

血隆冲剂抗肝纤维化的临床与实验研究*

李召忠¹ 王 啸¹ 隋在云² 张学海¹

内容提要 目的 研究血隆冲剂抗肝纤维化的临床疗效及其作用机理。方法 肝硬变患者 98 例 随机分为两组 治疗组(58 例)和对照组(40 例)分别给予血隆冲剂和参柴颗粒剂治疗 3 个月 观察治疗前后两组患者血清透明质酸(HA)层粘蛋白(LN)水平及肝脏病理组织学的改变。实验研究观察造模大鼠肝组织的羟脯氨酸含量及光、电镜下的肝脏病理改变。结果 总效率和总有效率治疗组分别为 43.1%、72.4% 对照组分别为 17.5%、40.0% 两组比较差异均有显著性($P < 0.01$) 治疗后治疗组患者血清 HA、LN 水平明显降低 肝脏活组织病理检查(治疗组 8 例)证实肝纤维组织减少。实验研究结果证实血隆冲剂 9.6g/kg 组大鼠肝组织中羟脯氨酸含量明显下降 光、电镜均能发现用药组大鼠肝组织中纤维组织增生减轻。结论 血隆冲剂有抗肝纤维化作用。

关键词 血隆冲剂 肝纤维化 透明质酸 层粘蛋白 肝活检

Clinical and Experimental Study on Anti-Liver Fibrosis Effect of Xuelong Granule LI Zhao-zhong, WANG Xiao, SUI Zai-yun, et al *Jining Municipal Infectious Diseases Hospital, Shandong (272031)*

Objective: To study the clinical effect and mechanism of Xuelong Granule (XLG) in antiliver fibrosis.

Methods: Ninety-eight patients with liver cirrhosis were divided into 2 groups randomly. The 58 Patients in the treated group were treated by XLG and the 40 patients in the control group were treated by Shenchai Granule for 3 months. Levels of serum hyaluronic acid (HA) and laminin (LN), and pathological changes of liver tissues were observed before and after treatment. In experimental study on model rats, the liver tissue content of hydroxyproline and pathological changes under light and electron microscope were observed. **Results:** The total effective rate in the treated group was 72.4%, that in the control group was 40.0%, there was significant difference between the two groups ($P < 0.01$). The level of serum HA and LN in the treated group declined markedly after treatment, and pathological examination of 8 cases showed the fibrous tissues reduced obviously. Experimental study showed marked reduction of hydroxyproline content and significant lowering of fibrous tissue proliferation, both under light and electron microscope, in liver of model rats after XLG treatment. **Conclusion:** XLG has a definite effect in anti-liver fibrosis.

Key words Xuelong Granule, liver fibrosis, hyaluronic acid, laminin, liver biopsy

抗纤维化治疗一直是肝炎肝硬变治疗的难点之一,中医中药在这方面具有其明显的优势。1996 年 10 月~1998 年 8 月,我们采用前瞻性随机对照的方法,对血隆冲剂抗肝纤维化的作用进行了临床观察和实验研究,现将结果报告如下。

临 床 研 究

1 临床资料 按 1995 年 5 月北京第 5 次全国传染病寄生虫病学术会议讨论修订的病毒性肝炎诊断标准^[1] 选取 1996~1998 年间来我院就诊的门诊及住院的肝硬变患者 98 例 随机(应用随机数字表,奇数入治

疗组,偶数入对照组)入治疗组)分成两组 治疗组 58 例(门诊 23 例,住院 35 例),男 42 例,女 16 例;年龄 21~68 岁,平均(47.4 ± 8.7)岁;病程 5~21 年,平均(8.9 ± 5.8)年;55 例为 HBV 感染所致,1 例为 HCV 感染所致,2 例无阳性感染指标。对照组 40 例(门诊 16 例,住院 24 例),男 29 例,女 11 例;年龄 25~63 岁,平均(45.8 ± 9.2)岁;病程 7~19 年,平均(9.0 ± 6.2)年;38 例为 HBV 感染所致,1 例为 HCV 感染所致,1 例为酒精性肝硬变。两组患者性别、年龄、病情及病程均经统计学处理,差异无显著性,具有可比性。

2 治疗方法 治疗组患者给予血隆冲剂(济宁市传染病医院制剂室生产,由生水蛭、醋鳖甲、鸡内金、炙黄芪、炒白术、怀牛膝、枸杞子、郁金、虎杖、潞党参、五味子等 12 味中药组成,每包 12g)每次 12g,每天 3 次

* 山东省中医药科技发展计划课题(No. 950312)

1. 山东省济宁市传染病医院(山东 272031) 2. 山东省中医药研究所

口服。对照组给予参柴颗粒剂(中国成都华宇制药有限公司生产,由柴胡、黄芩、党参、甘草等中药组成,每包 9g) 每次 9g, 每天 3 次口服,两组疗程均为 3 个月。两组患者基础治疗尽可能相同,包括应用利尿剂和维生素类药物,但均不用其他任何抗纤维化药物和免疫调节剂。

3 观察方法 检测用药前后两组患者血清肝纤维化指标 透明质酸(HA,用放免法) 层粘蛋白(LN,用放免法) 治疗组有 8 例做了治疗前后肝脏活组织检查,对比观察病理变化(HE 染色);肝脏炎症活动度分级及纤维化程度分期的具体标准依据文献^[1]。

4 统计学方法 计量资料采用 t 检验,计数资料采用率(%)表示, χ^2 检验。

5 结果

5.1 临床疗效标准 显效:临床症状消失或接近消失,体征好转,肝功能接近正常,同时,血清 HA、LN 水平下降,其中任何一项较治疗前下降 $\geq 50\%$ 。有效:症状、体征及肝功能均有一定程度的好转,血清 HA、LN 水平至少有一项较治疗前下降 $\geq 10\%$ 。无效:症状、体征及肝功能可有不同程度的改善,HA、LN 水平较治疗前下降 $< 10\%$,或升高。凡介于两级之间者均纳入疗效较好的一级,彼此间不重复统计。

5.2 两组患者临床疗效 治疗组 58 例,显效 25 例(43.1%),有效 17 例(29.3%),无效 16 例(27.6%),总有效率为 72.4%。对照组 40 例,显效 7 例(17.5%),有效 9 例(22.5%),无效 24 例(60.0%),总有效率为 40.0%。两组显效率和总有效率比较差异均有显著性($\chi_1^2 = 7.057$, $\chi_2^2 = 10.296$, $P < 0.01$),提示治疗组疗效优于对照组。

5.3 两组患者治疗前后血清 HA、LN 测定结果见表 1。血清 HA:两组治疗后均较治疗前显著降低(治疗组 $t = 6.021$, $P < 0.01$;对照组 $t = 2.201$, $P < 0.05$);两组治疗后比较,治疗组优于对照组($t = 2.705$, $P < 0.01$)。血清 LN:治疗组治疗后较治疗前下降($t = 2.754$, $P < 0.01$),对照组治疗后较治疗前下降,但差异无显著性($t = 1.231$, $P > 0.05$);两组治疗

表 1 两组患者治疗前后血清 HA、LN 测定

结果比较 ($\mu\text{g/L}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数		HA	LN
治疗	58	治疗前	486.8 \pm 253.5	152.6 \pm 57.4
		治疗后	234.3 \pm 189.7** $\triangle\triangle$	126.7 \pm 41.8** \triangle
对照	40	治疗前	465.7 \pm 272.3	163.5 \pm 60.8
		治疗后	344.5 \pm 210.0*	147.7 \pm 52.2

注:与本组治疗前比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与对照组治疗后比较, $\triangle P < 0.05$, $\triangle\triangle P < 0.01$

后比较差异有显著性($t = 2.206$, $P < 0.05$)。说明血隆冲剂能显著降低肝硬变患者血清 HA、LN 的水平。

5.4 治疗组 8 例患者治疗前后肝脏病理组织的改变情况 见表 2。8 例患者肝脏组织活检治疗前后对比表明,用血隆冲剂治疗后,汇管区炎症、肝细胞变性以及碎屑样坏死均有不同程度的减轻,除 2 例肝纤维化减轻不明显外,其余均为桥接坏死有明显改善,纤维组织显著减少,有的纤维间隔仅隐约可见,并有不同程度的肝细胞再生。

表 2 治疗组 8 例患者治疗前后肝脏病理学的改变情况 (例)

	炎症活动度					纤维化程度分期				
	0	I	II	III	IV	0	I	II	III	IV
治疗前	0	2	3	2	1	0	0	3	2	3
治疗后	3	3	1	1	0	0	3	2	1	2

实验研究

1 实验动物 雄性 Wistar 大鼠,体重 180~200g,一级动物,由山东医科大学实验动物中心提供,合格证号:鲁动质 960102 号。

2 药物 参柴颗粒剂、血隆冲剂生产厂家及方剂组成同临床研究部分。

3 造模及给药方法 取 Wistar 大鼠 100 只(雌、雄兼用),在实验室喂养两周后,按体重分 5 组:正常组、模型组、参柴组(给参柴颗粒剂 4.5g/kg)、血隆冲剂高剂量组(简称血隆高组,给血隆冲剂 9.6g/kg)、血隆冲剂低剂量组(简称血隆低组,给血隆冲剂 3.2g/kg),每组 20 只。除正常组外,各组均以 79.5%的单纯玉米粉加 20%猪油和 0.5%的胆固醇的混合饲料喂养,并以 30%乙醇为饮料。于实验第 1 天每只动物皮下注射 40%的 CCl_4 溶液 0.5ml/100g 体重,以后每隔 3 天皮下注射 40% CCl_4 溶液 0.3ml/100g 体重造模。给药各组于实验第 2 天开始灌胃给上述相应药物(1ml/100g),每天 1 次,正常组及模型组灌等量生理盐水,共 6 周。

4 检测指标及方法

4.1 大鼠肝脏组织中羟脯氨酸的测定 于实验第 6 周末(即实验第 42 天),动物称重后在乙醚麻醉下,取其肝脏左叶做羟脯氨酸含量测定,具体测定方法参见文献^[2,3]。

4.2 肝组织病理学观察 实验第 42 天,取大鼠肝脏右叶固定于 10%福尔马林,做苏木素-伊红染色及胶原纤维染色,固定于 2.5%的戊二醛作电镜检查。

5 统计学分析 计量资料采用 Student' t 检验。

6 结果

6.1 各组大鼠肝组织中羟脯氨酸含量测定结果见表 3。模型组大鼠肝组织中羟脯氨酸的含量明显高于正常组 ($P<0.01$) ;与模型组比较 ,各给药组羟脯氨酸含量均降低 ,其中血隆高组差异有显著性 ($P<0.01$) ;与参柴组比较 ,血隆高组降低更明显 ($P<0.01$) ,血隆高、低组间比较 ,差异有显著性 ($P<0.01$) 。

表 3 各组大鼠肝组织中羟脯氨酸含量测定结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	羟脯氨酸(ng/100mg 肝组织)
正常	20	0.0503±0.0105*
模型	18	0.1091±0.0608
参柴	19	0.0882±0.0315
血隆高	16	0.0556±0.0146*△▲
血隆低	18	0.0817±0.0301

注 :与模型组比较 ,* $P<0.01$;与参柴组比较 ,△ $P<0.01$;与血隆低组比较 ,▲ $P<0.01$ 。

6.2 大鼠肝组织形态学观察

6.2.1 HE 染色 光镜下见模型组大鼠肝小叶结构不清 ,肝索排列紊乱 ,大多数肝细胞肿胀 ,脂肪变性、坏死 ,肝细胞团块再生及核分裂相多见 ,枯否氏细胞多肥大、增生 ,肝窦多变窄、闭塞 ,少数代偿性扩张 ;汇管区有大量成纤维细胞、纤维细胞和胶原纤维 ,并有假小叶形成。用药各组纤维增生程度较轻 ,而肝细胞再生更活跃。

6.2.2 胶原纤维染色 光镜下见模型组大鼠肝组织内胶原纤维增生 ,由胶原纤维组成的纤维间隔正在形成或已经形成 ,它破坏界板 ,分割、包绕肝小叶 ,部分肝组织切片多见有假小叶。用药各组大鼠肝组织内胶原纤维增生程度较轻 ,部分切片镜下可见正在形成的纤维间隔 ,假小叶少见。

6.2.3 电镜观察 正常组大鼠肝细胞核圆形 ,位于中央 ,胞质中富于糙面内质网和线粒体。模型组大鼠肝细胞核呈圆形 ,常染色质、异染色质均减少 ,细胞

浆内糙面内质网脱颗粒 ,线粒体内嵴减少呈空泡状 ,并有脂滴和胶原纤维。血隆高组大鼠肝细胞内常染色质和异染色质均增多 ,基本恢复到正常状态 ,部分线粒体嵴正常 ,有少量糙面内质网扩张 ,胶原纤维仍可见。参柴组与血隆低组大鼠肝细胞内常、异染色质减少较轻 ,糙面内质网可见扩张、脱颗粒 ;有较多的空泡状线粒体 ,胶原纤维较多见。

讨 论

中医学认为肝硬变属“ 癥、鼓胀 ”范畴 ,多由肝、脾、肾受病日久 ,致肝肾脾虚 ,气滞血瘀 ,水蓄内停等病机 ,按照中医学理论组方的血隆冲剂 ,具有行气逐瘀 ,软坚散结 ,调补肝肾 ,益气健脾 ,利水消肿 ,清热解毒之功效。现代科学研究已知水蛭中的水蛭素具有较强的抗凝血作用 ,且不耐热⁽⁴⁾ ,黄芪中的黄芪皂甙具有抗肝损伤作用 ,能减轻肝中毒引起的病变⁽⁵⁾ 。本研究经临床和动物实验证实血隆冲剂能降低肝硬变患者血清中的 HA、LN ,改善肝纤维化病理状态 ;能降低实验性大鼠肝组织中羟脯氨酸的含量 ,抗实验性大鼠肝损伤 ,减轻肝组织内部肝纤维化增生 ,并有促肝细胞再生作用 ,对血隆冲剂有深入研究和临床应用推广价值。

参 考 文 献

1. 病毒性肝炎诊断标准. 中华传染病杂志 1995 ;13(4): 242—247.
2. 杨步平. 大鼠肺组织羟脯氨酸测定方法及应用. 军事医学科学院院刊 1995 ;19(1): 44—46.
3. 苏子良. 血尿羟脯氨酸测定方法的改进. 中华医学检验杂志 1998 (6): 133.
4. 牛祝琴,丛月珠主编. 水蛭的临床应用. 北京 :人民军医出版社 ,1994:24—31.
5. 徐银娣. 黄芪皂甙抗实验性肝损伤作用. 药学报 1992 ;27(6): 401—403.

(收稿 2000-07-03 第 2 次修回 2001-07-15)

幸林实用中西医临床辅助软件(TCMware)

〔简介〕 本软件是运用美国最新的神经网络核心技术 ,结合中国中医诊断专业委员会主任朱文锋教授的辨证算法化思想 ,研制成的大型计算机诊疗系统。本软件以病人为中心 ,以临床为目标 ,以诊断为重点 ,以中医为主导 ,中西医结合 ,辅助医生掌握诊疗过程中的结构性互动关系 ,以对病人作出迅速准确的处理。

〔特征〕 全临床协助 ,涵盖全科病域 ,简单鼠标操作 ,无缝式病历管理 ,中英文跟随对译提示 ,可控的自动化辨证推理。
〔内容〕 1 498 个疾病 ,18 676 条单个和组合症状 ,2 243 条证候和治则 ,1 747 条方剂和治疗技法 ,3 096 条中药、成药、西药、穴位 ,网络节点性知识共约百万条。

〔总经销〕 深圳洛泰克实业有限公司(泰然工贸园 210 栋 3G) ,邮编 518040 ;电话 0755-2707199、3792371 ,13662624338 ;传真 0755-2707400 ;E-mail :healingsoft@21cn.com。