

中药方剂研究

六味地黄汤防治肿瘤的实验研究

中医研究院中药研究所药理室肿瘤组

姜廷良 严述常 王素芬 武桂兰 冯桂文 李兰芳 李秀梅 沈建华

祖国医学认为,肿瘤是由正气先虚,留滞客邪,气滞血瘀,邪毒积聚成块所形成。《素问》指出:“正气存内,邪不可干。”《医宗必读·积聚篇》说:“积之成者,正气不足,而后邪气踞之。”恶性肿瘤形成以后,肿瘤能否在体内发展、扩散,决定于邪正相搏,孰胜孰负。邪气盛则实,正气夺则虚。肿瘤患者后期常呈阴、阳、气、血偏虚的见证,故祖国医学对体内肿块的处理,除了攻、削、散、除诸法以外,还重视用补法治疗。金元以来,即有“养正积除”之说。近年来,一些单位在临床实践中证实,扶正法治疗肿瘤确有一定效果。说明扶正祛邪治则在中西医结合治疗肿瘤中是值得进一步探讨的一个途径。

六味地黄汤(丸),系宋代钱乙制订的滋肝补肾方剂。全方六味,三补三泻,开阖兼顾,寒燥不偏。虽功专肾肝,而六经备治。宜于肾水不足、虚火上炎所致的诸证,是滋阴特别是滋肾阴的通用方,向为历代医家所重视。根据祖国医学理论,肾为先天之本,藏精、生髓、主骨、纳气、化水,在生理和病理生理中具有重要作用,也是扶正治疗的重要脏腑。为了探讨扶正在肿瘤发生、发展中的作用,我们选用该方,在动物肿瘤上作了一些实验观察。

实验动物用本院饲养的18~22克体重的昆明种或JCR系小鼠,喂固体饲料,5鼠一罐,自由取食。

所用六味地黄汤,按传统配伍,由熟地、山萸肉、山药、泽泻、丹皮、茯苓按8:4:4:3:3:3的重量比例,混合加水煎煮3次,每次1小时,合并滤液,水浴浓缩到每毫升含方药1克。4℃贮存。每鼠每天灌胃0.4毫升,相当于每公斤体重每天给生药15~20克,约为成人剂量的10~15倍。

一、对肿瘤的作用

1. 对亚硝胺诱发小鼠前胃鳞癌的影响:以N-亚硝基肌氨酸乙酯200毫克/公斤体重给雌性小鼠,腹腔注射,每周2次。200天后,对照组动物前胃鳞癌发

生率为57.1%(12/21只);六味地黄汤组动物前胃鳞癌发生率明显下降为16.7%(5/30只)($P<0.01$)⁽¹⁾。

2. 对氨基甲酸乙酯诱发肺腺瘤的影响:给小鼠以1毫克/公斤体重的氨基甲酸乙酯为诱瘤剂,腹腔注射120天后,对照组36只小鼠的肺腺瘤发生数为 6.6 ± 1.1 (均值±标准误,下同)个/只;六味地黄汤组38只小鼠的肺腺瘤发生率明显下降为 2.9 ± 0.5 个/只($P<0.01$)⁽²⁾。

3. 对荷瘤动物存活时间的作用:给小鼠接种移植性宫颈癌(U₁₄),对照组的半数死亡时间为33天,给予六味地黄汤能延长荷瘤动物的存活时间,半数死亡时间延长为45天⁽¹⁾。

4. 对瘤细胞内环磷酸腺苷含量的影响:以³H-cAMP和蛋白激酶竞争性结合法观察六味地黄汤对小鼠腹水型宫颈癌细胞内cAMP含量的变化。三次实验结果表明,给药后瘤细胞内cAMP含量均较对照组为高,含量升高百分率在30~90%之间,平均升高60%(表1)⁽³⁾。

表1 六味地黄汤对瘤细胞内cAMP含量的影响

	对照组 [△] 均值±标准误 (动物数)	给药组 [△] 均值±标准误 (动物数)	升高 百分率 (%)
实验1	$1.48\pm 0.33(12)$	$1.92\pm 0.58(12)$	29.7
实验2	$4.50\pm 0.50(17)$	$7.17\pm 1.30(15)^*$	59.3
实验3	$1.34\pm 0.09(20)$	$2.56\pm 0.26(15)^{**}$	91.0

[△] 表内数据单位为微微克分子(PMol)/10⁶个瘤细胞。

* 与对照组比 $P\approx 0.05$; ** 与对照组比 $P<0.001$

5. 对瘤细胞核酸含量的影响:用Schmidt-Thannhauser-Schnecher法定瘤组织的脱氧核糖核酸(DNA)和核糖核酸(RNA)含量,发现六味地黄汤组连续给药14天的荷瘤动物瘤组织的核酸含量与对照组基本相同。六味地黄汤并不干扰肿瘤组织的核酸含

量(表2)⁽⁴⁾。

表 2 六味地黄汤对小鼠宫颈癌组织核酸含量影响

		对 照 组 (微克/100毫克湿重)	给 药 组 (微克/100毫克湿重)
实验1	RNA	685.3±32.0 (6)	884.6±31.0 (6)
	DNA	743.0±69.2 (6)	859.3±48.1 (6)
实验2	RNA	752.5±29.5 (9)	710.7±42.8 (7)
	DNA	797.4±79.4 (9)	646.1±92.6 (7)
实验3	RNA	899.5±46.3 (8)	938.8±38.5 (8)
	DNA	896.6±46.4 (8)	868.4±62.8 (8)

注:表内数字为均值±标准误(动物数)以下诸表同

6. 对移植性肿瘤的生长和肺转移瘤形成的影响:重复试验表明,本方并不影响小鼠移植性宫颈癌(U₁₄)的生长曲线以及静脉接种U₁₄后的肺转移瘤形成⁽¹⁾。

祖国医学“扶正”中的“正”,是人们长期以来从机体同疾病作斗争中提炼出来的一种概念。可以认为,凡是有助于机体生理功能平衡稳定,有利于维护健康的一切因素和能力,皆属正气。六味地黄汤并不影响动物移植性肿瘤的生长和瘤细胞内的核酸含量,对恶性程度高、生长速度快的瘤株无直接的作用;但对于亚硝胺和氨基甲酸乙酯的诱癌作用均有比较明显的抑制,似对肿瘤的发生过程具有一定作用。亚硝胺和氨基甲酸乙酯的诱癌作用机制不同。前者需经体内转化,生成活性甲基和生物大分子起反应;后者则促成上皮细胞核酸等的异常合成和增殖。似乎本方的作用会涉及到机体内一些生理生化过程及其调节、稳定和适应性反应。六味地黄汤可增高癌细胞内的cAMP含量,也提示它可能对环苷酸这种生物调节系统有某种作用。

二、对荷瘤机体的作用

1. 对血象等一般生理、生化指标的影响:实验发现,荷瘤第14天的六味地黄汤组动物外周血象、血清蛋白、转氨酶和游泳时间,与未给药的荷瘤对照组无明显差异;虽然给药组血清蛋白的白球蛋白比值高于对照组,但还在正常范围。测定不同荷瘤天数的动物肝、脾指数(脏器重量/体重),自荷瘤的第5天以后,给药组的脾指数一般高于对照组,以第13天的较为显著;荷瘤第5天的给药组小鼠肝指数也明显高于对照组⁽¹⁾。

2. 对重要脏器核酸含量及其生物合成的影响:测定荷瘤14天动物肝、脾细胞核酸含量,除给药组小鼠脾脏RNA含量略高于对照组(平均增加约15%),其

余与对照组无明显差异(表3)⁽⁴⁾。给荷瘤14天的小鼠腹腔注射³H-胸腺嘧啶核苷(³H-TdR),1小时后,按Schneider法提取脾、肝、肠粘膜和骨髓等组织的DNA,测定³H-TdR的掺入量,发现除给药组动物骨髓的³H-TdR掺入量略高于对照组外,其余与对照组亦无明显差异(表4)⁽⁴⁾。

表 3 六味地黄汤对荷瘤小鼠肝、脾核酸含量的影响

		对 照 组 (微克/100毫克湿重)	给 药 组 (微克/100毫克湿重)
实验1	脾脏 RNA	1157±184 (6)	1568±244 (6)
	肝脏 RNA	1342±72 (6)	1334±134 (6)
	脾脏 DNA	2889±81 (6)	4436±273 (6)
	肝脏 DNA	822±108 (6)	812±56 (6)
实验2	脾脏 RNA	1173±57 (6)	1301±138 (6)
	肝脏 RNA	1245±102 (6)	1097±175 (6)
	脾脏 DNA	3418±116 (6)	2937±396 (6)
	肝脏 DNA	401±61 (6)	385±54 (6)
实验3	脾脏 RNA	1248±51 (6)	1219±118 (6)
	肝脏 RNA	1309±68 (6)	1409±95 (6)
	脾脏 DNA	2828±69 (6)	2598±50 (6)
	肝脏 DNA	381±35 (6)	311±45 (6)

表 4 六味地黄汤对荷瘤小鼠重要脏器DNA生物合成的影响

		对 照 组 (CPM/100微克DNA)	给 药 组 (CPM/100微克DNA)
实验1	脾脏	15164±1532 (5)	9680±932 (5)
	肝脏	785±54 (5)	773±384 (5)
	肠粘膜	1937±477 (5)	1882±212 (5)
	骨髓	700±189 (5)	1415±215 (5)
实验2	脾脏	9903±2171 (5)	10845±639 (5)
	肝脏	462±99 (5)	693±112 (5)
	肠粘膜	1818±326 (5)	1401±848 (5)
	骨髓	767±119 (5)	615±38 (5)
实验3	脾脏	19068±3035 (5)	17803±2655 (4)
	肝脏	743±59 (5)	668±107 (4)
	肠粘膜	2056±113 (5)	2048±375 (4)
	骨髓	457±33 (5)	878±327 (4)

3. 对免疫功能的影响:在亚硝胺诱癌过程中,给予六味地黄汤的动物中,可见脾脏小结生发中心淋巴组织增生者占60%,与对照组(9.5%)相比,呈明显的增生活跃⁽¹⁾。以⁵¹Cr标记的瘤细胞同荷瘤小鼠脾脏淋巴样细胞培育,从⁵¹Cr释放率观察脾淋巴样细胞对瘤细胞的杀伤破坏能力。正常JCR小鼠脾细胞的⁵¹Cr释放率为7.00±0.99,荷瘤组为7.43±1.05,给予六

味地黄汤 10 天的荷瘤组为 $8.35 \pm 0.75^{(9)}$ 。用碳末廓清法测定荷瘤不同时期小鼠的单核吞噬系统的吞噬功能, 接种肿瘤后的第 2 天, 吞噬指数(α 值)即显著抑制, 第 5~9 天有所恢复, 接近于正常, 以后 α 值随肿瘤的发展而渐趋抑制。实验结果表明, 接种肿瘤后第 2 天, 六味地黄汤组的 α 值明显高于对照组⁽¹⁾。

4. 对骨髓干细胞的影响: 以内源性脾集落形成观察六味地黄汤对骨髓干细胞的作用, 发现荷瘤组在荷瘤的 20 天内, 脾集落数略高于正常组; 六味地黄汤组在荷瘤第 9 和第 20 天的脾集落数则明显高于正常组, 其中荷瘤第 9 天的脾集落数与荷瘤组相比, 也有显著的升高(表 5)。重复实验亦有类似的结果。提示六味地黄汤有增强或保护骨髓干细胞的作用⁽⁶⁾。

表 5 六味地黄汤对荷瘤小鼠脾集落形成数的作用

荷瘤天数	正常组	荷瘤组	给药组
第 4 天	$2.7 \pm 0.9(10)$	$3.9 \pm 1.2(11)$	$5.2 \pm 1.1(13)$
第 9 天	$0.7 \pm 0.4(10)$	$3.4 \pm 1.4(10)$	$12 \pm 3.2^{\Delta}(8)$
第 20 天	$0.9 \pm 0.5(8)$	$2.3 \pm 1.3(8)$	$4.7 \pm 1.3^{*}(7)$

* 与正常组比 $P < 0.05$; Δ 与荷瘤组比 $P < 0.05$

5. 对甲状腺吸碘功能的影响: 以¹³¹碘吸收率为指标, 观察六味地黄汤对荷瘤动物甲状腺功能状态的影响, 发现随着荷瘤时间的延长, 从第 10 天开始, 甲状腺 2 小时的吸碘率较不荷瘤的正常小鼠有显著的降低; 而给六味地黄汤的荷瘤小鼠, 在第 10、15 天时, 其甲状腺吸碘功能与正常小鼠尚无显著差异; 在第 15 天时尚明显高于未给药组。提示药物在一定程度上能维持荷瘤动物的甲状腺功能(表 6)⁽⁷⁾。

表 6 六味地黄汤对荷瘤小鼠
甲状腺 2 小时吸碘率的影响

荷瘤天数	正常组(%)	荷瘤组(%)	给药组(%)
第 10 天	$53.9 \pm 1.6(8)$	$47.5 \pm 2.0^{*}(11)$	$51.9 \pm 2.5(11)$
第 15 天	$47.7 \pm 2.4(8)$	$34.6 \pm 2.2^{*}(11)$	$41.5 \pm 2.0^{\Delta}(7)$
第 20 天	$49.2 \pm 2.6(9)$	$33.2 \pm 1.2^{*}(11)$	$36.0 \pm 1.7^{*}(10)$

* 与正常组比 $P < 0.05$; Δ 与荷瘤组比 $P < 0.05$

6. 对血清极谱值的影响: 血清极谱蛋白接触波的起波物质主要是双硫基和巯基。当机体内蛋白分解产物增多, 含有双硫基和巯基的胱氨酸、蛋氨酸以及高分子多肽类物质在血清中的含量升高, 极谱值也就升

高。极谱值的高低, 可在某种程度上反映蛋白代谢的情况。实验发现, 小鼠荷瘤在 15 天以上, 瘤重超过 0.5 克时, 其血清极谱值明显高于正常。给荷瘤小鼠以六味地黄汤灌胃 4 周, 可使其血清极谱值下降, 与正常动物无显著性差异(表 7)⁽⁸⁾。

表 7 六味地黄汤对荷瘤小鼠血清极谱值的影响

组别	荷瘤 22 天	荷瘤 29 天
正常组	$0.354 \pm 0.006(20)$	$0.363 \pm 0.007(19)$
荷瘤组	$0.450 \pm 0.023^{**}(17)$	$0.427 \pm 0.033(11)$
给药组	$0.425 \pm 0.026^{*}(15)$	$0.386 \pm 0.020(17)$

* 与正常组比 $P < 0.05$; ** 与正常组比 $P < 0.001$

以上结果提示, 六味地黄汤对于荷瘤机体有助于增强单核吞噬系统的吞噬功能, 促进骨髓多能干细胞和淋巴组织增生, 从而改善机体的屏障功能; 同时, 它似可在一定程度上维持荷瘤动物的甲状腺功能, 降低蛋白的分解, 从而对物质代谢具有一定的影响。实验中可以看到, 动物接种肿瘤后, 某些生理生化活动常呈类似的时相性变化: 初期, 功能有短暂的抑制; 前期, 则呈反应性增强; 中期, 开始下降; 后期, 受到严重抑制。已经知道, 有些扶正药物对某些功能可起双向调节作用, 要较全面地了解一个扶正药物, 似应从肿瘤发展过程的各个阶段去考察。六味地黄汤对荷瘤小鼠某些指标的改善, 只是在某一阶段出现, 而在荷瘤的晚期, 一般常无效果。祖国医学史上对肿瘤的治疗, 曾有“养正气, 积自除”和“攻邪病, 正自安”的不同观点。从我们的实验看, 单纯用六味地黄汤治疗已经形成的肿瘤, 只能在一定阶段有助于机体的某些机能活动; 随着肿瘤的不断生长, 处于某种相对平衡状态的机能活动仍然要受到破坏, 因而, 非削、攻、散、除不足以存正, 宜攻补兼施, 扶正与祛邪相结合。张景岳所说: “攻补之宜当于孰缓孰急中辨之”, 是我们应予深入探索的问题。

三、对正常机体的作用

雄性小鼠以六味地黄汤灌胃, 每日 1 次, 连续 2 周后, 能延长动物的游泳时间, 给药组(10 只鼠)为 14.9 ± 1.7 分钟, 对照组(20 只鼠)为 11.5 ± 0.5 分钟($p < 0.05$)⁽¹¹⁾。

给 6 周龄雌性小鼠连续用六味地黄汤灌胃 1 周, 体重比对照组增长较快(对照组只鼠平均体重增加 4.6 克, 给药组只鼠为 6.37 克, $p < 0.001$)⁽¹²⁾。

以³H-TdR 掺入试验观察灌胃给药连续 14 天的正常小鼠肝、脾组织和肠粘膜细胞的 DNA 合成率, 除脾组织外, 其余与对照组无显著性差异(表 8)⁽⁴⁾。

表 8 六味地黄汤对正常小鼠重要脏器 DNA 生物合成的影响

	对 照 组 (CPM/100 微克DNA)	给 药 组 (CPM/100 微克DNA)
脾 脏	5508±415 (4)	6818±275* (5)
肝 脏	369±70 (4)	484±96 (5)
肠 粘 膜	1465±100 (4)	1115±215 (5)

* 与对照组相比 P<0.05

用 2 小时吸¹³¹碘率观察连续给药 5~16 天的雄性小鼠甲状腺功能, 基本与不给药的对照组相似(表 9)⁽⁷⁾。

表 9 六味地黄汤对正常小鼠甲状腺 2 小时吸碘率的影响

给药天数	对照组 (%)	给药组 (%)
第 5 天	44.1±2.1(10)	45.8±1.5(10)
第 9 天	36.6±1.5(10)	34.5±1.9(10)
第 16 天	38.2±2.7(10)	36.5±3.0(10)

上述结果表明, 在我们所测的诸指标中, 六味地黄汤除了能使处于生长发育阶段的小鼠增加体重、增强体力类似于主“羸弱”外, 对其它指标, 即使在荷瘤宿主上呈现活性的, 也并无明显的效果。

四、对食管上皮增生的作用

鉴于六味地黄汤在动物实验中能抑制前胃鳞癌(相当于人的食管癌)的诱发, 因而试治于食管癌的癌前病变——食管上皮细胞重度增生患者, 以观察其阻断增生、预防食管癌的临床疗效。

在湖北省肿瘤防办和我院广安门医院的协助下, 先后在湖北、河北两地食管癌高发人群中治疗食管上皮重度增生患者 92 例, 1 年后, 病理脱落细胞复查, 癌变 2 例; 稳定 8 例, 好转和正常者 82 例; 而在湖北当地作对照的未服药患者 89 例中, 8 个月后随访, 癌变 11 例, 稳定 23 例, 好转 55 例。两者相较, 差异显著($p<0.001$)^(9,10)。

对湖北的 57 例患者作了 5 年以上的随访, 并和相应的 47 例未服药患者作了对比观察, 服药组的癌变率

明显低于对照组($p<0.05$); 对河北的 30 例服药患者所作五年随访, 也获相类似结果(表 10)。

表 10 六味地黄丸治疗食管上皮细胞重度增生的五年疗效

组 别	总例数	癌 变 例数(%)	重 增 例数(%)	轻增或正常 例数(%)
对 照 组	47	12(25.5)	10(21.3)	25(53.2)
湖北治疗组	57	5(8.8)	9(15.8)	43(75.4)
河北治疗组	30	1(3.3)	2(6.7)	27(90.0)

在复查和随访中还发现, 服药后食管粘膜炎症细胞浸润和霉菌感染明显减轻, 血清极谱值较治疗前明显下降⁽¹⁰⁾。我们还在湖北治疗了 26 例食管上皮细胞轻度增生患者, 3 个月后食管上皮细胞图象转为正常的 11 例, 与对照组相比, 差别显著⁽¹¹⁾。

综上所述, 六味地黄汤能抑制 N-亚硝基肌氨酸乙酯和氨基甲酸乙酯的诱癌作用, 有助于荷瘤机体的单核吞噬系统吞噬功能, 促进骨髓干细胞和淋巴组织增生, 在一定程度上维持荷瘤小鼠甲状腺功能, 降低蛋白分解代谢, 从而对肿瘤的形成和荷瘤机体的生存具有某些作用; 临床治疗食管癌的癌前期病变——食管上皮重度增生亦初见一定成效。六味地黄汤是传统的滋阴通用方, 它对肿瘤发生和荷瘤机体的影响, 可能从一个侧面, 为了解祖国医学的“滋阴”、“培本”, 以及探讨对肿瘤扶正祛邪治则提供一点资料。

参 考 资 料

- (1) 中医研究院中药研究所肿瘤组等: 新医学杂志(7): 41, 1977。
- (2) 姜廷良等: 中医杂志(7): 72, 1980。
- (3) 中医研究院中药研究所药室肿瘤组: 猪苓提取物(757)和六味地黄汤对小鼠腹水癌细胞内环磷酸腺苷(cAMP)含量的影响。内部资料, 1978。
- (4) 严述常等: 六味地黄汤对小鼠肿瘤(U₁₄)和荷瘤机体脏器核酸影响。未发表材料。
- (5) 姜廷良等: 六味地黄汤对脾细胞杀伤癌细胞作用的影响。未发表材料。
- (6) 姜廷良等: 六味地黄汤对内源性脾集落形成的影响。未发表材料。
- (7) 姜廷良等: 六味地黄汤对小鼠甲状腺吸碘功能的影响。未发表材料。
- (8) 中医研究院中药研究所药室肿瘤组等: 六味地黄汤对荷瘤小鼠血清极谱值影响的初步观察。内部资料 1978。
- (9) 湖北省钟祥县大柴湖公社卫生院等: 新医学杂志(7): 15, 1977。
- (10) 中医研究院广安门医院医疗队等: 新医学杂志(10): 25, 1977。