

# 龍膽瀉肝湯變方對 Dimethylnitrosamine 誘發大鼠肝損傷的療效探討

吳龍源<sup>1</sup> 徐曉萍<sup>3</sup> 陳怡欣<sup>2</sup> 林乃女<sup>2</sup>

陳旺全<sup>4</sup> 鄭振鴻<sup>5</sup> 彭文煌<sup>5</sup> 邱雲棕<sup>2</sup>

<sup>1</sup>中國醫藥學院 學士後中醫系

<sup>2</sup>台中榮民總醫院 教學研究部

<sup>3</sup>國立中興大學 獸醫學研究所

台中, 台灣

<sup>4</sup>台北市中醫師公會

<sup>5</sup>台北市市立中醫醫院

台北, 台灣

(2003年5月6日受理, 2003年7月14日收校訂稿, 2003年9月9日接受刊載)

本研究擬以大白鼠接受 Dimethylnitrosamine (DMN) 方式引致肝損傷, 同時以《蘭室秘藏》中之龍膽瀉肝湯加減方分別給予高劑量 (333 mg/kg) 及低劑量 (111 mg/kg), 以胃管餵食每天一次連續四週方式, 以評估其對保肝和抗纖維化療效。評估方法和測量指標包括: (1) 血清生化如 GOT、GPT 和血清總蛋白量及白蛋白量測定, (2) 肉眼病變觀察, (3) 組織病理中肝細胞變性、壞死及纖維化之判讀評分比較, (4) 肝組織中膠原蛋白含量定量分析。結果如下: DMN 引致肝損傷大鼠中, 餵食龍膽瀉肝湯變方低劑量及高劑量組之 GOT ( $213.2 \pm 16.3$  U/l、 $193.0 \pm 9.6$  U/l) 均比 DMN 組 ( $394.8 \pm 28.2$  U/l) 顯著性降低 ( $p < 0.01$ ), 低劑量及高劑量組之 GPT ( $149.1 \pm 5.9$  U/l、 $93.8 \pm 7.8$  U/l) 與 DMN 組 ( $253.1 \pm 6.4$  U/l) 亦顯著性降低 ( $p < 0.05$ )。但血清總蛋白量及白蛋白量, 只龍膽瀉肝湯變方高劑量組 ( $6.2 \pm 0.2$  &  $4.4 \pm 0.1$  g/dL) 與 DMN 組 ( $5.8 \pm 0.4$  &  $4.1 \pm 0.2$  g/dL) 比較則有顯著性差異 ( $p < 0.05$ ) 的情形。在肉眼病變發現 DMN 組之肝、腎明顯變黃和萎縮, 與高劑量餵食龍膽瀉肝湯變方組之肝、腎重比較有顯著性差異 ( $p < 0.05$ )。以組織病理之觀察並評分, 在肝細胞的變性、壞死程度情形龍膽瀉肝湯變方組均較 DMN 組輕微 ( $p < 0.05$ ), 但肝纖維化程度差異較不明顯 ( $p > 0.05$ )。肝組織中膠原蛋白含量比較, 龍膽瀉肝湯變方組之肝組織膠原蛋白含量稍低於 DMN 組但無顯著性差異 ( $p > 0.05$ )。由此研究得一結論, 龍膽瀉肝湯變方組對保護肝臟損傷及降低肝細胞的變性和壞死程度有明顯功效, 但對抗纖維化效果則不明顯, 依據中醫的基礎理論--辨證論治, 本方劑比較適合用於初期屬於急性濕熱較重的發炎期證型, 而對於進入慢性肝炎肝纖維化時比較不適合。

關鍵字: 肝硬化, 抗肝纖維化, 龍膽瀉肝湯變方, 大鼠動物模式。

## 前 言

慢性肝病（慢性肝炎、肝硬化及肝癌）是國人健康之大敵。在台灣每年約有五千人死於肝癌，四千人死於肝硬化和慢性肝炎。近年來肝癌一直是國人男性癌症死因第一位，女性癌症死因第二位。所以肝病可以說是台灣地區最常見之本土病症，也是我們的國病。因此中西醫界應同心協力，共同研究預防與治療的方法，以維護國人的健康。

現代醫學認為肝病可由其病因分為病毒性肝病、酒精性肝病、藥物或毒物性肝病及新陳代謝異常性肝病等。傳統中醫學上認為，本病的病因分為外感與內傷兩類，其中內傷之病因為最多見，依景岳全書認為其病因病機有肝膽濕熱、肝氣鬱結、瘀血停著、肝陰不足，絡脈失養，脾失健運，濕熱內鬱，疏泄不利而導致本病症。其中臨床上以肝膽濕熱型佔最多，其次是肝氣鬱結型<sup>1</sup>。根據肝炎及肝硬化的臨床表現，應屬於中醫學上之「黃疸」、「臌脹」、「癥積」、「脘痛」、「鬱症」等範疇<sup>2</sup>。

本研究以李東垣蘭室祕藏中之龍膽瀉肝湯去木通加絞股藍為研究方藥，目的在於評估中藥方劑——龍膽瀉肝湯變方，對於以 DMN 誘導 4 週形成肝損傷和肝纖維化後，探討對肝損傷的保護及抗纖維化的改善程度形成。在這項實驗中能讓我們分析中藥方劑應用於人肝炎、肝纖維化動物模式的療效，並建立中藥方劑抗肝纖維化程度評估的技術平台，並期盼藉由本研究結果能提供臨床醫師用藥之參考。

## 材料與方法

### 一、龍膽瀉肝湯的製備：

#### (一)組成：

本實驗之龍膽瀉肝湯變方組成包含：龍膽草 6 公克、柴胡 6 公克、黃芩 9 公克、生甘草 6 公克、梔子 9 公克、澤瀉 12 公克、車前子 9 公克、當歸 3 公克、地黃 9 公克，絞股藍 15 公克。

本研究所使用的藥材係一次購自台中市欣隆藥行，並經中國醫藥學院中國藥學研究所邱技正年永老師之鑑定無誤後，再進行藥材之製備。

#### (二)製備方法：

將各組成生藥材依比率秤取 3000 公克，以蒸餾水浸潤之，在 50 °C 下迴流抽取四 五次，每次約四小時，合併抽取液，再以冷凍乾燥法冷凍乾燥，即得到龍膽瀉肝湯變方之萃取物。

#### (三)劑量配置：

本實驗中慢性給予龍膽瀉肝湯可以分為兩種劑量：

##### 1. 龍膽瀉肝湯高劑量 (LDXGTH)：

將 1 克龍膽瀉肝湯之冷凍乾燥粉末溶於 9 毫升的一次水中，劑量相當於 333 mg/kg。

##### 2. 龍膽瀉肝湯低劑量 (LDXGTL)：

將 1 克龍膽瀉肝湯之冷凍乾燥粉末溶於 27 毫升的一次水中，劑量相當於 111 mg/kg。

## 二、實驗動物飼養：

由國科會購 5 週齡之雄性 SD 大鼠，餵養於台中榮總動物中心，控制在 12 小時 light/dark 循環條件下，任其隨意進食進水，於 8 週齡時進行實驗。

## 三、實驗分組：

將大鼠經 DMN 處理組後分為負對照組（只有投予 DMN 之處理組）正對照組（Silymarin 之處理組）及高、低劑量龍膽瀉肝湯變方組。每週紀錄大鼠體重一次。

## 四、DMN 投予方法：

每週連續 3 次 IP，每次 0.1 mL (1 % DMN) / 100 gBW。

## 五、實驗設計：

龍膽瀉肝湯變方組投予 DMN 並同時餵藥，龍膽瀉肝湯變方每天餵食一次連續 4 週後全部犧牲，以腹腔動脈採血、取肝臟、腎臟及脾臟。

## 六、犧牲當天實驗流程：

取出肝臟、腎臟及脾臟稱重，肝臟以生理食鹽水洗去附著之凝固血液，將肝大葉分三部份，中間部份放入中性福馬林組織固定。另外，將剩餘兩部分剪碎，取固定克數肝臟組織置於均質管中，加入 10 倍量 (w/v) 之緩衝液 (含 8 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 12 mM  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 1.5 % KCl, pH 7.4) 均質，其餘肝葉儲存於 -80 °C。

## 七、血液生化值檢測：

血液樣品放置一小時 (室溫)，冷凍離心機於 4 °C 下，每分鐘 4700 rpm 離心 20 分鐘，分離出血清。以自動分析儀檢測 GOT、GPT 及 total protein，採用自 RANDOX Laboratories (Antrum, UK) 之分析套組 (kit) 進行分析。

## 八、肝臟組織病理學觀察：

肝臟經福馬林固定石蠟包埋以 H&E 及 Sirius red 染色後，觀察肝臟之變性、壞死及纖維化程度。細胞變性壞死程度 (H&E 染色) 方面評分方法 (圖 1、2)：+ 為散發局部產生 (multifocal)；+ 為局部區域性 (locally extensive)，# 為瀰漫性 (diffuse)。在纖維化 (Sirius red 染色) 評分方法 (圖 3)：+ 為門脈區之纖維母細胞增生，但還未長進至肝小葉；+ 為門脈區之纖維母細胞增生，並長進至肝小葉，但彼此間未連接在一起；# 為門脈區之纖維母細胞增生，也長進至肝小葉，且彼此間連接在一起。

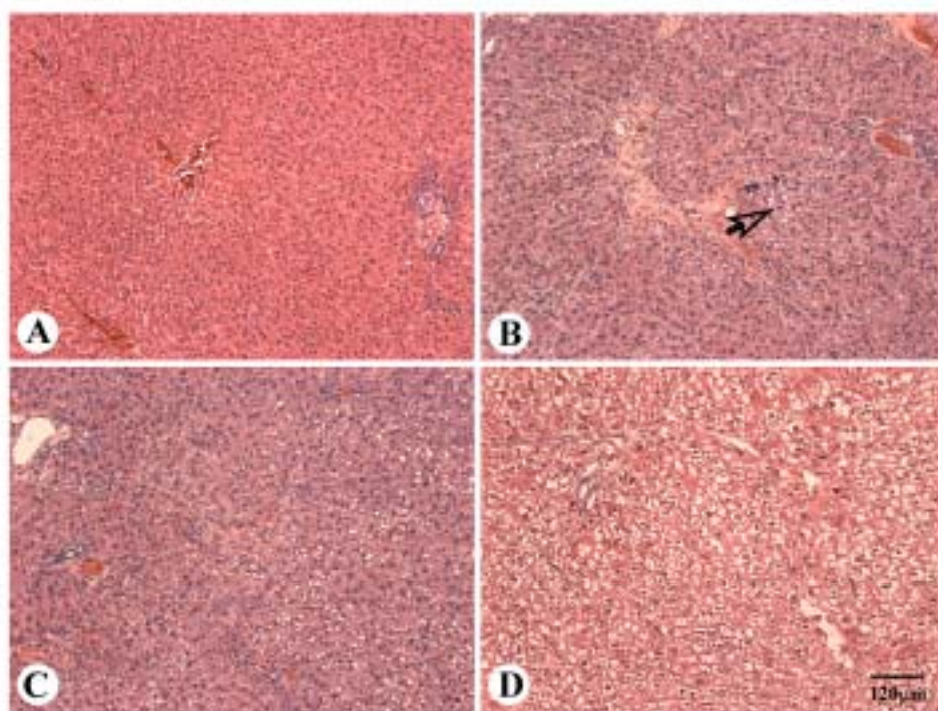


圖 1：各組肝臟組織於病理切片下（H&E 染色）肝細胞變性程度之比較：（A）為正常肝細胞（-），（B）為輕度（+）局部性空泡樣變性（箭頭），（C）為中度（+）區域性空泡樣變性，（D）為重度（#）瀰漫性空泡樣變性。

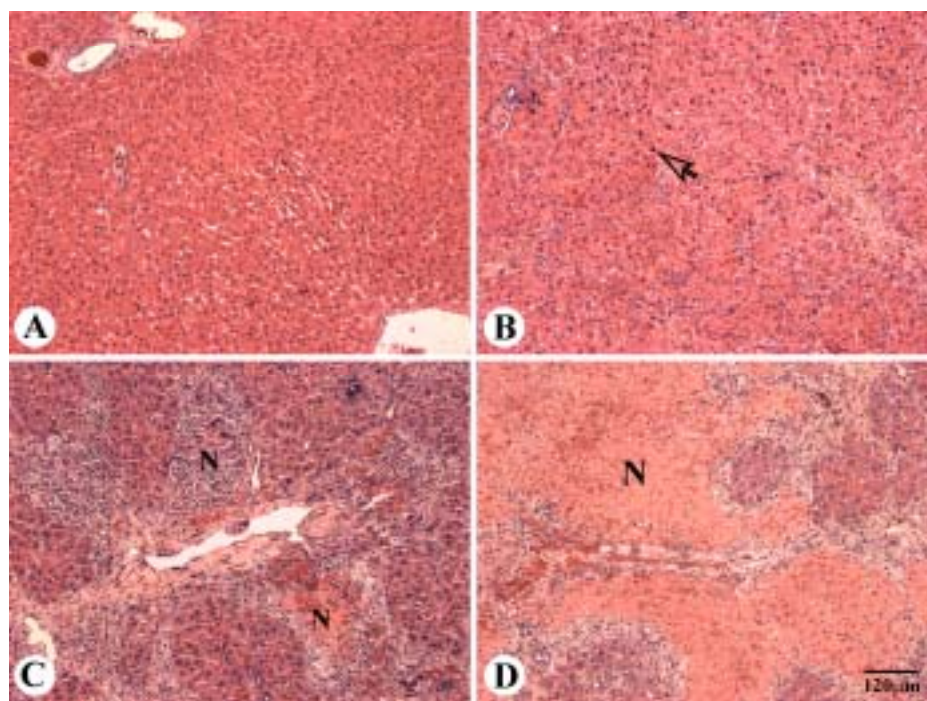


圖 2：各組肝臟組織於病理切片下（H&E 染色）肝細胞壞死程度之比較：（A）為正常肝細胞（-），（B）為輕度（+）局部性肝細胞急性壞死呈現核濃縮現象（箭頭），（C）為中度（+）為多發局部性壞死（N），（D）為重度（#）瀰漫性壞死（N）。

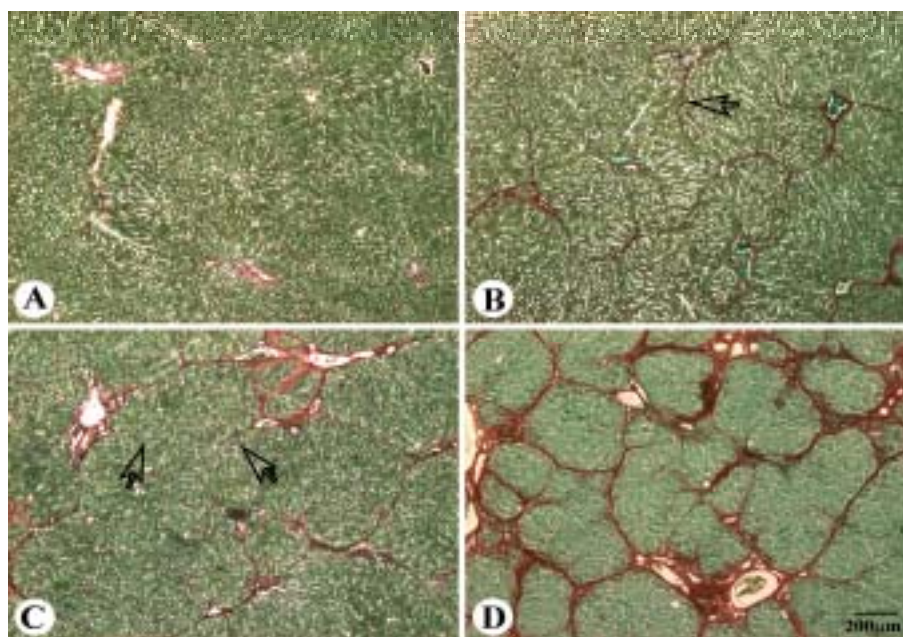


圖 3：各組肝臟組織於病理切片下 (Sirius red 染色) 肝纖維化程度之比較：(A) 為正常肝組織 (-)，(B) 為輕度 (+) 門脈區之膠原纖維增生，但未長進至肝小葉 (箭頭)，(C) 為中度 (+) 為門脈區之膠原纖維明顯增生，並長進至肝小葉，但彼此間未接在一起 (箭頭)，(D) 為重度 (++) 門脈區之膠原纖維大量增生延伸至肝小葉，且彼此間連接在一起形成許多偽小葉。

## 九、肝臟膠原蛋白含量之定量分析：

Hydroxyproline (HYP) 是肝臟膠原蛋白降解的產物，分析 HYP 含量可推算膠原蛋白之含量<sup>3</sup>，藉此反應肝纖維化之程度。

### (一) 樣品處理步驟：

1. 均質液+ 20 % SSA (5-sulfosalicylic acid) (4 : 1)
2. 離心 (13600 rpm, 10 分鐘)
3. 取上層澄清液使用 1N NaHCO<sub>3</sub> 調至 pH = 6.5
4. 再使用 Na<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 調至 pH = 7.6

### (二) Hydroxyproline 之液相層析儀分析之條件

#### 1. 標準品之製備

配置 1 µM, 5 µM, 10 µM, 20 µM, 50 µM 的 Hydroxyproline 標準品，分別與 15 mM FMOC (9-fluorenylmethyl chloroformate) 衍生，再以 HPLC 分析，從圖譜所得之波峰面積，作標準品的標準曲線。

#### 2. 設備

所使用的液相層析儀為 Hewlett Packard 1100 series，螢光偵測器為 BAS FL-45，excitation  $\lambda = 270$  nm，emission  $\lambda = 316$  nm，資料處理系統為 HP chem. Station，分離管柱為 Alltech, 150 mm  $\times$  4.6 mm Econosphere C-18 (5 µm)。



### 3. 移動相 ( Mobile Phase ) 之組成

液相層析儀之移動相配置後以真空幫浦 ( GAST Vacuum Pump ) 過濾, 濾膜為 0.45  $\mu\text{m}$  ( MILLIPORE )。

1 M ammonium phosphate, 15 % Methanol

15 % Methanol

90 % acetonitrile

### 4. 移動相沖提梯度 ( Elution Gradient )

時間 ( min )	A	B	C
0	61	30	9
3	65	24	11
18.5	29	51	20
19	20	60	20
22.5	18	58	24
23	19	57	24
24	16	54	30
25	0	0	100
30	0	0	100
31	61	30	9

### 、統計分析：

上述實驗所得到之實驗數據, 採用 SigmaStat 電腦統計套裝軟體中之變異數分析 ( analysis of variance , 簡稱 ANOVA ) 分析變異數, 再以 t-test 比較其顯著性, 組織病理病變程度評分以無母數 Mann-Whitney Rank Sum test 分析, 凡  $p < 0.05$  則認為有統計差異。

## 結 果

### 一、血液生化值檢測

如表 1 所示, 在 GOT 方面龍膽瀉肝湯變方低、高劑量組 (  $213.2 \pm 16.3$  U/l、 $193.0 \pm 9.6$  U/l ) 及 Silymarin 組 (  $254.4 \pm 16.7$  U/l ) 與 DMN 組 (  $394.8 \pm 28.2$  U/l ) 比較, 有極顯著性降低的現象 (  $p < 0.05$  )。然而, 在 GPT 值方面, 低、高劑量變方組 (  $149.1 \pm 5.9$ 、 $93.8 \pm 7.8$  U/l ) 及 Silymarin 組 (  $151.3 \pm 7.1$  U/l ) 與 DMN 組 (  $253.1 \pm 6.4$  U/l ) 比較, 亦有顯著性的下降 (  $p < 0.05$  )。且高劑量變方組之 GOT、GPT 與 Silymarin 組比較亦有顯著性的差異 (  $p < 0.05$  ) 因此, 龍膽瀉肝湯變方對於 DMN 誘導肝損傷之大白鼠有降低其血清中 GOT 及 GPT 的情形且效果比 Silymarin 好。在血清總蛋白量及白蛋白量方面, 只高劑量變方組 (  $6.2 \pm 0.2$  &  $4.4 \pm 0.1$  g/dL ) 與 DMN 組 (  $5.8 \pm 0.4$  &  $4.1 \pm 0.2$  g/dL ) 比較則有顯著性差異 (  $p < 0.05$  ) 的情形, 但與其他組比較則無顯著性差異 (  $p > 0.05$  )。

表 1 龍膽瀉肝湯變方及 Silymarin 對 DMN 誘發肝損傷大鼠血清生化值影響

組別	正常組	DMN 組	Silymarin 組	龍膽瀉肝湯變方	
				111 mg/kg	333 mg/kg
樣品數	5	9	9	9	9
GOT (U/l)	115.4 ± 11.6 <sup>a</sup>	394.8 ± 28.2 <sup>b</sup>	254.4 ± 16.7 <sup>c</sup>	213.2 ± 16.3 <sup>d</sup>	193.0 ± 9.6 <sup>e</sup>
GPT (U/l)	45.4 ± 6.7 <sup>a</sup>	253.1 ± 6.4 <sup>b</sup>	151.3 ± 7.1 <sup>c</sup>	149.1 ± 5.9 <sup>d</sup>	93.8 ± 7.8 <sup>de</sup>
Total protein (g/dL)	5.9 ± 0.3 <sup>ab</sup>	5.8 ± 0.4 <sup>a</sup>	6.0 ± 0.2 <sup>ab</sup>	6.1 ± 0.1 <sup>ab</sup>	6.2 ± 0.2 <sup>b</sup>
Albumin (g/dL)	4.0 ± 0.2 <sup>a</sup>	4.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	4.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	4.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	4.4 ± 0.1 <sup>b</sup>

每一組相互比較若英文字母不同代表具顯著性差異 ( $p < 0.05$ )。

表 2 龍膽瀉肝湯變方及 Silymarin 對 DMN 誘發肝損傷大鼠肝臟、脾臟、腎臟重量比較

組別	正常組	DMN 組	Silymarin 組	龍膽瀉肝湯變方	
				111 mg/kg	333 mg/kg
樣品數	5	10	10	10	10
肝臟重量 (g)	25.2 ± 4.2 <sup>a</sup>	21.4 ± 2.0 <sup>b</sup>	22.2 ± 2.4 <sup>ab</sup>	21.8 ± 2.1 <sup>ab</sup>	23.5 ± 1.9 <sup>a</sup>
脾臟重量 (g)	0.9 ± 0.2 <sup>a</sup>	1.4 ± 0.2 <sup>b</sup>	1.2 ± 0.2 <sup>b</sup>	1.4 ± 0.1 <sup>b</sup>	1.3 ± 0.2 <sup>b</sup>
腎臟重量 (g)	4.2 ± 0.4 <sup>ab</sup>	3.7 ± 0.4 <sup>a</sup>	3.8 ± 0.2 <sup>ab</sup>	3.8 ± 0.3 <sup>ab</sup>	4.2 ± 0.5 <sup>b</sup>

每一組相互比較若英文字母不同代表具顯著性差異 ( $p < 0.05$ )。

表 3 龍膽瀉肝湯變方及 Silymarin 對 DMN 誘發肝損傷大鼠肝臟組織病理病變程度之比較

組別	隻數	變性					壞死					纖維化				
		-	+	+	≡	P	-	+	+	≡	P	-	+	+	≡	P
DMN 組	10	0	0	3	7	<sup>a</sup>	0	0	4	6	<sup>a</sup>	0	1	4	5	<sup>a</sup>
Silymarin 組	10	0	0	6	4	<sup>ab</sup>	0	1	4	5	<sup>ab</sup>	0	2	5	3	<sup>a</sup>
龍膽瀉肝湯變方 111 mg/kg	10	0	2	6	2	<sup>bc</sup>	0	4	4	2	<sup>b</sup>	0	1	5	4	<sup>a</sup>
龍膽瀉肝湯變方 333 mg/kg	10	0	4	5	1	<sup>c</sup>	0	4	6	0	<sup>b</sup>	0	3	4	3	<sup>a</sup>

- : 無病變、+ : 輕度、++ : 中度、≡ : 重度。

P : 每一組相互比較若英文字母不同代表具顯著性差異 ( $p < 0.05$ )。

表 4 龍膽瀉肝湯變方及 Silymarin 對 DMN 誘發肝損傷大鼠肝臟 hydroxyproline 濃度之影響

組別	DMN 組	Silymarin 組	龍膽瀉肝湯變方	
			111 mg/kg	333 mg/kg
樣品數	9	9	9	9
Hyp (μmoles/g)	0.040 ± 0.010	0.037 ± 0.006	0.039 ± 0.007	0.036 ± 0.010

## 二、肉眼病變比較

DMN 組與餵食龍膽瀉肝湯變方組肉眼病變比較：肝明顯變黃和萎縮、且腎臟亦萎縮變輕（如表 2），

肝、腎重比較只高劑量變方組 ( $23.5 \pm 1.9 \text{ g} \ \& \ 4.2 \pm 0.5 \text{ g}$ ) 與 DMN 組 ( $21.4 \pm 2.0 \text{ g} \ \& \ 3.4 \pm 0.4 \text{ g}$ ) 比較有顯著性差異 ( $p < 0.05$ ), 但與正常組比較無顯著性差異 ( $p > 0.05$ )。

### 三、肝臟組織病理學觀察

以 H&E、Sirius red & Fast green 組織化學染色進行形態病理之觀察, 並以肝細胞的變性、壞死及肝纖維化程度分別進行三項評分比較 (圖 1、2、3, 表 3), 在肝細胞的變性、壞死情形龍膽瀉肝湯變方組均較 DMN 組有顯著性減輕 ( $p < 0.05$ ), 其中高劑量變方組肝細胞的變性程度比 Silymarin 組有顯著性的效果 ( $p < 0.05$ )。肝纖維化程度只有高劑量組稍低於 DMN 組但均無顯著性差異 ( $p > 0.05$ )。

### 四、肝臟膠原蛋白含量之定量分析

龍膽瀉肝湯變方組所有肝組織膠原蛋白含量與 DMN 組比較 (表 4), 均無顯著性差異 ( $p > 0.05$ )。

## 討 論

肝病一直是臺灣人民罹患率特別高的疾病, 每年都有許多民眾因為慢性 B 型肝炎, 最後導致肝硬化及肝癌而死亡。根據行政院衛生署於民國 90 年的統計, 89 年度台灣地區約有五千多人死於慢性肝病及肝硬化, 佔大死因之第六位, 在男性的大死因位居第六位, 而在女性則位居第七位; 每萬人口死亡率約為 23.32 人, 死亡百分比為 4.16 %; 而肝癌更是台灣地區癌症主要死亡原因的前二名<sup>4</sup>。肝硬化產生的慢性肝衰竭症狀往往會在數年間逐漸出現, 通常於昏迷中或由於門脈高壓伴隨的併發症, 使病症過於惡化而導致死亡, 對台灣人民的健康影響甚鉅! 因此, 如何改善或治療肝硬化及其併發症 ~ 門脈高壓便成為台灣地區重要之研究課題之一。

中國傳統醫學著重於「辨證論治」, 「整體治療」等, 對於病者「症狀」的描述極為重視, 因此中醫典籍中對於急慢性肝炎、肝硬化等病名並沒有直接地記載。根據肝炎及肝硬化的臨床表現, 應屬於中醫學上之「黃疸」、「臌脹」、「癥積」、「脘痛」、「鬱症」等範疇<sup>2</sup>; 病毒性肝炎則類似中醫對於外感疾病「溫病」的描述; 肝臟疾病中常見的黃疸, 在傳統中醫則認為由濕邪引起, 而肝硬化伴隨門脈高壓、食道靜脈瘤曲張的症狀則與臌脹的病證最為吻合。

朱丹溪曰:「氣血衝和, 萬物不生, 一有抑鬱, 諸病生焉。」肝硬化在中醫稱之為「肝積」或「脾積」; 肝積, 名肥氣, 脾積, 名痞氣。其證初期多因濕熱鬱遏氣機, 導致血瘀絡阻而成癥塊。肝硬化由氣及血, 在氣分則痞, 在血分則癥。氣血病證是肝病的主要臨床表現, 若因肝氣抑鬱, 則見脘痛脘悶, 若挾瘀血, 則見腹內堅硬疼痛等證<sup>5</sup>。中醫理論中提及: 內傷七情, 特別是鬱怒傷肝, 思慮氣結, 均可導致肝脾失調, 氣機不暢, 血行受阻, 久則氣滯血絡, 脈道壅塞痺阻, 而成癥積之變; 酒食過度, 貪食肥厚生冷, 損傷脾胃, 以致健運功能失調, 水穀精微不能敷布, 積濕成痰, 濕熱內蘊, 均可瘀阻脈絡成積; 寒邪侵襲, 脾陽不運, 濕痰內生, 或邪食相搏, 臟腑不和, 以致痰食氣血凝滯, 日久漸成積塊; 黃疸病後或黃疸經久不退, 濕熱留戀, 影響氣血運行, 濕痰凝滯, 絡脈痺阻, 或感染血吸蟲, 蟲聚脈道, 肝脾氣血不和, 血絡受阻,



上述因素均可繼發癥積。依據中醫理論，臌脹與黃疸在病理上與肝、脾、腎三臟相關，中醫生理學中認為肝主藏血、腎主藏精，為先天之本、脾主運化食物水濕，為後天之本；脾屬土，主運化水濕，水流濕，火就燥，同氣相求，濕熱之邪首先侵犯脾胃，致使脾胃運化功能受遏，進而壅阻肝膽，肝體受損，使膽汁外溢於肌膚，下流於膀胱而形成黃疸<sup>6</sup>。肝脾功能失調，肝氣鬱遏日久，則木鬱剋土、脾失運化之職責，水穀之精微不能輸布以奉養他臟，病延日久肝脾日虛，進而累及腎臟，腎臟亦虛；肝脾腎功能相互失調，終至氣滯血瘀，水停腹中而成臌脹、黃疸等證。

在中國的傳統醫學中，中藥方劑廣泛且靈活地運用在各種症狀上，例如“龍膽瀉肝湯”就經常用來治療與肝病相關的症候方。中醫治療的關鍵在於分清標實及本虛的主次，標實為主的，治以疏肝運脾，用理氣、化痰、行水之法；本虛為主的，應補養正氣，用補益脾腎或滋腎柔肝之法，虛實夾雜者，當攻補兼施，並把握攻補先後之主次。對於肝硬化的治療，中、西醫學各有所長；中藥著重整體的調整，西藥更是救急時的最佳選擇。因此，中西醫藥的結合也許才是未來肝硬化治療的最佳模式。

本研究以李東垣《蘭室秘藏》中之龍膽瀉肝湯去木通加七葉膽為研究方藥，目的在於評估臨床常用之中藥方劑—龍膽瀉肝湯變方對於實驗性肝損傷及纖維化的療效，及探討其可能之副作用。方中龍膽草、梔子、黃芩、車前草、澤瀉具有清肝瀉火、利水滲濕，其中黃芩皂苷具有降低 GOT、GPT 及 GGT 等療效<sup>7</sup>，其所含之 Baicalin 和 Baicalein 具有強的 Antioxidative activity，能提昇肝內之 Retinoid，降低肝內 Collagen 及 Malodialdehyde (MDA)，減少 Hepatic fibrosis 等作用<sup>8</sup>；柴胡、甘草能舒泄肝火，據研究指出，柴胡及甘草具有保護肝細胞膜及激活免疫作用，同時有明顯的抗炎作用，使肝細胞變性壞死減輕，柴胡也具有明顯的抑制肝纖維組織增生，防止肝臟早期硬化<sup>7</sup>；七葉膽又名絞股藍為台灣民間用於消炎解毒之良藥，在本方中因考慮木通具有毒性成分馬兜鈴酸，因此去木通，而以七葉膽來作為替代藥物，據研究指出絞股藍能減輕肝細胞脂肪變性及肝纖維化，有保肝護肝作用<sup>9</sup>。

本研究結果顯示，以 DMN 引致肝損傷大鼠中，餵食龍膽瀉肝湯變方組之 GOT、GPT 均比 DMN 組顯著性降低 ( $p < 0.05$ )，且總蛋白均顯著性高於對照組 ( $p < 0.05$ )。在肉眼病變發現 DMN 組之肝明顯變黃和萎縮，與餵食龍膽瀉肝湯變方組之肝重比較均有顯著性差異 ( $p < 0.05$ )。以組織化學染色進行形態病理之觀察，在肝細胞的變性、壞死情形龍膽瀉肝湯變方組均較 DMN 組有顯著性輕微 ( $p < 0.05$ )，肝纖維化程度龍膽瀉肝湯變方高劑量組較低於 DMN 組但均無顯著性差異 ( $p > 0.05$ )。肝組織中膠原蛋白含量比較，龍膽瀉肝湯變方組肝組織膠原蛋白含量稍低於 DMN 組但無顯著性差異 ( $p > 0.05$ )。由以上研究結果顯示，龍膽瀉肝湯變方可以明顯降低血清中 GPT 和 GOT 的指數，而且能減輕肝萎縮及改善肝細胞變性和壞死程度，但對肝纖維化形成的抑制療效不明顯。在數項評估指標中，龍膽瀉肝湯變方對保護肝臟損傷功效較抗纖維化明顯，由實驗結果得到一個結論，中醫臨床用藥遣方必須要依據中醫的基礎理論，辨證而後論治，在疾病的不同時期有不同的臨床證狀，一個方是不能長期用於治療同一個「病」的治療，本方龍膽瀉肝湯變方比較適合用於初期屬於急性濕熱較重的發炎期證型，而對於進入慢性肝炎肝纖維化時比較不適合，依中醫學理論，當肝病進入纖維化時就與瘀血和癥積有密切關係<sup>10</sup>。至於本研究之龍膽瀉肝湯變方之作用機轉，可能與其具有保護肝細胞膜、抗發炎而使肝細胞變性壞死減少、改善肝內微小循環、促進肝組織修護、

影響蛋白質代謝、使肝細胞恢復合成蛋白質功能等而達到保肝護肝的作用有關。同時此研究可知：肝損傷大鼠動物模式用以評估中醫方劑對於保肝及抗纖維化療效，可提供中醫臨床用藥參考，至於本方的作用機轉仍有待更進一步的深入探討。

## 誌 謝

本研究承蒙 TCVGH-917326A、VTY92-P2-17 計畫補助及台北市中醫師公會經費贊助，在此表示 二萬分之感激，同時感謝教研部院外合作實驗室蔡璧如小姐協助膠原蛋白的定量。

## 參考資料

1. 陳子忠，張洪成，調肝脾治慢性肝炎，湖北中醫雜誌，2：37，1995。
2. 張伯臾，中醫內科學，上海科學技術出版社，中國，pp.179-185，2002。
3. Haynes PA, Sheumack D, Kibby J, Redmond JW. Amino acid analysis using derivatisation with 9-fluorenylmethyl chloroformate and reversed-phase high-performance liquid chromatography. J Chromatography 540: 177-185, 1991.
4. 行政院衛生署，死因統計，臺北，中華民國衛生年鑑，2001。
5. 李丹初，養血搜剔法治療肝硬化，當代醫學臨證精華 — 肝炎肝硬化專輯，臺北，志遠書局，pp.373-376，1999。
6. 鄒良材，慢肝多濕熱瘀毒，擅用大黃；治療當變理臟腑，尤重脾運。當代醫學臨證精華 — 肝炎肝硬化專輯，臺北，志遠書局，pp.132-141，1999。
7. 鍾磊，乙肝湯治療慢性肝炎 314 例，湖北中醫雜誌，2：36-37，1995。
8. Shimizu I, MA YR, Mizobuchi Y, Liu F, Miura T, Nakai Y, Yasuda M, Shiba M, Horie T, Amagaya S, Kawada N, Hori H, Ito S: Effect of Sho-saiko-to, Japanese herb medicine on hepatic fibrosis in rats. J Hepatology, 29: 149-60, 1999.
9. 陶建武，姚彩萍，王冀春，郝廣麗，葉正君，絞股藍在大鼠肝的抗脂質過氧化作用，中國臨床藥學雜誌，中國，10：160-161，2001。
10. 韓經寰，李鳳閣：中西醫結合治療肝病的研究，南天書局，台灣，pp.125-140，1987。

## STUDIES ON THE THERAPEUTIC EFFECTS OF DEVIATED LONG-DAN-XIA-GAN-TANG ON DIMETHYLNITROSAMINE INDUCED HEPATIC DAMAGE IN RATS

Long-Yuan Wu<sup>1</sup>, Hsiao-Ping Hsu<sup>3</sup>, Yi-Shin Chen<sup>2</sup>, Nai-Nu Lin<sup>2</sup>, Wan-Chuan Chen<sup>4</sup>,  
Zheng-Huang Cheng<sup>5</sup>, Wen-Huang Peng<sup>5</sup> and Yung-Tsung Chiu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Post-Baccalaureate School of Chinese Medicine, China Medical College*

<sup>2</sup>*Department of Education and Research, Taichung Veterans General Hospital*

<sup>3</sup>*Department of Veterinary Medicine, National Chung Hsing University  
Taichung, Taiwan*

<sup>4</sup>*Doctor Trade Union of traditional Chinese medicine in Taipei*

<sup>5</sup>*Taipei City-maintained Hospital of Chinese Medicine  
Taipei, Taiwan*

*(Received 6<sup>th</sup> May 2003, revised Ms received 14<sup>th</sup> July 2003, accepted 9<sup>th</sup> September 2003)*

To assay the hepatic protection and the anti-cirrhotic effect of Long-Dan-Xia-Gan-Tang, we used dimethylnitrosamine (DMN) to induce liver damage in rats. These rats were first fed with 1 % DMN three times per week for 4 weeks, and were then fed with low and high doses (111 mg/kg, 333 mg/kg) of this herbal drug once time per day for 4 weeks. Assay indicators for the therapeutic effect include: 1) serum biochemical tests, such as GOT, GPT, total protein and albumin, 2) gross lesion findings, 3) histopathological score of degeneration, necrosis of hepatocyte, and hepatic fibrosis, and 4) collagen determination in liver tissues. The results show that this herbal drug significantly decreased the contents of GOT ( $p < 0.05$ ), GPT ( $p < 0.05$ ), total protein and albumin ( $p < 0.05$ ), and the degrees of DMN-induced hepatic degeneration and necrosis ( $p < 0.05$ ). However, the occurrence of hepatic fibrosis in histopathological score and the collagen determination were not significantly different from those in the control rats ( $p > 0.05$ ). These findings indicate that Lon-Dan-Xan-Tang exerted significant effects on the hepatic protection, but not on the inhibition of hepatic fibrosis. Conclusively, this herbal drug may have therapeutical role in the acute stage of liver disease.

**Key word:** Cirrhosis, Anti-fibrosis, Long-Dan-Xia-Gan-Tang, Rat model.