM. Influence of gemfibrozil and clofibrate on metabolism of cholesterol and plasma triglycerides in man. JAMA. 1984; 251:2241.

15.曾文賓：台灣之高血壓現況 台灣學會雜誌 86:35,1987

16.Consensus Conference. Treatment of hypertriglyceridemia. JAMA. 1984; 251:1196.

17.J. Stessman, B. Leibel. Y. Yagil, R. Elaikim. D. Ben-Ishay. Ni-fedipine in the treatment of hypertension in the elderly. J Clin Pharmacol. 1985 ; 25:193-196.

18.Hsu MF. Young JH. Wang JP. Teng CM. Effect of hsien-ho-t' sao (Agrimonia pilosa) on experimental thrombosis in mice. American J. of Chinese Medicine. 1987; 15(1-2):43-51.

19.Teng CM. Kuo SC. Ko FN. Lee JC. Lee LG. Chen SC. Huang TF. Antiplatelet actions of panaxynol and ginsenosides isolated from ginseng. Biochimica Et Biophysica Acta. 1989; 990(3):315-20.

20.Ou XC. Studies on the antithrombotic activity of 11 traditional Chinese herbal drugs. Chinese J. of Integrated Traditional & Western Medicine. 1989; 9(6):358-9.

21.詹文濤：高血壓病的中醫理論及防治規律探討 雲南中醫雜誌 1:P20,1983.

22.Wang ZY. Inhibitory effects of new-breviscapine on thrombosis in vivo. Chinese J. of Integrated Traditional & Western Medicine. 1989; 9(1):26-8.

23.Li AG. H SL. Pen YG. Effect of buyang huanwu decoction on the antithroombotic functions of the vessel wall. Chinese J. of Integrated Traditional & Western Medicine. 1989; 9(9):545-7.

24.You S. Yao XS. Chen YJ. Cui CB. Qu GX. Wu J. Xin XJ. Anti-blood platelet aggregation constituents in the root of Isatis tinctoria L. Chung Yao Tung Pao. 1988; 13(2):31-2.

25.Wang M. Wu D. Wang F. Zheng X. Zhou E. Pharmacological studies of huomaisan. China J. of Chinese Materia Medica. 1990; 15(5): 308-320.

26.Tao J. Feng KY. Experimental and clinical studies on inhibitory effect of ganoderma lucidum on platelet affrefation. J. of Tongji Medical Universety. 1990; 10(4):240-3.

27.孫伯揚：中醫治療高血壓病的臨床體會 新中醫，4:23,1982.

28.Teng CM. Yu SM. Chen CC. Huang YL. Huang TF. EDRF-release and Ca+(+)-channel blockade by magnolol, an antiplatelet agent isolated from Chinese herb Magnolia officinalis, in rat thoracic aorta. Life Sciences. 1990; 47(13):1153-61.

29.Liu XF. Liu ML. Iyanagi T. Legesse K. Lee TD. Chen SA. Inhibition of rat liver NAD(P)H:quinone acceptor oxidoreductase (DT-diaphorase)by flavonoids isolated from the Chinese herb scutellariae radix(Huang Qin). Molecular Pharmocology. 1990; 37(6):911-5.

30.Okuyama T. Fujita K. Shibata S. Hoson M. Kawada T. Masaki M. Yamate N. Effects of Chinese drugs "xiebal" and "dasuan" on human platelet aggregation(Allium bakeri, A. sativum). Planta Medica. 1989; 55(3):242-4.

31.Wang N. Luo HW. Niwa M. Ji J. A new platelet aggregation inhibitor from Salvia miltiorrhiza. Planta Medica. 1989: 55(4) :390-1.

32.Sato T. Yamaguchi H. Fujii T. Akiba S. Tamura A. Fujii T.

Tatsumi Y. Miura O. Inhibitory effect of various tradetional Chinese medicines on rabbit platelet phospholipase A2 in vitro and srpressive effect of toki-syskuysku-san on increased aggregability in hyperchilesterolemic rabbet ex vivo. J. of Pharmaceutical Society of Japan. 1989; 109(11):868-76.

33.Luo HW. Hu XJ. Wang N. Ji J. Platelet aggregation inhibitors from Salvia miltiorrhiza Bunge. Acta Pharmaceutica Sinica.

34.Shan CW. Effects of polydatin on platelet aggregation in rabbits. Acta Pharmaceutia Sinica. 1988; 23(5):394-6.

35.Young RA. et al. Doxazosin: a review of its pharmacokynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy in mild or moderate hypertendion. Drugs. 1988; 14:263.

36.Wadworth AN, Brogden RN. Quinapril. A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in cardiovascular disorders. Drugs. 1991; 41:378.

37.Wedmann P et al. Antihypertensive treatment and serum lipoproteins. J. Hypertens. 1985; 3:297.

編號 DOH84-CM-050

抗風濕中藥臨床作用機轉之研究

張德明

國防醫學院內科學系

摘　　要

許多細胞間素在急、慢性發炎過程中扮演重要角色，其中能影響軟骨和硬骨代謝者，在糜爛性關節病變諸如類風濕性關節炎等自亦更引人注目。

第一介白質和腫瘤壞死因子在實驗室中皆有此效應，即能增強吸收軟骨和硬骨。動物活體試驗中，第一介白質也能由軟骨中釋出 proteoglycans，及由硬骨中釋出鈣質。我們已知在滑膜液中有第一介白質和腫瘤壞死因子，且滑膜細胞在試管中也可自發性分泌該兩種細胞間素。類風濕性關節炎患者關節內第一介白質與其發炎程度有關，且其血中第一介白質與臨床及檢驗之發炎活性有相關性。

先前實驗中，我們已知某些中藥有抑制第一介白質產生之功效。這個實驗中，老鼠皮下空氣囊被用來做爲活體發炎模型，而滑膜和軟骨細胞也將再被利用。在加入中藥後，空氣囊中的液體將離心後用以測定前列腺素 E2，第一介白質，和腫瘤壞死因子。

The Mechanisms of Action of Traditional Anti-Rheumatic Herbal Medicine

Many cytokines are likely to participate in chronic and acute inflammation, those that also affect the metabolism of cartilage and bone are of special interest in erosive arthropathies such as rheumatoid arthritis (RA). Interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor alpha (TNF-α) in vitro are both powerful resorbers of matrix in cartilage and bone. In animals, in vivo studies of IL-1 have also shown release of proteoglycans from cartilage and calcium from bone. It is known that both IL-1 and TNF are present in synovial exudates and the synovial cells produce them spontaneously in vitro. In RA the intra-articular IL-1β in the blood correlate with clinical and laboratory measures of inflammatory activity. Previously, we have demonstrated that some herb medicines significantly inhibited in vitro IL-1, PGE2 and TNF release. In the current studies, murine subcutaneous air pouch were used as a model of in vivo inflammation. In addition, synovial cells and chondrocytes from RA patients were also used. After herb medicine treatment, the aspirated fluid from pouches was centrifuged and stored for measurements of PGE2, IL-1β, and TNF. These studies identified the in vivo effects of herb medicine on IL-1 mediated arthritis.

前言

細胞間素通常被認爲在慢性發炎的開始及持續變化中扮演重要角色。他們可被視爲在發炎區有多功能的媒介物。其中，第一介白質，

表現爲可溶或與細胞有關的分子且可影響結締組織的合成和分解。

第一介白質在關節炎變化過程中可作爲中性球的趨化物，可活化淋巴球和單核球，刺激纖維母細胞及滑膜細胞增生造成血管翳形成，增加前列腺素、急性反應蛋白、蛋白質溶解酵素分泌，且可刺激其他細胞間素的製造和活化(1-9)。其次，軟骨的破壞，骨頭糜爛，和纖維化，及類風濕關節炎的關節破壞皆可經由第一介白質的活性作用(10-13)。

臨床上，中國傳統中藥在治療風濕病上效果卓著，但其作用機轉卻仍不明，漢防已甲素(Tetrandrine)，已被証明有抗細胞吞噬，免疫抑制，抗過敏及抑制第一介白質等作用(14-17)。本實驗中，我們選擇，漢防已素、及雷公藤二種單劑，以測試其臨床作用機轉。

爲評估這類中藥對關節炎的效用，我們將使用以老鼠氣囊爲關節模型的活體試驗。此模型由 Edwards 等建立，並被用來作用研究發炎尤其是關節炎的模型。將空氣注入鼠背皮下可形成一腔室，且其表被組織宛若滑膜組織(18)。

此模型將用於本實驗中，以其抽吸之簡易性，將使本實驗較易進行。並可做細胞間素分析。經由這一步努力，我們將可更進一步了解各類抗風濕中藥的臨床作機轉。

材料與方法

氣囊形成

BALB/C雄鼠(10-15克重)餵以一般飼料及水，氣囊以Edward 等所用方法製'

造(19)。簡言之，將稀釋的 pental做鼠腹腔內注射麻醉。以六毫升無菌空氣注射入鼠背中線皮下組織。在一週內，氣囊將再以四毫升空氣補注入一次。在氣囊形成後，以一毫升生理食鹽水或每毫升含100pg的第一介白質注入以製造類似關節炎的環境。不同濃度的中藥懸浮液亦隨之注入。經十八小時培養後，氣囊中液体被抽出，並立刻計算体積，白血球數目，及各型細胞比率。其餘液体被離心後，將上清液儲存於 -70℃，並測前列腺素E2及腫瘤壞死因子等細胞間素。

滑膜纖維母細胞培養

滑膜組織將由健康人因半月板破裂接受手術時，或類風濕關節炎病人接受髖或膝關節置換術時取得並爲細胞培養來源(19,20)。這些細胞被置於 96 孔平底盤中，並加入 200 微毫升 L-15 培養液(Biological Industries,Beth Ha-Emek,Israel)，及 1% 胎牛血清，2mM L-glutamine，3mM NaHCO3，10mM HEPES，100 單位/毫升 pemicillin，和 100微毫克/毫升 streptomycin。在 37℃ 培養 3 天後，培養液再由新鮮者置換，而被測試的中藥也被加入細胞培養盤中。爲測定各型中藥對第一介白質刺激後前列腺素及細胞間素合成的影響，培養液在二日後收集。

軟骨細胞培養

人類軟骨細胞被用在該實驗中。軟骨單層細胞培養由軟骨培養中獲得。人類軟骨組織用酵素分解，首先用 Trypsin(0.25%) 作用十五分鐘，之後再用 hyaluronidase(0.1%) 作用三十分鐘，最後再用 0.06% collagenase 作用十五小時，並經常搖動之分離出的細胞在洗清後調成 $5x10^4$細胞/cm 在含 10% 胎牛血清，0.5 毫升 DMEM 液中，並置於四十八孔培養盤中，在大約七至十天後，單層細胞即成軟骨細胞。爲測定各型中藥對第一介白質引起前列腺素 E2 和細胞間素合成之影響,在二日培養後,培養液被收集並被用以測定前列腺素 E2. 第一介白質及腫瘤壞死因子。

第一介白質準備

基因複製人類第一介白質將由 Genzyne 公司（MA,U.S.A.）購買。100pg/毫升將被用以刺激各型細胞及氣囊。

中藥準備

純化各型之中藥材始溶於乙醇（二毫克/毫升），並再以 RPMI-1640 培養液稀釋。細胞間素測定，第一介白質，腫瘤壞死因子和前列腺素 E2 將分別用免疫酵素分析法測定。

結果

一. 中藥對第一介白質阿爾發引發纖維母細胞及軟骨細胞分泌第一介白質貝他的影響（表一）。

雷公藤在高濃度下（0.5ug/ml）可有效抑制纖維母細胞和軟骨細胞分泌第一介白質貝他。漢防已甲素則無此功效。

二. 中藥對第一介白質阿爾發引發纖維母細胞及軟骨細胞分泌前列腺素 E2 的影響（表二）。

雷公藤在高濃度下（0.5ug/ml）可有效抑制纖維母細胞和軟骨細胞分泌前列腺素 E2。漢防已甲素則無此功效。

三. 中藥對老鼠氣囊中第一介白質阿爾發引發第一介白質貝他分泌的影響（表三）。

高濃度雷公藤（0.5ug/ml）可有效且完全（100%）抑制老鼠氣囊

內第一介白質貝他的分泌。漢防已甲素在高濃度（10ug/ml）也有抑制，唯程度較低（28%）。

四. 中藥對老鼠氣囊中第一介白質阿爾發引發前列腺素 E2 分泌之影響（表四）。

高濃度雷公藤（0.5ug/ml）可有效抑制老鼠氣囊內前列腺素 E2 之分泌，漢防已甲素則無類似功效。

TABLE 1. IN VITRO EFFECT OF TWH and TTD ON IL-1α MEDIATED IL-1β PRODUCTION FROM FIBROBLASTS AND CHONDROCYTES

Conditions	Fibroblast	Chondrocyte
1.Medium	ND	ND
2.IL-1α 100pg/ml+Medium	80 ±6	73 ±9
3.IL-1α 100pg/ml+TWH 0.5ug/ml	59 ±5*	53 ±4 *
4.IL-1α 100pg/ml+TWH 0.05ug/ml	77 ±3	74 ±6
5.IL-1α 100pg/ml+TWH 0.005ug/ml	84 ±11	81 ±17
6.IL-1α 100pg/ml+TTD 10ug/ml	85 ±7	83 ±9
7.IL-1α 100pg/ml+TTD 1 ug/ml	79 ±1	77 ±6
8.IL-1α 100pg/ml+TTD 0.1ug/ml	77 ±3	84 ±6

$5x10^5$/well fibroblasts or chondrocytes were incubated with or without IL-1α in the presence or absence of herbal medicines for 48 hours. Supernatants and intracellular IL-1β concentration was determined by ELISA. Data are presented as mean ±SD (pg/ml) of triplicate assays. ND represents non-detectable (<4pg/ml). *p<0.005, **p<0.001 versus condition 2 by Student's t-test. Similar results were found three times.

TABLE 2. IN VITRO EFFECT OF HERBAL MEDICINES ON IL-1α MEDIATED PGE2 PRODUCTION FROM FIBROBLASTS AND CHONDROCYTES

Conditions	Fibroblast	Chondrocyte
1.Medium	271 ±19***	103 ±17***
2.IL-1α 100pg/ml+Medium	2144 ±161	3425 ±329
3.IL-1α 100pg/ml+TWH 0.5ug/ml	1559 ±156*	2653 ±244 *
4.IL-1α 100pg/ml+TWH 0.05ug/ml	2177 ±243	3674 ±276
5.IL-1α 100pg/ml+TWH 0.005ug/ml	2484 ±171	3581 ±317
6.IL-1α 100pg/ml+TTD 10ug/ml	2085 ±157	3283 ±289
7.IL-1α 100pg/ml+TTD 1 ug/ml	2279 ±184	3277 ±296
8.IL-1α 100pg/ml+TTD 0.1ug/ml	2477 ±253	3584 ±361

$5x10^5$/well fibroblasts or chondrocytes were incubated with or without IL-1α in the presence or absence of herbal medicines for 48 hours. Supernatants PGE2 concentration was determined by RIA. Data are presented as mean ±SD (pg/ml) of triplicate assays. ND represents non-detectable (<4pg/ml). *p<0.01, **p<0.001,***p<0.0001 versus condition 2 by Student's t-test. Similar results were found twice.

TABLE 3. IN VIVO EFFECT OF HERBAL MEDICINES ON IL-1α MEDIATED IL-1β PRODUCTION IN MURINE AIR POUCH.

Conditions	IL-1β	% Inhibition
1.Medium	362 ±29**	
2.IL-1α 100pg/ml+Medium	946 ±48	
3.IL-1α 100pg/ml+TWH 0.5ug/ml	300 ±36**	100
4.IL-1α 100pg/ml+TWH 0.05ug/ml	1051 ±62	0
5.IL-1α 100pg/ml+TWH 0.005ug/ml	984 ±71	0
6.IL-1α 100pg/ml+TTD 10ug/ml	785 ±57*	28
7.IL-1α 100pg/ml+TTD 1 ug/ml	1079 ±84	0
8.IL-1α 100pg/ml+TTD 0.1ug/ml	977 ±93	0

IL-1α was injected in the presence or absence of herbal medicines for 24 hours.Supernatants IL-1β concentration was determined by ELISA. Data are presented as mean ±SD (pg/ml) of triplicate assays and % inhibition. *p<0.01, **p<0.001 versus IL-1α only group by Student's t-test. Similar results were found twice.

TABLE 4. IN VIVO EFFECT OF HERBAL MEDICINES ON IL-1α MEDIATED PGE2 PRODUCTION IN MURINE AIR POUCH.

Conditions	PGE2
1.Medium	162 ±19*
2.IL-1α 100pg/ml+Medium	1023 ±101
3.IL-1α 100pg/ml+TWH 0.5ug/ml	366 ±45*
4.IL-1α 100pg/ml+TWH 0.05ug/ml	951 ±79
5.IL-1α 100pg/ml+TWH 0.005ug/ml	1033 ±92
6.IL-1α 100pg/ml+TTD 10ug/ml	1099 ±97
7.IL-1α 100pg/ml+TTD 1 ug/ml	1132 ±214
8.IL-1α 100pg/ml+TTD 0.1ug/ml	989 ±118

IL-1α was injected in the presence or absence of herbal medicines for 24 hours.Supernatants PGE2 concentration was determined by RIA. Data are presented as mean ±SD (pg/ml) of triplicate assays. *p<0.01 versus IL-1α only group by Student's t-test. Similar results were found twice.

結論

先前實驗結果已顯示雷公藤和漢防己甲素皆可有效抑制包括單核球、T 細胞、B 細胞、中性球等顯現的功能，其中以雷公藤最爲

耀眼。

此一活體以氣囊取代關節腔的實驗中，再次証明雷公藤有極佳抑制發炎物質包括第一介白質及前列腺 E2 的功效。

無論在實際臨床使用或實驗室基礎研究，雷公藤均顯示了其明顯的功效，下一步當檢視其副作用，以做爲其未來科學化臨床運用的基礎。

References:

1. Dayer J-M, Demczuk S. Cytokines and other mediators in rheumatoid arthritis. Springer Semin Immunopathol 1984; 7: 387-413
2. Dayer J-M, Seckinger P. Natural inhibitors and antagonists of interleukin-1, Interleukin-1: Inflammation and Diseases. Edited by RHR Bomford, B Henderson. Am-sterdam, Elsevier, 1989.
3. Dayer J-M, de Rochemonteix B,Burrus B, Demczuk S, Dinarello CA. Human recombinant interleukin 1 stimulates collagenase and prostaglandin E2 production by human synovial cells. J Clin Invest 1986; 77: 645-648
4. Gowan M, Wood DD, Ihrie EJ, Meaks JE, Russell RG. Stimulation by human interleukin 1 of cartilage breakdown and production of collagenase and proteoglycanase by human chondrocytes but not by human osteoblasts in vitro. Biochem Biophys Acta 1984; 797: 186-193
5. Pettipher ER, Higgs GA, Henderson B. Interleukin 1 induces leukocyte infiltration and cartilage proteoglycan degradation in the synovial joint. Proc Natl Acad Sci USA 1986; 83: 8749-8753
6. Hamerman D, Wood DD. Interleukin 1 enhances synovial cell hyaluronate synthesis. Proc Soc Exp Biol Med 1984; 177: 205-210
7. Krane SM, Dayer J-M, Simon LS, Byrne MS. Mononuclear cell-conditioned medium containing mononuclear cell factor (MCF), homologous with interleukin 1, stimulates collagen and fibronectin synthesis by adherent rheumatoid synovial cells: effects of prostaglandin E2 and indomethacin. Coll Relat Res 1985; 5: 99-117
8. Kahari VM, Heino J, Vuorio E. Interleukin-1 increases collagen production and mRNA levels in cultured skin fibroblasts. Biochim Biophys Acta 1987; 929: 142-147

9. Tyler JA. Articular cartilage cultured with catabolin (pig interleukin1) synthesizes a decreased number of normal proteoglycan molecules. Biochem J 1985; 227: 869-878
10. Yaron I, Meyer FA, Dayer J-M, Yaron M. Human recombinant interleukin-1B stimulates glycosaminoglycan production in human synovial fibroblast cultures. Arthritis Rheum 1987; 30: 424-430
11. Yaron I, Meyer FA, Dayer J-M, Bleiberg I, Yaron M. Some recombinant human cytokines stimulate glycosaminoglycan synthesis in human synovial fibroblast cultures and inhibit it in human articular cartilage cultures. Arthritis Rheum 1989; 32: 173-180
12. Lipsky PE, Davis LS, Cush JJ, Oppenheimer-Marks N. The role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Springer Semin Immunopathol 1989; 11:123-62
13. Firestein GS, Zvaifler NJ. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. A critical assessment of the role of autologous stimulation of the perpetuation of rheumatoid synovitis. Rheum Dis Clin North Am 1987; 13:1-15
14. Seow WK, Li S-Y, Thong YH. 1986. Inhibitory effects of tetrandrine on human neutrophil and monocyte adherence. Immun Lett 13:83.
15. Seow WK, Ferrante A, Li S-Y, and Thong YH. 1988. Antiphagocytic and anti-oxidant properties of the plant alkaloid tetrandrine. Int Arch Allergy Appl Immunol. (in press).
16. Seow WK, Ferrante A, Goh DBH, Chalmers AH, Li S-Y and Thong YH. 1988. In vitro immunosuppressive propreties of the plant alkaloid tetrandrine. Int Archs Allergy Appl Immunol. (in press).
17. Seow WK, A Ferrante, Li S-Y, YH Thong. 1989. Suppression of human monocyte interleukin-1 production by the plant alkaloid tetrandrine. Clin Exp Immunol 75:47-51.
18. Edwards JCW, Sedgwick AD, Willoughby DA: The formation of a structure with the features of synovial lining by the subcutaneous injection of air: an in vivo tissue culture system. J Pathol 1981; 134: 147-56.
19. Yaron I, Meyer FA, Dayer J-M, Yaron M: Human recombinant interleukin-1B stimulates glycosaminoglycan production in human synovial fibroblast cultures. Arthritis Rheum 30:424-430,1987.
20. Houssiau FA, Devogelaer J-P, van Damme J, Nagant de Deuxchaisnes C, van Snick J: Interleukin-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides. Arthritis Rheum 31:784-88, 1988.
21. Sacchi N, Chomcznski P. Single-step method of RNA isolation by acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. Anal Biochem 1987; 162:156-9.

編號 DOH84-CM-051

冷飲冰水對天竺鼠氣管收縮的影響

The effect of ice water drinking to bronchial tone on guinea pig

吳憲東

國立台灣大學醫學院檢驗醫學部

摘　　要

氣喘是呼吸系統極爲常見疾病，我國民間及傳統中醫亦流傳著許多有關的傳聞，其中之一爲飲用冰水會加重氣喘的發作。然而此種經由消化道刺激而引起呼吸道的生理作用，缺乏科學理論基礎及明確的作用機轉。本實驗即利用天竺鼠在食道給予冰水，以驗證飲用冰水是否會改變氣道阻力。同時動物將以副交感神經拮抗劑，迷走神經切斷術，中性內胜肽酶抑制劑等方法處理，以探求此冷飲冰水引起之肺部阻力改變是否，經由迷走神經之非交感神經—非副交感神經 (Non-Adrenergn Non-Cholinergic, NANC) 而產生。本計畫的結果顯示冰水刺激食道可增加處理後天竺鼠之肺部阻力，此現象之神經傳導經迷走神經傳遞，但不以非副交感神經之甲膽爲主要神經物質，亦不以非交感神經—非副交感神經之 neutral endopeptidase 爲重要的調控酵素。

Abstract

Asthma is a common disease. One of the asthma manifestation is bronchoconstriction and increase airway resistance. It is a "common sense" that ingestion of icy will exacerbate asthmatic symptoms. But the accuracy and mechanisms of this popular belief is not verified. The esophageal stimulation inducing airway change is not well documented. In this study, we guinea pig animal model to test the hypothesis that ice-water stimulating esophagus can induce bronchoconstriction. Besides, we use atropine to block parasympathetic nerve, phosphoramidon to block neutral endopeptidase activity, and bilateral vagectomy to verify the role of vagus nerve. We try to find out the pathophysiology of this phenomenon. The results showed that ice-water stimulation increase lung resistance in guinea pig whose esophageal was pretreated with HCl. The ice-water-induced bronchoconstriction is transmitted mediated by vagus nerve but not blocked by atropine and phosphoramidon.

一、前言

氣喘是呼吸系統極爲常見的疾病，在傳統醫學書籍中早有許多記載。我國民間及傳統醫學界亦流傳著許多氣喘發作有關的生剋相忌之事。這些事物中雖已流傳久遠並多爲經驗之累積，但實際的影響如何？缺乏客觀的評估，對於其作用機轉及相關因素亦不了解。

上消化道對氣道的影響，目前所知的有１）上消化道和氣管在胚胎學上是同源器官，皆由前芽發育而成，有相當類似的

基本結構，神經分佈。２）上消化道及氣管的神經皆由迷走神經控制；其神經元皆位於Nodosal 神經結中，容易彼此作用產生軸反應(Axon reflex)【１】。３）刺激食道的神經感受器，經由迷走神經傳導，可促進氣管黏液腺分泌。現在臨床上使用的許多化痰劑如，碘化物、糖漿....等，皆利用此原理刺激食道神經而間接促進氣管分泌【２】。４）於夜晚發作型的氣喘病患，有些研究顯示其發作的部份原因是因爲夜間胃酸回流，刺激食道神經所引起的。於食道給予胃酸（鹽酸）可引起氣管收縮，增加氣管的非特異反應性且此收縮的程度與氣管的高反應性成正比【３－５】。冷對氣道的影響目前已知１）當氣喘病人於冷空氣中快速呼吸後，會激發氣管收縮【６】。２）在致敏感後的天竺鼠冷空氣可激發氣管收縮。３）Wilson報告：於三個氣喘病人冷飲冰水後，肺功能一秒量會降低【７，８】。及我們初步臨床觀察：有位氣喘病患其氣道阻力基礎值爲5.4 cmH20/L/sec ，喝溫水後阻力仍爲5.8，但喝冰水後阻力升爲7.4。以上的證據皆可使我們相信冷飲冰水可能會影響到氣道的收縮。由於上消化道與氣道是同源的神經控制，且氣道收縮在冷飲冰水數分鐘內即發生，因此我們假設此現象是由於神經傳導所產生。實驗中我們將利用各式不同的神經傳導阻斷劑及神經傳導物質拮抗劑，以了解神經傳導及何種神經傳導是引起此現象的主要因素。本計畫將利用老鼠的實驗模式以探求：１）冷飲冰水對氣管收縮的影響。2）探求引起此現象之機轉及神經控制。3）探求氣道與胃腸道的交互作用。

二、材料與方法

一）動物：天竺鼠，約250 公克、飼養於籠中並給予充份的標準飼料及水份。

二）冰水刺激：

利用PE塑膠管，一隻經口置食道上段，另一隻經胃置食道

下段近幽門口，並將兩端綁住，以防冰水流到口腔或胃而刺激其它器官。冰水刺激則經口導管以3分鐘注射3 毫升的 4℃ 冰水至食道，冰水同時經胃導管引流出，以避免改變食道壓力。刺激後則連續測量肺部阻力三十分。

三）實驗步驟：

將老鼠麻醉，插管（氣管切管、冰水灌流管、動脈管、靜脈管）後置入體箱中，注射肌肉鬆弛劑，以人工呼吸器呼吸。連接多頻記錄器，利用Amdur 及Mead 氏的方法，連續測量肺部阻力。經口置食道導管注入1 毫升1N 鹽酸，滯流三分鐘後沖洗掉。休息參三十分等一切穩定後進行以下之實驗。

1．溫水組：經由導管注入 30℃溫水3 毫升
2．冰水組：經由導管注入 0℃冰水3 毫升
3．ＡＲ組：天竺鼠先經靜脈注射2mg/kgBW atropine，20分鐘後進行冰水刺激。
4．ＰＲ組：天竺鼠先經靜脈注射10mg/kgBW phosphoramidon，20分鐘後進行冰水刺激。
5．切迷組：天竺鼠先經兩側迷走神經切除術，20分鐘後進行冰水刺激。

四）資料整理及統計分析：

每組資料將以平均值±誤差表示，爲了降低不同動物間基準值差的差異，每個氣道激發反應後的肺功能值將以其老鼠氣道激發反應前基準值的百分比表示。不同處理方法組群間，利用多變數分析比較，$P<0.05$則視爲統計上有意義。

三、結果

於實驗初期，冰水刺激並不能改變未經處理之天竺鼠肺部阻力。爾後實驗得知，食道須先經胃酸（鹽酸）處理，將其致

敏感化，冰水刺激才能改變天竺鼠肺部阻力。以下實驗數值皆在經處理後天竺鼠求得。不同組別基礎及刺激後肺部阻力變化整理於表一。溫水刺激不會引起肺部阻力變化（$p>0.01$）。冰水刺激則起增加肺部阻力（0.188變爲0.204，$p<0.05$），增加的幅度雖然不大，但統計有意義。

此冰水刺激引起之肺部阻力變化在ＡＲ組及ＰＲ組及切迷組皆可見（<0.05，詳見表一）。這兩組與冰水組引起之肺部阻力變化相比則無統計有意義（$p>0.1$）。在切迷組冰水刺激不會引起之肺部阻力變化。

四、討論

氣喘是呼吸系統極爲常見的疾病，喝冰水會引發氣喘的說法盛傳於民間，但實際的影響如何？缺乏客觀的評估，對於其作用機轉及相關因素亦不了解。

本研究顯示於完全正常之天竺鼠，喝冰水並不會引起肺部阻力變化。這也映證正常人喝冰水並不會引起肺部阻力變化或氣喘發作。然而經過處理之天竺鼠，喝冰水則會增加肺部阻力變化。這也暗示當人體有所改變時，不論是呼吸道或食道之疾病，對外界刺激的反應，也會有所改變。

由於喝冰水會引起肺部阻力變化而喝溫水不會引起肺部阻力變化，證實引起氣管收縮的主要因子爲溫度。眾多前人之報告吸入低溫空氣進而降低氣道溫度可引發氣喘病患及天竺鼠之氣道收縮，本研究證實溫度對氣道的效應不僅可經氣道作用亦可經食道作用。下一個疑問是溫度對氣道的效應是否還可經途徑作用？若答案是肯定，則表示溫度對氣道的效應是十分廣汎，且直接間接皆可作用。

在探求引起此現象之機轉及神經控制方面，本研究設計參種實驗模組：１）ＡＲ組，利用副交感神經抑制劑 atropine ，以探求副交感神經於此作用之角色；２）ＰＲ組：利用 phosphoramidon 抑制 neutral endopeptidase 活性，以

探求非交感神經—非副交感神經於此作用之角色；３）切迷組：利用兩側迷走神經切除術，以探求迷走神經於此作用之角色。切迷組冰水刺激並不能改變天竺鼠肺部阻力。此結果證實冰水刺激食道改變肺部阻力的作用主要經由迷走神經作爲神經途徑。在ＡＲ組冰水刺激仍可增加肺部阻力，雖然幅度較小但與冰水組統計上沒有差別。這指出非副交感神經之甲膽不是此作用之主要神經物質。ＰＲ組與冰水組沒有差別，顯示 neutral endopeptidase 不是重要的調控酵素，非交感神經—非副交感神經系統於冰水刺激食道改變肺部阻力的腳色有限。

五、結論

冰水刺激食道可增加處理後天竺鼠之肺部阻力，此現象之機轉及神經控制經迷走神經傳遞，但不以非副交感神經之甲膽爲主要神經物質，亦不以非交感神經—非副交感神經之 neutral endopeptidase 爲重要的調控酵素。

六、參考文獻

1. Barnes PJ. The third nrvous system in the lung: physiology and clinical perspective. Thorax 1984; 3: 561-7.
2. Mansfield LE, Interactions, associations and relationships between the lung and esophagys. Clin Rev Allergy 1990; 8: 381-94.
3. Herve P, Denjean A, Jain R, Simonneau G, Duroux P. Intraesopohageal perfusion of acid increases the bronchomotor response to methacholine and to siocapnic hyperventilation in asthmatic subjects. Am Rev Respir Dis 1986; 134: 986-9.

4. Ekstrom T, Tibbling L, Esophageal acid perfusion, airway function, and symptoms in asthmayic patients with marked bronchial hyperreactivity. Chest 1989; 96: 995-8.
5. Davis RS, Larson GL, Grunstein MM. Respiratory response to intraesophageal acid infusion in asthmatic children during sleep. J Allergy Clin Immnuol 1983; 72: 393-8.
6. Berk JL, Kebber KA, McFadden JR ER. Cold-induced bronchoconstriction: role of ctaneous reflexes vs. direct airway effects. J Appl Physiol 1987; 63: 659-64.
7. Wilson NM, Dixon C, Silverman. Increase bronchial responsiveness caused by ingestion of ice. Eur J Respir DIs 1985; 66: 25-30.
8. Wilson NM, Churdry N, Silverman.Role of the oesophageus in asthma induced by the ingestionof ice and acid. THorax 1987; 42: 506-10.

表一、不同組別基礎及刺激後肺部阻力變化

	基礎值		刺激後		
	平均	誤差	平均	誤差	p
			（百分比）		
溫水組	0.159	0.010	0.162 103	0.010	>0.1
冰水組	0.188	0.012	0.204 110	0.01	<0.05
ＡＲ組	0.201	0.011	0.213 105	0.014	<0.05
ＰＲ組	0.207	0.009	0.229 110	0.013	<0.05
切迷組	0.219	0.010	0.224 102	0.009	>0.1

單位：$cmH_2O/ml/sec$

編號 DOH84-CM-052

中醫「虛症」對輻射曝照反應差異之研究

Characterization of the Responses to Radiation in "Poor Property" Termed in Chinese Traditional Medicine

梁永昌　鄭瑞堂

國立成功大學醫學院

摘　　要

「中醫現代化」乃當今中醫學界全力推動的重點，對於古人將病症以「虛」、「實」分類，所使用之主要症候沿用至今，但是尚沒有一種合理的當代理論來配合說明。糖尿病又名「消渴症」，是一種常見的「虛」症。本研究擬選擇以糖尿病爲「虛」症之代表，研究糖尿病對輻射線照射所引致機體的衝激，觀察其對虛症的影響。

研究材料以正常及糖尿病 BACB/cAnNCrj 小鼠爲動物模型，分別給予 0 cGy, 100 cGy, 300 cGy, 500 cGy, 700 cGy 之全身輻射線照射，觀察其照射後 30 天內之存活情況，並以小鼠之脾臟細胞免疫機能表現之變化，來了解正常及糖尿病小鼠接受輻射線照射激發脾臟細胞對 Concanavalin A 及 Lipopolysaccharide 刺激之增殖反應變化。

結果顯示患糖尿病之小鼠，接受低於 ID50/30 劑量之全身照射劑量後，30 天內之存活無統計學意義之差異，但經高於 LD50/30 劑量之全身照射劑量後，患糖尿病之小鼠全部在一週內死亡，而非糖尿病小鼠則有較長時間之存活率，經全身照射 500cGy 及 700cGy 後，糖尿病小鼠脾臟細胞對 mitogen Con A 及 LPS 刺激之增殖反應顯著的被抑制，較正常小鼠爲低。

Characterization of The Responses to Radiation in "Poor Property"Termed in Chinese Traditional Medicine

Abstract

Modernization of traditional Chinese medicine is the main stream of current development executed by the Chinese medicine society. The ancient Chinese mdeicine categorize diseases into "weak property" status and "strong property" status. The diagnostic criteria governing this classification has been applied to clinical practice for more than a thousand year; however, pertinent scientific medical evidence supporting this theory is still lacking.

We attempt to adopt diabetic BACB/cAnNCrj mice as a model for "weak porperty" status and study the effects of external stress in the form of total body irradiation (0 cGy,100 cGy,300 cGy,500 cGy,700 cGy) on survival and immunoresponse of splenocytes on normal and diabetic mice.

Our results demonstrated that survival is markedly shortened in diabetic mice exposed to supre-LD50/30 doses of total body irradiation as compared to normal mice. No significant survival difference is observed when mice are exposed to sub-LD50/30 doses of total body irradiation.

Significant suppression of spleen cell proliferation to mitogens Concanavalin A and Lipopolysaccharide is observed in diabetic mice as compared to normal mice after 500 cGy and 700 cGy total body irradiation.

The preliminary data of our study demonstrated poorer responses and weaker immunologic response of diabetic mice to external stress (TBI) as compared to non-diabetic mice; providing some scientific evidence to support the "weak property" status categorization of diabetes

in traditional Chinese medicine.

壹、緒論

『中醫現代化』乃當今中醫學界全力推動的重點，中國大陸稱爲『中西醫結合』，目的在於運用當代理論去闡明傳統醫學的意義。對於古人將病症以『虛』、『實』分類，使用之主要症候沿用至今，但是尚沒有一種合理的當代理論來配合說明。

傳統醫學的理念中，辨『虛實』乃區分患病當時體內正氣的強弱與病邪盛衰的正邪消長情形；『邪氣盛則實，精氣奪則虛』。『虛症』形成時，主要是『正氣不足』，唯『邪氣亦不盛』『虛證』具有『氣血虧虛』、『氣不攝血』、『氣隨血脫』等三大氣血病變，乃因古人視『氣爲陰、血爲陽』的相隨資生關係。同現『正氣大虛』所出現的面色清白、脈博微細或聲低息微等，皆爲疾病嚴重的表現。可是，這項『虛證』與當代的『體虛』似乎不盡相同。

糖尿病，古名『消渴症』，也是一種常見的虛症。唐初醫師甄立言『古今錄驗』指出；消渴病者，不泄爲小便也，皆精氣不實於內，則小便數，瘦弱也。張景岳在『景岳全書』中提及：陰虛、陽虛，三消腎氣不足，元陽大衰，氣不攝精，氣不化液而得病；治療以『補』腎陰、腎陽來保養腎氣。趙獻可就以『六味丸』滋少陰之腎水，並加附子、肉桂爲『八味丸』來治療。符合『醫宗必讀』所談：『消渴本病在腎』之原則。

本研究擬選擇以糖尿病爲虛症之代表，研究糖尿病對輻射線照射所引致機體的衝激(Stress)，觀察其對虛症的影響，藉此可提供研究資給臨床糖尿病癌患者接體放射線治療時之指示方向。

貳、研究方法與材料

一、糖尿病小白鼠：

選用BACB/cAnNCrj小鼠由Jackson Laboratory，Bar Harbor，ME，取

得繁殖小鼠，在國立成功大學醫學院動物中心以水飼養繁殖，實驗所使用的小鼠爲5至6週大，約重20g。糖尿病小鼠是以注射Streptojotocin(80 mg/kg)到小鼠腹腔，24小時後，由尾部動脈抽血經由自動分析儀測知血糖濃度在空腹時爲200 mg/dl以上者才供使用。這些糖尿病小鼠血糖維持在每日±10 mg/dl穩定狀態後，才進行輻射線照射實驗。

二、糖尿病小鼠胰島素降血糖處理：

糖尿病小鼠經由尾部血部管注射胰島素，控制血糖回降到100 mg/dl以下連續兩天後再接受輻射線照射處理。

三、短暫高血糖小鼠處理：

取正常小鼠，注射葡萄糖(1g/kg)到腹腔中，每隔一小時注射2次，測知血糖確實上昇到200mg/dl±10mg/dl後，馬上接受輻射線照射處理。

四、免疫機能的評估：

1.脾臟細胞之測定：

經不同法處理及照射之小鼠，以頸椎接斷法殺死，將脾臟取出後，放入培養液(S-MEM)中，然後以鑷子擠碎，再用針筒吸取，篩網過濾，即是單一細胞之懸浮液(Single cell suspension)。取出細胞懸浮液100ul，加900ul的2％醋酸以溶解紅血球。再經醋酸稀釋的細胞懸浮液中取出100ul，加400ul的Saline混合均勻，最後，爲了決定細胞存活率，經Saline稀釋的細胞懸浮液中取出100ul的Trypan blue混合均勻，取出部份，利用血球計數器(Hemacytometer)決定脾臟細胞數目及存活率。

$$\text{每毫升的細胞數目}=4\text{格細胞總數}/4\times10^{4}\times10^{2}$$

(稀釋倍數)

存活率=活的細胞數/總細胞數

2.細胞增殖反應之測定：

將脾臟細胞濃度調爲2×10^{6} cells/ml，加100ul到每個well plate中。再加入100ul的Con A(1ug/ml)或LPS(2ug/ml) mitogen刺激其細胞增殖，將細胞培養在37℃之下，2天後，加入50ul的1.0uCi ^{3}H-thymidine，培養18小時

後，以細胞收集器將每個well內的細胞收集於濾紙上，最後加入Scintillation solution，以β-counter計數之。

五、輻射線照射：

小鼠全身照射(Total body irradiation)是在Varian 2100C直線加速器進行，射束爲20百萬伏特之電子射線，小鼠在壓克力箱子內自由活動，壓克力箱子上下兩面均覆蓋3公分厚之等組織密度材質，SSD爲100公分，照射之劑量率爲400cGy/min.。

參、結果

一、糖尿病小鼠對全身輻射線照射之效應

1.對照組(0 cGy TBI)之正常小鼠，糖尿病小鼠，經Insulin注射降血糖之小鼠及短暫高血糖小鼠之30天存活率均爲全部存活，無差別(圖一)。顯示糖尿病小鼠在正常狀態下，其存活條件與正常小鼠無差。

2.經100 cGy全身照射後各組小鼠之存活亦類似(圖二)，經300 cGy全身照射後，高血糖之糖尿病小鼠及經Insulin注射控制血糖之糖尿病小鼠之存活率，在一週內之存活率較其他兩組非糖尿病之小鼠略低(圖三)唯差異無統計學意義(P>0.5)。

3.經500 cGy全身照射後，高血糖尿病小鼠在一週內全部死亡，血糖控制在正常範圍之糖尿病小鼠有一半可存活到2週。其餘2組都有超過30天的存活(圖四)。

4.經700 cGy全身照射後，患糖尿病之小鼠在6天內全部死亡。正常小鼠，大部份在9天內死亡，但仍有30％存活到第13天，但短暫高血糖之組群則大部份存活超過2週(圖五)。

二糖尿病小鼠脾臟細胞對輻射線照射之存活效應

1.糖尿病小鼠脾臟細胞總數顯著的較正常小鼠爲低，經全身照射後，脾臟細胞數目降低比例顯著地較正常小鼠爲大，且與照射劑量成正比(圖六)。

2.脾臟單一細胞懸浮液之細胞存活率，除在照射對照組差異顯著外，正常小鼠爲96％Vs 糖尿病小鼠80.25％(P<0.05)。照500 cGy及700 cGy全身照

射處理之小鼠脾臟單一細胞之存活率無明顯差異(圖七)。

三、糖尿病小鼠脾臟細胞對Concanavalin A(Con A)及Lipopolysaccharide(LPS)刺激之增殖效應

1.Concanavalin A刺激之增殖效應

如(圖八)所顯示，照射對照組裡，糖尿病小鼠脾細胞(T細胞)對Con A刺激之增殖顯著較正常小鼠爲高，但經500 cGy及700 cGy全身照射後，脾臟T細胞之增殖在糖尿病之小鼠相反地顯著較正常小鼠爲低，但在這放射劑量範圍內無明顯之劑量效應。

2.Lipopolysaccharide刺激之增殖效應

如(圖九)所顯示，照射對照組裡，糖尿病小鼠脾細胞(B細胞)對LPS刺激之增殖如同Con A刺激般顯著較正常小鼠爲高，但經500 cGy及700 cGy全身照射後，脾臟B細胞之增殖在糖尿病之小鼠亦顯著較正常小鼠爲低，亦無明顯之劑量效應。

肆、討論

傳統中國醫學把糖尿病歸納在『虛症』範疇。個體『虛』則外邪容易入侵，以近代西方醫學之觀點，『虛』之體質可能即是個體之身體免疫系統功能之不足，故容易被細菌、病毒感染或罹患癌症。然中醫所云之『虛』包括範圍廣且玄，深奧而難懂。本研究以糖尿病作爲一個『虛』病的例子，探討虛症機體對輻射線衝激(中醫稱爲外邪之一)之效應，與正常小鼠做一比較。

從上述之結果中可以發現在正常狀態下，糖尿病小鼠之免疫細胞對刺激T細胞之Concanavalin A及刺激B細胞之Lipopolysaccharide等mitogens之增殖反應顯著地以倍數高超過正常小鼠之免疫細胞，但經全身照射衝激(外邪入侵)後，糖尿病小鼠免疫細胞對mitogens之增殖反應相反地極度的較正常小鼠免疫細胞下降。表示患糖尿病之小鼠免疫細胞經輻射線衝激後受損程度較爲嚴重或是免疫細胞DNA之修補能力較差。而正常狀態下，因糖尿病小鼠處於假設的『虛』的狀態，免疫細胞對mitogens之誘激產生代償性反應，而產生超常之增殖反應，

然而這些免疫細胞在質的功能上已有某種程度之缺陷，這點從糖尿病小鼠脾臟細胞數及單一細胞懸浮液細胞存活率(圖六及圖七)可得到間接的支持證據。未經照射之糖尿病小鼠脾臟平均細胞數目約爲正常小鼠之40％而單一細胞存活率亦較低(80.25％ Vs 96％)，表示糖尿病小鼠之細胞免疫系統就是處於不足狀態(即『虛』的狀態)，經全身照射後雖然單一細胞存活率與正常小鼠無甚差異，但是脾臟細胞總數遠低於正常之小鼠，亦間接闡明了糖尿病小鼠脾臟免疫細胞之功能在質方面就是較低，對外來之衝激(外邪)如輻射線之抵禦力較低。

在粗的機體存活率表現方面，糖尿病小鼠經高於LD50/30之500 cGy及700 cGy之輻射劑量全身照射後之存活率顯著的較非糖尿病小鼠爲低，在低於LD50/30之300 cGy及100 cGy之輻射劑量全身照射後之存活率顯著的較非糖尿病小鼠稍低，但這未達統計有效意義。在圖一到五中，人爲短暫性高血糖狀態對小鼠全身照射後之存活率並沒有負面之影響可推論糖尿病小鼠之低存活率並非因爲高血糖所導致。這些都說明了患糖尿病之小鼠整體對外來衝激之抵抗能力較差。

綜合本研究所得結果，我們起碼在個體存活率及脾臟細胞免疫方面給傳統中醫學對糖尿病屬『虛』症提供了西醫方面科學證據之理論支持及驗證，當然本研究探討方面較窄，但從本研究之基礎出發，進一正設計更深更廣之研究計畫，可更有效地探索糖尿病『虛』症之科學理論。

伍、參考文獻

1.鄺安坤等(1989)：女性糖尿病、冠心病和高血壓病患者性激素與虛證關係的研究。中西醫結合雜誌,9:331。

2.沈自尹等(1986)：中醫虛證辨證參考標準。同上，6:598。

3.Beck-Nielson，H.(1984)：Pathogenesis of non-insulin dependent diabetes mellitus. Acta Endocrinol.150 (suppl.2):61.

4.Sick, C.W. et al.(1970)：Comparison of the 50 and 100 gram oral glucose tolerance test. Diabetes 19:852.

Fig. 1:Survial of control group mice.

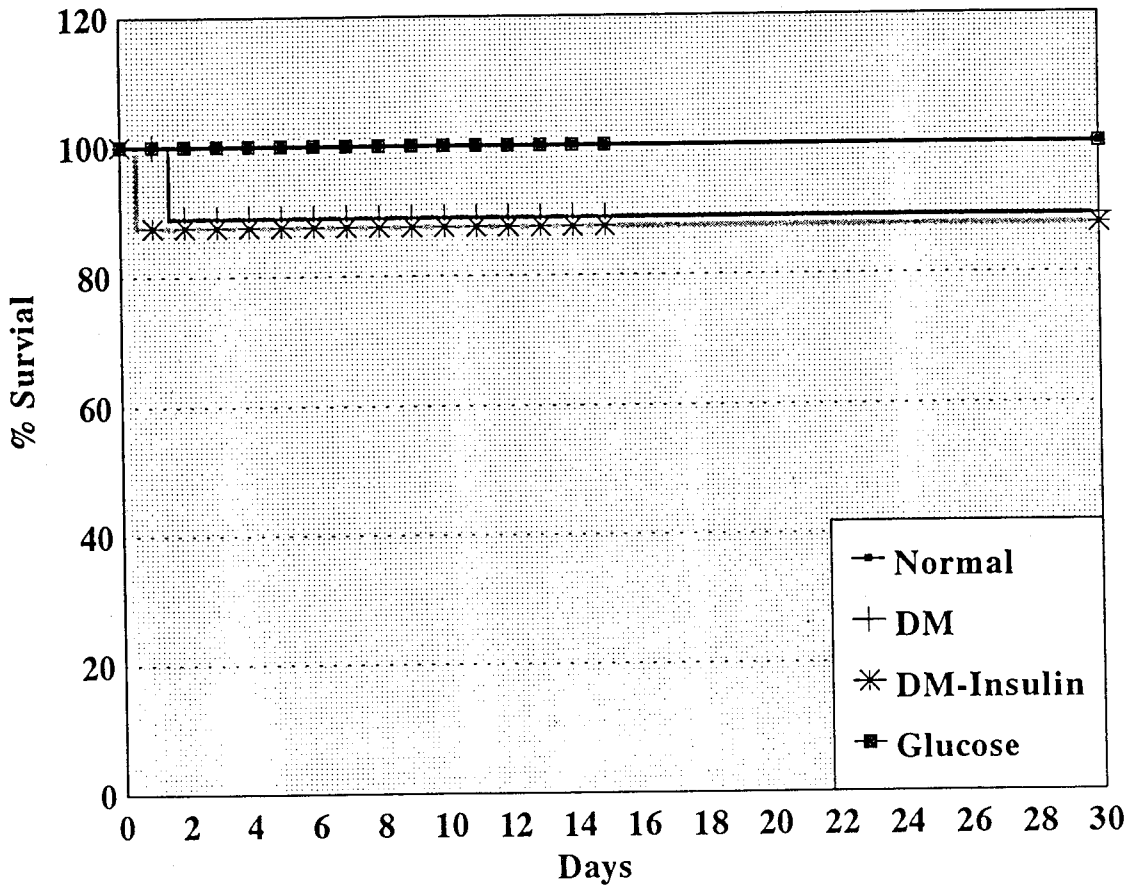


Fig.2:Survival after 100cGy TBI.

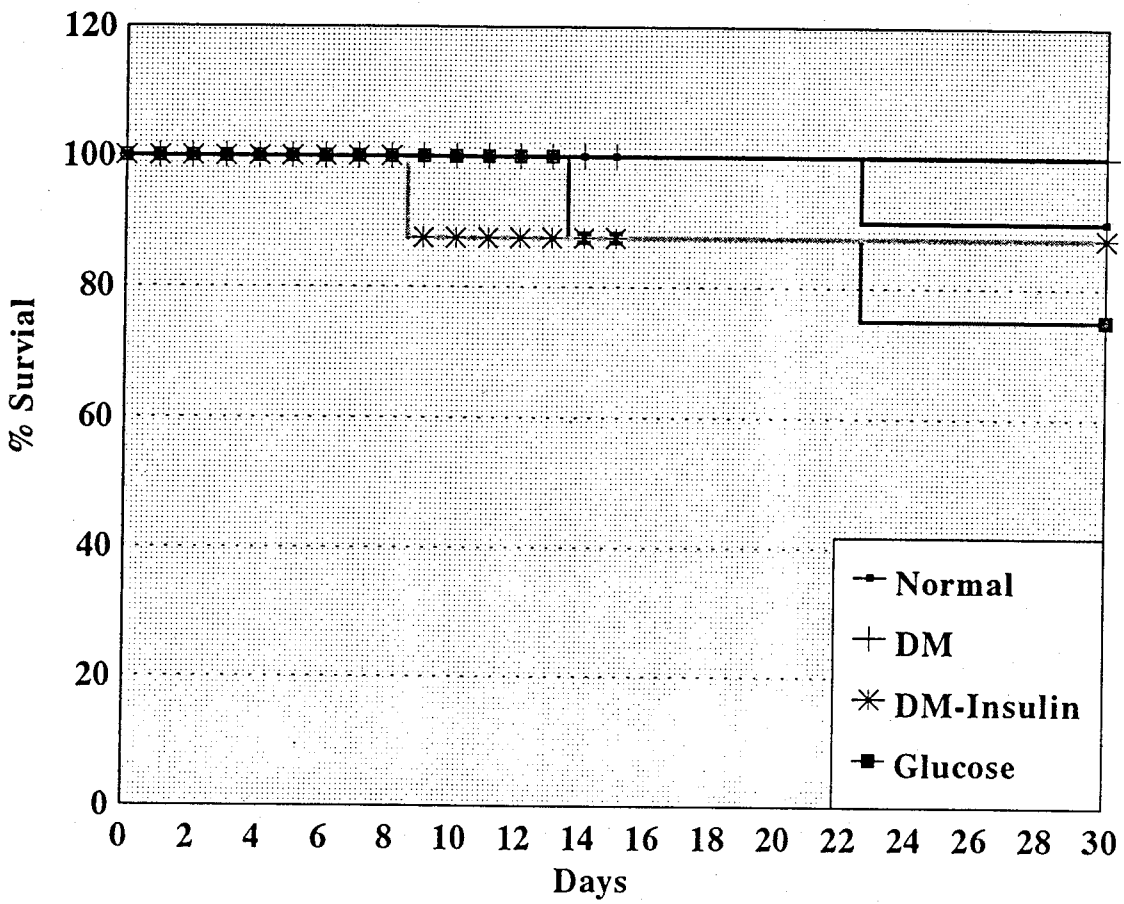


Fig.3: Survival after 300 cGy TBI.

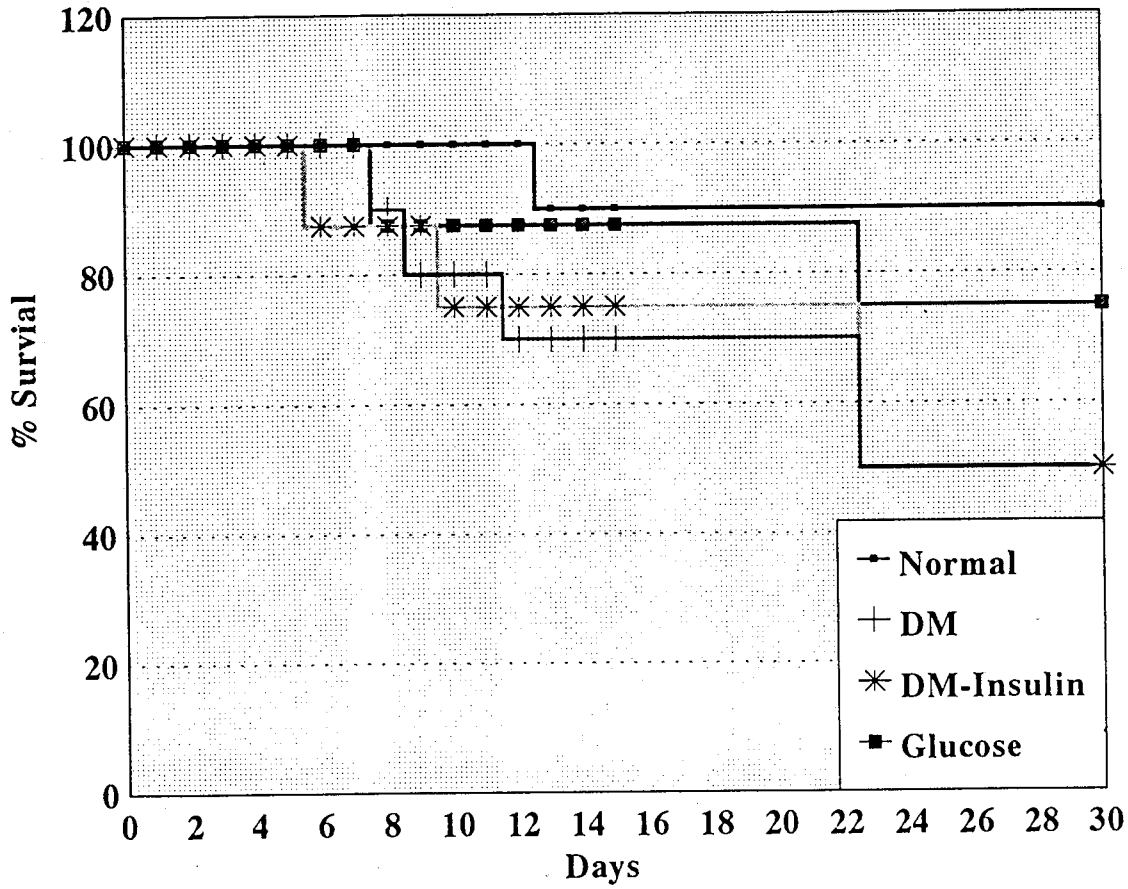


Fig. 4:Survial after 500cGy TBI.

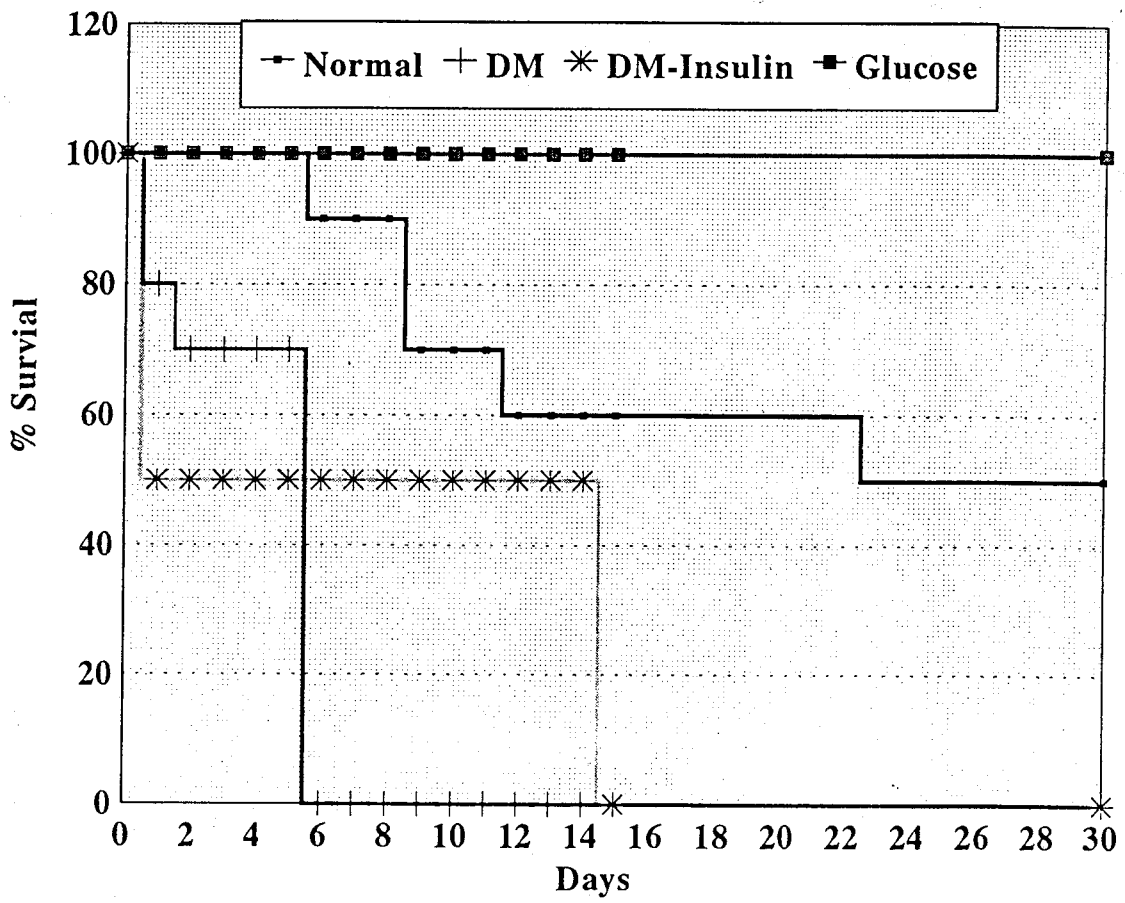
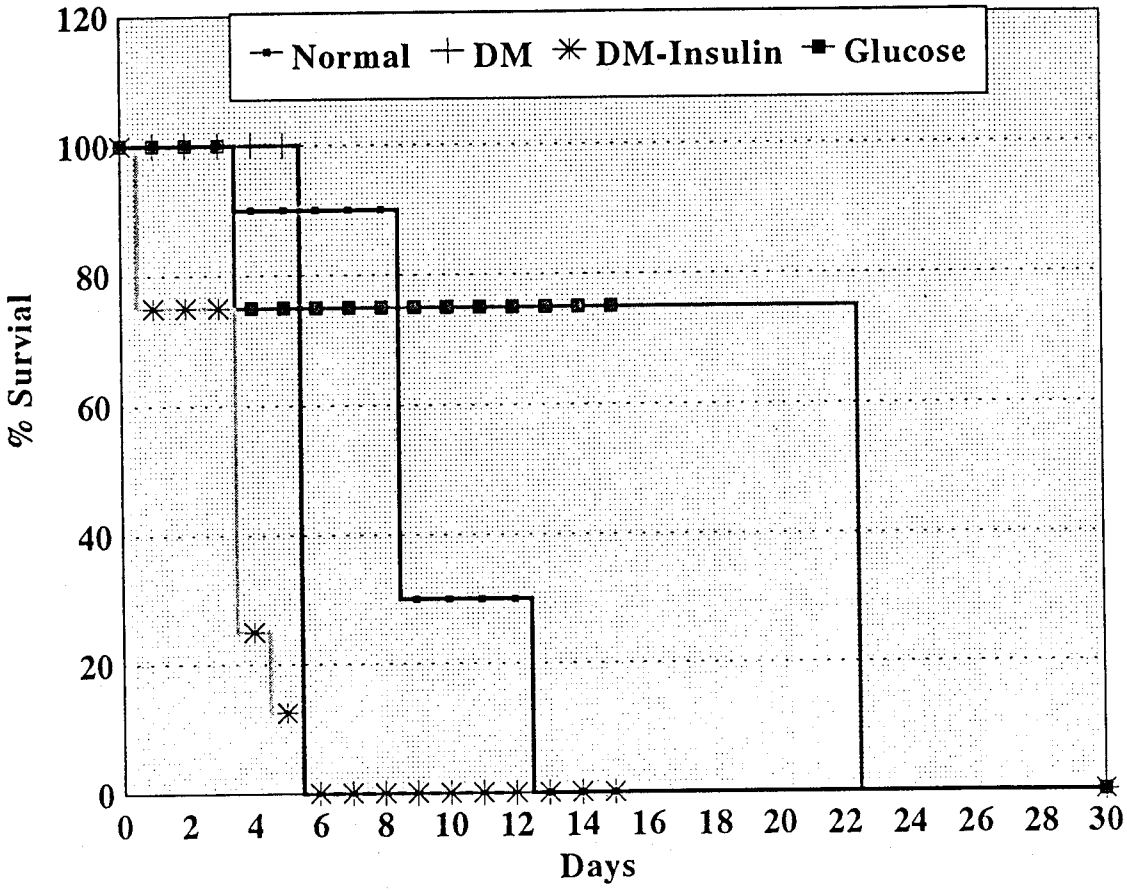


Fig. 5:Survial after 700 cGy TBI.



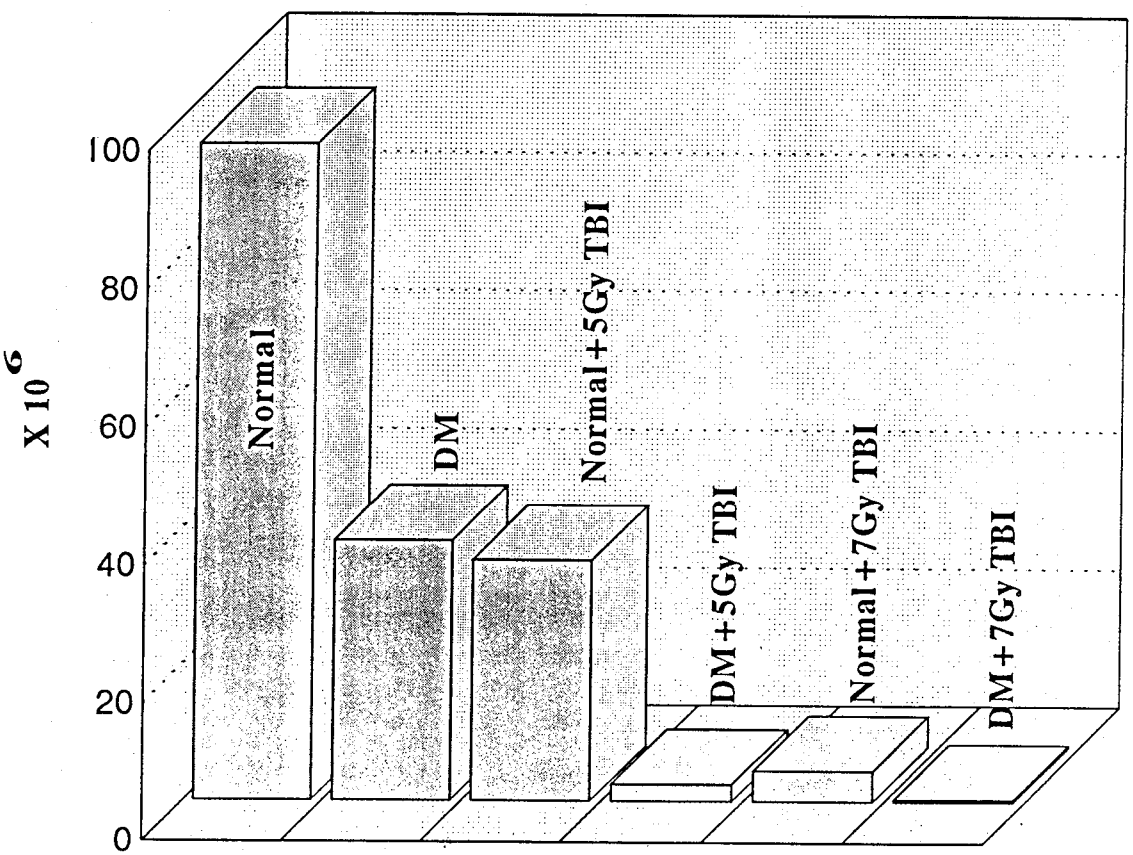


Fig 6. Splenocyte Number

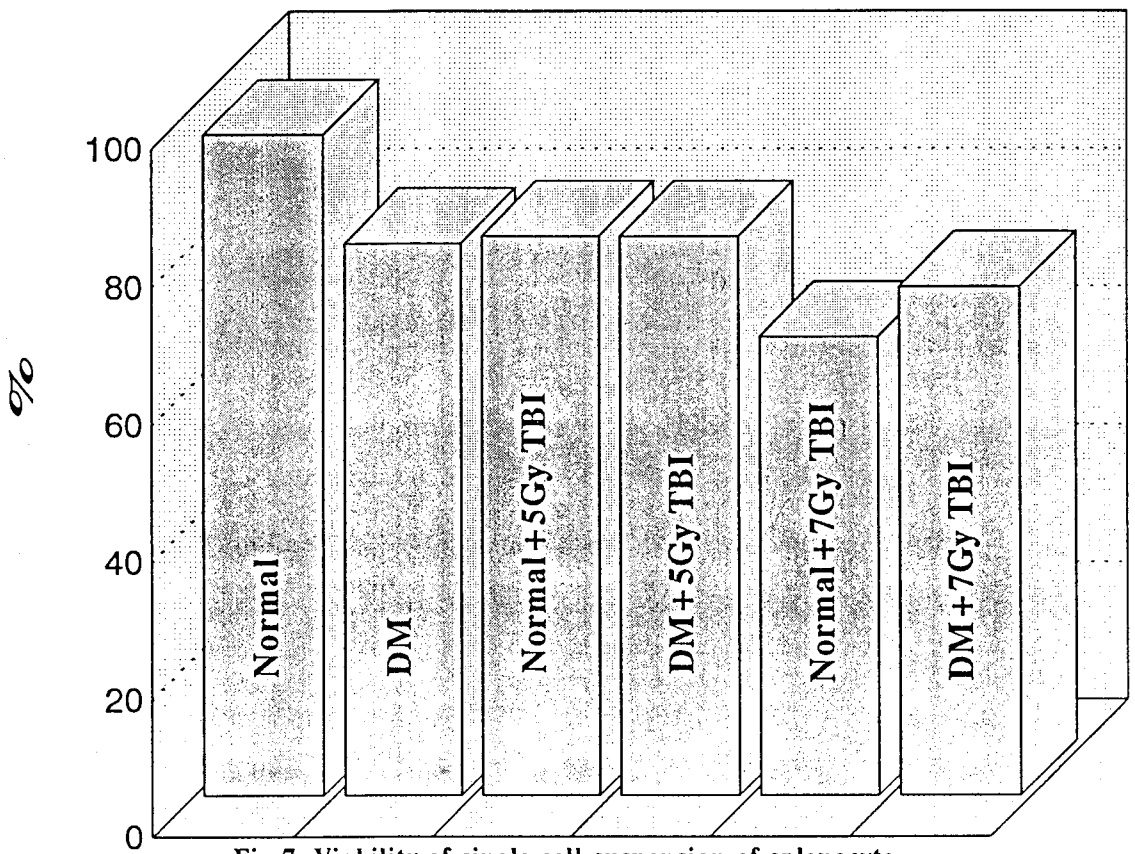


Fig 7. Viability of single cell suspension of splenocyte.

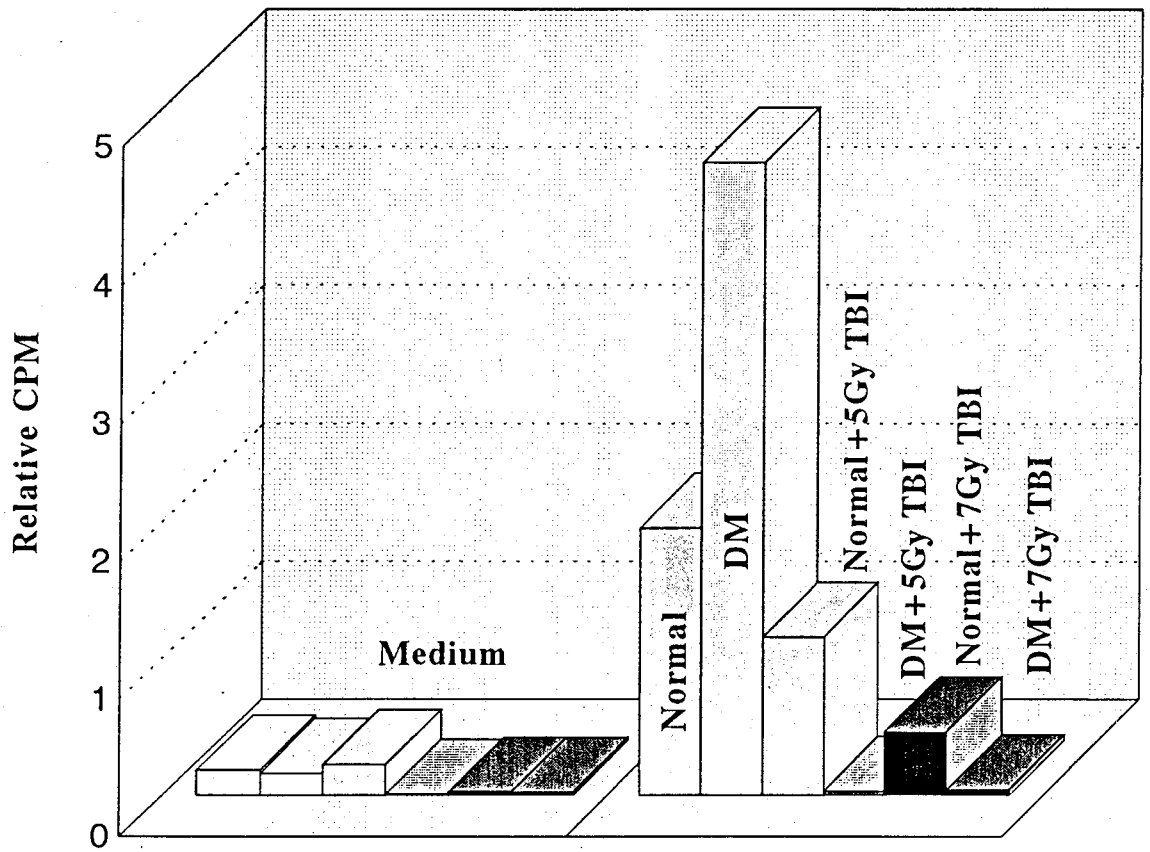


Fig 8. Cell Proliferation Effect After Con A Stimulation.

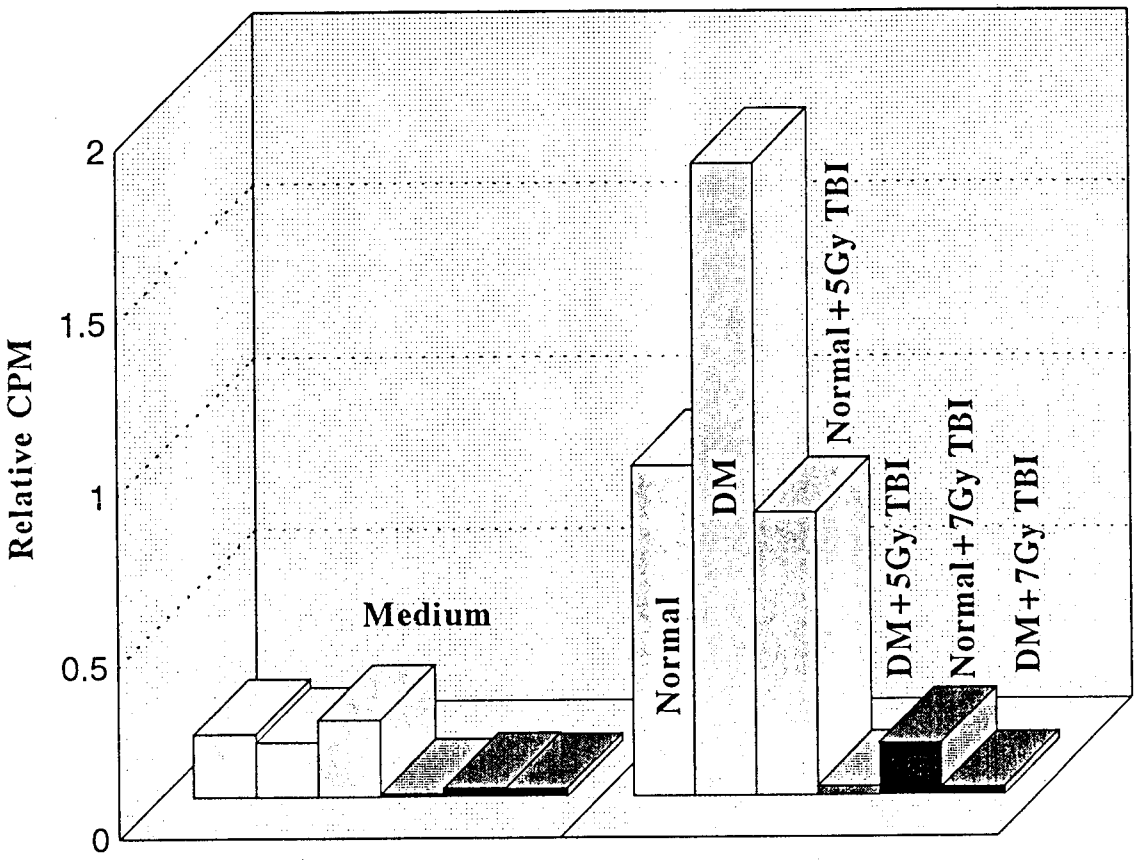


Fig 9. Cell Proliferation Effect After LPS Stimulation.

編號 DOH84-CM-053

琥珀散治療痛經的臨床實驗研究

張白欣　陳榮洲　*周昌德　吳慈榮

中國醫藥學院附設醫院中醫婦科
*中國醫藥學院附設醫院風濕免疫科

摘　　要

本研究選用琥珀散出於清朝武之望編著濟陰綱目卷一調經門，是臨床中醫婦科醫師常用來治療婦女痛經，止痛效果最佳的方劑之一。經過詳細病史及一般常規檢查，或腹部超音波檢查及CA-125分析，挑選正常的痛經自願者。以雙盲交叉方式給藥，從月經前六天起，口服琥珀散或安慰劑，用問卷評分表評估臨床症狀，同時測定給藥兩次血液及經血中的$PGF_2\alpha$和PGE_2濃度變化爲客觀指標。計有13名痛經病人完成兩次治療及血液和經血收集。研究顯示琥珀散與安慰劑療程相比，前者可以降低痛經病人經血中的$PGF_2\alpha$ ($P < 0.01$)，對經血中PGE_2和血漿中的$PGF_2\alpha$沒有影響。以兩種臨床症狀評分表比較兩次療程亦有改善作用 (VMDSS $P < 0.05$, SCORE $P < 0.001$)。分組比較發現：琥珀散能降低重度痛經病人經血中$PGF_2\alpha$ ($P < 0.005$)，對輕度或中度痛經病人經血中PGE_2和血漿中的$PGF_2\alpha$沒有明顯影響；對舌紅有熱象的痛經病人經血中$PGF_2\alpha$和PGE_2與血漿中$PGF_2\alpha$沒有影響，其臨床症亦無明顯改善，對舌質不紅無熱象的痛經病人經血中$PGF_2\alpha$和PGE_2兩者皆有顯著降低作用 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，對臨床證狀也有明顯改善效果。

琥珀散可減輕痛經病人的臨床症狀，其機轉之一是降低痛經病人經血中的前列腺素$PGF_2\alpha$濃度，但以無熱象的中醫證型療效爲佳。琥珀散對無熱象

兼證的痛經病人，其作用是降低經血中前列腺素 $PGF_2\alpha$ 和 PGE_2 濃度。

前　　言

痛經是婦科門診常見主訴症狀之一，1982 年瑞典採隨機取樣調查年青婦女原發性痛經盛行率 2,621 人佔了 72％(1)，高雄醫學院 1987 年調查台灣南部青春期少女 4,200 人，其中 70.5 ％經驗過不同程度的痛經，痛經女生中 16.5 ％需要藥物治療(2)。1980 年大陸學者抽樣調查全國婦女 71,746 人次，有痛經者佔 33.19 ％，其中原發性痛經佔 36.06 ％，繼發性痛經佔 31.73 ％，嚴重影響工作者佔 13.55 ％(3)，它造造成學校或工作上的缺勤，使工作能力降低而影響社會經濟增加花費，或減少生育力(4)。從 1965 年 Pickle's 發現痛經病人的子宮內膜上皮和經血中前列腺素（Prostaglandin）比正常人高以來(5)，許多相關研究陸續証明前列腺素是本病的原因之一。研究顯示原發性痛經可能是子宮肌肉反應性過高，當子宮收縮時，能造成繼發性的子宮肌層缺血、缺氧，降低了骨盆神經末稍對物理和化學刺激的閾值導致疼痛，而這些現像發生與子宮內膜、子宮肌肉和血漿中的前列腺素含量增高有密切關係(6-8)。

另一方面，本來痛經被認爲是情緒上的因素居多，但是發現前列素抑制劑如孚魯芬那密克酸（Flufenamic acid）對本病治療有效以後，痛經的許多症狀便懷疑與前列腺素有關。原發性痛經的治療服止痛藥療效差者佔 10 ～ 30 ％(9-10)，1991 年 Nigan 等人研究顯示痛經程度與經血中白三烯素和血小板活化因子呈正比關係，認爲子宮肌層活性的過度刺激作用不僅僅只是選擇性刺激一種花生四烯酸（Arachidonic acid）的代謝途徑，而更是刺激全體磷脂質的代謝(11)。因此証明了目前非類固醇類止痛藥和抗發炎藥物治療原發性痛

經藥物爲臻全善的原因之一，而它造成的一些副作用也未克服(12-13)。

中醫認爲痛經的發病機理主要是氣血受阻和經行不暢，有因實“不通而痛”；或衝任胞宮失於濡養因虛“不榮而痛”，但以氣滯血瘀型爲多(14)。歷代醫家對婦科痛經之治療有其獨到的特點，由於缺少統一的療效標準，因此各家報告的療效無法一致，甚至將原發性痛經和繼發性痛經混爲一談，這樣影響了臨床療效的可比性，也不利於臨床療效的總結。近年來中醫藥研究陸續証明部份中藥影響微循環、血小板及前列素代謝(16-21)。因此，痛經可能存在著部份心理因素影響，因此除了詳細問卷調查外，應設立對照組觀查，同時以客觀的標準衡量療效評估。本研究之動機，藉測定前列腺素濃度變化爲客觀指標，配合臨床症狀評分，選用一種臨床治療痛經療效最顯著的方藥，來探討中藥機轉與評估療效。對於非類固醇類止痛藥有禁忌症，或無法止痛的痛經婦女，期望此研究結果有助於臨床醫師多一項選擇的治療方法。

材 料 和 方 法

一．材料

從 82 年 5 月 1 日起，至 82 年 10 月 31 日止，共六個月，在中國醫藥學院附設醫院婦科門診有 28 名痛經病人納入研究。其中的 18 名完成兩個月經周期治療，有 5 名病人的血液檢體收集不良， 3 名病人中途放棄採血，共計有 13 名完成兩次治療及血液和經血收集。

研究對象

（ 1 ）選取月經規律的痛經病人，經詳細病史問診，問卷內容見表一、表二。

（２）痛經病人無月經過多症，平均經血流失量控制在一天五至九個棉墊。

（３）委託西醫婦科檢查，選擇 CA-125 和 CRP 或腹部超音波檢查，檢查正常的痛經病人。

（４）選取月經規律且無痛經者當正常組。

（５）所有研究對象無全身性疾病。

（６）此項研究所有自願被實驗者被告之且穫得承許。

（７）所有被實驗者在此項研究前至少三個月停用口服避孕藥或子宮內避孕器及賀爾蒙治療，同時經血收集之前停止前列腺素合成酵素抑制劑或其它中藥治療。

（８）採血前四十八小時禁止性活動。

（９）痛經分級有兩種：

a. 依據 1982 年 Andersch 和 Milson 訂定“ Verbal multidiminsional scoring system ”見表三，以下簡稱爲 VMDSS(1)。

b. 依照 1985 年中國衛生部藥政局訂定“中藥治療痛經的臨床研究指導原則”見表四，以下簡稱 SCORE 評分標準(50)。

表一
編號：
日期：

痛經病人特別門診問卷表

姓名		年齡		病歷號碼	
住址				聯絡電話	
身高		體重		血壓	
婚姻		生育史			
初經年齡		月經週期	天	行經	天
經血顏色	淡紅 鮮紅 暗紅	血量	多 平 少	平均一天用幾塊棉墊	
經血中帶血塊	無 有 多 少			最近月經	月 日
疼痛何時開始	從月經前（ ）天 月經來（ ）天 月經後（ ）天				
疼痛持續多久	至月經前（ ）天 月經來第（ ）天 月經後（ ）天				
VMDSS 分級	工作能力	全身症狀	止痛劑		
零級	不影響	無	不需要		
一級	很少影響	無	很少需要		
二級	中等影響	少許	需要		
三級	明顯抑制	明顯	療效差		
治療史	是否裝子宮內避孕器 否 是 劑量 療效 明顯 差 平				
	曾內服何種止痛藥 否 是 服藥天數 療效 明顯 差 平				
	曾內服何種避孕藥 否 是 影響月經 療效 明顯 差 平				
婦科檢查		測定值			

表二

中醫特別門診中醫辨証分型問卷表

			問　　診				
疼痛	1.時間	a.經前(____天)	b.經期	c.經後(持續__天)	d.平時		
	2.性質	a.脹痛	b.刺痛	c.冷痛	d.隱隱痛	e.綿綿痛	f.灼熱痛
		g.空墜痛	i.痠痛				
	3.	a.拒按	b.喜按	c.得溫痛減			
	4.部位	a.小腹	b.少腹	c.腰	d.骨盆	e.胃	f.頭
經血	5.塊	a.無	b.有				
	6.質量	a.稠	b.薄	c.多	d.少		
	7.色	a.淡	b.黯紫	c.黯紅	c黯淡	e.黑豆汁	
證	8.二便	a.軟	b.硬	c.正常	d.清長	e.黃短	
	9.症狀	a.頭暈	b.眼花	c.耳鳴	d.潮熱低熱	e.畏冷身痛	f.神疲乏力
		g.腰酸腿軟	h.胸脅乳脹	i.健忘失眠	j.手足欠溫		
	10.月經	a.先期(____天)	b.延期(____天)	c.正常			
	11.帶下	a.量(多、少)	b.質(稠、稀)	c.色(__)	d.癢		
			望　　診				
面	12.色	a.蒼白	b.萎黃	c.晦暗			
舌	13.色質	a.淡	b.紅	c.黯紫	d.瘀點		
	14.苔	a.薄	b.膩	c.潤	d.淡	e.白	f.黃
			脈　　診				
脈	15.型	a.沉	b.細	c.弱	d.濡	e.弦	f.滑
		g.緊	h.數				

表三、VMDSS 痛經評分表

分級		工作能力	全身症狀	止痛劑
零級	月經期間不痛亦不影響每天活動	不影響	無	不需要
一級	月經期間疼痛但很少抑制正常活動，止痛劑很少需要，輕度疼痛	很少影響	無	很少需要
二級	影響正常生活，需止痛劑止痛，工作或學校不缺席，中度疼痛	中等影響	少許	需要
三級	活動明顯受抑制，止痛劑療效差，症狀如：頭痛、疲倦、噁心、嘔吐和腹瀉，嚴重疼痛	明顯抑制	明顯	療效差

表四、 SCORE 痛經評分標準

經期及其前後小腹疼痛	5 分（基礎分）
腹痛難忍	1 分
腹痛明顯	0.5 分
坐臥不寧	1 分
休克	2 分
面色恍白	0.5 分
冷汗淋漓	1 分
四肢厥冷	1 分
需臥床休息	1 分
影響工作學習	1 分
用一般止痛措施不緩解	1 分
用一般止痛措施疼痛暫緩	0.5 分
伴腰部痠痛	0.5 分
伴噁心嘔吐	0.5 分
伴肛門墜脹	0.5 分
疼痛在一天內	0.5 分
疼痛期每增加一天	0.5 分

重度：積分爲 13-l5 分
中度：積分爲 8-12 分
輕度：積分爲 5-7 分

（ 10 ）中醫辯證要點(23.24)

1 ）氣滯血瘀

1-經前或經期小腹脹痛。

2-行經量少而不暢，經色黯紅夾有血塊，塊下痛減，伴胸脅乳房作脹。

3-舌苔薄白，舌質紫黯或有瘀斑，脈象弦澀。

2 ）寒濕凝滯

實寒

1-經期或經前小腹冷痛或絞痛拒按，得熱痛減。

2-經量少，色黯有血塊，行而不暢。

3-舌苔薄白或白膩，舌質晦暗，脈象沉緊。

虛寒

1-經行小腹綿綿作痛，喜熱喜按。

2-經色淡，量少質稀，伴肢冷便溏。

3-舌苔薄白，舌質淡紅，脈象沉細。

3）氣血虛弱

1-經期或經後小腹隱隱墜痛，按之痛減。

2-經量少，色淡質稀，伴面色恍白，神疲乏力，納呆便溏等症。

3-舌苔薄白，舌質淡，脈虛細無力。

4）肝腎虧損

1-經期或經後小腹隱痛。

2-經量或多或少，經色紅，伴腰痠膝軟，頭暈耳鳴等症。

3-舌苔少，舌質淡紅，脈沉細尺弱。

5）濕熱瘀阻

1-經前或經期小腹脹痛，拒按有灼熱感，平時小腹亦痛。

2-經色黯紅質稠或有塊，平時帶下色黃或有穢臭。

3-舌苔黃膩，舌質紅，脈弦數或濡數。

治療過程

(1)中藥治療組病人於每次經前一週來中醫婦科門診，估病情、發給採血用品、受試者須知及痛經日誌，見表五、表六。

(2)由中藥局分配給藥或安慰劑，詳細登錄用藥種類和交付藥品給病人，進行雙盲自身對照交替給藥臨床試驗。

(3)病人經前連續服用五天中藥，一日服藥三次，每次四顆膠囊。

(4)病人記錄每月之痛經日誌，自行評分。

(4)若服用中藥膠囊仍經痛甚劇者，允許病人在採血完畢後服用非類固醇類止痛藥。

(5)治療觀察兩個月經週期。

中藥製作

(1)委託中藥局採購藥材、鑑定藥材、製成膠囊。琥珀散組成如下：

當歸	*Angelica sinensis (Oliv.) Diels*
熟地	*Rehmannia glutinosa Libosch*
三稜	*Sparganium stoloniferum Buch.-Ham*
莪朮	*Curcuma zedoaria (Berg.) Rosc*
劉寄奴	*Artemisia anomala S. Moore*
烏藥	*Lindera strychnifolia (Sieb. et Zucc.) Villar*
丹皮	*Paeonia suffruticosa Andr*
延胡索	*Corydalis bubosa DC Cham. et Schlecht*
赤芍	*Paeonia veitchii Lynch*
清華桂	*Cinnamomum cassia Presl*
黑豆	*Glycine max (L.) Merr.*

各等份，前五味與醋一升（比例10：1）和黑豆一斤同煎，煎至豆爛爲度，取汁培乾，入後五味，研粉，裝成膠囊。

(2)安慰劑組成：澱粉炒微黃，分裝製成與琥珀散外形一致之膠囊。

(3)每顆膠囊平均重500毫克，每次服兩克（四顆），一日三次。

表五：

＊＊＊受試者須知＊＊＊

實驗名稱：琥珀散治療痛經的臨床實驗研究

本研究目的在探討中藥琥珀散治療痛經，對血液和經血中前列腺素濃度的變化。爲了獲得正確的研究結果，並保障您的權益，請詳細閱讀並遵守下列事項：

一、實驗前三個月停用子宮內避孕器或賀爾蒙治療，同時血液及經血收集之前停止服用止痛藥。

二、採血前不得飲用茶、咖啡及其它含咖啡因之飲料。

三、本實驗總共收集二個月經周期之血液，請於月經前七天來中醫婦科領藥，連續服藥。

四、收集血液方式：每個月發必備品一包。

1・內容：塑膠管一支，裝經血用。玻璃管一支，裝靜脈血用，尙未加Heparin。吸管一支。集血袋二個，收集經血用。痛經日誌一張，請詳實記錄當月月事狀況。

2・每次月事來第一天（見血24小時內），先以無菌棉球將陰道口拭淨，再將集血袋展開，粘於陰道日承接經血二小時，收集經血至少2CC以上。

3・請穿寬鬆內褲，再墊上加長型蝶翼的衛生棉。

4・收集經血時，儘量勿久坐，以免溢出。

5・爲免活性成分衰變，請將經血以吸管吸入塑膠管中，放於冰箱或冷處，儘速聯絡並以冰浴送。

6・同時每次月事來第一天，請直接至中國醫藥學院A棟二樓風濕免疫科抽靜脈血8CC。

五、第一次治療前月經後二個星期內，請至西醫婦科做一次腹部超音波檢察，以排除其它婦科疾病。

六、若您在實驗當中有任何不適情況發生，應立即告知醫師，詳細檢查並停藥。

七、若治療期間服用中藥無法緩解月事疼痛，允許在血液收集之後使用西藥止痛劑。

八、若您半途欲停止繼續治療，請事先通知並完成最近一次周期的採血以結案。

表六

痛 經 日 誌

姓名		年齡		病歷號碼	
住址				聯絡電話	

填寫日期：　　年　月　日
最近月經：　　年　月　日 am,pm __開始，持續__天。
採血時間：　靜脈血 am,pm ____　　經血 am,pm ____
請在各症狀上評分：　(分五種等級 A.無 B.一點點 C.中等 D.嚴重 E.非常嚴重)

1.腹痛
(絞痛、悶痛、脹痛、隱隱痛、痠痛、陣痛)
2.頭痛
3.腿痛
4.背痛、腰痛
5.身體痛
6.噁心
7.嘔吐
8.食慾變（差、佳）
9.便秘
10.腹瀉
11.頭暈
12.蒼白
13.疲乏
14.無力
15.嗜睡
16.膨脹感
17.乳房脹痛(經前、經期、經後)
18.緊張
19.憂鬱
20.易受刺激
21.神經質
22.不易專心
23.影響日常工作情形
24.經量（中等 多 少） 血塊
25.口乾、口苦

最近一週是否有其它疾病：感冒 發燒 過敏 腹瀉 胃痛 其它____
服藥第幾次：___
服藥後痛的改善：(A.更痛 B.無效 C.一些 D.改善 E.非常滿意)
服藥幾粒即可改善：____
服藥後是否有其它不適，請詳細填寫：
(如出經量減少、出血延長、胃痛、嗜睡、口乾、口苦)

1. _____

2. _____

謝謝您的合作！

材料

(1)$PGF_2\alpha$和酵素免疫分析套組（ Enzyme Immunoassay Kit, Cayman Chemicals, Amm, Arbor, MI, USA ）。

(2)藥品：

肝素（ Heparin ）

Indomethacin （ 1-〔 p-Chlorobenzoyl 〕-5-Methoxy-2-Methylindole-3-Acetic Acid ）Crystalline SIGMA Lot60H0448

(3)試藥：

無水乙醇（ Ethanol absolute GR,MERK Lot No.983.1000 232K18321183 ）

乙酸乙酯（ Ethyle Acetate, LC Grade, ALPS CHEM Co, LTD, Lot No FA44000321 ）

甲醇（ Methyl Alcohol, LC Grade, ALPS CHEM Co, LTD, Lot No DJ30010943 ）

正己烷（ n-Hexane, LC Grade, ALPS CHEM Co, LTD, Lot No FA44000321 ）

0.1M pH 4 磷酸鹽緩衝液（ 0.2M $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ 加高純度到 2000 ml ，以 0.1 N HCl 調到 pH 4 ）

(4)消耗性用品：

針筒，採血管 Venoject （ Silicone coated ），集血袋，夾鍊袋，吸管，塑膠管， Ependorff ，液態閃爍瓶

管柱承接器（ Column Adapters,RIA-COLA ）

逆相碳-18 管柱（ C-18 reverse phase cartridge, SEP-COLUMNS Packed with C18 sorbent, Catalog No. RIK-SEPCOL-1, Lot 104213121413, PENINSULALABORATORIES, INC. 611Taylor Way, Belmont, CA, USA ）

(5)儀器：

酵素免疫分析 96 孔微量盤吸光度測定儀（ DYNATECH MR5000, 96well EIA Microplate OD Reader ）

液態閃爍放射測定儀（ BECKMAN ）

眞空抽吸器與眞空離心機

檢體處理

一．檢體前處理(11.38)：

經血收集

(1)用含有 10 ug Indomethacin 集血袋收集第一天經血二至四小時，第一天範圍是月經週期開始的二十四小時爲限。

(2)收集檢體 2 至 6 ml ，以冰浴送檢體。

(3)在 4 ℃下離心 1700g 十五分鐘，收集上清液。

(4)貯藏於零下 70 ℃待成批測定。

(5)以上均使用汐包覆之試管。

血液採集

(1)採月經第一天的靜脈血 8 ml ，第一天範圍是月經週期開始的二十四小時內爲限。

(2)靜脈血放入含有 10 ug Indomethacin 的肝素化試管。

(3)血液在 4 ℃下離心 1700 g 十五分鐘，取上清液貯藏於零下 70 ℃直到檢測。

二．檢體純化(25.26)：

(1)加已知量經血或血漿檢體到乾淨試管中（約 500 微升）。

(2)加 5000 cpm tritium-labeled $PGF_2\alpha$ 。

(3)加 2 ml 無水乙醇。

(4)振盪混合。

(5)4 ℃靜置分鐘。

(6)1500g 離心 10 分鐘。

(7)取上清液倒入乾淨的 10 毫升試管中。

(8)丟棄沉澱物（去除蛋白質）。

(9)加 8 ml 0.1 M 磷酸鹽緩衝液（ pH 4 ）。

(10)振盪混合。

(11)將檢體通過已活化的逆相碳-18 管柱。

(12)用 5 ml 超純水通過逆相碳-18 管柱。

(13)用 5 ml HPLC 級鄰幾烷通過逆相碳-18 管柱。

(14)丟棄水及正己烷液。

(15)以 5 ml 乙酸已酯通過逆相碳-18 管柱沖洗出 $PGF_2\alpha$ 。

(16)用眞空離心機抽乾有機溶劑。

(17)加 1 ml EIA Buffer 振盪混合均勻。

(18)取 500 ul 溶液進行液態閃爍計數。

(19)計算回收率。

(20)剩餘 500 ul 檢體進行酵素免疫分析測定。

三．酵素免疫分析：

運用間接性競爭免疫酵素分析（ Competitive Indirect Enzyme Immunoassay ）測定原理，使用商業性測試盤，盤中每個小孔內包覆著老鼠單株抗體，與專利配方的阻斷蛋白質。將定量的前列腺素 TRACER 、兔子抗前列腺血清、前列腺素標準溶液或檢體加入小孔內，培育十六小時。前列腺素 TRACER 與抗前列腺素血清結合成複合體，而後再結合上小孔上老鼠單株抗體，之後洗去未結合的物質，加入呈色劑，呈色劑受 TRACER 上乙醯膽脂酵素（ acetylcholinesterase molecule ）作用而呈色，在 412 nm 波長下測定吸光度，從標準溶液的吸光度曲線計算檢體的前列腺素濃度。吸光度與結合的前列腺素 TRACER 成正比，又與前列腺素濃度成反比。

吸光度∞〔結合的前列腺素 TRACER 〕∞ 1/〔前列腺素〕

四．CA125 與 CRP 測定

（1） Imx CA125 測定

是一種微粒子酵素免疫分析（ Microparticle Enzyme Immuniassay ; MEIA ）定量測定人體血清中 CA125 值。 CA125 包覆在微粒子上，與稀釋檢體在反應槽中培育，期間檢體中 OC125 反應的決定基結合到微粒子上，生成抗原－抗體複合物。將混合物移至玻璃纖維的基質，使微粒子成爲不可逆鍵結，加鹼性磷酸酵素共軛體到基質中，與抗原－抗體複合物結合。洗去爲結合物質，加入受質 4-Methylumbelliferyl phosphate，產生螢光物質，測定其螢光度推算濃度，正常質小於 35 U/ml 。

（ 2 ） CRP 定量

利用免疫混濁度法（ Turbidinetric Immunoassay ）測定 CRP ，在 PEG （ Polyethylene glycol ）存在之下，發生抗原－抗體免疫複合物的免疫沉澱反應。 PEG 加速與增加免疫沉澱反應，反應終點用雙波長 340/600 nm 測定混濁度，它與檢體中 CPR 濃度成比例，正常值小於 1.6 mg/dl 。

統計分析

(1)每個被研究對象同時被觀察或測量多種屬性，將這些觀察或測量結果列爲變項，包括觀查臨床症狀變化與測量前列腺素濃度。各數值以算術平均值及標準差（ Mean ± SD ）表示。

(2)t-檢定(Student t-test)分析比較正常組、痛經組及治療組各証型組間各種變項的差異性可靠性，以 $P < 0.05$ 當作具有統計意義。

(3)治療組自身對照交叉實驗，以 Paired T-test ，統計分析琥珀散及安慰劑對前列腺素 $PGF_2\alpha$ 、 PGE2 濃度與臨床症狀，其兩次治療的藥物效用，以 $P < 0.05$ 當作具有統計意義。

(4)統計軟體用 MYSTAT(27)。

結　　果

從1993年5月1日起，至1993年10月31日止，共六個月，在中國醫藥學院附設醫院中醫婦科門診有 28 名痛經病人納入研究。其中的19名完成兩個月經週期治療，有5名病人的血液檢體收集不良，3 名病人中途放棄採血，共計有 13 名完成兩次治療及血液和經血收集。

一、基本資料

本研究經過篩選將 6 名自願的無痛經婦女列爲正常組， 19 名有週期性痛經的婦女列爲痛經組；在此 19 名痛經病人中採用血液樣本收集完整的對象 13 名列爲治療組。正常組均爲未婚婦女痛經組有兩名已婚婦女，其中一名已生育，一名未曾生育，治療組有一名已婚未曾生育婦女。三組採取月經第一天 24 小時內的經血及血漿，分析血漿中 CA 125 和 CRP ，與經血和血漿中前列腺素 $PGF_{2}\alpha$ 和 PGE2 濃度。痛經組是取停藥或服用安慰劑的月經週期檢體爲樣本。

正常組平均年齡 27.3 ± 1.6 歲（最大 29 歲，最小 25 歲），初經年齡平均 14.3 ± 1.0 歲，月經週期平均 29.2 ± 0.98 天，行經天數平均 5.0 ± 0.6 天， CA 125 平均濃度是 13.3 ± 3.5 （ U/ml ），SCORE 評分在 5 分以下， VMDSS 評分爲零。在痛經組方面，平均年齡 26.0 ± 6.3 歲（最大 42 歲，最小 17 歲），初經年齡平均 14.0 ± 1.5 歲，月經週期平均 28.4 ± 2.0 天，行經天數平均 6.3 ± 1.8 天，痛經年齡平均爲 16.2 ± 4.2 歲，痛經年數平均爲 10.3 ± 3.9 年， CA 125 平均濃度 14.5 ± 4.3 （ U/ml ），未服藥時 VMDSS 評分爲一級以上，SCORE 評分平均爲 12.1 ± 3.2 分。治療組平均年齡 25.9 ± 5.3 歲（最大 27 歲，最小 18 歲），初經年齡平均 14.1 ± 1.6 歲，月經週期平均 28.1 ± 2.3 天，行經天數平均 6.0 ± 1.8 天，痛經年齡平均爲 15.5 ± 2.0 歲，痛經年數平均爲 1.0 ± 4.2 年， CA 125 平均濃度 14.8 ± 4.4 （ U/ml ），未服藥時 VMDSS 評分爲一級以上， SCORE 評分平均 12.2 ± 3.1 分。三組血漿 CRP 均在正常值之內（ 0.6 mg/dl 以下），受試者基本資料見表七。

表七、受試者基本資料

	正常組 N = 6	痛經組 N = 19	治療組 N = 13
年齡（歲）	27.3 ± 1.6	26.5 ± 6.3	25.9 ± 5.3
初經年齡（歲）	14.3 ± 1.0	14.0 ± 1.5	14.1 ± 1.6
痛經史（歲）	------	16.2 ± 4.2	15.5 ± 2.0
行經天數（天）	29.2 ± 0.98	28.4 ± 2.0	28.1 ± 2.3
經期（天）	5.0 ± 0.6	6.3 ± 1.8	6.0 ± 1.8
痛經年數（年）	------	10.3 ± 3.9	10.0 ± 4.2
體重	49.6 ± 0.9	50.3 ± 4.6	49.4 ± 4.3
CA 125 (U/ml)	13.0 ± 3.5	14.5 ± 4.3	14.8 ± 4.4
SCORE 0	------	12.1 ± 3.2	12.2 ± 3.1
VMDS 0	------	2.4 ± 0.6	2.5 ± 0.7

1. 平均值±標準偏差（ Mean ± SD ）。
2. VMDS 0 表示 VMDSS 治療前評分標準。

以 t-檢定正常組和痛經組在年齡、體重、初經年齡、月經週期與 CA 125 ，兩組沒有差異，僅有經期一項有差別，亦即痛經期經期比正常組長，見表二十一。所有痛經病人，按 VMDSS 評分區分爲重度痛經與輕中度痛經兩組時，除卻兩種臨床評分有差別之外，其餘個項只標並無差異，兩種評分以 SCORE 較 VMDSS 更具統計上的意義，參見表八。

表八　中醫證型分組與人數分佈

主證與兼證分組		百分比	病歷數
正常組	N=6		
證型	無	16.7	1/6
	濕熱	33.3	2/6
	肝鬱熱	16.7	1/6
	脾虛	16.7	1/6
舌苔	薄白	83.3	5/6

	膩	16.7	1/6
舌質	淡紅	100.0	6/6
全部研究對象 N=24			
證型	無	4.2	1/24
	氣滯血瘀	54.2	13/24
	寒濕凝滯	12.5	3/24
	濕熱	8.3	2/24
	氣血虛弱	8.3	2/24
	肝腎虛	4.2	1/24
	肝鬱熱	4.2	1/24
	脾虛	4.2	1/24
舌苔	薄白	75.0	18/24
	膩苔	25.0	6/24
舌質	淡紅	62.5	15/24
	紅	25.0	6/24
	絳	4.2	1/24
	瘀	4.2	1/24
	胖	4.2	1/24
痛經組	N=19		
證型	氣滯血瘀	63.2	12/19
	寒濕凝滯	15.8	3/19
	濕熱瘀阻	5.3	1/19
	氣血虛	10.5	2/19
	肝腎虛	5.3	1/19
舌苔	薄白	63.2	12/19
	膩苔	36.8	7/19
舌質	淡紅	52.6	10/19
	紅	31.6	6/19
	淡	5.3	1/19
	瘀點	5.3	1/19
	胖	5.3	1/19
VMDSS	第一級	10.5	2/19

治療前	第二級	42.1	8/19
	第三級	47.4	9/19
治療組 N=13			
證型	氣滯血瘀	69.2	9/13
	寒濕凝滯	15.4	2/13
	濕熱瘀阻	7.7	1/13
	氣血虛弱	7.7	1/13
VMDSS	第一級	7.7	1/13
治療前	第二級	38.5	5/13
	第三級	53.8	7/13
VMDSS	第一級	53.8	7/13
琥珀散	第二級	38.5	5/13
	第三級	7.7	1/13
VMDSS	第一級	30.8	4/13
安慰劑	第二級	23.1	3/13
	第三級	46.2	6/13
舌 苔	薄白苔	69.2	9/13
	膩苔	30.8	4/13
舌紅分組		46.2	6/13
	氣滯血瘀證	83.3	5/6
	濕熱	16.7	1/6
	薄白苔	66.7	4/6
	膩苔	33.3	2/6
VMDSS	第一級	33.3	2/6
治療前	第二級	16.7	1/6
	第三級	33.3	2/6
舌紅以外分組		53.8	7/13
	氣滯血瘀	57.1	4/7
	寒濕	28.6	2/7
	氣血虛	14.3	1/7
	薄白苔	71.4	5/7
	膩苔	28.6	2/7

VMDSS	第一級	0.0	0/7
治療前	第二級	42.9	3/7
	第三級	57.1	4/7

二、中醫證型與評分標準分型

本研究正常組婦女無特殊主訴症狀，但以中醫辯證法將體質分型爲：無證可辨者（16.7%）、濕熱型（33.3％）、肝鬱熱型（16.7％）、脾虛型（16.7％）。舌苔薄白者爲多，佔了83.3％，舌苔膩者佔16.7%，舌質全數是淡紅色。SCORE評分均小於5分。

19名痛經組中，以63.2％氣滯血瘀證爲多，其次是15.8％寒濕凝滯證、10.5％氣血虛弱證、5.3％濕熱瘀阻證、肝腎虛證5.3％。舌苔薄白者佔63.2％，舌苔膩者佔36.8％。舌紅或舌尖有熱象兼證者（辯證屬於肝鬱熱或陰虛有熱）佔了31.6％，舌質不紅的舌質病人佔了68.4％。未服藥之月經周期VMDSS評分爲第一級痛經佔10.5％，第二級痛經佔42.1％，第三級痛經佔47.4％。

13名治療組中，亦以69.2％氣滯血瘀證爲多，其次是15.4％寒濕凝滯證、7.7％氣血虛弱證、7.7％濕熱瘀阻證。舌苔薄白者佔69.2％，舌苔膩者佔30.8％。舌紅有熱象兼證者（辯證屬於肝鬱熱或陰虛有熱）佔46.2％，舌質不紅的舌質病人佔了53.8％。未服藥的月經週期VMDSS評分是：第一級痛經7.7％，第二級痛經38.5％，第三級痛經53.8％。治療前VMDSS評分第一級佔33.3％、第二級佔16.7％、第三級佔33.3％。與未服藥之前相比，兩次治療週期中，VMDSS評分爲第三級重度痛經的百分比均有減少，在琥珀散治療週期VMDSS評分爲第一級痛經有53.8％、第二級痛經有42.1％、第三級痛經有47.4％。在安慰劑週期VMDSS評分爲第一級痛經有30.8％、第二級痛經有23.1％、第三級痛經有46.2％。就兼證分組結果在治療組呈現舌紅有熱徵候中，氣滯血瘀證佔了83.3%，濕熱瘀阻證佔了16.7％；有66.7％是薄白苔，33.3％是膩苔。在治療組不呈現熱象兼證分組中，氣滯血瘀證佔了57.1%，寒濕凝滯證佔了28.6％，氣血虛弱

證佔 14.3%;有 71.4%是薄白苔, 28.6%是膩苔。治療前 VMDSS 評分第二級佔 42.9%、第三級佔 57.1%。中醫證型分組與人數分佈見表八，治療組與痛經組各項證候資料分見表九、十，治療組治療前後的兩種評分標準見表十一。

表九　治療組各種臨床證狀資料

VMDSS 評分	不分級		第三級		第一,二級	
	百分比	例數	百分比	例數	百分比	例數
氣滯血瘀	62.2	9/13	57.1	4/7	83.3	5/6
寒濕	15.4	2/13	28.6	2/7		
氣血虛	7.7	1/13	14.3	1/7		
濕熱	7.7	1/13			16.7	1/6
薄苔	61.5	8/13	71.4	5/7	50.0	3/6
膩苔	38.5	5/13	28.6	2/7	50.0	3/6
淡紅舌質	53.8	7/13	57.1	4/7	50.0	3/6
紅舌	46.2	6/13	42.7	3/7	50.0	3/6
影響工作程度						
1 很少	23.1	3/13			50.0	3/6
2 中等	38.5	5/13	28.6	2/7	50.0	3/6
3 明顯						
4 嚴重	38.5	5/13	71.4	5/7		

表十　痛經組各種臨床證狀資料

	VMDSS 評分 第三級		第一、第二級	
	百分比	例數	百分比	例數
氣滯血瘀	55.6	5/9	70.0	7/10
寒濕	22.2	2/9	10.0	1/10
氣血虛	22.2	2/9		
濕熱			10.0	1/10
肝腎虛			10.0	1/10
薄苔	66.7	6/9	60.0	6/10
膩苔	33.3	3/9	40.0	4/10

淡紅舌質	55.5	5/9	50.0	5/10
紅舌	33.3	3/9	40.0	4/10
舌質胖	11.1	1/9		
瘀點			10.0	1/10
影響工作能力程度				
1 很少			30.0	3/10
2 中等	22.2	2/9	70.0	1/10
3 明顯	22.2	2/9		
4 嚴重	55.6	5/9		

表十一　治療組兩種評分標準

SCORE	VMDSS	
治療前	12.15 ± 3.13	2.39 ± 0.77
安慰劑	11.42 ± 2.84	2.15 ± 0.90
琥珀散	9.04 ± 2.29	1.46 ± 0.66

＊平均值±標準偏差（ Mean ± SD ）

三、臨床主訴

痛經主要的症狀是小腹痛（ 100 %）和少腹痛（ 7.1 %， 2 ／ 28 ），小腹位於臍下正中線，兩側是少腹，疼痛可放射到腰薦部。臨床症狀是從月經前一天到月經第一天達到最高點，一半以上病人合併有一種或幾種全身症狀。在治療組，月經期中各種症狀出現較多的比例是排便變軟 84.62 %、不易專心 61.54 %以及行經前乳房脹 69.3 %，各種症狀詳見表十二。

表十二　治療前痛經症候群

經期症狀		案例數	百分比
經痛			
影響工作	很少	3/13	(23.08%)
	中等	5/13	(38.46%)
	嚴重	5/13	(38.46%)
腹脹痛		5/13	(38.46%)
經前下腹悶		4/13	(30.78%)
經前痛		3/13	(23.08%)
頭痛		2/13	(15.38%)
胃脘痛		1/13	(7.69%)
腰痠		4/13	(30.77%)
塊下痛減		3/13	(23.08%)
噁心嘔吐		6/13	(46.15%)
便軟		11/13	(84.62%)
腹瀉		2/13	(15.38%)
便秘		1/13	(7.69%)
膨脹感		7/13	(53.85%)
乳房脹		9/13	(69.23%)
經期失眠		5/13	(38.46%)
疲疙無力		6/13	(46.15%)
頭暈		4/13	(30.77%)
嗜睡		6/13	(46.15%)
緊張		4/13	(30.77%)
憂鬱		5/13	(38.46%)
易受刺激		3/13	(23.08%)
神經質		3/13	(23.08%)
不易專心		8/13	(61.54%)

四、服藥後反應

根據病人的痛經日誌所做自我評分表，對於服藥後經痛改善標準

可以從疼痛時間縮短、疼痛性質和疼痛程度改善來表示，由輕度至重度的疼痛性質分別如下：悶痛、痠痛、脹痛、陣痛、絞痛。治療組服用琥珀散週期服藥後的反應是： 3 例非常滿意、 6 例症狀改善、 3 例有一些改善、 1 例服藥後更痛。服藥後更痛者是濕熱瘀阻型， VMDSS 評分爲中度痛經，病人實際服藥天數不足二天，顯見本案例從醫性不佳與證型特點影響了療效。對於治療組服用安慰劑週期服藥後的反應如下： 2 例症狀改善、 5 例有一些改善、 6 例服藥後無效。 1 例經期腹瀉服琥珀散後症狀明顯改善。 2 例服安慰劑使症狀改善者， VMDSS 評分屬於中度痛經，見表十三療效比較。琥珀散治療週期的反應可見口乾（ 84.62 %）、胃痛及嘔噁感（ 30.77%）、經量減少（ 23.08 %）、經量增加（ 7.69 %），而服用安慰劑週期亦有口乾（ 61.54 %）、胃痛及嘔噁感（ 69.23 %）現象，參見表十四。琥珀散和安慰劑週期有一半以上比率的口乾現象，因此口乾未必是琥珀散引起的作用。

表十三 療效比較

	琥珀散		安慰劑	
	病例	百分比	病例	百分比
更痛	1	（ 7.69 %）	0	（ 0.00 %）
無效	0	（ 0.00 %）	6	（ 46.15 %）
一些	3	（ 23.08 %）	5	（ 38.46 %）
改善	6	（ 46.15 %）	2	（ 15.38 %）
非常滿意	3	（ 23.08%）	0	（ 0.00 %）

表十四 服藥後不良反應

副作用	琥珀散	安慰劑
口乾	11 （ 84.62%）	8 （ 61.54 %）
經量減少	3 （ 23.08 %）	
經量增加	1 （ 7.69 %）	
胃痛、嘔噁感	4 （ 30.77 %）	9 （ 69 ， 23 %）

五、前列腺素濃度變化與各種分組比較

正常組、痛經組與治療組月經第一天的血漿和經血中前列腺素濃度見表十五，以t-檢定正常組與痛經組經血PGE2、和血漿$PGF_2\alpha$兩組並無差異，只有經血$PGF_2\alpha$有差別，t-檢定各項基本資料詳見表十六。

另外以配對t-檢定比較琥珀散與安慰劑治療的各項指標變化，結果是經血中的$PGF_2\alpha$在兩種療程有顯著差異（P<0.05）。而經血中的PGE2和血漿中$PGF_2\alpha$無顯著差異（P>0.05）。再檢定VMDSS評分顯示兩次療程有差異（P<0.05），未服藥前與琥珀散週期比較有差異（P<0.05），未服藥與安慰劑周期比較無顯著差異（P>0.05），顯示沒有安慰劑作用。SCORE評分顯示兩次療程有顯著差異（P<0.001），未服藥與琥珀散週期比較有顯著差異（P<0.001），未服藥與安慰劑周期比較無顯著差異（P>0.05），顯示沒有安慰劑作用。

表十五　各組治療前後前列腺素變化

	$PGF_2\alpha$		PGE2
	經血 (ng/ml)	血漿 (pg/ml)	經血 (ng/ml)
正常組	53.46±12.87 N=6	56.55±11.88 N=6	144.30±36.98 N=3
痛經組	101.53±24.60*** N=19	82.31±111.61 N=18	136.85±63.46 N=15
治療組			
安慰劑	101.62±26.70 N=13	98.37±128.71 N=13	137.34±65.46 N=13
琥珀散	82.57±17.17** N=13	63.89±42.49 N=13	130.03±61.85 N=13

平均值±標準偏差（Mean±SD）

p<0.01，*p<0.001.

表十七爲各類分組的前列腺素濃度變化，以VMDSS評分將治療組分爲兩組，評分爲第一級和第二級歸成輕度痛經組，評分爲第三級者歸成重度痛經組。表十八是以配對一檢定比較治療組及其次區分組的各項指標變化，統計結果顯示：兩次療程在輕度痛經組各項測定值或評估值均無統計意義（P>0.05）；重度痛經組的兩次療程有顯著差異（P<0.05），VMDSS及SCORE評分顯示無安慰劑療效。

治療組以四種主證分類，氣滯血瘀組經血$PGF_2\alpha$濃度在琥珀散週期比安慰劑週期要高，有統計上的差異（P<0.05），經血PGE2與血漿$PGF_2\alpha$濃度無差異（P>0.05）兩種療程的VMDSS評分SCORE評分有差異，琥珀散週期經痛評分比安慰劑週期低，顯示琥珀散能減輕痛經症狀；而安慰劑週期與未服藥週期的評分比較並無差異（P>0.05），顯示無安慰劑作用。寒濕凝滯組經血$PGF_2\alpha$和PGE2濃度在琥珀散週期比安慰劑週期要高，但無統計上差異（p>0.05），血漿$PGF_2\alpha$濃度沒有差異。（P<0.05），寒濕型VMDSS評分無差異，只有SCORE評分有差別，表示SCORE較VMDSS能詳細評估痛經的臨床症狀。以舌苔分爲兩組，薄白苔組經血$PGF_2\alpha$濃度在琥珀散週期比安慰劑週期要高，有統計上差異（P<0.05），經血PGE2與血$PGF_2\alpha$濃度無統計上差異（P>0.05）。VMDSS評分與SCORE評分在兩種療程有差異，因此琥珀散能改善痛經症狀。膩苔組經血和血漿中前列腺素在兩次治療週期均無差異（P>0.05）。

表十六　t-檢定各項基本資料

分　　組	項目	SEPARATE VARIANCES P
所有受試者 N=24	年齡	0.714
正常組與痛經組	經血 PGF2 α	0.000***

	經血 PGE2	0.796
	血漿 PGF2 α	0.348
	CA-125	0.349
	體重	0.606
	初經	0.689
	月經週期	0.171
	經期	0.018*
痛經組 N=19		
重度痛經與輕度痛經	年齡	0.805
	CA-125	0.834
	初經	0.346
	月經週期	0.741
	經期	0.095
	痛經年	0.392
	經血 $PGF_2\alpha$	0.008**
	經血 PGE2	0.071
	血漿 $PGF_2\alpha$	0.302
	經血 $PGF_2\alpha$	0.138
	VMDS1	0.040*
	VMDS2	0.008**
	SCORE0	0.000***
	SCORE1	0.021*
	SCORE2	0.005**
治療組 N=13		
薄白苔與膩苔	經血 $PGF_2\alpha$	0.504
	經血 PGE2	0.018*
	血漿 $PGF_2\alpha$	0.528
舌紅與舌淡紅	經血 $PGF_2\alpha$	0.786
	經血 PGE2	0.738
	血漿 $PGF_2\alpha$	0.214

1.*P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001

2.0-治療前 1-琥珀散療程 2-安慰劑療程

部份痛經病人的舌質呈現舌尖紅、舌緣紅或全部舌面紅色的徵候，中醫診察將比現象歸爲舌紅有熱的兼證，如肝經鬱熱、陰虛有熱。因此以舌質紅與否將治療對象區分爲兩組，舌質紅組經血和血漿中前列腺素在兩次治療週期均無差異（P>0.05），VMDSS評分與SCORE評分在兩種療、程亦無差別（P>0.05），顯示琥珀散對舌紅有熱兼症痛經病人沒有明顯的改善症狀效用，也無降低前列腺素作用。舌質不紅組經血$PGF_2\alpha$濃度在琥珀散週期比安慰劑週期要高，經統計有差異（P<0.05），經血PGE2濃度在琥珀散週期比安慰劑週期要高，有顯著差異（P<0.01）；血漿$PGF_2\alpha$濃度無差異（P>0.05），VMDSS分與SCORE評分在兩種療程皆有差異（P<0.05）。

表十七　各類分組的前列腺素濃度變化

組　別	經血 $PGF_{2\alpha}$ng/ml		PGE_2ng/ml		血漿 $PGF_{2\alpha}$ng/ml	
	樣本數	濃度	樣本數	濃度	樣本數	濃度
痛經組	19				15	
重度痛經	9	117.096±16.676	9	136.854±63.46	8	82.311±111.610
輕中度痛經	10	87.511±22.407	10	105.844±47.251	6	53.481±29.888
薄白苔	13	101.201±28.275	11	154.372±64.638	13	61.328±30.172
膩苔	6	102.227±16.070	6	88.679±25.441	6	136.867±212.272
治療組	13					
證型：						
氣滯血瘀	9					
琥珀散		82.063±20.729		131.289±58.877		63.742±20.016
安慰劑	2	106.303±30.158		145.277±64.386		60.755±27.588
寒濕凝滯						
琥珀散		83.137±0.755		118.788±97.682		101.177±113.368
安慰劑	1	101.385±5.343		162.507±90.173		83.809± 51.881
濕熱瘀阻						
琥珀散		90.944±0.000		200.019±0.000		32.942±0.000
安慰劑		71.246±0.000		55.253±0.000		48.402±0.000

舌質紅	6			
琥珀散		81.406±13.361	160.603±59.734	61.472±24.556
安慰劑		106.32 ±32.127	145.407±74.613	50.308±11.477
淡紅	7			
琥珀散		86.095±5.967	103.827±54.227	65.691± 55.647
安慰劑		94.102±14.730	132.205±61.320	139.558±169.512
薄白苔	8			
琥珀散		80.359±21.688	128.817±63.464	69.948±50.505
安慰劑		106.32 ±32.127	156.138±70.936	72.55 ±31.297
膩苔	5			
琥珀散		86.095±5.967	131.975±66.472	54.196±27.575
安慰劑		94.102±14.73	107.263±47.034	139.670±22.0

平均值±標準偏差(Mean±SD)

表十八　配對t-檢定比較治療組及其次區分組的各項指標變化

比較項目		例數	平均差值	標準偏差之差值	機率
治療組					
經血PGF2	經血PGF2	13	-19.056	21.556	0.008**
經血PGE1	經血PGE2	13	- 7.309	78.074	0.742
血漿PGF1	血漿PGF2	13	-34.476	150.129	0.424
VDMS0	VMDS1	13	0.923	0.760	0.001***
VDMS0	VMDS2	13	0.308	0.630	0.104
VMDS1	VMDS2	13	-0.615	0.870	0.025*
SCORE0	SCORE1	13	3.077	2.597	0.001***
SCORE0	SCORE2	13	0.769	2.242	0.240
SCORE1	SCORE2	13	-2.308	1.739	0.000***
輕中度痛經組					
經血PGF1	經血PGF2	6	-13.028	27.712	0.302
經血PGE1	經血PGE2	6	23.767	61.614	0.388
血漿PGF1	血漿PGF2	6	-6.536	34.320	0.661
VMDS0	VMDS1	6	0.667	0.816	0.102
VMDS0	VMDS2	6	0.333	0.816	0.363
VMDS1	VMDS2	6	-0.333	1.033	0.465
SCORE0	SCORE1	6	1.833	2.714	0.159
SCORE0	SCORE2	6	0.167	2.823	0.891
SCORE1	SCORE2	6	-1.667	2.066	0.105

重度痛經組					
經血PGF1	經血PGF2	7	-24.223	14.894	0.005
經血PGE1	經血PGE2	7	-33.945	85.053	0.332
血漿PGF1	血漿PGF2	7	-58.426	206.509	0.482
VMDS0	VMDS1	7	1.143	0.690	0.005
VMDS0	VMDS2	7	0.286	0.488	0.172
VMDS1	VMDS2	7	-0.857	0.690	0.017
SCORE0	SCORE1	7	4.143	2.116	0.002
SCORE0	SCORE2	7	1.286	1.655	0.086
SCORE1	SCORE2	7	-2.857	1.314	0.001
薄白苔組					
經血PGF1	經血PGF2	8	-25.961	22.340	0.013*
經血PGE1	經血PGE2	8	-27.322	80.483	0.369
血漿PGF1	血漿PGF2	8	-2.603	80.483	0.922
VMDS0	VMDS1	8	1.0	0.535	0.001***
VMDS0	VMDS2	8	0.250	0.707	0.351
VMDS1	VMDS2	8	-0.750	0.886	0.048*
SCORE0	SCORE1	8	3.375	2.184	0.003**
SCORE0	SCORE2	8	0.625	2.416	0.488
SCORE1	SCORE2	8	-2.750	1.813	0.004**
膩苔組					
經血PGF1	經血PGF2	5	-8.007	16.510	0.339
經血PGE1	經血PGE2	5	24.712	69.774	0.473
血漿PGF1	經血PGF2	5	-85.474	230.469	0.454
VMDS0	VMDS1	5	0.8	1.095	0.178
VMDS0	VMDS2	5	0.400	0.548	0.178
VMDS1	VMDS2	5	-0.400	0.894	0.374
SCORE0	SCORE1	5	2.600	3.380	0.161
SCORE0	SCORE2	5	1.000	2.179	0.363
SCORE1	SCORE2	5	-1.600	1.517	0.078
氣滯血瘀組					
經血PGF1	經血PGF2	9	-24.239	21.662	0.010**
經血PGE1	經血PGE2	9	-13.988	76.276	0.597
血漿PGF1	血漿PGF2	9	2.987	40.616	0.831
VMDS0	VMDS1	9	1.111	0.333	0.000***
VMDS0	VMDS2	9	0.333	0.707	0.195
VMDS1	VMDS2	9	-0.778	0.833	0.023*
SCORE0	SCORE1	9	3.389	2.162	0.002**
SCORE0	SCORE2	9	0.833	2.208	0.290

SCORE1	SCORE2	9	-2.556	1.862	0.003**
寒濕凝滯組					
經血PGF1	經血PGF2	2	-18.248	6.098	0.148
經血PGE1	經血PGE2	2	-43.720	7.509	0.007
血漿PGF1	血漿PGF2	2	17.368	165.579	0.906
VMDS0	VMDS1	2	0.667	0.577	0.184
VMDS0	VMDS2	2	0.000	*****	****
VMDS1	VMDS2	2	-0.667	0.577	0.184
SCORE0	SCORE1	2	2.333	0.289	0.005**
SCORE0	SCORE2	2	0.000	*****	****
SCORE1	SCORE2	2	-2.333	0.289	0.005**
舌質紅組					
經血PGF1	經血PGF2	6	-16.122	27.290	0.208
經血PGE1	經血PGE2	6	17.272	113.909	0.726
血漿PGF1	血漿PGF2	6	11.164	32.290	0.436
VMDS0	VMDS1	6	0.833	0.983	0.093
VMDS0	VMDS2	6	0.500	0.548	0.076
VMDS1	VMDS2	6	-0.333	1.033	0.465
SCORE0	SCORE1	6	2.667	3.077	0.087
SCORE0	SCORE2	6	0.750	1.214	0.191
SCORE1	SCORE2	6	-0.917	2.200	0.086
舌質淡紅組					
經血PGF1	經血PGF2	7	-21.571	17.108	0.016*
經血PGE1	經血PGE2	7	-28.377	16.010	0.003**
血漿PGF1	血漿PGF2	7	-73.597	200.848	0.370
VMDS0	VMDS1	7	1.000	0.535	0.001***
VMDS0	VMDS2	7	0.125	0.641	0.598
VMDS1	VMDS2	7	-0.875	0.641	0.006**
SCORE0	SCORE1	7	3.313	2.154	0.003**
SCORE0	SCORE2	7	0.750	2.752	0.466
SCORE1	SCORE2	7	-2.563	1.237	0.001***

1.*P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001

2.0-治療前 1-琥珀散療程 2-安慰劑療程

討 論

研究疼痛的科學家發現，臨床病人對疼痛的心理層次的影響佔了

30 %的安慰作用，設計研究方法必須考慮到疼痛的範圍差異相當大。過去常將痛經婦女歸究於心理因素的成份居多，但是自從科學家發現痛經的生化物質基礎以及用藥可以改善病情，而逐漸展開痛經病理機轉的種種研究。設計痛經的臨床研究仍需避開各種干擾因子，如安慰劑作用（ Placebo effect ）、霍桑效應（ Hawthorne effect ）以及個體差異(28)。因此本研究選用自身對照配對研究，配對研究的敏感度較高，能用較小的樣本數，來達到檢定實驗組與對照組兩個樣本間之差異，兩者是否具統計上的意義或統計上的顯著效果(29)。在達到相同效果時，其所需的樣本數較小，因爲是配對資料，兩種治療的差別才是吾人關心的重點。評估結果時，以病人主觀的臨床症狀與客觀的前列腺素變化爲判定標準，設立雙盲實驗來避免醫師對治療效果的預期心理（ Observer bias ）(30.31)。

本研究主題定位於婦科痛經，從中國醫學的臨床經驗裏選定一種可改變疾病病程的治療方法，具備著安全而副作用少的藥物。納入研究的對象須經經過篩選來排除痛經以外婦科疾病，方法是詳細病史、臨床症狀、 CA 125 及腹部超音波檢查。在婦科超音波，只有幾種病變呈現特定的圖像，大部份的圖像是非特異性的，超音波提供下列資料；(1)印證臨床上懷疑的瘤塊。(2)估計瘤塊大小、形狀及堅硬度－－囊性、半囊性或實質性。(3)瘤塊源自那個器官。(4)病變是否波及其它器官。(5)體腔內是否有瀦積液體，如腹水、積血或膿腫。下列常見疾病可以部份的在超音波檢查篩選出來，子宮肌瘤、卵巢囊腫、囊性畸胎瘤、卵巢瘤、子宮內膜異位、骨盆腔炎、先天異常和子宮腺肌症，配合病人臨床症狀，超音波臆診的正確率爲 82.4 %(32)。

癌抗原-125 是 1980 年 Bast 等所製之卵巢漿液囊胞腺癌，對單株抗體 OC 125 認識之抗原，分子量約 11 萬之醣蛋白，針對卵巢癌之診斷有高陽性率，爲一種對臟器具有特異性之腫瘤關連抗原之一，近年，對子宮內膜異位症 CA 125 呈高值之報告，例如：子宮肌瘤陽性率 12.5 %、子宮內膜異位症 78.8 %、子宮腺肌症 82.8 %、巧克力

囊胞 63.2 %，有助於對子宮內膜異位症之診斷(33.34)。痛經的原因很多，現代醫學將其歸納成類，最常見是原發性痛經。本研究對正常組和痛經受試者作腹部超音波檢查及 CA 125 測定，以排除複雜婦科問題的繼發性痛經，國外報告月經期間的 CA 125 濃度比平常要高，本研究測定經期第一天的血漿濃度，全部受試者 CA 125 值皆在 35 U/ml 以下，因此實際上 CA 125 值可能更低，減少了繼發性痛經被納入本研究的機率。

中國傳統醫學認爲每個個體秉賦不同，故同一種疾病的治療，必須端視體質表現的證型靈活使用適切藥物。因此在中醫辯證原則指導之下，本研究正常組婦女雖無特殊主訴症狀，但以中醫診察將體質分型結果依次爲濕熱型、無證可辨者、肝鬱熱型及脾虛型四種，再與痛經病人各項指標相互比較。沈曉雄總結 1985 ～ 1987 年大陸中醫藥原發性痛經文獻 38 篇，報告痛經實證居多，約佔 94%；實證包括氣滯血瘀、寒濕凝滯、濕熱瘀阻型，其中又以氣滯血瘀爲多，如張王珍治療 251 例痛經屬於本型者 173 例，佔 68.92 %〔 14 〕。本研究痛經組氣滯血瘀型佔 63.2 %，治療組氣滯血瘀型佔 69.2 %，與大陸學者報告相近，氣滯血瘀證型佔了 2/3 的痛經病人，與其它實證型寒濕凝滯證和濕熱瘀阻證共佔 9/10 強，虛証型包括氣血虛弱和肝腎虧虛型在臨床上比較少見，本研究痛經組止有兩例屬於此型。按中醫婦科典籍辯證分類，原本經後痛屬虛，虛症痛經痛勢綿綿，空痛喜按，可是卻發現虛症痛經並不限於經後，亦有常發於經前或或經期，其痛勢較劇。由於時空環境與古代差距，生活型態與地緣改變，在臺灣的病人臨床上證型單純者少，而常見虛實夾雜。因此在前述主證之下，以中醫辯證原則，將受試者再做不同性質的分類來探討。經過統計處理各項資料發現舌診在痛經婦女扮演著要角之一，正常組的舌診表現以舌苔薄白爲主，舌苔膩者次之，舌質皆是淡紅色。舌苔方面分成兩亞型，與正常組相同的薄白苔組，以及痰濕兼證的膩苔組；舌質方面也分成兩亞型，即是與正常組相同的淡紅舌組，和有熱象兼證的舌紅組，舌尖紅、舌緣紅、和舌面紅皆納入舌紅組。關於熱象兼證的婦科病機主要原因是肝氣鬱結化熱所致。脈象方面缺乏標準化，故不列入本研究的評估項目。

將治療組病人的舌質分成兩類，兩組人數幾乎各佔一半（ 6 比 7 ），顯示治療組近半數人兼有熱象。在痛經組，舌紅兼熱的比率僅佔 1/3 ，然而在痛經與不痛經的全部受試者 24 人，舌紅兼熱比率僅佔 1/4 ，可見本研究治療組收納了較多舌紅兼熱證的痛經病人。治療組表現舌紅有熱的徵候中，氣滯血瘀證佔了 4/5 ，濕熱瘀阻證佔 1/5 次之；薄白苔與膩苔各佔 2/3 與 1/3 。呈現舌質淡紅不兼熱證的治療組病人中，氣滯血瘀證佔了一半以上，寒濕凝滯證與氣血虛弱證次之；舌苔又以薄白苔爲主。就症狀評分結果，舌紅有熱組的重度痛經僅佔了 1/3 ，舌淡紅不兼熱證組別的重度痛經佔了 1/2 以上。氣滯血瘀有一半是熱象兼證者。顯然本研究受試者，屬於重度痛經者又兼熱證的比率較輕中度痛經又兼熱證的比率要低。可見虛證與寒證病人較少出現舌質紅徵候，重度痛經病人有不少是舌質淡紅的無熱兼證者。故間接證明了寒瘀在痛經程度上的重要性，是以經期以治爲主，應治以溫藥。

傳統醫學理論中認爲”不通則痛”，最初依照臨床上病人疾病的表現特徵將腹痛歸類爲”寒疝”病候。巢氏病源候論卷二十論諸疝候曰：「疝者痛也」，論寒疝腹痛曰：「風冷邪氣相擊，則腹痛裏急。」疼痛發作時顯現畏寒、四肢發冷、面色蒼白、冷汗、噁心、嘔吐等，符合寒病以溫藥通之治則。從歷代婦科「痛經」相關文獻記載，痛經一症，寒者居多，無瘀著絕少，發作時症狀以寒凝血瘀型多見。臨床上觀察之結果指導了用藥方針，人多以溫通化瘀、行氣活血來治療。何氏提出”三步療法”：經前以”防”爲主，經期以”治”爲主，經後以”固”爲主〔 14 〕。因此琥珀散應運”經期以治爲主”而生。本方最早的文獻記載是宋朝的本事方，琥珀散攻補兼施，怯瘀生新，藥精而效宏。全力補虛扶正、活血化瘀、行氣止痛、溫經補氣調補肝腎。琥珀散偏重散寒止痛，其溫裏之功較強，故治療寒濕凝滯型痛經療效較爲顯著。

1961 年 Pickles 首次報告痛經婦女的血中前列腺素 $PGF_2\alpha$ 、PGE2 濃度比正常婦女要高。揭開原發性痛經發病機轉的生化學上直接證據，其中經血中前列腺素濃度尤其以第一天爲最高，符合了痛經臨

床症狀集中經期的第一天爲高峰。基於上述生理現象的發現，找尋到痛經物質基機礎，提供了臨床研究痛經療效的一種客觀指標。至於前列腺素如何作用於子宮？形態學上，子宮組織有子宮肌層及內膜層兩種劃分，不同口徑的小動脈橫越這些區隔，子宮肌層包含外層縱走和內層環形的平滑肌，這兩層肌肉的電生理現象物理性質激素受體分佈以及對激素的反應不同。內膜層有基質細胞、腺體及管腔內上皮細胞。在黃體期和懷孕期，基質細胞受前列腺素作用，分化爲蛻膜細胞。婦女每個週期中，子宮肌層不似這些內膜細胞受激素作用經歷顯著變化(35)。近代研究從分子基礎方面，找到人類子宮組織有前列腺素物質的受體結合部位（ receptor binding site ），是前列腺素作用之標的處(36.37)。子宮肌層平滑肌和小動脈平滑肌 $PGF_2\alpha$ 及 PGE 結合部位，內膜層基質細胞和腺體細胞只有 PGE 結合部位。 $PGF_2\alpha$ 及 PGE 結合部位由蛋白質構成，它需要完整的磷脂膜進行結合的交互作用。雖然前列腺素 $PGF_2\alpha$ 是痛經的主要原因之一，但是它們在婦女生殖系統伴演重要角色， $PGF_2\alpha$ 及 PGE2 兩者對子宮作用，分別以類似中醫陰陽的性質使子宮收縮或使子宮平滑肌血管擴張的效應，來達到經期子宮內部更新之生理作用。

1991 年 Nigam 等人研究 7 名原發性痛經病人經血十二碳烯酸和血小板活化因子，雖然隨不同人有相當大的差異度，仍發現經血中十二碳烯酸和血小板活化因子相關物質均比對照組的正常人高（其中 $PGF_2\alpha$ $P<0.005$ 和 PGE2 $P<0.05$ ）。關於前列腺素濃度與痛經輕重程度無統計上差別，即使是兩組間 PGF2a 和 PGE2 比值的平均值也無統計上的差異〔 11 〕。本研究測定六名無痛經正常組來比對痛經組和治療組的 $PGF_2\alpha$ 和 PGE2 濃度。本研究痛經組經血中 $PGF_2\alpha$ 濃度顯著高於正常組一倍，顯示了痛經患者前列腺素代謝異常，其經血中 $PGF_2\alpha$ 含量異常升高，與 Pickles 發現相符。運用 VMDSS 分類將第三級劃分爲度嚴重痛經，第一與第二級分歸爲輕中度痛經，可以發現重度痛經病人血漿 $PGF_2\alpha$ （ $P<0.05$ ）經血中的 $PGF_2\alpha$ （ $P<0.01$ ）與 PGE2 （ $P=0.071$ ）平均濃度都比輕中度痛經要高，但只有經血中的 $PGF_2\alpha$ 具有統計意義。顯見痛經病人月經期間生殖道有多量的前列腺素，經

血中 $PGF_2\alpha$ 扮演主要角色子使宮肌平滑肌層收縮，是造成經痛的主要原因。

另外，痛經組血漿 $PGF_2\alpha$ 含量也比正常組高，卻無統計差別，此項結果與謝氏研究相似(18)。這些循環於血液中的前列腺素能造成噁心嘔吐等等的經痛症候群(37)。血流中的前列腺素很快被代謝，主要部位是肺臟，體循環每一次經過肺臟，即代謝 95 %生物活性的前列腺素爲不活性物質，代謝發生部位首先是肺臟細胞攝入前列腺素，接著由位於細胞質的前列腺素去氫酵素（ PGDH ， 15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase ），繼續進行一系列的 β-氧化和 Ω-氧化，生成相當多的各種產物從尿液排出(37)。故前列腺素主要是由局部組織分泌，再經過血流或淋巴循環作用於局部或附近組織的生物泌素（ Autocrine or paracrine ）。在一些嚴重疾病如敗血症可以在血流中測到較高前列腺素濃度。本研究測定血漿中前列腺素濃度（平均值土標準偏差）變異度相當大，顯現了血漿前列腺素的不穩定性，正常組與治療組血漿中前列腺素濃度並無統計學差異。一方面可能是前列腺素濃度在血流中半衰期太短，無法由血漿前列腺素濃度評估痛經病症。對生殖系統言，前列腺素主要是局部作用的生物泌素，存在生殖系統中的前列腺素並不像血漿中的前列腺素迅速被豐富的酵素系統代謝，因此能夠從生殖系統排出液研究痛經的前列腺素效應；循環血流中活性的前列腺素濃度不高，顯示人體代謝系統防護了全身臟器免於被前列腺素作用的危險，另一方面可能本研究血漿檢體前處理時，預加於試管中的前列腺素抑制藥物劑量不足（每管 8 ml 血液， 10 ugIndomethacin ）， Benedetto 建議每毫升血液檢體放 5 ug(25)。

以雙盲交叉方式給藥，將兩種治療的各項指標作自身對照比較。兩種臨床症狀評分均顯示琥珀散週期的痛經評分比安慰劑週期要低，具有統計效用。比較服藥前與安慰劑療程的症狀評分無統計差異，故推論安慰劑作用不影響琥珀散的療效評估。關於安慰劑療程比琥珀散療程有高一倍的胃痛嘔吐等經痛症候群，是與前列腺素濃度成正比，而非藥物所致的不良反應。因爲研究期間適值盛夏，痛經病人普遍有不等程度的口乾或口渴現象，故雖然兩次療程均有高比率的口乾症狀，但無法歸究是否由琥珀散造成。在經血前列腺濃度方面，安

慰劑療程 $PGF_2\alpha$ 顯著高於琥珀散療程，說明了對降低 $PGF_2\alpha$ 幅度言，琥珀散優於安慰劑，而 PGE2 降低幅度無統計差異。對於經血與血漿中前列腺素濃度兩者，只有經血中 $PGF_2\alpha$ 減少的程度具有統計效果。分組比較發現琥珀散能降低重度痛經病人經血中 $PGF_2\alpha$，對輕度或中度痛經病人經血中 PGE2 和血漿中的 $PGF_2\alpha$ 沒有明顯影響；對舌紅有熱象的痛經病人經血中 $PGF_2\alpha$ 、 PGE2 與血漿中 $PGF_2\alpha$ 沒有影響，其臨床症狀亦無明顯改善，對舌質不紅無熱象的痛經病人經血中 $PGF_2\alpha$ 和 PGE2 兩者皆有顯著降低作用，對臨床症狀也有明顯改善效果。因此推測琥珀散效用的機轉之一是降低子宮內 $PGF_2\alpha$ 濃度，但以無熱象的中醫證型療效爲佳。琥珀散解除和減弱 $PGF_2\alpha$ 對於子宮肌層產生的痙攣，改善子宮的血流量，達到活血化瘀止痛的作用。對無熱象兼證的痛經病人，琥珀散作用是降低經血中前列腺素 $PGF_2\alpha$ 和 PGE2 濃度。琥珀不影響血漿中的前列腺。

臨床上發現許多婦女在每個月經期將來之際，發生輕度至中度的鼻塞、流清涕、咽喉痛、頭痛或肌肉骨節痠痛等症狀，類似上呼吸道感染症候群，又隨著經期結束而消失。傳統醫學觀點認爲，經行外感表證是客邪乘虛所傷，陳素庵婦科補解認爲：「經正行，忽然口燥咽乾，手足壯熱，此客邪乘虛所傷」，所謂客邪，非臟腑所生故名。本研究將所有受試者（正常組與痛經組）經期第一天血漿做 C-反應蛋白定量。 C-反應蛋白是一種和與肺炎雙球菌成份 C-多醣類所作用之蛋白，當受感染症及組織崩壞等刺激時，在肝臟產生的蛋白之一， C-反應蛋白是急性相反應物質（ Acute phase reactant ）中反應最敏感者，爲各種疾患活動性指標(38)。本研究測定結果皆在正常值內，表示受試者沒有非特異性的各種炎症疾患與月經生理變動有關。因此”客邪乘虛”可能意味著身體在月經週期各種激素劇烈變動之下，引起免疫系統某部份改變，降低了呼吸道防禦能力而產生外感表症。

排除因飲食不潔發生經期泄瀉者，治療組在每月行經有 84.62 % 排便變軟及 15.38%腹瀉症狀，陳素庵婦科補解認爲是脾虛所致(43)，女科折衷闡釋其機理爲：「此脾虛也，脾主血，屬濕，經水將動脾血已先流注血海，然後下流爲經，脾血既虧而不能運行其濕」(39)故月經期脾虛致瀉，傳統醫學觀點認爲是由脾腎虛損所致，脾主運化水

穀，必需腎陽溫煦，兩臟功能失調，則水穀之精無以化生，水濕停留，經行則氣血注於胞宮，則脾腎之氣更虛而爲便軟或腹瀉。經過琥珀散溫通血脈治療周期，當痛經症狀減輕之時也能減輕便軟及腹瀉症狀。

琥珀散由十種中藥組成，其藥理作用簡述如下：（一）延胡索 1．鎮痛作用，能提高痛覺閾值。2．鎮靜作用，對中樞系統具有輕度的鎮靜作用。3．解痙作用，放鬆肌肉的張力。也抑制胃分泌有抗潰瘍作用。（二）當歸 1．調節子宮，對子宮有雙向性作用。2．造血作用，能顯著促進血紅蛋白及紅血球生成。3．抗炎作用，水提物能降低血管通透性，能抑制血小物質如 5-HT 的釋放。（三）地黃　影響腎上腺皮質功能及皮質醇分解代謝，水煎劑有抗炎作用。（四）烏藥 1．對胃腸道平滑肌有雙重作用，能增加腸蠕動，促進腸道氣體排出，使兔離體小腸緊張度降低，增進消化液分泌。2．烏藥乾粉明顯縮短家兔血漿再鈣化時間，促進血凝而有止血作用。（五）肉桂　1．刺激循環、擴張血管，可增加血液循環具有發汗作用，因爲是改善血循故能提高其他生藥效果，實驗證明桂皮可作爲引導他藥所不能達之處。2．健胃作用，是芳香性健胃驅風劑，揮發油對胃腸道有緩和的刺激作用，促進唾液、胃液分泌，增強消化和吸收作用。3．能緩解胃腸道痙攣性疼痛，排除消化道氣體，抑制小腸異常發酵；桂皮醛能抑制小鼠刺激性胃潰瘍的形成。4．抗眞菌、抗菌、抗病毒作用。5．解熱作用，桂皮醛能抑制中樞而表現有的鎮靜、鎮痛、解熱作用，退熱作用係刺激血循到皮膚表。6．鎮靜作用，桂皮醛在小鼠身上能抑制中樞神經系統而產生明顯的鎮靜效果。7．止痛作用，藉提昇大腦痛覺閾值而產生止痛作用，緩解頭部血管痙攣引起之頭痛，以及緩解內臟平滑肌痙攣引起的腹痛。（六）三稜　能破血怯瘀、行氣止痛。小鼠體外試驗有抗癌、抗腫瘤作用。（七）莪朮　1．水煎劑能促進家兔腹腔內自體血液和血塊的吸收。2．抗菌、健胃作用，其揮發油爲方香性健胃藥。3．抗組織胺作用，水抽取液抑制組織胺及氯化鋇引起的小腸收縮作用。（八）赤芍　1．解痙止痛作用，解除小腸因平滑肌痙攣引起之腹痛。2．抑制中樞神經系統，產生鎮靜作用，芍藥有較好的抗炎及解熱作用。3．抗菌抗病毒作用，體外試驗對多種細菌有不同程度的抑制作用。4．赤芍 a-兒茶精有抗血小板聚集、抗血栓形成改善微循環等作用 5．正丁醇提取物有直接抗癌作用，促進

吞噬細胞功能和提高癌細胞內 C-AMP 濃度。6.抗血小板血栓形成、增加心肌營養性血流量；藉著解除血管平滑肌痙攣，來擴張外周血管達到輕度降壓作用。（九）丹皮　1．對小鼠產生鎮靜、止痛、誘導睡眠效果；對人工誘發小鼠發燒有降溫作用。2．丹皮 70 %甲醇提取物能抑制毛細血管通透性，抑制 ADP 引起的血小板凝集，防止微血栓形成，抑制纖維蛋白溶解酵素活性丹皮酚使動物子宮黏膜充血，有通經作用。（十）劉寄奴　破血通經，散瘀止痛，消食化積經閉，產後腹痛，跌打損傷，創傷出血，食積腹痛(40.41)。

王碩仁利用豬微粒體爲供應酵素，與花生四烯酸爲底物進行反應，生成血栓素 A2 和前列環素的方法，血栓素 A2 和前列環素是一種互相拮抗物質，血栓素能強烈促進血小板聚集和收縮血管，黃耆、人參皂甘、黃芩素，在定量範圍內主要抑制血栓素 A2 合成，而對前列環素影響很小，傳統活血化瘀藥在顯著抑制血栓素 A2 生成中仍佔著重要地位。某些補益作用中藥具有不同程度的抑制血栓素 A2 合成，又促進或不抑制前列環素合成的特點。扶正祛邪或祛邪不傷正的作用特點明顯優於以知對照要阿斯匹林(42)。根據鄧哲明研究：活血化瘀系列藥物具有鈣離子通道阻斷作用，以及抑制環氧脂酵素（Cyclooxygenase）的作用。近年許多學者對活血化瘀相關藥物進行一系列研究，證明了傳統中醫使用的部份藥物確能影響前列腺素代謝。這些藥物豐富了活血化瘀藥物的內容，爲臨床治療血瘀證的辨病和辨證提供了新的藥物選擇。

從各種研究直接或間接證明琥珀散的作用可能是涉及了下述機轉：（1）經由改變花生四烯酸代謝上游的酵素系統，抑制其前驅物花生四烯酸的製造，或抑制結合部位蛋白質製造，達到降低痛經病人經血中 $PGF_2\alpha$。至於本方對於脂氧化酵素（Lipooxygenase）代謝系列的作用並不明白。（2）鈣離子通道阻斷作用，抑制鈣離子從肌漿網放出而阻止了平滑肌收縮。（3）肉桂、延胡索提高痛覺閾值，達到鎮痛作用。（4）多種活血化瘀藥協同作用，來改善血液流變性。其進一步的機轉有待繼續探討。

結　論

中國醫學是以辯證論治體系爲中心的一門經驗醫學，本研究以痛經爲定位焦點，以前列腺素爲物質基礎的客觀指標，以中醫辯證與西醫症狀評分表爲主觀指標，進行雙盲自身交叉安慰劑對照的臨床試驗評估琥珀散對痛經的效用，得到下述結論：

1．以中醫辯證分型，由證型表現出個體互異的體質，觀察到不同體質的人有著不同的細胞代謝，如舌苔白膩的痛經病人，經血中前列腺素 PGE2 濃度較高；經血前列腺素指標顯示舌質淡紅與舌質紅病人對琥散效應不同，證明了中醫證型能反映出身體生物泌素之變化。

2．痛經是以氣滯血瘀爲主要證型的症候群，其次是寒濕凝滯、濕熱瘀阻、氣血虛弱的證型。

3．一種疾病可能顯現不同證型，不同證型對藥物的反應不一。研究顯示與安慰劑相比，琥珀散有降低經血中前列腺素 PG2C 效用，對於舌紅有熱兼的病人前列腺素降低效果不顯著。

4．對於舌不紅 無熱象之痛經病人，琥散作用是通過降低經血中前列腺素 PGF2a 和 PGE2 濃度，達成緩解 症狀效果。

5．以症狀評分比較兩種治療周期，琥珀散比安慰劑之評分低，具顯著差異；和未服藥相比，治療前的症狀評分比安慰劑評分高，但無顯著差異，說明了琥珀散有減輕痛經的臨床療效，而安慰劑效用不明顯。

6．比較 SCORE 和 VMDSS 兩種症狀評分法，前者將變項以序位尺度劃分較多的評分來表示痛經症候群之程度，能詳細地呈現各種分組的差異性。

7．經行外感表證是客邪乘虛 所傷，與代表非特異性各種炎症疾患或

壓力的 C-反應蛋白無關,”客邪乘虛”可能意味著身體在月經周期各種激素劇烈變動之下，引起免疫系統某種改變，而降低了呼吸道防禦能力產生外感表症。

8．琥珀散溫通血脈、行氣止痛治療週期，能減輕痛經引起之噁心、嘔吐以及排便變軟等的腸胃道症候群，可能是直接作用於腸胃道，或是因爲減少前列腺素濃度而降低前列腺素對身體的強烈作用。

9．琥珀散調節經血量有雙相作用，對經血澀少痛經婦女有輕度增加血量作用，對經量正常痛經婦女有輕度減少血量的作用。

10．對於兼有熱象痛經婦女，琥珀散略有口乾作用。

11．本研究再度證實了辯證論治的重要性，因此臨床醫師使用中醫藥在辯證前提之下，以中醫四診確實的診察病人，然後選用方藥。若以一種方藥去治療一種疾病的不同類型，顯然是不夠周全的。雖然如此，經過本研究統計驗證，在探討中藥短期療效方面，琥珀散能降低痛經病人經血中前列腺素，達到減輕臨床症狀的療效，可當作治療痛經的通用方，對於非類固醇類止痛藥有禁忌症，或無法止痛的痛經婦女，琥珀散有助於臨床醫師多一項選擇的治療方法。

參 考 文 獻

1. Andersch B, Milsom I. An epidemiologic study of young women with dysmenorrhea. Am J Obstet Gynecol 1982;144:655-60.
2. 林俊宏,李昭男.臺灣省南部青春期少女月經的探討.高雄醫學科學雜誌 1987;3:150-54.
3. 全國婦女月經生理常數協作組.中國婦女月經生理常數的調查分析.中華婦產科雜誌 1980;15(4):219.

4. Arthur L. et.al. Comprehensive Gynecology 2nd. ed. U.S.A.:Mosby Year Book Inc.,1992:1063-76
5. Pickles VR, Hall WJ. Prostaglandins in endometrium and menstrual fluid from normal and dysmenorrhoeic subhects. J Obstet Hynaecol Br Comm 1965; 72:185-92.
6. lumsdem MA, Kelly RW. Primary dysmenorrhea: the importance of both prostaglandin E2 and F1a. Br J Obstet Gynecol 1983;90:1135-40.
7. Powell AM, Chan WY. Menstrual PGF2a ,PGE2, TXA2 in normal and dysmenorrheic women and their temporal relationship to dysmenorrhea. Prostaglandin 1985;29:273-89.
8. Eicosanoids in primary dysmenorrhea, endometriosis and menstrual migrain. Gynecol Endocrin 1989;3(1):71-94.
9. Dawood MY. Nom-sterokdal anti-inglammator drugs and changing arriruded towards dysmenorrhea. Am J Med 1988;84[suppl 5a]:23-9
10.Owen PR. Prostaglandin synthetase inhitors in the treatment of primaty dysmenorrhea. Am J Obstet Gynecol 1984;148:96-103.
11.Nigan S, et.al. Increased concentration of eicosanoids and platet-activating factor in menstrual blood from women with premary dysmenorrhea. Eicosanoids 1991;4:137-41.
12.Carmichael J, Shankel SW. Effects of nonsteroidal ante-inflammatory dtugs on prostaglandins and renal function. Am J Med 1985;78:992.
13.Andersson KE. Side-effects of prostaglandin synthetase inhibitors Acta Obstet Gynecol Scand[Suppl] 1979;87:101.
14. 沈曉雄．中醫治療原發性痛經的現狀．上海中醫藥雜誌 1989 ； 4:41-4.
15. 羅元債，曾敬光，劉敏如等．中醫婦科學臺北知音出版社 1989 ； 105-13.
16. 梁曉春. 前列腺素與中醫中藥．中國中西醫結合雜誌 1990 ； 10(3):185-6 ．
17. 謝春光．當歸芍藥散治療痛經的臨床療效觀察．中醫雜誌 1989 ； 30(8):33-5.
18. 謝春光．當歸芍藥散對痛經患者血液流變性及 PGF2a 水平的影響．中西醫結合雜誌 1990;10(7):410-2.
19. 吳銳． 逐瘀溫宮湯治療血瘀挾寒型功能性痛經臨床及實驗研究．中西醫結合雜誌 1989 ； 9 （ 8):455-7.
20. 劉昭陽，張文閣，馬桂元．痛經月治療功能性痛經的臨床貫驗研究．中成藥 1993;15:23.

21. 李炳和．痛經寧對人鼠子宮微循環的影響．中成藥 1991;13(8):23-4.
22. 清朝武之望．濟陰綱目卷一調經門 臺北啓業書局 1986;1-42.
23 ．梁景忠．婦科內分泌學．臺北：巨流圖書公司， 1989 ： 106-8.
24 ．蕭水銀．生化藥理學．臺北：聯經出版社， 1989 ： 163-， 178-， 197-.
25 ．編輯委員會．中醫診療常規．北京：人民衛生出版社， 1989:159-61.
26 ．中國衛生部藥政局．中藥治療痛經的臨床研究指導原則．中國醫藥學報 1988:405-421.
27.Munro BH, Page EB. Statistical methods: for health care research. 2rd ed. Philadelphea:JB Lippincott,1993.
28.郭英調.臨床實驗簡介.臨床醫學 1993;31:355-9.
29.郭志良.生物統計學新論.台北:巨流圖書公司,1993:121-6.
30.Greenberg RS. Meeical epidemiology. In:Clinical trial. Connecticut:Appleton & Lange,1993;68-80.
31.周碧瑟.現代流行病學.台北:合記出版社,1993:135.
32.吳香達,何師竹,洪正修.臨床婦科學.臺北:茂昌圖書公司,1991:55-71.57.
33.Pittaway DE. CA-125 in women with endometrioses. Obstet Gynecol Climics North Am 1989;16(1):237-52.
34.周子秋.實用臨床檢查.臺北.廣思醫學開發經研中心,1993:189.
35.Kennedy TG, Lukash LA. Induction of decidulization in rats by the intrauterine infusion of prostaglandins. Biol Reprod 1982;27:253.
36.Giannopoulos G, Jackson K, Kredentsen J, and Tulchinsky D. Prostaglandin E and F2a recptors in human uterine tissue. Am J Obatet Gunecol 1985;153:904.
37.Murray DM. Eicosanoids in reproduction. In:Rao CV, des. Eicosanoid binding sites in ovarian and uterine tissues. Florida:CRC Press,1990;1-3.
38.Benedetto C, Mcdonald-gibson RG, Nigam S, Slater TF. Prostaglandins and related substances a practical approach. England: IRL Press,1987;29-44.
39.周子秋.實用臨床檢查.臺北:廣思醫學開發經研中心,1993:121.
40.清朝凌德集輯.女科折衷.歷代中醫珍本集成(29).台北:萬人出版社,1989:13.
41.顏正華等.中藥學.臺北.知音出版社,1991:156,160,162,373,412,542, 547,549,585,815.
42.王碩仁,郭自強,廖家禎.六類十八種中藥對血栓素 A2 和前列腺環素合成的影響.中西結合雜誌 1993;13(3):167-70.
43.宋朝陳昕著,明陳文昭補解.陳素庵婦科補解.上海;上海科技出版社,1983:5-6.

CLINICAL STUDY OF HU-PO-SAN IN DYSMENORRHEA

HU-PO-SAN (HPS) is a traditional Chinese herbal remedy having haemodynamic and analgesic effects. It has been used by traditional Chinese physicians for the treatment of gynecological disorders, such as dysmenorrhea, enhancement of blood circulation, regulation of menstrual cycle, and removal or blood clot after labour. However, the pharmacological mechanism of this well-tried tecipe is still unknown.

In a double-blind two-way cross-over clinical study for comparison with HPS and placebo, 13 women with primary dysmenorrheawere treated with HPS for one cycle, placebo (sham) for another cycle. According to the inspection or the tongue (NT,n=7) group and reddened tongue (RT,n=6) group. Plasma and menstrual prostaglandins ($PGF_{2\alpha}$ and PGE_2) as an index of primary dysmenorrhea were measured by enzyme immunoassays. Patients determined the severity of overall discomfort and pelvic-abdominal pain at baseline and prior to each treatment by using two systems of verbal multidimensional scoring VMDSS and SCORE. Pien-Cheng Methodology was used to assessment the clinical symptoms.

All the women (n=13) complainde of severe (38.5%) or very severe (53.8%) dysmenorrhea which interfered with their daily life. The levels of $PGF_{2\alpha}$ were decreased and the dysmenorrheic symptoms were improved in the HPS cycle. The HPS cycle ($p<0.05$,paired t-test). The HPS group can relieve pain in 69.23% of subjecys, comjpared with placebo in 15.3%. Besides, it also can reduced diarrhea, menstrual fllow, clot formation, and fatigue. The levels of menstrual $PGF_{2\alpha}$ and PFE_2 in the NT group were significantly decreased ($p<0.05$) and the dysmenorrheic scoring were improved in the HPS cycle.

***Keywords**: Dysmenorrhea, Prostaglandin, HU-PO-SAN.*

編號 DOH84-CM-058

中醫藥對住院病人壓瘡療效評估

許堯欽　鄭慧滿　張恆鴻　李正淳
林茂仁　吳勝賢　陳建仲

中國醫藥學院

摘　　要

壓瘡是住院患者最困擾的醫療問題之一，而且也常導致嚴重的併發症，不但使病人承受痛苦，也間接消耗了大量的醫療資源。爲期提高本病的療效，本研究選擇中醫治療皮膚潰瘍的名方「腐盡生肌散」，配合西醫常規處理來治療壓瘡，並進行臨床療效的評估與比較。

從中國醫藥學院附設醫院住院患者中篩選壓瘡患者進行研究。共計三十二例患者（五十六處壓瘡），病患年齡分布自 24 至 91 歲，平均 66 歲。共編列成兩組，進行研究。對照組接受常規西醫醫護治療，實驗組接受中西醫結合治療。

治療前，對各個病灶進行以下各項評估，包括：表面積值、病灶深度、分泌量、壞死組織之有無、感染之有無。壓瘡表面積值，乃以膠紙覆於瘡面描繪全形後，以圖面解析儀測得。壓瘡深度等級，依 SHEA 的分期標準而定。壓瘡的分泌量、壞死組織與感染現象之有無也由研究人員同時予以記錄，並在治療三週後重覆加以評估。

研究結果發現：⑴治療後壓瘡表面積變化率（均值），治療組爲－46.43％（±64.70），對照組爲＋14.29％（±63.0％），($P < 0.01$)。⑵治療有效，壓瘡面積縮小者，實驗組有 87％，對照組爲 55％，($P < 0.05$)。治療

有效，壓瘡深度等級變小者，實驗組有67％，對照組爲18％，(P＜0.01)。(3)顯效者（表面積縮小超過50％以上），治療組有53％，對照組則無（0%），（P＜0.01）～(4)痊癒（瘡口完全癒合）者，治療組有29％，對照組無（0％）（P＜0.05）。再就壓瘡分泌物量減少程度，壞死組織減少程度與感染個數減少情況進行比較，也發現治療組明顯優於對照組（P<0.05）。

結論：治療組的整體療效明顯優於對照組。可見。在常規西醫醫護治療條件之下，加用中藥「腐盡生肌散」外敷，確實有利於壓瘡的癒合。

The Evaluation of the therapeutic effect of the Chinese Medicine on the pressure sore inpatients

Yao-Chin HSU, Huay-Maun Cheng, Hen-Hong Chang

Pressure sores are a major problem for inpatients. They often lead to severe complications, and cause the patients great suffering, as well as indirectly wasting large amounts of the health-care resources. With a view to improving the treatment of pressure sores, the study assesses the effect of 「Fu Jin Sheng Ji San」 (Putridity-Eliminating Flesh-Endgendering Powder) combined with routine medical care.

Thirty two patients (with a total 56 sores) were selected from China Medical College Hospital inpatients, average age 66 (range form 24 to 91). The patients were split into two group. The control group is given routine medical care. The study group received combined 「Fu Jin Sheng Ji San」 and routine medical care.

The size of the wound surface area was measured with a polar planimeter (Ushikata X-plan 360) after tracing the epithelial border of the sores on plastic films. Depth of the sores were graded into 4 levels according to SHEA's classification criteria. The amount of secretion、presence of necrosis and infection were also recorded at the meanwhile. The sores received the above assessment both before and after the treament.

The results show that:

① Change in the surface area: −46.43% in the study group, and +14.29% in the control group. ($P < 0.01$).

② The Ratio of improvement:

(1) Reduction in surface area: 87% and 55% respectively ($P < 0.01$).

(2) Reduction in Depth degrees: 67% and 18% respectively ($P < 0.01$).

③ The Ratio of advanced improvement ($\geq 50\%$ reduction in surface area): 53% and 0% respectively ($P < 0.01$).

④ The Ratio of complete healing: 29% and 0% respectively ($P < 0.01$).

⑤ Comparison of reduction in secretion, necrosis, and infection showed that: the study group was more effective than the control group ($P < 0.05$).

The study group showed greater improvement than the control group. We may therefore conclude that: The combination of 「Fu Jin Sheng Ji San」 and routine medical care provides more effective treatment for pressure sores.

前　言

壓瘡（Pressure ulcer）又稱「褥瘡」，是住院病患最困擾的疾病之一。根據 Allman RM等學者的調查，壓瘡在一般住院病患群的

盛行率（Prevalence）約爲3－11%。但是對某些長期臥床或行動不便需要倚賴輪椅的患者群而言，壓瘡的盛行率可高達28%，而且由於本病經常合併一些有致命危險的併發症（例如：骨髓炎、敗血症等），導致罹患本病的患者，其死亡率比一般住院患者高出四倍之多。據估計，每年平均有六萬人死於壓瘡與其併發症。

壓瘡的發生，不但使病患個人承受痛苦與死亡的威脅。也間接消耗大量的醫療資源。包括護理時數增加（消耗護理人力）、住院日數延長（影響其他急需住院治療的患者的時效），結果造成醫療總費用的提高，實際上等於增加了國民健康保險資源的耗損。

面對這樣一個常見而重要的疾病，爲期達到更好更快的療效，本研究選擇了中醫治療皮膚潰瘍的名方《醫宗金鑑・外科心法》的「腐盡生肌散」，配合西醫的常規醫護處理來治療壓瘡，並進行臨床療效的評估與比較。

材料與方法

一、病患來源：

本研究病患來源，乃自一九九四年十一月至一九九五年七月，從中國醫藥學院附設醫院神經內科與內科住院病人中選擇有壓瘡發生者，針對其壓瘡進行治療研究。患者並得合乎以下篩選條件：

(1) 經醫師評估在一週內無立即生命危險者。

(2) 無急性心、肺、肝、腎機能衰竭者。

(3) 無嚴重營養不良者。

(4) 非因動脈或靜脈疾病所導玫之潰瘍創口。

(5) 若壓瘡接受壞死組織的清創術，則需在術後兩日才能開始納入研究。

二、病患一般狀況的評估：

根據 Norton's Scale for assessing risk of pressure ulcer針對患者的精神狀態、排便情形、可動性等進行評估。

三、中醫辨證分型：(診斷標準)

(1) 氣虛證標準：① 面色白，神情疲憊 ② 舌質淡，舌體軟 ③ 脈沈弱。

(2) 氣血兩虛證標準：① 氣虛證診斷 ② 舌質淡而白 ③ 脈細。

(3) 氣虛夾痰溼證標準：① 氣虛證診斷 ② 舌苔白厚 ③ 脈滑。

(4) 陰虛內熱證標準：① 面色紅 ② 舌質紅 ③ 脈細數。

四、壓瘡局部血液循環狀況的評估：

根據SHANNON的「Rating scale for decubitus ulcer」分爲四級，(1) 微血管快速填滿；(2) 微血管延遲填滿；(3) 輕度水腫；(4) 中度至嚴重水腫。

五、壓瘡病情的評估：包括治療前與治療後各一次。

(1) 病灶面積值：以透明膠紙緊覆於潰瘍面，沿瘡面上皮化邊緣描繪而得全形。以圖面解析儀(Ushikata X-plan 360 型，日本東京)反覆測量三次後求平均值，得壓瘡面積值。

(2) 壓瘡深度分級：依SHEA所訂之分期標準（第一級只傷及表皮，第二級傷及眞皮，第三級深及皮下組織，第四級深至肌肉或骨骼。）

(3) 病灶分泌物量多寡，壞死組織、感染現象之有無之評估。

(4) 療效判定：

① 有效：1. 治療後壓瘡表面積縮小

2. 治療後壓瘡深度等級減小

② 顯效：治療後壓瘡表面積縮小超過50%以上

③ 痊癒：治療後壓瘡完全癒合

六、中藥「腐盡生肌散」的配製：

兒茶：本品爲豆科植物孩兒茶（Acacia catechu Willd.）的樹幹煎汁，濃縮乾燥後凝成的浸膏。

乳香：本品爲橄欖科植物卡氏乳香樹（Boswellia carterii Birdwood.）的樹幹皮部所採得的膠樹脂。

沒藥：本品爲橄欖科植物沒藥樹（Commiphora myrrha Engl.）的樹幹皮部油膠脂。

梅片：本品爲龍腦香料植物龍腦香（Dryobalanops aromatica Gaertm. f.）的加工結晶品。

珍珠：本品爲軟體動物珍珠貝（Pteria margaritifera）的病態產物。

三七：本品爲五加科植物人參三七（Panax pseudoginseng Wall.）的乾燥根。

血竭：本品爲棕櫚科植物麒麟竭（Daemonorops draco Bl.）的樹脂。

以上諸藥經鑑定後，研成細粉狀混合，再送中國生化公司，經以（珈瑪）射線無菌處理後，方得應用於臨床。

七、方法與步驟：

(1) 篩選合乎條件的個案。經患者及家屬瞭解並同意後，編列爲治療組與對照組。

(2) 記錄病患基本資料。

(3) 評估病患一般狀況並進行中醫辨證分型。

(4) 壓瘡病情的評估(評估指標包括表面積、深度等級、分泌量、感染與壞死組織之有無)。

(5) 壓瘡的治療（包括西醫常規醫治療與中藥外治）連續三週。

① 西醫常規醫護治療：包括每二小時翻身一次，使用優碘與生理食鹽水清理患部、紗布覆蓋傷口等），依病情需要，每日1～3次。

② 中藥「腐盡生肌散」外敷瘡面

治療組之治療包括：①＋②，對照組則爲①。

(6) 療效評估：治療前後各評估指標的變化與比較。

(7) 統計分析

① 分析壓瘡病患的基本資料與中醫辨證分型

② 分析治療組與對照組的壓瘡治療結果，比較其改善程度，並求出統計學上之意義。

③ 統計分析方法包括：(A) T－檢定（Student's T－test）

(B) McNemar's test

(C) Cochran's Q test

(D) Binomial's test

結　果

一、基本資料分析

本研究合乎收案標準者共有三十二名病患（五十六處壓瘡）。患者疾病種類以腦血管意外（17名，53%）與脊髓損傷（6名，19%）居多。（詳見Table 1）。壓瘡發生部位以薦椎部（31處，55%）與肩胛部（10處，18%）居多（詳見Table 2）。壓瘡深度等級則以III級（25處，45%）與II級（23處，41%）居多（詳見Table 3）。病患平均年齡爲 65.81±16.87 歲。

Table 1 患者病種：

疾病	人數	比例
腦血管意外	17	53%
脊髓損傷	6	19%
肝硬化	5	16%
癌症	3	9%
腎炎	1	3%

Table 2 壓瘡發生部位：

部位	個數	比例
薦椎部	31	55%
肩胛部	10	18%
髖部	7	13%
胸椎部	6	11%
足踝部	2	3%

Table 3 壓瘡深度等級：

等級	個數	比例
I	2	3%
II	23	41%
III	25	45%
IV	6	11%

二、中醫辨證分型

本研究針對三十二名壓瘡患者進行中醫辨證分型，發現有28名（88%）的患者屬氣虛型表現，4名（12%）屬陰虛內熱型。氣虛型又有氣血兩虛與氣虛夾痰濕兩種亞型。（詳見Table 4）

Table 4 壓瘡患者的中醫辨證分型：

中醫	証型	佔比例
氣虛型	氣血兩虛型(n=15)	47%
	氣虛夾痰溼型(n=13)	41%
陰虛內熱型	(n=4)	12%

三、一般狀況評估：(詳見 Table 5)

參考 Norton's Scale 對壓瘡患者(n＝32)的精神狀態、排便控制、可動性進行評估。參考 SHANNON 的 Rating scale 對壓瘡(n＝56)的局部血液循環進行評估。

結果發現，患者的精神狀態以神情淡漠者(16名，50%)居多。可動性以完全臥床不動者(23名，73%)居多。排便控制以大小便失禁者(21名，66%)居多。壓瘡的局部血液循環則以微血管延遲填滿者(34處，61%)居多。

Table 5 一般狀況評估表：

精神狀態	人數	可動性	人數
清醒	13(41%)	完全能動	1(3%)
淡漠	16(50%)	走路需協助	4(12%)
混亂	2(6%)	倚靠輪椅	4(12%)
昏迷	1(3%)	臥床不動	23(73%)
排便控制	人數	局部血液循環	壓瘡個數
完全控制	11(34%)	快速充填	11(20%)
尿失禁	0	延遲填滿	34(61%)
大便失禁	0	輕微水腫	8(14%)
二便失禁	21(66%)	重度水腫	3(5%)

四、治療前後各指標變化(詳見Table 6)

本研究針對兩組病患壓瘡進行為期三週的治療。發現結果如下：(1) 壓瘡表面積值變化：治療組由治療前的 21.87cm² (平均值)減少為 11.98cm²，面積變化率為－46.43%。對照組則由治療前的 25.85

cm^2 增加爲 30.74cm^2，面積變化率爲＋14.29%。兩組結果呈現統計學上明顯的差異（P＜0.01）。(2) 壓瘡深度等級變化：治療組由治療前的平均 2.60 級降低爲 1.51 級。對照組的壓瘡深度則在治療前後無明顯變化，兩組結果在統計學上有顯著差異。（P＜0.01）(3) 壞死組織個數變化：治療組由治療前的12處減少爲5處，對照組在治療前後無變化。兩組結果在統計學上有明顯差異（P＜0.05）(4) 感染個數變化：治療組由治療前的7處減少爲2處，對照組在治療前後無變化。兩組結果在統學上有明顯差異（P＜0.01），(5) 分泌量等級變化：治療組在治療後分泌量等級明顯減少。對照組則在治療前後無明顯變化。兩組結果在統計學上有明顯差異（P＜0.05）。

Table 6　治療前後各項指標變化表

	治療組	對照組	檢定結果
人數\壓瘡個數	24\45	8\11	
年齡(歲)	62.50±17.20	75.75±11.74	NS
表面積變化			
治療前(cm^2)	21.87(±24.74)	25.86(±37.28)	NS
治療後(cm^2)	11.98(±22.27)	30.74(±48.17)	
治療後變化率(%)	−46.43(±64.70)	＋14.29(±63)	＊＊
深度變化			
治療前(Grade)	2.60(±2.45)	2.63(±0.54)	NS
治療後(Grade)	1.51(±1.22)	2.64(±0.81)	＊＊
含壞死組織壓瘡數			
治療前	12(n＝45)	3(n＝11)	
治療後	5(n＝45)	3(n＝11)	＊
感染的壓瘡數			
治療前	7(n＝45)	2(n＝11)	

治療後	2(n=45)				2(n=11)				*
分泌量變化	無	少量	中量	多量	無	少量	中量	多量	
治療前(個數)	10	21	10	4	5	5	0	1	*
治療後(個數)	26	15	3	1	5	3	1	2	

註：① 年齡值與表面積變化值，以 Independent T-test 進行檢定。

② 深度變化，以 Indepent T-test 進行檢定。

③ 壞死壓瘡數與感染壓瘡統計，以 McNemar's test 進行檢定。

④ 分泌量變化，以 Cochran's Q test 進行檢定。

檢定結果：NS: P > 0.05，＊：P < 0.05，＊＊：P < 0.01

五、療效比較：（詳見Table 7）

本研究結果發現：(1) 治療有效，治療後壓瘡表面積縮小者：治療組有39處（佔87%），對照組有 6 處（佔55%），兩組有明顯差異 (P < 0.05)。(2) 治療有效，治療後壓瘡深度等級減少者：治療組有 30 處(佔67%)，對照組有 2 處(佔18%)，兩組有明顯差異(P < 0.01)。(3) 治療顯效：治療後壓瘡表面積縮小超過50%以上者；治療組有24處（佔53%），對照組則無（0%），兩者有明顯差異(P < 0.01)。(4) 痊癒，治療後瘡口完全癒合者：治療組有13處（佔29%），對照組則無（0%），兩者有明顯差異(P < 0.05)。由以上各項指標顯示：治療組在整體療效上明顯優於對照組。

Table 7　療效比較表

治療結果／壓瘡數（比例）	治療組 (n=45)	對照組 (n=11)	檢定結果
表面積縮小者	39(87%)	6(55%)	*
深度等級減少者	30(67%)	2(18%)	**
表面積縮小愈50%者	24(53%)	0(0%)	**

治療後完全癒合者	13(29%)	0(0%)	*

註：以 Binomial test 進行檢定：*：P＜0.05，**：P＜0.01

討　論

壓瘡的形成原因乃是由持續性的壓力（包括垂直的壓力、平行的磨擦力或削力）作用於皮膚。當壓力超過25－30mmHg時就可以阻斷局部的血液循環，造成缺血狀態，使組織缺乏營養，造成組織損傷、潰瘍和壞死。

本病在中醫文獻中，稱之爲「蓆瘡」。清《瘍醫大全・蓆瘡門主論》：「蓆瘡乃久病著床之人，挨擦磨破而成。上而背脊，下而尾閭。當用馬勃軟襯，庶不致損而又損，晝夜呻吟也。病人但見蓆瘡，死之徵也。」《醫宗金鑑・外科心法》：「席瘡乃大病之後，久而生眠瘡也，乃皮肉先死不治。」由以上記載看來，古人對壓瘡的成因與發病部位已有所瞭解，甚至已開始懂得運用馬勃軟襯來減輕壓力。

傳統醫學認爲本病的病機是由於長期臥床不起，久病氣血虧虛，復因受壓部位氣血失於流通，以致無以濡養肌膚，磨擦破傷，造成壞死潰爛。本研究針對壓瘡患者群進行中醫辨證分型研究，發現辨証屬氣虛型者高達88%，(見 Table 4)。再就壓瘡局部血液循環進行評估，發現血循有障礙者佔 80%(見 Table 5)。可見整體性的正氣虛衰與局部性的氣血流通不暢的確是本病的一個重要病機。

■ 壓瘡治療效果討論：

本研究結果顯示：治療組（加用中藥腐盡生肌散）在短期（三

週）內的療效，不管是有效，顯效或完全癒合的比例，均明顯優於對照組（單純西醫常規治療）。（見Table7）

本研究期間有13處壓瘡在治療二週內即已完全癒合，其中發生部位在肩胛部者有7個（佔54%），胸椎部有4個（佔31%）其餘2個分布在髖部與薦椎部。平均深度等級爲II級，據此發現，對本研究治療組不同部位壓瘡的療效進行統計，發現：發生在肩胛部與胸椎部的壓瘡治療效果，的確較優於其他部位的壓瘡。（見Table 8）

Table 8　不同部位壓瘡的療效比較表：

壓瘡發生部位（個數）	薦椎部 (n=24)	肩胛部 (n=10)	胸椎部 (n=6)	髖　部 (n=4)	足　踝 (n=1)
治療後面積縮小率(%)	27.05	80.01	93.42	0.4	23.52

在本研究中，我們又針對治療組不同深度的壓瘡的治療癒合情況進行統計，發現整體癒合程度是Ⅰ級＞II級＞III級＞IV級。（見Table 9），與大多數學者的報導獲得一致的結果。

Table 9　不同深度壓瘡的療效比較

壓瘡深度	個數	面積縮小者	面積縮小愈50%者	完全癒合
Ⅰ級	2	2(100%)	2(100%)	2(100%)
II級	19	18(95%)	13(68%)	8(42%)
III級	19	16(84%)	7(37%)	3(16%)
IV級	5	3(60%)	2(40%)	0(0%)

若以此治療成果與Berlowitz及Brandeis的報導進行比較，我們發

現在比較治療有效（壓瘡面積縮小）率時，本研究略優於兩位學者的治療成果（見Table 10）。但若以完全癒合的比例進行比較時，本研究就略遜一籌（見Table 11）。初步推論，與本研究的治療時間較短可能有關，若延長治療時間，可能有助於提高壓瘡的完全癒合比例。

Table 10　不同研究的壓瘡治療有效率比較：

壓瘡深度\有效率(%)	本研究(3週)	Berlowitz(6週)	Brandeis(3個月)
II級	95	81	
III級	84	82	54
IV級	60	67	48

Table 11　不同研究的壓瘡完全癒合率比較：

壓瘡深度\癒合率(%)	本研究(3週)	Berlowitz(6週)	Brandeis(3個月)
II級	42	65	55
III級	16	14	31
IV級	0	0	23

此外 Benett 與 Colleagues 報導使用氣液床針對平均深度III級的壓瘡，在79天（中位數）的治療後統計發現顯效（壓瘡面積縮小逾50%以上）者只有44%，完全癒合者只有14%。Allman RM報導，使用氮液床治療平均II～III級的壓瘡，經過13天（中位數）的治療期後，發現顯效（壓瘡面積縮小逾50%）者僅29%，無完全癒合者。若將本研究結果與此二篇研究報導進行對照比較，就整體療效而論，本研究治療組的療效普遍優於以上報導。（見Table 12）

Table 12　不同研究的壓瘡療效比較表：

	本研究（中藥）	Bennett.（氣液床）	Allman.（氣液床）
治療前面積(cm^2)(中位數)	13.7	35.3	7.8
（範圍）	(1.10－123.42)	(0.2－159.4)	(0.3－83.2)
治療前深度級數(中位數)	III	III	II
治療天數(中位數)	14	79	13
治療有效(面積縮小)率(%)	87		71
治療顯效(面積縮小逾半)率(%)	53	44	29
痊癒(完全癒合)率(%)	29	14	

本研究著重於觀察壓瘡局部治療的效果。實際上，完整的壓瘡治療還應包括：(1) 系統性疾病的控制，如：糖尿病的控制，運用抗生素以控制骨髓炎或敗血症。(2) 營養狀況的改善，例如：補充蛋白質、維生素 C、水分、電解質以促助膠原與纖維組織的合成。在有必要時可運用鼻胃灌食或全靜脈營養的方式。(3) 完整的全身性護理，包括：注意大小便失禁的處理，傷口滲液與引流的處理以減少皮膚受刺激。教導病人在手術後保持特殊的臥位。可見，一套完整的壓瘡治療計劃是需要各種醫護人員的密切配合的。包括醫師、護理人員、復健治療師、營養師、職能治療師。尤其是醫護人員更應細心瞭解及評估引起壓瘡的危險因子，給予適當的預防措施，才能有效地預防壓瘡的一再發生。

結論與建議

壓瘡是住院病患最困擾的醫療問題之一，而且也常導致嚴重的併

發症，不但使病人承受痛苦，也間接消耗了大量的醫療資源。爲期提高本病的療效，本研究選擇中醫治療皮膚潰瘍的名方「腐盡生肌散」，配合西醫常規處理來治療壓瘡，並進行臨床療效的評估與比較。經過爲期三週的治療後，對治療組（加用中藥）與對照組（單純西醫常規處理）的療效進行比較。發現，治療組的整體療效明顯優於對照組。可見，在常規西醫醫護治療條件之下，加用中藥「腐盡生肌散」外敷，確實有利於壓瘡的癒合。本研究成果應可提供被壓瘡所苦的衆多住院病患一個更寬廣而有效的治療模式。希望能減輕病患的痛苦，縮短住院治療的時間，進一步減少醫療資源的消耗。

參考文獻

1. Seha JD, Pressure sores:classification and management, Clin Orthop. 1975; 112: 89－100.
2. Godds PS, Allman RM. The Prevention and Management of Pressure Ulcers. Medical Clinics of North America. 73(6) :1511－24, 1989 Nov.
3. Perez ED, Pressure ulcers: Updated guidelines for treatment and prevention , Geriatrics, 48(1) :39－44, 1993 Jan.
4. Leigh IH, Bennett G, Pressure Ulcers: Prevalence, Etiology, and Treatment Modalities. A Review. American Journal of Surgery. 167(1A): 25s－30s, 1994 Jan.
5. Ferrell BA, Osterweil D, Chistenson P. A Randomized Trial Of Low－Air－Loss Beds for Treatment of Pressure Ulcers. JAMA 269(4) :494－7, 1993 Jan 27.

6. Bennett GCJ, Undergraduate teaching in chronic wound care. Lancet 1992: 228: 249－50.
7. Allman RD, Pressure ulcers among the elderly. N Engl J Med 1989; 320:850－3.
8. Gorse GJ, Messner RL. Improved pressure sore healing with hydrocolloid dressings. Arch Dermatol 1987;123:766－71.
9. Allman RD, Laprode CA, Noel LB, et al. Pressure sores among hospitalized patients. Ann Intern Med 1986; 105:337－42.
10. Champpion RH, Burton JL, Ebling F JG. Text book of Dermatology, 5th ed London: Blackwell. 1992: p788－791.
11. Anderson KE, kvorning SA, Medical aspects of the decubitus ulcers. Int J Dermatol 1982; 21: 265－70.
12. Anonymous, Preventing pressure sores, Lancet: 335(8701): 1311－2. 1990, Jun.
13. Brandeis GH, Morris JN, Nash DJ, Lipsitz LA, The epidemiology and natural history of pressure weers in elderly nursing home residents. JAMA. 1990, 264: 2905－2909.
14. Reed JW: Pressure ulcers in the elderly: prevention and treatment utilizing the team approach, MD State Med J 30:45, 1981
15. AllMAN RM, LAPRADE CA, NOEL LB, et al. Pressure sores among hospitalized patients. Ann Intern Med. 1986; 105:337－42.
16. Sebern MD: Pressure ulcer management in home health care; efficacy and cost effectiveness of moisture vapor permeable dressing. Arch Phys Med Rehabil 67:726, 1986.
17. Berlowitz DR, Wilking SVB. The short－term come of pressure

sores. J Am Geriatr Soc. 1990; 38:748－752.

18. Allman RM: Pressure ulcers among the elderly. N Engl J Med 320:850, 1989.

19. Allman RM, Walker Jm, Hart MK, LaPrade A, Noel LB, Smith CR. Air－fluidized beds or conventional therapy for pressure sores: a randomized trial. Ann Intern Med. 1987:107:641－648.

20. Bennett RG, Bellantoni MF, Ouslander JG. Air fluidized bed treatment of nursing home patients with pressure sores. j Am Geriatr Soc. 1989;37:235－242.

21. Berlowitz DR, Wilking SVB. Risk factors for pressure sores: a comparison of cross－sectional and cohort－derived data. J Am Geriatr Soc. 1989; 37: 1043－1050.

22. Michocki RJ, Lany PP; The problem of pressure sores in a nursing home population:statistical data. J Am Geriatr Soc 24: 323, 1976.

23. Yong JB. Dobrzanski S., Pressure sores, Epidemiology and Current management concepts [Review] Drugs & Aging, 2 (1) : 42－57,1992 Jan－Feb.

24. Goron D, Use of Omiderm in treatment of low－degree pressure sores in terminally ill cancer patients. Cancer Nursing 12(3) : 165－9, 1989 Jun.

25. Sebern MD, Pressure ulcor management in home health care: efficacy and cost effectiveness of moisture vapor permeable dressing. Archives of physical Medicine & Rehabilitation 67 (10):726－9, 1986 Oct.

26. 徐林茂，“祛腐生肌靈”治療褥瘡100例，江蘇中醫雜誌，1992:

13(8):16。
27. 侯敏等，複方珍珠散治療褥瘡13例，黑龍江中醫藥雜誌，1992; 92(5); 33。
28. 林麗英，老年人壓瘡之預防與護理，榮總護理，1992:8(4) :368－373。
29. 劉園香，化瘀生肌散治療褥瘡，四川中醫雜誌，1992;10(3) :38。
30. 段紹菊，中西醫結合護理潰瘍性褥瘡併發感染一例，雲南中醫雜誌，1991;12(6): 42。
31. 葛照倫等，青黛散治療褥瘡，四川中醫雜誌，1992;10 (3): 88。
32. 牛忻群等，褥瘡外治與預防概況，北京中醫，1993;93(4) :57－58。
33. 清，吳謙，醫宗金鑑外科心法，新文豐出版公司，1981。
34. 清，王洪緒，外科證治全生集，樂群文化公司，1991。
35. 清，顧世澄，瘍醫大全，旋風出版社，1973。
36. 顧伯華，實用中醫外科學，啓業書局，1991。
37. 清，祁坤，外科大成，文光圖書有限公司，1979。
38. 郭素娥，認識壓瘡治療與護理，護理雜誌，32(2): 91－8，1985。
39. 林麗英，老年人壓瘡之預防與護理，榮總護理，8(4): 368－73，1991。
40. 劉輔仁等，實用皮膚科學，人民衛生出版社。

中醫藥對住院病人之壓瘡療效研究　評估記錄表

姓名：　　性別：　　年齡：　　病歷號：

身高：　　cm　體重：　　kg　住院日期：

本次住院主要疾病

合併其它疾病

病人狀況　基本生命徵象　BP　　PR　　RR　　Temp

精神狀態：□1.清醒 □2.淡漠 □3.混亂 □4.木僵或昏迷

排便情形：□1.能控制 □2.尿失禁 □3.大便失禁 □4.大小便失禁

可動性：□1.完全能動 □2.走路時需要協助 □3.坐輪椅 □4.臥床不動

營養：□1.營養好 □2.合理的 □3.營養差 □4.惡病質

循環：□1.微血管快速填滿 □2.微血管延遲填滿 □3.輕微水腫

□4.中度～嚴重水腫

溫度：□1.36.6～37.2℃ □2.37.2～37.7℃ □3.37.7～38.3℃ □4.＞38.3℃

藥物：□1.未使用鎮痛、鎮靜劑或類固醇製劑 □2.有以上一種 □3.有以上二種

□4.全有

中醫診察：

面色：_____

舌診：質_____形_____苔_____

脈診：_____

二便：大便_____

溲 _____

其它：_____

壓　瘡：病程

部位

治療前：病灶：大小：最大圓內徑：　　面積：

□紅斑　□水疱　□糜爛　□潰瘍

□分泌物(□澄清　□膿液　□顏色　□氣味)

□量：

□結痂

□壞死組織

治療中：第一週：病灶：大小：最大圓內徑：　　面積：

□紅斑　□水疱　□糜爛　□潰瘍

□分泌物(□澄清　□膿液　□顏色　□氣味)

□量：

□結痂

□壞死組織

治療中：第二週：病灶：大小：最大圓內徑：　　面積：

□紅斑　□水疱　□糜爛　□潰瘍

□分泌物(□澄清　□膿液　□顏色　□氣味)

□量：

□結痂

□壞死組織

治療中：第三週：病灶：大小：最大圓內徑：　　面積：

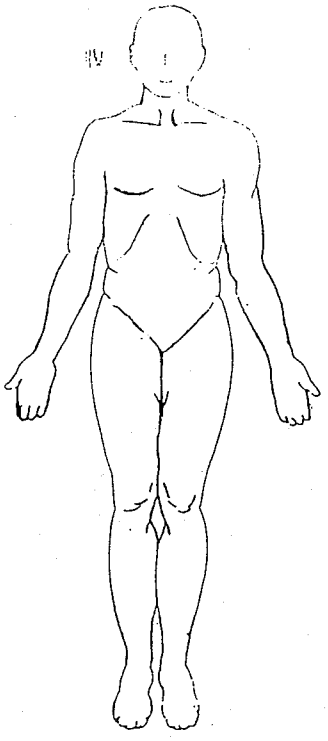
□紅斑　□水疱　□糜爛　□潰瘍

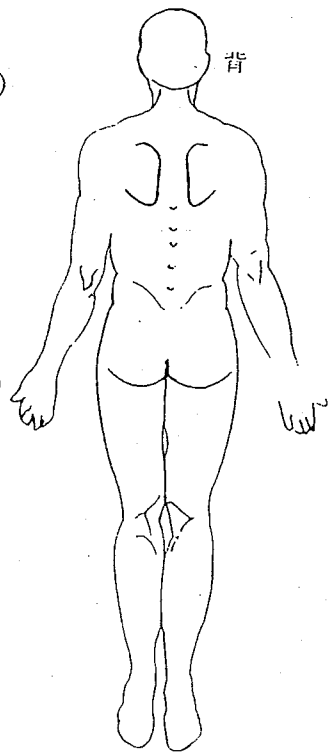
□分泌物(□澄清　□膿液　□顏色　□氣味)

□量：

□結痂

□壞死組織





中醫藥年報 第十四期第一冊

編　者：行政院衛生署中醫藥委員會
發行人：蘇貫中
發行所：行政院衛生署中醫藥委員會
地　址：台北市羅斯福路一段七號十樓
電　話：(02)3967765
傳　真：(02)3914900
印　刷：匯鈞企業股份有限公司
地　址：台北市信義路三段九九巷一號
電　話：(02)755-2253

中華民國八十五年五月出版

統一編號
016204850075



健康是您的權利　保健是您的責任

ISBN 957-00-7317-9（第一册：平裝）