

• 临床论著 •

慢性乙型肝炎中医辨证分型的论证*

——血清和肝组织HBV抗原、HBVDNA以及
病理变化与证型关系的研究

浙江医科大学传染病研究所(杭州 310003)

刘克洲 章明太 陈 智 蔡培仁¹ 何文南² 丁列明 阎 辉金建华 余乾炎 张秀芝 冯兰生³ 张金龙² 陈明华

内容提要 应用分子生物学和免疫组化等技术,对131例慢性乙型肝炎中医辨证分型进行了论证,发现肝郁脾虚型临床符合慢性迁延性肝炎(CPH)者占94.6%,肝组织病理呈CPH改变者为69.2%;血清HBeAg和(或)HBVDNA阳性占61.5%,肝组织HBsAg阳性率为69.2%,其中呈弥漫型者占44.4%,HBVDNA阳性率为33.3%。肝肾阴虚型临床符合慢性活动性肝炎(CAH)者占75.5%,肝脏病理呈CAH改变者占88.5%;血清HBeAg和(或)HBVDNA和肝组织HBsAg阳性率均为80.8%,后者弥漫型占阳性病例85.7%,高于肝郁脾虚型($P<0.05$);肝内HBeAg阳性率为34.6%,其中浆型占阳性者55.6%,HBVDNA阳性率63.2%,高于肝郁脾虚型($P<0.05$)。气滞血瘀型临床属CAH伴早期肝硬化者占75.0%,病变较重,HBV复制程度与肝郁脾虚型相近。

关键词 慢性乙型肝炎 辨证分型 乙型肝炎病毒表面抗原 乙型肝炎病毒核心抗原 乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸

本研究应用分子生物学和免疫学等先进检测手段对131例慢性乙型肝炎患者中医辨证分型,探讨了证型与血清和肝组织HBV抗原、HBVDNA以及病理变化的关系,现报告如下。

资料与方法

一、资料:选择1987年5月~1989年10月肝炎病房住院和门诊就医的慢性乙型肝炎131例。其中,男115例,女16例。年龄20岁以下6例,20~30岁和30+~40岁各43例,40+~50岁30例,50岁以上9例。病程:1年以内7例,1~5年100例,5年以上24例。全部病例临床和病理诊断均符合1984年南宁全国病毒性肝炎会议制定的标准^[1]。其中临床诊断为慢性迁延性肝炎(CPH)74例,慢性活动性肝

炎(CAH)49例,早期肝硬化(ESC)8例。

二、中医辨证分型及其标准:慢性肝炎病理以正虚邪实为主,临床各证型错杂表现。本组以临床表现比较突出的症候群为辨证依据,参考有关文献将慢性乙型肝炎分为三型^(1~3):(1)肝郁脾虚型:表现为周身轻度乏力,纳差,右胁胀痛,大便溏薄,脉沉弦,舌苔薄。血清转氨酶(sGPT)升高,血清白、球蛋白比例(A/G)和硫酸锌浊度(ZnTT)基本正常。本证74例,其中CPH者70例(94.6%),CAH者4例(5.4%)。(2)肝肾阴虚型:表现明显乏力,纳减,右肋不舒,腰痠,手足心热,口干目涩,舌质干红,少苔或无苔,脉细数弦。sGPT升高,A/G比例异常,ZnTT升高。本证49例,其中CAH者37例(75.5%),CAH+ESC者8例(16.3%),CPH者4例(8.2%)。(3)气滞血瘀型:表现为面色灰暗,右肋刺痛,腹胀,脾肿大,舌质暗红,或伴有瘀点、瘀

1. 浙江医科大学附属一院中医科; 2. 浙江省武警部队总医院传染病科; 3. 浙江省嘉兴市第二医院传染病科

* 本研究由浙江省卫生厅中医局基金资助

斑,脉沉弦或沉涩,A/G明显倒置,丙种球蛋白明显升高。本证8例,其中CAH+ESC者6例(75.0%),CAH和CPH者各1例。

三、检查方法:(1)HBV血清学标志:血清HBsAg、抗HBs、抗-HBc、HBeAg、抗-HBe采用固相放射免疫法(SPRIA)测定,药盒购自中国同位素公司北方免疫所;生物素-HBVDNA探针斑点杂交检测血清HBVDNA,药盒由北京医科大学肝病研究所提供,以上实验方法和结果判断按药盒说明。(2)病理诊断:采用1秒钟快速肝穿负压抽吸法。肝活检组织均用10%中性福尔马林固定,切片后用HE染色,统一由一名病理医师光镜检查诊断。本组共44例作了肝组织活检。(3)肝组织HBV抗原(HBsAg、HBeAg)定位:采用ABC法,兔抗-HBs和兔抗-HBe为丹麦DAKO产品,ABC为美国ENZO公司产品,生物素羊抗兔IgG为美国Sigma公司产品,操作按胡瑞德等的方法⁽⁴⁾。(4)肝组织HBVDNA检测:采用原位杂交法。生物素HBVDNA探针购自华西医科大学肝炎研究室,采用美国BRL公司药盒标记,操作步骤按药盒说明书并参照Brigati方法⁽⁵⁾略加修改。(5)统计学处理:采用四格表确切概率法。

结 果

一、中医辨证分型与血清HBV复制标志的关系:见附表。抗HBc均阳性,其中抗-HBs阳性者3例(2.3%),抗-HBe阳性者12例(9.2%)。

附表 辨证分型与血清HBV复制标志的关系

证 型	例 数	HBsAg(+)		HBeAg(+)		HBVDNA(+)	
		例	%	例	%	例	%
肝郁脾虚	74	64	86.5	41	55.4	45	60.8
肝肾阴虚	49	48	97.9*	36	73.4**	39	79.6**
气滞血瘀	8	5	62.5	2	25.0	2	25.0

注:与肝郁脾虚型和气滞血瘀型相比, * $P<0.01$,

** $P<0.05$

二、辨证分型与肝组织病理变化:本组44例肝组织作了病理检查,其中肝郁脾虚型13例,

肝肾阴虚型26例,气滞血瘀型5例。肝郁脾虚型肝组织病理变化符合CPH者9例(69.2%),呈CAH变化者4例(30.8%);肝肾阴虚型符合CAH者23例(88.5%),CPH者2例(7.7%),CAH+ESC者1例(3.8%);气滞血瘀型符合CAH+ESC者3例,呈肝硬化(LC)和CPH变化者各1例。

三、辨证分型与肝组织内HBV抗原形态与分布:(1)肝组织内HBsAg定位:44例肝活检组织中HBsAg阳性检出率为77.3%(34/44例),阳性细胞内可见棕黄色阳性物质,分布于细胞浆内和胞膜上。HBsAg形态呈包涵体型者12例,占阳性病例的35.3%;呈弥漫型者22例,占阳性病例的64.7%。肝郁脾虚型肝组织HBsAg阳性检出率69.2%(9/13例),其中多数为包涵体型,占阳性病例的55.6%;弥漫型4例,占阳性病例的44.4%。肝肾阴虚型肝组织HBsAg阳性检出率80.8%,其中多数为弥漫型,占阳性病例的85.7%;包涵体型仅3例。气滞血瘀型HBsAg阳性检出率为80.0%,均为包涵体型。HBsAg呈弥漫型分布者,肝肾阴虚型明显高于肝郁脾虚型($P<0.05$)。(2)肝组织内HBeAg定位:本组44例肝活检组织中HBeAg阳性检出率为27.3%,阳性颗粒呈棕黄色,分布于细胞核、胞浆内。HBeAg形态呈浆型者7例,占阳性病例的58.3%;棕黄色的物质分布于胞浆中,胞膜亦见阳性;呈核型者5例,占阳性病例的41.7%,阳性核染色深浅不一,核膜、核仁多数呈阳性。肝郁脾虚型肝组织HBeAg仅1例阳性,呈浆型。肝肾阴虚型HBeAg阳性9例,其中浆型5例,核型4例,分别占阳性病例的55.6%和44.4%。气滞血瘀型HBeAg阳性2例,核型和浆型各1例。HBsAg呈弥漫型、HBeAg呈浆型者多见于炎症明显活动的肝组织内,而HBsAg呈包涵体型、HBeAg呈核型者则见于炎症改变较轻或相对静止的肝细胞内。

四、辨证分型与肝组织HBVDNA定位:肝活检的44例肝组织中有30例肝标本检测了HBVDNA,结果阳性16例(53.3%)。其中肝郁

脾虚型检测 9 例, 阳性 3 例; 肝肾阴虚型检测 19 例, 阳性 12 例; 气滞血瘀型检测 2 例, 阳性 1 例。肝组织 HBVDNA 阳性率, 肝肾阴虚型明显高于肝郁脾虚型 ($P < 0.05$)。HBVDNA 阳性细胞呈棕黄色粗颗粒状, 多为弥漫型, 分布于肝细胞内, 少数呈簇状分布, 细胞核未见有着色现象。

讨 论

一、辨证分型与临床和病理关系: 本组将慢性乙型肝炎分为肝郁脾虚、肝肾阴虚和气滞血瘀型^(1~3, 6)。慢性肝炎出现的湿热余邪未尽现象是本病成为慢性化的因素之一, 它可出现于慢性肝炎的整个病理过程。因此, 湿热余邪未尽不单独列为一个证型。肝郁脾虚型: 一般为本病较早期阶段, 正气轻度受损, 临床主要为消化系统症状, 肝功能损害较轻, 以 CPH 为主, 肝细胞轻度炎症反应, 69.2% 符合 CPH 病理诊断。反之, 病理诊断为 CPH 者中亦以肝郁脾虚为主。肝肾阴虚型: 多为本病中期阶段, 病变反复活动, 肝功能损害较严重。由于病久及肾, 正虚较著, 临床出现多系统表现, 临床类型以 CAH 占大多数。肝组织病变较重, 多呈 CAH 变化。反之, 病理诊断为 CAH 者中, 亦多为肝肾阴虚型。气滞血瘀型: 属本病中晚期阶段, 为肝肾阴虚进一步发展, 正气已伤, 瘀热内结。临床类型属 CAH + ESC 者占 75.0%, 而肝组织呈 CAH + ESC 和 LC 病变者亦占大多数 (80.0%)。以上说明, 西医对慢性乙型肝炎病情程度的观察和病理分型与中医对病证变化的分析有较密切的相关性, 值得注意的是部分病例证型与病理分型不全符合, 还有待进一步研究。

二、辨证分型与 HBV 复制关系: 肝郁脾虚型: 本型血清 HBsAg、HBeAg 和 HBVDNA 阳性率均低于肝肾阴虚型 ($P < 0.05 \sim 0.01$)。肝组织 HBsAg 阳性率达 69.2%, 其中呈弥漫型者近半数, HBVDNA 阳性率为 33.3%, 同步检测血清 HBeAg 和 (或) HBVDNA 阳性率达 61.5%, 提示本型患者多数 HBV 呈复制状态。本组 5

例肝组织 HBsAg 呈包涵体型, 其肝细胞内 HBVDNA 很可能呈整合状态, 故肝细胞表面没有 HBeAg 的表达, 肝细胞呈相对静止状态⁽⁷⁾, 病情和病变较轻。肝肾阴虚型: 本型血清 HBsAg、HBeAg 和 HBVDNA 阳性率均明显高于肝郁脾虚和气滞血瘀型 ($P < 0.05 \sim 0.01$)。肝组织 HBsAg 检出率高, 又以弥漫型占多数, HBeAg 阳性者中亦以浆型多见, 肝组织 HBVDNA 阳性检出率达 63.2%; 同步检测血清 HBeAg 和 (或) HBVDNA 阳性率为 80.8%, 说明本型患者 HBV 复制程度高。肝细胞表现为浆、膜型 HBeAg 和弥漫型、膜型 HBsAg, 反映了肝细胞表面有抗原表达, 主要是 HBeAg 作为靶抗原, 被致敏淋巴细胞识别、攻击而造成肝脏活动性病变⁽⁷⁾, 故病情和病变较重。气滞血瘀型: 同步检测血清 HBeAg 和 (或) HBVDNA 阳性率为 60.0%, 但肝组织 HBsAg 阳性者均为包涵体型, HBeAg 呈浆型者仅 1 例, 表示本型病例 HBV 复制程度和强度较低。综合该型 HBV 复制标志, 约 40% 病例 HBV 复制呈相对静止状态。

本结果提示, 湿热和慢性肝炎 HBV 复制, 肝组织病变有一定关系。如果肝炎湿热未尽, 临床和病理变化较重, HBV 复制处于活动状态; 反之, 湿热轻者, 临床和病理变化较轻, HBV 复制多处于轻度活动或相对静止状态。

参 考 文 献

1. 病毒性肝炎防治方案. 中华内科杂志 1985; 24(增刊): 52.
2. 杨医亚. 中医学. 第 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 1984; 338.
3. 史又新. 肝病知识更新讲义. 上海: 上海市医学科学技术情报研究所《世界医学信息》编辑部, 1987: 125.
4. 胡瑞德, 等. ABC 和 PAP 法的实际应用和比较. 中华病理学杂志 1985; 14: 149.
5. Brigati DJ, et al. Detection of viral genomes in cultured cells and paraffin-embedded tissue sections using biotin-labeled hybridization probes. Virology 1983; 126: 32.
6. 张育轩. 乙型肝炎的临床研究: 辨证论治. 陕西中医 1987; 8: 195.
7. 陈梅龄, 等. HBsAg 和 HBeAg 形态分型的意义及组织学改变的相互关系. 中华内科杂志 1990; 29: 102.

Abstracts of Original Articles

Study on the Relationship Between TCM Differentiation of Syndromes and HBV Antigen, HBV DNA in Serum and Liver Tissues and Pathological Changes in Chronic Hepatitis B

Liu Ke-zhou(刘克洲), et al

Institute of Infectious Diseases, Zhejiang Medical University, Hangzhou (310003)

TCM differentiation of syndrome in 131 cases of chronic hepatitis B has been studied with molecular-biological and immuno-histological techniques. The results showed that 94.6% cases of Gan-Yu Pi-Xu(肝郁脾虚, stagnancy in the liver leading to diminished function of the spleen) type belonged to chronic persistent hepatitis (CPH), whose coincidence rate of pathology of the liver biopsies with CPH was 69.2%; the positive rate of HBeAg and/or HBV DNA in sera was 61.5%, and the positive rates of HBsAg and HBV DNA in liver tissues were 69.2% (of which 44.4% appeared diffuse pattern morphologically) and 33.3% respectively. 75.5% cases of Gan-Shen Yin-Xu(肝肾阴虚, deficiency of Yin of the liver and kidney) type belonged to chronic active hepatitis (CAH) and 88.5% of the cases were pathologically described as CAH, the positive rates of HBeAg and/or HBV DNA in serum and HBsAg in liver tissues were all 80.8%, among which the diffuse pattern of HBsAg accounted for 85.7%, which was higher than that in Gan-Yu Pi-Xu type ($P < 0.05$), the positive rates of HBeAg and HBV DNA in liver tissues were 34.6% (of which 55.6% appeared cytoplasmic pattern) and 63.2% respectively, which was higher than that in Gan-Yu Pi-Xu type ($P < 0.05$). 75.0% cases of Qi-Zhi Xue-Yu(气滞血瘀, stagnation of vital energy and stasis of blood) type belonged to CAH with early state cirrhosis, its pathological changes in liver tissues were obvious, replication levels of HBV corresponded to the cases of Gan-Yu Pi-Xu type.

Key Words chronic hepatitis B, hepatitis B surface antigen, hepatitis B core antigen, hepatitis B virus, deoxyribonucleic acid, differentiation of syndromes of traditional Chinese medicine

(Original article on page 11)

The Characteristics of TCM Syndromes in Both Spontaneous and Variant Angina — An Analysis of 21 Cases

He Xi-yan(何熹延), Ding Hui-ling(丁惠玲), Lou Bin(娄彬)

Dept. of Internal Medicine, Jiangsu Provincial Institute of TCM and CMM, Nanjing (210037)

An analysis of TCM syndromes is reported in 21 cases with both spontaneous and variant angina as compared with 147 cases with effort angina. The results showed that 3 characteristic features were present, which were as follows: the Biao-Shi(标实) syndrome of cold condensation was more than that of the control group in ratio of 42.86% to 3.40%; the Ben-Xu(本虚) syndrome of Yang(阳) deficiency was more and that of Qi(气) deficiency less than those in the control group, and they were in ratio of 33.33% to 6.12% and 33.33% to 72.11% respectively. An absolute reduction of blood supply resulted from coronary spontaneous spasm in both spontaneous and variant angina causes severe chest pain during attacks as a cold condensation type. Hyperfunction of parasympathetic nerves often occurring in coronary heart disease with Yang deficiency is liable to vasoconstriction of the large coronary arteries leading to episodes of both spontaneous and variant angina. The presence of less Qi deficiency type may be related to the less impairment of cardiac function resulted from the short course in these cases and only relatively mild state of an illness, even no marked lesion in