

比較傷寒論三個黃疸方劑治療奈異硫 氰酸脂誘發大白鼠肝內膽汁 滯流性黃疸的效果

陳榮洲^{1,2} 陳宇輝² 王穩創³

¹中國醫藥學院 中醫學系

台中

²秀傳紀念醫院 中醫部

彰化

³嘉義基督教醫院 病理科

嘉義

(2002年9月12日受理, 2002年10月28日收校訂稿, 2002年10月30日接受刊載)

本研究目的在探討傷寒論三個黃疸方劑, 治療奈異硫氰酸脂誘發大白鼠肝內膽汁滯流性黃疸, 比較其抗肝細胞損傷、膽道阻塞和膽汁鬱滯的效果。結果顯示: 茵陳蒿湯對肝內膽汁滯流性黃疸的療效最佳, 梔子柏皮湯僅對膽道阻塞有顯著治療效果, 麻黃連翹赤小豆湯僅對總膽紅素有降低作用。此研究結果建議, 凡由藥物、病毒等引起的急性肝內膽汁瘀滯及反覆性肝內膽汁瘀滯的病變, 茵陳蒿湯可提供治療上的參考。

關鍵詞: 奈異硫氰酸脂, 梔子柏皮湯, 麻黃連翹赤小豆湯, 茵陳蒿湯, 肝內膽汁滯流性黃疸。

前 言

中醫學有關黃疸的治療, 最早在東漢張仲景傷寒論及金匱要略書中即有記載, 傷寒論稱黃疸為陽明發黃, 有麻黃連翹赤小豆湯、梔子柏皮湯、茵陳蒿湯等三個治療方劑¹, 金匱要略將黃疸分為五疸: 黃疸、穀疸、酒疸、女勞疸、黑疸, 其治療黃疸的主要方劑有茵陳蒿湯、硝石礬石散、梔子大黃湯、茵陳五苓散、大黃消石湯等²。傳統中醫典籍文獻將黃疸視為一種病證, 現代醫學認為黃疸為肝膽疾病或溶血性貧血的症狀之一。傷寒論治陽明發黃三個方劑主要是治療肝膽疾病的處方, 如「傷寒瘀熱在裡, 身必發黃, 麻黃連

翹赤小豆湯主之」是治黃疸汗法方劑；「傷寒身黃，發熱，梔子柏皮湯主之。」是治黃疸清法方劑；「陽明病，發熱汗出，此為熱越，不能發黃也；但頭汗出，身無汗，劑頸而還，小便不利，渴飲水漿者，此為瘀熱在裡，身必發黃，茵陳蒿湯主之。」是治黃疸下法方劑。

臨床上將黃疸分為溶血性、肝細胞性及阻塞性三類以便於診斷，溶血性黃疸主要涉及膽紅素產生過多；肝細胞性黃疸（肝炎及肝硬化所引起者）則涉及肝細胞對膽紅素的攝取、接合、及排泄，以排泄作用受影響最大；阻塞性黃疸則主要是指膽道的阻塞³。

然而一般源於肝臟疾病的黃疸，有肝細胞性黃疸與肝內膽汁滯流性黃疸兩種，因此如何以實驗模式客觀證實傷寒論此三個黃疸方劑的治療，是否主要作用於肝細胞性黃疸或肝內膽汁滯流性黃疸，奈異硫氰酸脂（ANIT, Alpha - naphthylisothiocyanate）是常被用來誘發實驗性肝內膽汁滯流性黃疸的化學試劑⁴，本化學試劑不僅可造成實驗動物肝內膽汁鬱滯，也可引起肝細胞損傷，在病理生理學上的表現很像人類服用的藥物性肝炎。奈異硫氰酸脂對動物肝毒性的致病機轉⁵，在給藥約二十四小時內，會引起膽汁鬱滯，並伴隨門靜脈週圍肝實質細胞損傷，影響血清 sGOT、sGPT 的活性升高；明顯的膽管上皮細胞損傷，會影響血清 γ -GT (γ -glutamyltranspeptidase) 的活性、膽酸和膽紅素升高，膽汁流量減少。組織學的檢查，肝小葉的門靜脈週圍區域有明顯的白血球（PMN）浸潤。有學者認為，ANIT 的致病機轉^{6,7}是 PMN 沉澱在肝組織中釋放傷害性的物質（injurious agents），如毒性氧的代謝物（toxic oxygen metabolites）、lysosomal enzymes、metabolites of arachidonic acid，而造成肝實質細胞和膽管上皮細胞的損傷。

本研究以 ANIT 來誘發大白鼠造成膽汁鬱滯的動物模型，其主要是針對阻塞性黃疸，但亦涉及肝實質細胞的損傷，故其目的擬探討中醫典籍中治黃疸方劑是否對此動物模型所造成的膽汁鬱滯以及肝損傷具有抗膽道阻塞、抗膽汁鬱滯和抗肝細胞損傷的療效。

過去作者曾發表溫病條辨濕溫疸證處方對 ANIT 誘發大白鼠急性膽小管性肝炎的治療效果評估⁸，其實驗結果發現，在血清生化值的變化上，杏仁石膏湯、連翹赤豆飲、二金湯等三個治療黃疸的方劑⁹，均有抗高膽紅素血症的退黃作用；在改善病理組織病變的作用上，杏仁石膏湯的作用主要表現在抗肝細胞發炎上，有顯著抗炎症細胞（PMN）侵潤的作用；連翹赤豆飲的作用主要表現在抗肝細胞的壞死上；二金湯的作用主要表現在抗膽管炎的效果上。

本研究繼上述研究方法，將進一步以傷寒論中治陽明發黃的三個方劑，麻黃連翹赤小豆湯、梔子柏皮湯、茵陳蒿湯等，治療奈異硫氰酸脂誘發大白鼠肝內膽汁滯流性黃疸，以評估這三個方劑抗肝實質細胞損傷，抗膽道阻塞，及抗膽汁鬱滯的效果，俾提供臨床上的參考運用及中醫在肝膽疾病的教學補充。

材料與方法

一、材料

（一）實驗動物

動物品種：Wistar 品系雄性大白鼠（Wistar albino rats）。

動物來源：國家實驗動物繁殖及研究中心。

動物週齡：4-6 週。

動物體重：控制在 180-220 克。

飼養環境：中國醫藥學院動物中心，空調房間，溫度維持 $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ，相對濕度 $55 \pm 5\%$ ，半日照環境，自由飲水及餵食標準飼料（以福壽實業股份有限公司生產之鼠實驗動物飼料餵之）。

(二)化學藥品、試劑及器材

本研究全部採用分析級的化學試藥，條列如下：

1. Olive oil (Wako pure chemical industries, LTD, Japan)
2. Silymarin (22888-70-6, Aldrich chemical company, Inc. Milwaukee, WI, USA)
3. Kits (Roche diagnostic systems, Inc. Branchburg, New Jersey, USA)
AST (GOT) : Art.07 3641 4
ALT (GPT) : Art.07 3638 4
ALP (alkaline phosphatase) : Art.07 3633 3
BIL (bilirubin)
4. Carboxymethylcellulose (CMC) (C-4888, Sigma chemical Co, USA)
5. Formalin (Osaka chemical Co. LTD, Japan)
6. 奈異硫氰酸脂 (ANIT, Alpha-naphthylisothiocyanate) (Sigma chemical Co, USA)
7. 真空減壓濃縮機 (EYELAN-I, Tokyo Rikakikai Co, LTD, Japan)
8. 冷凍乾燥機 (Dura-Top MP, microprocessor control bulk tray dryer, FTS system)
9. 大型高速冷凍離心機 (BACKMAN GS-6R, USA)
10. 全自動生化分析儀 (COBAS mira plus, Roche, New Jersey, USA)
11. 顯微影像攝影機 (OLYMPUS BX50, Camera: OLYMPUS SC35)

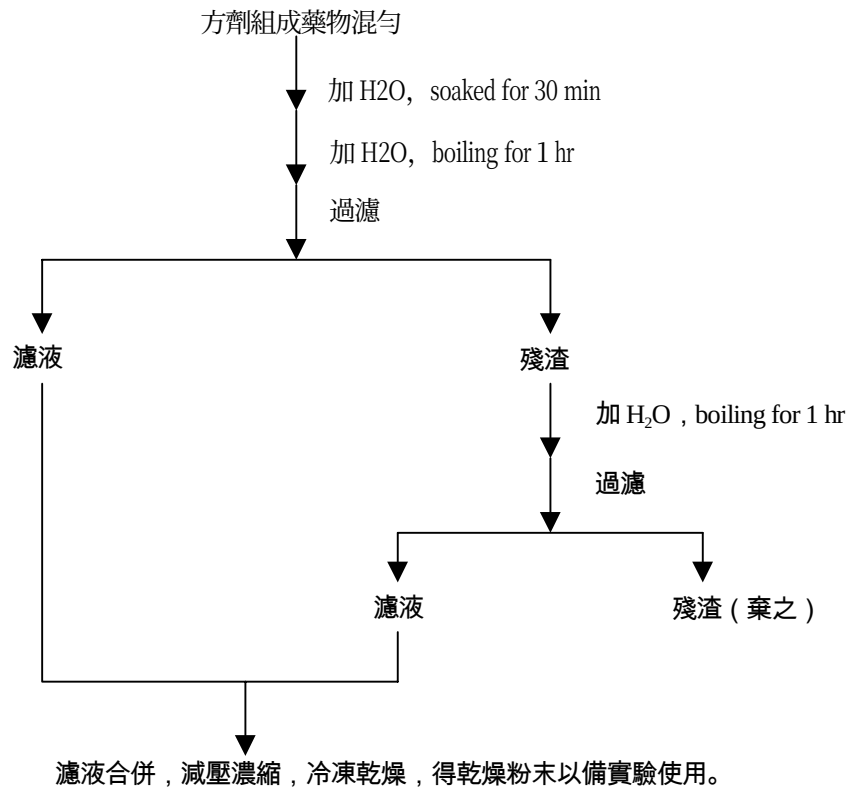
(三)中藥材

本實驗所使用的藥材，皆購自臺中中國醫藥學院附設醫院中藥局經鑑定真偽後，才列入使用。傷寒論黃疸方劑之組成及劑量比例如下：

1. 麻黃連翹赤小豆湯
麻黃：連翹：赤小豆：杏仁：生薑：大棗：甘草：桑白皮 = 2 : 4 : 10 : 3 : 3 : 2 : 2 : 3
2. 梔子柏皮湯
梔子：黃柏：茵陳蒿 = 3 : 2 : 1
3. 茵陳蒿湯
茵陳蒿：梔子：大黃 = 6 : 3 : 2

(四)方劑水抽出物之製備

組成藥物混勻後，加水浸三十分鐘，以水浴法在攝氏一百度，連續抽取二回過濾、減壓濃縮、冷凍乾燥，得乾燥粉末以備實驗使用。



二、方法

(一)ANIT 誘發大白鼠肝內膽汁滯流性黃疸的方法

實驗參考 Lin¹⁰ 等人所描述之方法 (稍加修飾)，實驗分六小組，即控制組，ANIT 損傷組，Silymarin 組，和治療組三組 (每組劑量各分 1 g/kg 及 2 g/kg)。茲說明如下：

- (1)控制組 (2)損傷組 (3)麻黃連翹赤小豆湯組 1 g/kg、2 g/kg
- (4)梔子柏皮湯組 1 g/kg、2 g/kg (5)茵陳蒿湯組 1 g/kg、2 g/kg
- (6)Silymarin 組 25 mg/kg

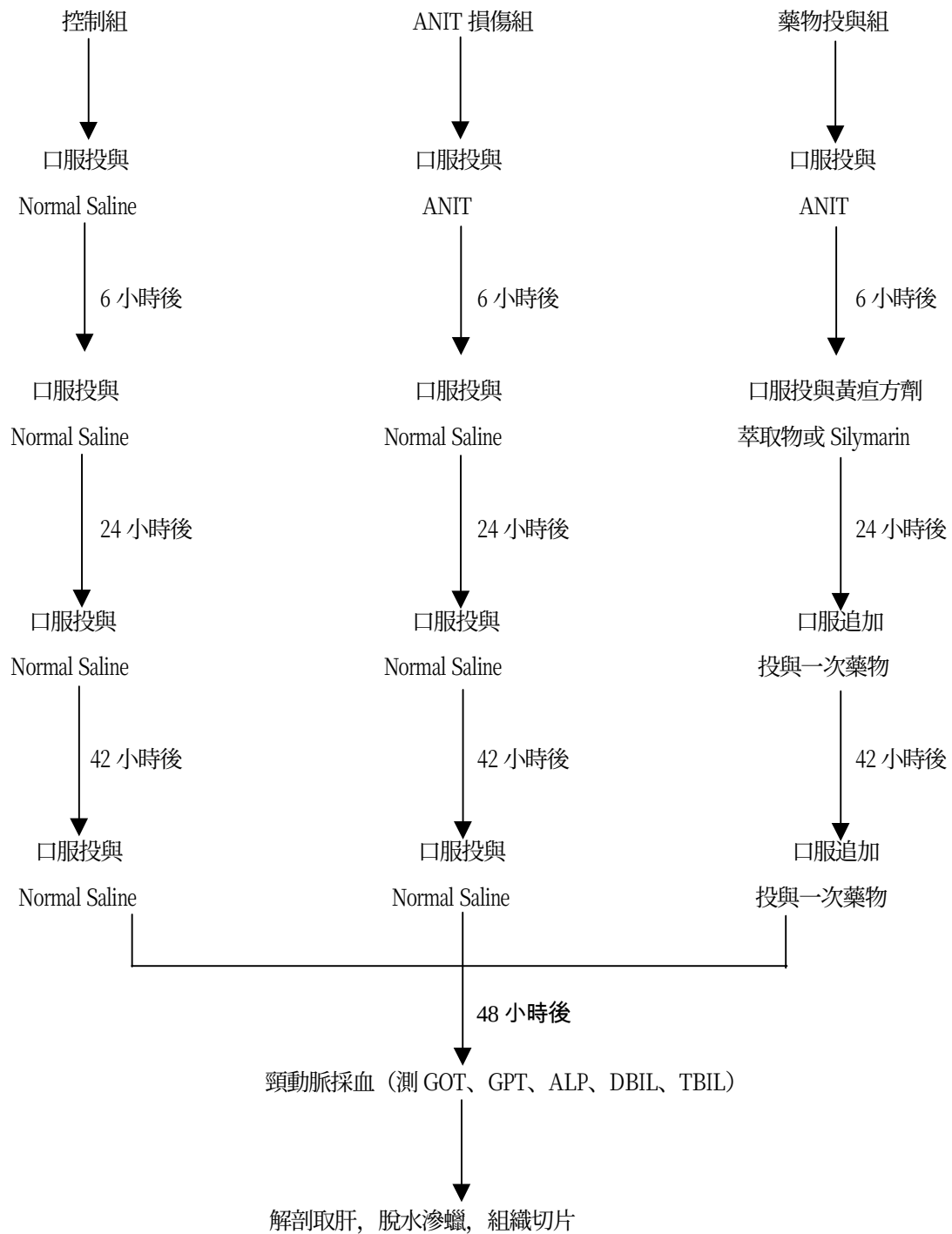
(二)實驗流程：

以 ANIT (100 mg/kg 即 1 cc/100 g, in olive oil) 胃管口服誘發大白鼠肝內膽汁滯流性黃疸模型，控制組口服等量之橄欖油。誘毒後第 6、24、42 小時胃管投與藥物 (黃疸方劑、silymarin) 3 次，最後藥物投與後禁食 6 小時，然後實驗動物以乙醚輕度麻醉，由頸動脈採血，分離血清檢測 GOT、GPT、ALP、direct bilirubin 和 total bilirubin，並解剖取肝，標本固定於 10% Formalin 液中，石蠟包埋，做組織切片以 H.E. stain，進行組織學的觀察。整個實驗之流程圖如下頁。

(三)肝功能生化指數的檢測

從所有大白鼠頸動脈採得的血，以大型離心機，在每分鐘 3000 轉速下離心 10 分鐘，來分離血清，再以 Roche 自動生化分析儀 (COBAS, mira plus) 檢測肝功能生化指數，包括 GOT、GPT、鹼性磷酸酶 (ALP)、直接膽紅素 (DBIL) 和總膽紅素 (TBIL)，所用檢驗 kits 皆購自 Roche 公司。

ANIT 誘發大白鼠肝內膽汁滯流性黃疸實驗流程圖



(四)組織病理學的觀察

在 48 小時後，所有大白鼠都予以殺驗，頸動脈採血後，剖腹割取肝臟，所有的組織病理切片都是由最大右葉肝的同一位置割取 1 公分見方，放入 10% 的福馬林中，然後作肝組織切片及病理染色 (HE stain)，以便觀察肝組織損傷程度。在進行組織病理學的比較時，根據 Jonker 的病理半定量方法¹¹，經病理科醫師

表 1 病理半定量評分表

ANIT 誘發大白鼠肝內膽汁滯流性黃疸病理半定量評分表				
病理組織觀察項目	1 分	2 分	3 分	4 分
肝細胞發炎 (Inflammation)	Sporadic	10X 易看到	Dense	
白血球浸潤 (PMN infiltration)	Sporadic	10X 易看到	Focal aggregation	
細胞纖維化 (Fibrosis)	Area 不變大	Area 變大	Bridging	Cirrhosis
細胞壞死 (Necrosis)	Only sporadic	10X 有 1-2 處	10X 有 3-5 處	
膽管發炎 (Cholangitis)	Mild Scattered inflammation	Moderate 圍著 inflammation	Peri-ductule dense inflammation	
膽管增生 (Bile duct Proliferation)	大 area 才有 4-5 個	小 area 有 2-3 個	每個 area 都有 (> 4-5 個)	

修飾，訂定半定量評分表，對急性肝損傷所造成的肝細胞發炎、炎症細胞浸潤、門脈區的纖維化、肝實質細胞壞死、膽管周圍發炎和膽管增生等予以半定量分析。評估分數是由 0 到 4 分，其中 0 分代表沒有 (absent)；1 分代表少量 (trace)；2 分代表輕微 (weak)；3 分代表中等程度 (moderate)；4 分代表嚴重且強烈 (strong)。(見表 1)

(五)統計分析方法

本研究的實驗數值以“平均值 ± 標準誤” (Mean ± S.E.M.) 來表示。再比較各藥物治療組間差異時，採用變異數分析方法 One-way-analysis of variance (ANOVA)，對生化數值的比較，以 Student-Newman-Keulstest 進行事後檢定；而對病理組織的比較，則採 LSD (Least significant difference) 進行事後檢定。使用統計軟體為 SAS 6.11 版。

結 果

一、ANIT 誘發肝內膽汁滯流性黃疸各組生化值的比較 (劑量為 1g/kg，見表 2)

(一)GOT

比較各治療組與 ANIT 損傷組 GOT 的變化，梔子柏皮湯和茵陳蒿湯對損傷組 GOT 升高的降低達統計學意義 (分別為 $p < 0.001$, $p < 0.01$)，其中梔子柏皮湯的療效優於茵陳蒿湯 ($p < 0.05$)，而麻黃連翹赤小豆湯和 Silymarin 則未達統計學的意義。

(二)GPT

比較各治療組與 ANIT 損傷組 GPT 的變化，梔子柏皮湯組和茵陳蒿湯組對損傷組 GPT 升高的降低達統計學意義 (分別為 $p < 0.001$, $p < 0.01$)，其中梔子柏皮湯的療效優於茵陳蒿湯 ($p < 0.05$)，而麻黃連翹赤小豆湯和 Silymarin 則未達統計學的意義。

(三)鹼性磷酸酵素 (ALP)

比較各治療組與 ANIT 損傷組 ALP 的變化，以梔子柏皮湯效果最佳 ($p < 0.001$)，其次為茵陳蒿湯和麻

表 2 ANIT 誘發肝內膽汁滯流性黃疸各組生化值的變化 (劑量為 1g/kg)

組別	GOT	GPT	ALP	DBIL	TBIL
控制組(1)	135 ± 1.7	35 ± 1.0	223 ± 11	—	0.1 ± 0.01
損傷組(2)	1087 ± 56	838 ± 25	926 ± 53	6.3 ± 0.2	7.6 ± 0.2
麻黃連翹赤小豆湯(3)	923 ± 75	786 ± 93	789 ± 38	5.5 ± 0.3	6.5 ± 0.4
梔子柏皮湯(4)	499 ± 41	266 ± 30	644 ± 34	5.6 ± 0.6	7.4 ± 0.8
茵陳蒿湯(5)	749 ± 64	478 ± 67	754 ± 16	5.1 ± 0.5	7.1 ± 0.6
Silymarin 組(6)	1015 ± 50	858 ± 94	947 ± 38	6.7 ± 0.4	8.2 ± 0.6
F 值	24.58***	27.83***	24.79***	2.99*	6.74***
多重比較 [†]	1 < 2*** 4 < 3,6,2*** 5 < 6,2** 4 < 5*	1 < 2*** 4 < 3,2,6*** 5 < 6,2** 4 < 5 < 3*	1 < 2*** 4 < 2,6*** 4,5 < 2,6** 4 < 5,3 < 2,6*	— ^a	1 < 2**

* p < 0.05 ** p < 0.01 *** p < 0.001

註：† 統計方法：ANOVA，事後檢定：Student-Newman-Keuls Test

a 各組間之差異無統計意義

各組樣本數 n = 6

黃連翹赤小豆湯 (分別為 p < 0.01, p < 0.05)；各治療組間以梔子柏皮湯優於茵陳蒿湯及麻黃連翹赤小豆湯 (p < 0.05)；而 Silymarin 則未達統計學的意義。

(四)直接膽紅素 (DBIL)

比較各治療組與 ANIT 損傷組 DBIL 的變化，皆未達統計意義；各治療組間亦無明顯統計學之差異。

(五)總膽紅素 (TBIL)

比較各治療組與 ANIT 損傷組 TBIL 的變化，皆未達統計意義；各治療組間亦無明顯統計學之差異。

二、ANIT 誘發肝內膽汁滯流性黃疸各組生化值的比較 (劑量為 2 g/kg, 見表 3)

(一)GOT

比較各治療組與 ANIT 損傷組 GOT 的變化，以茵陳蒿湯對損傷組 GOT 升高的降低達統計學意義 (p < 0.001)，且療效優於梔子柏皮湯 (p < 0.01) 和麻黃連翹赤小豆湯 (p < 0.05)；Silymarin 則未達統計學的意義；梔子柏皮湯組 GOT 數值反高於 ANIT 損傷組 3 倍以上。

(二)GPT

比較各治療組與 ANIT 損傷組 GPT 的變化，以茵陳蒿湯和麻黃連翹赤小豆湯對損傷組 GPT 升高的降低達統計學意義 (分別為 p < 0.01, p < 0.05)；Silymarin 則未達統計學的意義；梔子柏皮湯組 GPT 數值反高於 ANIT 損傷組 4 倍左右。

(三)鹼性磷酸酵素 (ALP)

比較各治療組與 ANIT 損傷組 ALP 的變化，以梔子柏皮湯對損傷組 ALP 升高的降低達統計學意義 (p < 0.001)，且療效優於茵陳蒿湯和麻黃連翹赤小豆湯 (p < 0.01)，而 Silymarin 則未達統計學的意義。

表 3 ANIT 誘發肝內膽汁滯流性黃疸各組生化值的變化（劑量為 2g/kg）

組別	GOT	GPT	ALP	DBIL	TBIL
控制組(1)	135 ± 1.7	35 ± 1.0	223 ± 11	—	0.1 ± 0.01
損傷組(2)	1087 ± 56	838 ± 25	926 ± 53	6.3 ± 0.2	7.6 ± 0.2
麻黃連翹赤小豆湯(3)	934 ± 39	610 ± 65	809 ± 35	5.0 ± 0.6	5.9 ± 0.7
梔子柏皮湯(4)	3651 ± 1012	3333 ± 680	615 ± 10	6.0 ± 0.9	9.8 ± 1.3
茵陳蒿湯(5)	703 ± 45	414 ± 62	775 ± 49	4.9 ± 0.2	7.04 ± 0.3
Silymarin 組(6)	1015 ± 50	858 ± 94	947 ± 38	6.7 ± 0.4	8.2 ± 0.6
F 值	13.18***	19.63***	20.39***	3.42*	12.31***
多重比較 [†]	1 < 2*** 5 < 6, 2, 4** 5 < 3*	1 < 2*** 5, 3 < 4*** 5 < 2, 6** 3 < 2, 6*	1 < 2*** 4 < 2, 6*** 4 < 5, 3** 5, 3 < 6*	5 < 6*	1 < 2*** 3 < 6, 4* 5 < 4*

* p < 0.05 ** p < 0.01 *** p < 0.001

註：† 統計方法：ANOVA，事後檢定：Student-Newman-Keuls Test

各組樣本數 n = 6

(四)直接膽紅素 (DBIL)

比較各治療組與 ANIT 損傷組 DBIL 的變化，治療組與損傷組比較皆未達統計意義。

(五)總膽紅素 (TBIL)

比較各治療組與 ANIT 損傷組 DBIL 的變化，治療組與損傷組比較皆未達統計意義。

三、ANIT 誘發肝內膽汁滯流性黃疸各治療組不同劑量間各組生化值的比較

(一)麻黃連翹赤小豆湯組

由表 4 知麻黃連翹赤小豆湯不論 1g/kg 組和 2g/kg 組在各生化值的變化上皆無明顯統計上的差異。但在膽紅素 (DBIL 和 TBIL) 的變化方面，明顯優於 Silymarin 組和 ANIT 損傷組，其中 DBIL 為 p < 0.05，TBIL 為 p < 0.01。

(二)梔子柏皮湯組

由表 5 知梔子柏皮湯 1 g/kg 組對 ANIT 損傷組 GOT 和 GPT 的變化有明顯統計學差異 (p < 0.001)，且療效優於梔子柏皮湯 2 g/kg 組和 Silymarin 組 (p < 0.001)，而梔子柏皮湯 2 g/kg 組血清 GOT 和 GPT 值的變化高於 ANIT 損傷組，反呈中毒趨勢，且達統計意義 (p < 0.05)；在 ALP 變化方面，梔子柏皮湯 1 g/kg 組和 2g/kg 組之間未有統計差異，但優於損傷組及 Silymarin 組 (p < 0.001)；在膽紅素 (DBIL 和 TBIL) 的變化方面，治療組不同劑量間皆未達統計意義。

(三)茵陳蒿湯組

由表 6 知茵陳蒿湯 1 g/kg 組和 2 g/kg 組對降低 ANIT 損傷組 GOT 和 GPT 的效果皆達統計意義且療效優於 Silymarin 組 (GOT 為 p < 0.01、GPT 為 p < 0.001)，但治療組不同劑量間則未有統計意義；在 ALP 方面，茵陳蒿湯兩種劑量皆有療效 (p < 0.05) 且優於 Silymarin 組 (p < 0.01)；在 DBIL 方面，治療組與 ANIT 損傷

表 4 麻黃連翹赤小豆湯不同劑量間各組生化值變化的比較

組別	GOT	GPT	ALP	DBIL	TBIL
控制組(1)	134.6 ± 1.7	35.1 ± 1.0	223 ± 11	—	0.1 ± 0.01
損傷組(2)	1087 ± 56	838 ± 25	926 ± 53	6.3 ± 0.2	7.6 ± 0.2
麻黃連翹赤小豆湯 1g/kg 組(3)	923 ± 75	786 ± 93	789 ± 38	5.5 ± 0.3	6.5 ± 0.4
麻黃連翹赤小豆湯 2g/kg 組(4)	934 ± 39	610 ± 65	809 ± 35	5.0 ± 0.6	5.9 ± 0.7
Silymarin 組(5)	1015 ± 50	858 ± 94	947 ± 38	6.7 ± 0.4	8.2 ± 0.6
F 值	8.77***	10.32***	11.01***	4.35*	15.14***
多重比較 [†]	1 < 4,3,5,2*	1 < 4,3,2,5*	1 < 3,4,2,5*	4,3 < 5*	1 < 2,5*** 4,3 < 5** 1 < 4,3 < 2,5*

* p < 0.05 ** p < 0.01 *** p < 0.001

註：† 統計方法：ANOVA，事後檢定：Student-Newman-Keuls Test

各組樣本數 n = 6

表 5 梔子柏皮湯不同劑量間各組生化值變化的比較

組別	GOT	GPT	ALP	DBIL	TBIL
控制組(1)	135 ± 1.7	35 ± 1.0	223 ± 11	—	0.1 ± 0.01
損傷組(2)	1087 ± 56	838 ± 25	926 ± 53	6.0 ± 0.2	7.6 ± 0.2
梔子柏皮湯 1g/kg 組(3)	499 ± 41	266 ± 30	644 ± 34	5.6 ± 0.6	7.4 ± 0.8
梔子柏皮湯 2g/kg 組(4)	3651 ± 1012	3333.03 ± 680	615 ± 10	6.0 ± 0.9	9.8 ± 1.3
Silymarin 組(5)	1015 ± 50	858 ± 94	947 ± 38	6.7 ± 0.4	8.3
F 值	32.01***	32.39***	42.84***	0.98	8.57***
多重比較 [†]	1,3 < 5,2,4*** 3 < 5,2,4*	1,3 < 2,5,4*** 3 < 2,5 < 4*	1 < 4,3 < 2,5***	— ^a	1 < 2,3,5,4**

* p < 0.05 ** p < 0.01 *** p < 0.001

註：† 統計方法：ANOVA，事後檢定：Student-Newman-Keuls Test

a 各組間之差異無統計意義

各組樣本數 n = 6

組間達統計意義 (p < 0.05) 且療效優於 Silymarin 組 (茵陳蒿湯 1 g/kg 組為 p < 0.05、茵陳蒿湯 2 g/kg 組為 p < 0.01)，但治療組不同劑量間則未有統計意義；在 TBIL 方面，治療組不同劑量與 ANIT 損傷組間皆未達統計意義。

四、ANIT 誘發肝內膽汁滯流性黃疸的病理組織變化

在病理組織學上，本研究選取六項觀察指標，包括：肝細胞發炎 (Inflammation)、炎症細胞浸潤 (PMN infiltration)、門脈區的纖維化 (Fibrosis)、肝實質細胞壞死 (Necrosis)、膽管周圍發炎 (Cholangitis) 和膽管

表 6 茵陳蒿湯不同劑量間各組生化值變化的比較

組別	GOT	GPT	ALP	DBIL	TBIL
控制組(1)	135 ± 1.7	35 ± 1.0	223 ± 11	—	0.1 ± 0.01
損傷組(2)	1087 ± 56	838 ± 25	926 ± 53	6.3 ± 0.2	7.6 ± 0.2
茵陳蒿湯 1g/kg 組(3)	749 ± 64	478 ± 67	754 ± 16	5.1 ± 0.5	7.1 ± 0.6
茵陳蒿湯 2g/kg 組(4)	703 ± 45	414 ± 62	775 ± 49	4.9 ± 0.2	7.0 ± 0.3
Silymarin 組(5)	1015 ± 50	858 ± 94	947 ± 38	6.7 ± 0.4	8.2 ± 0.6
F 值	27.10***	28.36*	18.88***	9.08***	9.34***
多重比較 [†]	1 < 4,3 < 5,2**	1 < 4,3 < 2,5***	1 < 2,5*** 1 < 3,4 < 5** 1 < 3,4 < 2,5*	4 < 5** 4,3 < 2,5*	1 < 4,3,2,5**

* p < 0.05 ** p < 0.01 *** p < 0.001

註：† 統計方法：ANOVA，事後檢定：Student-Newman-Keuls Test

各組樣本數 n = 6

增生 (Bile duct proliferation)，依 Jonker's 病理半定量分析法加以評估。

(一)治療組劑量為 1 g/kg 時各組病理組織的變化

由表 7 顯示，方劑治療組麻黃連翹赤小豆湯對改善肝細胞發炎、PMN 浸潤、肝組織纖維化、膽管炎及膽管增生顯著優於損傷組；梔子柏皮湯對改善肝細胞發炎、PMN 浸潤、肝組織纖維化及膽管炎顯著優於損傷組；茵陳蒿湯對改善 PMN 浸潤及肝細胞壞死顯著優於損傷組，見圖 1-1 及圖 1-2。

(二)治療組劑量為 2 g/kg 時各組病理組織的變化

由表 8 顯示，方劑治療組麻黃連翹赤小豆湯在改善 PMN 浸潤、膽管炎及膽管增生顯著優於損傷組；梔子柏皮湯在改善 PMN 浸潤和膽管炎顯著優於損傷組；茵陳蒿湯在改善肝細胞發炎、PMN 浸潤和膽管炎顯著優於損傷組；在改善肝細胞發炎方面，茵陳蒿湯療效優於麻黃連翹赤小豆湯及梔子柏皮湯，見圖 1-1 及圖 1-2。

討 論

膽道系統包括肝內外膽管、膽囊及膽道括約肌等各個部分¹²。它們在神經與體液因素的調節下，協調地行使著膽汁的生成、流通、儲存、排出以及腸肝循環等多種功能活動，直接關係到食物的消化、吸收以及內環境的穩定。

膽汁來源於肝細胞和細膽管的分泌，也是肝內某些物質的排泄途徑。膽汁酸、膽紅素、有機碘類造影劑、某些抗菌物質、類固醇激素、以及其他一些分子量較高的大分子物質，主要通過肝細胞代謝，經膽汁排出體外。

膽汁生成障礙的常見原因，有肝細胞廣泛性病損引起的泌膽障礙和膽汁瘀滯引起的泌膽障礙。膽汁瘀滯通常是指膽汁流通障礙，導致膽汁成分在肝內積滯所引起的病理變化。按其病程，有急性、慢性與反覆

表 7 ANIT 誘發肝內膽汁滯流性黃疸病理半定量評分表 (劑量為 1g/kg)

組別	Inflammation	PMN infiltration	Fibrosis	Necrosis	Cholangitis	Bile duct proliferation
正常組(1)	0.5 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
損傷組(2)	2.0 ± 0.3	2.0 ± 0.0	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.2
麻黃連翹赤小豆湯(3)	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.2
梔子柏皮湯(4)	1.3 ± 0.2	1.2 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.2	1.0 ± 0.4
茵陳蒿湯(5)	1.7 ± 0.2	1.3 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.2	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0
Silymarin(6)	1.3 ± 0.2	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	0.8 ± 0.2	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0
F 值	4.39**	18.29***	7.69***	2.72*	13.22***	6.39***
多重比較†	1 < 2*** 6,4,3 < 2*	1 < 6,4 < 2*** 3,5 < 2**	1 < 2*** 4 < 2** 3 < 2* 4 < 6*	1 < 2** 5 < 2*	1 < 2*** 4,3 < 2*	1 < 2*** 3 < 2*

* p < 0.05 ** p < 0.01 *** p < 0.001

註：† 統計方法：ANOVA，事後檢定：LSD

各組樣本數 n = 6

表 8 ANIT 誘發肝內膽汁滯流性黃疸病理半定量評分表 (劑量為 2g/kg)

組別	Inflammation	PMN infiltration	Fibrosis	Necrosis	Cholangitis	Bile duct proliferation
正常組(1)	0.5 ± 0.2	0.00.0	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
損傷組(2)	2.0 ± 0.3	2.0 ± 0.0	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.2
麻黃連翹赤小豆湯(3)	1.8 ± 0.2	1.5 ± 0.2	1.2 ± 0.2	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	0.7 ± 0.2
梔子柏皮湯(4)	1.7 ± 0.3	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.2	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.3
茵陳蒿湯(5)	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	0.8 ± 0.2
Silymarin(6)	1.3 ± 0.2	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	0.8 ± 0.2	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0
F 值	6.90***	24.00***	13.49***	5.69***	34.80***	7.34***
多重比較†	1 < 2*** 5 < 3,2** 6 < 2* 5 < 4*	1 < 6,5,4 < 2*** 3 < 2**	1 < 2***	1 < 2*** 6 < 2*	1 < 2*** 6,4,3,5 < 2*	1 < 2*** 3 < 2*

* p < 0.05 ** p < 0.01 *** p < 0.001

註：† 統計方法：ANOVA，事後檢定：LSD

各組樣本數 n = 6

性之分；就其發病部位則又可分為肝外與肝內膽汁瘀滯兩大類。肝內瘀膽的確實病因尚未完全闡明，大抵有藥物性、病毒性、原發性以及家族性等數種。其共同的病理學特點是膽流受阻，膽汁酸、膽紅素以及其他膽源性物質的分泌、排泄障礙。大多伴有黃疸，而肝臟的其他功能則保持正常，可能為一種局限於膽汁生成、分泌環節的病損。其具體機理又隨不同的病因而異。一般來說，由藥物、病毒等引起的急性肝內膽汁瘀滯及反復性肝內膽汁瘀滯的病變，主要發生在肝細胞和毛細膽管病損所致。

1959 年 Eliakim 等學者¹³以 ANIT 誘發大白鼠阻塞性肝內黃疸的研究指出，其應用光學顯微鏡觀察了肝組

組織細胞形態學的變化，在給藥第一天，肝細胞失去 glycogen，有稍許 fatty changes，小區域壞死，主要出現在靠近較大的門脈區域。24 小時之後，膽道改變最明顯，在一些較大的膽道上皮會有散佈性壞死和扁平上皮脫落，管腔中含有由細胞碎片和脂肪物質所組成的不規則物質。48 小時內，小膽管中有黏液栓子，常混合脫落的扁平上皮細胞，granulocytes 活性明顯增加。膽道似乎有些脹大，上皮細胞大小一致且排列完整，常會看到有絲分裂現象 (mitotic figure)，膽小管開始增生。第四天後，fatty changes 消失，一週後 glycogen 再出現，二週內肝細胞整體表現正常。

本實驗以化學藥品奈異硫氰酸脂 (ANIT) 誘發動物急性肝內膽汁瘀滯 48 小時，然後觀察其造成肝細胞損傷，膽道阻塞，膽汁鬱滯的生化指標及病理組織的變化。在生化學上選擇檢測血清中 GOT 及 GPT 的活性，作為肝實質細胞損傷的指標；檢測血清鹼性磷酸酵素 (alkaline phosphatase, ALP) 以作為膽道阻塞的指標；檢測血清直接膽紅素 (direct bilirubin, DBIL) 及總膽紅素 (total bilirubin, TBIL) 作為膽汁鬱滯的指標。在組織病理學上，選擇觀察包括肝細胞發炎程度 (inflammation) 和門脈周圍區域白血球的浸潤 (PMN infiltration) 以評估 ANIT 所造成的病理變化中發炎細胞的效應；其次是肝組織纖維化 (fibrosis) 及壞死 (necrosis) 以評估肝組織的損傷程度；以及膽管發炎 (cholangitis) 和膽管增生 (bile duct proliferation) 以評估膽管損傷程度，以 Jonker 的半定量法來作分析。

在實驗中同時設立藥物治療組，分麻黃連翹赤小豆湯組、梔子柏皮湯組、茵陳蒿湯組及 Silymarin 藥物參考組，口服餵食，以觀察分析其對肝細胞損傷、膽道阻塞、膽汁鬱滯及肝組織病變的治療效果。

本實驗結果，大白鼠胃管投與 ANIT (100 mg/kg) 48 小時後，損傷組之血清酵素值均顯著竄升 (sGOT : 1086.60、sGPT : 837.82、ALP : 925.50、DBIL : 6.34、TBIL : 7.64)，與正常控制組 (sGOT : 134.58、sGPT : 35.13、ALP : 223.17、DBIL < 0、TBIL : 0.13) 比較有明顯統計學差異，表示實驗誘導成功；惟藥物參考組意外出現與損傷組無統計學的差異，此與過去作者所發表溫病條辨濕溫疸證處方對 ANIT 誘發大白鼠急性膽小管性肝炎的治療效果評估不同，其可能的原因是否所購買的 Silymarin 因保存期間太久，致影響了藥物的效價。

本實驗三個方劑的治療劑量為 1 g/kg 時，結果顯示：在抗肝細胞損傷方面，梔子柏皮湯降低血清 GOT 及 GPT 升高的活性，其療效優於茵陳蒿湯，茵陳蒿湯又優於麻黃連翹赤小豆湯；在抗膽道阻塞方面，三個方劑對鹼性磷酸酵素升高的活性均有降低作用，其中梔子柏皮湯療效最佳，茵陳蒿湯次之，麻黃連翹赤小豆湯又次之；在抗膽汁鬱滯方面，三個方劑對總膽紅素及間接膽紅素的升高皆無降低的作用。綜上所述，三個方劑對治療 ANIT 誘導之肝內膽汁滯流性黃疸，均有抗肝細胞損傷及膽道阻塞的效果，但無抗膽汁鬱滯的利膽效果。病理組織學觀察：麻黃連翹赤小豆湯有明顯抗肝細胞發炎、白血球浸潤、肝組織纖維化、膽管炎及膽道增生等的治療作用；梔子柏皮湯對肝細胞發炎、白血球浸潤、肝組織纖維化和膽管炎等均有明顯改善效果，其中白血球浸潤的改善最顯著，其次是肝組織纖維化；而茵陳蒿湯有明顯抗白血球浸潤和肝組織壞死的作用。

當此三個方劑的治療劑量為 2 g/kg 時，其血清生化值的統計分析顯示：麻黃連翹赤小豆湯有抗肝細胞損傷及膽汁鬱滯的作用，但對膽道阻塞無治療效果，在病理組織學上亦顯示，麻黃連翹赤小豆湯有抗白血球浸

潤及抗膽道損傷的治療效果；梔子柏皮湯有抗膽道阻塞的作用，但對肝細胞中毒及膽汁鬱滯反而有促進作用，因此梔子柏皮湯在病理組織學上亦顯示無拮抗肝細胞發炎、壞死和纖維化的作用，僅有抗白血球浸潤及抗膽管炎的效果；而茵陳蒿湯對肝細胞損傷、膽道阻塞及膽汁鬱滯等三方面均有拮抗作用，依 Jonker 的半定量評分表分析，結果亦顯示有改善肝細胞發炎、白血球浸潤及膽管炎的治療效果。

本實驗從梔子柏皮湯不同劑量造成肝中毒的抑制作用及促進作用而言，說明中藥苦寒瀉火劑劑量的使用不當，往往亦會造成肝功能不降反升的情形。根據文獻上的記載，日本學者曳野宏也說明了這點，他曾廣泛的以化合物進行檢定，結果證明，有些化合物在顯示肝中毒抑制作用的同時，也表現對肝有毒性。在這種情況下，低濃度對肝中毒有抑制作用的化合物，濃度高時反而對肝毒性有促進作用，因此強調對肝中毒的抑制作用就要找出合適的濃度。

綜合實驗結果，ANIT 所誘發的肝內膽汁滯流性黃疸，血清生化值 GOT、GPT 的變化，在病理組織上可反應出肝細胞發炎的程度，ALP 的變化與病理組織上膽管炎及膽道增生可反應出膽道阻塞的程度，而膽汁鬱滯僅能從血清生化值 DBIL 及 TBIL 反應鬱滯的程度。就三個方劑不同治療劑量間各組生化值變化的比較而言，以茵陳蒿湯對肝內膽汁滯流性黃疸的療效最佳，梔子柏皮湯僅對膽道阻塞有顯著治療效果，麻黃連翹赤小豆湯僅對總膽紅素有降低作用。此研究結果是中醫學術上的重大發現，在臨床治療上具有相當意義，凡由藥物、病毒等引起的急性肝內膽汁瘀滯及反復性肝內膽汁瘀滯的病變，主要發生在肝細胞和毛細膽管病損所致，茵陳蒿湯提供了治療上的理論依據。在基礎醫學研究上，膽汁瘀滯時，肝細胞內各種細胞器也有明顯的變化，最常見的有高爾基複合體及光面內質網的擴張、增大、稀釋以及溶酶體、線粒體及微粒體等的增多現象。這種變化可能是膽汁成分分泌、排泄受阻，在肝內瘀滯而引起相應細胞器發生的適應代償現象，茵陳蒿湯也可提供這方面基礎研究的參考方劑。

致 謝

本實驗的過程，承蒙本校蔡金川老師的不吝指教，及在統計學上中國醫學研究所李采娟老師的幫忙，使本實驗研究的結果及寫作得以順利完成，在此謹致十二萬分感謝之忱。

參考資料

1. 吳謙，醫宗金鑑·辨陽明病脈證並治全篇，新文豐出版公司，台北，pp.165-167，1975。
2. 吳謙，醫宗金鑑·黃疸病脈證並治，新文豐出版公司，台北，pp.177-183，1975。
3. 曳野宏，生藥對肝中毒的解毒作用，藥學雜誌（日），105: 109，1985。
4. Krell H, Hoke H, Pfaff E. Development of intrahepatic cholestasis by alpha-naphthylisothiocyanate in rats. *Gastroenterology*, 82: 507-14, 1982.
5. Mehendale HM, Roth RA, Jay Gandolfi A, Klaunig JE, John J. Lemasters, Curtis LR. Novel mechanisms in chemically hepatotoxicity, *The FASEB Journal*, 8: 1286-1287, 1994.

6. Hill DA, Roth RA. Alpha-naphthylisothiocyanate causes neutrophils to release factors that are cytotoxic to hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol*, 148: 169-75, 1998.
7. Dahm LJ, Schultze AE, Roth RA. An antibody to neutrophils attenuates alpha-naphthylisothiocyanate-induced liver injury. *J Pharmacol Exp Ther*, 256: 412-20, 1991.
8. 陳榮洲 陳延年 王穩創 溫病條辨濕溫疸證處方對 ANIT 誘發大白鼠急性膽小管性肝炎的治療效果評估, *中醫藥雜誌*, 11: 53-64, 2000。
9. 吳鞠通, 溫病條辨·中焦濕溫, 志遠書局, 台北, pp.220-224, 1994。
10. Lin JG, Yang SH, Tsai CH. Acupuncture protection against experimental hyperbilirubinemia and cholangitis in rat. *Am. J. Chin. Med.* 23: 131-137, 1995.
11. Jonker AM, Dijkhuis FWJ, Bose A, Hardonk MJ, Grond J. Immunohistochemical study of extracellular matrix in acute galactosamine hepatitis in rats. *Hepatology*, 15: 423-431, 1992.
12. 朱培庭、朱世敏, 實用中醫膽病學, 人民衛生出版社, 北京, pp.28-32, 1999。
13. Eliakim M, Eisner M, Ungar H. Experimental intrahepatic obstructive jaundice following ingestion of alpha-naphthylisothiocyanate. *Bull Res. Counc. Israel* 8E: 7-17, 1959.

J Chin Med 13(4): 221-235, 2002

COMPARATIVE EFFECTS OF THREE JAUNDICE DECOCTIONS FROM SHAN HAN LUN TREATED INTRAHEPATIC CHOLESTATIC JAUNDICE INDUCED BY ALPHA-NAPHTHYLISOTHIOCYANATEIN IN RATS

Jung-Chou Chen^{1,2}, Yu-Hei Chen² and Wen-Chuang Wang³

¹*School of Chinese Medicine, China Medical College,
Taichung, Taiwan*

²*Department of Chinese Medicine, Show-Chwan Memorial Hospital,
Changhua, Taiwan*

³*Department of Pathology, Chiayi Christian Hospital,
Chiayi, Taiwan*

(Received 12th September 2002, revised Ms received 28th October 2002, accepted 30th October 2002)

The purpose of study is to compare the effects of anti-liver cell injury, duct obstruction and cholestasis by three prescriptions including Yin chen hao Tan (YT), Zhi zi Bo pi Tan (ZBT) and Ma huang Lian qian Chi xiao dou Tan (MLCT) from Shan han Lun treated intrahepatic cholestatic jaundice induced by alpha-naphthylisothiocyanatein (ANIT) in rats. Results demonstrated that the effects of YT treated intrahepatic cholestatic jaundice included anti-liver cell injury, duct obstruction and cholestasis are significantly different from ZBT and MLCT. ZBT has a significant effect for duct obstruction. Ma huang Lian qian Chi xiao dou Tan (MLCT) has a significant decrease for total hyperbilirubinemia. The results suggest that the YT may offer a treatment reference for acute and recurrent intrahepatic cholestasis caused by drugs and viral infection.

Key words: Alpha- naphthylisothiocyanatein (ANIT), Zhi zi Bo pi Tan (ZBT), Ma huang Lian qian Chi xiao dou Tan (MLCT), Yin chen hao Tan (YT) and Intrahepatic cholestatic jaundice.