

臺北醫學大學
保健營養學系碩士論文

Master Thesis

School of Nutrition and Health Sciences

Taipei Medical University

台東地區酒精性肝臟疾病患者體內抗氧化狀態之研究

**Study of antioxidative status in Taitung area patients with
alcoholic liver disease**

研究生：陳麗如 撰

(Li-Ju Chen)

指導教授：楊素卿 博士

(Suh-Ching Yang, Ph.D.)

中華民國九十七年一月

January 2008

台東地區酒精性肝臟疾病患者體內抗氧化狀態之研究
Study of antioxidative status in Taitung area patients with
alcoholic liver disease

本論文係臺北醫學大學保健營養學系學生陳麗如所提，作為審查授與理
學碩士學位之一部分。

本論文承蒙下列考試委員審查通過：

白明忠

白明忠主任

馬偕紀念醫院台東分院內科主任

胡雪萍

胡雪萍 博士

臺北醫學大學保健營養學系教授

楊素卿

楊素卿 博士

臺北醫學大學保健營養學系教授

(指導教授)

黃士懿

黃士懿 博士

臺北醫學大學保健營養學系教授兼系主任

中華民國九十七年一月十日

Jan 10, 2008

博碩士論文電子檔案上網授權書

(提供授權人裝訂於紙本論文書名頁之次頁用)

本授權書所授權之論文為授權人在 臺北醫學大學 保健營養學系 _____ 組 96
學年度第一 學期取得 碩士 學位之論文。

論文題目：台東地區酒精性肝臟疾病患者體內抗氧化狀態之研究
指導教授：楊素卿

茲同意將授權人擁有著作權之上列論文全文(含摘要)，非專屬、無償授權國家圖書館及本人畢業學校圖書館，不限地域、時間與次數，以微縮、光碟或其他各種數位化方式將上列論文重製，並得將數位化之上列論文及論文電子檔以上載網路方式，提供讀者基於個人非營利性質之線上檢索、閱覽、下載或列印。

- 讀者基非營利性質之線上檢索、閱覽、下載或列印上列論文，應依著作權法相關規定辦理。

授權人：陳麗如 
簽 名：_____

中華民國 97 年 01 月 23 日

中文摘要

本研究於馬偕紀念醫院台東分院招募 27 位酒精性肝臟疾病患者 (alcoholic liver disease, ALD)，對照組則是依照 ALD 組經年齡及性別配對後募集之正常健康成人 22 位。分別針對此兩組受試者進行血液生化值、及抗氧化能力分析。結果發現與健康成年人比較之下，在血脂質方面，酒精性肝臟疾病患者總膽固醇 (total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白膽固醇 (high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C) 及低密度脂蛋白膽固醇 (low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C) 顯著低於對照組 ($p < 0.05$)，而三酸甘油酯 (triglyceride, TG) 濃度方面兩組無顯著差異。另一方面，ALD 患者紅血球中之抗氧化酵素超氧化歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、過氧化氫酶 (catalase, CAT) 活性顯著下降 ($p < 0.05$)，而且紅血球中還原型與氧化型麩胱甘肽含量比值 (GSH/GSSG) 顯著下降 ($p < 0.05$)，但血漿脂質過氧化物 (thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 濃度則沒有顯著差異。

關鍵字：酒精性肝臟疾病、抗氧化酵素、台東

英文摘要

This study recruited 27 patients with alcoholic liver disease (ALD) in the Taitung Mackay Memorial Hospital, and 22 healthy adults who matched the age and sex of ALD patients as the control group. The clinical data and antioxidant capacity were investigated. Compared with the control group, the total cholesterol (TC) and high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C) and low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) concentrations were significantly decreased in ALD patients ($P < 0.05$). However, there were no differences in the triglyceride (TG) concentration between the ALD patients and the health adults. Compared with the control group, the superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities and GSH/GSSG ratio in the erythrocyte were significantly decreased in ALD patients ($P < 0.05$). However, there were no differences in the plasma thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) concentration between the ALD patients and the health adults.

KEY WORDS : alcoholic liver disease 、antioxidative enzyme 、Taitung

致謝

回想這兩年多的日子，我是怎麼考上學校，怎麼樣遇見我的指導教授，怎麼樣開始做研究，深深的感受一本論文的誕生，需要感謝的人實在太多了。

首先我要最感謝的是愛我的上帝，因著上帝的帶領這一切的事才有可能發生，感謝上帝的帶領讓我遇見我的指導教授-楊素卿老師，感謝老師接納我這遠到的學生，感謝老師不但在學業上教導我，而且在生命上給我好多的學習，印象中的老師總是那麼謙和，什麼事情總是替別人想，在凡事上盡心竭力，不但是我專業上的老師，更是我生命成長上的導師，謝謝老師給我的學習和祝福。

謝謝這兩年中所有教導過我的老師們，因著你們的辛苦我們能奠基在這前人的根基上繼續建造，老師謝謝！您們辛苦了！

要特別謝謝實驗室的湘琦學姐、雅琳學姐和芷琪，謝謝妳們陪伴我大爆滿的做實驗，謝謝學姐在我每一次的問題上為我詳細的解答，若不是妳們的幫助我無法完成今天的實驗，謝謝妳們。

謝謝研究所的其他七位同班同學：祥瑞、馨羚、靜芳、雅萍、惠萍、怡妙、慧欣，謝謝您們陪我度過這兩年，所有在職學習的酸甜苦辣，謝謝您們祝福了我。

再來要特別謝謝竭力幫我招募病患的白明忠醫師，因著白醫師的協

助我能順利的收案，也謝謝白醫師對我的支持和鼓勵，也要謝謝在醫院中默默為收案病患抽血、分血的美蘭姐及檢驗科的同事們，更要謝謝我的單位課長-許碧惠課長，單位的同事們珮如、曉蓓、鳳玲姐及所有營養課的員工，謝謝你們在我唸書的日子，在工作上接納我幫助我，真的很謝謝你們，也要謝謝瑞蘭主任在統計上教導我，讓我獲益良多，也要謝謝馬偕醫院讓我有這個機會去進修，讓我在專業上往前跨了一步。

我要特別謝謝我的牧師-美娜牧師，謝謝牧師對我的愛、接納和付出，謝謝牧師總是在我最危險的時刻，即時的把我拉住。謝謝這兩年接待我的蔡伯父一家人及玉枝姐，謝謝你們的接待，讓我可以安心的學習。要特別感謝教會中的弟兄姐妹，謝謝您們在我每一次寫不出報告時為我代禱，謝謝您們陪我一起流淚，陪我一起分享喜樂，陪我一起禱告，是牧師和你們的代禱讓我能夠堅持到現在，也謝謝我的家人，謝謝你們的關懷、支持和鼓勵，讓我沒有後顧之憂。

謝謝所有參予這次研究中的患者，謝謝您們的付出讓研究能夠順利進行，也希望您們能倚靠上帝脫離酒精，有健康的身體。

感謝上帝透過所有人給我的祝福，我只將僅有的五餅二魚擺上，唯有神能使它餵飽五千人，將一切榮耀歸給愛我的天父。

目錄

中文摘要.....	I
英文摘要.....	II
致謝.....	III
目錄.....	V
圖目次.....	VII
表目次.....	VIII
第一章 緒論.....	1
第二章 文獻回顧.....	4
第一節 台灣地區喝酒盛行率.....	4
第二節 體內之酒精代謝.....	5
第三節 酒精性肝臟疾病之致病機轉.....	8
第四節 酒精性肝臟疾病與營養素代謝.....	11
第三章 實驗設計與方法.....	13
第一節 實驗儀器.....	13
第二節 分組及受試者之篩選.....	14
第三節 實驗流程.....	15
第四節 測定項目及分析方法.....	16
第五節 統計分析.....	38
第四章 結果.....	39
第一節 受試者基本資料.....	39
第二節 受試者血液生化值.....	41
第三節 抗氧化能力.....	43
第四節 原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者身體抗氧化狀態之比較.....	47
(一) 受試者基本資料.....	48
(二) 受試者血液生化值.....	50
(三) 抗氧化能力.....	53

第五節 依酒精性肝炎與肝硬化分類後之抗氧化狀態之比較	57
(一) 受試者基本資料	58
(二) 受試者血液生化值	60
(三) 抗氧化能力	63
第五章 討論	67
第一節 受試者基本資料	67
第二節 受試者血液生化值	68
第三節 抗氧化能力	70
(一) 抗氧化酵素活性	70
(二) 紅血球中抗氧化物質及血漿中脂質過氧化產物濃度	70
第四節 原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者身體抗氧化狀態之比較	73
(一) 受試者基本資料	73
(二) 受試者血液生化值	73
(三) 抗氧化能力	74
第五節 依酒精性肝炎與肝硬化分類後之抗氧化狀態之比較	76
(一) 受試者基本資料	76
(二) 受試者血液生化值	76
(三) 抗氧化能力	77
第六章 本實驗執行困難及未來研究方向	79
第七章 總結	80
第八章 參考文獻	81
附件	87

圖目次

圖 一、酒精在肝細胞之代謝途徑 7



表目次

表 一、受試者之基本資料.....	40
表 二、酒精性肝臟疾病患者及對照組之生化檢驗值.....	42
表 三、酒精性肝臟疾病患者紅血球中抗氧化酵素活性.....	44
表 四、酒精性肝臟疾病患者紅血球中抗氧化物質及血漿中脂質過氧化產物濃度.....	46
表 五、原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者之基本資料.....	49
表 六、原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者之生化檢驗值.....	51
表 七、原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者之營養生化檢驗值.....	52
表 八、原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者紅血球中抗氧化酵素活性.....	54
表 九、原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者紅血球中抗氧化物質及血漿中脂質過氧化產物濃度.....	56
表 十、酒精性肝炎、肝硬化患者之基本資料.....	59
表 十一、酒精性肝炎、肝硬化患者之生化檢驗值.....	61
表 十二、酒精性肝炎、肝硬化患者之營養生化檢驗值.....	62
表 十三、酒精性肝炎、肝硬化疾病患者之紅血球中抗氧化酵素活性..	64
表 十四、酒精性肝炎、肝硬化疾病患者紅血球中抗氧化物質及血漿中脂質過氧化產物濃度.....	66

第一章 緒論

肝臟為人體重要的營養代謝器官，負責人體內許多複雜的生理功能，包括：膽汁製造、營養素代謝、藥物與酒精代謝、銅、鐵及脂溶性維生素的儲存、吞噬被破壞的紅血球、合成抗凝血劑與血漿蛋白以及維持血糖恆定等。根據衛生署統計資料顯示，慢性肝病以及肝硬化高居國人九十五年十大死因的第七位（衛生署，2006）。九十四年各縣市每十萬人口死亡數（即粗死亡率），以台北縣 453.6 人最低，而以台東縣 1,011.9 人為最高，為台北縣的 2.2 倍（衛生署，2005）。九十四、九十五年慢性肝病以及肝硬化高居台東縣十大死因的第五位（衛生署，2005；2006）。九十五年慢性肝病及肝硬化平均死亡率為每十萬人 22.1 人，台東縣則高達每十萬人 71.2 人，高居全台之冠（衛生署，2006）。而台東地區原住民人口較其他縣市高，而且原住民慢性肝病及肝硬化高居九十四年十大死因的第四位。在飲酒盛行率方面，根據民國九十年台灣地區飲酒盛行率調查報告指出，台灣地區曾有飲酒習慣者（每星期至少有三天飲酒者）為 8.3%，台東地區高達 19%，而目前仍有飲酒習慣者為 6.6%，台東地區高達 16.2%，皆居於全台之冠（梁等人，2004）。在原住民方面，分北、南、東三區，以東部原住民曾有飲酒習慣者 29.7%、目前仍有飲酒習慣者 25.8%，高於其他兩區原住民（梁等人，2004），研究指出，東台灣醫院

中有 25.7% 的住院病患有酒精濫用或依賴的狀況 (alcohol use disorders, AUD)，其中原住民佔 45.9%，漢族佔 16.9% (Wu et al., 2006)，推測台東地區嗜酒習慣可能是肝臟疾病罹患率較高的主要原因，由此可知，酒精性肝臟疾病對於台東地區居民的健康已經造成嚴重的影響。

根據研究指出，酒精在體內的代謝過程中會產生自由基，降低細胞抗氧化狀態，造成脂質過氧化物之堆積，最後產生細胞病變或死亡 (Lee et al., 2004)。許多臨床調查研究也指出，長期酗酒者體內的抗氧化狀態與營養素濃度會顯著降低，(Addolorato et al., 2008; Castele et al., 2002; Villanueva et al., 2004)，其中又以維生素 B 群受影響最大，包括 B₁、B₂、B₆、B₁₂、葉酸以及菸鹼素等，而且與飲食習慣息息相關 (Taysin, 2005; Rosenthal et al., 1973; Takabe and Itokawa, 1983)。但是，目前關於酒精性肝臟疾病之相關研究均為西方人的研究報告，關於東方人方面的研究報告卻很少。而西方人因為遺傳的關係，酒精代謝能力較強 (Yu et al., 2002)，其研究報告可能無法完全解釋東方人酒精性肝臟疾病患者的問題，而且地域性之差異也是酒精性肝臟疾病研究的主要影響因素之一。

由以上的研究背景可知，積極建立酒精性肝臟疾病的本土資料對於預防台灣地區肝臟疾病是非常重要的，尤其是針對台灣地區酒精性肝臟疾病罹患率最高的台東縣，其研究意義更是重大。因此，本研究探討台東地區酒精性肝臟疾病患者體內之抗氧化狀態，建立酒精性肝臟疾病相

關之本土性資料，以作為日後台灣地區酒精性肝臟疾病之學術研究及臨床治療的參考。



第二章 文獻回顧

第一節 台灣地區喝酒盛行率

台灣地區的喝酒盛行率在1940年為1.0%，1982年的調查為7%，2001年的調查為8.3%，且以台東縣19.0%為最高（梁等人，2004），2000~2002年我國「現在有喝酒習慣者，常喝到半醉或爛醉」之男性比例為23.8%，女性為7.6%（行政院主計處，2006），顯示台灣地區，歷年來飲酒盛行率有上升趨勢。

在原住民方面，1956年的酒癮終生盛行率為0.0~0.2%，1986年則升高為44.5~54.5%（梁等人，2004）；1991年於新竹縣五峰鄉進行吸煙、喝酒及嚼食檳榔之盛行率調查發現，喝酒男性終身盛行率為85.53%；在女性為58.0%（劉等人，1994）；於1992年針對南投縣仁愛鄉泰雅族及布農族進行酒精濫用和依賴的盛行率分別是：泰雅族18.6%、31.4%，布農族13.0%、44.9%（王等人，1994）；而1999年研究調查花蓮縣秀林鄉、萬榮鄉二山地鄉居民之整體喝酒盛行率高達58.47%（楊，2005），於2001年調查和平鄉原住民飲酒比例為：男性28.4%、女性22.1%（王，2003）；另外，2001年將原住民分為北、南、東三區，盛行率分別是26.6%、22.1%、29.7%，東部最高（梁等人，2004），整體而言，原住民有很高的飲酒盛行率。

第二節 體內之酒精代謝

肝臟是酒精代謝的主要場所，代謝途徑如圖一所示。長期過量之酒精攝取常造成肝臟方面的傷害為酒精中毒、脂肪肝、酒精性肝炎及肝硬化等。身體內可以代謝酒精的酵素系統有四種：

①酒精脫氫酶 (alcohol dehydrogenase, ADH)－乙醛脫氫酶 (acetaldehyde dehydrogenase, ALDH)

此酵素位於肝臟細胞質中，當血液中酒精濃度較低時，酒精主要是經由此酵素的作用進行代謝。此外，其代謝速率受 NAD^+ 影響，因為酒精代謝過程中所產生 NADH 必須再氧化成 NAD^+ ，才能使乙醇的氧化繼續不斷，亦即乙醇的氧化速率可由 NAD^+ 的多寡來控制，因此 NAD^+ 為此反應速率之限制因子。

②MEOS 系統 (microsomal ethanol oxidizing system)

此酵素位於內質網，此酵素的活性會受到酒精所誘發。另外，此酵素亦參與許多藥物以及化學物質之代謝反應，在許多方面 MEOS 和微粒體藥物解毒系統相似。如同乙苯基丙二醯脲 (phenobarbital) 及其他一些藥物會引發藥物代謝酶一般，乙醇可促進 MEOS 的活性。此系統在低濃度的乙醇（血濃度 $<100\text{mg/dL}$ ）並不重要。長期飲酒或應用誘導物質如巴比妥鹽類可增加 MEOS 的活性，此為酒精愈喝愈多的一部分理由。

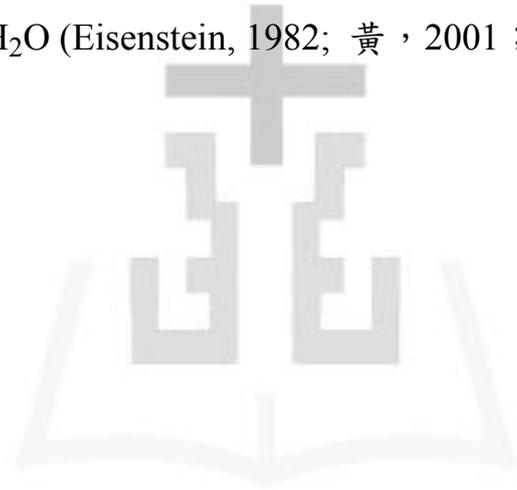
③過氧化氫酶系統 (catalase, CAT)

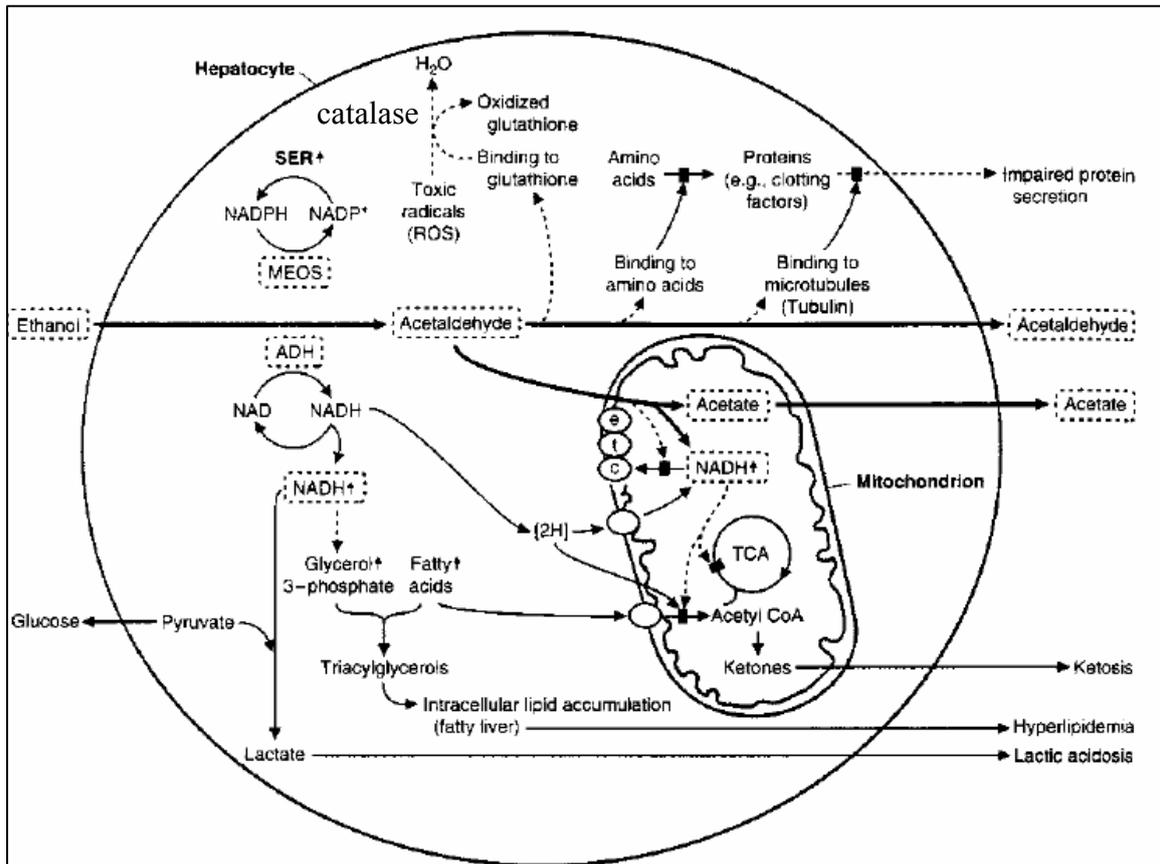
位於過氧化小體 (peroxisome) 內，此酵素主要功能是催化過氧化氫 (H_2O_2) 代謝成水 (H_2O) 的反應。

④ 黃嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase, XO)

存在細胞質中，參與嘌呤 (purine) 代謝之反應，需要鐵、鉬作為輔因子。

身體內的酒精代謝系統會先將酒精轉變成乙醛 (Acetaldehyde)，再將乙醛轉變為醋酸 (Acetate)，然後變為 Acetyl CoA，進入 TCA 循環，最後被氧化成 CO_2 及 H_2O (Eisenstein, 1982; 黃，2001；李，2006)。





圖一、酒精在肝細胞之代謝途徑

Figure1. Alcohol metabolism in liver cell

第三節 酒精性肝臟疾病之致病機轉

酒精性肝臟疾病之形成原因，除了酒精及其有毒代謝產物乙醛對肝臟所造成之直接毒性以外，許多營養生化因子與酒精性肝臟疾病的形成有密切的關聯性，包括肝細胞中的氧化還原狀態不平衡以及自由基形成等因素。

肝細胞中氧化還原狀態之不平衡狀態就是指NADH/NAD⁺的比值增加，因為酒精代謝成乙醛及醋酸的过程當中，需要NAD⁺當成輔酵素，轉變成NADH。因此，長期酒精攝取之下會造成肝細胞中NADH/NAD⁺比值增加，進而改變肝細胞中的氧化還原平衡，而使得肝細胞偏向還原狀態。NADH/NAD⁺的比值增加會造成TCA cycle中的脫氫酵素活性降低，如：isocitrate dehydrogenase、 α -ketoglutarate dehydrogenase等酵素之活性降低，造成整個循環之代謝活性降低。相反地，NADH/NAD⁺的比值增加會使acetyl CoA carboxylase活性增加，促進Acetyl CoA轉變成malonyl CoA，進而進入脂肪酸合成的生化反應。另外，NADH之增加亦會使得glycerophosphate dehydrogenase (GPDH) 活性增加，促進dihydroxyacetone Phosphate (DHAP) 轉變成glycerol 3-phosphate (glycerol 3-P)，而glycerol 3-P因為可以提供脂質合成所需的glycerol，其濃度升高則會促進脂質生成。因此，長期攝取酒精會影響脂質正常代謝而造成酒精性高脂血症以及酒精性脂肪肝等症狀 (Lieber, 1994)。

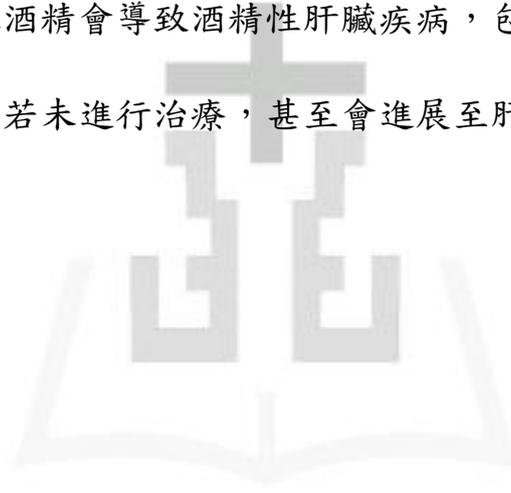
1980 年代以前，有關酒精之肝臟傷害之報告大部分都以討論有毒性代謝產物—乙醛為中心。堆積於身體之乙醛會與細胞膜蛋白結合，造成細胞中細微構造，如：粒線體等的機能發生障礙，進一步則影響到整個肝臟，甚至於腦部、神經系統或內分泌系統。這也就是攝取過量的酒精之後會產生噁心、嘔吐、頭痛及血壓上升等宿醉現象的原因(Lieber, 1994)。

根據近年來的研究報告指出，酒精性肝臟疾病之形成亦與自由基有密切的關聯性 (Porta, 1997)。身體之 MEOS 系統在代謝酒精時，會誘導 cytochrome P450 中 CYP2E1 的表現，增加活性氧類 (reactive oxygen species, ROS) 的產生，尤其是超氧自由基 (superoxide free radicals) 及氫氧自由基 (hydroxyl free radicals)。因此在大量酒精出現於體內時，自由基之生成也隨之增加，危害身體組織 (Ishii et al., 1997)。不僅如此，長期攝取酒精也會造成體內抗氧化酵素活性與抗氧化能力降低，例如：超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、麩胱甘肽過氧化酶 (glutathione peroxidase, GPX) 等，使得過氧化脂質大量產生，進而引起各種酒精性肝臟疾病 (Rouach et al., 1977)。另外，乙醛與細胞膜蛋白的結合物也會刺激嗜中性白血球，使其生成大量的自由基，攻擊肝細胞。而且，乙醛在代謝過程中會與體內 SH 化合物結合，造成體內抗氧化物質麩胱甘肽 (glutathione, GSH) 濃度下降 (Oh et al., 1998)。酒精代謝相關的報告也指出，長期攝取酒精後，其血液以及肝細胞中的維生素 E、A 以及 β -胡蘿蔔

素的濃度會降低，而且降低的程度與其攝取的酒精量有密切的相關性 (Kawase et al., 1989; Leo et al., 1993; Ahmed et al., 1994; Polavarapu et al., 1998)。

此外，酒精的攝取會增加腸道細胞的通透性，使得格蘭氏陰性菌產生的內毒素 (endotoxin) 進入體內，造成內毒素血症的發生，並刺激肝臟的 Kupffer cell 產生細胞激素 (cytokines)，例如造成肝臟細胞產生發炎現象。

因此長期攝取酒精會導致酒精性肝臟疾病，包括脂肪肝、酒精性肝炎及肝纖維化等，若未進行治療，甚至會進展至肝癌。



第四節 酒精性肝臟疾病與營養素代謝

長期酒精攝取會造成營養素缺乏以及代謝異常，其中又以維生素 B 群受影響最大，包括 B₁、B₂、B₆、B₁₂、葉酸以及菸鹼素等。

研究指出長期酒精攝取會造成維生素 B₁ 血中濃度顯著降低 (Takabe and Itokawa, 1980, 1983 ; Alkonyi et al., 1976)，酗酒者較容易患有維生素 B₁ 缺乏的原因有三個：

- ①由於食物的攝取減少造成維生素的攝取不足。
- ②酗酒者容易有肝功能損壞的情形，而肝機能不佳影響到硫胺雙磷酸鹽 (thiamin diphosphate, TDP) 的形成，故因而增加了酗酒者對維生素 B₁ 的需要量。
- ③酒精降低了維生素 B₁ 的吸收。(謝等人，2003)

長期酒精攝取造成維生素 B₂ 血中濃度顯著降低之機轉尚未十分明確，但 Rosenthal 等學者於 1973 年研究發現，22 名長期酒精攝取中有 11 名確定有維生素 B₂ 缺乏的問題 (Rosenthal et al., 1973)。

酒精會阻礙 Pyridoxal phosphate (PLP) 與蛋白質結合，並增加 phosphatase 活性，促進 PLP 分解，研究指出長期酒精攝取造成維生素 B₆ 血中濃度顯著降低 (Lumeng, 1978; Ohgi and Hirayama, 1988; Lee et al., 2004)。

在維生素 B₁₂ 方面，酒精會抑制腸道中 B₁₂ 的吸收 (Lindenbaum and Lieber, 1969)。酒精也會抑制腸道中葉酸的吸收，長期攝取酒精患者或大白鼠會因輕度肝臟傷害而使得肝中葉酸含量降低，而發生巨球性貧血 (Tamura et al., 1981; Halsted et al., 1971)。

在菸鹼素方面，因酒精代謝過程中需要 NAD⁺ 及 NADH，研究發現長期攝取酒精者血中菸鹼素濃度顯著降低 (橋詰直孝，1991)。

由以上研究背景，針對台東地區酒精性肝臟疾病患者進行體內抗氧化狀態的探討。



第三章 實驗設計與方法

第一節 實驗儀器

1. 分光光度計：U-3000 Spectrophotometer, Hitachi, Japan
2. 冷凍離心機：Kubota 5800, Japan
3. 冷凍離心機：Kubota 1300, Japan
4. 去離子水設備：Millipore Co, Japan
5. 恆溫循環水槽：TKS WB 211, ROC
6. 製冰機：老日光冷凍工業, ROC
7. 電動天秤：Mettler AE 200, Switzerland
8. 電動天秤：Mettler AE 360, Switzerland
9. -80°C 冷凍櫃：REVCO, USA
10. -20°C 冷凍櫃：LAB/PHARMACY FREEZER, USA
11. 4°C 冷藏櫃：易德儀器有限公司, ROC
12. 超音波細胞破膜機：Vibra Cell model VCX-500, Sonics and Materials Inc, Vacutronics, Japan
13. 微盤分析儀(Microplate reader)：Labsystem Multiskan RC, Finland
14. 生化分析儀：BECKMAN COULTER 公司 機型 CX7
15. 血球計數儀：BECKMAN COULTER 公司 機型 GEN*S

第二節 分組及受試者之篩選

本研究經人體試驗委員會通過，由台東馬偕醫院招募 27 位經專科醫師判斷為 ALD 之患者，患者需符合下列條件者，招募成為受試者：

- ①年齡：20~66 歲。
- ②性別：不限制。
- ③生理狀況：排除懷孕以及哺乳期之婦女。
- ④排除患有 A、B、C 型肝炎患者。
- ⑤用藥情形：抽血前一星期尚未服用任何治療肝臟疾病之藥物，經簽訂同意書後以示同意參予計畫。(同意書如附件一)

另一方面招募年齡以及性別等條件與 ALD 相同之健康成年人 22 位為對照組。

第三節 實驗流程

病患經專科醫師診斷為 ALD 後，轉介給營養師，說明實驗性質及進行方式，經同意簽訂同意書後，進行基本資料收集與體位測量，確認抽血前一星期尚未服用任何治療肝臟疾病之藥物後進行抽血。

受試者經過 12 小時禁食後，以含有 EDTA 抗凝血劑之採血管採集靜脈血 20mL。所收集的血液於 $2000\times g$ $4^{\circ}C$ 下離心 15 分鐘，分離血漿及血球。取得的血漿分裝於 1.5mL 離心管中。紅血球加入體積為紅血球 2~3 倍之 0.9% 生理食鹽水清洗兩次，於 $2000\times g$ $4^{\circ}C$ 下離心 5 分鐘，上清液丟棄，紅血球取 100 μ L 分裝於 1.5mL 之塑膠微量離心管中。收集之血漿與血球儲存於 $-80^{\circ}C$ 下，以便進行分析。

對照組則另外選擇時間經 12 小時禁食後，進行抽血，抽血條件和流程與 ALD 組相同。

第四節 測定項目及分析方法

(一) 基本資料與體位測量

基本資料問卷中包括姓名、性別、年齡、職業、病程及飲食歷史等，並進行體位測量，包括體重、身高等。



(二) 一般血液生化分析

分析肝功能指標，包括天門冬胺酸轉胺酶 (aspartate aminotransferase, AST)、丙胺酸轉胺酶 (alanine aminotransferase, ALT) 活性、麩胺醯轉移酶 (γ -glutamyltransferase, γ -GT) 及總膽紅素 (Total Bilubine, TBil)。並分析脂質濃度，包括總膽固醇 (total cholesterol, TC)、三酸甘油酯(triglyceride, TG)、低密度脂蛋白膽固醇 (low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C) 及高密度脂蛋白膽固醇 (high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)，並分析白蛋白 (Albumin, Alb)、總血紅素 (hemoglobin, Hb)、血比容 (Hematocrit, Ht) 及尿酸 (Uric acid)。

1. 天門冬胺酸轉胺酶 (aspartate aminotransferase, AST)

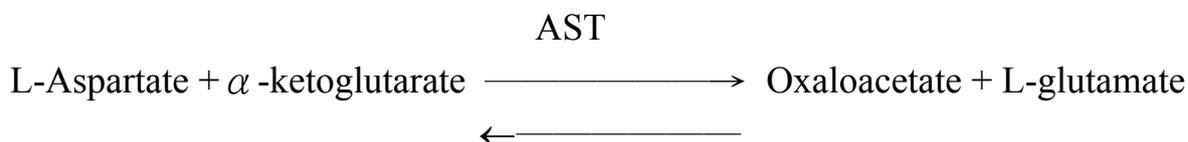
天門冬胺酸轉胺酶 (AST) 試劑測試的原理是：利用 SYNCHRON CX System 的生化儀器，定量血清或血漿中天門冬胺酸轉胺酶的活性。

天門冬胺酸轉胺酶試劑測量天門冬胺酸轉胺酶活性的方法，是酵素速率法 (Enzymatic rate method)。在這個反應之中，天門冬胺酸轉胺酶催化可逆的轉胺反應-將 L-aspartate 與 α -ketoglutarate 轉成 oxaloacetate 和 L-glutamate。在 malate dehydrogenase (MDH) 出現時，oxaloacetate 會還原成 malate，並且合併使得還原的 β -NADH 氧化成 β -NAD。

貝克曼庫爾特 SYNCHRON CX 系統生化儀器會自動的將適量的試劑及檢體加入反應管 (cuvette) 中，試劑與檢體的比例是一份的檢體比上

11 份的試劑。機器會自動偵測 340 nanometers 吸光度的改變，吸光度的改變直接與天門冬胺酸轉胺酶的活性成正比。

化學反應方程式：



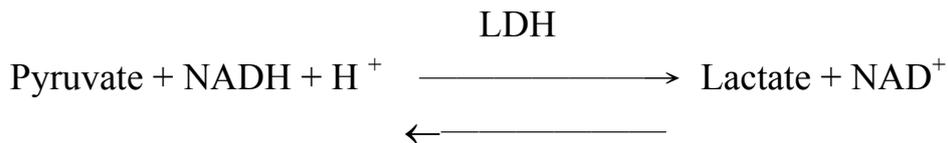
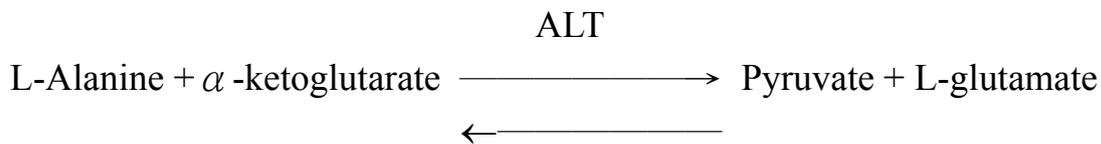
2. 丙胺酸轉胺酶 (alanine aminotransferase, ALT)

丙胺酸轉胺酶 (ALT) 試劑測試的原理是：利用 SYNCHRON CX System 的生化儀器，定量血清或血漿中丙胺酸轉胺酶的活性。

丙胺酸轉胺酶試劑測量丙胺酸轉胺酶活性的方法，是動力學速率法 (Kinetic rate method)。在這個反應之中，丙胺酸轉胺酶催化可逆的轉胺反應-將 L-alanine 與 α -ketoglutarate 轉成 pyruvate 和 L-glutamate。在 lactate dehydrogenase (LDH) 出現時，pyruvate 會還原成 lactate，並且合併使得還原的 β -NADH 氧化成 β -NAD。

貝克曼庫爾特 SYNCHRON CX 系統生化儀器會自動的將適量的試劑及檢體加入反應管 (cuvette) 中，試劑與檢體的比例是一份的檢體比上 11 份的試劑。機器會自動偵測 340 nanometers 吸光度的改變，吸光度的改變直接與丙胺酸轉胺酶的活性成正比。

化學反應方程式：



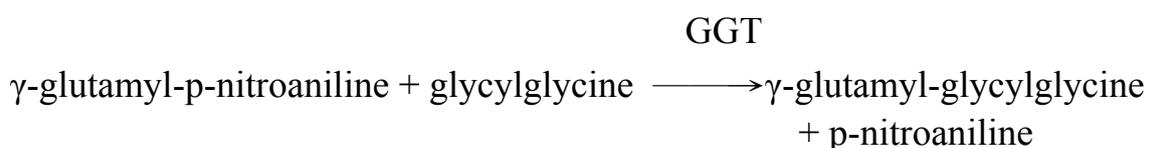
3. 麩胺醯轉移酶 (γ -glutamyltransferase, γ -GT)

γ -麩胺醯轉移酶 (γ -GT) 試劑測試的原理是：利用 SYNCHRON CX System 的生化儀器，定量血清或血漿中 γ -麩胺醯轉移酶的活性。

γ -麩胺醯轉移酶試劑測量 γ -麩胺醯轉移酶活性的方法，是酵素學速率法 (enzymatic rate method)。在這反應中， γ -麩胺醯轉移酶會催化 γ -麩胺醯的轉移；從 gamma-glutamyl-p-nitroaniline 和 glycylglycine 轉移成 gamma-glutamyl-glycylglycine 與有顏色的 p-nitroaniline。

貝克曼庫爾特 SYNCHRON CX 系統生化儀器會自動的將適量的試劑及檢體加入反應管 (cuvette) 中，試劑與檢體的比例是一份的檢體比上二十份的試劑。機器會自動偵測 410 nanometers 吸光度的改變，吸光度的改變直接與 γ -麩胺醯轉移酶的活性成正比。

化學反應方程式：



4. 總膽紅素 (Total Bilubine, TBil)

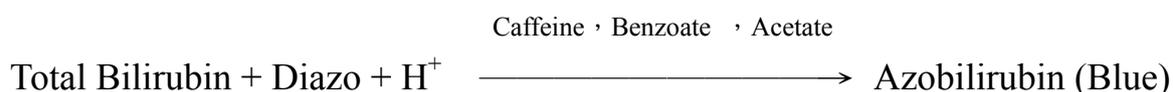
總膽紅素 (TBil) 試劑測試的原理是：利用 SYNCHRON CX System 的生化儀器，配合使用 SYNCHRON 膽紅素校正液，定量血清或血漿中的總膽紅素的濃度。

總膽紅素的測量是用來診斷和治療肝臟，溶血性，血液學的及代謝性異常，包括肝炎和膽囊阻塞。

總膽紅素試劑測量總膽紅素濃度的方法，是藉由在一定時間內偵測終點反應時吸光度發生的改變，進而換算出濃度的多寡。在反應中，膽紅素在咖啡因、Benzoate 以及醋酸作為催化劑的情況下，會與 Diazo 試劑反應，形成 azo-膽紅素。

貝克曼庫爾特 SYNCHRON CX 系統生化儀器會自動的將適量的試劑及檢體加入反應管 (cuvette) 中，試劑與檢體的比例是一份的檢體比上 35 份的試劑。機器會自動偵測 520 nanometers 吸光度的改變，吸光度的改變直接與的總膽紅素濃度成正比。

化學反應方程式：



5. 總膽固醇 (total cholesterol, TC)

膽固醇 (TC) 試劑測試的原理是：利用 SYNCHRON CX System 的生

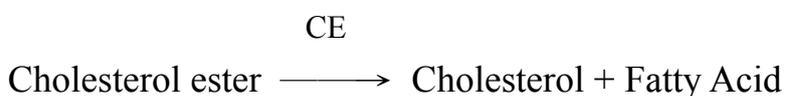
化儀器，配合使用 SYNCHRON CX Multi 校正液定量血清或血漿中膽固醇的濃度。

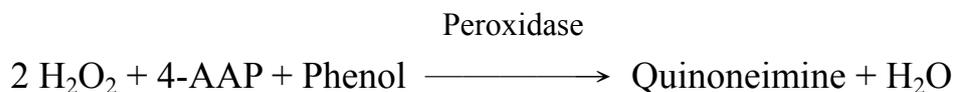
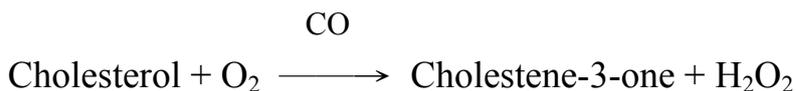
膽固醇的測量是用來診斷和治療動脈粥狀硬化冠狀動脈疾病。亦用來診斷與脂質及脂蛋白有關代謝異常的相關疾病。血清內的膽固醇濃度取決於許多因素，例如：年紀、性別、飲食、身體的活動、肝臟疾病和其他代謝異常等等。

膽固醇試劑測量膽固醇濃度的方法，是藉由在一定時間內偵測終點反應時吸光度發生的改變，進而換算出濃度的多寡。在反應中，膽固醇酯酶 (Cholesterol Esterase, CE) 會水解膽固醇酯類 (Cholesterol Ester) 成為游離膽固醇和脂肪酸。游離膽固醇又會被膽固醇氧化酶 (cholesterol oxidase) 氧化成膽烯 (cholestene-3-one) 和過氧化氫 (hydrogen dehydrogenase)。接著過氧化酶催化過氧化氫與 4-aminoantipyrine (4-AAP)，酚 (phenol) 產生有顏色的 quinoneimine 產物。

貝克曼庫爾特 SYNCHRON CX 系統生化儀器會自動的將適量的試劑及檢體加入反應管 (cuvette) 中，試劑與檢體的比例是一份的檢體比上 100 份的試劑。機器會自動偵測 520 nanometers 吸光度的改變，吸光度的改變直接與膽固醇的濃度成正比。

化學反應方程式：





6. 三酸甘油酯 (triglyceride, TG)

三酸甘油酯 (TG) 試劑測試的原理是：利用 SYNCHRON CX System 的生化儀器，配合貝克曼庫爾特 SYNCHRON CX Multi 校正液的使用，定量血清、血漿中的三酸甘油酯濃度。

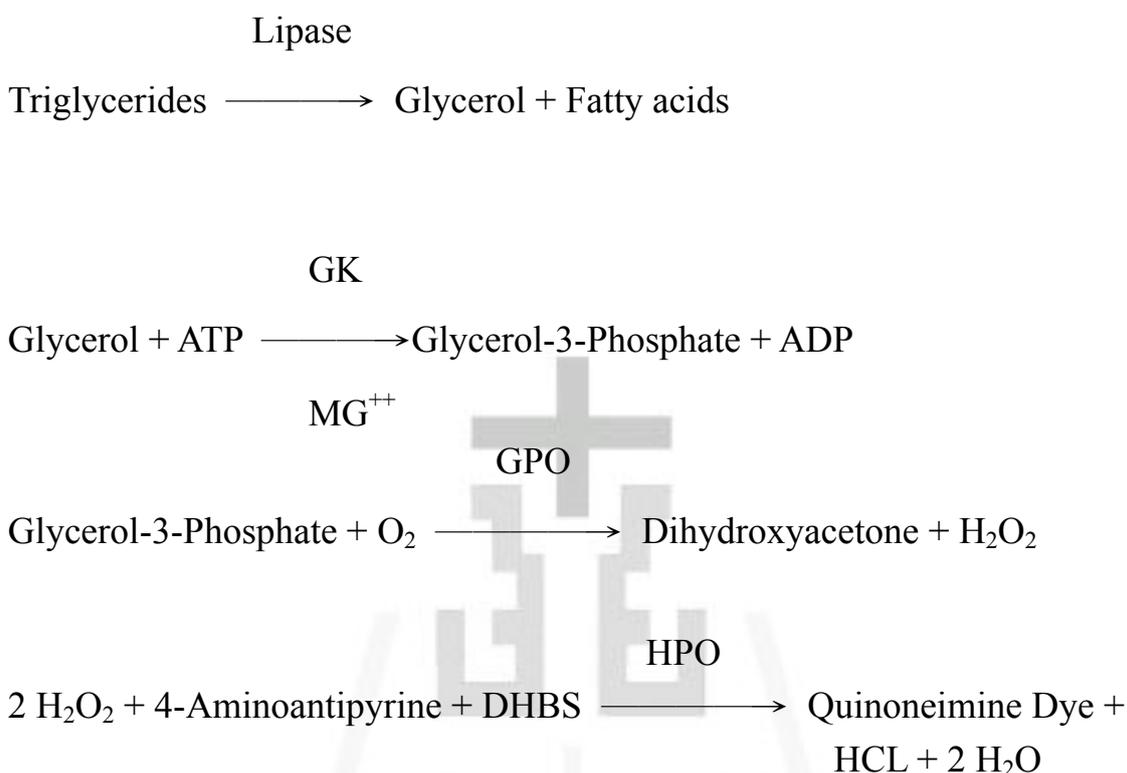
測量三酸甘油酯的測量是用來診斷和治療有糖尿病、腎臟疾病、肝阻塞、與脂肪代謝有關的疾病、各種不同的內分泌失調。

三酸甘油酯 GPO 試劑測量三酸甘油酯的濃度的方法是利用在一定時間內偵測終點反應時吸光度發生的改變，進而換算出濃度的多寡。在檢體中，三酸甘油酯會在脂酶的作用下水解成甘油和游離脂肪酸。一連串三個結合酵素的步驟是利用 glycerol kinase (GK)，glycerophosphate oxidase (GPO) 以及 horseradish peroxidase (HPO) 造成 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid (DHBS) 與 4-aminoantipyrine 氧化結合形成一種紅色的 quinoneimine 染料。

貝克曼庫爾特 SYNCHRON CX 系統生化儀器會自動的將適量的試劑及檢體加入反應管 (cuvette) 中，試劑與檢體的比例是一份的檢體比上

一百份的試劑。機器會自動偵測 520 nanometers 吸光度的改變，吸光度的改變直接與三酸甘油脂的濃度成正比。

化學反應方程式：



7. 低密度脂蛋白膽固醇 (low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)

低密度脂蛋白膽固醇直接法 (LDLD) 試劑測試的原理是：利用 SYNCHRON CX System 的生化儀器，配合使用 SYNCHRON 低密度脂蛋白膽固醇 (LDLD) 校正液，直接定量血清或血漿中低密度脂蛋白膽固醇的濃度。

低密度脂蛋白膽固醇與發展中的冠狀動脈疾病的危險因素成正比。

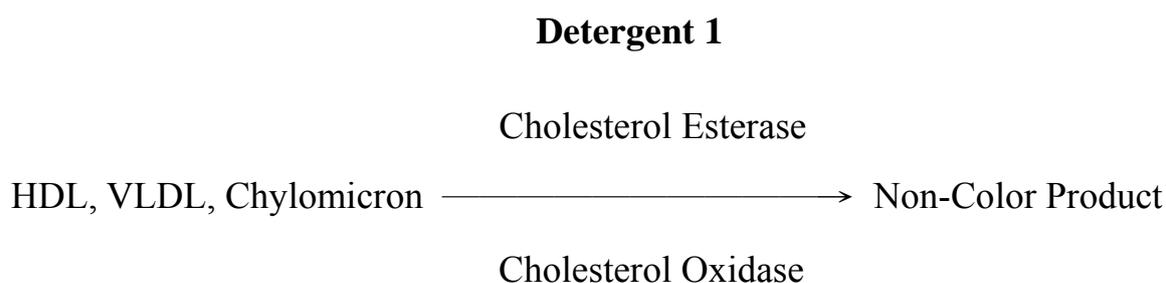
高密度脂蛋白膽固醇/低密度脂蛋白膽固醇的比值 (HDL/LDL ratio) 若是

低，亦會與發展中的冠狀動脈疾病的危險因素成正比。上升的低密度脂蛋白膽固醇是降低膽固醇治療的首要目標。

此測試方法是 homogeneous 法，檢體不需要經過任何前處理或離心步驟即可直接偵測血清中低密度脂蛋白膽固醇的濃度。此法取決於獨特的界面活性劑能夠溶解非低密度脂蛋白膽固醇的粒子，並且釋放膽固醇去與 cholesterol esterase、cholesterol oxidase 結合產生非成色形成的反應。第二種界面活性劑會溶解殘留的低密度脂蛋白膽固醇粒子，並且產生成色的反應物。

低密度脂蛋白膽固醇試劑測量膽固醇的原理是利用時間終點反應法 (timed-endpoint method)。貝克曼庫爾特 SYNCHRON CX 系統生化儀器會自動的將適量的試劑及檢體加入反應管 (cuvette) 中，試劑與檢體的比例是一份的檢體比上 93 份的試劑。機器會自動偵測 560 nanometers 吸光度的改變，吸光度的改變直接與低密度脂蛋白膽固醇的濃度成正比。

化學反應方程式：



Detergent 2

Cholesterol Esterase



Cholesterol Oxidase

Peroxidase



C= Cholesterol

DSBmT= N,N-bis (4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodium

4-AA= 4-aminoantipyrine

8. 高密度脂蛋白膽固醇 (high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)

高密度脂蛋白膽固醇直接法 (HDL-D) 試劑測試的原理是：利用 SYNCHRON CX System 的生化儀器，配合使用 SYNCHRON Systems Lipid 校正液，定量血清或血漿中高密度脂蛋白膽固醇的濃度。

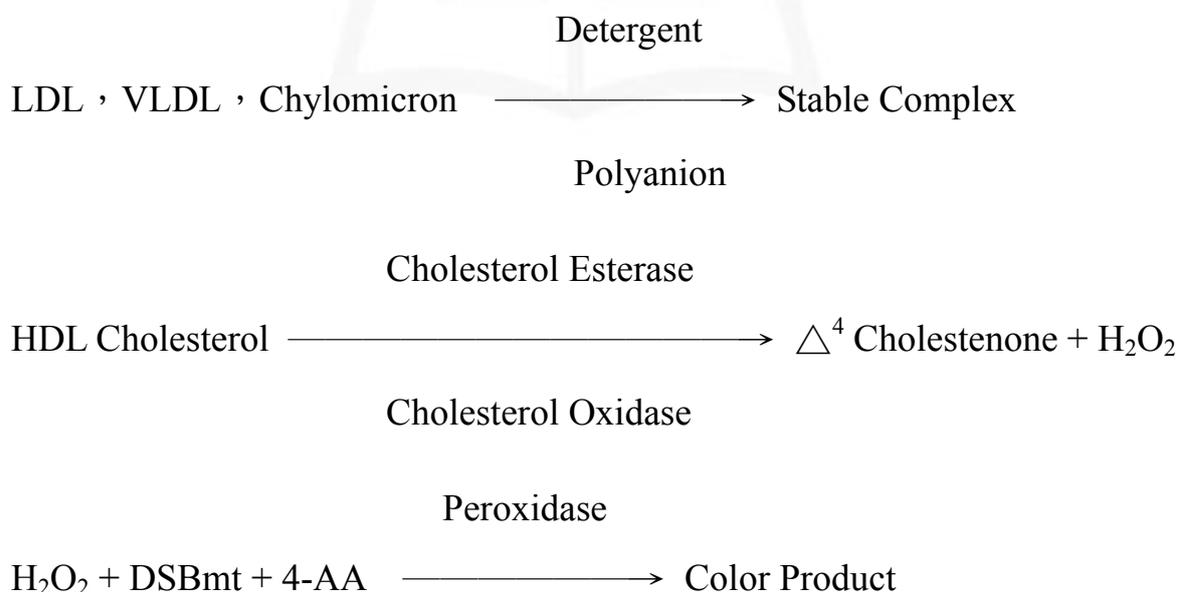
高密度脂蛋白膽固醇與任何造成冠狀動脈疾病的危險因素成反比。一個低的 HDL/LDL 膽固醇比率直接與冠狀動脈疾病的危險因素有關。一個高的高密度脂蛋白膽固醇與“長壽”徵候群有關。

此測試方法屬於 Homogeneous 方法，檢體不需要經過任何前處理或離心步驟即可直接偵測血清中高密度脂蛋白膽固醇的濃度。此法是根據一種唯一的界面活性劑 (Detergent)。界面活性劑僅僅會溶解 HDL 脂蛋白的分子；並且在 chromogen 出現時，釋放 HDL 膽固醇與 cholesterol esterase

與 cholesterol oxidase 反應，形成一種有顏色的產物。這相同的界面活性劑並會藉由不吸附其表面而抑制膽固醇酵素與低密度脂蛋白膽固醇 (LDL-Cholrsterol)、非常低密度脂蛋白膽固醇 (VLDL-Cholesterol)、乳糜微粒 (Chylomicron) 發生反應。試劑內的多陰離子會增強高密度脂蛋白膽固醇分析的選擇性是藉由複合 LDL, VLDL, Chylomicron 脂蛋白。

高密度脂蛋白膽固醇試劑用來測量膽固醇濃度是利用時間終點反應法 (timed-endpoint method)。貝克曼庫爾特 SYNCHRON CX 系統生化儀器會自動的將適量的試劑及檢體加入反應管 (cuvette) 中，試劑與檢體的比例是一份的檢體比上 93 份的試劑。機器會自動偵測 560 nanometers 吸光度的改變，吸光度的改變直接與高密度脂蛋白膽固醇的濃度成正比。

化學反應方程式：



DSBmT : N,N-bis (4-sulphobutyl)- m – toluidine- disodium

4-AA : 4 – aminoantipyrine

9. 白蛋白 (Albumin, Alb)

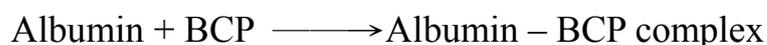
白蛋白 (Alb) 試劑測試的原理是：利用 SYNCHRON CX System 的生化儀器，配合使用 SYNCHRON CX Multi 校正液定量血清或血漿中白蛋白的濃度。

白蛋白的測量是用來診斷和治療肝臟和腎臟相關的疾病。

白蛋白試劑測量白蛋白濃度的方法，是藉由在一定時間內偵測終點反應時吸光度發生的改變，進而換算出濃度的多寡。在反應中，在檢體的白蛋白與 Bromcresol Purple (BCP) 相結合，形成有顏色的產物。

貝克曼庫爾特 SYNCHRON CX 系統生化儀器會自動的將適量的試劑及檢體加入反應管 (cuvette) 中，試劑與檢體的比例是一份的檢體比上 100 份的試劑。機器會自動偵測 600 nanometers 吸光度的改變，吸光度的改變直接與白蛋白的濃度成正比。

化學反應方程式：



10. 總血紅素 (hemoglobin, Hb)

由靜脈採集週邊血液檢體，經儀器稀釋取樣測量分析。高鐵氰化血色素比色偵測原理。血色素偵測原理是利用氰離子能與血紅素結合成穩

定化合物，在 525~540 nm 下比色，氰化變性血色素比色法是參照 CLSI H15-A2 的標準方法操作。以比色燈管電壓值訊號，對數計算血色素濃度。

11. 血比容 (hematocrit, Ht)

血比容計算原理由靜脈採集週邊血液檢體，經儀器稀釋取樣測量分析。血比容原理是由定義計算而來： $MCV \times RBC/10 = Hct \%$ ，紅血球體積偵測及紅血球計算原理是用 Coulter Principle 電磁阻抗法。利用細胞顆粒本身絕緣的特性，在導電溶液中引導細胞經過一個小孔，測量細胞所引起的電阻改變，同時測量細胞大小及進行顆粒計數。電阻脈衝的數目就是細胞的數目，電阻脈衝的振幅就是細胞的體積大小，細胞體積在 36~360fL 的顆粒均被視為紅血球，計算平均體積。

12. 尿酸 (Uric acid)

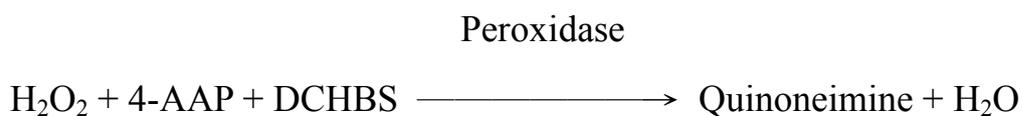
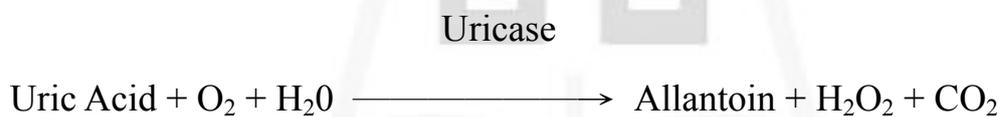
尿酸試劑測試的原理是：利用 SYNCHRON CX System 的生化儀器，配合 SYNCHRON MULTI 校正液的使用，定量血清、血漿或尿液中尿酸的濃度。

尿酸的測量是用來診斷或治療一些腎臟和代謝失調所產生的疾病，包括腎臟衰竭，痛風，白血病，牛皮癬，飢餓或其他虛弱症狀，以及病人接受細胞毒性藥物等。

測量尿酸的濃度的方法是利用在一定時間內偵測終點反應時吸光度發生的改變，進而換算出濃度的多寡。尿酸會在尿酸酶的催化下產生 allantoin 和過氧化氫，而過氧化氫又會與 4-aminoantipyrine (4-AAP) 和 3,5-dichloro+2-hydroxybenzene sulfonate (DCHBS) 在過氧化酶的催化下形成有顏色的產物。

貝克曼庫爾特 SYNCHRON CX 系統生化儀器會自動的將適量的試劑及檢體加入反應管 (cuvette) 中，試劑與檢體的比例是一份的檢體比上二十五份的試劑。機器會自動偵測 520 nanometers 吸光度的改變，吸光度的改變直接與尿酸的濃度成正比。

化學反應方程式：



(三) 抗氧化能力

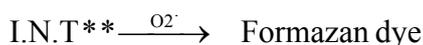
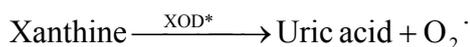
1. 紅血球中抗氧化酵素活性

抗氧化酵素的測定包括：超氧化歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、過氧化氫酶 (catalase, CAT)、麩胱甘肽過氧化酶 (glutathione peroxidase, GPX)、麩胱甘肽還原酶 (glutathione reductase, GRD)等酵素活性。

取自全血離心過的 RBC，加入 4°C 生理食鹽水清洗三次後，取 RBC 200 μ L 到 1.5mL 離心管中，加入 4°C 300 μ L 去離子水震盪後，於 4°C 8000 \times g 高速離心 10 分鐘，取上清液依序作下列分析，並以總血紅素作定量。

① SOD 活性

測定原理如下：



or



* XOD = Xanthine oxidase

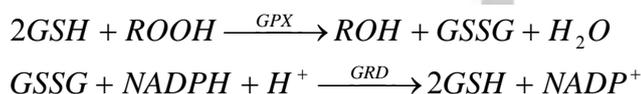
** I.N.T = 2 - (4 - iodophenyl) - 3 - (4nitrophenol) - 5 - phenyltetrazolium chloride

抗氧化酵素 SOD 活性採用市售試劑組 (SD 125; Randox Laboratories, Antrim, UK) 測得。將經過抗氧化酵素萃取前處理的上清液適當稀釋後，取 50 μ L 的樣品液或不同活性之 SOD 標準品液、1.7mL 的反應受質溶液 (50 μ M xanthine, 25 μ M I.N.T.)、250 μ L 的酵素液 (80U/L xanthine

oxidase)，混勻後，取 1mL 加入 96 孔測定盤中，於 37°C、波長 505nm 條件下，記錄 5 分鐘內吸光值之變化，吸光值變化越低表示對反應的抑制率越高，故 SOD 的活性越高。將測定值代入標準曲線，再乘以樣品稀釋倍數，最後再以紅血球定量，即可計算求得 SOD 之比活性 (U/g Hb)。

② GPX 活性

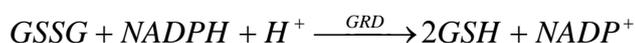
測定原理如下：



抗氧化酵素 GPX 活性之分析係採用市售試劑組 (RS 504; Randox Laboratories, Antrim, UK) 測得。將經過抗氧化酵素萃取前處理的上清液適當稀釋後，取 20 μ L 的樣品液、1mL 混合好的試劑 (4nM glutathione, 0.5U/L glutathione reductase, 0.34mM NADPH dissolved in 50mM phosphate buffer, pH 7.2, 4.3mM EDTA)、40 μ L cumene hydroperoxide，依序加入 96 孔測定盤中，以 ELISA reader 於波長 340nm 條件下，紀錄 5 分鐘吸光值之變化，GPX 活性單位 (IU) 的定義為，每分鐘減少 1 μ mole 的 NADPH。將測定值代入式 (8412 \times Δ $_{A340nm}$ /min)，再乘以樣品稀釋倍數，最後再以紅血球定量，即可計算求得 GPX 之比活性 (U/g Hb)。

③ GRD 活性

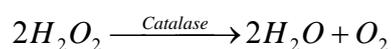
測定原理如下：



抗氧化酵素 GRD 活性之分析係採用市售試劑組 (GR 2368; Radox Laboratories, Antrim, UK) 測得。取紅血球 100 μ L 的樣品液加 300 μ L 二次水混勻，以超音波破膜機將細胞破膜，於 4 $^{\circ}$ C、10,000rpm 條件下離心 10 分鐘，取上清液進行分析。分析時，分別取 200 μ L 上清液、200 μ L 反應液 (1.0mM GSSG)、200 μ L 反應液 (0.22mM NADPH) 依序加入混勻後，以微盤分析儀 (microplate reader) (Labsystem Multiskan RC, Finland) 偵測吸光值，於波長 340nm 條件下，紀錄 5 分鐘吸光值之變化，GPX 活性單位(IU)的定義為，每分鐘減少 1 μ mole 的 NADPH。將測定值代入公式 $[(\text{Sample} \Delta_{A340\text{nm}}/\text{min} - \text{Blank} \Delta_{A340\text{nm}}/\text{min})/0.0062 \times 5]$ ，再乘以樣品稀釋倍數，最後再以紅血球定量，即可計算求得 GRD 之比活性 (U/g Hb)。

④ CAT 活性

測定原理如下：



抗氧化酵素 CAT 活性之分析係依據 Beers 與 Sizer 之方法 (Beers and

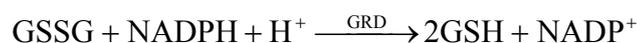
Sizer, 1952) 測得。將經過抗氧化酵素萃取前處理的上清液與以適當稀釋後，分別取 100 μ L 的樣品稀釋液、1.9mL 二次水、1.0mL 反應液 (59mM H₂O₂ in 50mM potassium phosphate, pH 7.0) 混勻後，取 1mL 加入石英比色管中，於波長 240nm 下記錄 1 分鐘內吸光值變化。CAT 活性單位 (IU) 的定義為，每分鐘減少 1 μ mole 的 H₂O₂。將測定值代入公 $\{[(\Delta A_{340nm}/min) \times 1000]/43.6\}$ ，再乘以樣品稀釋倍數，最後再以紅血球定量，即可計算求得 CAT 之比活性 (U/g Hb)。



2. 紅血球中抗氧化物質

首先將樣品中氧化型麩胱甘肽 (oxidized glutathione, GSSG) 還原成還原型麩胱甘肽 (reduced glutathione, GSH)，最後測定樣品中所有 GSH 之濃度。

測定原理如下：



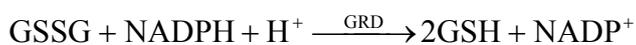
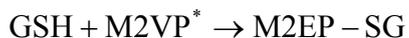
* DTNB = 5,5' - dithiobis(2 - nitrobenzoic acid)

**TNB = 5 - mercapto - 2 - nitrobenzoic acid

Total GSH 含量之分析係根據 Tietze 的方法 (Tietze, 1969)。取 10 μ L 的樣品液或不同濃度的標準品溶液 (0~100 μ M GSH) 至 96 孔測定盤中，加入 95 μ L 的 1 號反應試劑 (2U/mL glutathione reductase, 200 μ M NADPH, 2 μ M EDTA in 50mM phosphate buffer, PH 7.2)，於波長 405nm 下，以 microplate reader (Labsystem Multiskan RC, Finland) 讀取 5 分鐘內吸光值之變化，依照標準曲線計算求得樣品液中 total GSH 之濃度 (μ M)。

將樣品中還原型式的 GSH 移除掉，使樣品中只剩下 GSSG，接著再將 GSSG 還原成 GSH，最後藉由偵測 GSH，即可求得 GSSG 之濃度。

測定原理如下：



* M₂VP = 1 - methyl - 2 - vinylpyridinium trifluoromethane sulfonate

**DTNB = 5,5' - dithiobis(2 - nitrobenzoic acid)

*** TNB = 5 - mercapto - 2 - nitrobenzoic acid

GSSG 含量分析係根據 Griffith 之方法 (Griffith, 1980) 進行測定。先取 70 μ L 的樣品液或不同濃度之標準品液 (0~10 μ M GSSG) 至 96 孔測定盤中，加入 4 μ L 的 M₂VP (1-methyl-2-vinylpyridinium trifluoromethane sulfonate) 溶液，靜置室溫下反應 1 小時，此步驟是爲了將還原態的 GSH 轉變成其他的衍生物。之後，再取 10 μ L 反應結束後的待測樣品液至另一個新的 96 孔測定盤中，加入 95 μ L 的 1 號反應試劑 (2U/mL) glutathione reductase，200 μ M NADPH，2 μ M EDTA in 50mM phosphate buffer，PH 7.2)，混合均勻後，再加入 2 號反應試劑 (10mM DTMB in 50mM phosphate buffer，PH 7.2)，於波長 405nm 下，以 microplate reader (Labsystem Multiskan RC，Finland) 讀取 5 分鐘內吸光值之變化，依照標準曲線計算求得樣品液中 total GSSG 之濃度 (μ M)。

GSH/GSSG ratio 之計算：

$$\text{GSH/GSSG ratio} = (\text{total GSH} - 2\text{GSSG})/\text{GSSG}$$

3. 血漿中脂質過氧化物濃度

血漿中脂質過氧化物濃度之測定原理乃根據細胞膜上之脂質富含多元不飽和脂肪酸，在代謝過程中若受到自由基 (Free radicals) 的攻擊，則細胞膜上的不飽和脂肪酸會與自由基進行連鎖反應，進而造成脂質的過氧化反應 (Lipid peroxidation)。此過氧化反應的次級產物 (malondialdehyde) 可與 thiobarbituric acid 結合而形成一種紅色物質，稱之為 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)。

血漿中脂質過氧化物 TBARS 濃度分析，係根據 Ohkawa 等人的方法 (Ohkawa et al., 1979) 進行分析。取 20 μ L 的血漿樣品或不同濃度的標準品 (1,1,3,3-tetramethoxypropane, TMP) 至 2mL 微量離心管中，依序加入 800 μ L 的 0.22% H₂SO₄、100 μ L 的 10% Phosphotungstic acid 以及 200 μ L 的 0.67% TBA (in H₂O, galacical acetic acid=1: 1, v/v)，震盪均勻後，於 95 $^{\circ}$ C 下反應 1 小時。取出後立即移至冰上冷卻。最後再加入 600 μ L 的 n-butanol 進行震盪萃取，於 4 $^{\circ}$ C、12,000 \times g 條件下離心 10 分鐘。之後，取 200 μ L 的上層液至 96 孔測定盤螢光光度計專用的黑色分析盤中。於波長 Excitation 531 nm/Emission 590 nm 條件下，以螢光光度計 Wallac Victor-2 1420 Multilabel Counter (Perkin-Elmer Life Sciences Boston, MA, USA) 進行測定。將測定值代入標準曲線即可計算求得血漿樣品中 TBARS 之濃度。

4. 紅血球之 hemoglobin 濃度

以上所有利用 hemoglobin 含量校正的數據均利用市售試劑組 (HG 980; Randox Laboratories, Antrim, UK) 分析紅血球中 hemoglobin 濃度。標準品 (methaemoglobin) 以 Drabkin's reagent (52 mmol/L potassium phosphate, 30.4 mmol/L potassium ferricyanide, 38.4 mmol/L potassium cyanide, 25% Brij solution) 稀釋為不同濃度 (0、6、12、18 g/dL) 後，取 251 μ L 至 96 孔測定盤中。另外，取 1 μ L 的紅血球稀釋液至 96 孔測定盤中，再加入 250 μ L Drabkin's reagent，混合均勻後於波長 540 nm 下，以 microplate reader (Labsystem Multiskan RC, Finland) 偵測吸光值，利用內插法計算紅血球中 hemoglobin 之濃度。

第五節 統計分析

數值均以 Means±SEM 表示。統計分析以 SPSS 12.0 中文版軟體執行。以 Student's *t* test 比較酒精性肝臟疾病患者與健康成年人體內抗氧化狀態，利用 one way ANOVA 比較原住民與非原住民酒精性肝臟疾病患者與健康成年人體內抗氧化狀態之差異，並利用 one way ANOVA 比較對照組、酒精性肝炎及酒精性肝硬化病人體內抗氧化狀態之差異。當 $p < 0.05$ 顯示具有統計上之差異。



第四章 結果

第一節 受試者基本資料

表一為受試者之基本資料，酒精性肝臟疾病組共有 27 位，而對照組共有 22 位。在性別方面酒精性肝臟疾病組男生有 23 位，女生有 4 位，而對照組男生有 19 位，女生有 3 位。兩組在身高的部份 ALD 組顯著高於對照組($p < 0.05$)，在年齡、體重及 BMI 方面無顯著差異。



表一、受試者之基本資料¹

Table 1. The characteristics of control group and patients with alcoholic liver disease (ALD)¹

	Control	ALD
Number	22	27
Male/ Female	19/3	23/4
Age (old)	41.2 ± 2.1	45.3 ± 2.1
Height (cm)	169.7 ± 1.2	165.3 ± 1.3*
Weight (kg)	66.1 ± 1.8	65.4 ± 2.3
BMI (kg/m ²)	23.9 ± 0.6	23.9 ± 0.8

¹Values are expressed as the mean and SEM.

*, p<0.05 compared with control group (Student's *t*-test).

ALD: alcoholic liver disease.

第二節 受試者血液生化值

酒精性肝臟疾病患者及對照組之生化檢驗值表示於表二，結果顯示酒精性肝臟疾病患者之肝功能指數 AST、ALT、AST/ALT 及 γ -GT 顯著高於對照組 ($p<0.05$)。

在血脂質方面酒精性肝臟疾病患者 TC、HDL-C 及 LDL-C 顯著低於對照組 ($p<0.05$)，在 TG 濃度兩組無顯著差異。



表 二、酒精性肝臟疾病患者及對照組之生化檢驗值¹

Table 2. The clinical data of control group and patients with alcoholic liver disease (ALD)¹

	Control	ALD
AST (U/L)	20.7 ± 0.9	63.6 ± 8.7*
ALT (U/L)	22.6 ± 1.7	39.1 ± 5.2*
AST/ALT	1.0±0.06	2.86±0.86*
γ-GT (U/L)	29.2 ± 3.5	271.1 ± 81.3*
TC (mg/dL)	185.6 ± 5.5	153.7 ± 13.2*
TG (mg/dL)	99.4 ± 13.2	193.6 ± 61.2
HDL-C (mg/dL)	50.5 ± 3.1	36.7 ± 2.6*
LDL-C (mg/dL)	125.5 ± 6.8	72 ± 8.2*

¹Values are expressed as the mean and SEM.

*, p<0.05 compared with control group (Student's *t*-test).

AST: aspartate aminotransferase; ALT: alanine transaminase;

γ-GT: γ-glutamyltransferase; TC: total cholesterol; TG: triglycerides.

HDL-C: high density lipoprotein-cholesterol.

LDL-C: low density lipoprotein-cholesterol.

第三節 抗氧化能力

(一) 抗氧化酵素活性

酒精對酒精性肝臟疾病患者紅血球中抗氧化酵素活性之結果表示於表三。在 GPX 及 GRD 活性方面，兩組間沒有顯著差異。在 CAT 和 SOD 活性方面，ALD 組顯著低於對照組 ($p < 0.05$)。



表 三、酒精性肝臟疾病患者紅血球中抗氧化酵素活性¹

Table 3. The erythrocytic antioxidative enzyme activities of patients with alcoholic liver disease (ALD)¹

	Control	ALD
GPX (U/g Hb)	27.9 ± 2.2	34.4 ± 4.2
GRD (U/g Hb)	0.55 ± 0.06	0.62 ± 0.05
CAT (U/mg Hb)	11.1 ± 0.7	8.0 ± 0.7*
SOD (U/mg Hb)	9.5 ± 1.6	3.0 ± 0.2*

¹Values are expressed as the mean and SEM.

*, p<0.05 compared with control group (Student's *t*-test).

ALD: alcoholic liver disease; GPX: glutathione peroxidase;

GRD: glutathione reductase; CAT: catalase; SOD: superoxide dismutase

(二) 紅血球中抗氧化物質及血漿中脂質過氧化產物濃度

酒精性肝臟疾病患者紅血球中抗氧化物質及血漿中脂質過氧化產物濃度如表四所示，紅血球中抗氧化物質 GSH/GSSG 比值，ALD 組顯著低於對照組 ($p<0.05$)，而血漿中脂質過氧化產物 TBARS 濃度兩組間沒有顯著差異。



表 四、酒精性肝臟疾病患者紅血球中抗氧化物質及血漿中脂質過氧化產物濃度¹

Table 4. The erythrocytic antioxidants and lipid peroxide of patients with alcoholic liver disease (ALD)¹

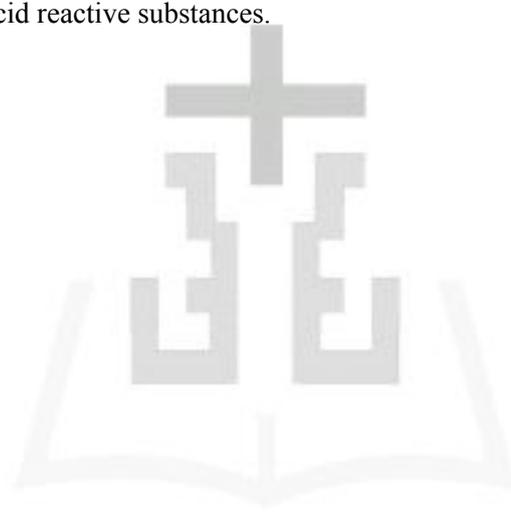
	Control	ALD
GSH/GSSG	38.1 ± 5.4	15.7 ± 1.9*
TBARS (μM)	3.5 ± 0.2	4.1 ± 0.6

¹Values are expressed as the mean and SEM.

*, p<0.05 compared with control group (Student's *t*-test).

GSH: reduced glutathione; GSSG: oxidized glutathione;

TBARS: thiobarbituric acid reactive substances.



第四節 原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者身體抗氧化狀

態之比較

台東縣九十四年底原住民人口數為 79,130 人，佔台東縣總人口之 33.12% ，原住民人口比率較其他縣市高，研究發現亞洲其他族群和原住民之間有不同的飲酒基因 (Eng et al., 2007)，所以在酒精的代謝能力上有差異，進而影響抗氧化狀態，所以將酒精性肝臟疾病患者依族群分組後，比較其身體抗氧化狀態。



(一) 受試者基本資料

原住民、非原住民酒精性肝臟疾病組 (ALD) 以及對照組之基本資料表示於表五，酒精性肝臟疾病組共有 27 位，其中有 15 位原住民，12 位非原住民，而對照組共有 22 位非原住民。在性別方面原住民酒精性肝臟疾病組男生有 11 位，女生有 4 位，非原住民酒精性肝臟疾病組 12 位皆為男生，而對照組男生有 19 位，女生有 3 位。在年齡部份，非原住民 ALD 組顯著高於對照組及原住民 ALD 組 ($p < 0.05$)，在身高方面原住民 ALD 組顯著低於對照組 ($p < 0.05$)。在體重及 BMI 方面沒有顯著差異。

表 五、原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者之基本資料¹

Table 5. The characteristics of aborigine and non-aborigine patients with alcoholic liver disease (ALD)¹

	Control	Non-aborigine ALD	Aborigine ALD
Number	22	12	15
Male/ Female	19/3	12/0	11/4
Age (old)	41.2±2.1 ^a	51.3±2.7 ^b	40.5±2.4 ^a
Height (cm)	169.7±1.2 ^a	167.6±1.6 ^{ab}	163.6±1.7 ^b
Weight (kg)	66.1±1.8 ^a	66.5±3.7 ^a	64.5±3.1 ^a
BMI (kg/m ²)	23±0.6 ^a	23.7±1.2 ^a	24.1±1.1 ^a

¹Values are expressed as the mean and SEM. Values in the same column with different letters significantly differ at p<0.05. (one-way ANOVA)

ALD: alcoholic liver disease.

(二) 受試者血液生化值

對於原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者及對照組之生化檢驗值表示於表六。結果顯示原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者之肝功能指數 AST 活性顯著高於對照組 ($p<0.05$)，在 ALT 及 γ -GT 方面非原住民酒精性肝臟疾病患者顯著高於對照組 ($p<0.05$)，原住民酒精性肝臟疾病患者則與對照組無顯著差異，AST/ALT 原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者高於對照組，但沒有達顯著差異。

在血脂質方面原住民與非原住民酒精性肝臟疾病患者 TC 較對照組低，但沒有達顯著差異。在 TG 濃度方面原住民與非原住民酒精性肝臟疾病患者與對照組之間無顯著差異。在 HDL-C 方面原住民與非原住民酒精性肝臟疾病患者顯著低於對照組 ($p<0.05$)。但原住民與非原住民酒精性肝臟疾病患者之間 HDL-C 沒有顯著差異。在 LDL-C 方面原住民與非原住民酒精性肝臟疾病患者顯著低於對照組 ($p<0.05$)，而且原住民 LDL-C 則顯著低於非原住民酒精性肝臟疾病患者 ($p<0.05$)。

對於原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者之營養生化檢驗值表示於表七。在 Alb 方面，原住民酒精性肝臟疾病患者顯著低於非原住民 ($p<0.05$)。在 Hb 及 Ht 方面，原住民低於非原住民酒精性肝臟疾病患者，但沒有達顯著差異。在 Uric Acid 及總膽紅素方面，原住民高於非原住民酒精性肝臟疾病患者，但沒有達顯著差異。

表六、原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者之生化檢驗值¹

Table 6. The clinical data of aborigine and non-aborigine patients with alcoholic liver disease (ALD)¹

	Control	Non-aborigine ALD	Aborigine ALD
AST (U/L)	20.7±0.9 ^a	58.0±10.7 ^b	68.1±13.4 ^b
ALT (U/L)	22.6±1.8 ^a	42.8±10.0 ^b	36.1±5.1 ^{ab}
AST/ALT	1.0±0.06 ^a	3.01±1.4 ^a	2.73±1.1 ^a
γ-GT (U/L)	29.2±3.5 ^a	335.9±173.4 ^b	219.3±53.0 ^{ab}
TC (mg/dL)	185.6±5.5 ^a	157.3±15.8 ^a	150.6±21.0 ^a
TG (mg/dL)	99.4±13.2 ^a	136.4±66.3 ^a	239.4±109.3 ^a
HDL-C (mg/dL)	50.5±3.1 ^a	39.8±4.5 ^b	34.3±3.1 ^b
LDL-C (mg/dL)	125.5±6.8 ^a	88.8±13.4 ^b	58.5±9.2 ^c

¹Values are expressed as the mean and SEM. Values in the same column with different letters significantly differ at p<0.05. (one-way ANOVA)

AST: aspartate aminotransferase; ALT: alanine transaminase;

γ-GT: γ-glutamyltransferase; TC: total cholesterol; TG: triglycerides.

HDL-C: high density lipoprotein-cholesterol.

LDL-C: low density lipoprotein-cholesterol.

表 七、原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者之營養生化檢驗值¹

Table 7. The clinical nutrition data of aborigine and non-aborigine patients with alcoholic liver disease (ALD)¹

	Non-aborigine ALD	Aborigine ALD
Albumin (gm/dL)	3.6±0.2	2.8±0.2*
Hb (gm/dL)	12.2±0.9	10.8±1
Ht (%)	36±2.6	31.5±2.9
Uric Acid (mg/dL)	6.7±0.4	6.9±0.9
TBil (mg/dL)	3.7±1.3	5.6±2.9

¹Values are expressed as the mean and SEM.

*, p<0.05 compared with control group (Student's *t*-test).

Hb: hemoglobin, Ht: Hematocrit, TBil: Total Bilubine



(三) 抗氧化能力

1. 抗氧化酵素活性

酒精對原住民與非原住民酒精性肝臟疾病患者紅血球中抗氧化酵素活性之影響表示於表八。在 GPX 活性方面，非原住民酒精性肝臟疾病患者顯著高於原住民酒精性肝臟疾病患者和對照組 ($p < 0.05$)，原住民酒精性肝臟疾病患者和對照組沒有顯著差異。

在 GRD 活性方面，三組間沒有顯著差異。

在 CAT、SOD 活性方面，原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者顯著低於對照組 ($p < 0.05$)。但原住民與非原住民酒精性肝臟疾病患者之間 CAT 及 SOD 沒有顯著差異。

表 八、原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者紅血球中抗氧化酵素
 活性¹

Table 8. The erythrocytic antioxidative enzyme activities of aborigine and non-aborigine patients with alcoholic liver disease (ALD)¹

	Control	Non-aborigine ALD	Aborigine ALD
GPX (U/g Hb)	27.9 ± 2.2 ^a	46.1 ± 7.8 ^b	25.0 ± 0.2 ^a
GRD (U/g Hb)	0.55 ± 0.06 ^a	0.68 ± 0.07 ^a	0.58 ± 0.07 ^a
CAT (U/mg Hb)	11.1 ± 0.7 ^a	8.5 ± 0.9 ^b	7.6 ± 1.1 ^b
SOD (U/mg Hb)	9.5 ± 1.6 ^a	2.9 ± 0.3 ^b	3.1 ± 0.3 ^b

¹Values are expressed as the mean and SEM. Values in the same column with different letters significantly differ at p<0.05. (one-way ANOVA)

ALD: alcoholic liver disease; GPX: glutathione peroxidase;

GRD: glutathione reductase; CAT: catalase; SOD: superoxide dismutase.

2. 紅血球中抗氧化物質及血漿中脂質過氧化產物濃度

原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者紅血球中抗氧化物質及血漿中脂質過氧化產物濃度如表九所示。原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者 GSH/GSSG 比值顯著低於對照組 ($p < 0.05$)。但原住民與非原住民酒精性肝臟疾病患者之間 GSH/GSSG 比值沒有顯著差異。

在 TBARS 方面三組之間沒有顯著差異。



表 九、原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者紅血球中抗氧化物質及血漿中脂質過氧化產物濃度¹

Table 9. The erythrocytic antioxidants and lipid peroxide of aborigine and non-aborigine patients with alcoholic liver disease (ALD)¹

	Control	Non-aborigine ALD	Aborigine ALD
GSH/GSSG	38.0 ± 5.4 ^a	16.5 ± 3.8 ^b	15.0 ± 1.6 ^b
TBARS (μM)	3.5 ± 0.2 ^a	3.4 ± 0.5 ^a	4.6 ± 1.0 ^a

¹ Values are expressed as the mean and SEM. Values in the same column with different letters significantly differ at p<0.05. (one-way ANOVA)

GSH: reduced glutathione; GSSG: oxidized glutathione;
TBARS: thiobarbituric acid reactive substances.



第五節 依酒精性肝炎與肝硬化分類後之抗氧化狀態之比較

長期攝取酒精，最終會導致酒精性肝臟疾病，包括脂肪肝、酒精性肝炎、肝纖維化等，而且疾病越嚴重將影響病患的代謝及吸收，可能進一步影響病患體內的抗氧化能力，所以將病患依疾病程度分成酒精性肝炎組與肝硬化組，分類方式依據病患臨床上診斷，診斷有肝硬化者就歸類在酒精性肝硬化組，排除肝硬化後將歸類在酒精性肝炎組，依此分類後探討疾病嚴重度是否影響酒精性疾病患者體內之抗氧化狀態。



(一) 受試者基本資料

酒精引起的疾病嚴重度分酒精性肝炎及肝硬化組與對照組之基本資料表示於表十。酒精性肝炎組共有 10 位，其中男生有 9 位，女生有 1 位，而酒精性肝硬化組共有 17 位，其中男生有 14 位，女生有 3 位。三組在身高部份對照組顯著高於酒精性肝硬化組 ($p < 0.05$)。在年齡、體重及 BMI 方面沒有顯著差異。

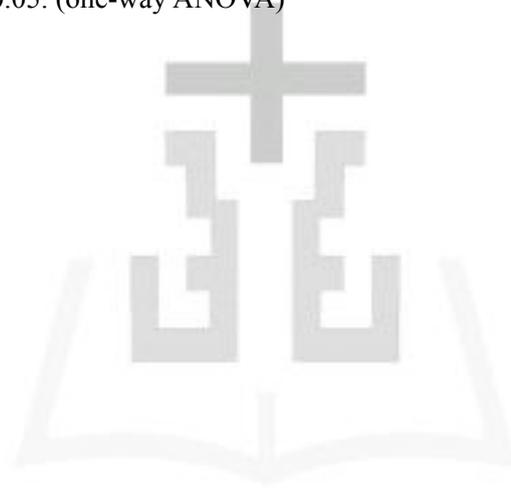


表 十、酒精性肝炎、肝硬化患者之基本資料¹

Table 10. The clinical data of Hepatitis and Cirrhosis patients with alcoholic liver disease (ALD)¹

	Control	Hepatitis ALD	Cirrhosis ALD
Number	22	10	17
Male/ Female	19/3	9/1	14/3
Age (old)	41.2±2.1 ^a	45.4±4.2 ^a	45.3±2.2 ^a
Height (cm)	169.7±1.2 ^a	167.4±2.3 ^{ab}	164.2±1.5 ^b
Weight (kg)	66.1±1.8 ^a	70.4±3.4 ^a	62.6±3.0 ^a
BMI (kg/m ²)	23.0±0.6 ^a	25.2±1.3 ^a	23.2±1.0 ^a

¹Values are expressed as the mean and SEM. Values in the same column with different letters significantly differ at p<0.05. (one-way ANOVA)



(二) 受試者血液生化值

對於酒精性肝炎與肝硬化患者之生化檢驗值表示於表十一。結果顯示酒精性肝炎與肝硬化患者之肝功能指數 AST 顯著高於對照組 ($p<0.05$)，酒精性肝炎與酒精性肝硬化患者之間沒有顯著差異。在 ALT 及 AST/ALT 方面酒精性肝炎患者顯著高於對照組 ($p<0.05$)，酒精性肝炎患者高於酒精性肝硬化患者但沒有顯著差異。在 γ -GT 方面酒精性肝硬化患者顯著高於對照組 ($p<0.05$)，酒精性肝硬化患者 γ -GT 高於酒精性肝炎患者，但沒有顯著差異。

在血脂質方面，酒精性肝硬化患者 TC 濃度顯著低於酒精性肝炎組及對照組 ($p<0.05$)。在 TG 濃度方面，酒精性肝炎患者顯著高於較對照組 ($p<0.05$)，酒精性肝炎患者 TG 濃度高於酒精性肝硬化患者，但沒有顯著差異。在 HDL-C 方面，酒精性肝硬化患者 HDL-C 顯著低於酒精性肝炎組及對照組 ($p<0.05$)。在 LDL-C 方面，酒精性肝炎與肝硬化患者顯著低於對照組 ($p<0.05$)。而且酒精性肝硬化患者顯著低於酒精性肝炎患者 ($p<0.05$)。

對於酒精性肝炎與肝硬化患者之營養生化檢驗值表示於表十二。在 Alb、Hb 及 Ht 方面，酒精性肝硬化組顯著低於酒精性肝炎組 ($p<0.05$)，在 TBil 方面，酒精性肝硬化組顯著高於酒精性肝炎組 ($p<0.05$)。

表 十一、酒精性肝炎、肝硬化患者之生化檢驗值¹

Table 11. The clinical data of Hepatitis and Cirrhosis patients with alcoholic liver disease(ALD)¹

	Control	Hepatitis ALD	Cirrhosis ALD
AST (U/L)	20.7±0.9 ^a	66.9±18.6 ^b	61.7±9.1 ^b
ALT (U/L)	22.6±1.8 ^a	46.2±12.7 ^b	34.9±3.8 ^{ab}
AST/ALT	1.0±0.06 ^a	4.49±2.28 ^b	1.9±0.22 ^{ab}
γ-GT (U/L)	29.2±3.5 ^a	207.8±71.7 ^{ab}	308.4±123.1 ^b
TC (mg/dL)	185.6±5.5 ^a	188.9±26.2 ^a	131.8±11.5 ^b
TG (mg/dL)	99.4±13.2 ^a	293.5±153.5 ^b	134.9±35.8 ^{ab}
HDL-C (mg/dL)	50.5±3.1 ^a	45.1±3.8 ^a	31.8±3.0 ^b
LDL-C (mg/dL)	125.5±6.8 ^a	94.4±15.8 ^b	58.8±8.0 ^c

¹Values are expressed as the mean and SEM. Values in the same column with different letters significantly differ at p<0.05. (one-way ANOVA)

AST: aspartate aminotransferase; ALT: alanine transaminase;

γ-GT: γ-glutamyltransferase; TC: total cholesterol; TG: triglycerides.

HDL-C: high density lipoprotein-cholesterol.

LDL-C: low density lipoprotein-cholesterol.

表 十二、酒精性肝炎、肝硬化患者之營養生化檢驗值¹

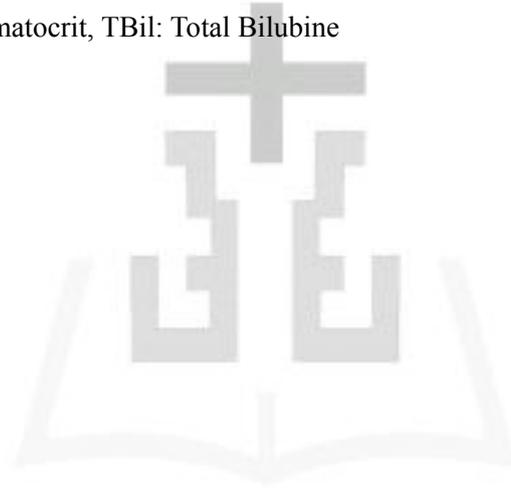
Table 12. The clinical data of Hepatitis and Cirrhosis patients with alcoholic liver disease (ALD)¹

	Hepatitis ALD	Cirrhosis ALD
Albumin (gm/dL)	3.9±0.38	3.0±0.15*
Hb (gm/dL)	14.6±0.74	10.1±0.65*
Ht (%)	42.4±1.97	29.7±2.0*
Uric Acid (mg/dL)	6.7±0.7	6.9±0.59
TBil (mg/dL)	1.2±0.17	5.9±2.17

¹Values are expressed as the mean and SEM.

*, p<0.05 compared with control group (Student's *t*-test).

Hb: hemoglobin, Ht: Hematocrit, TBil: Total Bilubine



(三) 抗氧化能力

1. 抗氧化酵素活性

疾病嚴重度對酒精性肝臟疾病患者紅血球中抗氧化酵素活性之影響表示於表十三。在 GPX 活性方面，酒精性肝炎患者顯著高於對照組 ($p<0.05$)及酒精性肝硬化組 ($p<0.05$)，但酒精性肝硬化組與對照組沒有顯著差異。

在 GRD 活性方面，三組間沒有顯著差異。

在 CAT 活性方面，酒精性肝硬化組顯著低於酒精性肝炎組與對照組 ($p<0.05$)。但酒精性肝炎組與對照組之間 CAT 沒有顯著差異。

在 SOD 活性方面，酒精性肝炎組、酒精性肝硬化組顯著低於對照組 ($p<0.05$)。但酒精性肝炎與酒精性肝硬化組之間 SOD 沒有顯著差異。

表 十三、酒精性肝炎、肝硬化疾病患者之紅血球中抗氧化酵素活性¹

Table 13. The erythrocytic antioxidative enzyme activities of Hepatitis and Cirrhosis patients with alcoholic liver disease (ALD)¹

	Control	Hepatitis ALD	Cirrhosis ALD
GPX (U/g Hb)	27.9±2.2 ^a	44.3±8.6 ^b	28.5±3.8 ^a
GRD (U/g Hb)	0.55±0.06 ^a	0.74±0.06 ^a	0.56±0.07 ^a
CAT (U/mg Hb)	11.1±0.7 ^a	10.8±1.2 ^a	6.4±0.6 ^b
SOD (U/mg Hb)	9.5±1.6 ^a	3.7±0.2 ^b	2.6±0.2 ^b

¹Values are expressed as the mean and SEM. Values in the same column with different letters significantly differ at p<0.05. (one-way ANOVA)

ALD: alcoholic liver disease; GPX: glutathione peroxidase;

GRD: glutathione reductase; CAT: catalase; SOD: superoxide dismutase.

2. 紅血球中抗氧化物質及血漿中脂質過氧化產物濃度

酒精性肝炎、肝硬化疾病患者紅血球中抗氧化物質及血漿中脂質過氧化產物濃度如表十四所示。酒精性肝炎組、酒精性肝硬化組 GSH/GSSG 比值顯著低於對照組 ($p < 0.05$)。但酒精性肝炎與酒精性肝硬化組之間 GSH/GSSG 比值沒有顯著差異。

在脂質過氧化產物 TBARS 濃度方面，三組之間沒有顯著差異。



表 十四、酒精性肝炎、肝硬化疾病患者紅血球中抗氧化物質及血漿中脂質過氧化產物濃度¹

Table 14. The erythrocytic antioxidants and lipid peroxide of Hepatitis and Cirrhosis patients with alcoholic liver disease (ALD)¹

	Control	Hepatitis ALD	Cirrhosis ALD
GSH/GSSG	38.1±5.4 ^a	18.3±4.2 ^b	14.2±1.7 ^b
TBARS (μM)	3.5±0.2 ^a	4.2±1.1 ^a	4.0±0.7 ^a

¹ Values are expressed as the mean and SEM. Values in the same column with different letters significantly differ at p<0.05. (one-way ANOVA)

GSH: reduced glutathione; GSSG: oxidized glutathione;

TBARS: thiobarbituric acid reactive substances



第五章 討論

第一節 受試者基本資料

本研究之酒精性肝臟疾病患者由台東馬偕醫院所招募，對照組則分別招募自不同縣市 20~66 歲健康之成人。酒精性肝臟疾病組共有 27 位，平均年齡 41.2 ± 2.1 ，而對照組共有 22 位，平均年齡 45.3 ± 2.1 。在性別方面酒精性肝臟疾病組男生有 23 位，女生有 4 位，而對照組男生有 19 位，女生有 3 位。兩組在年齡、體重及 BMI 方面無顯著差異，在身高的部份 ALD 組顯著高於對照組。由於本實驗招募過程中須病患本人同意且符合排除條件才可收案，而增加招募受試者的困難，因此而無法達到身高沒有差異的情況。在體重及 BMI 方面雖無顯著差異，但因酒精性肝臟疾病組有 10 位有輕度到重度腹水的情況，其中原住民 6 位、非原住民 5 位，所以在酒精性肝臟疾病組體重及 BMI 可能影響準確度，於未來的研究中必須克服。

第二節 受試者血液生化值

(一) 肝功能

肝臟是酒精代謝的主要場所，長期過度之酒精攝取常造成的肝臟方面的傷害，臨床上最常用的肝功能指標為 AST 與 ALT 活性，當肝細胞受損時，會釋放出 AST 與 ALT 至血漿中，使血漿中 AST 與 ALT 活性上升。血清 γ -GT 是酒精性肝臟疾病重要診斷數據之一，且其值與疾病程度有相關之變化 (Wu et al., 1976; Matsuda et al., 1993) 也與酒精攝取量有關，酒精攝取量越多 γ -GT 就越高 (Hietala et al., 2005)。酒精濫用將增加 γ -GT 從細胞壁被釋放出來，破壞細胞壁結構，導致血液中濃度增加，以及紅血球膨脹。本實驗研究結果證實，酒精性肝臟疾病患者之肝功能指數 AST、ALT、AST/ALT 及 γ -GT 顯著高於對照組。此結果與許多研究結果是一致的 (梁等人，1985；湯，2004；Senthilkumar and Nalini, 2004；Pemberton et al., 2005; Vaswani and Rao, 2005)，表示肝臟有受損情形。AST/ALT 比值大於 2 為酒精性肝臟疾病之特徵 (梁等人，1985)，本實驗研究結果證實，酒精性肝臟疾病患者之 AST/ALT 比值大於 2，與先前研究結果是一致的。

(二) 脂質代謝

Castele 等人在 2002 年指出，酒精性肝臟疾病患者肝臟硬化程度將影響到總膽固醇的合成，疾病越嚴重總膽固醇越低，但在 TG 濃度則無顯

著差異 (Castele et al., 2002)。Vaswani 和 Rao 在 2005 年則指出，酒精依賴患者有較高的總膽固醇、HDL-C 及 TG，而 LDL-C 則顯著低於對照組 (Vaswani and Rao, 2005)。因為肝臟在脂質和脂蛋白的利用上扮演非常重要的角色，包括合成膽鹽、食物中脂質的消化吸收及脂質運輸（因為肝臟為脂蛋白的合成地點）、利用非脂質類的前趨物質（如葡萄糖、胺基酸）重新合成脂質、利用外生性的乳糜微粒剩餘物來合成 HDL 和 VLDL 等（謝等人，2003）。本實驗研究結果證實，酒精性肝臟疾病患者 TC、HDL-C 及 LDL-C 顯著低於對照組，在 TG 濃度兩組無顯著差異。長期攝取酒精導致酒精性肝臟疾病患者營養不良 (Carvalho and Parise, 2006)，及營養攝取不足、疾病較嚴重可能影響脂蛋白 (Lipoprotein) 的合成，期許於未來的研究中能針對營養攝取及血液中營養素進行分析。

第三節 抗氧化能力

(一) 抗氧化酵素活性

於人體實驗中，Castele 於 2002 年研究發現肝臟疾病嚴重度會降低 GSH，但對於 GPX 和 SOD 的活性則沒有顯著差異 (Castele et al., 2002)。在 2004 年針對酒癮患者研究指出，酒精會降低 SOD、GPX 和 GSH 的濃度 (湯，2004)。本實驗研究結果證實，在 CAT 和 SOD 活性方面，ALD 組顯著低於對照組，SOD 主要作用在清除超氧自由基形成 H_2O_2 ，而 CAT 是清除體內產生 H_2O_2 的主要酵素，長期攝取酒精會使 SOD 活性降低，推測可能是因為酒精代謝產物乙醛與代謝過程產生的自由基，使 SOD 活性降低，而且 SOD 和 CAT 兩者是息息相關，當 CAT 活性降低時，將導致 H_2O_2 無法代謝成氧及水，過多的 H_2O_2 會抑制 SOD 活性。本實驗研究結果證實，酒精性肝臟疾病患者紅血球中抗氧化酵素 GPX 及 GRD 活性，沒有顯著差異，可能是因為人體實驗有較多的變數，包括樣本數大小、種族、營養狀態及疾病的嚴重度等，都將影響抗氧化酵素的活性。

(二) 紅血球中抗氧化物質及血漿中脂質過氧化產物濃度

GSH 是由 glutamate、cysteine 及 glycine 三種胺基酸所構成，是體內相當重要的物質，不僅本身可作為非酵素型之還原劑，當過氧化物或氧化壓力大量生成時，GSH 可以維持體內的還原狀態，保護細胞不被氧化。

GSH 為 GPX 的受值以清除 H_2O_2 ，於反應時 GSH 會被轉變為 GSSG，所以 GPX 的活性將影響此反應，而且 GSH/GSSG 比值是氧化壓力更敏感的指標，因為當 GSH 減少 GSSG 增加，以比值表示更能顯示其氧化壓力的狀態。

在本實驗結果證實，長期攝取酒精導致酒精性肝臟疾病，會使紅血球中抗氧化物質 GSH/GSSG 比值下降（如表四），不管在臨床及動物實驗上，皆有相同的研究結果 (Cardin et al., 2002; Pemberton et al., 2005; Addolorato et al., 2008；李，2006)。在肝硬化病人 GSH 降低主要有兩個原因，一個因為 cysteine 的合成減少，以致 GSH 合成減少，另一原因為 GSH 消耗增加 (Castele et al., 2002)。本實驗結果證實，GSSG 的生成酵素 GPX 活性沒有顯著降低，但 GSH/GSSG 比值下降，可以推測是因肝臟合成 GSH 的能力降低所導致的結果。

酒精在肝臟代謝過程中，會產生大量自由基而形成氧化壓力，對身體的影響之一就是會促進脂質過氧化作用，使脂質過氧化物產生增加。因此在長期酒精攝取時，自由基的增加及抗氧化物質的減少，都將導致脂質過氧化物產生增加。不管在臨床及動物實驗上，長期酒精攝取皆導致脂質過氧化物產生增加 (Cardin et al., 2002; Pemberton et al., 2005; Addolorato et al., 2008；湯，2004；李，2006)。本實驗結果顯示，酒精性肝臟疾病患者血漿中脂質過氧化產物 TBARS 濃度並沒有顯著差異，和過

去的研究結果不同，推測可能是因為個案數太少、種族及地域性不同，
所以沒有顯著差異。



第四節 原住民、非原住民酒精性肝臟疾病患者身體抗氧化狀

態之比較

(一) 受試者基本資料

原住民、非原住民酒精性肝臟疾病組 (ALD) 以及對照組之基本資料表示於表五，在性別、體重及 BMI 方面沒有顯著差異，但在年齡部份非原住民 ALD 組顯著高於對照組及原住民 ALD 組，可能是因為原住民男性在 20 歲以前就有喝酒的嗜好 (劉等人, 1994)，所以本實驗在招募個案時，原住民 ALD 組平均年齡較非原住民 ALD 組年輕。

(二) 受試者血液生化值

1. 肝功能

血清 γ -GT 是酒精性肝臟疾病重要診斷數據之一，且其值與疾病程度、酒精攝取量有關，也與基因有關，學者 Montane 於 2006 年研究發現 ADH1C*2 基因和 γ -GT 有相關 (Montane et al., 2006)，與酒精代謝相關的主要酵素有：酒精脫氫酶 alcohol dehydrogenase (ADH) 及乙醛脫氫酶 aldehyde dehydrogenase (ALDH)，其轉譯的基因有三個 ADH1B、ADH1C 及 ALDH2 (Edenberg, 2007)，研究也發現亞洲其他族群和原住民之間有

不同的飲酒基因 (Eng et al., 2007)。本實驗研究結果發現，在 γ -GT 方面，原住民和非原住民酒精性肝臟疾病患者比較有較高傾向，但沒有達統計上差異，可能和個案間疾病程度、酒精攝取量和基因的差異有關，仍須做進一步研究。

2. 脂質代謝

長期攝取酒精導致酒精性肝臟疾病患者營養不良 (Carvalho and Parise, 2006)，營養不良將加速肝臟的纖維化 (Bosma et al., 1994)，酒精性肝硬化病人，降低血漿中 HDL-C 和 LDL-C (Duhamel et al., 1983)。本實驗研究結果發現，原住民酒精性肝臟疾病患者 Alb 及 LDL-C 顯著低於非原住民酒精性肝臟疾病患者，推論可能是因為原住民營養不良、疾病較嚴重影響脂蛋白 (Lipoprotein) 的合成。

(三) 抗氧化能力

酒精對原住民與非原住民酒精性肝臟疾病患者紅血球中抗氧化酵素活性之影響表示於表八，兩組間只在 GPX 活性方面有顯著差異，原住民酒精性肝臟疾病組顯著低於非原住民組，長期攝取酒精導致酒精性肝臟疾病患者營養不良 (Carvalho and Parise, 2006)，營養不良將加速肝臟的纖維化 (Bosma et al., 1994)，本實驗研究結果發現，原住民酒精性肝臟疾病

患者 Alb 及 LDL-C 顯著低於非原住民，推論可能是因為原住民營養不良、疾病較嚴重影響 GPX 的活性。



第五節 依酒精性肝炎與肝硬化分類後之抗氧化狀態之比較

(一) 受試者基本資料

酒精引起的疾病嚴重度分酒精性肝炎及肝硬化組之基本資料表示於表十。三組在身高部份酒精性肝硬化組顯著低於對照組，體重及 BMI 方面雖然沒有顯著差異。但因酒精性肝硬化組有 10 位有輕度到重度腹水的情況，所以在酒精性肝硬化組體重及 BMI 可能影響準確度，期盼於未來的研究中能測定其他身體測量以評估其營養狀態。

(二) 受試者血液生化值

1. 肝功能

研究指出，大量飲酒但還未導致肝臟疾病時 AST/ALT 比值不會增加，但長期攝取酒精導致酒精性肝臟疾病患者其體內 AST/ALT 比值增加 (Nyblom et al., 2007)。本研究發現，酒精性肝炎組 AST/ALT 比值顯著高於肝硬化患者及對照組，推測可能因為酒精性肝炎患者正處於發炎狀態，肝硬化患者營養狀態較差所引起的結果。

2. 脂質代謝

研究指出，酗酒者在還未有嚴重的酒精性肝臟疾病以前 HDL-C 是上升的，但當引起嚴重的酒精性肝臟疾病時，將導致 HDL-C 下降 (Devenyi

et al., 1984), Duhamel 等人針對酒精性肝硬化的病人進行研究, 發現其血漿中 HDL-C、LDL-C 顯著降低 (Duhamel et al., 1983), Castele 等人在 2002 年則指出, 酒精性肝臟疾病患者肝臟硬化程度將影響到膽固醇的合成, 疾病越嚴重膽固醇越低, 但在 TG 濃度則無顯著差異 (Castele et al., 2002)。根據研究指出, 肝硬化病人等級在 Child-Pugh C 者營養不良的比率高於 Child-Pugh A 者 (Carvalho and Parise, 2006)。本研究證實, 酒精性肝硬化患者膽固醇顯著低於酒精性肝炎組, 在 TG 濃度方面酒精性肝炎患者相較於酒精性肝硬化患者則沒有顯著差異。在 HDL-C、LDL-C 方面, 酒精性肝硬化患者顯著低於酒精性肝炎組及對照組, 在 Alb、Hb 及 Ht 方面, 酒精性肝硬化組顯著低於酒精性肝炎組, 在這次收案的肝硬化的患者中依 Child-Pugh 分級皆屬於 B 和 C 級。由以上結果應證, 營養不良及肝臟疾病嚴重度, 影響脂蛋白的合成。

(三) 抗氧化能力

研究指出, 相較於非酒精性肝硬化的患者及對照組, 酒精性肝硬化患者其體內抗氧化酵素 SOD 及 GPX 活性有顯著的差異 (Chari and Gupta, 2003), 研究也指出, 不管有沒有肝硬化, 喝酒都會影響體內胺基酸及 GSH 的代謝 (Loguercio et al., 1999), 本研究結果發現, 酒精性肝炎組在 GPX 活性方面顯著高於對照組及酒精性肝硬化組, 在 CAT 活性方面, 酒精

性肝硬化組顯著低於酒精性肝炎組及對照組，SOD 及 GSH/GSSG 比值顯著低於對照組，疾病嚴重度對於 SOD 活性及 GSH/GSSG 比值沒有影響很大，推論可能是因為樣本數太少，飲酒量及種族所導致的結果。



第六章 本實驗執行困難及未來研究方向

在研究過程中因收案須經患者同意後方可收案，而且原住民族群飲酒比率雖高，但因經濟因素所以就醫率較低，皆增加收案困難度，研究中也發現台東地區原住民酒精性肝臟疾病患者營養狀態較差。

期盼於未來研究中能增加收案數，在原住民族群上做進一步研究，及進行營養評估及營養素攝取分析，進一步了解台東地區酒精性肝臟疾病患者營養狀態，建立酒精性肝臟疾病更完善之本土性資料，以作為日後台灣地區酒精性肝臟疾病之學術研究及臨床治療的參考。

第七章 總結

台東地區酒精性肝臟疾病患者與健康成年人比較之下，在脂質代謝方面，血中總膽固醇、高密度脂蛋白膽固醇及低密度脂蛋白膽固醇含量顯著降低。而紅血球中抗氧化狀態 GSH/GSSG 比值顯著下降，但血漿中 TBARS 濃度則無顯著差異。



第八章 參考文獻

- Ahmed S, Leo MA and Lieber CS (1994) Interactions between alcohol and beta-carotene in patients with alcoholic liver disease. *Am J Clin Nutr* 60:430-436.
- Addolorato G, Leggio L, Ojetti V, Capristo E, Gasbarrini G, Gasbarrini A (2008) Effects of short-term moderate alcohol administration on oxidative stress and nutritional status in healthy males. *Appetite* 50: 50-56.
- Alkonyi I, Bolygo E, Gyocsi L and Szabo D (1976) Studies on the formation acetoin from acetaldehyde by the pyruvate dehydrogenase complex and its regulation. *Eur J Biochem* 66: 551-557.
- Bosma A, Seifert WF, Thiel-de Ruyter GC, Leeuwen RE, Blauw B, Roholl P, Knook DL, Brouwer A (1994) Alcohol in combination with malnutrition causes increased liver fibrosis in rats. *J Hepatol* 21: 394-402.
- Cardin R, D'errico A, Fiorentino M, Cecchetto A, Naccarato R and Farinati F (2002) Hepatocyte proliferation and apoptosis in relation to oxidative damage in alcohol-related liver disease. *Alcohol Alcohol* 37: 43-48.
- Carvalho L and Parise ER (2006) Evaluation of nutrition status of nonhospitalized patients with liver cirrhosis. *Arq Gastroentrol* 43: 269-274.
- Castele MV, Zaman Z, Zeegers M, Servaes R, Fevery J and Nevens F (2002) Blood antioxidant levels in patients with alcoholic liver disease correlate with the degree of liver impairment and are not specific to alcoholic liver injury itself. *Aliment Pharmacol Ther* 16: 985-992.
- Cederbaum AI, Lieber CS, Beattie DS and Rubin E (1975) Effect of chronic ethanol ingestion on fatty acid oxidation by hepatic mitochondria. *J Biol Chem* 250: 5122-5129
- Chari S, Gupta M (2003) Status of blood antioxidant enzymes in alcoholic cirrhosis. *Indian J Physiol Pharmacol* 47: 343-346

- Devenyi P, Kapur BM, Roy JH (1984) High-density lipoprotein response to alcohol consumption and abstinence as an indicator of liver function in alcoholic patients. *Can Med Assoc J* 130: 1445-1447.
- Duhamel G, Forgez P, Nalpas B, Berthelot P, Chapman MJ (1983) Spur cells in patients with alcoholic liver cirrhosis are associated with reduced plasma levels of apoA-II, HDL3, and LDL. *J Lipid Res* 24: 1612-1625.
- Edenberg HJ (2007) The genetics of alcohol metabolism: role of Alcohol Dehydrogenase and Aldehyde Dehydrogenase Variants. *Alcohol Res Health* 30: 5-13.
- Eisenstein AB (1982) Nutritional and metabolic effects of alcohol. *J Am Diet Assoc.* 81:247-51.
- Eng MY, Luczak SE, Wall TL (2007) ALDH2, ADH1B, and ADH1C genotypes in Asians: a literature review. *Alcohol Res Health* 30: 22-27.
- Griffith OW (1980) Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal Biochem* 106: 207-212.
- Halsted CH, Robles EA and Mezey E (1971) Decreased jejunal uptake of labeled folic acid (3H-PGA) in alcoholic patients: roles of alcohol and nutrition. *New Eng J Med* 285: 701-706.
- Halsted CH, Villanueva JA, Devlin AM, Niemelä O, Parkkila S, Garrow TA, Wallock LM, Shigenaga MK, Melnyk S and James J (2002) Folate deficiency disturbs hepatic methionine metabolism and promotes liver injury in the ethanol-fed micropig. *PNAS* 99: 10072-10077.
- Hietala J, Puukka K, Koivisto H, Anttila P, Niemela O (2005) Serum gamma-glutamyl transferase in alcoholics, moderate drinkers and abstainers: effect on gt reference intervals at population level. *Alcohol* 40: 511-514.
- Ishii H, Kurose I, and Kato S (1997) Pathogenesis of alcoholic liver disease with particular emphasis on oxidative stress. *J Gastroenterol Hepatol* 12: 272-282.

- Lee TD, Satta MR, Mendler MH, Bottiglieri T, Kanel G, Mato JM and Lu SC (2004) Abnormal Hepatic Methionine and Glutathione Metabolism in Patients With Alcoholic Hepatitis. *Alcohol Clin Exp Res* 1: 173-181.
- Leo MA, Rosman AS and Lieber CS (1993) Differential depletion of carotenoids and tocopherol in liver disease. *Hepatology* 17: 977-986.
- Lieber CS (1994) Alcohol and the liver: 1994 update. *Gastroenterology* 106: 1085-1105.
- Lindenbaum J and Lieber CS (1969) Alcohol-induced malabsorption of Vitamin B12 in man. *Nature* 224: 806.
- Loguercio C, Blanco FD, De Girolamo V, Disalvo D, Nardi G, Parente A, Blanco CD (1999) Ethanol consumption, amino acid and glutathione blood levels in patients with and without chronic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res.* 23: 1780-1784.
- Lumeng L (1978) The role of acetaldehyde in mediating the deleterious effect of ethanol on pyridoxal 5'-phosphate metabolism. *J Clin Invest* 62: 286-293.
- Matsuda Y, Tsuchishima M, Ueshima Y, Takase S, Takada A (1993) The relationship between the development of alcoholic liver and pancreatic diseases and the induction of gamma glutamyl transferase. *Alcohol Alcohol Suppl* 1B:27-33.
- Montane JK, Moore S, Shafe S, Joseph R, Crooks H, Carr L, Ehlers CL (2006) ADH1C*2 allele is associated with alcohol dependence and elevated liver enzymes in Trinidad and Tobago. *Alcohol* 39: 81-86.
- Nyblom H, Nordlinder H, Olsson R (2007) High aspartate to alanine aminotransferase ratio is an indicator of cirrhosis and poor outcome in patients with primary sclerosing cholangitis. *Liver Int* 27: 694-699.
- Ohgi N, Hirayama C (1988) Vitamin B6 status in cirrhotic patients in relation to apoenzyme of serum alanine aminotransferase. *Clin Biochem* 21: 367-70.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-358.

- Oh SI, Kim CI, Chun HJ, Park SC (1998) Chronic ethanol consumption affects glutathione status in rat liver. *J Nutr* 128: 758-763.
- Pemberton PW, Smith A and Warnes TW (2005) Non-invasive monitoring of oxidant stress in alcoholic liver disease. *Scand J Gastroenterol* 40: 1102-1108.
- Polavarapu R, Spitz DR, Sim JE, Follansbee MH, Oberley LW, Rahemtulla A, and Nanji AA (1998) Increased lipid peroxidation and impaired antioxidant enzyme function is associated with pathological liver injury in experimental alcoholic liver disease in rats fed diets high in corn oil and fish oil. *Hepatology* 27: 1317-1323.
- Porta EA (1997) Dietary modulation of oxidative stress in alcoholic liver disease in rats. *J Nutr* 127: 912s-915s.
- Rosenthal WS, Adham NF, Lopez R and Cooperman JM (1973) Riboflavin deficiency in complicated chronic alcoholism. *Am J Clin Nutr* 26: 858-860.
- Rouach H, Fataccioli V, Gentil M, French SW, Morimoto M, and Nordmann R (1977) Effect of chronic ethanol feeding on lipid peroxidation and protein oxidation in relation to liver pathology. *Hepatology* 25: 351-355.
- Senthilkumar R, Nalini N (2004) Effect of glycine on tissue fatty acid composition in an experimental model of alcohol- induce hepatotoxicity. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 31: 456-461.
- Stewart SH, Connors GJ (2007) Ethnicity, alcohol drinking and changes in transaminase activity among heavy drinkers. *J Natl Med Assoc* 99: 564-569.
- Takabe M and Itokawa Y (1980) An experimental study of thiamin metabolism in acute ethanol intoxication. *Experientia* 36: 327-328.
- Takabe M and Itokawa Y (1983) Thiamin depletion after ethanol and acetaldehyde administration to rabbits. *J Nutr Sci Vitaminol* 29: 509-514.
- Tamura T, Romero JJ, Watson E, Gong EJ and Halsted CH (1981) Hepatic folate metabolism in the chronic alcoholic monkey. *J Lab Clin Med* 97: 654-661.

- Taysin S (2005) Oxidant/antioxidant status in liver tissue of vitamin B6 deficient rats. *Clin Nutr* 24: 385-389.
- Tietze F (1969) Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem* 27: 502-522.
- Vaswani M, Rao RV (2005) Biochemical measures in the diagnosis of alcohol dependence using discriminant analysis. *Indian J Med Sci* 59 : 423-430.
- Villanueva JA and Halsted CH (2004) Hepatic transmethylation reactions in micropigs with alcoholic liver disease. *Hepatology* 39: 1303-1310.
- Wu A, Slavin G, Levi A J (1976) Elevated serum gamma-glutamyl-transferase (transpeptidase) and histological liver damage in alcoholism. *Am J Gastroenterol* 65: 318-323.
- Wu SI, Liu SI, Fang CK, Hsu CC, Sun YW (2006) Prevalence and detection of alcohol use disorders among general hospital inpatients in eastern Taiwan. *Gen Hosp Psychiatry* 28: 48-54.
- Yu C, Li Y, Chen W and Yue M (2002) Genotype of ethanol metabolizing enzyme genes by oligonucleotide microarray in alcoholic liver disease in Chinese people. *Chin Med J (Engl)* 115: 1085-1087.

- 王志偉 (2003) 飲酒習慣與酒精代謝基因對肝功能間之影響，中國醫藥學院碩士論文。
- 王慶福、邱南英 (1994) 台灣兩個山地部落原住民之飲酒問題探討，中山醫學雜誌 5: 29-39.
- 行政院衛生署 (2006) 民國九十五年國人十大死亡原因統計資料。
- 行政院衛生署 (2005) 民國九十四年國人十大死亡原因之比較。
- 李亦品 (2006) 以酒精與四氯化碳誘導肝損傷動物模式評估護肝功能之研究，台北醫學大學碩士論文。
- 行政院主計處 (2006) 健康之危險因素探討。
- 梁振翊、周肇茂、何佩珊、謝天渝、楊奕馨 (2004) 台灣地區飲酒盛行率報告，台灣口腔醫學衛生科學雜誌 20: 91~104.
- 梁錦華、陳寶輝、劉正典、黃明哲、王朝欣、王鐘貴、蕭泉豹、陳定堯 (1985) 酒精性肝疾病之臨床研究，中消醫誌 2: 121~128.
- 黃啟彰 (2001) β -胡蘿蔔素對於大白鼠酒精性肝臟疾病脂影響，台北醫學大學碩士論文。
- 黃韶顏 (2000) 阿里山富特野鄒族原住民飲食生活與營養之研究，國立師範大學家政教育學系博士論文。
- 湯勝輝 (2004) 酒精對酒癮患者毒性機轉的探討，國立台灣大學碩士論文。
- 楊登琦 (2005) 花蓮縣山地鄉原住民喝酒與其肝疾病、痛風之相關研究，長庚大學碩士論文。
- 劉碧華、謝淑芬、章順仁、葛應欽 (1994) 五峰鄉原住民吸煙、喝酒及嚼食檳榔之盛行率及相關因素研究. Kaohsiung J Med Sci 10: 405-411.
- 橋詰直孝 (1991) Vitamin 65: 617.
- 謝明哲、陳玉華、邱琬純、蔡雅惠、鄭心嫻、楊素卿、陳俊榮、劉珍芳、黃士懿、簡怡雯 (2003) 營養生化學。

附件

附件一、臺北醫學大學人體試驗志願書

年 月 日

計劃名稱：酒精性肝臟疾病患者體內抗氧化狀態、脂肪酸組成以及細胞
激素的相關性探討

執行單位：保健營養學系 電話：2736-1661 轉 6551 再轉 121

主 持 人：楊素卿 職稱：副教授

自願受試者姓名：

性別： 出生年月日： 身分證字號：

通訊地址：

電話：

緊急聯絡醫師：

緊急聯絡醫師電話(手機)：

(一)試驗目的：

為比較酒精性肝臟疾病患者抗氧化狀態、脂肪酸組成以及細胞激素之間的關聯性，藉以深入了解酒精性肝臟疾病的形成機轉，並作為未來臨床治療之參考。

(二)試驗方法：

- (1)受試者標準及數目：擬依照條件招募實驗組以及對照組受試者，各 30 名。實驗組受試者為經醫師診斷為酒精性肝臟疾病患者。另招募健康成年受試者為對照組。各組擬招募 30 名受試者。
- (2)試驗設計及進行方法：實驗組受試者於診斷為酒精性肝臟疾病後，經禁食後採集血液。另外，對照組受試者也經禁食後，採集血液。所收集到的血液均進行以下分析：
抗氧化狀態：抗氧化物質含量(還原型麩胱甘肽)、抗氧化酵素活性、脂質過氧化物含量等
- (3)試驗期限及進度：擬進行一年的計劃
- (4)追蹤或復健計劃：實驗組定期回診監測肝臟功能
- (5)評估及統計方法：擬以 Student's *t*-test 比較酒精性肝臟疾病患者與健康成年人之間在抗氧化狀態方面的差異性，並利用 Pearson correlation coefficient 評估各數據的相關性，以 $p < 0.05$ 表示具有統計上的差異。

(三)可能導致之副作用與危險：

採集血液後，因失血而造成頭暈或發生傷口瘀血的現象。

抽血後提供受試者餐點，以補充營養，並建議若發生瘀血現象可自行熱敷。

(四)可能獲得之效益：

幫助受試者了解自身的身體狀況，而且其檢測結果可以作為訂定酒精性肝臟疾病患者飲食原則之依據，並且可以當作日後臨床治療的參考。

(五)其他可能之治療方法及其說明：

本計劃不需要服用藥物。

(六)參加本研究計劃受試者個人權益將受以下保護：

- (1)本計劃執行機構將維護受試者在試驗過程當中應得之權益。
- (2)試驗所得資料可能發表於學術性雜誌，但受試者姓名將不會公佈，受試者之隱私將予絕對保密。
- (3)受試者於試驗過程中可隨時撤回同意，退出試驗。

試驗計畫主持人簽名：楊素卿

日期：

(七)本人已經詳閱上列各項資料，有關本試驗計劃之疑問業經計劃主持人詳細予以解釋，本人瞭解在試驗期間，本人有權致函主持人，退出試驗，本人同意接受為本人體試驗計劃之自願受試者。

自願受試者簽名：

日期：

(或法定代理人)