

· 临床论著 ·

皂术茵陈方治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床观察及其对肠道菌群的影响

林 立¹ 梁惠卿¹ 庄鸿莉² 连开伟³ 钟群燕³ 蔡 洋³ 罗 晨³ 唐金模¹

摘要 目的 评价皂术茵陈方调节肠道菌群治疗非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的临床疗效及其作用机制。**方法** 选取福建中医药大学附属厦门市中医院肝病中心门诊就诊的 NASH 患者 80 例,采用随机数字表法分为治疗组(40 例)和对照组(40 例)。治疗组予中药皂术茵陈方治疗,对照组予以枯草杆菌二联活菌肠溶胶囊治疗,两组疗程均为 12 周。评价治疗前后两组患者的症状、体征积分以及血清 ALT、AST 活性;检测两组患者血清内毒素水平以及肠道菌群变化。**结果** 治疗 12 周后,治疗组的临床总有效率达 87.5%(35/40),较之对照组的 65%(26/40)有统计学意义($\chi^2 = 7.966, P < 0.05$);两组患者 ALT、AST 活性以及血清内毒素水平较治疗前均有明显下降($P < 0.05$),且以治疗组的 ALT、AST 活性下降值大于对照组($t = 2.254, t = 2.325, P < 0.05$);两组患者肠道菌群中的双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌数量较治疗前显著升高,而肠球菌、肠杆菌显著降低($P < 0.05$)。**结论** 皂术茵陈方具有改善肝功能、治疗 NASH 的临床疗效,其作用机制与调节肠道菌群紊乱、恢复肠道微生态平衡、减轻肠源性内毒素血症相关。

关键词 非酒精性脂肪性肝炎;皂术茵陈方;肠道菌群;内毒素

Effect of Zaozhu Yinchen Recipe on Intestinal Flora in Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis
LIN Li¹, LIANG Hui-qing¹, ZHUANG Hong-li², LIAN Kai-wei², ZHONG Qun-yang², CAI Yang², LUO Chen³, and TANG Jin-mo¹ 1 Center for Liver Diseases, Xiamen Traditional Chinese Medicine Hospital, Fujian (361009); 2 Department of TCM, Xiamen First Hospital, Xiamen University, Fujian (361001); 3 Faculty of TCM, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fujian (351012)

ABSTRACT Objective To evaluate the clinical efficacy and mechanism of Zaozhu Yinchen Recipe (ZZYCR) in treatment of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) by regulating intestinal microflora. **Methods** Eighty NASH patients were recruited from Center for Liver Diseases, Xiamen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine. They were assigned to the treatment group and the control group by random number table, 40 cases in each group. Patients in the treatment group took ZZYCR, while those in the control group took live combined *Bacillus Subtilis* and *Enterococcus Faecium* Enteric-coated Capsule. The therapeutic course for all was 12 weeks. Their symptoms and scores for signs were evaluated before and after treatment. Activities of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were detected in the two groups before and after treatment. Serum endotoxin levels and intestinal flora changes were measured in both groups. **Results** The total effective rate was 87.5% (35/40) after 12 weeks treatment in the treatment group, significantly higher than that in the control group [65% (26/40), $\chi^2 = 7.966, P < 0.05$]. The decrements of ALT and AST activities were significantly higher in the treatment group than in the control group ($t = 2.254, t = 2.325, P < 0.05$). In the two groups, the numbers of *Bacillus bifidus*, *Bacillus lacticus*, and *Bacteroides* significantly increased

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 81503529); 福建中医药大学临床专项校管课题基金(No. XB2016080)

作者单位: 1. 福建省厦门市中医院肝病中心(福建 361009); 2. 厦门大学附属第一医院中医科(福建 361001); 3. 福建中医药大学中医系(福建 351012)

通讯作者: 唐金模, Tel: 13850005898, E-mail: 13850005898@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20180119.103

more, and enterococcus and *Enterobacteria* decreased more in the intestinal flora in the two groups after treatment than before treatment ($P < 0.05$). Conclusions ZZYCR had the effect of improving liver function. Its mechanism might be closely related to correcting intestinal flora disturbance, restoring intestinal microecological balance, and reducing intestinal endotoxemia.

KEYWORDS nonalcoholic steatohepatitis; Zaozhu Yinchen Recipe; intestinal flora; endotoxin

非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)是临床常见的代谢应激性肝损伤性疾病,被认为是代谢综合征在肝脏的一种病理表现^[1],其可逐渐发展为肝硬化或肝癌,已成为严重影响人们生活质量的慢性肝病之一^[2]。NASH的发病机制复杂,至今尚未完全阐明,随着对“肠-肝轴”概念的广泛认知,肠道微生物生态学研究的不进展,研究表明肠道菌群紊乱所致的内毒素水平升高参与了NASH的发病过程^[3],这为NASH的治疗提供了新的方向。前期研究中,笔者发现中药复方皂术茵陈方具有显著治疗NASH的临床疗效,其作用机制与抑制游离脂肪酸(FFA)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等炎症介质分泌有关^[4]。有研究表明,NASH患者TNF- α 等炎症介质的表达则与肠道内毒素水平密切相关^[3],提示皂术茵陈方治疗NASH的作用机制可能与调节肠道菌群紊乱、降低肠道内毒素水平有关。而本研究通过观察皂术茵陈方治疗NASH的临床疗效,探讨其对内毒素水平和肠道菌群的影响。

资料与方法

1 诊断标准

1.1 西医诊断标准 参照2011年中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会修订的《非酒精性脂肪性肝病的中西医结合诊疗意见》^[5]的诊断标准。符合以下4项条件:(1)无饮酒史或者饮酒量折合乙醇 <140 g/周(女性 <70 g/周);(2)不明原因血清ALT水平升高;(3)腹部彩超提示弥漫性脂肪肝影像学改变;(4)肝脏组织学:NAFLD活动度积分(NAFLD activity score, NAS)^[6] >4 分。

1.2 中医辨证诊断标准 参照参考文献^[5]确定为“湿热蕴结、痰瘀互结”的中医证型。主症为:(1)右肋肋部胀痛不适或钝痛、刺痛;(2)周身困重;(3)腹胀;(4)胁下痞块。次证:(1)口干苦;(2)纳呆厌油;

(3)体胖;(4)恶心或有呕吐;(5)小便黄;(6)大便干或黏滞不畅;(7)舌质紫暗苔黄腻;(8)脉弦数或滑数。具备主症中任何2项及次症中的任何4项者即可。

2 纳入标准 (1)符合中医及西医的诊断标准;(2)年龄18~65周岁,性别不限;(3)愿意参加本项研究并签署知情同意书者。

3 排除标准 (1)血清ALT >5 倍正常值上限;(2)酒精性、病毒性和药物性肝炎等引起脂肪肝;(3)治疗前1个月使用过酸奶、抗生素、胃肠道动力药物以及其他影响肠道通透性制剂;(4)伴有明显的肝肾、心肺和内分泌系统疾病。

4 一般资料 80例均为2015年6月—2017年1月在福建中医药大学附属厦门市中医院肝病中心门诊就诊的NASH患者,均符合纳入标准。将患者采用随机数字表法分为治疗组和对照组,每组40例。两组临床一般资料(表1)比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究通过福建省厦门市中医院临床伦理委员会批准同意(伦理号:2015-K10-05)。

5 治疗方法 治疗组采用皂术茵陈方(组成:皂角刺15 g 炒白术15 g 茵陈蒿15 g 大黄5 g 栀子9 g,采用由江阴天江药业有限公司制备的中药免煎剂)每日1剂,分2次口服。对照组采用枯草杆菌二联活菌肠溶胶囊(商品名为美常安,每粒250 mg,北京韩美药品有限公司,生产批号:20150213)500 mg,每日3次。两组疗程均为12周。治疗期间均配合饮食及运动锻炼并严格禁止饮酒。

6 观察指标及检测方法

6.1 血清ALT、AST活性和ET水平测定 采用贝克曼库尔特全自动生化分析仪测定血清ALT、AST活性;采用鲎试剂法测定内皮素(ET)水平,试剂盒由厦门市鲎试剂公司提供(批号:201702387)。

6.2 肠道菌群测定 取患者新鲜粪便0.5 g加4.5 mL的无菌生理盐水,按10倍的等比稀释法稀释

表1 两组临床资料比较 [$\bar{x} \pm s$ /中位数(范围)]

组别	例数	男性[例(%)]	平均年龄(岁)	病程(月)	症状、体征积分(分)	ALT(IU/mL)	AST(IU/mL)
治疗	40	27(67.5)	35.3 \pm 14.5	28.4 \pm 6.7	16.5 \pm 4.3	101(64~186)	74(47~144)
对照	40	29(72.5)	36.4 \pm 14.6	29.1 \pm 6.4	15.5 \pm 4.6	96(58~179)	79(45~151)

注:ALT水平正常值上限为40 IU/L

至 10^{-9} , 取 10^{-1} 、 10^{-3} 、 10^{-5} 、 10^{-7} 、 10^{-9} 稀释液各 0.5 mL 分别接种于培养基培养 48 h, 大肠杆菌和肠球菌采用需氧培养基, 乳酸杆菌、双歧杆菌以及拟杆菌采用厌氧培养基, 计算每克粪便湿重中菌落形成单位 (CFU) 的对数值。

6.3 腹部彩超检查 采用西门子 ACUSON X300 彩超机进行腹部彩超检查。

6.4 临床疗效判断 参照参考文献 [5] 进行临床疗效判断: 临床痊愈: 症状及体征消失或基本消失, 疗效指数 $\geq 90\%$; 或 (和) 血清 ALT、AST 恢复正常; 或 (和) B 超检查提示肝脏形态及实质恢复正常。显效: 症状及体征明显改善, 疗效指数介于 $70\% \sim 89\%$; 或 (和) 血清 ALT 或 (和) AST 下降 $\geq 50\%$; 或 (和) B 超检查脂肪肝程度从重度减少到轻度。有效: 症状及体征改善, 疗效指数介于 $30\% \sim 69\%$; 或 (和) ALT 或 (和) AST 下降 $30\% \sim 50\%$; 或 (和) B 超检查脂肪肝程度从重度减少到中度、从中度减少到轻度。无效: 症状及体征无明显改善, 甚或加重, 疗效指数 $< 30\%$; 或 (和) ALT 或 (和) AST 下降 $< 30\%$, 甚或加重, 或 (和) B 超检查脂肪肝征象无改善。

注: 症状积分的计算法: 无症状, 记 0 分; 症状轻微, 正常生活未收到影响, 记 1 分; 症状中等, 日常生活部分影响, 记 2 分; 症状重, 日常生活明显受影响, 不能坚持正常工作, 记 3 分; 体征积分的计算: 舌质紫暗 (有: 计 1 分, 无: 计 0 分); 苔黄腻 (有: 计 1 分, 无: 计 0 分); 脉弦数或滑数 (有: 计 1 分, 无: 计 0 分); 各个症状体征积分相加的和记为总分。采用尼莫地平法 [6] 计算疗效指数 (therapeutic index, TI), $TI = [(治疗前症状及体征积分 - 治疗后症状及体征积分) / 治疗前症状及体征积分] \times 100\%$ 。

7 统计学方法 应用 SPSS 18.0 统计软件进行统计学处理。计数资料以率表示, 采用 χ^2 检验; 计量资料符合正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 不符合正态分布则描述其中位数和范围, 组间比较符合正态分布采用 t 检验; 不符合正态分布采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 两组临床疗效比较 (表 2) 治疗组临床总有效率 87.5%, 显著优于对照组 65.0%, 差异有统计学

意义 ($\chi^2 = 7.966, P < 0.05$)。

表 2 两组临床疗效比较 [例 (%)]

组别	例数	临床痊愈	显效	有效	无效	总有效
治疗	40	16(40.0)	15(37.5)	4(10.0)	5(12.5)	35(87.5)*
对照	40	10(25.0)	9(22.5)	7(17.5)	14(35.0)	26(65.0)

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

2 两组治疗前后血清 ALT、AST 活性及 ET 水平比较 (表 3) 与本组治疗前比较, 两组治疗后血清 ALT、AST 活性和 ET 水平均有明显下降 ($P < 0.05$), 且治疗组血清 ALT、AST 活性较对照组改善明显 ($t = 2.254, t = 2.325, P < 0.05$)。

表 3 两组血清 ALT、AST 活性以及 ET 水平比较 [中位数 (范围) / $\bar{x} \pm s$]

组别	例数	时间	ALT(U/L)	AST(U/L)	ET(EU/L)
治疗	40	治疗前	102(64~186)	74(47~144)	180.8 \pm 47.4
		治疗后	53(25~101)*	38(19~79)*	94.3 \pm 18.6*
对照	40	治疗前	96(58~179)	79(45~151)	189.2 \pm 39.8
		治疗后	71(36~144)* Δ	52(27~96)* Δ	100.6 \pm 20.3*

注: 与本组治疗前比较, * $P < 0.05$; 与治疗组治疗后比较, $\Delta P < 0.05$

3 两组治疗前后肠道菌群比较 (表 4) 与治疗前比较, 治疗 12 周后两组患者双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌数量较前显著升高, 而肠球菌、肠杆菌较前明显减少 ($P < 0.05$); 但两组患者粪便中各肠道菌群数量比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

4 不良反应 治疗后监测血、尿、便常规及肾功能均正常。治疗组有 2 例患者服中药早期出现轻度腹泻, 嘱患者将每日中药剂量由每日 2 次口服改为每日 4~6 次口服, 患者逐渐适应, 全部病例均完成 12 周治疗, 无脱落、失访。

讨 论

随着饮食结构日趋高脂高糖, NASH 在我国患病率逐年升高, 并呈现低龄化趋势, 已成为慢性肝病防治领域的重要问题之一 [7]。

NASH 的发病机制。最早提出的“二次打击”假说, 即胰岛素抵抗促使脂质聚积于肝脏, 随后引发氧化

表 4 两组肠道菌群比较 ($\lg^{CFU/g}, \bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	双歧杆菌	乳酸杆菌	肠杆菌	拟杆菌	肠球菌
治疗	40	治疗前	7.9 \pm 1.2	6.3 \pm 1.1	7.9 \pm 1.9	6.1 \pm 1.3	7.8 \pm 1.3
		治疗后	8.6 \pm 1.3*	7.6 \pm 1.2*	6.8 \pm 1.2*	7.6 \pm 2.1*	6.7 \pm 1.5*
对照	40	治疗前	8.0 \pm 1.3	6.4 \pm 1.2	8.1 \pm 2.2	6.2 \pm 1.4	7.9 \pm 1.6
		治疗后	8.7 \pm 2.1*	7.4 \pm 1.4*	7.1 \pm 1.3*	7.2 \pm 1.8*	6.6 \pm 1.1*

注: 与本组治疗前比较, * $P < 0.05$

应激造成肝损害^[8]。近年来提出的“多元平行打击”假说,则认为炎症和脂肪变性的出现不分先后,是同时伴随的脂毒性、线粒体功能障碍、氧化应激和铁超载等共同促进了 NASH 的发生和发展^[9]。

肠道菌群作为人体不可或缺的一个重要特殊“器官”,参与机体的能量代谢活动,如提供能量、合成分泌激素和维生素、促进免疫成熟等^[10]。肝脏与肠道作为消化系统的重要组成部分,在解剖、功能上有着密切的联系。近年研究表明,小肠细菌的过度生长、细菌的易位、肠黏膜通透性改变的变等可导致肠源性内毒素增多,促进 NAFLD 向 NASH 发展,而 NASH 患者脂多糖生成增多则肠道菌群失调主要表现为肠道原有的益生菌如类杆菌、双歧杆菌等显著减少,而产气杆菌、大肠埃希菌等革兰阴性菌大量繁殖,肠球菌和真菌比例也明显增加^[12]。肠道革兰阴性杆菌产生的脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)作为一种细菌毒性因子,进入肝脏门脉系统,从而导致肠源性内毒素血症,导致体内炎症介质的释放,通过一系列改变,造成肝细胞损害、自溶^[13]。LPS 还通过 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 信号途径激活肝脏枯否细胞,释放大炎症因子如 TNF- α 、NF- κ B 等,阻断胰岛素受体从而导致胰岛素抵抗,对肝细胞造成“二次打击”,促进 NASH 的发展^[14]。由此可见,肠道菌群紊乱及其形成的肠源性内毒素血症在 NASH 的发生、发展中扮演极其重要的角色^[15]。因此,调节肠道微生态平衡,减少肠源性内毒素水平成为目前 NASH 治疗的新方向^[16]。

本团队前期工作中,已证实中药复方皂术茵陈方具有显著治疗 NASH 的临床疗效^[4]。该方以临床肝病常用中药复方茵陈蒿汤为基础,配伍皂刺、白术组合而成。方中皂刺活血化瘀以除浊脂之患、白术健脾利湿以绝浊脂代谢之源、茵陈清利湿热、栀子清热降火、大黄泻热逐瘀。诸药合用,具有“健脾化痰、清热活血”功效,切合非酒精性脂肪性肝炎“脾虚、湿热、痰瘀”的病机特点^[17]。本研究再次证实皂术茵陈方具有显著改善患者临床症状、降低患者血清 AST、ALT 活性,治疗 NASH 的临床效应。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] Bedossa P. Pathology of non-alcoholic fatty liver disease[J]. Liver Int, 2017, 37(Suppl 1): 85-89.
- [2] Cholankeril G, Patel R, Khurana S, et al. Hepatocellular carcinoma in non-alcoholic steatohepatitis:

Current knowledge and implications for management [J]. World J Hepatol, 2017, 9(11): 533-543.

- [3] Wiest R, Albillos A, Trauner M, et al. Targeting the gut-liver axis in liver disease [J]. J Hepatol, 2017, 67(5): 1084-1103.
- [4] 陈少东, 杨嘉恩, 王宏国, 等. 皂术茵陈方治疗非酒精性脂肪性肝炎 40 例临床研究 [J]. 中医药通报, 2015, 14(1): 46-48.
- [5] 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 非酒精性脂肪性肝病的中西医结合诊疗共识意见 [J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(2): 155-158.
- [6] 郑筱萸主编. 中药新药临床研究指导原则(试行) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 148, 150-151.
- [7] Farrell GC, Wong VW, Chitturi S. NAFLD in Asia - as common and important as in the West [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2013, 10(5): 307-318.
- [8] Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? [J]. Gastroenterology, 1998, 114(4): 842-845.
- [9] 巫协宁. 非酒精性脂肪性肝炎的发病机制新说: 多重打击论和治疗 [J]. 中华消化杂志, 2014, 34(3): 206-209.
- [10] Blaut M. Gut microbiota and energy balance: role in obesity [J]. Proc Nutr Soc, 2015, 74(3): 227-234.
- [11] 吴文明, 李帆, 杨云生. 肠道菌群与肝病关系的研究进展 [J]. 中华消化杂志, 2013, 33(7): 500-502.
- [12] 沈峰, 陈建能, 郑瑞丹. 应用 454 测序技术评价非酒精性脂肪性肝病患者肠道菌群结构差异 [J]. 实用肝脏病杂志, 2015, 18(2): 145-149.
- [13] 李兰娟. 进一步深入对肠道微生态失衡与肝病重症化关系的研究 [J]. 中华内科杂志, 2015, 54(5): 393-395.
- [14] Zhu L, Baker RD, Baker SS. Gut microbiome and nonalcoholic fatty liver diseases [J]. Pediatr Res, 2015, 77(1-2): 245-251.
- [15] Ilan Y. Leaky gut and the liver: a role for bacterial translocation in nonalcoholic steatohepatitis [J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(21): 2609-2618.
- [16] Federico A, Dallio M, Godos J, et al. Targeting gut-liver axis for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: translational and clinical evidence [J]. Transl Res, 2016, 167(1): 116-124.
- [17] Chen SD, Li J, Zhou HH, et al. Study on effects of ZhiZi (*Fructus Gardeniae*) on non-alcoholic fatty liver disease in the rat [J]. J Tradit Chin Med, 2012, 32(1): 82-86.

(收稿: 2017-07-02 在线: 2018-04-23)

责任编辑: 段碧芳
英文责编: 张晶晶