

健康食品之調節血糖功能評估方法

960718 衛署食字第 0960403114 號公告修正

壹、前言

根據統計，全球罹患糖尿病的人數高達 1.35 億~1.6 億。以美國、加拿大為例，糖尿病就位居該國十大死因的第三位，僅次於心血管疾病及癌症之後。在我國，根據本署的統計，糖尿病居十大死因的第四位。台灣地區的糖尿病型態以第二型糖尿病(type 2 DM)為主，約佔罹患率的 95%左右。從罹患情形來看，居住都市者明顯高於居住鄉村者，體型肥滿者亦有此較高的傾向，顯示糖尿病是都市化、工業化的一種文明病。

糖尿病的病症除了有過高的血糖濃度及明顯的尿糖外，糖尿病最可怕的是會引起一些併發症，如視網膜症、腎症、神經障害、乃至於腦及循環系統的障害。因此如何控制血糖，使血糖調節到一定的濃度以避免併發症的發生則是糖尿病控制的原則之一。到目前為止，糖尿病的治療基本上有三大方法，分別是(1)飲食療法(2)運動療法(3)藥物療法，其中以飲食療法為最基本也是最重要的療法。據估計，約 50% 以上的患者可以因良好的飲食療法而改善病情。此外，在進行藥物療法時，飲食療法亦非常重要。如果沒有適當的飲食療法配合，藥物也將無法發揮其功能。因此對糖尿病患者而言，如何透過良好的飲食療法使血糖濃度得到良好的控制是最基本也是最重要的課題。在可見的未來，糖尿病患者必將逐年上升，因此如何透過健康食品的研究與開發，使患者的生活品質及健康得到更好的保障應該是政府、學界與業者共同努力的目標。

血液中主要醣類為葡萄糖。由實驗動物模式或人體試食實驗的研究，經由觀察空腹血糖值、葡萄糖耐量、飲食耐量、醣化血色素或其他一般生化分析等項目，可瞭解受試物是否具有調節血糖作用。廠商除提供與其產品相關之資料與文獻，以佐證該產品或其部分原料可能具有調節血糖作用之功能外，必須針對擬以「健康食品」上市之產品，進行下列所規定之「動物實驗」或「人體試食試驗」。若所提產品的相關科學研究證據不甚明確時，宜同時進行「動物實驗」和「人體試食試驗」以加強證據之可信度。

貳、實驗項目與實驗方法

一、動物實驗

(一) 實驗動物

使用高血糖動物，雌雄均可，但須使用單一性別，6 週齡以上之小鼠 (mouse) 或大鼠 (rat)，每組 8 隻以上。

(二) 給受試物的時間和劑量分組

以長期(14 天以上)口服方式投予受試物；受試物劑量(g/kg)除對照組外，需有 3 個劑量組以上，其中 1 個劑量（每公斤體重克數）應相當於人體推薦攝取量之 5-10 倍左右。受試物之給予依下列不同實驗動物模式，在血糖變異之前及之後進行。

(三) 實驗方法

1. 實驗動物

(1) 遺傳性自發高血糖動物

此類動物包括：①肥胖非胰島素缺乏型動物，例如：肥胖小鼠(ob/ob)、糖尿病小鼠 (db/db)及肥胖黃小鼠(A^{vy})；② 非肥胖型動物，例如：BB 大鼠及中國倉鼠 (*Cricetulus griseus*)。

(2) 化學物誘導糖尿病動物

常用的化學物為 Streptozotocin（簡稱 STZ）。STZ 溶於生理食鹽水，並含有檸檬酸鈉 (10 mM) 為緩衝 (pH 4.5)，以靜脈(25~55mg/kg)或腹腔(55~75mg/kg)注射方式給予動物（小鼠或大鼠）。待一星期後，採血測量隔夜空腹（17~24 小時）血糖值，若達或超過 13 mM (230+10 mg %) 時，則視為有糖尿病。

(3) 其他動物模式

例如使用非胰島素依賴型(第二型)糖尿病動物：給予實驗動物 STZ(65 mg/kg)加上 Nicotinamide (230 mg/kg)。若達或超過 13 mM (230+10 mg %) 時，則視為有糖尿病。

2. 調節血糖作用之測試

(1) 空腹血糖值測定

高血糖動物給予受試物一定時間後，採血測定隔夜空腹血糖值。測定方法目前常用的是酵素法，有下列三種情形：

①葡萄糖氧化酵素法(glucose oxidase assay)：葡萄糖經葡萄糖氧化酵素(glucose oxidase)催化作用而被氧化成葡萄糖醛酸和 H₂O₂，再經由 H₂O₂ 的測定而求出血糖濃度。

②己糖激酶法(hexokinase assay)：葡萄糖在 ATP 存在下受己糖激酶(hexokinase) 催化成葡萄糖-6-磷酸鹽 (G-6-P)。再經由 G-6-P 與 NADP^+ 反應生成之 NADPH 的測定，即可定量出血糖濃度。

③葡萄糖去氫酶法(glucose dehydrogenase assay)：葡萄糖與 NAD(P)^+ 經葡萄糖去氫酶(glucose dehydrogenase)作用生成 NAD(P)H 。再經由 NAD(P)H 量的測定，即可定量出血糖濃度。

(2)葡萄糖耐量測定(Glucose tolerance test)

以口服(1 g/kg)、靜脈注射(0.5 g/kg)或腹腔注射(0.5 g/kg)方式給予實驗動物葡萄糖，然後分別在給糖前及給糖後的 30、60、90、120 和 180 分鐘採血測定血糖值。

(3)其他測定

尿糖值、餐後血糖值、空腹及餐後血漿胰島素…等（應視產品特性及相關考量加測，以增強實驗報告之效力）。

(四)數據處理和結果判定

依一般生物統計方法分析。根據試驗前後上述空腹血糖值及葡萄糖耐量或飲食耐量後血糖（即餐後血糖）及葡萄糖耐量測定結果為統計上具顯著差異者（ $p < 0.05$ ），可初步判定該受試物具有調節血糖作用。

二、人體試食試驗

必須委託國內外大學食品營養、醫藥等相關研究所、醫學中心或其他中央衛生主管機關認可之研究機構執行，需有醫師參與，並遵循衛生單位對保健食品人體實驗有關之相關規定。

進行人體的臨床試驗之前，應經過相關人體試驗委員會審核通過才能加以進行。

(一)受試者

參加人體試食試驗之受試者為血糖值偏高者或臨床上判定為輕微糖尿病症者且應本著自覺自願的原則。受試物組和對照組必須是同一年齡層次、同一性別，依照人體推薦攝取量給予受試物或安慰劑（外觀、味道、顏色等需與受試物一樣），受試期間 1 至 3 個月，且受試人數每組至少 20 人。

(二)實驗方法

1.空腹 8 小時後之葡萄糖耐量試驗或飲食耐量試驗

建議在整晚空腹至少 8 小時後，次日上午以 75 g 葡萄糖或固定熱量飲食(約 250-350 大卡)方式給予受試者，然後分別在空腹及葡萄糖耐量試驗或飲食耐量試驗後 120 分鐘採血測定血糖值。

2. 醣化血色素(glycosylated Hb) 測定

正常人血液約有 3-6 %的血色素被醣化成 HbA_{1c}，而糖尿病患者則隨血糖升高，HbA_{1c} 可能提高 2-3 倍。選用高血糖症之受試者試食受試物，觀察醣化血色素變化。參考之測定方法有下列幾種：

(1)比色法：醣化血紅素經氧化、水解使變成為 5-hydroxymethylfufural，此物再和 2-thio-barbituric acid 產生顏色反應，比色而測得 HbA₁。

(2)電泳法：利用 agarose gel、pH 6.3，進行血色素電泳分析。

(3)圓柱層析法：利用 KCN 和醣化血色素反應產生 CN-醣化血色素，然後通過陽離子交換樹脂圓柱層析，在適當 pH 下，使醣化血色素先析出，以比色法測出各醣化血色素之百分比。

(4)陽離子交換高效液相層析法 (HPLC 法)：利用 phosphate cyanide 緩衝液、Bio-Rex 70 陽離子交換樹脂及 400 psi 壓力，分離各種 HbA₁。

3. 一般生化測定

血糖、血脂、血紅蛋白、總蛋白測定、尿酸和酮體…等（應視產品特性及相關考量加測，以增強實驗報告之效力）。

(三)數據處理和結果判定

依一般生物統計方法分析。根據試驗前後上述空腹血糖或葡萄糖耐量後或飲食耐量後血糖（即餐後血糖）或醣化血色素試驗結果為統計上具顯著差異者（ $p < 0.05$ ），即可判定該受試物具有調節血糖作用。

參、參考文獻

Revers, R.R., Fink, J., Griffin, J., Olefsky, J.M. and Kolterman (1984) Influence of hyperglycemia on insulin's in vivo effects in type II diabetes . J. Clin. Invest. 73, 664-672.

Katz, J. and McGarry, J.D. (1984) The Glucose Paradox : is glucose a substrate for liver metabolism ? J. Clin. Invest. 74, 1901-1909.

Kahn, C.R. (1985) Pathophysiology of diabetes mellitus: an overview. In Joslin' s diabetes mellitus. ed. Marble, A. et al., 12th ed., Lea & Febiger, Philadelphia.

Mordes, J.P. and Rossini, A.A. (1985) Animal models of diabetes mellitus. In Joslin' s diabetes mellitus. ed. Marble, A. et al., 12th ed., Lea & Febiger, Philadelphia.

Lopez, M.P., Gomez-Lechon, M.J. and Castell, J.V. (1991) Diabetes 40, 263-268.

Pagana, K.D. and Pagana, T.J. (1992) Mosbys diagnostic and laboratory test reference, Mosby-Year Book.

The Diabetes Control and Complication Trial (DCCT) Research Group (1995) Effect of intensive diabetes management on macrovascular events and risk factors in the diabetes control and complications trial. Am. J. Cardiol. 75, 894-903.

常用臨床檢驗手冊，許清曉編著，藝軒，1996

Chen, H.D., Shaw C.K., Tsen, W.P., Chen, H.I., and Lee, M.L. (1997) Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in aborigines and Chinese in eastern Taiwan. Diabetes Research and Clinical Practice 38, 199-205.

Masiello, P., Broca, C., Gross, R., Roye, M., Manteghetti, M., Hillaire-Buys, D., Novelli, M. and Ribes, G. (1998) Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. Diabetes 47, 224-229.

Laakso, M. and Lehto, S. (1998) Epidemiology of risk factors for cardiovascular disease in diabetes and impaired glucose tolerance. Atherosclerosis 137, S65-S73.

George, K. and Alberti, M.M. (1998) Impaired glucose tolerance: what are the clinical implications ? Diabetes Research and Clinical Practice 40, S3-S8.

Position Statement from American Diabetes Association. (2004) Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 27 (Suppl 1):S5-S14.

Position Statement from American Diabetes Association. (2004) Standards of medical care in diabetes. Diabetes Care 27 (Suppl 1):S15-S35.