

編號：CCMP95-TP-006

人參、靈芝及含鍺製劑引發腎毒性之研究

楊榮森
國立台灣大學

摘要

自古以來，靈芝已被認為具有多種的醫學作用，現代藥理研究及化學分析證明，靈芝的主要成分有：靈芝多醣、靈芝三帖、有機鍺(Ge)等多種物質。人參自古即被視為補藥之王，根據中醫典籍的記載，人參主要成份為「人參皂甘(ginsenoids)」，對於人體的功效也類似靈芝，像具有增強免疫力及幫助降低壞膽固醇及脂肪酸之功效。人參除含有人參皂甘外，也含有鍺(Ge)。鍺(Ge)分為有機性及無機性兩種，而有機性鍺易被人體吸收。但是人體若是長期(四至十八個月)服用無機或有機鍺後，會引起持續性腎衰竭及腎功能異常。台灣腎臟基金會最新統計，國人洗腎人口累計達三萬九千多人，平均每 563 國人就有一人洗腎，洗腎盛行率及發生率佔全球已開發國家中第一位，與日本不相上下，且每年以 10% 比例成長，除糖尿病患日後有洗腎之虞外其餘原因不明。但已有醫院如新光謝適中主任已注意到大部分並均未注意到自己腎臟有病，因早期腎病只有疲勞、貧血、噁心及不正常出血，到末期才出現水腫、少尿及腰酸背痛的症狀。這些末期腎病病人幾乎都已須洗腎，否則會尿毒症。由於每年洗腎的健保費用約 201.5 億新台幣，平均一名洗腎病患一年要花掉健保六十多萬元，比肝病病患的健保費用還高，而且腎病患者身弱多病不能負重，不能盡力於職場上之競爭這是目前構成一項社會上非常嚴重的問題，我們必須積極研究可能造成腎病罹患率高的原因。由於民眾缺乏用藥知識造成濫用現象在日本及台灣均有鍺中毒報告，引起腎衰竭甚或致死的案例發生。我們推想單獨濫用人參、靈芝或含鍺製劑可能產生腎毒性，但在特殊的情況下，如糖尿病、高血壓或其他原因(如老年人腎臟已經累積較多的汞及鎘)，對這些含鍺製劑的感受性更大，因此我們的假說是這些合併因素造成腎功能不全或腎病的機率變得很髒。這個假說，目前尚未有報告做詳細的研究，因此，本計劃比較研究人參、靈芝及含鍺製劑對正常鼴鼠，糖尿病鼴鼠及腎病鼠之腎毒性的差異性、造成毒性的劑量與時間及可能的致毒機轉等重要問題，乃是我們急需詳加研究的重要課題！本年度計劃研究的重點是：1. 比較研究人參、靈芝

及含鍺製劑餵食鼴鼠，是否會產生腎臟毒性？2. 比較研究人參、靈芝及含鍺製劑餵食糖尿病鼴鼠及腎病鼠，是否會加強對於腎臟毒性的產生？

我們的實驗結果，發現 $GeCl_2$ 及 $GE132$ 有機鍺，確實毒性很強，產生無尿症。而靈芝 GD 的作用對正常鼠， $Thy-1$ 鼠及糖尿病鼠有很大的不同。對腎臟功能的作用，我們發現 GD 對正常鼠明顯增加尿量，蛋白濃度下降。因此，總尿蛋白排泄量不變，但 GD 似乎有加強 $Thy-1$ 的腎毒性，增加尿蛋白量增加腎及血中 NO_x 量。另外 GD 可增糖尿病組的血糖量。然而與此相對的結果是發現 GD 有增加 HDL 及減少 LDL 的好處。因此由本研究的結果， GD 可能對心血管循環有好處。但對有疾病情況下，如腎毒與糖尿病初期似乎有加強的影響。此種可能性，值得我們再更進一步深入追蹤，做更透徹的探討。至於人參的作用，我們的實驗結果，顯示同組餵 GS 的鼴鼠反應，雖然對腎毒及糖尿病無明顯影響，但具有明顯增加尿量，而且對 HDL ， LDL 及 NO_x 產量有增加及減少不同的反應，似乎有個體差異性，這些初步現象，值得我們將來再深入研究。

綜合本研究所得的結果，發現含鍺化合物腎毒性確實很大，不可任意作為保健食品使用，而靈芝在正常情況下，對心血管可能有作用，但在有腎毒性及糖尿病初期情況下，可能有加強毒性，不可不慎，另外，人參對血中 HDL ， LDL 及 NO_x 的影響，似乎有個體差異性很大，必須將來再作深入研究。

關鍵詞：人參、靈芝、鍺(Ge)、腎毒性、 NO_x 、過氧化脂質

壹、前言

靈芝(Genoderma Lucidum)，又稱菌靈芝，屬於真菌門的靈芝屬，為多孔菌科植物紫芝和赤芝(Genoderma lucidum)的全株。¹⁻⁵。在兩千多年前，靈芝已被記載於「神農本草經」⁶之中，被稱之「久服輕生，延年神仙」。而神農本草經依照上品、中品、下品三大類，將三百六十五種草、根、木、皮、動物。石等，加以詳細分項。屬上品者的特徵為：長期服用多量亦無副作用，平日服用具有去除多餘脂肪，促進新陳代謝的作用；同時培養禁得起精神煩惱的能力與集中力，據此而穩定複雜的情緒，並加強對疾病的抵抗力。尤其，經常食用不致產生飢餓感，而長期服用，身體格外輕鬆，亦能延年益壽⁷⁻⁹，而靈芝亦是屬於上品的食物群中的一員。自古以來，靈芝已被認為具有多種的醫學作用，歷代醫藥家也認為靈芝能治療多種病症，是滋補、強壯、扶正、培本的珍品。靈芝味甘淡、微苦、性平。歸脾、肺、心、肝、腎經。有益氣、補精髓、養心安神、止咳平喘作用。現代藥理研究及化學分析證明，靈芝的主要成分有：靈芝多醣、靈芝三帖、有機鍺、adenosine、多種氨基酸、多種維他命、麥角留醇、香豆精、礦物質、微量元素及維生素等¹⁰⁻¹²。

人參(Asiatic Ginseng)為五加科(Araliaceae)人參屬(Panax)人參種，學名表示為：Panax schieng, Nees。人參自古即被視為補藥之王，它既有救急扶危之功，又有延年益壽之效¹⁻³。根據中醫典籍的記載，人參的功效包括安神、大補元氣、及固脫生津等，幾千年來無論是治病或強身，至今歷久不衰⁶⁻¹⁰。人參產於中國的吉林、遼寧、雲南、安徽、山西即日本國等地，而國人早已習於將人參入藥、以作為疾病治療之用；更熱衷於每日服用人參，以作為保健養生的食補聖品。人參主要成份為「人參皂甘(ginsenoids)」，對於人體的功效也類似靈芝，像具有增強免疫力及幫助降低壞膽固醇及脂肪酸之功效。人參除含有人參皂甘外，也含有鍺(Ge)⁹⁻¹²。

近年來許多的動物與臨床研究均指出靈芝所含的有成分具有許多有益人體的藥理作用，像是：¹⁴⁻¹⁹

- 一、幫助刺激及調節身體的免疫系統(增加人體免疫力、抗病力、抗過敏等作用)。
- 二、幫助刺激干擾素 InterleukinI & II 的製造，有效地幫助對抗癌物質的形成及製造。
- 三、可抑制組織胺釋放，增強氧的利用及肝功能。
- 四、幫助降低壞膽固醇及脂肪酸，亦可預防及治療動脈硬化和因心臟病而引起的心絞痛。
- 五、增強記憶力，聽力，視力，嗅覺及作腫瘤輔助用藥。此外，也有一些

臨床研究靈芝具有滋補、強壯、保肝、鎮靜、鎮咳、祛痰、平喘、降低血脂、健胃、健腦、消炎利尿等作用。

目前普遍認為靈芝最主要的有效成分为：

一、高分子多醣體：能增強人體的免疫力，目前免疫療法是治療癌症的主要方向之一。高分子多醣體能發揮抗腫瘍作用，孤立癌細胞，對癌細胞所分泌毒素有解毒作用，可阻癌細胞之成長，而不破壞正常細胞，及促進肝臟機能活性化^{17-18,20-13}。

二、鍺-Ge（人參之主要成分）：可使人體血液中的氣旺盛，促進新陳代謝、防止老化，有清血行氣改善體質的功能。依據分析人參之主要成分为「鍺」，而靈芝所含之「鍺」達人參四~六倍。研究報告指出，靈芝含鍺量高達八百至二千 PPM。靈芝能治癒，歸公於它含有大量的有機「鍺」²⁴。

近年來由於健康意識的抬頭，市面上有著許多健康食品的問世，有機鍺便是其中之一。有報告指出在人參、蒜頭和靈芝中含有有機鍺。有機鍺在日本曾風行一時，被視為具有抗氧化及治療各種疾病（如癌症）的作用²¹⁻²³，造成民眾一窩蜂的使用，卻發生有人食用後出現腎衰竭，甚或導致死亡。鍺(Ge)分為有機鍺及無機鍺兩種，而有機性鍺易被人體吸收。有機性鍺是水溶性的，易離子化，無論何種礦物質都要能溶於水，才能被人體吸收。進入機體內的鍺對各組織沒有選擇性，可分佈於各個器官，主要是肝、肺、腎和脾等，最後由汗、糞和尿很快地排出體外，其中通過腎臟經尿排出的佔大部分²⁶⁻²⁸。有關於鍺是藥或是毒的研究目前是眾說紛紛的，雖然有研究指出鍺具有促成脫氫作用並提高生物體中的氧氣量，有機鍺幾乎沒有副作用且有治療一些疾病的功效，像是：肝炎、造血系統疾病、高血壓、消炎止痛、癌症等。然而也有另外一些研究報告指出：在動物實驗中發現鍺可能有抗腫瘤的潛力，且又沒有明顯的毒性作用。不過在人體臨床實驗第一期與第二期的研究中，卻發現了不同的全身毒性作用。人體長期(四至十八個月)服用無機或有機鍺後，會引起持續性腎衰竭及腎功能異常，並且還造成肝臟與傷造血系統的損壞，可見鍺的毒性是相當大的。有機鍺就像重金屬一樣，長期使用後，毒性可能蓄積體內，破壞腎小管，引發腎衰竭及肌肉萎縮。有機鍺毒性雖較無機鍺低，但是健康食品中的有機鍺含量遠比日常食物中高出很多。而令我們擔心的是：市售的有機鍺產品未經過檢測，可能有不肖的業者以較廉價、毒性強的無機鍺替代，因此造成嚴重的毒性（腎衰竭及尿毒症），已有許多中毒案例報告²⁹⁻³¹。根據台灣腎臟基金會最新統計³²，國人洗腎人口累計達三萬九千多人，平均每 563 國人就有一人洗腎，洗腎盛行率及發生率佔全球已開發國家中第一位與日本不相上下，且每年以 10% 比例成長，除糖尿病患日後有洗腎之虞外其餘原因不明。但已

有醫院如新光謝適中主任已注意到大部分並均未注意到自己腎臟有病，因早期腎病只有疲勞、貧血、噁心及不正常出血，到末期才出現水腫、少尿及腰酸背痛的症狀。這些末期腎病病人幾乎都已須洗腎，否則會尿毒症。由於每年洗腎的健保費用約 201.5 億新台幣，平均一名洗腎病患一年要花掉健保六十多萬元，比肝病病患的健保費用還高，而且腎病患者身弱多病不能負重，不能盡力於職場上之競爭這是目前構成一項社會上非常嚴重的問題，我們必須積極研究可能造成腎病罹患率高的原因。

對腎臟有毒性的化學藥品很多如：aminoglycosides³³, cisplatin³⁴⁻³⁵, methotrexate³⁴⁻³⁵, heavy metals³⁶⁻³⁷ 及中草藥如：廣防己(含馬兜玲酸)³⁸。鑑於現今國人重視健保，而市面上保健食品暢銷而銷售量最大的是人參及靈芝，這二種常用中藥含有機鋅有機鋅曾在日本風行據說具有神奇療效，接著也有比較便宜的無機鋅販售。由於民眾缺乏用藥知識造成濫用現象在日本及台灣均有鋅中毒報告，引起腎衰竭甚或致死的案例發生。我們推想單獨濫用人參、靈芝或含鋅製劑可能產生腎毒性，但在特殊的情況下，如糖尿病、高血壓或其他原因(如老年人腎臟已經累積較多的汞及鎘)，對這些含鋅製劑的感受性更大，因此我們的假說是這些合併因素造成腎功能不全或腎病的機率變得很高。這個假說，目前尚未有報告做詳細的研究，因此本計劃擬研究人參，靈芝及含鋅製劑對正常鼴鼠，糖尿病鼴鼠及腎病鼠之腎毒性的差異性。

有鑑於國人腎病罹患率為全世界第一，我們曾於 2002 年生醫學會舉辦中草藥，鋅及硒化物之腎毒性研討會，呼籲國人慎用中草藥及保健食品如含鋅及硒製劑。現今中醫藥委員會中藥組特別重視此議題，我們希望有機會盡棉薄之力，探求引起腎病罹患率高的可能原因。假如能夠獲得資助，我們希望第一年建立市售人參、靈芝及相關含鋅製劑之腎毒性評估方法，尤其重要的是闡明中藥及含鋅製劑對有腎病傾向的動物或病患如：糖尿病或腎病初期無明顯症狀者，是否有加強腎毒性作用產生。我們推想腎病可能是由多種因素合併互相加強的結果，若有機會，我們希望獲得初步動物實驗結果後，再與新光醫院腎臟科主任謝適中醫師合作，探求臨床上腎病不明原因群 24.5% 是否因亂用藥物引起的，此研究結果，可提供政府單位防治腎病的重要指標，並可用於宣導民眾慎用藥物的重要依據。

貳、材料與方法

一、人參、靈芝及含鍺製劑來源與金屬鍺含量之分析：

(一)我們首先收集市面上常見之人參、靈芝及含鍺之製劑或保健食品，將這些樣品以強酸消化後，委由國立清華大學貴中儀器中心以 ICP-mass 分析所含金屬鍺之含量。

(二)依據 ICP-mass 分析所含金屬鍺含量之結果，選定含金屬鍺含量較高（前 5 名）之人參、靈芝及含鍺製劑來進行動物實驗，評估人參、靈芝及含鍺製劑對腎臟所產生的毒性。

(三)基源之鑑定：我們將請藥檢局中藥組林哲輝組長協助基源之鑑定。

二、藥物製備：

本研究所使用的市售靈芝乃從靈芝(*ganoderma lucidum*)菌種所培養之菌絲體及子實體二種原料萃取冷凍乾燥而得，含多醣體(7%)及三萜類(triterpen)。人類使用劑量，每次 1-2 粒，每天三次，調養保健者，可加倍，每次 2-4 粒，依此劑量，我們計算成人每日用量 70mg/kg/day(每顆膠囊內含物 450mg)，因短期 18 天餵食，故使用人類劑量的 30 倍餵食 ICR 麝鼠，即 2g/kg/day，連續共餵食 18 天。

本研究所使用的市售人參(*Radix ginseng*)是五年生，所使用的人參顆粒含人參浸膏 67%，澱粉 33%，每日用量 0.6-1.8g/day，若平均以 1.2g/60kg/day，即 20mg/kg/day，麝鼠的使用劑量以 1g/kg/day 計算(約為人類劑量的 50 倍)，連續共餵食 18 天。

無機鍺($GeCl_4$)的餵食劑量為 300mg/kg/day，而有機鍺【 $Ge132, bis(2-canboxyethyl-germanium sesquioxide)$ 】1g/kg/day，連續餵食共 11 天。

三、動物實驗方面：

(一)將麝鼠分成餵食人參組、靈芝組、含鍺之製劑組及對照組(只餵食蒸餾水)，餵食不同時間(30 天或 60 天或更久，依照產生的作用再作決定)。在餵食期間，分期進行下列活體之實驗並同時抽血檢測血液中一氧化氮及過氧化脂質(LPO)，以求完整的作用-時間圖(Time-Course)。最後犧牲動物，迅速分離腎臟組織以繼續做組織切片及腎臟組織 NO synthase 活性分析之實驗。

(二)之後我們利用 Streptozotocin(STZ-80g/Kg，腹腔注射)及 Thy-1.1 抗體(由頸部靜脈注入 Thy-1.1 抗體-1mg/Kg)分別誘發成糖尿病麝鼠及腎病鼠，餵食人參、靈芝及含鍺之製劑，餵食不同時間(30 天或 60 天或更久，依照產生的作用再作決定)。在餵食期間，分期進行下列活體之實驗，同時抽血檢測血液中一氧化氮及過氧化脂質(LPO)，以求完整的作用-時間圖(Time-Course)。最後犧牲動

物，迅速分離腎臟組織以繼續做組織切片及腎臟組織 NO_x 及 LPO 分析之實驗。

實驗動物：

我們採用雄性 ICR 品種鼴鼠(約 4-6 周大)，分別供以下的實驗使用。動物室具有中央空調系統及照明設備，將室溫維持於攝氏 $22 \pm 1.5^\circ\text{C}$ ，濕度則維持在 40~60%，人工照明設備以 12 小時為單位進行日夜變化。每星期秤體重一次。

血清生化值之測定 (BUN, Creatinine)³⁹：

鼴鼠(正常鼴鼠、糖尿病鼴鼠及腎病鼠)於餵食藥物後，分別於不同時間(30 天或 60 天或更久，依照產生的作用再作決定)，利用 pentobarbital (50mg/Kg) 純予麻醉或使用 CO_2 ，之後將其犧牲，收集鼴鼠全血血液。以 3000 轉轉速離心，收集上清液(即血清)，分別以血清生化值檢測試劑測定鼴鼠血中生化值 (BUN, Creatinine) 變化之情形。

尿液中尿蛋白之測定 (Urine protein)：

鼴鼠(正常鼴鼠、糖尿病鼴鼠及腎病鼠)於餵食藥物後，分別於產不同時間(30 天或 60 天或更久，依照產生的作用再作決定)，收集鼴鼠尿液，以尿蛋白檢測試劑測定鼴鼠尿液中尿蛋白之變化。

組織學上的研究⁴⁰：

依據我們實驗室之研究方法 (Young et al.)⁴⁰，鼴鼠於作完上述實驗後，利用 pentobarbital (50mg/Kg) 純予鼴鼠麻醉後犧牲或使用 CO_2 ，之後將其犧牲，取出腎臟組織，給予 4% 福馬林 (Para-formaldehyde) 將組織固定後，我們將腎臟，復經一系列不同濃度的酒精脫水、石蠟包埋，連續切片及 H-E (hematoxylin-eosin) 染色，以進行形態學上之研究。

一氧化氮變化測定⁴⁰⁻⁴²：

血液及組織一氧化氮分析方法是依據我們實驗室之研究方法 (Chuu et al. And Young et al.)⁴⁰⁻⁴² 並參考 Bolanos et al. 等人的方法加以修飾。

1. 鼴鼠在給予餵食藥物，於不同的時間取小鼠眼窩靜脈血 75ul，加 95% 酒精 75ul (1:1)，混合均勻後，置入 4°C 冰箱約 12-16 小時去蛋白質。取出樣品，以 12000rpm 速度離心，取上清液 10ul，注入一氧化氮分析儀 (NOA-280) 分析。

2. 鼴鼠在給予餵食藥物後，於實驗結束時，利用 pentobarbital (50mg/Kg) 純予麻醉後或使用 CO_2 ，將鼴鼠犧牲並取出腎臟組織至於 -70°C 冰箱中保存。取 20 毫克組織置於 1cc 之緩衝液中，以均質機將其均質化。取出均質液 100 1 並加入過氯酸 (0.4N HClO_4) 100 1，以 4°C ，12000rpm 速度離心，取上清液 10 1，注入一氧化氮分析儀 (NOA-280)，在 VCl_3 還原作用下，將 NO_2^- 及 NO_3^- 還原成 NO^- ，再

與 O_3 反應成活化態 NO_2^* ，以化學發光感測器偵測 NO_2^* 的濃度。

細胞脂質過氧化(Lipid per-oxidation)之測定⁴³：

血液及組織脂質過氧化(Lipid per-oxidation)之測定是參考參考 Kim, et al., 2001. 等人的方法加以修飾。

1. 麝鼠在給予餵食藥物，於不同的時間取小鼠眼窩靜脈血，取 20 ul 之樣品於 96-Well 中，加入 65 ul R1 reagent (10.3 mM N-methyl-2-phenylindole in acetonitrile) 及 15 ul 37% HCl，於 45°C 反應 60 分鐘後利用 ELISA Reader-測定 590nm 吸光值，並與標準樣品-MDA 作比較，即可得知脂質過氧化之變化情形。

2. 麝鼠在給予餵食藥物後，於實驗結束時，利用 pentobarbital (50mg/Kg) 純化後或使用 CO_2 ，將麝鼠犧牲並取出腎臟組織至於-70°C 冰箱中保存。取 20 毫克組織置於 1 cc 之緩衝液中，以均質機將其均質化。取 20 ul 之均質液於 96-Well 中，加入 65 ul R1 reagent (10.3 mM N-methyl-2-phenylindole in acetonitrile) 及 15 ul 37% HCl，於 45°C 反應 60 分鐘後利用 ELISA Reader-測定 590nm 吸光值，並與標準樣品-MDA 作比較，即可得知脂質過氧化之變化情形。

Na^+K^+ -ATPase 測定^{40-42,44-45}：

依據 Lanzatta (1985) 等人之發表的方法測定，參考我們實驗室之研究方法

(Chuu et al. And Young et al.) 方法加以修飾，是一種相當好用來偵測汞金屬毒性的指標。以 ATP 為 substrate，測反應後磷酸(PO_4^{3-})產生的量。以 Malachite green (0.045%)，4.5% Ammonium Molybdate 做為 PO_4^{3-} 的呈色劑，用 34% sodium citrate 來終止 ATPase 的反應，使用 spectrophotometer 測 630mm 的吸光值。用 ouabain (1mM) 抑制 Na^+K^+ -ATPase activity，因此測得 Mg^{2+} -ATPase，另一組沒加 Ouabain 所得的值為 Total Na^+K^+ - Mg^{2+} -ATPase，二者相減即為 Na^+K^+ -ATPase activity，以尋求藥理劑量 (10mg/Kg) 純化後對 Na^+K^+ -ATPase 活性所造成之影響。在受試者的同意下，收集受試者之全血血液，取 100 ul 之全血血液以低張之生理食鹽水將紅血球打破，以超高速離心機(100000 rpm, 30mins, 4°C)離心後，取沉澱物分析 Na^+K^+ -ATPase activity。

實驗數據之統計：

實驗數據以平均值±標準偏差(Mean±S.E.)表示，而每組實驗數目皆在三次以上。實驗組別相互間之差異以 ANOVA followed by Dunnett 加以評估， $P<0.05$ 者表示具統計學上的差異。

參、結果

第一部份：腎毒性組及糖尿病組

一、對尿量及尿蛋白的影響：

如圖一，靈芝（GD）及人參（GS）明顯增加尿量，但 Thy-1（T）不明顯影響尿量。對尿蛋白濃度，GD 稍減，GS 明顯減少（圖二）。而 Thy-1 加 GD 尿量不明顯變化（圖三），但尿蛋白濃度顯著增加（圖四）。

糖尿病鼠餵水，尿量增加（圖五），換餵 GD 或 GS，尿量與餵水一樣多，尿蛋白濃度糖尿病組顯著增加（圖六），加以餵 GD 或 GS，有減少趨勢。

二、對血糖及血漿脂質：

糖尿病組血糖增加，餵 GD，明顯再增加。而 GS 組不再改變（圖七）。但仔細再分析餵 GS 組血糖有二極端變化，一群是下降，另一群是上升（圖八）。反之，測試 GD 及 GS 對正常鼠血糖組的影響是 GD 有稍增，GS 有稍減，Thy-1 本身不影響，Thy-1 加 GD 或 Thy-1 加 GS 也趨於正常值（圖九）。對血漿膽固醇（T-CHO）值，Thy-1 增加，可為 GD 降低，而 GD 及 GS 本身影響不大（圖十）。對血漿 Triglyceride（TG），Thy-1 及 GS 降低，而 GD 降低最明顯，Thy-1 加 GD 組與 Thy-1 組同，而 Thy-1 加 GS 組比 Thy-1 組低點（圖十）。對血漿 HDL 值，Thy-1 稍增，GD 及 GS 影響不大，但 Thy-1 加 GD 組明顯下降（圖十一），而 Thy-1 加 GS 組維持與 Thy-1 同，稍增現象。然而對糖尿病組，GD 不降 T-CHO 及 TG，反而有增加現象（圖十二），而 GS 二組也截然不同，有一群是明顯降低 T-CHO 及 TG，另一群是稍增趨勢。對糖尿病組之 HDL 及 LDL，GD 增加 HDL 及降低 LDL（圖十三），而 GS 也相對二群，一群降低 HDL 而對 LDL 不影響，但另一群是增加 HDL 不影響 LDL（圖十三）。

三、血中及腎組織 NO_x 量：

對血中 NO_x 量，餵食一至二週之 GD 組（early stage），明顯增加（圖十四）Thy-1 及 GS 組無影響，但為三至四週後（late stage），血中 NO 量，在 Thy-1、GD 及 GS 組均有增加現象（圖十五），對糖尿病組 NO 量，早期 GD 無影響，但 GS 有稍減現象（圖十六），在後期，GD 及 GS 無有增加糖尿病組血中 NO 的現象（圖十七）。

對腎臟組織 NO_x 量，對正常鼠組，Thy-1、GD 及 GS 均降低腎臟皮質（KC）NO_x 量（圖十八）。反之，對腎臟髓質（KM）NO_x 量，Thy-1 增加，而 GD 稍增趨勢，GS 則不影響（圖十九）。對糖尿病組，腎臟皮質（KC）

NO_x 量均明顯比正常組低，餵 GD 或 GS 只比糖尿病組稍增（圖二十）。對糖尿病組腎臟髓質（KM）NO_x 量，糖尿病組比正常稍增，而再餵 GD 更增，餵 GS 組則稍降（圖二十一）。

四、腎臟組織 LPO 及 ATPase 活性

腎臟組織過氧化脂質（LPO）值在糖尿病組之腎臟髓質（KM）有明顯增加，可為餵 GD 降低，而餵 GS 則無影響，仍維持高 NO_x 量（圖二十二）。而腎皮質 NO_x 變化不大。對腎臟皮質 Na⁺-K⁺-ATPase 活性影響，糖尿病鼠明顯下降，再餵以 GS 組有回升現象（圖二十三）。

第二部分：無機鋅（GeCl₄）及有機鋅（Ge132）對腎臟功能之影響：

一、對尿量及尿蛋白之影響：

GeCl₄ (300mg/kg/day, P.O.) 及 Ge132 (100mg/kg/day, P.O.) 之毒性很大，四天內，死亡率分別為 50% 及 50%，Ge132 加 Thy-1 也一樣毒（三天內死亡率 50%），為避免太多死亡及另測試其毒性之可逆性，於是三天給藥後，不再給藥五天，然後再給二天藥，就犧牲，測試腎組織 ATPase 活性及 LPO 量。

為了測試 GeCl₄ 及 Ge132 之腎毒性，我們發很多功夫測鼴鼠排尿量，由表一顯示餵 GeCl₄ 組，在三小時內無尿的百分率在餵三天後，高達 50%，停藥一天後，在第五天集尿，無尿症百分率再升高至 67%，而停藥二天，才降至 33%，最後在停五天藥，再餵第四劑 GeCl₄，無尿百分率再升至 50%，另再餵第五劑，即第十天，無尿百分率又再升至 67%。至於有機鋅 Ge132 產生無尿百分率，也都維持 50%，在停藥二天後所測得值，仍為 50%，因此其作用可逆性比無機鋅差，在三天給藥後，停藥五天，再恢復餵藥的第二天（即實驗第十天），無尿百分率竟高達 75%（表一）。Ge132 加 Thy-1 組無尿百分率有稍降，但仍比對照組高，而單獨 Thy-1 組，總和全程實驗無尿百分率的趨勢與對照組，差異性不大，可是到最後第十天，又突然高升至 75%（表一）。

當測試 GeCl₄ 組定時排尿量，顯示個體差異性大，只在第九天實驗期，平均尿量值降至約對照組 50%（圖二十四）。而 Ge132 組之尿量有先減後增現象，作用較複雜，與 Thy-1 併用，也有相同現象，Thy-1 組只在第二天及第九天之尿量明顯比對照組少（圖二十四）。

由於 GeCl₄ 及 Ge132 之毒性大，致死率高達 50%，剩餘的鼴鼠可能比較不敏感的，因此腎病變也比較難預測，從尿蛋白濃度值（圖二十五）顯示餵 GeCl₄ 及 Ge132 組，有下降及升高的趨勢，作用不很肯定，Ge132 併用 Thy-1 組及 Thy-1 組也是個體差異性大，增減現象均出現，作用複雜（圖

二十五)。若統計每日收集三小時的總尿蛋白量計算(圖二十六)，整體而言，基於尿量減少的趨勢，因此整體而言，也可見總尿蛋白量在第九天及第十天有減少的趨勢(圖二十六)。

二、血中及腎臟組織一氧化氮(NO_x)產量：

如圖二十七、圖二十八及圖二十九顯示在實驗期間，分別於第二天，第五天及第十一天抽血測驗血中 NO_x 量之變化，發現給藥四組均呈初期血中 NO_x 減少趨勢，接著第五天 GeCl₄ 組之血中 NO_x 有增加趨勢，其他三組仍維持比對照組稍低現象，到最後第十一天，GeCl₄ 組明顯升高，但個體差異性大，而 Ge132 單用或併用 Thy-1 也有增加趨勢(圖十一)。至於腎臟組織 NO_x 產量的變化，如圖三十所示，GeCl₂ 組與對照組相似，而 Ge132 單用或併用 Thy-1 組均明顯下降，Thy-1 組則有增加趨勢。

三、腎臟組織總過氧化脂質(LPO)及 ATPase 活性：

如圖三十一所示，腎臟 LPO 值於實驗組 (GeCl₄, Ge132 單用或併用 Thy-1，及 Thy-1 組) 均明顯增加，其中以 Ge132 併用 Thy-1 及 Thy-1 組最高，GeCl₄ 組次之，接著是 Ge132 組，其 LPO 值增加一至五倍之多。腎臟組織 Na⁺K⁺ATPase 活性之變化，以 Ge132 加 Thy-1 組明顯增加(圖三十二)，其餘三組實驗組，有稍增趨勢。至於腎臟組織 Mg²⁺ATPase 活性之變化，均不明顯(圖三十三)。

肆、討論

本研究首先發現靈芝 (GD) 及人參(GS)對鼴鼠不同健康狀況下，其作用有截然不同的效應。我們研究的指標包括 (1) 對正常鼠、Thy-1 腎毒性組及糖尿病組之作用相異處。(2) 對不同組織系統的作用，如腎功能指標有尿量、尿蛋白、腎組織 NOx、LP0 及 $\text{Na}^+ \text{-K}^+$ -ATPase，血液循環的指標有作血糖、血中 NOx、T-CHO、TG、HDL 及 LDL 量之變化，GD 及 GS 對這些整體的作用，呈現錯綜複雜的結果，顯示藥物的使用，必須謹慎，才能獲得增進健康，消除病痛及減低藥物的副作用至最低程度。

GD 的臨床經驗，一直被認為有保健作用，增強免疫，我們的實驗結果，發現 GD 的作用對正常鼠，Thy-1 鼠及糖尿病鼠有很大不同。對腎臟功能的作用，我們發現 GD 對正常鼠明顯增加尿量，蛋白濃度下降。因此，總尿蛋白排泄量不變，但 GD 似乎有加強 Thy-1 的腎毒性，增加尿蛋白量增加腎及血中 NOx 量。另外，GD 可增糖尿病組的血糖量。然而與此相對的結果是發現 GD 有增加 HDL 及減少 LDL 的好處。因此由本研究的結果，GD 可能對心血管循環有好處。但對有疾病情況下，如腎毒與糖尿病初期似乎有加強的影響。此種可能性，值得我們再更進一步深入追蹤，做更透徹的探討。

GS 的作用雖然相對的比 GD 紓和，對腎毒及糖尿病組沒有明顯加強作用，可是本研究的結果，經過仔細的分析，發現餵食 GS 組的鼴鼠，在尿量的增加、血中 NOx 及腎臟 NOx 及血漿 HDL、LDL、T-CHO 及 TG 的作用，似乎有呈現兩極不同的作用現象。有關此種現象，也值得我們今後再做仔細的追蹤及探究，我們相信中醫的理論，中藥配合實證的療效，應是千變萬化，並非單純。現今醫藥科學發現，有許多精細技術可讓我們對藥物在不同健康及疾病狀況下，產生不同的反應，這應該是一種合理的現象，只是有關其許多的作用機制及細胞分子層次的訊息傳遞路徑，有待我們再努力去闡明及發掘。

伍、結論與建議

中藥靈芝及人參雖是一般常用的強身補品，但其作用的複雜性是不可避免。本研究闡明 GD 及 GS 對三種不同狀況的鼴鼠（正常組、腎毒性組及糖尿病組），產生截然不同的作用，如 GD 促進 Thy-1 腎毒性，並有增加糖尿病組初期的血糖，然而 GD 也有其好處，如增加血中 HDL 降低 T-CHO 等。GS 之作用，相形之下，與 GD 有很大不同。雖然對腎毒及糖尿病無明顯影響。但其具有明顯增加尿量，以及對 HDL、LDL 及 NO_x 產量等等，似乎有個體的差異性，這種現象值得再追究。

由本研究結果，很明顯的科學證據即使是上品藥，也不可隨意濫用，由醫生診斷，合理用藥，才安全。這是本研究所得結果的有力證據。

誌謝

本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會計畫編號 CCMP95-TP-006 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. 明 · 李時珍,本草綱目,人民衛生出版社,1957.
2. 許鴻源、陳玉盤、許順吉、許照信、陳建志、張憲昌,簡明藥材學,新醫藥出版社, 1985.
3. 樓之岑、秦波主編,常用中藥材品種整理與質量研究,北京醫科大學、中國協和醫科大學聯合出版社, 1995.
4. 李家實主編,中藥鑑定學,上海科學技術出版社, 1996.
5. 凌一揆、顏正準編著,中藥學,上海科學技術出版社, 1984.
6. 神農本草經 商務印書館,台北 , 1955.
7. 蔣波. 小柴胡湯加減治療久咳 162 例[J]. 新中醫. 1999, 31(3) : 45-46
8. 高雲亭,劉玉剛. 小柴胡湯加味治療支氣管哮喘 36 例[J]. 中國民間療法. 2003, 11(1) : 46
9. 畢志紅,任 川. 小柴胡湯治療病毒性心肌炎 30 例[J]. 中醫藥學刊. 2003, 21 (5) : 779
10. 李克勤. 洛汀新並用加味小柴胡湯治療慢性腎小球腎炎 36 例[J]. 中國社區醫師[J]. 2003, 18(10) : 40
11. 陳亦工,陳強,陳萌. 小柴胡湯治療急性腎盂腎炎 200 例[J]. 國醫論壇. 2000, 15(3) : 9
12. 楊麗珍, 丁麗萍等. 小柴胡湯加減治療小兒癲癇 45 例臨床觀察[J]. 中國醫學報. 1999(2) : 40-41
13. 朱曉紅. 小柴胡湯合澤瀉湯治療耳蝸前庭疾患 48 例[J]. 遼寧中醫雜誌. 2003, 30 (7) : 545
14. 胡碩龍. 加減小柴胡湯治療頭痛 56 例[J]. 湖南中醫雜誌. 2004, 20(2) : 33-34
15. 江金德, 中藥科學藥性大辭典, 大眾書局, 台北, 1991.
16. 沈映君主編, 中藥藥理學, 人民衛生出版社,2000.
17. 張貴君主編, 現代中藥材商品通鑑, 中國中醫藥出版社, 2001
18. 鄭虎占等主編, 中藥現代研究與應用 (第一卷), 學苑出版社, 1997.
19. 翁祖輝、康熙洲、汪徽五. 龍膽瀉肝湯與藥物代謝酵素之交互作用. 八十六年度中草藥國際研會論文摘要
20. 鄧哲明. 龍膽瀉肝湯免疫機轉研究. <http://www.ccmp.gov.tw/search.asp>(行政院衛生署中醫藥委員會)
21. 黃慧珍. 龍膽瀉肝湯免疫機轉研究. <http://www.ccmp.gov.tw/search.asp>(行

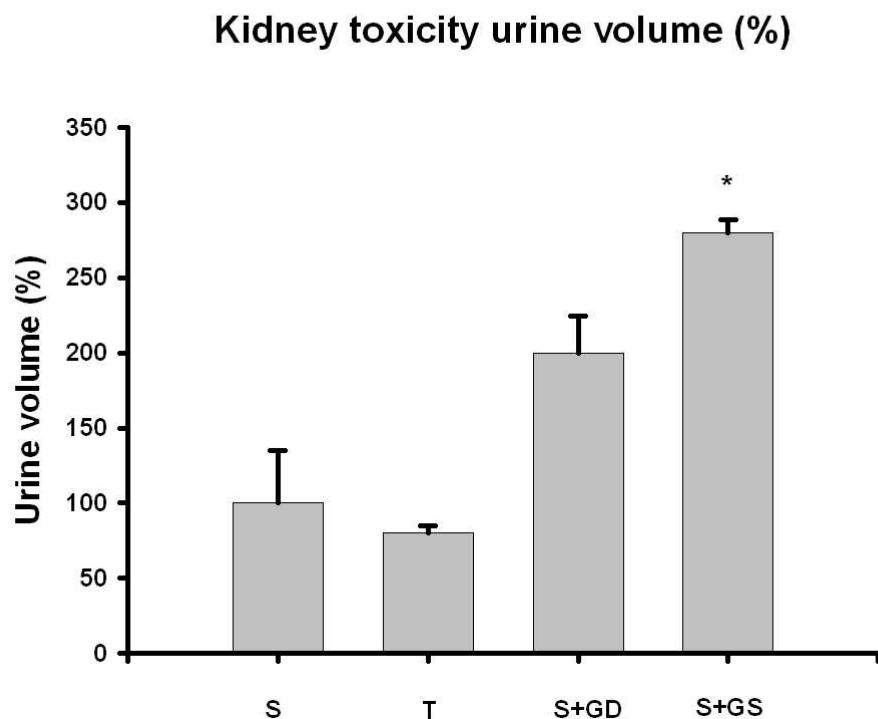
- 政院衛生署中醫藥委員會)
22. 許秀蘊. Evaluate the potential effects of the Decoction of Gentianae and Bolus of Angelicae Sinensis and Gentianae by using the screening model on the inactivated protein kinase and anti-oxidative enzyme 以去活化蛋白激酵素及抗氧化酵素系統篩選模式評估龍膽瀉肝湯及當歸龍薈丸之療效.
<http://www.ccmp.gov.tw/search.asp>(行政院衛生署中醫藥委員會)
23. 吳龍源、徐曉萍、陳怡欣、林乃女、陳旺全、鄭振鴻、彭文煌、邱雲棕. 龍膽瀉湯變方對 Dimethylnitrosamine 誘發大鼠肝損傷的療效探討.
<http://www.ccmp.gov.tw/search.asp>(行政院衛生署中醫藥委員會)
24. 林文川. 連續十二週經口投與歸脾湯對老年大鼠的影響.
<http://www.ccmp.gov.tw/search.asp>(行政院衛生署中醫藥資訊網)
25. 劉慶憲、宋永建. 固本解鬱法論治中風後抑鬱症(poststroke depression)對照研究. *J Chin Med* 13(2): 81-88, 2002.
26. 蔡輝彥. 中醫傳統方劑對於大鼠實驗性心律不整之研究.
<http://www.ccmp.gov.tw/search.asp>(行政院衛生署中醫藥資訊網)
27. 張恒鴻. 血府逐瘀湯對硬皮症患者微循環療效之評估.
<http://www.ccmp.gov.tw/search.asp>(行政院衛生署中醫藥資訊網)
28. 蕭明熙. 血府逐瘀湯與冠心二號方活性成分與藥理作用之研究.
<http://www.ccmp.gov.tw/search.asp>(行政院衛生署中醫藥資訊網)
29. 林俊清. 常用治療中風方劑抗氧化活性之研究---血府逐瘀湯、烏藥順氣散、補陽還五湯、小續命湯、柴胡加龍骨牡蠣湯.
<http://www.ccmp.gov.tw/search.asp>(行政院衛生署中醫藥資訊網)
30. 何東燦. 血府逐瘀湯與 Mitomycin C 對實驗性肝腫瘤體內及體外的研究.
<http://www.ccmp.gov.tw/search.asp>(行政院衛生署中醫藥資訊網)
31. <http://www.kidney.org.tw/> 財團法人中華民國腎臟基金會
32. Wong, M.K., Raymond, R. M., Alan R.Parrish. Effects of selenium and mercury on the enzymatic activities and lipid peroxidation in brain, liver, and blood of rats. *Journal of Environmental Science & Health - Part B: Pesticides, Food Contaminants, & Agricultural Wastes*. 2001;36(4):489-99.
33. Yi-Ho Young , Jiunn-Jye Chuu, Shing-Hwa Liu , Shoei-Yn Lin-Shiau. Neurotoxicological mechanism of cinnabar and mercuric sulfide on vestibular-ocular reflex system in guinea-pigs. *Toxicol.Sci.*2001, 67,256-263.41.Liu SH. Lin-Shiau SY. Studies on mercury-induced myotonia in the mouse diaphragm. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et*

- de Therapie. 1992; 319,86-100.
34. Jiunn-Jye Chuu, Yi-Ho Young, Shing-Hwa Liu, Shoei-Yn Lin-Shiau. Neurotoxicity of mercury sulfide in the vestibular ocular reflex system of guinea-pigs. Naunyn-Schmiedebergs Archives of Pharmacology.2001;364, 249-258.
35. Kim HJ.,Soh Y.,Jang JH., Lee JS.,Oh YJ. and Surh YJ. Differential Cell Death Induced by Salsolinol with and without Copper: Possible Role of Reactive Oxygen Species.Mol Pharmacol 2001;60:440–449.
36. Balestrino M. Young J. Aitken P. Block of (Na⁺,K⁺)ATPase with ouabain induces spreading depression-like depolarization in hippocampal slices. Brain. Res. 838: 37-44, 1999.
37. Liang, M. and Knox, F.G. Nitric oxide activates PKC α and inhibits Na⁺-K⁺-ATPase in opossum kidney cells. Am J Physiol.277: F859-65,1999.

柒、圖、表

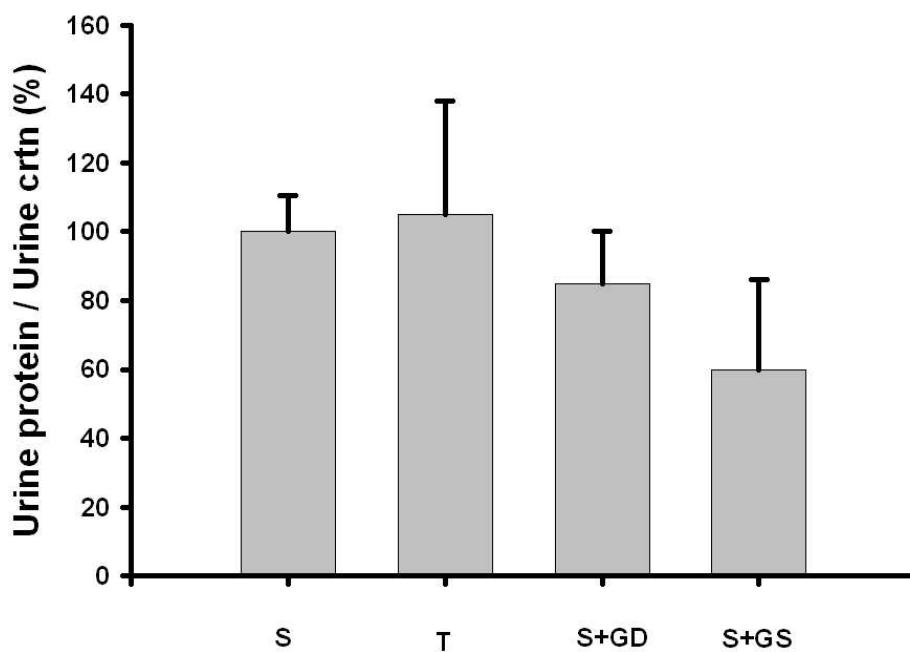
表一、無機鍺 (GeCl₄) 及有機鍺 (Ge132) 引發鼴鼠無尿百分率

group	Day	Anuria (%)						
		1	2	3	5	6	9	10
Control		0	12.5	0	12.5	25	12.5	0
GeCl4		33	0	50	67	33	50	67
Ge132		0	0	50	50	50	50	75
Ge132+Thy ⁺		14	43	43	43	29	029	29
Thy-1		0	25	25	0	0	0	75



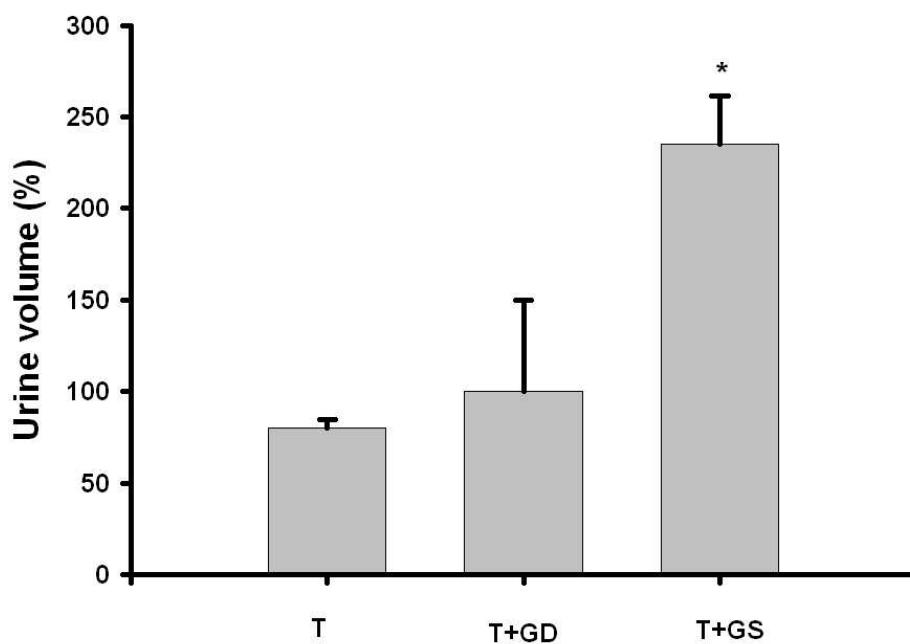
圖一、Thy-1，靈芝(GD)及人參(GS)對尿量之影響。

Kidney toxicity urine protein (%)



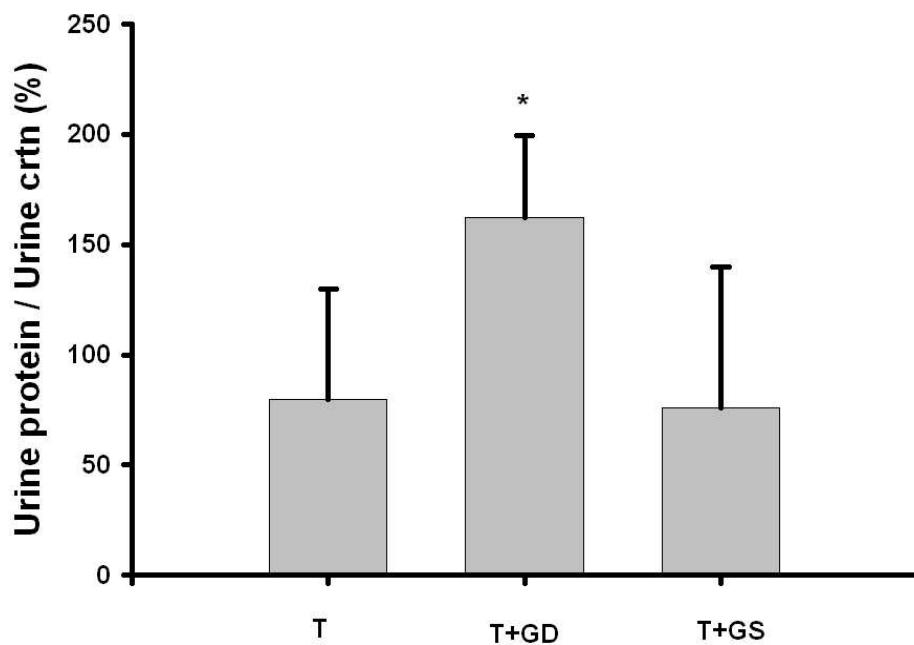
圖二、Thy-1，靈芝(GD)及人參(GS)對尿蛋白量之影響。

Kidney toxicity urine volume (%)



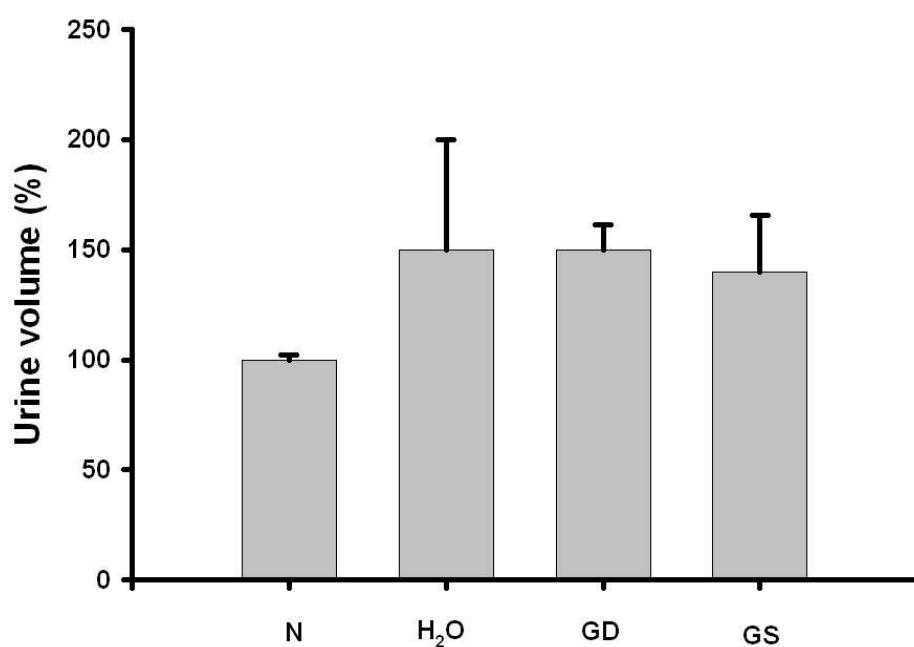
圖三、Thy-1 併用靈芝(GD)或人參(GS)對尿量之影響。

Kidney toxicity urine protein (%)

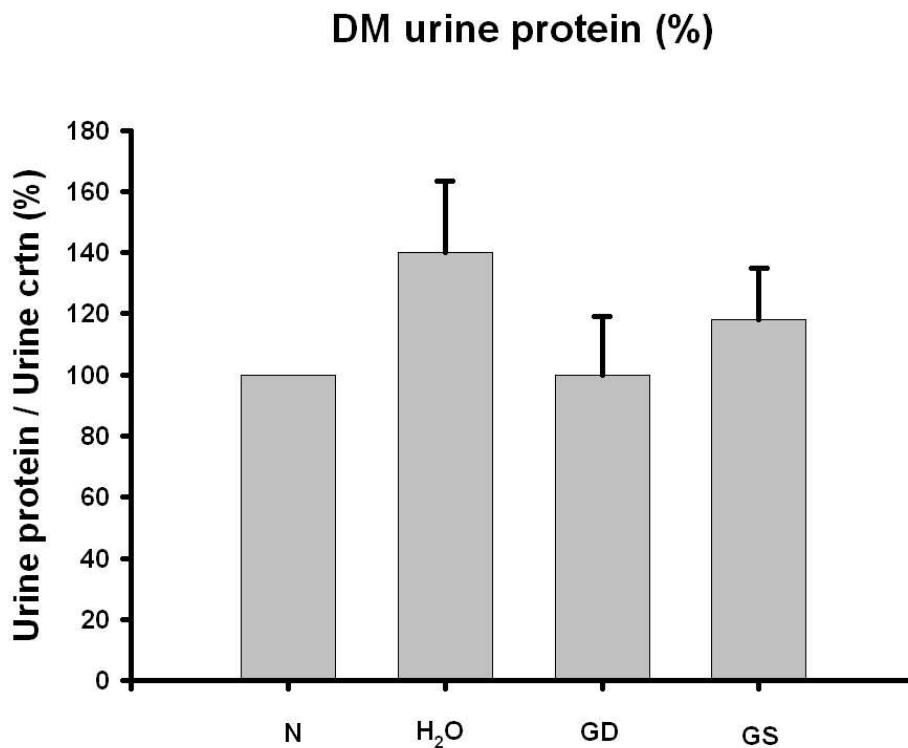


圖四、Thy-1 併用靈芝(GD)或人參(GS)對尿蛋白量之影響。

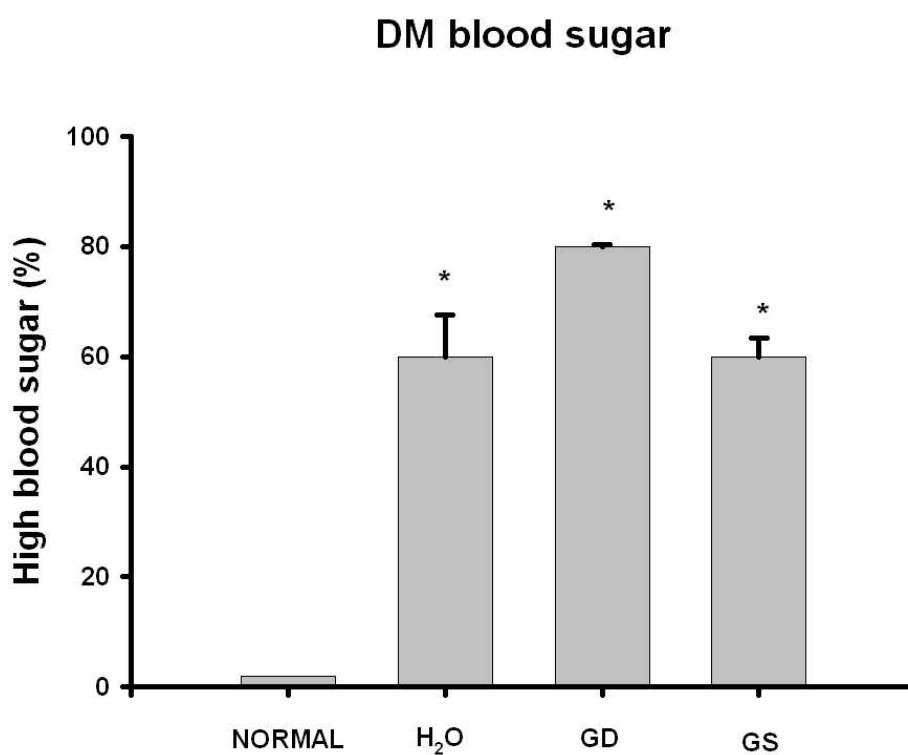
DM urine volume (%)



圖五、糖尿病鼠分別餵水，靈芝(GD)或人參(GS)對尿量之影響。

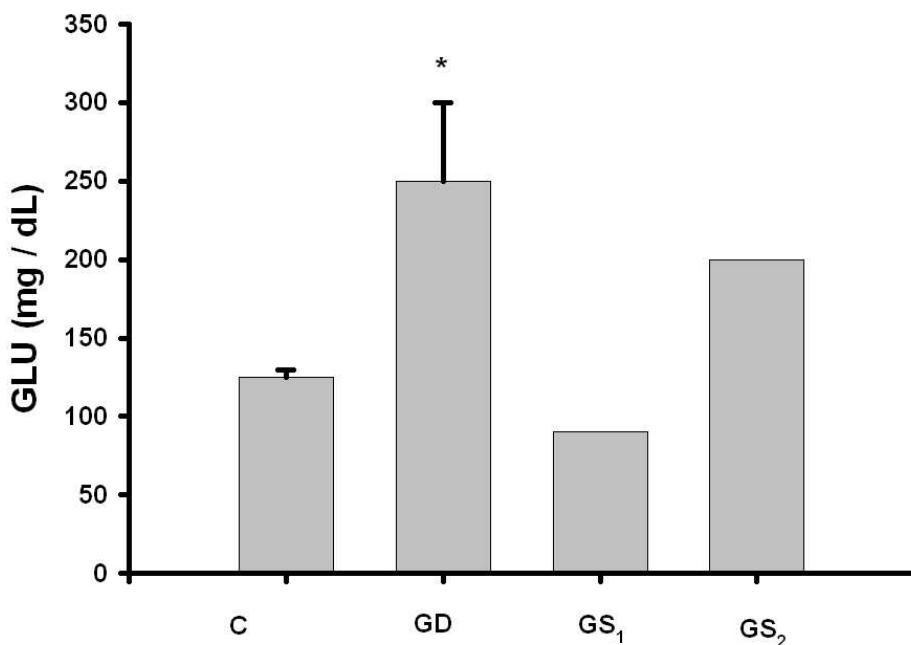


圖六、糖尿病鼠分別餵水，靈芝(GD)或人參(GS)對尿蛋白量之影響。



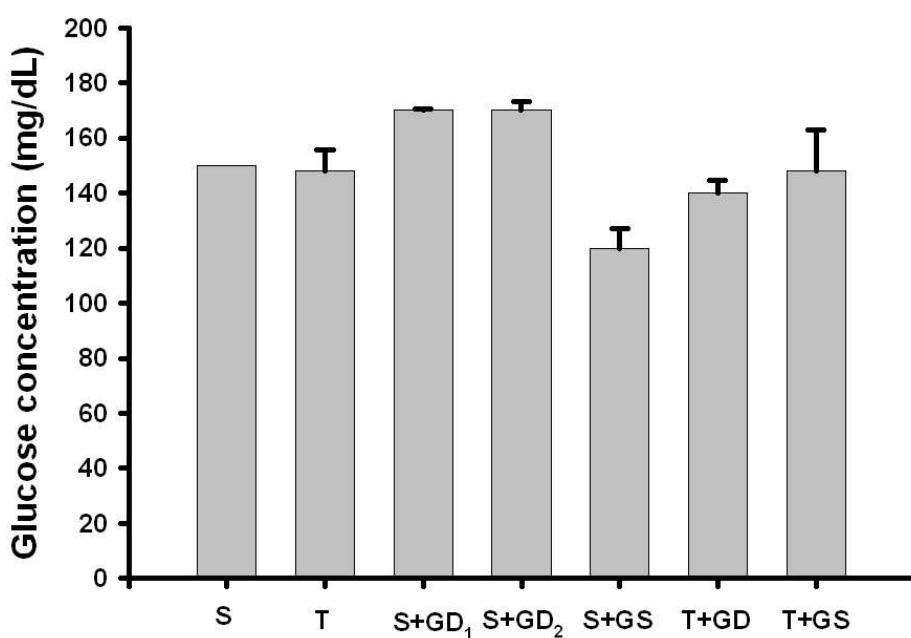
圖七、糖尿病鼠分別餵水，靈芝(GD)或人參(GS)引發高血糖之百分率。

C & DAB plasma (DM)



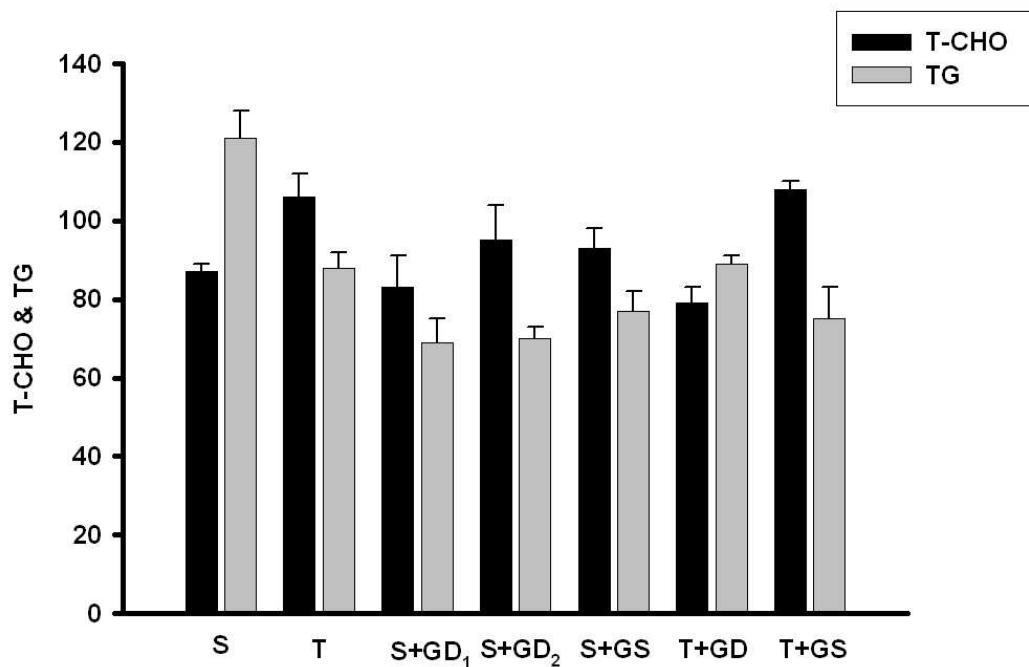
圖八、糖尿病鼠分別餵水，靈芝(GD) 或人參(GS)對血糖之影響。

Kidney toxicity Glucose (plasma)



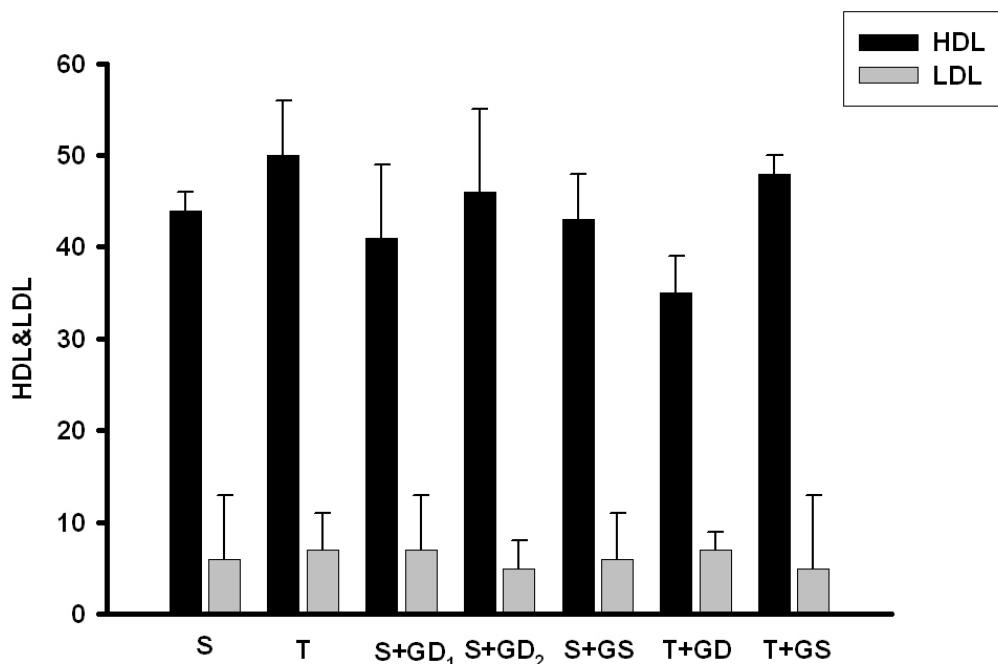
圖九、Thy-1，靈芝(GD)或人參(GS)或二者併用對正常鼠血糖之影響。

C & DAB plasma (Kidney toxicity)



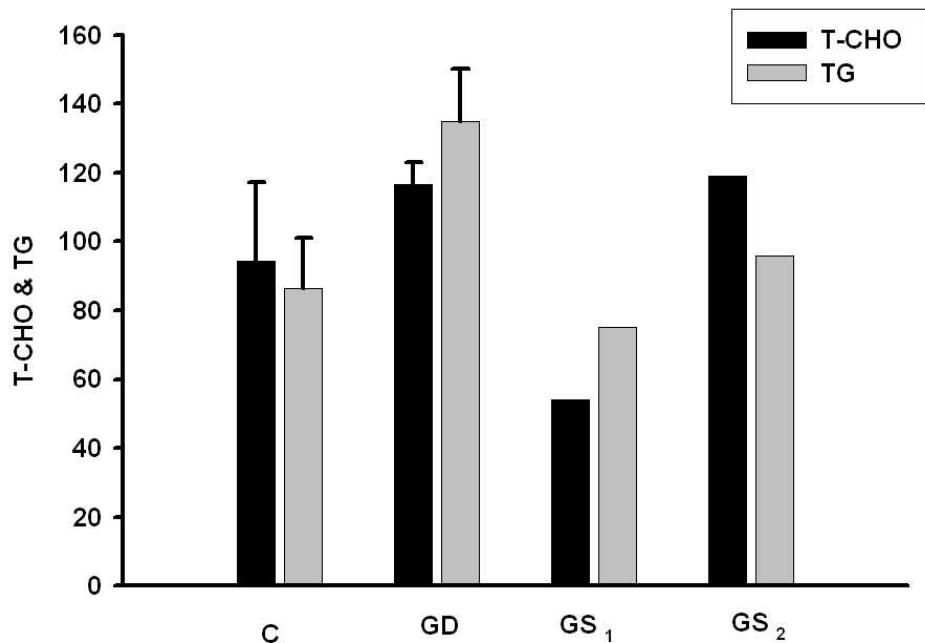
圖十、Thy-1，靈芝(GD)或人參(GS)或二者併用對正常鼠血漿膽固醇(T-CHO)或三甘酯(TG)之影響。

C & DAB plasma (Kidney toxicity)



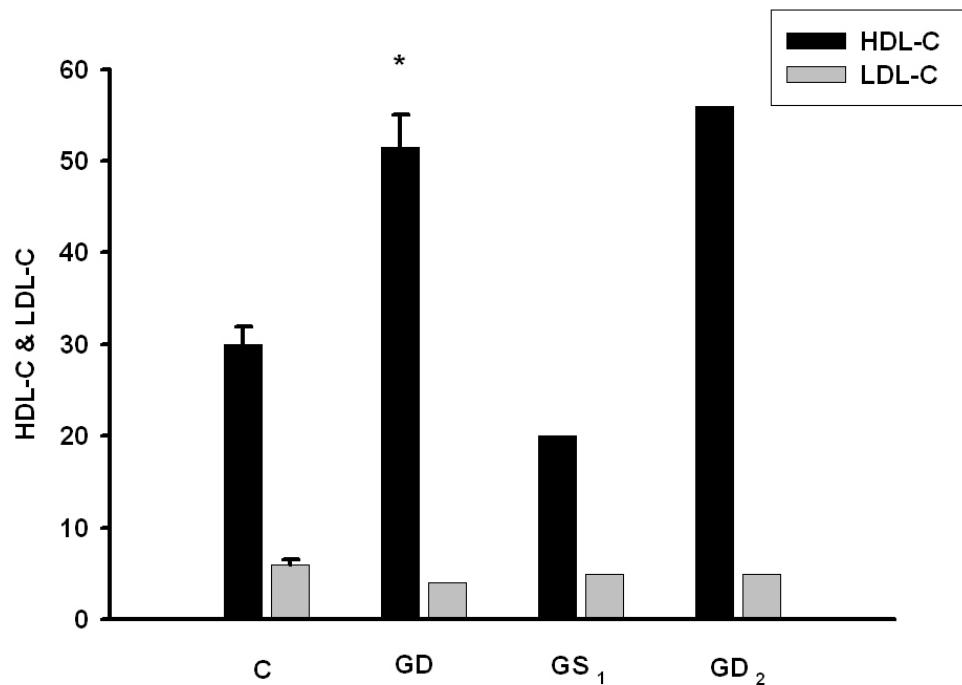
圖十一、Thy-1，靈芝(GD)或人參(GS)或二者併用對正常鼠血漿 HDL 及 LDL 之影響。

C & DAB plasma (DM)



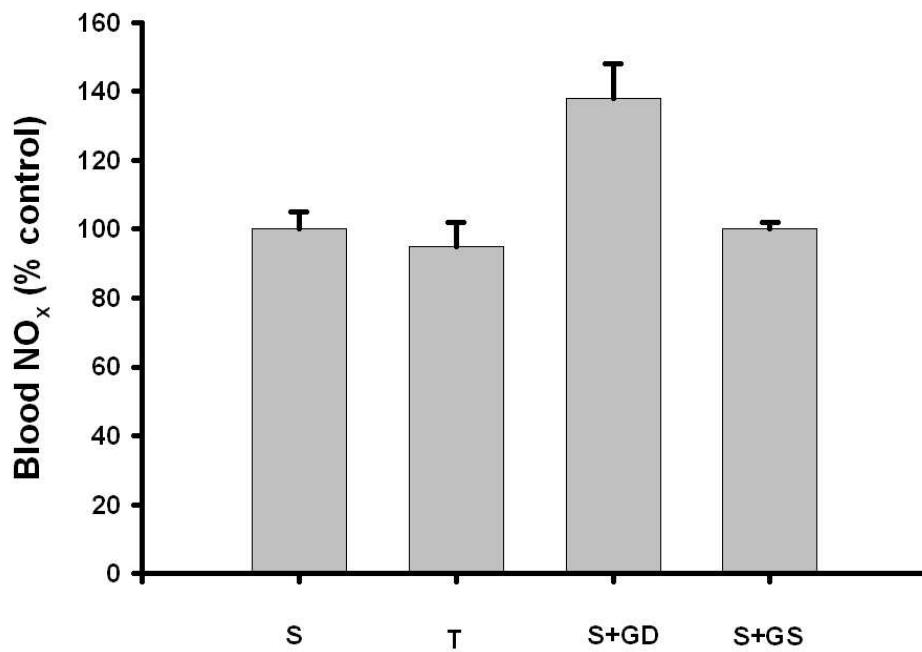
圖十二、靈芝(GD)或人參(GS)對糖尿病鼠血漿膽固醇(T-CHO)及三甘酯(TG)之影響。

C & DAB plasma (DM)



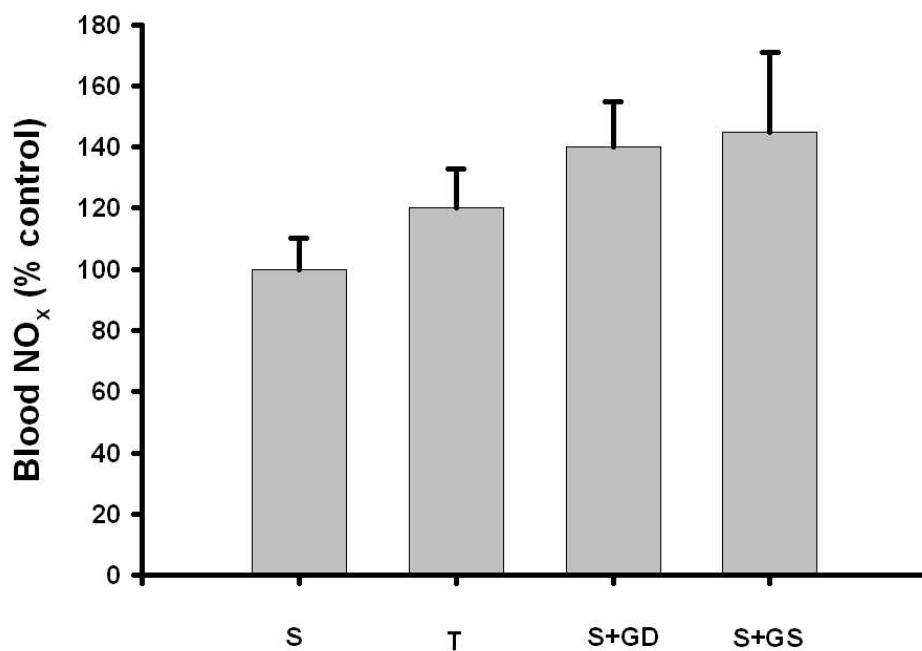
圖十三、靈芝(GD)或人參(GS)對糖尿病鼠血漿 HDL 或 LDL 之影響。

Kidney toxicity (early stage) NO_x (%)--blood



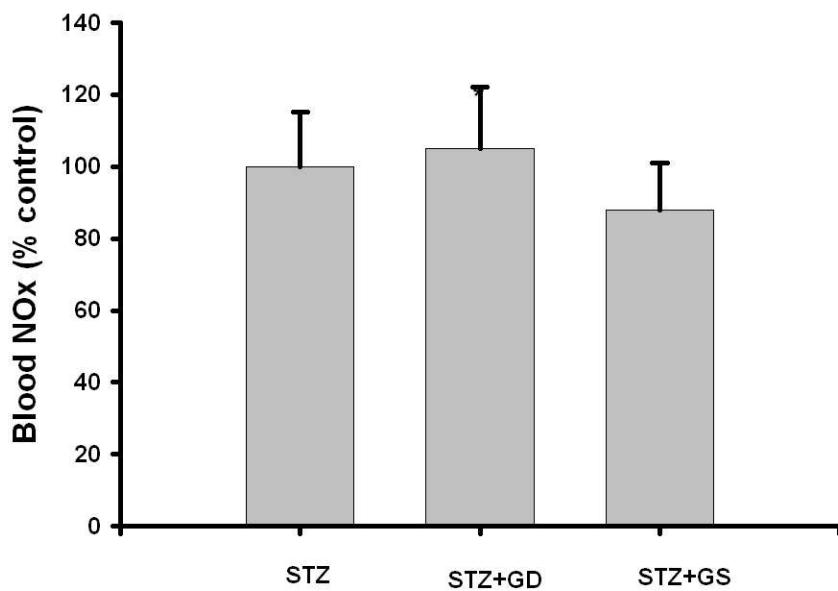
圖十四、Thy-1，靈芝(GD)或人參(GS)處理一至二週(早期)對血中一氧化氮(NO_x)之影響。

Kidney toxicity (late stage) NO_x (%)--blood



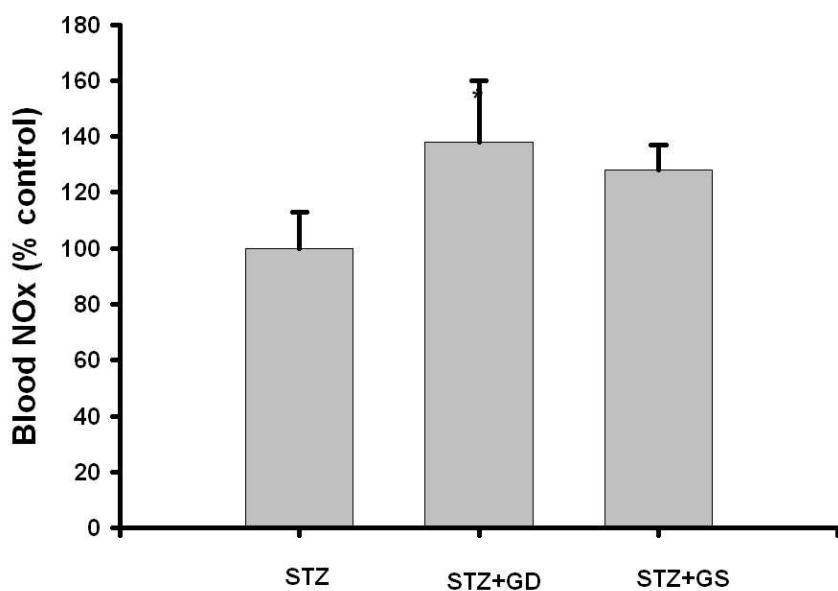
圖十五、Thy-1，靈芝(GD)或人參(GS)處理三至四週(後期)對血中一氧化氮(NO_x)之影響。

Kidney toxicity (early stage) NO_x (%) -- blood



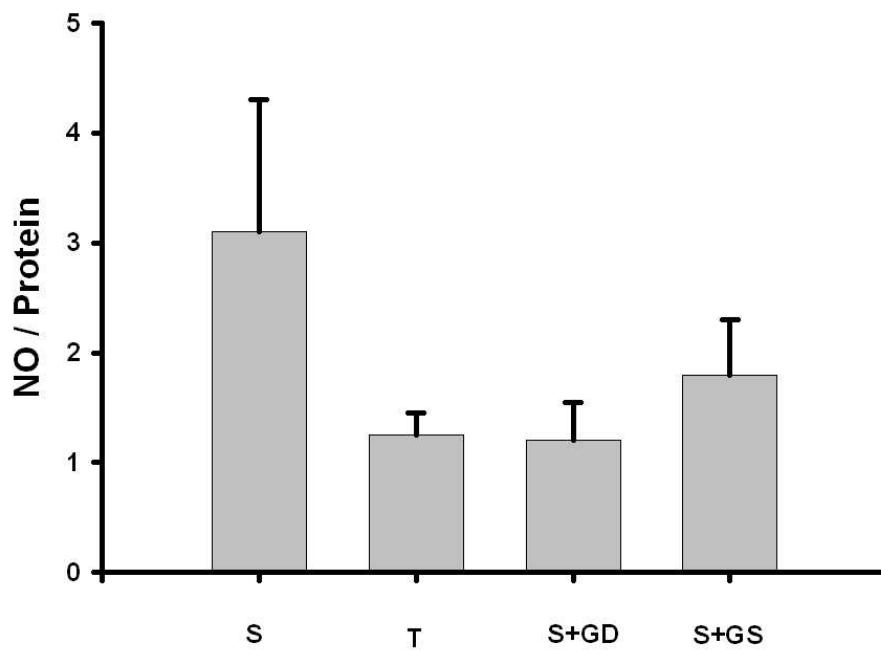
圖十六、靈芝(GD)或人參(GS)餵糖尿病鼠(STZ)一至二週(早期)對血中一氧化氮(NO_x)之影響。

Kidney toxicity (late stage) NO_x (%) -- blood



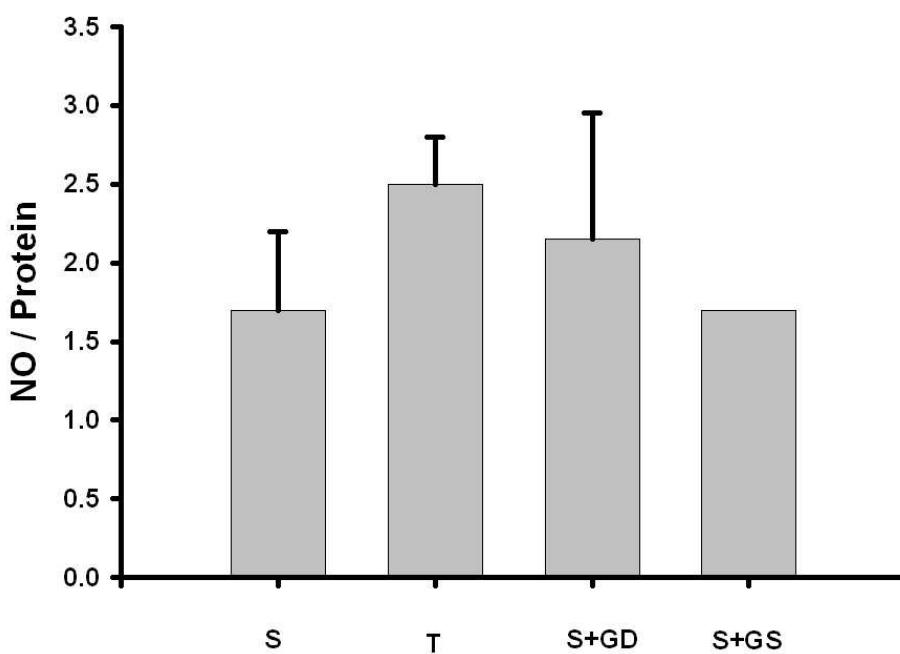
圖十七、靈芝(GD)或人參(GS)餵糖尿病鼠(STZ)三至四週(後期)對血中一氧化氮(NO_x)之影響。

Kidney toxicity KC



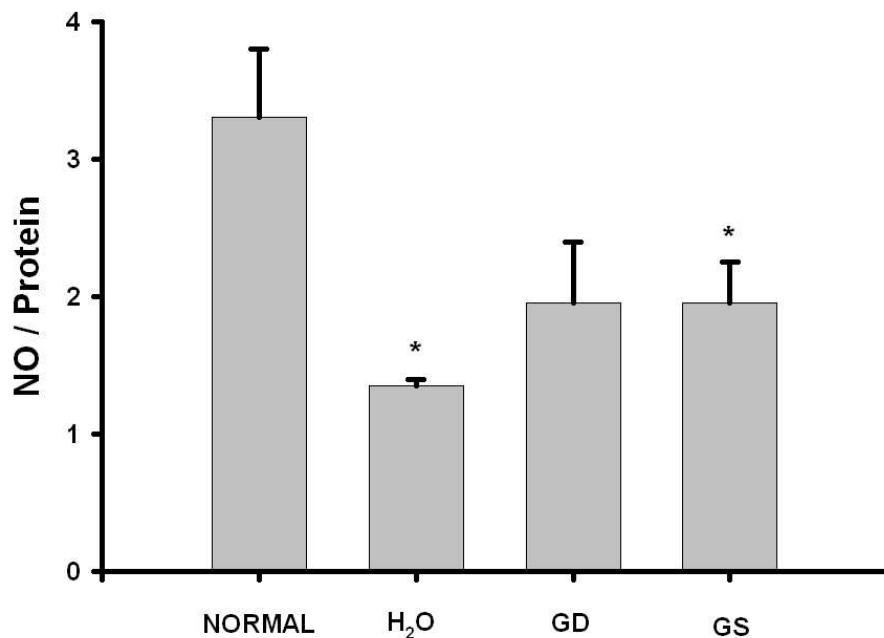
圖十八、Thy-1，靈芝(GD)或人參(GS)對正常鼠腎臟皮質一氧化氮(NO)量之影響。

Kidney toxicity KM



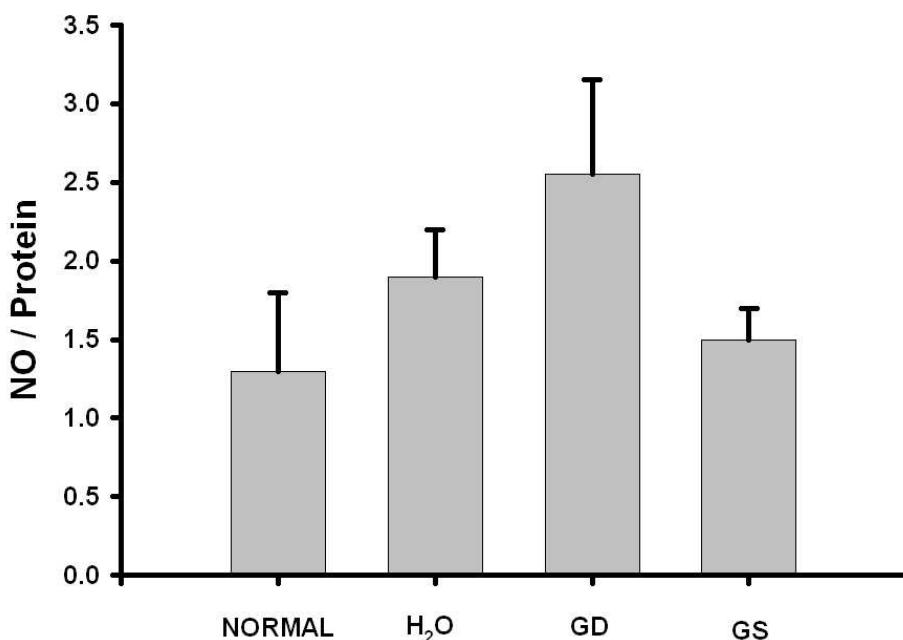
圖十九、Thy-1，靈芝(GD)或人參(GS)對正常鼠腎臟髓質一氧化氮(NO)量之影響。

DM group KC

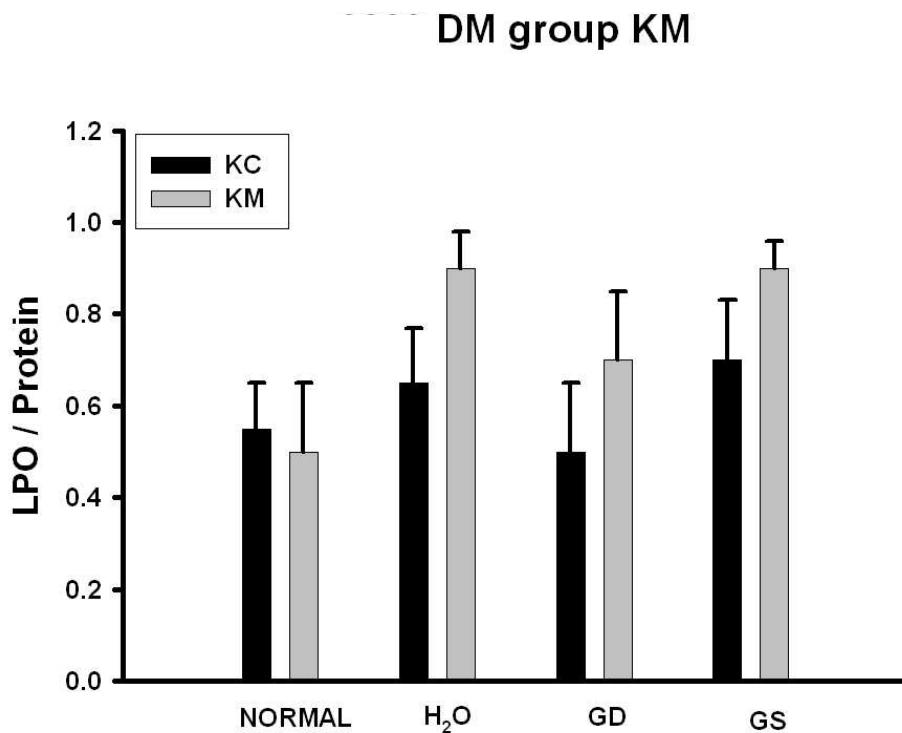


圖二十、靈芝(GD)或人參(GS)對糖尿病鼠腎臟皮質一氧化氮(NO)量之影響。

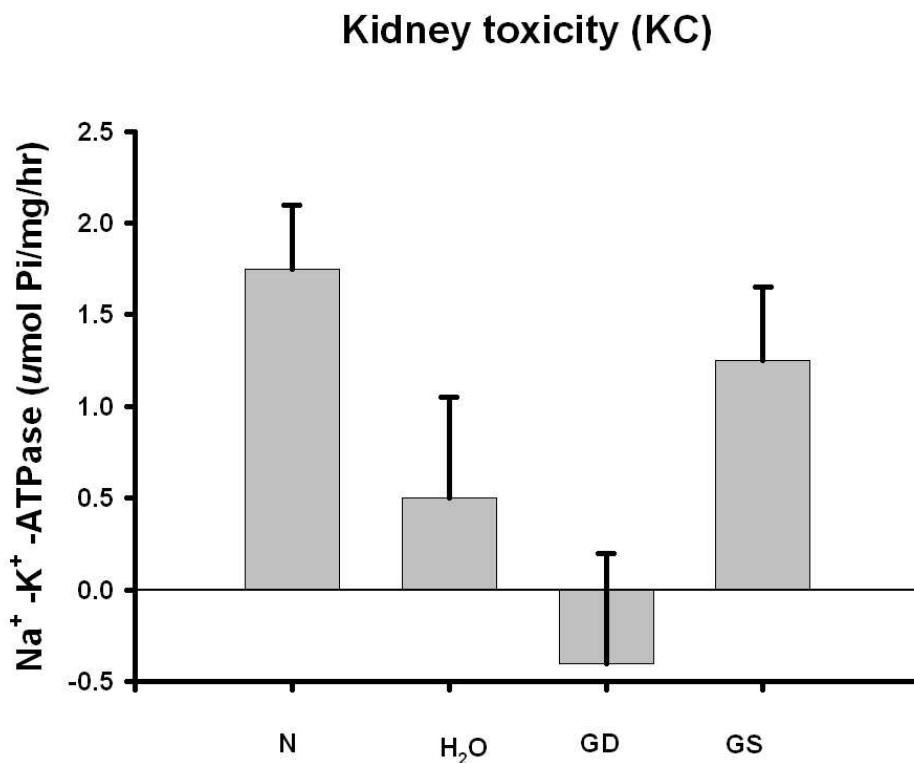
DM group KM



圖二十一、靈芝(GD)或人參(GS)對糖尿病鼠腎臟髓質一氧化氮(NO)量之影響。

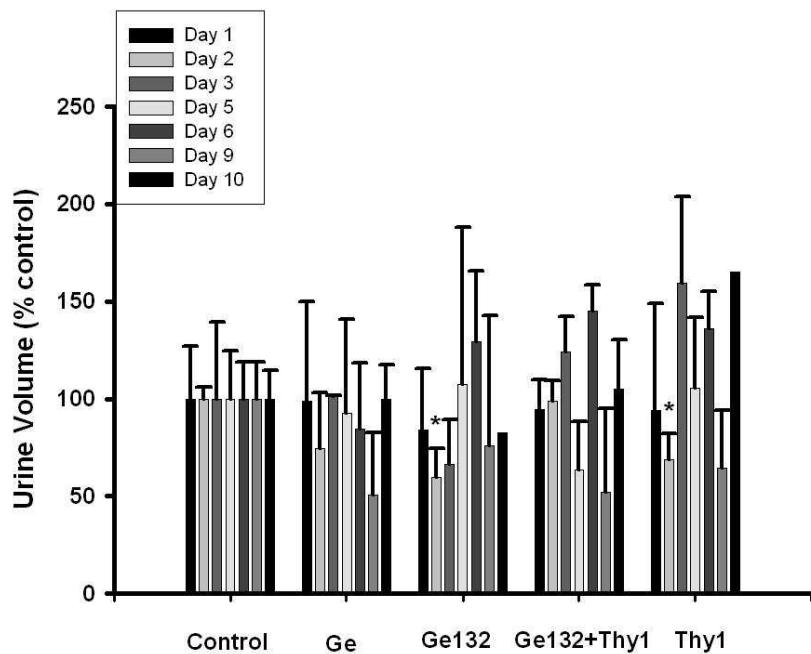


圖二十二、靈芝(GD)或人參(GS)對糖尿病鼠腎臟皮質(KC)或髓質(KM)過氧化脂質之影響。



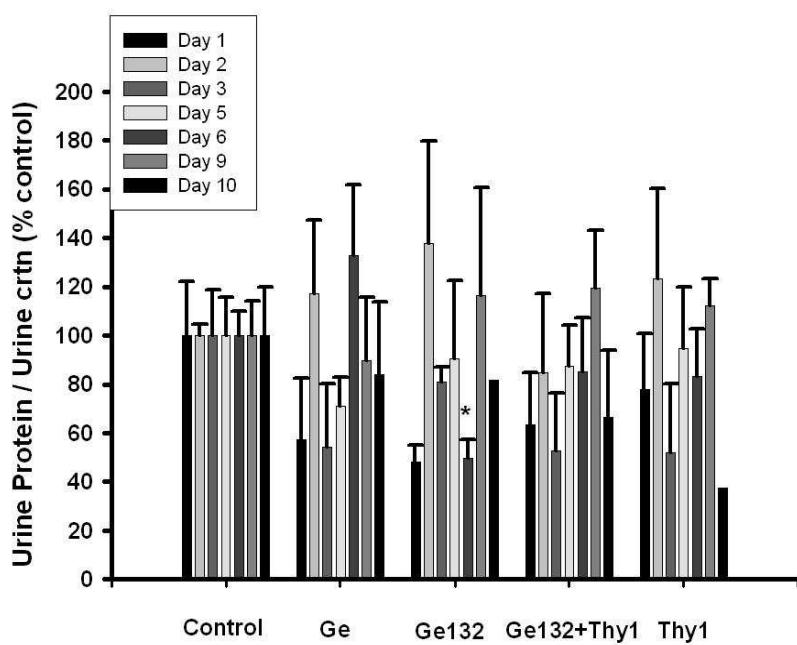
圖二十三、靈芝(GD)或人參(GS)對糖尿病鼠腎臟皮質(KC)Na⁺K⁺-ATPase 活性之影響。

E & FAB Urine



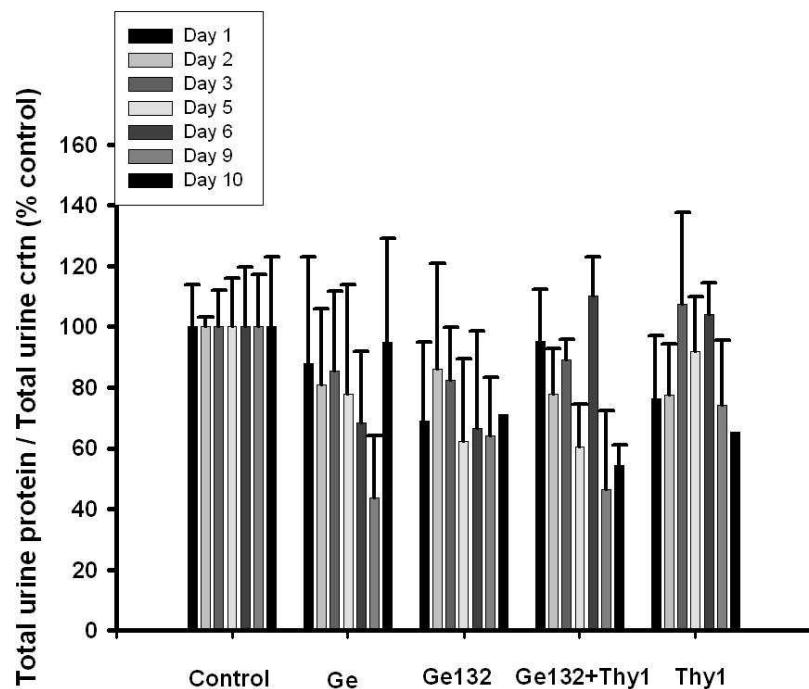
圖二十四、 GeCl_4 , Ge132 及 Thy-1 對鼴鼠尿量之影響。

E & FAB Urine Protein

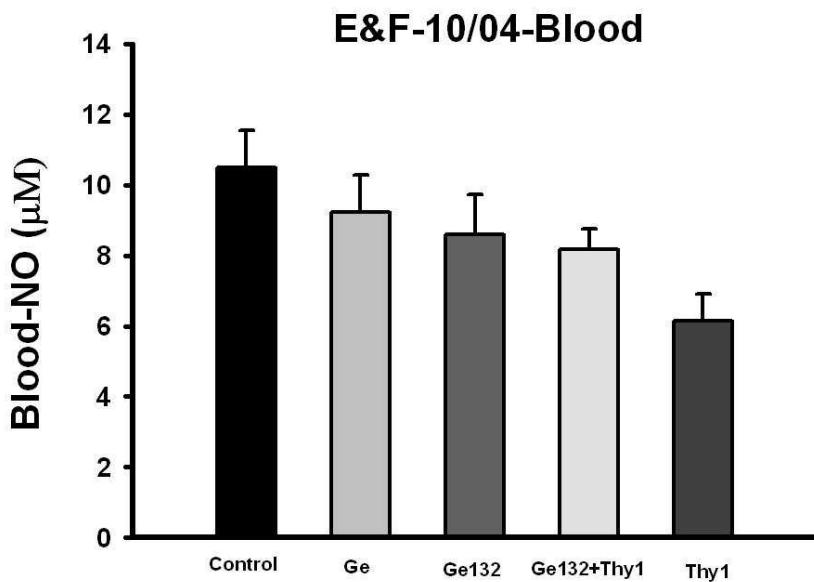


圖二十五、 GeCl_4 , Ge132 及 Thy-1 對鼴鼠尿蛋白量之影響。

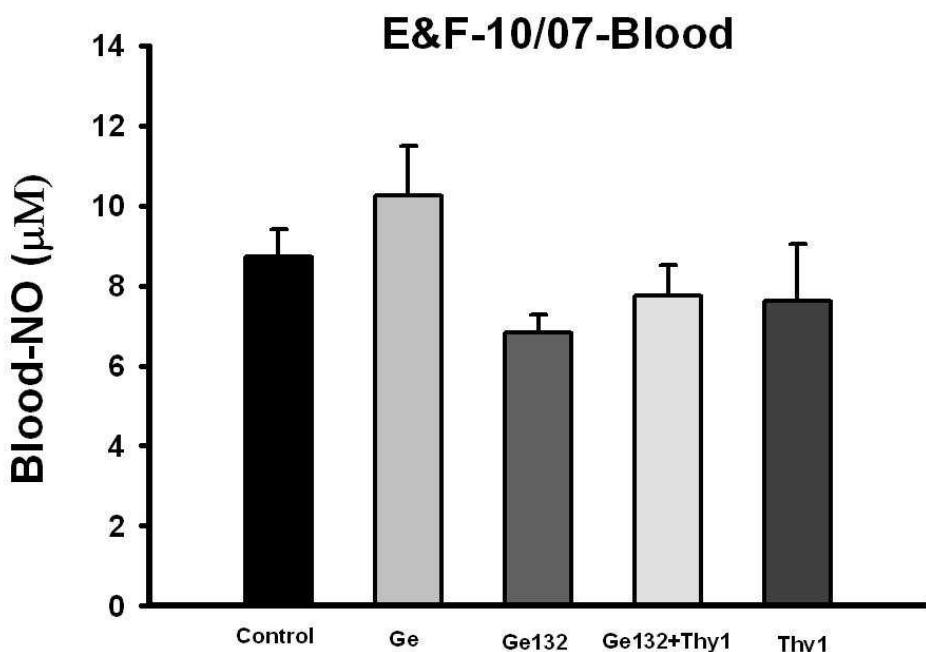
E & FAB Urine Protein



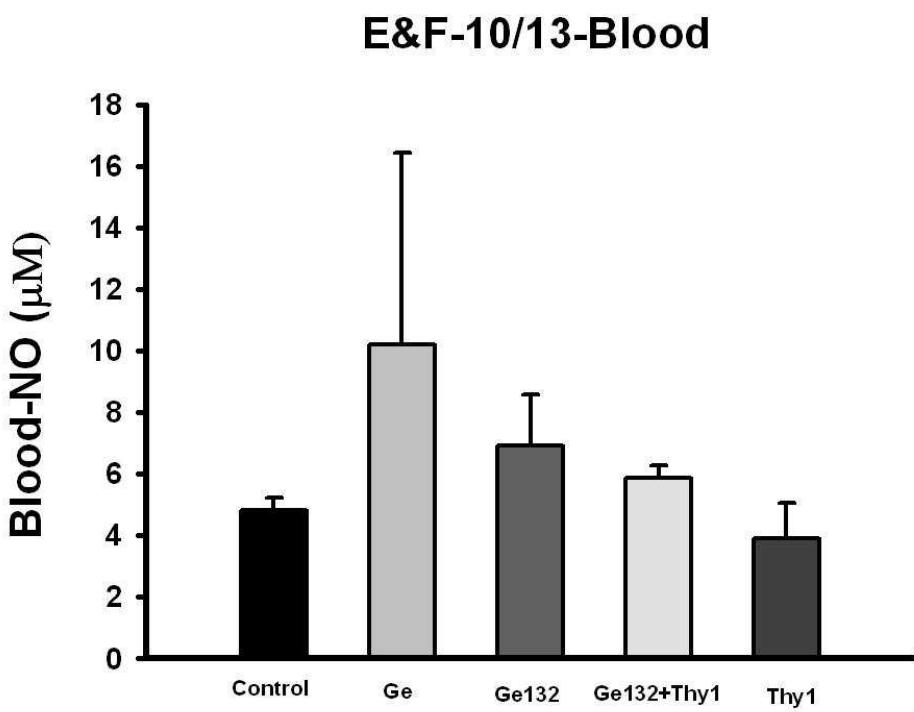
圖二十六、 GeCl_4 , Ge132 及 Thy-1 對鼴鼠總尿蛋白量之影響。



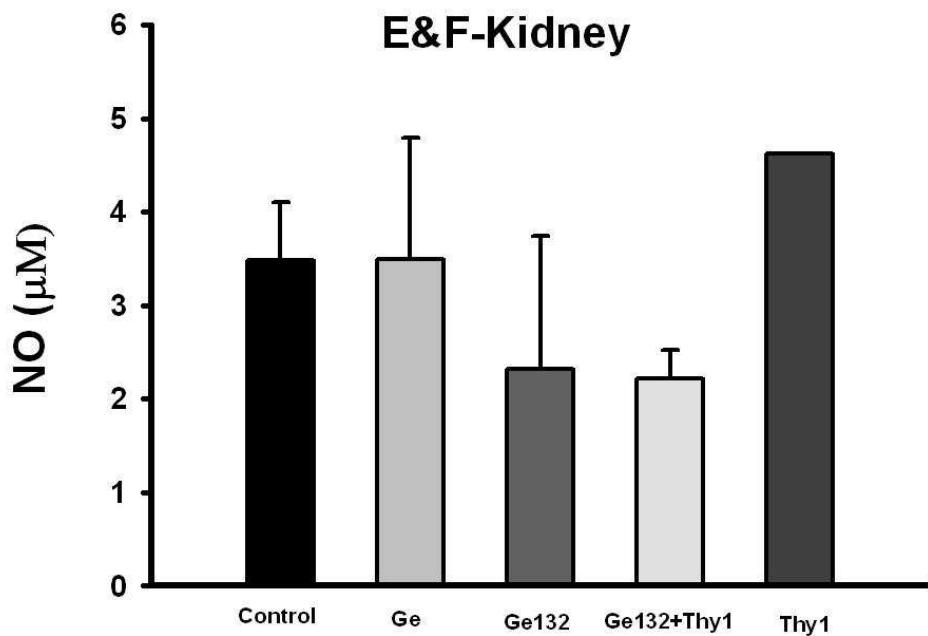
圖二十七、 GeCl_4 , Ge132 及 Thy-1 對鼴鼠血中一氧化氮 (NO) 之影響 (給藥二天)。



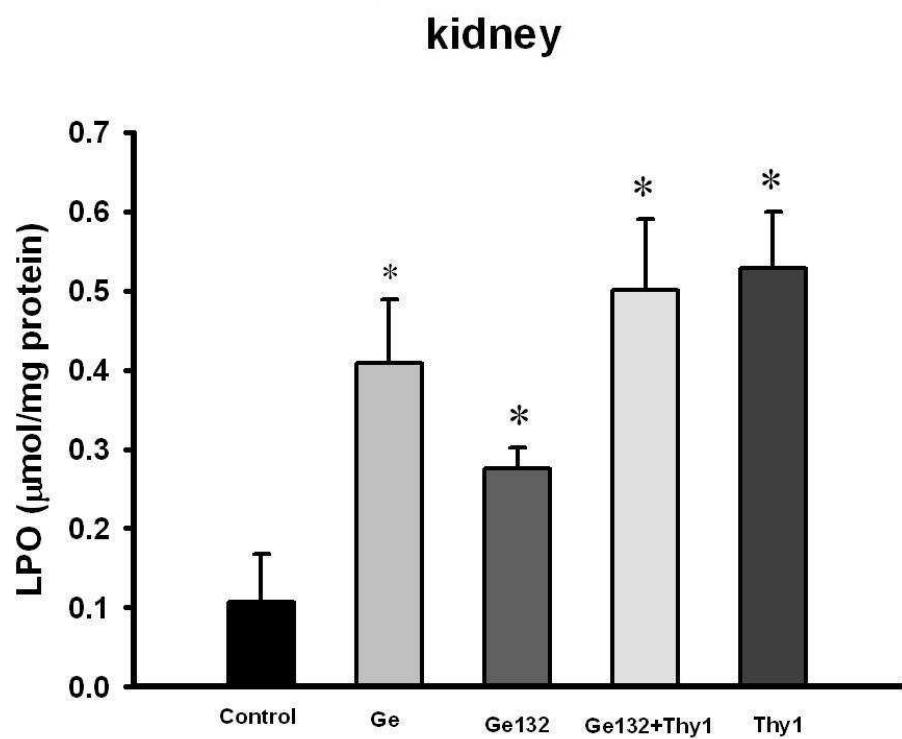
圖二十八、 GeCl_4 , Ge132 及 Thy-1 對鼴鼠血中一氧化氮 (NO) 之影響 (給藥三天再停藥二天)。



圖二十九、 GeCl_4 , Ge132 及 Thy-1 對鼴鼠血中一氧化氮 (NO) 之影響 (給藥三天停藥五天再給藥二天)。

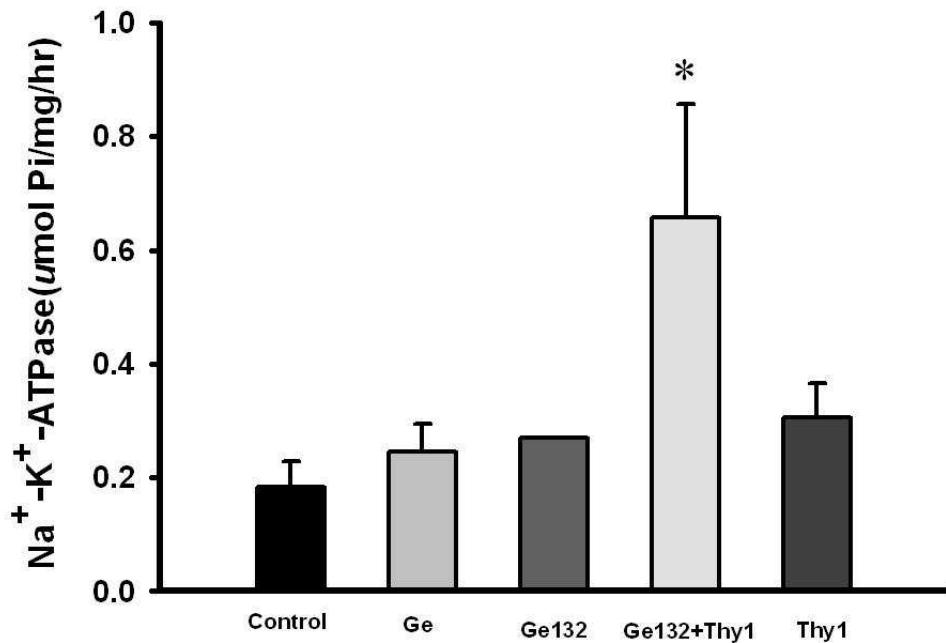


圖三十、 GeCl_4 , Ge132 及 Thy-1 對鼴鼠腎臟一氧化氮 (NO) 產量之影響。



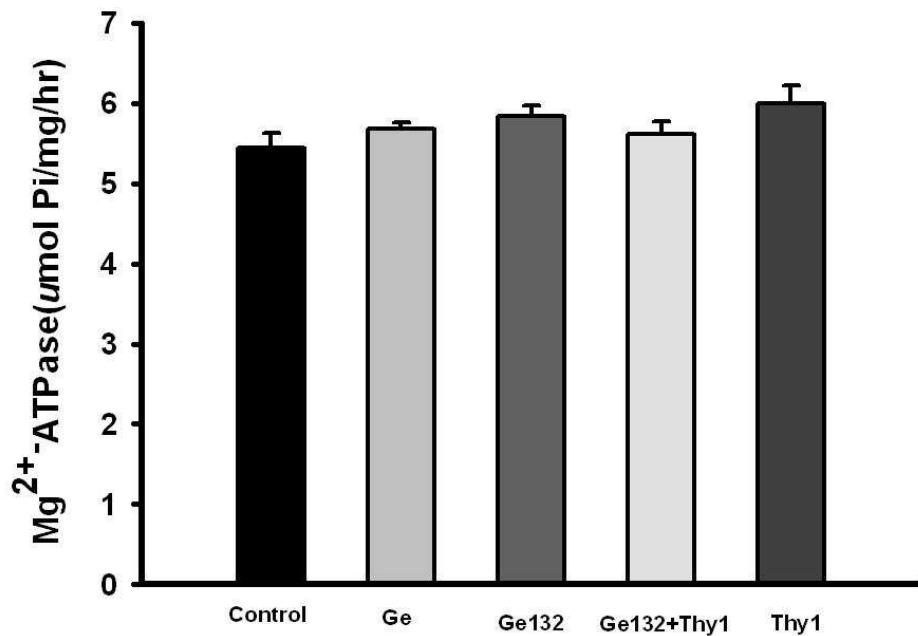
圖三十一、 GeCl_4 , Ge132 及 Thy-1 對鼴鼠腎臟過氧化脂質 (LPO) 之影響。

E&F kidney



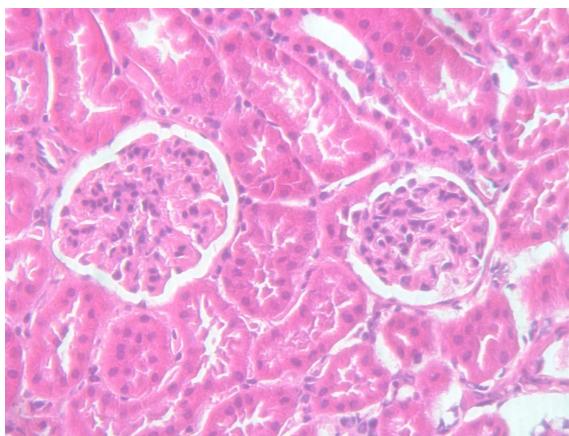
圖三十二、 GeCl_4 , Ge132 及 Thy-1 對鼴鼠腎臟 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase 活性之影響。

E&F kidney

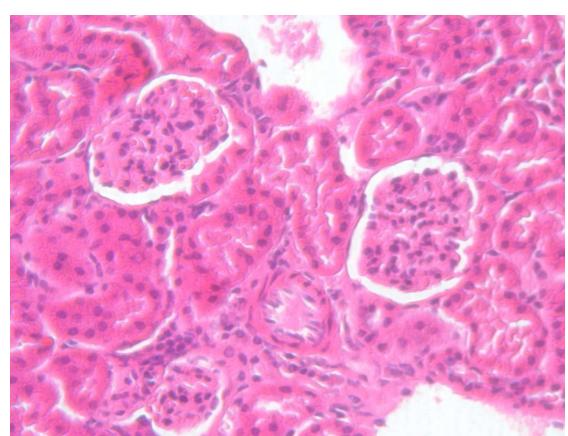


圖三十三、 GeCl_4 , Ge132 及 Thy-1 對鼴鼠腎臟 Mg^{2+} -ATPase 活性之影響。

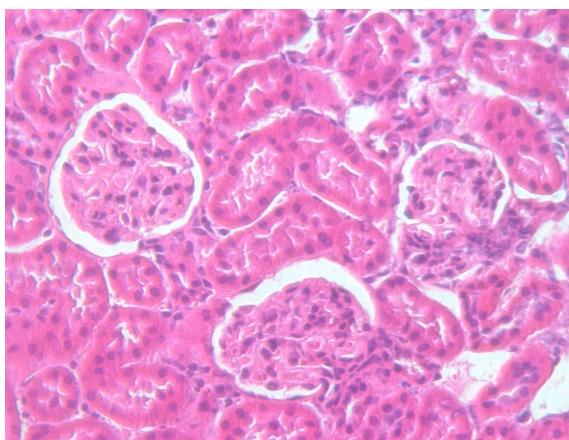
A:



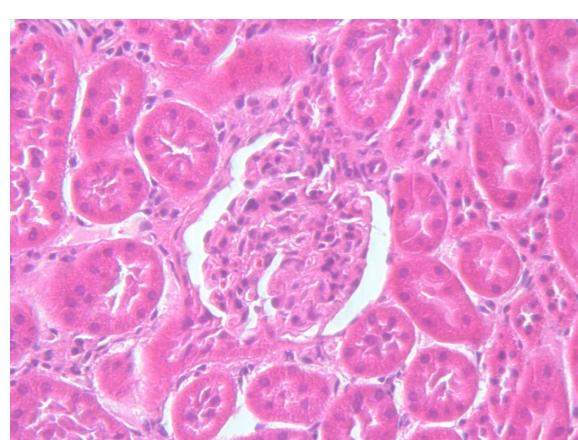
B:



C:

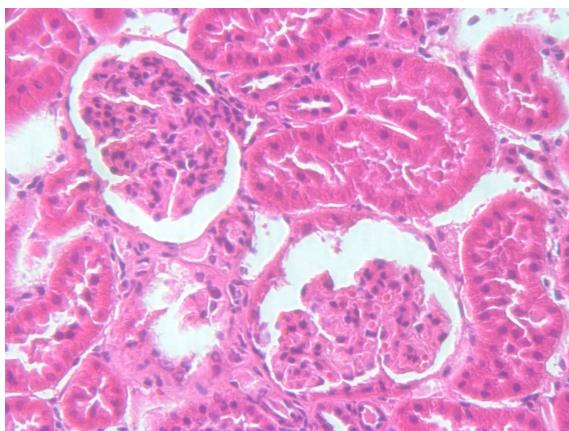


D:

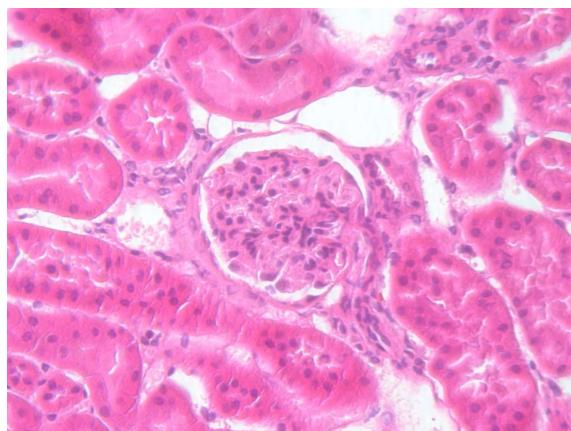


圖三十四、腎臟組織切片，H-E 染色。單獨餵人參(GS, A)或靈芝(GD, B)及 Thy-1 再餵人參(C)，腎臟組織正常，但 Thy-1 餵靈芝(D)後，腎臟組織顯示細胞核過大，有被活化現象。

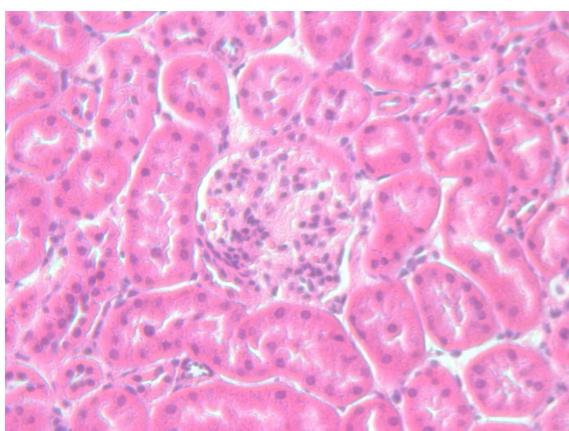
A:



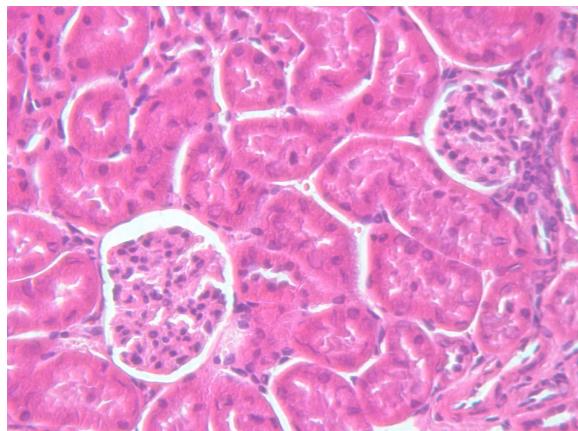
B:



C:



D:



圖三十五、糖尿病組腎臟組織切片，H-E 染色。(A)糖尿病鼠腎臟組織顯示 mesangial lysis 及 tubular cell 不緻密。(B)餵食靈芝後，腎臟細胞仍顯示 mesangial lysis 及 tubular cell 不緻密。而餵食人參組有些糖尿病鼠腎臟細胞趨於正常(C)，但有些糖尿病之腎臟細胞顯示細胞核過多，PMN 侵潤的現象。

