

六味地黄丸治疗不育症的研究进展

高美美^{1,2*}, 翟雅南^{1,2*}, 廖海琳², 蒋凌风^{2#}

¹广西中医药大学研究生院, 广西 南宁

²广西中医药大学科学实验中心, 广西 南宁

收稿日期: 2022年4月9日; 录用日期: 2022年5月6日; 发布日期: 2022年5月13日

摘要

六味地黄丸最早出现在宋朝, 主要用于滋补肝肾。本文简要概述六味地黄丸之后, 描述了肾阴虚型不育症动物模型, 并通过对动物实验研究进展和临床试验研究进展等方面阐述六味地黄丸治疗不育症的研究进展, 为进一步应用提供线索。

关键词

六味地黄丸, 动物模型, 动物实验, 临床试验

Research Progress of Liuwei Dihuang Pill in Treatment of Infertility

Meimei Gao^{1,2*}, Yanan Zhai^{1,2*}, Hailin Liao², Lingfeng Jiang^{2#}

¹Graduate School of Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning Guangxi

²Scientific Experiment Center, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning Guangxi

Received: Apr. 9th, 2022; accepted: May 6th, 2022; published: May 13th, 2022

Abstract

Liuwei Dihuang Pill first appeared in the Song Dynasty, mainly used to nourish liver and kidney. After a brief overview of Liuwei Dihuang Pill, this paper describes the animal model of infertility with asthenia of renal yin, and expounds on the research progress of Liuwei Dihuang Pill in the treatment of infertility from the aspects of animal experimental research and clinical trial research, so as to provide clues for further application.

*共同第一作者。

#通讯作者。

Keywords

Liuwei Rehmannia Pill, Animal Model, Animal Experiments, Clinical Trials

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 六味地黄丸概述

六味地黄丸是宋·钱乙《小儿药证直诀》中记载的滋补肝肾，并补脾阴的著名补阴方剂。钱乙在肾气丸的基础上去掉偏于补阳的药物桂枝附子，形成六味地黄丸，为补肾养阴的代表方。六味地黄丸是由熟地黄、山茱萸、山药、茯苓、泽泻、牡丹皮组成，方以熟地黄为君，重用熟地黄补肾填精；为了补而不失加入山茱萸，山茱萸并补肝肾，补肾可以帮助熟地黄填精补髓，固涩作用防止补而不失，山茱萸还可以补肝，肝藏血，精血同源，通过补血又能加强补肾精的作用；山药并补肾脾，可以帮助熟地黄直接补肾填精，补脾可以助后天生化之源，肾精也来源于水谷精微；山茱萸与山药共为臣药，合熟地黄为“三补”，补肾、肝、脾三阴，以收补肾治本之效。肾主水，肾虚主水功能失常。茯苓健脾利湿，配合山药健脾同时祛湿，补脾不留邪；泽泻入肾经利湿去肾浊，防止熟地黄滋腻留邪；肾主阴阳两脏也是水火两脏，肾阴虚之后阳就偏盛，出现相火妄动，所以滋肾阴的时候加上降相火药牡丹皮，使相火回到本位而不伤阴。茯苓、泽泻、牡丹皮合为“三泻”，泻湿浊和相火，使得“补中有泻”，共为佐药[1]。

2. 肾阴虚型不育症动物模型

通过对男性不育患者的中医证候分析和临床文献的调查，肾阴不足、肾精亏虚患者的比率呈逐年升高趋势[2] [3] [4]，故急需建立合适的肾阴虚型不育症动物模型。目前，肾阴虚型不育症动物造模方法主要包括氢化可的松腹腔注射法、雷公藤多苷灌胃法、醋酸棉酚联合甲状腺素及利血平灌胃法等[5] [6]。在实验动物的选择方面，以SD大鼠作为研究对象居多。

氢化可的松因其有对下丘脑-垂体-性腺(睾丸)轴的影响，故选其制作不育症模型。孙晶晶等[7]研究发现氢化可的松5 mg/kg，连续给药10 d后，大鼠的体重、睾丸指数显著降低($P < 0.05$)，精子数量显著减少($P < 0.05$)，精子活动率显著降低($P < 0.01$)，血清中睾酮的含量显著降低($P < 0.01$)，睾丸内酸性磷酸酶(Acid Phosphatase, ACP)、乳酸脱氢酶(Lactate Dehydrogenase, LDH)、琥珀酸脱氢酶(Succinate Dehydrogenase, SDH)水平均有不同程度下降($P < 0.01$)，表明氢化可的松可成功建立大鼠少弱精子症模型。

赵芷含等[5]采用雷公藤多苷水溶液(10 mg/kg)连续灌胃30 d诱导肾精亏虚大鼠模型，大鼠表现皮毛体毛松懈、少有光泽、行为迟缓、精神状态不佳、畏寒聚堆、体质量下降；模型大鼠附睾、肾组织质量明显减少，血清INH-B、FSH水平及生精功能明显下降，生精细胞明显减少，布列紊乱无序脱落。可认为造模成功。

凌庆枝等[6]采用醋酸棉酚25 mg/(kg·d)、甲状腺素7.5 mg/d及利血平0.05 mg/d灌胃，连续4周。模型大鼠逐渐出现萎靡不振，畏寒、拱背、少活动，相互拥挤，常簇拥在一起，反应迟钝，饮食减少，皮毛暗而无光泽，竖毛明显，腹部皮毛潮湿，阴囊皱缩，聚丸回升，大便干燥等肾阴虚症状。病理学研究结果表明，模型组大鼠睾丸的曲细精管管腔空旷、生精上皮层次明显减少、细胞排列疏松、紊乱，部分精母细胞核固缩、精子细胞减少、管腔内精子较少见，可见到大量未成熟的脱落生精细胞曲细精管间隙扩大。表明建造的大鼠肾阴虚型生精障碍模型成功。

3. 动物实验研究进展

动物实验研究发现, 六味地黄丸可以修复⁶⁰Co γ -射线致大鼠生殖系统损伤、改善睾丸组织形态学及对超微结构的损伤、改善顺铂所致遗传及生殖毒性、保护生殖损伤、改善生精功能。研究表明, 六味地黄丸中含有大量微量元素, 可通过直接补充微量元素的作用有效改善精子质量, 具有减少自由基和抗氧化作用, 可使大鼠血清中睾酮含量升高, 以调节下丘脑-垂体-性腺轴的功能, 从而调节与生殖相关的内分泌系统, 进而提高睾丸生精功能。

3.1. 修复 γ -射线致大鼠生殖系统损伤

李延晖等[8]研究发现六味地黄丸对⁶⁰Co γ -射线致大鼠生殖系统损伤具有防治作用, 他们将 90 只雄性 Wistar 大鼠随机分为空白组、辐射组、给药组 3 组, 每组 30 只。给药组大鼠灌胃六味地黄丸混悬液, 连续 10 d, 第 11 天辐射组和给药组接受 7 Gy⁶⁰Co γ 射线照射, 之后继续灌胃 14 d。结果显示, 六味地黄丸可明显升高辐照模型大鼠的睾丸指数及精子相对计数(P < 0.01)。

3.2. 改善睾丸组织形态学及对超微结构的损伤

曹晓慧[9]研究了六味地黄丸对受到 900 MHz 手机频率电磁辐射的雄性大鼠睾丸组织结构、超微结构、氧化应激和 Nrf2 蛋白、 γ H2AX 蛋白表达的影响。发现 900 MHz 手机频率电磁辐射致大鼠睾丸组织形态学变化无显著异常, 但超微结构中线粒体损伤显著, 大鼠睾丸组织氧化损伤加重, 抗氧化酶活性降低, Nrf2 和 γ H2AX 蛋白在睾丸组织的表达减弱, 辐射 4 小时较之 2 小时甚之, 说明具有时间效应关系。六味地黄丸可改善大鼠睾丸组织形态学及对超微结构的损伤, 其机制可能与增加 Nrf2 在睾丸组织的表达, 降低氧化损伤, 增强 γ H2AX 蛋白表达, 修复 DNA 损伤有关。

3.3. 改善顺铂所致遗传及生殖毒性

张阔等[10]研究发现, 六味地黄丸改善顺铂对小鼠外周血细胞 DNA 的损伤, 改善顺铂所致小鼠骨髓细胞微核生成的抑制, 但未能改善由顺铂导致的小鼠体重及睾丸指数的变化; 六味地黄丸增加顺铂诱导小鼠的精子 DNA 完整率、精子存活率及精子数量, 降低顺铂诱导小鼠的精子畸形率, 但不影响其畸形类型的构成; 六味地黄丸改善顺铂诱导小鼠的睾丸组织病变; 六味地黄丸降低顺铂诱导小鼠睾丸组织的 MDA 水平, 提高顺铂诱导小鼠睾丸组织的 T-SOD、CAT、GSH-Px 活性。六味地黄丸连续 ig 给药 14 d 对顺铂所致遗传及生殖毒性有改善作用, 机制可能与改善顺铂所致氧化应激有关。

3.4. 保护生殖损伤

景晓平等[11]研究表明六味地黄丸可以通过提高雄鼠血清睾酮水平, 从而明显减轻雷公藤多苷对 3~4 周龄尚处于生殖发育期幼年大鼠生殖系统损伤, 达到保护生殖损伤的作用。任献青等[12]研究发现常规剂量雷公藤多苷对幼年雄性大鼠具有一定的生殖损伤, 其损伤较文献报道稍轻, 六味地黄丸对其所造成的生殖损害具有一定的干预作用。李腾等[13]研究表明六味地黄丸对雷公藤多苷所致雄性生殖损伤具有修复作用, 可能与促进睾丸 C-kit 蛋白的表达, 进而促进精原细胞的增殖分化有关。

3.5. 改善生精功能

凌庆枝等人的研究表明六味地黄丸及其加味组方对生精障碍大鼠有显著的促进生精作用[14] [15], 显著抑制大鼠睾丸生精细胞的凋亡[16], 同时可升高大鼠血清 NO 水平, 显著提高大鼠精子的质量[17]。王庆忠等人发现六味地黄丸提取物通过以剂量依赖方式能够促进体外培养的小鼠支持细胞的增殖, 抑制细胞凋亡, 通过促进支持细胞的增殖与活性促进精子发生作用[18]。

微量元素是组成精子和血清抗氧化酶的重要成分。其中,精液微量元素缺乏是导致精子形态异常的重要原因之一。研究发现六味地黄丸中含有大量微量元素,可对生殖系统产生直接影响,可提高大鼠血清锌(Zn)的含量,可增加小鼠睾丸质量[19] [20] [21]。六味地黄丸可使大鼠血清中睾酮含量升高[11] [21],以调节下丘脑-垂体-性腺轴的功能,从而调节与生殖相关的内分泌系统,进而提高睾丸生精功能。六味地黄丸在一定程度上提升大鼠的抗氧化能力,升高SOD活性,降低自由基的损伤,同时可通过提高谷胱甘肽过氧化物酶的活性,来减少超微结构损伤[22] [23]。

4. 临床研究进展

临床研究结果表明,单用六味地黄丸或与其他药物(针灸)联用可用于治疗肾阴亏虚引起的男性不育症,进而促进精子生成,提高精子数量及质量,增强性功能。

刘保国等[24]研究发现六味地黄丸可通过参与生殖系统免疫调节提高解脲支原体感染后精液质量,治疗后患者精子密度、精子活力明显升高,精子畸形率、精浆IL-1 β , IL-8均降低。孙振高等[25]发现六味地黄软胶囊有效的提高精子活动力、改善精子畸形率和精子DNA碎片化指数。其改善精液参数的作用机制可能与改善精子DNA质量有关。

卞廷松等将[26]六味地黄软胶囊联合聚精颗粒临床治疗顶体酶异常男性不育症,治疗1个疗程(3个月)后,总有效率80.4%。治疗后精子顶体酶、精液质量较治疗前明显改善。靳风烁等[27]用克罗米芬和六味地黄丸治疗男性不育174例,3个月后复查,结果血清T、LH、精子计数、精子活率、精液质量改善率和配偶妊娠率均显著高于单用克罗米芬组。说明六味地黄丸对男性不育有一定治疗作用,若与克罗米芬合用可提高疗效。汤清明[28]用六味地黄汤治疗精子密度过高导致的男性不育12例,结果全部有效。用六味地黄丸合五子衍宗丸加味联合治疗可取得确切疗效,有效改善患者精子活动质量、提高精子活动率和活动力、且降低精子畸形率[29] [30] [31] [32]。六味地黄丸合西洋参联合治疗男性不育弱精子症,可明显提高精子活力作用,对治疗弱精子症有较显著的临床疗效[33]。符冰等[34]观察了针药结合治疗男性免疫性不育症的临床疗效及对抗精子抗体(AsAb)的作用。发现针药结合治疗男性免疫性不育症疗效肯定,并能调节AsAb,改善患者的免疫状况。

5. 小结

综上所述,六味地黄丸作为补肾养阴的代表方,可以修复 ^{60}Co γ -射线致大鼠生殖系统损伤、改善睾丸组织形态学及对超微结构的损伤、改善顺铂所致遗传及生殖毒性、保护生殖损伤、改善生精功能。可通过直接补充微量元素的作用有效改善精子质量,具有减少自由基和抗氧化作用,可使大鼠血清中睾酮含量升高,以调节下丘脑-垂体-性腺轴的功能,从而调节与生殖相关的内分泌系统,进而提高睾丸生精功能。临床研究结果表明,单用六味地黄丸或与其他药物(针灸)联用可用于治疗肾阴亏虚引起的男性不育症,进而促进精子生成,提高精子数量及质量,增强性功能。从动物实验和临床研究结果展示了六味地黄丸在治疗少弱精症方面的良好发展前景,在治疗男性不育症方面得到证实,但是中药本身也存在缺陷,如何发挥中药安全高效低毒的特点,做到减毒增效,也是一个有意义的研究方向。

基金项目

广西一流学科建设开放课题(2019XK131)。

参考文献

- [1] 李冀,左铮云.方剂学[M].第五版.北京:中国中医药出版社,2021:134.
- [2] 郭军华,何清湖.滋阴补肾法防治男性不育症的实验研究进展[J].湖南中医药大学学报,2014,34(6):57-60.

- [3] 毕焕洲, 孙景环, 王明霞. 男性不育症的中医证候研究[J]. 光明中医, 2012, 27(5): 849-851.
- [4] 吴猛, 蒋醒竹, 李临刚, 等. 400 例男性不育患者中医辨证客观化及其规律研究[J]. 临床医药文献电子杂志, 2019, 6(17): 51-52. <https://doi.org/10.16281/j.cnki.jocml.2019.17.028>
- [5] 赵芷含, 王馨雅, 王晓婷, 等. 五味子及其炮制品对肾精亏虚大鼠的治疗作用[J]. 中成药, 2019, 41(4): 920-923.
- [6] 凌庆枝, 高莉莉, 敖宗华, 等. 六味地黄汤对肾阴虚型生精障碍大鼠生殖系统的影响[J]. 中成药, 2009, 31(5): 688-691.
- [7] 孙晶晶, 吴秀娟, 鲍军, 等. 菟丝子总黄酮对氢化可的松致大鼠少弱精子症的治疗作用及其机制[J]. 华西药学杂志, 2016, 31(1): 14-17.
- [8] 李延晖, 张蓉, 邹练, 等. 八珍汤、六味地黄丸、自拟扶正解毒方剂对 $^{60}\text{Co}\gamma$ -射线致大鼠生殖系统损伤的防治作用[J]. 山东医药, 2014, 54(43): 28-30.
- [9] 曹晓慧. 六味地黄丸对 900 MHz 电磁辐射致大鼠睾丸损伤的影响[D]: [硕士学位论文]. 石家庄: 河北医科大学, 2017.
- [10] 张阔, 杨静玉, 吴春福. 六味地黄丸对顺铂所致遗传及生殖毒性的改善作用及机制[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2021, 35(10): 803.
- [11] 景晓平, 何丽. 补肾中药对雷公藤多苷所致生殖损伤雄性幼鼠血清睾酮及睾丸组织 P450scc 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11): 242-245.
- [12] 任献青, 丁樱, 崔瑞琴. 菟丝子黄酮干预雷公藤多苷所致雄性幼鼠睾丸组织损伤的实验研究[J]. 中国中西医结合儿科学, 2010, 2(4): 302-305.
- [13] 李腾, 傅显文, 雷思思, 等. 补肾法对雷公藤多苷片致大鼠生殖功能损伤保护作用的研究[J]. 亚太传统医药, 2018, 14(11): 5-8.
- [14] 凌庆枝, 敖宗华, 许泓瑜, 等. 六味地黄丸对生精障碍模型大鼠的促生精作用研究[J]. 陕西中医, 2003, 24(11): 1050-1051.
- [15] 凌庆枝, 敖宗华, 陶文沂. 六味地黄汤及其加味组方对生精障碍模型大鼠的促生精作用研究[J]. 中药材, 2003, 26(12): 873-875.
- [16] 凌庆枝, 敖宗华, 许泓瑜, 等. 六味地黄汤抑制大鼠生精细胞凋亡及其促进精子发生[J]. 无锡轻工大学学报, 2004, 23(1): 75-78.
- [17] 凌庆枝, 敖宗华, 许泓瑜, 等. 六味地黄汤对生精障碍模型大鼠精子及其血清 NO 的影响[J]. 新中医, 2004, 36(2): 76-78. <https://doi.org/10.13457/j.cnki.jncm.2004.02.047>
- [18] 王庆忠, 王东方, 刘慧莲, 等. 六味地黄丸提取物对小鼠支持细胞体外增殖的影响[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(6): 1363-1365.
- [19] 吴志荣, 徐莲英, 林水森, 等. 补肾方的作用与微量元素关系的探讨[J]. 中成药, 1993, 15(10): 30.
- [20] 王磊, 朱冬, 李超, 等. 六味地黄丸中微量元素分析[J]. 宁夏农林科技, 2012, 53(5): 113-114.
- [21] 孙祝美. 补肾中药对老年肾虚大鼠 Zn 水平影响及其机理研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2011, 35(3): 395-396.
- [22] 孙琳林, 卢林, 王书惠, 等. 左归丸与六味地黄丸对衰老大鼠抗自由基能力及 P(16)蛋白表达影响的比较研究[J]. 中国临床保健杂志, 2012, 15(3): 274-276.
- [23] 孙琳林, 王书惠, 卢林, 等. 左归丸与六味地黄丸对衰老大鼠抗氧化能力及海马区超微结构影响的比较研究[J]. 中医药学报, 2012, 40(3): 140-143.
- [24] 刘保国, 李志英, 盖自宽. 六味地黄丸对解脲支原体感染后精液质量及 IL-1 β 、IL-8 的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2011, 17(8): 895-896.
- [25] 孙振高, 孙金龙, 姜鲲鹏, 等. 六味地黄软胶囊对精液参数及精子 DNA 质量的影响[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(2): 340-342.
- [26] 卞廷松, 徐福松, 杨光, 等. 中药治疗顶体酶异常男性不育症 41 例疗效观察[J]. 辽宁中医杂志, 2008, 35(1): 78-79.
- [27] 靳风烁, 方玉华, 邓晓洪. 克罗米芬和六味地黄丸治疗男性不育的临床观察[J]. 中西医结合杂志, 1991, 11(6): 368-369.
- [28] 汤清明. 六味地黄汤治疗精子密度过高不育症——附 12 例临床观察[J]. 辽宁中医杂志, 1991, 18(2): 22-23.
- [29] 李文献, 宋向华. 液化生精丸治疗男性不育症[J]. 河南中医, 2002, 22(5): 67-68.

-
- [30] 刘怀民. 六味地黄合五子衍宗加味治疗男性少、弱精症 80 例临床观察[J]. 新疆中医药, 2011, 29(4): 20-21.
- [31] 何仰高, 陈栋, 方庆华, 等. 五子衍宗汤加味与六味地黄丸对男性不育症精子质量及畸型率的影响[J]. 广东医学, 2017, 38(15): 2394-2396+2399.
- [32] 王雪花, 井岚花. 五子衍宗汤加味与六味地黄丸对男性不育症精子质量及畸型率的影响[J]. 中医临床研究, 2018, 10(29): 120-121.
- [33] 廖敦, 刘志刚. 西洋参治疗弱精子症 62 例疗效观察[J]. 中国实用医药, 2009, 4(15): 174-175.
- [34] 符冰, 伦新, 宫育卓. 针药结合治疗男性免疫性不育症 50 例疗效观察[J]. 新中医, 2004(8): 48-49.