

中國醫藥大學中國醫學研究所博士論文

指導教授：林昭庚 教授

共同指導教授：謝慶良 教授

：邱仁輝 教授

論文題目

電針及中藥方劑木香檳榔丸對麻醉後動物奧迪氏括約肌
之影響：免疫組織化學與機轉之研究

Effect of Electroacupuncture and Muh-Shiang Bin-Lang-Wan
on Sphincter of Oddi in Anesthetized Animal :
Immuohistochemistry and Mechamism Studies

研究生：郭勇麟

中華民國九十二年十二月

目 錄

第一章 前言.....	1
第二章 文獻探討.....	2
第一節 奧迪氏括約肌 (Sphincter of Oddi) 之簡介.....	2
一、不同物種 SO 之解剖學比較.....	2
二、不同物種 SO 生理學的比较.....	2
三、SO 功能之體內調節控制的物質.....	5
四、SO 功能之體內調控的方式.....	8
五、SO 之病理狀態.....	8
第二節 SO 病理狀態之臨床舉例-膽石症 (cholelithiasis) 及中西醫觀點.....	10
一、西醫觀點.....	10
二、中醫觀點.....	11
第三節 現代治療膽石症 (cholelithiasis) 之挑戰.....	16
一、西醫的治療.....	16
二、中醫的治療.....	16
三、中西醫整合治療.....	16
第三章 材料與方法.....	17
PART I 貓：組織免疫學染色篇.....	17
第一節 實驗動物.....	17
一、貓.....	17
第二節 實驗儀器、材料與設備.....	18
一、實驗儀器.....	18
二、材料.....	18
三、器械、設備.....	19
第三節 實驗方法.....	20
一、術前準備.....	20
二、電針模型的建立.....	20
三、免疫染色法 (Immunohistochemistry stain.).....	20

第四節	實驗設計及分組	23
一、	探討電針對貓腸道組織免疫學之效應	23
二、	探討假電針對貓腸道組織免疫學之效應	23
三、	實驗對照組	23
第五節	染色正反應結果百分比計分評估表之設定	23
PART II	兔子：濃縮中藥，木香檳榔丸篇	24
第一節	實驗動物	24
一、	兔子	24
第二節	實驗儀器、材料與設備	24
一、	實驗儀器	24
二、	藥物材料	25
三、	器械、設備	26
第三節	實驗方法	28
一、	動物實驗模型建立	28
第四節	鼻胃管灌食藥物之模型的建立	35
一、	胃大彎近幽門處解剖定位 (圖 3-5)	35
第五節	實驗設計及分組	35
一、	探討木香檳榔丸對兔子奧迪氏括應約肌之調控效應	35
二、	探討木香檳榔丸對兔子奧迪氏括應約肌之作用機轉	37
第六節	實驗數據處理及統計方法	38
一、	實驗數據處理 (圖 3-6)	38
二、	統計方法	38
第四章	結果	40
PART I	貓：組織免疫學染色篇	40
第一節	EA group (電針組) 對貓腸道組織免疫學之反應	40
第二節	Sham EA group (假電針組) 對貓腸道組織免疫學之反應	40
第三節	實驗對照組對貓腸道組織免疫學之反應	46
PART II	兔子：濃縮中藥--木香檳榔丸篇	47
第一節	木香檳榔丸濃縮中藥對兔子奧迪氏括約肌的效應	47
第二節	木香檳榔丸濃縮對兔子奧迪氏括約肌調控之作用機轉	60
第三節	木香檳榔丸濃縮對兔子奧迪氏括約肌調控之結論	73

第五章 討論.....	74
第一節 麻醉對奧迪氏括約肌之影響.....	74
第二節 奧迪氏括約肌的探討與實驗動物的選取.....	76
第三節 電針與手針參數的取捨.....	77
第四節 動物穴位之選擇.....	78
第五節 濃縮中藥之選擇.....	79
第六節 木香檳榔丸濃縮中藥之生藥基源與成品鑑定.....	78
第七節 木香檳榔丸調控奧迪氏括約肌有效成份之預測.....	87
第八節 針刺、溫灸及中藥方劑木香檳榔丸之臨床適用性.....	88
第六章 結論.....	91
一、PART I 貓：組織免疫學染色篇.....	91
二、PART II 兔子：濃縮中藥木香檳榔丸篇.....	91
參考文獻.....	92
英文摘要.....	95
謝辭.....	97

圖目錄

【圖 2.1】人類奧迪氏括約肌立體結構示意圖	3
【圖 2.2】負鼠奧迪氏括約肌立體結構示意圖	4
【圖 3.1】貓電針穴位之解剖定位	21
【圖 3.2】貓腹部實景圖	22
【圖 3.3】兔子鼻胃插管實景圖	30
【圖 3.4】兔子腹部手術及插管實景圖	31
【圖 3.5】兔子鼻胃插管，胃大彎近幽門處示意圖	36
【圖 3.6】奧迪氏括約肌壓力圖及實驗數據之定義	39
【圖 4.1】貓膽囊免疫學染色圖	43
【圖 4.2】貓奧迪氏括約肌免疫學染色圖	44
【圖 4.3】貓十二指腸免疫學染色圖	45
【圖 4.4】木香檳榔丸 0.25gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約 肌壓力圖之變化	48
【圖 4.5】木香檳榔丸 0.25gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約 肌基礎壓力 (TP) 之變化統計圖	49
【圖 4.6】木香檳榔丸 0.25gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約 肌相位收縮壓力 (PP) 之變化統計圖	50
【圖 4.7】木香檳榔丸 0.5gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌 壓力圖之變化	51
【圖 4.8】木香檳榔丸 0.5gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌 基礎壓力 (TP) 之變化統計圖	52
【圖 4.9】木香檳榔丸 0.5gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌 相位收縮壓力 (PP) 之變化統計圖	53
【圖 4.10】木香檳榔丸 1.0gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約	

肌壓力圖之變化.....	54
【圖 4.11】 木香檳榔丸 1.0gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌基礎壓力 (TP) 之變化統計圖	55
【圖 4.12】 木香檳榔丸 1.0gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌相位收縮壓力 (PP) 之變化統計圖	56
【圖 4.13】 木香檳榔丸 2.0gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌壓力圖之變化.....	57
【圖 4.14】 木香檳榔丸 2.0gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌基礎壓力 (TP) 之變化統計圖	58
【圖 4.15】 木香檳榔丸 2.0 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌相位收縮壓力 (PP) 之變化統計圖	59
【圖 4.16】 澱粉 (Starch) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌壓力圖之變化.....	61
【圖 4.17】 澱粉 (Starch) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌基礎壓力 (TP) 之變化統計圖	62
【圖 4.18】 澱粉 (Starch) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌相位收縮壓力 (PP) 之變化統計圖	63
【圖 4.19】 二次水 (2nd H ₂ O) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌壓力圖之變化.....	64
【圖 4.20】 二次水 (2nd H ₂ O) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌基礎壓力 (TP) 之變化統計圖	65
【圖 4.21】 二次水 (2nd H ₂ O) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌相位收縮壓力 (PP) 之變化統計圖	66
【圖 4.22】 事先施予 A.P.P 對木香檳榔丸 1.0gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌壓力圖之變化.....	67
【圖 4.23】 事先施予 A.P.P 對木香檳榔丸 1.0gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌基礎壓力 (TP) 之變化統計圖	68
【圖 4.24】 事先施予 A.P.P 對木香檳榔丸 1.0g (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌相位收縮壓力 (PP) 之變化統計圖	69
【圖 4.25】 事先施予 Pirenzepine 對木香檳榔丸 1.0gm (MSBLW) 對	

麻醉後兔子奧迪氏括約肌壓力圖之變化.....	70
【圖 4.26】先施予 Pirenzepine 對木香檳榔丸 1.0gm (MSBLW) 對麻 醉後兔子奧迪氏括約肌基礎壓力 (TP) 之變化統計圖	71
【圖 4.27】先施予 Pirenzepine 對木香檳榔丸 1.0gm (MSBLW) 對麻 醉後兔子奧迪氏括約肌相位收縮壓力 (PP) 之變化統計 圖	72

表目錄

【表 3.1】木香檳榔丸 (MUH SHIANG BIN LANG WAN) 科學濃縮 中藥處方成份表	27
【表 4.1】膽囊 (GB)、奧迪氏括約肌 (SO) 及十二指腸 (Duodenum) 染色正反應結果百分比評分表	42
【表 4.2】木香檳榔丸 0.25 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約 肌之影響	48
【表 4.3】木香檳榔丸 0.5 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約 肌之影響	51
【表 4.4】木香檳榔丸 1.0 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約 肌之影響	54
【表 4.5】木香檳榔丸 2.0 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約 肌之影響	57
【表 4.6】澱粉 (Starch) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌之影響	61
【表 4.7】二次水 (2nd H ₂ O) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌之影響	64
【表 4.8】事先施予 A.P.P 對木香檳榔丸 1.0 gm (MSBLW) 麻醉後兔 子奧迪氏括約肌之影響	67
【表 4.9】事先施予 Pirenzepine 對木香檳榔丸 1.0 gm (MSBLW) 麻 醉後兔子奧迪氏括約肌之影響	70

電針及中藥方劑木香檳榔丸對麻醉後動物奧迪氏括約肌之影響：免疫組織化學與機轉之研究

博 士 生：郭勇麟

指導教授：林昭庚 教授

中國醫藥大學中國醫學研究所

奧迪氏括約肌 (Sphincter of Oddi) 在調控膽汁、胰液分泌至十二指腸扮演很重要之角色，當其功能失常時臨床上常見右上腹部脹痛、腸脹氣、黃疸、嘔吐及消化不良等，如西方醫學之膽石症、手術後奧迪氏括約肌功能不全、慢性胰臟炎、肝後性鬱積型肝炎、阻塞性黃膽，在中醫典籍對其病症常以脅痛、肝脹、膽脹及結胸等來描述。

本研究主要分為有二部分；part I：探討電針 (Electroacupuncture) 麻醉後貓的右側期門、日月穴 20 分鐘後取出膽囊、奧迪氏括約肌及十二指腸，經免疫染色法來探討其細胞組織形態之變化，進而了解 CCK 內分泌細胞、VIP 神經分佈狀況。part II：以濃縮中藥木香檳榔丸經鼻胃管灌食麻醉後之兔子來探討其奧迪氏括約肌 1 小時中之壓力變化及調控機轉。

實驗結果發現電針麻醉後貓的右側期門、日月穴 20 分鐘後膽囊、奧迪氏括約肌及十二指腸之 CCK (Cholecystokinin) 分泌細胞及 VIP (Vasosctive intestinal polypeptide) 神經數量，經免疫染色後以半定量評分計量評估後發現比未電針前之 CCK 分泌細胞及 VIP 神經數量表現更多且明顯，證明了電針麻醉後貓的右側期門、日月穴可激發 CCK 分泌細胞及 VIP 神經的表現，進而調控奧迪氏括約肌。以不同劑量 (0.25 gm、0.5 gm、1.0 gm、2.0 gm) 的傳統中藥處方木香檳榔丸經由鼻胃管灌食麻醉後的兔子，來測量 1 小時中奧迪氏括約肌壓力之變化。在實驗中我們得到的結果是：不同劑量的木香檳榔丸對麻醉後之兔子在灌食後 1 小時內基礎壓 (tonic pressure)、相位收縮壓 (phasic contraction pressure) 有不同

程度之改變且有統計學上的意義。其作用機轉；一：可被先施予靜脈給藥之 A.P.P. 所阻斷可證明其作用機轉非經由 NANC (Nonadrenergic Noncholinergic) pathway 。二：可被事先施予鼻胃灌食之 pirenzepine 10 mg/kg (為專一性的 M1 Muscarinic receptors 之拮抗劑) 所阻斷。因此木香檳榔丸對奧迪氏括約肌之生理調控機轉可推測興奮了 M1 Muscarinic receptors 而來。

所以，我們結論，傳統中國醫藥學在疾病治療中，電針及中藥方劑 (木香檳榔丸)，對動物奧迪氏括約肌的調控機轉，各扮演不同之重要角色。

關鍵字：奧迪氏括約肌 (Sphincter of Oddi); 電針 (Electroacupuncture); CCK (Cholecystokinin); VIP (Vasosctive intestinal polypeptide); 基礎壓 (tonic pressure); 相位收縮壓 (phasic contraction pressure); NANC (Nonadrenergic Noncholinergic); pirenzepine; Muscarinic receptor, 木香檳榔丸

第一章 前言

奧迪氏括約肌 (Sphincter of Oddi) 在調控膽汁、胰液分泌至十二指腸扮演很重要之角色，當其功能失常時臨床上常見右上腹部脹滿痛、腸脹氣、黃疸、嘔吐及消化不良等，如在中醫典籍對其病症常以脅痛、肝脹、膽脹及結胸等來描述，而在西方醫學則以膽石症、膽囊切除後症候群（膽道弛緩不能、膽道痙攣）手術後奧迪氏括約肌 (Sphincter of Oddi) 功能不全、慢性胰臟炎、原因不明復發性胰臟炎、肝後性鬱積型肝炎、阻塞性黃膽等病症最常見。先前實驗證明了針刺麻醉後動物貓、兔子右側期門、日月穴可引發 CCK (Cholecystokinin) 分泌血中濃度升高，調控奧迪氏括約肌 (Sphincter of Oddi) 之基礎壓力及相位收縮壓力，增強膽囊收縮及膽汁排出量⁽¹⁾。基於此成果所以我們繼續另一方面研究計劃，做進一步探討針刺麻醉後動物貓右側期門、日月穴後其下膽道組織中膽囊、奧迪氏約肌及十二指腸之免疫組織學之變化。

在傳統中國醫藥學中以針、灸、藥為疾病治療法之三大主軸。先前的研究已證明了針刺麻醉後動物貓及兔子右側期門、日月穴可引發 CCK 分泌血中濃度升高⁽¹⁾；溫灸麻醉後動物貓及兔子右側日月穴可促成 NO (Nitric Oxide) 之釋出⁽²⁾進而調控奧迪氏括約肌 (Sphincter of Oddi) 壓力變化。基於對中藥方劑對麻醉後動物兔子奧迪氏括約肌之影響為何？作用機轉為何？之好奇與期望使然，因此我們另一研究計劃以中醫臨床常用治療右上腹部脹滿痛、腸脹氣、黃疸、嘔吐及消化不良等症狀之中藥方劑木香檳榔丸⁽³⁾來做研究，以濃縮中藥方劑木香檳榔丸經鼻胃管灌食麻醉後之兔子來探討其奧迪氏括約肌 (Sphincter of Oddi) 1 小時中之壓力變化及其調控機轉。

藉由上面之研究計劃之探討，進而是否可以解釋傳統中國醫藥學在疾病治療法中，針刺、溫灸及中藥方劑 (木香檳榔丸)，對動物兔子奧迪氏括約肌 (Sphincter of Oddi) 的調控機轉，各伴演不同之重要角色。

第二章 文獻探討

第一節 奧迪氏括約肌 (Sphincter of Oddi) 之簡介

遠于 1887 年，Oddi 這位醫學院的學生，就已經對 sphincter of Oddi (SO) 做了一個描述：“a sphincteric arrangement around the termination of the common bile duct in several species, including humans”。認為 SO 有調節膽汁流入十二指腸的功能⁽⁴⁾。

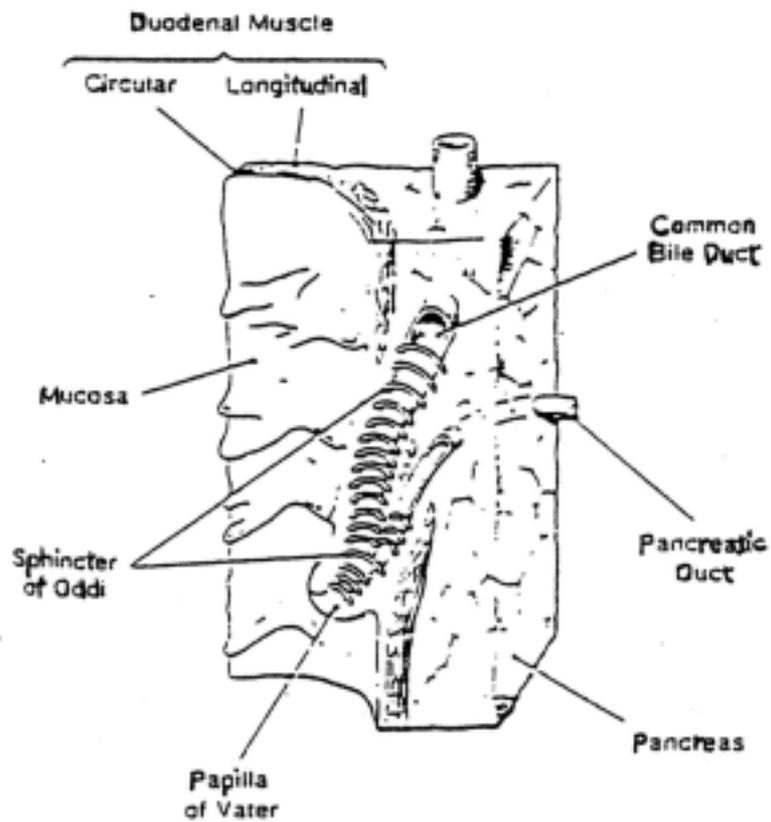
但至 1898 年 Henderickson 才証實 Oddi 的發現 Hendrickson 等人將人類 SO 的構造藉由不同方向組織切片，描繪出來⁽⁵⁾⁽⁶⁾。Boyden 等學者在 1937 年，將人類 SO 再細分成四部份：choledochal sphincter, pancreatic sphincter, ampulla sphincter 及 intermediate fibres⁽⁷⁾。其中 choledochal sphincter 存在於所有個體上，而 pancreatic 及 ampulla sphincter 則分別於 1/3 及 1/6 的人才。在人類的 choledochal sphincter，壁內平均長度為 14 mm (範圍 7-22 mm)，壁外平均長度為 5 mm (範圍 1-11 mm)，而 choledochal 與 pancreatic 交會的共同通道約長 3 mm (0-9 mm)⁽⁸⁾。

一、不同物種 SO 之解剖學比較

在不同物種的 SO 解剖學上有極大的差異性，大致上可分為雜食性與草食性兩大類，例如雜食性動物人、貓、狗等其 SO (附圖 2-1)⁽⁹⁾，為 intraduodenal type。而草食性動物負鼠、兔子為 extraduodenal type (附圖 2-2)⁽⁹⁾。

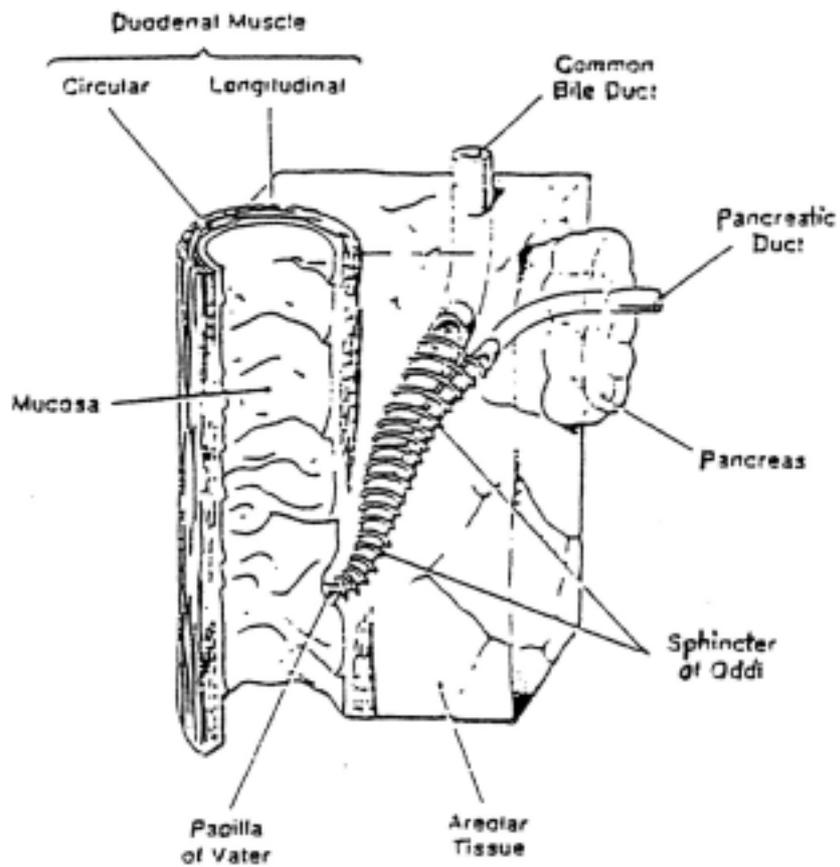
二、不同物種 SO 生理學的比較

SO 的生理功能最重要是用來調節膽汁的流入十二指腸，但是，作用的機制在不同種生物有不同的方法；例如在人類、貓及狗等雜食性動



【圖 2.1】人類奧迪氏括約肌立體結構示意圖⁽⁹⁾

【說明】其環狀平滑肌 (circular smooth muscle) 包裹住總膽管 (CBD) 末梢，且大部分奧迪氏括約肌位於十二指腸壁，經由一裂縫 (slit) 開口於十二指腸中。故又稱 intraduodenal type 之奧迪氏括約肌。



【圖 2.2】負鼠奧迪氏括約肌立體結構示意圖⁽⁹⁾

【說明】其奧迪氏括約肌末端、少有十二指腸平滑肌 (duodenal muscle) 包裹住，經由一裂 (slit) 開口於十二指腸中。故又稱 extraduodenal type 之奧氏括約肌。而兔子與之類似。

物，SO 對 cholecystinin (CCK) 的反應是抑制性的。而在草食性動物如：兔子、負鼠等，SO 對 CCK 的反應是興奮性的；換言之，SO 在人類、貓及狗的膽汁調控是阻力式 (resistor)。而在草食動物則是蠕動幫浦式 (peristaltic pump)⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾。而其他荷爾蒙的調控也有不同。不同物種的 SO 對 CCK 反應不同，但其生理功能都在促使膽汁流入十二指腸。例如人類、貓之機轉可能藉 CCK 抑制 SO 的壓力而使膽汁排出，而在負鼠、兔子其機轉可能藉由增加 SO 壓力而排出膽汁⁽¹³⁾。

三、SO 功能之體內調節控制的物質

SO 之調節控制依調控物質可分成，(一)交感、副交感神經調控。(二)非交感、副交感神經調控。(三)荷爾蒙調控。

(一)交感、副交感神經調控

在交感神經及副交感神經對 SO 之調控是截然不同的。在人類:副交感神經造成膽囊、膽道收縮，SO 放鬆主要與 muscarinic receptor 之作用有關⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾。迷走神經切除對禁食之 opossum 的 SO 壓力沒有影響⁽¹⁶⁾。

然而在交感神經方面則是 $\alpha 1$ 受體使 SO 收縮， $\beta 2$ 受體使膽囊、膽道放鬆⁽¹⁷⁾。至於交感神經及副交感神經之間如何協調、調控 SO，至今所知仍然有限。

(二)非交感、非副交感神經調控

在非 NANC (Nonadrenergic Noncholinergic) 非交感神經、非副交感神經之神經傳遞物質 (neurotransmitter) 中，陸陸續續被發現及被討論研究⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾。詳述如下：

1.Nitric Oxide (NO) 一氧化氮

NO 在胃腸道平滑肌的作用，主要是舒張平滑肌。在 1992 年，Vanderwinden 等學者發現嬰幼兒幽門肥厚性梗塞 (Infantile Hypertrophic Pyloric Stenosis)，其幽門平滑肌的 NO Synthase (NOS) 含量特別少⁽²⁰⁾。在奧迪氏括約肌方面，NO 的釋放與奧迪氏括約肌壓力

下降有關⁽²¹⁾⁽²²⁾ 在 prairie dog 的動物實驗上施予 NO 之抑制劑 L-NAME 則 SO 之 motility 增強且呈 dose-dependent response。而此現象可被 NO 的前驅物 L-arginine 將之回復，但以 D-arginine 則無法回復⁽²²⁾⁽²³⁾。最近在本實驗室，利用貓及兔子模型，發現溫灸可降低貓及兔子二種不同物種 SO 之基礎壓力 (tonic pressure) 相位收縮壓力 (phasic contraction pressure)，其機轉也是經由 NANC 及 NO 釋放的途徑⁽²⁾。

2. endogenous opioid peptide 內源性腦啡在許多鎮痛的針刺研究中，電針可因不同的內源性腦啡，如 2Hz 可引發 enkephalin、 β -endorphin，15Hz 可引發 enkephalin、 β -endorphin、dynorphin，100Hz 可引發 dynorphin，在不同頻率 (Hz) 的周邊電針或手針刺激下皆可引發腦啡 (opioids) 的釋出，無論在中樞神經系統或周邊神經系統皆會釋出⁽²⁴⁾。而其三種腦啡受體 (opioid receptors) 如 enkephalin 的 δ 受體； β -endorphin 的 μ 受體及 dynorphin 的 κ 受體。在過去的研究中 enkephalins 已被證實為腸道的荷爾蒙⁽²⁵⁾，而其對 SO 的影響在貓的動物實驗中 enkephalin 可使貓的奧迪氏括約肌先收縮再放鬆⁽²⁶⁾，而 640 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之 Naloxone 可完全抑制 Leu-enkephalin 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 造成 SO 之收縮。在其他的研究中 naloxone 對 opioids 之抑制也呈現 Dose-dependent response⁽²⁷⁾。

3. Cholecystokinin (CCK) 膽囊收縮素

CCK 對 SO 的調控是最被生理學家所熱衷研究的荷爾蒙。目前以知在人類，當禁食時 SO 呈現緊閉狀態控制膽汁流出十二指腸；當進食時：CCK 釋出造成膽囊收縮，SO 放鬆使膽汁流出至十二指腸。但其作用機轉在每一個動物並非相同⁽²⁸⁾。例如在人類、貓、狗 其 CCK 作用機轉可能藉由抑制 SO 而排出膽汁，在負子鼠及兔子其機轉是藉由增加 SO 壓力將膽汁排出⁽¹³⁾。CCK 有幾種生理現象之神經媒介調控已被証實；(a) CCK 激發乙醯膽鹼 acetylcholine 釋出使膽囊收縮；(b) CCK 誘發血管活性腸多胜肽 (VIP) 釋出，使 SO 放鬆；(c) CCK 活化了抑制性迷走神經反射弧，且涉及釋出 VIP 使胃底放鬆，進而抑制胃排空⁽²⁹⁾；(d)：CCK 可直接促進膽囊肌肉的收縮；若將 SO 的支配神經阻斷，CCK 可造成 SO 肌肉的收縮⁽³⁰⁾，顯示在沒有神經物質的參與下，是造成 SO 的

收縮。另外 CCK 之 receptor 有 CCK-A receptor 及 CCK-B receptor, CCK-A receptor⁽³¹⁾ 大多存在於周邊組織, 如 pyloric sphincter、pancreas、vagus nerve。CCK-B 則大都在 brain⁽³²⁾。根據研究, 大腦 CCK 的釋出可使胃擴張產生飽食感而食慾降低⁽³³⁾。在鎮痛的實驗上, 大腦釋出的 CCK 有拮抗腦啡鎮痛效應⁽³⁴⁾, 在大鼠中樞給予 CCK-8 可拮抗 morphine 鎮痛的效果, 其效力約為 naloxone 的 3000 倍⁽³⁵⁾。在貓的實驗中, 若事先給予 VIP 的抗血清再給予 CCK, 則 SO 放鬆的現象消失而呈現收縮, 可得而知 CCK 促使 SO 放鬆須 VIP 來參與⁽³⁰⁾; 並且 CCK/VIP 放鬆 SO 之細胞內機轉是藉由 cAMP 的參與⁽³⁶⁾。近期本實驗室研究已證明了針刺動物右側期門、日月穴可引發 CCK 分泌血中濃度升高, 進而調控 SO, 膽囊壓力變化, 對草食性動物兔子或雜食性之動物貓皆有共通之效果⁽¹⁾。

4. Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) 血管活性腸多胜肽

在腸道上 VIP 是屬於抑制性神經傳遞物質, 在貓的實驗中可發現食道和胃的交接處幽門括約肌、奧迪氏括約肌都有豐富的 VIP 神經的分佈⁽³⁷⁾。其扮演的角色為抑制性的荷經阻斷劑 atropine, 再電刺激右側迷走神經可使爾蒙可使上述的組織放鬆。若事先給予副交感神劑 acetylcholine 引發 VIP 釋出使 SO 放鬆; 若事先施予 atropine 及 anti-VIP serum 則 SO 放鬆的現象被抑制⁽³⁸⁾。在臨床研究報告上更發現在合谷、後溪兩穴給予經皮電神經刺激 (TENS) 45 mins 後, 血中 VIP 升高、SO 之壓力降低⁽³⁹⁾。更有趣的是有學者⁽⁴⁰⁾ 提出 NO 之抑制劑 L-NNA 可抑制 VIP (52-54)% 的釋出, 及阻斷 VIP (58-88)% 放鬆的效果。

(三) 荷爾蒙調控

至於其他的荷爾蒙對 SO 的調控也都有報告: 如 VIP 之釋出也包含了 peptide histidine isoleucine (PHI) 及 neuropeptide Y, 因其皆屬於 VIPergic nerve 所釋出的物質, 且對腸胃道呈抑制性反應⁽³⁹⁾。Glucagon 的作用一般而言為對 SO 是抑制⁽²⁸⁾, 而 Motilin 的作用與 CCK 相類似, 其效力是 CCK 的八倍⁽¹³⁾。

四、SO 功能之體內調控的方式

可分為：(一)內臟－內臟反射調控。(二)體表－內臟反射調控。

(一) 內臟－內臟反射調控 (Viscerovisceral reflex)

早在 1967 年，Wyatt 等發現當用機械刺激膽囊時，會引起所謂的抑制反射 (inhibitory reflex)，進而使 SO 放鬆⁽⁴¹⁾；另外，一些研究發現，當膽囊壁或膽囊壓力增加時，SO 會被抑制；相對地，當膽壁壓力減少時，SO 張力會增加⁽⁴²⁾⁽⁴³⁾。這種現象，稱之為內臟－內臟反射調控。

(二) 體表－內臟反射調控 (Somatovisceral reflex)

目前這種利用體表的刺激，來調控內臟功能的反射，我們實驗室治療方面：溫灸有抑制麻醉後兔子、貓及人類 SO 壓力之作用其經由一氧化氮 (NO) 來使 SO 放鬆⁽²⁾。電針刺激麻醉後兔子、貓之右側期門、日月穴後引發 CCK 分泌血中濃度升高，調控 SO 之基礎壓力及相位收縮壓力，增強膽囊收縮及膽汁排出量⁽¹⁾ 以有初步成果發表。

五、SO 之病理狀態

由於 SO 具有調控膽汁流入十二指腸的關鍵地位，當 SO 呈現異常功能時，就會產生許多臨床疾病，如膽囊切除後症候群 (postcholecystectomy syndrome)、原因不明性復發性胰臟炎 (idiopathic recurrent pancreatitis)、慢性胰臟炎 (chronic pancreatitis)、膽石症 (cholelithiasis)、膽道弛緩不能 (biliary dyskinesia)、膽道痙攣 (biliary spasm) 等疾病⁽⁴⁴⁾，基本上這些症狀的產生是由於 SO 的管腔變窄小和弛張功能失調所引起，至於 SO 管腔變小的原因有兩種：一是狹窄 (stenosis) 另一是弛緩不全 (dyskinesia)；所謂結構上狹窄是指 SO 管腔因為纖維化 (fibrosis)，導致管腔結構上變狹窄，例如因胰臟炎，或膽道結石通過膽道時造成黏膜增生 (mucosal hyperplasia)，或者因其他非特殊性發炎所引起的狹窄⁽⁴⁵⁾。至於弛緩不全 (dyskinesia) 則是 SO 管腔雖然變小，但是卻沒有纖維化 (fibrosis) 現象稱之⁽⁴⁶⁾。

不管是 stenosis 或 dyskinesia，其 SO 之基礎壓力（basal pressure or tonic pressure）或相位收縮壓力 phasic contraction pressure 都會增高，臨床上，曾經使用平滑肌鬆弛劑如硝酸鹽（Nitrates）來鑑別診斷；如果是 stenosis type，則服用硝酸鹽後，TP or PP 則明顯下降，不過，由於這種方法正確性不高，所以 Hogan 和 Geenen 又提出”Milwaukee Biliary Group Classification“。如果是屬於 type I：則病人是 stenosis 的可能性遠大於 dyskinesia，如果是 type III：則較有可能是 dyskinesia type，如果是 type II：則需作進一步的壓力學（manometry）才能判定⁽⁴⁶⁾。

第二節 SO 病理狀態之臨床舉例-膽石症 (cholelithiasis) 及中西醫觀點

一、西醫觀點

(一) 定義

膽石症 (cholelithiasis) 是指膽道系統中膽囊內結石，總膽管結石及肝內結石的總稱；其臨床表現取決於結石是否引起膽道感染、膽道梗阻以及梗阻的部位與程度。

(二) 臨床表現:

膽石症的臨床表現取決於膽石的動態、位置、大小和所在部位。由於本研究與 SO 有關,所以我們將膽石症聚焦於”膽道內移行的結石”的臨床表現：膽石從膽囊移行至膽囊管或總膽管時,往往產生嵌頓,此時由於膽囊或總膽管平滑肌弛張或痙攣,企圖將膽石排出，因此產生膽絞痛。膽絞痛大都在飽餐或進高脂肪餐後數小時內，或在腹部受到震動（例如在崎嶇的山路上驅車或騎馬）後發作。痛多在中上腹，右上腹或後背部，開始時呈持續性鈍痛，以後逐漸加重至難以忍受的痛程度；病人常坐臥不安、彎腰、打滾、用拳頭緊壓腹部，甚至哭喊；疼痛常放射至右肩胛處或右肩部。痛時常大汗淋漓、面色蒼白、噁心及嘔吐。發作多較短暫，很少超過數小時。膽石退入膽囊或進入十二指腸後，疼痛可完全消失；有時因膽管局部擴張而減輕，直至膽石移動位置時再度發作。有些病例反覆發作，另一些則經數月至數年的緩解期後再復發。當膽石如果嵌入 Vater ampulla 時，持久性梗阻黃疸為其典型表現。在黃疸發生前常有絞痛，但黃疸持續存在，絞痛卻常消失。膽石長期嵌頓引起慢性膽汁鬱滯及伴發膽道感染者常可引起梗阻性膽汁性肝硬化。此外，Vater ampulla 梗阻引起膽汁反流至胰管時亦可致急性胰臟炎。

(三) 西醫治療

西醫治療膽石症的最大原則有二：一、是使 SO 擴張促使結石排出，

另一是減少膽石生成。

1. 飲食控制：脂肪類食物可促進 CCK 的釋放而增強膽囊的收縮，如奧迪氏括約肌不能及時弛緩使膽汁流出，每可致不適感覺。在急性發作期，應禁食脂肪類。
2. 溶石療法：近年來應用鵝去氧膽酸治療膽固醇膽石，溶石有效率（全部或部分溶解）60%左右。作用機理是使膽汁內膽固醇的分泌和總膽固醇的排出量減少，從而提高膽汁對膽固醇的溶解能力，促進膽石上已沉澱的膽固醇的溶解，而使膽石縮小或消失，但對台灣膽色素結石較多之區域，則效果不彰。
3. 增進膽汁排泌：硫酸鎂有鬆弛奧迪氏括約肌的作用，使滯留的膽汁易於排出，可於餐後口服 50%硫酸鎂溶液 10-15 ml，每日 3 次。
4. 症狀消除：如給予一些鎮痛劑,抗經痙劑。
5. 手術治療：可分為膽囊摘除術及膽管截石術目前因腹腔鏡手術之進展快速，利用微創性腹腔鏡手術解除病患的膽石症，是現今外科領域的潮流。

二、中醫觀點

中醫對於膽石症並未如此將膽石成因、位置、成分做詳細敘述,僅就膽石症所造成的症狀-脅痛、膽脹、肝脹、結胸做描述。

(一)中醫相關文獻（按年份排列）：

1. 脅痛

(1) <<素問.臟器法時論>>

肝病者，兩脅下痛引少腹令人善怒。

(2) <<素問.刺熱篇>>

肝熱病者，?脅滿痛，手足躁，不得安臥。

(3) <<素問、至真要大篇>>

厥陰之勝，肱脅氣並化而為熱，小便黃赤，胃皖當心而痛，上支兩脅。

(4) <<素問、繆刺篇>>

邪客於足少陽之絡，令人脅痛不得息。

(5) <<靈樞、五邪篇>>

邪在肝，則兩脅中痛，．．．惡血在內。

(6) <<諸病源候論、胸脅痛候>>

邪氣乘於胸脅，故傷其經脈，邪氣之與正氣交擊，故令胸脅相引而急痛也。

(7) <<醫學正傳、脅痛>>

外有傷寒發寒熱而脅痛者，足少陽膽，足厥陰肝二經病也。或有清痰食積，流注脅下而為痛者。或有登高墜仆，死血阻滯而為痛者。又有飲食失節，勞役過度，以致脾土虛乏，肝木得以乘其土位，而為胃脘當心而痛，上支兩脅痛，膈噎不通，食飲不下之證。

(8) <<張氏醫通·脅痛>>

肝主陰血而於左脅。脾主陽氣而隸於右脅。左脅多怒傷或留血作痛。右脅多痰積或氣毒作痛。其間七情鬱之犯，飲食勞動之傷，皆足以致痰凝氣聚，血蓄成積。雖然痰氣亦有流於左脅者，然必與血相持而痛，血積亦有傷於右脅者，然必因脾氣衰而致。

(9) <<臨證指南醫案·脅痛>>

脅痛一證，多屬少陽厥陰。傷寒脅痛，皆在少陽膽經...雜證脅痛，皆屬厥陰肝經。

2. 膽脹、肝脹

<<靈樞，脹論>>

膽脹者，脅下脹痛。

肝脹者，脅下滿而痛引少腹。

3. 結胸

<<傷寒論·太陽病篇>>

太陽病，脈浮而動數，浮則為風，數則為熱，動則為痛，數則為虛，

頭痛發熱，微盜汗出，而反惡寒者，表未解也，醫反下之，動數變遲，膈內拒痛，胃中空虛，短氣躁煩，心中懊擾，陽氣內陷，心下因硬，則為結胸，大陷胸湯主之，若心下結胸，但頭汗出，餘處無汗，齊頸而還，小便不利，身必發黃。

(二) 臨床表現

中醫對於膽石症並無像西醫一樣詳細，僅就膽石症所造成的臨床症狀做一描述，例如脅痛、膽脹就是中醫對膽石症症狀描述的名詞之一。脅痛、肝膽脹是以一側或兩側脅肋部疼痛、脹痛為主要表現的病證，也是臨床上常見的一種自覺症狀。若以中醫的陰、陽、表、裏、寒、熱、虛、實，來分辨病痛的屬性則：

1. 陰證— 如面向壁臥、閉目避光、不喜會人、身寒手足捲縮、心靜無聲、呼吸細微、口淡不渴、小便清澈、大便無臭、脈沉或遲、身寒手足厥。
2. 陽證— 面向外臥、開眼喜光、喜與人會、仰臥伸手擲足，身輕心煩、呼吸氣粗，喜涼、口渴多飲多喝、小便短赤、便秘、脈浮或數、身熱手足溫暖。
3. 表證— 凡六淫邪氣自外入侵，先傷及皮表的經絡者。
4. 裏證— 病自初即發於內，或因傷於七情、勞倦、飲食等，或以酒色為因，內臟先起病變，病邪內傳入臟腑。
5. 寒證— 口不渴、或渴而不喜飲、喜熱飲、手足厥冷，顏色蒼白小便透明而長、大便下痢而稀、舌苔白滑、脈遲或緩等。
6. 熱證— 口渴引飲、喜冷飲、潮熱煩燥、面赤目紅、小便短赤、大便祕結、舌苔黃而糙、脈數等。
7. 虛證— 是指正氣的虛弱，色慘形瘦，神氣衰怯，或自汗不收，或二便不禁，或夢遺失精，或嘔吐食不下，或久病多攻，或呼吸息粗，或勞慟過重呆立，症似實而脈弱無力，體弱久病者。

8. 實證— 是指邪氣亢盛，邪氣之實，經絡外閉，臟腑內結，或氣塞不行，或血滯凝瘀，此為脈病具盛。

本病在辨證上按病機發展的早、中、後期，結合臨床表現特點為及中醫辨證的陰、陽、表、裏、寒、熱、虛、實可分為：肝郁膽熱症證、火毒蘊盛證、正虛毒戀證三種類型。前兩種類型正盛邪實，正邪相爭劇烈，故以右脅疼痛，寒戰高熱為主要表現。屬裏熱寒證。虛證常在病的後期或恢復期出現，表現為午後潮熱、面色少華、自汗盜汗、脈數無力等症狀。臨床辨證按其病機的發展和演化，重點辨清虛、實，就能比較全面性地適應臨床辨證用藥。

(三) 中醫治療

中醫對膽石症即中醫的脅痛、膽脹的治療有針、灸、藥三方面。

1. 針灸方面：是一種既經濟果效又迅速的工具尤其在偏遠落後地區，藥物的取得並不容易之處，除了局部穴道如右側日月⁽⁴⁷⁾、期門⁽⁴⁸⁾、，也遠取相關穴道來治療，如內關、足三里、大敦穴往往一針下去，或溫灸疼痛就減輕⁽⁴⁹⁾。先前的研究已經探討證明其作用機轉了。
2. 中藥處方方面：在中藥處方使用上，應本著「通則不痛，滯則不痛」的理論為原則，裏、熱、實證以理氣、去瘀通絡、活血、清熱、化濕等法為主；常見之處方有木香檳榔丸⁽³⁾、柴胡疏肝散、茵陳蒿湯、龍膽瀉肝湯、茵陳五苓散等等；虛證以滋陰養血柔肝為主，佐以理氣和絡；常見之處方有一貫煎、逍遙散木香順氣散、小柴胡湯、溫膽湯等等。

(四) 現代中醫之研究

現代中醫的治療則有經皮電神經刺激 (TENS: Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation) 於合谷及後溪 45 mins 後，使血中 VIP 升高有效降低 Biliary dyskinesia 病人的 SO 壓力⁽³⁹⁾ 進而減輕疼痛。及灸療方面：溫灸有抑制麻醉後兔子、貓及人類 SO 壓力之作用其經由 NO 釋

出使 SO 放鬆⁽²⁾。電針刺激麻醉後兔子、貓之下期門、日月穴後引發 CCK 分泌血中濃度升高，調控 SO 之基礎壓力及相位收縮壓力，增強膽囊收縮及膽汁排出量⁽¹⁾。

第三節 現代治療膽石症 (cholelithiasis) 之挑戰

一、西醫的治療

台灣肝內結石的病人很多佔膽石症手術 20.3% ，手術後的結石復發率高，膽囊手術後，易造成膽囊、奧迪氏括約肌功能不全的病人多，如何使殘餘的結石排出，結石復發率降低，膽囊、奧迪氏括約肌功能在術後快速恢復是現今治療上的一大挑戰。另外治療腹腔膽汁泄漏時 (bile leakage) 需：(a) .膽道內完全減壓。(b) .膽道外引流完全。在治療急性胰臟炎時，SO 需要放鬆以避免更嚴重之併發症發生。這些值得更進一步探討研究。

二、中醫的治療

中醫對膽石症的病人，以針、灸、藥為三大法。應先辨症再論症、論治，更深入瞭解療效的機轉。過去我們用局部熱使奧迪氏括約肌 (Sphincter of Oddi) 放鬆，但是灸後有 rebound 的現象，電針刺激麻醉後兔子、貓之下期門、日月穴後引發 CCK 分泌血中濃度升高，調控奧迪氏括約肌 (Sphincter of Oddi) 之基礎壓力及相位收縮壓力，增強膽囊收縮及膽汁排出量。現今針、灸已經有出步成果，我們更進一步研究針刺後腸道組織學之變化及中藥方劑（木香檳榔丸）是否對奧迪氏括約肌 (Sphincter of Oddi) 有調控作用，進而對膽石症的中西醫整合治療進一步的貢獻？

三、中西醫整合治療

中西醫整合治療，是未來趨勢，因傳統醫學日益精進，科學化以漸漸被大眾所肯定。如較大之膽石堵塞引起急性膽囊炎、急性胰臟炎、嚴重黃疸有生命威脅者，則予以手術治療。手術後膽道有殘餘小結石及膽囊、奧迪氏括約肌功能不全的病人，則可以中醫來輔助治療。

第三章 材料與方法

part I 貓：組織免疫學染色篇

第一節 實驗動物

一、貓

在本實驗中所採用的貓 (cats) 重量 2.5-4.0 kg 之間，從台北榮民總醫院後山抓取，立即飼養於台北榮民總醫院實驗動物房 (Room 1) 有每日 12 小時為週期的黑暗白日週期，並有適當的室內溫度 (27°C) 及濕度控制 (70%)，供應充足的飼料及水分；當要手術之前，則先禁食 12 小時，除了給水之外，其他食物一概不給。

第二節 實驗儀器、材料與設備

一、實驗儀器

- A. 動物剃毛器 (Animal clipper blade, Model: 113. Oster Co.,USA)
- B. 手術鹵素燈 (Halogen Examination Lamp, TCA-300H)
- C. 快速高壓消毒器 (speedy autoclave, Tomis Co. Taiwan) 攝氏 121°C, 1.3 Kg/cm², 30 mins

二、材料

- (一) 安耐寧：Xylazine (Loughrea Co., Ireland) (25 ml, 2%) 安耐寧在本實驗中被用來做實驗動物的誘導麻醉 (induction anesthesia)，其所用的濃度是 20 mg/ml，使用於實驗動物的劑量是 5 mg/kg，肌肉注射。
- (二) 克太明：Ketamine (Sigma Co., K-2753, USA) (2-[2-chlorophenyl]-2-methylamino cyclohexanone) 克太明在本實驗中被用來做實驗動物的誘導麻醉 (induced anesthesia) 及維持麻醉 (maintainence anesthesia)，其所用的濃度是 50 mg/ml，使用於本實驗動物的誘導麻醉劑量是 35 mg/kg，維持麻醉的劑量是 5 mg/kg，行肌肉注射。
- (三) 肝素：Heparin (HK-10765 Leo Co.USA) 肝素在本實驗中是用來作為防止實驗動物靜脈凝血,其所用的濃度是 1000 IU/ml,劑量是 1 IU/ml,使用方法是用 Heparin 之生理食鹽水 (1 IU/ml) 注入動靜脈導管少許 (約 1 ml)，,以防止凝血。
- (四) 抗體：rabbit anti-cholecystokinin octapeptide (CCK26-33) antibody (H-069-04) 及 rabbit vasoactive intestinal peptide (VIP) antibody (H-064-16) 購於 Phoenix Pharmaceuticals, INC., CA, USA，此為 primary rabbit/mouse antibody (link antibody) 於冷凍切片後 ABC 染色用之第 1 道抗體。

- (五) DAKO LSAB[®] 2 System HRP (DAKO corporation, Carpinteria, CA 93013 USA Code NO. K0675) 產品內含 3 小瓶 (1) Biotinylated Link anti-Mouse and anti-Rabbit 1 g Code NO. K0675 (2) Streptavidin-HRP Code NO. K0675 (3) AEC+Substrate - Chromogen Code NO. K3461 此為 ABC 染色第 2 道抗體及顯色用之製劑。
- (六) Tissue-Tek[®] OTC (Miles Inc. Diagnostics Division Elkhart, IN 46515 USA)：為包埋檢體之水溶性介質。用冷凍切片前包埋檢體之用。

三、器械、設備

- (一) 手術時使用器械包括：牽引器、拇指鑷子、剪刀、手術刀柄、手術刀片、止血鉗、持針器、動脈夾、顯微手術彎剪、自動加熱墊 (automatic heating pad)、無菌手術縫合線 (a) 3-0 mono sof, 4-0 mono sof (Nylon, USSC Co., USA); (b) 3-0, 4-0 silk (Johnson Co., USA)。
- (二) 電針時使用器械包括：32 號 0.5 吋針灸針；韓氏電針儀，電針參數 2/15 Hz 交替疏密波，電壓 1.5-2.5 伏特，波寬 400 μ sec。
- (三) 冷凍切片機：Leica CRYOCUT 1800 (Germany)
- (四) 膽囊、十二指腸及奧迪氏括約肌等檢體 OTC 冷凍固定儲存，儲存於 -20⁰C 下，切片染色時切取 5 μ m 厚度檢體染色。

第三節 實驗方法

一、術前準備

貓先禁食 12 小時,手術台及手術器械備齊,然後以 Ketamine 35 mg/kg, Xylazine (rompun) 5 mg/kg 混合肌肉注射進行麻醉,接著剃除胸腹部之貓毛,並固定於手術台上。

二、電針模型的建立

A、貓電針穴位之解剖定位 (圖 3.1)

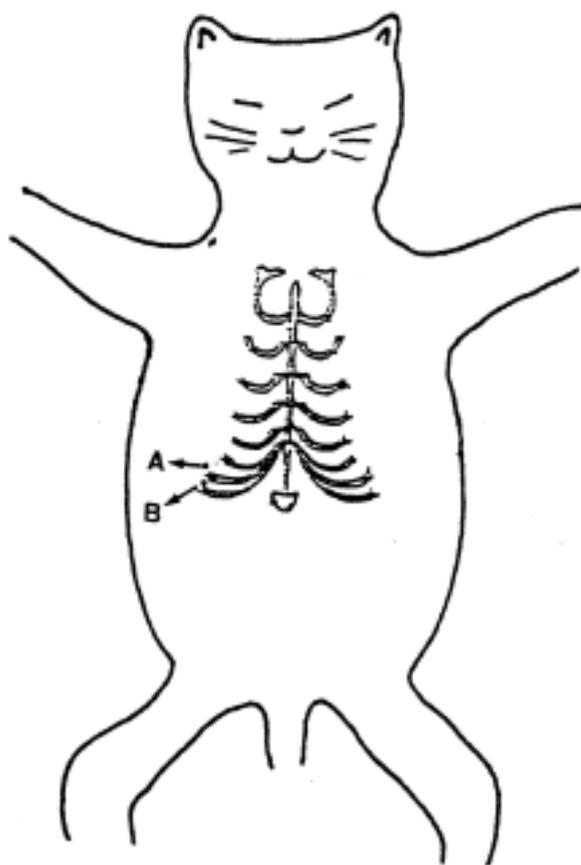
(A) 右側期門穴 (Qimen, LR 14) ,位於兔子右側六、七肋...肋軟骨交接處,屬於第六肋間神經分布區域。

(B) 右側日月穴 (Riyue, GB 24) ,位於兔子右側七、八肋...肋軟骨交接處,屬於第七肋間神經分布區域。

B、當貓達到術後穩定狀態時,進行本實驗:電針麻醉後的貓右側期門穴、日月穴 20 分鐘後,立即犧牲並取出膽囊、十二指腸及奧迪氏括約肌 (圖 3.2) 等檢體每檢體橫切取 5 mm 寬並快速以 OTC 冷凍固定,儲存於-200°C 下,切片染色時切取 5 μm 厚度檢體染色。

三、免疫染色法 (Immunohistochemistry stain.)

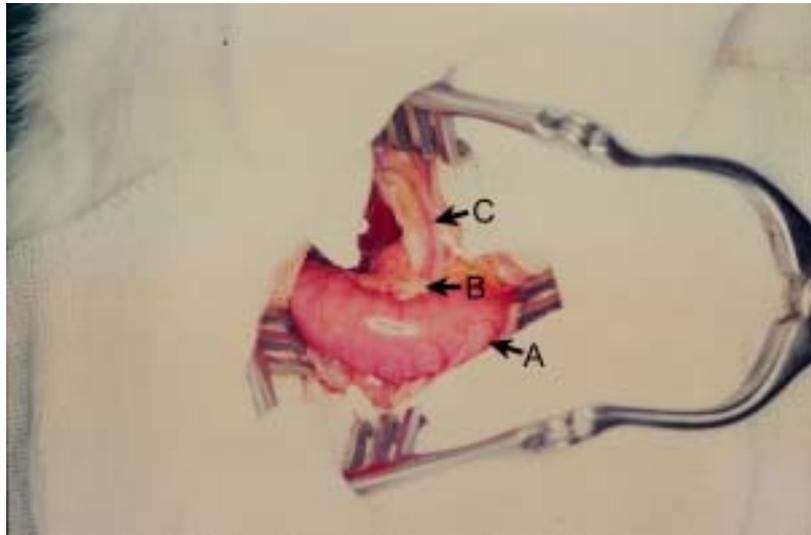
本實驗免疫染色方法採用 ABC stain,步驟為先將檢體用 acetone fix 3-5 mins,並架於水平有溼潤的盒中,加 0.1% sodium azide: H₂O₂= 9:1 之 solution 100 μl 靜置 15 mins 後以 PBS wash 3 times,加 5% goat serum 靜置 10 mins 後以 PBS wash 3 times,加 antibody 於室溫靜置 30 mins 後以 PBS wash 3 times,加 link antibody reagent 1 滴靜置 10 mins 後加 streptavidin reagent 1 滴靜置 15mins 後以 PBS wash 3 times,加(9.5 ml Tris + 0.5 ml AEC + 100 μl 3% H₂O₂)之 solution 100 μl 靜置 10-15 mins 後以 PBS wash 3 times,加 Hemto mayer/s: DDW = 1:1 solution 靜置 1 mins 後以 PBS wash 3 times,加 glyceringelatins 一滴,蓋上蓋玻片,晾乾。



【圖 3.1】 貓電針穴位之解剖定位

A 點：期門 (Qimen, LR 14) 於鎖骨中線上，第六，七肋間，肋骨與肋軟骨交接處。

B 點：日月 (Riyue, GB 24) 於鎖骨中線上，第七，八肋間，肋骨與肋軟骨交接處。



【圖 3.2】貓腹部實景圖

A：十二指腸

B：奧迪氏括約肌（intraduodenal type）

C：總膽管

第四節 實驗設計及分組

一、探討電針對貓腸道組織免疫學之效應

(一) EA group (電針組) :

當貓達到術後穩定狀態時，進行本組實驗:以 2/15 Hz 電針右側期門穴、日月穴 20 分鐘。犧牲動物，取膽囊、奧迪氏括約肌、十二指腸包埋冷凍、切片、ABC 免疫學染色法染色。

二、探討假電針對貓腸道組織免疫學之效應

(二) Sham EA group (假電針組)

當貓達到術後穩定狀態時，靜置 20 分鐘。犧牲動物，取膽囊、奧迪氏括約肌、十二指腸包埋冷凍、切片、ABC 免疫學染色法染色。

三、實驗對照組

以電針組及假電針組之組織檢體以兔子之血清當對照組抗體，用 ABC 免疫染色法染色對照。

第五節 染色正反應結果百分比計分評估表之設定

Score of percentage of postive-stained: 將電針組及假電針組免疫染色後 CCK 內分泌細胞及 VIP 神經數量與以量化評分，全無 postive stain 以予 0; 10% postive stain 以予 +; 25% postive stain 以予 ++; 50% postive stain 以上以予 +++。

PART II 兔子：濃縮中藥木香檳榔丸篇

第一節 實驗動物

一、兔子

在本實驗中所採用的雄性紐西蘭白兔 (New Zealand White Rabbits) 購自台大醫學院動物中心。所使用的白兔重量限制在 2.5-3.5 Kg 之間。自台灣大學動物室取來之後，即飼養於台北榮民總醫院實驗動物房 (Room 1)，有每日 12 小時為週期的黑暗白日週期，並有適當的室內溫度 (27°C) 及濕度控制 (70%)，供應充足的飼料及水分；當要手術之前，則白兔先禁食 12 小時，除了給水之外，其他食物一概不給。

第二節 實驗儀器、材料與設備

一、實驗儀器

- (一) 壓力轉換擴大器 (transducer amplifier, TA240, Model 42-8240-10. Gould Co., USA) chart speed : 0.5 mm/sec, chart speed : 0.5 mm/sec, fluid speed : 0.3 cc/sec, Full scale : 100 mmHg，並連接個人電腦及配備分析軟體 (Acknowledge Version 3. 2.5)。
- (二) 連續幫浦 (continuous pump, Model : 220. Kd co., USA) pump speed : 0.3 cc/min
- (三) 呼吸器 (ventilator, Model : 02053. NEMI co., USA), rate: 45 次/min
- (四) 動物剃毛器 (Animal clipper blade, Model : 113. Oster Co., USA)
- (五) 手術鹵素燈 (Halogen Examination Lamp, TCA-300H)
- (六) 快速高壓消毒器 (speedy autoclave, Tomis Co. Taiwan) 攝氏 121°C,

1.3 Kg/cm² , 30 mins

二、藥物材料

- (一) 安耐寧：Xylazine (Loughrea Co., Ireland) (25 ml, 2%) 安耐寧在本實驗中被用來做實驗動物的誘導麻醉 (induction anesthesia)，其所用的濃度是 20 mg/ml，使用於實驗動物的劑量是 5 mg/kg，肌肉注射。
- (二) 克太明：Ketamine (Sigma Co., K-2753, USA) (2-[2-chlorophenyl]-2-methylamino cyclohexanone) 克太明在本實驗中被用來做實驗動物的誘導麻醉 (induced anesthesia) 及維持麻醉 (maintainence anesthesia)，其所用的濃度是 50 mg/ml，使用於本實驗動物的誘導麻醉劑量是 35 mg/kg，維持麻醉的劑量是 5 mg/kg，行肌肉注射。
- (三) 肝素：Heparin (HK-10765 Leo Co.USA) 肝素在本實驗中是用來作為防止實驗動物靜脈凝血，其所用的濃度是 1000 IU/ml，劑量是 1 IU/ml，使用方法是用 Heparin 之生理食鹽水 (1 IU/ml) 注入動靜脈導管少許 (約 1 ml)，以防止凝血。
- (四) 膽囊收縮素：Cholecystokiniotapeptide CCK-8 (Sigma Co., C2175, USA) 激膽素在本實驗中是用來當 SO 導管插好時，確定該導管是位於正確位置中，其所用之濃度是 2500 ng/ml，劑量是 100 ng/kg。
- (五) 阿托品 Atropine sulfate salt. (Sigma Co., A0257, USA) 化學式： $(C_{17}H_{23}NO_3)_2 H_2SO_4$; FW:676.8。普潘奈 DL-Propranolol Hydrochloride (Sigma Co., PO884, USA) 化學式： $C_{16}H_{21}NO_2HCl$ FW:295.8。Phentolamine Hydrochloride (Sigma Co., P7547, USA) 化學式： $C_{17}H_{19}N_3OHCl$; FW:317.8。atropine 是副交感神經受體的阻斷劑，propranolol 是交感神經 β 受體的阻斷劑，phentolamine 是交感神經 α 受體的阻斷劑。本實驗用 atropine 30 μ g/kg propranolol 2 mg/kg, phentolamine 1.5 mg/kg 在電針前先給予靜脈注射。
- (六) Pirenzepine Dihydrochloride (Sigma CO., P-7412, USA) 化學式 (5,11-Dihydro-11-[(4-methyl-1-piperazinyl) acetyl]-6H-pyrido [2,3-b]

[1,4]benzodiazepin-6-one) $C_{19}H_{21}N_5O_2 \cdot 2HCl$ FW 424.3 本品為專一性 muscarinic receptorm M1 阻斷劑。本實驗用 Pirenzepine 10 mg/kg 於尚未餵食 1 gm 木香檳榔丸前經鼻胃管給藥，用於探討木香檳榔丸之作用機轉⁽⁵⁰⁾⁽⁵¹⁾。

(七) 木香檳榔丸濃縮中藥 EG752101 (表 3-1)

本品取自於莊松榮製藥廠。在中醫方劑學屬於攻裡劑，治療胸腹積滯，痞滿結胸常用之處方⁽³⁾。在此實驗中用於探討經鼻胃管灌食後對麻醉後兔子奧迪氏括約肌之影響。

三、器械、設備

手術時使用器械包括：牽引器、拇指鑷子、剪刀、手術刀柄、手術刀片、止血鉗、持針器、動脈夾、顯微手術彎剪、自動加熱墊 (automatic heating pad)、無菌手術縫合線(a) 3-0 mono sof, 4-0 mono sof (Nylon, USSC Co., USA), (b) 3-0, 4-0 silk (Johnson Co., USA)。

【表 3.1】木香檳榔丸 (MUH SHIANG BIN LANG WAN) 濃縮
中藥處方成份表

中藥名	生藥	藥名	劑量
木香	Saussureae radix		1.0 gm
檳榔	Arecae semen		1.0 gm
枳殼	Citri immaturus Fructus		1.0 gm
青皮	Citri undeveloped exocarpium		1.0 gm
陳皮	Auranti nobilis pericarpium		1.0 gm
莪朮	Zedoariae rhizoma		1.0 gm
荊三稜	Scirpi rhizoma		1.0 gm
黃柏	Phellodenri cortex		1.0 gm
黃連	Coptidis rhizoma		1.0 gm
黑丑	Pharbitids semen		4.0 gm
香附	Cyperi rhizoma		4.0 gm
大黃	Rhei rhizoma		2.0 gm
芒硝	Mirabilitum depuratum		2.0 gm

備註：以上生藥製成浸膏 4.0 gm (生藥與浸膏比 21:4=5.25:1)
澱粉 Starch 2.0 gm；其製造過程以處方中 13 味生藥共 21.0
gm 加水 (1:10, w/v) 於 100°C 下淬取 2 次，以細網篩過濾
收集生藥淬取液，於 45°C 下濃縮成浸膏 4.0 gm，再以 2 gm
澱粉混合乾燥製成木香檳榔丸濃縮中藥。

第三節 實驗方法

一、動物實驗模型建立

(一)術前準備

白兔先禁食 12 小時，手術台及手術器械備齊，壓力轉換擴大器 (TA240) 先開機十分鐘並且歸零校正，呼吸器先開機三分鐘，檢查呼吸導管中是否有水阻塞，自動加熱墊先加溫至攝氏 38 度，然後以 Ketamine 35 mg/kg, Xylazine (rompun) 5 mg/kg 混合肌肉注射進行麻醉，接著剃除、包括腹部、大腿內側及頸部之兔毛，並固定於手術台上。

(二)鼻胃管插管 (圖 3-3)

以先前定位之標準常度之 polyethylene tube (PE100) 經鼻部插入胃大彎近幽門處，待剖腹時再一次確認位置。

(三)剖腹及插導管：Laporotomy & Catheterization (圖 3-4) 步驟如下

1. 鋪無菌巾於腹部四周區，用刀背表淺劃在腹部正中線區。
2. 左手拿一塊紗布，將切口上端拉緊，在左手正下端開始下刀。
3. 切開皮膚後，露出其下之皮下層或脂肪層，尋找正中白線，再沿著此白線繼續切深，直至露出腹膜。
4. 用手術刀在腹膜上做一小切口，腹膜底下以二根指頭墊高或用止血鉗輕輕持住腹膜緣並舉高之，再用 Mayo 氏彎剪擴展傷口。
5. 腹部切開約 10 cm 後，用紗布墊在切開的腹膜緣，再用牽引器將開口固定。
6. 尋找十二指腸，奧迪氏括約肌就在十二指腸靠外側壁上，往上找出總膽管，用組織剪將總膽管週邊組織剝離乾淨。
7. 做兩條 3-0 絲線繞於總膽管下，拉此線使膽管暴露良好，再用顯微手

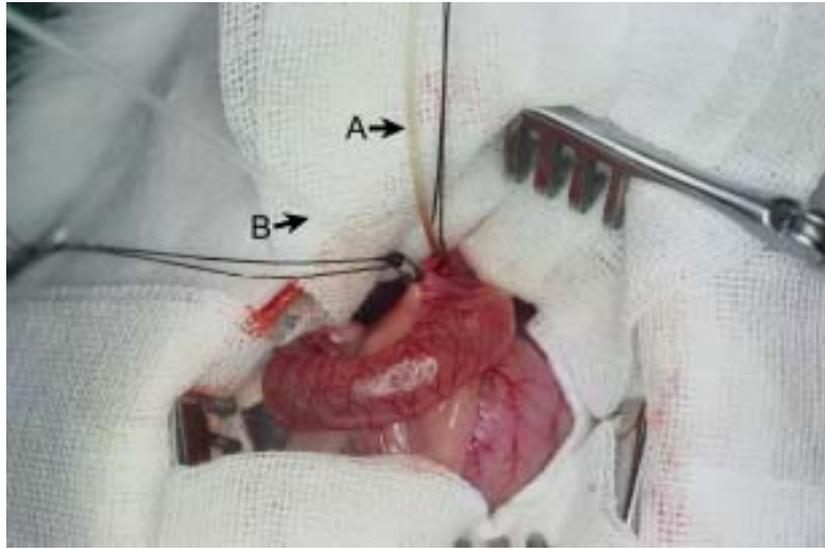
術剪於近奧迪氏括約肌處的總膽管做一長約 3 mm 切口。



【圖 3.3】 兔子鼻胃插管實景圖

A：PE100 鼻胃管，鼻胃管上標紅點處，為鼻胃插管深度之定位點

B：10 ml 空針管灌食容器



【圖 3.4】 兔子腹部手術及插管實景圖

A：PE90 一端放置在總膽管內，一端引流膽汁

B：PE90 一端放置在奧迪式氏括約肌內，用來記錄奧迪式氏括約肌的壓力變化，另一端接 TA240 壓力轉換放大器。

8. 以拇指鑷子將 polyethylene tube (PE90, inner diameter (ID): 0.86mm, outer diameter (OD): 1.27mm) 向上逆插於總肝管，以 3-0 絲線固定之，作為膽汁引流管，使膽汁不要向上鬱積影響膽囊、肝臟正常生理。
9. 以拇指鑷子將另一根 PE90 (終末端封閉，開側孔) 順向插入總膽管直至遇到阻力後，回抽約 1mm，用 3-0 絲線固定之。另一端 PE90 接於壓力轉換放大器 (Transducer Amplifier 240)，該 PE90 管內裝生理食鹽水，並以 0.3 ml/min，38°C 持續灌流。
10. 閉合 (closure)，腸線連續縫合腹膜及腹直肌，縫針自腹膜外面穿到內，至切口上端固定結，再用 3-0 尼龍線 (mono sof) 角針關閉皮膚。

※注意：

剝離總膽管，需注意附隨其旁的肝動，以免造成大量出血。膽汁引流管需確實紮，以免膽汁外，造成膽汁刺激性腹膜炎。整條 PE90 管中需注意要完全無氣，以免影響測量。

(四) 氣管切開術 (Tracheotomy)

由於本實驗進行，必須使實驗動物處於手術麻醉第三期 (IIIa-IIIb) 時生理狀所以必須使用呼吸器以維持最佳生理狀態；由於需要使用呼吸器，所以必須做氣管切開術，以令空氣進入支氣管及肺臟；步驟如下：

1. 清除頸部兔毛，並以 75% 酒精消毒體表，頸部下方墊一小枕頭以使頸部高度伸張。
2. 以左手摸到頸部氣管處，切開氣管上面的皮膚及組織，縱向切開約三公分。
3. 以組織剪和鑷子分離其上的脂肪組織和肌肉，用紗布墊在切開的肌肉緣，再用牽引器將開口撐大固定。
4. 露出氣管並以氣管鉤鉤住，切開氣管約 1.5 cm 長，插入 3 c.c. 吸管做套管，並接三通管。

5. 將呼吸器的進氣管和出氣管插入三通管，呼吸次數：45 次/分
6. 用 3-0 絲線連續縫肌肉層並固定氣管插管，用 3-0 mono sof 連續縫皮膚層。

※注意：

由於頸動脈及迷走神經在氣管旁約 1.0 cm 處，用牽引器擴張時，需小心不要傷到該組織。進及出氣管中需注意有無水液，以免影響通氣。插上氣管導管後，需注意兔子肺部有無同時呼吸氣起伏，若無，表示氣切導管中有阻礙。

(五)股動脈及股靜脈導管插入術 (femoral artery & vein)

由於我們必須監測其動脈壓力以判定生理狀況是否穩定與達到標準，所以我們做一右股動脈導管以測血壓，藥物的給予我們選擇從右股靜脈進入，所以我們做一右股靜脈導管，步驟如下：

1. 清除大腿內側兔毛，並以 75%酒精消毒體表。
2. 找到右股動脈 (femoral artery) 搏動處，切開其上之皮膚肌肉 (切口約 2.5-4 cm)，暴露出股動脈，將其周圍之股神經 (femoral nerve)、股靜脈 (femoral vein) 及結締組織分離。
3. 以組織剪剝離股動脈周圍之結締組織，並用 90 度剝離器擴張股動脈下緣，以 3-0 兩條絲線穿過股動脈下方，將遠心端一條綁緊，並以止血鉗固定。
4. 以動脈夾夾於近心端股動脈處，並用顯微手術彎剪將股動脈剪一長約 2 mm 切口，插入 PE90 管，並用近心端 3-0 絲線略微綁緊，PE90 管另一端接上 TA240 及連續幫浦。
5. 放開動脈夾，將 PE90 管往內推約 2 cm，再將近心端 3-0 絲線綁緊，並將位於 PE90 管上的 3-0 絲線相互綁緊以固定之；以 3-0 mono sof 連續縫合皮膚。

6. 注射入少許 (約 1 ml) 含 Heparin 之生理食鹽水 (1 IOU/ml) 以防凝血。如此便完成股動脈插管。

7. Pump 以 0.3 ml/sec 速率持續灌流導管。

股靜脈插管同股動脈插管步驟 (2) - (7) 。

※注意：

由於股動脈位於股靜脈與股神經下方，在撥除股神經時，可能因器械扯動而使大腿收縮，必要時 Xylocaine 局部浸潤防治之。

第四節 鼻胃管灌食藥物之模型的建立

一、胃大彎近幽門處解剖定位 (圖 3-5)

(一) 先以 polyethylene tube (PE100) 插入兔子胃大彎近幽門處後，再以紅色油性筆標示於近鼻頭處之 polyethylene tube (PE100) 上以便實驗時做為插管時之標準長度。

(二) polyethylene tube (PE100) 標示端接 10 ml 之空針管，此空針管為灌時用容器。

第五節 實驗設計及分組

一、探討木香檳榔丸(MSBLW)對兔子奧迪氏括應約肌之調控效應

(一)藥劑實驗組

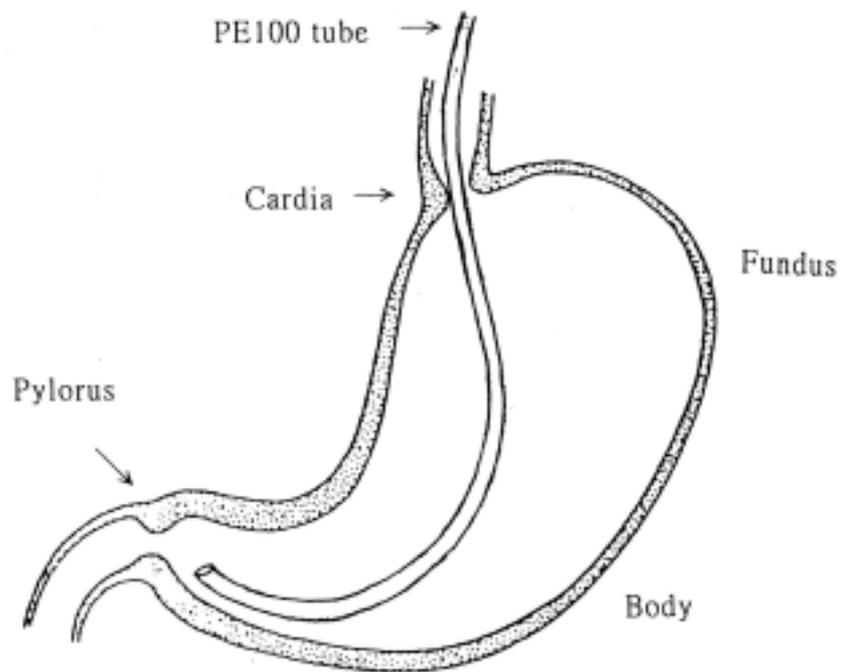
1. MSBLW0.25 group ; 2. MSBLW0.5 group ; 3. MSBLW1.0 group ; 4. MSBLW2.0 group

當兔子達到術後穩定狀態時，進行本組實驗：本組實驗分為 4 小組，木香檳榔丸濃縮中藥分為 1. 0.25 gm ; 2. 0.5 gm ; 3. 1.0 gm ; 4. 2.0 gm 四小組個別溶解於 5 ml 室溫二次水中經鼻胃灌食觀察 60 分鐘，並且記錄奧迪氏括約肌的壓力圖之變化。探討木香檳榔丸濃縮中藥不同濃度劑量對兔子奧迪氏括約肌的調控。

(二)控制組

1. Starch group

當兔子達到術後穩定狀態時，進行本組實驗：將 0.33 gm 澱粉溶解於 5 ml 室溫二次水中經鼻胃灌食觀察 60 分鐘，並且記錄奧迪氏括約肌



【圖 3.5】 兔子鼻胃插管，胃大彎近幽門處示意圖

的壓力圖之變化。探討木香檳榔丸濃縮中藥加入之附型劑是否對兔子奧迪氏括約肌有影響。

2. 2nd H₂O group

當兔子達到術後穩定狀態時，進行本組實驗：將 5 ml 室溫二次水中經鼻胃灌食觀察 60 分鐘，並且記錄奧迪氏括約肌的壓力圖之變化。探討溶劑是否對兔子奧迪氏括約肌有影響。

二、探討木香檳榔丸(MSBLW)對兔子奧迪氏括應約肌之作用機轉

(一)APP+MSBLW group

探討木香檳榔丸濃縮中藥對兔子奧迪氏括約肌之調控與非交感神經；非副交感神經有關。當兔子達到術後穩定狀態時，進行本組時驗：靜脈注射 atropine 30 µg/kg, propranolol 2 mg/kg, phentolamine 1.5 mg/kg, 當 SO 狀態再達穩定後，木香檳榔丸濃縮中藥 1.0 gm 溶解於 5 ml 室溫二次水中經鼻胃灌食觀察 60 分鐘，並且記錄奧迪氏括約肌的壓力圖。探討木香檳榔丸濃縮中藥是否經由交感神經或副交感神經活性增加參與兔子奧迪氏括約肌的調控。

(二)Pirenzepine+MSBLW group

當兔子達到術後穩定狀態時，進行本組實驗：經鼻胃灌食 Pirenzepine 10 mg/kg 當 SO 狀態在達穩定後，木香檳榔丸濃縮中藥 1.0 gm 溶解於 5 ml 室溫二次水中經鼻胃灌食觀察 60 分鐘，並且記錄奧迪氏括約肌的壓力圖。探討木香檳榔丸濃縮中藥是否經由興奮 muscarinic M1 receptors 調控兔子奧迪氏括約肌的變化。

第六節 實驗數據處理及統計方法

一、實驗數據處理 (圖 3-6)

測量 SO 壓力線上 (on line) 儲入個人電腦後，於線外 (off line) 做資料分析。當兔子麻醉時的生理狀態達到下列之標準時，才進行資料分析：(1) 兔子血壓維持在 50-80 mmHg 之間，(2) 兔子呼吸的干擾幅度小於奧迪氏括約肌壓力幅度 (3) 十分鐘內，奧迪氏括約肌至少有五十個尖峰波 (4) Tonic pressure 在 15-25 mmHg 之間，(5) Phasic contraction pressure 在 4-9 mmHg 之間，當滿足上述標準時，我們進行奧迪氏括約肌壓力曲線分析；主要分析對象為 Tonic Pressure (TP), Phasic contraction pressure (PP) 兩者為構成 sphincter of Oddi's pressure 的重要組成。

(一) Tonic pressure (TP) 基礎壓力

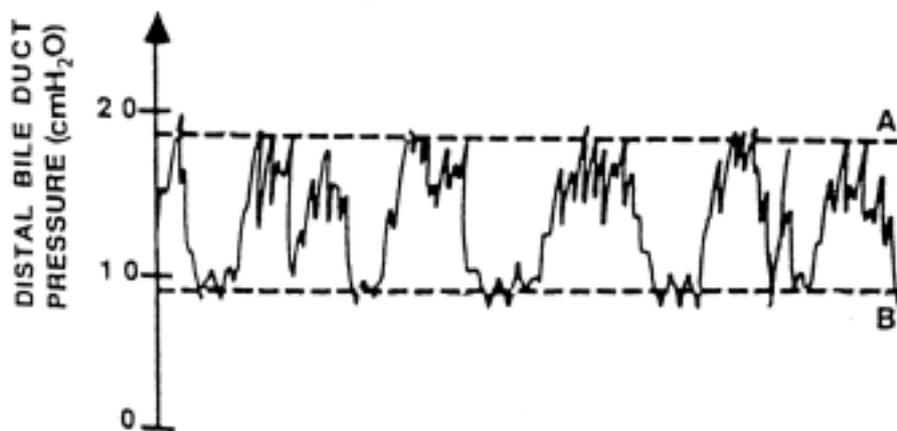
是指呼氣終末壓力 (Mean End-Expiratory Pressure)，由於吸氣時橫隔膜會下彈，會使 Tonic Pressure 比真實的情況壓力略高，所以取 mean end-expiratory pressure 作為測量 Tonic Pressure 的基準，以毫米汞柱 (mmHg) 來表示⁽⁵²⁾。

(二) Phasic contraction pressure (PP) 相位收縮壓力

是取奧迪氏括約肌收縮幅度超過 Tonic Pressure 的部分，以毫米汞柱 (mmHg) 來表示⁽⁵²⁾。

二、統計方法

數據全部以 Mean±S.E.M. (Standard Error of Mean) 的形式來表示，並且據以用之於數據的統計。P<0.05 表統計學上有顯著意義。所採用的電腦統計軟體是 Acknowledge III-MP100WSW BIOPAC SYSTEMS, Inc., Santa Barbara, CA；用 Wilcoxon Signed rank sum test for single comparisons and analysis of variance (ANOVA) 統計。



【圖 3.6】 奧迪式氏括約肌壓力圖及實驗數據之定義⁽⁵²⁾

B-line : Tonic pressure (TP) 基礎壓力，取呼吸終末平均壓力，以毫米汞柱 (mmHg) 來表示

A-line : Phasic contraction pressure (PP) 相位收縮壓力，取超過基礎壓力 (TP) 的振幅壓力，以毫米汞柱 (mmHg) 來表

第四章 結果

PART I 貓：組織免疫學染色篇

第一節 EA group (電針組) 對貓腸道組織免疫學之反應

- 一、 膽囊—在 anti-CCK8 的染色，Score of percentage of postive-stained 為 +++，相反的 anti-VIP 為 -。【表 4.1；圖 4.1】
- 二、 奧迪氏括約肌—在 anti-CCK8 的染色，Score of percentage of postive-stained 為 +++，anti-VIP 的染色下縱肌及環肌皆有 VIP 神經纖維之 Score of percentage of postive-stained 為 +++。【表 4.1；圖 4.2】
- 三、 十二指腸—在 anti-CCK8 的染色，Score of percentage of postive-stained 為 +++，anti-VIP 的染色下縱肌及環肌皆有 VIP 神經纖維 Score of percentage of postive-stained 為 +++。【表 4.1；圖 4.3】

第二節 Sham EA group (假電針組) 對貓腸道組織免疫學之反應

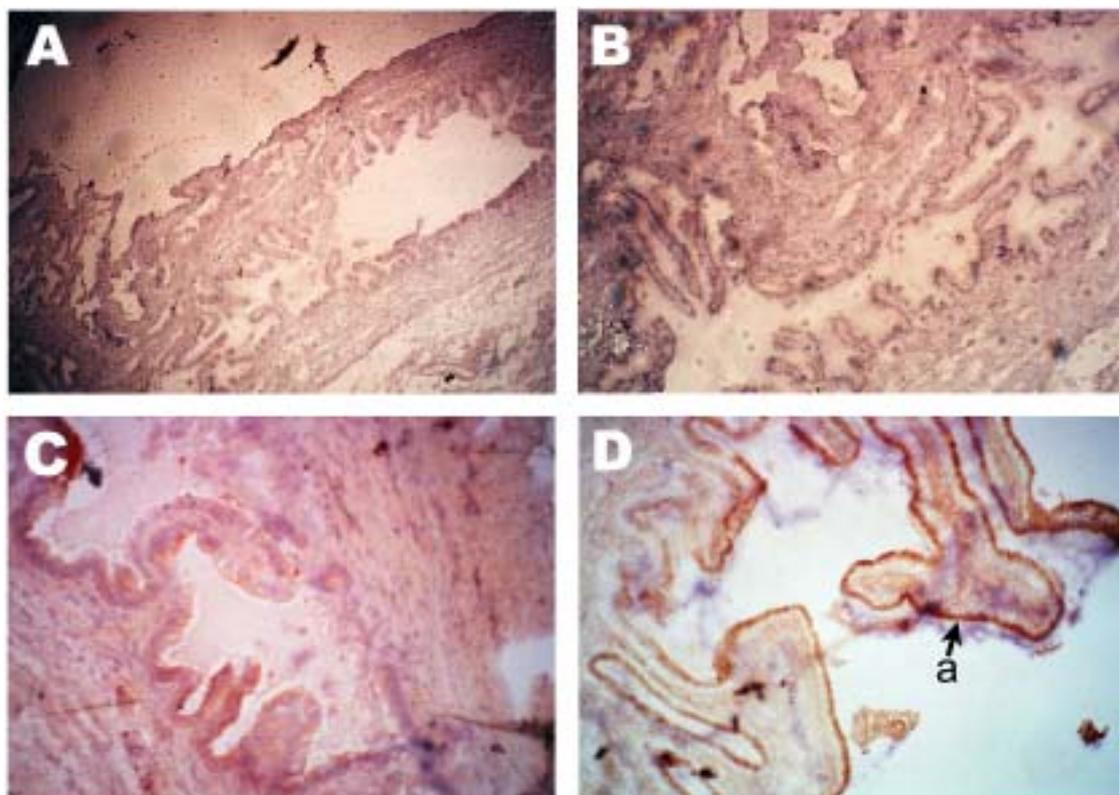
- 一、 膽囊—在 anti-CCK8 及 anti-VIP 的染色，Score of percentage of postive-stained -。【表 4.1；圖 4.1】
- 二、 奧迪氏括約肌—在 anti-CCK8 的染色，Score of percentage of postive-stained +, anti-VIP 的染色下縱肌及環肌 VIP 神經纖維 Score of percentage of postive-stained +-。【表 4.1；圖 4.2】
- 三、 十二指腸—在 anti-CCK8 的染色，Score of percentage of postive-stained +，anti-VIP 的染色下縱肌及環肌 VIP 神經纖維 Score of

percentage of positive-stained+-。【表 4.1；圖 4.3】

【表 4.1】膽囊 (GB) 奧迪氏括約肌 (SO) 十二指腸 (Duodenum) 染色正反應結果百分比評分表

	Groups	CCK endocrine cells	VIP nerves
GB	sham EA group	—	—
	EA group	+++	—
SO	sham EA group	+	+—
	EA group	+++	+++
Duodenum	sham EA group	+	+—
	EA group	+++	+++

Number of CCK endocrine cells and VIP nerves are assessed , with ‘—’: no positive stain; ‘+—’: <5% positive stain; ‘+’: 5-25% positive stain; ‘++’: 26-50 % positive stain; ‘+++’: > 50 % positive stain.



【圖 4.1】貓膽囊免疫學染色圖

ABC stain in gallbladder of feline

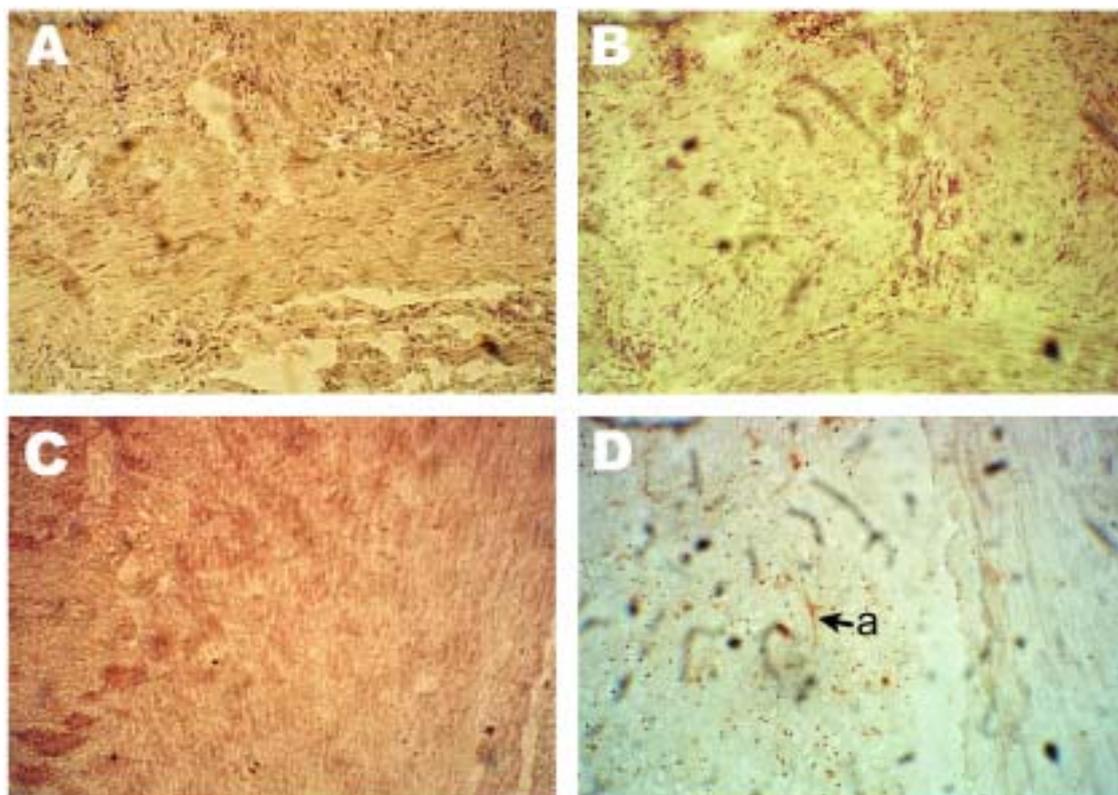
A : anti-CCK8 control group of sham EA group (×100)

B : anti-CCK8 control group of EA (×200)

C : anti-CCK8 sham EA group (×200)

D : anti-CCK8 EA group (×200)

箭頭 a : 膽囊 mucosa 上 endocrine cells 之 positive stain



【圖 4.2】貓奧迪氏括約肌免疫學染色圖

ABC stain in Sphincter of Oddi of feline

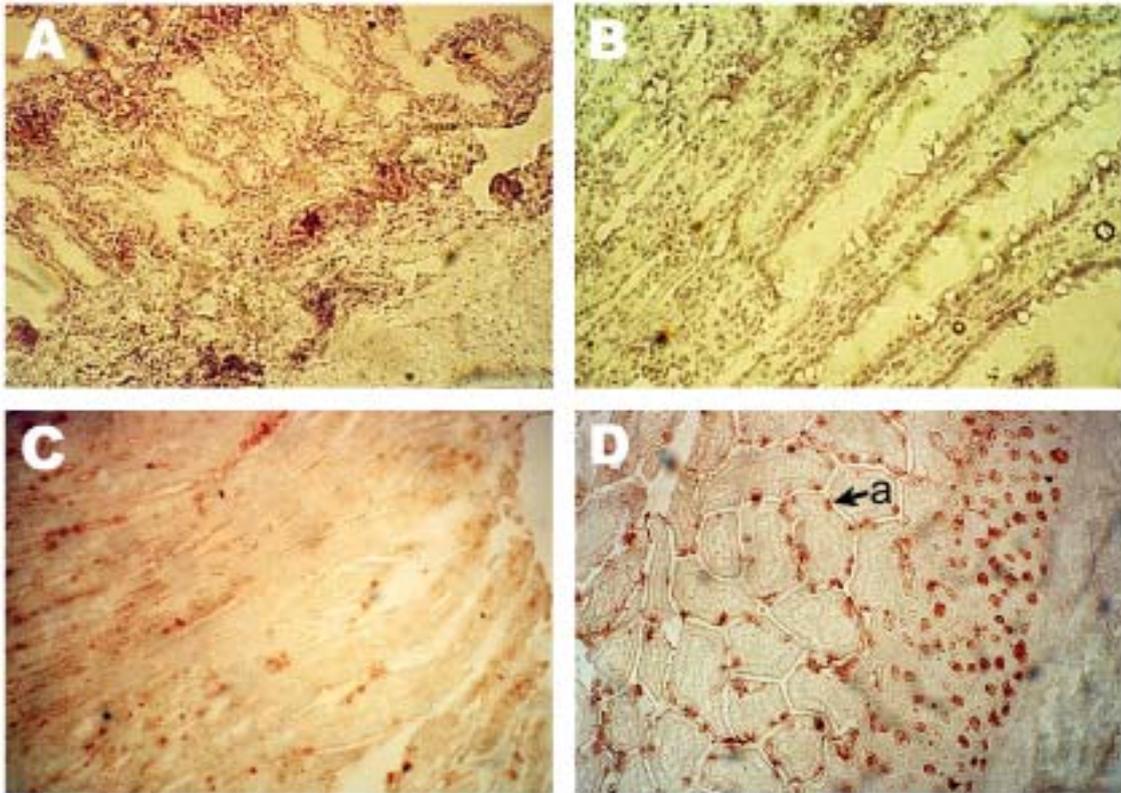
A : anti-VIP control group of sham EA group (×200)

B : anti-VIP control group of EA (×200)

C : anti-VIP sham EA group (×200)

D : anti-VIP EA group (×200)

箭頭 a : 奧迪氏括約肌縱肌上 VIP nerves 之 positive stain



【圖 4.3】貓十二指腸免疫學染色圖

ABC stain in duodenum of feline

A : anti-CCK8 control group of sham EA group (×100)

B : anti-CCK8 control group of EA (×200)

C : anti-CCK8 sham EA group (×100)

D : anti-CCK8 EA group (×100)

箭頭 a : 十二指腸 mucosa 上 endocrine cells 之 positive stain

第三節 實驗對照組對貓腸道組織免疫學之反應

以兔子血清染色，其中膽囊、奧迪氏括約肌及十二指腸皆無橘色反應證明 anti-CCK8 及 anti-VIP 具有專一的受體結合反應性。【表 4.1；圖 4.1；4.2；4.3】

PARTII 兔子：濃縮中藥木香檳榔丸篇

第一節 木香檳榔丸濃縮中藥對兔子奧迪氏括約肌的效應

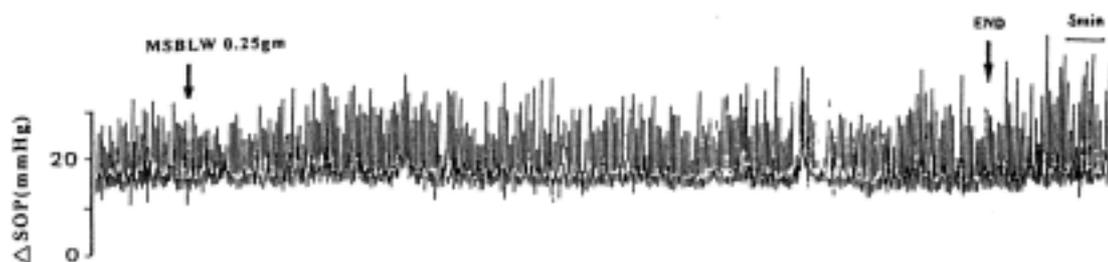
一、藥劑實驗組

- (一) MSBLW 0.25 group (N=6): 在本實驗組中，經鼻胃管灌食 0.25 gm 木香檳榔丸濃縮中藥 60 分鐘內 SO 壓力記錄圖變化；顯示 Tonic pressure (TP) 無明顯變化，而 Phasic contraction pressure (PP) 在 20 分鐘、40 分鐘、60 分鐘有明顯興奮現象， $P < 0.05$ (表 4.2；圖 4.4；圖 4.5；圖 4.6)。
- (二) MSBLW 0.5 group (N=7): 在本實驗組中，經鼻胃管灌食 0.5 gm 木香檳榔丸濃縮中藥 60 分鐘內 SO 壓力記錄圖變化，顯示 Tonic pressure (TP) 在 60 分鐘處有明顯抑制現象， $P < 0.05$ ；而 Phasic contraction pressure (PP) 在 20 分鐘、40 分鐘、60 分鐘處有明顯興奮現象， $P < 0.05$ (表 4.3；圖 4.7；圖 4.8；圖 4.9)。
- (三) MSBLW 1.0 group (N=8): 在本實驗組中，經鼻胃管灌食 1.0 gm 木香檳榔丸濃縮中藥 60 分鐘內 SO 壓力記錄圖變化，顯示 Tonic pressure (TP) 在 20 分鐘、40 分鐘、60 分鐘處有明顯抑制現象， $P < 0.05$ ；而 Phasic contraction pressure (PP) 在 20 分鐘、40 分鐘、60 分鐘處有明顯興奮現象， $P < 0.05$ (表 4.4；圖 4.10；圖 4.11；圖 4.12)。
- (四) MSBLW 2.0 group (N=6): 在本實驗組中，經鼻胃管灌食 2.0 gm 木香檳榔丸濃縮中藥 60 分鐘內 SO 壓力記錄圖變化，顯示 Tonic pressure (TP) 在無明顯變化；而 Phasic contraction pressure (PP) 在 20 分鐘、40 分鐘、60 分鐘處有明顯興奮現象， $P < 0.05$ (表 4.5；圖 4.13；圖 4.14；圖 4.15)。
- (五) 顯示不同等分木香檳榔丸濃縮中藥劑量，對兔子奧迪氏括約肌之壓力變化有劑量相關依存性。

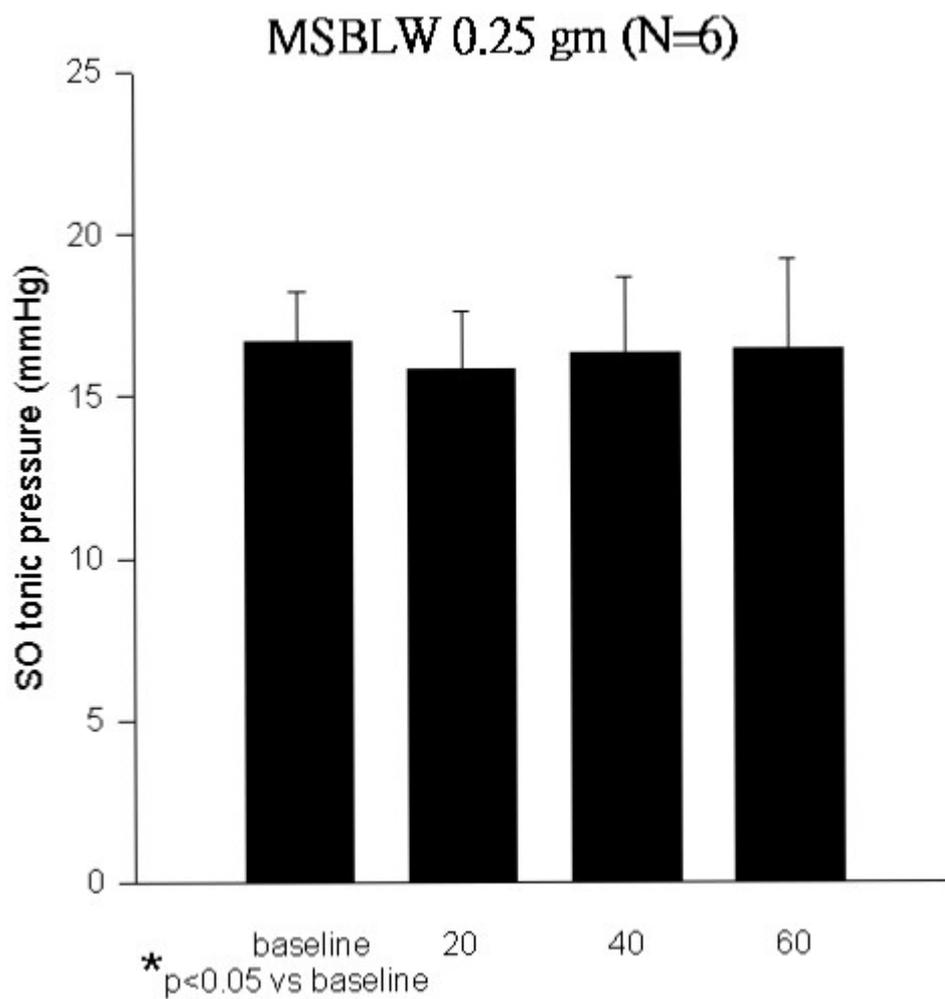
【表 4.2】 木香檳榔丸 0.25 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌之影響

Groups	Tonic pressure	Phasic contraction
	(mmHg)	pressure (mmHg)
	Mean±S.E.M.	Mean±S.E.M.
MSBLW 0.25 gm (N=6)		
baseline	16.67±0.64	5.58±0.36
MSBLW 0.25-20	15.83±0.74	6.79±0.56*
MSBLW 0.25-40	16.33±0.94	7.32±0.41*
MSBLW 0.25-60	16.42±1.14	8.00±0.44*

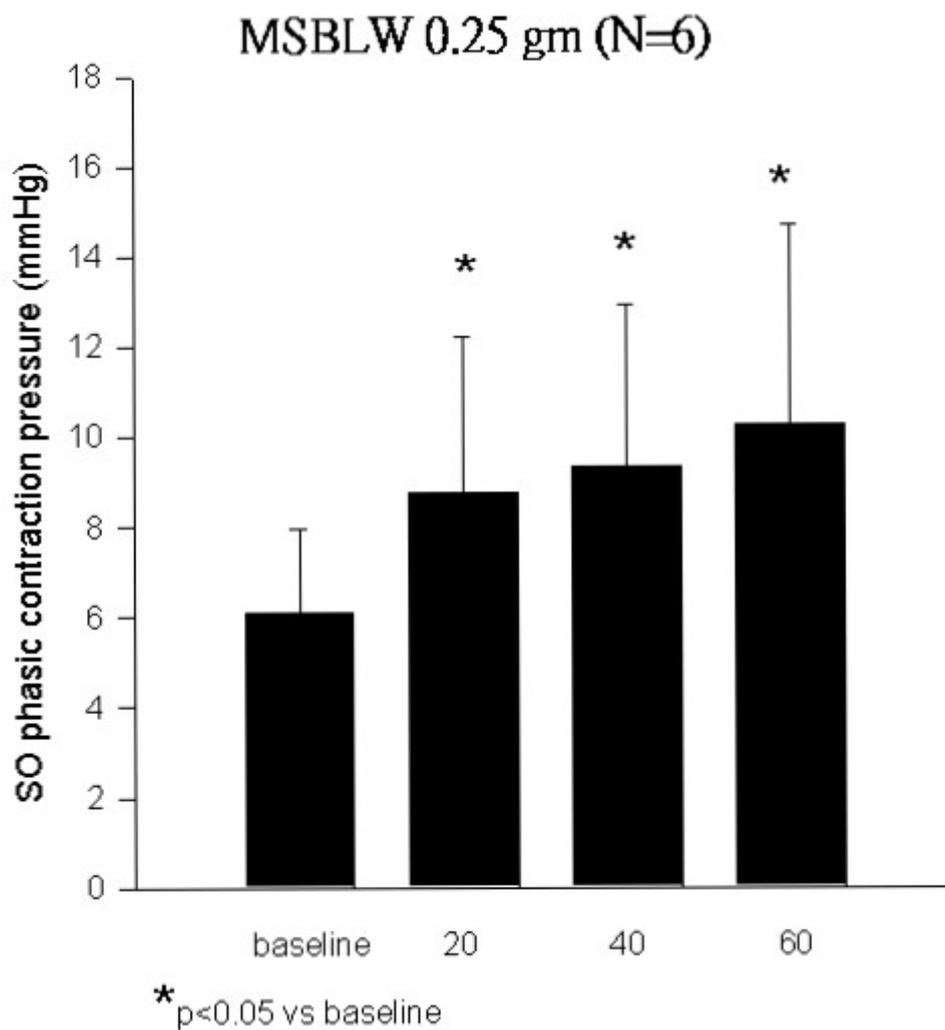
【說明】 Tonic pressure (mmHg) : SO 基礎壓力 ; Phasic contraction pressure (mmHg) : 相位收縮壓力 ; baseline: 未施藥前 ; MSBLM 0.25-20 : 施予木香檳榔丸 0.25 gm 20 分鐘後 ; MSBLM 0.25-40 : 施予木香檳榔丸 0.25 gm 40 分鐘後 ; MSBLM 0.25-60 : 施予木香檳榔丸 0.25 gm 60 分鐘後。Data are expressed as mean ± S.E.M. *p < 0.05 vs baseline.



【圖 4.4】 木香檳榔丸 0.25gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌壓力圖之變化



【圖 4.5】木香檳榔丸 0.25 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌基礎壓力 (TP) 之變化統計圖



【圖 4.6】木香檳榔丸 0.25 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌相位收縮壓力 (PP) 之變化統計圖

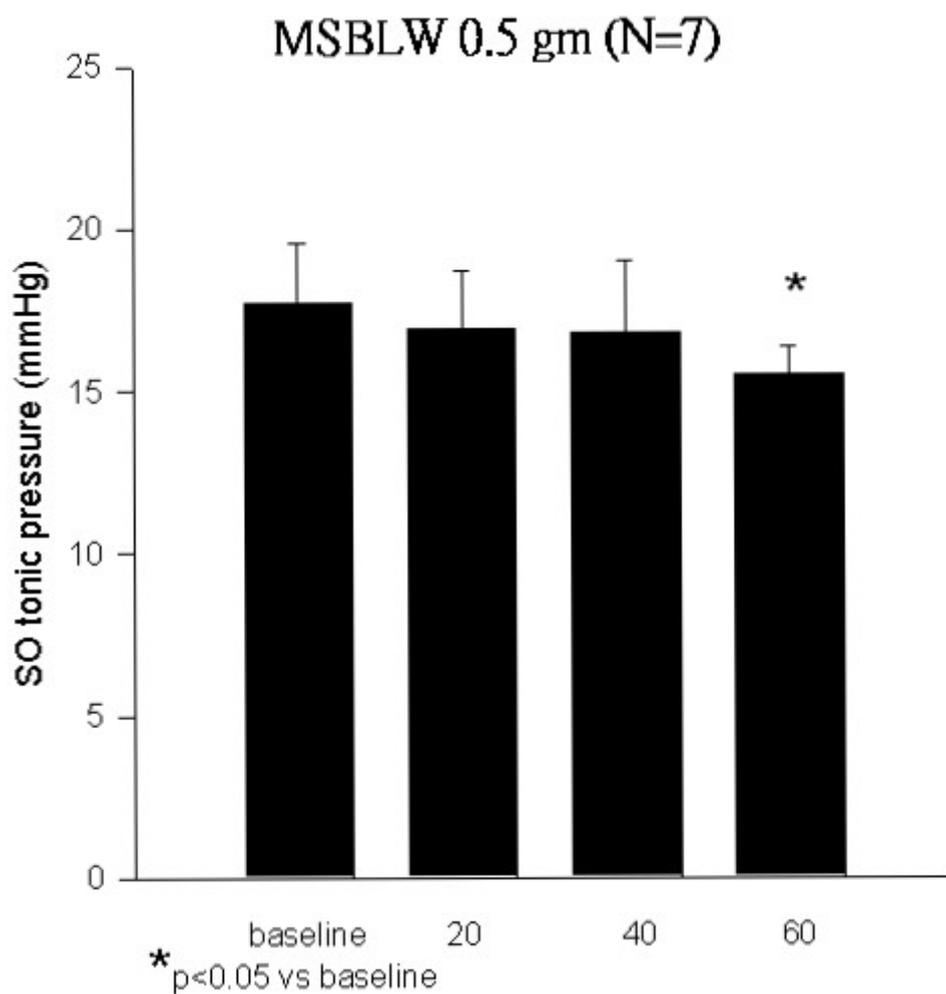
【表 4.3】木香檳榔丸 0.5 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌之影響

Groups	Tonic pressure (mmHg)	Phasic contraction pressure (mmHg)
	Mean±S.E.M.	Mean±S.E.M.
MSBLW 0.5gm (N=7)		
baseline	17.71±0.70	5.93±0.32
MSBLW 0.5-20	16.89±0.69	7.60±0.54*
MSBLW 0.5-40	16.82±0.83	8.32±0.38*
MSBLW 0.5-60	15.50±0.37*	9.30±0.37*

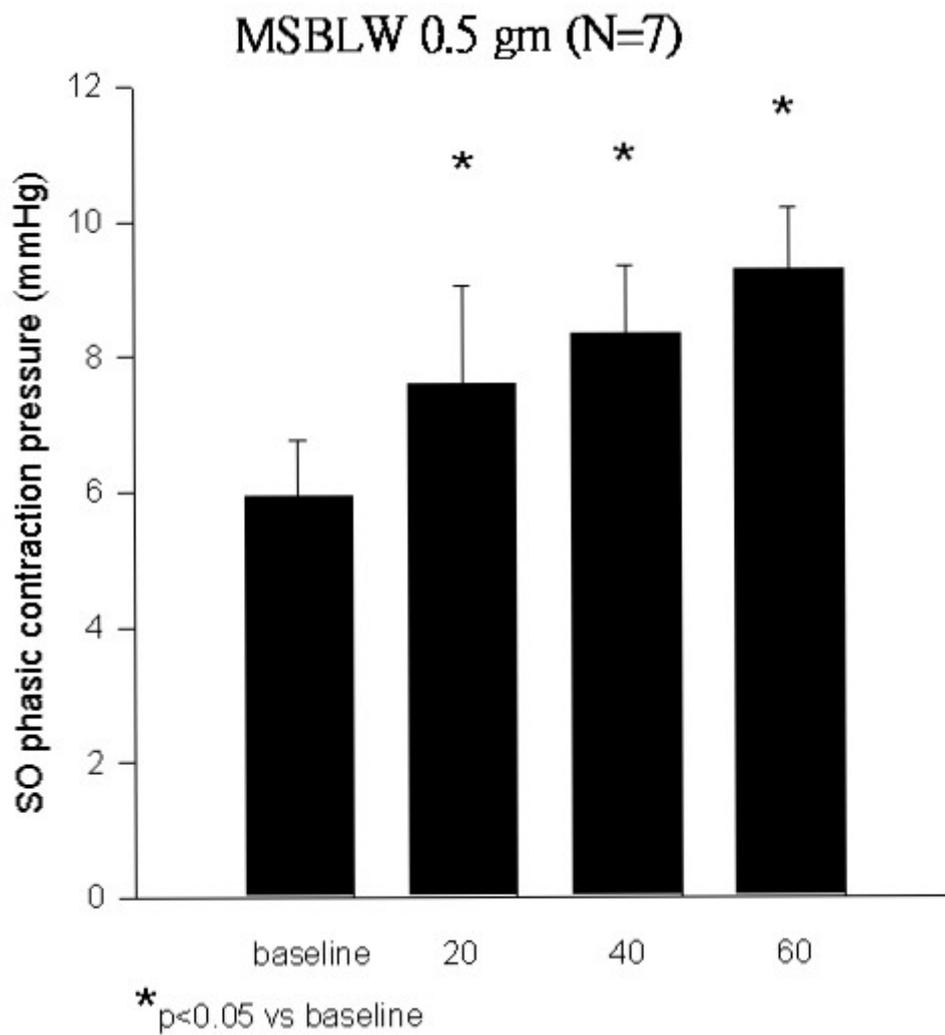
【說明】 Tonic pressure (mmHg) : SO 基礎壓力 ; Phasic contraction pressure (mmHg) : 相位收縮壓力 ; baseline: 未施藥前 ; MSBLM 0.5-20 : 施予木香檳榔丸 0.5 gm 20 分鐘後 ; MSBLM 0.5-40 : 施予木香檳榔丸 0.5 gm 40 分鐘後 ; MSBLM 0.5-60 : 施予木香檳榔丸 0.5 gm 60 分鐘後。Data are expressed as mean ± S.E.M. *p < 0.05 vs baseline.



【圖 4.7】 木香檳榔丸 0.5 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌壓力圖之變化



【圖 4.8】 木香檳榔丸 0.5 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌基礎壓力 (TP) 之變化統計圖

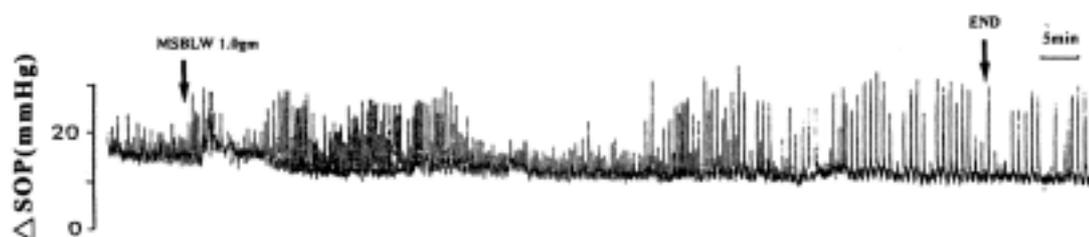


【圖 4.9】 木香檳榔丸 0.5 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌相位收縮壓力 (PP) 之變化統計圖

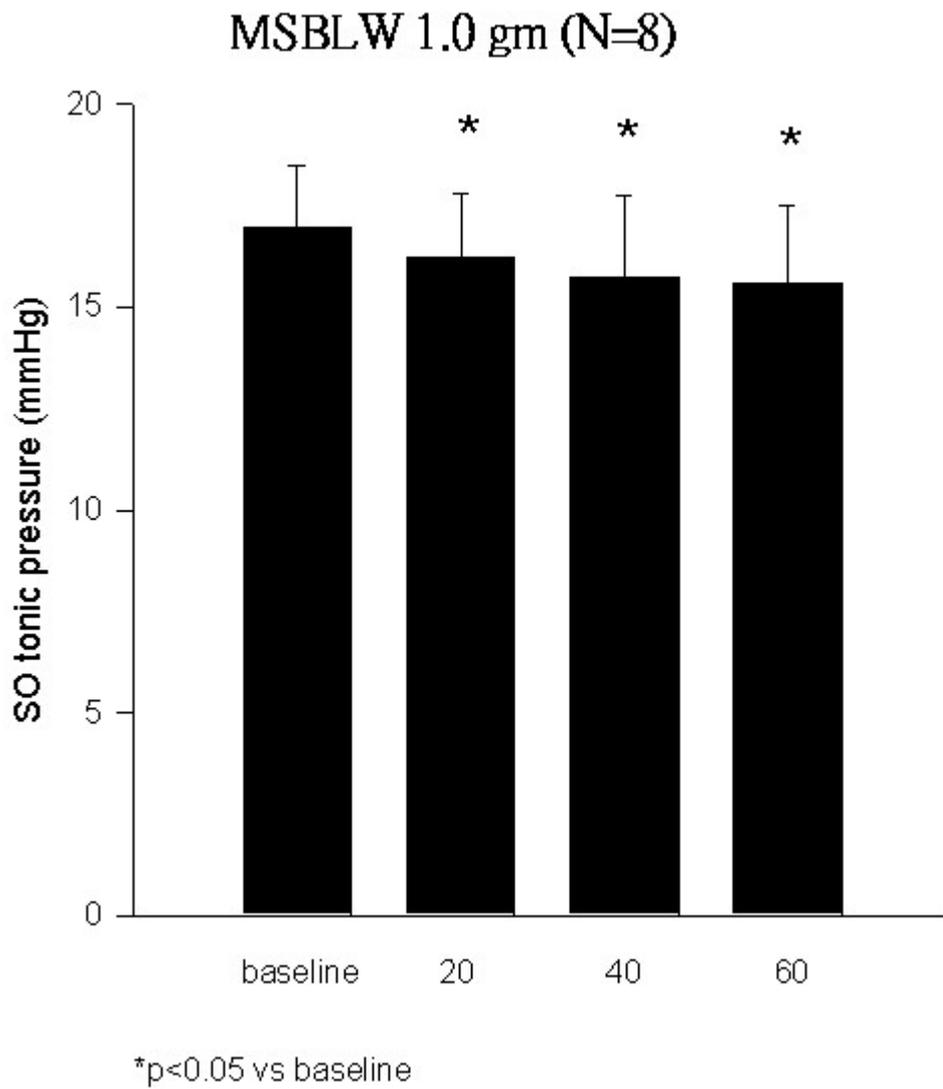
【表 4.4】 木香檳榔丸 1.0 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌之影響

Groups	Tonic pressure (mmHg)	Phasic contraction pressure (mmHg)
	Mean±S.E.M.	Mean±S.E.M.
MSBLW 1.0gm (N=8)		
baseline	16.97±0.54	6.34±0.60
MSBLW 1.0-20	16.25±0.54*	8.18±0.53*
MSBLW 1.0-40	15.75±0.76*	10.00±0.48*
MSBLW 1.0-60	15.60±0.71*	11.07±0.76*

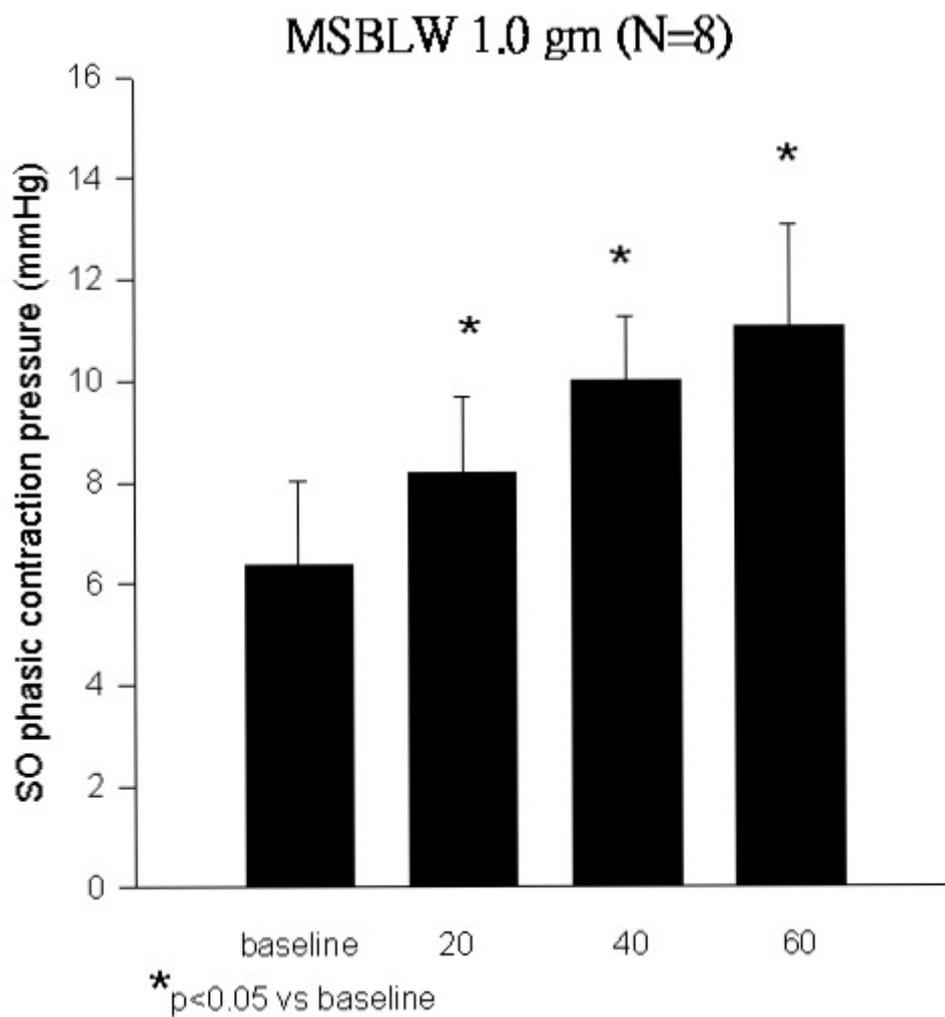
【說明】 Tonic pressure (mmHg) : SO 基礎壓力 ; Phasic contraction pressure (mmHg) : 相位收縮壓力 ; baseline : 未施藥前 ; MSBLM 1.0-20 : 施予木香檳榔丸 1.0 gm 20 分鐘後 ; MSBLM 1.0-40 : 施予木香檳榔丸 1.0 gm 40 分鐘後 ; MSBLM 1.0-60 : 施予木香檳榔丸 1.0 gm 60 分鐘後。Data are expressed as mean ± S.E.M. *p < 0.05 vs baseline.



【圖 4.10】 木香檳榔丸 1.0 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌壓力圖之變化



【圖 4.11】木香檳榔丸 1.0 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌基礎壓力 (TP) 之變化統計圖

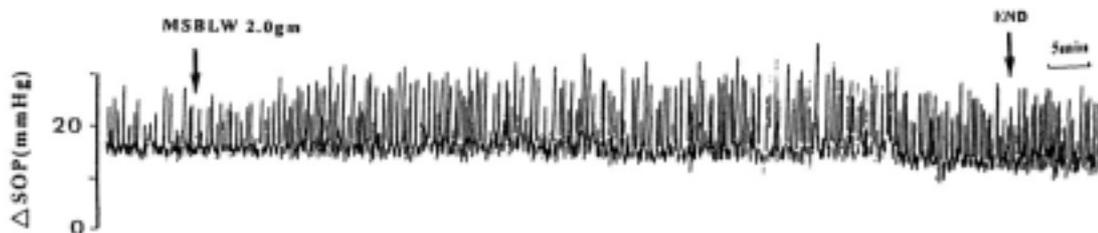


【圖 4.12】木香檳榔丸 1.0gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌相位收縮壓力 (PP) 之變化統計圖

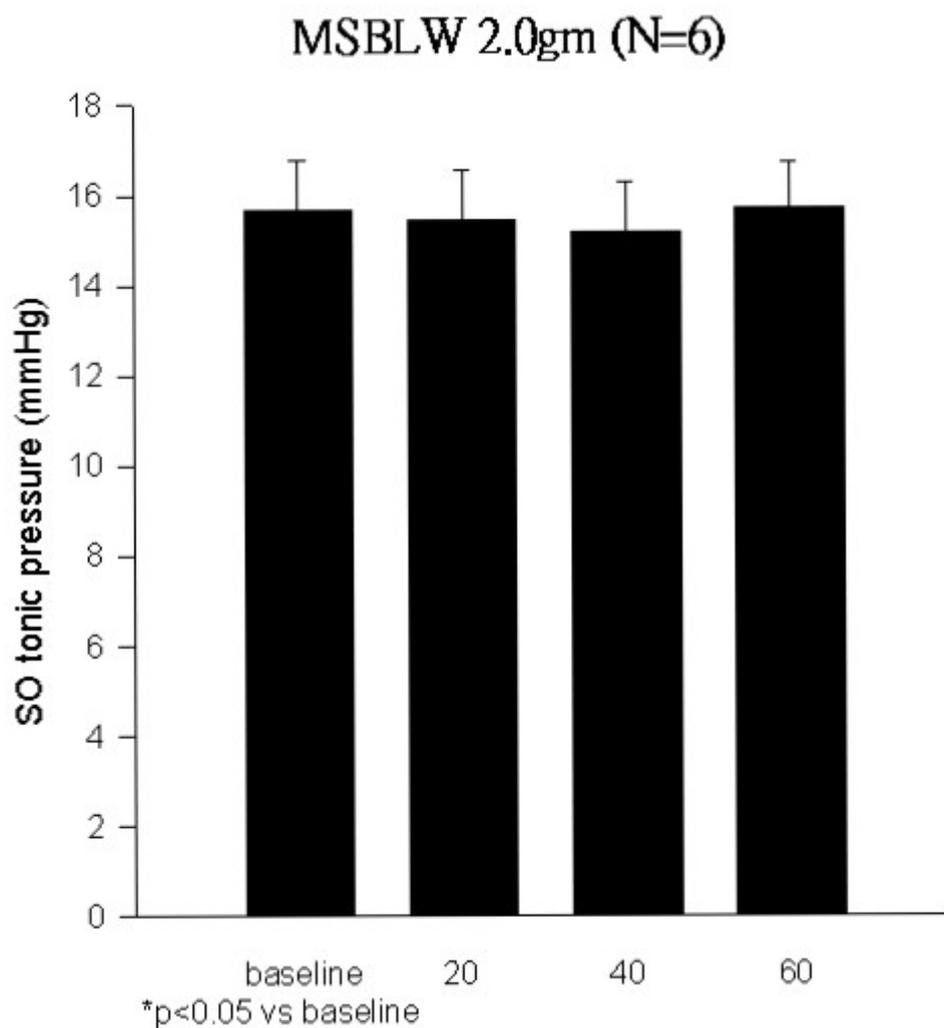
【表 4.5】 木香檳榔丸 2.0 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌之影響

Groups	Tonic pressure	Phasic contraction
	(mmHg)	pressure (mmHg)
	Mean±S.E.M.	Mean±S.E.M.
MSBLW 2.0gm (N=6)		
baseline	16.67±0.46	6.00±0.78
MSBLW 2.0-20	16.46±0.45	7.21±0.84*
MSBLW 2.0-40	16.17±0.46	7.79±0.96*
MSBLW 2.0-60	16.71±0.42	9.50±0.75*

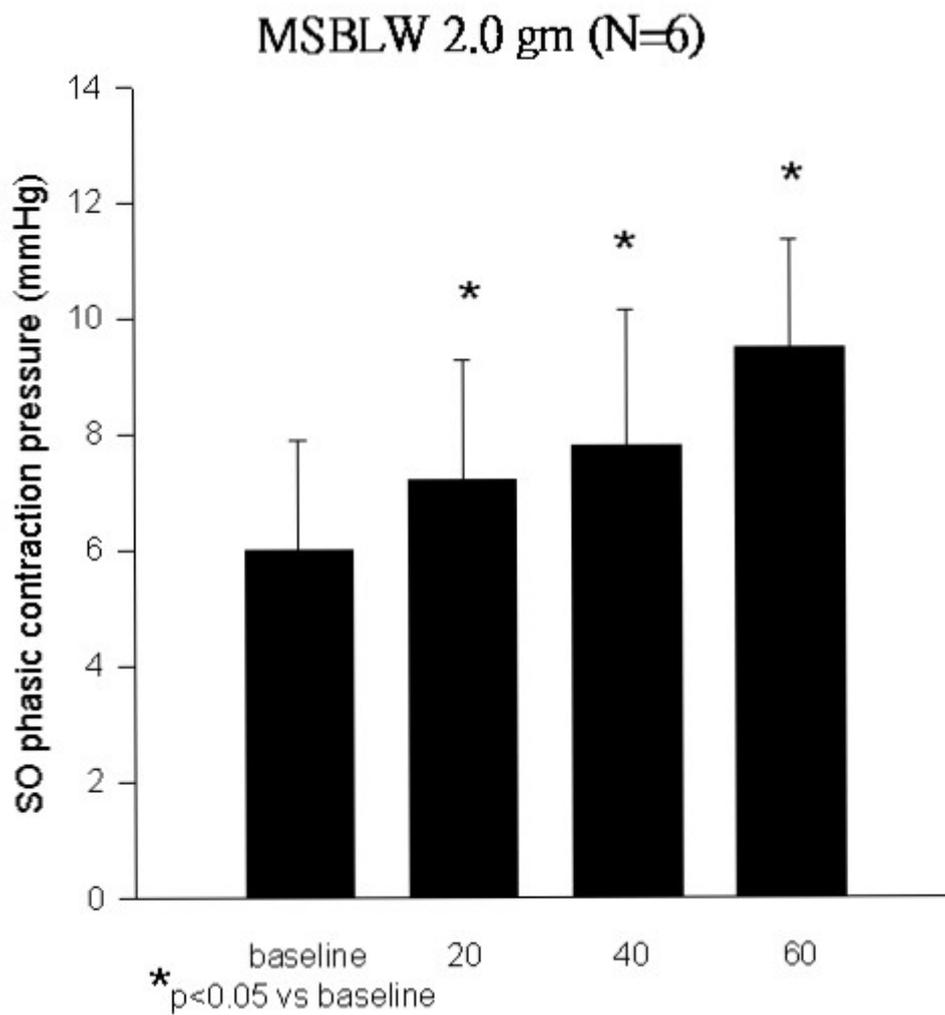
【說明】 Tonic pressure (mmHg) : SO 基礎壓力 ; Phasic contraction pressure (mmHg) : 相位收縮壓力 ; baseline: 未施藥前 ; MSBLM 2.0-20 : 施予木香檳榔丸 2.0 gm 20 分鐘後 ; MSBLM 2.0-40 : 施予木香檳榔丸 2.0 gm 40 分鐘後 ; MSBLM 2.0-60 : 施予木香檳榔丸 2.0 gm 60 分鐘後。Data are expressed as mean ± S.E.M. *p < 0.05 vs baseline.



【圖 4.13】 木香檳榔丸 2.0 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌壓力圖之變化



【圖 4.14】木香檳榔丸 2.0 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌基礎壓力 (TP) 之變化統計圖



【圖 4.15】木香檳榔丸 2.0 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌相位收縮壓力 (PP) 之變化統計圖

二、控制組

- (一) Starch group (N=7)：在本實驗中經鼻胃管灌食 starch 0.33 gm 60 分鐘中內 SO 壓力記錄圖變化。顯示 Tonic pressure (TP) ； Phasic contraction 在無明顯變化；證明木香檳榔丸濃縮中藥之附型劑不影響兔子奧迪氏括約肌 (表 4.6；圖 4.16；圖 4.17；圖 4.18)。
- (二) 2nd H₂O group (N=6)：在本實驗中經鼻胃管灌食室溫 2nd H₂O 5ml 60 分鐘中內 SO 壓力記錄圖變化。顯示 Tonic pressure (TP) ； Phasic contraction 在無明顯變化；證明溶解木香檳榔丸濃縮中藥之溶劑不影響兔子奧迪氏括約肌 (表 4.7；圖 4.19；圖 4.20；圖 4.21)。

第二節 木香檳榔丸濃縮對兔子奧迪氏括約肌調控之作用機轉

- 一、 APP+MSBLW group (N=6)：在本實驗中靜脈注射 atropine 30 µg/kg、propranolol 2 mg/kg、phentolamine 1.5 mg/kg，當 SO 狀態再達穩定後，木香檳榔丸濃縮中藥 1.0 gm 溶解於 5 ml 室溫二次水中經鼻胃灌食觀察 60 分鐘，並且記錄奧迪氏括約肌的壓力圖。顯示 Tonic pressure (TP) ； Phasic contraction 在無明顯變化，證明事先加入之 APP 可阻斷木香檳榔丸濃縮中藥 1.0 gm 對兔子奧迪氏括約肌之調控。(表 4.8；圖 4.22；圖 4.23；圖 4.24)
- 二、 Pirenzepine+MSBLW group (N=7)：在本實驗中事先經鼻胃灌食 Pirenzepine 10/kg，當 SO 狀態再達穩定後，木香檳榔丸濃縮中藥 1.0gm 溶解於 5 ml 室溫二次水中經鼻胃灌食觀察 60 分鐘，並且記錄奧迪氏括約肌的壓力圖。顯示 Tonic pressure (TP) ； Phasic contraction 在無明顯變化；證明事先加入之 Pirenzepine 10/kg 可阻斷木香檳榔丸濃縮中藥 1.0gm 對兔子奧迪氏括約肌之調控經由 muscarinic receptor 被抑制。(表 4.6；圖 4.25；圖 4.26；圖 4.27)

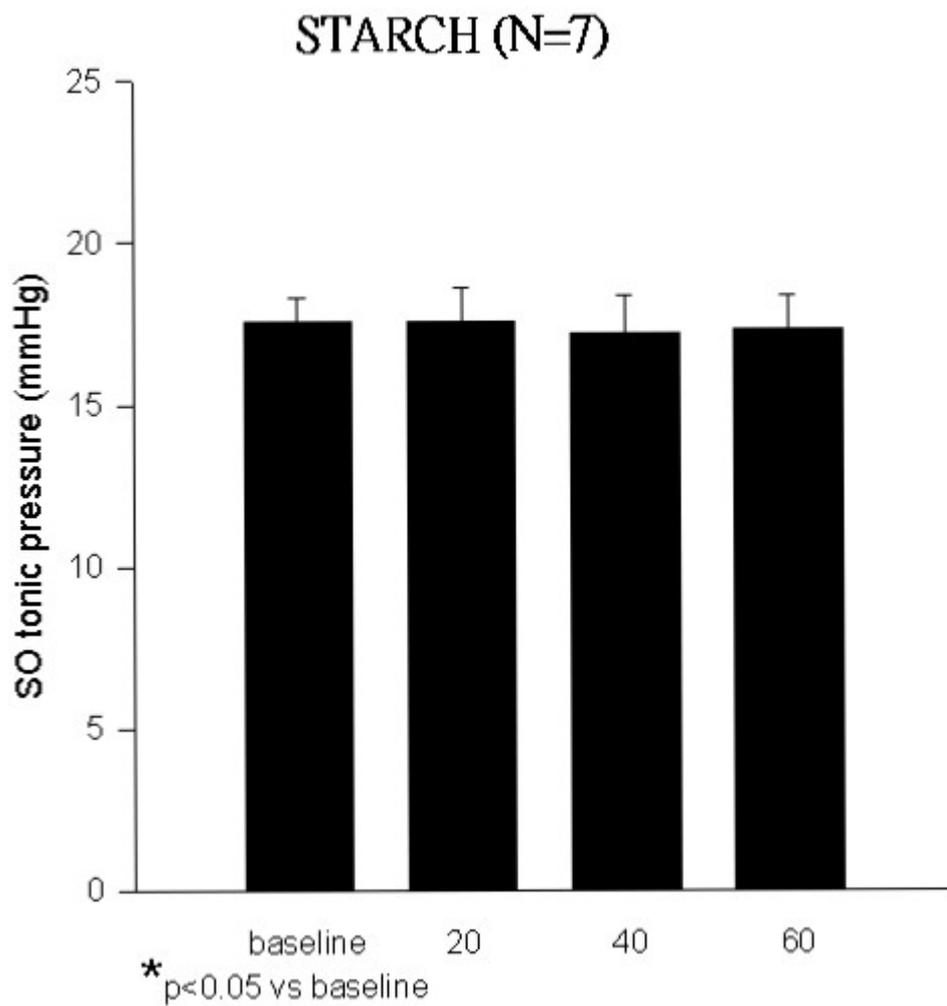
【表 4.6】澱粉 (Starch) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌之影響

Groups	Tonic pressure (mmHg)	Phasic contraction pressure (mmHg)
	Mean±S.E.M.	Mean±S.E.M.
STARCH (N=6)		
baseline	16.57±0.28	6.50±0.99
STARCH -20	16.57±0.40	6.17±0.88
STARCH -40	16.18±0.45	6.00±0.83
STARCH -60	16.29±0.45	5.83±1.13

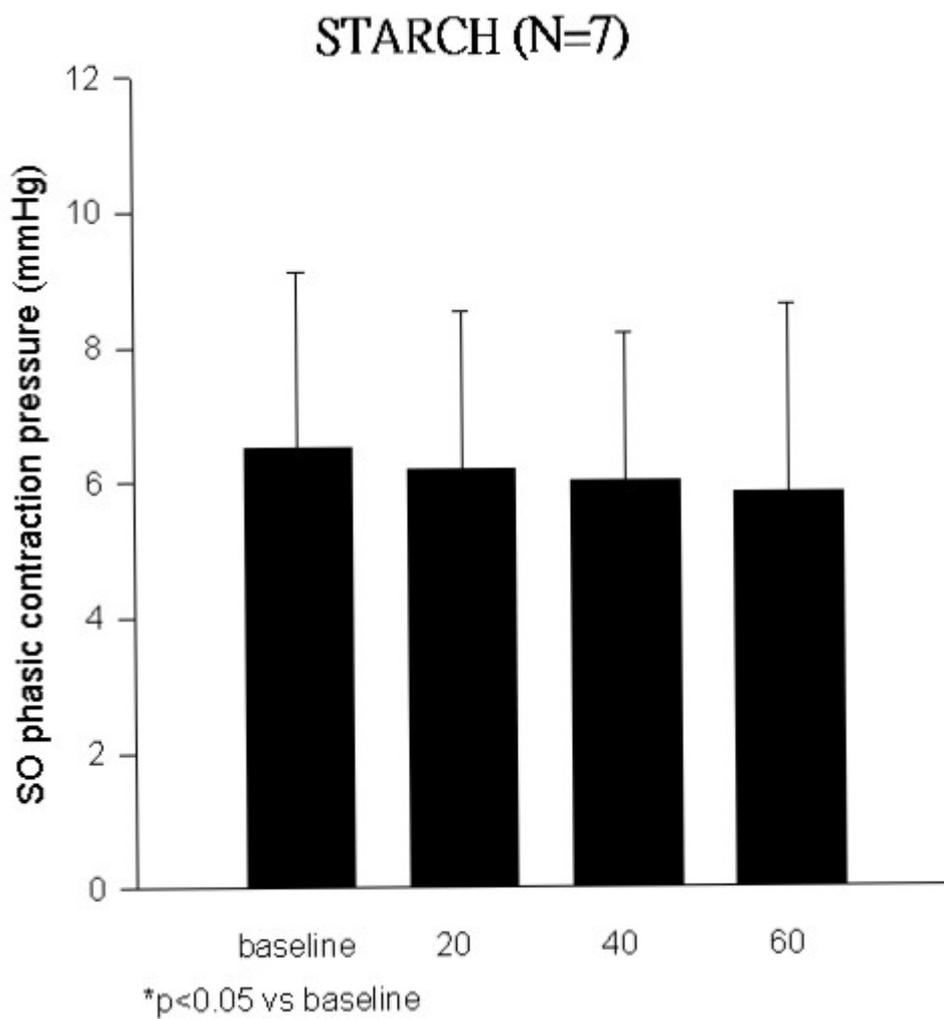
【說明】 Tonic pressure (mmHg) : SO 基礎壓力 ; Phasic contraction pressure (mmHg) : 相位收縮壓力 ; baseline : 未施藥前 ; STARCH-20 : 施予澱粉 20 分鐘後 ; STARCH -40 : 施予澱粉 40 分鐘後 ; STARCH -60 : 施予澱粉 60 分鐘後。 Data are expressed as mean ± S.E.M. *p < 0.05 vs baseline.



【圖 4.16】澱粉 (Starch) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌壓力圖之變化



【圖 4.17】澱粉 (Starch) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌基礎壓力 (TP) 之變化統計圖



【圖 4.18】澱粉（Starch）對麻醉後兔子奧迪氏括約肌相位收縮壓力（PP）之變化統計圖

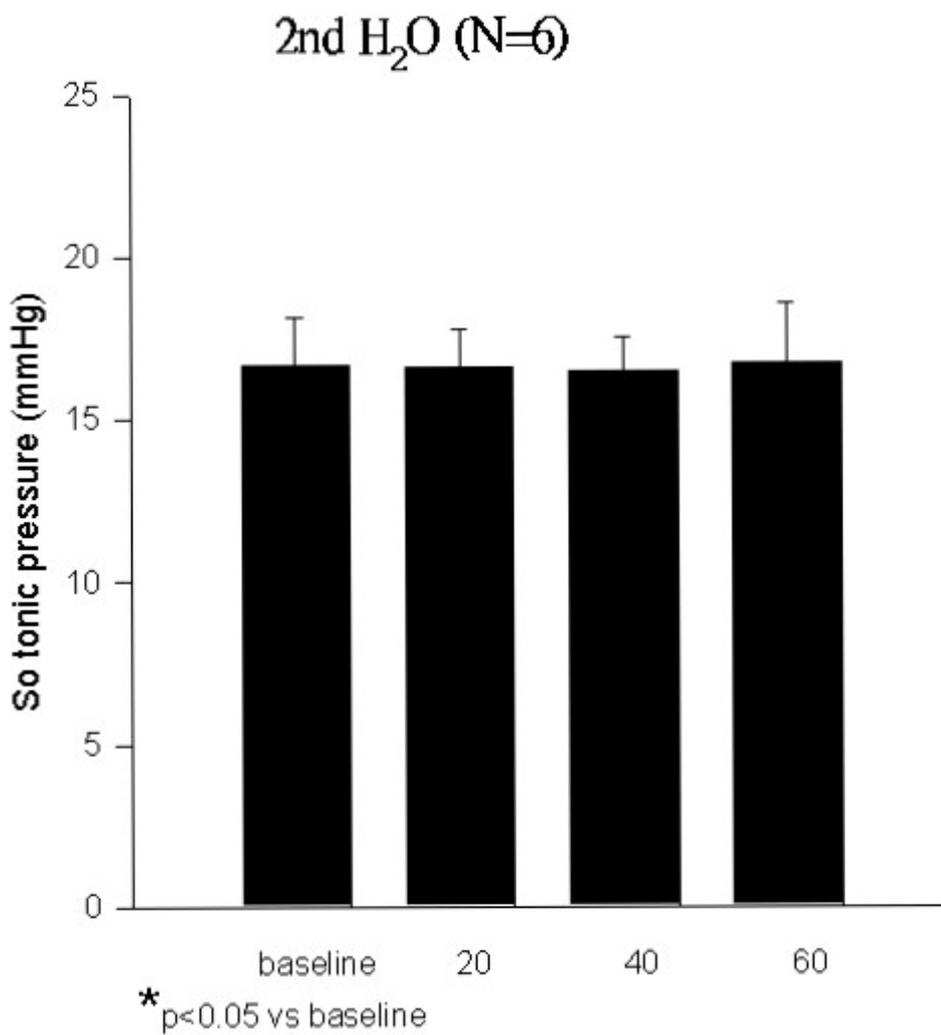
【表 4.7】 二次水 (2nd H₂O) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌之影響

Groups		Tonic pressure (mmHg) Mean±S.E.M.	Phasic contraction pressure (mmHg) Mean±S.E.M.
2nd H ₂ O	(N=6)		
baseline		16.67±0.61	7.42±1.23
H ₂ O -20		16.63±0.46	7.33±1.36
H ₂ O -40		16.50±0.43	7.00±1.41
H ₂ O -60		16.67±0.76	6.88±1.30

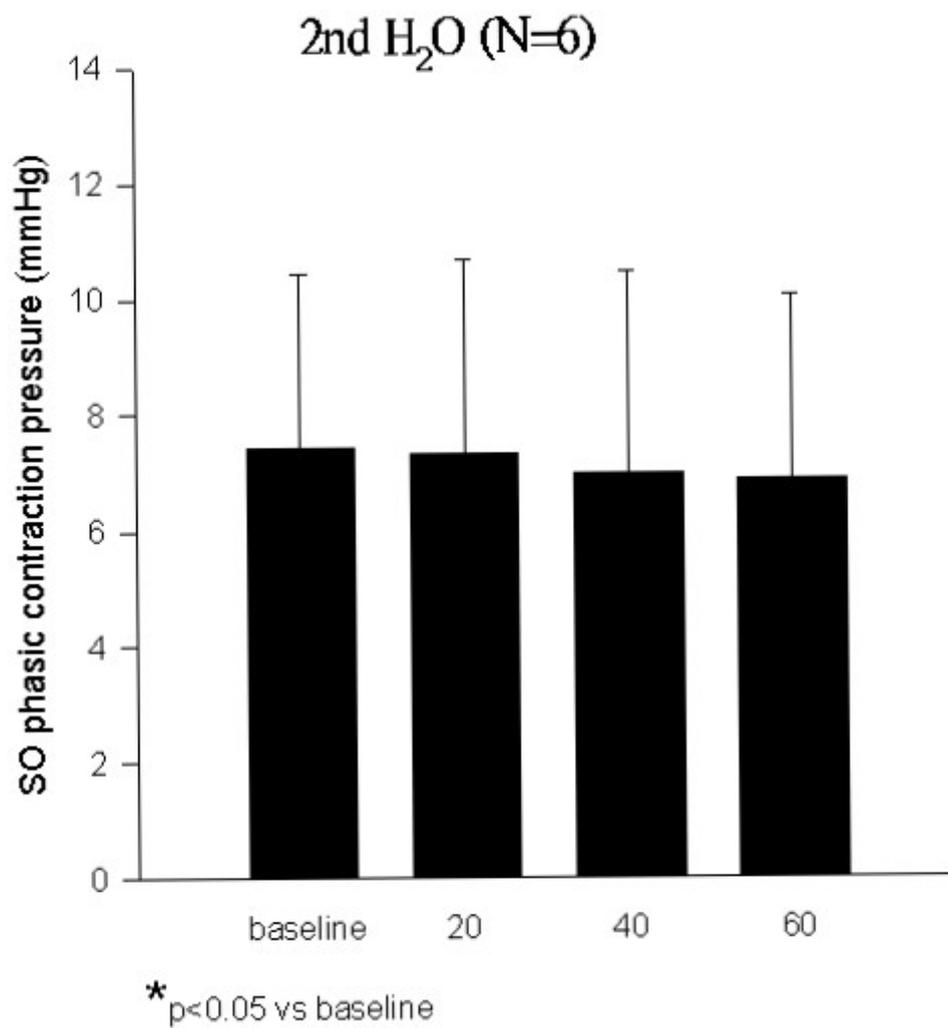
【說明】 Tonic pressure (mmHg)：SO 基礎壓力；Phasic contraction pressure (mmHg)：相位收縮壓力；baseline：未施藥前；H₂O -20：施予二次水 20 分鐘後；H₂O -40：施予二次水 40 分鐘後；H₂O -60：施予二次水 60 分鐘後。Data are expressed as mean ± S.E.M. *p < 0.05 vs baseline.



【圖 4.19】 二次水 (2nd H₂O) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌壓力圖之變化



【圖 4.20】二次水 (2nd H₂O) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌基礎壓力 (TP) 之變化統計圖



【圖 4.21】二次水 (2nd H₂O) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌相位收縮壓力 (PP) 之變化統計圖

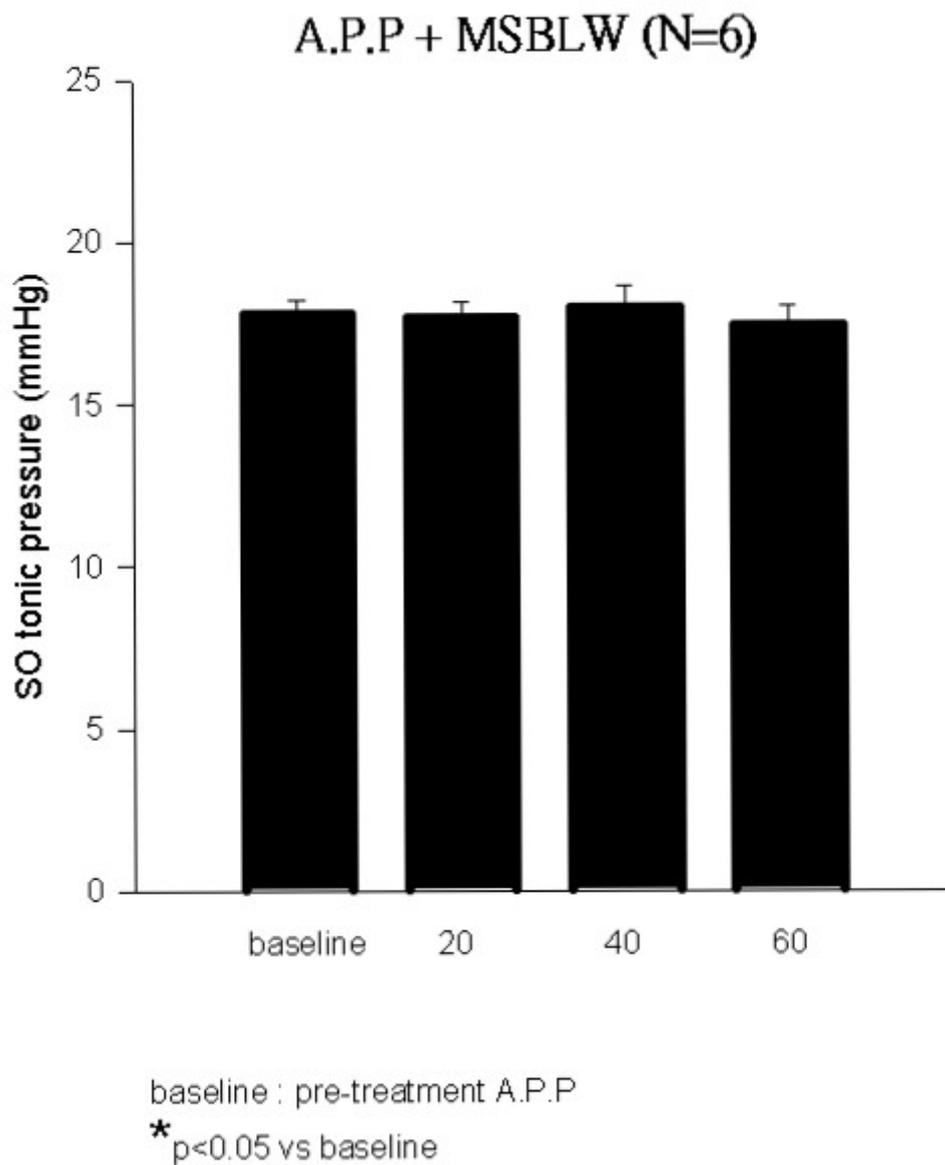
【表 4.8】事先施予 A.P.P 對木香檳榔丸 1.0 gm (MSBLW) 麻醉後兔子奧迪氏括約肌之影響

Groups	Tonic pressure	Phasic contraction
	(mmHg)	pressure (mmHg)
	Mean±S.E.M.	Mean±S.E.M.
APP+MSBLW (N=6)		
baseline	17.79±0.41	8.42±1.14
MSBLW1.0 -20	17.67±0.46	8.42±1.19
MSBLW1.0 -40	17.96±0.71	7.67±1.30
MSBLW1.0 -60	17.42±0.63	7.71±1.34

【說明】 Tonic pressure (mmHg) : SO 基礎壓力 ; Phasic contraction pressure (mmHg) : 相位收縮壓力 ; baseline : 施予 A.P.P (atropine 30 μ g/kg, propranolol 2 mg/kg, and phentolamine 1.5 mg/kg) 後 ; MSBLM 1.0-20 : 施予木香檳榔丸 1.0 gm 20 分鐘後 ; MSBLM 1.0-40 : 施予木香檳榔丸 1.0 gm 40 分鐘後 ; MSBLM 1.0-60 : 施予木香檳榔丸 1.0 gm 60 分鐘後。Data are expressed as mean \pm S.E.M. *p < 0.05 vs baseline.

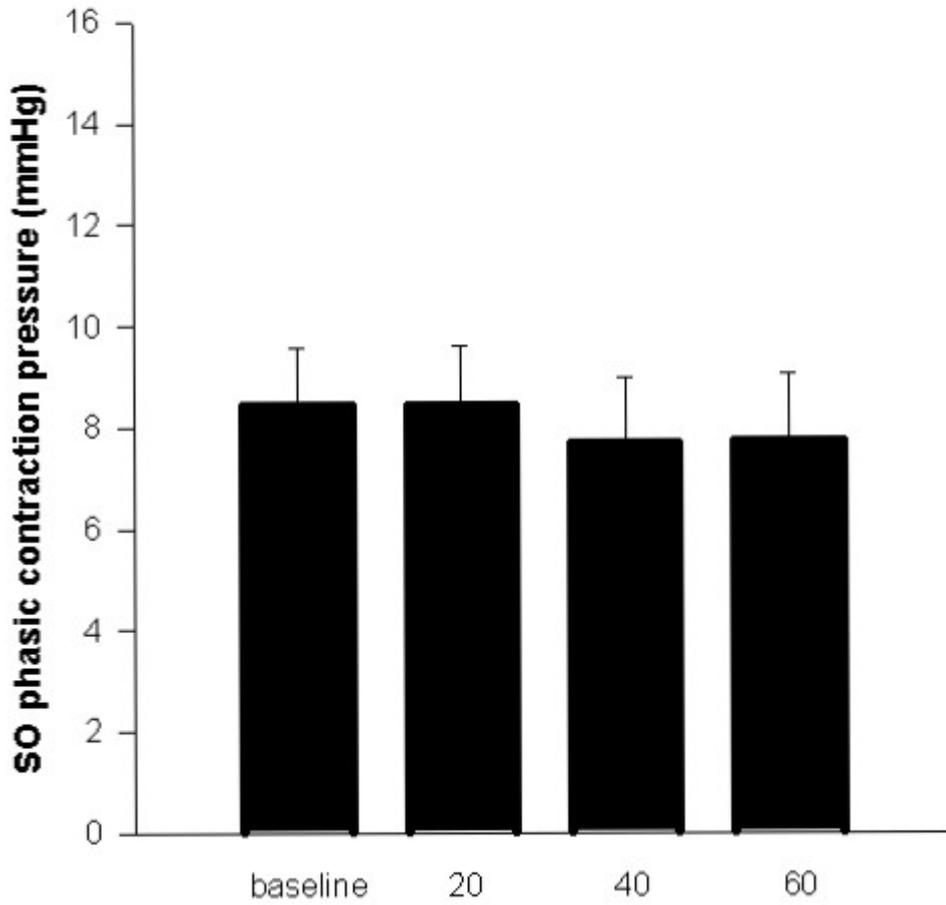


【圖 4.22】事先施予 A.P.P 對木香檳榔丸 1.0 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌壓力圖之變化



【圖 4.23】事先施予 A.P.P 對木香檳榔丸 1.0 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌基礎壓力 (TP) 之變化統計圖

A.P.P + MSBLW (N=6)



【圖 4.24】事先施予 A.P.P 對木香檳榔丸 1.0 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌相位收縮壓力 (PP) 之變化統計圖

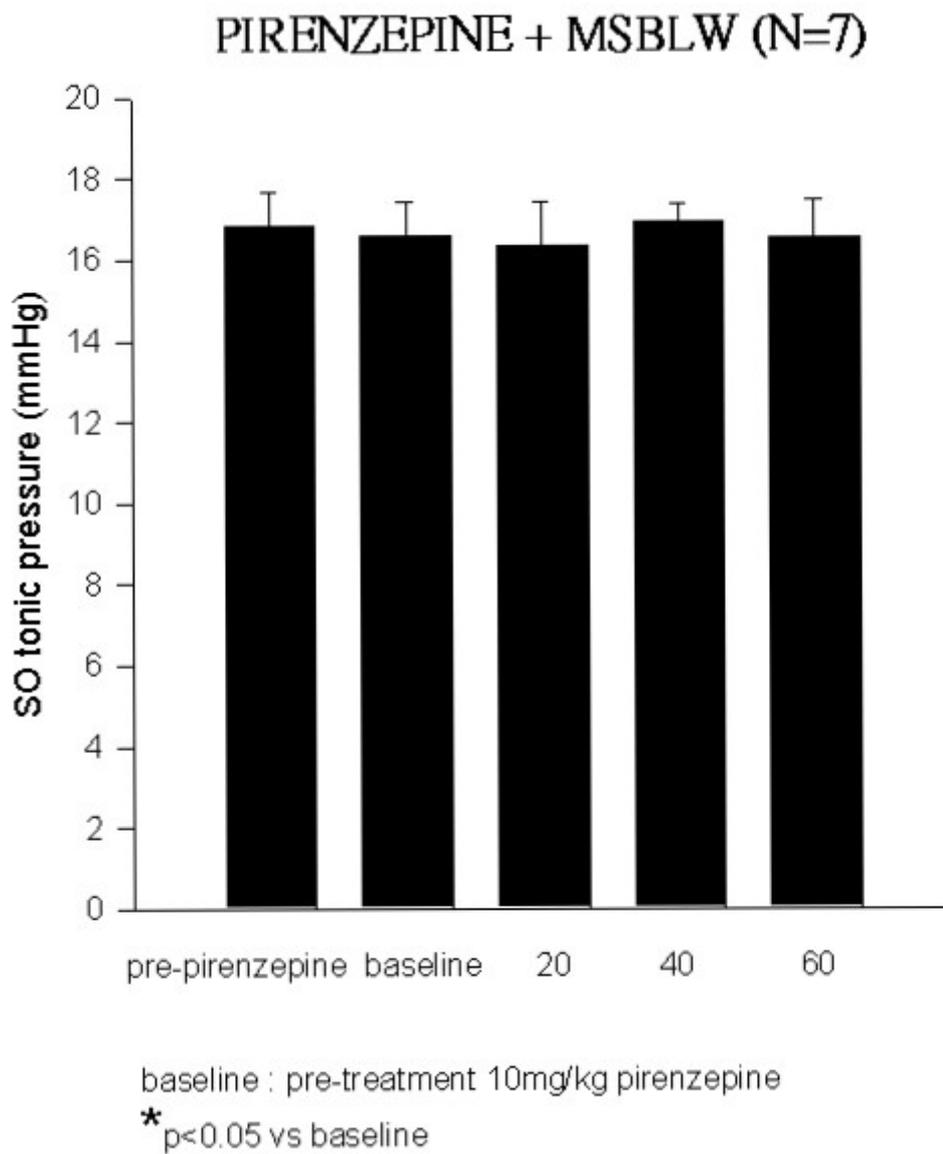
【表 4.9】事先施予 Pirenzepine 對木香檳榔丸 1.0 gm (MSBLW) 麻醉後兔子奧迪氏括約肌之影響

Groups	Tonic pressure	Phasic contraction
	(mmHg)	pressure (mmHg)
	Mean±S.E.M.	Mean±S.E.M.
Pirenzepine /MSBLW (N=7)		
pre-pirenzepine	16.85±0.30	7.78±0.98
baseline	16.57±0.32	8.43±0.77
MSBLW1.0 -20	16.32±0.43	8.36±0.92
MSBLW1.0 -40	16.93±0.17	8.55±0.84
MSBLW1.0 -60	16.54±0.35	8.14±0.75

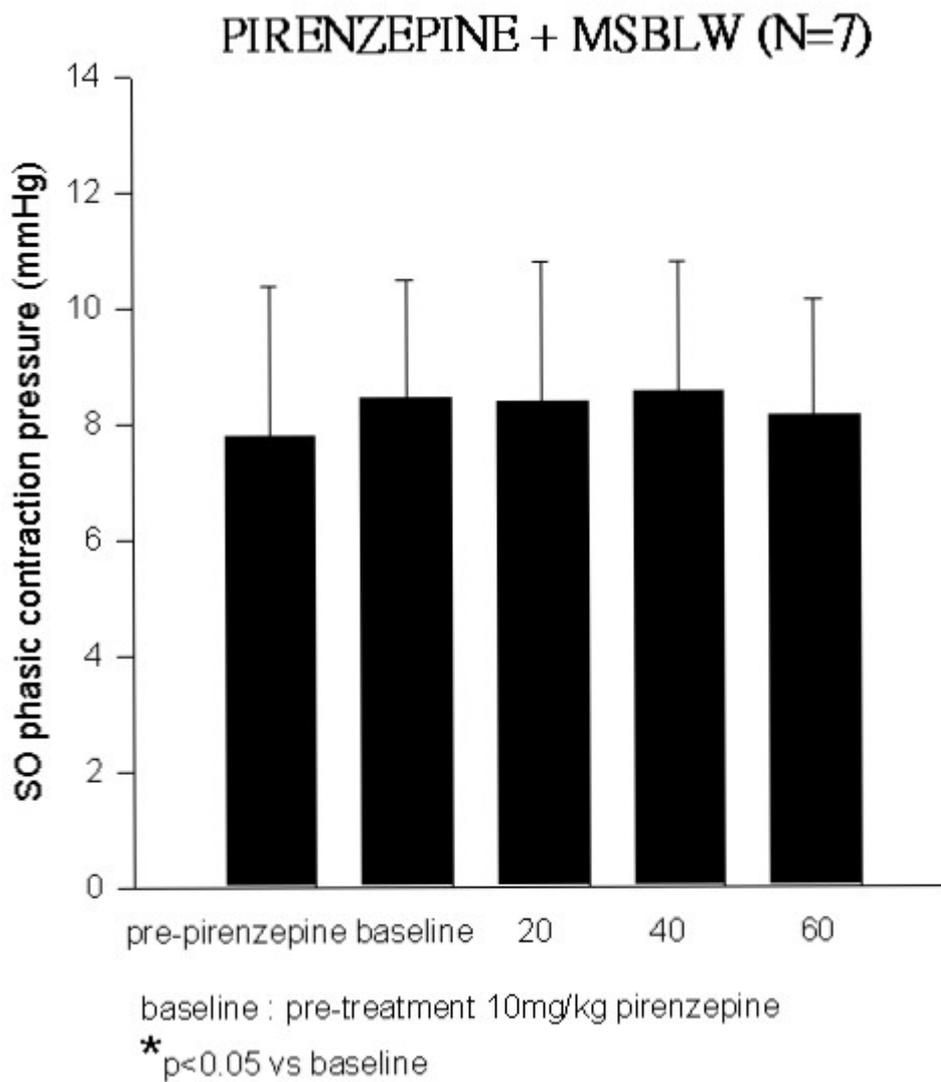
【說明】 Tonic pressure (mmHg) : SO 基礎壓力 ; Phasic contraction pressure (mmHg) : 相位收縮壓力 ; pre-pirenzepine : 未施藥前 ; baseline : 施予 pirenzepine 10 mg/kg 後 ; MSBLM 1.0-20 : 施予木香檳榔丸 1.0 gm 20 分鐘後 ; MSBLM 1.0-40 : 施予木香檳榔丸 1.0 gm 40 分鐘後 ; MSBLM 1.0-60 : 施予木香檳榔丸 1.0 gm 60 分鐘後。Data are expressed as mean ± S.E.M. ; *p < 0.05 vs baseline.



【圖 4.25】事先施予 Pirenzepine 對木香檳榔丸 1.0 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌壓力圖之變化



【圖 4.26】先施予 Pirenzepine 對木香檳榔丸 1.0 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌基礎壓力 (TP) 之變化統計圖



【圖 4.27】先施予 Pirenzepine 對木香檳榔丸 1.0 gm (MSBLW) 對麻醉後兔子奧迪氏括約肌相位收縮壓力 (PP) 之變化統計圖

第三節 木香檳榔丸濃縮對兔子奧迪氏括約肌調控之結論

木香檳榔丸濃縮中藥對兔子奧迪氏括約肌之調控經由興奮 muscarinic receptor 而來，且有劑量相關依存性。

第五章 討論

第一節 麻醉對奧迪氏括約肌之影響

本實驗動物麻醉所選用的藥物分兩組：一組是誘導麻醉用藥，克太明 (Ketamine) 及安耐寧 (Xylazine)；另一組是維持麻醉用藥，克太明 (Ketamine)。

一、克太明 (Ketamine)

本實驗用來誘導麻醉及維持麻醉，使用濃度是 50 mg/ml，使用劑量是 35 mg/ml，肌肉注射。克太明一般只能夠讓動物不動 (immobility) 及進行如皮膚切片、刺青等小手術，所以一般必須配合其他肌肉鬆弛劑如本實驗中所用的安耐 (xylazine)，以達到誘導麻醉目的。克太明屬於解離性麻醉藥 (dissociative anesthesia drug)，其作用時間約 30 mins。由於會使血壓升高，抑制呼吸，所以須使用呼吸器以防止缺氧但不影響奧迪氏括約肌⁽⁵³⁾ 由於克太明作用時間短 (30 mins)，所以實驗過程中，須監測麻醉深度，隨時於需要時補充克太明。

二、安耐寧 (xylazin) Rompun⁽⁵⁴⁾

本實驗用來作誘導麻醉用藥物，使用濃度是 20 mg/ml，使用劑量是 5 mg/Kg，行肌肉注射。安耐寧屬於鎮靜、鎮痛及肌肉鬆弛用藥 (Sedative and analgesia drug) 與 ketamine 合用⁽⁵⁵⁾，可作長時間麻醉用藥。但由於本藥屬 alpha-2 adrenergic agonist，所以有可能會干擾奧迪氏括約肌，所以該藥不用來作維持麻醉用藥。使用本藥會引起血壓降低，心跳減緩及心跳中止⁽⁵⁶⁾，所以必須監測血壓變化。

三、克太明 (Ketamine) 合用安耐寧 (xylazine)

由於本實驗將 Ketamine 和 xylazine 合用，麻醉給藥 30 min 後，對生理的影響如下：

- (一)呼吸通常由原來的 60 降至 30 次左右。
- (二)血壓由原來 90 mmHg 降到 70 mmHg
- (三)心跳由原來的 220 次降到 180 次左右 (Sulli et al., 1991)
- (四)各種反射喪失所需的時間：

喪失翻正反應 (Loss of Righting reflex) : 2.5 ± 0.5 min

喪失咬合張力 (Loss of Jaw Muscle Tone) : 5.5 ± 1.5 min

喪失痛反射 (Loss of Toe Wed Pinch) : 8.2 ± 2.5 min

此外，以 Ketanine 加 xylazine 合用，能達到外科手術麻醉時間僅有 35.5 ± 6.5 mins，而兔子恢復清醒所需時間是 109.5 ± 13.2 mins。雖然外科手術麻醉時間僅有 35.5 ± 6.5 mins，但此組合，使用於貓、負鼠、兔子的奧迪氏括約肌之研究已經公認麻醉方法⁽¹¹⁾，以上這些生理數值及時間是我們用來進行實驗的重要參考指標。另外，此麻醉模式在本實驗室溫灸對降低兔子奧迪氏括約肌已證實是穩定的模式⁽²⁾。

第二節 奧迪氏括約肌的探討與實驗動物的選取

研究奧迪氏括約肌調控的研究，一般動物的選擇以雜食性動物貓、或草食性動物負鼠及兔子為主。

一、貓

貓的奧迪氏括約肌一般而言與人類的活動性相同，相對於草食性的負鼠及兔子則對某些荷爾蒙如 CCK 之反應則相反。選擇貓來做實驗動物。優點：(a) 麻醉容易，麻醉期安定；(b) 奧迪式括約肌的活動性與人類相似屬於 resistor type，在進實後會放鬆 SO 以利膽汁排入十二指腸，易於在生理學上做推論研究。缺點：貓對中國人而言認為是高靈性的動物、令人懼畏，多數人不願以其為實驗動物，並且來源不穩定。

二、選擇貓探討電針後腸道免疫染色組織變化的原因

貓腸道中之膽囊、奧迪式括約肌、十二指腸的組織型態及功能活動性與人類相似屬於 resistor type，在進行實驗後會放鬆 SO 以利膽汁排入十二指腸，易於在組織學及生理學上做推論研究。免疫染色用之抗體也易於購買取得。

三、兔子

在一般的研究環境中最易取得的動物為老鼠及兔子。而因為兔子 SO 在解剖與生理反應上與人類有某些差異⁽¹³⁾，其優點：(a) 其 SO 的解剖與生理活動性與負鼠相似。(b) 取得容易且其品種、重量、品管相當好。缺點：(a) 麻醉不易，兔子為難麻醉的動物之一⁽⁵⁷⁾。(b) 與人類及貓之 SO 在解剖與生理反應上有某些差異⁽¹²⁾。

四、選擇兔子探討科學濃縮中藥木香檳榔丸調控 SO 功能的原因

基於兔子取得容易且來源及管理品質有一定的水準，這是實驗動物必備的條件。兔子奧迪氏括約肌的動物模型，其生理學上的反應及功能機理的研究已經在國外有多篇的報導以是公認的模式。因此須要大量數據之實驗設計時選擇兔子作為此實驗用動物主要原因。

第三節 電針與手針參數的取捨

針刺手法，因其施針者及得氣後針刺手法不同而有不同的反應；又因流派各家傳技巧外人難窺其中奧秘，也因此其參數一直無法有效的科學化與量化。對研究者而言，參數的量化及標準化是極為重要的一環。而利用電針易於量化及標準化的優點，正可克服手法不易量化的缺點。因而此篇研究為了讓其他學者於針刺對 SO 的調控有更明確的依循準則，我們選擇電針參數為 2/15 Hz 交替等幅疏密波、電壓 1.5-2.5 伏特、電流約 2 毫安培、波寬 400 μ sec，交替波的使用是為了不造成神經的適應性。電壓 1.5-2.5 伏特、電流約 2 毫安培以其在兔子穴位上微微抖動為準，因電針的臨床使用也以微微抖動不造成痛覺為依規。

第四節 動物穴位之選擇

電針穴位之選擇以，右側期門穴 (Qimen, LR 14) ，為中醫經絡學肝經之募穴⁽⁴⁸⁾，其在兔子位於右側六、七肋肋軟骨交接處，屬於第六肋間神經分布區域。右側日月穴 (Riyue, GB 24) ，為中醫經絡學膽經之募穴⁽⁴⁷⁾，其在兔子位於右側七、八肋肋軟骨交接處，屬於第七肋間神經分布區域。且已有動物穴位標準化可查詢。

穴位選擇是基於體表－內臟反射調控 (Somatovisceral reflex) 與 "Referred Pain"理論；膽囊及膽道是由 Thoracic segment 7 及 Thoracic segment 8 nerves 所支配，而當膽囊及膽道有異常時，往往會藉由位於 T7 & T8 體表神經節支配的區域來以疼痛表現，而這區域正位於右肋期門穴 (Qimn, LR 14) 、日月穴 (Riyue, GB 24) 附近，與膽囊及膽道的節段神經支配相同。

先前電針之調控麻醉後兔子及貓 SO 之動物實驗模式以獲得國際醫學期刊之認可⁽¹⁾，因此我們依此參數設計實驗。

中醫針刺治療法中常有許多不同取穴法，本實驗是依體表－內臟反射調控 (Somatovisceral reflex) 與 "Referred Pain"理論選取右側期門穴 (Qimen, LR 14)肝經募穴 及右側日月穴 (Riyue, GB 24)膽經募穴做探討，是否左側期門穴 (Qimen, LR 14)、左側日月穴 (Riyue, GB 24)及其它取穴法中如原穴，俞穴，循經遠處取穴等是否有相同之調控奧迪氏括約肌作用我們須要做進一步之研究與探討。

第五節 濃縮中藥之選擇

一、為何選擇濃縮中藥？

選用濃縮中藥為國內衛生署認可合格之莊松榮 GMP 中藥廠製造，其藥物之基原及成品之鑑定均有一定之標準，且劑量使用上亦容易掌控。

二、為何選用濃縮中藥木香檳榔丸？

選用濃縮中藥木香檳榔丸作為對兔子 SO 調控之研究之原因，因為木香檳榔丸為臨床上胸腹積滯，痞滿結痛常用之處方，且適宜本實驗之設計灌食後 1 小時之觀察探討。

三、選用不同類型之中醫處方方劑濃縮中藥做比較

選用補血劑（四物湯）及補養劑（六味地黃丸）比較對兔子 SO 調控之研究（數據省略），發現其作用與消導攻裡劑（木香檳榔丸）對兔子 SO 調控作用相反，顯示中藥處方劑型分類有其一定歸類法則。

四、其它中藥方劑之探討？

其它常用於治療上胸腹積滯，痞滿結痛常用之處方如大柴胡湯、柴胡疏肝散、茵陳蒿湯、龍膽瀉肝、木香順氣散、溫膽湯及逍遙散等等，是否有相同之調控奧迪氏括約肌作用，我們須要做進一步之研究與探討。

第六節木香檳榔丸濃縮中藥之生藥基源與成品鑑定

一、生藥基源：

(一)木香 *Saussureae Radix*

基源：本品為菊科(Compositae)植物廣木香 *Saussurea lappa* Clarke 之乾燥根。

(二)檳榔 *Arecae Semen*

基源：本品為棕櫚科(Palmae)植物檳榔 *Areca catechu* L.之乾燥成熟種子。

(三)枳殼 *Aurantii Fructus*

基源：本品為芸香科(Rutaceae)植物酸 *Citrus aurantium* L.或香圓 *Citrus wilsonii* Tanaka.及同屬近緣植物之成熟果實。

(四)青皮 *Citri Viridi Pericarpium*

基源：本品為芸香科(Rutaceae)植物柑橘 *Citrus reticulatae* Blanco 及同屬近緣植物未成熟果實或乾燥外果皮。

(五)陳皮 *Citri Reticulatae Pericarpium*

基源：本品為芸香科(Rutaceae)植物柑橘 *Citrus reticulatae* Blanco. 及同屬近緣植物成熟果實之新鮮或乾燥外果皮。

(六)莪朮 *Zedoariae Rhizoma*

基源：本品為薑科(Zingiberaceae)植物莪朮 *Curcuma zedoaria* Rosc. 之乾燥根莖。

(七)三稜 *Scirpi Rhizoma*

基源：本品為黑三稜科(Sparganiaceae)植物黑三稜 *Sparganium racemosum* Huds. 或莎草科(Cyperaceae)植物荊三稜

Scirpus yapara Ohwi 或近緣植物去皮乾燥之塊狀根莖。

(八)黃柏 *Phellodendri Cortex*

基源：本品為芸香科 (*Rutaceae*) 植物黃柏 *Phellodendron amurense* Rupr. 及同屬植物除去外表栓皮之乾燥樹皮。

(九)黃連 *Coptidis Rhizoma*

基源：本品為毛茛科 (*Ranunculaceae*) 植物日本黃連 *Coptis japonica* Makino.；植物家黃連 *Coptis teeta* wallich.；野黃連 *Coptis chinensis* Franch. 及同屬近緣植物除去鬚根之乾燥根莖。

(十)大黃 *Rhei Rhizoma*

基源：本品為蓼科 (*Polygonaceae*) 植物掌葉大黃 (北大黃) *Rheum palmatum* L.；甘肅大黃 *Rheum tanguticum* Maxim.；葯用大黃 (南大黃) *Rheum officinale* Baill. 等之乾燥根莖。

(十一)黑丑 *Pharbitidis Semen*

基源：為旋花科 (*Convolvulaceae*) 植物牽牛 *Ipomoea hederacea* Jacq. 或毛牽牛 *Ipomoea purpurea* (L.) Lam. 乾燥成熟種子。

(十二)香附 *Cyperi Rhizoma*

基源：本品係莎草科 (*Cyperaceae*) 植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 之乾燥根莖。

(十三)芒硝 *Depuratum Mirabilitum*

基源：本品係由鹽鹵地生產之硫酸鈉精製而成。

二、成品鑑定

本研究所用之木香檳榔丸濃縮細粒成品，委託莊松榮製藥廠有限公司製作。其檢驗方法如下：

(一) 成分：每 6.0 g 中含有

中藥名	重量(g)	中藥名	重量(g)
木 香	1.00	黃 柏	1.00
檳 榔	1.00	黃 連	1.00
枳 殼	1.00	大 黃	2.00
青 皮	1.00	黑 丑	4.00
陳 皮	1.00	香 附	4.00
莪 朮	1.00	芒 硝	2.00
三 稜	1.00		

註：以上生藥製成浸膏 4.00g (生藥與浸膏比 21.0 : 4.0 = 5.25 : 1.00)，澱粉 2.00g

(二) 外觀：褐色細粒

(三) 鑑別：

1. 薄層層析法：

(1) 木香

- a. 藥材對照溶液：超音波，取木香粉末 2.0g，加甲醇 10ml，在超音波洗淨器中振盪 30 分，過濾，取濾液。
- b. 檢體溶液：取相當於木香 2.0g 之成品，加甲醇 20ml，在超音波洗淨器中振盪 30 分，過濾，取濾液。
- c. 薄層層析板：TLC Aluminium Sheets Silica gel 60 F₂₅₄ 20x20 (Merck)
- d. 展開溶媒：四氯化碳：丙酮(7：3)

- e. 點注量：①5 μ l ②10 μ l
- f. 展開距離：5.5 公分
- g. 檢出方法：Vanillin H₂SO₄ T.S spray (於 105°C，加熱 5 分)
- h. 結果：檢體溶液，藥材對照溶液在 Rf=0.71 有相同紫色色點。



(2) 枳殼

- a. 藥材對照溶液：取枳殼粉末 2.0g，加甲醇 10ml，在水浴上迴流 30 分，冷卻後，過濾，取濾液。
- b. 檢體溶液：取相當於枳殼 2.0g 之成品，加甲醇 20ml，在水浴上迴流 30 分，冷卻後，過濾，取濾液。
- c. 薄層層析板：TLC Aluminium Sheets Silica gel 60 F₂₅₄ 20x20 (Merck)
- d. 展開溶媒：乙酸乙酯：甲醇：水(8：2：1)
- e. 點注量：①5 μ l ②10 μ l
- f. 展開距離：5.5 公分
- g. 檢出方法：U.V254nm。
- h. 結果：檢體溶液，藥材對照溶液在 Rf=0.55 有相同暗色色點。



(3) 青皮、陳皮

- a. 藥材對照溶液：取青皮粉末 2.0g，加甲醇 10ml，在水浴上迴流 30 分，冷卻後，過濾，取濾液。
- b. 藥材對照溶液：取陳皮粉末 2.0g，加甲醇 10ml，在水浴上迴流 30 分，冷卻後，過濾，取濾液。
- c. 檢體溶液：取相當於青皮、陳皮 2.0g 之成品，在水浴上迴流 30 分，冷卻後，過濾，取濾液。
- d. 薄層層析板：TLC Aluminium Sheets Silica gel

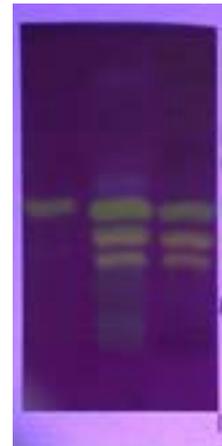


60 F254 20x20 (Merck)

- e. 展開溶媒：乙酸乙酯：甲醇：水(8：2：1)
- f. 點注量：①5 μ l ②5 μ l③10 μ l
- g. 展開距離：5.5 公分
- h. 檢出方法：U.V254nm
- i. 結果：檢體溶液，藥材對照溶液在 $R_f=0.55$ 有相同暗色色點。

(4) 黃柏、黃連

- a. 藥材對照溶液：取黃柏粉末 2.0g，加甲醇 10ml，在超音波洗淨器中振盪 30 分，過濾，取濾液。
- b. 藥材對照溶液：取黃連粉末 2.0g，加甲醇 10ml，在超音波洗淨器中振盪 30 分，過濾，取濾液。
- c. 檢體溶液：取相當於黃柏、黃連 2.0g 之成品，加甲醇 20ml，在超音波洗淨器中振盪 30 分，過濾，取濾液。
- d. 薄層層析板：TLC Aluminium Sheets Silica gel
60 F254 20x20 (Merck)
- e. 展開溶媒：正丁醇：水：冰醋酸(7：2：1)
- f. 點注量：①5 μ l②5 μ l③10 μ l
- g. 展開距離：5.5 公分
- h. 檢出方法：U.V366nm
- i. 結果：檢體溶液，藥材對照溶液在 $R_f=0.40$ 有相同黃螢光色色點。



(5) 大黃

- a. 藥材對照溶液：取大黃粉末 2.0g，加甲醇 10ml，在超音波洗淨器中振盪 30 分，過濾，取濾液。
- b. 檢體溶液：取相當於大黃 2.0g 之成品，加甲醇 20ml，在超音波洗淨器中振盪 30 分，過濾，取濾液。

c. 薄層層析板：TLC Aluminium Sheets Silica gel 60 F254 20x20 (Merck)

d. 展開溶媒：乙酸乙酯：甲醇：水(8：2：1)

e. 點注量：①5 μ l②10 μ l

f. 展開距離：5.5 公分

g. 檢出方法：U.V.254nm。

h. 結果：檢體溶液，藥材對照溶液在 $R_f=0.60$ 有相同暗色色點。



i. 呈色試驗：芒硝之鈉鹽及硫酸鹽：取本品 5g，加水 30ml 振搖混合，過濾，取濾液 2ml，加入焦銻酸鉀溶液，放置後則生成白色結晶性沉澱-----鈉鹽。取本品 5g，加水 30ml 振搖混合，過濾，取濾液 5ml，加入氯化鉍試液 1ml，則生成白色沉澱，其沉澱加鹽酸或硝酸皆不溶解-----硫酸鹽。

(四) 馬兜鈴酸之鑑別：

a. 準品對照溶液：取馬兜鈴酸對照標準品約 2.0mg，精確稱重，加乙醇溶解並定容至 10ml，供作標準品溶液。

b. 檢體溶液：取相當於木香 3.0g 之成品，乙醇 10ml，在超音波洗滌器中振搖 30 分，過濾，取濾液，供作檢品溶液

c. 薄層層析板：TLC Aluminium Sheets Silica gel 60 F254 20x20 (Merck)

d. 展開溶媒：氯仿：乙醇：乙酸乙酯 (17：3：1)

e. 點注量：①10 μ l②10 μ l

f. 展開距離：10.0 公分

g. 檢出方法：① U.V.254nm。

h. 結果：就檢體溶液與標準品溶液之顏色及 R_f 值比對鑑別，檢品不得檢出。



(五) 乾燥減重：

取檢品約 5g，於赤外線水分測定器上測定之(105°C 30 分)，其乾燥減重為 12.0%以下。

(六) 灰分：

磁製坩堝預先於 500 ~ 550°C 加熱 1 小時，放冷後精確稱重再於坩堝內精取檢品 2~ 4g，先在電爐上燃燒至無煙為止，移至 500 ~ 550°C，之焚化爐內焚化四小時，然後置於矽膠乾燥器內，冷卻至室溫，再精確稱量，最後計算灰分之百分比為 12.0%以下。

(七) 酸不溶性灰分：

將上述熾灼所得之總灰分加稀鹽酸 25ml，煮沸 5 分鐘，不溶物以無灰濾紙過濾，再以熱水充分洗淨後依灰分測定同樣操作，放入已知重量之坩堝中，先於電爐上燃燒至無煙，再移至 500 ~ 550°C 之焚化爐三小時，於乾燥器內放冷，精確稱量，計算此酸不溶性灰分之百分比為 2.0 %以下。

(八) 稀醇抽提物：

取檢品約 2g 精確稱重，置三角燒瓶中，加稀醇 70ml，偶而(約 30 分) 振搖一次，浸漬 5 小時，再靜置 16 ~20 小時後過濾，三角燒瓶及殘留物以稀醇洗滌至濾液達 100 ml，取濾液 50ml，置已知重量之蒸發皿中，於水浴鍋上蒸乾並於 105°C 乾燥 4 小時，於乾燥器中放冷，精確稱重，將所得抽提含量乘以 2，計算抽提物含量之百分比為 20.0 %以上。

(九) 水抽提物：

按照上項稀醇抽提物測定法，以水抽提測定之，精確稱重所得水抽提物含量乘以 2，計算此抽提物含量百分比為 22.0 %以上。

(十) 重金屬試驗：

- ① 本法係檢查藥品中含有遇硫離子即可顯色之重金屬限量之用，以百萬分中含鉛之量表示之。其限量可由檢品溶液與標準鉛溶液作對照試驗以測之。

第一法應用於依規定配製之檢液為無色之物質。第二法應用於有色物質、固定油、揮發性油及生成重金屬硫化物時之沉澱作用受到干擾之物質。第三法適於用氫氧化鈉試液溶解得無色溶液之物質。

- ② 檢品溶液：

取檢品 1g 置坩堝中，用小火熾灼至充分碳化，冷卻後加 2ml 硝酸，5 滴硫酸，小心加熱至不再生白煙，然後於 500~550 °C 熾灼至碳分完全消失，放冷，加 2ml 鹽酸，水浴鍋上蒸乾，殘留物加鹽酸 3 滴潤濕，再加熱水 10ml，溫漬 2 分鐘，加 1 滴酚試液，滴加氨試液直到溶液呈淡紅色，加 2ml 稀醋酸，過濾，必要時用 10ml 水洗殘渣，轉移洗液與濾液置一 50ml 納氏管中加水至 50ml，混合均勻。

- ③ 對照溶液：坩堝中加 2ml 硝酸，5 滴硫酸，2ml 鹽酸，水浴上蒸乾，殘留物加鹽酸 3 滴潤濕，再加熱水 10ml，溫漬 2 分鐘，加 1 滴的酚試液，滴加氨試液直到溶液呈淡紅色，加 2ml 稀醋酸，過濾，必要時用 10ml 水洗殘渣，轉移洗液與濾液置一 50ml 納氏管中精確量取 1ml 之標準鉛溶液(其所含鉛量應與檢品規定之重金屬限量相當)，加水至 50ml，混合均勻。

(所使用標準鉛溶液為默克公司已配製妥之標準鉛溶液， $cPb=1,000 \pm 0.002g/l$ $Pb(NO_3)_2$ in HNO_3 0.5mol/l) 標準鉛溶液配製：取 1000 ppm 之標準鉛溶液 1ml 加水至 10ml。

- ④ 操作法：

檢品溶液與對照溶液各加 1 滴硫化鈉試液混勻，放置五分鐘。然後將兩管並立白紙上，由管口向下檢視比較之，檢品溶液不得較對照溶液之色為深，則檢品所含重金屬之量相當於

100 ppm 以下。

(十一)重量差異試驗：

取本品 10 瓶精稱內容物，計算平均重量，其平均重量應為理論重量之 100~103 %，其重量差異超過理論重量之 +3 % 者，不得超過 2 瓶，其最大差異不得超過理論重量之 +5 %。

第七節 木香檳榔丸調控奧迪氏括約肌有效成份之預測

Muscarinic acetylcholine receptors 目前被認定為共分五類 M1—M5，其生理現象亦有所差異，其中 M1 receptor 調控神經傳導物質尤其在皮質及海馬迴，M2 receptor 可引發心律變慢、顫抖、低溫及許多腦部區自動抑制的釋出，M3 receptor 可引發外泌腺體分泌、平滑肌收縮，瞳孔放大、進食及增加體重，M4 receptor 調控活化 dopamine 之運動系統及紋狀體自主受體之抑制，M5 receptor 可調控中樞 dopamine 之功能及中樞血管之張力⁽⁵⁸⁾。

木香檳榔丸處方中有許多生藥可引發腸道平滑蠕動增強如檳榔、大黃、黑丑、莨菪、木香、青皮及陳皮等。其中醫學文獻常討論的檳榔主成份之檳榔鹼 (arecoline) 及檳榔次鹼 (arecolidine)，其作用可引起腺體分泌增加，特別是唾液分泌增加，滴眼時可使瞳孔縮小，另外可增加腸蠕動、縮收支氣管、減慢心跳速率，並可引起血管擴張、血壓下降，亦能興奮 Nicotinic receptors 引發興奮骨骼肌及神經節⁽⁵⁹⁾。又有文獻指出檳榔鹼 (arecoline) 可引活化 Muscarinic M1 receptors 產生止痛效應其效應可被 pirenzepine 阻斷⁽⁶⁰⁾；檳榔鹼 (arecoline) 及檳榔次鹼 (arecolidine) 可興奮 Muscarinic M3 receptors 引起 guinea-pig 膽囊收縮⁽⁶¹⁾。

木香檳榔丸處方中檳榔鹼 (arecoline) 及檳榔次鹼 (arecolidine) 可能是調控奧迪氏括約肌之主要成份之一，其中是否亦引發其他 Muscarinic acetylcholine receptors 之興奮或者木香檳榔丸中其它之生藥也有相關效應仍須做進一步之探討與研究。

第八節 針刺、溫灸及中藥方劑木香檳榔丸之臨床適用性

一、針刺

依實驗的結果顯示：(一)針刺麻醉後貓及兔子右側期門、日月穴可促使 CCK 釋出及血漿濃度升高，調控奧迪氏括約肌⁽¹⁾。(二)針刺麻醉後貓右側期門、日月穴可促使 CCK 分泌細胞及 VIP 神經活性增強，進而調控奧迪氏括約肌。

二、溫灸

依實驗的結果顯示，溫灸麻醉後貓及兔子右側日月穴可促使 NO 釋出進而調控奧迪氏括約肌⁽²⁾。

三、中藥方劑木香檳榔丸

依實驗的結果顯示，以中藥方劑木香檳榔丸灌食麻醉後兔子，興奮副交感神經 muscarinic receptors，調控了奧迪氏括約肌。

初步解釋中醫治療三大主軸針、灸、藥調控 SO 之互相關係。臨床上或許可以適用在膽石症尤其是細小結石，奧迪氏括約肌功能不良等病人，其中包括膽石症手術後奧迪氏括約肌功能弛緩不良或手術後膽道有殘餘小結石的病人，甚至於一些肝後性鬱積型的肝炎、黃疸病人；可依針、灸、藥此一系列之研究機轉，供臨床醫師在相關之病症條件來使用及證實。

第六章 結論

一、PART I 貓：組織免疫學染色篇

麻醉的貓右側肝、膽經之期門、日月穴經電針 20 分鐘後，經組織免疫學染色後發現膽囊、奧迪氏括約肌、十二指腸 CCK 分泌細胞及 VIP 神經表現增強。

二、PART II 兔子：濃縮中藥木香檳榔丸篇

麻醉的兔子經鼻胃管灌食不同劑量的木香檳榔丸（0.25 gm；0.5 gm；1.0 gm；2.0 gm）60 分鐘內對兔子的奧迪氏括約肌有不同程度之調控，且有藥物劑量之依存性；其作用機轉經由興奮副交感神經 muscarinic M1 receptors。

參考文獻

1. Chiu JH, Kuo YL, Lui WY, Wu CW and Hong CY: Somatic Electrical Nerve Stimulation Regulates the Motility of Sphincter of Oddi in Rabbits and Cats Evidence for a Somatovisceral Reflex Mediated by Cholecystokinin. *Digest Dis Sci*, 44:1759-67, 1999.
2. Chiu JH, Chen YL, Lui WY and Hong CY: Local heat stimulates nitric oxide synthesis as a mediator for the neural relaxation of the feline sphincter of Oddi. *Life Sci*, 63:413-28, 1998
3. 清, 汪昂, 醫方集解, 昭人出版社, 台中, pp90-91, 1979
4. Oddi RD: Disposition a sphincter speciae de l'ouverture du canal choledoque. *Arch Ital Biol*, 8:317-22, 1887
5. Hendrickson WF. A study of the musculature of the entire extrahepatic biliary system, including that of the duodenal portion of the common bile duct and of the sphincter. *Johns Hopkins Hosp Bull*, 9:221-32, 1898
6. Funch-Jensen P. Ebbelhøj N : Sphincter of oddi motility. *Scand J Gastroentero*, 31Supple 216:46-51, 1996
7. Boyden EA: The sphincter of Oddi in man and certain representative mammals. *Surgery*, 1:25-37, 1937
8. Teilum D: In vitro measurement of the length of the sphincter of Oddi. *Endoscopy*, 1:114-6, 1991
9. Tooali J: Sphincter of Oddi motility. *Br J Surg*, 71:251-6, 1984
10. Ono K, Watanabe N, Suzaki K, Tsuschida H, Sugiyama Y and Abo M. Bile flow mechanism in man. *Arch Surg*, 96:869-74, 1968
11. Sarles JC, Bidart JM and Devaux MA: Action of cholecystokinin and caerulein on the rabbit sphincter of Oddi. *Digestion*, 14:415-23, 1976
12. Toouli J, Dodds WJ, Honda R, Sarna S, Hogan WJ, Komarowstki RA, Linehan JH and Arndorfer RC. Motor function of the opossum sphincter of Oddi. *J Clin Invest*, 71:208-20, 1983
13. Sarles JC, Delecourt P, Castello H, Gaeta L, Nacchiero M, Amoros JP, Devaux MA, Award R: Active of gastrointestinal hormones on the myoelectric activity of the sphincter of Oddi in living rabbit. *Regul Peptides*, 2:114-24, 1981

14. Coruzzi G, Adami M and Bertaccini G : Gastric antisecretory activity of telenzepine , a new M1-selective muscarinic antagonist : comparison with pirenzepine. *Arch Int Pharmacod T*, 302:232-41, 1989
15. Micheletti R, Schiavone A, Angelici O, Duranti P, Giudici L, Cereda E and Donetti A. Affinity profile of the novel muscarinic antagonist, guanylpirenzepine. *Life Sci*, 47:PL55-8, 1990
16. Persson CGA. Adrenoreceptor functions in the cat choledochoduodenal junction in vitro. *Br J Pharmacol*, 42:447-61, 1971
17. Takahashi I, Dodds WJ, Hogan WJ, Itoh Z and Baker K: Effect of vagotomy on biliary-tract motor activity in the opossum. *Digest Dis Sci*, 33:481-9, 1988
18. Burnstock G: Post and correct evidence for the perineuric nerve hypothesis. In *Physiological and Regulatory functions of Adenosine and Adenine Nucleotides*, ed. By Baer HP and Drummond GI, Raven Press, New York pp 2-32, 1979
19. Gillespie, J.S.: Non-adrenergic non-cholinergic inhibitory control of gastrointestinal motility. In *Motility of the Digestive Tract*. ed by Wienbeck M, Raven Press, New York, pp 51-66, 1982
20. Vanderwinden JM, Mailleus P, Schiffmann SN, Vandershaeghen JJ and De L MH: Nitric oxide synthase activity in infantile hypertrophic pyloric stenosis. *New Engl J Med*, 327: 515-7, 1992
21. Pauletzki JG, Sharkey KA, Davison JS, Bomzon A and Shaffer EA: Involvement of L-arginine-nitric oxide pathways in neural relaxation of the sphincter of Oddi. *Eur J Pharmacol*, 232:263-70, 1993
22. Mourelle M, Guarner, Moncada S and Malagelada JR: The arginine/nitric oxide pathway modulates sphincter of Oddi motor activity in guinea pigs and rabbits. *Gastroenterology*, 105:1299-305, 1993
23. Kaufman HS, Shermak MA, May CA, Pitt HA and Lillemoe KD: Nitric oxide inhibits resting sphincter of Oddi activity. *Am J Surg*, 165:74-80, 1993
24. Han JS, Wang Q: Mobilization of specific neuropeptides by peripheral stimulation of identified frequencies. *NIPS*, 7:176-80, 1992
25. Larsson LI, Childers S, Snyder SH: Met- and Leu-enkephalin immunoreactivity in separate. *Neurones*, 282:407-10, 1979
26. Behar J, Biancani P: Neural control of the sphincter of Oddi: Physiologic

- role of enkaphalins on the regulation of basal sphincter of oddi motor activity in the cat. *Gastroenterology*, 86:134-41, 1984
- 27.Han JS, Ding XZ and Fan SG: The frequency as the cardinal determinant for electroacupuncture analgesia to be reversed by naloxone. *Acta Physiol Sin*, 38:475-82,1986
 - 28.Sarles JC: Hormonal control of sphincter of Oddi. *Digest Dis Sci*, 31:208-12, 1986
 - 29.Grider JR: Role of cholecystokinin in the regulation of gastrointestinal motility. *J Nutr*, 124:1334S-9S, 1994
 - 30.Dahlstrand C, Dahlström A, Theodorsson E, Rehfeld J and Ahlman H: Is the CCK-8 induced relaxation of the feline sphincter of Oddi mediated by VIP neurons? *J Autonom Nerv syst*, 31: 75-84, 1990
 - 31.Behar J and Biancani P: Pharmacologic Characterization of excitatory and inhibitory cholecystokinin receptors of the cat gallbladder and sphincter of Oddi. *Gastroenterology*, 92:764-70, 1987
 - 32.Liddle RA: Cholecystokinin cells. *Annu Rev Physiol*, 59:221-42, 1997
 - 33.Corp EC, Curcio M, Gibbs J and Smith GP: The effect of centrally administered CCK-receptor antagonists on food intake in rats. *Physiol Behav*, 61:823-7, 1997
 - 34.Faris PL, Komisaruk BR, Watkins LR, Mayer DJ: Evidence for the neuropeptide cholecystokinin as an antagonist of opiate analgesia. *Science*, 219:310-2,1983
 - 35.Han JS, Tang J, Huang BS, Liang XN, Zhang WQ: Acupuncture tolerance in rats: anti-opiate substrates implicated. *Chin Med J-Peking* 92:625-7, 1979
 - 36.Wiley JW, O'Dorisio TM and Owyang C: Vasoactive intestinal polypeptide mediates cholecystokinin-induced relaxation of the sphincter of Oddi. *J Clin Invest*, 81:1920-4, 1988
 - 37.Alumets J, Schaffalitzky De Muckadell O, Fahrenkrug J, Sundler F, Hakanson R, Uddman R: A rich VIP nerve supply is characteristic of sphincters. *Nature*, 280:155-6, 1979
 - 38.Dahlstrand C, Theodorsson E, Dahlström A and Ahlman H: VIP antisera inhibit the relaxatory motor response of feline sphincter of Oddi and gallbladder induced by VIP or vagal nerve stimulation. *Acta Physiol Scand*, 137:375-8, 1989

39. Guelrud M, Rossiter A, Souney PF, Mendoza S and Mujica V: The effect of transcutaneous nerve stimulation on sphincter of Oddi Pressure in Patients with Biliary Dyskinesia. *Am J Gastroenterol*, 86: 581-5, 1991
40. Grider JR, Murthy KS, Jin JG and Makhlof GM: Stimulation of nitric oxide from muscle cells by VIP: prejunctional enhancement of VIP release. *Am J Physiol*, 262:G774-8, 1992
41. Wyatt AP: The relationship of the sphincter of Oddi to the stomach, duodenum and gall-bladder. *Am J Physiol*, 193:225-43, 1967
42. Thune A, Thornell E and Svanvik J. Reflex regulation of flow resistance in the feline sphincter of Oddi by hydrostatic pressure in the biliary tract. *Gastroenterology*, 91 1364-9, 1986
43. Thune A, Saccone GTP, Scicchitano JP and Toouli J: Distension of the gallbladder inhibits sphincter of Oddi motility in man. *Gut*, 32:692-3, 1991
44. Steinberg WM: Sphincter of Oddi dysfunction: A clinical controversy. *Gastroenterology*, 95:1409, 1988
45. Acosta JM and Ledesma CL : Gallstone migration as a cause of acute pancreatitis. *New Engl J Med*, 290:484, 1974
46. Hogan WJ, Geenen JE: Biliary dyskinesia. *Endoscopy*, 20:179, 1988
47. 林昭庚, 新針灸大成, 中國醫藥學院針灸研究中心出版, 台中, pp655, 1993
48. 林昭庚, 新針灸大成, 中國醫藥學院針灸研究中心出版, 台中, pp671, 1993
49. 黃維三, 針灸科學, 國立編譯館出版, 臺北, pp519, 1985
50. Dal Monte PR, D'imperio M, Ferri M, Fratucello F and del Soldato P: A combination of pirenzepine and cimetidine: a new approach to treatment of duodenal ulcer in 'non-responders'. *Hepato-gastroenterol*, 32:126-8, 1985
51. Bardhan KD, Thompson M, Bose K, Hinchliffe RFC, Crowe J, Weir DG, McCarthy C, Walters J, Thomson TJ, Thomson MH, Gait JE, King C and Prudham D: Combined anti-muscarinic and H₂ receptor blockade in the healing of refractory duodenal ulcer. A double blind study. *Gut*, 28:1505-9, 1987
52. Thune A, Jivegard L, Svanvik J: Flow resistance in the choledochoduodenal sphincter as studied by constant-pressure and constant-

- perfusion techniques. *Acta Physiol Scand*, 135:279-84, 1989
53. Fass J, Bares R, Hermsdorf V, Schumpelick V. Effect of intravenous ketamine on gastrointestinal motility in the dog. *Intens Care Med*, 21:584-9, 1995
 54. Sulli JP, Mehmet CO, Peggy G, Antorine F and Dennis FK: Comparison of xylazine with tiletamine-zolazepam (Telazol) and xylazine-ketamine anesthesia in rabbits. *Lab Anim Sci*, 41: 51-3, 1991
 55. Marini RP, Avison DL, Corning BF and Lipman NS: Ketamine/ Xylazine/ Butorphanol: A new anesthetic combination for rabbits. *Lab Anim Sci*, 42:57-62, 1992
 56. Lipman NS, Marini RP and Erdman SE: A comparison of ketamine/ xylazine and ketamine/ xylazine/ acepromazine anesthesia in the rabbit. *Lab Anim Sci*, 40:395-8, 1990.
 57. Jefferey DW, Roland AWS and Mary ER: The effects of prolonged ketamine-xylazine intravenous infusion on arterial blood pH, blood gases, mean arterial blood pressure, heart and respiratory rates, rectal temperature and reflexes in the rabbit. *Lab Anim Sci*, 39: 411-6, 1989
 58. Bymaster FP, McKinzie DL, Felder CC, Wess J: Use of M1-M5 muscarinic receptor knockout mice as novel tools delineate the physiological roles of the muscarinic cholinergic system. *Neurochem Res*, 28 : 437-42, 2003
 59. 江蘇新醫學院, 中藥大辭典, 上海科學技術出版社, 上海, pp2525-8, 1991
 60. Ghelardini C, Galeotti N, Lelli C, Bartolini A: M1 receptor activation is a requirement for arecoline analgesia. *Farmacologia*, 56: 383-5, 2001
 61. Eltze M, König H, Ullrich B, Grebe T : Contraction of guinea-pig gallbladder muscarinic M3 or M4 receptor? *Euro J Pharmacol*, 332: 77-87, 1997

Effect of Electroacupuncture and Muh-Shiang Bin-Lang-Wan on Sphincter of Oddi in Anesthetized Animal : Immuohistochemistry and Mechamism Studies

Kuo Yung-Ling
Advisor: Lin Jaung-Geng

Institute of Chinese Medical Science of China Medical University

The sphincter of Oddi (SO) plays an important role in regulating the bile flow into the duodenum. According to Chinese literatures, many chest and abdomen acupoints and Chinese medicine drugs could treat acute abdomen diseases. Our previous studies demonstrated that electroacupuncture (EA) modulated the SO motility in rabbits and cats through activation of non-adrenergic non-cholinergic (NANC) pathway. Now ; We had designed two studies to investigate the changes of SO

Part I : This study designed to investigate the changes of neurotransmitters such as CCK and VIP in lower biliary tract in cats receiving EA stimulation. After cats were anesthetized with intramuscular injection of ketamine hydrochloride, they were prepared to conduct EA stimulation on right Qimen (LR14) and Riyue (GB24). The parameters of EA were 6 pulses/ 3 sec and 45 pulses/ 3sec alternatively in frequency, 1-2 mA in intensity and 20 min in stimulation duration. After the completeness of EA stimulation, visceral organs such as gallbladder, duodenum and the sphincter of Oddi were removed and frozen for immunohistochemistry localization of CCK and VIP. The results showed that the distribution of CCK-labelled cells in duodenum, gallbladder and SO were more and distinct after EA than before EA stimulation. Whereas, the VIP-labelled cells were significantly more and distinct in duodenum and SO, but not in gall bladder. We conclude that EA regulates the billiary motility though increasing the distribution of CCK- and VIP- containing cells in duodenum and the sphincter of Oddi.

Part II : This study was designed to investigate the effect of Chinese Medicinal Herbs MUH-SHIANG-BIN-LANG-WAN (MSBLW) and their mechanism of action on regulating the motility of SO in rabbits. The activity of SO in anesthetized rabbits was measured by using a continuously perfused open-tip manometric method. The rabbits were crammed with different doses of MSBLW through naso-gastric tubes. The SO motility before and after the administration of MSBLW were recorded, and analyzed with a computer equipped with an off line analysis software. The results showed that the SO activity, in terms of tonic pressure and phasic contraction pressure, were significantly changed with a dose-dependent manner. A significant lower tonic pressure and a higher phasic contraction pressure were noticed 40-60 min after administration of MSBLW with the peak response at 0.5-1.0 gm range. The responses were blocked by pretreatment of muscarinic receptors (M1) antagonist, pirenzepine (10mg/kg). We conclude that MSBLW is effective in increasing the SO motility through activation of M1 muscarinic receptors, which provides an evidence-based application of MSBLW in the treatment of biliary disorders.

謝 辭

中醫所博士班 5 年半來的求學過程裏，歷經了匆忙奔波勞累但又快樂的研究實驗過程，但因堅持投稿的品質也歷經近 2 年期待的煎熬，當下在寫謝辭中回憶起往事百感交集。

感謝，指導老師林昭庚教授多年來的指導與贈送中西醫病名對照大辭典一書中”盼為中醫立言”之勉勵；謝慶良教授研究治學嚴謹的態度令我受益匪淺；邱仁輝教授在陽明大學傳醫所針灸實驗室，提供最大的支持，使我在研究實驗過程中每周在台北 3 天的時間能密集做實驗，順利完成學業。

感謝，博士口試中，張永賢副校長、陳光偉所長、李德茂主任及成功大學鄭瑞棠教授細心的指導與建言。

感謝，論文修改中，陳悅生副教授及周美惠助教細心逐字的校正使得以完美呈現。

感謝，求學行醫生涯中，一直諄諄教導提攜的鍾永祥老師，張步桃老師及陳榮洲教授。

最後感謝，家人多年來的支持與諒解，謹以此冊論文之成果獻上。

現今，博士學業已告一段落，但我仍不斷的在享受 5 年半來點點滴滴的求學過程，不管其酸甜苦辣，因為我為夢想付諸於行動。

勇麟 感謝您們

2003/12/25