

DOH-CCM-8025

鼯鼠肝腫瘤的研究

中國醫藥學院 中醫學系·國立清華大學 輻射生物研究所*

何東燦·黃蕙棻·游智勝*

前言

根據行政院衛生署統計，從民國七十一年開始，惡性腫瘤已躍居台灣地區十大死亡原因的首位⁽¹⁾。肝癌是台灣地區最常見的癌症之一，其死亡率一直居消化系統癌症排行之冠⁽²⁾。

幾千年來，中醫學的研究途徑都是透過臨床觀察方法來認識疾病的發生，發展及變化而歸納為有效的防治措施。與西方醫學相比，局限於臨床觀察是中醫發展較慢的原因之一⁽³⁾。近年來，運用動物實驗方法探索中醫理法方藥原理及其療效，出現許多成果。本研究即以動物實驗探討治癌模式，希望能提供臨床治癌之理論基礎。

扶正祛邪是中醫治癌的基本法則^{〔4〕}，扶正可增強體質，提高機體抗病能力，從而驅除病邪，使機體恢復健康。祛邪是針對病因運用各種治療手段，祛除病邪，制止病情發展，使病情逐漸轉癒^{〔6〕}。

中醫藥治療肝癌有以下三種治法^{〔6〕}。一、清熱解毒，軟堅散結法：此法主要適用於熱毒蘊盛，積塊聚結明顯的病人。二、活血化癥，疏肝除滿法：此法主要適用於癥血凝結，肝郁氣滯，腹水明顯的病人。三、益氣養陰攻補兼施法：此法主要適用於氣陰兩虛，正氣已損，邪毒旺盛的病人。本研究即根據上述治法，選擇臨床常用的半枝蓮·白花蛇舌草·血府逐癥湯·人參·豬苓·補中益氣湯與十全大補湯等中藥來進行治療鱗鼠肝腫瘤的研究。目的即在於探討中醫方藥對於治療鱗鼠實驗性肝腫瘤的療效，以供臨床參考；並用病理切片檢查，觀察肝癌細胞壞死情形與各種處理的關係，以闡明此等方藥治療肝癌的可能機制。

材料與方法

實驗材料

(一) 動物

本實驗所用的動物為年齡6 ~ 8 週，重約20~ 25公克，ICR種系雄性小鼠（係購自台大醫學院動物實驗中心），餵以福壽實業股份有限公司生產之鼠桿飼料，任自由取食，每隻每天平均餵食2 ~ 3公克，並供給充足飲水。飼料內含成分：蛋白質23% · 脂肪15% · 纖維15% · 灰分6% · 水份11% ，不含抗生素。

(二) 腫瘤細胞

本研究所用的腫瘤細胞為S-180 肉瘤細胞，以體內培養方式，維持腫瘤細胞的供應，每次將 1×10^7 個腫瘤細胞接種到小鼠腹腔，每7 天接種一次。

(三) 藥品配製

本實驗所用之中藥有人參· 豬苓· 半枝蓮· 白花蛇舌草· 補中益氣湯· 十全大補湯及血府逐瘀湯等，皆購自中國醫藥學院附設醫院中藥局。其製備過程如下：

補中益氣湯依黃耆4 · 人參3 · 白朮4 · 甘草1 · 當歸3 · 陳皮1.5 · 生薑1 ，之比例混合均勻；十全大補湯依黨參6 · 白朮8 · 茯苓8 · 炙甘草3 · 當歸6 · 川芎4 · 熟地8 · 白芍8 · 黃耆6 · 肉桂1 ，之比例混合均勻；而血府逐瘀湯則依當歸3 · 生地3 · 桃仁4 · 紅花3 · 枳殼2 · 赤芍2 · 柴胡1 · 川芎1.5 · 牛膝3 · 桔梗1.5 · 甘草1 ，之比例混合均勻，置於10公升圓底燒瓶內，加入50% 酒精約5 倍，在60°C水浴上回流萃取4 小時，連續抽取4 次，收集全部的抽取液混合，過濾，於50°C下真空減壓濃縮至呈黏稠

狀，傾出於蒸發皿，移置50℃烘箱乾燥至完全除去溶媒，再以電動磨粉機研成細粉。

二. 實驗準備

(一) 腫瘤誘導

將長有腹水癌細胞的鱗鼠，以頸椎脫臼方式犧牲，活體解剖患有腹水癌的鱗鼠，取出腹水，用生理食鹽水清洗三次，並加0.83% 氯化銨處理，每次以1000 rpm 離心10分鐘，除去上清液，將沉澱物以0.4% Trypan blue 染色液與等量腹水液混合，用血球計數盤檢視每毫升所含活的腹水癌細胞數目。以0.1 毫升戊巴比妥鈉鹽注射在正常的雄性ICR 鱗鼠的腹腔內，麻醉後，經由剖腹術使肝臟露出，再取 1×10^7 個腹水癌細胞接種於肝臟內，再用1 號線將腹部傷口縫合。於手術後一天，予以分組，進行實驗。

三. 動物分組· 實驗處理及測定項目

(一) 單獨中藥實驗

本實驗於鱗鼠接種後，以餵食生理食鹽水之腫瘤鱗鼠作為對照組，然後分別以餵管餵食中藥，連續10天，以評估其療效。於接種癌細胞後的第一天起，分為8 組，一組為腫瘤對照組，其餘為實驗組，分別餵以0.5ml 之劑量，使用之藥依次為人參· 豬苓· 半枝蓮· 白花蛇舌草· 補中益氣湯· 十全大補湯及血府逐瘀湯。

(二) 合併中藥實驗

分為6 組，除腫瘤對照組外，其餘各組為半枝蓮與白花蛇舌草分別合併人參· 豬苓· 補中益氣湯及十全大補湯，處理方式同上。

(三) 測定項目

本研究分三項來評估各組的療效，即比較各組動物在45天內的死亡率 (MR45)，45天平均存活時間 (MST45) 與延長壽命程度 (ILS45)。

延長壽命程度的計算，公式如下：

$$ILS = \left(\frac{\text{處理組之MST45}}{\text{對照組之MST45}} - 1 \right) \times 100 \%$$

四. 病理切片

將正常巽鼠腫瘤對照組，及經人參·豬苓·補中益氣湯及血府逐瘀湯處理後的肝臟取下，分別做成組織病理切片，以觀察肝臟及肝癌在治療後之細胞壞死及分佈的情形。

註
目
本

(一) 單味中藥治療巽鼠肝腫瘤

由表1 顯示腫瘤對照組的死亡率為100%，其45天平均存活時間為 22.1 ± 4.9 天，半枝蓮·白花蛇舌草組的死亡率亦為100%，其平均存活時間與腫瘤對照組相比，略為延長，分別為 24.5 ± 10.5 與 25.2 ± 13.2 ，但無統計上之意義，人參與豬苓療效較顯著，尤以豬苓為佳，其死亡率分別為85.0% 與80.7%，平均存活時間分別為 28.3 ± 16.7 與 38.5 ± 16.3 ，均有統計上之意義，延長壽命程度分別為28.05 與74.21。

(二) 中醫方劑治療巽鼠肝腫瘤

由表2 顯示治療組的三個方子療效均不錯，補中益氣湯組的療效最佳，其死亡率為75.4%，平均存活時間為 39.2 ± 17.2 ，延長壽命程度為77.38。血府逐瘀湯組的死亡率最低為65.4%，平均存活時間為 36.6 ± 22.0 ，延長壽命程度為65.61。

(三) 中醫合併處理治療巽鼠肝腫瘤

由表3 顯示補中益氣湯合併半枝蓮·白花蛇舌草組療效最佳，死亡率為84.0%，平均存活時間為 33.4 ± 14.7 ，而延長壽命程度為51.13。

(四) 病理切片

腫瘤對照組患腫瘤處呈現核濃染，多細胞群與多形質化，經人參與豬苓處理後可見正常細胞和癌組織間有淋巴細胞浸潤，包圍癌組織。而經血府逐瘀湯與補中益氣湯處理後，還可見癌組織和正常組織間有纖維化與癌細胞萎縮的現象。

表1. 單味中藥對小鼠肝腫瘤的療效

組別	治療次數	隻數	45天死亡率	45天平均存活時間	延長壽命程度
腫瘤對照		26	100.0	22.1 ± 4.9	
人參	10	25	85.0	28.3 ± 16.7*	28.05
豬苓	10	28	80.7	38.5 ± 16.3**	74.21
半枝蓮	10	14	100.0	24.5 ± 10.5	10.86
白花蛇舌草	10	14	100.0	25.2 ± 13.2	14.03

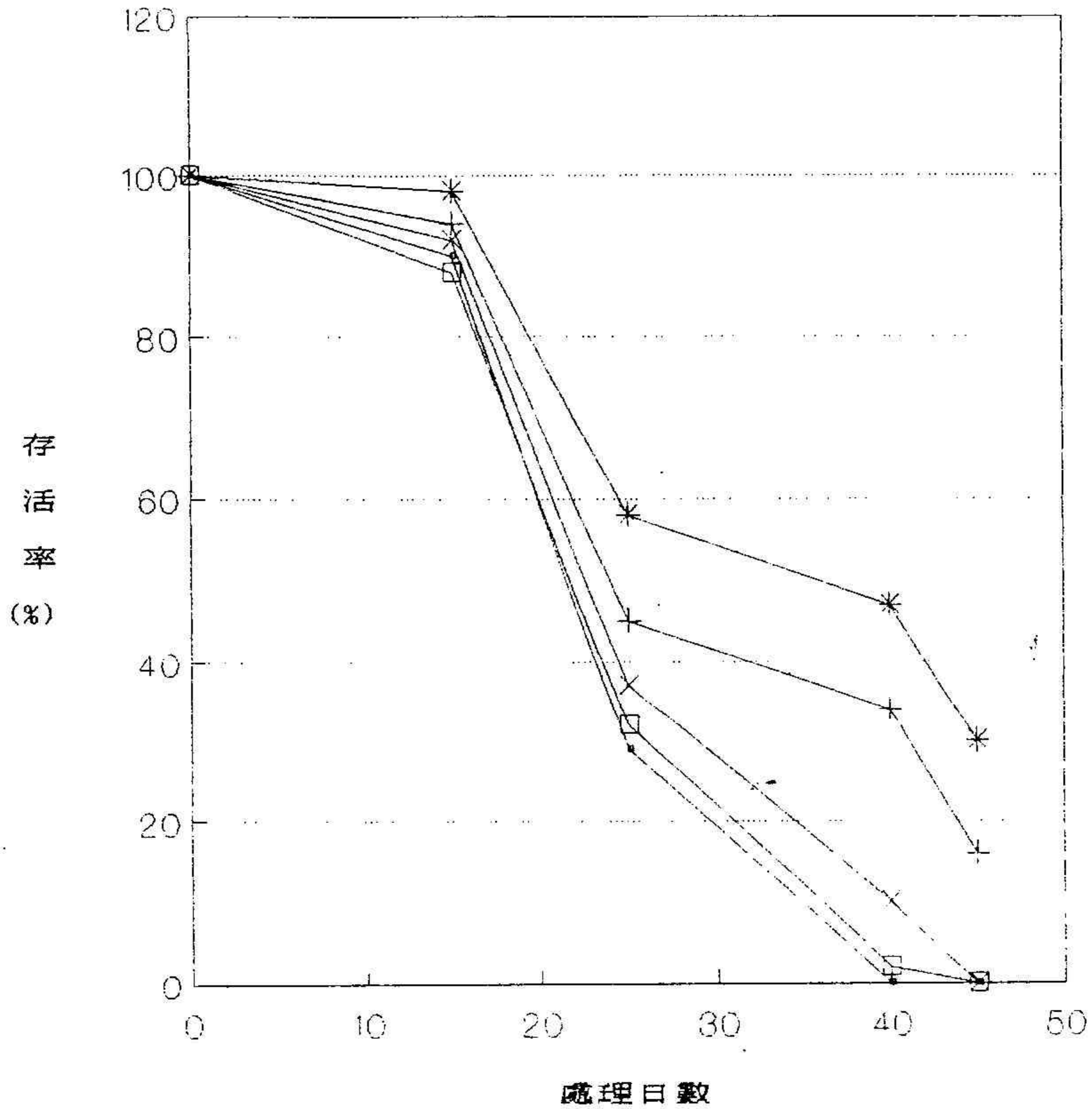
* : P < 0.05 ; ** : P < 0.01 (student's t-test)

表2. 中醫方劑對小鼠肝腫瘤的療效

組別	治療次數	隻數	45天死亡率	45天平均存活時間	延長壽命程度
腫瘤對照		26	100.0	22.1 ± 4.9	
補中益氣湯	10	20	75.4	39.2 ± 17.2**	77.38
十全大補湯	10	15	90.3	32.7 ± 15.6**	47.96
血府逐瘀湯	10	28	65.4	36.6 ± 22.0**	65.61

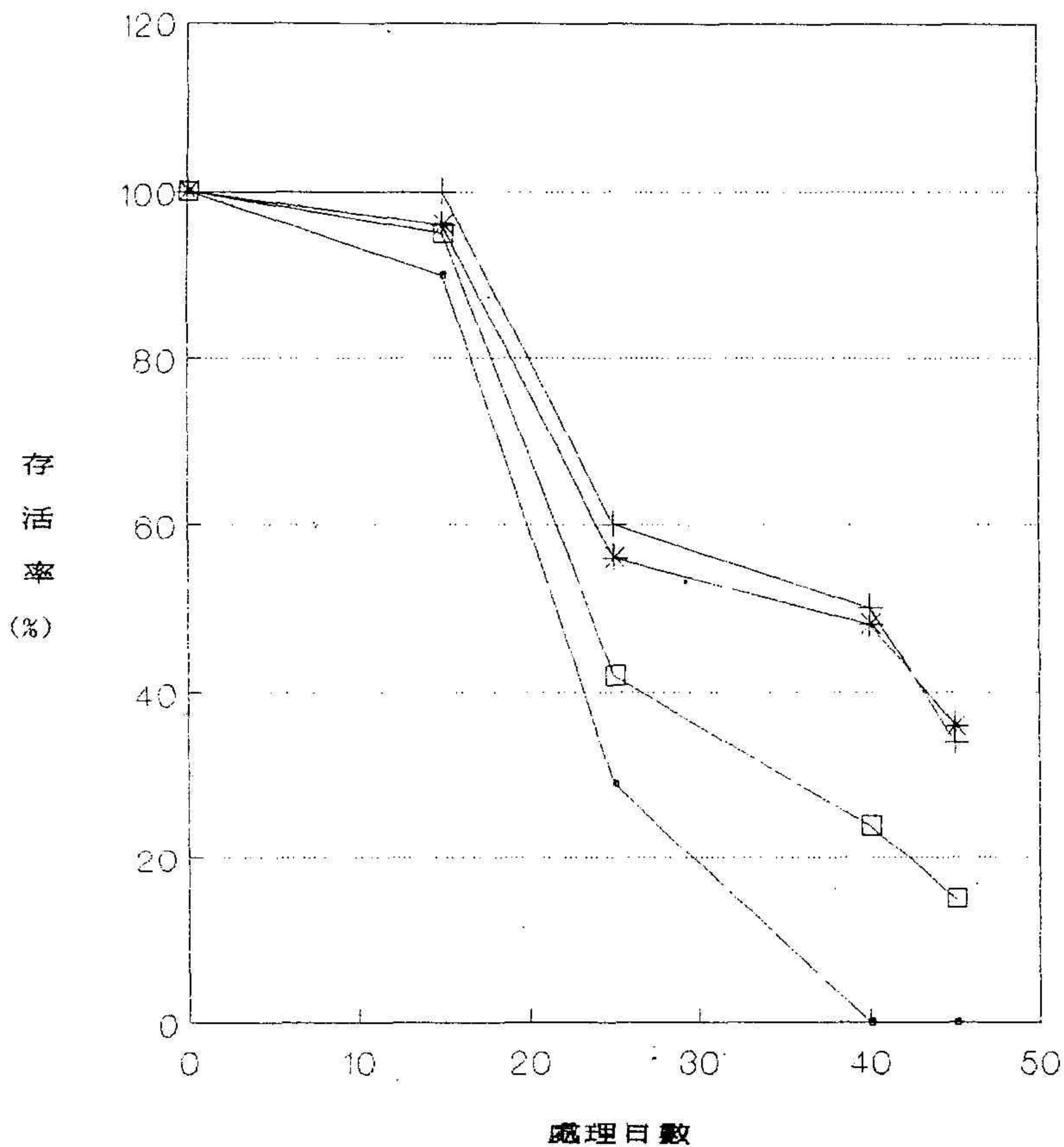
表3. 中藥合併處理對小鼠肝腫瘤的療效

組別	治療次數	隻數	45天死亡率	45天平均存活時間	延長壽命程度
腫瘤對照		26	100.0	22.1 ± 4.9	
半枝蓮 + 白花蛇舌草	10,10	28	94.6	27.9 ± 15.3*	26.24
人參 + 半枝蓮 + 白花蛇舌草	10,10	15	95.0	27.2 ± 10.2*	23.08
十全大補湯 + 半枝蓮 + 白花蛇舌草	10,10	24	90.2	31.2 ± 12.4*	41.18
補中益氣湯 + 半枝蓮 + 白花蛇舌草	10,10	15	84.0	33.4 ± 14.7**	51.13
豬苓 + 半枝蓮 + 白花蛇舌草	10,10	16	86.2	30.1 ± 8.4*	36.20



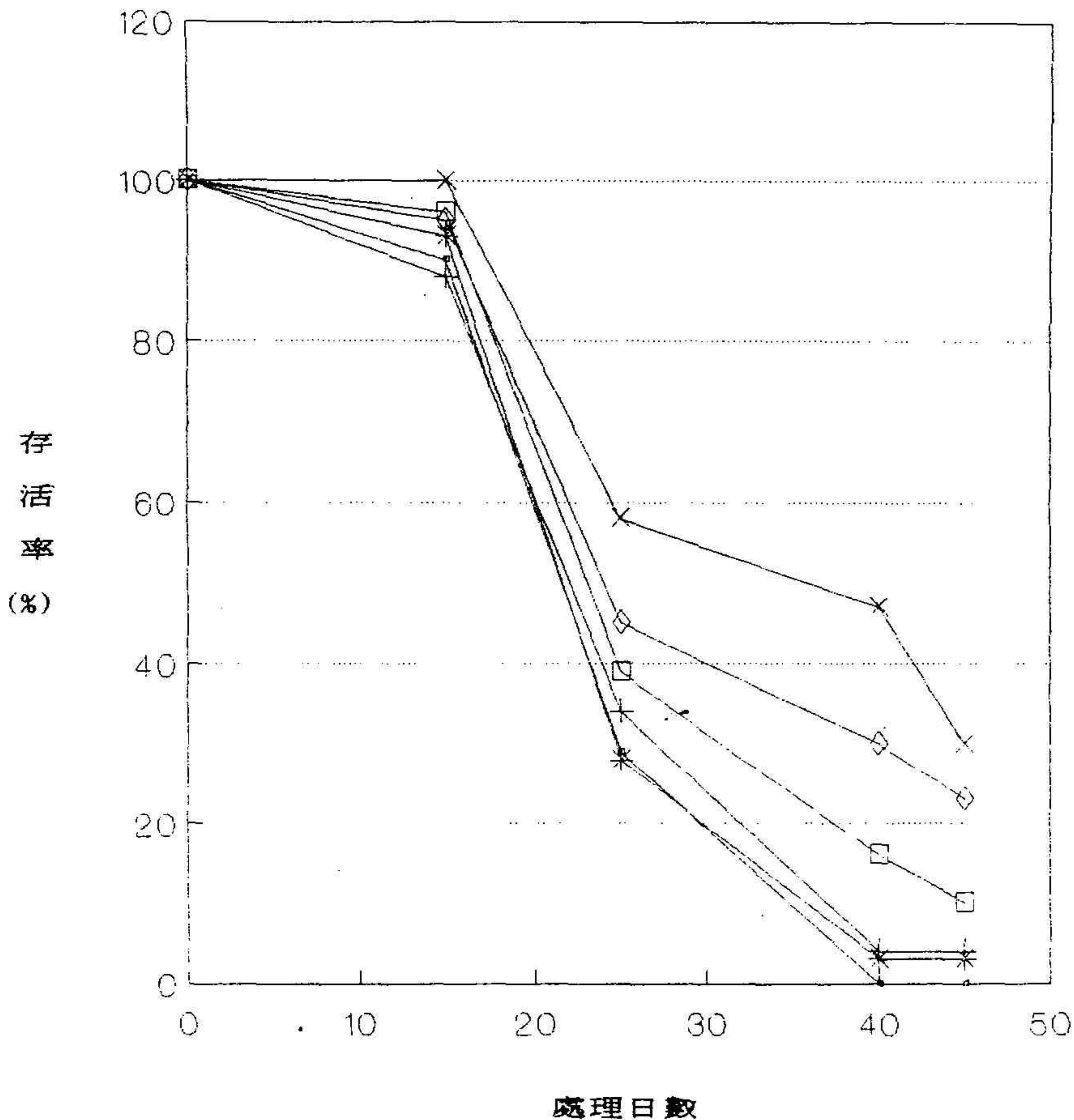
- 腫瘤對照
- + 人參
- * 豬苓
- 半枝蓮
- × 白花蛇舌草

圖1.單味中藥治療小鼠肝腫瘤的存活率



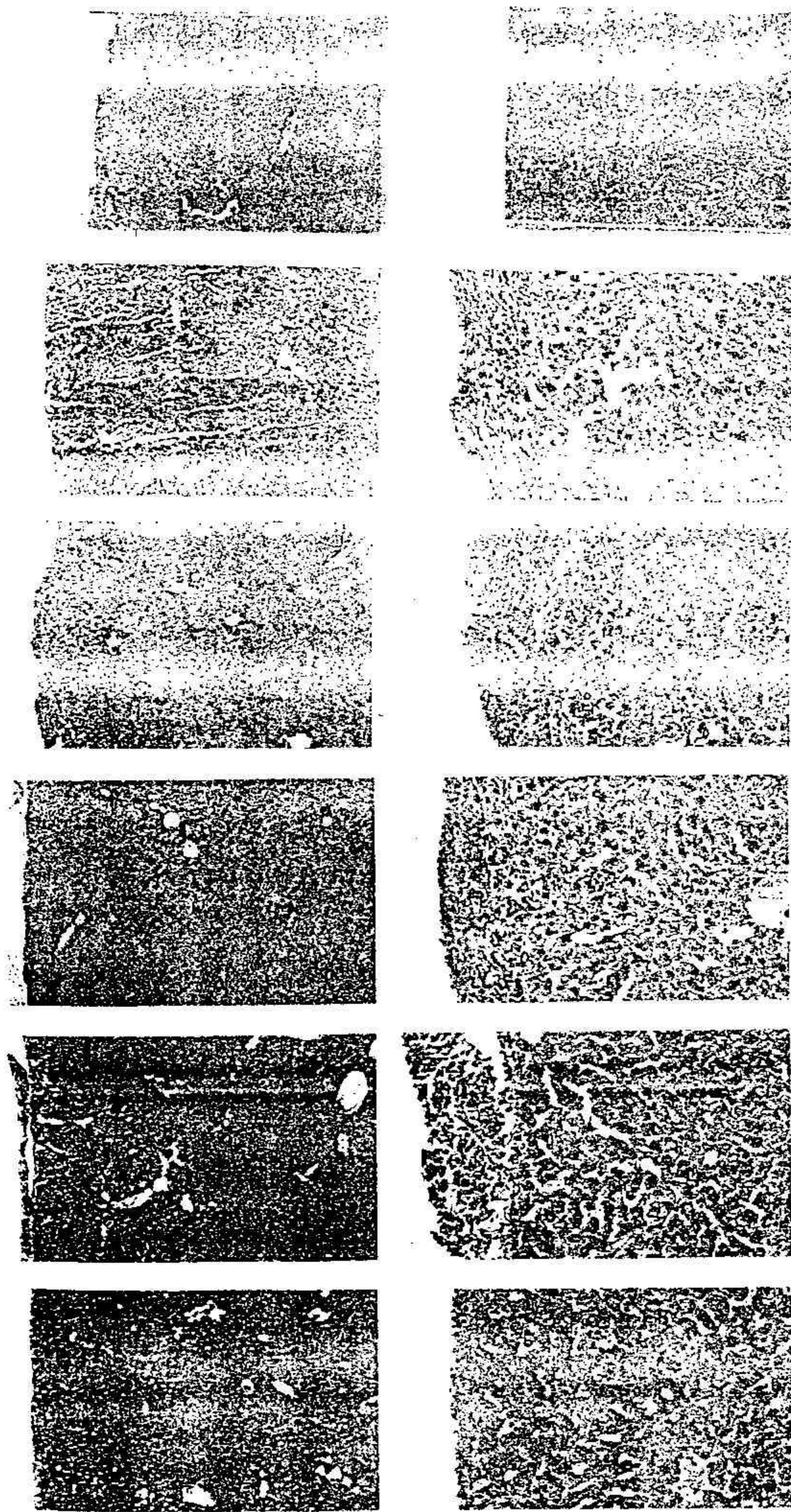
- 腫瘤對照
- + 補中益氣湯
- * 血府逐瘀湯
- 十全大補湯

圖2.中醫方劑治療小鼠肝腫瘤的存活率



- 腫瘤對照
- + 半枝蓮與白花蛇舌草
- * 人參與半枝蓮與白花蛇舌草
- 十全大補湯與半枝蓮與白花蛇舌草
- x 補中益氣湯與半枝蓮與白花蛇舌草
- ◇ 豬苓與半枝蓮與白花蛇舌草

圖3. 中藥合併治療小鼠肝腫瘤的存活率



補中益氣湯

血府逐瘀湯

豬苓

人蔘

腫瘤對照

正常

圖四 病理切片

肝癌患者的預後極差，惡性度很高而且進展甚速。從病人出現症狀到死亡的自然病程為 154 ± 47.95 天⁽⁷⁾。本研究將 1×10^7 個腹水癌細胞接種在鬩鼠的肝臟內，若不予處理僅餵食生理食鹽水做為對照，其45天死亡率為百分之百，而平均存活時間為 22.1 ± 4.9 天，顯示實驗肝腫瘤之惡性與死亡率之高，亦如人之原發性肝癌。

曾有研究指出：白花蛇舌草素在體外有抗噬菌體及抑殺肝癌細胞作用；在體內對小白鼠肉瘤S-180 有顯著的抑制作用，使腫瘤細胞的有絲分裂受到顯著的抑制，並使腫瘤發生壞死⁽⁸⁾。半枝蓮可清熱解毒，用於多種癌症，常與白花蛇舌草同用，治療肺癌、肝癌、結腸癌等⁽⁹⁾。本研究的結果（見表1）顯示以白花蛇舌草與半枝蓮治療鬩鼠肝腫瘤可延長鬩鼠之壽命，但療效不如人參與豬苓（見圖1）。人參的藥理作用廣泛，研究很多⁽¹⁰⁾，已證明人參對特異性和非特異性免疫，細胞或體液免疫均有影響⁽¹¹⁾。亦有報告指出：動物口服人參製劑，可促進骨髓造血細胞的分裂，使周圍血液中的白血球、紅血球及血紅素的含量增加，在免疫功能方面，能促進健康人淋巴母細胞轉化，對腫瘤患者應用人參製劑，只改善患者和機體內DNA 的代謝，而不增加癌組織中的DNA 等，所以有利於增強機體的抗癌能力⁽¹²⁾。豬苓中所含的多糖類對小鼠腹水型肝癌H₂ 有抑制作用；抑癌率為39%，能使荷癌小鼠亢進的皮質功能恢復，並使其肝臟糖原累積增加，糖異生酶（glyconeogenase）活性增強⁽¹³⁾。這對荷癌動物整體機能的改善是有積極作用的。在正常狀態下，糖異生酶活性下降，表明機體保持穩態的能力，可能也遭到一定程度的損害，而豬苓多糖可使酶活性上升，而改善機體保持自穩狀態的能力。豬苓多糖且能提高肉瘤180 腹水癌細胞內CAMP的含量⁽¹⁴⁾，這可能是通過抑制癌細胞內CAMP磷酸二酯酶而實現的⁽¹⁵⁾。

一般癌細胞內CAMP含量低於正常細胞，癌變越惡化則CAMP越低，CAMP能使腫瘤細胞向正常細胞轉化⁽¹⁶⁾。另有研究報告指出：豬苓提取物能增強荷瘤小鼠的免疫功能，使單核巨噬細胞系統活性正常，脾臟抗體形成細胞增多，腹腔巨噬細胞吞噬活力提高；並可增強荷瘤小鼠脾淋巴樣細胞對癌細胞的殺傷作用⁽¹⁷⁾。這或可解釋豬苓在單獨處理各組中的療效（見表1）。所以運用抗腫瘤和提升免疫作用的中藥，是治療肝腫瘤的極佳選擇。

以補中益氣湯、十全大補湯及血府逐瘀湯治療小鼠肝腫瘤都獲得不錯的療效，其中以補中益氣湯的療效最佳（見表2）。現代藥理研究證實補中益氣湯能增強機體網狀內皮系統吞噬功能，提高機體的細胞免疫功能⁽¹⁸⁾，且能改善荷瘤機體的蛋白代謝，防止貧血的發展，增強體力⁽¹⁹⁾。有報告指出⁽²⁰⁾：惡性腫瘤患者的血液黏稠度增高，紅血球和血小板電泳速度減慢，紅血球表面電荷下降或消失，而導致血液變稠，呈[高凝狀態]和瘀血。而血府逐瘀湯可以降低血液的粘·聚·凝狀態，減輕微循環障礙，改善組織或器官的血液循環，增加血中氧氣灌注而達到治療腫瘤的作用⁽²⁰⁾。所以運用扶正與活血化瘀方藥治療肝腫瘤是值得進一步研究發展的。

在中藥合併治療小鼠肝腫瘤方面，以補中益氣湯合併半枝蓮與白花蛇舌草的療效最佳（見表3與圖3）。但療效不如單獨之補中益氣湯（見表2與圖2），是否與餵藥次數過多，小鼠不堪負荷刺激有關？實有待進一步的探討。

病理切片顯示：腫瘤對照組呈現核深染質（見圖4），經人參或豬苓處理後，有淋巴球浸潤，且有包圍癌組織的趨勢（見圖4），而經血府逐瘀湯或補中益氣湯處理後，對正常肝細胞並無破壞現象，而更可見癌細胞之萎縮與纖維化（見圖4）。由此證實中醫方藥確有治癌之效，而其詳細機制，則有待進一步的研究。

法
弘
調

1. 於小鼠肝臟接種S-180 肉瘤細胞(1×10^7) 後，分別給予單味中藥
· 中醫方劑與方藥合併處理，單味中藥以豬苓療效最佳；中醫方劑
以補中益氣湯療效最佳；合併處理以補中益氣湯併半枝蓮· 白花蛇
舌草最佳。
2. 病理切片顯示：患腫瘤部位呈現核深染質，經用人參· 豬苓· 血府
逐瘀湯及補中益氣湯處理後，有較多淋巴細胞浸潤，包圍癌組織，
使其纖維化的現象。

謝
辭

本研究得以完成，行政院衛生署之補助，功不可沒，特申謝意。

參考文獻

1. 行政院衛生署編印：中華民國七十三年衛生統計（二）生命統計，死亡原因分析。32-33, 1985。
2. 陳光耀：癌病在台灣。臨床醫學。15: 106-107, 1985。
3. 李培旭：有關中醫動物實驗的幾個問題。遼寧中醫雜誌。(7) 6-8, 1986。
4. 劉浩江：治療惡性腫瘤運用扶正與祛邪的探討。遼寧中醫雜誌。(12) 12-13, 1982。
5. 張文杰：扶正祛邪治癌十法。遼寧中醫雜誌。(5):30-32, 1984。
6. 許繼平：中醫藥對原發性肝癌的實驗與臨床研究進展。遼寧中醫雜誌。(9):43-46, 1984。
7. 李治學：原發性肝細胞癌。中華民國癌症醫學會會刊。(2):19-23, 1981。
8. 戴新民：抗癌中草藥。啓業書局。P.1~100, 1984。
9. 戴新民：中國方藥學。啓業書局。P.889~890, 1976。
10. 王本祥：人參藥理學研究的新進展。藥學學報。15(5):312-319, 1980。
11. 崔景朝·劉愛晶·王本祥：人參多糖對免疫機能的影響。藥學學報 17(1):66-67, 1982。
12. 戴新民：中藥免疫學-免疫中藥。啓業書局。P.1~49, 1985。
13. 魏群·吳國利·聶劍初：豬苓多糖對荷肝癌H₂₂小鼠肝臟代謝和腎上腺皮質功能的作用。中國藥理學報。4(1):52-54, 1983。

14. 王德昌· 李佩苗· 王永泉：豬苓多糖的某些藥理作用。中草藥雜誌。
。 14(6):27- 28, 1983 。
15. 戴新民：中藥免疫學- 免疫中藥。啓業書局。P.1~49, 1985 。
16. 李門輝：癌的基礎科學。合記圖書出版社。P.52- 66, 1987 。
17. 郁仁存：中醫腫瘤學。木鐸出版社。P.24- 184, 1987 。
18. 戴新民：扶正固本與臨床。啓業書局。P.71- 80, 1985 。
19. 廖福尤· 黃深· 李文等：活血化瘀藥物藥性血液流變學研究。中西
醫結合雜誌。6(2): 103- 105, 1986 。
20. 杜美華：血府逐瘀湯的作用機理研究。5(4):28-29, 1990 。

本研究的目的是在於探討一些中藥與方劑對於實驗性肝腫瘤的影響。先就單味中藥與方劑分別單獨使用，後以方藥合併使用治療小鼠肝腫瘤，以評估其治療效果，以便提供臨床治療肝腫瘤的參考；另選擇療效較佳之組別，製成病理切片，以探討其功效之機制，希望對發揚我國傳統醫學及學術水準的提升有所貢獻。

本研究使用ICR種系的小鼠，將 1×10^7 肉瘤S-180細胞接種在小鼠的肝內，然後予以隨機分組，其中一組為腫瘤對照組，其餘各組為實驗組，分別接受血府逐瘀湯等中藥單獨或合併處理，以0.5ml的劑量，於接種細胞後的第一天用飼管餵食，每天一次，連續十天。經過上述處理，分別觀察各組動物在45天內的死亡率，平均存活時間以及延長壽命程度，以評估各種處理的療效。

茲將本研究所獲得的結果，分條列述如下：

1. 腫瘤對照組的45天平均存活時間為 22.1 ± 4.9 天，死亡率為100%。
2. 單味中藥處理各組中以豬苓的療效最佳，其平均存活時間為 38.5 ± 16.3 天，死亡率為80.7%，延長壽命程度為74.21%。
3. 中醫方劑以補中益氣湯的療效最佳，其平均存活時間為 39.2 ± 17.2 天，死亡率為75.4%，延長壽命程度為77.38%。
4. 中藥合併處理各組中，以補中益氣湯合併半枝蓮·白花蛇舌草的療效最佳，其平均存活時間為 33.4 ± 14.7 天，死亡率為84.0%，延長壽命程度為51.13%。
5. 病理切片顯示：患腫瘤部位呈現核濃染，經用中藥處理後，可見正常細胞和癌組織間有淋巴細胞浸潤，包圍癌組織。