

溫病條辨中焦濕溫疸證處方治療 ANIT 誘發大白鼠膽小管性肝炎的效果

陳榮洲^{1,2,3} 陳延年² 王穩創⁴

中國醫藥學院¹ 中國醫學研究所；² 中醫學系

台中

³ 秀傳紀念醫院 中醫部

彰化

⁴ 嘉義基督教醫院 病理科

嘉義

(1999年6月16日受理, 2000年4月28日收校訂稿, 2000年5月1日接受刊載)

本研究目的擬探討溫病條辨中焦濕溫疸證處方, 對 ANIT 誘發大白鼠膽小管性肝炎的治療效果。實驗分成六組, 每組 8 隻, A 組為正常控制組, B 組為 ANIT 損傷組, C 至 E 為治療組, C 組為二金湯, D 組為杏仁石膏湯, E 組為連翹赤小豆飲, F 組為 Silymarin 藥物參考組。

實驗結果, 所有治療組及藥物參考組對 ANIT 膽小管性肝炎的血清轉氨酶素 (SGOT 和 SGPT)、鹼性磷酸酶素 (ALP)、總膽紅素 (TB) 上升變化, 除二金湯對 ALP 的變化無顯著影響外, 均有顯著降低作用, 其中降低血清 GOT、GPT 值的效果以連翹赤小豆飲最佳。對 ANIT 肝損傷所造成的脂質過氧化物 (LPO) 含量上升, 亦均有顯著降低的作用; 而對谷胱甘肽 (GSH) 含量上升的變化則無影響。以 Jonker's 病理半定量分析 ANIT 膽小管性肝炎治療後的病理組織變化, 結果顯示杏仁石膏湯能顯著減輕肝細胞發炎、減少細胞核的有絲分裂和抗 PMN 的浸潤; 連翹赤小豆飲有顯著抗肝細胞壞死的作用; 而二金湯抗膽小管炎有明顯的效果。

關鍵詞: 膽小管性肝炎, Jonker's 病理半定量分析, 二金湯, 杏仁石膏湯, 連翹赤小豆飲。

前 言

中醫治療黃疸已有悠久的歷史，早在東漢時代張仲景所著傷寒論與金匱要略書中即有記載，在傷寒論中治陽明發黃有麻黃連翹赤小豆湯、梔子柏皮湯、茵陳蒿湯¹，在金匱要略書中治黃疸病的處方有茵陳蒿湯、硝石礬石散、梔子大黃湯、茵陳五苓散、大黃硝石湯等²；到了清朝，溫病學家吳鞠通於所著溫病條辨治中焦濕溫疸證處方列有二金湯、茵陳五苓散、杏仁石膏湯、連翹赤小豆飲等³，這些方劑即使在醫學相當發達的今天，仍常為臨床中醫師所應用，但在學術研究方面，除了茵陳蒿湯治肝炎黃疸的作用機理較為學術界所重視外，其餘方劑比較少為學者所探討。

文獻上黃疸的動物實驗模型多以 α -奈異硫氰酸脂(ANIT, Alpha-naphthylisothiocyanate)來誘發，ANIT除能誘發結合型高膽紅素血症，並能誘發膽道炎及肝損傷。自1955年以來，ANIT即常被用於膽道增生劑^{4,5}、膽管炎^{6,7,8}、肝細胞中毒⁹⁻¹²、肝內阻塞性黃疸¹³，肝內膽汁鬱滯¹⁴⁻¹⁹等方面的研究。

依據中醫理論與上述黃疸方劑的處方組成，傷寒論治黃疸的方法分汗、清、下三法，如「傷寒瘀熱在裡，身必發黃，麻黃連翹赤小豆湯主之」¹是汗法，「傷寒身黃，發熱，梔子柏皮湯主之。」¹是清法，「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。」¹是下法；金匱要略治黃疸病的方法分下法與利小便法兩種，如「黃疸腹滿，小便不利而赤，自汗出，此為表和裡實，當下之，宜大黃硝石湯。」²⁰「酒黃疸，心中懊濃，或熱痛，梔子大黃湯主之。」為下法；「黃疸病，茵陳五苓散主之。」²⁰，此為利小便法；溫病條辨治黃疸病的方法為清熱利濕法，但各有所偏重，如「夏秋疸病，濕熱氣蒸，外干時令，內蘊水穀，必以宣通氣分為要，失治則為腫脹，由黃疸而腫脹者，苦辛淡法，二金湯主之。」³為偏利濕法；「黃疸脈沉，中痞惡心，便結溺赤，病屬三焦裏證，杏仁石膏湯主之。」³，「素積勞倦，再感濕溫，誤用發表，身面俱黃，不飢溺赤，連翹赤小豆飲，送保和丸。」³，為偏清熱法。

基於此，本研究擬先從溫病條辨濕溫疸證治療黃疸的方劑對 ANIT 誘發大白鼠膽小管性肝炎，比較其治療效果，並觀察其改善病理組織變化的程度，如此不僅可提供臨床中醫師在治療膽小管性肝炎的參考，在學術研究上又能充實其內容。

材料與方法

一、材料

(一)實驗動物

動物品種是 Wistar 品系雄性大白鼠(Wistar albino rats)，購自國家實驗動物繁殖及研究中心，動物週齡為 5-6 週，體重 210-250 g，飼養於中國醫藥學院動物中心，空調房間，溫度維持 24-26℃，相對濕度 55%，半日照環境，自由飲水及餵食飼料。

(二)化學藥品及試劑

本實驗使用的主要化學藥品和試劑：ANIT (Alphanaphthylisothiocyanate), Sigma Chemical Co., USA ; Olive oil, Wako pure chemical industries, LTD, Japan; Silymarin, 22888-70-6, Aldrich Chemical Co, Inc. (Milwaukee, WI, USA); Kits : 包括 SGOT, SGPT, ALP, TBI 等, 購自 Roche diagnostic systems, Inc. Branchburg, New Jersey, USA; NaOH, No. 0500, Merck chemical Co., Germany; HCl, H-7020, Sigma chemical Co. USA; n-Butanol, ALPS chemical Co. LTD, Taiwan; Alcohol, No. 983, Merck chemical Co., Germany; Acetone, No. 01-0460, Katayama chemical Co., Japan; Chloramine-T trihydrate, No. 23270, Fluka chemical Co.; Perchloric acid 70%, No. 77230, Fluka chemical Co.; p-Dimethylaminobenzaldehyde, D-2004, Sigma chemical CO., USA; trans-4-hydroxy-L-proline, H-6002, Sigma chemical Co., USA; Carboxymethyl cellulose (CMC), C-4888, Sigma chemical Co., USA; Formalin, Osaka chemical Co. LTD, Japan; TBA(thiobarbituric acid), TMP(1, 1, 3, 3- tetra methoxy-propane), SDS(sodium dodecyl sulphate), Pyrogallol (1, 2, 3- trihydroxybenzene), Glutathione, DTNB(5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid 等, 皆為 Sigma chemical Co.(USA)所出品。Hydrogen peroxide(H_2O_2), Wako pure chemical Industries LTD., Japan; 蛋白質標準品：Lyophilized Bovin Serum Albumin (Protein Assay Standard II, BIO-RAD), 伯樂科技有限公司。

(三)實驗方劑中藥材之準備

本實驗所使用的中藥材, 皆購自臺中中國醫藥學院附設醫院中藥局, 經藥師鑑定後, 才列入使用。

1.實驗方劑之組成及劑量比例

(1)二金湯 (Er-Jin-Tan, EJT)

雞內金：海金沙：厚朴：大腹皮：豬苓：白通草=5：5：3：3：3：2

(2)杏仁石膏湯 (Xing-Ren-Shi-Gan Tan, XRS GT)

杏仁：石膏：半夏：山梔：黃柏：枳實=5：8：5：3：3：3

(3)連翹赤小豆飲 (Lian-Qiao-Chi-Dou Yin, LQCDY)

連翹：通草：赤豆：花粉：香豉=2：1：2：1：1

2.實驗方劑之製備

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) α -奈異硫氰酸脂 (ANIT) 誘發大白鼠膽小管性肝炎模型

實驗參考 Lin²¹ 等所描述的方法稍加以修飾, 隨機將大白鼠分成六組, 每組 8 隻:

A 組為正常控制組: 口服胃管投與橄欖油 (10 ml/kg)。

B 組為 ANIT 損傷組: 口服胃管投與 ANIT (100 mg/kg in olive oil)。

C 組中藥治療組: 口服胃管投與 ANIT (100 mg/kg in olive oil) 和二金湯 (1 g/kg in saline)。

D 組中藥治療組: 口服胃管投與 ANIT (100 mg/kg in olive oil) 和杏仁石膏湯 (1 g/kg in saline)。

E 組中藥治療組: 口服胃管投與 ANIT (100 mg/kg in olive oil) 和連翹赤小豆飲 (1 g/kg in saline)。

F 組藥物參考組: 口服胃管投與 ANIT (100 mg/kg in olive oil) 和 Silymarin (25 mg/kg in 2% CMC)。

實驗流程：

實驗時 A 組口服投與橄欖油(10 ml/kg)，B 至 F 組口服投與 ANIT (100 mg/kg in olive oil) 誘毒造模，經 6 小時、24 小時、42 小時等三個時間點，A 組與 B 組分別口服投與生理食鹽水，治療組則分別口服投與二金湯、杏仁石膏湯和連翹赤小豆飲(1 g/kg in saline)，而藥物參考組投與 Silymarin (25 mg/kg in 2% CMC) 治療。所有實驗組在最後藥物投與後 6 小時，實驗動物以乙醚輕度麻醉，由頸動脈採血分離血清，檢測生化 (GOT、GPT、ALP、TBI)，並剖腹取肝，標本固定於 10% Formalin 液中，石蠟包埋切片作 HE stain，進行病理組織的觀察。

(二) 肝功能生化指數的檢測

將所有自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，所用檢驗 kits 皆購自 Roche。

(三) 脂質過氧化物 (Lipid peroxide, LPO) 的檢測

實驗參照 Ohkawa²² 等人所描述之方法進行，將肝組織用冰食鹽水(ice-cold saline)洗淨，在漏斗上滴乾鹽水，加入適量冷 KCl (1.15%) 溶液，打碎使成 10% 之均質漿 (homogenate)。取 0.1 毫升之 homogenate，順序加入 0.2 毫升 SDS (8.1%)、1.5 毫升 acetic acid (20%)，並以 NaOH 調整酸鹼度 (pH=3.5)。加入 1.5 毫升 TBA (0.8%)，再以蒸餾水調整容積 (V=4 ml)。將樣本置於 95°C 熱水中加熱一小時，取出，以自來水冷卻。加入 1 毫升蒸餾水、5 毫升 n-Butanol / pyrimidine (15:1, v/v)。劇烈搖盪混均，在每分鐘 4000 轉離心機內離心十分鐘。靜置取有機層 1.5 毫升 (上層) 上機 (BECKMAN-DU 650 spectrophoto-meter) 於 532 nm 測量光學活性 (Optical Density)。分析過程中以 TMP (1,1,3,3-tetramethoxypropane) 為標準品 (external standard)，先作檢量線，再進行分析。肝組織蛋白質含量以牛血漿蛋白為標準品，依照 Lowry²³ 等所述之法檢測。肝組織脂質過氧化之水平，以每單位蛋白質所含 MDA 的量表示 (nanomoles of MDA per milligram of protein)。

(四) 谷胱甘肽 (Glutathione, GSH) 的檢測

實驗依 Sedlak and Lindsay²⁴ 的方法，取肝組織 0.4 克加 16 ml EDTA (0.02M) 溶液，以均質機均質化。取 5 ml 肝均質漿順序加入 4 ml 蒸餾水、1 ml trichloroacetic acid (50%)，混合均勻，離心 (3000 g, 15 mins)。取上清液 2 ml 加入 4 ml tris buffer 與 0.1 ml 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid (0.396% in methanol) 混均後於 412 nm 測量析吸光值，以多重校正曲線計算濃度。肝組織的 glutathion 以 $\mu\text{mol/g wet liver}$ 表示之。

(五) 實驗方劑治療 ANIT 膽小管性肝炎病理組織變化半定量分析評分表

在實驗結束時，所有大白鼠都予以殺驗，頸動脈採血後，割取肝臟，在最大右葉的同一位置割取 1 公分見方的肝組織，放入 10% 的福馬林中，做進一步的病理染色。在進行組織病理學的比較時，以 Jonker 的半定量分析方法加以修飾²⁵，對肝細胞發炎的程度、PMN 的浸潤程度、肝細胞壞死、膽小管炎及膽管增生等予以半定量分析。評估分數是由 "1" 到 "4" 分，其中 "1" 分代表輕微 (mild)；"2" 分代表中等程度 (moderate)；"3" 分代表嚴重程度 (severe)；"4" 分代表極嚴重程度 (marked severity)。見表 1。

表 1 ANIT 膽小管性肝炎 Jonker's 病理半定量分析評分表

觀察項目	1 分	2 分	3 分	4 分
細胞發炎	輕度門脈區腫脹及炎症細胞浸潤	中度門脈區腫脹及炎症細胞浸潤	多處門脈區腫脹病灶	嚴重多處門脈區腫脹病灶
細胞壞死	輕度點狀壞死	許多點狀壞死	廣泛壞死	大塊壞死
PMN 浸潤	門脈區輕度浸潤	門脈區中度浸潤	門脈區及肝實質浸潤	門脈區膿瘍
膽管增生	每個門脈區有 1 個	每個門脈區有 2-3 個	每個門脈區有 4-5 個	門脈區形成 adenoma
膽小管炎	輕度膽管周圍發炎	膽管周圍發炎及膽管腫脹	多處膽管發炎及腫脹	嚴重膽管發炎及腫脹
有絲分裂	在低倍視野(100x)下散播性存在	每三個低倍視野(100x)下可見	每個低倍視野(100x)下可見	高倍視野下常見到

(六)統計分析

本實驗結果之數據以 Mean± S.D.表示之，統計方法藥物治療組、參考藥物組與毒藥組之間以 Student t test 分析之；比較各藥物組間治療之差異，則以 Newman-Keuls test 分析。

結 果

一、實驗方劑治療 ANIT 膽小管性肝炎對 GOT 和 GPT 的影響

實驗方劑對血清 GOT 及 GPT 的影響，以 student t test 比較正常控制組與 ANIT 損傷組 GOT、GPT 的變化，有明顯統計學差異。比較各治療組與 ANIT 損傷組 GOT 的變化，治療組均顯著優於損傷組。以 Newman-Keuls test 比較各藥物組間治療之差異，實驗方劑對血清 GOT 的影響，連翹赤豆飲的療效顯著優於二金湯 ($p < 0.05$)；實驗方劑對血清 GPT 的影響，連翹赤豆飲、杏仁石膏湯的療效明顯優於二金湯 ($p < 0.01$)，連翹赤豆飲的療效又顯著優於杏仁石膏湯 ($p < 0.01$)，見表 2。

二、實驗方劑治療 ANIT 膽小管性肝炎對 ALP 和 TBI 的影響

實驗方劑對血清 ALP 和 TBI 的影響，以 student t test 比較正常控制組與 ANIT 損傷組 ALP 和 TBI 的變化，有明顯統計學差異。比較各治療組與 ANIT 損傷組 ALP 和 TBI 的變化，治療組除二金湯對 ALP 的影響無統計學意義外，均顯著優於損傷組。以 Newman-Keuls test 比較各藥物組間治療之差異，實驗方劑對血清 ALP 的影響，連翹赤豆飲、杏仁石膏湯的療效明顯優於二金湯 ($p < 0.05$)；實驗方劑對血清 TBI 的影響，均無統計學的差異，見表 3。

表 2 實驗方劑治療 ANIT 膽小管性肝炎 GOT 和 GPT 的變化

觀察項目	GOT	GPT
	(Mean±SD)	(Mean±SD)
A 正常控制組	98.13±4.41**	27.38±1.94**
B ANIT 損傷組	1326.43±115.78	1324.62±189.08
C EJT + ANIT 組	1096.53±44.99**	1083.40±69.61*
D XRS GT + ANIT 組	895.45±247.82**	778.33±154.59**##
E LQCDY + ANIT 組	800.23±156.62**#	514.57±50.63**##※※
F Silymarin + ANIT 組	840.93±181.41**	527.92±100.83**

註：EJT：二金湯；XRS GT：杏仁石膏湯；LQCDY：連翹赤豆飲。比較正常控制組與 ANIT 損傷組，及 ANIT 損傷組與治療各組，均有統計學差異(* $p < 0.05$ ，** $p < 0.01$)。比較各藥物組間治療之差異，連翹赤豆飲降低血清 GOT 值顯著優於二金湯(# $p < 0.05$)；連翹赤豆飲、杏仁石膏湯降低血清 GPT 值明顯優於二金湯(## $p < 0.01$)，連翹赤豆飲又顯著優於杏仁石膏湯(※※ $p < 0.01$)。

表 3 實驗方劑治療 ANIT 膽小管性肝炎 ALP 和 TBI 的變化

觀察項目	ALP	TBI
	(Mean±SD)	(Mean±SD)
A 正常控制組	182.83±12.02**	0.10±0.01**
B ANIT 損傷組	808.00±175.07	7.89±0.60
C EJT + ANIT 組	747.00±86.78	6.60±0.56*
D XRS GT + ANIT 組	633.00±74.84*#	6.38±0.60*
E LQCDY + ANIT 組	605.67±111.75*#	6.27±1.31**
F Silymarin + ANIT 組	617.17±63.36*	6.44±0.80*

註：EJT：二金湯；XRS GT：杏仁石膏湯；LQCDY：連翹赤豆飲。正常控制組與 ANIT 損傷組比較，及 ANIT 損傷組與治療各組比較，除二金湯對 ALP 的影響無統計學意義外，均有統計學差異(* $p < 0.05$ ，** $p < 0.01$)。比較各藥物組間治療之差異，連翹赤豆飲、杏仁石膏湯降低血清 ALP 值明顯優於二金湯($p < 0.05$)；而對血清 TBI 的影響，各藥物組間均無統計學差異。

三、實驗方劑治療 ANIT 膽小管性肝炎對 LPO 和 GSH 含量活性的影響

實驗方劑對肝組織 LPO 和 GSH 含量活性的影響，以 student t test 比較正常控制組、治療組與 ANIT 損傷組 LPO 和 GSH 含量活性的變化，LPO 含量活性損傷組顯著比控制組增加 ($p < 0.05$)，經治療後，所有治療組的 LPO 含量活性均顯著降低 ($p < 0.01$)；而 GSH 含量活性損傷組亦顯著比控制組增加 ($p < 0.01$)，治療組經治療後並無顯著意義的影響。以 Newman-Keuls test 比較各藥物組間治療之差異，均無統計學的意義，見表 4。

四、實驗方劑治療 ANIT 膽小管性肝炎病理組織觀察與 Jonker's 病理半定量分析

本實驗對 ANIT 誘發大白鼠膽小管性肝炎的病理組織變化，主要為肝內膽小管上皮細胞腫脹 (bile ductal epithelium swelling)、膽小管週圍發炎 (peri-ductal inflammation)、膽管增生 (bile duct proliferation)、門脈區擴張及充血 (portal vein dilation and congestion)、枯氏細胞浸潤 (Kupffer cell infiltration)，並伴隨以點狀壞

表 4 實驗方劑治療 ANIT 膽小管性肝炎 LPO 和 GSH 含量活性變化

觀察項目	LPO (Mean±SD)	GSH (Mean±SD)
A 正常控制組	1.97±0.35*	6.04±0.27**
B ANIT 損傷組	2.22±0.19	8.76±0.69
C EJT+ANIT 組	1.62±0.16**	9.11±0.62
D XRSQT+ANIT 組	1.75±0.29**	9.27±0.86
E LQCDY+ANIT 組	1.78±0.20**	9.54±0.64
F Silymarin+ANIT 組	1.79±0.19**	8.51±0.67

說明：EJT: 二金湯；XRSQT: 杏仁石膏湯；LQCDY: 連翹赤豆飲。正常控制組與 ANIT 損傷組比較，及 ANIT 損傷組與治療各組比較，LPO 含量活性損傷組比控制組顯著增加(*p<0.05)，經治療後，所有治療組的 LPO 含量活性均顯著降低(**p<0.01)；而 GSH 含量活性損傷組亦顯著比控制組增加(**p<0.01)，治療組經治療後並無顯著意義的影響。比較各藥物組間治療之差異，均無統計學的意義。

表 5 實驗方劑治療 ANIT 膽小管性肝炎 Jonker's 病理半定量分析

觀察項目	細胞發炎	PMN 浸潤	膽小管炎	有絲分裂	細胞壞死	膽管增生
正常制組	1.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.17±0.41	0.00±0.00	0.83±0.41
ANIT 損傷組	2.67±0.52	2.17±0.41	1.83±0.41	1.67±0.82	0.83±0.41	2.17±0.41
Silymarin	2.00±0.00†	1.50±0.5††	1.50±0.55	1.00±0.63	0.67±0.52	1.50±0.84
二金湯	2.17±0.41	1.83±0.41	1.17±0.41#	1.00±0.00	0.67±0.52	1.83±0.41
杏仁石膏湯	2.00±0.00*	1.33±0.52*	1.33±0.52	0.83±0.41*	0.5±0.55	1.83±0.41
連翹赤豆飲	2.33±0.52	1.67±0.52	1.33±0.52	1.00±0.00	0.17±0.41※	1.67±0.52

註：以 student t test 統計分析。杏仁石膏湯對減輕肝細胞發炎、減少細胞核的有絲分裂和 PMN 的浸潤有顯著療效(*p<0,05)；連翹赤豆飲有抗肝細胞壞死的顯著作用(※p<0.05)；而二金湯抗膽小管炎有明顯的效果(#p<0.05)；Silymarin 抗肝細胞發炎和 PMN 的浸潤有顯著療效(†p<0.05, ††p<0.01)。

死 (Spotty necrosis) 為主的肝實質細胞損傷。經治療後，所有治療組對上述病理組織變化均有不同程度的改善效果，見圖 1。以 Jonker's 病理半定量分析，結果顯示杏仁石膏湯能顯著減輕肝細胞發炎、減少細胞核的有絲分裂和抗 PMN 的浸潤；連翹赤豆飲有顯著抗肝細胞壞死的作用；而二金湯抗膽小管炎有明顯的效果；Silymarin 能改善肝細胞發炎和 PMN 的浸潤，見表 5。

討 論

ANIT 是動物實驗中被常用的膽小管性肝炎 (cholangiolitic hepatitis) 的誘發劑，其在病理生理學上的表現很像人類服用的藥物性肝炎。ANIT 對動物肝毒性的致病機轉，在給藥的二十四小時內，會引起膽汁鬱滯 (cholestasis)，並伴隨門靜脈周圍肝實質細胞損傷，影響血清 SGOT、SGPT 的活性升高；明顯的膽小管上皮細胞損傷，會影響血清 γ -GT(γ -g lutamyltranspeptidase) 的活性、膽酸和膽紅素升高，膽汁流量減少。組織學的檢查，肝小葉的門靜脈周圍區域有明顯的白血球 (PMN) 浸潤。有學者認為，ANIT 的致病機轉是 PMN

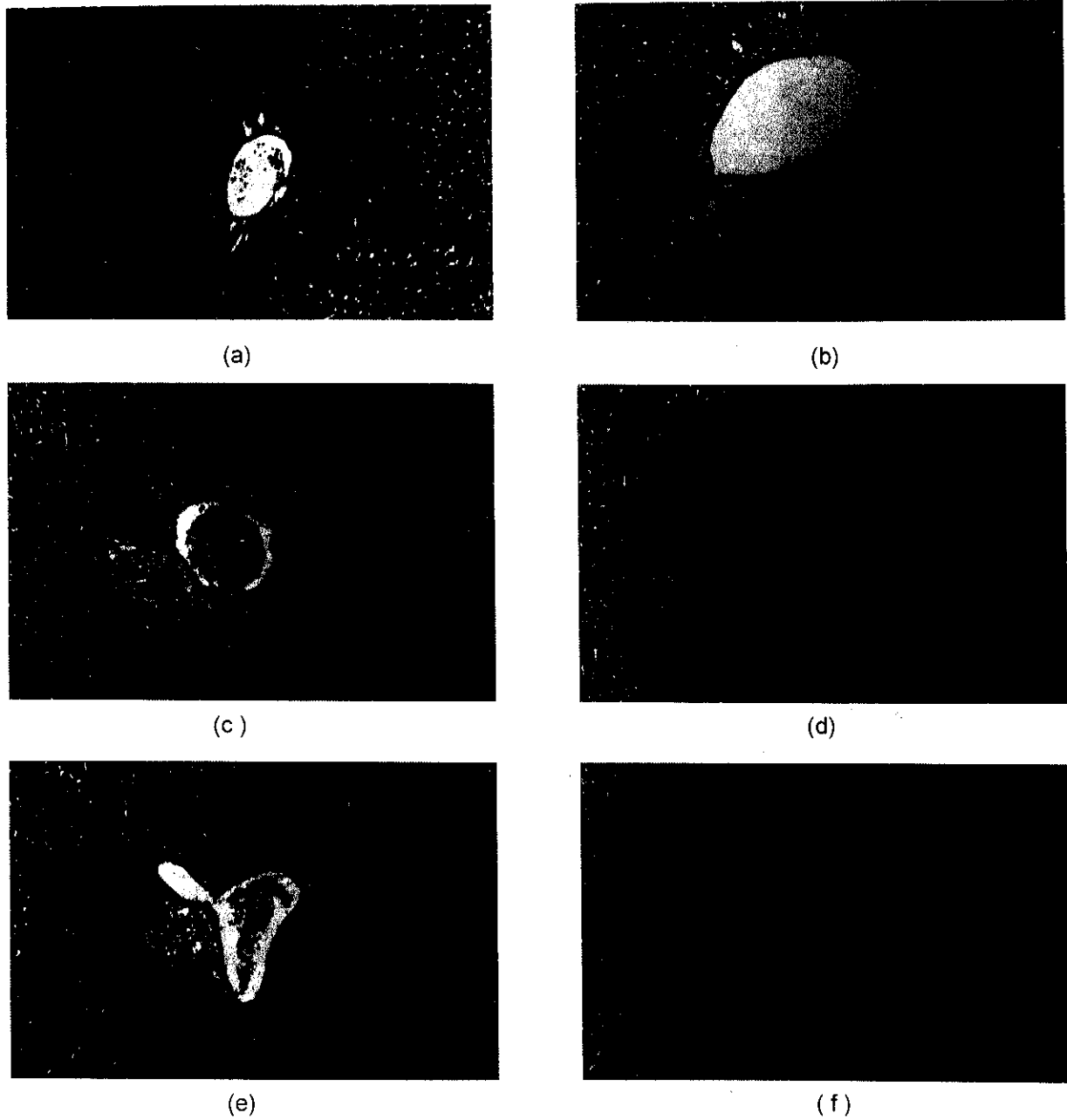


圖 1. ANIT 誘發大白鼠膽小管性肝炎各組在門脈區的病理變化 (H.E. stain, 100 \times)。
 (a) 正常控制組, (b) ANIT 損傷組, (c) ANIT + 二金湯, (d) ANIT + 杏仁石膏湯,
 (e) ANIT + 連翹赤小豆飲, (f) ANIT + Silymarin 組

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; 另外一個假說是, ANIT 肝中毒性會造成肝組織 GSH 的含量增加, ANIT 可與 GSH 可逆性的結合在肝實質細胞中, 也可結合輸送至膽汁中再與 GSH 分離, 使膽管上皮細胞暴露有高濃度的 ANIT, 造成膽管損傷²⁶。

本研究二金湯、杏仁石膏湯和連翹赤豆飲等三個方劑，對 ANIT 誘發大白鼠膽小管性肝炎，結果顯示，三個方劑對膽道性肝實質細胞損傷所引起的血清 SGOT 及 SGPT 升高之活性，均有顯著降低的效果，其中以連翹赤豆飲的療效最佳。因連翹赤豆飲降低血清 GOT 值顯著優於二金湯；又連翹赤小豆飲、杏仁石膏湯降低血清 GPT 值亦明顯優於二金湯，而連翹赤豆飲又顯著優於杏仁石膏湯；至於對 ANIT 所引起的高膽紅素血症，三個方劑亦均有顯著的利膽作用，說明此三個方劑有抗肝細胞損傷及抗肝內膽管炎的效果。

本實驗同時也檢測了 ANIT 肝中毒的肝組織脂質過氧化物 (LPO) 的含量活性，結果顯示其肝的脂質过氧化物的含量較正常控制組呈有意義的升高，而此三個方劑亦均有顯著降低脂質过氧化物的作用，顯示與抗氧化作用有關。本實驗也同時檢測了肝細胞內 glutathione (GSH) 的含量，結果與文獻所述相同，ANIT 可使肝組織 GSH 的含量呈有意義的升高，但此三個方劑對 GSH 含量活性的影響並無統計學的差異，值得進一步的研究。

本實驗對 ANIT 誘發大白鼠膽小管性肝炎的病理組織變化的觀察，主要為肝內膽管上皮細胞腫脹、膽管週圍發炎、膽管增生、門脈區擴張及充血、枯氏細胞浸潤 (Kupffer's cell infiltration)，並伴隨以點狀壞死 (Spotty necrosis) 為主的肝實質細胞損傷。以 Jonker's 病理半定量分析，結果顯示此三個方劑中杏仁石膏湯在抗肝細胞發炎療效最顯著；連翹赤豆飲在抗肝細胞壞死的效果最顯著；二金湯在抗膽管炎的效果最佳。

本研究結果顯示，溫病條辨濕溫痘證治黃疸的三個方劑，均有退黃的作用，其退黃的效果彼此無差異性，但在改善病理組織病變的作用上，卻各不相同，各具特色，杏仁石膏湯的退黃作用主要表現在抗肝細胞發炎上，有顯著抗炎症細胞 (PMN) 浸潤的作用；連翹赤小豆飲的退黃作用主要表現在抗肝細胞的壞死上；二金湯的退黃作用主要表現在抗膽管炎的效果上。

綜合本實驗血清總膽紅素、酵素值與病理半定量分析，溫病條辨濕溫痘證此三個治療黃疸的方劑，其降低血清總膽紅素、GOT 及 GPT 值均有統計上的差異，但在病理組織病變上，杏仁石膏湯與連翹赤小豆飲具有顯著抗肝細胞損傷的作用，而二金湯確顯著具有抗肝內膽管炎的作用。一般源於肝臟障害的血清總膽紅素升高有兩種：一為肝細胞性黃疸，乃肝細胞發生病變，膽紅素無法有效地由肝細胞排泄至細膽管而逆流至血液；一為肝內膽汁滯流性黃疸，乃肝內細膽管阻塞，使膽汁發生逆流所致^{27,28}。本實驗 ANIT 的動物造模是屬於肝內膽汁滯流性黃疸，但從實驗數據顯示，其也波及肝細胞的嚴重損傷，致肝功能血清 GOT 及 GPT 值竄升至 1300 左右，因此可推論杏仁石膏湯、連翹赤小豆飲在臨床上的應用可能與二金湯不同，前者適合於肝細胞性黃疸的治療，而後者適合於肝內膽汁滯流性黃疸的治療。

本實驗發現，此三個方劑均有降低血清鹼性磷酸酵素值的作用，但二金湯並不像杏仁石膏湯、連翹赤小豆飲有顯著的統計差異，其實血清鹼性磷酸酵素值可源於膽管表面的細胞及肝實質細胞受到傷害時明顯的升高^{27,28}，雖然本實驗無法分別檢測血清鹼性磷酸酵素值的升高是源於膽管或肝細胞，但應是兩者皆有，本實驗二金湯抗肝內膽管炎效果最佳，其降低鹼性磷酸酵素理論上應優於杏仁石膏湯及連翹赤小豆飲，但從表 2 的實驗數據可以看出二金湯降低血清 GOT 及 GPT 值確實比杏仁石膏湯、連翹赤小豆飲的療效差，而後者抗肝細胞的損傷勝於前者，因此可能影響了鹼性磷酸酵素值的變化。

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. 吳鞠通，濕病條辨·中焦濕溫，志遠書局，台北，pp.220-224，1994。
4. Lopez M, Mazzanti L. Experimental investigations on alpha-naphthyliso thiocyanate as a hyperplastic agent of the biliary ducts in the rat. *J Path & Bact* 69: 243-50, 1955.
5. Mclean MR, Rees KR. Hyperplasia of bile ducts induced by alpha-naphthyliso-thiocyanate ; experimental biliary cirrhosis free from biliary obstruction. *J Path & Bact* 76: 175-88, 1958.
6. Goldfarb S, Singer EJ, Popper H. Experimental cholangitis due to alpha-naph-thylisothiocyanate (ANIT). *Am J Pathol* 40: 685-98, 1962.
7. Ruwart MJ, Rush BD, Friedle NM, Stachura J, Tarnawski A. 16,16-dimethyl- PGE₂ protection against alpha-naphthylisothiocyanate-induced experimental cholangitis in the rat. *Hepatology* 4(4): 658-60, 1984.
8. Nikolaev V, Kerimova M, Naydenova E, Ivanov E. Biochemical changes in alpha-naphthylisothiocyanate-induced cholangitis in the rat. *Exp Pathol* 33(4): 261-3, 1988.
9. Traiger GJ, Vyas KP, Hanzlik RP. Effect of thiocarbonyl compounds on alpha-naphthylisothiocyanate-induced hepatotoxicity and the urinary excretion of [35s] alpha-naphthylisothiocyanate in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 15, 72(3): 504-12, 1984.
10. Tanaka E, Kinoshita H, Yoshida T, Kuroiwa Y. Trimethadione as a model drug for the evaluation of hepatic drug metabolizing capacity in normal and alpha-naphthylisothiocyanate-intoxicated rats. *Pharmacology* 25(4): 202-9, 1982.
11. Fukumoto Y., Okita K., Kodama T., Noda K. Studies of alpha naphthylisothiocyanate-induced hepatic disturbance. *Hepatogastroenteology*. 17(6): 457-64, 1980.
12. El-Hawari AM, Plaa GL. Impairment of hepatic mixed-function oxidase activity by alpha and beta-naphthylisothiocyanate: relationship to hepatotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 48(3): 445-58, 1979.
13. Eliakim M, Eisner M, Ungar H. Experimental intrahepatic obstructive jaundice following ingestion of alpha-naphthylisothiocyanate. *Bull Res Council, Israel* 18E: 7-17, 1959.
14. Mitamura T. Alterations of high density lipoproteins in experimental intrahepaticolestasis in the rat induced by administration of alpha-naphthylisothiocyanate. *J Biochem(Tokyo)* 95(1) : 29-36, 1984.
15. Lock S., Lavigne J., Plaa GL. The effect of alpha-naphthylisothiocyanate on bile secretion prior to and during the onset of cholestasis in the rat. *Toxicol Lett* 10(4): 427-35, 1982.
16. Krell H., Hoke H., Pfaff E. Development of intrahepatic cholestasis by alpha-naphthylisothiocyanate in rats. *Gastroenterology* 82(3): 507-14, 1982.
17. Wooley J., Mullock BM., Hinton RH. Reflux of biliary components into blood in experimental intrahepatic cholestasis induced in rats by treatment with alpha-naphthylisothiocyanate. *Clin Chim Acta* 15, 92(3): 381-6, 1979.

18. De Lamirande E., Plaa GL. 1,3-Butanediol pretreatment on the cholestasis induced in rats by manganese-bilirubin combination, taurothiocholic acid, or alpha-naphthylisothiocyanate. *Toxicol Appl Pharmacol* 59(3): 467-75, 1981.
19. Di Padova C., Di Padova F., Triapepe R., Stramentonoli G. S-adenosyl-L-methionine protection against alpha-naphthylisothiocyanate-induced cholestasis in the rat. *Toxicol Lett* 29(2-3): 131-6, 1985.
20. 同文獻 1，黃疸病脈證並治， p.177。
21. Lin JG, Yang SH, Tsai CH. Acupuncture protection against experimental hyperbilirubinemia and cholangitis in rats. *Am J Chin Med* 23(2): 131-137, 1995.
22. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction, *Anal. Biochem.* 95: 351-358, 1979.
23. Lowry OH, Rosbrough NJ, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275, 1951.
24. Sedlak J, Lindsay RH: Estimation of total protein-bound, and nonprotein sulfhydryl group in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 25: 192-205, 1968.
25. Jonker AM, Dijkhuis FWJ, Boes A, Hardonk MJ and Grond J. Immunohistochemical study of extracellular matrix in acute galactosamine hepatitis in rats. *Hepatology* 15: 423-431, 1992.
26. Mehendale HM, Roth RA, Jay Gandolfi A, Klaunig JE, Lemasters J, Curtis LR. Novel mechanisms in chemically hepatotoxicity, *The FASEB Journal* 8: 1286-1287, 1994.
27. 謝博生，臨床數據，醫學文摘出版社，台北，p.185，1976。
28. 同文獻 27，pp. 228-232。

EFFECTS OF CENTER BURNER DAMP WARMTH JAUNDICE PATTERN PRESCRIPTIONS FROM THE *WEN-BING-TIAO-BIAN* IN THE TREATMENT OF ANIT-INDUCED CHOLANGIOLITIC HEPATITIS IN RATS

Jung-Chou Chen^{1,2,3}, Yan-Nian Chen², Wen-Chuang Wang⁴

¹Research Institute of Chinese Medicine, ²School of Chinese Medicine, Chinese Medical College,
Taichung, Taiwan

³Department of Chinese Medicine, Show Chwan Memorial Hospital,
Changhua, Taiwan

⁴Department of Pathology, Chiayi Christian Hospital,
Chia-I, Taiwan

(Received 16th June 1999, revised Ms received 28th April 2000, accepted 1st May 2000)

The purpose of the study was to evaluate how effective formulas from the classic of warm disease, the *Wen-Bing-Tiao-Bian*, intended to treat center burner damp warmth jaundice are in the treatment of ANIT-induced cholangiolitic hepatitis in rats. The prescriptions contain Er-Jin-Tan (EJT), Xing-Ren-Shi-Gan-Tang (XRSGT) and Lian-Qiao-Chi-Dou-Yin (LQCDY). The experimental animals were divided into 6 groups of each 8 rats. Group A was a normal control and group B was ANIT-induced liver injury. Groups C, D and E were treated with EJT, XRSGT, and LQCDY respectively. Group F was treated with reference drug silymarin.

The results demonstrated a significant decrease in the elevated serum biochemical levels of sGOT, sGPT, ALP and total bilirubin (TBI) caused by ANIT-induced cholangiolitic hepatitis in all the treatment and control drug groups. Only EJT had no influence on serum alkaline phosphatase (ALP). Of the prescriptions that decreased the serum levels of sGOT and sGPT, the therapeutic effect of LQCDY was the most marked. In this study the prescriptions significantly decreased the activity of lipid peroxide (LPO) resulting from the ANIT-induced liver injury, although they did not affect the activity of glutathion (GSH) induced by the ANIT liver damage. As to the pathological changes caused by ANIT-induced cholangiolitic hepatitis after treatment with Jonker's semi-quantitative analysis, the results show that the XRSGT can relieve the liver cell inflammation, and can decrease the cell nucleus mitosis and PMN infiltration. LQCDY can fight liver cell necrosis, and the EJT has a marked effect on anti-cholangiolitis.

Key words : Cholangiolitic hepatitis, Jonker's pathologically semi-quantitative analysis, Er-Jin-Tan, Xing-Ren-Shi-Gan-Tang, Lian-Qiao-Chi-Dou-Yin.