

計畫編號：CCMP89-RD-110

行政院衛生署八十九年度科技研究發展計畫

台灣常用治肝病中藥方劑對肝硬化的實驗療效研究

委託研究報告

計畫委託機關：國立陽明大學傳統醫藥研究所

計畫主持人：黃怡超

研究人員：

執行期間：89年5月1日至89年10月31日

本研究報告僅供參考，不代表本署意見

計畫編號：CCMP89-RD-110

各機關研究計畫基本資料庫之計畫編號：

行政院衛生署八十九年度科技研究發展計畫

台灣常用治肝病中藥方劑對肝硬化的實驗療效研究

委託研究報告

計畫委託機關：國立陽明大學傳統醫藥研究所

計畫主持人：黃怡超

研究人員：

執行期間：89年5月1日至89年10月31日

編號：CCMP89-RD-110

行政院衛生署中醫藥委員會八十九年度委託研究計畫成果報告

台灣常用治肝病中藥方劑 對肝硬化的實驗療效研究

執行機構 國立陽明大學傳統醫藥研究所
計畫主持人 黃怡超
研究人員

執行期限：民國 89 年 5 月 1 日至民國 89 年 10 月 31 日

本報告僅供參考，不代表本會意見

行政院
衛生署

中醫藥委員會八十九年度委辦研究計畫成果報告自我評估表

計畫名稱	台灣常用治肝病中藥方劑對肝硬化的實驗療效研究	計畫編號	CCMP89-RD-110
執行機構	國立陽明大學傳統醫藥研究所	主持人	黃怡超
自我評估項目： 一、研究方法是否與原計畫之設計相同 <input checked="" type="checkbox"/> 完全相同 <input type="checkbox"/> 少部分不同 <input type="checkbox"/> 大部分不同 <input type="checkbox"/> 完全不同 <u>未"完全相同"者請說明不同之項目與原因：</u> 二、研究成果內容與原計畫書目的之相符程度 <input checked="" type="checkbox"/> 完全相符 <input type="checkbox"/> 少部分不符 <input type="checkbox"/> 大部分不符 <input type="checkbox"/> 完全不符 <u>未"完全相符"者請說明不符之項目與原因：</u> 三、研究成果是否達成預期目標 <input type="checkbox"/> 已達成且超過預期目標 <input checked="" type="checkbox"/> 已達成預期目標 <input type="checkbox"/> 部分未達成 <input type="checkbox"/> 均未達成 <u>均請說明，未達成目標請務必說明原因：</u> 四、對該研究成果應用價值之自我評估：(可複選) <input checked="" type="checkbox"/> 可列為中醫師或中藥從業人員在職繼續教育專題演講之內容 <input type="checkbox"/> 具出版專籍參考之價值 <input checked="" type="checkbox"/> 具發表於學術期刊之價值 <input type="checkbox"/> 具備申請專利或技術移轉之潛力 <input type="checkbox"/> 其他 _____ 五、其他			
計畫主持人簽章	黃怡超	日期	89.12.7

註：本表電腦檔案可於"<http://www.ccmp.gov.tw>"上取得

目 錄

目次

中文摘要	5
英文摘要	8
壹、前言	11
貳、材料與方法	13
參、結果	16
肆、討論	26
伍、結論	35
陸、參考文獻	35
柒、圖表	36

表次

表一 顯示膽道結紮(CBDL)組與餵食小柴胡湯高、低劑量 兩組 1 週之周邊及臟腑血流動力學參數之比較	37
表二 顯示膽道結紮(CBDL)組與 4 週餵食小柴胡低劑量組 及假手術組之周邊及臟腑血流動力學參數之比較	38
表三 顯示膽道結紮(CBDL)組與 4 週餵食 Silymarin (30 mg/kg; 100 mg/kg)之周邊及臟腑血流動力學參數 之比較	39
表四 顯示膽道結紮(CBDL)組與四週餵食 Propranolol (30 mg/kg)之週邊及臟腑血流動力學參數之比較	40

附錄

成果報告全文公開意願表
研究成果應用表

重要研究成果

職級學歷分析表

編號：CCMP89-RD-110

台灣常用治肝病中藥方劑 對肝硬化的實驗療效研究

計畫主持人：黃怡超

執行單位：國立陽明大學傳統醫藥研究所

中文摘要

研究目的：

肝硬化及慢性肝病一直是國人的重大疾病之一，而其所併發的門脈高壓進而造成胃食道靜脈瘤出血，更有高達 40% 的致死率。因此，如何治療肝硬化及降低門脈壓便成為現今重要的研究主題之一。

研究方法：

本研究是以中藥方劑中的小柴胡湯、西方草藥的水飛薊萃取物 silymarin 以及乙型交感神經阻斷劑 propranolol，對於慢性膽道結紮所誘導之肝硬化動物模式，在慢性口服給藥治療後，來檢測是否能降低門脈高壓，並進一步探究其血流動力學之變化。

主要發現：

以 Sprague-Dawley 大白鼠進行慢性膽道結紮誘導之門脈高壓為實驗動物，發現：

(1)在 propranolol (30 mg/kg qd.)的劑量下給藥治療後能有效降低慢性膽管結紮實驗組動物之心輸出量約 36.8%，增加其周邊的血管阻力約 89.6%，使門脈壓下降約 16.0%，至於臟腑血流的部分則未見其有明顯改善的現象。

(2)對於慢性膽道結紮所誘導之門脈高壓鼠，慢性給予 silymarin (30 mg/kg 或 100 mg/kg bid.)，發現在 30 mg/kg 的劑量下給藥治療後能有效降低慢性膽道結紮實驗組動物之心輸出指數約 25.3%、增加周邊血管阻力約 39.6%，使門脈壓下降約 15.8%的矯正部分高血流動力狀態之現象，但對於臟腑血流並無改善的作用。而在 100 mg/kg 的劑量下給藥治療後能有效降低慢性膽管結紮實驗組動物之心輸出量約 33.2%，增加其周邊的血管阻力約 51.0%，使門脈壓下降約 19.7%，使門脈系統的血液灌流量降低約 19.7%，增加其門脈系統的血管阻力約 31.8%，至於肝側枝的血管阻力、肝側枝的血液灌流量、腎臟的血管阻力與腎臟的血液灌流量皆無明顯的改變。

(3)在慢性給予小柴胡湯高劑量(333 mg/kg bid.)治療七天後，發現其可降低膽道結紮大白鼠的心輸出量約 19.7%，使門脈壓下降約 16.4%，也導致心跳降低約 12.6%，至於臟腑血流及週邊血管阻力則

未見其有改善的現象。在慢性給予小柴胡湯低劑量 (111 mg/kg bid.) 治療七天後，發現其可降低膽道結紮大白鼠的心輸出量約 24.3%，使門脈壓下降約 15.3%，也導致心跳降低約 10.9%，週邊血管阻力上升約 34.7%，至於臟腑血流的部分則未見其有改善的現象。

(4)在慢性給予小柴胡湯低劑量治療四週後，可降低膽道結紮大白鼠的心輸出量約 29.4%，增加其周邊的血管阻力約 33.8%，使門脈壓下降約 28.7%，使門脈系統的血液灌流量降低約 27.4%，增加其門脈系統的血管阻力約 39.7%，至於肝側枝的血管阻力、肝側枝的血液灌流量、腎臟的血管阻力與腎臟的血液灌流量皆無明顯的改變。顯示可部分矯正高血流動力狀態的現象。

結 論：

在使用藥物治療肝硬化所導致的門脈高壓方面，發現小柴胡湯、西方草藥的水飛薊萃取物 silymarin 以及乙型交感神經阻斷劑 propranolol 均可以明顯的改善門脈高壓及部分高血流動力循環的狀態，但未能完全矯正其高血流動力病態。

關鍵詞：小柴胡湯，水飛薊，肝硬化

CCMP89-RD-110

**Therapeutic Study of Chinese Herbal Combinations
on Cirrhotic Rats**

Yi-Tsau, Huang

Institute of Traditional Medicine

National Yang-Ming University

ABSTRACT

Aim of study:

Liver cirrhosis is a leading cause of morbidity and mortality in Taiwan. The hyperdynamic circulation of liver cirrhosis is characterized by decrease in arterial blood pressure and peripheral vascular resistance and increase in portal venous pressure and splanchnic blood flow. Xiao-Chai-Hu-Tang (XCHT) is a commonly administered Chinese herbal medicine in patients with chronic liver disease in Japan, Taiwan and China. The active extract of milk thistle (*Silybum marianum*), silymarin, has been used for centuries as a natural remedy for diseases of liver and biliary tract in Europe. Propranolol, a beta-adrenergic blocker, has been used to treat cirrhotic patients with history of esophageal variceal bleeding. The purpose of our study was to investigate the effects of chronic XCHT, silymarin and propranolol administration on common bile duct ligation rats.

Methods:

Portal hypertension with cirrhosis was induced by chronic bile duct ligation (CBDL) in Sprague-Dawley rats (220-260 g). Sham-operated (Sham) rats served as controls. Therapeutic effects of XCHT, silymarin, and propranolol were evaluated in separate groups of CBDL rats. XCHT-high-dose-1-week (333 mg/kg, bid. p.o.) and XCHT-low-dose-1-week (111 mg/kg, bid. p.o.) was administered on the 21st day after surgery on CBDL rats. XCHT-low-dose-4-week (111 mg/kg bid.) , silymarin (30 mg/kg and 100 mg/kg bid., p.o.) and propranolol (30 mg/kg/day, p.o.) was administered on the first day after surgery on CBDL rats. On the 28th day, hemodynamic parameters were measured after an overnight fast.

Results:

XCHT-high-dose-1-week significantly ameliorated the hyperdynamic state of CBDL rats, including reduction in portal venous pressure (-16.4%), cardiac index (-19.7%), heart rates (-12.6%). Systemic and splanchnic blood flow and resistance were not changed by XCHT-high-dose. XCHT-low-dose-1-week significantly ameliorated the hyperdynamic state of CBDL rats, including reduction in portal venous pressure (15.3%), cardiac index (-24.3%), heart rates (-10.9%), and increase in systemic vascular resistance (34.7%). Splanchnic blood flow and resistance were not changed by XCHT-low-dose. XCHT-low-dose-4-week significantly ameliorated the hyperdynamic state of CBDL rats, including reduction in portal venous pressure (-28.7%), cardiac index (-29.4%), portal tributary blood flow (-27.4%), and increase in systemic vascular resistance (34.7%) and portal territory vascular resistance (39.7%). Despite such improvement, CBDL-XCHT still exhibited hyperdynamic state as compared with sham rats.

Silymarin treatment induced reduction in cardiac index, portal pressure, portal tributary blood flow and increase in systemic vascular resistance and portal territory vascular resistance. However, mean arterial pressure, and hepato-collateral vascular resistance were not changed by silymarin.

Propranolol, a positive control in this study, significantly ameliorated the hyperdynamic state of CBDL rats, including reduction in portal

venous pressure, cardiac index and increase in systemic vascular resistance. Splanchnic blood flow and resistance were not changed by propranolol.

Conclusion:

Our results showed that XCHT, silymarin, and propranolol treatment significantly ameliorated the hyperdynamic state of cirrhotic rats.

Keywords : Cirrhosis, Portal hypertension, Xiao-Chai-Hu-Tang

壹、前言

肝硬化與肝癌一直是列居國人十大死因的重大疾病，而慢性 B 型病毒感染為台灣民眾致肝硬化或肝癌之重要因素⁽¹⁾。肝硬化是「進行性肝纖維化過程」所致的，是一長期動態、進行性的病程；目前研究顯示肝纖維化過程在某些階段為可逆性，甚至可被藥物治療所抑制或減緩⁽²⁾。基於此，找尋抑制或減緩肝纖維化之藥物，為當前中、西醫界甚有意義與重要性之課題^(2,3)。

在台灣，中藥方劑如養肝丸（當歸、白芍、防風、蕤仁、川芎、枳實、熟地黃、車前子）、龍膽瀉肝湯、加味逍遙散、杞菊地黃丸、小柴胡湯等，為常用於治療肝病有關之病證。這五種方劑在衛生署許可證核發張數與藥廠、醫院銷售量兩項指標上皆名列前茅⁽⁴⁾，可見其在台灣民眾間使用之普遍情形。然而，這些方劑在西醫科學檢試驗證其療效，甚至療效機轉，則甚少刊登在重要之國際醫學期刊之文獻可供參酌。本研究即要嘗試探究此五種中藥方劑在肝硬化動物之療效，及可能肝腎副作用，以作為下一步臨床療效評估之參考依據。

在肝纖維化致肝硬化的病理機轉中，細胞激素（cytokine）如「轉型生長因子（transforming growth factor- β_1 ，簡稱 TGF- β_1 ）」與氧自由基（oxygen free radicals）皆扮演重要參與角色^(2,3)。而文獻上一些實驗研究顯示，一些抑制或減緩肝纖維化的藥物其致效機轉即包括減低轉型生長因

子 TGF- β_1 或氧自由基之表現或形成^(2,3)。本研究在探討中藥方劑的實驗療效時，將同時測量其對轉型生長因子 TGF- β_1 與氧自由基之表現、形成的影響。

本計畫中，我們擬以大白鼠接受 (1) 膽管結紮，或 (2) 1% dimethylnitrosamine 兩種方式引致肝硬化，再分別給予一低劑量與一高劑量之下列方劑之一：養肝丸、加味逍遙散、龍膽瀉肝湯、小柴胡湯、杞菊地黃丸，以建立量效關係。草藥以胃管連續餵食 1 週或 4 週，療效測量指標包括：(1) 血流動力學 (肝門靜脈壓、週身血壓與血管阻力、臟腑血流等)，(2) 血清生化檢查，(3) 肝組織切片衡量肝纖維化程度，(4) 肝組織細胞耗氧速率，脂質過氧化物含量與自由基清除酵素活性，(5) 以 RT-PCR 衡量肝組織 TGF- β_1 與 pro-collagen 亞型之表現。

此研究將能對中草藥抗肝纖維化做療效評估，並對其血流動力效應，可能之肝腎副作用，與作用機轉有所瞭解，以作為下一步臨床試驗之參考。

以國際醫學界認可通用之兩種肝硬化動物模式，探究以長期餵食中藥方劑 (養肝丸、加味逍遙散、龍膽瀉肝湯、小柴胡湯、杞菊地黃丸等五種中之一種) 後，對肝硬化鼠之 (1) 肝硬化病理切片嚴重度，(2) 肝、腎生化功能，(3) 轉型生長因子 TGF- β_1 與前膠原蛋白 pro-collagens 之 mRNA 轉錄 (transcription)，(4) 氧自由基產物、肝組織氧消耗率、粒線體電子傳遞鏈，(5) 血流動力學 (肝門靜脈壓、週身血壓與血管阻力、臟腑血流

等)，各項療效指標評估。

貳、材料與方法

一、肝硬化動物模式：

肝硬化動物模式是以（1）膽管結紮，或（2）重複給予 1% dimethylnitrosamine (DMN) 而致的，此兩種模式是國際醫學界認可通用的肝硬化模式⁽⁵⁾，並已在本研究室建立^(6,7)。膽管結紮手術是在乙醚麻醉下，將大白鼠腹中線切開，找出總膽管，在上、下端做結紮，而後在兩端結紮線間將總膽管剪斷，再將腹壁縫合。術後給予維他命 K₁ 每週 50 微克，及抗生素 cefmetazole 一劑 10 毫克以提高老鼠存活率。而 1% DMN 則以每週連續 3 天腹腔注射而致。

二、研究流程：

中藥方劑（養肝丸，加味逍遙散，龍膽瀉肝湯，小柴胡湯，杞菊地黃丸）將分別給予低、高劑量以建立劑量-效應關係，其中高劑量為低劑量之 5 倍。以胃管餵食方式給予連續 1 週或 4 週治療。1 週治療是在膽管結紮或 DMN 處理 3 週後開始給，在第 4 週結束時作各種測量。4 週治療則在膽管結紮或 DMN 處理開始日即給中藥方劑，治療 4 週後作各種測量。療效評估包括：

（1）肝組織切片下肝纖維化嚴重程度，（2）血清生化檢查包括 SGOT、SGPT、BUN、creatinine 及 albumin 等，可檢測肝、腎功能指標，（3）肝纖

維化的細胞分子生物學指標——以 RT-PCR 測量轉型成長因子 TGF- β_1 與前膠原蛋白 pro-collagens 之 mRNA 表現，(4) 測量肝細胞氧消耗率、脂質過氧化產物 MDA，與粒線體呼吸鏈功能，以觀察肝組織產生氧自由基與脂質過氧化物情況，(5) 血流動力學測量（包括肝門靜脈壓、臟腑血流量、心輸出指數、週身血壓與血管阻力等）。

三、中藥方劑製備：

養肝丸（當歸、白芍、防風、蕤仁、川芎、枳實、熟地黃、車前子），龍膽瀉肝湯（龍膽、黃芩、澤瀉、木通、當歸、柴胡、甘草、車前子、山梔子、生地黃），加味逍遙散（當歸、白朮、白芍、柴胡、茯苓、煨薑、炙甘草、牡丹皮、山梔子、薄荷），杞菊地黃丸（山藥、茯苓、澤瀉、牡丹皮、枸杞子、甘菊花、熟地黃、山茱萸），小柴胡湯（柴胡、半夏、黃芩、人參、甘草、生薑、大棗）等將以台灣 GMP 藥廠所生產之科學中藥製劑與自購迪化街中藥舖各味生藥以水萃取、濃縮、乾燥粒化兩種製劑進行研究。

四、血流動力學測量：

膽管結紮或 DMN 處理 4 週到肝硬化後，大白鼠在隔夜禁食下，以 Ketamine (100 mg/kg) 麻醉，肝門脈近端之腸繫膜靜脈以 PE-50 管插入以測門靜脈壓；另插管於股動脈以測週邊動脈壓，另由右頸動脈插管至左心室，以注射放射性鈷-57 微粒測量全身各器官血流。血壓及心跳以壓力轉能器接至多功能生理測定儀 (Gould polygraph, RS3400, U.S.A.)，在血壓訊號

穩定後測量畢，即可注射鈷-57 微粒，詳見本研究室論文報告^(6,7)。以自動注射幫浦以每分鐘抽吸 0.8 毫升速度抽吸 75 秒為參考值。而後在 25-30 秒內注入 6 萬顆直徑 15 微米的鈷-57 微粒，再以 0.5 毫升生理食鹽水沖注 PE 管。最後以飽和氯化鉀將鼠犧牲，剪下臟腑各器官，在伽瑪閃爍計數器下測放射性能量。由此可計算出臟腑總血流 (portal tributary blood flow) 及阻力、週身血管阻力、心輸出指數、腎動脈血流及阻力等。

五、血清生化分析：

血流動力測量完畢後，由股靜脈抽取 3 毫升血液，在 4°C 下離心，取出血清，在血清生化分析儀 (Hitachi 736-60, Japan) 分析 SGOT、SGPT、ALP、總蛋白、白蛋白、血中尿氮 (BUN)、creatinine 及膽酸 (bile acid) 等肝、腎生化功能指標。

六、肝組織切片檢視：

在血流動力測量完畢後，將鼠犧牲，切下肝臟以作病理切片。每隻鼠的肝右葉取下，以 10% 福馬林固定並以蠟包埋。組織切片分別以 HE 與 Masson trichrome 染色。肝纖維化程度計量方式根據 Desmet 等人之論文報告⁽⁸⁾：0-為正常肝組織；1 為 periportal fibrous expansion；2 為 periportal or portal-portal septa (低於 50% 周圍)；2.5 為 periportal or portal-portal septa (超過 50% 周圍)；3 為 portal-portal septa (低於 50% 周圍)；3.5 為 portal-portal septa (超過 50% 周圍)。肝纖維化程度計量由一位病理醫師在不知動物治療情形下作

客觀評估。

七、肝細胞氧消耗率、脂質過氧化物 MDA 產量，與粒線體電子傳遞鏈功能評估：

肝粒線體之分離與功能測量乃根據 Krahenbuhl 等人之論文⁽⁹⁾。肝組織均質化後，加入緩衝液作初步離心。取出上清液後再以 7000g 高速離心而得粒線體，以 MSM 緩衝液配成每毫升含 10-15 毫克粒線體蛋白。蛋白質含量以 Lowry 法測定。

氧消耗率以 Gilson 5/6 oxygraph 測定。

粒線體電子傳遞鏈功能以紫外線分光儀測定法進行⁽⁹⁾。

脂質過氧化物 MDA 以 thiobarbituric acid (TBA) 法測定⁽¹⁰⁾。

八、反轉錄—聚合酶連鎖反應 (RT-PCR) 測定法：

此法可對肝纖維化重要因子「轉型成長因子 TGF- β_1 」，與「前膠原蛋白 pro-collagens」之 mRNA 表現作半定量測量。其處理程序則根據 Chomczynsk 與 Sacchi 等人之方法⁽¹¹⁾。TGF- β_1 ，procollagen I、III 之 PCR primers 則根據 Wasser 等人之論文⁽¹²⁾。

參、結果

一、慢性餵食小柴胡湯高、低劑量 1 週對膽道結紮鼠之實驗：

【表一 顯示膽道結紮(CBDL)組與餵食小柴胡湯高、低劑量兩組 1 週之周邊及臟腑血流動力學參數之比較。】

(一) 空白溶媒組與小柴胡湯高劑量組之比較：

1. 周邊血流動力學結果：

給藥組之心輸出指數明顯降低(44.0 ± 2.6 mL/min/100g wt vs. 54.8 ± 2.8 mL/min/100 g wt)、平均動脈壓無顯著改變(89.4 ± 3.5 mmHg vs. 92.1 ± 3.6 mmHg)、周邊血管阻力無顯著改變(166.7 ± 11.0 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 135.3 ± 7.9 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)，而心跳(283.3 ± 7.6 b.p.m. vs. 324.3 ± 9.7 b.p.m.)則明顯降低。

2. 臟腑血流動力結果：

給藥組之門脈壓明顯降低(15.8 ± 0.5 mmHg vs. 18.9 ± 0.9 mmHg)，而門脈系統血液灌流量(3.2 ± 0.3 mL/min/100g body wt vs. 3.9 ± 0.3 mL/min/100 g body wt)、門脈系統血管阻力(2053 ± 279 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 1542 ± 106 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)、肝動脈灌流量(1.3 ± 0.3 mL/min/100g body wt vs. 1.3 ± 0.2 mL/min/100 g body wt)、肝側枝血管阻力(428.7 ± 42.5 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 409.2 ± 48.3 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)、腎臟血液灌流量(3.8 ± 0.4 mL/min/100g body wt vs. 4.7 ± 0.4 mL/min/100 g body wt)及腎臟血管阻力(2197 ± 216 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 1620 ± 101 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)則無顯著改變。

(二) 空白溶媒組與小柴胡湯低劑量組之比較：

1. 週邊血流動力結果：

給藥組之心輸出指數明顯降低(41.5 ± 3.0 mL/min/100g body wt vs. 54.8

± 2.8 mL/min/100 g body wt)、平均動脈壓無顯著改變(90.6 ± 4.6 mmHg vs. 92.1 ± 3.6 mmHg)、周邊血管阻力明顯增加(182.3 ± 15.6 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 135.3 ± 7.9 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt), 而心跳(288.8 ± 5.2 b.p.m. vs. 324.3 ± 9.7 b.p.m.)則明顯降低。

2. 臟腑血流動力結果：

給藥組之門脈壓明顯降低(16.0 ± 0.8 mmHg vs. 18.9 ± 0.9 mmHg), 而門脈系統血液灌流量(3.1 ± 0.3 mL/min/100g body wt vs. 3.9 ± 0.3 mL/min/100 g body wt)、門脈系統血管阻力(2034 ± 203 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 1542 ± 106 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)、肝動脈灌流量(1.5 ± 0.2 mL/min/100g body wt vs. 1.3 ± 0.2 mL/min/100 g body wt)、肝側枝血管阻力(430.6 ± 39.5 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 409.2 ± 48.3 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)、腎臟血液灌流量(3.5 ± 0.5 mL/min/100g body wt vs. 4.7 ± 0.4 mL/min/100 g body wt)及腎臟血管阻力(2649 ± 593 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 1620 ± 101 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)則無顯著改變。

(三) 小柴胡湯高劑量組與小柴胡湯低劑量組之比較：

1. 週邊血流動力結果：

兩給藥組間之心輸出指數(44.0 ± 2.6 mL/min/100g wt vs. 41.5 ± 3.0 mL/min/100 g wt)、平均動脈壓(89.4 ± 3.5 mmHg vs. 90.6 ± 4.6 mmHg)、周邊

血管阻力($166.7 \pm 11.0 \text{ dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^5 \times 10^3 / 100 \text{ g body wt vs. } 182.3 \pm 15.6 \text{ dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^5 \times 10^3 / 100 \text{ g body wt}$)、心跳($283.3 \pm 7.6 \text{ b.p.m. vs. } 288.8 \pm 5.2 \text{ b.p.m.}$)均無顯著差異。

2. 臟腑血流動力結果：

給藥組之門脈壓($15.8 \pm 0.5 \text{ mmHg vs. } 16.0 \pm 0.8 \text{ mmHg}$)、門脈系統血液灌流量($3.2 \pm 0.3 \text{ mL/min/100g body wt vs. } 3.9 \pm 0.3 \text{ mL/min/100 g body wt}$)、門脈系統血管阻力($2053 \pm 279 \text{ dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^5 \times 10^3 / 100 \text{ g body wt vs. } 2034 \pm 203 \text{ dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^5 \times 10^3 / 100 \text{ g body wt}$)、肝動脈灌流量($1.3 \pm 0.3 \text{ mL/min/100g body wt vs. } 1.5 \pm 0.2 \text{ mL/min/100 g body wt}$)、肝側枝血管阻力($428.7 \pm 42.5 \text{ dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^5 \times 10^3 / 100 \text{ g body wt vs. } 430.6 \pm 39.5 \text{ dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^5 \times 10^3 / 100 \text{ g body wt}$)、腎臟血液灌流量($3.8 \pm 0.4 \text{ mL/min/100g body wt vs. } 3.5 \pm 0.5 \text{ mL/min/100 g body wt}$)及腎臟血管阻力($2197 \pm 216 \text{ dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^5 \times 10^3 / 100 \text{ g body wt vs. } 2649 \pm 593 \text{ dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^5 \times 10^3 / 100 \text{ g body wt}$)均無顯著差異。

二、慢性餵食小柴胡湯低劑量組 4 週對膽道結紮鼠之實驗：

【表二 顯示膽道結紮(CBDL)組與 4 週餵食小柴胡低劑量組及假手術組之周邊及臟腑血流動力學參數之比較。】

(一) 膽道結紮鼠組與假手術組之比較：

1. 週邊血流動力結果：

膽道結紮鼠組之心輸出指數明顯升高($53.4 \pm 2.8 \text{ mL/min/100g wt vs. } 27.7 \pm 2.0 \text{ mL/min/100 g wt}$)、平均動脈壓明顯降低($92.5 \pm 3.1 \text{ mmHg vs. } 111.3$)

± 2.6 mmHg)、周邊血管阻力明顯降低(140.4 ± 8.5 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 333.6 ± 26.3 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt), 而心跳(318.8 ± 10.1 b.p.m. vs. 313.8 ± 7.1 b.p.m.)則無顯著改變。

2. 臟腑血流動力結果：

膽道結紮鼠組之門脈壓明顯升高(19.6 ± 1.0 mmHg vs. 8.1 ± 0.5 mmHg)、而門脈系統血液灌流量(3.8 ± 0.2 mL/min/100g body wt vs. 1.7 ± 0.1 mL/min/100 g body wt)、肝動脈灌流量(1.3 ± 0.2 mL/min/100g body wt vs. 0.6 ± 0.1 mL/min/100 g body wt)、腎臟血液灌流量(4.7 ± 0.3 mL/min/100g body wt vs. 2.1 ± 0.2 mL/min/100 g body wt)明顯上升，而門脈系統血管阻力(1578 ± 99 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 5027 ± 293 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)及腎臟血管阻力(1623 ± 88 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 4607 ± 445 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)則有顯著下降。肝側枝血管阻力(437.7 ± 50.6 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 405.1 ± 44.1 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)無顯著變化。

(二) 小柴胡湯低劑量 4 週治療組與膽道結紮鼠組之比較：

1. 週邊血流動力結果：

小柴胡湯給藥組之心輸出指數明顯降低(37.7 ± 2.7 mL/min/100g wt vs. 53.4 ± 2.8 mL/min/100 g wt)、平均動脈壓無顯著改變(85.0 ± 2.3 mmHg vs. 92.5 ± 3.1 mmHg)、周邊血管阻力明顯增加(187.9 ± 11.5 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 140.4 ± 8.5 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt), 而心跳(300.0 ± 9.4

b.p.m. vs. 318.8 ± 10.1 b.p.m.)則無顯著改變。

2. 臟腑血流動力結果：

小柴胡湯給藥組之門脈壓明顯降低(14.0 ± 0.4 mmHg vs. 19.6 ± 1.0 mmHg)、門脈系統血液灌流量明顯降低(2.7 ± 0.2 mL/min/100g body wt vs. 3.8 ± 0.2 mL/min/100 g body wt)、門脈系統血管阻力明顯增加(2204 ± 167 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 1578 ± 99 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)、而肝動脈灌流量(1.5 ± 0.1 mL/min/100g body wt vs. 1.3 ± 0.2 mL/min/100 g body wt)、肝側枝血管阻力(438.4 ± 39.5 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 437.7 ± 50.6 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)、腎臟血液灌流量(3.6 ± 0.6 mL/min/100g body wt vs. 4.7 ± 0.3 mL/min/100 g body wt)及腎臟血管阻力 (2285 ± 290 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 1623 ± 88 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)則無顯著改變。

(三) 小柴胡湯低劑量 4 週治療組與假手術組之比較：

1. 週邊血流動力結果：

給藥組之心輸出指數仍偏高(37.7 ± 2.7 mL/min/100g wt vs. 27.7 ± 2.0 mL/min/100 g wt)、平均動脈壓(85.0 ± 2.3 mmHg vs. 111.3 ± 2.6 mmHg)、周邊血管阻力(187.9 ± 11.5 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 333.6 ± 26.3 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)仍偏低,心跳(300.0 ± 9.4 b.p.m. vs. 313.8 ± 7.1 b.p.m.)無顯著差異。

2. 臟腑血流動力結果：

給藥組之門脈壓 (14.0 ± 0.4 mmHg vs. 8.1 ± 0.5 mmHg)、門脈系統血液灌流量(2.7 ± 0.2 mL/min/100g body wt vs. 1.7 ± 0.1 mL/min/100 g body wt)、肝動脈灌流量(1.5 ± 0.1 mL/min/100g body wt vs. 0.6 ± 0.1 mL/min/100 g body wt)、腎臟血液灌流量(3.6 ± 0.6 mL/min/100g body wt vs. 2.1 ± 0.2 mL/min/100 g body wt)仍偏高，而門脈系統血管阻力(2204 ± 167 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 5027 ± 293 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)及腎臟血管阻力(2286 ± 290 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 4607 ± 445 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)仍較低，肝側枝血管阻力(438.4 ± 39.5 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 405.1 ± 44.1 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)則無顯著差異。

三、慢性餵食 Silymarin 4 週對膽道結紮鼠之實驗：

【表三 顯示膽道結紮(CBDL)組與4週餵食 Silymarin (30 mg/kg; 100 mg/kg)之周邊及臟腑血流動力學參數之比較。】

(一) Silymarin (30 mg/kg)組與空白溶媒組之比較：

1. 週邊血流動力結果：

給藥組之心輸出指數明顯降低(40.7 ± 2.5 mL/min/100g wt vs. 54.5 ± 3.2 mL/min/100 g wt)、平均動脈壓無顯著改變(96.1 ± 4.2 mmHg vs. 95.0 ± 2.5 mmHg)、周邊血管阻力明顯升高(198.1 ± 12.0 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 141.9 ± 9.0 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)，而心跳(320.0 ± 13.8 b.p.m. vs.

311.3 ± 9.5 b.p.m.)則無顯著改變。

2. 臟腑血流動力結果：

給藥組之門脈壓明顯降低(15.4 ± 0.5 mmHg vs. 18.3 ± 1.0 mmHg)、而門脈系統血液灌流量(4.1 ± 0.1 mL/min/100g body wt vs. 3.9 ± 0.3 mL/min/100 g body wt)、肝動脈灌流量(1.2 ± 0.2 mL/min/100g body wt vs. 1.5 ± 0.2 mL/min/100 g body wt)、腎臟血液灌流量(6.3 ± 0.6 mL/min/100g body wt vs. 4.6 ± 0.4 mL/min/100 g body wt)、門脈系統血管阻力(1658 ± 111 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 1616 ± 137 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)、腎臟血管阻力(1312 ± 132 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 1728 ± 167 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)、肝側枝血管阻力(292.9 ± 13.8 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 389.3 ± 41.9 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)則無顯著變化。

(二) Silymarin (100 mg/kg)組與空白溶媒組之比較：

1. 週邊血流動力結果：

給藥組之心輸出指數明顯降低(36.4 ± 3.1 mL/min/100g wt vs. 54.5 ± 3.2 mL/min/100 g wt)、平均動脈壓無顯著改變(93.3 ± 3.4 mmHg vs. 95.0 ± 2.5 mmHg)、周邊血管阻力明顯增加(214.3 ± 15.3 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 141.9 ± 8.9 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)、而心跳(314.4 ± 13.8 b.p.m. vs. 311.3 ± 9.5 b.p.m.)則無顯著改變。

2. 臟腑血流動力結果：

給藥組之門脈壓明顯降低(14.7 ± 0.5 mmHg vs. 18.3 ± 1.0 mmHg)、門脈系統血液灌流量明顯降低(3.1 ± 0.3 mL/min/100g body wt vs. 3.9 ± 0.3 mL/min/100 g body wt)、門脈系統血管阻力明顯增加(2130 ± 172 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 1616 ± 137 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)、而肝動脈灌流量(1.2 ± 0.2 mL/min/100g body wt vs. 1.5 ± 0.2 mL/min/100 g body wt)、肝側枝血管阻力(410.3 ± 49.8 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 389.3 ± 41.9 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)、腎臟血液灌流量(6.2 ± 0.6 mL/min/100g body wt vs. 4.6 ± 0.4 mL/min/100 g body wt)及腎臟血管阻力(1275 ± 100 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 1728 ± 167 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)則無顯著改變。

(三) Silymarin (30 mg/kg)組與 Silymarin (100 mg/kg)組之比較：

1. 週邊血流動力結果：

兩給藥組間之心輸出指數(36.4 ± 3.1 mL/min/100g wt vs. 40.7 ± 2.5 mL/min/100 g wt)、平均動脈壓 (93.3 ± 3.4 mmHg vs. 96.1 ± 4.2 mmHg)、週邊血管阻力 (214.3 ± 15.3 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 198.1 ± 12.0 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)、心跳(314.4 ± 13.8 b.p.m. vs. 320.0 ± 13.8 b.p.m.)則無顯著差異。

2. 臟腑血流動力結果：

除了 Silymarin (100 mg/kg) 之門脈系統血液灌流量 (3.1 ± 0.3 mL/min/100g body wt vs. 4.1 ± 0.1 mL/min/100 g body wt) 顯著較低，而門脈系統血管阻力 (2130 ± 172 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 1658 ± 111 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt) 明顯較高之外，門脈壓 (14.7 ± 0.5 mmHg vs. 8.1 ± 0.5 mmHg)、肝動脈灌流量 (1.2 ± 0.2 mL/min/100g body wt vs. 1.2 ± 0.2 mL/min/100 g body wt)、腎臟血液灌流量 (6.2 ± 0.6 mL/min/100g body wt vs. 6.3 ± 0.6 mL/min/100 g body wt)、腎臟血管阻力 (1275 ± 100 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 1312 ± 132 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)、肝側枝血管阻力 (410.3 ± 49.8 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 292.9 ± 13.8 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt) 均無顯著差異。

四、慢性餵食 Propranolol 4 週對膽道結紮鼠之實驗：

【表四 顯示膽道結紮(CBDL)組與 4 週餵食 Propranolol (30 mg/kg) 之週邊及臟腑血流動力學參數之比較。】

(一) Propranolol 給藥組與空白溶媒組之比較：

1. 週邊血流動力結果：

給藥組之心輸出指數明顯降低 (33.9 ± 2.0 mL/min/100g wt vs. 53.6 ± 2.2 mL/min/100 g wt)、平均動脈壓無顯著改變 (97.1 ± 3.8 mmHg vs. 97.9 ± 3.3 mmHg)、周邊血管阻力明顯升高 (233.4 ± 15.9 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 143.9 ± 5.5 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)，而心跳 (272.9 ± 13.9 b.p.m. vs. 305.7 ± 10.7 b.p.m.) 則有下降的趨勢 ($P=0.08$)，但無統計的意義。

2. 臟腑血流動力結果：

給藥組之門脈壓明顯降低(15.2 ± 1.0 mmHg vs. 18.1 ± 0.8 mmHg)、門脈系統血管阻力(2182 ± 308 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 1535 ± 143 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)有上升的趨勢($P=0.08$)，但無統計的意義。body 而肝動脈灌流量(1.3 ± 0.2 mL/min/100g body wt vs. 1.8 ± 0.3 mL/min/100 g wt)、腎臟血液灌流量(6.2 ± 0.3 mL/min/100g body wt vs. 5.3 ± 0.7 mL/min/100 g body wt)、門脈系統血液灌流量(3.3 ± 0.4 mL/min/100g body wt vs. 4.3 ± 0.4 mL/min/100 g body wt)、腎臟血管阻力(1278 ± 91 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 1601 ± 219 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)、肝側枝血管阻力(392.9 ± 45.4 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt vs. 356.0 ± 34.2 dyn·sec·cm⁵×10³/100 g body wt)均無顯著變化。

肆、討論

一、慢性小柴胡湯對膽道結紮大白鼠之實驗：

近年來，小柴胡湯被廣泛的用來治療肝硬化及慢性肝炎，同時其治療肝臟疾病的分子機制仍在被廣泛地研究中。但對於慢性餵食小柴胡湯後，對膽道結紮大白鼠所產生的高血流動力學的治療效果仍不得而知。因此，本實驗室先選擇以小柴胡湯高劑量(333 mg/kg)、小柴胡湯低劑量(111 mg/kg)為餵食劑量，於膽道結紮大白鼠術後二十一天後給予七天的治療。另外，再以小柴胡湯低劑量作為膽道結紮大白鼠術後連續 4 週的慢性餵食，試圖

瞭解小柴胡湯對於肝硬化併發門脈高壓的動物模型其慢性的預防及治療的療效，並進而探討其血流動力學的變化。

在慢性給予小柴胡湯高劑量(333 mg/kg)治療後，發現其可降低膽道結紮大白鼠的心輸出量約 19.7%，使門脈壓下降約 15.3%，也導致心跳降低約 10.9%，週邊血管阻力上升約 34.7%，至於臟腑血流的部分則未見其有改善的現象。

因此，於慢性給予小柴胡湯治療 1 週之後，我們發現小柴胡湯不論是在高劑量小柴胡湯或低劑量小柴胡湯，對於膽道結紮大白鼠所形成高血流動力狀態的治療效果僅侷限在門脈壓力及心輸出指數的改善，而在臟腑血流方面並無明顯效應。另外，在週邊血管阻力的部分，小柴胡湯高劑量組無明顯變化而小柴胡湯低劑量組卻有，不過兩組間並無差異，這可能是由於統計的取樣數量太少所造成的現象。由以上結果，我們認為利用膽道結紮大白鼠所形成高血流動力狀態來研究中草藥的效果，只有 1 週的餵食可能觀察不到明顯且有意義的變化，所以我們接下來使用小柴胡湯低劑量的劑量來作為術後連續 4 週的藥物治療模式。

膽道結紮大白鼠的高血流動力現象較假手術大白鼠為：心輸出指數增多約 92.8%，平均動脈壓降低約 16.9%，周邊血管阻力下降約 57.9%，門脈壓上升約 142.7%，門脈系統的血液灌流量增加約 122.5%，門脈系統的血管阻力下降約 68.6%，肝動脈的血液灌流量增加約 122.5%，腎臟的血液灌流量

增加約 126.2%，腎臟的血管阻力下降約 64.8%。在慢性給予小柴胡湯低劑量治療 4 週後，可降低膽道結紮大白鼠的心輸出量約 29.4%，增加其周邊的血管阻力約 33.8%，使門脈壓下降約 28.7%，使門脈系統的血液灌流量降低約 27.4%，增加其門脈系統的血管阻力約 39.7%，至於肝側枝的血管阻力、肝側枝的血液灌流量、腎臟的血管阻力與腎臟的血液灌流量皆無明顯的改變。

另外，給藥組與假手術組的比較，心輸出量增多約 36.1%，平均動脈壓降低約 23.6%，周邊血管阻力下降約 43.6%，門脈壓上升約 73.1%，門脈系統的血液灌流量增加約 61.5%，門脈系統的血管阻力下降約 56.1%，肝動脈的血液灌流量增加約 142.5%，腎臟的血液灌流量增加約 74.8%，腎臟的血管阻力下降約 50.4%。

由以上結果可知，慢性餵食小柴胡湯 4 週對於膽道結紮大白鼠的週邊血管擴張及高臟腑血流的病態現象具有明顯改善的效果。但與假手術組之比較也顯示，慢性餵食小柴胡湯 4 週仍無法完全避免肝硬化所導致高血流動力的產生。另一方面，1 週與 4 週結果的差異也顯示，慢性餵食小柴胡湯 4 週所顯示的預防的效果也遠比餵食 1 週所代表的治療效果要來的更好，在這一點與一般肝硬化藥物的治療模式相當接近，似乎暗示小柴胡湯也許是透過延緩肝硬化的發生進程來達到改善高血流動力的效果。

由 Sakaida 等研究室所發表的小柴胡湯對於由 choline 缺乏所引發的肝硬

化動物模型，有改善的情形，最主要是透過抑制星狀細胞的活化。小柴胡湯也有抑制膠原蛋白產生及增加肝中維生素 A(retinoid)的含量。Shimizu 等人也發表，小柴胡湯的抗肝硬化及抗腫瘤的效果是透過抑制肝細胞及星狀細胞的脂質過氧化來達成的。肝硬化形成過程中包含肝中阻力的增加及週邊血管阻力的減少都是造成高血流動力現象的原因。所以高血流動力現象是肝硬化重要的症狀之一。肝硬化的形成過程與高血流動力狀態的產生有關，所以透過本實驗可以得知，小柴胡湯對於肝硬化所導致的高血流動力現象有改善的現象，而其改善的機制可能與改善肝硬化情形有關，更明確的相關性則須進一步的實驗來證明。

本實驗室以往對於肝硬化或門脈高壓的急、慢性治療研究，已經有相當多的文章發表在國際的期刊上。在藥物的選擇上，大多使用血管作用藥物來探討其對高血流動力狀態的改善情況：中藥純化物 tetrandrine、tetramethylpyrazine，及西藥 propranolol、DL-028、octreotide 或是其合併療法等。由以往本研究室的研究成果顯示，血管擴張劑如 tetrandrine、tetramethylpyrazine 等或血管收縮劑如 terlipressin 等對門靜脈結紮或膽道結紮的大白鼠所造成的高血流動力狀態都有明顯改善的效果。至於小柴胡湯是否有血管作用的活性目前仍無任何報導可以說明，所以針對小柴胡湯是否對於血管作用的活性有影響，仍有待更詳細的實驗來作解答。

肝硬化的過程是緩慢而複雜的，目前有許多動物模型用以研究肝硬化的

進程與藥物治療，但是截至目前為止，仍沒有一個模型能有效對應出人類肝臟硬化的情形。中草藥對於肝硬化的改善情況也可能是緩慢進行的，所以在本實驗受限於膽道結紮鼠在飼養後期會出現死亡率增加的情形，而無法做更長期的藥物治療的觀察。也許透過一個更適合的動物模式能提供中草藥對於肝硬化及門脈高壓有更明確療效的證據。

藉由以上兩個抗肝纖維化的藥物：小柴胡湯及 silymarin 對於膽道結紮大白鼠所形成高血流動力狀態的實驗結作一個比較，雖然在來源及劑量上略有不同，但就從血流動力學的觀點上來看，小柴胡湯的效果並不比 silymarin 來的差，但是就藥物的價格來評量，小柴胡湯明顯較 silymarin 來得經濟許多，所以透過這個實驗除了證明藥物療效外，也能提供一個更經濟的藥物治療模式。

另一方面，根據我們的實驗結果也提出一個建議，在使用肝硬化所導致的門脈高壓及高血流動力狀態的實驗來研究抗肝纖維化的藥物，長期與高劑量的投予藥物治療可能是必須的。

二、慢性 silymarin 對膽道結紮大白鼠之實驗：

silymarin 在臨床用來治療慢性肝病及肝硬化，但對於慢性餵食 silymarin 後，對膽道結紮大白鼠所產生的高血流動力學的治療效果仍不得而知。因此，本實驗室選擇以 silymarin 為西方草藥的對照組。餵食劑量的部分是用 30 mg/kg 及 100 mg/kg，於膽道結紮大白鼠術後第一天直接給予連續 4 週的

慢性餵食。試圖瞭解 silymarin 對於肝硬化併發門脈高壓的動物模型其慢性的預防及治療的療效，並進而探討其血流動力學的變化。

在慢性給予 silymarin (100 mg/kg)治療後，發現其可降低膽道結紮大白鼠的心輸出量約 33.2%，使門脈壓下降約 19.7%，也導致周邊血管阻力增加約 51.0%，另一方面使門脈系統的血液灌流量降低約 19.7%，增加其門脈系統的血管阻力約 31.8%，至於肝側枝的血管阻力、肝側枝的血液灌流量、腎臟的血管阻力與腎臟的血液灌流量皆無明顯的改變。

在兩組給藥組之間，silymarin (100 mg/kg)在改善臟腑血流的部分與 silymarin (30 mg/kg)相比，門脈系統的血液灌流量降低約 23.2%，增加其門脈系統的血管阻力約 28.4%，由此可知 silymarin 在高劑量下對整個肝硬化所導致的高血動力狀態有更好的治療結果。

根據實驗結果，我們發現 silymarin (30 mg/kg)及(100 mg/kg)，對於膽道結紮大白鼠所形成高血流動力狀態的治療效果也侷限在門脈壓力及心輸出指數的改善。而在臟腑血流方面，高劑量的 silymarin 有較明顯的改善。另外，在週邊血管阻力的部分，兩組均有增加現象。由以上結果，我們認為 silymarin 對週邊血管的血流動力有較好的效果。同時也必須使用較高的劑量才能觀察到比較明顯的變化。

德國學者 Boigk 等人也曾發表有關 silymarin 的報告。他們指出利用 complete bile duct obliteration (CBO)加上注射 amidotrizoate 的動物模型中，

silymarin 在 50 mg/kg/day 的劑量下對 hydroxyproline , aminoterminal propeptide of procollage type III 與肝組織切片的部分都有較 25 mg/kg/day 明顯改善的效果。顯示預防或治療肝硬化的藥物似乎在高劑量的效應比低劑量要來的更好，這與我們的發現有相似的地方。

脂質過氧化被認為在肝臟傷害的形成與肝纖維化的發展中扮演一個重要的角色。在人類酒精性肝炎的形成，脂質過氧化也是一個重要的步驟。膽道結紮的動物模型中，血中膽酸的濃度與脂質過氧化程度的增加也伴隨著內生性抗氧化因子的缺少。雖然脂質過氧化並不是肝臟傷害的唯一原因，但目前已經有許多抗脂質過氧化的藥物如 N-acetylcysteine、selenium/vitamin E 及中藥丹參、小柴胡湯等等對肝纖維化的發生具有治療的效果。而抗脂質過氧化的藥物也曾有報告指出可用來治療門脈高壓，lipoic acid 是一個硫醇類的抗氧化劑，其可以降低膽道結紮所造成的高血流動力的現象。Silymarin 其活性成分 silibinin 也被認為是具有抗脂質過氧化效果的藥物，其對於肝纖維化也具有改善的作用。所以我們也想探討 silymarin 是否也具有治療門脈高壓、降低高血流動力的能力。根據實驗結果，我們發現 silymarin 在 30 mg/kg 及 100 mg/kg 的劑量下，對於膽道結紮大白鼠所形成高血流動力狀態都有改善的效果。由此也許可以推論，silymarin 是藉由其對肝硬化的治療效果，來達到改善高血流動力狀態的結果。

由以上實驗我們得知，藉由膽道結紮大白鼠所形成高血流動力狀態來評

估抗肝硬化藥物的療效是可行的。所以我們想進一步對於中醫傳統方劑中，曾被報導對肝硬化有療效的藥物，來研究其對肝硬化所造成的高血流動力狀態是否也有改善的能力。

三、慢性 propranolol 對膽道結紮大白鼠之實驗：

在慢性給予 propranolol (30 mg/kg) 治療 4 週後，可降低膽道結紮大白鼠的心輸出指數約 36.8%，增加其周邊血管阻力約 89.6%，使門脈壓下降約 16.0%，有增加其門脈系統的血管阻力約 42.1% 的趨勢 ($p = 0.08$)，心跳也有降低約 10.7% 的趨勢 ($p = 0.08$)，至於肝側枝的血管阻力、肝側枝的血液灌流量、腎臟的血管阻力與腎臟的血液灌流量皆無明顯的改變。

由以上實驗結果得知，propranolol 的對慢性膽道結紮大白鼠效果在增加週邊血管阻力及降低門脈壓與心輸出指數的效果非常明顯，但是對於心跳及門脈系統血管阻力的部分只能見到部分的趨勢。這可能是由於取樣數量仍有不足 ($n = 9$) 所引起的統計學上的誤差所造成的。如將取樣數量再增加，可能就能得到更明確的結果。

之前研究報告顯示，利用苯巴比妥鹽作為實驗的麻醉劑，會造成慢性膽道結紮大白鼠高血流動力狀態的改變。1991 年 Sikuler 等學者研究指出，雖然麻醉狀態下的血流動力循環與清醒狀態下的血流動力循環會有不同，但當使用 ^{57}Co -labelled microspheres 的技術來探討肝硬化及門脈高壓大白鼠血流動力狀態時，使用克太拉(ketamine)麻醉是較好的方式。此外，體溫的變

化也是影響血流動力狀態的重要因素之一，所以整個實驗的過程均使用加熱板來維持動物體溫的恆定(35.5 ± 1 °C)，期能將影響因素控制到最小。

而在動物模型的部分，膽道結紮模型是肝硬化併有門脈高壓的病態現象。主要是將膽管兩端結紮後由中間切斷，使得膽汁鬱滯，最後因膽汁鬱滯性肝炎肝硬化等疾病損壞肝臟而造成門脈高壓。其誘導門脈高壓時間約三至五星期，在誘導過程中，以維生素 K₁ (coagulation promoting factor) 50µg/kg 肌肉注射，以解決膽道結紮大白鼠因肝臟損傷使凝血因子缺乏，造成死亡率過高的缺點，使實驗能穩定進行。此模式的重大優點在於其病態現象類似於人類，藉此，將可更進一步的瞭解藥物於臨床的可行性。

Propranolol 在本實驗中是用來作為西方用藥的對照組，其用以治療門脈高壓已經有相當悠久的歷史了。Propranolol 早期使用可預防門脈分流的發展並降低門脈壓力。臨床的報告顯示，在肝硬化病人服用 propranolol 可顯著延長首度食道靜脈瘤出血的發生及再復發，因此 propranolol 一直是門脈高壓的常用藥物。但是由於側枝循環阻力的上升或 alpha-receptor mediated 血管收縮作用，大約有 25-30% 的病人對 propranolol 沒有反應，因此，propranolol 常與其他藥物並用。

在此之前並無 propranolol 對膽道結紮大白鼠所造成高血流動力學的效應研究，根據我們的實驗結果證明長期投予 propranolol 對膽道結紮大白鼠的異常血流動力病理現象也有部分改善的效果。

四、各組之血清生化分析、組織切片、肝細胞氧消耗率、MDA、粒線體功能，及 RT-PCR 尚未完成，正進行中。另外小柴胡湯（高低劑量）與 silymarin 之療效相當。

伍、結論

一、於 propranolol 30 mg/kg/day 的劑量之下，以慢性口服 4 週治療膽管結紮大白鼠所引發的門脈高壓，是有部份改善其因肝硬化所導致高血流動力狀態之結果。

二、給予 silymarin (30 mg/kg 或 100 mg/kg bid.) 的劑量之下，以慢性口服 4 週治療膽道結紮大白鼠所引發的門脈高壓，是有部份改善其因肝硬化所導致高血流動力狀態之現象。

三、以口服小柴胡湯高、低劑量(333 或 111 mg/kg bid.) 1 週及低劑量(111 mg/kg bid.) 4 週慢性治療膽道結紮大白鼠所引發的門脈高壓，是有部份改善其因肝硬化所導致高血流動力狀態之結果。

四、各組之血清生化分析、組織切片、肝細胞氧消耗率、MDA、粒線體功能，及 RT-PCR 尚未完成，正進行中。另外小柴胡湯（高低劑量）與 silymarin 之療效相當。

陸、參考文獻

1. Chen DS. Natural history of chronic hepatitis B virus infection: New light on

- an old story. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 1993; 8: 470-475.
2. Olaso E, Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrogenesis. *J. Hepatol.* 1998; 29: 836-847.
 3. Schuppan D, Jia J-D, Brinkhaus B, Hahn EG. Herbal products for liver diseases: a therapeutic challenge for the next millennium. *Hepatology* 1999; 30: 1099-1104.
 4. 衛生署中醫藥委員會: 研商辦理「常用中藥肝病處方進行肝炎之體外試驗研究計劃相關事項」會議資料,臺灣,臺北,2000年1月31日。
 5. Tsukamoto H, Matsuoka M, French SW. Experimental models of hepatic fibrosis: a review. *Semin. Liver Dis.* 1990; 10: 56-65.
 6. Huang YT, Chang FC, Chen KJ, Hong CY. Acute hemodynamic effects of tetramethylpyrazine and tetrandrine on cirrhotic rats. *Planta Med.* 1999;65:130-134.
 7. Chang F-C, Huang Y-T, Hong C-Y, Lin J-G, Chen K-J. Haemodynamic effects of chronic tetramethylpyrazine administration on portal hypertensive rats. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 1999; 11:1027-1031.
 8. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994; 19:1513-1520.
 9. Krahenbuhl S, Talos C, Fischer S, Reichen J. Toxicity of bile acids on the electron transport chain of isolated rat liver mitochondria. *Hepatology* 1994; 19: 471-479.
 10. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 1979; 95: 351-358.
 11. Chomczynski, P. and Sacchi, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 1987;102: 156-159.
 12. Wasser S, Ho JM, Ang HK, Tan CE. *Salvia miltiorrhiza* reduces experimentally-induced hepatic fibrosis in rats. *J. Hepatol.* 1998; 29:760-771

柒、圖表

表一、顯示膽道結紮(CBDL)組與餵食小柴胡湯高、低劑量兩組一週之周邊及臟腑血流動力學參數之比較

	Vehicle	XCHT-high-dose (333 mg/kg)	XCHT-low-dose (111 mg/kg)
Number of rats	7	9	8
BW (g)	336.4 ± 13.9	315.6 ± 8.3	306.3 ± 9.5
MAP (mmHg)	92.1 ± 3.6	89.4 ± 3.5	90.6 ± 4.6
HR (b.p.m.)	324.3 ± 9.7	283.3 ± 7.6 [#]	288.8 ± 5.2 [#]
CI (mL/min/100 g body wt)	54.8 ± 2.8	44.0 ± 2.6 [#]	41.5 ± 3.0 [#]
SVR (dyn·sec·cm ⁵ ·10 ³ /100 g body wt)	135.3 ± 7.9	166.7 ± 11.0	182.3 ± 15.6 [#]
PVP (mmHg)	18.9 ± 0.9	15.8 ± 0.5 [#]	16.0 ± 0.8 [#]
PTBF (mL/min/100 g body wt)	3.9 ± 0.3	3.2 ± 0.3	3.1 ± 0.3
PTVR (dyn·sec·cm ⁵ ·10 ³ /100 g body wt)	1542 ± 106	2053 ± 279	2034 ± 203
HABF (mL/min/100 g body wt)	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.3	1.5 ± 0.2
HCVR (dyn·sec·cm ⁵ ·10 ³ /100 g body wt)	409.2 ± 48.3	428.7 ± 42.5	430.6 ± 39.5
RBF (mL/min/100 g body wt)	4.7 ± 0.4	3.8 ± 0.4	3.5 ± 0.5
RVR (dyn·sec·cm ⁵ ·10 ³ /100 g body wt)	1620 ± 101	2197 ± 216	2649 ± 593

Data expressed as mean ± S.E.M.

[#] *P* < 0.05 vs. Vehicle group

表二、顯示膽道結紮(CBDL)組與四週餵食小柴胡低劑量組及假手術組之周邊及臟腑血流動力學參數之比較

	Sham		CBDL	
	Vehicle		Vehicle	XCHT-low-dose (111 mg/kg) 4-weeks
Number of rats	8		8	11
BW (g)	315.0 ± 7.7		334.4 ± 12.2	306.4 ± 10.6
MAP (mmHg)	111.3 ± 2.6		92.5 ± 3.1 [#]	85.0 ± 2.3 [#]
HR (b.p.m.)	313.8 ± 7.1		318.8 ± 10.1	300.0 ± 9.4
CI (mL/min/100 g body wt)	27.7 ± 2.0		53.4 ± 2.8 [#]	37.7 ± 2.7 ^{**}
SVR (dyn·sec·cm ⁵ ·10 ³ /100 g body wt)	333.6 ± 26.3		140.4 ± 8.5 [#]	187.9 ± 11.5 ^{**}
PVP (mmHg)	8.1 ± 0.5		19.6 ± 1.0 [#]	14.0 ± 0.4 ^{**}
PTBF (mL/min/100 g body wt)	1.7 ± 0.1		3.8 ± 0.2 [#]	2.7 ± 0.2 ^{**}
PTVR (dyn·sec·cm ⁵ ·10 ³ /100 g body wt)	5027 ± 293		1578 ± 99 [#]	2204 ± 167 ^{**}
HABF (mL/min/100 g body wt)	0.6 ± 0.1		1.3 ± 0.2 [#]	1.5 ± 0.1 [#]
HCVR (dyn·sec·cm ⁵ ·10 ³ /100 g body wt)	405.1 ± 44.1		437.7 ± 50.6	438.4 ± 39.5
RBF (mL/min/100 g body wt)	2.1 ± 0.2		4.7 ± 0.3 [#]	3.6 ± 0.6 [#]
RVR (dyn·sec·cm ⁵ ·10 ³ /100 g body wt)	4607 ± 445		1623 ± 88 [#]	2285 ± 290 [#]

Data expressed as mean ± S.E.M.

[#] *P* < 0.05 vs. Sham-vehicle group

* *P* < 0.05 vs. CBDL-vehicle group

表三、顯示膽道結紮(CBDL)組與四週餵食 Silymarin (30 mg/kg; 100 mg/kg)之周邊及臟腑血流動力學參數之比較

	Vehicle	Silymarin (30 mg/kg)	Silymarin (100 mg/kg)
Number of rats	8	9	9
BW (g)	320.0 ± 12.2	316.7 ± 15.5	306.7 ± 12.1
MAP (mmHg)	95.0 ± 2.5	96.1 ± 4.2	93.3 ± 3.4
HR (b.p.m.)	311.3 ± 9.5	320.0 ± 13.8	314.4 ± 13.8
CI (mL/min/100 g body wt)	54.5 ± 3.2	40.7 ± 2.5 [#]	36.4 ± 3.1 [#]
SVR (dyn·sec·cm ⁵ ·10 ³ /100 g body wt)	141.9 ± 9.0	198.1 ± 12.0 [#]	214.3 ± 15.3 [#]
PVP (mmHg)	18.3 ± 1.0	15.4 ± 0.5 [#]	14.7 ± 0.5 [#]
PTBF (mL/min/100 g body wt)	3.9 ± 0.3	4.1 ± 0.1	3.1 ± 0.3 ^{**}
PTVR (dyn·sec·cm ⁵ ·10 ³ /100 g body wt)	1616 ± 137	1658 ± 111	2130 ± 172 ^{**}
HABF (mL/min/100 g body wt)	1.5 ± 0.2	1.2 ± 0.2	1.2 ± 0.2
HCVR (dyn·sec·cm ⁵ ·10 ³ /100 g body wt)	389.3 ± 41.9	292.9 ± 13.8	410.3 ± 49.85
RBF (mL/min/100 g body wt)	4.6 ± 0.4	6.3 ± 0.6	6.2 ± 0.6
RVR (dyn·sec·cm ⁵ ·10 ³ /100 g body wt)	1728 ± 167	1312 ± 132	1275 ± 100

Data expressed as mean ± S.E.M.

[#] *P* < 0.05 vs. Vehicle group

* *P* < 0.05 vs. Silymarin (30 mg/kg) group

表四、顯示膽道結紮(CBDL)組與四週餵食 Propranolol (30 mg/kg)之週邊及臟腑血流動力學參數之比較

	Vehicle	Propranolol (30 mg/kg)
Number of rats	8	9
BW (g)	302.1 ± 11.7	317.9 ± 14.1
MAP (mmHg)	97.9 ± 3.3	97.1 ± 3.8
HR (b.p.m.)	305.7 ± 10.7	272.9 ± 13.9
CI (mL/min/100 g body wt)	53.6 ± 2.2	33.9 ± 2.0 [#]
SVR (dyn·sec·cm ⁵ ·10 ³ /100 g body wt)	143.9 ± 5.5	233.4 ± 15.9 [#]
PVP (mmHg)	18.1 ± 0.8	15.2 ± 1.0 [#]
PTBF (mL/min/100 g body wt)	4.3 ± 0.4	3.3 ± 0.4
PTVR (dyn·sec·cm ⁵ ·10 ³ /100 g body wt)	1535 ± 143	2182 ± 308
HABF (mL/min/100 g body wt)	1.8 ± 0.3	1.3 ± 0.2
HCVR (dyn·sec·cm ⁵ ·10 ³ /100 g body wt)	356.0 ± 34.2	392.9 ± 45.4
RBF (mL/min/100 g body wt)	5.3 ± 0.7	6.2 ± 0.3
RVR (dyn·sec·cm ⁵ ·10 ³ /100 g body wt)	1601 ± 219	1278 ± 91

Data expressed as mean ± S.E.M.

[#] *P* < 0.05 vs. Vehicle group