

养肝澳平合剂治疗慢性乙型肝炎的临床及实验研究

俞荣青 毕建军 王前山 薛学坤 潘雪飞 吴春东 常洁 黄国健

内容提要 目的:观察养肝澳平合剂治疗慢性乙型肝炎的疗效。方法:慢性肝炎患者采用养肝澳平合剂治疗,观察近期、远期疗效及血清乙肝病毒标志物变化。实验研究:养肝澳平合剂大鼠肝损伤实验及对树鼯感染人乙肝病毒、鸭感染鸭乙型肝炎病毒的影响。结果:治疗组 152 例慢性乙型肝炎中,慢性迁延型肝炎 79 例显效率 60.76%,随访 40 例远期显效率 70.00%;慢性活动性肝炎 73 例显效率 60.27%,随访 32 例远期显效率 62.50%。治疗组 HBeAg 阳性 119 例,阴转率 71.43%;对照组 HBeAg 阳性 89 例,阴转率 44.94%;两组比较差异显著($P < 0.01$)。实验研究结果证实:养肝澳平合剂对树鼯感染人乙肝病毒标志物阴转率增高,感染鸭血中鸭乙型肝炎病毒(DHBV)DNA 被抑制,分别与对照组比较,差别有显著性意义。结论:养肝澳平合剂对慢性乙型肝炎有治疗作用,对乙肝病毒标志物有转阴作用。

关键词 慢性乙型肝炎 养肝澳平合剂 树鼯感染乙型肝炎病毒 鸭感染鸭乙型肝炎病毒

Clinical and Experimental Study on Treatment of Chronic Hepatitis B with Yanggan Aoping Mixture
YU Rong-qing, BI Jian-jun, WANG Qian-shan, et al *Jiangsu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing (210029)*

Objective: To assess the efficacy of Yanggan Aoping Mixture (YGAPM) in treating hepatitis B. **Methods:** Patients suffered from chronic hepatitis B were treated with YGAPM. Observe their short- and long-term efficacy and the change of serum hepatitis B virus marker. In experiment, the effect of YGAPM in treating rat's liver injury as well as HBV-infected tree shrew and duck HBV-infected ducks was observed. **Results:** In 79 cases of chronic persistent hepatitis, the markedly effective rate was 60.76%, and follow-up studies on 40 cases, the further raised to 70.00%. In 73 cases of chronic active hepatitis, the markedly effective rate was 60.27%, and further raised to 62.50% in 32 follow-up cases. In the treatment group, 85 (71.43%) of the 119 cases with HBeAg-positive turned to negative. Whereas in the control group, only 40 (44.94%) of 89 HBeAg-positive cases turned to negative, $P < 0.01$. Results of experimental study showed that negative conversion rate of tree shrew infected with HBV marker was raised, while infected duck blood with duck HBV DNA was inhibited. Those compared with the control group separately, the difference was remarkably significant. **Conclusions:** YGAPM is an effective drug in treating chronic hepatitis B, and it could effectively negative convert the HBV marker.

Keywords chronic hepatitis B, Yanggan Aoping Mixture, hepatitis B virus infected tree shrew, duck hepatitis B virus HBV infected duck

从 1990 年~1994 年我们以养肝澳平合剂治疗慢性乙型肝炎进行了临床及实验研究,现报道如下。

临床研究

1 临床资料 诊断标准按 1990 年上海会议“病毒性肝炎防治方案(试行)”之规定^[1]。治疗组 152 例,其中男 114 例,女 38 例,年龄 11~58 岁,平均 31.46±10.52 岁;慢性迁延性肝炎(慢迁肝)79 例,全部 HBeAg 阳性;慢性活动性肝炎(慢活肝)73 例,40 例 HBeAg 阳性。对照组 100 例,其中男 87 例,女 13 例,年龄 5~60 岁,平均 32.41±12.55 岁,慢迁肝 70 例,全部 HBeAg 阳性,慢活肝 30 例,19 例 HBeAg 阳性。

辨证分型按照中国中医药学会 1992 年“病毒性肝炎中医辨证标准(试行)”^[2]。治疗组慢迁肝皆属肝郁脾虚型伴有湿热或血瘀兼证。慢活肝 73 例中属湿热中阻型 17 例,肝郁脾虚型 48 例,肝肾阴虚型 1 例,瘀血阻络型 7 例。对照组未分型。

2 治疗方法 治疗组:养肝澳平合剂(简称合剂)由当归 10g 丹参 20g 赤芍 20g 丹皮 10g 白花蛇舌草 15g 茵陈 10g 茯苓 10g 砂仁 3g 等组成,每日 2 次,每次口服 60ml(含生药 40.75g)。疗程:慢迁肝 4.38±2.11 月,慢活肝 5.14±3.33 月。对照组:治疗采用肝细胞生长素(广东药物研究所制药厂生产)60mg 及强力宁(南通神怡制药厂生产)40~80ml 加入葡萄糖液静脉滴注,每日 1 次;联苯双酯(南京第二制药厂生产)25mg,每日 3 次口服。疗程:慢迁肝 2.35±0.93 月,慢活肝 2.50±1.20 月。两组治疗前后检测血清丙氨酸转氨酶(ALT)、γ-谷氨酰转肽酶(γ-GT)、总胆红素、白蛋白、球蛋白、透明质酸(HA)、单胺氧化酶(MAO)。

3 结果

3.1 治疗后乙肝病毒标志物变化 HBeAg 阴转率治疗组 71.43%(85/119 例),对照组 44.94%(40/89 例);HBsAg 阴转率治疗组 35.97%(50/139 例),对照组 10.47%(9/86 例),两组比较, P 均 <0.01 ;HBeAb 阳转率治疗组 31.40%(38/121 例),对照组 27.54%(19/69 例),两组无显著差异($P>0.05$);HBV-DNA 阴转率治疗组 30.91%(17/55 例),对照组为 7.69%(3/39 例), $P<0.01$ 。

3.2 ALT 变化 ALT 治疗后治疗组 67.00%(67/100 例)恢复正常,对照组 86.05%(74/86 例)恢复正常, $P<0.01$ 。ALT 恢复正常时间,治疗组慢迁肝 48.57±21.32 天,慢活肝 38.9±18.5 天。对照组慢迁肝 30.17±20.18 天,慢活肝 26.8±14.7 天,组间差别皆有显著性意义。

3.3 γ-GT 的变化 慢迁肝治疗组 γ-GT 复常率

64%(16/25 例),对照组 36%(9/25 例), $P<0.05$ 。慢活肝治疗组 γ-GT 复常率 52.17%(12/23 例),治前 98.36±83.74u,治后为 67.54±63.66u, $P<0.01$ 。

3.4 治疗组慢活肝(30 例)之总胆红素治前为 21.3±6.0μmol/L,治后 16.2±3.0μmol/L, $P<0.01$ 。血清白蛋白治前 40.7±6.4g/L,治后 44.9±9.2g/L, $P<0.05$ 。球蛋白治前 29.3±4.1g/L,治后 27.6±3.1g/L, $P>0.05$ 。但血清蛋白电泳分析 γ 球蛋白构成比,治前 23.4±3.1%,治后 20.9±2.9%, $P<0.05$ 。治疗组慢活肝(25 例)MAO 治前 52.4±17.9u/ml,治后 43.5±10.0u/ml, $P<0.05$;HA 治前 $<100u$ 3 例,101~300u 8 例,301~640u 8 例, $>640u$ 2 例,治后为 5、14、6、0 例。后两项反映肝纤维化活动性进程指标,治后也有不同程度改善。

3.5 疗效判定 按照中国中医药学会肝病委员会 1992 年“病毒性肝炎中医疗效判定标准(试行)”^[3]。

3.5.1 两组近期疗效比较 见表 1。

表 1 两组近期疗效比较 [例(%)]

组别	例数	显效	好转	无效
慢迁肝治疗	79	48(60.76)*	16(20.25)	15(18.99)
对照	70	35(50.00)	31(44.29)	4(5.71)
慢活肝治疗	73	44(60.27)*	13(17.81)	16(21.92)
对照	30	16(53.33)	6(20.00)	8(26.67)

注:与对照组比较,* $P<0.05$

治疗组慢活肝中医证型之显效率:肝郁脾虚证 60.42%(29/48 例),湿热中阻证 64.71%(11/17 例),瘀血阻络证 42.86%(3/7 例),肝肾阴虚证 1/1 例。前三个证型组间比较,均无显著性差异。

3.5.2 远期疗效 随访病例乃无选择性。治疗组慢迁肝随访 40 例,随访问隔 13.51±11.86 个月,临床基本治愈 13 例(32.50%),显效 15 例(37.50%),好转 3 例(7.50%),无效 9 例(22.50%),显效率 70.00%;HBeAg 阴转率 70.00%(28/40 例)。慢活肝随访 32 例,随访问隔 25.36±14.07 个月,临床基本治愈 11 例(34.38%),显效 9 例(28.13%),好转 5 例(15.63%),无效 7 例(21.88%);显效率 62.50%,HBeAg 阴转率 63.16%(12/19 例)。慢迁肝与慢活肝组间皆无显著性差异。

实验研究

1 保护实验性 CCl₄ 亚急性肝损伤 SD 大鼠分为:(1)空白对照组(空白组)5 只,(2)肝损伤对照组(肝损组)26 只,(3)肝损治疗组(治疗组)22 只。空白组注射生理盐水,肝损组、治疗组皮下注射 CCl₄。

造模 10 周。从造模起空白组、肝损组用清水 5ml 饲管灌胃 2 次/d, 治疗组用养肝澳平合剂 5ml (每毫升含生药 2.72g) 灌胃, 2 次/d, 相当于成人日服量的 50 倍。第 10 周末眼眶取血。

结果: (1) 造型前 ALT $45.75 \pm 11.79u$, AST $133.56 \pm 33.93u$ 。实验结束时, ALT: 空白组 $41.54 \pm 8.28u$, 肝损组 $147.40 \pm 94.51u$, 治疗组 $34.45 \pm 21.5u$, AST: 空白组 $112.92 \pm 25.62u$, 肝损组 $146.10 \pm 40.30u$, 治疗组 $96.00 \pm 25.09u$ 。治疗组与空白组、肝损组比较, 均有显著性差异 (P 分别 < 0.05 , < 0.001); 空白组与肝损组比较, 亦有显著性差异 ($P < 0.01$)。 (2) 肝组织切片, HE 染色, 镜检。空白组镜下见肝组织正常。肝损组肝索肿胀, 排列紊乱, 肝细胞浊肿变性, 轮廓不清, 胞质疏网状, 嗜碱质少, 核未改变, 局部郁胆, 中心静脉淤血, 有淋巴细胞浸润, 纤维组织显著增生, 肝小叶完全或不完全分割, 部分呈肝硬变特征; PAS 染色显示肝糖原减少。治疗组肝索轻度肿胀, 排列尚正常, 肝细胞轻度空泡变性, 胞质嗜碱质较多, 未见郁胆, 肝细胞增生明显, 有多个再生结节, 少量纤维组织增生, 但比肝损组明显减少; 肝糖原增多, 团块分布, 较松散。

2 保护实验性 CCl_4 急性肝损伤 SD 大鼠 27 只分为空白组 (5 只)、治疗组 (11 只)、肝损组 (11 只)。空白组注射生理盐水, 肝损组及治疗组皮下注射 CCl_4 造模。空白组及肝损组饲管给水 2ml, 2 次/d, 治疗组同期饲管给浓缩 4 倍的养肝澳平合剂 2ml, 2 次/d。此过程中肝损组死亡 2 只。第 8 天全部眼眶取血测 ALT; 脱椎处死取肝组织作病理检查。结果: (1) ALT: 空白组 $28.60 \pm 6.66u$, 治疗组 $43.18 \pm 10.93u$, 肝损组 $109.78 \pm 51.49u$ 。治疗组与空白组比较, $P > 0.05$; 肝损组分别与空白组、治疗组比较, P 值均 < 0.05 。 (2) 肝指数 (肝湿重/体重 $\times 100$): 空白组 5.54 ± 0.26 , 治疗组 5.69 ± 0.35 , 肝损组 4.52 ± 0.64 。空白组与治疗组比较无显著性差异 ($P > 0.05$); 肝损组分别与空白组、治疗组比较均有显著性差异 (P 均 < 0.05)。 (3) 肝组织 HE 染色镜检, 据肝损伤程度分为 0 级 (正常)、I 级 (轻度损伤)、II 级 (中度损伤)、III 级 (重度损伤) 及 IV 级 (特重度损伤)。结果: 空白组 5 只均为 0 级; 治疗组 0 级 1 只, I 级 8 只, II 级 2 只; 肝损组 I 级 1 只, II 级 5 只, III 级 3 只。经 Ridit 分析, 有显著性差异。

3 治疗树鼯感染人乙型肝炎病毒 (HBV) 模型实验 56 只树鼯购自昆明, 驯养期查 HBV-m 皆阴性。股静脉接种 HBsAg 及 HBeAg 均阳性的人血清, 每只

0.5ml, 两周后 HBsAg、HBeAg、HBeAb 一项以上阳性者 38 只。分为三组: E 组 14 只, 每天喂浓缩 4 倍养肝澳平合剂 1ml, F 组 14 只每天喂浓缩养肝澳平合剂 0.5ml; G 组 10 只, 每天喂水。喂药第 5 周, HBV-m 转阴者 E 组 78.57% (11/14 只), F 组 50.00% (7/14 只), G 组 20.00% (2/10 只), 三组比较, $P < 0.005$ 。第 9 周 HBV-m 转阴率 E 组为 85.71% (12/14 只), F 组为 78.57% (11/14 只), G 组为 40.00% (4/10 只), 三组比较, $P < 0.05$, E 组与 G 组比较 $P < 0.025$ 。第 9 周杀检动物, 取肝组织镜检: E 组肝组织变性者占 28.57%, 坏死占 28.57%, 增生占 85.71%; F 组肝组织变性者 35.71%, 坏死者 64.29%, 增生者占 57.14%; G 组肝组织变性 100%, 坏死 100%, 增生占 20%。肝细胞变性、坏死是大剂量组 $<$ 小剂量组 $<$ 不给药组。肝细胞增生则相反。

4 治疗鸭自然感染 DHBV 模型实验 2 月龄江宁麻鸭 120 只, 其中 DHBVDNA (+) 鸭 46 只 (斑点杂交法), 分为 3 组: 1 组 15 只, 饲管给浓缩 6 倍的养肝澳平合剂 5ml; 2 组 15 只, 饲管给上述合剂 10ml; 3 组 16 只, 饲管给生理盐水 10ml, 皆 1 次/d。另选 DHBVDNA (-) 鸭 14 只为第 4 组, 不给任何处理。实验时间 3 个月。实验中 1 组死亡 1 只, 2 组死亡 2 只。实验前 4 个组 ALT 均值为 $28.45 \pm 4.29u$, 1 组、2 组、3 组皆显著升高。治后, 1 组 $29.60 \pm 4.97u$, 2 组 $27.80 \pm 7.84u$, 4 组 $25.80 \pm 3.34u$, 组间 t 检验, $P > 0.05$; 3 组 $47.69 \pm 12.34u$, 与 4 组比较, $P < 0.01$ 。血清总 SOD (黄嘌呤氧化酶法), 治前治后均值见表 2。治前下降的 1 组、2 组给养肝澳平合剂后上升, 3 组未升高。说明鸭感染 DHBV 后, 肝损伤可使 SOD 下降, 而养肝澳平合剂可使之升高, 有利于氧自由基的清除。实验结束时鸭血中 DHBV-DNA 含量均有自然下降趋势, 但下降值大剂量 (2 组) $>$ 小剂量 (1 组) $>$ 阳性对照 (3 组), 见表 2。提示养肝澳平合剂有抑制麻鸭血中 DHBV-DNA 作用。

表 2 鸭感染 DHBV 模型治疗前后血中 SOD、DHBV-DNA 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	SOD (nu/ml)		DHBV-DNA (pg/ul)	
	治前	治后	治前	治后
1	14 55.0 $\pm$ 11.4	83.0 $\pm$ 11.2*	30.15 $\pm$ 22.86	7.58 $\pm$ 7.43*
2	12 54.5 $\pm$ 8.0	86.8 $\pm$ 9.5*	36.21 $\pm$ 21.08	5.83 $\pm$ 3.54*
3	16 50.4 $\pm$ 12.9	47.6 $\pm$ 9.9	30.68 $\pm$ 19.26	22.58 $\pm$ 19.49*
4	11 84.0 $\pm$ 6.7	86.3 $\pm$ 8.9	—	—

注: 与治前比较, * $P < 0.01$

5 促进肝叶切除大鼠肝细胞再生实验 SD 大鼠

40 只分为 3 组, 1 组 8 只不作任何处理。2、3 组在无菌条件下切除左肝叶 (约 34%), 2 组 16 只术后 8h 起饲管给浓缩 4 倍合剂 5ml, 1 次/d。3 组 16 只饲管给 5ml 生理盐水, 1 次/d。肝指数: 术后 3 天, 2、3 组各处死一批, 2 组肝指数为 4.18 ± 0.34 , 3 组为 3.98 ± 0.18 ; 术后 7 天全部处死, 测肝指数 1 组为 4.30 ± 0.36 , 2 组为 4.39 ± 0.41 , 3 组为 3.86 ± 0.4 。2 组与 3 组比较, $P < 0.05$ 。肝组织切片: AgNOR 染色, 1 组颗粒均数 (颗粒数/细胞数) 为 1.88, 呈均匀小圆点, 着色浅, 位于核中央。2 组术后 3 天及 7 天, 颗粒均数为 2.46、2.75, 颗粒明显增大、增粗, 均匀, 着色深, 位于核中央区。3 组为 2.32、2.52, 着色介于 1 组与 3 组之间。AgNOR 颗粒均数是反映细胞增殖水平的敏感指标^(4,5), 结合肝指数差异提示养肝澳平合剂可促进部分切除肝叶大鼠肝细胞增生。

讨 论

1 中医学乙肝的病因病机为湿热疫毒困遏脾胃, 郁结肝胆, 久病深伏血分, 由于正不胜邪, 导致脏腑、气血、阴阳之虚损与失调, 按养血、活血、凉血、理脾、清热利湿解毒, 标本兼顾的原则, 组成养肝澳平合剂, 治疗湿热中阻, 肝郁脾虚, 瘀血阻络, 或相互兼证的乙肝。

2 对乙肝病毒复制标志物 HBeAg 阴转率, 治疗组慢迁肝及慢活肝均优于对照组, 有显著性差异; 远期 HBeAg 阴转率慢迁肝可达 70.00%, 慢活肝可达 63.16%。与 α 干扰素治疗慢性乙型肝炎 (20%~50%) 及 LAK 细胞回输治疗慢性乙型肝炎 HBeAg 阴转率 (53.8%) 及乙肝 1 号治疗慢性乙型肝炎比较⁽⁶⁻⁸⁾, 本研究疗效为优。

3 治疗组 ALT 复常率、复常时间不如对照组, 考虑主要是不如联苯双酯快捷, 但 γ -GT 复常率却高于对照组。因为 γ -GT 在肝炎活动期升高乃病灶坏死区邻近肝细胞内, 酶合成亢进所致, 故治疗组 γ -GT 显著性降低, 提示活动性病灶之恢复具有较好稳定性。此外治疗组慢活肝治疗后总胆红素下降, 血清白蛋白升高, 血清蛋白电泳分析 γ 球蛋白构成比下降均有显著性意义。且反映肝纤维化活动性进程的 MAO 及 HA 也有改善, 后者在肝脏合成及降解, 故 HA 升高幅度与肝纤维化改变成正相关⁽⁹⁾。由于乙肝病毒复制标志物转阴,

故慢性乙型肝炎各活动性指标随之改善。

4 湿热中阻、肝郁脾虚、瘀血阻络三证型间之显效率无显著性差异。唯合剂中凉血清热药稍多, 性味偏凉, 有 22.45% (11/49 例) 药后便次增多 1、2 次, 脾胃寒者冷天药后胃脘不舒, 若改温服可改善。

5 实验研究表明, 养肝澳平合剂可使树鼯感染人 HBV 标志物阴转率增高, 感染鸭血中 DHBV-DNA 可被抑制, 动物模型肝组织变性坏死灶减少, 肝细胞增生明显, 肝糖原储存增加, 肝纤维化减少, 部分肝叶切除大鼠之肝细胞再生活跃。这些都和临床症状、肝功能好转是平行的。治疗有效原因考虑是乙肝病毒活动性复制被抑制, 肝损伤减轻, 肝细胞增生之故。鸭 DHBV 感染模型治疗后血总 SOD 升高, 对具有破坏性氧自由基清除作用加强, 可能是治疗有效的中间机理之一。

(树鼯模型实验承广西肿瘤防治所苏建家教授协助, 特致谢)

参 考 文 献

1. 上海六届全国病毒性肝炎会议修订. 病毒性肝炎防治方案 (试行). 中华内科杂志 1991; 30(1): 8-16.
2. 中国中医药学会内科肝病专业委员会. 病毒性肝炎中医辨证标准 (试行). 中医杂志 1992; 33(5): 295-296.
3. 中国中医药学会内科肝病专业委员会. 病毒性肝炎中医疗效判定标准 (试行). 中医杂志 1992; 33(6): 373.
4. 孙克继, 刘英琴, 关世春, 等. 大鼠不同范围肝部分切除再生的组织学观察. 北京第二医学院学报 1983; 4(1): 15-19.
5. 林鸿民, 沈春云, 汪荣发. AgNOR 变化在唾液腺肿瘤中的诊断学意义. 临床与实验病理学杂志 1990; (3): 167-169.
6. 汪俊韬, 吴昊. 慢性乙丙丁各型肝炎干扰素疗法进展. 临床肝胆病杂志 1992; 8(4): 171-173.
7. 国家“七五”肝炎攻关组. 自体 LAK 细胞回输疗法治疗慢性乙型肝炎的临床试验. 中华内科杂志 1991; 30(1): 27-28.
8. 张俊富, 崔丽安, 范淑芳, 等. 乙肝 1 号治疗慢性乙型肝炎的临床研究. 中医杂志 1993; 34(11): 673-675.
9. Anna EL, Lars L, Anders N, et al. Increased serum levels of hyaluronate in liver disease. Hepatology 1985; 5(4): 634-642.

(收稿: 1996-01-15 修回: 1996-07-15)