

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

靜脈補充魚油乳化物對內毒素血症大白鼠體內血液凝集及
炎症介質的效應

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC93-2320-B-034-001-

執行期間：93年08月01日至94年07月31日

執行單位：中國文化大學食品營養學系

計畫主持人：謝建正

計畫參與人員：楊湘晨，胡和文

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 94 年 10 月 17 日

中文摘要

敗血症 (sepsis) 是加護病房病患死亡的主要原因之一，雖然急症照護醫學有長足的進步，但是敗血性休克病患的死亡率仍然居高不下，約有 46%~82%。敗血性休克反應的症狀有發燒、低血壓、瀰漫性血管內凝血反應 (disseminated intravascular coagulation, DIC) 及器官損傷，這些損傷能夠造成多重器官衰竭 (multiple organ failure, MOF)。DIC 反應是敗血性休克的症狀之一，其特徵是凝血作用過度活化，造成纖維蛋白形成與沉積，病理研究證明因 DIC 反應而死亡的病患其組織血管內有纖維蛋白存在。此外，實驗亦證實有效抑制 DIC 反應，確能降低死亡率。因此預防或治療血液凝集病變反應是照護敗血症個體的重要課題之一。

近年來，有研究顯示補充魚油可降低高血脂症個體的血脂質含量，也可以抑制凝血反應，減少血栓產生，因此可以降低罹患心血管疾病的風險。此外，基礎與臨床研究均顯示以靜脈營養方式補充魚油乳化物，可降低敗血症個體的發炎反應。然而，目前尚無研究報告探討膳食補充魚油對敗血症個體血液凝集病變與器官功能喪失的效應，我們計畫探討這些問題。

實驗中，雄性 SD (Sprague-Dawley) 大白鼠經口補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油 30 天，劑量為每天 4 ml/kg。補充 30 天後，將測量血液凝集參數，包括凝血酶原時間 (prothrombin time, PT)、活化部份凝血酶時間 (activated partial thromboplastin time, APTT)、纖維蛋白原 (fibrinogen, FIB) 及 d-雙元體 (d-dimer) 含量。結果顯示補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油大白鼠的血液凝集參數彼此間無差異。並且測量血清丙胺酸轉胺酶 (alanine transaminase, ALT)、全膽紅素 (total bilirubin, TBIL) 以評估肝臟功能。測量血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、肌酸酐 (creatinine, CRE) 以評估腎臟功能。血清生化值結果顯示各組實驗動物補充油脂後，肝臟與腎臟功能均維持正常。更進一步研究補充油脂對於經盲腸結紮穿孔 (cecal ligation and puncture, CLP) 手術造成敗血症的大白鼠的效應，結果顯示生理食鹽水補充組大白鼠接受 CLP 手術 14~18 小時後，產生明顯 DIC 反應徵象，包括凝血酶原時間 (22.6 ± 1.6 vs. 42.4 ± 3.5 秒, $p < 0.05$)、活化部份凝血酶時間 (52.6 ± 1.4 vs. 107.9 ± 10.2 秒, $p < 0.05$) 均顯著延長，而且血漿纖維蛋白原含量降低 (432.9 ± 44.9 vs. 231.2 ± 52.0 mg/dl, $p < 0.05$)。在補充魚油與紅花籽油的敗血症大白鼠，並未出現明顯的 DIC 徵象。相反的，補充椰子油並未改善敗血症大白鼠的血液凝集病變。此外，補充生理食鹽水的敗血症大白鼠出現明顯的肝腎功能缺損，包括 ALT (20.3 ± 2.2 vs. 74.1 ± 6.1 mg/dl, $p < 0.05$)、TBIL (0.33 ± 0.02 vs. 1.13 ± 0.12 mg/dl, $p < 0.05$)，BUN (12.8 ± 0.5 vs. 50.6 ± 9.3 mg/dl, $p < 0.05$) 及 CRE (0.59 ± 0.04 vs. 1.04 ± 0.18 mg/dl, $p < 0.05$) 均顯著上升。而補充魚油或紅花籽油均可顯著降低上述血清生化檢驗項目的數值。相反地，補充椰子油對敗血症大白鼠的肝腎功能並無保護作

用。這些結果建議補充魚油或紅花籽油可以改善敗血症大白鼠肝腎功能，然而補充生理食鹽水或椰子油對敗血症大白鼠的肝腎功能沒有保護作用。總括而言，魚油或紅花籽油可改善敗血症大白鼠 DIC 反應和器官損傷。

Abstract

Sepsis is one of the major causes of patients death in intensive care units. There are great improvements in critical care medicine, but the mortality of patients with septic shock responses is still high. The mortality rate is about 46%~82%. The septic shock responses including fever, hypotension, disseminated intravascular coagulation (DIC), and damage that can lead to multiple organ failure (MOF). DIC is a systemic syndrome of septic shock characterized by enhanced activation of coagulation with some intravascular fibrin formation and deposition. Pathologic studies have demonstrated the presence of intravascular fibrin in tissues of patients who had died from an illness associated with evidence of DIC. Furthermore, experimental studies have demonstrated that effective inhibition of DIC can indeed reduce mortality. Therefore, prevention or management of coagulopathy response is one of important issues of in critical care of septic subjects.

In recent years, there were several studies demonstrated fish oil supplement might reduce blood lipid content of hyperlipidemia individuals. Fish oil supplement also inhibited blood coagulation and thrombus formation, and then reduced the risk of cardio vascular diseases. Furthermore, both of basic and clinical studies revealed that total parenteral supplementation with fish oil emulsion may reduce the inflammatory responses of septic individuals. However, there is no study to investigate the effects of dietary fish oil supplement on coagulopathy response and organ dysfunction of septic individuals. We plan to investigate these problems.

In study, male SD (Sprague-Dawley) rats were orally supplemented with normal saline, fish oil, safflower seed oil or coconut oil for 30 days, at the dosage of 4 ml/kg body weight / day. In the end of supplementation, we measured coagulation parameters including prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), fibrinogen (FIB) and d-dimer level. Our results showed that there were no differences in coagulation parameters among saline, fish oil, safflower seed oil and coconut oil supplement groups. We also measured serum alanine transaminase (ALT) and total bilirubin (TBIL) levels for hepatic function evaluation, and blood urea nitrogen (BUN), creatinine (CRE) levels for renal function evaluation. Serum biochemistry data showed that hepatic and renal function of all experimental groups are normal in the end of oils supplementation. Further investigated the effects of oils supplement on rats with cecal ligation and puncture (CLP)-induced sepsis. The saline supplement rats receiving CLP operation produced significant signs of DIC responses at 14~18hrs after CLP, including increased PT (22.6 ± 1.6 vs. 42.4 ± 3.5 sec, $p < 0.05$), APTT (37.4 ± 6.5 vs. 107.9 ± 10.2 sec, $p < 0.05$), as well as decreased plasma fibrinogen content (432.9 ± 44.9 vs. 231.2 ± 52.0 mg/dl, $p < 0.05$). The rats receiving fish oil or safflower seed oil supplement for 30 days were without significant signs of DIC responses in septic rats. In contrast, coconut oil supplement did not reversed the coagulopathy responses in rats with CLP-induced sepsis. Moreover, the saline supplement rats receiving CLP operation produced significant signs of hepatic and renal dysfunction, including increased ALT (20.3 ± 2.2 vs. 74.1 ± 6.1 mg/dl, $p < 0.05$), TBIL (0.33 ± 0.02 vs. 1.13 ± 0.12 mg/dl, $p < 0.05$), BUN (12.8 ± 0.5 vs. 50.6 ± 9.3 mg/dl, $p < 0.05$), and CRE (0.59 ± 0.04 vs. 1.04 ± 0.18 mg/dl, $p < 0.05$). Fish oil or safflower seed oil supplement reduced serum levels of ALT, TBIL, BUN and CRE in septic rats. In contrast, coconut oil supplement did not liver and kidney of septic rats. These results suggesting that fish oil or safflower seed oil supplement improve hepatic and renal functions of septic rats. In contrast,

saline or coconut oil supplement did not offer protective effects on hepatic and renal functions in septic rats. In conclusion, fish oil or safflower seed oil supplement ameliorated DIC responses and organ injury in rats with sepsis.

第一章 前言

敗血症 (sepsis) 是細菌侵入生物體內，且在血液內大量繁殖，進而活化宿主免疫系統，造成全身性發炎反應。雖然急症照護醫學進步，且有抗生素的積極開發，但是病患一旦發生敗血性休克反應，則死亡率則高達 46%~82%。敗血性休克反應的症狀有全身性低血壓 (systemic hypotension)、DIC、廣泛性組織損傷 (generalized tissue damage)、體溫下降以及心跳速率減緩等。

敗血性休克反應機制是由於細菌本身的成分 (內毒素) 及分泌產物誘發免疫系統廣泛活化，包括活化嗜中性球及單核球，促使嗜中性球及單核球釋放細胞激素，進而造成全身性發炎反應，嚴重時將造成多重器官衰竭。細菌內毒素也會啟動凝血的內在外在路徑，然後再啟動纖維蛋白溶解系統，引起 DIC 現象，造成宿主流血不止。

近年來，許多研究顯示餵食魚油可降低高血脂症個體的血脂質含量，並且減輕罹患動脈粥狀硬化的機率。也有基礎與臨床研究顯示以靜脈營養方式補充魚油，可降低罹患敗血症個體的發炎反應。然而，目前尚無研究報告探討魚油對敗血性休克反應的效果，是否能減少凝血系統過度活化與避免肝臟或腎臟功能損傷？因此，我們計畫探討這些問題。

實驗的第一部分，我們將對雄性 SD 大白鼠於正常飲食之外經口補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油以及椰子油 30 天，然後記錄大白鼠體重變化，且測量血清生化值 ALT、TBIL 是否上升，以評估肝臟功能及其衰竭的程度，我們也計畫測量 BUN、CRE 濃度，以評估腎臟功能及其衰竭的程度。此外，也測量大白鼠血清三酸甘油酯 (Triglyceride, TG)、葡萄糖 (Glucose, GLU)、總膽固醇 (Total cholesterol, TC) 含量，以及凝血參數 (凝血酵素原時間、活化部份凝血酵素時間、纖維蛋白原含量、d-雙元體含量) 變化的情形。第二部分將比較膳食補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油 30 天後，對於經由盲腸結紮穿孔 (cecal ligation and puncture, CLP) 手術誘發敗血症的大白鼠血液生化值與凝血參數的影響，以評估膳食補充魚油是否具有降低敗血症過程發生 DIC 反應及器官損傷的效果。

第二章 文獻探討

一、敗血性休克反應的機制

敗血症 (sepsis) 是宿主受創傷、燒傷或細菌感染的影響，進而引發細菌過度增殖反應，並且活化宿主免疫系統，造成全身性發炎反應 [Mesters et al., 1996; Bolton, 1996]。根據行政院衛生署民國九十二年的死亡原因統計報告指出，敗血症佔國人主要死因的第十三位，其致死率會隨著敗血症的進程而逐漸增加，最高可達 46%~82%，是一種高危險性、發生率的疾病 [Jacobi, 2002]。敗血症的臨床表徵為：體溫高於 38°C 或低於 36°C，心跳每分鐘多於 90 下，呼吸次數每分鐘大於 20 次，白血球數量每毫升血液中多於 12000 個或少於 4000 個，患者器官系統功能或血液灌流受損，低血氧，血中乳酸值提高等 [Baue, 1975]。根據免疫功能及循環代謝反應的情況可將敗血症分為早期與晚期兩階段。敗血症早期，免疫系統方面出現白血球數量增加而且活化的現象，免疫細胞分泌腫瘤壞死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白血球間質素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白血球間質素-6 (interleukin-6, IL-6)、白血球間質素-10 (interleukin-10, IL-10)、白血球間質素-12 (interleukin-12, IL-12) 量均顯著上升 [Yan et al., 2004; Ayala et al., 1996]。在循環方面，敗血症的患者一開始血壓會增高，並且會有心輸出量增加和體溫上升的情形，進而降低周邊血管阻力 [Rixen et al., 1997]。代謝反應方面，血液中的 GLU、乳酸 (lactate)、胰島素 (insulin)，以及升血糖素 (glucagon) 的濃度，都有明顯的增加。但是在敗血症晚期的患者體內，上述免疫系統、循環與代謝方面的表現與敗血症早期呈現相反趨勢 [Yelich, 1990]。敗血症休克反應之病理變化，包括系統性低血壓 (systemic hypotension)、DIC 以及廣泛性組織損傷 (generalized tissue damage) [Szabo et al., 1993; Parrillo, 1993]，這些病變可能進一步導致敗血症個體死亡。

造成敗血性休克反應的機制是由於細菌大量增殖，細菌本身的成分及分泌產物誘發免疫系統廣泛活化，進而造成全身性發炎反應。許多微生物都可能導致宿主感染而引發敗血症，其中以格蘭氏陰性菌感染的機率最高 [Dundley, 1990]。格蘭氏陰性菌細胞壁含有脂多醣體 (lipopolysaccharide, LPS)，為主要的內毒素 (endotoxin)，而 LPS 引發的休克反應是造成敗血症患者死亡的主要原因 [Root and Jacobs, 1991; Wright et al., 1992]。LPS 能促進血液單核球 (monocytes) 與多形核白血球 (polymorphonuclear leukocytes) 引起發炎反應，其反應機制可能是經由 LPS 的刺激，使得膜醣蛋白 (glycoproteins) 大量增殖，如 CD11 和 CD18 等 [Kishimoto et al., 1989; Pohlman et al., 1986]，導致發炎性細胞激素增加，體內產生發炎反應。LPS 也會刺激多形核白血球細胞吞噬微生物的能力及其本身移動的能力，且大量增加血小板活化因子 (platelet activating factor, PAF) 與白三烯素 B₄ (leukotriene B₄, LTB₄) 的生成，造成敗血症患者血管內血栓堆積與增強發炎反應 [Worthen et al., 1988; Dorfler et al., 1989; Dhainaut et al., 1994]。有研究

指出，氧化氮（nitric oxide, NO）過度生成是導致敗血症患者低血壓性心臟功能低落（hypotensive cardiodepression）及血管低活性（vascular hyporeactivity）的主要原因〔Kirkeboen and Strand, 1999〕，嚴重時將導致敗血症性休克反應，其反應機轉是 LPS 會活化血管細胞內的精胺酸-氧化氮代謝途徑（arginine-nitric oxide pathway），使血管細胞產生大量 NO，NO 是體內精胺酸（L-arginine）轉變成瓜胺酸（L-citrulline）時的短暫中間產物，氧化氮會和鳥糞嘌呤核苷酸環化酶（guanylate cyclase, GC）的輔因子原血紅素（heme）的鐵（Fe）結合，進而活化 GC，會催化鳥糞嘌呤核苷三磷酸鹽（guanosine triphosphate GTP）製造環鳥糞嘌呤核苷單磷酸鹽（cyclic guanosine monophosphate, cGMP），並且使細胞內鈣離子濃度下降，導致血管舒張，進而降低血流速度和血壓，大量 NO 使血壓急遽下降，造成低血壓性休克反應〔Chen and Hu, 1997; Chen et al., 1997; Johnson and Billiar, 1998〕。此外，LPS 也會促進巨噬細胞與白血球可誘發性氧化氮合成酶基因表現，同時也會促進內皮細胞氧化氮合成酶基因表現，導致大量的氧化氮合成酶產生，也會合成大量 NO〔Johnson and Billiar, 1998〕。目前有研究報告指出，使用可誘發性氧化氮合成酶抑制劑，可以減少循環系統 NO 的含量，改善血管對收縮因子的反應性，進而減少 LPS 造成的系統性低血壓性休克現象〔Wang et al., 1999〕。此外，NO 過度生成也會使敗血症性休克病患體內的氧化壓力增加，氧化壓力增加會導致細胞損傷及死亡〔Crawford et al., 2004; Groeneveld and Sipkema, 2000; Taylor and Piantadosi, 1995〕，進而導致 MOF。

嚴重敗血症患者也可能會出現 DIC 反應，因為 LPS 會引起促發炎細胞激素（proinflammatory cytokines）TNF- α 及 IL-1 β 的產生〔Pober and Cotran, 1990〕，這些細胞激素將刺激血管內皮細胞〔Moore et al., 1987〕及血液單核球〔Rivers et al., 1975; Neumann et al., 1997〕產生組織因子（tissue factor, TF），而 TF 會和活化的第七凝血因子（activated factor VII）形成具有引發凝血功能的複合體，由凝血外在路徑（extrinsic pathway）開始啟動凝血階梯（coagulation cascade）式反應，形成許多微小的血栓堆積在狹窄的血管內或器官組織裡，造成 DIC 反應發生〔Nawroth and Stern, 1986〕。由於小血栓在血管與器官內堆積，器官組織無法得到足夠的血液灌流，因而造成器官損傷，器官功能喪失。如此將會消耗掉大量的凝血因子及纖維蛋白原（fibrinogen, FIB），並且減少內生性凝血因子（endogenous coagulation factor）含量，進而降低凝血功能，導致患者在敗血症晚期容易有流血不止的現象，因此如果能有效預防 DIC 反應的發生，應可減輕器官損傷，使敗血症患者存活率提高。

二、魚油的生理功能

自然界中，脂肪酸多為直鏈含偶數碳原子之單羧酸結構，碳鏈兩端分別為甲基端和羧基端。脂肪酸分類如下：1、依碳鏈長短可分為短鏈脂肪酸（4~6 個碳）、中鏈脂肪酸（8~12 個碳）以及長鏈脂肪酸（12 個碳以上）；2、依含雙鍵的數目可分為不含雙鍵的飽和脂肪酸（saturated fatty acid, SFA）、只含一個雙鍵的單元

不飽和脂肪酸 (monounsaturated fatty acid, MUFA) 以及含兩個以上雙鍵的多元不飽和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA)；3、依雙鍵位置又可分為 ω -3 族脂肪酸，包括 α -次亞麻油酸 (α -Linolenic acid)、二十碳五烯酸 (eicosapentenoic acid, EPA; C_{20:5})、二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA; C_{20:5})，EPA 與 DHA 可由 α -次亞麻油酸合成。而 ω -6 族脂肪酸有亞麻油酸 (linoleic acid)、 ω -7 族脂肪酸有棕櫚油酸 (palmitoleic acid) 以及 ω -9 族脂肪酸的油酸 (oleic acid)。必需脂肪酸是人體需要但是無法自行合成，或是合成量不足的脂肪酸，一定要由食物中獲取，否則會造成缺乏症，包括了 ω -3 族脂肪酸的 α -次亞麻油酸，與 ω -6 族脂肪酸亞麻油酸，另外還有 ω -6 族脂肪酸花生四烯酸 (arachidonic acid, AA; C_{20:4})，有人視為必需脂肪酸，也有人認為它可由亞麻油酸代謝得到，所以不可歸為必需脂肪酸 [Duplus et al., 2000]。

有研究指出多攝取以 PUFA 為主的油脂能夠影響生理機能，包括降低血脂，進而減少罹患心血管疾病風險，也能改變免疫反應，抑制癌細胞生長，並有促進腦部神經及視覺系統的發展等功能 [Jump, 2002]。此外，也有學者指出 ω -3 PUFA 降血脂效果優於 ω -6 PUFA，因為欲達到相同的降血脂效果，亞麻油 (富含 ω -6 脂肪酸) 的用量是魚油 (富含 ω -3 脂肪酸) 的兩倍 [Clarke and Jump, 1994]。也有研究發現餵食魚油可以更快誘發小鼠體內脂肪酸氧化相關基因之表現 [Clarke and Jump, 1997; Takahashi et al., 2002]，所以 ω -3 脂肪酸與 ω -6 脂肪酸雖然都屬於 PUFA，但降血脂效果有差異。

此外，根據研究指出補充大量 ω -3 脂肪酸，可以降低體內血栓形成，進而減少罹患動脈粥樣硬化發生 [Dyerberg et al., 1978]。這是由於 ω -3 脂肪酸在過氧化酶 (Lipoxygenase, LOX) 催化作用下，合成前列環素 I₃ (prostacyclin I₃, PGI₃)，而 ω -3 脂肪酸也會在環氧化酶 (Cyclooxygenase, COX) 的催化下，產生血栓素 A₃ (thromboxane A₃, TXA₃)。而 PGI₃ 和 TXA₃ 產量增加，會抑制細胞膜磷脂質 (phospholipid) 分解，因此減少花生四烯酸，進一步減少前列環素 I₂ (prostacyclin I₂, PGI₂) 和血栓素 A₂ (thromboxane A₂, TXA₂) 的合成 [Samuelsson, 1983]。由於 TXA₃ 誘發凝血作用的能力比 TXA₂ 低，所以 TXA₂ 產量減少，會降低血栓形成的機率，也因此減少心血管堵塞的風險 [Kinsella, 1986]。

三、補充魚油對敗血症個體的影響

魚油具有豐富的 ω -3 脂肪酸，具有降低血脂及抑制血小板凝集的功能。近年來，許多學者探討魚油對敗血症發炎反應的影響，曾有報告指出以靜脈營養方式補充魚油乳化物，可以降低宿主發炎反應 [Grimminger et al., 1993; Breli et al., 1996]，這是由於魚油成分可降低強烈發炎因子 LTB₄ 的合成量，魚油 EPA 成分可抑制花生四烯酸與 LOX/COX 作用，使 LTB₄ 的合成減少，進而減少體內之發炎作用 [Kim et al., 1991]。也有研究指出經由靜脈補充魚油乳化物，可以增進敗血症大白鼠淋巴球的免疫功能，並提高實驗動物存活率 [Lanza-Jacoby et al., 2001]，綜合上述研究結果，補充魚油乳化物應有助於降低敗血症的發炎反應。

由於魚油具有調節脂質代謝的功能，正常血脂值的個體或高血脂症患者補充魚油，皆能夠降低血脂質含量 [Harris, 1989]，因此有學者探討魚油對敗血症個體血脂質代謝的影響。有研究發現大白鼠經胃灌食魚油乳化物之後，能避免其在敗血症過程中發生肝臟脂肪堆積的現象 [Lanza-Jacoby et al., 1995]。也有學者利用盲腸結紮穿孔手術 (cecal ligation and puncture, CLP) 造成大白鼠敗血症的實驗模式，觀察靜脈營養方式補充魚油與紅花籽油乳化物對敗血症大白鼠的影響 [Chao et al., 2000]，結果顯示，補充紅花籽油的大白鼠接受 CLP 手術誘發敗血症後，其肝臟脂質及膽固醇含量均上升，而補充魚油組大白鼠術前術後並無明顯差異。由以上文獻報告發現，魚油能降低敗血症發炎反應，並減少敗血症個體肝臟損傷及脂肪堆積現象。

近年來在敗血症的治療研究上，有多方向的積極開發，例如：使用類固醇類藥物 methylprednisolone 減輕發炎反應 [Bone et al., 1989]，也有學者在敗血症初期以內毒素單株抗體 (monoclonal antibody) 與內毒素主要致病區域 lipid A 上的 HA-1A 區域結合抑制其作用 [Ziegler et al., 1991; Caroff and Karibian, 2003]，或是利用 TNF- α 抗體、IL-1 β 抗體 [Abraham et al., 1995; Fisher et al., 1994]、抗血小板活化因子 [Dhainaut et al., 1994] 控制炎症反應，或使用可誘發性氧化氮抑制劑減少循環系統 NO 含量，改善 LPS 造成的系統性低血壓休克現象 [Wang et al., 1999]。上述利用補充魚油方式，改善敗血症的發炎症狀及脂肪堆積現象，在動物實驗上都具有顯著改善的效果，但是尚無研究報告探討補充魚油對敗血症造成的 DIC 反應及器官損傷的影響，而 DIC 反應是造成敗血症個體死亡的重要因素之一，因此考量魚油的抗凝血特性，我們計畫探討魚油是否具有抑制敗血症 DIC 反應的效果，進而減輕敗血症個體肝腎損傷。

第三章 材料與方法

一、實驗用儀器

- (一) 直立式高速冷凍離心機 Kubota 1700 及桌上型高速離心機：
Kubota 5100 購自：KUBOTA INSTRUMENT Co. (Tokyo, Japan) .
- (二) 生化測定儀：Fuji DRI-CHEM 3000, Fuji Photo Film Co. Ltd, (Tokyo, Japan) .
- (三) 血液凝集儀：測量 PT、APTT 以及 FIB 含量使用 Coatron M2 血液凝集儀測定；測量 d-dimer 含量使用 Dimex Jr.儀器測定。兩部儀器皆購自 TECO INSTRUMENT Co. (Neufahrn, Germany) .

二、實驗材料

(一) 實驗藥品

Sodium pentobarbital : MTC, Canada.

Sodium chloride (NaCl) : Sigma, USA.

魚油 (fish oil from menhaden) : Sigma, USA.

紅花籽油 (safflower seed oil from *Carthamus tinctorius* seed, raw oil without preservative) : Sigma, USA.

椰子油 (coconut oil) : Sigma, USA.

(二) 實驗用套件

FIB kit (測量血漿纖維蛋白原含量)、PT kit (測量凝血酶原時間)、APTT kit (測量活化部份凝血酶原時間), 以及 Dimex kit(測量 d-dimer 含量)皆購自 TECO INSTRUMENT Co. (Neufahrn, Germany) .

三、實驗方法

(一) 實驗動物

實驗採用 200~250 公克之 SD 雄性大白鼠，購自國家科學委員會國家實驗動物繁殖及研究中心或樂斯科公司。動物購入後，隨機分籠，並標示清楚後，飼養於恆溫控制 ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$) 之動物房，並保持規律的光照週期 (光照時間：7AM 至 7PM)，以標準大白鼠飼料 (MF-18, Oriental Yeast Co. Ltd) 餵食，飼料成分詳見附錄一。大白鼠購入後，先在飼養環境適應三天後，再進行實驗，飼養期間不限制飼料及水之供應。

(二) 實驗分組及油脂補充方式

先將實驗動物分成四組，於正常飼料和飲水之外，額外補充生理食鹽水及油脂如下：1、生理食鹽水補充組 (0.9% NaCl 水溶液)，作為控制組，2、魚油

補充組, 3、紅花籽油補充組以及 4、椰子油補充組。每天於早上 10 點進行餵食, 每次劑量為每公斤體重補充 4 ml, 餵食期間每週秤重一次, 以便紀錄體重增加情形, 並且在補充油脂 30 天後採血測量血清生化值與血液凝集參數變化情形。於補充油脂 30 天後, 再將上述四組各分為兩組, 分別進行 CLP 手術及控制組假手術 (sham operation), 其他所有實驗條件皆相同。所有實驗動物分為下列八組: 1、生理食鹽水控制組 [saline control (sham) group, SAC]; 2、生理食鹽水敗血症組 [saline sepsis (CLP) group, SAS]; 3、魚油控制組 [fish oil control (sham) group, FOC]; 4、魚油敗血症組 [fish oil sepsis (CLP) group, FOS]; 5、紅花籽油控制組 [safflower seed oil control (sham) group, SOC]; 6、紅花籽油敗血症組 [safflower seed oil sepsis (CLP) group, SOS]; 7、椰子油控制組 [coconut oil control (sham) group, COC]; 8、椰子油敗血症組 [coconut oil sepsis (CLP) group, COS]。

(三) 盲腸結紮穿孔 (cecal ligation and puncture, CLP) 誘發敗血症實驗動物模式

目前被廣泛使用的誘發動物敗血症實驗模式, 有以下幾種: 直接從靜脈或腹腔將內毒素注射入動物腹腔, 或經由靜脈注入內毒素, 或將動物排泄物 (如糞便或尿液) 注射至動物腹腔中, 也有學者利用外科手術破壞胃腸道屏障的實驗模式, 例如將盲腸結紮然後進行穿孔 [Borden and Hall, 1951; Perakash et al., 1970; Wichterman et al., 1980]。CLP 手術是 Wichterman 等學者首先於 1980 年提出的動物敗血症實驗模式, 目前已被廣泛使用在動物敗血症的研究上 [Baker et al., 1983; Remick et al., 2000]。根據研究顯示 CLP 手術所誘發的敗血症, 血液會出現格蘭氏陰性菌, 其致病機轉更為複雜, 且其生理反應類似於臨床上敗血症病人逐漸惡化的病程表現 [Deitch, 1998], 因此 CLP 手術比注射 LPS 誘發的敗血症動物模式更具有臨床意義, 故本實驗採用之。實驗方法簡要敘述如下: 將雄性 SD 大白鼠以乙醚進行麻醉後, 在尿道口上二指寬腹中線切開一個約 2 公分的傷口, 小心取出盲腸 (cecum), 以 3-0 號絲線在迴腸與盲腸接口, 即迴盲瓣 (ileocecal valve) 處, 將盲腸結紮, 並且避免阻斷腸道內物質的流動, 接著, 使用 18 號針頭在結紮處前後, 各做一次穿刺, 並在穿孔處各擠出一米粒大小的糞便, 將其塗抹在結紮處前後端, 然後小心將盲腸放回腹腔, 再以縫合針帶 3-0 號絲線進行腹肌與皮膚的縫合, 此為敗血症組。而控制組的大白鼠, 同樣進行上述步驟, 但其盲腸取出後, 不進行結紮和穿刺。手術完成後, 所有的大白鼠皆經皮下注射 (subcutaneous injection) 3 ml/100g body weight 生理食鹽水補充體液, 再放回鼠籠中 (每籠一隻) 密切觀察。

(四) 頸動脈插管手術

首先, 以腹腔注射 (intra-peritoneal injection) 苯巴比妥鈉 (sodium pentobarbital, 50 mg/kg body weight) 進行大白鼠麻醉, 麻醉後將大白鼠四肢固定於手術台上, 本實驗擬選用左頸動脈含氧血, 因此施行頸動脈插管手術。大白鼠頸動脈插管手術方法如下: 將大白鼠內頸部位之細毛以電動剃毛刀剃除乾淨後,

以片尖圓手術剪刀仔細剪開皮膚層一個約 3 公分開口，再以尖鑷彎剪輕輕撥開肌肉層，並避免破壞氣管，在氣管左右兩側，可各發現頸動脈，即為左右頸動脈。找到頸動脈後，以 4-0 絲線及動脈夾將之固定，並阻止血液流動，在此段無血液流動之血管段，以眼科剪刀剪開一小洞，將塑膠軟管 (PE50) 插入頸動脈，再以 4-0 絲線將針頭與血管段綁好固定住，避免血流衝力太大，使得針頭脫落，上述步驟完成後，鬆開動脈夾，以針筒 (含 25 號針頭) 輕輕的抽取血液，以便進行血液凝集參數及血清生化值分析。

(五) 測量血液凝集參數

大白鼠除了正常飲食之外，以補充管經食道灌食生理食鹽水、魚油、紅花籽油和椰子油 30 天，再禁食 8 小時後，進行 sham 或 CLP 手術。手術後，所有的大白鼠都放回鼠籠中 (每籠一隻) 密切觀察。上述步驟完成後，經 14~18 小時，大白鼠以腹腔注射 sodium pentobarbital (50 mg/kg body weight) 進行麻醉，麻醉後施行頸動脈插管手術，由左頸內動脈抽取 0.5 ml 血液，加入抗凝血劑 (3.8% 檸檬酸鈉體積：血液體積 = 1：9)，防止血液凝集作用發生。在 4°C 下，經低溫離心機以 2000 x g 轉速進行離心 15 分鐘。完成離心後，抽取上層血漿待測。利用 Coatron M2 血液凝集分析儀測量血液凝集參數，包括 PT、APTT、FIB 含量、d-dimer 含量。測量血液凝集參數方法如下：

1、凝血酶原時間 (PT)

主要是用來評估凝血反應外在路徑和共同路徑之凝血因子 I、II、V、VII、X 等因子是否正常。測試方法是利用正常活性的血漿 (視為 100% 活性)，以生理食鹽水進行系列濃度稀釋，得到不同活性的血漿檢體後，再分別加入凝血酶 (thromboplastin)，測試其纖維蛋白凝集時間，作出一條標準曲線 (standard curve)。上述步驟完成後，待測檢體加入凝血酶，測量凝集所需時間，再利用此標準曲線以內插法求出檢體 PT 值 [Van Dam-Mieras et al., 1988]。

2、活化部份凝血酶時間 (APTT)

主要用來評估凝血反應內在路徑之凝血因子 I、IX、X、XI、XII 是否正常，測量步驟簡要敘述如下：在待測檢體中加入過量的活化部分凝血活酶 (activated partial thromboplastin)，並加入鈣離子引發內在路徑的活化，而血漿發生完全凝集所需的時間即為 APTT 值 [Yao et al., 1994; Dhainaut et al., 2003]。

3、纖維蛋白原 (FIB)

纖維蛋白原是血漿內含量最多的凝血因子，是一種大分子的球蛋白，主要由肝臟合成，缺乏時會造成出血疾病，其含量多寡可預測出凝血反應活化情形。纖維蛋白原也是一種急性反應蛋白 (acute phase protein)，當身體有發炎反應或其他刺激時，均會使其合成量增加。測試方法是利用已知濃度的纖維蛋白原，稀

釋成為不同的倍數纖維蛋白原溶液。再加入凝血酶 (thrombin) 後，測試其凝集時間，作出一標準曲線。上述步驟完成後，待測檢體分別加入凝血酶測量血漿凝集時間，利用此標準曲線以內插法求出檢體纖維蛋白原含量 [Vanschoonbeek et al., 2004]。

4、D-雙元體 (d-dimer)

D-dimer 為纖維蛋白 (fibrin) 被纖溶素 (plasmin) 分解後產生的小碎片，正常人的血液循環中，含量很低。當體內有大量纖溶反應發生時，就會產生大量纖維蛋白分解物，d-dimer 檢驗可用來評估血液組織內纖維溶解系統活化的情形。D-dimer test 可用來區分 DIC 與其它凝血病變，只有 DIC 反應發生時，才會出現 d-dimer [Van de Water L et al., 1986]。

其測量原理是利用已知濃度的 d-dimer，稀釋為不同倍數，加進含抗體的乳膠粒子懸浮液，測試其吸光值，作出一吸光值/濃度之標準曲線。上述步驟完成後，待測檢體加入含抗體的乳膠粒子懸浮液，測試其吸光值，利用此標準曲線以內插法求出 d-dimer 含量 [Carey and Rodgers, 1998]。以上凝血參數在個體發生 DIC 反應時，將產生變化，包括 PT 及 APTT 時間延長，纖維蛋白原含量減少，而 d-dimer 出現機率增加，且含量亦增加。

(六) 肝臟及腎臟功能之評估

大白鼠除了正常飲食之外，以補充管經食道補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油和椰子油 30 天，手術前先禁食 8 小時，然後進行 sham/CLP 手術，手術後大白鼠都放回鼠籠中 (每籠一隻) 密切觀察。上述步驟完成後，經 14~18 小時，大白鼠腹腔注射 sodium pentobarbital (50 mg/kg body weight) 進行麻醉，麻醉後施行頸動脈插管手術，由左頸內動脈抽取 0.5 ml 血液，不加抗凝劑所採得之全血以 700 x g 離心 10 分鐘，沉澱血球後，取上層血清用來分析肝臟及腎臟功能，血清生化值正常範圍參考自 Charles River Laboratorise publish [Clifford and Giknis, 1999]，包括丙胺酸轉胺酶 (alanine transaminase, ALT; 正常範圍：20~44 U/L)、全膽紅素 (total bilirubin, TBIL; 正常範圍：0.2~0.4 mg/dl) 是否上升，以評估肝臟功能及其衰竭的程度。而測量血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN; 正常範圍：8~16 mg/dl)、肌酸酐 (creatinine, CRE; 正常範圍：0.5~0.7 mg/dl) 濃度，以評估腎臟功能及其衰竭的程度。此外，也測量大白鼠血清 TG; 正常範圍：50~130 mg/dl)、GLU; 正常範圍：70~120 mg/dl、TC; 正常範圍：44~85 mg/dl 含量以瞭解補充三種油脂 30 天後，大白鼠體內醣類與脂質代謝情形，也可分析經過 sham/CLP 手術後，敗血症大白鼠體內醣類與脂質代謝情形。上述血清生化值以 Fuji DRI-CHEM 3000 生化儀測量。當大白鼠血漿中 ALT 增加時，表示肝臟細胞受損，TBIL 上升時，則表示肝功能喪失，而 BUN、CRE 上升時，則代表腎臟功能喪失，甚至腎衰竭。

(七) 統計分析

實驗數值以平均值 \pm 標準誤 (mean \pm standard error of the mean) 表示，先以單因子變異數分析法 (one-way ANOVA) 分析各組間是否有差異性存在，而兩組之間的差異性再以 Student Newman Keuls Test 進行檢定，當 $p < 0.05$ 時，即視為有顯著的統計差異。

第四章 結果與討論

一、結果

(一) 正常飲食外補充三種油脂大白鼠體重增加的情形

大白鼠於正常飲食之外分別補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油，以及椰子油，補充量為每天給予 4 毫升/每公斤體重，連續 30 天後，觀察其體重變化情形。體重增加的情形如圖一所示：生理食鹽水補充組體重增加了 174.9 ± 8.9 公克 ($n = 10$)；魚油補充組增加了 158.4 ± 7.0 公克 ($n = 37$)；紅花籽油補充組體重增加了 148.3 ± 7.0 公克 ($n = 40$)；以及椰子油補充組體重增加了 174.0 ± 5.9 公克 ($n = 38$)。結果顯示補充三種不同油脂與生理食鹽水的大白鼠體重增加的情形，並無顯著差異。

(二) 正常飲食外補充三種油脂對大白鼠血清生化值及凝血參數的影響

大白鼠補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油，補充量為每天給予 4 毫升/每公斤體重，連續補充 30 天後，採血測量生化值，包括 ALT、TBIL、BUN、CRE、TG、GLU、TC 含量。並測量凝血參數，包括 PT、APTT、FIB 及 d-dimer 含量。採血測量前先禁食 22~26 個小時，再自頸動脈採血，血清生化值結果詳列於表一，凝血參數結果詳列於表二。

1. 生化值結果

(1) ALT 含量

生理食鹽水補充組為 20.2 ± 2.6 U/l ($n = 6$)，魚油補充組為 18.8 ± 4.6 U/l ($n = 5$)，紅花籽油補充組為 16.8 ± 2.4 U/l ($n = 5$)，椰子油補充組為 11.8 ± 1.5 U/l ($n = 5$)。結果顯示補充三種不同油脂與生理食鹽水 30 天後的大白鼠，血清 ALT 含量在正常範圍內，且彼此間無顯著差異。

(2) TBIL 含量

生理食鹽水補充組為 0.42 ± 0.10 mg/dl ($n = 6$)，魚油補充組為 0.20 ± 0.00 mg/dl ($n = 5$)，紅花籽油補充組為 0.20 ± 0.00 mg/dl ($n = 5$)，椰子油補充組為 0.24 ± 0.02 mg/dl ($n = 5$)。結果顯示補充三種不同油脂與生理食鹽水 30 天後的大白鼠，血清 TBIL 含量在正常範圍內，且彼此間無顯著差異。

(3) BUN 含量

生理食鹽水補充組為 15.4 ± 1.0 mg/dl ($n = 6$)，魚油補充組為 11.4 ± 0.7 mg/dl ($n = 5$)，紅花籽油補充組為 10.1 ± 0.6 mg/dl ($n = 5$)，椰子油補充組為 8.4 ± 0.4 mg/dl ($n = 5$)。結果顯示魚油補充組血清 BUN 含量皆明顯低於生理食鹽水補充組的大白鼠 ($p < 0.01$)，而紅花籽油組及椰子油組 BUN 值也是明顯低於生理食鹽水組 ($p < 0.001$)，四組的 BUN 含量皆在正常範圍內。

(4) CRE 含量

生理食鹽水補充組為 0.58 ± 0.02 mg/dl ($n = 6$)，魚油補充組為 0.62 ± 0.02 mg/dl ($n = 5$)，紅花籽油補充組為 0.60 ± 0.00 mg/dl ($n = 5$)，椰子油補充組為 0.60 ± 0.00 mg/dl ($n = 5$)。結果顯示補充三種不同油脂與生理食鹽水 30 天後的大白鼠，血清 CRE 含量皆在正常範圍內，且彼此間並無顯著差異。

(5) TG 含量

生理食鹽水補充組為 137.3 ± 21.7 mg/dl ($n = 6$)，魚油補充組為 90.2 ± 11.0 mg/dl ($n = 5$)，紅花籽油補充組為 87.8 ± 13.2 mg/dl ($n = 5$)，椰子油補充組為 62.6 ± 7.4 mg/dl ($n = 5$)。結果顯示椰子油補充組大白鼠血清 TG 含量比生理食鹽水補充組減少 50% ($p < 0.05$)；而魚油與紅花籽油補充組的大白鼠，與補充生理食鹽水的大白鼠比較，血液 TG 含量並無明顯差異。

(6) GLU 含量

生理食鹽水補充組為 142.7 ± 9.8 mg/dl ($n = 6$)，魚油補充組為 113.8 ± 5.6 mg/dl ($n = 5$)，紅花籽油補充組為 123.8 ± 2.78 mg/dl ($n = 5$)，椰子油補充組為 97.0 ± 5.1 mg/dl ($n = 5$)。結果顯示魚油與椰子油補充組 GLU 含量，皆明顯低於生理食鹽水補充組，紅花籽油補充組與生理食鹽水補充組 GLU 含量並無明顯差異。

(7) TC 含量

生理食鹽水補充組為 66.2 ± 4.9 mg/dl ($n = 6$)，魚油補充組為 50.0 ± 2.1 mg/dl ($n = 5$)，紅花籽油補充組為 71.0 ± 3.5 mg/dl ($n = 5$)，椰子油補充組為 67.6 ± 6.5 mg/dl ($n = 5$)。結果顯示魚油補充組 TC 含量明顯比生理食鹽水補充組減少了 25% ($p < 0.05$)；而紅花籽油或椰子油補充組與生理食鹽水補充組大白鼠作比較，血清 TC 含量並無明顯差異。

2. 凝血參數結果

(1) FIB 含量

生理食鹽水補充組為 492.0 ± 44.5 mg/dl ($n = 6$)，魚油補充組為 425.3 ± 69.8 mg/dl ($n = 5$)，紅花籽油補充組為 341.4 ± 86.8 mg/dl ($n = 5$)，椰子油補充組為 380.3 ± 74.7 mg/dl ($n = 5$)。結果顯示補充三種不同油脂與生理食鹽水 30 天後血漿 FIB 含量並無顯著差異。

(2) PT

生理食鹽水補充組為 21.6 ± 4.2 秒 ($n = 6$)，魚油補充組為 23.4 ± 1.0 秒 ($n = 5$)，紅花籽油補充組為 21.4 ± 0.4 秒 ($n = 5$)，椰子油補充組為 22.1 ± 1.0 秒 ($n = 5$)。結果顯示補充三種不同油脂與生理食鹽水 30 天後，四組大白鼠血漿 PT 值並無顯著差異。

(3) APTT

生理食鹽水補充組為 37.4 ± 6.5 秒 ($n = 6$)，魚油補充組為 41.7 ± 2.6 秒 ($n = 5$)，紅花籽油補充組為 42.6 ± 3.0 秒 ($n = 5$)，椰子油補充組為 41.1 ± 2.7 秒 ($n = 5$)。結果顯示補充三種不同油脂與生理食鹽水 30 天後，大白鼠血漿 APTT

值並無顯著差異。

(4) D-dimer 含量

補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油 30 天後，大白鼠血漿皆未發現 d-dimer 存在。

(三) 正常飲食外補充三種油脂對敗血症大白鼠血清生化值與凝血參數的影響

大白鼠正常飲食外補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油，補充量為每天給予 4 毫升/每公斤體重，連續補充 30 天，大白鼠手術前，先禁食 8 小時，手術後 14~18 小時經頸動脈取血，測量血清 ALT、TBIL、BUN、CRE、TG、GLU、TC 含量，同時亦測量凝血參數，包括：FIB 含量、PT、APTT、d-dimer 含量，結果如下：

1. 血清生化值

(1) ALT 含量

結果如圖二所示，生理食鹽水控制組〔saline control (sham) group, SAC〕為 20.3 ± 2.2 U/l (n = 10)，生理食鹽水敗血症組〔saline sepsis (CLP) group, SAS〕為 74.1 ± 6.1 U/l (n = 10)，魚油控制組〔fish oil control (sham) group, FOC〕為 24.8 ± 3.1 U/l (n = 10)，魚油敗血症組〔fish oil sepsis (CLP) group, FOS〕為 31.5 ± 5.4 U/l (n = 6)，紅花籽油控制組〔safflower seed oil control (sham) group, SOC〕為 21.3 ± 1.7 U/l (n = 11)，紅花籽油敗血症組〔safflower seed oil sepsis (CLP) group, SOS〕為 30.8 ± 4.1 U/l (n = 6)，椰子油控制組〔coconut oil control (sham) group, COC〕為 28.5 ± 4.1 U/l (n = 11)，椰子油敗血症組〔coconut oil sepsis (CLP) group, COS〕為 53.8 ± 9.8 U/l (n = 8)。補充三種不同油脂及生理食鹽水的大白鼠，經過 sham 手術後，血清 ALT 含量均無顯著上升，但在 CLP 手術後 14~18 小時，補充三種不同油脂的大白鼠 (FOS、SOS、COS 組) 血清 ALT 含量，皆較補充生理食鹽水的敗血症大白鼠 (SAS 組) 為低 ($p < 0.05$)，而 FOS 與 SOS 組大白鼠血清 ALT 含量均回復至正常範圍內，兩者均較 COS 組低，兩者均為 SAS 組 ALT 值的 50% ($p < 0.05$)。

(2) TBIL 含量

結果如圖三所示，SAC 組為 0.33 ± 0.00 mg/dl (n = 10)，SAS 組為 1.13 ± 0.12 mg/dl (n = 10)，FOC 組為 0.36 ± 0.00 mg/dl (n = 10)，FOS 組為 0.42 ± 0.03 mg/dl (n = 9)，SOC 組為 0.33 ± 0.03 mg/dl (n = 12)，SOS 組為 0.50 ± 0.06 mg/dl (n = 7)，COC 組為 0.29 ± 0.05 mg/dl (n = 10)，COS 組為 0.83 ± 0.13 mg/dl (n = 7)。補充三種不同油脂及生理食鹽水的大白鼠，經過 sham 手術處理後，血清 TBIL 含量均無顯著升高且彼此間沒有明顯差異，但經 CLP 手術後 14~18 小時，補充三種不同油脂的大白鼠 (FOS、SOS、COS 組) 血清 TBIL 含量，皆較補充生理食鹽水大白鼠 (SAS 組) 為低 ($p < 0.05$)，而 FOS 與 SOS 組血清 TBIL 含量又為 COS 組的 50% 左右 ($p < 0.05$)，且與 SAC 組無明顯差異。

(3) BUN 含量

血清 BUN 值如圖四所示，SAC 組為 12.8 ± 0.5 mg/dl ($n = 10$)，SAS 組為 50.6 ± 9.3 mg/dl ($n = 10$)，SAS 組 BUN 值大約是 SAC 組的 4~5 倍。FOC 組為 12.6 ± 0.7 mg/dl ($n = 10$)，FOS 組為 28.8 ± 4.5 mg/dl ($n = 11$)，SOC 組為 12.8 ± 0.8 mg/dl ($n = 11$)，SOS 組為 34.5 ± 5.0 mg/dl ($n = 11$)，COC 組為 11.6 ± 0.6 mg/dl ($n = 11$)，COS 組為 52.2 ± 8.3 mg/dl ($n = 10$)，COS 組 BUN 值是 COC 組的 4~5 倍。補充三種不同油脂及生理食鹽水的大白鼠，經過 sham 手術後，血清 BUN 值彼此間無顯著差異。但在 CLP 手術後 14~18 小時，FOS 與 SOS 組，血清 BUN 值皆較 SAS 組低，約減少 30%~50% ($p < 0.05$)，COS 組與 SAS 組 BUN 值並無明顯差異，顯示 COS 組與 SAS 組一樣，腎臟功能明顯異常。

(4) CRE 含量

大白鼠經過 sham/CLP 手術後，血清 CRE 值如圖五所示，SAC 組為 0.59 ± 0.04 mg/dl ($n = 10$)，SAS 組為 1.04 ± 0.18 mg/dl ($n = 9$)，FOC 組為 0.64 ± 0.02 mg/dl ($n = 10$)，FOS 組為 0.69 ± 0.05 mg/dl ($n = 13$)，SOC 組為 0.65 ± 0.03 mg/dl ($n = 11$)，SOS 組為 0.68 ± 0.02 mg/dl ($n = 9$)，COC 組為 0.61 ± 0.03 mg/dl ($n = 11$)，COS 組為 0.88 ± 0.11 mg/dl ($n = 12$)。補充三種不同油脂及生理食鹽水的大白鼠，經過 sham 手術後，四組實驗動物間 CRE 值無顯著差異。但經 CLP 手術後 14~18 小時，補充魚油與紅花籽油敗血症大白鼠 (FOS 及 SOS 組)，血清 CRE 含量皆較補充生理食鹽水敗血症大白鼠 (SAS 組) 為低 ($p < 0.05$)，約減少 0.3~0.4 mg/dl。此外，COS 組與 SAS 組的 CRE 值並無差異，顯示椰子油與生理食鹽水補充組大白鼠經 CLP 手術後，腎臟受損程度相近。

(5) TG 含量

大白鼠經過 sham/CLP 手術後，血清 TG 值變化情形如圖六所示，SAC 組為 96.8 ± 18.1 mg/dl ($n = 10$)，SAS 組為 112.8 ± 4.18 mg/dl ($n = 9$)，FOC 組為 115.5 ± 15.9 mg/dl ($n = 10$)，FOS 組為 88.2 ± 5.1 mg/dl ($n = 13$)，SOC 組為 86.4 ± 14.2 mg/dl ($n = 11$)，SOS 組為 87.5 ± 8.9 mg/dl ($n = 11$)，COC 組為 74.3 ± 5.1 mg/dl ($n = 9$)，COS 組為 113.0 ± 7.5 mg/dl ($n = 10$)。補充三種不同油脂及生理食鹽水的大白鼠，經過 sham/CLP 手術 14~18 小時後，各組實驗動物血清 TG 含量無顯著差異。

(6) GLU 含量

大白鼠經過 sham/CLP 手術後，血清 GLU 值變化情形如圖七所示，SAC 組為 132.1 ± 5.5 mg/dl ($n = 10$)，SAS 組為 93.4 ± 18.1 mg/dl ($n = 10$)，FOC 為 140.4 ± 5.5 mg/dl ($n = 10$)，FOS 組為 142.8 ± 11.3 mg/dl ($n = 13$)，SOC 組為 151.9 ± 5.6 mg/dl ($n = 11$)，SOS 組為 143.1 ± 14.4 mg/dl ($n = 11$)，COC 組為 138.6 ± 3.8 mg/dl ($n = 11$)，COS 組為 108.4 ± 16.3 mg/dl ($n = 12$)。補充三種不同油脂及生理食鹽水的大白鼠，經過 sham/CLP 手術 14~18 小時後，各組實驗動物間血清 GLU 含量皆無顯著差異。

(7) TC 含量

大白鼠經過 sham/CLP 手術後，血清 TC 值變化情形如圖八所示，SAC 組為 65.3 ± 3.6 mg/dl (n = 10)，SAS 組為 73.3 ± 5.4 mg/dl (n = 10)，FOC 組為 60.1 ± 3.0 mg/dl (n = 10)，FOS 組為 65.2 ± 4.2 mg/dl (n = 13)，SOC 組為 68.4 ± 2.4 mg/dl (n = 11)，SOS 組為 66.1 ± 6.3 mg/dl (n = 11)，COC 組為 71.1 ± 3.0 mg/dl (n = 11)，COS 組為 74.3 ± 3.7 mg/dl (n = 12)。補充三種不同油脂及生理食鹽水的大白鼠，經過 sham/CLP 手術 14~18 小時後，各組實驗動物間血清 TC 含量皆無顯著差異。

2. 凝血參數結果

(1) FIB 含量

各組大白鼠經 sham/CLP 手術後，血漿 FIB 含量如圖九所示，SAC 組為 432.9 ± 44.9 mg/dl (n = 10)，SAS 組為 231.2 ± 52.0 mg/dl (n = 7)，FOC 組為 470.8 ± 42.2 mg/dl (n = 9)，FOS 組為 486.4 ± 45.7 mg/dl (n = 10)，SOC 組為 330.7 ± 14.7 mg/dl (n = 11)，SOS 組為 344.2 ± 48.3 mg/dl (n = 9)，COC 組為 39.1 ± 44.6 mg/dl (n = 10)，COS 組為 154.2 ± 31.2 mg/dl (n = 9)。分別補充三種油脂及生理食鹽水的大白鼠 (SAC、FOC、SOC 及 COC 組)，經過 sham 手術後，血漿 FIB 含量無顯著差異，但經 CLP 手術後 14~18 小時，FOS 組比 SAS 組的 FIB 含量高 1.5~2 倍 ($p < 0.05$)，而 SOS 組則比 SAS 組高 0.5~1 倍。此外，COS 組明顯消耗，與 SAS 組間無明顯差異。

(2) PT

各組大白鼠經 sham/CLP 手術後，血漿 PT 值如圖十所示，SAC 組為 22.2 ± 1.6 秒 (n = 9)，SAS 組為 42.4 ± 3.5 秒 (n = 8)，而生理食鹽水補充組 (SAS 組) 經 CLP 手術後，血漿 PT 值比對照組 sham operation 延長近 2 倍的時間。FOC 組為 25.1 ± 1.4 秒 (n = 10)，FOS 組為 28.5 ± 2.6 秒 (n = 9)，SOC 組為 22.1 ± 0.6 秒 (n = 10)，SOS 組為 24.8 ± 2.3 秒 (n = 9)，COC 組為 24.7 ± 1.0 秒 (n = 10)，COS 組為 56.4 ± 17.2 秒 (n = 10)。補充三種不同油脂及生理食鹽水大白鼠經過 sham 手術後，PT 值並無顯著差異。但經 CLP 手術後 14~18 小時，補充魚油與紅花籽油的大白鼠 (FOS 與 SOS 組) 血漿 PT 值皆顯著低於 SAS 組大白鼠 PT 值 ($p < 0.05$)，且 FOC、FOS、SOC 及 SOS 四組大白鼠的 PT 值與 SAC 組間並無差異。此外，COS 組與 SAS 組的 PT 皆顯著延長，顯示凝血反應的外在途徑活化異常。

(3) APTT

各組大白鼠經 sham/CLP 手術後，血漿 APTT 值如圖十一所示，SAC 組為 52.6 ± 1.4 秒 (n = 9)，SAS 組為 107.9 ± 10.2 秒 (n = 7)，結果顯示生理食鹽水補充組大白鼠之 APTT 值，在敗血症情況下延長 1 倍時間。此外，FOC 組為 59.2 ± 3.8 秒 (n = 10)，FOS 組為 72.1 ± 6.2 秒 (n = 9)，SOC 組為 53.2 ± 3.2 秒 (n = 11)，SOS 組為 63.8 ± 8.1 秒 (n = 11)，COC 組為 49.1 ± 4.0 秒 (n = 10)，COS 組為 143.2 ± 33.7 秒 (n = 12)。我們發現補充三種不同油脂及生理食鹽水

的大白鼠，經過 sham 手術後，血漿 APTT 值並無顯著差異，但經 CLP 手術後 14~18 小時，補充魚油 (FOS 組) 與紅花籽油 (SOS 組) 的大白鼠，血漿 APTT 時間皆較生理食鹽水補充組的敗血症大白鼠短 ($p < 0.05$)，且和對照組 (FOC 與 SOC 組) 大白鼠的 APTT 值比較，無統計差異。此外，COS 組與 SAS 組在敗血症情況下，APTT 值與生理食鹽水對照組比較，均顯著延長 ($p < 0.05$)，彼此間沒有差異。

(4) D-dimer 含量

D-dimer 含量可反應纖維蛋白溶解情形，實驗結果顯示 SAC 組所有大白鼠均無 d-dimer 存在，SAS 組亦沒有 d-dimer 存在，在 FOC 組 10 隻大白鼠中，僅 1 隻大白鼠血漿含有 d-dimer 128 ng/ml，FOS、SOC 組也未測到 d-dimer 存在，SOS 組為 12 隻大白鼠中，僅 1 隻含有 d-dimer 172 ng/ml，COC 組為 11 隻大白鼠中，僅測到 1 隻含有 d-dimer 124 ng/ml，COS 組為 12 隻大白鼠中，測出 5 隻大白鼠含有 d-dimer，平均含量為 112.6 ng/ml。以上結果顯示 COS 組大白鼠血漿出現 d-dimer 的頻率最高，顯示發生纖維蛋白溶解的機率較高。

二、討論

(一) 以 CLP 手術引發大白鼠敗血症後觀察結果

大白鼠經過 CLP 手術 14~18 小時後，解剖發現腹腔內有 2~3 毫升腹水液，而盲腸有變黑、腫脹及壞疽的情形，且大白鼠有疲倦、嗜睡現象。而且變得不會自我理毛、鼠毛雜亂豎立及停止喝水的情形。Chaudry 學者在 1999 年所發表的文章中，亦觀察到經由 CLP 手術的大白鼠有上述的情形 [Chaudry, 1999]。而接受 sham 手術的大白鼠，雖然也經過腹腔手術，但其活動度仍佳，情況穩定，大白鼠沒有上述經由 CLP 手術的情形出現。

(二) 補充三種油脂對大白鼠凝血參數和肝腎功能的影響

本實驗觀察正常飲食外補充三種油脂對大白鼠凝血參數的影響。大白鼠補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油 30 天後，其 FIB、PT、APTT 數值與生理食鹽水組比較並無差異，且四組大白鼠皆無 d-dimer 出現，這些結果顯示補充三種油脂與生理食鹽水後，並未影響大白鼠凝血功能，亦無 DIC 現象發生。

此外，本實驗亦比較補充三種油脂對大白鼠血清生化值的影響，結果發現四組大白鼠血清 ALT、TBIL、CRE 值，都無顯著差異。至於血清 BUN 值，補充三種油脂的大白鼠都較補充生理食鹽水的大白鼠為低，但各組所呈現的結果皆在正常範圍內 (8~16 mg/dl)。綜合上述結果發現補充三種不同油脂後，都不會影響大白鼠的肝腎功能。

而對 TG 與 GLU 值的效應方面，結果顯示，補充三種不同油脂大白鼠血清 TG 與 GLU 含量皆較補充生理食鹽水大白鼠低，可能是因為油脂補充組大白鼠於正常飲食外增加油脂攝取。增加的熱量約佔總熱量的 15%，可能導致大白鼠肝臟對於脂質代謝的速率提高，且肌肉中脂蛋白脂解酶 (lipoprotein lipase) 作用提

高的緣故，使得在禁食狀況下的大白鼠，雖然體內維持脂質代謝及脂解酶的高活性，但由於已無外來補充之油脂可供分解代謝，所以我們測得油脂補充組大白鼠血清 TG 數值均下降。也有可能是禁食時，大白鼠體內醣類耗盡，生物體內的脂肪儲存量與合成量也會受到抑制，才會使得 TG 數值下降。此外，椰子油組所測的 TG 數值最低，與生理食鹽水組大白鼠比較有顯著差異 ($p < 0.05$)，可能是由於椰子油含有較多飽和脂肪酸，其生物利用率較高，因為飽和脂肪酸的代謝途徑較不飽和脂肪酸短，並會先進入檸檬酸循環 (the citric acid cycle, TCA cycle) 產生熱量，以補充因禁食造成的熱量缺乏，所以椰子油組大白鼠禁食後 TG 數值最低。而魚油組大白鼠 TG 值雖然與生理食鹽水組大白鼠無顯著差異，但也可發現有較低的趨勢 (137.3 ± 21.7 vs. 90.2 ± 11.0 mg/dl, $p = 0.073$)，可能是由於 PUFA 可以抑制硬脂醯基-輔酶 A 去飽和酶 (stearoyl-CoA desaturase, SCD) 的表現，SCD 是細胞將飽和脂肪酸合成單元不飽和脂肪酸的速率限制酵素 (rate limiting enzyme)，抑制 SCD 會干擾脂質合成作用，因此魚油組大白鼠亦呈現降低趨勢 [Ntambi, 1999]。有學者指出 EPA 可以活化體外培養之初代肝細胞的過氧化增生活化受體 (peroxisome proliferator activated receptors, PPAR)，PPAR 活化可增加脂肪酸代謝，減少血脂質，因此推測魚油可以預防脂肪肝的發生 [Ren et al., 1997; Sethi et al., 2002; Miller, 2005]。

至於補充三種油脂的大白鼠血清 GLU 數值較生理食鹽水組大白鼠低的原因，可能是因為額外補充三種油脂可提高大白鼠血清 GLU 含量，血糖質高會降低肝醣轉換成葡萄糖的活性，所以大白鼠經長時間禁食後，肝醣轉換成葡萄糖的活性無法立即提高，所以測得的 GLU 含量才會較補充生理食鹽水的大白鼠低 [王文憲, 1991]。

而在 TC 值的結果方面，補充魚油組的大白鼠明顯低於其他組別，原因可能是 EPA 和 DHA 使膽汁中非可溶性膽鹽增加，因此增加糞便中膽固醇排泄量，進而降低血膽固醇含量，這與數位學者的觀察結果一致 [McIntosh et al., 1985; Plantinga and Beynen, 2003]。Botham 等學者在 2001 年發表的研究報告也指出魚油具有調節細胞質 cholesteryl ester hydrolase (CEH) 及 acyl-CoA:cholesterol acyltransferase (ACAT) 的功能，肝臟細胞 CEH 及 ACAT 的功能是負責將細胞內儲存的 cholesteryl ester 代謝成 cholesterol，再以極低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL) 型式排出。魚油可抑制 ACAT2 訊息 RNA 表現 (ACAT2 為肝臟特有 ACAT 酵素)，也會促進 CEH 基因表現，因此可減少細胞質膽固醇分解及血液膽固醇含量 [Botham et al., 2001]。

(三) 補充魚油及紅花籽油能有效改善敗血症大白鼠血液凝集病變及肝腎功能

我們的實驗果顯示補充魚油與紅花籽油的敗血症大白鼠 FIB 含量能夠維持在正常範圍內，且其 PT、APTT 值亦與生理食鹽水控制組無異，可得知補充魚油及紅花籽油大白鼠在敗血症過程中，凝血作用未過度活化，所以 FIB 沒有被損耗，因此在敗血症末期凝血內外路徑仍維持正常，因此結果建議補充魚油與紅花籽油均可有效改善敗血症大白鼠 DIC 現象。反觀生理食鹽水與椰子油組的大

白鼠出現 FIB 大量消耗現象，FIB 含量明顯偏低，推測其在敗血症過程中發生凝血作用，消耗大量 FIB。因此 PT 值從對照組的 20~30 秒延長至 40~60 秒，增加了 2 倍。APTT 值也從對照組的 40~70 秒延長至 110~150 秒，增加了 2~3 倍。

魚油能夠避免 DIC 發生的機轉可能是與魚油具有調控敗血症過程炎症介質的分泌有關，在敗血症初期敗個體內產生大量 TNF- α 、IL-1 及 IL-6 [Ven der Poll T, 1992]，上述細胞激素會誘導感染區域血管出現黏附分子，使得內皮細胞產生 PAF，PAF 會催化血液凝集與局部血管阻塞 [Peter, 2000]。亦有研究報告指出，TNF- α 和 IL-1 β 會減少內皮細胞釋放凝血酶調節素 (thrombomodulin, TM)，降低血管內皮組織的抗凝血反應，促進凝血作用 [Moore et al., 1989]。臨床實驗也證實經靜脈注射 TNF- α 確實會促使人體凝血反應發生 [Bauer et al., 1989]。此外，TNF- α 和 IL-1 β 也會促使內皮細胞製造纖溶蛋白原活化因子抑制劑 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)，抑制組織纖溶蛋白原活化因子 (tissue plasminogen activator, t-PA)，降低生物體內的纖維蛋白溶解系統 (fibrinolysis system) 活性，使堆積在血管內的血栓不易分解 [Chandler and Velan, 2003; Schleef et al., 1988]。而魚油可抑制敗血症個體 TNF- α 、IL-1 β 的分泌 [Grimminger et al., 1993; Breli et al., 1996]，所以補充魚油應該可以減少血管內小血栓的形成，所以血液凝血因子及 FIB 未被消耗掉，因此補充魚油的大白鼠在敗血症末期仍可維持正常的 PT 與 APTT 值。而紅花籽油也具有和魚油一樣預防 DIC 的效果，可能是因為紅花籽油含有高達 76% 的亞麻油酸 [附錄二]，而亞麻油酸在生物體內可轉換成 EPA 和 DHA，因此具有和魚油相同的功能。椰子油組大白鼠的 PT、APTT 值明顯提高，而且血液 d-dimer 出現的比率高達 42% (5/12)，高於其他組敗血症大白鼠 8%~12%，顯示有明顯的 DIC 反應。上述結果顯示補充飽和脂肪酸含量高的油脂 (椰子油)，無法預防敗血症末期的 DIC 現象，而多攝取不飽和脂肪酸含量高的油脂 (魚油及紅花籽油) 可預防 DIC 發生。學者 Hwang 2001 年的研究報告亦有類似的結果，不飽和脂肪酸 DHA (C_{22:6}) 會抑制第二型環氧化酶 (cyclooxygenase 2, COX-2) 的表現，降低體內的發炎反應及血栓現象，而飽和脂肪酸月桂酸 lauric acid (C_{12:0}) 則會誘導 COX-2 的表現，造成發炎反應 [Hwang, 2001]。

補充魚油與紅花籽油的敗血症大白鼠，血清 ALT、TBIL 及 CRE 值皆維持在正常範圍內，但是補充生理食鹽水與椰子油的敗血症大白鼠的上述三種生化值皆顯著提高 (p<0.05)。此外，各組敗血症大白鼠 BUN 值雖然偏高不在正常範圍內，但是補充魚油與紅花籽油的敗血症大白鼠仍顯著低於生理食鹽水組與椰子油組敗血症大白鼠 (p<0.05)。由上述結果發現補充魚油與紅花籽油不但可預防 DIC 發生，亦可減輕肝腎損傷。DIC 現象可能導致組織器官內小血栓大量堆積，使組織器官血液灌流量不足，進而發生缺血而造成組織器官損傷，補充魚油及紅花籽油可避免 DIC 反應發生，也會避免肝臟損傷，魚油及紅花籽油補充對 DIC 反應與器官損傷成一致性的效果。

預防 DIC 反應發生，可避免後續器官損傷呈現因果關係，其他研究報告也

有類似的結果，例如給予抗凝血酶(antithrombin, AT)、活化型 protein C(activated protein C, APC) 以及組織因子路徑抑制物(tissue factor pathway inhibitor, TFPI)，可以抑制 TNF- α 的產生，也能減少因敗血症引發的凝血異常現象，並且減少因缺血/再灌注(ischemia/reperfusion)造成的器官損傷[Okajima and Uchiba, 1998]。另外也有學者以黑猩猩作為研究對象，學者經靜脈注射 LPS 後，再注射 IL-6 單株抗體，可以阻止凝血酶產生，進而抑制 LPS 誘發的凝血反應及器官損傷，而 IL-6 本身並不會促進凝血反應[Van der et al., 1994]。有報告顯示肝素(heparin)能夠經由活化第三抗凝血酶(antithrombin III)，進而抑制凝血酵素(thrombin)及活化型第十凝血因子(activated factor X)的活性，也能夠增加血漿的內生性組織因子抑制劑(endogenous tissue factor inhibitor)的濃度，阻止 LPS 誘發的 DIC 反應及器官損傷[Sandset et al., 1988; Pernerstorfer et al., 1999]。

LPS 會提高生物體內活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)的含量[Guthrie et al., 1984]，也有學者指出補充魚油的大白鼠體內會有較高的超氧歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性，具有降低自由基破壞的功能，也會降低血漿中硫巴比妥酸反應物質(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS)的濃度，因此魚油能夠抑制脂質過氧化物對細胞膜的破壞[Erdogan et al., 2004]。我們推測魚油可降低 LPS 誘發的 ROS，可減少 LPS 造成的細胞損傷。

綜合以上結果，我們發現平時補充以不飽和脂肪酸為主的油脂，例如：魚油與紅花籽油，可能有助於避免敗血症過程發生 DIC 反應，並且能減少血栓對肝腎器官造成的損傷，維持正常的器官功能。

第五章 結論

- 一、補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油 30 天後，各組大白鼠體重增加情形並無顯著差異，而且油脂補充並不會影響大白鼠的肝腎功能。
- 二、補充生理食鹽水與三種不同油脂 30 天後，四組大白鼠凝血參數（FIB、PT、APTT 及 d-dimer 值）並無顯著差異。
- 三、大白鼠經 CLP 手術後，魚油與紅花籽油補充組大白鼠凝血參數 PT、APTT 及 FIB 數值均在正常範圍內，d-dimer 出現機率較低，可得知凝血系統皆可正常活化，上述結果建議補充魚油與紅花籽油均可有效改善敗血症過程中凝血異常情形，進而避免敗血症大白鼠發生 DIC 反應。而補充生理食鹽水與椰子油大白鼠在 CLP 誘發敗血症後，血液 FIB 明顯耗盡，因此凝血系統亦明顯異常。
- 四、魚油與紅花籽油補充組大白鼠經 CLP 引發敗血症後，血清 ALT、TBIL、BUN、CRE 值，皆較椰子油與生理食鹽水補充組敗血症大白鼠含量低，顯示補充魚油與紅花籽油明顯改善敗血症大白鼠肝腎功能。
- 五、綜合以上結果，我們發現平時補充魚油與紅花籽油可能有助於改善敗血症過程的 DIC 反應，並進而減少肝腎器官因血栓所造成的損傷，而維持敗血症大白鼠的肝腎功能。

表一 大白鼠分別補充生理食鹽水 (saline)、魚油 (fish oil)、紅花籽油 (safflower seed oil) 及椰子油 (coconut oil) 30 天後之血液生化值

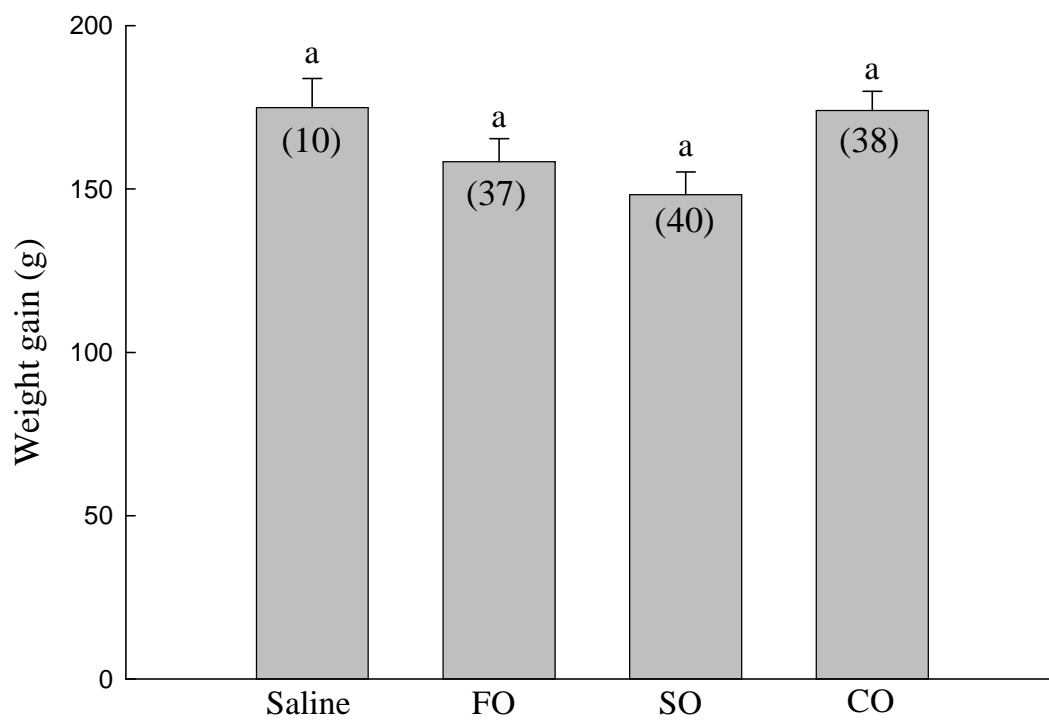
測量項目	Saline	Fish oil	Safflower seed oil	Coconut oil
ALT (20~44 U/L)	20.2 ± 2.6	18.8 ± 4.6	16.8 ± 2.4	11.8 ± 1.5
TBIL (0.2~0.4 mg/dl)	0.42 ± 0.10	0.20 ± 0.00	0.20 ± 0.00	0.24 ± 0.02
BUN (8~16 mg/dl)	15.4 ± 1.0	11.4 ± 0.7**	10.1 ± 0.6***	8.4 ± 0.4***
CRE (0.5~0.7 mg/dl)	0.58 ± 0.02	0.62 ± 0.02	0.60 ± 0.00	0.60 ± 0.00
TG (50~130 mg/dl)	137.3 ± 21.7	90.2 ± 11.0	87.8 ± 13.2	62.6 ± 7.4*
GLU (70~120 mg/dl)	142.7 ± 9.8	113.8 ± 5.6*	123.8 ± 2.8	97.0 ± 5.1***
TC (44~85 mg/dl)	66.2 ± 4.9	50.0 ± 2.1*	71.0 ± 3.5	67.6 ± 6.5

每分組實驗動為 5~6 隻大白鼠。生理食鹽水或油脂補充量為每天給予 4 毫升/每公斤體重，連續補充 30 天後，採血測量血清生化值，採血前先禁食 22~26 個小時。*表示與 saline 組比較，有顯著差異， $p < 0.05$ ，**表示與 saline 組比較，有顯著差異， $p < 0.01$ ，***表示與 saline 組比較，有極顯著差異， $p < 0.001$ 。ALT：Alanine transaminase，丙胺酸轉胺酶；TBIL：Total bilirubin，全膽紅素；BUN：Blood urea nitrogen，血尿素氮；CRE：Creatinine，肌酸酐。TG：Triglyceride，三酸甘油酯；GLU：Glucose，葡萄糖；TC：Total cholesterol，總膽固醇。

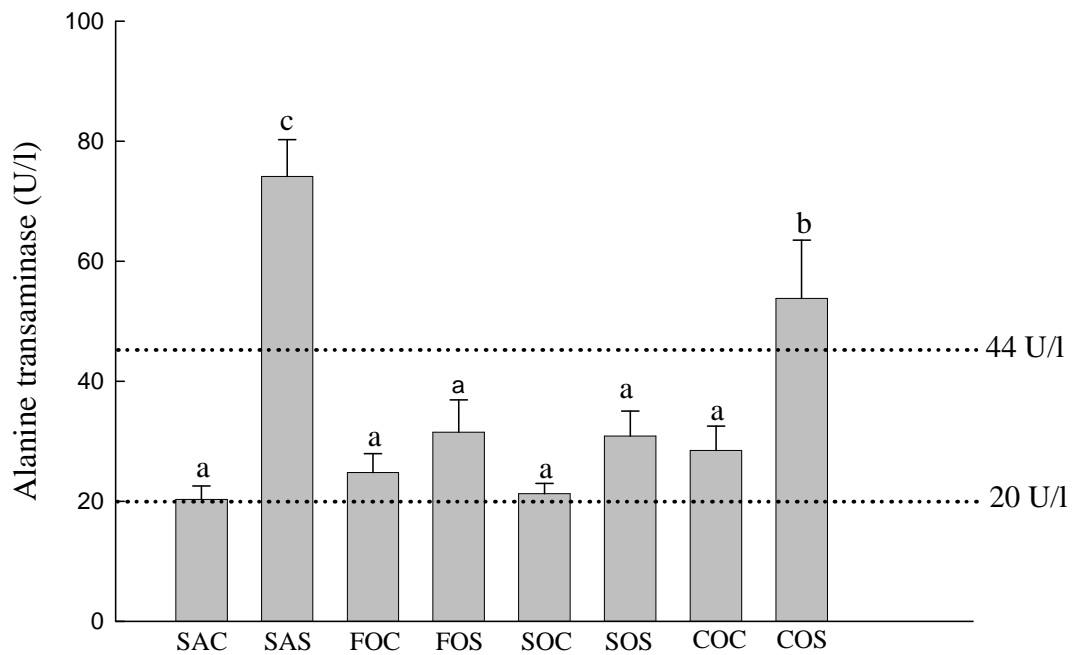
表二 大白鼠分別補充生理食鹽水 (saline)、魚油 (fish oil)、紅花籽油 (safflower seed oil) 及椰子油 (coconut oil) 30 天後之凝血參數變化情形

Group	PT (seconds)	APTT (seconds)	FIB (mg/dl)
Saline (6)	21.6 ± 4.2	37.4 ± 6.5	492.0 ± 44.5
Fish oil (5)	23.4 ± 1.0	41.7 ± 2.6	425.3 ± 69.8
Safflower seed oil (5)	21.4 ± 0.4	42.6 ± 3.0	341.4 ± 86.8
Coconut oil (5)	22.1 ± 1.0	41.1 ± 2.7	380.3 ± 74.7

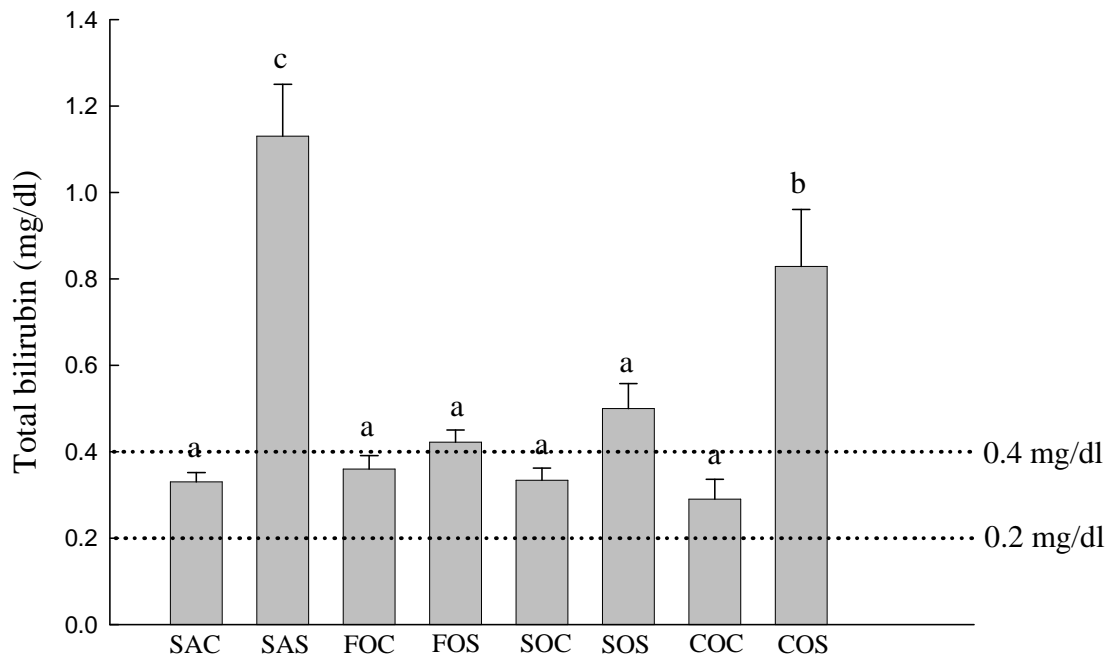
每分組實驗動物為 5~6 隻大白鼠。生理食鹽水或油脂補充量為每天給予 4 毫升/每公斤體重，連續補充 30 天後，採血液測量凝血參數，採血前先禁食 22~26 個小時。FIB：fibrinogen，纖維蛋白原；PT：prothrombin time，凝血酶原時間；APTT：activated partial thromboplastin time，活化部份凝血酶時間。



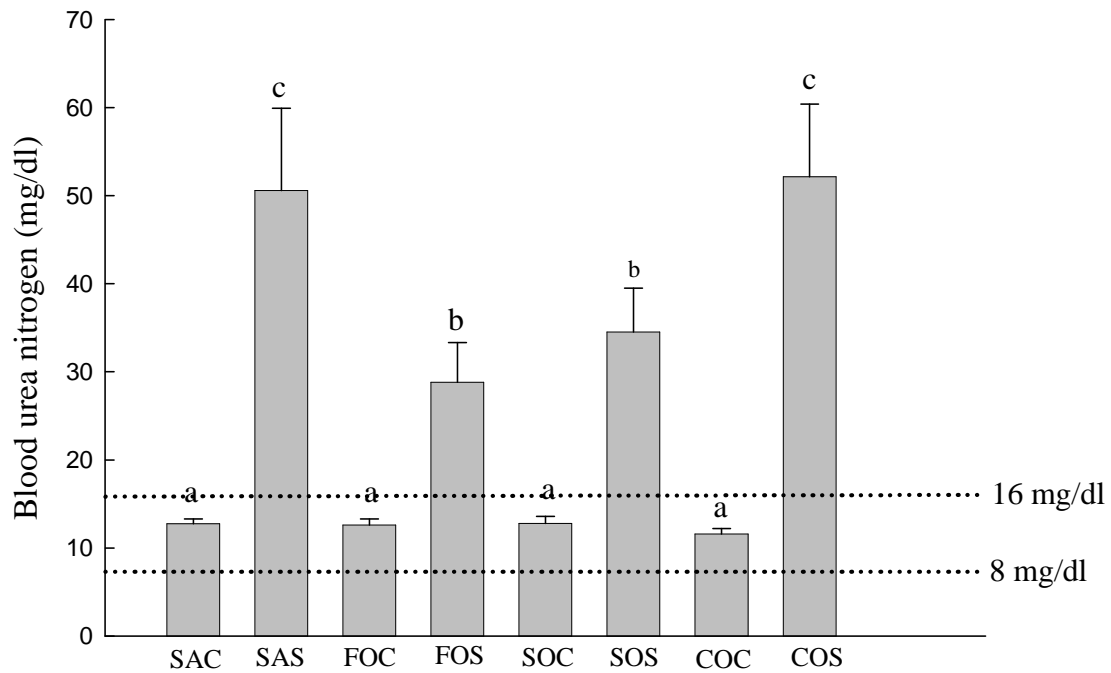
圖一 大白鼠分別補充生理食鹽水 (Saline)、魚油 (Fish oil, FO)、紅花籽油 (Safflower seed oil, SO) 及椰子油 (Coconut oil, CO) 連續 30 天，體重增加情形。括號內數字為大白鼠隻數，實驗結果以平均值 \pm 標準誤表示，長條圖上英文字母 a 代表彼此間無顯著差異。



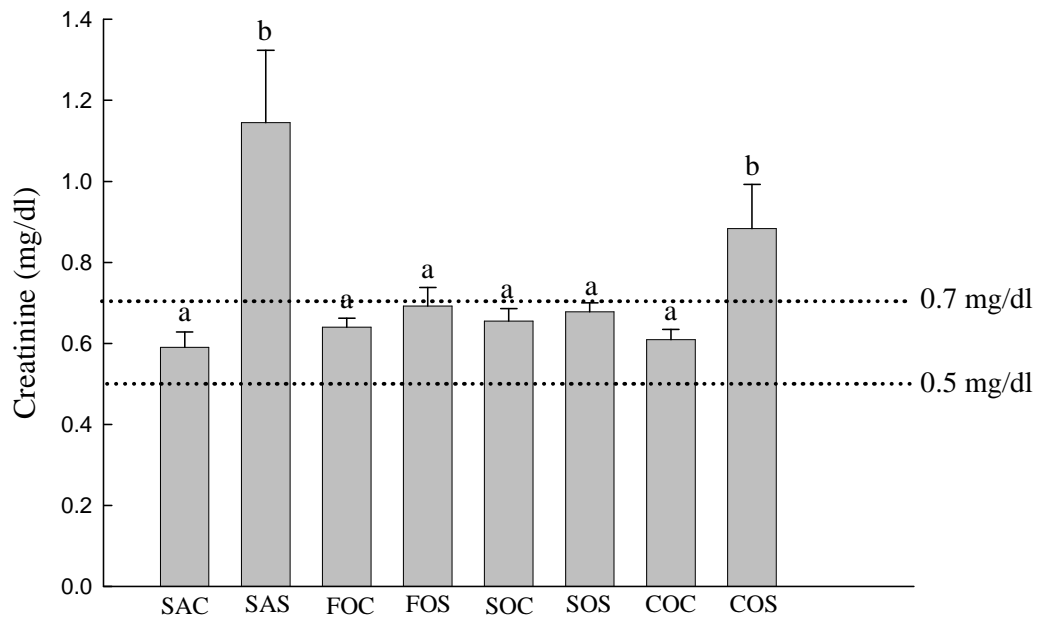
圖二 大白鼠分別補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油，補充量為每天給予 4 毫升/每公斤體重，連續 30 天，再施予 sham/CLP 手術，手術前禁食 8 小時，手術後 14~18 小時採血測量血清丙胺酸轉胺酶 (Alanine transaminase) 含量。各分組實驗動物為 6~11 隻大白鼠。長條圖上的英文字母相同者，代表彼此間無顯著差異，而符號相異者，即表示彼此間有顯著差異 ($p < 0.05$)。SAC：saline control (sham) group，生理食鹽水控制組；SAS：saline sepsis (CLP) group，生理食鹽水敗血症組；FOC：fish oil control (sham) group，魚油控制組；FOS：fish oil sepsis (CLP) group，魚油敗血症組；SOC：safflower seed oil control (sham) group，紅花籽油控制組；SOS：safflower seed oil sepsis (CLP) group，紅花籽油敗血症組；COC：coconut oil control (sham) group，椰子油控制組；COS，coconut oil sepsis (CLP) group，椰子油敗血症組。



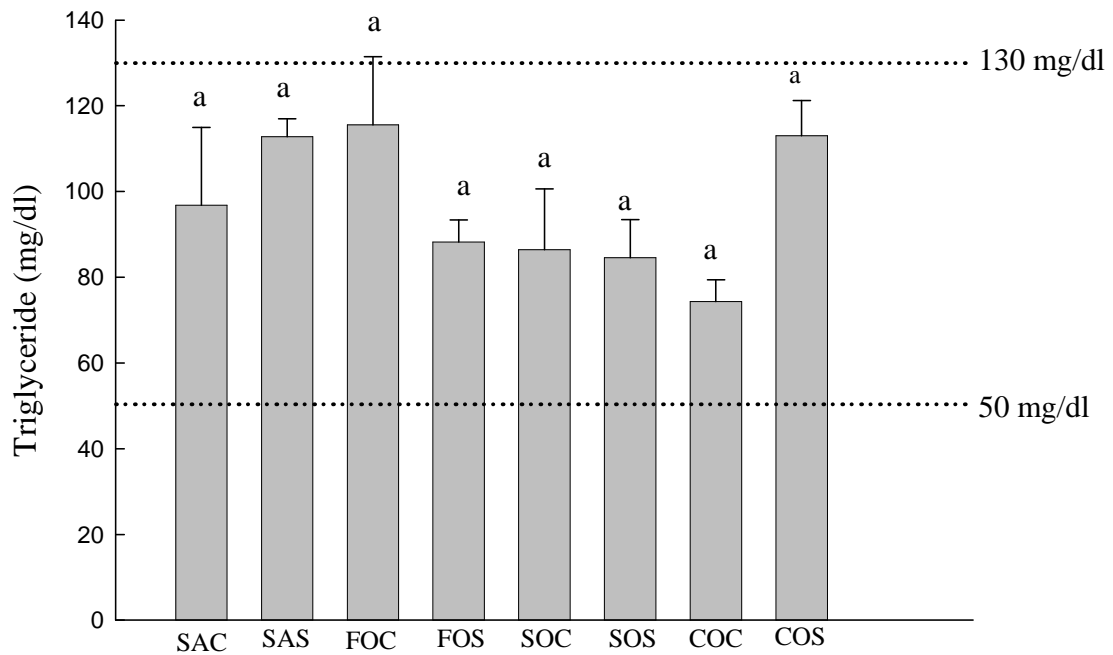
圖三 大白鼠分別補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油，補充量為每天給予 4 毫升/每公斤體重，連續 30 天，再施予 sham/CLP 手術，手術前禁食 8 小時，手術後 14~18 小時採血測量血清全膽紅素 (Total bilirubin) 含量。各分組實驗動物為 7~12 隻大白鼠。長條圖上的英文字母相同者，代表彼此間無顯著差異，而符號相異者，即表示彼此間有顯著差異 ($p < 0.05$)。SAC: saline control (sham) group, 生理食鹽水控制組; SAS: saline sepsis (CLP) group, 生理食鹽水敗血症組; FOC: fish oil control (sham) group, 魚油控制組; FOS: fish oil sepsis (CLP) group, 魚油敗血症組; SOC: safflower seed oil control (sham) group, 紅花籽油控制組; SOS: safflower seed oil sepsis (CLP) group, 紅花籽油敗血症組; COC: coconut oil control (sham) group, 椰子油控制組; COS, coconut oil sepsis (CLP) group, 椰子油敗血症組。



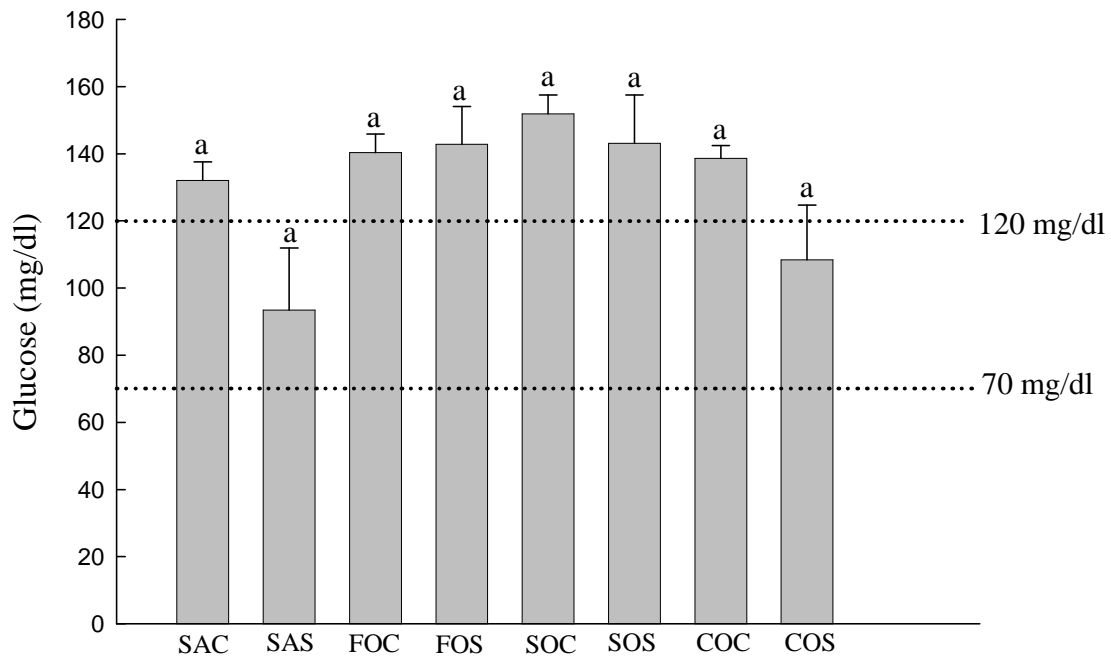
圖四 大白鼠分別補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油，補充量為每天給予 4 毫升/每公斤體重，連續 30 天，再施予 sham/CLP 手術，手術前禁食 8 小時，手術後 14~18 小時採血測量血清血尿素氮 (Blood urea nitrogen) 含量。各分組實驗動物為 11~12 隻大白鼠。長條圖上的英文字母相同者，代表彼此間無顯著差異，而符號相異者，即表示彼此間有顯著差異 ($p < 0.05$)。SAC：saline control (sham) group，生理食鹽水控制組；SAS：saline sepsis (CLP) group，生理食鹽水敗血症組；FOC：fish oil control (sham) group，魚油控制組；FOS：fish oil sepsis (CLP) group，魚油敗血症組；SOC：safflower seed oil control (sham) group，紅花籽油控制組；SOS：safflower seed oil sepsis (CLP) group，紅花籽油敗血症組；COC：coconut oil control (sham) group，椰子油控制組；COS，coconut oil sepsis (CLP) group，椰子油敗血症組。



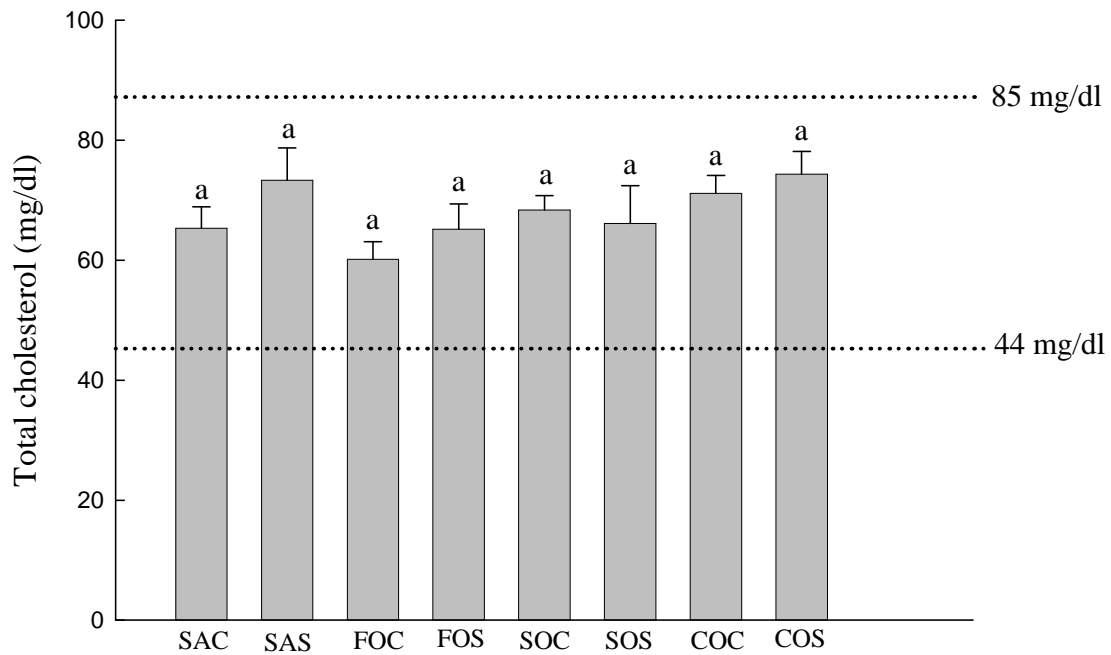
圖五 大白鼠分別補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油，補充量為每天給予 4 毫升/每公斤體重，連續 30 天，再施予 sham/CLP 手術，手術前先禁食 8 小時，手術後 14~18 小時採血測量血清肌酸酐(Creatinine)含量。各分組實驗動物為 9~13 隻大白鼠。長條圖上的英文字母相同者，代表彼此間無顯著差異，而符號相異者，即表示彼此間有顯著差異 ($p < 0.05$)。SAC: saline control (sham) group, 生理食鹽水控制組; SAS: saline sepsis (CLP) group, 生理食鹽水敗血症組; FOC: fish oil control (sham) group, 魚油控制組; FOS: fish oil sepsis (CLP) group, 魚油敗血症組; SOC: safflower seed oil control (sham) group, 紅花籽油控制組; SOS: safflower seed oil sepsis (CLP) group, 紅花籽油敗血症組; COC: coconut oil control (sham) group, 椰子油控制組; COS, coconut oil sepsis (CLP) group, 椰子油敗血症組。



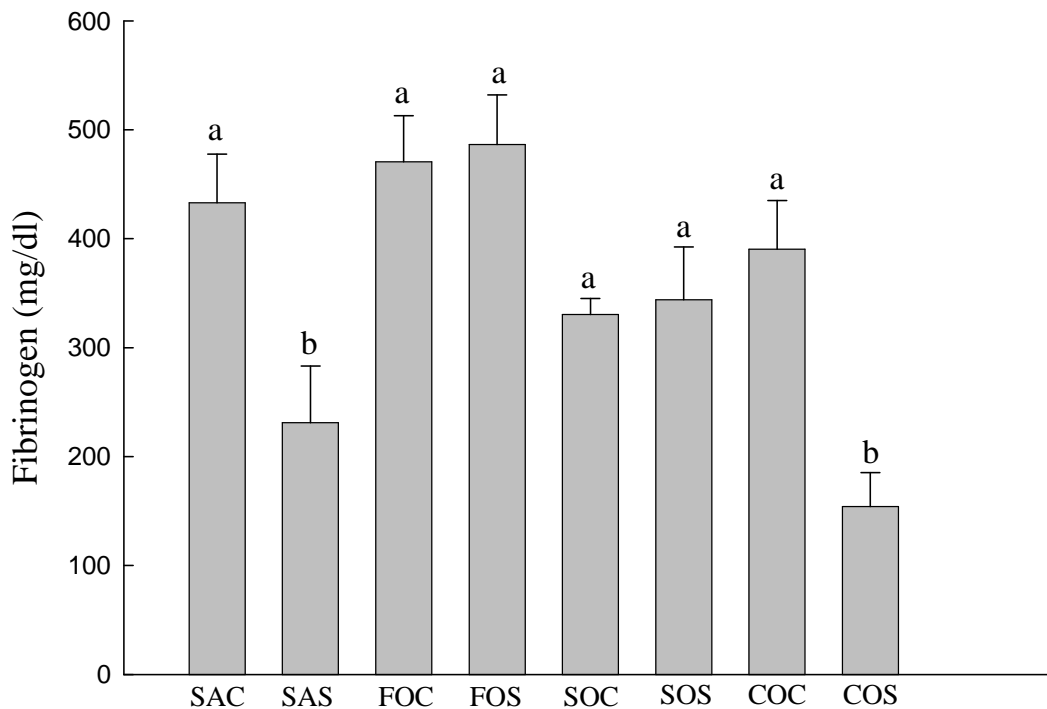
圖六 大白鼠分別補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油，補充量為每天給予 4 毫升/每公斤體重，連續 30 天，再施予 sham/CLP 手術，手術前禁食 8 小時，手術後 14~18 小時採血測量血清中三酸甘油酯 (Triglyceride) 含量。各分組實驗動物為 9~13 隻大白鼠。長條圖上英文字母 a 代表彼此間無顯著差異。SAC：saline control (sham) group，生理食鹽水控制組；SAS：saline sepsis (CLP) group，生理食鹽水敗血症組；FOC：fish oil control (sham) group，魚油控制組；FOS：fish oil sepsis (CLP) group，魚油敗血症組；SOC：safflower seed oil control (sham) group，紅花籽油控制組；SOS：safflower seed oil sepsis (CLP) group，紅花籽油敗血症組；COC：coconut oil control (sham) group，椰子油控制組；COS，coconut oil sepsis (CLP) group，椰子油敗血症組。



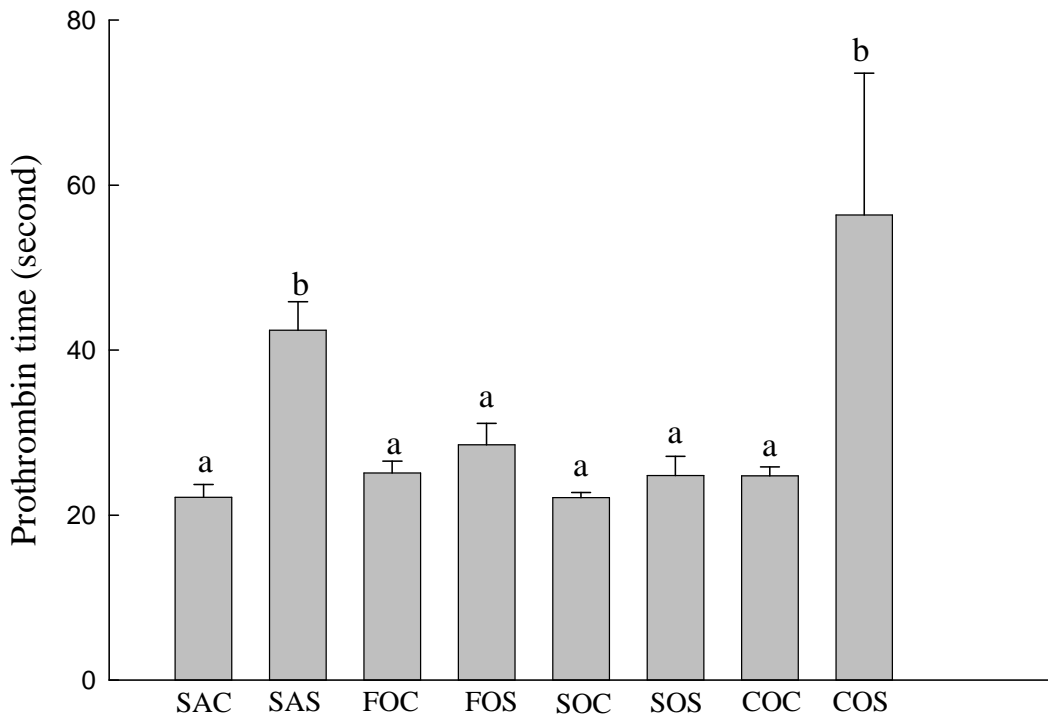
圖七 大白鼠分別補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油，補充量為每天給予 4 毫升/每公斤體重，連續 30 天，再施予 sham/CLP 手術，手術前禁食 8 小時，手術後 14~18 小時採血測量血清葡萄糖 (Glucose) 含量。各分組實驗動物為 10~13 隻大白鼠。長條圖上英文字母 a 代表彼此間無顯著差異。SAC: saline control (sham) group, 生理食鹽水控制組; SAS: saline sepsis (CLP) group, 生理食鹽水敗血症組; FOC: fish oil control (sham) group, 魚油控制組; FOS: fish oil sepsis (CLP) group, 魚油敗血症組; SOC: safflower seed oil control (sham) group, 紅花籽油控制組; SOS: safflower seed oil sepsis (CLP) group, 紅花籽油敗血症組; COC: coconut oil control (sham) group, 椰子油控制組; COS, coconut oil sepsis (CLP) group, 椰子油敗血症組。



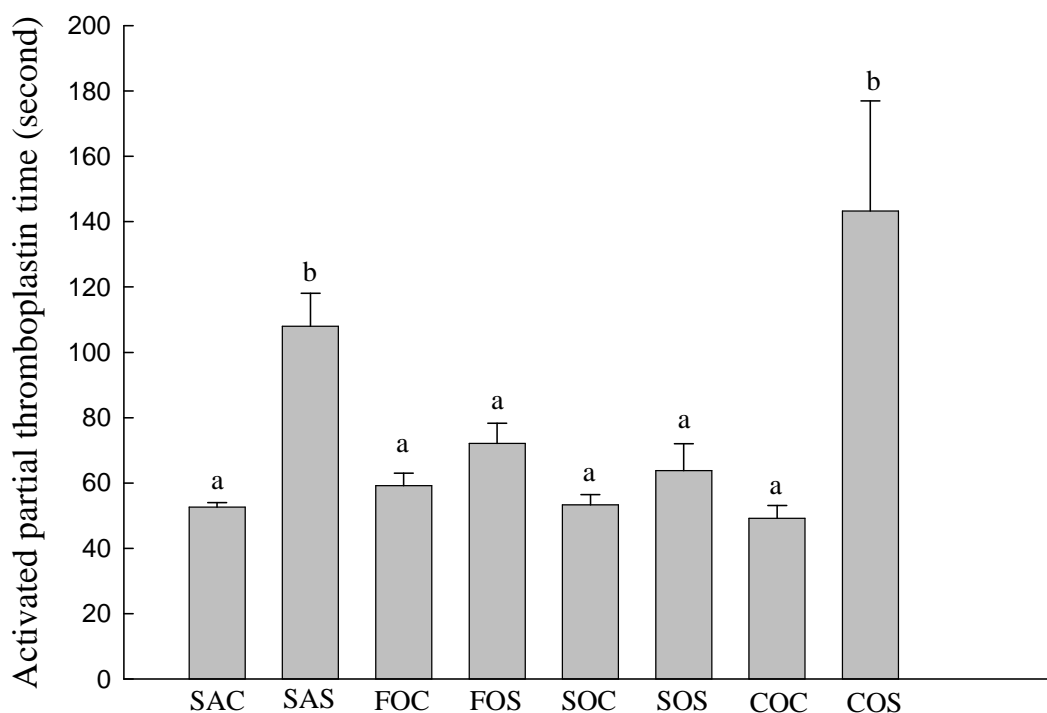
圖八 大白鼠分別補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油，補充量為每天給予 4 毫升/每公斤體重，連續 30 天，再施予 sham/CLP 手術，手術前禁食 8 小時，手術後 14~18 小時採血測量血清總膽固醇(Total cholesterol, TC)含量。各分組實驗動物為 10~13 隻大白鼠。長條圖上英文字母 a 代表彼此間無顯著差異。SAC：saline control (sham) group，生理食鹽水控制組；SAS：saline sepsis (CLP) group，生理食鹽水敗血症組；FOC：fish oil control (sham) group，魚油控制組；FOS：fish oil sepsis (CLP) group，魚油敗血症組；SOC：safflower seed oil control (sham) group，紅花籽油控制組；SOS：safflower seed oil sepsis (CLP) group，紅花籽油敗血症組；COC：coconut oil control (sham) group，椰子油控制組；COS，coconut oil sepsis (CLP) group，椰子油敗血症組。



圖九 大白鼠分別補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油，補充量為每天給予 4 毫升/每公斤體重，連續 30 天，再施予 sham/CLP 手術，手術前禁食 8 小時，手術後 14~18 小時採血測量血漿纖維蛋白原 (fibrinogen) 含量。各分組實驗動物為 7~11 隻大白鼠。長條圖上的英文字母相同者，代表彼此間無顯著差異，而符號相異者，即表示彼此間有顯著差異 ($p < 0.05$)。SAC: saline control (sham) group, 生理食鹽水控制組; SAS: saline sepsis (CLP) group, 生理食鹽水敗血症組; FOC: fish oil control (sham) group, 魚油控制組; FOS: fish oil sepsis (CLP) group, 魚油敗血症組; SOC: safflower seed oil control (sham) group, 紅花籽油控制組; SOS: safflower seed oil sepsis (CLP) group, 紅花籽油敗血症組; COC: coconut oil control (sham) group, 椰子油控制組; COS, coconut oil sepsis (CLP) group, 椰子油敗血症組。



圖十 大白鼠分別補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油，補充量為每天給予 4 毫升/每公斤體重，連續 30 天，再施予 sham/CLP 手術，手術前禁食 8 小時，手術後 14~18 小時採血測量血漿凝血酶原時間 (Prothrombin time, PT) 值。各分組實驗動物為 8~10 隻大白鼠。長條圖上的英文字母相同者，代表彼此間無顯著差異，而符號相異者，即表示彼此間有顯著差異 ($p < 0.05$)。SAC：saline control (sham) group，生理食鹽水控制組；SAS：saline sepsis (CLP) group，生理食鹽水敗血症組；FOC：fish oil control (sham) group，魚油控制組；FOS：fish oil sepsis (CLP) group，魚油敗血症組；SOC：safflower seed oil control (sham) group，紅花籽油控制組；SOS：safflower seed oil sepsis (CLP) group，紅花籽油敗血症組；COC：coconut oil control (sham) group，椰子油控制組；COS，coconut oil sepsis (CLP) group，椰子油敗血症組。



圖十一 大白鼠分別補充生理食鹽水、魚油、紅花籽油及椰子油，補充量為每天給予 4 毫升/每公斤體重，連續 30 天，再施予 sham/CLP 手術，手術前先禁食 8 小時，手術後 14~18 小時採血測量血漿活化部份凝血酶時間 (Activated partial thromboplastin time, APTT) 值。各分組實驗動物為 7~12 隻大白鼠。長條圖上的英文字母相同者，代表彼此間無顯著差異，而符號相異者，即表示彼此間有顯著差異 ($p < 0.05$)。SAC: saline control (sham) group, 生理食鹽水控制組; SAS: saline sepsis (CLP) group, 生理食鹽水敗血症組; FOC: fish oil control (sham) group, 魚油控制組; FOS: fish oil sepsis (CLP) group, 魚油敗血症組; SOC: safflower seed oil control (sham) group, 紅花籽油控制組; SOS: safflower seed oil sepsis (CLP) group, 紅花籽油敗血症組; COC: coconut oil control (sham) group, 椰子油控制組; COS, coconut oil sepsis (CLP) group, 椰子油敗血症組。

參考文獻

1. 王文憲。HARPER'S 生物化學要論。合記圖書出版社。1991 年。第 154 頁。
2. Abraham E, Wunderink R, Silverman H, Perl TM, Nasraway S, Levy H, Bone R, Wenzel RP, Balk R, Allred R. Efficacy and safety of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor-alpha in patients with sepsis syndrome. *J Am Med Assoc* 1995;273:931-934.
3. Alberio L, Lammle B, Esmon CT. Protein C replacement in severe meningococemia: rationale and clinical experience. *Clin Infect Dis* 2001;32:1338-1346.
4. Ayala A, Urbanich MA, Herdon CD, Chaudry IH. Is sepsis-induced apoptosis associated with macrophage dysfunction? *J Trauma* 1996;40:568-574.
5. Baker CC, Chaudry IH, Gaines HO, Baue AE. Evaluation of factors affecting mortality rate after sepsis in a murine cecal ligation and puncture model. *Surgery* 1983;94:331-335.
6. Baue AE. Multiple, progressive, or sequential systems failure: A syndrome of the 1970s. *Arch Surg* 1975;110:779-781.
7. Bauer KA, ten Cate H, Barzegar S, Spriggs DS, Sherman ML, Rosenberg RD. Tumor necrosis factor infusion have a procoagulant effect on the hemostatic mechanism of humans. *Blood* 1989;74:165-172.
8. Bolton CF. Sepsis and the systemic inflammatory response syndrome: Neuromuscular manifestations. *Crit Care Med* 1996;24:1408-1416.
9. Bone RC, Fisher CJ Jr., Clemmer TP, Slotman GJ, Metz CA, Ballk RA. Sepsis syndrome: a valid clinical entity. *Crit Care Med* 1989;17:389-393.
10. Borden CW, Hall WH. Fatal transfusion reactions from massive bacterial contamination of blood. *N Engl J Med* 1951;245:760-764.
11. Botham KM, Maldonado EN, Chico Y, Zheng X, Avella M, Ochoa B. The influence of chylomicron remnants on cholesteryl ester metabolism in cultured rat hepatocytes: comparison of the effects of particles enriched in n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids. *Biochim Biophys Acta* 2001;1534:96-109.
12. Breli I, Koch T, Heller A, Schlotzer E, Grunert A, van Ackern K, Neuhof H. Alteration of n-3 fatty acid composition in lung tissue after short-term infusion of fish oil emulsion attenuates inflammatory vascular reaction. *Crit Care Med* 1996;24:1893-1902
13. Carey MJ, Rodgers GM. Disseminated intravascular coagulation: clinical and laboratory aspects. *Am J Hematol.* 1998;59:65-73.
14. Caroff M, Karibian D. Structure of bacterial lipopolysaccharides. *Carbohydr Res* 2003;338:2431-2447.
15. Chandler WL, Velan T. Secretion of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor 1 during cardiopulmonary bypass. *Thromb Res* 2003;112:185-192.
16. Chao CY, Yeh SL, Lin MT, Chen WJ. Effects of parenteral infusion with fish-oil or safflower-oil emulsion on hepatic lipids, plasma amino acids, and inflammatory mediators in septic rats. *Nutrition* 2000;16:284-288.
17. Chaudry IH. Sepsis: lessons learned in the last century and future directions. *Arch Surg* 1999;134:922-929.
18. Chen HI, Hu CT, Wu CY, Wang D. Nitric oxide in systemic and pulmonary hypertension. *J Biomed Sci* 1997;4:244-248.

19. Chen HI, Hu CT. Endogenous nitric oxide on arterial hemodynamics: a comparison between normotensive and hypertensive rats. *Am J Physiol* 1997;273:H1816-H1823.
20. Clarke SD, Jump DB. Dietary polyunsaturated fat regulation of gene transcription. *Annu Rev Nutr* 1994;14:83-98.
21. Clarke SD, Turini M., Jump D. Polyunsaturated fatty acids regulate lipogenic and peroxisomal gene expression by independent mechanisms. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997;57:65-69.
22. Clifford CB, Giknis MLA. Clinical chemistry and hematology control values for crl: CD (SD) BR rats maintained on regimen of caloric restriction. *Charles River Laboratories* 1999;12-15.
23. Crawford JH, Yang S, Zhou M, Simms HH, Wang P. Down-regulation of hepatic CYP1A2 plays an important role in inflammatory responses in sepsis. *Crit Care Med* 2004;32:502-508.
24. Deitch EA. Animal model of sepsis and shock: a review and lessons learned. *Shock* 1998;9:1-11.
25. Dhainaut JF, Mira JP, Brunet F. Platelet activating factor antagonists as therapeutic strategy in sepsis. *Prog Clin Biol Res* 1994;388:277-279.
26. Dhainaut JF, Tenailon A, Le Tulzo Y, Schlemmer B, Solet JP, Wolff M, Holzapfel L, Zeni F, Dreyfuss D, Mira JP. Platelet-activating factor receptor antagonist BN 52021 in the treatment of severe sepsis. *Crit Care Med* 1994;22:1720-1728.
27. Dhainaut JF, Yan SB, Margolis BD, Lorente JA, Russell JA, Freebairn RC, Spapen HD, Riess H, Basson B, Johnson G III, Kinasewitz GT; for the PROWESS Sepsis Study Group. Drotrecogin alfa (activated) (recombinant human activated protein C) reduces host coagulopathy response in patients with severe sepsis. *Thromb Haemost* 2003;90:642-653.
28. Dorfler M, Danner L, Shelhamer J, Parrillo J. Bacterial lipopolysaccharides priming human neutrophils for enhanced production of leukotriene B4. *J Clin Invest* 1989;83:970-977.
29. Dundley MN. Overview of gram-negative sepsis. *Am J Hosp Pharm* 1990;47:S3-S6.
30. Duplus E, Glorian M, Forest C. Fatty acid regulation of gene transcription. *J Biol Chem* 2000;275:30749-30752.
31. Dyerberg J, Bang HO, Stofferson E, Moncada S, Vane JR. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis. *Lancet* 1978;2:117-119.
32. Erdogan H, Fadillioglu E, Ozgocmen S, Sogut S, Ozyurt B, Akyol O, Ardicoglu O. Effect of fish oil supplementation on plasma oxidant/antioxidant status in rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2004;71:149-152.
33. Fisher CJ Jr., Opal SM, Lowry SF, Sadoff JC, LaBrecque JF, Donovan HC, Lookabaugh JL, Lemke J, Pribble JP, Stromatt SC. Role of interleukin-1 and the therapeutic potential of interleukin-1 receptor antagonist in sepsis. *Circ Shock* 1994;44:1-8.
34. Grimminger F, Fuhrer D, Papavassilis C, Schlotzer E, Mayer K, Heuer K, Kiss L, Walmrath D, Kramer HJ, Seeger W. Influence of intravenous n-3 lipid supplementation on fatty acids profiles and lipid mediator generation in patients with severe ulcerative colitis. *Eur J Clin Invest* 1993;23:706-715.
35. Groeneveld AB, Sipkema P. Interaction of oxyradicals, antioxidants, and nitric oxide during sepsis. *Crit Care Med* 2000;28:2161-2162.
36. Guthrie LA, McPhail LC, Henson PM, Johnston RB. Priming of neutrophils for

- enhanced release of oxygen metabolites by bacterial lipopolysaccharides. *J Exp Med* 1984;160:1656-1671.
37. Harris WS. Fish oils and plasma lipid and lipoprotein metabolism in humans: a critical review. *J Lipid Res* 1989;30:785-807.
 38. Hooper WC, Phillips DJ, Renshaw MA, Evatt BL, Benson JM. The up-regulation of IL-6 and IL-8 in human endothelial cells by activated protein C. *J Immunol* 1998;161:2567-2573.
 39. Hwang D. Modulation of the expression of cyclooxygenase 2 by fatty acids mediated through toll-like receptor 4-derived signaling pathways. *FASEB J* 2001;15:2556-2564.
 40. Jacobi J. Sepsis: a frequent, life-threatening syndrome. *Pharmacotherapy* 2002;22:169S-181S.
 41. Johnson ML, Billiar TR. Roles of nitric oxide in surgical infection and sepsis. *World J Surg* 1998;22:187-196.
 42. Joyce DE, Nelson DR, Grinnell BW. Leukocyte and endothelial cell interactions in sepsis: Relevance of the protein C pathway. *Crit Care Med* 2004;32:S280-S286.
 43. Jump DB. The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Biol Chem* 2002;277:8755-8758.
 44. Kim DN, Schmee J, Lee CS, Solis O, Ross JS, Thomas WA. Reductions in serum thromboxane, prostacyclin, and leukotriene B4 levels in swine fed a fish oil supplement to an atherogenic diet. *Exp Mol Pathol* 1991;55:1-12.
 45. Kinsella JE. Food components with potential therapeutic benefits: The n-3 polyunsaturated fatty acids of fish oils. *Food Technol* 1986;40:89-97.
 46. Kirkeboen KA, Strand OA. The role of nitric oxide in sepsis-an overview. *Acta Anaesthesiol Scand* 1999;43:275-288.
 47. Kishimoto TK, Jutila MA, Berg EL, Butcher EC. Neutrophil Mac-1 and Mel-14 adhesion proteins inversely regulated by chemotactic factors. *Science* 1989;245:1238-1241.
 48. Lanza-Jacoby S, Flynn JT, Miller S. Parenteral supplementation with a fish-oil emulsion prolongs survival and improves rat lymphocyte function during sepsis. *Nutrition* 2001;17:112-116.
 49. Lanza-Jacoby S, Phetteplace H, Tripp R. Enteral feeding a structured lipid emulsion containing fish oil prevents the fatty liver of sepsis. *Lipids* 1995;30:707-712.
 50. McIntosh GH, McLennan PL, Lawson CA, Bulman FH, Charnock JS. The influence of dietary fats on plasma lipids, blood pressure and coagulation indices in the rat. *Atherosclerosis* 1985;55:125-34.
 51. Mesters RM, Florke N, Ostermann H, Kienast J. Increase of plasminogen activator inhibitor levels predicts outcome of leukocytopenic patients with sepsis. *Thromb Haemost* 1996;75:902-907.
 52. Miller GJ. Dietary fatty acids and the haemostatic system. *Atherosclerosis* 2005;179:213-227.
 53. Moore KL, Andreoli SP, Esmon NL, Bang NU. Endotoxin enhances tissue factor and suppresses thrombomodulin expression of human vascular endothelium in vitro. *J Clin Invest* 1987;79:124-130.
 54. Moore KL, Emmon CT, Emmon NL. Tumor necrosis factor leads to the internalization and degradation of thrombomodulin from the surface of bovine

- aortic endothelial cells in culture. *Blood* 1989;73:159-165.
55. Nawroth PP, Stern DM. Modulation of endothelial cell hemostatic properties by tumor necrosis factor. *J Exp Med* 1986;163:740-745.
 56. Neumann FJ, Ott I, Marx N, Luther T, Kenngott S, Gawaz M, Kotzsch M, Schomig A. Effect of human recombinant interleukin-6 and interleukin-8 on monocyte procoagulant activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3399-3405.
 57. Ntambi JM. Regulation of stearoyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. *J Lipid Res* 1999;40:1549-1558.
 58. Okajima K, Uchiba M. The anti-inflammatory properties of antithrombin III-new therapeutic implications. *Semin Thromb Hemost* 1998;24:27-32.
 59. Parrillo JE. Pathogenetic mechanisms of septic shock. *N Engl J Med* 1993;20:1471-1477.
 60. Perikash I, Satpati P, Agawal KC, Chakravarti RN, Chhuttani PN. Prolonged peritoneal lavage and fecal peritonitis. *Surgery* 1970;68:842-845.
 61. Pernerstorfer T, Hollenstein U, Hansen JB, Knechtelsdorfer M, Stohlawetz P, Graninger W, Eichler HG, Speiser W, Jilma B. Heparin blunts endotoxin-induced coagulation activation. *Circulation* 1999;100:2485-2490.
 62. Peter P. The immune system. Garland Publishing, London. 2000:201-219.
 63. Plantinga EA, Beynen AC. The influence of dietary fish oil vs. sunflower oil on the fatty acid composition of plasma cholesteryl-esters in healthy, adult cats. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2003;87:373-379.
 64. Pohlman T, Stannes K, Beatty P, Ochs H, Harian J. An endothelial cell surface factor(s) induced in vitro by lipopolysaccharides, interleukin-1, and tumor necrosis factor increases neutrophil adherence by CDW18-dependent mechanism. *J Immunol* 1986;136:458-464.
 65. Pober JS, Cotran RS. Cytokines and endothelial cell biology. *Physiol Rev* 1990;70:427-451.
 66. Remick DG, Freay AD, Kauser K, Sukovich D, Burton G, Lubahn DB, Couse JF, Curtis SW, Korach KS. Vascular estrogen receptors and endothelium-derived nitric oxide production in the mouse aorta. Gender difference and effects of estrogen receptor gene disruption. *J Clin Invest* 2000;99:2429-2437.
 67. Ren B, Annette PT, Jeffrey MP, Frank JG, Donald BJ. Polyunsaturated fatty acid suppression of hepatic fatty acid synthase and S14 gene expression does not require peroxisome proliferator-activated receptor α . *J Biol Chem* 1997;272:26827-26832.
 68. Rivers RP, Hathaway WE, Weston WL. The endotoxin-induced coagulant activity of human monocytes. *Br J Haematol* 1975;30:311-316
 69. Rixen D, Siegel JH, Espina N, Bertolini M. Plasma nitric oxide in posttrauma critical illness: a function of sepsis and the physiologic state severity classification quantifying the probability of death. *Shock* 1997;7:17-28.
 70. Root PK, Jacobs R. Septicemia and septic shock. In: Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher JK, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 12th ed. New York, McGraw-Hill, 1991;502-507.
 71. Samuelsson B. From studies of biochemical mechanism to novel biological mediators: prostaglandin endoperoxides, thromboxanes, and leukotrienes. *Biosci Rep* 1983;3:791-813.
 72. Sandset PM, Abildgaard U, Larsen ML. Heparin induces release of extrinsic coagulation pathway inhibitor(EPI). *Thromb Res* 1988;50:803-813.

73. Schleef RR, Bevilacqua MP, Sawdey M, Gimbrone MA Jr, Loskutoff DJ. Cytokine activation of vascular endothelium: effects on tissue-type plasminogen activator and type 1 plasminogen activator inhibitor. *J Biol Chem.* 1988;263:5797-5803.
74. Sethi S, Ziouzenkova O, Ni H, Wagner DD, Plutzky J, Mayadas TN. Oxidized omega-3 fatty acids in fish oil inhibit leukocyte-endothelial interactions through activation of PPAR α . *Blood* 2002;100:1340-1346.
75. Szabo C, Mitchell JA, Thiemermann C, Vane JR. Nitric oxide-mediated hyporeactivity to noradrenaline precedes the induction of nitric oxide synthase in endotoxin shock. *Br J Pharmacol* 1993;108:786-792.
76. Takahashi M, Tsuboyama N, Nakatani T, Ishii M, Tsutsumi S, Aburatani H, Ezaki O. Fish oil feeding alters liver gene expressions to defend against PPAR α activation and ROS production. *Am J Physiol* 2002;282:G338-G348.
77. Taylor DE, Piantadosi CA. Oxidative metabolism in sepsis and sepsis syndrome. *J Crit Care* 1995;3:122-135.
78. Van Dam-Mieras MCE, Muller AD, Hemker HC. Proenzymes, enzymes, inhibitors, cofactor. In: Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Grassl M eds. *Methods of Enzymatic Analysis, Volume V.* Weinheim, Germany: VCH Publishers; 1988:352-365.
79. Van der Poll T. Cytokines and their inhibition in septicaemia: the role of three major cytokines in pathogenesis of septicaemia. *Br J Int Care* 1992;2:99-112.
80. Van der Poll T, Levi M, Hack CE, ten Cate U, van Deventer SJH, Eerenberg AJ, de Groot ER, Jansen J, Gallati H, Buller HR. Elimination of interleukin 6 attenuates coagulation activation in experimental endotoxemia in chimpanzees. *J Exp Med* 1994;179:1253-1259.
81. Van de Water L, Carr JM, Aronson D. Analysis of elevated fibrin (ogen) degradation product levels in patients with liver disease. *Blood* 1986;67:1468-1473.
82. Vanschoonbeek K, Feijge MA, Paquay M, Rosing J, Saris W, Kluft C, Giesen PL, de Maat MP, Heemskerk JW. Variable hypocoagulant effect of fish oil intake in humans: modulation of fibrinogen level and thrombin generation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:1734-1740.
83. Wang D, Wei J, Hsu K, Jau J, Lieu MW, Chao TJ, Chen HI. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on systemic hypotension, cytokines and inducible nitric oxide synthase expression and lung injury following endotoxin administration in rats. *J Biomed Sci* 1999;6:28-35.
84. Wichterman A, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and septic shock-a review of laboratory models and a proposal. *J of Surgical Research* 1980;29:189-201.
85. Worthen GS, Secombe JF, Clay KL, Guthrie LA, Johnston RB. The priming of neutrophils by lipopolysaccharides for production of intracellular platelet-activating factor: potential role in mediation of enhanced superoxide secretion. *J Immunol* 1989;140:3553-3559.
86. Wright CE, Rees DD, Moncada S. Protection and pathological roles of nitric oxide in endotoxin shock. *Cardiovasc Res* 1992;26:48-57.
87. Yan JJ, Jung JS, Lee JE, Lee J, Huh SO, Kim HS, Jung KC, Cho JY, Nam JS, Suh HW, Kim YH, Song DK. Therapeutic effects of lysophosphatidylcholine in experimental sepsis. *Nat Med* 2004;10:161-167.
88. Yao Z, Foster P, Gross G: Monophosphoryl lipid A protects against endotoxic

- via inhibiting neutrophil intravascular coagulation. *Circ Shock* 1994;43:107-114.
89. Yelich MR. Glucoregulatory, hormonal, and metabolic responses to endotoxemia or cecal ligation and puncture sepsis in the rat: a direct comparison. *Circ Shock* 1990;31:351-363.
 90. Ziegler EJ, Fisher CJ Jr, Sprung CL, Straube RC, Sadoff JC, Foulke CE, Wortel CH, Fink MP, Dellinger RP, Teng NN. Treatment of gram-negative bacteremia and septic shock with HA-1A human monoclonal antibody against endotoxin. *N Engl J Med* 1991;324:429-436.

附錄一：大白鼠標準飼料（MF-18, Oriental Yeast Co. Ltd）組成分：

General Analysis (per 100g) , guaranteed	
Moisture (水分)	less than 10%
Crude Protein (粗蛋白質)	more than 18% (as a dry matter)
Crude Fat (粗脂肪)	more than 6% (as a dry matter)
Crude Ash (粗灰分)	less than 6% (as a dry matter)
Crude Fiber (粗纖維)	less than 6% (as a dry matter)
Nitrogen Free Extract (可溶性無氮素物)	more than 58% (as a dry matter)
Calorie (卡路里)	350~365 kcal
Vitamin (per 100g) , standard, but not guaranteed	
Vitamin A (維他命 A)	more than 2000 IU
Vitamin D3 (維他命 D3)	more than 300 IU
Vitamin E (維他命 E)	more than 15 mg
Vitamin K3 (維他命 K3)	more than 0.1 mg
Vitamin B1 (維他命 B1)	more than 3 mg
Vitamin B2 (維他命 B2)	more than 2 mg
Vitamin B6 (維他命 B6)	more than 1 mg
Vitamin B12 (維他命 12)	more than 10 μ g
Nicotinic acid (菸鹼酸)	more than 15 mg
Pantothenic acid (泛酸)	more than 4 mg
Biotin (生物素)	more than 15 μ g
Folic acid (葉酸)	more than 0.2 mg
Inositol (肌醇)	more than 500 mg
Choline (膽鹼)	more than 200 mg
Minerals (per 100g) , standard, but not guaranteed	
Calcium (鈣)	more than 1.00 g
Phosphorus (磷)	more than 0.80 g
Magnesium (鎂)	more than 0.25 g
Sodium (鈉)	more than 0.20 g
Potassium (鉀)	more than 0.80 g
Iron (鐵)	more than 6 mg
Zinc (鋅)	more than 10 mg

附錄二：三種油脂主要脂肪酸組成如下：

油脂種類 脂肪酸組成分	魚油 fish oil	紅花籽油 safflower seed oil	椰子油 coconut oil
	%		
C _{8:0} 辛酸 (Caprylic acid)	-	-	6.5
C _{10:0} 癸酸 (Capric acid)	-	-	6.0
C _{12:0} 月桂酸 (Lauric acid)	-	-	49.5
C _{14:0} 豆蔻酸 (Myristic acid)	7.8	-	19.5
C _{16:0} 棕櫚酸 (Palmitic acid)	15.3	1.5	8.5
C _{16:1} ω-7 棕櫚油酸 (Palmitoleic acid)	9.8	0.3	-
C _{18:0} 硬脂酸 (Stearic acid)	-	2.3	2.0
C _{18:1} ω-9 油酸 (Oleic acid)	11.7	13.5	6.0
C _{18:2} ω-6 亞麻油酸 (Linoleic)	-	76.1	1.5
C _{20:5} ω-3 EPA (Eicosapentenoic acid)	31.2	0.3	-
C _{20:6} ω-3 DHA (Docosahexaenoic acid)	13.1	-	-
Others	-	6	-

計畫成果自評

研究計畫執行內容與原計畫內容符合，旨在探討魚油補充對敗血症大白鼠的瀰漫性血管內凝血反應(DIC)及多重器官損傷的效應，結果顯示補充魚油能有效減少 DIC 反應及器官損傷，而且提高敗血症大白鼠存活率。原計畫內容只預定比較魚油及紅花籽油兩種油脂，基於實驗需求，並且在不增加計畫經費支出的情形下，我們亦比較芝麻油、玉米油、椰子油對敗血症大白鼠的作用。

本專題研究計畫執行後，已於 94 年 5 月在中華民國營養年會發表一篇會議論文「芝麻油減輕敗血症大白鼠瀰漫性血管內凝血反應及器官損傷」，並計畫於 95 年 3 月於生物醫學聯年年會發表會議論文一篇。

本研究計畫並協助在學學生完成兩篇畢業論文，包括中國文化大學生活應用科學所楊湘晨之畢業論文：「膳食補充魚油對敗血症大白鼠血液凝集病變與器官損傷的效應」及生命科學系林育弘之專題研究論文：「瀰漫性血管內凝血反應是敗血症早期或晚期發生的病變？」。目前計畫主持人謝建正博士亦著手撰寫三篇論文，題目分別(1) Fish oil supplementation attenuate disseminated intravascular coagulation and organ injury in septic rats, (2) Effects of sesame oil on disseminated intravascular coagulation and organ injury in septic rats (3) Is disseminated intravascular coagulation an early or late event in cecal ligation and puncture-induced sepsis, 三篇初稿完成後，將進行期刊投稿修改工作。

本專題研究計畫之研究成果有助於了解敗血症發病的過程，並了解敗血症誘發器官損傷衰竭的機轉。本計畫亦探討平日補充膳食油脂對敗血症個體的效應，結果發現補充芝麻油、魚油及紅花籽油有助於提高敗血症個體存活率，而補充玉米油及椰子油則無明顯效果，此項研究成果可提供臨床工作人員作為治療敗血症病患的參考，並提供民眾作為飲食保健的參考。